

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4495599号

(P4495599)

(45) 発行日 平成22年7月7日(2010.7.7)

(24) 登録日 平成22年4月16日(2010.4.16)

(51) Int.Cl. F I
A 6 1 K 31/27 (2006.01) A 6 1 K 31/27
A 6 1 P 35/00 (2006.01) A 6 1 P 35/00

請求項の数 8 (全 7 頁)

(21) 出願番号	特願2004-566776 (P2004-566776)	(73) 特許権者	591279294
(86) (22) 出願日	平成15年12月10日(2003.12.10)		イタルファルマコ ソシエタ ペル アチ
(65) 公表番号	特表2006-514659 (P2006-514659A)		オニ
(43) 公表日	平成18年5月11日(2006.5.11)		I T A L F A R M A C O S O C I E T A
(86) 国際出願番号	PCT/EP2003/014171		P E R A Z I O N I
(87) 国際公開番号	W02004/064824		イタリア共和国、20126 ミラノ、ピ
(87) 国際公開日	平成16年8月5日(2004.8.5)		アレ フルビオ テスチ 330
審査請求日	平成18年11月8日(2006.11.8)	(74) 代理人	100077481
(31) 優先権主張番号	MI2003A000064		弁理士 谷 義一
(32) 優先日	平成15年1月17日(2003.1.17)	(74) 代理人	100088915
(33) 優先権主張国	イタリア(IT)		弁理士 阿部 和夫
		(72) 発明者	フラビオ レオーニ
			イタリア アイ-20153 ミラノ ヴ
			ィア マルクス 40

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗腫瘍薬の調製のためにヒドロキサム酸誘導体を使用する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

腫瘍の治療のための医薬を調製するための 4-〔6-（ジエチルアミノメチル）ナフトー2-イルメチルオキシカルバモイル〕ベンゾヒドロキサム酸、またはその許容可能な塩の使用方法。

【請求項 2】

前記腫瘍は、黒色腫、大腸癌、肺癌、胸部癌、神経芽細胞腫、肉腫、白血病から選択されることを特徴とする請求項 1 に記載の使用方法。

【請求項 3】

前記白血病は、赤白血病および前骨髄球性白血病から選択されることを特徴とする請求項 2 に記載の使用方法。

【請求項 4】

4-〔6-（ジエチルアミノメチル）ナフトー2-イルメチルオキシカルバモイル〕ベンゾヒドロキサム酸またはその許容可能な塩は、他の抗腫瘍の薬と組み合わせて投与されることを特徴とする請求項 1 から 3 に記載の使用方法。

【請求項 5】

4-〔6-（ジエチルアミノメチル）ナフトー2-イルメチルオキシカルバモイル〕ベンゾヒドロキサム酸、またはその許容可能な塩を含有することを特徴とする腫瘍治療用医薬組成物。

【請求項 6】

10

20

前記腫瘍は、黒色腫、大腸癌、肺癌、胸部癌、神経芽細胞腫、肉腫、白血病から選択されることを特徴とする請求項5に記載の治療用医薬組成物。

【請求項7】

前記白血病は、赤白血病および前骨髄球性白血病から選択されることを特徴とする請求項6に記載の治療用医薬組成物。

【請求項8】

4-〔6-（ジエチルアミノメチル）ナフト-2-イルメチルオキシカルバモイル〕ベンゾヒドロキサム酸またはその許容可能な塩は、他の抗腫瘍の薬と組み合わせて投与されることを特徴とする請求項5から7のいずれかに記載の治療用医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗腫瘍薬調製のためにアミド安息香酸部分を含有するヒドロキサム酸誘導体を使用する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

アミド安息香酸部分を含有するヒドロキサム酸誘導体は、炎症誘発性サイトカイン、特に腫瘍壊死因子およびインターロイキン-1-βの産生の阻害原因となる抗炎症性および免疫抑制活性を有する潜在的な薬として特許文献1に開示されている。

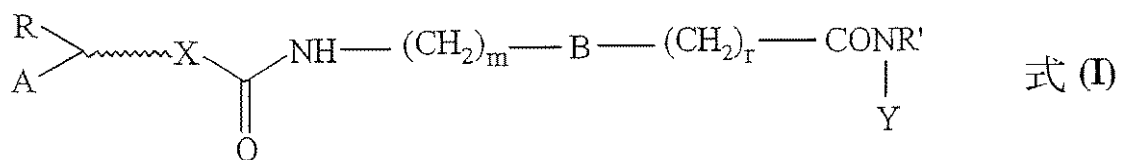
【0003】

20

前記誘導体は、次の一般式（I）により表される。

【0004】

【化1】



【0005】

30

式中、R'は、水素または(C₁₋₄)アルキルであり、

Aは、アダマンチル、またはN、S、もしくはOからなる群から選択される1個または複数のヘテロ原子を含む、任意選択的に部分的もしくは完全に不飽和の単環、二環、または三環の残基であって、ヒドロキシ、アルカノイルオキシ、一級、二級もしくは三級のアミノ、アミノ(C₁₋₄)アルキル、モノ-もしくはジ-(C₁₋₄)アルキル-アミノ(C₁₋₄)アルキル、ハロゲン、(C₁₋₄)アルキル、トリ(C₁₋₄)アルキルアンモニウム(C₁₋₄)アルキルで任意選択的に置換されてもよく、

式中の~~~~は、二重結合、またはR'が上記の定義であるNR'基を任意選択的に含む炭素原子1から5の鎖であり、

Rは、水素またはフェニルであり、

40

Xは、酸素原子、または、R'が上記の定義かもしくは存在しないNR'基であり、

rおよびmは、独立して0、1、または2であり、

Bは、フェニレンまたはシクロヘキシレン環であり、

Yは、ヒドロキシ、または任意選択的に酸素原子が割り込んだアミノ(C₁₋₅)アルキル鎖であり、

ただし、Aに対して定義される三環の基は、フルオレニルがトリ(C₁₋₄)アルキルアンモニウム(C₁₋₄)アルキル基で置換された場合でない限り、XがOとは異なり、かつ同時にYがヒドロキシとは異なる場合にのみにフルオレニルであるという条件を有する。

【0006】

式（I）の化合物は、R'が水素で、Aが任意選択的にフェニルまたは1-もしくは2

50

【 0 0 0 7 】

【 0 0 0 8 】

10

【発明を実施するための最良の形態】

【 0 0 0 9 】

【 0 0 1 0 】

【 0 0 1 1 】

【化 2】



【 0 0 1 2 】

30

40

【 0 0 1 3 】

50

態として投与できる。さらに式 (I) の化合物を、多くの化学療法のプロトコルに基づいて他の既知の抗腫瘍性の薬と組合せて投与することもできる。

【0014】

式 (I) の化合物の活性は、*in vitro* では培養された腫瘍細胞系によって、そして、*in vivo* ではマウスの黒色腫 B16-BL6 の実験モデルによって証明された。

【0015】

【特許文献1】欧州特許出願公開第901465号明細書

【非特許文献1】*Invasion and Metastasis*, 1996; 16: 132-143

10

【非特許文献2】*Cancer Biother.*, 1994; 9(2): 163-170

【非特許文献3】*Cancer Res.*, 1986; 46: 1928-1933

【実施例1】

【0016】

以下の実施例は、より詳細に本発明を説明する。

【0017】

(*in vitro* 活性)

特許文献1の実施例12の化合物、4-[6-(ジエチルアミノメチル)ナフト-2-イルメチルオキシカルバモイル]ベンゾヒドロキサム酸・塩酸塩 (ITF 2357) の抗腫瘍効果は、固形腫瘍および血液腫瘍の両方から由来する異なる組織型の腫瘍細胞系の増殖を阻害する化合物の能力を測定することによって、*in vitro* において試験された。使用した細胞系は、A549 (肺癌)、MDA-MB435 (乳癌)、およびKG-1 (骨髄性白血病) であった。

20

【0018】

A549およびMDA-MB435細胞 (10%のウシ胎児血清を補充したE-MEM培地およびD-MEM培地でそれぞれ成長させた) を、96ウェル平底プレート (5000細胞/ウェル) にまき、5%CO₂の雰囲気下で、37度で4時間付着させた。その後、種々の投与量でITF 2357を各ウェルに添加した (4回複製)。さらに36時間後、三重水素化したチミジン (1μCi/ウェル) を各ウェルに加え、その中に引き続き12時間放置した。この時間の後、細胞を培地で3回洗浄し、その後、1N NaOHで30分間可溶化した。

30

【0019】

DNA合成に正比例し、したがって細胞増殖に正比例する各試料に含まれた放射能を測定するために、液体シンチレーションβカウンターを用いた。RPMI 1640倍地中で成長させ、5%のウシ胎児血清を補充されたKG-1細胞を、96ウェル平底プレート (25000細胞/ウェル) にまいた。種々の投与量でITF 2357を直ちに添加し、36時間後、三重水素化したチミジンを各ウェルに添加して (1μCi/ウェル)、その中で引き続き12時間放置した。最後に、セル・ハーベスターを用いて細胞を回収し、DNA合成に正比例し、したがって細胞増殖に正比例する各試料に含まれた放射能を液体シンチレーションβカウンターにより測定した。

40

【0020】

ITF 2357の投与量の違いについての影響を、未処理の対照細胞と比較した放射能の取り込みを阻害する割合として計測した。50%の細胞増殖阻害を誘発することのできる濃度 (IC₅₀) を、線形回帰法により算出した。

【0021】

得られた結果を以下の表に要約する。

【0022】

【表 1】

細胞系	A 5 4 9	M D A - M B 4 3 5	K G - 1
I C ₅₀ (n M)	4 9 5	7 3	5 5 2

【0023】

得られた結果は、I T F 2 3 5 7 は、i n v i t r o において、非常に低い投与量（ 10^{-9} M の範囲）で、用いた細胞系の増殖を阻害することを示した。I T F 2 3 5 7 は特に、固形腫瘍（A 5 4 9 および M D A - M B 4 3 5）からの細胞増殖と、白血病（K G - 1）からの細胞増殖の両方を阻害し、したがって異なる組織型の腫瘍に対しての使用を示唆している。

【実施例 2】

【0024】

(i n v i t r o 活性)

異なる組織型のヒトの固形腫瘍由来で、i n v i t r o において安定化された細胞系を、下記の実験に使用した。特に、頭部および頸部の腫瘍からの 3 つの細胞系（K B、C a 1 2 7 および H e p 2）、大腸癌由来の 2 つの細胞系（H T - 2 9 および L o V o）ならびに黒色腫由来の 4 つの細胞系（C o l o 3 8、P e s 4 1、P e s 4 3、および A n a d）を調べた。

【0025】

通常の手法に従い、胎児血清を添加した合成培地を含むフラスコの中で、5 % C O₂ の雰囲気下で、37 度で細胞を成長させ、その後、96 ウェルプレートにまき、数時間付着させた。I T F 2 3 5 7 を 3 倍に増加させた投与量で各ウェルに添加し、この細胞をさらに 72 時間培養した。生存している細胞をスルホローダミン B で染めることにより標識化し、それらの量を各ウェル中の染料の量の分光光度測定によって決定した。各濃度において、対照のウェル（薬剤なしの細胞）と比較した I T F 2 3 5 7 を含むウェル中の染料の取り込みを阻害する割合として、I T F 2 3 5 7 の効果を計算した。投与反応曲線に従い、ソフトウェア C a l c u s y n (B i o s o f t) により、I T F 2 3 5 7 の I C₅₀ 値を算出した。

【0026】

【表 2】

細胞系	腫瘍の起源	I T F 2 3 5 7 I C ₅₀ (μ M)
K B	頭部 - 頸部	0. 6 4
C a 1 2 7	頭部 - 頸部	3. 4
H e p - 2	頭部 - 頸部	1
H T - 2 9	大腸癌	0. 7
L o V o	大腸癌	2. 5
C o l o 3 8	黒色腫	2. 3 8
P e s 4 1	黒色腫	1. 6
P e s 4 3	黒色腫	1. 4
A n a d	黒色腫	5. 7

【実施例 3】

【0027】

(i n v i v o 活性)

この化合物のマウスの黒色腫 B 1 6 - B L 6 の増殖を縮小する能力を測定して、I T F 2 3 5 7 の抗腫瘍効果を調べた。B 1 6 - B L 6 腫瘍は、天然由来の腫瘍 B 1 6 の転移性の高い変異体であり（非特許文献 1）、同系のマウス C 5 7 B L / 6 中で皮下に増殖する（非特許文献 2）。

【0028】

B16-BL6腫瘍細胞を、メスのC57BL/6マウス（10匹／グループ、体重20～22グラム）に対し、 2×10^5 細胞／マウスの投与量で皮下に接種した。水に溶解させたITF 2357を、指示された投与量で、腫瘍細胞を接種する10分前、およびその後、1週間に6日間毎日、経口で与えた。小節の直交する2つの直径を、検定手段を用いて週に2回測定し、腫瘍の増殖を腫瘍の重さとして示した。この重さを、非特許文献3に記述された式

$$(\text{直径1} \times \text{直径2})^2 / 2$$

に従って算出した。

【0029】

10

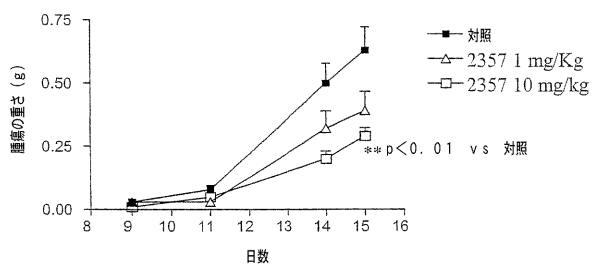
得られた結果は、添付の図に報告されている。処置から15日後には、腫瘍性小節の大きさを約50%縮小させたことから、ITF 2357は、腫瘍の増殖に対して投与量依存性の阻害効果を発揮することが観察された。

【図面の簡単な説明】

【0030】

【図1】ITF 2357のB16-BL6腫瘍細胞に対する*in vivo*活性試験（実施例3）の結果である。

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 パオロ マスカーニ

イタリア アイー２００５８ ヴィラサンタ ヴィア ダン ガリー ２５

審査官 清野 千秋

(56)参考文献 特表２０００－５６６７７６（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)

A61K 31/27

CA/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)