

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4680589号
(P4680589)

(45) 発行日 平成23年5月11日(2011.5.11)

(24) 登録日 平成23年2月10日(2011.2.10)

(51) Int.Cl.

F I

C O 7 D 493/22	(2006.01)	C O 7 D 493/22	C S P
A 6 1 K 31/365	(2006.01)	A 6 1 K 31/365	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 37/06	(2006.01)	A 6 1 P 37/06	

請求項の数 7 (全 35 頁)

(21) 出願番号 特願2004-509645 (P2004-509645)
 (86) (22) 出願日 平成15年5月29日 (2003.5.29)
 (65) 公表番号 特表2005-528442 (P2005-528442A)
 (43) 公表日 平成17年9月22日 (2005.9.22)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2003/017177
 (87) 国際公開番号 W02003/101951
 (87) 国際公開日 平成15年12月11日 (2003.12.11)
 審査請求日 平成18年3月29日 (2006.3.29)
 (31) 優先権主張番号 60/384,480
 (32) 優先日 平成14年5月31日 (2002.5.31)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

前置審査

(73) 特許権者 501085821
 ファーマジェネシス、 インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 94304, パロアルト, ポーター ドライブ 3183
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100062409
 弁理士 安村 高明
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹

最終頁に続く

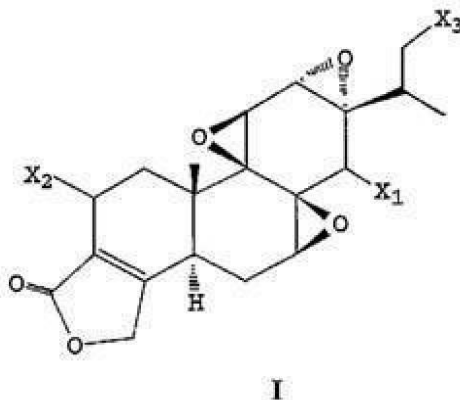
(54) 【発明の名称】 アポトーシスおよび免疫抑制の調節のためのトリプトリド誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

トリプトリド (triptolide) プロドラッグであって、該トリプトリドプロドラッグは、構造 I :

【化1】



を有し、ここで、

X¹ が、OR¹ であって、X² および X³ が、H であって、そして、OR¹ が、O - (C=O) - Z であって、ここで、Z が、-OR² であり、そして、R² が、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケ

ニル、アリール、アラルキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル、アリールオキシアルキルおよびアシルオキシアルキルから選択される、トリプトリドプロドラッグ。

【請求項 2】

細胞死の誘導のような処置を必要とする被験体において細胞死の誘導に使用するための組成物であって、該組成物が、薬学的に受容可能なピヒクル中の有効量の請求項 1 に記載のトリプトリドプロドラッグまたは薬学的に受容可能なそれらの塩を含有する、組成物。

【請求項 3】

請求項 2 に記載の組成物であって、ここで、前記処置が、結腸癌、乳癌、肺癌または前立腺癌の処置である、組成物。

10

【請求項 4】

免疫抑制の生成のような処置を必要とする被験体において免疫抑制の生成に使用するための組成物であって、該組成物は、有効量の請求項 1 に記載のプロドラッグまたは薬学的に受容可能なこれらの塩を、薬学的に受容可能なピヒクル中に含有する、組成物。

【請求項 5】

請求項 4 に記載の組成物であって、ここで、前記免疫抑制が、移植片拒絶反応の阻害を包含する、組成物。

【請求項 6】

請求項 4 に記載の組成物であって、ここで、前記免疫抑制が、対宿主性移植片病の阻害を包含する、組成物。

20

【請求項 7】

請求項 4 に記載の組成物であって、ここで、前記免疫抑制が、自己免疫疾患の処置を包含する、組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(発明の分野)

本発明は、免疫抑制剤、抗炎症剤および抗癌剤として有用であるプロドラッグおよびそれらの使用方法に関する。その化合物は、良好な水溶性を有し、プロドラッグ上の置換を変化することにより調節され得る速度で、インビボで生物学的に活性な化合物に転換する。

30

【0002】

【数 1 - 1】

参考文献

- Bagshawe, K.D. Antibody directed enzymes revive anti-cancer prodrugs concept. *Br J Cancer* **56**:531-532 (1987).
- Bagshawe, K.D. Antibody-directed enzyme prodrug therapy (ADEPT). *Adv Pharmacol.* **24**:99-121 (1993).
- Bagshawe, K.D, Springer, C.J., Searle, F., Antoniow, P., Sharma, S.K., Melton, R.G., Sherwood RF. A cytotoxic agent can be generated selectively at cancer sites. *Br J Cancer* **58**:700-703 (1988). 10
- Bagshawe, K.D. Towards generating cytotoxic agents at cancer sites. *Br J Cancer* **60**:275-281 (1989).
- Boyd, G.V. and Heatherington, K., *J. Chem. Soc. Perkin I* 2523-2531 (1973).
- Ferrier, R.J., in CARBOHYDRATE CHEMISTRY, Kennedy, J.F., Ed., Clarendon Press, Oxford (1990).
- Garver, L.C. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **104**:867 (1982). 20
- Gleichmann, E. *et al.*, *Immunol. Today* **5**:324 (1984).
- Hormi, O.E.O. and Nasman, J.H., *Syn. Commun.* **16**:69 (1986).
- Kocienski, P.J., PROTECTING GROUPS, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1994).
- Korngold, R. and Sprent, J., *J. Exp. Med.* **148**:1687 (1978).
- Kupchan, S.M. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **94**:7194 (1972).
- Kupchan, S.M. *et al.*, U.S. Patent No. 3,005,108 (1977).
- Lipsky, P.E. *et al.*, U.S. Patent No. 5,294,443 (1994).
- Ma, P-C. *et al.*, *J. Chin. Pharm. Sci.* **1**:12 (1992). 30
- Mori, S. *et al.*, *Tetrahedron* **47**(27):5051-5070 (1991).
- Morris, R.E., *Transplant Proc.* **23**(6):2722-2724 (1991).
- Morris, R.E. *et al.*, *Transplant Proc.* **23**(1):238-240 (1991).
- Murase, N. *et al.*, *Transplantation* **55**:701 (1993).

【 0 0 0 3 】

【数 1 - 2】

- Murase, N. *et al.*, *Transplantation* **55**:701 (1993). 40
- Ono and Lindsey, *J. Thor. Cardiovasc. Surg.* **57**(2):225-29 (1969).
- Pu, L. *et al.*, *Zhongguo Yaoli Xuebao* **11**:76 (1990).
- Wang, J. and Morris, R.E., *Transplantation Proc.* **23**:699 (1991).
- Wentworth. P., Datta, A., Blakey, D., Boyle, T., Partridge, L.J., Blackburn, G. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**:799-803 (1996).
- Yu *et al.*, *Acta Pharmaceutica Sinica* **27**(11):830-836 (1992).
- Zheng, J. *et al.*, *Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao* **13**:391 (1991).
- Zheng, J. *et al.*, *Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao* **16**:24 (1994). 50

【背景技術】

【0004】

(発明の背景)

免疫抑制剤は、対宿主性移植片病(GVHD)(移植された骨髄細胞がレシピエントの細胞を攻撃する状態)の処置を含む自己免疫疾患の処置および移植片拒絶反応の処置または防止に広く使用されている。一般的な免疫抑制剤としては、アザチオプリン、コルチコステロイド、シクロホスファミド、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、ビンクリスチンおよびシクロスポリンAが挙げられる。一般に、これらの薬物は、いずれも完全には有効ではなく、そして、大抵のものは、重い毒性に制限されている。例えば、シクロスポリンAは、広く使用されている薬剤であるが、腎臓に対して顕著に有毒である。さら

10

【0005】

中国の薬草 *Tripterygium wilfordii* (TW) に由来する多くの化合物が、免疫抑制活性を有する(例えば、対宿主性移植片病(GVHD)(移植された骨髄細胞がレシピエントの細胞を攻撃する状態)の処置を含む自己免疫疾患の処置および移植片拒絶反応の処置または防止において)と認められてきた。例えば、共有に係る米国特許第6,150,539号(高い水溶性を有するトリプトリドプロドラッグ)、同第5,962,516号(免疫抑制化合物および方法)、同第5,843,452号(免疫治療組成物および方法)、同第5,759,550号(異種移植片拒絶反応を抑制するための方法)、同第5,663,335号(免疫抑制化合物および方法)および同第5,648,376号(免疫抑制剤ジテルペン化合物)を参照のこと、これらおよびその中に引用された参考文献は、全て本明細書中に参考として援用される。このような化合物はまた、抗癌活性を示すことが報告されている。例えば、上記で引用されたKupchanら、1972、1977ならびに共有に係るPCT公開番号WO02/56835を参照のこと、これらは、本明細書中に参考として援用される。

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかし、これらの化合物の投与および治療効果は、それらの低い水溶性により制限されている。この問題は、エタノールおよびポリエトキシ化ヒマシ油(例えば、「CREMOPHOR ELTM」)の混合物中にその化合物を処方することにより、取り組まれ、その方法は、静脈内投与のための生理食塩水中へのその後の希釈を可能にする。しかし、このような処方物は、これらの化合物を溶解させるために必要な高濃度の可溶化剤のために、高い毒性を受ける。例えば、このような処方物中の可溶化剤(エタノールおよび「CREMOPHOR ELTM」)のトリプトリドに対する割合は、トリプトリドの低い溶解度(Morris, 1991; Morrisら, 1991)のために、代表的には、1000:1のオーダーかまたはそれより大きい。懸濁液を使用した投薬量の標準化もまた、溶液を使用した場合より問題である。

30

【0007】

従って、比較的低い毒性を有し、改良された水溶性を有する免疫抑制性化合物を提供することが望ましい。プロドラッグ上の置換基の選択によって制御され得る速度で、インピボでの免疫抑制形態に転換されるプロドラッグ化合物を提供することもまた、望ましい。

40

【課題を解決するための手段】

【0008】

(発明の要旨)

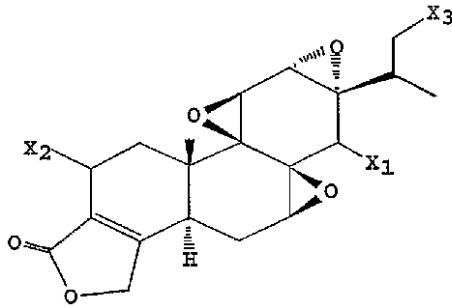
一つの局面では、本発明は、癌の処置において、特に結腸癌、乳癌、肺癌または前立腺癌の処置において、細胞死を誘導する方法を提供する。別の局面では、本発明は、移植片拒絶反応の阻害、対宿主性移植片病の予防または処置、または自己免疫疾患の処置のように、免疫抑制に影響する方法を提供する。本発明に従って、このような処置の必要な被験

50

体は、薬学的に受容可能なビヒクル中の、以下の構造 I

【0009】

【化2】



I

10

【0010】

を有する有効量のトリプトリドプロドラッグまたは薬学的に受容可能なその塩で処置される。構造 I において、変数は、以下のように定義される：

X^1 は、OH または OR^1 であって、 X^2 および X^3 が、独立に OH, OR^1 または H であって、但し、 X^1 、 X^2 および X^3 の内の少なくとも一つが、 OR^1 であって、そして、 X^2 および X^3 の内の少なくとも一つが、H であって；そして、

OR^1 が、 $O - (C=O) - Z$ であって、ここで、Z が、以下： OR^2 、 $-O - Y - (C=O) - OR^3$ 、 $-O - Y - NR^4 R^5$ 、 $-NR^4 R^5$ 、 $-NR^3 - Y - (C=O) - OR^3$ および $-NR^3 - Y - NR^4 N^5$ からなる群から選択され、

ここで、

Y が、六個までの炭素原子を有する二価アルキル基、二価アルケニル基または二価アルキニル基であって、

R^2 が、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、アリール、アラルキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル、アリールオキシアルキルおよびアシルオキシアルキルから選択され、

各 R^3 が、水素および R^2 から独立に選択され、そして、

R^4 および R^5 が、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、アリール、アラルキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル、アリールオキシアルキルおよびアシルオキシアルキルから独立に選択され、または R^4 および R^5 が、一緒になって、5 ~ 7 員環の複素環を形成し、その環原子が、炭素、窒素、酸素または硫黄からなる群から選択され、ここで、その環原子が最大で 3 個のヘテロ原子を含む。

【0011】

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 と定義される基が、アルキル、アルケニルおよびアルキニルから選択される場合、好ましくは六個までの炭素原子を有する。シクロアルキルまたはシクロアルケニルから選択される場合、それらは、好ましくは、3 ~ 7 個の炭素原子を有し、またはシクロアルケニルの場合、5 ~ 7 個の炭素原子を有する。アラルキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル、アリールオキシアルキルおよびアシルオキシアルキルから選択される場合、これらの基のアルキル構成要素は、好ましくは、6 個までの炭素原子を有する。一つの実施形態において、これらの基のそれぞれは、アルキル、アリール、アラルキルおよびアルコキシアルキルから独立に選択される。

40

【0012】

選択された実施形態において、 $X^2 = X^3 = H$ であって、Y は、 $-CH_2 -$ または $-CH_2CH_2 -$ である。さらなる実施形態において、 OR^1 は、 $O - (C=O) - OR^2$ 、 $O - (C=O) - O - Y - (C=O) - OR^3$ および $O - (C=O) - O - Y - NR^4 R^5$ (カーボネート誘導体) からなる群から選択される。他の実施形態において、 OR^1 は、 $O - (C=O) - NR^4 R^5$ 、 $O - (C=O) - NR^3 Y - (C=O) - OR^3$ および

50

O - (C = O) - NR³ - Y - NR⁴ N⁵ (カーボネート誘導体) からなる群から選択される。

【0013】

本発明のこれらおよび他の、目的および特徴は、以下の発明の詳細な説明が、添付する図と組み合わせて読まれる場合、より十分に明らかになる。

【0014】

(発明の詳細な説明)

(I. 定義)

他に示されない場合、以下の用語は、以下の意味を有する。

【0015】

「トリプトリド誘導体」または「トリプトリドアナログ」とは、一つ以上のヒドロキシル基で誘導体化されたトリプトリドの誘導体(16-ヒドロキシトリプトリドまたはトリプジオリド(2-ヒドロキシトリプトリド))をいう。

【0016】

「アルキル」とは、直鎖であっても分枝であってもよいが、炭素および水素からなる完全に飽和の非環式部分をいう。アルキル基の例は、メチル、エチル、n-ブチル、t-ブチル、n-ヘプチルおよびイソプロピルである。一般に好ましいのは、1個~6個の炭素原子を有する低級アルキル基であり、メチル、エチル、n-ブチル、i-ブチル、t-ブチル、イソアミル、n-ペンチルおよびイソペンチルにより例示される。

【0017】

「シクロアルキル」とは、3個~8個の炭素原子を有し、好ましくは、3個~6個の炭素原子を有する、炭素および水素からなる完全に飽和した環状部分(例えば、シクロプロピルまたはメチルシクロペンチル)をいう。「シクロアルケニル」とは、5個~8個の炭素原子を有し、好ましくは、5個~6個の炭素原子を有する、炭素および水素からなる不飽和環状部分をいう。

【0018】

「アルケニル」とは、直鎖であっても分枝であってもよいが、一つ以上の二重結合を有する、炭素および水素からなる不飽和非環式部分をいう。一般に好ましいのは、2個~6個の炭素原子を有する低級アルケニル基である。「アルキニル」とは、直鎖であっても分枝であってもよいが、一つ以上の三重結合を有する、炭素および水素からなる不飽和非環式部分をいう。一般に、好ましいのは、2個~6個の炭素原子を有する、低級アルキニル基である。

【0019】

「アリール」とは、一般に、単環(例えば、ベンゼン)または縮合二環(例えば、ナフチル)を有する、置換されたかまたは置換されていない一価芳香族ラジカルをいい、ここで、単環式アリール基が好ましい。その用語は、ヘテロアリール基を含み、これは、その環の中に、1個以上の窒素、酸素または硫黄原子を有する芳香環基(例えば、フリル、ピロール、ピリジルおよびインドール)である。「置換された」とは、アリール基の中の一つ以上の環水素、好ましくは、一つまたは二つの環水素が、好ましくはフッ素、塩素、臭素、メチル、エチル、ヒドロキシ、ヒドロキシメチル、ニトロ、アミノ、メチルアミノ、ジメチルアミノ、メトキシ、ハロメトキシおよびハロメチルから選択された基で置換されることを意味する。

【0020】

「アシルオキシアルキル」とは、-R-O-(C=O)-R'の形態の置換基をいい、ここで、Rは、好ましくは6個までの炭素原子を有するアルキルであり、R'は、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールおよびアラルキルから選択され、ここで、R'は、好ましくは、低級アルキル基、低級アルケニル基、または低級アルキニル基(すなわち、C₂~C₆)および単環式アリール基を含む。

【0021】

「アラルキル」とは、アリール基、好ましくは、単環式アリール基でさらに置換された

10

20

30

40

50

アルキル置換基をいい、好ましくは、低級 ($C_1 \sim C_4$ 、より好ましくは $C_1 \sim C_2$) アルキル置換基をいう；例は、ベンジルおよびフェネチルである。広く使用される Fmoc (フルオレニルメトキシカルボニル) 保護基の構成要素であるフルオレニルメチルも含まれる。

【0022】

用語「薬学的に受容可能な塩」とは、有機カチオンおよび無機カチオン（例えば、アルカリ金属カチオンおよびアルカリ土類金属カチオン（例えば、リチウム、ナトリウム、カリウム、マグネシウム、バリウムおよびカルシウム）；アンモニウム）；または、有機カチオン（例えば、ジベンジルアンモニウム、ベンジルアンモニウム、2-ヒドロキシエチルアンモニウム、ビス(2-ヒドロキシエチル)アンモニウム、フェニルエチルベンジルアンモニウム、ジベンジリエチレンジアンモニウムなど）を有するカルボキシレート塩を含む。上記用語に含まれる他のカチオンとしては、プロカイン、キニーネおよびN-メチルグルコサミンのプロトン化形態および塩基性アミノ酸（例えば、グリシン、オルニチン、ヒスチジン、フェニルグリシン、リジンおよびアルギニン）のプロトン化形態が挙げられる。

10

【0023】

その用語はまた、有機酸または無機酸由来の対イオンを有する塩基性基（例えば、アミノ基）との標準的酸-塩基反応によって形成される塩も含む。このような対イオンとしては、塩化物、硫酸、リン酸、酢酸、コハク酸、クエン酸、乳酸、マレイン酸、フマル酸、パルミチン酸、コール酸、グルタミン酸、グルタル酸、酒石酸、ステアリン酸、サリチル酸、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、ソルビン酸、ピクリン酸、安息香酸、桂皮酸などが挙げられる。

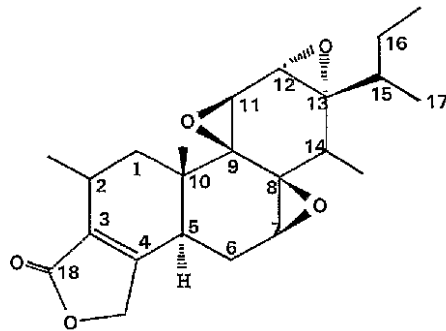
20

【0024】

本明細書の開示のために、以下の番号付けスキームを、トリプトリドおよびトリプトリドアナログのために使用する：

【0025】

【化3】



30

【0026】

(II. トリプトリドアナログ)

以下の構造Iによって示される化合物は、親水性置換基を有するトリプトリドの誘導体であり、非誘導体化開始化合物より大きな水溶性を有し、インビボで加水分解し、そして親化合物に変換するために有効である。その化合物は、免疫抑制性適用、抗炎症性適用および抗癌性適用に対するプロドラッグとして、有用である。

40

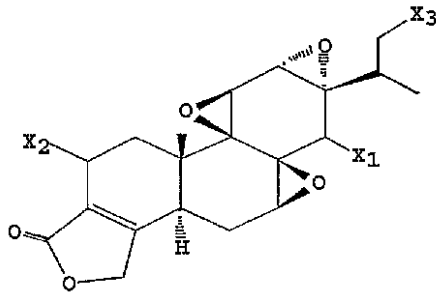
【0027】

(A. 構造)

式Iの化合物中で、

【0028】

【化 4】



I

10

【0029】

X^1 が、OH または OR^1 であって、 X^2 および X^3 が、独立に OH、 OR^1 または水素であって、但し、 X^1 、 X^2 および X^3 のうちの少なくとも一つが OR^1 であって、そして、 X^2 および X^3 の内の少なくとも一つが水素である。

【0030】

OR^1 は、カルバメート基またはカルボネート基であって、それらはさらに、例えば、エステルまたはアミンにより置換され得る。特に OR^1 が、 $O - (C = O) - Z$ として示される場合、Z は、以下：

- OR^2 、
- $O - Y - (C = O) - OR^3$ 、
- $O - Y - NR^4 R^5$
- $NR^4 R^5$
- $NR^3 - Y - (C = O) - OR^3$ 、および
- $NR^3 - Y - NR^4 N^5$

20

からなる基から選択され、ここで、Y は、六個までの炭素原子を有する二価アルキル基、二価アルケニル基または二価アルキニル基であり； R^2 は、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、アリール、アラルキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル、アリーロキシアルキルおよびアシルオキシアルキルから選択され；そして、各 R^3 は、水素および R^2 から独立に選択される。 R^4 および R^5 は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、シクロアルケニル、アリール、アラルキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル、アリーロキシアルキルおよびアシルオキシアルキルから独立に選択される。あるいは、 R^4 および R^5 が、一緒になって、5 ~ 7 員環の複素環を形成し得、その複素環の環原子が、炭素、窒素、酸素および硫黄からなる群から選択され、ここで、その環原子は、最大で 3 個のヘテロ原子を含む。例としては、ピペリジン、ピペラジン、ピロリジンおよびモルホリンが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0031】

R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 と定義される基が、アルキル、アルケニルおよびアルキニルから選択される場合、好ましくは、六個までの炭素原子を有する。シクロアルキルまたはシクロアルケニルから選択される場合、それらは、好ましくは、3 ~ 7 個の炭素原子を有し、または、シクロアルケニルについては、5 ~ 7 個の炭素原子を有する。アラルキル、ヒドロキシアルキル、アルコキシアルキル、アリーロキシアルキルおよびアシルオキシアルキルから選択される場合、これらの基のアルキル構成要素は、好ましくは、六個までの炭素原子を有する。一つの実施形態において、これらの基のそれぞれは、アルキル、アリール、アラルキルおよびアルコキシアルキルから独立に選択される。

40

【0032】

一つの実施形態において、 X^1 は OR^1 であり、そして、 X^2 および X^3 のそれぞれは、水素である。別の実施形態において、Y は、メチレン ($-CH_2-$) またはエチレン ($-CH_2CH_2-$) である。

50

【0033】

(B.調製)

構造Iの化合物は、トリプトリドから調製され得、トリプトリドは、中国の薬草 *Tripterygium wilfordii* (TW)の根の木部または他の公知の供給源から入手され得る。TW植物は、福建省および中国の他の南部の省で見られる；TW植物材料は、一般に中国で入手され得るかまたは米国の商業的供給源を介して入手され得る。トリプトリドおよびその誘導体のいくつか(例えば、トリプジオリドおよび16-ヒドロキシトリプトリド)を調製する方法は、当該分野で公知であり、例えば、Kupchanら(1972、1977)；Lipskyら(1994)；Pura(1990)およびMara(1992)に記載される。

10

【0034】

トリプトリドまたはその誘導体のヒドロキシル基は、実施例1(一般的手順A)、5および6に示されるように、適切に置換されたイソシアネートとの反応によって、または実施例2(一般的手順B)および7に示されるように、ホスゲンおよび適切に置換されたアミンとの反応によって構造Iのカルバメートに変換され得る。

【0035】

同様に、トリプトリドまたはその誘導体のヒドロキシル基は、実施例3(一般的手順C)、8および9に示されるように、適切に置換されたクロロホルメートとの反応によって、または実施例4(一般的手順D)、10~13および15に示されるように、ホスゲンおよび適切に置換されたアルコールとの反応によって構造Iのカーボネートに変換され得る。実施例7および11~15に示されるように、カーボネートまたはカルバメートのアルキル基にさらなる官能基が組み入れられ得る。金属塩およびアミン塩は、適切な対イオンとの反応または交換によって、容易に調製され得る(実施例14、16、17)。

20

【0036】

出発物質の全ての利用可能なヒドロキシル基が誘導体化される場合、反応の完了を促進するために、過剰の試薬が使用され得る。化合物16-ヒドロキシトリプトリドは、二つの遊離ヒドロキシル基を含み、一つは、第二級(C-14)であり、一つは、第一級(C-16)である。16位のヒドロキシル基は、立体構造上の理由から14-ヒドロキシル基より反応性であるので、モノエステル誘導体およびジエステル誘導体が、適切な反応条件を使用して、選択的に作製され得る。化学量論的な量の選択された試薬との反応は、14ヒドロキシル基が遊離したままで、主に、16位がモノ誘導体化された化合物を産生する。より妨害された(第二級)ヒドロキシル基で置換されたモノ誘導体は、妨害されていない(第一級)ヒドロキシル基をまず選択的に保護し、非保護位で誘導体化を行い、次いで、保護基を取り除くことにより調製され得る。適切なヒドロキシル保護基は、周知であり、例えば、Kocienski(1994)によって記載される。

30

【0037】

上記のようにおよび実施例中に記載されたように調製された本発明の種々の化合物は、以下の表に表される。全てのトリプトリドの14ヒドロキシルが、カーボネートまたはカルバメート置換基で置換されている。参照エステル置換化合物PC490-88およびPG661もまた、含まれ、本明細書中でPG490と呼ばれる親化合物もまた含まれる。

40

【0038】

(表1.例示的なカルバメート置換トリプトリド誘導体およびカーボネート置換トリプトリド誘導体)

【0039】

【表 1】

記号	名称 (トリプトリド誘導体)	14-O-(C=O)X 置換基
コントロール		
PG490	トリプトリド	
PG490-88	14-スクシニルエステル	CH ₂ CH ₂ COOH
PG661	14-イソグルタミルエステル	CH ₂ CH ₂ CH(NH ₂)COOH
化合物		
PG666	14-エチルカルバメート	NHCH ₂ CH ₃
PG671	14-フェニルカルバメート	NH(C ₆ H ₅)
PG672	N-メチルピペラジンカルボニル (カルバメート)	
PG674	14-エチルカーボネート	OCH ₂ CH ₃
PG676	14-フェニルカーボネート	O(C ₆ H ₅)
PG679	14-エトキシエチルカーボネート	OCH ₂ CH ₂ OCH ₂ CH ₃
PG680	14-メトキシカルボニルメチルカーボネート	OCH ₂ (C=O)OCH ₃
PG681	14-(R)-α-メチル-tert- ブトキシカルボニルメチルカーボネート	OC [*] H(CH ₃)(C=O)OC(CH ₃) ₃
PG682	14-ジメチルアミノエチルカーボネート	OCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂
PG682 PTSA	14-ジメチルアミノエチルカーボネート <i>p</i> -トルエンスルホン酸塩	OCH ₂ CH ₂ N ⁺ H(CH ₃) ₂ ⁻ OTs
PG687	14-ヒドロキシカルボニルメチルカーボネート	OCH ₂ COOH
PG687 Na	14-ヒドロキシカルボニルメチルカーボネート ナトリウム塩	OCH ₂ COO ⁻ Na ⁺
PG687 トリス	14-ヒドロキシカルボニルメチルカーボネート トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン塩	OCH ₂ COO ⁻ ⁺ NH ₃ C(CH ₂ OH) ₃
PG688	14-ジメチルアミノエチルカルバメート	NHCH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₂
PG695	14-tert-ブチルカーボネート	OC(CH ₃) ₃

【 0 0 4 0 】

(I I I . プロドラッグ変換およびアポトーシス誘導活性)

(A . 変換アッセイ)

式 I の化合物は、以下に示すように、種々のおよび時々大きく変化する親化合物への変換速度の利点を提供する。従って、式 I のプロドラッグは、カーボネート結合またはカルバメート結合によってトリプトリドに結合した種々の構造的構成要素を選択することによって、ヒト血清 / 血漿中で異なる所望の変換速度を選択され得る。

【 0 0 4 1 】

式 I の化合物は、上の表 1 および実施例に示されるように、37 で、プールされたヒト血清と種々の時間インキュベートした後、ジャーカットヒト T リンパ球細胞株由来の細胞中でアポトーシスを誘導する性能について、アッセイされた (実施例 19 を参照のこと) 。 P G 4 9 0 - 8 8 と呼ばれるエステルプロドラッグであるトリプトリド - 1 4 - スクシネートは、比較のために、含まれた。このようなインキュベートの後、トリプトリドへの変換の程度もまた、HPLC 分析により、独立に決定された。

【 0 0 4 2 】

アポトーシスアッセイの結果を、表 2 に示す。ED₅₀ 値 (列 3) は、各実験のデータから直接計算され、% 変換値 (列 4) は、同一の血漿中でインキュベートされた (すなわち、同一の実験で) P G 4 9 0 と呼ばれるトリプトリドにより産生された ED₅₀ 値の百分率として計算される。この手順は、同一の実験条件下でのトリプトリドに対する各化合物の最も妥当な直接比較を示す。

【 0 0 4 3 】

各インキュベーション時間の変換百分率の比較は、化合物間で、広範囲の値を示す。変

10

20

30

40

50

換百分率は、1時間後、7% (PG681; 14-(R)- -メチル-tert-ブトキシカルボニルメチルカーボネート) ~ 98% (PG674; 14-エチルカーボネート) まで変動し、48時間後、6% (PG687トリス; 14-ヒドロキシカルボニルメチルカーボネート、トリス塩) ~ 100% (PG674、PG695; 14-tert-ブチルカーボネート) またはそれより大きい値 (PG682; 14-ジメチルアミノエチルカーボネート、PG490と比較して、> 100%と計算された) まで変動する。

【0044】

【表2】

化合物	血清中でのインキュベーション時間 (時間)	血清とインキュベートした後のアポトーシスアッセイにおけるED ₅₀ (nM)	トリプトリドと比較した相対ED ₅₀ としての変換 (%)	HPLCによるヒト血漿におけるt _{1/2} (分)
コントロール				48時間における最大値26%変換 (Na塩)
PG490-88	0.5	2584	2	
PG490-88	1	2268	2	
PG490-88	24	328	18	
PG490-88	48	147	43	
化合物				
PG674	0.5	27	188	12
PG674	1	55	98	
PG674	24	60	97	
PG674	48	65	100	
PG676	48	56	96	15
PG679	0.5	39	128	11
PG680	48	58	85	9
PG681	1	684	7	48時間における最大値20%変換
PG681	48	139	40	
PG682	1	66	76	
PG682	48	32	146	n.d.
PG682PTSA	1	57	89	17
PG687トリス	48	960	6	48時間における最大10% (Na塩)
PG695	48	59	100	n.d.

【0045】

HPLCによって、独立に決定されたプロドラッグのトリプトリドへの変換は、列4に示される。バイオアッセイデータと同様に、トリプトリドへの変換に対するt_{1/2}値の比較は、化合物間で幅広い範囲の値を示す。t_{1/2}値は、9分 (PG680; 14-メトキシカルボニルメチルカーボネート)、11分 (PG679; 14-エトキシエチルカーボネート) および12分 (PG674; 14-エチルカーボネート) から48時間のインキュベーション (PG687Na; 14-ヒドロキシカルボニルメチルカーボネート、ナトリウム塩) 中の不完全な変換 (10%) までに及ぶ。PG681 (14-(R)- -メチル-tert-ブトキシカルボニルメチルカーボネート) は、バイオアッセイ中で最も低い変換百分率 (7%) を示し、HPLCによるアッセイにより、48時間で不完全に (20%) 変換する。PG687 (14-ヒドロキシカルボニルメチルカーボネート) は、アポトーシスアッセイで評価した場合、48時間以内に、6%しか変換せず、そして、HPLCによってアッセイされる場合、この時間範囲では、10%しか変換しない。PG674 (14-エチルカーボネート) は、バイオアッセイにおいて、1時間以内に98%変換し、48時間以内に100%変換し、そして、HPLC分析によって、12分のt_{1/2}値を示す。PG682 (14-ジメチルアミノエチルカーボネート) は、アポトーシス誘導において、> 100%と計算される変換を示し、そして、HPLC評価によって17分のt_{1/2}値を示す。

【0046】

生物学的に活性なアポトーシス誘導性化合物（おそらくトリプトリド）に対するヒト血清中のプロドラッグ変換の結果およびヒト血漿中の変換とHPLCによって評価されるトリプトリドへのプロドラッグ変換の $t_{1/2}$ として、分単位で表現される結果との間の整合性の大きな目安がある。変換が、アポトーシス誘導バイオアッセイ中で評価されても、またはHPLCによるトリプトリドの同定および定量化により評価されても、プロドラッグの変換に対する広範囲の値がある。ヒト血清または血漿におけるこの広範囲の変換の値は、式Iの化合物が、これらの環境下では、同様の変換速度を共有しないことを示唆している。これらのトリプトリドプロドラッグからトリプトリドへの変換速度の、この予期されない違いは、種々のおよび大きく異なる変換速度が、本明細書に記載されたように種々に置換されたプロドラッグを作製することによって達成し得ることを示している。

10

【0047】

一般に、本発明のカルバメート誘導体は、分類として、カーボネート誘導体より、ヒト血清中で容易に変換されないことが見出された。以下にさらに考察するように、ヒトエステラーゼおよびプロテアーゼによる加水分解に対して耐性である誘導体は、酵素プロドラッグ治療に関する抗体に有用であり得る。

【0048】

（B．用量反応データ）

トリプトリド（PG490）、その14-スクシニルエステル（PG490-88）およびその14-グルタミルエステル（PG661）と比較した本発明の化合物PG666（14-エチルカルバメート）によるアポトーシス誘導に関する用量反応データは、表3

20

に示される。用量反応データはまた、図1にグラフを用いて表される。

【0049】

（表3．ヒト血清存在下でのトリプトリドエステルおよびカルバメートPG666によるアポトーシスの誘導）

【0050】

【表3】

	所定の濃度（nM）におけるアポトーシス細胞（%）								
	1	3	10	30	100	300	1000	3000	10000
ヒト血清 , 48時間									
PG490 (コントロール)	8.5	8.5	8.5	26.2	91.7	93.4	94.6	95.2	95.4
PG490-88 (コントロール)	7.8	8.1	7.8	9.1	51.5	92.1	93.9	94.1	95.1
PG661 (コントロール)	11.3	10.4	10.3	10.5	10.3	10.5	10.2	9.7	9.4
PG666	13.4	14.4	14.0	10.1	11.0	20.6	91.0	92.9	93.5
ヒト血清 , 0時間									
PG490 (コントロール)	-	-	-	-	-	-	-	-	94.9
PG490-88 (コントロール)	-	-	-	-	-	-	-	-	89.2
PG661 (コントロール)	-	-	-	-	-	-	-	-	7.9
PG666	-	-	-	-	-	-	-	-	93.6
培地のみ									
PG490 (コントロール)	-	-	-	-	-	-	-	-	96.5
PG490-88 (コントロール)	-	-	-	-	-	-	-	-	93.8
PG661 (コントロール)	-	-	-	-	-	-	-	-	13.6
PG666 + 培地	-	-	-	-	-	-	-	-	94.3
他のコントロール									
DMSO + Hu	-	-	-	-	-	-	-	-	7.5
PBS + Hu	-	-	-	-	-	-	-	-	7.5
培地	-	-	-	-	-	-	-	-	7.8

30

40

【0051】

トリプトリド（PG490）、その14-スクシニルエステル（PG490-88）およびその14-グルタミルエステル（PG661）と比較して、本発明の化合物PG666

50

6 (14 - エチルカルバメート)、PG671 (14 - フェニルカルバメート) および PG672 (N - メチルピペラジンカルボニル) (カルバメート) によるアポトーシス誘導に対する用量反応データは、表4に表される。用量反応データはまた、図2にグラフを用いて表される(いくつかのアッセイは、通常観察されるより高い明白なバックグラウンドアポトーシスを表し、それは、この実験に対して分離した人為的結果であると考えられる)。

【0052】

(表4 . ヒト血清存在下でのトリプトリドエステルおよびカルバメートによるアポトーシスの誘導)

【0053】

【表4】

	所定の濃度 (nM) におけるアポトーシス細胞 (%)											
	0.03	0.1	0.3	1	3	10	30	100	300	1000	3000	10000
血清、48時間												
PG666	39.9	40.7	40.8	41.3	39.8	39.8	39.1	40.2	44.5	88.6	96.8	92.3
PG671	42.5	43.3	43.9	44.2	43.2	42.4	44.7	43.5	43.1	43.0	43.3	15.4
PG672	42.7	45.2	45.4	45.9	45.3	46.0	46.8	46.6	42.3	43.7	44.9	63.2
コントロール												
PG490	7.0	6.9	6.8	6.4	7.0	7.1	29.4	90.9	93.0	93.2	94.6	94.2
PG490-88	6.6	6.5	7.0	6.0	6.2	6.2	6.8	30.5	89.6	92.6	92.8	93.9
PG661	38.8	38.2	39.0	39.2	39.1	39.2	40.3	38.6	36.3	28.7	28.2	5.2
血清、0時間												
PG666	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	87.2
PG671	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10.2
PG672	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	47.6
コントロール												
PG490	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	92.1
PG490-88	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	82.9
PG661	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.2
培地												
PG666	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	92.6
PG671	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13.7
PG672	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	48.6
コントロール												
PG490	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	93.4
PG490-88	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	89.7
PG661	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.3
DMSO + Hu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.7
PBS + Hu	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6.6

【0054】

トリプトリド (PG490) およびその14 - スクシニルエステル (PG490 - 88) と比較した本発明の化合物PG666 (14 - エチルカルバメート) およびPG688 (14 - ジメチルアミノエチルカルバメート) によるアポトーシスの誘導についての用量反応データは、表5に示される。用量反応データはまた、図3にグラフを用いて表される。

【0055】

(表5 . ヒト血清存在下でのトリプトリドエステルおよびカルバメートによるアポトーシスの誘導 (48時間))

【0056】

10

20

30

40

【表5】

	所定の濃度 (nM) でのアポトーシス細胞 (%)							
	1	3	10	30	100	300	1000	3000
ヒト血清								
PG490 (コントロール)	8.8	8.5	8.6	15.9	86.5	90.7	91.7	93.1
PG490-88 (コントロール)	8.6	9.3	8.7	7.8	23.3	88.4	90.5	91.7
PG688	9.2	9.8	9.4	9.5	9.4	8.7	8.6	8.2
PG666	9.8	10.9	10.4	10.2	9.5	14.9	87.7	91.0
培地								
PG490 (コントロール)	-	-	-	-	-	-	-	93.7
PG490-88 (コントロール)	-	-	-	-	-	-	-	64.8
PG688	13.0	14.0	12.1	10.9	11.2	11.3	12.1	10.9
PG666	13.9	13.1	13.4	13.0	13.2	14.2	14.1	92.1
他のコントロール								
培地	-	-	-	-	-	-	-	9.1
DMSO + Hu	-	-	-	-	-	-	-	9.2
PBS + Hu	-	-	-	-	-	-	-	9.1

10

【0057】

これらの化合物に対する用量反応データの検討は、ヒト血清中での48時間のインキュベーション後、PG666 (14-エチルカルバメート) が、PG688 (4-ジメチルアミノエチルカルバメート) およびPG671 (14-フェニルカルバメート) より活性であることを示している。PG666は、およそ10倍高い濃度で、PG490 (トリプトリド) と等しいアポトーシス活性を示す。イソグルタミルエステル (PG661) が、本質的に活性を示さなかった (図1~2) のに対して、N-メチルピペラジンカルバメート (PG672) は、高い濃度で活性を示した (図2)。

20

【0058】

(III. 抗癌処置)

トリプトリドプロドラッグは、インビボの癌処置において効果を示した。例えば、共有に係るPCT公開番号WO02/56835 (これは、本明細書中に参考として援用される) を参照のこと。この文献は、HT-29ヒト結腸癌細胞株の腫瘍異種移植片を用いた研究において、5-FUおよびCPT-11と比較して、トリプトリドプロドラッグの高い効力を記載する。トリプトリドプロドラッグ (トリプトリドの14-スクシネート誘導体) は、5-FUおよびCPT-11より有意に大きい程度まで腫瘍の増殖を強く阻害し、そして、腫瘍の退行を誘導した。

30

【0059】

従って、本発明は、本明細書に記載された癌を処置するための組成物の使用を含む。この癌は、生殖組織 (例えば、セルトリ細胞、生殖細胞、発生途上のまたはより成熟した精原細胞、精子細胞または精母細胞および栄養細胞、生殖細胞および卵巣の他の細胞)、リンパ系または免疫系 (例えば、ホジキン病および非ホジキンリンパ腫)、造血系および上皮 (例えば、皮膚および胃腸管)、中実器官、神経系および筋骨格組織に由来する細胞に関する癌を含む。トリプトリドプロドラッグは、種々の癌細胞型 (それらとしては、乳房、結腸、小細胞肺、大細胞肺、前立腺、悪性黒色腫、肝臓、腎臓、膵臓、食道、胃、卵巣、子宮頸部またはリンパ腫の腫瘍が挙げられるが、これらに限定されない) の処置に使用され得る。乳房、結腸、肺および前立腺の腫瘍の処置は、特に企図される。白血病の処置もまた、企図される。組成物は、上に考察したように、従来的な任意の投与経路によって、癌および/または白血病に苦しむ患者に投与され得る。

40

【0060】

その方法は、完全な消失の程度まで、腫瘍の増殖を遅延させる、腫瘍の増殖を防止する、腫瘍の部分的な退行を誘導するおよび腫瘍の完全な退行を誘導するために有用である。その方法はまた、固形腫瘍由来の転移の成長を防止するのに有用である。

50

【 0 0 6 1 】

式 I の組成物は、単独の治療として、または被験者に抗癌効果を有するように設計されていない他の対症的もしくは治療的な処置とともに投与され得る。その方法はまた、一つ以上の従来の抗癌薬物または生物タンパク質薬剤と組み合わせた式 I の化合物の投与を含み、ここで、薬物または薬剤のその量は、それだけでは癌の増殖の適切な抑制を誘導するには効果がないが、被験体中で所望の抗癌効果を有するのに効果的な量である。このような抗癌薬物としては、アクチノマイシン D、カンプトセシン、カルボプラチン、シスプラチン、シクロホスファミド、シトシンアラビノシド、ダウノルビシン、ドキシソルビシン、エトポシド、フルダラビン、5 - フルオロウラシル、ヒドロキシウレア、ゲムシタピン、イリノテカン、メトトレキサート、マイトマイシン C、ミトキサントロン、パクリタキセル、タキソテール、テニポシド、トポテカン、ピンブラスチン、ピンクリスチン、ビンデシンおよびビノレルピンが挙げられる。抗癌生物タンパク質薬剤としては、腫瘍壊死因子 (TNF)、TNF 関連アポトーシス誘導リガンド (TRAIL)、他の TNF 関連または TRAIL 関連リガンドおよび因子、インターフェロン、インターロイキン 2、他のインターロイキン、他のサイトカイン、ケモカインおよび腫瘍関連分子またはレセプターに対する因子、抗体 (例えば、抗 HER2 抗体) およびこれらの薬剤と反応するかまたは結合するかする薬剤 (例えば、レセプターの TNF スーパーファミリーのメンバー、他のレセプター、レセプターアンタゴニストおよびこれらの薬剤に対する特異性を有する抗体) が挙げられる。

10

【 0 0 6 2 】

(IV . プロドラッグ変換およびサイトカイン阻害活性)

(A . 変換アッセイ)

上に考察したように、化学式 I の化合物は、種々の利点および時には、大きく変化する親化合物への変換速度を提供する。従って、式 I のプロドラッグは、トリプトリドにカーボネート結合またはカルバメート結合によって結合した種々の構造の構成要素を選択することによって、ヒト血清 / 血漿中で種々の変換速度に関して、選択され得る。

20

【 0 0 6 3 】

式 I のいくつかの化合物を、37 で 48 時間プールしたヒト血清とともにインキュベートした後、ジャーカットヒト T リンパ球細胞中で IL - 2 の生成を阻害する能力について、分析した (実施例 20 を参照のこと)。比較のために、PG490 - 88 と呼ばれるエステルプロドラッグであるトリプトリド - 14 - スクシネートが、含まれた。

30

【 0 0 6 4 】

免疫抑制アッセイの結果は、表 6 に示されている。IC₅₀ 値 (列 1) は、各実験のデータから直接計算される。% 変換値 (列 2) は、同一の血漿中でインキュベートされた (すなわち、同一の実験で) PG490 と呼ばれるトリプトリドにより産生された IC₅₀ 値の百分率として計算される。

【 0 0 6 5 】

(表 6)

【 0 0 6 6 】

【表 6】

化合物	IC ₅₀ (nM)	変換 (%)
PG490-88 (コントロール)	9	51
PG682PTSA	2	97
PG680	3	44
PG681	3	55
PG676	6	84
PG679	12	11
PG682	23	78
PG687トリス	29	6
PG687	61	2
PG687Na	92	1
PG695	100	2

10

【 0 0 6 7 】

再び、IL-2 阻害アッセイ中で評価された、プロドラッグの変換に対する広範囲の値が示される。ヒト血清または血漿におけるこの広範囲の変換値は、式 I の化合物が、これらの環境下では、同様の変換速度を共有しないことを示している。これらのトリプトリドプロドラッグからトリプトリドへの変換速度の、この予期されない違いは、種々のおよび大きく異なる変換速度が、本明細書に記載されたように種々に置換されたプロドラッグを作製することによって達成され得ることを示している。

20

【 0 0 6 8 】

(B . 用量反応データ)

トリプトリド (P G 4 9 0) およびその 1 4 - スクシニルエステル (P G 4 9 0 - 8 8) と比較した本発明の化合物 P G 6 6 6 (1 4 - エチルカルバメート) および P G 6 8 8 (1 4 - ジメチルアミノエチルカルバメート) による IL-2 阻害に関する用量反応データは、表 7 に表されている。用量反応データはまた、図 4 にグラフを用いて表される。

【 0 0 6 9 】

(表 7 . ジャーカット細胞における IL-2 生成の阻害 (4 8 時間))

【 0 0 7 0 】

【表 7】

	所定の濃度 (nM) での IL-2 pg/mL								
	0	0.001	0.01	0.1	1	10	100	1000	10000
コントロール									
PG490	932.4	929.7	908.6	937.8	835.2	556.1	120.7	62.9	59.2
PG490-88	838.0	776.4	771.0	809.5	732.4	605.1	317.5	65.9	58.2
化合物									
PG688, 血清	848.5	883.9	754.1	810.4	900.4	796.3	873.3	759.9	459.8
PG666, 血清	846.0	844.6	799.8	860.6	773.0	819.1	528.0	180.1	63.5

30

【 0 0 7 1 】

トリプトリド (P G 4 9 0) 、 その 1 4 - スクシニルエステル (P G 4 9 0 - 8 8) およびそのイソグルタミルエステル (P G 6 6 1) と比較した本発明の化合物 P G 6 6 6 (1 4 - エチルカルバメート) 、 P G 6 7 1 (1 4 - フェニルカルバメート) および P G 6 7 2 (1 4 - N - メチルピペラジンカルボニル) (カルバメート) による IL-2 阻害に関する用量反応データは、表 8 に表されている。用量反応データはまた、図 5 にグラフを用いて表される。

40

【 0 0 7 2 】

(表 8 . ジャーカット細胞における IL-2 生成の阻害)

【 0 0 7 3 】

【表 8】

	所定の濃度 (nM) における IL-2 pg/mL									
	0	0.0001	0.001	0.01	0.1	1	10	100	1000	10000
化合物										
PG666	104.5	94.3	105.1	97.0	92.8	80.0	89.8	33.3	10.0	8.0
PG671	117.7	96.4	102.7	99.7	114.7	106.1	90.7	77.9	48.7	8.8
PG672	92.0	103.3	90.8	99.1	117.1	91.4	99.1	64.6	26.8	8.7
コントロール										
PG490	77.4	80.0	97.2	83.2	87.1	75.7	25.5	17.8	12.9	22.3
PG490-88	79.0	96.1	83.0	87.5	86.3	88.2	42.7	14.0	8.4	23.8
PG661	94.9	82.0	102.1	123.6	120.7	98.2	110.3	103.6	74.4	68.7

10

【0074】

いくつかの本発明の化合物 (PG666、14-エチルカルバメート; PG688、4-ジメチルアミノエチルカルバメート; PG671、14-フェニルカルバメート; および PG672、N-メチルピペラジンカルバメート) は、これらのアッセイにおいて、ある程度のレベルの生物活性を示した (図4~5)。さらに、イソグルタミルエステル (PG661) は、少ししか活性を示さないか全く活性を示さなかった (図5)。PG666 (14-エチルカルバメート) は、PG490の活性濃度の約10~30倍で、PG490 (トリプトリド) と等しいIL-2阻害活性を示した。

【0075】

20

(V. 免疫調節処置および抗炎症処置)

式Iの化合物を含む薬学的組成物 (それは、トリプトリドのプロドラッグである) は、トリプトリドが有効であるとわかっている他の適用 (例えば、自己免疫疾患の処置などの場合の免疫抑制治療、移植拒絶の予防または対宿主性移植片病 (GVHD) の防止) において、有用である。

【0076】

その方法は、不適合ヒトドナー由来の固形器官移植片、組織移植片または細胞移植片の拒絶を阻害するのに有用であり、従って、移植片の生存および機能を延長し、そして、レシピエントの生存も延長する。この使用としては、固形器官移植片 (例えば、心臓、腎臓および肝臓) 組織移植片 (例えば、皮膚、腸、膵臓、生殖腺、骨および軟骨) および細胞移植片 (例えば、膵臓、脳および神経組織、筋肉、皮膚、骨、軟骨および肝臓由来の細胞) が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0077】

その方法はまた、組織中で天然であろうとヒト遺伝子、RNA、タンパク質、ペプチドまたは他の非天然異種遺伝子分子を発現するように生物工学処理されていよう (遺伝子的に操作されている) と、または動物の天然遺伝子、RNA、タンパク質、ペプチドもしくは他の通常は発現する分子の発現を欠くように生物工学処理されていようと、異種移植 (種間) 拒絶の阻害; すなわち、非ヒト動物からの固形器官移植片、組織移植片または細胞移植物の拒絶反応の防止に対して有用である。本発明はまた、非ヒト動物由来のこのような固形器官移植片、組織移植片または細胞移植物の生存を延長するための上に記載した組成物の使用を含む。

40

【0078】

別の局面では、本発明は、適合したかまたは適合していない骨髄、脾臓細胞、胎児組織、臍帯血または移植したかもしくは収集した幹細胞のレシピエントへの移植から生じる対宿主性移植片病の処置または防止の方法を含む。その用量は、好ましくは、0.25~2mg/kg体重/日の範囲内であり、好ましくは0.5~1mg/kg/日の範囲内で経口によりまたは非経口により与えられる。

【0079】

自己免疫疾患または自己免疫症状を有する疾患 (例えば、アジソン病、自己免疫溶血性貧血、自己免疫甲状腺炎、クローン病、糖尿病 (I型)、グレーブス病、ギラン・バレー

50

症候群、全身性エリテマトーデス (S L E)、ループス腎炎、多発性硬化症、重症筋無力症、乾癬、原発性胆汁性肝硬変、リウマチ様関節炎およびブドウ膜炎、喘息、アテローム性動脈硬化、I型糖尿病、乾癬および種々のアレルギー)の処置の方法もまた、含まれる。自己免疫状態の処置において、患者は、その組成物を定期的に(例えば、1週間あたり1~2回)、症状を軽減するためおよび患者の心地よさを改善するために十分な投薬量で与えられる。特に、慢性関節リウマチの処置については、その組成物は静脈内注射によるかまたは病気に冒された関節に直接注射することにより投与され得る。その患者は、患者における疾患の症状の開始後、数週間の期間にわたって、少なくとも24時間の間隔をあけて繰り返し処置され得る。

【0080】

インビボにおける化合物の免疫抑制活性は、当該分で公知の確立された動物モデルを使用することにより評価され得る。このようなアッセイは、免疫抑制化合物の相対的な効果を評価するために使用され得、免疫抑制処置に対する適切な投薬量を推定するために使用され得る。例えば、これらのアッセイとしては、OnoおよびLindsey(1969)により記載される、よく特徴付けられた同種移植に対するラットモデル系が挙げられるが、この中では、移植された心臓が、異種レシピエント動物の腹部の大血管に付着し、移植された心臓の生存度が、心臓のレシピエント動物の中で拍動する性能により測定されている。レシピエント動物が異なる種の動物である異種移植モデルは、Wang(1991)およびMurase(1993)により記載されている。GVHDに対する効果を評価するためのモデルとしては、正常なF₁マウスへの親の脾臓細胞の注入が挙げられる；このマウスは、脾腫および免疫抑制により特徴付けられるGVHD症候群を発現する(Korngold, 1978; Gleichmann, 1984)。単一細胞の懸濁液は、個々の脾臓から調製され、そして、分裂促進的な反応の程度を評価するためにコンカナバリンAの存在下および非存在下で、マイクロウェル培養が確立される。

【0081】

移植拒絶における治療のために、その方法は特に、心臓、腎臓、肝臓、細胞および骨髄の移植片の拒絶の処置を特に意図され、GVHDの処置にも使用され得る。その処置は、急性移植拒絶反応の処置のために、代表的には、手術に際して開始され、外科的移植手順のすぐ前かすぐ後かのいずれかであり、少なくとも数週間の期間、毎日の投与計画を継続される。処置の期間の間、その患者は、定期的に免疫抑制レベルを、例えば、異質遺伝子間リンパ球に関連する混合したリンパ球反応によってか、または移植された組織の生検を取ることによってか、試験され得る。

【0082】

さらに、その組成物は、移植片拒絶反応を防止するために慢性的に、または後の移植片拒絶の急性の発症の処置において投与され得る。上記のように、投与される用量は、一日あたり好ましくは1~25mg/kg患者体重であり、より低い量は、非経口投与に好ましく、より高い量は経口投与に好ましい。その用量は、患者の反応および処置の期間、患者の感染に抵抗する能力に依存して、適切に増加することも減少することもできる。

【0083】

その化合物はまた、上で考察した免疫抑制処置のために、別の免疫抑制薬剤とともに同時に投与される場合、増強剤として有用である。従って、従来の免疫抑制剤(例えば、サイクロスポリンA、FK506、アザチオプリン、ラパマイシン、マイコフェノール酸またはグルココルチコイド)は、その化合物が単独で投与される場合よりかなり少ない量(例えば、標準用量の20%~50%)で投与され得る。あるいは、そのトリプトリドアナログおよび免疫抑制剤は、生じる免疫抑制が、単独で使用されたその薬物およびトリプトリドアナログから得た効果の合計から予想されるかまたは得られるものより大きくなるような量で投与される。代表的には、免疫抑制剤および増強剤は、通常の間隔で、少なくとも2週間の期間にわたって投与される。

【0084】

式Iの組成物はまた、炎症状態(例えば、喘息、内因性および外因性の両方の症状)の

10

20

30

40

50

処置に有用である。喘息の処置に関しては、その組成物は好ましくは、吸入により投与されるが、任意の従来の投与経路も、有用であり得る。その組成物および方法はまた、他の炎症状態（外傷性炎症、ライム病、乾癬、慢性気管支炎（慢性感染性肺疾患）、慢性副鼻腔炎、肺血症関連急性呼吸窮迫症候群、ベーチェット病、肺型サルコイドーシス、天疱瘡、類天疱瘡炎症腸疾患および潰瘍性大腸炎における炎症を含む）の処置に対して使用され得る。トリプトリドおよび本発明のアナログはまた、雄の妊性の減少において有用である。

【0085】

式Iの組成物はまた、従来の抗炎症剤または複数の抗炎症剤と組み合わせて投与され得、ここで、その薬物または投与された薬物の量は、炎症の抑制または阻害を適切に誘導するには、単独では効果がない。

10

【0086】

投与される用量は、一日あたり、1 ~ 25 mg / kg 患者体重の範囲が好ましく、非経口投与についてはより低い量が好ましく、経口投与についてはより高い量が好ましい。最適投薬量は、当該分野で公知の方法に従った慣用的な実験によって決定され得る。

【0087】

(VI. 抗体結合酵素の基質としてのトリプトリドのプロドラッグ)

ヒトエステラーゼおよびプロテアーゼによる加水分解に耐性であるトリプトリド誘導体は、抗体特異的酵素プロドラッグ治療において好都合に使用され得る。この方法論では、抗腫瘍抗体は、適切な酵素（例えば、カルボキシペプチダーゼG2）に結合化され、正常な組織からは除去されるのに対して、腫瘍への局在が可能になる。非毒性プロドラッグは次いで、送達され、腫瘍部位で酵素により特異的に活性化され、毒性薬剤になる（例えば、Bagshawe 1987、1989、1993；Bagshaweら 1988を参照のこと）。

20

【0088】

酸素 - カルボニル - 窒素部分を加水分解する酵素は、あまり容易には変換されない本発明のカルバメート（例えば、PG671、PG672、PG688）を変換するために使用され得る。カルバメートエステル結合を加水分解し得る抗体結合化酵素は公知である；例えば、Wentworthら、1996を参照のこと。従って、上記のトリプトリドのカルバメートは、毒性が顕著に低く、抗体結合化酵素の存在下では、腫瘍部位で遊離するプロドラッグとして有用であり得る。

30

【0089】

(VII. 治療組成物)

式Iのトリプトリドアナログを含む処方物は、固体、半固体、凍結乾燥粉末もしくは液体投薬量形態（例えば、錠剤、カプセル、粉末、徐放性処方物、溶液、懸濁液、エマルション、軟膏、ローションまたはエアゾール）の形態を取り得、好ましくは、正確な投薬量の単一投与に適した単位投薬量形態であり得る。その組成物は、代表的には、従来の薬学的キャリアまたは賦形剤を含み、さらに他の薬剤、キャリアまたはアジュバントを含み得る。好ましくは、その組成物は、式Iの化合物の約0.5 ~ 75重量%であり得、残りは適切な薬学的賦形剤からなる。経口投与については、このような賦形剤としては、薬学的等級のマニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、滑石粉、セルロース、グルコース、ゼラチン、スクロース、炭酸マグネシウムなどが挙げられる。所望の場合、その組成物はまた、少量の非毒性補助物質（例えば、湿潤剤、乳化剤または緩衝液）を含み得る。

40

【0090】

その組成物は、被験体に、経口、経皮的にまたは非経口で（例えば、静脈内、皮下、腹腔内または筋肉内注射により）投与され得る。経口用の液体調製物での使用に関しては、その組成物は、溶液、懸濁液、エマルションまたはシロップとして調製され得、液体形態か水中もしくは通常の生理食塩水への水和に適した乾燥形態のいずれかで供給される。非経口投与に関しては、注射し得る非経口投与のための組成物は、代表的には、適切な静脈

50

内溶液（例えば、滅菌した生理食塩水溶液）中にトリプトリドアナログを含む。

【0091】

液体組成物は、トリプトリドアナログ（約0.5%～約20%）および溶液または懸濁液をつくるためのキャリア中の任意の薬学的アジュバント（例えば、水性生理食塩水、水性デキストロース、グリセロールまたはエタノール）を溶解するか分散することにより調製され得る。式Iの化合物の高い水溶性は、これらの化合物を水溶液で投与する（例えば、腹腔内注射により）ために特に好都合にする。水溶液は好ましいが、式Iに従った組成物はまた、脂質（例えば、トリグリセリド、リン脂質またはポリエトキシ化ひまし油（例えば、「CREMOPHOR EL™」）、リポソーム懸濁液または水性エマルション中での懸濁液として処方され得る。

10

【0092】

その化合物はまた、好ましくは呼吸に適した大きさの固体または液体のいずれかのエアゾール粒子の形態で、吸入により投与され得る。このような粒子は、吸入の際に、口および喉頭を通過するのに十分小さく、そして気管支および肺胞に入る。一般に、約1～10ミクロンの大きさの範囲であり、好ましくはその大きさが約5ミクロンより小さい粒子が、呼吸に適している。吸入のための液体組成物は、水性キャリア（例えば、滅菌したピロゲンを含まない生理食塩水溶液または滅菌したピロゲンを含まない水）に分散した活性薬剤を含む。所望の場合、その組成物は、その組成物の噴射およびエアゾールの形成を補助するために噴射剤と混合され得る。

20

【0093】

このような投薬量形態を調製する方法は、公知であるかまたは当業者には明らかである；例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences（第19版、Williams & Wilkins、1995）を参照のこと。投与され得るその組成物は、被験体の免疫抑制を達成するために、薬学的に効果的な量で、多くの選択された化合物を含む。

【実施例】

【0094】

以下の実施例は、例示するが、決して本発明を限定することを意図しない。

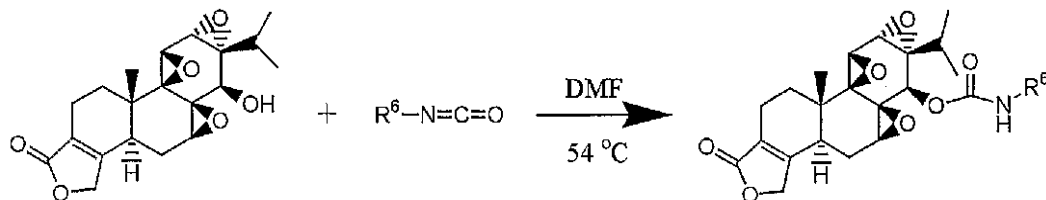
【0095】

（実施例1．イソシアネートとの反応によるトリプトリドカルバメートの調製（一般的手順A））

30

【0096】

【化5】



1

40

【0097】

N,N-ジメチルホルムアミド（DMF、7.0ml）中のトリプトリド1（0.20mmol、1.0当量）およびイソシアネート（3.0mmol、15.0当量）の混合物を密閉し、54の油浴中で攪拌しながら加熱する。反応をTLCでモニタリングする。出発物質が完全に消費された後、反応混合物を減圧下で濃縮し、その後、粗生成物を分取TLCで精製する。

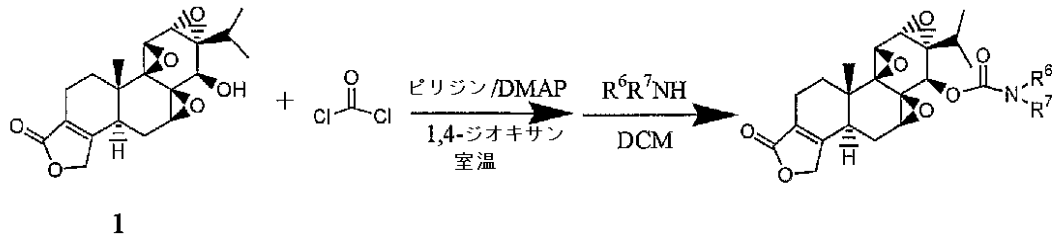
【0098】

（実施例2．ホスゲンおよびアミンとの反応によるトリプトリドカルバメートの調製（一般的手順B））

50

【0099】

【化6】



【0100】

10

1,4-ジオキサン(15ml)中のトリプトリド1(0.325mmol、1.0当量)および4-ジメチルアミノピリジン(DMAP、0.0377mmol、0.12当量)の溶液に、攪拌しながら、ピリジン(1.0ml)およびホスゲン(トルエン中で約20%、1.19ml、2.25mmol、6.92当量)を室温で、窒素下で添加する。室温で攪拌1時間後、反応混合物を減圧下で濃縮する。残留物に、ジクロロメタン(DCM、15.0ml)を添加し、次いでアミン(R^6R^7NH 、1.0ml)を添加する。室温で攪拌10分後、反応混合物を減圧下で濃縮し、粗生成物を分取TLCで精製する。

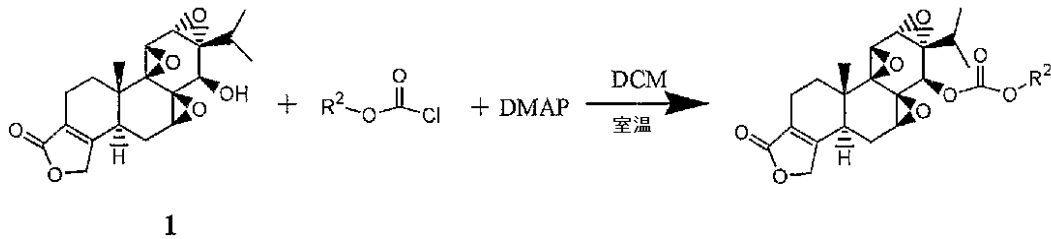
【0101】

(実施例3. クロロホルメートとの反応によるトリプトリドカーボネートの調製(一般的手順C))

20

【0102】

【化7】



30

【0103】

ジクロロメタン(DCM、15ml)中のトリプトリド1(0.33mmol、1.0当量)および4-ジメチルアミノピリジン(DMAP、3.92mmol、11.9当量)の溶液に、攪拌しながらクロロホルメート(2.15mmol、6.5当量)を室温で、窒素下で添加する。室温で攪拌24時間後、反応混合物を減圧下で濃縮し、粗生成物を分取TLCで精製する。

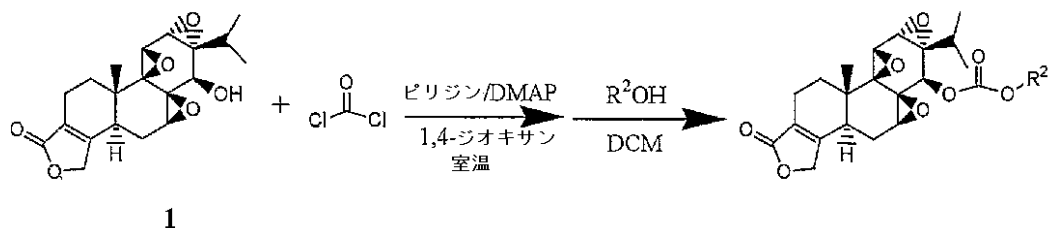
【0104】

(実施例4. ホスゲンおよびアルコールとの反応によるトリプトリドカーボネートの調製(一般的手順D))

【0105】

40

【化8】



【0106】

1,4-ジオキサン(15ml)中のトリプトリド1(0.30mmol、1.0当量

50

) および 4 - ジメチルアミノピリジン (DMAP、3.60 mmol、12.0 当量) の溶液に、攪拌しながらホスゲン (トルエン中で約 20%、0.79 ml、1.50 mmol、5.0 当量) を室温で、窒素下で添加する。室温で攪拌 1 時間後、反応混合物を減圧下で濃縮する。残留物に、ジクロロメタン (DCM、15 ml) を添加し、次いでアルコール (R^2OH 、1.0 ml) を添加する。室温で一晩攪拌後、反応混合物を減圧下で濃縮し、粗生成物を分取 TLC で精製する。

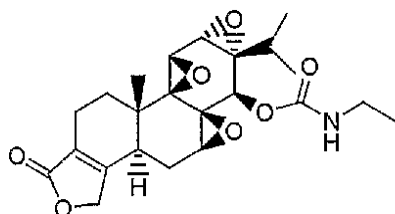
【0107】

(実施例 5 : トリプトリド 14 - エチルカルバメート (PG666) の合成)

【0108】

【化 9】

10



【0109】

一般的手順 A を使用して、エチルイソシアネートおよびトリプトリドから生成物を 98.5% の収率で得た。分析用 TLC $R_f = 0.44$ (酢酸エチル/ヘキサン/メタノール 1:1:0.1)。

20

【0110】

【数 2】

IR (KBr): 3369.6, 2975.6, 2937.6, 2878.0, 1753.0, 1719.0, 1686.1, 1676.5, 1524.0, 1517.7, 1509.0, 1458.7, 1448.8, 1245.8, 1142.5, 1076.3, 1030.8, 988.1, 944.4, 866.9, 722.6, 560.5 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 4.94$ (1H, s, 14-CH), 4.68 (2H, s, 19- CH_2), 3.83 (1H, d, 11-CH), 3.51 (1H, d, 12-CH), 3.48 (1H, d, 7-CH), 3.26 {2H, m, 22- CH_2 (- NCH_2CH_3)}, 2.70 (1H, m, 5-CH), 2.32 (1H, m, 2-CHb), 2.13 (2H, m, 6-CHb および 2-CHa), 1.93 (2H, m, 15-CH および 6-CHa), 1.57 (1H, dd, 1-CHb), 1.22 (1H, m, 1-CHa), 1.16 {3H, t, 23- CH_3 (- NCH_2CH_3)}, 1.07 (3H, s, 20- CH_3), 0.99 (3H, d, 17- CH_3), 0.86 (3H, d, 16- CH_3) ppm. HRMS (FAB) m/z 計算値 $\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{NO}_7^+$ (MH^+) 432.2022, 検出値 432.2016.

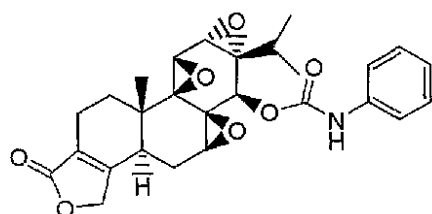
30

【0111】

(実施例 6 : トリプトリド 14 - フェニルカルバメート (PG671) の合成)

【0112】

【化 10】



40

【0113】

一般的手順 A を使用して、フェニルイソシアネートおよびトリプトリドから生成物を 87.0% の収率で得た。分析用 TLC $R_f = 0.51$ (酢酸エチル/ヘキサン/メタノール 1:1:0.1)。

【0114】

【数3】

IR (KBr): 3315.3, 2970.4, 2939.5, 2878.3, 1751.9, 1676.6, 1600.8, 1543.0, 1534.7, 1443.6, 1314.6, 1215.3, 1063.3, 1028.5, 761.0, 693.1 cm^{-1} . ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.43 (2H, d, Ar-H), 7.30 (2H, dd, Ar-H), 7.07 (1H, t, Ar-H), 5.04 (1H, s, 14-CH), 4.82 (2H, s, 19- CH_2), 3.88 (1H, d, 11-CH), 3.57 (1H, d, 12-CH), 3.52 (1H, d, 7-CH), 2.67 (1H, m, 5-CH), 2.33 (1H, d, 2-CHb), 2.17 (2H, m, 6-CHbおよび2-CHa), 1.96 (2H, m, 15-CHおよび6-CHa), 1.58 (1H, dd, 1-CHb), 1.25 (1H, m, 1-CHa), 1.08 (3H, s, 20- CH_3), 1.02 (3H, d, 17- CH_3), 0.88 (3H, d, 16- CH_3) ppm.

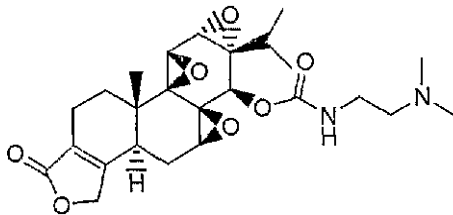
10

【0115】

(実施例7: トリプトリド 14 - ジメチルアミノエチルカルバメート (PG688) の合成)

【0116】

【化11】



20

【0117】

一般的手順Bを使用して、トリプトリド、ホスゲンおよびN,N-ジメチルエチレンジアミンから生成物を79.9%の収率で得た。分析用TLC $R_f = 0.45$ (酢酸エチル/ヘキサン/メタノール/トリエチルアミン 1.2:0.8:0.2:0.1)。

【0118】

【数4】

IR (KBr): 3380.1, 2969.6, 2827.3, 2780.3, 1753.4, 1720.3, 1675.8, 1560.7, 1542.0, 1523.8, 1459.4, 1448.6, 1388.3, 1348.3, 1254.3, 1132.9, 1069.9, 1023.7, 888.2, 773.7, 561.0, 522.3 cm^{-1} . ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 5.57 (1H, t, CONH-), 4.94 (1H, s, 14-CH), 4.68 (2H, s, 19- CH_2), 3.83 (1H, d, 11-CH), 3.52 (1H, d, 12-CH), 3.48 (1H, d, 7-CH), 3.31 {2H, m, 22- CH_2 (CONHCH $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2$)}, 2.69 (1H, m, 5-CH), 2.48 {2H, dd, 23- CH_2 (CONHCH $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2$)}, 2.34 (1H, m, 2-CHb), 2.27 {6H, s, -N(CH $_3$) $_2$ }, 2.23 - 2.13 (2H, m, 2-CHaおよび6-CHb), 2.03 - 1.84 (2H, m, 15-CHおよび6-CHa), 1.58 (1H, dd, 1-CHb), 1.21 (1H, m, 1-CHa), 1.07 (3H, s, 20- CH_3), 0.99 (3H, d, 17- CH_3), 0.85 (3H, d, 16- CH_3) ppm.

30

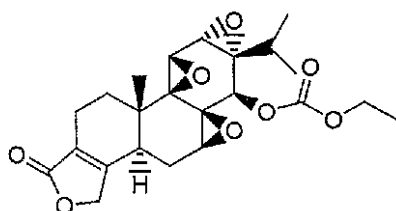
40

【0119】

(実施例8: トリプトリド 14 - エチルカーボネート (PG674) の合成)

【0120】

【化12】



50

【 0 1 2 1 】

一般的手順 C を使用して、エチルクロロホルメートおよびトリプトリドから生成物を 89.6% の収率で得た。分析用 T L C R f = 0.58 (酢酸エチル / ヘキサン / メタノール 1 : 1 : 0.1)。

【 0 1 2 2 】

【 数 5 】

IR (KBr): 2972.3, 2938.3, 2879.4, 1474.3, 1677.0, 1448.0, 1372.0, 1253.5, 1170.1, 1092.8, 1068.5, 1004.4, 962.3, 912.3, 864.6, 786.0, 560.1 cm^{-1} . H^1NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 4.83 (1H, s, 14-CH), 4.68 (2H, q, 19- CH_2), 4.25 {2H, qd, 22- CH_2 (- OCH_2CH_3)}, 3.82 (1H, d, 11-CH), 3.55 (1H, dd, 12-CH), 3.49 (1H, d, 7-CH), 2.70 (1H, m, 5-CH), 2.32 (1H, m, 2-CHb), 2.19 (2H, m, 6-CHbおよび2-CHa), 1.96 (2H, m, 15-CHおよび6-CHa), 1.61 (1H, m, 1-CHb), 1.37 {3H, t, 23- CH_3 (- OCH_2CH_3)}, 1.21 (1H, m, 1-CHa), 1.07 (3H, s, 20- CH_3), 0.99 (3H, d, 17- CH_3), 0.86 (3H, d, 16- CH_3) ppm.

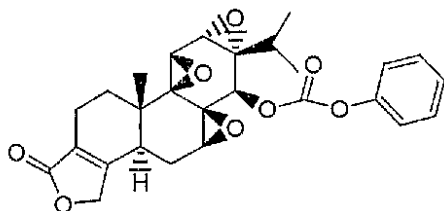
10

【 0 1 2 3 】

(実施例 9 : トリプトリド 14 - フェニルカーボネート (P G 6 7 6) の合成)

【 0 1 2 4 】

【 化 1 3 】



20

【 0 1 2 5 】

一般的手順 C を使用して、フェニルクロロホルメートおよびトリプトリドから生成物を 78.8% の収率で得た。分析用 T L C R f = 0.53 (酢酸エチル / ヘキサン / メタノール 1 : 1 : 0.1)。

30

【 0 1 2 6 】

【 数 6 】

IR (KBr): 2969.7, 2937.6, 1752.1, 1676.5, 1442.6, 1265.6, 1210.6, 1021.5, 961.8, 910.7, 774.3, 560.6 cm^{-1} . H^1NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 7.42-7.20 (5H, m, Ar-H), 4.83 (1H, s, 14-CH), 4.68 (2H, q, 19- CH_2), 3.83 (1H, d, 11-CH), 3.55 (1H, dd, 12-CH), 3.49 (1H, d, 7-CH), 2.68 (1H, m, 5-CH), 2.32 (1H, m, 2-CHb), 2.19 (1H, m, 6-CHbおよび2-CHa), 1.96 (2H, m, 15-CHおよび6-CHa), 1.49 (1H, m, 1-CHb), 1.24 (1H, m, 1-CHa), 1.07 (3H, s, 20- CH_3), 0.99 (3H, d, 17- CH_3), 0.86 (3H, d, 16- CH_3) ppm.

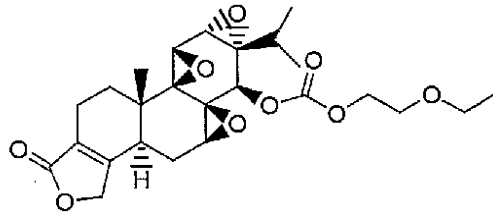
40

【 0 1 2 7 】

(実施例 10 : トリプトリド 14 - エトキシエチルカーボネート (P G 6 7 9) の合成)

【 0 1 2 8 】

【化14】



【0129】

一般的手順Dを使用して、トリプトリド、ホスゲンおよびエトキシエタノールから生成物を90.2%の収率で得た。分析用TLC Rf = 0.49 (酢酸エチル/ヘキサン/メタノール 1:1:0.1)。

10

【0130】

【数7】

IR (KBr): 2974.0, 2935.3, 2876.5, 1750.8, 1676.4, 1458.6, 1448.6, 1388.7, 1375.8, 1122.3, 1023.0, 962.3, 910.8, 866.1, 784.1, 751.6, 559.7 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 4.83 (1H, s, 14-CH), 4.80 (2H, q, 19- CH_2), 4.40 {1H, m, 22-CHb (OCOOCHaHbCH₂)}, 4.27 {1H, m, 22-CHa (OCOOCHaHbCH₂-)}, 3.82 (1H, d, 11-CH), 3.68 {2H, m, 23- CH_2 (OCOOCH₂CH₂-)}, 3.54 {3H, m, 12-CHおよび24- CH_2 (-OCH₂CH₃)}, 3.48 (1H, d, 7-CH), 2.68 (1H, m, 5-CH), 2.31 (1H, m, 2-CHb), 2.18 (2H, m, 2-CHaおよび6-CHb), 1.96 (2H, m, 15-CHおよび6-CHa), 1.58 (1H, dd, 1-CHb), 1.21 {4H, 1-CHaおよび25- CH_3 (OCH₂CH₃)}, 1.07 (3H, s, 20- CH_3), 0.99 (3H, d, 17- CH_3), 0.85 (3H, d, 16- CH_3) ppm.

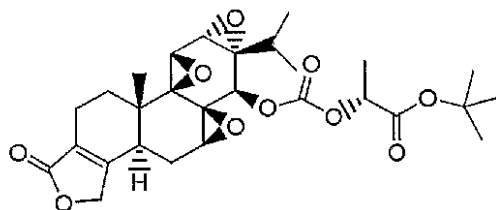
20

【0131】

(実施例11: トリプトリド 14 - (R) - -メチル - tert - ブトキシカルボニルメチルカーボネート (PG681) の合成)

【0132】

【化15】



30

【0133】

一般的手順Dを使用して、トリプトリド、ホスゲンおよびtert-ブチル(R) - (+) - ラクテートから生成物を76.2%の収率で得た。分析用TLC Rf = 0.62 (酢酸エチル/ヘキサン/メタノール 1:1:0.1)。

【0134】

40

【数 8】

IR (KBr): 2979.5, 2938.3, 2880.6, 1754.6, 1676.9, 1474.0, 1458.1, 1370.1, 1351.6, 1318.0, 1264.2, 1165.7, 1136.2, 1116.3, 1074.7, 1031.2, 962.5, 912.6, 866.8, 843.6, 786.2, 560.6 cm^{-1} . H^1NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 4.85 {1H, q, 22-CH [OCOOCH(CH₃)CO]}, 4.83 (1H, s, 14-CH), 4.68 (2H, q, 19-CH₂), 3.83 (1H, d, 11-CH), 3.56 (1H, dd, 12-CH), 3.48 (1H, d, 7-CH), 2.65 (1H, m, 5-CH), 2.31 (1H, m, 2-CHb), 2.23-2.04 (3H, m, 6-CHb, 2-CHa および 15-CH), 1.93 (1H, dd, 6-CHa), 1.59 (1H, dd, 1-CHb), 1.52 {3H, d, 28-CH₃ [OCOOCH(CH₃)CO]}, 1.45 {9H, s, OC(CH₃)₃}, 1.19 (1H, m, 1-CHa), 1.08 (3H, s, 20-CH₃), 1.01 (3H, d, 17-CH₃), 0.87 (3H, d, 16-CH₃) ppm.

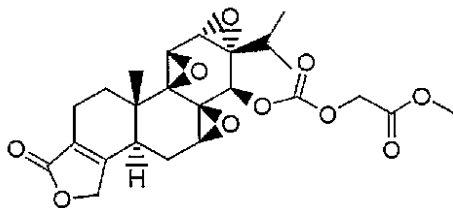
10

【0135】

(実施例 12 : トリプトリド 14 - メトキシカルボニルメチルカーボネート (PG 680) の合成)

【0136】

【化 16】



20

【0137】

一般的手順 D を使用して、トリプトリド、ホスゲンおよびメチルグリコレートから生成物を 82.4% の収率で得た。分析用 TLC $R_f = 0.45$ (酢酸エチル : ヘキサン : メタノール 1 : 1 : 0.1)。

【0138】

【数 9】

IR (KBr): 2967.9, 2882.3, 1751.9, 1676.6, 1439.5, 1383.0, 1283.9, 1245.5, 1213.3, 1022.0, 1005.0, 962.1, 910.7, 783.1, 560.6, 547.9, 530.6, 521.5, 478.7 cm^{-1}
 H^1NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 4.84 (1H, s, 14-CH), 4.80 {1H, d, 22-CHb (OCOOCHaHbCO)}, 4.68 (2H, q, 19-CH₂), 4.57 {1H, d, 22-CHa (OCOOCHaHbCO)}, 3.83 (1H, d, 11-CH), 3.79 {3H, s, 24-CH₃ (-OCH₃)}, 3.56 (1H, dd, 12-CH), 3.49 (1H, d, 7-CH), 2.70 (1H, m, 5-CH), 2.32 (1H, m, 2-CHb), 2.23-2.14 (2H, m, 2-CHa および 6-CHb), 2.07-1.89 (2H, m, 15-CH および 6-CHa), 1.59 (1H, m, 1-CHb), 1.23 (1H, m, 1-CHa), 1.08 (3H, s, 20-CH₃), 1.02 (3H, d, 17-CH₃), 0.89 (3H, d, 16-CH₃) ppm.

30

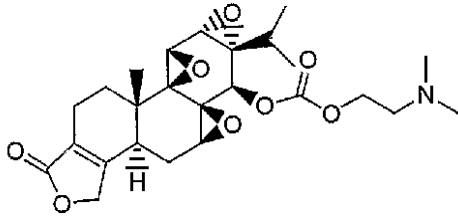
40

【0139】

(実施例 13 : トリプトリド 14 - ジメチルアミノエチルカーボネート (PG 682) の合成)

【0140】

【化 17】



【0141】

一般的手順Dを使用して、トリプトリド、ホスゲンおよびジメチルアミノエタノールから生成物を71.2%の収率で得た。分析用TLC Rf = 0.24 (酢酸エチル：ヘキサン：メタノール：トリエチルアミン 1：1：0.1：0.02)。

10

【0142】

【数10】

IR (KBr): 2969.4, 2824.8, 2772.3, 1751.1, 1676.2,

1671.3, 1655.0, 1473.9, 1466.0, 1375.1, 1254.9, 1020.4, 992.6, 962.7, 910.6, 778.9, 557.4,

517.1, 472.4, 440.7 cm^{-1} . $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ = 4.83 (1H, s, 14-CH), 4.68 (2H, s,

19- CH_2), 4.34 {2H, m, 22- CH_2 ($\text{OCOOCH}_2\text{CH}_2\text{N}$)}, 3.82 (1H, d, 11-CH), 3.55 (1H, d,

12-CH), 3.49 (1H, d, 7-CH), 2.75-2.62 {3H, m, 23- CH_2 ($\text{OCOOCH}_2\text{CH}_2\text{N}$)および5-CH},

20

2.37 (6H, s, - $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 2.31 (1H, m, 2-CHb), 2.23-2.15 (2H, m, 2-CHaおよび6-CHb),

2.04-1.89 (2H, m, 15-CHおよび6-CHa), 1.58 (1H, dd, 1-CHb), 1.21 (1H, m, 1-CHa), 1.06

(3H, s, 20- CH_3), 0.99 (3H, d, 17- CH_3), 0.85 (3H, d, 16- CH_3) ppm. HRMS (FAB) m/z

$\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{NO}_8^+$ (MH^+) の計算値 476.2284, 検出値 476.2289.

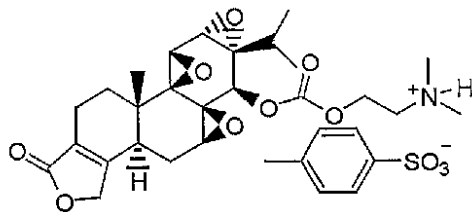
【0143】

(実施例14：トリプトリド 14 - ジメチルアミノエチルカーボネートのp-トルエンスルホン酸塩 (PG682 PTSA) の合成)

【0144】

【化18】

30



【0145】

H_2O (8.0 ml) 中のp-トルエンスルホン酸 (19.0 mg、0.10 mmol) の溶液に、攪拌しながら、トリプトリド 14 - ジメチルアミノエチルカーボネート (PG682) (47.6 mg、0.10 mmol) をゆっくり添加した。添加後、溶液をさらに30分間攪拌し、次いで凍結乾燥し、60.5 mg (93.4%) の白色粉末を得た。

40

【0146】

【数 1 1】

IR (KBr): 3445.0, 3035.8, 2972.1, 2730.1, 1750.9, 1676.1, 1671.9, 1664.8, 1655.4, 1638.1, 1459.3, 1256.2, 1169.3, 1121.7, 1033.3, 1010.3, 961.0, 910.7, 817.9, 683.0, 570.4, 479.0 cm^{-1} . ^1H NMR (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): $\delta = 7.47$ (2H, d, Ar-H), 7.10 (2H, d, Ar-H), 4.82 (2H, q, 19- CH_2), 4.80 (1H, s, 14-CH), 4.46 {2H, m, 22- CH_2 ($\text{OCOOCH}_2\text{CH}_2\text{N}$)}, 3.97 (1H, d, 11-CH), 3.73 (1H, d, 12-CH), 3.67 (1H, d, 7-CH), 3.44 {2H, m, 23- CH_2 ($\text{OCOOCH}_2\text{CH}_2\text{N}$)}, 2.83 (3H, s, Ar- CH_3), 2.63 (1H, m, 5-CH), 2.28 {6H, s, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ }, 2.22 (1H, m, 6-CHb), 2.15 (1H, m, 2-CHb), 2.09 (1H, m, 2-CHa), 1.98 (1H, m, 1-CHb), 1.90 (1H, m, 15-CH), 1.81 (1H, dd, 6-CHa), 1.30 (1H, m, 1-CHa), 0.91 (3H, s, 20- CH_3), 0.90 (3H, d, 17- CH_3), 0.78 (3H, d, 16- CH_3) ppm.

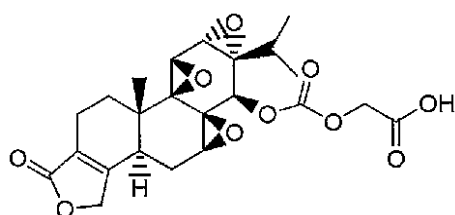
10

【0 1 4 7】

(実施例 15 : トリプトリド 14 - ヒドロキシカルボニルメチルカーボネート (PG 687) の合成)

【0 1 4 8】

【化 1 9】



20

【0 1 4 9】

一般的手順 D を使用して、トリプトリド、ホスゲンおよびグリコール酸から生成物を 47.8% の収率で得た。分析用 TLC $R_f = 0.32$ (酢酸エチル : ヘキサン : メタノール : 酢酸 1 : 1 : 0.1 : 0.1)。

【0 1 5 0】

【数 1 2 - 1】

IR (KBr): 3416.0, 2975.4, 1752.6, 1701.4, 1685.8, 1638.3, 1559.5, 1415.9, 1257.7, 1021.3, 810.3, 643.0, 528.0 cm^{-1} . ^1H NMR (300 MHz, $\text{MeOH-}d_4$): $\delta = 4.85$ (1H, s, 14-H), 4.82 {2H, q, 22- CH_2 (OCOOCH_2CO)}, 4.46 (2H, q, 19- CH_2), 3.95 (1H, d, 11-CH), 3.65 (1H, d, 12-CH), 3.50 (1H, d, 7-CH), 2.78 (1H, m, 5-CH), 2.34-2.20 (2H, m, 6-CHb および 2-CHb), 2.08 (1H, m, 15-CH), 1.99-1.62 (2H, m, 2-CHa および 6-CHa), 1.50 (1H, dd, 1-CHb), 1.34 (1H, td, 1-CHa), 1.04 (3H, s, 20- CH_3), 0.98 (3H, d, 17- CH_3), 0.85 (3H, d,

30

【0 1 5 1】

【数 1 2 - 2】

16- CH_3) ppm. HRMS (FAB) m/z $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{NaO}_{10}^+$ (MNa^+) の計算値 485.1424, 検出値 485.1434.

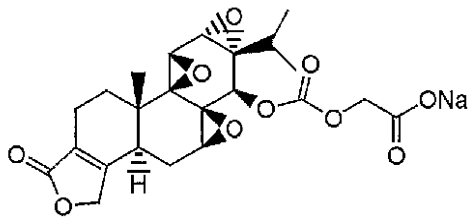
40

【0 1 5 2】

(実施例 16 : トリプトリド 14 - ヒドロキシカルボニルメチルカーボネートのナトリウム塩 (PG 687 Na) の合成)

【0 1 5 3】

【化20】



【0154】

H₂O (3.9 ml) 中の NaHCO₃ (5.18 mg, 0.0616 mmol) の溶液に、攪拌しながら、トリプトリド 14 - ヒドロキシカルボニルメチルカーボネート (PG687) (28.5 mg, 0.0616 mmol) をゆっくり添加した。添加後、溶液をさらに30分間攪拌し、次いで凍結乾燥し、29.7 mg (99.3%) の白色粉末を得た。

10

【0155】

【数13】

IR (KBr): 2961.4, 2877.2, 1638.1,

1560.8, 1551.2, 1412.0, 1261.8, 1021.0, 803.4, 641.0, 530.6, 523.5 cm⁻¹. H¹NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 4.82 {2H, q, 22-CH₂(OCOOCH₂CO)}, 4.70 (1H, s, 14-CH), 4.16 (1H, d, 19-CHb), 3.98 (1H, d, 19-CHa), 3.94 (1H, d, 11-CH), 3.69 (1H, d, 12-CH), 3.57 (1H, d, 7-CH), 2.58 (1H, m, 5-CH), 2.22 (1H, m, 6-CHb), 2.11 (1H, m, 2-CHb), 1.97 (2H, m, 2-CHa および 15-CH), 1.81 (1H, m, 6-CHa), 1.49 (1H, m, 1-CHb), 1.30 (1H, m, 1-CHa), 0.92 (3H, s, 20-CH₃), 0.90 (3H, d, 17-CH₃), 0.75 (3H, d, 16-CH₃) ppm.

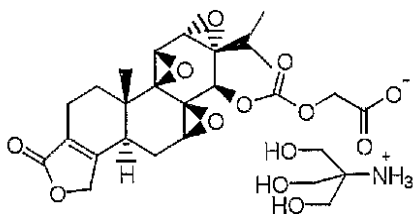
20

【0156】

(実施例17: トリプトリド 14 - ヒドロキシカルボニル - メチルカーボネートのトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン塩 (PG687 トリス) の合成)

【0157】

【化21】



【0158】

トリプトリド 14 - ヒドロキシカルボニルメチルカーボネート (PG687) (8.3 mg, 0.018 mmol) の懸濁液に、攪拌しながら、H₂O (0.75 ml) 中のトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン (2.17 mg, 0.018 mmol) の溶液を添加した。添加後、溶液をさらに30分間攪拌し、次いで凍結乾燥した。粉末をH₂O (2.0 ml) 中に溶解し、微粒子を除去するために、綿のパッドを通してろ過した。ろ液を次いで、凍結乾燥し、10.1 mg (96.5%) の白色粉末を得た。

40

【0159】

【数14-1】

IR (KBr): 3364.5 (br), 2975.8, 1750.1, 1581.1,

1413.7, 1349.8, 1255.7, 1019.0, 968.5, 911.1, 648.9, 619.6, 561.2, 497.8 cm⁻¹. H¹NMR

【0160】

50

【数 1 4 - 2】

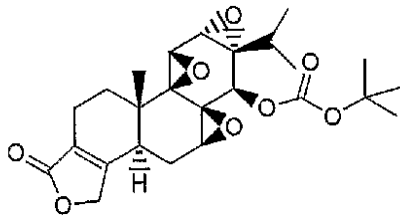
(300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 4.82 {2H, q, 22-CH₂ (OCOOCH₂CO)}, 4.70 (1H, s, 14-CH), 4.20 (1H, d, 19-CHb), 4.02 (1H, d, 19-CHa), 3.94 (1H, d, 11-CH), 3.69 (1H, d, 12-CH), 3.56 (1H, d, 7-CH), 3.20 (6H, s, (HOCH₂)₃CNH₂), 2.61 (1H, m, 5-CH), 2.22 (1H, m, 6-CHb), 2.11 (1H, m, 2-CHb), 1.96 (2H, m, 2-CHa および 15-CH), 1.81 (1H, m, 6-CHa), 1.30 (2H, m, 1-CH₂), 0.91 (3H, s, 20-CH₃), 0.90 (3H, d, 17-CH₃), 0.76 (3H, d, 16-CH₃) ppm.

【0 1 6 1】

(実施例 18 : トリプトリド 14 - tert - ブチルカーボネート (P G 6 9 5) の 10
合成)

【0 1 6 2】

【化 2 2】



20

【0 1 6 3】

ジクロロメタン (1 5 m l) 中のトリプトリド (1 0 8 . 1 m g 、 0 . 3 0 m m o l 、 1 . 0 当量) および 4 - D M A P (3 6 7 . 0 m g 、 3 . 0 m m o l 、 1 0 . 0 当量) の 溶液に、室温で、窒素下で、攪拌しながら、ジ - tert - ブチルジカーボネート (3 9 3 . 0 m g 、 1 . 8 0 m m o l 、 6 . 0 当量) を添加した。室温で 4 8 時間攪拌後、メチルアルコール (1 . 0 m l) を添加した。反応混合物を減圧下で濃縮し、粗生成物を分取 T L C (酢酸エチル / ヘキサン / メタノール 1 : 1 : 0 . 1) を用いて精製し、 1 3 1 . 3 m g (9 5 . 1 %) の所望の生成物を得た。分析用 T L C R f = 0 . 6 6 (酢酸エチル / ヘキサン / メタノール 1 : 1 : 0 . 1) 。

【0 1 6 4】

30

【数 1 5】

IR (KBr): 2976.7,

2938.5, 1738.2, 1676.7, 1444.6, 1394.6, 1370.5, 1335.2, 1278.4, 1254.5, 1160.1, 1118.2, 1091.8, 1020.2, 991.6, 962.9, 912.0, 854.4, 786.4, 751.5, 607.2, 558.2, 529.3, 478.2 cm⁻¹.

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 4.80 (1H, s, 14-CH), 4.68 (2H, q, 19-CH₂), 3.81 (1H, d, 11-CH), 3.53 (1H, d, 12-CH), 3.46 (1H, d, 7-CH), 2.69 (1H, m, 5-CH), 2.35 (1H, m, 2-CHb), 2.18 (2H, m, 6-CHb および 2-CHa), 1.96 (2H, m, 15-CH および 6-CHa), 1.61 (1H, m, 1-CHb), 1.51 {9H, s, -OC(CH₃)₃}, 1.24 (1H, m, 1-CHa), 1.08 (3H, s, 20-CH₃), 0.99 (3H, d, 17-CH₃), 0.86 (3H, d, 16-CH₃) ppm.

40

【0 1 6 5】

(実施例 19 アポトーシスアッセイ)

(A . 化合物のヒト血清とのインキュベーション)

プールしたヒト血清をアリコート中で、 - 8 0 で保存した。試験化合物を 2 0 m M で、 1 . 5 m l の微小遠心管中の解凍したヒト血清に添加し、種々の時間、 3 7 で水浴中で、インキュベートした。試験サンプルを、バイオアッセイのために希釈するまで、氷上に配置した。コントロールは、ヒト血清ではなくて、完全組織培養培地 (5 % 加熱不活性化ウシ胎仔血清、 1 % H E P E S 、 1 % p e n / s t r e p 、 1 % グルタミンを添加した

50

RPMI 1640倍地)でインキュベートした化合物からなった。

【0166】

(B. ヒト血清とインキュベートした化合物のアポトーシスアッセイ)

試験サンプルを完全組織培養培地中で、1 mMに希釈した。アリコートをマイクロ培養プレートに配置し、最終濃度が対数で半分の区切りを有するように1~10,000 nMの範囲を含むように、連続的な希釈物を調製した。指数関数的に増殖するジャーカットヒトTリンパ球株(American Type Culture Collection, Manassas, VAから入手した#TIB-152)の培養から細胞を回収し、遠心により一度洗浄し、完全組織培養培地中で希釈し、その後 1×10^6 細胞/mlの濃度まで希釈した。100 μ lの体積のジャーカット細胞(1×10^5 細胞)を、100 μ lの希釈した化合物を含むウェルに添加し、その後そのプレートを5%CO₂インキュベーター中で37 でインキュベートした。24時間後、細胞をペレットにするために、そのプレートを遠心し、その後その細胞を、PBS中の2%加熱不活性化ウシ胎仔血清で2度洗浄した。各ウェルに、Annexin Vアッセイ手順(BioVision, Inc.、Mountain View, CA)に従って、500 μ lの結合緩衝液を添加した。次に、5 μ lのAnnexin Vのフルオレセインイソチオシアネート(FITC)結合体(BioVision, Inc.)を各ウェルに添加し、続いて暗所で5分間インキュベートした。いくつかのアッセイにおいては、壊死細胞を調べるために、ヨウ化プロピジウム(BioVision, Inc.)をこの段階で添加した。ウェルの内容物を、個々に試験管に移し、その後FACSCaliburフローサイトメーター(BD Immunocytometry Systems, San Jose, CA)を使用して、アポトーシスを分析した。Annexin V結合に対して陽性の細胞は、アポトーシスであるとみなし、そのデータをアポトーシス細胞パーセントとして計算した。

【0167】

(C. ヒト血清中での化合物のインキュベーション後の生物活性の比較)

データを、血清中でインキュベートした化合物の濃度対アポトーシス細胞パーセントとしてプロットした。50%アポトーシスを誘導する化合物の濃度(ED₅₀)を、これらの用量反応曲線から計算した。試験化合物の生物活性化合物(トリプトリドと考えられる)への変換パーセントを、同実験におけるヒト血漿中で平行してインキュベートしたトリプトリドでの結果を参照して、トリプトリドのED₅₀のパーセント(これを100%として)と比較した化合物のED₅₀のパーセントとして計算した。ヒト血清中でインキュベートした後の種々の化合物の生物活性を比較するために、この変換パーセントを使用した。

【0168】

(実施例20 免疫抑制アッセイ)

(A. ヒト血清とインキュベートした化合物の活性に対するIL-2生成アッセイ)

試験サンプルを、完全組織培養培地中に1 mMまで希釈した。アリコートを、抗CD3抗体(ジャーカット細胞によるIL-2の生成を刺激するために使用した)で被覆したマイクロ培養プレート中に配置し、最終濃度が対数の区切りを有するように0.001~10,000 nMの範囲を含むように、連続的な希釈物を調製した。指数関数的に増殖するジャーカットヒトTリンパ球株(American Type Culture Collection, Manassas, VAから入手した#TIB-152)の培養から細胞を回収し、遠心により一度洗浄し、完全組織培養培地中で希釈し、その後 2×10^6 細胞/mlの濃度まで希釈した。50 μ lの体積のジャーカット細胞(1×10^5 細胞)を、100 μ lの希釈した化合物を含むウェルに添加し、50 μ lのPMA(10 ng/ml)を各ウェルに添加し、その後そのプレートを5%CO₂インキュベーター中で37 でインキュベートした。24時間後、細胞をペレットにするために、そのプレートを遠心し、150 μ lの上清を各ウェルから取り出し、そしてそのサンプルを、-20 で保存した。保存した上清を、Luminex 100(Luminex Corporation, Austin, TX)、抗IL-2捕獲抗体と結合したLuminex微粒子および

蛍光色素結合抗IL-2検出抗体を使用して、ヒトIL-2濃度について分析した。そのデータをIL-2のng/mlとして表した。

【0169】

(B. ヒト血清中での化合物のインキュベーション後の生物活性の比較)

データを、血清中でインキュベートした化合物の濃度対IL-2濃度としてプロットした。IL-2濃度における50%減少を有する化合物の濃度(IC₅₀)を、これらの用量反応曲線から計算した。試験化合物の生物活性化合物(トリプトリドと考えられる)への変換パーセントを、同実験におけるヒト血漿中で平行してインキュベートしたトリプトリドでの結果を参照して、トリプトリドのIC₅₀のパーセント(これを100%として)と比較した化合物のIC₅₀のパーセントとして計算した。ヒト血清中でインキュベートした後の種々の化合物の生物活性を比較するために、この変換パーセントを使用した。

10

【図面の簡単な説明】

【0170】

【図1】図1は、トリプトリド(PG490)、その14-スクシニルエステル(PG490-88)および14-グルタミルエステル(PG661)と比較した、本発明の化合物PG666(14-エチルカルバメート)によるアポトーシスの誘導を示すグラフである；表3も参照のこと。

【図2】図2は、トリプトリド(PG490)、その14-スクシニルエステル(PG490-88)およびその14-グルタミルエステル(PG661)と比較した、本発明の化合物PG666(14-エチルカルバメート)、PG671(14-フェニルカルバメート)およびPG672(N-メチルピペラジンカルボニル)(カルバメート)によるアポトーシスの誘導を示すグラフである；表4も参照のこと。

20

【図3】図3は、トリプトリド(PG490)およびその14-スクシニルエステル(PG490-88)と比較した、本発明の化合物PG666(14-エチルカルバメート)およびPG688(14-ジメチルアミノエチルカルバメート)によるアポトーシスの誘導を示すグラフである；表5も参照のこと。

【図4】図4は、トリプトリド(PG490)およびその14-スクシニルエステル(PG490-88)と比較した、本発明の化合物PG666(14-エチルカルバメート)およびPG688(14-ジメチルアミノエチルカルバメート)によるIL-2阻害を示すグラフである；表7も参照のこと。

30

【図5】図5は、トリプトリド(PG490)、その14-スクシニルエステル(PG490-88)およびそのイソグルタミルエステル(PG661)と比較した、本発明の化合物PG666(14-エチルカルバメート)、PG671(14-フェニルカルバメート)およびPG672(14-N-メチルピペラジンカルボニル)(カルバメート)によるIL-2阻害を示すグラフである；表8も参照のこと。

【 図 1 】

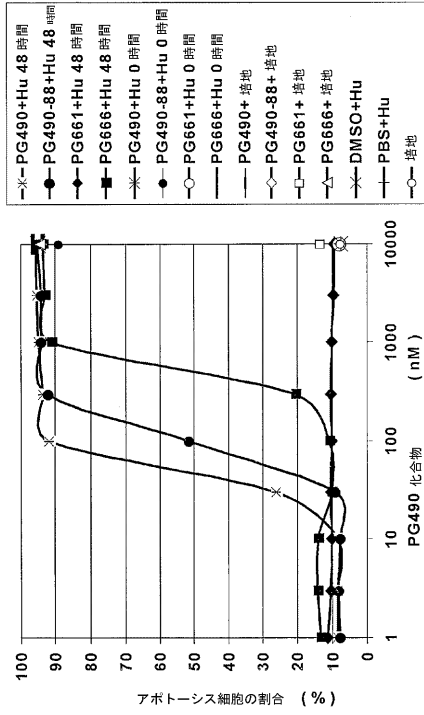


Fig. 1

【 図 2 】

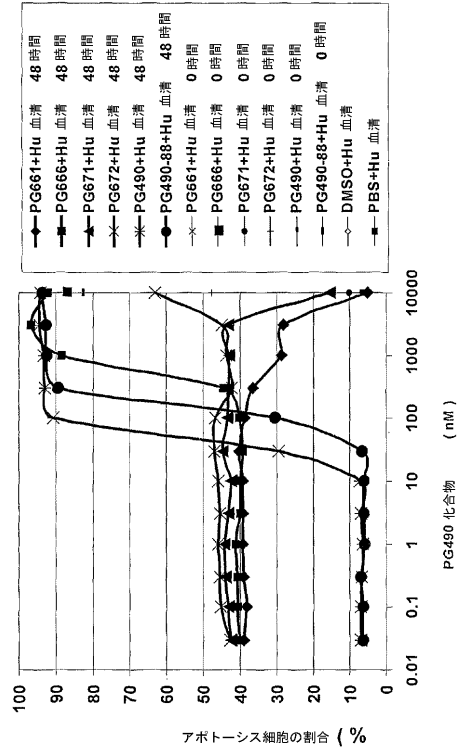


Fig. 2

【 図 3 】

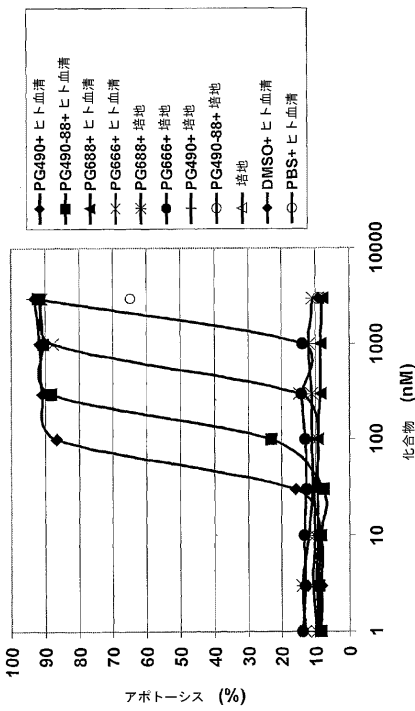


Fig. 3

【 図 4 】

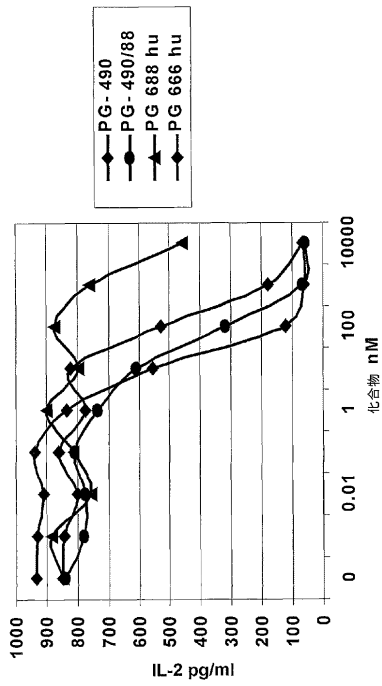


Fig. 4

【 図 5 】

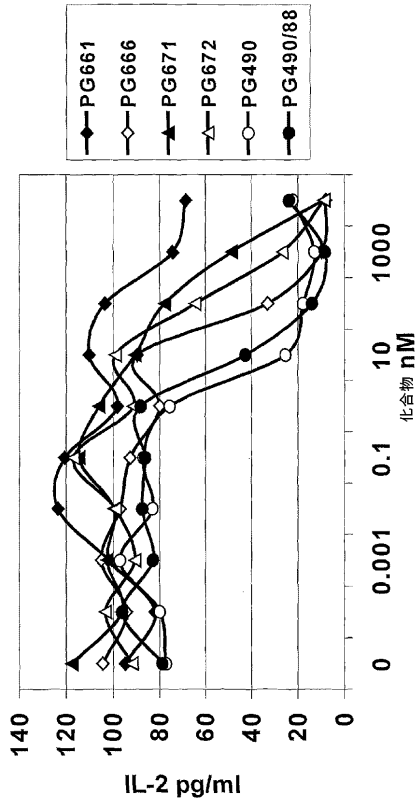


Fig. 5

フロントページの続き

- (72)発明者 ダイ, ドンチェン
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94043, マウンテン ビュー, イージー ストリート
367, アpartment エー
- (72)発明者 ムッサー, ジョン エイチ.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94070, サン カルロス, マイケル コート 23
- (72)発明者 レンノックス, エドウィン エス.
アメリカ合衆国 カリフォルニア 94305, スタンフォード, メイフィールド アベニュー
735

審査官 三上 晶子

- (56)参考文献 特表2001-504437(JP, A)
国際公開第01/015707(WO, A1)
国際公開第00/012483(WO, A1)
特開昭61-085319(JP, A)
特開平06-279441(JP, A)
特表2001-525851(JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07D493/00-497/22
A61K 31/33- 33/44
A61P 1/00- 43/00
CAplus/REGISTRY(STN)