

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5149482号
(P5149482)

(45) 発行日 平成25年2月20日(2013.2.20)

(24) 登録日 平成24年12月7日(2012.12.7)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 31/4409 (2006.01)	A 6 1 K 31/4409
A 6 1 K 31/282 (2006.01)	A 6 1 K 31/282
A 6 1 K 31/4412 (2006.01)	A 6 1 K 31/4412
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 35/02 (2006.01)	A 6 1 P 35/02

請求項の数 7 (全 13 頁)

(21) 出願番号	特願2004-534167 (P2004-534167)	(73) 特許権者	599118539 株式会社デ・ウエスタン・セラピテクス研究所 愛知県名古屋市中区錦一丁目18番11号
(86) (22) 出願日	平成15年9月5日(2003.9.5)	(73) 特許権者	000004156 日本新薬株式会社 京都府京都市南区吉祥院西ノ庄門口町14番地
(86) 国際出願番号	PCT/JP2003/011338	(74) 代理人	100068526 弁理士 田村 恭生
(87) 国際公開番号	W02004/022056	(74) 代理人	100100158 弁理士 鮫島 睦
(87) 国際公開日	平成16年3月18日(2004.3.18)	(74) 代理人	100138900 弁理士 新田 昌宏
審査請求日	平成18年5月25日(2006.5.25)		
審判番号	不服2010-15077 (P2010-15077/J1)		
審判請求日	平成22年7月6日(2010.7.6)		
(31) 優先権主張番号	特願2002-261226 (P2002-261226)		
(32) 優先日	平成14年9月6日(2002.9.6)		
(33) 優先権主張国	日本国(JP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 悪性腫瘍を処置するための医薬組成物、方法および使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

(E) - 4 - [2 - [2 - [N - [(p - メトキシフェニル) スルホニル] アミノ] フェニル] エテニル] ピリジン、(E) - 4 - [2 - [2 - [N - [(p - メトキシフェニル) スルホニル] アミノ] フェニル] エテニル] ピリジン 1 - オキシドおよび (E) - 4 - [2 - [2 - [N - アセチル - N - [(p - メトキシフェニル) スルホニル] アミノ] フェニル] エテニル] ピリジン 1 - オキシドからなる群から選択される化合物またはその製薬的に許容される塩を含有する、白金化合物と組合わせて投与される悪性腫瘍を処置するための医薬組成物。

【請求項2】

白金化合物が同時に投与される、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項3】

白金化合物をさらに含有する、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項4】

白金化合物が逐次的に併用される、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項5】

白金化合物がシスプラチンまたはカルボプラチンである、請求項1から4までのいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項6】

(E) - 4 - [2 - [2 - [N - [(p - メトキシフェニル) スルホニル] アミノ] フ

エニル]エテニル]ピリジン、(E)-4-[2-[2-[N-[(p-メトキシフェニル)スルホニル]アミノ]フェニル]エテニル]ピリジン1-オキシドおよび(E)-4-[2-[2-[N-アセチル-N-[(p-メトキシフェニル)スルホニル]アミノ]フェニル]エテニル]ピリジン1-オキシドからなる群から選択される化合物またはその製薬的に許容される塩を含有する製剤、および白金化合物を含有する製剤を含む、悪性腫瘍を処置するための併用投与用キット。

【請求項7】

白金化合物がシスプラチンまたはカルボプラチンである、請求項6記載の併用投与用キット。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

本発明は悪性腫瘍を処置するための方法、医薬組成物およびその使用に関する。さらに詳しくは、本発明は、特定のアミノスチルバゾール誘導体またはその製薬的に許容される塩を、化学療法および/または放射線療法と組み合わせて投与する、悪性腫瘍を処置するための方法、そのための医薬組成物およびその使用に関する。

【背景技術】

悪性腫瘍を処置するための抗腫瘍薬は作用機序等に基づき、アルキル化薬、トポイソメラーゼ作用薬、代謝拮抗薬、微小管作用薬、抗腫瘍抗生物質、植物アルカロイド、ホルモン剤、酵素製剤および白金化合物等に分類される。

悪性腫瘍の治療には、多種類の抗腫瘍薬を組合わせて使用する多剤併用投与が一般的である。抗腫瘍薬を組合わせて使用する最大の意義は、莫大な数(1 cm³あたり約10⁹個)の腫瘍細胞のもつ多様性に対処することにある。つまり、膨大な数で存在する腫瘍細胞の中には抗腫瘍薬に対する感受性や耐性が様々に異なっている細胞亜群が含まれており、単独の抗腫瘍薬による治療ではその抗腫瘍薬に耐性を有する細胞亜群が比較的容易に生じやすくなる。そのため、複数の異なる作用機序を持つ抗腫瘍薬を組合わせて使用することにより、耐性発現を回避でき、ひいてはより良好な治療成績を得ることができると考えられる。その意味で、使用する抗腫瘍薬は交叉耐性の低い組み合わせを選ぶべきである。

20

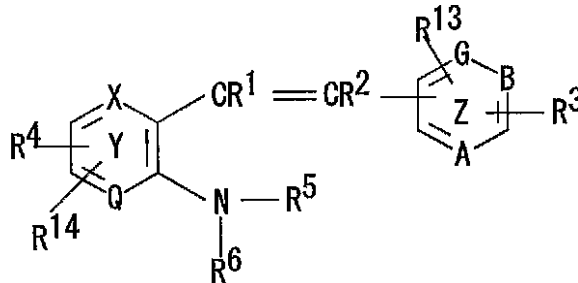
【発明の開示】

本発明者らは、より強力な抗腫瘍作用を示す抗腫瘍薬を得るべく鋭意研究を続けたところ、特定のアミノスチルバゾール誘導体またはその製薬的に許容される塩と他の抗腫瘍薬または放射線療法とを組み合わせることにより、優れた治療効果が得られることを見だし、本発明を完成した。

30

即ち、本発明は、

(1) 式(I)：



40

[I]

[式中、R¹およびR²は同一または異なって、水素、炭素数1~6のアルキル、炭素数1~6のアシル、シアノまたは-COOR(Rは水素または炭素数1~6のアルキル)であり、

R³、R⁴、R¹³およびR¹⁴は同一または異なって、水素、炭素数1~6のアルキル、炭素数1~6のアルコキシ、炭素数1~6のハロゲンアルコキシ、炭素数1~6のア

50

シル、炭素数 1 ~ 6 のアシルオキシ、ヒドロキシ、ハロゲン、ニトロ、シアノ、アミノ、炭素数 1 ~ 6 のアシルアミノ、炭素数 1 ~ 6 のアミノアルコキシ、またはアルキル部分の炭素数が 1 ~ 6 のホルホリノアルコキシであるか、または R^3 と R^{13} および R^4 と R^{14} は独立してそれぞれ一緒になってメチレンジオキシを形成してもよく、

R^5 は、 1 水素、 2 ハロゲン、アミノ、炭素数 1 ~ 6 のモノアルキルアミノ、炭素数 1 ~ 6 のジアルキルアミノ、ホルホリノ、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ若しくはヒドロキシで置換されていてもよい炭素数 1 ~ 6 のアルキル、 3 ハロゲンで置換されていてもよい炭素数 2 ~ 6 のアルケニル、 4 炭素数 2 ~ 6 のアルキニル、または 5 炭素数 1 ~ 6 のアシルであり、

R^6 は、 1 炭素数 1 ~ 6 のアルキル、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ若しくはハロゲンで置換されていてもよい炭素数 7 ~ 11 のアロイル、または 2 炭素数 1 ~ 6 のアルキル、炭素数 1 ~ 6 のアルコキシ、炭素数 1 ~ 6 のハロゲノアルコキシ、ヒドロキシ、ニトロ若しくはハロゲンで置換されていてもよい炭素数 6 ~ 10 のアリールスルホニルであり、

A、B、G、Q および X は同一または異なって、N、CH、N O または $N^+ - (R^7) E^-$ (ここに、 R^7 は炭素数 1 ~ 6 のアルキルまたは炭素数 7 ~ 14 のアリーラルキル、 E^- は N^+ の対イオンである) を表す。

但し、A、B、G が同時に N である場合および A、B、G、Q、X が同時に CH である場合は除く。また、A、B、G、Q、X が N O または $N^+ - (R^7) E^-$ である場合、Y 環の X または Q の一方のみ、および / または Z 環の A、B、G いずれか 1 つのみが N O または $N^+ - (R^7) E^-$ である。]

で示される化合物またはその製薬的に許容される塩を含有する、他の抗腫瘍薬と組合わせて投与される悪性腫瘍を処置するための医薬組成物、そのような処置方法および当該化合物の使用；

好ましくは、他の抗腫瘍薬が白金化合物、トポイソメラーゼ作用薬、微小管作用薬および抗腫瘍抗生物質の中から選ばれる本発明の医薬組成物、そのような処置方法および当該化合物の使用；

具体的には、他の抗腫瘍薬と同時に投与される、または他の抗腫瘍薬とともに含有する本発明の医薬組成物、あるいは他の抗腫瘍薬が逐次的に併用される、即ち他の抗腫瘍薬を投与した後、または前に投与される本発明の医薬組成物、そのような処置方法および当該化合物の使用；

(2) 上記式 (I) で示される化合物 (式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^5 、 R^6 、A、B、G、Q および X は、前記と同意義) またはその製薬的に許容される塩を含有する製剤、および他の抗腫瘍薬を含有する製剤を含む、悪性腫瘍を処置するための併用投与用キット；および

(3) 上記式 (I) で示される化合物 (式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^{13} 、 R^{14} 、 R^5 、 R^6 、A、B、G、Q および X は、前記と同意義) またはその製薬的に許容される塩を含有する、悪性腫瘍に対する放射線療法と組合わせて投与される悪性腫瘍を処置するための医薬組成物、そのような処置方法および当該化合物の使用、具体的には放射線療法を施すと同時に投与される、あるいは放射線療法を施す前または後に投与される医薬組成物、そのような処置方法および当該化合物の使用；

【図面の簡単な説明】

図 1 は、薬物 A および B の併用について相加域を計算する手法、および実際のデータの分析方法を示すグラフである。

図 2 は、化合物 3 および CDDP 併用投与における相加的または相乗的な細胞増殖阻害作用を示すグラフである。A は化合物 3 を先に投与した場合、B は CDDP を先に投与した場合のグラフである。図中、実線 (—) はモード I、点線 (⋯) はモード II；化合物 3、破線 (---) はモード II；CDDP の相加曲線をそれぞれ示す。

モード II；化合物 3、破線 (---) はモード II；CDDP の相加曲線をそれぞれ示す。

10

20

30

40

50

プロット()は、様々な濃度の組み合わせで実施した併用投与における用量 - 反応曲線から求めた50%増殖抑制時の化合物3とCDDPとの濃度の組み合わせをそれぞれ単独投与時の IC_{50} との相対値として求め、グラフ中に示したものである。

【発明を実施するための最良の形態】

(1) 悪性腫瘍を処置するための医薬組成物

本発明医薬組成物の基本となるアミノスチルバゾール誘導体を表す式(I)について以下、詳細に説明する。

式(I)における「アルキル」としては、直鎖または分枝状の炭素数1~6のアルキル、例えばメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、n-ペンチル、イソペンチル、n-ヘキシル、およびイソヘキシル等を挙げることができる。とりわけ、炭素数1~3のアルキルが好ましい。

10

「アルコキシ」としては、直鎖または分枝状の炭素数1~6のアルコキシ、例えばメトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、イソプロポキシ、n-ブトキシ、イソブトキシ、sec-ブトキシ、tert-ブトキシ、n-ペンチルオキシ、イソペンチルオキシ、n-ヘキシルオキシ、イソヘキシルオキシ等を挙げることができる。とりわけ、炭素数1~3のアルコキシが好ましい。

「アルケニル」としては、直鎖または分枝状の炭素数2~6のアルケニル、例えばエテニル、1-プロペニル、2-プロペニル、イソプロペニル、2-ブテニル、3-ブテニル、イソブテニル、メタリル、プレニル、イソプレニル、1,1-ジメチルアリル等を挙げることができる。とりわけ、炭素数2~4のアルケニルが好ましい。

20

「アルキニル」としては、直鎖または分枝状の炭素数2~6のアルキニル、例えばエチニル、1-プロピニル、2-プロピニル、2-ブチニル、3-ブチニル、3-メチル-2-ブチニル等を挙げることができる。とりわけ、炭素数2~4のアルキニルが好ましい。

「アシル」としては、直鎖状または分枝状の炭素数1~6のアルカノイル、例えばホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル、イソブチリル、バレリル、イソバレリル、ピバロイル等を挙げることができる。これらはトリフルオロアセチル等のようにハロゲンで置換されていてもよい。とりわけ、炭素数2~4のアシルが好ましい。

「アロイル」としては、炭素数7~11のアロイル、例えばベンゾイル、-ナフトイル、-ナフトイル等を挙げることができる。とりわけ、ベンゾイルが好ましい。

アリールスルホニルまたはアリールアルキルの「アリール」としては、炭素数6~10のもの、例えばフェニル、-ナフチル、-ナフチル等を挙げることができる。とりわけ、フェニルが好ましい。

30

「ハロゲン」としては、塩素、フッ素、臭素、沃素等を挙げることができる。

「ハロゲノアルキル」または「ハロゲノアルコキシ」とは、1つまたはそれ以上のハロゲンによって置換されているアルキルまたはアルコキシを意味する。

基：XおよびQにより規定される「Y」環としては、フェニル、ピリジル、ピラジニルを挙げることができる。とりわけ、置換されていることあるフェニルが好ましい。置換フェニルの場合、置換基： R^4 または R^{14} は好ましくはXおよび/またはQの位置に置換している。

基：A、GおよびBにより規定される「Z」環としては、フェニル、2-ピリジル、3-ピリジル、4-ピリジル、ピラジニル、2-ピリミジニル、4-ピリミジニル、5-ピリミジニル、3-ピリダジニル、4-ピリダジニルおよびそれらのN-オキシド体を挙げることができ、ピリジルが好ましい。その中でもとりわけ、置換されていることある4-ピリジルおよびそのN-オキシド体が好ましい。置換4-ピリジルまたはそのN-オキシド体の場合、置換基： R^3 または R^{13} のいずれかは好ましくは3位に置換している。

40

$N^+ - (R^7) E^-$ における「 E^- 」の N^+ の対イオンとは、ハロゲンイオン、塩素酸イオン、硝酸イオン等の陰イオンを意味する。

式(I)において、 R^1 および R^2 がともに水素であり、 R^3 、 R^4 、 R^{13} および R^{14} が同一または異なって水素、炭素数2~4のアシル、ハロゲンまたはヒドロキシ、 R^5 が水素、ヒドロキシで置換された炭素数1~3のアルキル、または炭素数2~4のアシ

50

ルであり、R⁶が炭素数1～3のアルコキシで置換されたフェニルスルホニルであり、Y環がフェニルであり、そしてZ環が4-ピリジルまたはそのN-オキシドである化合物またはその製薬的に許容される塩が、本発明に好適に使用される。

より好ましくは、式(I)において、R¹およびR²がともに水素であり、R³、R⁴、R¹³およびR¹⁴が同一または異なって水素、アセチル、フッ素またはヒドロキシであり、R⁵が水素、ヒドロキシで置換されたエチル、またはアセチルであり、R⁶がメトキシで置換されたフェニルスルホニルであり、Y環がフェニルであり、そしてZ環が4-ピリジルまたはそのN-オキシドである化合物またはその製薬的に許容される塩である。

さらに好ましくは、一般式(I)において、R¹およびR²が水素であり、-NR⁵R⁶が(p-メトキシフェニル)スルホニルアミノ、N-アセチル-N-[(p-メトキシフェニル)スルホニル]アミノまたはN-(ヒドロキシエチル)-N-[(p-メトキシフェニル)スルホニル]アミノであり、R³およびR¹³が同一または異なって水素、ヒドロキシ、アセチルオキシまたはフッ素であり、Z環が4-ピリジルまたはそのN-オキシドであり、かつ、R⁴およびR¹⁴が同一または異なって水素、ヒドロキシまたはメトキシであり、そしてY環がフェニルである化合物である。

本発明に用いられる化合物は、例えば国際公開公報95/27699号に記載の方法により製造することができる。

本発明に用いられる化合物(I)の製薬的に許容される塩としては、例えば塩酸、硫酸、硝酸、リン酸、フッ化水素酸、臭化水素酸等の無機酸の塩、または、酢酸、酒石酸、乳酸、クエン酸、フマル酸、マレイン酸、コハク酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、トルエンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸、カンファースルホン酸等の有機酸の塩を挙げることができる。また、R¹またはR²がカルボキシの場合の塩としては、ナトリウム、カリウム、カルシウム等のアルカリ金属またはアルカリ土類金属の塩等を挙げることができる。これらの塩は常法により、化合物(I)から調製することができる。

本発明では、

- ・(E)-4-[2-[2-[N-[(p-メトキシフェニル)スルホニル]アミノ]フェニル]エテニル]ピリジン(化合物1)およびその塩酸塩、
- ・(E)-4-[2-[2-[N-アセチル-N-[(p-メトキシフェニル)スルホニル]アミノ]フェニル]エテニル]ピリジン 1-オキシド(化合物2)、
- ・(E)-4-[2-[2-[N-[(p-メトキシフェニル)スルホニル]アミノ]フェニル]エテニル]ピリジン 1-オキシド(化合物3)、
- ・(E)-4-[2-[2-[N-アセチル-N-[(p-メトキシフェニル)スルホニル]アミノ]フェニル]エテニル]ピリジン(化合物4)、
- ・(E)-4-[2-[2-[N-(2-ヒドロキシエチル)-N-[(p-メトキシフェニル)スルホニル]アミノ]フェニル]エテニル]ピリジン 1-オキシド(化合物5)、または
- ・(E)-4-[2-[2-[N-(2-ヒドロキシエチル)-N-[(p-メトキシフェニル)スルホニル]アミノ]フェニル]エテニル]ピリジン(化合物6)が、最も好適に用いられ、とりわけ化合物1、2および3が好ましい。

本出願人は、抗癌作用を有するアミノスチルバゾール誘導体を見出し、特許出願し、既に特許を取得している(国際公開公報95/27699号:日本国特許第3080405号)。当該特許では、ここに記載し特許請求しているアミノスチルバゾール誘導体は優れた抗癌作用を有し、毒性も低く、経口投与可能な点で、各種の悪性腫瘍の治療剤として安全に使用できることが記載されているが、その作用機序については詳細に記載されていない。

式(I)で示される化合物は、微小管以外の作用点に作用して細胞分裂を阻害し、M期特異的にアポトーシスを誘導することが判明した。また、p53やp21、カスパーゼのようなアポトーシス関連蛋白質の活性を阻害してもその薬効にほとんど影響しなかった。特に感受性の低い細胞株や耐性細胞が得られていないためその耐性機構は不明であるが、

10

20

30

40

50

そのこと自体耐性細胞の出現の頻度が低いことを予想させる。さらに、代謝の研究により、多くの部分は未変化体のまま排泄されることから、GSTやGSHのようなグルタチオンを利用する無害化機構にも影響されないことが明らかとなった。実際、アドリアマイシン、シスプラチン、タキソールといった代表的な抗腫瘍薬の耐性株に対し、式(I)で示される化合物は交叉耐性を示さず、有効に抗腫瘍活性を示した。

この意味において、式(I)で示される化合物またはその製薬的に許容される塩を含有する本発明の医薬組成物は、代表的抗腫瘍薬に耐性を示す悪性腫瘍を有する患者を処置するために有用である。

本発明に用いられる他の抗腫瘍薬は特に制限されないが、以上のことから、細胞内標的や代謝・無毒化経路の違いによって交叉耐性の出現頻度が非常に低いことが予想される次の抗腫瘍薬を、好適なものとして挙げるができる。

1. 白金化合物、例えばシスプラチン(CDDP)、カルボプラチン；

白金化合物の作用点は二本鎖DNAの鎖間架橋である。耐性メカニズムは、HMG1などの白金化合物によるDNA損傷の修復能をもった蛋白質の発現亢進、多剤耐性因子MRPによるくみ出し、代謝系酵素(グルタチオン転移酵素とメタロチオネイン)による代謝無毒化、p53やp21等による核酸変異による細胞死誘導メカニズムの低下である。

2. トポイソメラーゼ作用薬、例えばカンプトテシン、イリノテカン、トポテカン、エトポシド；

作用点はDNAトポイソメラーゼであり、そのDNA再結合能の阻害によりDNA切断させる。耐性メカニズムは、多剤耐性因子MDR/MRPによるくみ出し、標的酵素(Topo IまたはTopo II)の構造変化や量的低下、p53やp21等による核酸変異による細胞死誘導メカニズムの低下である。

3. 微小管作用薬、例えばピンクリスチン、ビンブラスチン、ナベルピン、タキソール、タキソテール；

作用点は微小管であり、微小管に結合し重合または脱重合反応を阻害する。耐性メカニズムは、多剤耐性因子MDR/MRPによるくみ出し、微小管構成蛋白質(チューブリン)の変異やサブタイプの変化による標的結合能の減少である。

4. 抗腫瘍抗生物質、例えばドキソルピシン(アドリアマイシン)、ブレオマイシン、シクロフォスファミド、アンスラサイクリン；

一般的に複数の作用点を持ち、その機序は必ずしも明確ではないが、ラジカルによるDNA損傷(ドキソルピシン、ブレオマイシン)、トポイソメラーゼ(ドキソルピシン)、RNA合成阻害(シクロホスファミド)などである。耐性メカニズムは、グルタチオン依存性無毒化(GSH、GST)、多剤耐性因子MDR/MRPによるくみ出しである。

具体的には、本発明医薬組成物は他の抗腫瘍薬と同時に投与される、あるいは他の抗腫瘍薬と逐次的に併用される。

同時投与の場合、別個の製剤として同時に投与することもでき、また1つの製剤中に式(I)化合物またはその製薬的に許容される塩と他の抗腫瘍薬とを含有させることもできる。

逐次的併用とは、式(I)化合物またはその製薬的に許容される塩と他の抗腫瘍薬とを一定の時間間隔をあけて投与することを意味する。本発明では、式(I)化合物および他の抗腫瘍薬のいずれを先に投与してもよい。一定の時間間隔は通常、先に投与された抗腫瘍薬の動態によって決定される。例えば、式(I)化合物を先に投与する場合、細胞周期調節作用が無くなる一定濃度を切った時点から細胞周期の進行を考慮して時間間隔を決定する。

本発明の医薬組成物は、治療学的有効量の他の抗腫瘍薬と組合わせて使用され、通常、式(I)で示される化合物またはその製薬的に許容される塩を製薬的に許容される担体または賦形剤と混合して調製される。本発明医薬組成物は経口または非経口的に投与することができる。

経口投与のための組成物としては錠剤、丸剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、シロップ剤、乳剤、懸濁剤などが挙げられる。かかる製剤は公知の方法によって調製され、担体また

10

20

30

40

50

は賦形剤として乳糖、でんぷん、ショ糖、ステアリン酸マグネシウムなどが用いられる。非経口投与のためには、例えば注射剤、坐剤、外用剤などとして用いられ、注射剤としては例えば、静脈注射剤、皮下注射剤、筋肉内注射剤、点滴注射剤などとして用いられる。注射剤は通常適当なアンプルに充填されて提供される。坐剤としては例えば、直腸坐剤、膣坐剤等が挙げられ、外用剤としては例えば軟膏剤（クリームを含む）、経鼻投与製剤、経皮製剤等が挙げられる。

上記製剤における式（I）化合物またはその製薬的に許容される塩の含量、即ち治療学的有効量は、製剤中、例えば0.1～99.5%、好ましくは0.5%～90%の含量から選ばれる。体表面積あたりの投与量は患者の年齢、性別、疾患の重篤度、併用する他の抗腫瘍薬の用量等により異なるが、通常、経口投与および静脈内投与の場合、0.1～1000 mg/m²、好ましくは1～100 mg/m²である。これを、他の抗腫瘍薬の治療学的有効量と組み合わせて投与する。

本発明医薬組成物は悪性腫瘍の処置に有効である。かかる悪性腫瘍としては、例えば肺癌、乳癌、消化器癌、前立腺癌、血液癌等が挙げられるが、これらに限定されない。

（2）悪性腫瘍を処置するための併用投与用キット

本発明は別の態様として、式（I）で示される化合物またはその製薬的に許容される塩を、他の抗腫瘍薬と組合わせて投与するための、悪性腫瘍を処置するための併用投与用キットを提供する。

上記のとおり、本発明の医薬組成物は製薬的に許容される担体または賦形剤と混合して調製され、経口または非経口的に用いられる。調製された製剤は、別個に調製した他の抗腫瘍薬の製剤とともにキットとすることができる。そのようなキットには、各製剤が注射用粉末であるなら、それを用時調製するための希釈液等を含むことができる。そして、用時希釈液等を用いて、式（I）化合物と他の抗腫瘍薬とを一注射剤として投与することができる。また、本発明のキットは、式（I）化合物と他の抗腫瘍薬とを別個に、同時に、または時間間隔をおいて、同一患者に対して同一経路または異なった経路で投与する剤形としてそれぞれ別途製剤化した製剤を含むこともできる。

（3）放射線療法と組合わせて投与される悪性腫瘍を処置するための医薬組成物

本発明はさらなる態様として、他の抗腫瘍薬と組合わせて投与されるだけでなく、放射線療法と組合わせて投与される医薬組成物、そのような処置方法および当該化合物の使用をも提供する。

放射線療法における作用点は、DNAの物理的損傷および発生したラジカルによる化学的損傷であり、細胞周期には特に特異点はない。放射線療法の耐性メカニズムは、DNA修復系の活性化、p53やp21等による核酸変異による細胞死誘導メカニズムの低下、SOD等のラジカル消化機能の亢進が挙げられる。よって、本態様も交叉耐性の低い組合わせと考えられる。

具体的には、本発明医薬組成物は、放射線療法を施す前に投与するのが一般的であるが、放射線療法と同時に、または放射線療法を施した後に投与することもできる。例えば、本発明医薬組成物を1日1回の午前投与を5日間続行し、5日目の午後に放射線療法を施す。

以下に本発明を実施例を挙げてさらに詳細に説明するが、本発明はこれら実施例に制限されるものではない。

【実施例1】

（E）-4-[2-[2-[N-[(p-メトキシフェニル)スルホニル]アミノ]フェニル]エチル]ピリジン 1-オキシド（化合物3）およびシスプラチンのインビトロにおける併用効果

化合物3およびシスプラチンの同時併用時および時間差併用時の併用効果をインビトロにおいて検討した。

化合物3は国際公開公報95/27699号に記載のようにして製造した。シスプラチン（CDDP; cis-platinum(II) diamine chloride）はSigmaから購入した。併用効果の分析方法としては、インビトロにおける抗腫瘍薬

10

20

30

40

50

併用効果の分析に汎用されているSteelとPeckhamにより確立されたアイソボログラム(isobologram; G. Gordon Steel and Michael J. Peckham, Int. J. Radiation Oncology Biol. Phys., 5: 85-91, 1979; T. Okano, T. Ohnuma, James F. Holland, H. Phillip Koeffler and Han Jui, Investigational New Drugs, 1: 145-150, 1983)を用いて分析した。

1. Isobologram分析方法の簡単な説明

薬物の併用効果を判定するためのIsobologram分析方法を図1を用いて簡単に説明する。詳細は、上記文献および「癌の研究」同文書院における5. 感受性テスト

10

2. 併用療法の予測に記載されている。

1-1 Isobologramの作成

併用効果を判定しようとする抗腫瘍薬AおよびBそれぞれの単独投与時における用量-作用曲線を作成し、それぞれの50%細胞増殖阻害作用(IC₅₀)を求める(図1Aおよび図1B)。

図1Aおよび図1Bの用量-作用曲線から、DA、D'A、D''A、DB、D'BおよびD''Bを読みとり、Isobologram(図1C)におけるモードI、モードII(A)およびモードII(B)の各曲線を作成する。モードI曲線はD'AおよびD'Bから導かれる。モードII(A)はD'AおよびD''Bから導かれ、モードII(B)はD'BおよびD''Aから導かれる。

20

1-2 Isobologramを用いた併用効果の判定方法

上記作成した図1Cに便宜上、併用時のデータポイントとしてPa、Pb、PcおよびPdをプロットしたのが図1Dである。

プロットしたデータポイントがモードIおよびモードIIに囲まれた部分(図1Dにおける相加域(envelope of additivity)の位置)に入る場合(Pb)、すなわちIC₅₀に必要な併用時の投与量が予想必要量と同等である時、二つの抗腫瘍薬は相加作用を示し、データポイントが相加域の左下に入る場合(Pa)、すなわち併用時の投与量が予想必要量以下である時、相乗作用を示すと判定される。

一方、データポイントが相加域の右上に入る場合、すなわち併用時の投与量が予想必要量以上である時には、相加以下(Pc: 正方形の内側で、併用した方が優れているが、相加作用以下の効果しか得られない)および拮抗域(protction, Pd: 正方形の外側で、併用より単独の方が優れている)であると判定される。

30

2. 実験方法

2-1 化合物3およびシスプラチンそれぞれ単独投与時の用量-作用曲線の作成

化合物3およびシスプラチン(CDDP)をジメチルスルホキシド(DMSO: ナカライテスク)に溶解した。化合物3の溶液について、0.22から0.01 μg/mlまで0.01 μg/ml刻みの等差希釈系列溶液を10% FBS添加D.MEM培地(ニッスイ)を用いて作製した。CDDPの溶液については、50.0、40.0、30.0、20.0、10.0、9.0、8.0、7.0、6.0、5.0、4.0、3.0、2.7、2.4、2.1、1.8、1.5、1.2、0.9、0.6、0.3、0.2、0.1 μg/mlの希釈系列溶液を作製した。96ウエル平板(Falcon)にて37、5% CO₂で1日あるいは2日培養したWiDrヒト結腸腺癌細胞(American Type Culture Collection(Manassas, VA 20108 USA): 3 × 10⁴ cells/ml) 100 μlに、上記により調製した両薬物の希釈液100 μlを添加した。薬物添加24時間後に平板の培地を除き、PBS(ニッスイ)で2回洗浄後、培地200 μlを加えてさらに4日間培養した。培養後MTT検定により両薬物の単独作用時の用量-作用曲線を作成し、IC₅₀値を求めた。

40

2-2 化合物3およびCDDP併用時における化合物3のIC₅₀値の測定

0.3 μg/mlから計8段階の2倍希釈系列とした化合物3の希釈溶液を作製した。WiDrヒト結腸腺癌細胞を1日培養後、化合物3の希釈系列溶液50 μlおよび10%

50

FBS添加D.MEM培地150 μ lを添加し24時間培養した。得られた増殖培地100 μ lと目的濃度4.0、3.0、2.0、1.0、0.5、0.25、0.125の2倍濃度のCDDP溶液100 μ lを添加して24時間培養した。MTT検定により各濃度の組み合わせでの用量-反応曲線を作成した。また、化合物3とCDDPを入れ替えて同様の試験を実施した。それらの曲線から、50%増殖抑制を果たす濃度の組み合わせを得た。

3. 結果および考察

化合物3およびCDDP併用時の IC_{50} 値におけるIsobologramを図2に示す。化合物3にて24時間処理した後、CDDPを48時間処理した際の併用効果を図2Aに、CDDPにて24時間処理した後、化合物3を48時間処理した際の併用効果を図2Bに示している。

10

図2AおよびBは、化合物3とCDDPの投与順序にかかわらず、両者併用により相加的または相乗的な細胞増殖阻害作用が得られることを示している。これらの結果より、化合物3とCDDPを併用することによりそれぞれの薬剤の単独使用時よりも強い細胞増殖阻害作用を示すことが明らかとなった。

【実施例2】

(E)-4-[2-[2-[N-アセチル-N-[(p-メトキシフェニル)スルホニル]アミノ]フェニル]エチニル]ピリジン1-オキシド(化合物2)のマウス移植マウス単球性白血病P388に対する抗腫瘍作用の検討(化合物2とシスプラチンとの併用効果)

20

1. 移植腫瘍

P388単球性白血病由来細胞は癌研究会・癌化学療法センターより購入した。凍結保存した腫瘍をDBA/2マウス(日本エスエルシー)に腹腔内移植し、腹部膨満が認められた時点で癌細胞を含む腹水を採取し試験に供した。

2. 使用薬物およびその調製法

1) 試験薬物

国際公開公報95/27699号に記載のようにして化合物2を製造した。

2) 対照薬物

シスプラチン(CDDP)はSigmaから購入した。

3) 薬物調製

化合物2を秤量後、メノウ製乳鉢に入れ細かくすりつぶした。そこへ0.5%メチルセルロース水溶液(M.C.)を少しずつ添加しながら、メノウ製乳鉢でゆっくりと懸濁し10mg/mlに調整し、さらにその懸濁液を規定濃度となるようにM.C.で希釈し、4で保存した。CDDPは生理食塩液を用いて溶解、希釈し、調製後すぐに試験に供した。化合物2のM.C.懸濁液は均一であること、また14日間冷所で安定であることが保証されている。

30

3. 使用動物と飼育条件

4週令の雄性DBA/2系マウス10匹(本実験に2匹使用)、および4週令の雄性CDF₁系マウス(DBA/2 \times BALB/c)156匹を日本エスエルシーより購入し、1群6匹で使用した。動物は、室温21~25、湿度45~65%に保たれ、一定の照明時間(明期7:00~19:00、暗期19:00~7:00)に設定された飼育室にて餌(F-2、船橋農場)と水道水を自由に摂取できるようにして飼育した。購入した動物は1週間の馴化、検疫期間をおいて試験に供した。

40

4. 試験方法

凍結保存したP388細胞をDBA/2系マウスの腹腔内に移植し、腹部膨満が認められた時点で癌細胞を含む腹水を採取した。採取した腹水を細胞数が 5×10^6 cells/mlとなるようにリン酸緩衝生理食塩液(PBS, pH7.4)で希釈調製し、マウスあたり0.2ml(1×10^6 cells/mouse)をCDF₁系マウスの腹腔内に移植した。移植した翌日より薬物を体重10gあたり0.1mlとなるように投与した。

5. 薬物の投与経路

50

化合物 2 は経口投与、CDDP は腹腔内投与した。対照群は薬物の投与経路が異なることおよび投与スケジュールが複雑であることより無処置とした。

6. 投与スケジュール

腫瘍移植日の翌日を 1 日目とし、投与は以下の表 1 に示すように 1 日目あるいは 2 日目もしくは 1 日目と 2 日目に投与した。

7. 生存率の算出

米国国立癌研究所 (NCI) のスクリーニングプロトコールに準じ、薬物投与群 (T) と薬物非投与群 (C) の生存日数中央値 (MST: median survival time) から T/C (%) を求めた。

8. 結果と考察

化合物 2 のマウス移植マウス単球性白血病 P388 に対する抗腫瘍作用について CDDP と併用して検討した。得られた結果を表 1 に示す。

表 1 マウス移植マウス単球性白血病 P388 ネズミに対する CDDP と併用した化合物 2 の抗腫瘍活性

処置	1 日目		2 日目			MST ^{a)}	T/C (%)	生存率 (50 日目)
	用量 (mg/kg)	投与経路	処置	用量 (mg/kg)	投与経路			
対照						10	—	0
化合物 2	25	p.o	—			12.5	125	0
化合物 2	50	p.o	—			13	130	0
化合物 2	100	p.o	—			16.5	165	0
—			化合物 2	25	p.o	13	130	0
—			化合物 2	50	p.o	13	130	0
—			化合物 2	100	p.o	15	150	0
CDDP	2.5	i.p	—			14.5	145	0
CDDP	5	i.p	—			17	170	0
CDDP	10	i.p	—			17	170	0
—			CDDP	2.5	i.p	15.5	155	0
—			CDDP	5	i.p	17	170	0
—			CDDP	10	i.p	17	170	0
化合物 2	25	p.o	—			16	160	0
+CDDP	2.5	i.p						
化合物 2	50	p.o	—			24	240	0
+CDDP	5	i.p						
化合物 2	100	p.o	—			29	290	2
+CDDP	10	i.p						
化合物 2	25	p.o	CDDP	2.5	i.p	17.5	175	0
化合物 2	50	p.o	CDDP	5	i.p	19.5	195	0
化合物 2	100	p.o	CDDP	10	i.p	27	270	2
CDDP	2.5	i.p	化合物 2	25	p.o	17	170	0
CDDP	5	i.p	化合物 2	50	p.o	21.5	215	1
CDDP	10	i.p	化合物 2	100	p.o	>50	>500	5

N=6; ^{a)}MST, 生存日数中央値

化合物 2 と CDDP は、1 日目あるいは 2 日目の単独投与において T/C 値が NCI のスクリーニングプロトコールで有効と判定される 125% と同等以上であったが、5 日目における生存例はいずれの薬物においても観察できなかった。その両者を併用すると、いずれの投与スケジュールにおいても化合物 2 および CDDP 単独群よりも併用群の方が高い T/C (%) 値を示し、1 日目に CDDP 10 mm/kg、2 日目に化合物 2 を 100

10

20

30

40

50

mg / kg を投与すると50日目においても6例中5例の生存が認められた。

臨床において抗腫瘍薬は単独で用いられることはなく、抗腫瘍効果を高め毒性を軽減することを目的に作用メカニズムの異なる他の抗腫瘍薬との併用が治療に用いられている。今回の結果より化合物2はCDDPと併用することにより単独投与より高いT/C(%)値を示したことから、臨床においても併用効果が期待される。

製剤例

製剤例1

硬カプセル剤(ハードカプセル)

1カプセル	220mg 中	
化合物2	10mg	10
乳糖	187mg	
微結晶セルロース	20mg	
ステアリン酸マグネシウム	3mg	

上記成分の割合で秤量し、均一に混合した後、カプセル充填機を用いて2号カプセルを充填し、硬カプセルを製造した。

製剤例2

顆粒剤	1g 中	
化合物1	10mg	
乳糖	880mg	
低置換度ヒドロキシプロピルセルロース	70mg	20
ヒドロキシプロピルセルロース	40mg	

上記成分を均一に混合し、練合した後に造粒機で直径0.7mmに造粒し、顆粒剤を製造した。

製剤例3

硬カプセル剤	220mg 中	
化合物2	10mg	
シスプラチン	1mg	
乳糖	186mg	
微結晶セルロース	20mg	
ステアリン酸マグネシウム	3mg	30

上記成分の割合で秤量し、均一に混合した後、カプセル充填機を用いて2号カプセルに220mgを充填し、硬カプセルを製造した。

製剤例4

顆粒剤	1g 中	
化合物3	10mg	
シスプラチン	1mg	
乳糖	879mg	
低置換度ヒドロキシプロピルセルロース	70mg	
ヒドロキシプロピルセルロース	40mg	

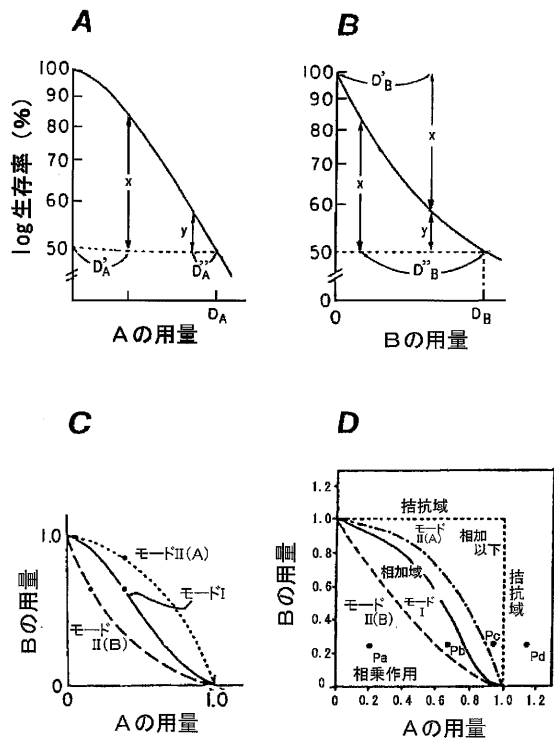
上記成分を均一に混合し、練合した後に造粒機で直径0.7mmに造粒し、顆粒剤を製造した。

【産業上の利用可能性】

本発明は、特定のアミノスチルバゾール誘導体またはその製薬的に許容される塩を含有する、化学療法および/または放射線療法と組み合わせて投与される、悪性腫瘍を処置するための医薬組成物、そのような処置方法および当該化合物の使用に関する。本発明は、それぞれの単独投与よりも高い抗腫瘍作用を奏することができる。よって、本発明は、市販の抗腫瘍薬と併用することより、臨床におけるより良好な有用性が期待できる。

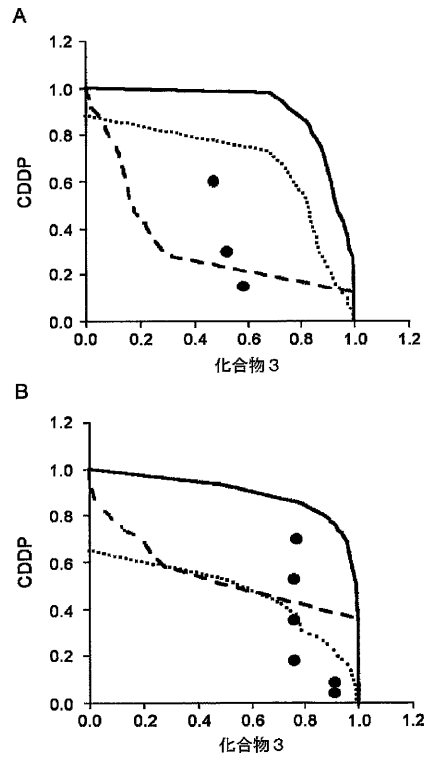
【 図 1 】

図 1



【 図 2 】

図 2



フロントページの続き

- (74)代理人 100162684
弁理士 呉 英燦
- (72)発明者 日高 弘義
愛知県名古屋市天白区音聞山607番地
- (72)発明者 松田 真人
滋賀県大津市清風町19-16
- (72)発明者 加藤 文敬
大阪府高槻市出丸町3-43

合議体

- 審判長 内藤 伸一
審判官 前田 佳与子
審判官 増山 淳子

- (56)参考文献 国際公開第95/27699(WO,A1)
HARDMAN, J. G., GOODMAN AND GILMAN'S THE PHARM
ACOLOGICAL BASIS OF THE RAPEUTICS. - 9TH ED, 1
996年, p1225-1232, p1269-1271

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07D, A61K
CA(STN), REGISTRY(STN)