

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2013年9月12日(12.09.2013)



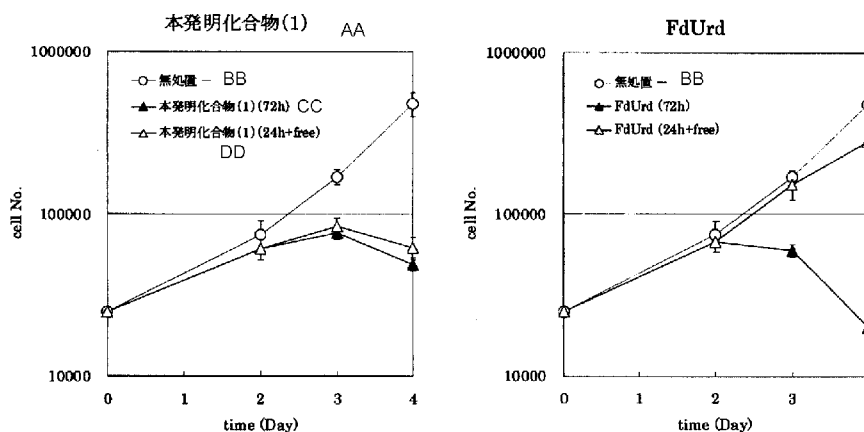
(10) 国際公開番号
WO 2013/133399 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 31/7072 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/056395
- (22) 国際出願日: 2013年3月8日(08.03.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2012-053517 2012年3月9日(09.03.2012) JP
- (71) 出願人: 大鵬薬品工業株式会社(TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1018444 東京都千代田区神田錦町1丁目27番地 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 野村 誠(NOMURA, Makoto); 〒3002611 茨城県つくば市大久保3 大鵬薬品工業株式会社内 Ibaraki (JP). 数野 裕美(KAZUNO, Hiromi); 〒3002611 茨城県つくば市大久保3 大鵬薬品工業株式会社内 Ibaraki (JP).
- (74) 代理人: 特許業務法人三枝国際特許事務所(SAE-GUSA & PARTNERS); 〒5410045 大阪府大阪市中央区道修町1-7-1 北浜TNKビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI

[続葉有]

(54) Title: DNA-DAMAGING AGENT

(54) 発明の名称: DNA障害剤



AA Compound (1) of invention
 BB Untreated
 CC Compound (1) of invention (72 h)
 DD Compound (1) of invention (24 h + free)

(57) Abstract: The problem to be solved by the present invention is to provide a therapeutic agent and a pharmaceutical composition both for diseases associated with the damaging of DNA, particularly solid cancer. The present invention provides a DNA-damaging agent comprising 1-[2'-deoxy-4'-thio-1-β-D-ribofuranosyl]-5-fluorouracil or a salt thereof as an active ingredient.

(57) 要約: 本発明が解決すべき課題はDNA障害に基づく疾患、特に固形癌に対する治療剤、医薬組成物を提供することである。本発明は、1-[2'-デオキシ-4'-チオ-1-β-D-リボフラノシル]-5-フルオロウラシル又はその塩を有効成分として含有するDNA障害剤を提供する。



WO 2013/133399 A1

(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). 添付公開書類:

— 國際調查報告 (條約第 21 條(3))

明 細 書

発明の名称：DNA障害剤

技術分野

[0001] [関連出願の相互参照]

本出願は、2012年3月9日に出願された、日本国特許出願第2012-053517号明細書（その開示全体が参照により本明細書中に援用される）に基づく優先権を主張する。

[0002] 本発明は、1-[2'-デオキシ-4'-チオ-1-β-D-リボフラノシル]-5-フルオロウラシル又はその塩を有効成分とするDNA障害剤、及びDNA障害に基づく疾患の治療剤、特に固形癌に対する治療剤、医薬組成物に関する。

背景技術

[0003] 1-[2'-デオキシ-4'-チオ-1-β-D-リボフラノシル]-5-フルオロウラシルは、白血病細胞L1210の増殖抑制作用について5-フルオロ-2'-デオキシウリジン（以下、FdUrd）と同等又はそれ以上の効力を示すことが記載されており、抗腫瘍剤としての有用性が示唆されている（非特許文献1）。また特許文献1及び2には、本発明化合物を含む化合物群が、抗ウイルス剤及び抗腫瘍剤として有用であることが記載されている。

[0004] 白血病細胞L1210の増殖抑制作用は、抗腫瘍剤のスクリーニングに古くから用いられてきた。しかしながら実際にL1210の増殖抑制作用を有する化合物が抗腫瘍効果を示すかどうかは未知であり、特に固形癌に対する抗腫瘍効果との相関はない。例えば、シタラビン（Ara-C）は主として白血病等の血液がんの治療剤として临床上使用されている薬剤であり、L1210に対する増殖抑制を有する核酸誘導体であるが、非特許文献2に示されるように、固形癌については抗腫瘍効果を殆ど示さない。

[0005] 以上のように、1-[2'-デオキシ-4'-チオ-1-β-D-リボフ

ラノシル] - 5 - フルオロウラシルがDNAを障害する化合物であることは全く知られておらず、また、特に固形癌において治療効果を示すかどうかについても示唆されていない。

先行技術文献

特許文献

[0006] 特許文献1：国際公開WO 91 / 0 4 0 3 3 号公報

特許文献2：国際公開WO 91 / 0 1 3 2 6 号公報

非特許文献

[0007] 非特許文献1：Nucleosides & Nucleotides., 12(2), 139-147(1993)

非特許文献2：Nucleosides & Nucleotides., 18(4&5), 877-878(1999)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

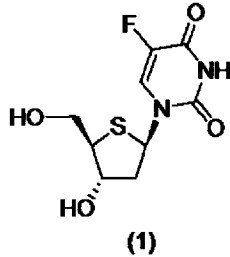
[0008] 本発明は、DNA障害剤として有用な1 - [2' - デオキシ - 4' - チオ - 1 - β - D - リボフラノシル] - 5 - フルオロウラシル又はその塩、さらには1 - [2' - デオキシ - 4' - チオ - 1 - β - D - リボフラノシル] - 5 - フルオロウラシル又はその塩を有効成分とするDNA障害に基づく疾患、特に固形癌に対する治療剤、医薬組成物を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討した結果、下記一般式(1)で表される1 - [2' - デオキシ - 4' - チオ - 1 - β - D - リボフラノシル] - 5 - フルオロウラシル又はその塩がDNAに取り込まれて障害を引き起こし、その結果として長時間継続して抗腫瘍効果を示す化合物であり、さらに本発明化合物を有効成分とする医薬組成物が、特に固形癌に対する治療剤として有用であることを見出した。

[0010]

[化1]



[0011] すなわち、本発明はDNA障害剤として有用な5-フルオロ-4'-チオ-2'-デオキシウリジン又はその塩、さらには5-フルオロ-4'-チオ-2'-デオキシウリジン又はその塩を有効成分とするDNA障害に基づく疾患、特に固形癌に対する治療剤及び医薬組成物を提供するものである。

発明の効果

[0012] 本発明によれば、DNA障害に基づく疾患、特に固形癌を効果的に治療できる。

[0013] 酵素阻害剤をはじめとする既存の抗腫瘍剤は、腫瘍の増殖（DNA合成）の速さを利用して腫瘍に対する抗腫瘍効果を発揮しているため、腫瘍と同様に増殖の速い骨髄、消化管等の正常組織にも毒性を生じる。

[0014] 一方、本発明化合物（1）は、腫瘍が遺伝子異常を伴ったDNA障害に基づく疾患であることを利用しており、すでに遺伝子異常を伴う腫瘍のDNAに本発明化合物（1）が取り込まれることで、更なる遺伝子異常を導き、そのことが、修復不可能な重度のDNA障害をもたらし、抗腫瘍効果を発揮する。このとき、骨髄、消化管等を含む正常組織のDNAに対しても本発明化合物（1）は取り込まれるが、正常な遺伝子を保持した正常組織においては本発明化合物（1）が取り込まれ遺伝子異常を導いた場合においても、軽度で修復が可能な遺伝子異常にすぎず、腫瘍に対するDNA障害作用とは乖離したものとなる。

[0015] すなわち、本発明化合物（1）は腫瘍内DNAに取り込まれた後にDNA障害作用を発揮する薬剤であり、この作用機序に基づき、腫瘍に対して選択

的に抗腫瘍効果を発揮する特徴を有する。

図面の簡単な説明

[0016] [図1]ヒト培養細胞における細胞増殖抑制効果と薬剤除去後の細胞増殖に与える影響

発明を実施するための形態

[0017] 本発明の1-[2'-デオキシ-4'-チオ-1-β-D-リボフラノシル]-5-フルオロウラシル又はその塩は公知化合物であり、例えば国際公開WO 91/04033号公報の記載の方法に準じて製造することが出来る。

[0018] 本発明でいう「治療」とは、疾患の予防および治療、ならびに症状の軽減および再発防止のための維持療法を意味する。

[0019] 本明細書において、「DNA障害」とは、1-[2'-デオキシ-4'-チオ-1-β-D-リボフラノシル]-5-フルオロウラシルが腫瘍細胞のDNAに取り込まれて遺伝子異常を導くことをいい、その結果として修復不可能な重度のDNA障害、例えば、DNAの1次構造における塩基の変化、DNA鎖の切断、架橋の形成、DNA修復耐性等をもたらすことを意味する。DNAの1次構造における塩基の変化とは、DNAを構成する塩基の酸化、メチル化、加水分解、脱アミノ化、ヌクレオチドの挿入あるいは欠損等を意味する。

[0020] また「DNA障害剤」とは、上記のDNA障害を引き起こすことにより、「DNA障害に基づく疾患」を治療できる薬剤であることを意味する。DNA障害作用を有することは、試験例2のComet Assay (Methods in Molecular Biology vol.113 DNA repair Protocols, HUMANA PRESS, Edited by Daryl S. Henderson, p203-212) により確認することができる。

[0021] 本発明化合物または医薬組成物により治療出来る「DNA障害に基づく疾患」としては固形癌が挙げられる。

[0022] 本明細書において、「固形癌」としては頭頸部癌、食道癌、胃癌、大腸癌（結腸癌、直腸癌）、肝臓癌、胆嚢・胆管癌、膵臓癌、肺癌、乳癌、卵巣癌

、子宮癌（子宮頸癌、子宮体癌）、腎癌、膀胱癌、前立腺癌、精巣腫瘍、骨・軟部肉腫、皮膚癌、脳腫瘍等が例示できる。好ましくは胃癌、乳癌、肺癌、子宮癌、膵臓癌、大腸癌である。

[0023] 本発明の1-[2'-デオキシ-4'-チオ-1-β-D-リボフラノシル]-5-フルオロウラシル又はその塩は、薬学的に許容される担体を用いて、通常公知な製剤方法により各種投与形態として製造することができる。かかる投与形態としては特に制限はなく、錠剤、被覆錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、懸濁剤、乳剤等の経口剤；注射剤、坐剤等の非経口剤などが例示できる。

[0024] 錠剤の形態に成形するに際しては、担体として、例えば乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、尿素、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸等の賦形剤；水、エタノール、プロパノール、コーンスターチ、単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、セラック、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、リン酸カリウム、ポリビニルピロリドン等の結合剤；乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ラミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル系化合物、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリド、乳糖等の崩壊剤；白糖、ステアリン酸、カカオバター、水素添加油等の崩壊抑制剤；第4級アンモニウム塩、ラウリル硫酸ナトリウム等の吸収促進剤；グリセリン、デンプン等の保湿剤；デンプン、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状ケイ酸等の吸着剤；精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ酸末、ポリエチレングリコール等の滑沢剤などを使用できる。更に、錠剤は必要に応じ通常の剤皮を施した錠剤、例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠、二重錠、多層錠等とすることができる。

[0025] 丸剤の形態に成形するに際しては、担体として、例えばブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルク等の賦形剤；アラビア

ゴム末、トラガント末、ゼラチン、エタノール等の結合剤；ラミナラン、カンテン等の崩壊剤などを使用できる。カプセル剤は常法に従い、上記で例示した各種の担体と混合して硬質ゼラチンカプセル、軟質カプセル等に充填して調製される。

[0026] 経口用液体製剤とする場合は、矯味・矯臭剤、緩衝剤、安定化剤、等を用い、常法により、内服液剤、シロップ剤、エリキシル剤等を製造することができる。この場合、矯味・矯臭剤としては、白糖、橙皮、クエン酸、酒石酸等が、緩衝剤としては、クエン酸ナトリウム等が、安定化剤としてはトラガント、アラビアゴム、ゼラチン等が挙げられる。

[0027] 坐剤の形態に成形するに際しては、担体として、例えばポリエチレングリコール、カカオ脂、高級アルコール、高級アルコールのエステル系化合物、ゼラチン、半合成グリセライド等を使用できる。

[0028] 注射剤とする場合、液剤、乳剤及び懸濁剤は殺菌され、且つ血液と等張であるのが好ましく、これらの形態に成形するに際しては、希釈剤として、例えば水、乳酸水溶液、エチルアルコール、プロピレングリコール、マクロゴール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレン化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル系化合物等を使用できる。

[0029] 尚、この場合、等張性の溶液を調製するに十分な量の食塩、ブドウ糖又はグリセリンを医薬製剤中に含有せしめてもよく、また通常溶解補助剤、緩衝剤、無痛化剤等を添加してもよい。更に上記各製剤には必要に応じて着色剤、保存剤、香料、風味剤、甘味剤等及び／又は他の医薬品を配合してもよい。

[0030] 本発明のDNA障害剤における投与方法は特に限定せず、各種投与形態、患者の年齢、性別その他の条件、患者の症状の程度等に応じて適宜決定される。例えば錠剤、丸剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、懸濁剤及び乳剤は経口投与される。注射剤は単独で又はブドウ糖、アミノ酸等の通常補液と混合して静脈内投与され、更に必要に応じて単独で動脈内、筋肉内、皮

内、皮下もしくは腹腔内投与される。坐剤は直腸内投与される。

[0031] 上記の各投与単位形態中に配合されるべき本発明化合物又はその塩の量は、これを適用すべき患者の症状により、あるいはその剤形等により一定ではないが、一般に投与単位形態あたり、経口剤では約0.005~1,000 mg、注射剤では約0.001~500 mg、坐剤では約0.01~1,000 mgとするのが望ましい。また、上記投与形態を有する薬剤の1日あたりの投与量は、患者の症状、体重、年齢、性別等によって異なり一概には決定できないが、通常成人1日あたり約0.005~5,000 mg、好ましくは0.01~1,000 mgとすればよく、これを1日1回又は2~4回程度に分けて投与するのが好ましい。

[0032] 本発明化合物が投与される哺乳動物としては、ヒト、サル、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ブタ、ヒツジ等が挙げられる。

[0033] 以下、実施例、試験例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

実施例

[0034] 実施例 1

1-[2'-デオキシ-4'-チオ-1-β-D-リボフラノシル]-5-フルオロウラシル(1)

特許文献1の方法に準じて、以下のとおり合成した。

[0035] 特許文献1に記載の1-O-アセチル-2-デオキシ-4-チオ-3,5-ジ-O-p-トルオイル-α,β-D-リボフラノース(203 mg)を無水ジクロロメタン(4.0 ml)に溶解し、5-フルオロウラシル(61.5 mg)、ヘキサメチルジシラザン(75.9 mg)、トリメチルクロロシラン(51.0 mg)を順次加えて20分間懸濁攪拌した後に、-78℃に冷却してトリメチルシリルトリフルオロメタンスルホネート(125.3 mg)を加え、さらに1.5時間冷却攪拌を行った。室温まで昇温させた後にクロロホルム(5.0 ml)を加えて希釈し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液及び水で順次有機層を洗浄した。溶媒を留去し、残渣をシリカゲルカラ

ムクロマトグラフィー（30%酢酸エチル／ヘキサン）により精製し1-（2'-デオキシ-4'-チオ-3', 5'-ジ-0-トルオイル-1-β-D-リボフラノシル）-5-フルオロウラシル（85.4 mg）を得た。得られた精製物をナトリウムメトキシドのメタノール溶液（0.25 M, 2.0 ml）に溶解し、室温下で3時間攪拌した。溶液をDowex 50-X 8（H⁺）イオン交換樹脂で中和し、懸濁物を濾過後に樹脂をメタノールで洗浄した。濾液濃縮して溶媒を留去後に残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（15%メタノール／クロロホルム）により精製し、化合物（1）（33 mg, 75%）を白色固体として得た。

¹H-NMR（DMSO-d₆）δ 11.8（1H, brs）, 8.33（1H, d, J = 7.3 Hz）, 6.23（1H, dd, J = 7.3 & 7.3 Hz）, 5.24 - 5.19（2H, m）, 4.35（1H, m）, 3.65 - 3.55（2H, m）, 3.31 - 3.28（1H, m）, 2.25 - 2.15（2H, m）；ESI-MS m/z 261（M-H）⁻。

[0036] 試験例1

ヒト培養細胞におけるDNA取り込み量

ヒト子宮癌株HeLaおよびヒト胃癌株NUGC-3を播種した翌日に、本発明化合物（1）およびFdUrdをそれぞれ添加した。薬剤濃度と接触時間は、HeLa細胞株については、本発明化合物（1）を10 μM、FdUrdを1 μM添加して8時間接触させ、NUGC-3細胞株については、本発明化合物（1）を10 μM、FdUrdを0.1 μM添加して24時間接触させた。上記の本発明化合物（1）およびFdUrdの薬剤濃度は、各細胞における72時間接触時の50%の細胞増殖抑制を示す濃度（IC₅₀）に相当する。また、本発明化合物（1）については非標識体を、FdUrdについては非標識体とトリチウムラベル体を適量混合したものを添加した。

[0037] 薬剤接触後の細胞からDNAを抽出し、DNA溶液の濃度を測定した。

[0038] 本発明化合物（１）のDNA取り込み量は、DNA溶液をDNase I、ホスホジエステラーゼIおよびアルカリホスファターゼを用いてヌクレオシドに分解した後にHPLCを用いて分析し、単位DNAあたりの取り込み量を算出した。一方、FdUrdのDNA取り込み量はDNA溶液を液体シンチレーターに溶解し放射活性を測定して単位DNAあたりの取り込み量を算出し、試験結果を表１に示した。

[0039] [表1]

細胞株	DNA incorporation (pmol/ μ g DNA)	
	本発明化合物（１）	FdUrd
HeLa	1.15	0.0131
NUGC-3	7.23	0.0244

[0040] 表１の結果より、本発明化合物（１）のDNA取り込み量は、いずれの細胞株においてもFdUrdと比較して、約100倍もしくはそれ以上であった。

[0041] 試験例２

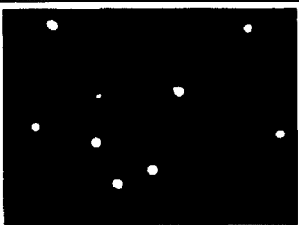
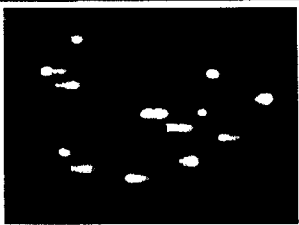
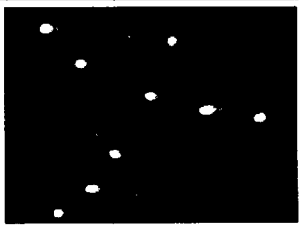
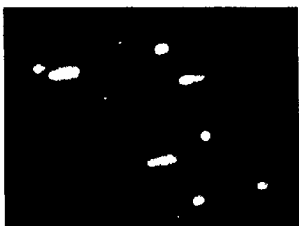
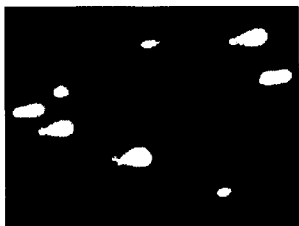
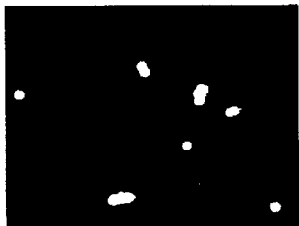
ヒト培養細胞におけるDNA障害性の評価：Comet Assay

ヒト子宮癌株HeLaおよびヒト胃癌株NUGC-3を播種し、翌日に本発明化合物（１）およびFdUrdをそれぞれ添加して48時間培養した。薬剤濃度はHeLa細胞株については、本発明化合物（１）を10 μ M、FdUrdを1 μ M添加し、NUGC-3細胞株については、本発明化合物（１）を10 μ M、FdUrdを0.1 μ M添加し接触させた。なお本発明化合物（１）およびFdUrdをそれぞれの薬剤濃度は各細胞における72時間接触時のIC₅₀に相当する。

[0042] 薬剤接触後の細胞はトリプシン処理により回収した。適当な濃度に調製した細胞懸濁液は市販のキット(Comet Assay™, Trevigen)

を使用し、標本の作製を行った。作製した標本はSYBR（登録商標）Gold nucleic acid gel stain（invitrogen）を用いて染色後、顕微鏡下にて細胞の像を撮影し、試験結果を表2に示した。

[0043] [表2]

	Control	本発明化合物(1)	FdUrd
HeLa			
NUGC-3			

[0044] 表2の結果に示したように、HeLa細胞株、NUGC-3細胞株のいずれについても、FdUrdがDNA障害の指標であるDNAのテーリング像を示さなかったのに対して、本発明化合物(1)は顕著なDNAのテーリング像を示した。すなわち、FdUrdが殆どDNA障害を示さないのに対し、本発明化合物(1)はDNA障害を引き起こす化合物であることが明らかとなった。

[0045] 試験例3

ヒト培養細胞における細胞増殖抑制効果と薬剤除去後の細胞増殖に与える影響

ヒト胃癌株NUGC-3を播種し（Day 0）、翌日に本発明化合物（1）およびFdUrdをそれぞれ添加した（Day 1）。

[0046] 薬剤接触時間は2種類のスケジュールにて試験を行った。すなわち、72

時間接触群および24時間接触後に培地交換を行うことで薬剤除去をした群である。薬剤濃度は本発明化合物(1)を10 μ M、FdUrdを0.1 μ M接触させた。いずれの薬剤濃度もNUGC-3細胞株における72時間接触時のIC₅₀に相当する。

[0047] この2種類のスケジュールにおける細胞増殖の経時的推移を比較するために、Day 2よりDay 4までの期間における細胞数を1日1回数えた試験結果を図1に示した。

[0048] 図1で明らかのように、FdUrdは薬剤の除去後に速やかな細胞増殖の開始が見られたのに対して、本発明化合物(1)は薬剤除去から2日が経過したDay 4においても細胞増殖抑制効果を発揮していた。この結果は、本発明化合物(1)がDNAに取り込まれてDNA障害をもたらすことにより抗腫瘍効果を発揮するため、薬剤接触時に一過的な効力を発揮する酵素阻害剤とは異なることを明示するものである。

[0049] 試験例4

ヌードマウス皮下腫瘍移植系ヒト固形癌に対する抗腫瘍効果

BALB/cA Jcl-nuマウス(日本クレア株式会社)に皮下継代したヒト胃癌株SC-2、ヒト肺癌株LC-6、ヒト乳癌株MC-2、ヒト膵臓癌株PAN-4及びヒト大腸癌株Col-1を2mm角のフラグメントにし、6~8週齢のBALB/cA Jcl-nuマウスの背部皮下に移植した。群分け後の平均腫瘍体積が100mm³を超える時期に、腫瘍の長径及び短径を測定し、下記の式にて腫瘍体積を算出後、各群の腫瘍体積にばらつきのないように群分けを行った(1群当たり5匹~7匹)。

$$(式1) \quad V_t = 1/2 (V_l) \times (V_s)^2$$

[式中、V_tは腫瘍体積を示し、V_lは腫瘍長径を、V_sは腫瘍短径を示す。]

0.5%ヒドロキシプロピルメチルセルロース水溶液に本発明化合物(1)を溶解し、群分けの翌日より1日1回14日間連日経口投与した。投与量は50mg/kg/dayとした。

[0050] 群分けから15日後に、各群のマウスの皮下移植腫瘍の長径及び短径を測定し、腫瘍体積比 (relative tumor volume, RTV)、腫瘍増殖抑制率 (inhibition rate, IR) を下記の式から算出し、抗腫瘍効果の判定を行ない、試験結果を表3に示した。

$$(式2) \quad RTV = V_{t1} / V_{t2}$$

[式中、RTVは腫瘍体積比を示し、 V_{t1} は判定日の腫瘍体積、 V_{t2} は群分け日の腫瘍体積を示す。]

$$(式3) \quad IR (\%) = [1 - (RTV_{test}) / (RTV_{cont})] \times 100$$

[式中、IRは腫瘍増殖抑制率を示し、 RTV_{test} は薬剤投与群の平均RTV値、 RTV_{cont} は無処置群の平均RTV値を示す。]

[0051] [表3]

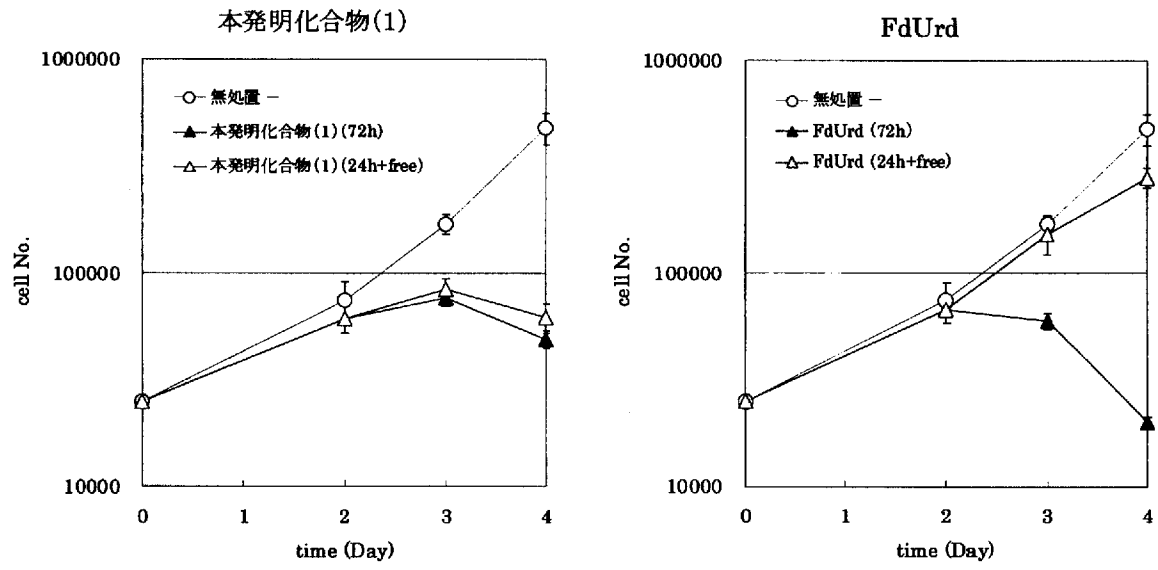
腫瘍株	由来	IR (%)
SC-2	胃癌	67.7
LC-6	肺癌	62.8
MC-2	乳癌	87.5
PAN-4	膵臓癌	64.1
Col-1	大腸癌	55.0

[0052] 表3の結果より、本発明化合物(1)の腫瘍増殖抑制率は、いずれの腫瘍株においても50%以上の高値であり、ヒト各種固形癌において優れた抗腫瘍効果を有することが明らかとなった。

請求の範囲

- [請求項1] 1 - [2' -デオキシ-4' -チオ-1 -β -D -リボフラノシル] -5 -フルオロウラシル又はその塩を有効成分として含有するDNA障害剤。
- [請求項2] DNA障害に基づく疾患を治療するための1 - [2' -デオキシ-4' -チオ-1 -β -D -リボフラノシル] -5 -フルオロウラシル又はその塩、及び薬学的に許容される担体を含有する医薬組成物。
- [請求項3] DNA障害に基づく疾患がヒト固形癌である、請求項2に記載の医薬組成物。
- [請求項4] 1 - [2' -デオキシ-4' -チオ-1 -β -D -リボフラノシル] -5 -フルオロウラシル又はその塩と薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。
- [請求項5] ヒト固形癌に対する治療剤である、請求項4に記載の医薬組成物。
- [請求項6] ヒト固形癌が胃癌、乳癌、肺癌、子宮癌、膵臓癌及び大腸癌からなる群より選択される少なくとも一種である、請求項5に記載の医薬組成物。
- [請求項7] In vivo投与によりヒトの固形癌に有効である、請求項4～6のいずれか1項に記載の医薬組成物。
- [請求項8] 哺乳動物に対して1 - [2' -デオキシ-4' -チオ-1 -β -D -リボフラノシル] -5 -フルオロウラシル又はその塩の有効量を投与する工程を含む、DNA障害に基づく疾患の治療方法。
- [請求項9] DNA障害に基づく疾患の治療剤を製造するための1 - [2' -デオキシ-4' -チオ-1 -β -D -リボフラノシル] -5 -フルオロウラシル又はその塩の使用。
- [請求項10] DNA障害に基づく疾患の治療に使用するための1 - [2' -デオキシ-4' -チオ-1 -β -D -リボフラノシル] -5 -フルオロウラシル又はその塩。

[図1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/056395

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/7072 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K31/7072

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2013

Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2013 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2013

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAplus/REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 5-500666 A (Southern Research Institute), 12 February 1993 (12.02.1993), claim 33 & US 5591722 A & EP 491793 A & WO 1991/004033 A1 & DE 69034209 T & AU 6401490 A & AT 311399 T & ES 2253732 T	1-7, 9, 10
X	B.Huang et.al., A FACILE SYNTHESIS OF 4'-THIO-2'-DEOXYPYRIMIDINE NUCLEOSIDES AND PRELIMINARY STUDIES ON THEIR PROPERTIES, NUCLEOSIDES & NUCLEOTIDES, 1993, Vol.12, No.2, p.139-147	1-7, 9, 10

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
14 May, 2013 (14.05.13)Date of mailing of the international search report
21 May, 2013 (21.05.13)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/056395

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2005-536440 A (Idenix (Cayman), Ltd.), 02 December 2005 (02.12.2005), entire text & US 2004/0006002 A1 & EP 1438054 A & WO 2003/026675 A1 & UY 27465 A	1-7,9,10
A	JP 8-504753 A (University of Birmingham), 21 May 1996 (21.05.1996), entire text & GB 9218810 D & EP 658166 A & WO 1994/005687 A1 & AU 4973393 A & CA 2143834 A	1-7,9,10
A	JP 5-505791 A (University of Birmingham), 26 August 1993 (26.08.1993), entire text & JP 4-506661 A & US 5356882 A & EP 421777 A1 & EP 409575 A1 & WO 1991/004982 A1 & WO 1991/001326 A1	1-7,9,10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/056395

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 8
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 8 pertains to a method for treatment of the human body or animal body by surgery or therapy.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K31/7072(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A61K31/7072

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922-1996年
日本国公開実用新案公報	1971-2013年
日本国実用新案登録公報	1996-2013年
日本国登録実用新案公報	1994-2013年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAplus/REGISTRY(STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	JP 5-500666 A (サザン リサーチ インスティテュート) 1993.02.12, 請求項 3 3 & US 5591722 A & EP 491793 A & WO 1991/004033 A1 & DE 69034209 T & AU 6401490 A & AT 311399 T & ES 2253732 T	1-7, 9, 10
X	B. Huang et. al., A FACILE SYNTHESIS OF 4'-THIO-2'-DEOXYPYRIMIDINE NUCLEOSIDES AND PRELIMINARY STUDIES ON THEIR PROPERTIES, NUCLEOSIDES & NUCLEOTIDES, 1993, Vol. 12, No. 2, p. 139-147	1-7, 9, 10

C 欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

14.05.2013

国際調査報告の発送日

21.05.2013

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)
郵便番号100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

辰己 雅夫

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

4C

2941

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	JP 2005-536440 A (イデニクス (ケイマン) リミテッド) 2005. 12. 02, 全文 & US 2004/0006002 A1 & EP 1438054 A & WO 2003/026675 A1 & UY 27465 A	1-7, 9, 10
A	JP 8-504753 A (ユニバーシティ オブ バーミンガム) 1996. 05. 21, 全文 & GB 9218810 D & EP 658166 A & WO 1994/005687 A1 & AU 4973393 A & CA 2143834 A	1-7, 9, 10
A	JP 5-505791 A (ユニバーシティ オブ バーミンガム) 1993. 08. 26, 全文 & JP 4-506661 A & US 5356882 A & EP 421777 A1 & EP 409575 A1 & WO 1991/004982 A1 & WO 1991/001326 A1	1-7, 9, 10

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求項 _____ 8 _____ は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求項 8 は、手術又は治療による人体又は動物の体の処置方法である。

2. 請求項 _____ は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. 請求項 _____ は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求項について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求項について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求項のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求項について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。