

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4153992号
(P4153992)

(45) 発行日 平成20年9月24日(2008.9.24)

(24) 登録日 平成20年7月11日(2008.7.11)

(51) Int. Cl.		F I
A 6 1 K	31/435 (2006.01)	A 6 1 K 31/435
A 6 1 K	31/475 (2006.01)	A 6 1 K 31/475
A 6 1 K	31/65 (2006.01)	A 6 1 K 31/65
A 6 1 K	31/704 (2006.01)	A 6 1 K 31/704
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00

請求項の数 20 (全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平9-504285
 (86) (22) 出願日 平成8年6月26日(1996.6.26)
 (65) 公表番号 特表平11-508882
 (43) 公表日 平成11年8月3日(1999.8.3)
 (86) 国際出願番号 PCT/IB1996/000742
 (87) 国際公開番号 WO1997/001336
 (87) 国際公開日 平成9年1月16日(1997.1.16)
 審査請求日 平成15年6月17日(2003.6.17)
 (31) 優先権主張番号 08/496,465
 (32) 優先日 平成7年6月29日(1995.6.29)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者
 ファーマ マー, ソシエダッド アノニマ
 スペイン国イー - 28760 マドリ
 ッド, カルレ ド ラ カレラ 3
 (74) 代理人
 弁理士 浅村 皓
 (74) 代理人
 弁理士 浅村 肇
 (74) 代理人
 弁理士 池田 幸弘
 (74) 代理人
 弁理士 山口 晶子

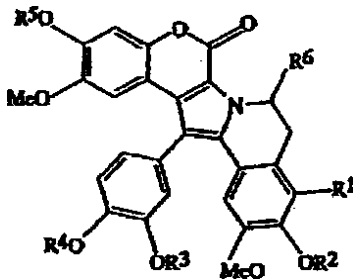
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ラメラリン-クラスアルカロイドの治療方法への使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ヒトを除く哺乳動物における多剤耐性腫瘍の治療方法であって、このような治療を必要とする対象に、下記式：



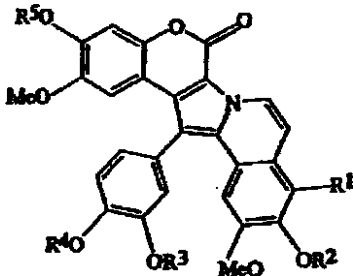
によって表され、式中の R¹ ~ R⁶が、下記表：

ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
A	OMe	Me	Me	H	H	OH
I	OMe	Me	Me	Me	H	H
I-アセテート	OMe	Me	Me	Me	COMe	H
I-メチレート	OMe	Me	Me	Me	Me	H
J	H	H	Me	Me	H	H
K	OH	Me	Me	H	H	H
K-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe	H
L	H	H	H	Me	H	H
L-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe	H

によって示される化合物群から選択される、ラメラリン化合物を投与することを含む治療方法。

【請求項2】

ヒトを除く哺乳動物における多剤耐性腫瘍の治療方法であって、このような治療を必要とする対象に、下記式：



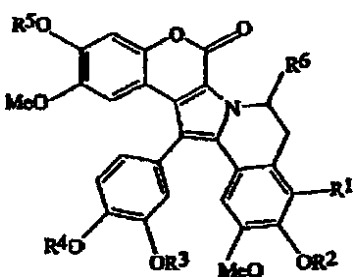
によって表され、式中の R¹ ~ R⁵ が、下記表：

ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
B	OMe	Me	Me	H	H
D-トリアセテート	H	COMe	Me	COMe	COMe
M	OH	Me	Me	H	H
M-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe
N-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe

によって示される化合物群から選択される、ラメラリン化合物を投与することを含む治療方法。

【請求項3】

ヒトを除く哺乳動物における多剤耐性腫瘍の治療方法であって、このような治療を必要とする対象に、下記式：



によって表され、式中の $R^1 \sim R^6$ が、下記表：

ラメラリン	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6
A	OMe	Me	Me	H	H	OH
I	OMe	Me	Me	Me	H	H
I-アセテート	OMe	Me	Me	Me	COMe	H
I-メチレート	OMe	Me	Me	Me	Me	H
J	H	H	Me	Me	H	H
K	OH	Me	Me	H	H	H
K-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe	H
L	H	H	H	Me	H	H
L-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe	H

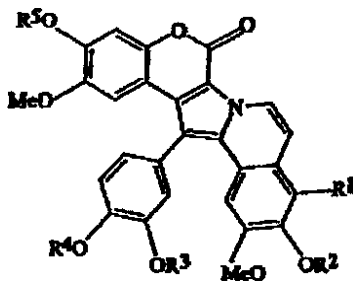
10

によって示される化合物群から選択される、ラメラリン化合物の有効多剤耐性細胞傷害量を投与することを含む治療方法。

【請求項4】

ヒトを除く哺乳動物における多剤耐性腫瘍の治療方法であって、このような治療を必要とする対象に、下記式：

20



によって表され、式中の $R^1 \sim R^5$ が、下記表：

30

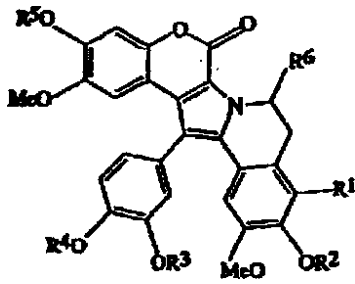
ラメラリン	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5
B	OMe	Me	Me	H	H
D-トリアセテート	H	COMe	Me	COMe	COMe
M	OH	Me	Me	H	H
M-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe
N-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe

によって示される化合物群から選択される、ラメラリン化合物の有効多剤耐性細胞傷害量を投与することを含む治療方法。

40

【請求項5】

下記式：



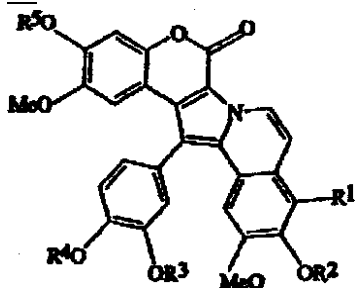
によって表され、式中の $R^1 \sim R^6$ が、下記表：

ラメラリン	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6
A	OMe	Me	Me	H	H	OH
I	OMe	Me	Me	Me	H	H
I-アセテート	OMe	Me	Me	Me	COMe	H
I-メチレート	OMe	Me	Me	Me	Me	H
J	H	H	Me	Me	H	H
K	OH	Me	Me	H	H	H
K-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe	H
L	H	H	H	Me	H	H
L-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe	H

によって示される化合物群から選択される、1種以上のラメラリン化合物と、ピンラスチン、ピンクリスチン、エトポシド、テニポシド、ドクソルピシン（アドリアマイシン）、ダウノルピシン、プリカマイシン（ミトラマイシン）及びアクチノマイシンDから成る群から選択される、多剤耐性（MDR）に冒された1種以上の抗腫瘍薬物とを組み合わせる医薬組成物。

【請求項6】

下記式：



によって表され、式中の $R^1 \sim R^5$ が、下記表：

ラメラリン	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5
B	OMe	Me	Me	H	H
D-トリアセテート	H	COMe	Me	COMe	COMe
M	OH	Me	Me	H	H
M-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe
N-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe

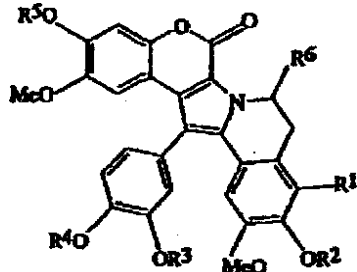
によって示される化合物群から選択される、1種以上のラメラリン化合物と、

ビンブラスチン、ピンクリスチン、エトポシド、テニポシド、ドクソルビシン（アドリアマイシン）、ダウノルピシン、プリカマイシン（ミトラマイシン）及びアクチノマイシン D から成る群から選択される、多剤耐性（MDR）に冒された 1 種以上の抗腫瘍薬物とを組み合わせる医薬組成物。

【請求項 7】

抗腫瘍性化学治療を必要とするヒトを除く哺乳動物における多剤耐性（MDR）に冒された薬物の抗腫瘍性化学治療効果を改良する方法であって、

下記式：



10

によって表され、式中の R¹ ~ R⁶ が、下記表：

ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
A	OMe	Me	Me	H	H	OH
I	OMe	Me	Me	Me	H	H
I-アセテート	OMe	Me	Me	Me	COMe	H
I-メチレート	OMe	Me	Me	Me	Me	H
J	H	H	Me	Me	H	H
K	OH	Me	Me	H	H	H
K-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe	H
L	H	H	H	Me	H	H
L-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe	H

20

30

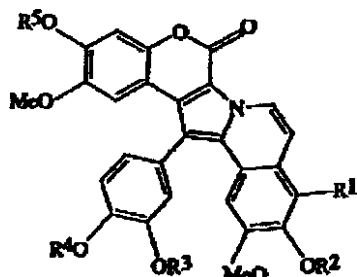
によって示される化合物群から選択されるラメラリン化合物とともに、

ビンブラスチン、ピンクリスチン、エトポシド、テニポシド、ドクソルビシン（アドリアマイシン）、ダウノルピシン、プリカマイシン（ミトラマイシン）及びアクチノマイシン D から成る群から選択される、多剤耐性（MDR）に冒された抗腫瘍薬物を一緒に投与することを含む改良方法。

【請求項 8】

抗腫瘍性化学治療を必要とするヒトを除く哺乳動物における多剤耐性（MDR）に冒された薬物の抗腫瘍性化学治療効果を改良する方法であって、

下記式：



40

によって表され、式中の R¹ ~ R⁵ が、下記表：

50

ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
B	OMe	Me	Me	H	H
D-トリアセテート	H	COMe	Me	COMe	COMe
M	OH	Me	Me	H	H
M-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe
N-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe

によって示される化合物群から選択されるラメラリン化合物とともに、
 ビンブラスチン、ピンクリスチン、エトポシド、テニポシド、ドクソルピシン（アドリア
 マイシン）、ダウノルピシン、プリカマイシン（ミトラマイシン）及びアクチノマイシン
 Dから成る群から選択される、多剤耐性（MDR）に冒された抗腫瘍薬物を一緒に投与す
 ることを含む改良方法。

10

【請求項 9】

前記多剤耐性（MDR）に冒された抗腫瘍薬物と、前記ラメラリン化合物とを同時に投与
 する、請求項 7 又は 8 に記載の方法。

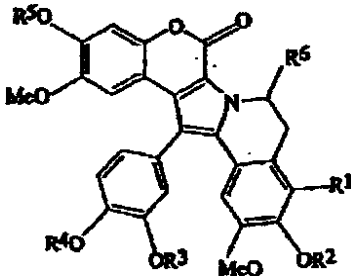
【請求項 10】

前記多剤耐性（MDR）に冒された抗腫瘍薬物と、前記ラメラリン化合物とを連続的に投
 与する、請求項 7 又は 8 に記載の方法。

20

【請求項 11】

ヒトを含む哺乳動物における多剤耐性腫瘍の治療用医薬組成物であって、活性成分として
 、下記式：



30

によって表され、式中の R¹ ~ R⁶ が、下記表：

ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
A	OMe	Me	Me	H	H	OH
I	OMe	Me	Me	Me	H	H
I-アセテート	OMe	Me	Me	Me	COMe	H
I-メチレート	OMe	Me	Me	Me	Me	H
J	H	H	Me	Me	H	H
K	OH	Me	Me	H	H	H
K-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe	H
L	H	H	H	Me	H	H
L-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe	H

40

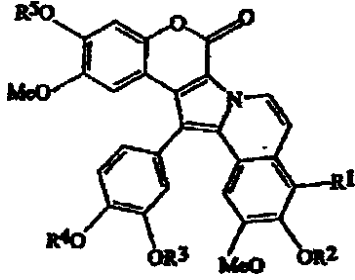
によって示される化合物群から選択される、ラメラリン化合物を含有する医薬組成物。

【請求項 12】

ヒトを含む哺乳動物における多剤耐性腫瘍の治療用医薬組成物であって、活性成分として

50

、下記式：



によって表され、式中の R¹ ~ R⁵が、下記表：

10

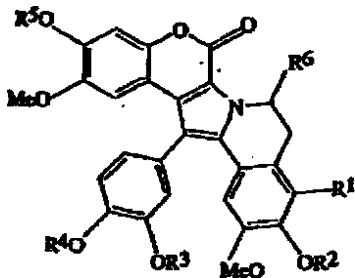
ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
B	OMe	Me	Me	H	H
D-トリアセテート	H	COMe	Me	COMe	COMe
M	OH	Me	Me	H	H
M-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe
N-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe

によって示される化合物群から選択される、ラメラリン化合物を含有する医薬組成物。

20

【請求項 13】

ヒトを含む哺乳動物における多剤耐性腫瘍の治療用医薬組成物であって、活性成分として、有効多剤耐性細胞傷害量の下記式：



30

によって表され、式中の R¹ ~ R⁶が、下記表：

ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
A	OMe	Me	Me	H	H	OH
I	OMe	Me	Me	Me	H	H
I-アセテート	OMe	Me	Me	Me	COMe	H
I-メチレート	OMe	Me	Me	Me	Me	H
J	H	H	Me	Me	H	H
K	OH	Me	Me	H	H	H
K-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe	H
L	H	H	H	Me	H	H
L-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe	H

40

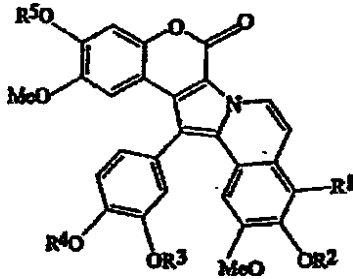
によって示される化合物群から選択される、ラメラリン化合物を含有する医薬組成物。

【請求項 14】

ヒトを含む哺乳動物における多剤耐性腫瘍の治療用医薬組成物であって、活性成分として

50

、有効多剤耐性細胞傷害量の下記式：



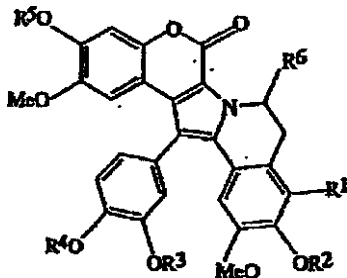
によって表され、式中の R¹ ~ R⁵が、下記表：

ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
B	OMe	Me	Me	H	H
D-トリアセテート	H	COMe	Me	COMe	COMe
M	OH	Me	Me	H	H
M-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe
N-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe

によって示される化合物群から選択される、ラメラリン化合物を含有する医薬組成物。

【請求項15】

下記式：



によって表され、式中の R¹ ~ R⁶が、下記表：

ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
A	OMe	Me	Me	H	H	OH
I	OMe	Me	Me	Me	H	H
I-アセテート	OMe	Me	Me	Me	COMe	H
I-メチレート	OMe	Me	Me	Me	Me	H
J	H	H	Me	Me	H	H
K	OH	Me	Me	H	H	H
K-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe	H
L	H	H	H	Me	H	H
L-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe	H

によって示される化合物群から選択される、1種以上のラメラリン化合物と、ピンラスチン、ピンクリスチン、エトポシド、テニポシド、ドクソルビシン（アドリアマイシン）、ダウノルビシン、プリカマイシン（ミトラマイシン）及びアクチノマイシン D から成る群から選択される、多剤耐性（MDR）に冒された1種以上の抗腫瘍薬物と

10

20

30

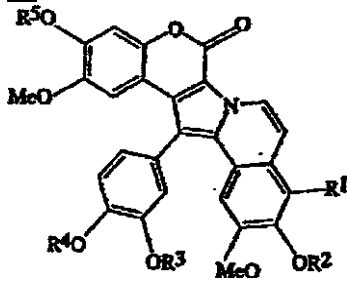
40

50

を組み合わせるキット。

【請求項 16】

下記式：



10

によって表され、式中の $R^1 \sim R^5$ が、下記表：

ラメラリン	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5
B	OMe	Me	Me	H	H
D-トリアセテート	H	COMe	Me	COMe	COMe
M	OH	Me	Me	H	H
M-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe
N-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe

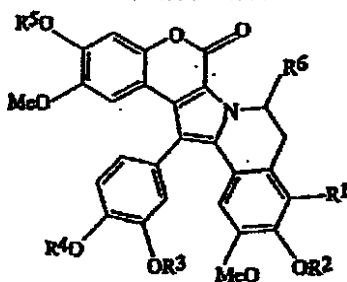
20

によって示される化合物群から選択される、1種以上のラメラリン化合物と、
 ピンラスチン、ピンクリスチン、エトポシド、テニポシド、ドクソルビシン（アドリア
 マイシン）、ダウノルビシン、プリカマイシン（ミトラマイシン）及びアクチノマイシン
 D から成る群から選択される、多剤耐性（MDR）に冒された1種以上の抗腫瘍薬物と
 を組み合わせるキット。

【請求項 17】

多剤耐性（MDR）に冒された薬物の抗腫瘍性化学治療効果を改良するための医薬組成物
 であって、活性成分として、下記式：

30



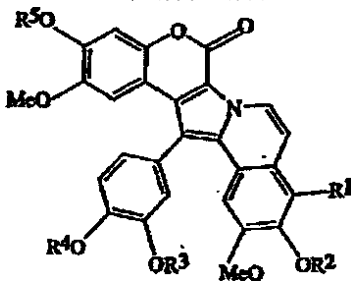
によって表され、式中の $R^1 \sim R^6$ が、下記表：

ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶
A	OMe	Me	Me	H	H	OH
I	OMe	Me	Me	Me	H	H
I-アセテート	OMe	Me	Me	Me	COMe	H
I-メチレート	OMe	Me	Me	Me	Me	H
J	H	H	Me	Me	H	H
K	OH	Me	Me	H	H	H
K-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe	H
L	H	H	H	Me	H	H
L-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe	H

によって示される化合物群から選択される、ラメラリン化合物を含有する医薬組成物。

【請求項 18】

多剤耐性 (MDR) に冒された薬物の抗腫瘍性化学治療効果を改良するための医薬組成物であって、活性成分として、下記式：



によって表され、式中の R¹ ~ R⁵ が、下記表：

ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
B	OMe	Me	Me	H	H
D-トリアセテート	H	COMe	Me	COMe	COMe
M	OH	Me	Me	H	H
M-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe
N-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe

によって示される化合物群から選択される、ラメラリン化合物を含有する医薬組成物。

【請求項 19】

前記医薬組成物が、ビンブラスチン、ピンクリスチン、エトポシド、テニポシド、ドクソルビシン (アドリアマイシン)、ダウノルビシン、プリカマイシン (ミトラマイシン) 及びアクチノマイシン D から成る群から選択される、多剤耐性 (MDR) に冒された抗腫瘍薬物と同時に投与されるためのものである、請求項 17 又は 18 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

前記医薬組成物が、ビンブラスチン、ピンクリスチン、エトポシド、テニポシド、ドクソルビシン (アドリアマイシン)、ダウノルビシン、プリカマイシン (ミトラマイシン) 及びアクチノマイシン D から成る群から選択される、多剤耐性 (MDR) に冒された抗腫瘍薬物とともに、連続的に投与されるものである、請求項 17 又は 18 に記載の医薬組成物。

。

10

20

30

40

50

【発明の詳細な説明】

発明の背景

海生ホヤは構造的に多様なアルカロイドの豊富な供給源であり、これらのアルカロイドの多くが広範囲スペクトルの生物学的活性を有する。Didemnidae科からのメンバーは一般に高度に有色の外殻形成生物であり、習癖によって群体を成し、アミノ酸に由来する化学成分を特徴的に含有する。例えば、多芳香環 (polyaromatic) ラメラリンアルカロイドは3個のチロシン残基から誘導されると考えられる。ラメラリン骨格はパラオからの前鰓垂綱の軟体動物、Lamellaria種からの単離物中で初めて同定されたが、さらに最近ではセイシェルからのDidemnidae科ホヤ Didemnum chartaceum において発見されている。ラメラリンがホヤの Ascidia nigra から単離された、血液色素を還元するツニクロム類 (tunichrome) に遠縁的に関係すると考えられる。

10

Anderson等のJ. Am. Chem. Soc., 107: 5492~5495 (1985)は、海生の前鰓垂綱軟体動物、Lamellaria種から得られる4種類の多芳香環代謝産物、ラメラリンA~Dの単離と特徴付けとを述べている。ラメラリンAの構造はX線結晶学的研究によって決定され、ラメラリンB~Dの構造はスペクトルデータの解釈によって割り当てられている。この刊行物の開示は本明細書に援用される。

Lindquist等, J. Org. Chem., 53: 4570~4574 (1988)は、インド洋から得られた海生ホヤ Didemnum chartaceum からのラメラリン・クラスの4種類の新規なアルカロイドの単離と特徴付けとを述べている。ラメラリンEの構造は分光測光法とX線結晶学的方法とによって決定された。ラメラリンF~Hの構造はNMRスペクトルデータの解釈によって解明された。この刊行物の開示は本明細書に援用される。

20

Carroll等のAust. J. Chem., 46: 489~501 (1993)は、海生ホヤ、Didemnum種から単離された、6種類の新規な多芳香環アルカロイド、ラメラリンI、J、K、L、M及びラメラリンNのトリアセテートと、このタイプの4種類の既知アルカロイド、ラメラリンA、B、C及びラメラリンDのトリアセテートとを述べている。この刊行物の開示は本明細書に援用される。

本明細書に開示されるラメラリン化合物は、種々なヒト腫瘍の治療において重要な問題になっている獲得性多剤耐性 (MDR) の無毒性阻害剤であることが判明している。ラメラリン化合物はMDR細胞に対して細胞傷害性であることも判明している。これらの活性の両方がMDR腫瘍の治療に有用である。

30

多剤耐性が観察されている、抗腫瘍性化学療法的価値が実証された薬物はピンブラスチン、ピンクリスチン、エトポシド、テニポシド、ドクソルビシン (アドリアマイシン)、ダウノルビシン、プリカマイシン (ミトラマイシン) 及びアクチノマイシンDを包含する。多くの腫瘍が固有に多剤耐性であり (例えば、結腸及び腎臓の腺癌)、他の腫瘍は治療中に多剤耐性を獲得する (例えば、神経芽細胞腫及び小児の白血病)。

理論に縛られるのを望む訳ではないが、mdr遺伝子が糖タンパク質 (P-170又はP-糖タンパク質) をコードすると考えられる。このタンパク質が癌細胞におけるばかりでなく正常細胞においてもそれらの解毒に用いられるエネルギー依存性流出ポンプ (efflux pump) として作用すると考えられる。しかし、癌細胞が遺伝子を過剰発現することができる場合には、このような細胞における抗腫瘍薬物の効果が非常に減ぜられるので、MDR表現型が現れる。例えば、Deuchars等, Seminars in Oncology, 16: 156~165 (1989)と、Gottesman等, Ann. Rev. Biochem., 62: 385~427 (1993)を参照のこと。MDRを克服するための2方法は(1) P-170の阻害剤を発見すること、及び(2) MDR癌細胞株の正常なカウンターパートに対すると同様に前記MDR癌細胞株に対して有効である薬物を発見することである。

40

MDR阻害剤はある種の多剤耐性腫瘍細胞に薬物感受性を回復させるために用いられる作用剤である。この性質を有することが知られる作用剤には、ある一定のカルシウム輸送プ

50

ロッカー（例えば、ベラパミル）と、ある一定のカルモジュリン阻害剤（例えば、トリフルオベラジン）とである。しかし、これらの化合物の臨床的使用はそれらの有害な副作用によって限定されている。Ozols等, *J. Clin. Oncol.*, 5: 541~547 (1987)を参照のこと; Twentyman等, *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 12: 1355 (1986)をも参照のこと。したがって、このような有害な副作用の最小化（又は除去）はMDR阻害剤の選択における重要な要素である。

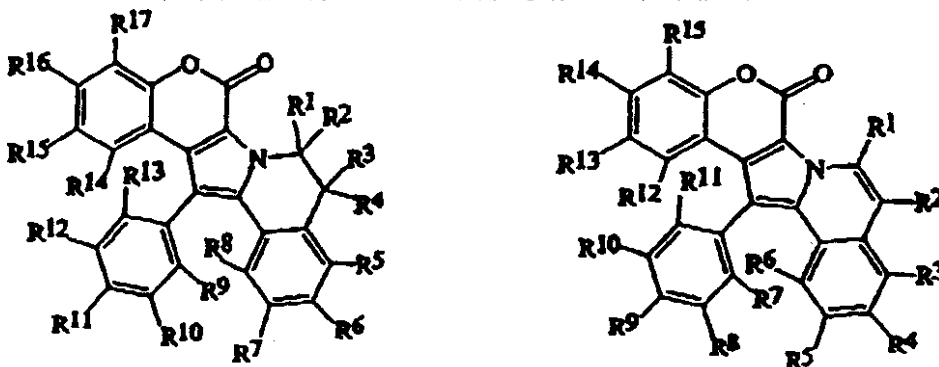
ベラパミルが最初に発表されて以来、数種類の天然生成物の化合物がMDRを克服又は阻害すると報告されている。例は植物アルカロイドのタリプラスチン（Chen等, *Cancer Res.*, 53: 2544~2547 (1993)を参照のこと）と、海生天然生成物パテルラミンド（patellamind）D（Williams等, *Cancer Letters*, 71: 97~102 (1993)を参照のこと）とを包含する。MDR細胞に対して有効な化合物の他の例はペプチド シクロスポリンA（Beck等, *Biochem. Pharmacol.*, 43: 89~93 (1992)を参照のこと）と、複素環式化合物（5-N-アセチラードエミン（acetylardeemin）- Karwowsky等, *J. Antibiotics*, 46: 374~379 (1993)を参照のこと）と、Geodiamolide A, ジャスパミド及びグラシアステロールA（Stingi等, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 30: 401~406 (1992)参照のこと）とを包含する。このように、新規なMDR阻害剤と、MDR細胞に対して有効な化合物の探求は続けられる。

発明の概要

本明細書に開示されるラメラリン化合物は、種々なヒト腫瘍の治療において重要な問題になっている獲得性多剤耐性（MDR）の無毒性阻害剤であることが判明している。ラメラリン化合物はMDR細胞に対して細胞傷害性であることも判明している。これらの活性の両方がMDR腫瘍の治療に有用である。上述したように、MDRは、ある一定の高分子量膜糖タンパク質の過剰発現と、化学療法剤を蓄積し、保持する腫瘍細胞の能力の低下とを包含する、腫瘍細胞におけるある種の変化に関係すると考えられる。

したがって、本発明は、MDR細胞に対して有効な抗腫瘍剤であると判明しているラメラリン化合物の1種以上の有効な抗MDR量、即ち、阻害量又は細胞傷害量又は両方によって、選択された腫瘍を治療する方法に関する。

したがって、本発明の好ましい1実施態様では、下記式：



A

B

[式中、 $R^1 \sim R^{17}$ （式Aにおける）又は $R^1 \sim R^{16}$ （式Bにおける）は同じものでも、異なるものでもよく、-H、-OH、-Me、-Et、-Pro、-OMe、-COMe、及び-OCOMeから成る群から選択される]

の一方（又は両方）を有する化合物の有効MDR阻害量を投与することを含むMDR腫瘍を治療する（即ち、成長を遅らせるか又は成長を停止させることによる）方法を提供する。

10

20

30

40

50

したがって、本発明の他の好ましい実施態様では、特に上記に示した式 A 又は B の抗 MDR ラメラリン化合物の MDR 細胞に対する有効細胞傷害量を投与することを含む MDR 腫瘍を治療する（即ち、成長を遅らせるか又は成長を停止させることによる）方法を提供する。

したがって、本発明は 2 つの一般式 A と B に包含されるラメラリン化合物を用いる治療方法に関し、さらに詳しくは、現在特許請求する発明に有用な化合物の特に好ましい例として下記表 I に示すラメラリンを用いる治療方法に関する。

表 I : 既知ラメラリンの構造

グループ I : 飽和ラメラリン

グループ II : 不飽和ラメラリン

ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	ラメラリン	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
A	OMe	Me	Me	H	H	OH	B	OMe	Me	Me	H	H
I	OMe	Me	Me	Me	H	H	D-トリアセテート	H	COMe	Me	COMe	COMe
ト-アセテート	OMe	Me	Me	Me	COMe	H	M	OH	Me	Me	H	H
ト-メチレート	OMe	Me	Me	Me	Me	H	M-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe
J	H	H	Me	Me	H	H	N-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe
K	OH	Me	Me	H	H	H						
K-トリアセテート	OCOMe	Me	Me	COMe	COMe	H						
L	H	H	H	Me	H	H						
L-トリアセテート	H	COMe	COMe	Me	COMe	H						

好ましい実施態様の詳細な説明

上述したように、本発明は哺乳動物における腫瘍を治療する新規な方法であって、このような治療を必要とする患者に MDR 活性の阻害剤又は MDR 細胞傷害性化合物のいずれかとしてラメラリンを投与することを含む方法に関する。したがって、ラメラリンを MDR 腫瘍に対して単独で、又は他の抗腫瘍薬物と組合せて MDR 細胞に対する有効な治療法として用いることができる。

本発明は本明細書に記載するような有用な 1 種以上のラメラリン化合物を含む薬剤組成物にも関する。その上、このような薬剤組成物はさらに 1 種以上の他の抗腫瘍薬物、特に、例えばビンブラスチン、ピンクリスチン、エトポシド、テニポシド、ドクソルビシン（アドリアマイシン）、ダウノルビシン、プリカマイシン（ミトラマイシン）及びアクチノマイシン D を包含する、多剤耐性が観察されている薬物を含むことができる。

したがって、本発明は、抗腫瘍性化学治療を必要とする患者における MDR に冒された薬物の抗腫瘍性化学治療効果を改良する方法であって、ラメラリン化合物の実際の抗 MDR 有効量と共に MDR に冒された抗腫瘍薬物を一緒に（同時に又は連続的に）投与することを含む方法にも関する。

本明細書に述べるように、本発明の化合物は *in vitro* と *in vivo* の両方において MDR 抗腫瘍活性を有することが判明しており、このようなものとして、これらの細胞傷害性化合物は動物、好ましくはヒトにおいて MDR 抗腫瘍化合物として有用であると考えられる。

細胞傷害性又は抗腫瘍性 MDR 阻害剤として用いられる場合に、本発明の化合物は種々な投与形で、特に非経口投与形で製造され、投与されることができる。投与形が有効成分と

10

20

30

40

50

して本発明の1種以上の化合物を含みうることは、当業者にとって明らかであろう。同様に、当業者は投与量及び投与経路が患者の必要性和有効成分(単数又は複数種類)の比活性(specific activity)とによって変化することを認識するであろう。これらのパラメータの決定は開業医の通常の技能の範囲内である。

以下の表I Iと表I I IはラメラリンのMDR阻害活性に関する付加的データを示す。これらのデータは以下に述べる操作によって得られたものである。

表 I I

感受性及び耐性腫瘍細胞株に対するラメラリン毒性

ラメラリン	基 準	活性 : IC ₅₀ (µg/ml)			
		マウス リンパ腫		チャイニーズ ハムスター 卵巣	
		P-388	P-388/SCHABEL (MDR)	CHOB1	CHOC5 (MDR)
A		0.5	0.5	0.2	0.4
B		5.5	5.5	3.0	10.0
D-トリアセテート		0.07	0.09	0.03	0.04
I		2.5	2.5	0.2	1.0
I-アセテート		5.5	5.5	2.5	5.0
I-メチレート		2.5	3.0	0.5	2.5
J		1.5	2.0	0.3	0.6
K		0.1	0.1	0.1	0.4
K-トリアセテート		0.06	0.1	0.1	0.1
L		0.6	0.7	0.4	0.6
L-トリアセテート		1.5	1.5	1.5	1.5
M		0.08	0.09	0.04	0.09
M-トリアセテート		0.6	0.7	0.5	2.0
N-トリアセテート		0.09	0.2	0.06	0.1
	アドリアマイシン	0.15	1.2	0.15	3.0
	ベラバミル	10.0	10.0	9.0	4.0
	PSC833	0.02	0.05	0.04	0.1

10

20

30

表 I I I

リバーシング剤 (reversing agent) (R.A.) の存在下又は不存在下での
 耐性細胞 (MDR) に対するアドリアマイシン毒性
 感受性の増分 (G.S.) = IC_{50} 対照 / IC_{50} R.A.

リバーシング剤 (R.A.)	R.A. ($\mu\text{g/ml}$)	マウスリンパ腫 (MDR)		チャイニーズ ハムスター 卵巣 (MDR)	
		P-388/SCHABEL IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	G.S.	CHOC5 IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	G.S.
対照 (アドリアマイシンのみ)	0	1.2		3.0	
ベラパミル (基準)	1 3	0.15 0.06	8.0 20.0	0.2 0.1	15.0 30.0
ラメラリン A	0.1 0.3	0.7 0.2	1.7 6.0	2.0 1.0	1.5 3.0
ラメラリン B	1 3	0.3 0.15	4.0 8.0	0.7 0.003	4.3 1,000
ラメラリン D-トリアセテート	0.01 0.03	0.7 0.12	1.7 10.0	2.5 0.003	1.2 1,000
ラメラリン I	0.1 0.3 1	0.4 0.15 0.04	3.0 8.0 30.0	0.6 0.15 0.01	5.0 20.0 300
ラメラリン I-アセテート	1 3	0.25 0.07	4.8 17.1	0.4 0.08	7.5 37.5
ラメラリン I-メチレート	0.3 1	0.2 0.04	6.0 30.0	0.4 0.12	7.5 25.0
ラメラリン J	0.1 0.3	0.9 0.7	1.3 1.7	2.5 2.0	1.2 1.5
ラメラリン K	0.03 0.1	0.9 0.3	1.3 4.0	2.0 0.9	1.5 3.3
ラメラリン K-トリアセテート	0.03	0.4	3.0	1.0	3.0
ラメラリン L	0.1 0.3	0.4 0.003	3.0 400	2.5 2.0	1.2 1.5
ラメラリン L-トリアセテート	0.3 1	0.2 <0.003	6.0 >400	0.1 0.003	30.0 1,000
ラメラリン M	0.03	1.0	1.2	1.2	2.5
ラメラリン M-トリアセテート	0.1 0.3	0.6 0.4	2.0 3.0	2.0 1.0	1.5 3.0
ラメラリン N-トリアセテート	0.01 0.03	0.8 0.3	1.5 4.0	2.0 0.4	1.5 7.5

MDR 活性の測定:

Earle 平衡塩類と、非必須アミノ酸と、2.0 mM L-グルタミンとを含み、炭酸水素ナトリウム (EMEM/nea a) を含まない Eagle 最少必須培地において、5% ウシ胎児血清 (FCS) と、 10^{-2} M 炭酸水素ナトリウムと 0.1 g/l ペニシリン G + 0.1 g/l 硫酸ストレプトマイシンとを補充して、対数増殖期の感受性細胞と MDR 細胞とを維持した。

細胞増殖と生存能力とを定量測定するために、Sigma Ref: M-2128 からの 3-[4,5-ジメチルチアゾル-2-イル]-2,5-ジフェニルテトラゾリウムプロ

10

20

30

40

50

ミド (MTT) を用いて *in vitro* 細胞の細胞傷害性を評価した。T. Mosmann, “細胞増殖及び生残率の迅速比色分析：増殖と細胞傷害性分析への応用”, *Journal of Immunological Methods*, 65: 55~63 (1983) を参照のこと。

用いた腫瘍細胞株は P-388 (ATCC CCL46)、DBA/2 マウス及びその対応MDR細胞株 P-388/SCHABEL からのリンパ系腫瘍の懸濁培養；CHOB1 (ATCC CCL16)、チャイニーズハムスター (chinese hamster) 卵巣及びその対応MDR細胞株CHOC5の単層培養であった。Rauscher III等, “多剤耐性表現型を示すアウロマイシン耐性ハムスター細胞突然変異株の特徴付け”, *Molecular Pharmacology*, 38: 198~206 (1990) を参照のこと。

10

この形式の分析は96孔細胞培養プレート99mm直径を用いる。1×10³細胞/孔の割合で孔の、試験すべき異なる濃度の対応ラメラリン及び他の化合物(基準)を含有するEMEM5%FCSの100µlアリコート中に細胞を接種した。薬物を含まない培養物の別々の2セットを、1セットは細胞が対数増殖期に留まることを保証するための増殖の対照として、細胞を含まない他のセットは培地の対照として接種した。全ての測定は2通りに実施した。

37、98%湿度雰囲気中の10%CO₂におけるインキュベーションの3日間後に、150µgのMTTを各孔の50µlの分析培地アリコート中に加える。プレートをさらに4時間インキュベートして、100µlのイソプロパノールアリコートを加えた。

20

他の生物学的性質：

ラメラリン化合物は免疫調節活性をも有するので、免疫調節剤化合物として有用である。免疫調節剤化合物と組成物は、名前が意味するように、温血動物における免疫機能を調節または調整するために有用である。免疫調節剤はある一定の疾患及び症状に対する免疫を高めるため又はこのような疾患及び症状の治癒を開始するための免疫刺激剤であることもできる。逆にいえば、免疫調節剤は異物に対する身体の好ましくない免疫反応及び自己免疫疾患を防止するための免疫阻害剤又は免疫抑制剤であることができる。

30

免疫調節剤は例えば紅斑性狼瘡並びに免疫不全疾患のような全身性自己免疫疾患の治療に有効であることが判明している。さらに、免疫調節剤は癌の免疫療法のために又は例えば腎臓、心臓又は骨髄のような、移植片としての異種器官若しくは他の組織の拒絶を防止するために有用であると考えられる。

ラメラリンI、K及びLは全ては、培養中のP388及びA549細胞株に対して匹敵しうる、有意な細胞傷害性を示す(各細胞株に対してIC₅₀ = 0.25µg/ml)。ラメラリンKとLは中程度の免疫調節活性をも示し(それぞれ、LCV:MLR147及び98)、このようなものとして、それらに関連した固有の技術上認識された有用性(art recognized utilities)を有する。

40

以下の表IVに示すように、ラメラリン化合物M、J及びNトリアセテートが、ラメラリンI、K及びLよりも、特にA549細胞に対して、有意に良好である*in vitro* 抗腫瘍活性を有することが驚くべきことに判明している。

以下の表Vに示すように、ラメラリンKの*in vivo* 抗腫瘍活性は上記で実証された*in vitro* 活性と一致する。これらのデータに基づくと、本明細書に開示したラメラリン化合物は特に下記腫瘍細胞種類：白血病(P388)、ヒト肺癌(A549)、ヒト結腸癌(HT-29)、ヒト黒色腫(MEL-28)に対して抗腫瘍化合物として有用であると考えられる。

表IV

腫瘍細胞株に対するラメラリン *in vitro* 活性 ($IC_{50} \mu g/ml$)

	P388	A549	HT-29	MEL-28
ラメラリン I	1	1	2	--
ラメラリン K	0.25	0.25	1	--
ラメラリン L	0.25	0.25	2	--
ラメラリン M	0.05	0.025	0.5	0.5
ラメラリン J	0.1	0.025	2.5	2.5
ラメラリン N				
トリアセテート	0.1	0.012	5	5

10

表V

P388リンパ性白血病に対する *in vitro* 抗腫瘍活性

20

化合物	投与量 (mg/kg) 注入量, 総量	計画 & 経路	体重 0日目 (gm) + SD	体重 5日目 (gm) + SD	体重 変化 (gm) 5日目	平均生存 時間	% T/C
LAM K (7)	15.000 75.000	QD 1-5 ip	19.5 ± 0.5	20.7 ± 0.5	1.2	28.3 ± 5.8	>135.0*

30

P388細胞 (10^8) を0日目に雌CD2F1マウスに腹腔内移植した。化合物を生理的食塩水ビヒクル中で1日目から5日目まで又は1日目から9日目まで0.5 ml / 動物の量で腹腔内投与した。0日目及び5日目にマウスを秤量し、毎日死亡を記録した。

*有意な活性(中程度): T/C 125%

本発明をその好ましい実施態様を含めて詳細に説明した。しかし、当業者が本発明の開示を考慮するならば本発明の改変及び/又は改良をおこなうことができ、これらが下記請求の範囲に記載するような、本発明の範囲及び要旨に含まれることは理解されるであろう。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 K 35/56 (2006.01) A 6 1 K 35/56
C 0 7 D 491/147 (2006.01) C 0 7 D 491/147

(72)発明者 ブエンテス, ホセ ルイス フェルナンデズ
スペイン国 イー - 2 4 0 0 4 レオン, カルレ コバドンガ, 2
(72)発明者 ガルシア グラバロス, デロレス
スペイン国 イー - 2 8 0 0 6 マドリッド, カルレ マルドナド, 6 3
(72)発明者 ロドリゲズ クエサダ, アナ
スペイン国 イー - 2 9 0 0 8 マラガ, ボルタル 6, 2 0, デ サン フランシスコ, 8

審査官 大野 晃

(56)参考文献 Anthony R. Carroll et al., Australian Journal of Chemistry, 1 9 9 3年, Vol.46, No.4,
p.489-501
Sylvia Urban et al., Australian Journal of Chemistry, 1 9 9 4年, Vol.47, No.10, p.191
9-1924

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B名)

A61K 31/435
A61K 31/475
A61K 31/65
A61K 31/704
A61K 35/56
C07D491/147
CAplus(STN)
REGISTRY(STN)
BIOSIS(STN)
EMBASE(STN)
MEDLINE(STN)