

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7078538号

(P7078538)

(45)発行日 令和4年5月31日(2022.5.31)

(24)登録日 令和4年5月23日(2022.5.23)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 31/05 (2006.01)

A 6 1 K 31/05

A 6 1 K 31/137(2006.01)

A 6 1 K 31/137

A 6 1 K 31/138(2006.01)

A 6 1 K 31/138

A 6 1 K 31/40 (2006.01)

A 6 1 K 31/40

A 6 1 K 31/5685(2006.01)

A 6 1 K 31/5685

請求項の数 18 (全27頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2018-541599(P2018-541599)

(86)(22)出願日 平成28年10月27日(2016.10.27)

(65)公表番号 特表2018-536706(P2018-536706
A)

(43)公表日 平成30年12月13日(2018.12.13)

(86)国際出願番号 PCT/IL2016/051166

(87)国際公開番号 WO2017/072773

(87)国際公開日 平成29年5月4日(2017.5.4)

審査請求日 令和1年10月25日(2019.10.25)

(31)優先権主張番号 62/246,780

(32)優先日 平成27年10月27日(2015.10.27)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者 518149349

ジェイ ファーマ、インコーポレイティ
ッド
カナダ国、エム5エイチ 3イー5 オン
タリオ州、トロント、スウィート 2 0
0、ユニヴァーシティ アヴェニュー 2
5 0

(74)代理人 100080791

弁理士 高島 一

(74)代理人 100125070

弁理士 土井 京子

(74)代理人 100136629

弁理士 鎌田 光宜

(74)代理人 100121212

弁理士 田村 弥栄子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 がんの治療のためのカンナビジオール及び第二の治療剤を含む組成物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

カンナビジオール (CBD)と、少なくとも1つのコレステロールエポキシドヒドロラーゼ / 抗エストロゲン結合部位(ChEH/AEBS)阻害剤化合物との相乗的な組合せを含む、がんの治療をする方法における使用のための組成物であって、ChEH/AEBS阻害剤化合物が選択的エストロゲン受容体モジュレーター (SERM)ではなく、CBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比が50 : 1 ~ 1 : 50 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である、組成物であり、前記ChEH/AEBS阻害剤化合物がChEH/AEBSの選択的阻害剤であり、具体的には、前記ChEH/AEBSの選択的阻害剤がPBPE又はテスミリフェン (DPPE)から選択される、組成物。

【請求項 2】

カンナビジオール (CBD)と、少なくとも1つのコレステロールエポキシドヒドロラーゼ / 抗エストロゲン結合部位(ChEH/AEBS)阻害剤化合物との相乗的な組合せを含む、がんの治療をする方法における使用のための組成物であって、ChEH/AEBS阻害剤化合物が選択的エストロゲン受容体モジュレーター (SERM)ではなく、CBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比が50 : 1 ~ 1 : 50 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である、組成物であり、前記ChEH/AEBS阻害剤がコレステロール生合成阻害剤であり、具体的には、前記コレステロール生合成阻害剤がトリパラノール、テルピナフィン若しくはU-18666A、又はそれらの組合せから選択される、組成物。

【請求項 3】

カンナビジオール (CBD)と、少なくとも1つのコレステロールエポキシドヒドロラーゼ /

抗エストロゲン結合部位(ChEH/AEBS)阻害剤化合物との相乗的な組合せを含む、がんの治療をする方法における使用のための組成物であって、ChEH/AEBS阻害剤化合物が選択的エストロゲン受容体モジュレーター (SERM)ではなく、CBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比が50 : 1 ~ 1 : 50 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である、組成物であり、前記ChEH/AEBS阻害剤化合物がB環オキシステロールであり、具体的には、前記B環オキシステロールが6-ケトコレスタノール、7-ケトコレスタノール、7-ケトコレステロール及びコレスタン-3b,5a,6b-トリオール(CT)、又はそれらの組合せから選択される、組成物。

【請求項 4】

カンナビジオール (CBD)と、少なくとも1つのコレステロールエポキシドヒドロラーゼ / 抗エストロゲン結合部位(ChEH/AEBS)阻害剤化合物との相乗的な組合せを含む、がんの治療をする方法における使用のための組成物であって、ChEH/AEBS阻害剤化合物が選択的エストロゲン受容体モジュレーター (SERM)ではなく、CBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比が50 : 1 ~ 1 : 50 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である、組成物であり、前記ChEH/AEBS阻害剤化合物が不飽和脂肪酸であり、具体的には、前記不飽和脂肪酸がオレイン酸、アラキドン酸 (ARA)若しくはドコサヘキサエン酸 (DHA)、又はそれらの組合せから選択される、組成物。

【請求項 5】

医薬的に許容される担体を更に含む、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 6】

前記がんが、血液又は骨髄関連がん、胆管のがん、膀胱のがん、骨のがん、腸のがん (結腸のがん及び直腸のがんを含む)、脳のがん、膠芽細胞腫、胸のがん、神経内分泌系のがん (一般的にカルチノイドとして知られる)、子宮頸部のがん、目のがん、食道のがん、頭部及び頸部のがん (このグループとしては、口、鼻、喉、耳、又は舌を覆う表層、の裏地を形成する細胞において始まる上皮性悪性腫瘍が挙げられる)、カポジ肉腫、腎臓のがん、喉頭のがん、白血病、急性白血病、慢性リンパ性白血病、肝臓のがん、肺のがん、リンパ節のがん、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、黒色腫、中皮腫、骨髄腫、卵巣のがん、膵臓のがん、陰茎のがん、前立腺のがん、皮膚がん、軟部組織肉腫、脊髄のがん、胃のがん、精巣がん、甲状腺のがん、膣のがん、外陰部のがん及び子宮のがんである、がんの治療をする方法における使用のための、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 7】

エストロゲン受容体陰性がんの治療をする方法における使用のための、カンナビジオール (CBD)と、少なくとも1つのChEH/AEBS阻害剤化合物との相乗的な組合せを含む、組成物であって、具体的には、前記ChEH/AEBS阻害剤化合物がChEH/AEBSの選択的阻害剤であり、より具体的には、前記ChEH/AEBSの選択的阻害剤がPBPE又はテスミリフェン (DPPE)から選択される、組成物であり、且つCBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比が50 : 1 ~ 1 : 50 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である、組成物。

【請求項 8】

エストロゲン受容体陰性がんの治療をする方法における使用のための、カンナビジオール (CBD)と、少なくとも1つのChEH/AEBS阻害剤化合物との相乗的な組合せを含む、組成物であって、前記ChEH/AEBS阻害剤がコレステロール生合成阻害剤であり、具体的には、前記コレステロール生合成阻害剤がトリパラノール、テルピナフィン若しくはU-18666A、又はそれらの組合せから選択される、組成物であり、且つCBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比が50 : 1 ~ 1 : 50 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である、組成物。

【請求項 9】

エストロゲン受容体陰性がんの治療をする方法における使用のための、カンナビジオール (CBD)と、少なくとも1つのChEH/AEBS阻害剤化合物との相乗的な組合せを含む、組成物であって、前記ChEH/AEBS阻害剤化合物がB環オキシステロールであり、具体的には、前記B環オキシステロールが6-ケトコレスタノール、7-ケトコレスタノール、7-ケトコレステロール及びコレスタン-3b,5a,6b-トリオール(CT)、又はそれらの組合せから選択される、組成物であり、且つCBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比が50 : 1 ~ 1 : 50 (CBD : ChEH

10

20

30

40

50

/AEBS阻害剤)である、組成物。

【請求項 10】

エストロゲン受容体陰性がんの治療をする方法における使用のための、カンナビジオール (CBD)と、少なくとも1つのChEH/AEBS阻害剤化合物との相乗的な組合せを含む、組成物であって、前記ChEH/AEBS阻害剤化合物が不飽和脂肪酸であり、具体的には、前記不飽和脂肪酸がオレイン酸、アラキドン酸 (ARA)若しくはドコサヘキサエン酸 (DHA)、又はそれらの組合せから選択される、組成物であり、且つCBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比が50 : 1 ~ 1 : 50 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である、組成物。

【請求項 11】

医薬的に許容される担体を更に含む、エストロゲン受容体陰性がんの治療をする方法における使用のための、請求項 7 ~ 10 のいずれか一項に記載の組成物。

10

【請求項 12】

エストロゲン受容体陰性がんの治療をする方法における使用のための、カンナビジオール (CBD)と、少なくとも1つのChEH/AEBS阻害剤化合物との相乗的な組合せを含む、組成物であって、前記ChEH/AEBS阻害剤化合物が、カチオン性アミノエトキシ側鎖を含む選択的エストロゲン受容体モジュレーター (SERM)であり、具体的には、前記SERMがクロミフェン、タモキシフェン、4-ヒドロキシ-タモキシフェン、ラロキシフェン、又はそれらの組合せから選択される、組成物であり、且つCBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比が50 : 1 ~ 1 : 50 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である、組成物。

【請求項 13】

前記がんが、胆管のがん、膀胱のがん、骨のがん、腸のがん、脳のがん、胸のがん、神経内分泌系のがん、子宮頸部のがん、目のがん、食道のがん、頭部及び頸部のがん、カポジ肉腫、腎臓のがん、喉頭のがん、白血病：急性白血病、慢性リンパ性白血病、肝臓のがん、肺のがん、リンパ節のがん、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、黒色腫、中皮腫、骨髄腫、卵巣のがん、膵臓のがん、陰茎のがん、前立腺のがん、皮膚がん、軟部組織肉腫、脊髄のがん、胃のがん、精巣がん、甲状腺のがん、膣のがん、外陰部のがん及び子宮のがんである、エストロゲン受容体陰性がんの治療をする方法における使用のための、請求項 7 ~ 12 のいずれか一項に記載の組成物。

20

【請求項 14】

CBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比が、30 : 1 ~ 1 : 30 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)、又は10 : 1 ~ 1 : 10 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)、又は5 : 1 ~ 1 : 5 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)、又は2 : 1 ~ 1 : 2 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の組成物。

30

【請求項 15】

CBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比が1 : 1 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 16】

対象に投与される組成物中のCBD量が、500mg/kg (体重) /日 ~ 2000mg/kg (体重) /日である、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 17】

対象に投与される組成物中のCBD量が、0.1mg/kg (体重) /日 ~ 50mg/kg (体重) /日である、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項に記載の組成物。

40

【請求項 18】

対象に投与される組成物中のChEH/AEBS阻害剤の量が、500mg/kg (体重) /日 ~ 2000mg/kg (体重) /日である、請求項 1 ~ 17 のいずれか一項に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、がんの治療において効果的である、カンナビジオールと、第二の治療剤との組

50

合せに関する。第二の治療剤としては、1以上のChEH/AEBS阻害剤、ナフトキノン若しくはその誘導体、又はそれらの組合せが挙げられる。

【背景技術】

【0002】

発明の背景

大麻の主要な非精神活性成分である、カンナビジオール (CBD)は、腫瘍細胞に対する、そのin vitro及びin vivo活性に基づいて抗新生物剤と考えられる。向精神薬活性が無いために、その薬理学及び治療上の可能性が集中的に研究されている。最近の研究によって、CBDは免疫抑制性、抗炎症性、抗けいれん性、抗不安性、抗精神病性、神経保護性及び抗悪心性の効果を含む、様々な興味深い薬理作用を有することが、実証されている。その治療における可能性は、多発性硬化症に関連する神経障害性疼痛を緩和するための、およそ等量の 9-テトラヒドロカンナビノール (THC)及びCBDを含む、カンナビノイドベースの医薬の、カナダにおける最近の承認によって更に立証されている。

10

【0003】

がんは、身体多くの領域を侵すことが知られていて、以下：胆管のがん、膀胱のがん、骨のがん、腸のがん（結腸のがん及び直腸のがんを含む）、脳のがん、胸のがん、神経内分泌系のがん（一般的にカルチノイドとして知られる）、子宮頸部のがん、目のがん、食道のがん、頭部及び頸部のがん（このグループとしては、口、鼻、喉、耳、又は舌を覆う表層、の裏地を形成する細胞において始まる上皮性悪性腫瘍が挙げられる）、カポジ肉腫、腎臓のがん、喉頭のがん、白血病、肝臓のがん、肺のがん、リンパ節のがん、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、黒色腫、中皮腫、骨髄腫、卵巣のがん、膵臓のがん、陰茎のがん、前立腺のがん、皮膚がん、軟部組織肉腫、脊髄のがん、胃のがん、精巣がん、甲状腺のがん、膣のがん、外陰部のがん及び子宮のがんが、最も一般的な種類のがんとして挙げられる。

20

【0004】

従来のがん治療の選択肢は、毒性又は獲得された耐性によって、しばしば制限され、新規の剤が必要である。カンナビジオール (CBD)は、多くのがんの種類に対する活性が報告されている、強力な、天然の化合物である。CBDは、特定のGタンパク質共役受容体に結合する薬理学的に活性な一群の化合物である、カンナビノイドファミリーに属する。フィトカンナビノイドは、大麻 (Cannabis sativa) に由来する、植物由来の産物である；内在的なカンナビノイドは、動物及びヒト組織において作られる；及び合成カンナビノイドは、実験室で産生される。Gタンパク質共役受容体CB1は、主に脳及び神経系においてみられるが、CB2は主に免疫細胞において発現する。最近のデータは、幾つかのカンナビノイドもまたパニロイド受容体を介してシグナルを誘発するが、他のものは、受容体に依存しない様式で機能し得ることを示唆する。カンナビノイドは、がんの増殖及び転移の中心となるシグナル伝達経路を調節し得る。それらは、細胞周期の進行と走化性を阻害し、血管新生をブロックする。最近の研究は、カンナビノイドもまたオートファジー性細胞死を誘発することを示している。9-テトラヒドロカンナビノール (THC)は、最も特徴が調べられたカンナビノイドの一つである；しかし、その治療用途は精神活性効果によって制限される。

30

40

【0005】

選択的エストロゲン受容体モジュレーター (SERM)を用いた、CBD組合せ治療の有用性について幾つかの報告がなされているが、この治療法の本当の有用性に関しては、限られた情報しかない。

【0006】

これまでに利用可能となっている剤や治療法よりも、効果的で、他のがんの種類に対して有効である、新しいがん治療法についてのニーズが依然としてある。

【発明の概要】

【0007】

一実施形態においては、本発明は、がんの治療に有効である、カンナビジオール (CBD)及

50

び第二の治療剤を含む組成物を提供する。一態様においては、第二の治療剤はナフトキノン又はその誘導体である。別の態様においては、第二の治療剤はChEH/AEBS阻害剤化合物である。幾つかの実施形態においては、第二の治療剤は1以上のナフトキノン及び/若しくはその誘導体、1以上のChEH/AEBS阻害剤化合物、又はそれらの任意の組合せである。組成物は、がんの治療における使用が想定され、幾つかの実施形態においては、エストロゲン受容体陰性がんの治療が想定され、幾つかの実施形態においては、エストロゲン受容体陽性がん、が想定される。

【0008】

一実施形態においては、本発明は、カンナビジオールと、少なくとも1つの、ChEH/AEBS阻害剤のクラスの1部である第二の治療剤との組合せを含む組成物、並びにがんの治療におけるそれらの使用、を提供する。

10

【0009】

ChEH/AEBS阻害剤は、様々な薬理的クラスの天然又は合成化合物を含む。コレステロールエポキシドヒドロラーゼ (ChEH)は、コレステロール-5,6-エポキシド (5,6-EC)の水和を触媒し、コレスタン-3、5、6-トリオールにする。ChEHは、3b-ヒドロキシステロール (3bhydroxysterol) -D8-D7-イソメラーゼ (D8D7I) 及び3b-ヒドロキシステロール-D7-レダクターゼ (DHCR7)を含む、ミクロソーム抗エストロゲン結合部位 (AEBS)と呼ばれる、ヘテロオリゴマー複合体である。D8D7I及びDHCR7は、コレステロール生合成、並びに腫瘍細胞の増殖分化、死、及びがんの進行を制御する。

【0010】

20

ChEH/AEBS阻害剤は、とりわけ、テスミリフェン (DPPE、N,N0-ジエチルアミノ-4-(フェニルメチルフェノキシ)-エタンアミン、HCl)3 PBPE、PCPE、MBPE、MCPE、PCOPE、MCOPE、MCOCH2PE; 例えばSR31747A、BD10008、ハロペリドール、SR-31747A、イボガイン、AC-915、リムカゾール、トリフルオロペラジン、アミオダロン等のシグマ受容体リガンド; 例えばトリパラノール、テルピナフィン、U-18666A、Ro 48-8071、AY9944、SKF-525A等のコレステロール生合成阻害剤; 例えばオレイン酸、 α -リノレン酸、アラキドン酸 (acidarachidonic acid) (ARA)、ドコサヘキサエン酸 (DHA)等の不飽和脂肪酸; 例えば6-ケトコレスタノール、7-ケトコレスタノール、7-ケトコレステロール、7 α -ヒドロキシコレステロール、7 β -ヒドロキシコレステロール、6-ケト-5 α -ヒドロキシコレスタノール、コレスタン-3、5、6-トリオール(CT)等のB環オキシステロール、並びに当業者によって理解される他の物 (例えば、Silvente-Poirot S, Poirot M. Cholesterol epoxide hydrolase and cancer. Current opinion in pharmacology. 2012;12(6):696-703; de Medina P, Paillasse MR, Segala G, Poirot M, Silvente-Poirot S. Identification and pharmacological characterization of cholesterol-5,6-epoxide hydrolase as a target for tamoxifen and AEBS ligands. Proc Natl Acad Sci U S A 2010, 107:13520-13525 (これらは全て、明細書において参照することにより、それらの全体が本明細書に取り込まれる)を参照)を含む、多くの化合物を含む。

30

【0011】

別の実施形態においては、第二の治療剤はナフトキノン又はその誘導体である。

【0012】

40

本発明の組合せ治療/組成物は、エストロゲン受容体に依存しない機構を介して活性があり、幾つかの実施形態においては、本発明は、具体的に、エストロゲン受容体陰性がん/腫瘍の治療における使用のための組成物を期待する。

【0013】

この態様に従って、幾つかの実施形態においては、記載された組合せ治療における使用のためのChEH/AEBS阻害剤は、例えばクロミフェン、タモキシフェン、4-ヒドロキシ-タモキシフェン、ラロキシフェン、ニトロミフェン、Ru 39,411等のカチオン性アミノエトキシ側鎖を含むが、特に、例えばフェソロデックス (Faslodex)、ICI-164,384及びRU-58等の非カチオン性抗エストロゲンが除かれる、選択的エストロゲン受容体モジュレーター (SERM)を含み得る。

50

【 0 0 1 4 】

本発明の組成物は、本明細書に提示されるように、複数のクラスのChEH/AEBS阻害剤を使用する場合に抗がん活性を有することが、実施例において示された（実施例1）。

【 0 0 1 5 】

本発明の組成物は、本明細書に提示されるように、例えば抗白血病活性と同様に、抗がん活性を有することが実施例において示され、それらは、クロミフェンとCBDとを用いた組合せ治療がエストロゲン受容体を含まないCCRF-CEM株を阻害するので、明らかにエストロゲン受容体に依存しない機構を介して媒介される。

【 0 0 1 6 】

この態様に従って、エストロゲン受容体フリーのがん／腫瘍に関して、一実施形態においては、ChEH/AEBS阻害剤はトリフェニルエチレン（TPE）又はその誘導体である。別の実施形態においては、トリフェニルエチレン誘導体は、以下：抗エストロゲン（AE）、クロミフェン（CL）、及びタモキシフェン（Tam）、又はそれらの組合せを含む群から選択される。

【 0 0 1 7 】

本発明は、カンナビジオール（CBD）と、少なくとも1つのChEH/AEBS阻害剤化合物との相乗的な組合せを含む組成物であって、ChEH/AEBS阻害剤化合物がSERMではない、組成物を提供する。幾つかの実施形態においては、ChEH/AEBS阻害剤化合物は、ChEH/AEBSの選択的阻害剤であり、幾つかの実施形態においては、ChEH/AEBSの選択的阻害剤はPBPE又はテスミリフェン（DPPE）である。

【 0 0 1 8 】

幾つかの実施形態においては、阻害剤はコレステロール生合成阻害剤であり、幾つかの実施形態においては、それはトリパラノール、テルピナフィン若しくはU-18666A、又はそれらの組合せである。

【 0 0 1 9 】

幾つかの実施形態においては、阻害剤化合物はB環オキシステロールであり、幾つかの実施形態においては、それは6-ケトコレスタノール、7-ケトコレスタノール、7-ケトコレステロール及びコレスタン-3b,5a,6b-トリオール（CT）、又はそれらの組合せである。

【 0 0 2 0 】

幾つかの実施形態においては、阻害剤化合物は不飽和脂肪酸であり、幾つかの実施形態においては、それはオレイン酸、アラキドン酸（ARA）若しくはドコサヘキサエン酸（DHA）、又はそれらの組合せである。

【 0 0 2 1 】

幾つかの実施形態においては、阻害剤化合物（the the inhibitor compound）はナフトキノン又はその誘導体である。幾つかの実施形態においては、化合物はメナジオン又はその誘導体である。

【 0 0 2 2 】

本発明は、エストロゲン受容体陰性がんの治療における使用のための、カンナビジオール（CBD）と、少なくとも1つのChEH/AEBS阻害剤化合物との相乗的な組合せを含む、組成物を提供する。

【 0 0 2 3 】

この態様に従って、幾つかの実施形態においては、ChEH/AEBS阻害剤化合物は、カチオン性アミノエトキシ側鎖を含む選択的エストロゲン受容体モジュレーター（SERM）である。幾つかの実施形態においては、SERMはクロミフェン、タモキシフェン、4-ヒドロキシタモキシフェン、ラロキシフェン、又はそれらの組合せである。幾つかの実施形態においては、SERMは、トリフェニルエチレン（TPE）若しくはカチオン性アミノエトキシ側鎖を含むその誘導体、又はそれらの組合せである。

【 0 0 2 4 】

別の実施形態においては、本発明の組成物は、医薬的に許容される担体を更に含む。

【 0 0 2 5 】

幾つかの実施形態においては、本発明は、がんの治療をする方法であって、それを必要と

10

20

30

40

50

する対象に、治療有効量の本明細書に記載された組成物を投与することを含む、方法を提供する。幾つかの実施形態においては、SERM活性を有するChEH/AEBS阻害剤の使用は特に除かれる。

【0026】

幾つかの実施形態においては、本発明は、がんの治療における使用のための医薬の製造における、治療有効量の本明細書に記載された組成物の使用を提供する。

【0027】

幾つかの実施形態においては、本発明は、がんの治療をする方法であって、それを必要とする対象に、治療有効量の、カンナビジオール (CBD) と、ChEH/AEBS阻害剤との相乗的な組合せを投与することを含み、ChEH/AEBS阻害剤化合物がSERMではない、方法を提供する。

10

【0028】

幾つかの実施形態においては、本発明は、がんの治療をする方法であって、それを必要とする対象に、治療有効量の、カンナビジオール (CBD) と、少なくとも1つのナフトキノン若しくはその誘導体、又はそれらの組合せとの相乗的な組合せを投与することを含む、方法を提供する。

【0029】

幾つかの実施形態においては、この態様に従って、がんが、胆管のがん、膀胱のがん、骨のがん、腸のがん (結腸のがん及び直腸のがんを含む)、脳のがん、胸のがん、神経内分泌系のがん (一般的にカルチノイドとして知られる)、子宮頸部のがん、目のがん、食道のがん、頭部及び頸部のがん (このグループとしては、口、鼻、喉、耳、又は舌を覆う表層、の裏地を形成する細胞において始まる上皮性悪性腫瘍が挙げられる)、カボジ肉腫、腎臓のがん、喉頭のがん、白血病：急性白血病、慢性リンパ性白血病、肝臓のがん、肺のがん、リンパ節のがん、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、黒色腫、中皮腫、骨髄腫、卵巣のがん、脾臓のがん、陰茎のがん、前立腺のがん、皮膚がん、軟部組織肉腫、脊髄のがん、胃のがん、精巣がん、甲状腺のがん、膣のがん、外陰部のがん及び子宮のがんである。

20

【0030】

幾つかの実施形態においては、本発明は、血液又は骨髄関連がんを患っている対象の治療を、それを必要とする対象においてする方法であって、治療有効量の、カンナビジオール (CBD) と、ChEH/AEBS阻害剤との相乗的な組合せを、前記対象に投与することを含み、ChEH/AEBS阻害剤化合物がSERMではない、方法を提供する。

30

【0031】

幾つかの実施形態においては、本発明は、血液又は骨髄関連がんを患っている対象の治療を、それを必要とする対象においてする方法であって、治療有効量のカンナビジオール (CBD) と、ナフトキノン又はその誘導体との相乗的な組合せを、前記対象に投与することを含む、方法を提供する。

【0032】

幾つかの実施形態においては、本発明は、血液又は骨髄関連がんを患っている対象の治療を、それを必要とする対象においてする方法であって、治療有効量の本明細書に記載された組成物を前記対象に投与することを含む、方法を提供する。幾つかの実施形態においては、組成物はCBDとChEH/AEBS阻害剤とを含み、幾つかの実施形態においては、組成物はCBDと、ナフトキノン又はその誘導体とを含み、幾つかの実施形態においては、組成物はCBDと、ChEH/AEBS阻害剤及び/又はナフトキノン若しくはその誘導体との組合せを含む。幾つかの実施形態においては、SERM活性を有するChEH/AEBS阻害剤の使用は特に除かれる。

40

【0033】

幾つかの実施形態においては、本発明は、膠芽細胞腫を患っている対象の治療を、それを必要とする対象においてする方法であって、治療有効量のカンナビジオール (CBD) とChEH/AEBS阻害剤との相乗的な組合せを、前記対象に投与することを含む、方法を提供する。幾つかの実施形態においては、膠芽細胞腫はエストロゲン受容体陰性である。幾つかの

50

実施形態においては(In some embodiments)、膠芽細胞腫はエストロゲン受容体陽性であり、ChEH/AEBS阻害剤化合物はSERMではない。

【0034】

幾つかの実施形態においては、本発明は、膠芽細胞腫を患っている対象の治療を、それを必要とする対象においてする方法であって、治療有効量のカンナビジオール(CBD)と、ナフトキノン又はその誘導体との相乗的な組合せを、前記対象に投与することを含む、方法を提供する。

【0035】

幾つかの実施形態においては、本発明は、膠芽細胞腫を患っている対象の治療を、それを必要とする対象においてする方法であって、治療有効量の本明細書に記載された組成物を、前記対象に投与することを含む、方法を提供する。幾つかの実施形態においては、SERM活性を有するChEH/AEBS阻害剤の使用は特に除かれる。

10

【0036】

幾つかの実施形態においては、本発明は、乳がんを患っている対象の治療を、それを必要とする対象においてする方法であって、治療有効量のカンナビジオール(CBD)とChEH/AEBS阻害剤との相乗的な組合せを、前記対象に投与することを含む、方法を提供する。幾つかの実施形態においては、乳がんはエストロゲン受容体陰性である。幾つかの実施形態においては、乳がんはエストロゲン受容体陽性であり、ChEH/AEBS阻害剤化合物はSERMではない。

20

【0037】

幾つかの実施形態においては、本発明は、乳がんを患っている対象の治療を、それを必要とする対象においてする方法であって、治療有効量のカンナビジオール(CBD)と、ナフトキノン又はその誘導体との相乗的な組合せを、前記対象に投与することを含む、方法を提供する。

【0038】

幾つかの実施形態においては、本発明は、乳がんを患っている対象の治療を、それを必要とする対象においてする方法であって、治療有効量の本明細書に記載された組成物を、前記対象に投与することを含む、方法を提供する。幾つかの実施形態においては、組成物はCBDとChEH/AEBS阻害剤とを含み、幾つかの実施形態においては、組成物はCBDと、ナフトキノン又はその誘導体とを含み、幾つかの実施形態においては、組成物はCBDと、ChEH/AEBS阻害剤及び/又はナフトキノン若しくはその誘導体との組合せを含む。幾つかの実施形態においては、SERM活性を有するChEH/AEBS阻害剤の使用は特に除かれる。

30

【図面の簡単な説明】

【0039】

【図1】図1は、HL-60細胞株の増殖の阻害に対するカンナビジオールとDPPEとの相乗効果をグラフで示す。

【図2】図2は、CCRF-CEM細胞株の増殖の阻害に対するカンナビジオールとDPPEとの相乗効果をグラフで示す。

【図3】図3は、HL-60細胞株の増殖の阻害に対するカンナビジオールと7-ケトコレステロールとの相乗効果をグラフで示す。

40

【図4】図4は、CCRF-CEM細胞株の増殖の阻害に対するカンナビジオールと7-ケトコレステロールとの相乗効果をグラフで示す。

【図5】図5は、HI-60細胞株の増殖の阻害に対するカンナビジオールとトリパラノールとの相乗効果をグラフで示す。

【図6】図6は、CCRF-CEM細胞株の増殖の阻害に対するカンナビジオールとトリパラノールとの相乗効果をグラフで示す。

【図7】図7は、HI-60細胞株の増殖の阻害に対するカンナビジオールとICI 182,780との相乗効果の欠如をグラフで示す。

【図8】図8は、CCRF-CEM細胞株の増殖の阻害に対するカンナビジオールとICI 182,780との相乗効果の欠如をグラフで示す。

50

【図 9 - 1】図9Aは、5%FCS血清及び血清フリー培地中において、様々な濃度のカンナビジオール及びビヒクルを用いて、24時間、10%FCS培地を用いて24及び48時間、インキュベートしたHL-60細胞株の生存率に対するカンナビジオールの影響をグラフで示す。図9Bは、血清フリー及び5%血清含有培地中において、様々な濃度のカンナビジオール及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたCCRF-CEM細胞の生存率に対するカンナビジオールの影響をグラフで示す。

【図 9 - 2】図9Cは、5%血清含有培地中において、様々な濃度のカンナビジオール及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたMCF-7細胞の生存率に対するカンナビジオールの影響をグラフで示す。細胞生存率をXTTアッセイによって決定した。図9Dは、5%血清含有培地中において、様々な濃度のカンナビジオール及びビヒクルを用いて、48時間インキュベートしたA-172細胞の生存率に対するカンナビジオールの影響をグラフで示す。細胞生存率をXTTアッセイによって決定した。

【図 1 0】図10Aは、5%血清含有培地中において、様々な濃度のクロミフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたHL-60細胞の生存率に対するクロミフェンの影響をグラフで示す。細胞生存率をXTTアッセイによって決定した。図10Bは、5%血清含有培地中において、様々な濃度のクロミフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたCCRF細胞の生存率に対するクロミフェンの影響をグラフで示す。細胞生存率をXTTアッセイによって決定した。図10Cは、5%血清含有培地中において、様々な濃度のクロミフェン及びビヒクルを用いて、48時間インキュベートしたA-172細胞の生存率に対するクロミフェンの影響をグラフで示す。細胞生存率をXTTアッセイによって決定した。

【図 1 1】図11Aは、5%血清含有培地中において、様々な濃度のタモキシフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたHL-60細胞の生存率に対するタモキシフェンの影響をグラフで示す。図11Bは、5%血清含有培地中において、様々な濃度のタモキシフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたCCRF細胞の生存率に対するタモキシフェンの影響をグラフで示す。図11Cは、5%血清含有培地中において、様々な濃度のタモキシフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたMCF-7細胞の生存率に対するタモキシフェンの影響をグラフで示す。細胞生存率をXTTアッセイによって決定した。

【図 1 2 - 1】図12Aは、5%FCS培地中において、様々な濃度のカンナビジオール、クロミフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたHL-60細胞の増殖阻害に対する、カンナビジオールと、クロミフェン、タモキシフェン及びメナジオン (Mena)との相乗効果をグラフで示す。図12Bは、5%FCS培地中において、様々な濃度のカンナビジオール、タモキシフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたHL-60細胞の増殖阻害に対する、カンナビジオールと、クロミフェン、タモキシフェン及びメナジオン (Mena)との相乗効果をグラフで示す (Fig.12B graphically depicts the synergistic effect of cannabidiol with clomiphene, tamoxifen and menadione (Mena) on growth inhibition of HL-60 cells incubated with different concentrations of cannabidiol, tamoxifen and vehicle in 5%FCS medium for 24h of HL-60 cells incubated with different concentrations of cannabidiol, tamoxifen and vehicle in 5%FCS medium for 24h.)。

【図 1 2 - 2】図12Cは、5%FCS培地中において、様々な濃度のカンナビジオール、メナジオン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたCCRF細胞の増殖阻害に対する、カンナビジオールと、クロミフェン、タモキシフェン及びメナジオン (Mena)との相乗効果をグラフで示す。細胞生存率をXTTアッセイによって決定した。

【図 1 3】図13は、5%及び10%FCS培地中において、様々な濃度のカンナビジオール、ドキソルビシン(Dox)及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたHL-60細胞の増殖阻害に対する、カンナビジオールとドキソルビシンとの相加効果をグラフで示す。細胞生存率をXTTアッセイによって決定した。

【図 1 4】図14Aは、5%FCS培地中において、様々な濃度のカンナビジオール、クロミフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたCCRF-CEM細胞の増殖阻害に対す

10

20

30

40

50

る、カンナビジオールと、クロミフェン及びタモキシフェンとの相乗効果をグラフで示す。細胞生存率をXTTアッセイによって決定した。図14Bは、5%FCS培地中において、様々な濃度のカンナビジオール、タモキシフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたCCRF-CEM細胞の増殖阻害に対する、カンナビジオールと、クロミフェン及びタモキシフェンとの相乗効果をグラフで示す。

【図15】図15Aは、5%FCS培地中において、様々な濃度のカンナビジオール、タモキシフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたMCF-7細胞の増殖阻害に対する、カンナビジオールとタモキシフェンとの相乗効果をグラフで示す。細胞生存率をXTTアッセイによって決定した。図15Bは、5%FCS培地中において、10nMエストラジオールで30分間前処理し、次いで、様々な濃度のカンナビジオール、タモキシフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたMCF-7細胞の増殖阻害に対する、カンナビジオールとタモキシフェンとの相乗効果をグラフで示す。細胞生存率をXTTアッセイによって決定した。

10

【図16】図16は、MCF-7細胞株の増殖の阻害に対する、カンナビジオールとタモキシフェンとの相乗効果をグラフで示す。A-172細胞を、5%FCS培地中において、様々な濃度のカンナビジオール、クロミフェン及びビヒクルを用いて、48時間インキュベートした。細胞生存率をXTTアッセイによって決定した。

【図17-1】図17Aは、カンナビジオール、クロミフェン及び(cloimipheneand)メナジオンによる、HL-60細胞におけるアポトーシスの誘導をグラフで示す。5%FCS培地中において、カンナビジオール及び(cannabidioland)ビヒクルを用いて、24時間及び48時間インキュベートしたHL-60細胞における、アポトーシスの誘導に対するカンナビジオール、クロミフェン及びメナジオン(menadioneon)の用量応答効果について示す。図17Bは、カンナビジオール、クロミフェン及び(cloimipheneand)メナジオンによる、HL-60細胞におけるアポトーシスの誘導をグラフで示す。5%FCS培地中において、カンナビジオール、クロミフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたHL-60細胞における、アポトーシスの誘導に対するカンナビジオール、クロミフェン及びメナジオン(menadioneon)の用量応答効果について示す。

20

【図17-2】図17Cは、カンナビジオール、クロミフェン及びメナジオンによる、HL-60細胞におけるアポトーシスの誘導をグラフで示す。5%FCS培地中において、カンナビジオール、メナジオン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたHL-60細胞における、アポトーシスの誘導に対するカンナビジオール、クロミフェン及びメナジオン(menadioneon)の用量応答効果について示す。

30

【図18】図18Aは、血清フリー及び5%FCS培地中において、カンナビジオール及びビヒクル(vehiclein)を用いて、24時間インキュベートしたCCRF-CEM細胞における、カンナビジオール、クロミフェン及びタモキシフェンによる、CCRF-CEM細胞におけるアポトーシスの誘導をグラフで示す。図18Bは、5%FCS培地中において、カンナビジオール、クロミフェン及びビヒクル(vehiclein)を用いて、24時間インキュベートしたCCRF-CEM細胞における、カンナビジオール、クロミフェン及びタモキシフェンによる、CCRF-CEM細胞におけるアポトーシスの誘導をグラフで示す。図18Cは、5%FCS培地中において、カンナビジオール、タモキシフェン及びビヒクルを用いて、24時間インキュベートしたCCRF-CEM細胞(cells w)における、カンナビジオール、クロミフェン及びタモキシフェンによる、CCRF-CEM細胞におけるアポトーシスの誘導をグラフで示す。

40

【図19】図19は、正常なHL-60細胞の形態学的な特徴を示す顕微鏡写真であり、アポトーシス細胞は蛍光顕微鏡によって視覚化した。CBDで24時間処理した細胞における、当初の倍率は×400。

【図20】図20は、20µMカンナビジオールを用いて、表示した時点の処理したCCRF-CEM細胞における、Mcl-1の下流制御に対する、カンナビジオール及びクロミフェンの影響について示す。細胞を回収し、PBSで2回洗浄し、次いでRIPAバッファーを用いて細胞溶解物を調製した。タンパク質をSDS-PAGEに供し、Mcl-1及びカルレティキュリン(CRN)に対する抗体を用いてイムノブロットした。

50

【図 2 1 - 1】図 21A は、HL-60 細胞を移植したマウス異種移植モデルにおける、腫瘍体積に対するカンナビジオール、クロミフェン、及びカンナビジオール + クロミフェンの影響をグラフで示す。キャリパーにより、腫瘍体積を週に 1 度測定した (n=6) (* : P 0.05 ; ** : P 0.01)。

【図 2 1 - 2】図 21B は、HL-60 細胞を移植したマウス異種移植モデルにおける、腫瘍体積に対するカンナビジオール、クロミフェン、及びカンナビジオール + クロミフェンの影響について図示する。腫瘍を回収し、各群における腫瘍の代表的な画像を示す。

【図 2 2】図 22A は、クロミフェン (and clomiphene) あり及びなしで、24 時間インキュベートした AML 初代細胞に対する、カンナビジオール及びクロミフェンの影響をグラフで示す。細胞生存率を XTT 還元によって測定した。図 22B は、カンナビジオール (and cannabidiol) あり及びなしで、24 時間インキュベートした CLL 初代細胞に対する、カンナビジオール及びクロミフェンの影響をグラフで示す。細胞生存率を XTT 還元によって測定した。

10

【発明を実施するための形態】

【 0 0 4 0 】

発明の詳細な説明

一実施形態においては、本発明は、例えば、血液のがん、骨髄関連のがん、乳がん及び膠芽細胞腫等であるが、それに限定されない悪性腫瘍の治療において効果がある、カンナビジオール (CBD) と少なくとも 1 つの ChEH/AEBS 阻害剤とを含む組成物である。

【 0 0 4 1 】

20

本発明は、例えば、血液のがん、骨髄関連のがん、乳がん及び膠芽細胞腫等であるが、それに限定されない悪性腫瘍の治療において効果がある、カンナビジオール (CBD) と、少なくとも 1 つのナフトキノンは又はその誘導体とを含む組成物を提供する。

【 0 0 4 2 】

本明細書で使用される場合、用語「カンナビジオール」(CBD) は、植物 (plant) のカンナビス (Cannabis) 属の種から製造されるフィトカンナビノイドを指す。幾つかの実施形態においては、本発明で使用される CBD は精製された形態である。他の実施形態においては、CBD は植物抽出物の構成成分である。幾つかの実施形態においては、植物抽出物は少なくとも 10% ~ 95% の CBD を含む。幾つかの実施形態においては、植物抽出物は少なくとも 20% ~ 80% の CBD を含む。幾つかの実施形態においては、植物抽出物は少なくとも 30% ~ 70% の CBD を含む。幾つかの実施形態においては、植物抽出物は少なくとも 40% ~ 60% の CBD を含む。

30

【 0 0 4 3 】

別の実施形態においては、CBD は植物性製剤原料 (botanical drug substance) (BDS) である。「植物性製剤原料」又は「BDS」は、「1 以上の植物、藻類、又は微視的真菌に由来する薬物。1 以上の以下の工程：粉碎、煎出、圧搾、水性抽出、エタノール抽出又は他の同様の工程、により植物原材料から調製される。」という、産業用植物医薬品ガイドライン案のためのガイダンス (Guidance for Industry Botanical Drug Products Draft Guidance) (2000 年 8 月、米国保健福祉省、医薬品評価研究のための食品医薬品局) において定義される。植物性製剤原料は、高度に精製又は化学的に修飾された、天然材料に由来する物質を含まない。

40

【 0 0 4 4 】

別の実施形態においては、合成 CBD が使用され、該用語は、化合物、代謝産物又はそれらの誘導体、及び CBD の医薬的に許容される塩を含むことを意図する。

【 0 0 4 5 】

別の実施形態においては、本発明の組成物は、所望の活性を維持する、完全脱カルボキシル化 CBD の化学的に修飾された誘導体を含むか、又はより好ましくは、医薬化学の標準的な原則に従って製造される、改善された活性を示す天然の誘導体を含む。幾つかの実施形態においては、完全脱カルボキシル化 CBD 誘導体は、それらが治療効果のために十分な活性を維持しているか、又は例えば改善された溶解性、促進された取り込み又は低減した毒

50

性等、医薬的な活性剤における望ましい特性における改善を示す限り、出発材料より低い程度の活性を示す場合がある。

【 0 0 4 6 】

別の実施形態においては、本発明の組成物はナフトキノン又はその誘導体を含む。ナフトキノンはナフタレンに由来する有機化合物の1クラスである。ナフトキノンの限定されない例は：1,2-ナフトキノン、1,4-ナフトキノン、メナジオン、2,6-ナフトキノン、ヘキサヒドロキシ-1,4-ナフタレンジオン、5-ヒドロキシ-1,4-ナフタレンジオン、2-メトキシ-1,4-ナフトキノン、ペンタヒドロキシ-1,4-ナフタレンジオン及び2,3,5,7-テトラヒドロキシ-1,4-ナフタレンジオンである。

【 0 0 4 7 】

本明細書で使用される場合、用語「ChEH/AEBS阻害剤」は、本明細書に記載され、且つ同一物と特定される、当該分野において公知である化合物を指す。

【 0 0 4 8 】

幾つかの態様においては、ChEH/AEBS阻害剤は、様々な薬理学的クラスの天然又は合成化合物を含む。コレステロールエポキシドヒドロラーゼ (ChEH)は、コレステロール-5,6-エポキシド(5,6-EC)の水和を触媒し、コレスタン-3, 5, 6 -トリオールにする。ChEHは、3b-ヒドロキシステロール-D8-D7-イソメラーゼ (D8D7I) 及び3b-ヒドロキシステロール-D7-レダクターゼ (DHCR7) を含む、ミクロソーム抗エストロゲン結合部位 (AEBS)と呼ばれる、ヘテロオリゴマー複合体である。D8D7I及びDHCR7は、コレステロール生合成、並びに腫瘍細胞の増殖分化、死、及びがんの進行を制御する。

【 0 0 4 9 】

ChEH/AEBS阻害剤は、とりわけ、テスミリフェン (DPPE、N,N0-ジエチルアミノ-4-(フェニルメチルフェノキシ)-エタンアミンHCl) 3 PBPE、PCPE、MBPE、MCPE、PCOPE、MCOPE、MCOCH2PE；例えばSR31747A、BD10008、ハロペリドール、SR-31747A、イボガイン、AC-915、リムカゾール、トリフルオペラジン、アミオダロン等のシグマ受容体リガンド、例えばトリパラノール、テルピナフィン、U-18666A、Ro 48-8071、AY9944、SKF-525A等のコレステロール生合成阻害剤；例えばオレイン酸、 α -リノレン酸、アラキドン酸 (acidarachidonic acid) (ARA)、ドコサヘキサエン酸 (DHA) 等の不飽和脂肪酸、例えば6-ケトコレスタノール、7-ケトコレスタノール、7-ケトコレステロール、7 α -ヒドロキシコレステロール、7 β -ヒドロキシコレステロール、6-ケト-5 α -ヒドロキシコレスタノール、コレスタン-3, 5, 6 -トリオール(CT)等のB環オキシステロール、並びに当業者によって理解される他の物 (例えば、Silvente-Poirot S, Poirot M. Cholesterol epoxide hydrolase and cancer. Current opinion in pharmacology. 2012;12(6):696-703; de Medina P, Paillasse MR, Segala G, Poirot M, Silvente-Poirot S: Identification and pharmacological characterization of cholesterol-5,6-epoxide hydrolase as a target for tamoxifen and AEBS ligands. Proc Natl Acad Sci U S A 2010, 107:13520-13525 (これらは全て、本明細書において参照することにより、それらの全体が本明細書に取り込まれる) を参照) を含む、多くの化合物を含む。

【 0 0 5 0 】

幾つかの態様においては、特に、エストロゲン受容体陰性がんを治療するための組成物、方法及び使用に関して、ChEH/AEBS阻害剤は、例えば抗エストロゲン(AE)、クロミフェン (CL) 及びタモキシフェン (Tam) 等のトリフェニルエチレン (TPE) 誘導体を含む。

【 0 0 5 1 】

別の実施形態においては、用語「がん」は血液のがんである。別の実施形態においては、用語「がん」は骨髄のがん又は骨髄関連のがんである。別の実施形態においては、用語「がん」は乳がんである。別の実施形態においては、用語「がん」は膠芽細胞腫である。別の実施形態においては、血液のがんは白血病である。別の実施形態においては、血液のがんは急性前骨髄球白血病 (AML) である。別の実施形態においては、血液のがんは骨髄芽球白血病である。別の実施形態においては、血液のがんは非ホジキンリンパ腫である。別の

10

20

30

40

50

実施形態においては、血液のがんは骨髄腫である。別の実施形態においては、血液のがんはリンパ腫である。別の実施形態においては、骨髄のがんは骨髄増殖症候群である。

【0052】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物は、がんを患っている対象の治療のために使用される。幾つかの実施形態においては、各々の化合物を単独で使用した効果の組合せと比べて、本発明の組成物を用いて、がんを患っている対象を治療することにより相乗効果が誘導される。相乗効果は、2以上の化合物の協調作用又は相関作用であり、組合せた作用は、別々で作用する各化合物の合計よりも大きい。CBDと共投与した場合に相乗効果を有する本発明の化合物の非限定的な例は、DPPE、7-ケトコレステロール、トリパラノール、又はそれらの組合せである。幾つかの実施形態においては、エストロゲン受容体 (receptor) 陰性がんにおいて、CBDと共投与した場合に相乗効果を有する本発明の化合物の非限定的な例としては、例えば抗エストロゲン (AE)、クロミフェン (CL) 及びタモキシフェン (Tam) 等のトリフェニルエチレン (TPE) 誘導体が挙げられる。幾つかの実施形態においては、CBDと共投与した場合の相乗効果としては、ナフトキノン誘導体メナジオンが挙げられる。

10

【0053】

他の実施形態においては、CBDと、ChEH/AEBS阻害剤及び/又はナフトキノン若しくはその誘導体との組合せで、がんを患っている対象を治療することによって、各々の化合物単独で投与した複合効果と比べて、相加効果よりも大きい効果が誘導される (thereofinduces)。用語、相加効果は、2以上の化合物の複合作用が、別々で作用する各化合物の合計と同じであることを意味する。

20

【0054】

実施例1及び図1-6に関して、選択的ChEH/AEBS阻害剤 (DPPE) が使用されるのであれ、又は例えば、B環オキシステロール (7-ケトコレステロール) 若しくはコレステロール生合成クラスの阻害剤 (トリパラノール) が使用されるのであれ、代表的なChEH/AEBS阻害剤が、真の相乗効果を発揮するかどうかで、CBDと組合せて使用された場合に、抗がん活性を有することが実証された。

【0055】

実施例2に関して、代表的なナフトキノン又はその誘導体メナジオンが、CBDと組合せて使用された場合に、真の相乗効果を示して、同様に抗がん活性を有することが示された。

30

【0056】

CBDと共投与した場合に相加効果を有する、更なる化合物の例は、図13に示されるドキソルビシン及びアントラサイクリンである。

【0057】

幾つかの実施形態においては、がんを治療することにおける本発明の組成物の相乗効果は、同じ組成の化合物を別々に投与することによって、がんを治療することにおける相加効果より、少なくとも1.1倍高い。

【0058】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物を用いてがんを治療することにおける相乗効果は、同じ組成の化合物を別々に投与することによって、がんを治療することにおける相加効果より、1.1倍～2倍高い、2倍～3倍高い、3倍～4倍高い、4倍～5倍高い (1.1 fold to 2 fold higher, 2 fold to 3 fold higher, 3 fold to 4 fold higher, 4 fold to 5 fold higher)。

40

【0059】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物を用いてがんを治療することにおける相乗効果は、同じ組成の化合物を別々に投与することによって、がんを治療することにおける相加効果より、5倍超高い (more than 5 fold higher than)。

【0060】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物はCBDとChEH/AEBS阻害剤との組合せであり、CBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比は、50 : 1 ~ 1 : 50 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤

50

)である。幾つかの実施形態においては、本発明の組成物はCBDとナフトキノン又はその誘導体との組合せであり、CBDとナフトキノン又はその誘導体のモル比は、50 : 1 ~ 1 : 50 (CBD : ナフトキノン又はその誘導体)である。

【0061】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物はCBDとChEH/AEBS阻害剤との組合せであり、CBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比は、30 : 1 ~ 1 : 30 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である。

【0062】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物はCBDとナフトキノン又はその誘導体との組合せであり、CBDとナフトキノン又はその誘導体のモル比は、30 : 1 ~ 1 : 30 (CBD : ナフトキノン又はその誘導体)である。

10

【0063】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物はCBDとChEH/AEBS阻害剤との組合せであり、CBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比は、10 : 1 ~ 1 : 10 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である。

【0064】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物はCBDとナフトキノン又はその誘導体との組合せであり、CBDとナフトキノン又はその誘導体のモル比は、10 : 1 ~ 1 : 10 (CBD : ナフトキノン又はその誘導体)である。

【0065】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物はCBDとChEH/AEBS阻害剤との組合せであり、CBDとナフトキノンのモル比は、5 : 1 ~ 1 : 5 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である。

20

【0066】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物はCBDとナフトキノン又はその誘導体との組合せであり、CBDとナフトキノン又はその誘導体のモル比は、5 : 1 ~ 1 : 5 (CBD : ナフトキノン又はその誘導体)である。

【0067】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物はCBDとChEH/AEBS阻害剤との組合せであり、CBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比は、2 : 1 ~ 1 : 2 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である。

30

【0068】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物はCBDとナフトキノン又はその誘導体との組合せであり、CBDとナフトキノン又はその誘導体のモル比は、2 : 1 ~ 1 : 2 (CBD : ナフトキノン又はその誘導体)である。

【0069】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物はCBDとChEH/AEBS阻害剤との組合せであり、CBDとChEH/AEBS阻害剤のモル比は、1 : 1 (CBD : ChEH/AEBS阻害剤)である。

【0070】

幾つかの実施形態においては、本発明の組成物はCBDとナフトキノン又はその誘導体との組合せであり、CBDとナフトキノン又はその誘導体のモル比は、1 : 1 (CBD : ナフトキノン又はその誘導体)である。

40

【0071】

別の実施形態においては、本発明の組成物は、1以上の医薬的に許容される担体、賦形剤 (expedients) 又は希釈剤を更に含む医薬組成物として製剤化される。

【0072】

幾つかの実施形態においては、本明細書で使用される場合、用語「治療」は、哺乳動物、特にヒトにおける医学的状態への任意の応答、又は医学的状態の予測を指し、それに限定されないが、以下：状態を患いやすい若しくは患いにいが、該状態であるとまだ診断されていない対象において、医学的状態が生じるのを予防する、従って、治療が医学的状態に対する予防的な治療を構成する；医学的状態を阻害する、例、医学的状態の発症、進行

50

(development) 若しくは進行 (progression) を阻止する、鈍化させる若しくは遅らせる；又は医学的状態を緩和する、例、医学的状態を退行させる若しくは医学的状態の症状を低減する、が挙げられる。

【0073】

別の実施形態においては、用語「対象」は、がんを患っているヒトを指す。別の実施形態においては、用語「対象」は、がんを患っている例えばペット又は家畜等の哺乳動物を指す。

【0074】

別の実施形態においては、本明細書で使用される場合、用語「投与すること」は、任意の適切な方法によって、対象に、組成物又は1以上の医薬的な有効成分を送達することを含み、それは対象に、組成物若しくはその有効成分、又は他の医薬的な有効成分を送達する目的を果たす。別の実施形態においては、投与方法は、例えば、例、医薬組成物の構成成分、又は医薬的な有効成分若しくは不活性成分の性質、潜在的若しくは実際の病気の部位、対象の年齢及び体調等の様々な因子によって変わり得る。対象に本発明の組成物を投与する方法の、幾つかの非限定的な例としては、以下：経口、静脈内、局所、気道内、腹腔内、筋肉内、非経口、舌下、経皮、鼻腔内、エアロゾル、眼内、気管内、直腸内、膣内、皮膚パッチ、点眼、点耳又はうがい、が挙げられる。

【0075】

本明細書で使用される場合、「治療有効量」は、がんの予防、阻害又は退行を、それを必要とする対象において達成する、それを必要とする対象に、投与される本発明の組成物の量を指す。

【0076】

幾つかの実施形態においては、対象に投与された組成物中のCBD量は、0.1mg/kg (体重)/日～50mg/kg (体重)/日である。幾つかの実施形態においては、本発明の組成物中のCBD量は、10mg/kg (体重)/日～1000mg/kg (体重)/日である。幾つかの実施形態においては、本発明の組成物中のCBD量は、50mg/kg (体重)/日～500mg/kg (体重)/日である。幾つかの実施形態においては、本発明の組成物中のCBD量は、500mg/kg (体重)/日～2000mg/kg (体重)/日である。

【0077】

幾つかの実施形態においては、対象に投与された組成物中のChEH/AEBS阻害剤 (inhibitor) 若しくは阻害剤 (inhibitors) の量、又はナフトキノン若しくはその誘導体の量は、0.1mg/kg (体重)/日～50mg/kg (体重)/日である。幾つかの実施形態においては、本発明の組成物中のChEH/AEBS阻害剤 (inhibitor inhibitor) 若しくは阻害剤 (inhibitors) の量、又はナフトキノン若しくはその誘導体の量は、10mg/kg (体重)/日～1000mg/kg (体重)/日である。幾つかの実施形態においては、本発明の組成物中のChEH/AEBS阻害剤 (inhibitor inhibitor) 若しくは阻害剤 (inhibitors) の量、又はナフトキノン若しくはその誘導体の量は、50mg/kg (体重)/日～500mg/kg (体重)/日である。幾つかの実施形態においては、本発明の組成物中のChEH/AEBS阻害剤 (inhibitor) 若しくは阻害剤 (inhibitors) の量、又はナフトキノン若しくはその誘導体の量は、500mg/kg (体重)/日～2000mg/kg (体重)/日である。

【0078】

別の実施形態においては、治療の期間は24時間～14日である。別の実施形態においては、治療の期間は24時間～30日である。別の実施形態においては、治療の期間は1～12か月である。別の実施形態においては、該方法は慢性がんを患っている対象を治療するために使用され、治療の期間は対象の生存期間である。

【0079】

幾つかの実施形態においては、がんを患っている対象に本発明の組成物を投与することによって、がん性細胞のアポトーシスを誘導し、それにより対象を治療する。がん細胞のアポトーシスは、例えば、以下の材料及び方法の節に記載したXTTアッセイ等であるが、それに限定されない当該分野において公知である、方法によって定量される。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 0 】

幾つかの実施形態においては、がんを患っている対象に本発明の組成物を投与することによって、腫瘍増殖を抑制し、それにより対象を治療する。幾つかの実施形態においては、腫瘍増殖の抑制は、本発明の組成物の投与後の腫瘍のサイズにおける、増殖の鈍化又は予防を指す。幾つかの実施形態においては、腫瘍増殖は、当該分野において公知であるように、治療したがんの関連する臨床データと比較される。幾つかの実施形態においては、腫瘍増殖は、治療した対象の治療前の腫瘍サイズ及び/又は体積と比較される。腫瘍サイズの測定は、当該分野において公知である方法によってなされる。

【実施例】

【 0 0 8 1 】

一般的に、本明細書で用いられる命名法及び本発明で使用した実験手順には、分子的、生化学的、微生物学的及びDNA組換えの技術が含まれる。そのような技術は文献中で十分に説明されている。例えば、「Molecular Cloning: A laboratory Manual」Sambrookら、(1989)；「Current Protocols in Molecular Biology」I-III巻、Ausubel, R. M. 編 (1994)；Ausubelら、「Current Protocols in Molecular Biology」, John Wiley and Sons, Baltimore, Maryland (1989)；Perbal, 「A Practical Guide to Molecular Cloning」, John Wiley & Sons, New York (1988)；Watsonら、「Recombinant DNA」, Scientific American Books, New York；Birrenら (編) 「Genome Analysis: A Laboratory Manual Series」1-4巻、Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York (1998)；米国特許番号第4,666,828号；第4,683,202号；第4,801,531号；第5,192,659号及び第5,272,057号に記載の方法論；「Cell Biology: A Laboratory Handbook」I-III巻、Cellis, J. E. 編 (1994)；「Culture of Animal Cells - A Manual of Basic Technique」by Freshney, Wiley-Liss, N. Y. (1994) (第3版)；「Current Protocols in Immunology」I-III巻、Coligan J. E. 編 (1994)；Stitesら (編) 「Basic and Clinical Immunology」(第8版)、Appleton & Lange, Norwalk, CT (1994)；Mishell and Shiigi (編) 「Selected Methods in Cellular Immunology」W. H. Freeman and Co., New York (1980)を参照；利用できるイムノアッセイは、特許及び科学文献に広範囲に亘って記載されている。例えば、米国特許番号第3,791,932号；第3,839,153号；第3,850,752号；第3,850,578号；第3,853,987号；第3,867,517号；第3,879,262号；第3,901,654号；第3,935,074号；第3,984,533号；第3,996,345号；第4,034,074号；第4,098,876号；第4,879,219号；第5,011,771号及び第5,281,521号；「Oligonucleotide Synthesis」Gait, M. J. 編 (1984)；「Nucleic Acid Hybridization」Hames, B. D., and Higgins S. J. 編 (1985)；「Transcription and Translation」Hames, B. D., and Higgins S. J. 編 (1984)；「Animal Cell Culture」Freshney, R. I. 編 (1986)；「Immobilized Cells and Enzymes」IRL Press, (1986)；「A Practical Guide to Molecular Cloning」Perbal, B., (1984)及び「Methods in Enzymology」1-317巻、Academic Press；「PCR Protocols: A Guide To Methods And Applications」Academic Press, San Diego, CA (1990)；Marshakら「Strategies for Protein Purification and Characterization - A Laboratory Course Manual」CSHL Press (1996)；(これらは全て、参照により取り込まれる)を参照。他の一般的な参照文献は、本文書を通して提供される。

【 0 0 8 2 】

材料及び方法

試薬：試薬は販売会社から購入し、100% DMSO (DMSOand) に溶解し、-20 で保存した。DMSOの終濃度は0.1%であった。アクリジンオレンジ/エチジウムブロマイド染色剤は、PBS中において1 mg/mlの濃度で調製した。XTT及び他の全ての化学物質はSigma (St. Louis, MO) から入手した。対照培養は、それ自体は効果がないビヒクルを含んだ。

【 0 0 8 3 】

細胞培養：ヒトHL-60 (骨髄芽球白血病株) 及びCCRF-CEM (急性リンパ芽球白血病細胞株) を、加熱により不活化した10% (v/v) ウシ胎児血清、2 mM L-グルタミン、100U/m

10

20

30

40

50

lペニシリン及び100 µg/mlストレプトマイシンを補充したRPMI-1640中で培養した。MCF-7 (乳がん細胞株) 及びA-172 (膠芽細胞腫細胞株) を、加熱により不活化した10% (v/v)ウシ胎児血清、2 mM L-グルタミン、100U/mlペニシリン及び100 µg/mlストレプトマイシンを補充したDMEM中で培養した。培養を、5%CO₂を含む加湿雰囲気下、37℃で維持し、2~3日毎に新鮮な培地に移すことによって対数増殖期で維持した。実験は、血清フリー培地及び5%又は10%FCS培地中で行った。光学顕微鏡下で血球計数器を用いて行う細胞計数のために、トリパンブルー色素除外法[17]を使用した。

【0084】

細胞生存率の決定：HL-60、CCRF-CEM、A-172及びMCF-7細胞の細胞生存率分析は、それらの(2,3 [-ビス-2-メトキシ-4-ニトロ-5-スルホフェニル]-2H-テトラゾリウム-5-カルボキシアニリド (XTT)の内塩還元活性によって評価した。100 µlの2.5 × 10⁵ 細胞/mlを表示した時間で処理を行い、インキュベートした。インキュベーション時間の終わりに、25 µlの1 mg/ml (mg/ml) XTT溶液 (0.2mMフェナジンメトサルフェート (PMS)を含む)を添加し、細胞を更に1時間インキュベートした。ELISAリーダーを用いて、650nmをリファレンス波長として、450nmでOD値を測定した。データは、3回の反復の平均パーセンテージで表し、未処理 (ピヒクル) に対して標準化した。

【0085】

アポトーシスの形態学的定量：アポトーシスを決定するために、細胞を回収し (650 g、7分)、0.05 mg/mlの終濃度で、アクリジンオレンジ/エチジウムブロマイドを用いて染色した。この方法によって、生きている細胞、ネクローシス細胞及びアポトーシス細胞を区別することができる (図11)。核が通常の形態を示し、緑色であった場合、細胞を生きているとして記録した。通常の形態及びオレンジ色を示した細胞を、ネクローシスとして示した。核がクロマチン凝集及び/又は核の断片化を示していた場合、細胞をアポトーシスとして記録した。蛍光顕微鏡下で、少なくとも100細胞を計数し、影響を受けた細胞のパーセンテージを計算した。

【0086】

ウェスタンブロット分析：ウェスタンブロット分析のために、5 × 10⁷細胞/mlを、表示された時間、20 µM CBD及び20 µMクロミフェン (CL)あり及びなしで処理した。細胞を氷冷PBSで2回洗浄し、RIPAバッファ (50mM Tris-HCl、0.1% NP-40、1mM DTT、0.25Mスクロース、2mM MgCl₂、pH7.4)中で、氷上において30分間溶解した。遠心分離後、細胞可溶画分を含む、除核後 (post-nuclear) 上清を12% SDS-PAGEゲルにロードした。電気泳動後、ゲルをPVDF膜 (Bio-Rad, Hercules, CA)にブロッティングし、5% (w/v)ミルクを用いて終夜4℃の温度でブロッティングし、トリス緩衝生理食塩水Tween-20 (TBST)中で短時間洗浄し、次いで抗マウス・ヒト抗MCI-1及びカルレティキュリン (CRN)一次抗体を用いて、終夜4℃でプローブした (probed)。一次抗体の結合を、セイヨウワサビ・ペルオキシダーゼ (Jackson ImmunoResearch, Avondale, PA)に結合した抗マウスIgGを用いて検出し、製造業者の指示に従って、増強した化学発光 (ECL) によって可視化した。MCI-1及びカルレティキュリン (CRN)に対する抗体は、Santa Cruz (CA, USA) から購入した。

【0087】

CBD及びCLのin vivoでの抗腫瘍効能：NOD/SCIDマウスを、イスラエル、ネゲヴ・ベン＝グリオン大学の動物飼育施設で育成し、保管した。全ての動物は7~8週齢で使用した。腫瘍を誘発するために、マウスに2.7GyのX線放射を2分間照射した。それに続く5時間、マウスの右脇腹に100万の生きたHL-60細胞を注射した。マウスを、腫瘍の発生について観察した。腫瘍を14日間測定し、その体積を(d2 × D) / 2 (式中、dは腫瘍の最も短い径 (mm)、Dは腫瘍の最も長い径 (mm)) で計算した。翌日、マウスを4群 (1群当たりマウス6匹)：ピヒクル (veh)、カンナビジオール群 (CBD群)、クロミフェン (CL群)、及び組合せ (CBD + CL群)に分けた。CBD群については1kg当たり5 mg CBD、CL群については1kg当たり10mg CL、CBD + CL群については5mg CBD + 10mg CL (5mg/mlの脱脂し透析したウシ血清アルブミンを補充した0.1mlの滅菌PBSに溶解した)、又はそのピヒクルを、

10

20

30

40

50

マウスの腫瘍周辺に注射した。注射を1日1回、1週間に5日で繰り返し、ビヒクルが死ぬまで1週間に2回、腫瘍体積を確認し、生き残った動物は 殺した。

【0088】

データ表示及び統計分析：生存率実験を3回反復で行い、実験は少なくとも2又は3回繰り返した。統計分析を行った場合、それをスチューデントのT検定によって評価した。幾つかのデータを図に表し、*p 0.05、**p 0.01と指定した統計的有意差を提供した。

【0089】

実施例1

カンナビジオールとChEH/AEBS阻害剤との組合せによってがん細胞生存率における低減が起こる

HL-60、CCRF-CEM、A-172及びMCF-7細胞株の生存率に対する、カンナビジオールとChEH/AEBS阻害剤との組合せを曝露した影響を、in vitroで調べた。この目的を達成するために、腫瘍細胞を10%FCS補充培地中で培養し、5%FCS含有培地並びに1、5、10及び30 μ MのChEH/AEBS阻害剤中で、様々な濃度のカンナビジオール (1、5、10及び30 μ M) に、48時間曝露した(図1、2、3及び4)。

【0090】

HL-60アッセイに関して、ChEH/AEBS阻害剤との組合せである場合、結果は、たとえ1 μ M以上の濃度のカンナビジオールの48時間処理に曝露することによってでも、生存細胞数において有意な減少をもたらすことを示す。細胞生存率における減少は、用量応答性であり、たとえ非常に低濃度 (1 μ M又は5 μ M) でも細胞生存率の減少に対して重大な影響を有した。

【0091】

同様に、エストロゲン受容体欠損CCRF-CEM細胞株においては、ChEH/AEBS阻害剤との組合せである場合、たとえ1 μ M以上の濃度でもカンナビジオールに曝露することと組合せた結果、生存細胞数において有意な減少を示した。細胞生存率における減少は、用量応答性であり、たとえ非常に低濃度 (各々、1 μ M又は5 μ M) でも細胞生存率の減少に対して重大な影響を有した。

【0092】

これらの結果は、代表的なChEH/AEBS阻害剤、選択的阻害剤 (DPPE)か、又は例えばB環オキシステロール (7-ケトコレステロール)が、CBDとの組合せで提供される場合、強力な抗がん活性を示すことを実証する。

【0093】

幅広いChEH/AEBS阻害剤を用いた、CBDの組合せ治療が有効であるという事実を更に詳述するために、別の代表的なChEH/AEBS阻害剤を、CBDとの組合せで、そのHL-60及びCCRF-CEM生存率に対する活性を評価した(図5及び6)。この事例において、コレステロール生合成の阻害剤クラスのChEH/AEBS阻害剤(トリパラノール)を選択し、30、60、100及び200 μ Mの濃度で使用した。より高濃度のトリパラノールを評価したが、それに関わらず、生存細胞数の有意な減少は、1~10 μ MのCBDと、10 μ Mのトリパラノール濃度とが至適であった。

【0094】

図7及び8は、これらの研究についての陰性対照 (CBDと、CBDとの組合せが追加的な利益を提供しない、非カチオン性抗エストロゲンであるICI-182,780 (1、5、10及び30 μ M)との組合せ治療)の結果を提供する。

【0095】

従って、CBDとの組合せ治療として提供された場合、代表的なクラスのChEH/AEBS阻害剤は、強い抗がん活性を示した。

【0096】

実施例2

カンナビジオール、TPE (クロミフェン及びタモキシフェン)並びにメナジオンは、細胞生存率における減少を引き起こす

10

20

30

40

50

HL-60及びCCRF-CEM、A-172及びMCF-7細胞株の生存率に対する、カンナビジオール曝露の影響を、*in vitro*で調べた。この目的を達成するために、腫瘍細胞を10%FCS補充培地中で培養し、10%又は5%FCS含有培地中において様々な濃度のカンナビジオール (5、10、15、20及び30 μM) に24時間及び48時間曝露し、血清フリー培地中において、0.01、0.03、0.1、0.3、1、3及び5 μM CBDに24時間曝露した (図9A、9B、9C及び9D)。結果は、5 μM 以上の濃度でカンナビジオールに24時間及び48時間処理に曝露すると、生存細胞数において有意な減少が起こることを示す (図9A、9B、9C及び9D)。細胞生存率における減少は、24及び48時間曝露の両方で用量応答性であった (図9A、9B、9C及び9D)。CBDは、血清フリー条件下で、たとえ非常に低い濃度 (0.2 μM) であっても、24時間の曝露で、細胞生存率の減少に対する強力な効果を有した。48時間後、10%FCS培地中で得られたIC50値は16 μM であった。培地中での血清濃度を下げて (5%FCS)、24時間におけるIC50もまた求めた。血清フリー培地中で、IC50は24時間で0.26 μM であった。10%FCS培地中で、細胞は、24時間で、CBDに対してより感受性が低いことが判明した。細胞生存率の減少の統計的有意性は $P = 0.05$ であった。

【0097】

HL-60、CCRF-CEM、A-172及びMCF-7細胞株に対するクロミフェン及びタモキシフェンの効果をまた調べた。この目的を達成するために、5%血清補充培地中でクロミフェンを用いて、HL-60、CCRF-CEMについては24時間で、A-172細胞株については48時間で、細胞生存率における用量依存的な減少がみられた (図10及び11)。HL-60、A-172及びCCRF-CEM細胞株におけるクロミフェンのIC50値は、それぞれ14、11及び15 μM であることが見出された。HL-60、CCRF-CEM及びMCF-7に対するタモキシフェンのIC50値は、それぞれ12、16及び12 μM であることが見出された。

【0098】

実施例3

CBDと、TPE及びナフトキノンの相乗効果

本研究において、CBDはクロミフェン、タモキシフェン及びメナジオンと相乗的な抗がん効果を有していた (図12 A、B、C)。図4に示すように、CBDと、クロミフェン、タモキシフェン及びメナジオンとの組合せ (combination CBD, clomiphene, tamoxifen and menadione) は、HL-60細胞の生存率を効果的に低減した。最も効果的な組合せは、5 μM CBDと15 μM クロミフェン (図12A)、10 μM CBDと10 μM タモキシフェン (図12B) であることが見出された。メナジオンとCBDは、高濃度のメナジオンで細胞生存率を低減することにおいて相加するものを超える (more than additive) ことを示した (図12C)。従来の化学療法薬アントラサイクリン、ドキソルビシンは、HL-60細胞の生存率における低減において、CBDとの相加効果を示した (図13)。

【0099】

エストロゲン受容体 (ER) 陰性細胞株CCRF-CEM、A-172、及びER陽性細胞株MCF-7において、CBDとTPE (クロミフェン及びタモキシフェン) の効果を試験した。図14A及びBに示すように、CBDとTPEは、CCRF-CEM細胞の生存率において、HL-60細胞株と同様の、相乗的な低下を引き起こした。この発見は、細胞生存率の減少機構におけるERの関与と独立して、カンナビジオールとTPEとが相互作用するという見解を支持する。最も強力な組合せは、MCF-7細胞の生存率を相乗的に低減した10 μM CBDと10 μM タモキシフェンであることが見出された (図15)。ヒト膠芽細胞腫細胞株、A-172細胞の生存率はまた、5%血清培地中で、CBDとクロミフェンへの48時間曝露によって、相乗的に低下することが見いだされた (図16)。

【0100】

CBDとタモキシフェンの組合せで、MCF-7の細胞生存率におけるERの役割の関与を評価するため、ERをブロックするために、薬剤処理の30分前に エストラジオールを添加した。興味深いことに、 エストラジオール処理群と未処理群の間で、細胞生存率における有意差はなかった (図15A及び15B)。従って、これらの結果は、これらの薬剤が、細胞生存率の減少において、ERから独立して作用していることを強く示す。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 1 】

実施例4

核の形態変化はアポトーシスの特徴である

がん細胞株のアポトーシスに対するCBDの影響を調べた。CBDは、HL-60及びCCRF-CEM細胞株の両方において、用量及び時間依存的なアポトーシスの誘導を示した(図17A及び図18A)。CBDとTPEとの組合せはアポトーシスの誘導において相乗効果があった一方で、メナジオンとの組合せでは、CBDはHL-60細胞株のアポトーシスの誘導において相加効果より高い効果を示した(図17B及び17C)。同様の結果がまたCCRF-CEM細胞株で見られた(図18)。代表的な顕微鏡写真を図19に示す。

【 0 1 0 2 】

実施例5

CBDを用いたMcl-1の下方制御

Mcl-1の過剰発現は、白血病細胞の生存に関連する；CBDはCCRF-CEM細胞中のMcl-1発現を下方制御した。CBDは、3時間の処理によって、Mcl-1の下方制御を示した(図20)。

【 0 1 0 3 】

実施例6

HL-60細胞を移植したマウス異種移植モデルにおける腫瘍増殖の阻害

異種移植したマウスを5 mg/kg CBD、10 mg/kg CL単独、及び組合せで処理したことによって、7～14日目でHL-60腫瘍増殖の有意な抑制がもたらされた(図21)。

【 0 1 0 4 】

実施例7

AML及びCLL初代細胞に対するCBD及びクロミフェンの効果

AML及びCLL初代細胞に対するCBD及びクロミフェンの細胞毒性効果についても評価した。5 μ Mクロミフェンと10 μ M CBDは相乗的に、24時間以内に細胞死を誘導した(図22)。

10

20

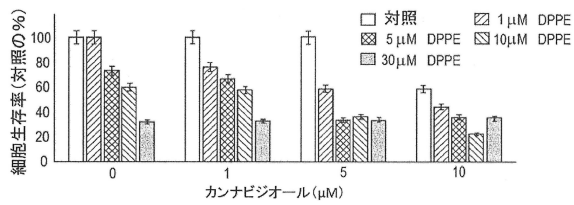
30

40

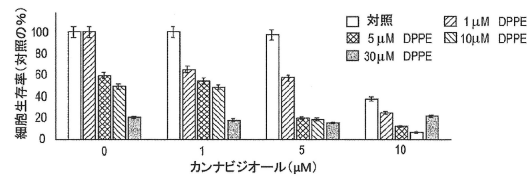
50

【図面】

【図 1】

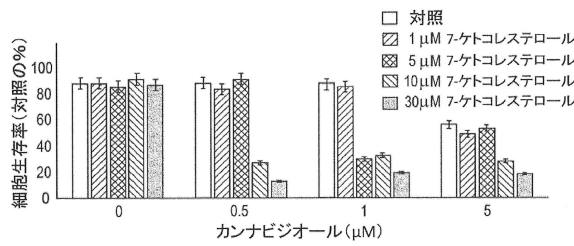


【図 2】

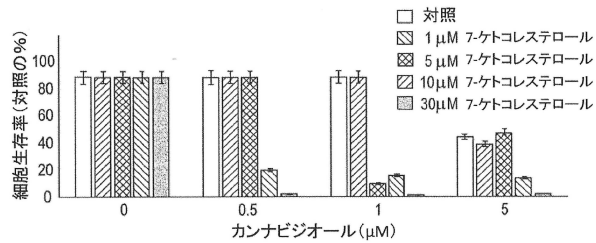


10

【図 3】

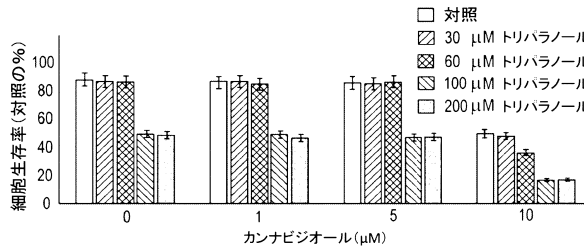


【図 4】

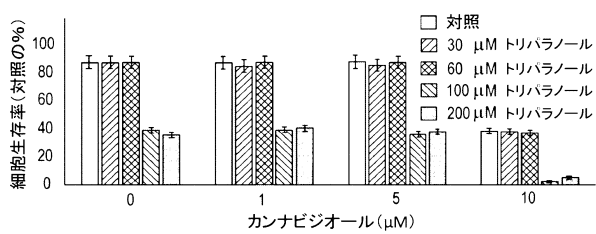


20

【図 5】



【図 6】

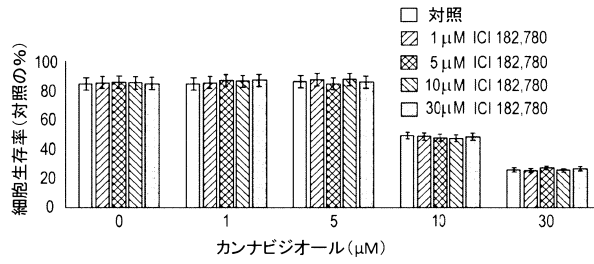


30

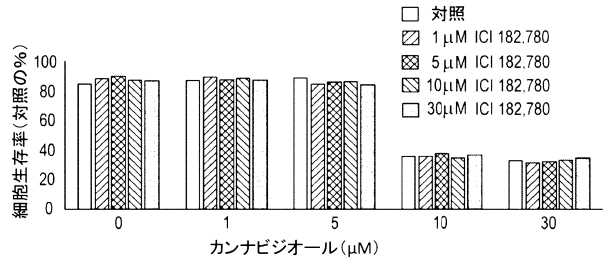
40

50

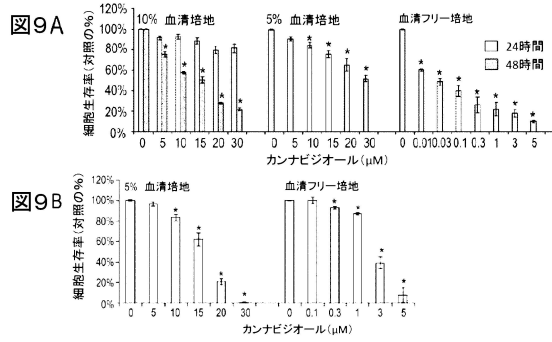
【図 7】



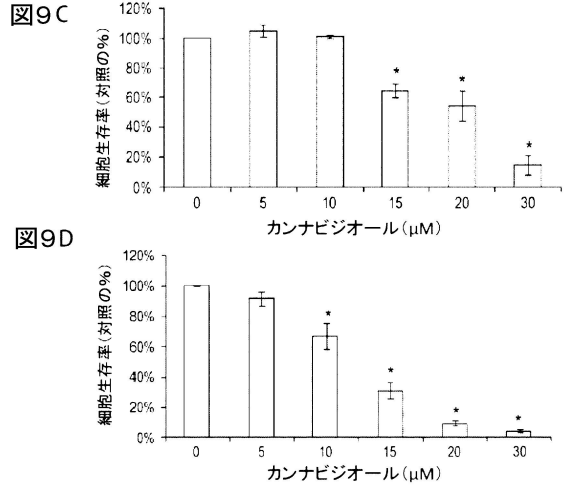
【図 8】



【図 9 - 1】



【図 9 - 2】



10

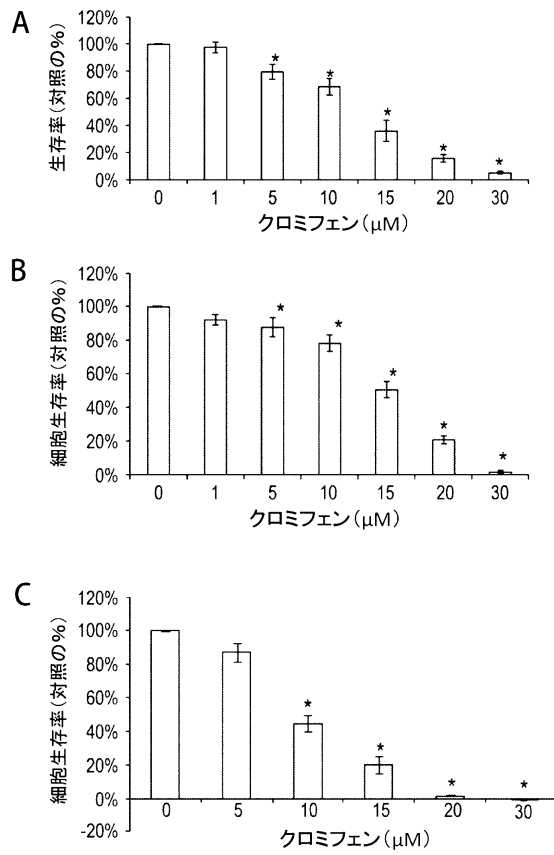
20

30

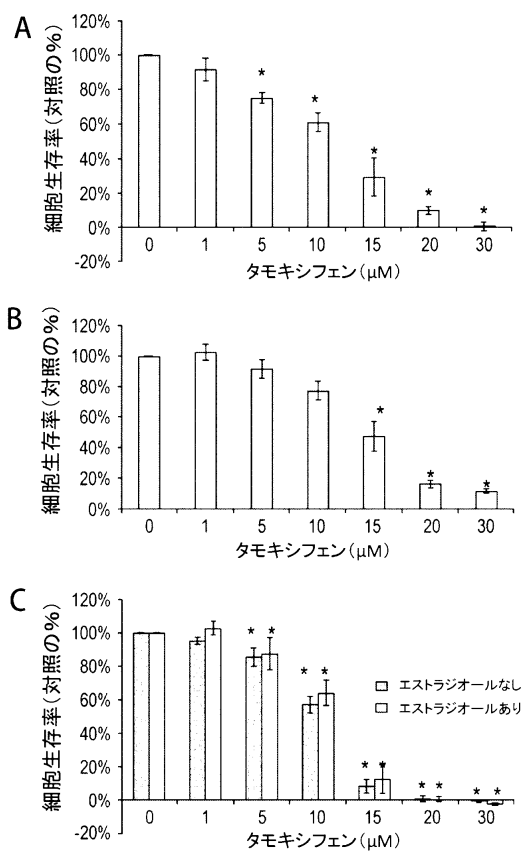
40

50

【図 10】



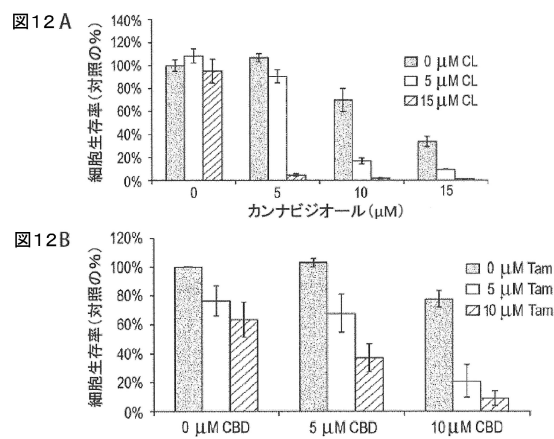
【図 11】



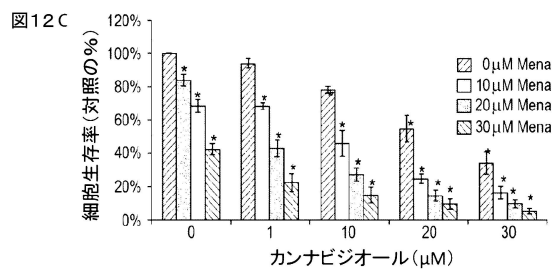
10

20

【図 12 - 1】



【図 12 - 2】

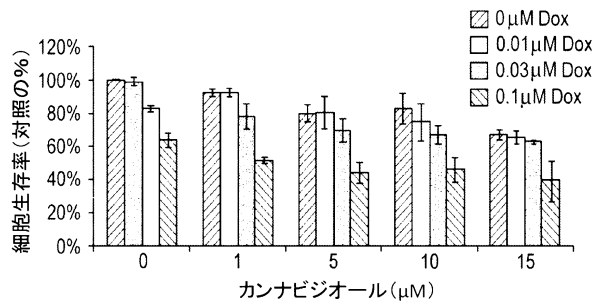


30

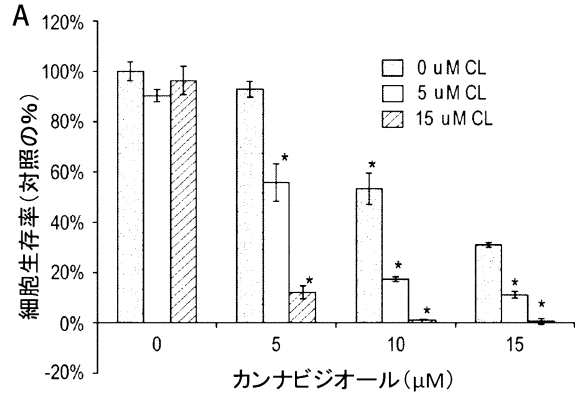
40

50

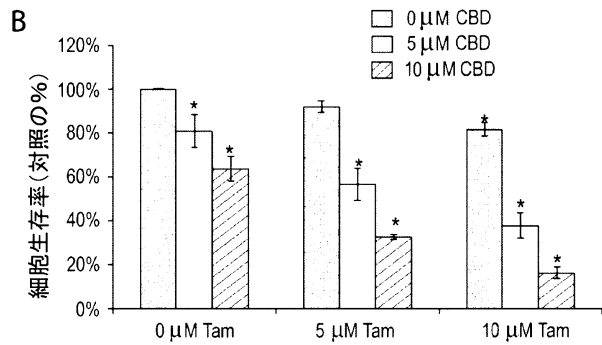
【図 1 3】



【図 1 4】

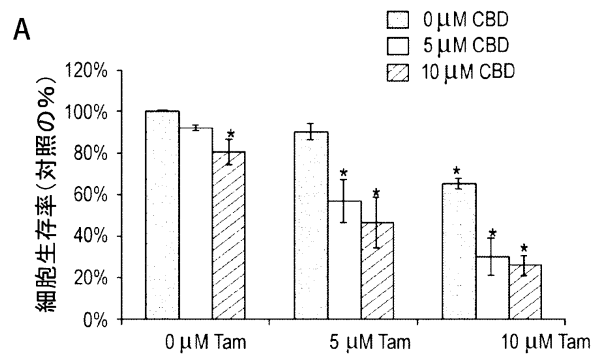


10

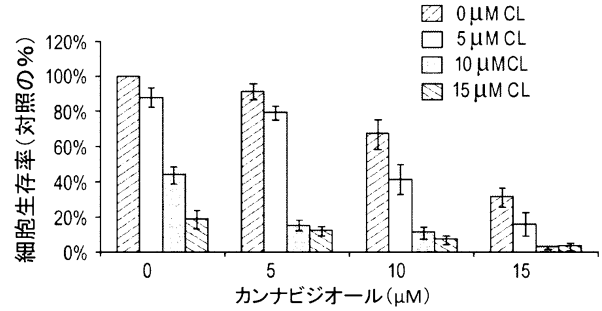


20

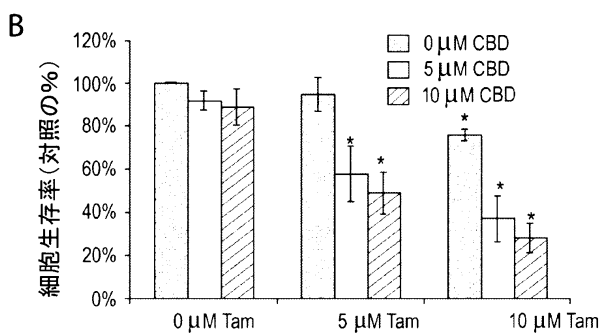
【図 1 5】



【図 1 6】



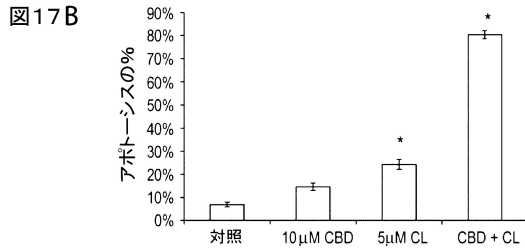
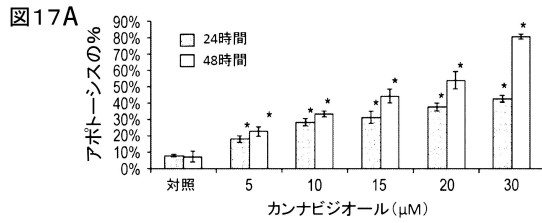
30



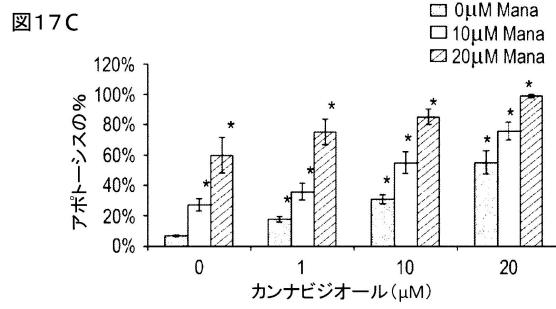
40

50

【図 17 - 1】

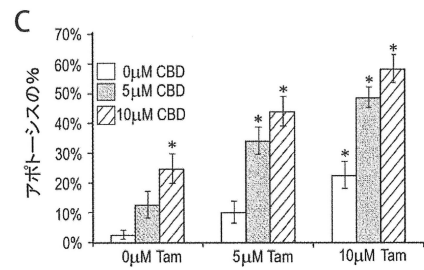
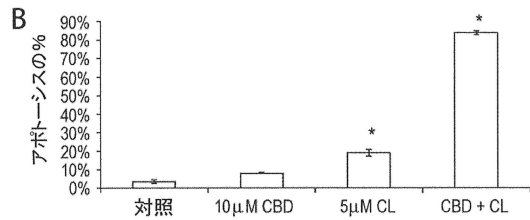
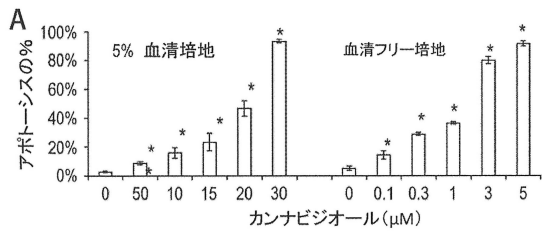


【図 17 - 2】

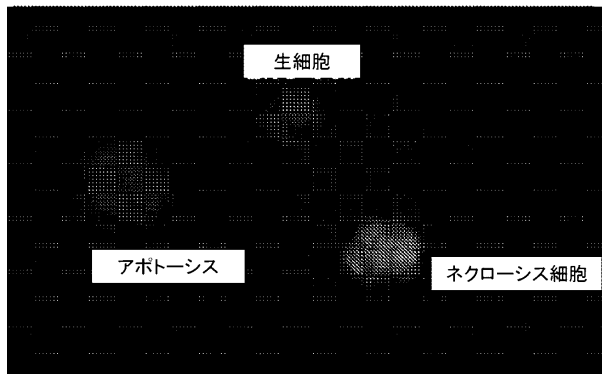


10

【図 18】



【図 19】



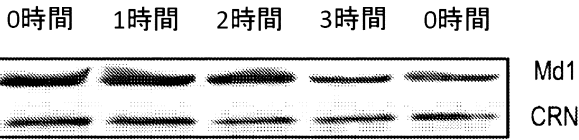
20

30

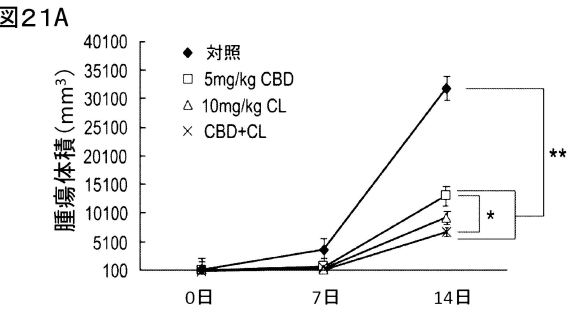
40

50

【図 2 0】

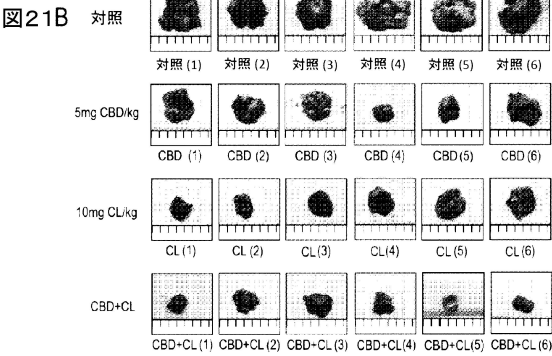


【図 2 1 - 1】

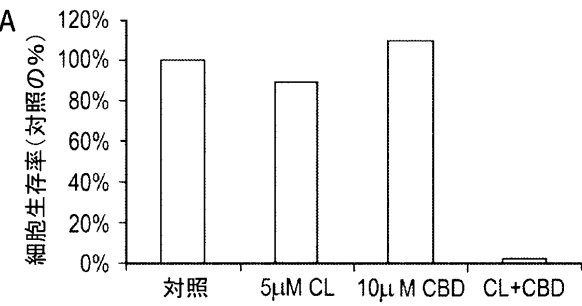


10

【図 2 1 - 2】

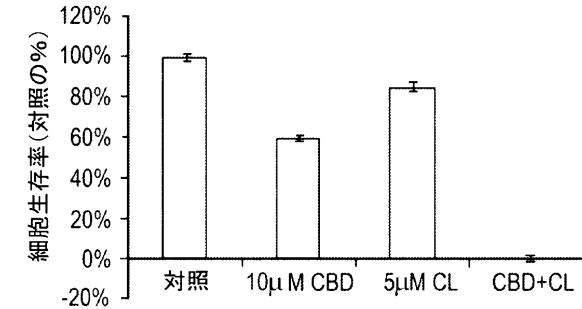


【図 2 2】



20

B



30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/575 (2006.01)	A 6 1 K	31/575	
A 6 1 K	31/201 (2006.01)	A 6 1 K	31/201	
A 6 1 K	31/202 (2006.01)	A 6 1 K	31/202	
A 6 1 K	31/4535 (2006.01)	A 6 1 K	31/4535	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	

(74)代理人 100174296

弁理士 富麻 博文

(74)代理人 100137729

弁理士 赤井 厚子

(74)代理人 100151301

弁理士 戸崎 富哉

(72)発明者 ネイサン、イラーナ

イスラエル国、テル アヴィブ 6 3 4 3 5、ベン イェフダー 8 4 / 1 4

(72)発明者 ウパラパティ、ラクシュミ ナラサイア

インド国、5 1 6 0 0 2 カダパ、エヌジーオー コロニー、6 ス ウェスト リンク ロード、ナン
バー 7 / 4 8 5 - 1

(72)発明者 フォーゲル、ツヴィ

イスラエル国、レホヴォト 7 6 4 0 8、コソヴァ 4

(72)発明者 ゲラルニック、アデラ ジャナット

イスラエル国、レホヴォト 7 6 6 2 0、ハー ハゾフィム 5 アレフ / 1 9

審査官 福山 則明

(56)参考文献 特表 2 0 1 1 - 5 2 2 0 2 8 (J P , A)

特表 2 0 1 4 - 5 3 0 2 4 7 (J P , A)

Molecular Oncology , 2015, Vol.9, No.4 , pp.906-919

Current Opinion in Pharmacology , 2012, Vol.12, No.6 , pp.696-703

Molecular Cancer Therapeutics , 2011, Vol.10, No.1 , pp.90-103

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 1 / 8 0

A 6 1 K 4 5 / 0 0

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T
N)

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)