

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5487111号
(P5487111)

(45) 発行日 平成26年5月7日 (2014.5.7)

(24) 登録日 平成26年2月28日 (2014.2.28)

(51) Int.Cl.

F I

C O 7 D 491/22 (2006.01)

C O 7 D 491/22 C S P

A 6 1 K 31/4745 (2006.01)

A 6 1 K 31/4745

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

請求項の数 13 (全 44 頁)

(21) 出願番号 特願2010-531264 (P2010-531264)
 (86) (22) 出願日 平成20年10月24日 (2008.10.24)
 (65) 公表番号 特表2011-500841 (P2011-500841A)
 (43) 公表日 平成23年1月6日 (2011.1.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2008/081047
 (87) 国際公開番号 W02009/055633
 (87) 国際公開日 平成21年4月30日 (2009.4.30)
 審査請求日 平成23年8月22日 (2011.8.22)
 (31) 優先権主張番号 11/923, 727
 (32) 優先日 平成19年10月25日 (2007.10.25)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 509040215
 ザ クリストゥス スターリン ファウン
 デーション フォー キャンサー リサー
 チ
 アメリカ合衆国, ティーエックス 770
 02, ヒューストン, スウィート 181
 8, 1315 エスティー. ジョセフ パ
 ークウェイ
 (74) 代理人 100088904
 弁理士 庄司 隆
 (74) 代理人 100124453
 弁理士 資延 由利子
 (74) 代理人 100135208
 弁理士 大杉 卓也

最終頁に続く

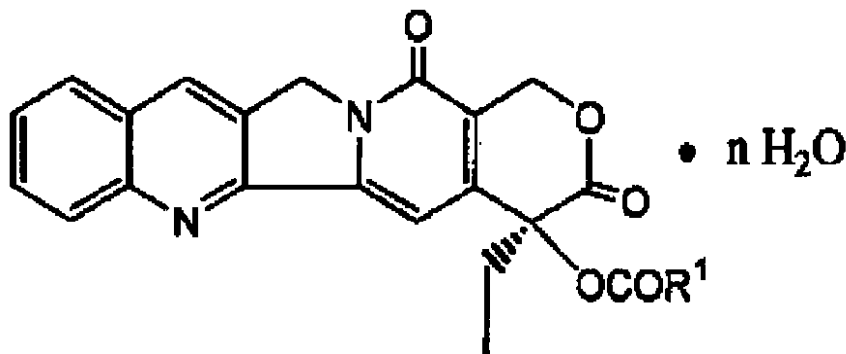
(54) 【発明の名称】 癌の治療のためのカンプトテシンの水和結晶性エステル

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式 (I) :

【化 1】

(式中、n は 1 ~ 10 の範囲の数を含み、R₁ は C₂ ~ C₆ アルキル基) の結晶性カンプトテシン水和物。

【請求項 2】

R₁ がエチルである、請求項 1 に記載の結晶性カンプトテシン水和物。

【請求項 3】

該結晶性カンプトテシン水和物の融点が約 240 ～ 約 243 である、請求項 2 に記載の結晶性カンプトテシン水和物。

【請求項 4】

n が 1 ～ 3 の範囲の数を含む、請求項 1 に記載の結晶性カンプトテシン水和物。

【請求項 5】

患者において癌又は悪性腫瘍を治療する医薬組成物であって、有効量の請求項 1 に記載の結晶性カンプトテシン水和物を前記患者に投与することを含み、前記癌又は前記悪性腫瘍が前記組成物に応答性である、患者において癌又は悪性腫瘍を治療する医薬組成物。

【請求項 6】

前記癌が、白血病、黒色腫、肝臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、胃癌、膀胱癌、線維形成性小円形細胞腫瘍 (DSRCT)、膵臓癌、肺癌、腎臓癌、結腸癌又は中枢神経系の癌である、請求項 5 に記載の医薬組成物。

10

【請求項 7】

R1 がエチルである、請求項 5 又は 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

該結晶性カンプトテシン水和物を経口投与する、請求項 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

有効量の請求項 1 に記載の結晶性カンプトテシン水和物と薬学的に許容可能な担体とを含む医薬組成物。

【請求項 10】

20

該担体が脂質又は脂質様乳化剤である、請求項 9 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

最大耐量として 2000 mg / kg を使用する場合、前記結晶性カンプトテシン水和物を、腫瘍異種移植片を有するヌードマウスに投与することにより求められる、前記結晶性カンプトテシン水和物の治療指数が 2 ～ 500 である、請求項 1 に記載の結晶性カンプトテシン水和物。

【請求項 12】

$(0.10 \sim 0.50) \times (0.01 \sim 0.10) \times (0.01 \sim 0.05) \text{ mm}^3$ の大きさ、及び $100^3 \sim 5000^3$ の体積の単斜晶系を有する、請求項 1 に記載の結晶性カンプトテシン水和物。

30

【請求項 13】

結晶性カンプトテシン 20 - プロピオネート水和物である、請求項 12 に記載の結晶性カンプトテシン水和物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、カンプトテシンのエステル、及び癌、悪性腫瘍等を治療するためにカンプトテシンのエステルを使用することに関する。

【0002】

本願は、2007 年 10 月 25 日に出願した先の米国特許出願第 11 / 923, 727 号明細書 (その全体が本明細書中に参照により援用される) の米国特許法第 120 条に基づく利益を主張するものである。

40

【背景技術】

【0003】

化学療法の過程で摂取した抗癌薬の結果として患者が受ける毒性 (又は副作用) は依然として癌治療に関連する最も大きな脅威となっている。抗癌剤の治療指数 (TI) は、最大耐量と有効用量との比として規定される。今日臨床的に使用されている抗癌剤のほとんどが非常に狭い TI 範囲 (1 ～ 1.2) しか有していないことが知られている。要するに、抗癌剤に関連した小さい治療指数のため、化学療法を受ける患者におけるほとんどの抗癌剤の毒性作用は有効用量レベルで不可避のものである。抗癌剤間での毒性の差異は、重

50

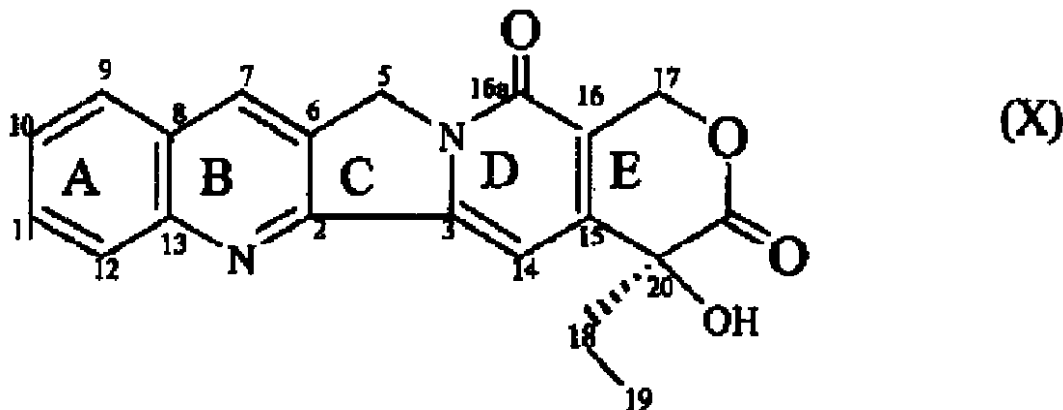
症度及び罹患タイプによるものである。フルオロウラシル（5-FU）は、癌が胃腸管、乳房、頭頸部に生じた患者の全身的な緩和治療に最も一般的に使用される化学療法剤の1つである。ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼ（DPD）は、5-FUの異化における最初の律速酵素である。DPD欠乏は、重篤な5-FU関連毒性の病因における重要な薬理遺伝学的障害として認識されてきている。DPDをコードする遺伝子の変異対立遺伝子に関して遺伝子的にヘテロ型又はホモ型であった癌患者は、5-FUの投与の後に死を含む重篤な毒性を患ったことが報告されている（非特許文献1、非特許文献2）。白金系抗癌剤（Platinum agents）も一般的に治療に使用される。文献のかなりの部分は白金化合物の副作用について記載している。シスプラチンは複数の毒性を有する：腎臓毒性、神経毒性、中毒性難聴、吐き気及び嘔吐（非特許文献3）。シスプラチンの腎臓毒性は、Cviti 10
kovi及び共同研究者らによる攻撃的水和（aggressivehydration）の導入までほとんど放置されたままであったが、これにより急性腎不全の発症が予防された（非特許文献4、非特許文献5）。シスプラチンの毒性は歴史上、毒性の小さい類似物及びその副作用により有効な治療の両方を研究する上で原動力になっているとも考えられた。通常シスプラチンでは重症化しない骨髄抑制は、カルボプラチンの用量制限毒性である（非特許文献6）。オキサリプラチンの用量制限毒性は、全てのDAC₂H含有白金誘導体の特徴である感覚性ニューロパシである（非特許文献3）。アルキル化剤も癌治療に重要な役割を果たす。アルキル化剤はそれぞれ、特定の毒性に関連するが、個別に考えるものではない。以下の毒性は一群としてアルキル化剤に共通のものである：造血毒性、胃腸毒性、生殖腺毒性、肺毒性、脱毛症、奇形発生、発癌及び免疫抑制（非特許文献3）。アルキル化剤に関する通 20
常の用量制限毒性は造血毒性である。トポイソメラーゼ相互作用因子は、その特有の作用機構のために臨床腫瘍医からの注目を集めてきた。トプテカンは、天然の10-ヒドロキシカンブトテシン由来の半合成生成物であり、且つ難治性の進行卵巣癌及び小細胞肺癌の二次治療に適応があり、また骨髄異形成症候群及び多発性骨髄腫を含む血液悪性腫瘍の治療に活性がある（非特許文献7、非特許文献8、非特許文献9、非特許文献10）。この抗癌剤の用量制限毒性は骨髄抑制である。トポテカンは臨床試験における放射線、シスプラチン、パクリタキソール及びドキシソルピシンを含む様々な他の治療と併用されているが、これらの併用治療には臨床腫瘍学において常用を実現しているものはない。これは一部、トポテカンの頻発する骨髄抑制毒性が原因であり、このため他の骨髄抑制剤と高用量で 30
組み合わせることが困難になっている（非特許文献11）。またイリノテカンはカンブトテシンファミリー由来の半合成生成物である。この化合物は結腸直腸癌の患者を治療する際に単一抗癌剤として又はフルオロウラシル及びロイコボリンとの併用で適応があり、またシスプラチンと併用される場合、小細胞肺癌において活性が見られる。この併用治療は、非小細胞肺癌でも活性が見られている（非特許文献12、非特許文献13、非特許文献10）。イリノテカンの用量制限毒性は好中球減少及び遅発型下痢であり、このため臨床腫瘍学においてもその使用は制限されている。近年販売されているエルビタックス及びアバサチンを含む他の混合型抗癌剤は全て、限られた数の特定の治療には使用することができるが、毒性も伴う。したがって、癌研究者ら及び臨床腫瘍医にとって治療に関して治療 40
指数がより大きい良好な抗癌剤を見つけ出すことが依然として大きな課題である。

【0004】

Wall及び共同研究者らによって初めにカンレンボク（*CamptothecaAcuminata*）（ヌマミズキ科（*Nyssaceae*））の木材及び樹皮から単離された細胞毒性アルカロイドであるカンブトテシン（非特許文献14）は、マウスのL1210白血病系に対して抗腫瘍活性を有することが示された。一般的に見られるインドールアルカロイド基を有するアルカロイドであるカンブトテシンの構造（非特許文献15）は以下の式（X）として示される。

【0005】

【化 1】



10

【0006】

この化合物（「CPT」）は、20（S）-立体配置を有するE環において不斉中心を1つだけ有する五環系である。この五環系はピロロ[3,4-b]キノリン部分（A環、B環及びC環）と、共役ピリドン（D環）と、 β -ヒドロキシル基を有する六員環ラクトン（E環）とを含む。カンプトテシンは、マウスのL1210白血病系におけるその顕著な活性のためにそれを最初に単離したときから大変興味深かった。カンプトテシンの抗腫瘍活性に関するこれまでのデータは、マウスにおけるL1210白血病又はラットにおけるWalker 256腫瘍等の実験的に移植した悪性腫瘍を利用することで得られた（非特許文献16、非特許文献17）。その後の臨床試験により、この化合物はその高い毒性のためにin vivoで抗癌剤としては有用ではなかったことが示された。カンプトテシン自体は水に不溶性である。したがって、カンプトテシンは、初期段階では水溶性のカルボン酸ナトリウム塩として臨床的に評価された。この形態のカンプトテシンは重篤な毒性を生じ、抗癌活性を欠いていると考えられた（非特許文献18、非特許文献19、非特許文献20、及び非特許文献21）。これらの結果を受けて、II相試験を中断した。この抗癌剤の継続評価により、カルボン酸ナトリウム塩はラクトン閉環が無傷の天然カンプトテシンに比べて効力が10%しかないことが示された（非特許文献22、非特許文献23）。さらに、カンプトテシンファミリーにおける抗腫瘍活性に関する重要なパラメータが確立されている（非特許文献24）。これらの結果により、無傷のラクトン環Eと β -ヒドロキシル基とが抗腫瘍活性に必須であることが示されている。

20

30

【0007】

1980年代半ば、カンプトテシンの分子標的が新規の核酵素トポイソメラーゼIであることが分かった（非特許文献25）。ほぼ同時期に、上記で論じた2つの化合物（トポテカン及びイリノテカン）を含む幾つかの新規の水溶性カンプトテシン誘導体が調製され、生物学的に評価された。その後の2つの化合物の臨床評価により、予測し得る毒性と有意な抗癌活性とが明らかになった（非特許文献26）。トポテカンは進行性卵巢癌に対する二次治療として1996年に認可され、後に難治性の小細胞肺癌患者の治療に対する適応が与えられた。ちょうど同じ時期に、イリノテカンは5-フルオロウラシル難治性の進行性結腸直腸癌の治療のために登録された。実際、イリノテカンは40年近く前に米国においてこの疾患を治療するために認可された初めての新規の抗癌剤であった。

40

【0008】

1989年に、Giovannella et al.が、カンプトテシンの水不溶性誘導体の中には、ヒト腫瘍の異種移植片に対する抗腫瘍活性が高いものがあることを発見した（非特許文献27）。ラクトン閉環を有するカンプトテシンの投与が、水溶性カルボン酸塩の注入よりも優れていることも示された（非特許文献23）。これらの発見により、生物学的活性に対する無傷のラクトン環の重要性がさらに確認された。

50

【 0 0 0 9 】

20 (S) - カンプトテシンの開環は、ヒトよりもマウスにおいてはるかに強力な抗癌活性をもたらす。実際、筋肉内 (「 i . m . 」) 投与、皮下 (「 s . c . 」) 投与、及び胃内 (「 i . s . 」) 投与した C P T が、マウスにおけるヒト腫瘍に対する、すなわちヌードマウスにおいて異種移植植物として成長させると、非常に強力な抗癌剤となることが分かっている (非特許文献 23)。しかしながら、ヒトにおいて腫瘍を C P T で治療した場合、マウスに比べるとヒトではより低度の抗癌活性しか示さなかった (非特許文献 28)。

【 0 0 1 0 】

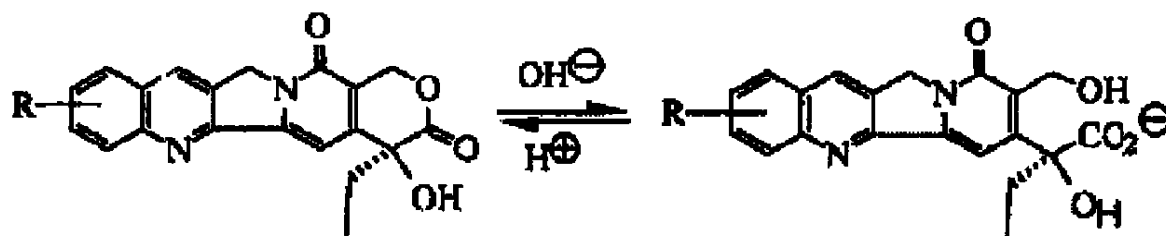
同じ現象が他の C P T 誘導体で観察された。マウスでは、9 - ニトロカンプトテシン (「 9 N C 」) はヒト腫瘍異種移植片に対する C P T よりも 2 倍 ~ 3 倍強力であり、治療されるヒトの悪性腫瘍全てを根絶させることが分かっている (非特許文献 29、非特許文献 30)。

【 0 0 1 1 】

特に開環には、カンプトテシンが 2 つの異なる形態で存在するという問題がある。天然カンプトテシンは S - 立体配置を有し、R - 異性体よりも 10 倍 ~ 100 倍生物学的に活性である。S - 立体配置のラクトン形態が、抗腫瘍活性に必要であると考えられ、カルボン酸形態は通常臨床毒性に関連する。この分子は水溶液中で平衡状態で存在する。この平衡は pH 依存性である。生理学的 pH、すなわち 7 又はそれ以上で、平衡式は以下の通りである：

【 0 0 1 2 】

【 化 2 】



【 0 0 1 3 】

より高い pH でのカンプトテシンの生物学的に活性のあるラクトン環と水との加水分解反応により、生物学的に不活性の開環型が得られる。さらに、主要なヒト血清アルブミン (HSA) が優先的にカルボン酸形態と結合し、ラクトン / カルボン酸平衡を不活性形態に移行させるため、C P T 及びその類似体の加水分解の問題はヒト血液において悪化する (非特許文献 31、非特許文献 32、非特許文献 33)。したがって、腫瘍細胞が S 期を繰り返すのに十分な時間、分子のラクトン環を保護することが大きな課題であり、また多くの研究の焦点となっている。

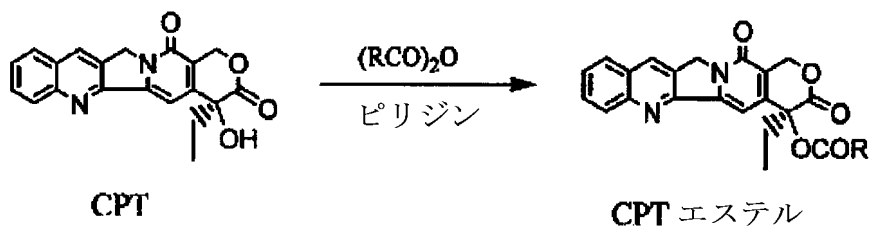
【 0 0 1 4 】

生物学的活性が増大し、且つ安定性が向上したカンプトテシンの誘導体を提供するために多くの試みが為されている。これらの化合物の多くは、分子の A 環、B 環及び C 環上に修飾を有する生成物であるが、これらの修飾はほとんど、生理学的条件下ではラクトン環の安定性を向上させない。他のアプローチの方が上手くいっている。例えば、20 - OH 基のアシル化は、ラクトン環 E の保護に有用なツールを与える。特許文献 1 は、水溶性を有するアシル化カンプトテシン化合物を幾つか記載しているが、ラクトンは生理学的条件下で無傷のままでは残ることができない。特許文献 2 は、有効な抗腫瘍剤である C P T 誘導体を開示している。

【 0 0 1 5 】

カンプトテシンエステルを調製するための多くの様々な反応が文献内で報告されている

。
【 0 0 1 6 】
【 化 3 】



10

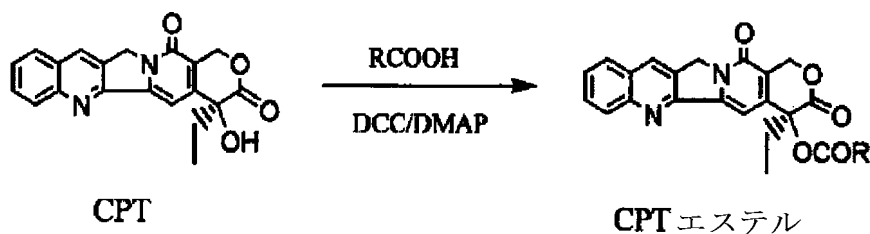
【 0 0 1 7 】
触媒としてピリジンを用いる有機酸無水物によるカンプトテシンの直接アシル化を、アルキル及びアルケニルカンプトテシンエステルを調製するのに利用した（上記のように）。この反応により通常高収率が得られるが、有機酸無水物のアベイラビリティが反応の範囲を制限している。

【 0 0 1 8 】
したがって、ジシクロヘキシルカルボジイミド（DCC）/ジメチルアミノピリジン（DMAP）試薬系を、カルボン酸とアルコール及びチオールとのアシル化反応に使用した。

【 0 0 1 9 】
これまでは、芳香族カンプトテシンエステルを調製する方法を使用してきた（下記のように）。

20

【 0 0 2 0 】
【 化 4 】



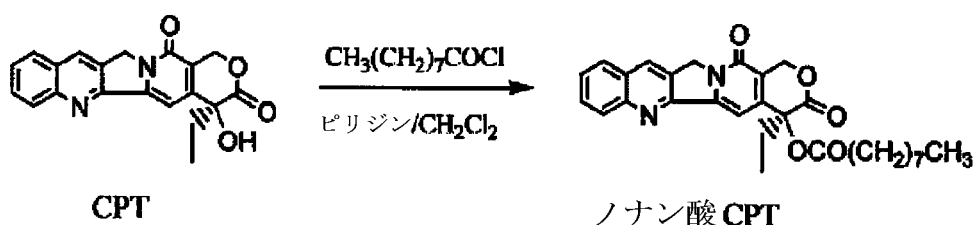
30

【 0 0 2 1 】
しかしながら、このやり方は、カルボン酸が非常に求電子的である場合しか良好な反応収率が得られない。酸の求電子性が低い場合、反応収率は低く、期待される生成物が全く得られない。例えば、このやり方を用いて、プロピオン酸カンプトテシンを調製するのにプロピオン酸を使用する場合、エステル生成物はほとんど得られず、出発カンプトテシンがほぼ 100% 回収された。

【 0 0 2 2 】
ノナン酸塩化物を、塩化メチレンにおける HCl 捕捉剤としてピリジンを用いてカンプトテシンをエステル化するアシル化剤としても使用した。反応（下記のように）は低収率（6%）で起こった。

40

【 0 0 2 3 】
【 化 5 】



50

【 0 0 2 4 】

カンプトテシンの固有の構造的特徴は、癌研究者らがより良好な抗癌剤を得るために構造を修飾するための理想的なプラットフォームを与えるので、多くの異なるカンプトシンエステルが合成され、評価されている。エステル化生成物が、身体内の分子の生物学的寿命を大きく増大させることが分かっている。合成カンプトテシンエステルによるヌードマウスにおける異種移植片で成長したヒト腫瘍の治療が有効であり、マウスにおける毒性が最小になることも分かっている（非特許文献 3 4、非特許文献 3 5）。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 2 5 】

【 特許文献 1 】 米国特許第 4 , 9 4 3 , 5 7 9 号明細書

【 特許文献 2 】 米国特許第 5 , 9 6 8 , 9 4 3 号明細書

【 非特許文献 】

【 0 0 2 6 】

【 非特許文献 1 】 Van Kuilenburg ABP, Haasjes J, Richel DJ et al. Clinical implications of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency in patients with severe 5-fluorouracil-associated toxicity: identification of new mutations in the DPD gene. *Clinical Cancer Res* 2000, 6:4705-4712.

【 非特許文献 2 】 Van Kuilenburg ABP, Muller EW, Haasjes J et al. Lethal outcome of a complete dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency after administration of 5-fluorouracil: frequency of the common IVS14+1G>A mutation causing DPD deficiency. *Clin Cancer Res* 2001, 7:1149-1153

【 非特許文献 3 】 DeVita VT, Hellman S, and Rosenberg SA. *Cancer, Principles and Practice of Oncology*, 7th Ed, Lippincott Williams & Wilkins 2005, 335

【 非特許文献 4 】 Cvitkovic E, Spaulding J, Bethune V, et al. Improvement of cis-dichlorodiamineplatinum (NSC 119875): therapeutic index in an animal model. *Cancer* 1977, 39, 1357.

【 非特許文献 5 】 Hayes D, Cvitkovic E, Golbey R, et al. High dose cis-platinum diamine dichloride: amelioration of renal toxicity by mannitol diuresis. *Cancer* 1977, 39, 1372

【 非特許文献 6 】 Evens B, Raju K, Calvert A, et al. Phase II study of JM8, a new platinum analogue, in advanced ovarian carcinoma. *Cancer Treat. Rep.*, 67, 997, 1983

【 非特許文献 7 】 Huinink W, Gore M, Carmichael J, et al. Topotecan versus paclitaxel for the treatment of recurrent epithelial ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1997, 15, 2183

【 非特許文献 8 】 Schiller JH, Adak S, Cella D, et al. Topotecan versus observation after cisplatin plus etoposide in extensive-stage small-cell lung cancer: E7593-a phase II trial of the Eastern Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 2001, 19, 2114

【 非特許文献 9 】 von Pawel J, Schiller JH, Shepherd FA, et al. Topotecan versus cyclophosphamide, doxorubicin, and vincristine for the treatment of recurrent small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 1999, 17, 658

【 非特許文献 1 0 】 Pizzolato JF, Saltz LB. The camptothecins. *Lancet* 2003, 361, 2235

【 非特許文献 1 1 】 Miller AA, Lilienbaum RC, Lynch TJ, et al. Treatment-related fatal sepsis from topotecan/cisplatin and topotecan/paclitaxel. *J Clin Oncol* 1996, 14, 1964

【 非特許文献 1 2 】 Saltz LB, Cox JV, Blanke C, et al. Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. Irinotecan study group. *N Engl J*

10

20

30

40

50

Med 2002, 343, 905

【非特許文献 1 3】Douillard JY, Cunningham D, Roth AD, et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicenter randomized trial. Lancet 2000, 355, 1041

【非特許文献 1 4】J. Am. Chem. Soc. 88, 3888, 1966

【非特許文献 1 5】Heckendorf et al., J. Org. Chem. 41, 2045, 1976

【非特許文献 1 6】Chem. Rev. 23, 385, 1973

【非特許文献 1 7】Cancer Treat. Rep. 60, 1007, 1967

【非特許文献 1 8】Gottlieb et al., Cancer Chemother. Rep. 54, 461, 1970, and 56, 103, 1972

10

【非特許文献 1 9】Muggia et al., Cancer Chemother. Rep. 56, 515, 1972

【非特許文献 2 0】Moertel et al., Cancer Chemother. Rep. 56, 95, 1972

【非特許文献 2 1】Schaeppi et al., Cancer Chemother. Rep. 5:25, 1974

【非特許文献 2 2】Wall et al., In International Symposium on Biochemistry And Physiology of The Alkaloids, Mothes et al., eds., Akademie - Verlag, Berlin, 77, 1969

【非特許文献 2 3】Giovanello et al., Cancer Res. 51, 3052, 1991

【非特許文献 2 4】Wall et al., Ann. Rev., Pharmacol. Toxicol. 17, 117, 1977

【非特許文献 2 5】Hsiang YH, Liu LF. Identification of mammalian DNA topoisomerase I as an intracellular target of anticancer drug camptothecin. Cancer Res 1988, 48, 1722

20

【非特許文献 2 6】Takimoto CH, Arbuck SG. Topoisomerase I targeting agents: the camptothecins. In: Chabner BA, Longo DL, eds., Cancer therapy & biotherapy: principles and practice, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2001, 579

【非特許文献 2 7】Giovanello et al., Science, 246, 1046, 1989

【非特許文献 2 8】Stehlin et al., In Camptothecins: New Anticancer Agents, 1995, CRC Press, pp. 59-65

【非特許文献 2 9】Pantazis et al., Cancer Res. 53:1577, 1993

【非特許文献 3 0】Pantazis et al., Int. J. Cancer 53:863, 1995

【非特許文献 3 1】J. Biochem., 212, 285-287, 1993

30

【非特許文献 3 2】Biochemistry, 33, 10325-10336, 1994

【非特許文献 3 3】Biochemistry, 33, 12540-12545, 1994

【非特許文献 3 4】Cao, Z.; Pantazis, P.; Mendoza, J.; Early, J.; Kozielski, A.; Harris, N.; Vardeman, D.; Liehr, J.; Stehlin, J.; Giovanello, B. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2000, 922, 122

【非特許文献 3 5】Cao, Z.; Pantazis, P.; Mendoza, J.; Early, J.; Kozielski, A.; Harris, N.; Giovanello, B. Acta Pharmacologica Sinica 2003, 24, 109

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0027】

40

カンプトテシンエステルを調製するのに多くの方法が存在するが、それぞれのやり方には、上述したような或る特定の制限がある。したがって、母化合物である CPT の抗腫瘍活性を保ち、CPT よりも毒性が極めて低く、またカンプトテシンエステルを調製する代替的なやり方（複数可）によっても生成することができるカンプトテシンエステルを開発する必要性が依然として存在する。

【0028】

したがって、本発明の特徴は、広範な抗腫瘍活性を示し、且つ好ましくは観察できる毒性が低い又はない結晶性カンプトテシンエステル水和物を提供することである。

【0029】

本発明の別の特徴は、今日使用されるほとんどの抗癌剤よりも治療指数範囲が広い結晶

50

性カンプトテシンエステル水和物を提供することである。

【0030】

本発明の別の特徴は、結晶性カンプトテシンエステル水和物を調製する、安全且つ単純な方法を提供することである。

【0031】

本発明のさらなる特徴は、母化合物であるCPTと同程度の有意な抗腫瘍活性を保ち、その母化合物よりもずっと毒性が低い結晶性カンプトテシンエステル水和物を提供することである。

【0032】

本発明のさらに別の特徴は、生体において良好な吸収性を保有する結晶性カンプトテシンエステル水和物を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0033】

これらの特徴を達成するために、また本発明の目的に従って、本明細書中で具体化され、広く記載されているように本発明は、結晶性カンプトテシンエステル水和物、例えばカンプトテシンの結晶性脂肪族エステル水和物、例えば結晶性カンプトテシン20-O-プロピオネート(「CZ48」)水和物と、カンプトテシンの結晶性脂肪族エステル水和物を含む医薬組成物と、結晶性カンプトテシンエステル水和物を使用して癌又は悪性腫瘍を治療する方法と、カンプトテシン化合物を、少なくとも1つの酸によってプロトン化された、少なくとも1つのアシル化剤と反応させることを含む、水和結晶性カンプトテシンエステルを生成する方法とに一部関する。

【0034】

本発明のさらなる特徴及び利点は、以下の説明で一部記載され、その説明から一部明らかになるか、又は本発明の実施により知ることができる。本発明の目的及び他の利点は、その説明及び添付の特許請求の範囲で具体的に指摘される要素及び組合せによって実現及び到達される。

【0035】

本願を通して言及される特許、特許出願及び出版物は全て、その全体が本明細書中に参照により援用され、本願の一部を形成する。

【0036】

上述の概要及び以下の詳細な説明は共に、例示的且つ説明的であるにすぎず、特許請求される本発明のさらなる解釈を与えることが意図されることを理解すべきである。

【図面の簡単な説明】

【0037】

【図1】生成物の単一分子のORTEP図である。

【図2】水架橋によって連結した、2分子の結晶性カンプトテシン20-O-プロピオネート水和物を示すORTEP図である。

【図3】結晶性カンプトテシン20-O-プロピオネート水和物の三次元構造(a次元、b次元)を示すORTEP図である。

【図4】結晶性カンプトテシン20-O-プロピオネート水和物の三次元構造(a次元、c次元)を示すORTEP図である。

【図5】結晶性カンプトテシン20-O-プロピオネート水和物の三次元構造(b次元、c次元)を示すORTEP図である。

【発明を実施するための形態】

【0038】

カンプトテシン(「CPT」)は、相当の抗腫瘍及び抗癌活性を有するが、これらの化合物は、通常の生理学的条件下で分解されやすく、また生成される代謝産物は毒性を示すことが多い。研究所で行われたヒト血漿におけるカンプトテシンの代謝試験により、代謝産物は、毒性があり且つ不活性な開環カルボン酸ナトリウム塩しか検出されなかったことが示された。ヒト血漿におけるCPTに関する薬物動態測定により、ラクトン環が無傷の

10

20

30

40

50

薬物の半減期はおよそ 30 分であることが示されている。これらの結果は、この薬物は、患者が摂取した後、非常に短期間でその活性の 90 % が失われ、多くの毒性を生じること示唆している。

【0039】

本発明によれば、より脂溶性で且つ水和した結晶性エステル分子に変換される CPT (以下プロドラッグと呼ぶ場合もある) が開示される。患者が摂取すると、プロドラッグは迅速に患者の血流へと入り、容易に身体内で親化合物へと変換される。プロドラッグ自体に活性があってもよく、及び / 又は部分的又は完全に変換され得ることに留意する。

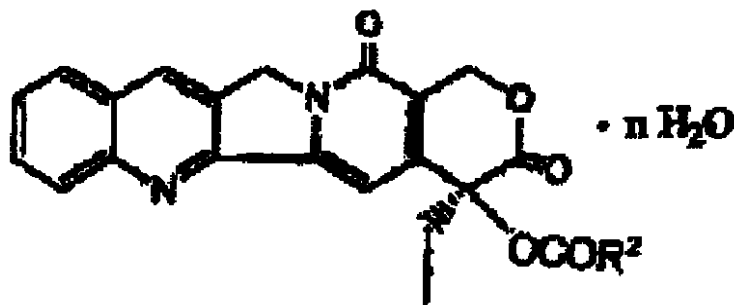
【0040】

様々な実施形態によれば、本発明の化合物は、式：

10

【0041】

【化 6】



20

【0042】

を有する水和形態での CPT の結晶性脂肪族エステルを含み得る。この式では、 n は、1 ~ 10 又はそれ以上の範囲の任意の数、例えば 1、2、3、4、5、6、7、8、9 又は 10 を表し得る。 R^2 は、 $C_2 \sim C_6$ アルキル基、例えば $C_2 \sim C_4$ アルキル基を表す。1 つ又は複数の実施形態では、 R^2 は、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ 又は $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ である。1 つ又は複数の特定の実施形態では、 n は 3 を表し、 R^2 は $-CH_2CH_3$ 又は $-CH_2CH_2CH_3$ である。

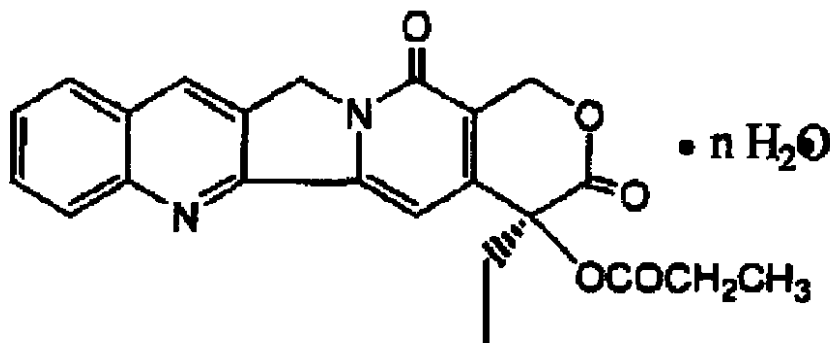
30

【0043】

少なくとも 1 つの実施形態によれば、本発明の化合物は、以下に示す式を有する結晶性カンプトテシン 20 - O - プロピオネート水和物を含み得る：

【0044】

【化 7】



40

【0045】

この式では、 n は、1 ~ 10 の範囲の任意の数、例えば 1、2、3、4、5、6、7、8、9 又は 10 を表し得る。

50

【0046】

例えば、結晶性カンプトテシン20-プロピオネート水和物の構造を、単結晶X線分析によって決定し、図1～図5に示す。図1は、生成物の単一分子のORTEP図を示す。1分子のカンプトテシン20-O-プロピオネートと約3分子の水とが、強い水素結合を介して連結している。結晶単位における2分子以上のカンプトテシン20-O-プロピオネートは、H₂O分子から成る架橋を介して互いに連結され得る。図2は、水架橋によって連結した、2分子のカンプトテシン20-O-プロピオネートを示す。図3～図5は、結晶の三次元構造を示す。本発明の他のCPTエステルは、エステル鎖長以外は同じ構造を有する。

【0047】

10

本発明のプロドラッグは、液体状態又は固体状態であり得る。本発明によれば、この化合物は結晶性である。少なくとも幾つかの実施形態によれば、本発明の化合物は、結晶性であるか、又は構成原子、分子若しくはイオンが規則正しく密集し、3つ全ての空間方向に伸びるパターンを繰り返す固体であり得る。この結晶は、(0.10～0.50)×(0.01～0.10)×(0.01～0.05)mm³の大きさ、及び100³～5000³の体積、例えば200³～4500³又は500³～4000³又は750³～3500³又は1000³～3000³又は1250³～2500³又は1500³～2200³の体積を有する単斜晶系であり得る。

【0048】

20

本明細書中で使用される「結晶性材料」は、特定の化合物（水和及び/又は溶媒和していてもよい）を含有し、且つXRPD又は他の回析法により識別できる回析パターンを示すのに十分な結晶含量を有する材料を表す。大抵、溶液中に溶解した化合物の直接的な結晶化、又は様々な結晶化条件下で得られる結晶の相互変換により溶媒から得られる結晶性材料は、結晶性溶媒和物と呼ばれる溶媒を含有する結晶を有する。結晶の特性の例としては、結晶内での互いに対する化合物の化学的部分（chemical moieties）の配向と、溶媒組成物における酸の存在によって支持される、特定形態の化合物の優位性とが挙げられる。

【0049】

30

少なくとも1つの実施形態によれば、本発明の化合物の純度は、AUC（曲線下面積）で約90%～約100%であり得る。幾つかの実施形態によれば、本発明の化合物の純度は、AUCで約95%～約100%であり得る。少なくとも1つの実施形態によれば、本発明の化合物の純度は、AUCで約99%～約100%、例えば全てAUCで、99.3%～99.999%、99.5%～99.999%、99.75%～99.999%、99.85%～99.999%であり得る。少なくとも1つの実施形態によれば、本発明の化合物の融点は、約240～約243、例えば242又は約242であり得る。この融点（複数可）は特に、R²が-CH₂CH₃である結晶性エステル水和物で好ましい。本発明の化合物の融点は、R²がCH₃基又はC₃H₇基又はC₄H₉基又はC₆H₁₃基である場合に上記の範囲より低く又は高くなり得る。

【0050】

40

様々な実施形態によれば、本発明は、S-立体配置、R-立体配置、及び/又はS-異性体とR-異性体との両方のラセミ混合物を有するCPTの結晶性脂肪族エステル水和物を含み得る。幾つかの実施形態によれば、天然カンプトテシン由来のCPTの結晶性脂肪族エステル水和物は、S-立体配置だけを有するか、又は主として、例えば90%以上、95%以上、98%以上、99%以上、又は99%～99.99% S-立体配置を有する。

【0051】

母化合物であるCPTへのプロドラッグの変換は、ヒトを含む多くの動物の血液中に存在するエステラーゼと呼ばれる酵素群によって媒介され得る。送達後、プロドラッグが短時間で身体中に迅速に分配されるので、これらの化合物は母化合物であるカンプトテシンが放出される酵素的加水分解を受けるときには、非常に低濃度でしか存在せず、このこと

50

がCPTが血流中に沈殿するのを防ぐ。

【0052】

したがって、本発明は、好ましくはより長期間ヒト又は動物の身体、特にヒトの身体において無傷を保つことにより、不要な副作用もなく抗腫瘍作用及び抗癌作用を高める水和結晶性CPT誘導体又は類似体を提供する。

【0053】

本発明は、任意に1つ又は複数の薬学的に許容可能な担体、賦形剤、希釈剤又はアジュバントと組合せて、1つ又は複数の本発明の化合物を薬学的に有効な量含有する医薬組成物も提供する。例えば、本発明の化合物は、錠剤、ピル、混合粉末、カプセル、注射物質、溶液、坐剤、エマルジョン、分散剤の形態で、食品に予め混ぜる形で、及び他の好適な形態で配合してもよい。これらは、滅菌性の固体組成物の形態で、例えば凍結乾燥し、所望に応じて他の薬学的に許容可能な賦形剤と組合せて作製してもよい。かかる固体組成物は、非経口投与による使用の直前に滅菌水、生理食塩水又は水と有機溶媒（例えばプロピレングリコール、エタノール等）との混合物、又は幾つかの他の滅菌性の注射用媒体を用いて再構成することができる。

【0054】

薬学的に許容可能な担体の典型的な例は、マンニトール、尿素、デキストラン、ラクトース、非還元糖類、ジャガイモデンプン及びトウモロコシデンプン、ステアリン酸マグネシウム、タルク、植物油、ポリアルキレングリコール、エチルセルロース、ポリ（ビニル・ピロリドン）、炭酸カルシウム、オレイン酸エチル、ミリスチン酸イソプロピル、安息香酸ベンジル、炭酸ナトリウム、ゼラチン、炭酸カリウム、ケイ酸である。医薬調製物は、乳化剤、保存剤及び/又は湿潤剤等の非毒性補助物質、例えばモノラウリン酸ソルビタン、オレイン酸トリエタノールアミン、モノステアリン酸ポリオキシエチレン、トリパルミチン酸グリセリル、ジオクチルスルホコハク酸ナトリウム等を含含有してもよい。

【0055】

「薬理組成物」は、本明細書中に記載の化合物又はその薬学的に許容可能な塩の1つ又は複数と、他の化学成分、例えば薬学的に許容可能な担体及び/又は賦形剤との混合物を表す。薬理組成物の目的は、化合物を生物に投与するのを容易にすることである。

【0056】

本明細書中に使用される「薬学的に許容可能な担体」という語句は、薬学的に許容可能な材料、組成物又はビヒクル、例えば液体若しくは固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、溶媒又はカプセル封入材料を意味し、或る器官、すなわち身体の或る部分から、別の器官、すなわち身体の別の部分へと対象の抗癌剤を運ぶ又は輸送するのに関与する。それぞれの担体は、製剤の他の成分と相溶性であり、患者にとって有害ではないという意味で「許容可能」でなければいけない。薬学的に許容可能な担体として役立ち得る材料の幾つかの例としては、（1）糖類、例えばラクトース、グルコース及びスクロース、（2）デンプン、例えばコーンスターチ及びジャガイモデンプン、（3）セルロース及びその誘導体、例えばカルボキメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース及び酢酸セルロース、（4）トラガカント粉末、（5）麦芽、（6）ゼラチン、（7）タルク、（8）賦形剤、例えばココアバター及び坐剤ワックス、（9）油、例えばピーナッツ油、綿実油、サフラワー油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油及びダイズ油、（10）グリコール、例えばプロピレングリコール、（11）ポリオール、例えばグリセリン、ソルビトール、マンニトール及びポリエチレングリコール、（12）エステル、例えばオレイン酸エチル及びラウリン酸エチル、（13）寒天、（14）緩衝剤、例えば水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウム、（15）アルギン酸、（16）発熱物質無含有水、（17）等張食塩水、（18）リンガー液、（19）エチルアルコール、（20）リン酸緩衝溶液、並びに（21）医薬製剤に用いられる他の非毒性の相溶性物質が挙げられる。生理学的に許容可能な担体は、生物に対し有意な炎症を引き起こすことなく、投与化合物の生物学的活性及び特性を破壊しない。

【0057】

「賦形剤」は、化合物の投与をさらに容易にするために、薬理組成物に添加される不活性物質を表し得る。賦形剤の例としては、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、様々な糖類及び様々な種類のデンプン、セルロース誘導体、ゼラチン、脂肪、脂質、植物油及びポリエチレングリコールが挙げられるが、これらに限定されない。

【0058】

「薬学的に有効な量」は付加的に又は代替的に、治療的及び／又は予防的效果を与えることが可能な量を意味し得る。治療的及び／又は予防的效果を得るために本発明に従って投与される化合物の特定用量は、当然のことながら例えば、投与される特定の化合物、投与経路、治療される病態、及び治療される個体を含む症例を取り巻く特定の状況によって決定される。典型的な日用量（単一用量又は分割用量で投与される）は、体重1kg当たり約0.01mgから約50mg～100mgまでの投与量レベルの本発明の活性化合物を含有する。日用量は、約0.05mg/kgから約20mg/kgまで又は約0.1mg/kgから約10mg/kgまでであり得る。

10

【0059】

幾つかの実施形態において、好ましい治療効果は、増殖性障害、例えば乳癌又は膵臓癌の特徴である細胞の成長を或る程度まで阻害することである。また治療効果は通常、細胞成長以外の症状の1つ又は複数を或る程度まで軽減するか、又は細胞集団の大きさを低減するが、必ずしもそのようなものである必要はない。治療効果には、例えば1)細胞数の減少、2)細胞の大きさの低減、3)例えば癌転移の場合での末梢器官への細胞浸潤の阻害（すなわち或る程度までの遅延化、好ましくは停止）、3)腫瘍転移の阻害（すなわち或る程度までの遅延化、好ましくは停止）、4)細胞成長の或る程度までの阻害、及び／又は5)障害に関連する1つ又は複数の症状の或る程度までの軽減の1つ又は複数が含まれ得る。

20

【0060】

また本発明の方法に使用される医薬組成物は、経口使用に適した形態で、例えば錠剤、トローチ、ロゼンジ、水性若しくは油性の懸濁液、分散性の粉末若しくは顆粒、エマルション、硬カプセル若しくは軟カプセル、又はシロップ又はエリキシルとして活性成分を含有し得る。経口用の組成物を医薬組成物の製造に関して当該技術分野で既知の任意の方法に従って調製してもよく、かかる組成物には、甘味剤、香味剤、着色剤及び／又は保存剤が含有されていてもよい。錠剤は、錠剤の製造に適した非毒性の薬学的に許容可能な賦形剤と混ぜ合わせて、活性成分を含有することができる。これらの賦形剤は、例えば不活性希釈剤、例えば炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、ラクトース、リン酸カルシウム又はリン酸ナトリウム；造粒剤及び崩壊剤、例えば微小結晶性セルロース、クロスカルメロース（crosscarmellose）ナトリウム、コーンスターチ又はアルギン酸；結合剤、例えばデンプン、ゼラチン、ポリビニルピロリドン又はアカシア；及び滑沢剤、例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸又はタルクであり得る。錠剤は、コーティングしなくても、又は薬物の風味を隠すため、若しくは胃腸管における崩壊及び吸収を遅らせることにより、より長期間持続した作用を与えるために既知の技法によりコーティングしてもよい。例えば、ヒドロキシプロピルメチル-セルロース若しくはヒドロキシプロピルセルロース等の水溶性の風味マスキング材料、又はエチルセルロース若しくは酢酸酪酸セルロース等の時間遅延材料を必要に応じて用いてもよい。

30

40

【0061】

経口用の製剤は、活性成分を不活性の固体希釈剤、例えば炭酸カルシウム、リン酸カルシウム若しくはカオリンと混合する硬ゼラチンカプセル、又は活性成分を、ポリエチレングリコール若しくは油媒体、例えばピーナッツ油、液体パラフィン若しくはオリーブ油等の水溶性担体と混合する軟ゼラチンカプセルとしても与えられ得る。

【0062】

水性懸濁液は、水性懸濁液の作製に適した賦形剤と混ぜ合わせて活性材料を含有することができる。かかる賦形剤は、懸濁化剤、例えばカルボキメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチル-セルロース、アルギン酸ナトリウム、ポ

50

リビニル - ピロリドン、トラガカントゴム及びアカシアゴムであり、分散剤又は湿潤剤は、天然のリン脂質、例えばレシチン、又はアルキレンオキシドと脂肪酸との縮合生成物、例えばステアリン酸ポリオキシエチレン、又はエチレンオキシドと長鎖脂肪族アルコールとの縮合生成物、例えばヘプタデカエチレン - オキシセタノール、又はエチレンオキシドと脂肪酸及びヘキシトールに由来する部分エステルとの縮合生成物、例えばモノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビトール、又はエチレンオキシドと脂肪酸及び無水ヘキシトールに由来する部分エステルとの縮合生成物、例えばモノオレイン酸ポリエチレンソルビタンであり得る。また水性懸濁液は、1つ又は複数の保存料、例えばp - ヒドロキシ安息香酸エチル、又はp - ヒドロキシ安息香酸n - プロピルと、1つ又は複数の着色剤と、1つ又は複数の香味剤と、1つ又は複数の甘味剤、例えばスクロース、サッカリン又はアスパル

10

【0063】

油性懸濁液は、活性成分を植物油、例えばラッカセイ油、オリーブ油、ゴマ油若しくはココナツ油、又は液体パラフィン等の鉱油中で懸濁させることにより配合し得る。油性懸濁液は、増粘剤、例えば蜜蝋、固形パラフィン又はセチルアルコールを含有し得る。上記のような甘味剤及び香味剤を、口当たりの良い (palatable) 経口調製物を与えるために添加してもよい。これらの組成物は、ブチル化ヒドロキシアニソール又は - トコフェロール等の抗酸化剤の添加により保存することができる。

【0064】

水の添加による水性懸濁液の調製に適した分散性の粉末及び顆粒は、分散剤又は湿潤剤、懸濁化剤及び1つ又は複数の保存料と混ぜ合わせて活性成分を提供する。好適な分散剤又は湿潤剤及び懸濁化剤は、既に上述されたもので例示されている。さらなる賦形剤、例えば甘味剤、香味剤及び着色剤も存在していてもよい。これらの組成物は、アスコルビン酸等の抗酸化剤の添加により保存することができる。

20

【0065】

また本発明の方法に使用される化合物及び医薬組成物は水中油型エマルションの形態であり得る。油相は植物油、例えばオリーブ油若しくはラッカセイ油、又は鉱油、例えば液体パラフィン、又はこれらの混合物であり得る。好適な乳化剤は、天然のリン脂質、例えばダイズレシチン、並びに脂肪酸及び無水ヘキシトールに由来するエステル若しくは部分エステル、例えばモノオレイン酸ソルビタン、並びに該部分エステルとエチレンオキシドとの縮合生成物、例えばモノオレイン酸ポリオキシエチレンソルビタンであり得る。またエマルションは、甘味剤、香味剤、保存料及び/又は抗酸化剤を含有していてもよい。

30

【0066】

シロップ及びエリキシルを、甘味剤、例えばグリセロール、プロピレングリコール、ソルビトール又はスクロースと共に配合してもよい。またかかる製剤は、鎮痛薬、保存料、香味剤及び着色剤、並びに抗酸化剤を含有していてもよい。

【0067】

医薬組成物は、滅菌性の注射用水溶液の形態であり得る。用いられ得る許容可能なビヒクル及び溶媒の中には水、リンガー液及び等張の塩化ナトリウム溶液がある。

【0068】

また滅菌性の注射用調製物は、活性成分が油相に溶解している滅菌性の注射用水中油型マイクロエマルションであり得る。例えば、初めに活性成分をダイズ油とレシチンとの混合物中に溶解し得る。それから、油溶液を水とグリセロールとの混合物に入れ、マイクロエマルションを形成するように処理した。

40

【0069】

医薬組成物は、筋肉内投与及び皮下投与のために滅菌性の注射用水性又は油性懸濁液の形態であってもよい。この懸濁液は、上述されているような好適な分散剤又は湿潤剤及び懸濁化剤を使用する既知の従来技術に従って配合することができる。また滅菌性の注射用調製物は、非毒性の非経口的に許容可能な希釈剤又は溶媒の滅菌性注射溶液又は懸濁液、例えば1, 3 - ブタンジオール溶液であり得る。さらに、滅菌性の固定油を溶媒又は懸濁

50

化媒体として従来的に利用する。このために、合成モノグリセリド又はジグリセリドを含む任意の無刺激性固定油を用いてもよい。さらに、オレイン酸等の脂肪酸が注射物質の調製に有用である。

【0070】

また本発明の方法に使用される本発明の化合物を薬物の直腸投与のために坐剤形態で投与してもよい。これらの組成物は、阻害剤を、常温で固体であるが、直腸温度で液体であるため、直腸で溶解し薬物を放出する好適な非刺激性賦形剤と混合することにより調製することができる。かかる材料としては、ココアバター、グリセロゼラチン、硬化植物油、様々な分子量のポリエチレングリコールとポリエチレングリコールの脂肪酸エステルとの混合物が挙げられる。

10

【0071】

局所使用のために、本発明の化合物又は組成物を含有するクリーム、軟膏、ゼリー、溶液又は懸濁液等を使用することができる。本明細書中に使用されるように、局所適用には、口内洗浄液及びうがい薬が含まれ得る。

【0072】

本発明の方法に使用される化合物は、好適な鼻腔内ビヒクル及び送達器の局所使用により鼻腔内形態で、又は当業者に既知の形態の経皮パッチを使用して経皮経路で投与することができる。経皮送達系形態で投与することにより当然ながら、調剤の投与は投与計画を通して断続的ではなく継続的なものになる。

【0073】

20

また本発明の方法、化合物及び組成物を、治療される病態に対するそれらの特定の有用性に関して選択される他の既知の治療剤と併せて使用してもよい。例えば、本発明の化合物は、既知の抗癌剤及び細胞毒性剤と組み合わせて有用であり得る。さらに、本発明の方法及び化合物はまた、細胞表面の成長因子受容体を、細胞増殖を起こす核シグナルと結び付けるシグナル伝達経路の一部の他の阻害剤と組み合わせて有用であり得る。

【0074】

本発明の一態様は、温血動物において癌を治療するのに有用な医薬組成物であり、この組成物は、薬学的に許容可能な賦形剤と組み合わせて、本明細書で規定されるような本発明の化合物を少なくとも1つ含む。この組成物を既知の配合法に従って調製し、経口、局所、経皮、直腸、吸引による、非経口（静脈内、筋肉内又は腹腔内）投与等に適した組成物を提供する。本発明の組成物を調製するための詳細なガイダンスは、Remington's Pharmaceuticalの第18版又は第19版（Sciences, Published by the Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18040）を参照することにより見出される。関連部分が参照により本明細書中に援用される。

30

【0075】

単位用量又は反復投与形態が考慮され、それぞれ或る特定の臨床状況において利点がある。単位用量は、癌を治療する状況で所望の効果（複数可）をもたらすように算出された所定量の活性化化合物を含有する。反復投与形態は、所望の目的を達成するのに複数回の単一用量、又は分割用量が必要である場合に特に有用であり得る。これらの投与形態のいずれかの詳細は、特定の化合物の特有の特徴と、達成される特定の治療効果と、癌の治療のために特定の化合物を調製する当該技術分野で固有の任意の制限とにより決定されるか、又はこれらに直接依存する。

40

【0076】

単位用量は、被験者において癌を治療するのに十分な治療的に有効な量を含有することができ、約1.0mg～1000mg、例えば約50mg～500mgの化合物を含有し得る。

【0077】

化合物を摂取用錠剤、口腔錠、カプセル、カプレット、エリキシル、懸濁液、シロップ、トローチ、ウェハ、ロゼンジ等として好適な製剤中に経口投与することができる。一般的には、最も単純な製剤は錠剤又はカプセルである（「経口投与単位」として個別に又は

50

集合的に称される)。好適な製剤は、化合物の特徴を適切な組成物を配合するのに利用可能な賦形剤に適合させる利用可能な標準的配合法に従って調製される。錠剤又はカプセルは約50mg～約500mgの本発明の化合物を含有する。

【0078】

この形態は迅速に化合物を送達しても、又は持続放出調製物であってもよい。化合物を硬カプセル又は軟カプセルに封入してもよく、錠剤に圧縮してもよく、又は飲食物若しくは別の形で食事に組み込んでよい。当然ながら最終組成物と調製物との比率を変えてもよく、最終的な形態、例えば錠剤の1重量%～90重量%の範囲が好都合であり得る。このような治療的に有用な組成物の量は、好適な投与量が得られるようなものである。本発明による組成物を、経口投与単位形態が50mg～1000mgの重量の投与単位において約5重量%～約50重量%(%w)を含有するように調製することができる。

10

【0079】

また経口投与単位の好適な製剤は、結合剤、例えばトラガカントゴム、アカシア、コーンスターチ、ゼラチン；甘味剤、例えばラクトース又はスクロース；崩壊剤、例えばコーンスターチ、アルギン酸等；潤滑剤、例えばステアリン酸マグネシウム；又は香味剤、例えばペパーミント、ウィンターグリーン油等を含有し得る。様々な他の材料が、コーティングとして、又はそうでなければ経口投与単位の物理的形態を変更するために存在し得る。経口投与単位は、セラック、糖類又はその両方でコーティングしてもよい。シロップ又はエリキシルは、以下の化合物、甘味剤としてスクロースと、保存料、染料及び香味料としてメチルパラベン及びプロピルパラベンとを含有していてもよい。用いられる任意の材料は、薬学的に許容可能であり、且つ実質的に非毒性である必要がある。有用な賦形剤の種類の詳細は、「Remington: The Science and Practice of Pharmacy」の第19版(Mack Printing Company, Easton, Pa)に見出され得る。特に詳述の第91章～第93章を参照されたい。

20

【0080】

化合物を非経口、例えば静脈内、筋肉内、静脈内、皮下又は腹腔内(interperitoneally)で投与してもよい。担体又は賦形剤又は賦形剤混合物は、例えば様々な極性若しくは非極性の溶媒、それらの好適な混合物、又は油を含有する溶媒又は分散性媒体であり得る。本明細書中で使用される「担体」又は「賦形剤」は、薬学的に許容可能な担体又は賦形剤を意味し、ありとあらゆる溶媒、分散剤又は分散性媒体、コーティング(複数可)、抗菌剤、等張/低張/高張剤、吸収調節剤等を含む。かかる物質及び薬学的に活性のある物質のための作用因子の使用は当該技術分野で既知である。任意の従来の媒体又は作用因子が活性成分と不適合でなければ、治療組成物での使用が考慮される。さらに、他の又は補助的な活性成分を最終組成物に組み込むこともできる。

30

【0081】

化合物の溶液を、水、エタノール、グリセロール、液体ポリエチレングリコール(複数可)、様々な油及び/又はそれらの混合物、及び当業者に既知の他のもの等の好適な希釈剤中で調製してもよい。

【0082】

注射使用に適した医薬形態としては、滅菌性溶液、分散剤、エマルション及び滅菌性粉末が挙げられる。最終形態は製造及び保存条件下で安定でなければいけない。さらに、最終医薬形態は、雑菌混入(contamination)から保護されていなければならず、これにより細菌又は真菌等の微生物の成長を阻害することができる。単一の静脈内又は腹腔内用量を投与することができる。代替的に、緩徐的な長期間注入又は複数回の短期間連日注入を用いてもよく、これは典型的に1日～8日間続ける。また隔日投与又は数日毎に1回の投与を利用してもよい。

40

【0083】

滅菌性の注射溶液を、化合物を1つ又は複数の適切な溶媒に必要量組み込むことにより調製する。必要に応じて、これに上記で挙げられた又は当業者に既知の他の成分を添加してもよい。滅菌性の注射溶液を、必要に応じて、化合物を様々な他の成分と共に適切な溶

50

媒に必要量組み込むことにより調製する。それから濾過等の滅菌法が続く。典型的に、分散液を、分散性媒体及び上記のような要求される他の成分も含有する滅菌性ビヒクルに化合物を組み込むことにより作製する。滅菌性粉末の場合、好ましい方法には、任意の要求される成分を添加する真空乾燥又は凍結乾燥が含まれる。

【0084】

上述されるように全ての場合で、最終形態は滅菌性でなければならず、また中空針等の注射装置を容易に流れることができなければいけない。溶媒又は賦形剤の適切な選択により、適切な粘度を達成及び維持することができる。その上、レシチン等の分子又は粒子コーティングの使用、分散液中の粒径の適切な選択、又は界面活性剤特性を有する材料の使用を利用してよい。

10

【0085】

クロロブタノール、アスコルビン酸、パラベン、セルメロサル (thermerosal) 等の抗菌剤を1つ又は複数添加することにより、微生物の成長の予防又は阻害を達成してもよい。好ましくは、糖類又は塩等の張性を変える作用因子を含み得る。

【0086】

幾つかの場合、例えば、本発明の化合物が水に全く不溶性であれば、リポソーム送達を提供するのが有用であり得る。その系は、本発明の化合物を脂質小胞若しくはリポソーム中に、それら上で若しくはそれらにより、又はミセルにより、組み込むか、カプセル封入するか、取り囲むか、又は捕捉することにより、本発明の化合物を拘束する。

【0087】

20

本発明の1つ又は複数の実施形態において、本発明は、様々な形態の癌、悪性腫瘍、及び/又は癌の前駆体又は悪性腫瘍の前駆体を治療する方法に関する。この方法は、本発明の化合物又は該化合物を含有する組成物を投与することにより、患者において癌又は悪性腫瘍を治療することを含み得る。この方法は、癌又は悪性腫瘍を治療するのに有効な量の本発明の化合物又は該化合物を含有する組成物を投与することであって、癌又は悪性腫瘍が本発明の化合物又は該化合物を含有する組成物を使用する治療に応答性がある、投与することを含み得る。以下にさらに記載されるように、様々な癌及び悪性腫瘍を本発明により治療することができる。本発明の化合物は、癌、悪性腫瘍、新生物又は癌前駆体に関してヒト又は動物患者を治療するのに有効である。具体例としては、白血病、黒色腫、肝臓癌、乳癌、結腸直腸癌、直腸癌、卵巣癌、前立腺癌、胃癌、膀胱癌、線維形成性小円形細胞腫瘍 (DSRCT)、脾臓癌、肺癌、腎臓癌、結腸癌、中枢神経系腫瘍又はそれらの任意の組合せが挙げられるが、これらに限定されない。本明細書中で使用される「悪性腫瘍」という用語は、分化の乏しい形態、中程度に分化した形態及び十分に分化した形態で発生する全ての形態のヒト又は動物の癌腫、肉腫及び黒色腫を包含することが意図される。

30

【0088】

本発明の化合物の別の重要な特徴は、本明細書中の教示に従って投与されるプロドラッグの毒性全体が比較的低い又は見かけ上存在しないことに関する。毒性全体は、様々な基準を用いて判断することができる。例えば、被験者の、最初に記録した(すなわち治療前の)体重の10%を超える体重減少は、毒性の1つの兆候と考えることができる。さらに、被験者における移動性及び活性全体の低下、並びに下痢又は膀胱炎の兆候も毒性の証拠と解釈することができる。

40

【0089】

CPTの結晶性脂肪族エステル水和物は、可変の用量範囲でマウスにおいて毒性は観察できずに広範な活性を示す。治療指数は、膀胱、乳房、結腸、腎臓、肺、黒色腫、脾臓、前立腺、卵巣の癌腫瘍、及び/又は本明細書中で言及される癌のいずれかである腫瘍異種移植片を有するマウスの試験で得られる平均治療指数のように、ヌードマウスで試験することにより決定することができる。さらに、この抗癌剤の治療指数は、腫瘍医により今日臨床的に使用されるほとんどの抗癌剤と比較して大きく改善されている。CPTの結晶性脂肪族エステル水和物の治療指数は、2000 mg/kg が最大耐量であると考え、2~500 (例えば3~500、4~50、3~10、4~15、5~20、8~20、

50

100~200、250~500、500~500、750~500、1000~500、1500~500、2000~500、2500~500、3000~500、3500~500、4000~500、4500~500)の範囲であり得る。しかしながら、臨床腫瘍学で現在使用されているほとんどの抗癌剤に関する治療指数はおよそ1と非常に低い。さらに、現在使用される抗癌剤の中で有効用量で長期間連続して使用することができるものはない。本発明の化合物は、2ヶ月、3ヶ月~12ヶ月、4ヶ月~15ヶ月、5ヶ月~15ヶ月、6ヶ月~24ヶ月、又はそれ以上、毎日又は毎週又は毎月連続して使用することができる。

【0090】

様々な実施形態によれば、CPTの結晶性脂肪族エステル水和物は、薬学的に許容可能な担体又は希釈剤と組み合わせて投与してもよい。例えば、かかる医薬組成物は通常、例えば薬学的に許容可能な塩、緩衝剤、保存料及び/又は相溶性担体を含有していてもよい。本明細書中で使用される「薬学的に許容可能な担体」は、1つ又は複数の相溶性の固体若しくは液体充填剤、希釈剤、又はヒトを含む哺乳動物に投与するのに適したカプセル封入物質を表す。薬学的に許容可能な担体は例えば、1つ又は複数のゼラチンカプセル、コレステロールペレット、脂質及び脂質様エマルジョン(Intralipid 10、Intralipid 20又は天然油)、又は脂溶性化合物に適した他の乳化剤における微小懸濁液であり得る。本発明による医薬組成物に含有される活性成分(CPTの結晶性脂肪族エステル水和物)の量は、投与経路及び化合物が使用される標的の種類(例えば癌の種類)等の多くの因子によって変えてもよい。

【0091】

本発明に従って哺乳動物において悪性腫瘍を治療又は抑制する際に、本発明の化合物又はその医薬組成物は、当業者に既知の手段により、例えば筋肉内、静脈内、経皮又は経口で投与する。一般的に既知の方法、例えば経口投与のためのゼラチンカプセル、並びに筋肉内投与のための脂質及び脂質様エマルジョン(例えばIntralipid 20、綿実油及びピーナツ油)における微小懸濁液等の製剤、並びに皮下長期投与のためのコレステロールペレット中の封入物を利用することができる。本発明の化合物を投与する別の方法は経皮経路によるものである。このような実施形態の一例はパッチの使用である。具体的に、パッチは、例えばジメチルスルホキシド(DMSO)又はDMSOと綿実油との混合物において、本願で開示される化合物の微細懸濁液により調製し、皮膚嚢(skin pouch)の内側にある腫瘍部位の位置から離れた腫瘍保有哺乳動物の皮膚に接触させることができる。他の媒体、又は他の溶媒及び固体支持体とのそれらの混合物も等しく働く。パッチは、溶液又は懸濁液の形態で、本発明のCPT水和物を含有することができる。この場合パッチは、例えばステッチ、クリップ又は他の保持デバイスにより皮膚のしわを作り(folding)、それを保持することにより形成される患者の皮膚嚢にパッチを挿入することによって、患者の皮膚に適用することができる。この皮膚嚢は、皮膚への継続的な接触が哺乳動物の障害にならないように利用する必要がある。皮膚嚢を利用することに加えて、皮膚に接触するパッチをしっかりと固定する任意のデバイスを使用することができる。例えば、ガーゼ付絆創膏(adhesive bandage)を、皮膚上の定位置にパッチを保持するのに使用することができる。

【0092】

本明細書中で使用されるように、本発明の化合物の「有効量」は、癌の成長を阻害する、又は癌を抑制する、又は悪性細胞を破壊すると共に、悪性腫瘍の退縮及び緩和をもたらす、すなわちかかる腫瘍の体積若しくは大きさを低減させるか、又は腫瘍を根絶する化合物の量を意味することが意図される。

【0093】

ヒトを含む哺乳動物で、身体の表面積に基づいて有効量を投与することができる。投与量の相互関係は、様々な大きさ及び種の動物によって変化し、ヒトに関しては(身体表面1M²当たりのmgに基づく)、E.J. Freireich et al., Cancer Chemother. Rep., 50(4):219(1966)に記載されている。身体表面積は、個体の身長及び体重からおおよそ決定され得る(例えばScientific Tables. Geigy Pharmaceuticals, Ardsley, N. Y.

10

20

30

40

50

pp. 537-538 (1970) を参照されたい)。本発明におけるカンプトテシン化合物の有効量は、1日に身体表面 1 m^2 当たり約 10 mg ~ 約 1000 mg の範囲であり得る。

【0094】

本発明の化合物又はプロドラッグの好ましい有効量又は投与量は、筋肉内経路では、1週間に2回、体重 1 kg 当たり約 1 mg ~ 約 100 mg のプロドラッグ、及び経口経路では1日に 1 kg 当たり約 1 mg ~ 約 500 mg のプロドラッグである。本発明のCPT誘導体又はプロドラッグの有効量又は投与量は例えば、経皮経路では1週間に 1 kg 当たり約 1 mg ~ 約 100 mg のプロドラッグである。全ての投与経路で、調剤の正確な投与時期は、最適な結果を達成するために変えることができる。一般的に、プロドラッグに対する担体として *Intralipid* 20を使用する場合、患者に到達するプロドラッグの実際の投与量はより少なくなる。これは、シリンジ、針及び調製容器の壁にプロドラッグが幾らか残る (loss) ためであり、このことは *Intralipid* 20懸濁液で広く知られている。綿実油等の担体を使用する場合、この上記の減量はそれほど一般的なものではなく、これはプロドラッグがシリンジ、針、調製容器等の表面にそれほど付着しないためである。例えば好ましくは、筋肉内経路によって投与される、綿実油を使用する1週間に2回、体重 1 kg 当たり約 2.5 mg のプロドラッグが一般的に、担体として *Intralipid* 20を使用する1週間に2回、体重 1 kg 当たり 4.0 mg のプロドラッグと同じ量を患者に送達することが分かっている。一般的に、約 1 mg ~ 約 4 mg のプロドラッグを約 0.1 ml ~ 約 1 ml の担体に添加する。

【0095】

1つ又は複数の本発明の実施形態において、1つ又は複数の本発明の化合物 (又は本発明の化合物 (複数可) を含有する組成物) はリボソーム中に可溶化することができる。リボソームには、例えばコレステロール、リン脂質等の脂質、又は例えばドデシル硫酸ナトリウム、オクチルフェノールポリオキシエチレングリコール若しくはモノオレイン酸ソルビタン等の界面活性剤から成るミセルが含まれ得る。典型的に、プロドラッグは親和性が高いリボソームの脂質二重膜と結合する。リボソームと結合したプロドラッグは好ましくは、脂質のアシル鎖間に挿入することができる。その結果、カンプトテシン誘導性の膜結合プロドラッグのラクトン環がリボソームの内側及び外側の水性環境から取り除かれ、それにより加水分解から保護される。リボソーム結合薬物が加水分解から保護されるので、薬物の抗腫瘍活性が保存される。リボソーム膜に対する親和性が低いためにリボソーム膜から解離するカンプトテシンプロドラッグがリボソームの内部に残るように、リボソームの内部のpHを低減し、それによりカンプトテシンプロドラッグの加水分解を防ぐことができる。

【0096】

本発明に従って使用することができるリボソーム送達系の群としては、米国特許第5,552,156号明細書及び同第5,736,156号明細書 (その全体が参照により本明細書中に援用される) に記載されるものが挙げられる。本発明に従って利用され得る他のリボソーム送達系としては、米国特許第5,827,533号明細書及び同第5,882,679号明細書に記載されるような脂質又は界面活性剤と共に凝集した活性剤を含有するリボソーム; 米国特許第5,874,105号明細書に記載されるようなアルキルアンモニウム脂肪酸塩により形成される脂質小胞; 米国特許第5,783,211号明細書に記載されるような活性剤を乾燥粉末組成物にカプセル封入するためのリボソーム; 米国特許第5,718,914号明細書に記載されるような局所パッチのためのリボソーム薬物送達系; 米国特許第5,631,237号明細書に記載されるリボソーム; 米国特許第5,549,910号明細書及び同第5,077,057号明細書に記載のリボソーム及び脂質の複合体組成物; 米国特許第5,043,165号明細書に記載されるようなステロイド系薬物の持続放出に使用されるリボソーム; 米国特許第5,013,556号明細書に記載されるリボソーム; 並びに米国特許第4,663,161号明細書に記載されるリボソームが挙げられる (それらの全てはその全体が参照により本明細書中に援用される)。

【 0 0 9 7 】

単層小胞とも称される単層リボソームは、閉区画を画定する 1 つの脂質二重膜から成る球形小胞である。二重膜は、内層及び外層の二層の脂質から成る。脂質分子の外層は、外部の水性環境に向かって親水性の頭部分を配向し、リボソームの内部に向かって下向きにその疎水性の尾部分を配向する。脂質の内層は、外層のすぐ真下にあり、脂質はリボソームの水性内部にその頭部分が面するように配向し、脂質の外層の尾部分に向かってその尾部分を配向する。

【 0 0 9 8 】

多重膜小胞とも称される多重膜リボソームは 2 つ以上の脂質二重膜から成り、この膜は 2 つ以上の閉区画を画定している。この膜は、タマネギの皮のように区画により異なる膜が分離されるように同心円状に配置されている。

10

【 0 0 9 9 】

本明細書中で使用される「リボソームプロドラッグ」という語句は、幾つか又は全てのカンプトテシンプロドラッグがリボソーム若しくはミセルの区画の 1 つ又は複数に位置するか、又はカンプトテシンプロドラッグがリボソーム膜に結合していることを意味している。送達系は、カンプトテシンプロドラッグを捕捉する脂質二重膜を含むリボソームであり得る。本明細書中で使用される「脂質膜に結合している」という語句は、幾つか又は全てのカンプトテシンプロドラッグの少なくともラクトン環がリボソームの脂質膜に結合し、リボソームが 2 つ以上の二重膜を含有する場合には、カンプトテシンプロドラッグが少なくとも 1 つの膜に結合していることを意味している。かかる膜に対する親和性が高いカンプトテシンプロドラッグは膜との結合を維持する傾向にある。リボソーム膜に対する親和性が低いカンプトテシンプロドラッグは、少なくとも部分的にリボソーム膜から解離され、リボソーム区画に残る。

20

【 0 1 0 0 】

本明細書中で定義されるミセルは、閉区画を画定する単一の単分子層膜から成る球状レセプタクルであり、この膜は、炭化水素尾部がこの区画に向かって配向し、極性の頭部分が外部の水性環境に向かって配向するように配向した界面活性剤分子から成る。ミセルと結び付くと、カンプトテシンプロドラッグは区画においてミセル膜に結合するか、又はミセルの外表面に結合する。

【 0 1 0 1 】

30

癌患者に薬剤を投与するのにリボソームを利用することに成功しており、ドキソルビシン、ダウノルビシン及びシスプラチン複合体等の抗癌薬の送達において臨床的に有用であることが示されている (Forssen, et al., Cancer Res. 1992, 52: 3255-3261、Perez-Soler, et al. Cancer Res. 1990, 50: 4260-4266 及び Khokhar, et al. J. Med. Chem. 1991, 34: 325-329 (それらは全てその全体が参照により本明細書中に援用される))。

【 0 1 0 2 】

同様に、薬剤を患者に送達するのにミセルも使用されており (Brodin et al., Acta Pharm. Suec. 19 267-284 (1982))、ミセルは、薬物担体として、及び癌薬剤を含む (Fung et al., Biomater. Artif. Cells. Artif. Organs 16: 439 et. seq. (1988) 及び Yokoyama et al., Cancer Res. 51:3229-3236 (1991)) 標的薬物の送達のために使用されている (D. D. " Lasic, Nature 335: 279-280 (1992)、及び Supersaxo et al., Pharm. Res. 8: 1286-1291 (1991)) (それらは全てその全体が参照により本明細書中に援用される)。

40

【 0 1 0 3 】

カンプトテシンプロドラッグを含有する、本発明のリボソーム及び / 又はミセルを、典型的には癌患者の静脈内に投与することができる。リボソーム及び / 又はミセルが循環系により癌細胞に運ばれ、小胞の膜が癌細胞の膜に融合することにより、カンプトテシンプロドラッグを癌細胞に放出するか、又はリボソーム及び / 又はミセルが癌細胞に隣接したままである場合、カンプトテシンプロドラッグを、リボソーム及び / 又はミセルから拡散し、癌細胞によって取り込ませる。

50

【 0 1 0 4 】

リポソーム及び／又はミセルを形成する脂質又は脂質混合物のいずれかが本発明に使用するのに適している。例えば L - - ジミリストイルホスファチジルコリン (D M P C) 、 L - - ジパルミトイルホスファチジルコリン (D P P C) 及び L - - ジステアロイルホスファチジルコリン (D S P C) を含むホスファチジルコリンが好ましい。また、例えば L - - ジミリストイルホスファチジルグリセロール (D M P G) を含むホスファチジルグリセロールが好ましい。D M P C 及び D M P G の両方が 3 7 で液相であるのに対し、D S P C は 3 7 で固相である。リポソーム膜における負に帯電した脂質の存在により、リポソームが互いに反発するので、例えば約 1 0 % ほどの少量の負に帯電した脂質、例えばジステアロイルホスファチジルグリセロール (distearolphosphatidylglycerol) (D S P G) が D S P C リポソームに組み込まれ得る。他の好適なリン脂質としては、ホスファチジル - エタノールアミン、ホスファチジリノシトール、並びにラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、アラキドン酸、ベヘン酸及びリグノセリン酸を含有するホスファチジン酸が挙げられる。別の好適な脂質としてはコレステロールが挙げられる。

10

【 0 1 0 5 】

リポソーム及び／又はミセルを、粒子が細網内皮系を避けるのを助けるポリエチレングリコール又は G M₁ タンパク質でコーティングしてもよい。

【 0 1 0 6 】

D S P C は、3 7 (ヒトの平均体温) で固相であるため、リポソームからのカンプトテシン薬物の拡散を制限し、このためカンプトテシンプロドラッグを時限放出するのに利用することができる。

20

【 0 1 0 7 】

D M P G 、 D P P C 及び D S P C は、Avanti Polar Lipids (Alabaster, Ala) から得られ、さらに精製することなく使用することができる。他の化学物質は全て試薬等級であり、さらに精製することなく使用することができる。

【 0 1 0 8 】

ミセルを形成する任意の界面活性剤又はその混合物が本発明に使用するのに適している。好適な界面活性剤としては、Kodak (Rochester, N.Y.) から入手可能なドデシル硫酸ナトリウム (S D S) 、Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wis.) から「T r i t o n X - 1 0 0」という商品名で入手可能なオクチルフェノールポリオキシエチレングリコール、及びSigma Chemical Co. から「P o l y s o r b a t e 8 0」及び「T w e e n 8 0」という商品名で入手可能なモノオレイン酸ソルビタンが挙げられる。他の好適な界面活性剤としては例えば、デオキシコール酸ナトリウム塩、コール酸ナトリウム塩及び「B R I J - 5 6」という商品名で入手可能なポリオキシエチレン - 1 0 - セチルエーテルが挙げられ、これらの界面活性剤はSigma Chemical Co. から入手可能である。

30

【 0 1 0 9 】

さらにミセルは、脂質、例えばリン脂質及び脂質混合物から成り得る。またミセルは、脂質及び界面活性剤の両方から成り得る。

【 0 1 1 0 】

リポソーム懸濁液を、Burke及びTrittonの方法により調製することができる (Biochemistry 24: 1768-1776 (1985)) (これはその全体が参照により援用される) 。リポソームは、多重膜小胞 (M L V) ではなく小単層小胞 (S U V) が好ましい。しかしながら、S U V 及び M L V の両方が本発明の範囲内である。M L V には、結び付いたカンプトテシンプロドラッグの拡散速度を制限するという利点があるが、S U V よりも容易にマクロファージによって捕集されてしまうという欠点がある。8 m M の N a₂ H P O₄ 、 1 m M の K H₂ P O₄ 、 1 3 7 m M の N a C l 、 及び 3 m M の K C l を含有する p H が 7 . 4 のリン酸緩衝生理食塩水 (P B S) 中に 2 0 0 m g / m L の脂質を含有するストック脂質懸濁液を使用することができ、脂質のゲル - 液体 - 結晶の相転移温度 T_M を超えて 5 分 ~ 1 0 分ボルテックス混合することにより調製する。それから脂質懸濁液を、光学的に透明にな

40

50

るまで3時間～4時間、Laboratory Supplies Co. (Hicksville, N. Y.) の槽型超音波処理器を使用して超音波処理する。pHの7.4から6.8への減少がDMPGのSUV調製物で観察される可能性があるので、これらのSUV懸濁液のpHを、2.5MのNaOHのPBS溶液を少量使用して7.4に調整し、再び超音波処理するのが好ましい。それぞれの種類のリボソーム懸濁液を37℃で30分アニーリングするのが好ましい。

【0111】

多くのリボソーム及びミセルの調製物が、米国特許第5,552,156号明細書、同第7,244,449号明細書及び同第5,736,156号明細書（その全体が参照により本明細書中に援用される）に記載されている。

【0112】

「プロドラッグ」は、送達されるのが望まれる化合物により大きい溶解性を与える或る基の付加により誘導体化された誘導体化合物であり得る。身体に入ると、典型的にはプロドラッグは酵素、例えばエステラーゼ、アミダーゼ又はホスファターゼにより身体に作用し、活性化化合物を生成する。

【0113】

「アルキル」という用語は単独で又は組み合わせて、任意に置換された直鎖、任意に置換された分岐鎖、又は任意に置換された環状の1個～約6個の炭素、より好ましくは2個～4個の炭素有するアルキルラジカルを表す。アルキルラジカルの例としては、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、tert-アミル、ペンチル、ヘキシル等が挙げられる。「シクロアルキル」という用語は、環状の立体配置を包含し、且つアルキルの定義内に含まれ、具体的には単環、二環、三環及びより多環のアルキルラジカル（それぞれの環状部は3個～約6個の炭素原子を有する）を表す。シクロアルキルラジカルの例としては、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル等が挙げられる。

【0114】

「有効量」又は「有効用量」は、不要な細胞成長を阻害するのに、例えば不要な細胞成長を妨げる、又は現存する細胞の成長、例えば腫瘍細胞の成長を低減するのに必要な又は十分な量を表し得る。有効量は、当業者に既知の因子、例えば細胞成長の種類、投与形態及び投与計画、対象の大きさ、細胞成長の重症度等により変化し得る。当業者は、かかる因子を考慮して、有効量を決定することができる。これは、本発明により達成することができる。

【0115】

「治療的に有効な抗腫瘍療法」は、原発性腫瘍又は転移性腫瘍の大きさ、例えば体積を維持又は低減するのに有効な治療法を表し得る。これは、本発明により達成することができる。

【0116】

1つ又は複数の本発明の実施形態によれば、カンプトテシンの結晶性脂肪族エステル水和物を生成する方法であって、出発カンプトテシン化合物を、少なくとも1つの酸、例えば硫酸によってプロトン化された、少なくとも1つのアシル化剤と反応させる工程を含む、生成する方法が提供される。アシル化剤は、出発カンプトテシン上に形成されるエステル基を含有し得る。生成されるカンプトテシンエステルは、CPTの結晶性脂肪族エステル水和物である。少なくとも1つの実施形態では、生成されるカンプトテシンエステルは、結晶性カンプトテシン20-O-プロピオネート水和物（CZ48水和物）である。少なくとも1つの実施形態によれば、出発カンプトテシン化合物はCPTである。

【0117】

出発カンプトテシン化合物の量は、本明細書中に記載されるように、少なくとも一部の出発カンプトテシンをカンプトテシンのエステルに変換するのに十分なアシル化剤が存在していれば、任意の所望量であってもよい。例えば、出発カンプトテシン化合物の量は、約1g～約100g、又はそれ以上であり得る。

【0118】

アシル化剤に関して、一般的に1つ又は複数の実施形態ではアシル化剤は出発カンプトテシン上に形成されるエステル基を含有する。アシル化剤は、有機酸誘導体、例えば酸無水物であり得る。例えば、アシル化剤は、式 $(R^1CO)_2O$ （式中、 R^1 は有機基を表し、概して R^1 基は出発カンプトテシン化合物上にエステル結合の有機部分を形成する基である）を有し得る。例示目的にすぎないが、より具体的には、 R^1 基はアルキル基、例えば $C_1 \sim C_6$ のアルキル基であり得る。 R^1 基の具体例としては、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ 、又は $-CH_2CH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$ が挙げられるが、これらに限定されない。

【0119】

本発明の反応に使用されるアシル化剤の量は、エステル基が出発カンプトテシン化合物上に形成されるのに十分な量であり得る。アシル化剤の好適な量は、出発カンプトテシン20g～30gをアシル化することを基にして、約10mL～約1Lを含むが、これらに限定されない。以下に記載される実施例は、反応に使用することができる、例示的な量のアシル化剤を与えている。

【0120】

本発明の反応に使用される酸に関しては、酸は、出発カンプトテシンのアシル化により有機酸誘導体、例えば酸無水物を発生させることができるような触媒量で使用するすることができる。酸は硫酸、又は HCl 、 HNO_3 若しくは $HClO_4$ 等の他の酸であり得る。酸は濃硫酸等の濃酸であり得る。酸は任意のモル濃度（strength）、例えば約0.0001M～約0.02M又はそれ以上であり得る。反応に使用される酸の量は、出発カンプトテシン20g～30gとの反応当たり、例えば0.1mL～約1.0mL、より好ましくは約0.20mL～約0.75mL又は約0.5mLの触媒量であり得る。エステル化反応を触媒するのに使用される酸の量は、関与する反応の規模によって変わり得る。

【0121】

本発明において、1つ又は複数の実施形態によれば、様々な反応物質を、連続的に、同時に又は任意に組み合わせて、任意の順番で混ぜ合わせることができる。任意の反応容器を使用することができる。反応は、約20℃以上のような反応物質の凝固点を超える任意の温度で実施することができる。反応を常温又は高温、例えば約20℃～約110℃又はそれ以上で行うことができる。反応を短時間で、例えば1分～1時間、又はそれ以上行うことができる。反応時間は、使用される反応物質の量及び出発CPTからカンプトテシンエステルに変換する所望量によって変わる。反応を不活性雰囲気下で又は空気中で行うことができる。不活性雰囲気の例は窒素雰囲気又はアルゴン雰囲気であり得る。

【0122】

様々な実施形態によれば、反応の収率は、カンプトテシンのエステルに変換される出発カンプトテシン生成物の少なくとも95重量%～100重量%であり得る。少なくとも1つの実施形態では、反応の収率は、カンプトテシンのエステルに変換される出発カンプトテシン生成物の約97重量%～100重量%である。

【0123】

出発CPT又は反応物質の純度及び/又は濃度は重要ではない。様々な純度及び様々な濃度が反応により生成されるCPTのエステルの収率（%）に影響を与え得る。好ましくは、出発CPT反応物質の純度は約30%～約100%である。より好ましくは、純度は約80%～約100%、又は90%～99.9%、又はそれ以上である。好ましくは、CPT又はCPT誘導体の反応物質の量は、反応物質の総量の約0.1%～約50%である。より好ましくは、その量は反応物質の総量の約0.5%～約5.0%である。

【0124】

酸における不純物がCPT又はアシル化剤と反応さえしなければ、酸のpH、濃度及び純度は重要ではない。酸の酸性度は、反応に用いられるアシル化剤をプロトン化し得るのに十分強いものである必要がある。強い無機酸、例えば H_2SO_4 、 HCl 、 HNO_3 及び $HClO_4$ にはこの能力がある。他の酸、例えば $AlCl_3$ 及び BF_3 を、この種の触媒エステル化反応に使用することができる。酸のpHは約0.5～約5であり得る。好ま

10

20

30

40

50

しくは、酸は濃縮され、純度が高くなる。例えば、濃度は約 60 % ~ 約 100 % であり得る。好ましくは、濃度は約 95 % ~ 約 98 % である。酸の純度は約 30 % ~ 約 100 % であり得る。好ましくは、純度は約 90 % ~ 約 100 % である。好ましくは、酸、例えば濃硫酸の量は、反応物質の総量の約 0.1 % ~ 約 10 % である。より好ましくは、その量は反応物質の総量の約 0.5 % ~ 約 8.5 % である。

【0125】

好ましくは、混合物を撈拌しながら、酸を CPT と酸無水物との混合物に添加する。好ましくは、混合物に添加することができる酸の量は、酸が触媒として作用するのに十分なものである。好ましくは、酸の約 4 滴 ~ 約 8 滴のガラスピペット液滴を、約 70 ml ~ 100 ml のハロゲン化アシルに添加することができる（アシル化剤がハロゲン化アシル以外である場合でも同量の酸を使用することができる）。しかしながら、必要に応じて、好ましくは混合物を撈拌しながら、より多くの又は少ない酸を CPT と酸無水物との混合物に添加することができる。

10

【0126】

CPT と、酸無水物と、酸との混合物を、好ましくは不活性雰囲気（例えば N_2 ）を含む反応器に入れることができ、約 80 ~ 約 120 に加熱することができる。好ましくは、混合物を約 90 ~ 約 110 に加熱し、より好ましくは反応器を約 100 に加熱する。

【0127】

好ましくは、所望の生成物が生成されるまで、反応を続ける。反応時間は、数時間ほどの短いものから数日にまで及ぶこともある。好ましくは、反応時間は不活性雰囲気（例えば N_2 ）下で約 15 時間であり得る。

20

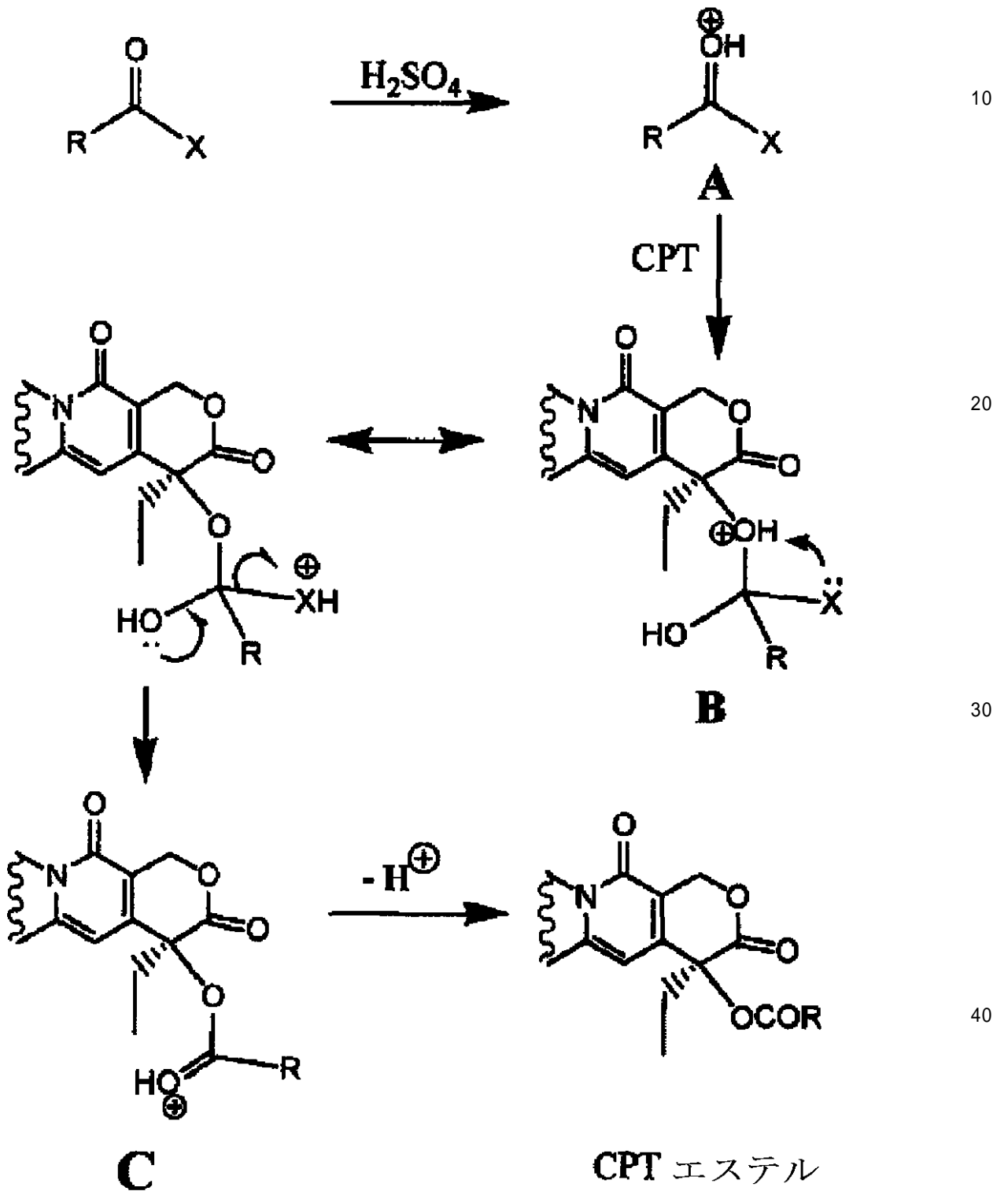
【0128】

反応の例を以下のスキーム 1 に示す。

【0129】

【化 8】

スキーム 1



【 0 1 3 0 】

いかなる理論にも縛られるものではないが、酸、例えば硫酸によるアシル化剤 (R-CO-X) のプロトン化により反応中間体 A が生成されと考えられる。中間体 A のカチオン性のカルボニル炭素とカンプトテシンとの結合により中間体 B が生成される。続く中間体 B

からのX H分子の脱離により、最終エステル生成物が得られる。

【0131】

反応が完了した後（このことは溶液の色の変化により判断することができる）、溶液を室温に冷却し得る。溶媒は、一般的に知られる任意の分離法、例えばエバポレーション法又は濾過法により除去することができる。反応溶媒の除去後に得られる粗生成物を、アルコール溶媒、例えばエタノール中で還流させることにより精製することができる。最終生成物が、再結晶化及び/又はアルコールからの再沈殿により結晶形態で得られる。

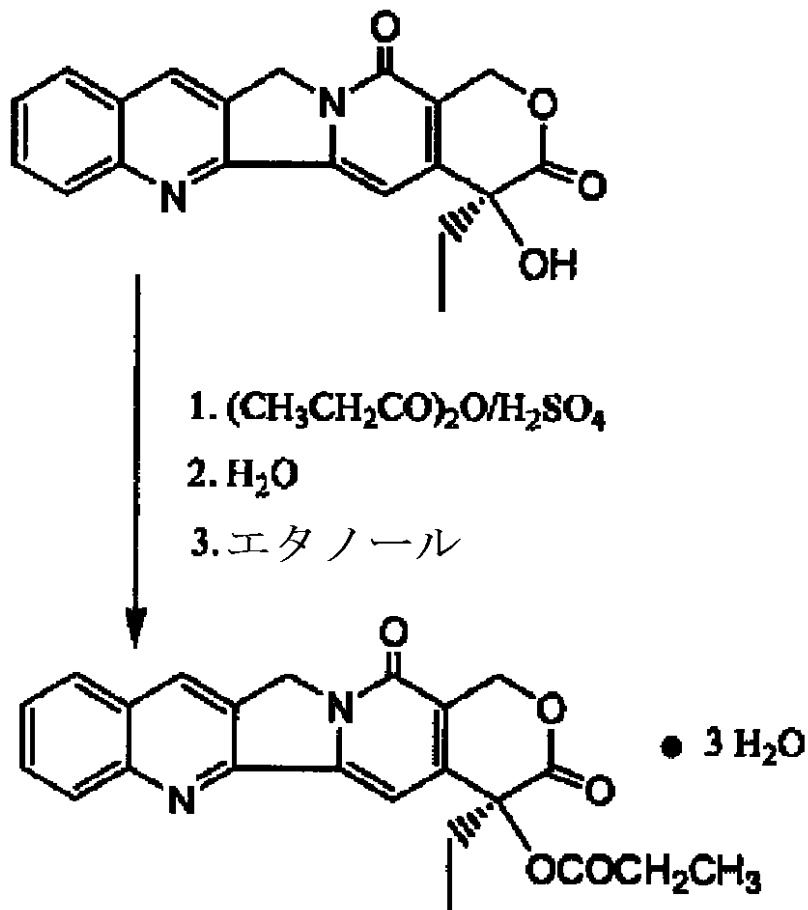
【0132】

CPTの結晶性脂肪族エステル水和物、例えば結晶性カンプトテシン20-O-プロピオネート水和物のような抗腫瘍活性を維持しながら毒性が大きく低減した、新規のカンプトテシンエステルが調製された。1つ又は複数の実施形態によれば、CPTの脂肪族エステルを、以下で示すような反応で表される H_2SO_4 で触媒されたアシル化反応により調製することができる。

【0133】

【化9】

スキーム2



【0134】

示されるように、出発カンプトテシンを、濃硫酸の触媒下で、プロピオン酸無水物と反応させることができる。それから、反応混合物を過剰な水で急冷し、反応していないプロピオン酸無水物と反応により生成されるプロピオン酸とを取り除くことができる。無水エ

タノール（又は他のアルコールのような他の溶媒）からの粗生成物の結晶化により、ほぼ定量的な収率で最終的な結晶性カンプトテシン 20-O-プロピオネート水和物が得られる。このことは、本発明の他の CPT エステルでも当てはまる。本明細書中で使用される「定量的な収率」という語句は、97 重量% ~ 100 重量% の収率を含み得ると理解されるものとする。反応により得られる生成物の純度は約 99% ~ 100% である。生成物の融点は約 240 ~ 243 である。

【0135】

本発明は、以下の実施例でさらに明らかにされるが、これは本発明の単なる例示であることが意図される。

【実施例】

【0136】

実施例 1

結晶性カンプトテシン 20-O-プロピオネート（CZ48）水和物を以下の通りに調製した。約 20 g のカンプトテシン（0.05747 モル）及び約 100 ml のプロピオン酸無水物（97%、Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI)）を、マグネティックスターラと砂浴とを備えた 200 ml 容の丸底フラスコに入れた。混合物を攪拌しながら砂浴で加熱した。砂浴温度が 80 に達したら、数滴（8 滴 ~ 10 滴）の濃硫酸（95% ~ 98%、A.C.S. 試薬、Aldrich Chemical Co.）を滴下した。それから混合物を 110 ± 10 で一晩（約 14 時間）攪拌した。室温に冷却した後、反応混合物を攪拌しながら少しずつ（portion by portion）1000 ml の氷水に注いだ。おおよそ 45 分間攪拌した後、混合物を濾過した。濾過により得られた残渣を 24 時間風乾させた。乾燥粗生成物を、加熱マントルを備えた 500 ml 容の丸底フラスコに移した。

【0137】

この粗生成物に、200 ml の無水エタノール（99.5%、200 プルーフ、Aldrich Chemical Co.）を添加した。混合物を 2 時間還流させた後、室温に冷却した。エタノールからの結晶化後に、純生成物が結晶として得られた。高速液体クロマトグラフィ（HPLC）を使用することで、純度が 99.8% であることが示され、融点（mp）は 242 であると求められた。乾燥室素は、調製に関する全ての反応における反応雰囲気として従来通り用いられた。全てのガラス製品を、使用する前に最低 2 時間、70 ± 10 で高温処理した（baked）。融点は、MEL-TEMP（登録商標）融点測定器で得られ、補正されなかった。カンプトテシンは、中華人民共和国から購入し、購入したものをそのまま使用した。

【0138】

in vivo 抗腫瘍活性の測定

本明細書中で述べられている実験に使用されるヒト腫瘍には、1 つの膀胱腫瘍株、3 つの乳房腫瘍株、4 つの結腸腫瘍株、1 つの DSRCT 株、1 つの腎臓腫瘍株、2 つの黒色腫瘍株、2 つの肺腫瘍株、7 つの膵臓腫瘍株及び 1 つの前立腺腫瘍株が含まれていた。水和結晶性 CZ48 薬物を、綿実油中に微細懸濁し、使用するために冷蔵庫に保存した。懸濁液を、5 日間連続して 1 日 1 回、その後 2 日間休止して、又は処理期間全体で 7 日間 1 日 1 回、ヒト腫瘍を有するマウスに経口投与した。様々な腫瘍株に関する処理期間は、2 週間 ~ 1 年と様々であった。試験されるこれらの腫瘍株の中で、5 日間投与及び 2 日間非投与スケジュールで 18 個の株が陽性反応、すなわち腫瘍成長阻害において 50% を超える阻害に達し、2 つの膵臓腫瘍株では陽性反応が得られなかった。連続スケジュール（連日処理）では、これら 2 つの 5 / 2 スケジュールで陰性反応を示した膵臓腫瘍株の内の 1 つが陽性反応に達した。表 1 でこの結果を要約する。

【0139】

10

20

30

40

【表 1】

表 1. ヌードマウスにおけるヒト異種移植片に対する水和結晶性 C Z 4 8 の抗腫瘍活性							
腫瘍	結腸	乳房	肺	黒色腫	脾臓	膀胱	D S R C T
反応	陽性 ^a	4 / 4	3 / 3	2 / 2	2 / 2	6 / 7	1 / 1
	陰性 ^b					1 / 7	1 / 1

a. 陽性反応は、50%を超える成長の阻害を意味する。

b. 陰性反応は、50%未満の成長の阻害を意味する。

【0140】

10

陽性反応は少なくとも50%の成長阻害と定義されているが、実際は、多くの腫瘍株で完全な成長阻害が達成された。陽性反応に達するのに必要な有効用量は、腫瘍の種類によって変化した。試験した腫瘍バンクの中で最も感受性が高い腫瘍株であるCLO - 乳癌腫では、4 mg / kgのような低用量の水和結晶性C Z 4 8で完全な阻害が達成されたのに対し、感受性が低い3つの株、CAK - 腎臓、PANC1 - 脾臓及びSU86.86 - 脾臓では、陽性反応を達成するのに1000 mg / kgと高い用量が必要であった。

【0141】

実施例 2

in vivo 抗腫瘍活性の測定

動物実験は全て、繁殖力が高い株である、NIHのヌードSwissマウスで実施した。マウスは、厳密な無菌条件下の研究所で繁殖させ、飼育した。抗腫瘍活性の測定のために、ヌードマウスでおよそ1 cm³の大きさに成長した腫瘍異種移植片を、滅菌条件下で外科的に取り出し、虹彩切除バサミで細かく刻み、1 : 10 (v / v) の比で細胞培養培地中に懸濁した。約50 mgの湿重量の腫瘍ミンチを含有する、1 mLのこの懸濁液の半分を、マウスの背面胸部 (dorsal thorax) の上半分に皮下的に接種した。4匹又は5匹の動物群を使用した。水和結晶性C Z 4 8を、綿実油中に微細懸濁した後、26ゲージの針を使用して、前腹部壁を通してマウスの胃内腔に注射した。水和結晶性C Z 4 8の経口投与に使用される1週間のスケジュールは、7日間1日1回、又は5日間1日1回投与及び2日間非投与であった。このスケジュールは、全ての動物実験で用いられた。腫瘍の体積が約200 mm³に達したら、すなわち血管が十分に新生され、測定できるほど、指数関数的に成長したら、処理を開始した。動物における腫瘍の成長を、1週間に1回確認し、キャリパで測定した。マウスにおいて陽性反応が達成されたとき、有効用量であることが認められた。結果を表2に示す。

【0142】

20

30

【表 2】

表 2. 腫瘍株における水和結晶性CZ48の有効用量

腫瘍株	有効用量 (mg/kg)	TI ^a
膀胱	-BOL	200
乳房	-CLO	4
	-MUR	300
	-WAR	200
結腸	-HT29	50
	-McC	300
	-SQU	30
	-SW48	100
DSRCT	-MYE	100
腎臓	-CAK	1000
肺	-DOY	15
	-SPA	100
黒色腫	-BRO	100
	-FOSS	300
膵臓	-ASPC1	300
	-HS766T	100
	-LIE	100
	-MiaPaCa2	100
	-PANC1	1000
	-SU86.86	1000
前立腺	-PC3P62	300

a. TIは最大耐量を2000mg/kgと推定して算出した。

【0143】

表2に示されるように、結晶性カンプトテシン20-O-プロピオネート水和物は、2000mg/kgを最大耐量と推定すると、3つの感受性の低い(tough)株での2から最も感受性の高い株(CLO-乳房)での500に及ぶ広い治療指数を有している。

【0144】

実施例3

in vivo 毒性の測定

ほぼ同じ年齢で、且つ体重が同様の4匹又は5匹の動物群を選択し、60日間連続して、それぞれ1500mg/kg及び2000mg/kgの用量の結晶性CZ48水和物で経口処理した。毒性試験で選択された3つのマウス群は健康であり、同じような年齢及び体重であり、腫瘍を有していなかった。1つの群を対照として使用し、他の2つの群を、約2ヶ月間、それぞれ1500mg/kg及び2000mg/kgの2つの高用量レベルの薬物で処理した。処理中の動物の体重変化を、0日目から始めて60日目まで、処理群対非処理群で記録した。結果を表3に示す。

【0145】

【表3】

表3. ノードマウスにおける結晶性CZ48水和物の毒性^a

日数	体重(グラム)		
	対照 ^b	用量1(1.5g/Kg) ^b	用量2(2.0g/Kg) ^b
0(開始日)	32.0(1.4)	31.9(2.0)	32.3(3.1)
10	31.9(1.5)	30.4(3.1)	30.7(4.3)
21	32.2(1.7)	31.2(1.9)	31.2(3.9)
35	32.3(2.1)	32.3(0.8)	30.8(3.2)
45	32.1(3.7)	32.8(1.7)	31.7(2.9)
60	32.9(1.7)	33.0(1.4)	30.9(3.3)

a. 体重測定に使用される尺度は、較正され、毎年保証される。

b. 括弧内の数はSDである。

【0146】

最も特筆すべきは、処理マウスにおいて、いずれの試験用量レベルでも顕著な毒性は全く観察されなかったことであった。体重減少は、抗癌剤の毒性を測定するパラメータとして使用した。通常、処理中のマウスの10%以上の体重減少は毒性の兆候であると考えられる。体重減少の増大は毒性の増大を意味する。この処理では有意な体重減少は起こらず、このことは用いられる用量レベルはマウスには非毒性であり、またマウスは、2000mg

/ kgをはるかに上回る用量に耐えることができることを示唆していた。マウスにおける結晶性カンプトテシン 20 - O - プロピオネート水和物による連続処理により、より広い範囲の治療指数が生じたが、顕著な毒性は全くもたらされなかった。

【0147】

実施例 4

結晶性 CZ 48 水和物の PK パラメータの測定

2000 mg / kg の単一用量での結晶性カンプトテシン 20 - O - プロピオネート水和物の薬物動態プロファイルをヌードマウスへの経口投与後に記録した。対応する C_{max} 及び T_{max} はそれぞれ、 $284.86 \text{ ng/mL} \pm 85.55 \text{ ng/mL}$ 及び $2.0 \text{ h} \pm 0.0 \text{ h}$ であった。結晶性水和物ではない CZ 48 の類似体であるカンプトテシン 20 - O - アセトートを、CZ 48 水和物の PK パラメータ全てを測定するための内部標準として使用した。2000 mg / kg の用量の結晶性 CZ 48 水和物で処理したマウス由来の血漿 100 μL を 2 mL 容の試験管に移した後、100 μL の内部標準 (internal-standard working) 溶液 (400 ng/mL) も試験管に加えた。また混合物に、200 μL の 1 % 酢酸溶液と 1 mL のエチルエーテルとを添加した。10 秒間、ボルテックス混合した後、混合物を、10 分間振盪器で室温でインキュベートし、それから 10000 $\times g$ で 15 分間遠心分離した。遠心分離により得られた上層を無菌 (clean) 試験管に移し、窒素流下、40 $^{\circ}\text{C}$ でエバポレータを使用して減圧乾固した (evaporated to dryness)。残渣を 200 μL の水 / アセトニトリル (50 / 50 (v / v)) 溶媒系で再構成し、200 μL 部のアリコートをし、分析のために HPLC 系に注入した。この試験のために、非処理マウス由来のブランク血漿 100 μL を、処理したものと同じように処置した。48 匹のマウスにおいて CZ 48 水和物及び CPT の重要な PK パラメータが、HPLC 分析により得られ、表 4 に示される。

【0148】

【表 4】

表 4. 2000 mg / kg の用量の経口投与後のマウスにおける水和結晶性 CZ 48 及びその主な代謝産物 CPT の薬物動態パラメータ

パラメータ	水和結晶性 CZ 48	CPT
$AUC_{0-8} (\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1})$	—	136.43 ± 26.94
$AUC_{0-24} (\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1})$	1927.66 ± 113.92	—
$AUC_{0-\infty} (\text{ng} \cdot \text{h} \cdot \text{mL}^{-1})$	2233.44 ± 396.05	146.70 ± 34.77
$C_{max} (\text{ng/mL})$	284.86 ± 85.55	42.28 ± 6.72
$T_{max} (\text{h})$	2.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0
$T_{1/2} (\text{h})$	8.70 ± 4.18	1.87 ± 0.63
$K_e (1/\text{h})$	0.09 ± 0.03	0.40 ± 0.13
MRT (h)	11.62 ± 4.34	3.36 ± 0.87

【0149】

実施例 5

マウスにおける結晶性 CZ 48 水和物の吸収率 (%) の測定

吸収試験を、4 匹のヌードマウスでマウスかん流法を使用することにより、結晶性カンプトテシン 20 - O - プロピオネート水和物を用いて行った。in situ の単回 (single-pass) かん流法の前に、9.801 g / L の HBS S 粉末、0.372 g / L の NaHCO_3 、3.502 g / L のグルコース、5.963 g / L の HEPES 及び 1.164 g / L の NaCl から成る HBS S 緩衝液 (pH 7.4) を調製し、冷蔵庫で保存した。この方法でのかん流液を、或る特定量の薬物、結晶性 CZ 48 水和物と、或る量の HBS S 緩衝液とを混合することにより調製した。混合物を、使用の直前に 37 $^{\circ}\text{C}$ (体温) まで加熱した。体重が 25 g ~ 30 g の範囲であり、9 ヶ月齢 ~ 11 ヶ月齢の 4 匹のマウス群を麻酔し、加熱板の上に置いた。プレートを 37 $^{\circ}\text{C}$ の一定温度に維持した。かん流システムをマウスにセットする準備ができたなら、2 切片の腸 (小腸、IS 及び結腸) を、新たに調製したかん流液と同時にかん流させた。ポンプは、かん流全体で 0.191 mL /

分の一定流量に維持した。2つのかん流試料を30分ごとそれぞれの排出口（S I管又は結腸管）から回収した。排出口からのかん流液における薬物の濃度をH P L C分析により測定し、対応する吸収率（％）を、薬物の出発量と比べて算出し、表5に示す。

【0150】

【表5】

表5. マウスでの腸かん流の結果

マウス	結晶性C Z 4 8水和物の吸収％	
	S I	結腸
1	16.51	−35.17
2	9.34	−73.24
3	45.85	6.82
4	11.49	8.04
A v e	22.23	−19.46
S D	16.96	38.83

10

【0151】

表5で示されるように、小腸管で有意な吸収が起こった。結腸管で記録された負の吸収率（％）は、結腸管から排出される薬物の量が、最初にマウスの十二指腸の口管に入る量よりも多かったことを示している。このことは、複合的な吸収／流出サイクルのために、薬物が結腸管で集積されることに起因していると考えられる。

20

【0152】

結晶性C Z 4 8水和物の結晶構造決定

単結晶X線分析を、C C D領域検出器を備えたSiemensのS M A R T回析計を使用することにより行った。0.4×0.08×0.02mmの寸法の結晶を、−60℃で冷室素ガス流下でガラス繊維に取り付けた。単色（Mo K_{α1}）放射（λ=0.71073Å）を使用して、ナローフレーム（narrow-frame）法を用いて、完全な範囲（hemisphere）のデータを回収した。データをSiemensのS A I N Tプログラムを使用して統合し、光路長が変動するために、強度をローレンツ因子、偏光因子、空気吸収因子及び吸収因子で補正した。経験的吸収補正を適用し、重複した反射を平均化した。最終のセルパラメータを、I>10（I）の1971個の反射を使用して精密化した。正方セルパラメータはa=15.008（2）Å、b=6.977（1）Å、c=21.810（3）Å、β=99.959°、V=2249.2（5）Å³、Z=4、ρ_c=1.354g/cm³、2max=56.66°である。構造を、空間群P2₁（No.4）を用いる直接法により解析し、F²での全行列の（full-matrix）最小二乗算出法により精密化し、全てのC原子、N原子、O原子の熱運動を異方的に処理した。最終R指数[I>2（I）]、R1=0.0454、wR2=0.0763、R指数[全データ]、R1=0.1105、wR2=0.0933。SiemensのS H E L X T Lプログラムパッケージを使用して全ての算出を行った。[C₂₃H₂₀N₂O₅]・3H₂Oに関する結晶データ及び構造精密化を表7に示す。[C₂₃H₂₀N₂O₅]・3H₂Oに関する原子座標（×10⁴）及び等価等方変位パラメータ（Å²×10³）を表8に示す。[C₂₃H₂₀N₂O₅]・3H₂Oに関する結合長[Å]及び角度[°]を表9に示す。[C₂₃H₂₀N₂O₅]・3H₂Oに関する異方性変位パラメータ（Å²×10³）を表10に示す。

30

40

【0153】

【表 6】

表 7. $[\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ に関する結晶データ及び構造精密化

識別コード	T 9 4
実験式	C 2 3 H 2 6 N 2 O 8
式量	4 5 8 . 4 6
温度	2 1 3 (2) K
波長	0 . 7 1 0 7 3 Å
結晶系	単斜晶
空間群	P 2 ₁
単位セル寸法	a = 1 5 . 0 0 8 (2) Å $\alpha = 9 0^\circ$ b = 6 . 9 7 6 9 (1 0) Å $\beta = 9 9 . 9 5 9$ (2) ° c = 2 1 . 8 1 0 (3) Å $\gamma = 9 0^\circ$
体積	2 2 4 9 . 2 (5) Å ³
Z	4
密度 (算出)	1 . 3 5 4 g / c m ³
吸収係数	0 . 1 0 3 m m ⁻¹
F (0 0 0)	9 6 8
結晶の大きさ	0 . 4 0 × 0 . 0 8 × 0 . 0 2 m m ³
データ回収のための θ 範囲	1 . 5 3 ~ 2 8 . 3 3 °
指数範囲	- 2 0 ≤ h ≤ 1 5、- 8 ≤ k ≤ 9、- 2 8 ≤ l ≤ 2 1
回収した反射	1 4 1 6 2
独立した反射	1 4 1 6 2 [R (i n t) = 0 . 0 4 9 6]
θ に対する完全性 = 2 8 . 3 3 °	9 5 . 6 %
吸収補正	経験的
最大及び最小の透過	0 . 8 0 9 2 及び 0 . 7 0 0 4
精密化方法	F ² での全行列の最小二乗法
データ/拘束/パラメータ	1 4 1 6 2 / 1 / 6 3 3
F ² での適合度 (Goodness-of-fit)	0 . 7 8 0
最終R指数 [I > 2 σ (I)]	R 1 = 0 . 0 4 5 4, w R 2 = 0 . 0 7 6 3
R指数 (全データ)	R 1 = 0 . 1 1 0 5, w R 2 = 0 . 0 9 3 3
吸光係数	0 . 0 0 0 0 0 (1 1)
最大回折ピーク及びホール	0 . 1 6 8 及び - 0 . 1 7 2 e . Å ⁻³

10

20

【 0 1 5 4 】

【表 7】

表 8. $[\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ に関する原子座標 ($\times 10^4$) 及び等価方変位パラメータ ($\text{\AA}^2 \times 10^3$)

	x	y	z	U (eq)
C (1)	-1 2 4 9 (2)	7 3 4 (5)	1 2 1 8 (2)	4 5 (1)
C (2)	-2 1 8 0 (2)	6 9 7 (5)	1 1 3 7 (2)	5 1 (1)
C (3)	-2 7 0 5 (2)	7 4 7 (5)	5 4 3 (2)	5 4 (1)
C (4)	-2 3 0 0 (2)	8 4 5 (5)	3 1 (2)	4 7 (1)
C (5)	-1 3 3 8 (2)	8 6 4 (5)	8 9 (2)	3 7 (1)
C (6)	-8 1 6 (2)	8 2 6 (4)	6 9 7 (2)	3 8 (1)
C (7)	-8 9 4 (2)	8 8 6 (4)	-4 3 2 (2)	3 9 (1)
C (8)	2 7 (2)	8 7 7 (4)	-3 2 7 (2)	3 3 (1)
C (9)	4 9 1 (2)	9 0 3 (4)	2 9 1 (1)	3 0 (1)
C (10)	6 9 5 (2)	8 3 1 (5)	-7 6 4 (1)	3 6 (1)
C (11)	1 4 7 1 (2)	9 3 8 (4)	2 8 4 (2)	3 3 (1)
C (12)	2 3 8 8 (2)	7 5 9 (5)	-5 2 8 (2)	3 5 (1)
C (13)	3 1 5 7 (2)	7 7 2 (4)	-3 4 (2)	3 4 (1)
C (14)	3 0 6 7 (2)	9 2 0 (4)	5 7 2 (1)	3 2 (1)
C (15)	2 1 9 9 (2)	9 9 3 (4)	7 4 4 (1)	3 5 (1)
C (16)	4 0 6 3 (2)	6 5 2 (5)	-2 2 3 (1)	3 9 (1)
C (17)	4 6 9 8 (2)	-3 8 (5)	8 6 3 (2)	4 3 (1)
C (18)	3 9 2 0 (2)	1 1 0 1 (5)	1 0 5 0 (1)	3 6 (1)
C (19)	4 1 9 1 (2)	3 2 4 6 (4)	1 1 1 2 (1)	3 9 (1)
C (20)	5 0 3 9 (2)	3 6 3 9 (5)	1 5 9 9 (2)	5 3 (1)
C (21)	3 5 4 7 (2)	-1 3 1 9 (5)	1 7 3 1 (2)	4 2 (1)
C (22)	3 3 9 1 (2)	-1 7 0 0 (5)	2 3 7 5 (2)	5 5 (1)
C (23)	3 0 5 7 (2)	-3 7 1 3 (5)	2 4 6 2 (2)	6 9 (1)
C (24)	-1 2 9 6 (2)	7 4 9 6 (5)	6 3 4 5 (2)	4 3 (1)
C (25)	-2 2 0 8 (2)	7 3 8 0 (5)	6 3 1 8 (2)	5 0 (1)
C (26)	-2 7 7 9 (2)	7 3 3 8 (5)	5 7 3 4 (2)	5 2 (1)
C (27)	-2 4 3 4 (2)	7 4 5 2 (5)	5 2 0 1 (2)	4 6 (1)
C (28)	-1 4 9 4 (2)	7 5 5 7 (4)	5 2 1 4 (2)	3 3 (1)
C (29)	-9 1 9 (2)	7 5 7 2 (4)	5 7 9 9 (2)	3 4 (1)
C (30)	-1 1 0 1 (2)	7 6 0 1 (4)	4 6 7 2 (2)	3 7 (1)
C (31)	-1 7 9 (2)	7 6 1 2 (5)	4 7 3 5 (2)	3 1 (1)
C (32)	3 3 8 (2)	7 6 2 8 (5)	5 3 4 1 (2)	3 0 (1)
C (33)	4 4 8 (2)	7 5 9 7 (5)	4 2 6 2 (1)	3 6 (1)
C (34)	1 2 9 6 (2)	7 5 7 6 (5)	5 2 9 1 (2)	3 2 (1)
C (35)	2 1 3 6 (2)	7 4 1 9 (4)	4 4 2 9 (2)	3 5 (1)
C (36)	2 9 3 2 (2)	7 2 9 0 (4)	4 9 0 3 (2)	3 3 (1)
C (37)	2 9 0 1 (2)	7 3 7 6 (4)	5 5 1 7 (2)	3 1 (1)
C (38)	2 0 6 0 (2)	7 5 2 1 (4)	5 7 3 0 (1)	3 3 (1)
C (39)	3 8 1 8 (2)	7 0 7 2 (5)	4 6 7 2 (2)	4 5 (1)
C (40)	4 5 0 9 (2)	6 1 9 3 (5)	5 7 4 2 (2)	4 2 (1)
C (41)	3 7 8 6 (2)	7 4 3 4 (5)	5 9 6 4 (1)	3 2 (1)
C (42)	4 1 1 1 (2)	9 5 4 9 (4)	6 0 2 7 (2)	4 2 (1)
C (43)	4 9 8 5 (2)	9 8 8 0 (5)	6 4 9 3 (2)	5 2 (1)
C (44)	3 4 6 1 (2)	4 9 9 8 (5)	6 6 6 3 (2)	3 7 (1)
C (45)	3 4 4 7 (2)	4 6 0 2 (5)	7 3 2 9 (2)	5 1 (1)
C (46)	3 2 4 2 (2)	2 5 2 0 (5)	7 4 6 3 (2)	6 3 (1)
N (1)	1 2 0 (2)	8 8 1 (4)	7 9 7 (1)	3 8 (1)
N (2)	1 5 6 5 (2)	8 4 1 (4)	-3 3 1 (1)	3 3 (1)
N (3)	1 7 (2)	7 6 1 8 (4)	5 8 6 3 (1)	3 4 (1)

10

20

30

N (4)	1 3 4 4 (2)	7 5 3 4 (4)	4 6 6 8 (1)	3 1 (1)
O (1)	2 4 3 5 (1)	6 3 9 (3)	- 1 0 8 8 (1)	4 4 (1)
O (2)	4 7 5 6 (1)	- 1 1 7 (3)	2 5 5 (1)	4 9 (1)
O (3)	5 2 8 9 (1)	- 7 6 0 (3)	1 2 3 1 (1)	5 7 (1)
O (4)	3 7 8 8 (1)	5 2 6 (3)	1 6 5 8 (1)	3 9 (1)
O (5)	3 4 6 9 (1)	- 2 4 7 4 (3)	1 3 0 8 (1)	5 4 (1)
O (6)	2 1 4 2 (1)	7 3 8 4 (3)	3 8 6 9 (1)	4 5 (1)
O (7)	4 5 0 2 (1)	6 0 9 2 (3)	5 1 2 7 (1)	4 8 (1)
O (8)	5 1 0 8 (1)	5 4 1 2 (3)	6 0 9 1 (1)	5 5 (1)
O (9)	3 7 0 4 (1)	6 8 6 6 (3)	6 5 8 4 (1)	3 5 (1)
O (1 0)	3 2 9 1 (1)	3 9 0 5 (3)	6 2 3 8 (1)	4 7 (1)
O (1 1)	9 9 8 (2)	8 1 6 4 (4)	2 7 7 7 (1)	5 9 (1)
O (1 2)	1 2 6 2 (2)	1 2 4 8 (4)	2 0 2 5 (1)	5 6 (1)
O (1 3)	6 0 2 (2)	4 9 7 4 (4)	2 0 3 7 (1)	6 8 (1)
O (1 4)	1 2 6 4 (2)	7 0 0 1 (4)	7 0 4 4 (2)	6 3 (1)
O (1 5)	8 0 2 (2)	3 2 0 0 (5)	7 0 7 2 (2)	8 3 (1)
O (1 6)	- 1 2 2 9 (3)	5 0 5 8 (4)	2 1 8 3 (2)	5 9 (1)

U (e q) は直交 U^{ij} の形跡の 3 分の 1 として規定される。

【 0 1 5 5 】

【表 8】

表 9. $[\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ に関する結合長 [Å] 及び角度 [°]

C (1) - C (2)	1. 3 7 8 (4)
C (1) - C (6)	1. 4 0 4 (4)
C (2) - C (3)	1. 3 9 3 (5)
C (3) - C (4)	1. 3 6 2 (4)
C (4) - C (5)	1. 4 2 8 (4)
C (5) - C (7)	1. 4 1 3 (4)
C (5) - C (6)	1. 4 1 8 (4)
C (6) - N (1)	1. 3 8 5 (3)
C (7) - C (8)	1. 3 6 2 (4)
C (8) - C (9)	1. 4 0 7 (4)
C (8) - C (10)	1. 4 9 8 (4)
C (9) - N (1)	1. 3 1 7 (4)
C (9) - C (11)	1. 4 7 3 (4)
C (10) - N (2)	1. 4 7 3 (3)
C (11) - C (15)	1. 3 5 1 (4)
C (11) - N (2)	1. 3 7 5 (4)
C (12) - O (1)	1. 2 3 8 (3)
C (12) - N (2)	1. 3 7 7 (3)
C (12) - C (13)	1. 4 3 7 (4)
C (13) - C (14)	1. 3 5 5 (4)
C (13) - C (16)	1. 4 9 0 (4)
C (14) - C (15)	1. 4 1 8 (4)
C (14) - C (18)	1. 5 1 0 (4)
C (16) - O (2)	1. 4 4 3 (3)
C (17) - O (3)	1. 1 9 9 (3)
C (17) - O (2)	1. 3 4 5 (4)
C (17) - C (18)	1. 5 2 6 (4)
C (18) - O (4)	1. 4 3 3 (3)
C (18) - C (19)	1. 5 5 1 (4)
C (19) - C (20)	1. 5 3 6 (4)
C (21) - O (5)	1. 2 1 5 (4)
C (21) - O (4)	1. 3 5 4 (4)
C (21) - C (22)	1. 4 8 7 (4)
C (22) - C (23)	1. 5 1 5 (5)
C (24) - C (25)	1. 3 6 1 (4)
C (24) - C (29)	1. 4 0 5 (4)
C (25) - C (26)	1. 4 0 9 (5)
C (26) - C (27)	1. 3 5 4 (4)
C (27) - C (28)	1. 4 0 9 (4)
C (28) - C (30)	1. 4 0 8 (4)
C (28) - C (29)	1. 4 1 3 (4)
C (29) - N (3)	1. 3 8 8 (3)
C (30) - C (31)	1. 3 6 8 (4)
C (31) - C (32)	1. 4 1 1 (4)
C (31) - C (33)	1. 5 1 2 (4)
C (32) - N (3)	1. 3 1 1 (4)
C (32) - C (34)	1. 4 6 0 (4)
C (33) - N (4)	1. 4 7 7 (3)
C (34) - C (38)	1. 3 6 2 (4)
C (34) - N (4)	1. 3 7 3 (4)
C (35) - O (6)	1. 2 2 3 (3)

10

20

30

C (3 5) -N (4)	1. 3 8 0 (3)
C (3 5) -C (3 6)	1. 4 4 0 (4)
C (3 6) -C (3 7)	1. 3 4 8 (4)
C (3 6) -C (3 9)	1. 5 0 8 (4)
C (3 7) -C (3 8)	1. 4 2 3 (4)
C (3 7) -C (4 1)	1. 5 0 7 (4)
C (3 9) -O (7)	1. 4 6 8 (3)
C (4 0) -O (8)	1. 2 0 4 (3)
C (4 0) -O (7)	1. 3 4 0 (4)
C (4 0) -C (4 1)	1. 5 3 1 (4)
C (4 1) -O (9)	1. 4 3 4 (3)
C (4 1) -C (4 2)	1. 5 5 3 (4)
C (4 2) -C (4 3)	1. 5 3 2 (4)
C (4 4) -O (1 0)	1. 1 9 2 (4)
C (4 4) -O (9)	1. 3 7 2 (4)
C (4 4) -C (4 5)	1. 4 8 3 (4)
C (4 5) -C (4 6)	1. 5 2 4 (4)

10

C (2) -C (1) -C (6)	1 1 9. 8 (3)
C (1) -C (2) -C (3)	1 2 1. 1 (3)
C (4) -C (3) -C (2)	1 2 0. 1 (3)
C (3) -C (4) -C (5)	1 2 1. 0 (3)
C (7) -C (5) -C (6)	1 1 9. 5 (3)
C (7) -C (5) -C (4)	1 2 2. 6 (3)
C (6) -C (5) -C (4)	1 7 7. 9 (3)
N (1) -C (6) -C (1)	1 1 8. 3 (3)
N (1) -C (6) -C (5)	1 2 1. 8 (3)
C (1) -C (6) -C (5)	1 1 9. 9 (3)
C (8) -C (7) -C (5)	1 1 8. 1 (3)
C (7) -C (8) -C (9)	1 1 8. 7 (3)
C (7) -C (8) -C (1 0)	1 3 1. 8 (3)
C (9) -C (8) -C (1 0)	1 0 9. 6 (3)
N (1) -C (9) -C (8)	1 2 6. 2 (3)
N (1) -C (9) -C (1 1)	1 2 5. 2 (3)
C (8) -C (9) -C (1 1)	1 0 8. 6 (3)
N (2) -C (1 0) -C (8)	1 0 2. 1 (2)
C (1 5) -C (1 1) -N (2)	1 2 1. 3 (3)
C (1 5) -C (1 1) -C (9)	1 3 2. 3 (3)
N (2) -C (1 1) -C (9)	1 0 6. 4 (3)
O (1) -C (1 2) -N (2)	1 2 1. 2 (3)
O (1) -C (1 2) -C (1 3)	1 2 4. 4 (3)
N (2) -C (1 2) -C (1 3)	1 1 4. 3 (3)
C (1 4) -C (1 3) -C (1 2)	1 2 2. 0 (3)
C (1 4) -C (1 3) -C (1 6)	1 2 1. 6 (3)
C (1 2) -C (1 3) -C (1 6)	1 1 6. 4 (3)
C (1 3) -C (1 4) -C (1 5)	1 2 0. 8 (3)
C (1 3) -C (1 4) -C (1 8)	1 1 7. 7 (3)
C (1 5) -C (1 4) -C (1 8)	1 2 1. 5 (3)
C (1 1) -C (1 5) -C (1 4)	1 1 7. 7 (3)
O (2) -C (1 6) -C (1 3)	1 1 3. 5 (3)
O (3) -C (1 7) -O (2)	1 1 8. 5 (3)
O (3) -C (1 7) -C (1 8)	1 2 3. 5 (3)
O (2) -C (1 7) -C (1 8)	1 1 7. 9 (3)

20

30

O (4) -C (18) -C (14)	1 1 2. 3 (2)
O (4) -C (18) -C (17)	1 0 9. 7 (3)
C (14) -C (18) -C (17)	1 1 1. 6 (3)
O (4) -C (18) -C (19)	1 0 5. 4 (3)
C (14) -C (18) -C (19)	1 0 8. 6 (3)
C (17) -C (18) -C (19)	1 0 8. 9 (3)
C (20) -C (19) -C (18)	1 1 4. 0 (3)
O (5) -C (21) -O (4)	1 2 2. 3 (3)
O (5) -C (21) -C (22)	1 2 6. 1 (3)
O (4) -C (21) -C (22)	1 1 1. 6 (3)
C (21) -C (22) -C (23)	1 1 3. 2 (3)
C (25) -C (24) -C (29)	1 2 1. 0 (3)
C (24) -C (25) -C (26)	1 1 9. 4 (4)
C (27) -C (26) -C (25)	1 2 0. 9 (3)
C (26) -C (27) -C (28)	1 2 1. 1 (3)
C (30) -C (28) -C (27)	1 2 3. 2 (3)
C (30) -C (28) -C (29)	1 1 8. 6 (3)
C (27) -C (28) -C (29)	1 1 8. 1 (3)
N (3) -C (29) -C (24)	1 1 7. 8 (3)
N (3) -C (29) -C (28)	1 2 2. 6 (3)
C (24) -C (29) -C (28)	1 1 9. 5 (3)
C (31) -C (30) -C (28)	1 1 8. 6 (3)
C (30) -C (31) -C (32)	1 1 8. 5 (3)
C (30) -C (31) -C (33)	1 3 2. 1 (3)
C (32) -C (31) -C (33)	1 0 9. 4 (3)
N (3) -C (32) -C (31)	1 2 6. 0 (3)
N (3) -C (32) -C (34)	1 2 5. 3 (3)
C (31) -C (32) -C (34)	1 0 8. 6 (3)
N (4) -C (33) -C (31)	1 0 1. 6 (2)
C (38) -C (34) -N (4)	1 2 0. 8 (3)
C (38) -C (34) -C (32)	1 3 2. 0 (3)
N (4) -C (34) -C (32)	1 0 7. 1 (3)
O (6) -C (35) -N (4)	1 2 2. 2 (3)
O (6) -C (35) -C (36)	1 2 4. 5 (3)
N (4) -C (35) -C (36)	1 1 3. 2 (3)
C (37) -C (36) -C (35)	1 2 2. 9 (3)
C (37) -C (36) -C (39)	1 2 1. 3 (3)
C (35) -C (36) -C (39)	1 1 5. 8 (3)
C (36) -C (37) -C (38)	1 2 0. 9 (3)
C (36) -C (37) -C (41)	1 1 7. 8 (3)
C (38) -C (37) -C (41)	1 2 1. 2 (3)
C (34) -C (38) -C (37)	1 1 7. 3 (3)
O (7) -C (39) -C (36)	1 1 2. 1 (3)
O (8) -C (40) -O (7)	1 1 9. 0 (3)
O (8) -C (40) -C (41)	1 2 3. 2 (3)
O (7) -C (40) -C (41)	1 1 7. 6 (3)
O (9) -C (41) -C (37)	1 1 3. 2 (2)
O (9) -C (41) -C (40)	1 0 8. 9 (3)
C (37) -C (41) -C (40)	1 1 1. 9 (3)
O (9) -C (41) -C (42)	1 0 4. 9 (2)
C (37) -C (41) -C (42)	1 0 8. 1 (3)
C (40) -C (41) -C (42)	1 0 9. 7 (2)
C (43) -C (42) -C (41)	1 1 4. 9 (3)

10

20

30

O (1 0) - C (4 4) - O (9)	1 2 2. 5 (3)
O (1 0) - C (4 4) - C (4 5)	1 2 7. 1 (3)
O (9) - C (4 4) - C (4 5)	1 1 0. 4 (3)
C (4 4) - C (4 5) - C (4 6)	1 1 3. 8 (3)
C (9) - N (1) - C (6)	1 1 5. 7 (3)
C (1 1) - N (2) - C (1 2)	1 2 3. 8 (3)
C (1 1) - N (2) - C (1 0)	1 1 3. 3 (2)
C (1 2) - N (2) - C (1 0)	1 2 2. 9 (3)
C (3 2) - N (3) - C (2 9)	1 1 5. 6 (3)
C (3 4) - N (4) - C (3 5)	1 2 4. 8 (3)
C (3 4) - N (4) - C (3 3)	1 1 3. 2 (2)
C (3 5) - N (4) - C (3 3)	1 2 2. 0 (3)
C (1 7) - O (2) - C (1 6)	1 2 2. 4 (2)
C (2 1) - O (4) - C (1 8)	1 1 7. 1 (3)
C (4 0) - O (7) - C (3 9)	1 2 2. 4 (2)
C (4 4) - O (9) - C (4 1)	1 1 6. 6 (2)

等価の原子を生成するのに対称変換を使用した：

【 0 1 5 6 】

10

20

【表 9】

表 10. $[\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_5] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ に関する異方性変位パラメータ ($\text{\AA}^2 \times 10^3$)						
	U^{11}	U^{22}	U^{33}	U^{23}	U^{13}	U^{12}
C (1)	45 (2)	43 (2)	48 (2)	-1 (2)	9 (2)	1 (2)
C (2)	51 (2)	51 (3)	55 (3)	-2 (2)	18 (2)	-4 (2)
C (3)	44 (2)	45 (2)	73 (3)	-7 (2)	12 (2)	-4 (2)
C (4)	41 (2)	38 (2)	59 (3)	-3 (2)	-4 (2)	-1 (2)
C (5)	38 (2)	24 (2)	46 (2)	-4 (2)	2 (2)	-7 (2)
C (6)	40 (2)	25 (2)	48 (2)	2 (2)	9 (2)	2 (2)
C (7)	45 (2)	28 (2)	40 (2)	0 (2)	-7 (2)	-6 (2)
C (8)	39 (2)	24 (2)	34 (2)	-2 (2)	2 (2)	-5 (2)
C (9)	39 (2)	19 (2)	31 (2)	1 (2)	6 (2)	1 (2)
C (10)	44 (2)	28 (2)	32 (2)	1 (2)	-3 (2)	-5 (2)
C (11)	39 (2)	29 (2)	31 (2)	3 (2)	4 (2)	1 (2)
C (12)	43 (2)	35 (2)	27 (2)	1 (2)	7 (2)	-7 (2)
C (13)	37 (2)	28 (2)	36 (2)	2 (2)	5 (2)	2 (2)
C (14)	38 (2)	27 (2)	28 (2)	-4 (2)	2 (2)	1 (2)
C (15)	44 (2)	34 (2)	24 (2)	3 (2)	2 (2)	6 (2)
C (16)	42 (2)	45 (2)	28 (2)	-1 (2)	4 (2)	-3 (2)
C (17)	40 (2)	41 (2)	44 (2)	-6 (2)	-1 (2)	2 (2)
C (18)	35 (2)	43 (2)	28 (2)	2 (2)	1 (2)	4 (2)
C (19)	40 (2)	38 (2)	35 (2)	-4 (2)	-1 (2)	0 (2)
C (20)	54 (2)	53 (3)	47 (2)	-4 (2)	-6 (2)	-6 (2)
C (21)	39 (2)	44 (3)	40 (2)	4 (2)	-1 (2)	4 (2)
C (22)	64 (3)	60 (3)	40 (2)	14 (2)	11 (2)	9 (2)
C (23)	63 (3)	72 (3)	75 (3)	19 (3)	20 (2)	2 (2)
C (24)	47 (2)	38 (2)	45 (2)	1 (2)	10 (2)	3 (2)
C (25)	43 (2)	50 (2)	61 (3)	1 (2)	18 (2)	0 (2)
C (26)	39 (2)	43 (2)	73 (3)	0 (2)	5 (2)	1 (2)
C (27)	41 (2)	34 (2)	58 (3)	0 (2)	-2 (2)	1 (2)
C (28)	35 (2)	21 (2)	42 (2)	-2 (2)	-1 (2)	1 (2)
C (29)	36 (2)	24 (2)	42 (2)	3 (2)	4 (2)	1 (2)
C (30)	48 (2)	22 (2)	33 (2)	2 (2)	-11 (2)	2 (2)
C (31)	34 (2)	23 (2)	34 (2)	-1 (2)	-2 (2)	1 (2)
C (32)	32 (2)	24 (2)	33 (2)	3 (2)	1 (2)	0 (2)
C (33)	46 (2)	28 (2)	33 (2)	2 (2)	0 (2)	-3 (2)
C (34)	42 (2)	23 (2)	30 (2)	-2 (2)	2 (2)	1 (2)
C (35)	50 (2)	22 (2)	32 (2)	0 (2)	7 (2)	1 (2)
C (36)	41 (2)	27 (2)	31 (2)	2 (2)	8 (2)	1 (2)
C (37)	33 (2)	23 (2)	35 (2)	0 (2)	2 (2)	0 (2)
C (38)	39 (2)	30 (2)	28 (2)	-2 (2)	4 (2)	1 (2)
C (39)	46 (2)	48 (2)	41 (2)	6 (2)	6 (2)	0 (2)
C (40)	43 (2)	42 (2)	43 (2)	2 (2)	12 (2)	2 (2)
C (41)	35 (2)	36 (2)	26 (2)	3 (2)	7 (2)	5 (2)
C (42)	42 (2)	37 (2)	44 (2)	0 (2)	1 (2)	-5 (2)
C (43)	51 (2)	54 (3)	49 (2)	-6 (2)	4 (2)	-9 (2)
C (44)	37 (2)	41 (2)	31 (2)	4 (2)	3 (2)	10 (2)
C (45)	61 (2)	50 (2)	44 (2)	8 (2)	13 (2)	2 (2)
C (46)	70 (3)	64 (3)	55 (3)	17 (2)	9 (2)	-7 (2)
N (1)	39 (2)	31 (2)	43 (2)	1 (2)	6 (1)	-4 (1)
N (2)	35 (2)	32 (2)	30 (2)	-1 (1)	1 (1)	-4 (1)
N (3)	38 (2)	26 (2)	36 (2)	0 (1)	4 (1)	2 (1)
N (4)	36 (2)	28 (2)	28 (2)	2 (1)	1 (1)	0 (1)

10

20

30

O (1)	4 7 (1)	5 2 (2)	3 3 (1)	1 (1)	2 (1)	- 4 (1)
O (2)	4 3 (2)	6 7 (2)	3 7 (2)	0 (1)	5 (1)	1 5 (1)
O (3)	4 9 (2)	6 8 (2)	5 0 (2)	0 (1)	- 3 (1)	2 3 (1)
O (4)	4 4 (1)	4 1 (2)	3 2 (1)	1 (1)	4 (1)	2 (1)
O (5)	7 8 (2)	4 0 (2)	4 0 (2)	0 (1)	3 (1)	2 (1)
O (6)	5 7 (2)	5 2 (2)	2 6 (1)	- 1 (1)	8 (1)	3 (1)
O (7)	4 5 (1)	6 3 (2)	3 8 (2)	3 (1)	1 4 (1)	1 3 (1)
O (8)	4 7 (2)	6 8 (2)	4 9 (2)	5 (1)	7 (1)	2 2 (1)
O (9)	3 9 (1)	3 3 (1)	3 2 (1)	- 2 (1)	4 (1)	1 (1)
O (1 0)	6 2 (2)	4 3 (2)	3 4 (2)	- 5 (1)	2 (1)	3 (1)
O (1 1)	6 3 (2)	5 8 (2)	4 8 (2)	- 2 (2)	- 1 0 (2)	- 1 (2)
O (1 2)	6 2 (2)	6 4 (2)	3 8 (2)	2 (1)	1 (1)	- 1 (1)
O (1 3)	5 8 (2)	6 9 (2)	7 3 (2)	- 6 (2)	1 (2)	9 (2)
O (1 4)	6 3 (2)	7 0 (3)	5 2 (2)	1 2 (2)	0 (1)	2 (2)
O (1 5)	5 9 (2)	8 9 (3)	9 4 (3)	2 4 (2)	- 5 (2)	1 (2)
O (1 6)	6 7 (2)	5 9 (3)	4 6 (2)	- 2 (2)	0 (1)	2 (2)

異方性変位因子指数は、 $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U^{11} + \dots + 2 h k a^{*} b^{*} U^{12}]$ の形を取る。

【 0 1 5 7 】

これらの試験から、本発明の化合物は驚くべきレベルの抗癌活性を示すことが明らかである。このことは、カバーする腫瘍範囲と応答の質との両方に当てはまる。本発明の方法は、成長を完全に妨げ、且つ癌腫（例えば肺癌、乳癌、結腸癌、胃癌、膵臓癌、膀胱癌、前立腺癌、骨肉種及び卵巣癌）及び悪性の黒色腫のヒト異種移植片を全体的に退行させることが可能である。これは、毒性を全く観察せずに達成された。6ヶ月間連続して処理した哺乳動物の多くは、病的影響も一度保有した腫瘍の再成長も示さなかった。本発明の水和結晶性脂肪族エステル水和物は全て、おおよそ同程度の効能及び治療指数を有しているものとする。

【 0 1 5 8 】

特に出願人は、本開示において言及される全ての参考文献の全内容を援用している。さらに、望ましい上限値と望ましい下限値との範囲、好ましい範囲又はリストのいずれかとして量、濃度又は他の値若しくはパラメータが与えられる場合、範囲が別々に開示されているか否かにかかわらず、これは、任意の上限範囲又は好ましい上限値と、任意の下限範囲又は好ましい下限値との任意の対から成る全ての範囲を具体的に開示していると理解すべきである。数値範囲が本明細書中で挙げられている場合、特に指定のない限り、範囲は、その端点と、範囲内の全ての整数及び分数とを含むと意図される。本発明の範囲は、範囲を規定する際に挙げられる特定の値に限定されないと意図される。

【 0 1 5 9 】

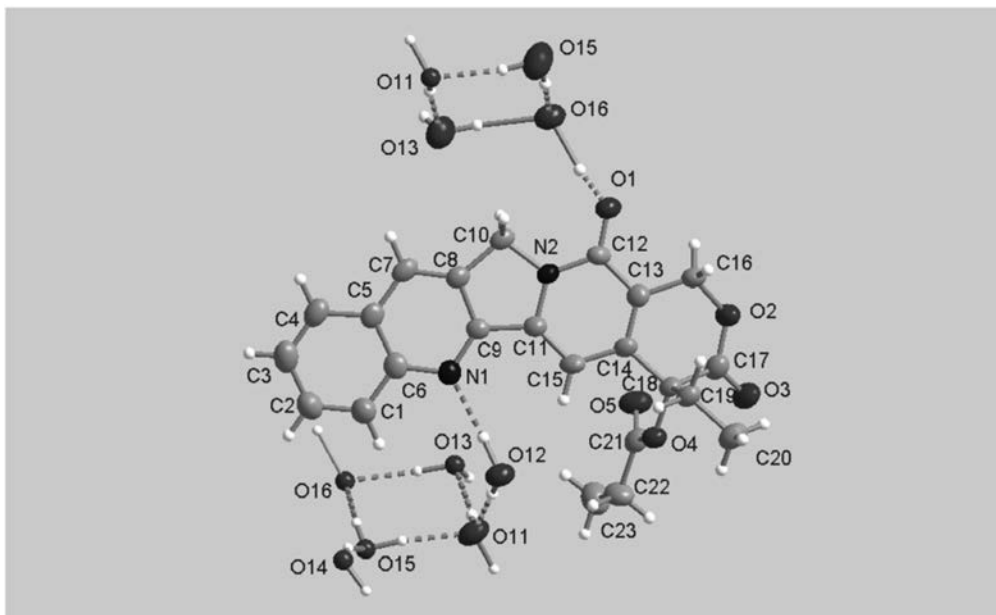
本発明の他の実施形態は、本明細書の考察、及び本明細書中に開示される本発明の実施から当業者に明らかになる。本明細書及び実施例は例示的なものにすぎないと見なされ、本発明の真の範囲及び精神は添付の特許請求の範囲及びその均等物により示されることが意図される。

10

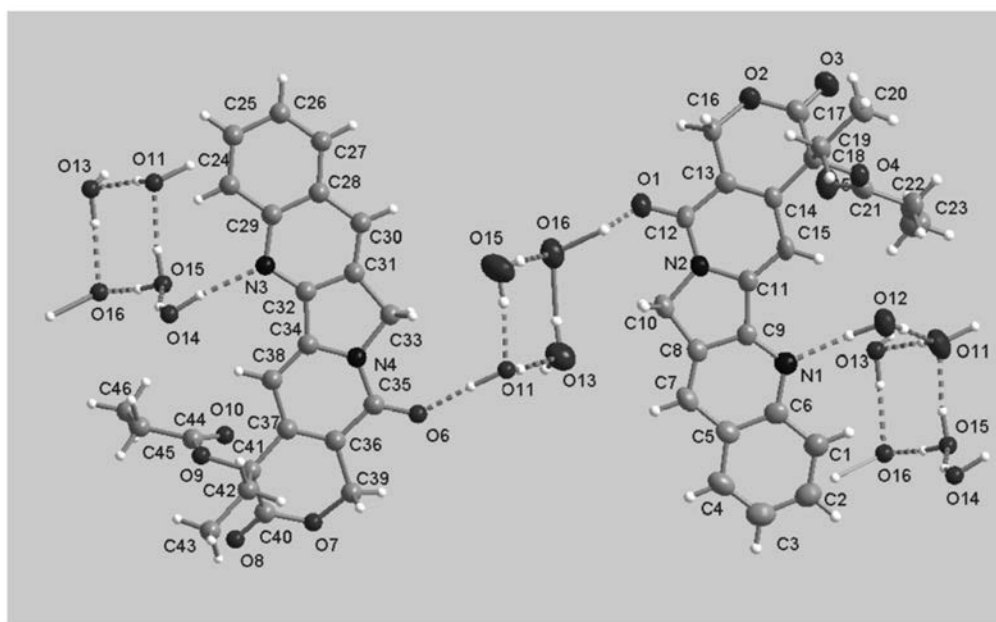
20

30

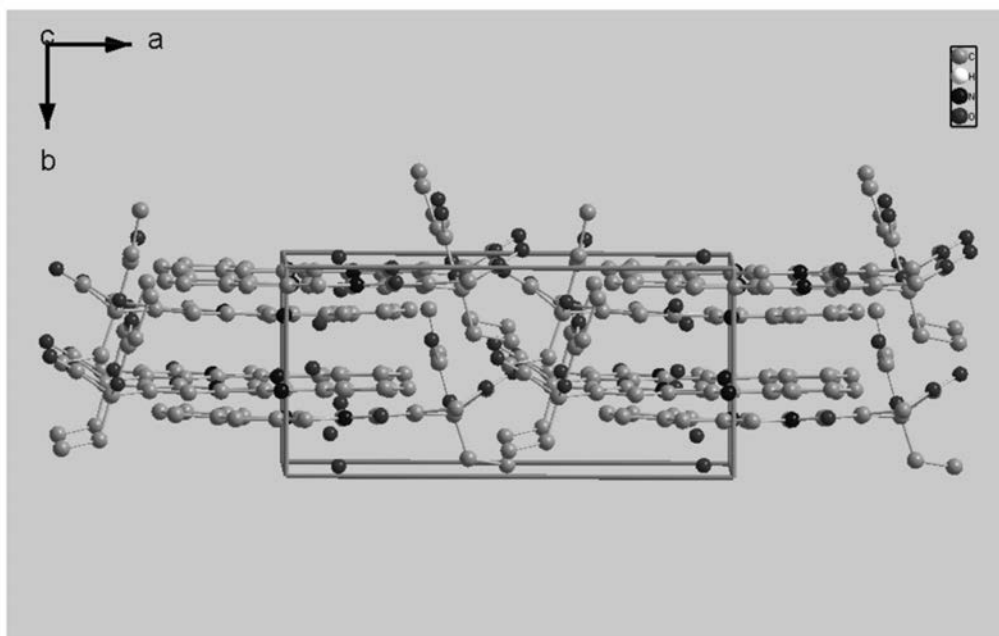
【 図 1 】

図1 $C_{23}H_{20}N_2O_5 \cdot 3H_2O$ の分子構造

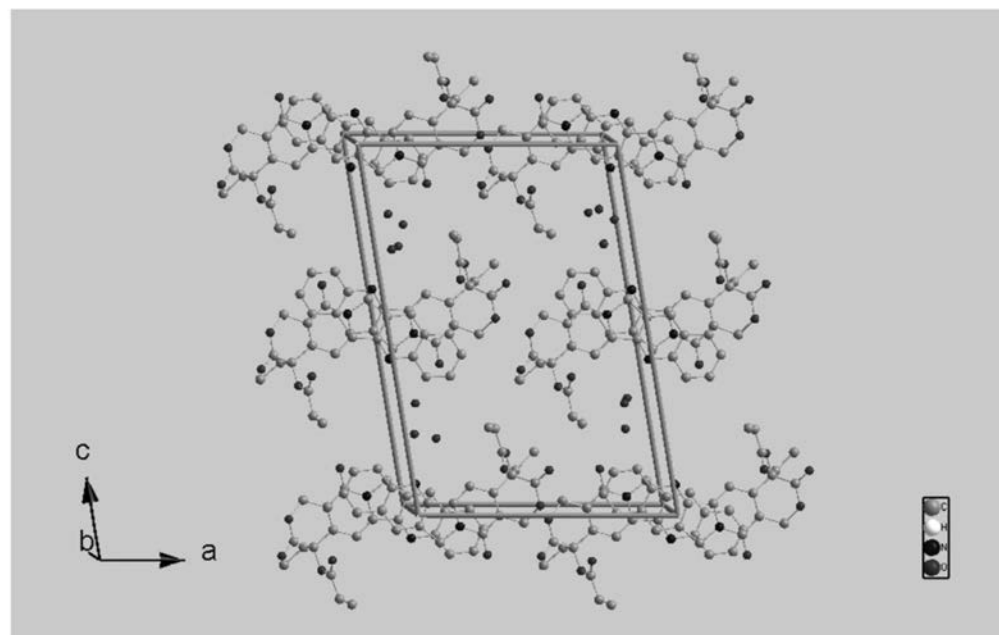
【 図 2 】

図2 $2 \times C_{23}H_{20}N_2O_5 \cdot 3H_2O$ の H_2O 架橋分子構造

【 図 3 】

図3 $C_{23}H_{20}N_2O_5 \cdot 3H_2O$ の三次元結晶構造 (a,b-次元)

【 図 4 】

図4 $C_{23}H_{20}N_2O_5 \cdot 3H_2O$ の三次元結晶構造 (a,c-次元)

【図5】

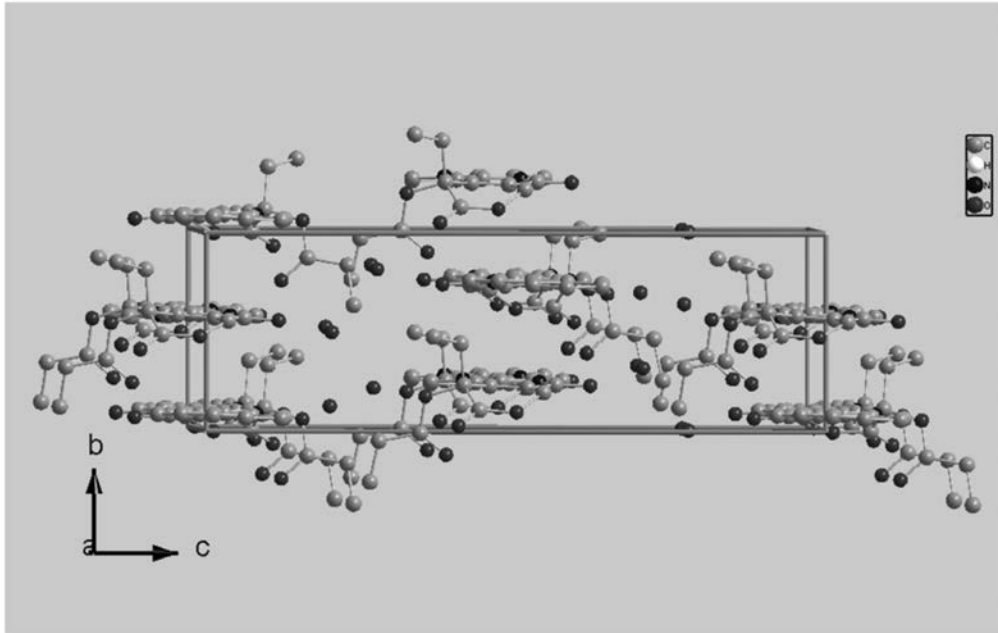


図5 $C_{23}H_{20}N_2O_5 \cdot 3H_2O$ の三次元結晶構造 (b,c-次元)

フロントページの続き

(74)代理人 100152319

弁理士 曾我 亜紀

(74)代理人 100163544

弁理士 平田 緑

(72)発明者 カオ, ツァイソング

アメリカ合衆国, ティーエックス 77546, フレンズウッド, 16123 アファームド ウ
エイ

審査官 鳥居 福代

(56)参考文献 特表2000-516909(JP, A)

国際公開第2007/035709(WO, A1)

特表2007-510751(JP, A)

国際公開第2004/076460(WO, A1)

CAO, Z. et al., Alkyl Esters of Camptothecin and 9-Nitrocamptothecin: Synthesis, in Vitro Pharmacokinetics, Toxicity, and Antitumor Activity, Journal of Medicinal Chemistry, 1998年, Vol.41, No.1, p.31-37

CAO, Z. et al., Structure-activity relationship of alkyl camptothecin esters, Annals of the New York Academy of Sciences, 2000年, Vol.922, p.122-135

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07D 491/22

A61K 31/4745

CAPLUS/REGISTRY(STN)

MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)