

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-514742

(P2023-514742A)

(43)公表日 令和5年4月7日(2023.4.7)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/15 (2006.01)	A 6 1 K 31/15	4 C 0 7 6
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 4
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 2 0 6
A 6 1 K 9/08 (2006.01)	A 6 1 K 9/08	
A 6 1 K 9/06 (2006.01)	A 6 1 K 9/06	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全34頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願2022-550805(P2022-550805)	(71)出願人	522333040 オプラート, インコーポレーテッド アメリカ合衆国 0 8 5 4 0 ニュージャ ージー州, プリンストン, スイート 2 0 0 , ビレッジ プルバード 1 1 6
(86)(22)出願日	令和3年2月24日(2021.2.24)	(74)代理人	110002572 弁理士法人平木国際特許事務所
(85)翻訳文提出日	令和4年9月26日(2022.9.26)	(72)発明者	カン, シン ウク 大韓民国 1 3 5 6 8 キョンギ - ド, ソ ンナム - シ, プンダン - ク, ソヒョン - 口, 1 1 7 , 1 0 6 - 5 0 1 (クムカン アパート)
(86)国際出願番号	PCT/US2021/019457	(72)発明者	キム, キョンスン 大韓民国 4 8 0 5 0 プサン, ヘウンデ - ク, センタム ドン - 口, 1 2 3 , エ
(87)国際公開番号	WO2021/173702		
(87)国際公開日	令和3年9月2日(2021.9.2)		
(31)優先権主張番号	62/980,645		
(32)優先日	令和2年2月24日(2020.2.24)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA ,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA( AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR ,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く		最終頁に続く

(54)【発明の名称】 がん及び腫瘍を処置する組成物及び方法

(57)【要約】

組成物を使用して対象においてがん又は腫瘍を処置する方法が提供される。組成物は、治療有効量の2,4-ジスルホニル -フェニルtert-ブチルニトロン(2,4-ds-PBN)又はその薬学的に許容される塩を含み、治療有効量は、がん又は腫瘍の増殖を減少させる。

【選択図】 図 1

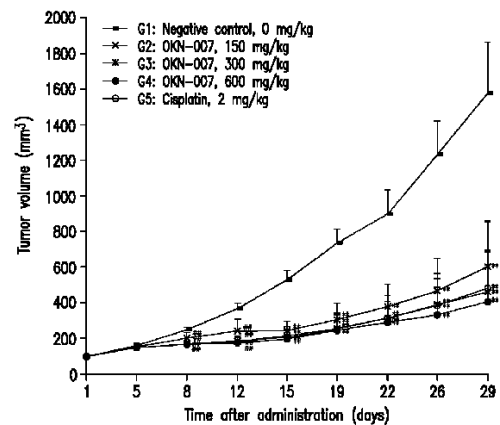


Figure 1

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

それを必要とする対象においてがん又は腫瘍を処置する方法であって、治療有効量の2,4-ジスルホニル -フェニルtert-ブチルニトロン(2,4-ds-PBN)又はその薬学的に許容される塩を投与することを含み、治療有効量が、がん又は腫瘍の増殖を減少させる、方法。

## 【請求項 2】

がんが非小細胞肺癌である、請求項1に記載の方法。

## 【請求項 3】

2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の治療有効量が、約5mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日である、請求項1または2に記載の方法。 10

## 【請求項 4】

治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩が、静脈内注射又は動脈内注射を介して対象に送達される、請求項1から3のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 5】

治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩が、経腸投与又は経口投与を介して対象に送達される、請求項1から4のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 6】

がん又は腫瘍の体積、面積又はこれらの組合せを測定することを更に含む、請求項1から5のいずれか一項に記載の方法。 20

## 【請求項 7】

がん体積又は腫瘍体積が、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の投与後に少なくとも約50%減少する、請求項6に記載の方法。

## 【請求項 8】

がん又は腫瘍の増殖が、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の投与後に少なくとも約40%減少する、請求項6に記載の方法。

## 【請求項 9】

アポトーシスがん細胞又はアポトーシス腫瘍細胞を数えることを更に含む、請求項1から5のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 10】

アポトーシスがん細胞又はアポトーシス腫瘍細胞の数が、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の投与後に少なくとも約15%増加する、請求項9に記載の方法。 30

## 【請求項 11】

治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩が、少なくとも1週間に1回対象に送達される、請求項1から10のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 12】

治療有効量の抗がん剤又は抗腫瘍剤を対象に投与することを更に含む、請求項1から11のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 13】

抗がん剤又は抗腫瘍剤が、化学療法剤、免疫療法剤、サイトカイン、抗血管新生剤、チロシンキナーゼ阻害剤(TKI)、アポトーシス誘導剤、抗がん抗体及びこれらの組合せからなる群から選択される、請求項12に記載の方法。 40

## 【請求項 14】

追加の療法を施すことを更に含む、追加の療法が、抗腫瘍療法、抗がん療法、化学療法、標的療法、免疫療法、放射線療法、ラジオ波焼灼療法、外科手術、腫瘍治療場(TTFields)デバイスを使用する療法又はこれらの組合せからなる群から選択される、請求項1から13のいずれか一項に記載の方法。

## 【請求項 15】

治療有効量の2,4-ジスルホニル -フェニルtert-ブチルニトロン(2,4-ds-PBN)又は 50

その薬学的に許容される塩を含む、対象においてがん又は腫瘍を処置する医薬組成物であって、治療有効量が、がん又は腫瘍の増殖を減少させる量で存在する、医薬組成物。

【請求項 16】

医薬組成物が経口投与又は経腸投与用の錠剤、丸剤、カプセル剤、ゲル剤、液剤、シロップ剤、スラリー剤又は懸濁剤の形態である、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

2,4-ds-PBN 又はその薬学的に許容される塩の治療有効量が、約 5 mg/kg 体重/日 ~ 約 1,000 mg/kg 体重/日である、請求項 16 に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

組成物が少なくとも 1 つのコーティング層を含み、少なくとも 1 つのコーティング層が、2,4-ds-PBN 又はその薬学的に許容される塩をカプセル化し、所定の範囲の pH で可溶化する、請求項 15 から 17 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

10

【請求項 19】

静脈内注射又は動脈内注射用の溶液剤又は液剤の形態である、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 20】

2,4-ds-PBN 又はその薬学的に許容される塩の治療有効量が、約 10 mg/kg 体重/日 ~ 約 500 mg/kg 体重/日である、請求項 19 に記載の医薬組成物。

【請求項 21】

がんが非小細胞肺癌である、請求項 15 から 20 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、その全ての内容が参照により本明細書に組み込まれる、2020年2月24日に  
出願した米国仮特許出願第62/980,645号の優先権を主張する。

【0002】

本開示の主題は、がん及び腫瘍の進行を阻害する技術に関する。具体的には、本開示の  
主題は、がん及び腫瘍の進行を阻害する方法及び組成物に関する。

【背景技術】

30

【0003】

がんは、対象の他の部分/組織を浸潤する潜在力を有し、重度の機能不全を引き起こし  
得る、細胞の異常な増殖を伴う一群の疾患である。例えば、肺がんは、肺の中で異常な細胞  
増殖を始めるタイプのがんである。異なる形で処置され得る2つの主要なタイプの肺がん  
がある。第1のタイプは、非小細胞肺癌(NSCLC)である。NSCLCは、ゆっくりと増殖  
し、進行するまで相対的に少ない症状を引き起こす。NSCLCのサブタイプには、腺癌、  
扁平上皮癌、腺扁平上皮癌、肉腫様癌及び大細胞癌が含まれ得る。第2のタイプは、小細胞  
肺癌(SCLC)である。SCLCは、NSCLCより速く増殖し、他の組織に拡散することができる。  
速い増殖速度のため、化学療法及び放射線を適用してSCLCを処置することができる。  
NSCLCは少ない侵襲性を有し得るが、NSCLCは進行するまで少ない症状を引き起こすので、  
NSCLCは後期に診断される可能性があり、致命的な予後をもたらす。

40

【0004】

がん細胞は、制御不能に増殖することができ、腫瘍と呼ばれる塊を形成し得る。がんは  
、死因の第1位であり、世界中で死亡の約1/6の原因となっている。がん及び/又は腫瘍  
形成は、対象の遺伝子因子と外部因子(例えば、物理的発癌物質、化学的発癌物質及び生  
物学的発癌物質)との相互作用の結果であり得る。がんの分子機構の理解における進展に  
もかかわらず、現在利用可能な抗がん及び/又は抗腫瘍療法には、ある特定の副作用が存  
在する。2,4-ジスルホニル -フェニルtert-ブチルニトロ(2,4-ds-PBN)は、げっ歯  
類神経膠腫モデルにおいて神経膠芽腫(GBM)の腫瘍増殖を抑制し、GBM処置のために他  
の抗がん薬への感受性を増加させることができるが、他の腫瘍及び/又はがんの処置に対

50

するその治療効果は特定されていない。

【0005】

参考文献

Guanjai Dai et al., Myricanol Induces Apoptotic Cell Death and Anti-Tumor Activity in Non-Small Cell Lung Carcinoma in Vivo, International Journal of Molecular Sciences. 2015 Jan.; 16(2): 2717-2731.

Rhyu JJ et al., Dual effects of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in human lung adenocarcinoma A549 xenografts and colorectal adenocarcinoma HT-29 xenografts in mice, Oncology Reports. 2015 Oct.; 34(4): 1733-1744.

Towner, et al., OKN-007 Increases temozolomide (TMZ) Sensitivity and Suppresses TMZ-Resistant Glioblastoma (GBM) Tumor Growth, Translational Oncology, 2019 Feb.; 12(2): 320-335.

Towner, et al., Regression of glioma tumor growth in F98 and U87 rat glioma models by the Nitron OKN-007, Neuro Oncology 2013 Jan.; 15(3): 330-340

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

したがって、2,4-ds-PBNを使用してがん又は腫瘍(例えば、NSCLC)を処置する改善された技術の必要性が存在する。

20

【課題を解決するための手段】

【0007】

本開示は、がん又は腫瘍を処置する医薬組成物及び方法を提供する。対象においてがん又は腫瘍を処置する方法は、治療有効量の2,4-ジスルホニル-フェニルtert-ブチルニトロン(2,4-ds-PBN)又はその薬学的に許容される塩を含む組成物を投与することを含むことができ、治療有効量は、がん又は腫瘍の増殖を減少させることができる。

【0008】

ある特定の実施形態において、がんは、非小細胞肺癌である。

【0009】

ある特定の実施形態において、2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の治療有効量は、約5mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日であり得る。

30

【0010】

ある特定の実施形態において、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩は、静脈内注射又は動脈内注射を介して対象に送達することができる。非限定的実施形態において、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩は、経腸投与又は経口投与を介して対象に送達することができる。

【0011】

ある特定の実施形態において、本方法は、がん又は腫瘍の面積、体積はこれらの組合せの測定を更に含むことができる。非限定的実施形態において、がん体積又は腫瘍体積は、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の投与後に少なくとも約50%減少する。非限定的実施形態において、がん又は腫瘍の増殖は、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の投与後に少なくとも約40%減少する。

40

【0012】

ある特定の実施形態において、本方法は、アポトーシスがん細胞又はアポトーシス腫瘍細胞を数えることを更に含むことができる。非限定的実施形態において、アポトーシスがん細胞又はアポトーシス腫瘍細胞の数は、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の投与後に少なくとも約15%増加する。

【0013】

ある特定の実施形態において、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容され

50

る塩は、少なくとも1週間に1回対象に投与することができる。

【0014】

ある特定の実施形態において、本方法は、治療有効量の抗がん剤又は抗腫瘍剤を対象に投与することを更に含むことができる。非限定的実施形態において、抗がん/抗腫瘍剤は、化学療法剤、放射線治療剤、サイトカイン、抗血管新生剤、チロシンキナーゼ阻害剤(TKI)、アポトーシス誘導剤、抗がん抗体、免疫療法剤及びこれらの組合せからなる群から選択され得る。

【0015】

ある特定の実施形態において、本方法は、追加の療法を施すことを更に含むことができる。追加の療法は、抗腫瘍療法、抗がん療法、化学療法、標的療法(targeted therapy)、免疫療法、放射線療法、ラジオ波焼灼療法(radiofrequency ablation therapy)、外科手術、腫瘍治療場(tumor treating fields)(TTFields)デバイスを使用する療法又はこれらの組合せからなる群から選択され得る。

10

【0016】

ある特定の実施形態において、本開示は、治療有効量の2,4-ジスルホニル -フェニル tert-ブチルニトロソ(2,4-ds-PBN)又はその薬学的に許容される塩を含む、対象においてがん又は腫瘍を処置する医薬組成物であって、治療有効量が、がん又は腫瘍の増殖を減少させる量で存在することができる、医薬組成物を提供する。

【0017】

ある特定の実施形態において、医薬組成物は、経口投与又は経腸投与用の錠剤、丸剤、カプセル剤、ゲル剤、液剤(liquid)、シロップ剤、スラリー剤又は懸濁剤の形態であり得る。非限定的実施形態において、経口投与又は経腸投与のための2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の治療有効量は、約5mg/kg体重/日~約1,000mg/kg体重/日であり得る。

20

【0018】

ある特定の実施形態において、医薬組成物は、静脈内注射又は動脈内注射用の溶液剤(solution)又は液剤の形態であり得る。非限定的実施形態において、静脈内注射又は動脈内注射のための2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の治療有効量は、約10mg/kg体重/日~約500mg/kg体重/日であり得る。

【0019】

ある特定の実施形態において、がんは非小細胞肺癌である。

30

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図1】陰性対照、OKN-007(150mg/kg、300mg/kg又は600mg/kg)、又はシスプラチン(2mg/kg)を投与した後の腫瘍体積を示すグラフを提供する。各ポイントは、10回の独立した実験の平均値±標準偏差(S.D.)を表す。##は、p値がSteelのt検定により陰性対照群と比較して0.01未満(P<0.01)であることを表す。\*\*は、p値がダネットのt検定により陰性対照群と比較して0.01未満(P<0.01)であることを表す。

【図2】陰性対照、OKN-007(150mg/kg、300mg/kg又は600mg/kg)、又はシスプラチン(2mg/kg)を投与した後の腫瘍重量を示すグラフを提供する。各ポイントは、10回の独立した実験の平均値±標準偏差(S.D.)を表す。\*\*は、p値がダネットのt検定により陰性対照群と比較して0.01未満(P<0.01)であることを表す。

40

【図3】陰性対象、OKN-007(150mg/kg、300mg/kg又は600mg/kg)、又はシスプラチン(2mg/kg)の投与後の観察期間の終了時におけるA549担腫瘍(tumor-bearing)ヌードマウスの写真を提供する。

【図4】陰性対照又はOKN-007(150mg/kg)の投与後の観察期間の終了時にA549担腫瘍ヌードマウスから除去した腫瘍の写真を提供する。陰性対照群(G1)において、腫瘍サイズ及び体積は経時的に増加している。OKN-007(150mg/kg)処置群(G2)は、陰性対照群(G1)と比較して腫瘍体積及びサイズに統計的に有意な減少を示している。

【図5】陰性OKN-007(300又は600mg/kg)の投与後の観察期間の終了時にA549担

50

腫瘍ヌードマウスから除去した腫瘍の写真を提供する。OKN-007(300mg/kg)処置群(G3)及びOKN-007(600mg/kg)処置群(G4)は、陰性対照群(G1)と比較して腫瘍体積及びサイズに統計的に有意な減少を示している。

【図6】シスプラチン(2mg/kg)の投与後の観察期間の終了時にA549担腫瘍ヌードマウスから除去した腫瘍の写真を提供する。陽性対照として、シスプラチン(2mg/kg)処置群(G5)は、陰性対照と比較して腫瘍体積及びサイズに統計的に有意な減少を示している。

【図7】陰性対照処置群(G1)から採取した腫瘍の、ヘマトキシリン及びエオシン(H&E)染色及び末端デオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼdUTPニック末端標識(TUNEL)アッセイ画像を提供する。腫瘍の壊死をH&E染色画像により評価し、腫瘍細胞のアポトーシスをTUNELアッセイ画像により評価した。

10

【図8】OKN-007(150mg/kg)処置群(G2)から採取した腫瘍のH&E染色及びTUNELアッセイ画像を提供する。OKN-007(150mg/kg)処置群(G2)は、陰性対照群(G1)と比較して腫瘍中のアポトーシス細胞(矢印)の数に有意な増加を示している。

【図9】OKN-007(300mg/kg)処置群(G3)から採取した腫瘍のH&E染色及びTUNELアッセイ画像を提供する。OKN-007(300mg/kg)処置群(G3)は、陰性対照群(G1)と比較して腫瘍中のアポトーシス細胞(矢印)の数に有意な増加を示している。

【図10】OKN-007(600mg/kg)処置群(G4)から採取した腫瘍のH&E染色及びTUNELアッセイ画像を提供する。OKN-007(600mg/kg)処置群(G4)は、陰性対照群(G1)と比較して腫瘍中のアポトーシス細胞(矢印)の数に有意な増加を示している。

【図11】シスプラチン(2mg/kg)処置群(G5)から採取した腫瘍のH&E染色及びTUNELアッセイ画像を提供する。陽性対照として、シスプラチン(2mg/kg)処置群(G5)は、陰性対照群(G1)と比較して腫瘍中のアポトーシス細胞(矢印)の数に有意な増加を示している。

20

【発明を実施するための形態】

【0021】

開示されている主題の詳細な記載は、限定するのではなく明瞭さのために以下の細区分に分けられる：

- I. 定義、
- II. 医薬組成物、及び
- III. 使用方法。

30

【0022】

I. 定義

本明細書に使用される用語は、開示されている主題の文脈の範囲内において及びそれぞれの用語が使用される特定の文脈において、当該技術の通常の意味を一般に有する。ある特定の用語が下記又は本明細書の他の部分に考察され、開示されている主題の組成物及び方法を記載する追加的な手引きを実践者に提供する。

【0023】

本明細書で使用される場合、語「1つの(a)」又は「1つの(an)」の使用は、特許請求の範囲及び/又は明細書における用語「含む(comprising)」と一緒に使用される場合、「1つ」を意味し得るが、「1つ以上」、「少なくとも1つ」及び「1つ又は1つを超える」の意味とも一致する。なお更に、用語「有する(having)」、「含む(including)」、「含有する(containing)」及び「含む(comprising)」は交換可能であり、当業者は、これらの用語が開放型用語であることを認識している。

40

【0024】

用語「約」又は「およそ」は、当業者により決定される特定の値の許容される誤差範囲内を意味し、これは、値がどのように測定又は決定されるか、すなわち測定系の限界に部分的に依存している。例えば、「約」は、当該技術における1回の実践当たり3以内の又は3を超える標準偏差を意味することができる。或いは、「約」は、所定の値の20%まで、好ましくは10%まで、より好ましくは5%まで、なおより好ましくは1%までの範囲を意味することができる。或いは、特に生物学的な系又は過程に関して、この用語は、値の

50

桁の範囲内、好ましくは5倍以内、より好ましくは2倍以内を意味することができる。

【0025】

本明細書で使用される場合、用語「投与する」は、任意の適切な経路(例えば、全身投与、経口投与及び静脈内投与)を意味することができる。

【0026】

用語「薬剤」は、本明細書で使用される場合、効果を生じる又は生じる可能性がある物質を意味し、化学物質、医薬品、生物製剤、小型有機分子、抗体、核酸、ペプチド及びタンパク質が含まれるが、これらに限定されない。

【0027】

「抗がん効果」又は「抗腫瘍効果」は、凝集がん細胞塊の低減、がん細胞増殖速度の低減、がん進行の低減、がん細胞繁殖の低減、腫瘍塊の低減、腫瘍体積の低減、腫瘍細胞繁殖の低減、腫瘍増殖速度の低減及び/又は腫瘍転移の低減のうちの1つ以上を指す。ある特定の実施形態において、抗がん効果は、がんが診断された患者における完全な応答、部分的な応答、安定した疾患(進行若しくは再発のない)、後期再発を有する応答又は無増悪生存期間を指すことができる。

10

【0028】

「抗がん剤」又は「抗腫瘍剤」は、本明細書で使用される場合、抗がん効果を有する任意の分子、化合物、化学物質又は組成物であり得る。抗がん剤には、化学療法剤、放射線治療剤、サイトカイン、抗血管新生剤、チロシンキナーゼ阻害剤(TKI)、アポトーシス誘導剤、抗がん抗体及び/又は免疫系の活性を促進する薬剤が含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、抗がん剤は放射線治療剤であり得る。ある特定の実施形態において、抗がん剤は免疫療法剤であり得る。ある特定の実施形態において、抗がん剤は化学療法剤であり得る。本開示の主題と共に使用することができる他の非限定的な例示的抗がん剤には、腫瘍抗原ベースワクチン及びキメラ抗原受容体T細胞が含まれる。

20

【0029】

本明細書で使用される場合、用語「同時投与する」は、本明細書に記載される組成物が、追加の療法と同時に、その直前に又はその直後に投与されることを意味する。本開示の組成物は単独で投与され得るか、又は第2の組成物/治療剤と共に対象に同時投与され得る。同時投与は、組成物を個別に又は第2の組成物/治療剤と組み合わせて同時又は順次投与にすることを含むことが意図される。加えて、第1及び第2の薬剤は、別々に又は一緒になって、1つ以上の組成物に製剤され得る。

30

【0030】

本明細書で使用される場合、「含む(comprises)」、「含むこと(comprising)」、「含有すること(containing)」及び「有すること(having)」等は、米国特許法に帰する意味を有することができる、「含む(includes)」、「含むこと(including)」等を意味することができる、「から実質的になる(consisting essentially of)」又は「実質的になる(consists essentially)」も同様に米国特許法に帰する意味を有し、この用語は開放型であり、引用されているものの基本的又は新規特徴が、引用されているもの以外の存在により変わらない限り、引用されているもの以外の存在を許容するが、従来技術の実施形態は除外される。

40

【0031】

本明細書で使用される場合、「併用投与」は、少なくとも部分的には継続期間が重複することを含む。例えば、2つの薬剤(例えば、本明細書に記載されている組成物のいずれか)が、同時発生的に投与される場合、これらの投与はある特定の所望の時間内に起こる。組成物の投与を同じ日に開始及び終了することができる。両方の組成物が同じ日に少なくとも1回摂取される限り、1つの組成物の投与を第2の組成物の投与より1日(数日)先行させることもできる。同様に、両方の組成物が同じ日に少なくとも1回摂取される限り、1つの組成物の投与を第2の組成物の投与を超えて延長することもできる。組成物は、併用投与に含まれるために毎日同じ時間に摂取される必要はない。

50

## 【0032】

本明細書で使用される場合、用語「疾患」は、細胞、組織又は臓器の正常な機能に損傷を与える又は干渉する任意の状態又は障害を指す。

## 【0033】

用語「検出」又は「検出すること」は、直接的又は間接的な検出を含む任意の検出手段を含む。

## 【0034】

用語「投与量」は、所定の時間枠における総量、例えば、 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{時間}$ 、 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ 、 $\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$ 又は $\text{mg}/\text{kg}/\text{時間}$ で表される製剤を包含することが意図される。投与量は、特定の投与量レジメンに従って投与される成分の量である。「用量」は、哺乳動物に投与される薬剤の単位体積又は単位質量の量、例えば、薬剤の $\text{mg}$ で表される絶対単位用量である。用量は、製剤中の薬剤の濃度、例えば、モル毎リットル(M)、体積当たりの質量(m/v)又は質量分率(mass per mass)(m/m)によって左右される。特定の投与量が製剤の1つ又は複数の用量の投与レジメンによって生じるので、2つの用語は密接に関連している。いずれにしても、特定の意味は文脈から明らかになる。

10

## 【0035】

薬剤の「有効量」又は「治療有効量」は、患者において所望の治療又は予防結果を達成する、例えば、がんを処置するのに必要な投与量及び時間で有効な量を指す。治療有効量を1回以上の投与で投与することができる。

## 【0036】

本明細において「個体」又は「対象」は、脊椎動物、例えば、ヒト又は非ヒト動物、例えば、哺乳動物である。哺乳動物には、ヒト、霊長類、家畜、競技用動物(sport animal)、げっ歯類及びペットが含まれるが、これらに限定されない。非ヒト動物対象の非限定例には、げっ歯類、例えば、マウス、ラット、ハムスター及びモルモット:ウサギ、イヌ、ネコ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、ウシ、ウマ、並びに非ヒト霊長類、例えば、類人猿及びサルが含まれる。

20

## 【0037】

本明細書に参照される用語「阻害すること」、「排除すること」、「減少させること」、「低減すること」若しくは「予防すること」、又はこれらの用語の任意の変形は、所望の結果を達成するための任意の測定可能な減少又は完全な阻害を含む。

30

## 【0038】

用語「必要とする(in need thereof)」は、疾患、例えば、がんを有すること又は発症するリスクがあることが知られている又は疑われる対象である。

## 【0039】

本明細書で使用される場合、「液剤」は、液体状態の組成物からなる剤形である。液剤は注ぐことが可能であり、室温で流動し、容器に相似する。液剤は、ニュートン型又は擬塑性流体挙動を表す。ある特定の実施形態において、「半液剤」は、本明細書で使用される場合、液剤と、別の製剤(例えば、懸濁剤、乳剤、溶液剤、クリーム剤、ゲル剤、ゼリー剤等)の両方の特性を有することができる。

## 【0040】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される担体」は、生理学的に適合性がある、あらゆる溶媒、分散媒体、コーティング剤、抗菌及び抗真菌剤、等張剤及び吸収遅延剤等を含む。担体のタイプは、意図される投与経路に基づいて選択され得る。薬学的に活性な物質におけるそのような媒体及び薬剤の使用は、当該技術において周知である。

40

## 【0041】

本明細書で使用される場合、用語「予防する(prevent)」、「予防すること(preventing)」又は「予防(prevention)」、「予防処置(prophylactic treatment)」等は、障害又は状態を有さないが、発症するリスク又は疑いを有する対象において、障害又は状態を発症する確率を低減することを指す。予防は、完全(すなわち、検出可能な症状がない)又は部分的であることができ、それにより処置の非存在下で発症する恐れがある症状

50

より少ない症状が観察される。この用語は、予防利益を更に含む。予防される疾患又は状態のために、疾患の診断ができなくても、特定の疾患を発症するリスクのある患者、又は疾患の1つ以上の生理学的症状が報告されている患者に組成物を投与することができる。

【0042】

本明細書で使用される場合、「溶液剤」は、溶媒又は相互混和性溶媒混合物に溶解された1つ以上の化学物質を含有する透明で均質な液体剤形である。溶液剤は、適切な溶媒又は相互混和性溶媒混合物に溶解された1種以上の化学物質を含有する液体調合剤である。溶液剤中の原薬の分子が均一に分散されているので、剤形として溶液剤を使用することは、溶液剤が希釈、そうでなければ混合される場合、投与時の均一な投与量及び良好な精度を確保することを一般に提供する。

10

【0043】

本明細書で使用される場合、「処置(treatment)」(その文法上の変形、例えば、「処置する(treat)」又は「処置すること(treating)」)は、処置される個体の自然経過を変えようと試みる臨床介入を指し、予防として又は臨床病理の過程として実施することができる。処置の所望の効果には、生存を延ばすこと、疾患の再発を予防すること、症状を軽減すること、疾患の任意の直接的又は間接的な病理的帰結(pathological consequence)を減らすこと、転移を予防すること、疾患進行の速度を減少させること、疾患状態を軽快させる又は緩和すること、及び予後を寛解させる又は改善することが含まれるが、これらに限定されない。ある特定の実施形態において、本開示の主題の抗体は、例えばがん及び/又は腫瘍等の疾患の発生を遅延するため又は疾患の進行を緩徐するために使用される。

20

【0044】

本明細書で使用される場合、「順次投与」は、2つの薬剤(例えば、本明細書に記載されている組成物)の投与が、同じ日に別々に起こること、又は同じ日に起こらないこと(例えば、連日起こること)を含む。

【0045】

本明細書で使用される場合、任意の濃度範囲、百分率範囲、比の範囲又は整数範囲は、特に示されない限り、引用されている範囲内の任意の整数の値、適切であればその分数(例えば、整数の10分の1及び100分の1)を含むことが理解されるべきである。

【0046】

30

## 11. 医薬組成物

本開示は、がん又は腫瘍の増殖を減少させるための、治療有効量の2,4-ジスルホニル-フェニルtert-ブチルニトロン(2,4-ds-PBN)又はその薬学的に許容される塩を含む医薬組成物を提供する。

【0047】

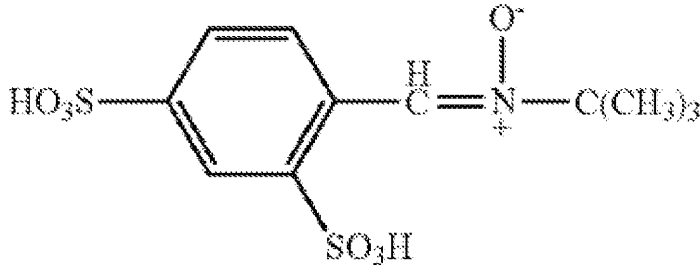
ある特定の実施形態において、2,4-ds-PBNは、低pH条件下で固体又は溶液である、以下の式Iの酸形態で存在することができる。

【0048】

40

50

【化1】



2,4-ジスルホニルPBN

10

式I

【0049】

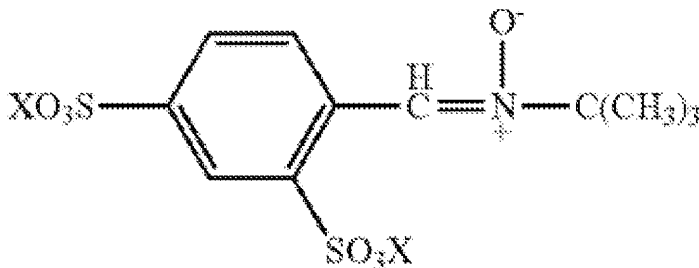
非限定の実施形態において、2,4-ds-PBNは、高pH条件下で以下の式II又は式IIIのイオン化塩形態で存在することができる。

【0050】

【化2】

式II

20



式III

30

【0051】

一部の実施形態において、式IIIのXは、薬学的に許容される陽イオンであり得る。例えば、この陽イオンは、一価の物質、例えば、ナトリウム、カリウム又はアンモニウムであり得る。非限定の実施形態において、陽イオンは、多価のみであり得るか、又は薬学的に許容される一価陰イオンと組み合わせた陽イオンであり得る。例えば、薬学的に許容される一価陰イオンには、塩化物、臭化物、ヨウ化物、ヒドロキシル、硝酸塩、スルホン酸塩、酢酸塩、酒石酸塩、シュウ酸塩、コハク酸塩、パルム酸塩(palmoate)等の陰イオンを有するカルシウム、そのような陰イオンを有するマグネシウム、そのような陰イオンを有する亜鉛等が含まれ得る。非限定の実施形態では、遊離酸、及びナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム又はアンモニウム塩が好まれ得る。

40

【0052】

ある特定の実施形態において、2,4-ds-PBNは、2ステップ反応順序で調製することができる。例えば、第三級硝酸ブチル(2-メチル-2-ニトロプロパン)は、適切な触媒、例えば、活性亜鉛/酢酸触媒又はアルミニウム/水銀アマルガム触媒を使用して対応するn-ヒドロキシルアミンに変換することができる。この反応は、液体反応媒体において、例えば、亜鉛触媒の場合にはアルコール/水混合物において又はアルミニウムアマルガム触媒の場合にはエーテル/水混合物において、約15~100の温度で約0.5~12時間、とりわけ約2~6時間ほど実行することができる。新たに形成されたヒドロキシルアミンを、わ

50

ずかに過剰量のアミンを使用して4-ホルミル-1,3-ベンゼンジスルホン酸と反応させることができる。この反応を類似した温度条件で実行することができる。反応を、約10～約24時間で完了させることができる。2つの反応で形成された物質は、遊離酸であり、337.3g/モルの分子量によって特徴付けることができる。一部の実施形態において、形成された物質は、白色の粉末状物質であり、加熱によって分解する。非限定的実施形態において、形成された物質は、1グラム/mlを超える水中溶解度及び8.048ppm(dd、8.4、1.7Hz)、8.836ppm(d、8.4Hz)、8.839ppm(d、1.7Hz)、8.774ppm(s)のD<sub>2</sub>Oの<sup>1</sup>H NMRスペクトルによって特徴付けることができる。

【0053】

遊離酸を媒体中で塩基と、例えば、カリウム塩のためにKOH等と混合することによって、様々な塩を容易に形成することができる。 10

【0054】

ある特定の実施形態において、開示されている組成物は、改善された輸送効率を有することができる。例えば、2,4-ds-PBNは、血液/脳関門を横切る改善された輸送効率を提供することができる。

【0055】

ある特定の実施形態において、本開示の主題における使用に適した医薬組成物は、活性成分、例えば2,4-ds-PBNが治療有効量で含有される組成物を含むことができる。活性成分の治療有効量は、活性成分、使用される組成物、がん及び/又は腫瘍、並びにその重症度、治療される対象の年齢、体重等に応じて変わり得る。ある特定の実施形態において、対象は、開示されている組成物の治療有効量を、1つ以上の組成物の単回又は多回投与で受けることができ、これは、患者に必要とされる及び耐容される投与量及び頻度によって左右され得る。 20

【0056】

ある特定の実施形態において、医薬組成物中の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の治療有効量は、少なくとも約5mg/kg体重/日、少なくとも約10mg/kg体重/日、少なくとも約20mg/kg体重/日、少なくとも約50mg/kg体重/日、少なくとも約100mg/kg体重/日、少なくとも約200mg/kg体重/日、少なくとも約300mg/kg体重/日、少なくとも約400mg/kg体重/日、少なくとも約500mg/kg体重/日、少なくとも約600mg/kg体重/日、少なくとも約700mg/kg体重/日、少なくとも約800mg/kg体重/日、少なくとも約900mg/kg体重/日又は少なくとも約1,000mg/kg体重/日であり得る。非限定的実施形態において、有効用量は、約5mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約10mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約10mg/kg体重/日～約400mg/kg体重/日、約10mg/kg体重/日～約300mg/kg体重/日、約10mg/kg体重/日～約200mg/kg体重/日、約10mg/kg体重/日～約100mg/kg体重/日、約20mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約50mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約50mg/kg体重/日～約600mg/kg体重/日、約50mg/kg体重/日～約400mg/kg体重/日、約50mg/kg体重/日～約200mg/kg体重/日、約60mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約70mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約80mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約90mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約100mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約200mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約300mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約400mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約500mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約600mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約700mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約800mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約900mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約800mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約700mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約600mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約400mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約300mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約200mg/kg体重/日、又は約5mg/kg体重/日～約100mg/kg体重/日であり得る。 30 40 40

## 【 0 0 5 7 】

活性化合物(例えば、2,4-ds-PBN)を含有する医薬組成物は、当業者が従来 of 基準を使用して選択することがきる生理学的に適合するビヒクルを含有することができる。本開示の主題により使用することができる適切な薬学的に許容されるビヒクルは、活性成分、例えば、2,4-ds-PBNの生物学的活性の有効性に干渉しない及び投与される患者に毒性ではない特徴を有する。非限定的実施形態において、適切な医薬ビヒクルには、リン酸緩衝食塩水、水、乳剤、例えば、水中油乳剤、様々なタイプの湿潤剤、及び滅菌溶液が含まれ得る。薬学的に許容されるビヒクルの追加的な非限定例には、ゲル、生体吸収性マトリックス物質、阻害剤を含有する移植要素、及び/又は他の任意の適切なビヒクル、送達若しくは分配手段若しくは物質が含まれる。そのような薬学的に許容されるビヒクルは、従来の方法により製剤され、対象に投与され得る。ある特定の実施形態において、薬学的に許容されるビヒクルには、緩衝剤、例えば、リン酸、クエン酸及び他の有機酸;アスコルビン酸及びメチオニンが含まれる酸化防止剤;防腐剤(例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド、ヘキサメトニウムクロリド、ベンザルコニウムクロリド、ベンゼトニウムクロリド、ブチル又はベンジルアルコール、アルキルパラベン、例えばメチル又はプロピルパラベン、カテコール、レゾルシノール、シクロヘキサノール、3-ペンタノール及びm-クレゾールであるが、これらに限定されない);低分子量(約10個未満の残基)ポリペプチド;タンパク質、例えば血清アルブミン、ゼラチン又は免疫グロブリン;親水性ポリマー、例えばポリビニルピロリドン;アミノ酸、例えばグリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン又はリジン;単糖類、二糖類、及びグルコース、マンノース又はデキストリンを含む他の炭水化物;キレート剤、例えばEDTA;糖、例えばスクロース、マンニトール、トレハロース又はソルビトール;塩形成対イオン、例えばナトリウム;金属錯体(例えば、Znタンパク質錯体);及び/又は非イオン性界面活性剤、例えばポリエチレングリコール(PEG)が含まれ得る。ある特定の実施形態において、適切な薬学的に許容されるビヒクルには、水、食塩水、リン酸緩衝食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノール又はこれらの組合せのうちの1つ以上が含まれ得る。

10

20

## 【 0 0 5 8 】

ある特定の実施形態において、医薬組成物は、経口投与用に製剤され得る。例えば、本開示の医薬組成物は、経口投与に適した当該技術に周知の薬学的に許容される担体を使用して製剤され得る。そのような担体は、錠剤、丸剤、カプセル剤、液剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー剤、懸濁剤等として、処置される患者による経口摂取又は経鼻摂取用に医薬組成物を製剤することを可能にする。非限定的実施形態において、医薬組成物は、固体剤形であり得る。一部の実施形態において、錠剤は、即時放出錠剤であり得る。代替的又は追加的に、錠剤は、延長又は制御放出錠剤であり得る。固体投与量は、即時放出部分及び延長又は制御放出部分の両方を含むことができる。

30

## 【 0 0 5 9 】

ある特定の実施形態において、医薬組成物は、腸溶性コーティング錠剤又は腸溶性カプセル剤として製剤され得る。例えば、2,4-ds-PBNは、少なくとも1つのコーティング層で腸溶性コーティングされ得る。非限定的実施形態において、腸溶性コーティングのコーティング材料には、遅延放出腸溶性ポリマーが含まれ得る。遅延放出腸溶性ポリマーの適切な例には、セルロースアセテートフタレート、セルロースアセテートトリメリテート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、ポリビニルアセテートフタレート、カルボキシメチルエチルセルロース、共重合型メタクリル酸/メタクリル酸メチルエステル、例えば、商品名EUDRAGIT(登録商標)L12.5、L100、EUDRAGIT(登録商標)S12.5、S100で知られている物質、又は腸溶性コーティングを得るために使用される類似の化合物が含まれ得るが、これらに限定されない。共重合型メタクリル酸/メタクリル酸メチルエステルには、3つの下位分類の化合物:メタクリル酸コポリマータイプA、メタクリル酸コポリマータイプB及びメタクリル酸コポリマータイプCが含まれ得る。様々なタイプのコポリマーが、メタクリル酸とメタクリル酸メチルエステルとの様々な比を有する化合物を表す。例えば、メタクリル酸コポリマータイプAは、メタクリル酸とメタクリル酸メ

40

50

チルエステルとのおよそ1:1の比を有し、タイプBは、およそ1:2の比を有し、タイプCはタイプAと類似した比を有するが、追加の構成成分、例えば界面活性剤を組み込むことができる。水性コロイドポリマー分散体又は再分散体を適用することもでき、例えば、商品名EUDRAGIT(登録商標)L 30D-55、EUDRAGIT(登録商標)L100-55、EUDRAGIT(登録商標)S100、EUDRAGIT(登録商標)調合剤4110D(Rohm Pharma);EUDAGRIT OFS 30D; AQUATERIC(登録商標)、AQUACOAT(登録商標)CPD 30 (FMC);KOLLIC OAT MAE(登録商標)30D及び30DP(BASF);及びEASTACRYL(登録商標)30D(Eastman Chemical)で販売されているポリマーが含まれる。一部の実施形態において、遅延放出腸溶性ポリマーには、メタクリル酸コポリマータイプAが含まれ得

る。非限定的実施形態において、遅延放出腸溶性ポリマーには、メタクリル酸コポリマータイプAとメタクリル酸コポリマータイプBとの混合物が含まれ得る。当業者は、追加の構成成分が本開示の範囲を逸脱することなく遅延放出ポリマーに添加され得ることを理解する。例えば、可塑剤を遅延放出腸溶性ポリマーに添加して、遅延放出ポリマー層の物理的特性を改善することができる。可塑剤の非限定例には、クエン酸トリエチル、クエン酸アセチルトリエチル、クエン酸トリブチル、クエン酸アセチルトリブチル、クエン酸トリヘキシル、クエン酸アセチルトリヘキシル、クエン酸トリオクチル、クエン酸アセチルトリオクチル、クエン酸ブチリルトリヘキシル(butyryl trihexyl citrate)、アセチルブチリルトリヘキシルシトレート(acetyl butyryl trihexyl citrate)、クエン酸トリメチル、アセチル化モノグリセリド、アルキルスルホン酸フェニルエステル又はこれらの組合せが含まれ得る。一部の実施形態において、可塑剤には、クエン酸トリエチルが含まれ得る。

#### 【0060】

ある特定の実施形態において、開示されている腸溶性ポリマーは、pH感受性ではない他の公知のコーティング製品との混合によって改質され得る。そのようなコーティング製品には、商品名EUDRAGIT(登録商標)及びEUDRAGIT(登録商標)RLで現在販売されている、少量のトリメチルアンモニオエチルメタクリレートクロリドを有する中性メタクリル酸エステル、商品名EUDRAGIT(登録商標)NE30D及びEUDRAGIT(登録商標)NE30で販売されている、官能基を何も有さない中性エステル分散体、並びに他のpH非依存性コーティング製品が含まれ得る。

#### 【0061】

ある特定の実施形態では、追加の改質層を腸溶性コーティング層の上に添加することができる。この改質層は、水浸透バリア層(半透過性ポリマー)を含むことができ、これを腸溶性コーティングの後に連続してコーティングして、腸溶性コーティングを介した水浸透速度を低減することができ、よって薬物放出の遅れ時間を増加させることができる。当業者に公知の制御放出コーティングを、コーティング技術によって、例えば、水若しくは適切な有機溶媒中のポリマー溶液を使用する又は水性ポリマー分散体を使用するパンコーティング又は流動層コーティングによって、この目的のために使用することができる。例えば、以下の制御放出ポリマーの非限定的列挙を本開示に使用することができ、酢酸セルロース、酢酸酪酸セルロース、セルロースアセテートプロピオネート、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、酢酸セルロース、プロピオン酸セルロース(低、中又は高分子量)、セルロースアセテートプロピオネート、酢酸酪酸セルロース、セルロースアセテートフタレート、三酢酸セルロース、ポリ(メチルメタクリレート)、ポリ(エチルメタクリレート)、ポリ(ブチルメタクリレート)、ポリ(イソブチルメタクリレート)、ポリ(ヘキシルメタクリレート)、ポリ(イソデシルメタクリレート)、ポリ(ラウリルメタクリレート)、ポリ(フェニルメタクリレート)、ポリ(メチルアタクリレート)、ポリ(イソプロピルアクリレート)、ポリ(イソブチルアクリレート)、ポリ(オクタデシルアクリレート)、ポリ(エチレン)、ポリ(エチレン)低密度、ポリ(エチレン)高密度、ポリ(プロピレン)、ポリ(エチレンオキシド)、ポリ(エチレンテレフタレート)、ポリ(ビニルイソブチルエーテル)、ポリ(酢酸ビニル)、ポリ(塩化ビニル)、ポリウレタン、エチルセルロース水性分散体、例えばAQUACOAT(登録商標)及びSURELEASE(登録商標)、ポリ(ブチルメ

タクリレート、(2-ジメチルアミノエチル)メタクリレート、メチルメタクリレート)、ポリ(メタクリル酸、メチルメタクリレート)、ポリ(メタクリル酸、エチルアクリレート)、ポリ(メチルアクリレート、メチルメタクリレート、メタクリル酸)、ポリ(エチルアクリレート、メチルメタクリレート、トリメチルアンモニオエチルメタクリレートクロリド)、ポリ(エチルアクリレート、メチルメタクリレート)、ポリ(メタクリル酸、エチルアクリレート)、タイプAメタクリル酸コポリマー、タイプBメタクリル酸コポリマー、タイプCメタクリル酸コポリマー、メタクリル酸コポリマー分散体、水性アクリルポリマー分散体、(EUDRAGIT(登録商標)化合物)、OPADRY(登録商標)、脂肪酸及びこれらのエステル、ワックス、ゼイン、並びに水性ポリマー分散体、例えば、EUDRAGIT(登録商標)RS及びRL 30D、EUDRAGIT(登録商標)NE 30D、酢酸セルロースラテックスである。上記のポリマーと、親水性ポリマー、例えば、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース(KLUCEL(登録商標)、Hercules Corp.)、ヒドロキシプロピルメチルセルロース(METHOCEL(登録商標)、Dow Chemical Corp.)及びポリビニルピロリドンとの組合せを組み込むことができる。非限定的実施形態において、制御放出ポリマーは、エチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース及びこれらの組合せを含むことができる。一部の実施形態において、制御放出ポリマーは、エチルセルロースとヒドロキシプロピルメチルセルロースとの比が約0.1～約10、約0.2～約5、約0.5～約3、及び約1～約2の範囲であるエチルセルロースとヒドロキシプロピルメチルセルロースの組合せを含むことができる。非限定的実施形態において、制御放出ポリマーは、エチルセルロース水性分散体とヒドロキシプロピルメチルセルロースとの比が約0.1～約10、約0.1～約5、約0.5～約4、及び約1.5～約3の範囲であるエチルセルロース水性分散体とヒドロキシプロピルメチルセルロースの組合せを含むことができる。

10

20

#### 【0062】

ある特定の実施形態において、コーティング層は、生理学的環境において、約5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1又は7.2を超える及びこれらの間の値若しくは範囲のpHで可溶化し得る。非限定的実施形態において、コーティング層は、生理学的環境において、約5.0、5.1、5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、6.0、6.1、6.2、6.3、6.4、6.5、6.6、6.7、6.8、6.9、7.0、7.1又は7.2未満及びこれらの間の値若しくは範囲のpHで2,4-ds-PBNの放出を防止することができる。生理学的環境は、例えば、腸溶性コーティング錠剤の米国薬局方(USP)崩壊試験の要件に従って複製することができる。

30

#### 【0063】

ある特定の実施形態において、調合剤へのコーティングは、当該技術に公知のコーティング技術(例えば、噴霧、流動層、浸管(immersion tube)又は浸層(immersion bed)技術)によって達成することができる。

#### 【0064】

非限定的実施形態において、本開示の医薬組成物は、非経口投与に適した当該技術に周知の薬学的に許容される担体を使用して製剤され得る。用語「非経口投与」及び「非経口投与される」は、本明細書で使用される場合、経腸及び局所投与以外の、通常は注射による投与様式を指し、限定するものではないが、静脈内、筋肉内、動脈内、鞘内(intrathecal)、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、髄腔内(intraspinal)、硬膜外及び胸骨内(intrasternal)の注射及び注入が含まれる。例えば、限定するのではなく、本開示の医薬組成物は、薬学的に許容される担体、例えば生理食塩水により患者に静脈内投与され得る。ある特定の実施形態において、本開示は、本明細書に開示されている阻害剤を含む非経口医薬組成物を提供する。

40

#### 【0065】

非限定的実施形態において、開示されている組成物は、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩を含むことができ、治療有効量は、がん又は腫瘍の増殖を減少させる量で存在することができ、がんは非小細胞肺癌であってもよく、医薬組成物は、

50

経口投与又は経腸投与用の錠剤、丸剤、カプセル剤、ゲル剤、液剤、シロップ剤、スラリー剤又は懸濁剤であってもよく、経口投与又は経腸投与用の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の治療有効量は、約5mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日であってもよく、組成物は、2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩をカプセル化し、所定の範囲のpHで可溶化し得る少なくとも1つのコーティング層を含むことができるか、或いは医薬組成物は、静脈内注射又は動脈内注射用の溶液剤又は液剤の形態であってもよく、静脈内注射又は動脈内注射用の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の治療有効量は、約10mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日であり得る。

【0066】

### III. 方法

本開示は、対象においてがん又は腫瘍を処置する方法を提供する。本方法は、がん又は腫瘍の増殖を減少させるための、治療有効量の2,4-ジスルホニル -フェニルtert-ブチルニトロン(2,4-ds-PBN)を含む組成物を投与することを含む。

【0067】

ある特定の実施形態において、有効用量の組成物を投与することは、標的腫瘍又は標的がんの出現、再発、拡散、増殖、転移又は血管新生を処置又は予防することができる。非限定的実施形態において、腫瘍又はがんの増殖は、少なくとも約1%、少なくとも約3%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%又は少なくとも約70%低減され得る。

【0068】

非限定的実施形態において、有効用量の組成物を投与することは、標的腫瘍及び/又はがんの面積、体積又はこれらの組合せを減少させることができる。非限定的実施形態において、腫瘍又はがんの体積は、少なくとも約1%、少なくとも約3%、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%又は少なくとも約70%低減され得る。例えば、非小細胞肺癌の体積は、医薬組成物を標的がん及び/又は標的腫瘍に送達した後に約70%減少し得る。

【0069】

ある特定の実施形態において、本方法は、がん又は腫瘍の体積を測定することによって、組成物の有効性を査定することを更に含むことができる。例えば、各腫瘍の最大直径(a)及び最小直径(b)を、腫瘍及び/又はがんの面積又は体積を推定するために1週間に少なくとも1、2、3、4、8、12、18若しくは24回又はそれ以上測定することができる。

【0070】

ある特定の実施形態において、有効用量の組成物を投与することは、標的腫瘍及び/又はがん細胞のアポトーシス又は壊死を増加させることができる。例えば、標的腫瘍及び/又はがん細胞のアポトーシス又は壊死活性のグレードを増加させることができる。グレードは、標的腫瘍及び/又は標的がんのヒストグラム面積(例えば、約1mm<sup>2</sup>)当たりの陽性細胞の数によって決定され得る。アポトーシス又は壊死グレードは、陽性細胞の平均数を計算することによって決定することができ、対応する重症度(例えば、最小、僅か、中程度、顕著及び重症)にグレード分けすることができる。非限定的実施形態において、標的がん及び/又は標的腫瘍の所定面積における総数又は平均値は、開示されている組成物の投与後に減少し得る。例えば、アポトーシス細胞の計数平均値は、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約100%、少なくとも約110%、少なくとも約120%又は少なくとも約130%増加し得る。一部の実施形態において、有効用量の組成物を投与することは標的腫瘍及び/又はがん細胞のアポトーシスを増加させることができ、アポトーシス細胞の計数平均値を約130%増

10

20

30

40

50

加させることができる。

【0071】

ある特定の実施形態において、本方法は、アポトーシスが細胞又はアポトーシス腫瘍細胞を数えることによって、組成物の有効性を査定することを更に含むことができる。例えば、標的腫瘍又はがんを患者から得ることができ、ヘマトキシリン及びエオシン(H&E)染色並びにTUNEL染色によって調製することができる。得られたがん/腫瘍の壊死をH&E染色で評価することができ、得られたがん/腫瘍のアポトーシスを所定面積(例えば、約1mm<sup>2</sup>)当たりのTUNEL染色陽性細胞数によって評価することができる。一部の実施形態において、腫瘍及び/又はがんのアポトーシスは、陽性細胞の平均数を計算して決定することができ、対応する重症度(例えば、最小、僅か、中程度、顕著及び重症)にグレード分けすることができる。

10

【0072】

ある特定の実施形態において、標的がんは、非小細胞肺癌及び固形がん(例えば、胃がん、結腸がん、乳がん等)であり得る。

【0073】

投与量レジメン

例えば、限定するのではなく、開示されている主題の投与は、経口投与、全身投与、静脈内投与又は標的組織への局所注射であり得る。経口投与の例には、がん又は腫瘍の増殖を減少させるための、2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩を含有する組成物を、錠剤、丸剤、カプセル剤、液剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー剤、懸濁剤等の形態で対象の口を介して対象に送達することが含まれ得る。全身投与の例には、がん又は腫瘍の増殖を減少させるための、2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩を含有する組成物の静脈内、腹腔内、筋肉内若しくは皮下の注射、吸入(経口若しくは経鼻)、経皮、坐剤、又は浣腸投与が含まれる。一部の実施形態において、医薬組成物は、全身投与、静脈内投与又は標的がん若しくは腫瘍への局所注射用の溶液剤の形態であり得る。

20

【0074】

ある特定の実施形態では、以下の投与量レジメンを使用して、対象におけるがん又は腫瘍を処置することができる。非限定的実施形態において、経口投与用の組成物は、少なくとも約5mg/kg体重/日、少なくとも約10mg/kg体重/日、少なくとも約20mg/kg体重/日、少なくとも約50mg/kg体重/日、少なくとも約100mg/kg体重/日、少なくとも約200mg/kg体重/日、少なくとも約300mg/kg体重/日、少なくとも約400mg/kg体重/日、少なくとも約500mg/kg体重/日、少なくとも約600mg/kg体重/日、少なくとも約700mg/kg体重/日、少なくとも約800mg/kg体重/日、少なくとも約900mg/kg体重/日又は少なくとも約1000mg/kg体重/日の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩を含むことができる。非限定的実施形態において、経口投与の有効用量は、約5mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約10mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約10mg/kg体重/日～約400mg/kg体重/日、約10mg/kg体重/日～約300mg/kg体重/日、約10mg/kg体重/日～約200mg/kg体重/日、約10mg/kg体重/日～約100mg/kg体重/日、約20mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約50mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約50mg/kg体重/日～約600mg/kg体重/日、約50mg/kg体重/日～約400mg/kg体重/日、約50mg/kg体重/日～約200mg/kg体重/日、約60mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約70mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約80mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約90mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約100mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約200mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約300mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約400mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約500mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約600mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約700mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約800mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約900mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約800mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約700mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約600mg/kg体重/日、約5

30

40

50

mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約400mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約300mg/kg体重/日、約5mg/kg体重/日～約200mg/kg体重/日又は約5mg/kg体重/日～約100mg/kg体重/日であり得る。

【0075】

ある特定の実施形態において、組成物は、組成物の開示されている用量を対象に毎日1～4回経口投与することによって、対象に投与され得る。例えば、組成物を1日に1、2、3若しくは4回、又はそれ以上適用することができる。ある特定の実施形態において、組成物は、組成物の開示されている用量を対象に毎日1回、毎日2回、毎日3回又は毎日4回投与することによって適用され得る。例えば、限定するのではなく、組成物は、組成物の開示されている用量を、例えば朝、昼又は夕方を含む毎日3回標的組織に投与することによって適用され得る。非限定的実施形態では、開示されている組成物を、いくつかの部分に分割した適切な量で特定の時間にわたって投与することができる。

10

【0076】

ある特定の実施形態において、全身投与、静脈内投与又は局所注射用の組成物は、少なくとも約10mg/kg体重/日、少なくとも約20mg/kg体重/日、少なくとも約30mg/kg体重/日、少なくとも約40mg/kg体重/日、少なくとも約50mg/kg体重/日、少なくとも約60mg/kg体重/日、少なくとも約70mg/kg体重/日、少なくとも約80mg/kg体重/日、少なくとも約90mg/kg体重/日、少なくとも約100mg/kg体重/日、少なくとも約200mg/kg体重/日、少なくとも約300mg/kg体重/日、少なくとも約400mg/kg体重/日又は少なくとも約500mg/kg体重/日の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩を含むことができる。非限定的実施形態において、全身投与、静脈内投与又は局所注射の有効用量は、約10mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約20mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約30mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約40mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約50mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約60mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約70mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約80mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約90mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約100mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約200mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約300mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約20mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日、約20mg/kg体重/日～約400mg/kg体重/日、約20mg/kg体重/日～約300mg/kg体重/日、約20mg/kg体重/日～約200mg/kg体重/日、約20mg/kg体重/日～約100mg/kg体重/日、約60mg/kg体重/日～約400mg/kg体重/日、約60mg/kg体重/日～約300mg/kg体重/日又は約60mg/kg体重/日～約200mg/kg体重/日であり得る。

20

30

【0077】

ある特定の実施形態において、全身投与、静脈内投与又は局所注射用の組成物は、水性生理学的緩衝剤中の液体溶液又は懸濁液で調製され得る。

【0078】

全身投与、静脈内投与又は局所注射用の組成物は、標的領域への全身、静脈内又は局所適用のために調製された組成物を1週間に1、2、3、4、5、6又は7回送達することによって、標的がん及び/又は標的腫瘍に投与され得る。非限定的実施形態において、医薬組成物は、1週間に1回又は1週間に2回又は1週間に3回又は1週間に4回又は1週間に5回送達され得る。

40

【0079】

ある特定の実施形態において、投与される投与量は、公知の要因、例えば、投与経路、レシピエントの年齢、健康及び体重、症状の性質及び程度、併用処置の種類、処置の頻度及び望ましい効果に応じて変わり得る。非限定的実施形態において、開示されている投与量レジームは、個体の必要性及び組成物を投与する又は投与を指導する人物の専門的な判断に従って経時的に調整され得る。例えば、組成物の投与量は、より低い用量が本明細書に記載されている状態(例えば、非小細胞肺癌)の処置に十分な活性を提供しない場合、増加され得る。或いは、組成物の投与量は、疾患(例えば、非小細胞肺癌)が低減され、もは

50

や検出可能でない又は排除されている場合、減少され得る。

【0080】

ある特定の実施形態において、開示されている組成物は、単回用量又は分割用量で対象に投与され得る。

【0081】

ある特定の実施形態において、開示されている処置の継続期間は、約1日～約5年の間であり得る。ある特定の実施形態において、開示されている処置の継続期間は、およそ少なくとも約2週間、少なくとも約3週間、少なくとも約1か月、少なくとも約2か月、少なくとも約3か月、少なくとも約4か月、少なくとも約5か月、少なくとも約6か月、少なくとも約7か月、少なくとも約8か月、少なくとも約9か月、少なくとも約10か月、少なくとも約11か月、少なくとも約12か月、少なくとも約2年間、少なくとも約3年間、少なくとも約4年間又は少なくとも約5年間であり得る。ある特定の実施形態では、組成物を、がん/腫瘍がもはや検出可能でなくなるまで投与することができる。

10

【0082】

同時投与

ある特定の実施形態では、本明細書に開示されている組成物を単独で、又は1つ以上の療法と組み合わせて使用することができる。例えば、限定するのではなく、本開示の方法は、開示されている組成物及び1つ以上の抗腫瘍又は抗がん療法を施すことを含むことができる。「組み合わせ」とは、本明細書で使用される場合、開示されている組成物及び1つ以上の療法が処置レジメン又はプランの一部として対象に投与され得ることを意味する。ある特定の実施形態において、組み合わせで使用されることは、組成物及び追加の療法の1つ以上の薬剤が投与前に物理的に組み合わせられること、同じ経路で投与されること又は同じ時間枠にわたって投与されることを必要としない。ある特定の実施形態において、追加の療法の薬剤は、開示されている組成物の前に投与され得る。ある特定の実施形態において、追加の療法の薬剤は、開示されている組成物の後に投与され得る。ある特定の実施形態において、追加の療法の薬剤は、開示されている組成物と同時に投与され得る。非限定的で例示的な追加の療法には、抗腫瘍処置、抗がん処置、化学療法、標的療法、免疫療法、放射線、ラジオ波焼灼療法、外科手術、腫瘍治療場(TTFields)デバイスを使用する療法又はこれらの組合せが含まれ得るが、これらに限定されない。非限定的実施形態において、追加の療法の薬剤には、シスプラチン、シクロホスファミド、ドキソルビシン、ピンクリスチン、トポテカン、ペメトレキセド、ゲフィチニブ、エルロチニブ、ダコミチニブ、オシメルチニブ、ニボルマブ、ペムプロリズマブ、アテゾリズマブ、デュルバルマブ、化学療法剤、放射線治療剤、サイトカイン、抗血管新生剤、チロシンキナーゼ阻害剤(TKI)、アポトーシス誘導剤、抗がん抗体、標的化薬物、及び/又は、例えばインターロイキン2(IL-2)、インターフェロン、抗CTLA4抗体、抗PD-1抗体及び/若しくは抗PD-L1抗体であるが、これらに限定されないサイトカインが含まれるが、これに限定されない免疫系の活性を促進する薬剤、免疫チェックポイント阻害剤、免疫細胞療法剤、抗体医薬(therapeutic antibodies)、抗がんワクチン、或いはこれらの組合せが含まれ得る。ある特定の実施形態において、抗がん剤は、タキサン、白金ベース剤、アントラサイクリン、アントラキノン、アルキル化剤、HER2標的療法、ピノレルピン、ヌクレオシド類似体、イクサベピロン、エリブリン、シタラピン、ホルモン療法、メトトレキサート、カペシタピン、ラパチニブ、5-FU、エトポシド又はこれらの任意の組合せであり得る。

20

30

40

【0083】

ある特定の実施形態において、開示されている組成物を1つ以上の追加の療法と組み合わせて投与することは、標的腫瘍及び/又はがん増殖を減少又は予防する組合せ効果又は相乗効果を誘導することができる。例えば、限定するのではなく、標的がん及び/又は標的腫瘍の面積及び体積の増殖における相乗的減少は、開示されている組成物と追加療法の組合せが対象に送達される場合に起こり得る。非限定的実施形態において、開示されている組成物は、標的腫瘍及び/又は標的がんの増殖を抑制することができ、標的がん及び/又は標的腫瘍処置への追加の療法の感受性を増加させることができる。

50

## 【 0 0 8 4 】

非限定的実施形態において、それを必要とする対象においてがん又は腫瘍を処置する開示されている方法は、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩を投与すること、がん又は腫瘍の体積、面積又はこれらの組合せを測定すること、アポトーシスがん細胞又はアポトーシス腫瘍細胞を数えること、治療有効量の抗がん剤又は抗腫瘍剤を対象に投与すること、及び追加の療法を施すことを含むことができ、ここで、治療有効量は、がん又は腫瘍の増殖を減少させることができ、がんは、非小細胞肺癌であってもよく、2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の治療有効量は、約20mg/kg体重/日～約1,200mg/kg体重/日であってもよく、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩は、静脈内注射又は動脈内注射を介して対象に送達することができるか、又は代替的に治療有効量の2,4-ds-PBN若しくはその薬学的に許容される塩は、経腸投与又は経口投与を介して対象に送達することができるか、がん体積又は腫瘍体積は、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の投与後に少なくとも約50%減少する可能性があり、がん又は腫瘍の増殖は、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の投与後に少なくとも約40%減少する可能性があり、アポトーシスがん細胞又はアポトーシス腫瘍細胞の数は、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩の投与後に少なくとも約15%増加する可能性があり、治療有効量の2,4-ds-PBN又はその薬学的に許容される塩は、少なくとも1週間に1回対象に送達することができるか、抗がん/抗腫瘍剤は、化学療法剤、免疫療法剤、サイトカイン、抗血管新生剤、チロシンキナーゼ阻害剤(TKI)、アポトーシス誘導剤、抗がん抗体及びこれらの組合せからなる群から選択されてもよく、追加の療法は、抗腫瘍療法、抗がん療法、化学療法、標的療法、免疫療法、放射線療法、ラジオ波焼灼療法、外科手術、腫瘍治療場(TTFields)デバイスを使用する療法又はこれらの組合せからなる群から選択され得る。

10

20

## 【 0 0 8 5 】

## [実施例]

本開示の主題は、本開示の主題を限定するのではなく例示するために提示されている以下の実施例を参照することによって、より良好に理解される。

## 【 0 0 8 6 】

実施例:ヌードマウスに異種移植されたヒト肺がん細胞系A549に対するOKN-007の抗発癌効果

30

OKN-007の抗がん有効性を、脇腹に皮下移植されたヒトA549肺がん異種移植片を有するヌードマウスへの経口投与後に査定した。

## 【 0 0 8 7 】

物質及び方法:

試験物質はOKN-007であり、2,4-ジスルホニル -フェニルtert-ブチルニトロソ(2,4-ds-PBN、二ナトリウム4-[(Z)-[tert-ブチル(オキシド)アザニウミリデン]メチル]ベンゼン-1,3-ジスルホネート)を指し、分子式:C<sub>11</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>7</sub>S<sub>2</sub>・Na<sub>2</sub>を有する。

## 【 0 0 8 8 】

陽性物質は、Cis-ジアミン白金(II)ジクロリド(シスプラチン)であり、分子式:Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>を有する。

40

## 【 0 0 8 9 】

食塩水を陰性対照として使用した。

## 【 0 0 9 0 】

試験物質の調製:試験物質の必要量をチューブに入れた。少量のピヒクルを添加し、混合した。ピヒクルを徐々に添加して、所望の濃度(例えば、15、30及び60mg/mL)を得た。

## 【 0 0 9 1 】

陽性対照の調製:陽性対照物質の必要量をチューブに入れた。少量の食塩水を添加し、混合した。食塩水を徐々に添加して、所望の濃度(例えば、0.2mg/mL)を得た。

## 【 0 0 9 2 】

50

ヒト肺がん細胞系A549を使用した。

【0093】

培養培地:ウシ胎児血清(FBS)、ペニシリン-ストレプトマイシン(10,000単位/mLのペニシリン及び10,000µg/mLのストレプトマイシン)、及びRPMI1640を、表1に示されているように100mlになるように混合した。

【0094】

【表1】

名称	量(mL)
FBS (ロット番号: 1982135, Gibco, U.S.A)	10
ペニシリン-ストレプトマイシン(ロット番号: 2019315, Gibco, U.S.A.)	1
RPMI1640 (0000704247, Lonza, U.S.A.)	89
総体積	100

10

表1. 培養培地。

20

【0095】

細胞培養物の調製:凍結細胞を水浴で解凍した。細胞を、培地を含有するチューブに入れ、遠心分離(1,000rpm、5分間)して、上清を廃棄した。培養培地で再懸濁した後、細胞を、細胞培養フラスコに入れ、5%CO<sub>2</sub>インキュベーターにより37℃でインキュベートした。培養容器中に70~80%の集密度で増殖した場合、細胞を1:5の比で継代培養した。細胞系移植の当日に培養した細胞を遠心分離(1,000rpm、5分間)して、上清を廃棄し、D-PBSで細胞懸濁液を作製した。次いで、細胞懸濁液をMagrigelと1:1の比で混合した(5×10<sup>7</sup>個細胞/mL)。

【0096】

BALB/cヌードマウのCAnN.Cg-Foxn1nu/CrIOr、SPFを使用した。受け取り時の動物の性別、数、週齢及び体重範囲:マウス(65匹)は、雄であり、5週齢であり、受け取り時には14.5~19.6gの体重を有した。

30

【0097】

投与開始時の動物の性別、数、週齢及び体重範囲:マウス(50匹)は、雄であり、7週齢であり、投与開始時には18.4~24.0gの体重を有した。

【0098】

細胞移植:隔離順応期間の後、健康な動物の体重測定及び細胞移植を実施した。すべての動物を臨床兆候について毎週観察した。調製細胞(1×10<sup>7</sup>個細胞/0.2mL)懸濁液を、使い捨て注射器で右脇腹に皮下注射した。動物を移植及び生着期間にわたって臨床兆候について毎日1回観察した。

40

【0099】

群割当:細胞を移植した後、それぞれの腫瘍サイズを65匹の動物でモニターした。腫瘍体積が87~112mm<sup>3</sup>に達した場合、50匹の動物を平均腫瘍体積が約99mm<sup>3</sup>の対応する群に割り当てた。腫瘍体積に基づいて、動物を選択し、5つの群(10匹の動物/群)に無作為に分配した。

【0100】

投薬経路:経口投与。試験物質の臨床適用が経口であるので、投与経路は経口であった。

【0101】

投与の方法及び頻度:陰性対照及び試験物質では、経口投与を、使い捨て注射器を使用して1日に1回を4週間、合計で28回実施した。陽性対照では、腹腔内投与を、使い捨て

50

注射器を使用して1週間に1回を4週間、合計で4回実施した。

【0102】

【表2】

群	経路	用量 (mg/kg)	用量体積 (mL/kg)	動物の数 (動物の番号)
G1 陰性対象	P.O.	0	10	10 (1101-1110)
G2 試験物質1	P.O.	150	10	10 (1201-1210)
G3 試験物質2	P.O.	300	10	10 (1301-1310)
G4 試験物質3	P.O.	600	10	10 (1401-1410)
G5 陽性対照	I.P.	2	10	10 (1501-1510)

10

表II. 群指定。

【0103】

投薬経路:試験物質の用量レベルは、150、300及び600mg/kgで選択した。陽性物質の用量レベルは2mg/kgで選択した。用量体積は、全群では10mL/kgで選択し、個別の用量は、投薬する直前の動物の体重に基づいて計算した。

20

【0104】

腫瘍体積の測定:各腫瘍の最大直径(a)及び最小直径(b)を、観察期間にわたって1週間に2回カリパスを使用して測定した。腫瘍体積(TV)を、以下の式: $TV(mm^3)=(a(mm) \times b^2(mm^2))/2$ に従って、1週間に2回計算した。各動物への投与前の腫瘍体積を、群割当時に測定した値に設定した。

【0105】

腫瘍除去及び体重の測定:観察期間の後、動物にイソフルランの吸入で麻酔をかけた。腫瘍を抽出した後、除去した腫瘍の重量を記録した。腫瘍増殖阻害率(IR)を、以下の式: $IR(\%)=(1-T/C) \times 100$ (式中、Tは、試験物質群及び陽性物質群の平均腫瘍重量であり、Cは、陰性対照群の平均腫瘍重量である)を使用して計算した。

30

【0106】

組織病理学試験:抽出された腫瘍を、10%中性緩衝ホルマリン溶液(10%中性緩衝ホルマリン)で固定した。腫瘍を、ある特定の厚さ(約3mm)の切片にした後、これらを一般的な調製手順に付し、パラフィンに埋め込み、4~5µmのサイズに切断し、組織切片をヘマトキシリン及びエオシン(H&E)、並びにTUNELで染色した。4~5µmのサイズに切断されたIHC(免疫組織化学)スライドを製造し、提案者(sponsor)に送った(陰性対照群(G1)、試験物質2(G3、動物ID番号:1301、1302、1303、1307、1310)、試験物質3(G4、動物ID番号:1401、1402、1404、1408、1409))。

40

【0107】

ヘマトキシリン及びエオシン(H&E)染色結果の決定:腫瘍の壊死を、腫瘍の切片全体における壊死の程度をグレード分け(±、+、++、+++、++++)することによって査定した。壊死は、形態の変化、例えば、核の崩壊又は消滅、及び細胞質の好酸性変化によって評価した。腫瘍壊死の程度は、以下の壊死面積の百分率によって決定した。

【0108】

50

【表 3】

重症度	率(%)
最小(±)	0 ~ 15
僅か(+)	15 ~ 45
中程度(++)	45 ~ 70
顕著(+++)	70 ~ 85
重症(++++)	85 ~

10

表 3. 壊死のグレード分け。

## 【0109】

TUNEL染色結果の決定:アポトーシスをグレード分け(±、+、++、+++、++++)する腫瘍の横断切片全体の組織病理学試験の後、有核褐色染色細胞を良性細胞と読取り、良性細胞の数を数えた。腫瘍のアポトーシスを、ヒストグラム面積(1mm<sup>2</sup>)当たりの陽性細胞の数によって決定した。腫瘍のアポトーシスを、陽性細胞の平均数を計算することによって決定し、対応する重症度にグレード分けした。アポトーシスが起った陽性細胞の数を、単位面積(1mm<sup>2</sup>)当たりの陽性細胞の数を数えることによって決定した。

20

## 【0110】

## 【表 4】

重症度	アポトーシスの数
最小(±)	5 ~ 10
僅か(+)	11 ~ 20
中程度(++)	21 ~ 30
顕著(+++)	31 ~ 40
重症(++++)	41 ~

30

表 4. アポトーシスのグレード分け

## 【0111】

統計分析:統計分析を、体重、腫瘍体積、腫瘍重量及び組織病理学試験を含むデータについて、統計プログラム(バージョン9.3、SAS Institute Inc.、U.S.A.)を使用して行った。パートレットの検定を、分散の均一度(有意水準:0.05)に用いた。一元配置分散分析(ANOVA)を均一データに用いた。次いで、有意であれば、ダネットのt検定を多重比較に適用した(有意水準:0.05及び0.01、片側)。クラスカルワリス検定を無効化均一データ(overridden homogeneous data)に用いた。次いで、有意であれば、Steelのt検定を多重比較に適用した(有意水準:0.05及び0.01、片側)。

40

## 【0112】

## 結果

腫瘍体積の変化(図1、3、4、5、6及び表5):陰性対照群(G1)において、平均腫瘍体積は、対照の投与前及び投与の29日後、99~1576mm<sup>3</sup>の範囲であり、経時的に増加する傾向があった(図1、3及び4)。

## 【0113】

50

【表 5】

群/ 用量(mg/kg)		腫瘍体積(mm <sup>3</sup> )									
		投与後の時間(日数)									
		1	5	8	12	15	19	22	26	29	
G1	平均	99	160	248	366	531	735	897	1235	1576	10
0	S.D.	8	13	14	33	52	80	138	185	287	
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
G2	平均	99	152	200	240	243	306	376	466	603	20
150	S.D.	8	14	35	66	54	92	130	183	254	
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
				##	##	**	**	**	**	**	
G3	平均	99	146	172	182	212	254	310	390	460	20
300	S.D.	8	16	14	24	54	90	131	177	228	
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
				##	##	**	**	**	**	**	
G4	平均	99	149	176	179	209	249	288	331	407	30
600	S.D.	8	13	13	26	46	86	121	159	210	
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
				##	##	**	**	**	**	**	
G5	平均	99	152	171	176	199	250	314	385	481	30
2	S.D.	8	11	26	37	51	79	127	152	216	
	N	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
				##	##	**	**	**	**	**	

表 5. 観察期間における平均腫瘍体積。

40

## 【0114】

表5において、G1は、陰性対照群を指す。G2、G3及びG4は、OKN-007処置群を指す。G5は、シスプラチン処置群を指す。S.D.は、標準偏差を指す。Nは、動物の数を指す。## p 0.01は、Steelのt検定による陰性対照(G1)との有意差を指す。\* p 0.01は、ダネットのt検定による陰性対照(G1)との有意差を指す。

## 【0115】

150 mg/kgの試験物質1(OKN-007)群(G2)では、平均腫瘍体積に減少があり、99~603 mm<sup>3</sup>の範囲になり、すべての用量レベルのある特定の測定点で陰性対照群(G1)と統計的に有意な差に達している(p 0.01:投与の8~29日後)。図1及び4を参照されたし。

50

## 【 0 1 1 6 】

300mg/kgの試験物質2(OKN-007)群(G3)では、平均腫瘍体積に減少があり、99～460mm<sup>3</sup>の範囲になり、すべての用量レベルのある特定の測定点で陰性対照群(G1)と統計的に有意な差に達している(p 0.01:投与の8～29日後)。図1及び5を参照されたし。

## 【 0 1 1 7 】

600mg/kgの試験物質3(OKN-007)群(G4)では、平均腫瘍体積に減少があり、99～407mm<sup>3</sup>の範囲になり、すべての用量レベルのある特定の測定点で陰性対照群(G1)と統計的に有意な差に達している(p 0.01:投与の8～29日後)。図1及び5を参照されたし。

## 【 0 1 1 8 】

2mg/kgの陽性対照(シスプラチン)群(G5)では、平均腫瘍体積に減少があり、99～481mm<sup>3</sup>の範囲になり、すべての用量レベルのある特定の測定点で陰性対照群(G1)と統計的に有意な差に達している(p 0.01:投与の8～29日後)。図1及び6を参照されたし。

10

## 【 0 1 1 9 】

腫瘍重量及び増殖阻害率(図2、3、4、5、6及び表6):腫瘍を29日目に摘出し、計量した。陰性対照群(G1)では、平均腫瘍重量は、0.92gであった(腫瘍増殖阻害率(IR):0.0%)。

## 【 0 1 2 0 】

20

30

40

50

【表 6】

群/ 用量(mg/kg)		腫瘍重量(g)	IR (%)	
G1	平均	0.92	0.0	
0	S.D.	0.34		
	N	10		
G2	平均	0.47	48.9	10
150	S.D.	0.28		
	N	10		
		**		
G3	平均	0.43	53.3	
300	S.D.	0.27		
	N	10		20
		**		
G4	平均	0.38	58.7	
600	S.D.	0.24		
	N	10		
		**		
G5	平均	0.37	59.8	30
2	S.D.	0.27		
	N	10		
		**		

表 6. 腫瘍重量及び腫瘍増殖阻害率の平均データ。

## 【0121】

表6において、G1は、陰性対照群を指す。G2、G3及びG4は、OKN-007処置群を指す。G5は、シスプラチン処置群を指す。S.D.は、標準偏差を指す。IRは、以下の方程式： $(\text{腫瘍増殖阻害率、\%}) = (1 - T/C) \times 100$  (式中、Tは、試験及び陽性物質群の平均腫瘍重量であり、Cは、陰性対照群の平均腫瘍重量である)を指す。\*\*p < 0.01は、ダネットのt検定による陰性対照(G1)との有意差を指す。図2を参照されたし。

## 【0122】

150mg/kgの試験物質1(OKN-007)群(G2)では、腫瘍重量の平均値は、0.47gであった(腫瘍増殖阻害率(IR):48.9%)。陰性対照と群2との間には統計的に有意な差があった。図2を参照されたし。

## 【0123】

40

50

300mg/kgの試験物質2(OKN-007)群(G3)では、腫瘍重量の平均値は、0.43gであった(腫瘍増殖阻害率(IR):53.3%)。陰性対照と群3との間には統計的に有意な差があった。図2を参照されたし。

【0124】

600mg/kgの試験物質3(OKN-007)群(G4)では、腫瘍重量の平均値は、0.38gであった(腫瘍増殖阻害率(IR):58.7%)。陰性対照と群4との間には統計的に有意な差があった。図2を参照されたし。

【0125】

2mg/kgの陽性対照(シスプラチン)群(G5)では、腫瘍重量の平均値は、0.37gであった(腫瘍増殖阻害率(IR):59.8%)。陰性対照と群5との間には統計的に有意な差があった。図2を参照されたし。

10

【0126】

組織病理学試験(表7、図7~11):抽出された固定腫瘍を、ある特定の厚さ(約3mm)に切断し、次いで一般的な組織処置に付し、パラフィン埋込によりブロックを作り、4~5µmサイズの組織切片を調製した。次いでヘマトキシリン及びエオシン(H&E)染色、並びにTUNEL染色を実施した。

【0127】

抽出腫瘍の壊死をH&E染色で評価した。結果として、腫瘍壊死の重症度は、すべての処置群において最低の重症度が概ね観察され、壊死グレード分けは、最小、僅か及び中程度の重症度が適用されている。試験物質群(G2、G3及びG4)と陽性対照(シスプラチン)群(G5)との間の壊死重症度は、陰性対照群(G1)のものと比較して有意に異なっていない。

20

【0128】

アポトーシスをTUNELアッセイで確認し、アポトーシス細胞をそれによって数えた。結果として、アポトーシスは、陰性対照群(G1)と比較して、すべての投与群において増加した。アポトーシスは、すべての投与群において増加した。

【0129】

【表7】

群/ 用量 (mg/kg)	N	アポトーシス 計数* (数/mm <sup>2</sup> )	アポトーシス					壊死				
			±	+	++	+++	++++	±	+	++	+++	++++
G1 / 0	10	65.3±27.7	9	1	0	0	0	5	4	1	0	0
G2 / 150	10	79.6±20.8 <sup>##</sup>	9	1	0	0	0	5	3	2	0	0
G3 / 300	10	91.5±32.2 <sup>##</sup>	8	2	0	0	0	7	2	1	0	0
G4 / 600	10	149.9±59.5 <sup>#</sup>	3	5	2	0	0	6	2	2	0	0
G5 / 2	10	87.5±50.6	8	2	0	0	0	6	2	2	0	0

30

40

表 7. 組織病理学的知見の要約。

【0130】

表7において、G1は、陰性対照群を指す。G2、G3及びG4は、OKN-007処置群を指す。G5は、シスプラチン処置群を指す。S.D.は、標準偏差を指す。Nは、動物の数を指す。##p 0.01は、Steelのt検定による陰性対照(G1)との有意差を指す。\*は、群平均

50

± S.D.を指す。±は、最小グレードを指す。+は軽度グレードを指し、++は中程度グレードを指し、+++は顕著グレードを指し、++++は重症グレードを指す。壊死は、H&E染色分析により決定される。アポトーシスは、TUNELアッセイにより決定される。

【0131】

陰性対照群(G1)では、アポトーシス計数の平均値は、 $65.3 \pm 27.7$ であった。図7及び表7を参照されたし。

【0132】

150mg/kgの試験物質1(OKN-007)群(G2)では、アポトーシス計数の平均値は、 $79.6 \pm 29.8$ であった。陰性対照群(G1)と比較して、統計的に有意な差( $p < 0.01$ )があった。図8及び表7を参照されたし。

【0133】

300mg/kgの試験物質2(OKN-007)群(G3)では、アポトーシス計数の平均値は、 $91.5 \pm 32.2$ であった。陰性対照群(G1)と比較して、統計的に有意な差( $p < 0.01$ )があった。図9及び表7を参照されたし。

【0134】

600mg/kgの試験物質3(OKN-007)群(G4)では、アポトーシス計数の平均値は、 $149.9 \pm 59.5$ であった。陰性対照群(G1)と比較して、統計的に有意な差( $p < 0.01$ )があった。図10及び表7を参照されたし。

【0135】

2mg/kgの陽性対照(シスプラチン)群(G5)では、アポトーシス計数の平均値は、 $87.5 \pm 50.6$ であった。陰性対照群(G1)と比較して、統計的に有意な差はなかった。図11及び表7を参照されたし。

【0136】

その結果、経口胃管栄養当たり600mg/kgの試験物質を受けたマウス(G4)は、陰性対照群(G1)と比較して、すべての群のうちで最高のアポトーシス計数を有し、次に300mg/kgの試験物質群(G3)、2mg/kgの陽性対照(シスプラチン)群(G5)及び150mg/kgの試験物質群(G2)であった。

【0137】

考察

この研究の目的は、脇腹に皮下移植されたヒトA549肺がん異種移植片を有するヌードマウスへのその経口投与後の、試験物質OKN-007のin vivo抗がん有効性を評価することであった。

【0138】

この研究で実行されたヒト腫瘍異種移植片系は、ヌードマウスはTリンパ球の欠乏のため免疫拒絶が弱いことが知られているので、実験がん治療研究用の有用なモデルを提供する。

【0139】

腫瘍阻害有効性は、腫瘍体積及び重量を測定することによって評価した。腫瘍体積及び重量の値が陰性対照群と比較して低減され、そのような結果が統計的に有意であると考えられた場合、試験物質は抗腫瘍療法において有効であるとみなされた。

【0140】

腫瘍体積において、最小から最大の腫瘍体積は、陰性対照群(G1)と比較して、600mg/kgの試験物質群(G4)、次に300mg/kgの試験物質群(G3)、2mg/kgの陽性対照(シスプラチン)群(G5)及び150mg/kgの試験物質群(G2)であった。腫瘍体積は腫瘍面積と相関する。例えば、腫瘍体積の減少に関するデータと同様に、腫瘍面積及び/又は腫瘍面積の増殖は、OKN-007処置の後で減少する。

【0141】

腫瘍重量では、2mg/kgの陽性対照(シスプラチン)群(G5)が最低を示した。これは、陽性対照が腫瘍増殖に対して腫瘍増殖阻害効果を有することを示唆している。次に低い腫瘍重量は、600mg/kgの試験物質群(G4)、300mg/kgの試験物質群(G3)、150mg/kg

10

20

30

40

50

gの試験物質群(G2)であり、陰性対照群が最高であった。

【0142】

腫瘍増殖阻害率に関して、最高から最低は、陰性対照(0.0%阻害)と比較した場合、59.8%の阻害を生じる2mg/kgの陽性対照(シスプラチン)群(G5)、次に600mg/kgの試験物質群(G4)(58.7%阻害)、300mg/kgの試験物質群(G3)(53.5%阻害)及び150mg/kgの試験物質群(G2)(48.9%阻害)であった。

【0143】

更に、すべての研究群からの抽出腫瘍の統計分析及び重量測定データは、統計的に有意であると考えられた。

【0144】

アポトーシスはTUNELアッセイで評価し、アッセイの結果は、陰性対照と比較してすべての投与群においてアポトーシスが増加している。600mg/kgの試験物質群(G4)は、陰性対照群と比較して、すべての群のうちで最高レベルのアポトーシス活性を示し、次に300mg/kgの試験物質群(G3)、2mg/kgの陽性対照(シスプラチン)群(G5)及び150mg/kgの試験物質群(G2)であった。陽性対照を除いて、すべての試験群は統計的に有意であると考えられた。

【0145】

試験物質の腫瘍増殖阻害効果は用量依存性であること、及び試験物質は腫瘍増殖阻害効果を有すると考えられることが決定された。

【0146】

結論として、腫瘍増殖に対する試験物質(OKN-007)の用量依存性阻害効果が、ヌードマウスのヒト肺がんA549異種移植片において観察された。OKN-007の臨床的に関連する量をヒト用途に使用して、臨床的に関連する抗がん及び/又は抗腫瘍効果を誘導することができる。例えば、約10mg/kg体重/日～約500mg/kg体重/日の濃度範囲のOKN-007を、ヒト対象への全身、静脈内又は局所投与に使用することができる。約5mg/kg体重/日～約1,000mg/kg体重/日の濃度範囲のOKN-007を、ヒト対象への経口又は経腸投与に使用することができる。

【0147】

本明細書に引用されるすべての特許、特許出願、刊行物、製品記載及びプロトコールは、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。用語法に矛盾がある場合、本開示が優先される。

【0148】

記載されている本明細書の主題は、上記に記載された利益及び利点を達成するように十分に計算されていることが明らかであるが、本開示の主題は、本明細に記載されている特定の実施形態の範囲に限定されない。開示されている主題は、その精神から逸脱することなく、修正、変形及び変更を受け入れることが理解される。当業者は、日常的なものを越えない実験を使用して、本明細書に記載されている特定の実施形態に対する多数の等価物を認識する、又は確定することができる。そのような等価物は、以下の特許請求の範囲に包含されることが意図される。

【0149】

様々な刊行物、並びに核酸及びアミノ酸配列受託番号が本明細書に引用されており、その内容及び全配列は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

20

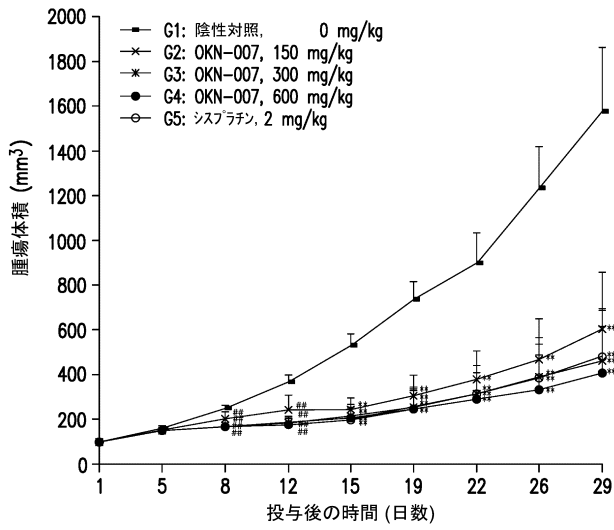
30

40

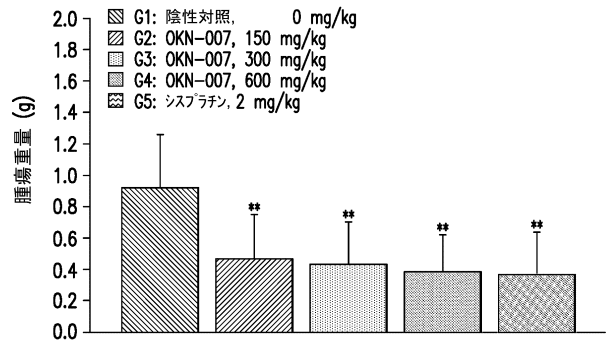
50

【 図 面 】

【 図 1 】

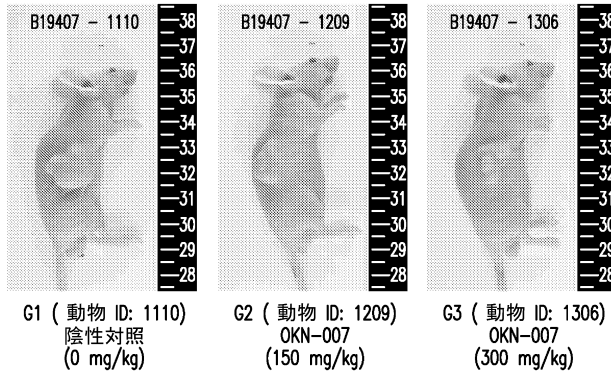


【 図 2 】

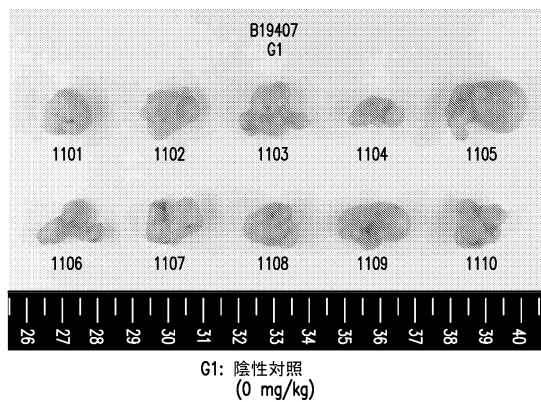


10

【 図 3 】

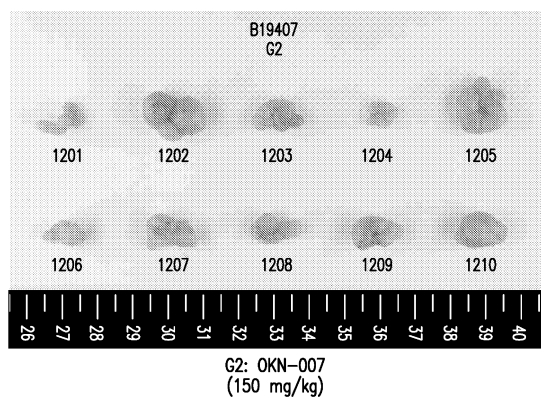
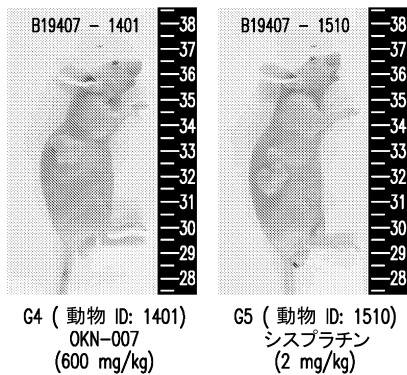


【 図 4 】



20

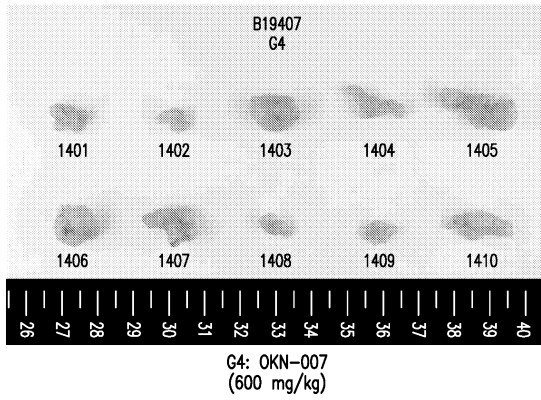
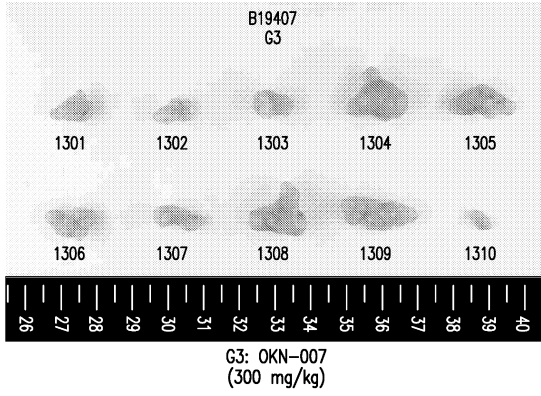
30



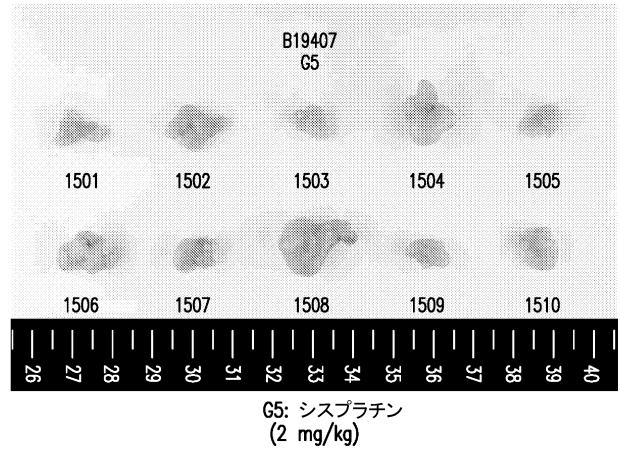
40

50

【 図 5 】



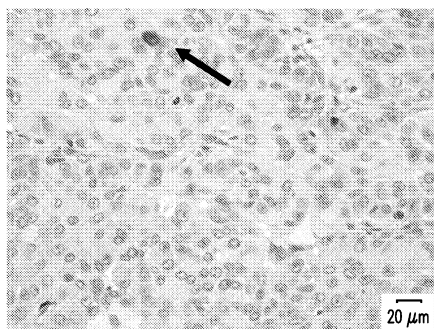
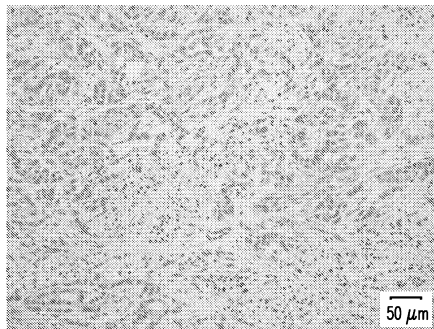
【 図 6 】



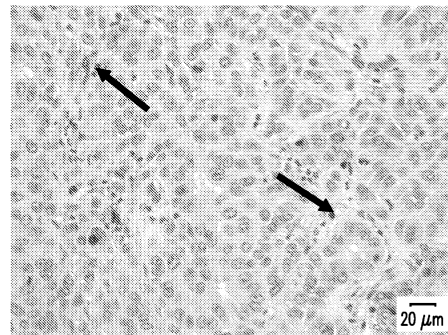
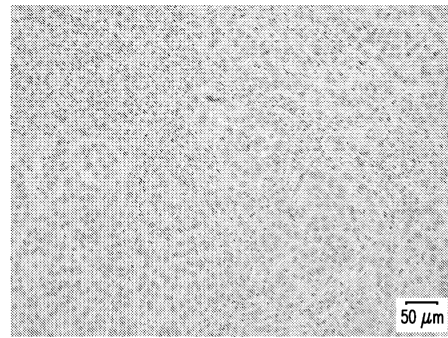
10

20

【 図 7 】



【 図 8 】

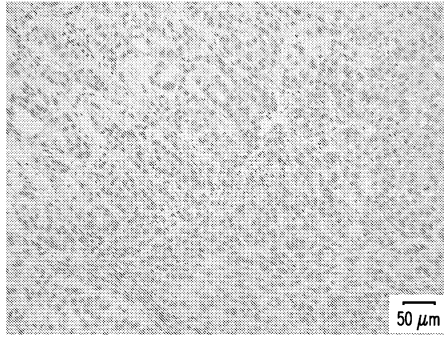


30

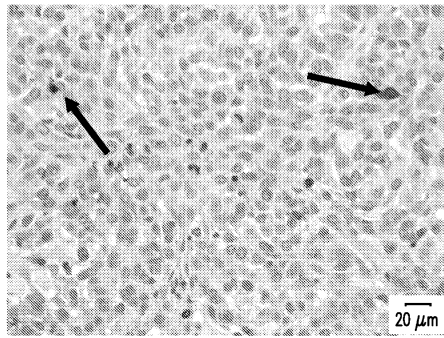
40

50

【 図 9 】

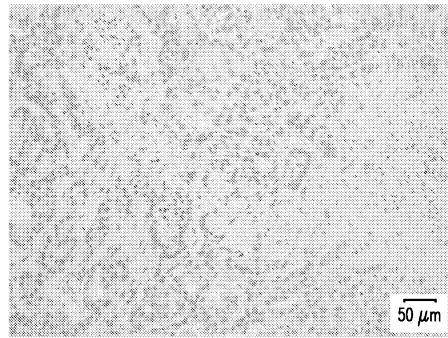


<H & E 染色>

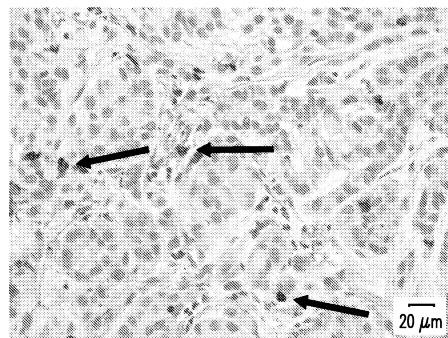


<TUNEL アッセイ>  
 G3 (動物 ID: 1306)  
 OKN-007 (300 mg/kg)

【 図 10 】



<H & E 染色>

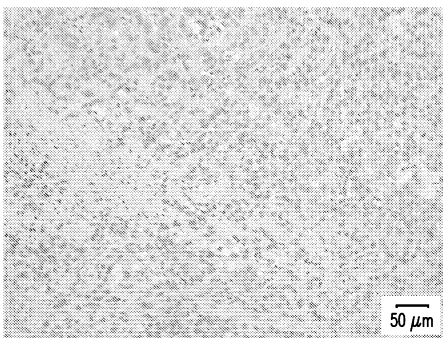


<TUNEL アッセイ>  
 G4 (動物 ID: 1404)  
 OKN-007 (600 mg/kg)

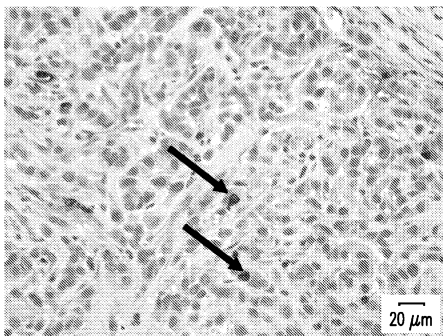
10

20

【 図 11 】



<H & E 染色>



<TUNEL アッセイ>  
 G5 (動物 ID: 1509)  
 シスプラチン (2 mg/kg)

30

40

50

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US21/19457

<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> <b>IPC</b> - A61K 31/15; A61K 9/48; A61K 31/185; A61P 27/16; A61P 35/00; A61P 35/02 (2020.01) <b>CPC</b> - A61K 31/15; A61K 9/48; A61K 31/185; A61P 27/16; A61P 35/00; A61P 35/02  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		10
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) See Search History document  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched See Search History document  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) See Search History document		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X — Y	US 2017/0027891 A1 (OKLAHOMA MEDICAL RESEARCH FOUNDATION) 2 February 2017; abstract; figure 3; paragraphs [0005], [0013], [0015], [0028], [0056], [0068], [0109], [0112], [0115]; claims 35, 37	1, 3/1, 15-17, 19-20 --- 3/1-2, 18
X — Y	US 2015/0258046 A1 (TOSK, INC.) 17 September 2015; abstract; paragraphs [0172], [0194], [0225], [0228]-[0229], [0241], [0243], [0257]	1-2 --- 3/1-2
Y	US 2018/0200192 A1 (OTOLOGIC PHARMACEUTICS, INC.) 19 July 2018; abstract; paragraphs [0007], [0011], [0028], [0034], [0054]; claim 21	18
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "D" document cited by the applicant in the international application "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 15 April 2021 (15.04.2021)		Date of mailing of the international search report <b>MAY 07 2021</b>
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. 571-273-8300		Authorized officer Shane Thomas Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US21/19457

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- 1.  Claims Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
- 2.  Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
- 3.  Claims Nos.: 4-14, 21  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

10

20

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

- 1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- 2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
- 3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
- 4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

30

40

- Remark on Protest
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
  - The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
  - No protest accompanied the payment of additional search fees.

## フロントページの続き

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 9/107(2006.01)	A 6 1 K 9/107	
A 6 1 K 9/20 (2006.01)	A 6 1 K 9/20	
A 6 1 K 9/48 (2006.01)	A 6 1 K 9/48	
A 6 1 K 9/54 (2006.01)	A 6 1 K 9/54	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N  
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,  
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K  
E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N  
G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,  
TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

- - 1 8 0 5

(72)発明者 スン,チヘ

大韓民国 0 7 2 9 6 ソウル,ヨンドンポ-ク,トリム-ロ,4 6 4,1-1 3 0 6

Fターム(参考) 4C076 AA09 AA22 AA36 AA53 AA62 BB01 BB13 BB14 BB29  
4C084 AA19 MA02 MA16 MA23 MA27 MA35 MA37 MA52 MA60 NA14  
ZB261 ZB262  
4C206 AA01 AA02 HA08 MA01 MA02 MA04 MA36 MA43 MA47 MA55  
MA57 MA72 MA80 MA86 NA14 ZB26 ZC75