

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-131509

(P2004-131509A)

(43) 公開日 平成16年4月30日(2004.4.30)

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

**A61K 31/121**  
**A61K 47/24**  
**A61P 35/00**  
**A61P 43/00**  
**// C07C 69/157**

F 1

A 61 K 31/121  
A 61 K 47/24  
A 61 P 35/00  
A 61 P 43/00  
C 07 C 69/157

テーマコード(参考)

4 C 076  
4 C 206  
4 H 006  
4 H 050

審査請求 有 請求項の数 2 O L (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-434456 (P2003-434456)	(71) 出願人	397068654 インデナ・ソチエタ・ペル・アチオニ イタリア・ミラノ・ビアレオルトレス 12
(22) 出願日	平成15年12月26日 (2003.12.26)	(74) 代理人	100060782 弁理士 小田島 平吉
(62) 分割の表示	特願平8-519461の分割	(72) 発明者	エツイオ・ポンバルデリ イタリア・アイ-20139ミラノ・ビア レオルトレス 12
原出願日	平成7年12月4日 (1995.12.4)	(72) 発明者	サルバトーレ・マンクソ イタリア・アイ-00164ローマ・ビコ ロディフィオルテプラベツタ 100
(31) 優先権主張番号	MI94A002568	(72) 発明者	フランコ・デレ・モナケ イタリア・アイ-00167ローマ・ビア エンリコベスタ 66
(32) 優先日	平成6年12月20日 (1994.12.20)	F ターム(参考)	4C076 CC27 CC29 DD63 FF63
(33) 優先権主張国	イタリア (IT)		最終頁に続く

(54) 【発明の名称】子宮、卵巣、及び乳腫瘍において抗増殖活性を有するカルコン複合体

## (57) 【要約】

【課題】 抗腫瘍活性を有するカルコン類の複合体を提供する。

【解決手段】 天然または合成のリン脂質と、イソコルドイン、コルドイン、4'-ヒドロキシデリシン、2'-ヒドロキシデリシン、3'-ヒドロキシデリシン、2', 4'-ジヒドロキシカルコン及び4', 2', 4'-トリヒドロキシカルコンからなる群より選ばれる化合物の複合体。例えば、乳癌の増殖を有意に抑制する。

【選択図】 なし

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

天然または合成のリン脂質と、イソコルドイン、コルドイン、4-ヒドロキシデリシン、2-ヒドロキシデリシン、3-ヒドロキシデリシン、2'，4' -ジヒドロキシカルコン及び4，2'，4' -トリヒドロキシカルコンからなる群より選ばれる化合物の複合体。

**【請求項 2】**

請求項1に記載の複合体を有効成分とする抗癌剤またはII型のエストロゲンレセプターに対する拮抗活性剤。

**【発明の詳細な説明】**

10

**【技術分野】****【0001】**

本発明は、子宮、卵巣、及び乳腫瘍の治療及び予防における、カルコン複合体及びその医薬製剤に関する。

**【背景技術】****【0002】**

最近、いくつかのフラボノイドが、いくつかの腫瘍において抗癌活性(例えば、特許文献1及び2または非特許文献1参照。)及び化学的予防活性(例えば、非特許文献2参照。)を有することが判明した。特に、植物において広く遍在するフラボノイドであるクエルセチンは、従来の化学療法との相乗作用に加えて、ヒト白血病細胞の増殖に対して(非特許文献3参照。)及び他の細胞系に対して(非特許文献4、5、6参照。)いくつかの阻害作用を示した。増殖に対するそのような阻害作用の機構は未知であるけれども、II型のエストロゲンレセプターとこのフラボノイドの相互作用に関係しているようである(非特許文献7参照。)。これらの部位は、最初、ラットの子宮において、1978年にClarkにより記述されており(非特許文献8参照。)、同じステロイド及び組織特異性を示すが、これらはエストロゲンレセプター(ER)より高濃度で存在し、そしてエストラジオールに対してER(KD: 0.2 - 1 nM)より低い明白な親和性解離定数(KD: 10 - 20 nM)を有するので、「真の」ERと異なる。

20

**【特許文献1】特開昭58-105935号公報**

30

**【特許文献2】特表平5-50907778号公報**

30

**【非特許文献1】Cancer Research 48、5754、1988**

30

**【非特許文献2】J. Nat. Prod. 53、23、1990)****【非特許文献3】Br. J. of Haematology 75、489、1990)****【非特許文献4】Br. J. Cancer 62、942、1990 - Int. J. Cancer 46、1112、1990****【非特許文献5】Cancer Chemother. Pharmacol. 28、255、1991****【非特許文献6】Gynecologic Oncology 45、13、1991、1992**

40

**【非特許文献7】J. Steroid Biochem. 30、71、1988****【非特許文献8】J. Biol. Chem. 253、7630、1978****【発明の開示】****【0003】**

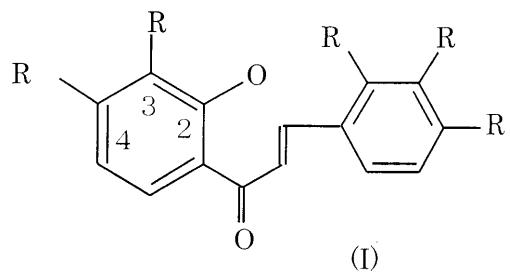
今回、意外にも、カルコン構造化合物、イソコルドイン、4-ヒドロキシデリシン、2-ヒドロキシデリシン、3-ヒドロキシデリシン、2'，4' -ジヒドロキシカルコン、4，2'，4' -トリヒドロキシカルコン、及びコルドインが、子宮、卵巣、及び乳腫瘍細胞株に対する著しい抗増殖活性と共に、既知の生成物よりも非常に高い、II型のエストロゲンレセプターに対する顕著な親和性を有することが見いだされた。

上に挙げた化合物の構造は、以下の通りである。

**【0004】**

50

【表1】



10

	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>
S 1 イソコルドイン	H	H	ブレニル	H	H
S 2 4-ヒドロキシデリシン	Me	OH	ブレニル	H	H
S 3 2-ヒドロキシデリシン	Me	H	ブレニル	OH	H
S 4 3-ヒドロキシデリシン	Me	H	ブレニル	H	OH
S 5 2', 4' -ジヒドロキシカルコン	H	H		H	H
S 6 4, 2', 4' -トリヒドロキシカルコン	H	OH	H	H	H
<u>S 7 コルドイン</u>	ブレニル	H	H	H	H

20

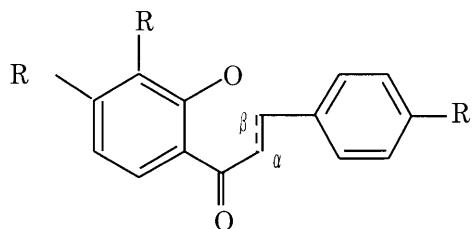
30

## 【0005】

構造を以下に示す、4-ヒドロキシコルドイン及びジヒドロコルドインのような化学構造に関する限り前者に厳密に関係した他のカルコンは、上記のレセプターに対する何の親和性も示さない。

## 【0006】

【表2】



カルコン	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
S 8 4-ヒドロキシコルドイン	プレニル	O H	H
S 9 ジヒドロコルドイン	プレニル	H	H

10

## 【0007】

従って、本発明は、第一の態様において、抗癌活性を有する薬剤の調製のための、特に、I型のエストロゲンレセプターを発現している腫瘍の治療のための、式(I)の化合物の使用を提供する。 20

## 【0008】

本発明はまた、さらなる態様により、22個までの炭素原子を含んでいる飽和または不飽和の直鎖または分岐した脂肪酸と式(I)の化合物のエステルも提供する。特に好ましくは、酢酸、酪酸、パルミチン酸、またはキシメニン酸とのエステルである。

## 【0009】

本発明のエステルは、経口により投与されることができ、これらは、カルコンIのプロドラッグとして作用するようである。

## 【0010】

最後に、本発明は、適当な添加剤との混合において、化合物Iまたはこれらのエステルを活性成分として含んでいる製剤組成を提供する。 30

## 【0011】

化合物(I)は、I1 Farmaco、30、449-55、1975; I1 Farmaco、32、261-69、1977; I1 Farmaco、30、326-42、1975により報告された従来法により調製されることがある。

## 【0012】

I型のエストロゲンレセプターに対する化合物Iの親和性及び卵巣腫瘍細胞に対する抗増殖活性は、以下の表において報告される。

## 【0013】

## 【表3】

表 II型のエストロゲンレセプターに対する結合親和性及びインビトロにおけるO V C A 4 3 3癌細胞に対する抗増殖活性

カルコン	I C <sub>50</sub> ** (μM)	I C <sub>50</sub> *** (μM)	
S 1	1 . 2	1 . 2	
S 2	1 7 . 0	1 0 . 6	10
S 3	4 . 2	1 8 . 0	
S 4	5 . 0	1 2 . 1	
S 5	2 . 5	0 . 6	
S 6	5 . 0	3 . 2	
S 7	6 . 0	4 . 2	

20

\* \* 細胞増殖に対して 50 % 阻害を生じる濃度。

\* \* \* レセプターから標識したエストラジオール (40 nM) の 50 % 置換を生じる濃度。

## 【0014】

エストロゲンレセプター結合の評価は、卵巣及び他の器官の腫瘍細胞に対して行われている。仔牛血清及び培地を無菌に保つための 200 units / ml のペニシリンを加えた最小必須培地上で、単層培養で細胞を増殖させた。試験を再現できるようにするために、これらの細胞を毎週トリプシンで処理し、 $8 \times 10^{-4}$  の密度でプレート上に置き、そして 5% CO<sub>2</sub> 及び湿気を含んでいる大気下の 37° で培養した。化合物の活性を評価するためには、最少量の基質で、 $1 \times 10^{-5} / \text{ml}$  の濃度で、これらの細胞をウェル ( Falcon 3046、Becton Dickinson NY ) 中に置いた。24 時間後、基質を新しい基質と置き換え、そして無水エタノールに溶解したカルコンを加えた。試験する活性成分なしに、コントロールを同様にキャリヤーと処理した。72 時間の試験期間の間、上記の処理を 24 時間の時間間隔で繰り返した。24 時間後、細胞を段階的な量の標識したエストラジオール (<sup>3</sup>H-E 2 40 Ci / mmol Amersham UK) のみまたは 100 倍量のジエチルスチルベストロールの存在下で 4° で 2.5 時間インキュベートした。インキュベーション時間の最後に、細胞を新しい基質ですばやく洗浄し、そして 1 M NaOH と 30 分間インキュベートした。放射能をシンチレーター ( scintillator ) により測定し、そしてジエチルスチルベストロールを含んでいるまたは含んでいない調製物間の差として、結合特異性を計算した。結果を、従来法に従って、細胞当たりの結合部位の数として表す。処理したものとの増殖に対してコントロールの増殖を比較する細胞の直接計算により、細胞増殖に対する阻害を評価する。

30

40

40

## 【0015】

文献の従来の条件に従って、ヌード無胸腺マウスに移植した腫瘍の大きさを測定することにより示されたように、本発明の化合物は、インビボにおいて細胞増殖を阻害した。1 から 100 mg / kg までの服用量でのこれらの動物の処理は、調べた腫瘍が個体の高い割合において消失するまでの、これらの著しい退行を明白に示した。ヒトにおいて、化合物 I は、タモキシフェンのような既知の薬剤よりも高い、卵巣、乳、及び子宮腫瘍に対す

50

る活性を示した。

【0016】

上に挙げた試験において、イソコルドイン、コルドイン、及び 2', 4'-ジヒドロキシカルコンは、特に著しい活性を示した。

【0017】

本発明の化合物は、都合よく、経口または注入により投与されることができ、経口投与に対しては、天然または合成のリン脂質が、カルコンと安定な脂溶性の複合体を形成するので特に有用であることが判明し、中鎖トリグリセリド及び同類の添加物もまた有用であることがわかった。本発明の化合物の服用量は、広い範囲内で、主に経口により投与されると、例えば 10 から 300 mg / 日まで変わることができる。

10

【0018】

以下の実施例は、さらに本発明を例示する。

【0019】

参考例 I キシメニン酸コルドインの調製

7 g の 4 - O - プレニル - 2 - ヒドロキシアセトフェノンを、10 g のピペリジン及び 70 ml のエタノール中、7 g のベンズアルデヒドと 60 - 70 で反応させる。36 時間後、溶媒を真空下で除き、その残留物を 100 ml のベンゼンで溶解し、これを 2 N HCl で完全に洗浄する。ベンゼンを除いた後、残留物をシリカゲルカラム上で精製し、3.5 g のコルドインを得る。得られたコルドインを、20 ml の無水ピリジン中、3 g の塩化キシメニン酸と反応させる。この反応混合物を水に注ぎ、その生成物を塩化メチレンで抽出する。メタノールからの結晶化後、m.p. 164 - 166 を有する、4.2 g のキシメニン酸コルドインを得る。

20

【0020】

参考例 II パルミチン酸イソコルドインの調製

10 g の 3 - C - プレニルレスアセトフェノン (prenyl resacetophenone) 及び 10 g の p - ヒドロキシベンズアルデヒドを、15 g のピペリジン及び 200 ml の無水エタノールに溶解し、60 で 4 時間保持する。溶媒を除いた後、残留物を 50 ml の 2 N HCl に懸濁し、その生成物を塩化メチレンで抽出する。塩素化溶媒を除いた後、残留物をシリカゲル上で精製し、m.p. 160 - 1 を有する、4.1 g のイソコルドインを得る。この生成物を 30 ml の無水ピリジン中 8 g の塩化パルミトイルと反応させる。この反応混合物を水で希釈し、シリカゲル上で精製した後、m.p. 131 - 132 を有する、6.2 g のジパルミトイリソコルドインを得る。

30

【0021】

参考例 III コルドイン及びイソコルドインの酢酸エステル及び酪酸エステルの調製

これらの生成物を、それぞれ、対応する酸の塩化物または無水物を用いて、実施例 I 及び II に従って調製する。(酢酸コルドイン m.p. 131 - 3 ; 酪酸コルドイン m.p. 124 - 6 )

30

実施例 IV ジパルミトイリホスファチジルコリンとイソコルドインの複合体の調製

3.08 g のイソコルドインを 30 ml の塩化メチレンに懸濁し、7.9 g のジパルミトイリホスファチジルコリンを加え、攪拌しながら 1 時間反応させたままにする。これらの試薬を完全に溶解すると、その反応混合物を少量に濃縮し、濃縮物を 50 ml の n - ヘキサン中に注ぐ。沈殿した固体物質を濾過し、真空下で 40 で一晩乾燥させ、m.p. 70 を有する、7.2 g のリン脂質イソコルドイン複合体を得る。

40

---

フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 C 69/24	C 0 7 C 69/24	
C 0 7 C 69/52	C 0 7 C 69/52	
C 0 7 F 9/10	C 0 7 F 9/10	B

F ターム(参考) 4C206 AA01 AA02 CB18 MA02 MA05 NA03 NA14 ZB26 ZC02 ZC42  
4H006 AA01 AA03 AB28 BJ20 BR30  
4H050 AA01 AA03 AB28