

(19) 日本国特許庁 (JP)

## (12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5755796号  
(P5755796)

(45) 発行日 平成27年7月29日 (2015. 7. 29)

(24) 登録日 平成27年6月5日 (2015. 6. 5)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 491/22 (2006. 01)

C O 7 D 491/22 C S P

A 6 1 P 35/00 (2006. 01)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 31/4745 (2006. 01)

A 6 1 K 31/4745

請求項の数 5 (全 14 頁)

(21) 出願番号 特願2014-502977 (P2014-502977)  
 (86) (22) 出願日 平成24年4月6日 (2012. 4. 6)  
 (65) 公表番号 特表2014-511850 (P2014-511850A)  
 (43) 公表日 平成26年5月19日 (2014. 5. 19)  
 (86) 国際出願番号 PCT/CN2012/073578  
 (87) 国際公開番号 W02012/136144  
 (87) 国際公開日 平成24年10月11日 (2012. 10. 11)  
 審査請求日 平成26年11月28日 (2014. 11. 28)  
 (31) 優先権主張番号 201110086102.6  
 (32) 優先日 平成23年4月7日 (2011. 4. 7)  
 (33) 優先権主張国 中国 (CN)

早期審査対象出願

(73) 特許権者 513250374  
 ニンボー チーム ファーマシューティカル  
 カンパニー リミテッド  
 中華人民共和国315201チョーチャン  
 , ニンボー, チェンハイ ディストリクト  
 , チュアンシー, ゴンサン ロード, ナン  
 バー6  
 (74) 代理人 100105050  
 弁理士 鷲田 公一  
 (72) 発明者 雷▲晁▼光  
 中華人民共和国100193北京市海淀区  
 天秀花▲園▼荷塘月舍小区1号楼4单元5  
 03▲房▼

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗腫瘍活性を有するカンプトテシン誘導体

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

下記の化合物からなる群より選ばれることを特徴とする化合物またはその薬学的に許容可能な塩：

C P T 1 : 9 - ( N - t e r t - ブトキシエチル ) オキシム - 1 0 - [ ( 4 ' - ピペリジノピペリジン ) カルボニルオキシ ] - カンプトテシン、

C P T 2 : 9 - ( N - t e r t - ブトキシエチル ) オキシム - 1 0 - ヒドロキシ - カンプトテシン、

C P T 3 : 9 - ( N - t e r t - ブトキシエチル ) オキシム - 1 0 - フルオロ - カンプトテシン、

C P T 7 : 9 - ( N - t e r t - ブトキシエチル ) オキシム - カンプトテシン、

C P T 8 : 9 - ( N - t e r t - ブトキシエチル ) オキシム - 1 0 - アセトキシ - カンプトテシン。

## 【請求項 2】

前記塩は、塩酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩、硫酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、シュウ酸塩、コハク酸塩、安息香酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、マンデル酸塩、アスコルビン酸塩、リンゴ酸塩、メタンスルホン酸塩、および、p - トルエンスルホン酸塩から選ばれる請求項 1 の化合物またはその薬学的に許容可能な塩。

## 【請求項 3】

治療有効用量の請求項 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩、および通常

の薬用補助材料を含むことを特徴とする薬物組成物。

【請求項 4】

前記薬物組成物が、経口投与型または注射剤型に調製されることを特徴とする請求項 3 に記載の薬物組成物。

【請求項 5】

請求項 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容可能な塩の腫瘍性疾患の治療用薬物の製造における使用。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗腫瘍薬物化合物に関し、さらに具体的には、新規な化学構造および効果的な抗腫瘍活性を有するカンプトテシン誘導体およびそれらの調製並びに応用に関する。

【背景技術】

【0002】

現在、癌腫瘍は人々の生命と健康を害する深刻な疾患の 1 つであり、世界保健機関 (WHO) の統計資料によると、全世界で癌腫瘍は毎年約 1600 万人が発症し、約 600 万人が死亡し、既に心血管疾患に次ぐ人類の 2 番目の死亡原因となっている。現在、全世界で市場に出ている抗腫瘍薬物は合計 70 種類以上であり、毎年新薬が 1 ~ 2 種類発表されるという速度で発展している。しかしながら、わが国は抗腫瘍薬物の研究開発においてはまだ初期段階にあり、経済的または供給に関する問題を原因として、多くの腫瘍患者は最先端の薬物治療を受けることができていない。そのため、独自の知的財産権を有する革新的な抗腫瘍薬物の開発は国の経済建設と健康医療の構築において重要な意味を持っている。カンプトテシン (Camptothecin, CPT) は、ヌマミズキ科植物のカンレンボクから分離されるアルカロイドである。その作用の目的は、DNA トポイソメラー I を阻害することである。カンプトテシンは選択性が悪いため、血尿や骨髄抑制が生じ、適用が制限されていた。

20

【0003】

構造の改造がなされた部分合成カンプトテシン誘導体は、選択性が向上し、毒性が低減し、治療効果が向上した。現在、国内外で市場に出ているカンプトテシン系薬物には、イリノテカン (CPT-11)、トポテカン (Topotecan)、10-ヒドロキシカンプトテシン、および 2004 年に市場に出たベロテカン (CKD-602) がある。既に臨床研究が行われたものとしては、NP-1350 (Karenitecin)、ジャイマテカン (Gimatecan)、キミテカン (Chimmitecan) などがある。

30

【0004】

イリノテカンは構造修飾が最も成功したカンプトテシン誘導体であり、広域スペクトルの抗癌作用を有し、40 年にわたり 5-フルオロウラシルに次いで、転移性結腸直腸癌の治療における第一線の薬物として用いられ、肺癌、卵巣癌、乳癌、胃癌および膵臓癌の治療にも用いられている。トポテカンは最も劣ったものの 1 つであり、前臨床評価ではほとんどの腫瘍に作用効果がなく、臨床使用の面でも化学療法に最も敏感な小細胞肺癌にしか用いられず、しかも寛解時間が比較的短いため、作用面で劣る。

40

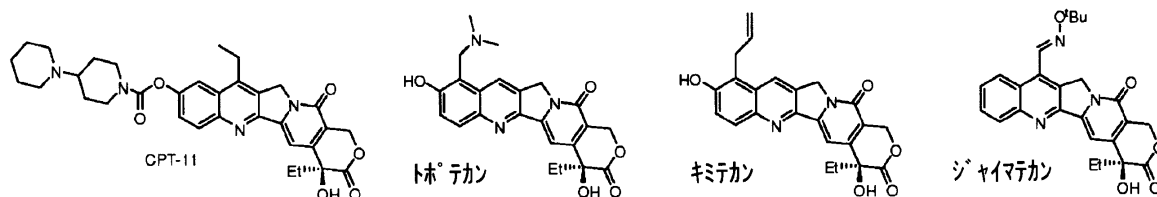
【0005】

カンプトテシンは 5 環性アルカロイドであり、C-7、9-12、20 位においていずれも多種類にわたる構造修飾の改造が可能である。C-7、9 位において構造修飾を行うことにより高効率・低毒性の化合物を得ることが可能であり、例えば、イリノテカンが C-7 位にエチル基を導入し、ジャイマテカンが C-7 に (N-tert-ブトキシ)メチルオキシムを導入する場合、該基は脂溶性を有し、血液脳関門を透過することができ、ジャイマテカンは現在神経膠腫の治療に対する臨床試験が行われている。ジャイマテカンは、

50

C - 9 位にプロペニル基を導入しても比較的良好な抗腫瘍作用を有する。しかし、9 位にジメチルアミノメチル基を導入したトポテカンの場合、薬効の増加も毒性の低下もなく、その上 10 - OH - CPT よりも毒性が増加したが、ただ水溶性は増加した。そのため、7 - 9 位に対応する基を導入し、化合物の活性が改善可能かどうかは導入する基の性質によって決まる。

#### 【化 1】



10

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0006】

本発明の発明者は、カンプトテシン類の抗腫瘍薬物に対してより体系的に研究を行い、長期的な実験とスクリーニングを通じて、C - 9 位にオキシムまたは他のヘテロ N 原子を含むオレフィン化合物を導入するとともに、C - 10 または C - 11 位にヒドロキシ基などの官能基の誘導体 [ 発明の内容中の構造式 ( 1 ) ] を導入して得られる新規な構造の化合物が良好な抗腫瘍活性を有することを発見し、その *in vivo* で抗腫瘍作用が明らかに向上し、現在選択性が最も優れたカンプトテシン類の新規な化合物の 1 つである。したがって、この種類の化合物は、抗腫瘍薬物の開発において将来性を有することを明らかに示している。この種類の化合物はまだ国内外で報告されたことがなく、新規な構造の化合物の発明に属する。

20

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0007】

本発明は、1 . 抗腫瘍活性を有する新規なカンプトテシン誘導体、2 . この種類の化合物とそれらの薬物組成物、および 3 . 腫瘍の治療におけるこの種類の化合物および調製の組み合わせの応用を提供する。

30

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0008】

【図 1】ヒト膀胱癌 BX - PC - 3 に対する CPT 1 の抗腫瘍作用

【図 2】ヒト結腸癌 HT - 29 に対する CPT 1 の抗腫瘍作用

【図 3】ヒト非小細胞肺癌 A549 に対する CPT 1 の抗腫瘍作用

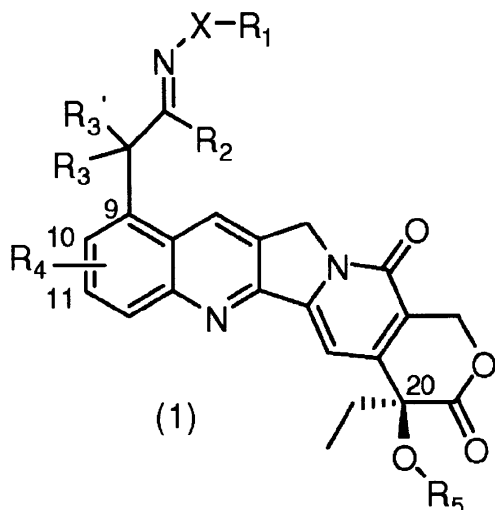
#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0009】

1 . 新規なカンプトテシン誘導体の基本的な化学構造は下記のとおりである：

40

## 【化 2】



10

(構造式において、

$R_1$ は、 $H$ 、 $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アルキル基、 $F$ で置換される $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アルキル基、 $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アシル基、 $F$ で置換される $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アシル基、 $C_6 - C_{18}$ の炭素芳香環、 $C_6 - C_{18}$ の、ハロゲン原子( $F$ 、 $Cl$ 、 $Br$ 、 $I$ )、ニトロ基( $NO_2$ )、ヒドロキシ基( $OH$ )、アミノ基( $NH_2$ )、シアノ基( $CN$ )の置換基を含有する炭素芳香環、ヘテロ原子( $N$ 、 $O$ 、 $S$ )を含有する芳香環を表す。

20

$X$ は、 $O$ 、 $NH$ 、 $NR_6$ を表す。ここで、 $R_6$ は、 $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アルキル基、 $F$ で置換される $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アルキル基、 $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アシル基、 $F$ で置換される $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アシル基を表す。

$R_2$ は、 $H$ 、 $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アルキル基、 $F$ で置換される $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アルキル基を表す。

$R_3$ と $R_3'$ は、同一または異なる $H$ 、 $F$ 、 $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アルキル基、 $F$ で置換される $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アルキル基を表す。

30

$R_4$ は、 $C_{10}$ 位および $C_{11}$ 位の同一または異なる $H$ 、ハロゲン原子( $F$ 、 $Cl$ 、 $Br$ 、 $I$ )、ニトロ基( $NO_2$ )、ヒドロキシ基( $OH$ )、アミノ基( $NH_2$ )、 $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アルキル基、 $F$ で置換される $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アルキル基、 $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アシル基、 $F$ で置換される $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状アシル基、 $C_{10}$ 位または $C_{11}$ 位の $OR_7$ を表す。ここで、 $R_7$ は、 $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状カルボニル基、 $F$ で置換される $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状カルボニル基、 $N$ 原子を含有する $C_1 - C_{20}$ の直鎖、分岐、もしくは環状カルボニル基、天然もしくは非天然のアミノ酸を含有し、およびそれからなるポリペプチド $C$ の末端のカルボニル基を表す。

40

$R_5$ は、 $H$ 、 $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状カルボニル基、 $F$ で置換される $C_1 - C_{10}$ の直鎖、分岐、もしくは環状カルボニル基、 $N$ 原子を含有する $C_1 - C_{20}$ の直鎖、分岐、もしくは環状カルボニル基、天然もしくは非天然のアミノ酸を含有し、およびそれからなるポリペプチドの $C$ 末端のカルボニル基を表す。 )。

## 【0010】

上記化合物の薬用可能な塩の特徴は、(4'-ピペリジノピペリジン)カルボニルオキシがアルカリ性のアミノ基、天然もしくは非天然のアミノ酸のアミノ基と薬用の無機酸または有機酸から形成された塩を有し、これらの塩は、薬物を水溶性にすることができる。例えば、塩酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩、硫酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、シュウ酸塩、コハク酸塩、安息香酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩、

50

マンデル酸塩、アスコルビン酸塩、リンゴ酸塩、メタンスルホン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩などがある。

【 0 0 1 1 】

本発明は、特に下記の化合物 ( C P T 1 ~ C P T 1 0 ) を優先して選択している：

C P T 1 : 9 - t e r t - ブトキシエチルオキシム - 1 0 - [ ( 4 ' - ピペリジノピペリジン ) カルボニルオキシ ] - カンプトテシン、

C P T 2 : 9 - t e r t - ブトキシエチルオキシム - 1 0 - ヒドロキシ - カンプトテシン、

C P T 3 : 9 - t e r t - ブトキシエチルオキシム - 1 0 - フルオロ - カンプトテシン、

C P T 4 : 9 - t e r t - ブトキシエチルオキシム - 1 0 - フェニルアラニンカルボニルオキシ - カンプトテシン、

C P T 5 : 9 - メトキシエチルオキシム - 1 0 - [ ( 4 ' - ピペリジノピペリジン ) カルボニルオキシ ] - カンプトテシン、

C P T 6 : 9 - アミノフェニルヒドラゾン - 1 0 - [ ( 4 ' - ピペリジノピペリジン ) カルボニルオキシ ] - カンプトテシン、

C P T 7 : 9 - t e r t - ブトキシエチルオキシム - カンプトテシン、

C P T 8 : 9 - t e r t - ブトキシエチルオキシム - 1 0 - カルボニルオキシ - カンプトテシン、

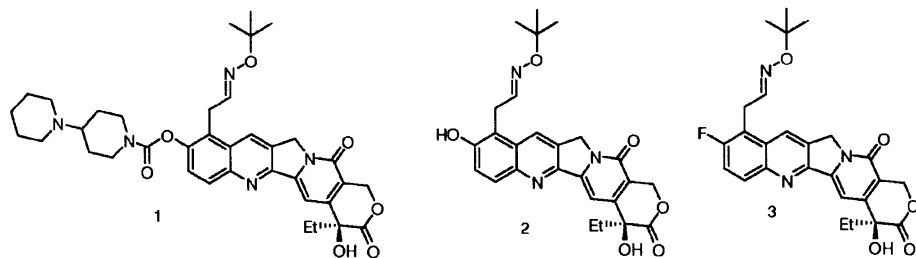
C P T 9 : 9 - t e r t - ブトキシエチルオキシム - 1 0 - [ ( 4 ' - ピペリジノピペリジン ) カルボニルオキシ ] - 2 0 - フェニルアラニンカルボニルオキシ - カンプトテシン、

C P T 1 0 : 9 - t e r t - ブトキシエチルオキシム - 2 0 - フェニルアラニンカルボニルオキシ - カンプトテシン。

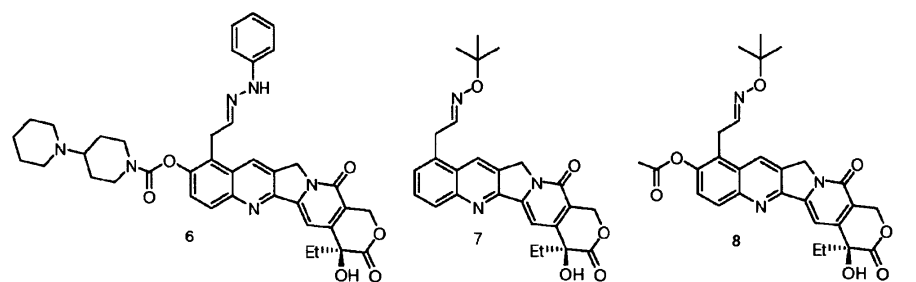
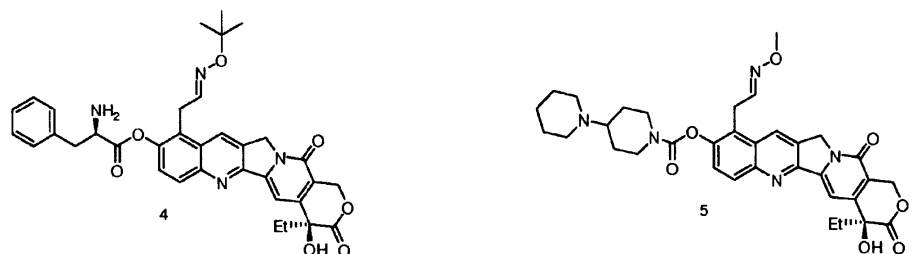
10

20

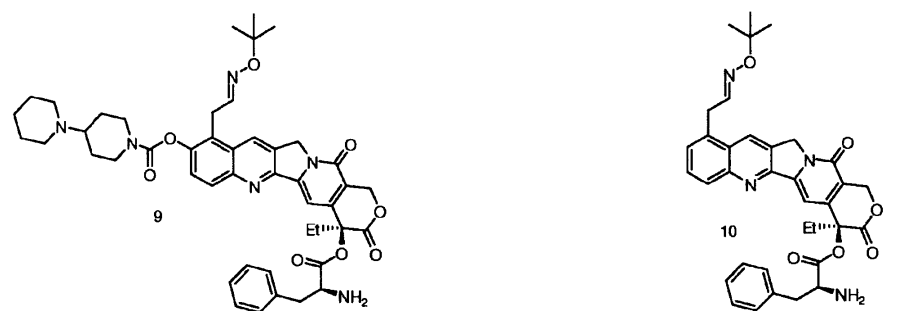
## 【化 3】



10



20



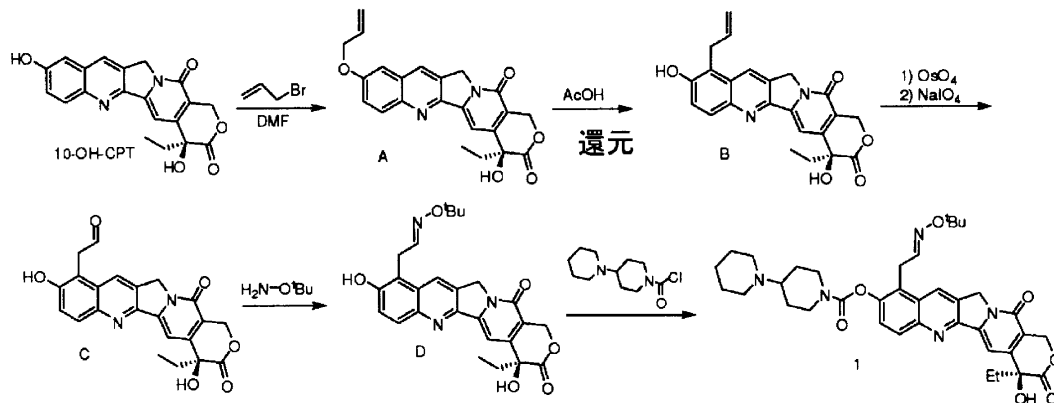
30

## 【 0 0 1 2 】

本発明は、さらに以下の図で示すような本発明の代表的な化合物の調製方法をさらに提供する。

## 【 0 0 1 3 】

## 【化 4】



10

## 【0014】

## 2. この種類の化合物およびそれらの薬物組成物

本発明は、さらに本発明の有効用量の化合物からなる薬物組成物を含む。前記薬物組成物は経口投与および注射投与に適用される：

経口投与薬の剤形は、錠剤、カプセル剤、経口投与液、顆粒剤、懸濁剤などであってもよい。経口投与薬の剤形に用いられる薬用補助材料は通常の補助材料であり、希釈剤、調味剤、溶解補助剤、滑剤、懸濁化剤、結合剤、膨張剤などが含まれる：

20

注射剤は、注射液、粉末注射剤、凍結乾燥粉末、リポソームなどであってもよい。注射剤に用いられる薬用補助材料は通常の補助材料であり、溶媒、希釈剤、溶解補助剤、pH調整剤などが含まれる：

有効用量とは、患者に対して有益な作用を生み出す治療の作用用量であり、その用量は投与経路、投与計画によって異なる。

## 【0015】

## 3. 腫瘍の治療におけるこの種類の化合物および調製の組合せの応用

(1). 新規なカンプトテシン誘導体の *in vitro*での生物活性

MTT法を用いて、CPT1 - CPT10、イリノテカン活性物質 (SN - 38)、ジャイマテカンおよびトポテカンの *in vitro*でのA549 (非小細胞肺癌)、HT - 29 (結腸癌)、OV - 3 (卵巣癌)、U87 (神経膠腫)、BX - PC3 (膵臓癌) 細胞株に対する阻害作用を測定した。結果によると、CPT1 - 10において、CPT1、CPT4、CPT5、CPT6、CPT9、CPT10はプロドラッグであり、*in vitro*では明らかな活性がない (表に記載せず)。CPT2、CPT3、CPT7、CPT8には明らかな細胞毒性がある。

30

## 【0016】

CPT2、CPT3、CPT7、CPT8、ジャイマテカン、SN - 38、トポテカンの上記の5種類の細胞株に対する作用の強弱については、強いものから順に、U87、BX - PC3、HT - 29、OV - 3、A549である。上記の化合物のU87、BX - PC3、HT - 29、OV - 3、A549に対する50%細胞増殖阻害平均濃度 (nM) はそれぞれ、CPT7 (3.3)、CPT3 (7.1)、ジャイマテカン (2.7)、CPT2 (9.1)、SN - 38 (10.5)、CPT8 (12.9)、トポテカン (19.7) である。(表1を参照)。

40

## 【0017】

## (2). 新規なカンプトテシン誘導体の人体移植腫瘍における治療作用

新規なカンプトテシン誘導体の *in vivo*での抗腫瘍作用を正確に評価するためには、等毒性の状況下で抗腫瘍作用を比較する必要がある。試験では全て最大耐量 (MTD) を用いて行い、その結果、各薬物の等毒性用量 (体重の減少がいずれも15%程度であった) は、CPT1が55 mg/kg、q2d x 4、イリノテカンが55 mg/kg、q2d x 4、ジャイマテカンが1 mg/kg、q2d x 4、トポテカンが12 mg/kg、

50

q 2 d x 4 であった。C P 1 は、C P T 2 - 1 0 より比較的良好な水溶性および安定性を示した。よって、C P T 1 は複数の移植腫瘍に良好な治療作用があることは明らかである。

#### 【 0 0 1 8 】

以下、実施例を通じて本発明をさらに説明するものが、本発明に対して制限するものではない。

#### 【 0 0 1 9 】

実施例 1 : C P T 1 の具体的な調製方法 :

##### A . 1 0 - アリロキシカンプトテシンの合成

アルゴン風船が装着された 5 0 0 m L の二口フラスコの中に 1 0 - ヒドロキシカンプトテシン 1 0 . 0 g ( 2 7 . 5 m m o l ) および D M F 2 0 0 m L を入れ、固体が全て溶解するまで攪拌し、さらに炭酸カリウム 5 . 6 g ( 4 . 0 m m o l ) とアリルブロミド 2 . 6 m L ( 3 m m o l ) を順に入れ、アルゴンの保護下で、常温で 8 h 反応させる。反応が完了した後、2 5 0 m L の氷水に注ぎ、希塩酸で p H = 5 になるように調整し、黄色固体が析出され、ろ過し、1 0 0 m L \* 3 の水でろ過ケーキを洗い、1 0 0 m L のジエチルエーテルで洗い、乾燥させ、9 . 8 g ( 2 4 . 2 m m o l ) の薄黄色粉末が得られ、収率は 8 8 . 2 % である。

#### 【 0 0 2 0 】

$^1\text{H}$  NMR ( C D C l <sub>3</sub> ) : 8 . 2 1 ( s , 1 H ) 、 8 . 1 2 ( d , 1 H ) 、 7 . 6 2 ( s , 1 H ) 、 7 . 4 8 ( d , 1 H ) 、 7 . 1 4 ( s , 1 H ) 、 6 . 1 1 ( m , 1 H ) 、 5 . 7 3 ( d , 1 H ) 、 5 . 5 0 ( d d , 1 H ) 、 5 . 4 7 ( d d , 1 H ) 、 5 . 3 0 ( m , 1 H ) 、 5 . 2 5 ( s , 2 H ) 、 4 . 7 1 ( d , 2 H ) 、 3 . 8 8 ( s , 1 H ) 、 1 . 7 6 ( m , 2 H ) 、 1 . 0 3 ( t , 3 H ) 。

#### 【 0 0 2 1 】

##### B . 9 - アリル - 1 0 - ヒドロキシカンプトテシンの合成

還流冷却器およびアルゴン風船が装着された 1 0 0 0 m L の二口フラスコの中に 1 0 - アリロキシカンプトテシン 9 . 8 g ( 2 4 . 2 m m o l ) および氷酢酸 5 0 0 m L を入れ、アルゴンの保護下で 3 日間加熱還流する。減圧蒸発乾固し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離し、ジクロロメタン : メタノール = 3 0 : 1 ( v / v ) で溶出し、黄褐色粉末 6 . 4 g ( 1 5 . 8 m m o l ) が得られ、収率は 6 5 . 3 % である。

#### 【 0 0 2 2 】

$^1\text{H}$  NMR ( D M S O - d <sub>6</sub> ) : 1 0 . 1 9 ( s , 1 H ) 、 8 . 6 1 ( s , 1 H ) 、 7 . 9 5 ( d , 1 H ) 、 7 . 5 3 ( d , 1 H ) 、 7 . 2 6 ( s , 1 H ) 、 6 . 4 5 ( s , 1 H ) 、 6 . 1 0 ( m , 1 H ) 、 5 . 4 0 ( s , 2 H ) 、 5 . 2 3 ( s , 2 H ) 、 4 . 9 8 ( m , 2 H ) 、 3 . 7 8 ( d , 2 H ) 、 1 . 8 5 ( m , 2 H ) 、 0 . 8 8 ( t , 3 H ) 。

#### 【 0 0 2 3 】

##### C . 2 - ( 1 0 ヒドロキシカンプトテシン - 9 - ) アセトアルデヒドの合成

5 0 0 m L の二口フラスコの中に 9 - アリル - 1 0 - ヒドロキシカンプトテシン 6 . 4 g ( 1 5 . 8 m m o l ) 、ジオキサン 2 5 0 m L 、および水 8 0 m L を入れ、固体が全て溶解するまで攪拌し、さらに四酸化オスミウム 0 . 0 4 0 g ( 0 . 1 5 8 m m o l ) を入れ、室温で 3 0 分間攪拌した後、1 時間以内に過ヨウ素酸ナトリウム 1 6 . 8 g ( 7 9 . 0 m m o l ) を数回に分けて入れる。1 6 h 後反応が停止した後、N a <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 1 8 . 0 g を入れて 3 0 分間攪拌し、その後反応生成物を 5 0 0 m L の水中に注ぎ、希塩酸で p H = 5 に調整し、クロロホルムで抽出 ( 5 0 0 m L \* 6 ) して、クロロホルム層を合併し、飽和食塩水で洗い、無水硫酸ナトリウムで乾燥させ、N a <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>4</sub> をろ過除去した後、溶媒を減圧蒸発除去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離し、溶離剤はクロロホルム : アセトン = 1 0 : 1 ( v / v ) であり、淡黄色粉末 3 . 1 g ( 7 . 6 m m o l ) が得られ、収率は 4 8 . 1 % である。



## 【0024】

$^1\text{H}$  NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 9.79 (s, 1H)、8.68 (d, 1H)、7.88 (d, 1H)、7.82 (d, 1H)、7.38 (s, 1H)、6.47 (s, 1H)、5.41 (s, 2H)、5.36 (s, 2H)、5.23 (s, 2H)、4.32 (s, 2H)、1.88 (m, 2H)、0.87 (t, 3H)。

## 【0025】

D-2-(10ヒドロキシカンプトテシン-9-)tert-ブタノールアミンオキシムの合成

還流冷却器およびアルゴン風船が装着された250mLの二口フラスコに2-(10ヒドロキシカンプトテシン-9-)アセトアルデヒド3.1g(7.6mmol)、エタノール20mL、tert-ブタノールアミン塩酸塩1.9g(15.2mmol)、およびピリジン20mLを入れ、アルゴンの保護下で、90℃で15h攪拌し、反応が完了した後、溶媒を減圧蒸発除去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離し、溶離剤はジクロロメタン：メタノール=30：1(v/v)であり、淡黄色粉末2.1g(4.1mmol)が得られ、収率は53.9%である。

## 【0026】

$^1\text{H}$  NMR 0.88 (t, H<sub>3</sub>-E + H<sub>3</sub>-Z), 1.28 (s, t-Bu-Z), 1.41 (s, t-Bu-E), 1.80-1.90 (m, H<sub>2</sub>-E + H<sub>2</sub>-Z), 4.32 (s, 2H), 5.10-5.40 (m, H<sub>2</sub>-E + H<sub>2</sub>-Z), 6.53 (s, OH), 7.25-7.50 (m, H-E + H-Z), 7.70 (d, H-E), 8.05 (d, H-E + H-Z), 8.25 (s, Z), 9.0 (s, E), 10.35 (s, 1H)。

## 【0027】

E-10-(4'-ピペリジノピペリジン)カルボニルオキシ-9-tert-ブタノールアミンオキシムエチルカンプトテシンの合成

ピペリジノピペリジノクロロギ酸アミド1.5g(6.5mmol)を30mLのジクロロメタン中に溶解し、2-(10ヒドロキシカンプトテシン-9-)tert-ブタノールアミンオキシム2.1g(4.4mmol)を30mLの無水ピリジン中に溶解して、氷浴中に前記ジクロロメタン溶液を加え、室温で16h攪拌し、反応が完了した後、溶媒を減圧蒸発除去し、残留物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離し、2.1gの黄色固体が得られ、収率は70.1%である。

## 【0028】

$^1\text{H}$  NMR (CDCl<sub>3</sub>): 8.78 (s, E), 8.61 (s, Z), 8.13 (d, 1H), 7.66 (d, 1H), 7.58 (dd, 1H), 7.37 (t, E), 6.68 (t, Z), 5.74 (d, 1H), 5.29 (d, 1H), 5.26 (s, 2H), 4.43 (br, 1H), 4.32 (d, 1H), 4.11 (d, Z), 3.93 (d, E), 3.1 (t, 1H), 2.95 (t, 1H), 2.57 (br, 4H), 1.95 (br, 2H), 1.83 (m, 2H), 1.63 (br, 4H), 1.47 (br, 2H), 1.27 (s, E), 1.25 (s, Z), 1.03 (t, 3H)。

## 【0029】

実施例2：CPT2-10の調製

調製方法は実施例1と同様であるが、使用する原料は、それらの各置換基に対応する化合物である。

## 【0030】

実施例3：CPT1を含有する錠剤の調製

処方 CPT1

50グラム

10

20

30

40

50

微結晶性セルロース	100グラム
乳糖	100グラム
澱粉	8グラム
ステアリン酸マグネシウム	30グラム
酸メチルセルロースナトリウム	1グラム

を造粒して1000錠(50mg/錠)にタブレット成形する。

#### 【0031】

実施例4：CPT1を含有するカプセルの調製

処方 CPT1	50グラム
微結晶性セルロース	200グラム
澱粉	250グラム

を均一に混合して1000粒にカプセル化し、含有量は50mg/粒である。

#### 【0032】

実施例5：CPT2、CPT3錠剤およびカプセルの調製

実施例3および実施例4と同様である。

#### 【0033】

実施例6：in vitroでの腫瘍細胞に対する殺傷作用

MTT法を用いてin vitroで細胞の毒性を測定し、良好な状態の細胞を取り、細胞懸濁液を作製する。細胞懸濁液を取って96オリフィス板に200ul/ホールで植え付け、恒温のCO<sub>2</sub>培養器の中に置き、24時間培養する。被験薬物を20ul/ホールで加え、48時間培養する。MTTを96オリフィス板に20ul/ホールで加え、培養器の中で4時間反応させ、上澄液を吸収除去し、DMSOを20ul/ホールで加え、酵素免疫測定により波長が570nmの箇所各ホールの吸光値を測定し、細胞の殺傷作用を算出する。

#### 【0034】

#### 【表1】

付表1 新規なカンプトテシン誘導体の体外における腫瘍細胞に対する阻害作用

細胞	50%細胞増殖阻害濃度 (IC <sub>50</sub> nM±SD)					
	A549	HT-29	OV-3	U87	BX-PC3	平均
CPT2	14.1±1.2	7.1±1.6	16.1±2.5	2.9±1.1	5.1±2.0	9.1
CPT3	11.2±1.0	9.1±3.2	10.1±2.1	2.1±1.0	3.1±1.5	7.1
CPT7	5.5±0.8	3.1±1.0	4.1±0.4	1.5±0.3	2.1±1.2	3.3
CPT8	19.3±2.2	11.1±1.8	23.1±3.1	4.1±1.7	7.1±2.1	12.9
SN38	16.6±1.9	8.7±1.2	17.1±3.2	3.1±1.1	6.8±2.6	10.5
ジャイマテカン	4.7±0.2	3.6±0.3	3.1±2.2	0.6±0.2	1.5±0.8	2.7
トポテカン	28.5±3.9	17.3±4.2	21.1±2.6	12.5±3.2	19.1±3.7	19.7

#### 【0035】

A549：非小細胞肺癌、HT-29：結腸癌、OV-3：卵巣癌、U87：神経膠腫、BX-PC3：膵臓癌

以上の化合物のU87、BX-PC3、HT-29、OV-3、A549に対する50%細胞増殖阻害平均濃度(nM)はそれぞれ、CPT7(3.3)、CPT3(7.1)、ジャイマテカン(2.7)、CPT2(9.1)、SN-38(10.5)、CPT8(12.9)、トポテカン(19.7)である。

## 【 0 0 3 6 】

実施例7 *in vivo*での抗腫瘍作用

実験方法：ヌードマウス、メス。移植腫瘍：増殖が旺盛な腫瘍組織を取り、無菌ハサミで小片に切断し、一匹ごとに50mgの腫瘍組織を植え付ける。腫瘍移植後6～10日目から治療を開始し、この時の腫瘍重さは300mg程度であった。一日おきにヌードマウスの体重および腫瘍体積を測定した。被験移植腫瘍は、ヒト乳癌（MX-1）、ヒト非小細胞肺癌（A549）、ヒト卵巣癌（SK-OV3）、ヒト結腸癌（HT29）、ヒト膵臓癌（BX-PC-3）である。

A：腫瘍増殖抑制率（％）＝（対照群の腫瘍体積－治療群の体積）／対照群の体積×100％。

B：腫瘍消失：実験後の60日目に、腫瘍の存在が肉眼的に観察できない。

## 【 0 0 3 7 】

## 【表2】

付表2 ヒト乳癌MX-1のヌードマウス移植腫瘍に対する治療作用

化合物	用量	動物数		T.S(mm <sup>3</sup> )		腫瘍消失	最大体重変化
	mg/kg	開始	終了	D0	D16 <sup>#</sup>		(%)
対照	溶媒	6	6	312±34	2100±267	0/6	+6%
CPT1	55	6	6	356±51	0	6/6	-13%
トポテカン	10	6	6	323±47	124±12	2/6	-14%
イリノテカン	60	6	6	361±54	0	6/6	-12%
ジヤイマテカン	1	6	6	328±65	0	6/6	-13%

## 【 0 0 3 8 】

投与方法：2日毎に一回、計4回、投与経路：尾静脈注射。＃は治療後16日目であり、腫瘍消失の観察時間は60日間である。投与用量は、試験後に確定された、体重が12～15％減少した等毒性用量である。T.S：腫瘍体積。

## 【 0 0 3 9 】

## 【表3】

付表3 ヒト卵巣癌SK-OV3のヌードマウス移植腫瘍に対する治療作用

化合物	用量	動物数		T.S(mm <sup>3</sup> )		腫瘍抑制	最大体重変化
	mg/kg	開始	終了	D0	D16 <sup>#</sup>	(%)	(%)
対照	溶媒	6	6	211±24	1823±123	0	+8%
CPT1	55	6	6	236±34	358±34	80.4	-12%
トポテカン	10	6	6	223±43	1478±226	18.9	-12%
イリノテカン	60	6	6	214±26	451±56	75.3	-13%
ジヤイマテカン	1	6	6	203±33	578±61	68.4	-12%

## 【 0 0 4 0 】

投与方法：2日毎に一回、計4回、投与経路：尾静脈注射。＃は治療後16日目である。投与用量は、試験後に確定された、体重が12～15％減少した等毒性用量である。T.S：腫瘍体積。

## 【 0 0 4 1 】

【表 4】

付表 4 ヒト神経膠腫U87の脳内移植腫瘍に対する治療作用

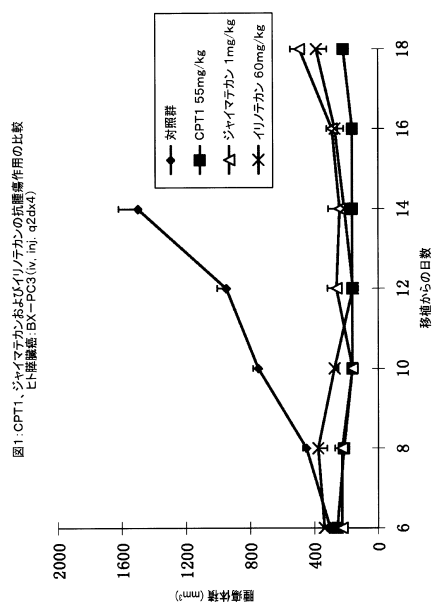
化合物	用量	動物数		平均生存時間
	mg/kg	開始	終了	(日)
対照	溶媒	10	0	18.6±1.3
CPT1	55	10	0	26.4±1.2#
イリノテカン	60	10	0	22.8±1.4
ジヤイマテカン	1	10	0	23.1±1.6

10

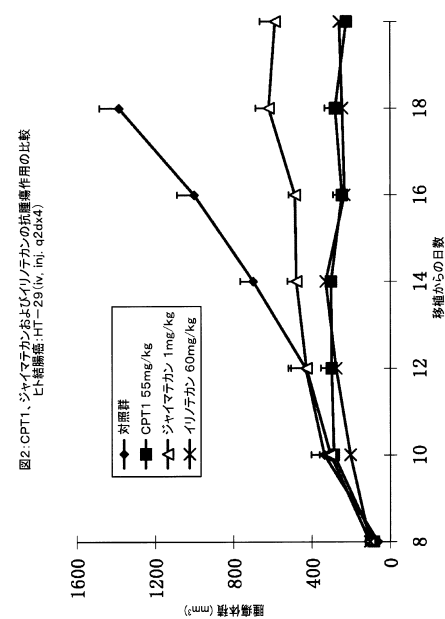
## 【0042】

投与方法：植え付け後2日目から投与し、2日毎に1回、計4回、投与経路：尾静脈注射。マウスに $2 \times 10^5$ の細胞を植え付け、マウスは植え付け後に脳内腫瘍により死亡した。#：CPT1はイリノテカン、ジヤイマテカンに比べ、生存時間が明らかに増加しており、 $P < 0.05$ である。

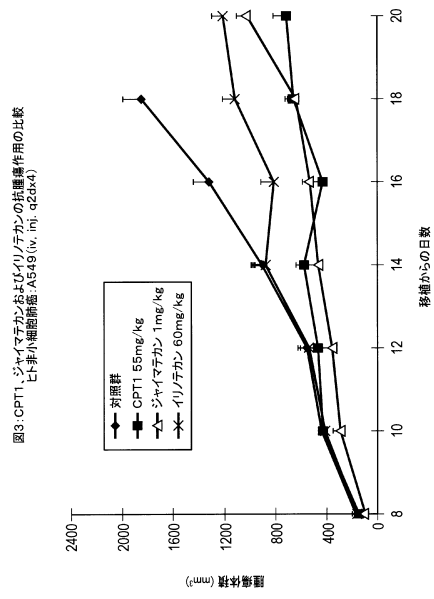
【図 1】



【図 2】



【図 3】



---

フロントページの続き

(72)発明者 張 秀国

中華人民共和国 1 0 0 1 9 3 北京市海淀区天秀花 園 荷塘月舍小区 1 号楼 4 单元 5 0 3 房

審査官 堀 洋樹

(56)参考文献 欧州特許出願公開第 0 2 0 9 6 1 1 3 ( E P , A 1 )

特表 2 0 0 8 - 5 2 4 2 2 5 ( J P , A )

Bioorg. Med. Chem. Lett. , 2 0 0 8 年 , 1 8 , P.2781-2787

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

C A p l u s / R E G I S T R Y ( S T N )