

211015

公 告 本

申請日期	79-03-12
案 號	80106749 (由 79101902 分割)
類 別	C07D 487/14

A4
C4

(以上各欄由本局填註)

發明 新型 專利 說明書

一、發明 創作	中文	絲黴素C (mitomycin C) 衍生物
	英 文	MITOMYCIN C DERIVATIVES
二、發明 創作	姓 名	1.關純造 2.牛丸紘一 3.杉山信
	籍 貢 (國籍)	1-3皆為日本國
	住、居所	1.京都市南區吉祥院西ノ庄門口町14番地 日本新藥株式會社內 2.同上 3.同上
三、申請人	姓 名 (名稱)	日商・日本新藥株式會社 日本新藥股份有限公司
	籍 貢 (國籍)	日本國
	住、居所 (事務所)	京都市南區吉祥院西ノ庄門口町14番地
	代表人 姓 名	阿萬英昭

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

綠

211015

C 6
D 6

五、創作說明(1)
[產業上之利用領域]

本發明為有關具有抗癌活性之絲微素C衍生物，本發明之化合物為未載諸文獻之新穎化合物。

[以往之技術]

絲微素C具有優異之抗癌作用，而廣泛利用於臨床。但具有許多嚴重之副作用，此製劑之臨床使用有顯著之限制，而難以充分施行充分之藥物療法等缺點，故殷望改善絲微素C之向腫瘤部位之移行性及減輕副作用。

以往，不但對絲微素C之種種衍生物施行篩選，且就絲微素C之前藥。即一般式[I]所代表之絲微素C衍生物(例如，壬氧羰基絲微素C)，從微脂粒等所代表之製劑學技術，施行為解決上述問題之種之努力。

雖經這些製劑上之種種工夫來圖謀解決問題，但究竟何衍生物最適本來之目的則無研究進展。

[本發明所欲解決之課題]

本發明者們為使上述絲微素C衍生物安定地保持，且能改善向腫瘤部位之移行性，以提供安全而有效之新穎性劑為目的，繼續檢討之結果，終於成功地完成本發明。

通常，所投予之藥物乃依其藥物分子所具有之固有性質，而在生體內移動分布，俟到達作用部位而呈現其藥效。此時藥效之呈現宜只集中於必要之部位，但一般藥物均分布於全部身體，不必要之部位也移入藥物，時時造成副作用之原因。於是，產生改善藥物在體內動態之重要性及

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

案

訂

稿

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

五、創作說明 (2)

必安性。

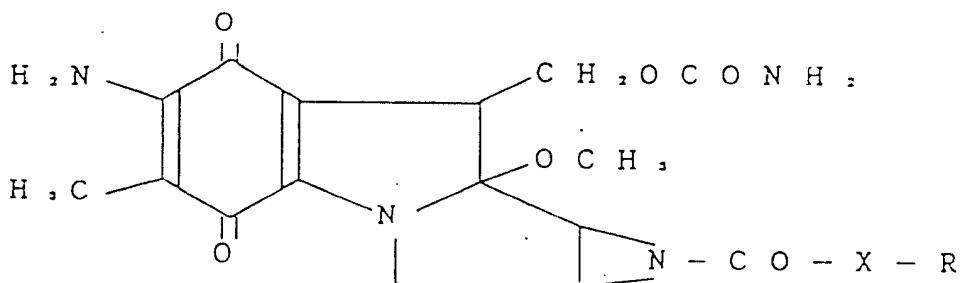
本發明者們有鑑於此，繼續檢討：①對藥物之藥理作用本身無影響，②促使藥物有效地向病灶組織內選擇地移行，③能將藥物之血中濃度持續而安全，且更有效之絲微素C衍生物之新穎製劑，並研究絲微素C衍生物中何者適合此目的，結果終於完成本發明。

[解決課題之手段]

本發明之要旨乃如下式[I]絲微素C衍生物之構造式。

本發明乃發現呈式[I]之化合物在腫瘤細胞中生成游離之絲微素C之過程，生成濃度最濃之事實而完成。

本發明之絲微素C衍生物可舉出呈如下一般式[I]之化合物：



(I)

[式中X為 $-(CH_2)_n-O-$ ，或 $-(CH_2)_n-NHC(=O)-$ ，

n為1之整數，

R為 C_{3-25} 之直鏈或分歧，鏈狀，飽和或不飽和之烴基]。

至於R，可舉出例如異丁基，壬基，鯨蜡基，番葉草基，膽固醇基等，但不限於這些。

本發明之絲微素C衍生物在生體內以與已知之絲微素C衍生物不同之速度代謝為絲微素C，故可當作絲微素C之前藥。

五、創作說明 (3)

呈一般式 [I] 之化合物尤其在人之血漿或腫瘤細胞生成為游離之絲微素 C 之性能優異。絲微素 C 衍生物其本身未具有活性，在腫瘤中及體內代謝成活性型之絲微素 C，而呈現其效力。

本發明化合物可以如下製劑投予：

(a) 全部組成之 0.001-10% (w/v) 本發明化合物。

(b) 全部組成之 0.5-30% (w/v) 之單純脂質，

(c) 對單純脂質之 0.05-2 倍 (重量比) 之磷脂質，及

(d) 適當量之水，

含上述 (a), (b), (c) 及 (d) 之脂肪乳劑或其冷凍乾燥製劑。

在本發明化合物宜為全體脂肪乳劑之 10% (W/V) 以下。

此時，對全體脂肪乳劑，宜含有 0.5-30% (w/v) 之單純脂質。

對上述單純脂質含有重量比 0.15-2 倍量之磷脂質。

若用量比此為少，則無法避免粗大粗子之混入，不能作成含有藥物之安定脂肪乳劑。若用比此量為多之磷脂質，則無法避免微脂粒之混入，不能獲得均勻之脂肪乳劑。

在此，水宜含有適當量。

由於這些成分構成，可得安定之微粒化乳劑，此為具有優異特微之醫藥組成物，作為新穎之絲微素 C 衍生物製劑可加利用乃為本發明首先發明始明白者。

上述脂肪乳劑能在孔劑粒子中使絲微素 C 衍生物安定地保持。

上述脂肪乳劑其平均粒徑為 0.5μ 以下。此脂肪乳劑乃不含 1μ 以上之乳劑粒子，係極微細而安定之乳劑。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

211015

五、發明說明(4)

上述脂肪乳劑其乳劑粒子因：①由於腫瘤之炎症及生體防禦反應而集合於局部之巨噬細胞等貪食性細胞及向腫瘤細胞移行，②由於腫瘤血管其血管透過性亢進，而在腫瘤部位易從血管內往病灶組織內選擇地漏出等理由，而有效地達成藥物往病灶部位移行。

又約100nm以下之乳劑粒子能避免被肝臟等之細網內皮系非特異地吸入，故可獲藥物在血中濃度保持更高之效果。此與更多乳劑粒子之向腫瘤組織內移行有關係。

隨着乳劑粒子之向病灶內移行，乳劑粒子內之藥物也向病灶內移行。因此，藥物容易且選擇地向病灶部位移行，故能使在病灶部位之藥物濃度增高，而擴大其效果。

在上述脂肪乳劑，絲微素C衍生物乃存在於脂質之油滴中，以與周圍之環境遮斷之狀態存在，故能抑制酵素或非酵素之分解，投予後乃能改善藥物之安定性。

由於這些之結果，適用於本發明之從絲微素C衍生物游離之活性型之絲微素C得以在病灶組織內持續作用。

至於本發明所用脂肪乳劑中可當作單純脂質，可舉出例如精製大豆油，棉子油，菜籽油，胡麻油，玉米油，花生油，紅花子油，三油酸甘油酯，三亞麻仁油酸甘油酯，三軟脂酸甘油酯，三硬脂酸甘油酯，三肉豆蔻酸甘油酯，三(二十碳四烯酸)甘油酯等之中性脂質。又可舉出油酸膽固醇酯，亞麻仁油酸膽固醇酯，肉豆蔻酸膽固醇酯

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

繫

五、創作說明（5）

軟脂酸膽固醇酯，花生油酸膽固醇酯。此與存在於血管內皮等之種種脂肪酶類所易分解之中性脂質相較，膽固醇衍生物不易受這些酵素而分解，故在體內之安定性更為增加。

至於磷脂質，可舉出例如源自蛋黃，大豆，牛，豬等之磷脂質或純或半合成而得之磷脂質。即磷脂醯基膽鹼，磷脂醯基乙醇胺，磷脂醯基絲氨酸，磷脂醯基肌醇，磷脂醯基甘油等，例如蛋黃磷脂醯基膽鹼，大豆磷脂醯基膽鹼，二軟脂酰磷脂醯基膽鹼，二肉豆蔻酰磷脂醯基膽鹼，二硬脂酰磷脂醯基膽鹼，二油酰磷脂醯基膽鹼，二軟脂酰磷脂醯基甘油等，也可用這些之氫添加物。其中適宜之代表例為精製蛋黃卵磷脂。又為使在乳劑粒子賦與表面荷電，也可再用硬脂胺，磷酸二鯨蜡酯，磷脂酸，磷脂醯基甘油等具有荷電之脂質。

本發明之脂肪乳劑之形狀或粒徑可用電子顯微鏡，光散射方式之粒徑分析裝置，膜濾器之過濾就可輕易地確認。

在本發明之脂肪乳劑之製劑中，除本發明之必須構成成分之外，作為其他成分，也可添加一般用於注射劑之添加劑及補助物質等。例如，可添加抗氧化劑，防腐劑，安定化劑，等張化劑，緩衝劑等。這些添加劑，補助物質等之需求量及最適量可視其目的而變化。

如上述製得之本發明之醫藥組成物視需要而予以滅菌（例如過濾滅菌，高壓蒸氣滅菌等），與氮氣一起封入安瓿中。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

211015

C 6

D 6

五、創作說明(6)

又視需要而予以冷凍乾燥。經冷凍乾燥之本發明之醫藥組成物可添加適當之溶液來復元。

本發明之脂肪乳劑一般以各種惡性腫瘤等之治療為目的投予在人或種種動物之靜脈內。此時必須充分施行乳劑粒子之粒徑等之管理。蓋一般而言，若混有 $1\text{ }\mu$ 以上之粒子，則呈現種種毒性。

又本發明之脂肪乳劑視需要而可作成動脈內，肌肉內，及皮下等之注射劑來投予。又本發明之醫藥組成物也可當作點眼劑，點鼻劑，經口投予劑，吸入劑，膀胱注入劑，坐劑或軟膏等製劑化來使用。在此場合，也可將醫藥上容許之基劑，賦形劑等之添加劑當作任意成分。

由本發明之脂肪乳劑而成之製劑之投予量雖依投予途徑，劑型，痕狀，目的而異，但作為孔劑，一般為1—1000ml/次。

[效果]

依本發明可顯著地提高絲黴素C衍生物之臨床上之利用價值。本發明之效果為因克服上述以往之問題，改善抗腫瘤效果，顯著地減輕臨床上之最大問題之副作用(毒性)等，而達成安全且更有效之絲黴素C之新穎之製劑化。這些效果乃由本發明首先達成。

[實施例]

以下舉有關本發明之實施例更詳細地說明本發明，但本發明並不限於此。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

打

線

211015

A6

B6

五、發明說明(7)

製造例 1

將 N - (壬氧羰基) 甘胺醯基絲微素 C 依如下所示合成方法製得。

於水 3ml 加甘胺酸 300mg , 三乙胺 808mg 之溶液中在 0 °C 滴加氯碳酸壬酯 824mg 溶在二噁烷 20ml 之溶液。

攪拌 3 小時後，將反應液予以減壓濃縮。於殘渣加 1 N 塩酸 10ml ，將所析出之沈澱以氯仿 20ml 萃取。有機層以水 10ml 洗淨，而以硫酸鎂乾燥後，予以減壓濃縮，則得白色結晶狀之 N - (壬氧羰基) 甘胺酸 570mg 。將此結晶溶在二噁烷 10ml 及氯仿 2ml 之混液，而於 0 °C 加 N - 羅基丁二醯亞胺 270mg 及二環己基碳化二亞胺 470mg 。在 4 °C 放置 12 小時後，濾除所析出之沈澱，而將濾液減壓濃縮，則得無色之油狀殘渣 772mg 。

將絲微素 C 150mg 溶在 N , N - 二甲基甲醯胺 5ml ，而在室溫下加油狀殘渣 150mg 及吡啶 36mg 後，攪拌 4 小時。將反應液減壓濃縮後，將殘渣溶在氯仿 20ml ，而以水 15ml 洗淨。將有機層以硫酸鎂乾燥後，予以減壓濃縮，則得紅紫色之殘渣。將此殘渣通入矽膠柱，而將用氯仿 / 甲醇混液溶離之紅紫色部分予以減壓濃縮，則得紅紫色結晶狀之 N - (壬氧羰基) 甘胺醯基絲微素 C 225mg , 產率 89 % , 熔點 250 °C 以上 (分解) 。

其 FAB-MS 為 m/z ; 563 ($M + 2$) ,

1H -NMR 呈下列峰，而得以確認其構造。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

打

線

211010

A6

B6

五、發明說明(8)

δ : 5.36 ~ 5.08 (3H, m, -COCH₂NHC₂H₃-, NH₂)
 4.43 (1H, d, J=13.5Hz, 3-H)
 4.16 ~ 3.89 (4H, m, -COCH₂NH₂-, -COOCH₂-)
 3.71 (1H, dd, J=10.8, 10.8Hz 10-H)
 3.59 (1H, d, J= 4.6Hz 10-H)
 3.57 (1H, dd, J= 1.6, 13.5Hz 3'-H)
 3.48 (1H, dd, J= 1.6, 4.6Hz 2 -H)
 3.18 (3H, s, OCH₃)
 1.78 (3H, s, -C=C-CH₃)
 1.66 ~ 1.48 (2H, m, -COOCH₂CH₂-)
 1.42 ~ 1.16 (12H, m, -CH₂(CH₂)₆CH₃)
 0.88 (3H, t, J=7Hz, -(CH₂)₈CH₃)

將所得之 N - (壬氧羰基) 甘胺醯基絲微素 C 3mg , 精製大豆油 0.5 克及精製蛋黃卵磷脂 0.5 克混合溶在氯仿 / 甲醇 (1 / 1 , v / v) 混液 100ml 中後 , 在回轉式蒸發器減壓下完全蒸除溶劑。於此加 0.24 M 甘油水溶液 8ml , 以均勻器攪拌成為粗乳化液。次加 0.24 M 甘油水溶液使成 10ml 之定容量後 , 在冰冷下以超音波均勻器 (Brownson , 185 型) 乳化 60 分 , 則得含有極微細絲微素 C 衍生物之脂肪乳劑。

製造例 2

N - (異丁氧羰基) 甘胺醯基絲微素 C 依如下所示

211013

五、發明說明(9)

之方法製得。

於水 3ml 加甘胺酸 300mg，三乙胺 808mg 之溶液中在 0 °C 滴加氯碳酸異丁酯 544mg 溶在二噁烷 20ml 之溶液。攪拌 3 小時後，將反應液予以減壓濃縮。於殘渣加 1 N 塩酸 10ml，將所析出之沈澱以氯仿 20ml 萃取。有機層以水 10ml 洗淨，而以硫酸鎂乾燥後，予以減壓濃縮，則得白色結晶狀之 N - (異丁氧羰基) 甘胺酸 409mg。將此結晶溶在二噁烷 10ml 及氯仿 2ml 之混液，而於 0 °C 加 N - 經基丁二醯亞胺 270mg 及二環己基碳化二亞胺 470mg。在 4 °C 放置 12 小時後，濾除所析出之沈澱，而將濾液減壓濃縮，則得無色之油狀殘渣 772mg。將絲黴素 C 150mg 溶在 N , N - 二甲基甲醯胺 5ml，而在室溫下加油狀殘渣 150mg 及吡啶 36mg 後，攪拌 4 小時。將反應液減壓濃縮後，將殘渣溶在氯仿 20ml，而以水 15ml 洗淨。將有機層以硫酸鎂乾燥後，予以減壓濃縮，則得紅紫色之殘渣。將此殘渣通入矽膠柱，而將用氯仿 / 甲醇混液溶離之紅紫色部分予以減壓濃縮，則得紅紫色結晶狀之 N - (異丁氧羰基) 甘胺醯基絲黴素 C 161mg，產率 73 %，熔點 250 °C 以上(分解)。

將所得之 N - (異丁氧羰基) 甘胺醯基絲黴素 C 3mg，精製大豆油 0.5 克及精製蛋黃卵磷脂 0.5 克混合溶在氯仿 / 甲醇 (1 / 1, v / v) 混液 100ml 中後，在回轉式蒸發器減壓下完全蒸除溶劑。於此加 0.24 M 甘油水

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

五、發明說明(10)

溶液 8ml，以均勻器攪拌成為粗乳化液。次加 0.24 M 甘油水溶液使成 10ml 之定容量後，在冰冷下以超音波均勻器 (Brownson, 185 型) 乳化 60 分，則得含有極微細絲微素 C 衍生物之脂肪乳劑。

製造例 3

將鯨蜡氧乙醯基絲微素 C 依如下合成方法製得。

將鯨蜡醇 1.2 克及乙二醇 10ml 加入苯 100ml 中，再加對甲苯磺酸水合物 100mg，而回流 8 小時。將反應物予以減壓濃縮，而將殘渣以乙醚萃取後，以飽和重碳酸鈉水溶液洗淨，將有機層以硫酸鎂乾燥後，予以減壓濃縮，則得殘渣。將氫氧化鋰鉛 0.5 克及氯化鉛 2 克溶在乾燥乙醚 50ml，而滴加上述殘渣之乙醚溶液，繼續攪拌 4 小時後，加若干稀硫酸，而濾除不溶物。將乙醚層以水及 5% 重碳酸鈉水溶液洗淨，而以硫酸鎂乾燥後，予以減壓濃縮，則得殘渣。將此油狀殘渣以 Jones 試藥予以氧化，則得鯨蜡氨基乙酸。

將所得之鯨蜡氨基乙酸依製造例 8 之方法同樣地用 N-羥基丁二醯亞胺與絲微素 C 結合，則得鯨蜡氧乙醯基絲微素 C，熔點 110 ~ 120 °C (分解)。

將如此所得之鯨蜡氧乙醯基絲微素 C 3mg，精製大豆油 0.5 克及精製蛋黃卵磷脂 0.5 克混合溶在氯仿 / 甲醇 (1 / 1, v / v) 混液 100ml 中後，在回轉式蒸發器減壓下完全蒸除溶劑。於此加 0.24 M 甘油水溶液 8ml，

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

211015

C 6

D 6

五、創作說明 (11)

以均勻器攪拌成為粗乳化液。次加 0.24M 甘油水溶液使成 10ml 之定容量後，在冰冷下以超音波均勻器 (Brownson, 185型) 乳化 60 分，則得含有極微細絲微素 C 衍生物之脂肪乳劑。

製造例 4

在製造例 1 所用之氯碳酸壬酯以同莫耳氯碳酸香葉草酯代替，而與製造例 1 同樣地操作，則得 N-(香葉草氧羧基) 甘胺醯基絲微素 C，熔點 250°C 以上 (分解)。

將如此所得之絲微素 C 衍生物 40mg，精製大豆油 0.5 克及精製蛋黃卵磷脂 0.5 克混合溶在氯仿 / 甲醇 (1/1, / v/v) 混液 100ml 中後，在回轉式蒸發器減壓下完全蒸除溶劑。於此加 0.24M 甘油水溶液 8ml，以均勻器攪拌成為粗乳化液。次加 0.24M 甘油水溶液使成 10ml 之定容量後，在冰冷下以超音波均勻器 (Brownson, 185型) 乳化 60 分，則得含有極微細絲微素 C 衍生物之脂肪乳劑。

製造例 5

於製造例 1 所得之脂肪乳劑中加蛋白素 0.5 克後，予以冷凍乾燥處理，則得乾燥製劑。

絲微素 C 之生成評價試驗

從壬氧羧基絲微素 C (衍生物 1), N-(壬氧羧基) 甘胺醯基絲微素 C (衍生物 2)，至絲微素 C 之生成列示在表 1。

將在 ddY 系小白鼠之皮下增殖之 S-180 固形腫瘤，及在裸小白鼠之皮下增殖之源自人類之固形腫瘤細胞 (MX-1)

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

打

線

五、發明說明(12)

予以摘出，而用等張性磷酸緩衝生理食鹽水分別製成10%均化物，於此加絲黴素C各衍生物，使最後濃度為 $10\mu M$ ，在 $37^\circ C$ 保溫60分後，將游離之絲黴素C以高速層析法來測定。

由此得知，所有絲黴素C衍生物均在腫瘤中生成活性型之游離絲黴素C。且這些游離之絲黴素C之生成與所添加之衍生物之分解之量關係完全對應。

可見，這些衍生物確具備作為絲黴素C之前藥之性質。且游離之絲黴素C之生成速度依各衍生物而異，N-(壬氨酸基)甘胺醯基絲黴素C(衍生物2)比衍生物1迅速游離絲黴素C。在源自人類之腫瘤細胞也同樣。

表1 絲黴素C之生成(%)

	S-180	MX-1
衍生物1	3.0	5.7
衍生物2	16.0	11.4

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

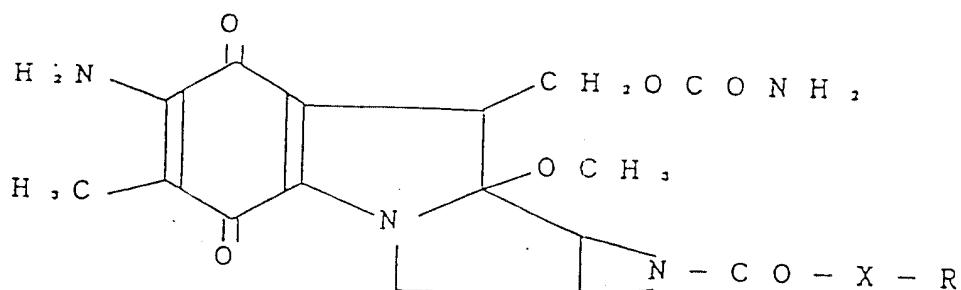
線

211015

審查
清光
82年7月2日
A5
B5

四、中文發明摘要(發明之名稱：絲黴素 C (mitomycin C) 衍生物)

一種如下一般式 [I] 所代表之絲黴素 C (mitomycin C)
衍生物：



(I)

[式中 X 為 $-(\text{CH}_2)_n-0-$ ，或 $-(\text{CH}_2)_n-\text{NHCOO}-$ ，

n 為 1 之整數，

R 為 C_{3-25} 之直鏈或分歧，鏈狀，飽和或不飽和之
烴基]。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

附註：本案已向

國(地區)申請專利，申請日期：

案號：

日本

1990.1.11

2-5203

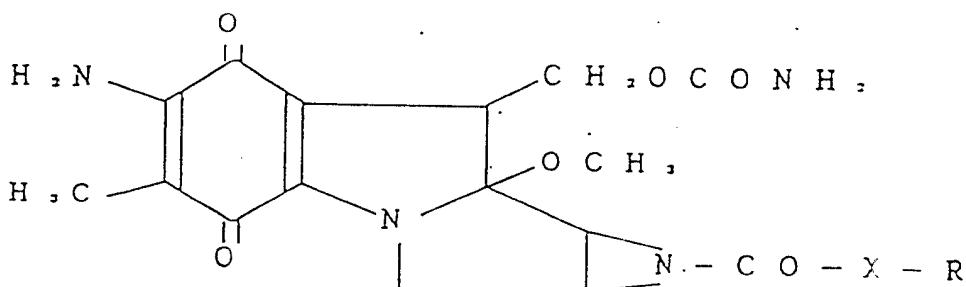
211015

A5

B5

四、中文發明摘要(發明之名稱： A mitomycin C derivative)

a mitomycin C derivative of the following formula (I):



[wherein X represents a group of the formula

- $(CH_2)_n-O-$ or - $(CH_2)_n-CHCOO-$

n represents an integer of 1,

R represents a straight or branched, linear, saturated

or unsaturated C₃₋₂₅ hydrocarbon group.

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

附註：本案已向

國(地區)申請專利，申請日期：

案號：

A7

B7

627.5 28

D7

211013

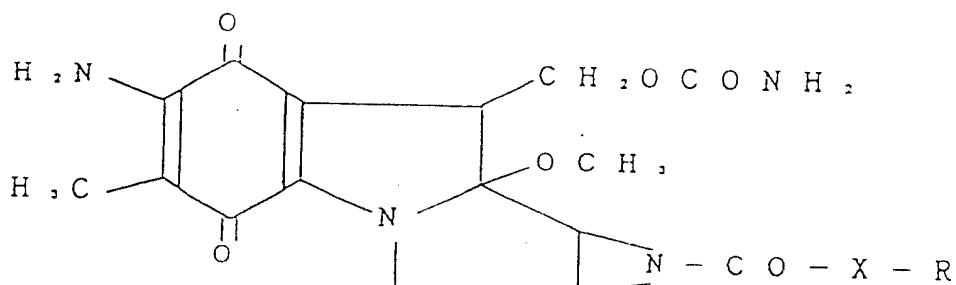
公 告 本

六、申請專利範圍

第 80106749 號 「絲黴素 C (mitomycin C) 衍生物」專利案

(82年5月修正)

一種如下一般式 [I] 所代表之絲黴素 C (mitomycin C) 衍生物：



(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

〔式中 X 為 $-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-$ ，或 $-(\text{CH}_2)_n-\text{NHCOO}-$

n 為 1 之整數，

R 為 C_{3-25} 之直鏈或分岐，鏈狀，飽和或不飽和
之烴基〕。