

(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2005-508322

(P2005-508322A)

(43) 公表日 平成17年3月31日(2005.3.31)

(51) Int. Cl.⁷

A 6 1 K 31/185
 A 6 1 K 31/282
 A 6 1 K 31/337
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 P 35/00

F I

A 6 1 K 31/185
 A 6 1 K 31/282
 A 6 1 K 31/337
 A 6 1 K 45/00
 A 6 1 P 35/00

テーマコード (参考)

4 C 0 8 4
 4 C 0 8 6
 4 C 2 0 6

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 85 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-530213 (P2003-530213)
 (86) (22) 出願日 平成14年9月24日 (2002. 9. 24)
 (85) 翻訳文提出日 平成16年3月23日 (2004. 3. 23)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2002/030210
 (87) 国際公開番号 W02003/026574
 (87) 国際公開日 平成15年4月3日 (2003. 4. 3)
 (31) 優先権主張番号 60/324, 704
 (32) 優先日 平成13年9月24日 (2001. 9. 24)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

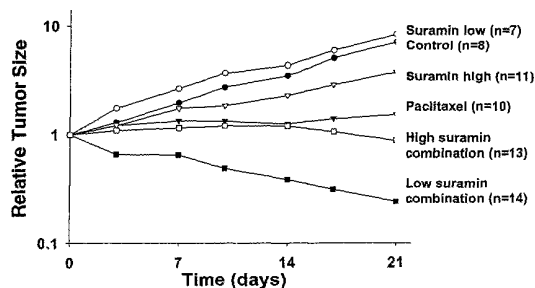
(71) 出願人 501393106
 オウ ジェシー エル エス
 AU, Jessie, L., -S.
 アメリカ合衆国 43235 オハイオ州
 コロンバス パームリーフコート 22
 87
 2287 Palmleaf Court
 , Columbus, OH 4323
 5 U. S. A.

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 併用療法に用いられるスラミンの化学増感用量を決定するための方法及び成分

(57) 【要約】

本発明は、細胞毒性剤を投与される患者に投与するためのスラミンの治療的有効量を決定するための方法であって、患者における循環スラミン濃度を決定する過程と、必要であれば患者に約200 μ M以下の低循環濃度を確立するために必要な用量のスラミンを投与する過程と、患者において低循環濃度が存在するとき、化学療法剤を患者に投与する過程とを含む方法を提供する。便利であるように、スラミンと共に臨床条件で用いるためのノモグラムが構築され得る。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

細胞毒性剤を投与される患者を治療するための方法であって、

(a) 前記患者における循環スラミン濃度を決定する過程と、

(b) 必要であれば前記患者に約 200 μ M 以下の低循環濃度を確立するために必要な用量のスラミンを投与する過程と、

(c) 前記約 200 μ M 以下の低循環濃度が前記患者において存在するとき、化学療法剤を前記患者に投与する過程とを含むことを特徴とする方法。

【請求項 2】

前記低用量の循環スラミンが約 10 ~ 200 μ M であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

10

【請求項 3】

前記低用量の循環スラミンが約 10 ~ 50 μ M であることを特徴とする請求項 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記必要な用量のスラミンが、過程 (b) において

(b1) 前記患者の性別及び体表面積 (BSA) の 2 乗を決定する過程と、

(b2) 最後のスラミン治療の開始からの経過時間を日数単位で決定する過程と、

(b3) 前記性別、前記体表面積の 2 乗、及び前記最後のスラミン治療からの経過日数のパラメータに基づく用量を示すノモグラムを用いて、低用量スラミンの用量を計算する過程とによって決定されることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

20

【請求項 5】

前記ノモグラムが、下表を含むことを特徴とする請求項 4 に記載の方法。

スラミン用量を計算するためのノモグラム

	FACTOR	
	男	女
サイクル1*	125	125
前サイクルの第1の用量の 投与からの経過時間日数	FACTOR	
7	39	33
8	43	37
9	47	40
10	51	44
11	55	47
12	58	50
13	61	53
14	64	56
15	67	58
16	70	61
17	72	63
18	74	66
19	77	68
20	79	70
21	80	72
22	82	74
23	84	75
24	86	77
25	87	79
26	88	80
27	90	82
28	91	83
29	92	84
30	93	86
31	94	87
32	95	88
33	96	89
34	97	90
35	98	91
36	98	92
37	99	93
38	100	94
39	100	95
41	102	96
42	102	97
44	103	98
47	104	100
49	105	101
52	106	102
55	106	103

10

20

30

ここで、

$$\text{第1サイクルの用量 (mg)} = \frac{(21.4 * 5.13 * \text{BSA}^2)}{e^{-(0.0026 \text{ or } 0.0022 * 48)}} = \text{FACTOR} * \text{BSA}^2 \quad (\text{式15})$$

40

及び

$$\text{後続サイクルの用量} = \text{第1の用量} * (1 - e^{-k * t}) = 125 * \text{BSA}^{2*} (1 - e^{-k * t}) \quad (\text{式16})$$

【請求項6】

前記細胞毒性剤が、微小管阻害剤、トポイソメラーゼI抑制剤、トポイソメラーゼII抑制剤、代謝拮抗剤、有糸分裂阻害剤、アルキル化剤、插入剤、シグナル伝達経路を妨害することが可能な薬剤、アポトーシスまたは壊死のうちの1つ若しくはいくつかを促進する薬剤、インターフェロン、インターロイキン、腫瘍壊死因子または放射能のうちの1つ若し

50

くはいくつかであること特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 7】

前記細胞毒性剤が、パクリタキセル、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビンデシン、ビノレルビン、ドセタキセル、トポテカン、カンプトセシン、塩酸イリノテカン、ドキシロピシン、エトポシド、ミトキサントロン、ダウノルピシン、イダルピシン、テニポシド、アムサクリン、エピルピシン、メルパロン、塩酸ピロキサントロン、5-フルオロウラシル、メトトレキセート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、リン酸フルダラビン、シトシンアラビノシド、トリメトトレキセート、ゲムシタビン、アシピシン、アラノシン、ピラゾフリン、N-ホスホアセチル-L-アスパレート (PALA)、ペントスタチン、5-アザシチジン、5-アザ-2'-デオキシシチジン、アデノシンアラビノシド、クラドリビン、フトラフル、UFT (ウラシルとフトラフルの組み合わせ)、5-フルオロ-2'-デオキシウリジン、5'-デオキシ-5-フルオロウリジン、チアゾフリン、ゼローダ (カペシタビン)、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、マイトマイシン C、BCNU (例えばカルムスチン)、メルファラン、チオテパ、ブスルファン、クロラムブシル、プリカマイシン、ダカルバジン、リン酸イホスファミド、シクロホスファミド、ナイトロジェンマスタード、ウラシルマスタード、ピボプロマン、4-イボミアノール、ジヒドロレンペロン、スピロムスチン、ゲルダナマイシン、サイトカラシン、デブシペプチド、ロイプロイド (例えばリュープロン)、ケトコナゾール、タモキシフェン、ゴセレリン (例えばゾラデックス)、フルタミド、4'-シアノ-3- (4-フルオロフェニルスルホニル)-2-ヒドロキシ-2-メチル-3'-(トリフルオロメチル) プロピオンアニリド、ハーセプチン、抗 CD20 (リタキサン)、C225、イレッサ、インターフェロン α 、インターフェロン β 、インターフェロン γ 、インターフェロン δ 、インターロイキン 2、インターロイキン 4、インターロイキン 12、腫瘍壊死因子、放射能、ヒドロキシ尿素、アザチオプリン、アミノプテリン、トリメトプリン、ピリメタミン、プリトレキシム、DDMP (2,4 ジアミノ 5(3', 4' ジクロロフェニル) 6 メチルピリミジン)、5, 10-ジデアザテトラヒドロ葉酸、10-プロパルギル-5, 8 ジデアザ葉酸 (CB3717)、10-エチル-10-デアザ-アミノプテリン、デオキシシチジン、5-アザ-シトシンアラビノシド、N-4-パルミトイル-シトシンアラビノシド、2'-アジド-2'-デオキシシトシンアラビノシド、N4-ベヘノイル-シトシンアラビノシド、CCNU (ロムスチン)、エストラムスチン、MeCCNU、トリエチレンメラミン、トレニモン、ジメチルブスルファン、ストレプトゾトシン、クロロゾトシン、プロカルバジン、ヘキサメチルメラミン (アルトレタミン)、ヘプタメチルメラミン (PMM)、テトラプラチン、オキサリプラチン、プラチナ-DACH、アジリジニルベンゾキノ (AZQ)、プレオマイシン、タリソマイシン S₁₀^b、リプロマイシン、ペブレオマイシン、アスパラギナーゼ (Elspar)、pegaspargase (Oncaspar)、クラドリビン (ロイスタチン)、ポルフィマーナトリウム (フォトフリン)、アミノフィド、デオキシスベルグアリン、ジヒドロレンペローネ、フラボン酢酸、硝酸ガリウム、及びヘキサメチレンニアセトアミン (HMBA) のうちの 1 つ若しくはいくつかであること特徴とする請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

スラミン用量が、患者において 48 時間にわたり約 10 ~ 50 μ M の濃度が達成されるように投与されること特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 9】

前記患者が哺乳動物であること特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 10】

前記患者がヒトであること特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 11】

前記患者が腫瘍を有すること特徴とする請求項 1 に記載の方法。

【請求項 12】

前記細胞毒性剤が、カルボプラチンまたはパクリタキセルのうちの 1 つ若しくはいくつかであること特徴とする請求項 7 に記載の方法。

【請求項 13】

10

20

30

40

50

スラミンの治療的な有効量の3分の2が最初の日投与され、前記スラミンの治療的な有効量の残り3分の1が約24時間後に投与されること特徴とする請求項1に記載の方法。

【請求項14】

細胞毒性剤を投与される患者に投与するためのスラミンの治療的な有効量を決定する方法であって、

(b1) 前記患者の性別及び体表面積(BSA)の2乗を決定する過程と、

(b2) 最後のスラミン治療の開始からの経過時間を日数単位で決定する過程と、

(b3) 前記性別、前記体表面積の2乗、及び前記最後のスラミン治療からの経過日数のパラメータに基づく用量を示すノモグラムを用いて、低用量スラミンの用量を計算する過程とによって決定されることを特徴とする方法。

10

【請求項15】

前記ノモグラムが、下表を含むことを特徴とする請求項14に記載の方法。

スラミン用量を計算するためのノモグラム

	FACTOR	
	男	女
サイクル1*	125	125
前サイクルの第1の用量の 投与からの経過時間日数	FACTOR	
7	39	33
8	43	37
9	47	40
10	51	44
11	55	47
12	58	50
13	61	53
14	64	56
15	67	58
16	70	61
17	72	63
18	74	66
19	77	68
20	79	70
21	80	72
22	82	74
23	84	75
24	86	77
25	87	79
26	88	80
27	90	82
28	91	83
29	92	84
30	93	86
31	94	87
32	95	88
33	96	89
34	97	90
35	98	91
36	98	92
37	99	93
38	100	94
39	100	95
41	102	96
42	102	97
44	103	98
47	104	100
49	105	101
52	106	102
55	106	103

20

30

40

$$\text{第1サイクルの用量 (mg)} = \frac{(21.4 * 5.13 * \text{BSA}^2)}{e^{-(0.0026 \text{ or } 0.0022 * 48)}} = \text{FACTOR} * \text{BSA}^2 \quad (\text{式15})$$

及び

$$\text{後続サイクルの用量} = \text{第1の用量} * (1 - e^{-k * t}) = 125 * \text{BSA}^{2*} (1 - e^{-k * t}) \quad (\text{式16})$$

【請求項 16】

前記細胞毒性剤が、微小管障害剤、トポイソメラーゼI抑制剤、トポイソメラーゼII抑制剤、代謝拮抗剤、有糸分裂障害剤、アルキル化剤、插入剤、シグナル伝達経路を妨害することが可能な薬剤、アポトーシスまたは壊死のうちの1つ若しくはいくつかを促進する薬剤、インターフェロン、インターロイキン、腫瘍壊死因子または放射能のうちの1つ若しくはいくつかであること特徴とする請求項 14 に記載の方法。

10

【請求項 17】

前記細胞毒性剤が、パクリタキセル、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビンデシン、ビンORELビン、ドセタキセル、トポテカン、カンプトセシン、塩酸イリノテカン、ドキシルピシン、エトポシド、ミトキサントロン、ダウノルピシン、イダルピシン、テニボシド、アムサクリン、エピルピシン、メルパロン、塩酸ピロキサントロン、5-フルオロウラシル、メトトレキセート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、リン酸フルダラビン、シトシンアラビノシド、トリメトトレキセート、ゲムシタビン、アシピシン、アラノシン、ピラゾフリン、N-ホスホアセチル-L-アスパレート (PALA)、ペントスタチン、5-アザシチジン、5-アザ-2'-デオキシシチジン、アデノシンアラビノシド、クラドリビン、フトラフル、UFT (ウラシルとフトラフルの組み合わせ)、5-フルオロ-2'-デオキシウリジン、5'-デオキシ-5-フルオロウリジン、チアゾフリン、ゼローダ (カペシタビン)、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、マイトマイシンC、BCNU (例えばカルムスチン)、メルファラン、チオテパ、ブスルファン、クロラムブシル、プリカマイシン、ダカルバジン、リン酸イホスファミド、シクロホスファミド、ナイトロジェンマスタード、ウラシルマスタード、ピボプロマン、4-イボミアノール、ジヒドロレンペロン、スピロムスチン、ゲルダナマイシン、サイトカラシン、デブシペプチド、ロイブロイド (例えばリュープロン)、ケトコナゾール、タモキシフェン、ゴセレリン (例えばゾラデックス)、フルタミド、4'-シアノ-3- (4-フルオロフェニルスルホニル)-2-ヒドロキシ-2-メチル-3'-(トリフルオロメチル) プロピオンアニリド、ハーセプチン、抗CD20 (リタキサン)、C225、イレッサ、インターフェロン、インターフェロン、インターフェロン、インターロイキン2、インターロイキン4、インターロイキン12、腫瘍壊死因子、放射能、ヒドロキシ尿素、アザチオプリン、アミノプテリン、トリメトプリン、ピリメタミン、プリトレキシム、DDMP (2,4 ジアミノ5(3', 4' ジクロロフェニル) 6 メチルピリミジン)、5,10-ジデアザテトラヒドロ葉酸、10-プロパルギル-5, 8 ジデアザ葉酸 (CB3717)、10-エチル-10-デアザ-アミノプテリン、デオキシシチジン、5-アザ-シトシンアラビノシド、N-4-パルミトイル-シトシンアラビノシド、2'-アジド-2'-デオキシシトシンアラビノシド、N4-ベヘノイル-シトシンアラビノシド、CCNU (ロムスチン)、エストラムスチン、MeCCNU、トリエチレンメラミン、トレニモン、ジメチルブスルファン、ストレプトゾトシン、クロロゾトシン、プロカルバジン、ヘキサメチルメラミン (アルトレタミン)、ヘプタメチルメラミン (PMM)、テトラプラチン、オキサリプラチン、プラチナ-DACH、アジリジニルベンゾキノ (AZQ)、プレオマイシン、タリソマイシン_{S10}^b、リブロマイシン、ペブレオマイシン、アスパラギナーゼ (Elspar)、pegaspargase (Oncaspar)、クラドリビン (ロイスタチン)、ポルフィマーナトリウム (フォトフリン)、アミノフィド、デオキシスベルグアリン、ジヒドロレンペローネ、フラボン酢酸、硝酸ガリウム、及びヘキサメチレンニアセトアミン (HMBA) のうちの1つ若しくはいくつかであること特徴とする請求項 16 に記載の方法。

20

30

40

【請求項 18】

50

細胞毒性剤を投与される患者に投与するためのスラミンの治療的な有効量を決定するための方法であって、
次式に基づいてノモグラムを構築する過程を含むこと特徴とする方法。

$$\text{第1サイクルの用量 (mg)} = \frac{(21.4 * 5.13 * \text{BSA}^2)}{e^{-(0.0026 \text{ or } 0.0022 * 48)}} = \text{FACTOR} * \text{BSA}^2 \quad (\text{式15})$$

及び

$$\text{後続サイクルの用量} = \text{第1の用量} * (1 - e^{-k * t}) = 125 * \text{BSA}^2 * (1 - e^{-k * t}) \quad (\text{式16})$$

10

【請求項 19】

前記ノモグラムが、下表を含むことを特徴とする請求項 18 に記載の方法。

スラミン用量を計算するためのノモグラム

サイクル1*	FACTOR	
	男	女
前サイクルの第1の用量の投与からの経過時間日数	125	125
7	39	33
8	43	37
9	47	40
10	51	44
11	55	47
12	58	50
13	61	53
14	64	56
15	67	58
16	70	61
17	72	63
18	74	66
19	77	68
20	79	70
21	80	72
22	82	74
23	84	75
24	86	77
25	87	79
26	88	80
27	90	82
28	91	83
29	92	84
30	93	86
31	94	87
32	95	88
33	96	89
34	97	90
35	98	91
36	98	92
37	99	93
38	100	94
39	100	95
41	102	96
42	102	97
44	103	98
47	104	100
49	105	101
52	106	102
55	106	103

20

30

40

【請求項 20】

50

1 若しくは複数の細胞毒性剤とスラミンを同時投与するためのキットであって、
薬剤担体に配合されたスラミンと、
腫瘍細胞の成長や増殖の抑制または腫瘍細胞の死滅の誘導の1つまたはいくつかにおいて
前記細胞毒性剤と併用して前記スラミンを治療的に用いるためのインストラクションとを
含むキット。

【請求項21】

前記インストラクションがスラミンの治療的な有効量を決定するための方法を含むことを
特徴とする請求項20に記載のキット。

【請求項22】

前記スラミンの治療的な有効量を決定するためのインストラクションがノモグラムを含む
ことを特徴とする請求項21に記載のキット。 10

【請求項23】

前記細胞毒性剤の1つがパクリタキセルであることを特徴とする請求項20に記載のキット。

【請求項24】

前記細胞毒性剤の1つがカルボプラチンであることを特徴とする請求項20に記載のキット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、他の化学療法剤の有効性を高めるために化学増感剤として用いられるスラミン
の必要用量を決定するための方法に関連する。 20

【0002】

この出願は、2001年9月24日に出願された米国仮出願第60/324,704号「Methods and
Compositions for Modulating Cell Proliferation and Cell Death」に基づき優先権
を主張し、更に、2000年6月5日に出願されたPCT特許出願第PCT/US00/40103号「Met
hods and Compositions for Modulating Cell Proliferation and Cell Death」を参照す
る。本明細書中で引用される特許、特許出願、及び引用文献は、全体を参照することを以
って本明細書の一部となす。

【0003】

政府支援研究

この研究は、米国立癌研究所(National Cancer Institute)、米国立保健研究所(Natio
nal Institutes of Health)及び保健社会福祉省(Department of Health and Human Ser
vices)の支援及び部分的な援助を受けている(認可番号: R37CA49816、R01CA78577、R01
CA74179、及びU01CA76576)。

【背景技術】

【0004】

スラミンは、単剤治療において適度の活性を有する抗癌剤である。以前の多数の研究は、
単剤として或いは他の化学療法剤と併用してのいずれかで高用量療法におけるスラミンを
評価してきた。これらの研究は、約150~300 µg/mlまたは約100~200 µMの 40
血漿濃度を得ることを目的するものであり、広範な薬剤毒性にもかかわらず単剤治療のた
めの高用量スラミンの適度の活性を示した(Eisenberger ら (1995) J Clin Oncol 13: 2
174-2186)。典型的なスラミン投薬計画は、スラミン血漿濃度を約100~200 µg/ml
に維持することを目的とし、第1週に2100 mg/m²の初回投与を行い、6ヶ月またはそ
れ以上の間にわたり28日毎に繰り返し次の用量を投与するものであり、次の用量はベイ
ズの薬物動態学的方法を用いて調整された(Dawson ら (1998) Clin Cancer Res 4: 37-4
4, Falcone ら (1999) Cancer 86: 470-476)。更に、細胞毒性剤と併用してスラミンを
用いるための従来の方法は、他の細胞毒性剤のための頻度及び治療期間と比べてより頻繁
な計画またはより長い期間で高用量のスラミンを投与する。例えばアンドロゲン非依存性
前立腺癌の治療のためにスラミンとドキソルビシンを併用すると、ドキソルビシン治療の 50

期間は最大20週間であったが、スラミン治療の期間は最大45週間であった (Tu ら (1998) Clin Cancer Res 4: 1193-1201)。例えば、スラミンとマイトマイシンCを併用してホルモン抵抗性前立腺癌の治療を行った際に、スラミンは毎週投与されたがマイトマイシンCは5週間に1回しか投与されなかった (Rapoport ら (1993) Ann Oncol 4: 567-573)。これらの用量及び慢性治療では、スラミンはヒトの患者に副腎不全、凝固障害、末梢神経疾患、近位筋衰弱などの毒性を生じさせる (Dorr and Von Hoff, Cancer Chemo治療 Handbook, 1994, pp 859-866)。抗アドレナリン性毒性を克服するために、高用量スラミン療法を受けている患者は、補充ステロイド治療を同時投与された (Dorr and Von Hoff)。

【0005】

数ヶ月間にわたり約100～200 μ Mの比較的一定の血漿濃度を生じさせるような用量のスラミンと他の化学療法剤との併用療法は、限定された利点を示すか或いはこれらの療法の更なる評価を奨励しないような毒性を生じさせてきた (例えばMiglietta ら, J. Cancer Res. Clin. Oncol. 23: 407-410, 1997, Falcone A, ら. Tumori 84: 666, 1998, Falcone A, ら Cancer 86: 470, 1999, Rapoport B, ら Ann Oncol 4: 567, 1993)。

【0006】

血漿濃度が数ヶ月間にわたり約100～200 μ Mに維持されるスラミンと、他の化学療法剤との相乗的な相互作用の欠落は、スラミンによって生じる細胞周期摂動の結果であり得る。約50 μ M以上の一定濃度で少なくとも1～2日間維持されるスラミンは、細胞周期の異なる相で細胞の蓄積を伴う細胞周期停止を引き起こすことが示されてきたが、その活性が細胞周期中に進行する細胞の能力に依存するような他の化学療法剤の活性を妨げるのみならず、細胞周期の他のフェーズで作用するような他の化学療法剤の活性を妨げ得る (Qiao L ら Biochem Biophys Res Commun 201: 581, 1994, Howard S ら. Clin Cancer Res 2: 269, 1996, Palayoor ST ら Radiat Res, 148: 105-114, 1997)。

【0007】

本願出願人は、腫瘍組織に存在する酸性及び塩基性の線維芽細胞成長 (aFGF and bFGF) が腫瘍細胞の耐性を化学療法に誘導し、このFGF媒介耐性は約50 μ M以下の低濃度のスラミンによって圧倒され得るということを先の特許出願 (PCT/US00/40103) で開示した。しかし、スラミンの化学増感効果が生体内で (in vivo) より高い血漿濃度を搬送するようなより高用量で減少し得るかどうかは知られていない。

【0008】

本発明は、化学療法剤 (例えばパクリタキセル) が治療的に有効なレベルで血漿中に存在していた期間 (例えば6時間) にわたり約10～50 μ Mの血漿濃度を生じさせるような低用量のスラミンのみが腫瘍を有する動物における化学療法の有効性を高めることを示している。対照的に、高用量のスラミンは、ほぼ同じ期間にわたり約300～650 μ Mの濃度を生じさせるが、有効性を高めることはなく、化学療法の毒性を高めただけであった。同様に、本願出願人は、第1相試験の結果を開示する。これは、化学療法剤 (即ちパクリタキセル及びカルボプラチン) が治療的に有効なレベルで存在していた期間にわたって約10～50 μ Mの血漿濃度を生じさせた低用量スラミンの追加が、パクリタキセルとカルボプラチンの標準治療への癌患者の反応を高めたことを示す。スラミンがヒトの患者におけるその他の化学療法剤の有効性を向上させないという先行技術の教示 (Miglietta ら Falcone A ら, 1998, Falcone A ら, 1999, Rapoport ら, 1993) を考えると、これらの発見は驚きである。これらの発見はまた、薬剤が投与される用量が高い方が低い方と比べてより低い効果ではなくより高い効果を生み出すと一般に信じられているので、かなり直観に反する。更に、低用量スラミン治療は副腎不全を誘発しなかった。従って、低用量スラミンを投与される患者には補充ステロイド治療は必要なかった。

【0009】

高用量スラミンで処置された患者の用量選択をガイドするための以前の研究は、連続的なスラミン薬物動態のモニタリングを伴って数ヶ月間にわたり各患者における実際の血漿濃度の測定を必要とするようなベイズの薬物動態学的方法を用いていた。この初期のアプロ

10

20

30

40

50

ーチは、限られた医療センターでしか行われ得ないような大きな労働力を要しかつ費用がかかる手法であり (ReynoLMら J Clin Oncol 13: 2187-2195,1995)、従って適用可能性が限定されている。

【0010】

集団薬物動態学の適用は、より容易に適用される固定された投薬計画の開発を可能にした (Reyno LM, ら. J Clin Oncol 13: 2187-2195,1995; Small Eら J Clin Oncol 18: 1440-1450,2000)。これらの計画は、全ての患者に対して体表面積当たりをベースに同一の初回用量を用いた。次の用量は、所定の計画に従って低減された。これらの療法は、2カ月以上の長期の治療期間にわたって100~200 μM の範囲で一定かつ高い血漿濃度を維持するように計画された。更に、これらの研究は、前立腺癌の男性患者に限定されていた。従って、これらの療法は、男女の患者共に化学増感剤としての併用療法におけるスラミンの使用に適用され得なかった。化学増感剤として、スラミンの血漿濃度は、ずっと低いレベルの狭い範囲 (例えば約10~50 μM 、例えば300~650 μM 以下) で維持されるが、他の化学療法剤が治療的に有意な濃度で存在する間 (例えば1週間以下) は一過性に過ぎない。

10

【0011】

先行技術文献 (Reynoら, Small E ら) に記載されている固定された投薬計画は、計画された治療計画からのずれに対する手段を提供するものでもない。しかし、臨床実務において、毒性または計画の矛盾に起因する治療の遅れは珍しくない。このことは、スラミンを投与するために固定された投薬計画を非実用的なアプローチにしてしまう。

20

【0012】

更に、本発明は、男性患者に比べて女性患者の方が薬剤の排出が遅いことに部分的に起因するような、癌患者内でのスラミンの処分に於ける180%の患者間のばらつきを開示する。このようなスラミン排出の性別に関連する相違は、以前には実証されていなかった。患者間のばらつきが大きいことは、同一用量のスラミンを投与しても全ての患者の血漿濃度が同じ所望の血漿濃度になるのではないことを示している。

【0013】

従って、細胞毒性剤として用いられるスラミンの用量を計算するための先行技術文献に記載された方法を用いて、化学増感剤として用いられるスラミン用量を計算することはできない。

30

【0014】

本発明は、標的化学増感スラミンの濃度及びスラミン曝露期間 (例えば48時間にわたって維持される約10~50 μM の血漿濃度) に基づいて個々の患者におけるスラミン用量を計算するための簡単で実用的な方法を開示する。患者の人口統計特性は、限定されるものではないが、表面積の2乗値、患者の性別、及び治療と治療の間の期間を含む。この新規な方法は、従って、男女の患者共に、化学増感剤として使用されるスラミン用量を計算するために用いられることができ、治療の遅れにも適応し得る。

【0015】

狭い範囲の曝露の維持が必要であるような他の薬剤に対して、種々の他の方法が考案された。例えば、カルボプラチンの投与の場合、濃度と時間の積分された積 (濃度 - 時間曲線の下面積) が狭い範囲にあるのが望ましく、カルボプラチン用量は患者のクレアチニンクリアランスに基づき計算される (Calvert ら, J. Clin.Onc. 7: 1748,1989)。しかし、化学増感を生じさせる低用量スラミンのための必要用量を計算する方法については開示されていない。

40

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0016】

本発明は、少なくとも部分的に、本願発明者による以下の発見に基づく。

【0017】

スラミンを異なる血漿濃度を生じさせるような異なる用量で他の化学療法剤と併用して被

50

検者に投与すると、逆効果を生じさせ得る。他の化学療法剤が治療的に有意なレベルで血漿に存在する期間にわたって約 10 ~ 50 μ M の血漿濃度を生じさせるような低用量のスラミンの投与は、同時投与される化学療法剤の毒性を増強することなく有効性を高める。対照的に、同じ期間にわたって約 300 ~ 650 μ M の血漿濃度を生じさせるような高用量のスラミンの投与は、有効性を高めず、同時投与される化学療法剤の毒性を増強する。それゆえスラミンの化学増感効果は、高度に用量及び濃度に依存し、同時投与される化学療法剤が治療的に有意なレベルで存在する期間にわたって約 10 ~ 50 μ M 及びの約 300 ~ 600 μ M 以下の濃度範囲が維持されるようにする。

【0018】

本願出願人はまた、癌患者において、他の化学療法剤（即ちパクリタキセル及びカルボプラチン）が治療的に有意なレベルで血漿に存在した期間にわたって（例えば 48 時間にわたる約 10 ~ 50 μ M のスラミン濃度）、腫瘍を有する動物において化学増感を生じさせると知られている範囲の血漿濃度を輸送するように選択された低用量のスラミンの使用を試験した。結果は、低用量のスラミンを追加すると癌患者における化学療法の有効性が高まることを示す。

10

【0019】

本願出願人は更に、スラミンの排出が 48 時間にわたり約 10 ~ 50 μ M を生じさせたような低用量で化学増感を生じさせるという発見が、患者において約 100 ~ 200 μ M の血漿濃度を生じさせるようなスラミンが高用量で投与されたときの先行技術に示された結果と比べて、ヒトの癌患者においてより高速であり、より多くの患者間のばらつきを示すことを発見した。

20

【0020】

以上の発見は、集団的に、化学増感剤として用いられるスラミンの用量及び治療計画を決定する方法の重要性及び必要性を示す。

【0021】

本願出願人は更に、低用量スラミンの薬物動態が患者の特性に依存しかつそこから予測され得ることを発見した。本発明は、個々の患者に対して化学増感を生じさせることが知られている所望の血漿スラミン濃度を生じさせ得るスラミン用量を計算する方法を開示する。本発明は更に、ノモグラムを準備する方法及び個々の患者におけるスラミン用量を計算するためのノモグラムを開示する。

30

【0022】

本発明の他の機能及び利点は、以下の詳細な説明及び特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【発明を実施するための最良の形態】

【0023】

本発明について更に説明する前に、便宜上、明細書、実施例及び特許請求の範囲において使用される特定の用語を以下にまとめて示す。

【0024】

定義

本明細書中で用いられる用語「細胞毒性剤」、「化学療法剤」、「抗癌剤」、及び「抗腫瘍剤」は、互換可能に用いられ、成長または増殖を抑制するかまたは高増殖性細胞（hyperproliferative cell）の死滅を誘導する性質を有する薬剤（例えば細胞増殖抑制剤）を指す。

40

【0025】

本明細書中で用いられるスラミンの「治療的有效量」は、被検者（例えば患者）に 1 回または複数回投与したときに成長または増殖の抑制または高増殖性細胞（例えば癌細胞）の死滅の誘導に効果を発揮するスラミンの量を指す。用語「治療的有效量」はまた、スラミン及び細胞毒性剤が被検者（例えば患者）に 1 回または複数回投与したときに成長または増殖の抑制または高増殖性細胞の死滅の誘導に有効であるように 1 または 2 以上の細胞毒性剤と共に（即ち連続的にまたは同時に）投与（例えば同時投与）されるスラミンの量を

50

指す。そのような成長抑制または死滅は、そのような治療がない場合に予測を超えた被検者（例えば患者）の生存の延長またはそのような治療のない場合に関連する被検者の予後の向上として反映され得る。

【0026】

本明細書中で用いられる「化学増感」及び「化学増感効果」は、互換可能に用いられ、スラミンによる化学療法の有効性の向上を指す。

【0027】

「化学増感剤」は、別の薬剤の有効性を高める薬剤（例えばスラミン）を指す。

【0028】

本明細書中で用いられる「高用量スラミン」及び「高用量のスラミン」は、互換可能に用いられ、細胞毒性剤として用いられ、かつ、被検者に注射されたとき約300～650 μ Mの範囲の血漿濃度で約6～8時間維持されるかまたは約100～200 μ Mの範囲の血漿濃度で1または2カ月以上維持されるような用量で用いられるスラミンを指す。

【0029】

本明細書中で用いられる「低用量スラミン」は、化学増感剤として用いられ、かつ、被検者に注射されたとき約300～650 μ M以下の範囲の血漿濃度で約6～8時間維持されるかまたは約100～200 μ Mの範囲の血漿濃度で1または2カ月以上維持されるような用量で用いられるスラミンを指す。

【0030】

本明細書中で用いられる「高用量スラミン療法」は、高用量のスラミンを被検者に投与するような治療を指す。

【0031】

本明細書中で用いられる「低用量スラミン療法」は、低用量のスラミンを被検者に投与するような治療を指す。

【0032】

本明細書中で用いられる「同時投与される化学療法剤が治療的に有意な濃度またはレベルに存在するときの期間」は、同時投与される化学療法剤が循環血液または血漿中に存在するか検出可能であるときの期間か、同時投与される化学療法剤への曝露が同時投与される薬剤への全曝露の約90%を占めるような期間（例えば濃度-時間曲線の下面積として測定される）、或いは同時投与される化学療法剤の3～4の終末半減期に概ね等しい期間を指す。

【0033】

本明細書中で用いられる「共変量」は、低用量スラミンの排出における患者間のばらつきに關与し得る患者の生理学的または病理学的パラメータを指す。

【0034】

本明細書中で用いられる「PBPK」は集団ベースの薬物動態分析を指し、「PBPKベースの投薬方法」は、PBPKを用いて開発された化学増感を生じさせるようなスラミン投薬療法を決定する方法を指す。この方法は、実施例4において詳述される。

【0035】

本明細書中で用いられる「ノモグラム」は、限定されるものではないが、患者の性別、年齢、体重や体表面積、または以前の薬治療から経過した時間を含む1つ以上の容易に得られるパラメータに基づき被検者例えばヒトの患者に投与する薬剤の治療的有效量の判定を可能にする作表及び/または予測式を指す。

【0036】

本明細書中で用いられるその他の用語、例えば「同時投与」、「スラミン及び細胞毒性剤の有効量」、「被検者」、「ヒト」、「ヒト以外の」、「高増殖性細胞の成長または増殖を抑制する」、「高増殖性細胞の死滅を誘導する」、「誘導する」、「抑制する」、「増強する」、「上昇させる」、「増加させる」、「減少させる」、「高増殖性」、「増殖性」、「悪性」、「新生物性」、「病的高増殖性」、「新形成」、「増殖」、「腫瘍」、「癌腫」、「腺癌」、「肉腫」、「白血病」、「白血病性癌」、「骨髓腫」、及び「リンパ

10

20

30

40

50

腫」は、先の特許出願第PCT/US00/40103号に記載されているものと同じである。

【0037】

発明の説明の続き

ある側面では、本発明は、少なくとも1つの他の化学療法剤と併用して、化学増感剤としての低用量スラミンの使用を特徴とする。

【0038】

好適実施例においては、低用量スラミンは、少なくとも1つの他の化学療法剤と併用して、被検者に投与される。

【0039】

好適実施例においては、低用量スラミンは、被検者に同一または異なる化学療法剤と同時に投与される。 10

【0040】

好適実施例においては、低用量スラミンは、被検者に繰り返し投与される同一または異なる化学療法剤と同時に投与される。

【0041】

好適実施例においては、低用量スラミンの投薬計画は、同時投与される化学療法剤が治療的に有意なレベルで被検者に存在する期間にわたって、好適には約300～600 μ Mの範囲以下、好適には約150～200 μ Mの範囲以下、有利であるのは約135～200 μ Mの範囲以下、更に有利であるのは約120～200 μ Mの範囲以下、好適には約105～200 μ Mの範囲以下、より好適には約90～200 μ Mの範囲以下、より好適には約75～200 μ Mの範囲以下、より好適には約60～200 μ Mの範囲以下、そしてそれよりも尚好適には約10～50 μ Mの範囲以下のスラミンの血漿濃度を生じさせる。 20

【0042】

好適実施例においては、化学療法剤は、約3週間の時間間隔で計画された複数の治療サイクルに対して繰り返し投与される。

【0043】

別の実施例においては、化学療法剤は、約1週間の時間間隔で計画された複数の治療サイクルに対して繰り返し投与される。

【0044】

好適実施例においては、化学療法の投薬療法は、不規則な時間間隔で投与される複数の治療サイクルの投与を含む。 30

【0045】

好適実施例においては、低用量スラミンは約3週間の時間間隔で計画された複数の治療サイクルに対して繰り返し投与される。

【0046】

別の実施例においては、低用量スラミン約1週間の時間間隔で計画された複数の治療サイクルに対して繰り返し投与される。

【0047】

好適実施例においては、低用量スラミンの投薬療法は、不規則な時間間隔で投与される複数の治療サイクルの投与を含む。 40

【0048】

好適実施例においては、低用量スラミンの投薬療法は、1回の治療サイクル中に繰り返し行われるスラミンの投与を含む。

【0049】

好適実施例においては、低用量スラミンと少なくとも1つのその他の化学療法剤の併用療法は、悪性または良性の腫瘍由来または良性の増殖成長由来の高増殖性細胞の増殖を抑制するか或いは死滅を促進する。

【0050】

別の実施例においては、低用量スラミンは少なくとも1つのその他の化学療法剤との併用療法によりヒトの患者に投与される。 50

【0051】

別の実施例においては、低用量スラミンは少なくとも1つのその他の化学療法剤との併用療法によりヒト以外の哺乳動物に投与される。

【0052】

好適実施例においては、低用量スラミンは、低用量スラミン不在下での細胞毒性剤の効果に比べて化学療法剤（例えば細胞毒性剤）の有効性を高める。

【0053】

好適実施例においては、低用量スラミンは少なくとも1つの化学療法剤と共に投与され、それによって悪性または良性腫瘍由来の高増殖性細胞の増殖を抑制するか或いは死滅を促進する。

10

【0054】

一実施例においては、スラミンは少なくとも1つの細胞毒性剤と共に投与される。少なくとも1つの抗癌剤とのスラミンの高められた相乗効果は、これらの抗癌剤の有効性を高めることに加えて、より低用量のこれらの抗癌剤の投与を可能にすることができ、従って被検者（例えば患者）への副作用の誘発を低減する。例えば被検者は、パクリタキセル、カルボプラチン及びスラミンの併用によって治療される非小細胞肺癌患者である。

【0055】

別の側面では、本発明は、化学療法剤と併用して高用量スラミンを用いないように教示している。

【0056】

好適実施例においては、高用量のスラミン（即ち約200～300 μ M以上）が被検者に投与され得るが、化学療法剤が投与されている間は、化学療法剤の投薬はスラミンの血漿濃度が約10～50 μ Mの範囲に減少するまで遅らされる。

20

【0057】

別の側面では、本発明は、被検者において薬剤（例えば細胞毒性剤）と併用して化学増感剤として用いられるスラミンの用量を同定する方法を提供する。この方法は、

- （a）動物を移植する過程と、
- （b）腫瘍を有する動物にスラミン及び少なくとも1つの他の化学療法剤を投与する過程と、
- （c）他の化学療法剤を腫瘍成長の遅れまたは腫瘍サイズ減少を生じさせるような用量に固定する過程と、
- （d）スラミンの用量を変化させて、長期にわたり動物の腫瘍のサイズをモニターする過程と、
- （e）化学増感を生じさせるようなスラミン用量から得られたスラミンの血漿濃度を測定する過程と、
- （f）化学増感を生じさせないようなスラミン用量から得られたスラミンの血漿濃度を測定する過程とを含む。

30

【0058】

好適実施例においては、本発明は、化学療法剤に対して、低用量スラミンと共に被検者に同時投与されるときにスラミンによって所望の高められた有効性を生じさせるような化学療法剤を同定するために、低用量スラミンでの化学増感によって得られる治療的有効性の向上の程度を判定するための方法を提供する。

40

【0059】

別の側面では、本発明は、患者に投与するための化学増感剤としてのスラミンの治療的有効量を判定するための方法を提供する。この方法は、

- （a）患者の性別及び体表面積の2乗値を決定する過程と、
- （b）最後のスラミン治療の開始からの経過時間を日数単位で決定する過程と、
- （c）上記3つのパラメータに基づき用量を示すノモグラムを用いて低用量スラミンの用量を計算する過程とを含み、それによってノモグラム（例えば表7に示されたもの）によってスラミンの治療的有効量が予測される。

50

【0060】

別の側面では、本発明は、式を誘導し、低用量スラミンの集団平均の薬物動態パラメータの値を得る方法の特徴とする。これらの式及びパラメータは、患者に投与するような化学増感剤として用いられる低用量スラミンの治療的有効量を決定するために用いられる。この方法については、実施例4において詳述されるが、

- (a) 被検者における低用量スラミンの薬物動態を決定する過程と、
- (b) 薬物動態パラメータの患者間のばらつきを規定する過程と、
- (c) 集団ベースの薬物動態分析を用いて薬物動態パラメータの患者間のばらつきを規定する過程と、
- (d) 低用量スラミンを投与される患者の集団全体に対して、スラミンのトータルボディクリアランスと患者の相対的な生理学的または病理学的パラメータとの数学的関係と、スラミンの分配量と患者の相対的な生理学的または病理学的パラメータとの数学的関係を説明する母集団モデルを確立する過程と、
- (e) 確立された母集団モデルを用いて、標的時点での所望の標的薬剤濃度及び個々の患者の特性（例えば性別、体表面積の2乗値）に基づき個々の患者に対して低用量スラミンの用量を計算する過程と、
- (f) 前向き研究において確立された母集団モデルを検証する過程とを含む。

10

【0061】

典型的な腫瘍は、先の出願第PCT/US00/40103号に記載されている。確立された腫瘍の診断の実施例も、先の出願第PCT/US00/40103号に記載されている。

20

【0062】

典型的な良性増殖成長は、先の出願第PCT/US00/40103号に記載されているとおりである。

【0063】

好適実施例においては、スラミンは少なくとも1つの細胞毒性剤と併用して投与される。このような状況において、用語「併用して」は、薬剤が概ね同時に（同時に或いは連続的に）投与されることを意味する。連続的に投与されるのであれば、第2の成分の投与開始時に、2つの成分のうち第1の成分が、治療効果が望ましいような部位において尚も有効濃度で検出可能であることが望ましい。

【0064】

例えば、低用量スラミンは、従来の癌化学療法剤との併用療法において用いられ得る。従来の腫瘍を治療する療法は、放射能、抗腫瘍剤、インターフェロン、インターロイキン、腫瘍壊死因子、またはこれらのうち2つまたはそれ以上の薬剤の併用を含む。

30

【0065】

細胞毒性剤は、限定されるものではないが、微小管阻害剤、トポイソメラーゼI抑制剤、トポイソメラーゼII抑制剤、代謝拮抗剤、有糸分裂阻害剤、アルキル化剤、插入剤、シグナル伝達経路を妨害することが可能な薬剤（例えばプロテインキナーゼC抑制剤、例えば抗ホルモン剤、例えば成長因子受容体に対する抗体）、アポトーシス及び/または壊死を促進する薬剤、インターフェロン、インターロイキン、腫瘍壊死因子及び/または放射能を含む。

【0066】

典型的な細胞毒性剤は、限定されるものではないが、パクリタキセル、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビンデシン、ビノレルビン（vinorelbine）、ドセタキセル、トポテカン（topotecan）、カンプトセシン、塩酸イリノテカン、ドキソルビシン、エトポシド、ミトキサントロン、ダウノルビシン、イダルビシン、テニポシド（teniposide）、アムサクリン、エビルビシン、メルパロン（merbarone）、塩酸ピロキサントロン（piroxantrone hydrochloride）、5-フルオロウラシル、メトトレキセート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、リン酸フルダラビン（fludarabine phosphate）、シトシンアラビノシド、トリメトトレキセート、ゲムシタピン、アシビシン（acivicin）、アラノシン、ピラゾフリン（pyrazofurin）、N-ホスホアセチル-L-アスパレート（PALA）、ペントスタチン、5-アザシチジン（5-azacitidine）、5-アザ-2'-デオキシシチジン、アデノシンアラビノシド

40

50

、クラドリビン (cladribine)、フトラフル (ftorafur)、UFT (ウラシルとフトラフルの組み合わせ)、5-フルオロ-2'-デオキシウリジン、5'-デオキシ-5-フルオロウリジン、チアゾフリン (tiazofurin)、ゼローダ (カペシタビン)、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン (oxaliplatin)、マイトマイシンC、BCNU (例えばカルムスチン)、メルファラン、チオテパ、ブスルファン、クロラムブシル、プリカマイシン、ダカルバジン、リン酸イホスファミド、シクロホスファミド、ナイトロジェンマスタード、ウラシルマスタード、ピボプロマン、4-イポミアノール (4-ipomeanol)、ジヒドロレンペロン (dihydropyrene)、スピロムスチン (spiromustine)、ゲルダナマイシン (geldanamycin)、サイトカラシン、デブシペプチド、ロイプロイド (例えばリユープロン (Lupron))、ケトコナゾール、タモキシフェン、ゴセレリン (例えばゾラデックス (Zoladex))、フルタミド (flutamide)、4'-シアノ-3-(4-フルオロフェニルスルホニル)-2-ヒドロキシ-2-メチル-3'-(トリフルオロメチル) プロピオンアニリド、ハーセプチン (Herceptin)、抗CD20 (リタキサン (Rituxan))、C225、イレッサ (Iressa)、インターフェロン、インターフェロン、インターフェロン、インターロイキン2、インターロイキン4、インターロイキン12、腫瘍壊死因子、及び放射能を含む。

【0067】

低用量スラミンと併用され得る追加の薬剤の実施例は、限定されるものではないが、ヒドロキシ尿素、アザチオプリン、アミノプテリン、トリメトプリン、ピリメタミン、プリトレキシム (pyritrexim)、DDMP (2,4 ジアミノ5(3', 4' ジクロロフェニル) 6 メチルピリミジン)、5,10-ジデアザテトラヒドロ葉酸 (5,10-dideazatetrahydrofolate)、10-プロバルギル-5, 8 ジデアザ葉酸 (CB3717)、10-エチル-10-デアザ-アミノプテリン、デオキシシチジン、5-アザ-シトシンアラビノシド、N-4-パルミトイル-シトシンアラビノシド (ara C)、2'-アジド-2'-デオキシシトシンアラビノシド、N4-ベヘノイル-シトシンアラビノシド (N4-behenoyl-ara C)、CCNU (ロムロムスチン)、エストラムスチン、MeCCNU、トリエチレンメラミン、トレニモン (trenimon)、ジメチルブスルファン、ストレプトゾトシン、クロロゾトシン (chlorozotocin)、プロカルバジン、ヘキサメチルメラミン (アルトレタミン (Altretamine))、ヘプタメチルメラミン (PMM)、テトラプラチン (tetraplatin)、オキサリプラチン (oxaliplatin)、プラチナ-DACH、アジリジニルベンゾキノ (AZQ)、ブレオマイシン、タリソマイシン (tallysomycin) S₁₀^b、リブロマイシン (liblomycin)、ペブレオマイシン (pepleomycin)、アスパラギナーゼ (Elspar)、pegaspargase (Oncaspar)、クラドリビン (ロイスタチン (leustatin))、ポルフィマーナトリウム (フォトフリン (Photofrin))、アミノフィド (amonofide)、デオキスピルグアリン (deoxyspergualin)、ジヒドロレンペローネ (dihydropyrene)、フラボン酢酸、硝酸ガリウム、及びヘキサメチレンニアセトアミン (hexamethylene bisacetamine: HMBA) を含む。

【実施例】

【0068】

本発明は、一般的に説明されているが、以下の実施例を参照することによってより容易に理解されるだろう。但し、以下の実施例は本発明の或る側面及び実施例を説明することのみを意図したものであり、本発明を限定する意図はない。

【0069】

(実施例1)

高用量ではなく低用量のスラミンが化学療法の生体内抗腫瘍活性を高める

この実施例は、例えば化学療法の有効性を高めるために化学増感剤としてのスラミンの治療的な有効量を投薬することの重要性について述べる。

【0070】

スラミンの用量サイズがその化学療法の抗腫瘍活性を高める能力に及ぼす効果を評価するために或る研究が行われた。用いられた適切な腫瘍モデルは、免疫不全マウスに皮下に移植されたヒト前立腺PC3異種移植であった。薬剤治療は、腫瘍が触診可能であって直径3 mm以上になった後で開始された。パクリタキセルの用量は15 mg/kgで、3週間、週2回投

与された。2つの用量のスラミンが用いられた。低スラミン用量は10 mg/kgで、3週間にわたり週2回投与された（低用量スラミン療法と呼ぶ）。高スラミン用量グループの動物は、200 mg/kgの負荷量を与えられ、その後3週間にわたって130 mg/kgずつ5回投与された（高用量スラミン療法と呼ぶ）。動物は、生理食塩水、パクリタキセル単独、低用量スラミン単独、高用量スラミン単独、または2つの薬剤を併用して投与され、これらの研究の結果は図1に示される。

【0071】

生理食塩水及び低用量スラミングループにおける試験動物において、腫瘍サイズは、初期腫瘍サイズの約800%の最高レベルに到達する時間内で増加した。高用量スラミングループはより緩慢な腫瘍成長を示したが、これは高用量スラミンが抗腫瘍活性を生じさせることを示す。しかし、高用量スラミングループと対照標準グループの腫瘍サイズの差は、有意ではなかった（ $p > 0.05$ ）。パクリタキセル単独では腫瘍成長を抑制した。このグループと対照標準グループの腫瘍サイズの差は、有意であった（ $p < 0.05$ ）。パクリタキセルと高用量スラミンとの併用は、パクリタキセル単独と同様の効果を示した。対照的に、パクリタキセルと低用量スラミンとの併用は、パクリタキセル単独と比べて著しく高められた抗腫瘍効果を示した（ $p < 0.05$ ）。更に、これは初期サイズの約20%までの腫瘍サイズの有意な減少を示した唯一のグループである。

10

【0072】

治療後遺残腫瘍はアポトーシス及び非アポトーシス細胞からなるので、非アポトーシスの（従って死に関連付けられない）細胞及びアポトーシスの（死んだ或いは関連付けられた）細胞の断片への異なる治療の効果が調べられた。簡単に言うと、遺残腫瘍は治療の終了後に動物から除去され、病理組織の腫瘍切片が準備された。腫瘍切片は、顕微鏡的に400×倍以下で検査された。各腫瘍に対して、少なくとも4切片が調べられた。アポトーシス細胞は、特徴的な形態、即ちアポトーシス小体、凝縮核（condensed nuclei）及び断片化された核存在によって同定された。結果は表1に示されている。対照標準グループは、400×フィールド当たり最多数の遺残腫瘍細胞及び最多数の非アポトーシス細胞を示した。低用量スラミングループは、かなり少ない数の非アポトーシス細胞を示したが、このグループと対照標準グループの差は有意ではなかった（ $p > 0.05$ ）。対照標準グループ、高用量スラミングループ、及びパクリタキセルグループと比べて、2つの併用グループは著しく少ない数の非アポトーシス細胞を示した（4つのグループ全てに対して $p < 0.05$ ）。

20

30

【0073】

パクリタキセルグループとパクリタキセル/高用量スラミン併用グループの比較は、2つのグループで同様の数の非アポトーシス及びアポトーシス細胞（ $p > 0.05$ ）を示し、高用量スラミンの追加がパクリタキセルの抗腫瘍活性を著しく変化させるものではないことを示す。しかし、パクリタキセル/低用量スラミン併用グループはパクリタキセルグループに比べて7倍少ない非アポトーシス細胞を示し、低用量の追加がパクリタキセルの抗腫瘍活性を著しく向上させたことを示す（ $p < 0.05$ ）。

【0074】

【表1】

40

表 1
腫瘍における非アポトーシス及びアポトーシス細胞への化学療法
及び異なるスラミン用量の影響及び体重

データは平均値±SD		400×フィールドの細胞数					
	対照標準	低用量 スラミン	高用量 スラミン	パクリタ キセル	パクリタキセル +低用量 スラミン	パクリタキセル +高用量 スラミン	
非アポトーシス	76±38	62±44	19±9	14±10	2±1*	12±9	
アポトーシス	19±14	21±16	22±9	30±17	30±28	45±32	
治療前と比べた体重の減少 [%]							
	1%	5%	13%	0%	0%	>20%**	

* 他の全ての集団と比較して $p < 0.05$

** 対照標準、パクリタキセル単独、パクリタキセル+低用量スラミンと比較して $p < 0.05$

10

20

30

40

50

【 0 0 7 5 】

更に、上述の治療方法の体重に対する影響が判定される。これらの結果は表 1 に示されている。生理食塩水で処理された動物と比較して、低用量スラミン単独、パクリタキセル単独、またはパクリタキセル / 低用量スラミン併用で処理された動物は、体重の減少を示さなかったが ($p > 0.05$)、高用量スラミン単独またはパクリタキセル / 高用量スラミン併用で処理された動物は著しい体重の減少を示した ($p < 0.05$)。このデータは、高用量スラミンは宿主毒性を生成する一方で、低用量スラミンは測定可能な毒性を生成しなかったことを示す。

【 0 0 7 6 】

スラミン及びパクリタキセルの血漿濃度を決定するために薬物動態の研究が行われた。パクリタキセルに対しては、血漿濃度は注射 5 分後に約 $7 \mu\text{g/ml}$ だったのが 5 時間で $0.2 \mu\text{g/ml}$ に低下し、6 時間では測定不可能 (即ち $0.1 \mu\text{g/ml}$ 以下) だった。それゆえ、ほとんど全てのパクリタキセル曝露は 5 時間で発生した。低用量スラミン療法の第 1 の用量の投与は、8 時間で約 $15 \sim 50 \mu\text{M}$ の血漿濃度を生じさせた。高用量スラミン療法の第 1 の用量の投与 (即ち 200 mg/kg) は、最初の 6 時間で約 $300 \sim 650 \mu\text{M}$ の血漿濃度を生じさせた。第 1 及び第 2 の用量 (即ちそれぞれ 200 及び 130 mg/kg) の高用量スラミン療法の投与は、48 時間にわたり約 $100 \sim 650 \mu\text{M}$ の血漿濃度を生じさせた。

【 0 0 7 7 】

低用量及び高用量療法後のパクリタキセルとスラミンの血漿濃度 - 時間プロフィールの比較は、低用量スラミン療法に対して観察された化学増感及び高用量スラミン療法に対して観察された化学増感の欠如と共に、以下のことを示す。即ち、(a) スラミンは、8 時間またはパクリタキセルが治療的に有意なレベル存在していたのとほぼ同じ期間に約 $15 \sim 50 \mu\text{M}$ の血漿濃度を生成するような低用量で化学増感を生じさせ、(b) スラミンは、6 時間またはパクリタキセルが治療的に有意なレベル存在していたのとほぼ同じ期間に約 $300 \sim 650 \mu\text{M}$ の高い血漿濃度を生成するような高用量では化学増感を生じさせなかった。

【 0 0 7 8 】

集合的に、これらの結果は、スラミンが低用量では宿主毒性を高めることなくパクリタキセルの抗腫瘍活性を著しく高めたことを示す。対照的に、高用量スラミンはパクリタキセルの活性を著しく高めなかったが、宿主毒性を著しく高めた。これらの結果は、スラミンの化学増感効果が、他の化学療法剤が治療的に有意なレベルに存在する間のみ化学増感濃度でスラミンの存在を必要とすることを更に示す。

【 0 0 7 9 】

(実施例 2)

低用量スラミンは肺癌患者の化学療法への反応を向上させる

進行非小肺癌患者において第 1 相試験が行われた。目的の 1 つは、低用量スラミンが化学療法の有効性を高めるのに有効か否かを判定することであった。スラミンは、約 $10 \sim 50 \mu\text{M}$ の血漿濃度を 48 時間搬送するような用量で、標準治療即ちパクリタキセル (200 mg/m^2) 及びカルボプラチン (AUC6) と共に 3 週間毎に投与された。15 人の患者は、胸膜、心膜、副腎、リンパ節、肝臓、骨及び / または脳への転移を伴っていたが、第 1 相試験に登録された。このグループは、4 人のステージ IIIb 患者及び 11 人のステージ IV 患者を含む。7 人の患者は、以前の化学療法 (パクリタキセル、ビノレルビン (vinorelbine) 及び / またはプラチナ) 及び放射能を受けていた。全ての患者は、薬物動態及び毒性に対して評価可能であった。用量制限毒性は観察されなかった。更に、副腎不全は、高用量スラミン治療を受けている患者には共通の毒性であるが (Dorr and Von Hoff)、低用量スラミン治療を受けている患者には見られなかった。従って、低用量スラミンを受けている患者に補充ステロイド治療を施す必要はなかった。これは、高用量スラミンを投与された患者に日常的に補充ステロイド治療が施されたケース (Dorr and Von Hoff) とは対照的である。

【 0 0 8 0 】

10

20

30

40

50

15人の登録された患者は、全部で85の治療を受けた。3人の患者は、最初の2日間または第1の治療の後で手順の中止がなされた(1人はパクリタキセルへの反応によるもので、1人は脊髄の転移に放射能が必要なため、1人は非小細胞肺癌の代わりに小さな細胞肺癌を患っていることがわかったからである)。残りの12人の患者は、全部で82コースを受けた(4~10コースの範囲、平均6コース)。

【0081】

2つ以上の治療を受けた12人の患者のうち、2人だけが悪性の胸膜の介入を有し、測定可能な障害がなかった。米国立癌研究所によって確立されたRECIST基準に基づけば、測定可能な疾患にかかった残りの10人の患者の反応率は60%である。

【0082】

表2は、低用量スラミンに加えてパクリタキセル及びカルボプラチンを投与された患者の結果と、匹敵する病気を患い、パクリタキセル及びカルボプラチンのみを投与された患者の病歴患者結果とを比較している(Laohavinij ら. Lung Cancer, 26: 175-185, 1999、He Isinget ら Lung Cancer, 24: 107-113, 1999、Langer ら. Eur. J. Cancer, 36: 183-193, 2000、Evans ら. Lung Cancer, 18: 83-94, 1997、Langer ら. J. Clin. Oncol., 13: 1860-1870, 1995)。

【0083】

【表2】

表2
患者における化学療法の有効性へのスラミンの影響

治療	反応割合	疾患進行までの時間の中央値	1年生存率	生存期間の中央値
スラミン+パクリタキセル+カルボプラチン	60%	8.5 ヶ月	67%	>17 ヶ月
パクリタキセル+カルボプラチン(病歴の結果)	30%	4 to 5 ヶ月	40%	8 to 10 ヶ月

【0084】

それゆえ、第1相研究の臨床結果は、化学増感剤として低用量スラミンを用いる治療上の利点を示唆し、スラミンが非毒性用量及び濃度で癌患者における化学療法の有効性を高めるという予備的機能検証を与える。

【0085】

この発見は、先行技術に照らして2つの点で驚きである。本願の研究で明らかになったスラミンの薬効は、スラミンが他の細胞毒性剤の有効性を高めないと教示する先行技術と反対である(Falcone, 1998、Falcone, 1999、Miglietta, 1997、Rapoport, 1993)。これらの先行試験は、1または2ヶ月以上の間維持される一定の約100~200 μ Mの血漿濃度を生成するような高用量スラミンを用いた。これらの前の試験では高用量スラミンに対する薬効は発見されなかったが、低用量スラミンが薬効を与えるという発見は実施例1に示される結果と一致する。しかし、これらの観察は、高い薬剤レベルが高い方がより低い効果ではなくてより高い効果を生み出すという一般的に受け入れられている薬理学の原則とは逆なので、驚きである。

【0086】

(実施例3)

肺癌患者における低用量スラミンの薬物動態

実施例2に記載された第1相試験の目的の1つは、化学療法剤即ちパクリタキセル及びカルボプラチンが治療的に有意なレベルで血漿中に存在するような期間にわたって約10~50 μ Mの標的血漿濃度生じさせるスラミン用量を同定することであった。

【0087】

患者は、経時的に、スラミン、パクリタキセル(初回用量は175 mg/m²、スラミン用量

10

20

30

40

50

を確立した後で 200 mg/m^2 まで増やす) 及びカルボプラチン (濃度 - 時間曲線の下面積または $6 \text{ mg} \cdot \text{min/ml}$ の AUC) を 3 週間毎に注入された。

【0088】

スラミンの異常に長い半減期は、3 週間後に実施される後続の治療のときに残留血漿濃度を生じさせた。それゆえ、後続の投与前 72 時間で検出された残留スラミン濃度に基づく実時間薬物動態を用いて最初の 12 人の患者における後続の治療の用量を決定した。これらの 12 人の患者から得られた薬物動態データは、次に幾つかのパラメータ即ち標的スラミン濃度、患者の体表面積の 2 乗値、性別、及び最後のスラミン治療からの経過時間に基づいて標的スラミン用量を計算する方法を開発するために用いられた。この方法は 3 人の追加の患者において前向きに検証された (実施例 4 を参照)。

10

【0089】

最初の 6 人の患者における結果は、ほぼ全てのパクリタキセル及びカルボプラチンの血漿濃度 - 時間曲線の下面積のほとんど全部が薬剤投与後の最初の 48 時間で達成されたことを示した (即ちパクリタキセルが $> 92\%$ 、カルボプラチンが $> 99\%$)。それゆえ標的スラミン濃度は、スラミン注入の開始から 48 時間にわたって約 $10 \sim 50 \mu\text{M}$ であった。これらの濃度は、全スラミン用量を、最初の日に投与される 3 分の 2 の用量と、24 時間後に投与される残り 3 分の 1 とに 2 分割して投与することによって達成された。この計画は、化学療法剤即ちパクリタキセルの投与直後に $50 \mu\text{M}$ スラミン濃度以下、スラミン注入開始後 48 時間で $10 \mu\text{M}$ スラミン濃度以上の標的濃度を生じさせることがわかった。

20

【0090】

表 3 は、本研究で用いられた低用量スラミン療法の薬物動態パラメータと 8 倍以上高い全スラミン用量を用いて得られた文献値 (Jodrell ら, J Clin Oncol 12: 166-75, 1994) とを比較している。比較は、3 つの予期せぬ発見を示した。第 1 は、より高いクリアランス及び低用量のより短い終末半減期によってしめされるように低用量スラミンが高用量スラミンに比べてずっと速い排出を示すことである。第 2 は、低用量スラミンは高用量スラミンに比べてかなり低い定常状態量を示すことである。第 3 は、スラミンは男性患者より女性患者の方が緩慢に排出されることである。スラミンの排出が用量または性別に依存することは知られていなかったもので、これらの発見は驚きである。

【0091】

30

【表 3】

表3
スラミンの薬物動態パラメータ**

薬物動態パラメータ	文献	本発明		
		全体	男性	女性
合計用量 (mg/m ²)	>2,000	240	240	240
累積AUC (mg-hr/ml)	101*	10.2 ± 2.3	9.3 ± 1.3	12.9 ± 2.7
α半減期 (時間)	5.5 ± 1.7	4.4 ± 1.1	4.3 ± 0.6	4.6 ± 2
β半減期 (日)	4.1 ± 2.2	11 ± 3	10 ± 1.9	14 ± 3.8
γ半減期 (日)	78 ± 46	該当なし	該当なし	該当なし
V1 (l/m ²)	2.7 ± 0.5	1.8 ± 0.2	1.8 ± 0.2	1.7 ± 0.3
V2 (l/m ²)	4.2 ± 1.4	6.7 ± 1.2	6.8 ± 1.3	6.4 ± 0.5
V3 (l/m ²)	12.5 ± 3.9	該当なし	該当なし	該当なし
LVdss	23.6†	8.5 ± 1.2‡	8.6 ± 1.3	8.2 ± 0.6
トータルボディクリアランス (l/hr/m ²)	0.01 ± 0.004§	0.025 ± 0.005§	0.026 ± 0.0042	0.017 ± 0.0042

* AUCは、参考文献(Jordellら)から得られたデータから(平均定常状態濃度、200g/ml)に(時間、3週間)を乗じて計算された。

LVdssは、平均残留時間とクリアランスの積として概算された。

†, §, 2: P < 0.05, 独立2尾状スチューデントのt検定。

** 化学増感剤として用いられる低用量スラミンの薬物動態と細胞毒性剤として用いられる高用量スラミンの薬物動態との比較。低用量スラミンの薬物動態は2区画モデルによって十分に説明されたので、γ半減期及びV3の値は該当するものがない。以前の研究ではより頻繁な間隔でスラミンを投与していたのに対して本願の研究ではスラミンを3週間毎に投与したので、用量及びAUCは3週間間隔毎にノーマライズされた。AUCは、血漿濃度-時間曲線の下での面積である。Vは、分配である。

【0092】

(実施例4)

他の化学療法剤と併用して用いられる有効スラミン用量を同定するための方法

実施例1に示されるように、腫瘍を有する動物において化学療法の有効性を高めるスラミンの能力は、スラミン濃度にかかり依存する。これは、実施例2に示されるように、低用量スラミンがヒトの肺癌患者における化学療法の有効性を高めるという驚くべき発見に更に裏付けられる。実施例3に示される用量及び性別に依存するスラミンの排出は、化学増感を生じさせることが知られている所望の血漿スラミン濃度を生じさせ得るスラミン用量の決定の重要性を強調する。同様に、化学増感を生じさせないが化学療法剤の毒性を増強するのみであるような高用量のスラミンを同定することが必要である。

【 0 0 9 3 】

この実施例の目的は、患者におけるスラミン薬物動態の患者間のばらつきの源を同定する方法の開発を実証し、この情報を用いて化学増感を生じさせ得るスラミンの用量を個々の患者に対して同定することである。スラミン薬物動態パラメータと最初の12人の患者から得られた臨床共変動との数学的関係の集団ベースの薬物動態分析(PBPK)を用いることによって達成された。これらの数学的関係は、次に、いくつかのパラメータに基づきスラミン用量を予測する実験式の開発に用いられた。最後に、この式の予測性能は3人の追加の患者で認証された。

【 0 0 9 4 】

スラミン薬物動態における患者間のばらつき

標準的な方法によるスラミン血漿濃度・時間データの分析によれば、スラミンの処分は2区画モデルと一致したが(初期半減期及び終末半減期はそれぞれ4.4時間、11日)、終末フェーズの下面積は曲線の下面積全部の大部分を占める(即ち~90%)。ゆえに、PBPK分析は1区画薬物動態モデル及び終末フェーズ中に得られるデータ点を用いて行われ得る(例えば18時間以降または初期フェーズの半減期の4倍以上)。

【 0 0 9 5 】

表4は、最初の12人の患者のスラミン薬物動態パラメータをまとめたものである。スラミンのクリアランス(CL)は各性別内で比較的低い患者間のばらつきを示し、男性は13%のばらつき、女性は2%のばらつきである。しかし、CLは男性と比べて女性において低かった。これは、最大182%の患者間のばらつきを生じさせた。定常状態の分配量(Vss)は153%だった。

【 0 0 9 6 】

【表4】

表4
低用量スラミンの薬物動態のばらつき

	クリアランス (mL/hr/m ²)			Vss (mL/m ²)		
	範囲	平均	SD	範囲	平均	SD
全体	16.4 - 29.8	24.1	4.8	6.8 - 10.4	8.5	1.2
男性	23.0 - 29.8	25.9	3.3	7.5 - 8.8	8.2	0.6
女性	16.4 - 16.8	16.6	0.4	6.8 - 10.4	8.6	1.3

【 0 0 9 7 】

PBPK分析

低用量スラミンの薬物動態データは、非線形薬物動態解析プログラムNONMEM(nonlinear mixed effects model: Version V, UCSF, San Francisco, CA)を用いて分析された。PBPK分析は、薬物動態パラメータにおける個人間のばらつきの原因を識別するために用いられ、段階的な方法で行われる(Sheinerら., J.Pharmacokinet. Biopharm., 5: 445, 1977; Mandemaら., J. Pharmacokinet. Biopharm., 20: 511, 1992)。

【 0 0 9 8 】

第1のステップは、所定の薬物動態パラメータのための適切な誤差モデルを規定する。母集団平均値から個々の患者の値の偏差を著しく低減するような患者の第2の、生理学的または病理学的パラメータ(共変量と呼ぶ)は、モデル(フルモデルと呼ぶ)に組み込まれる。第3は、選択された共変量が個人間のばらつきの重大な意味を持つ決定要素であることを確認し、余分な共変量(例えば、相互に高度に相関するがばらつきには関与しない共変量)を除去する。変数減少法は、個々の共変量を除去することがフルモデルの性能に影響するかを判定することによって実行される。それを除去することによってモデル性能にかなりの劣化がもたらされるような共変量のみが最終モデル(母集団モデルと呼ぶ)に含まれる。これらのステップは以下に詳述される。

【 0 0 9 9 】

10

20

30

40

50

モデル構築：基本モデル

クリアランス（CL）と分配量（V）の関数としての血漿濃度を示す1区画モデルのためのPBPkは次式で表される。

【0100】

【数1】

$$C_{ij} = \frac{Dose}{V_j} e^{-\left(\frac{CL_j}{V_j}\right) \cdot \text{時間}_i} \quad (\text{式1})$$

10

【0101】

ここで、 C_{ij} は患者jに対して特定の時間である時間iにおける予測される血漿濃度である。

【0102】

誤差関数は、個々の薬物動態パラメータに対してモデル予測されるデータと観察されるデータのランダムな偏差を説明するために用いられた。CL及びVに基づき計算され得る用量を同定することが目的であるので、分析はこれら2つのパラメータに集中した。式2及び3は、集団からの個々の患者におけるCLの偏差（ CL_j ）及びVの偏差（ V_j ）または典型的な値（ CL_{typ} 及び V_{typ} ）を表す。

【0103】

【数2】

$$CL_j = CL_{typ} * (1 + \eta_{CL}) \quad (\text{式2})$$

【0104】

【数3】

$$V_j = V_{typ} * (1 + \eta_V) \quad (\text{式3})$$

【0105】

ここで、 CL 及び V は、通常 σ^2 の分散を伴うゼロ平均付近に分布するランダムな値である。 30

【0106】

複数の血漿濃度 - 時間データ点がPBPk分析に用いられた。これらの時点は、第1の治療の18、24、48及び72時間後、次の治療の72時間前及び直前、第2の治療及び後続の治療の48及び72時間後であった。観察された血漿濃度とPBPkから予測される値（残差ばらつき）の関係は、式4によって表される。

【0107】

【数4】

$$Y_{ij} = C_{ij} * (1 + \varepsilon_{1ij}) \quad (\text{式4})$$

40

【0108】

ここで、 Y_{ij} 及び C_{ij} は、i番目のサンプリング時間にj番目の個体の観察及び予測される濃度である。 ε_{1ij} は、ゼロ平均及び σ^2 の分散を有する有意の誤差である。上式は、（1 + 誤差）の形式の誤差関数を用いたが、これは変動係数が一定かつ固定効果パラメータの大きさに依存するような比例誤差モデルを表す。NONMEMによって計算されるような適合度を示す目的関数値を用いた他の誤差モデル（即ち加法誤差モデル及び乗法モデル）と比例誤差モデルの比較は、我々の患者集団においてCL及びVの個人間のばらつきを説明する際に比例誤差モデルが最良であることを示した。

【0109】

50

モデル構築：有意な共変量の同定

C L 及び V の個人間のばらつきへの 10 個の共変量の寄与が研究された。これらの共変量は、年齢、性別、体重、理想的な体重、身長、体表面積 (B S A)、クレアチニン濃度、クレアチニークリアランス (C r C L)、及び血清アルブミン濃度であった。共変量と個々の患者の薬物動態パラメータの関係を調べるために線形回帰分析が用いられた。0.4 以上の決定係数 ($r^2 > 0.4$) を示した共変量は、更なる評価のために選択され、C L 及び V に対するモデルに組み込まれた。

【 0 1 1 0 】

例として、式 5 は CL_{typ} (集団クリアランスの平均値) とクレアチニークリアランスの関係を示し、式 6 は V_{typ} (集団分配量の平均値) と B S A の関係を示す。他の共変量に対して同様の式が構築された。 10

【 0 1 1 1 】

【 数 5 】

$$CL_{typ} = \theta_1 + \theta_2 * CrCL \quad (式5)$$

【 0 1 1 2 】

【 数 6 】

$$V_{typ} = \theta_3 + \theta_4 * BSA \quad (式6)$$

20

【 0 1 1 3 】

これらの回帰モデルは、比例定数 θ_2 及び θ_4 (固定効果パラメータと呼ぶ) を用いて、 CL_{typ} と C r C L、 V_{typ} と B S A が直線関係にあると仮定した。 θ_1 は C r C L に関係ない CL_{typ} の値を表し、 θ_2 は C r C L に関する CL_{typ} の値を表し、 θ_3 は B S A に関係ない V_{typ} の値を表し、 θ_4 は B S A に関する V_{typ} の値を表す。

【 0 1 1 4 】

共変量がモデルに組み込まれるべきか否かを判定するために、対数尤度比検定が用いられ、候補共変量を追加してまたは追加しないで得られたモデルの目的関数値の差をとることによってカイ二乗 χ^2 値が計算された。3.9 以上の目的関数値の減少 (即ち 1 の自由度または 1 つの共変量の追加に対する $P < 0.05$ に関連する χ^2 値) は、 CL_{typ} 及び V_{typ} のためのフルモデルへの包含を必要とした。 30

【 0 1 1 5 】

CL_{typ} との最も高い相関を示した共変量は、B S A、C r C L、及び性別であった。 V_{typ} との最も高い相関を示した共変量は、体重及び B S A ² であった。残りの共変量は、線形回帰分析において有意な相関を示さず、モデル性能にそれほど影響しなかった。 CL_{typ} 及び V_{typ} のためのフルモデルは、それぞれ式 7 及び 8 で説明される。

【 0 1 1 6 】

【 数 7 】

$$CL_{typ} = (\theta_1 * BSA + \theta_2 * CrCL + \theta_3) * (1 - \theta_4) \quad (式7)$$

40

【 0 1 1 7 】

【 数 8 】

$$V_{typ} = \theta_5 * BSA^2 + \theta_6 \quad (式8)$$

【 0 1 1 8 】

θ_1 、 θ_2 、 θ_4 は、 CL_{typ} に対する B S A、C r C L、性別の効果をそれぞれ表す。男性の場合、 θ_4 はゼロに設定される。女性の場合、 θ_4 の値はデータの当てはめによって決定される。 θ_5 は (B S A ²) の V_{typ} への効果を表す比例定数であり、 θ_6 は B S A の変化によって占められないような V_{typ} の変化を表す。体重、B S A、及び B S A ² 50

は、 V_{typ} のためのフルモデルへの包含に対して試験された。 BSA^2 は、最低の目的関数値を生じたので、選択された。

【0119】

追加の共変量の包含は、一般的な原則として、統計モデルのランダムな誤差を低減するが、パラメータ化を増やすことになる。共変量がモデル性能において重要な役割を果たしたことを確認するために、最終モデルは、フルモデルからわずかの共変量を変数減少プロセスで除去することによって得られる。このプロセスでは、より制限された判断基準が用いられた。フルモデルからパラメータを除去するために、7.9以上の目的関数における差が必要だった($P < 0.005$ に関連する²値及び1の自由度)。3つの固定効果パラメータ即ち θ_2 、 θ_3 、及び θ_6 の各々をフルモデルから個々にまたは同時に除去することは、包含に必要であったようなものより小さいものによって目的関数値を変えた。それゆえ θ_2 、 θ_3 、及び θ_6 はフルモデルから除かれた。残りの3つの有意なパラメータは、 θ_1 、 θ_4 、及び θ_5 である。最終母集団モデルは、CL及びVにおいて個人間のばらつきに著しく寄与する共変量のみからなり、式9及び10によって表される。パラメータの概算は表5に示される。

10

【0120】

【数9】

$$CL_{typ} = (\theta_1 * BSA) * (1 - \theta_4) \quad (式9)$$

【0121】

20

【数10】

$$V_{typ} = \theta_5 * BSA^2 \quad (式10)$$

【0122】

【表5】

表5
母集団モデルパラメータの概算

パラメータ	概算	CV, %	95%信頼区間
θ_1	26.2 (mL/h*m ²)	2.70%	24.6 - 27.4 (mL/h*m ²)
θ_4	0.31	7.90%	0.26 - 0.36
θ_5	5.13 (L / m ⁴)	4.40%	4.49 - 5.57 (L / m ⁴)
$k_{typ, (男性)}$	0.0026 (／時間)	7.3%	0.0023 - 0.0030 (／時間)
$k_{typ, (女性)}$	0.0022 (／時間)	4.7%	0.0020 - 0.0024 (／時間)

30

* 集団薬物動態パラメータは、第1相研究において最初の12人の患者からのデータを用いて得られた。異なる固定効果パラメータ(θ_1 、 θ_4 、及び θ_5)に対する典型的な値及びCL及びVからのばらつきの概算が、各々の係数及びばらつき(CV%)と共に示される。

【0123】

40

固定効果パラメータの概算の標準誤差に基づき、変動係数(CV)及び95%信頼区間が作られた。2つの共変量、BSA、及び性別のみを用いる母集団モデルは、CLにおいて推定される個人間のばらつきを30%から6%に6倍も減少させ、Vにおいて推定される個人間のばらつきを20%から30%に6.5倍以上も減少させた。推定される残りのばらつき(θ_1)は、21%から18%にわずかに減少した。

【0124】

スラミン用量計算のための式の導出

式1を単純化して書き直すと式11が得られる。

【0125】

【数11】

50

$$\text{用量} = \frac{C_p * V}{e^{-k * t}} \quad (\text{式11})$$

【 0 1 2 6 】

排出速度定数 (k) は、式 1 2 によって決定される。

【 0 1 2 7 】

【 数 1 2 】

$$k_{typ} = \frac{CL_{typ}}{V_{typ}} \quad (\text{式12})$$

10

【 0 1 2 8 】

式 9 、 1 0 及び値を式 1 2 に代入すると、式 1 3 及び 1 4 が得られる。

【 0 1 2 9 】

【 数 1 3 】

$$\text{男性の場合, } k_{typ} = \frac{0.0051 \text{ m}^2/\text{時間}}{BSA} \quad (\text{式13})$$

【 0 1 3 0 】

【 数 1 4 】

20

$$\text{女性の場合, } k_{typ} = \frac{0.0035 \text{ m}^2/\text{時間}}{BSA} \quad (\text{式14})$$

【 0 1 3 1 】

k_{typ} の概算を得るため、個々の患者に対する k 値は、対応する BSA 値を式 1 3 及び 1 4 に代入することによって計算された。平均 k 値を表す k_{typ} は、男性が 0 . 0 0 2 6 / 時間、女性が 0 . 0 0 2 2 / 時間であった。性別間のばらつきは比較的小さく、変動係数は男性が 7 %、女性が 5 %であった。それゆえ、用量計算のための式を簡単にするために、一定の k の値 (即ち男性は 0 . 0 0 2 6 / 時間、女性は 0 . 0 0 2 2 / 時間) が用いられた。

【 0 1 3 2 】

30

以下の考察は、式 1 1 を用いて、4 8 時間に 1 5 μM または 2 1 . 4 $\mu\text{g/ml}$ の標的濃度を生じさせ得るスラミン用量を計算する実施例を提供する。式 1 1 の C_p に 2 1 . 4 $\mu\text{g/ml}$ 、 t に 4 8 時間、 V に集団モデル値を代入し、 k_{typ} の数値を代入すると、式 1 5 が得られる。

【 0 1 3 3 】

【 数 1 5 】

$$\text{第1サイクルの用量 (mg)} = \frac{(21.4 * 5.13 * BSA^2)}{e^{-(0.0026 \text{ or } 0.0022 * 48)}} = \text{FACTOR} * BSA^2 \quad (\text{式15})$$

【 0 1 3 4 】

40

FACTOR の数値を計算すると、男性が 1 2 5 mg/m^4 、女性が 1 2 3 mg/m^4 になった。2 つの性別の FACTOR 値は比較的小さいので (即ち < 2 %)、用量計算を簡単にするために、FACTOR の値を男性と女性で同じ 1 2 5 mg/m^4 に設定した。性による差が大きければ (即ち > 1 0 %)、2 つの性別で異なる FACTOR 値が必要となる。

【 0 1 3 5 】

化学療法は通常、例えば毎週または 3 週間毎などの複数の周期で施される。スラミンは、体内から非常に緩慢に排出される。非小肺癌患者のデータは、スラミンに対して長い血漿半減期 (約 1 1 日) を示す。それゆえ、前の用量のかなりの割合が第 2 の治療及び後続の治療の時点 (即ち毎週の治療計画における 8 日目または 3 週間毎の治療計画における 2 2 日目) で体内に残っている。結果的に、第 2 の治療サイクル及び後続の治療サイクルに対

50

するスラミン用量は残りのスラミンに合わせて調整されなければならない。

【0136】

後続の治療サイクル中に48時間で21.4 µg/mlの同じ標的濃度を得るために、後続サイクル中に投与される用量は、治療と治療の間に排出された用量の一部分を置換するべきである。これは、式16に説明される。

【0137】

【数16】

$$\text{後続サイクルの用量} = \text{第1の用量} * (1 - e^{-k^*t}) = 125 * \text{BSA}^{2*} (1 - e^{-k^*t}) \quad (\text{式16})$$

10

【0138】

tが48時間に等しい第1サイクルとは対照的に、後続サイクル中のtの値は可変であり、前のサイクルからの経過時間に等しいことに留意されたい。更に、後続サイクルのためのtの値は第1サイクルのためのtの値より著しく長い(48時間に対して例えば504時間またはそれ以上)。これは、k値とt値を乗算する際に男性と女性でずっと大きな差になる。従って、後続サイクルのための用量の計算は、性別に基づく調整が必要である。

【0139】

スラミン用量が体表面積の2乗値の関数であるという発見は驚きである。なぜなら、臨床腫瘍学においては、化学療法剤の用量は通常体表面積に基づいて選択または計算され、その2乗値に基づくものではないからである。

20

【0140】

P B P K ベースの投薬方法のバリデーション

P B P K ベースのスラミン投薬方法の実行は、後向き及び前向きになされた。後向き分析は、モデル開発にその薬物動態データが用いられた最初の12人の患者について行われた。P B P K ベースの方法を用いて計算される用量は、実時間薬物動態研究によって得られたような、個々の患者において48時間で血漿において15 µMのスラミンを生じさせ得る用量(理想的な用量と呼ぶ)と比較された。理想的な用量は、薬物動態における個人間の差異を考慮し、式17を用いて計算された。

【0141】

【数17】

$$\text{理想的な用量} = \frac{(\text{投与された用量} \times \text{Cp48時間 標的})}{\text{Cp48時間 観察}} \quad (\text{式17})$$

30

【0142】

ここで、Cp48時間、標的は48時間経過時の標的血漿濃度であり、15 µMまたは21.4 µg/mlに等しい。Cp48時間、観察は48時間経過時に観察される濃度である。P B P K 方法で予測される用量と理想的な用量との用量精度は、式18を用いて計算された。

【0143】

【数18】

$$\text{用量精度} \% = \frac{\text{予測用量}}{\text{理想的な用量}} * 100\% \quad (\text{式18})$$

40

【0144】

集団(即ち試験される患者全員)としては、P B P K 方法で計算された用量は理想的な用量の106 ± 15%であった。個々の患者に対して、B S A 方法で計算された用量は理想的な用量の103 ± 7%であった。モデル予測用量と理想的な用量との良好な一致は、P B P K 方法の良好な予測力を示す。

【0145】

上記の考察は、48時間経過時に約15 µMの標的スラミン濃度を得る方法を実証する。

50

約 50 μM 以下の最大濃度を得るために、例えば化学療法剤の投与の直後、標準的な方法及び実施例 3 の表 4 で説明された低用量スラミンの薬物動態パラメータを用いて、例えば血漿濃度 - 時間プロファイルをシミュレートすることによって、薬物動態計算が実行された。薬物動態分析の結果は、式 15 及び 16 によって計算された第 1 の及び後続サイクルのスラミン用量が約 50 ~ 100 μM の最大濃度を生じさせ得ることを示す。追加の薬物動態分析は例えばシミュレーションによって、48 時間、濃度を約 10 μM に維持する一方で、約 50 μM またはそれ以下の所望の最大濃度を得るための 2 つのアプローチを示した。1 つのアプローチは、計算されたスラミン用量の合計を 2 つの部分に分け、全用量の 3 分の 2 に等しい第 1 の部分を化学療法前に投与し、続いて残りの 3 分の 1 を 24 時間後に投与する。第 2 のアプローチは、全てのスラミン用量を一度に投与し、スラミン濃度が約 50 μM またはそれ以下になるまで約 2 ~ 4 時間待ち、その後、化学療法剤を投与する。

10

【0146】

PBPk 方法によって計算されたスラミン用量が約 10 ~ 50 μM の血漿濃度のスラミンを 48 時間にわたって搬送し得るか否かを更に検証するために、患者の亜集団に対して前向き分析が行われた。3 人の追加の非小肺癌患者は、PBPk ベースの方法によって計算された用量を用いて治療された。全スラミン用量の 3 分の 2 が化学療法剤の投与前に投与され、残りの 3 分の 1 が 24 時間後に投与された。これらの患者からのスラミン血漿濃度（合計で 13 の処置）は、観察された濃度を次式で示される 48 時間経過時の標的濃度（即ち 15 μM ）と比較することによって濃度精度を調べるために用いられた。

20

【0147】

【数 19】

$$\text{濃度精度, \%} = \frac{(\text{Cp48時間 観察} - \text{Cp48時間, 標的})}{\text{Cp48時間 標的}} * 100\% \quad (\text{式19})$$

【0148】

表 6 に結果を示す。全ての処置において 48 時間血漿濃度は 10 μM 以上だった。更に、別の化学療法剤即ちパクリタキセルの投与後の最大濃度は全ての処置において 50 μM 以下だった。48 時間、15 μM の標的血漿濃度と観察された血漿濃度の差は、< 17 % だった。

30

【0149】

【表 6】

表6
PBPK方法の前向き検証

患者ID	サイクル数	性別	BSA	用量(mg)	濃度 (μM)		
					投薬前	パクリタキセル後	48時間
1	1	女	1.45	263	0.00	33.95	13.93
1	3 to 6	女	1.44-1.47	151-156	1.87-3.19	21.5-26.3	10.2-11.5
2	1	男	1.67	210	0.00	40.39	15.53
2	2 to 6	男	1.68-1.70	227-257*	2.65-3.81	26.7-28.5	12.9-15.6
3	1	女	1.83	230	0.00	36.02	19.40

* 1つの用量は投薬間隔の遅れに対して調整された。

【 0 1 5 0 】

スラミン用量を計算するためのノモグラム

式 1 5 及び 1 6 に示されるように、第 1 サイクルの用量及び後続サイクル用量は共に、標

10

20

30

40

50

的時点での標的濃度、患者の体表面積の2乗値及び性別に基づいて計算され得る。それゆえノモグラムは、標的スラミン用量を計算するために開発され得る。ノモグラムは、地域社会の診療所などの臨床条件での用量決定を容易にする。

【0151】

以下の考察は、ノモグラム開発の実施例として提供される。この実施例では、別の化学療法剤を投与した直後には標的スラミン濃度は $50\text{ }\mu\text{M}$ であり、48時間では $15\text{ }\mu\text{M}$ であり、男性のk値は $0.0026/\text{時間}$ 、女性のk値は $0.0022/\text{時間}$ であった。

【0152】

これらの値を用いてFACTORの無数の値が計算され、男性に対しては $125\text{ mg}/\text{m}^4$ 、女性に対しては $123\text{ mg}/\text{m}^4$ であった。2つの性に対するFACTOR値が比較的小さい（即ち $<2\%$ ）ので、用量計算を簡単にするためにFACTORの値は男女共に $125\text{ mg}/\text{m}^4$ に設定した。性別に関連する差が大きい（例えば $>10\%$ ）場合には、2つの性に対して異なるFACTOR値が必要である。

10

【0153】

FACTORの値は、後続サイクル治療の間、前のサイクル（下表7を参照）中のスラミン治療開始の投与からの経過時間に依存する。男性患者と女性患者の差は負荷量よりも後続サイクル用量に対して大きいことに留意されたい。これは、2つの性別に対するk値における20%の差が、時間tが48時間から504時間まで増加したときに、k値と時間を乗算した積の差をより大きくしたことに起因する。

【0154】

FACTORは、標的濃度C_p、k値、標的濃度に到達したときの時間tの関数であることに留意されたい。それゆえ、FACTORは所望の時間tにおいて達成される所望の標的濃度に基づき計算され得る。例えば、第1サイクルの治療に対して、FACTORは時間tでの所望のC_p及びk値に基づいて計算され得る。後続サイクル治療に対して、毎週の治療計画のためのFACTORは、3週間毎の治療計画のための168時間のt値、504時間のt値を用いて計算され得る。同様に、FACTORは異なる標的濃度（例えば 10 または $20\text{ }\mu\text{M}$ ）に対して計算され得る。

20

【0155】

FACTORはまた、治療時間の変化、例えば患者の旅行計画に起因する治療の遅れに対して調整され得る。例えば、前の第1サイクル中、第1の用量の投与後25日に第2のサイクルが開始されるのであれば、FACTORの値は男性が87、女性が79であり、一方で3週間毎（即ち前のサイクル中、第1の用量の投与後21日）の治療を受けた男性のFACTORの値は80、女性は72である。同様に、週毎の計画に対して、スラミンの量は3週間毎の計画の後より多い。従って、FACTOR値はより小さく、男性は39、女性は33である。

30

【0156】

【表7】

表7
スラミン用量を計算するためのノモグラム

	FACTOR	
	男	女
サイクル1*	125	125
前サイクルの第1の用量の 投与からの経過時間日数	FACTOR	
7	39	33
8	43	37
9	47	40
10	51	44
11	55	47
12	58	50
13	61	53
14	64	56
15	67	58
16	70	61
17	72	63
18	74	66
19	77	68
20	79	70
21	80	72
22	82	74
23	84	75
24	86	77
25	87	79
26	88	80
27	90	82
28	91	83
29	92	84
30	93	86
31	94	87
32	95	88
33	96	89
34	97	90
35	98	91
36	98	92
37	99	93
38	100	94
39	100	95
41	102	96
42	102	97
44	103	98
47	104	100
49	105	101
52	106	102
55	106	103

* 後続サイクル: 表7に示されるような、前サイクルの第1の用量の投与からの経過時間(日数)に依存するFactor(因子)の値

【 0 1 5 7 】

上述の方法は、48時間にわたって10～50 μ Mの範囲にある標的スラミン濃度を用いる。これは、スラミンと併用して用いられる他の化学療法剤が12時間以下の半減期を有し、従って48時間で90%以上を排出することになるような状況に特異的である。スラミンの化学増感用量を計算するためのこれと同じ方法は、化学療法剤がより長い半減期を

10

20

30

40

50

有するような他の状況にも拡張され得る。この場合、標的スラミン濃度は他の化学療法剤の少なくとも4つの半減期の間維持される必要はないことになる。スラミン用量は、例えば48時間から新たな標的時間（例えば同時投与される化学療法剤の終末半減期の3～4倍）までの時間パラメータを代入することによって、式15及び16から計算され得る。変形された式は、適切なノモグラムの計算に用いられ得る。

【0158】

まとめ

要約すると、この実施例は、実施例1～3と合わせて、PBPk分析を用いるアプローチと、動物及びヒトにおいて化学増感を生じさせるようなスラミン用量を決定または計算する方法とを実証した。この方法を用いて計算されるスラミン用量は、他の化学療法剤が治療的に有意なレベルで血漿中に存在するような期間にわたって所望の標的血漿濃度を生じさせるし得る。更に、この方法を用いて計算されるスラミン用量は、化学増感を生じさせないような血漿濃度を生じさせるし得る。最後に、化学増感を生じさせるようなスラミン用量を決定するためのPBPk分析は、限定されるものではないが、人種、前成人期対成人期を含む他の患者の特性を評価するようにも拡張され得る。同様のことは、ヒトではない患者にも当てはまり得る。

10

【0159】

本発明について好適実施例を参照しながら説明してきたが、当事者には、本発明の範囲から逸脱することなく種々の変更がなされ得ることや構成要素が同等のものに置換され得ることが理解されよう。更に、特定の状況や材料を本発明の教示に適合させるために本質的な範囲から逸脱することなく多くの改変がなされ得る。従って、本発明は、本発明の実行を考えて最良の形態として開示された特定の実施例に限定されるものではなく、本発明は特許請求の範囲に含まれる全ての実施例を含むことになることが意図されている。本明細書においては、参照した全ての引用文献は引用することをもって明確に本発明の一部となす。

20

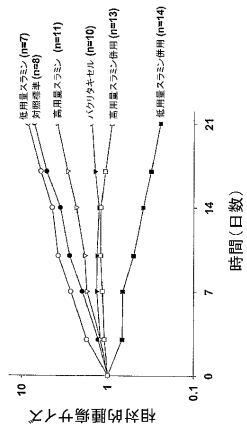
【図面の簡単な説明】

【0160】

【図1】化学増感に対するスラミン用量の効果を図式的に示す。既知の皮下のヒト前立腺PC3異種移植腫瘍を有する免疫不全マウスが、生理食塩水（対照標準）、化学療法剤（即ちパクリタキセル）、低用量スラミン、高用量スラミン、パクリタキセルと低用量スラミンの併用、またはパクリタキセルと高用量スラミンの併用で処理された。パクリタキセルの用量は15 mg/kgで、3週間、週2回投与された。2つの用量のスラミンが用いられた。低スラミン用量は10 mg/kgで、3週間、週2回投与された。高スラミン用量グループは、200 mg/kgの負荷量を与えられ、その後3週間にわたって130 mg/kgずつ5回投与された。実施例1は、図1について更に詳しく述べる。

30

【図 1】



【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

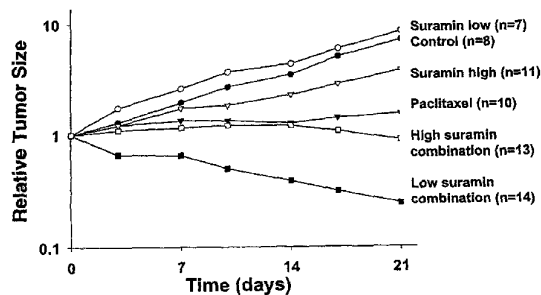
(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
3 April 2003 (03.04.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 03/026574 A2

- (51) International Patent Classification: A61K (81) Designated States (national): AB, AG, AI, AU, BA, BB, BG, BR, BZ, CA, CN, CO, CR, CU, CZ, DM, DZ, EC, EE, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MA, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, RO, SD, SG, SI, SK, SL, TN, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) International Application Number: PCT/US02/30210 (84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IT, LU, MC, NL, PT, SI, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CI, CG, CL, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NI, SN, TD, TG).
- (22) International Filing Date: 24 September 2002 (24.09.2002)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 60/324,704 24 September 2001 (24.09.2001) US
- (71) Applicants and (72) Inventors: AU, Jessie, L.-S. [US/US]; 2287 Palmleaf Ct., Columbus, OH 43210 (US); WIENTJES, M., Guillaume [US/US]; 2287 Palmleaf Ct., Columbus, OH 43210 (US).
- (74) Agents: MUELLER, Jerry, K., Jr. et al.; Mueller and Smith, LPA, 7700 Rivers Edge Drive, Columbus, OH 43235 (US).
- Published: without international search report and to be republished upon receipt of that report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: METHODS AND COMPOSITIONS TO DETERMINE THE CHEMOSENSITIZING DOSE OF SURAMIN USED IN COMBINATION THERAPY



(57) Abstract: A method for determining a therapeutically effective amount of suramin for administering to a patient, who is to receive a cytotoxic agent, which comprises the steps of determining the circulating suramin concentration in the patient; administering suramin, if required, to establish a low circulating concentration of suramin in the patient of below about 200 μ M; and administering the chemotherapeutic agent to the patient when the low circulating concentration of suramin is present in the patient. Conveniently a nomogram can be constructed for use in clinical settings with the suramin.

WO 03/026574 A2

WO 03/026574

PCT/US02/30210

**METHODS AND COMPOSITIONS TO DETERMINE THE
CHEMOSENSITIZING DOSE OF SURAMIN USED IN COMBINATION THERAPY**

This application claims priority to U.S. Provisional Application No., 60/324,704, entitled "Methods and Compositions for Modulating Cell Proliferation and Cell Death" filed on September 24, 2001, and further makes reference to PCT patent application No. PCT/US00/40103, entitled "Methods and Compositions for Modulating Cell Proliferation and Cell Death", filed June 5, 2000. The contents of the patents, patent applications, and references cited throughout this specification are hereby incorporated by reference in their entireties.

Government Sponsored Research

This work was supported, in part, by grants from the National Cancer Institute, National Institutes of Health, and Department of Health and Human Services (Grant Numbers R37CA49816; RO1CA78577; RO1CA74179; and UO1CA76576).

Background of the Invention

Field of the Invention

The present invention relates to a method to determine the dose requirements of suramin used as a chemosensitizer to enhance the efficacy of other chemotherapeutic agents.

Description of the Prior Art

Suramin is an anticancer agent with modest activity in single agent therapy. A large number of previous studies have evaluated suramin in high-dose regimens, either as single agent or in combination with other chemotherapeutics. These studies, which aimed to achieve plasma concentrations between 150 and 300 µg/ml or about 100 to 200 µM, showed a modest activity of high-dose suramin for single agent therapy, in the face of extensive drug toxicity. (Eisenberger *et al* (1995) *J Clin Oncol* 13:2174-2186). A typical suramin dosing schedule aimed at maintaining suramin plasma concentrations between 100 and 200 µg/ml consists of an initial administration of 2100 mg/m² in the first week with the subsequent doses repeated every 28 days for 6 months or longer; the subsequent doses are adjusted using the Bayesian pharmacokinetic method (Dawson *et al* (1998) *Clin Cancer Res* 4:37-44, Falcone *et al* (1999) *Cancer* 86:470-476). Moreover, the methods of the art for using

WO 03/026574

PCT/US02/30210

suramin in combination with other cytotoxic agents often administer high doses of suramin at a more frequent schedule or a longer duration compared to the frequency and the treatment duration for the other cytotoxic agents. For example, in the combination of suramin and doxorubicin for the treatment of androgen-independent prostate cancer, the duration of doxorubicin treatment was up to 20 weeks whereas the duration of the suramin treatment was up to 45 weeks (Tu *et al* (1998) *Clin Cancer Res* 4:1193-1201). For example, in the combination of suramin and mitomycin C for the treatment of hormone-resistant prostate cancer, suramin was given weekly whereas mitomycin C was given only every 5 weeks (Rapoport *et al* (1993) *Ann Oncol* 4:567-573). At these doses and chronic treatments, suramin causes the following toxicity in a human patient: adrenal insufficiency, coagulopathy, peripheral neuropathy, and proximal muscle weakness (Dorr and Von Hoff, *Cancer Chemotherapy Handbook*, 1994, pp 859-866). To overcome the adrenolytic toxicity, patients on high-dose suramin regimens were co-administered replacement steroid treatments (Dorr and Von Hoff).

Combination regimens of suramin, at doses that result in relatively constant plasma concentrations of between about 100 to about 200 μ M over several months, and other chemotherapeutic agents have shown either limited benefit or have resulted in toxicity that does not encourage further evaluation of these regimens (e.g., Miglietta *et al.*, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 23:407-410, 1997; Falcone A, *et al. Tumori* 84:666, 1998; Falcone A, *et al. Cancer* 86:470, 1999; Rapoport B, *et al. Ann Oncol* 4:567, 1993).

The lack of synergistic interaction between suramin, at plasma concentrations between about 100 to about 200 μ M maintained for several months, and other chemotherapeutic agents may be a result of the cell cycle perturbation caused by suramin; suramin at constant concentrations of above 50 μ M maintained for at least one or two days has been shown to induce cell cycle arrest with accumulation of cells at different phases of the cell cycle and may therefore interfere with the activity of other chemotherapeutic agents that act on other phases of the cell cycle, as well as interfere with the activity of other chemotherapeutic agents whose activity depends on the ability of cells to progress through the cell cycle (Qiao L, *et al. Biochem Biophys Res Commun* 201:581, 1994; Howard S, *et al. Clin Cancer Res* 2:269, 1996; Palayoor ST, *et al., Radiat Res*, 148:105-114, 1997).

Applicants have disclosed in a previous patent application (PCT/US00/40103) that acidic and basic fibroblast growth factors (aFGF and bFGF) present in tumor

WO 03/026574

PCT/US02/30210

tissues induce resistance of tumor cells to chemotherapy, and that this FGF-mediated resistance can be overcome by low concentrations of suramin of less than about 50 μ M. However, it is not known whether the chemosensitizing effect of suramin would be diminished at higher doses delivering higher plasma concentrations in vivo.

The present invention shows that only low doses of suramin, which yielded between about 10 to about 50 μ M plasma concentrations over the duration (e.g., 6 hours) when a chemotherapeutic agent (e.g., paclitaxel) was present in the plasma at therapeutically significant levels, enhanced the efficacy of chemotherapy in tumor-bearing animals. In contrast, high doses of suramin, that yielded concentrations between about 300 to about 650 μ M over about the same duration did not enhance the efficacy and only enhanced the toxicity of chemotherapy. Similarly, applicants disclose the results of a phase I trial, showing that addition of low dose suramin, that yielded between about 10 to about 50 μ M plasma concentrations, over the duration when other chemotherapeutic agents (i.e., paclitaxel and carboplatin) were present at therapeutically significant levels, enhanced the response of cancer patients to a standard therapy of paclitaxel plus carboplatin. These findings are surprising, in view of the prior art teaching that suramin does not improve the efficacy of other chemotherapeutic agents in human patients (Miglietta *et al.*, Falcone A, *et al.*, 1998; Falcone A, *et al.*, 1999; Rapoport, *et al.*, 1993). These findings are also highly counter-intuitive, as it is generally believed that administration of a higher drug dose yields a greater effect rather than a lower effect, as compared to a lower dose. Furthermore, the low-dose suramin treatment did not induce adrenal insufficiency and, accordingly, replacement steroid therapy was not necessary in patients receiving low-dose suramin.

Previous studies to guide the dose selection of patients treated with high-dose suramin have used a Bayesian pharmacokinetic method, entailing continuous suramin pharmacokinetic monitoring, that requires measurement of actual plasma concentrations in each patient over several months. This earlier approach is a highly labor-intensive and costly procedure that can only be performed in a limited number of clinical centers (Reyno LM *et al.* *J Clin Oncol* 13:2187-2195, 1995), and, therefore, has limited applicability.

The application of population pharmacokinetics permitted the development of more easily applied fixed dosing schedules (Reyno LM, *et al.* *J Clin Oncol* 13:2187-2195, 1995; Small E, *et al.* *J Clin Oncol* 18:1440-1450, 2000). These schedules used

WO 03/026574

PCT/US02/30210

the same initial dose on a per body surface area basis for all patients. Subsequent doses were reduced according to predetermined schedules. These regimens were designed to maintain constant and high plasma concentrations, in the range of 100 to 200 μM , over long treatment durations of more than two months. In addition, these studies were limited to male patients with prostate cancer. Consequently, these regimens could not be applied to the use of suramin in combination therapy as a chemosensitizer, in both male and female patients. As a chemosensitizer, the plasma concentrations of suramin are maintained at a narrow range of much lower levels (e.g., between about 10 to about 50 μM , e.g., below 300 to 650 μM), and only transiently while other chemotherapeutic agents are present at therapeutically significant concentrations (e.g., less than one week).

The fixed dosing schedules described in the prior art (Reyno, *et al*, Small E, *et al*) also do not offer provisions for deviation from the planned treatment schedule. However, in clinical practice, treatment delay due to toxicity or scheduling conflicts is very common. This, in turn, makes the fixed dosing schedules an impractical approach for administering suramin.

Further, the invention discloses a 180% inter-subject variability in suramin disposition in cancer patients, in part due to slower drug elimination in female patients compared to male patients. This gender-related difference in suramin elimination has not been previously demonstrated. The large inter-subject variability indicates that administering the same dose of suramin will not result in the same, desired plasma concentrations in all patients.

Accordingly, the methods described in the prior art for calculating the dose of suramin used as a cytotoxic agent cannot be used for calculating the suramin dose used as a chemosensitizer.

The invention discloses a simple and practical method to calculate a suramin dose in individual patients, based on the target chemosensitizing suramin concentrations and duration of suramin exposure (e.g., plasma concentrations of between about 10 to about 50 μM maintained over 48 hours), and demographic characteristics of a patient including, but not limited to, the squared value of the body surface area and gender of a patient, and the duration between treatments. This new method, therefore, can be used to calculate the suramin dose for use as a chemosensitizer, in both male and female patients, and can accommodate delay in treatments.

WO 03/026574

PCT/US02/30210

For other drugs where the maintenance of a narrow range of exposure is required, various other methods have been devised. For example, for the administration of carboplatin, a narrow range of integrated product of concentration and time (area under the concentration-time curve) is desired, and the carboplatin dose is calculated based on a patient's creatinine clearance (Calvert *et al.*, *J. Clin. Onc.* 7:1748, 1989). There is no disclosure, however, of a method to calculate the dose requirements for low-dose suramin that produces chemosensitization.

Summary of the Invention

The invention is based, at least in part, on the following discoveries by the inventors.

Administration of suramin, in combination with other chemotherapeutic agents, to a subject at different dosages yielding different plasma concentrations, can result in opposite effects. Administration of low doses of suramin, which yields plasma concentrations of between about 10 to about 50 μM over the duration when other chemotherapeutic agents are present in the plasma at therapeutically significant levels, enhances the efficacy without potentiating the toxicity of co-administered chemotherapeutic agents. On the contrary, administration of high doses of suramin, which yields between 300 to 650 μM over the same time period, does not enhance the efficacy, but potentiates the toxicity of co-administered chemotherapeutic agents. Hence, the chemosensitizing effect of suramin is highly dose-dependent and concentration-dependent, and occurs at a concentration range of between about 10 to about 50 μM and below about 300 to about 650 μM maintained over the duration when the co-administered chemotherapeutic agent is present at therapeutically significant levels.

Applicants also tested in cancer patients the use of low doses of suramin selected to deliver plasma concentrations in the range known to produce chemosensitization in tumor-bearing animals, over the duration when other chemotherapeutic agents (*i.e.*, paclitaxel and carboplatin) were present in the plasma at therapeutically significant levels (*e.g.*, about 10 to about 50 μM suramin concentrations over 48 hours). The results indicate that addition of low doses of suramin enhanced the efficacy of chemotherapy in cancer patients.

Applicants further found that the elimination of suramin, at the low dose that yielded between about 10 to about 50 μM over 48 hours produces chemosensitization, is more rapid and shows more inter-subject variability in human

WO 03/026574

PCT/US02/30210

cancer patients, compared to the results shown in the prior art when suramin was given at high doses that yielded between about 100 to about 200 μ M plasma concentrations in patients.

5 These above findings, collectively, indicate the importance and the need of a method of determining the dose and treatment schedules of suramin to be used as a chemosensitizer.

Applicants further discovered that the pharmacokinetics of low-dose suramin depends on, and can be predicted from, patient characteristics. The invention discloses a method for calculating, for individual patients, the suramin dose that
10 would yield the desired plasma suramin concentrations known to produce chemosensitization. The invention further discloses a method to prepare nomograms and discloses nomograms for calculating the suramin dose in individual patients.

Other features and advantages of the invention will be apparent from the following detailed description, and from the claims.
15

Brief Description of the Drawing

Fig. 1 graphically depicts the effect of suramin dose on chemosensitization. Immunodeficient mice bearing well-established subcutaneous human prostate PC3
20 xenograft tumors were treated with saline (controls), a chemotherapeutic agent (*i.e.*, paclitaxel), low dose suramin, high dose suramin, a combination of paclitaxel plus low dose suramin, or a combination of paclitaxel plus high dose suramin. The dose of paclitaxel was 15 mg/kg and was given twice weekly for three weeks. Two doses of suramin were used. The low suramin dose was 10 mg/kg and was given twice
25 weekly for three weeks. The high suramin dose group received a loading dose of 200 mg/kg, followed by 5 doses of 130 mg/kg each, over three weeks. Example 1 further expounds on Fig. 1.

Detailed Description of the Invention

30 Before further description of the invention, certain terms employed in the specification, examples and appended claims are, for convenience, collected here.

Definitions

As used herein, the terms "cytotoxic agent", "chemotherapeutic agent",
35 "anticancer agent", and "antitumor agent" are used interchangeably herein and refer

WO 03/026574

PCT/US02/30210

to agents that have the property of inhibiting the growth or proliferation (e.g., a cytostatic agent), or inducing the killing, of hyperproliferative cells.

As used herein, a "therapeutically effective amount" of suramin refers to an amount of suramin that is effective, upon single- or multiple-dose administration to the subject, e.g., a patient, at inhibiting the growth or proliferation, or inducing the killing, of hyperproliferative cells, e.g., cancer cells. The term "therapeutically effective amount" also refers to an amount of suramin that is administered, e.g., coadministered, (i.e., sequentially or concomitantly) with one or more cytotoxic agents such that suramin and the cytotoxic agent, are effective, upon single- or multiple-dose administration to the subject, e.g., a patient, at inhibiting the growth or proliferation, or inducing the killing, of hyperproliferative cells. Such growth inhibition or killing can be reflected as a prolongation of the survival of the subject, e.g., a patient beyond that expected in the absence of such treatment, or any improvement in the prognosis of the subject relative to the absence of such treatment.

As used herein, "chemosensitization" and "chemosensitizing effect" are used interchangeably and refer to the enhancement of chemotherapy efficacy by suramin. "Chemosensitizer" refers to the agent, e.g., suramin, that enhances the efficacy of another agent.

As used herein, "high dose suramin" and "high dose(s) of suramin" are used interchangeably and refer to suramin used as a cytotoxic agent and at doses that when injected into a subject, result in a plasma concentration range of between about 300 to about 650 μ M maintained for about six to eight hours, or result in a plasma concentration range of between 100 to 200 μ M maintained for more than one or two months.

As used herein, "low dose suramin" refers to suramin used as a chemosensitizer and at doses that when injected into a subject, result in a plasma concentration range of below about 300 to about 650 μ M maintained for about six to eight hours, or result in a plasma concentration range of between 100 to 200 μ M maintained for more than one or two months.

As used herein, "high dose suramin regimen" refers to a treatment that administers a high dose of suramin to a subject.

As used herein, "low dose suramin regimen" refers to a treatment that administers a low dose of suramin to a subject.

As used herein, "duration when the co-administered chemotherapeutic agent(s) are present at therapeutically significant concentrations or levels" refers to

WO 03/026574

PCT/US02/30210

the time period when the co-administered chemotherapeutic agent is present or detectable in the circulating blood or plasma, or the duration over which the exposure to the co-administered chemotherapeutic agent accounts for about 90% of the total exposure to the co-administered agent, e.g., measured as area-under-concentration-time-curve, or the duration which is approximately equal to three to four terminal half-lives of the co-administered chemotherapeutic agent.

As used herein, "covariates" refers to physiological or pathological parameters of patients that may contribute to the inter-subject variability in the elimination of low dose suramin.

As used herein, "PBPK" refers to population-based pharmacokinetic analysis, and "PBPK-based dosing method" refers to a method developed using PBPK to determine the suramin dosing regimens that produce chemosensitization. This method is detailed in EXAMPLE IV.

As used herein, "a nomogram" refers to a tabulation and/or predictive formula(e) which allow for the determination of a therapeutically effective amount(s) of an agent for administering to a subject, e.g., a human patient, based on one or more readily obtained parameters, including, but not limited to, the patient's gender, age, body weight or body surface area, or the time lapsed since the previous drug treatment.

As used herein, other terms such as "coadministration", "an effective amount of suramin and a cytotoxic agent", "subject", "human", "non-human", "inhibiting the growth or proliferation of the hyperproliferative cell", "inducing the killing of the hyperproliferative cell", "induce", "inhibit", "potentiate", "elevate", "increase", "decrease", "hyperproliferative", "hyperplastic", "malignant", "neoplastic", "pathologic hyperproliferative", "neoplasia", "hyperplasia", "tumors", "carcinoma", "adenocarcinoma", "sarcoma", "leukemia", "leukemic cancer" "myelomas", and "lymphomas" are as described in the earlier patent application No. PCT/US00/40103.

Continued Description of Invention

In one aspect, the invention features the use of low dose suramin as a chemosensitizer, in combination with at least one other chemotherapeutic agent.

In a preferred embodiment, low dose suramin is administered, in combination with at least one other chemotherapeutic agent, to a subject.

In a preferred embodiment, low dose suramin is co-administered with the same, or a different chemotherapeutic agent, to a subject.

WO 03/026574

PCT/US02/30210

In a preferred embodiment, low dose suramin is co-administered with repeated dosages of the same, or a different chemotherapeutic agent, to a subject.

In a preferred embodiment, the dosing schedule of low dose suramin yields plasma concentrations of suramin, preferably below the range of between about 300 to about 600 μM , preferably below the range of between about 150 to about 200 μM , advantageously below the range of between about 135 to about 200 μM , more advantageously below the range of between about 120 to about 200 μM , preferably below the range of between about 105 to about 200 μM , more preferably below the range of between about 90 to about 200 μM , more preferably below the range of between about 75 to about 200 μM , more preferably below the range of between about 60 to about 200 μM , and even more preferably at the range of between about 10 to about 50 μM , over the duration when a co-administered chemotherapeutic agent is present in the subject at therapeutically significant levels.

In a preferred embodiment, a chemotherapeutic agent is given repeatedly for multiple treatment cycles scheduled at time intervals of approximately three weeks.

In another embodiment, a chemotherapeutic agent is given repeatedly for multiple treatment cycles scheduled at time intervals of approximately one week.

In a preferred embodiment, the dosing regimens of chemotherapy include administration of multiple treatment cycles administered at irregular time intervals.

In a preferred embodiment, low dose suramin is given repeatedly for multiple treatment cycles scheduled at time intervals of approximately three weeks.

In another embodiment, low dose suramin is given repeatedly for multiple treatment cycles scheduled at time intervals of approximately one week.

In a preferred embodiment, the dosing regimen of low dose suramin includes administration of multiple treatment cycles scheduled at irregular time intervals.

In a preferred embodiment, the dosing regimen of low dose suramin includes repeated dosages of suramin within a single treatment cycle.

In a preferred embodiment, combination therapy of low dose suramin and at least one other chemotherapeutic agent inhibits the proliferation of, or enhances the killing of, a hyperproliferative cell derived from malignant or benign tumors, or from a benign hyperplastic growth.

In another embodiment, low dose suramin is administered in combination therapy with at least one other chemotherapeutic agent to human patients.

In another embodiment, low dose suramin is administered in combination therapy with at least one other chemotherapeutic agent to non-human mammals.

WO 03/026574

PCT/US02/30210

In a preferred embodiment, low dose suramin enhances the efficacy of the chemotherapeutic agent, e.g., a cytotoxic agent, relative to the effect of the cytotoxic agent in the absence of low dose suramin.

5 In a preferred embodiment, low dose suramin is administered with at least one chemotherapeutic agent, so as to inhibit the proliferation of, or to enhance the killing of, a hyperproliferative cell derived from malignant or benign tumors.

10 In one embodiment, suramin is administered with at least one cytotoxic agent. The enhanced, and sometimes synergistic, effect of suramin with at least one anticancer agent, in addition to improving the efficacy of these anticancer agents, may allow for the administration of lower doses of these anticancer agents, thus reducing the induction of side effects in a subject, (e.g., a patient). For example, the subject is a patient with non-small cell lung cancer, who is treated with a combination of paclitaxel, carboplatin, and suramin.

15 In another aspect, the invention teaches not to use high dose suramin, in combination with other chemotherapeutic agents.

In a preferred embodiment, high doses of suramin (i.e., above about 200 to 300 μM) can be administered to a subject; however, administration of a chemotherapeutic agent is delayed until the plasma concentrations of suramin have decreased to between the range of about 10 to 50 μM , during which time the chemotherapeutic agent is administered.

20 In another aspect, the invention features a method of identifying the dose of suramin to be used as a chemosensitizer, in combination with an agent, e.g., a cytotoxic agent, in a subject. The method is comprised of

- (a) implanting animals,
- 25 (b) administering suramin and at least one other chemotherapeutic agent to tumor-bearing animals,
- (c) fixing the dose of the other chemotherapeutic agent such that this dose results in tumor growth delay or tumor size reduction,
- (d) varying the dose of suramin and monitoring the size of the animal tumors over time,
- 30 (e) measuring the plasma concentrations of suramin derived from suramin doses that produce chemosensitization, and
- (f) measuring the plasma concentrations of suramin derived from suramin doses that do not produce chemosensitization.

WO 03/026574

PCT/US02/30210

In a preferred embodiment, the invention features a method for determining, for a chemotherapeutic agent, the extent of enhancement of therapeutic efficacy that is obtained by chemosensitization with low dose suramin, in order to identify the chemotherapeutic agent that, when co-administered with low dose suramin to a subject, will produce the desired enhanced efficacy by suramin.

In another aspect, the invention features a method for determining a therapeutically effective amount of suramin as a chemosensitizer for administering to a patient. The method is comprised of

determining the gender and the squared value of the body surface area of a patient,
determining the time elapsed, in days, since the initiation of the last suramin treatment, and
calculating the dose of low dose suramin using a nomogram that shows the dose according to the above three parameters, such that a therapeutic effective amount of suramin is predicted by the nomogram (e.g., as set forth in Table 7).

In another aspect, the invention features a method to derive the equations and to obtain the values of population-average pharmacokinetic parameters of low dose suramin. These equation and parameters are used for determining a therapeutically effective amount of low dose suramin used as a chemosensitizer for administering to a patient. The method is detailed in EXAMPLE IV and is comprised of

- (a) determining the pharmacokinetics of low dose suramin in subjects,
- (b) defining the inter-subject variability of pharmacokinetic parameters,
- (c) defining the sources of inter-subject variability of pharmacokinetic parameters using population-based pharmacokinetic analysis,
- (d) establishing the population models that describe, for the overall population of patients that receive low dose suramin, the mathematical relationships between the total body clearance of suramin and relevant physiological or pathological parameters of patients, and between the volume of distribution of suramin and relevant physiological or pathological parameters of patients,
- (e) using the established population models to calculate the dose of low dose suramin for individual patients, based on the desired target drug concentrations at the target time points and the characteristic of an individual patient (e.g., gender, squared value of body surface area), and

WO 03/026574

PCT/US02/30210

(f) verifying the established population models in a prospective study.

Exemplary tumors are as described in an earlier patent application No. PCT/US00/40103. Examples of diagnosis of an established tumor also are as described in the earlier application PCT/US00/40103.

5 Exemplary benign hyperplastic growths are as described in the earlier application PCT/US00/40103.

In a preferred embodiment, suramin is administered in combination with at least one cytotoxic agent. The term "in combination" in this context means that the agents are given substantially contemporaneously, either simultaneously or
10 sequentially. If given sequentially, at the onset of administration of the second compound, the first of the two compounds is preferably still detectable at effective concentrations at the site where treatment effect is desired.

For example, low dose suramin can be used in combination therapy with conventional cancer chemotherapeutics. Conventional treatment regimens for
15 tumors include radiation, antitumor agents, interferons, interleukins, tumor necrosis factors, or a combination of two or more of these agents.

The cytotoxic agents include, but are not limited to, an antimicrotubule agent, a topoisomerase I inhibitor, a topoisomerase II inhibitor, an antimetabolite, a mitotic inhibitor, an alkylating agent, an intercalating agent, an agent capable of interfering
20 with a signal transduction pathway (*e.g.*, a protein kinase C inhibitor, *e.g.*, an anti-hormone, *e.g.*, an antibody against growth factor receptors), an agent that promotes apoptosis and/or necrosis, an interferon, an interleukin, a tumor necrosis factor, and/or radiation.

Exemplary cytotoxic agents include, but are not limited to, paclitaxel,
25 vincristine, vinblastine, vindesine, vinorelbine, docetaxel, topotecan, camptothecin, irinotecan hydrochloride, doxorubicin, etoposide, mitoxantrone, daunorubicin, idarubicin, teniposide, amsacrine, epirubicin, merbarone, piroxantrone hydrochloride, 5-fluorouracil, methotrexate, 6-mercaptopurine, 6-thioguanine, fludarabine phosphate, cytosine arabinoside, trimetrexate, gemcitabine, acivicin, alanosine,
30 pyrazofurin, N-Phosphoracetyl-L-Aspartate (PALA), pentostatin, 5-azacitidine, 5-Aza-2'-deoxycytidine, adenosine arabinoside, cladribine, fltorafur, UFT (combination of uracil and fltorafur), 5-fluoro-2'-deoxyuridine, 5'-deoxy-5-fluorouridine, tiiazofurin, Xeloda (Capecitabine), cisplatin, carboplatin, oxaliplatin, mitomycin C, BCNU (*e.g.*, Carmustine), melphalan, thiotepa, busulfan, chlorambucil, plicamycin, dacarbazine,
35 ifosfamide phosphate, cyclophosphamide, nitrogen mustard, uracil mustard,

WO 03/026574

PCT/US02/30210

pipobroman, 4-ipomeanol, dihydrolenperone, spiromustine, geldanamycins, cytochalasins, depsipeptide, leuprolide (*e.g.*, Lupron), ketoconazole, tamoxifen, goserelin (*e.g.*, Zoladex), flutamide, 4'-cyano-3-(4-fluorophenylsulphonyl)-2-hydroxy-2-methyl-3'-(trifluoromethyl) propionanilide, Herceptin, anti-CD20 (Rituxan), C225, 5 lressa, alpha, interferon beta, interferon gamma, interleukin 2, interleukin 4, interleukin 12, tumor necrosis factors, and radiation.

Examples of additional agents that can be used in combination with low dose suramin include, but are not limited to, hydroxyurea, azathioprine, aminopterin, trimethoprin, pyrimethamine, pyritexim, DDMP (2,4 diamino- 5(3',4' dichlorophenyl)6 10 methylpyrimidine), 5,10-dideazatetrahydrofolate, 10-propargyl-5,8 dideazafolate (CB3717), 10-ethyl-10-deaza-aminopterin, deoxycytidine, 5-aza-cytosine arabinoside, N-4-palmitoyl-ara C, 2'-azido-2'-deoxy-ara C, N4-behenoyl-ara C, CCNU (lomustine), estramustine, MeCCNU, triethylene melamine, trenimon, dimethyl busulfan, streptozotocin, chlorozotocin, procarbazine, hexamethylmelamine 15 (Altretamine), pentamethylmelamine (PMM), tetraplatin, oxaliplatin, platinum-DACH, aziridinylbenzoquinone (AZQ), bleomycin, tallsomycin S₁₀^b, liblomycin, pepleomycin, asparaginase (Elspar), pegaspargase (Oncaspar), Cladrabine (leustatin), porfimer sodium (Photofrin), amonofide, deoxyspergualin, dihydrolenperone, flavone acetic acid, gallium nitrate, and hexamethylene bisacetamine (HMBA).

EXAMPLES

The invention now being generally described, it will be more readily understood by reference to the following examples, which are included merely for purposes of illustration of certain aspects and embodiments of the present invention, 25 and are not intended to limit the invention.

EXAMPLE I

Low Dose, But Not High Dose, Suramin Enhances The *In Vivo* Antitumor Activity Of Chemotherapy

30 This example describes the importance of administering therapeutically effective amounts of suramin as a chemosensitizer for, *e.g.*, enhancing chemotherapy efficacy.

A study was conducted to evaluate the effect of the dose size of suramin on its ability to enhance the antitumor activity of chemotherapy. The relevant tumor 35 model used was human prostate PC3 xenograft implanted subcutaneously in

WO 03/026574

PCT/US02/30210

Immunodeficient mice. Drug treatment was initiated after tumors were palpable and greater than 3 mm in diameter. The dose of paclitaxel was 15 mg/kg and was given twice weekly for three weeks. Two doses of suramin were used. The low suramin dose was 10 mg/kg and was given twice weekly for three weeks (referred to as low dose suramin regimen). Animals in the high suramin dose group received a loading dose of 200 mg/kg, followed by 5 doses of 130 mg/kg each, over three weeks (referred to as high dose suramin regimen). Animals received saline, paclitaxel alone, low dose suramin alone, high dose suramin alone, or a combination of the two drugs, and the results of these studies are shown in Fig. 1.

In test animals in the saline and low dose suramin groups, the tumor size increased with time, reaching the highest levels of about 800% of the initial tumor size. The high dose suramin group showed a slower tumor growth, indicating that high dose suramin produced antitumor activity. However, the difference in the tumor size between the high dose suramin group and the control group was not significant ($p>0.05$). Paclitaxel alone suppressed tumor growth; the difference in the tumor size between this group and the control group was significant ($p<0.05$). The combination of paclitaxel and high dose suramin showed similar effect as paclitaxel alone. In contrast, the combination of paclitaxel and low dose suramin showed significantly enhanced antitumor effect compared to paclitaxel alone ($p<0.05$). Moreover, this is the only group that showed significant reduction in tumor size to about 20% of the initial size.

Because a post-treatment residual tumor consisted of apoptotic and non-apoptotic cells, the effects of different treatments on the fractions of non-apoptotic (and therefore not committed to death) and apoptotic (dead or committed) cells were evaluated. Briefly, residual tumors were removed from animals after termination of treatment, and histologic tumor sections were prepared. Tumor sections were examined microscopically under 400x magnification. For each tumor, at least 4 sections were evaluated. Apoptotic cells were identified by their characteristic morphologies, *i.e.*, presence of apoptotic bodies, condensed nuclei and fragmented nuclei. The results are shown in Table 1. The control group showed the highest number of residual tumor cells and the highest number of non-apoptotic cells, per 400x field. The low dose suramin group showed a slightly lower number of non-apoptotic cells, but the difference between this group and the control was not significant ($p>0.05$). Compared to the control group, the high dose suramin group,

WO 03/026574

PCT/US02/30210

and the paclitaxel group, the two combination groups showed significantly lower numbers of non-apoptotic cells ($p < 0.05$ for all four groups).

5 A comparison of the paclitaxel group and the paclitaxel/high dose suramin combination group shows similar numbers of non-apoptotic and apoptotic cells in the two groups ($p > 0.05$), indicating that the addition of high dose suramin did not significantly alter the antitumor activity of paclitaxel. However, the paclitaxel/low dose suramin combination group showed 7-fold fewer non-apoptotic cells compared to the paclitaxel group, indicating that the addition of low dose significantly enhanced the antitumor activity of paclitaxel ($p < 0.05$).

WO 03/026574

PCT/US02/30210

TABLE 1
Effect of chemotherapy and different suramin doses on non-apoptotic and apoptotic cells in tumors and body weight.
Data are mean \pm SD

	Number of cells in a 400x field				
	Control	Low dose suramin	High dose suramin	Paclitaxel	Paclitaxel + low suramin
					Paclitaxel + high suramin
Non-apoptotic	76 \pm 38	62 \pm 44	19 \pm 9	14 \pm 10	2 \pm 1*
Apoptotic	19 \pm 14	21 \pm 16	22 \pm 9	30 \pm 17	30 \pm 28
	Body weight loss, % of pretreatment level				
	1%	5%	13%	0%	0%
					>20%**

*p<0.05 compared to all other groups.
**p<0.05 compared to control, paclitaxel alone and paclitaxel plus low suramin groups.

WO 03/026574

PCT/US02/30210

In addition, the effect of the foregoing treatment methods on body weight was determined. These results are shown in Table 1. Compared to animals treated with saline, animals treated with low dose suramin alone, paclitaxel alone or the paclitaxel/low dose suramin combination did not show body weight loss ($p>0.05$), whereas animals treated with high dose suramin alone or the paclitaxel/high dose suramin combination showed significant weight loss ($p<0.05$). This data indicates that high dose suramin produced host toxicity, whereas low dose suramin did not produce measurable toxicity.

Pharmacokinetic studies were conducted to determine the plasma concentrations of suramin and paclitaxel. For paclitaxel, the plasma concentrations declined from about 7 $\mu\text{g/ml}$ at 5 minutes after injection to 0.2 $\mu\text{g/ml}$ at 5 hours, and were not measurable (*i.e.*, less than 0.1 $\mu\text{g/ml}$) at 6 hours. Hence, nearly all of the paclitaxel exposure occurred in five hours. Administration of the first dose of the low dose suramin regimen yielded plasma concentrations of between about 15 to about 50 μM for 8 hours. Administration of the first dose of the high dose suramin regimen (*i.e.*, 200 mg/kg) yielded plasma concentrations of between about 300 to about 650 μM in the first six hours. Administration of the first and second doses of the high dose suramin regimen (*i.e.*, 200 and 130 mg/kg, respectively) yielded plasma concentrations of between about 100 to 650 μM over 48 hours.

A comparison of the plasma concentration-time profiles of paclitaxel and of suramin after the low and high dose regimens, together with the chemosensitization observed for the low dose suramin regimen and the lack of chemosensitization observed for the high dose suramin regimen, indicate the following: (a) suramin produced chemosensitization at low doses that produced plasma concentrations of between about 15 to about 50 μM over 8 hours, or approximately the same duration when paclitaxel was present at therapeutically significant levels, and (b) suramin did not produce chemosensitization at high doses that produced high plasma concentrations of between about 300 to about 650 μM for 6 hours or approximately the same duration when paclitaxel was present at therapeutically significant levels.

Collectively, these results indicate that suramin, at low doses, significantly enhanced the antitumor activity of paclitaxel, without enhancing the host toxicity. In contrast, high dose suramin did not significantly improve the activity of paclitaxel, but significantly enhanced host toxicity. These results further show that the chemosensitizing effect of suramin requires the presence of suramin at

WO 03/026574

PCT/US02/30210

chemosensitizing concentrations only during the time when the other chemotherapeutic agent is present at therapeutically significant levels.

EXAMPLE II
Low Dose Suramin Improves The Response Of
Lung Cancer Patients To Chemotherapy

A phase I trial was performed in advanced non-small lung cancer patients. One of the objectives was to determine whether low dose suramin is effective in enhancing the efficacy of chemotherapy. Suramin at doses that delivered plasma concentrations of between about 10 to about 50 μM for 48 hours was administered with a standard therapy, *i.e.*, paclitaxel (200 mg/m^2) and carboplatin (AUC 6), every three weeks. Fifteen patients, with metastases to pleura, pericardium, adrenals, lymph nodes, liver, bone, and/or brain, were enrolled in the phase I trial. This group includes 4 stage IIIb and 11 stage IV patients. Seven patients had received prior chemotherapy (paclitaxel, vinorelbine and/or platinum) and radiation. All patients were evaluable for pharmacokinetics and toxicity. No dose-limiting toxicity was observed. Furthermore, no adrenal insufficiency, which is a common toxicity in patients receiving high dose suramin treatment (Dorr and Von Hoff), was not observed in patients receiving the low dose suramin treatment. Accordingly, it was not necessary to administer replacement steroid therapy to patients who received low dose suramin. This is contrary to the case where replacement steroid therapy was routinely given to patients who received high dose suramin (Dorr and Von Hoff).

The fifteen enrolled patients received a total of 85 treatments. Three patients were taken off protocol within the first two days or after the first treatment (one due to a reaction to paclitaxel, one due to the need for radiation to a spinal cord metastasis, and one because she was found to have small cell lung cancer instead of nonsmall cell lung cancer). The remaining 12 patients received a total of 82 courses (range of 4-10 courses, median of 6 courses).

Of the 12 patients who received more than one treatment, two had only malignant pleural involvement and no measurable lesions. The response rate in the remaining ten patients who had measurable disease is 60%, based on the RECIST criteria established by the National Cancer Institute.

Table 2 compares the results in patients who received low dose suramin plus paclitaxel and carboplatin to the historical results in patients with comparable diseases and who received only paclitaxel and carboplatin (Laohavinij *et al.* *Lung Cancer*, 26:175-185, 1999; Helsing *et al.*, *Lung Cancer*, 24:107-113, 1999; Langer *et*

WO 03/026574

PCT/US02/30210

al. Eur. J. Cancer, 36:183-193, 2000; Evans *et al. Lung Cancer*, 18:83-94, 1997; Langer *et al. J. Clin. Oncol.*, 13:1860-1870, 1995).

TABLE 2
Effect Of Suramin On Chemotherapy Efficacy In Patients

Treatment	Response rate	Median time to disease progression	One year survival rate	Median survival time
Suramin+paclitaxel+carboplatin	60%	8.5 months	67%	>17 months
Paclitaxel+carboplatin (historical results)	30%	4 to 5 months	40%	8 to 10 months

Hence, the clinical results of the phase I study suggest a therapeutic advantage of using low dose suramin as a chemosensitizer, and provide the preliminary proof-of-concept that suramin, at nontoxic doses and concentrations, enhances the efficacy of chemotherapy in cancer patients.

This finding is surprising in view of the prior art, in two respects. The beneficial effect of suramin found in the present study is opposite to the prior art teaching that suramin does not improve the efficacy of other cytotoxic agents (Falcone, 1998; Falcone, 1999; Miglietta, 1997; Rapoport, 1993). These earlier trials used high dose suramin that produced constant plasma concentrations of between about 100 to 200 μ M maintained for more than one or two months. The finding that low dose suramin provided beneficial effects, whereas these earlier trials did not find beneficial effects for high dose suramin, is consistent with the results shown in EXAMPLE I, but is surprising because these observations are opposite to the generally accepted pharmacological principle that higher drug levels produce higher rather than lower effect.

EXAMPLE III Pharmacokinetics Of Low Dose Suramin In Lung Cancer Patients

One of the objectives of the phase I trial described in EXAMPLE II was to identify the suramin dose yielding target plasma concentrations of between about 10 to about 50 μ M over the duration when the chemotherapeutic agents, *i.e.*, paclitaxel and carboplatin, were present at therapeutically significant levels in the plasma.

WO 03/026574

PCT/US02/30210

Patients were given, sequentially, infusions of suramin, paclitaxel (initial dose of 175 mg/m², escalating to 200 mg/m² after establishing the suramin dose) and carboplatin (area-under-concentration-time-curve or AUC of 6 mg*min/ml), every 3 weeks.

5 The unusually long half-life of suramin resulted in residual plasma concentrations at the time of subsequent treatments, given 3 weeks later. Hence, real time pharmacokinetics, based on the residual suramin concentrations detected at 72 hours prior to subsequent dosing, was used to determine the dose of subsequent treatments in the first 12 patients. The pharmacokinetic data obtained
10 from these 12 patients were then used to develop a method to calculate the target suramin dose based on several parameters, i.e., target suramin concentrations, squared value of patient body surface area, gender, and time lapsed since last suramin treatment. This method was then verified prospectively in three additional patients (see EXAMPLE IV).

15 Results in the first six patients showed that nearly all of the areas-under-plasma concentration-time curves of paclitaxel and carboplatin were attained in the first 48 hours after drug administration (i.e., >92% for paclitaxel and >99% for carboplatin). Hence, the target suramin concentrations were between about 10 to about 50 µM over 48 hours following the initiation of suramin infusion. These
20 concentrations were achieved by giving the total suramin dose in two split doses, with two-thirds of the dose given on the first day and the remaining one-third given 24 hours later. This schedule was found to yield the target concentration range of less than 50 µM suramin concentrations immediately after the administration of a chemotherapeutic agent, i.e., paclitaxel, and greater than 10 µM suramin
25 concentrations at 48 hours after the initiation of suramin infusion.

Table 3 compares the pharmacokinetic parameters of the low dose suramin regimen used in the present study with the literature values obtained using a >8-fold higher total suramin dose (Jodrell et al, *J Clin Oncol* 12:166-75, 1994). The comparison shows three unexpected findings. First, low dose suramin shows a
30 much faster elimination compared to high dose suramin, as indicated by the higher clearance and shorter terminal half-life of the low dose. Second, low dose suramin shows a significantly lower steady state volume of distribution compared to high dose suramin. Third, suramin is eliminated more slowly in female patients compared to male patients. These findings are surprising because the elimination of suramin was
35 not known to be dose-dependent or gender-dependent.

WO 03/026574

PCT/US02/30210

TABLE 3
Pharmacokinetic Parameters Of Suramin**

Pharmacokinetic parameters	Literature	Current	
		Overall	Male Female
Total dose, mg per m ²	>2,000	240	240
Cumulative AUC, mg-hr/ml	101*	10.2 ± 2.3	9.3 ± 1.3
Alpha half-life, hr	5.5 ± 1.7	4.4 ± 1.1	4.3 ± 0.6
Beta half-life, day	4.1 ± 2.2	11 ± 3	10 ± 1.9
Gamma half-life, day	78 ± 46	Not applicable	Not applicable
V1, liter per m ²	2.7 ± 0.5	1.8 ± 0.2	1.8 ± 0.2
V2, liter per m ²	4.2 ± 1.4	6.7 ± 1.2	6.8 ± 1.3
V3, liter per m ²	12.5 ± 3.9	Not applicable	Not applicable
Vdss,l	23.6†	8.5 ± 1.2‡	8.6 ± 1.3
Total body clearance, l/hr/m ²	0.01 ± 0.004§	0.025 ± 0.005§	0.026 ± 0.0042

* AUC was calculated as (average steady state concentration, 200 µg/ml) multiplied by (time, 3 weeks) from the data provided in the reference (Jordell et al).

† Vdss was estimated as the product of mean residence time and clearance.

‡, §, 2: P<0.05, unpaired two tailed Student's t-test.

**Comparison of pharmacokinetics of low dose suramin used as a chemosensitizer to

pharmacokinetics of high dose suramin used as a cytotoxic agent. As the pharmacokinetics of

low dose suramin was adequately described by a two-compartment model, values for the

gamma half-life and V3 are not applicable. Because the current study administered suramin

every 3 weeks whereas earlier studies administered suramin at more frequent intervals, the

dose and AUC were normalized per 3-week interval. AUC is the area-under-plasma

concentration-time curve. V is volume of distribution

WO 03/026574

PCT/US02/30210

EXAMPLE IV
Methods For Identifying An Effective Suramin Dose For Use
In Combination With Other Chemotherapeutic Agents

As shown in EXAMPLE I, the ability of suramin to improve the chemotherapy efficacy in tumor-bearing animals is highly dependent on the suramin concentration. This is further supported by the surprising finding that low dose suramin enhanced the efficacy of chemotherapy in human lung cancer patients, as shown in EXAMPLE II. The surprising findings of dose- and gender-dependent elimination of suramin, shown in EXAMPLE III, highlight the importance to determine the dose of suramin that would yield plasma concentrations that are known to produce chemosensitization. Similarly, it is necessary to identify the high doses of suramin that do not produce chemosensitization but only potentiate the toxicity of other chemotherapeutic agents.

The objective of this example is to demonstrate the development of a method to identify the sources of the inter-subject variability in the suramin pharmacokinetics in patients and to use this information to identify, for individual patients, the dose of suramin that would produce chemosensitization. This was accomplished by using population-based pharmacokinetic analysis (PBPK) of the mathematical relationships between suramin pharmacokinetic parameters and clinical covariates obtained in the first 12 patients. These mathematical relationships were then used to develop empirical equations that predict suramin dose based on several parameters. Finally, the predictive performance of this equation was verified in 3 additional patients.

Inter-Subject Variability in Suramin Pharmacokinetics

Analysis of the suramin plasma concentration-time data by standard methods indicated that although the disposition of suramin was consistent with a 2-compartment model (respective initial and terminal half-lives were 4.4 hr, and 11 days), the area under the terminal phase accounted for most of the total area-under-curve (*i.e.*, ~90%). Hence, PBPK analysis can be conducted using a one-compartment pharmacokinetic model and using the data points obtained during the terminal phase (*e.g.*, 18 hours or later, or greater than 4 times the half-life of the initial phase).

Table 4 summarizes the suramin pharmacokinetic parameters of the first 12 patients. The clearance (CL) of suramin showed relative low inter-individual variability within each gender, with 13% variability in males and 2% variability in

WO 03/026574

PCT/US02/30210

females. However, the CL was lower in females compared to males. This, in turn, resulted in a maximum inter-individual variability of 182%. The maximum inter-subject variability in the steady state volume of distribution (Vss) was 153%.

TABLE 4
Variability Of Pharmacokinetics Of Low Dose Suramin

	Clearance (mL/hr/m ²)			Vss (mL/m ²)		
	Range	Mean	SD	Range	Mean	SD
Overall	16.4 - 29.8	24.1	4.8	6.8 - 10.4	8.5	1.2
Males	23.0 - 29.8	25.9	3.3	7.5 - 8.8	8.2	0.6
Females	16.4 - 16.8	16.6	0.4	6.8 - 10.4	8.6	1.3

PBPK Analysis

The pharmacokinetic data of low dose suramin was analyzed using a nonlinear mixed-effects model (NONMEM Version V, UCSF, San Francisco, CA). PBPK analysis is used to identify the sources of inter-individual variability in pharmacokinetic parameters and is performed in a stepwise manner (Sheiner *et al.*, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, 5: 445, 1977; Mandema *et al.*, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, 20: 511, 1992).

The first step is to define the appropriate error model for the pharmacokinetic parameters of interest. Second, the physiological or pathological parameters of patients (referred to as covariates) that significantly reduce the deviation of the values in individual patients from the population mean values are incorporated into the model (referred to as the Full Model). Third, to ascertain that the selected covariates are the critical determinants of inter-individual variability and to eliminate redundant covariates (e.g., covariates that are highly correlated with each other but do not contribute to the variability), a backward elimination procedure is performed by determining whether eliminating individual covariates affects the performance of the Full Model. Only the covariates whose elimination results in significant deterioration in model performance are included in the final model (referred to as Population Model). These steps are detailed below.

Model Building: Basic model

The PBPK for a one-compartment model depicting plasma concentrations as a function of clearance (CL) and volume of distribution (V) is as follows:

$$C_{ij} = \frac{Dose}{V_j} e^{-\left(\frac{CL_j}{V_j}\right) \times time_j} \quad \text{Eq. 1}$$

WO 03/026574

PCT/US02/30210

where C_{ij} is the predicted plasma concentration at a particular time t for a patient j .

Error functions were used to describe the random deviations between model-predicted and observed data for individual pharmacokinetic parameters. Because the objective was to identify the dose, which can be calculated based on CL and V, the analysis focused on these two parameters. Equations 2 and 3 describe the deviation of CL (CL_i) and V (V_j) in an individual patient from the population or typical values (CL_{typ} and V_{typ}).

$$CL_i = CL_{typ} * (1 + \eta_{CL}) \quad \text{Eq. 2}$$

$$V_j = V_{typ} * (1 + \eta_V) \quad \text{Eq. 3}$$

Where η_{CL} and η_V are random values normally distributed around a mean of zero with a variance of ω^2 .

Multiple plasma concentration-time data points were used in PBPK analysis. These time points were 18, 24, 48 and 72 hours after the first treatment, 72 hours and immediately prior to next treatment, and 48 and 72 hours after second and subsequent treatments. The relationship between observed plasma concentrations and PBPK-predicted values (residual variability) is depicted by Equation 4.

$$Y_{ij} = C_{ij} * (1 + \varepsilon_{ij}) \quad \text{Eq. 4}$$

where Y_{ij} and C_{ij} are the observed and predicted concentrations of the j^{th} individual at the i^{th} sampling time. ε_{ij} is the residual errors with a mean of zero and a variance of σ^2 . The above equations used an error function in the form of $(1 + \text{error})$, which represents the proportional error model where the coefficient of variation is constant and independent of the size of the fixed effect parameter. A comparison of this and other error models (i.e., additive error model, and power model) using the objective function value, which indicates the goodness of fit as calculated by NONMEM, indicated that the proportional error model was the best in describing the inter-individual variability in CL and V in our patient population.

WO 03/026574

PCT/US02/30210

Model Building: Identification of Significant Covariates

The contribution of ten covariates to the inter-individual variability in CL and V was studied. These covariates were age, gender, weight, ideal body weight, height, body surface area (BSA), creatinine concentration, creatinine clearance (CrCL), and serum albumin concentration. Linear regression analysis was used to examine the relationships between covariates and pharmacokinetic parameters in individual patients. Covariates that showed a coefficient of determination of greater than 0.4 ($r^2 > 0.4$) were selected for further evaluation and were incorporated in the models for CL and V.

As an example, Equation 5 shows the relationship between CL_{typ} (the mean value of population clearance) and creatinine clearance, and Equation 6 shows the relationship between V_{typ} (the mean value of population volume of distribution) and BSA. Similar equations were established for other covariates.

$$CL_{typ} = \theta_1 + \theta_2 * CrCL \quad \text{Eq. 5}$$

$$V_{typ} = \theta_3 + \theta_4 * BSA \quad \text{Eq. 6}$$

These regression models assumed a linear relationship between CL_{typ} and CrCL, and between V_{typ} and BSA, with proportionality constants θ_2 and θ_4 (referred to as fixed effect parameters). θ_1 represents the value of CL_{typ} that is not related to CrCL, θ_2 represents the value of CL_{typ} that is related to CrCL, θ_3 represents the value of V_{typ} that is not related to BSA, and θ_4 represents the value of V_{typ} that is related to BSA.

To determine whether a covariate should be incorporated into the model, the log likelihood ratio test was used and the chi-square χ^2 values were calculated by taking the difference in the objective function values of the models, obtained with or without adding the candidate covariate. A reduction in the objective function values of more than 3.9 (i.e., χ^2 value associated with $P < 0.05$ for 1 degree of freedom or addition of single covariate) was required for inclusion into the Full Models for CL_{typ} and V_{typ} .

The covariates that showed the highest correlations with CL_{typ} were BSA, CrCL, and gender. The covariates that showed the highest correlations with V_{typ} were body weight and BSA². The remaining covariates did not show significant

WO 03/026574

PCT/US02/30210

correlations in the linear regression analysis, and did not significantly affect the model performance. The Full Models for CL_{typ} and V_{typ} were described by Equations 7 and 8, respectively.

$$CL_{typ} = (\theta_1 * BSA + \theta_2 * CrCL + \theta_3) * (1 - \theta_4) \quad \text{Eq. 7}$$

$$V_{typ} = \theta_5 * BSA^2 + \theta_6 \quad \text{Eq. 8}$$

θ_1 , θ_2 , and θ_4 described the effects of BSA, CrCL, and gender on CL_{typ} , respectively. For males, θ_4 was set to zero. For females, the value of θ_4 was determined by data-fitting. θ_5 is the proportionality constant that described the effect of (BSA^2) on V_{typ} and θ_6 describes the changes in V_{typ} that was not accounted for by changes in BSA. Body weight, BSA, and BSA^2 were tested for inclusion into the Full Model for V_{typ} . BSA^2 was chosen because it produced the lowest objective function values.

Inclusion of additional covariates would, as a general rule, reduce the random error of the statistical model but increase the parameterization. To ascertain that the selected covariates played an important role in the model performance, the final model was obtained by removing insignificant covariates from the Full Model in a backward elimination process. In this process, a more restrictive criterion was used. To eliminate a parameter from the Full Model, a difference in the objective function of more than 7.9 was required (χ^2 value associated with $P < 0.005$ and 1 degree of freedom). Removal of each of the three, fixed effect parameters, i.e., θ_2 , θ_3 , and θ_6 , either individually or simultaneously, from the Full Model altered the objective function value by less than that would required for inclusion. Hence, θ_2 , θ_3 , and θ_6 were removed from the Full Model. The remaining three significant parameters were θ_1 , θ_4 , and θ_5 . The final Population Model consisted of only the covariates that contributed significantly to inter-individual variability in CL and V, and described by Equations 9 and 10. The parameter estimates are shown in Table 5.

$$CL_{typ} = (\theta_1 * BSA) * (1 - \theta_4) \quad \text{Eq. 9}$$

$$V_{typ} = \theta_5 * BSA^2 \quad \text{Eq. 10}$$

WO 03/026574

PCT/US02/30210

TABLE 5
Estimates for Population Model Parameters

Parameters	Estimate	CV, %	95% Confidence interval
θ_1	26.2 (mL/h*m ²)	2.70%	24.6 - 27.4 (mL/h*m ²)
θ_4	0.31	7.90%	0.26 - 0.36
θ_5	5.13 (L / m ⁴)	4.40%	4.49 - 5.57 (L / m ⁴)
$k_{\text{typ}} (\text{Male})$	0.0026 (hr ⁻¹)	7.3%	0.0023 - 0.0030 (hour ⁻¹)
$k_{\text{typ}} (\text{Female})$	0.0022 (hr ⁻¹)	4.7%	0.0020 - 0.0024 (hour ⁻¹)

* The population pharmacokinetic parameters were obtained using data from the first 12 patients in the phase I study. Typical values for different fixed effect parameters (θ_1 , θ_4 , and θ_5) and estimates of variability from CL and V are presented with the respective coefficients of variation (CV%).

Coefficient of variations (CV) and 95% confidence interval were generated based on the standard errors of the fixed effect parameter estimates. The Population Models using only two covariates, BSA and gender, reduced the estimated inter-individual variability in CL by 6-fold from 30% to 6%, and reduced the estimated inter-individual variability in V by >6.5-fold from 20% to 3%. The estimated residual variability (σ_{ϵ_1}) decreased slightly from 21% to 18%.

15 Derivation Of Equation For Suramin Dose Calculation

A simplified version of Equation 1, followed by rearrangement yielded Equation 11.

$$\text{Dose} = \frac{C_p * V}{e^{-k t_1}} \quad \text{Eq. 11}$$

The elimination rate constant, (k), was described by Equation 12.

$$20 \quad k_{\text{typ}} = \frac{CL_{\text{typ}}}{V_{\text{typ}}} \quad \text{Eq. 12}$$

Substituting Equations 9 and 10 and the values of θ_1 , θ_4 , and θ_5 into Equation 12 yields Equations 12 and 13.

$$\text{For Males, } k_{\text{typ}} = \frac{0.0051 \text{ m}^2 * \text{hr}^{-1}}{\text{BSA}} \quad \text{Eq. 13}$$

WO 03/026574

PCT/US02/30210

$$\text{For Females, } k_{\text{typ}} = \frac{0.0035 \text{ m}^2 \cdot \text{hr}^{-1}}{\text{BSA}} \quad \text{Eq. 14}$$

To obtain estimates for k_{typ} , the k values for individual patients were calculated by substituting their corresponding BSA values into Equations 13 and 14. The k_{typ} which represented the average k value was 0.0026 hour^{-1} for males and 0.0022 hour^{-1} for females. The variability within each gender was relatively low; the coefficient of variation was 7% for males and 5% for females. Hence, in order to simplify the equation for dose calculation, a constant value for k was used (*i.e.*, 0.0026 hour^{-1} for males and 0.0022 hour^{-1} for females).

The following discussion is offered as an example to use Equation 11 to calculate the suramin dose that would yield the target concentration of 15 μM or 21.4 $\mu\text{g/ml}$ at 48 hours. Substituting 21.4 $\mu\text{g/ml}$ for C_p and 48 hours for t , the Population Model values for V and the numerical values of k_{typ} , into Equation 11 yielded Equation 15.

$$\text{First cycle dose (mg)} = \frac{(21.4 * 5.13 * \text{BSA}^3)}{e^{-(0.0026 \text{ or } 0.0022 * 48)}} = \text{FACTOR} * \text{BSA}^2 \quad \text{Eq. 15}$$

The numerical values of FACTOR were calculated to be 125 mg/m^4 for males and 123 mg/m^4 for females. Because of the relatively small difference (*i.e.*, <2%) in the FACTOR values for the two genders, and for the ease of dose calculation, the value of FACTOR was set at 125 mg/m^4 for both genders. A larger gender-related difference (*e.g.*, >10%) would require different FACTOR values for the two genders.

Chemotherapy is usually given in multiple cycles, *e.g.*, weekly or every three weeks. Suramin is eliminated from the body very slowly. The data in non-small lung cancer patients show a long plasma half-life for suramin (about 11 days). Hence, a considerable fraction of the previous dose remains in the body at the time of the second and subsequent treatments (*i.e.*, day 8 in weekly treatment regime or day 22 on every 3 week treatment regime). As a result, the suramin dose for second and subsequent treatment cycles has to be adjusted for the residual suramin.

To attain the same target concentrations of 21.4 $\mu\text{g/ml}$ at 48 hours during subsequent treatment cycles, the dose administered during a subsequent cycle should replace the fraction of the dose that was eliminated during the interval between treatments. This is described in Equation 16.

$$\text{Subsequent cycle dose} = \text{First dose} * (1 - e^{-k * t}) = 125 * \text{BSA}^2 * (1 - e^{-k * t}) \quad \text{Eq. 16}$$

WO 03/026574

PCT/US02/30210

Note that in contrast to the first cycle where t equaled 48 hours, the value of t during subsequent cycles is a variable that equals the time lapsed since the previous cycle. Furthermore, the value of t for the subsequent cycles is significantly longer than the value of t for the first cycle (e.g., ≈ 504 vs. 48 hours). This results in a much greater difference in the values of the (k^*t) products between males and females. Accordingly, calculations of doses for subsequent cycles required gender-based adjustment.

The finding that the suramin dose is a function of the squared value of body surface area is surprising because in clinical oncology, the dose of chemotherapeutic agents is usually selected or calculated based on the body surface area and not its squared value.

Validation Of PBPK-Based Dosing Method

The performance of the PBPK-based suramin dosing method was examined retrospectively and prospectively. The retrospective analysis was performed in the first 12 patients whose pharmacokinetic data were used for model development. The dose calculated using the PBPK-based method was compared to the dose, found by real time pharmacokinetic studies, which would have yielded 15 μM suramin in plasma at 48 hours (referred to as Ideal Dose) in individual patients. The Ideal Dose accounted for inter-individual variations in drug disposition and was calculated using Equation 17.

$$\text{Ideal Dose} = \frac{\text{administered dose} \times C_{p_{48 \text{ hr, target}}}}{C_{p_{48 \text{ hr, observed}}}} \quad \text{Eq.17}$$

Where $C_{p_{48 \text{ hr, target}}}$ is the target plasma concentration at 48 hours and equaled to 15 μM or 21.4 $\mu\text{g/ml}$. $C_{p_{48 \text{ hr, observed}}}$ is the concentration observed at 48 hours. Dose accuracy between the PBPK method-predicted dose and Ideal Dose was calculated using Equation 18.

$$\text{Dose accuracy, \%} = \frac{\text{Predicted dose}}{\text{Ideal Dose}} * 100\% \quad \text{Eq.18}$$

As a group (i.e., all tested patients), the dose calculated by the PBPK method was $106 \pm 15\%$ of the Ideal Dose. For individual patients, the dose calculated by the BSA method was $103 \pm 7\%$ of the Ideal Dose. The good agreement between the

WO 03/026574

PCT/US02/30210

model-predicted dose and the Ideal Dose indicates a good predictive power of the PBPK method.

The above discussion demonstrates how to obtain the target suramin concentration of about 15 μM at 48 hours. To obtain a maximum concentration of less than about 50 μM , e.g., immediately after administration of a chemotherapeutic agent, pharmacokinetic calculations were performed using standard methods and the pharmacokinetic parameters of low dose suramin described in Table 4 in EXAMPLE III, e.g., by simulating the plasma concentration-time profiles. Results of pharmacokinetic analysis indicate that the first and subsequent cycle suramin doses calculated by Equations 15 and 16 would yield a maximum concentration that are between about 50 to about 100 μM . Additional pharmacokinetic analysis, e.g., by simulation, indicated two approaches to obtain the desired maximum concentration of about or below 50 μM while maintaining the 48-hour concentration at about 10 μM . One approach is to divide the total calculated suramin dose into two portions, the first portion equaling two-thirds (2/3) of the total dose given prior to chemotherapy, followed by the remaining one-third (1/3) of the dose given 24 hours later. The second approach is to give the total suramin dose all at once, wait for about 2 to about 4 hours, when the suramin concentration declines to about or below 50 μM , and then administer a chemotherapeutic agent.

To further verify whether the suramin dose calculated by the PBPK method can deliver between about 10 to about 50 μM plasma concentrations of suramin over 48 hours, a prospective analysis was performed on a subset of patients. Three additional non-small cell lung cancer patients were treated using the dose calculated by the PBPK-based method. Two-thirds of the total suramin dose was given prior to the administration of a chemotherapeutic agent, and the remaining one-third was given 24 hours later. The suramin plasma concentrations from these patients (total of 13 treatments) were used to evaluate the concentration accuracy by comparing the observed concentration to the target concentration (i.e., 15 μM) at 48 hour, as follows:

$$\text{Concentration accuracy, \%} = \frac{(\text{Cp}_{48 \text{ hr, observed}} - \text{Cp}_{48 \text{ hr, target}})}{\text{Cp}_{48 \text{ hr, target}}} * 100\% \quad \text{Eq. 19}$$

Table 6 shows the results. The 48-hour plasma concentrations in all treatments were above 10 μM . Furthermore, the maximum concentrations after administration of another chemotherapeutic agent, i.e., paclitaxel, in all treatments

WO 03/026574

PCT/US02/30210

were below 50 μM . The difference between the target and observed plasma concentrations of 15 μM at 48 hours were <17%.

TN/2011PC

PCT/US02/30210

5

TABLE 6
Prospective Verification of the PPVK Method

Patient ID	Cycles number	Sex	BSA	Dose (mg)	Concentration (µM)		
					Pre-dose	Post-paclitaxel	48 hours
1	1	F	1.45	263	0.00	33.95	13.93
1	3 to 6	F	1.44-1.47	151-156	1.87-3.19	21.5-26.3	10.2-11.5
2	1	M	1.67	210	0.00	40.39	15.53
2	2 to 6	M	1.68-1.70	227-257*	2.65-3.81	26.7-28.5	12.9-16.6
3	1	F	1.83	230	0.00	36.02	19.40

One of the doses was adjusted for the delay in dosing interval.

WO 03/026574

WO 03/026574

PCT/US02/30210

Nomogram For Calculating Suramin Dose

As shown in Equations 15 and 16, both the first and subsequent cycle doses can be calculated based on the target concentrations at target time points, and the squared value of body surface area and gender of the patient. Hence, a nomogram can be developed to calculate the target suramin dose. A nomogram facilitates the dose determination in a clinical setting, e.g., community medical offices.

The following discussion is offered as an example of nomogram development. For this example, the target suramin concentrations were 50 μM immediately after administration of another chemotherapeutic agent and 15 μM at 48 hours, and the k values were 0.0026 hour^{-1} for males and 0.0022 hour^{-1} for females.

Using these values, the numerical values of FACTOR were calculated to be 125 mg/m^2 for males and 123 mg/m^2 for females. Because of the relatively small difference (i.e., <2%) in the FACTOR values for the two genders, and for the ease of dose calculation, the value of FACTOR was set at 125 mg/m^2 for both genders. A larger gender-related difference (e.g., >10%) would require different FACTOR values for the two genders.

The value of FACTOR for subsequent cycle treatments depends on the time elapsed since the administration of the initiation of the suramin treatment during the previous cycle (see Table 7 below). It is noted that for the subsequent cycle dose, the difference between male and female patients is larger than for the loading dose. This is because the 20% difference in the k values for the two genders resulted in a much larger difference in the product of (k*time) when time t was increased from 48 hours to 504 hours.

Note that FACTOR is a function of the target concentration C_p , k value and t, which is the time when the target concentration is attained. Hence, FACTOR can be calculated based on the desired target concentration attained at the desired time t. For example, for the first cycle treatment, FACTOR can be calculated based on the desired C_p at time t and the k values. For subsequent cycle treatments, FACTOR for a weekly treatment schedule can be calculated using a t value of 168 hours, and a t value of 504 hours for an every-3-week treatment schedule. Likewise, the FACTOR can be calculated for different target concentrations, e.g., 10 or 20 μM .

The FACTOR can also be used to adjust for the variation in treatment time, e.g., delay in treatment due to the travel schedule of patients. For example, if the second cycle is initiated 25 days after the administration of the first dose during the

WO 03/026574

PCT/US02/30210

previous first cycle, the value of the FACTOR is 87 for a man and 79 for a woman, whereas the values of FACTOR are 80 for a man and 72 for a woman who receive treatments every three weeks (*i.e.*, 21 days after the administration of the first dose during the previous cycle). Likewise, for a weekly schedule, the amount of residual suramin is greater than that after an every-3-week schedule. Accordingly, the

5 FACTOR values are smaller, at 39 for males and 33 for females.

TABLE 7
Nomogram For Calculating Suramin Dose

Cycle 1*	FACTOR	
	Man	Woman
Days since the administration of the first dose of previous cycle	125	125
7	39	33
8	43	37
9	47	40
10	51	44
11	55	47
12	58	50
13	61	53
14	64	56
15	67	58
16	70	61
17	72	63
18	74	66
19	77	68
20	79	70
21	80	72
22	82	74
23	84	75
24	86	77
25	87	79
26	88	80
27	90	82
28	91	83
29	92	84
30	93	86
31	94	87
32	95	88
33	96	89
34	97	90
35	98	91
36	98	92
37	99	93

WO 03/026574

PCT/US02/30210

38	100	94
39	100	95
41	102	96
42	102	97
44	103	98
47	104	100
49	105	101
52	106	102
55	106	103

*Subsequent cycles: Values of Factor depends on the elapsed time (in days) since the administration of the first dose of previous cycle, as provided in Table 7.

The methods described above uses a target suramin concentration range of between 10 to 50 μM over 48 hours. This is specific for situations where the other chemotherapeutic agents to be used in combination with suramin have half-lives of less than 12 hours and, therefore, would be more than 90% eliminated in 48 hours. This same method for calculating the chemosensitization dose of suramin can be extended to other situations where the chemotherapeutic agents have longer half-lives. In this case, the target suramin concentrations will need to be maintained for at least four half-lives of the other chemotherapeutics. The suramin dose can be calculated from Equations 15 and 16, by substituting the time parameter, *e.g.*, from 48 hours to the new target time (*e.g.*, three to four times the terminal half-lives of the co-administered chemotherapeutic agent). The modified equations can then be used to calculate appropriate nomograms.

Summary

In summary, this Example, together with the results of EXAMPLES I through III, have demonstrated an approach to use PBPK analysis and a method to determine or calculate the suramin dose that produce chemosensitization in animals and in humans. The suramin dose calculated using this method would yield the desired target plasma concentrations over the duration when other chemotherapeutic agents are present in the plasma at therapeutically significant levels. In addition, the suramin dose calculated using this method would not yield plasma concentrations that do not produce chemosensitization. Finally, the use of PBPK analysis to determine the suramin dose that produces chemosensitization can be expanded to evaluate other patient characteristics, including, but not limited to, race, pre-adulthood vs. adulthood. The same method can also be applied to nonhuman patients.

WO 03/026574

PCT/US02/30210

While the invention has been described with reference to a preferred embodiment, those skilled in the art will understand that various changes may be made and equivalents may be substituted for elements thereof without departing from the scope of the invention. In addition, many modifications may be made to
5 adapt a particular situation or material to the teachings of the invention without departing from the essential scope thereof. Therefore, it is intended that the invention not be limited to the particular embodiment disclosed as the best mode contemplated for carrying out this invention, but that the invention will include all embodiments falling within the scope of the appended claims. In this application, all
10 citations referred herein are expressly incorporated herein by reference.

WO 03/026574

PCT/US02/30210

We claim:

1. A method for treating a patient, who is to receive a cytotoxic agent, which comprises the steps of:
 - (a) determining the circulating suramin concentration in said patient;
 - (b) administering suramin, if required, in a required dose to establish a low circulating concentration of suramin in said patient of below about 200 μ M;
 - (c) administering said chemotherapeutic agent to said patient when said low circulating concentration of suramin of below about 200 μ M is present in said patient.
2. The method of claim 1, wherein said low dose of circulating suramin is between about 10 and 200 μ M.
3. The method of claim 2, wherein said low dose of circulating suramin is between about 10 and 50 μ M.
4. The method of claim 1, wherein the required dose of suramine can be determined in step (b) by the steps of:
 - (b1) determining the gender and the squared value of the body surface area (BSA) of said patient;
 - (b2) determining the time elapsed, in days, since the initiation of the last suramin treatment; and
 - (b3) calculating the dose of low dose suramin using a nomogram that shows the dose according to the parameters of gender, squared value of body surface, and elapsed days since last suramin treatment.
5. The method of claim 4, wherein said nomogram comprises:

Nomogram For Calculating Suramin Dose

	FACTOR	
	Man	Woman
Cycle 1*	125	125
Days since the administration of the first dose of previous cycle	FACTOR	
	39	33
7		

WO 03/026574

PCT/US02/30210

8	43	37
9	47	40
10	51	44
11	55	47
12	58	50
13	61	53
14	64	56
15	67	58
16	70	61
17	72	63
18	74	66
19	77	68
20	79	70
21	80	72
22	82	74
23	84	75
24	86	77
25	87	79
26	88	80
27	90	82
28	91	83
29	92	84
30	93	86
31	94	87
32	95	88
33	96	89
34	97	90
35	98	91
36	98	92
37	99	93
38	100	94
39	100	95
41	102	96
42	102	97
44	103	98
47	104	100
49	105	101
52	106	102
55	106	103

where:

$$\text{First cycle dose (mg)} = \frac{(21.4 * 5.13 * \text{BSA}^2)}{e^{-(0.0025 \text{ or } 0.0022 * 48)}} = \text{FACTOR} * \text{BSA}^2 \quad \text{Eq. 15,}$$

5 and

WO 03/026574

PCT/US02/30210

Subsequent cycle dose = First dose * $(1 - e^{-k^* t}) = 125 \cdot BSA^{2.7} (1 - e^{-k^* t})$ Eq. 16.

6. The method of claim 1, wherein said cytotoxic agent is one or more of an anti-microtubule agent, a topoisomerase I inhibitor, a topoisomerase II inhibitor, an anti-metabolite, a mitotic inhibitor, an alkylating agent, an intercalating agent, an agent capable of interfering with a signal transduction pathway, an agent that promotes one or more of apoptosis or necrosis, an interferon, an interleukin, a tumor necrosis factor, or radiation.
7. The method of claim 6, wherein said cytotoxic agent is one or more of paclitaxel, vincristine, vinblastine, vindesine, vinorelbine, docetaxel, topotecan, camptothecin, irinotecan hydrochloride, doxorubicin, etoposide, mitoxantrone, daunorubicin, idarubicin, teniposide, amsacrine, epirubicin, merbarone, piroxanthone hydrochloride, 5-fluorouracil, methotrexate, 6-mercaptopurine, 6-thioguanine, fludarabine phosphate, cytosine arabinoside, trimetrexate, gemcitabine, acivicin, alanosine, pyrazofurin, N-Phosphoracetyl-L-Aspartate (PALA), pentostatin, 5-azacitidine, 5-Aza-2'-deoxycytidine, adenosine arabinoside, cladribine, florafur, UFT (combination of uracil and florafur), 5-fluoro-2'-deoxyuridine, 5'-deoxy-5-fluorouridine, tiiazofurin, Xeloda (Capecitabine), cisplatin, carboplatin, oxaliplatin, mitomycin C, BCNU, melphalan, thiotepa, busulfan, chlorambucil, plicamycin, dacarbazine, ifosfamide phosphate, cyclophosphamide, nitrogen mustard, uracil mustard, pipobroman, 4-pomeanol, dihydrolenerone, spiromustine, geldanamycins, cytochalasins, depsipeptide, leuprolide (e.g., Lupron), ketoconazole, tamoxifen, goserelin, flutamide, 4'-cyano-3-(4-fluorophenylsulphonyl)-2-hydroxy-2-methyl-3'-(trifluoromethyl) propionanilide, Herceptin, anti-CD20 (Rituxan), C225, Iressa, alpha, interferon beta, interferon gamma, interleukin 2, interleukin 4, interleukin 12, tumor necrosis factors, radiation, hydroxyurea, azathioprine, aminopterin, trimethoprin, pyrimethamine, pyritrexim, DDMP (2,4 diamino- 5(3',4' dichlorophenyl)6 methylpyrimidine), 5,10-dideazatetrahydrofolate, 10-propargyl-5,8 dideazafolate (CB3717), 10-ethyl-10-deaza-aminopterin, deoxycytidine, 5-aza-cytosine arabinoside, N-4-palmitoyl-ara C, 2'-azido-2'-deoxy-ara C, N4-behenoyl-ara C, CCNU (lomustine), estramustine, MeCCNU, triethylene melamine, trenimon, dimethyl busulfan, streptozotocin, chlorozotocin, procarbazine,

WO 03/026574

PCT/US02/30210

- hexamethylmelamine (Allretamine), pentamethylmelamine (PMM), tetraplatin, oxaliplatin, platinum-DACH, aziridinylbenzoquinone (AZQ), bleomycin, taltysomycin ^{S₁₀^b}, liblomycin, pepleomycin, asparaginase (Elspar), pegaspargase (Oncaspar), Cladribine (leustatin), porfimer sodium (Photofrin), amonofide, deoxyspergualin, dihydrolenperone, flavone acetic acid, gallium nitrate, or hexamethylene bisacetamine (HMBAs).
- 5
8. The method of claim 1, wherein a suramin dose is administered such that a concentration of between about 10 to about 50 μ M over 48 hours is achieved in a patient.
- 10
- 9 The method of claim 1, wherein the patient is a mammal.
10. The method of claim 9, wherein the patient is a human.
- 15
11. The method of claim 1, wherein the patient has a tumor.
12. The method of claim 7, wherein the cytotoxic agent is one or more of carboplatin or paclitaxel.
- 20
13. The method of claim 1, wherein said two-thirds of the therapeutically effective amount of suramin is given on the first day and the remaining one-third of the therapeutically effective amount of suramin is given about 24 hours later.
- 25
14. A method for determining a therapeutically effective amount of suramin for administering to a patient, who is to receive a cytotoxic agent, which comprises the steps of:
- (a) determining the gender and the squared value of the body surface area (BSA) of said patient;
- 30 (b) determining the time elapsed, in days, since the initiation of the last suramin treatment; and
- (c) calculating the dose of low dose suramin using a nomogram that shows the dose according to the parameters of gender, squared value of body surface, and elapsed days since last suramin treatment.
- 35

WO 03/026574

PCT/US02/30210

15. The method of claim 14 wherein said nomogram comprises:

Nomogram For Calculating Suramin Dose

Cycle 1*	FACTOR	
	Man	Woman
Days since the administration of the first dose of previous cycle	125	125
	FACTOR	
7	39	33
8	43	37
9	47	40
10	51	44
11	55	47
12	58	50
13	61	53
14	64	56
15	67	58
16	70	61
17	72	63
18	74	66
19	77	68
20	79	70
21	80	72
22	82	74
23	84	75
24	86	77
25	87	79
26	88	80
27	90	82
28	91	83
29	92	84
30	93	86
31	94	87
32	95	88
33	96	89
34	97	90
35	98	91
36	98	92
37	99	93
38	100	94
39	100	95
41	102	96
42	102	97
44	103	98
47	104	100
49	105	101

WO 03/026574

PCT/US02/30210

52	106	102
55	106	103

where:

$$\text{First cycle dose (mg)} = \frac{(21.4 * 5.13 * \text{BSA}^2)}{e^{(0.0026 \text{ or } 0.0023 * 45)}} = \text{FACTOR} * \text{BSA}^2 \quad \text{Eq. 15,}$$

5 and

$$\text{Subsequent cycle dose} = \text{First dose} * (1 - e^{-k * t}) = 125 * \text{BSA}^2 * (1 - e^{-k * t}) \quad \text{Eq. 16.}$$

16. The method of claim 14, wherein said cytotoxic agent is one or more of an anti-microtubule agent, a topoisomerase I inhibitor, a topoisomerase II inhibitor, an anti-metabolite, a mitotic inhibitor, an alkylating agent, an intercalating agent, an agent capable of interfering with a signal transduction pathway, an agent that promotes one or more of apoptosis or necrosis, an interferon, an interleukin, a tumor necrosis factor, or radiation.
17. The method of claim 16, wherein said cytotoxic agent is one or more of paclitaxel, vincristine, vinblastine, vindesine, vinorelbine, docetaxel, topotecan, camptothecin, irinotecan hydrochloride, doxorubicin, etoposide, mitoxantrone, daunorubicin, idarubicin, teniposide, amsacrine, epirubicin, merbarone, piroxantrone hydrochloride, 5-fluorouracil, methotrexate, 6-mercaptopurine, 6-thioguanine, fludarabine phosphate, cytosine arabinoside, trimetrexate, gemcitabine, acivicin, alanosine, pyrazofurin, N-Phosphoracetyl-L-Aspartate (PALA), pentostatin, 5-azacitidine, 5-Aza-2'-deoxycytidine, adenosine arabinoside, cladribine, florafur, UFT (combination of uracil and florafur), 5-fluoro-2'-deoxyuridine, 5'-deoxy-5-fluorouridine, tiazofurin, Xeloda (Capecitabine), cisplatin, carboplatin, oxaliplatin, mitomycin C, BCNU, melphalan, thiotepa, busulfan, chlorambucil, plicamycin, dacarbazine, ifosfamide phosphate, cyclophosphamide, nitrogen mustard, uracil mustard, pipobroman, 4-ipomeanol, dihydrolenperone, spiromustine, geldanamycins, cytochalasins, depsipeptide, leuprolide (e.g., Lupron), ketoconazole, tamoxifen, goserelin, flutamide, 4'-cyano-3-(4-fluorophenylsulphonyl)-2-hydroxy-2-methyl-3-(trifluoromethyl) propionanilide, Herceptin, anti-CD20

WO 03/026574

PCT/US02/30210

(Rituxan), C225, Iressa, alpha, interferon beta, interferon gamma, interleukin 2, interleukin 4, interleukin 12, tumor necrosis factors, radiation, hydroxyurea, azathioprine, aminopterin, trimethoprin, pyrimethamine, pyritrexim, DDMP (2,4 diamino- 5(3',4' dichlorophenyl)6 methylpyrimidine), 5,10-dideazateetrahydrofolate, 10-propargyl-5,8 dideazafolate (CB3717), 10-ethyl-10-deaza-aminopterin, deoxycytidine, 5-aza-cytosine arabinoside, N-4-palmitoyl-ara C, 2'-azido-2'-deoxy-ara C, N4-behenoyl-ara C, CCNU (lomustine), estramustine, MeCCNU, triethylene melamine, trenimon, dimethyl busulfan, streptozotocin, chlorozotocin, procarbazine, hexamethylmelamine (Altretamine), pentamethylmelamine (PMM), tetraplatin, oxaliplatin, platinum-DACH, aziridinylbenzoquinone (AZQ), bleomycin, talysomycin S_{10}^5 , liblomycin, pepleomycin, asparaginase (Elspar), pegaspargase (Oncaspar), Cladrabine (leustatin), porfimer sodium (Photofrin), amonofide, deoxyspergualin, dihydrolenperone, flavone acetic acid, gallium nitrate, or hexamethylene bisacetamine (HMB). 15

18. A method for determining a therapeutically effective amount of suramin for administering to a patient, who is to receive a cytotoxic agent, which comprises the steps of:
20 constructing a nomogram based on the following equations:

$$\text{First cycle dose (mg)} = \frac{(21.4 * 5.13 * \text{BSA}^2)}{e^{-(0.00026 \text{ or } 0.0022 * 46)}} = \text{FACTOR} * \text{BSA}^2 \quad \text{Eq. 15,}$$

and

$$\text{Subsequent cycle dose} = \text{First dose} * (1 - e^{-k * t}) = 125 * \text{BSA}^{2k} * (1 - e^{-k * t}) \quad \text{Eq. 16.}$$

25

19. The method of claim 18, wherein said nomogram is:

Nomogram For Calculating Suramin Dose

	FACTOR	
	Man	Woman
Cycle 1*	125	125
Days since the administration of the first dose of previous cycle	FACTOR	
	39	33
	43	37

WO 03/026574

PCT/US02/30210

9	47	40
10	51	44
11	55	47
12	58	50
13	61	53
14	64	56
15	67	58
16	70	61
17	72	63
18	74	66
19	77	68
20	79	70
21	80	72
22	82	74
23	84	75
24	86	77
25	87	79
26	88	80
27	90	82
28	91	83
29	92	84
30	93	86
31	94	87
32	95	88
33	96	89
34	97	90
35	98	91
36	98	92
37	99	93
38	100	94
39	100	95
41	102	96
42	102	97
44	103	98
47	104	100
49	105	101
52	106	102
55	106	103

20. A kit for carrying out the combined administration of suramin with one or more cytotoxic agents, comprising:
- 5 suramin formulated in a pharmaceutical carrier, and

WO 03/026574

PCT/US02/30210

instructions for therapeutic use of said suramin in combination with said cytotoxic agent(s) in one or more of inhibiting growth, proliferation of tumor cells, or inducing killing of tumor cells.

- 5 21. The kit of claim 20, wherein said instructions include a method for determining a therapeutically effective amount of suramin.
22. The kit of claim 21, wherein the instructions for determining a therapeutically effective amount of suramin comprise a nomogram.
- 10 23. The kit of claim 20, wherein one of the cytotoxic agents is paclitaxel.
24. The kit of claim 20, wherein one of the cytotoxic agents is carboplatin.

WO 03/026574

1/1

PCT/US02/30210

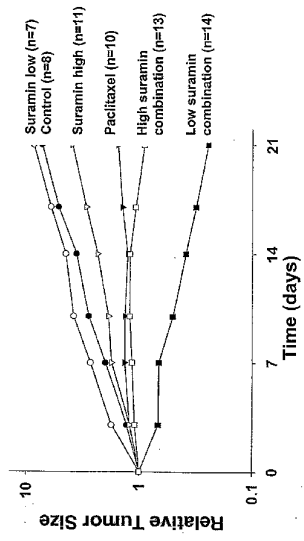


Fig. 1

【国際公開パンフレット（コレクトバージョン）】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau(43) International Publication Date
3 April 2003 (03.04.2003)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2003/026574 A3(51) International Patent Classification: **A61K 31/17,**
31/335(21) International Application Number:
PCT/US2002/030210(22) International Filing Date:
24 September 2002 (24.09.2002)

(25) Filing Language: English

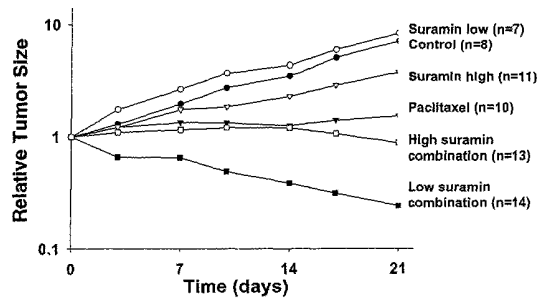
(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
60/324,704 24 September 2001 (24.09.2001) US

(71) Applicants and

(72) Inventors: AU, Jessie, L.-S. [US/US]; 2287 Palmleaf Ct.,
Columbus, OH 43210 (US); WIENTJES, M., Guillaume
[US/US]; 2287 Palmleaf Ct., Columbus, OH 43210 (US).(74) Agents: MUELLER, Jerry, K., Jr. et al.; Mueller and
Smith, LPA, 7700 Rivers Edge Drive, Columbus, OH
43235 (US).(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AU, BA, BB,
BG, BR, BZ, CA, CN, CO, CR, CU, CZ, DM, DZ, EC, EE,
GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KP, KR,
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LV, MA, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, RO, SD, SG, SI, SK, SL,
TN, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK,
TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report
— before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments(88) Date of publication of the international search report:
15 April 2004For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.(54) Title: METHODS AND COMPOSITIONS TO DETERMINE THE CHEMOSENSITIZING DOSE OF SURAMIN USED IN
COMBINATION THERAPY(57) Abstract: A method for determining a therapeutically effective amount of suramin for administering to a patient, who is to re-
ceive a cytotoxic agent, which comprises the steps of determining the circulating suramin concentration in the patient; administering
suramin, if required, to establish a low circulating concentration of suramin in the patient of below about 200 μ M; and administering
the chemotherapeutic agent to the patient when the low circulating concentration of suramin is present in the patient. Conveniently
a nomogram can be constructed for use in clinical settings with the suramin.

WO 2003/026574 A3

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/30210
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(7) : A61K 31/17, 31/335 US CL : 514/597, 449, 492 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. : 514/597, 449, 492 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.
Y	Database MEDLINE on STN, (Columbus, OH, USA), No. 98268593, TU, S. et al. 'Phase I study of suramin combined with doxorubicin in the treatment of androgen-independent prostate cancer,' abstract, Clin. Can. Res. 4 May 1998, Vol. 5, No. 5, pages 1193-201.	1-2, 6-11, 20
Y	Database MEDLINE on STN, (Columbus, OH, USA), No. 21397960, SONG, S. et al. 'Nontoxic doses of suramin enhance activity of paclitaxel against lung metastases,' abstract, Can. Res. 15 August 2001, Vol. 61, No. 16, pages 6145-50.	1-3, 6-12, 20-11
Y	Database STN on IPA, (Columbus, OH, USA), No. 19-01393, EDWARDS, A. et al. 'Surface area monogram for a cytotoxic drug regimen: computerized model,' abstract Pharm. J. (England), 13 December 1980, Vol. 225, pages 674-675.	4-5, 14-15, 22
<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 "B" earlier application or patent published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another claim 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 "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principles or theory underlying the invention "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 "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 "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 24 November 2003 (24.11.2003)		Date of mailing of the international search report 13 FEB 2004
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 Rebecca D. Roberts for Rebecca Look Telephone No. 703-308-1235

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/30210

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:
REGISTRY, CAPLUS, USPATFULL, MEDLINE, EMBASE, DRUGU, WPIFS, IPA
suramin, and administration and dosage and blood; and paclitaxel and carboplatin; and drug combination

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 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,AU,BA,BB,BG,BR,BZ,CA,CN,CO,CR,CU,CZ,DM,DZ,EC,EE,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL, IN,IS,JP,KE,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LV,MA,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,PL,RO,SD,SG,SI,SK,SL,TN,TT,T Z,UA,UG,US,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(71)出願人 501393128
 ウィンティーズ エム ジュローム
 アメリカ合衆国 4 3 2 3 5 オハイオ州 コロンバス パームリーフコート 2 2 8 7
 2 2 8 7 Palmleaf Court, Columbus, OH 4 3 2 3 5 U.S.
 A.

(74)代理人 100089266
 弁理士 大島 陽一

(72)発明者 オウ ジェシー エル エス
 アメリカ合衆国 4 3 2 1 0 オハイオ州 コロンバス パームリーフコート 2 2 8 7

(72)発明者 ウィンティーズ エム ジュローム
 アメリカ合衆国 4 3 2 1 0 オハイオ州 コロンバス パームリーフコート 2 2 8 7

Fターム(参考) 4C084 AA25 MA02 NA14 ZB212 ZB262 ZB272
 4C086 AA01 AA02 BA02 MA01 MA02 MA03 MA04 MA07 NA14 ZB21
 ZB26 ZB27
 4C206 AA01 AA02 JA09 JB16 MA01 MA02 MA03 MA04 MA13 NA14
 ZB21 ZB26 ZB27