(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4276842号
(P4276842)

(45)発行日　平成21年6月10日(2009.6.10)　(24)登録日　平成21年3月13日(2009.3.13)

(51)Int.Cl.		F I	
A61K 31/365	(2006.01)	A61K	31/365
A61K 31/203	(2006.01)	A61K	31/203
A61K 45/00	(2006.01)	A61K	45/00
A61P 3/10	(2006.01)	A61P	3/10
A61P 7/00	(2006.01)	A61P	7/00

請求項の数 6　(全 9 頁)　最終頁に続く

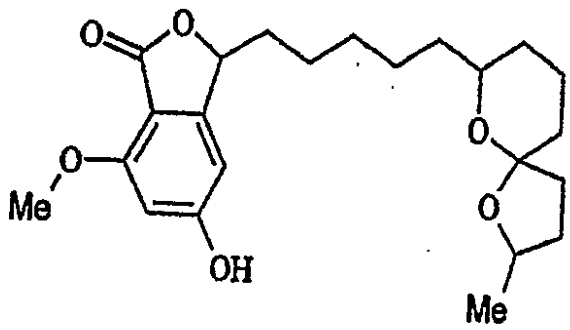
(21)出願番号　特願2002-572999 (P2002-572999)
(86)(22)出願日　平成14年3月1日 (2002.3.1)
(65)公表番号　特表2004-523578 (P2004-523578A)
(43)公表日　平成16年8月5日 (2004.8.5)
(86)国際出願番号　PCT/IT2002/000127
(87)国際公開番号　WO2002/074291
(87)国際公開日　平成14年9月26日 (2002.9.26)
審査請求日　平成17年2月17日 (2005.2.17)
(31)優先権主張番号　RM2001A000136
(32)優先日　平成13年3月16日 (2001.3.16)
(33)優先権主張国　イタリア (IT)

(73)特許権者　591043248
シグマ－タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ
ＳＩＧＭＡ－ＴＡＵ　ＩＮＤＵＳＴＲＩＥ　ＦＡＲＭＡＣＥＵＴＩＣＨＥ　ＲＩＵＮＩＴＥ　ＳＯＣＩＥＴＡ　ＰＥＲ　ＡＺＩＯＮＩ
イタリアＯＯ１４４ローマ、ビアレ・シャケスペアレ４７番
(74)代理人　100081422
弁理士　田中　光雄
(74)代理人　100106518
弁理士　松谷　道子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＰＰＡＲ－ガンマ受容体の活性化に応答する症状の治療に有用な組成物

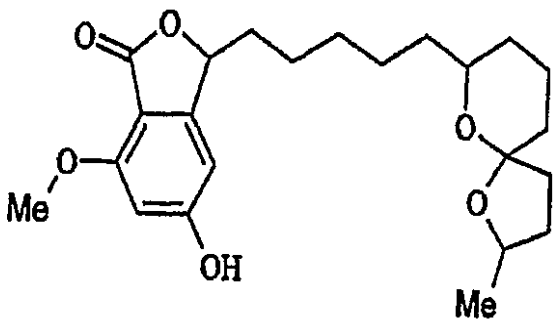
(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
式（Ｉ）のスピロラキシンを含む、ＰＰＡＲγ受容体の活性化に応答する疾患の治療用医薬組成物、ただし、該疾患は２型インスリン抵抗性真性糖尿病である。
【化１】



(I)

【請求項２】
有効成分として式（Ｉ）のスピロラキシン

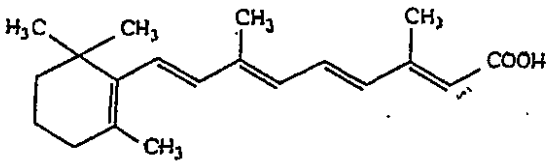
【化２】



(I)

が、式（ＩＩ）の全トランスレチノイン酸

【化３】



(II)

および少なくとも１つの賦形剤および／または媒体と組合せて作用する、ＰＰＡＲγ受容体の活性化に応答する疾患の治療用の医薬組成物であって、該ＰＰＡＲγ受容体の活性化に応答する疾患が急性悪性血液疾患である医薬組成物。

【請求項３】

急性悪性血液疾患が、リンパ系白血病、骨髄球性白血病、単核球性白血病および巨核芽球性白血病からなる群から選択される請求項２に記載の医薬組成物。

【請求項４】

悪性血液疾患が急性前骨髄球性白血病である請求項２に記載の医薬組成物。

【請求項５】

１または複数の既知の抗腫瘍薬と組合せた、請求項２に記載の医薬組成物。

【請求項６】

抗腫瘍薬が、アルキル化剤、トポイソメラーゼ阻害剤、抗チューブリン剤、インターカラント、抗代謝薬、ビンカアルカロイドなどの天然物、エピポドフィロトキシン、抗生物質、酵素およびタキサンからなる群から選択される請求項５に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、２型インスリン抵抗性糖尿病などの、ＰＰＡＲγ受容体（ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体）の活性化に応答する症状の治療におけるスピロラキシンの使用に関する。

【０００２】

本発明はまた、急性悪性血液疾患などの、ＰＰＡＲγ受容体の活性化に応答する症状の治療のために、全トランスレチノイン酸と共同してスピロラキシンを有効成分として含む医薬組成物にも関する。

【背景技術】

【０００３】

ＰＰＡＲγは核受容体スーパーファミリーのメンバーである。それはレチノイドＸ受容

体（ＲＸＲ）とヘテロ二量体化し、グルコースおよび脂質代謝に関する遺伝子の転写制御因子として作用する(Diabetes 47 (4):507-April 14, 1998)。

【０００４】

真性糖尿病は、遺伝因子と環境因子の相互作用の結果起こる症候群である；それはインスリン分泌における障害およびその他の代謝および血管異常、即ち、腎臓および網膜の縮退によって起こる、血中グルコース濃度の上昇、動脈硬化の非特異的促進、神経障害、毛細血管基底膜の肥厚によって特徴付けられる。

【０００５】

現在の分類によると、糖尿病は２つ主なカテゴリーに分けられる。

１－インスリン依存性真性糖尿病（１型糖尿病としても知られる）；この型の糖尿病患者は、文字通りケトアシドーシスおよび死を防止するためにインスリンに依存する。内因性インスリン分泌に関する限り、１型真性糖尿病患者は、インスリン減少症(insulinopenia)を示す。

２－非インスリン依存性真性糖尿病（２型糖尿病としても知られる）；この型の糖尿病患者は生存するためにインスリンを必要としない：この型の患者は糖尿病の症状の制御にインスリンを用いるか否かを決定できる。内因性インスリン分泌に関する限りは、２型糖尿病患者はさらに２つのグループに分類できる。第１のグループでは、インスリンレベルは正常または正常より低く、第２のグループでは、インスリン値は正常より高く、患者はインスリン抵抗性を示す。

【０００６】

上記のように、ＰＰＡＲγは脂質およびグルコース代謝に関する遺伝子の転写制御因子としても作用する。

【０００７】

糖尿病治療に用いられるインスリン感作薬である、ＰＰＡＲγのリガンドは既に知られている。

【０００８】

例えば、チアゾーリジンジオン(thiazo-lidinedione)誘導体は、２型インスリン抵抗性真性糖尿病の患者の治療に有用な薬剤であると記載されている。これらの化合物はＰＰＡＲγの高アフィニティーリガンドである；これらのインビボでの抗糖尿病作用は、その該受容体に対する高い結合アフィニティーによる(Nippon Rinsho 2000 Feb; 58(2):401-4)。

【０００９】

同様に、ＰＰＡＲγは数系統の白血病細胞系に高レベルで発現しており、それらは分化できない結果、最も未熟な段階で蓄積する（Jan, Exp. 4, 281-99, 1995)。

【００１０】

急性悪性血液疾患は血液の癌であり、それは先進国の人々の間で徐々に絶え間無く増加しつつある。

【００１１】

ますます多くの汚染化合物が大気中に存在するようになってきており、それによってヒトの遺伝子プールにおける突然変異が引き起こされる。これらの突然変異はしばしば固形癌および悪性血液疾患の両方の原因となる。

【００１２】

上記のように急性悪性血液疾患は、リンパ系または骨髄系細胞が分化できず、その結果最も未熟な段階で蓄積することによって特徴付けられる。

【００１３】

これら腫瘍細胞を排除することができる薬物またはそれらの最終分化を誘導することができる薬物が通常これらの症状を治療するために用いられる（分化治療）。

【００１４】

抗増殖活性を有するＰＰＡＲγのリガンドは、European Journal of Cell Biology 67, 379-85-1995年8月およびEuropean Journal of Cell Biology 77, 214-19-1998年11月に

記載されており、これは様々な骨髄白血病細胞系に対し、レチノイドと組み合わせた場合強力な分化誘導(pro-differentiative)相乗作用を示す。

【００１５】

実際、ＲＸＴレチノイド受容体とヘテロ二量体化することにより、ＰＰＡＲγは活性化受容体複合体の活性を上昇させ、両方の受容体を同時に活性化する(Cell Vol. 93, 241-52,1998年4月）。

【００１６】

レチノイン酸とＰＰＡＲγのリガンドとの併用療法により、急性悪性血液疾患などの細胞分化の欠如によって特徴付けられる症状の治療に対して治療上の利益がもたらされる。

【００１７】

スピロラキシンは既知の化合物である；それはPhytochemistry, (1990) Vol.29, No.2, pages 613-616には、菌類スポロトリクム・ラクサム（Sporotrichum laxum）の代謝産物として記載されている。スピロラキシンの抗腫瘍活性は日本特許出願第０８１７７０３３号に報告されている。この出願において記載されている実験モデルは腫瘍系の増殖阻害に関するインビトロ試験に関する。該試験は、被験腫瘍系に対する直接的細胞毒性により増殖が有意に阻害されることを示す。

【００１８】

ＷＯ９６０５２０４号において、スピロラキシンはヘリコバクター・ピロリ（Helicobacter pylori）によって引き起こされる胃十二指腸疾患の治療に有用な化合物として記載されている。

【００１９】

日本特許出願第９４－８２７８５号において、スピロラキシンは抗コレステロール血症(anti-cholesterolemic)活性を有する脂質降下化合物として記載されている。

【００２０】

スピロラキシンの調製方法はPhytochemistry, (1990) Vol. 29, No. 2, p613-616において記載されている。

【００２１】

レチノイン酸も公知の化合物である。この化合物の毒性および催奇性は、J.J.Kamm、 J.Am. Acad. Dermatol. 6, 652 (1982)によって公表された。この化合物の合成は、C. D. Robertoson et al.、 J.Am.Chem. Soc. 77, 4111(1955)に開示されている。

【００２２】

スピロラキシンは、単独でも全トランスレチノイン酸と組合せても、ＰＰＡＲγ受容体の活性化に応答する症状の治療に有用な薬剤であると開示されたことは無かった。

【００２３】

腫瘍細胞クローンの前骨髄球の分化を刺激するその能力のおかげで（分化療法）、レチノイン酸は、特定の型の悪性血液疾患である、急性前骨髄球性白血病（ＡＰＬ）の治療に有用な薬剤である。

【００２４】

他の型の白血病と比較して、ＡＰＬはそれほど顕著な白血球増多症、貧血症および血小板減少症を示さず、そして従来からの化学療法で治療した場合に緩解率が低く、死亡率が高い。

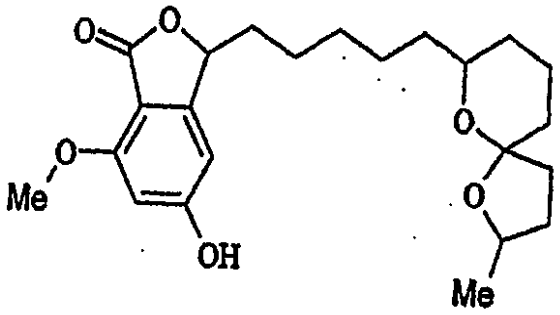
【００２５】

ＡＰＬは異常な転座によって特徴付けられ、それには染色体１５および１７の長腕が関与し［転座ｔ（１５；１７）］、これにはレチノイン酸受容体αの遺伝子が関与する（Cin. Lab. Sci. 2000年春；13(2):106-16)。

【００２６】

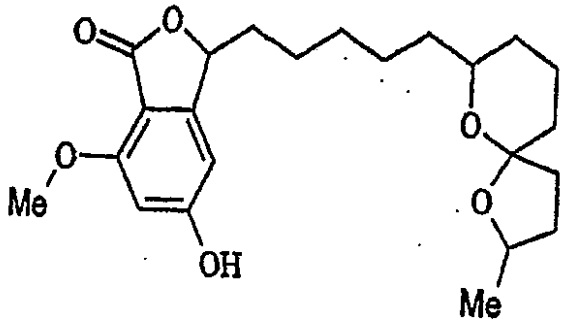
ＡＴＲＡの経口投与によりＡＰＬ患者の大多数において完全な緩解がもたらされる。しかし場合によってはＡＴＲＡによる治療はいわゆる「レチノイン酸症候群」を引き起こしうる。この症候群は治療を受ける患者における白血球数の迅速かつ漸進的な増加によって特徴付けられ、その他の化学療法によって治療される。

【００２７】
さらに、ＡＴＲＡによる治療の間に腫瘍細胞は徐々にこの化合物に対して耐性になることから、寛解後療法が必要である。
【発明の開示】
【発明が解決しようとする課題】
【００２８】
ここ数年なされてきた努力にもかかわらず、単独であるいは組合せて、ＰＰＡＲγ受容体の活性化に応答する症状の治療に有用な新規な化合物への要求がいまだに大きい。
【課題を解決するための手段】
【００２９】
このたび、式（Ｉ）のスピロラキシンがＰＰＡＲγ受容体の活性化に応答する症状の治療薬の調製に有用な薬剤であることが見出された。
【化１】



(I)

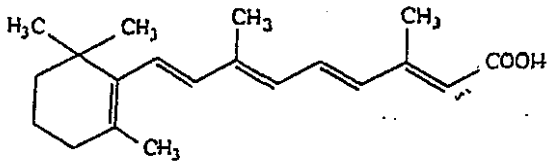
【００３０】
本発明の１つの目的はＰＰＡＲγ受容体の活性化に応答する症状の治療薬の調製のための式（Ｉ）のスピロラキシンの使用であり、ここでそのような受容体の活性化に応答する症状は、２型インスリン抵抗性真性糖尿病である。
【００３１】
本発明のさらなる目的は、有効成分として式（Ｉ）のスピロラキシンを、
【化２】



(I)

式（ＩＩ）の全トランスレチノイン酸

【化３】



(II)

と組合せて含む、ＰＰＡＲγ受容体の活性化に応答する症状の治療用の医薬組成物である。

【００３２】

本発明のさらなる目的は式（Ｉ）のスピロラキシンと式（ＩＩ）の全トランスレチノイン酸の組合せである。

【００３３】

本発明のさらなる目的は、式（ＩＩ）の全トランスレチノイン酸と組合せて式（Ｉ）のスピロラキシンを有効成分として含み、そして少なくとも賦形剤および／または媒体を含む医薬組成物である。

【００３４】

本発明のさらなる目的は、ＰＰＡＲγ受容体の活性化に応答する症状の治療薬の調製のための式（ＩＩ）の全トランスレチノイン酸と組合せた式（Ｉ）のスピロラキシンの使用であり、ここでＰＰＡＲγの活性化に応答する症状は、以下からなる群に含まれる急性悪性血液疾患である：リンパ系白血病、骨髄球性白血病、単核球性白血病および巨核芽球性白血病。

【００３５】

本発明のさらなる目的は式（ＩＩ）の全トランスレチノイン酸と組合せた式（Ｉ）のスピロラキシンの、急性前骨髄球性白血病の治療薬の調製のための使用である。

【００３６】

さらに、より多くの抗腫瘍薬が同時にまたは逐次に投与される治療プロトコールの使用は医薬分野で公知である。

【００３７】

治療プロトコールにおいて多くの抗腫瘍薬を投与する必要性は、以下の事実によって理由付けられている。即ち、異なる代謝レベルで作用することにより、それらが癌の完全な緩解に寄与し得ることもあるし、それらが治療を受ける患者の寿命を延ばし、および／または彼らの生活の質を改善するのに役立ち得ることもあるという事実である。本発明による組み合わせを急性悪性血液疾患の治療用の１または複数の公知の抗腫瘍薬とともに用いてもよい。

【００３８】

それゆえ、本発明のさらなる目的はまた、急性悪性血液疾患の治療用の１または複数の公知の抗腫瘍薬と組合せて、式（Ｉ）のスピロラキシン式を（ＩＩ）の全トランスレチノイン酸と組合せて含む医薬組成物である。上記の公知の抗腫瘍薬は以下を含む群に含まれる：アルキル化剤、トポイソメラーゼ阻害剤、抗チューブリン剤、インターカラント、抗代謝薬、ビンカアルカロイドなどの天然物、エピポドフィロトキシン、抗生物質、酵素およびタキサン。

【００３９】

本発明をさらに説明するために以下の実験データを報告する。

【実施例１】

【００４０】

スピロラキシン（ＳＴ１３９７）によるＰＰＡＲγの活性化

スピロラキシンがＰＰＡＲγ受容体に結合する能力およびＰＰＡＲ－γ（ＰＰＡＲ－γ

ＲＥ）応答性配列を有する遺伝子の活性化を引き起こす能力を、ＰＰＡＲ－γを発現するプラスミドおよびＰＰＡＲ－γＲＥ制御下でルシフェラーゼ遺伝子をコードするレポーターベクターによる細胞トランスフェクション実験によって明らかにした（Cell 68; 879-887;1992; Ｊ．Biol．Chem．272; 25252-25259;2997)。

【００４１】

ＮＩＨ－３Ｔ３マウス線維芽細胞をＰＰＡＲ－γプラスミドおよびＴＫ－ＰＰＡＲ－Ｒｅｌｕｃレポーターベクターでトランスフェクトすることにより、ルシフェラーゼの発現の活性化を明らかにした；ルシフェラーゼ活性は４０ｎＭの濃度のスピロラキシンによる２４時間の処理後に測定した。

【００４２】

スピロラキシンの活性を２型インスリン抵抗性真性糖尿病の治療用の既知の化合物の活性と比較した：トログリタゾン（ＴＺＤ）を５μＭの濃度で試験した。

【００４３】

結果は図１に示すように、スピロラキシンが上記抗糖尿病化合物よりも活性であることを示す。実際、参照化合物により誘導され（受容体活性化の指標として）ＴＫ－ＰＰＡＲ－Ｒｅｌｕｃレポーターベクターにより媒介されるルシフェラーゼ活性は対照よりも５倍高く、本発明によるスピロラキシンにより誘導されるルシフェラーゼ活性は対照より７倍高かった。

【実施例２】

【００４４】

ヒト前骨髄球性白血病細胞系（ＮＢ４）の分化に対する本発明による組合せの効果

スピロラキシン（ＳＴ１３９７）およびＡＴＲＡの分化誘導活性を単独および組合せの両方で本実験モデルによって評価した。

【００４５】

全トランスレチノイン酸は０．１および１μＭの間の範囲の濃度で活性になることが周知である；分化効果のピークは通常、処理の３日／４日の間に観察され、その時点で有意に増殖が停止する。

【００４６】

１０％ウシ胎仔血清（ＦＣＳ）を含むＲＰＭＩ１６４０培地５ｍｌ中およそ１００，０００細胞／ｍｌの密度で２５ｃｍ^{2}フラスコ中でＮＢ４細胞を培養した。１日後、細胞を10^{-7}Ｍ濃度のＡＴＲＡ、または０．１、０．５および１μＭ用量のＳＴ１３９７あるいは該２つの化合物の等容積の組合せで処理した。次いで細胞をインキュベーターに２－３日入れ、培地の交換はしなかった。

【００４７】

処理の２または３日目の最後に、細胞の顆粒球への分化を、試料のＮＢＴ色素還元および分光光度的アッセイによって測定した。

【００４８】

レチノイン酸を１ｍＭのＤＭＳＯ溶液を含む培地に溶解した。この化合物（ＤＭＳＯ）は特定の実験条件では分化誘導性であるため、対照培養物は等容積のＤＭＳＯで処理した。

【００４９】

分化誘導効果を測定するために、各試料から５００，０００細胞を収集し、遠心分離して、１０％血清、１ｍｇ／ｍｌのニトロブルーテトラゾリウム（ＮＢＴ）および１００ｎｇのＰＭＡを含むＲＰＭＩ１６４０培地１ｍｌに再懸濁した。再懸濁した細胞を３７℃で２０－６０分インキュベートした。インキュベーションの最後に細胞を遠心分離し、そのようにして得たペレットを１０％ＴｒｉｔｏｎＸ１００を含有するＰＢＳ１ｍｌに再懸濁した。

【００５０】

試料を超音波処理して完全に溶解させ、分光光度計で５４０ｎｍの波長で測定した。

【００５１】

図２に示す結果は、ＳＴ１３９７は単独で用いた場合にはＮＢ４細胞の分化を誘導しないことを示す。ＡＴＲＡの分化誘導効果は既に周知であるが、この効果は上記のように単独で用いた場合には不活性であるＳＴ１３９７との同時投与により増強されることが見出された。

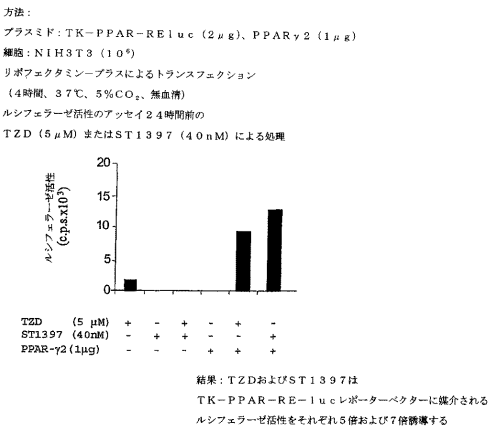
【図面の簡単な説明】

【００５２】

（原文に記載なし）

【図１】

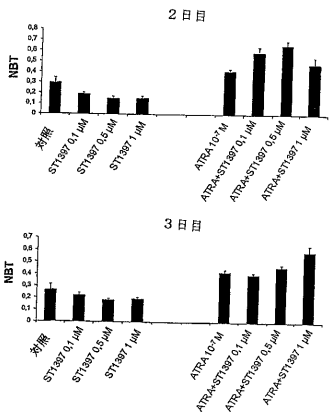
Figure 1



【図２】

Figure 2

本発明の組合せのＮＢ４細胞の分化に対する効果



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI		
A61P 35/00	***(2006.01)***	A61P 35/00		
A61P 35/02	***(2006.01)***	A61P 35/02		
A61P 43/00	***(2006.01)***	A61P 43/00	121	
C07D 493/10	*(2006.01)*	C07D 493/10		C

(72)発明者 クラウディオ・ピサーノ
イタリア、イ－００１４４ローマ、ビアレ・シャケスペアレ４７番、シグマ－タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内
(72)発明者 テレサ・リッチョーニ
イタリア、イ－００１４４ローマ、ビアレ・シャケスペアレ４７番、シグマ－タウ・インドゥストリエ・ファルマチェウチケ・リウニテ・ソシエタ・ペル・アチオニ内

審査官 井上 明子

(56)参考文献 特開平１０－００７５５７（ＪＰ，Ａ）
特表平０７－５０３０１４（ＪＰ，Ａ）
特開平０７－２８５８６２（ＪＰ，Ａ）
国際公開第０１／０６８０７０（WO，Ａ１）
国際公開第９６／００５２０４（WO，Ａ１）
British Journal of Haematology, １９９６年, Vol.93, No.4, p.973-976
Experimental Hematology, １９８４年, Vol.12, No.10, p.768-773

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
A61K 31/365
A61K 31/203
C07D 493/10
CAplus(STN)
REGISTRY(STN)