

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-517403

(P2009-517403A)

(43) 公表日 平成21年4月30日(2009.4.30)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A 61 K 31/4995 (2006.01)	A 61 K 31/4995	4 C 084
A 61 K 45/00 (2006.01)	A 61 K 45/00	4 C 086
A 61 K 31/455 (2006.01)	A 61 K 31/455	
A 61 K 31/517 (2006.01)	A 61 K 31/517	
A 61 P 35/00 (2006.01)	A 61 P 35/00	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 12 頁) 最終頁に続く

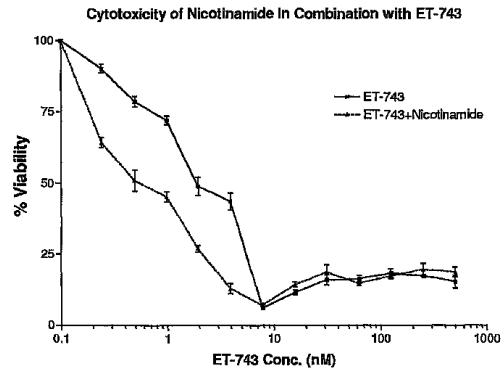
(21) 出願番号	特願2008-542534 (P2008-542534)	(71) 出願人	508148932 ユニバーシティー オブ メディシン アンド デンティストリー オブ ニュージャージー UNIVERSITY OF MEDICINE AND DENTISTRY OF NEW JERSEY アメリカ国 ニュージャージー 08901 ニュープランズウイック ジョージストリート 335 スウィート3200 リバティープラザ オフィスオブパテンツアンドライセンシング
(86) (22) 出願日	平成18年11月27日 (2006.11.27)		
(85) 翻訳文提出日	平成20年6月13日 (2008.6.13)		
(86) 國際出願番号	PCT/US2006/061254		
(87) 國際公開番号	W02007/062413		
(87) 國際公開日	平成19年5月31日 (2007.5.31)		
(31) 優先権主張番号	60/739,536		
(32) 優先日	平成17年11月25日 (2005.11.25)		
(33) 優先権主張國	米国(US)		
		(74) 代理人	100107984 弁理士 廣田 雅紀

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 P A R P - 1 阻害剤の使用

## (57) 【要約】

患者の主要細胞集団に対するエクチナサイジン 743 (ET-743) 又はそのアナログの細胞毒性を亢進させる方法であり、ET-743 を含む組成物と、主要細胞集団に対する ET-743 の細胞毒性亢進に有効量の P A R P - 1 阻害剤を含む組成物とを治療に有効な組合せで連続して又は同時に患者に投与することを含む方法に関する。治療有効量の ET-743 と、ET-743 の細胞毒性亢進に有効量の P A R P - 1 阻害剤とを含む抗腫瘍組成物も提供する。



**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

患者の腫瘍細胞集団に対するエクチナサイジン743(ET-743)又はそのアナログの細胞毒性を亢進させる方法であって、ET-743を含む組成物と、腫瘍細胞集団に対するET-743の細胞毒性亢進に有効量のPARP-1阻害剤を含む組成物とを、治療に有効な組合せで連続して又は同時に前記患者に投与することを含む方法。

**【請求項 2】**

ET-743組成物とPARP-1阻害剤組成物とを患者へ投与する前に单一組成物として組み合わせることをさらに含む、請求項1記載の方法。

**【請求項 3】**

PARP-1阻害剤が、ニコチンアミド；NU1025；3-アミノベンズアミド；4-アミノ-1,8-ナフトルイミド；1,5-イソキノリンジオール；6(5H)-フェナントリジノン；1,3,4,5,-テトラヒドロベンゾ(c)(1,6)-及び(c)(1,7)-ナフチリジン-6-オン；アデノシン置換2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1-オン；AG14361；AG014699；2-(4-クロロフェニル)-5-キノキサリンカルボキサミド；5-クロロ-2-[3-(4-フェニル-3,6-ジヒドロ-1(2H)-ピリジニル)プロピル]-4(3H)-キナゾリノン；イソインドリノン誘導体INO-1001；4-ヒドロキシキナゾリン；2-[3-[4-(4-クロロフェニル)-1-ピペラジニル]プロピル]-4-3(4)-キナゾリノン；1,5-ジヒドロキシイソキノリン(DHQI)；3,4-ジヒドロ-5[4-(1-ピペリジニル)(ブトキシ)-1(2H)-イソキノロン；CEP-6800；GB-15427；PJ34；DPQ；BS-201；AZD2281；BS401；CHP101；CHP102；INH2BP；BSI201；BSI401；TIQ-A；及びイミダゾベンゾジアゼピンからなる群から選択される、請求項1記載の方法。

10

20

30

40

50

**【請求項 4】**

腫瘍細胞集団が、肺癌、前立腺癌、卵巣癌、乳癌、皮膚癌、及び肉腫からなる群から選択される癌細胞を含む、請求項2記載の方法。

**【請求項 5】**

ET-743組成物が、薬理学的に許容される担体をさらに含む、請求項1記載の方法。

**【請求項 6】**

PARP-1阻害剤組成物が、薬理学的に許容される担体をさらに含む、請求項1記載の方法。

**【請求項 7】**

单一組成物が、薬理学的に許容される担体をさらに含む、請求項2記載の方法。

**【請求項 8】**

ET-743組成物の投与前、投与中、又は投与後から個別に2回以上を選択してPARP-1阻害剤組成物を投与することを特徴とする請求項1記載の方法。

**【請求項 9】**

ET-743組成物の量が、PARP-1阻害剤組成物の投与量とは関係なく、治療有効量である、請求項1記載の方法。

**【請求項 10】**

PARP-1阻害剤組成物の不在下で投与されたときのET-743組成物の量が治療有効量でない、請求項1記載の方法。

**【請求項 11】**

ET-743と、腫瘍細胞集団に対するET-743の細胞毒性亢進に有効量のPARP-1阻害剤とを治療に有効な組合せで含む抗腫瘍組成物。

**【請求項 12】**

ET-743の量が、PARP-1阻害剤組成物の投与量とは関係なく、治療有効量である、請求項11記載の組成物。

**【請求項 1 3】**

P A R P - 1 阻害剤組成物の不在下で投与されたときの E T - 7 4 3 の量が治療有効量でない、請求項 1 1 記載の組成物。

**【請求項 1 4】**

P A R P - 1 阻害剤の量が E T - 7 4 3 の腫瘍細胞毒性亢進に有効であることを特徴とする、E T - 7 4 3 が治療有効量である抗腫瘍剤の製造における P A R P - 1 阻害剤の使用。

**【請求項 1 5】**

E T - 7 4 3 の量が、P A R P - 1 阻害剤組成物の投与量とは関係なく、治療有効量である、請求項 1 4 記載の使用。

10

**【請求項 1 6】**

P A R P - 1 阻害剤組成物の不在下で投与されたときの E T - 7 4 3 の量が治療有効量でない、請求項 1 4 記載の使用。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0 0 0 1】**

本出願は、2005年11月25日出願の米国仮出願第60/739536号を優先権主張の基礎としている。この出願の開示の全体を参照として本出願に組み込む。

**【背景技術】****【0 0 0 2】**

エクチナサイジン 7 4 3 (Ecteinascidin-743) (E T - 7 4 3、トラベクトシン (Trabectedin)、Yondelis(R)) は、カリブ海産の群生ホヤ (Ecteinascidia turbinata; the sea squirt) に由来する天然海洋化合物である。この生物の抽出物が強力な細胞毒性活性を有することが 1960 年代後期に示され、その後 1990 年代初頭に個々の化合物が精製・単離された。これら化合物の一種である E T - 7 4 3 は、肺癌、前立腺癌、卵巣癌、乳癌、及び皮膚癌に由来する種々の腫瘍細胞株に対し、インビトロで強力な抗腫瘍活性を示す。E T - 7 4 3 は、臨床開発のために 1993 年に N C I (国立癌研究所 (米国)) によって選択され、現在、固形腫瘍に対する第 III 相及び第 I 相を併合した臨床試験が米国及び欧州で行われている。E T - 7 4 3 を患者に用いると低用量で極めて顕著な活性を示すことは注目に値する。しかし、E T - 7 4 3 の活性に関して多くのデータが蓄積されているにも関わらず、この薬剤に特有であり、かつ新規であると考えられる作用機序についてはまだ完全に解明されていない。

20

30

**【0 0 0 3】**

構造モデリング研究から、E T - 7 4 3 が D N A の副溝と共有結合性相互作用を行うことができ、かかる結合の結果、主溝方向への D N A の湾曲が誘発されるという特徴的な効果がみられる。E T - 7 4 3 の作用機序の研究については、K. Scotto 及び R. Johnson が "Transcription of the Multidrug Resistance Gene MDRI: A Therapeutic Target," Molecular Interventions, vol. 1, issue 2, pages 117-25 (June 2001)において、D. Friedman, et al. が "Ecteinascidin-743 Inhibits Activated but not Constitutive Transcription," Cancer Research, vol. 62, pages 3377-81 (June 15, 2002)において、S. Jin et al. が、"Ecteinascidin 743, a transcription-targeted chemotherapeutic that inhibits MDRI activation," Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 97, no. 12, pages 6775-79 (June 6, 2000)において、並びに K. Scotto が、"ET-743: more than an innovative mechanism of action," Anticancer Drugs, 13 Suppl. 1, pages S3 -6 (May 2002)において開示している。これらの内容は全て参考として本明細書に組み込まれる。

40

**【0 0 0 4】**

P A R P - 1 は、傷害部位への修復酵素の動員を助ける D N A 損傷初期センサーとしてうまく特徴付けられる豊富に存在する核酵素である。P A R P - 1 は、D N A 損傷の第 1 センサーの一つであると考えられ、P A R P - 1 が損傷した D N A に結合すると、その触

50

媒活性が完全に活性化する。

【非特許文献 1】K. Scotto, R. Johnson, Molecular Interventions, vol. 1, issue 2, pages 117-25 (June 2001)

【非特許文献 2】D. Friedman, et al., Cancer Research, vol. 62, pages 3377-81 (June 15, 2002)

【非特許文献 3】S. Jin et al, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, vol. 97, no. 12, pages 6775-79 (June 6, 2000)

【非特許文献 4】K. Scotto, Anticancer Drugs, 13 Suppl. 1, pages S3 -6 (May 2002)

【発明の開示】

【0005】

本発明は、ポリ(ADPリボース)ポリメラーゼ(PARP-1)が腫瘍細胞集団で消失すると、エクチナサイジン743(ET-743)に対する細胞感受性が増進することを見い出した発見に由来している。

【0006】

したがって、一実施態様では、患者の腫瘍細胞集団に対するエクチナサイジン743(ET-743)又はそのアナログの細胞毒性を亢進させる方法であって、ET-743を含む組成物と、腫瘍細胞集団に対するET-743の細胞毒性亢進に有効量のPARP-1阻害剤を含む組成物とを、治療に有効な組合せで連続して又は同時に前記患者に投与することを含む方法が含まれる。

【0007】

別の実施態様では、ET-743と、腫瘍細胞集団に対するET-743の細胞毒性亢進に有効量のPARP-1阻害剤とを治療に有効な組合せで含む抗腫瘍組成物が含まれる。

【0008】

さらなる実施態様では、PARP-1阻害剤の量がET-743の腫瘍細胞毒性亢進に有効であることを特徴とするET-743が治療有効量である抗腫瘍剤の製造におけるPARP-1阻害剤の使用が含まれる。

【0009】

別の実施態様では、ET-743組成物とPARP-1阻害剤組成物とを患者へ投与する前に単一組成物として組み合わせることをさらに含む。

【0010】

別の実施態様では、PARP-1阻害剤が、ニコチニアミド；NU1025；3-アミノベンズアミド；4-アミノ-1,8-ナフトルイミド；1,5-イソキノリンジオール；6(5H)-フェナントリジノン(phenanthriddinone)；1,3,4,5,-テトラヒドロベンゾ(c)(1,6)-及び(c)(1,7)-ナフチリジン-6-オン；アデノシン置換2,3-ジヒドロ-1H-イソインドール-1-オン；AG14361；AGO14699；2-(4-クロロフェニル)-5-キノキサリンカルボキサミド；5-クロロ-2-[3-(4-フェニル-3,6-ジヒドロ-1(2H)-ピリジニル)プロピル]-4(3H)-キナゾリノン；イソインドリノン誘導体INO-1001；4-ヒドロキシキナゾリン；2-[3-[4-(4-クロロフェニル)-1-ビペラジニル]プロピル]-4-3(4)-キナゾリノン；1,5-ジヒドロキシイソキノリン(DHIQ)；3,4-ジヒドロ-5[4-(1-ペリジニル)(ブトキシ)-1(2H)-イソキノロン；CEP-6800；GB-15427；PJ34；DPQ；BS-201；AZD2281；BS401；CHP101；CHP102；INH2BP；BSI201；BSI401；TIQ-A；及びイミダゾベンゾジアゼピンからなる群から選択される。

【0011】

別の実施態様では、肺癌、前立腺癌、卵巣癌、乳癌、皮膚癌、及び肉腫からなる群から選択される癌細胞が腫瘍細胞集団に含まれる。

【0012】

別の実施態様では、ET-743組成物が薬理学的に許容される担体をさらに含む。さ

10

20

30

40

50

らなる実施態様では、P A R P - 1 阻害剤組成物が薬理学的に許容される担体をさらに含む。別の実施態様では、単一組成物が薬理学的に許容される担体をさらに含む。

#### 【 0 0 1 3 】

さらに別の実施態様では、E T - 7 4 3 組成物の投与前、投与中、又は投与後から個別に2回以上を選択してP A R P - 1 阻害剤組成物が投与される。

#### 【 0 0 1 4 】

一実施態様では、E T - 7 4 3 組成物の量が、P A R P - 1 阻害剤組成物の用量とは関係なく治療有効量である。別の実施態様では、P A R P - 1 阻害剤組成物の不在下で投与されたときのE T - 7 4 3 組成物の量が治療有効量ではない。

#### 【 0 0 1 5 】

本発明の別の目的は、P A R P 活性の消失をもたらすP A R P の多型及び／又は変異を利用して患者における細胞集団のE T - 7 4 3 に対する感受性を予測し、患者における腫瘍細胞集団又は正常細胞集団のE T - 7 4 3 に対する感受性を測定する方法を提供することである。

#### [ 発明の詳細な説明 ]

#### 【 0 0 1 6 】

インビトロでの特徴付けにより、E T - 7 4 3 が副溝のゲアニン残基をアルキル化することが示唆される。このように、D N A 結合薬剤としてかなり一般的な特性があるにも関わらず、E T - 7 4 3 を60種以上のN C I 細胞株に対してCOMPAREアルゴリズムにより分析したところ、E T - 7 4 3 には、他のD N A アルキル化剤とは殆ど関連のない独特的の細胞毒性プロフィールが備わっていることが示された。すなわち、D N A に関するE T - 7 4 3 の新規な作用機序が上記のデータに強く裏付けられている。

20

#### 【 0 0 1 7 】

E T - 7 4 3 は、種々のプロモーターの構成的発現を阻害することなく、それらプロモーターの転写活性を阻害することができる。例えば、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤であるトリコスタチンA (T S A) などの種々の誘導因子によるM D R 1 プロモーター及びp 2 1 プロモーターの活性化は、E T - 7 4 3 処理によって阻止されるが、これらプロモーターによる転写の基礎レベルは影響を受けない。

#### 【 0 0 1 8 】

P A R P - 1 は、細胞N A D を基質として用いるA D P リボース (P A R ) ポリマーの産生を触媒し、高度に負に荷電したこれらポリマーを受容体タンパク質にグルタミン酸残基位置において付加する。P A R ポリマーを核タンパク質受容体に付加すると、かかる受容体は静電反発力によりD N A から解離する。この解離により、強い立体障害が軽減し、修復複合体が損傷D N A に近づくことができるようになる。

30

#### 【 0 0 1 9 】

P A R P - 1 は、D N A 損傷応答における機能に関してよく知られているが、P A R P - 1 研究の結果、非病態生理学条件下で遺伝子調節及び他の遺伝子プロセスに役割を有することが、ごく最近解明された。湾曲D N A 又は十字型D N A と同様にヌクレオゾームの存在下でP A R P - 1 の触媒活性が、D N A 損傷による活性化よりむしろ強く、強力に活性化されることが近年示された。さらにP A R P - 1 が、D N A 損傷不在下で種々のプロモーターの転写活性化に関与し、場合によっては阻害することを示唆する証拠が数多く蓄積されており、実際、P A R P - 1 の結合がR N A ポリメラーゼII前初期複合体の形成における必須のステップであることが示された。

40

#### 【 0 0 2 0 】

腫瘍細胞集団においてP A R P - 1 が阻害されることにより、これら細胞でのE T - 7 4 3 の細胞毒性が向上することが今ではわかっている。したがって、本発明の実施態様の一つには、E T - 7 4 3 又はそのアナログと、腫瘍細胞集団に対するE T - 7 4 3 の細胞毒性の亢進に有効量のP A R P - 1 阻害剤を含む組成物との、治療に有効な量での組合せを患者に投与することにより、患者の腫瘍細胞集団に対するE T - 7 4 3 又はそのアナログの細胞毒性を亢進させる方法が含まれる。P A R P - 1 阻害剤を含む組成物は、E T -

50

743 又はそのアナログを含む組成物の投与に前後して、或いは同時に投与してもよい。P A R P - 1 阻害剤は2回以上投与してもよく、E T - 743 又はそのアナログを含む組成物の投与の前に及び／又は同時に及び／又は後から患者に投与することができる。

#### 【0021】

E T - 743 又はそのアナログの量は、P A R P - 1 阻害剤の用量とは無関係に治療に有効な量としてよい。或いは、例えれば副作用を減少させたり、患者の耐容性を向上させるために、E T - 743 又はそのアナログを亜臨床的用量で投与してもよく、P A R P - 1 阻害剤の用量は、腫瘍細胞集団に対する細胞毒性の点で治療上有効な組合せをもたらすのに有効な量とする。

#### 【0022】

本発明で用いる適切なP A R P - 1 阻害剤としては、ニコチニアミド；N U 1 0 2 5；3 - アミノベンズアミド；4 - アミノ - 1 , 8 - ナフタルイミド；1 , 5 - イソキノリンジオール；6 (5H) - フェナントリジノン；1 , 3 , 4 , 5 , - テトラヒドロベンゾ(c) (1 , 6) - 及び(c) (1 , 7) - ナフチリジン - 6 - オン；アデノシン置換2 , 3 - ジヒドロ - 1 H - イソインドール - 1 - オン；A G 1 4 3 6 1 ; A G 0 1 4 6 9 9 ; 2 - (4 - クロロフェニル) - 5 - キノキサリンカルボキサミド；5 - クロロ - 2 - [3 - (4 - フェニル - 3 , 6 - ジヒドロ - 1 (2H) - ピリジニル) プロピル] - 4 (3H) - キナゾリノン；イソインドリノン誘導体I N O - 1 0 0 1 ; 4 - ヒドロキシキナゾリン；2 - [3 - [4 - (4 - クロロフェニル) - 1 - ピペラジニル] プロピル] - 4 - 3 (4) - キナゾリノン；1 , 5 - ジヒドロキシイソキノリン(D H I Q)；3 , 4 - ジヒドロ - 5 [4 - (1 - ピペラジニル) (ブトキシ) - 1 (2H) - イソキノロン；C E P - 6 8 0 0 ; G B - 1 5 4 2 7 ; P J 3 4 ; D P Q ; B S - 2 0 1 ; A Z D 2 2 8 1 ; B S 4 0 1 ; C H P 1 0 1 ; C H P 1 0 2 ; I N H 2 B P ; B S I 2 0 1 ; B S I 4 0 1 ; T I Q - A ; 及びイミダゾベンゾジアゼピンが例示される。

#### 【0023】

一実施態様では、腫瘍細胞集団には、肺癌、前立腺癌、卵巣癌、乳癌、皮膚癌、及び肉腫から選択される癌細胞が含まれる。

#### 【0024】

別の実施態様では、E T - 743 組成物とP A R P - 1 阻害剤組成物とを患者に投与する前に単一組成物として組み合わせることを含む。別の実施態様では、かかる単一組成物に薬理学的に許容される担体が含まれる。

#### 【0025】

別の実施態様では、E T - 743 組成物に薬理学的に許容される担体が含まれる。

#### 【0026】

さらなる実施態様では、P A R P - 1 阻害剤組成物に薬理学的に許容される担体が含まれる。

#### 【0027】

さらなる実施態様では、腫瘍細胞集団に対するE T - 743 の細胞毒性効果を向上させる薬剤の製造におけるP A R P - 1 阻害剤を含む組成物の使用が含まれる。

#### 【0028】

「有効量(effective amount)」又は「治療有効量(therapeutically effective amount)」なる用語は、医師又は他の臨床医が対象に対して求める生物学的又は医学的反応を引き起こす化合物又は薬剤の量を意味する。E T - 743 又はそのアナログの「有効量」又は「治療有効量」には、P A R P - 1 阻害剤の不在下では不十分であろう量が含まれる。

#### 【0029】

実際には、E T - 743 組成物及び／又はP A R P - 1 阻害剤組成物は、適切な多種多様な形態で投与することができ、例えば、局所的、非経口、経直腸、又は経口でそれぞれ投与することができる。より具体的な投与経路には、静脈内、筋肉内、皮下、眼球内(intraocular)、滑液囊内、経結腸、腹腔内、並びに経皮・点眼(ophthalmic)・舌下・口腔

・皮膚・眼内(ocular)・送気鼻孔吸入・エアロゾル等の経上皮による経路が含まれる。

【0030】

組成物は、最適経路による投与を可能とする形態で供される。かかる組成物は、一若しくは複数の薬理学的に許容されるアジュバント又は賦形剤を用いて一般的な方法により調製することができる。アジュバントとしては特に、希釈剤、無菌水性媒介物(media)、及び種々の非毒性有機溶媒などがある。組成物は、経口投薬用、注射溶液用、又は懸濁剤用の形態で供される。

【0031】

媒体(vehicle)の選択並びに媒体中のE T - 7 4 3 及び / 又はP A R P - 1 阻害剤は一般的に、製品の可溶性及び化学特性、具体的な投与形態、並びに遵守すべき薬務条項にしたがって決定される。水性懸濁剤を使用する場合、乳化剤又は懸濁促進剤を含有させてよい。スクロース、エタノール、及びポリエチレングリコール・プロピレングリコール・グリセロール等のポリオール、並びにクロロホルム、又はこれらの混合物を用いてもよい。さらに、組成物を除放性の調製物及び製剤に含有させてもよい。

10

【0032】

非経口投与の場合、ゴマ油・ラッカセイ油・オリーブ油等の植物油、水とプロピレングリコール等の水性・有機溶液、オレイン酸エチル等の注射用有機エステル、又は薬理学的に許容される塩の無菌水溶液に本発明の組成物の乳剤、懸濁剤又は溶液を含有させて用いる。注射用形態は、シリンジに容易に注入できる程度に液状でなければならず、例えば、レシチン等によるコーティングにより、分散剤の場合は所望の粒径を保つことにより、及び界面活性剤を用いることにより、適切な液状性が保たれる。吸収を遅らせる薬剤、例えばモノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを使用することにより、注射用組成物の吸収を持続させることができる。本発明の製品の塩の溶液は、筋肉内又は皮下注入による投与に特に有用である。遊離塩基又は薬理学的に許容される塩としての含組成物溶液は、ヒドロキシプロピル・セルロース等の界面活性剤と適切に混合した水で調製することができる。分散液も、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、及びそれらの混合物を用いて、または油を用いて調製することができる。蒸留水に塩を含有する溶液などの水溶液を静脈内投与に用いてもよいが、但し、かかる水溶液は、pHが適切に調整され、慎重に緩衝化され、十分量のグルコース又は塩化ナトリウムで等張化され、並びに加熱・照射・精密濾過及び / 又はパラベン、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサール等の種々の抗菌剤及び抗真菌剤で殺菌されていなければならない。

20

【0033】

無菌注射溶液は、必要量の組成物を、必要に応じて上記に列挙した種々の他の成分とともに適切な溶媒に組み込み、その後フィルター殺菌を行うことによって調製される。通常、分散剤は、塩基性分散媒体及び上記に列挙した成分を必要に応じて含有する種々の無菌処理された活性成分を無菌媒体に組み込むことにより、調製する。無菌注射液の調製のための無菌パウダーに関しては、好適な調製方法は真空乾燥法及び凍結乾燥法であり、それにより、活性成分に加え、既に無菌フィルター処理した溶液中の所望成分もさらに含むパウダーが得られる。

30

【0034】

組成物を含有する局所投与剤、ゲル(水性又はアルコール性)、クリーム、又は軟膏を用いてもよい。かかる組成物は、パッチ塗布用にゲル又はマトリックスベースに組み込んでもよく、それにより、化合物が経皮バリアを介して制御放出される。

40

【0035】

本発明で用いる組成物の割合は種々に変更できるが、適切な用量(dose)が得られる比率とすることが必要である。単位用量形態のいくつかをほぼ同時に投与しても勿論よい。採用する用量は、医師又は有資格医療専門家によって決定され、所望の治療効果、投与経路、治療期間、及び患者の状態によって異なる。一般に成人の用量は、吸入の場合、1日あたり約0.001～約50mg/kg体重、好ましくは約0.001～約5mg/kg体重であり、経口投与の場合、1日あたり約0.01～約100mg/kg体重、好まし

50

くは0.1～70mg/kg体重、特に0.5～10mg/kg体重であり、並びに静脈内投与の場合、1日あたり約0.001～約10、好ましくは0.01～10mg/kg体重である。それぞれの場合において、本発明の化合物の効果に影響するような、年齢、体重、総合的な健康状態並びにその他の特徴などの治療対象患者に特有の事情によって用量を決定する。

#### 【0036】

本発明で用いる組成物は、所望の治療結果を得るために必要な頻度で投与してよい。より高用量又は低用量で急速に反応する患者もいるだろうし、もっと低い維持量で十分な患者もいるだろう。患者の中には、患者個々の生理的 requirement によって1日あたり1～4用量の割合での長期間の治療が必要かもしれない。一般的には、組成物を1日あたり1～4回投与することができる。当然のことながら、1日あたり1～2用量以下で処方しなければならない必要がある患者もいる。

10

#### 【0037】

限定されることのない以下の実施例により、本発明の特徴をいくつか説明する。

#### 【実施例】

#### 【実施例1】

#### 【0038】

エクチナサイジン743(ET-743、トラベクテジン)又はZalypsis(R)(Yondelis(R)のアナログ)を用いる細胞毒性アッセイ

PARP-1+/+マウス及びPARP-1-/-マウスの胎児線維芽細胞(MFE)を密度が5000細胞/ウェルとなるように96ウェルプレートに蒔種した。24時間後、連続希釈濃度のET-743で細胞を処理した。最初の処理から72時間後にMTS(3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-5(3-カルボキシメトニフェノール)-2-(4-スルホフェニル)-2H-テトラゾリウム)細胞毒性アッセイを行った。その結果をET-743又はZalypsis(R)の濃度に対する細胞生存率として表した(それぞれ図1a及び1b)。

20

#### 【0039】

図1aに示すように、PARP-1の欠損により、ET-743に対する細胞感受性が30倍まで上昇した。このことから、腫瘍細胞内におけるPARP-1活性の変化がET-743の薬効に影響することが示唆される。PARP-1+/+細胞及びPARP-1-/-細胞はいずれもGuava-Nexin分析にみられるように、主にアポトーシス死経路を介して死んだ(データは示さず)。Zalypsis(R)で処理したPARP-1-/-細胞では、感受性が110倍に上昇していた(図1b)。

30

#### 【実施例2】

#### 【0040】

ET-743と組み合わせてニコチンアミド又はNU1025を用いた細胞毒性アッセイ  
ニコチンアミド(10mM)又はNU1025(100μM)で2時間、SW620結腸癌細胞を前処理した。2時間の前処理後、培地を洗い落とし、PARP阻害剤の第2固定用量及び連続希釈濃度のET-743を含有する新鮮培地と交換した。4時間後、ET-743及びPARP阻害剤を含有する培地を洗い落とし、別の固定用量のPARP阻害剤と交換した。最後に4時間後、PARP阻害剤の最終固定用量を加えた。最初の処理から72時間後、MTS細胞毒性アッセイを行った。結果をET-743濃度に対する細胞生存率として表した(図2a及び2b)。IC<sub>50</sub>濃度は以下のとおり。ET-743単独で2nM、及びニコチンアミドとの併用で0.41nM(図2a)、並びにET-743単独で1.8nM、及びNU1025との併用で0.37nM(図2b)。

40

#### 【0041】

図2aからわかるように、一般的なPARP阻害剤であるニコチンアミドで処理した場合、ET-743に対する細胞の感受性が4.9倍に上昇した。新規であり、より強力で特異的なPARP阻害剤であるNU1025(最大でニコチンアミドの1000倍強力)で処理した場合にも同様の効果がみられ(図2b)、ET-743に対する細胞感受性が

50

4.8倍に上昇した。ニコチニアミド単独で処理した場合、最大20%の細胞が死んだ。しかし、より一層強力なPARP阻害剤であるNU1025単独処理の場合は無処理細胞に比べて細胞毒性の亢進はみられず、殺細胞に関し、NU1025がET-743と相乗的に作用していることが示唆される。

#### 【0042】

以上の実施例及び好適な実施態様の説明は、クレーム記載の本発明を限定するというよりもしろ説明するものと解釈されるべきである。容易に理解されるように、特許請求の範囲に記載する本発明から逸脱することなく、上記の特徴の多様な変更及び組合せを利用することができる。そのような変更は、本発明の趣旨又は記載から逸脱するとはみなされず、全ての変更は以下の特許請求の範囲に含まれる。

10

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0043】

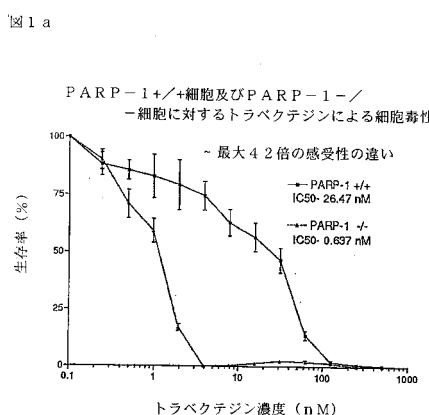
【図1a】図1aは、ET-743濃度に対する細胞生存率を示す図である。

【図1b】図1bは、Zalypsis(R)濃度に対する細胞生存率を示す図である。

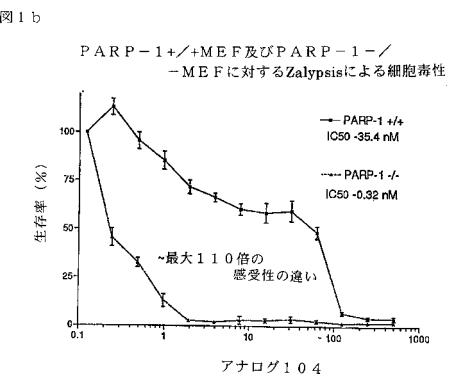
【図2a】図2aは、ET-743及びニコチニアミドの存在下における細胞生存率を調べた結果を示す図である。

【図2b】図2bは、ET-743及びNU1025の存在下における細胞生存率を調べた結果を示す図である。

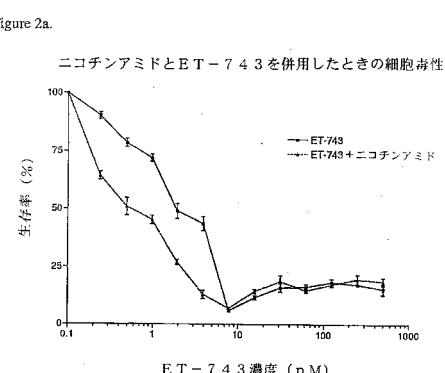
【図1a】



【図1b】



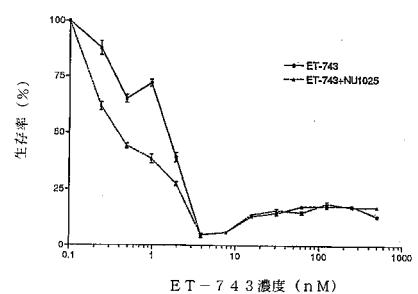
【図2a】



## 【図2 b】

図2 b

ET-743とPARP阻害剤NU1025との併用



## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 06/61254
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC(8): A61K 31/44 (2007.01) USPC: 514/296, 514/356 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) USPC: 514/296, 514/356		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) WEST and Google Scholar PARP-I inhibitor, ET-743, Ecteinascidin, nicotinamide, Caribbean tunicate Ecteinascidia turbinata, cytotoxic		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 2004/0108086 A1 (TAKAHASHI et al.) 10 June 2004 (10.06.2004), para [0005], [0027], [0030], [0035], [0036], [0041], [0042], [0044], [0046], [0068], [0108].	1-16
Y	US 2005/0020595 A1 (KALISH et al.) 27 January 2005, (27.01.2005), [0002], [0018], [0019], [0023], [0024], [0060], [0077], [0080], [0081], [0096], [0099], [0142].	1-16
Y	IZBICKA E. et al. In vitro antitumor activity of the novel marine agent, Ecteinascidin-743 (ET-743, NSC-648766) against human tumors explanted from patients. Annals of Oncology, Vol. 9, No. 9, pages 981-987, 1998, Abstract.	1-16
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search  14 July 2007 (14.07.2007)	Date of mailing of the international search report  24 SEP 2007	
Name and mailing address of the ISA/US  Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer:  Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774	

---

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
	A 6 1 P 43/00	1 0 5

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

(72)発明者 スコット キャスリーン エイ.

アメリカ国 ペンシルベニア 18977 ワシントンクロッシング ジェリコラン 31

(72)発明者 マンドラ マイケル

アメリカ国 ニュージャージー 08852 マンモスジャパンクション エルムコート 7493

F ターム(参考) 4C084 AA19 MA02 NA05 NA14 ZB21 ZB26 ZC75

4C086 AA01 AA02 BC19 BC46 CB09 MA02 MA04 NA05 NA14 ZB21  
ZB26 ZC75