

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2009年8月6日 (06.08.2009)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2009/096487 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 31/513 (2006.01) A61K 47/24 (2006.01)
 A61K 9/127 (2006.01) A61K 47/34 (2006.01)
 A61K 31/282 (2006.01) A61P 35/00 (2006.01)
 A61K 31/4412 (2006.01) A61P 43/00 (2006.01)
 A61K 31/53 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2009/051499

(22) 国際出願日: 2009年1月29日 (29.01.2009)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願2008-019141 2008年1月30日 (30.01.2008) JP
 特願2008-306072 2008年12月1日 (01.12.2008) JP

(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 国立大学
法人徳島大学 (THE UNIVERSITY OF TOKUSHIMA)
[JP/JP]; 〒7708501 徳島県徳島市新蔵町2丁目24番

地 Tokushima (JP). 大鵬薬品工業株式会社 (TAIHO
 PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1018444
 東京都千代田区神田錦町1丁目27番地 Tokyo (JP).

(72) 発明者; および

(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 石田 竜弘
 (ISHIDA, Tatsuhiko) [JP/JP]; 〒7708505 徳島県徳島市
 庄町1丁目78番地の1 国立大学法人徳島大学大
 学院ヘルスバイオサイエンス研究部薬物動態制御学
 分野内 Tokushima (JP). 際田 弘志 (KIWADA, Hiroshi)
 [JP/JP]; 〒7708505 徳島県徳島市庄町1丁目78番地
 の1 国立大学法人徳島大学大学院ヘルスバイオサイ
 エンス研究部薬物動態制御学分野内 Tokushima (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人三枝国際特許事務所, 外
 (SAEGUSA & PARTNERS et al.); 〒5410045 大阪府大
 阪市中央区道修町1-7-1 北浜TNKビル Osaka
 (JP).

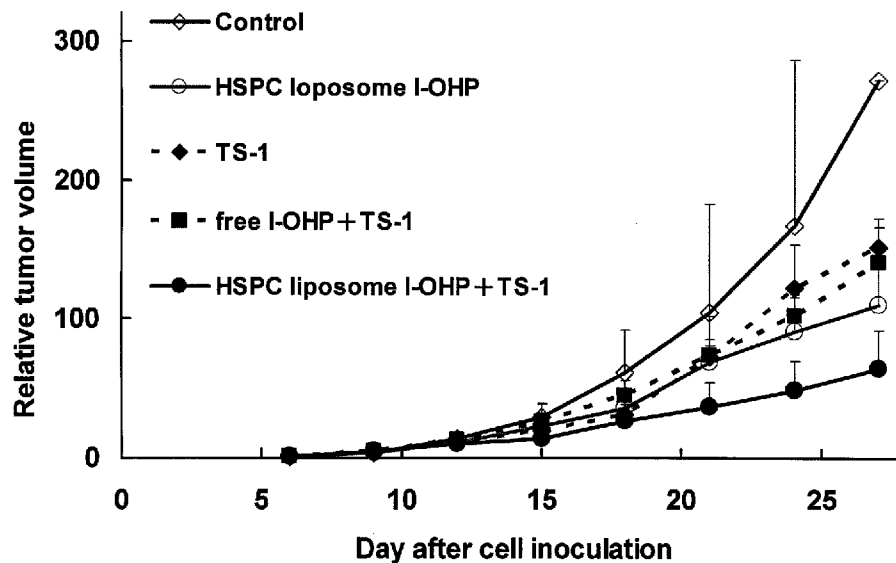
(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が
 可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
 BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE,

[続葉有]

(54) Title: AGENT FOR ENHANCING ANTI-TUMOR EFFECT COMPRISING OXALIPLATIN LIPOSOME PREPARATION,
 AND ANTI-TUMOR AGENT COMPRISING THE LIPOSOME PREPARATION

(54) 発明の名称: オキサリプラチンリポソーム製剤からなる抗腫瘍効果増強剤及び当該リポソーム製剤を含有する
 抗腫瘍剤

[図3]



(57) Abstract: The object is to further enhance the anti-tumor effect when oxaliplatin is used in combination with a mixed preparation containing tegafur, gimeracil and oteracil potassium. By using oxaliplatin in the form of a liposome preparation, when the liposome preparation is used in combination with a mixed preparation containing tegafur, gimeracil and oteracil potassium, the anti-tumor effect can be significantly enhanced without increasing adverse side effects.

[続葉有]

WO 2009/096487 A1



DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD,

添付公開書類:

— 国際調査報告書

(57) 要約: 本発明は、オキサリプラチンと、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤併用時の抗腫瘍効果を更に増強することを課題とする。本発明によれば、オキサリプラチンをリポソーム製剤とすることにより、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤併用時に、副作用を増強することなく抗腫瘍効果を顕著に増強する。

明 細 書

オキサリプラチンリポソーム製剤からなる抗腫瘍効果増強剤及び当該リポソーム製剤を含有する抗腫瘍剤

技術分野

[0001] 本発明は、オキサリプラチンを含有するリポソーム製剤からなる抗腫瘍効果増強剤及び当該リポソーム製剤を含有する抗腫瘍剤に関する。

背景技術

[0002] 現在までに癌治療のために多くの薬物が開発され、医療に用いられている。例えばテガフルは、生体内で活性化を受けて活性本体である5-フルオロウラシル(以下、5-FUと称する)を徐々に放出する薬剤であり、5-FUにおける毒性又は副作用を軽減したものである。このテガフルとギメラシル及びオテラシルカリウムの3剤配合剤(商品名:ティーエスワン、テガフル:ギメラシル:オテラシルカリウム(モル比)=1:0.4:1、大鵬薬品工業(株)製、以下、TS-1と称する)は、ギメラシルが5-FUの分解阻害作用を有することから、抗腫瘍効果の更なる増強が見られる。また、この配合剤では、テガフルとギメラシルの2剤による抗腫瘍効果の増強に付随して上昇することが危惧される消化管毒性をオテラシルカリウムが特異的に抑制することにより、治療効果が向上している。このように、TS-1は各種の悪性腫瘍の治療に貢献している(特許文献1参照)。

[0003] しかし、癌患者の生存期間をより延長させるような更に治療効果の高い薬剤や治療法が必要とされている。この目的で、抗腫瘍作用の発現機構や副作用の種類が異なる複数の薬剤を組み合わせることで投与することにより、治療成績を向上させる試み(併用療法)が行われており、いくつかの併用療法は治療成績の向上に貢献している(特許文献2、3及び4参照)。例えば、オキサリプラチンは単剤での抗腫瘍効果が低いため他剤との併用療法で使用されており、併用療法としては5-FU及びホリナート(以下、LVと称す)との併用療法(FOLFOX)が世界的に汎用されている(非特許文献1、2及び3参照)。しかし、FOLFOXは操作が煩雑であることから持続静注に伴う拘束に由来する患者のQOLの低下や、高額な治療費等が問題となっており、オキサリプラチン

を用いたより良い併用療法の確立が世界中で検討されている。その一つとして経口フッ化ピリミジン系抗腫瘍剤であるカペシタビン(商品名:ゼローダ)とオキサリプラチンの併用療法(XELOX)はFOLFOXとほぼ同等の抗腫瘍効果を有することが報告されている(非特許文献4参照)。また、新たな試みとして、TS-1とオキサリプラチンを併用することにより、抗腫瘍効果が顕著に増大し、この場合の抗腫瘍効果はカペシタビンを併用した場合と比較しても高い有効性を示す治療法であることが示唆されている(特許文献5参照)が、更により高い治療効果が求められている。

[0004] 先に述べたようにオキサリプラチンは単剤での抗腫瘍効果が低い。このように抗腫瘍剤が十分な治療効果を発揮できない原因の一つとして、抗腫瘍剤の腫瘍組織に対する選択性の低さが挙げられる。抗腫瘍剤を投与した場合、血中から速く消失したり、標的以外の臓器にも分布することがあり、必ずしも効果的に腫瘍組織に集積するとは限らない。このため抗腫瘍剤の多くは、腫瘍組織に対する抗腫瘍作用を十分に発揮できず、また、しばしば望ましくない正常組織への作用(副作用)を伴い、重篤な毒性を引き起こしている。抗腫瘍剤の効果増強は、現在の癌化学療法 of 重要な課題であり、薬物を腫瘍組織に効率的に集積する薬物送達システム(DDS、Drug Delivery System)の開発が強く求められている。

[0005] リポソームは生体成分由来のリン脂質を主成分とする閉鎖小胞であり、生体に投与したときの毒性、抗原性が低い特徴を持つ。またリポソーム内に薬物を封入することにより、その薬物の血中安定性及び生体内分布を変化させて標的組織への到達性を改善できることが示されている(特許文献6、7、8及び非特許文献5参照)。また癌組織に多く存在する新生血管の血管壁は既存の血管のそれと比較して透過性が高く、粒子径100～200 nmのリポソーム等の小胞は癌組織に集積しやすいことが知られている(非特許文献6参照)。

特許文献1:特許第2614164号公報

特許文献2:特許第2557303号公報

特許文献3:特開平8-169825号公報

特許文献4:特開2002-205945号公報

特許文献5:国際公開WO2005/120480号公報

特許文献6:国際公開WO95/24201号公報

特許文献7:特許第3415131号公報

特許文献8:特開2006-248978号公報

非特許文献1:Journal of Clinical Oncology、Vol.22、23-30、2004

非特許文献2:Journal of Clinical Oncology、Vol.21、2059-2069、2003

非特許文献3:Journal of Clinical Oncology、Vol.18、2938-2947、2000

非特許文献4:Journal of Clinical Oncology、Vol.22、2084-2091、2004

非特許文献5:Journal of Liposome Research、Vol.4、667-687、1994

非特許文献6:Drug Delivery System、Vol.14、433-447、1999

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0006] 本発明は、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の毒性を上昇させることなく、抗腫瘍効果を高めることを目的とする。本発明はまた、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とオキサリプラチンとを含む抗腫瘍剤と比較して、より抗腫瘍効果の高い抗腫瘍剤及びキットを提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

- [0007] 本発明者らはこのような現状に鑑み、より患者の生存期間延長に寄与する癌治療法を開発すべく、研究を重ね、白金錯体であるシスオキサザート(1R, 2R-ジアミノシクロヘキサン)白金(II)(一般名:オキサリプラチン、商品名:エロキサチン又はエルプラット、以下I-OHPとする)をリポソーム内に安定に封入し、リポソームのサイズ等を適切に調節することによって調製に成功したI-OHP封入リポソームをテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤に併用することにより、副作用を増強することなく抗腫瘍効果を顕著に増強することを見出し、本発明を完成するに至った。
- [0008] 即ち、本発明は、下記の抗腫瘍効果増強剤、抗腫瘍剤及び抗腫瘍剤キット等を提供するものである。
- [0009] 項1. リポソームにオキサリプラチンを封入したリポソーム製剤とテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とを組み合わせる抗腫瘍剤。
- [0010] 項2. 前記リポソームを構成する脂質成分の少なくとも1種がリン脂質である項1に記

載の抗腫瘍剤。

- [0011] 項3. リポソームの膜表面がポリエチレングリコール、ポリグリセリン又はカチオン化脂質で修飾されている項2に記載の抗腫瘍剤。
- [0012] 項4. テガフル1モルに対するオキサリプラチンの使用割合が、0.1～5モルである項1～3のいずれか一項に記載の抗腫瘍剤。
- [0013] 項5. テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤中の、テガフル1モルに対するギメラシルの配合割合が0.1～5モルであり、テガフル1モルに対するオテラシルカリウムの配合割合が0.1～5モルである項1に記載の抗腫瘍剤。
- [0014] 項6. 抗腫瘍剤がオキサリプラチンを含有してなるリポソーム製剤とテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とからなるキットであることを特徴とする、項1に記載の抗腫瘍剤。
- [0015] 項7. リポソーム製剤が静脈内、腹腔内、筋肉内及び皮下による投与経路により、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤が経口による投与経路により、投与されることを特徴とする、項1に記載の抗腫瘍剤。
- [0016] 項8. リポソームに抗腫瘍効果増強のために有効な量のオキサリプラチンを封入したリポソーム製剤である、治療に有効な量のテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の抗腫瘍活性を増強させる抗腫瘍効果増強剤。
- [0017] 項9. 前記リポソームを構成する脂質成分の少なくとも1種がリン脂質である項8に記載の抗腫瘍効果増強剤。
- [0018] 項10. リポソームの膜表面がポリエチレングリコール、ポリグリセリン又はカチオン化脂質で修飾されている項9に記載の抗腫瘍効果増強剤。
- [0019] 項11. テガフル1モルに対するオキサリプラチンの使用割合が、0.1～5モルである項8～10のいずれか一項に記載の抗腫瘍効果増強剤。
- [0020] 項12. テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤中の、テガフル1モルに対するギメラシルの配合割合が0.1～5モルであり、テガフル1モルに対するオテラシルカリウムの配合割合が0.1～5モルである項8に記載の抗腫瘍効果増強剤。
- [0021] 項13. 抗腫瘍剤を製造するための、リポソームにオキサリプラチンを封入したリポソーム製剤及びテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の使用。

[0022] 項14. 抗腫瘍効果増強剤を製造するための、リポソームにオキサリプラチンを封入したリポソーム製剤の使用。

[0023] 項15. リポソームにオキサリプラチンを封入したリポソーム製剤及びテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の有効量を癌患者に投与することを特徴とする、癌の治療方法。

発明の効果

[0024] 本発明の抗腫瘍効果増強剤は、I-OHPと比較して、公知の抗腫瘍剤であるテガフル、ギメラシル及びオテラシルカリウムの3剤配合剤の毒性を上昇させることなく、抗腫瘍効果を高めることができる。よって、本発明の抗腫瘍剤及び抗腫瘍剤キットは、テガフル、ギメラシル及びオテラシルカリウムの3剤配合剤とI-OHPとの併用療法と比較して毒性が同等でありながら、高い抗腫瘍効果を示すという格別顕著な効果を示す。従って、本発明は、癌患者の生存期間をより延長させるような治療効果の高い治療法への応用が期待される。

図面の簡単な説明

- [0025] [図1]試験例1の相対腫瘍増殖比を示す図である。
[図2]試験例1のマウスの体重変化を示す図である。
[図3]試験例2の相対腫瘍増殖比を示す図である。
[図4]試験例2のマウスの体重変化を示す図である。
[図5]試験例3のマウスの生存日数を示す図である。
[図6]試験例4のマウスの生存日数を示す図である。
[図7]試験例5の相対腫瘍増殖比を示す図である。
[図8]試験例6の相対腫瘍増殖比を示す図である。
[図9]試験例6のマウスの体重変化を示す図である。
[図10]試験例7のマウスの生存日数を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

[0026] (1)抗腫瘍効果増強剤

本発明は、脂質成分より構成されるリポソームに抗腫瘍効果増強のために有効な量のオキサリプラチン(I-OHP)を封入したリポソーム製剤である、治療に有効な量の

テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の抗腫瘍活性を増強させる抗腫瘍効果増強剤を提供する。

[0027] (1-1)リポソーム製剤

1-OHP

1-OHPは白金を含有する錯体であり公知の化合物である。1-OHPは癌細胞のDNAに結合することによりDNAの機能障害及びDNA鎖の切断を引き起こし、癌細胞を死滅させる作用を有している。1-OHPは、公知の方法、例えば特公昭60-41077号に記載されている方法に従って製造できる。

[0028] リポソーム

本発明のリポソーム製剤に用いられるリポソームとは、細胞膜の構成成分であるリン脂質を水中に分散させて形成される脂質二分子膜により囲まれた内水相部分を有する閉鎖小胞であり、そのサイズや脂質二分子の数によって多重相リポソーム(Multilamellar Vesicle: MLV)、大きな一枚膜リポソーム(Large Unilamellar Vesicle: LUV)及び小さな一枚膜リポソーム(Small Unilamellar Vesicle: SUV)の3種類に分類される。本発明ではいずれの種類のリポソームも使用可能である。本発明のリポソームは生体内投与前及び投与後に安定なリポソーム構造を形成しなければならない。リポソームを構成するリン脂質としては、例えば水素添加精製卵黄ホスファチジルコリン(相転移温度50℃、以下HEPCとする)、水素添加精製大豆ホスファチジルコリン(相転移温度約55℃、以下HSPCとする)、ジパルミトイルホスファチジルコリン(相転移温度約41℃、以下DPPCとする)、ジステアロイルホスファチジルコリン(相転移温度約58℃、以下DSPCとする)及び1-パルミトイル-2-オレオイルホスファチジルコリン(相転移温度-3℃、以下POPC)から選ばれ、より好ましくはHEPC、HSPC、DPPC、DSPCが挙げられる。

[0029] 本明細書において、水素添加卵黄ホスファチジルコリンとは、卵黄由来のホスファチジルコリンに水素添加したものをいう。好ましい実施形態において、水素添加卵黄ホスファチジルコリンとしては、例えば、アシル部分が炭素数16～18の飽和直鎖脂肪酸由来のアシル基であるホスファチジルコリンを主成分とするものを挙げるができる。また、本発明においては、水素添加精製卵黄ホスファチジルコリンとは、水素添

加卵黄ホスファチジルコリンを精製したものをいい、例えば、純度80%以上、好ましくは純度90%以上のものを用いることができる。

[0030] 本明細書において、水素添加大豆ホスファチジルコリンとは、大豆由来のホスファチジルコリンに水素添加したものをいう。好ましい実施形態において、水素添加大豆ホスファチジルコリンとしては、例えば、アシル部分が炭素数16～18の飽和直鎖脂肪酸由来のアシル基であるホスファチジルコリンを主成分とするものを挙げるができる。また、本発明においては、水素添加精製大豆ホスファチジルコリンとは、水素添加大豆ホスファチジルコリンを精製したものをいい、例えば、純度80%以上、好ましくは純度90%以上のものを用いることができる。

[0031] これらのリン脂質は1種又は2種以上混合して用いることができる。相転移温度の異なるリン脂質を用いることにより、リポソームの脂質二分子膜の流動性を変えることができ、薬物の封入率、製剤中での安定性、投与後の生体内動態などの点から、最適なリン脂質を選択することができる。

[0032] 本発明に用いられるリポソームは、これらリン脂質に加えて、好ましくはリポソームの安定性を改善することが報告されているコレステロールあるいはその誘導体等の安定化剤と混合して使用される。さらにリポソームの膜表面を、必要に応じ、ポリエチレングリコール、ポリグリセリン等の親水性高分子、アミノ基、アミジノ基、グアジニノ基等の塩基性官能基を含む脂質(以下、カチオン化脂質とする)、ペプチド、レクチン、抗体、糖質、糖タンパク、糖脂質等のリガンドで修飾することによって、リポソームの血中での安定性、組織分布、腫瘍組織への移行性等をさらに改善することができる。

[0033] 本発明において、「ポリエチレングリコール」には、未置換のポリエチレングリコールだけでなく、親油性(疎水性)側鎖を共有結合させた誘導体が含まれ、親油性側鎖の具体例として、アルキル鎖、リン脂質、コレステロール等が挙げられる。かかるポリエチレングリコール誘導体としては、リポソームの安定性向上のために通常用いられるものを広く用いることができる。同様に、本発明において、「ポリグリセリン」には、未置換のポリグリセリンだけでなく、親油性(疎水性)側鎖を共有結合させた誘導体が含まれ、親油性側鎖の具体例として、アルキル鎖、リン脂質、コレステロール等が挙げられる。かかるポリグリセリン誘導体としては、リポソームの安定性向上のために通常用いら

れるものを広く用いることができる。また、等張化剤として、例えば、グリセリン、ブドウ糖、塩化ナトリウム等の添加も可能である。さらに、パラベン類、クロルブタノール、ベンジルアルコール、プロピレングリコール等の防腐剤を加えてもよい。

[0034] リポソーム製剤

本発明のリポソーム製剤は公知の方法により調製される。公知のリポソーム製剤の調製方法としては、例えば、逆相蒸発法 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol.75, 4194、1978、国際公開WO97/48398号公報)、凍結融解法 (Arch. Biochem. Biophys, Vol.121, 186, 1981)、pH勾配法 (Biochem. Biophys. Acta, Vol.816, 294, 1985、特開平7-165560号公報)等が挙げられる。

[0035] これらの中で、逆相蒸発法による本発明のリポソーム製剤の調製方法としては、例えば、脂質成分をクロロホルム、エーテル、エタノール等の溶媒に溶解後、ナス型フラスコに入れ、減圧下溶媒留去し脂質薄膜を形成する。次いで、クロロホルム/ジエチルエーテル= 1/2混液を加え、薄膜を溶解する。ここに薬物の水溶液を添加し、25℃にて15分間超音波処理を行い乳化(エマルション)させる。次いで、ボルテックスを交えながら、エバポレーターにて約1時間減圧下有機溶媒部分を留去させ、w/oエマルションからo/wエマルションに転相させることで、リポソームを形成、同時に薬物をリポソームに封入することができる。以上の操作により、薬物をリポソーム内部に封入することができる。

[0036] リポソームの粒子サイズは内包されている薬物の生体内分布、腫瘍組織への送達性に大きな影響を与えることが報告されている (Biol.Pharm.Bull, Vol.17, 935, 1994)。従って、本発明においては、薬物内包リポソームの粒子径を適切かつ均一にするために、サイジング処理を行うのが好ましく、例えば、バイオディスラプター(日本精機社製等)を使用した超音波処理やナノマイザー(吉田機械興業)等を用いた高圧乳化処理を行うことにより、平均粒子径として約100～200nmになるように調節する。あるいは、窒素加圧下、リポソーム溶液を種々のポリカーボネートメンブレンフィルターを用いてサイジング(0.4 μ m, 0.2 μ m, 0.1 μ m, 0.08 μ m)することで平均粒子径として約100～300nmになるように調節する。

[0037] 尚、本発明において、「平均粒子径」とは、NICOMP 370 HPL submicron particle a

nalyzer (Particle Sizing System社製)を用い、光散乱法にて得られる平均粒子径を示す。

- [0038] さらにリポソームの膜表面を、必要に応じ、ポリエチレングリコール、ポリグリセリン、カチオン化脂質、ペプチド、レクチン、抗体、糖質、糖タンパク、糖脂質等のリガンドで修飾することによって、リポソームの血中での安定性、組織分布、腫瘍組織への移行性等をさらに向上させることができる。
- [0039] 本発明に係るリポソーム製剤はまた、オキサリプラチン (l-OHP) のリポソーム製剤について開示する特許文献7 (特許第3415131号公報)、特許文献8 (特開2006-248978号公報)の方法に従い得ることができる。
- [0040] 好ましい実施形態において、本発明に係るリポソーム製剤は、l-OHP溶液として、l-OHPを1~10%ブドウ糖液に1~20mg/mLとなるように溶解した液を用いて調製される。
- [0041] 上記記載の方法によって調製した、l-OHP封入リポソーム製剤を、必要に応じ、超遠心処理、ゲル濾過処理、限外濾過処理及び透析処理を単独又は適宜組み合わせることで、リポソームに内包されなかった薬物を除去することができる。
- [0042] 上記の方法により得られるl-OHP封入リポソーム製剤はそのままでも使用できるが、保存期間、保存条件等を考慮して、マンニトール、トレハロース、ラクトース、グリシン等の賦形剤を加えて凍結乾燥することもできる。またグリセリン等の凍結保存剤を加え、凍結保存してもよい。
- [0043] 好ましい実施形態において、l-OHPのリポソーム製剤は、1~50 μ g/mg脂質、より好ましくは5~40 μ g/mg脂質のオキサリプラチンを含有する。
- [0044] 本発明のl-OHP封入リポソーム製剤の平均粒子径は、好ましくは50~300nm、より好ましくは80~200nmである。
- [0045] l-OHP封入リポソーム製剤は、一般的には、使用時に生理的に許容される水溶液で懸濁又は希釈して注射剤 (静脈内、腹腔内、筋肉内、皮下投与製剤)として用いられるが、経口剤、点鼻剤、吸入剤、坐剤、経皮吸収剤、経粘膜吸収剤等として使用することもできる。この場合、適当な製剤用担体を用いて、通常の方法に従い製剤組成物とされる。ここで用いられる担体としては、通常の薬剤に汎用される各種のもの、

例えば賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤、界面活性剤等を例示できる。

[0046] 本発明の抗腫瘍効果増強剤が抗腫瘍効果を増強させるテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤としては、以下のものが挙げられる。

[0047] (1-2)テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤

テガフル

テガフル(一般名、化学名:5-フルオロ-1-(2-テトラヒドロフリル)-2,4-(1H,3H)-ピリミジンジオン)は、公知の化合物であり、生体内で活性化を受けて抗腫瘍活性の本体である5-FUを放出する薬剤である。テガフルは、公知の方法、例えば特公昭49-10510号に記載されている方法に従って製造できる。

[0048] ギメラシル

ギメラシル(一般名、化学名:2,4-ジヒドロキシ-5-クロロピリジン)も、公知の化合物であり、それ自身全く抗腫瘍活性を有さないものであるが、5-FUが生体内において代謝されて不活性化されることを抑制するものであり、抗腫瘍効果を増強させることができる。

[0049] オテラシルカリウム

オテラシルカリウム(一般名、化学名:モノポタシウム1,2,3,4-テトラヒドロ-2,4-ジオキソ-1,3,5-トリアジン-6-カルボキシレート)も公知の化合物であり、それ自身は抗腫瘍活性を有さないが、主に消化管に分布してその部位での5-FUの活性化を抑制することにより消化管障害を抑制するものである。

[0050] テガフル、ギメラシル及びオテラシルカリウムの3成分を有効成分として含有する配合剤の配合割合は、例えば、特許第2614164号公報に記載されている公知の配合剤と同様の範囲で良く、通常、テガフル1モルに対して、ギメラシルを0.1~5モル程度、好ましくは0.2~1.5モル程度とすればよく、オテラシルカリウムを0.1~5モル程度、好ましくは0.2~2モル程度とすればよい。特に好ましくは、3成分の配合割合は、テガフル:ギメラシル:オテラシルカリウム(モル比)=1:0.4:1である。

[0051] テガフル、ギメラシル及びオテラシルカリウムの3成分を有効成分として含有する配合剤は、各成分をそれぞれ単独若しくは任意の組み合わせで含む二個以上の製

剤からなる製剤形態、又は全有効成分を含む一つの製剤に調製した形態のいずれであっても良い。いずれの場合も、これらは適当な製剤用担体を用いて、通常の方法に従い製剤組成物とされる。ここで用いられる担体としては、通常の薬剤に汎用される各種のもの、例えば賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤、界面活性剤等を例示できる。

[0052] 上記した二個以上の製剤からなる製剤形態の配合剤を用いる場合には、各成分は、同時に、又は一の成分の投与前又は後の任意の時期に他の成分を投与することができる。好ましくは同時に、もしくは一の成分の投与前後4時間以内、より好ましくは2時間以内に他の成分を投与するのがよい。

[0053] (1-3) 投与方法

前述の1-OHP封入リポソーム製剤である抗腫瘍効果増強剤は、各種の投与単位形態に製剤されたテガフル、ギメラシル及びオテラシルカリウムの3成分を有効成分とする配合剤と、それぞれ別々に又は同時に投与することができる。すなわち、本発明の抗腫瘍効果増強剤は、テガフル、ギメラシル及びオテラシルカリウムの3成分を有効成分とする抗腫瘍剤の投与前、後、同時の任意の時期に投与することができる。好ましくは同時に、もしくは抗腫瘍剤の投与前後4時間以内、より好ましくは2時間以内に投与するのが良い。継続して投与する場合は、抗腫瘍剤及び抗腫瘍効果増強剤の投与頻度、投与間隔を適切に設定して使用する。

[0054] 1-OHP封入リポソーム製剤を、上記したテガフル、ギメラシル及びオテラシルカリウムの3成分を有効成分として含有する抗腫瘍剤と別々に又は同時に投与する場合、例えば、テガフル1モルに対して、1-OHPの量が0.1～5モル程度、好ましくは0.1～3モル程度、より好ましくは、0.2～2モル程度となる範囲で投与すればよい。

[0055] (2) 抗腫瘍剤

また、本発明は、テガフル、ギメラシル及びオテラシルカリウムの3成分を有効成分として含有する配合剤に、更に、上記抗腫瘍効果増強剤である1-OHP封入リポソーム製剤と組み合わせた抗腫瘍剤を提供する。当該抗腫瘍剤は、上記の3成分及び1-OHP封入リポソームの計4成分をそれぞれ単独若しくは任意の組み合わせで含む複数の製剤からなる製剤形態、又は全てを含む一つの製剤からなる製剤形態である。

。即ち、本発明の抗腫瘍剤は上記の4成分を全て含んだ1剤型の製剤であっても、そのうちの1～3成分を含んだ製剤とその他の成分を含んだ製剤との多剤型の製剤であってもよい。特に、テガフル、ギメラシル及びオテラシルカリウムの3成分を有効成分とする配合製剤と、I-OHP封入リポソーム製剤とを別個の製剤とする2剤型製剤が好ましい。

[0056] 該抗腫瘍剤では、各成分の配合割合は1剤型であっても多剤型であっても、特に限定的ではないが、通常、テガフル1モルに対して、ギメラシルを0.1～5モル程度、好ましくは0.2～1.5モル程度、オテラシルカリウムを0.1～5モル程度、好ましくは0.2～2モル程度、I-OHPを0.1～5モル程度、好ましくは0.1～3モル程度、より好ましくは0.2～2モル程度とすればよい。特に、各成分のモル比が、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム：I-OHP＝1：0.4：1：0.1～5程度であることが好ましく、1：0.4：1：0.1～3モル程度であることがより好ましく、1：0.4：1：0.2～2モル程度であることが更に好ましい。好ましい形態である、上記したテガフル、ギメラシル及びオテラシルカリウムの3成分を有効成分とする配合製剤と、I-OHP封入リポソーム製剤とを別個の製剤とする2剤型製剤である場合には、テガフル：ギメラシル：オテラシルカリウム（モル比）＝1：0.4：1の配合製剤と、テガフル1モルに対して0.1～5モル程度、好ましくは0.1～3モル程度、より好ましくは0.2～2モル程度のI-OHPを含むリポソーム製剤とすることが望ましい。

[0057] これらの有効成分は適当な製剤用担体を用いて、通常の方法に従い製剤組成物とされる。ここで用いられる担体としては、通常の薬剤に汎用される各種のもの、例えば賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤、界面活性剤等を例示できる。

[0058] 上記した二個以上の製剤からなる多剤型の抗腫瘍剤を用いる場合には、各成分は、同時に、又は一の成分の投与前又は後の任意の時期に他の成分を投与することができる。好ましくは同時に、もしくは一の成分の投与前後4時間以内、より好ましくは2時間以内に他の成分を投与するのがよい。

[0059] (3)キット

また、本発明は、上記したI-OHP封入リポソーム製剤と、テガフル、ギメラシル及

びオテラシルカリウムの配合製剤とを組み合わせたキット、具体的には、

(a) 治療に有効な量のテガフル、抗腫瘍効果増強のために有効な量のギメラシル、及び副作用抑制のために有効な量のオテラシルカリウムを含有する抗腫瘍組成物、並びに

(b) 抗腫瘍効果増強のために有効な量のI-OHPを含有するリポソーム

からなる哺乳動物における癌治療のための医薬組成物の組み合わせからなるキットを提供する。

[0060] 該キットでは、これを構成する各組成物は公知の各種の製剤形態とすることができ、一般に各々の組成物は、その製剤形態に応じて、通常用いられる各種の容器に収納される。

[0061] また、該キットは、例えば、

(i) 治療に有効な量のテガフル、

(ii) 抗腫瘍効果増強のために有効な量のギメラシル、

(iii) 副作用抑制のために有効な量のオテラシルカリウムを含有する抗腫瘍組成物、並びに

(iv) 抗腫瘍効果増強のために有効な量のI-OHPを含有するリポソーム

からなる少なくとも4成分、及びこれらの成分のための少なくとも2個の容器を含み、テガフルとI-OHPとが、異なった容器に収納されるものである哺乳動物における癌治療用キットとすることができる。上記成分(i)～(iv)は、いずれも薬学的に許容される担体と組み合わせた製剤形態であることが好ましい。上記キットにおいては、(i)成分と(iv)成分とが別の容器に収納されていればよく、(ii)及び(iii)成分は各々、前記2成分と別の容器に収容されていても良いし、(i)又は(iv)成分と混合されて同じ容器に収容されていても良い。(i)～(iii)成分を含有する製剤を一つの容器に収容し、(iv)成分を含有する製剤を他の容器に収容したキットが好ましい。

[0062] 本発明の抗腫瘍剤を、悪性腫瘍を患った人を含む哺乳動物の治療の目的で使用する際の投与単位形態については特に限定されず、治療目的に応じて適宜選択でき、具体的には注射剤、坐剤、点眼剤、軟膏剤、エアゾール剤等の非経口剤、錠剤、被覆錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、液剤、丸剤、懸濁剤、乳剤等の経口剤を例

示できる。上記投与剤は、この分野で通常知られた製剤方法により製造される。

- [0063] 本発明の抗腫瘍剤における有効成分であるテガフル、ギメラシル、オテラシルカリウム、及びI-OHPの配合量は、剤型、投与経路、投与計画等により変り、特に限定されず適宜選択すれば良いが、通常製剤中の有効成分量を各々1～70重量%程度とするのが良い。
- [0064] 本発明製剤の投与方法は特に制限されず、各種製剤形態、患者の年齢、性別その他の条件、患者の症状の程度等に応じて決定され、経腸投与、経口投与、直腸投与、口腔内投与、動脈内・静脈内投与、経皮投与等が可能である。例えば、錠剤、丸剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤等は経口投与され、注射剤は動脈内又は静脈内投与され、坐剤は直腸内投与され、軟膏剤は、皮膚、口腔内粘膜等に塗布される。本発明製剤において、例えば、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合製剤を経口投与し、I-OHP封入リポソーム製剤を静脈内投与することが可能である。
- [0065] 本発明における各有効成分の投与量は、用法、患者の年齢、性別、疾患の程度、その他の条件等により適宜選択できる。本発明の抗腫瘍効果増強剤又は抗腫瘍剤は、1日に1～4回程度に分けて投与することができる。
- [0066] 経口投与の場合、テガフルの量が0.1～100mg/kg/日程度、好ましくは0.2～40mg/kg/日程度、より好ましくは0.5～20mg/kg/日程度、ギメラシルの量が、0.02～30mg/kg/日程度、好ましくは0.05～12mg/kg/日程度、より好ましくは0.1～6mg/kg/日程度、オテラシルカリウムの量が0.1～100mg/kg/日程度、好ましくは0.2～40mg/kg/日程度、より好ましくは0.5～20mg/kg/日程度、I-OHPの量が0.08～200mg/kg/日程度、好ましくは0.15～80mg/kg/日程度、より好ましくは0.4～40mg/kg/日程度の範囲となる量を目安とするのが良い。
- [0067] 注射剤の場合、通常成人1日当たりテガフル量として0.1～100mg/kg程度、I-OHP量として0.08～200mg/kg程度、を必要に応じて5%ブドウ糖溶液で希釈し、5分以上かけて徐々に投与することができる。
- [0068] 坐剤の場合、通常成人1日当たりに対し、テガフル量として0.1～100mg/kg

程度、1-OHP量として0.08～200mg/kg程度を1日1～2回、6～12時間の間隔において直腸内に挿入して投与することができる。

- [0069] 本発明製剤を投与することにより治療できる悪性腫瘍の種類としては、活性本体である5-FUに感受性を示すものであれば特に制限はなく、例えば肺癌、胃癌、結腸癌、直腸癌、食道癌、乳癌、頭頸部癌、肝臓癌、胆のう・胆管癌、膵臓癌、子宮癌、子宮頸癌、卵巣癌、腎癌、膀胱癌、前立腺癌、咽頭癌、脳腫瘍、白血病、メラノーマ、悪性リンパ腫等が挙げられる。特に結腸癌、直腸癌、胃癌、食道癌、乳癌、頭頸部癌に対して高い効果が期待できる。更に、典型的に薬剤耐性であるか又は薬剤耐性になり始めている腫瘍に対しても高い効果が期待できる。

実施例

- [0070] 以下、実施例及び試験例を挙げて本発明を更に詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例及び試験例に限定されるものではない。

[0071] 実施例1

DPPC(L- α -Dipalmitoyl Phosphatidylcholine、Coatsome MC-6060、日油)、コレステロール(特級、和光純薬工業)、及びmPEG₂₀₀₀-DSPE(1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-n-[methoxy(polyethylene glycol)-2000]、Sunbright DSPE-020CN、日油)を夫々20mM、50mM、及び5mMとなるようにクロロホルムに溶解した。20mM DPPC溶液5mL、50mM コレステロール溶液0.5mL、及び5mM mPEG₂₀₀₀-DSPE溶液1mLをナス型フラスコに入れ、エバポレーターで減圧下、クロロホルムを留去し、ナス型フラスコの底に脂質薄膜を形成させた。次にクロロホルム/ジエチルエーテル混液(1:2)6mLを加え、脂質薄膜を溶解した。1-OHPを5%ブドウ糖液に溶解し1-OHP濃度が8mg/mLとなるように調製した液2mLを、上記脂質薄膜を溶解した液に加え、混合した。25℃にて15分間超音波処理した後、ボルテックスを行いながら、エバポレーターにて減圧下有機溶媒部分を留去し、1-OHPをリポソーム内に封入した。バイオディスラプター(日本精機社製)を使用し、超音波処理を行うことにより、薬物内包リポソームの平均粒子径として約200nm弱になるように調節した。さらに、封入されていない1-OHPを除去するために、透析カセット(Slide-A-Lyzer Dialysis Cassettes、10000 MWCO、PIERCE)を用い、外液に5%ブドウ糖液を使用し、マグネ

ディックスターラーで攪拌しながら4°Cで2時間透析した。外液を交換した後、再度攪拌しながら2時間透析し、I-OHP封入リポソーム製剤とした。なお、このI-OHP封入リポソーム製剤の平均粒子径は、 $185.2 \pm 14.9 \text{ nm}$ ($n = 5$)であった。

[0072] 本願実施例において、リポソーム製剤の平均粒子径は、NICOMP 370 HPL submicron particle analyzer (Particle Sizing System社製)を用い、光散乱法にて測定した。

[0073] 実施例2

HSPC (Hydrogenated Soy Phosphatidylcholine, Coatsome NC-21、日油)、コレステロール (特級、和光純薬工業)、及びmPEG₂₀₀₀-DSPE (1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-n-[methoxy(polyethylene glycol)-2000]、Sunbright DSPE-020CN、日油)を夫々20mM、50mM、及び5mMとなるようにクロロホルムに溶解した。20mM HSPC溶液5mL、50mM コレステロール溶液1mL、及び5mM mPEG₂₀₀₀-DSPE溶液2mLをナス型フラスコに入れ、エバポレーターで減圧下、クロロホルムを留去し、ナス型フラスコの底に脂質薄膜を形成させた。次にクロロホルム/ジエチルエーテル混液 (1:2) 6mLを加え、脂質薄膜を溶解した。I-OHPを5%ブドウ糖液に溶解しI-OHP濃度が8mg/mLとなるように調製した液2mLを、上記脂質薄膜を溶解した液に加え、混合した。35°Cにて15分間超音波処理した後、ボルテックスを交えながら一時間ほどエバポレーターにて減圧下有機溶媒部分を留去し、I-OHPをリポソーム内に封入した。以下、実施例1と同じ方法で、粒子径の調整、未封入薬物の除去を行い、I-OHPリポソーム製剤を調製した。このI-OHP封入リポソーム製剤の平均粒子径は、 $197.9 \pm 22.0 \text{ nm}$ ($n = 5$)であった。

[0074] 実施例3

実施例1におけるmPEG₂₀₀₀-DSPEにかわり、PG-DSPE (Sunbright DSPE-PG10G、日油)を用いて、実施例1と同様の方法に従い、I-OHP封入リポソーム製剤を調製した。なお、このI-OHP封入リポソーム製剤の平均粒子径は、 $130.4 \pm 48.3 \text{ nm}$ ($n = 3$)であった。

[0075] 実施例4

HSPC (Hydrogenated Soy Phosphatidylcholine, Coatsome NC-21、日油)、コレステロール (特級、和光純薬工業)、カチオン化脂質であるDC-6-14(O,O'-ditetradeca

noyl-N-(alpha-trimethyl ammonio acetyl) diethanolamine chloride、相互薬工)、及び mPEG₂₀₀₀—DSPE (1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine-n-[methoxy(polyethylene glycol)-2000]、Sunbright DSPE—020CN、日油)を夫々20mM、50mM、5mM及び5mMとなるようにクロロホルムに溶解した。20mM HSPCクロロホルム溶液5mL、50mM コレステロール溶液1mL、5mM DC-6-14及び5mM mPEG₂₀₀₀—DSPEクロロホルム溶液2mLをナス型フラスコに入れ、エバポレーターで減圧下、クロロホルムを留去し、ナス型フラスコの底に脂質薄膜を形成させた。次にクロロホルム／ジエチルエーテル混液(1:2)6mLを加え、脂質薄膜を溶解した。1-OHPを5%ブドウ糖液に溶解し1-OHP濃度が8mg/mL となるように調製した液2mLを、上記脂質薄膜を溶解した液に加え、混合した。35℃にて15分間超音波処理した後、ボルテックスを交えながら一時間ほどエバポレーターにて減圧下有機溶媒部分を留去し、1-OHPをリポソーム内に封入した。以下、実施例1と同じ方法で、粒子径の調整、未封入薬物の除去を行い、1-OHPリポソーム製剤を調製した。この1-OHP封入リポソーム製剤の平均粒子径は、 $202.4 \pm 14.7 \text{ nm}$ (n= 5)であった。

[0076] 試験例1

投与製剤の調製

1-OHP封入リポソーム製剤は、実施例1で調製されたもの(以下、DPPC liposome 1-OHPとする)を用いた。

[0077] 1-OHPを5%ブドウ糖溶液に溶解して、1-OHP製剤(以下、free 1-OHPとする)を調製した。

[0078] TS-1カプセル内容物を水に溶解し、TS-1製剤(以下、TS-1とする)を調製した。

[0079] 製剤の抗腫瘍効果及び副作用

高肺転移性腫瘍細胞株Lewis Lung carcinoma (LLC) 細胞を5%CO₂存在下、37℃ 10% FBS—DMEM中で培養した。 5×10^6 cells/mLに調製したLLC 細胞を雄性C57BL/6マウス(5週齢、体重20g)の背部皮下に0.1mL注入移植して固形癌担癌マウスを作成した。LLC 細胞移植6日目に以下の計算式で算出した腫瘍体積が50mm³を超えたことを確認した。

[0080] DPPC liposome 1-OHP又はfree 1-OHPを、1-OHPとして4.2mg/kgを尾静脈内に

投与した。同様にTS-1をテガフルとして6.9mg/kgを経口投与した。なお、DPPC liposome l-OHP及びfree l-OHPは移植13日目、20日目に投与を行い、TS-1は癌移植6日後から実験終了まで連日投与した。

[0081] 癌移植6日後から腫瘍体積を以下の式を用いて算出し、相対腫瘍体積比を指標として抗腫瘍効果を評価した。

[0082] 腫瘍体積(Tumor volume)= $1/2 \times a \times b^2$

(a:腫瘍部位の長径、b:腫瘍部位の短径)

また、副作用の指標としてマウスの体重変化を調べた。

[0083] 図1の結果から明らかなように、DPPC liposome l-OHPとTS-1との併用投与は、free l-OHPとTS-1との併用投与と比較して、より高い抗腫瘍効果を示した。一方、図2の結果から明らかなように、DPPC liposome l-OHPとTS-1との併用投与は、free l-OHPとTS-1との併用投与と比較して、体重変化に明らかな差がなく、顕著な毒性の増加は認められなかった。

[0084] 試験例2

l-OHP封入リポソーム製剤は、実施例2で調製されたもの(以下、HSPC liposome l-OHPとする)を用いた以外は、試験例1と同様の方法で抗腫瘍効果と副作用を評価した。

[0085] 図3の結果から明らかなように、HSPC liposome l-OHPとTS-1との併用投与は、free l-OHPとTS-1との併用投与と比較して、より高い抗腫瘍効果を示した。一方、図4の結果から明らかなように、HSPC liposome l-OHPとTS-1との併用投与は、free l-OHPとTS-1との併用投与と比較して、体重変化に明らかな差がなく、顕著な毒性の増加は認められなかった。

[0086] 試験例3

試験例1と同様の方法で投与製剤を調製し、担癌マウスへ投与し、マウスの生存日数を調べた。

[0087] 図5の結果から明らかなように、DPPC liposome l-OHPとTS-1との併用投与は、free l-OHPとTS-1との併用投与に比べ、良好な延命効果が認められた。

[0088] 試験例4

試験例2と同様の方法で投与製剤を調製し、担癌マウスへ投与し、マウスの生存日数を調べた。

[0089] 図6の結果から明らかなように、HSPC liposome l-OHPとTS-1との併用投与は、free l-OHPとTS-1との併用投与に比べ、良好な延命効果が認められた。

[0090] 試験例5

l-OHP封入リポソーム製剤は、実施例3で調製されたリポソーム製剤(以下、PG10 liposome l-OHPとする)を使用した以外は、試験例1と同様の方法に従い、抗腫瘍効果を評価した。

[0091] 図7の結果から明らかなように、PG10 liposome l-OHPとTS-1との併用投与は、free l-OHPとTS-1との併用投与と比較して、より高い抗腫瘍効果を示した。

[0092] 試験例6

投与製剤の調製

試験例2と同様の方法で投与製剤を調製した。

[0093] 製剤の抗腫瘍効果及び副作用

マウス結腸癌細胞株Colon26細胞を5%CO₂存在下、37℃ 10% FBS-DMEM中で培養した。2×10⁷ cells/mLに調製したColon26細胞を雄性BALB/cマウス(5週齢、体重20g)の背部皮下に0.1mL注入移植して固形癌担癌マウスを作成した。Colon26細胞移植7日目に以下の計算式で算出した腫瘍体積が50mm³を超えたことを確認した。

[0094] HSPC liposome l-OHP又はfree l-OHPをl-OHPとして4.2mg/kgを尾静脈内に投与した。同様にTS-1をテガフルとして6.9mg/kgを経口投与した。なお、HSPC liposome l-OHP及びfree l-OHPは移植14日目、21日目に投与を行い、TS-1は癌移植7日後から実験終了まで連日投与した。

[0095] これ以外の抗腫瘍効果及び副作用は、試験例2と同様の方法で評価した。

[0096] 図8の結果から明らかなように、HSPC liposome l-OHPとTS-1との併用投与は、free l-OHPとTS-1との併用投与と比較して、より高い抗腫瘍効果を示した。一方、図9の結果から明らかなように、HSPC liposome l-OHPとTS-1との併用投与は、free l-OHPとTS-1との併用投与と比較して、体重変化に明らかな差がなく、顕著な毒性の増加は認められなかった。

[0097] 試験例7

試験例6と同様の方法で投与製剤を調製し、担癌マウスへ投与し、マウスの生存日数を調べた。

[0098] 図10の結果から明らかなように、HSPC liposome I-OHPとTS-1との併用投与は、free I-OHPとTS-1との併用投与に比べ、良好な延命効果が認められた。

[0099] 上記の結果より、I-OHPをリポソーム化製剤とすることにより、TS-1併用時の抗腫瘍効果と延命を顕著に増大し、かつ毒性はI-OHPとTS-1との併用時と同等であることが示唆された。抗腫瘍活性の増強の原因は、リポソーム内への安定な封入によってI-OHPの生体内分布が改善され、腫瘍組織への到達性が向上したためと考えられる。

[0100] 本発明において、I-OHPをリポソーム製剤とすることによりテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤併用時の抗腫瘍活性を増強し、かつリポソーム化による毒性は認められないことが示されたことから、癌治療において、I-OHPリポソーム製剤とテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤併用療法は有用であることが示唆された。

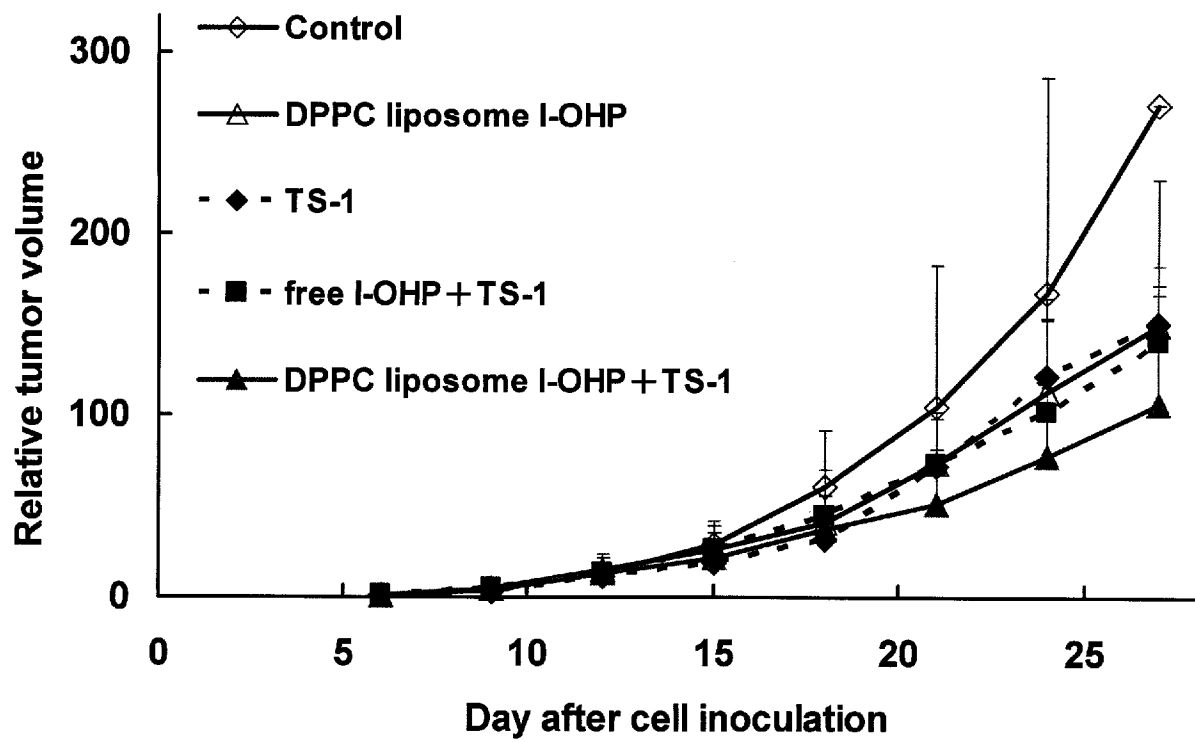
請求の範囲

- [1] リポソームにオキサリプラチンを封入したリポソーム製剤とテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とを組み合わせる抗腫瘍剤。
- [2] 前記リポソームを構成する脂質成分の少なくとも1種がリン脂質である請求項1に記載の抗腫瘍剤。
- [3] リポソームの膜表面がポリエチレングリコール、ポリグリセリン又はカチオン化脂質で修飾されている請求項2に記載の抗腫瘍剤。
- [4] テガフル1モルに対するオキサリプラチンの使用割合が、0.1～5モルである請求項1～3のいずれか一項に記載の抗腫瘍剤。
- [5] テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤中の、テガフル1モルに対するギメラシルの配合割合が0.1～5モルであり、テガフル1モルに対するオテラシルカリウムの配合割合が0.1～5モルである請求項1に記載の抗腫瘍剤。
- [6] 抗腫瘍剤がオキサリプラチンを含有してなるリポソーム製剤とテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤とからなるキットであることを特徴とする、請求項1に記載の抗腫瘍剤。
- [7] リポソーム製剤が静脈内、腹腔内、筋肉内及び皮下による投与経路により、テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤が経口による投与経路により、投与されることを特徴とする、請求項1に記載の抗腫瘍剤。
- [8] リポソームに抗腫瘍効果増強のために有効な量のオキサリプラチンを封入したリポソーム製剤である、治療に有効な量のテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の抗腫瘍活性を増強させる抗腫瘍効果増強剤。
- [9] 前記リポソームを構成する脂質成分の少なくとも1種がリン脂質である請求項8に記載の抗腫瘍効果増強剤。
- [10] リポソームの膜表面がポリエチレングリコール、ポリグリセリン又はカチオン化脂質で修飾されている請求項9に記載の抗腫瘍効果増強剤。
- [11] テガフル1モルに対するオキサリプラチンの使用割合が、0.1～5モルである請求項8～10のいずれか一項に記載の抗腫瘍効果増強剤。
- [12] テガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤中の、テガフル1モルに対する

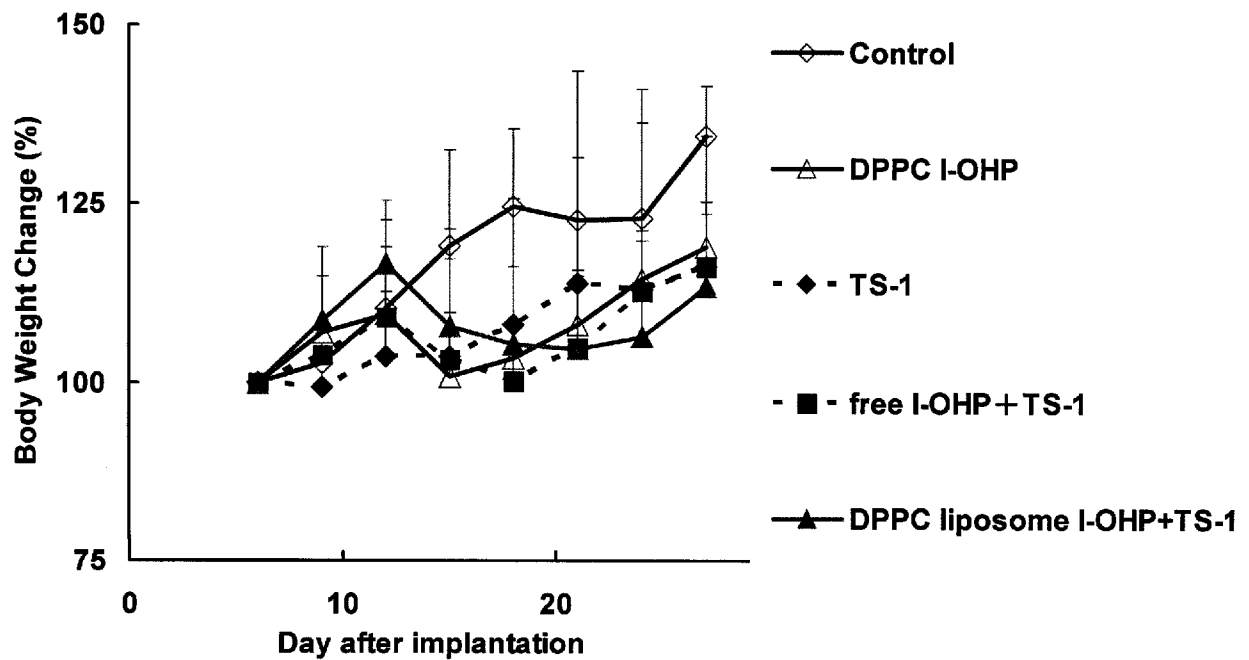
ギメラシルの配合割合が0.1～5モルであり、テガフル1モルに対するオテラシルカリウムの配合割合が0.1～5モルである請求項8に記載の抗腫瘍効果増強剤。

- [13] 抗腫瘍剤を製造するための、リポソームにオキサリプラチンを封入したリポソーム製剤及びテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の使用。
- [14] 抗腫瘍効果増強剤を製造するための、リポソームにオキサリプラチンを封入したリポソーム製剤の使用。
- [15] リポソームにオキサリプラチンを封入したリポソーム製剤及びテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム配合剤の有効量を癌患者に投与することを特徴とする、癌の治療方法。

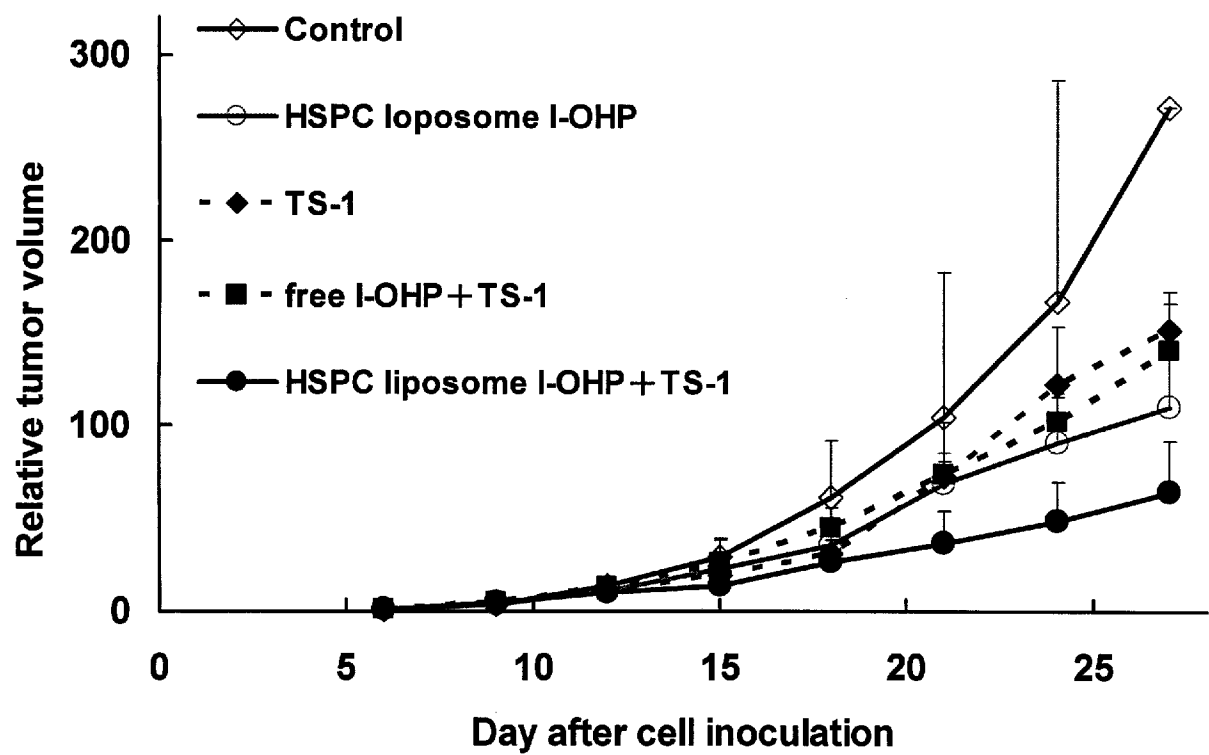
[図1]



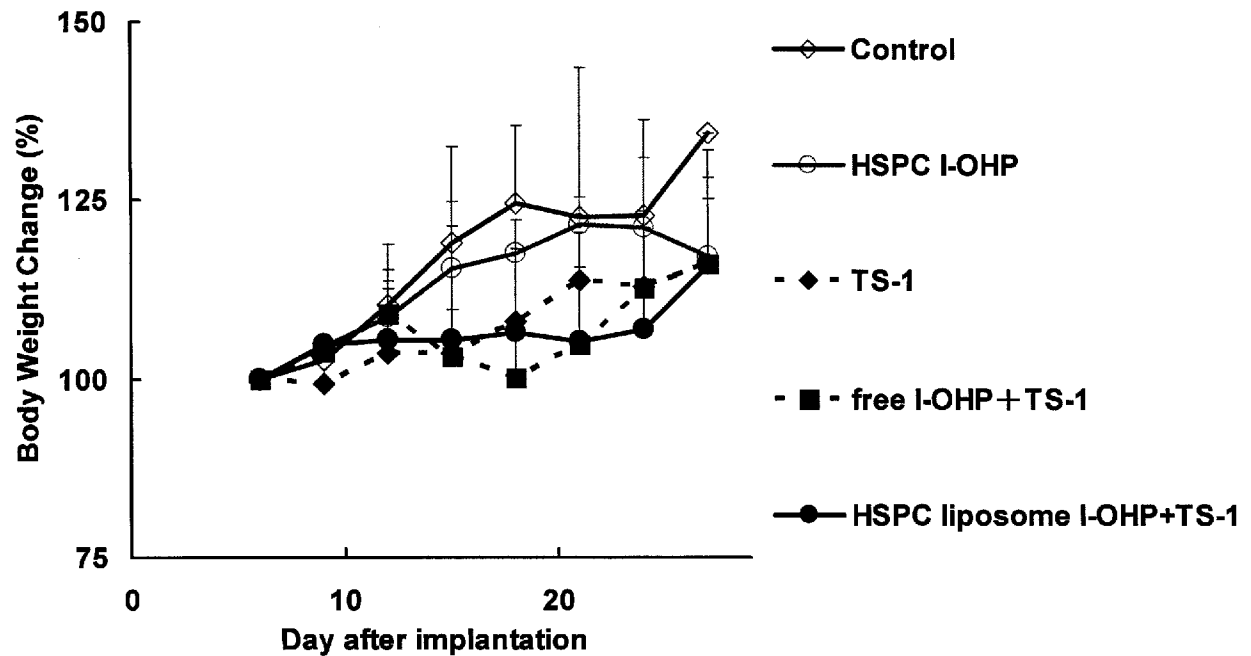
[図2]



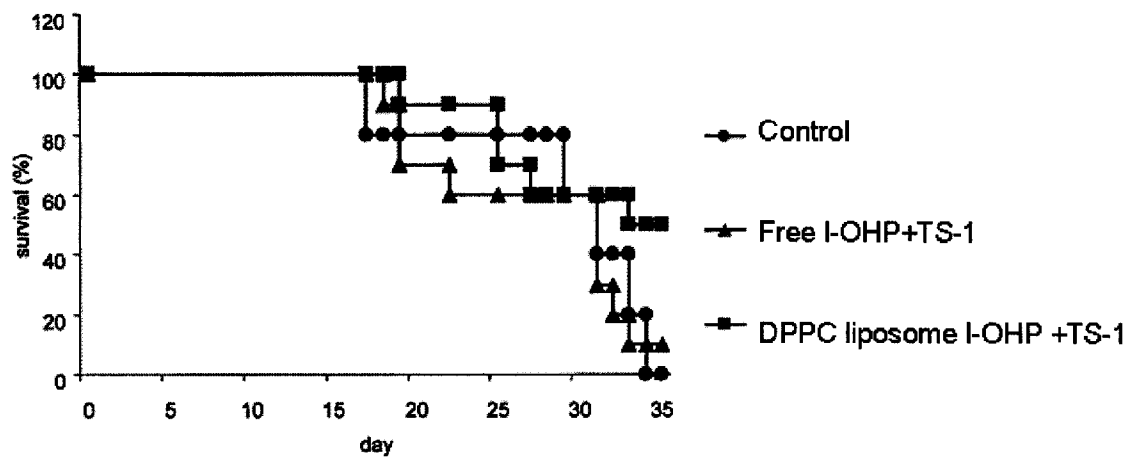
[図3]



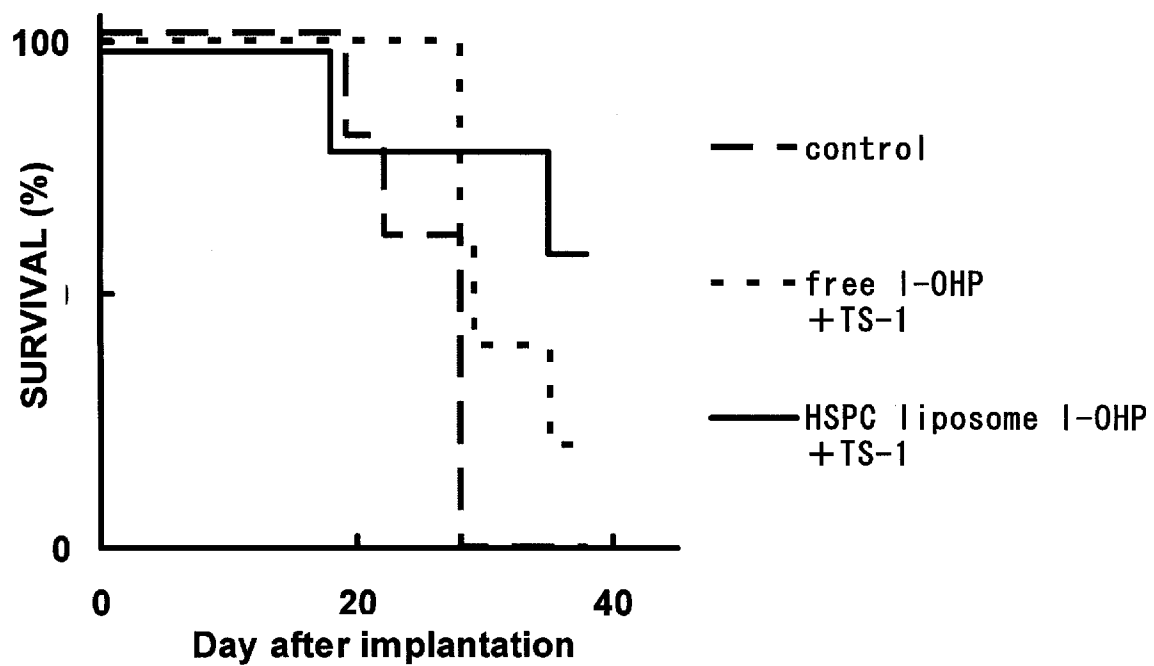
[図4]



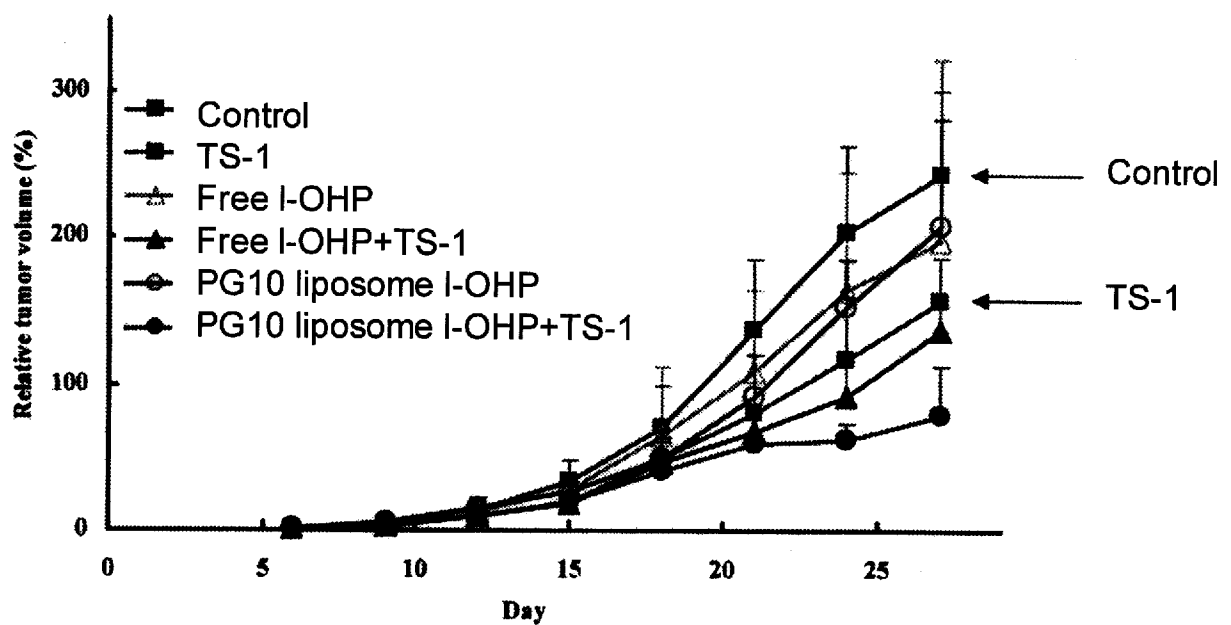
[図5]



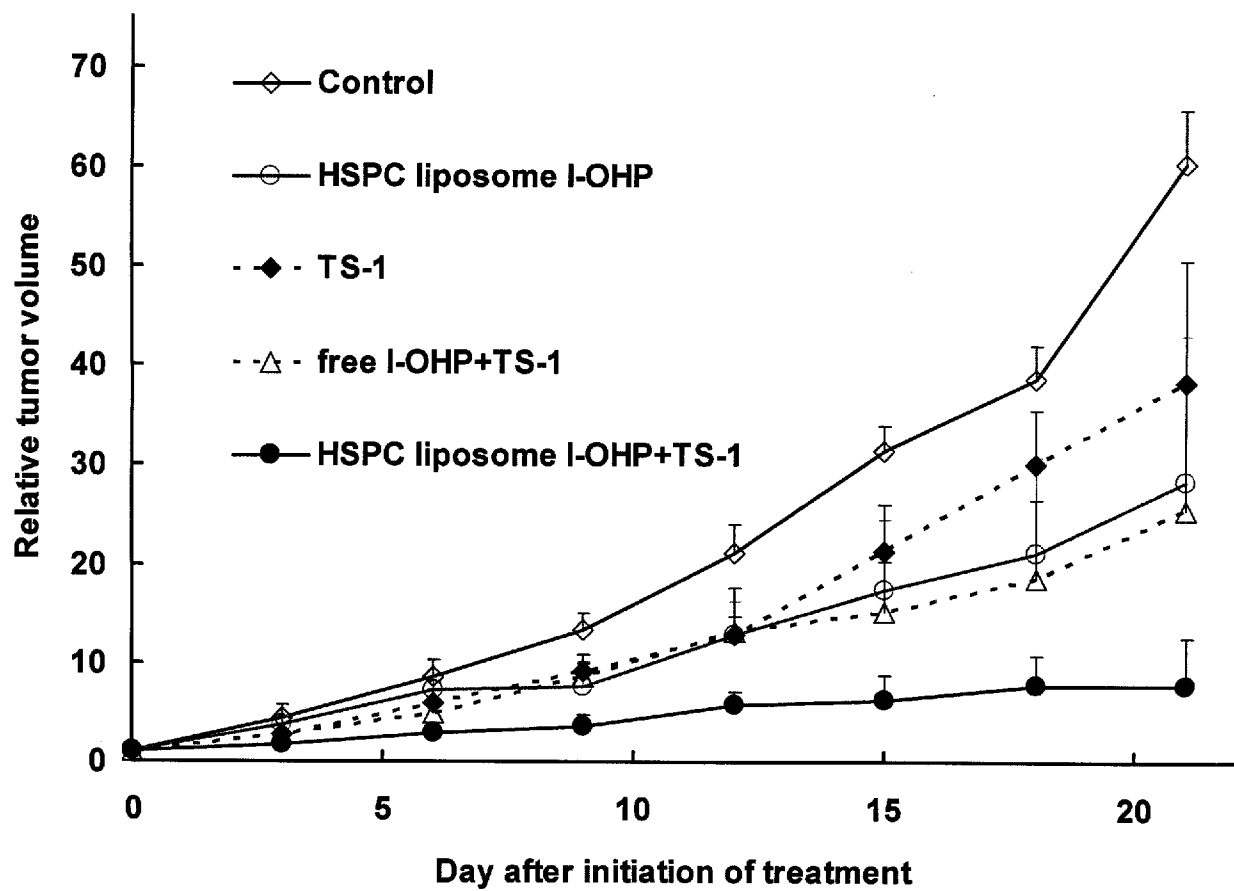
[図6]



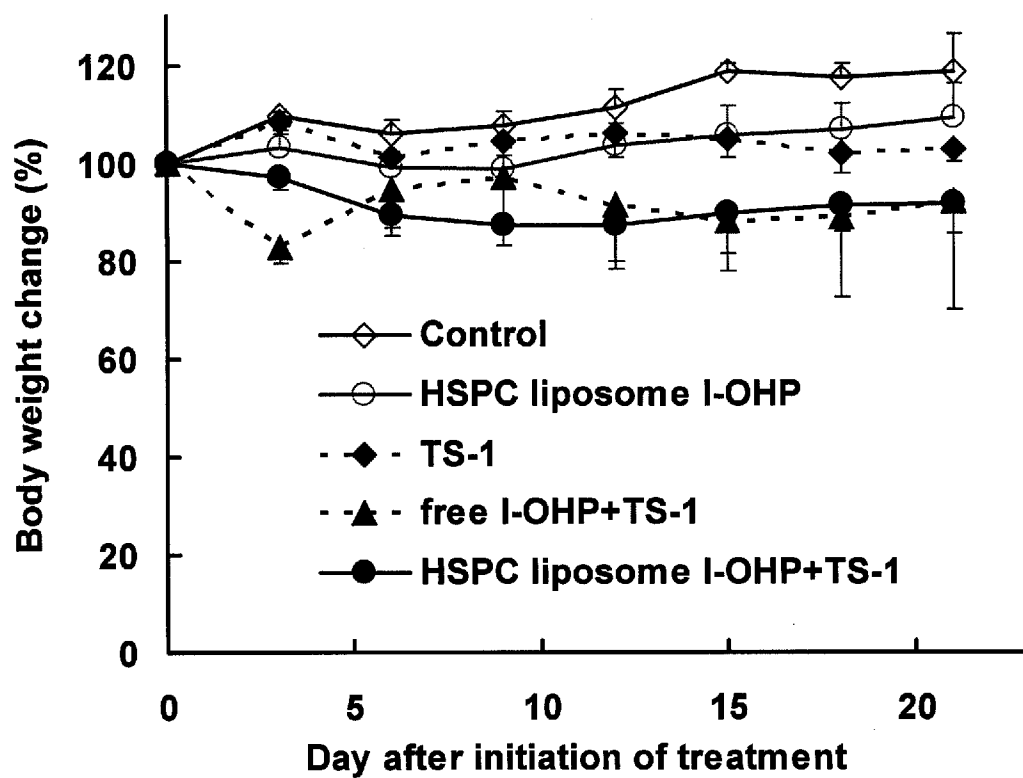
[図7]



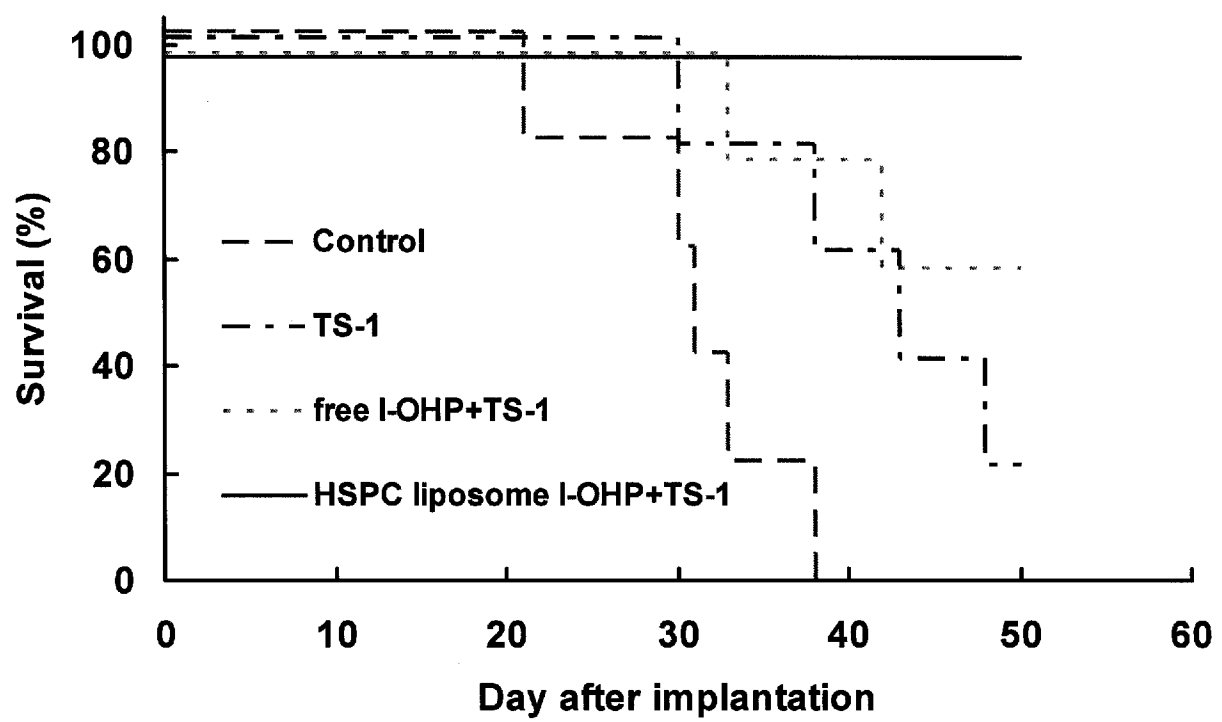
[図8]



[図9]



[図10]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/051499

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K31/513(2006.01)i, A61K9/127(2006.01)i, A61K31/282(2006.01)i,
A61K31/4412(2006.01)i, A61K31/53(2006.01)i, A61K47/24(2006.01)i, A61K47/34
(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i, A61P43/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K31/513, A61K9/127, A61K31/282, A61K31/4412, A61K31/53, A61K47/24,
A61K47/34, A61P35/00, A61P43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2009
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2009	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2009

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS (STN), CAPLUS (STN), EMBASE (STN), MEDLINE (STN), REGISTRY (STN),
WPIDS (STN), JSTPlus (JDreamII), JMEDPlus (JDreamII), JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	Yusuke TSUCHII et al., "S-1 METRONOMIC CHEMOTHERAPY to Oxaliplatin Fu'nyu Nano Carrier Heiyo Ryoho no Kaihatsu : Sojoteki Koka Zokyo Kiko no Kaimei ni Kansuru Kenkyu", Nippon Chiryo Gakkaishi, 01 October, 2008 (01.10.08), 43(2), page 385, OS003-2	1-14
P, X	Yusuke TSUCHII et al., "S-1 o Mochiita LOW DOSE METRONOMIC CHEMOTHERAPY ni yotte Shojiru Shuyonai Bisho Kankyo no Henka ga Ataeru Liposome no Shuyonai Dotai Henka ni Kansuru Kento", Journal of Pharmaceutical Science and Technology, Japan, 30 April, 2008 (30.04.08), 68(SUPPL.), page 177	1-14

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ 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

"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
20 February, 2009 (20.02.09)

Date of mailing of the international search report
10 March, 2009 (10.03.09)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/051499

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 05/120480 A1 (TAIHO PHARMACEUTICAL CO., LTD.), 22 December, 2005 (22.12.05), Full text; Claims; pharmacological test example · example of prescription & AU 2005/251588 A1 & CA 2569739 A1 & EP 1757283 A1 & US 2008/0306073 A1	1-7, 13
X Y	SUZUKI, R. ET AL. 'EFFECTIVE ANTI-TUMOR ACTIVITY OF OXALIPLATIN ENCAPSULATED IN TRANSFERRIN-PEG-LIPOSOME.' INT. J. PHARM., (2008.01.04) 346(1-2) P.143-150, full text	8-12, 14 1-7, 13
X Y	JP 2006-248978 A (Mebiopharm Co., Ltd.), 21 September, 2006 (21.09.06), Full text; Claims; examples 1 to 9 & US 2006/222696 A1 & EP 1863448 A1 & AU 2006/223329 A1 & WO 2006/99169 A2 & JP 2008-538105 A	8-12, 14 1-7, 13
X Y	WO 07/99377 A2 (GREECE), 07 September, 2007 (07.09.07), Full text & AU 2007/220263 A1 & CA 2644566 A1 & EP 2001441 A2	8-12, 14 1-7, 13
X Y	JP 2004-10481 A (Mebiopharm Co., Ltd.), 15 January, 2004 (15.01.04), Full text & US 2004/0022842 A1	8-12, 14 1-7, 13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/051499

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. ☒ Claim No.: 15
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 15 includes the methods for treatment of the human body or animal body by surgery or therapy and for diagnosis of the same and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not
(Continued to extra sheet)
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.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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.:

Remark on Protest
the

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, 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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/051499

Continuation of Box No.II-1 of continuation of first sheet (2)

required, under the provisions of Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/513(2006.01)i, A61K9/127(2006.01)i, A61K31/282(2006.01)i, A61K31/4412(2006.01)i,
A61K31/53(2006.01)i, A61K47/24(2006.01)i, A61K47/34(2006.01)i, A61P35/00(2006.01)i,
A61P43/00(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. A61K31/513, A61K9/127, A61K31/282, A61K31/4412, A61K31/53, A61K47/24, A61K47/34, A61P35/00, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 0 9 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 0 9 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 0 9 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS(STN), CAPlus(STN), EMBASE(STN), MEDLINE(STN), REGISTRY(STN), WPIDS(STN), JSTPlus(JDreamII),
JMEDPlus(JDreamII), JST7580(JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P, X	土井祐輔他 ‘S-1 METRONOMIC CHEMOTHERAPY とオキサリプラチン封入ナノキャリア併用療法の開発: 相乗的効果増強機構の解明に関する研究’ 日本治療学会誌, (2008.10.01) 43(2) P.385 OS003-2	1-14
P, X	土井祐輔他 ‘S-1 を用いた LOW DOSE METRONOMIC CHEMOTHERAPY によって生じる腫瘍内微少環境の変化が与えるリポソームの腫瘍内動態変化に関する検討’ 薬剤学, (2008.04.30) 68(SUPPL.) P.177	1-14

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

2 0 . 0 2 . 2 0 0 9

国際調査報告の発送日

1 0 . 0 3 . 2 0 0 9

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

大久保 元浩

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 5 2

4 C

8 8 2 8

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	WO 05/120480 A1 (TAIHO PHARMACEUTICAL CO LTD) 2005.12.22 文献 全体; 請求の範囲、薬理試験例・処方例 & AU 2005/251588 A1 & CA 2569739 A1 & EP 1757283 A1 & US 2008/0306073 A1	1-7, 13
X Y	SUZUKI, R. ET AL. 'EFFECTIVE ANTI-TUMOR ACTIVITY OF OXALIPLATIN ENCAPSULATED IN TRANSFERRIN-PEG-LIPOSOME.' INT. J. PHARM., (2008.01.04) 346(1-2) P.143-150 文献全体	8-12, 14 1-7, 13
X Y	JP 2006-248978 A (メビオファーム株式会社) 2006.09.21 文献全体; 特許 請求の範囲、実施例 1-9 & US 2006/222696 A1 & EP 1863448 A1 & AU 2006/223329 A1 & WO 2006/99169 A2 & JP 2008-538105 A	8-12, 14 1-7, 13
X Y	WO 07/99377 A2 (GREECE) 2007.09.07 文献全体 & AU 2007/220263 A1 & CA 2644566 A1 & EP 2001441 A2	8-12, 14 1-7, 13
X Y	JP 2004-10481 A (メビオファーム株式会社) 2004.01.15 文献全体 & US 2004/0022842 A1	8-12, 14 1-7, 13

第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第1ページの2の続き）

法第8条第3項（PCT第17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 1 5 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求の範囲 1 5 は「手術又は治療による人体又は動物の体の処置方法及び人体又は動物の体の診断方法」を包含するものであって、PCT第17条(2)(a)(i)及びPCT規則39.1(iv)の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第1ページの3の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- ☐ 追加調査手数料の納付はあったが、異議申立てはなかった。