

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2006-528700

(P2006-528700A)

(43) 公表日 平成18年12月21日(2006.12.21)

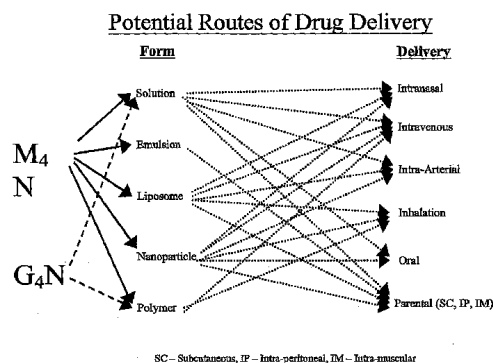
(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/06 (2006.01)	A 6 1 K 31/06	4 C 0 7 6
A 6 1 K 31/138 (2006.01)	A 6 1 K 31/138	4 C 2 0 6
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
A 6 1 K 9/48 (2006.01)	A 6 1 K 9/48	
A 6 1 K 9/72 (2006.01)	A 6 1 K 9/72	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 55 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2006-533314 (P2006-533314)	(71) 出願人	505431064
(86) (22) 出願日	平成16年5月20日 (2004. 5. 20)		エリモス・ファーマスーティカルズ・エル
(85) 翻訳文提出日	平成18年1月19日 (2006. 1. 19)		エルシー
(86) 国際出願番号	PCT/US2004/016114		アメリカ合衆国 テキサス 77036
(87) 国際公開番号	W02004/112695		ヒューストン ベルレア・ブルヴァード
(87) 国際公開日	平成16年12月29日 (2004. 12. 29)		9600 スイート 228
(31) 優先権主張番号	60/472, 144	(71) 出願人	505431260
(32) 優先日	平成15年5月20日 (2003. 5. 20)		ジョンズ・ホプキンス・ユニバーシティ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国 メリーランド 2120
(31) 優先権主張番号	60/472, 299		5 ボルティモア ラトランド・アベニュー
(32) 優先日	平成15年5月20日 (2003. 5. 20)		720
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100107308
(31) 優先権主張番号	60/472, 188		弁理士 北村 修一郎
(32) 優先日	平成15年5月20日 (2003. 5. 20)	(74) 代理人	100126930
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 太田 隆司
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 肥満の治療のためのカテコールブタンの投与のための方法と組成物

(57) 【要約】

本発明は、肥満治療用のキット、方法及び組成物を提供する。ここで前記組成物は、薬学的許容可能な担体又は賦形剤中に、例えばNDGA等を含む、少なくとも1つのカテコールブタンの実質的に純粋な製剤を含む。NDGA等の前記カテコールブタン又はその誘導体は、治療を必要とする単数又は複数の対象体に投与される。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

少なくとも 1 つのカテコールブタンと、薬学的に許容可能な担体又は賦形剤とを含む、そのような治療を必要とする対象体の肥満を治療する薬用組成物。

【請求項 2】

前記組成物が、鼻腔内投与用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 3】

前記組成物が、経口投与用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 4】

前記組成物が、遅効性及び速効性カプセル剤から成るグループから選択される 1 つとして製剤されている請求項 3 に記載の薬用組成物。 10

【請求項 5】

前記組成物が、吸入用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 6】

前記組成物が、皮下投与用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 7】

前記組成物が、経皮投与用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 8】

前記組成物が、脂肪内投与用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 9】

前記組成物が、局所投与用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。 20

【請求項 10】

前記組成物が、静脈内投与用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 11】

前記組成物が、口腔投与用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 12】

前記組成物が、腹腔内投与用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 13】

前記組成物が、筋肉内投与用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 14】

前記組成物が、移植用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。 30

【請求項 15】

前記組成物が、中心静脈投与用に製剤されている請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 16】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、ジメチルスルホキシド (DMSO) を含む請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 17】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、リン酸緩衝生理食塩水を含む請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 18】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、生理食塩水を含む請求項 1 に記載の薬用組成物。 40

【請求項 19】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、脂質系製剤を含む請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 20】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、リポソーム製剤を含む請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 21】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、ナノ粒子製剤を含む請求項 1 に記載の薬用 50

組成物。

【請求項 2 2】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、ミセル製剤を含む請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 2 3】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、水溶性製剤を含む請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 2 4】

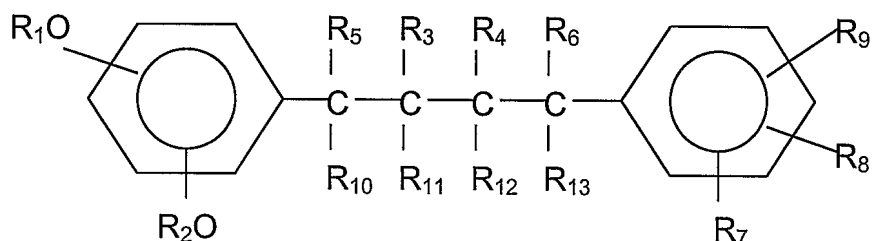
前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、生物分解性重合体を含む請求項 1 に記載の薬用組成物。

10

【請求項 2 5】

前記カテコールブタンが、以下の式を有する、

【化 1】



20

R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-H$ 、低級アルキル、低級アシル、アルキレン又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩であり、

R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} が、独立的に、 $-H$ 又は低級アルキルであり、そして、

R_7 、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-H$ 、 $-OH$ 、低級アルコキシ、低級アシルオキシ、又は任意の隣接する二つの基が共にジオキシアルキエンとすることができ、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩である、請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 2 6】

R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-H$ 、低級アルキル、低級アシル、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩であり、

30

R_3 、 R_4 が、独立的に、低級アルキルであり、

R_5 、 R_6 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} が、独立的に、 $-H$ であり、そして

R_7 、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-H$ 、 $-OH$ 、低級アルコキシ、低級アシルオキシ、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩である、請求項 2 5 に記載の薬用組成物。

【請求項 2 7】

R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-H$ 、低級アルキル、低級アシル、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩であり、

R_3 、 R_4 が、独立的に、低級アルキルであり、

R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} が、独立的に、 $-H$ であり、そして、

40

R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-OH$ 、低級アルコキシ、低級アシルオキシ、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩である、請求項 2 6 に記載の薬用組成物。

【請求項 2 8】

R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-CH_3$ 又は $-(C=O)CH_2N(CH_3)_2$ 又はその塩である請求項 2 7 に記載の薬用組成物。

【請求項 2 9】

R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-OCH_3$ 又は $-(C=O)CH_2N(CH_3)_2$ 又はその塩である請求項 2 7 に記載の薬用組成物。

【請求項 3 0】

R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-CH_3$ 、 $-(C=O)CH_2N(CH_3)_2$ 又は $-(C$

50

$= O) CH_2 N^+ H (CH_3)_2 \cdot Cl^-$ であり、そして、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $- OCH_3$ 、 $- O (C = O) CH_2 N (CH_3)_2$ 又は、 $- O (C = O) CH_2 N^+ H (CH_3)_2 \cdot Cl^-$ である請求項 27 に記載の薬用組成物。

【請求項 31】

前記カテコールブタンが、NDGA ではないことを条件として、 R_1 及び R_2 が、独立的に、 $- H$ 又は $- CH_3$ であり、そして、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $- OH$ 又は $- OCH_3$ である請求項 27 に記載の薬用組成物。

【請求項 32】

R_1 及び R_2 が、独立的に、 $- CH_3$ であり、そして、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $- OCH_3$ である請求項 27 に記載の薬用組成物。

10

【請求項 33】

前記カテコールブタンが、NDGA である請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 34】

前記カテコールブタンが、NDGA 以外である請求項 1 に記載の薬用組成物。

【請求項 35】

請求項 1 に記載の薬用組成物を製造する方法であって、以下の工程、

(a) 請求項 25 ~ 34 のいずれか一項に記載の少なくとも 1 つのカテコールブタンを提供する工程、

(b) 請求項 16 ~ 24 のいずれか一項に記載の少なくとも 1 つの薬学的許容可能な担体又は賦形剤を提供する工程、

20

(c) 前記カテコールブタンと前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤とを組み合わせる工程、を含む薬用組成物を製造する方法。

【請求項 36】

そのような治療を必要とする対象体の肥満を治療する方法であって、以下の工程、

(a) 少なくとも 1 つのカテコールブタンと薬学的に許容可能な担体とを含む組成物を提供する工程、そして

(b) 前記組成物を前記対象体に治療的有效量投与する工程、を含む肥満を治療する方法。

【請求項 37】

前記方法が、前記組成物を鼻腔内投与することを含む請求項 36 に記載の方法。

30

【請求項 38】

前記方法が、前記組成物を経口投与することを含む請求項 36 に記載の方法。

【請求項 39】

前記方法が、前記組成物を吸入によって投与することを含む請求項 36 に記載の方法。

【請求項 40】

前記方法が、前記組成物を皮下投与することを含む請求項 36 に記載の方法。

【請求項 41】

前記方法が、前記組成物を経皮投与することを含む請求項 36 に記載の方法。

【請求項 42】

前記方法が、前記組成物を脂肪内投与することを含む請求項 36 に記載の方法。

40

【請求項 43】

前記方法が、前記組成物を局所投与することを含む請求項 36 に記載の方法。

【請求項 44】

前記方法が、前記組成物を静脈内投与することを含む請求項 36 に記載の方法。

【請求項 45】

前記方法が、前記組成物を口腔投与することを含む請求項 36 に記載の方法。

【請求項 46】

前記方法が、前記組成物を腹腔内投与することを含む請求項 36 に記載の方法。

【請求項 47】

前記方法が、前記組成物を筋肉内投与することを含む請求項 36 に記載の方法。

50

【請求項 4 8】

前記方法が、前記組成物を移植によって投与することを含む請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 4 9】

前記方法が、前記組成物を中心静脈経路で投与することを含む請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 5 0】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、ジメチルスルホキシド (D M S O) を含む請求項 3 6 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 1】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、リン酸緩衝生理食塩水を含む請求項 3 6 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。 10

【請求項 5 2】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、生理食塩水を含む請求項 3 6 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 3】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、脂質系製剤を含む請求項 3 6 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、リポソーム製剤を含む請求項 3 6 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。 20

【請求項 5 5】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、ナノ粒子製剤を含む請求項 3 6 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、ミセル製剤を含む請求項 3 6 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 7】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、水溶性製剤を含む請求項 3 6 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 8】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、生物分解性重合体を含む請求項 3 6 ~ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。 30

【請求項 5 9】

前記カテコールブタンが、請求項 2 5 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の式を有する請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 6 0】

前記カテコールブタンが、テトラ - O - メチル N D G A である請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 6 1】

前記カテコールブタンが、テトラグリシニル N D G A 又はテトラ - ジメチルグリシニル N D G A である請求項 3 6 に記載の方法。 40

【請求項 6 2】

前記カテコールブタンが、トリ - O - メチル N D G A を含む請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 6 3】

前記カテコールブタンが、N D G A である請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 6 4】

前記カテコールブタンが、N D G A 以外である請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 6 5】

前記方法は、少なくとも二つのカテコールブタンを投与する工程を含む請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 66】

前記二つのカテコールボタンが、実質的に同時に投与される請求項 65 に記載の方法。

【請求項 67】

前記二つのカテコールボタンが、異なる時間に投与される請求項 65 に記載の方法。

【請求項 68】

前記二つのカテコールボタンが、トリ - O - メチル NDGA、テトラ - O - メチル NDGA 及びテトラ - グリシニル NDGA、テトラ - ジメチルグリシニル NDGA から成るグループから選択される請求項 65 に記載の方法。

【請求項 69】

前記ナノ粒子製剤が、ポリ(DL - ラクチド - co - グリコリド)、ポリビニルアルコール、d - トコフェリル ポリエチレングリコール 1000 コハク酸塩、及びポリ(ラクチド - co - グリコリド) - モノメトキシ - ポリ(ポリエチレングリコール) から成るグループから選択される少なくとも 1 つを含む請求項 55 に記載の方法。

【請求項 70】

前記リポソーム製剤は、ホスファチジルコリン / コレステロール / PEG - DPPPE、ジステアロイルホスファチジルコリン / コレステロール / PEG - DPPPE、及び 1 - 2 - ジオレイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン / 1 - 2 - ジパルミトイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホ - rac - (1 - グリセロール) ナトリウム塩 / コレステロール / トリオlein / トリカプリリンから成るグループから選択される少なくとも 1 つを含む請求項 54 に記載の方法。

【請求項 71】

前記方法が、前記組成物を一度以上投与する工程を含む請求項 36 に記載の方法。

【請求項 72】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、水性製剤である請求項 36 に記載の方法。

【請求項 73】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、疎水性製剤を含む請求項 36 に記載の方法。

【請求項 74】

前記疎水性製剤が、脂質系賦形剤を含む請求項 73 に記載の方法。

【請求項 75】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、ヒマシ油、ピーナツ油、ジメチルスルホキシド、及びその他の食物脂肪又は油から成るグループから選択される少なくとも 1 つを含む請求項 36 に記載の方法。

【請求項 76】

前記組成物は、錠剤、散剤、ゲルカプセル剤及び液剤から成るグループから選択される少なくとも 1 つの形態に製剤される請求項 36 に記載の方法。

【請求項 77】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、重合体制剤を含む請求項 36 に記載の方法。

【請求項 78】

前記重合体制剤が、生物分解性重合体制剤である請求項 77 に記載の方法。

【請求項 79】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、一定時間に渡って、高い局所的薬剤濃度と持続的放出を許容する請求項 36 に記載の方法。

【請求項 80】

前記重合体制剤が、1, 3 - ビス(p - カルボキシフェノキシ)プロパン、セバシン酸、ポリ(エチレン - co - 酢酸ビニル)、及びポリ(ラクチド - co - グリコリド) から成るグループから選択される少なくとも 1 つを含む請求項 77 に記載の方法。

【請求項 81】

前記カテコールボタンが、投与前に、生理食塩水、DMSO 又はエタノールに溶解され

10

20

30

40

50

る請求項 36 に記載の方法。

【請求項 82】

前記組成物が、散剤、煙霧剤、水性製剤、リポソーム製剤、ナノ粒子製剤、及び疎水性製剤から成るグループから選択される少なくとも 1 つである請求項 36 に記載の方法。

【請求項 83】

前記組成物が、所定時間にわたって毎日投与される請求項 36 に記載の方法。

【請求項 84】

前記組成物が、間欠的に投与される請求項 36 に記載の方法。

【請求項 85】

前記カテコールボタンが、前記対象体内に注入される請求項 36 に記載の方法。

10

【請求項 86】

前記カテコールボタンが、水溶性化合物である請求項 36 に記載の方法。

【請求項 87】

前記カテコールボタンが、疎水性化合物である請求項 36 に記載の方法。

【請求項 88】

前記カテコールボタンが、液剤、煙霧剤、懸濁液、錠剤、散剤、又はゲルカプセル剤として製剤される請求項 36 に記載の方法。

【請求項 89】

前記カテコールボタンが、ヒトに対して、毎投与当たり、約 10 mg / kg 以上で 375 mg / kg 以下の範囲で投与される請求項 36 に記載の方法。

20

【請求項 90】

前記範囲が、毎投与当たり、約 10 mg / kg 以上で約 250 mg / kg 以下である請求項 89 に記載の方法。

【請求項 91】

前記範囲が、毎投与当たり、約 10 mg / kg 以上で約 200 mg / kg 以下である請求項 90 に記載の方法。

【請求項 92】

前記範囲が、毎投与当たり、約 10 mg / kg 以上で約 150 mg / kg 以下である請求項 91 に記載の方法。

【請求項 93】

前記範囲が、毎投与当たり、約 10 mg / kg 以上で約 100 mg / kg 以下である請求項 92 に記載の方法。

30

【請求項 94】

前記範囲が、毎投与当たり、約 10 mg / kg 以上で約 75 mg / kg 以下である請求項 93 に記載の方法。

【請求項 95】

前記範囲が、毎投与当たり、約 10 mg / kg 以上で約 50 mg / kg 以下である請求項 94 に記載の方法。

【請求項 96】

前記組成物が、静脈内投与される請求項 89 ~ 95 のいずれか一項に記載の方法。

40

【請求項 97】

前記カテコールボタンが、トリ - O - NDGA 又はテトラ - O - メチル NDGA である請求項 89 ~ 95 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 98】

請求項 1 に記載の薬用組成物と前記組成物の投与説明書とを含む肥満治療用キット。

【請求項 99】

そのような治療を必要とする対象体の肥満を治療する方法であって、以下の工程、
(a) テトラ - O - メチル NDGA と薬学的に許容可能な担体又は賦形剤とを含む組成物を提供する工程、そして
(b) 前記組成物を前記対象体に投与する工程、を含む肥満を治療する方法。

50

【請求項 1 0 0】

前記組成物が、経口投与される請求項 9 9 に記載の方法。

【請求項 1 0 1】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、油である請求項 1 0 0 に記載の方法。

【請求項 1 0 2】

前記油が、ヒマシ油又はコーン油である請求項 1 0 1 に記載の方法。

【請求項 1 0 3】

前記組成物が、食用混合物として存在する請求項 1 0 0 に記載の方法。

【請求項 1 0 4】

前記組成物が、所定期間毎日投与される請求項 1 0 0 に記載の方法。

10

【請求項 1 0 5】

前記組成物が、毎日、5 日間以上、1 週間投与される請求項 1 0 4 に記載の方法。

【請求項 1 0 6】

前記組成物が、毎日、5 日間以上、2 週間投与される請求項 1 0 4 に記載の方法。

【請求項 1 0 7】

前記組成物が、毎日、5 日間以上、3 週間投与される請求項 1 0 4 に記載の方法。

【請求項 1 0 8】

投与される前記テトラ - O - メチル N D G A の量が、毎投与当たり少なくとも 3 0 m g である請求項 1 0 0 に記載の方法。

20

【請求項 1 0 9】

投与される前記テトラ - O - メチル N D G A の量が、毎投与当たり少なくとも 9 0 m g である請求項 1 0 0 に記載の方法。

【請求項 1 1 0】

前記テトラ - O - メチル N D G A が、前記組成物中において 2 0 m g / m L の濃度で含まれる請求項 1 0 0 に記載の方法。

【請求項 1 1 1】

前記薬学的に許容可能な担体又は賦形剤が、Cremaphor EL、エタノール及び生理食塩水を含む請求項 9 9 に記載の方法。

【請求項 1 1 2】

前記Cremaphor EL濃度が、6 %である請求項 1 1 1 に記載の方法。

30

【請求項 1 1 3】

前記エタノール濃度が、6 %である請求項 1 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 1 4】

前記生理食塩水濃度が、8 8 %である請求項 1 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 1 5】

前記対象体に投与される前記組成物が、毎投与当たり少なくとも 2 m g のテトラ - O - メチル N D G A を含む請求項 1 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 1 6】

前記組成物が、静脈内投与される請求項 1 1 1 に記載の方法。

40

【請求項 1 1 7】

前記組成物が、腹腔内投与される請求項 1 1 1 に記載の方法。

【請求項 1 1 8】

前記組成物が、所定期間、6 日間毎に一回以上の頻度で投与される請求項 1 1 6 又は 1 1 7 に記載の方法。

【請求項 1 1 9】

前記組成物は、所定期間、2 日間毎に一回以上の頻度で投与される請求項 1 1 8 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

50

関連出願の相互参照

本出願は、35 U.S.C. § 119(e)に基づき、そのそれらすべての内容をここに参考文献として合体させる、2003年5月20日出願の「腫瘍の治療のためのNDGA誘導体の投与のための方法と組成物」と称する米国仮出願第60/472,188号、2003年5月20日出願の「腫瘍の治療のためのNDGA誘導体の投与のための方法と組成物」と称する米国仮出願第60/472,299号、2003年5月20日出願の「神経変性疾患、障害及び状態の治療のための方法と組成物」と称する米国仮出願第60/472,008号、2003年5月20日出願の「神経変性疾患、障害及び状態の治療のためのNDGA組成物と方法」と称する米国仮出願第60/472,144号、2003年5月20日出願の「高血圧症、糖尿病及び肥満治療のためのNDGA誘導体」と称する米国仮出願第60/472,282号、の優先権を主張する。 10

【0002】

発明の分野

本発明は、肥満の治療用などの、過体重対象体などに対する投与のためのカテコールブタンを含有する、キット、方法及び組成物に関する。本発明は、更に、前述の組成物の製造方法にも関する。いくつかの実施例において、カテコールブタンが、疾患組織に対する直接注射以外、及び、皮膚に対する局所的塗布以外の投与経路で対象体に投与される。本発明は、更に、そのような治療に適して調合される単数又は複数のカテコールブタンを含む組成物にも関する。

【背景技術】

20

【0003】

肥満の治療のための新しい薬剤の開発にも拘わらず、これらの薬剤の多くは、副作用を有するものであり、これらの薬剤のいくつかは、既に、治療された患者の一部の死亡を含む重篤な副作用のために、FDAの認可後に市場から取り除かれている。

【0004】

米国特許5,827,898におけるカンドゥワラ(Khandwala)他そしてエム・ジェイ(M.J.)他(1999)は、げっ歯類において、血清グルコース、血清トリグリセリド、血清非エステル型脂肪酸を低減するためのノルジヒドロゲアヤレチック酸(“NDGA”)の使用について記載している。マウリ,エム・エス(Mowri, M.S)他(1999)は、高血圧を低減するためのNDGAの使用について記載している。これらの疾患又は状態におけるNDGAの作用機序は判っていない。 30

【0005】

ノルジヒドロゲアヤレチック酸(“NDGA”)を含むカテコールブタン、及びその誘導体は、ある種の実験動物において腫瘍の成長を抑制するために使用されてきた。例えば、米国特許5,008,294でジョーダン(Jordan)他は、胸腺欠損ヌードNCrマウスにおいて乳がんMX-1異種移植片に対して単回投与のNDGAを使用することを記載している。1つの実験において、前記マウスの腋窩領域への14mgフラグメントのヒト乳がんの皮下移植後、1日に、その腫瘍にNDGAを投与した。ジョーダン(Jordan)他は、更に、胸腺欠損マウスのヒト乳がんの移植の23日後のNDGAの局所投与について記載している。それらの実験において腫瘍の成長の抑制の証拠が観察されたが、その抗腫瘍作用が望ましいものであったか否かは不明である。 40

【0006】

米国特許6,417,234号及び6,214,874号においてフアン(Huang)他は、テトラ-O-メチルNDGA又はM₄Nと命名されたNDGA誘導体と、G₄Nと命名された別のNDGA誘導体とを別々又はいっしょに、HPV-16形質転換不死化マウス上皮細胞(C3)を移植されたマウスに腫瘍内注射することについて記載している。フアン(Huang)他は、更に、これらNDGA誘導体による腫瘍成長の抑制のいくつかの証拠も見出している。これらのNDGA誘導体等のような組成物がヒトなどの他の動物に対して安全に投与可能であるか否かについては知られていない。

【発明の開示】

50

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

肥満の治療、更に、過体重の対象体の治療のための新規な組成物及び方法が発見されることが望ましい。

【課題を解決するための手段】

【0008】

発明の要旨

従って、本発明の対象の一つは、そのような治療を必要とする対象体の肥満の治療などの、過体重対象体の予防又は治療のための方法と組成物とを提供することにある。

【0009】

本発明の対象のもう一つは、上述した肥満の予防又は治療に有効な、NDGA化合物を含む、カテコールブタンを投与するための単数又は複数の方法を提供することにある。

【0010】

本発明の対象の更にもう一つは、肥満の治療に適した製剤中に、前記NDGA化合物を含む単数又は複数のカテコールブタンを有する組成物を提供することにある。

【0011】

本発明の前記対象の一つに拠れば、例えばヒトなどの動物などのそのような治療を必要とする対象体の肥満を治療するための薬用組成物が提供され、前記組成物が、少なくとも1つのカテコールブタンと、薬用的に許容可能な担体又は賦形剤とを含み、前記組成物が、疾患組織に対して、直接注射又は局所的塗布以外の経路によって投与されるように製剤

10

20

【0012】

前記対象のもう一つに拠れば、上述した組成物であって、該組成物が、鼻腔内投与、経口投与、遅効性又は速効性カプセル剤を介するものを含む、吸入、皮下投与、経皮投与、脂肪内 (intra-adipose) 投与 (即ち、脂肪 (fat) 内へ)、局所投与、静脈内投与、口腔投与、腹腔内投与、眼内投与、中心静脈投与、筋肉内投与、又は移植用に製剤された組成物が提供される。

【0013】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した組成物であって、前記薬学的許容可能な担体又は賦形剤が、ジメチルスルホキシド (DMSO)、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS)、生理食塩水、ヒマシ油やコーン油などの油、Cremaphor PL、及びエタノールを含む。

30

【0014】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した組成物であって、前記薬学的許容可能な担体又は賦形剤が、脂質系製剤、リポソーム製剤、ナノ粒子製剤、ミセル製剤、水溶性製剤、Cremaphor EL / エタノール / 生理食塩水製剤、又は、上述のいずれかを生物分解性重合体中に含む。

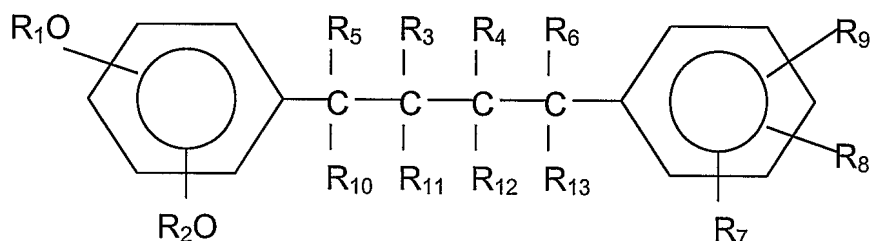
【0015】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した組成物であって、前記カテコールブタンが、以下の構造式を有する。

【0016】

40

【化2】



ここで、 R_1 及び R_2 が、独立的に、-H、低級アルキル、低級アシル、アルキレン又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩であり、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 、 R_{11}

50

、 R_{12} 及び R_{13} が、独立的に、 $-H$ 又は低級アルキルであり、そして、 R_7 、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-H$ 、 $-OH$ 、低級アルコキシ、低級アシルオキシ、又は任意の隣接する二つの基が共にジオキシ アルキエン (alkylene dioxy) とすることができ、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩である。

【0017】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述したカテコールアミンであって、 R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-H$ 、低級アルキル、低級アシル、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩であり、 R_3 、 R_4 が、独立的に、低級アルキルであり、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} が、独立的に、 $-H$ であり、 R_7 、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-H$ 、 $-OH$ 、低級アルコキシ、低級アシルオキシ、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩とすることができる。

10

【0018】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述したカテコールアミンであって、 R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-H$ 、低級アルキル、低級アシル、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩であり、 R_3 、 R_4 が、独立的に、低級アルキルであり、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} が、独立的に、 $-H$ であり、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-OH$ 、低級アルコキシ、低級アシルオキシ、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩とすることができる。

【0019】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述したカテコールブタンであって、 R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-CH_3$ 又は $-(C=O)CH_2N(CH_3)_2$ 又はその塩である。

20

【0020】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述したカテコールブタンであって、 R_8 と R_9 が、独立的に、 $-OCH_3$ 又は $-O(C=O)CH_2N(CH_3)_2$ 又はその塩である。

【0021】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述したカテコールブタンであって、 R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-CH_3$ 又は $-(C=O)CH_2N(CH_3)_2$ 又は、 $-(C=O)CH_2N^+H(CH_3)_2 \cdot Cl^-$ であり、そして R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-OCH_3$ 、 $-O(C=O)CH_2N(CH_3)_2$ 又は、 $-O(C=O)CH_2N^+H(CH_3)_2 \cdot Cl^-$ である。

30

【0022】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述したカテコールブタンであって、該カテコールブタンがNDGAではないことを条件として、 R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-H$ 、又は、 $-CH_3$ であり、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-OH$ 、又は、 $-OCH_3$ である。

【0023】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述したカテコールブタンであって、 R_1 と R_2 が、独立的に、 $-CH_3$ であり、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-OCH_3$ である。

【0024】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述したカテコールブタンであって、該カテコールブタンがNDGAである。

40

【0025】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述したカテコールブタンであって、該カテコールブタンがNDGA以外である。

【0026】

前記対象の更にもう一つに拠れば、カテコールブタンを含有する薬用組成物を製造する方法が提供され、前記方法が、上述したカテコールブタンと、上述した薬学的許容可能な担体又は賦形剤とを提供する工程と、前記カテコールブタンと前記薬学的許容可能な担体又は賦形剤とを組み合わせる工程とを含む。

【0027】

前記対象の更にもう一つに拠れば、それを必要とする対象体の肥満を治療する方法が提

50

供され、前記方法が上述した組成物のいずれかを前記対象体に投与する工程を有する。

【0028】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した方法であって、前記組成物が、鼻腔内投与、経口投与、遅効性又は速効性カプセル剤を介するものを含む、吸入、皮下投与、経皮投与、脂肪内投与、局所投与、静脈内投与、口腔投与、腹腔内投与、眼内投与、中心静脈投与、筋肉内投与、又は移植、用に製剤される。

【0029】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記薬学的許容可能な担体又は賦形剤が、ジメチルスルホキシド(DMSO)、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)、生理食塩水、ヒマシ油やコーン油などの油、Cremaphor PL、及びエタノールを含む。

10

【0030】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記薬学的許容可能な担体または賦形剤が、脂質系製剤、リポソーム製剤、ナノ粒子製剤、ミセル製剤、水溶性製剤、Cremaphor EL/エタノール/生理食塩水製剤、又は、上述のいずれかを生物分解性重合体中に含む。

【0031】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが上記式を有する。

【0032】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが、テトラ-O-メチルNDGAである。

20

【0033】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが、テトラ-ジメチルグリシニルNDGAである。

【0034】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが、トリ-O-メチルNDGAである。

【0035】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが、NDGAである。

30

【0036】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが、NDGA以外である。

【0037】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記方法が、少なくとも二つのカテコールブタンを投与する工程を含む。

【0038】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記二つのカテコールブタンが、実質的に同時に投与される。

【0039】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記二つのカテコールブタンが、異なる時間に投与される。

40

【0040】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記二つのカテコールブタンは、テトラ-O-メチルNDGA、トリ-O-メチルNDGA及びテトラ-ジメチルグリシニルNDGAから成るグループから選択される。

【0041】

前記対象の更にもう一つに拠れば、上述した治療方法であって、前記ナノ粒子製剤が、ポリ(DL-ラクチド-co-グリコリド)、ポリビニルアルコール、d-トコフェリル ポリエチレングリコール 1000 コハク酸塩及びポリ(ラクチド-co-グリ

50

コリド) - モノメトキシ - ポリ (ポリエチレングリコール) から成るグループから選択される少なくとも1つを含む。

【 0 0 4 2 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記リポソーム製剤が、ホスファチジルコリン / コレステロール / P E G - D P P E、ジステアロイルホスファチジルコリン / コレステロール / P E G - D P P E、及び 1 - 2 - ジオレオイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホコリン / 1 - 2 - ジパルミトイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホ - r a c - (1 - グリセロール) ナトリウム塩 / コレステロール / トリオレイン / トリカプリリンから成るグループから選択される少なくとも1つを含む。

【 0 0 4 3 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記方法が、前記組成物を一度以上投与する工程を含む。

【 0 0 4 4 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記薬学的許容可能な担体又は賦形剤が、水性製剤である。

【 0 0 4 5 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記薬学的許容可能な担体又は賦形剤が、疎水性製剤である。

【 0 0 4 6 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記疎水性製剤が、脂質系賦形剤を含む。

【 0 0 4 7 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記薬学的許容可能な担体又は賦形剤が、ヒマシ油、ピーナツ油、ジメチルスルホキシド、及びその他の食事性脂肪又は油から成るグループから選択される少なくとも1つを含む。

【 0 0 4 8 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記組成物が、錠剤、散剤、ゲルカプセル剤及び液剤から成るグループから選択される少なくとも1つの形態に製剤される。

【 0 0 4 9 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記薬学的許容可能な担体又は賦形剤が、重合体制剤を含む。

【 0 0 5 0 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記重合体制剤が、生物分解性重合体制剤である。

【 0 0 5 1 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記薬学的許容可能な担体又は賦形剤が、一定時間に渡って、高い局所的薬剤濃度と持続的放出を許容する。

【 0 0 5 2 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記重合体制剤が、1, 3 - ビス (p - カルボキシフェノキシ) プロパン、セバシン酸、ポリ (エチレン - c o - 酢酸ビニル) 及びポリ (ラクチド - c o - グリコリド) から成るグループから選択される少なくとも1つを含む。

【 0 0 5 3 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが、投与前に、食塩水、D M S O又はエタノールに溶解される。

【 0 0 5 4 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記組成物が、散剤、煙霧剤、水性製剤、リポソーム製剤、ナノ粒子製剤、及び疎水性製剤から成るグループから選択される少なくとも1つである。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 5 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記組成物が、所定時間に渡って毎日投与される。

【 0 0 5 6 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記組成物が、間欠的に投与される。

【 0 0 5 7 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが、前記対象体内に注入される。

【 0 0 5 8 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが、水溶性化合物である。

【 0 0 5 9 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが、疎水性化合物である。

【 0 0 6 0 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが、液剤、煙霧剤、懸濁液、錠剤、散剤、又はゲルカプセル剤として製剤される。

【 0 0 6 1 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが、ヒトに対して、毎投与当たり、約 1 0 m g / k g 以上で 3 7 5 m g / k g 以下の範囲で投与される。

【 0 0 6 2 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記範囲は、毎投与当たり、約 1 0 m g / k g 以上で 2 5 0 m g / k g 以下の範囲で投与される。

【 0 0 6 3 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記範囲が、毎投与当たり、約 1 0 m g / k g 以上で約 2 0 0 m g / k g 以下である。

【 0 0 6 4 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記範囲が、毎投与当たり、約 1 0 m g / k g 以上で約 1 5 0 m g / k g 以下である。

【 0 0 6 5 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記範囲が、毎投与当たり、約 1 0 m g / k g 以上で約 1 0 0 m g / k g 以下である。

【 0 0 6 6 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記範囲が、毎投与当たり、約 1 0 m g / k g 以上で約 7 5 m g / k g 以下である。

【 0 0 6 7 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記範囲が、毎投与当たり、約 1 0 m g / k g 以上で約 5 0 m g / k g 以下である。

【 0 0 6 8 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記組成物が静脈内投与される。

【 0 0 6 9 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記組成物が経口投与される。

【 0 0 7 0 】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述した治療方法であって、前記カテコールブタンが、トリ - O - N D G A 又はテトラ - O - メチル N D G A である。

【 0 0 7 1 】

10

20

30

40

50

前記対象の更にもう一つに抛れば、肥満治療用のキットが提供され、これは、上述した薬用組成物と該組成物の投与の取扱指示とを含む。

【0072】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述の肥満治療用の方法であって、前記薬学的許容可能な担体又は賦形剤が、ヒマシ油、又はコーン油などの油である。

【0073】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述の肥満治療用の方法であって、前記組成物が、食用混合物 (mix) として提供される。

【0074】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述の肥満治療用の方法であって、前記組成物は、例えば、毎日5日以上1週間、毎日5日以上2週間、毎日5日以上3週間等、所定の期間にわたって毎日投与される。

【0075】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述の肥満治療用の方法であって、投与される前記テトラ - O - メチルNDGAの量が、毎投与当たり少なくとも30mg、或いは、選択的に、毎投与当たり少なくとも90mgである。

【0076】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述の肥満治療用の方法であって、前記組成物中においてテトラ - O - メチルNDGAが、20mg/mLの濃度で含まれる。

【0077】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述の肥満治療用の方法であって、前記薬学的許容可能な担体又は賦形剤が、Cremaphor EL、エタノール及び生理食塩水を含み、Cremaphor ELは約6%の濃度で含有可能であり、エタノールは約6%の濃度で含有可能であり、そして生理食塩水は約88%の濃度で含有可能である。

【0078】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述の肥満治療用の方法であって、前記対象体に投与される前記組成物が、毎投与当たり少なくとも2mgのテトラ - O - メチルNDGAを含む。

【0079】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述の肥満治療用の方法であって、前記組成物が、静脈内又は腹腔内投与される。

【0080】

前記対象の更にもう一つに抛れば、上述の肥満治療用の方法であって、前記組成物が、所定期間にわたって6日間毎に一回、又は、選択的に、所定期間にわたって2日間毎に一回、以上の頻度で投与される。

【0081】

本発明のその他の対象、特徴及び利点は、本記載を読むことによって当業者に明らかとなるであろう。そのような他の対象、特徴及び利点も、本発明によって実施されるものと理解される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0082】

図面の簡単な説明

図1は、肥満の治療のために、組織に対してNDGA誘導体を投与する種々の態様の具体例の略図である。M₄Nは、親水性NDGAを表し、G₄Nは親油性NDGAを表す。SCは、皮下投与を表す。IPは腹腔内投与を表す。IMは、筋肉内投与を表す。

【0083】

発明の開示

本発明者等は、下記の式のカテコールブタンを発見した。

【0084】

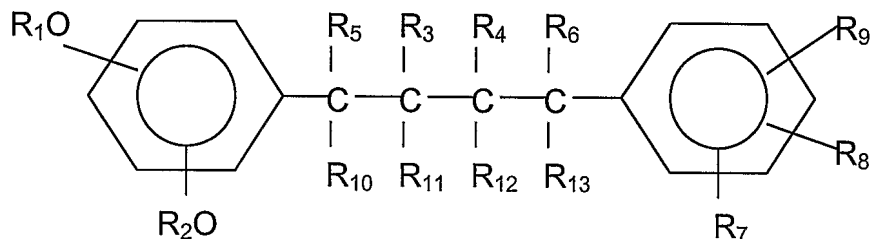
10

20

30

40

【化 3】



【0085】

ここで、 R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-H$ 、低級アルキル、低級アシル、アルキレン又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩であり、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} が、独立的に、 $-H$ 又は低級アルキルであり、 R_7 、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-H$ 、 $-OH$ 、低級アルコキシ、低級アシルオキシ、又は任意の隣接する二つの基が共にジオキシアルキエンであってもよく、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩である、が肥満の治療のために有用である。そのようなカテコールブタンを、薬剂的に許容可能な担体又は賦形剤と組み合わせて、多様な投与経路用に製剤可能な薬用組成物を作り出すことができる。

10

【0086】

本発明の別実施形態において、前記カテコールブタンは、上記式を有し、 R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-H$ 、低級アルキル、低級アシル、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩であり、 R_3 、 R_4 が、独立的に、低級アルキルであり、 R_5 、 R_6 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} が、独立的に、 $-H$ であり、 R_7 、 R_8 及び R_9 は、独立的に、 $-H$ 、 $-OH$ 、低級アルコキシ、低級アシルオキシ、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩である。

20

【0087】

本発明の更に別の実施形態において、前記薬用組成物は上記式を有し、ここで、 R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-H$ 、低級アルキル、低級アシル、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩であり、 R_3 、 R_4 が、独立的に、低級アルキルであり、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_{10} 、 R_{11} 、 R_{12} 及び R_{13} が、独立的に、 $-H$ であり、 R_8 及び R_9 は、独立的に、 $-OH$ 、低級アルコキシ、低級アシルオキシ、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩

30

【0088】

本発明の更に別の実施形態において、前記薬用組成物は上記式を有し、ここで、 R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-CH_3$ 又は $-(C=O)CH_2N(CH_3)_2$ 又はその塩である。

【0089】

本発明の更に別の実施形態において、前記薬用組成物は上記式を有し、ここで、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-OCH_3$ 又は $-O(C=O)CH_2N(CH_3)_2$ 又はその塩である。

40

【0090】

本発明の更に別の実施形態において、前記薬用組成物は上記式を有し、ここで、 R_1 及び R_2 とは、独立的に、 $-CH_3$ 又は $-(C=O)CH_2N(CH_3)_2$ 又は、 $-(C=O)CH_2N^+H(CH_3)_2 \cdot Cl^-$ であり、そして R_8 及び R_9 とは、独立的に、 $-OCH_3$ 、 $-O(C=O)CH_2N(CH_3)_2$ 又は、 $-O(C=O)CH_2N^+H(CH_3)_2 \cdot Cl^-$ である。

【0091】

本発明の更に別の実施形態において、前記薬用組成物は上記式を有し、ここで、該カテコールブタンがNDGAではないことを条件として、 R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-H$ 又は $-CH_3$ であり、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-OH$ 又は $-OCH_3$ である。

【0092】

50

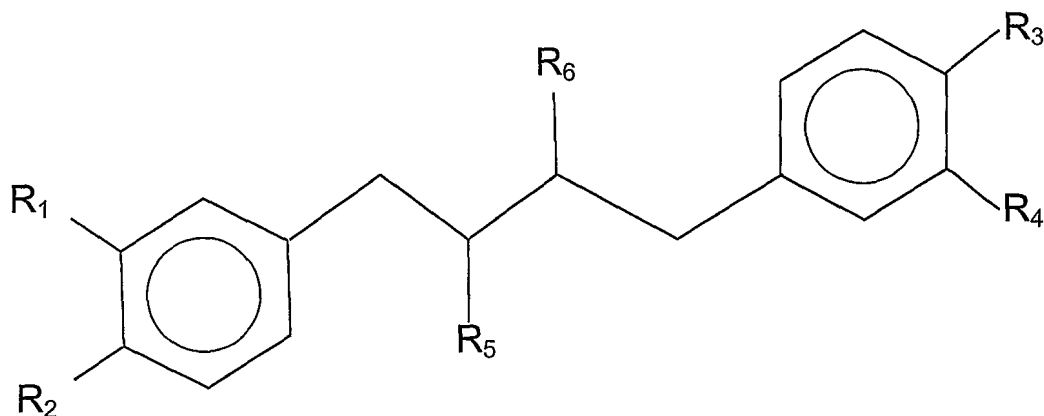
本発明の更に別の実施形態において、前記薬用組成物は上記式を有し、ここで、 R_1 及び R_2 が、独立的に、 $-CH_3$ であり、 R_8 及び R_9 が、独立的に、 $-OCH_3$ である。

【0093】

本発明の更に別の実施形態において、前記カテコールブタンはNDGAである。本発明の更に別の実施形態において、前記カテコールブタンはNDGA以外である。

【0094】

【化4】



10

【0095】

本発明者は、少なくとも1つのNDGA誘導体の実質的に純粋な製剤を含む組成物が肥満の治療に有効であるという驚くべき発見をした。この知見は、NDGA化合物は、元々、他の目的のために投与されてきたものであり、体重減少は予想外の副作用であったために、思いがけないものであり、真に驚くべきものであった。

20

【0096】

ここでの前記NDGA化合物は、上述の式を有し、 R_1 、 R_2 、 R_3 及び R_4 が、独立的に $-OH$ 、 $-OCH_3$ のような低級アルコキシ、 $-O(C=O)CH_3$ のような低級アシルオキシ、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩であるが、夫々が同時に $-OH$ ではなく、 R_5 、 R_6 が、独立的に、 $-H$ 又はアルキル、例えば、 $-CH_3$ 又は $-CH_2CH_3$ のような低級アルキル、を表す。一実施形態において、 R_5 及び R_6 が、共に、 $-H$ 、 $-CH_3$ 又は $-CH_2CH_3$ とすることができる。

30

【0097】

前記NDGAを含む適当な製剤形態における本発明のカテコールブタンは、鼻腔内投与によってそのような治療を必要とする単数又は複数の対象体に安全に投与することができる。或いは、選択的に、カテコールブタン又はNDGAは、吸入によって投与することができる。更に選択的に、そのようなカテコールブタン又はNDGA化合物は、たとえば食物と混合することによって、口腔投与等の経口的又は眼内投与によって投与することができる。

【0098】

更に、前記カテコールブタン又はNDGA化合物は、リポソーム製剤、ナノ粒子製剤、又は、ミセル製剤として、追加的に、全身投与、例えば中心静脈への注射などによる静脈内投与、又は、腹腔内投与、間質内投与、皮下投与、経皮投与、筋肉内投与、脂肪内投与、又は局所投与、によって安全に投与することができる。

40

【0099】

更に、リポソーム製剤、ナノ粒子製剤、又は、ミセル製剤として、前記カテコールブタン又はNDGA化合物を、生物分解性重合体制剤中に埋め込んで、皮下移植などによって安全に投与することができる。

【0100】

本発明の一実施形態において、ここに記載の目的のための投与経路は、非経口 (parenteral) 投与以外によるものであり、ここで、非経口投与とは、静脈内、筋肉内、皮下、経

50

皮、及び腹腔内投与を意味する。

【0101】

本発明は、更に、肥満の治療用の、カテコールブタン又はNDGA化合物を含有する薬用組成物を提供し、ここで、前記組成物は、例えば、錠剤、親水性又は疎水性のいずれかである液剤、凍結乾燥から生じるものなどの散剤、煙霧剤、の形態で、又は、水性水溶性組成物、疎水性組成物、リポソーム組成物、ミセル組成物、例えばTween 80又はジブロック共重合体をベースとするもの、ナノ粒子組成物、重合体組成物、シクロデキストリン錯体組成物、エマルジョン、「リポコア (lipocores)」と称される脂質系ナノ粒子、の形態で、上述の投与経路用に製剤される。

【0102】

本発明は、更に、本発明の前記薬用組成物を製造する方法を提供し、前記方法は、前記カテコールブタン又はNDGA化合物を実質的に純粋な形態で提供する工程と、前記組成物を薬学的許容可能な担体又は賦形剤と組み合わせる工程と、前記組成物を、所望の投与形態に適合するように製剤する工程とを含む。

【0103】

本発明は、更に、非限定的に、鼻腔内投与、吸入、経口投与、脂肪内投与、局所投与、静脈内投与、腹腔内投与、及びその他の非経口投与、を含む上述した投与のために製剤される、上述した組成物又は製剤と、そのような投与のための取扱指示とを含む、肥満治療のためのキットを提供する。

【0104】

特に別の定義がされない限り、ここに使用される全ての技術及び科学用語は、本発明が属する技術の当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。本発明は、以下の特定の意味に鑑みてより良く理解されるであろう。

【0105】

定義

ここでの使用において「活性剤」、「化合物」及び「薬剤」という用語は、NDGA及びNDGA誘導体を含む単数又は複数のカテコールブタンを意味する。

【0106】

ここでの使用において「ジオキシアルキレン」という用語は、ジオキシメチレン（又は置換メチレン）、又はジオキシエチレン（又は置換エチレン）を意味する。

【0107】

ここで、前記カテコールブタンに関する式中のR基の1つに言及して使用される「アミノ酸残基又はその置換物又は塩」という用語は、非限定的に、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリジン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニールアラニン、プロリン、セリン、トレオニン、3-メチルヒスチジン、-N-メチルリジン、-N,N,N-トリメチルリジン、アミノアジピン酸、-カロキシグルタミン酸、ホスホセリン、ホスホトレオニン、ホスホチロシン、N-メチルアルギニン、N-アセチルリジン、及びN,N-ジメチル置換アミノ酸残基又はその塩を含む、アミノ酸、置換アミノ酸、またはアミノ酸残基又は置換アミノ酸残基の塩である。

【0108】

「低級アルキル」という用語は、C1 - C6アルキルを意味する。

【0109】

「低級アシル」という用語は、C1 - C6アシルを意味する。

【0110】

「NDGA化合物」という用語は、NDGAおよび/又はNDGA誘導体、を別々又は総称的に意味する。

【0111】

「NDGA誘導体」という用語は、それぞれが下記の式を有する単数又は複数の化合物を意味する。

10

20

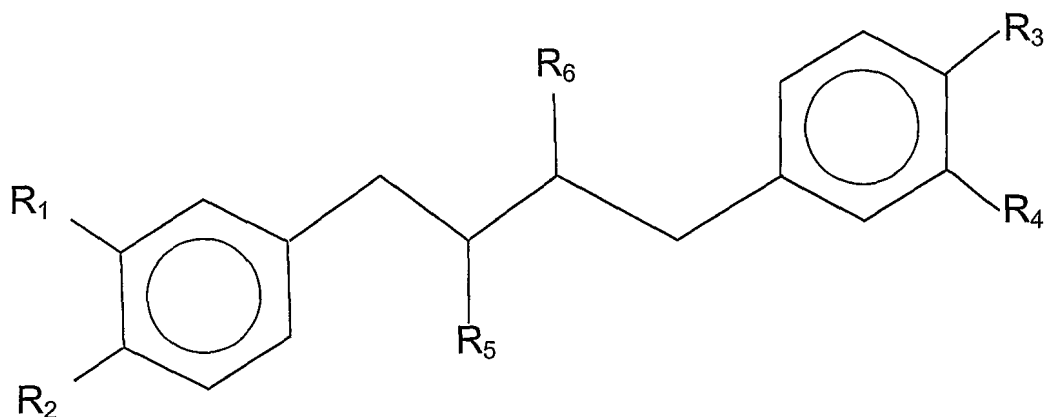
30

40

50

【 0 1 1 2 】

【 化 5 】



10

【 0 1 1 3 】

ここで、 R_1 、 R_2 、 R_3 及び R_4 が、独立的に -OH、低級アルコキシ、低級アシルオキシ、又はアミノ酸残基又はその置換物又は塩であるが、夫々が同時に -OH ではなく、 R_5 、 R_6 が、独立的に、-H 又は低級アルキルのようなアルキルである。前記用語は、例えば、 R_1 、 R_2 、 R_3 、及び R_4 が、それぞれ -OCH₃、又は、それぞれが -O(C=O)CH₃ であり、 R_5 、 R_6 が、それぞれが -H 又は -低級アルキルである。本発明の一実施形態において、 R_5 、 R_6 が、それぞれ -CH₃ 又は -CH₂CH₃ である。

20

【 0 1 1 4 】

ここで、前記カテコールブタン又はNDGA化合物に言及する「実質的に純粋な」化合物とは、本発明の前記カテコールブタン又はNDGA化合物ではない化合物（以下、「非NDGA物質」）を実質的に含まないものを意味する。実質的に含まないとは、少なくとも50%、好ましくは少なくとも70%、更に好ましくは少なくとも80%、更に好ましくは少なくとも90%が非NDGA物質を含まないことを意味する。

【 0 1 1 5 】

ここでの使用に適した「緩衝剤」は、トリス、リン酸、イミダゾール、重炭酸塩、等の当該技術における任意の従来の緩衝剤を含む。

30

【 0 1 1 6 】

ここでの使用において、「治療」、「治療する」等の用語は、所望の薬理学および/又は生理学的効果を得ることを意味する。前記効果は、症状、疾患又はその徴候を完全又は部分的に防止する意味において予防的なものであってよく、及び/又は、症状又は疾患及び/又はその病状又は疾患に起因する有害作用の部分的又は完全な治癒の意味において治療的なものであってもよい。従って、「治療」は、哺乳動物、特にヒト、の症状又は疾患の任意の治療をカバーし、(a)そのような症状または疾患を生まれつき有するかもしれないが、まだそれ有するものと診断されたことのない対象体においてそのような症状又は疾患が発生することを防止すること、(b)そのような症状又は疾患の抑制、例えば、その発達の阻止、そして(c)そのような症状又は疾患の緩和、軽減又は改善、例えば、そのような症状又は疾患の緩和、を含む。

40

【 0 1 1 7 】

「薬剤的に許容可能な担体」とは、任意の従来タイプの、非毒性固体、半固体、液体充填剤、希釈剤、カプセル剤化剤、又は補助製剤を意味する。「薬剤的に許容可能な担体」は、使用される投与量及び濃度で受容者に対して非毒性であり、前記製剤のその他の成分と互換性のものである。例えば、本発明のカテコールブタン又はNDGA化合物を含有する製剤用の担体は、酸化剤や、そのようなものに対して有害であることが知られているその他の化合物を含まない。適当な担体は、非限定的に、水、ブドウ糖、グリセロール、生理食塩水、エタノール、緩衝剤、ジメチルスルホキシド、Cremaphor EI、及びこれらの組

50

み合わせ、を含む。前記担体は、湿潤剤又は乳化剤又はpH-緩衝剤、等の追加の物質を含むことができる。必要であれば、酸化防止剤、湿潤剤、粘度安定化剤、その他類似の物質を添加することができる。

【0118】

ここで、薬剂的に許容可能な塩は、例えば、塩酸塩やリン酸塩などの無機酸塩、又は、酢酸、マンデル酸、シュウ酸、酒石酸等の有機酸によって形成される酸付加塩（ポリペプチドの遊離アミノ基で形成される）を含む。前記遊離カルボキシル基で形成される塩は、例えば、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、又は水酸化鉄などの無機塩、及び、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、2-エチルアミノエタノール及びヒスチジンなどの有機塩から導くこともできる。

10

【0119】

「薬剂的に許容可能な賦形剤」という用語は、容易に大衆にとって入手可能な、当該技術において従来のものである、溶媒（vehicle）、アジュバント、又は希釈剤、又はその他の補助物質、を含む。例えば、薬学的に許容可能な補助物質には、pH調整及び緩衝剤、緊張調整剤、安定化剤、湿潤剤等を含む。

【0120】

ここで、互換的に使用される「対象体」、「ホスト」及び「患者」は、本発明の組成物によって治療される動物を称し、非限定的に、猿、ヒト、ネコ、イヌ、ウマ、げっ歯類、ウシ、ブタ、羊、ヤギ、哺乳家畜動物、哺乳スポーツ動物、哺乳ペット動物を含む。

【0121】

ここでの使用において、「肥満」又は「過体重」という用語は、体内における過剰な脂肪の蓄積の結果としての、骨格及び肉体的要求の限度を超える体重の増加を意味する。従って、この用語は、理想体重の約5%以上、約10%以上、例えば約15%以上、理想体重の約20%以上などである体重をカバーすることが意図されている。

20

【0122】

本発明を更に記載する前に、本発明は、ここに記載される実施形態に限定されるものではなく、勿論、改変可能である、と理解される。又、ここで使用される用語は、特定の実施形態を記載する目的のものであって、本発明の範囲は貼付のクレームによってのみ限定されるものであることから、限定を意図するものではないことも理解される。

【0123】

ある範囲の値が提供される場合、特に明確に記載されていない限り、その範囲の上限と下限との間の、下限の単位の1/10までの各中間値、及び、その記載におけるいずれかの他の記載又は介入値が本発明の範囲に含まれると理解される。これらのより小さな範囲の上限及び下限は、その記載の範囲から特に具体的に除外されている限界値を除き、独立的にその小さな範囲に含まれ、従って、本発明の範囲に含まれる。記載の範囲がそれらの限界値の一方又は両方を含む場合、それらの含まれる限界値の一方又は両方を除く範囲も、本発明に含まれる。

30

【0124】

特許、特許出願、及び定期刊行物の記事を含む、ここに記載する全ての刊行物は、それらもここに参考文献として合体させるその中において引用されている文献を含めて、その全体がここに参考文献として合体される。

40

【0125】

ここでの使用において、“a”、“an”、“the”の単数形は、文脈からそうでないことが明らかである場合を除き、複数形も含むものであることが銘記されなければならない。したがって、例えば、“a compound”（「化合物」）は、複数のそのような化合物を含み、“the NDGA Compound”（「NDGA化合物」）は、単数又は複数のNDGA化合物と、当業者に知られているそれらの均等物とに対する言及を含む。

【0126】

ここに記載の刊行物は、本出願の出願前にそれらを開示することを唯一の目的として提供されるものである。ここに記載のいずれも、本発明が前の発明によってそのような刊行

50

物よりも以前のものである権利を有さないことの自白として解釈されてはならない。更に、提供される刊行物の日付は、独立的に確認を必要するかもしれない実際の公開日とは異なっているかもしれない。

【0127】

以下に記載する発明は、例示的にのみ提供されるものであって、いかなる意味においても本発明を限定するものと解釈されるものではない。

【0128】

カテコールブタンの調製

本発明のカテコールブタンは、任意の従来方法によって調製することができる。例えば、そのような化合物は、米国特許5,008,294号に記載されているように調製することができる。

【0129】

NDGA化合物の調製

前記NDGA化合物及びその製剤は、任意の従来式の方法によって製造することができる。例えば、前記NDGA化合物は、米国特許5,008,294号（ジョーダン（Jordan）他、1991年4月16日発行）、米国特許6,291,524号（フアン（Huang）他、2001年9月18日発行）、フー、ジェイ・アール（Hwu, J.R.）（1998）又はマクドナルド、アール・ダブリュ（McDonald, R.W.）他（2001）に記載されているように製造することができる。

【0130】

本発明の一実施形態において、NDGA化合物、テトラ-O-メチルNDGA、メソ-1,4-ビス（3,4-ジメトキシフェニル）-2,3-ジメチルブタン、又はM₄Nとしても知られている、は、以下のように製造される。反応フラスコ内で、メタノール中にNDGAと水酸化カリウムとを含む溶液を製造する。次に、この反応フラスコに硫酸ジメチルを添加し、反応を進行させる。反応を水によって最終的に終わらせ、生成物を沈殿させる。この沈殿物を、濾過によって分離し、真空炉内で乾燥させる。次に、この化合物を、塩化メチレンとトルエンの溶液に溶解させ、その後、アルミナカラムを通して精製する。溶媒を、回転蒸発によって除去し、固形物をイソプロパノール中で再懸濁させ、濾過によって分離する。濾液を真空炉内で乾燥させる。得られたテトラ-O-メチルNDGA（M₄N）を、前記濾液をイソプロパノール中で還流させることによって結晶化させ、結晶を濾過によって分離する。

【0131】

本発明のいくつかの実施形態において、メソ1,4-ビス[3,4-（ジメチルアミノアセトキシ）フェニル]-（2R,3S）-ジメチルブタンとしても知られているG₄Nや、時として、テトラグリシナルNDGAとしても知られているテトラ-ジメチルグリシニルNDGA、等の本発明のある種のNDGA化合物、又は、その塩酸塩、及びアミノ酸置換物を有する類似の化合物、も、例えば、米国特許6,417,234に記載されているもののような従来方法によって調製することができる。

【0132】

組成物

本発明は、更に、前記NDGA化合物と、薬剂的に許容可能な担体又は賦形剤を含む前記カテコールブタンを有する、薬用組成物も提供する。これらの組成物は、前記カテコールブタン又はNDGA化合物の所望の利用法に応じて選択可能な緩衝剤を含むことができる、更に、その意図される利用法に適したその他の物質も含むことができる。当業者は、意図される利用法に適した、多種多様なものが知られている緩衝剤を、容易に選択することができる。いくつかの場合、前記組成物は、多様なものが知られている薬剂的に許容可能な賦形剤を含むことができる。ここでの利用法に適した薬学的に許容可能な賦形剤は、例えば、エイ・ジェンナーロ（A. Gennaro）（1990）；アンセル、エイチ・シー（Ansel, H. C.）他（1999）；およびキッベ、エイ・エイチ（Kibbe, A.H.）（2000）を含む、種々の刊行物に記載されている。

10

20

30

40

50

【0133】

ここでの前記組成物は、想定される投与形態に応じて製剤される。従って、もしも組成物が鼻腔内又は吸入によって投与されることが意図される場合、例えば、前記組成物を、そのような目的のために、従来行われているように、散剤又は煙霧剤に変えることができる。例えば、経口又は非経口投与などのその他の製剤も、従来と同様に使用される。

【0134】

ここでの投与用の組成物は、溶液、懸濁液、錠剤、丸剤、カプセル剤、持効性製剤又は散剤の形態とすることができる。

【0135】

治療法

本発明の前記NDGA化合物組成物を含む前記カテコールブタンは、肥満に苦しむ対象体の治療を提供することが望まれる状況において治療剤として使用される。

【0136】

本発明の方法によって、ヒト及びヒト以外の動物を含む、多様な動物ホストを治療することが可能である。一般に、それらのホストは、「哺乳類(mammal)」又は「哺乳類のもの(mammalian)」であり、ここで、これらの用語は、食肉目(例えば、犬と猫)、げっ歯目(例えば、モルモット及びラット)、及び、ウシ、ヤギ、馬、羊、ウサギ、ブタ、霊長類(例えば、ヒト、チンパンジー及びサル)を含むその他の動物を含む、哺乳類に含まれる生物である。多くの実施形態において、前記ホストはヒトとされる。動物モデルは、ヒトの疾患の治療用のモデルの提供などの、実験調査のために興味深い。更に、本発明は、獣医的ケアにも適用可能である。

【0137】

製剤、投与量、及び投与経路

上述したように、有効量の前記有効物質が前記ホストに投与され、ここで、「有効量」とは、所望の結果を作り出すのに十分な投与量を意味する。いくつかの実施形態において、前記所望の結果は、少なくとも体重の減少又は体重増加の減少である。

【0138】

通常、本発明の前記組成物は、前記活性成分、即ち、ここに記載の前記NDGA化合物を含む前記カテコールブタン、を、約1%以上約99%まで、含むことになり、又は、本発明は、前記活性成分を約1%以上約90%まで含むことになる。適当な投与量は、投与されるべき適切な投与量は、対象体の一般的健康状態、対象体の年齢、疾患または症状の状態、対象体の体重、等、治療されるべき対象体に依存する。一般に、約0.1mg~約500mg以下を子供に投与することができ、そして、より一般的には、約0.1mg~約5グラム以下を、成体に対して投与することができる。前記活性剤は、単回の投与、より一般的には、複数回の投与で投与することができる。所与の薬剤の好適投与量は、種々の手段によって当業者によって容易に決定することができる。その他好適な投与量は、用量反応曲線を形成するルーチンの試みを介して当業者によって容易に決定可能である。薬剤の量は、勿論、使用される特定の薬剤に応じて異なるであろう。

【0139】

投与量と同様、活性剤の投与の頻度は、年齢、体重、疾患状態、健康状態及び患者の反応性に基づき、介護人によって決定されるであろう。従って、これらの薬剤は、毎日、毎週、毎月、或いは従来式決定によって、単数又は複数回数投与することができる。これら薬剤は、数日間、数週間、数ヶ月間、間欠的に投与し、その後は、3ヶ月間や6ヶ月間などの一定期間が経過するまで、投与されず、更に、その後、再び、数日間、数週間、数ヶ月間、投与することができる。

【0140】

本発明の前記カテコールブタン又は活性剤は、種々の治療投与のための製剤に組み込むことができる。より具体的には、本発明のカテコールブタンは、適当な、薬学的に許容可能な担体、又は希釈剤と組み合わせて薬用組成物に製剤することができ、錠剤、カプセル剤、散剤、煙霧剤、リボソーム、ナノ粒子、顆粒剤、軟膏剤、液剤、座薬、注射、吸入剤

10

20

30

40

50

、煙霧剤等、固体、半固体、液体、又は気体形状で製剤中に製剤することができる。

【0141】

そういうものとして、活性剤の投与は、様々な方法で、例えば、経口、口腔内、直腸、鼻腔内、静脈内、脂肪内、気管内、局所、間質内、経皮のような、又は、吸入又は移植によって達成される。

【0142】

具体的には、ナノ粒子、ミセル及びリポソーム製剤を、非経口投与と鼻腔内投与を含む、全身投与によって、更に、薬剤標的化、薬剤の生物学的利用能の増強、薬剤の生理活性及び安定性の保護などのために、経口投与、局所投与、経皮投与で、吸入又は移植を介して、投与することができる。ここでのナノ粒子結合薬剤は、生体内において延長された薬剤保持を達成することが期待される。

10

【0143】

医薬品投与形態において、前記活性剤は、それらの薬学的に許容可能な塩の形態で投与することができ、又は、単体あるいは、その他の適当な薬学的に許容可能な活性化合物との会合、組み合わせ形態でとすることができる。以下の方法及び賦形剤は、単なる例示的なものであり、いかなる意味においても限定的なものではない。

【0144】

経口投与のために、前記活性剤は、単体で、又は、適当な添加物、例えば、ラクトース、マンニトール、コーンスターチ、又はポテトスターチなどの従来の添加剤、結晶セルロース、セルロース誘導体、アラビアゴム、コーンスターチ、又はゼラチンなどの結合剤、コーンスターチ、ポテトスターチ、カルボキシメチルセルロースナトリウム等の崩壊剤、タルクやステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤、そして所望の場合、希釈剤、緩衝剤、湿潤剤、保存剤、及び香料、と組み合わせて、使用して、錠剤、散剤、粒剤、又はカプセル剤を製造することができる。

20

【0145】

溶媒、アジュバント、担体又は希釈剤などの薬学的利用可能な賦形剤は、従来のものである。適当な賦形溶媒は、例えば、水、生理食塩水、ブドウ糖、グリセロール、エタノールなど、そしてそれらの組み合わせである。更に、所望の場合、前記溶媒は、pH調節および緩衝剤、張度調節剤、安定化剤、湿潤剤、又は乳化剤などの補助物質を少量含むことができる。そのような投与形態を調製するための実際の方法は、当業者に知られているか、又は明らかであろう。例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, イートン、ペンシルベニア、第17版、1985を参照。投与される前記組成物又は製剤は、いずれの場合も、治療される対象体において望ましい状態を達成するのに適切な薬剤を一定量含むことになる。

30

【0146】

前記活性剤は、それらを、水溶液又は、コーン油、ひまし油、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸又はプロピレングリコールのエステル、等の植物又はその他類似の油等の非水性溶液中に、所望の場合は、可溶化剤、等張剤、懸濁剤、乳化剤、安定化剤、保存剤などの従来式添加物と共に、溶解、懸濁又は乳化することによって、注射用の製剤に製剤することができる。

40

【0147】

前記活性剤は、吸入によって投与される煙霧剤製剤に利用することができる。本発明の前記化合物は、ジクロロジフロロメタン、プロパン、窒素のような加圧された許容可能な噴霧剤に製剤することができる。

【0148】

更に、前記活性剤は、乳化基材や水溶性基材などの種々の基材と混合することによって座薬にすることができる。本発明の前記化合物は、座薬を介して直腸投与することができる。前記座薬は、体温では溶けるが、室温では固体状態の、ココアバター、カーボワックス、ポリエチレングリコール、等の溶媒を含むことができる。

【0149】

50

シロップ、エリキシル、及び懸濁剤等の経口又は直腸投与用の単位投与形態を提供することができ、ここで、例えば、茶さじ一杯、匙一杯、錠剤又は座薬などの各投与単位は、単数又は複数の阻害剤を含有する前記組成物を所定量含有する。同様に、注射又は静脈内投与用の単位投与形態は、前記阻害剤（単数又は複数）を、組成物中に、滅菌水、通常の生理食塩水、又は、別の薬学的に許容可能な担体中の溶液として含むことができる。

【0150】

ここでの使用において「単位用量形態」という用語は、ヒト及び動物の対象体用の単位用量として適切な身体的な別個の単位を規定するものであり、各単位が、薬学的に許容可能な希釈剤、担体又は溶媒との組み合わせで、所望の作用を作り出すのに十分であると計算された所定量の本発明の化合物を含有している。本発明の新規な単位用量形態の仕様は、使用される特定の化合物、達成されるべき作用、ホスト内の、各化合物に関連する薬物動態学、に依存する。

10

【0151】

本発明は、前記活性剤を複数又は単位用量含むキットを含む。そのようなキットにおいて、複数又は単位用量の前記NDGA誘導體を含有する組成物を含む容器に加えて、対象病理状態の治療に於ける薬剤の使用法及び付随する有用性を記載した説明書を備えた情報添付文書が含まれる。

【0152】

ナノ粒子（“NP”）の調製

本発明は、NP製剤としてNDGA化合物を含むカテコールブタンの製剤を含む。ここでの使用に適した様々なNP製剤を、投与方法に応じて製造することができる。前記NP製剤は、分子量、共重合体比率、薬剤添加（drug loading）、マイクロ粒子寸法、多孔度、製造条件、を制御することによって、薬剤放出プロファイルに基づいて、異なるものとすることができる。前記NP製剤は、又、製造工程に使用される重合体、安定化剤、及び界面活性剤に基づいても、異なるものとすることができる。異なる賦形剤によっても、薬剤吸収、体内での薬剤分布、血漿中での薬剤の残留率、に対して異なる影響を与えることができる。当業者は、所望の性質又は特性を決定することができ、従って、使用される適切なNP製剤を決定することができるであろう。

20

【0153】

前記NPの重合体基質は、生体適合性、生物利用能、物理的強度及び処理の容易性、の要件を満たさなければならない。この目的のために最も良く知られている重合体は、生物分解性ポリ（ラクチド-co-グリコリド）（“PLGA”）である。

30

【0154】

ここでのNPは、任意の従来方法によって製造することができる。一実施形態において、NPは、例えばロックマン、ピー・アール（Lockman, P.R.）他（2002）に記載されているようにして製造することができる。製造方法の種類は、例えば、エマルジョン、重合、界面重合、脱溶媒和蒸発、溶剤析出、を含む。

【0155】

ここでのNPを製造するエマルジョン重合法において、この重合法は、例えば、クロイター、ジェイ（Kreuter, J.）（1994）に記載されているように、単一の単量体単位から重合体の鎖を構築することからなる。重合は、例えば、高エネルギー照射、UV光またはヒドロキシルイオンを使用することによって、フリーラジカル又はイオン形成のいずれかによる、惹起後に、室温で自発的に起こる。重合が完了すると、溶液を濾過し中和する。重合体は約 $100 \sim 10^7$ の重合体分子からなるミセルと小滴を形成する。この方法において、界面活性剤と安定化剤は一般に不要である。又、この方法は、水相ではなく、有機相中で達成することができる。

40

【0156】

ここでのNPは、例えば、クーリ、エイ・エル（Khoury, A.L.）他（1986）に記載されているような界面重合法によっても製造することができる。この方法において、単量体を使用して重合体を形成し、水及び有機相が、高トルク機械的攪拌下での均質化、乳化、又

50

は微量溶液操作によって互いに混合される時に重合が起こる。例えば、前記NDGA化合物などのカテコールブタンを含有するポリアルキルシアノアクリレートのナノカプセル剤を、親油性NDGA化合物と、前記単量体とを有機相中で組み合わせ、この組み合わせを油中で溶解し、絶え間なく攪拌しながら、この混合物をゆっくりと、小管を通して水相に添加することによって製造することができる。これにより、前記単量体は、陰イオン重合によって200 - 300 nmのカプセル剤を自然に形成することができる。この方法の1変形例は、例えば、フェッシ, エイチ (Fessi, H.) 他 (1989) に記載されているように、前記単量体と前記薬剤とを含む前記有機相に、安息香酸ベンジルと、アセトンと、リン脂質との溶剤混合物を添加するものである。これによって、薬剤がカプセル剤化され、それが標的組織に到達するまで分解に対して保護された製剤が作り出される。

10

【0157】

アルブミンやゼラチンなどの巨大分子を、NPの製造において油変性及び脱溶媒和工程に使用することができる。油エマルジョン変性工程において、大きな巨大分子は、均質化によって有機相に捕捉される。一旦捕捉されると、前記巨大分子は、絶え間ない攪拌を受けている水相にゆっくりと導入される。次に、二つの非混和性相の導入によって形成されるナノ粒子を、アルデヒド等との架橋化、又は熱変性によって硬化させることができる。

【0158】

或いは、巨大分子は、「脱溶媒和」によってもNPを形成することができる。この脱溶媒和工程において、巨大分子は、溶媒中に溶解され、その中で巨大分子は、膨潤したコイル状配位内に配置される。次に、膨潤した巨大分子を、pH、電荷、等の環境を変化させることによって、又は、エタノールなどの脱溶媒和剤を使用することによって、堅いコイルを形成するように誘導する。その後、巨大分子を、アルデヒドへの架橋化によって固定し硬化させる。誘導体が新たに形成された粒子内に捕捉されるように、架橋化の前に前記NDGA化合物は前記巨大分子に対して吸着又は結合することができる。

20

【0159】

固体脂質NPを、高圧均質化によって作り出すことができる。固体脂質NPは、殺菌、オートクレーブ消毒可能であり、制御された放出を提供する固体のマトリクスを有するという利点を有する。

【0160】

本発明は、更に、異なる薬剤添加法でのNPを含む。NPは、その中に薬剤が均質に分散した固体コロイド状NPとすることができる。NPは、吸着等によって、NPの外側に薬剤が結合された固体NPとすることができる。NPは、その中に薬剤が捕捉されたナノカプセル剤とすることができる。NPは、更に、その内部に、適切な組織への標的投与のための細胞表面リガンドと共に薬剤が均質に分散された固体コロイド状NPとすることができる。

30

【0161】

NPの寸法は、所与の投与態様に対するそれらの有効性に関連しているかもしれない。NPは通常、約10 nm ~ 約1000 nmの範囲であり、選択的に、NPは、約30 nm ~ 約800 nmの範囲であり、一般的には、約60 nm ~ 約270 nmの範囲であり、更に一般的には、約80 nm ~ 約260 nmの範囲、又は約90 nm ~ 約230 nm、又は約100 nm ~ 約195 nmである。重合中に使用される溶液のpH、惹起トリガー（熱、放射線、等）の量、前記単量体単位の濃度、等、複数の要因がNPのサイズに影響を与え、それらの全ては、当業者によって調節可能である。NPの寸法決定は、光散乱を使用した光子相関分光法によって行うことができる。

40

【0162】

多糖類NPやアルブミンNP等のここでのNPは、選択的に、脂質コーティングによってコーティングすることができる。例えば、多糖類NPを、ジパルミトイルホスファチジルコリン及びコレステロールコーティングを含むもの等の、脂質二重層有り又は無しで、リン酸塩（陰イオン性）及び四級アンモニウム（陽イオン性）リガンドと架橋化することができる。その他の重合体/安定化剤は、非限定的に、大豆油、マルトデキストリン、ポ

50

リブチルシアノアクリレート、ブチルシアノアクリレート/デキストラン70kDa、ポリソルベート85、ポリブチルシアノアクリレート/デキストラン70kDa、ポリソルベート85、ステアリン酸、ポリメチルメチルアクリレートを含む。

【0163】

NPに対する吸着によるものなどの、NDGA化合物などのカテコールブタンを含有する前記NP製剤は、肥満の治療のために、静脈内投与することができる。これらのNP製剤の細網内皮細胞による望ましくない取り込みを回避するために、前記NPを、界面活性剤によってコーティングしたり、あるいは、磁力反応性材と共に製造したりすることができる。

【0164】

従って、選択的に、界面活性剤を前記NPと組み合わせて使用することができる。例えば、ポリブチルシアノアクリレートNPを、デキストラン-70,000安定化剤と、界面活性剤としてのポリソルベート80と共に使用することができる。その他の界面活性剤は、非限定的に、ポリソルベート20,40又は60、ポロキサマー188、脂質コーティング-ジバルミトイルホスファチジルコリン、エピクロン(Epikuron)200、ポロキサマー338、ポラキサミン(polaxamine)908、ポロキサマー407、を含む。例えば、NPの、肝臓、脾臓、肺、骨髄のRES内への取り込みを減少させるための界面活性剤としてポラキサミン(polaxamine)908を使用することができる。

【0165】

前記磁力反応性材は、前記NPを製造するための前記組成物に組み込むことが可能なマグネタイト(Fe_3O_4)とすることができる。これらの磁力反応性NPは、磁石によって外部から案内することが可能である。

【0166】

別実施形態において、ここでのNPは、ムー,エル(Mu, L.)及びフェン,エス・エス(Feng, S.S.) (2003)に記載されているように、ポリ(ラクチド-co-グリコリド)("PLGA")とd-α-トコフェリルグリコール1000コハク酸塩(ビタミンETPGS又はTPGS)とのブレンドを使用して製造することができる。後者は、マトリクス剤であることに加えて、乳化剤としても作用することができる。

【0167】

ミセル形成担体の調製

本発明は、ミセル形成担体に製剤される、前記NDGA化合物を含むカテコールブタンを含み、ここで、前記ミセルは、従来の方法によって作られる。そのようなものの具体例は、例えば、リギンズ,アール・ティ(Liggins, R.T.)及びバート,エイチ・エム(Burt, H.M.) (2002)、ツァン,エックス(Zhang, X.)他(1996)及びチャーチル,ジェイ・アール(Churchill, J.R.)及びハッチンソン,エウ・ジー(Hutchinson, F.G.) (1988)に記載されている。そのような方法の1つにおいて、親水性(ポリエーテル)セグメントと疎水性(ポリエステル)セグメントとを有する両親媒性重合体であるポリエーテル-ポリエステルブロック共重合体がミセル形成担体として使用される。

【0168】

別のタイプのミセルは、例えば、トゥザール,ゼット(Tuzar, Z.)及びクラトクヴィル,ピー(Kratochvil, P) (1976)及びウィルヘルム,エム(Wilhelm, M.)他(1991)に記載されているように、親水性セグメントと疎水性セグメントとの両方を有するABタイプのブロック共重合体によって形成され、それらの両親媒性により、水系媒体中においてミセル構造を形成することが知られているものである。これらの重合体系ミセルは、そのミセル内部コア内部に取り込まれる疎水性の薬剤の高い含有率にも拘わらず、満足できる水性安定性を維持することができる。約<200nmのサイズ範囲のこれらのミセルは、非選択的なRES捕集を減少させるのに有効であり、高い浸透性と保持率を示す。

【0169】

更に、例えば、ポリ(DL-ラクチド)-b-メトキシポリエチレングリコール(MePEG:PDLLA)ジブロック共重合体を、MePEG 1900と5000を使用し

10

20

30

40

50

て製造することができる。触媒としてオクチル酸スズ（0.25%）を使用して、160で3時間反応を進行させることができる。しかし、もしも、反応を約6時間進行させることが許容されるのであれば130の低い温度を使用することが可能であり、もしも、反応が約2時間だけ行われる場合は、190の高い温度を使用することが可能である。

【0170】

一実施形態において、N-イソプロピルアクリルアミド（“IPAAm”）（興人、東京、日本）とジメチルアクリルアミド（“DMAAm”）（和光純薬工業、東京、日本）を、コホリ，エフ（Kohori, F.）他（1998）の方法を使用して、ラジカル重合法でヒドロキシ-末端ポリ（IPAAm-co-DMAAm）を製造するために使用することができる。得られた共重合体は、冷水に溶解させ、10,000及び20,000分子量カットオフの二つの限外濾過膜を通して濾過することができる。前記重合体溶液は、先ず、20,000分子量カットオフの膜を通して濾過される。次に、この濾液を10,000分子量カットオフの膜を通して再度濾過する。その結果、低分子量、中分子量、重合体量の三つの分子量画分を得ることができる。次に、前記中分子量画分のポリ（IPAAm-co-DMAAm）の末端ヒドロキシル基からのD, L-ラクチドの開環重合によってブロック共重合体を合成することができる。その結果得られるポリ（IPAAm-co-DMAAm）-b-ポリ（D, L-ラクチド）共重合体を、コホリ，エフ（Kohori, F.）他（1999）に記載されているようにして精製することができる。

【0171】

前記NDGA化合物などのカテコールブタンは、透析法によって、同時に調製されるミセル内部コアとミセル内に添加することができる。例えば、NDGA化合物の塩化物塩を、N, N-ジメチルアセタミド（“DMAC”）中に溶解し、トリエチルアミン（“TEA”）を添加することができる。ポリ（IPAAm-co-DMAAm）-b-ポリ（D, L-ラクチド）ブロック共重合体をDMACに溶解し、蒸留水を添加することができる。NDGA化合物の溶液と前記ブロック共重合体溶液を室温で混合し、その後、12,000-14,000分子量カットオフの透析膜（Spectra/Por（登録商標）2, spectrum Medical Indus., CA. U.S.A.）を25で使用して、蒸留水に対する透析を行うことができる。NDGA化合物を取り込んだポリ（IPAAm-co-DMAAm）-b-ポリ（D, L-ラクチド）ミセルを、コホリ，エフ（Kohri, F）他（1999）に記載されているように、20mm孔径の精密濾過膜（ANODISCTM, Whatman International）での濾過によって精製することができる。

【0172】

NDGA化合物を含有する多小胞リボソームの調製

多小胞リボソーム（“MVL”）を、例えば、マントリプルガダ，エス（Mantripragada, S.）（2002）に記載されている二重乳化法などの、任意の公知の方法によって調製することができる。簡単に説明すると、前記二重乳化法において、先ず「油中水」エマルジョンが、少なくとも1つのトリグリセリド等の中性脂肪を含有するリン脂質を、投与単数又は複数の揮発性有機溶剤中に溶解させ、この脂質成分を、非混合性の第1水性成分と、疎水性NDGA化合物などの親水性カテコールブタンに添加することによって作られる。次に、この混合物を、乳化して油水中エマルジョンを形成し、その後、第2の非混合性水性成分と混合し、その後、機械混合して、前記第2水性成分中に懸濁した状態の溶剤小球を形成し、水中油中水エマルジョンを形成する。前記溶剤小球は、その中に溶解した前記NDGA化合物などの、カテコールブタンを備える複数の水性小滴を含んだものとなる。次に、一般的に、蒸発、減圧、又はその懸濁液上又は中にガス流を通過させることによって、前記有機溶剤を前記小球から除去する。溶剤が完全に除去されると、前記小球は、DepoFoam粒子などのMLVとなる。前記中性脂肪がこの工程から省略される場合、前記MLVの代わりに、従来式の多重層小胞又は単層小胞が形成される。

【0173】

経口投与用の、NDGA化合物などのカテコールブタンの製剤

G₄N等のような、NDGA化合物などの一部のカテコールブタンは、水溶性親水性化

合物である。本発明は、薬学的許容可能な担体又は賦形剤中の親水性化合物の製剤と、その化合物の水溶液形態などの、経口製剤などの投与を含み、或いは、前記化合物は、凍結乾燥して散剤として投与したり、錠剤にしたり、又は前記化合物はカプセル剤化することも可能である。

【0174】

ここでの前記錠剤は、腸内コーティング錠剤とすることができる。ここでの製剤は、持続効性、遅効性又は速効性製剤とすることができる。

前記経口製剤中に含まれるNDGA化合物などの前記カテコールブタンの量は、対象体に投与される所望の投与量に応じて調整することができる。そのような調整は、当業者の技量範囲内である。

10

【0175】

M₄N等のような、NDGA化合物などの一部のカテコールブタンは、疎水性又は親油性化合物である。腸内での親油性化合物の吸収は、前記化合物の水性腸管流体内への溶解の速度又は程度を高めることが可能な薬学的許容可能な担体を使用することによって改善することができる。脂質担体は、例えば、スタッチリック、エム(Stuchlik, M.)及びザック、エス(Zak, S.)(2001)に記載されているように公知である。ここでの製剤は、経口液として投与することができ、或いは、種々のタイプのカプセル剤にカプセル剤化することができる。

【0176】

本発明は、一実施形態において、そのような化合物のトリアクリルグリセロール中での溶解による経口投与用に製剤される前記親油性NDGA化合物を含有する製剤を含み、次に、前記製剤は、経口投与用にカプセル剤化される。トリアクリルグリセロールは、グリセロール分子に連結した長鎖および/又は中鎖脂肪酸を有する分子である。前記長鎖脂肪酸は、約C14からC24の範囲であり、これらは一般的な脂肪内に見られる。前記中鎖脂肪酸は、約C6からC12の範囲であり、これらはココナッツ油又はヤシ核油中に見られる。ここでの使用に適したトリアクリルグリセロールは、同じグリセロール分子上にエステル化された、短鎖又は中鎖脂肪酸又はそれらの両方の混合物を含む構造脂質を含む。

20

【0177】

本発明の別実施形態において、単数又は複数の界面活性剤を、NDGA化合物と脂質担体とを含むカテコールブタンの混合物に対して、薬剤が油/界面活性剤の細かい小滴中に存在するように添加することができる。前記界面活性剤は、胃腸流体内での希釈時に前記油性製剤を分散するように作用することができる。

30

【0178】

本発明は、更に、親水性界面活性剤及び油からなるマイクロエマルジョン形態としての、NDGA化合物を含むカテコールブタンの経口投与用製剤を含む。前記マイクロエマルジョン粒子は、安定化された油と薬剤を含有する界面活性剤ミセルとすることができる。

【0179】

NDGA化合物を含むカテコールブタンの、固体脂質ナノ粒子製剤としての製剤も経口投与用に適している。固体脂質ナノ粒子は、例えば、スタッチリック、エム(Stuchlik, M.)及びザック、エス(Zak, S.)(2001)に記載されているような、任意の従来方法で調製することができる。

40

【0180】

一実施形態において、前記固体脂質ナノ粒子は、昇温での溶解された脂質の均質化による高温均質化工程によって調製することができる。この工程において、前記固体脂質は、溶融され、NDGA化合物等のカテコールブタンがその溶融した脂質中に溶解される。次に、予め加熱された分散媒体を、その薬剤添加脂質溶融物と混合させ、この組み合わせを、均質化剤と混合して粗製の前エマルジョンを形成する。次に、脂質の溶融点以上の温度で高圧均一化を行い、油/水ナノエマルジョンを製造する。このナノエマルジョンを室温にまで冷却して固体脂質ナノ粒子を形成する。

【0181】

50

本発明の別実施形態において、前記固体脂質ナノ粒子は、低温均質化工程によって調製することができる。この工程において、脂質を溶融し、NDGA化合物などのカテコールブタンをこの溶融した脂質中で溶解させる。次に、その薬剤添加脂質を、液体窒素又はドライアイス中で固化させる。この固体薬剤-脂質を、粉碎機内で粉碎して50-100 μ mの粒子を形成する。次に、脂質粒子を低温の水性分散媒体中に分散させ、室温又はそれ以下で均質化して固体脂質ナノ粒子を形成する。

【0182】

本発明は、更に、NDGA化合物などの親油性カテコールブタンの、経口投与用のリポソーム又はミセルとしての製剤を含む。これらの製剤は、任意の従来方法によって製造することができる。ミセルは、通常、疎水性薬剤が、単分子層上で疎水性領域と結合している脂質単分子膜小胞である。リポソームは、通常、リン脂質二分子膜小胞である。親油性NDGA化合物などの親油性カテコールブタンは、通常、これらの小胞の中心に位置する。

10

【0183】

鼻腔内投与用のNDGA化合物の製剤

本発明は、鼻腔内投与用の、NDGA化合物によって例示されるカテコールブタンの製剤と、その鼻腔内投与とを含む。鼻腔内投与は、静脈内投与によって達成可能であるよりも、脳内での活性剤の濃度を有利に高めることができる。又、この投与形態は、その薬剤を受ける対象体の肝臓と腸とにおける初回通過代謝の問題を回避するものである。

【0184】

吸収可能な活性剤の量は、部分的には、血清タンパク質、糖タンパク質、脂質及び電解質の約95%の水溶液から成る粘液中での薬剤の溶解度に依存する。一般に、活性剤の親油性が増加するにつれて、CSFの薬剤濃度も増加する。例えば、ミン、エイ(Minn, A.)他(2002)を参照。

20

【0185】

前記親水性NDGA化合物は、生理食塩水、リン酸緩衝液、又はリン酸緩衝生理食塩水などの薬学的に許容可能な担体中で溶解可能である。一実施形態において、例えば、カオ、エイチ・ディ(Kao, H.D.)他(2000)に記載されているように、pH7.4の0.05Mリン酸緩衝液を、前記担体として使用することができる。

【0186】

本薬剤の鼻腔内投与は、それらの薬剤の投与時に、対象体の位置を調節することによって最適化することができる。例えば、患者の頭部を、直立-90度、仰臥90度、仰臥45度、又は仰臥70度に様々に位置させて最大の効果を得ることができる。

30

【0187】

前記NDGA化合物の組成物の担体は、薬学的に許容可能で、その組成物の活性物質と適合可能な任意の材料とすることができる。担体が液体である場合、それは、鼻流体に対して、低張又は等張のものであって、約4.5~約7.5のpH内のものとすることができる。担体が粉体形態である場合、それも、許容可能なpH範囲内である。

【0188】

鼻腔内投与用の担体組成物は、選択的に、活性物質の鼻膜をわたって、そして嗅覚神経経路を経由した脳内への吸収を高めることが可能な親油性物質を含むことができる。そのような親油性物質の具体例は、非限定的に、ガングリオシド、及びホスファチジルセリンを含む。例えばミセル形態などの、前記組成物中には、単数又は複数の親油性アジュバントを含ませることができる。

40

【0189】

肥満の治療のための対象体への投与用の鼻腔内投与用の活性物質の前記薬用組成物は、例えば、US6,180,603に記載されているような、従来方法によって製剤することができる。例えば、ここでの前記組成物は、散剤、顆粒、溶液、煙霧剤、点鼻薬、ナノ粒子又はリポソームとして製剤することができる。前記活性物質に加えて、前記組成物は、適当なアジュバント、緩衝剤、保存剤、塩、を含むことができる。点鼻薬等の溶液

50

は、酸化防止剤、緩衝剤、等を含むことができる。

【0190】

移植による投与

前記NDGA化合物によって例示されるここでのカテコールブタンは、前記NDGA化合物を含有する生物分解性重合体の皮下移植などの、外科的移植によって治療のために対象体に投与することができる。この治療は、外科手術以外又はそれに加えて、他の従来の療法と組み合わせることができる。

【0191】

したがって、ここで前記生物分解性重合体は、ホスト組織に対する毒性又は有害作用無く間質流体中に溶解する、任意の重合体又は共重合体とすることが出来る。好ましくは、前記重合体又は、この重合体がそれから合成される単量体は、ヒトへの投与がFDAによって認可されているものである。溶解の速度を制御するために、ある単量体の他の単量体に対する比率を増加させる等、解重合の動態を制御するために、互いに異なる溶解特性の単量体を有する共重合体が好ましい。

10

【0192】

一実施形態において、前記重合体は、フレミング，エイ・ビー（Fleming, A.B.）及びソールツマン，ダブリュ・エム（Saltzman, W.M.），Pharmacokinetics of the Carmustine Implant, Clin. Pharmacokinet, 41: 403-419 (2002) 及びブレム，エイチ（Brem, H.）及びガビキアン，ピー（Gabikian, P.）(2001)に記載されているように、1，3 - ビス - （p - カルボキシフェノキシ）プロパン及びセバシン酸[p - （CPP : SA）]の共重合体である。別実施形態において、前記重合体は、フー，ジェイ（Fu, J.）他（2002）に記載されているように、ポリエチレングリコール（“PEG”）とセバシン酸との共重合体である。

20

【0193】

重合体投与システムは、ここでの疎水性NDGA化合物と親水性NDGA化合物との両方の投与に適用できる。これらNDGA化合物は、前記生物分解性重合体と組み合わせられ、外科移植される。一部の重合体組成物は、ここでの静脈内又は吸入療法にも使用可能である。

【0194】

吸入による投与

前記NDGA化合物によって例示される前記カテコールブタンは、吸入による肺への投与によって、全身のおよび/又は局所的に投与することが出来る。薬剤の吸入投与は、大きな全身毒性を引き起こすことなく肺組織における高薬剤濃度を達成する方法として、又、薬剤の全身循環を達成する方法として、十分に受け入れられている。そのような製剤を製造するための技術は、従来のものである。肺疾患に対する有効性は、このように投与された疎水性NDGA化合物と親水性NDGA化合物とのいずれかで見ることができる。

30

【0195】

吸入を介した肺投与のために、ここでのNDGA化合物は、乾燥散剤、水溶液、リポソーム、ナノ粒子、又は重合体に製剤することができ、例えば、煙霧剤として投与できる。親水性製剤は、肺胞表面を介して、全身投与のために血液流に取り込むことができる。

40

【0196】

一実施形態において、ここでの活性物質を含有する前記重合体は、フー，ジェイ（Fu, J.）他（2002）に記載されているように作られ、使用される。例えば、ここでの重合体は、セバシン酸とポリエチレングリコール（“PEG”）の重合体、又は、ポリ（乳酸 - co - グリコール）酸（“PLGA”）、又は、ポリエチレンイミン（“PEI”）とポリ - L - リジン（“PLL”）の重合体、とすることが出来る。

【0197】

別実施形態において、吸入投与用のNDGA化合物は、チョイ，ダブリュ・エス（Choi, W.S.）他（2001）に記載されているように、噴霧化の前に生理食塩水又はエタノール中に分解され、投与される。

50

【 0 1 9 8 】

更に別の実施形態において、ここでの薬剤は、例えば、パットン，ジェイ・エス（Patton, J.S.）他，Inhaled Insulin, Adv. Drug Deliv. Rev., 35: 235-247に記載されているように、任意の従来方法で乾燥散剤として投与される場合も有効である。

【 0 1 9 9 】

本発明は、前記NDGA化合物を、例えば、ゴンダ，アイ（Gonda, I.）他（1998）に記載されているように、例えば、SmartMistTMやAERxTM等の薬剤投与装置に埋め込まれたマイクロプロセッサの補助で、投与することを含む。

【 0 2 0 0 】

本開示を読了したあと、当業者は、本発明の製剤の投与によって治療および／又は緩和されるかもしれないその他の病状および／又は症候を認識するであろう。 10

【実施例】

【 0 2 0 1 】

以下の例は、当業者に、本発明をいかに調製し使用するかの完全な開示及び説明を提供するものであって、本発明者等が、自らの発明であると思なす範囲を限定するものではなく、下記の実験が全てであるとか、行われた実験はこれらのみであるとかを表すことを意図するものでもない。使用されている数字（例えば、量、温度、等）については正確なものとなるように努力が払われているが、一部の実験上のエラーと誤差については考慮されるべきである。特に銘記されないかぎり、部は重量部であり、分子量は、重量平均分子量であり、温度は、摂氏単位であり、圧力は大気圧又はそれに近いものである。 20

【 0 2 0 2 】

例1：テトラ - O - メチル - NDGAの調製用バッチの調製

ここでM₄Nと称されるテトラ - O - メチル - NDGAを、NDGAを、例えば、水酸化カリウム等の塩基の存在下で、過剰硫酸ジメチルと反応させることによって合成した。その生成物を、生成物の沈殿を引き起こす水の添加によって分離した。反応生成物を、塩基性アルミナのプラグを通過させて、微量フェノール不純物、主として、種々のジ - O - メチル及びトリ - O - メチル - 置換NDGA、を取り除いた。反応混合物の溶液を前記アルミナプラグに通過させた後、溶媒を回転蒸発装置で除去し固体生成物を得た。これを、2 - プロパノールで粉碎（trituated）し、真空炉で乾燥し、粗製テトラ - O - メチル - NDGAを得た。2 - プロパノールからの結晶化によって、99.66%以上の純度のテトラ - O - メチル - NDGAを得た。 30

【 0 2 0 3 】

工程1：テトラ - O - メチル - NDGAの粗製製剤の合成

機械式攪拌装置、冷却器、不活性雰囲気用の入口を備えた22Lのフラスコを冷却浴として使用されるタブ内にセットした。このフラスコを、アルゴン雰囲気下に置き、これに484.3グラムのNDGA（Western Engineering & Research Co, El Paso, TX）と4850mLのエタノールとを入れ、攪拌した。この攪拌されたスラリーに、1210mLの脱イオン水中の387.5グラムの水酸化カリウムの溶液を添加した。この反応混合物を含むフラスコを、氷浴を使用して冷却し、硫酸ジメチル（1210mL）をゆっくりと（滴下）添加した。添加は、発熱を避けるように制御した。この添加の最後において、温度は約13であった。反応のpHをモニタし、50% KOH溶液を、塩基性pHを維持すべくその日の間、一部分、添加した：50% KOH溶液の全1400mLを添加した。過剰塩基の反応混合物は、pH指示片の使用による検出で約12のpHを示した。溶液は塩基性pHでは暗色であったが、中性又は酸性pHでは淡色に変化した。 40

【 0 2 0 4 】

その日の最後に、追加の600mLの硫酸ジメチルを添加し、その反応混合物を一晩攪拌させた。翌朝、反応物はまだ塩基性であったが、反応は約90%進行していた。

【 0 2 0 5 】

前記反応混合物を、4850mLの脱イオン水の添加によって急冷し、生成物を沈殿させた。この生成物を、濾過によって分離し、濾液を、水で完全に洗浄し、その生成物を真 50

空炉で50℃にて約65時間乾燥し、539.5gの粗製生成物を得た。この生成物を750mLの塩化メチレン中で溶解し、この溶液に375mLのトルエンを添加した。この溶液を、2215gの塩基性アルミナの短いカラムに通した。前記アルミナを、12,000mLの塩化メチレン/トルエン溶液(2:1)で溶出させた。溶媒の回転蒸発装置上での真空での除去によって固体残滓が得られた。これを、1Lの2-プロパノールによって粉碎(trituated)した。得られたスラリーを濾過して固体生成物を分離した。これを真空炉で50℃、高真空状態で約21時間乾燥させ、426.7g(74%収率)の粗製テトラ-O-メチル-NDGAを得た。

【0206】

工程2: テトラ-O-メチル-NDGAの結晶化

10

機械式攪拌装置、冷却器、不活性雰囲気用の入口を備えた3Lのフラスコを加熱マントルにセットした。このフラスコに415.5gの前記生成物を入れた。このフラスコに1245mLの2-プロパノールを入れ、攪拌した混合物を加熱し、穏やかな還流を与え、溶液を得た。熱を止め、混合物を一晩冷却させた。結晶生成物を濾過によって分離し、濾過ケーキを200mLの低温2-プロパノールで洗浄した。この生成物を真空炉内で、50℃にて高真空状態で404.7g(NDGAからの70.5%総収率)まで乾燥させた。

【0207】

例2: NDGA化合物を含有するPLGAナノ粒子の調製

前記NDGA化合物は、任意の従来方法によってナノ粒子製剤として製剤できる。例えば、前記ナノ粒子は、ランプレヒト, エイ(Lamprecht, A.)他(2001a)及びランプレヒト, エイ(Lamprecht, A.)他(2001b)に記載されているように、下記のようにして調製可能である。

20

【0208】

生物分解性重合体 ポリ[DL-ラクチド-co-グリコリド]50/50(PLGA)(分子量5,000又は20,000)は、和光(大阪、日本)から購入可能である。約40mgのNDGA化合物を、250mgの重合体 ポリ[DL-ラクチド-co-グリコリド]50/50(PLGA)(分子量5,000又は20,000)を含有する4mLの塩化メチレンに溶解することができる。その後、この溶液を、8mLの水性ポリビニルアルコール溶液(1%)に注ぎ、超音波化装置(Ultrasonic DisruptorモデルUR-200P; トミー精工、東京、日本)によって氷浴中で3分間均質化した。塩化メチレンは、減圧下で蒸発させることができ、重合体を沈殿させることができる。非カプセル剤化薬剤と遊離の界面活性剤からナノ粒子を遠心分離(14,000g、5分間)によって分離することができる。ナノ粒子は、再分散され、そして、凍結乾燥前に蒸留水中で三回、遠心分離することができる。経口投与前に、ナノ粒子は、pH6.8のリン酸緩衝液中で再分散させることができる。

30

【0209】

前記ナノ粒子の、粒径分布、表面電位を、光レーザー粒径解析装置(photolaser particle analyzer) LPA3100(大塚電子、大阪、日本)とZetasizer II(Malvern Instruments, ウースターシャー州、英国)とをそれぞれ使用して分析することができる。ナノ粒子の外形態は、JEOL JSM-T330A走査型顕微鏡(東京、日本)によって分析することができる。

40

【0210】

例3: NDGA化合物を有するPLGA/ビタミンE TP GSナノ粒子の調製

PLGAと別のマトリクス剤, d-α-トコフェリルポリエチレングリコール1000コハク酸塩(ビタミンE TP GS又はTP GS)とを含むNPを、ムー, エル(Mu, L.)及びフェン, エス・エス(Feng, S.S.)(2003)に記載されているように、改変の水中油の単一エマルジョン溶媒蒸発/抽出法で製造することができる。この方法において、既知量の重合体質量と、NDGA化合物とを塩化メチレン(ジクロロメタン)に添加する。前記重合体、例えば、ポリ-(DL-ラクチド-co-グリコリド)(PLGA; L/G

50

= 50 / 50 , MW 40 , 000 - 75 , 000 ; L / G = 75 / 25 , MW 90 , 000 - 120 , 000 及び L / G = 85 / 15 , MW 90 , 000 - 120 , 000) を、Sigma (USA) から購入することができる。ビタミン E T P G S は、Eastman Chemical, USA から入手可能である。全ての原料が溶解されるように前記混合物を攪拌する。次に、有機相の溶液を、乳剤有り又は無しで、攪拌された水溶液にゆっくり注ぎ、同時に 50 W パルスモード (Misonix, USA) で超音波処理する。形成された o / w エマルジョンを、一晚、磁気攪拌装置で室温 (22) にて、ゆっくりと攪拌して前記有機相を蒸発させることができる。得られたサンプルは、10 , 000 rpm、10 分間、16 (Eppendorf モデル 5810 R , Eppendorf , ハンブルグ、ドイツ) 等での遠心分離によって収集することができる。一部のサンプルについては脱イオン水で 1 回又は 2 回洗浄することができる。調製された懸濁液を、凍結乾燥 (Alpha-2 , Martin Christ Freeze Dryers , ドイツ) し、ナノ粒子の細かい粉体を得て、これを真空乾燥器に入れ、そこに保存することができる。

10

【 0 2 1 1 】

例 4 : N D G A 化合物を含有するリポソームの調製

前記親油性薬剤等の N D G A 化合物は、従来方法によって持効性ポソーム中にカプセル剤化することができる。そのような方法のひとつは、例えば、シャルマ , ユー・エス (Sharma, U.S.) 他 (1997) に記載されている。

【 0 2 1 2 】

持効性リポソームは、延長された血液循環時間を有する。それらは、通常、高位相 - 転移 T m 脂質、高コレステロール含有率で、ホスファチジルイノシトール、モノシアロガングリオシド (G M₁) や、ポリエチレングリコール (P E G) 頭部基を有する合成リン脂質等の、リポソーム表面への血漿タンパク質の接近に対する立体障害を提供する、成分から構成される。

20

【 0 2 1 3 】

一例において、ホスファチジルコリン (“ P C ”) : コレステロール (“ C h o l ”) : ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミンに結合したポリエチレングリコール (“ P E G - D P P E ”) を、9 : 5 : 1 のモル比で含むリポソームを調製することができる。前記脂質を最初、クロロホルム中で混合し、脂質の薄膜を、溶媒の蒸発によって製造することができる。次に、これらの脂質を、NaCl (145 mM) , トリス[ヒドロキシメチル] - 2 - アミノエタン - スルホン酸 (T E S : 10 mM) 及びエチレンジアミン四酢酸 (E D T A : 0 . 1 mM) 緩衝液、pH 7 . 2 中からなる緩衝液で水和する。次に、リポソームを、0 . 08 μm のポリカーボネートフィルタを介して複数回抽出することができる。

30

【 0 2 1 4 】

別の例において、ジステアロイルホスファチジルコリン (“ D S P C ”) : C h o l : P E G - D S P E をモル比 9 : 5 : 1 で含むリポソームを、マッデン , ティ・ディ (Madden, T.D.) 他 (1990) に記載されているような「遠隔添加 (remote loading) 」法によって調製することができる。この遠隔装填法は、高濃度の N D G A 化合物をリポソーム水性コア内にカプセル剤化することを可能にする。簡単に説明すると、脂質の薄膜を、硫酸アンモニウム (250 mM , pH 5 . 5) 中で水和することができる。脂質懸濁液を、0 . 08 μm のポリカーボネートフィルタを通して 60 で抽出し、等張のスクロースに対して一晚、透析して遊離の硫酸アンモニウムを除去することができる。親水性 N D G A 化合物を、10 % (w / v) のスクロース中で水和し、予め形成されたりポソームと、65 で 1 時間インキュベートすることができる。製剤を、等張のスクロースに対して透析して、カプセル剤化されていない薬剤の僅かな残り画分を除去することができる。この方法によって、初発の N D G A 化合物の 90 % 以上のカプセル剤化収率を得ることができる。

40

【 0 2 1 5 】

ベレスティ , エイ (Belesti, A) 他 (1999) 及びアヴゴウスタキス , ケイ (Avgoustakis, K.) 他 (2002) に記載されているように、触媒としてオクチル酸スズを使用した真空

50

下での溶融重合法によって、モル比の異なる、ポリ(ラクチド-co-グリコリド)-モノメトキシ-ポリ(ポリエチレングリコール)(PLGA-mPEG)共重合体を調製することができる。

【0216】

例5：NDGA化合物の鼻腔内製剤の調製

前記NDGA化合物は、例えば、マーティン，イー(Marttin, E.)他(1997)に記載されるもののような任意の従来方法によって鼻腔内投与用の乾燥散剤又は煙霧剤として製剤することができる。

【0217】

一実施例において、前記NDGA化合物は、MQ水、即ち、Millipore(Etten-Leur, オランダ)のMilli-Q UFプラス超純粋水システムによって濾過された水に、無作為化メチル化-シクロデキストリン("RAMEB")(置換度1.8)(Wacker, Burghausen, ドイツ)、マンニトール、又はグルコース、を含む溶液として製剤される。この製剤は、スプレー又は点鼻薬として投与することができる。前記液体製剤中のNDGA化合物の投与量は、約1mg/ml~約1500mg/ml、又は、選択的に約10mg/ml~約1200mg/ml、更には選択的に、約100mg/ml~約1000mg/ml、更には選択的に、約200mg/ml~約800mg/ml、又は、これの範囲内に属する任意の値、とすることができる。これらの液体製剤は、鼻孔内に噴霧したり、点鼻薬として投与したりすることができる。

【0218】

別実施例において、本発明は、前記NDGA化合物と、種々の量の、RAMEB、ラクトース、又はマンニトールをMQ水中に溶解させ、その混合物を、例えば、一晚、凍結乾燥させることによって調製される、NDGA化合物の凍結乾燥散剤製剤を含む。

【0219】

例6：生物分解性重合体移植片の調製

ここでのNDGA化合物は、移植のために生物分解性重合体に組み入れることができる。そのような生物分解性重合体は、例えば、フレミング，エイ・ビー(Fleming, A.B.)及びソールツマン，ダブリュ・エム(Saltzman, W.M.)(2002)に記載されているもののような、任意の従来方法によって製造することができる。この生物分解性重合体の単数又は複数のウエハを、所望の化合物の投与量に応じて、一度に移植することができる。前記重合体の生物分解性マトリクスは、ポリフェプロサン(polifeprosan)20、1,3-ビス-(p-カルボキシフェノキシ)プロパンとセバシン酸[p(CCP:SA)]の共重合体を20:80のモル比で含むものとする。前記重合体を移植用に形成するために、p(CPP:SA)とここでの化合物を、ジクロロメタン中で同時に溶解し、噴霧乾燥させて、約1µm~約20µmの寸法範囲の球状粒子を形成することが出来る。その結果得られる「微小球体(microsphere)」を圧縮成形して、任意のサイズ、例えば、直径が約1.4mmで厚みが約1mmのウエハを形成することができる。これらのウエハ、小さな空隙に取り囲まれた密につめられた微小球体から成る均質構造を有する。NDGA化合物の濃度は、例えば、3.8%活性化合物など、治療される対象体に適切な任意の量にすることができる。

【0220】

例7：PLGA-mPEGナノ粒子の調製

前記NDGA化合物を含有するPLGA-mPEGナノ粒子を、ソン，シー・エックス(Song, C.X.)他(1997)によって記載されている二重エマルジョン法を少し改変した方法を使用して調製することができる。ここで、NDGA化合物の水溶液を、プローブ超音波処理(Bioblock Scientific, モデル75038)を使用して、前記共重合体が溶解されたジクロロメタン中で乳化することができる。この水/油エマルジョンを、コール酸ナトリウムの水溶液に移し、その混合物をプローブ超音波処理することができる。結果形成された水/油/水エマルジョンを、有機相の蒸発が完了するまで、室温でゆっくりと攪拌することができる。このようにして作られたナノ粒子は、遠心分離によって精製し、脱イ

10

20

30

40

50

オン化され蒸留された水で再構成することができる。次に、これらのナノ粒子を、例えば、 $1.2\text{ }\mu\text{m}$ のフィルタ (Millex AP, Millipore) 等を通して濾過することができる。

【0221】

例8：NDGA化合物を含有するプルロニックミセルの調製

プルロニックは、トリブロックPEO-PPG-PEO共重合体であり、PEOはポリ(エチレン酸化物)を表しPPGはポリ(プロピレン酸化物)を表す。疎水性の中央のPPGブロックはミセルコアを形成し、側方のPEOブロックは、ミセルを細網内皮系(“RES”)による認識から保護する、シェル又はコロナを形成する。プルロニック共重合体は、BASF Corp,及びICIから市販されている。前記NDGA化合物を、例えば、ラポポート, エヌ・ワイ (Rapoport, N.Y.) 他 (1999) に記載されているもののような任意の従来方法でプルロニックミセルに導入することができる。

10

【0222】

簡単に説明すると、例えば、 G_4N 等の前記NDGA化合物は、PBSやRPMI培地に溶解させ、その後、 67 kHz で作動する超音波処理浴中での短い、例えば15秒間、の超音波処理を行うことができる。この溶液は、約2時間37で保存し、これにより、溶解されていない薬剤を、1000Dカットオフ膜を通して、37で約12時間、PBS又はRPMI培地に対する透析によって除去することができる(透析は、10wt%と20wt%のプルロニック溶液に対してのみ行われる)。

【0223】

例9：吸入を介したエタノール中のNDGA化合物の投与

20

ここでのNDGA化合物は、乾燥散剤や水溶液を含む、任意の従来の製剤を使用して吸入を介して投与することができる。前者は、安定性、微生物の成長に対する低い感受性、及び、ひと吹き当たりの高い質量、の利点を有する。水溶液は、より良好な再現性を提供し、凝集塊の問題を回避する。

【0224】

一実施例において、ある種の前記NDGA化合物が、チョイ, ダブリュ・エス (Choi, W.S.) 他 (2001) に記載の方法によって投与される。特定の化合物及びその溶解性に応じて、前記化合物を、例えば、約 1 mg/ml ~約 1000 mg/ml 、又は、その任意の中間値、例えば、約 2 mg/ml ~約 800 mg/ml 、約 4 mg/ml ~約 100 mg/ml 、又は、約 5 mg/ml ~約 50 mg/ml 、等のエタノール中の適当な濃度で製剤することができる。最大の深い肺投与のために、 $1-3\text{ }\mu\text{m}$ の粒径の煙霧剤粒子を作り出すことができる。前記化合物のエタノール中のより良好な溶解性のためには、ここでの化合物をまず凍結乾燥し、その後、必要であれば、又は望ましいのであれば、 H_3PO_4 等で酸性化することができる。その結果得られる組成物のpHを、望ましいのであれば、NaOHによってpH7.4等に調節することができる。その後、得られる組成物を凍結乾燥させ、エタノール中に懸濁させ、超音波処理し、攪拌し、適当なサブミクロン粒径の粒子を製造することができる。次に、煙霧化された化合物を、コンプレッサ(空気噴流)、超音波式又は計量投与量吸入器などの標準的な市販の噴霧器を使用して投与することができる。一例は、PARI PRONEBコンプレッサとの組み合わせの、PARI LC Jet + 噴霧器 (PARI Respiratory Equipment, モントレー、カルフォルニア州) である。約 9 ml の量を前記噴霧器の貯蔵器に投入し、約10分間まで、噴霧することができる。

30

40

【0225】

別実施例において、吸入用の製剤は、ワン, ディ・エル (Wang, D.L.) 他 (2000) に記載されているように調製することができる。例えば、粉末化されたNDGA化合物を、10:90 (v/v) ポリエチレングリコール300:0.5% (w/v) のアスコルビン酸と0.5% (w/v) のホスファチジルコリンとを含有する、100%エタノールに溶解させることができる。次に、この薬剤を、Pari LC-plus 噴霧器 (Pari, Richmond, VA) を使用して噴霧化し、このようにして発生された煙霧剤に治療対象体を、その薬剤の投与量、達成されることが望まれる濃度、に応じて、異なる時間、晒すことができ

50

る。そのような時間は、約 5 分間、10 分間、15 分間以上とすることができる。

【0226】

例 10：特定設計された吸入装置を使用した NDGA 化合物の投与

前記 NDGA 化合物は、吸入の目的のためのその他多数の薬学的に許容可能な担体に製剤することができる。この例において、ここでの化合物のいくつかを、エンク、エイ・エイチ (Enk, A.H.) 他 (2000) に記載の方法によって投与することができる。そのような化合物は、約 5 % のグルコースと 2 % のヒトアルブミンとを含有する溶液に溶解することができる。次に、特別に設計された吸入装置を使用して吸入を行うことができる (Jetair, Fa, ホイヤー, ドイツ)。

【0227】

例 11：NDGA 誘導体による肥満の治療

NDGA 誘導体を肥満の治療のために使用することができる。一例において、NDGA 誘導体、G4N、を無菌液、例えば、150 mM 塩化ナトリウム及び 40 mM リン酸ナトリウム中の 1 mg / ml (pH 7.4)、として製剤する。静脈内投与のためには、前記薬剤を、更に、10 ml / kg (約 100 ml 以下) の通常の生理食塩水、中で希釈する。各治療は、標準投与量のジフェンヒドラミン (ベナドリル：Benadryl) 及びアセトアミノフェン (タイレノール：Tylenol) の前投与後の 15 ~ 20 分として、1 時間の吸入、等の、その特定の NDGA 誘導体の半減時間に依存した所定時間の連続的吸入から構成される。患者は、そのそれぞれが、10 日間の連続治療、又は各週が全部で 9 の投与の、3 日連続の投与を 3 週間のサイクル、で治療される。患者の特性、疾患の状態に応じて与えられる投与量は、例えば、0.1 mg / kg / 日、又は 0.18 mg / kg / 日、又は 0.32 mg / kg / 日、以上、とすることができる。

【0228】

例 12：M₄N の全身又は経口投与後のマウスの体重減少

以下の実験は、当初、M₄N の腫瘍に対する作用を判定するために行われたものである。しかしながら、それらの結果は、驚くべきことに、M₄N が腫瘍の治療に有効であるばかりでなく、M₄N は、マウスの体重減少も引き起こしたことを示した。これらの結果は、真に思いがけないものであって、ここでの前記化合物が肥満の治療に有効であるということを示している。

【0229】

マウス

6 - 8 週齢のメスの ICR マウスを、Harlan Sprague Dawley (Indianapolis, IN) から購入した。C57b1 / 6 マウスを、Charles River Laboratories (Wilmington, MA) から購入した。胸腺欠損 (thy - / thy -) ヌードマウス、5 - 6 週齢のオスとメス、を Charles River Laboratories から購入し、国際動物保護及び使用ガイドラインに基づき、制御された温度と湿度の無病原室に収納した。C3 - 細胞誘発腫瘍を有する C57b1 / 6 マウスを、キム、イー・エイチ (Kim, E.H.) 他 (2004) に記載されているように準備した。

【0230】

製剤

M₄N を、ロガンツォ (Loganzo) 他 (2003) に記載されているように、6 % Cremaphor EL, 6 % エタノール、88 % 生理食塩水中に溶解させた。マウスに、2 mg の M₄N を含有する一日当たり 100 µL . i . p . の注射を 3 週間与えた。対照マウスには、同量の賦形剤を与えた。腫瘍を、7 日間毎に、二つの垂直寸法 (L と W) で測定し、腫瘍の体積を、下記の式： $V = (L \times W / 2)^3 \times \pi / 6$ 、によって算出した。それぞれのマウスからの結果を、時間対の平均腫瘍体積としてプロットした。腫瘍体積の平均差の統計上の有意性を、スチューデント T 検定によって評価した。実験の最後に、cd c 2 とサバイビン (survivin) 発現の免疫組織学的な解析のために、腫瘍生検を収集した。

【0231】

³H - M₄ - N を使用した M₄N 組織分布の研究

Harlan ICRマウス又はC3細胞誘発腫瘍C57b1/6マウスに、尾静脈を介して、100 μ Ciのトリチウム標識M₄Nと60 mMの非放射性のM₄Nとを含有する100 μ LのCremaphor - エタノール系溶剤を腹腔内注射した。特定の注射後時に、これらのマウスを犠牲にし、その器官と血液を収集し、計量し、4 M グアニジンイソチオシネート (GITC) 中に一晚溶解させた。その後、不溶性ペレットを更にEtOHで抽出した。GITC抽出物とEtOH抽出物との両方のトリチウム含有率を、パッカードシンチレーションカウンターで測定し、各器官のM₄Nの量を、接種原の特異的活性に基づいて算出した。

【0232】

短期及び長期経口給飼後の組織分布及び毒性分析

10

短期給飼実験のために、300 μ Lのひまし油中に溶解させた30 mgのM₄Nを、6匹のマウスのそれぞれに経口投与した。投与の2時間後、4時間後、及び8時間後に、2匹のマウスを犠牲にし、器官と血液を収集し、下記のように、M₄Nを抽出し、定量化した。長期給飼実験では、マウスに、コーン油に溶解させたM₄NとBasal Mixとから成るフードボール (Harlan Teklad; Madison, WI; Cat.#TD02273) を14週間与えた。フードボールの重さは9 gで、それぞれが242 mgのM₄Nを含有していた。2匹のマウス、一匹のオスと一匹のメス、を長期薬剤保持研究のために確保し、14匹のマウス、オスとメスの双方、の長期薬剤毒性研究のために使用した。給飼の終わりに、マウスを犠牲にし、器官と血液を収集し、下記のようにしてM₄Nを抽出し、定量化した。

【0233】

20

経口給飼後のM₄N抽出とHPLC解析

M₄N給飼マウスから収集した器官と血液を、一晚 - 80℃で凍結させた。凍結の前に、胃腸器官 (胃と、小腸と結腸) を長手方向に切開し、全ての含有物を除去するためにPBSで徹底的に洗浄した。次の日、器官を剃刀でドライアイス上に小片に切断し、スピード - バック (Speed-vac) 中で乾燥させ、その後、乳鉢と乳棒とを使用して粗い粉体に粉砕した。サンプルを、振とうしながら、100%エタノール中で一晚、抽出した。サンプルを遠心分離し、上清を収集した。ペレットを、振とうしながら、更に2回、100%エタノール中に抽出した。貯蔵されたエタノール抽出物を、ベンチトップ上で数日間蒸発させ、その後、酢酸エチルで再度抽出し、スピード - バック内で完全に乾燥させた。これらの乾燥サンプルを、次に、HPLCによって定量化分析し、M₄Nを、標準として純粋M₄Nを使用した質量分析法によって同定した。

30

【0234】

短期給飼マウスからのサンプルでは、組織抽出物からM₄Nを更に精製するために、透析を行った。乾燥したエタノール抽出物を、1.5 mLの100% EtOH中で再度溶解させ、5分間遠心分離した。上清を収集し、ペレットを、0.4 mLのエタノール中で再懸濁し、再び遠心分離した。上清を、前の上清と共に貯蔵し、その後、一晚150 mLの100% EtOHに対して透析した。これらの透析物を、ベンチトップ上、及びスピード - バック内で乾燥させ、その後、HPLCによって分析した。

【0235】

M₄NのHPLC定量化

40

各時点における一匹のマウスからのサンプルを、HPLC分析のために、KP Pharmaceuticals (Bloomington, IN) に送った。HPLC条件は以下の通りであった。35% : 0.1% TFA / H₂O、65% = "CAN"。N₄N標品を、100 mLのCANに10.01 mgのM₄Nを希釈することによって調製し、その後、5分間超音波処理した (2002 ng / 注射)。サンプルを、400 μ L EtOHを添加し、2分間、又は、完全な溶解が達成されるまで、超音波処理することによって調製した。これらのサンプルの注射量は100 μ Lであった。

【0236】

結果

腹腔内、静脈内及び経口投与後、M₄Nは、種々の組織に対して全身的に、かつ、検出

50

可能な毒性無く、分散する。

【0237】

a. 単数の腹腔内又は静脈内投与後のM₄Nの全身分布

トリチウム標識M₄Nと非放射性M₄Nの混合物を、6% Cremaphor EL, 6% エタノール、88% 生理食塩水溶媒に溶解し、マウスに、腹腔内(i.p.)及び尾静脈を介した静脈内(i.v.)で注射した。注射の3時間後、器官と血液を採取し、計量し、M₄Nを抽出した。各器官からの抽出物のトリチウム含有量をパッカードシンチレーションカウンターで測定し、各器官のM₄Nの量を、接種原の特異的活性に基づいて算出した。M₄Nは、i.p.とi.v.の投与経路の両方による注射の3時間後において、種々の器官に有効に分布していた。興味深いことに、投与経路の違いにも拘わらず、非常によく似た組織分布プロファイルが得られ、このことは、薬剤分散のランダムでは無く、恐らくは規制された機序を示すものである。これについて詳述すると、下記の経口投与を使用して、非常によく似た分布プロファイルが観察された。回収された放射性活性の大半は、組織1g当たり3µg~20µg M₄Nの範囲で、胃腸管器官、胃、小腸、盲腸、大腸、に局在していた。有意な量のM₄Nは肝臓と脂肪にも存在しており、組織1g当たり150ng~400ngの範囲での、より低い濃度が、脳、腎臓、及び脾臓に検出された。但し、注射後3時間で、心臓や血液中にはM₄Nは全く、又はほとんど検出されなかった。

10

【0238】

結論として、M₄Nは、i.p.又はi.v.注射を介して種々の特定の組織に全身的に投与することができる。

20

【0239】

以前の実験は、M₄Nは、ある単一時点において種々の組織に対して全身のかつ比較的迅速に送達することが可能であることを示した。単回の投与後の組織におけるM₄Nの時間分布を測定するために、又、遠位の腫瘍へM₄Nを送達する能力を評価するために、6匹のC3細胞誘発腫瘍マウス(A~F)を、上述したようにi.p.によって³H-M₄Nで治療した。注射の4時間後、6時間後、18時間後及び6日後、種々の組織と腫瘍における³H-M₄Nの量を測定した。その結果、M₄Nの全身分布させる能力が確認され、ここでも、M₄Nの大半は、消化管器官、脂肪及び肝臓に局在し、より少量が脳と腎臓とに検出された。興味深いことに、そして、前の3時間注射からは明らかでなかったことであるが、脂肪と脾臓とは、4時間と6時間の間にM₄Nの迅速な増加を示した。比較的少ない量、湿潤腫瘍1グラム当たり294ngのM₄N、ではあるが有意の量のM₄Nが、注射の6時間後の腫瘍中に測定された。最初の投与後のM₄Nの組織分布の変化は、これらの組織における0時間~6時間でのM₄Nのレベルの増加を示し、そのピークは約6時間であった。18時間の時、M₄Nのレベルは大幅に減少したが、注射の6日後では、大半の組織において有意のM₄Nのレベルがまだ検出可能ではあったが、M₄Nレベルは、6時間後に見られたものの5~10%まで減少していた。

30

【0240】

(b) 短期及び長期経口給餌後の全身組織分布とイン・ヴィトロ毒性評価

それはしばしば多くのガンの治療において主要な限定要因であるので、予期される全身化学療法剤の毒性は、極めて重要である。M₄Nでの長期腹腔内全身投与の毒性を評価するとともに、下記の異種移植片実験のための安全な投与量を決定するために、下記の毒性試験を行った。12匹のマウスを、それぞれ4匹のマウスから成る3つのグループに分け、以下の治療を2週間受けさせた。即ち、グループ1は、一日一回、i.p.で、100マイクロリットルの6% Cremaphor EL, 6% エタノール、及び88% 生理食塩水に溶解させた2mgのM₄Nの注射(20mg/mLが、前記溶剤中に溶解することのできるM₄Nの最大量である)を受け、グループ2は、i.p.で毎日賦形剤のみの注射を受け、グループ3は、治療を受けなかった。活性の毎日の評価と、治療中における総体重の変化による測定で、これらのマウスのいずれにおいても毒性は観察されなかった。

40

【0241】

前の実験によって、M₄Nは、明らかな毒性無く、IP注射とIV注射との両方によっ

50

て生体内で全身的に分布させることが可能であることが示された。但し、経口投与の便利性及び容易性、特に、長期の外科手術後のアジュバント治療の場合、は、患者に対する薬剤投与を容易にし、かつ、患者の生活質を改善するであろう。従って、I P 及び I V 投与に加えて、 M_4N を経口投与によって全身分布させる能力も調べた。短期（8時間未満）給飼実験と長期（14週間）給飼実験との両方において、種々の組織中の M_4N レベルとそれらの生体内毒性とを評価した。短期実験では、マウスに、ひまし油中に溶解された30 mgの M_4N （100 mg M_4N / mL , ひまし油）を給飼し、給飼の2時間後、4時間後及び8時間後に、種々の組織中に存在する M_4N の量をHPLCによって測定した。給飼の2時間後では、各組織において比較的少量の M_4N （組織1グラム当たり<2 ng）が見られた。給飼の2時間後から4時間後では、肝臓、すい臓、腎臓、精囊、小腸、胃、大腸、盲腸及び血液を含む大半の器官が、 M_4N の大きな増加を示した。4時間では、I P 投与とI V 投与とで見られたように、 M_4N の大半は、組織1グラム当たり4 ng ~ 45 ngの範囲で、胃腸管器官に局在していた。有意の量の M_4N がすい臓にも存在しており、組織1グラム当たり0.1 ng ~ 2 ngの範囲のより低い濃度が、心臓、肝臓、精囊、血液及び膀胱に検出された。給飼の8時間後では、 M_4N レベルは、ほとんど全ての器官において減少し、大半の器官からは M_4N は無くなっていた。結論として、 M_4N は、30 mgの M_4N の一回の経口投与後に、種々の器官に一過的に分布された。 M_4N レベルは、給飼の約4時間後にピークに達し、 M_4N 濃度は、I P 及びI V 単回投与において見られるものよりも大幅に低かった。

10

【0242】

20

長期給飼実験の目的は、14週間の連続経口投与後における種々のマウス器官中の M_4N の安定状態レベルを測定することにあった。重さ約9 gで、約280 mgの M_4N を含む有するフードボールを、野生型のマウスに14週間連続投与した。1つの9 gのフードボールが、一匹のマウスによって約3日間で消費され、これは、一日当たり93.3 mgの M_4N 消費又は投与量に相当する。HPLC定量化は、経口投与が、 M_4N を、分析されたすべての器官に全身的に分布させていたこと、そして、驚くべきことに、I P , I V 及び経口での一回の投与において見られたものを遥かに上回る濃度で M_4N を全ての器官において蓄積されたことを示した。組織1グラム当たり350 μ g及び90 μ gの M_4N が、消化管器官と脾臓とにおいて測定され、15 μ g / g ~ 30 μ g / gの M_4N が、肺、すい臓、精囊、血液及び脂肪中に測定され、5 μ g / g ~ 13 μ g / gの M_4N が心臓、肝臓、腎臓及び膀胱に測定された。

30

【0243】

驚くべきことに、マウスは試験中健康状態を保ったが、治療中に観察された体重は、 M_4N が肥満の治療に有用であることを示した。具体的には、体重を、2週間毎又は毎月、測定した。表1は、25匹全てのマウスの体重変化と、適用可能な場合には、その全治療期間において消費された M_4N の量、とを示している。但し、長期薬剤毒性を評価するために、20週間以上治療されたマウスのみを比較した。全部で14匹のマウスが、20週間以上治療された、6匹は M_4N 治療されたマウス、8匹は対照マウスである。メスは一般に食べる量が少なく体重が低いので、同じ性別のマウス間で比較されている。メスの対照及び薬剤治療マウスの平均%体重変化は、対照メスによって消費された食物の平均量は遥かに多かった場合（表2）でも、類似している。この観察は、 M_4N がメスマウスに対して毒性作用を与えなかったということを示唆している。オスグループについては、対照マウスは平均で72%の体重変化であったのに対して、薬剤治療マウスは、21%の体重変化しかなかった。平均%体重変化におけるこの巨大な差は、対照オスマウスは、はるかに多量の食物（薬剤治療マウスが225 gであるのに対して、対照では373 g）を消費したという事実から帰することができる。対照マウスが、オスとメスとの両方とも、 M_4N 治療マウスよりも遥かに多量の食物を消費したという事実は、対照対象体における食物に対するより大きな嗜好を証明するものである。従って、 M_4N は、オスとメスの両方のマウスにおいて食欲を低減させた、と思われる。

40

【0244】

50

【表 1】

マウス	治療期間 (週)	消費 M ₄ N 量 (g)	開始日での 体重 (g)	最終日での 体重 (g)	体重変化%
M1	8	3.385	20.4	24.1	18.1
M2	9	3.321	19.0	19.7	3.7
M3	20	6.089	15.0	19.4	29.3
M4	20	5.364	17.2	19.4	12.8
M5	9	3.545	18.0	18.9	5.0
M6	20	6.032	18.1	23.0	27.1
M7	20	6.298	17.9	23.3	30.2
C8	11		16.9	19.6	16.0
C9	11		17.4	17.7	1.7
C10	20		17.7	23.9	35.0
C11	11		15.8	21.3	34.8
C12	20		17.2	19.4	12.8
C13	11		16.4	19.4	18.3
M14	8	3.131	21.9	26.4	20.5
M15	9	3.443	21.1	24.2	14.7
M16	20	6.101	22.2	24.1	8.6
M17	20	6.784	15.6	20.9	34.0
M18	11	3.882	18.6	20.8	11.8
M19	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
C20	20		17.7	28.6	61.6
C21	20		15.1	27.4	81.5
C22	20		15.8	27.2	72.2
C23	20		16.4	27.0	64.6
C24	20		16.2	28.7	77.2
C25	20		16.0	28.3	76.9

10

20

30

【 0 2 4 5 】

40

【表 2】

性	治療	平均%体重 変化	平均食物 消費量 (g)	平均 M ₄ N 消費量 (g)
メス	M ₄ N	24.9	258.8	4.9
メス	対照	23.9	342.0	N/A
オス	M ₄ N	21.0	225.0	4.7
オス	対照	72.3	375.0	N/A

10

【0246】

単離された器官の新鮮重が表3に示されている。大半の器官について、そのテストされた母集団の大きさが小さいために、明確な結論を下すことはできないが、それでも、M₄Nを含有する脂肪リッチ食餌の20週間の給餌後における脂肪細胞(adipocyte: fat cell)の重さの減少(0.84g対0.196g)は大きい。特に、M₄N無しの高脂肪食餌を給餌された二匹の対照マウス(C24及びC25)からの脂肪組織が単離され、CREM溶剤、又はCREM溶剤プラスM₄Nと、トータルで6日間(第1抽出72時間、及び更に72時間で第2抽出)インキュベートした。脂肪細胞重量を、CREM溶剤及びM₄N無しでのインキュベーション後の、0、3日目、及び6日目に測定した。その結果を表4に示す。

20

【0247】

【表 3】

	メス	メス	オス	オス
器官	対照	M ₄ N	対照	M ₄ N
すい臓	0.143	0.18	0.176	0.121
腎臓	0.254	0.3	0.323	0.35
盲腸	0.055	0.162	0.07	0.133
心臓	0.096	0.107	0.115	0.319
脾臓	0.06	0.08	0.059	0.065
肺	0.134	0.205	0.134	0.156
膀胱	0.0142	0.034	0.043	0.026
胃	0.162	0.243	0.185	0.177
結腸	0.124	0.195	0.149	0.186
肝臓	0.74	1.153	1.092	1.44
小腸	0.719	1.193	1.115	1.44
脂肪	0.353	0.509	0.84	0.196
精巣	—	—	0.183	0.189
精囊	—	—	0.242	0.154

30

40

【0248】

50

【表 4】

溶剤**/マウス	初期脂肪重量	第 1 抽出後の 脂肪重量	第 2 抽出後の 脂肪重量
-M ₄ N/C24	0.842g	0.837g	0.818g
+M ₄ N/C25	0.97g	0.481g	0.059g

** 溶剤：0.6ml CREM 0.6ml
エタノール±21.4mg M₄N、70℃、2分間、
8.8ml 0.15 M NaClで希釈

10

【0249】

例13. M₄Nの14日間の静脈内投与後のビーグル犬での安全性の研究

この実験において、オス及びメスのビーグル犬に対するM₄Nの二種類の製剤[Cremaphor - エタノール (CET) 又はジメチルスルホキシド (DMSO)]の製剤の最大耐容量 (MTD) を測定した。この例は、M₄Nが、犬に対して、四時間にわたる静脈内注入で、CET賦形剤の場合は10mg/kgまで、DMSO賦形剤の場合は100mg/kgまで、安全に投与されたことを示している。これらの製剤で、最小の毒性で、14,000ng/ml M₄N以下の血中レベルが達成された。

20

【0250】

M₄N - CET グループの血管アクセスポート (Vascular Access Port: VAP) 移植外科手術

VAPをビーグル犬に対して、注入カテコールの先端が、上大静脈の準位に位置するように移植した。犬は、外科手術の日に、鎮痛剤と抗生物質とによって、又、手術後は、抗生物質および/又は鎮痛剤によって予防的に処理された (適切な場合には、Gene Logic Inc. SOP Nos. 324.0.2、325.0.1及び326.0.2によって)。その他の処置が、スタッフの獣医による推奨により、提供された。カテーテルラインを、研究指導者によって適切であると見なされた頻度で、術後の回復時期中に、生理食塩水によって洗浄した。

30

【0251】

VAPが、M₄N - DMSOの注入を受けるように指定された犬に移植されたが、DMSOは、動物内のVAPに付着した注入カテーテルに適合しないことがわかった。従って、M₄N - DMSOグループ動物には、4時間の時間にわたり30分間毎に、非-VAP頸静脈を介して、8回の静脈内注射によってM₄N - DMSOが投与された。この送達頻度は、注入ポンプを使用した試験物の送達を模したものであった。

【0252】

【表 5】

グループ名称と投与量レベル

治療	犬の数	投与量 レベル (mg/kg)	注入速度 (mL/kg/hr)	注入量 (mL)	持続時間
M ₄ N-CET	1M, 1F	0	M (1.7) , F (1.3)		2 時間
		1	M (1.7) , F (1.4)		2 時間
		5	M (0.7) , F (0.6)		4 時間
		10	M (1.8) , F (1.3)		4 時間
M ₄ N-DMSO ^a	1M, 1F	0		M (0.17) , F (0.12)	4 時間
		10		M (0.16) , F (0.13)	4 時間
		50		M (0.83) , F (0.66)	4 時間
		100		M (1.78) , F (1.35)	4 時間
M ₄ N-DMSO ^b	1M, 1F	200		M (4.1) , F (2.8)	～1 時間

a. 4 時間に渡り 30 分間毎、8 回の静脈内注射

b. 潜在的毒性を測定するための追加動物、Mは3回の注射、
Fは2回の注射を受けた。

【0253】

前記 CET グループからの動物を、注入期間全体と、注入後の少なくとも一時間後とに観察した。DMSO グループの犬は、頸静脈注入期間全体と、最後（8 回目）の注入後の少なくとも1時間とに観察した。

【0254】

毒物動態学（TK）解析のための血液サンプルの収集

前記 CET グループ動物からの血液サンプルを、下記の時点、即ち、投与前、約 4 時間の注入の完了後の、0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 及び 16 時間後、研究日（SD）1, SD3, SD6 及び SD8 に頸静脈を介して収集した。

【0255】

前記 DMSO グループ動物からの血液サンプルを、下記の時点、即ち、投与前、M₄N - DMSO の最終注入後の、投与前、0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8 及び 16 時間後、SD1, SD3, SD6 及び SD8 に頭部静脈を介して収集した。

【0256】

両動物グループから収集された血液サンプルを、血漿及び血清の TK 解析のために処理

10

20

30

40

50

した。

【0257】

TK分析

前記血漿及び血清サンプルを、TK分析のために本提供者が指定した研究所である、MedTox Laboratoriesに送った。M₄N血漿及び血清濃度 - 時間データのTK分析を、MedTox Laboratoriesによる確証方法 (M200406) を使用して行い、非コンパートメント法によって分析し、毒物動態学的パラメータ (データによって可能である場合)、但し、C_{max}、T_{max}及びAUCに必ずしも限定されるものではない、の推定値を得た。

【0258】

研究日1 (SD1) :

a) M₄N - CETグループ

オス犬：CET注入に対して、最初の一時間半で、紅斑、蕁麻疹、そう痒、嘔吐、下痢、及び一般的な傾眠で反応した。そのあと、回復を始め、歩き回り始め、水を飲み始めた。注入終了後直ぐに正常に挙動した。

メス犬：嘔吐と下痢が無かったこと以外はオス犬と類似の反応であった。そのアレルギー反応も、オス犬よりも軽かった。注入終了後直ぐに正常に挙動した。

【0259】

b) M₄N - DMSOグループ

オス犬：DMSO注入に対して、軽度の紅斑、軽いそう痒、で反応した以外は、正常であった。最後の注入終了後直ぐに正常に挙動した。メス犬：オス犬と類似の反応。最後の注入終了後直ぐに振る舞いは正常になった。4匹の犬全部がそのそれぞれの賦形剤処理の注入に生き残った。それらはすべて治療後、健康で正常に挙動した。

【0260】

研究日3 (SD3) :

a) M₄N - CETグループ

オス犬：M₄N - CET (1 mg / kg) 注入に対して、軽い紅斑、蕁麻疹、そう痒、で反応した。この日のこれらの反応は、SD1のものよりも軽度であった。具体的には、動物には、嘔吐、下痢及び傾眠は無く、SD1においてよりもより機敏であった。注入終了後直ぐに正常に挙動した。メス犬：M₄N - CET (1 mg / kg) 当日の注入に対するその反応は、SD1に観察されたものよりも更に軽度であった。そのアレルギー反応は、軽い紅斑とそう痒を含んでいたが、その4時間の注入期間全体を通じて一般的に極めて機敏であった。注入終了後直ぐに正常に挙動した。

【0261】

b) M₄N - DMSOグループ

オス犬：この犬によるなんら有害な臨床反応はなかった。予想されたように、頸静脈の沿った注射部位にいくらかの炎症があった。

メス犬：この犬によるなんら有害な臨床反応はなかった。予想されたように、頸静脈の沿った注射部位にいくらかの炎症があった。

4匹の犬全部がそのそれぞれの試験物治療に生き残った。それらはすべて治療後、健康で正常に挙動した。

【0262】

研究日6 (SD6) :

a) M₄N - CETグループ

オス犬：以前の二つの投与日に類似し、この動物は、注入に対して軽い紅斑、蕁麻疹及び、そう痒で反応した。これらの反応の強度は、SD3での反応よりも確実に小さかった。動物は、嘔吐や下痢をせず、注入期間全体を通して一般的に機敏であった。注入終了後直ぐに正常に挙動した。

メス犬：以前の投与への反応と一致して、オス犬よりも当日の注入によく耐容性を示した。動物は軽度の紅斑、及び、そう痒を示したが、ほとんど機敏であった。注入終了後直ぐに正常に挙動した。

10

20

30

40

50

【0263】

b) M₄N - DMSO グループ

オス犬：この犬は、最初の3回の投与間隔（投与の間に1/2時間）において非-VAP頸静脈を介してM₄N - DMSOをうまく静脈内注射された。前の投与日と同様、この犬も各注射後において、なんら有害な臨床的徴候又は症候群を示さなかった。4回目の注射に先立って、技術者は、注射部位の周りに「卵のサイズ」の腫れに気づいた。皮下投与ミスの可能性は、それは、3回目の注射中に容易に検出されたであろうため、除外することができた。それは、注射部位を通して血液がゆっくりと血管外放出した結果の血腫である可能性が最も高かった。この動物は、三回目の注射後、それ以上の投与を受けなかったが、但し、血液サンプルは収集され、三回目の注射投与後の血液収集の正確な時点は明確に記録された。血腫は、2時間以内に無くなり、注射部位領域をゆっくりマッサージしても動物に炎症を起こさせることはなかった。

10

メス犬：この犬は、4時間にわたる8回反復投与全体においてM₄N - DMSOをうまく注射された。前の投与日と同様、この犬もなんら有害な臨床的徴候又は症候群を示さなかった。

【0264】

研究日8 (SD8) :a) M₄N - CET グループ

オスとメスの両方の犬が全投与を受けた。この高投与量に対するそれらの反応は、紅斑、蕁麻疹、及び、そう痒を含む、以前の投与日に示されたものに類似していた。嘔吐や下痢はなかった。動物は、注入終了後直ぐに正常に挙動した。

20

【0265】

b) M₄N - DMSO グループ

オスとメスの両方の犬が全投与を受けた。この高投与量に対するそれらの反応は、前の投与日に示されたものに類似していた。両方の犬が嘔吐の無い、いくらかの悪心反応を示し、それは通常よりも傾眠であったことからより多くの消化管炎症があったと思われた。しかし、両方の犬が、全高投与量の投与療法に生き残り、投与の完了後には回復したようであった。

【0266】

M₄N - DMSO グループのための追加投与 (200 mg / kg)

30

M₄N - DMSOを100 mg / Kg投与された動物はなんら有害な臨床的徴候又は症候群を示さなかった。二匹の予備の犬（オス1匹とメス1匹）に、M₄N - DMSOを200 mg / Kg投与した。200 mg / Kgでは、メス犬は、8回の投与の最初のあとに既に呼吸困難（鼻からの泡立ち）を経験し、直ぐに虚脱したが、二回目の投与時では回復することができ。二回目の投与後、その反応は、類似していたが、更に深刻であった。従って、スタッフ獣医はこのメス犬を安楽死させることを提案した。オス犬は、それよりも僅かに耐性を示したが、類似の呼吸困難と虚脱症候群を示した。この動物は全部で3回の投与を受けたが、スタッフ獣医はそれ以上の投与を停止することを提案した。

【0267】

この追加投与のためには投与後のTK分析は行われず、当日に収集された全ての投与前血液サンプルは破棄された。

40

【0268】

TK分析

a) M₄N - CET グループ

【0269】

【表 6】

M₄N-CET-血清結果 (ng/mL)

動物 No. / 性別	投与量	投与 前	15 分	30 分	1 時間	2 時間	4 時間	8 時間	16 時間
10828F	1mg/kg	<2	>100	>100	78.59	48.32	39.75	9.88	4.33
10827M	1mg/kg	<2	>100	>100	53.78	32.72	26.65	7.19	4.63
10828F	5mg/kg	<1	>100	>50	>50	>50	34.40	19.45	11.57
10827M	5mg/kg	<1	>50.0	>50	>50	43.35	19.99	12.98	6.71
10828F	10mg/kg	<20.0	>1000	>1000	705.47	285.10	187.82	133.50	52.94
10827M	10mg/kg	63.76	>1000	>1000	783.86	431.21	158.20	117.00	60.36

10

【0270】

一般に、異なる投与レベルの M₄N-CET の 4 時間の静脈内投与によって、初期の時点においては極度に高い血清濃度となり、注入終了後の 30 分後でピークに達した (表 7)。

20

【0271】

b) M₄N-DMSO グループ

【0272】

【表 7】

M₄N-DMSO-血清結果 (ng/mL)

動物 No. / 性別	投与量	投与 前	15 分	30 分	1 時間	2 時間	4 時間	8 時間	16 時間
10831F	10mg/kg	<2	594.98	398.95	436.92	238.20	97.92	43.80	38.39
10832M	10mg/kg	<2	516.8	533.07	348.7	252.86	317.13	78.87	56.27
10831F	50mg/kg	3.49	1136.51	474.95	673.4	241	144	101	58.8
10832M	50mg/kg	19.91	NR	NR	NR	234.15	79.11	65.79	45.8
10831F	100mg/kg	21.47	8688.10	8163.68	7696.48	2624.2	1021.05	459.82	222.2
10832M	100mg/kg	38.22	10477	14088	7498.88	3878.86	3468.19	814.24	593.8

30

40

【0273】

一般に、4 時間の異なる投与レベルの M₄N-DMSO の反復静脈内投与によって、極度に高い血清濃度となった。表 9 に報告されている血清濃度データは、検出範囲に対応するための血清の全身希釈後の結果である。これらの結果は、一般的に、M₄N-DMSO の血清濃度が、初期の時点において高く、最後の注射の 30 分後にピークに達したことを示している。試験物の血清濃度は、その後の 15 時間で低下した。このグループからの血清濃度に基づき、反復静脈内投与による投与時の、M₄N-DMSO の半減期間は、約 1.5 ~ 2 時間であった。この MTD 相における M₄N-DMSO の投与前血清濃度から、血液中において試験物の僅かな増大があったが、この保持は一般に最高の血清濃度の 0.3 % 以下であったことが銘記される。

50

【 0 2 7 4 】

この研究の M T D 相の目的は、オスとメスのビーグル犬に対する二種類の M₄ N 製剤 (Cremaphor - エタノール又はジメチルスルホキシド) の最大耐容量を判断することにあった。M₄ N - C E T を受けた動物グループは、Cremaphor - エタノールの効果に合致する臨床徴候及び症候群である、そう痒、紅斑、蕁麻疹、及び眠気の反応を示した。M₄ N - D M S O の反復注射を受けた動物グループは、1 0 0 m g / k g で、注射部位でのいくらかの炎症と、僅かな悪心を示した。しかし、両方の動物は、2 0 0 m g / k g の M₄ N - D M S O の 2 又は 3 回の注射後は虚脱した。このグループからの T K 分析は、M₄ N - D M S O の半減期が 1 . 5 ~ 2 時間の範囲であることを示唆している。この M T D 相における試験物の僅かな増大があったが、この保持は一般に最高の血清濃度の 0 . 3 % 以下であった。結論として、この研究の M T D 相は、重篤な有害臨床徴候及び症候群をもたらした投与量が同定され、したがって、この相の目的が達成されたことで成功であった。

10

【 0 2 7 5 】

このように、肥満の治療法について記載した。本発明の好適実施例についていくらか詳細に記載したが、貼付の請求項によって定義される本発明の要旨及び範囲から逸脱することなく明白な改変を行うことが可能であると理解される。

【 0 2 7 6 】

参考文献

- [0 0 1] アンセル, エイチ・シー (Ansel, H.C.) 他 (1999). *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems eds.*, 7th ed., Lippincott, Williams, & Wilkins. 20
- [0 0 2] アヴゴウスタキス, ケイ (Avgoustakis, K.) 他 (2002). PLGA-mPEG nanoparticles of cisplatin: in vitro nanoparticle degradation, in vitro drug release and in vivo drug residence in blood properties. *J. Controlled Release*, 79: 123-135.
- [0 0 3] ベレスティ, エイ (Belesti, A.) 他 (1999). Effect of preparative variables on the properties of PLGA-mPEG copolymers related to their application in controlled drug delivery, *Int. J. Pharm.* 182: 187-197.
- [0 0 4] ブランキ, エイ (Branchi, A.) 他 (1999), Lowering effects of four different statins on serum triglyceride level. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 55: 499-502.
- [0 0 5] ブレム, エイチ (Brem, H.) およびガビキアン, ピー (Gabikian, P.) (2001), Biodegradable polymer implants to treat brain tumors. *J. Control. Rel.* 74: 63 30
-67.
- [0 0 6] チョイ, ダブリュ・エス (Choi, W.S.) 他 (2001), Inhalation delivery of proteins from ethanol suspensions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98(20): 11103-11107.
- [0 0 7] チャーチル, ジェイ・アール (Churchill, J.R.) およびハッチンソン, エフ・ジー (Hutchinson, F.G.) (1988). Biodegradable amphipathic copolymers. *US* 4,745,160.
- [0 0 8] クラフェシー, ティ・エフ (Cloughesy, T.F.) 他 (1997), *J. Neurooncol.* 35: 121-131.
- [0 0 9] デサイ, ディ・シー (Desai, D.C.) 他 (2001). Serum pancreastatin levels predict response to hepatic artery chemoembolization and somatostatin analogue therapy in metastatic neuroendocrine tumors. *Reg Peptides* 96: 113-117. 40
- [0 1 0] ドゥーリトル, エヌ・ディ (Doolittle, N.D.) 他 (2000), *Cancer* 88(3): 637-647.
- [0 1 1] ドロウガス, ジェイ・ジー (Drougas, J.G.) 他 (1998). Hepatic artery chemoembolization for management of patients with advanced metastatic carcinoid tumors. *Am. J. Surg.* 175: 408-412.
- [0 1 2] エプスタイン, ジェイ・ビー (Epstein, J.B.) 他 (2002). Fluconazole mouth rinses for oral candidiasis in post-irradiation, transplant, and other patients. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* 93(6): 671-675. 50

- [0 1 3] フェッシ, エイチ (Fessi, H.) 他 (1989). Nanocapsule formulation by interfacial deposition following solvent displacement. *Int. J. Pharm.*, 55: R1-R4.
- [0 1 4] フレミング, エイ・ビー (Fleming, A.B.) およびソールツマン, ダブリュ・エム (Saltzman, W.M.) (2002). Pharmacokinetics of the Carmustine Implant. *Clin. Pharmacokinet.*, 41(6): 403-419.
- [0 1 5] フー, ジェイ (Fu, J.) 他 (2002). New Polymeric Carriers for Controlled Drug Delivery Following Inhalation or Injection. *Biomaterials*, 23: 4425-4433.
- [0 1 6] ジェンナーロ, エイ (Gennaro, A.) (1995). "Remington: The Science and Practice of Pharmacy", 19th edition, Lippincott, Williams, & Wilkins.
- [0 1 7] ゴンダ, アイ (Gonda, I.) 他 (1998). Inhalation delivery systems with compliance and disease management capabilities. *J. Control. Rel.* 53: 269-274.
- [0 1 8] ガウリ, エム・エス (Gowri, M.S.) 他 (1999). Masoprocil lowers blood pressure in rats with fructose-induced hypertension. *Am. J. Hypertension* 12: 744-746.
- [0 1 9] フー, ジェイ・アール (Hwu, J.R.) 他 (1998). Antiviral activities of methylated nordihydroguaiaretic acids. 1. Synthesis, structure identification, and inhibition of Tatregulated HIV transactivation. *J. Med. Chem.* 41(16): 2994-3000.
- [0 2 0] カオ, エイチ・ディ (Kao, H.D.) 他 (2000). Enhancement of the Systemic and CNS Specific Delivery of L-Dopa by the Nasal Administration of Its Water Soluble Prodrugs. *Pharmaceut. Res.*, 17(8): 978-984.
- [0 2 1] クーリ, エイ・アイ (Khouri, A.I.) 他 (1986). Development of a new process for the manufacture of polyisobutyl-cyanoacrylate nanoparticles, *Int. J. Pharm.*, 28: 125.
- [0 2 2] キッベ, エイ・エイチ (Kibbe, A.H.) (2000). Handbook of Pharmaceutical Excipients, eds., 3rd ed. Amer. Pharmaceutical Assoc.
- [0 2 3] コホリ, エフ (Kohori, F.) 他 (1998). Preparation and characterization of thermally responsive block copolymer micelles comprising poly(N-isopropylacrylamide-b-D, L-lactide). *J. Control. Rel.* 55: 87-98.
- [0 2 4] コホリ, エフ (Kohori, F.) 他 (1999). Control of adriamycin cytotoxic activity using thermally responsive polymeric micelles composed of poly(N-isopropylacrylamide-co-N, N-dimethylacrylamide)-b-poly(D,L-lactide). *Colloids Surfaces B: Biointerfaces* 16: 195-205.
- [0 2 5] クロイター, ジェイ (Kreuter, J.) (1994). Nanoparticles, In *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*; Swarbrick, J.: Boylan, J.C. Eds.; Marcel Dekker (New York, 1994), pp. 165-190.
- [0 2 6] ランプレヒト, エイ (Lamprecht, A.) 他 (2001a). Biodegradable Nanoparticles for Targeted Drug Delivery in Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *J. Pharmacol. Experimental Therapeutics*, 299: 775-781.
- [0 2 7] ランプレヒト, エイ (Lamprecht, A.) 他 (2001b). Design of rolipram loaded nanoparticles: comparison of two preparation methods. *J. Control. Rel.*, 71: 297-306.
- [0 2 8] リッグインズ, アール・ティ (Liggins, R.T.) およびバート, エイチ・エム (Burt, H.M.) (2002). Polyether-polyester diblock copolymers for the preparation of paclitaxel loaded polymeric micelle formulations. *Adv. Drug Del. Rev.* 54: 191-202.
- [0 2 9] ロックマン, ピー・アール (Lockman, P.R.) 他 (2002). Nanoparticle Technology for Drug Delivery Across the Blood-Brain Barrier. *Drug Development Indus. Pharmacy*, 28(1): 1-13.
- [0 3 0] マッデン, ティ・ディ (Madden, T.D.) 他 (1990). *Chem. Phys. Lipids* 53: 50

37-46.

[0 3 1] マントリプルガダ , エス (Mantriprgada, S.) (2002). A lipid based depot (DepoFoam (登録商標) technology) for sustained release drug delivery. Prog Lipid Res. 41: 392-406.

[0 3 2] マーティン , イー (Marttin, E.) 他 (1997). Nasal absorption of dihydroergotamine from liquid and powder formulations in rabbits. J. Pharm. Sci. 86(7): 802-807.

[0 3 3] マクドナルド , アール・ダブリュ (McDonald, R.W.) 他 (2001). Synthesis and anticancer activity of nordihydroguaiaretic acid (NDGA) and analogues. Anti-Cancer Drug Des. 16: 261-270.

[0 3 4] ミン , エイ (Minn, A.) 他 (2002). Drug transport into the mammalian brain: the nasal pathway and its specific metabolic barrier. J. Drug Target, 10: 285-296.

[0 3 5] ムー , エル (Mu, L.) およびフェン , エス・エス (Feng, S.S.) (2003). A novel controlled release formulation for the anticancer drug paclitaxel (Taxol (登録商標)): PLGA nanoparticles containing vitamin E TPGS. J. Control. Rel. 86: 33-48.

[0 3 6] オルソン , エイ・ジー (Olsson, A.G.) 他

[0 3 7] ピッテン , エフ (Pitten, F.) 他 (2003). Do cancer patients with chemotherapy-induced leucopenia benefit from an antiseptic chlorhexidine-based oral rinse? A double-blind, block-randomized, controlled study. J. Hosp. Infect. 53(4): 283-291.

[0 3 8] ラポポート , エヌ・ワイ (Rapoport, N.Y.) 他 (1999). Micellar delivery of doxorubicin and its paramagnetic analog, ruboxyl, to HL-60 cells: effect of micelle structure and ultrasound on the intracellular drug uptake.

[0 3 9] リード , エム・ジェイ (Reed, M.J.) 他 (1999). Effect of masoproc on carbohydrate and lipid metabolism in a rat model of Type II diabetes. Diabetologia 42: 102-106.

[0 4 0] シャルマ , ユー・エス (Sharma, U.S.) 他 (1997). Liposome-mediated therapy of intracranial brain tumors in a rat model. Pharm. Res. 14(8): 992-998.

[0 4 1] ソン , シー・エックス (Song, C.X.) 他 (1997). Formulation and characterization of biodegradable nanoparticles for intravascular local drug delivery, J. Controlled Release 43: 197-212.

[0 4 2] スタッチリック , エム (Stuchlik, M.) およびザック , エス (Zak, S.) (2001). Lipid-Based Vehicle for Oral Delivery, Biomed. Papers 145(2): 17-26.

[0 4 3] トゥザール , ゼット (Tuzar, Z.) およびクラトクヴィル , ピー (Kratochvil, P.) (1976). Block and graft copolymer micelles in solution. Adv. Colloid Interface Sci. 6: 201-232.

[0 4 4] ワン , ディ・エル (Wang, D.L.) 他 (2000). Topical Delivery of 13-cis-Retinoic Acid by Inhalation Up-Regulates Expression of Rodent Lung but not Liver Retinoic Acid Receptors. Clin. Cancer Res. 6: 3636-3645.

[0 4 5] ウィルヘルム , エム (Wilhelm, M.) 他 (1991). Poly(styrene-ethylene oxide) block copolymer micelle formation in water: a fluorescence probe study. Macromolecules 24: 1033-1040.

[0 4 6] ツァン , エックス (Zhang, X.) 他 (1996). Development of amphiphilic diblock copolymers as micellar carriers of taxol. Int. J. Pharm. 132: 195-206.

【図面の簡単な説明】

【 0 2 7 7 】

【図 1】肥満の治療のために、組織に対してNDGA誘導体を投与する種々の態様の具体例の略図であり、M₄Nは、親水性NDGA、G₄Nは、親油性NDGA、SCは、皮下

10

20

30

40

50

投与。I P は、腹腔内投与、I M は筋肉内投与を表す図。

【 図 1 】

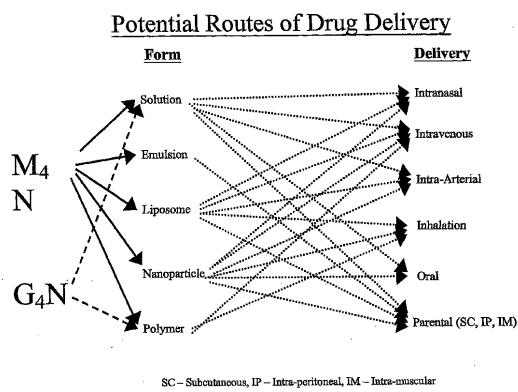


FIG. 1

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US04/16114
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A 61K 31/05, 9/127, 9/14, 9/48 US CL : 514/734; 424/450, 434, 434, 43, 489 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 514/734; 424/450, 434, 434, 43, 489 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) Please See Continuation Sheet		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 5,827,898 A (KHANDWALA et al) 27 October 1998 (27.10.1998), abstract, col. 6, line 10 through col. 10, line 14, col. 12, lines 35-67, col. 13, lines 40-52, col. 14, line 20 through col. 16, line 2.	1-18, 23-40, 44, 46, 48, 59-63, 70-72, 74-78, 80-90, 95-96, 98-99, 102-103, 110 & 115-116 ----- 19-22, 41-43, 45, 64-67, 73, 79, 91-94, 97, 100-101, 104-109, 111-114 & 117-118
X — Y	US 3,934,034 A (MANNING) 20 January 1976 (20.01.1976), abstract, col. 1, line 13 through col. 3, line 52, examples.	1-15, 19, 23-35 & 97 ----- 16-18, 20-22, 36-46, 48, 59-67, 70-96 & 98-118
Y	WO 96/40090 A1 (UNIVERSITY OF SOUTHERN CALIFORNIA) 19 December 1996 (19.12.1996), abstract, page 19, line 11 through page 23, line 20 and claims.	20-22, & 81
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	
"E" earlier application or parent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 16 November 2004 (16.11.2004)	Date of mailing of the international search report 14 FEB 2005	
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230	Authorized officer <i>J. Roberts for</i> Gollamudi S Kishore, Ph.D Telephone No. (571) 272-1600	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US04/16114

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 4,098,908 A (KATHAWALA) 04 July 1978 (04.07.1978), col. 5, lines 13-17.	36-45, 48, 59-67 & 70-96 & 98-118
X	US 4,708,964 A (ALLEN) 24 November 1987 (24.11.1987), abstract, col. 7, lines 16-49 and claims.	1-15, 23, 25-27, 33 & 35

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US04/16114

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

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

1. ☐ Claim Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☒ Claim Nos.: 47,49-58,68 and 69
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
There are two claims with 47 numbering (duplicated) and claims 49-58, 68 and 69 depend from claim 47. It is unclear as to which claim 47 they depend from.
3. ☐ Claim Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

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

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

Remark on Protest☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

☐

No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US04/16114

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:

WEST

Search terms: catecholic butane, weight, obesity, ndga, liposome, nanoparticle, nanosphere, oral, mucosal, nasal, inhalation, sustained, controlled, immediate release.

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 47/20 (2006.01)	A 6 1 K 47/20	
A 6 1 K 47/02 (2006.01)	A 6 1 K 47/02	
A 6 1 K 47/04 (2006.01)	A 6 1 K 47/04	
A 6 1 K 47/30 (2006.01)	A 6 1 K 47/30	
A 6 1 K 9/127 (2006.01)	A 6 1 K 9/127	
A 6 1 K 9/16 (2006.01)	A 6 1 K 9/16	
A 6 1 K 9/20 (2006.01)	A 6 1 K 9/20	
A 6 1 K 9/14 (2006.01)	A 6 1 K 9/14	

- (31)優先権主張番号 60/472,282
 (32)優先日 平成15年5月20日(2003.5.20)
 (33)優先権主張国 米国(US)
 (31)優先権主張番号 60/472,008
 (32)優先日 平成15年5月20日(2003.5.20)
 (33)優先権主張国 米国(US)

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

- (74)代理人 100114096
 弁理士 崎 山 尚子
 (72)発明者 ヘラー, ジョナサン
 アメリカ合衆国 ノース・カロライナ 27607 ローリー デュプリン・ロード 1406
 (72)発明者 フレイザー, ニール
 アメリカ合衆国 ノース・カロライナ 27511 ケアリー グレイフライアーズ・レーン 109
 (72)発明者 チャン, チー チュアン
 アメリカ合衆国 メリーランド 21218 ボルティモア ノース・チャールズ・ストリート 3400 ジョンズ・ホプキンス・ユニバーシティ ディパートメント・オブ・バイオロジ
 (72)発明者 リン, エレイン
 アメリカ合衆国 ニューヨーク 10016 ニューヨーク ファースト・アベニュー 550 エヌワイユー・スクール・オブ・メディスン
 (72)発明者 フアン, ル・チー・シー
 アメリカ合衆国 メリーランド 21218 ボルティモア ノース・チャールズ・ストリート 3400 ジョンズ・ホプキンス・ユニバーシティ ディパートメント・オブ・バイオロジ

F ターム(参考) 4C076 AA12 AA19 AA30 AA31 AA37 AA53 AA93 AA94 BB01 BB13
 BB21 BB22 BB25 BB31 CC21 DD23A DD26A DD55A EE56A FF31
 FF33
 4C206 AA01 AA02 CA20 FA22 MA02 MA05 MA37 MA55 MA57 MA63
 MA72 MA76 MA77 MA79 MA83 MA86 NA14 ZA70