

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5961622号  
(P5961622)

(45) 発行日 平成28年8月2日(2016.8.2)

(24) 登録日 平成28年7月1日(2016.7.1)

(51) Int.Cl.	F 1
A 6 1 K 31/122	(2006.01)
A 6 1 K 31/704	(2006.01)
A 6 1 P 35/02	(2006.01)
A 6 1 P 35/00	(2006.01)
A 6 1 K 36/708	(2006.01)
A 6 1 K	31/122
A 6 1 K	31/704
A 6 1 P	35/02
A 6 1 P	35/00
A 6 1 K	36/708

請求項の数 15 (全 12 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-538290 (P2013-538290)	(73) 特許権者	513117701 シルバル・リミテッド キプロス共和国、3087、レメソス、ア ガソノス・キャプソロス 11
(86) (22) 出願日	平成23年11月13日(2011.11.13)	(74) 代理人	100071010 弁理士 山崎 行造
(65) 公表番号	特表2014-506233 (P2014-506233A)	(74) 代理人	100118647 弁理士 赤松 利昭
(43) 公表日	平成26年3月13日(2014.3.13)	(74) 代理人	100138438 弁理士 尾首 亘聰
(86) 國際出願番号	PCT/IB2011/003078	(74) 代理人	100138519 弁理士 奥谷 雅子
(87) 國際公開番号	W02012/063134	(74) 代理人	100123892 弁理士 内藤 忠雄
(87) 國際公開日	平成24年5月18日(2012.5.18)		
審査請求日	平成26年11月12日(2014.11.12)		
(31) 優先権主張番号	13/018, 435		
(32) 優先日	平成23年2月1日(2011.2.1)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	61/413, 430		
(32) 優先日	平成22年11月13日(2010.11.13)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】癌治療のための、エモジンと併用する強心配糖体アナログ

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

白血病、メラノーマ、結腸癌、前立腺癌、又は乳癌を治療するために構成された薬剤であつて、約 5  $\mu$ g / ml 以上のエモジンと組み合わせた有効な量のジゴキシンを含む、薬剤。

## 【請求項 2】

約 10  $\mu$ g / ml 以上のエモジンを含む、請求項 1 の薬剤。

## 【請求項 3】

約 0.05  $\mu$ g / ml 以上のジゴキシンを含む、請求項 1 又は 2 の薬剤。

## 【請求項 4】

約 0.1  $\mu$ g / ml 以上のジゴキシンを含む、請求項 1 又は 2 の薬剤。

## 【請求項 5】

約 10  $\mu$ g / ml 以上のエモジン及び約 0.05  $\mu$ g / ml 以上のジゴキシンを含む、請求項 1 の薬剤。

## 【請求項 6】

約 10  $\mu$ g / ml 以上のエモジン及び約 0.10  $\mu$ g / ml 以上のジゴキシンを含む、請求項 1 の薬剤。

## 【請求項 7】

約 5  $\mu$ g / ml から約 10  $\mu$ g / ml のエモジン及び約 0.05  $\mu$ g / ml から約 0.1  $\mu$ g / ml のジゴキシンを含む、請求項 1 の薬剤。

10

20

## 【請求項 8】

D M S O を含む、請求項 1 ~ 7 いずれか一項の薬剤。

## 【請求項 9】

前記エモジンがダイオウ (Rhubarb)、クロウメモドキ (Buckthorn)、及び / 又はイタドリ (Japanese Knotweed) から抽出されたものである、請求項 1 ~ 8 いずれか一項の薬剤。

## 【請求項 10】

前記エモジンがダイオウ (Rhubarb) の根茎から抽出されたものである、請求項 1 ~ 9 いずれか一項の薬剤。

## 【請求項 11】

白血病、メラノーマ、結腸癌、前立腺癌、又は乳癌を治療するためのレジメン用に構成された薬剤であって、前記レジメン用に構成された薬剤は約  $5 \mu\text{g} / \text{ml}$  以上のエモジンと組み合わせた有効な量のジゴキシンを含む、薬剤。

## 【請求項 12】

約  $10 \mu\text{g} / \text{ml}$  以上のエモジンを含む、請求項 11 の薬剤。

## 【請求項 13】

約  $0.05 \mu\text{g} / \text{ml}$  以上のジゴキシンを含む、請求項 11 又は 12 の薬剤。

## 【請求項 14】

約  $0.1 \mu\text{g} / \text{ml}$  以上のジゴキシンを含む、請求項 11 又は 12 の薬剤。

## 【請求項 15】

約  $10 \mu\text{g} / \text{ml}$  以上のエモジン及び約  $0.05 \mu\text{g} / \text{ml}$  以上のジゴキシンを含む、請求項 11 の薬剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

優先権

本出願は、引用により本明細書に取り込まれる、2010年11月13日に提出した、米国仮特許出願 61 / 413,430 番に基づいて優先権を主張する、2011年2月1日に提出した、米国特許出願 13 / 018,435 番に基づく優先権の利益を主張する。

## 【背景技術】

## 【0002】

本発明の背景技術

## 1. 本発明の技術分野

本発明は、一般的に、癌治療に関する。特に、癌の治療のための、エモジン及びそのアナログとともに用いる、ジゴキシン及びクアバイン (Qua b a i n) など、強心性配糖体の使用に関する。

## 【発明の概要】

## 【0003】

## 2. 関連技術の説明

植物性薬品 (Herbal medicines) は依然として普及しており、世界中の多くの人口の医薬の需要を満たす。グローバルな植物性薬品市場は現在約 300 億ドルの規模である。1 様々な病気の制御に有効であり得るとされる生物活性フィトケミカル (bioactive phytocchemicals) を薬草から単離するための努力が増大している。生物活性フィトケミカルの分子構造及び作用機構の決定は、それらの効能のエビデンス並びに漢方薬を提供するために等しく重要であり、さらに、潜在的に合成又は半合成薬品の医薬開発へ導くことができる。2スコーパス (Scopus) (28) 2 に引用されたスコーパス (Scopus) の記録を見てください。癌研究の植物性薬品について、いくつかの従来の研究は、薬草の中に存在する、あるフィトケミカルが抗癌活性を働かせることを実証する。エモジン (emodin)、フィスシオン (physcion) 及びクリソファノール (chrysophanol) を含む、3つの、構造上関連す

10

20

30

40

50

るアントラキノンの中で、エモジンは、腫瘍細胞で最も有力な細胞毒性を示した。エモジン(1,3,8-トリヒドロキシ-6-メチルアントラキノン(1,3,8-trihydroxy-6-methylanthraquinone))及びアロエエモジン(aloe-emodin)、(1,8-ジヒドロキシ-3-ヒドロキシメチル-9,10-アントラセンジオン(1,8-dihydroxy-3-hydroxymethyl-9,10-anthracenedione))は、膀胱癌3、肺癌4、肝癌5、及び白血病を含む様々なタイプの癌の治療のために動物モデル及びインビトロ(in vitro)で化学療法活性を示す。アロエエモジンは、ダイオウ(Rheum Rhizoma)及びレウム・パルマツム(Rheum palmatum)など、いくつかの従来の薬用植物の中に存在する天然のアントラキノン化合物である。興味深いことに、アロエエモジンは、通常のヒト細胞へのより少ないと分かった。6

## 【0004】

ジゴキシンなど、植物由来強心性配糖体は、うつ血性心不全及び他の心臓障害の治療に使用される(1)。それらの主な薬理作用は、ナトリウムポンプ、Na<sup>+</sup>及びK<sup>+</sup>依存のATPアーゼ(NKA)1(EC 3.6.3.9)の抑制を通して媒介される(2)。NKA、ユビキタスな細胞膜のカチオン輸送体タンパク質は、高いK<sup>+</sup>及び低いNa<sup>+</sup>濃度を維持することによりすべての真核細胞中で正常な膜電位をコントロールする。それは触媒サブユニット及びグリコプロテインサブユニットから成る(3)。研究は、様々な癌細胞の中で、植物由来強心性配糖体が、増殖とアポトーシスなど、いくつかの細胞のプロセスを調整することを示唆した(4)(5)(6)(7)。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0005】

【図1】図1は、NB4白血病細胞でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図2】図2は、HL-60白血病細胞でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図3】図3は、ジャーカット(Jurkat)T細胞白血病細胞でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図4】図4は、HT29結腸癌細胞でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図5】図5は、PC3前立腺腫瘍細胞でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図6】図6は、MDA435乳癌細胞でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図7】図7は、メラノーマ及び乳癌のMDA435細胞系統でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図8】図8は、ヘパラナーゼ(Heparanase)活性でのジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図9】図9は、HMVEC活性でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図10】図10は、AML(急性マイロ(Mil)白血病)のNB-4細胞系統でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図11】図11は、AML(急性マイロ(Mil)白血病)のNB-4細胞系統でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図12】図12は、HL-60細胞系統でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図13】図13は、ジャーカット(Jurkat)細胞系統でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【図14】図14は、HT-29細胞系統でのジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

10

20

30

40

50

## 【0006】

## 参照によるとり込み

次ものは参考文献一覧であり、上述及び後述の本明細書に引用された参考文献に加え、背景、発明の趣旨、図面の簡単な説明、図面及び要約として記載されるものを含み、これによって、下記に詳細に記載がなければ、好ましい実施態様の要素または特徴の代替的な実施態様を開示するように、下記の好ましい実施態様の詳細な説明の中への参照によって組込まれる。これらの参考文献の单一のものまたは2つ以上の組み合わせは、下記の詳細な説明に述べられた好ましい実施態様の変形を得るために調べられてよい。さらに特許、特許出願、及び非特許参考文献は書かれた記述で引用され、そして、参考によって、次の参考文献に関して丁度記載された同じ効果を持った好ましい実施態様に組み入れられる：

米国特許番号5,872,103, 6,197,754, 6,740,665, 6,812,255, 7,268,162, 7,358,222, 7,381,535, 7,393,656, 7,563,584, 7,695,926, 7,790, 905, 及び米国公表出願番号2003/0211180, 2005/0026849, 2005/0196473, 2006/0205679, 2007/0191262, 2008/0152700, 2008/0220441, 2009/0018088, 2009/0143279, 2009/0215042, 2009/0269772, 2010/0068198, 2010/0092585, 2010/0144647, 2010/0167286; 及び

PCT及び外国公表出願番号 WO/0166123, WO2004/052294, WO2006/053049, WO2007/130124; RU2008107585; MX2010005081; KR100221762; CN01362702; CN1370587; 及び

## サイテーション：

Chronic Lymphocytic Leukemia by the Leukemia & Lymphoma Society, MediFocus.com MediFocus Guide on Chronic Lymphocytic Leukemia;

RANJIT THOMAS, et al., Spontaneous Clinical Regression in Chronic Lymphocytic Leukemia, British Journal of Haematology, 2002, 116, 341-345;

DRAGOMIR MARI SAVLJEVIC, et al., Spontaneous Clinical Remission of Chronic Lymphocytic Leukemia, Haema 2003; 6(3): 394-397;

UPSHAW JD, Jr., et al., Spontaneous Remission of B cell Chronic Lymphocytic Leukemia associated with T Lymphocytic Hyperplasia in bone marrow, South Med J. 2002 June 1995(6): 647-9;

WIERNIK PH, Second neoplasms in patients with chronic lymphocytic leukemia, Current Treat Options Oncol. 2004 Jun; 5(3): 215-23;

LUIS FAYAD, M.D. and SUSAN O'BRIEN, M.D., Chronic Lymphocytic Leukemia and Associated Disorders, Medical Oncology: A Comprehensive Review, 1995;

MICHAEL J. KEATING, et al., Biology and

10

20

30

40

50

Treatment of Chronic Lymphocytic Leukemia, American Society of Hematology, Hematology 2003, 153-175;  
GEMARTI, et al., Descriptive Epidemiology of Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL).

【発明を実施するための形態】

【0007】

好みしい実施態様の詳細な説明

本発明は白血病または他の癌を治療する方法を提供する。治療は白血病または他の癌と診断された患者にエモジン及びジゴキシンの組み合わせの周期的な投与量を含むレジメンを施すことを含む。

【0008】

治療方法は、それぞれ、0.05 ug / ml 以上または0.10 ug / ml 以上のジゴキシンと共に、約5 ug / ml 以上または10 ug / ml 以上のエモジンを含む周期的な量を含んでもよい。治療に用いてよい他の組み合わせは、5 ug / ml 以上のエモジンと少なくとも約0.10 ug / ml のジゴキシンとの組み合わせ、少なくとも約10 ug / ml のエモジンと少なくとも約0.10 ug / ml のジゴキシンとの組み合わせ、5 ug / ml を超えるエモジンと少なくとも約0.05 ug / ml ジゴキシンとの組み合わせ、又は、少なくとも約10 ug / ml のエモジンと少なくとも約0.05 ug / ml ジゴキシンとの組み合わせでよい。他の組み合わせを、体重にだけでなく、年齢、性別、家族または患者病歴、または患者に特有の他の特性のようなファクターにも依存して、医師によって処方され、使用されてもよい。

【0009】

治療レジメンは一日一回の投与量又は一日二回の投与量、または一週間2回以上の投与量、又はその他の投与量を含んでもよい。各投与量の量が治療の周期性によって決定されながら、投与量は1日1回又は2回を超えて投与されてよい。

【0010】

また、本発明は、白血病または他の癌治療薬を調製する方法であって、エモジン及びジゴキシンの組み合わせを含むカクテルを調製することを含む方法も提供する。

【0011】

また、白血病または他の癌治療薬であって、エモジン及びジゴキシンの組み合わせを含むカクテルを含む治療薬も提供する。

【0012】

本発明は、癌の治療のための、ジゴキシン及びクアバイン (quabain) など、強心性配糖体単独での、またはエモジン及びそのアナログと併用での、新規な治療適用に関する。とくに、癌は血液の癌である。予期せぬことに、本発明は、癌細胞死を刺激するためにジゴキシンがエモジンとともに相乗作用を有することを初めて開示する。

【0013】

図1は、NB4白血病細胞でのジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。結果は、三重反復試験の平均±STDDEVを表わす。生細胞及び死細胞のパーセンテージは、死細胞についてPI染色を使用し、生細胞の数はFACSによって決定された。

【0014】

図2は、HL-60白血病細胞上でのジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。結果は、三重反復試験の平均±STDDEVを表わす。生細胞及び死細胞のパーセンテージは、死細胞についてPI染色を使用し、生細胞の数はFACSによって決定された。

【0015】

図3はジャーカット (Jurkat) T細胞白血病細胞でのジゴキシン、エモジン及び

10

20

30

40

50

それらの組み合わせの増殖の効果を示す。結果は、三重反復試験の平均±S T D E Vを表わす。生細胞及び死細胞のパーセンテージは、死細胞についてP I染色を使用し、生細胞の数はF A C Sによって決定された。

【0016】

図4は、H T 2 9結腸癌細胞でのジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。結果は、三重反復試験の平均±S T D E Vを表わす。生細胞及び死細胞のパーセンテージは、死細胞についてP I染色を使用し、生細胞の数はF A C Sによって決定された。

【0017】

図5は、P C 3前立腺腫瘍細胞でのジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。結果は、三重反復試験の平均±S T D E Vを表わす。生細胞及び死細胞のパーセンテージは、死細胞についてはP I染色を使用し、生細胞の数はF A C Sによって決定された。

【0018】

図6は、乳癌の細胞系統であるM D A 4 3 5でのジゴキシンのエモジン及びのそれらの組み合わせ増殖の効果を示す。インビトロ(in vitro)の実験では、濃度依存性がある。

【0019】

図7は、メラノーマ及び乳癌の細胞系統であるM D A 4 3 5でのジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。この場合、1/100の濃度は効力がなく(コントロールと同じ)、1/3の濃度は、効果が良好であり、1/10の濃度は、細胞をすべて殺した。正常細胞は、病的な細胞の割合より50-90%効果が弱かった。

【0020】

図8は、ヘパラナーゼ(H e p a r a n a s e)活性でのジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。ヘパラナーゼは、血管新生(a n g i o g e n e s i s)(先に存在する血管から新しい血管の成長に関する生理的なプロセス)に関係のある酵素である。このスライドは、ジゴキシン及びエモジンの組み合わせの増殖がこの酵素の活性を遅らせるという事実を示す。

【0021】

図9は、血管新生に関係のある酵素であるH M V E Cでの、ジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。

【0022】

図10及び11は、A M L(急性マイロ白血病(A c u t e M i l o L e u k e m i a))ための細胞系統であるN B - 4でのジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせの増殖の効果を示す。図10中の2本の左の棒はコントロール(D M S Oを含む)である。ジゴキシン単独0.1 ug / m l(3番目の棒によって説明される)が、強い効果を示す。エモジン単独が高い濃度(約10 ug / m l以上)にのみ効果がある。図10中の右の3つの棒はジゴキシンとエモジンの組み合わせの効果である。ジゴキシン0.1 ug / m l及びエモジン10 ug / m lを投与することは単独で作用する2つのどちらのものより非常に強い効果がある。実際、エモジンだけが使用される時、892の生細胞が測定され、ジゴキシンだけが使用される時、892の生細胞が測定され、ジゴキシンとエモジンの両方が併用して使用された時、371の生細胞が測定され、効果は、2倍以上である。ジゴキシンとエモジンの組み合わせのこの驚くべき効果は、本発明の有利な特徴を示す。

【0023】

図12-13は、急性T細胞白血病であるジャーカット(J u r k a t)及び前骨髄球性白血病であるH L - 6 0について、同じ驚くほど有利な相乗効果が観察されたことを示す。

【0024】

また、図14は、H T - 2 9細胞系統でのジゴキシン及びエモジンの組み合わせを使用

10

20

30

40

50

することの有利な相乗効果を示す。

【実施例】

【0025】

本発明の実施態様は、癌に対する、有益な薬、治療及び薬の調製の方法、並びに治療法に関する。ここで、ジゴキシン「D」及びエモジン「E」の組み合わせは、腫瘍細胞増殖を防止するために使用される。NB4、HL60、ジャーカット(Jurkat)白血病細胞及びHT29結腸癌及び前立腺の腫瘍細胞の生存におけるCXCR4アンタゴニストの効果を検討した。ジゴキシンは、(0.05 - 1 μg / ml)の間の濃度で白血病細胞の成長を著しく阻害した。エモジン単独では、5 μg / mlより高い濃度でのみ白血病細胞の成長を阻害した。0.1 μg / mlの濃度でのジゴキシン及び5または10 μg / mlのいずれかの濃度でのエモジンの組み合わせは、両方の化合物の腫瘍死滅能力を著しく増加させた。また、ジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせは、HT29腫瘍細胞での部分的な、しかしながら、顕著な効果も与える。

【0026】

異なる起源からの癌細胞株の生存率での、ジゴキシン、エモジン、及びそれらの組み合わせの増殖の効果を実験した。収穫された非接着性ヒト造血器腫瘍細胞系統、NB4、HL60及びジャーカット(Jurkat)細胞は、10%のFCSを補給した培地で、三重反復試験で、24のウェル・プレートに1つのウェル当たりの $2 \times 10^5$ 生細胞 / 1 mlで接種され、ジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせの異なる濃度で24時間インキュベートされた。インキュベーションに続いて、細胞はヨウ化プロピジウム(propidium iodide)(PI)(シグマ、セントルイス、MO)で染色され、培養中の生存可能なPI-ネガティブ細胞のパーセントは、セルクエスト(CellQuest)ソフトウェアを使用して、FACS calibur分析(ベクトン・ディキンソン・イムノサイトメトリ・システム(Becton Dickinson Immuno cytometry Systems))によって決定された。接着性前立腺癌PC3細胞及び結腸癌HT29細胞は、上記に記載した条件の下で、24ウェル・プレートに1つのウェル当たりの $1 \times 10^5$ 生細胞 / 1 mlで接種され、ジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせに24時間の暴露後、細胞は収穫され、PBSで洗われ、PIで染色され、造血細胞について記載したように数えられた。

【0027】

マウスにおけるエモジンのLD50値が0.56 g / kgであると考えられる一方、ジゴキシンの治療指数は0.125 mgから0.5 mgの間にあると考えられる。

【0028】

本発明によるD及びEを組み合わせる場合、驚くべき、予期しない共生効果がある。

【0029】

本発明の治療は、ジゴキシン「D」及びエモジン「E」を別々に有すると知られている薬草の混合物として調製されていてもよい。アロエエモジンは、大黄(Rhei Rhizoma)及びレウム・パルマツム(Rheum palmatum)等、いくつかの従来の薬用植物中に存在する天然のアントラキノン化合物である。興味深いことには、アロエエモジンは、正常ヒト細胞へのより少ない細胞毒性を有すると分かった。合成されたD及びE分子を用いて、インビトロ( *In-vitro* )で、テストが細胞系統で行なわれた。植物を用いたインビトロのテストは単離された分子を用いたものに似ていた。

【0030】

エモジンは「大黄(Rhei Rhizoma)及びレウム・パルマツム(Rheum palmatum)等、従来の薬用植物」から抽出されてもよい。ある実施態様においては、使用されるエモジンの源はDa Huang - 中国語の名前、または大黄の根茎(Rhubarb Root) - 英語の名前、またはレウム・パルマツム(Rheum Palmatum) - 植物学の名前、またはRadix Rhizoma Rhei - 薬物の名前である。エモジンはダイオウ(Rhubarb)、クロウメモドキ(Buckt

horn) 及び / 又はイタドリ (Japanese Knotweed) (Fallopia Japonica) から抽出されてもよい。ソコトリナ・アロエ、バルバドス・アロエ、及びザンジバル・アロエで見つかったエモジンの一種であるアロエ エモジンを用いてよい。

【0031】

ある実施態様においては、エモジンを使用する癌治療用の薬は、約 10 : 1 の比で水に薬草を混合することにより調製される。薬草は細粉に粉碎されてもよい。水は細かい粉末の薬草に加えられてよく、ポットに蓋をしてよい。沸騰の後、ある実施態様においては、熱は摂氏約 70 度まで低下する。液状混合物をさらに一時間煮る。その後、液体はコンテナーへ漉される。ある場合には、これを 2 度行ってよい。二回目の煮出しでは、比は、7.5 : 1 へ低減して行ってよい。二回目の煮出しは、沸騰を含み約 45 分かかるてもよい。

10

【0032】

ある実施態様において、ジゴキシンの源は Sheng Di Huang - 中国語名、またはジギタリスの根茎 (Foxglove root) 英語名、または Radi x Rhemannia 薬物名である。ジゴキシンの調製はエモジンと同様でよい。ある実施態様においては、エモジン及びジゴキシンが抽出される薬草は一緒に煮出される。ジゴキシンはジギタリス・ブルプレア (Digitalis Purpurea) またはムラサキ・キツネノテブクロ (Purple Foxglove) から抽出されてもよい。

20

【0033】

収穫された、非接着性ヒト造血器腫瘍細胞系統、NB4 (AML)、HL60 及びジャーカット (Jurkat) 細胞は、10%の FCS を補給した培地で、三重反復試験で、24 ウエル・プレートに、1 つのウェル当たりの  $2 \times 10^5$  生細胞 / 1 ml で接種され、ジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせの異なる濃度で 24 時間インキュベートされた。インキュベーションに続いて、細胞はヨウ化プロピジウム (propidium iodide) (PI) (シグマ、セントルイス、MO) で染色され、培養中の生存可能な PI - ネガティブ細胞のパーセントは、セルクエスト (Cell Quest) ソフトウェアを使用して、FACS calibur 分析 (ベクトン・ディキンソン・イムノサイトメトリ・システム (Becton Dickinson Immunocytometry Systems)) によって決定された。接着性前立腺癌 PC3 細胞及び結腸癌 HT29 細胞は、上記に記載した条件の下で、24 ウエル・プレートに、1 つのウェル当たりの  $1 \times 10^5$  生細胞 / 1 ml で接種され、ジゴキシン、エモジン及びそれらの組み合わせに 24 時間の暴露後、細胞は収穫され、PBS で洗われ、PI で染色され、また造血細胞について記載したように数えられた。

30

【0034】

エモジン及びジゴキシンの組み合わせを含むカクテルを投与することを含む癌治療は、当業者が理解できるような他の治療、及び / 又は有効な癌治療において、エモジン、ジゴキシン カクテルと組みわせてよい、他の態様及び化合物を開示するような文献 (これは、参照により組み込まれる) に記載されうる他の治療と組みわせてよい。

40

【0035】

また、エモジン及びジゴキシンの有利な組み合わせを用いる治療は、乾癬及び炎症性疾患など、他の病気を治療するために提供されてもよいと考えられている。

【0036】

本発明はいくつかの実施態様の点から記載されているが、当業者は、本発明が記載された実施態様に制限されないが、添付した特許請求の範囲の精神及び範囲内の修正及び変更で実行することができることを認識するだろう。つまり、その記載は、発明を限定するかわりに、添付した特許請求の範囲について構造かつ機能的な等価物を含む、添付した特許請求の範囲で述べられるような、実例となるように見なされる。

【0037】

50

本発明の典型的な図面及び具体的な実施態様が、記載され、説明されながら、本発明の範囲が、議論した特定の実施態様に制限されるべきでないことは理解される。したがって、実施態様は制限的であるというよりむしろ実例であると見なされ、下記請求項及びそれらの構造的及び機能的等価物に記載のように、本発明の範囲から逸脱されずに、当業者により、変化がそれらの実施態様の中で作られてもよいことが理解されるはずである。

【0038】

さらに、本明細書における好ましい実施態様によって実施されうる方法及び上記に記載されうる方法においては、操作は選択された印刷上の順序で記載された。しかしながら、もし明らかに述べられなかつたか、当業者によって必要であると理解されなかつたならば、順序は印刷上の便宜のために選択され、整理され、操作を行なうための任意の特定の順序を意味するようには意図されない。

10

【図1】

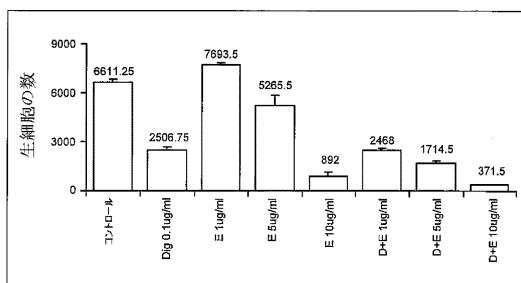


Figure 1

【図3】

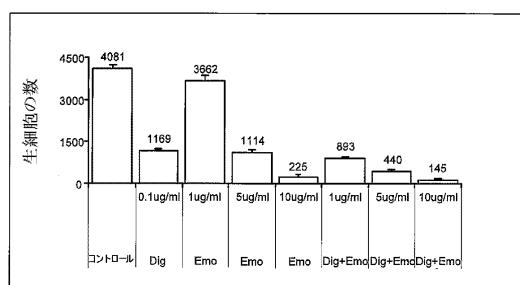


Figure 3

【図2】

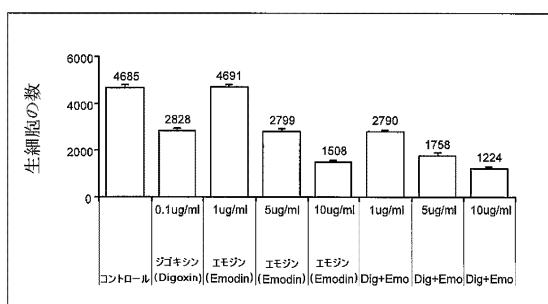


Figure 2

【図4】

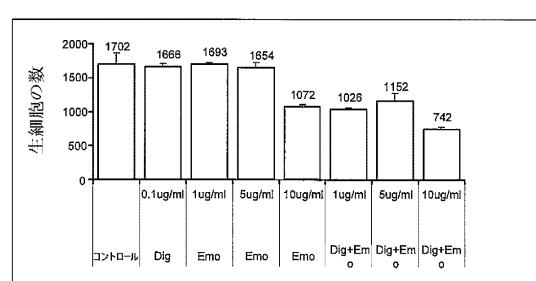


Figure 4

【図5】

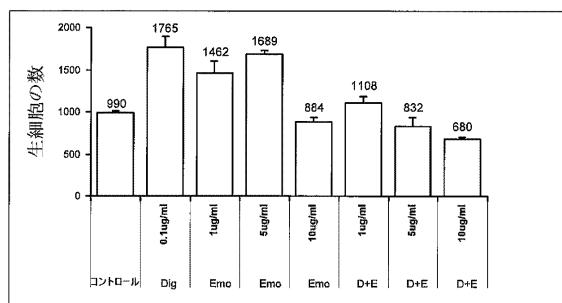


Figure 5

【図6】

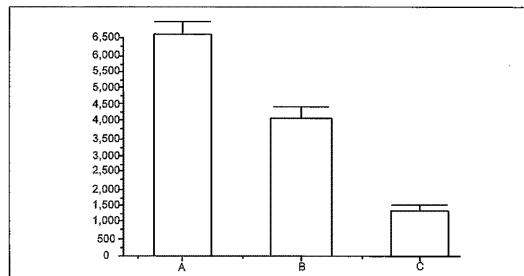


Figure 6

【図7】

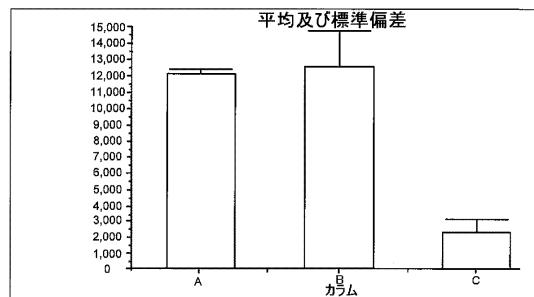


Figure 7

【図8】

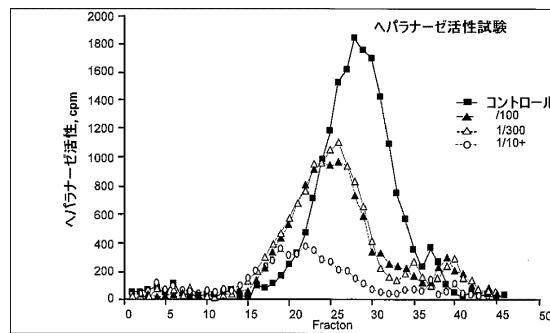


Figure 8

【図9】

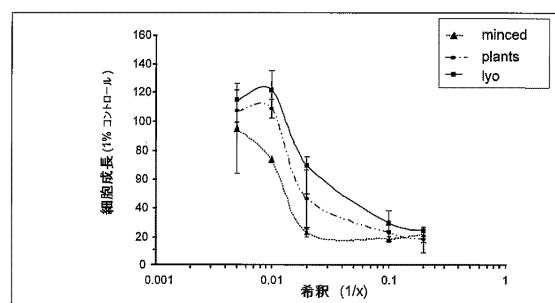


Figure 9

【図11】

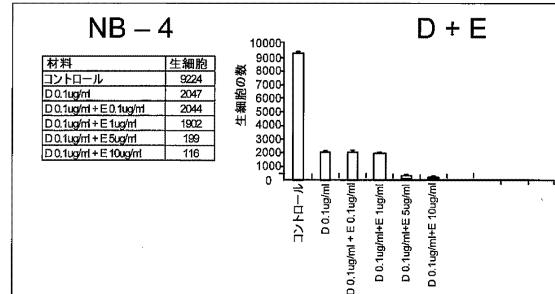


Figure 11

【図10】

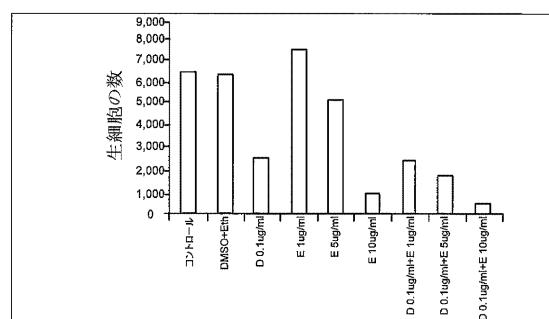


Figure 10

【図12】

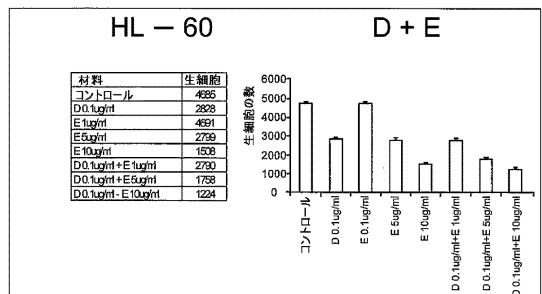
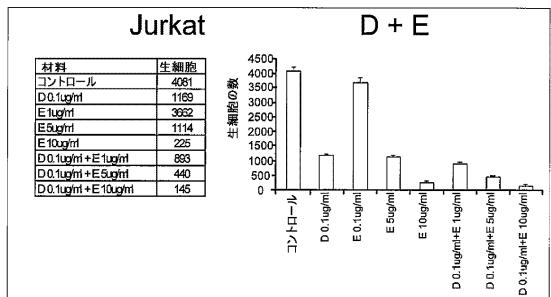
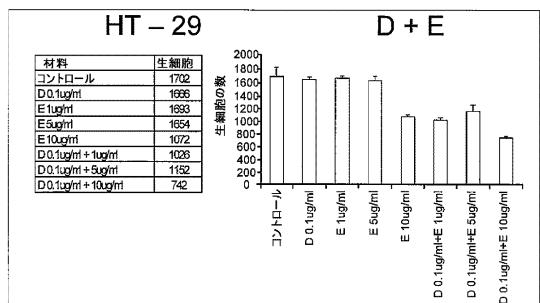


Figure 12

【図13】

**Figure 13**

【図14】

**Figure 14**

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 6 1 K 36/72 (2006.01)	A 6 1 K 36/72
A 6 1 K 36/70 (2006.01)	A 6 1 K 36/70
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 121

(74)代理人 100169993  
弁理士 今井 千裕  
(74)代理人 100161539  
弁理士 武山 美子  
(74)代理人 100166637  
弁理士 木内 圭  
(74)代理人 100177356  
弁理士 西村 弘昭  
(72)発明者 シャライボム、ナダヴ  
キプロス共和国、3087、レメソス、アガソノス・キャプソロス 11

審査官 田村 直寛

(56)参考文献 特表2000-504020 (JP, A)  
Acta Pol Pharm. 1996 Sep-Oct;53(5):311-8  
Pol J Pharmacol Pharm. 1988 Mar-Apr;40(2):183-90  
Biol Pharm Bull. 2006 Jul;29(7):1493-7  
Clin Chem. 2007 Jul;53(7):1315-22  
Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Dec 16;105(50):19579-86  
J Nat Prod. 2009 Nov;72(11):1969-74, Supporting Information  
J Clin Oncol (Meeting Abstracts) June 2007 vol. 25 no. 18, suppl 8573, [online][http://meeting.ascopubs.org/cgi/content/abstract/25/18\\_suppl/8573](http://meeting.ascopubs.org/cgi/content/abstract/25/18_suppl/8573)  
J Clin Oncol (Meeting Abstracts) May 2008 vol. 26 no. 15, suppl 20021, [online][http://meeting.ascopubs.org/cgi/content/abstract/26/15\\_suppl/20021](http://meeting.ascopubs.org/cgi/content/abstract/26/15_suppl/20021)  
Cancer Res. 2005 Mar 15;65(6):2287-95  
blood, 2007, 110, 11 Part2, 141B-142B(Abstract#4296)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 31 / 0 0  
Caplus / REGISTRY / MEDLINE / EMBASE / BIOSIS (STN)