

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6568095号
(P6568095)

(45) 発行日 令和1年8月28日 (2019.8.28)

(24) 登録日 令和1年8月9日 (2019.8.9)

(51) Int. Cl.

F I

A 6 1 K 38/54	(2006.01)	A 6 1 K 38/54	Z N A
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/04	(2006.01)	A 6 1 P 35/04	
A 6 1 K 9/72	(2006.01)	A 6 1 K 9/72	
A 6 1 K 47/26	(2006.01)	A 6 1 K 47/26	

請求項の数 9 (全 35 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-553704 (P2016-553704)
 (86) (22) 出願日 平成26年11月12日 (2014.11.12)
 (65) 公表番号 特表2016-538339 (P2016-538339A)
 (43) 公表日 平成28年12月8日 (2016.12.8)
 (86) 国際出願番号 PCT/CZ2014/000133
 (87) 国際公開番号 W02015/070828
 (87) 国際公開日 平成27年5月21日 (2015.5.21)
 審査請求日 平成29年9月19日 (2017.9.19)
 (31) 優先権主張番号 PV2013-891
 (32) 優先日 平成25年11月18日 (2013.11.18)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 チェコ (CZ)

(73) 特許権者 516145367
 フランチシェク トルンカ
 チェコ国, 370 01 チェスケー ブ
 ジェヨビツェ, チェホバー 42
 (73) 特許権者 516145378
 パベル ドレザル
 チェコ国, 500 11 フラデツ クラ
 ーロペー, ナ ブジェハーフ 398
 (74) 代理人 100099759
 弁理士 青木 篤
 (74) 代理人 100077517
 弁理士 石田 敬
 (74) 代理人 100087871
 弁理士 福本 積

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 プロ酵素及び酵素の混合物を含む医薬組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

哺乳動物における腫瘍の増殖及び／又は転移を治療及び／又は予防するための、プロ酵素及び酵素の混合物を含む抗増殖及び抗転移医薬組成物であって、当該組成物が以下の活性物質：プロ酵素のトリプシノーゲン及びキモトリプシノーゲン A、並びに酵素の バチルス種 (Bacillus sp.) 由来である α - アミラーゼ B . s 及び パンコムギ (Triticum aestivum) 由来である リパーゼ T . a . からなり、ここで、酵素活性物質、すなわち i . u . で表される T : C H : A : L の比率についてトリプシノーゲン (T)、キモトリプシノーゲン A (C H)、α - アミラーゼ B . s (A) 及びリパーゼ T . a . (L) の活性の比率が、150 : 150 : 40 : 1 から 400 : 1200 : 200 : 1 までの範囲内であり、そして、当該組成物が、1 又は複数の薬学的に許容される賦形剤をさらに含むか、あるいは当該賦形剤と組み合わせて使用されることを特徴とする、非経口又は経粘膜経路での同時、分離及び後続投与のための、 医薬組成物。

【請求項 2】

トリプシノーゲンは I 型であることを特徴とする、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

活性物質の最小酵素活性が以下：トリプシノーゲン 40 i . u . / m g、キモトリプシノーゲン 60 i . u . / m g、α - アミラーゼ 20 i . u . / m g、及びリパーゼ 1 i . u . / m g、であることを特徴とする、請求項 1 又は 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 4】

少なくとも1つの前記活性物質が、高等植物、動物からの抽出によって、あるいは、糸状菌（mould）細胞、酵母細胞又は細菌を用いた培養手法によって得られる生物学的に類似の活性物質で置換されており、前記生物学的に類似の活性物質のアミノ酸配列が、配列番号8、10、1又は4のアミノ酸配列と少なくとも90%の同一性を有することを特徴とする、請求項1から3のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項5】

前記組成物が、全身性の舌下、直腸、吸入又は非経口投与に使用される、請求項1から4のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項6】

前記薬学的に許容される賦形剤が、以下：1又は複数の、分子量100から8,000
のポリエチレングリコールを含む親水性の多価アルコール、
親水性の低分子アルコール、
糖類、
ポリソルベート、ポロキサマー、
10

1又は複数の、水素化トリグリセリドを含む親油性賦形剤、
高級脂肪酸とグリセロールもしくはプロピレングリコールとのエステル、
低級一価アルコールのエステル、
ステアリン酸ミリスチル、ステアリン酸カプリル、パルミチン酸セチル、ベヘン酸カプリン、
オレイン酸ラウロイルを含む、高級脂肪酸と中級及び高級脂肪族アルコールとのエステル、
20

ラウリルアルコール、ミリスチルアルコール、パルミチルアルコール、ステアリルアルコール、
ベヘニルアルコールを含む高級脂肪族アルコール、及び、ラウリン酸、ミリスチン酸、
パルミチン酸、ステアリン酸、リグノセリン酸、アラキドン酸、ベヘン酸を含む高級脂肪酸、
及び、それらのエトキシ化誘導体、綿実油、ヒマワリ油、落花生油、大豆油、ヒマシ油を含む植物油、
及び、それらのエトキシ化誘導体、
卵レシチン、大豆レシチン、ジオレイルフォスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルセリンを含むリン脂質、

コレステロール、及び、コレステロールの誘導体、を含むステロール、
並びに、生体適合性及び生分解性ポリマー、
からなる群から選択されることを特徴とする、請求項1から5のいずれか一項に記載の医薬組成物。
30

【請求項7】

ナノファイバーの形態であり、同時に、前記薬学的に許容される賦形剤が、少なくとも1つの、以下、

約30,000から50,000の分子量を有するポリビニルポリマー、20,000から200,000までの分子量を有するポリビニルアルコール、4,000から80,000までの分子量を有する、セルロース誘導体、デンプン型の多糖類、デキストリン、
10,000から80,000までの分子量を有するデキストラン型の生物工学的に生産された多糖類、

10,000から100,000までの分子量を有する、グルクロン酸型物質、さらに、
ポリウロニド又は、グルクロン酸型物質若しくはポリウロニドの塩、アクリル酸、メタクリル酸に基づくポリマー、糖のポリアルケニルエーテル若しくはポリアルコールと架橋されたアクリル酸若しくはメタクリル酸に基づくポリマーのコポリマー、 α -ヒドロキシ酸の生分解性ポリエステル、及び

さらにコポリマー型のポリマー賦形剤、
からなる群から選択されることを特徴とする、舌下投与に使用される、請求項1から5のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項8】

少なくとも1又は複数の、トレハロース、マンニトール、グルコース及びノ又はラクトースを含む糖類を含むことを特徴とする、吸入投与に使用される、請求項1から6のい
50

れか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

活性物質の直接投与に使用されるか、あるいは、中間生成物における又は最終調製物における活性物質の安定貯蔵に使用される、ナノファイバー安定化調製物の形態であることを特徴とする、請求項 1 から 8 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

技術分野

本発明は、抗増殖及び抗転移効果を有するプロ酵素及び酵素の混合物を含む新規な医薬組成物を扱う。

10

【背景技術】

【0002】

背景技術

悪性腫瘍性疾患とは、最悪の治癒可能な死因の一つである広範な疾患群を表す。それらは近年、年間 13 パーセントの死亡を引き起こす (Jemal A. et al., CA: Cancer J. Clinic., 61, 2011, 69 - 90.)。悪性腫瘍の発生は、腫瘍細胞が隣接細胞を変化させる能力により与えられる危険性をもたらす一方で、新たな血管、さらなる支持細胞及び転移が生じる。

【0003】

20

抗腫瘍薬物療法は、現在の治療方法の広い範囲の重要な一部である。治療的位置に関して、腫瘍疾患の薬物療法は、アジュバント (例えば外科手術後のいわゆる残存病変に作用すること)、非アジュバント (腫瘍の失活及び抑制を目的として、手術及び放射線治療に先立つこと) 及びメトロ療法 (metro therapy) (進行型の腫瘍疾患における血管新生に作用する細胞増殖抑制剤の最小投与量の長期間の適用) に分けられる。

【0004】

世界保健機関 WHO、連邦医薬品局 (Federal Drug Administration) (FDA)、欧州医薬品庁 (EMA) 又は医薬品管理当局 (State Institution for Drug Control) (SUKL、プラハ、CR) などの関連する機関は、WHO (医薬品統計法共同研究センター) により、適用、治療的及び化学的基準に従って、3つの主要な ATC サブグループ: (<http://www.who.cc.no/>; オンライン 25. 6. 2012): 1. 細胞増殖抑制剤 (5つのサブグループを有する)、2. ホルモン薬 (2つのサブグループ)、3. 免疫賦活薬 (4つのサブグループ) 及び 4. 免疫抑制薬 (5つのサブグループ) へと分類された、260 を超える腫瘍学疾患薬物療法のための物質を近年登録している。免疫賦活薬及び免疫抑制薬グループの約 160 の物質が現在、FDA の認可を有する。ATC 分類に関して、抗腫瘍性物質及びそれらの活性機構の数多くの詳細が、例えば、現在のモノグラフ Avendano, C., Menendez, J. C., : Medicinal Chemistry of Anticancer Drug. Elsevier, 2008, Amsterdam. 441 s において見られる。

30

40

【0005】

代謝拮抗剤、有糸分裂阻害剤、ホルモン機能阻害剤、反応性ラジカル物質、光増感剤、DNA アルキル化剤、DNA 分離紡錘体相互作用物質 (DNA separation spindle interactors)、インターカレーター (intercalators) 及びトポイソメラーゼ阻害剤、チューブリン及び微小管攻撃物質、がんの成長シグナル及び増殖の阻害剤が、物質及び機構のリスト中に記載される。

【0006】

細胞生物学的機構に基づく分類は、理論的な観点から、並びに実用的な目的のために非常に興味深いと思われる。それは、薬物、腫瘍及びその宿主間の相互作用が論理的に治療への最終応答に関与しているという事実を十分に尊重する (Wu, Xi - Z. : Medi

50

cal Hypotheses 66、2006、883 - 887)。この観点から、抗腫瘍薬は細胞障害性物質と、腫瘍細胞を殺す生物学的な細胞修飾因子とに分けられる。それらはしばしば基本的薬剤として用いられる。他の2つのグループ、生物学的反応調節物質及び生化学的調節物質は、アジュバント併用療法に用いられる薬剤と考えられる物質を含む。

【0007】

細胞増殖抑制剤及び免疫調節抗腫瘍性物質の効果の機構に対する近年の徹底的な研究の結果並びにバイオ医薬品研究の進歩は、非常に広い範囲の発見をもたらしたが、新たな課題ももたらした。

【0008】

現在、正常細胞の成長、活性及び機能が、細胞外シグナル分子を受け取るシグナル経路の多角的な(multilateral)ネットワークによって調整され、制御され、そして、タンパク質のカスケード及び遺伝子転写の活性化を通じて、成長、増殖、浸潤及びアポトーシスなどの広範囲のプロセスを調製するということは明らかである(Downward, J. Nature 411, 2001, 759 - 762)。新たな戦略はタンパク質-タンパク質型の相互作用を目的としており(Wellis, J. A., McCleendon, C. L., Nature 450, 2007, 1001 - 1009)、それらはまた、薬力学的パラメータ及び特に本質的に薬物動態パラメータのいずれにおいても、この型の物質の三次構造の強化された役割を有する本発明者らの新規な組成物に確かに用いられる。

【0009】

発明者らは、そのような複雑かつ未だほとんど知られていないシステムにおける任意の介入が常にいくつかの結論を導くことを一般に付け加えることができるが、しかしながらそれは必ずしも知られておらず、又は予測可能もしくは肯定的ではない。腫瘍学における現在の薬物療法の欠点もそれらに関連している。

【0010】

現在の腫瘍学の薬物療法の不利益

ヒト癌腫は種々の要因の結果として起こり、そしてそれらの細胞それ自体が、細胞増殖及びその他の細胞の生存時間を調節する細胞シグナル伝達及び経路へとさらに影響する。がん細胞における複雑な細胞シグナル伝達は修飾され、腫瘍が反応する刺激の数は減少するが、反応強度は増加する。このことは、遺伝毒性ストレス及び免疫影響に対する増加した腫瘍の感受性の基礎を表す(O'Driscoll, L., Cur. Cancer Drug Targets 9, 2009, 250 - 251)。

【0011】

がん治療の完遂は、特定の悪性型によって今日大いに変化する。がん疾患のいくつかの型、例えば精巣セミノーマ(testicular seminoma)、小児白血病(infant leukaemia)、及びいくつかのリンパ腫(lymphoms)は、抗腫瘍治療に対して非常に感受性である(Gonzalez-Angulo, A. M. et al., Adv. Exp. Med. Biol., 608, 2007, 1 - 22)。その他の悪性がん疾患は限られた応答のみを(もしあるならば)示し、現在それらに対して効果的な療法は得られていない(Jemal, A. et al., CA Cancer J. Clin., 60, 2010, 277 - 300)。生じた転移を有する進行性腫瘍の場合には、化学療法はより良い場合における緩和治療にとどまる。本発明者らが現在の薬物療法の完遂率をがん患者の生存期間によって定義すると、本発明者らはこの本質的な治療のパラメータが事実上この30年間ほぼ変化していなかったことを発見する。得られた完遂は実際に適時診断に帰すべきである(Hemminki, K., Annals Oncol., 23, 2012, 760 - 764)。さらに、臨床的に認可された抗腫瘍性薬剤のほとんどが、それらの高い全身毒性に特に関係する狭い治療域を特徴とする(Lowenthal, R. M.; Eaton, K., Hematol. Oncol. Clin. North Am., 10, 19

10

20

30

40

50

96, 967-90)。

【0012】

抗腫瘍性薬剤に対する耐性は、特に長期間の治療において (Redmond, K. M. et al.: Front. Biosci. 13, 2008, 5138-5154)、腫瘍細胞の内部に基づく (内在性の抵抗力 (intrinsic resistivity)) か、それが獲得されるか、という別の深刻な問題を示す。しばしば異なる構造及び機能の、より多数の抗腫瘍性物質に対する多剤耐性はますます頻繁に現れる (Wu, Ch.-P. et al.; Curr. Pharm. Biotechnol., 12, 2011, 609-620)。この臨床耐性は、非常に多くの分子機構を有する多因子性かつ不均一 (heterogeneous) である (Glickman, M.S., Sawyer, C., Cell 148, 2012, 1089-98)。標的とされた生物学的がん治療の比較的短い歴史は、すでに広範囲の耐性で満たされていた (Gorre, M.E. et al., Science 293, 2001, 876-880)。

【0013】

グループATC3及びATC4に属するより新規な薬剤のほとんどが主に生物学由来の超分子活性物質であるので、おそらく腫瘍学の薬物療法の最も臨床的な側面は、免疫原性応答又は毒作用の不必要な誘導のより高い危険性と関連する。それらは今日の生物学的製剤、タンパク質治療薬である、いわゆるバイオ医薬品に属し、それらの各々は実際に患者の何百もの生理学的過程に影響する可能性を有し (Yang, J. A.; Hastings Sci. Tech. L. J., 3, 2011, 217, 1-18)、それは小分子を有する薬剤と比較して相当な成長を示す。免疫応答の危険性は、過敏症、アナフィラキシー、偽アレルギー (pseudoallergic) アナフィラキシー様反応、一連の疾患、注射に対する反応、治療効果の減少 (Borges, S. et al., Clin. Pharmacol. Ther. 74, 2006, 61-74; Barbosa, M.D.F.S., Drug Disc. Today 16, 2011, 345-53)、薬剤に対する抗体の産生、及び、治療用の抗体と内因性タンパク質との間の交差反応 (Wager K., Jones, G.: Curr. Biotechnol., 297, 2012, 297-317) を含む。このことは、薬剤の価格に影響する、制御機構を含む (EMA. 2007. Doc. Ref. EMEA/CHMP/BMWP/14327/2006. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003946.pdf)、生産条件に対する広範な要求を確かなにもたらず (Singh, S. K., J. Pharm. Sci., 100, 2011, 354-87)。このことは、これらの薬剤が、経時的に、並びにさらなる物理的及び/又は外科的方法に関連して、単独療法的にだけでなく、従来の化学療法剤と組み合わせてもしばしば用いられることの理由でもある。

【0014】

98パーセントの場合においてそれが非経口的な注射又は点滴投与のみに関連しているという事実は、生物学的製剤群の物質による、現在の腫瘍の薬理学の別の不利益である。このことは、非経口的投与方法及び関連する薬剤の剤形が詳細に述べられていることを意味する。他方で、病院及びその資格がある職員との関連においてさえ患者の不履行に対する針跡における感染のより高い危険性から、全ての主要な非経口投与の不利益それ自体が解決されないままである。生物学的製剤の膨大な大多数は短い血漿半減期のみを有し、点滴によって適用されるべきである。

【0015】

存在する腫瘍学の薬物療法の不利益に対する上述の言及は、抗腫瘍性の疾患治療に対する代替の概念的かつ実用的な手法が未だ求められていること (Sachlos, E., et al., Cell 149, 2012, 1284-1297)、及び、上述

10

20

30

40

50

の簡潔に要約された不利益を有さないか、少なくともそれらを減少させることができる薬剤によって、存在する抗腫瘍性物質の範囲が拡大されるべきであることを一般に意味する。

【発明の概要】

【0016】

発明の開示

その解決策は、非経口又は経粘膜経路での組成物の同時、分離及び後続投与のための、活性物質としてプロ酵素のトリプシノーゲン及びキモトリプシノーゲン並びに酵素のアミラーゼ及びリパーゼ、並びに、1又は複数の薬学的に許容される賦形剤を含む、プロ酵素及び酵素の混合物を含み、さらに、当該組成物は、がん腫瘍に対する抗増殖及び抗転移効果を有し、かつ、哺乳動物における治療的、予防的及び抗転移性の使用を目的とする医薬組成物に基づく。

10

【0017】

当該医薬組成物は、酵素活性物質、すなわち $i.u.$ で表される $T : CH : A : L$ の比率についてトリプシノーゲン (T)、キモトリプシノーゲン $A (CH)$ 、 α -アミラーゼ $B.s (A)$ 及びリパーゼ $T.a (L)$ の活性の有利な比率を $150 : 150 : 40 : 1$ から $400 : 1200 : 200 : 1$ までの範囲内で有する。

【0018】

上述の医薬組成物は有利には、I型のトリプシノーゲン、A型のキモトリプシノーゲンを含み、 α -アミラーゼはパチルス種によって産生され、そしてリパーゼはパンコムギ (*Triticum aestivum*) 由来である。

20

【0019】

本発明に係る医薬組成物中の活性物質の最小酵素活性は有利には以下：トリプシノーゲン $40 i.u. / mg$ 、キモトリプシノーゲン $60 i.u. / mg$ 、 α -アミラーゼ $20 i.u. / mg$ 、及びリパーゼ $1 i.u. / mg$ 、である。

【0020】

本発明に係る医薬組成物中の少なくとも1つの活性物質は有利には、高等植物、動物からの抽出によって、あるいは、糸状菌 (*mould*) 細胞、酵母細胞又は細菌を用いた培養手法によって得られる生物学的に類似の物質で置換されており、組成物中の該活性物質が置き換わった生物学的に類似の物質の一次構造が、少なくとも70%同一であり、かつ、その効果に不可欠な活性部位 (*active places*) の位置が少なくとも95%において同一である。

30

【0021】

本発明に係る医薬組成物は特に全身性の舌下、直腸、吸入又は非経口投与に適している。

【0022】

本発明に係る医薬組成物は薬学的に許容される賦形剤として非常に多くの物質、特に、1又は複数の、分子量100から8000のポリエチレングリコールを含む親水性の多価アルコール、及び/又は、グリセロール、プロピレングリコール、 n -プロパノールなどの親水性の低分子アルコール、及び/又は、トレハロース (*trehalosa*)、マンニトール、ラクトース、ソルビトール、ミオイノシトールなどの糖類、及び/又はポリソルベート20、ポリソルベート60、ポリソルベート80などのポリソルベート、ポロキサマー182、ポロキサマー417、ポロキサマー908などのポロキサマー、及び/又は、1又は複数の、水素化トリオレイン酸グリセロール、水素化ヤシ油脂肪酸グリセロールなどの水素化トリグリセリドを含む親油性賦形剤、及び/又は、トリパルミチン酸グリセロール、トリオレイン酸グリセロール、トリストアリン酸グリセロール、ジステアリン酸グリセロール、ジオレイン酸グリセロール、モノラウリン酸グリセロール、ミリスチン酸プロピレングリコール、ジパルミトステアリン酸グリセロール、などの、高級脂肪酸とグリセロールもしくはプロピレングリコールとのエステル、及び/又は、アジピン酸ジイソプロピル、ラウリン酸イソプロピル、リノール酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロ

40

50

ピルなどの低級一価アルコールのエステル、及び／又は、ステアリン酸ミリスチル、ステアリン酸カプリル、パルミチン酸セチル、ベヘン酸カプリン、オレイン酸ラウロイルを含む、高級脂肪酸と中級及び高級脂肪族アルコールとのエステル、及び／又は、ラウリルアルコール、ミリスチルアルコール、パルミチルアルコール、ステアリルアルコール、ベヘニルアルコールを含む高級脂肪族アルコール、及び、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、リグノセリン酸、アラキドン酸、ベヘン酸などの高級脂肪酸、及び、ポリエチレングリコール 10 オレイルアルコール、ポリエチレングリコール 25 ステアリルアルコール、ポリエチレングリコール 40 ステアリルアルコール、ステアロイルポリエチレングリコール 32 グリセロール、ポリエチレングリコール 15 ヒドロキシステアレートなどのそれらのエトキシ化誘導体、及び／又は、綿実油、ヒマワリ油、落花生油、大豆油、ヒマシ油を含む植物油、及び、ポリオキシル 35 リシノレートなどのそれらのエトキシ化誘導体、及び／又は、卵レシチン、大豆レシチン、ジオレイルフォスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルセリンを含むリン脂質、及び／又は、コレステロール、及び、リノール酸コレステリル、酢酸コレステリルなどのコレステロールの誘導体、を含むステロール、

10

及び／又は、特にポリ-DL-乳酸 (PDLA)、ポリグリコール酸 (PGA)、ポリ-DL-乳酸グリコール酸 (PLGA) などのポリエステルの、生体適合性及び生分解性ポリマー、を含んでもよい。

【0023】

医薬組成物が舌下投与のために設計される場合、それは有利にはナノファイバーの形態であり、同時に以下、

20

少なくとも1つの、約 30,000 から 50,000 の分子量を有するポリビニルピロリドン、及び、20,000 から 200,000 までの分子量を有するポリビニルアルコールなどのポリビニルポリマー、4000 から 80000 までの分子量を有する、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロースなどのセルロース誘導体、及び／又は、ヒドロキシエチルデンプン、カルボキシメチルデンプンナトリウム塩などのデンプン型の多糖類、及び／又は、デキストリン、及び／又は、10000 から 80000 までの分子量を有するデキストラン型の生物工学的な多糖類、及び／又は、10,000 から 100,000 までの分子量を有する、キサンタン粘液 (mucilage) などのグルクロン酸型物質、及び／又は、さらに、ヒアルロンタン、アルギナン (alginate)、ペクチナン (pectinans)、アラビナンなどの、ポリウロニド、とりわけ、特にナトリウム、カリウムのそれらの塩、及び／又は、アクリル酸、メタクリル酸に基づくポリマー、及び／又は、糖のポリアルケニルエーテル若しくはポリアルコール (ジアリルスクロース (diallyl sucrose)、ジアリルペンタエリスリトール (diallyl penta erythritol) など) と架橋された (netted) カルボキシビニルポリマー (カルボマー) などの、それらのコポリマー、(PDLA)、(PGA)、(PLGA)、ポリカプロラクトンなどの α -ヒドロキシ酸の生分解性ポリエステル、さらにポリビニルカプロラクタム - ポリビニルアセテートポリエチレングリコールなどのコポリマー型のポリマー賦形剤、を含む。

30

40

【0024】

医薬組成物又はその一部が吸入投与のために設計される場合、それは有利には少なくとも1又は複数の、トレハロース、マンニトール、グルコース及び／又は種々の形態のラクトースを含む糖類も含む。

【0025】

請求項のいずれかに記載の医薬組成物は有利には、活性物質の直接投与のため、あるいは、中間生成物における又は最終調製物における活性物質の安定貯蔵としてのためのナノファイバー安定化調製物の形態であってもよい。

【図面の簡単な説明】

【0026】

50

【図1】図1は、抗腫瘍性組成物の連日直腸投与による36日のイン・ビボ試験における、皮下的に移植された乳がんのMDA-MB-231ラインを有する処置及び非処置マウスを視覚的に比較する写真記録の一部を示す。

【図2】図2は、本願に係る抗腫瘍性組成物（表1に係る組成物K1又はK2）の連日の皮下及び直腸投与による、皮下的に移植された乳がんのMDA-MB-231ラインを有するnu/nuマウスに対する36日のイン・ビボ試験における、腫瘍量の平均値のグラフ的解釈（SDを含む）を示す；雌のnu/nuマウス；約28g；各群につき8匹のマウス；親油性坐剤ビヒクル；用量2はK2組成物の2倍の量を表す。

【図3】図3は、抗腫瘍性組成物の連日の直腸及び皮下投与による75日のイン・ビボ試験における、皮下的に移植された結腸直腸がんのH116ラインを有する処置及び非処置マウスを視覚的に比較する写真記録の一部を示す。

10

【図4】図4は、本願に係る抗腫瘍性組成物の連日の皮下及び直腸投与による、皮下的に移植された結腸直腸がんのH116ラインを有するnu/nuマウスに対する75日のイン・ビボ試験における、腫瘍量の平均値のグラフ的解釈（SDを含む）を示す；雌のnu/nuマウス；約28g；各群につき8匹のマウス；親油性坐剤ビヒクル。

【図5】図5は、抗腫瘍性組成物の連日の皮下及び直腸投与による85日のイン・ビボ試験における、皮下的に移植された膵がんのCAPAN2ラインを有する処置及び非処置マウスを視覚的に比較する写真記録の一部を示す。

【図6】図6は、本願に係る抗腫瘍性組成物の連日の皮下及び直腸投与による、皮下的に移植された膵がんのCAPAN2ラインを有するnu/nuマウスに対する85日のイン・ビボ試験における腫瘍量の平均値のグラフ的解釈（SDを含む）を示す；雌のnu/nuマウス；約28g；各群につき8匹のマウス；親油性坐剤ビヒクル。

20

【図7】図7は、抗腫瘍性組成物の連日投与によるイン・ビボ試験の40日及び85日目における、皮下的に移植された小細胞肺がんのA549ラインを有する処置及び非処置マウスを視覚的に比較する写真記録の一部を示す。

【図8】図8は、抗腫瘍性組成物（表1に係るK2）の連日直腸投与による、皮下的に移植された小細胞肺がんのA549ラインを有する、イン・ビボ試験における腫瘍量の平均値のグラフ的解釈（SDを含む）を示す；雌のnu/nuマウス；約28g；各群につき8匹のマウス；親水性坐剤ビヒクル。

【発明を実施するための形態】

30

【0027】

本発明の医薬組成物は、その組成及び効率によって酵素療法の実質的な変更を表す、プロ酵素及び酵素の組成物である。それは、活発な分裂した健康な組織、例えば消化器系粘膜、髄、肝臓及び腎実質への影響に特に基づく現在の腫瘍学的治療の主な副作用を解決する。これは従って、現実的な意味で、無毒性の、腫瘍細胞に選択的に集中した、抗腫瘍効果の観点から広いスペクトルの、標的とされる生物学的療法である。それは癌腫、肉腫、ならびに急性の血液学的な悪性疾患（haematological malignity）に影響する。

【0028】

治療用組成物の投与量は、腫瘍細胞に由来する分解成分の量に関連して、1日最低用量によって制限されるにすぎない。特に、又は単に分解された腫瘍細胞からの分解産物が毒作用を有し得る、本発明に係る組成物の本質的な無毒性のため、当該組成物は診断目的にも使用されてもよく、かつ、実際に、マウスで成長した腫瘍細胞のラインでの効率を試験するイン・ビボの方法の適用から得られる経験に関して、本出願に係る組成物がヒトにおける抗腫瘍効果だけでなく、例えばイヌ又はネコも予想され得る、動物に作用する腫瘍に対するその効果も有するであろうことは明らかである。しかしながらそれらの異なる解剖学並びに免疫原性は考慮されるべきであるが、一方でそのような影響はほとんど予測できない。

40

【0029】

1日最低用量は、腫瘍疾患の現在の状態に関連して、及び、選択された投与方法との関

50

連で、腫瘍疾患の全体的又は部分的な療法、あるいは要求される診断又は予防効果を保証する、抗腫瘍性組成物のかかる量を意味する。

【 0 0 3 0 】

本出願に係る抗腫瘍性の4つの組成物の個々の成分の安定化は、医薬調製物への合成の目的で、そして投与目的のために、部分活性成分の二次的かつより高次の超分子構造の保存及び実際に再生を保証する賦形剤及び方法によって、解決された。

【 0 0 3 1 】

本発明に係る抗腫瘍性組成物に有利には適用されてもよい非侵襲的方法による全身性投与は、生体内におけるそれらの物質の短い血漿半減期という、生物学的薬剤投与（生物学的製剤、タンパク質治療法など）の今日の重要な問題の一つを解決する。

10

【 0 0 3 2 】

発明の詳細な開示

本発明に係る新規な解決策は基本的であり、分子レベルであっても悪性腫瘍の生物学的モデルとしてトロホブラストへの影響から経験的に観察される (Soundarajan, R. Rao, J., Reprod. Biol. Endocrinol., 2, 2004, 15 (<http://www.rbej.com/content/2/1/15>, オンライン: 30.6.2013;)。当該解決策は、新鮮な膵臓抽出物による進行性癌腫の治療を提唱した、J. Beardの古典的な概念に基づく (Beard, J.: Lancet 168, 1905, 281-283)。それらの抗腫瘍活性はタンパク質分解能に基づいていた。彼は膵臓により産生される酵素がトロホブラストの浸潤を制限すると仮定し、彼は膵臓抽出物が浸潤性腫瘍に対して類似の阻害効果を有するはずであると結論付けた。その後数年のうちに、当時、膵臓酵素からの抽出物は徹底的に調査された。悪性腫瘍の進行段階における患者においてさえ、それらが実際に非常に効率的にがんの成長を抑制することが発見された (Goeth, R. A., J. Am. Med. Assoc. 1907; 1030)。その後非常に不十分に処理された膵臓抽出物の投与の悪影響に関するその後のいくつかの報告に関連して、その研究は長期間中止された (Gurchot, Ch., Oncology 31, 1975, 310-333)。その後の追跡可能な近年からの例外 (例えば、Maeda et al.: 欧州特許出願公開第0215662号明細書、1986) は、プロテアーゼプロ酵素、チモーゲンではなく、プロテアーゼについてのみ言及している。

20

30

【 0 0 3 3 】

プロ酵素及び活性化されていない酵素が、抽出物の効果の極めて重要な成分であるという仮説は最初に打ち立てられ、そしてその後、F. Trnkaによって詳細に述べられた (Trnka, F.: 欧州特許出願公開第0743070号明細書、1996; チェコ国特許発明第283972号明細書、1998; 米国特許第5,858,357号明細書; 1999)。約30年前にこの筆者は、トリプシノーゲン、キモトリプシノーゲン及びアミラーゼの混合物が、J. Beardにより提案されたおおよその濃度において、強い抗腫瘍性、抗浸潤性及び抗血管新生の効果を有するという事実を発見し、そして実験的に確認した。上述のプロ酵素及びそれらのアミラーゼとの混合物の効果の1つは、細胞レベルでの腫瘍細胞の移動 (migration) の抑制である。F. Trnkaらは、低濃度の上述物質への腫瘍細胞の連続曝露は、細胞凝集の形成及び転移の抑制をもたらすということも発見した (Novak, J., Trnka, F.: Anticancer Res., 25, 2005, 1157-77)。彼は歴史的なデータと新たな発見とをなんとか組み合わせ、そして、彼は以下、

40

(a) プロテアーゼプロ酵素はプロテアーゼインヒビターの活性化に耐性があり、

(b) プロ酵素の活性化は腫瘍細胞膜においてのみ起こり、

(c) 活性セリンプロテアーゼは腫瘍細胞の細胞表面を破壊し、それらがアポトーシス効果を有する、

ということを推論し、それらは本発明が基礎とする相当な発見である。

【 0 0 3 4 】

50

従って本発明の特徴の1つは、未だ記述されていないリパーゼ酵素の抗腫瘍性組成物への統合、及び、本発明者らによって新たに提供され、確認されたその広いスペクトルの効率である。

【0035】

プロテアーゼのプロ酵素と加水分解酵素との混合物の効果

活性プロテアーゼに代えたプロテアーゼプロ酵素のイン・ビボ適用の重要性は、腫瘍細胞表面へのプロテアーゼ浸透を防ぐ複合体をプロテアーゼとともに形成する血漿アンチプロテアーゼの存在に基づく(Currie, G. A., Bagshawe, K. D., Lancet 279(7492), 1967, 708-10)。これらアンチプロテアーゼは特に、プロ酵素がそれらに影響をうけない(illegible)アルファ-1アンチトリプシン及びアルファ-2マクログロブリンである(Lah, T. T. et al., Expert Opin. Biol. Ther., 6, 2006, 257-279)。膵臓プロテアーゼのプロ酵素の抗腫瘍性選択効果は、自己消化から膵臓を守る、膵腺房細胞により生成される膵分泌性インヒビター(PSTI)の存在に基づく。このインヒビターは、癌腫細胞にではなく、胃、小腸及び大腸の粘膜細胞の表面に、腺腫細胞にもみられた(Bohe, H. et al., J. Clin. Pathol., 43, 1990, 901-904)。

【0036】

悪性腫瘍の血液凝固(hemocoagulation)カスケードへの非関与及び浸潤特性は、プロ酵素適用の別の利点である。悪性腫瘍のトリプシン活性によって、プロテアーゼプロ酵素は腫瘍細胞で選択的に活性化される。アンチプロテアーゼ保護効果を回避するこのプロ酵素の特性は、活性プロテアーゼかそれらのプロ酵素が使用されるかは重要ではない、イン・ビトロの腫瘍細胞に影響しない。イン・ビトロ試験によって、本発明者らは腫瘍細胞への凝集効果を実証し、そしてさらなるイン・ビボ試験によって、いくつかの極めてヒト腫瘍細胞の重要なラインにおける腫瘍の増殖及び転移に対する抑制効果も実証した。

【0037】

応答しなかった細胞がアポトーシスで死んだという発見は重要であった(Trnka F. et al., 欧州特許出願公開第0743070号明細書, 1996; Novak, J. F., Trnka, F., Chernin, M. I., AACR Meeting Abstracts, Apr. 2006; 1023-1024)。他の著者は、エピジェネティックな機構による腫瘍の進行に対するトリプシンの抑制的な役割(Yamashita, K. et al., Cancer Res., 63, 2003, 6575-6578)、あるいは、細胞接着の仲介、及びアポトーシス型の細胞アノキスの刺激による、マウスもしくはヒトのがん細胞に対する、強力なアルファ-アミラーゼの抗増殖効果(Fedrowitz, M. et al., J. Exp. Clin. Cancer Res., 30, 2011, 102-114)について記述した。エンドスタチン及びアンジオスタチンの血漿濃度の上昇、ひいては血管腫瘍(vascular neoplasm)の制限も証明された。

【0038】

リパーゼ、すなわち、セリンプロテアーゼとしての、トリアシルグリセロールヒドロラーゼ、EC 3.1.1.3の効果(Nomura, D. K. et al., Cell 140, 2010, 49-61)、ならびに、トリプシノーゲン及びキモトリプシノーゲンの役割と同様に、腫瘍細胞に対するアミラーゼの効果は従ってさらに研究されており(Itkonen, O., Scand. J. Clin. Lab. Invest., 70, 2010, 136-143; Koskensalo, S. et al.: Oncology 82, 2012, 234-241)、その併用は本発明の適用に係る4つの組成物の効果の原理である。

【0039】

本発明に係る治療的、診断的及び予防的な組成物の抗転移効果は、ヒスチジン-アスパ

10

20

30

40

50

ラギンアミノ酸の三残基 (t r i a d) による活性部位 (a c t i v e p o i n t) で特徴づけられる植物リパーゼ (v e g e t a b l e l i p a s e) の添加によって、上述の最新技術と比較して新たに拡大され、高められた (A u b , J . C , T i e s l a u , C . , N a t l . A c a d . S c i . U S A , 5 0 , 1 9 6 3 , 6 1 3 - 6 1 9) 。

【 0 0 4 0 】

皮下的に移植された、乳がん、結腸直腸がん、前立腺がん及び小細胞肺がんのヒト細胞のラインを用いた標準試験において、調製物の皮下投与と直腸投与の両方で、n u / n u マウスにおいて治療効果を実証した。

【 0 0 4 1 】

今日、本発明者らは、影響を受ける腫瘍の由来にかかわらず普遍的な組成物の抗腫瘍性効果を、糖タンパク質、絨毛性ゴナドトロピンのシアル化 (s i a l i z e d) 分子の存在にあてはめる (C u r r i e , G . A . , B a g s h a w e , K . D . , B r i t . J . C a n c e r 2 2 , 1 9 6 8 , 8 4 8 - 8 5 3 ; W i l l e y , K . P . e t a l . , J . B i o l . C h e m . , 2 6 4 , (1 9 8 9) , 1 9 7 1 , 6 1 9 - 7 2 9 ; A c e v e d o H . F . e t a l . , C a n c e r 6 9 , 1 9 9 2 , 1 8 1 8 - 1 9 2 8 ; A c e v e d o H . F . e t a l . , C a n c e r 7 8 , 1 9 9 6 , 2 3 8 8 - 9 9) 。本発明者らはそれをキモトリプシノーゲン (R e g e l s o n W . , C a n c e r 7 6 , 1 9 9 5 , 1 2 9 9 - 1 3 0 1 ; I l l e s R . K . : M o l . C e l l . E n d o c r i n o l . , 2 6 0 - 2 6 2 , 2 0 0 7 , 2 6 4 - 2 7 0) 及びアミラーゼ (V a r k i , N . M . , V a r k i , A . , L a b . I n v e s t . 8 7 , 2 0 0 7 , 8 5 1 - 8 5 7) についての標的構造であると考え。このシアル化中心 (s i a l i z e d c e n t r e) はおそらく悪性腫瘍の浸潤及び転移特性の担体又は媒介物である (N g u y e n , D . H . , T a n g v o r a n u n t a k u l , P . , V a r k i , A . , J . I m m u n o l . , 2 0 0 5 ; 1 7 5 , 2 2 8 - 2 3 6) 。

【 0 0 4 2 】

モノアシルグリセロールリパーゼ (M A G L) が、がん細胞中の遊離脂肪酸の生成を調節し、それは遊離脂肪酸に、腫瘍細胞の移動、浸潤性、腫瘍成長及び病原性を増大させる、発がん性の脂質シグナル伝達を形成することを可能にするということを実験的に実証した、D . K . N o m u r a らの近年の発見によって、リパーゼの革新的な適用は裏付けられた。彼らは、数十の上位の (s u p e r o r d i n a t e) セリンヒドロラーゼの分析に基づくプロテオミクス手法によって、M A G L レベルが侵襲性 (a g g r e s s i v e) 腫瘍の細胞中でまさに恒久的に増加するということを発見し、そしてそれはおそらく侵襲性を非侵襲性細胞に与える (N o m u r a , D . K . , L o n g , J . Z . , N i e s s e n , S . e t a l . , C e l l 1 4 0 , 2 0 1 0 , 4 9 - 6 1) 。

【 0 0 4 3 】

新規な組成物の広いスペクトルの抗腫瘍効果は、ヒト又は動物の生体における複雑な関係を受け入れるその新規な構造によって与えられる。正常で健康な状態における生物学的環境の複雑なバランスを回復させ、維持し、発がん性シグナルの発生及び伝播を制限する、抗腫瘍効果は、腫瘍細胞の発生を防がないが、それはすでに現れている腫瘍細胞を破壊する。

【 0 0 4 4 】

抗腫瘍性組成物の投与に基づく療法の呈示、例えば特有の臭いの発汗、呼吸、排尿及び排泄物は興味深く、特に適用できる。それはさらに消耗や、傾眠又は筋肉の痛みさえも伴う。3 つ全ての兆候は、腫瘍により影響を受ける組織との薬剤の接触の、重要で、主観的かつ臨床的に読み取れる呈示である。それらは実際に、腫瘍細胞へのその影響から生じる産物の毒性を除いて、調製物それ自体の毒性は示さない。この意味で、これらの兆候も腫

10

20

30

40

50

瘍組織が生体内に存在するか否かの重要な指標を表す。本願に係る組成物の通常の初期治療用量の投与の2又は3日後に、上述の兆候のいずれも発生しない限り、腫瘍細胞が個体中に存在しないという非常に高い確度がある。言い換えれば、最小毒性で、本発明にかかる組成物は、上述の意味において、まだいかなる疾患症状も認められていない固体の無症候期間における腫瘍疾患の診断のために使用されてもよい。

【0045】

この関係において、本発明者らは、腫瘍細胞破壊の継起として患者の重要な生活機能を脅かし得る、本発明に係る組成物のかかる用量の投与に必要ならば適用されてもよい、血液透析又は実際に血液灌流の使用の可能性について言及すべきである。かかる手法は、臨床腫瘍学者の専門家の指導及び監督を確実に要求する。

10

【0046】

本発明に係る抗腫瘍性組成物の予防的使用の原理は基本的に類推的に説明され得る。調製物のそれ自体の最小毒性に関して、組成物の治療用量の投与の期間は患者の腫瘍学モニタリングの過程に含めてもよい。腫瘍細胞、ひいては、調製物成分の活性のための物質が生体内に存在すれば、その調製物の投与は実際すでにその効果を上述の付随する症状に予防的に与えるであろう。

【0047】

組成物の短期間の投与の組み合わせされた診断及び予防効果も従って腫瘍学疾患の兆候がまだ現れていない個体に現れる。調製物投与後に上述の症状のいずれも発生しない限り、この事実は腫瘍学的な健康の暗示的な証拠であると論理的に考えることができる。

20

【0048】

本発明に係る解決策は、活性の観点から定義された、2つのプロ酵素のトリプシノーゲン及びキモトリプシノーゲンの群と、アルファ-アミラーゼ及びリパーゼ（以下、あわせて活性物質ともいう）との組成物に基づく。これら4つの組成物は、注射皮下投与及び非侵襲的な経粘膜、特に直腸投与の後、いずれにおいても、上述のとおり、完全に異なる組織学的特徴の腫瘍細胞の広い範囲に対して、イン・ビボ条件で驚くほど相当に肯定的な効果を示す。

【0049】

抗腫瘍性組成物の部分的成分

本発明に係る組成物は、動物（特に哺乳動物）の器官（組織）、植物、及び/又は、糸状菌及び微生物を用いた培養方法によって産生される物質からの抽出によって、あるいは、例えば哺乳動物細胞の連続的な灌流及び結果として生じる上清の処理によって得られる、酵素及びプロ酵素の組み合わせを表す。分離及び分析方法の向上によって、培養処理産物の比率は大きくなる。

30

【0050】

今日の生物工学の分野における知識の水準では、適当なプロ酵素（Jungo, C., Marison, I., von Stockar, U.; J., Biotechnol., 128, 2007, 824-837; Paulova, L. et al., J. Biotechnol., 157, 2012, 180-188）及び、両方の適当な酵素、すなわち組成物の全ての必要な活性物質を、両方の基本的手法によって得ることが実用的に可能である。

40

【0051】

生産方法は通常、それらの自然環境から注意深く採取され、分離され、同定される、単離されたタンパク質及びポリペプチドの生産をもたらす。天然材料に由来する夾雑物は、タンパク質及びポリペプチドの治療的、診断的及び予防的な使用に影響し得る。それらは、タンパク質成分だけでなく、種々の特性の非常に多くの夾雑物も含み得る。それらは、生体に投与した際に望ましくない免疫又はその他の反応をもたらす恐れがある、もとの天然タンパク質組成物の変化、特にそのグリコシル化、二次的变化、又は、より高次の超分子構造の変化をもたらす得る。タンパク質の一次構造だけでなく、明らかに特に、生物学的環境との直接の物理的及び化学的な相互作用である、タンパク質の二次及び三次構造も

50

、生体内のそれらの最終的な相互作用を決定するというのが今日、証明されたと考えられる。

【 0 0 5 2 】

条件の任意のわずかな変更が、主に培養方法において望ましくない結果をもたらし得るという事実のため、非常に詳細かつ費用のかかる生産過程の制御だけでなく、最終産物の品質も必要である。このことは、従来の低分子化学物質の方法、又は、一般に入手できる動物及び植物の器官及び組織からの抽出及び精製工程によって得られる薬剤の価格よりも、生物学的製剤の価格が平均して 1 2 倍超高い理由でもあるということを本発明者らは知っている。

【 0 0 5 3 】

従って、それらのもとの一次、二次及び三次構造だけでなく、それらのさらなる使用のために、それらのもとの自然な状態におけるタンパク質及びポリペプチドのモデルからの許容できる逸脱も定義することが必要である。このことは、純度についての必要条件、例えば 9 5 % 又は好ましくは 9 9 % に等しい（選択された純度評価方法にもよる）、許容できる残基量、例えばタンパク質アミノ酸内部配列のタンパク質の N 末端又はアミノ酸鎖グリコシル化における、だけでなく、効果にとって重要であるタンパク質又はポリペプチドのそれらの部分の構造の許容できるパーセンテージの違いも定義されることの理由である。

【 0 0 5 4 】

他方で本発明者らは、酵素活性部位の超分子構造が保たれている場合、酵素の一次構造における、例えばセリンプロテアーゼにおける変化は、酵素機能の変化を必ずしももたらさないということがすでに証明されていることを強調すべきである（K r a u t , J . , A n n u . R e v . B i o c h e m . R e v . A n n u . R e v . B i o c h e m . , 4 6 , 1 9 7 7 , 3 3 1 - 5 8 ）。

【 0 0 5 5 】

次に、ただ同様に重要な事実、例えばエリスロポエチン（P r a b h a k a r , S . S . , M u h l f e l d e r , T . , C l i n . N e p h r o l o g y 4 7 , 1 9 9 7 , 3 3 1 - 3 3 5 ）又はインターフェロン - α 2 B（O b e r g , K . e t a l . , J . N a t l . C a n c e r I n s t . 8 1 , 1 9 8 9 , 5 3 1 - 5 3 5 ）について証明されたように、一次アミノ酸配列であっても、ヒトタンパク質モデルでそれは確実であるが、組織適合性を保証しないということである。

【 0 0 5 6 】

酵素の意図される使用についての重要な結果は上述の事実から得られる。系循環（s y s t e m c i r c u l a t i o n）における酵素分布のほとんどの場合において、及びそれらの生体内での挙動は、それらの大きさ、電荷、位置及び親水性表面機能群の含有物の組み合わせによって調節されるということは一般に受け入れられている。いかにしてそれら特性が、組織の間質及び標的細胞との最終伝達による分布における、タンパク質、循環における挙動、血管内皮細胞との相互作用、脈管外の（e x t r a v a s a l）毛細血管床に関連するかという情報は存在する。しかしながら、特にイン・ビボ条件下での生体において、タンパク質薬剤粒子にとって何が最適かを説明する統一の原理は未だ存在しない。この観点から、標的とされる医薬品の生成のための構造は未だ非常に複雑であり、それらの相互作用機構の既存の知識は未だ不十分である。

【 0 0 5 7 】

腫瘍疾患の文脈においてさえ、任意に定義された方法に現れる酵素ならびにプロ酵素の活性は、個々の活性物質の抗腫瘍活性と必ずしも一致しないということを本発明者らは常に心に留めておかなければならない。

【 0 0 5 8 】

生物学的産物であるプロ酵素及び酵素を正確にかつ再現性良く定義することが確実に必要である。このことは、本発明に係る組成物の定義が重量にではなく、酵素活性単位に基づくことの理由である。

10

20

30

40

50

【0059】

この手法の重要性は、例えば、2つの異なる供給元からの2つの市販のプロ酵素の比較：公表された活性 $> 40 \text{ i.u. / mg}$ を有するキモトリプシノーゲン、対、活性 $= 1, 422.3 \text{ i.u. / mg}$ を有するキモトリプシノーゲン A から、明らかである (<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/t1143?lang=en®ion=CZ>; <http://www.applichem.com/en/home-page/>)。このことは、生物学的活性の定義についての必要条件が、例えば重量単位あたり（通常はミリグラム）、所与の量あたり、又は1回の用量あたりの活性の形での、生物学的医薬組成物に関する情報の有用性にとって非常に極めて重要であることの理由である。科学の世界においては、SI系に由来する単位としてカタール (catal) (cat) での酵素活性の表現が正確であると長年考えられてきたが ($1 \text{ U} : 60 = \mu \text{ catal}$; $0.01667 \text{ U} = \mu \text{ catal}$ 及び $60 \mu \text{ catal} = \text{U}$)、この酵素活性を明言する方法は有名な製造業者によっても未だに使用されている。

10

【0060】

本発明に係る組成物と、Trnká, F. ら又は Psaleidakis N. G. (Psaleidakis N. G.: 米国特許第 4514388 号明細書、1985) による先の特許との間の重要な違いは、J. Beard の発見にも端を発し、この側面にも基づいている。種々の抗酸化剤、及び、さらに異質性の (heterogenic) 特徴の潜在的に制がん性の (cancerostatic) 物質に関連する、さらなる請求項の異質性の特定 (declaration) によってその中に隠される同一の発想に基づく、Kenyon, J. N. らによる類似した特許又は特許出願と比較して、この違いも不可欠である (Kenyon J. N. et al., Austral. Pat Appl. 2010310887, 2012; US Pat Appl. 13/502, 917, 2012; EP 2490711 A1, 2012)。さらに、最後2つの記載された特許が言及する酵素調製物の組成物の定義は、実際にはその物質の重量にではなく、その酵素活性に基づき得る。

20

【0061】

通常最終凍結乾燥又は噴霧乾燥を含む、本発明に係る組成物の物質のための生産方法は、現在よく説明され、かつ、膨大な科学及び特許文献で得られる技術知識を用いる。それらは、高純度の非免疫原性の生成物だけでなく、それらの元来のモデルとは異なる修飾されてもよい生成物も得ることを可能にする。それらの修飾のいくつかは、それらのモデルのいくつかの特性、主に安定特性又は薬物動態パラメータの改善を目的としている。タンパク質、酵素及びポリペプチドの修飾のルーチン生産が、もとの物質、それらの組成物及び調製物の既存の特許保護の回避、又は実際にいわゆるバイオシミラー (biosimilars) の方法の乱用をもたらすという事実は、この進歩の別の面であり、最近はある問題でさえもある。権限のある立法当局は発見を試み、そして彼らは科学団体と協力して本分野における総意を徐々に発見する。生物学的薬剤そして同様にタンパク質治療薬の特徴づけに必要なデータは、指令 EMA (Doc. Ref. EMEA/CHMP/BMWP/14327/2006.

30

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003946.pdf (オンライン 30.10.2013) 及び FDA ドラフト <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm> (オンライン 30.10.2013) において、バイオシミラーのために徐々に公式化されており、2つの監督当局の手法はどのようなわけか異なり、FDA はより保存されている (reserved)。

40

【0062】

従って、本発明者らが提案する抗腫瘍性組成物の各プロ酵素 (チモーゲン) 及び酵素は

50

、数十の異なるものから今日得られてもよく、そのいくつかは本発明者らによって使用され、試験される物質と同一の効果を元来有することになり、そしていくつかは有しないことになるというを指摘することが必要である。適当な学問分野の専門家は、EC番号に従って同一の酵素分類群に属する数十の物質が、異なる一次構造、すなわち鎖状のアミノ酸の異なる数及び順序、ジスルフィド架橋の異なる数及び位置、異なる長さ及び位置の疎水性及び親水性部分、異なる置換のための場所、異なる特定の置換基、例えば異なる場所でグリコシド結合した異なる糖単位、ひいては例えば水環境での異なる挙動、界面での挙動、を有し、それらは基質との反応のための活性部位の異なる位置を有してもよいということを知っている。それらのすべては個々のチモーゲン及び酵素の生産の方法によって及び由来によって与えられる。

10

【0063】

科学データベースNCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein>、オンライン30.4.2013)；及びPDB (<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>、オンライン30.4.2013)からのデータ及び特徴は、本特許出願に係る抗腫瘍性組成物のプロ酵素及び酵素の定義の明細に用いられた。

【0064】

抗腫瘍性組成物の個々の物質は、部分的な成分及び全体としての抗腫瘍性組成物の両方の同一の効果が続いて定義されるなかで、可能性のある種類の同一性の範囲及びそれらの特徴によって説明され得る。

20

【0065】

その中で用いられるチモーゲン及び酵素の特定の変形体の同一性は、試験される4つの物質のアミノ酸の配列によって、おおそ定性的に明示されるということが、本発明に係る組成物にとって重要であると本発明者らは従って考える(実施例2.1、3.1、4.1及び5.1を参照)。効果に関して、本発明者らは、4つの組成物の個々の成分についての一次構造の活性部位及び部分との、少なくとも70%(及びより高い)の一致を有する類似物質を考慮すべきである。すなわち、ウシ膵臓からのトリプシノーゲンI型について、ウシ膵臓からのトリプシノーゲンAについて、パチルス種により産生された α -アミラーゼについて70%の一致、そしてパンコムギ(*Triticum aestivum*)からのリパーゼについて同じ70%の一致。

30

【0066】

酵素アミノ酸配列及びその一次構造がいかに重要であっても、酵素が活性部位の特定の位置を有するその超分子構造における効果それ自体に関与するということはいまだに真実である。酵素の別の部分は、その薬物動態について所与の文脈に非常に重要である。

【0067】

医薬調製物へのその合成の目的での、抗腫瘍性組成物の必要な安定化は個々の成分の安定化に基づく。それら成分は、有効な調製物への処理及びその投与のために非免疫原性として評価され、査定されるべきである。処理及び適用のためのそれらの安定化は、技術の現状の観点から、部分的な活性成分ひいては全体として本発明者らの出願に係る4つの組成物の、二次的かつより高次の超分子構造の保存(又は再生)を保証する、賦形剤及び方法の使用によって解決される(Lee, G.: *Spray drying of proteins*, in: Carpenter, J. Manning M. (Eds.), *Rational Protein Formulation: Theory and Practice*. Plenum Press, New York, 2002, 135-158)。このことは特に、凍結乾燥、噴霧凍結乾燥、超臨界乾燥、場合により透析及び噴霧乾燥の組み合わせ、又は低温拡散方法によって、タンパク質の分散体又は溶液を処理する方法の適用である。もし必要ならば、それらの方法は、構造的に安定化している物質、特に糖類、例えばソルビトール、トレハロース、スクロース(Maury, M. et al., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 59, 2005, 251-261)、ポリマー、例えばポリエチレングリコール、ポリビニ

40

50

ルピロリドン、デキストラン (Platz, R. et al.: US Patent 6,019,468, 2000)、脂質、例えば中鎖トリグリセリド (Haus, D. J., Adv. Drug Deliv. Rev.; 59, 2007, 667-76; Tan, A., Rao, S., Prestidge, C. A.; Pharm. Res., 2013, 1-25)、選択された界面活性剤、例えばジバルミトイルホスファチジルコリン、ポリソルベート、ポリオキシエチレンステアレート (Mansour, H. M., Damodaran, S., Zograf, G.: Mol. Pharm., 5, 2008, 681-695)、凍結防止剤、例えばグリセロール、エチレングリコール、プロピレングリコール、ジメチルスルホキシド、ヒドロキシエチルデンプン、ポリビニルピロリドン (Meryman H.T.; Cryobiology 8, 1971, 173-183) からの調製物の適用と組み合わせられる。

10

【0068】

十分な純度のポリエチレングリコール (PEG) の混合物は、例えば活性物質を物理的・化学的に安定化し、そして、非侵襲的投与型と非経口投与の両方のための適用構造へと活性物質を処理することにも適している。グリセロール及びn-プロパノールの安定化効果は同様に説明されており、有効である。所与の文脈における本発明に係る抗腫瘍性混合物の解決策は従って、超分子構造、すなわち本発明にかかる組成物のすべての部分的な成分についての精製、再生、安定化に関する公開された情報を使用する (Pellegri ni-Malpiedi, L., Pico, G. A, Nerli, B. B., Separ. Purif. Technol., 78, 2011, 91-96; Porfir, M. C. et al.: Int. J. Biol. Macromol., 49, 2011, 7-13; Bassani, G. et al.; J. Chromatogr. B, 859, 2007, 222-228)。

20

【0069】

投与方法及び適用の方法

消化管を通じたヒト又は動物の体の生体への、ポリペプチド治療薬及びタンパク質の経口投与は、部分的にさえ未だ解決されていない基本的な問題を示すという、既知であり一般に受け入れられている事実がある。胃又は腸における状態は実際に完全にそのような薬剤を破壊し、又は活性型でのその吸収を防ぎ得る。このことは、非経口的な適用が今日、本発明に係る組成物が属する生物学的製剤又は治療用タンパク質の投与に優位に用いられることの理由である。

30

【0070】

混合物の組成及びその投与量は選択される投与方法に従って、及びその結果として特定の活性物質のために使用されるビヒクルにも従って、詳細に変更されてもよく、そして臨床状態における投与量は腫瘍疾患の現在の状態に従って、又は投与された用量への生体反応に従って定義され、最適化されてもよい。本発明に係る抗腫瘍性組成物は基本的に外来患者の治療手法を可能にする。特に非侵襲的投与方法が用いられ、かつ、対応する調製物型、例えば舌下又は直腸投与のための使用の場合に、それはさらに自己投与を可能にする。本発明者らは、それらどちらの方法も肺の肺胞壁を通じた吸入方法と同様に、本発明に係る組成物の投与に有利であると考え、患者の、調製物に対する良好な寛容性、及びアレルギー症状がないこと、又はその他の否定的な免疫学的もしくはその他の生物学的反応は確実に基本的な条件である。

40

【0071】

本分野における最新の技術開発によってもたらされたそのすべての代替を含む非経口投与は明らかに、本発明に係る抗腫瘍性組成物の投与に適用されてもよい。乾燥注入物は、凍結乾燥された、すなわち、活性物質、並びに、pH、浸透圧、湿潤性、可溶性、抗酸化保護を調節する補助物質、凍結乾燥産物の場合にはまた、凍結防止剤型の賦形剤 (グリセロール、ジメチルスルホキシド)、リオプロテクタント (lyoprotectants) 及び構造物質、の微粉化された形態の混合物を含む。これら調製物は使用の際に好適な液体ビヒクルに分散され、注射針により投与される。

50

【0072】

それが望まれるところ、例えば腹腔内適用において、ゆっくりと、かつ投与後の長期間にわたって活性物質を放出する、持続性の又はその他の修飾された活性物質の放出を有する注射調製物も、使用されてもよい。そのいずれもが脂質ならびに、実績のあるグリコール酸、乳酸のポリマー又はオリゴマー及びそれらのコポリマーに基づく生分解性ポリマー系をゆっくりと分解させた、さらなる賦形剤 (Chaubal, M. V. et al.: Excipient selection and criteria for injectable dosage forms. In: Kathdare, A., Chaubal, M. V.: Excipient Development for Pharmaceutical, Biotechnology and Drug Delivery Systems. Informa Healthcare, New York, London 2006, 271 - 290; Gokarn, Y. R. et al., Excipient for protein drug. 291 - 331. In: Kathdare A., Chaubal M. V.: Excipient Development for Pharmaceutical, Biotechnology, and Drug Delivery Systems. Informa Healthcare, New York, London 2006, 291 - 331) は、デポ投与に使用される。

【0073】

最も浸透性でありかつ、肺胞の有効な範囲に関して絶対的に最も広い粘膜表面である肺胞上皮を通じた投与は、この観点から最も好適なはずである。静脈内投与に非常に近い、吸入された低分子薬剤は数秒で系循環に現れ得る。吸入適用のこの特性はしかしながら本発明にかかる組成物にとっては重要ではない。数秒又は数分での効果開始時間はこの場合には重要ではなく、高分子物質にとってそれは達成不可能である。2番目に、しかしこの関係においてより重要な因子は、複雑な樹状の分岐している気管支及び細気管支を通じて肺胞の表面まで吸入された粒子の浸透はすでに十分に溶解しているという事実である。より新たな発見は、気管支拡張及び抗喘息薬とは異なって、タンパク質型の乾燥微粉薬剤の全身性投与のための固体粒子の最適な大きさはどういうわけかより小さく、すなわち2から4マイクロメートルであるということを示す (Patton, J. S., Byron, P. R., Nat. Rev. Drug Discovery 6, 2007, 67 - 74)。この必要条件は今日すでに技術的に満たされ得る。従ってその問題点は粒子工学及び吸入器の技術的解決の技術領域へと移っている。肺胞からの粒子の後退運動 (Schuch, G. et al., J. Aerosol Med. Pulm. Drug Deliv., 23 (S2), 2010, 39 - 5; Forbes, B. et al., Adv. Drug Deliv. Rev., 63, 2011, 69 - 87)。しかしながら、生理学的に望ましい、バイオ医薬品の観点から依然として解決されていない。このことはおそらく、吸入器の革新によって、そして直接にインスリンの無担体の修飾によってもすでに解決された、過去のインスリンの不十分な再現性の吸入投与の原因の商業的理由のひとつとは別である (Balducci, A. G. et al., Eur. J. Pharm. Sci., 2013, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2013.08.009>, オンライン2013年9月18日)。

【0074】

本発明に係る組成物は、さらなる賦形剤を含まず、かつ、好適な担体 (例えばトレハロース、ラクトース、マンニトール)、低分子量及び中分子量のポリエチレングリコール型物質 (例えばマクロゴール300又はマクロゴール1500) 並びにそれらの混合物を含む両方の、吸入粉末形態への処理可能性についての必要条件を満たす。上述の賦形剤だけでなく、デキストラン及び好適な界面活性剤 (例えばポリソルベート) も含有する、即席に (ex tempore) 調製される水分散体からの、ネブライザー (例えば電気又は超音波の) を用いる適用の際に調製される本発明に係る組成物の水分散体の吸入は、同一

の効果を得る。本発明に係る組成物は脂質微小粒子への処理にも適しており、そこでは、それらの安定化及び取扱いの利点、並びに特にタンパク質吸入投与についての適用系としての有利な特性が (Chow, A. H. L. et al., Pharm. Res. 24, 2007, 411-437; Mehnerdt, W., Mader, K.: Adv. Drug Deliv. Rev. 64, 2012, 83-101) 有用となり得る。

【0075】

本発明に係る組成物の吸入 (経肺胞的な (transalveolar)) 投与の適用の種々の実用的に適用できる方法が、物理特性及び安定性の観点から吸入に適している粒子の生産のために可能な技術の観点から存在するので、本発明者らは、吸入のための抗腫瘍性組成物の粒子の生成の低温方法の実施形態の実施例12において、文献から採用されたそれらのひとつを提示する (Byrappa, K., Ohara, S. Adschiri, T., Adv. Drug Deliv. Rev., 60, 2008, 299-327)。

10

【0076】

類似の記述も非経口投与の個々の部分的な方法の製剤技術的側面に当てはまる。本発明者らは、本願において文書化されたそれらの皮下注射投与を特に適用した。本特許出願に係る組成物の非経口投与、例えば腹腔内、髄腔内の、その他の部分的な方法は、さらに可能性のある熟慮した変形である (Huynh, G. H., Deen, D. F., Szoka, F. C., J. Control. Rel., 110, 2006, 236-259)。それらは製剤技術的観点から十分に扱いやすいが、しかしながら使用される全ての物質の正確な免疫学的特性、すなわち本発明に係る組成物の成分の免疫学的純度、そして当然のことながら適当な生物学的応答は、それらの使用にとって決定的であろう。

20

【0077】

本発明に係る組成物の投与の上述のストレスを受ける非侵襲的方法の理由は、その他を除き、舌下及び直腸粘膜のいずれも、多分子性薬剤さえ透過する、実質的に透過性で、及び同様に十分に利用できる、生物学的バリアを示すという事実に基づく。薬剤効果開始の速度は、意図される抗腫瘍効果について完全に満足である。本投与方法における物質は、吸収後に (腸壁によるものとは異なって) 吸収生体膜それ自体による急速な初回通過効果を受けないということはさらによく知られている。

30

【0078】

本発明者らが、選択された腫瘍ライン、すなわち小細胞肺腫瘍のラインA549に対するnu/nuマウスの抗腫瘍効果に関するイン・ビボ実験での直腸投与において、皮下注射による同一組成物の同一用量の投与よりも著しく良好な結果を示した、抗腫瘍性組成物及び適用ビヒクルの組み合わせを発見したという事実は、真の革新的な発見であると本発明者らは考える。腫瘍病変部への物質の輸送は、おそらく皮下投与後により困難である。

【0079】

原理上は皮下注射投与と同じくらい速い (またはわずかにより速い) 薬剤効果の開始を可能にする、現在の舌下投与方法と関連する本発明者らにより提案される解決策は、は相対的に高度である。その基本的な利点は、それが大きな分子 (例えば50,000) を有する物質に対して系循環へのより遅く、より長い移動を保証することである。従って本発明者らは、実際に舌下点滴について実際に述べるができる。かかる舌下投与は、皮下投与を含む非経口的に対する実質的利点を有する。このことは、舌下粘膜を通じた吸収後の物質が、それらが主に代謝され、不活性化される肝臓に直接血流によって取り込まれないが、それらは肝臓の初回通過効果を回避するという事実である。従って生体内におけるそれらの移動の経路及び時間はよりいっそう長く、そして、非代謝物質に体のより遠い部分へと達することを可能にする。このことは、本発明者らが舌下的方法を本発明に係る抗腫瘍性組成物の投与にも非常に有利であると考えた理由である。

40

【0080】

50

その技術がよく説明され、実際に適用されている、速やかに崩壊する可溶性の舌下錠又は速やかに可溶性の凍結乾燥錠は、一般に舌下投与に用いることができる。スプレー、ゲル、ペースト、プラスター、フィルム及びストリップなどのさらなる適用形態に関するこの問題は、V. Hearndenによる最新の要約によって詳細に取り扱われている (Hearnden V. et al., Adv. Drug Deliv. Rev., 64, 2012, 16-28)。生物学的製剤の場合、嚥下反射及び唾液内容物による薬剤の障害は本方法の適用の主要な問題である。

【0081】

その組成及び特性から生物学的製剤に適している新しい型の舌下調製物 (新たな剤形) は、ナノファイバー膜の適用に基づく (Stranska, D. et al.: Pat CZ 303 244; 2012)。それらの設計によって、そして好適な薬学的に許容されるポリマーを使用することによって、それらは他の舌下製品の通常の問題、特にそれらの唾液との相互作用又は薬剤の実質的部分を飲み込むことを回避することに役立つ。これらのナノファイバー膜は優れた機械的特性を有し、それらは通常、生物学的製剤を含む活性物質の50パーセントまで、繊維に直接取り込ませるようにする。活性物質のよりいっそう高い重量パーセントは含浸により固定されてもよい。大量生産においては、例えば電界紡糸 (electrospinning) によってそれらは有利に生産される。それらは、単離された、ならびに混合物での、種々の分子量の、ポリビニルアルコール、ポリラクチド、ポリカプロラクトン、ポリビニルピロリドン、それらのコポリマー、コポリマーのポリエチレングリコール/ポリビニルカプロラクタム/ポリビニルアセテート、例えば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、デキストランのようなセルロース誘導体、及びまた、それらの少なくとも2種の混合物の多数重合したモノマーの群からの、担持及び構造ポリマーを通常使用する。別のナノファイバー層、例えば活性物質を唾液との接触から守るポリウレタン (実施例12参照) により覆われる、活性物質が粘膜と接するために設計された調製物の活性層のナノファイバー材料に直接組み込まれる変形は、本発明にかかる組成物にとって最も重要である。

【0082】

さらに、このことは生物学的製剤のナノファイバーによる実質的なデポジション (deposition) であってもよく、おそらく今日の最も有望な生物学的製剤安定化の方法である。低温法及び噴霧技術の厳しい要求性と比較して、本方法は活性物質への最低温度及び圧力荷重の観点から、そしてその構造の繊維担体への統合の観点から考慮している (Klein, S. et al., Biomacromolecules 10, 2009, 1751-1756)。静電紡糸 (electrostatic spinning) の大量生産技術によって、本発明に係る抗腫瘍性組成物は、活性物質の直接適用のためのナノメンブレン (nanomembranes) にだけでなく、貯蔵のための安定化された中間産物及び生物学的製剤型産物にも、実際にそれほど活性物質 (例えばタンパク質、ポリペプチド、ウィルス又は細菌型の) の生物学的活性を失うことなく、事実上処理され得る。

【0083】

直腸投与方法は初回通過効果の回避及び非代謝治療的分子についてのより長い輸送範囲に関して同一の利点を与える。本発明者らは上述のイン・ビボ試験によって本発明に係る組成物について繰り返し実証したことにより、本発明に係る抗腫瘍性の組み合わせの直腸投与の意義及び重要性に関して完全に無視できるささいな問題を除いて、本方法は有利であると確実に考えることができる。

【0084】

薬剤の直腸全身性投与は、比較的広い賦形剤の選択及び好適な製造技術によって、従来使用され、十分に実績があり、裏付けられている。それは従来の賦形剤、すなわち中性脂質、例えば高級脂肪酸のトリ -、ジ - 又はモノエステル及びポリオール、例えばグリセロール、ポリオキシエチレングリセリド、例えばポリオキシエチレングリコールグリセリル - ココエート、ポリオキシエチレングリコール、ポリエチレングリコールエーテル及び高

10

20

30

40

50

級脂肪族アルコール、例えばラウリルアルコール、ポリオキシエチレン極性油、例えばリシン油、オイル・サッカロ・グリセリド (oil saccharo-glycerides)、ポリエチレンオキシド及びプロピレンオキシドコポリマー並びにそれらの混合物を含む群からの非イオン性物質、もし必要であれば、選択された抗酸化剤 (例えばトコフェロール、アスコルビン酸、それらの誘導体、例えばアスコルビン酸トコフェリル (tocopheryl ascorbate))、ならびに、さらなる補助物質物質とを使用してもよい。

【0085】

「同時投与」の原理は、生体内での抗腫瘍性組成物の有効水準に達するために用いることができる。このことは、適用方法に関して同時に、又は異なる時に、1つの適用調製物もしくは複数の適用調製物によって、効果を保証するような量における全ての組成物部分の投与を意味する。これは単回の「同時投与」又は特定の間隔での反復投与であってもよい。種々の投与の方法を使用する可能性によって、組成物の一部は可能性のある方法の1つによって投与されてもよく (例えば直腸に)、そして、生体内で組成物の有効水準に達するために必要なその他の部分は異なる方法によって、例えば舌下に又は非経口的に投与されてもよい。

10

【0086】

革新性

本発明に係る解決策の不可欠な革新性は、未だ説明されていないリパーゼ酵素の抗腫瘍性組成物への統合、及びその証明された広いスペクトルの有効性に基づく。調製物の新たに設計された組成物は、複雑で、驚くほど強力な細胞の抗腫瘍性効果をもたらす活性の全体をイン・ビボ試験において示す。この発見は、皮下的に移植された、ヒトの乳がん、結腸直腸がん、膵がん及び小細胞肺癌の標準化されたラインの細胞を有する nu / nu マウスにおけるイン・ビボ試験から得られた結果に基づく。

20

【0087】

本発明のさらなる革新は組成物における、これまでの間接的に類似の特許 (Trnkara、1996、1998、上述参照) においてそうであるような個々の活性物質の重量比にではなく、酵素活性単位に基づく定義である。効率の定義に対するこの手法は、本発明の技術的実現可能性、ならびに、活性物質の組成の、ひいては生体へのそれらの投与のために設計された適当な様態の再現性を保証する。今日の薬局方は酵素についての活性特性を使用するための必要条件を含む。

30

【0088】

本発明に係る解決策のさらなる革新は、本発明者らが得られた結果に、投与の有利な非侵襲的方法、ならびに酵素及びプロ酵素組成物の投与のための適当な投与系を実証し、適用したという事実にある。生物学的製剤の投与を扱う既存の全ての特許とは異なって、本発明者らは本発明に係る抗腫瘍性組成物の広範囲の兆候における非侵襲的経粘膜投与のための調製物を提案した。直腸投与の驚くほど肯定的な治療的結果は、舌下投与への方法を本発明者らに示した。このことは、患者にとっての改善されたコンプライアンスの見込み、及び抗腫瘍性調製物の自己投与の可能性をもたらす。

【0089】

40

該解決策の革新は、本発明者らが、選択される適用方法、及び、明確な治療的、診断的又は予防的な必要条件にも直接関連して、組成物の投与のための好適なビヒクルを定義するという事実にもある。特に、適当な分子量のポリエチレングリコール又は選択されたポリエチレングリコールの混合物 (例えば重量比 45 : 55 でのマクロゴール 300 及びマクロゴール 1500) 又はグリセロール、N - プロパノール又はトレハロース及びタンパク質のための構造安定化剤としてのさらなる糖類 (スクロース、マンニトール) は個々に活性物質にとって、ならびにそれらの組成物にとって有利な賦形剤である。本発明に係る解決策は、無水の微粉抗腫瘍性組成物を処理することにおける、ポリエトキシ化 (polyethoxylated) 脂質物質 (例えばステアロイルポリオキシリル - 6 - グリセリド (glycerid))、中性脂質 (例えばバルミトステアリン酸グリセリル)、一価

50

アルコールの高級脂肪酸とのエステル（例えばミリスチン酸イソプロピル、パルミチン酸イソプロピル）、及び、透過促進剤、例えばグリセロール、シクロペンタデカノリド、ポリカルボフィル - システインの適用も考える。

【 0 0 9 0 】

該解決策の革新は、調製物、及び、上述の構造及び安定化賦形剤の使用、ならびに、処方中間産物としてプロ酵素及び酵素の安定化された組成物へと個々の成分を処理するための静電紡糸の技術にもある（実施例 1 1、実施例 1 2 参照）。

【 実施例 】

【 0 0 9 1 】

実施形態の実施例

10

実施例 1：本発明の適用に係る抗腫瘍性組成物の定性的構造

1. アミラーゼ (Amylase)：バチルス種由来のアルファ - アミラーゼ タイプ II - A、凍結乾燥粉末。バチルス・アミロリケファシエンス (Bacillus amyloliquefaciens) から単離された。シグマ - アルドリッチ (Sigma - Aldrich)。プラハ。製品番号：A 6 3 8 0；EC 番号 (シグマ)：2 3 2 - 5 6 0 - 9；EC 番号：3 . 2 . 1 . 1；CAS 番号：9 0 0 0 - 9 0 - 2

分子量：5 8 , 4 0 3

活性：1 , 3 3 3 i . u . / 固体物質の m g ; 3 , 1 0 0 m . j / タンパク質の m g

【 0 0 9 2 】

2. リパーゼ：コムギ胚芽由来のリパーゼ、I 型；凍結乾燥粉末。パンコムギ (Triticium aestivum) から単離された。シグマ - アルドリッチ。プラハ製品番号：L 6 3 8 0、EC 番号 (シグマ)：2 3 2 - 6 1 9 - 9

20

EC 3 . 1 . 1 . 3；CAS 番号：9 0 0 1 - 6 2 - 1

分子量：1 4 3 , 0 0 0

活性：5 ~ 1 5 i . u . / タンパク質の m g

【 0 0 9 3 】

3. キモトリプシノーゲン：ウシ膵臓由来の α - キモトリプシノーゲン A。塩を含まない凍結乾燥粉末。アプリケム (Applichem)。プラハ。製品番号：A 0 6 9

CAS 番号：9 0 3 5 - 7 5 - 0

分子量：約 . 2 5 , 0 0 0

30

活性：最小 1 , 2 0 0 i . u . / m g

【 0 0 9 4 】

4. トリプシノーゲン：ウシ膵臓由来のトリプシノーゲン。塩を含まない透析され凍結乾燥された粉末。

シグマ - アルドリッチ。プラハ。製品番号：T 1 1 4 3；EC 番号 (シグマ)：2 3 2 - 6 5 1 - 3；

CAS 番号：9 0 0 2 - 0 8 - 8

分子量：2 3 , 7 0 0

活性：1 0 , 9 0 0 i . u . / タンパク質の m g

【 0 0 9 5 】

40

【表 1】

表 1：種々の投与方法のための調製物の製剤のための抗腫瘍性組成物の部分の比例重量の組み合わせの例。定性的な組成は実施例 1 にある。

同定	組成物 1	組成物 2	組成物 3	組成物 4	組成物 5
投与方法	皮下	直腸	舌下	吸入	腹腔内
量	mg	mg	mg	mg	mg
アミラーゼ	2.07	4.07	5.6	1.95	9.6
リパーゼ	2.89	9.89	12.8	9.89	12.2
キモトリプシノーゲン	10.24	14.24	14.24	28.5	14.2
トリプシノーゲン	29.58	22.32	29.58	14.24	35.0

10

【0096】

組成物の個々の成分は通常の規定に従って、粉末混合物として、そしてその後要求される剤形に向かう中間産物として処理することができる。個々の細かく粉砕された成分はまた、好適な担体（例えば注射投与のためのトレハロース、実施例 12 参照）、安定化賦形剤（例えば n - プロパノール、ポリエチレングリコール 300）又は完全なビヒクル（坐剤基剤としてのミリスチン酸イソプロピルを添加した硬化油脂）による一次処理の目的で、特定の意図される適用に従って（実施例 8 及び実施例 9 参照）、調製されたビヒクル又はその一部に徐々に組み込まれてもよい。

20

【0097】

組成物の処理において及び可能な貯蔵において、個々の成分の製造の必要条件是保持されるべきである（例えば温度、湿度、保護雰囲気、周囲の純度（ambient purity））。

【0098】

ヒトに対する 1 回の用量の投与に要求される治療用組成物の特有の量は、特定の個人の特徴（体重、年齢、投与組成物に対する個々の反応性を含む健康状態パラメータ）、抗腫瘍性疾患の特徴（例えば型、位置、段階）投与方法（例えば全身性の舌下、非経口的な点滴、全身性の直腸の）、適用の方法（例えば単独療法的（monotherapeutic）、連続的、段階的）及び、調製物の物理的特性（例えばコロイド溶液、分離された粉末混合物）によって決まる。

30

【0099】

実施例 2 . 1、3 . 1、4 . 1、及び 5 . 1 は、実施例 1 及び表 1 に係る抗腫瘍性組成物についての酵素及びプロ酵素物質のアミノ酸の配列を表す。関連する参照例 2 . 2、2 . 3、3 . 2、3 . 4、4 . 2 及び 5 . 2 は、いわゆる「バイオシミラー」として、すなわち個々に又は完全な構造において、表 1 に係る物質の代用として用いられてもよい、生物学的に類似の物質の代表のアミノ酸の配列を表す。効果の質を維持して、該成分の個々の酵素活性は、タンパク質重量単位との関連で、本方法で調製されたそのような生物学的に類似の組成物にとって常に重要である。この特徴は、特定の又は考えられる適用のための、代替「バイオシミラー」組成物の適合性を決定する要因の 1 つである。

40

【0100】

該実施例は原則として、生物学的に類似の単離された天然物質、又は生物工学的に生産された物質の両方により、部分的な物質の置換の可能性を説明する。

【0101】

実施例 2 . 1：アルファ - アミラーゼのアミノ酸の配列、パチルス種、アミロリケファシエンス

<http://www.brenda-enzymes.org/index.php4?page=sequences/seq.php4?ID=7605>

50

(オンライン2013年9月18日)(表1をさらに参照)

【0102】

【表2】

```

1  MIQKRKRTVS FRLVLMCTLL FVSLPITKTS AVNGTLMQYF EWYTPNDGQH WKRLQNDAEH
61  LSDIGITAVW IPPAYKGLSQ SDNGYGPYDL YDLGEFQQKG TVRTKYGTSK ELQDAIGSLH
121 SRNVQVYGDV VLNHKAGADA TEDVTAVEVN PANRNQETSE EYQIKAWTDF RFPGRGNTYS
181 DFKWHWHYFD GADWDESRIK SRIFKFRGEG KAWDWEVSSE NGNYDYLMYA DVDYDHPDVI
241 AETKKWGIWY ANELSLDGFR IDAAKHIFKS FLRDWVQAVR QATGKEMFTV AEYWQNNAGK
301 LENYLNKTSF NQSVFDVPLH FNLQAASSQG GGYDMRRLLD GTVVSRHPEK AVTFVENHDT
361 QPGQSLESTV QTWFKPLAYA FILTRESGYP QVFGDMYGT KGTSPKEIPS LKDNIEPILK
421 ARKEYAYGPQ HDYIDHPDVI GWTREGDSSA AKSGLAALIT DPGGSGSKRMV AGLKNAGETW
481 YDITGNRSDT VKIGSDGWGE FHVNDGSVSI YVQ

```

10

【0103】

参照例2.2: 生物学的に類似(90%)の α -アミラーゼのアミノ酸の配列、ウラツコムギ(*Triticum urartu*)(赤色野生ヒトツブコムギ)、(*Crith*

20

odium urartu)

<http://www.uniprot.org/uniprot/M8AC56>(オンライン2013年9月18日)

【0104】

【表3】

```

1  MERRGLLKAA LLASCLLVVC SGRVPTVIOQ PSTTIYNSTL AKTLVEYAAA IYTADLTQLF
61  TWTCDRCGDL IEGFEMMDII VDVESELEAY VGFASDINAV VVVFRTQEN SIQNWIEDLL
101 WKQLDLDPG MPEAMVHRGF YSAYHNTTIR DGIVSGIQKT QKLHGDVPIM VTGHSMGAAM
151 ASFCALDLVV NYGLDDVKLM TFGQPRVGNA AFASYLKRYL PHAIRVTNAND IVPHLPPYF
201 SFFPQKTYHH FPREVWVHDV GLGSLVYTV E QICDDSGEDP ACSRSVSGNS IQDHITYLGV
301 SMHAEAWSSC RIVMDYAEIR YKMDLHGNVV LSKQQQQSGL SNERRRHSAQ

```

30

【0105】

参照例2.3: 生物学的に類似(90%)の α -アミラーゼのアミノ酸の配列、

バチルス・リケニフォルミス(*Bacillus licheniformis*)

<http://www.uniprot.org/uniprot/P06278>(オンライン2013年9月18日)

【0106】

40

【表 4】

1 MKQQKRLIYAR LLTLLFALIF LLPHSAAAAA NLNGTLMQYF EWYMPNDGQH WKRLQND SAY
 61 LAEHGITAVW IPPAYKGTSQ ADVGYGAYDL YDLGEFHQKG TVRTKYGTGK ELQSAIKSLH
 121 SRDINVYGDV VINHKGGA DA TEDVTAVEVD PADRN RVISG EHRIKAWTHF HFPGRGSTYS
 181 DFKWHWYHFD GTDWDERSKL NRIYKFGKA WDWEVSNENG NYDYLMYADI DYDHPDVAAE
 241 IKRWGTWYAN ELQLDGFRLD AVKHIKFSFL RDWVNHVREK TGKEMFTVAE YWQNDLGALE
 301 NYLNKTNPNH SVFDVPLHYQ PHAASTQGGG YDMRKLINST VVSKHPLKAV TFVDNHDTPQ
 361 GQSLESTVQT WFKPLAYAFI LTRESGYPOV FYGDMYGTGK DSQREIPALK HKIEPILKAR
 421 KQYAYGAQHD YFDHHDIVGW TREGDSSVAN SGLAALITDG PGGAARMYVG RQNAGETWHD
 480 ITGNRSEFVV INSEGWGEFH VNGGSVSIYV QR

10

【0107】

実施例 3.1: リパーゼのアミノ酸の配列、パンコムギ (表 1 参照)

<http://www.uniprot.org/uniprot/Q8L5T0> (オンライン 2013 年 9 月 18 日)

【0108】

【表 5】

20

1 MERRGLLKTA LLACLLVVCV GRVPMVIQQP STTIYNSTLA KTLVEYAAAI YTADLTQLFT
 61 WTCDRCGDLI EGFEMMDIIV DVENCLEAYV GFASDINAVI VVFRGTQENS IQNWIEDLLW
 121 KQLDLDPYGM PEAMVHRGFY SAYHNTTIRD GIVSGIQKTR KLHGDVPIMV TGHSMGAAMA
 181 SFCALDLVVN YGLDDVKLMT FGQPRVGNAA FASYFKRYLP HAIRVTNAND IVPHLPPYFS
 241 FFPQKAYHNF PREVVVHDVG LGSIVYTVEQ ICDDSGEDPA CSRSVSGNSI QDHITYLGVS
 301 MHAEEAWSSCR IVMDYAE LRY KMDLHGNVVL SKQQQQQPG L SDQRRRHSAQ

【0109】

30

参照例 3.2: 生物学的に類似のリパーゼのアミノ酸の配列、ブタ (Sus Scrofa)

<http://www.uniprot.org/uniprot/P00591> (オンライン 2013 年 9 月 18 日)

【0110】

【表 6】

1 SEVCFPR LGC FSDDAPWAGI VQRPLKILPW SPKDVDT RFL LYTNQNQNNY QELVADPSTI
 61 TNSNFRMDRK TRFIIHG FID KGEEDWLSNI CKNLFKVESV NCICVDWKGG SRTGYTOASQ
 121 NIRIVGA EVA YFVEVLKSSL GYSPSNVHVI GHS LGSHAAG EAGRRTNGTI ERITGLDPAE
 181 PCFQGTPELV RLDPSDAKFV DVIHTDA API IPNLGFGMSQ TVGHLDFFPN GKGQMPGCQK
 241 NILSQIVDID GIWEGTRDFV ACNHLRSYKY YADSILNPDG FAGFPCDSYN VFTANKCFPC
 301 PSEGCPQMGH YADRFPGKTN GVSQVFY LNT GDASN FARWR YKVSVTLSGK KVTGHILVSL
 361 FGNEGNSRQY EIYKGTLPD NTHSDEFDSD VEVGDLQKVK FIWYNNNVIN PTLPRVGASK
 421 ITVERNDGKV YDFCSQETVR EEVLLTLNPC

40

【0111】

参照例 3.3: 生物学的に類似のリパーゼ (50%) のアミノ酸の配列、

50

イネ・ジャポニカグループ (Oryza sativa Japonica Group)

<http://www.uniprot.org/uniprot/Q6F357> (オンライン2013年9月18日)

【0112】

【表7】

```

1  MSSSPMLGGI ADRWRELHGQ DSWNGLLDPL DDLRSSLILS YGELVQATYD SFNRERRSPH
61  AGACVYGHGD LLAAAGASAA GSYAVTKFVY ATSGLPVPEA FLLLPLPSLL PPAWSRESNW
121 MGYVAVATDE GVAALGRRDI VVAWRGTVES LEWVNDFDFT PVPAAPVLGA AAAANPRAIV
181 HRGFLSVYTS SNKDSKYNKA SARDQVLEEV RRLMELYKDE VTSITTVGHS LGASLATINA
241 VDIVANGANC PPASSSSSQP PCPVTAIVFA SPRVGDGFFK AAFASFPDLR ALHVKNAGDV
301 VPMYPPLGYV DVAVKLRIST SRSPYLRSPG TIETLHNLEC YLHGVAGEQG SAGGFKLEVD
361 RDVALANKGV DALKDKYPVP PRWVWSKNRC MVKADAGHWA LHDFEQI

```

10

【0113】

参照例3.4: 生物学的に類似のリパーゼのアミノ酸の配列、*Bifidobacterium animalis subsp. lactis* DSM 10140

<http://www.uniprot.org/uniprot/C6A8G0> (オンライン2013年9月18日)

【0114】

【表8】

```

1  MELYRNNEIP PIEYTPGTSE FRDAVIGLAR YWTAIAEDLH ADEPGVQERT AAACLRFRKE
61  CAMFDYARAL QWHDPQGVYV HTDIPYLPDG GYRDGEVRGH LLDVYIPRDA IVRGGNTLPV
121 YIDIHGGGFT YGYKELNRNF NTHLADLGFG VFSLNYRPAP QTDLVGQLHD IQAALCWIGE
181 HITQFPVSPD NIFITGDSAG ACLSLLTLLI EHNDAAAHAF GIERASGIHL RGASLISGVY
241 DITPSSPMRA RLAETVGNEF FAGLDDATVF LDPADWLTQG IGIPPLFLVT SSDDFVQSET
301 LALATSLARN GRDFELHDFK VPCTQTLGHV FPGMTWLPE SERVLHGIRE FSYPLTR

```

30

【0115】

実施例4.1: トリプシノーゲンのアミノ酸の配列、ウシ (*Bos Taurus*) (表1参照)

A鎖:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/1TGN_A (オンライン2013年9月18日)

【0116】

【表9】

```

1  VDDDDKIVGG YTCGANTVPY QVSLNSGYHF CGGSLINSQW VVSAAHCYKS GIQVRLGEDN
61  INVVEGNEQF ISASKSIVHP SYNSNTLNND IMLIKLSAA SLNSRVASIS LPTSCASAGT
121 QCLISGWGNT KSSGTSYPDV LKCLKAPILS DSSCKSAYPG QITSNMFCAG YLEGGKDSQC
181 GDSGGPVVCS GKLGIVSWG SGCAQKNKPG VYTKVCNYVS WIKQTIASN

```

【0117】

参照例4.2: 生物学的に類似のトリプシノーゲンIのアミノ酸の配列、配列2、米国

50

特許第7049484号明細書、2006年

【0118】

【表10】

```

1   CGVPAIQPVL SGLSRIVNGE EAVPGSWPWQ VSLQDKTGFH FCGGSLINEN WVVTAHCGV
61  TTSDVVVAGE FDQGSSEKI QKLKIAKVKF NSKYNSLTIN NDITLLKLST AASFSQTVSA
121 VCLPSASDDF AAGTTCVTTG WGLTRYTNAN TPDRLQQASL PLLSNTNCKK YWGTKIKDAM
181 ICAGASGVSS CMGDSGGPLV CKKNGAWTLV GIVSWGSSSTC STSTPGVYAR VTALVNWVQQ
241 TLAAN

```

10

【0119】

実施例5.1: キモトリプシノーゲンAのアミノ酸の配列、ウシ(表1参照)

A鎖

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/2CGA__A (オンライン2013年9月18日)

【0120】

【表11】

```

1   CGVPAIQPVL SGLSRIVNGE EAVPGSWPWQ VSLQDKTGFH FCGGSLINEN WVVTAHCGV
61  TTSDVVVAGE FDQGSSEKI QKLKIAKVKF NSKYNSLTIN NDITLLKLST AASFSQTVSA
121 VCLPSASDDF AAGTTCVTTG WGLTRYTNAN TPDRLQQASL PLLSNTNCKK YWGTKIKDAM
181 ICAGASGVSS CMGDSGGPLV CKKNGAWTLV GIVSWGSSSTC STSTPGVYAR VTALVNWVQQ
241 TLAAN

```

20

【0121】

B鎖

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/2CGA__B (オンライン2013年9月18日)

30

【0122】

【表12】

```

1   CGVPAIQPVL SGLSRIVNGE EAVPGSWPWQ VSLQDKTGFH FCGGSLINEN WVVTAHCGV
61  TTSDVVVAGE FDQGSSEKI QKLKIAKVKF NSKYNSLTIN NDITLLKLST AASFSQTVSA
121 VCLPSASDDF AAGTTCVTTG WGLTRYTNAN TPDRLQQASL PLLSNTNCKK YWGTKIKDAM
181 ICAGASGVSS CMGDSGGPLV CKKNGAWTLV GIVSWGSSSTC STSTPGVYAR VTALVNWVQQ
241 TLAAN

```

40

【0123】

参照例5.2: 生物学的に類似のキモトリプシノーゲンBのアミノ酸の配列、
(合成コンストラクト、CDSクローン)

【0124】

【表 1 3】

1 MAFLWLLSCW ALLGTTFGCG VPAIHPVLSG LSRIVNGEDA VPGSWPWQVS LQDKTGPHFC
 61 GGSLLISEDWV VTAACHGVRT SDVVVAGEFD QGSDEENIQV LKIAKVFKNP KFSILTVNND
 121 ITLLKLATPA RFSQTVSAVC LPSADDDFPA GTLCATTGWG KTKYNANKTP DKLQQAALPL
 181 LSNAECKKSW GRRITDVMIC AGASGVSSCM GDSGGPLVCQ KDGAWTLVGI VSWGSDTCST
 241 SSPGVYARVT KLIPWVQKIL AAN

【 0 1 2 5】

10

参照例 5 . 3 : 生物学的に類似のキモトリプシノーゲン B のアミノ酸の配列、タイセイヨウダラ (*Gadus morhua*)

<http://www.brenda-enzymes.org/index.php4?page=sequences/seq.php4?ID=7605> (オンライン 2013 年 9 月 18 日)

【 0 1 2 6】

【表 1 4】

1 MGHEVDSVLP GLFRRTYGCG RPAISPVTIG YSRIVNGEEA VPHSWSWQVS LQDQTGFHFC
 61 GGSLLINENWV VTAACHNVKN YHRVVLGEHD RSSNSEGVQV MTVGQVFKHP RYNGFTINND
 121 ILLVKLATPA TLNMRVSPVC LAETDDVFEG GMKCVTSWG LTRYNAADTP ALLQQAALPL
 181 LTNEQCKKFW GNKISDLMIC AGAAGASSCM GDSGGPLVCQ KAGSWTLVGI VSWGSGTCTP
 241 TMPGVYARVT ELRAWVDQTI AAN

20

【 0 1 2 7】

実施例 6 : ヒト乳がん治療用の注射静脈内投与のための抗腫瘍性の組成物 1 を含む調製物

【 0 1 2 8】

100 用量のための処方 (g)

30

組成物 1	2 . 2 3 9
トレハロース	2 5 . 0 0

【 0 1 2 9】

混合物を、構造安定化トレハロースを有する表 1 の通り組成物 1 を含む混合凍結乾燥粉末として調製し、続いて無菌で 100 バイアルに分配する。

調製物のパッキングは、以下の含量の水ビヒクルを有するアンプルを含む (mg / 100 ml) :

リン酸水素ナトリウム、二水和物	1 6 7 m g
リン酸二水素カリウム	2 0 m g
塩化カリウム	2 0 m g
塩化ナトリウム	8 0 0 m g
ポリソルベート 8 0	1 0 m g
ポリエチレングリコール 3 0 0	3 . 0 m l
注射用水	1 0 0 . 0 m l まで

40

【 0 1 3 0】

水ビヒクルは、乾燥凍結乾燥粉末からの 3 ミリリットルの溶液の即席の調製物のためである。体積 3 ミリリットルの得られる溶液中の組成物 1 の適当な用量は、その後好適な組成物、例えばデキストラン 10 , 000 との、液滴点滴 (*droplet infusion*) によって適用される。

【 0 1 3 1】

50

特有の治療的、診断的又は予防的な組成物の投与量は、特定の個人の複雑な腫瘍学の試験に基づく。

【 0 1 3 2 】

実施例 7：ヒト乳がん治療用の注射皮下投与のための抗腫瘍性組成物を含む調製物

【 0 1 3 3 】

1 0 0 用量のための処方 (g)

組成物 1	2 . 5 8 0	(表 1 参照)
ポリエチレングリコール 4 0 0 0	5 . 1 6 0	

【 0 1 3 4 】

混合物を、表 1 の通りの組成物 1 を含む凍結乾燥粉末と安定化ポリエチレングリコール 4 0 0 0 との混合物として調製し、そして、続いて無菌で 1 0 0 バイアルに分配する。調製物のパッキングは、1 m l の注射用水中の 8 m g の塩化ナトリウムの溶液を有するアンブルを含む。

10

【 0 1 3 5 】

特有の治療的、診断的又は予防的な組成物の投与量は、特定の個人の複雑な腫瘍学の試験に基づく。

【 0 1 3 6 】

実施例 8：親油性坐剤による直腸投与のためのヒト結腸直腸がん治療用の抗腫瘍性組成物を含む調製物

【 0 1 3 7 】

20

1 0 0 坐剤のための処方 (g)

組成物 2	2 . 5 6 3
パルミチン酸イソプロピル又は ステアロイルポリオキシシル - 6 - グリセリド	1 . 9
硬化油脂	1 8 0 . 0

【 0 1 3 8 】

方法：

1．好適な容器中でゆっくりと攪拌しながら、約 3 5 までヤシ油由来の水素化グリセリドの混合物を融解させ、均一な分散相を得る。

2．調節したミリスチン酸イソプロピル又はステアロイルポリオキシシル - 6 - グリセリドの同一重量を、別の容器中で一度十分に均質化された表 1 に係る組成物 2 の混合物に、徐々に混合し、濃縮されたプレミックスを得る。

30

3．ゆっくりと攪拌しながら、融解した親油性分散相を均質化されたプレミックスへと徐々に加える。

4．3 5 未満の温度で少なくとも 1 5 分間攪拌を続け、その後さらにゆっくりと攪拌して、3 0 と 3 1 との間の温度まで冷却する。

5．その後、抗腫瘍性組成物の含有物を有する坐剤物質を準備した坐剤型へとを注ぎ、それぞれ約 1 . 8 グラムの坐剤を成形する。

6．組成物の沈降を防ぐために型へと注ぐ際に坐剤物質を攪拌し続けるが、融解物を通気 (a e r a t i n g) はしない。

40

保護雰囲気が必要であれば使用してもよい。

【 0 1 3 9 】

上述の組成物 2 は、朝 1 回用量での疎水性坐剤として投与される。

【 0 1 4 0 】

特有の治療的、診断的又は予防的な組成物の投与量は、特定の個人の複雑な腫瘍学の試験に基づく。

【 0 1 4 1 】

実施例 9：親水性坐剤による直腸投与のためのヒト小細胞肺癌治療用の抗腫瘍性組成物を含む調製物

【 0 1 4 2 】

50

1 0 0 坐剤のための処方 (g)

組成物 2	2 . 5 6 3
n - プロパノール又はグリセロール	1 . 9
ポリエチレングリコール 3 0 0	9 5 . 0
ポリエチレングリコール 1 5 0 0	8 5 . 0

【 0 1 4 3 】

1 . 好適な容器中でゆっくりと攪拌しながら、4 0 までポリエチレングリコール 3 0 0 及びポリエチレングリコール 1 5 0 0 の混合物を融解させ、均一な分散相を得る。

2 . n - プロパノール又はグリセロールの同一重量を、別の容器中で十分に均質化された表 1 に係る組成物 2 の混合物に徐々に混合し、濃縮された懸濁液を得る。

3 . ゆっくりと攪拌しながら、融解した親水性分散相を均質化された懸濁液へと徐々に加える。

4 . 3 5 未満の温度で少なくとも 1 5 分間攪拌し続け、その後ゆっくりと攪拌しながら 3 0 と 3 1 との間の温度まで冷却する。

5 . その後、抗腫瘍性組成物 2 を含む坐剤物質を、それぞれ約 1 . 8 グラムの坐剤を成形する、準備した坐剤型へと注ぐ。

6 . 組成物の沈降を防ぐために型へと注ぐ際に坐剤物質を攪拌し続けるが、融解物を通気はしない。

【 0 1 4 4 】

上述の表 1 に係る組成物 2 は、朝 1 回用量で、又は、朝に半分用量及び夕に半分用量での親水性坐剤として投与される。

【 0 1 4 5 】

特有の治療的、診断的又は予防的な組成物の投与量は、特定の個人の複雑な腫瘍学の試験に基づく。

【 0 1 4 6 】

実施例 1 0 : 舌下投与のためのヒト膀胱がん治療用の抗腫瘍性組成物 3 を含む調製物

【 0 1 4 7 】

1 0 0 適用のためのナノファイバー膜の処方 (g)

組成物 3	3 . 1 1
トレハロース	1 0 . 0
p H 7 . 4 に緩衝化されたグリセロール 8 5 %	3 . 5
ヒドロキシプロピルメチルセルロース	2 . 2
ポリエチレングリコール 4 0 0	1 . 1
再蒸留水	適量

【 0 1 4 8 】

方法 :

1 . 好適な容器中で p H 7 . 4 に緩衝化されたグリセロールを含む表 1 に係る組成物 3 の濃縮された混合物を調製する。

2 . 別の容器中でトレハロース、ポリエチレンオキシド 4 0 0 及びヒドロキシプロピルメチルセルロースの、水ビヒクル溶液を調製する。

3 . 2 によるトレハロース溶液を組成物 3 のスプレッドに徐々に加え、十分に攪拌し、そして、それを製造装置 N S W S 5 0 (エルマルコ (E l m a r c o) 、リベレッツ、C Z) の供給容器に入れる。

4 . 容器含有物のイオン組成を電界紡糸処理のために最適化する。

5 . 伝導性及び処理パラメータのチェック後に、調製された溶液を 4 5 を超えない温度で紡糸し、基材ベルト上に固定されるナノファイバー膜を得る。

6 . 次のサイクルで、ヒドロキシメチルプロピルセルロース及びポリエチレングリコール 4 0 0 の溶液から類似の処理でナノファイバー膜を敷きなおす (r e l a y) 。

7 . ナノファイバー膜中の組成物 3 の生産されたスクエアの重量に従って、そして、要求される用量、すなわちそれぞれ 1 0 c m² のストリップに従って、組み合わされた二

10

20

30

40

50

層のナノメンブレンを形成する。

8. 単回投与のための決められたストリップは、好適な包装の貯蔵部分で調整される。

【0149】

ナノファイバーの舌下調製物は、舌の底側に接着フィルムとして食後、朝と夕に投与される。

【0150】

組成物の特有の投与量は特定の個人の複雑な腫瘍学の試験に基づく。

【0151】

実施例11：舌下投与のためのヒト膀胱がん治療用の抗腫瘍性組成物3を含む調製物

10

【0152】

100適用のためのナノファイバー膜の処方(g)

組成物3	3.11
マンニトール	10.0
pH7.4に緩衝化されたn-プロパノール	3.5
ポリビニルアルコール	2.2
ポリエチレンオキシド400	1.1
ポリウレタン	0.9
再蒸留水	適量

【0153】

20

方法：実施例9と類似。ナノファイバーのリザーバー(reservoir)の敷きなおし(Relaying)は水不溶性ポリウレタンの電界紡糸によって行われる。

【0154】

得られる二層調製物は、口腔に対する保護ポリウレタン層によって、そして、舌下側への組成物3のヒドロキシプロピルメチルセルロースのリザーバーによって適用される。

【0155】

ナノファイバーの舌下調製物は、舌の底側に接着フィルムとして食後、朝と夕に投与される。

【0156】

特有の治療的、診断的又は予防的な組成物の投与量は、特定の個人の複雑な腫瘍学の試験に基づく。

30

【0157】

実施例12：吸入投与のためのヒト小細胞肺癌治療用の抗腫瘍性組成物4を含む調製物

【0158】

100吸入のための粉末の処方(g)

組成物4	2.73
トレハロース	20.00
注射用水	100.0まで

【0159】

40

方法：

1. 100g20%(重量)のトレハロースの水溶液中に、組成物4の重量を溶解させる。

2. 磁気ミキサー(magnetic mixer)を1つの拡散容器(isolated dispergation vessel)に入れ、閉鎖可能なポートホール(port holes)を有する円錐形のカバー(conic cover)で覆う。

3. ポートホールの1つを通して容器中に超音波プローブ(120kHz)を挿入し、容器を磁気ミキサーテーブルに付ける。

4. 容器を液体窒素で端まで満たした後、カバーを容器に乗せ、液体を静置させる。

5. 約5mlの該溶液を窒素表面に吹き付けて(squirt)、カバーを閉じる。

50

6．抗腫瘍性組成物4及びトレハロースの水溶液の3ml/分を、別のポートホールを通じて蠕動ポンプにより、作業空間(work space)に送り、そして、磁気ミキサーのスイッチを入れる。

7．拡散後に、溶液の生産された固体粒子をクラスIの透明ガラスバイアルへと移し、常温で凍結乾燥栓により一時的にそれらを閉じる。

8．凍結乾燥機(freeze-dryer)(GFT 6、クレイン・バキュームテック(Klein Vakuumtechnik)、ニーダーフィッシュバッハ(Niederfishbach)、DE)の区画にバイアルを置き、80kPaまで減圧する。

9．バイアルを徐々に3時間0 まで、その後12時間-35 まで冷却し、一次乾燥を、8時間-10 まで、そして8時間10 までの温度上昇によって行う。 10

10．1時間の間に30 までの温度上昇の後、10kPaの圧力において6時間、30 で二次乾燥を続ける。

11．常温まで生成物を調節した後、凍結乾燥機を殺菌された空気で満たし、そして、凍結乾燥産物を有するバイアルを閉じる。

【0160】

得られた粉末は、用量粉末吸入器(例えばターボヘラー(Turbhaller)、イージーヘラー(Easyhaller)、ノボライザー(Novolizer)、サーチヘラー(Certihaller)型の)又は加圧された粉末として(例えばウルトラヘラー(Ultrahaller)又はマグ-ヘラー(MAG-haller)型吸入器による)、又は 20
又は事前に調整された粉末カプセルを有する単回用量系において(例えばスピンヘラー(Spinhaller)、エアロライザー(Aerolizerk)、ハンディヘラー(Handihaller)、又は反復用量カプセル又はプリスター系における粉末(例えばディスクヘラー(Diskhaller)又はディスクス(Diskus))での処理、充填及び適用のために調製される。

【0161】

実施例13：ネブライザーによる吸入投与のためのヒト喉頭がん治療用の抗腫瘍性組成物4を含む調製物

【0162】

10用量(g)の噴霧のための粉末処方(g)： 30

組成物4 0.482g

トレハロース 5.50

【0163】

吸入用の再構成のための粉末組成物は、100mlまで10本のガラス注射ボトルに無菌で分配され、同時に組成物4の含有量は48.2mgである。

【0164】

再構成のために、1本のボトルを注射用水又は滅菌水で満たす。

噴霧は好適な小さな、例えばSpag-2、PARI LCスター(PARI LC Star)、エアローエクリプス(Aero-Eclipse)又はプロ-ドーズ(Pro-Dose)型の、例えばジェット式、振動膜又は電子ネブライザー、により行われる。 40

【0165】

実施例13．イヌ又はネコにおける乳がん治療用の腹腔内投与のための調製物

【0166】

100用量のための処方(g)

組成物5 2.239(表1参照)

トレハロース 20.00

【0167】

上述の処方、表1に係る組成物5及び構造安定化トレハロースを含む混合凍結乾燥粉末として処理され、100バイアルに分配される。

【0168】

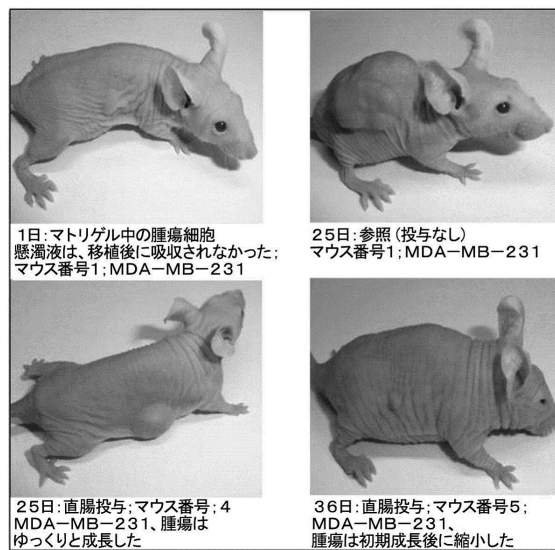
それは5%グルコース溶液中の乾燥粉末から即席の再構成の後、正常な(eutonic-)等張水溶液として1回の用量で投与される。

【0169】

組成物の特有の投与量は特定の個体の複雑な腫瘍学の試験に基づく。

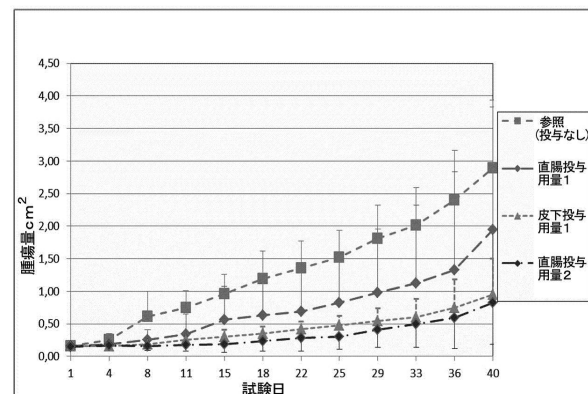
【図1】

図1: 参照マウス(投与なし)と比較した、組成物K2(用量2、親油性ビヒクル)の36日の直腸投与による、乳がんのMDA-MB-231ラインを有するnu/nuマウスにおけるイン・ビボ試験の写真記録



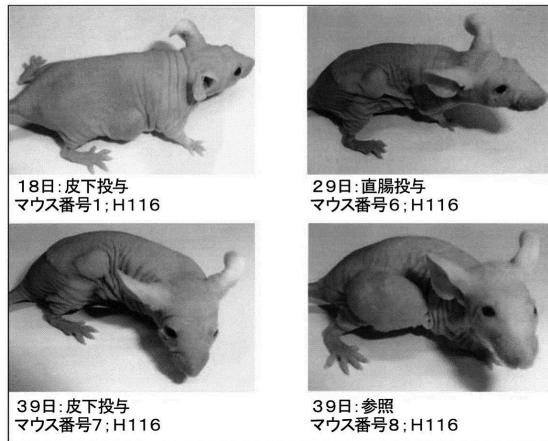
【図2】

図2: 抗腫瘍性組成物2の皮下及び直腸投与による、MDA-MB-231ラインでの40日のイン・ビボ試験中の腫瘍量の平均値(SDを含む)(雌のnu/nuマウス;約28g;各群につき8匹のマウス;用量2は組成物2の2倍の量を含む)



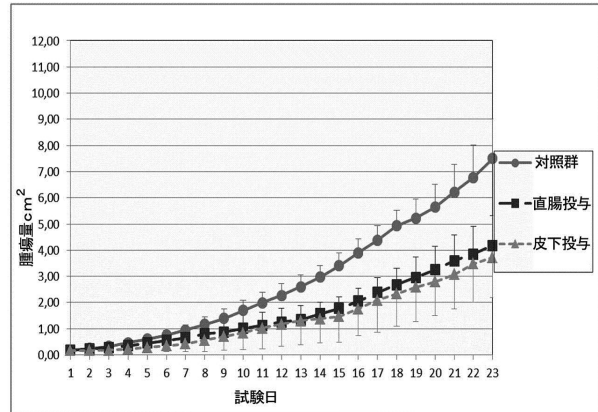
【図 3】

図3: 参照マウス (投与なし) と比較した、組成物2 (用量1; 親油性基材) の連日直腸投与による、結腸直腸がんのH116ラインを有するnu/nuマウスにおけるイン・ビボ試験の3分の1の写真記録



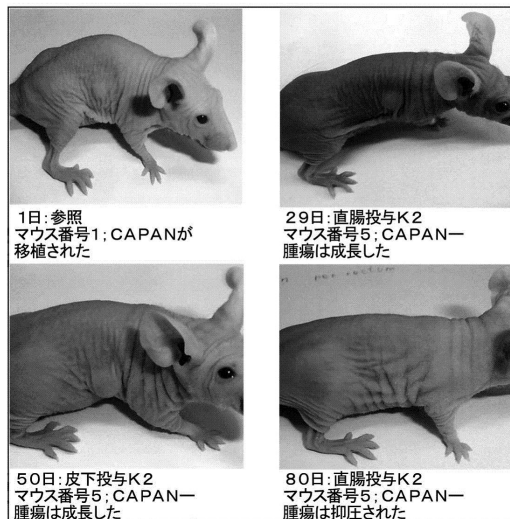
【図 4】

図4: 抗腫瘍性組成物K1 (K2) の皮下及び直腸投与による、結腸直腸がんのH116ラインを有するnu/nuマウスにおけるイン・ビボ試験の23日目までの腫瘍量の平均値 (SDを含む) (雌のnu/nuマウス; 約28g; 各群につき8匹のマウス)



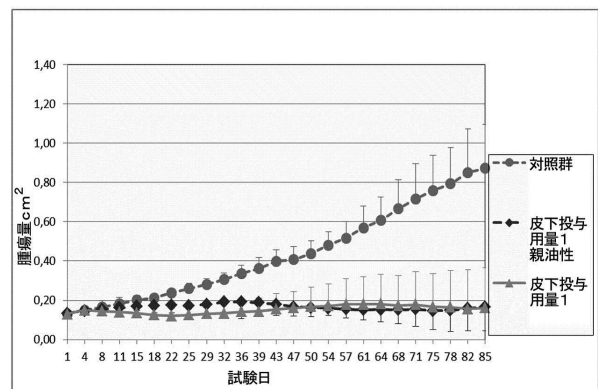
【図 5】

図5: 参照マウス (投与なし) と比較した、組成物K2の85日の皮下直腸投与による、nu/nuマウスにおける膵がんのCAPAN2ラインでのイン・ビボ試験の写真記録



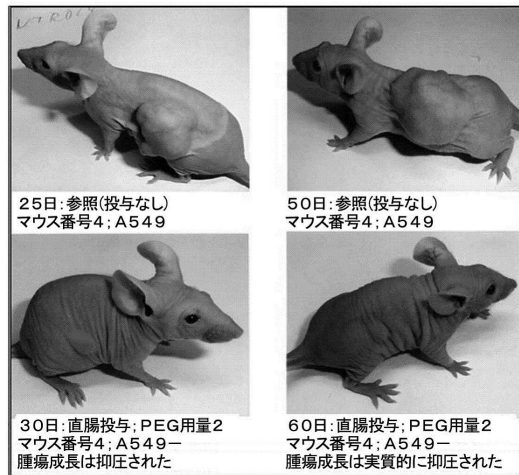
【図 6】

図6: 抗腫瘍性組成物K1又はK2の連日の皮下及び直腸投与による、膵がんのCAPAN2ラインを有するnu/nuマウスにおけるイン・ビボ試験の腫瘍量の平均値 (SDを含む); (雌のnu/nuマウス; 約28g; 各群につき8匹のマウス)



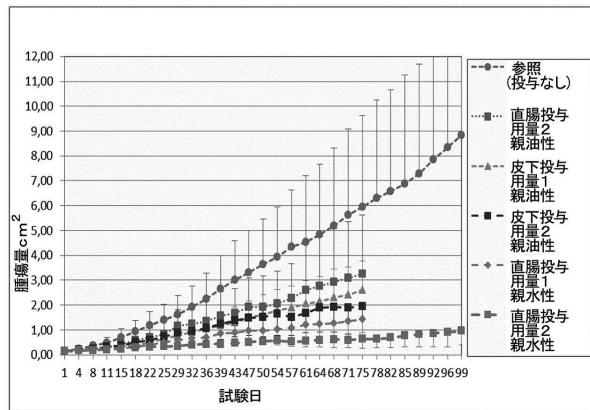
【図 7】

図7: 参照マウス (投与なし) と比較した、組成物2 (親水性基材、用量2) の連日直腸投与による、nu/nuマウスにおける小細胞肺がんのA549ラインでの75日 (99日) のイン・ビボ試験の写真記録



【図 8】

図8: 抗腫瘍性組成物K1、K2それぞれの連日の皮下及び直腸投与による、小細胞肺がんのA549ラインを有するnu/nuマウスにおける75日 (99日) のイン・ビボ試験での腫瘍量の平均値 (SDを含む) (雌のnu/nuマウス; 約28g; 各群につき8匹のマウス; 用量2は用量1の2倍の量である)



【配列表】

0006568095000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 K 47/10	(2006.01)	A 6 1 K 47/10	
A 6 1 K 47/34	(2017.01)	A 6 1 K 47/34	
A 6 1 K 47/14	(2006.01)	A 6 1 K 47/14	
A 6 1 K 47/32	(2006.01)	A 6 1 K 47/32	
A 6 1 K 47/38	(2006.01)	A 6 1 K 47/38	
A 6 1 K 35/742	(2015.01)	A 6 1 K 35/742	
A 6 1 K 9/02	(2006.01)	A 6 1 K 9/02	
A 6 1 K 36/899	(2006.01)	A 6 1 K 36/899	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
C 1 2 N 9/76	(2006.01)	C 1 2 N 9/76	
C 1 2 N 9/28	(2006.01)	C 1 2 N 9/28	
C 1 2 N 9/16	(2006.01)	C 1 2 N 9/16	D

(74)代理人 100087413
弁理士 古賀 哲次

(74)代理人 100117019
弁理士 渡辺 陽一

(74)代理人 100150810
弁理士 武居 良太郎

(74)代理人 100203828
弁理士 喜多村 久美

(72)発明者 フランチシェク トルンカ
チェコ国, 3 7 0 0 1 チェスケー ブジェヨビツェ, チェホバー 4 2

(72)発明者 パベル ドレザル
チェコ国, 5 0 0 1 1 フラデツ クラーロペー, ナ ブジェハーフ 3 9 8

審査官 深草 亜子

(56)参考文献 米国特許第05858357(US, A)
特表2003-513931(JP, A)
中国特許出願公開第102949712(CN, A)
Anticancer Research, 2005年, Vol.25, p.1157-1177

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 3 8 / 5 8