

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6382516号
(P6382516)

(45) 発行日 平成30年8月29日 (2018. 8. 29)

(24) 登録日 平成30年8月10日 (2018. 8. 10)

(51) Int. Cl.

F 1

A 6 1 K 31/4995 (2006. 01)

A 6 1 K 31/4995

A 6 1 K 31/513 (2006. 01)

A 6 1 K 31/513

A 6 1 K 31/52 (2006. 01)

A 6 1 K 31/52

A 6 1 K 31/7068 (2006. 01)

A 6 1 K 31/7068

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

A 6 1 P 35/00

請求項の数 5 (全 148 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-538215 (P2013-538215)
 (86) (22) 出願日 平成23年11月11日 (2011. 11. 11)
 (65) 公表番号 特表2013-542241 (P2013-542241A)
 (43) 公表日 平成25年11月21日 (2013. 11. 21)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2011/069976
 (87) 国際公開番号 W02012/062920
 (87) 国際公開日 平成24年5月18日 (2012. 5. 18)
 審査請求日 平成26年11月6日 (2014. 11. 6)
 審判番号 不服2016-16511 (P2016-16511/J1)
 審判請求日 平成28年11月4日 (2016. 11. 4)
 (31) 優先権主張番号 10382300.1
 (32) 優先日 平成22年11月12日 (2010. 11. 12)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(73) 特許権者 501440835
 ファルマ・マール・ソシエダード・アノニ
 マ
 スペイン エー28770 コルメナール
 ビエーホ マドリード アベニダ デ
 ロス レジェス 1 ポリゴノ インダス
 トリアル ラ ミーナ ノルテ
 (74) 代理人 100108453
 弁理士 村山 靖彦
 (74) 代理人 100110364
 弁理士 実広 信哉
 (74) 代理人 100133400
 弁理士 阿部 達彦

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗腫瘍アルカロイドを用いる、組み合わせの治療法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

治療上の有効量の P M 0 1 1 8 3 またはその薬学的に許容可能な塩を含む、癌を治療するための医薬であって、前記医薬は、治療上の有効量の抗代謝剤と相乗的に組み合わせられ、前記抗代謝剤は、5 - フルオロウラシル、ゲムシタピン、シタラピン、カペシタピン及びメトトレキサートから選択され、治療対象の前記癌が、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌及び脳癌から選択される、医薬。

【請求項 2】

P M 0 1 1 8 3 またはその薬学的に許容可能な塩および前記抗代謝剤が、同じ医薬の一部を形成する、請求項 1 に記載の医薬。

【請求項 3】

P M 0 1 1 8 3 またはその薬学的に許容可能な塩および前記抗代謝剤が、同時または異時での投与のための、別個の医薬として提供される、請求項 1 に記載の医薬。

【請求項 4】

P M 0 1 1 8 3 またはその薬学的に許容可能な塩および前記抗代謝剤が、異時での投与のための、別個の医薬として提供される、請求項 3 に記載の医薬。

【請求項 5】

前記抗代謝剤が、5 - フルオロウラシル、ゲムシタピン、シタラピンおよびメトトレキサートから選択される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の医薬。

10

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、他の抗癌薬、特に、抗腫瘍白金配位錯体、抗代謝剤、有糸分裂阻害剤、抗癌性抗生物質、トポイソメラーゼⅠ阻害剤および／またはトポイソメラーゼⅡ阻害剤、プロテアソーム阻害剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、ナイトロジェンマスタードアルキル化剤、ニトロソウレアアルキル化剤、非古典的（nonclassical）アルキル化剤、エストロゲンアンタゴニスト、アンドロゲンアンタゴニスト、mTOR阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、ならびにアブリジン、ET-743、PM02734およびPM00104から選択される他の作用剤から選択される他の抗癌薬とのPM01183の組み合わせ、ならびに癌の治療におけるこれらの組み合わせの使用に関する。

10

【背景技術】

【0002】

癌（Cancer）は、身体の一部における細胞が制御不能な状態で成長し始めた時に、発症する。多くの種類の癌が存在するが、これらは全て、異常な細胞の制御不能な成長から発生する。癌細胞は、近隣の組織に侵入することができ、血流およびリンパ系を通して、身体他の部分へと拡散することができる。複数の主要な種類の癌が存在する。カルシノーマ（Carcinoma）は、上皮細胞から発生し、非制御的且つ進行的に異常成長する、悪性新生物である。上皮細胞は、臓器、血管の内壁、および他の小腔を含む、身体の内面および外面を覆う。肉腫は、骨、軟骨、脂肪、筋肉、血管、または他の結合組織もしくは支持組織における細胞から発生する癌である。白血病は、骨髓等の血液形成組織において発生し、多数の異常な血液細胞を産生させ、血流に入らせる、癌である。リンパ腫および多発性骨髄腫は、免疫系の細胞から発生する癌である。

20

【0003】

加えて、癌は、侵入性を有し、周囲の組織に浸潤し、転移を引き起こす傾向を有する。癌は、周囲の組織中に直接拡散することができ、また、リンパ系および循環器系を通して、身体他の部分へと拡散され得る。

【0004】

外科処置、および限局性疾患に対する放射線、および化学療法を含む、多くの治療が、癌に対して利用可能である。しかしながら、多くの癌の種類に対して利用可能な治療の有効性は、限定的なものであり、臨床的利益を示す、新しく改善された形の治療が、必要とされている。これは、進行性疾患および／または転移性疾患を示す患者に、ならびに耐性の獲得または付随する毒性による治療の実施の制限のために無効または耐容不能となる、確立された治療法を用いて過去に治療された後に、進行性疾患を再発する患者に、特に当てはまる。

30

【0005】

1950年代以降、癌の化学療法的管理において、顕著な進歩が起こった。不運にも、全癌患者の50%超が、初期治療にตอบสนองしないか、または治療に対する初期応答後に再発し、最終的には、進行性転移性疾患によって死亡する。したがって、新たな抗癌剤の設計および発見に向けて継続的に専念することが、決定的に重要である。

40

【0006】

化学療法は、その古典的な形態において、DNA、RNAおよびタンパク質の生合成を含む、包括的な細胞の代謝のプロセスを標的とすることによって、増殖中の癌細胞を迅速に殺すことに主に集中してきた。化学療法薬は、それらが、癌細胞内の特定の化学物質にどのように影響を及ぼすか、それらの薬剤が、どの細胞活動または細胞プロセスを妨害するか、および、それらの薬剤が、細胞周期のうち、どの特定の期に影響を及ぼすかに基づいて、複数の群に分類される。最も一般的に使用される種類の化学療法薬は、以下のものを含む：DNAアルキル化薬（例えば、シクロホスファミド、イフォスファミド、シスプラチン、カルボプラチン、ダカルバジン）、抗代謝剤（5-フルオロウラシル、カペシタビン、6-メルカプトプリン、メトトレキサート、ゲムシタビン、シタラビン、フルダラ

50

ピン)、有糸分裂阻害剤(例えば、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンブラスチン、ビンクリスチン)、抗癌性抗生物質(例えば、ダウノルピシン、ドキソルピシン、エピルピシン、イダルビシン、ミトキサントロン)、トポイソメラーゼⅠ阻害剤および/またはトポイソメラーゼⅡ阻害剤(例えば、トポテカン、イリノテカン、エトポシド、テニポシド)、ならびにホルモン療法(例えば、タモキシフェン、フルタミド)。

【0007】

理想的な抗腫瘍薬は、非癌細胞に対するその毒性と比較して広い指数(index)で癌細胞を選択的に殺すであろうし、また、この薬剤への長期間の曝露後でさえも、癌細胞に対するその有効性を保持するであろう。不運にも、これらの作用剤を用いる現在の化学療法の中には、理想的なプロファイルを有するものがない。ほとんどのものが、非常に狭い治療指数を有しており、加えて、致死濃度を僅かに下回る濃度の化学療法剤に曝露された癌細胞は、そのような作用剤に対する耐性、および非常に多くの場合、複数の他の抗腫瘍剤に対する交差耐性を発達させることがある。

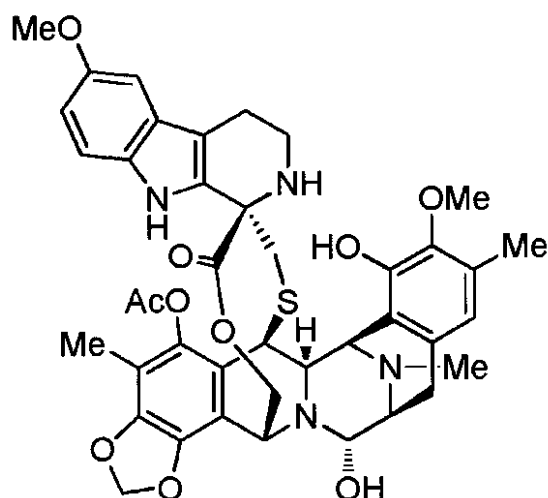
10

【0008】

トリプタミシジン(tryptamycin)としても知られるPM01183は、癌の治療に関して現在臨床試験中の合成アルカロイドであり、以下の化学構造:

【0009】

【化1】



20

30

【0010】

を有する。

【0011】

PM01183は、固形腫瘍細胞株および非固形腫瘍細胞株に対する非常に強力な*in vitro*の活性、ならびにマウスに異種移植された複数のヒト腫瘍細胞株、例えば乳癌、腎臓癌および卵巣癌の細胞株における顕著な*in vivo*の活性を示した。PM01183は、癌細胞におけるDNA二本鎖の破断、S期停止およびアポトーシスを最終的に引き起こす、DNAの副溝におけるグアニンの共有結合的修飾を介して、その抗癌効果を発揮する。この化合物に関するさらなる情報は、特許文献1、非特許文献1および非特許文献2に見出すことができる。

40

【先行技術文献】

【特許文献】

【0012】

【特許文献1】国際公開第03/01427号パンフレット

【特許文献2】国際公開第03/014127号パンフレット

【特許文献3】国際公開第2006/046079号パンフレット

【特許文献4】国際公開第2004/035613号パンフレット

50

【特許文献5】国際公開第01/87894号パンフレット

【非特許文献】

【0013】

【非特許文献1】100th AACR Annual Meeting, April 18-22, 2009, Denver, CO, Abstract Nr. 2679 and Abstract Nr. 4525

【非特許文献2】Leal JFM et al. Br. J. Pharmacol. 2010, 161, 1099-1110

【非特許文献3】“Medicinal Chemistry and Drug Discovery” 6th ed. (Donald J. Abraham ed., 2001, Wiley)

【非特許文献4】“Design and Applications of Prodrugs” (H. Bundgaard ed., 1985, Harwood Academic Publishers)

【非特許文献5】Chou T.C. Pharmacol. Rev. 2006, 58, 621-681

【非特許文献6】Chou and Talalay, Adv. Enzyme Regul. 1984, 22, 27-55

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0014】

癌は、動物およびヒトの主たる死因であるため、癌を患う患者に対して効果的且つ安全に施される治療法を得るために、いくつかの取り組みが行われてきており、現在も行われている。発明が解決しようとする課題は、癌の治療に有用な抗癌療法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0015】

本発明は、PM01183が、他の抗癌剤、特に、抗腫瘍白金配位錯体、抗代謝剤、有糸分裂阻害剤、抗癌性抗生物質、トポイソメラーゼI阻害剤および/またはトポイソメラーゼII阻害剤、プロテアソーム阻害剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、ナイトロジェンマスタードアルキル化剤、ニトロソウレアアルキル化剤、非古典的アルキル化剤、エストロゲンアンタゴニスト、アンドロゲンアンタゴニスト、mTOR阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、ならびにアブリジン、ET-743、PM02734およびPM00104から選択される他の作用剤から選択される他の抗癌薬の抗腫瘍活性を強化することを達成する。したがって、PM01183および前記他の抗癌剤を、癌の治療のための組み合わせの治療法において、首尾よく使用することができる。

【0016】

したがって、この発明は、医薬組成物、キット、これらの組み合わせの治療法を使用する癌の治療のための方法、ならびに、癌の治療におけるおよび組み合わせの治療法のための医薬の製造における両剤の使用を対象とする。

【0017】

この発明の一態様によれば、我々は、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩に基づく、および上で規定されるようなもう1つの抗癌薬を使用する、癌の治療のための、効果的な組み合わせの治療法を提供する。

【0018】

もう1つの実施形態では、本発明は、治療上の有効量のもう1つの抗癌薬と組み合わせ、治療上の有効量のPM01183またはその薬学的に許容可能な塩を投与する工程を含む、癌の治療における使用のための、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩を対象とする。

【0019】

もう1つの実施形態では、本発明は、治療上の有効量のPM01183またはその薬学的に許容可能な塩、および治療上の有効量のもう1つの抗癌薬を、そのような治療を必要とする患者に投与する工程を含む、癌を治療する方法を包含する。

【0020】

もう1つの態様では、本発明は、この他の抗癌薬と併せて、治療上の有効量のPM01183またはその薬学的に許容可能な塩を、それを必要とする患者に投与する工程を含む

10

20

30

40

50

、癌の治療における抗癌薬の治療上の有効性を、増大させるかまたは強化する方法を包含する。

【0021】

もう1つの実施形態では、本発明は、もう1つの抗癌薬とともにPM01183またはその薬学的に許容可能な塩を利用する組み合わせの治療法による癌の治療のための医薬の製造のための、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の使用を包含する。

【0022】

さらなる態様では、本発明は、癌の治療のための組み合わせの治療法において使用される、PM01183もしくはその薬学的に許容可能な塩、および/またはもう1つの抗癌薬、および薬学的に許容可能な担体を含む、医薬組成物を包含する。

10

【0023】

本発明は、また、PM01183もしくはその薬学的に許容可能な塩の剤形、および/またはもう1つの抗癌薬の剤形、ならびに組み合わせにおける両剤の使用のための説明書を含む、癌の治療における使用のためのキットを包含する。

【0024】

1つの好ましい態様では、本発明は、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、もう1つの抗癌薬との相乗的な組み合わせに関する。

【図面の簡単な説明】

【0025】

【図1】オキサリプラチンと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

20

【図2】5-フルオロウラシルと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図3】ゲムシタピンと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図4】バクリタキセルと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図5】ドセタキセルと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図6】ピンクリスチンと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

30

【図7】ダウノルビシンと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図8】マイトマイシンCと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図9】アクチノマイシンDと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図10】トポテカンと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図11】エトポシドと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

40

【図12】ボルテゾミブと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図13】ボリノスタットと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図14】シクロホスファミドと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図15】カルムスチンと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図16】ダカルバジンと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

50

*in vitro*での活性データを示す図である。

【図17】テムシロリムスと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図18】エルロチニブと組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図19】ET-743と組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図20】PM00104と組み合わせたPM01183の、A549細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図21】シスプラチンと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 10

【図22】オキサリプラチンと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図23】シタラビンと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図24】ゲムシタピンと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図25】ドセタキセルと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図26】ピンクリスチンと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 20

【図27】ピノレルピンと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図28】ダウノルビシンと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図29】マイトマイシンCと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図30】アクチノマイシンDと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図31】トポテカンと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 30

【図32】エトポシドと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図33】ボリノスタットと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図34】シクロホスファミドと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図35】ダカルバジンと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図36】テムシロリムスと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 40

【図37】エルロチニブと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図38】アプリジンと組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図39】ET-743と組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図40】PM02734と組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図41】PM00104と組み合わせたPM01183の、A673細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 50

n v i t r oでの活性データを示す図である。

【図42】シスプラチンと組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図43】5-フルオロウラシルと組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図44】シタラピンと組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図45】メトトレキサートと組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図46】ダウノルピシンと組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図47】ドキシソルピシンと組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図48】マイトマイシンCと組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図49】トポテカンと組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図50】イリノテカンと組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図51】エトポシドと組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図52】ダカルバジンと組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図53】テムシロリムスと組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図54】ET-743と組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図55】PM02734と組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図56】PM00104と組み合わせたPM01183の、SK-MEL-2細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図57】シスプラチンと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図58】オキサリプラチンと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図59】5-フルオロウラシルと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図60】シタラピンと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図61】ゲムシタピンと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図62】メトトレキサートと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図63】ドセタキセルと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図64】パクリタキセルと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図65】ビノレルピンと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、in v i t r oでの活性データを示す図である。

【図66】ダウノルピシンと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、i

10

20

30

40

50

*in vitro*での活性データを示す図である。

【図67】ドキシソルピシンと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図68】マイトマイシンCと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図69】アクチノマイシンDと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図70】トポテカンと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図71】イリノテカンと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 10

【図72】エトポシドと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図73】ボルテゾミブと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図74】ポリノスタットと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図75】フルタミドと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図76】テムシロリムスと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 20

【図77】エルロチニブと組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図78】ET-743と組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図79】PM02734と組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図80】PM00104と組み合わせたPM01183の、PC-3細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図81】シスプラチンと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 30

【図82】オキサリプラチンと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図83】シタラビンと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図84】ゲムシタビンと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図85】メトトレキサートと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図86】ダウノルピシンと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 40

【図87】ドキシソルピシンと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図88】アクチノマイシンDと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図89】トポテカンと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図90】イリノテカンと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図91】エトポシドと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*i* 50

*in vitro*での活性データを示す図である。

【図92】ボルテゾミブと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図93】ポリノスタットと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図94】テムシロリムスと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図95】エルロチニブと組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図96】ET-743と組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

10

【図97】PM02734と組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図98】PM00104と組み合わせたPM01183の、PANC-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図99】シスプラチンと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図100】オキサリプラチンと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図101】5-フルオロウラシルと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

20

【図102】シタラピンと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図103】ゲムシタピンと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図104】メトトレキサートと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図105】パクリタキセルと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図106】ピンクリスチンと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

30

【図107】ビノレルピンと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図108】ダウノルビシンと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図109】ドキソルビシンと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図110】アクチノマイシンDと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図111】トポテカンと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

40

【図112】イリノテカンと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図113】エトポシドと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図114】ボルテゾミブと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図115】ポリノスタットと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図116】シクロホスファミドと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に

50

対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図117】ダカルバジンと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図118】テムシロリムスと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図119】エルロチニブと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図120】アブリジンと組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図121】ET-743と組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 10

【図122】PM02734と組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図123】PM00104と組み合わせたPM01183の、HGC-27細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図124】シスプラチンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図125】オキサリプラチンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図126】5-フルオロウラシルと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 20

【図127】シタラピンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図128】ゲムシタピンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図129】メトトレキサートと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図130】ドセタキセルと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図131】パクリタキセルと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 30

【図132】ピンクリスチンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図133】ビノレルピンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図134】ダウノルビシンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図135】ドキシソルビシンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図136】アクチノマイシンDと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 40

【図137】マイトマイシンCと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図138】トポテカンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図139】イリノテカンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図140】エトポシドと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図141】ポリノスタットと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 50

する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図142】シクロホスファミドと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図143】カルムスチンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図144】ダカルバジンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図145】テムシロリムスと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図146】エルロチニブと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

10

【図147】アブリジンと組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図148】ET-743と組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図149】PM02734と組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図150】PM00104と組み合わせたPM01183の、IGROV-1細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図151】シスプラチンと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

20

【図152】オキサリプラチンと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図153】5-フルオロウラシルと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図154】シタラピンと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図155】ゲムシタピンと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図156】メトトレキサートと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

30

【図157】ドセタキセルと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図158】パクリタキセルと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図159】ピンクリスチンと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図160】ピノレルピンと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図161】ダウノルピシンと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

40

【図162】ドキシソルピシンと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図163】トポテカンと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図164】イリノテカンと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図165】エトポシドと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図166】ボルテゾミブと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する

50

、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図167】シクロホスファミドと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図168】エルロチニブと組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図169】ET-743と組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図170】PM00104と組み合わせたPM01183の、HEP-G2細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図171】シスプラチンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 10

【図172】オキサリプラチンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図173】5-フルオロウラシルと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図174】シタラピンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図175】ゲムシタピンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図176】メトトレキサートと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 20

【図177】ドセタキセルと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図178】パクリタキセルと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図179】ビンクリスチンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図180】ピノレルピンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図181】ダウノルビシンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 30

【図182】ドキシソルビシンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図183】アクチノマイシンDと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図184】マイトマイシンCと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図185】トポテカンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図186】イリノテカンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 40

【図187】エトポシドと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図188】ボリノスタットと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図189】シクロホスファミドと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図190】カルムスチンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図191】ダカルバジンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞 50

に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図192】タモキシフェンと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図193】テムシロリムスと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図194】エルロチニブと組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図195】ET-743と組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図196】PM02734と組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図197】PM00104と組み合わせたPM01183の、MDA-MB-231細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図198】シスプラチンと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図199】オキサリプラチンと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図200】5-フルオロウラシルと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図201】シタラピンと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図202】ゲムシタピンと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図203】ドセタキセルと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図204】ピノレルピンと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図205】ダウノルピシンと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図206】ドキシソルピシンと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図207】アクチノマイシンDと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図208】マイトマイシンCと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図209】トポテカンと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図210】イリノテカンと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図211】エトポシドと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図212】ボルテゾミブと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図213】ボリノスタットと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図214】シクロホスファミドと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図215】ダカルバジンと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図216】テムシロリムスと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する

10

20

30

40

50

、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図217】エルロチニブと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図218】アブリジンと組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図219】PM02734と組み合わせたPM01183の、HT-29細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図220】シスプラチンと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図221】5-フルオロウラシルと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 10

【図222】シタラピンと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図223】ゲムシタピンと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図224】メトトレキサートと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図225】ドセタキセルと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図226】ピンクリスチンと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 20

【図227】ピノレルピンと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図228】ダウノルビシンと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図229】ドキソルビシンと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図230】アクチノマイシンDと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図231】マイトマイシンCと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 30

【図232】トポテカンと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図233】イリノテカンと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図234】エトポシドと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図235】ポリノスタットと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図236】シクロホスファミドと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。 40

【図237】ダカルバジンと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図238】エルロチニブと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図239】アブリジンと組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図240】ET-743と組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図241】PM02734と組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する 50

する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図242】PM00104と組み合わせたPM01183の、RXF-393細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図243】シスプラチンと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図244】オキサリプラチンと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図245】5-フルオロウラシルと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図246】ゲムシタピンと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

10

【図247】メトトレキサートと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図248】ドセタキセルと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図249】ビンクリスチンと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図250】ダウノルビシンと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図251】ドキソルビシンと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

20

【図252】トポテカンと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図253】イリノテカンと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図254】エトポシドと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図255】ボルテゾミブと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図256】ボリノスタットと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

30

【図257】ダカルバジンと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図258】テムシロリムスと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図259】エルロチニブと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図260】アブリジンと組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図261】ET-743と組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

40

【図262】PM02734と組み合わせたPM01183の、U87-MG細胞に対する、*in vitro*での活性データを示す図である。

【図263】プラセボ、PM01183、パクリタキセル、およびPM01183にパクリタキセルを加えたものを用いて治療したマウスにおける、A2780腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す図である。

【図264】プラセボ、PM01183、ピノレルピン、およびPM01183にピノレルピンを加えたものを用いて治療したマウスにおける、A2780腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す図である。

【図265】プラセボ、PM01183、ドキソルビシン、およびPM01183にドキ

50

ソルピシンを加えたものを用いて治療したマウスにおける、A 2 7 8 0 腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す図である。

【図 2 6 6】プラセボ、PM 0 1 1 8 3、シスプラチン、および PM 0 1 1 8 3 にシスプラチンを加えたものを用いて治療したマウスにおける、H G C - 2 7 腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す図である。

【図 2 6 7】プラセボ、PM 0 1 1 8 3、5 - フルオロウラシル、および PM 0 1 1 8 3 に 5 - フルオロウラシルを加えたものを用いて治療したマウスにおける、H G C - 2 7 腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す図である。

【図 2 6 8】プラセボ、PM 0 1 1 8 3、ゲムシタピン、および PM 0 1 1 8 3 にゲムシタピンを加えたものを用いて治療したマウスにおける、S W 1 9 9 0 腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す図である。

10

【図 2 6 9】プラセボ、PM 0 1 1 8 3、テモゾロミド、および PM 0 1 1 8 3 にテモゾロミドを加えたものを用いて治療したマウスにおける、U 8 7 - M G 腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す図である。

【図 2 7 0】プラセボ、PM 0 1 1 8 3、イリノテカン、および PM 0 1 1 8 3 にイリノテカンを加えたものを用いて治療したマウスにおける、H 4 6 0 腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す図である。

【図 2 7 1】プラセボ、PM 0 1 1 8 3、ダカルバジン、および PM 0 1 1 8 3 にダカルバジンを加えたものを用いて治療したマウスにおける、H T 1 0 8 0 腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す図である。

20

【図 2 7 2】プラセボ、PM 0 1 1 8 3、イリノテカン、および PM 0 1 1 8 3 にイリノテカンを加えたものを用いて治療したマウスにおける、H T - 2 9 腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す図である。

【図 2 7 3】J U R K A T 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 のメトトレキセートとの組み合わせの効果を示す図である。

【図 2 7 4】M O L T - 4 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 のメトトレキセートとの組み合わせの効果を示す図である。

【図 2 7 5】J U R K A T 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 のダウノルビシンとの組み合わせの効果を示す図である。

【図 2 7 6】J U R K A T 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 のアブリジンとの組み合わせの効果を示す図である。

30

【図 2 7 7】M O L T - 4 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 のアブリジンとの組み合わせの効果を示す図である。

【図 2 7 8】J U R K A T 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 の E T - 7 4 3 との組み合わせの効果を示す図である。

【図 2 7 9】M O L T - 4 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 の E T - 7 4 3 との組み合わせの効果を示す図である。

【図 2 8 0】J U R K A T 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 の PM 0 0 1 0 4 との組み合わせの効果を示す図である。

【図 2 8 1】M O L T - 4 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 の PM 0 0 1 0 4 との組み合わせの効果を示す図である。

40

【図 2 8 2】J U R K A T 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 の PM 0 2 7 3 4 との組み合わせの効果を示す図である。

【図 2 8 3】M O L T - 4 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 の PM 0 2 7 3 4 との組み合わせの効果を示す図である。

【図 2 8 4】R A M O S 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 のシタラピンとの組み合わせの効果を示す図である。

【図 2 8 5】R A M O S 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 のメトトレキセートとの組み合わせの効果を示す図である。

【図 2 8 6】U - 9 3 7 細胞株における、PM 0 1 1 8 3 のメトトレキセートとの組み合

50

わせの効果を示す図である。

【図287】RAMOS細胞株における、PM01183のゲムシタピンとの組み合わせの効果を示す図である。

【図288】U-937細胞株における、PM01183のゲムシタピンとの組み合わせの効果を示す図である。

【図289】RAMOS細胞株における、PM01183のダウノルビシンとの組み合わせの効果を示す図である。

【図290】U-937細胞株における、PM01183のダウノルビシンとの組み合わせの効果を示す図である。

【図291】RAMOS細胞株における、PM01183のET-743との組み合わせの効果を示す図である。

10

【図292】U-937細胞株における、PM01183のET-743との組み合わせの効果を示す図である。

【図293】RAMOS細胞株における、PM01183のPM00104との組み合わせの効果を示す図である。

【図294】U-937細胞株における、PM01183のPM00104との組み合わせの効果を示す図である。

【図295】RAMOS細胞株における、PM01183のPM02734との組み合わせの効果を示す図である。

【図296】U-937細胞株における、PM01183のPM02734との組み合わせの効果を示す図である。

20

【発明を実施するための形態】

【0026】

我々は、他の抗癌薬をPM01183と組み合わせると、PM01183が、これらの抗癌薬の抗癌活性を著しく増強することを、驚くべきことに見出した。したがって、本発明は、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、もう1つの抗癌薬との組み合わせに基づいて、癌の効果的な治療を提供することを対象とする。

【0027】

本出願では、「癌」は、腫瘍、新生物、および、悪性の組織または細胞を原因として有する任意の他の悪性疾患を含むことを意味する。

30

【0028】

「治療」という用語は、本明細書で使用される場合、他に指定がない限り、そのような用語が適用される疾患もしくは病態、またはそのような障害もしくは病態の1つもしくは複数の症状の進行を逆行させる、軽減する、または阻害することを意味する。「治療」という用語は、本明細書で使用される場合、他に指定がない限り、直ぐ上で「治療」を定義したように、治療する行為を表す。

【0029】

「組み合わせ」という用語は、本明細書全体を通じて使用される場合、同じまたは別個の薬学的配合物における、および同時または異時での、関連する治療剤の、癌を患う患者への投与を包含することを意味する。異時において前記治療剤が投与される場合、それらは、起こるべき応答の強化または相乗的応答をもたらすために、十分に近い時間において投与するべきである。

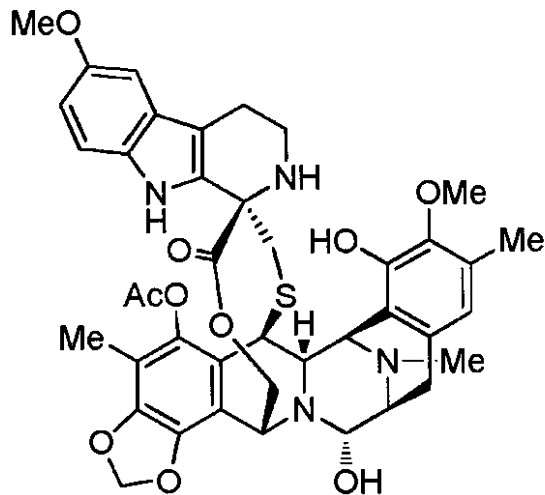
40

【0030】

上で言及されたように、PM01183は、以下の構造：

【0031】

【化 2】



10

【 0 0 3 2 】

を有する合成アルカロイドである。

【 0 0 3 3 】

「PM01183」という用語は、ここでは、患者に投与すると、本明細書において記載されるような化合物を（直接的にまたは間接的に）もたらしることができる、任意の薬学的に許容可能な塩、溶媒和物、水和物、プロドラッグ、または任意の他の化合物を包含することを意図する。塩、溶媒和物、水和物およびプロドラッグの調製を、当該技術分野で知られる方法によって実施することができる。

20

【 0 0 3 4 】

薬学的に許容可能な塩は、従来の化学的方法によって、塩基性部分または酸性部分を含有する元となる化合物から、合成することができる。概して、そのような塩は、例えば、水もしくは有機溶媒またはこれら2つの混合物において、これらの化合物の遊離酸または遊離塩基の形態を、化学量論量の適切な塩基または酸と反応させることによって、調製される。一般的には、非水性媒体、例えばエーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノールまたはアセトニトリルが、好ましい。酸付加塩の例は、例えば塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硫酸塩、硝酸塩、リン酸塩等の鉱酸付加塩、ならびに例えば酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、シュウ酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、リンゴ酸塩、マンデル酸塩、メタンスルホン酸塩およびp-トルエンスルホン酸塩等の有機酸付加塩を含む。アルカリ付加塩の例は、例えばナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩およびアンモニウム塩等の無機塩、ならびに例えばエチレンジアミン塩、エタノールアミン塩、N,N-ジアルキルエタノールアミン塩、トリエタノールアミン塩および塩基性アミノ酸塩等の有機アルカリ塩を含む。

30

【 0 0 3 5 】

PM01183のプロドラッグである任意の化合物は、本発明の範囲および精神の範囲内のものである。「プロドラッグ」という用語は、その最も広い意味において使用され、*in vivo*でPM01183へと変換されるそれらの誘導体を包含する。前記プロドラッグは、生物学的条件下で、加水分解するか、酸化するか、またはそうでなくとも反応させて、PM01183をもたらしすることができる。プロドラッグの例は、生体内加水分解性(biohydrolyzable)部分、例えば生体内加水分解性アミド、生体内加水分解性エステル、生体内加水分解性カルバメート、生体内加水分解性カーボネート、生体内加水分解性ウレイドおよび生体内加水分解性ホスフェート類似体を含む、PM01183の誘導体および代謝産物を含むが、これらに限定されない。プロドラッグは、典型的には、周知の方法、例えば非特許文献3および非特許文献4においてBurgerによって記載される方法を使用して、調製することができる。

40

50

【 0 0 3 6 】

加えて、本明細書において言及される任意の薬剤は、遊離化合物または溶媒和物（例えば、水和物）として、非結晶形態または結晶形態であってもよく、両方の形態が本発明の範囲内のものであることが意図される。溶媒和の方法は、当該技術分野内において一般的に知られている。

【 0 0 3 7 】

さらに、本発明による使用のための P M 0 1 1 8 3 は、参照によって本明細書に援用される特許文献 2 に開示される合成プロセス等の合成プロセスによって、調製することができる。

【 0 0 3 8 】

使用することができる P M 0 1 1 8 3 のまたはその薬学的に許容可能な塩の医薬組成物は、静脈内投与に好適な賦形剤とともに、溶液、懸濁物、エマルション、凍結乾燥した組成物等を含む。好ましくは、P M 0 1 1 8 3 は、治療上の使用に十分な配合で P M 0 1 1 8 3 および賦形剤を含む、無菌の凍結乾燥製品として、供給および保存することができる。P M 0 1 1 8 3 またはその薬学的に許容可能な塩の医薬組成物に関するさらなる指針については、例えば、参照によって本明細書に援用される特許文献 3 に記載される配合物を参照されたい。

【 0 0 3 9 】

P M 0 1 1 8 3 もしくはその薬学的に許容可能な塩、または前記化合物を含む医薬組成物の投与は、好ましくは、静脈内注入によるものである。最大 7 2 時間、より好ましくは 1 時間と 2 4 時間との間の注入時間を使用することができ、約 1 時間または約 3 時間が最も好ましい。病院における終夜の滞在を行うことなく治療を実施することを可能とする、短い注入時間が、特に望ましい。しかしながら、注入は、必要に応じて、約 2 4 時間またはさらに長い時間であってもよい。

【 0 0 4 0 】

好ましくは、P M 0 1 1 8 3 の投与は、周期的に行われる。好ましい投与スケジュールでは、P M 0 1 1 8 3 の静脈内注入を、各周期の第一週に、患者に対して施し、前記周期の残りにおいて、前記患者を回復させる。各周期の好ましい期間は、3 週間または 4 週間の期間である。必要に応じて複数の周期を与えてもよい。3 週間に 1 回、約 1 時間の静脈内注入による P M 0 1 1 8 3 またはその薬学的に許容可能な塩の投与が、最も好ましい投与スケジュールであるが、変形形態として、他のプロトコルを策定してもよい。

【 0 0 4 1 】

本発明では、癌の治療における、P M 0 1 1 8 3 またはその薬学的に許容可能な塩の、抗腫瘍白金配位錯体、抗代謝剤、有糸分裂阻害剤、抗癌性抗生物質、トポイソメラーゼ I 阻害剤および/またはトポイソメラーゼ II 阻害剤、プロテアソーム阻害剤、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤、ナイトロジェンマスタードアルキル化剤、ニトロソウレアアルキル化剤、非古典的アルキル化剤、エストロゲンアンタゴニスト、アンドロゲンアンタゴニスト、m T O R 阻害剤、チロシンキナーゼ阻害剤、ならびにアブリジン、E T - 7 4 3、P M 0 2 7 3 4 および P M 0 0 1 0 4 から選択される他の作用剤から選択されるもう 1 つの抗癌薬との組み合わせが、特に好ましい。

【 0 0 4 2 】

特に好ましい癌の種類は、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、膀胱カルシノーマ、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、甲状腺癌、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ（肝臓癌としても知られる）、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、食道癌、神経芽細胞腫、脳癌、子宮頸部癌、肛門癌、精巣癌、白血病、多発性骨髄腫およびリンパ腫から選択される、癌の種類である。

【 0 0 4 3 】

好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、脳癌およびリンパ腫から選択される癌の治療における、P M 0 1 1 8 3 またはその薬学的に許容可能な塩の、抗腫瘍白金配位錯体との組み合わせを対象と

10

20

30

40

50

する。この化学療法剤群は、シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチン、四硝酸トリプラチン (triplatin tetranitrate) (BBR3464)、サトラプラチン、テトラプラチン (tetraplatin)、オルミプラチン (ormiplatin)、イプロプラチン (iproplatin)、ネダプラチンおよびロバプラチンを含むが、これらに限定されない。PM01183 またはその薬学的に許容可能な塩の、シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチン、四硝酸トリプラチン、サトラプラチン、テトラプラチン、オルミプラチン、イプロプラチン、ネダプラチンおよびロバプラチンとの組み合わせが、特に好ましく、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌および脳癌から選択される癌の治療における、シスプラチンおよびオキサリプラチンとの組み合わせが、さらにより好ましい。

10

【0044】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、膀胱カルシノーマ、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、食道癌、脳癌、肛門癌、白血病およびリンパ腫から選択される癌の治療における、PM01183 またはその薬学的に許容可能な塩の、抗代謝剤との組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、5-フルオロウラシル、ゲムシタピン、シタラピン、カペシタピン、デシタピン、フロクスウリジン、フルダラピン、アミノプテリン、メトトレキセート、ペメトレキセド、ラルチトレキセド、クラドリピン、クロファラビン、メルカプトプリン、ペントスタチンおよびチオグアニンを含むが、これらに限定されない。PM01183 またはその薬学的に許容可能な塩の、5-フルオロウラシル、ゲムシタピン、シタラピン、カペシタピン、デシタピン、フロクスウリジン、フルダラピン、アミノプテリン、メトトレキセート、ペメトレキセド、ラルチトレキセド、クラドリピン、クロファラビン、メルカプトプリン、ペントスタチンおよびチオグアニンとの組み合わせが、特に好ましく、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、脳癌、白血病およびリンパ腫から選択される癌の治療における、5-フルオロウラシル、ゲムシタピン、シタラピンおよびメトトレキセートとの組み合わせが、さらにより好ましい。

20

【0045】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、前立腺癌、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、脳癌、白血病およびリンパ腫から選択される癌の治療における、PM01183 またはその薬学的に許容可能な塩の、有糸分裂阻害剤との組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシンおよびビノレルピンを含むが、これらに限定されない。PM01183 またはその薬学的に許容可能な塩の、パクリタキセル、ドセタキセル、ビンブラスチン、ビンクリスチン、ビンデシンおよびビノレルピンとの組み合わせが、特に好ましく、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、前立腺癌、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌および脳癌から選択される癌の治療における、パクリタキセル、ドセ

30

40

【0046】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、膀胱カルシノーマ、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、甲状腺癌、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、神経芽細胞腫、脳癌、肛門癌、精巣癌、白血病、多発性骨髄腫およびリンパ腫の治療における、PM01183 またはその薬学的に許容可能な塩の、抗癌性抗生物質との組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、ミトキサントロン、ピクサントロン、バルルビシン、マイトマイシンC、ブレオマイシン、アクチノマイシンAおよびミトラマイシンを含むが、これらに限定されない。PM0118

50

3 またはその薬学的に許容可能な塩の、ダウノルビシン、ドキソルビシン、エピルビシン、イダルビシン、ミトキサントロン、ピクサントロン、バルルビシン、マイトマイシンC、ブレオマイシン、アクチノマイシンDおよびミトラマイシンとの組み合わせが、特に好ましく、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、脳癌、白血病およびリンパ腫の治療における、ダウノルビシン、ドキソルビシン、マイトマイシンCおよびアクチノマイシンDとの組み合わせが、さらにより好ましい。

【0047】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、神経芽細胞腫、脳癌、子宮頸部癌、精巣癌、白血病およびリンパ腫の治療における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、トポイソメラーゼI阻害剤および/またはトポイソメラーゼII阻害剤との組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、トポテカン、SN-38、イリノテカン、カンプトテシン、ルビテカン、エトポシド、アムサクリンおよびテニポシドを含むが、これらに限定されない。PM00104またはその薬学的に許容可能な塩の、トポテカン、SN-38、イリノテカン、カンプトテシン、ルビテカン、エトポシド、アムサクリンおよびテニポシドとの組み合わせが、特に好ましく、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌および脳癌の治療における、トポテカン、イリノテカンおよびエトポシドとの組み合わせが、さらにより好ましい。

【0048】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、ヘパトーマ、結腸直腸癌、脳癌、多発性骨髄腫およびリンパ腫の治療における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、プロテアソーム阻害剤との組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、ボルテゾミブ、ジスルフィラム、エピガロカテキンガレートおよびサリノスポラミドAを含むが、これらに限定されない。PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、ボルテゾミブ、ジスルフィラム、エピガロカテキンガレートおよびサリノスポラミドAとの組み合わせが、特に好ましく、癌の治療における、より具体的には、肺癌、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、ヘパトーマ、結腸直腸癌および脳癌の治療における、ボルテゾミブとの組み合わせが、さらにより好ましい。

【0049】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、脳癌およびリンパ腫の治療における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤との組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、ロミデプシン、パノビノスタット、ポリノスタット、モセチノスタット(mocetino stat)、ベリノスタット(belinostat)、エンチノスタット、レスミノスタット、PCI-24781、AR-42、CUDC-101およびバルプロ酸を含むが、これらに限定されない。PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、ロミデプシン、パノビノスタット、ポリノスタット、モセチノスタット、ベリノスタット、エンチノスタット、レスミノスタット、PCI-24781、AR-42、CUDC-101およびバルプロ酸との組み合わせが、特に好ましく、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌および脳癌の治療における、ポリノスタットとの組み合わせが、さらにより好ましい。

【0050】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、膀胱カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、白血病、多発性骨髄腫およびリンパ腫の治療における、PM01183または

10

20

30

40

50

その薬学的に許容可能な塩の、ナイトロジェンマスタードアルキル化剤との組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、メルファラン、イフォスファミド、クロラムブシル、シクロホスファミド、メクロレタミン、ウラムスチン、エストラムスチンおよびベンダムスチンを含むが、これらに限定されない。PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、メルファラン、イフォスファミド、クロラムブシル、シクロホスファミド、メクロレタミン、ウラムスチン、エストラムスチンおよびベンダムスチンとの組み合わせが、特に好ましく、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌および腎臓癌の治療における、シクロホスファミドとの組み合わせが、さらにより好ましい。

【0051】

10

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、卵巣癌、乳癌、脳癌、多発性骨髄腫およびリンパ腫の治療における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、ニトロソウレアアルキル化剤との組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、ロムスチン、セムスチン、カルムスチン、ホテムスチンおよびストレプトゾトシンを含むが、これらに限定されない。PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、ロムスチン、セムスチン、カルムスチン、ホテムスチンおよびストレプトゾトシンとの組み合わせが、特に好ましく、癌の治療における、より具体的には、肺癌、卵巣癌および乳癌の治療における、カルムスチンとの組み合わせが、さらにより好ましい。

【0052】

20

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、脳癌、白血病およびリンパ腫の治療における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、非古典的アルキル化剤との組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、プロカルバジン、ダカルバジン、テモゾロミドおよびアルトレタミンを含むが、これらに限定されない。PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、プロカルバジン、ダカルバジン、テモゾロミドおよびアルトレタミンとの組み合わせが、特に好ましく、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、胃カルシノーマ、卵巣癌、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌および脳癌の治療における、ダカルバジンおよびテモゾロミドとの組み合わせが、さらにより好ましい。

30

【0053】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、乳癌の治療における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、エストロゲンアンタゴニストとの組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、トレミフェン、フルベストラント、タモキシフェンおよびナフォキシジンを含むが、これらに限定されない。PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、トレミフェン、フルベストラント、タモキシフェンおよびナフォキシジンとの組み合わせが、特に好ましく、乳癌の治療における、タモキシフェンとの組み合わせが、さらにより好ましい。

【0054】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、前立腺癌の治療における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、アンドロゲンアンタゴニストとの組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、ピカルタミド、フルタミド、MDV3100およびニルタミドを含むが、これらに限定されない。PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、ピカルタミド、フルタミド、MDV3100およびニルタミドとの組み合わせが、特に好ましく、前立腺癌の治療における、フルタミドとの組み合わせが、さらにより好ましい。

40

【0055】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌および脳癌の治療における、PM01183またはその薬学的に許容

50

可能な塩の、mTOR阻害剤との組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス、リダフォロリムス、KU-0063794およびWYE-354を含むが、これらに限定されない。PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、シロリムス、テムシロリムス、エベロリムス、リダフォロリムス、KU-0063794およびWYE-354との組み合わせが、特に好ましく、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、乳癌、結腸直腸癌および脳癌の治療における、テムシロリムスとの組み合わせが、さらにより好ましい。

【0056】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌および脳癌から選択される癌の治療における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、チロシンキナーゼ阻害剤との組み合わせを対象とする。この化学療法剤群は、エルロチニブ、ソラフェニブ、アキシチニブ、ボスチニブ、セジラニブ、クリゾチニブ、ダサチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ、カネルチニブ、ラパチニブ、レスタウルチニブ、ネラチニブ、ニロチニブ、セマキサニブ(semaxanib)、スニチニブ、バタラニブおよびバンデタニブを含むが、これらに限定されない。PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、エルロチニブ、ソラフェニブ、アキシチニブ、ボスチニブ、セジラニブ、クリゾチニブ、ダサチニブ、ゲフィチニブ、イマチニブ、カネルチニブ、ラパチニブ、レスタウルチニブ、ネラチニブ、ニロチニブ、セマキサニブ、スニチニブ、バタラニブおよびバンデタニブとの組み合わせが、特に好ましく、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌および脳癌から選択される癌の治療における、エルロチニブとの組み合わせが、さらにより好ましい。

【0057】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肉腫、胃カルシノーマ、卵巣癌、結腸直腸癌、腎臓癌、脳癌および白血病から選択される癌の治療における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、アブリジンとの組み合わせを対象とする。

【0058】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、腎臓癌、白血病およびリンパ腫から選択される癌の治療における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、ET-743(トラベクテジン)との組み合わせを対象とする。

【0059】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肉腫、悪性黒色腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、脳癌、白血病およびリンパ腫から選択される癌の治療における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、PM02734との組み合わせを対象とする。

【0060】

PM02734((4S)-MeHex-D-Val-L-Thr-L-Val-D-Val-D-Pro-L-Orn-D-allo-Ile-cyclo(D-allo-Thr-D-allo-Ile-D-Val-L-Phe-Z-Dhb-L-Val))は、癌の治療に関して現在臨床試験中である、カハラリド(kahalalide)化合物のファミリーと関連する合成デプシペプチドである。この化合物は、特許文献4の主題であり、以下の構造：

【0061】

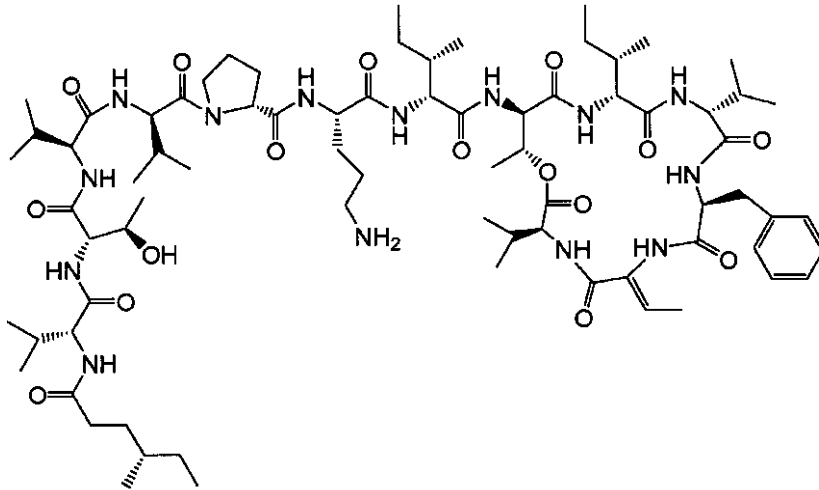
10

20

30

40

【化 3】



10

【 0 0 6 2 】

を有する。

【 0 0 6 3 】

もう1つの好ましい実施形態では、本発明は、癌の治療における、より具体的には、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、腎臓癌、白血病およびリンパ腫から選択される癌の治療における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の、PM00104との組み合わせを対象とする。

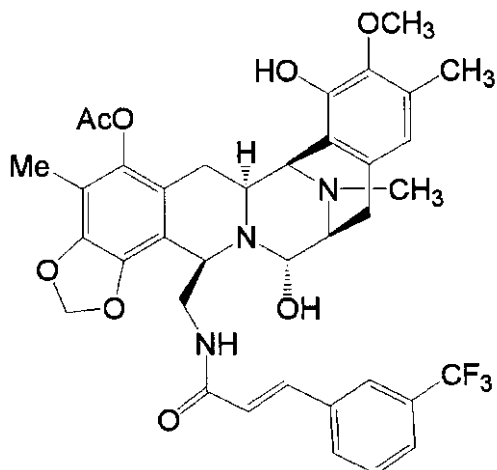
20

【 0 0 6 4 】

PM00104は、癌の治療に関して現在臨床試験中である、ジョルマイシン (jorumycin) およびレニエラマイシン (renieramycins) と、また、サフラシン (safracin) およびサフラマイシン (saframycin) 化合物と関連する合成アルカロイドであり、以下の構造：

【 0 0 6 5 】

【化 4】



30

40

【 0 0 6 6 】

を有する。

【 0 0 6 7 】

PM00104に関するさらなる詳細については、特許文献5を参照されたい。

【 0 0 6 8 】

本発明は、先に開示されたような従来の化学的な方法によって元となる化合物から合成

50

することができる、本明細書において言及される任意の薬剤の任意の薬学的に許容可能な塩を含む。

【0069】

一実施形態では、本発明は、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩、および上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬を利用する、相乗的な組み合わせに関する。相乗作用の指標は、前記組み合わせを試験すること、および、例えばChou-Talalay法によって、または任意の他の好適な方法、例えば実施例の節において提示される方法によって、結果を解析することによって、得ることができる。

【0070】

相乗作用についての考え得る有利な結果は、以下を含む：1) 治療効果の有効性を増大させること、2) 投与量を減少させるが、同じ有効性を増大させるかまたは維持し、その結果、毒性を回避すること、3) 薬剤耐性の発生を最低限に抑えるかまたは遅延化させること、および4) 宿主と比較した際の(すなわち、毒性の拮抗作用)、標的に対する(すなわち、有効性の相乗作用)選択的な相乗作用をもたらすこと。したがって、相乗作用を有する2つの化学療法剤の組み合わせにおいては、治療計画は、2つの薬剤の組み合わせが相加的な効果しか示さないものとは異なるであろう。これに関して、相乗作用が存在する場合、同じかまたはさらにより大きな有効性を得るために、作用剤の一方または両方の必要とされる投与量を(単独療法において使用される量と比較して)より少なくすることができ、考え得る副作用を低減するかまたはさらには回避することができる。代替的には、組み合わせにおける両剤の投与量が、単独で(単一の作用剤として)投与した場合の投与量と同じである場合、組み合わせの有効性の増大を期待することができる。したがって、所与の薬剤の組み合わせにおける相乗作用の存在は、治療の長さおよび/または治療計画を変更するであろう。

【0071】

もう1つの実施形態では、本発明は、上で示される薬剤のリストから選択される抗癌薬の、癌の治療における治療上の有効性を、増大させるかまたは強化する方法に関し、前記方法は、この他の抗癌薬と併せて、治療上の有効量のPM01183またはその薬学的に許容可能な塩を、それを必要とする患者に投与する工程を含む。治療上の有効性の増大または強化の指標は、前記組み合わせを試験すること、および、結果、例えば腫瘍の成長の阻害を解析することによって、得ることができる。この腫瘍の成長の阻害は、2つの薬剤(PM01183および他の薬剤)を組み合わせた治療の平均腫瘍体積を、他の薬剤の単独療法の治療のものと比較することによって、評価することができる。これに関して、治療上の有効性の増大または強化は、組み合わせの治療法の応答が、組み合わせの治療法において使用されるのと同じスケジュールおよび用量によって単一の作用剤として投与(単独療法)された最も活性の高い薬剤の最良の応答より大きい場合に、決定される。本発明のこの態様は、実施例の節において、具体的には実施例13から19において、さらに例示される。

【0072】

もう1つの態様では、本発明は、上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬とともに、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩を利用する組み合わせの治療法による癌の治療のための医薬の製造のための、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の使用を対象とする。

【0073】

さらなる態様では、本発明は、癌の治療のための方法を対象とし、前記方法は、治療上の有効量の上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬と組み合わせ、治療上の有効量のPM01183またはその薬学的に許容可能な塩を、そのような治療を必要とする患者に投与する工程を含む。

【0074】

もう1つの態様では、本発明は、治療上の有効量の上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬と組み合わせ、治療上の有効量のPM01183またはその薬

10

20

30

40

50

学的に許容可能な塩を投与する工程を含む、癌の治療における使用のための、PMO1183またはその薬学的に許容可能な塩を対象とする。

【0075】

本発明によれば、PMO1183またはその薬学的に許容可能な塩、および他の抗癌薬は、同時または異時での投与のために、同じ医薬においてまたは別個の医薬として、提供することができる。好ましくは、PMO1183またはその薬学的に許容可能な塩、および他の抗癌薬は、異時での投与のために、別個の医薬として提供される。別々に且つ異時において投与する場合、PMO1183もしくはその薬学的に許容可能な塩、または他の抗癌薬のいずれかを、最初に投与することができる。加えて、両剤を、同じ日にまたは異なる日に投与することができ、これらを、治療の周期の間、同じスケジュールを使用してまたは異なるスケジュールで、投与することができる。加えて、両剤の投与を、同じ投与経路または異なる経路を使用することによって、行うことができる。例えば、両剤を、静脈内投与によって、投与することができ、または代替的には、一方の薬剤を経口的に、他方の薬剤を静脈内投与によって、投与することができる。

10

【0076】

したがって、本発明の医薬組成物は、単一の薬学的に許容可能な配合物に全ての成分（薬剤）を含んでいてもよく、または代替的には、前記成分が、別々に配合され、互いに組み合わせられて投与されてもよい。当業者に周知の様々な薬学的に許容可能な配合物を、本発明において使用することができる。さらに、本発明における使用のための適切な配合物の選択を、当業者は、組成物の成分の投与経路および溶解性を考慮に入れることによって、行うことができる。

20

【0077】

組み合わせにおける両剤の適正な投与量は、特定の配合物、適用様式、ならびに治療される特定の部位、患者および腫瘍に従って変化し得る。他の因子、例えば患者の年齢、体重、性別、食事、投与時間、排泄率、状態、他の薬剤の組み合わせ、反応感受性、および疾患の重症度を、考慮に入れるべきである。投与は、最大耐量の範囲内において、連続的にまたは周期的に、実施することができる。

【0078】

本発明の組み合わせを、単独で、または様々な抗癌剤もしくは支持療法剤の1つもしくは複数と組み合わせ、使用することができる。

30

【0079】

加えて、腫瘍の種類、および疾患の発生段階に応じて、本発明の治療の抗癌効果は、腫瘍の成長の阻害、腫瘍の成長の遅延化、腫瘍の退縮（regression）、腫瘍の縮小、治療の休止時における腫瘍の再成長までの時間の増大、疾患の進行の緩徐化、および転移の防止を含むがこれらに限定されない。そのような治療を必要とする患者、例えばヒト患者に本発明の治療が施される場合、前記治療が、例えば、抗癌効果の程度、応答速度、疾患の進行までの時間、または生存率によって測定されるような効果をもたらすことが期待される。特に、本発明の治療は、ヒト患者、特に再発しているまたは以前の化学療法に効果が無いヒト患者に適している。一次治療法も想定される。

【0080】

40

もう1つの態様では、本発明は、少なくとも1周期のための投与単位における、PMO1183またはその薬学的に許容可能な塩の供給物、および、組み合わせにおいて上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬を用いる、PMO1183またはその薬学的に許容可能な塩の使用のための、印刷された説明書を含む、癌の治療における使用のためのキットを対象とする。

【0081】

関連の態様では、本発明は、少なくとも1周期のための投与単位における、PMO1183またはその薬学的に許容可能な塩の供給物、少なくとも1周期のための投与単位における、上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬の供給物、および、組み合わせにおける両剤の使用のための印刷された説明書を含む、癌の治療における使用の

50

ためのキットを対象とする。

【 0 0 8 2 】

もう1つの態様では、本発明は、また、癌の治療における、上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬との組み合わせにおける使用のための、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩、および薬学的に許容可能な担体または賦形剤を含む、医薬組成物を提供する。

【 0 0 8 3 】

さらなる態様では、本発明は、また、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩、上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬、および薬学的に許容可能な担体を含む、医薬組成物を提供する。この医薬組成物は、癌の治療における使用に関して好ましい。

10

【 0 0 8 4 】

もう1つの態様では、本発明は、癌の治療における、上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬との組み合わせにおける使用のための組成物の調製における、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の使用をさらに提供する。

【 0 0 8 5 】

もう1つの態様では、本発明は、上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬との組み合わせの治療法における癌の治療のための、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩の使用をさらに提供する。

【 0 0 8 6 】

20

一実施形態では、癌細胞を、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩、および上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬の組み合わせと接触させるか、またはそうでなくともこれによって処理する。前記癌細胞は、好ましくはヒトの癌細胞であり、カルシノーマ細胞、肉腫細胞、白血病細胞、リンパ腫細胞および骨髄腫細胞を含む。より好ましくは、前記癌細胞は、肺癌、肉腫、悪性黒色腫、膀胱カルシノーマ、前立腺癌、膵臓カルシノーマ、甲状腺癌、胃カルシノーマ、卵巣癌、ヘパトーマ、乳癌、結腸直腸癌、腎臓癌、食道癌、神経芽細胞腫、脳癌、子宮頸部癌、肛門癌、精巣癌、白血病、多発性骨髄腫およびリンパ腫の細胞である。加えて、前記組み合わせは、上で言及された癌細胞に対して、特にヒトの癌細胞に対して、相乗的な阻害効果をもたらす。

【 0 0 8 7 】

30

例えば、前記組み合わせは、接触させた癌細胞の増殖または生存を阻害する。接触させていない癌細胞と比較した、接触させた癌細胞のより低いレベルの増殖または生存は、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩、および上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬の組み合わせが、癌を有する患者を治療するために効果的であることを裏付ける。

【 0 0 8 8 】

もう1つの態様では、本発明は、癌細胞の成長を阻害するための方法を提供し、前記方法は、前記癌細胞を、上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬と組み合わせ、有効量のPM01183またはその薬学的に許容可能な塩と接触させる工程を含む。

40

【 0 0 8 9 】

もう1つの態様では、本発明は、癌細胞の成長を阻害するための方法を提供し、前記方法は、前記癌細胞を、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩、および上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬の相乗的な組み合わせと接触させる工程を含み、前記組み合わせは、(i)他の抗癌薬の非存在下におけるPM01183もしくはその薬学的に許容可能な塩、または(ii)PM01183の非存在下における他の抗癌薬と比較して、癌細胞の成長に対する阻害の改善をもたらす。

【 0 0 9 0 】

もう1つの態様では、本発明は、癌細胞の成長を阻害するための、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩、および上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つ

50

の抗癌薬の相乗的な組み合わせを含む医薬組成物を提供し、前記組み合わせは、(i)他の抗癌薬の非存在下におけるPM01183もしくはその薬学的に許容可能な塩、または(ii)PM01183の非存在下における他の抗癌薬と比較して、癌細胞の成長に対する阻害の改善をもたらす。

【0091】

もう1つの実施形態では、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩、および上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬の組み合わせは、*in vivo*で、腫瘍の成長を阻害するか、または腫瘍の大きさを低減する。特に、前記組み合わせは、カルシノーマ、肉腫、白血病、リンパ腫および骨髄腫の、*in vivo*での成長を阻害し、および/または大きさを低減する。好ましくは、前記組み合わせは、肺、肉腫、悪性黒色腫、膀胱、前立腺、膵臓、甲状腺、胃、卵巣、ヘパトーマ、乳房、結腸直腸、腎臓、食道、神経芽細胞腫、脳、子宮頸部、肛門、精巣、白血病、多発性骨髄腫およびリンパ腫の腫瘍の、*in vivo*での腫瘍の成長を阻害する。

10

【0092】

例えば、これらの組み合わせは、動物モデルにおいて、ヒトの癌の異種移植片、特にヒトの胃、膵臓、肉腫、肺、結腸直腸および卵巣の腫瘍の異種移植片の、腫瘍の成長を阻害するか、または大きさを低減する。これらの組み合わせを投与された動物モデルにおける、ヒトの癌の異種移植片の成長の低減または大きさの低減は、PM01183またはその薬学的に許容可能な塩、および上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬の組み合わせが、癌を有する患者を治療するために効果的であることをさらに裏付ける。

20

【0093】

したがって、もう1つの態様では、本発明は、腫瘍の大きさを低減するための方法を提供し、前記方法は、上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬と組み合わせ、有効量のPM01183またはその薬学的に許容可能な塩を投与する工程を含む。

【0094】

もう1つの態様では、本発明は、腫瘍の成長を阻害するための方法を提供し、前記方法は、上で示される薬剤のリストから選択されるもう1つの抗癌薬と組み合わせ、有効量のPM01183またはその薬学的に許容可能な塩を投与する工程を含む。

30

【0095】

以下の実施例が、本発明をさらに例示する。これらの実施例を、本発明の範囲を限定するものと解釈すべきではない。

【0096】

より簡潔な説明を提供するために、本明細書において示される定量的表現のうちのいくつかについては、「約」という用語を用いて説明して(qualified)いない。「約」という用語が明示的に使用されるか否かに関わらず、本明細書において示される全ての量が、実際の示される値を表すことを意味することが理解され、また、そのような示される値に対する実験条件および/または測定条件に基づく同等の値(equivalents)および近似値を含む、当該技術分野における通常の技能に基づいて合理的に推測されるような示される値に対する近似値を表すことが意味される。

40

【実施例】

【0097】

実施例1．ヒト肺カルシノーマ細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせたPM01183の効果を決定するための、*in vitro*の研究

この研究の目的は、肺カルシノーマの治療において使用される化学療法剤の抗腫瘍活性を強化する、PM01183の能力を決定することであった。

【0098】

以下の作用剤を、PM01183と組み合わせ、評価した：オキサリプラチン、カルムスチン、シクロホスファミド、マイトマイシンC(これらの化合物のストック溶液は、無

50

菌の再蒸留水において調製し、 -20°C で保存した)、5-フルオロウラシル(5-FU)、ゲムシタピン、パクリタキセル、ドセタキセル、ピンクリスチン、ダウノルピシン、アクチノマイシンD、トポテカン、エトポシド、ボルテゾミブ、ボリノスタット、ダカルバジン、テムシロリムス、エルロチニブ、ET-743およびPM00104(これらの化合物のストック溶液は、純粋なDMSOにおいて調製し、 -20°C で保存した)。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、 $4\times$ の最終濃度を達成した。1ウェル当たり $50\mu\text{L}$ の一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

【0099】

A549は、このアッセイのために選択されたヒト肺カルシノーマ細胞株であった。A549細胞を、 37°C 、5% CO_2 および湿度95%で、10%ウシ胎児血清(FBS)、2mM L-グルタミン、および100単位/mLのペニシリン-ストレプトマイシンを添加したダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)において維持した。

10

【0100】

スクリーニングを、2つのパートにおいて行った：

【0101】

a. 第一のアッセイ組において、 IC_{50} 値を、A549細胞における72時間の薬剤曝露の後で、各々の薬剤について決定した。簡潔に述べると、細胞を回収し、96ウェルマイクロタイタープレートにおいて、 $150\mu\text{L}$ の培養培地中5000個の細胞の密度で播種し、ビヒクル単独または試験化合物による72hの処理の前に、薬剤を含まない培地において24時間インキュベートした。

20

【0102】

細胞毒性効果を、生細胞のミトコンドリア中で紫色のホルマザンへと還元されるテトラゾールである3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミドを使用する、MTT還元アッセイによって測定した。MTT(1mg/mLのストック溶液 $50\mu\text{L}$)を、ウェルに添加して、ホルマザン結晶が形成されるまで、 37°C で8時間インキュベートした。培養培地を穏やかに除去した後、DMSOを添加して、不溶性の紫色のホルマザン生成物を溶解させ、有色の溶液とした。ウェルの吸光度を、 540nm で光学密度を測定することによって、定量化した。結果を、対照たる細胞の成長の百分率として表現した。組み合わせの研究に使用される IC_{50} 値(細胞の成長の50%の阻害をもたらす薬剤の濃度)を、Prism v5.02ソフトウェア(GraphPad)を使用して算出した。結果は、モル濃度として表現され、2回から4回の独立のアッセイの平均を表した。

30

【0103】

A549腫瘍細胞株に対する各々の個々の作用剤の IC_{50} 値(72時間の薬剤曝露)を、表1に示す。

【0104】

【表 1】

表 1：作用剤の各々についての IC_{50} 値（単位：モル濃度（M））

化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)
PM01183	3.60E-09	オキサリプラチン	9.00E-04	5-FU	9.23E-05
ゲムシタビン	2.80E-10	バクリタキセル	4.00E-08	ドセタキセル	3.00E-09
ビンクリスチン	2.50E-07	ダウノルビシン	3.55E-07	マイトマイシン C	2.49E-04
アクチノマイシン D	4.70E-09	トポテカン	8.00E-07	エトポシド	7.82E-07
ボルテゾミブ	3.10E-09	ボリノスタット	6.81E-06	シクロホスファミド	1.00E-03
カルムスチン	1.00E-03	ダカルバジン	6.00E-04	テムシロリムス	3.29E-06
エルロチニブ	1.00E-05	ET-743	2.25E-08	PM00104	7.00E-09

10

【0105】

b. 第二のアッセイ組において、A549 ヒト腫瘍細胞を、上で言及された作用剤の各々と組み合わせた PM01183 とともにインキュベートした。先に得られた IC_{50} 値を、各々の化合物についての出発濃度（100%濃度）として使用した。各々の化合物対

20

について、初期 IC_{50} 値の百分率（100%、75%、70%、60%、50%、40%

相補的な（反対の濃度）用量応答曲線において試験した。

PM01183 の IC_{50}	作用剤の IC_{50}
100%	0%
75%	25%
70%	30%
60%	40%
50%	50%
40%	60%
30%	70%
25%	75%
0%	100%

30

【0106】

視覚的な助けとして、応答値を、散布図にプロットし、用量比率を x 軸上に示し、応答値（%）を y 軸上に示した。横線を、2つの端点の応答値の間（例えば、100% IC_{50} の PM01183 についての応答値と、100% IC_{50} の標準化学療法剤についての応答値との間）に描いた。2つの端点における応答値がおおよそ同等であった場合、この相加性の予測線の上または下に位置する点は、それぞれ、拮抗的または相乗的な薬剤相互作用を示すものと解釈することができた。

40

【0107】

in vitro における、各々の薬剤の PM01183 との組み合わせは、相乗的、相加的または拮抗的である可能性を有する。腫瘍細胞に対する相乗的な細胞毒性は、最適な効果であり、PM01183 のもう1つの薬剤との組み合わせが、いずれかの単独の薬剤よりも効果的であることを示唆する。

【0108】

このアッセイによって、A549 ヒト肺カルシノーマ細胞株において、以下のことが見出された：

a. PM01183 のオキサリプラチンとの組み合わせは、強い相乗作用を示した（図1）。

50

b. PM01183の5-フルオロウラシルとの組み合わせ(図2)、およびPM01183のゲムシタピンとの組み合わせ(図3)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

c. PM01183のパクリタキセルとの組み合わせは、50/50から40/60の用量比率で、相乗作用を示し(図4)、PM01183のドセタキセルとの組み合わせは、75/25および50/50の用量比率で、相乗作用を示し(図5)、PM01183のピンクリスチンとの組み合わせは、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した(図6)。

d. PM01183のダウノルピシンとの組み合わせ(図7)、PM01183のマイトマイシンCとの組み合わせ(図8)、およびPM01183のアクチノマイシンDとの組み合わせ(図9)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

e. PM01183のトボテカンとの組み合わせは、強い相乗作用を示し(図10)、PM01183のエトポシドとの組み合わせは、60/40および25/75の用量比率で、相乗作用を示した(図11)。

f. PM01183のボルテゾミブとの組み合わせは、40/60から30/70の用量比率で、相乗作用を示した(図12)。

g. PM01183のポリノスタットとの組み合わせ(図13)は、ほとんど全ての用量比率で、強い相乗作用を示した。

h. PM01183のシクロホスファミドとの組み合わせ(図14)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

i. PM01183のカルムスチンとの組み合わせは、強い相乗作用を示した(図15)。

j. PM01183のダカルバジンとの組み合わせは、強い相乗作用を示した(図16)。

k. PM01183のテムシロリムスとの組み合わせは、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した(図17)。

l. PM01183のエルロチニブとの組み合わせは、強い相乗作用を示した(図18)。

m. PM01183のET-743との組み合わせは、75/25から60/40および30/70の用量比率で、相乗作用を示した(図19)。

n. PM01183のPM00104との組み合わせ(図20)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

【0109】

実施例2. ヒト肉腫細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせたPM01183の効果を決定するための、*in vitro*の研究。

この研究の目的は、肉腫の治療において使用される化学療法剤の抗腫瘍活性を強化する、PM01183の能力を決定することであった。

【0110】

以下の作用剤を、PM01183と組み合わせで評価した：シスプラチン、オキサリプラチン、シクロホスファミド、マイトマイシンC(これらの化合物のストック溶液は、無菌の再蒸留水において調製し、-20℃で保存した)、ゲムシタピン、ドセタキセル、ピンクリスチン、ピノレルピン、ダウノルピシン、シタラピン、アクチノマイシンD、トボテカン、エトポシド、ポリノスタット、ダカルバジン、テムシロリムス、エルロチニブ、アブリジン、PM02734、ET-743およびPM00104(これらの化合物のストック溶液は、純粋なDMSOにおいて調製し、-20℃で保存した)。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4xの最終濃度を達成した。1ウェル当たり50μLの一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

【0111】

A673は、このアッセイのために選択されたヒト横紋筋肉腫細胞株であった。A673細胞を、37℃、5%CO₂および湿度95%で、10%ウシ胎児血清(FBS)、2

10

20

30

40

50

mM L - グルタミン、および 100 単位 / mL のペニシリン - ストレプトマイシンを添加したダルベッコ変法イーグル培地 (DMEM) において維持した。

【0112】

スクリーニングを、実施例 1 に開示されるような 2 つのパートにおいて行った：

【0113】

a . 第一のアッセイ組において、 IC_{50} 値を、A673 腫瘍細胞株における 72 時間の薬剤曝露の後で、各々の薬剤について決定した。

【0114】

A673 腫瘍細胞株に対する各々の個々の作用剤の IC_{50} 値 (72 時間の薬剤曝露) を、実施例 1 に開示されるものと同じ方法論を使用することによって、算出した。それを、表 2 に示す。

【0115】

【表 2】

表 2：作用剤の各々についての IC_{50} 値 (単位：モル濃度 (M))

化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)
PM01183	2.20E-09	シスプラチン	3.03E-05	オキサリプラチン	7.80E-05
シタラビン	1.97E-07	ゲムシタビン	4.34E-10	ドセタキセル	6.50E-10
ピンクリスチン	8.60E-09	ビノレルビン	5.00E-08	ダウノルビシン	5.20E-07
マイトマイシン C	2.99E-06	アクチノマイシン D	9.56E-10	トポテカン	2.40E-08
エトポシド	1.55E-06	ボリノスタット	2.16E-06	シクロホスファミド	1.00E-03
ダカルバジン	3.00E-04	テムシロリムス	1.00E-06	エルロチニブ	5.00E-05
アブリジン	2.16E-09	ET-743	1.90E-09	PM02734	3.60E-06
PM00104	3.00E-09				

【0116】

b . 第二のアッセイ組において、A673 ヒト腫瘍細胞を、実施例 1 に記載されるものと同じ特有の IC_{50} 濃度の組み合わせにおける、上で言及された作用剤の各々と組み合わせた PM01183 とともに、インキュベートした。

【0117】

細胞培養および細胞のプレーティングを、先に記載されるように行い、細胞毒性効果を、実施例 1 に開示されるように MTT アッセイによって測定した。

【0118】

このアッセイによって、A673 ヒト肉腫細胞株において、以下のことが見出された：

a . PM01183 のシスプラチンとの組み合わせ (図 21)、および PM01183 のオキサリプラチンとの組み合わせ (図 22) は、強い相乗作用を示した。

b . PM01183 のシタラビンとの組み合わせは、強い相乗作用を示し (図 23)、PM01183 のゲムシタビンとの組み合わせは、75 / 25 から 70 / 30 の用量比率で、相乗作用を示した (図 24)。

c . PM01183 のドセタキセルとの組み合わせ (図 25)、PM01183 のピンクリスチンとの組み合わせ (図 26)、および PM01183 のビノレルビンとの組み合わせ (図 27) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

d . PM01183 のダウノルビシンとの組み合わせ (図 28)、および PM01183 のアクチノマイシン D との組み合わせ (図 30) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し、PM01183 のマイトマイシン C との組み合わせ (図 29) は、強い相乗作用を示した。

e . PM01183 のトポテカンとの組み合わせ (図 31)、および PM01183 の

エトポシドとの組み合わせ（図 3 2）は、ほとんど全ての用量比率で、強い相乗作用を示した。

f . P M 0 1 1 8 3 のポリノスタットとの組み合わせ（図 3 3）は、強い相乗作用を示した。

g . P M 0 1 1 8 3 のシクロホスファミドとの組み合わせ（図 3 4）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

h . P M 0 1 1 8 3 のダカルバジンとの組み合わせは、7 5 / 2 5 から 7 0 / 3 0 および 4 0 / 6 0 の用量比率で、相乗作用を示した（図 3 5）。

i . P M 0 1 1 8 3 のテムシロリムスとの組み合わせは、強い相乗作用を示した（図 3 6）。

j . P M 0 1 1 8 3 のエルロチニブとの組み合わせは、強い相乗作用を示した（図 3 7）。

k . P M 0 1 1 8 3 のアブリジンとの組み合わせは、5 0 / 5 0 から 3 0 / 7 0 の用量比率で、相乗作用を示した（図 3 8）。

l . P M 0 1 1 8 3 の E T - 7 4 3 との組み合わせ（図 3 9）は、3 0 / 7 0 から 2 5 / 7 5 の用量比率で、相乗作用を示した。

m . P M 0 1 1 8 3 の P M 0 2 7 3 4 との組み合わせ（図 4 0）は、7 5 / 2 5 および 4 0 / 6 0 の用量比率で、相乗作用を示した。

n . P M 0 1 1 8 3 の P M 0 0 1 0 4 との組み合わせは、相乗作用を示した（図 4 1）。

【 0 1 1 9 】

実施例 3 . ヒト悪性黒色腫細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせた P M 0 1 1 8 3 の効果を決定するための、*i n v i t r o* の研究。

この研究の目的は、悪性黒色腫の治療において使用される化学療法剤の抗腫瘍活性を強化する、P M 0 1 1 8 3 の能力を決定することであった。

【 0 1 2 0 】

以下の作用剤を、P M 0 1 1 8 3 と組み合わせて評価した：シスプラチン、マイトマイシン C（これらの化合物のストック溶液は、無菌の再蒸留水において調製し、- 2 0 で保存した）、5 - フルオロウラシル、ドキソルビシン、ダウノルビシン、シタラビン、トポテカン、イリノテカン、メトトレキセート、エトポシド、ダカルバジン、テムシロリムス、P M 0 2 7 3 4、E T - 7 4 3 および P M 0 0 1 0 4（これらの化合物のストック溶液は、純粋な D M S O において調製し、- 2 0 で保存した）。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4 × の最終濃度を達成した。1 ウェル当たり 5 0 μ L の一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

【 0 1 2 1 】

S K - M E L - 2 は、このアッセイのために選択されたヒト黒色腫細胞株であった。S K - M E L - 2 細胞を、3 7 、5 % C O 2 および湿度 9 5 % で、1 0 % ウシ胎児血清（F B S）、2 m M L - グルタミン、および 1 0 0 単位 / m L のペニシリン - ストレプトマイシンを添加したイーグル最小必須培地（M E M E）において維持した。

【 0 1 2 2 】

スクリーニングを、実施例 1 に開示されるような 2 つのパートにおいて行った：

【 0 1 2 3 】

a . 第一のアッセイ組において、I C ₅₀ 値を、S K - M E L - 2 腫瘍細胞株における 7 2 時間の薬剤曝露の後で、各々の薬剤について決定した。

【 0 1 2 4 】

S K - M E L - 2 腫瘍細胞株に対する各々の個々の作用剤の I C ₅₀ 値（7 2 時間の薬剤曝露）を、実施例 1 に開示されるものと同じ方法論を使用することによって、算出した。それを、表 3 に示す。

【 0 1 2 5 】

【表 3】

表 3：作用剤の各々についての IC_{50} 値（単位：モル濃度 (M)）

化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)
PM01183	2.00E-09	シスプラチン	1.60E-04	5-FU	7.00E-04
シタラビン	3.89E-06	メトトレキセート	1.00E-04	ダウノルビシン	1.77E-07
ドキソルビシン	3.00E-07	マイトマイシン C	9.00E-07	トポテカン	4.37E-07
イリノテカン	1.80E-05	エトポシド	2.89E-06	ダカルバジン	6.30E-04
テムシロリムス	5.00E-05	ET-743	2.00E-09	PM02734	1.76E-06
PM00104	2.00E-09				

10

【0126】

b. 第二のアッセイ組において、SK-MEL-2 腫瘍細胞を、実施例 1 に記載されるものと同じ特有の IC_{50} 濃度の組み合わせにおける、上で言及された作用剤の各々と組み合わせた PM01183 とともに、インキュベートした。

【0127】

細胞培養および細胞のプレーティングを、先に記載されるように行い、細胞毒性効果を、実施例 1 に開示されるように MTT アッセイによって測定した。

20

【0128】

このアッセイによって、SK-MEL-2 ヒト黒色腫細胞株において、以下のことが見出された：

a. PM01183 のシスプラチンとの組み合わせ（図 42）は、75 / 25、50 / 50 および 30 / 70 の用量比率で、相乗作用を示した。

b. PM01183 の 5 - フルオロウラシルとの組み合わせ（図 43）、PM01183 のシタラビンとの組み合わせ（図 44）、および PM01183 のメトトレキセートとの組み合わせ（図 45）は、強い相乗作用を示した。

c. PM01183 のダウノルビシンとの組み合わせ（図 46）、および PM01183 のドキソルビシンとの組み合わせ（図 47）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し、PM01183 のマイトマイシン C との組み合わせ（図 48）は、強い相乗作用を示した。

30

d. PM01183 のトポテカンとの組み合わせ（図 49）、PM01183 のイリノテカンとの組み合わせ（図 50）、および PM01183 のエトポシドとの組み合わせ（図 51）は、相乗作用を示し、いくつかの用量比率においては、さらに強い相乗作用を示した。

e. PM01183 のダカルバジンとの組み合わせは、相乗作用を示した（図 52）。

f. PM01183 のテムシロリムスとの組み合わせは、強い相乗作用を示した（図 53）。

g. PM01183 の ET-743 との組み合わせ（図 54）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

40

h. PM01183 の PM02734 との組み合わせ（図 55）は、25 / 75 から 50 / 50 の用量比率で、相乗作用を示した。

i. PM01183 の PM00104 との組み合わせ（図 56）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

【0129】

実施例 4. ヒト前立腺カルシノーマ細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせた PM01183 の効果を決定するための、*in vitro* の研究。

この研究の目的は、前立腺癌の治療において使用される化学療法剤の抗腫瘍活性を強化する、PM01183 の能力を決定することであった。

50

【 0 1 3 0 】

以下の作用剤を、PM01183と組み合わせて評価した：シスプラチン、オキサリプラチン、マイトマイシンC（これらの化合物のストック溶液は、無菌の再蒸留水において調製し、-20℃で保存した）、5-フルオロウラシル、ゲムシタビン、ドセタキセル、パクリタキセル、ビノレルビン、ダウノルビシン、シタラビン、ドキソルビシン、アクチノマイシンD、トポテカン、イリノテカン、メトトレキセート、エトポシド、ボリノスタット、テムシロリムス、ボルテゾミブ、エルロチニブ、フルタミド、PM02734、ETT-743およびPM00104（これらの化合物のストック溶液は、純粋なDMSOにおいて調製し、-20℃で保存した）。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4×の最終濃度を達成した。1ウェル当たり50μLの一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

10

【 0 1 3 1 】

PC-3は、このアッセイのために選択されたヒト前立腺腺カルシノーマ細胞株であった。PC-3細胞を、37℃、5%CO₂および湿度95%で、10%ウシ胎児血清（FBS）、2mM L-グルタミン、および100単位/mLのペニシリン-ストレプトマイシンを添加したロズウェルパーク記念研究所培地（RPMI）において維持した。

【 0 1 3 2 】

スクリーニングを、実施例1に開示されるような2つのパートにおいて行った：

【 0 1 3 3 】

a. 第一のアッセイ組において、IC₅₀値を、PC-3腫瘍細胞株における72時間の薬剤曝露の後で、各々の薬剤について決定した。

20

【 0 1 3 4 】

PC-3腫瘍細胞株に対する各々の個々の作用剤のIC₅₀値（72時間の薬剤曝露）を、実施例1に開示されるものと同じ方法論を使用することによって、算出した。それを、表4に示す。

【 0 1 3 5 】

【表4】

表4：作用剤の各々についてのIC₅₀値（単位：モル濃度（M））

化合物	IC ₅₀ (M)	化合物	IC ₅₀ (M)	化合物	IC ₅₀ (M)
PM01183	2.60E-09	シスプラチン	1.10E-04	オキサリプラチン	1.71E-04
5-FU	1.00E-03	シタラビン	4.00E-05	ゲムシタビン	4.00E-07
メトトレキセート	1.20E-04	ドセタキセル	1.86E-08	パクリタキセル	9.00E-08
ビノレルビン	1.00E-05	ダウノルビシン	1.15E-06	ドキソルビシン	1.48E-06
マイトマイシンC	1.00E-05	アクチノマイシンD	1.00E-08	トポテカン	6.33E-07
イリノテカン	7.00E-05	エトポシド	4.80E-05	ボルテゾミブ	8.00E-07
ボリノスタット	3.90E-06	フルタミド	4.90E-05	テムシロリムス	5.00E-07
エルロチニブ	2.33E-04	ETT-743	8.00E-09	PM02734	5.40E-07
PM00104	7.10E-09				

30

40

【 0 1 3 6 】

b. 第二のアッセイ組において、PC-3ヒト腫瘍細胞を、実施例1に記載されるものと同じ特有のIC₅₀濃度の組み合わせにおける、上で言及された作用剤の各々と組み合わせたPM01183とともに、インキュベートした。

【 0 1 3 7 】

細胞培養および細胞のプレーティングを、先に記載されるように行い、細胞毒性効果を、実施例1に開示されるようにMTTアッセイによって測定した。

50

【 0 1 3 8 】

このアッセイによって、P C - 3 ヒト前立腺癌細胞株において、以下のことが見出された：

a . P M 0 1 1 8 3 のシスプラチンとの組み合わせ（図 5 7 ）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し、P M 0 1 1 8 3 のオキサリプラチンとの組み合わせ（図 5 8 ）は、強い相乗作用を示した。

b . P M 0 1 1 8 3 の 5 - フルオロウラシルとの組み合わせ（図 5 9 ）、および P M 0 1 1 8 3 のシタラピンとの組み合わせ（図 6 0 ）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し、P M 0 1 1 8 3 のゲムシタピンとの組み合わせは、強い相乗作用を示した（図 6 1 ）。最後に、P M 0 1 1 8 3 とメトトレキセートとの組み合わせは、3 0 / 7 0 から 2 5 / 7 5 の用量比率で、相乗作用を示した（図 6 2 ）。

c . P M 0 1 1 8 3 のドセタキセルとの組み合わせは、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し（図 6 3 ）、P M 0 1 1 8 3 のパクリタキセルとの組み合わせ（図 6 4 ）は、4 0 / 6 0 から 3 0 / 7 0 の用量比率で、相乗作用を示した。P M 0 1 1 8 3 のピノレルピンとの組み合わせ（図 6 5 ）は、強い相乗作用を示した。

d . P M 0 1 1 8 3 のダウノルピシンとの組み合わせ（図 6 6 ）、および P M 0 1 1 8 3 のドキソルピシンとの組み合わせ（図 6 7 ）は、強い相乗作用を示した。P M 0 1 1 8 3 のマイトマイシン C との組み合わせ（図 6 8 ）、および P M 0 1 1 8 3 のアクチノマイシン D との組み合わせ（図 6 9 ）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

e . P M 0 1 1 8 3 のトポテカンとの組み合わせ（図 7 0 ）、および P M 0 1 1 8 3 のイリノテカンとの組み合わせ（図 7 1 ）は、強い相乗作用を示し、P M 0 1 1 8 3 のエトポシドとの組み合わせ（図 7 2 ）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

f . P M 0 1 1 8 3 のボルテゾミブとの組み合わせ（図 7 3 ）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

g . P M 0 1 1 8 3 のポリノスタットとの組み合わせ（図 7 4 ）は、相乗作用を示した。

h . P M 0 1 1 8 3 のフルタミドとの組み合わせ（図 7 5 ）は、4 0 / 6 0 から 2 5 / 7 5 の用量比率で、相乗作用を示した。

i . P M 0 1 1 8 3 のテムシロリムスとの組み合わせは、強い相乗作用を示した（図 7 6 ）。

j . P M 0 1 1 8 3 のエルロチニブとの組み合わせ（図 7 7 ）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

k . P M 0 1 1 8 3 の E T - 7 4 3 との組み合わせ（図 7 8 ）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

l . P M 0 1 1 8 3 の P M 0 2 7 3 4 との組み合わせ（図 7 9 ）は、7 5 / 2 5 から 7 0 / 3 0 および 3 0 / 7 0 の用量比率で、相乗作用を示した。

m . P M 0 1 1 8 3 の P M 0 0 1 0 4 との組み合わせは、強い相乗作用を示した（図 8 0 ）。

【 0 1 3 9 】

実施例 5 . ヒト膵臓カルシノーマ細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせた P M 0 1 1 8 3 の効果を決定するための、*i n v i t r o* の研究。

この研究の目的は、膵臓カルシノーマの治療において使用される化学療法剤の抗腫瘍活性を強化する、P M 0 1 1 8 3 の能力を決定することであった。

【 0 1 4 0 】

以下の作用剤を、P M 0 1 1 8 3 と組み合わせて評価した：シスプラチン、オキサリプラチン（これらの化合物のストック溶液は、無菌の再蒸留水において調製し、- 2 0 で保存した）、ゲムシタピン、ダウノルピシン、シタラピン、ドキソルピシン、アクチノマイシン D 、トポテカン、イリノテカン、メトトレキセート、エトポシド、ポリノスタット、テムシロリムス、ボルテゾミブ、エルロチニブ、P M 0 2 7 3 4 、E T - 7 4 3 および P M 0 0 1 0 4 （これらの化合物のストック溶液は、純粋な D M S O において調製し、-

10

20

30

40

50

20 で保存した)。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4×の最終濃度を達成した。1ウェル当たり50μLの一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

【0141】

PANC-1は、このアッセイのために選択されたヒト膵臓カルシノーマ細胞株であった。PANC-1細胞を、37℃、5%CO₂および湿度95%で、10%ウシ胎児血清(FBS)、2mM L-グルタミン、および100単位/mLのペニシリン-ストレプトマイシンを添加したロズウェルパーク記念研究所培地(RPMI)において維持した。

【0142】

スクリーニングを、実施例1に開示されるような2つのパートにおいて行った：

【0143】

a. 第一のアッセイ組において、IC₅₀値を、PANC-1腫瘍細胞株における72時間の薬剤曝露の後で、各々の薬剤について決定した。

【0144】

PANC-1腫瘍細胞株に対する各々の個々の作用剤のIC₅₀値(72時間の薬剤曝露)を、実施例1に開示されるものと同じ方法論を使用することによって、算出した。それを、表5に示す。

【0145】

【表5】

表5：作用剤の各々についてのIC₅₀値(単位：モル濃度(M))

化合物	IC ₅₀ (M)	化合物	IC ₅₀ (M)	化合物	IC ₅₀ (M)
PM01183	2.80E-09	シスプラチン	1.47E-04	オキサリプラチン	1.84E-04
シタラビン	9.00E-05	ゲムシタビン	1.00E-06	メトトレキサート	1.00E-05
ダウノルビシン	8.69E-07	ドキソルビシン	3.45E-06	アクチノマイシンD	2.20E-08
トポテカン	4.37E-06	イリノテカン	9.00E-05	エトポシド	1.00E-05
ボルテゾミブ	4.16E-07	ボリノスタット	6.05E-06	テムシロリムス	1.00E-05
エルロチニブ	4.16E-07	ET-743	2.10E-08	PM02734	9.00E-06
PM00104	7.89E-09				

【0146】

b. 第二のアッセイ組において、PANC-1ヒト腫瘍細胞を、実施例1に記載されるものと同じ特有のIC₅₀濃度の組み合わせにおける、上で言及された作用剤の各々と組み合わせたPM01183とともに、インキュベートした。

【0147】

細胞培養および細胞のプレーティングを、先に記載されるように行い、細胞毒性効果を、実施例1に開示されるようにMTTアッセイによって測定した。

【0148】

このアッセイによって、PANC-1ヒト膵臓カルシノーマ細胞株において、以下のことが見出された：

a. PM01183のシスプラチンとの組み合わせ(図81)、およびPM01183のオキサリプラチンとの組み合わせ(図82)は、強い相乗作用を示した。

b. PM01183のシタラビンとの組み合わせ(図83)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し、PM01183のゲムシタビンとの組み合わせ(図84)、およびPM01183のメトトレキサートとの組み合わせ(図85)は、強い相乗作用を示した。

c. PM01183のダウノルビシンとの組み合わせ(図86)、およびPM0118

3 のドキソルビシンとの組み合わせ (図 8 7) は、相乗作用を示し、PM01183 のアクチノマイシン D との組み合わせ (図 8 8) は、75 / 25 および 30 / 70 から 25 / 75 の用量比率で、相乗作用を示した。

d . PM01183 のトポテカンとの組み合わせ (図 8 9) 、および PM01183 のイリノテカンとの組み合わせ (図 9 0) は、強い相乗作用を示し、PM01183 のエトポシドとの組み合わせ (図 9 1) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

e . PM01183 のボルテゾミブとの組み合わせ (図 9 2) は、75 / 25 から 70 / 30 および 50 / 50 の用量比率で、相乗作用を示した。

f . PM01183 のポリノスタットとの組み合わせ (図 9 3) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

g . PM01183 のテムシロリムスとの組み合わせは、強い相乗作用を示した (図 9 4) 。

h . PM01183 のエルロチニブとの組み合わせは、強い相乗作用を示した (図 9 5) 。

i . PM01183 の ET - 743 との組み合わせ (図 9 6) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

j . PM01183 の PM02734 との組み合わせ (図 9 7) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

k . PM01183 の PM00104 との組み合わせは、75 / 25 および 50 / 50 の用量比率で、相乗作用を示した (図 9 8) 。

【0149】

実施例 6 . ヒト胃カルシノーマ細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせた PM01183 の効果を決定するための、*in vitro* の研究。

この研究の目的は、胃癌の治療において使用される化学療法剤の抗腫瘍活性を強化する、PM01183 の能力を決定することであった。

【0150】

以下の作用剤を、PM01183 と組み合わせて評価した：シスプラチン、オキサリプラチン、シクロホスファミド (これらの化合物のストック溶液は、無菌の再蒸留水において調製し、-20 で保存した)、5 - フルオロウラシル、ゲムシタビン、パクリタキセル、ビンクリスチン、ビノレルビン、ダウノルビシン、ダカルバジン、シタラビン、ドキソルビシン、アクチノマイシン D、トポテカン、イリノテカン、メトトレキセート、エトポシド、ポリノスタット、テムシロリムス、ボルテゾミブ、エルロチニブ、アブリジン、PM02734、ET - 743 および PM00104 (これらの化合物のストック溶液は、純粋な DMSO において調製し、-20 で保存した)。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4 x の最終濃度を達成した。1 ウェル当たり 50 μ L の一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

【0151】

HGC - 27 は、このアッセイのために選択されたヒト胃カルシノーマ細胞株であった。HGC - 27 細胞を、37 、5 % CO₂ および湿度 95 % で、10 % ウシ胎児血清 (FBS)、2 mM L - グルタミン、および 100 単位 / mL のペニシリン - ストレプトマイシンを添加したイスコブ変法ダルベッコ培地 (IDMD) において維持した。

【0152】

スクリーニングを、実施例 1 に開示されるような 2 つのパートにおいて行った：

【0153】

a . 第一のアッセイ組において、IC₅₀ 値を、HGC - 27 腫瘍細胞株における 72 時間の薬剤曝露の後で、各々の薬剤について決定した。

【0154】

HGC - 27 腫瘍細胞株に対する各々の個々の作用剤の IC₅₀ 値 (72 時間の薬剤曝露) を、実施例 1 に開示されるものと同じ方法論を使用することによって、算出した。それを、表 6 に示す。

10

20

30

40

50

【 0 1 5 5 】

【表 6】

表 6：作用剤の各々についての IC_{50} 値（単位：モル濃度（M））

化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)
PM01183	8.50E-10	シスプラチン	8.00E-05	オキサリプラチン	1.06E-04
5-FU	1.00E-05	シタラビン	5.00E-05	ゲムシタビン	5.34E-10
メトトレキセート	3.30E-08	パクリタキセル	5.00E-09	ビンクリスチン	1.25E-08
ビノレルビン	6.50E-08	ダウノルビシン	3.72E-07	ドキシソルビシン	5.40E-08
アクチノマイシンD	3.74E-09	トポテカン	8.08E-07	イリノテカン	4.00E-06
エトポシド	2.90E-06	ボルテゾミブ	5.60E-09	ポリノスタット	1.20E-06
シクロホスファミド	1.00E-03	ダカルバジン	3.46E-04	テムシロリムス	1.50E-07
エルロチニブ	7.50E-06	アブリジン	9.00E-09	ET-743	5.80E-09
PM02734	9.50E-07	PM00104	3.20E-09		

10

【 0 1 5 6 】

20

b. 第二のアッセイ組において、HGC-27ヒト腫瘍細胞を、実施例1に記載されるものと同じ特有の IC_{50} 濃度の組み合わせにおける、上で言及された作用剤の各々と組み合わせたPM01183とともに、インキュベートした。

【 0 1 5 7 】

細胞培養および細胞のプレーティングを、先に記載されるように行い、細胞毒性効果を、実施例1に開示されるようにMTTアッセイによって測定した。

【 0 1 5 8 】

このアッセイによって、HGC-27ヒト胃カルシノーマ細胞株において、以下のことが見出された：

a. PM01183のシスプラチンとの組み合わせ（図99）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し、PM01183のオキサリプラチンとの組み合わせ（図100）は、強い相乗作用を示した。

30

b. PM01183の5-フルオロウラシルとの組み合わせ（図101）、およびPM01183のシタラビンとの組み合わせ（図102）は、相乗作用を示し、さらには、いくつかの用量比率においては、強い相乗作用を示した。PM01183のゲムシタビンとの組み合わせ（図103）、およびPM01183のメトトレキセートとの組み合わせ（図104）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

c. PM01183のパクリタキセルとの組み合わせは、強い相乗作用を示した（図105）。PM01183のビンクリスチンとの組み合わせ（図106）、およびPM01183のビノレルビンとの組み合わせ（図107）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

40

d. PM01183のダウノルビシンとの組み合わせ（図108）、およびPM01183のアクチノマイシンDとの組み合わせ（図110）は、強い相乗作用を示した。PM01183のドキシソルビシンとの組み合わせ（図109）は、75/25から60/40の用量比率で、相乗作用を示した。

e. PM01183のトポテカンとの組み合わせは、強い相乗作用を示した（図111）。PM01183のイリノテカンとの組み合わせ（図112）は、70/30から60/40および40/60の用量比率で、相乗作用を示し、PM01183のエトポシドとの組み合わせ（図113）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

f. PM01183のボルテゾミブとの組み合わせは、強い相乗作用を示した（図114）

50

4)。

g. PM01183のポリノスタットとの組み合わせ(図115)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

h. PM01183のシクロホスファミドとの組み合わせは、強い相乗作用を示した(図116)。

i. PM01183のダカルバジンとの組み合わせは、強い相乗作用を示した(図117)。

j. PM01183のテムシロリムスとの組み合わせは、強い相乗作用を示した(図118)。

k. PM01183のエルロチニブとの組み合わせは、強い相乗作用を示した(図119)。

l. PM01183のアプリジンとの組み合わせは、強い相乗作用を示した(図120)。

m. PM01183のET-743との組み合わせ(図121)は、50/50および75/25の用量比率で、相乗作用を示した。

n. PM01183のPM02734との組み合わせは、強い相乗作用を示した(図122)。

o. PM01183のPM00104との組み合わせ(図123)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

【0159】

実施例7. ヒト卵巣カルシノーマ細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせたPM01183の効果を決定するための、*in vitro*の研究。

この研究の目的は、卵巣癌の治療において使用される化学療法剤の抗腫瘍活性を強化する、PM01183の能力を決定することであった。

【0160】

以下の作用剤を、PM01183と組み合わせて評価した：シスプラチン、オキサリプラチン、シクロホスファミド、カルムスチン、マイトマイシンC(これらの化合物のストック溶液は、無菌の再蒸留水において調製し、-20℃で保存した)、5-フルオロウラシル、ゲムシタピン、ドセタキセル、パクリタキセル、ピンクリスチン、ビノレルビン、ダウノルビシン、ダカルバジン、シタラビン、ドキシソルビシン、アクチノマイシンD、トポテカン、イリノテカン、メトトレキサート、エトポシド、ポリノスタット、テムシロリムス、エルロチニブ、アプリジン、PM02734、ET-743およびPM00104(これらの化合物のストック溶液は、純粋なDMSOにおいて調製し、-20℃で保存した)。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4×の最終濃度を達成した。1ウェル当たり50μLの一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

【0161】

IGROV-1は、このアッセイのために選択されたヒト卵巣腺カルシノーマ細胞株であった。IGROV-1細胞を、37℃、5%CO₂および湿度95%で、10%ウシ胎児血清(FBS)、2mM L-グルタミン、および100単位/mLのペニシリン-ストレプトマイシンを添加したロズウェルパーク記念研究所培地(RPMI)において維持した。

【0162】

スクリーニングを、実施例1に開示されるような2つのパートにおいて行った：

【0163】

a. 第一のアッセイ組において、IC₅₀値を、IGROV-1腫瘍細胞株における72時間の薬剤曝露の後で、各々の薬剤について決定した。

【0164】

IGROV-1腫瘍細胞株に対する各々の個々の作用剤のIC₅₀値(72時間の薬剤曝露)を、実施例1に開示されるものと同じ方法論を使用することによって、算出した。それを、表7に示す。

10

20

30

40

50

【 0 1 6 5 】

【表 7】

表 7：作用剤の各々についての IC_{50} 値（単位：モル濃度（M））

化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)
PM01183	3.20E-09	シスプラチン	7.00E-05	オキサリプラチン	8.50E-06
5-FU	9.00E-05	シタラビン	1.17E-05	ゲムシタビン	6.34E-09
メトトレキサート	1.00E-04	ドセタキセル	5.01E-08	パクリタキセル	9.50E-08
ピンクリスチン	3.79E-07	ビノレルビン	1.39E-06	ダウノルビシン	3.55E-07
ドキソルビシン	2.59E-07	アクチノマイシンD	3.29E-09	マイトマイシンC	3.00E-06
トポテカン	3.00E-07	イリノテカン	1.00E-05	エトポシド	3.06E-06
ポリノスタット	2.88E-06	カルムスチン	7.12E-04	シクロホスファミド	1.00E-03
ダカルバジン	3.98E-04	テムシロリムス	1.27E-07	エルロチニブ	7.91E-06
アブリジン	1.50E-09	ET-743	6.45E-09	PM02734	3.33E-07
PM00104	3.30E-09				

【 0 1 6 6 】

b. 第二のアッセイ組において、IGROV-1 ヒト腫瘍細胞を、実施例 1 に記載されるものと同じ特有の IC_{50} 濃度の組み合わせにおける、上で言及された作用剤の各々と組み合わせた PM01183 とともに、インキュベートした。

【 0 1 6 7 】

細胞培養および細胞のプレーティングを、先に記載されるように行い、細胞毒性効果を、実施例 1 に開示されるように MTT アッセイによって測定した。

【 0 1 6 8 】

このアッセイによって、IGROV-1 ヒト卵巣カルシノーマ細胞株において、以下のことが見出された：

a. PM01183 のシスプラチンとの組み合わせ（図 124）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し、PM01183 のオキサリプラチンとの組み合わせは、強い相乗作用を示した（図 125）。

b. PM01183 の 5-フルオロウラシルとの組み合わせ（図 126）、および PM01183 のシタラビンとの組み合わせ（図 127）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。PM01183 のゲムシタビンとの組み合わせ（図 128）、および PM01183 のメトトレキサートとの組み合わせ（図 129）は、相乗作用を示した。

c. PM01183 のドセタキセルとの組み合わせ（図 130）、PM01183 のパクリタキセルとの組み合わせ（図 131）、および PM01183 のピンクリスチンとの組み合わせ（図 132）は、強い相乗作用を示し、PM01183 のビノレルビンとの組み合わせ（図 133）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

d. PM01183 のダウノルビシンとの組み合わせ（図 134）は、相乗作用を示した。PM01183 のドキソルビシンとの組み合わせ（図 135）、および PM01183 のアクチノマイシン D との組み合わせ（図 136）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し、PM01183 のマイトマイシン C との組み合わせ（図 137）は、50/50 および 30/70 から 25/75 の用量比率で、相乗作用を示した。

e. PM01183 のトポテカンとの組み合わせ（図 138）、PM01183 のイリノテカンとの組み合わせ（図 139）、および PM01183 のエトポシドとの組み合わせ（図 140）は、相乗作用を示した。

f. PM01183 のポリノスタットとの組み合わせ（図 141）は、ほとんど全ての

用量比率で、相乗作用を示した。

g. PM01183のシクロホスファミドとの組み合わせ(図142)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

h. PM01183のカルムスチンとの組み合わせ(図143)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

i. PM01183のダカルバジンとの組み合わせ(図144)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

j. PM01183のテムシロリムスとの組み合わせは、相乗作用を示した(図145)。

k. PM01183のエルロチニブとの組み合わせは、相乗作用を示した(図146) 10

l. PM01183のアブリジンとの組み合わせ(図147)は、70/30から60/40の用量比率で、相乗作用を示した。

m. PM01183のET-743との組み合わせ(図148)は、75/25から60/40の用量比率で、相乗作用を示した。

n. PM01183のPM02734との組み合わせは、強い相乗作用を示した(図149)。

o. PM01183のPM00104との組み合わせ(図150)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

【0169】

20

実施例8. ヒト肝細胞カルシノーマ細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせたPM01183の効果を決定するための、*in vitro*の研究。

この研究の目的は、肝細胞癌の治療において使用される化学療法剤の抗腫瘍活性を強化する、PM01183の能力を決定することであった。

【0170】

以下の作用剤を、PM01183と組み合わせて評価した：シスプラチン、オキサリプラチン、シクロホスファミド(これらの化合物のストック溶液は、無菌の再蒸留水において調製し、-20℃で保存した)、5-フルオロウラシル、ゲムシタビン、パクリタキセル、ドセタキセル、ピンクリスチン、ピノレルビン、ダウノルビシン、シタラビン、ドキソルビシン、トポテカン、イリノテカン、メトトレキセート、エトポシド、ボルテゾミブ、エルロチニブ、ET-743およびPM00104(これらの化合物のストック溶液は、純粋なDMSOにおいて調製し、-20℃で保存した)。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4xの最終濃度を達成した。1ウェル当たり50μLの一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

30

【0171】

HepG2は、このアッセイのために選択された、ヒト肝細胞の肝臓カルシノーマ細胞株であった。HepG2細胞を、37℃、5%CO₂および湿度95%で、10%ウシ胎児血清(FBS)、2mM L-グルタミン、および100単位/mLのペニシリン-ストレプトマイシンを添加したイーグル最小必須培地(MEME)において維持した。

【0172】

40

スクリーニングを、実施例1に開示されるような2つのパートにおいて行った：

【0173】

a. 第一のアッセイ組において、IC₅₀値を、HepG2腫瘍細胞株における72時間の薬剤曝露の後で、各々の薬剤について決定した。

【0174】

HepG2腫瘍細胞株に対する各々の個々の作用剤のIC₅₀値(72時間の薬剤曝露)を、実施例1に開示されるものと同じ方法論を使用することによって、算出した。それを、表8に示す。

【0175】

【表 8】

表 8：作用剤の各々についての IC_{50} 値（単位：モル濃度（M））

化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)
PM01183	2.50E-09	シスプラチン	5.00E-05	オキサリプラチン	2.80E-05
5-FU	4.50E-06	シタラビン	2.06E-05	ゲムシタビン	5.34E-09
メトトレキセート	3.96E-08	ドセタキセル	5.00E-07	パクリタキセル	5.70E-08
ピンクリスチン	6.00E-08	ビノレルビン	1.02E-06	ダウノルビシン	3.00E-07
ドキソルビシン	2.00E-07	トボテカン	1.00E-06	イリノテカン	1.00E-06
エトポシド	1.04E-05	ボルテゾミブ	3.90E-07	シクロホスファミド	1.00E-03
エルロチニブ	8.60E-06	ET-743	7.21E-09	PM00104	3.00E-09

【0176】

b. 第二のアッセイ組において、HepG2 ヒト腫瘍細胞を、実施例 1 に記載されるものと同じ特有の IC_{50} 濃度の組み合わせにおける、上で言及された作用剤の各々と組み合わせた PM01183 とともに、インキュベートした。

【0177】

細胞培養および細胞のプレーティングを、先に記載されるように行い、細胞毒性効果を、実施例 1 に開示されるように MTT アッセイによって測定した。

【0178】

このアッセイによって、HepG2 ヒト肝細胞細胞株において、以下のことが見出された：

a. PM01183 のシスプラチンとの組み合わせ（図 151）、および PM01183 のオキサリプラチンとの組み合わせ（図 152）は、強い相乗作用を示した。

b. PM01183 の 5 - フルオロウラシルとの組み合わせ（図 153）は、75 / 25、50 / 50 および 30 / 70 の用量比率で、相乗作用を示した。PM01183 のシタラビンとの組み合わせ（図 154）、PM01183 のゲムシタビンとの組み合わせ（図 155）、および PM01183 のメトトレキセートとの組み合わせ（図 156）は、強い相乗作用を示した。

c. PM01183 のドセタキセルとの組み合わせ（図 157）は、強い相乗作用を示した。PM01183 のパクリタキセルとの組み合わせ（図 158）、および PM01183 のピンクリスチンとの組み合わせ（図 159）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し、PM01183 のビノレルビンとの組み合わせ（図 160）は、50 / 50 および 30 / 70 から 25 / 75 の用量比率で、相乗作用を示した。

d. PM01183 のダウノルビシンとの組み合わせ（図 161）、および PM01183 のドキソルビシンとの組み合わせ（図 162）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

e. PM01183 のトボテカンとの組み合わせ（図 163）、および PM01183 のエトポシドとの組み合わせ（図 165）は、強い相乗作用を示した。PM01183 のイリノテカンとの組み合わせ（図 164）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

f. PM01183 のボルテゾミブとの組み合わせ（図 166）は、75 / 25 から 60 / 40 の用量比率で、相乗作用を示した。

g. PM01183 のシクロホスファミドとの組み合わせ（図 167）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

h. PM01183 のエルロチニブとの組み合わせ（図 168）は、強い相乗作用を示した。

i . P M 0 1 1 8 3 の E T - 7 4 3 との組み合わせ (図 1 6 9) は、6 0 / 4 0 から 5 0 / 5 0 の用量比率で、相乗作用を示した。

j . P M 0 1 1 8 3 の P M 0 0 1 0 4 との組み合わせ (図 1 7 0) は、強い相乗作用を示した。

【 0 1 7 9 】

実施例 9 . ヒト乳カルシノーマ細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせた P M 0 1 1 8 3 の効果を決定するための、i n v i t r o の研究。

この研究の目的は、乳癌の治療において使用される化学療法剤の抗腫瘍活性を強化する、P M 0 1 1 8 3 の能力を決定することであった。

【 0 1 8 0 】

以下の作用剤を、P M 0 1 1 8 3 と組み合わせて評価した：シスプラチン、オキサリプラチン、シクロホスファミド、カルムスチン、マイトマイシン C (これらの化合物のストック溶液は、無菌の再蒸留水において調製し、- 2 0 で保存した)、5 - フルオロウラシル、ゲムシタピン、パクリタキセル、ドセタキセル、ピンクリスチン、ピノレルビン、ダウノルビシン、ダカルバジン、シタラビン、ドキシソルビシン、アクチノマイシン D、トポテカン、イリノテカン、メトトレキセート、エトポシド、ボリノスタット、テムシロリムス、エルロチニブ、タモキシフェン、P M 0 2 7 3 4、E T - 7 4 3 および P M 0 0 1 0 4 (これらの化合物のストック溶液は、純粋な D M S O において調製し、- 2 0 で保存した)。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4 × の最終濃度を達成した。1 ウェル当たり 5 0 μ L の一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

【 0 1 8 1 】

M D A - M B - 2 3 1 は、このアッセイのために選択されたヒト乳腺カルシノーマ細胞株であった。M D A - M B - 2 3 1 細胞を、3 7 、5 % C O 2 および湿度 9 5 % で、1 0 % ウシ胎児血清 (F B S)、2 m M L - グルタミン、および 1 0 0 単位 / m L のペニシリン - ストレプトマイシンを添加したダルベッコ変法イーグル培地 (D M E M) において維持した。

【 0 1 8 2 】

スクリーニングを、実施例 1 に開示されるような 2 つのパートにおいて行った：

【 0 1 8 3 】

a . 第一のアッセイ組において、I C ₅₀ 値を、M D A - M B - 2 3 1 腫瘍細胞株における 7 2 時間の薬剤曝露の後で、各々の薬剤について決定した。

【 0 1 8 4 】

M D A - M B - 2 3 1 腫瘍細胞株に対する各々の個々の作用剤の I C ₅₀ 値 (7 2 時間の薬剤曝露) を、実施例 1 に開示されるものと同じ方法論を使用することによって、算出した。それを、表 9 に示す。

【 0 1 8 5 】

10

20

30

【表 9】

表 9：作用剤の各々についての IC_{50} 値 (単位：モル濃度 (M))

化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)
PM01183	3.50E-09	シスプラチン	1.53E-04	オキサリプラチン	1.08E-04
5-FU	9.00E-05	シタラビン	9.57E-06	ゲムシタビン	8.50E-09
メトトレキセート	5.94E-06	ドセタキセル	2.50E-09	パクリタキセル	8.50E-09
ピンクリスチン	5.00E-08	ビノレルビン	1.20E-05	ダウノルビシン	3.70E-07
ドキソルビシン	6.00E-07	アクチノマイシン D	4.54E-10	マイトマイシン C	2.00E-06
トポテカン	1.66E-07	イリノテカン	8.50E-06	エトポシド	4.80E-06
ボリノスタット	1.70E-06	シクロホスファミド	1.00E-03	カルムスチン	9.00E-04
ダカルバジン	1.92E-05	タモキシフェン	1.30E-05	テムシロリムス	1.20E-05
エルロチニブ	1.00E-04	ET-743	2.00E-09	PM02734	2.80E-06
PM00104	1.00E-09				

10

【0186】

20

b. 第二のアッセイ組において、MDA-MB-231 ヒト腫瘍細胞を、実施例 1 に記載されるものと同じ特有の IC_{50} 濃度の組み合わせにおける、上で言及された作用剤の各々と組み合わせた PM01183 とともに、インキュベートした。

【0187】

細胞培養および細胞のプレーティングを、先に記載されるように行い、細胞毒性効果を、実施例 1 に開示されるように MTT アッセイによって測定した。

【0188】

このアッセイによって、MDA-MB-231 ヒト乳カルシノーマ細胞株において、以下のことが見出された：

a. PM01183 のシスプラチンとの組み合わせ (図 171)、および PM01183 のオキサリプラチンとの組み合わせ (図 172) は、相乗作用を示した。

30

b. PM01183 の 5-フルオロウラシルとの組み合わせ (図 173) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。PM01183 のシタラビンとの組み合わせ (図 174)、および PM01183 のゲムシタビンとの組み合わせ (図 175) は、強い相乗作用を示し、PM01183 とメトトレキセートとの組み合わせ (図 176) は、75/25 から 70/30 および 50/50 の用量比率で、相乗作用を示した。

c. PM01183 のドセタキセルとの組み合わせ (図 177)、および PM01183 のパクリタキセルとの組み合わせ (図 178) は、相乗作用を示した。PM01183 のピンクリスチンとの組み合わせ (図 179) は、75/25 および 50/50 の用量比率で、相乗作用を示し、PM01183 のビノレルビンとの組み合わせ (図 180) は、

40

ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

d. PM01183 のダウノルビシンとの組み合わせ (図 181)、および PM01183 のマイトマイシン C との組み合わせ (図 184) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。PM01183 のドキソルビシンとの組み合わせ (図 182) は、強い相乗作用を示し、PM01183 のアクチノマイシン D との組み合わせ (図 183) は、相乗作用を示した。

e. PM01183 のトポテカンとの組み合わせ (図 185) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。PM01183 のイリノテカンとの組み合わせ (図 186)、および PM01183 のエトポシドとの組み合わせ (図 187) は、相乗作用を示した。

50

f. PM01183のポリノスタットとの組み合わせ(図188)は、75/25および50/50から40/60の用量比率で、相乗作用を示した。

g. PM01183のシクロホスファミドとの組み合わせ(図189)は、強い相乗作用を示した。

h. PM01183のカルムスチンとの組み合わせ(図190)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

i. PM01183のダカルバジンとの組み合わせ(図191)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

j. PM01183のタモキシフェンとの組み合わせ(図192)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

k. PM01183のテムシロリムスとの組み合わせは、強い相乗作用を示した(図193)。

l. PM01183のエルロチニブとの組み合わせは、強い相乗作用を示した(図194)。

m. PM01183のET-743との組み合わせは、強い相乗作用を示した(図195)。

n. PM01183のPM02734との組み合わせ(図196)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

o. PM01183のPM00104との組み合わせ(図197)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

【0189】

実施例10. ヒト結腸直腸カルシノーマ細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせたPM01183の効果を決定するための、*in vitro*の研究。

この研究の目的は、結腸直腸癌の治療において使用される化学療法剤の抗腫瘍活性を強化する、PM01183の能力を決定することであった。

【0190】

以下の作用剤を、PM01183と組み合わせて評価した：シスプラチン、オキサリプラチン、シクロホスファミド、マイトマイシンC(これらの化合物のストック溶液は、無菌の再蒸留水において調製し、-20℃で保存した)、5-フルオロウラシル、ゲムシタピン、ドセタキセル、ピノレルピン、ダウノルビシン、ダカルバジン、シタラピン、ドキソルビシン、アクチノマイシンD、トポテカン、イリノテカン、エトポシド、ポリノスタット、ボルテゾミブ、テムシロリムス、エルロチニブ、PM02734およびアブリジン(これらの化合物のストック溶液は、純粋なDMSOにおいて調製し、-20℃で保存した)。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4×の最終濃度を達成した。1ウェル当たり50μLの一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

【0191】

HT-29は、このアッセイのために選択されたヒト結腸腺カルシノーマ細胞株であった。HT-29細胞を、37℃、5%CO₂および湿度95%で、10%ウシ胎児血清(FBS)、2mM L-グルタミン、および100単位/mLのペニシリン-ストレプトマイシンを添加したダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)において維持した。

【0192】

スクリーニングを、実施例1に開示されるような2つのパートにおいて行った：

【0193】

a. 第一のアッセイ組において、IC₅₀値を、HT-29腫瘍細胞株における72時間の薬剤曝露の後で、各々の薬剤について決定した。

【0194】

HT-29腫瘍細胞株に対する各々の個々の作用剤のIC₅₀値(72時間の薬剤曝露)を、実施例1に開示されるものと同じ方法論を使用することによって、算出した。それを、表10に示す。

【0195】

【表 10】

表 10：作用剤の各々についての IC_{50} 値（単位：モル濃度（M））

化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)
PM01183	3.70E-09	シスプラチン	2.20E-04	オキサリプラチン	1.03E-04
5-FU	9.00E-06	シタラビン	7.80E-06	ゲムシタビン	4.00E-07
ドセタキセル	3.20E-10	ビノレルビン	3.00E-08	ダウノルビン	5.32E-07
ドキソルビシン	9.00E-07	アクチノマイシンD	3.27E-09	マイトマイシンC	2.00E-06
トポテカン	3.28E-07	イリノテカン	9.00E-06	エトポシド	5.44E-06
ボルテゾミブ	6.15E-09	ボリノスタット	2.76E-06	シクロホスファミド	1.00E-03
ダカルバジン	2.47E-05	テムシロリムス	3.50E-06	エルロチニブ	2.56E-05
アブリジン	1.76E-09	PM02734	2.14E-07		

10

【0196】

b. 第二のアッセイ組において、HT-29 ヒト腫瘍細胞を、実施例 1 に記載されるものと同じ特有の IC_{50} 濃度の組み合わせにおける、上で言及された作用剤の各々と組み合わせた PM01183 とともに、インキュベートした。

20

【0197】

細胞培養および細胞のプレーティングを、先に記載されるように行い、細胞毒性効果を、実施例 1 に開示されるように MTT アッセイによって測定した。

【0198】

このアッセイによって、HT-29 ヒト結腸直腸カルシノーマ細胞株において、以下のことが見出された：

a. PM01183 のシスプラチンとの組み合わせ（図 198）は、75 / 25 から 70 / 30 の用量比率で、相乗作用を示し、PM01183 のオキサリプラチンとの組み合わせ（図 199）は、強い相乗作用を示した。

b. PM01183 の 5 - フルオロウラシルとの組み合わせ（図 200）、および PM01183 のゲムシタビンとの組み合わせ（図 202）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し、PM01183 のシタラビンとの組み合わせ（図 201）は、強い相乗作用を示した。

30

c. PM01183 のドセタキセルとの組み合わせ（図 203）は、50 / 50 および 75 / 25 の用量比率で、相乗作用を示し、PM01183 のビノレルビンとの組み合わせ（図 204）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

d. PM01183 のダウノルビンとの組み合わせ（図 205）、および PM01183 のマイトマイシン C との組み合わせ（図 208）は、強い相乗作用を示した。PM01183 のドキソルビシンとの組み合わせ（図 206）、および PM01183 のアクチノマイシン D との組み合わせ（図 207）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

40

e. PM01183 のトポテカンとの組み合わせ（図 209）、および PM01183 のエトポシドとの組み合わせ（図 211）は、強い相乗作用を示した。PM01183 のイリノテカンとの組み合わせ（図 210）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

f. PM01183 のボルテゾミブとの組み合わせ（図 212）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

g. PM01183 のボリノスタットとの組み合わせ（図 213）は、相乗作用を示した。

h. PM01183 のシクロホスファミドとの組み合わせ（図 214）は、40 / 60

50

から 25 / 75 の用量比率で、相乗作用を示した。

i . PM01183 のダカルバジンとの組み合わせ (図 2 1 5) は、強い相乗作用を示した。

j . PM01183 のテムシロリムスとの組み合わせは、強い相乗作用を示した (図 2 1 6) 。

k . PM01183 のエルロチニブとの組み合わせは、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した (図 2 1 7) 。

l . PM01183 のアプリジンとの組み合わせ (図 2 1 8) は、40 / 60 から 25 / 75 の用量比率で、相乗作用を示した。

m . PM01183 の PM02734 との組み合わせ (図 2 1 9) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

10

【 0 1 9 9 】

実施例 1 1 . ヒト腎臓カルシノーマ細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせた PM01183 の効果を決定するための、*in vitro* の研究。

この研究の目的は、腎臓癌の治療において使用される化学療法剤の抗腫瘍活性を強化する、PM01183 の能力を決定することであった。

【 0 2 0 0 】

以下の作用剤を、PM01183 と組み合わせて評価した：シスプラチン、シクロホスファミド、マイトマイシン C (これらの化合物のストック溶液は、無菌の再蒸留水において調製し、- 20 で保存した) 、5 - フルオロウラシル、ゲムシタビン、メトトレキサート、ドセタキセル、ピンクリスチン、ピノレルビン、ダウノルビシン、ダカルバジン、シタラビン、ドキシソルビシン、アクチノマイシン D、トポテカン、イリノテカン、エトポシド、ポリノスタット、エルロチニブ、PM02734、ET - 743、PM00104 およびアプリジン (これらの化合物のストック溶液は、純粋な DMSO において調製し、- 20 で保存した) 。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4 x の最終濃度を達成した。1 ウェル当たり 50 μ L の一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

20

【 0 2 0 1 】

RXF - 393 は、このアッセイのために選択されたヒト腎臓カルシノーマ細胞株であった。RXF - 393 細胞を、37 、5 % CO₂ および湿度 95 % で、10 % ウシ胎児血清 (FBS) 、2 mM L - グルタミン、および 100 単位 / mL のペニシリン - ストレプトマイシンを添加したロズウェルパーク記念研究所培地 (RPMI) において維持した。

30

【 0 2 0 2 】

スクリーニングを、実施例 1 に開示されるような 2 つのパートにおいて行った：

【 0 2 0 3 】

a . 第一のアッセイ組において、IC₅₀ 値を、RXF - 393 腫瘍細胞株における 72 時間の薬剤曝露の後で、各々の薬剤について決定した。

【 0 2 0 4 】

RXF - 393 腫瘍細胞株に対する各々の個々の作用剤の IC₅₀ 値 (72 時間の薬剤曝露) を、実施例 1 に開示されるものと同じ方法論を使用することによって、算出した。それを、表 1 1 に示す。

40

【 0 2 0 5 】

【表 1 1】

表 1 1：作用剤の各々についての IC_{50} 値（単位：モル濃度（M））

化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)
PM01183	5.00E-09	シスプラチン	6.67E-05	5-FU	3.00E-04
シタラビン	5.00E-05	ゲムシタビン	5.00E-07	メトトレキセート	1.75E-04
ドセタキセル	5.94E-10	ビンクリスチン	1.73E-08	ビノレルビン	8.50E-06
ダウノルビシン	6.20E-07	ドキシソルビシン	8.00E-07	アクチノマイシンD	7.09E-10
マイトマイシンC	9.00E-06	トポテカン	3.93E-07	イリノテカン	1.40E-05
エトポシド	2.00E-05	ポリノスタット	4.10E-06	シクロホスファミド	1.00E-03
ダカルバジン	7.94E-04	エルロチニブ	4.80E-06	アブリジン	1.50E-09
ET-743	9.60E-09	PM02734	5.00E-06	PM00104	5.40E-09

10

【0206】

b. 第二のアッセイ組において、R X F - 393 ヒト腫瘍細胞を、実施例 1 に記載されるものと同じ特有の IC_{50} 濃度の組み合わせにおける、上で言及された作用剤の各々と組み合わせた PM01183 とともに、インキュベートした。

20

【0207】

細胞培養および細胞のプレーティングを、先に記載されるように行い、細胞毒性効果を、実施例 1 に開示されるように MTT アッセイによって測定した。

【0208】

このアッセイによって、R X F - 393 ヒト腎臓カルシノーマ細胞株において、以下のことが見出された：

a. PM01183 のシスプラチンとの組み合わせ（図 220）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

b. PM01183 の 5 - フルオロウラシルとの組み合わせ（図 221）、PM01183 のシタラビンとの組み合わせ（図 222）、PM01183 のゲムシタビンとの組み合わせ（図 223）、および PM01183 のメトトレキセートとの組み合わせ（図 224）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

30

c. PM01183 のドセタキセルとの組み合わせ（図 225）、PM01183 のビンクリスチンとの組み合わせ（図 226）、および PM01183 のビノレルビンとの組み合わせ（図 227）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

d. PM01183 のダウノルビシンとの組み合わせ（図 228）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。PM01183 のドキシソルビシンとの組み合わせ（図 229）は、75 / 25 から 60 / 40 の用量比率で、相乗作用を示し、PM01183 のアクチノマイシン D との組み合わせ（図 230）は、75 / 25 から 70 / 30 および 30 / 70 の用量比率で、相乗作用を示した。PM01183 のマイトマイシン C との組み合わせ（図 231）は、強い相乗作用を示した。

40

e. PM01183 のトポテカンとの組み合わせ（図 232）は、強い相乗作用を示した。PM01183 のイリノテカンとの組み合わせ（図 233）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し、PM01183 のエトポシドとの組み合わせ（図 234）は、75 / 25 および 40 / 60 から 30 / 70 の用量比率で、相乗作用を示した。

f. PM01183 のポリノスタットとの組み合わせ（図 235）は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

g. PM01183 のシクロホスファミドとの組み合わせ（図 236）は、75 / 25 から 70 / 30 および 25 / 75 の用量比率で、相乗作用を示した。

50

h. PM01183のダカルバジンとの組み合わせ(図237)は、60/40から50/50の用量比率で、相乗作用を示した。

i. PM01183のエルロチニブとの組み合わせは、強い相乗作用を示した(図238)。

j. PM01183のアブリジンとの組み合わせ(図239)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

k. PM01183のET-743との組み合わせ(図240)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

l. PM01183のPM02734との組み合わせ(図241)は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

m. PM01183のPM00104との組み合わせ(図242)は、強い相乗作用を示した。

【0209】

実施例12. ヒト神経膠芽腫細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせたPM01183の効果を決定するための、*in vitro*の研究。

この研究の目的は、神経膠芽腫の治療において使用される化学療法剤の抗腫瘍活性を強化する、PM01183の能力を決定することであった。

【0210】

以下の作用剤を、PM01183と組み合わせて評価した：シスプラチン、オキサリプラチン(これらの化合物のストック溶液は、無菌の再蒸留水において調製し、-20で保存した)、5-フルオロウラシル、ゲムシタビン、ドセタキセル、ピンクリスチン、ダウノルビシン、ダカルバジン、ドキソルビシン、トポテカン、イリノテカン、メトトレキサート、エトポシド、ボリノスタット、テムシロリムス、ボルテゾミブ、エルロチニブ、PM02734、ET-743およびアブリジン(これらの化合物のストック溶液は、純粋なDMSOにおいて調製し、-20で保存した)。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4xの最終濃度を達成した。1ウェル当たり50μLの一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

【0211】

U87-MGは、このアッセイのために選択されたヒト神経膠芽腫細胞株であった。U87-MG細胞を、37、5%CO2および湿度95%で、10%ウシ胎児血清(FBS)、2mM L-グルタミン、および100単位/mLのペニシリン-ストレプトマイシンを添加したイーグル最小必須培地(MEM)において維持した。

【0212】

スクリーニングを、実施例1に開示されるような2つのパートにおいて行った：

【0213】

a. 第一のアッセイ組において、IC₅₀値を、U87-MG腫瘍細胞株における72時間の薬剤曝露の後で、各々の薬剤について決定した。

【0214】

U87-MG腫瘍細胞株に対する各々の個々の作用剤のIC₅₀値(72時間の薬剤曝露)を、実施例1に開示されるものと同じ方法論を使用することによって、算出した。それを、表12に示す。

【0215】

10

20

30

40

【表 1 2】

表 1 2：作用剤の各々についての IC_{50} 値 (単位：モル濃度 (M))

化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)	化合物	IC_{50} (M)
PM01183	4.50E-09	シスプラチン	4.40E-05	オキサリプラチン	1.90E-04
5-FU	1.00E-03	ゲムシタビン	4.50E-07	メトトレキサート	5.00E-05
ドセタキセル	1.00E-07	ビンクリスチン	1.00E-07	ダウノルビシン	2.84E-07
ドキソルビシン	3.00E-07	トポテカン	7.50E-07	イリノテカン	7.54E-06
エトポシド	1.85E-05	ボルテゾミブ	4.00E-07	ボリノスタット	1.60E-05
ダカルバジン	7.00E-04	テムシロリムス	3.50E-06	エルロチニブ	1.49E-04
アブリジン	3.80E-09	ET-743	5.00E-09	PM02734	4.08E-06

10

【0216】

b. 第二のアッセイ組において、U87-MGヒト腫瘍細胞を、実施例1に記載されるものと同じ特有の IC_{50} 濃度の組み合わせにおける、上で言及された作用剤の各々と組み合わせたPM01183とともに、インキュベートした。

【0217】

細胞培養および細胞のプレーティングを、先に記載されるように行い、細胞毒性効果を、また、実施例1に開示されるようにMTTアッセイによって測定した。

20

【0218】

このアッセイによって、U87-MGヒト神経膠芽腫細胞株において、以下のことが見出された：

a. PM01183のシスプラチンとの組み合わせ (図243) は、70/30および50/50の用量比率で、相乗作用を示し、PM01183のオキサリプラチンとの組み合わせ (図244) は、強い相乗作用を示した。

b. PM01183の5-フルオロウラシルとの組み合わせ (図245)、およびPM01183のメトトレキサートとの組み合わせ (図247) は、相乗作用を示した。PM01183のゲムシタビンとの組み合わせ (図246) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

30

c. PM01183のドセタキセルとの組み合わせ (図248)、およびPM01183のビンクリスチンとの組み合わせ (図249) は、強い相乗作用を示した。

d. PM01183のダウノルビシンとの組み合わせ (図250) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示し、PM01183のドキソルビシンとの組み合わせ (図251) は、75/25および60/40の用量比率で、相乗作用を示した。

e. PM01183のトポテカンとの組み合わせ (図252)、およびPM01183のエトポシドとの組み合わせ (図254) は、強い相乗作用を示した。PM01183のイリノテカンとの組み合わせ (図253) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

40

f. PM01183のボルテゾミブとの組み合わせ (図255) は、ほとんど全ての用量比率で、相乗作用を示した。

g. PM01183のボリノスタットとの組み合わせ (図256) は、強い相乗作用を示した。

h. PM01183のダカルバジンとの組み合わせ (図257) は、相乗作用を示した。

i. PM01183のテムシロリムスとの組み合わせ (図258) は、50/50および30/70の用量比率で、相乗作用を示した。

j. PM01183のエルロチニブとの組み合わせ (図259) は、40/60から25/75の用量比率で、相乗作用を示した。

50

k. PM01183のアブリジンとの組み合わせ(図260)は、50/50から25/75の用量比率で、相乗作用を示した。

m. PM01183のET-743との組み合わせ(図261)は、強い相乗作用を示した。

l. PM01183のPM02734との組み合わせ(図262)は、強い相乗作用を示した。

【0219】

実施例13. ヒト卵巣腫瘍の異種移植片における、パクリタキセル、ピノレルビンおよびドキソルビシンと組み合わせたPM01183の効果を決定するための、*in vivo*の研究。

これらの研究の目的は、ヒト卵巣カルシノーマの異種移植モデルを使用することによって、パクリタキセル、ピノレルビンおよびドキソルビシンの抗腫瘍活性を強化する、PM01183の能力を評価することであった。

【0220】

雌の胸腺欠損ヌードマウス(Harlan Laboratories Models, S.L. (Barcelona, Spain))を、全ての実験に利用した。動物を、12時間の明暗サイクル、21から23 および40から60%の湿度で、ケージ1つ当たり最大10匹まで、個別に換気されたケージ内に収容した。マウスには、照射済の齧歯動物用標準飼料および滅菌水を自由に摂取させた。動物を、腫瘍細胞懸濁物による腫瘍移植の前に少なくとも5日間、順化させた。

【0221】

これらの研究に使用した腫瘍モデルは、A2780細胞株であった。これは、欧州細胞カルチャーコレクションから入手したものであった(ECACC番号93112519)。

【0222】

A2780細胞を、37、5%CO₂下で、RPMI-1640培地において、成長させた。各々の動物に、抗生物質を含まない50%マトリゲルおよび50%無血清培地の懸濁物0.05mL中の 1×10^7 個のA2780細胞(PM01183およびドキソルビシン、ならびにPM01183およびピノレルビンの研究においては、*in vitro*での5回継代物；ならびに、PM01183およびパクリタキセルの研究においては、*in vitro*での9回継代物由来のもの)を、26Gニードルおよび1ccシリンジを使用して、右側腹の皮下に移植した。

【0223】

腫瘍の測定値を、デジタルノギス(Fowler Sylvac, S235PAT)を使用することによって決定した。扁長の楕円体の体積を算出するための式を使用して、2次元の腫瘍の測定値から腫瘍体積(mm³)を評価した：腫瘍体積(mm³) = $[L \times W^2] \div 2$ (式中、Lは、腫瘍の長さであり、最も長い直径(単位：mm)であり、Wは、幅であり、最も短い直径(単位：mm)である)。単位密度(unit density)を仮定して、体積を、重量へと変換した(すなわち、1mm³ = 1mg)。腫瘍体積および動物の体重を、治療の最初の日(0日)から開始して、1週間当たり2から3回測定した。

【0224】

治療の耐容性を、体重の変化、臨床徴候、および、注射部位における局所損傷の形跡をモニタリングすることによって、評価した。

【0225】

腫瘍が、PM01183のパクリタキセルとの組み合わせの研究においては約195mm³の体積、PM01183のピノレルビンとの組み合わせの研究においては約158mm³の体積、およびPM01183のドキソルビシンとの組み合わせの研究においては約163.5mm³の体積に到達した際に、マウスを、New Lab Oncology Software(version 2.25.06.00)を使用することによって、体重および腫瘍体積の測定値に基づいて、治療群および対照群(1群当たりN = 5から7匹)へと無作為に割り当てた。

10

20

30

40

50

【0226】

PM01183は、凍結乾燥したPM01183固形物(cake)のバイアルの形態で用意し、注入用水で0.2mg/mLの濃度に再構築した。PM01183ストック溶液を、注射用5%グルコース溶液において、投与用配合物濃度まで、さらに希釈した。ドキソルビシンは、ドキソルビシンHClを含有する固体粉末の形態で用意し、0.9%食塩水溶液において再構築した。ビノレルピンは、生成物を0.9%食塩水溶液で希釈することによって調製した溶液として用意した。パクリタキセルは、生成物を注射用5%グルコース溶液で標的最終濃度まで希釈することによって調製した溶液の形態で用意した。

【0227】

これらの実験において、PM01183およびパクリタキセル、PM01183およびビノレルピン、ならびにPM01183およびドキソルビシンの治療、ならびにプラセボを、1週間に1回、最大で連続2週間、0日および7日に、静脈内に施した。用量レベルの群を、単一の作用剤としてまたは組み合わせて、投与した。

10

【0228】

対照群における腫瘍体積の中央値に対する、治療群における腫瘍体積の中央値(T)の比較($T/C \times 100\%$)を、抗腫瘍の有効性の評価のために使用した。加えて、組み合わせの群の応答が、組み合わせの治療法において使用されたものと同じスケジュールおよび用量によって単一の作用剤(単独療法)として投与された、最も活性な作用剤の最良の応答より大きかった場合、強化を決定した。

【0229】

20

最後に、薬剤の相互作用の程度を定量的に測定する組み合わせ指数(CI)を、半有効原理(median-effect principle)(非特許文献5)を使用して、最後の測定日(PM01183およびパクリタキセルの組み合わせの研究、ならびにPM01183およびドキソルビシンの研究については10日、ならびにPM01183およびビノレルピンの研究については9日)における各々の実験群についての、治療によって影響を受けた割合Fa($1 - T/C$ と定義される)から得た。

【0230】

表13は、PM01183およびパクリタキセルを、各々の用量レベルについて、単一の作用剤として投与した場合および組み合わせて投与した場合の両方において得られたT/C値(%)を報告し、図263は、2つの最高比率で投与した群についての、プラセボ、PM01183、パクリタキセル、および対応する組み合わせを用いて治療したマウスにおける、A2780腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す。

30

【0231】

【表 13】

表 13

群	用量	試験物質	下記の日におけるT/C (%)				
			0	3	5	7	10
G01 (対照群)	10 ml/kg	プラセボ	-	-	-	-	-
G02	0.18 mg/kg	PM01183	101.6	68.9	83.1	69.1	52.8
G03	0.135 mg/kg	PM01183	101.2	89.9	99.8	84.5	61.2
G04	0.09 mg/kg	PM01183	94.2	88.5	114.1	103.3	88.0
G05	0.045 mg/kg	PM01183	94.0	91.1	99.6	88.0	73.1
G06	25 mg/kg	パクリタキセル	95.3	49.3	42.9	34.0	19.8
G07	18.75 mg/kg	パクリタキセル	95.0	60.4	43.2	41.5	31.1
G08	12.5 mg/kg	パクリタキセル	96.2	62.5	73.9	62.5	50.8
G09	6.25 mg/kg	パクリタキセル	94.3	60.2	79.7	81.3	59.2
G10	0.18 mg/kg	PM01183	93.3	45.9	28.8	20.9	9.2
	25 mg/kg	パクリタキセル					
G11	0.135 mg/kg	PM01183	93.4	40.5	37.1	36.0	22.6
	18.75 mg/kg	パクリタキセル					
G12	0.09 mg/kg	PM01183	96.5	64.3	67.7	73.2	49.0
	12.5 mg/kg	パクリタキセル					
G13	0.045 mg/kg	PM01183	96.2	78.6	89.1	91.1	77.2
	6.25 mg/kg	パクリタキセル					

プラセボ：1 mLの注入用水で再構築した、スクロース100mg＋リン酸二水素カリウム6.8mg＋リン酸（適量）を含有する凍結乾燥した固形物（pH3.8から4.5）

。

【0232】

表14は、PM01183およびピノレルピンを、各々の用量レベルについて、単一の作用剤として投与した場合および組み合わせて投与した場合の両方において得られたT/C値(%)を報告し、図264は、2つの最高比率で投与した群についての、プラセボ、PM01183、ピノレルピン、および対応する組み合わせを用いて治療したマウスにおける、A2780腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す。

【0233】

10

20

30

【表 1 4】

表 1 4

群	用量	試験物質	下記の日における T / C (%)				
			0	2	5	7	9
G 0 1 (対照群)	10 ml/kg	プラセボ	-	-	-	-	-
G 0 2	0.18 mg/kg	PM 0 1 1 8 3	98.9	101.6	72.2	61.3	62.8
G 0 3	0.135 mg/kg	PM 0 1 1 8 3	98.3	105.3	77.2	79.1	78.7
G 0 4	0.09 mg/kg	PM 0 1 1 8 3	98.0	88.6	61.2	87.6	94.5
G 0 5	0.045 mg/kg	PM 0 1 1 8 3	97.8	107.5	93.6	92.5	97.1
G 0 6	16.0 mg/kg	ビノレルビン	99.0	62.5	20.8	24.5	20.0
G 0 7	12.0 mg/kg	ビノレルビン	97.4	67.2	39.1	43.0	36.1
G 0 8	8.0 mg/kg	ビノレルビン	97.6	79.5	45.0	54.2	47.9
G 0 9	4.0 mg/kg	ビノレルビン	97.2	88.6	69.3	81.7	77.3
G 1 0	0.18 mg/kg 16.0 mg/kg	PM 0 1 1 8 3 ビノレルビン	97.3	50.1	10.9	10.6	8.6
G 1 1	0.135 mg/kg 12.0 mg/kg	PM 0 1 1 8 3 ビノレルビン	97.2	74.0	29.6	31.2	26.8
G 1 2	0.09 mg/kg 8.0 mg/kg	PM 0 1 1 8 3 ビノレルビン	96.8	69.3	48.3	56.5	49.8
G 1 3	0.045 mg/kg 4.0 mg/kg	PM 0 1 1 8 3 ビノレルビン	97.1	85.6	61.7	74.2	81.6

プラセボ：表 1 3 に開示される通りである。

【 0 2 3 4 】

表 1 5 は、PM 0 1 1 8 3 およびドキソルビシンを、各々の用量レベルについて、単一の作用剤として投与した場合および組み合わせて投与した場合の両方において得られた T / C 値 (%) を報告し、図 2 6 5 は、2 つの最高比率で投与した群についての、プラセボ、PM 0 1 1 8 3、ドキソルビシン、および対応する組み合わせを用いて治療したマウス

【 0 2 3 5 】

10

20

30

【表 15】

表 15

群	用量	試験物質	下記の日における T/C (%)				
			0	3	5	7	10
G01 (対照群)	10 ml/kg	プラセボ	-	-	-	-	-
G02	0.18 mg/kg	PM01183	100.9	70.2	68.5	69.3	62.1
G03	0.135 mg/kg	PM01183	102.2	82.4	86.6	89.2	82.4
G04	0.09 mg/kg	PM01183	100.2	93.3	95.2	93.5	87.7
G05	0.045 mg/kg	PM01183	100.1	98.2	98.6	97.7	90.0
G06	8.0 mg/kg	ドキソルビシン	99.5	60.8	49.8	48.1	39.4
G07	6.0 mg/kg	ドキソルビシン	99.4	71.0	60.3	56.8	54.3
G08	4.0 mg/kg	ドキソルビシン	102.0	82.9	75.1	75.0	68.9
G09	2.0 mg/kg	ドキソルビシン	99.8	91.5	93.1	94.2	86.2
G10	0.18 mg/kg 8.0 mg/kg	PM01183 ドキソルビシン	99.7	47.6	32.6	30.3	21.1
G11	0.135 mg/kg 6.0 mg/kg	PM01183 ドキソルビシン	100.6	67.0	54.9	53.9	44.9
G12	0.09 mg/kg 4.0 mg/kg	PM01183 ドキソルビシン	98.3	74.7	69.0	63.1	64.4
G13	0.045 mg/kg 2.0 mg/kg	PM01183 ドキソルビシン	98.1	83.1	86.6	78.1	79.2

プラセボ：表 13 に開示される通りである。

【0236】

これらのアッセイによって、以下のことが見出された：

a. PM01183 およびパクリタキセルの組み合わせの治療は、A2780 卵巣細胞の成長の阻害において効果的であり、対照群と比較して統計的に有意な ($P < 0.01$) 腫瘍の低減をもたらし、2つの高用量群における T/C 値は、9.2% および 22.6% (10日) であった。さらに、PM01183 およびパクリタキセルの組み合わせは、この実験におけるより活性な単一の作用剤 (25 mg/kg および 18.75 mg/kg の用量のパクリタキセル) よりも低い T/C 値をもたらした。具体的には、組み合わせ (25 mg/kg のパクリタキセル + 0.18 mg/kg の PM01183) 対単独のパクリタキセル (25 mg/kg のパクリタキセル) の T/C (%) 値は、28.8 対 42.9 (5日)、20.9 対 34.0 (7日)、および 9.2 対 19.8 (10日) であり、組み合わせ (18.75 mg/kg のパクリタキセル + 0.135 mg/kg の PM01183) 対単独のパクリタキセル (18.75 mg/kg のパクリタキセル) の T/C (%) 値は、37.1 対 43.2 (5日)、36.0 対 41.5 (7日)、および 22.6 対 31.1 (10日) であった。したがって、PM01183 を、パクリタキセルと組み合わせると、抗腫瘍活性の強化が、明確に観察される。

【0237】

加えて、半有効原理に基づくと、PM01183 およびパクリタキセルの組み合わせは、(0.8 より高い Fa で) 1 未満の CI 値をもたらし、卵巣 A2780 の異種移植による腫瘍を有するマウスにおいて相乗作用を示した。

【0238】

b. PM01183 およびビノレルビンの組み合わせの治療は、A2780 卵巣細胞の成長の阻害において効果的であり、対照群と比較して統計的に有意な ($P < 0.01$) 腫瘍の低減をもたらし、2つの高用量群における T/C 値は、8.6% および 26.8% (9日) であった。さらに、PM01183 およびビノレルビンの組み合わせは、この実験

におけるより活性な単一の作用剤（ 16 mg / kg および 12 mg / kg の用量のピノレルピン）よりも低い T / C 値をもたらした。具体的には、組み合わせ（ 16 mg / kg のピノレルピン + 0.18 mg / kg の PM01183 ）対単独のピノレルピン（ 16 mg / kg のピノレルピン）の T / C （％）値は、 10.9 対 20.8 （ 5 日）、 10.6 対 24.5 （ 7 日）、および 8.6 対 20.0 （ 9 日）であり、組み合わせ（ 12 mg / kg のピノレルピン + 0.135 mg / kg の PM01183 ）対単独のピノレルピン（ 12 mg / kg のピノレルピン）の T / C （％）値は、 29.6 対 39.1 （ 5 日）、 31.2 対 43 （ 7 日）、および 26.8 対 36.1 （ 9 日）であった。したがって、 PM01183 を、ピノレルピンと組み合わせると、抗腫瘍活性の強化が、明確に観察される。

【0239】

10

加えて、半有効原理に基づく、 PM01183 およびピノレルピンの組み合わせは、（ 0.97 に等しい F_a で） 0.75 の CI 値をもたらし、卵巣 $A2780$ の異種移植による腫瘍を有するマウスにおいて相乗作用を示した。

【0240】

c. PM01183 およびドキソルビシンの組み合わせの治療は、 $A2780$ 卵巣細胞の成長の阻害において効果的であり、対照群と比較して統計的に有意な（ $P < 0.01$ ）腫瘍の低減をもたらし、2つの高用量群における T / C 値は、 21.1% および 44.9% （ 10 日）であった。さらに、 PM01183 およびドキソルビシンの組み合わせは、この実験におけるより活性な単一の作用剤（ 8 mg / kg の用量のドキソルビシン）よりも低い T / C 値をもたらした。具体的には、組み合わせ（ 8 mg / kg のドキソルビシン + 0.18 mg / kg の PM01183 ）対単独のドキソルビシン（ 8 mg / kg のドキソルビシン）の T / C （％）値は、 32.6 対 49.8 （ 5 日）、 30.3 対 48.1 （ 7 日）、および 21.1 対 39.4 （ 10 日）であった。したがって、 PM01183 を、ドキソルビシンと組み合わせると、抗腫瘍活性の強化が、明確に観察される。

20

【0241】

加えて、半有効原理に基づく、 PM01183 およびドキソルビシンの組み合わせは、（ 0.8 より高い F_a で）1未満の CI 値をもたらし、卵巣 $A2780$ の異種移植による腫瘍を有するマウスにおいて相乗作用を示した。

【0242】

実施例 14. ヒト胃腫瘍の異種移植片における、シスプラチンおよび 5 - フルオロウラシルと組み合わせた PM01183 の効果を決定するための、*in vivo* の研究。

30

これらの研究の目的は、ヒトの胃カルシノーマの異種移植モデルを使用することによって、シスプラチンおよび 5 - フルオロウラシルの抗腫瘍活性を強化する、 PM01183 の能力を評価することであった。

【0243】

雌の胸腺欠損ヌードマウス（Harlan Laboratories Models, S.L. (Barcelona, Spain)）を、全ての実験に利用した。動物を、12時間の明暗サイクル、21から23 および 40から60％の湿度で、ケージ1つ当たり最大10匹まで、個別に換気されたケージ内に収容した。マウスには、照射済の齧歯動物用標準飼料および滅菌水を自由に摂取させた。動物を、腫瘍細胞懸濁物による腫瘍移植の前に少なくとも5日間、順化させた。

40

【0244】

これらの研究に使用した腫瘍モデルは、 HGC-27 細胞株であった。これは、欧州細胞カルチャーコレクション（ECCACC 番号 94042256）から入手したものであった。

【0245】

HGC-27 細胞を、 37°C 、5％ CO_2 下で、イスコブ変法ダルベッコ培地（IDMD）において、成長させた。各々の動物に、抗生物質を含まない50％マトリゲルおよび50％無血清培地の懸濁物 0.05 mL 中の 5×10^6 個の HGC-27 細胞（ PM01183 およびシスプラチンの研究においては *in vitro* での4回継代物、ならびに PM01183 および 5 - フルオロウラシルの研究においては *in vitro* での6回

50

継代物由来のもの)を、26Gニードルおよび1ccシリンジを使用して、右側腹の皮下に移植した。

【0246】

腫瘍の測定値および治療の耐容性を行い、実施例13に開示されるように決定した。

【0247】

腫瘍が、PM01183のシスプラチンとの組み合わせの研究においては約165.5 mm³の体積、およびPM01183の5-フルオロウラシルとの組み合わせの研究においては約170 mm³の体積に到達した際に、マウスを、NewLab Oncology Software (version 2.25.06.00)を使用することによって、体重および腫瘍体積の測定値に基づいて、治療群および対照群(1群当たりN=5から7匹)へと無作為に割り当てた。

10

【0248】

PM01183は、凍結乾燥したPM01183固形物のバイアルの形態で用意して、注入用水で0.2 mg/mLの濃度に再構築した。PM01183ストック溶液を、注射用5%グルコース溶液において、投与用配合物濃度まで、さらに希釈した。シスプラチンおよび5-フルオロウラシルは、生成物を注射用0.9%食塩水溶液で標的最終濃度まで希釈することによって調製した溶液として用意した。

【0249】

これらの実験において、PM01183およびシスプラチン、ならびにPM01183および5-フルオロウラシルの治療、ならびにプラセボを、1週間に1回、最大で連続2週間、0日および7日に、静脈内に施した。用量レベルの群を、単一の作用剤としてまたは組み合わせで、投与した。

20

【0250】

対照群における腫瘍体積の中央値に対する、治療群における腫瘍体積の中央値(T)の比較($T/C \times 100\%$)を、抗腫瘍の有効性の評価のために使用した。加えて、強化および組み合わせ指数(CI)を、実施例13に開示されるように決定した。

【0251】

表16は、PM01183およびシスプラチンを、各々の用量レベルについて、単一の作用剤として投与した場合および組み合わせで投与した場合の両方において得られたT/C値(%)を報告し、図266は、2つの最高比率で投与した群についての、プラセボ、PM01183、シスプラチン、および対応する組み合わせを用いて治療したマウスにおける、HGC-27腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す。

30

【0252】

【表 16】

表 16

群	用量	試験物質	下記の日における T / C (%)						
			0	3	5	7	10	12	14
G01 (対照群)	10 ml/kg	プラセボ	-	-	-	-	-	-	-
G02	0.18 mg/kg	PM01183	99.6	65.9	55.6	38.7	33.5	24.3	24.3
G03	0.135 mg/kg	PM01183	97.9	71.6	59.9	47.8	39.3	37.1	38.3
G04	0.09 mg/kg	PM01183	98.6	67.5	67.9	66.1	70.2	60.3	65.0
G05	0.045 mg/kg	PM01183	98.9	85.9	83.1	92.1	76.4	81.6	88.5
G06	6.0 mg/kg	シスプラチン	97.7	76.1	79.0	75.1	64.4	61.3	72.7
G07	4.5 mg/kg	シスプラチン	98.5	90.5	94.5	90.2	75.7	73.7	81.1
G08	3.0 mg/kg	シスプラチン	99.0	78.6	80.0	78.7	81.3	82.8	85.1
G09	1.5 mg/kg	シスプラチン	99.3	78.1	78.8	82.6	83.5	86.6	89.9
G10	0.18 mg/kg 6.0 mg/kg	PM01183 シスプラチン	95.7	55.0	42.4	22.3	12.9	7.6	4.6
G11	0.135 mg/kg 4.5 mg/kg	PM01183 シスプラチン	99.2	67.7	42.7	28.6	17.3	12.1	9.8
G12	0.09 mg/kg 3.0 mg/kg	PM01183 シスプラチン	99.9	80.0	64.3	45.7	47.2	42.4	56.7
G13	0.045 mg/kg 1.5 mg/kg	PM01183 シスプラチン	99.9	93.3	83.0	75.9	69.3	70.3	80.0

プラセボ：表 13 に開示される通りである。

【0253】

表 17 は、PM01183 および 5 - フルオロウラシルを、各々の用量レベルについて、単一の作用剤として投与した場合および組み合わせて投与した場合の両方において得られた T / C 値 (%) を報告し、図 267 は、2 つの最高比率で投与した群についての、プラセボ、PM01183、5 - フルオロウラシル、および対応する組み合わせを用いて治療したマウスにおける、HGC - 27 腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す。

【0254】

10

20

30

【表 17】

表 17

群	用量	試験物質	下記の日における T / C (%)						
			0	2	5	7	9	12	14
G01 (対照群)	10 ml/kg	プラセボ	-	-	-	-	-	-	-
G02	0.18 mg/kg	PM01183	99.6	78.6	50.9	43.3	41.0	33.0	29.2
G03	0.135 mg/kg	PM01183	100.2	81.5	58.7	61.4	60.2	54.6	55.1
G04	0.09 mg/kg	PM01183	100.6	90.5	87.6	83.4	82.6	76.7	67.7
G05	0.045 mg/kg	PM01183	99.9	84.3	103.2	104.6	103.5	101.6	85.0
G06	50.0 mg/kg	5-フルオロウ ラシル	100.3	81.2	82.3	81.1	75.6	69.6	60.7
G07	37.5 mg/kg	5-フルオロウ ラシル	99.4	86.9	86.9	78.6	73.2	76.7	83.1
G08	25.0 mg/kg	5-フルオロウ ラシル	100.6	89.8	97.0	111.4	102.6	93.9	82.8
G09	12.5 mg/kg	5-フルオロウ ラシル	100.7	81.7	101.3	102.8	98.6	90.5	83.8
G10	0.18 mg/kg 50.0 mg/kg	PM01183 5-フルオロウ ラシル	99.6	73.0	44.2	35.9	31.5	25.3	22.0
G11	0.135 mg/kg 37.5 mg/kg	PM01183 5-フルオロウ ラシル	100.8	73.4	63.5	53.1	50.6	42.8	51.1
G12	0.09 mg/kg 25.0 mg/kg	PM01183 5-フルオロウ ラシル	99.6	95.8	97.7	98.9	90.0	74.7	69.9
G13	0.045 mg/kg 12.5 mg/kg	PM01183 5-フルオロウ ラシル	99.5	80.6	87.3	88.5	99.3	87.1	84.2

プラセボ：表 13 に開示される通りである。

【0255】

これらのアッセイによって、以下のことが見出された：

a. PM01183 およびシスプラチンの組み合わせの治療は、HGC-27 胃細胞の成長の阻害において効果的であり、対照群と比較して統計的に有意な ($P < 0.01$) 腫瘍の低減をもたらし、2つの高用量群における T / C 値は、4.6% および 9.8% (14 日) であった。さらに、PM01183 およびシスプラチンの組み合わせは、この実験におけるより活性な単一の作用剤 (0.18 mg / kg および 0.135 mg / kg の用量の PM01183) よりも低い T / C 値をもたらした。具体的には、組み合わせ (6 mg / kg のシスプラチン + 0.18 mg / kg の PM01183) 対単独の PM01183 (0.18 mg / kg の PM01183) の T / C (%) 値は、12.9 対 33.5 (10 日)、7.6 対 24.3 (12 日)、および 4.6 対 24.3 (14 日) であり、組み合わせ (4.5 mg / kg のシスプラチン + 0.135 mg / kg の PM01183) 対単独の PM01183 (0.135 mg / kg の PM01183) の T / C (%) 値は、17.3 対 39.3 (10 日)、12.1 対 37.1 (12 日)、および 9.8 対 38.3 (14 日) であった。したがって、PM01183 を、パクリタキセルと組み合わせると、抗腫瘍活性の強化が、明確に観察される。

【0256】

10

20

30

40

50

加えて、半有効原理に基づくと、PM01183およびシスプラチンの組み合わせは、(0.8より高いFaで)1未満のCI値をもたらし、胃HGC-27の異種移植による腫瘍を有するマウスにおいて相乗作用を示した。

【0257】

b. PM01183および5-フルオロウラシルの組み合わせの治療は、HGC-27胃細胞の成長の阻害において効果的であり、対照群と比較して統計的に有意な($P < 0.01$)腫瘍の低減をもたらし、2つの高用量群におけるT/C値は、22.0%および51.1%(14日)であった。さらに、PM01183および5-フルオロウラシルの組み合わせは、この実験におけるより活性な単一の作用剤(0.18mg/kgの用量のPM01183)よりも低いT/C値をもたらした。具体的には、組み合わせ(50mg/kgの5-フルオロウラシル+0.18mg/kgのPM01183)対単独のPM01183(0.18mg/kgのPM01183)のT/C(%)値は、35.9対43.3(7日)、31.5対41.0(9日)、25.3対33.0(12日)、および22.0対29.2(14日)であった。したがって、PM01183を、5-フルオロウラシルと組み合わせると、抗腫瘍活性の強化が、明確に観察される。

【0258】

加えて、半有効原理に基づくと、PM01183および5-フルオロウラシルの組み合わせは、(0.97に等しいFaで)0.78のCI値をもたらし、胃HGC-27の異種移植による腫瘍を有するマウスにおいて、中程度の相乗作用を示した。

【0259】

実施例15. ヒト膵臓腫瘍の異種移植片における、ゲムシタピンと組み合わせたPM01183の効果を決定するための、*in vivo*の研究。

これらの研究の目的は、ヒト膵臓癌の異種移植モデルを使用することによって、ゲムシタピンの抗腫瘍活性を強化する、PM01183の能力を評価することであった。

【0260】

雌の胸腺欠損ヌードマウス(Harlan Laboratories Models, S.L. (Barcelona, Spain))を、全ての実験に利用した。動物を、12時間の明暗サイクル、21から23および40から60%の湿度で、ケージ1つ当たり最大10匹まで、個別に換気されたケージ内に収容した。マウスには、照射済の齧歯動物用標準飼料および滅菌水を自由に摂取させた。動物を、腫瘍細胞懸濁物による腫瘍移植の前に少なくとも5日間、順化させた。

【0261】

これらの研究に使用した腫瘍モデルは、SW1990細胞株であった。これは、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションから入手したものであった(ATCC: CRL-2172TM)。

【0262】

SW1990細胞を、37、5%CO₂下で、RPMI-1640培地において、成長させた。各々の動物に、抗生物質を含まない50%マトリゲルおよび50%無血清培地の懸濁物0.05mL中の、*in vitro*での12回継代物由来の 5×10^6 個のSW1990細胞を、26Gニードルおよび1ccシリンジを使用して、右側腹の皮下に移植した。

【0263】

腫瘍の測定値および治療の耐容性を行い、実施例13に開示されるように決定した。

【0264】

腫瘍が約210mm³の体積に到達した際に、マウスを、NewLab Oncology Software(version 2.25.06.00)を使用することによって、体重および腫瘍体積の測定値に基づいて、治療群および対照群(1群当たりN=5から7匹)へと無作為に割り当てた。

【0265】

PM01183は、凍結乾燥したPM01183固形物のバイアルの形態で用意して、注入用水で0.2mg/mLの濃度に再構築した。PM01183ストック溶液を、注射

10

20

30

40

50

用 5 % グルコース溶液において、投与用配合物濃度まで、さらに希釈した。ゲムシタピンは、生成物を注射用 0.9 % 食塩水溶液で 40 mg / ml のストック溶液の濃度まで再構築することによって、調製した溶液として用意した。ゲムシタピンのストック溶液を、注射用 0.9 % 食塩水溶液で、標的最終濃度までさらに希釈した。

【 0 2 6 6 】

これらの実験において、PM01183 およびゲムシタピンの治療、ならびにプラセボを、1 週間に 1 回、最大で連続 3 週間、0 日、7 日および 14 日に、静脈内に施した。用量レベルの群を、単一の作用剤としてまたは組み合わせで、投与した。

【 0 2 6 7 】

対照群における腫瘍体積の中央値に対する、治療群における腫瘍体積の中央値 (T) の比較 (T / C × 100 %) を、抗腫瘍の有効性の評価のために使用した。加えて、強化および組み合わせ指数を、実施例 13 に開示されるように決定した。

【 0 2 6 8 】

表 18 は、PM01183 およびゲムシタピンを、各々の用量レベルについて、単一の作用剤として投与した場合および組み合わせで投与した場合の両方において得られた T / C 値 (%) を報告し、図 268 は、2 つの最高比率で投与した群についての、プラセボ、PM01183、ゲムシタピン、および対応する組み合わせを用いて治療したマウスにおける、SW1990 腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す。

【 0 2 6 9 】

【 表 18 】

表 18

群	用量	試験物質	下記の日における T / C (%)					
			0	3	6	8	10	13
G01 (対照群)	10 ml/kg	プラセボ	-	-	-	-	-	-
G02	0.18 mg/kg	PM01183	100.0	74.3	61.3	59.4	56.7	56.1
G03	0.135 mg/kg	PM01183	99.6	81.3	71.0	73.1	65.6	63.1
G04	0.09 mg/kg	PM01183	101.1	81.5	72.8	68.7	68.4	74.4
G05	0.045 mg/kg	PM01183	100.2	83.6	82.8	93.3	82.9	88.1
G06	180.0 mg/kg	ゲムシタピン	102.2	84.1	73.9	66.1	60.9	59.4
G07	135.0 mg/kg	ゲムシタピン	102.3	78.3	71.9	63.7	55.4	52.7
G08	90.0 mg/kg	ゲムシタピン	103.8	70.0	73.8	63.3	55.6	54.8
G09	45.0 mg/kg	ゲムシタピン	102.3	85.5	70.3	70.5	63.3	64.8
G10	0.18 mg/kg	PM01183	102.1	69.7	51.2	46.2	36.0	34.1
	180.0 mg/kg	ゲムシタピン						
G11	0.135 mg/kg	PM01183	100.4	64.6	52.8	51.5	48.9	46.0
	135.0 mg/kg	ゲムシタピン						
G12	0.09 mg/kg	PM01183	98.2	83.2	64.4	59.7	50.6	49.6
	90.0 mg/kg	ゲムシタピン						
G13	0.045 mg/kg	PM01183	97.7	81.6	70.9	68.8	65.9	65.7
	45.0 mg/kg	ゲムシタピン						

プラセボ：表 13 に開示される通りである。

【 0 2 7 0 】

【表 19】

表 18 (続き)

群	用量	試験物質	下記の日における T/C (%)					
			15	17	20	22	24	28
G01 (対照群)	10 ml/kg	プラセボ	-	-	-	-	-	-
G02	0.18 mg/kg	PM01183	53.2	47.8	44.2	45.3	44.8	38.9
G03	0.135 mg/kg	PM01183	56.3	56.7	56.9	56.5	53.0	51.7
G04	0.09 mg/kg	PM01183	74.7	80.7	71.9	75.4	77.3	63.9
G05	0.045 mg/kg	PM01183	92.6	86.5	85.1	84.5	85.8	85.4
G06	180.0 mg/kg	ゲムシタピン	58.5	52.1	49.1	48.6	46.9	39.3
G07	135.0 mg/kg	ゲムシタピン	54.8	51.2	49.5	48.7	49.8	49.5
G08	90.0 mg/kg	ゲムシタピン	49.9	47.4	47.6	47.0	45.9	49.2
G09	45.0 mg/kg	ゲムシタピン	63.1	58.5	58.7	57.3	65.2	59.3
G10	0.18 mg/kg	PM01183	34.7	31.6	31.7	28.0	26.0	22.7
	180.0 mg/kg	ゲムシタピン						
G11	0.135 mg/kg	PM01183	42.4	38.2	36.6	34.6	31.5	25.8
	135.0 mg/kg	ゲムシタピン						
G12	0.09 mg/kg	PM01183	47.4	46.0	43.8	49.1	46.0	42.9
	90.0 mg/kg	ゲムシタピン						
G13	0.045 mg/kg	PM01183	57.9	59.9	55.9	54.9	52.1	50.5
	45.0 mg/kg	ゲムシタピン						

プラセボ：表 13 に開示される通りである。

【0271】

このアッセイによって、以下のことが見出された：

a. PM01183 およびゲムシタピンの組み合わせの治療は、SW1990 膵臓細胞の成長の阻害において効果的であり、対照群と比較して統計的に有意な ($P < 0.01$) 腫瘍の低減をもたらした。2つの高用量群における T/C 値は、22.7% および 25.8% (28 日) であった。さらに、PM01183 およびゲムシタピンの組み合わせは、この実験におけるより活性な単一の作用剤 (0.18 mg/kg の用量の PM01183) よりも低い T/C 値をもたらした。具体的には、組み合わせ (180 mg/kg のゲムシタピン + 0.18 mg/kg の PM01183) 対単独の PM01183 (0.18 mg/kg の PM01183) の T/C (%) 値は、31.7 対 44.2 (20 日)、28.0 対 45.3 (22 日)、26.0 対 44.8 (24 日)、および 22.7 対 38.9 (28 日) であった。したがって、PM01183 を、ゲムシタピンと組み合わせると、抗腫瘍活性の強化が、明確に観察される。

【0272】

加えて、半有効原理に基づく、PM01183 およびゲムシタピンの組み合わせは、(0.8 より高い Fa で) 1 未満の CI 値をもたらした。膵臓 SW1990 の異種移植による腫瘍を有するマウスにおいて相乗作用を示した。

【0273】

実施例 16. ヒト脳腫瘍の異種移植片における、テモゾロミドと組み合わせた PM01183 の効果を決定するための、in vivo の研究。

これらの研究の目的は、ヒト脳腫瘍の異種移植モデルを使用することによって、テモゾロミドの抗腫瘍活性を強化する、PM01183 の能力を評価することであった。

【0274】

雌の胸腺欠損ヌードマウス (Harlan Laboratories Models, S.L. (Barcelona, Spain)) を、全ての実験に利用した。動物を、12 時間の明暗サイクル、21 から 23 および 40 から 60% の湿度で、ケージ 1 つ当たり最大 10 匹まで、個別に換気されたケージ内に収容した。マウスには、照射済の齧歯動物用標準飼料および滅菌水を自由に摂取させ

た。動物を、腫瘍細胞懸濁物による腫瘍移植の前に少なくとも5日間、順化させた。

【0275】

これらの研究に使用した腫瘍モデルは、U87-MG細胞株であった。これは、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションから入手したものであった(ATCC HTB-14TM)。

【0276】

U87-MG細胞を、37℃、5%CO₂下で、イーグル最小必須培地(MEM)において、成長させた。各々の動物に、抗生物質を含まない50%マトリゲルおよび50%無血清培地の懸濁物0.05mL中の、*in vitro*での5回継代物由来の5×10⁶個のU87-MG細胞を、26Gニードルおよび1ccシリンジを使用して、右側腹の皮下に移植した。

10

【0277】

腫瘍の測定値および治療の耐容性を行い、実施例13に開示されるように決定した。

【0278】

腫瘍が約139mm³の体積に到達した際に、マウスを、NewLab Oncology Software(version2.25.06.00)を使用することによって、体重および腫瘍体積の測定値に基づいて、治療群および対照群(1群当たりN=5から7匹)へと無作為に割り当てた。

【0279】

PM01183は、凍結乾燥したPM01183固形物のバイアルの形態で用意して、注入用水で0.2mg/mLの濃度に再構築した。PM01183ストック溶液を、注射用5%グルコース溶液において、投与用配合物濃度まで、さらに希釈した。テモゾロミドは、生成物を注射用0.9%食塩水溶液におけるDMSO(10%)において標的最終濃度まで希釈することによって調製した溶液として用意した。

20

【0280】

これらの実験において、PM01183およびテモゾロミドの治療、ならびにプラセボを、以下のとおりに施した：PM01183は、静脈内に、1週間に1回、最大で連続3週間、0日、7日および14日に、テモゾロミドは、経口的に、毎日、連続8日間(0日から7日)、および、プラセボは、PM01183およびテモゾロミドについて示されたものと同じスケジュールに従って、投与した。用量レベルの群を、単一の作用剤としてまたは組み合わせて、投与した。

30

【0281】

対照群における腫瘍体積の中央値に対する、治療群における腫瘍体積の中央値(T)の比較(T/C×100%)を、抗腫瘍の有効性の評価のために使用した。加えて、強化および組み合わせ指数(CI)を、実施例13に開示されるように決定した。

【0282】

表19は、PM01183およびテモゾロミドを、各々の用量レベルについて、単一の作用剤として投与した場合および組み合わせて投与した場合の両方において得られたT/C値(%)を報告し、図269は、2つの最高比率で投与した群についての、プラセボ、PM01183、テモゾロミド、および対応する組み合わせを用いて治療したマウスにおける、U87-MG腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す。

40

【0283】

【表 20】

表 19

群	用量	試験物質	下記の日における T/C (%)							
			0	2	4	7	9	11	14	16
G01 (対照群)	10 ml/kg	プラセボ	-	-	-	-	-	-	-	-
G02	0.18 mg/kg	PM01 183	99.8	95.5	64.8	63.2	52.0	44.1	38.5	37.1
G03	0.135 mg/kg	PM01 183	98.5	90.5	61.2	71.3	67.7	65.3	64.2	63.6
G04	0.09 mg/kg	PM01 183	97.9	99.5	74.4	85.1	69.4	71.8	74.1	73.5
G05	0.045 mg/kg	PM01 183	98.2	101.0	80.4	83.8	78.8	77.7	76.7	82.5
G06	3.0 mg/kg	テモゾロ ミド	97.1	95.5	67.3	39.4	25.3	22.9	28.4	31.5
G07	1.5 mg/kg	テモゾロ ミド	94.1	96.9	75.6	73.0	56.5	59.3	50.0	53.5
G08	1.0 mg/kg	テモゾロ ミド	98.2	100.2	65.1	81.2	55.0	63.5	73.1	75.0
G09	0.75 mg/kg	テモゾロ ミド	97.7	98.9	76.3	77.3	64.4	63.1	62.8	72.7
G10	0.18 mg/kg 3.0 mg/kg	PM01 183 テモゾロ ミド	97.8	95.0	50.9	33.1	21.0	18.3	16.6	17.4
G11	0.135 mg/kg 1.5 mg/kg	PM01 183 テモゾロ ミド	98.7	102.4	62.7	42.0	30.3	29.1	29.0	30.9
G12	0.09 mg/kg 1.0 mg/kg	PM01 183 テモゾロ ミド	96.2	101.0	79.3	76.1	49.8	51.2	57.6	56.5
G13	0.045 mg/kg 0.75 mg/kg	PM01 183 テモゾロ ミド	101	106.0	67.4	73.0	57.8	59.0	69.3	72.2

プラセボ：表 13 に開示される通りである。

【0284】

このアッセイによって、以下のことが見出された：

a. PM01183 およびテモゾロミドの組み合わせの治療は、U87-MG 脳腫瘍細胞の成長の阻害において効果的であり、対照群と比較して統計的に有意な ($P < 0.01$) 腫瘍の低減をもたらした。2つの高用量群における T/C 値は、17.4% および 30.9% (16日) であった。さらに、PM01183 およびテモゾロミドの組み合わせは、この実験におけるより活性な単一の作用剤 (3 mg/kg および 1.5 mg/kg の用量のテモゾロミド) よりも低い T/C 値をもたらした。具体的には、組み合わせ (3 mg/kg のテモゾロミド + 0.18 mg/kg の PM01183) 対単独のテモゾロミド (3 mg/kg のテモゾロミド) の T/C (%) 値は、18.3 対 22.9 (11日)、16.6 対 28.4 (14日)、および 17.4 対 31.5 (16日) であり、組み合わせ (1.5 mg/kg のテモゾロミド + 0.135 mg/kg の PM01183) 対単独のテ

10

20

30

40

50

モゾロミド (1 . 5 m g / k g のテモゾロミド) の T / C (%) 値は、 2 9 . 1 対 5 9 . 3 (1 1 日) 、 2 9 . 0 対 5 0 . 0 (1 4 日) 、 および 3 0 . 9 対 5 3 . 5 (1 6 日) であった。したがって、 P M 0 1 1 8 3 を、テモゾロミドと組み合わせると、抗腫瘍活性の強化が、明確に観察される。

【 0 2 8 5 】

加えて、半有効原理に基づくと、 P M 0 1 1 8 3 およびテモゾロミドの組み合わせは、 (0 . 8 より高い F a で) 1 未満の C I 値をもたらし、脳 U 8 7 - M G の異種移植による腫瘍を有するマウスにおいて相乗作用を示した。

【 0 2 8 6 】

実施例 1 7 . ヒト肺腫瘍の異種移植片における、イリノテカンと組み合わせた P M 0 1 1 8 3 の効果を決定するための、 *i n v i v o* の研究。

これらの研究の目的は、ヒト肺癌の異種移植モデルを使用することによって、イリノテカンの抗腫瘍活性を強化する、 P M 0 1 1 8 3 の能力を評価することであった。

【 0 2 8 7 】

雌の胸腺欠損ヌードマウス (Harlan Laboratories Models, S . L . (Barcelona, Spain)) を、全ての実験に利用した。動物を、 1 2 時間の明暗サイクル、 2 1 から 2 3 および 4 0 から 6 0 % の湿度で、ケージ 1 つ当たり最大 1 0 匹まで、個別に換気されたケージ内に収容した。マウスには、照射済の齧歯動物用標準飼料および滅菌水を自由に摂取させた。動物を、腫瘍細胞懸濁物による腫瘍移植の前に少なくとも 5 日間、順化させた。

【 0 2 8 8 】

これらの研究に使用した腫瘍モデルは、 H 4 6 0 細胞株であった。これは、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション・オブ・セル・カルチャーズから入手したものであった (A T C C 参照番号 : H T B - 1 7 7 ^{T M}) 。

【 0 2 8 9 】

H 4 6 0 細胞を、 3 7 、 5 % C O 2 下で、ダルベッコ変法イーグル培地 (D M E M) において、成長させた。各々の動物に、抗生物質を含まない 5 0 % マトリゲルおよび 5 0 % 無血清培地の懸濁物 0 . 0 5 m L 中の、 *i n v i t r o* での 1 0 回継代物由来の 5×10^6 個の H 4 6 0 細胞を、 2 6 G ニードルおよび 1 c c シリンジを使用して、右側腹の皮下に移植した。

【 0 2 9 0 】

腫瘍の測定値および治療の耐容性を行い、実施例 1 3 に開示されるように決定した。

【 0 2 9 1 】

腫瘍が約 1 7 7 m m ³ の体積に到達した際に、マウスを、 New L a b O n c o l o g y S o f t w a r e (v e r s i o n 2 . 2 5 . 0 6 . 0 0) を使用することによって、体重および腫瘍体積の測定値に基づいて、治療群および対照群 (1 群当たり N = 5 から 7 匹) へと無作為に割り当てた。

【 0 2 9 2 】

P M 0 1 1 8 3 は、凍結乾燥した P M 0 1 1 8 3 固形物のバイアルの形態で用意して、注入用水で 0 . 2 m g / m L の濃度に再構築した。 P M 0 1 1 8 3 ストック溶液を、注射用 5 % グルコース溶液において、投与用配合物濃度まで、さらに希釈した。イリノテカンは、生成物を注射用 5 % グルコース溶液で標的最終濃度まで希釈することによって調製した溶液の形態で用意した。

【 0 2 9 3 】

これらの実験において、 P M 0 1 1 8 3 およびイリノテカンの治療、ならびにプラセボを、以下のとおりに静脈内に施した : P M 0 1 1 8 3 は、 1 週間に 1 回、最大で連続 2 週間、 0 日および 7 日に、イリノテカンは、 4 日ごとに、 0 日、 4 日および 8 日に、投与し、プラセボは、 P M 0 1 1 8 3 およびイリノテカンについて示されたものと同じスケジュールに従って、投与した。用量レベルの群を、単一の作用剤としてまたは組み合わせて、投与した。

【 0 2 9 4 】

対照群における腫瘍体積の中央値に対する、治療群における腫瘍体積の中央値（Ｔ）の比較（ $T/C \times 100\%$ ）を、抗腫瘍の有効性の評価のために使用した。加えて、強化および組み合わせ指数（ＣＩ）を、実施例１３に開示されるように決定した。

【０２９５】

表２０は、PM01183およびイリノテカンを、各々の用量レベルについて、単一の作用剤として投与した場合および組み合わせで投与した場合の両方において得られたＴ／Ｃ値（％）を報告し、図２７０は、２つの最高比率で投与した群についての、プラセボ、PM01183、イリノテカン、および対応する組み合わせを用いて治療したマウスにおける、H460腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す。

【０２９６】

【表２１】

表２０

群	用量	試験物質	下記の日におけるＴ／Ｃ（％）					
			0	2	5	7	9	12
G01 (対照群)	10 ml/kg	プラセボ	-	-	-	-	-	-
G02	0.18 mg/kg	PM01183	114.4	79.6	74.7	75.0	69.1	64.9
G03	0.135 mg/kg	PM01183	117.6	77.4	67.5	71.7	66.7	52.9
G04	0.09 mg/kg	PM01183	116.9	83.1	83.9	76.9	80.6	84.9
G05	0.045 mg/kg	PM01183	108.3	78.7	61.2	67.2	78.8	87.9
G06	50.0 mg/kg	イリノテカン	112.1	54.9	34.7	27.5	24.8	22.9
G07	37.5 mg/kg	イリノテカン	114.9	51.9	44.0	36.7	35.6	37.0
G08	25.0 mg/kg	イリノテカン	112.0	55.6	54.9	49.6	53.1	51.8
G09	12.5 mg/kg	イリノテカン	97.5	50.3	44.4	48.6	50.0	51.5
G10	0.18 mg/kg 50.0 mg/kg	PM01183 イリノテカン	117.1	44.3	19.4	13.4	10.9	9.0
G11	0.135 mg/kg 37.5 mg/kg	PM01183 イリノテカン	111.2	51.7	23.8	18.4	15.7	15.3
G12	0.09 mg/kg 25.0 mg/kg	PM01183 イリノテカン	110.0	53.2	38.1	26.6	28.0	27.1
G13	0.045 mg/kg 12.5 mg/kg	PM01183 イリノテカン	109.0	60.4	60.1	56.5	60.0	58.5

プラセボ：表１３に開示される通りである。

【０２９７】

このアッセイによって、以下のことが見出された：

a. PM01183およびイリノテカンの組み合わせの治療は、H460肺細胞の成長の阻害において効果的であり、対照群と比較して統計的に有意な（ $P < 0.01$ ）腫瘍の低減をもたらし、２つの高用量群におけるＴ／Ｃ値は、 9.0% および 15.3% （１２日）であった。さらに、PM01183およびイリノテカンの組み合わせは、この実験におけるより活性な単一の作用剤（ 50 mg/kg および 37.5 mg/kg の用量のイリノテカン）よりも低いＴ／Ｃ値をもたらした。具体的には、組み合わせ（ 50 mg/kg のイリノテカン＋ 0.18 mg/kg のPM01183）対単独のイリノテカン（ 50 mg/kg のイリノテカン）のＴ／Ｃ（％）値は、 19.4 対 34.7 （５日）、 13.4 対 27.5 （７日）、 10.9 対 24.8 （９日）、および 9.0 対 22.9 （１２日）であり、組み合わせ（ 37.5 mg/kg のイリノテカン＋ 0.135 mg/kg のPM01183）対単独のイリノテカン（ 37.5 mg/kg のイリノテカン）のＴ／Ｃ（％）値は、 23.8 対 44.0 （５日）、 18.4 対 36.7 （７日）、 15.7 対 35.6 （９日）、および 15.3 対 37.0 （１２日）であった。したがって、PM01183を、イリノテカンと組み合わせると、抗腫瘍活性の強化が、明確に観察される。

【０２９８】

加えて、半有効原理に基づく、PM01183およびイリノテカンの組み合わせは、(0.8より高いFaで)1未満のCI値をもたらし、肺H460の異種移植による腫瘍を有するマウスにおいて、相乗作用または強い相乗作用を示した。

【0299】

実施例18．ヒト線維肉腫の異種移植片における、ダカルバジンと組み合わせたPM01183の効果を決定するための、*in vivo*の研究。

これらの研究の目的は、ヒト線維肉腫の異種移植モデルを使用することによって、テモゾロミドの抗腫瘍活性を強化する、PM01183の能力を評価することであった。

【0300】

雌の胸腺欠損ヌードマウス(Harlan Laboratories Models, S.L. (Barcelona, Spain))を、全ての実験に利用した。動物を、12時間の明暗サイクル、21から23 および40から60%の湿度で、ケージ1つ当たり最大10匹まで、個別に換気されたケージ内に収容した。マウスには、照射済の齧歯動物用標準飼料および滅菌水を自由に摂取させた。動物を、腫瘍細胞懸濁物による腫瘍移植の前に少なくとも5日間、順化させた。

【0301】

これらの研究に使用した腫瘍モデルは、HT1080細胞株であった。これは、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションから入手したものであった(ATCC CCL-121TM)。

【0302】

HT1080細胞を、37℃、5%CO₂下で、イーグル最小必須培地(MEM)において、成長させた。各々の動物に、抗生物質を含まない無血清培地に懸濁された、*in vitro*での9回継代物由来の 5×10^6 個のHT1080細胞を、26Gニードルおよび1ccシリンジを使用して、筋肉内注射によって腓腹筋に同所移植した。

【0303】

総直径(腫瘍+脚)の測定値を、デジタルノギス(Fowler Sylvac, S235PAT)を使用することによって決定した。この総直径および動物の体重を、治療の最初の日から開始して、1週間当たり2から3回測定した。

【0304】

治療の耐容性を、体重の変化、臨床徴候、および、注射部位における局所損傷の形跡をモニタリングすることによって、評価した。

【0305】

総直径が、約11.3mmの長さに到達した際に、マウスを、NewLab Oncology Software(version2.25.06.00)。を使用することによって、体重および腫瘍の測定値に基づいて、治療群および対照群(1群当たりN=5から7匹)へと無作為に割り当てた。

【0306】

PM01183は、凍結乾燥したPM01183固形物のバイアルの形態で用意して、注入用水で0.2mg/mLの濃度に再構築した。PM01183ストック溶液を、注射用5%グルコース溶液において、投与用配合物濃度まで、さらに希釈した。ダカルバジンは、生成物を注射用5%グルコース溶液で標的最終濃度まで希釈することによって調製した溶液の形態で用意した。

【0307】

これらの実験において、PM01183およびダカルバジンの治療、ならびにプラセボを、1週間に1回、最大で連続2週間、0日および7日に、静脈内に施した。用量レベルの群を、単一の作用剤としてまたは組み合わせて、投与した。

【0308】

対照群における総直径(腫瘍+脚)の中央値に対する、治療群における総直径(腫瘍+脚)の中央値(T)の比較($T/C \times 100\%$)を、抗腫瘍の有効性の評価のために使用した。加えて、強化および組み合わせ指数(CI)を、実施例13に開示されるように決定した。

10

20

30

40

50

【 0 3 0 9 】

表 2 1 は、PM 0 1 1 8 3 およびダカルバジンを、各々の用量レベルについて、単一の作用剤として投与した場合および組み合わせて投与した場合の両方において得られた T / C 値 (%) を報告し、図 2 7 1 は、2 つの最高比率で投与した群についての、プラセボ、PM 0 1 1 8 3、ダカルバジン、および対応する組み合わせを用いて治療したマウスにおける、HT 1 0 8 0 腫瘍の総直径 (腫瘍 + 脚) の評価結果を示す。

【 0 3 1 0 】

【 表 2 2 】

表 2 1

群	用量	試験物質	下記の日における T / C (%)							
			0	2	4	7	9	1 1	1 4	1 6
G 0 1 (対照群)	10 ml/kg	プラセボ	-	-	-	-	-	-	-	-
G 0 2	0.18 mg/kg	PM 0 1 1 8 3	100	59.3	40.0	26.9	26.7	11.5	21.2	30.6
G 0 3	0.135 mg/kg	PM 0 1 1 8 3	100	63.0	62.9	48.1	36.0	30.2	33.0	41.9
G 0 4	0.09 mg/kg	PM 0 1 1 8 3	100	66.7	57.1	65.4	48.0	42.7	45.8	56.4
G 0 5	0.045 mg/kg	PM 0 1 1 8 3	100	77.8	74.3	94.2	80.0	74.0	80.5	91.1
G 0 6	150.0 mg/kg	ダカルバ ジン	100	40.7	28.6	30.8	44.0	37.5	44.9	57.3
G 0 7	112.5 mg/kg	ダカルバ ジン	100	48.1	34.3	53.8	48.0	37.5	43.2	53.2
G 0 8	75.0 mg/kg	ダカルバ ジン	100	74.1	65.7	69.2	58.7	45.8	46.6	51.6
G 0 9	37.5 mg/kg	ダカルバ ジン	100	51.8	54.3	65.4	61.3	47.9	55.1	62.1
G 1 0	0.18 mg/kg 150.0 mg/kg	PM 0 1 1 8 3 ダカルバ ジン	100	37.0	22.9	17.3	4.0	10.4	-4.2	1.0
G 1 1	0.135 mg/kg 112.5 mg/kg	PM 0 1 1 8 3 ダカルバ ジン	100	29.6	25.7	11.5	-8.0	-17.7	-6.8	7.3
G 1 2	0.09 mg/kg 75.0 mg/kg	PM 0 1 1 8 3 ダカルバ ジン	100	37.0	31.4	28.8	52.0	43.7	50.8	64.5
G 1 3	0.045 mg/kg 37.5 mg/kg	PM 0 1 1 8 3 ダカルバ ジン	100	55.6	51.4	67.3	70.7	62.5	59.3	62.1

プラセボ：表 1 3 に開示される通りである。

【 0 3 1 1 】

このアッセイによって、以下のことが見出された：

a . PM 0 1 1 8 3 およびダカルバジンの組み合わせの治療は、HT 1 0 8 0 線維肉腫細胞の成長の阻害において効果的であり、対照群と比較して統計的に有意な ($P < 0 . 0 1$) 総直径 (腫瘍 + 脚) の低減をもたらし、2 つの高用量群における T / C 値は、1 . 0

%および7.3%(16日)であった。さらに、PM01183およびダカルバジンの組み合わせは、この実験におけるより活性な単一の作用剤(0.18mg/kgおよび0.135mg/kgの用量のPM01183)よりも低いT/C値をもたらした。具体的には、組み合わせ(150mg/kgのダカルバジン+0.18mg/kgのPM01183)対単独のPM01183(0.18mg/kgのPM01183)のT/C(%)値は、4.0対26.7(9日)、10.4対11.5(11日)、-4.2対21.2(14日)、および1.0対30.6(16日)であり、組み合わせ(112.5mg/kgのダカルバジン+0.135mg/kgのPM01183)対単独のPM01183(0.135mg/kgのPM01183)のT/C(%)値は、-8.0対36.0(9日)、-17.7対30.2(11日)、-6.8対33.0(14日)、および7.3対41.9(16日)であった。したがって、PM01183を、ダカルバジンと組み合わせると、抗腫瘍活性の強化が、明確に観察される。

10

【0312】

加えて、半有効原理に基づく、PM01183およびダカルバジンの組み合わせは、(0.97に等しいF_aで)0.28のCI値をもたらし、線維肉腫HT1080の同所移植による腫瘍を有するマウスにおいて強い相乗作用を示した。

【0313】

実施例19. ヒト結腸直腸腫瘍の異種移植片における、イリノテカンと組み合わせたPM01183の効果を決定するための、*in vivo*の研究。

これらの研究の目的は、ヒト結腸直腸カルシノーマの異種移植モデルを使用することによって、イリノテカンの抗腫瘍活性を強化する、PM01183の能力を評価することであった。

20

【0314】

雌の胸腺欠損ヌードマウス(Harlan Laboratories Models, S.L. (Barcelona, Spain))を、全ての実験に利用した。動物を、12時間の明暗サイクル、21から23 および40から60%の湿度で、ケージ1つ当たり最大10匹まで、個別に換気されたケージ内に収容した。マウスには、照射済の齧歯動物用標準飼料および滅菌水を自由に摂取させた。動物を、腫瘍細胞懸濁物による腫瘍移植の前に少なくとも5日間、順化させた。

【0315】

これらの研究に使用した腫瘍モデルは、HT-29細胞株であった。これは、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクションから入手したものであった(ATCC参照番号: HTB-38^{T.M})。

30

【0316】

HT-29細胞を、37℃、5%CO₂下で、ダルベッコ変法イーグル培地(DMEM)において、成長させた。各々の動物に、注射用0.9%塩化ナトリウム0.05mL中の、*in vitro*での10回継代物由来の5×10⁶個のHT-29細胞を、26Gニードルおよび1ccシリンジを使用して、右側腹の皮下に移植した。

【0317】

腫瘍の測定値および治療の耐受性を行い、実施例13に開示されるように決定した。治療の耐受性を、体重の変化、臨床徴候、および、注射部位における局所損傷の形跡をモニタリングすることによって、評価した。

40

【0318】

腫瘍が約180mm³の体積に到達した際に、マウスを、New Lab Oncology Software(version 2.25.06.00)を使用することによって、体重および腫瘍体積の測定値に基づいて、治療群および対照群(1群当たりN=5から7匹)へと無作為に割り当てた。

【0319】

PM01183は、凍結乾燥したPM01183固形物のバイアルの形態で用意して、注入用水で0.2mg/mLの濃度に再構築した。PM01183ストック溶液を、注射用5%グルコース溶液において、投与用配合物濃度まで、さらに希釈した。イリノテカン

50

は、生成物を注射用 5 % グルコース溶液で標的最終濃度まで希釈することによって調製した溶液の形態で用意した。

【 0 3 2 0 】

これらの実験において、PM01183 およびイリノテカンの治療、ならびにプラセボを、以下のとおりに静脈内に施した：PM01183 は、1 週間に 1 回、最大で連続 3 週間、0 日、7 日および 14 日に、イリノテカン は、4 日ごとに、0 日、4 日、8 日、12 日および 16 日に、投与し、プラセボは、PM01183 およびイリノテカンについて示されたものと同じスケジュールに従って投与した。用量レベルの群を、単一の作用剤としてまたは組み合わせて、投与した。

【 0 3 2 1 】

対照群における腫瘍体積の中央値に対する、治療群における腫瘍体積の中央値 (T) の比較 ($T/C \times 100\%$) を、抗腫瘍の有効性の評価のために使用した。加えて、強化を、実施例 13 に開示されるように決定した。

【 0 3 2 2 】

表 22 は、PM01183 およびイリノテカン を、各々の用量レベルについて、単一の作用剤として投与した場合および組み合わせて投与した場合の両方において得られた T/C 値 (%) を報告し、図 272 は、2 つの最高比率で投与した群についての、プラセボ、PM01183、イリノテカン、および対応する組み合わせを用いて治療したマウスにおける、HT-29 腫瘍の腫瘍体積の評価結果を示す。

【 0 3 2 3 】

【表 23】

表 22

群	用量	試験物質	下記の日における T/C (%)				
			0	3	5	7	10
G01 (対照群)	10 ml/kg	プラセボ	-	-	-	-	-
G02	0.18 mg/kg	PM01183	100.4	108.4	86.5	101.1	116.5
G03	0.135 mg/kg	PM01183	98.4	106.4	95.3	116.6	115.2
G04	0.09 mg/kg	PM01183	98.4	100.9	88.7	121.9	129.8
G05	0.045 mg/kg	PM01183	99.8	103.7	100.6	111.1	135.8
G06	50.0 mg/kg	イリノテカン	100.1	114.7	93.7	96.1	70.5
G07	37.5 mg/kg	イリノテカン	98.4	108.1	97.5	99.2	84.3
G08	25.0 mg/kg	イリノテカン	98.8	108.6	97.2	101.4	96.5
G09	12.5 mg/kg	イリノテカン	99.0	99.1	90.6	97.4	92.7
G10	0.18 mg/kg	PM01183	99.5	101.8	78.3	77.5	51.6
	50.0 mg/kg	イリノテカン					
G11	0.135 mg/kg	PM01183	98.4	98.0	85.2	85.4	60.7
	37.5 mg/kg	イリノテカン					
G12	0.09 mg/kg	PM01183	99.7	96.4	71.7	77.0	62.7
	25.0 mg/kg	イリノテカン					
G13	0.045 mg/kg	PM01183	100.7	104.8	104.3	116.0	98.8
	12.5 mg/kg	イリノテカン					

プラセボ：表 13 に開示される通りである。

【 0 3 2 4 】

【表 2 4】

表 2 2 (続き)

群	用量	試験物質	下記の日における T / C (%)			
			1 2	1 4	1 7	2 0
G 0 1 (対照群)	10 ml/kg	プラセボ	-	-	-	-
G 0 2	0.18 mg/kg	PM01183	115.4	123.4	86.7	77.5
G 0 3	0.135 mg/kg	PM01183	119.1	121.5	133.1	105.2
G 0 4	0.09 mg/kg	PM01183	114.1	109.4	116.1	93.4
G 0 5	0.045 mg/kg	PM01183	125.1	109.3		
G 0 6	50.0 mg/kg	イリノテカン	61.7	51.7	41.4	33.3
G 0 7	37.5 mg/kg	イリノテカン	77.4	65.0	58.4	49.4
G 0 8	25.0 mg/kg	イリノテカン	79.3	82.5	76.3	60.3
G 0 9	12.5 mg/kg	イリノテカン	90.8	89.4	102.6	93.4
G 1 0	0.18 mg/kg	PM01183	43.8	30.4	21.7	15.6
	50.0 mg/kg	イリノテカン				
G 1 1	0.135 mg/kg	PM01183	51.9	40.1	39.2	28.7
	37.5 mg/kg	イリノテカン				
G 1 2	0.09 mg/kg	PM01183	57.7	50.1	47.2	40.7
	25.0 mg/kg	イリノテカン				
G 1 3	0.045 mg/kg	PM01183	85.5	90.5	88.1	76.5
	12.5 mg/kg	イリノテカン				

プラセボ：表 1 3 に開示される通りである。

【0 3 2 5】

このアッセイによって、以下のことが見出された：

a . PM01183 およびイリノテカンの組み合わせの治療は、U87-MG 脳腫瘍細胞の成長の阻害において効果的であり、対照群と比較して統計的に有意な ($P < 0.01$) 腫瘍の低減をもたらした。2つの高用量群における T / C 値は、15.6% および 28.7% (20日) であった。さらに、PM01183 およびイリノテカンの組み合わせは、この実験におけるより活性な単一の作用剤 (50 mg / kg および 37.5 mg / kg の用量のイリノテカン) よりも低い T / C 値をもたらした。具体的には、組み合わせ (50 mg / kg のイリノテカン + 0.18 mg / kg の PM01183) 対単独のイリノテカン (50 mg / kg のイリノテカン) の T / C (%) 値は、30.4 対 51.7 (14日)、21.7 対 41.4 (17日)、および 15.6 対 33.3 (20日) であり、組み合わせ (37.5 mg / kg のイリノテカン + 0.135 mg / kg の PM01183) 対単独のイリノテカン (37.5 mg / kg のイリノテカン) の T / C (%) 値は、40.1 対 65.0 (14日)、39.2 対 58.4 (17日)、および 28.7 対 49.4 (20日) であった。したがって、PM01183 を、イリノテカンと組み合わせると、抗腫瘍活性の強化が、明確に観察される。

【0 3 2 6】

実施例 20 . ヒト白血病細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせた PM01183 の効果を決定するための、in vitro の研究。

以下の作用剤を、PM01183 と組み合わせで評価した：メトトレキサート、ダウノルピシン、アプリジン、ET-743、PM02734 および PM00104 (これらの化合物のストック溶液は、純粋な DMSO において調製し、-20℃ で保存した)。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4x の最終濃度を達成した。1ウェル当たり 50 μL の一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

【0 3 2 7】

JURKAT および MOLT-4 は、このアッセイのために選択されたヒト白血病細胞

株であった。これらは、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（ATCC）から入手したものであった。JURKATおよびMOLT-4細胞を、37℃、5%CO₂および湿度95%で、10%ウシ胎児血清（FBS）、2mM L-グルタミン、および100単位/mLのペニシリン-ストレプトマイシンを添加したフェノールレッドを含まないRPMI培地において、成長させた。

【0328】

スクリーニングを、2つのパートにおいて行った：

【0329】

a. 第一のアッセイ組において、異なる細胞株に対する各々の化合物の相対的な効力を、72時間の曝露を行う*in vitro*細胞毒性アッセイを使用して、決定した。

10

【0330】

簡潔に述べると、細胞を、96ウェルマイクロタイタープレートにおいて、150μLの培養培地において1ウェル当たり50000個の細胞の密度で播種し、ビヒクル単独または試験化合物による72時間の処理の前に、薬剤を含まない培地において4から6時間インキュベートした。

【0331】

インキュベーション後、細胞毒性効果を、MTT還元アッセイを使用して、評価した。50μLのMTT溶液（1mg/mL）を、ウェルに添加し、ホルマゼン結晶が形成されるまで、37℃で15から17時間インキュベートした。培養培地を穏やかに除去した後、DMSOを添加して、不溶性の紫色ホルマゼン生成物を溶解させ、有色の溶液とした。ウェルの吸光度を、540nmで光学密度を測定することによって、定量化した。結果を、対照たる細胞の成長の百分率として表現した。組み合わせの研究に使用されるEC₅₀値（最大半量有効濃度（half-maximal effective concentration））を、Prism v5.02ソフトウェア（GraphPad）を使用して算出した。EC₅₀は、モル濃度として表現され、少なくとも3回の独立のアッセイの平均を表した。

20

【0332】

各々の薬剤について得られた個々のEC₅₀値を、表23および表24に示す。

【0333】

【表25】

表23：JURKAT腫瘍細胞株に対する、作用剤の各々についてのEC₅₀値（単位：モル濃度（M））。

30

化合物	EC ₅₀ (M)	化合物	EC ₅₀ (M)	化合物	EC ₅₀ (M)
メトトレキセート	1.45E-07	ダウノルビシン	7.92E-07	アブリジン	1.38E-08
ET-743	6.96E-09	PM00104	4.83E-09	PM01183	1.55E-09
PM02734	5.50E-06				

【0334】

【表26】

表24：MOLT-4腫瘍細胞株に対する、作用剤の各々についてのEC₅₀値（単位：モル濃度（M））。

40

化合物	EC ₅₀ (M)	化合物	EC ₅₀ (M)	化合物	EC ₅₀ (M)
メトトレキセート	4.39E-08	アブリジン	1.27E-09	ET-743	3.84E-09
PM00104	1.55E-09	PM01183	8.57E-10	PM02734	1.44E-05

【0335】

b. 第二の実験組において、単独および2つの薬剤の組み合わせの両方において試験さ

50

れる作用剤についての濃度 - 応答曲線を、先の段落に記載されるのと同じ方法論を使用して、行った。

【 0 3 3 6 】

この研究において、PM01183および他の標準薬剤に関するそれぞれのEC₅₀値の間に顕著な差異が存在する場合、2つの薬剤について固定濃度の異なる比率を使用した。通常、濃度の固定比率の選択は、各々の薬剤についてのEC₅₀値の、同等の効力の比率(1:1)であり、いくつかの他の比率が、それを上回るまたは下回る、各々の薬剤についての対応するEC₅₀値の、異なる百分率を表す。これらの出発濃度を使用して、一定の段階希釈を行って、単独のおよび組み合わせた薬剤の各々の組についての濃度 - 応答曲線を生成した。

10

【 0 3 3 7 】

腫瘍細胞の生存能に対する、単独の各々の薬剤の効果と比較した、2つの薬剤の組み合わせの効果を、半有効原理に基づくChou and Talalayの方法(非特許文献6)を使用して、評価した。半有効式(median-effect equation): $f_a / f_u = (C / C_m)^m$ (式中、Cは、薬剤濃度であり、C_mは、半有効濃度(すなわち、IC₅₀、ED₅₀、または、研究中の系を50%阻害するLD₅₀)であり、f_aは、薬剤濃度Cによって影響を受けた細胞の割合であり、f_uは、影響を受けなかった割合であり、mは、濃度 - 応答曲線のシグモイド性(sigmoidicity)係数である)が、所与の生物学的系における、薬剤の濃度と効果との間の関係を説明する。

【 0 3 3 8 】

20

この式に基づいて、「組み合わせ指数」(CI)という用語を、薬剤の相互作用の程度の定量的な尺度として使用する。組み合わせ指数(CI)は、以下の式によって決定される:

$$CI = (C)_1 / (C_x)_1 + (C)_2 / (C_x)_2$$

(式中、(C_x)₁は、系のxパーセントを阻害する単独の薬剤1の濃度であり、(C_x)₂は、その系の同じxパーセントを阻害する単独の薬剤2の濃度であり、(C)₁ + (C)₂は、また、その系のxパーセントを組み合わせせて阻害する薬剤1および薬剤2の濃度である。CI値を、f_aの種々の値について(すなわち、細胞成長阻害の種々の程度について)この式を解くことによって、算出した。1未満のCI値は、相乗効果を示し、1の値は、相加効果を示し、1を超える値は、拮抗効果を示す。

30

【 0 3 3 9 】

データは、CalcuSynソフトウェア(Biosoft, Cambridge, UK)を使用して、解析した。統計解析および図表のために、Prismソフトウェア(GraphPad, San Diego, USA)を使用した。全ての結果が、少なくとも3回の独立の実験の平均を表す。

【 0 3 4 0 】

細胞の増殖に対する、試験した薬剤の組み合わせの効果を、図273から図283に示す。

【 0 3 4 1 】

- PM01183とメトトレキセートとの組み合わせ。JURKAT細胞株における、PM01183とメトトレキセートとの組み合わせ(図273)は、両剤の所定の濃度で、或る程度の相乗効果(CI < 1)をもたらした。MOLT-4細胞株における、メトトレキセートと組み合わせたPM01183の効果(図274)は、大部分が相加的であった。

40

【 0 3 4 2 】

- PM01183のダウノルビシンとの組み合わせ。JURKAT細胞株における、PM01183のダウノルビシンとの組み合わせ(図275)は、化合物の所定の濃度で、相加的または相乗的(CI < 1)であった。

【 0 3 4 3 】

- PM01183のアブリジンとの組み合わせ。JURKAT細胞株(図276)およびMOLT-4細胞株(図277)における、PM01183のアブリジンとの組み合わ

50

せは、両剤の所定の濃度で、或る程度の相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。

【0344】

- PM01183のET-743との組み合わせ。JURKAT細胞株における、PM01183のET-743との組み合わせ(図278)は、両剤の所定の濃度で、相加的または相乗的 ($CI < 1$) であった。MOLT-4細胞株における、PM01183のET-743との組み合わせ(図279)は、大部分が相加的であった。

【0345】

- PM01183のPM00104との組み合わせ。JURKAT細胞株における、PM01183のPM00104との組み合わせ(図280)は、少なくとも相加的であり、或る程度の相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。MOLT-4細胞株における、PM01183のPM00104との組み合わせ(図281)は、相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。

【0346】

- PM01183のPM02734との組み合わせ。JURKAT細胞株における、PM01183のPM02734との組み合わせ(図282)は、大部分が相加的であり、両剤の所定の濃度で、或る程度の相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。MOLT-4細胞株における、PM01183のPM02734との組み合わせ(図283)は、相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。

【0347】

実施例21. ヒトリンパ腫細胞株に対する、化学療法剤と組み合わせたPM01183の効果を決めるための、*in vitro*の研究。

以下の作用剤を、PM01183と組み合わせで評価した：ゲムシタビン、シタラビン、メトトレキセート、ダウノルビシン、ET-743、PM02734およびPM00104(これらの化合物のストック溶液は、純粋なDMSOにおいて調製し、-20℃で保存した)。さらなる段階希釈物を、無血清培養培地において調製して、4×の最終濃度を達成した。1ウェル当たり50μLの一定分量の、各々の希釈した化合物を添加した。

【0348】

RAMOSおよびU-937は、このアッセイのために選択されたヒトリンパ腫細胞株であった。これらは、アメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション(ATCC)から入手したものであった。RAMOSおよびU-937細胞を、37℃、5%CO₂および湿度95%で、10%ウシ胎児血清(FBS)、2mM L-グルタミン、および100単位/mLのペニシリン-ストレプトマイシンを添加したフェノールレッドを含まないRPMI培地において、成長させた。

【0349】

スクリーニングを、実施例20に先に記載されるように、2つのパートにおいて行った。

【0350】

第一のアッセイ組において、表25および表26に示されるように、個々のEC₅₀値を、各々の薬剤について決定した。

【0351】

【表27】

表25：RAMOS腫瘍細胞株に対する、作用剤の各々についてのEC₅₀値(単位：モル濃度(M))。

化合物	EC ₅₀ (M)	化合物	EC ₅₀ (M)	化合物	EC ₅₀ (M)
ゲムシタビン	2.51E-08	シタラビン	3.64E-08	メトトレキセート	5.02E-06
ダウノルビシン	3.15E-07	ET-743	9.55E-09	PM00104	4.35E-09
PM01183	1.39E-09	PM02734	1.36E-05		

10

20

30

40

50

【 0 3 5 2 】

【表 2 8】

表 2 6 : U - 9 3 7 腫瘍細胞株に対する、作用剤の各々についての EC_{50} 値 (単位: モル濃度 (M))。

化合物	EC_{50} (M)	化合物	EC_{50} (M)	化合物	EC_{50} (M)
ゲムシタビン	3.27E-08	メトトレキセート	2.63E-08	ダウノルビシン	3.04E-07
ET-743	8.62E-09	PM00104	4.50E-09	PM01183	1.03E-09
PM02734	6.85E-06				

10

【 0 3 5 3 】

第二のアクセス組において、単独および2つの薬剤の組み合わせの両方において試験される作用剤についての濃度 - 応答曲線を、行った。薬剤の組み合わせの効果を、実施例 20 に記載されるようなChou and Talalayの方法を使用して、評価した。

【 0 3 5 4 】

細胞の増殖に対する、試験した薬剤の組み合わせの効果を、図 2 8 4 から図 2 9 6 に示す。

【 0 3 5 5 】

- PM01183 のシタラビンとの組み合わせ。RAMOS 細胞株における、PM01183 のシタラビンとの組み合わせ (図 2 8 4) は、或る程度の相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。

20

【 0 3 5 6 】

- PM01183 とメトトレキセートとの組み合わせ。RAMOS 細胞株における、PM01183 とメトトレキセートとの組み合わせ (図 2 8 5) は、両剤の所定の濃度で、或る程度の相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。U - 9 3 7 細胞株における、メトトレキセートと組み合わせた PM01183 の効果 (図 2 8 6) は、所定の濃度で、或る程度の相乗的効果をもたらした。

【 0 3 5 7 】

- PM01183 のゲムシタビンとの組み合わせ。RAMOS 細胞株における、PM01183 のゲムシタビンとの組み合わせ (図 2 8 7) は、両剤の所定の濃度で、相加的または相乗的 ($CI < 1$) であった。U - 9 3 7 細胞株における、PM01183 のゲムシタビンとの組み合わせ (図 2 8 8) は、相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。

30

【 0 3 5 8 】

- PM01183 のダウノルビシンとの組み合わせ。RAMOS 細胞株 (図 2 8 9) および U - 9 3 7 細胞株 (図 2 9 0) における、PM01183 のダウノルビシンとの組み合わせは、少なくとも相加的であり、或る程度の相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。

【 0 3 5 9 】

- PM01183 の ET - 7 4 3 との組み合わせ。RAMOS 細胞株 (図 2 9 1) および U - 9 3 7 細胞株 (図 2 9 2) における、PM01183 の ET - 7 4 3 との組み合わせは、化合物の所定の濃度で、相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。

40

【 0 3 6 0 】

- PM01183 の PM00104 との組み合わせ。RAMOS における、PM01183 の PM00104 との組み合わせ (図 2 9 3) は、相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。U - 9 3 7 細胞株における、PM01183 の PM00104 との組み合わせ (図 2 9 4) は、両剤の所定の濃度で、或る程度の相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。

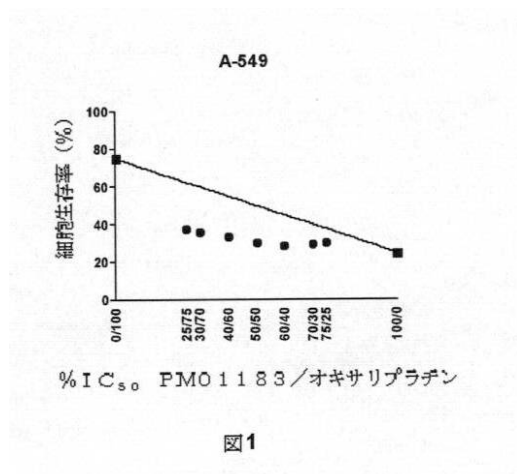
【 0 3 6 1 】

- PM01183 の PM02734 との組み合わせ。RAMOS 細胞株における、PM01183 の PM02734 との組み合わせ (図 2 9 5) は、相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらし、U - 9 3 7 細胞株における、PM01183 の PM02734 との組み合わせ

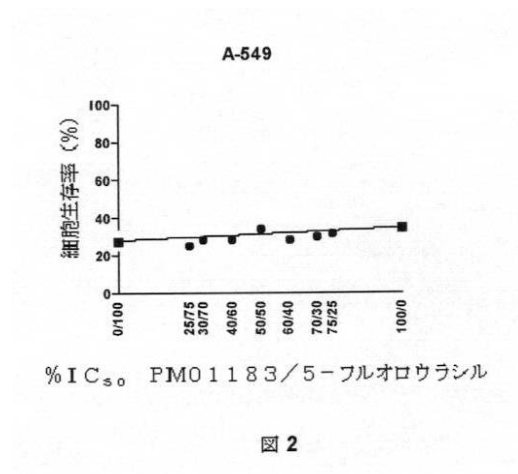
50

(図296)は、少なくとも相加的であり、両剤の高い濃度で、或る程度の相乗的効果 ($CI < 1$) をもたらした。

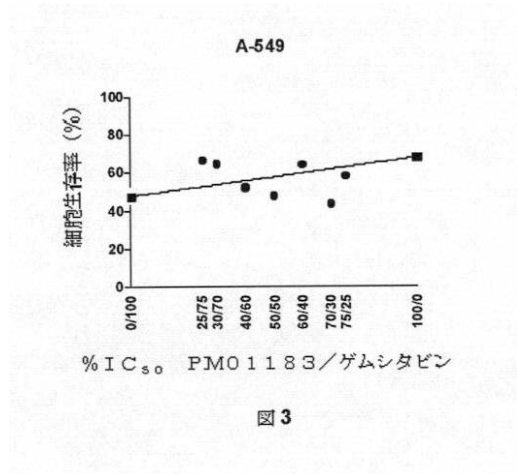
【図1】



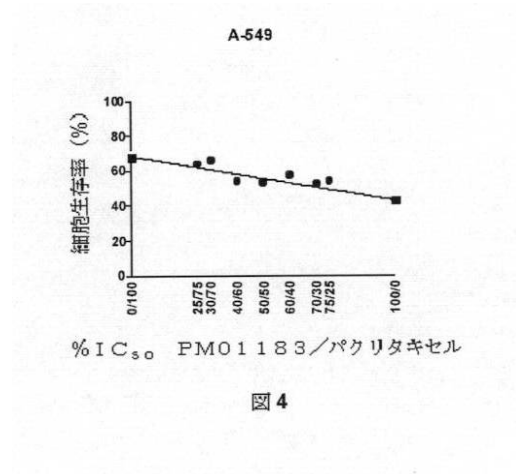
【図2】



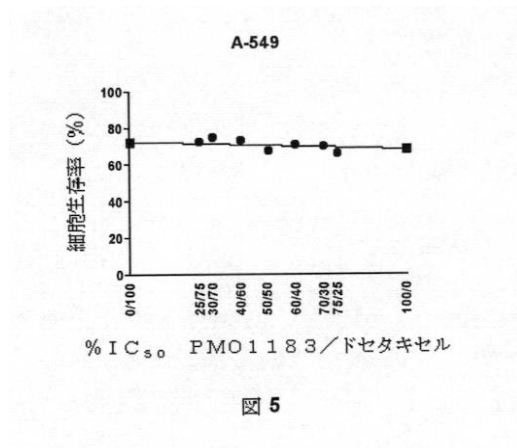
【図3】



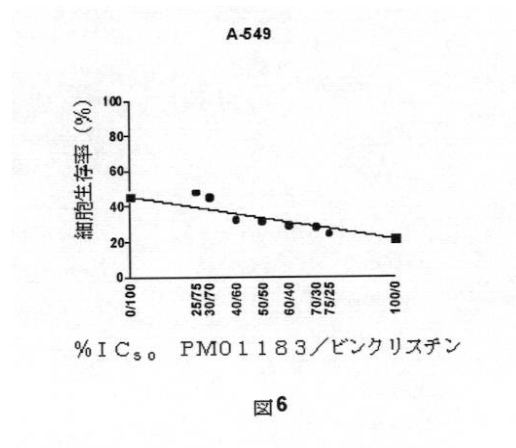
【図4】



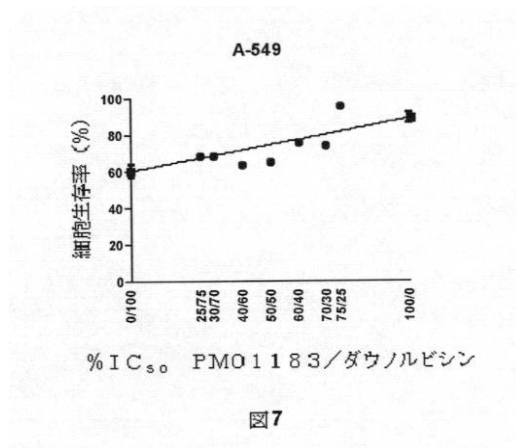
【図5】



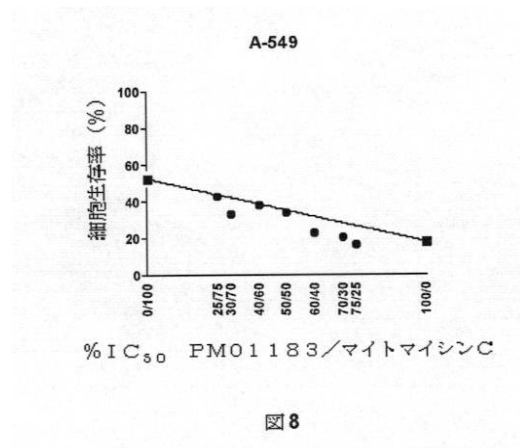
【図6】



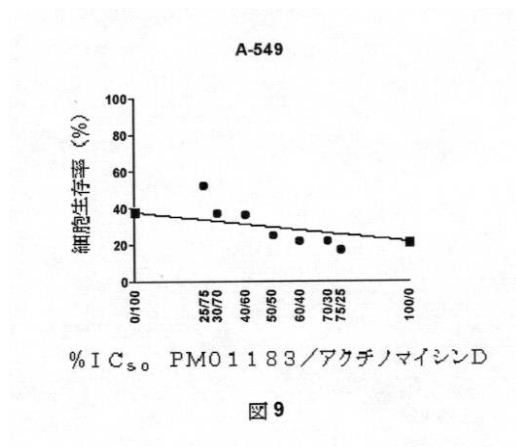
【図 7】



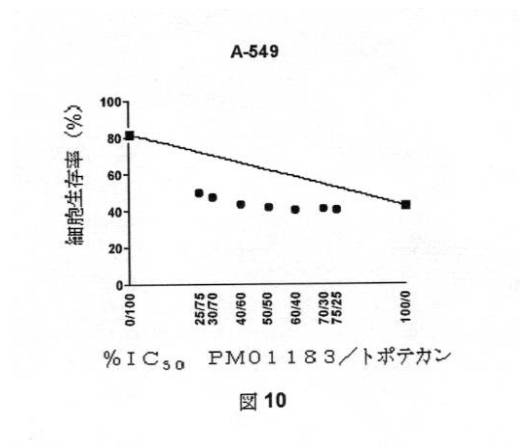
【図 8】



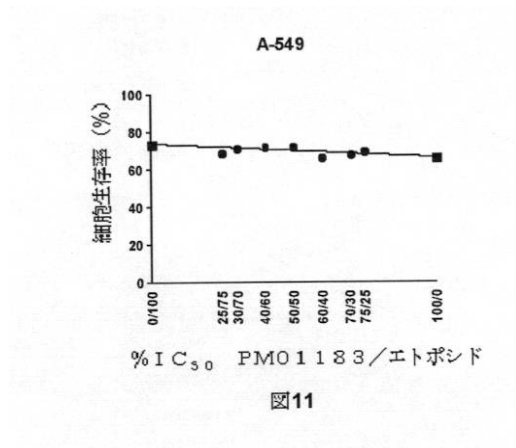
【図 9】



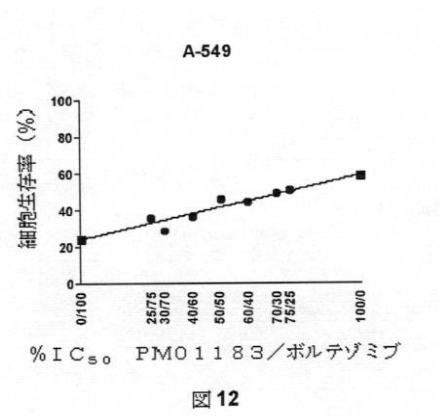
【図 10】



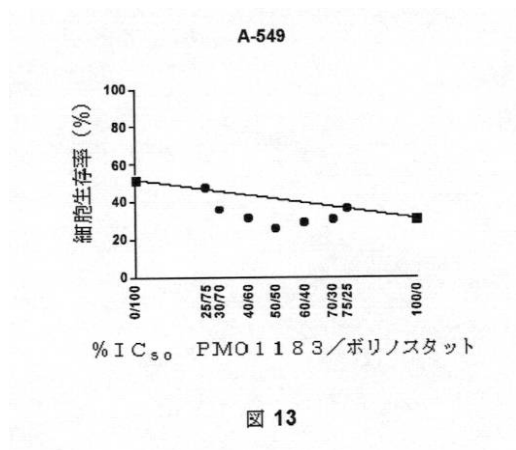
【図 1 1】



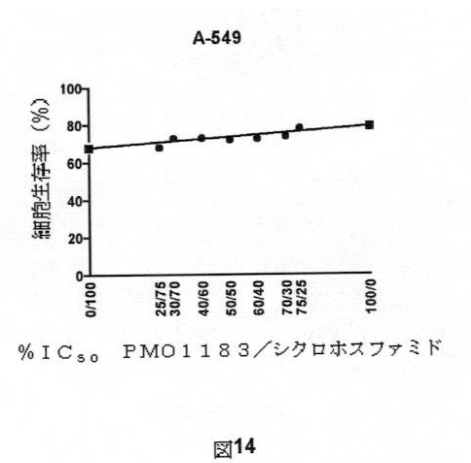
【図 1 2】



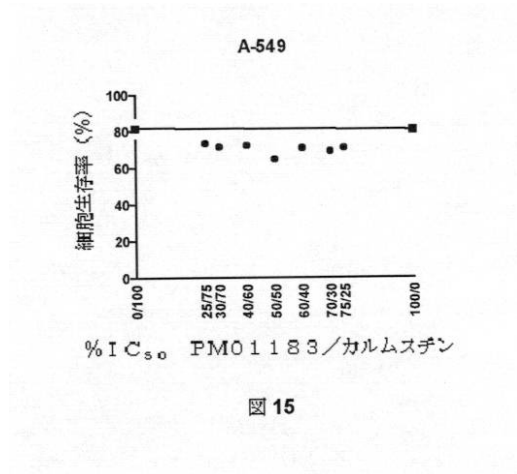
【図 1 3】



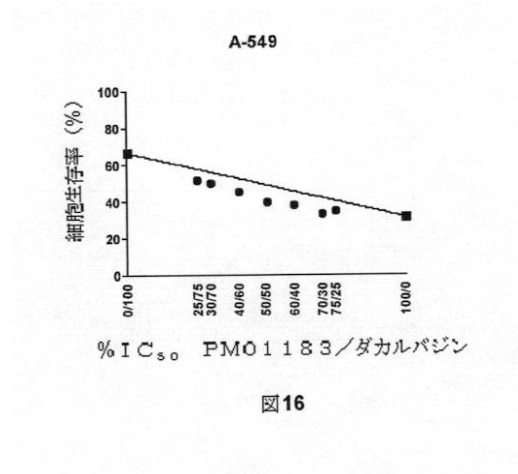
【図 1 4】



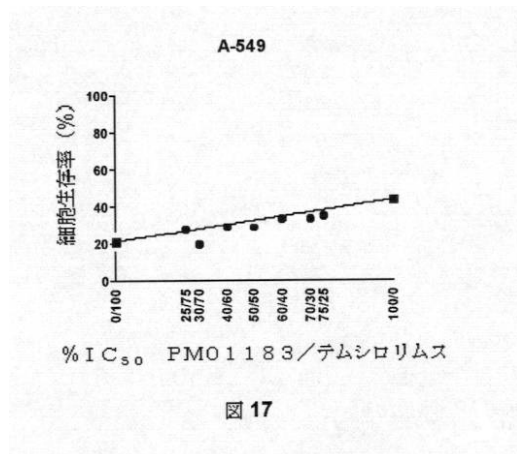
【図 15】



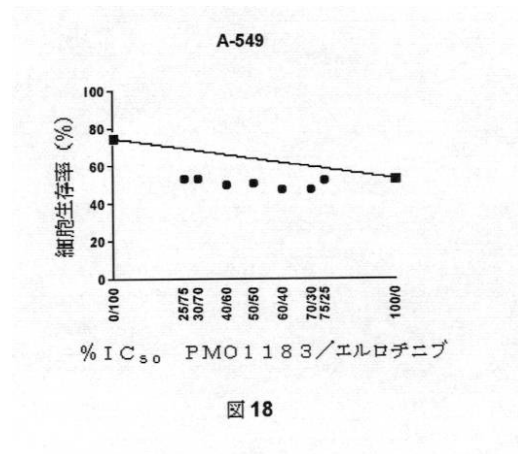
【図 16】



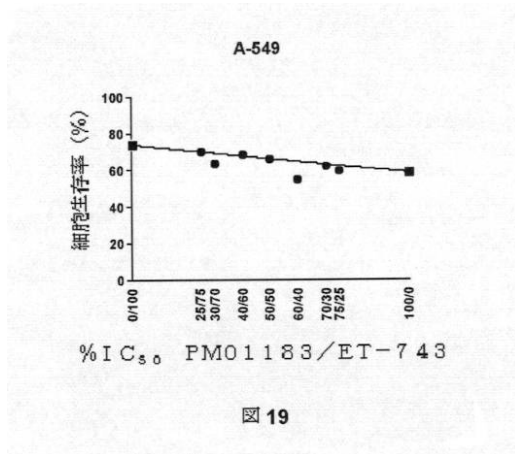
【図 17】



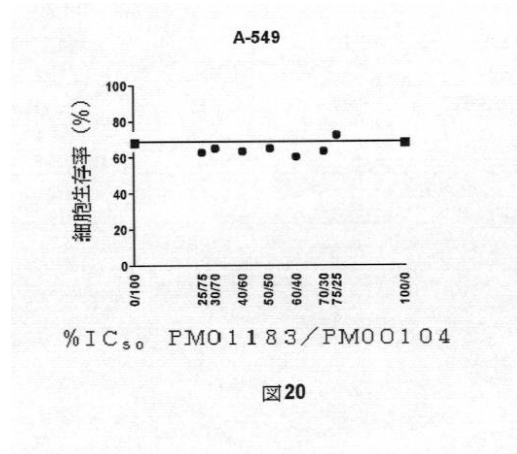
【図 18】



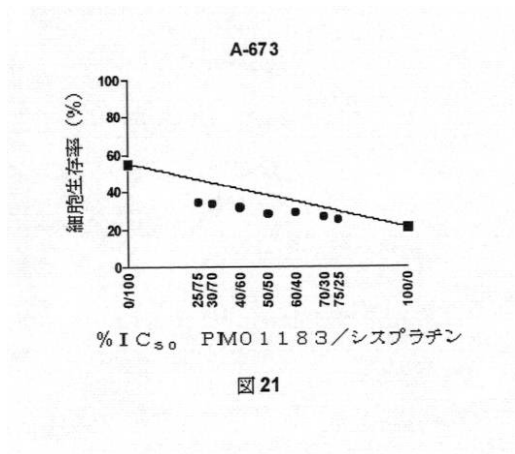
【図 19】



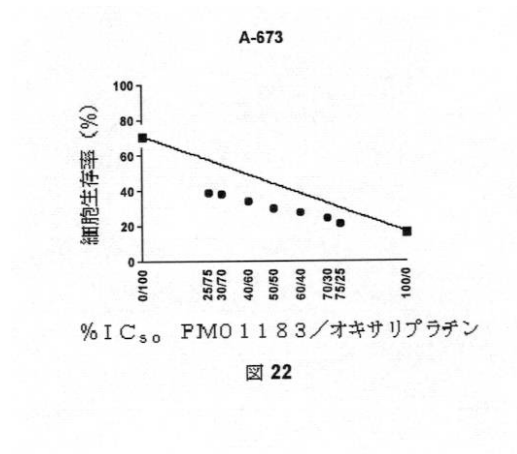
【図 20】



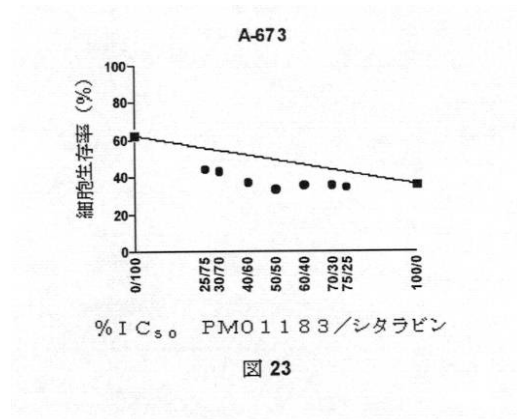
【図 21】



【図 22】



【図 23】



【図 24】

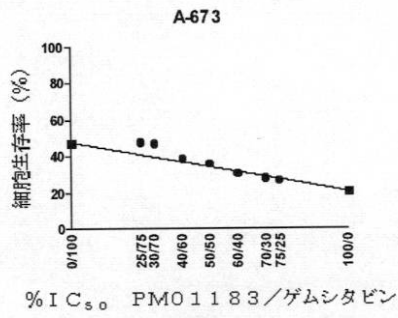


図 24

【図 26】

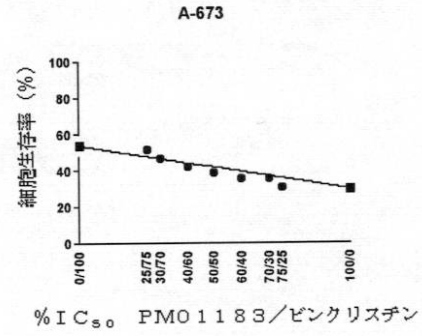


図 26

【図 25】

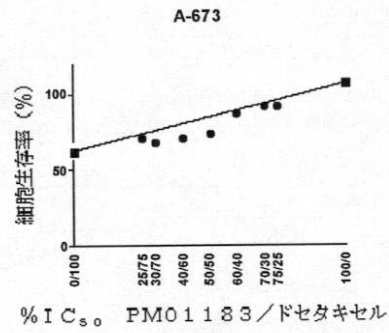


図 25

【図 27】

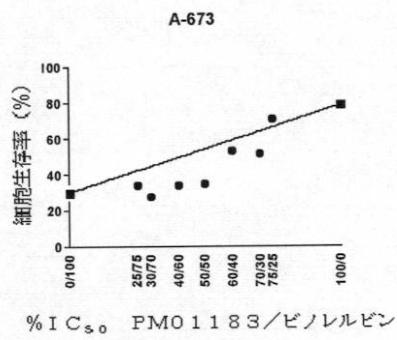


図 27

【図 28】

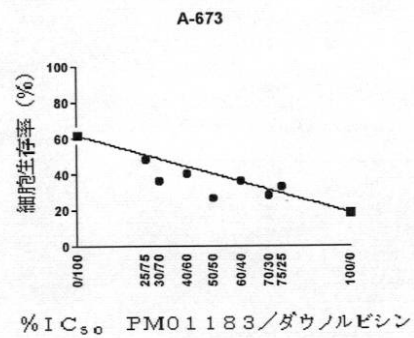


図 28

【図 29】

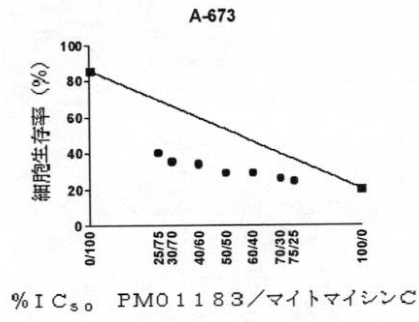


図 29

【図 30】

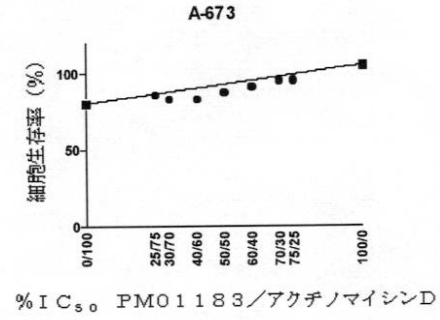


図 30

【図 31】

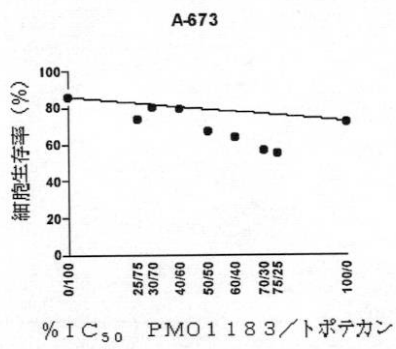


図 31

【図 32】

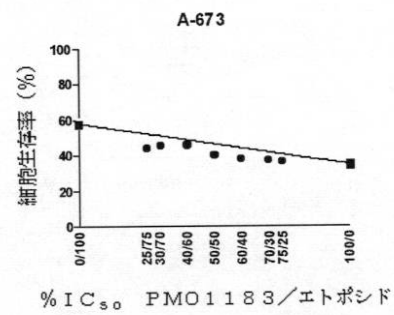


図 32

【図 33】

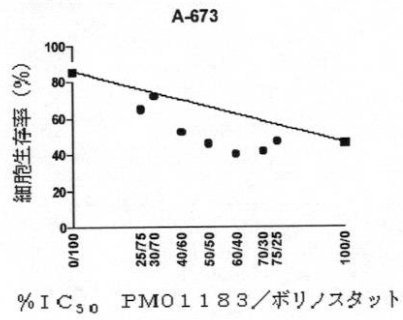


図 33

【図 34】

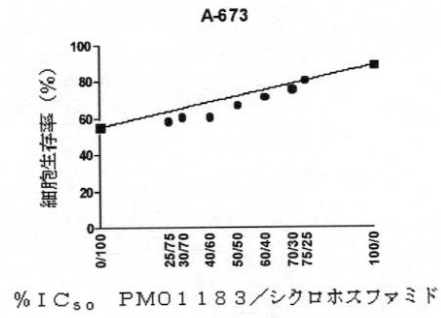


図 34

【図 35】

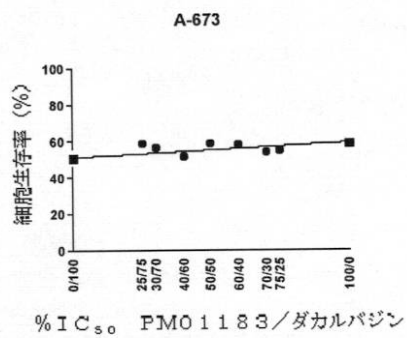


図 35

【図 36】

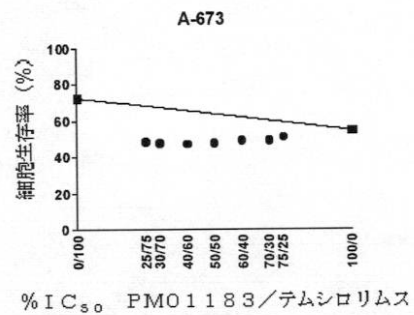
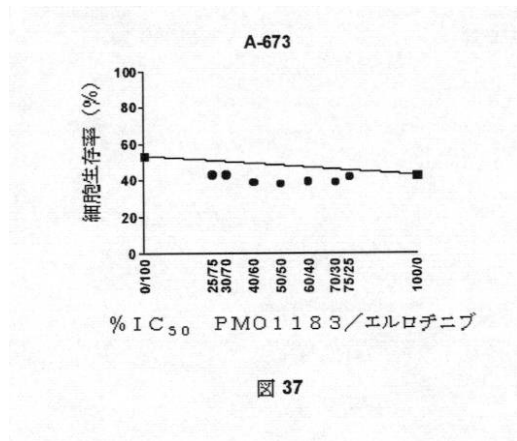
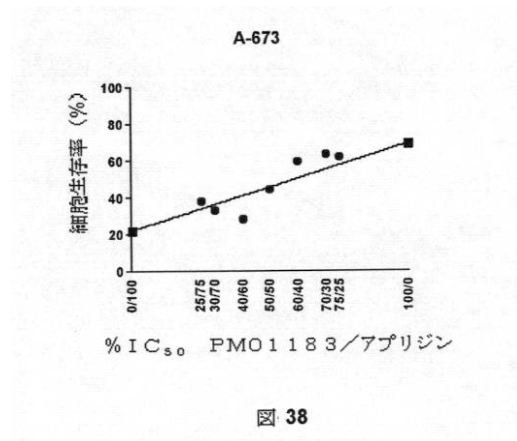


図 36

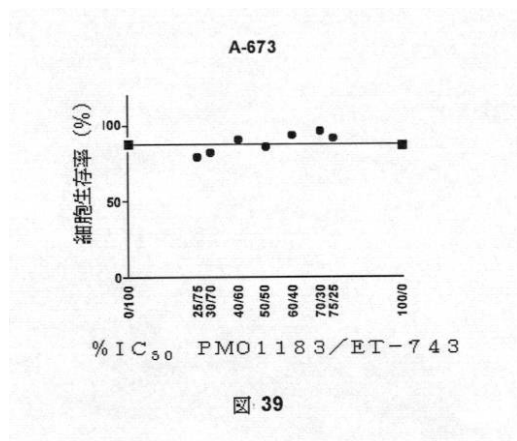
【図 37】



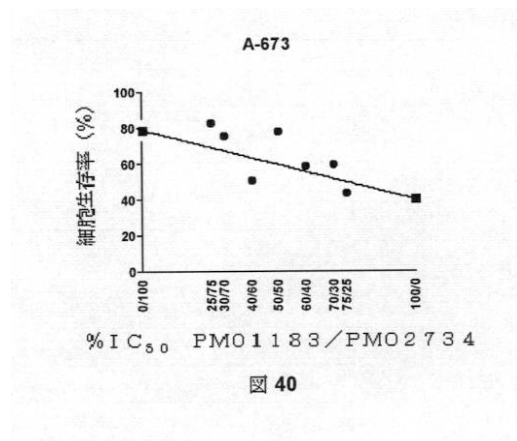
【図 38】



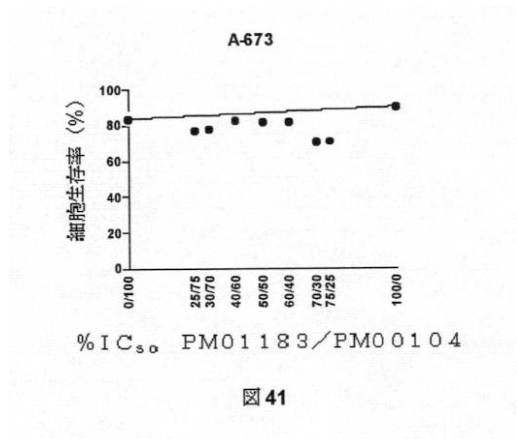
【図 39】



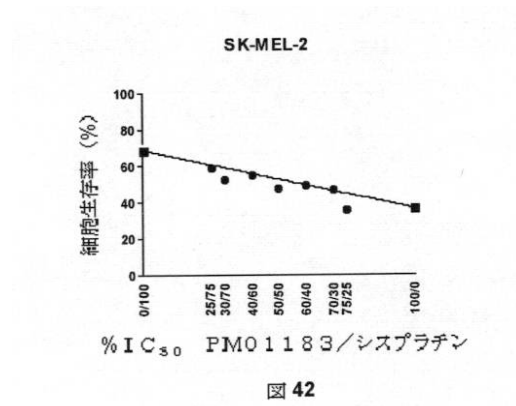
【図 40】



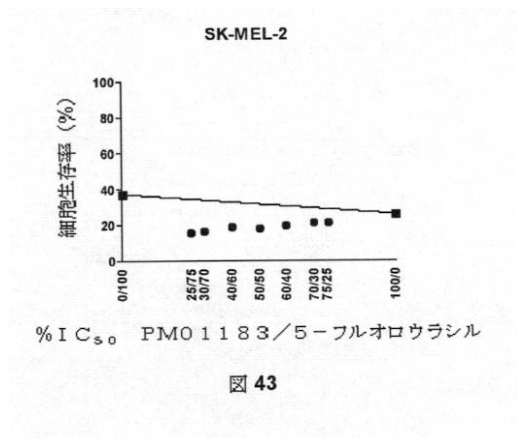
【図 4 1】



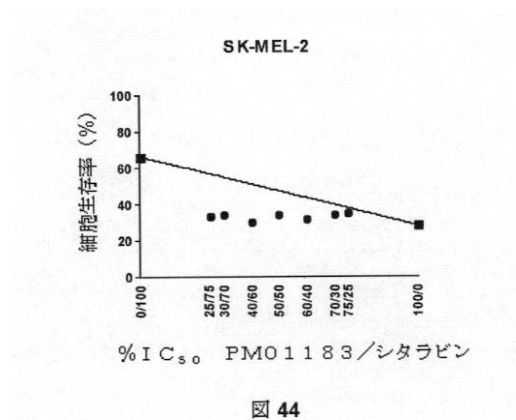
【図 4 2】



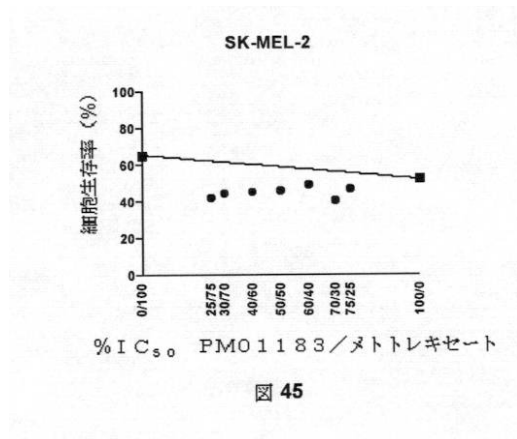
【図 4 3】



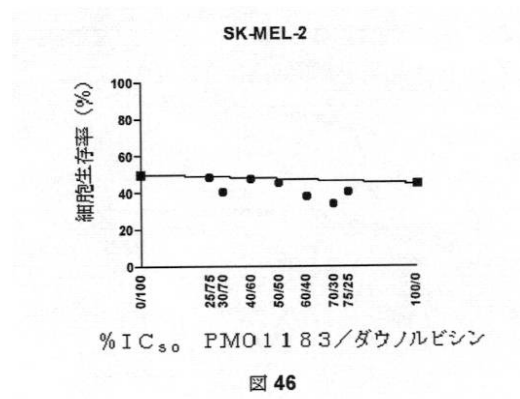
【図 4 4】



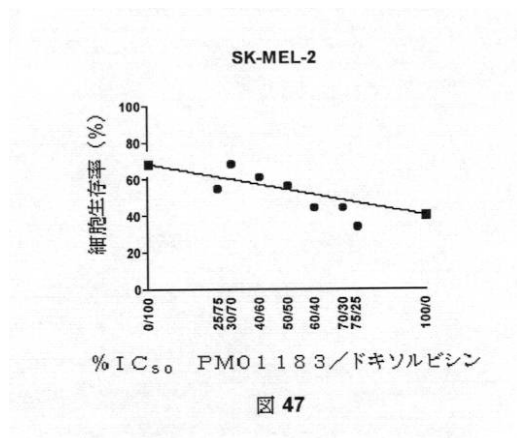
【図 45】



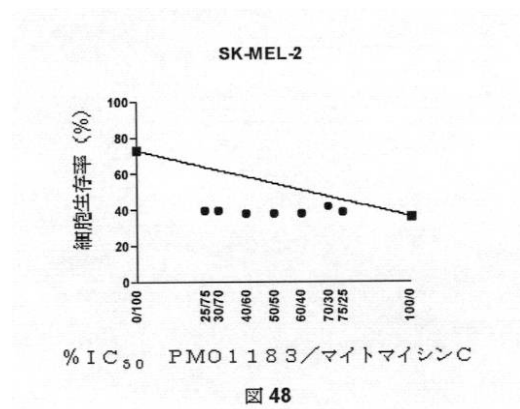
【図 46】



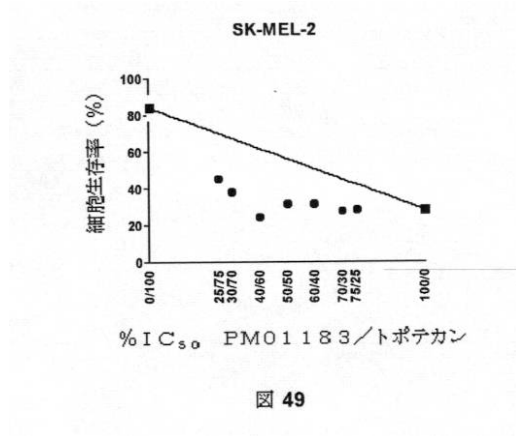
【図 47】



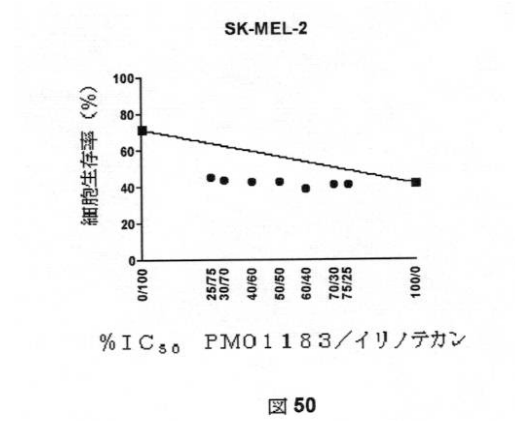
【図 48】



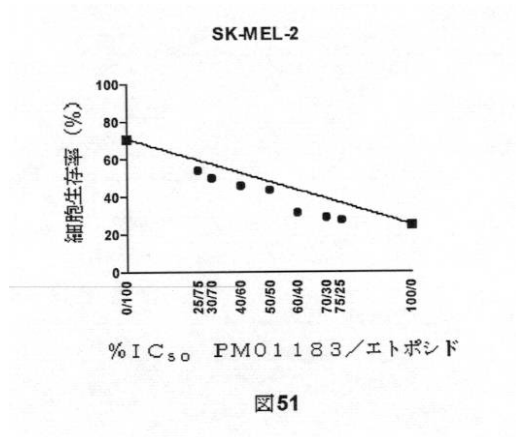
【図 49】



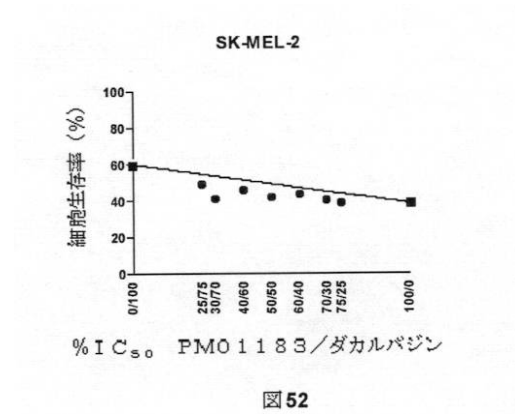
【図 50】



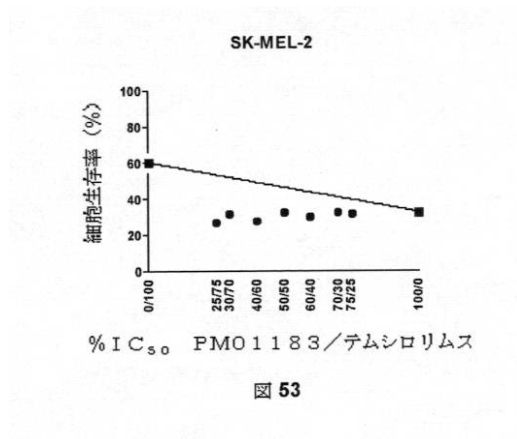
【図 51】



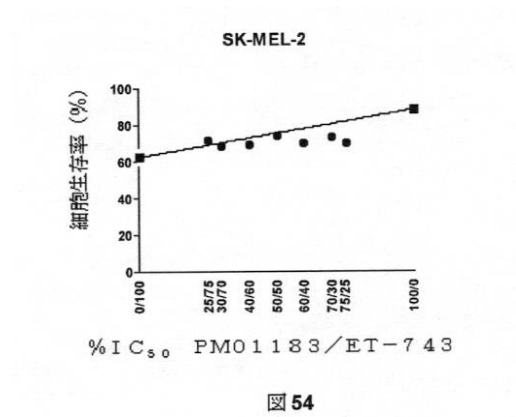
【図 52】



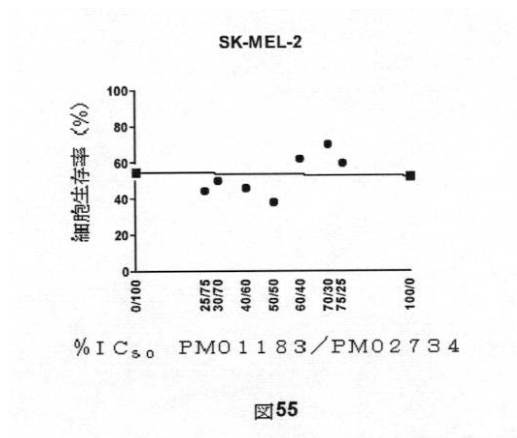
【図 53】



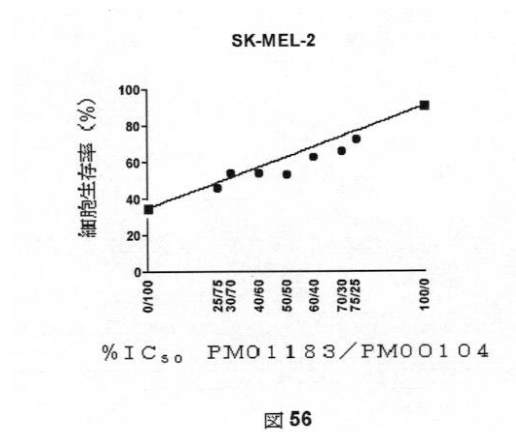
【図 54】



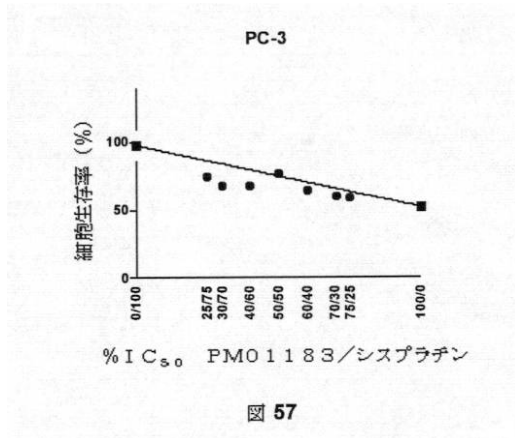
【図 55】



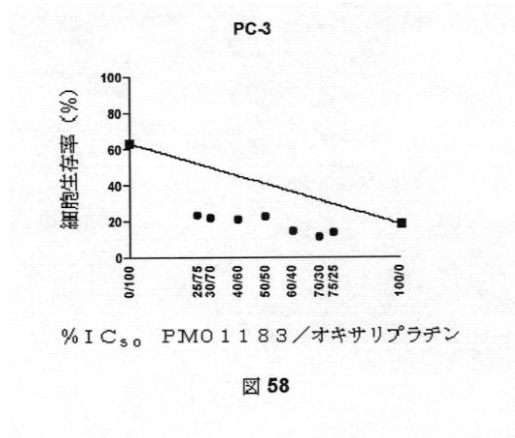
【図 56】



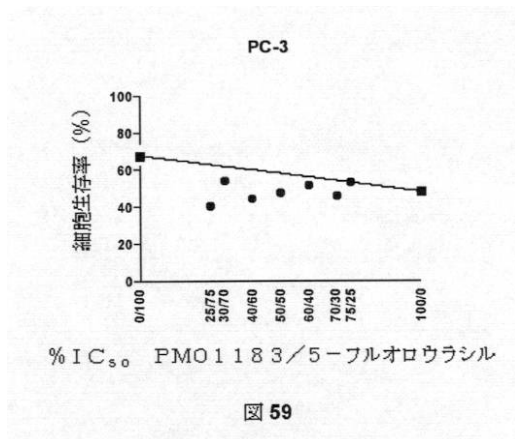
【図 57】



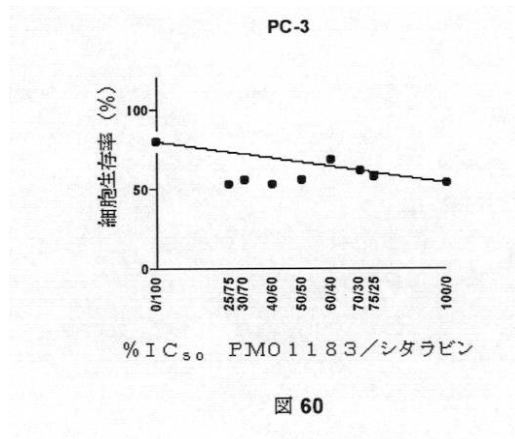
【図 58】



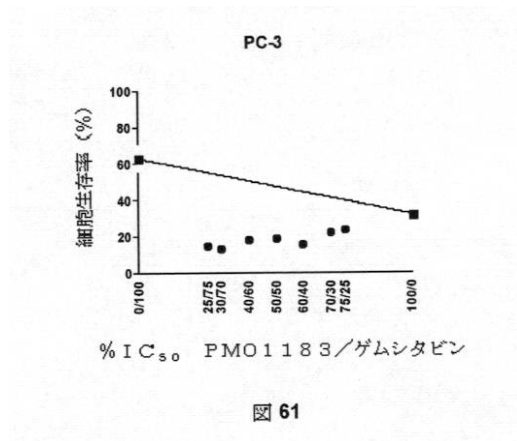
【図 59】



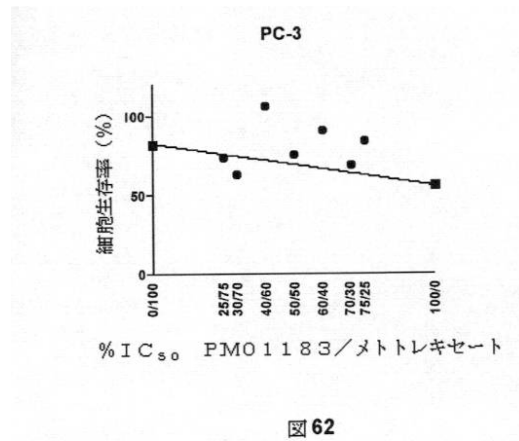
【図 60】



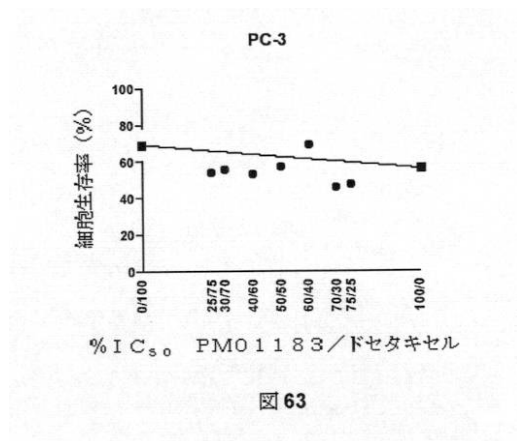
【図 6 1】



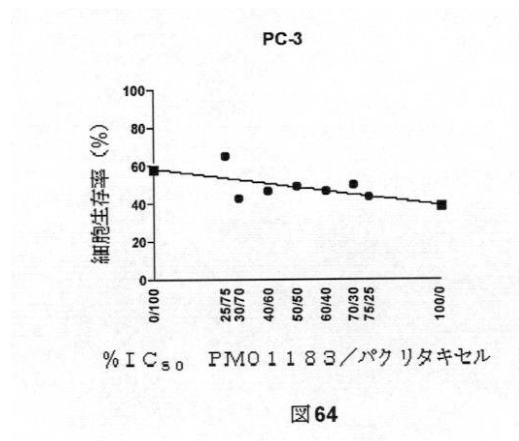
【図 6 2】



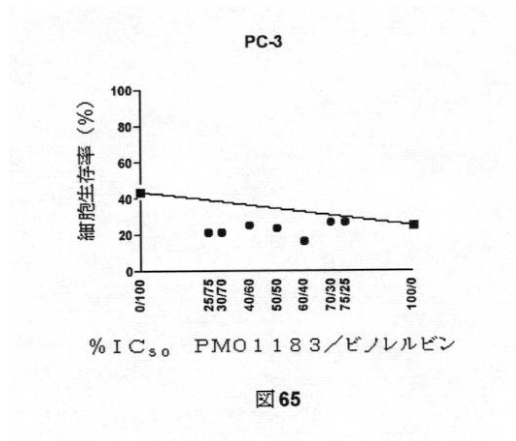
【図 6 3】



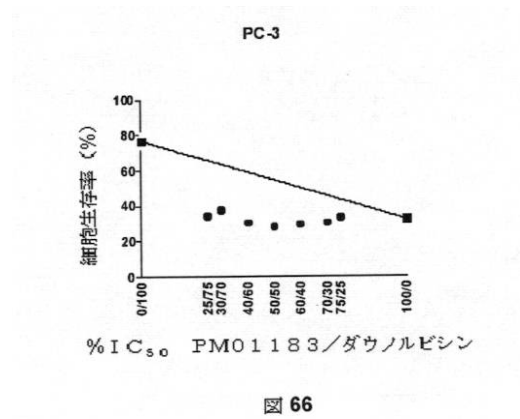
【図 6 4】



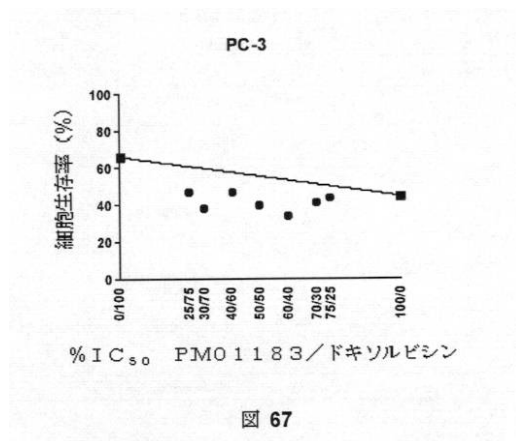
【図 65】



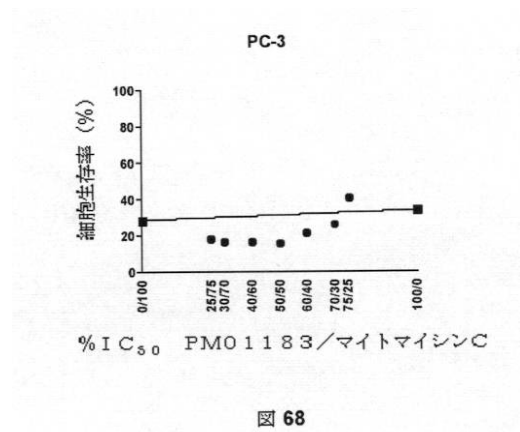
【図 66】



【図 67】



【図 68】



【図 69】

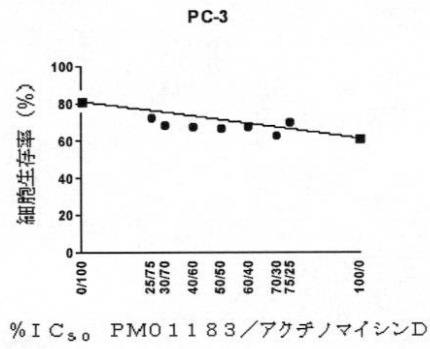


図 69

【図 70】

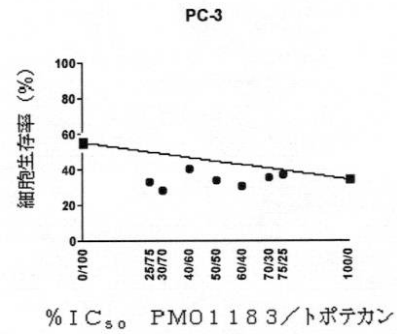


図 70

【図 71】

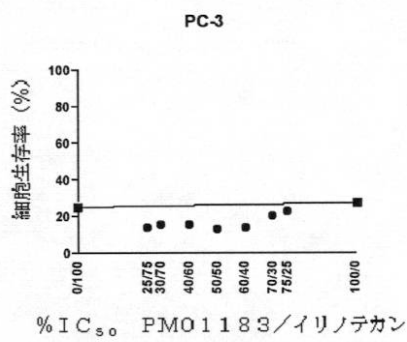


図 71

【図 72】

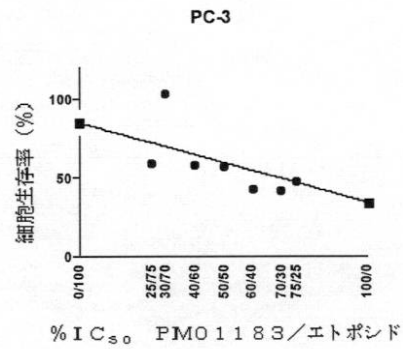
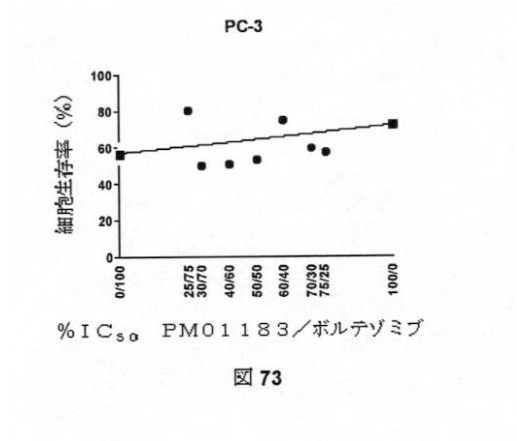
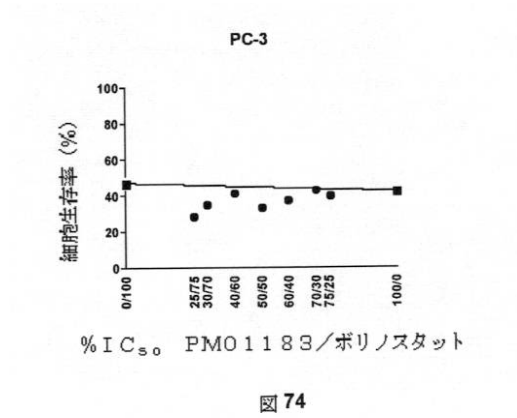


図 72

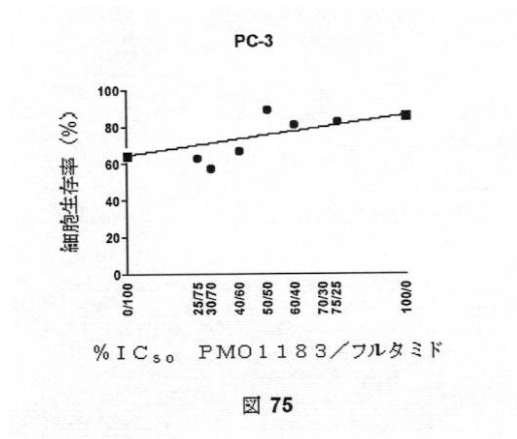
【図 73】



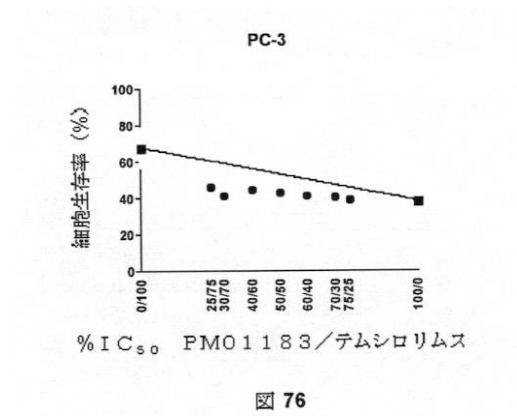
【図 74】



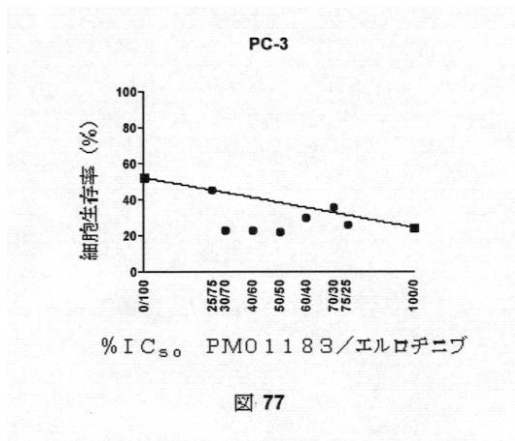
【図 75】



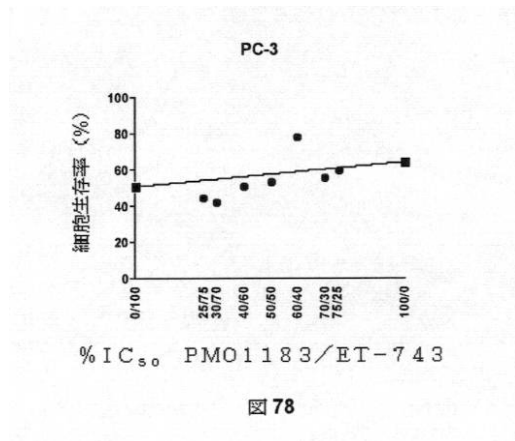
【図 76】



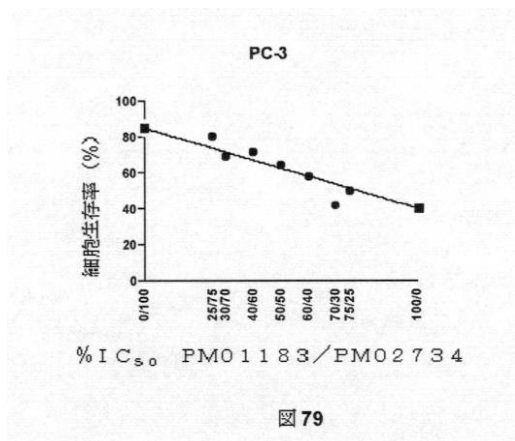
【図 77】



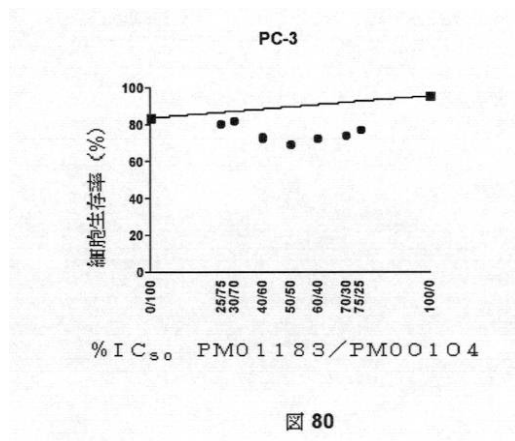
【図 78】



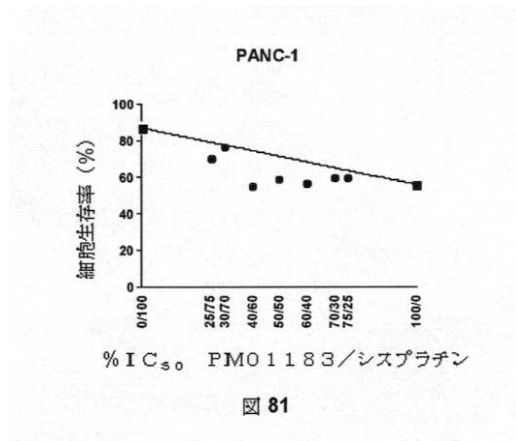
【図 79】



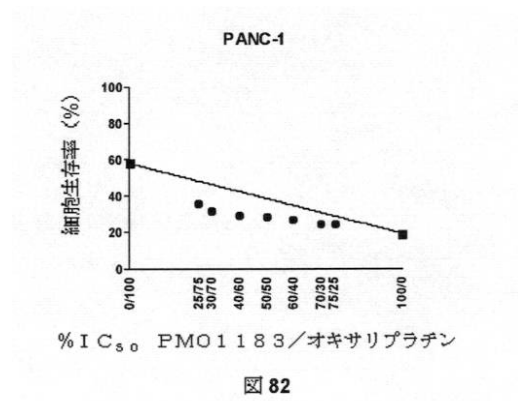
【図 80】



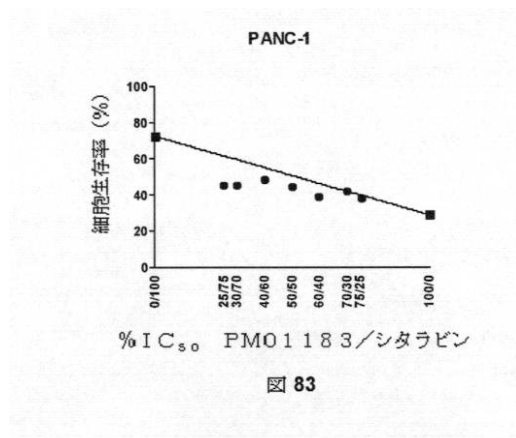
【図 8 1】



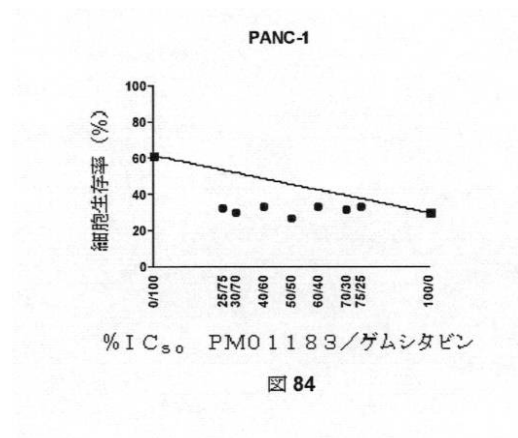
【図 8 2】



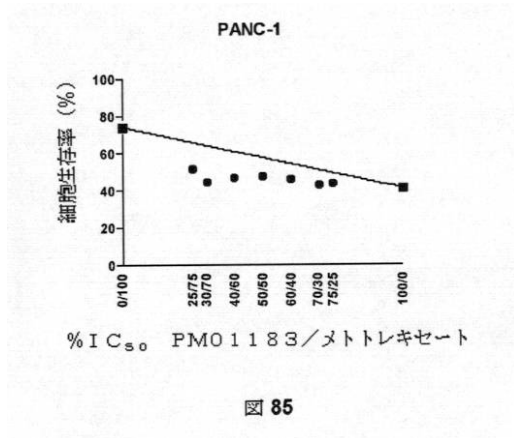
【図 8 3】



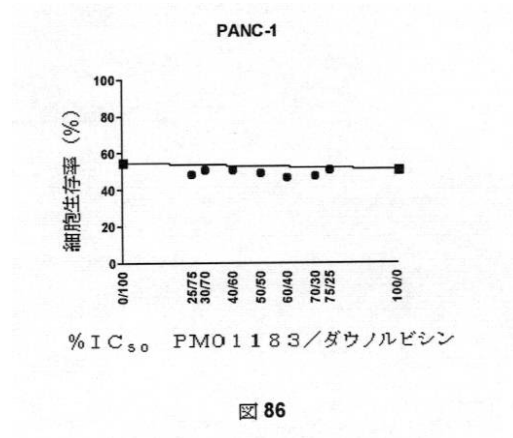
【図 8 4】



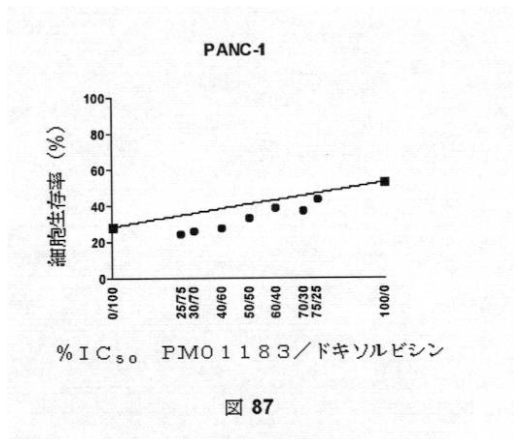
【図 85】



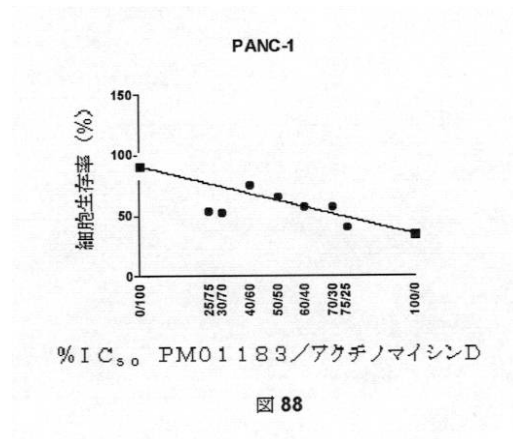
【図 86】



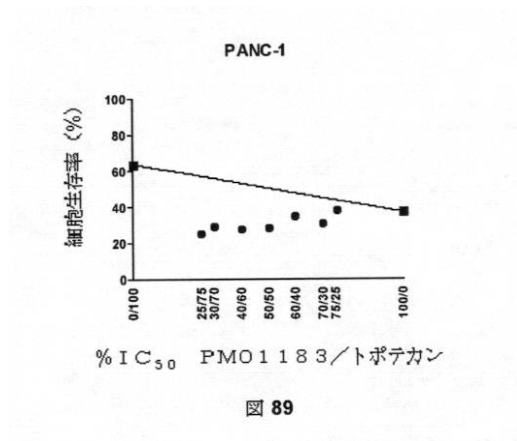
【図 87】



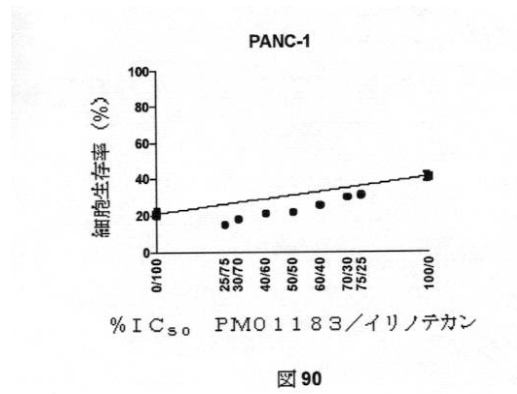
【図 88】



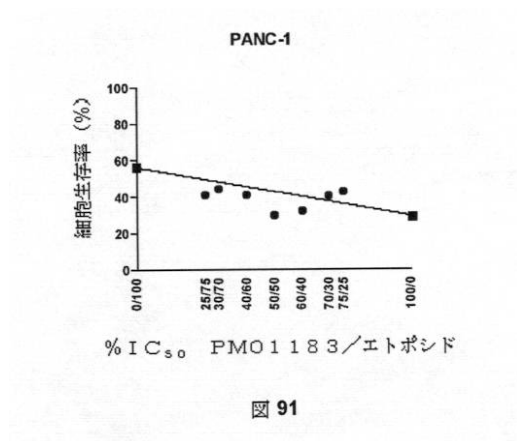
【図 89】



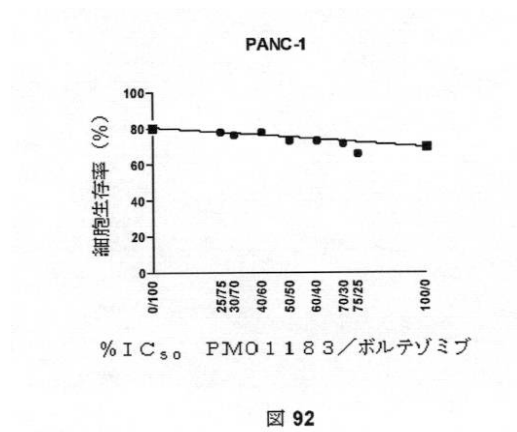
【図 90】



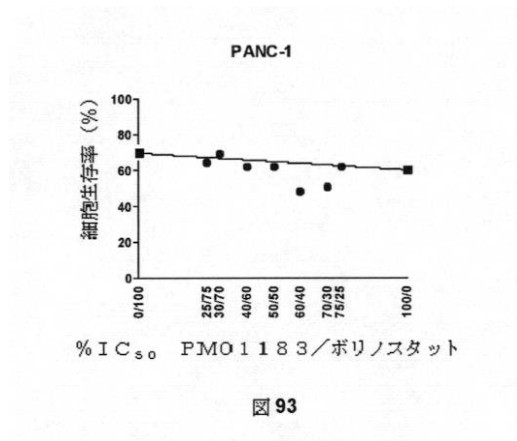
【図 91】



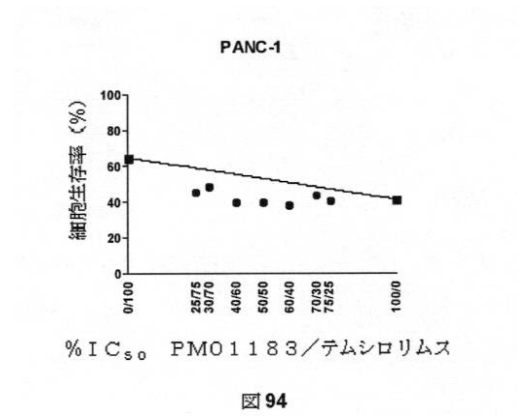
【図 92】



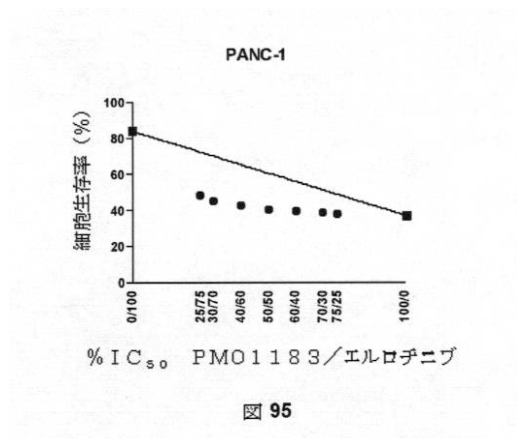
【図 93】



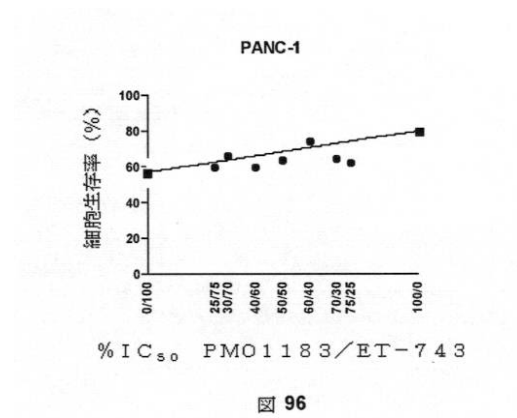
【図 94】



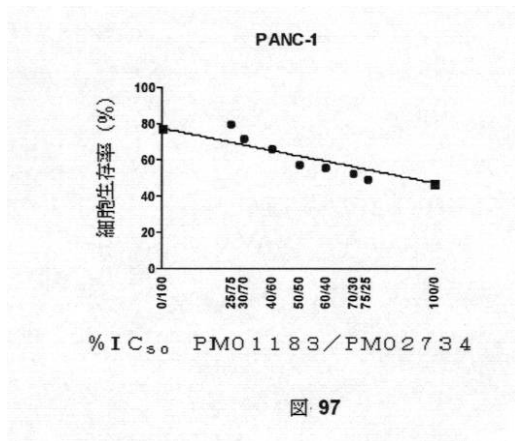
【図 95】



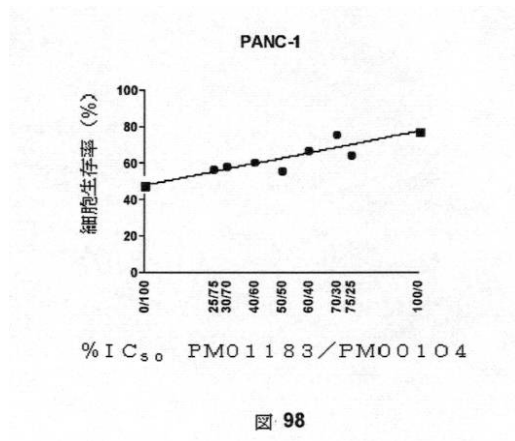
【図 96】



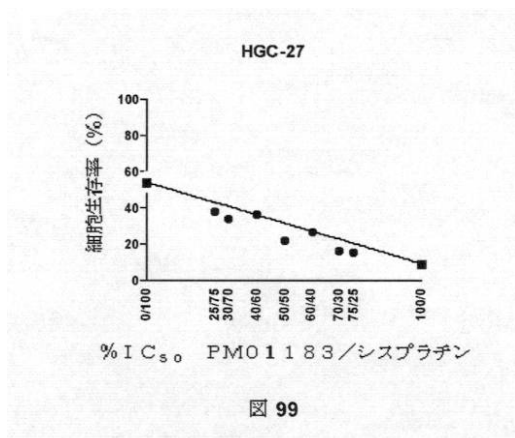
【図 97】



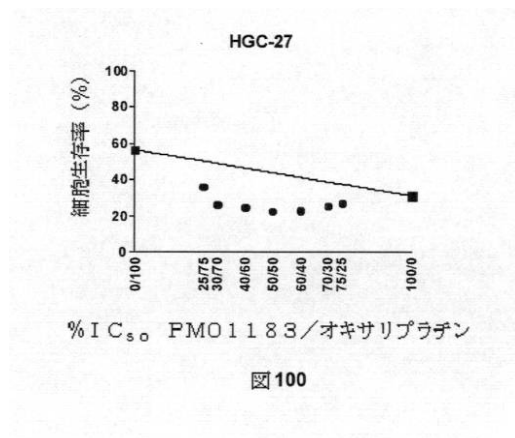
【図 98】



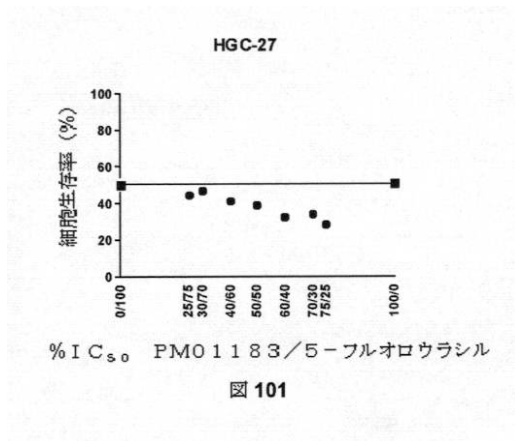
【図 99】



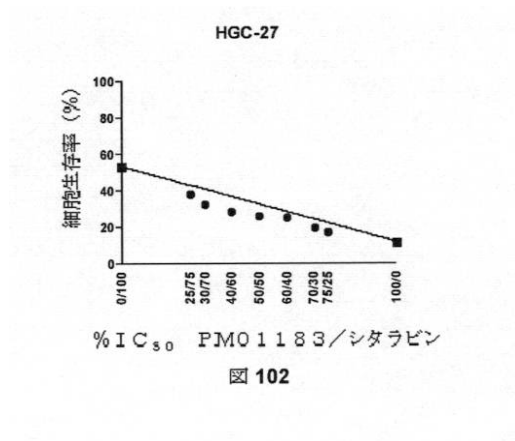
【図 100】



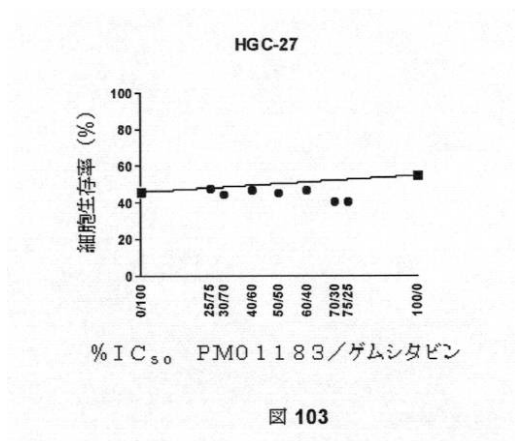
【図101】



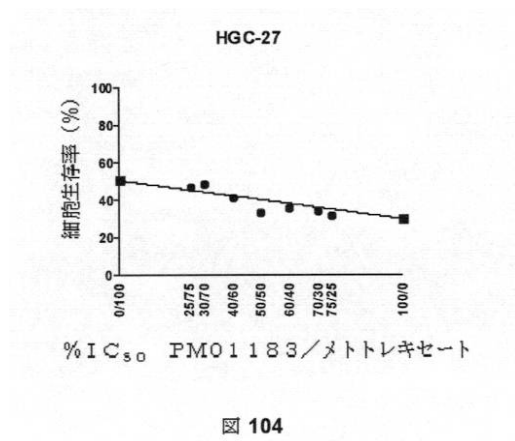
【図102】



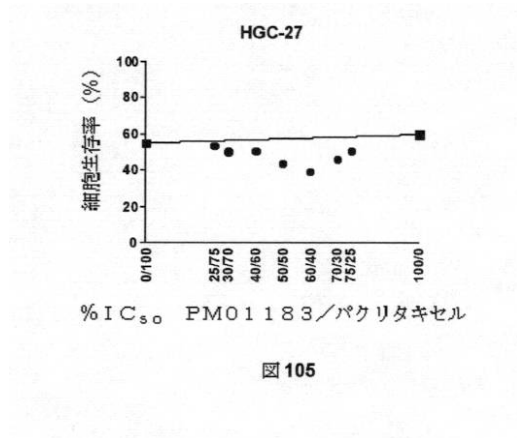
【図103】



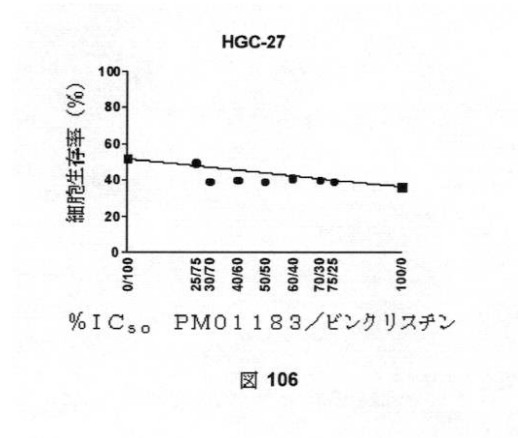
【図104】



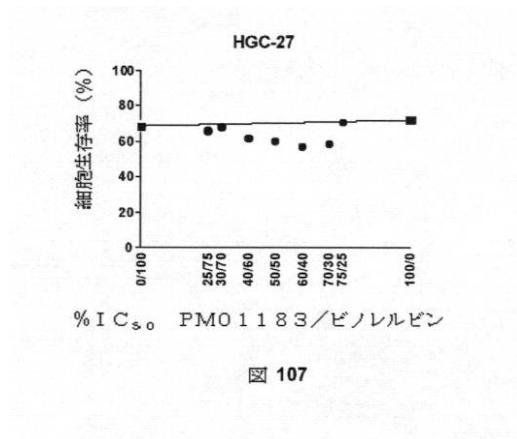
【図105】



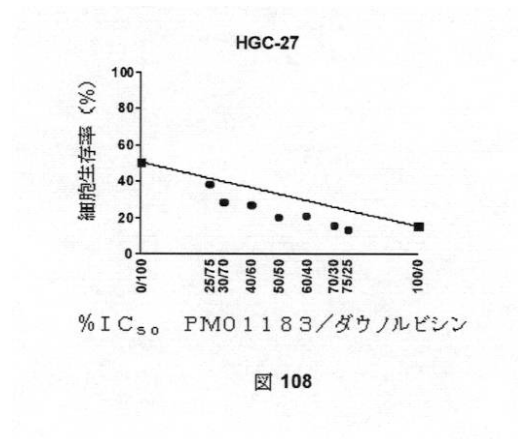
【図106】



【図107】



【図108】



【図109】

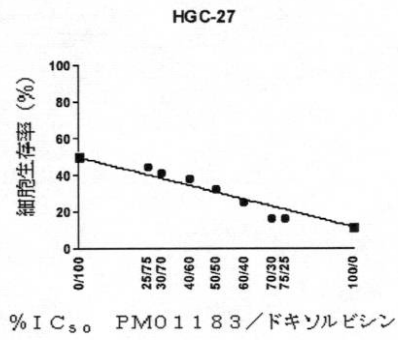


図 109

【図110】

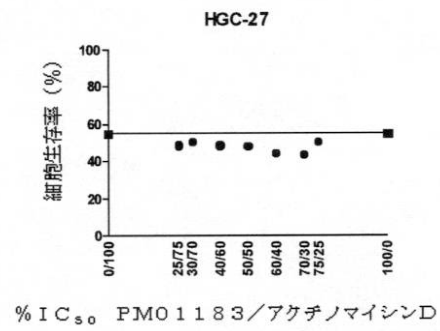


図 110

【図111】

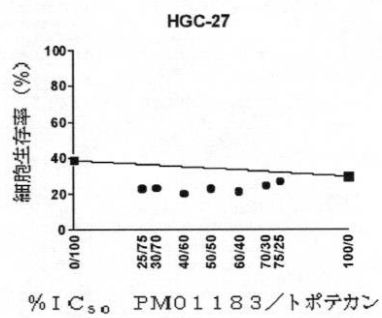


図 111

【図112】

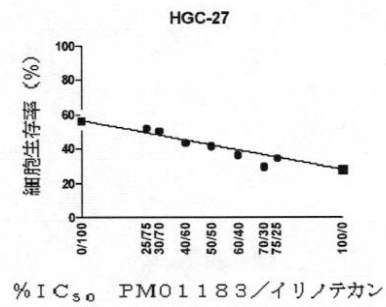
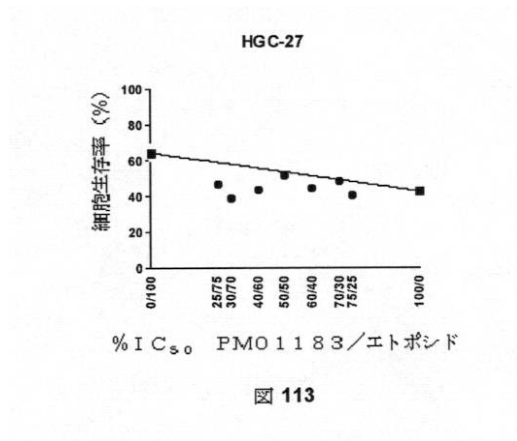
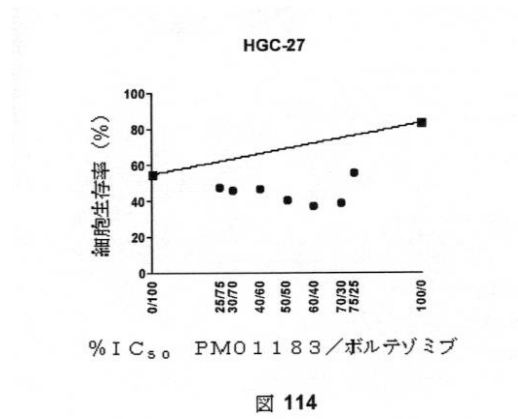


図 112

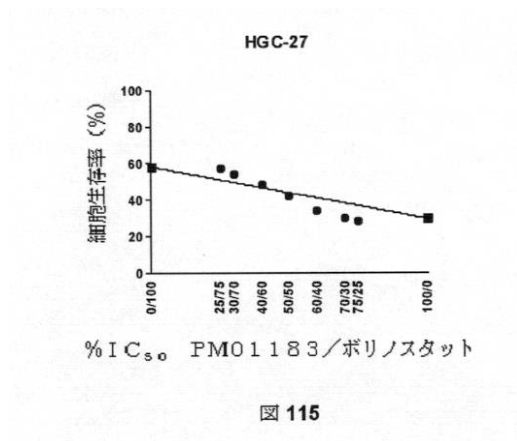
【図 113】



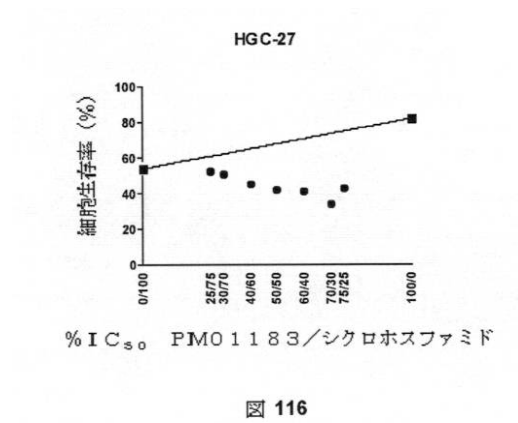
【図 114】



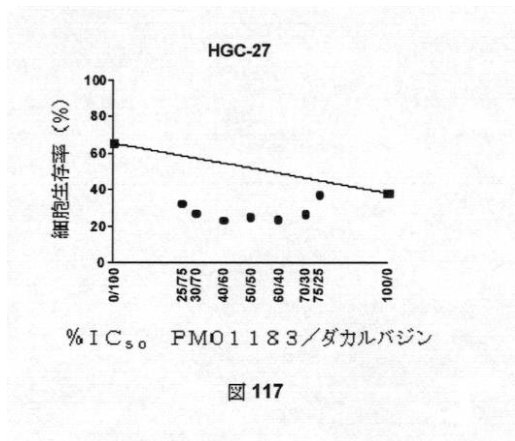
【図 115】



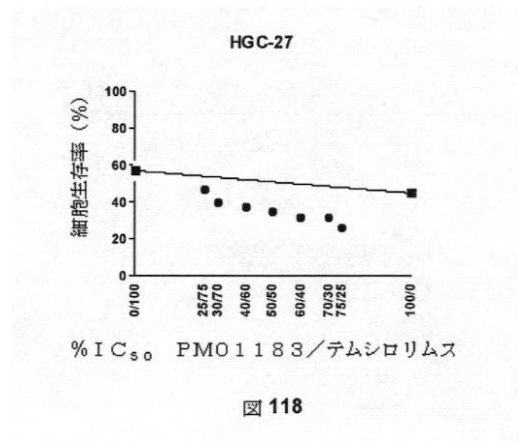
【図 116】



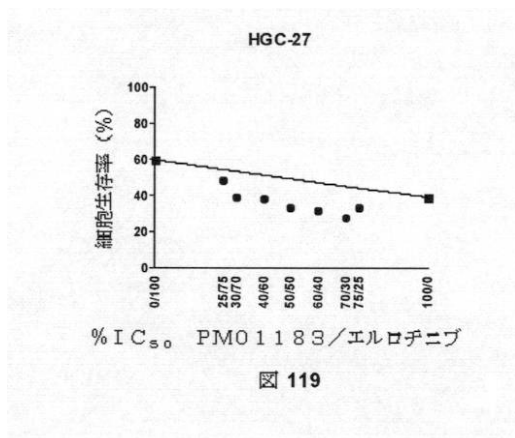
【図 117】



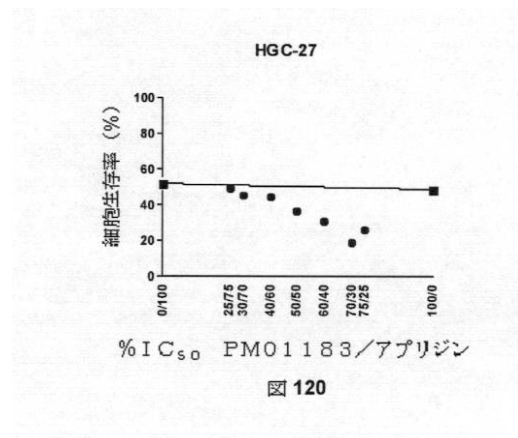
【図 118】



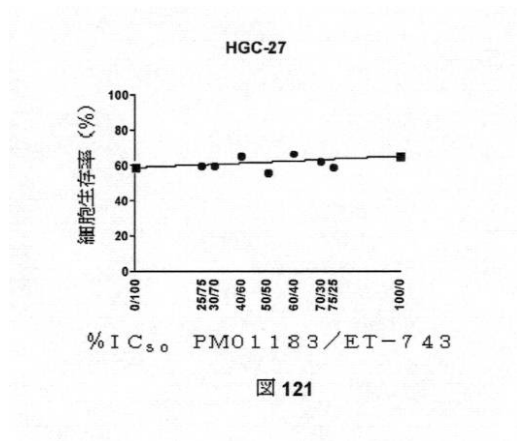
【図 119】



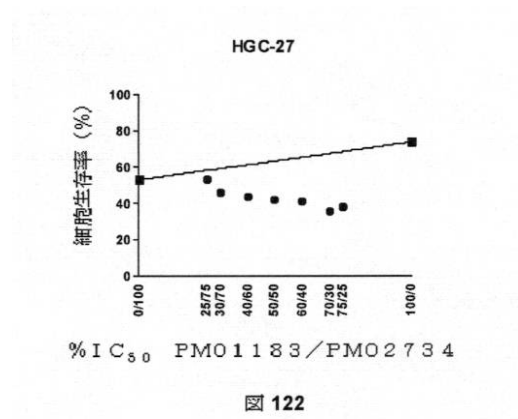
【図 120】



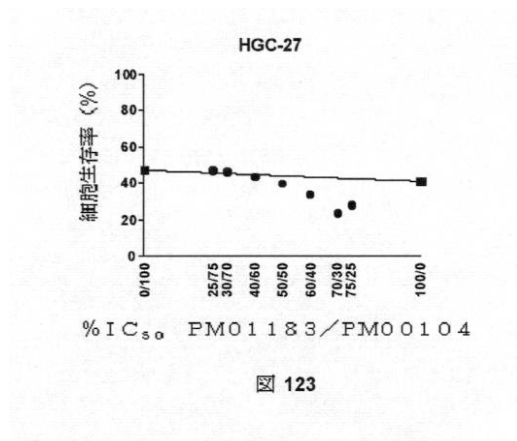
【図121】



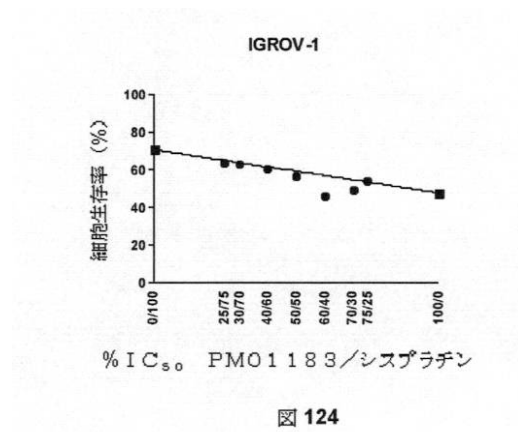
【図122】



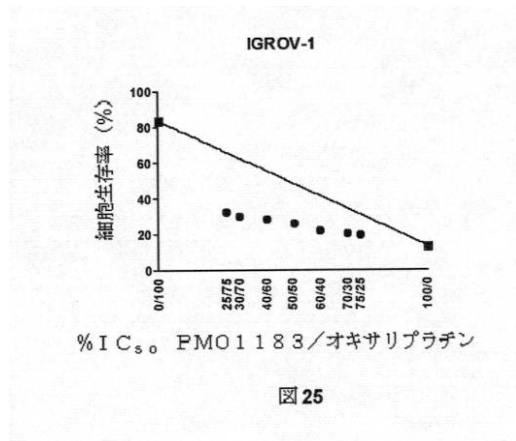
【図123】



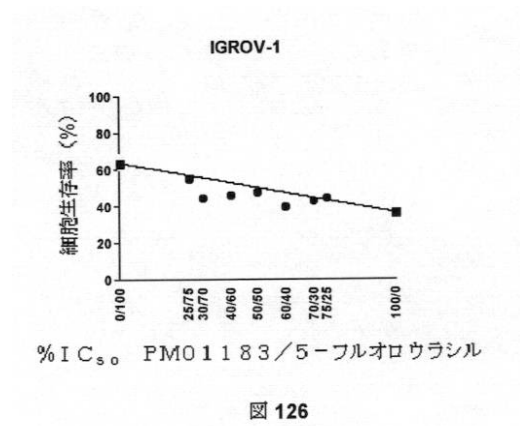
【図124】



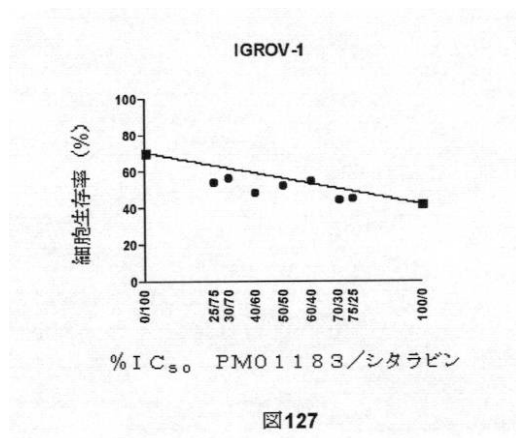
【図125】



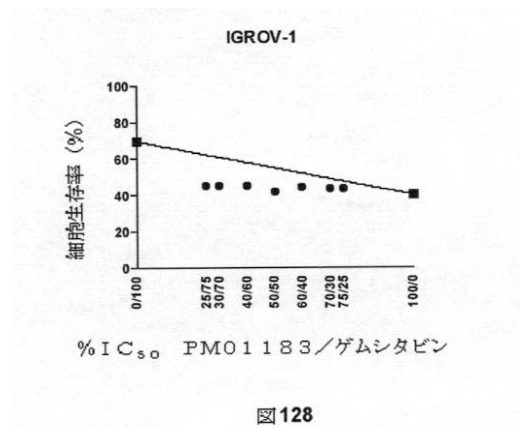
【図126】



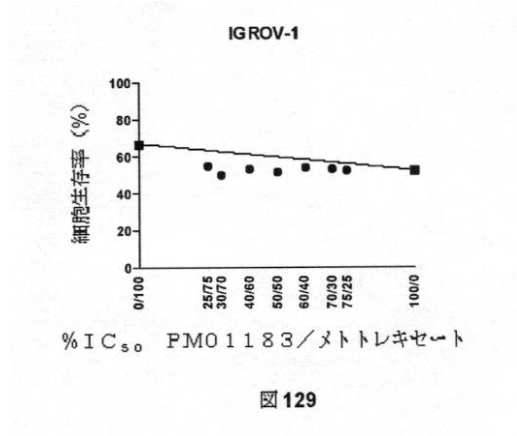
【図127】



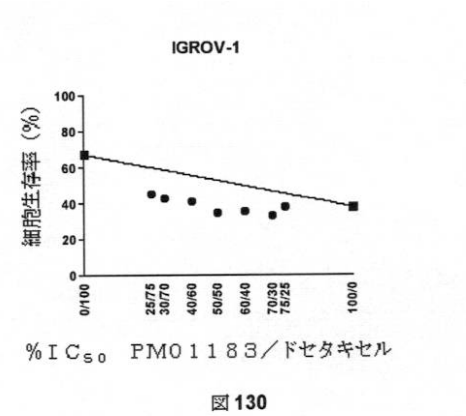
【図128】



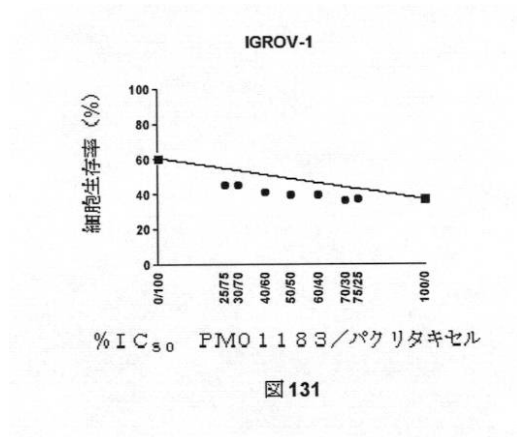
【図129】



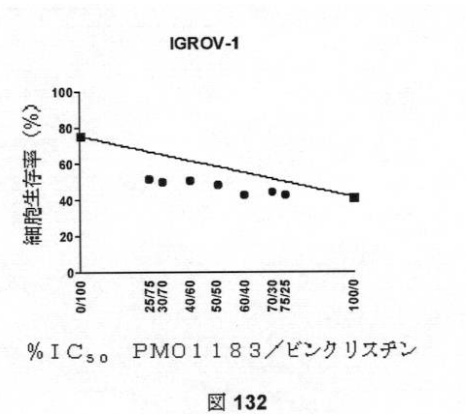
【図130】



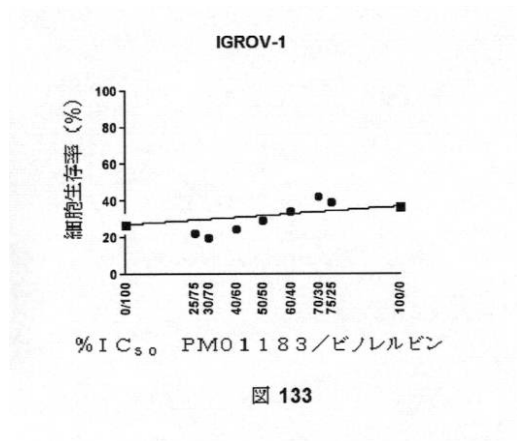
【図131】



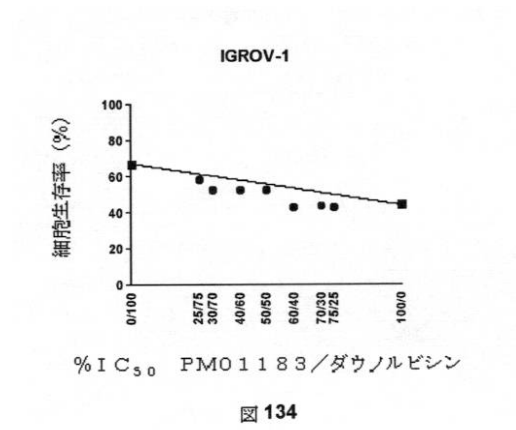
【図132】



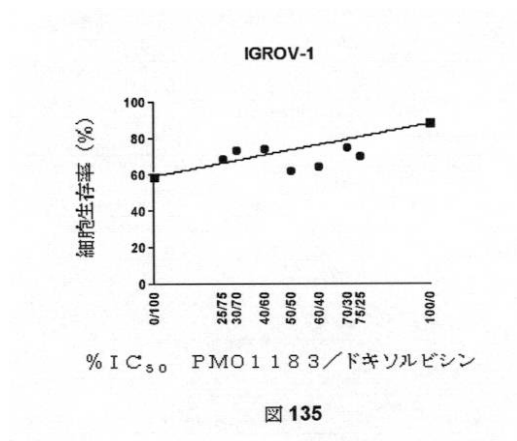
【図133】



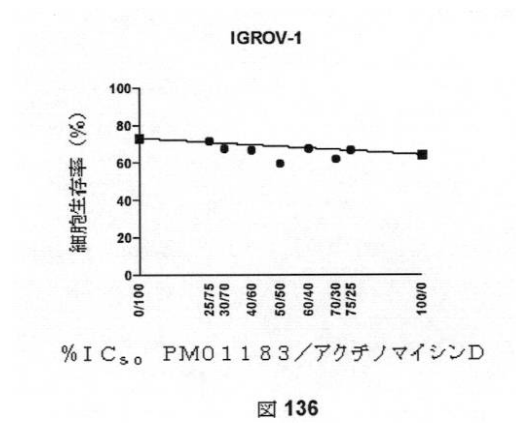
【図134】



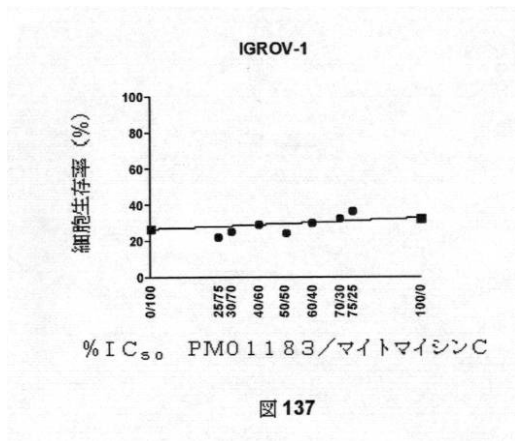
【図135】



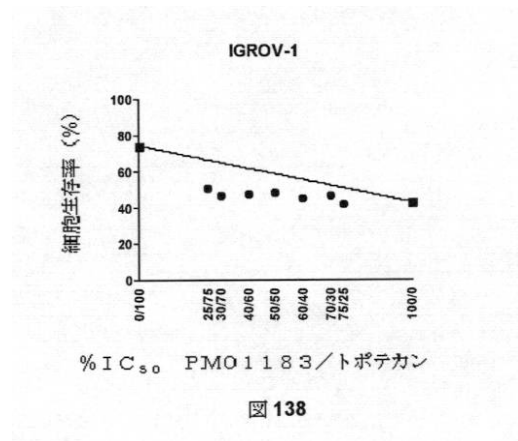
【図136】



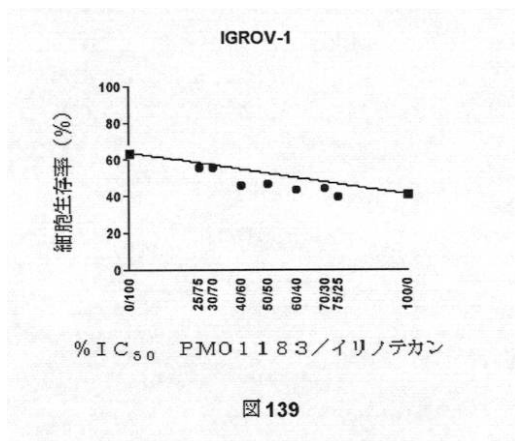
【図 137】



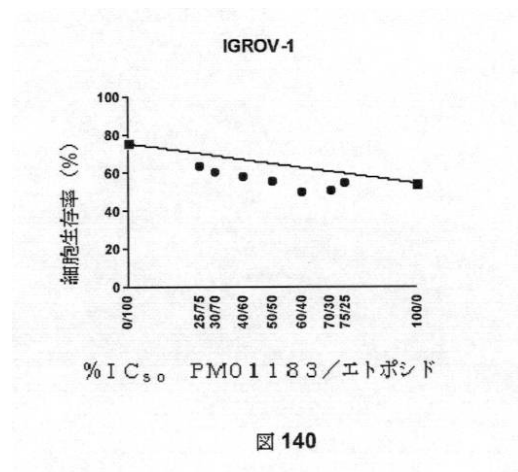
【図 138】



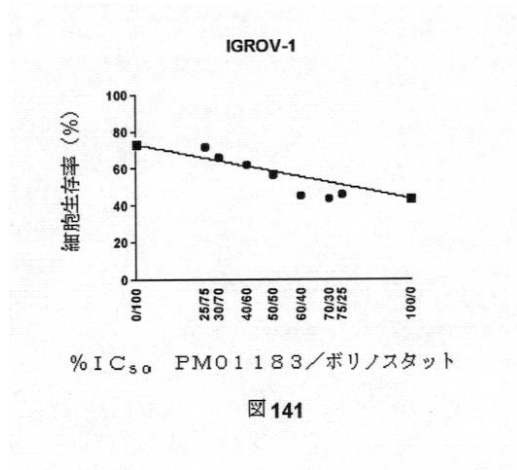
【図 139】



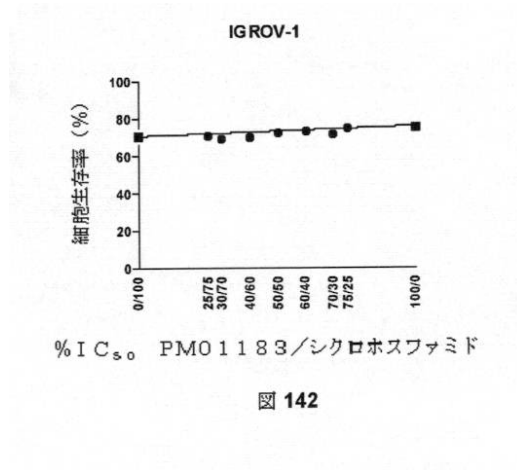
【図 140】



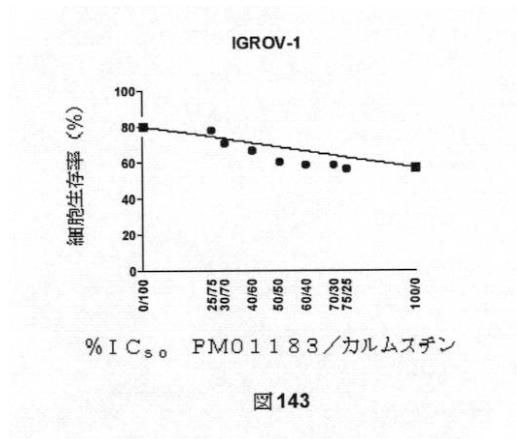
【図141】



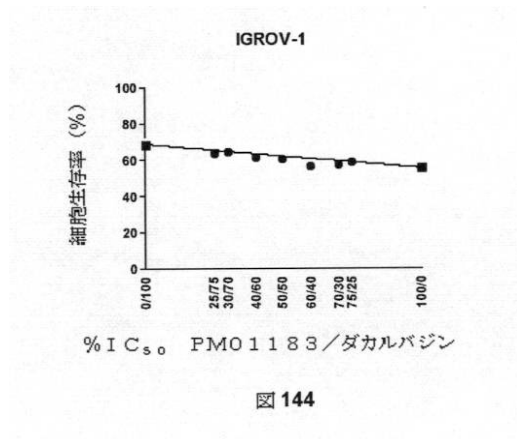
【図142】



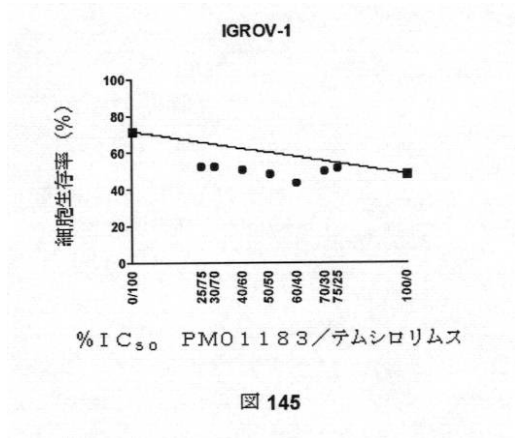
【図143】



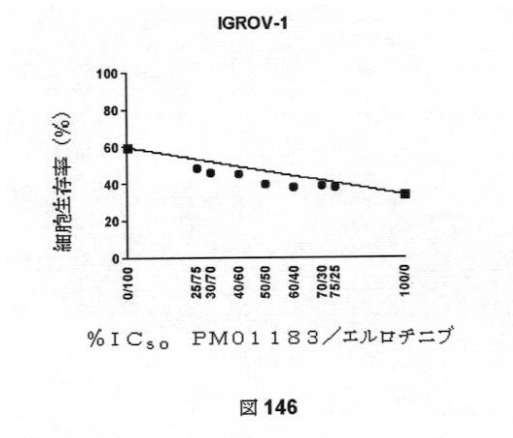
【図144】



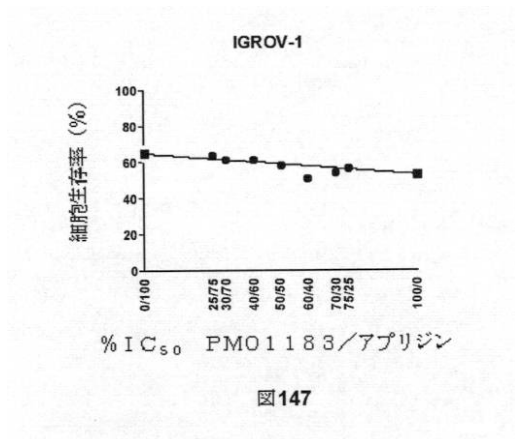
【図145】



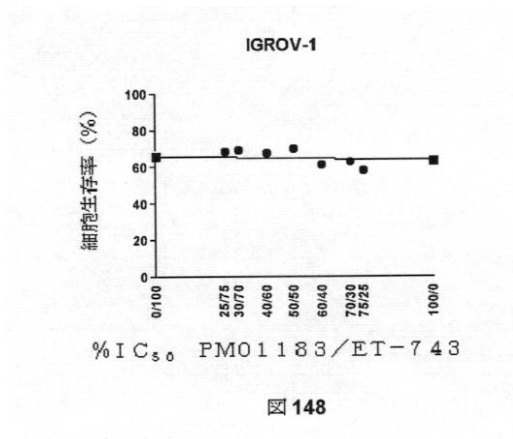
【図146】



【図147】



【図148】



【図 149】

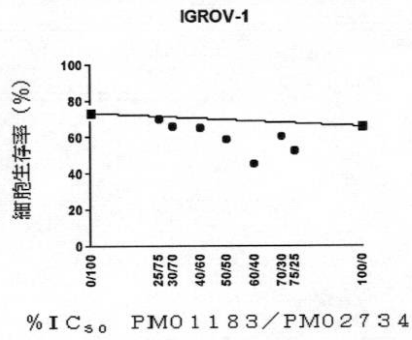


図 149

【図 150】

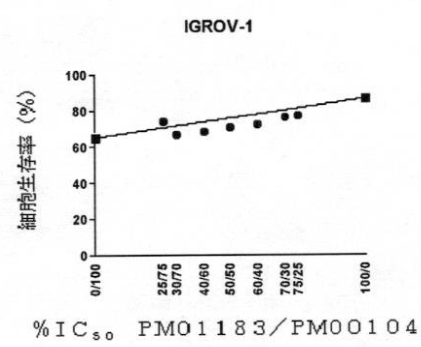


図 150

【図 151】

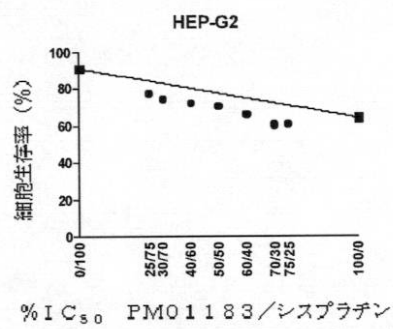


図 151

【図 152】

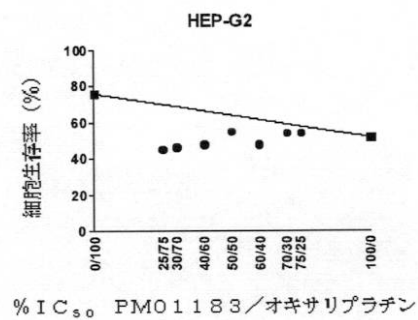


図 152

【図153】

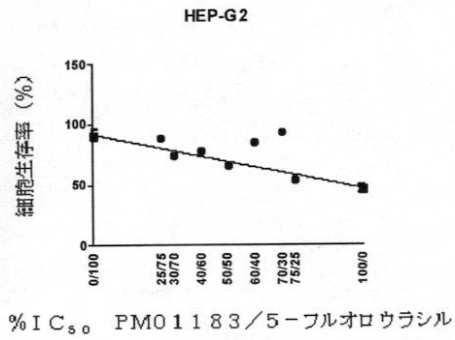


図153

【図154】

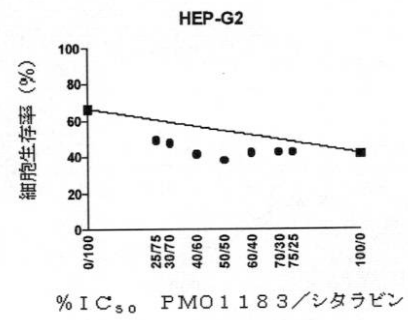


図154

【図155】

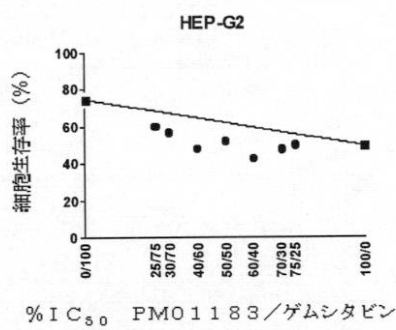


図155

【図156】

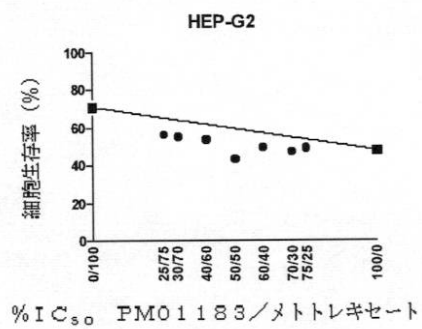
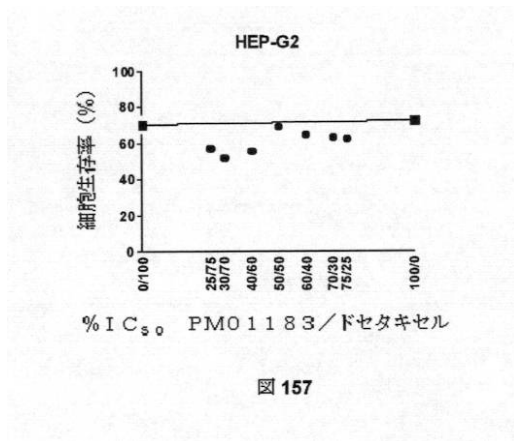
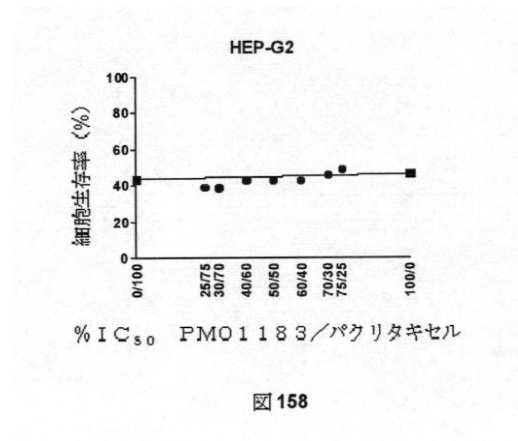


図156

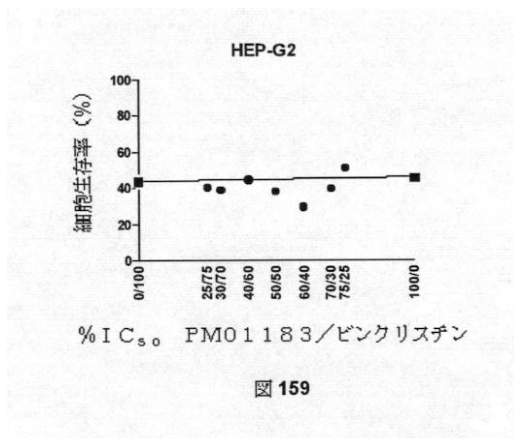
【図157】



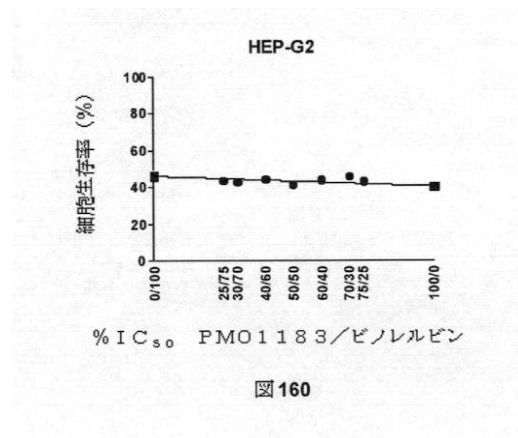
【図158】



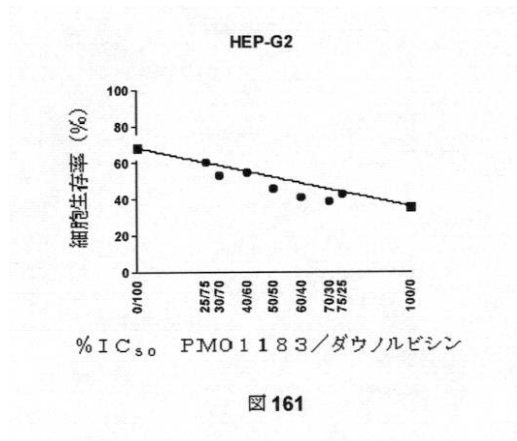
【図159】



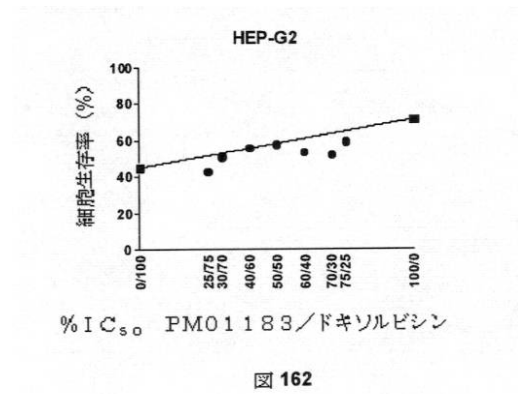
【図160】



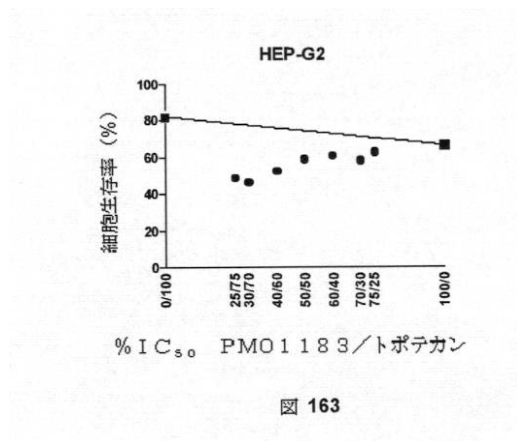
【図 161】



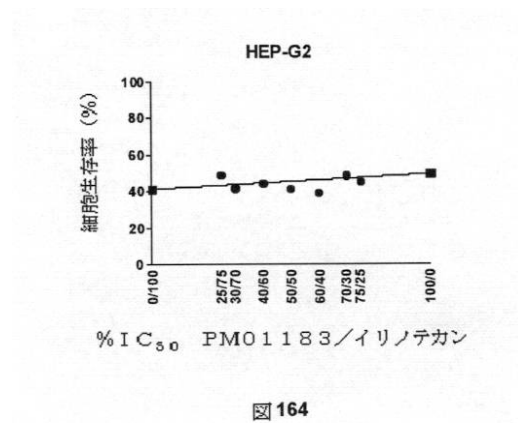
【図 162】



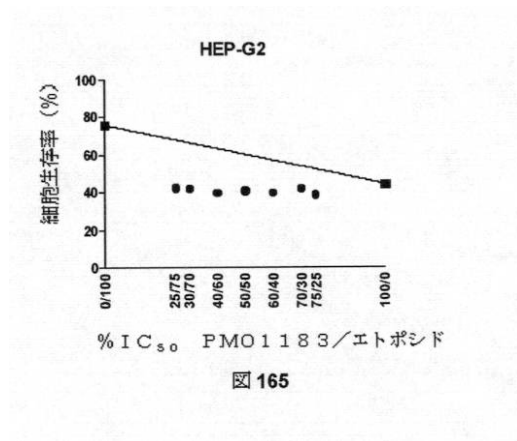
【図 163】



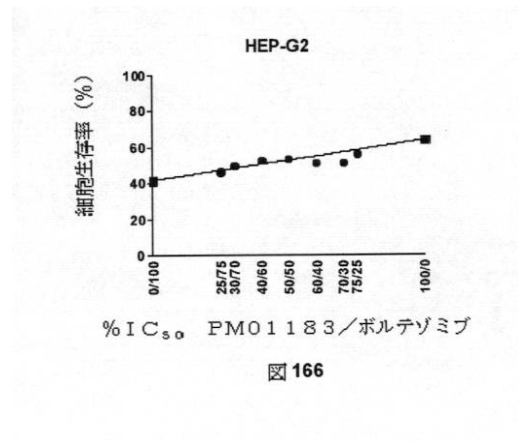
【図 164】



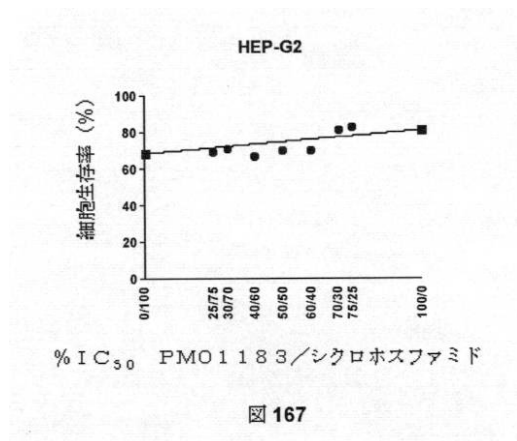
【図165】



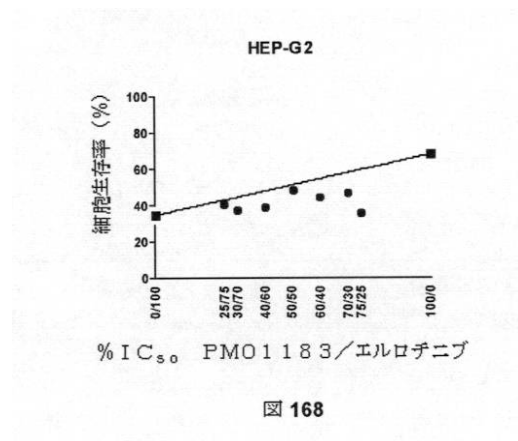
【図166】



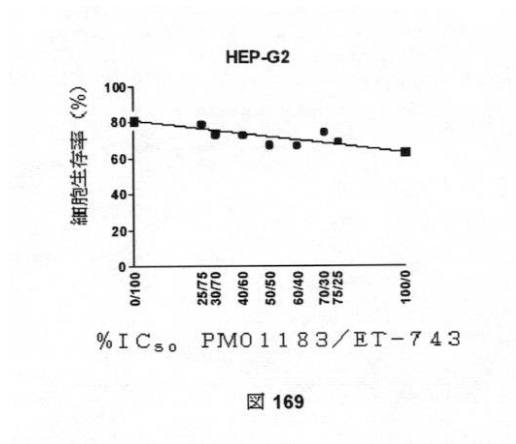
【図167】



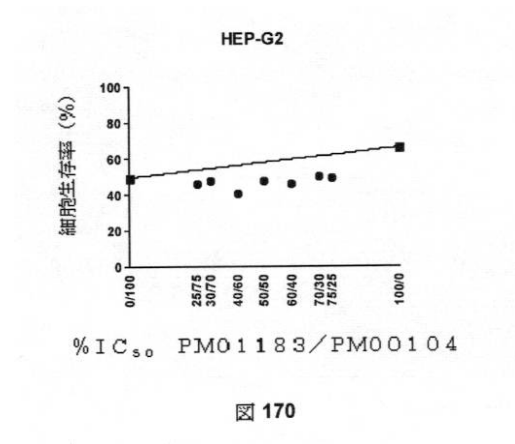
【図168】



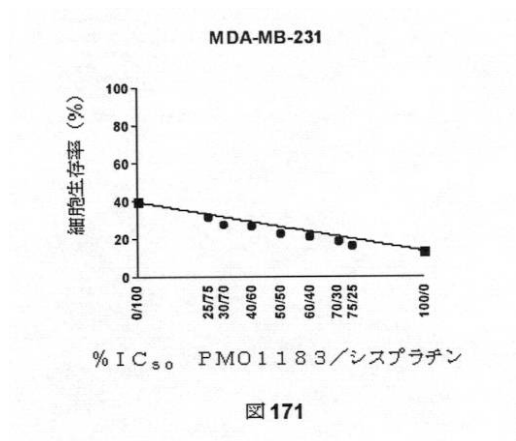
【図169】



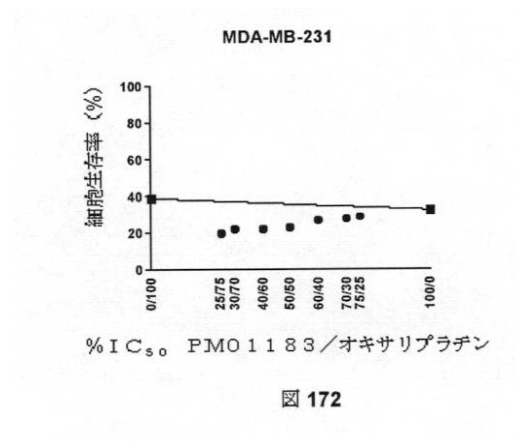
【図170】



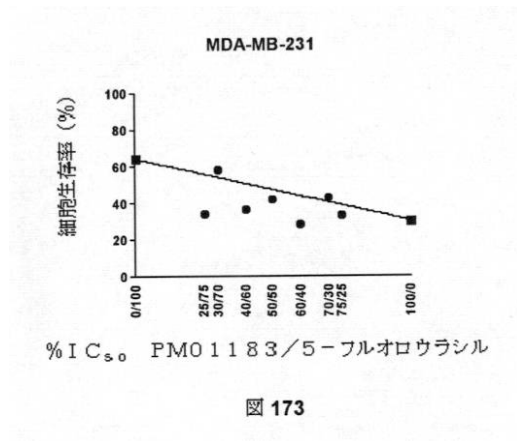
【図171】



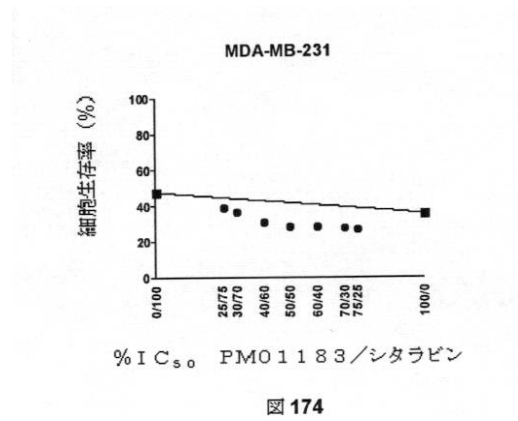
【図172】



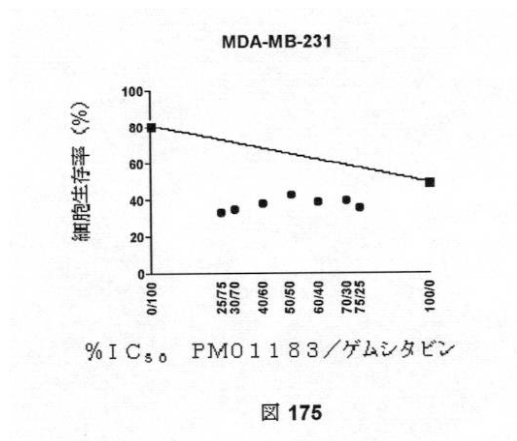
【図 173】



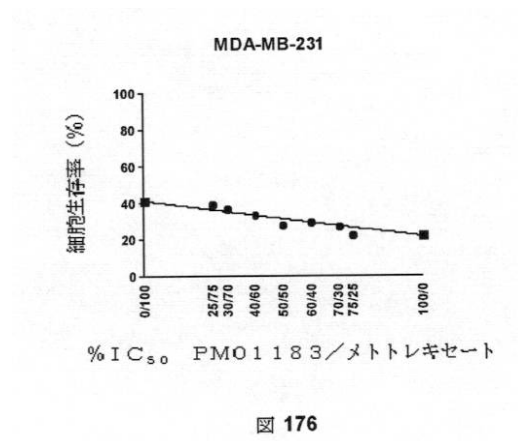
【図 174】



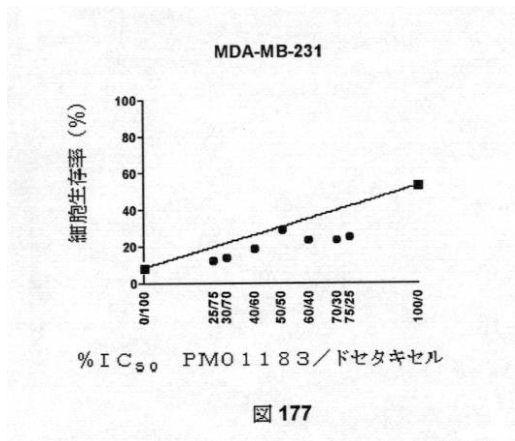
【図 175】



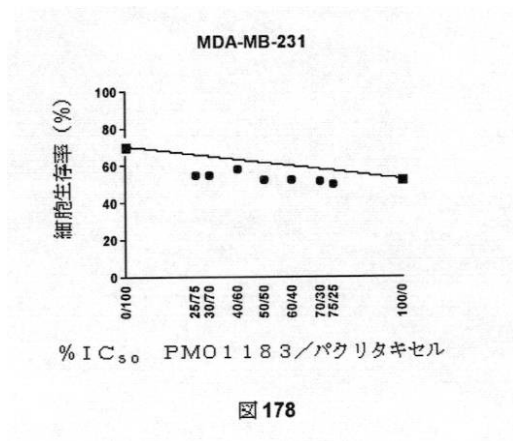
【図 176】



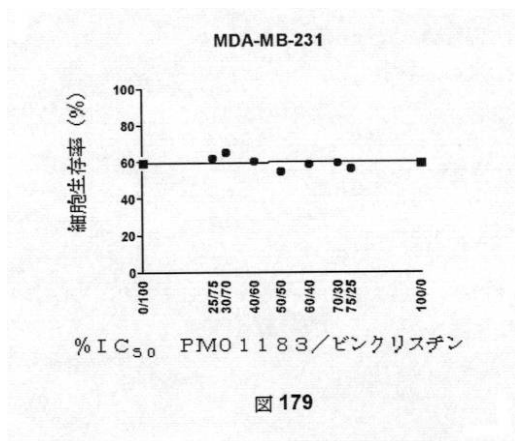
【図 177】



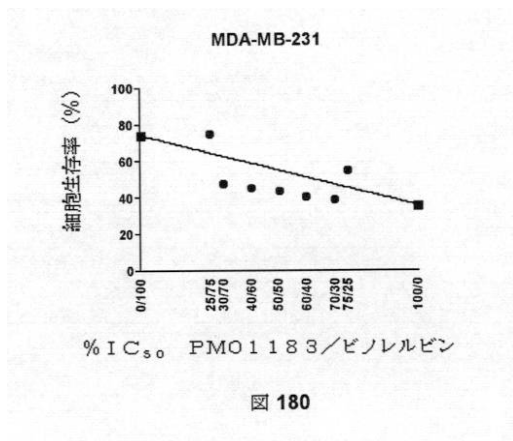
【図 178】



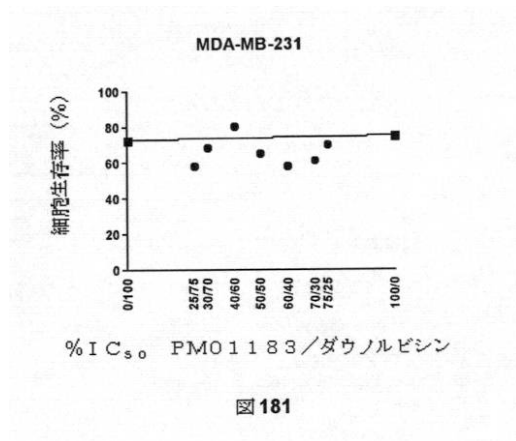
【図 179】



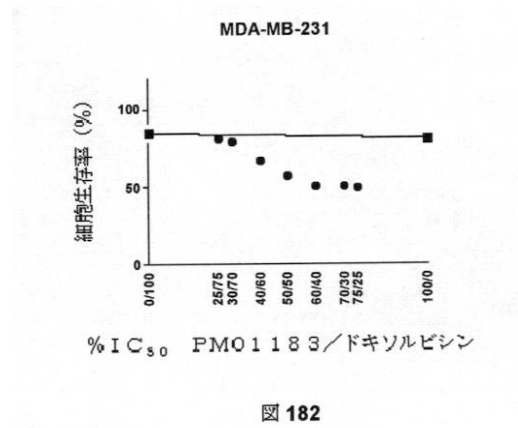
【図 180】



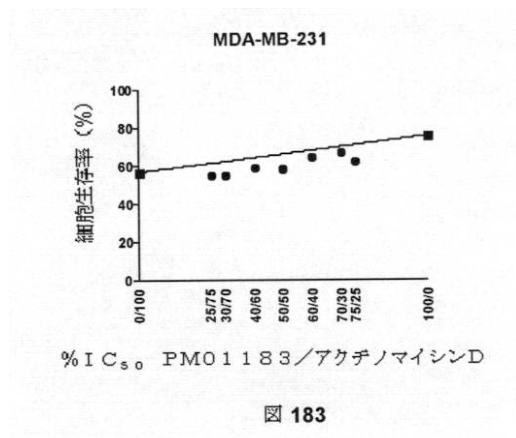
【図181】



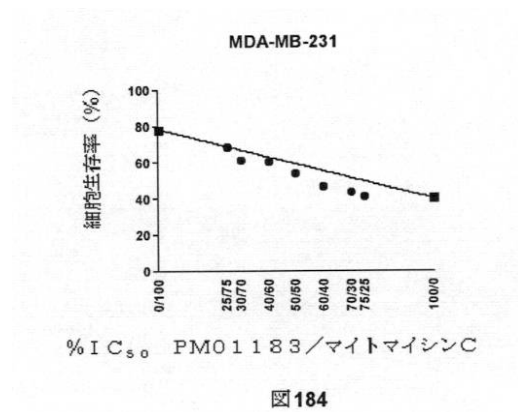
【図182】



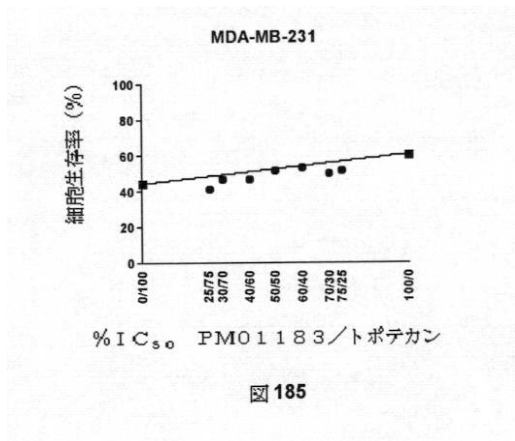
【図183】



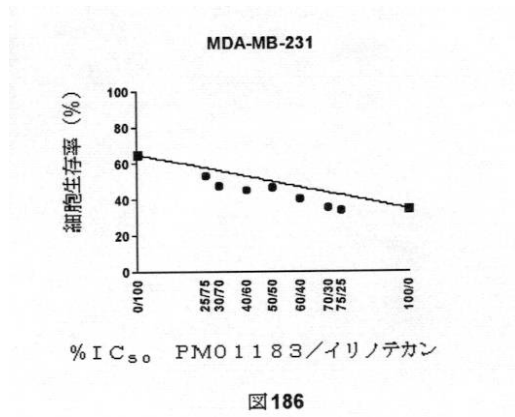
【図184】



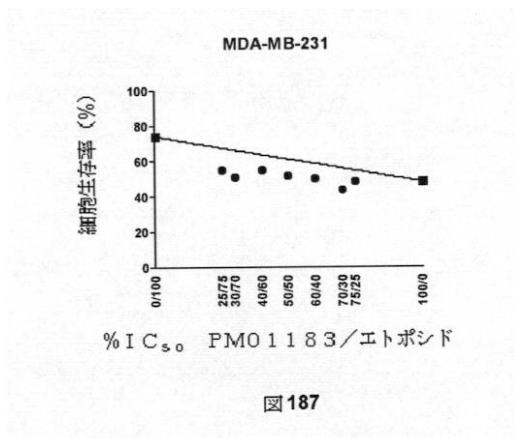
【図185】



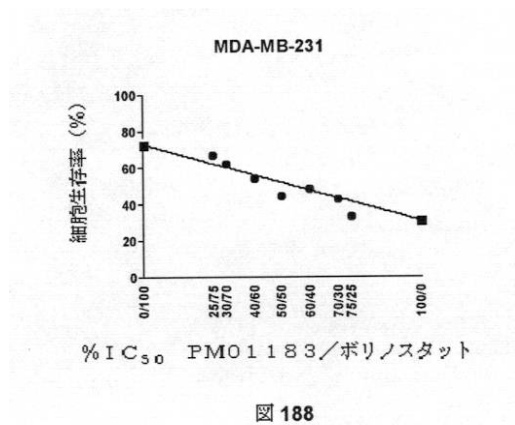
【図186】



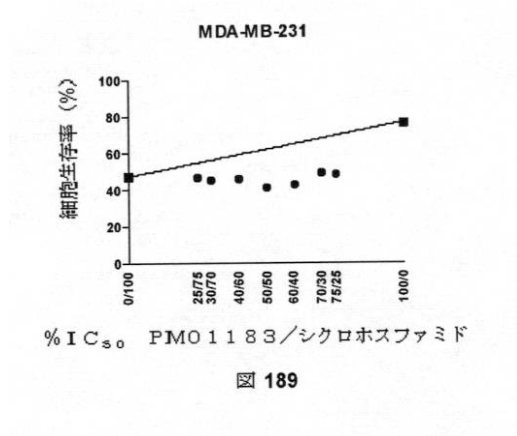
【図187】



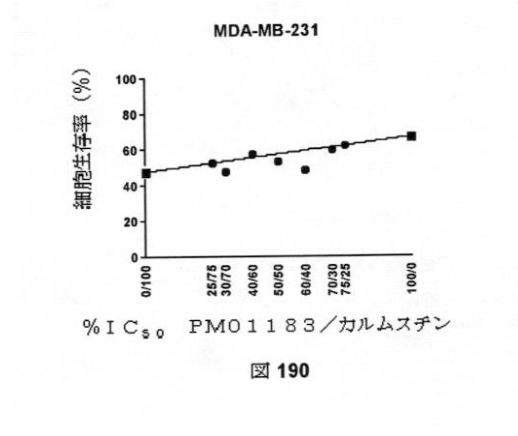
【図188】



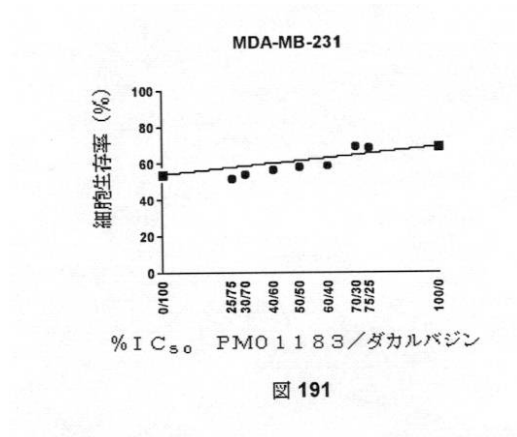
【図189】



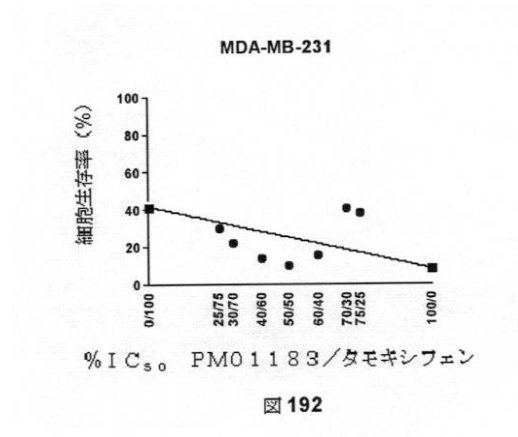
【図190】



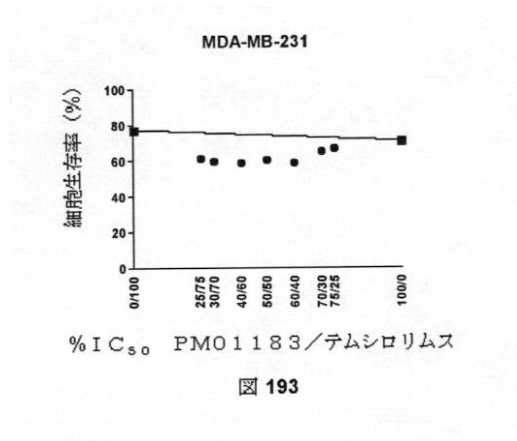
【図191】



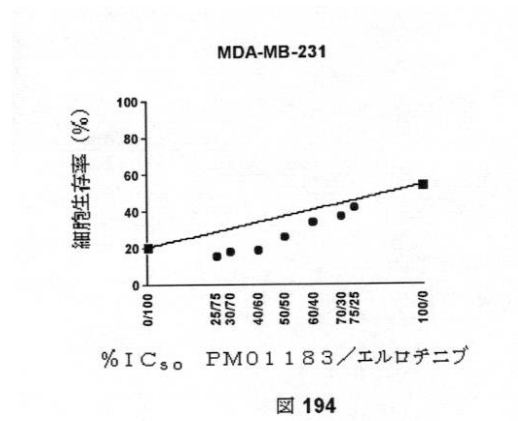
【図192】



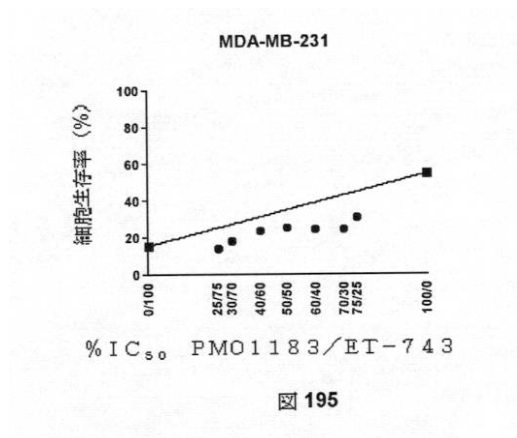
【図 193】



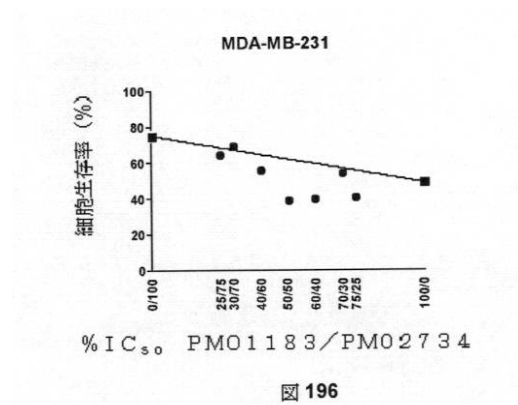
【図 194】



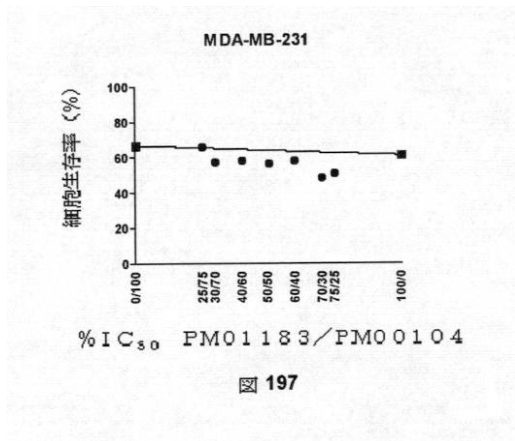
【図 195】



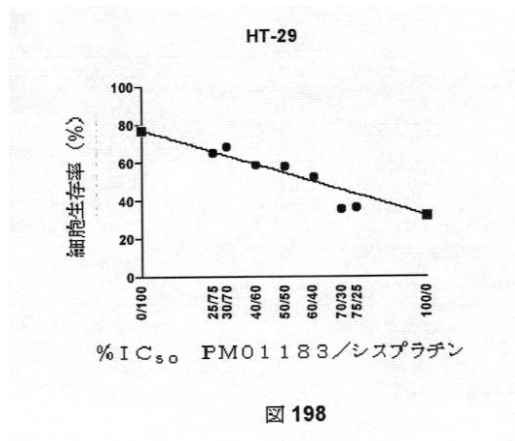
【図 196】



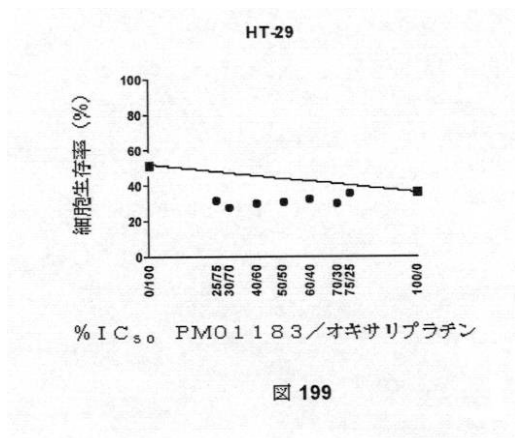
【図197】



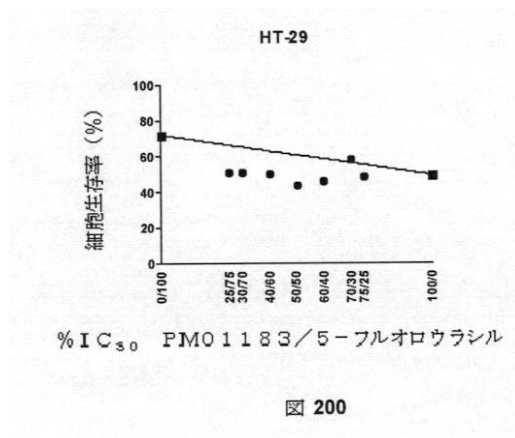
【図198】



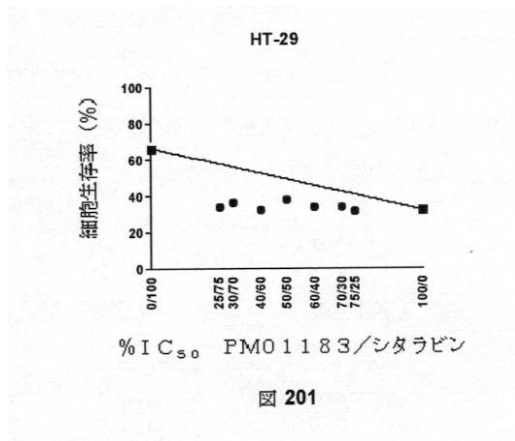
【図199】



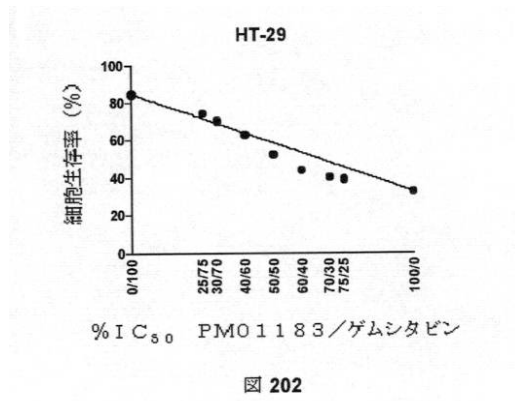
【図200】



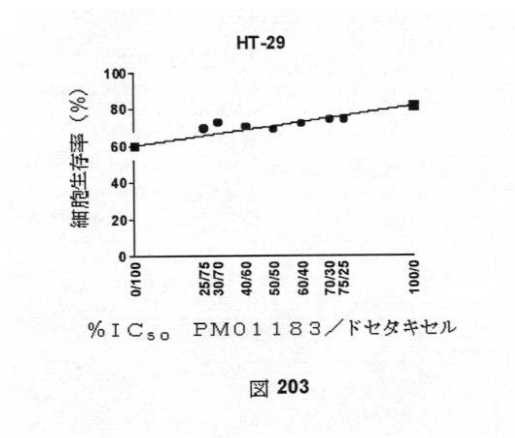
【図201】



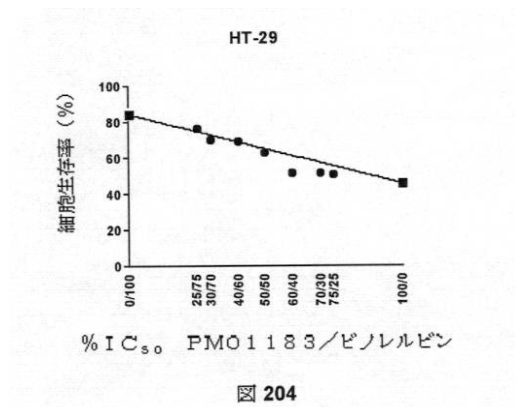
【図202】



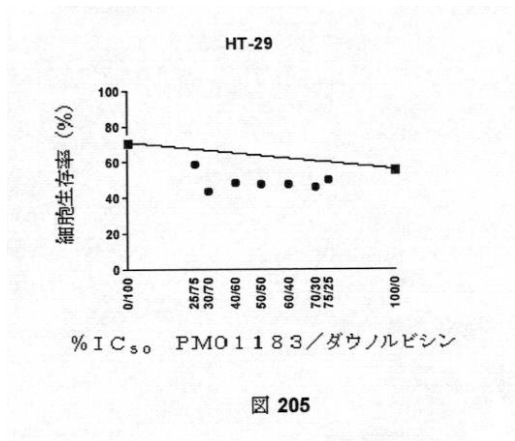
【図203】



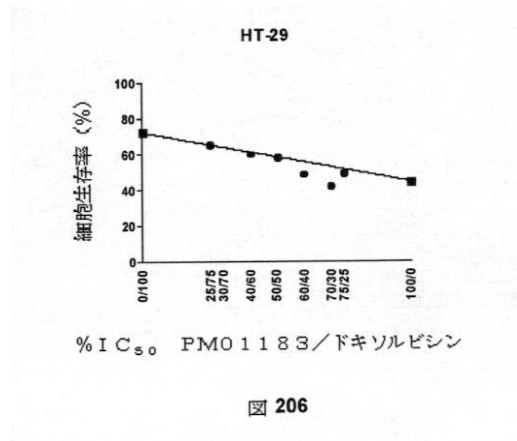
【図204】



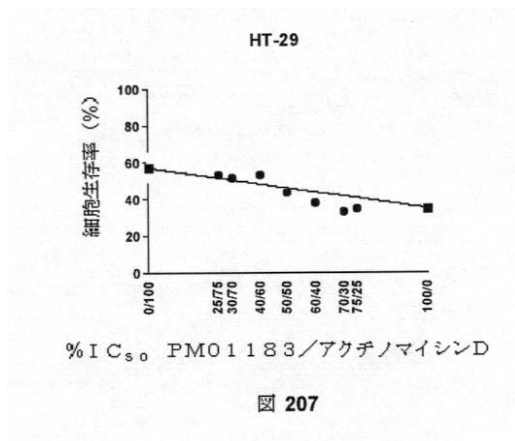
【図205】



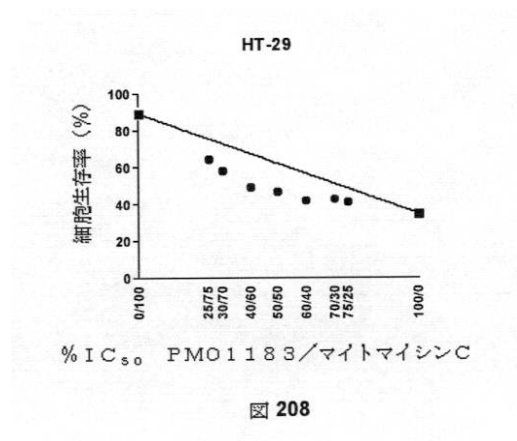
【図206】



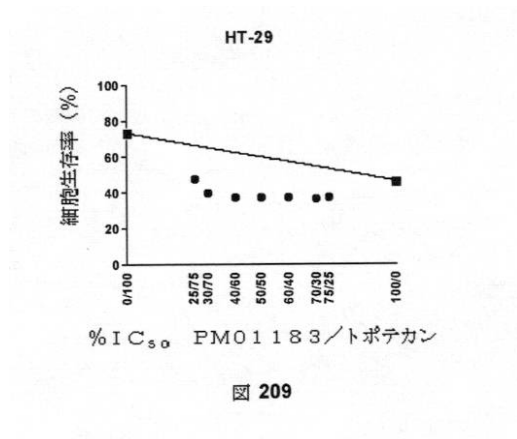
【図207】



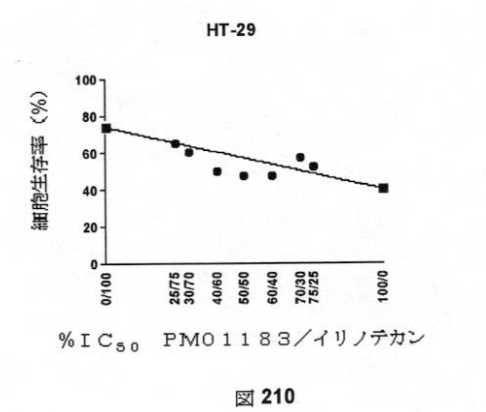
【図208】



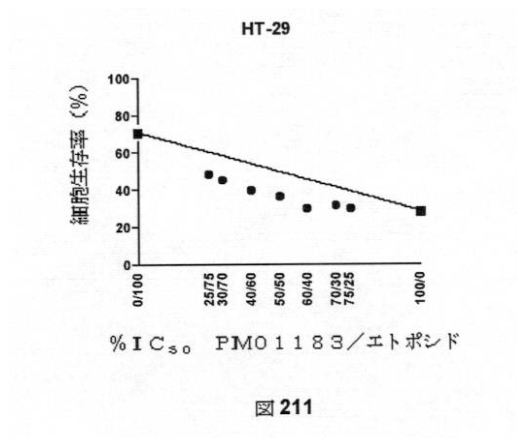
【図 209】



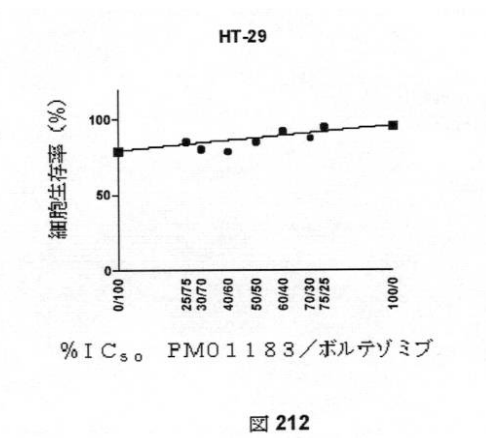
【図 210】



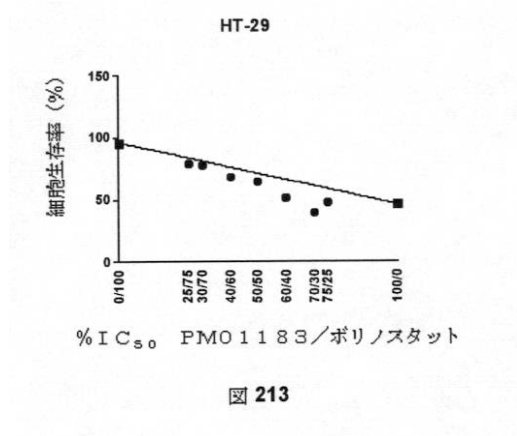
【図 211】



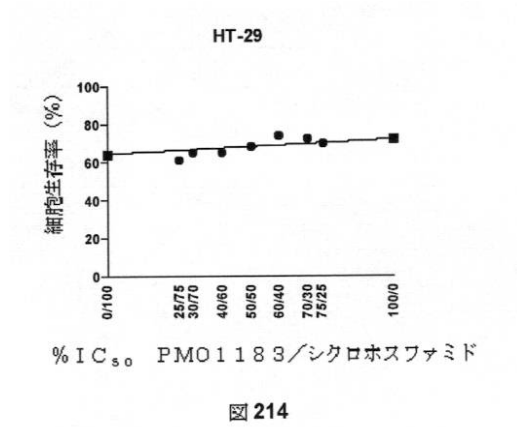
【図 212】



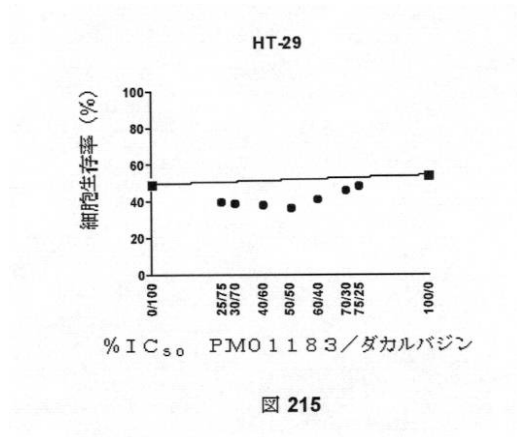
【図 2 1 3】



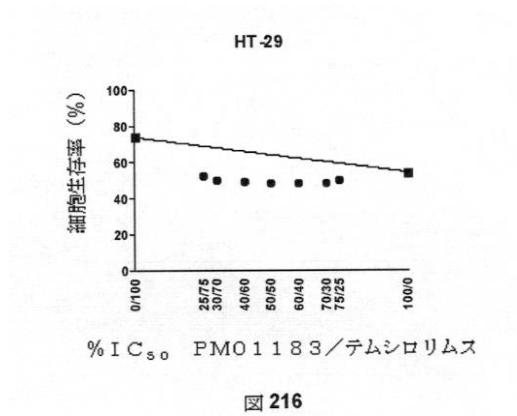
【図 2 1 4】



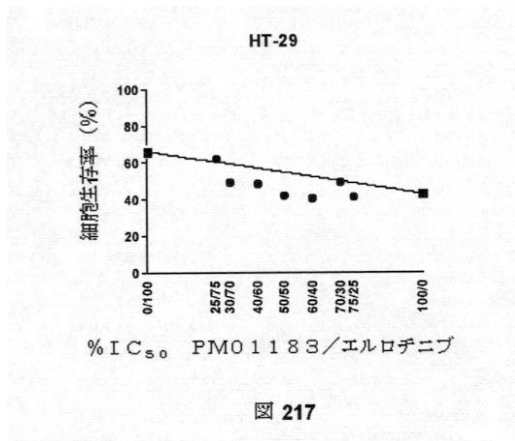
【図 2 1 5】



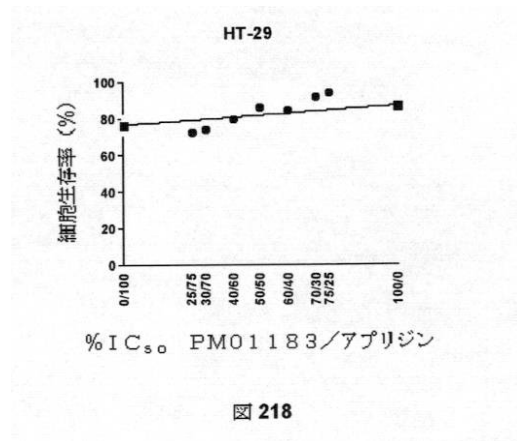
【図 2 1 6】



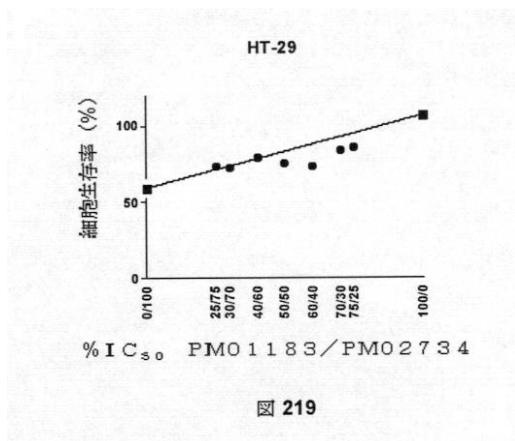
【図 217】



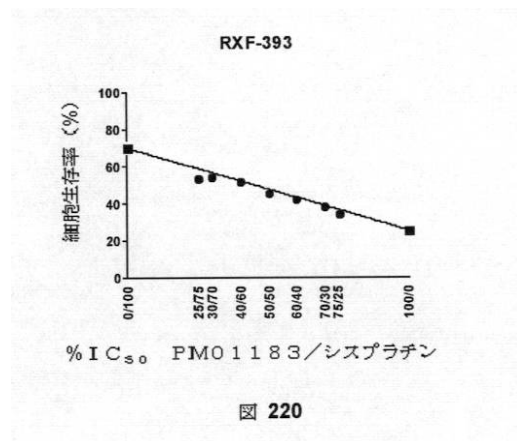
【図 218】



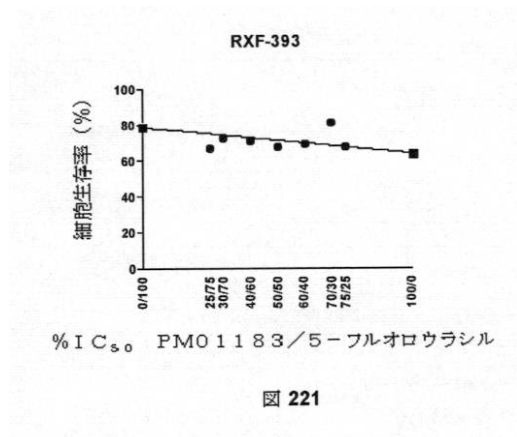
【図 219】



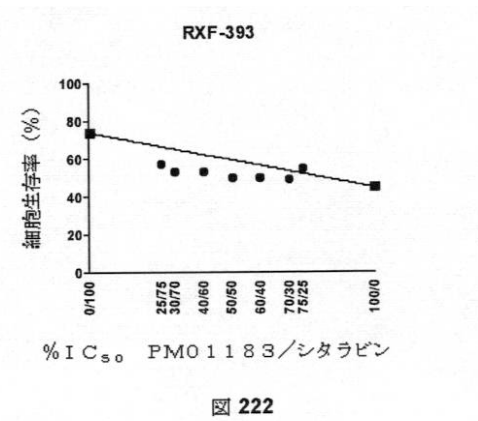
【図 220】



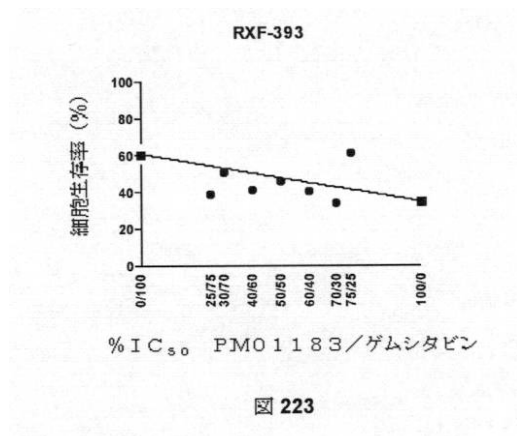
【図 2 2 1】



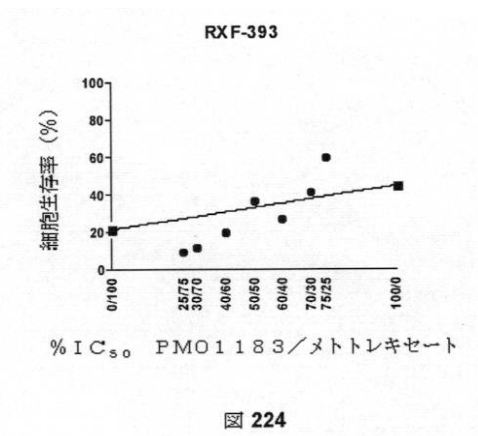
【図 2 2 2】



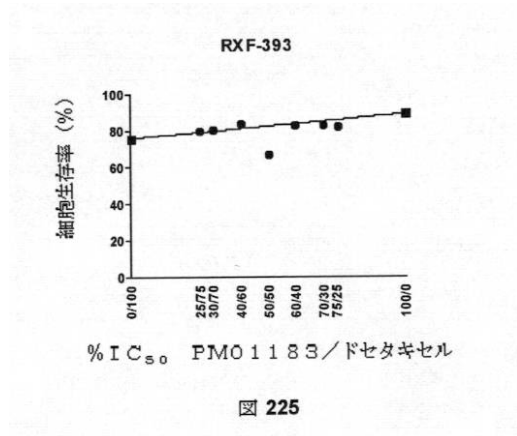
【図 2 2 3】



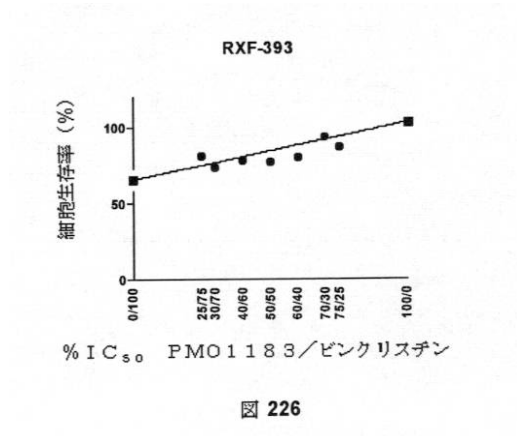
【図 2 2 4】



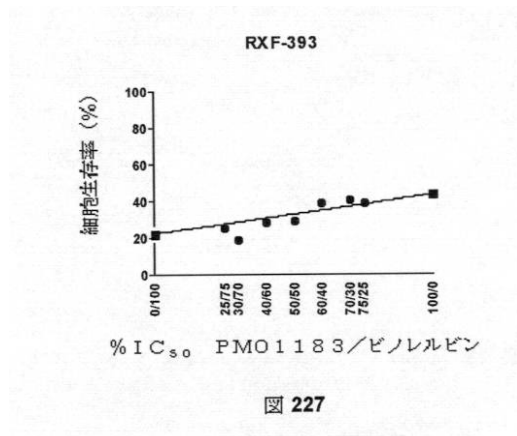
【図 225】



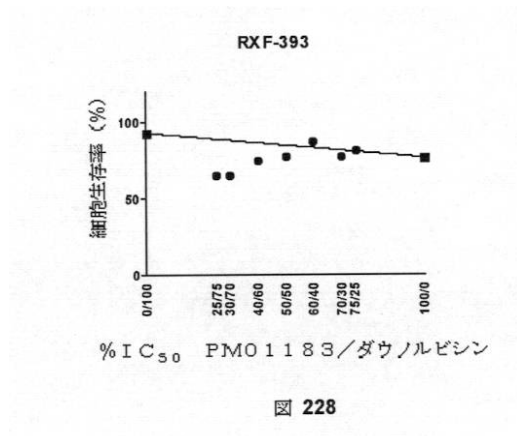
【図 226】



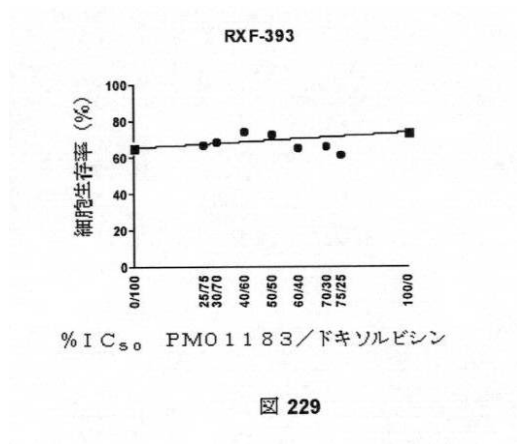
【図 227】



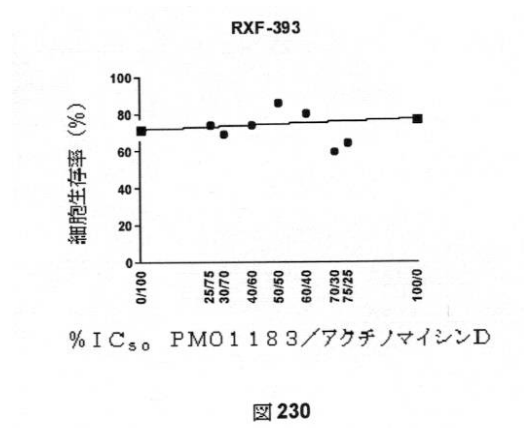
【図 228】



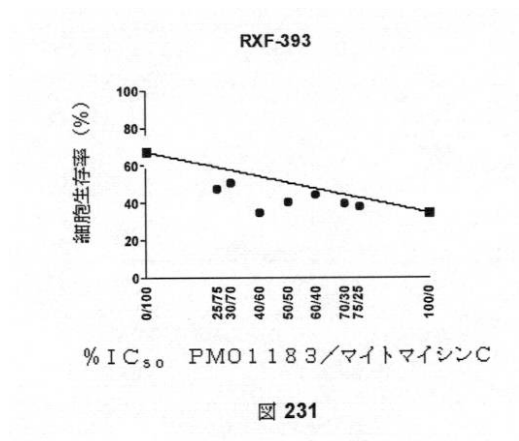
【図 229】



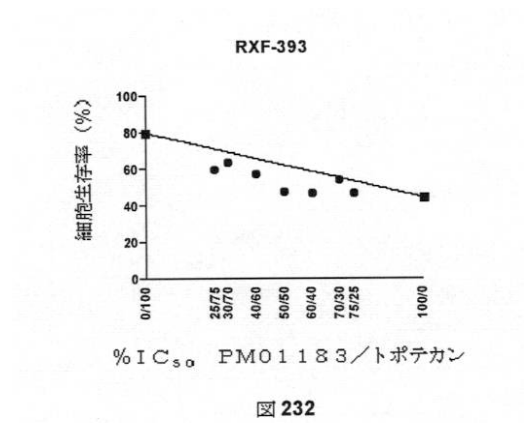
【図 230】



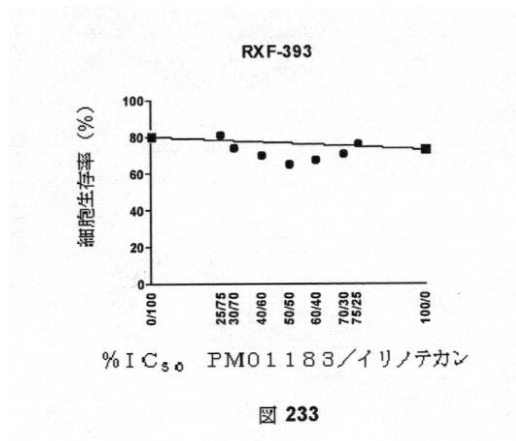
【図 231】



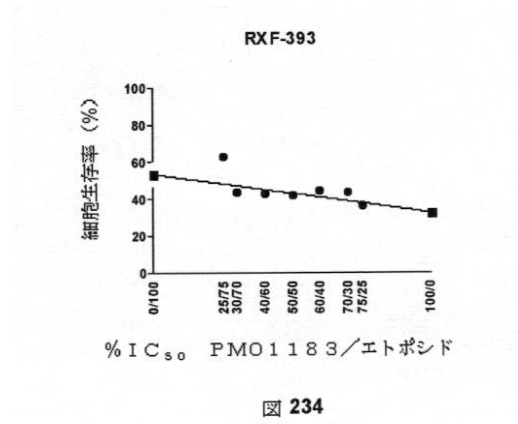
【図 232】



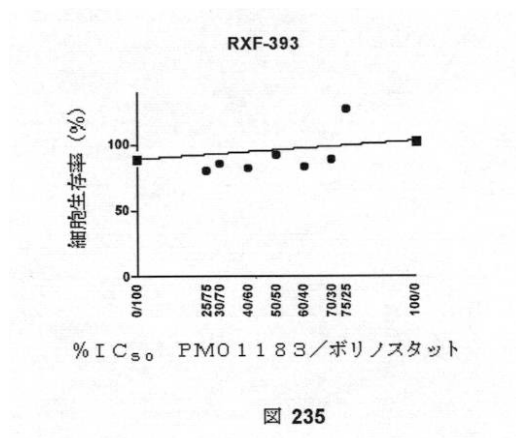
【図 233】



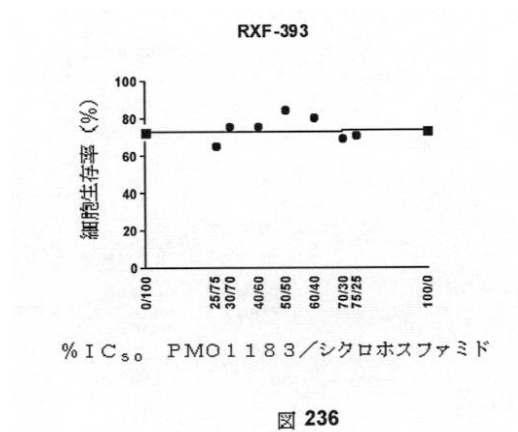
【図 234】



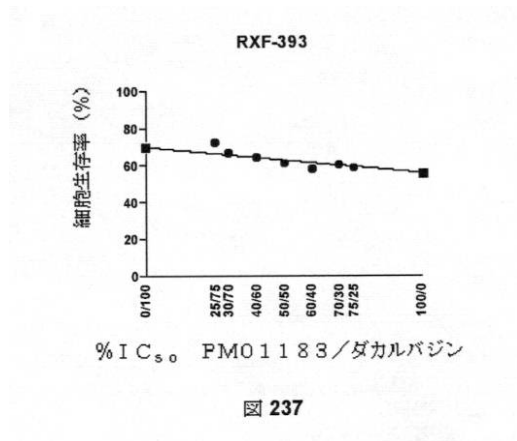
【図 235】



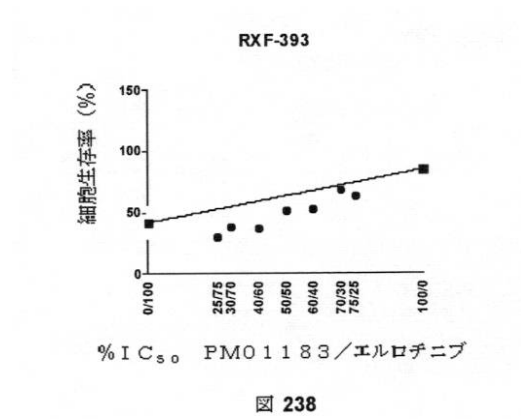
【図 236】



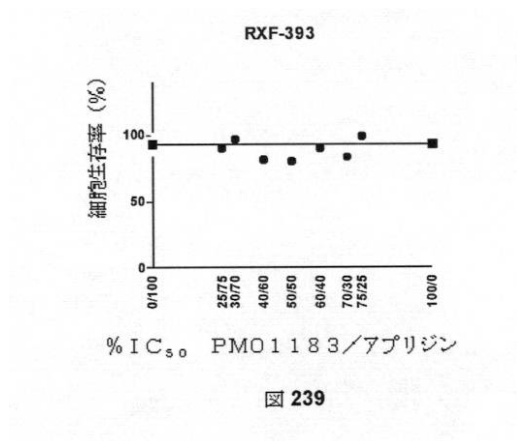
【図 237】



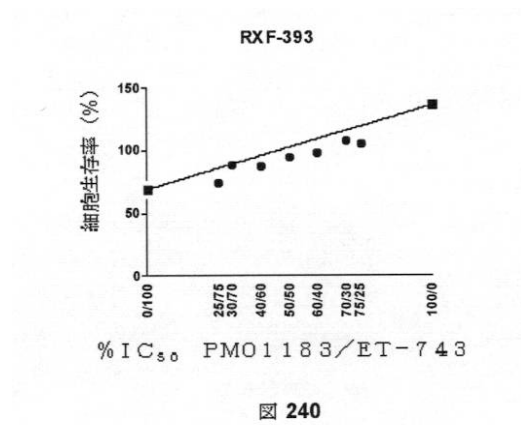
【図 238】



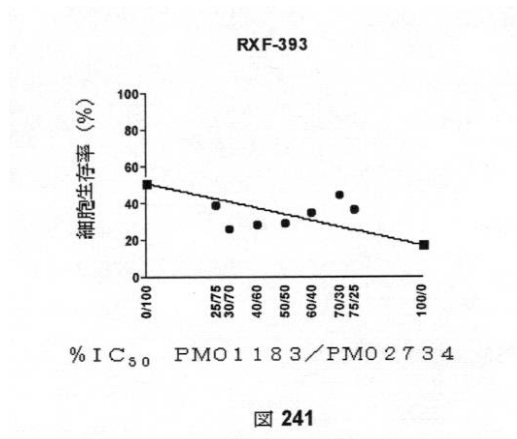
【図 239】



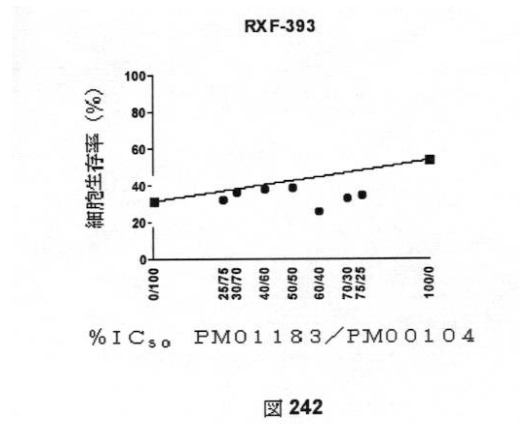
【図 240】



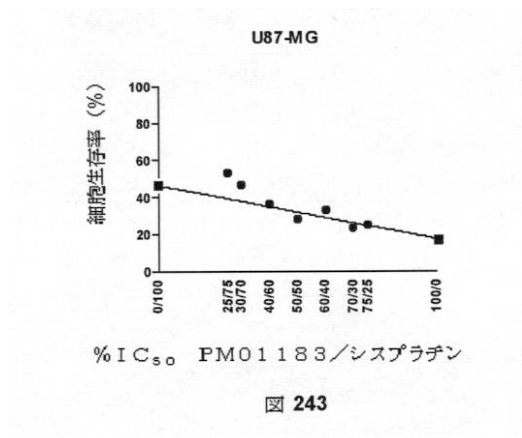
【図 2 4 1】



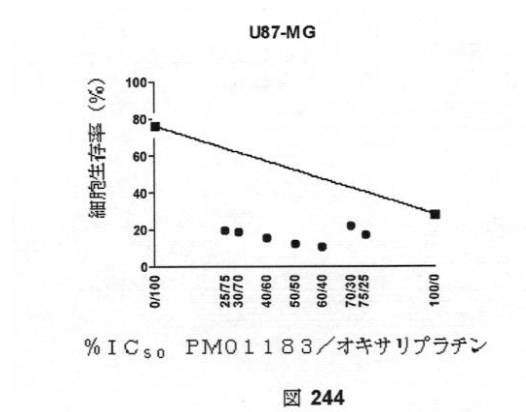
【図 2 4 2】



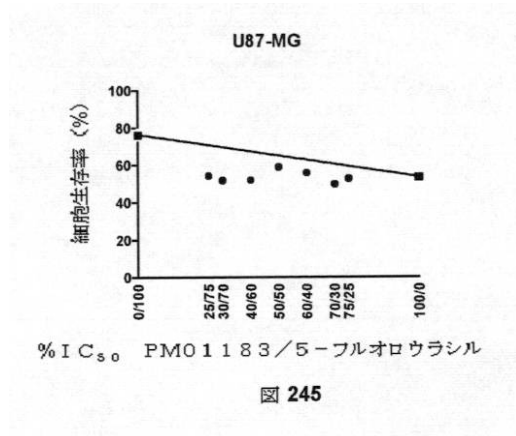
【図 2 4 3】



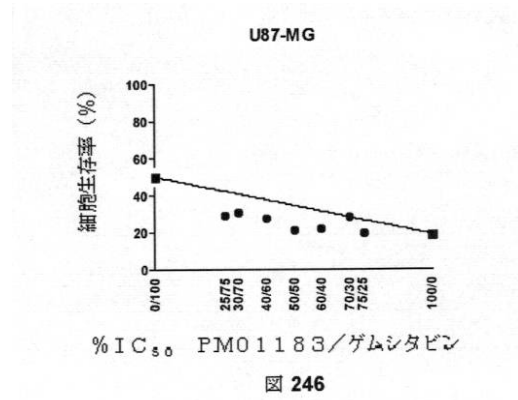
【図 2 4 4】



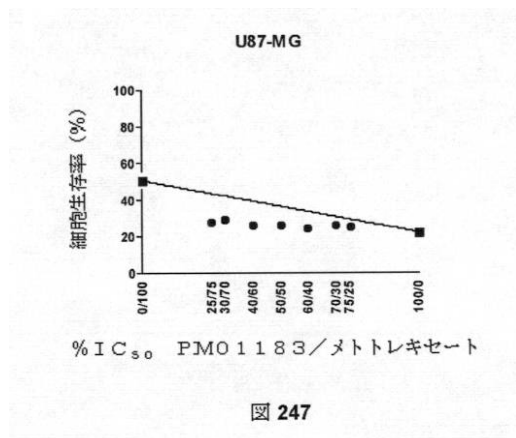
【図 245】



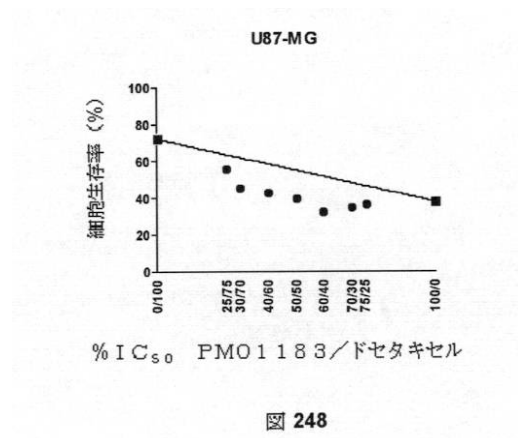
【図 246】



【図 247】



【図 248】



【図 249】

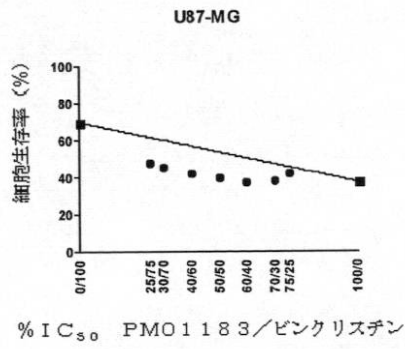


図 249

【図 250】

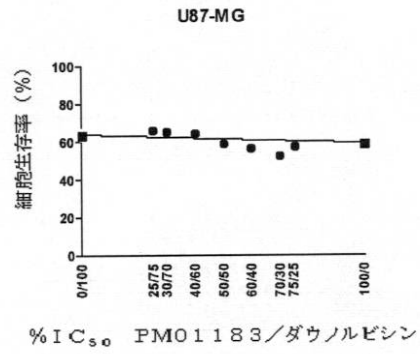


図 250

【図 251】

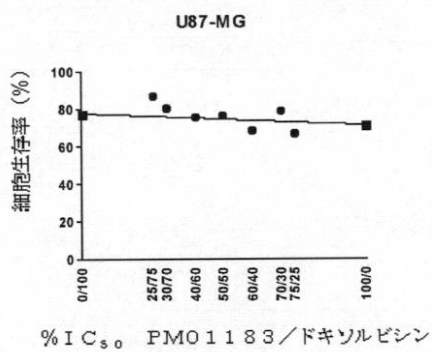


図 251

【図 252】

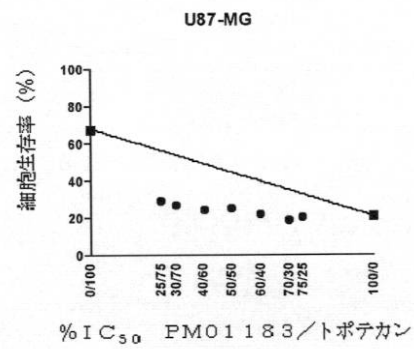


図 252

【図 253】

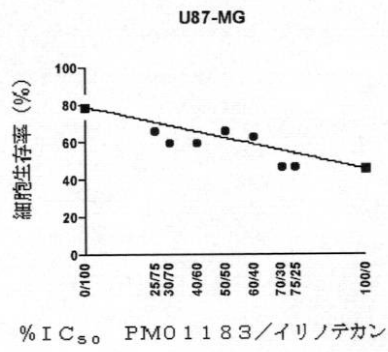


図 253

【図 254】

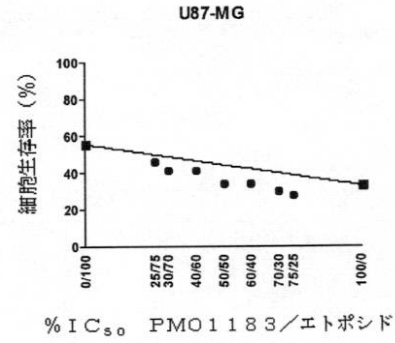


図 254

【図 255】

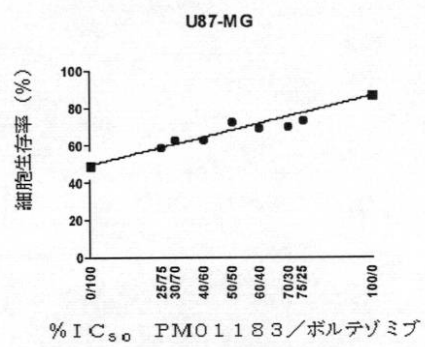


図 255

【図 256】

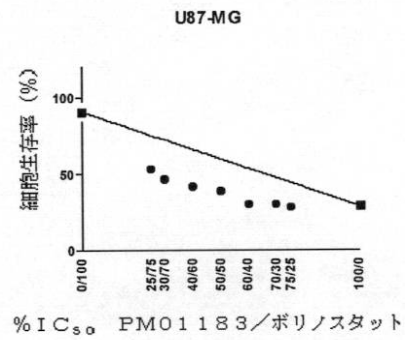


図 256

【図 257】

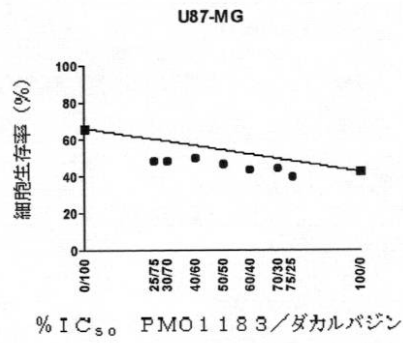


図 257

【図 258】

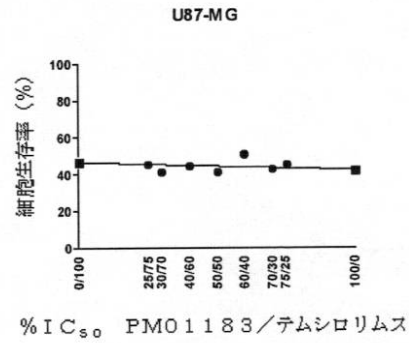


図 258

【図 259】

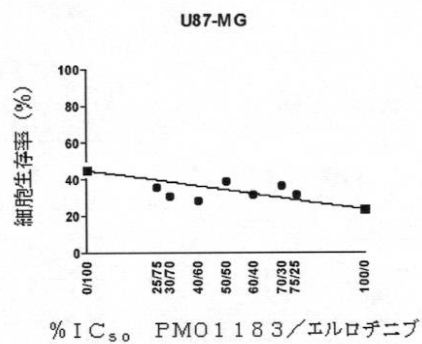


図 259

【図 260】

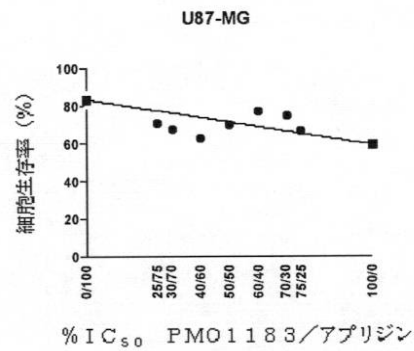


図 260

【図 261】

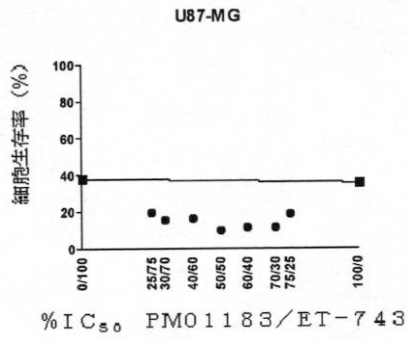


図 261

【図 262】

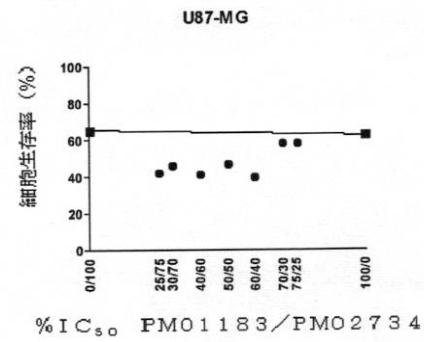


図 262

【図 263】

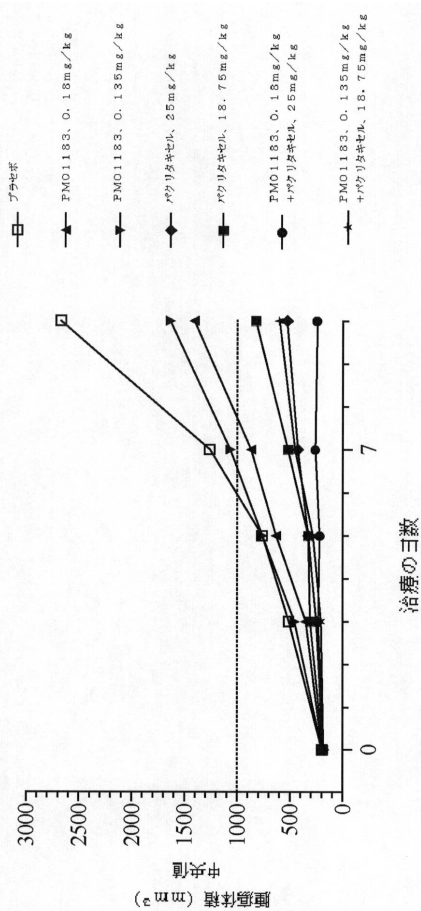


図 263

【図 264】

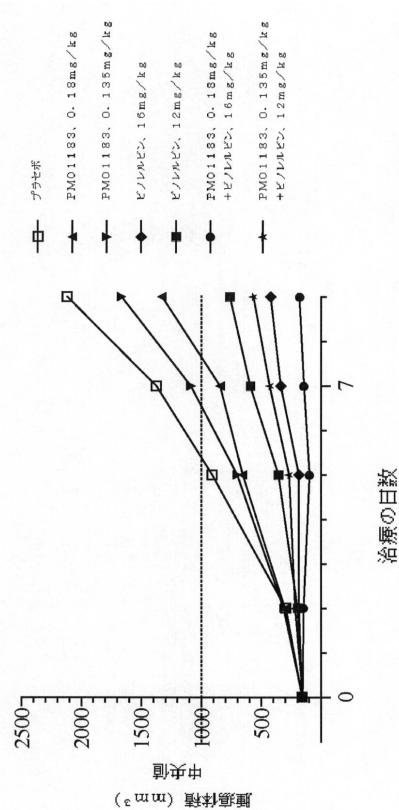
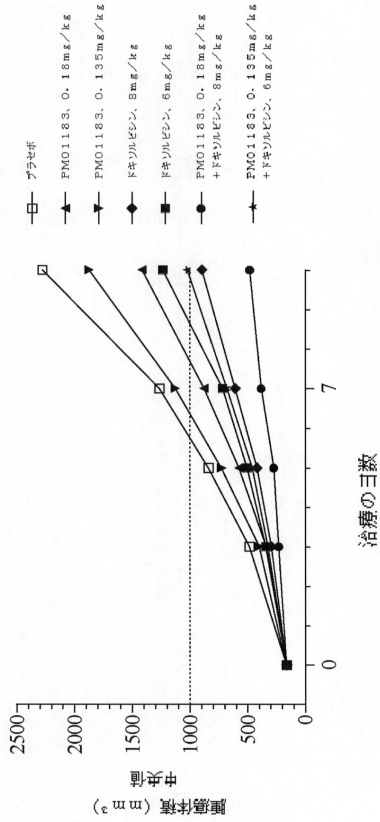


図 264

【図 265】



【図 267】

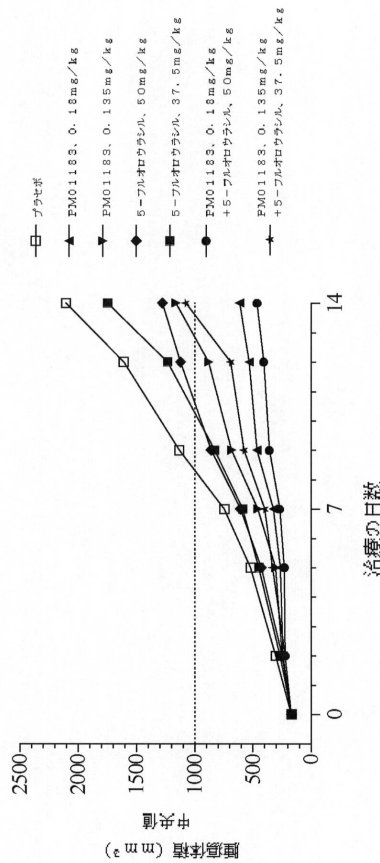


図 265

【図 266】

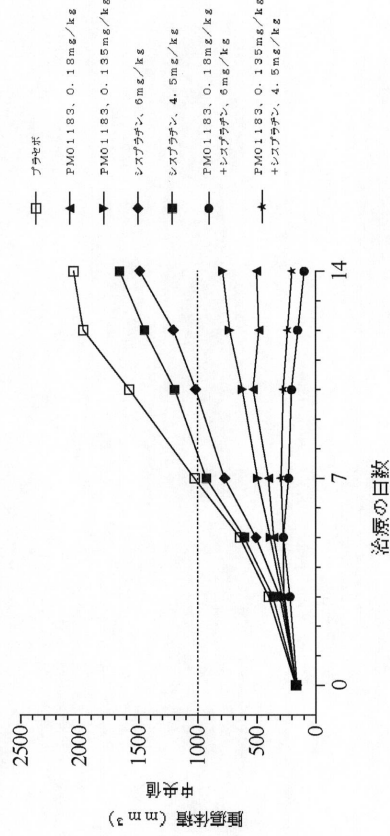


図 266

【図 268】

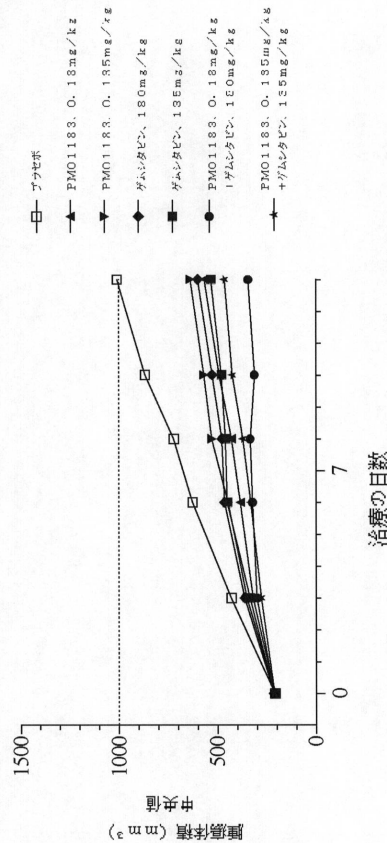


図 267

図 268

【図 269】

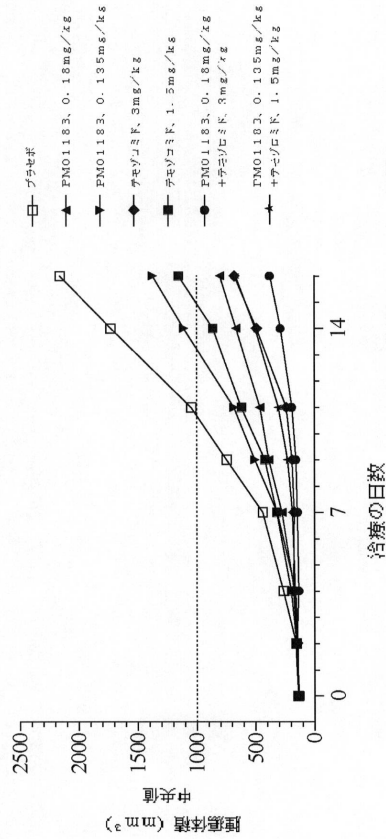


図 269

【図 270】

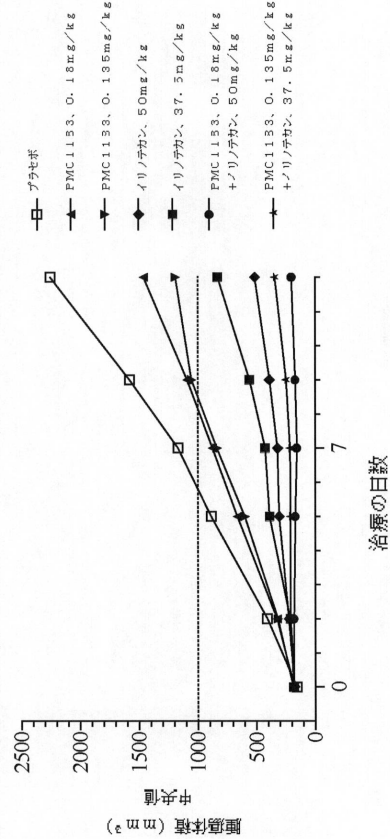


図 270

【図 271】

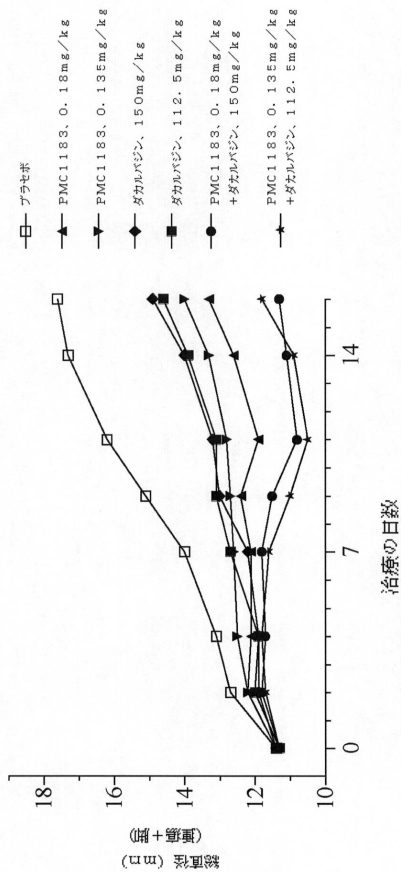


図 271

【図 272】

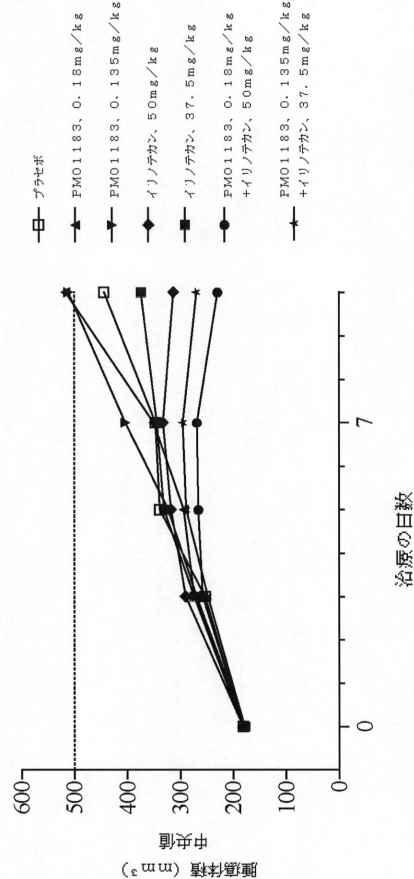


図 272

【図 273】

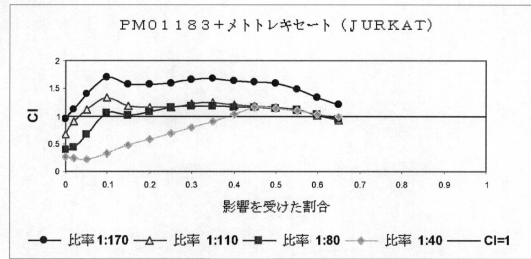


図 273

【図 275】

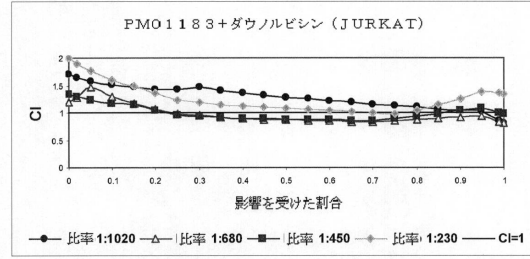


図 275

【図 274】

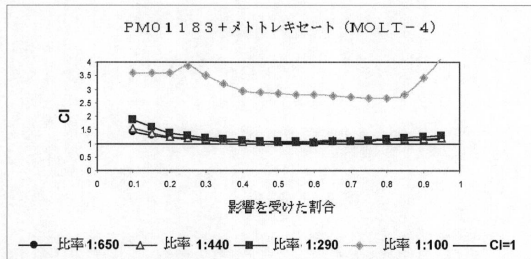


図 274

【図 276】

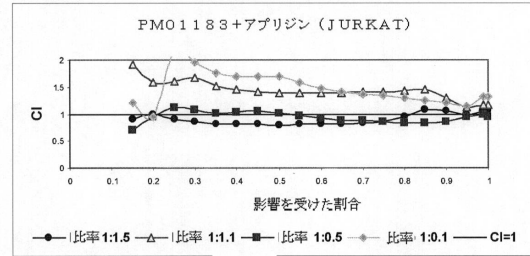


図 276

【図 277】

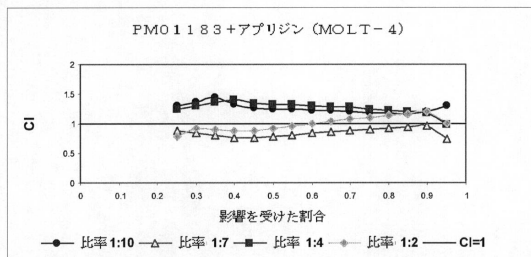


図 277

【図 279】

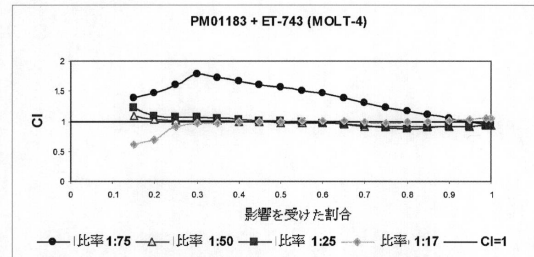


図 279

【図 278】

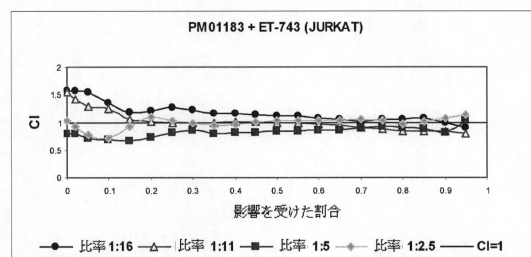


図 278

【図 280】

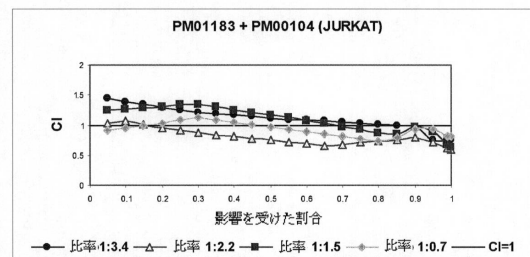


図 280

【図 281】

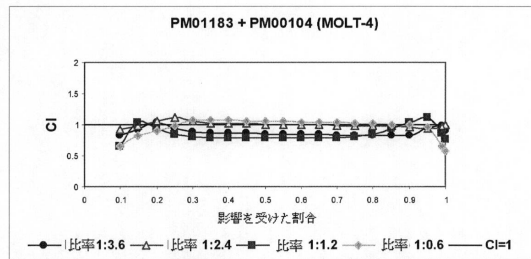


図 281

【図 283】

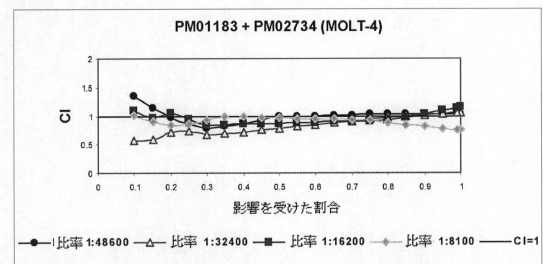


図 283

【図 282】

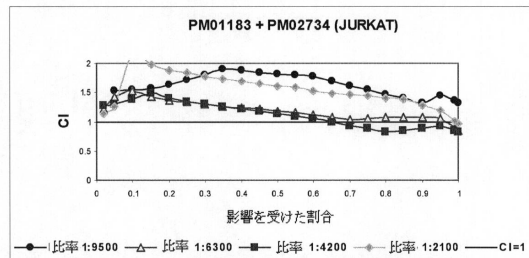


図 282

【図 284】

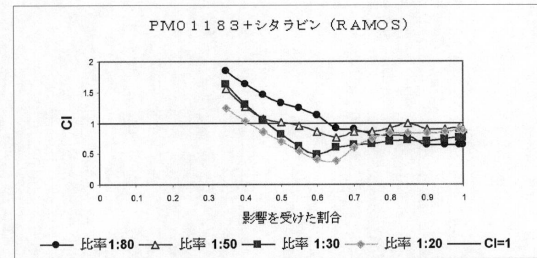


図 284

【図 285】

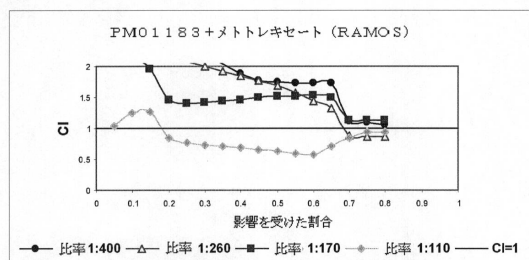


図 285

【図 287】

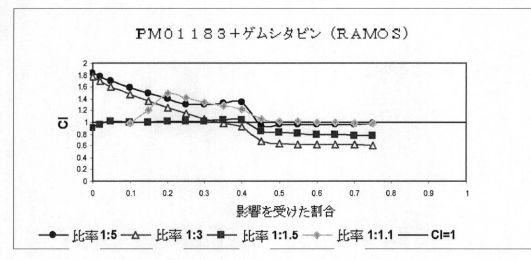


図 287

【図 286】

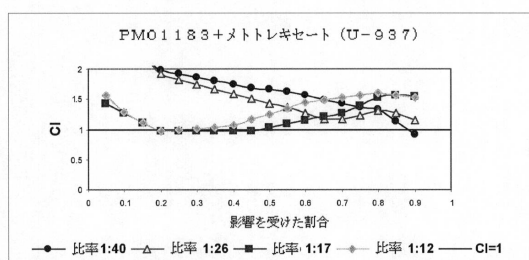


図 286

【図 288】

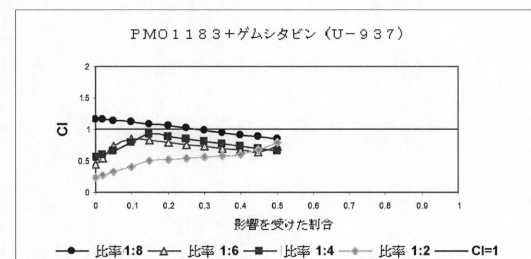


図 288

【図 289】

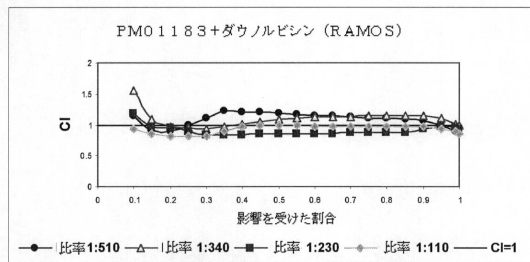


図 289

【図 291】

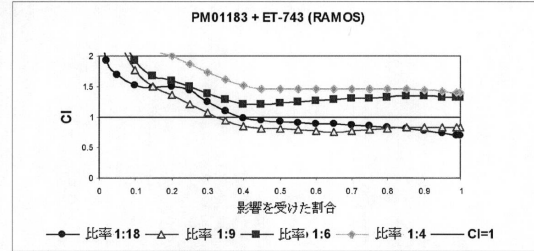


図 291

【図 290】

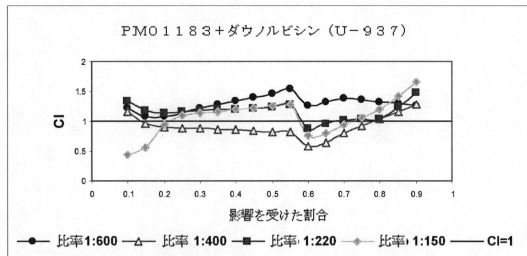


図 290

【図 292】

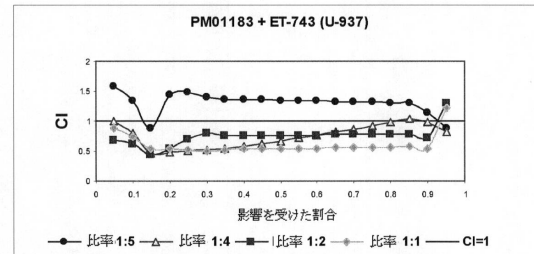


図 292

【図 293】

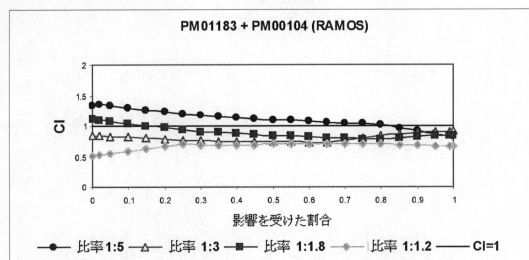


図 293

【図 295】

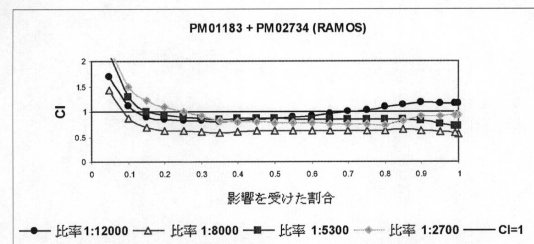


図 295

【図 294】

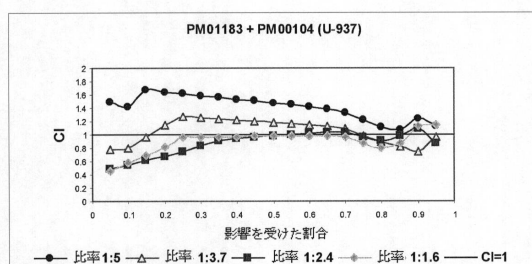


図 294

【図 296】

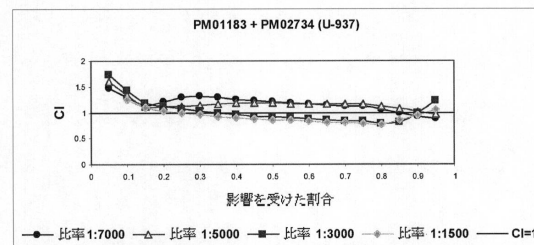


図 296

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
 A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 2 1

- (72)発明者 ヴィクトリア・モネオ・オカナ
 スペイン・E - 2 8 7 7 0・コルメナル・ヴィエホ - マドリード・ポリゴノ・インダストリアル・
 ラ・ミナ - ノルテ・アヴェニエーダ・デ・ロス・レジェス・1・ファルマ・マール・ソシエダード・
 アノニマ内
- (72)発明者 ヘマ・サンタマリア・ニュネス
 スペイン・E - 2 8 7 7 0・コルメナル・ヴィエホ - マドリード・ポリゴノ・インダストリアル・
 ラ・ミナ - ノルテ・アヴェニエーダ・デ・ロス・レジェス・1・ファルマ・マール・ソシエダード・
 アノニマ内
- (72)発明者 ルイス・フランシスコ・ガルシア・フェルナンデス
 スペイン・E - 2 8 7 7 0・コルメナル・ヴィエホ - マドリード・ポリゴノ・インダストリアル・
 ラ・ミナ・アヴェニエーダ・デ・ロス・レジェス・1・ファルマ・マール・ソシエダード・アノニマ
 内
- (72)発明者 カルロス・マリア・ガルマリーニ
 スペイン・E - 2 8 7 7 0・コルメナル・ヴィエホ - マドリード・ポリゴノ・インダストリアル・
 ラ・ミナ - ノルテ・アヴェニエーダ・デ・ロス・レジェス・1・ファルマ・マール・ソシエダード・
 アノニマ内
- (72)発明者 マリア・ホセ・ギジェン・ナヴァルロ
 スペイン・E - 2 8 7 7 0・コルメナル・ヴィエホ - マドリード・ポリゴノ・インダストリアル・
 ラ・ミナ - ノルテ・アヴェニエーダ・デ・ロス・レジェス・1・ファルマ・マール・ソシエダード・
 アノニマ内
- (72)発明者 パブロ・マヌエル・アヴィレス・マリン
 スペイン・E - 2 8 7 7 0・コルメナル・ヴィエホ - マドリード・ポリゴノ・インダストリアル・
 ラ・ミナ - ノルテ・アヴェニエーダ・デ・ロス・レジェス・1・ファルマ・マール・ソシエダード・
 アノニマ内

合議体

審判長 蔵野 雅昭
 審判官 穴吹 智子
 審判官 浅野 美奈

- (56)参考文献 特表2005 - 501093 (JP, A)
 OncoTargets and Therapy, 2009年, Vol. 2, pp. 105 -
 113
 Therapeutics and Clinical Risk Management, 2
 008年, Vol. 4 (1), pp. 109 - 116
 Journal of Clinical Oncology, 2006 ASCO Ann
 ual Meeting Proceedings (Post-Meeting Editio
 n) , 2006年, Vol. 24, No. 18S, 2079

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