

(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2005-510536
(P2005-510536A)

(43) 公表日 平成17年4月21日(2005.4.21)

(51) Int.Cl.⁷

A61K 31/593
A61K 31/663
A61K 45/00
A61P 1/00
A61P 1/18

F 1

A 61 K 31/593
A 61 K 31/663
A 61 K 45/00
A 61 P 1/00
A 61 P 1/18

テーマコード(参考)

4 C 08 4
4 C 08 6

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 25 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-546838 (P2003-546838)	(71) 出願人	502227594 ボーン ケア インターナショナル イン コーポレイテッド アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 53 562 ミドルトン アスピン コモンズ 1600
(86) (22) 出願日	平成14年11月26日 (2002.11.26)	(74) 代理人	100082005 弁理士 熊倉 賴男
(85) 翻訳文提出日	平成16年5月28日 (2004.5.28)	(74) 代理人	100084009 弁理士 小川 信夫
(86) 國際出願番号	PCT/US2002/038263	(74) 代理人	100084663 弁理士 稲田 篤
(87) 國際公開番号	W02003/045333	(74) 代理人	100093300 弁理士 浅井 賢治
(87) 國際公開日	平成15年6月5日 (2003.6.5)		
(31) 優先権主張番号	09/995,911		
(32) 優先日	平成13年11月28日 (2001.11.28)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】活性ビタミンD類縁物質を使用した過剰増殖性疾病的治療

(57) 【要約】

本発明は、高投与量の一時的治療プロトコルを利用して、腫瘍及び他の過剰増殖性疾病的過剰増殖性細胞活性を活性ビタミンD化合物により阻害する方法を提供する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

悪性細胞又は新生細胞の過剰増殖の阻害方法であって、抗増殖性量の活性ビタミンD化合物によって一時的に前記細胞を治療することを含み、該活性ビタミンD化合物が、C₂₄位に炭化水素部分を有しあつ高カルシウム血症の低下した危険性を有する低カルシウム性ビタミンD化合物であり、前記細胞が、ビタミンD受容体を発現することを特徴とする方法。

【請求項 2】

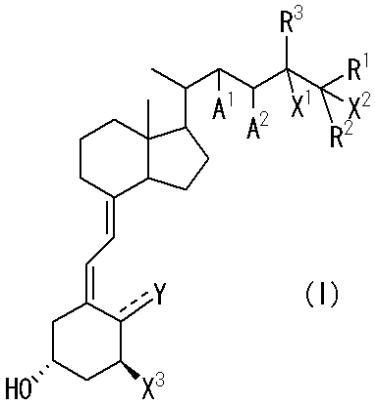
前記活性ビタミンD化合物が、低カルシウム性ビタミンD化合物である請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記悪性細胞が、胸、結腸、前立腺、肺、首及び頭、膵臓、子宮内膜、膀胱、頸部、精巣又は卵巣の癌、扁平上皮癌、骨髄球性及びリンパ性白血病、リンパ腫、延髄の甲状腺癌、黒色腫、多発性骨髄腫、網膜芽細胞腫又は軟組織及び骨の肉腫に関連している請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

前記低カルシウム性ビタミンDが、次式(I)に表される化合物である請求項2に記載の方法。



(式中、A¹及びA²は、それぞれ水素原子であるか又はいっしょになって炭素-炭素結合を表し、その結果、C-22とC-23との間に二重結合を形成し；R¹及びR²は、同一又は相違しあつ水素原子、低級アルキル、低級フルオロアルキル、0-低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル、又は低級シクロアルキルであり、但し、R¹及びR²は、共にアルケニル基であることはなく、又はR¹及びR²は、それらが結合している炭素原子といっしょになってC₃-C₈環状炭素環を形成し；R³は、低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルキル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルキル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル又は低級シクロアルキルであり；X¹は、水素原子又は水酸基であるか、又はR³がアルケニル基のときにはR³といっしょになって結合を構成し、及びX²は、水素原子又は水酸基であるか、又はR¹又はR²といっしょになって二重結合を構成し、及びX³は水素原子又は水酸基であり、但し、X¹、X²及びX³の少なくとも一つは、水酸基であり、及びYは、Yとの結合が二重結合の場合には、メチレン基を表すか、又はYとの結合が単結合である場合には、メチル基又は水素原子を表す。)

【請求項 5】

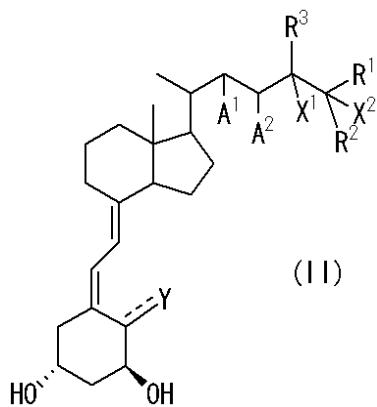
前記低カルシウム性ビタミンD化合物が、次式(II)の化合物である請求項2に記載の方法。

10

20

30

40

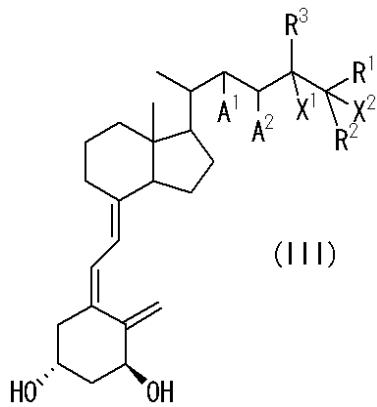


10

(式中、A¹及びA²は、それぞれ水素原子であるか又はいっしょになって炭素-炭素結合を表し、その結果、C-22とC-23との間に二重結合を形成し；R¹及びR²は、同一又は相違しかつ水素原子、低級アルキル、低級フルオロアルキル、0-低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル、又は低級シクロアルキルであり、但し、R¹及びR²は、共にアルケニル基であることはなく、又はR¹及びR²が結合している炭素原子といっしょになって、C₃-C₈環状炭素環を形成し；R³は、低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルキル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルキル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル又は低級シクロアルキルであり；X¹は、水素原子又は水酸基であるか、又はR³がアルケニル基のときにはR³といっしょになって、結合を構成し、及びX²は、水素原子又は水酸基であるか、又はR¹又はR²といっしょになって二重結合を構成し、及びYは、Yとの結合が二重結合の場合には、メチレン基を表すか、又はYとの結合が単結合である場合には、メチル基又は水素原子を表す。)

20

【請求項 6】



30

前記低カルシウム性ビタミンD化合物が、次式(III)の化合物である請求項2に記載の方法。

(式中、A¹及びA²は、それぞれ水素原子であるか、又はいっしょになって炭素-炭素結合を表し、その結果、C-22とC-23との間に二重結合を形成し；R¹及びR²は、同一又は相違しかつ水素原子、低級アルキル、低級フルオロアルキル、0-低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル、又は低級シクロアルキルを表し、但し、R¹及びR²は、共にアルケニル基であることはないか、又はR¹及びR²は、それらが結合している炭素原子といっしょになって、C₃-C₈環状炭素環を形成し；R³は、低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルキル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルキル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル又は低級シクロアルキルであり；X¹は、水素原子又は水酸基であるか又は、R³がアルケニル基のときにはR³といっしょになって、結合を構成し、及びX²は、水素原子又は水酸基であるか、又は、R¹又はR²といっしょになって、二重結合を構成する。)

40

【請求項 7】

50

前記活性ビタミンDが、1,25-ヒドロキシビタミンD₂又は1,24-ジヒドロキシビタミンD₂である請求項2に記載の方法。

【請求項8】

前記活性ビタミンDが、1,25-ヒドロキシビタミンD₄；1,25-ジヒドロキシビタミンD₂；1,24,25-トリヒドロキシビタミンD₂；1,25-ジヒドロキシビタミンD₄；1,24,25-トリヒドロキシビタミンD₄；24-ヒドロキシビタミンD₂；又は24-ヒドロキシビタミンD₄である請求項2に記載の方法。

【請求項9】

前記活性ビタミンD化合物が、一時的にヒト癌患者に投与され、その量が高カルシウム血症の危険性を低減しながら、新生細胞の過剰増殖性疾患を阻害するのに効果的な量である請求項2に記載の方法。

10

【請求項10】

前記活性ビタミンDの量が、約10μgと約200μgとの間の高投与量である請求項9に記載の方法。

【請求項11】

前記量の前記ビタミンD化合物が、医薬的に許容できる担体と組み合わせて、非経口的に又は経口的に投与される請求項9に記載の方法。

【請求項12】

前記量のビタミンD化合物が、非経口的に投与される請求項11に記載の方法。

【請求項13】

前記量のビタミンD化合物が、静脈内投与される請求項12に記載の方法。

20

【請求項14】

前記投与量が、約10μg～約200μgで週1回～12週ごとに1回の頻度で投与される請求項9に記載の方法。

【請求項15】

前記活性ビタミンDが、C-24位において炭化水素部分を欠いている請求項1に記載の方法。

【請求項16】

前記活性ビタミンDが、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃又は1,25-ジヒドロキシビタミンD₃である請求項15に記載の方法。

30

【請求項17】

前記量の前記ビタミンD化合物が、医薬的に許容できる担体と組み合わせて、非経口的に又は経口的に投与される請求項16に記載の方法。

【請求項18】

前記量のビタミンD化合物が、非経口的に投与される請求項17に記載の方法。

【請求項19】

前記量のビタミンD化合物が、静脈内投与される請求項18に記載の方法。

【請求項20】

前記投与量が、約10μg～約200μgで週1回～12週ごとに1回である請求項16に記載の方法。

40

【請求項21】

悪性細胞又は新生細胞の過剰増殖の阻害方法であって、抗過剰増殖性量の活性ビタミンD化合物を、抗悪性腫瘍薬、骨剤、抗高カルシウム剤又はそれらの組合せである効果的な量の薬剤とともに、共投与し、前記細胞がビタミンD受容体を発現させる細胞であり、抗過剰増殖性量の活性ビタミンD化合物が週1回～約12週間ごと1回である一時的に投与されることを特徴とする方法。

【請求項22】

前記活性ビタミンD化合物及び前記薬剤の量が、一時的にヒト癌患者に共投与され、前記活性ビタミンDの量が、新生細胞の過剰増殖の阻害に効果的である請求項21に記載の方法。

50

【請求項 2 3】

前記薬剤が、抗悪性腫瘍薬である請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

前記抗悪性腫瘍薬が、一時的に投与されかつ前記活性ビタミンDが抗悪性腫瘍薬と同時に投与される請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記抗悪性腫瘍薬が、代謝拮抗物質、微小管阻害剤、アルキル化剤、白金剤、アントロサイクリン、トピソメラーゼ阻害剤、抗生剤、その他の抗悪性腫瘍薬、又はそれらの組み合わせである請求項 2 3 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記薬剤が、抗高カルシウム剤である請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 7】

前記抗高カルシウム剤が、ビスホスホネートである請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

活性ビタミンD化合物、抗悪性腫瘍薬及び抗高カルシウム剤が、共投与される請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 9】

過剰増殖性疾患において細胞の過剰増殖を阻害する方法であって、抗増殖性量の活性ビタミンD化合物により前記細胞を処理し、前記細胞が、ビタミンD受容体を発現する前記細胞であり、抗過剰増殖性量の活性ビタミンD化合物が、週 1 回～約 1 2 週ごとに 1 回という一時的な基準で投与されることを特徴とする方法。

【請求項 3 0】

前記活性ビタミンD化合物が、過剰増殖性疾患のヒト患者に、一時的に投与され、その量が、細胞の過剰増殖を阻害するのに効果的な量である請求項 2 9 に記載の方法。

【請求項 3 1】

前記量が、約 10 μ g と約 200 μ g との間の高投与量である請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 2】

過剰増殖性疾患が、乾癬である請求項 3 0 に記載の方法。

【請求項 3 3】

活性ビタミンD化合物と抗悪性腫瘍薬との一時的な共投与を含むことを特徴とする医薬治療。

【請求項 3 4】

a)一時的に投与される活性ビタミンD化合物、
b)前記ビタミンD化合物と共に投与される抗悪性腫瘍薬、
を含むことを特徴とする製薬組合せ。

【請求項 3 5】

a)活性ビタミンD化合物、
b)抗悪性腫瘍薬、骨剤、及び抗高カルシウム剤又はそれらの組み合わせである薬剤、及び
c)請求項 2 2 に記載の方法の実施に効果的な指示書、
を含むことを特徴とするキット。

【請求項 3 6】

前記薬剤が、抗悪性腫瘍薬である請求項 3 5 に記載のキット。

【請求項 3 7】

前記ビタミンD化合物及び抗悪性腫瘍薬が、非経口的投与用に処方されている請求項 3 6 に記載のキット。

【請求項 3 8】

前記ビタミンD化合物及び抗悪性腫瘍薬が、物理的に別々に製造され、かつ時間系列的共投与が企図されている請求項 3 6 に記載のキット。

【請求項 3 9】

a)活性ビタミンD化合物、

10

20

30

40

50

- b)抗悪性腫瘍薬、及び
c)請求項22に記載の方法の実施に効果的な指示書、
から本質的になる請求項35に記載のキット。

【請求項40】

- a)活性ビタミンD化合物、
b)抗悪性腫瘍薬、
c)抗高カルシウム剤、及び
d)請求項22に記載の方法の実施に効果的な指示書、
から本質的になる請求項35に記載のキット。

【請求項41】

前記活性ビタミンD化合物が、約10μgと約200μgとの間の投与量である請求項35に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

(関連出願の参照)

この出願は、2001年6月26日に出願した米国特許第09/891,814号の部分継続出願であり、前記米国特許第09/891,814号は1998年2月23日に出願した米国特許第09/596,149号の部分継続出願であり、前記米国特許第09/596,149号は1996年12月30日に出願され現在、米国特許5,763,429号である米国特許第08/781,910号の分割出願であり、これらすべてはここで参考として組み込まれている。

(発明の背景)

本発明は活性型ビタミンDを活用した過剰増殖性疾患の治療方法に関する。活性ビタミンD化合物はこれらの疾患の過剰増殖性細胞活性を阻害し、またこの細胞の分化を促進し、高カルシウム血症の危険を低下させる。高カルシウム血症の危険の低下は、1)高投与量のビタミンDの一時的(episodic)投与により、又は2)活性ビタミンDとビスホスホネートのような抗高カルシウム血症剤との共投与により達成される。この危険は、活性ビタミンD化合物が低カルシウム性活性ビタミンDである場合に更に緩和される。本発明は、活性ビタミンD化合物を他の抗腫瘍性(即ち、抗ガン)剤とともに共投与する医薬的組合せ治療も提供する。本発明の方法は、悪性細胞により產生される血清副甲状腺ホルモン関連タンパク(PThrP)レベル、従ってそれに関連する高カルシウム血症を制御し、安定化し、除去するのにも有用である。

過去20年の間の広範な研究によって、骨、無機物代謝におけるビタミンDの著名な役割は別に、ビタミンDの重要な生物的な役割が確立された。ビタミンDのホルモン活性型である1,25-ジヒドロキシビタミンD₃の特定の核受容体は、カルシウム恒常性に関連しない多様な器官からの細胞に存在する。例えば、特定の、生物学的活性なビタミンD受容体は、ヒト前立腺癌細胞株、LNCaP(Miller et al., 52 Cancer Res. (1992) 515-520)において実証され、ビタミンD受容体は多くの腫瘍細胞、例えば胸及び大腸の癌に対しても記載されている。

【0002】

特定のビタミンD化合物及び類縁体が悪性細胞増殖の有力な阻害剤であり、細胞分化の誘導物質/刺激剤であることが報告されている。例えば、Sudaらの米国特許第4,391,802号明細書は、1-ヒドロキシビタミンD化合物、特に1,25-ジヒドロキシビタミンD₃及び1-ヒドロキシビタミンD₃が、悪性細胞(具体的には、白血病細胞)の悪性でないマクロファージ(単核白血球)への分化を誘起するために有力な抗白血病性活性を有し、また白血病治療において有用であることを開示している。1,25-ジヒドロキシビタミンD₃及び他のビタミンD₃類縁体の抗増殖作用及び分化作用もまた、癌細胞株に関して報告されている。さらに最近、ビタミンD受容体遺伝子多型性と、癌危険性との間の関係が報告され、ビタミンD受容体が癌の進行、及び見込まれる治療において役立つかもしれないことが示唆された。

10

20

30

40

50

ビタミンD化合物及び癌治療の従来の研究は、専らビタミンD₃化合物に集中していた。これらの化合物が実際に培養中の悪性細胞における分化の促進に高い効果があるかもしれないとしても、抗癌剤として分化治療における実用的使用は、カルシウム代謝に作用する薬剤として同じくらい高い効能を有するため、厳しく制限されている。例えば抗白血病薬として効果的な使用のために *in vivo* で要求されるレベルでは、これら化合物は、その本来のカルセミック (calcemic) 活性のために、顕著に上昇しあつ潜在的に危険な血液カルシウムレベルを誘起しうる。すなわち、1_α,25-デヒドロキシビタミンD₃ 及び他のビタミンD₃類縁体の抗がん剤としての臨床使用は、高カルシウム血症の危険によって、除外されるか又は厳しく制限される。このことは、より大きな特異的活性及び選択性の作用を有する化合物、すなわち抗増殖性及び分化効果を有するがカルセミック活性は少ないビタミンD化合物の必要性を示唆する。

10

【0003】

腸管カルシウム吸収の有力な刺激剤となる特定のビタミンD化合物の臨床使用に関連する高カルシウム血症の危険に加え、カルシウム血症は今や特に悪性腫瘍にも関する。そのような悪性腫瘍関連高カルシウム血症 (MAH) は、しばしば疾病率の主要な引き金となっており、悪性腫瘍の臨床管理を複雑化する。副甲状腺ホルモン関連タンパク (PTHrP) は、そのような高カルシウム血症の主要な原因物質の一つであり、悪性細胞により過剰産生される。PTHrPは副甲状腺ホルモン (PTH) と密接に関連し、他の受容体と同様、PTHと同一の受容体と結合する。1,25-ジヒドロキシビタミンD₃が、細胞中のPTHrP遺伝子の転写を抑制することが見出された。しかし、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃化合物自体は血清カルシウムレベルを増加させる。従って、抗増殖性及び分化効果を提供するがPTHrPレベルを制御する活性ビタミンDの特別な治療方法が必要とされている。

20

【0004】

(発明の概要)

本発明は、過剰増殖疾患状態、例えば過剰増殖細胞成長及び/又は異常細胞分化により特徴づけられる疾患状態を、高カルシウム血症の危険を低下させながら治療する方法を提供する。この方法は高投与量型で、断続的又は一時的基準で投与されて、異常細胞成長を阻止し細胞分化を促進するための活性ビタミンD化合物（下に定義されている）、特に低カルシウム性活性ビタミンD化合物、具体的にはビタミンD₂及びD₄、の使用を含む。活性ビタミンD化合物は単独治療又は、1種以上の他の抗悪性腫瘍薬と組み合わせた治療として用いてもよい。抗高カルシウム血症剤は活性ビタミンD又はビタミンD-抗悪性腫瘍薬の組み合わせとともに使用しうる。活性ビタミンDの高投与量一時療法は、血清PTHrPレベルを制御するのに価値があり、この上昇は悪性腫瘍又は過剰増殖性疾患と関連する高カルシウム血症と相互関係を有する。

30

本発明の上記の及び他の利点は、腫瘍性細胞又は増殖性細胞の過剰増殖性活性を阻害する方法において、その一形態として実現され、この方法は、効果的量の活性ビタミンD化合物による細胞の治療を含む。この治療工程は、細胞の増殖を阻害し、そのような細胞における分化を誘起し、高めることを含む。活性ビタミンDの効果的な量は、高投与量の一時的投与療法によって与えられる。本発明の方法は、またPTHrPのレベル及び悪性腫瘍に関連する高カルシウム血症の制御において有用である。

40

【0005】

本発明のビタミンD化合物は活性ビタミンDであり、一般的に下で記載される式(I)により表される。本発明のビタミンD化合物は、分子中のC₁、C₂₄又はC₂₅の位置の少なくとも一つにおいて置換された水酸基を有するビタミンD化合物、すなわち、ヒドロキシビタミンDを含む。例えば式(I)の化合物は、1_α,24-ジヒドロキシビタミンD₂、1_α,24-ジヒドロキシビタミンD₄、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₄、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₂、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₃、及び1_α,24,25-トリヒドロキシビタミンD₂、制限なく好適に含み、また、例えば1_α-ヒドロキシビタミンD₂、1_α-ヒドロキシビタミンD₄、1_α-ヒドロキシビタミンD₃、24-ヒドロキシビタミンD₂、24-ヒドロキシビタミンD₄、24-ヒドロキシビタミンD₃、及び25-ヒドロキシビタミンD₃のようなプロドラッグ又はプロホルモン

50

を含む。

本発明の活性ビタミンD化合物は、胸及び結腸又は結腸直腸癌、及び他の腫瘍、例えば肺癌、前立腺癌、子宮体癌、肺の小細胞及び非小細胞癌（扁平上皮乳頭腫、腺癌及び大細胞型を含み）、頭及び首の扁平上皮乳頭腫細胞癌、膀胱、卵巣及び頸部の癌、ミエロイド及びリンパ性白血病、リンパ腫、肝癌、延髄甲状腺癌、多重骨髄腫、黒色腫、網膜芽細胞腫、及び軟組織及び骨の肉腫の治療に有用である。過剰増殖性疾患、新生物及び悪性腫瘍の治療におけるその価値とともに、本発明の活性ビタミンD化合物はPTHrPレベルの低下及び/又は低下したPTHrPレベルの持続について有益であり、この上昇又は過剰産生は過剰増殖性疾患に関連する高カルシウム血症と関連する。

【0006】

本発明によれば、効果的な量の活性ビタミンD化合物を癌又は腫瘍の患者に投与すると、異常腫瘍細胞の増殖活性は阻害され、低減され、又は安定化され、及び/又は細胞分化は誘起され、促進され、高められる。高カルシウム血症が悪性腫瘍に関連する場合には、高カルシウム血症は、血清PTHrPレベルを制御することにより改善される。

効果的な量のビタミンD化合物が高投与量の投与プロトコールにおいて、一般的に10 μg/投与以上200 μg/投与まで、一時的に又は断続的に投与される。本発明のプロトコール又は投与療法は、慣習的な療法による投与に比べ、ビタミンD類縁体の活性型に対して改良された治療の指標を提供する。この一時的な投与は、低活性剤が必要とされるのでコスト有効性もある。

【0007】

従って、本発明の別の特徴は、ヒト癌の治療方法であって、1,25-ジヒドロキシビタミンD₃の結合親和性と等価なビタミンD受容体(VDR)結合親和性と、公知の又は通常の治療法により提供される1,25-ジヒドロキシビタミンD₃よりも実質的に低下した高カルシウム血症の危険性とを有し又はin vivo代謝を通じて達成する効果的量のビタミンD化合物を患者に投与して、癌の細胞異常増殖活性を阻害し、減少させ、又は安定化させることを含む。そのような低カルシウム血症活性のビタミンD化合物は、その固有の低いカルシウム血症指数のため、高カルシウム血症の危険性をさらに緩和する。

本発明により、悪性状態の治療に対して、式(I)の活性ビタミンD化合物を、医薬組成物中の活性成分として、すなわち抗増殖剤として単独で適当に投与することができ、又は他の治療薬、例えば抗癌（すなわち、抗増殖性、細胞毒性、抗腫瘍性又は抗新生物性）剤とともにここで以下に記載されているように共投与することができる。この活性ビタミンD化合物は一時的又は断続的高投与量で投与される。活性ビタミンDは、他の治療剤より先に、同時に、又は後に投与してもよい。

具体的には、式(I)の活性ビタミンDを細胞毒性剤又は抗腫瘍性剤と共に投与すること、換言すれば組合せ治療又は組合せ療法は、本発明の範囲に含まれている。細胞毒性剤又は抗腫瘍性剤には、代謝拮抗剤、微小管阻害剤、アルキル化剤、白金化剤、アントロサイクリン(anthrocycline)、トピイソメラーゼ阻害剤、分裂抑制剤、抗生剤及び他の抗腫瘍性剤、例えばホルモン及びホルモン拮抗剤が含まれる。

【0008】

様々な抗癌薬物と組み合わせて用いられたビタミンD化合物が、癌細胞に対して、有意に高められた細胞毒性効果又は抗腫瘍性効果を生じ、従って、増加した治療効果を提供することができる事が予想される。特に、有意に増加した成長阻害効果は、薬物が単独で用いられる治療法と比較して低い濃度の抗がん剤を活用する上記組合せによって得られるので、高い投与量で単独で用いられる抗癌剤で通常に観察される副作用と比較して、多種の抗がん剤に関連する有害な副作用が相当に低減される治療を提供することができる。これらの共投与される抗がん剤の可能な投与範囲は、その薬剤の性質に従って変動するが、約0.1~20mg/kgの範囲であり、一日当りの又は、一時的又は断続的な基準で投与される。

骨疾患又は障害を改善すると知られているホルモン又は他の治療剤、例えばエストロゲンの投与と組み合わせた効果的投与量の式(I)の類縁体の共投与は、本発明の範囲に含まれる。例えば、前立腺癌はしばしば骨に転移して、骨減少及びそれに関連する痛みを引き

10

20

30

40

50

起こす。そのような骨剤は、複合エストロゲン又はその等価物、カルシトニン、ビスホスホネート、カルシウムサプリメント、コバラミン、百日咳毒素及びホウ素を含み得る。

別の側面において、本発明は、抗がん剤活性ビタミンD化合物及び(i)抗がん(又は抗腫瘍性又は抗過剰増殖性)剤、(ii)骨剤、(iii)抗高カルシウム血症剤、及びそれらの組み合わせから選択された薬剤とを含む薬剤の組合せである。例えば、骨剤と同様な価値を有するビスホスホネートは、高カルシウム血症の緩和にも用いることができる。従って、ビスホスホネートと、活性ビタミンD化合物又は活性ビタミンD化合物と細胞毒性剤又は抗腫瘍性剤との組合せ治療は、高カルシウム血症の危険を更に緩和させるために望ましい。

【0009】

活性ビタミンDの投与又は他の治療剤との共投与のすべてのルートは好適である。しかし、本発明のビタミンD化合物の単独又は他の薬剤と組合せた非経口投与は、他の治療様式を上回る利益を提供する。非経口投与は、胃腸領域に生じた増加したカルセミック活性を経口投与から回避し、食道炎の発生又は危険を低減する。非経口投与は、その薬物が一般的にヘルスケア専門家により投与されるため、高い適応性及び安全性をも提供する。

特別な適応、組成上の変更、及び物理的属性の他の利点及び更に徹底した評価は、添付された特許請求の範囲と組合せて、好ましい形態の以下の詳細な記載を検討することにより評価される。

【0010】

(発明の詳細な説明)

本発明は、腫瘍及び他の過剰増殖性疾患の治療のための効果的な方法を提供する。特に本発明は、疾患細胞(例えば、腫瘍性細胞又は過形成性細胞)の過剰増殖性細胞活性を阻害し、低減し又は安定化する治療方法、及び疾患細胞中の細胞分化の誘起し、向上させ、促進する治療方法に関する。本発明は過剰増殖性疾患、例えば前立腺癌又は前立腺過形成に苦しむ患者を、新しい治療手順に基づき、活性ビタミンD類縁体又は化合物で治療することを提供する。活性ビタミンD化合物は、好適にはヒドロキシビタミンD、例えば1-ヒドロキシビタミンD、24-ヒドロキシビタミンD又は25-ヒドロキシビタミンDである。以下で記載される式(I)で表される活性ビタミンD類縁体は、患者に、投与制限された高カルシウム血症及び高カルシウム尿症すなわち、非生理的に高くかつ有害な血液カルシウムレベル及び尿カルシウムレベルを有意にそれぞれ危険が低減され又は生起しないで提供される。これらの特性は、ここで記載されるように、活性ビタミンD化合物の特別な化学特性と新規治療手段とを通して達成される。

本発明によれば、効果的な量の活性ビタミンD化合物を癌又は過形成の患者に投与すると、異常細胞の増殖活性が阻害され、維持され、又は軽減され、そして細胞分化が誘起され、促進され又は高められ、等量の活性ビタミンD₃が従来から既知の処方及び投与療法で投与された後に観測されるよりも、高カルシウム血症及び高カルシウム尿症の危険が有意に低い。高投与量のビタミンD化合物の投与と長い間関連がある高カルシウム血症の危険は、(1)断続的な又は一時的な基準での活性ビタミンDの投与によって、特に低カルシウム活性ビタミンD化合物の投与によって、又は(2)断続的な又は一時的な基準で活性ビタミンD化合物、及び抗高カルシウム剤を共投与することによって低下する。従って、本発明に従って使用される活性ビタミンD化合物は、従来の手順により与えられるビタミンD₃類縁体の活性型に比較して、改良された治療指標を有する。本発明に従う治療手順は、高カルシウム血症の低減した危険性、例えば実質的に低減された高カルシウム血症を提供し、高カルシウム血症の臨床症状又は兆候はほとんどないか全くない。

【0011】

ビタミンD₃は、活性化する前に、すなわち生物学的反応を生じる前に、C-1及びC-24又はC-25位においてヒドロキシル化されなくてはならないことが知られている。類似の代謝はビタミンDの他の形態、例えばビタミンD₂及びビタミンD₄を活性化する必要があるようと考えられる。したがって、ここで用いられる用語、“活性化ビタミンD”又は“活性ビタミンD”的語は、分子のC-1、C-24又はC-25位の少なくとも1つがヒドロキシル化されている、ビタミンD化合物又は類縁体を意味し、及び化合物自体又はプロドラッグの場合に

10

20

30

40

50

は、代謝物例えば、1-ヒドロキシビタミンD₂は、ビタミンD受容体(VDR)と結合する。例えば、ビタミンD“プロドラッグ”又は“プロホルモン”は、これら3つの位置のうち1つでのみヒドロキシ化されている化合物を含む。そのような化合物はさらにin vivoでヒドロキシル化を起こし及びその代謝物はVDRと結合する。

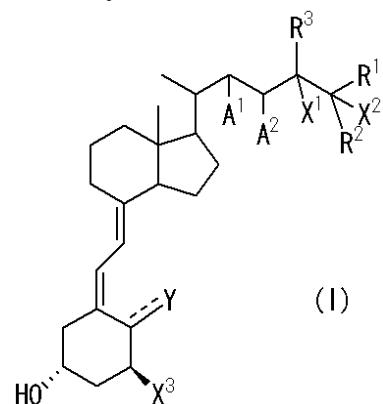
ここで用いられている、また、アルキル、アルケニルアシル、又はシクロアルキルの修飾語としての用語“低級”という語は、1~4個の炭素原子を有する直鎖又は分岐、飽和又は不飽和の炭化水素基を意味すべく企図されている。そのような炭化水素基の特定の例には、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、t-ブチル、エテニル、プロペニル、ブテニル、イソブテニル、イソプロペニル、ホルミル、アセチル、プロピオニル、ブチリル又はシクロプロピルが含まれる。“芳香族アシル”の用語は、未置換又は置換ベンゾイル基を意味するよう企図されている。

【0012】

ここで用いられている、“炭化水素部分”的用語は、低級アルキル、低級アルケニル、低級アシル基又は低級シクロアルキル、すなわち直鎖又は分岐、飽和又は不飽和のC1-C4炭化水素基を意味する。

本発明の方法に従った化合物は活性ビタミンD化合物である。本発明に従った活性ビタミンD化合物は不飽和側鎖を有し、例えばC-22とC-23の間、C-25とC-26の間、又はC-25とC-27の間に二重結合が適当に存在する。

本発明の活性ビタミンD、すなわちヒドロキシビタミンDは式(I)で表される一般式で示される。



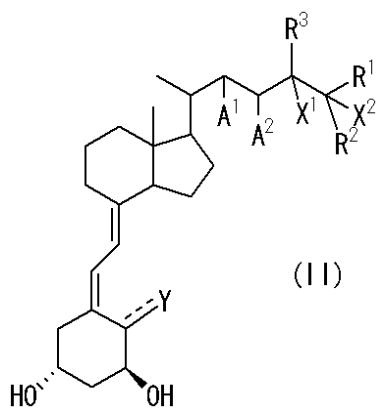
(式中、A¹及びA²はそれぞれ水素原子であるか又は一緒になって炭素-炭素結合を表し、その結果C-22とC-23の間の二重結合を形成し；R¹及びR²は、同一又は相違しかつ水素原子、低級アルキル、低級フルオロアルキル、0-低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル、低級シクロアルキルを表し、但し、R¹及びR²は共にアルケニル基であることはなく、又はR¹及びR²は、それらが結合している炭素原子といっしょになってC₃-C₈環状炭素環を形成し；R³は、水素原子、低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルキル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルキル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル又は低級シクロアルキルであり；X¹は、水素原子又は水酸基であるか、X²は、水素原子又は水酸基であるか、又はR¹又はR²といっしょになって二重結合を構成し、及びX³は水素原子又は水酸基であり、但し、X¹、X²及びX³の少なくとも一つは、水酸基であり；及びYは、Yとの結合が二重結合の場合には、メチレン基を表すか、又はYとの結合が単結合である場合には、メチル基又は水素原子を表す。)

10

20

30

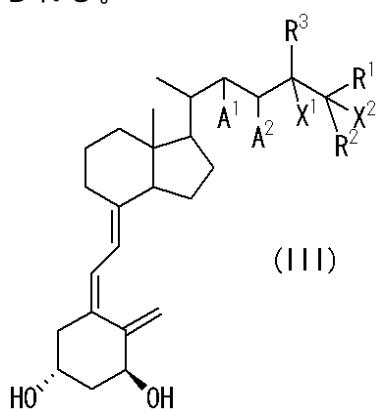
40



【 0 0 1 3 】

式(I)の1 - ヒドロキシビタミンD化合物は、一般式(III)で特徴づけられる。
(式中、A¹及びA²は、それぞれ水素原子であるか又はいっしょになって炭素-炭素結合を表し、その結果、C-22とC-23との間に二重結合を形成し；R¹及びR²は、同一又は相違しかつ水素原子、低級アルキル、低級フルオロアルキル、0-低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル、又は低級シクロアルキルであり、但し、R¹及びR²は、共にアルケニル基であることはなく、又はR¹及びR²が結合している炭素原子といっしょになって、C₃-C₈環状炭素環を形成し；R³は、水素原子、低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルキル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルキル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル又は低級シクロアルキルであり；X¹は、水素原子又は水酸基であるか、又は、X²は、水素原子又は水酸基であるか、又はR¹又はR²といっしょになって二重結合を構成し、及びYは、Yとの結合が二重結合の場合には、メチレン基を表すか、又はYとの結合が単結合である場合には、メチル基又は水素原子を表す。)

本発明に従った特定の1 - ヒドロキシビタミンD化合物は、一般式(III)により特徴づけられる。



(式中、A¹及びA²は、それぞれ水素原子であるか又はいっしょになって炭素-炭素結合を表し、その結果、C-22とC-23との間に二重結合を形成し；R¹及びR²は、同一又は相違しかつ水素原子、低級アルキル、低級フルオロアルキル、0-低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル、又は低級シクロアルキルであり、但し、R¹及びR²は、共にアルケニル基であることはなく、又はR¹及びR²が結合している炭素原子といっしょになって、C₃-C₈環状炭素環を形成し；R³は、水素原子、低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルキル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルキル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル又は低級シクロアルキルであり；X¹は、水素原子又は水酸基であるか、及びX²は、水素原子又は水酸基であるか、又はR¹又はR²といっしょになって二重結合を構成する。)式I、II及びIIIの化合物は19-ノルビタミンD化合物とも呼ばれる。

【 0 0 1 4 】

10

20

30

40

50

式(I)、(II)及び(III)の特定の化合物の例は、以下に制限されないが、1_α,24-ジヒドロキシビタミンD₂、1_α,24-ジヒドロキシビタミンD₄、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₄、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₂、1_α,24,25-トリヒドロキシビタミンD₂、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₃、1_α,24,25-トリヒドロキシビタミンD₃、及びまた以下のような、プロドラッグ又はプロホルモン、例えば1_α-ヒドロキシビタミンD₂、1_α-ヒドロキシビタミンD₄、1_α-ヒドロキシビタミンD₃、24-ヒドロキシビタミンD₂、24-ヒドロキシビタミンD₄、24-ヒドロキシビタミンD₃、25-ヒドロキシビタミンD₂、25-ヒドロキシビタミンD₄及び25-ヒドロキシビタミンD₃も含む。特に有用な化合物は、式中R³が水素原子でなく、すなわち、R³が低級アルキル、低級アルケニル、低級フルオロアルキル、低級フルオロアルケニル、0-低級アルキル、0-低級アルケニル、0-低級アシル、0-芳香族アシル又は低級シクロアルキルである式(I)、(II)及び(III)の化合物である。これらはビタミンD₂及びビタミンD₄の化合物又は類縁体である。X¹、X²又はX³が水酸基であるこれらのビタミンD₂及びD₄化合物は、とくに有用である。そのような化合物は、1_α,24-ジヒドロキシビタミンD₂、1_α,24-ジヒドロキシビタミンD₄、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₂、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₄、1_α,24,25-トリヒドロキシビタミンD₂、1_α-ヒドロキシビタミンD₂、1_α-ヒドロキシビタミンD₄、24-ヒドロキシビタミンD₂、及び24-ヒドロキシビタミンD₄を含む。；これらは典型的に、天然ビタミンDホルモン、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₃に比較して低カルシウム性である。用語“低カルシウム性”により、活性ビタミンD化合物は、天然ビタミンDホルモン、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₃の活性と比較して、カルセミック活性が低いことを意味しており、他言すれば、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₃より少ないカルセミック指数を意味する。“カルセミック指数”は、薬物がカルセミック応答を生じる能力の相対値であり、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₃のカルセミック活性は1として示される。そのような低カルシウム血症ビタミンD化合物は、高投与量で投与されたときでさえ、高カルシウム血症の危険を低減する。

【0015】

さらに、C-24のような不斉中心を有する式(I)の化合物については、エピマー（例えばR及びS）とラセミ混合物の両方が、本発明の範囲内であることが理解される。

式(I)の化合物は、多くの広く公知の方法によって、調製されうる。例えばナットソン(Knutson)らの米国特許第5,488,120号明細書、DeLucaらの米国特許第4,554,106号、第4,670,190号及び第5,486,636号に公表され、及びStrugnellら,310 Biochem.J.(1995)pp.233-241に記載され、これらのすべてはここで参考として組み込まれている。

本発明は、効果的な量の活性ビタミンD化合物により、悪性細胞の治療方法（すなわち、過剰増殖性活性の阻害及び/又はそれらの分化の誘起及び高揚）及び他の過剰増殖細胞を提供する。過剰増殖性細胞疾患の患者に投与される効果的な投与量は、断続的又は一時的投与方法で投与される、1_α,25-ジヒドロキシビタミンD₃（カルシトリオール）を含む活性ビタミンD化合物の高投与量である。用語“高投与量”によって、10 μg以上、例えば20 μg～100 μg以上、例えば200 μgが意味される。言い換えれば、“高投与量”は、in vivoでビタミンDの正常な生理的レベルより高く産生する、又はビタミンD受容体を発現する細胞上のその受容体を上方制御するための单一投与で十分である量である。断続的投与法は、好適には週1回～12週毎1回の間であり、例えば3週毎に1回である。体重の関数として、効果的投与量は、患者のkg体重あたり、約0.2 μg～約3.0 μgの範囲である。

【0016】

各单一投与量は、標的細胞中のビタミンDホルモン受容体を上方制御するに十分である。なぜならビタミンD化合物による結合及び上方制御は、受容体結合とともに生じる細胞内代謝過程のカスケードを開始するのに十分であるので、連続的な投与は要求されないと信じられる。断続的投与は、高カルシウム血症の危険を低減し、従って、本発明の方法は、活性ビタミンD化合物を投与することによって、過剰増殖性疾患を治療するのに用いられる。同時に、本発明によれば、高カルシウム血症の危険は、活性ビタミンD化合物が低カルシウム性活性ビタミンD化合物である場合には、さらに緩和されうることが企図される。

10

20

30

40

50

例示される投与法において与えられた本発明の化合物は、従って、上記公知の活性ビタミンD₃化合物の欠点を克服し、悪性疾患、例えば胸、前立腺、精巣及び結腸又は結腸直腸癌、並びに他の腫瘍、例えば、膵臓癌、子宮体癌、肺の小細胞及び非小細胞癌（扁平上皮乳頭腫、アドネオカルシノーマ(adneocarcinoma)及び大細胞型を含む）、頭及び首の扁平上皮細胞、膀胱、卵巣及び頸部の癌、骨髄系リンパ系白血病、リンパ腫、肝癌、延髄甲状腺癌、多重骨髄腫、黒色腫、網膜芽細胞腫、及び軟組織及び骨の肉腫、すなわちビタミンD受容体を発現する腫瘍、制御及び治療に好ましい薬剤と考えられ得る。本発明の方法により治療されうる過剰増殖状態は、乾癬及び過形成、例えば前立腺肥大などをも含む。

【0017】

断続的高投与量療法は、活性ビタミンDに起因するすべての治療効果、例えば抗増殖活性、骨量減少の縮小等に作用するために使用されうることが、さらに信じられる。抗増殖活性に関して、断続的投与の重要性は、ビタミンD受容体の抗過剰増殖活性及び上方制御が、反復性の常投与で生じる高カルシウム血症及び高カルシウム尿症の副作用なしで、单一投与で生じることである。同時に、断続的投与療法は、副甲状腺ホルモン関連タンパク質のレベルを制御、（例えば、PTHrPの発現を下方制御することにより潜在的に）するのに十分である。

一時的投与は单一投与であるか、又は所望であれば、任意に2~4回の副投与に分けられ、例えば全投与量が投与されるまで20分から1時間に分けて投与される。本発明の化合物は、腫瘍又は新生物(neoplasm)の分化又は退化を誘起するのに十分な期間、高カルシウム血症を引き起こさず又は高カルシウム血症の危険を実質的に低減しながら、血清ビタミンDレベルを超生理的レベルに上げる量で投与される。低カルシウムビタミンD化合物の性質は、そのような超生理学的レベルを可能にする場合、特に有益である。

本発明の薬理学的に活性な化合物は、薬学の慣習的な方法に従って処理されて、患者、例えばヒトを含む哺乳動物への投与のための薬剤を生成する。例えば、本発明の活性ビタミンD化合物は、この活性化合物と有害な反応を起こさない1種以上の賦形剤、例えば腸内投与（例えば経口）、非経口的な、局所的な、口内の又は直腸適用、吸入又はガス注入（例えば口又は鼻を通して）による投与に好適な、医薬的に許容し得る担体物質を用いて慣習的な手順で、医薬組成物に処方されうる。

【0018】

一般的に、医薬製剤において許容される担体は、水、塩水溶液、アルコール、アラビアゴム、植物油（例えば、アーモンドオイル、コーン油、綿実油、ピーナッツ油、オリーブ油、ココナッツ油）、鉱油、魚肝油、油性エステル、例えばポリソルベート80、ポリエチレングリコール、ゼラチン、炭化水素（例えば、ラクトース、アミロース又はスターチ）、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ケイ酸、粘性パラフィン、脂肪酸モノグリセリド及びジグリセリド、ペンタエリスリトール、脂肪酸エステル、ヒドロキシメチルセルロース、ポリビニルピロリジン等が挙げられるがこれに限定されるものではない。

特に関心のあるものは、非経口的な、例えば注射等の投与形態である。非経口経路の投与を使用することにより、腸を通る活性ビタミンD化合物の最初の通過を回避し、従って、腸カルシウム吸収の刺激を回避し、さらに高投与量の経口投与にしばしば関連する食道刺激の危険を低減することができる。注射経路の投与が、ヘルスケア専門家によって典型的になされるため、投与は、正確な量及びタイミングについていっそう効率的に制御されうる。非経口投与は皮下、筋肉内、又は静脈内注射、鼻咽頭の又は粘膜吸収、又は経皮吸収を好適に含む。式(1)の化合物は腫瘍、例えば副甲状腺腺腫への直接投与又は、局所送達、例えば動脈内送達又は門脈経由送達によつても投与される。局所送達は、特に肝臓ガンの治療に適する。

【0019】

注射用の組成物は、例えば、油性溶媒（例えば、ココナッツ油、綿実油、ゴマ油、ピーナッツ油又はダイズ油）又は水性溶媒中の無菌の懸濁液、溶液又はエマルジョンの形態をとってもよく、及び種々の剤型剤を含んでもよい。上記と別に、好適な溶媒、例えば無菌水で送達時に再構成のために、活性成分は、粉末（凍結乾燥された又は凍結乾燥されてな

10

20

30

40

50

い) 形態でもよい。注射用組成物において、担体は典型的に無菌の、発熱物質なしの、水、生理食塩水、水溶性プロピレングリコール、又は別の注射用液、例えば筋肉内注射用のピーナッツ油である。また、種々の緩衝剤、防腐剤、懸濁化剤、安定化剤又は予製剤、表面活性剤及びその他同種のものが含まれうる。水溶液は、必要であれば、好適に緩衝され、液体希釈剤はまず十分な生理食塩水又はグルコースで等張化される。水溶液は特に静脈内、筋肉内、皮下及び腹膜内注射に好適である。これに関して、使用された無菌水溶性培養液は、すべて当業者に周知な標準的技術によって容易に入手可能である。油性溶液は、関節内、筋肉内及び皮下投与の目的に好適である。無菌条件で、これらすべての溶液の調製は、当業者に周知な標準的医薬技術によって容易に達成される。更に、本発明の化合物の投与は、肌の病理的状態の治療の場合にも可能であり、この治療は、好適にはクリーム、ゼリー、ジェル、ペースト、軟膏等によって、標準的な医薬的習慣に従ってなされる。

10

【0020】

注射による非経口投与用に処方される化合物は、ボーラス注射又は連続的注入によって、投与してもよい。注射用製剤は、便宜的に单一投与形態、例えば防腐剤を添加したアンプル又は多重投与容器であってもよい。

先に記載の製剤に加えて、本化合物は徐放性製剤として処方してもよい。そのような持続型製剤は移植（例えば皮下又は筋肉内）又は筋肉内注射により投与してもよい。従って、例えば、本発明の化合物は好適な重合体の又は疎水性材料（例えば許容可能な油中の乳液として）又はイオン交換樹脂、又は難溶性誘導体、例えば難溶性塩によって製剤化してよい。

20

高投与量の活性ビタミンDの一時的非経口投与が大いに有益であると考えられるが、経腸投与、例えば経口投与なども有用となりうることも本発明の範囲内において、企図されている。従って、高投与量の活性ビタミンDの一時的な腸内投与は、過剰増殖性疾患において、細胞受容体の上方制御及びPTHrPの制御を達成するのにも有益であると考えられる。

経腸性の適用に対しては、錠剤、糖衣錠、液体、ドロップ、座剤、ロゼンジ、粉剤、又はカプセルは、特に好適である。加糖ベヒクルが所望であれば、シロップやエリキシル剤等を使用できる。経口投与に対しては、医薬組成物は、医薬的に許容しうる賦形剤、例えば結合剤（例えばアルファー化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドン又はヒドロキシプロピルメチルセルロース）；充填剤（例えば、ラクトース、微結晶性セルロース又はリン酸水素カルシウム）；潤滑剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク又はシリカ）；錠剤崩壊剤（例えば、かたくり粉又はナトリウムデンプングリコレート）；又は湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）により慣習的な手順により調製される例えば、錠剤又はカプセル等の形態をとってよい。錠剤は当業界に周知の方法によりコーティングしてもよい。

30

【0021】

経口投与用の液体製剤は、例えば、水溶液、シロップ又は懸濁液の形態をとってよく、又はそれらは使用前の水又は他の好適な溶媒で構成する乾燥生成物として提供してもよい。そのような液体製剤は、医薬的に許容しうる添加剤、例えば懸濁剤（例えば、ソルビトールシロップ、セルロース誘導体又は水素化食用脂）；乳化剤（例えば、レシチン又はアカシア）；非水性溶媒（例えば、アーモンド油、油性エステル、エチルアルコール又は植物油）；及び防腐剤（例えば、メチル又はプロピル-p-ヒドロキシベンゾエート又はソルビン酸）により慣習的な手段により調製してもよい。この製剤は、適当な場合には、緩衝塩、香料、着色剤及び甘味剤も含有してもよい。

40

経口投与のための製剤は、好適に製剤化して、活性化合物の制御された放出を提供してもよい。多くの制御された放出システムは当業界で公知である。

口内投与については、組成物は、慣習的な手順で調製された錠剤、ロゼンジ又は吸収ウエハの形態をとってよい。

注入による投与については、本発明の化合物は、好適なプロペラント、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸

50

化炭素、又は他の好適な気体を使用して、加圧容器又は噴霧器からエアロゾルスプレー形態で便宜的に送達される。加圧されたエアロゾルの場合には、測定量供給するためのバルブを用意することによって投与量単位を決定してもよい。吸入器又は吹き入れ器での使用において、活性化合物と、好適な粉末主成分、例えばラクトース又はデンプンとの粉末混合物を含有する、例えばゲラチンのカプセル及びカートリッジを、製剤化してもよい。

【0022】

本発明の化合物は、直腸又は膣用の組成物、例えば、慣習的な座剤基剤を含有する座剤又は保定浣腸剤に製剤化してもよい。これらの組成物は活性成分を、室温(例えば10～32)で固体であるが直腸の温度で液体であり、直腸内又は膣内で融解して活性成分を放出する好適な非刺激性賦形剤と混合することにより調製できる。そのような物質はポリエチレンジルコール、カカオ脂、他のグリセリド及びワックスである。貯蔵期限を延期するために、本発明の組成物は、有利なことに抗酸化剤、例えばアスコルビン酸、ブチル化ヒドロキシアニソール又はヒドロキノンを含んでもよい。

所望であれば、本発明の組成物は、活性成分を含有する1以上の単位投与量形態を含む包装又はディスペンサー装置として提供してもよい。例えば、容器は金属又はプラスティックフォイル、プリスター・パック等を含んでよい。容器又はディスペンサー装置は投与指示書を有してもよい。

局所適用については、好適な噴霧不可能な粘性の、半固体の又は固体の形態であって、局所的な適用に適合性を有し、かつ好ましくは水より動的粘性を有する担体、例えば鉛油、アーモンド油、自己-乳化蜜蠍、植物油、白色軟性パラフィン、及びプロピレンジリコールを含む形態を使用できる。好適な製剤は、クリーム、軟膏(ointment)、ローション、溶液、懸濁液、エマルジョン、粉末、塗布薬、軟膏(salve)、エアロゾル、経皮性パッチ等が挙げられるがこれに限定されるものでなく、所望であれば、無菌化し、補助剤、例えば防腐剤、安定剤、乳化破壊剤、湿潤剤等と混合される。本発明のクリーム製剤は、水、アーモンド油、鉛油及び自己-乳化蜜蠍の混合物を好適に含み；軟膏製剤は、例えばアーモンド油及び白色軟性パラフィンを好適に含み；及びローション製剤は、例えば乾燥プロピレンジリコールを好適に含む。経皮投与の目的で、薄い、無菌でかつ、水性の又は部分的に水性の溶液(通常約0.1%～5%濃度)、そうでなければ、上記非経口性溶液と類似する溶液が調製される。

【0023】

皮膚の病理的疾患治療に有用な本発明の化合物の局所製剤は、上皮誘起剤、例えばレチノイド(例えばビタミンA)、ビタミンEのようなクロマノール(chromanol)、-アゴニスト、例えばイソプロパノール又は環状アデノシン-リシン酸(cAMP)、抗炎症剤、例えば副腎皮質ステロイド(例えば、ヒドロコルチゾン又はその酢酸塩、又はデキサメタゾン)及び角膜移植剤、例えばコールタール又はアントラリンも含んでよい。そのような薬剤の効果的量は、例えば組成物の約0.003～0.3質量%のビタミンA；約0.1～10%のビタミンE；約0.1～約2%のイソプロテレノール；約0.1～約1%のcAMP；約0.25～約5%のヒドロコルチゾン；約0.1～約20%のコールタール；及び約0.05～約2%のアントラリンである。

医薬製剤は、安定化でき及び所望であれば、補助剤例えば、潤滑油、防腐剤、安定化剤、湿潤剤、乳化剤、浸透圧に影響する塩、緩衝液、着色剤、香味料及び/又は1種以上の別の活性化合物、例えば、複合エストロゲン又は他の等価物、抗エストロゲン、カルシトニン、ビスホスホネート、カルシウムサプリメント、コバラミン、百日咳毒素、ホウ素、抗腫瘍性剤及び抗高カルシウム血性剤と混合してもよい。

本発明は、別々に投与してもよい活性成分の組み合わせの治療により、悪性細胞又は腫瘍性細胞の増殖阻害に関する側面を有するので、本発明は、キット形態で別個の医薬組成物を組合せることにも関する。このキットは、2種以上の別個の医薬組成物、即ち、式(I)の化合物と、以下に記載される1種以上の他の薬剤とを含む。このキットは別々の組成物を含有する容器手段、例えば、分割ボトル又は分割ホイルポケットを好適に含む。典型的に、このキットは別々の成分の投与に関する指示書を含む。このキットの形態は、別々の成分が異なる投与形態(例えば、経口及び非経口)で投与される場合、異なる投与間隔で

10

20

30

40

50

投与される場合、又は組合せの個々の成分の滴定が処方医師により望まれている場合、特に便利である。

【0024】

本発明の、活性ビタミンD化合物による癌又は腫瘍治療のための化合物の投与量は、他のルートがここで記載されるように用いられるが、高投与量が使用できる、一時的基準では、一般的に約10μg～約200μgで、例えば10μg～100μg、週1回から12週毎に1回まで、典型的には経口又は非経口でなされる。一般的に、本発明の化合物は、ここで記載されているように、医薬的に許容しうる担体での単位投与形態により施される。

皮膚疾患の典型的治療（例えば乾癬）に対しては、局所組成物における本発明の化合物の投与量は、一般的に組成物当り約0.01μg～約50μgである。皮膚癌の治療に対しては、局所的に適用のビタミンD化合物の投与量は、一般的に組成物1グラム当たり約0.01μg～約100μgである。

当業者であれば、効果的な投与量及び共投与方法（以下で記載のように）を、良好な医療行為及び個々の患者の臨床条件により決定されるように容易に、最適化しうる。投与方法に関わらず、特定の場合における活性化合物の実際上の好ましい量は、使用される特定の化合物の有効性、製剤化された特定の組成、適用様式、及び治療される特定の位置及び生体によって変動することが理解される。例えば、特別な患者に対する特定の投与量は、年齢、体重、一般的な様態、食習慣、タイミング及び投与様式、排泄率、及び組み合わせに用いられた薬剤また治療が適用される特定の疾患の厳しさに依存する。所定の患者に対する投与量は、慣習的な考慮、例えば本化合物と、既知薬剤との異なる活性値の通常の比較、例えば適切な慣習的な薬理学的手順によって決定されうる。通常の医師であれば、容易に、病状の進行に対抗し、又は阻止するのに必要な薬剤の効果的量を、直ちに決定し及び処方することができる。毒性のない有効な範囲内で薬剤濃度を最適の正確さで達成するには、標的部位に対する薬物有効性の動力学に基づいた処方が必要となる。これには、薬剤の分布、平衡、及び脱離を考慮することが含まれる。本発明の組成物の活性成分の量は、変動しうるが、活性成分の量は、効果的な投与量が得られるような量であることが必要である。活性成分は、最適な医薬的有効性を提供するであろう投与量で、治療を必要とする患者（動物およびヒト）に投与される。

【0025】

さらに、活性ビタミンD化合物と、抗がん剤又は抗腫瘍剤との共投与方法が本発明の範囲に含まれる。本発明によれば、治療上の抗過剰増殖性の利点は、細胞毒性剤、すなわち他の化学療法薬又は抗腫瘍剤とともに、活性ビタミンDを断続的投与することによって達成される。多くの抗腫瘍性剤又は細胞毒性剤は、非経口ルートの投与を通して送達されなければならず、従って、活性ビタミンD及び抗腫瘍性剤の注射用プロトコールは、通常の基準に基づいて用意され得る。活性ビタミンD及び抗腫瘍性剤の共投与は、それぞれに先んじて、後に、又は同時になり得る。しかし、まず活性ビタミンDを投与し、次いで細胞毒性剤又は抗腫瘍剤を一時的投与することが有益であると信じられている。例えば、高投与量の活性ビタミンDは、受容体を上方制御し、また細胞分化を準備し、促進する。そのような上方制御及び準備により、細胞毒性剤が単独で投与される場合に典型的に必要とされるより少ない量の細胞毒性剤又は抗腫瘍剤で足り得る。

“共投与”的語は、2種以上の薬剤が患者又は被験者に投与されるいかなる投与ルートによる組合せ治療を意味することが意図される。薬剤の共投与は組合せ療法又は組合せ治療として言及してもよい。この薬剤は同一の投与量製剤又は別個の製剤でよい。1種以上の活性薬剤による組合せ治療に対しては、活性薬剤が別々の投与形態である場合には、活性薬剤は同時に投与出来るか、又はそれらは各々時差的に別個に投与することも出来る。この薬剤は、療法の薬剤が体内で効果的な濃度になるに十分な方法で投与される限り、同時に又は連続的に投与してよい。これらの薬剤は、異なるルートで投与されてよく、例えば1つの薬剤が静脈内投与されて、一方もう1つの薬剤は筋肉内、静脈内又は経口投与されてもよい。この薬剤は、例えば、単一の錠剤におけるように、混合物であってもよい。

【0026】

10

20

30

40

50

時系列の共投与において、1つの薬剤は直接、他方の投与に続いてよく、又はこの薬剤は一時的に投与してよく、すなわち、1つを一度投与した後、後の時間に他方を、例えば1週間以内に投与しうる。好適な共投与方法の例は、細胞毒性剤又は抗腫瘍剤の投与前に、活性ビタミンD化合物が0.5~7日間投与されることである。

細胞毒性剤又は抗腫瘍剤は代謝拮抗物質(分裂抑制因子)、抗微小管阻害剤、アルキル化剤、白金化剤、アントロサイクリン、トポイソメラーゼ阻害剤、抗生物質及び他の薬剤、例えばホルモン及び拮抗剤を含む。代謝拮抗物質は、ピリミジン及びプリン類縁体及び阻害剤、例えば5-フルオロウラシル、フロクシウリジン、シタラビン、メルカブトプリン、チオグアニン、ペントスタチン、クラドリビン(*cladribine*)及びフルダラビン、及び葉酸類縁体、例えばメトトレキセートを含む。抗微小管阻害剤は、ビンクリスチン、ビンプラスチン及びタキサン、例えばパクリタキセル及びドセタキセルを含む。アルキル化剤は、ナイトロジエンマスター、例えば、メクロレタミン、シクロホスファミド、イホスファミド、メルファラン、クロランブシル、アルキルスルホネート、例えばブスルファン、ニトロソ尿素、例えば、カルムスチン、ロムスチン、及びステプトゾシン(*streptozocin*)並びに他の薬剤、例えばヘキサメチルメラミン、チオテバ、ダカルボジン(*dacarbozine*)及びテモゾロミド(*temozolomide*)を含む。白金化剤は、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、JM-216、及びCI-973を含む。アントラサイクリンは、ドキソルビシン及びダウノルビシンを含む。トポイソメラーゼ阻害剤は、エトポシド、テニポシド(*teniposide*)、カンプトテセン(*camptothecin*)、例えば、トブテカン及びイリノテカンを含む。抗生素は、マイトマイシン、アンドリアマイシン(*andriamycin*)、ダクチノマイシン、ダウノマイシン、イダルビシン及びブレオマイシンを含む。他の化学療法薬は、ホルモン、例えば副腎皮質ステロイド(例えばプレドニゾン)、プロゲスチン(例えばカプロン酸ヒドロキシプロゲステロン、メドロキシプロゲステロン)、エストロゲン(例えばジエチルスチベストロール(*diethylstibestrol*)、エチニルエストロジオール)、抗エストロゲン剤(例えばタモキシフェン、アナストロゾール(*anastrozole*))、アンドロゲン(例えば、プロピオン酸テストステロン、フルオキシメステロン)、抗男性ホルモン物質(例えば、フルタミド(*flutamide*))及びゴナド放出ホルモン類縁体(例えばロイプロリド)を含む。腫瘍性疾患に有用な更に他の薬剤は、生物的応答修正剤(例えば、インターフェロンアルファインターラーベン-2(*interleuben-2*))、アントラセンジオン(例えば、ミトアントロン(*mitoanthorone*))、置換尿素(例えば、ヒドロキシ尿素)、メチルヒドロジン誘導体(例えばプロカルバジン)、アドレノコルチコル(*adrenocortical*)抑制剤(例えばミトタン、アミノグルテチミド)、チロシンキナーゼ阻害剤(例えば、イマチニブ(*imatinib*))、酵素(例えばL-アスパラギン)、並びにエストラムスチンホスフェート及びブレドニムスチン(*prednimustine*)である。

【0027】

種々の抗がん剤と組み合わせて用いられる活性ビタミンD化合物が、癌性細胞又は腫瘍細胞に対して有意に細胞毒性又は抗腫瘍効果を高めさせ、従って治療効果を増大できることが期待されている。特に、有意に増大した成長阻害効果が、薬物を単独で使用する治療法に比べてより低濃度の抗がん剤を利用する先に開示された組合せにより得られるので、抗がん剤に関連する有害な副作用が、より多い投与量で抗がん剤を単独で使用した場合に通常観測される副作用に比べてかなり低減される療法を提供することができる。これらの共投与抗がん剤の可能な投与量範囲は、約0.1~20mg/kg/day又は類似の投与量である。

効果的な量の活性ビタミンD化合物とホルモン又は他の薬剤、例えば骨疾患又は障害を改善することが既知のエストロゲンとの共投与は、本発明の範囲にも含まれる。例えば、前立腺癌はしばしば骨に転移し、骨粗鬆及びそれに関する痛みを引き起こす。そのような骨剤は、複合エストロゲン又はそれらの等価物、カルシトニン、ビスホスホネート、カルシウムサプリメント、コバラミン、百日咳毒素及びホウ素を含んでもよい。これらの共投与骨剤の可能な投与量範囲は、表1に与えられている。

【0028】

式(I)の 1α -ヒドロキシビタミンDと共に共投与される種々の骨剤に関する可能な経口投与量の範囲

薬剤	投与量		
	幅	好ましい	最も好ましい
複合エストロゲン又は等価物 (mg/日)	0.3-5.0	0.4-2.4	0.6-1.2
フッ化ナトリウム (mg/日)	5-150	30-75	40-60
カルシトニン (IU/日)	5-800	25-500	50-200
ビスホスホネート (mg/日)	0.5-20	1-15	5-10
カルシウムサプリメント (mg/日)	250-2500	500-1500	750-1000
コバラミン (μ g/日)	5-200	20-100	30-50
百日咳毒素 (mg/日)	0.1-2000	10-1500	100-1000
ホウ素 (mg/日)	0.10-3000	1-250	2-100

【0029】

タモキシフェン（登録商標）のような抗エストロゲンは、骨剤としても既知でありまた、好適に本発明の活性D化合物と組み合わせて使用してもよい。

特定の骨剤及び細胞毒性剤は、それらの抗高カルシウム血症特性のために有用であり、従って、本発明に従って一時的基準で共投与されて、高カルシウム血症の危険を更に低減する。そのような薬剤は、ビスホスホネート、例えば、パミドロネート及び、細胞毒性剤、例えば、ミトマイシンを含む。抗高カルシウム血症剤は、コルチコステロイドも含んでよい。

ここでいくつかについて言及したこれらの治療薬と、活性ビタミンD化合物との組合せは、追加の相補性をもたらし、しばしば相乗特性をもたらし、これら種々の治療剤の所望の特性を高める。そのような組合せ療法において、活性ビタミンD化合物は、他の治療剤（例えば同時に、共コンビナントリー (concombinantly) に、連続的に、又は単一剤形で）と共に投与されてもよい。それらの治療有効性が重なるためである。

【0030】

本発明は以下の実施例によってさらに説明され、これらの実施例は本発明の範囲を制限するためと解釈されるべきでない。

VDR結合解析

実施例1：1 α ,24-ジヒドロキシビタミンD₂ [1 α ,24-(OH)₂D₂]

前立腺細胞によるビタミンD化合物のVDR結合性はSkowronski et al., 136 Endocrinology (1995) 20-26の技術を用いることにより実証され、この文献は参考としてここに組み込まれている。前立腺由来細胞株をほぼ集密まで培養し、洗浄し及びこすって収集する。細胞を遠心分離、及びプロテアーゼ阻害剤を含有する緩衝塩溶液中に懸濁された細胞ペレットによって洗浄し、この細胞ペレットをプロテアーゼ抑制剤を含む緩衝溶液中に再懸濁する。この細胞を氷冷しながら、超音波によって破碎する。4 \sim 35分間207,000xgにおいて破碎された細胞を遠心分離することによって得た上清の結合性を評価する。200mLの可溶性抽出物(1-2mgタンパク質/ml上清)を1nM³H-1 α ,25-(OH)₂D₃とともにインキュベートし、4ECにおいて、16-20時間で、1 α ,24-(OH)₂D₂の濃度を増加させる。結合ホルモンと遊離ホルモンとをヒドロキシアパタイトによって標準的な手順で分離する。特異的結合性を、測定された全結合から250倍過剰量の非放射性1 α ,25-(OH)₂D₃存在下得られた非特異的結合を差し引いて計算する。この結果から、1 α ,24-(OH)₂D₂が前立腺VDRに対して強い親和性を有することが実証され、前立腺細胞に関して1 α ,24-(OH)₂D₂が強力な生物活性を有することが示される。

【0031】

実施例2：1 α ,24-ジヒドロキシビタミンD₄ [1 α ,24-(OH)₂D₄]

活性ビタミンD類縁体1 α ,24-(OH)₂D₄を使用して、実施例1の手順を繰り返し、その特

10

20

30

40

50

異的結合性を決定する。この結果から、 $1,24-(OH)_2D_4$ が前立腺VDRに対し強い親和性を有することが実証され、前立腺細胞に関して $1,24-(OH)_2D_4$ が、強力な生物活性を有することが示される。

【0032】

実施例3： $1,25$ -ジヒドロキシビタミンD₄ [$1,25-(OH)_2D_4$]

活性ビタミンD類縁体 $1,25-(OH)_2D_4$ を使用して、実施例1の手順を繰り返し、その特異的結合性を決定する。この結果から、 $1,25-(OH)_2D_4$ が前立腺VDRに対し強い親和性を有することが実証され、前立腺細胞に関して $1,25-(OH)_2D_4$ が、強力な生物活性を有することが示される。

【0033】

遺伝子発現

実施例4： $1,24$ -ジヒドロキシビタミンD₄ [$1,24-(OH)_2D_4$]

ビタミンD-応答要素(VDRE)の制御の下、プラスミドp(CT4)⁴TKGH、ビタミンD受容体(VDR)発現プラスミド、及びpSG5-hVDR1/3、成長ホルモン(GH)遺伝子含有プラスミドを使用して、 $1<25-(OH)_2D_3$ と比較して、 $1,24-(OH)_2D_4$ がビタミンD由来成長ホルモンをレポーター遺伝子として作用すべく誘起する能力を探求する実験を行った。培地中の細胞を、これらの二種のプラスミドで形質移入した。これらの形質移入された培地を $1,24-(OH)_2D_4$ 又は $1,25-(OH)_2D_3$ とともにインキュベートし、成長ホルモンの産生を測定した。以下の表2はこのアッセイの結果を示す。

【0034】

10

20

表2

ビタミンD化合物による成長ホルモンの誘起

化合物	使用した濃度(M)	成長ホルモン誘起(ng/ml)
$1,25-(OH)_2D_3$	1×10^{-10}	39
$1,25-(OH)_2D_3$	5×10^{-10}	248
$1,24-(OH)_2D_4$	5×10^{-10}	165
$1,24-(OH)_2D_4$	1×10^{-9}	628
$1,24-(OH)_2D_4$	5×10^{-9}	1098

これらのデータから、 $1,24-(OH)_2D_4$ がビタミンD依存成長ホルモンを刺激する能力は $1,25-(OH)_2D_3$ のその能力とほぼ等価であることが分かる。この結果はまさに驚くべきものであり、先行技術の教示に従っては予測されるものではなかった。

【0035】

実施例5： $1,24(S)$ -ジヒドロキシビタミンD₂ 及び $1,24(R)$ -ジヒドロキシ-ビタミンD₂ [$1,24(S)-(OH)_2D_2$ 及び $1,24(R)-(OH)_2D_2$]

実施例4に記載された遺伝子発現研究を実施して、化学的に合成した $1,24(S)-(OH)_2D_2$ 及び $1,24(R)-(OH)_2D_2$ と、 $1,25-(OH)_2D_3$ 及び $25-OH-D_3$ とでin vitroの生物活性を比較した。その系はプラスミドpSG5-hVDR1/3及びp(CT4)⁴TKGHがサバンナモンキー腎臓(COS-1)細胞に共に形質移入するビタミンD依存転写活性化モデル系を用いた。

形質移入された細胞をビタミンD代謝産物とともにインキュベートし、産生した成長ホルモンを測定した。表3に示したように $1,24(S)-(OH)_2D_2$ 及びそのエピマーである $1,24(R)-(OH)_2D_2$ の両方は、この系において $25-OH-D_3$ より顕著に高い活性を有し、 $1,24(S)-(OH)_2D_2$ は、 $1,25-(OH)_2D_3$ とほぼ同じ活性を有していた。

30

40

50

【0036】

表3

形質移入されたCOS-1細胞におけるビタミンD誘起成長ホルモンの產生

誘導物質	モル濃度	ビタミンD誘起性成長ホルモンの產生量	
		全GH產生 [*] (ng/ml)	正味ビタミンD誘起性GH產生 (ng/ml)
エタノール		44	0
25-OH-D ₃	1x10 ⁻⁷	245	201
	1x10 ⁻⁶	1100	1056
	1x10 ⁻⁵	775	731
1 α , 25-(OH) ₂ D ₃	1x10 ⁻¹⁰	74	30
	1x10 ⁻⁹	925	881
	1x10 ⁻⁸	1475	1441
1 α , 24(S)-(OH) ₂ D ₂	5x10 ⁻¹⁰	425	381
	5x10 ⁻⁹	1350	1306
	5x10 ⁻⁸	1182	1138
1 α , 24(R)-(OH) ₂ D ₂	1x10 ⁻⁹	80	36
	1x10 ⁻⁸	1100	1056
	1x10 ⁻⁷	1300	1256

*二重決定の平均

【0037】

細胞増殖の阻害

実施例6: 1 α , 24-ジヒドロキシビタミンD₂ [1 α , 24-(OH)₂D₂]

ここに参考として組み込まれるSkowronski et al., 132 Endocrinology (1993) 1952-1960及びEndocrinology (1995) 20-26の技術を使用して、細胞増殖の阻害を実証する。ヒト前

立腺癌から由来する細胞株LNCaP及びPC-3は、6穴組織培養皿に約50000細胞/皿密度で蒔く。細胞が付着し安定した後、約2-3日、培地を媒体又は活性ビタミンD類縁体1₁,24-(OH)₂D₂を10⁻¹¹M~10⁻⁷Mの濃度で含有する培養液を補充する。試験類縁体又は媒体を含有する培養液を3日間毎に置換する。6-7日後、培養液を除去し、細胞をすすぎ、冷5%トリクロロ酢酸で沈殿させ、冷エタノールで洗浄する。細胞を0.2N水酸化ナトリウムで可溶化し、DNA量を標準的な手順で決定する。この結果から、本発明の1₁,24-(OH)₂D₂でインキュベートした培地では、対照培地よりも細胞が有意に少ないことが分かる。

【0038】

実施例7: 1₁,24-ジヒドロキシビタミンD₄ [1₁,24-(OH)₂D₄]

活性ビタミンD化合物1₁,24-(OH)₂D₄を使用して実施例6の手順を繰り返し、細胞数を決定する。1₁,24-(OH)₂D₄でインキュベートした培地は、対照培地よりも細胞が有意に少ない。

【0039】

実施例8: 1₁,25-ジヒドロキシビタミンD₄ [1₁,25-(OH)₂D₄]

活性ビタミンD化合物1₁,25-(OH)₂D₄を使用して実施例6の手順を繰り返し、細胞数を決定する。1₁,25-(OH)₂D₄でインキュベートした培地は、対照培地よりも細胞が有意に少ない。

【0040】

細胞分化のシミュレーション

実施例9: 1₁,24-ジヒドロキシビタミンD₂ [1₁,24-(OH)₂D₂]

ここで参考として組み込む、Skowronski et al., 132 Endocrinology (1993) 1952-1960及び136 Endocrinology (1995) 20-26の技術を使用して、ヒト転移性前立腺癌から由来し、PSAを発現することが知られている細胞株の細胞、LNCaPを、6穴組織培養皿に、5%FBSを含有する3mlのRPMI-1640を穴当たり約50000細胞の密度で蒔く。細胞が付着し安定した後、約2-3日間培地を媒体又はビタミンD類縁体1₁,24-(OH)₂D₂を10⁻¹¹M~10⁻⁷Mの濃度で含有する培養液で補充する。6-7日後、この培養液を除去し、前立腺特異性抗原(PSA)分析に使用するため-20℃で保存する。これらの研究におけるPSAは細胞分化の標識として使用される。

並列培養由来の細胞をすすぎ、沈殿させ、標準的手順によってDNA量を決定する。PSAを標準的既知の方法によって測定する。PSA/細胞の質量として表現した場合、1₁,24-(OH)₂D₂によりインキュベートした培地は対照培地よりも有意に多くのPSAを有する。

【0041】

実施例10: 1₁,24-ジヒドロキシビタミンD₄ [1₁,24-(OH)₂D₄]

活性ビタミンD化合物が1₁,24-(OH)₂D₄であること以外は、実施例9の手順を繰り返す。PSAを測定し、PSA/細胞の質量として表現した場合、1₁,24-(OH)₂D₄によりインキュベートした培地は対照培地よりも有意に多くのPSAを有する。

【0042】

実施例11: 1₁,25-ジヒドロキシビタミンD₄ [1₁,25-(OH)₂D₄]

活性ビタミンD化合物が1₁,25-(OH)₂D₄であること以外は、実施例9の手順を繰り返す。PSAを測定し、PSA/細胞の質量として表現した場合、1₁,25-(OH)₂D₄によりインキュベートした培地は対照培地よりも有意に多くのPSAを有する。

【0043】

臨床試験

実施例12: 癌の一般的治療

既知のビタミンD受容体陽性腫瘍(例えば、前立腺、胸、肺、大腸又は膵臓の腺癌、又は膀胱の伝統的細胞癌、黒色腫)の患者が、本発明の、活性ビタミンD化合物の非盲検試験に参加する。患者に、治療の前に低減カルシウム食餌を与えて、腸吸収を極小化するようにし、かつ活性ビタミンDのより高い投与量を許容するようとする。この低減カルシウム食餌は、治療期間中、また活性ビタミンDの最後の投与後1週間の間続けてもよい。この食餌は理想的には、毎日のカルシウム摂取量を400-500mgに制限する。患者はまたいかなるビタミンDサプリメントの使用又はビタミンD置換治療を中断する。各患者は、適度な

10

20

30

40

50

口内水和を確実にする通常の摂取量より多くの4-6杯の液体を飲むことが依頼される。

以下について各被験者を規則的な間隔でモニターする。(1)高カルシウム血症、高リン酸塩血症、高カルシウム尿症、高リン酸塩尿症及び他の毒性；(2)転移性疾患の進行中変化の証拠；及び(3)処方された試験薬物投与量の服薬遵守。

毎日でなく、一時的な投与療法を用い、例えば1回の投与量当たり10mg又は20mg～約100μg又は200μgを週一回～12週間毎に一回投与される。投与の経路は経口から、静脈ないし領域送達(例えば、動脈注入、門脈経由)まで変動できる。経口は典型的に最も容易な経路であるが、静脈注射は高投与量について有利であり、例えば一般的に、腸のカルシウム吸収を刺激させるため高カルシウム血症を避けるからである。領域送達すれば、高投与量を可能とし、いかなる高カルシウム血症も一般的に避けることが出来る。本発明の高カルシウム血症化合物の場合であっても、これらの化合物は本質的に低リスクで高カルシウム血症を产生する。

18ヶ月の治療の後、転移性疾患の進行を評価するために使用するCATスキャン、X線及び骨スキャンによって、高投与量の一時的処方で治療された多くの患者において安定な疾患及び部分的な又は完全な緩解が示される。

【0044】

実施例13：1,24-ジヒドロキシビタミンD₂[1,24-(OH)₂D₂]による前立腺癌の治療

進行したアンドロゲン非依存性前立腺癌の患者が1,24-(OH)₂D₂の非盲検研究に参加する。適格のある患者は40歳以上であり、前立腺の腺癌の組織学的な根拠を示し、従来からホルモンのインターベンションに応答する進行性疾患を示す者である。本研究への参加に際して、患者は、1,24-(OH)₂D₂の経口又は静脈内による26週間継続治療のコースを始め、その間カルシウムサプリメント、ビタミンDサプリメント、及びビタミンDホルモン置換治療の使用を中断する。治療の間、患者は、規則的間隔で以下のモニターがされる。(1)高カルシウム血症、高リン酸塩血症、高カルシウム尿症、高リン酸塩尿症及び他の毒性；(2)転移性疾患の進行中変化の証拠；及び(3)処方された試験薬物投与量の服薬遵守。

この研究は二つのフェーズで実施される。最初のフェーズの間、静脈内の1,24-(OH)₂D₂の最大許容投与量を連続するグループの患者に漸進的に(progressively)投与することにより決定する。最初の患者グループは、25.0μgの1,24-(OH)₂D₂で治療した。その後の患者グループは、50.0、75.0、100.0μg/日ですべて週1回投与された。本研究の期間中、血清カルシウムが11.6mg/dLを超える又はグレード3又は4の他の毒性は観測されない限り、この場合投与は、観測された毒性効果の回復まで投与を続け、次いで10μgで減少するレベルで再開するまで停止しておく途切れなく投与を続ける。

本研究の最初のフェーズから得た結果から、20.0μg/日を上回る(このレベルは、1,25-(OH)₂D₃で達成されるより10～40倍高い濃度である)1,24-(OH)₂D₂の、一時的投与量が、十分許容でき、高カルシウム血症の臨床上の症状がほとんどないことが分かる。参加した患者から規則的な間隔で収集した血液サンプルの分析は、循環1,24-(OH)₂D₂のレベルが投与した投与量に比例して増加し、最高投与量において100pg/mLを優に超える最大レベルまで上昇し、1,25-(OH)₂D₃の循環レベルは、しばしば検知不能なレベルまで抑制されることを示す。血清及び尿カルシウムは、投与量応答の態様で高まる。最大許容量の1,24-(OH)₂D₂を6月以上投与した患者は、転移性疾患に関連する骨痛が有意に消えることを報告した。

第二フェーズの間、患者は、1,24-(OH)₂D₂により24ヶ月間週1回20μg及び100μg/投与治療される。治療の1及び2年後、転移性疾患の進行を評価するため使用したCATスキャン、X線及び骨スキャンは、低投与量で治療、多くの患者に安定疾患又は部分緩解を示し、高投与量で治療された多くの患者では安定疾患又は部分又は完全緩解を示す。

【0045】

実施例14：前立腺癌の1-ヒドロキシビタミンD₂[1-OH-D₂]による治療

活性ビタミンD化合物1-OH-D₂について、実施例13の研究を繰り返す。第一相の研究結果は、少なくとも6月間週一回の20μgの1-OH-D₂で治療した患者が転移性疾患に関連する骨痛が有意に消えたことを報告することを示す。第二相の研究結果により2年後、転

10

20

30

40

50

移性疾患の進行を評価するために用いたCATスキャン、X線及び骨スキャンが多くの患者において安定疾患又は部分的な又は完全な緩解を示すことが分かる。

【0046】

実施例15：メラノーマの治療

例えば下顎の転移性悪性メラノーマの患者を治療するために実施例13の方法を用いる。治療の18ヶ月後、転移性疾患の進行は安定性疾患又は部分的緩解を示す。

【0047】

実施例16：網膜芽細胞腫の治療

転移性網膜芽細胞腫の患者を治療するために実施例13の方法を用いる。治療の18ヶ月後、この転移性疾患の進行は安定性疾患又は部分的緩解を示す。

10

【0048】

実施例17：肝臓癌の治療

肝癌患者の治療をするために実施例13の方法を使用する。本発明に関連する化合物の領域送達、即ち、動脈注入による送達を使用する。治療の18ヶ月後、転移性疾患の進行は安定性疾患又は部分的緩解を示す。

【0049】

実施例18：活性ビタミンDと抗悪性腫瘍薬との一時的共投与による癌の治療

悪性腫瘍の患者は、 $1,24-(OH)_2D_2$ とパクリタキセルとの治療法に参加する。活性ビタミンDとパクリタキセルとの両方とも静脈内で投与する。パクリタキセルは3週間毎に1回3時間投与し、活性ビタミンDは、26週間に渡り3週間に一度共投与する。パクリタキセルの投与量は $80mg/m^2$ 及び $1,24-(OH)_2D_2$ の投与量は $50\mu g$ 投与である。

20

この治療法を完了する患者を評価する。毒性はすべての患者において観測されない。腫瘍の進行は、安定疾患又は部分的な若しくは完全な緩解を示す。

【0050】

実施例19：活性ビタミンD、抗悪性腫瘍薬、及び抗高カルシウム剤の共投与による癌の治療

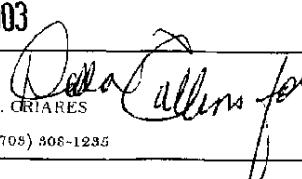
活性ビタミンD及び抗悪性腫瘍薬とともに抗高カルシウム剤を含む治療法によって悪性腫瘍の患者を治療するため実施例18の方法を使用する。この治療法は、例えば $1-OH-D_2$ 、 $1,24-(OH)_2D_2$ 又は $1,25-(OH)_2D_3$ 、パクリタキセル及びパミドロン酸を含む。すべての活性薬剤を26週間の間3週間に一回投与する。

30

この治療法を完了した患者を評価し $11.6mg/dL$ を超えないような血清カルシウムレベルを示し、また臨床症状、例えば高カルシウム血症に起因する脱水症、及び悪液質を示さない。これらの結果は抗悪性腫瘍治療法において、パミドロネートが有意に高カルシウム血症の危険を減少させることを実証する。

本発明について詳述したが、当業者であれば、記載されているものの中で行える、変化、追加、及び削除を含む種々の改良を評価しよう。従って、これらの変更は本発明の範囲内に含まれ、また本発明の範囲は、添付された特許請求の範囲に合法的に調和した最も広い解釈によってのみ制限されないことを企図している。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/38268
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A61K 31/59 US CL : 514/167 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. : 514/167		
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) STN search terms: 24-methyl, Vitamin D, cancer, malignant.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6,143,910 A (BISHOP et al.) 07 November 2000, see entire document	1-41
A	US 6,166,000 A (BISHOP et al.) 26 December 2000, see entire document.	1-41
<input 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 "E" earlier document published on or after the international filing date "U" 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) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "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 02 APRIL 2003	Date of mailing of the international search report 05 JUN 2003	
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20531 Facsimile No. (703) 305-5230	Authorized officer  THEODORE J. GRIJALVA Telephone No. (703) 305-1235	

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 3/14	A 6 1 P 3/14	
A 6 1 P 5/14	A 6 1 P 5/14	
A 6 1 P 7/00	A 6 1 P 7/00	
A 6 1 P 11/00	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 13/08	A 6 1 P 13/08	
A 6 1 P 13/10	A 6 1 P 13/10	
A 6 1 P 15/00	A 6 1 P 15/00	
A 6 1 P 17/00	A 6 1 P 17/00	
A 6 1 P 17/06	A 6 1 P 17/06	
A 6 1 P 19/00	A 6 1 P 19/00	
A 6 1 P 27/02	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 35/02	A 6 1 P 35/02	
A 6 1 P 43/00	A 6 1 P 43/00	1 0 5

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,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,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,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,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,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,N,0,NZ,OM,PH,PL,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100114007

弁理士 平山 孝二

(72)発明者 マゼス リチャード ピー

アメリカ合衆国 ウィスコンシン州 5 3 7 0 5 マディソン ブラックホーク ドライヴ 3 5
3 4

F ターム(参考) 4C084 AA19 MA16 MA17 MA22 MA23 MA28 MA31 MA35 MA37 MA43
MA44 MA52 MA55 MA56 MA59 MA63 MA65 MA66 NA05 NA14
ZA332 ZA512 ZA592 ZA662 ZA812 ZA892 ZA962 ZB212 ZB262 ZB272
ZC062 ZC212
4C086 AA01 AA02 DA15 DA16 DA34 MA01 MA02 MA04 MA52 MA55
MA65 NA05 NA14 ZA33 ZA51 ZA59 ZA66 ZA81 ZA89 ZA96
ZB21 ZB26 ZB27 ZC06