

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6851989号
(P6851989)

(45) 発行日 令和3年3月31日(2021.3.31)

(24) 登録日 令和3年3月12日(2021.3.12)

(51) Int.Cl.

F 1

C07C 61/04	(2006.01)	C 07 C 61/04	C S P
C07C 51/41	(2006.01)	C 07 C 51/41	
C07F 15/00	(2006.01)	C 07 F 15/00	F
A61P 35/00	(2006.01)	A 61 P 35/00	
A61P 35/02	(2006.01)	A 61 P 35/02	

請求項の数 18 (全 25 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-560131 (P2017-560131)
 (86) (22) 出願日 平成28年5月17日 (2016.5.17)
 (65) 公表番号 特表2018-521969 (P2018-521969A)
 (43) 公表日 平成30年8月9日 (2018.8.9)
 (86) 國際出願番号 PCT/US2016/032856
 (87) 國際公開番号 WO2016/187191
 (87) 國際公開日 平成28年11月24日 (2016.11.24)
 審査請求日 令和1年5月9日 (2019.5.9)
 (31) 優先権主張番号 62/163, 256
 (32) 優先日 平成27年5月18日 (2015.5.18)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73) 特許権者 517354582
シンナット プロダクツ エンタープラ
イズ エルエルシー
アメリカ合衆国, メリーランド 208
54, ポトマック, 10608 ファ
ームブルック レーン
(74) 代理人 100103816
弁理士 風早 信昭
(74) 代理人 100120927
弁理士 浅野 典子
(72) 発明者 リウ, シャオジョン
アメリカ合衆国, メリーランド 208
54, ポトマック, 10608 ファ
ームブルック レーン

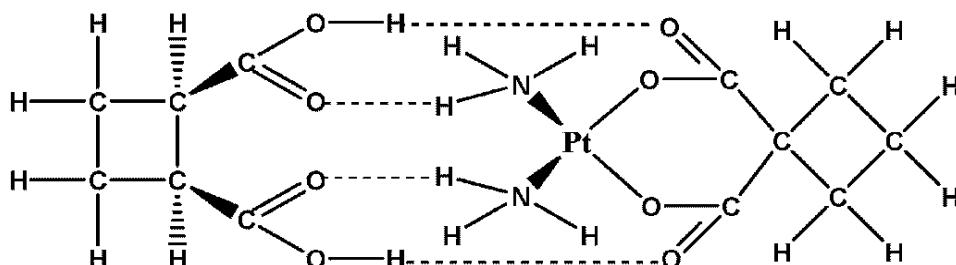
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 医薬用共結晶及びその用途

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の式(I)の構造を有する共結晶:



10

(I)

【請求項 2】

カルボプラチニンと1,2-シス-シクロブタンジカルボキシレートが1:1の比で結合される、請求項1に記載の共結晶。

【請求項 3】

共結晶が形態Aである、請求項1又は2に記載の共結晶。

【請求項 4】

20

医薬的に許容可能な担体又は水性媒体中に溶解又は分散されている、請求項 1～3 のいずれかに記載の共結晶を含む医薬組成物。

【請求項 5】

少なくとも一種の治療薬又はアジュバントをさらに含む、請求項 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

治療薬又はアジュバントが、葉酸、補酵素 Q 10、クルクミン、グルタチオン (GSH)、アロエ、オリザノール、5-フルオロウラシル、及びボルテゾミブからなる群から選択される、請求項 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

対象のがんをその必要において治療するための医薬組成物であって、医薬組成物が、請求項 1～3 のいずれかに記載の共結晶を有効成分として含み、共結晶が、医薬組成物中に治療有効量で存在する、医薬組成物。

【請求項 8】

がんが、膀胱がん、非小細胞肺がん、子宮頸がん、肛門がん、膵臓がん、頭頸部がんを含む扁平上皮がん、腎細胞がん、皮膚がん、メラノーマ、卵巣がん、小細胞肺がん、子宮内膜がん、グリア芽腫、星状細胞腫、乏突起膠腫、上皮細胞腫、神経線維肉腫、髄膜腫、消化管間質腫瘍、乳がん、肺がん、大腸がん、甲状腺がん、骨肉腫、胃がん、口腔がん、口腔咽頭がん、胃がん、腎臓がん、肝臓がん、前立腺がん、食道がん、精巣がん、婦人科がん、結腸がん、脳腫瘍、白血病 (leukemia)、リンパ腫、白血病 (leucocytoma)、及び多発性骨髄腫から選択される、請求項 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

がんが、前立腺がん、腎臓がん、及び白血病 (leucocytoma) からなる群から選択される、請求項 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

対象のウイルス感染をその必要において治療するための医薬組成物であって、医薬組成物が、請求項 1～3 のいずれかに記載の共結晶を有効成分として含み、医薬組成物が、葉酸、補酵素 Q 10、クルクミン、グルタチオン (GSH)、アロエ、オリザノール、5-フルオロウラシル、及びボルテゾミブからなる群から選択される少なくとも一種の治療薬又はアジュバントをさらに含み、共結晶が、医薬組成物中に治療有効量で存在する、医薬組成物。

【請求項 11】

ウイルスが、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、ヒトパピローマウイルス、VITAMIN K ウィルス、天然痘ウイルス、B型肝炎ウイルス (HBV)、パルボウイルス B19、ヒトアストロウイルス、ノーオークウイルス、A型肝炎ウイルス (HAV)、重症急性呼吸器症候群ウイルス、C型肝炎ウイルス (HCV)、黄熱病ウイルス、デングウイルス、ウエストナイルウイルス、TBEウイルス、風疹ウイルス、E型肝炎ウイルス (HEV)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV)、インフルエンザウイルス、ラッサ熱ウイルス (LASV)、クリミアコンゴ出血熱ウイルス、ハンターンウイルス、エボラウイルス、マールブルグウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、パライソフルエンザウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、狂犬病ウイルス、D型肝炎ウイルス (HDV)、ロタウイルス、オルビウイルス、コルチウイルス、及びバンナウイルスからなる群から選択される、請求項 10 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

ウイルスが、B型肝炎ウイルス (HBV)、C型肝炎ウイルス (HCV)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV)、又はハンターンウイルスである、請求項 10 に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

医薬組成物が、医薬的に許容可能な担体又は水性媒体に溶解又は分散された有効量の共結晶及び医薬的に許容可能な量の少なくとも一種の治療薬又はアジュバントを含む水性組

10

20

30

40

50

成物である、請求項 7 ~ 9 のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項 14】

医薬組成物が、点滴、注射又は経口経路によって投与される、請求項 7 ~ 9 のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項 15】

(i) カルボプラチンと 1 , 2 - シス - シクロブタンジカルボキシレートを 1 : 0 . 1 ~ 1 : 2 0 のモル比率で溶媒中に与え、(ii) 0 . 1 ~ 2 4 時間の時間期間、その混合物をスラリー状にするか又は攪拌し、そして(iii) 工程(ii)で形成された共結晶を単離することを含む、請求項 1 に記載の共結晶の製造方法。

【請求項 16】

モル比率が 1 : 1 1 である、請求項 15 に記載の方法。

【請求項 17】

医薬組成物が、点滴、注射又は経口経路によって投与される、請求項 10 ~ 12 のいずれかに記載の医薬組成物。

【請求項 18】

医薬組成物が、医薬的に許容可能な担体又は水性媒体に溶解又は分散された有効量の共結晶及び医薬的に許容可能な量の少なくとも一種の治療薬又はアジュバントを含む水性組成物である、請求項 10 ~ 12 のいずれかに記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、1 , 2 - シス - シクロブタンジカルボキシレートとカルボプラチンの共結晶及びその医薬的用途に関する。本発明の共結晶は、がん及びウイルス感染のような疾患の治療及び / 又は予防に使用することができる。

【背景技術】

【0002】

シスプラチニンは、その抗腫瘍効果がシス - ジクロロジアミノプラチニンに対して発見されて以来、抗腫瘍薬として臨床医学において幅広く使用されてきた (Rosenberg 他, *Nature*, 1965, 205 : 698 ; *Nature*, 1972, 222 : 385)。シスプラチニンは、泌尿生殖器がん、鼻咽腔がん、頭部がん、及び肺がんなどのがんにおいて治療効果を示すが、これらの薬はまた、深刻な副作用に導く。腎臓毒性、神経毒性、耳毒性、吐き気、及び嘔吐のような望ましくない作用は、シスプラチニンの投与量及び長期間使用に対するかなりの制約である。

【0003】

カルボプラチニンは、プラチニアナログの第二世代抗腫瘍薬の一つであるが、シスプラチニンと比較して低い毒性のため世界中で認められ、使用されている。不幸にも、カルボプラチニンは、骨髄機能抑制のような多数の副作用をなお生じる。さらに、カルボプラチニンは、限定された範囲のがんに対してのみ使用することができる。それゆえ、毒性が少なく、小さい薬剤耐性しか起こさず、多用性を与える、経口的に活性なカルボプラチニアナログ化合物に対する探索が継続している。

【0004】

医薬的な共結晶化は、新しい機能材料を作るために結晶工学での二種以上の純粋化合物の共結晶化によって多大な学術的、工業的、及び治療的関心を引き付けている。特に、医薬的な共結晶は、ターゲット分子又はイオンが活性医薬成分 (API) であり、かつそれが水素結合によって共結晶形成体に結合する「共結晶」として規定される (Almarrsson M. and Zaworotko J., *Chem. Commun.*, 2004 : 1889)。医薬的な共結晶は、ノニオン性超分子錯体であり、API の化学組成を変更せずに医薬開発において溶解性、安定性、及び生物学的利用能のような生理化学的な特性の問題を改良するために使用することができる。

【0005】

10

20

30

40

50

結果として、共結晶化技術でシスプラチニン、カルボプラチニン、及び他のプラチニンの生理化学的及び治療的特性を改良することが望ましい。ある場合には、プラチニン A P I の基本構造を変える必要はないが、溶解性、安定性、透過性、及び生物学的利用能のような特性が改良されるだろう。例えば、共結晶が特定の使用環境において治療効果的であり、かつ長い時間期間にわたってレベルを維持することができるよう、共結晶化でプラチニン A P I の生物学的利用能を有意に強めることができるだろう。

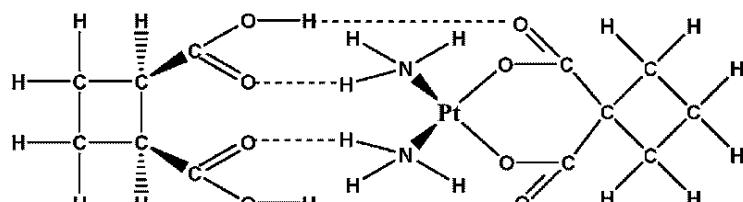
【 0 0 0 6 】

カルボプラチニンのために好適な共結晶形成体のスクリーニングを通して、1，2 - シス - シクロブタンジカルボキシレートが、本発明において適切な共結晶形成体として見出された。それは、高められた溶解性、安定性及び生物学的利用能、及び医薬用途における多用性のような考えられる目的に効果的に合致するものである。10

【発明の概要】

【 0 0 0 7 】

本発明は、カルボプラチニン及び1，2 - シス - シクロブタンジカルボキシレートの共結晶（以下において、その共結晶は、C B C B Pとして言及されることが可能）、及びそれを製造及び使用する方法に関する。ある実施形態では、共結晶は、以下の式（I）の構造を有する。



(I)

【 0 0 0 8 】

ある実施形態では、C B C B Pは、(i)共結晶形成体としての1，2 - シス - シクロブタンジカルボキシレート；及び(ii)共結晶形成体及び活性医薬成分（A P I）としてのカルボプラチニンを含む。C B C B Pが形成されると、そこではA P I（カルボプラチニン）及び共結晶形成体1，2 - シス - シクロブタンジカルボキシレートが水素結合によって一緒に結合されている。他の非共有相互作用もまた、存在しうる。30

【 0 0 0 9 】

一つの側面では、本発明は、医薬用途において治療効果的であるために十分なレベルの生物学的利用能を持つカルボプラチニンベースの共結晶を提供し、ある実施形態では、そのレベルは、長期間にわたって維持されることが可能。

【 0 0 1 0 】

別の側面では、本発明は、医薬に使用するため、例えばがん及びウイルス感染（それらに限定されない）のような疾患の予防又は治療のためのC B C B Pに関する。ある実施形態は、ヒトのような対象におけるがん又はウイルス感染の予防又は治療のための医薬を製造する際のC B C B Pの使用に関する。ある実施形態は、ヒトのような対象におけるがん及びウイルス感染を、C B C B Pを含む医薬組成物で予防又は治療する方法に関する。ある実施形態では、がんは、がん細胞をC B C B Pと接触することによって治療される。ある実施形態では、ウイルス感染は、感染された細胞をC B C B Pと接触することによって治療される。40

【 0 0 1 1 】

一つの側面では、本発明は、カルボプラチニン、1，2 - シス - シクロブタンジカルボキシレート、及び少量の溶媒を微粉碎（m i l l i n g）又は粉碎（g r i n d i n g）することによってC B C B Pを共結晶にする方法に関する。ある実施形態では、(i)カルボプラチニンと1，2 - シス - シクロブタンジカルボキシレートを適当な比率で適切な溶媒50

中に与え、(i)ある時間期間、その混合物をスラリー状にするか又は攪拌し、そして(ii)それによって形成された共結晶を単離することを含む、共結晶の製造方法が提供される。

【0012】

別の側面では、本発明は、有効量のC B C B Pを含む医薬組成物、及びがん及びウイルス感染を予防又は治療するためのかかる組成物の使用に関する。ある実施形態では、医薬組成物は、追加の治療薬又はアジュバントなしでC B C B Pを含む。ある他の実施形態では、C B C B Pを含む医薬組成物は、少なくとも一種の追加の治療薬又はアジュバントをさらに含む。例えば、治療薬又はアジュバントは、葉酸、補酵素Q10、クルクミン、グルタチオン(GSH)、アロエ、オリザノール、5-フルオロウラシル、ボルテゾミブ、及びそれらの組み合わせを含むことができるが、それらに限定されない。10

【0013】

さらに別の側面では、対象に投与される医薬組成物中のC B C B Pの量は、約0.005~20mg/kg体重、約0.005~10mg/kg体重、約0.005~5mg/kg体重、約0.005~2.5mg/kg体重、0.01~20mg/kg体重、約0.01~10mg/kg体重、約0.01~2.5mg/kg体重、約0.01~5mg/kg体重、約0.01~10mg/kg体重、約0.01~2.5mg/kg体重、0.1~20mg/kg体重、約0.1~10mg/kg体重、約0.1~5mg/kg体重、又は約0.1~2.5mg/kg体重であることができる。C B C B Pの好みの量は、治療される特定の疾患、及び対象の特定の状態に依存する。20

【0014】

一つの側面では、本発明は、本発明の医薬組成物を対象に投与することを含む、対象の疾患をその必要性により予防又は治療することに関する。特に、疾患は、がん又はウイルス感染であることができる。

【0015】

ある実施形態では、C B C B Pは、膀胱がん、非小細胞肺がん、子宮頸がん、肛門がん、脾臓がん、頭頸部がんを含む扁平上皮がん、腎細胞がん、皮膚がん、メラノーマ、卵巣がん、小細胞肺がん、子宮内膜がん、グリア芽腫、星状細胞腫、乏突起膠腫、上皮細胞腫、神経線維肉腫、髄膜腫、消化管間質腫瘍、乳がん、肺がん、大腸がん、甲状腺がん、骨肉腫、胃がん、口腔がん、口腔咽頭がん、胃がん、腎臓がん、肝臓がん、前立腺がん、食道がん、精巣がん、婦人科がん、結腸がん、脳腫瘍、白血病(leukemia)、リンパ腫、白血病(leucocytoma)、及び多発性骨髓腫(それらに限定されない)のようながんを予防又は治療するために使用されることができる。特に、C B C B Pは、前立腺がん、腎臓がん、又は白血病(leucocytoma)を予防又は治療するために使用されることがある。30

【0016】

ある実施形態では、C B C B Pは、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、ヒトパピローマウイルス、VITAMIN Kウイルス、天然痘ウイルス、B型肝炎ウイルス(HBV)、パルボウイルスB19、ヒトアストロウイルス、ノーウォークウイルス、A型肝炎ウイルス(HAV)、重症急性呼吸器症候群ウイルス、C型肝炎ウイルス(HCV)、黄熱病ウイルス、デングウイルス、ウエストナイルウイルス、TBEウイルス、風疹ウイルス、E型肝炎ウイルス(HEV)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)、インフルエンザウイルス、ラッサ熱ウイルス(LASV)、クリミアコンゴ出血熱ウイルス、ハンターンウイルス、エボラウイルス、マールブルグウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、パラインフルエンザウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、狂犬病ウイルス、D型肝炎ウイルス(HDV)、ロタウイルス、オルビウイルス、コルチウイルス、バンナウイルス(それらに限定されない)のようなウイルスによるウイルス感染を予防又は治療するために使用されることがある。ウイルス感染に対するC B C B Pの効果は、DNA又はRNA複製プロセスを妨げるプラチン錯体の能力に関連される。

【0017】

別の側面では、本発明による医薬組成物の投与は、目的組織が経路を介して利用可能で50

ある限り、いかなる一般的な経路を介することができる。好適な経路は、口、頬、吸入噴霧、舌下腺、直腸、経皮、腔、経粘膜、局所、鼻、腸；筋肉内、皮下、髄内、髄腔内、直接脳室内、同所性、皮内、腹腔内、静脈内、関節内、胸骨内、滑液内、肝臓内、病巣内、頭蓋内、腹腔内、鼻腔内、又は眼球内を含む非経口送出、又は他の送出方式を含むことができる。好ましい送出経路は、治療される特定の疾患、及び対象の特定の状態に依存する。

【図面の簡単な説明】

【0018】

【図1】図1は、PC-3前立腺がん細胞株におけるCB-CBP及び対照化学薬品ドセタキセルとシスプラチニンのIC₅₀を示す。

10

【0019】

【図2】図2は、LNCaP前立腺がん細胞株におけるCB-CBP及び対照化学薬品ドセタキセルとシスプラチニンのIC₅₀を示す。

【0020】

【図3】図3は、胎児肝細胞HL-7002におけるCB-CBP及び対照化学薬品ドセタキセルとシスプラチニンのIC₅₀を示す。

【0021】

【図4】図4は、ヒト胎児由来腎臓細胞株HEK293におけるCB-CBP及び対照化学薬品ドセタキセルとシスプラチニンのIC₅₀を示す。

【0022】

【図5】図5は、A498腎臓がん細胞株におけるCB-CBP及び対照化学薬品カルボプラチニン及び5-FUのIC₅₀を示す。

20

【0023】

【図6】図6は、ACHN腎臓がん細胞株におけるCB-CBP及び対照化学薬品カルボプラチニン及び5-FUのIC₅₀を示す。

【0024】

【図7】図7は、胎児肝細胞HL-7002におけるCB-CBP及び対照化学薬品カルボプラチニン及び5-FUのIC₅₀を示す。

【0025】

【図8】図8は、ヒト胎児由来腎臓細胞株HEK293におけるCB-CBP及び対照化学薬品カルボプラチニン及び5-FUのIC₅₀を示す。

30

【0026】

【図9】図9は、CB-CBPの形態AのX線粉末回折(XRPD)パターンを示す。

【0027】

【図10】図10は、冷却乾燥によって形成されたCB-CBP試料のTGA/DSCを示す(試料ID: 805703-99-H)。

【0028】

【図11】図11は、共結晶形成体の様々な比率(酸に対するカルボプラチニンの比率)でCB-CBPの形態AのXRPDを示す。

【0029】

【図12】図12は、冷却乾燥によって作られたCB-CBP試料のXRPDを示す(酸:1,2-シス-シクロブタンジカルボキシレート; 805703-99-A; 粗共結晶; 805703-99-B:水で洗浄; 805703-99-H; エタノール/ヘプタンで洗浄)。

40

【0030】

【図13】図13は、CB-CBP試料のシミュレートされた実験(807603-23-A1)XRPDパターンを示す。

【0031】

【図14】図14は、CB-CBP試料の単結晶(807604-10-A3)の画像を示す。

50

【0032】

【図15】図15は、CBCBPの化学構造を示す。

【0033】

【図16】図16は、CBCBPの単結晶の三次元構造を示す。

【0034】

【図17】図17は、CBCBPの単結晶(50%確率)の有機化学(ORTEP)図の示された用語を示す。

【0035】

【図18】図18は、CBCBPの単結晶の単位胞を示す。

【0036】

【図19】図19は、CBCBPの単結晶の水素結合を示す(H原子は明瞭のために省略される)。

【0037】

【図20】図20は、CBCBPの単結晶の結晶充填を示す(H原子は明瞭のために省略される)。

【0038】

【図21】図21は、CBCBP試料のSEM(走査電子顕微鏡)結果を示す。

【0039】

【図22】図22は、CBCBP試料のSEM結果を示す。

【0040】

【図23】図23は、CBCBP試料のSEM結果を示す。

【発明を実施するための形態】

【0041】

特定の実施形態の以下の記述は、本来的に例示のためだけにすぎず、いかなる点でも本発明やその適用や用途を制限することを意図しない。本明細書中、範囲は、その範囲内にあるそれぞれのかつ全ての値を記述するための簡略システムとして使用される。範囲内のいかなる値も、この範囲の境界として選択されることがある。本明細書中の定義と引用された参考文献中の定義が相反する場合は、本明細書中の定義が優先される。別途定義されない限り、本明細書中で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明の属する技術分野の当業者によって一般的に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書中で言及される全ての特許及び文献は、それらの全体を参照によって本明細書に組み入れられる。

【0042】

用語「有効量」又は「治療有効量」は、意図される用途を達成する(これは、疾患を予防又は治療することを含むが、これらに限定されない)のに十分な、本明細書中に記述される化合物又は化合物の組み合わせの量を意味する。治療有効量は、意図される用途(インビトロ又はインビボ)、治療される対象及び疾患状態(例えば、対象の体重、年齢及び性別)、疾患状態の重症度、投与形態などに応じて変化することがあり得、当業者によって容易に決定ができる。この用語はまた、標的細胞及び/又は組織において特定の反応(例えば、細胞増殖の減少及び/又は組織の形態学的变化)を誘導する用量にも当てはまる。特定の用量は、選択された特定の化合物、後に続く投与療法、化合物が他の化合物との組み合わせで投与されるかどうか、投与のタイミング、投与される組織、及び化合物が担持される物理的送達システムに応じて変化があり得る。

【0043】

本明細書では、治療「効果」は、治療的な利益及び/又は予防的な利益を包含する。予防効果(例えば、「予防」、「防止」及び「発展の確率を減少させる」などの用語)は、疾患もしくは症状の開始の前に医薬を投与することによって、疾患もしくは症状の出現を遅延させるかもしくは排除すること、疾患もしくは症状の徴候の開始を遅延させるかもしくは排除すること、疾患もしくは症状の進行を遅くするか、中止させるか、もしくは逆転させること、又はそれらのいかなる組み合わせも含む。治療効果(例えば、「治療」及び「処置」などの用語)は、疾患もしくは症状の開始の後に医薬を投与することによって、

10

20

30

40

50

疾患もしくは症状の出現を減少させるかもしくは排除すること、疾患もしくは症状の徵候を減少させるかもしくは排除すること、疾患もしくは症状の進行を遅くするか、中止させるか、もしくは逆転させること、又はそれらのいかなる組み合わせを含む。

【0044】

本明細書では、「対象」は、ヒト又は非ヒト動物を意味する。ある実施形態では、対象は哺乳動物である。ある実施形態では、対象はヒトである。

【0045】

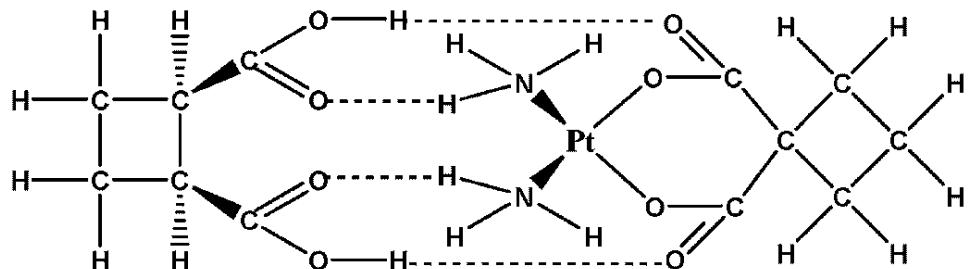
範囲が本明細書中で例えば物理的又は化学的特性（分子量や化学式など）を記述するために使用される場合、範囲の全ての組み合わせ及び副組み合わせ、並びにその中の特定の実施形態を含むことを意図される。数値又は数値範囲に言及する場合、用語「約」は、言及される数値又は数値範囲が、実験的な変動性の範囲内の（又は統計学的な実験誤差の範囲内の）近似であることを意味する。従って、数値又は数値範囲は、変動しうる。変動は、通常、言及されている数値又は数値範囲の0%～15%であり、それは、0%～10%を含み、0%～5%を含む。用語「含む」（及び「有する」又は「含有する」などの関連用語）は、記述された特徴「からなる」又はこれらの特徴「から本質的になる」いかなる組成物又は方法、プロセスの実施形態などの実施形態を含む。10

【0046】

本発明で使用される化合物は、これらの化合物の結晶形及び非結晶形も含み、例えば多形、擬似多形、溶媒和物、水和物、非溶媒和多形（無水物を含む）、配座多形、及び化合物の非結晶形、並びにそれらの混合物を含む。「結晶形」と「多形」は、化合物の全ての結晶形及び非結晶形も含むことを意図され、特定の結晶形又は非結晶形が言及されない限り、例えば多形、擬似多形、溶媒和物、水和物、非溶媒和多形（無水物を含む）、配座多形、及び化合物の非結晶形、並びにそれらの混合物を含む。20

【0047】

本発明は、1,2-シクロブタンジカルボキシレート及びカルボプラチニンを含む共結晶に関する。ある実施形態では、本発明の共結晶は、C B C B Pとして示され、以下の式（I）の構造を有する：



(I)

【0048】

ある実施形態では、本発明の共結晶は、(i)共結晶形成体としての1,2-シクロブタンジカルボキシレート；及び(ii)共結晶形成体及び活性医薬成分（API）としてのカルボプラチニンを含む。一つの実施形態では、カルボプラチニン及び1,2-シクロブタンジカルボキシレートが1:1の比率で結合される。40

【0049】

ここで記載されるように、本発明の共結晶の固体状態は、あらゆる結晶性多形形態、又はそれらの混合物である。ある実施形態では、本発明の共結晶の固体状態は、図9のX線粉末回折パターン（X R P D）に示されるように、形態Aである。ある実施形態では、共結晶の固体状態は、X R P D分析において5.5～7.5の主ピークを有し、それは、1,2-シクロブタンジカルボキシレート又はカルボプラチニンのいずれのパターンとも有意に異なる。本発明におけるC B C B Pの共結晶の形態Aはまた、単結晶特性化及び50

他の決定法によって確認された。一つの実施形態では、本発明の共結晶は、表3に示されたデータと実質的に同様の特性及び構造を有する。本発明の共結晶の非晶質形態及び他の形態は、異なる結晶化工程によって得られることができる。

【0050】

本発明のカルボプラチニベースの共結晶（例えばC B C B P）は、医薬用途において治療的に有効であるために十分なレベルの生物学的利用能を示し、長期間にわたって対象においてそのレベルを維持する。

【0051】

C B C B Pは、(i)カルボプラチニと1,2-シス-シクロブタンジカルボキシレートを適当な比で適切な溶媒中に与え；(ii)その混合物のある時間期間スラリー化又は攪拌し；そして(iii)それによって形成された共結晶を単離することを含む方法によって製造されることができる。この方法の特定の条件は、最適な純度、品質、及び／又は生理化学特性を確保するために調整されることができる。ある実施形態では、適当な比は、1:0.1～1:2.0, 1:0.2～1:2.0, 1:0.3～1:2.0, 1:0.4～1:2.0, 1:0.5～1:2.0, 1:0.6～1:2.0, 1:0.7～1:2.0; 1:0.8～1:2.0, 1:0.9～1:2.0, 1:1～1:1.2.0, 1:2～1:2.0, 1:3～1:2.0, 1:4～1:2.0, 1:5～1:2.0, 1:6～1:1.8, 1:7～1:1.5, 1:8～1:1.3, 1:9～1:1.2、又は1:1.0～1:1.1のモル比である。一つの実施形態では、適当な比は、約1:1.1（モル比）である。ある実施形態では、混合物をスラリー化又は攪拌するための時間期間は、0.1～2.4時間、0.2～1.2時間、0.25～6時間、0.3～2時間、0.4～1時間、又は0.5～1時間の範囲であることができる。一つの実施形態では、混合物をスラリー化又は攪拌するための時間期間は、約0.5時間であることができる。ある実施形態では、共結晶化合物は、乾燥、濾過、遠心分離、ピペット吸引、又はそれらの組み合わせによって得られることができる。一つの実施形態では、共結晶化合物は、遠心分離によって得られることができる。

【0052】

本発明は、共結晶C B C B Pの医薬用途、及び対象の疾患をその必要において治療又は予防する方法に関する。ある実施形態では、前記方法は、C B C B Pの治療有効量を含む医薬組成物を対象に投与することを含む。

【0053】

ある実施形態では、本発明のカルボプラチニベースの共結晶（例えばC B C B P）は、有利な治療特性を示す。例えば、ある実施形態では、C B C B Pは、カルボプラチニ又は他の公知の薬剤と比較してがん又はウイルス感染細胞を殺すのにより有効的であることができる。他の実施形態では、C B C B Pは、カルボプラチニ又は他の公知の薬剤と比較してがん又はウイルス感染細胞を殺すのに有効性に劣るか、又は実質的に同様の効果を有することができるが、健康又は正常細胞に対する毒性が少なく、その結果、正味の健康への利益をもたらすことができる。例えば、がん細胞又はウイルス感染細胞の治療において公知のプラチニアナロゲと比較すると、C B C B Pは、シスプラチニ及びカルボプラチニより毒性が少なく、ずっと安定している。一つの実施形態では、C B C B Pの有利な効果は、少ない副作用であることができる。ある実施形態では、C B C B Pは、例えばカルボプラチニと比較して医薬用途における良好な融通性を示すことができる。

【0054】

ある実施形態では、本発明のカルボプラチニベースの共結晶（例えばC B C B P）は、有利な生理化学特性を示す。例えば、ある実施形態では、C B C B Pは、高い溶解性、安定性、生物学的利用能を持つことができる。例えば、カルボプラチニと比較すると、C B C B Pは、ずっと安定しており、様々な投与量の固体形態において安定であることができる。一方、C B C B Pの水溶解性（～30mg/mL）は、カルボプラチニ（18mg/mL）よりずっと高く、配合及び投与の有意に高い可能性を与える。

【0055】

ある実施形態では、P C - 3細胞の数を減少するためのC B C B PのI C₅₀は、約1

10

20

30

40

50

7 . 6 1 3 μM である。別の実施形態では、LNCaP細胞の数を減少するためのCBCBPのIC₅₀は、約19 . 6 4 6 μM である。さらに別の実施形態では、CBCCBPは、同様条件においてシスプラチンよりずっと高いIC₅₀(例えば約10倍)でHL-7002細胞に対する最小の毒性を示す。さらに別の実施形態では、CBCCBPは、HEK293細胞に対して毒性を示さない。ある実施形態では、CBCCBPは、PC-3細胞の数を減少するための約17 . 6 1 3 μM のIC₅₀、LNCaP細胞の数を減少するための約19 . 6 4 6 μM のIC₅₀、HK-7002細胞の数を減少するための約20 . 5 1 μM のIC₅₀、及びHEK293細胞に対する毒性なしを示す。

【0056】

ある実施形態では、A498細胞の数を減少するためのCBCCBPのIC₅₀は、約18 . 3 5 7 μM である。別の実施形態では、ACHN細胞の数を減少するためのCBCCBPのIC₅₀は、約11 . 6 4 7 μM である。別の実施形態では、CBCCBPは、約35 1 μM のIC₅₀でHL-7002細胞に対する最小の毒性しか示さない。さらに別の実施形態では、CBCCBPは、約12 0 4 μM のIC₅₀でHEK293細胞に対して最小の毒性しか示さない。一つの実施形態では、CBCCBPは、A498細胞の数を減少するための約18 . 3 5 7 μM のIC₅₀、ACHN細胞の数を減少するための約11 . 6 4 7 μM のIC₅₀、及びそれぞれ約35 1 μM 及び12 0 4 μM のIC₅₀でHL-7002及びHEK293細胞に対する最小の毒性を示す。

【0057】

ある実施形態では、ハントーンウイルスを抑制するためのCBCCBPのIC₅₀は、約33 . 6 8 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ である。別の実施形態では、肝炎Bウイルス(HBsAg)の表面抗原の分泌を抑制するためのCBCCBPのIC₅₀は、約36 . 3 0 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ である。さらに別の実施形態では、肝炎ウイルス蛋白質(HBeAg)の外膜抗原の分泌を抑制するためのCBCCBPのIC₅₀は、約67 . 3 1 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ である。一つの実施形態では、CBCCBPは、ハントーンウイルスを抑制するための約33 . 6 8 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のIC₅₀、HBsAgの分泌を抑制するための約36 . 3 0 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のIC₅₀、及びHBeAgの分泌を抑制するための約67 . 3 1 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のIC₅₀を示す。

【0058】

ある実施形態では、医薬組成物は、CBCCBPからなることができる。ある実施形態では、医薬組成物は、CBCCBPと、少なくとも一種の追加の治療薬又はアジュバントを含むことができる。追加の治療薬又はアジュバントは、葉酸、補酵素Q10、クルクミン、グルタチオン(GSH)、アロエ、オリザノール、5-フルオロウラシル、ボルテゾミブ、又はそれらの組み合わせから選択されることができるが、これらに限定されない。治療されるべき特定の疾患に応じて、追加の治療薬又はアジュバントは、公知の医薬を含むことができる。ある実施形態では、追加の治療薬又はアジュバントは、疾患を治療又は予防するために臨床的に既に許容されている医薬を含むことができる。

【0059】

ある実施形態では、医薬組成物は、CBCCBPと、医薬的に許容可能な担体又は賦形剤を含むことができる。「医薬的に許容可能な担体」又は「医薬的に許容可能な賦形剤」は、いかなるそして全ての溶媒、分散媒体、コーティング、抗細菌及び抗真菌剤、等張及び吸収遅延剤、及び不活性成分を含むことを意図される。活性医薬成分のためのかかる医薬的に許容可能な担体又は医薬的に許容可能な賦形剤の使用は、当該技術分野では周知である。いかなる従来の医薬的に許容可能な担体又は医薬的に許容可能な賦形剤も、活性医薬成分と適合性がない限り、本発明の治療組成物におけるその使用が想定される。他の医薬などの追加の活性医薬成分は、記述された組成物及び方法の中に組み込まれることもできる。

【0060】

さらに別の側面では、対象に投与される医薬組成物中のCBCCBPの量は、約0 . 0 0 5 ~ 2 0 mg/kg 体重、約0 . 0 0 5 ~ 1 0 mg/kg 体重、約0 . 0 0 5 ~ 5 mg/kg 体重、約0 . 0 0 5 ~ 2 . 5 mg/kg 体重、0 . 0 1 ~ 2 0 mg/kg 体重、約0

10

20

30

40

50

. 0 1 ~ 1 0 m g / k g 体重、約 0 . 0 1 ~ 5 m g / k g 体重、約 0 . 0 1 ~ 2 . 5 m g / k g 体重、0 . 1 ~ 2 0 m g / k g 体重、約 0 . 1 ~ 1 0 m g / k g 体重、約 0 . 1 ~ 5 m g / k g 体重、又は約 0 . 1 ~ 2 . 5 m g / k g 体重である。C B C B P の量は、特に治療される特定の疾患、及び対象の特定の状態に依存する。

【 0 0 6 1 】

さらに別の側面では、C B C B P を含む医薬組成物の投与は、少なくとも 1 , 2 , 3 , 4 , 5 , 6 , 7 , 8 , 9 , 1 0 , 1 1 , 1 2 , 1 3 , 1 4 , 2 1 , 2 8 , 3 5 , 4 2 , 4 9 , 5 6 , 6 3 , 7 0 , 7 7 , 8 4 , 9 1 、又は 9 8 日間続くことができる。一つの実施形態では、C B C B P を含む医薬組成物の投与は、少なくとも一週間続くことができる。一つの実施形態では、C B C B P を含む医薬組成物の投与は、少なくとも二週間続くことができる。投与期間は、治療される特定の疾患、及び対象の特定の状態に依存する。10

【 0 0 6 2 】

本発明は、様々な側面及び実施形態において、様々な疾患を予防又は治療するためのC B C B P の使用、及びC B C B P を含む医薬組成物を投与することによってこれらの疾患を予防又は治療するための方法を含む。治療又は予防される疾患は、がん及びウイルス感染を含むが、これらに限定されない。

【 0 0 6 3 】

ある実施形態では、疾患は、がんである。ある実施形態では、がんは、膀胱がん、非小細胞肺がん、子宮頸がん、肛門がん、膵臓がん、頭頸部がんを含む扁平上皮がん、腎細胞がん、皮膚がん、メラノーマ、卵巣がん、小細胞肺がん、子宮内膜がん、グリア芽腫、星状細胞腫、乏突起膠腫、上皮細胞腫、神経線維肉腫、髄膜腫、消化管間質腫瘍、乳がん、肺がん、大腸がん、甲状腺がん、骨肉腫、胃がん、口腔がん、口腔咽頭がん、胃がん、腎臓がん、肝臓がん、前立腺がん、食道がん、精巣がん、婦人科がん、結腸がん、脳腫瘍、白血病 (leukemia) 、リンパ腫、白血病 (leucocytoma) 、及び多発性骨髄腫から選択される。20

【 0 0 6 4 】

ある実施形態では、C B C B P を含む医薬組成物は、前立腺がん、腎臓がん、又は白血病 (leucocytoma) を予防又は治療するために使用されることがある。一つの実施形態では、がんを予防又は治療するためのC B C B P の治療有効量は、約 0 . 0 1 ~ 約 1 0 m g / k g 体重である。別の実施形態では、がんを予防又は治療するためのC B C B P の治療有効量は、約 0 . 0 1 ~ 約 5 m g / k g 体重である。30

【 0 0 6 5 】

ある実施形態では、疾患は、ウイルス感染である。ある実施形態では、ウイルスは、D N A ウィルス又はR N A ウィルスである。例えば、ある実施形態では、ウイルスは、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、ヒトパピローマウイルス、V I T A M I N K ウィルス、天然痘ウイルス、B型肝炎ウイルス (H B V) 、パルボウイルスB 1 9 のようなD N A ウィルスであることができるが、これらに限定されない。他の実施形態では、ウイルスは、ヒトアストロウイルス、ノーウォークウイルス、A型肝炎ウイルス (H A V) 、重症急性呼吸器症候群ウイルス、C型肝炎ウイルス (H C V) 、黄熱病ウイルス、デングウイルス、ウエストナイルウイルス、T B E ウィルス、風疹ウイルス、E型肝炎ウイルス (H E V) 、ヒト免疫不全ウイルス (H I V) 、インフルエンザウイルス、ラッサ熱ウイルス (L A S V) 、クリミアコンゴ出血熱ウイルス、ハンターンウイルス、エボラウイルス、マールブルグウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、パラインフルエンザウイルス、呼吸器合胞体ウイルス、狂犬病ウイルス、D型肝炎ウイルス (H D V) 、ロタウイルス、オルビウイルス、コルチウイルス、バンナウイルスのようなR N A ウィルスであることができるが、これらに限定されない。40

【 0 0 6 6 】

ある実施形態では、C B C B P を含む医薬組成物は、H B V , H C V , H I V 、又はハンターンウイルスによって起こされるウイルス感染を予防又は治療するために使用されることがある。一つの実施形態では、ウイルス感染を予防又は治療するためのC B C B P 50

の治療有効量は、約0.01～約10mg/kg体重である。別の実施形態では、がんを予防又は治療するためのC B C B Pの治療有効量は、約0.01～約5mg/kg体重である。

【0067】

ある実施形態では、本発明は、必要性のある対象における前立腺がん、腎臓がん、又は白血病の徴候を治療、予防、減少又は緩和するか、及び／又は前立腺がん、腎臓がん、又は白血病の進行を遅延させるかもしくは中止させる方法を提供し、前記方法は、C B C B Pを含む医薬組成物の有効量を対象に投与することを含む。一つの実施形態では、医薬組成物は、C B C B Pからなる。ある実施形態では、医薬組成物は、少なくとも一種の追加の治療薬又はアジュバントをさらに含む。特定の実施形態では、追加の治療薬又はアジュバントは、葉酸、補酵素Q10、クルクミン、グルタチオン(GSH)、アロエ、オリザノール、5-フルオロウラシル、及びボルテゾミブから選択されることができる。一つの実施形態では、医薬組成物は、C B C B Pと、医薬的に許容可能な担体又は賦形剤を含む。

【0068】

ある実施形態では、本発明は、必要性のある対象におけるH B V, H C V, H I V、又はハンターンウイルスによって起こされるウイルス感染の徴候を治療、予防、減少又は緩和するか、及び／又はH B V, H C V, H I V、又はハンターンウイルスによって起こされるウイルス感染の進行を遅延させるかもしくは中止させる方法を提供し、前記方法は、C B C B Pを含む医薬組成物の有効量を対象に投与することを含む。一つの実施形態では、医薬組成物は、C B C B Pからなる。ある実施形態では、医薬組成物は、少なくとも一種の追加の治療薬又はアジュバントをさらに含む。一実施形態では、追加の治療薬又はアジュバントは、葉酸、補酵素Q10、クルクミン、グルタチオン(GSH)、アロエ、オリザノール、5-フルオロウラシル、及びボルテゾミブから選択されることができる。ある実施形態では、医薬組成物は、C B C B Pと、医薬的に許容可能な担体又は賦形剤を含む。

【0069】

ある実施形態では、前立腺がん、腎臓がん、又は白血病の予防又は治療のために、C B C B Pを含む医薬組成物は、点滴、注射によって、又は経口ルートで投与される。ある実施形態では、前立腺がん、腎臓がん、又は白血病の予防又は治療のために、C B C B Pを含む医薬組成物は、少なくとも1, 2、又は3週間投与される。

【0070】

ある実施形態では、H B V, H C V, H I V、又はハンターンウイルスによって起こされるウイルス感染の予防又は治療のために、C B C B Pを含む医薬組成物は、点滴、注射によって、又は経口ルートで投与される。一つの実施形態では、H B V, H C V, H I V、又はハンターンウイルスによって起こされるウイルス感染の予防又は治療のために、C B C B Pを含む医薬組成物は、少なくとも1, 2、又は3週間投与される。

【実施例】

【0071】

以下の実施例は、本発明の様々な実施形態を示し、本発明の範囲を制限することを意図されない。

【0072】

特定の疾患に対するC B C B Pの効果は、インビボ及びインビトロ研究から得られた結果によって証明されることがある。さらに、C B C B Pの製造方法及びC B C B Pの生理化学特性もまた、記載される。

【0073】

前立腺がん細胞に対するC B C B Pの効果

共結晶C B C B Pは、ドセタキセル(前立腺がん患者を治療する際に広く使用される薬剤)と比較して前立腺がんの治療において試験された。

【0074】

10

20

30

40

50

P C - 3 細胞は、骨への転移を有する進行した前立腺がん患者由来の細胞株であり、前立腺小細胞がんのような前立腺がんの特徴を持つ。P C - 3 細胞は、段階的な濃度の薬剤 (C B C B P、ドセタキセル、又はシスプラチニン) で処理され、細胞生存性が、Promega Corp. からの Cell Titer 96 A Queous One Solution Cell Proliferation Assay で評価された。細胞増殖抑制率の指標が、陰性対照に対する治療群のOD 490 データを比較することによって得られた。薬剤反応率IC₅₀がSPSS 16.0 システムで計算された。結果は、図 1 に示される。

【0075】

C B C B P は、ドセタキセルと比較すると細胞の数を減少する優れた効果を示した。特に、C B C B P の IC₅₀ は、17.613 μM であったが、ドセタキセル及びシスプラチニンの IC₅₀ は、それぞれ 49.924 μM 及び 2.489 μM であった (図 1)。

【0076】

L N C a P 細胞は、リンパ節転移を有する進行した前立腺がん患者由来の細胞株である。L N C a P 細胞は、段階的な濃度の薬剤 (C B C B P、ドセタキセル、又はシスプラチニン) で処理され、細胞生存性が、Promega Corp. からの Cell Titer 96 A Queous One Solution Cell Proliferation Assay で評価された。細胞増殖抑制率の指標が、陰性対照に対する治療群の OD 490 データを比較することによって得られた。薬剤反応率 IC₅₀ が SPSS 16.0 システムで計算された。結果は、図 2 に示される。

【0077】

L N C a P 細胞に対して、C B C B P の IC₅₀ は、19.646 μM であり、ドセタキセル及びシスプラチニンの IC₅₀ は、それぞれ 4.034 μM 及び 2.245 μM であった (図 2)。

【0078】

H L - 7002 細胞は、不死化ヒト胎児肝細胞株である。H L - 7002 細胞は、段階的な濃度の薬剤 (C B C B P、ドセタキセル、又はシスプラチニン) で処理され、細胞生存性が、Promega Corp. (Madison, WI、米国) からの Cell Titer 96 A Queous One Solution Cell Proliferation Assay で評価された。細胞増殖抑制率の指標が、陰性対照に対する治療群の OD 490 データを比較することによって得られた。薬剤反応率 IC₅₀ が SPSS 16.0 システムで計算された。結果は、図 3 に示される。

【0079】

H L - 7002 細胞に対して、C B C B P は、最小の毒性 (同様の条件でドセタキセルの約 1/216 及びシスプラチニンの約 1/10) を持つことが検出された。C B C B P の IC₅₀ は、20.51 μM であり、ドセタキセル及びシスプラチニンの IC₅₀ は、それぞれ 0.095 μM 及び 2.008 μM であった (図 3)。

【0080】

H E K 293 細胞は、不死化ヒト胎児腎臓細胞株である。H E K 293 細胞は、段階的な濃度の薬剤 (C B C B P、ドセタキセル、又はシスプラチニン) で処理され、細胞生存性が、Promega Corp. からの Cell Titer 96 A Queous One Solution Cell Proliferation Assay で評価された。細胞増殖抑制率の指標が、陰性対照に対する治療群の OD 490 データを比較することによって得られた。薬剤反応率 IC₅₀ が SPSS 16.0 システムで計算された。結果は、図 4 に示される。

【0081】

H E K 293 に対して、C B C B P の毒性は、検出されなかったが、ドセタキセル及びシスプラチニンは、強い毒性を示した。ドセタキセル及びシスプラチニンの IC₅₀ は、それぞれ 1.741 μM 及び 6.899 μM であった (図 4)。

【0082】

10

20

30

40

50

方法：

細胞培養：前立腺がん細胞株 LNCaP 及び PC-3 は、American Type Culture Collection (ATCC) から購入された。胎児肝細胞 HL-7002 及びヒト胚腎臓細胞 HEK393 は、ATCC から購入された。細胞は、RPMI + 5% 胎児ウシ血清 (FBS) で培養された。

【0083】

薬剤治療及び細胞生存性 (MTS) 分析：細胞 (10^5 / 100 mL / ウエル) は、96 ウエルプレートで培養され、 $0.01 \sim 300 \mu M$ の段階的な濃度で薬剤 (例えば CB-CBP) で処理された。溶媒で処理された細胞は、陰性対照として使用され、シスプラチニン及びドセタキセルは、陽性対照として使用された。細胞は、毎日監視され、細胞生存性は、製造者の指示に従って Promega CellTiter 96 AQueous One Solution Cell Proliferation Assay で評価された。細胞生存性は、バイオスペクトロメータ (Perkin Elmer) で読む OD490 で監視された。

【0084】

データ分析：OD490 読み取りデータは、溶菌緩衝液の添加後の 1 時間から 4 時間で毎時間収集された。細胞増殖抑制率の指数が、陰性対照に対する治療群の OD490 データを比較することによって得られた。薬剤反応率 IC₅₀ が SPSS 16.0 システムで計算された。

【0085】

腎臓がん細胞に対する CB-CBP の効果

共結晶 CB-CBP は、フルオロウラシル (5-FU) (腎臓がん患者を治療する際に広く使用される薬剤) と比較して腎臓がんの治療で試験された。

【0086】

A498 細胞は、腎臓がん細胞株である。A498 細胞は、段階的な濃度で薬剤 (CB-CBP, 5-FU、又はシスプラチニン) で処理され、細胞生存性は、Promega Corp. からの CellTiter 96 AQueous One Solution Cell Proliferation Assay で評価された。細胞増殖抑制率の指数が、陰性対照に対する治療群の OD₄₉₀ データを比較することによって得られた。薬剤反応率 IC₅₀ が SPSS 16.0 システムで計算された。結果は、図 5 に示される。

【0087】

A498 細胞に対して、CB-CBP による細胞の数を減少する効果は、5-FU と同等である。CB-CBP の IC₅₀ は、 $18.357 \mu M$ であり、カルボプラチニン及び 5-FU の IC₅₀ は、それぞれ $14.656 \mu M$ 及び $18.164 \mu M$ であった (図 5)。

【0088】

ACHN 細胞は、腎臓がん細胞株である。ACHN 細胞は、段階的な濃度で薬剤 (CB-CBP, 5-FU、又はシスプラチニン) で処理され、細胞生存性は、Promega Corp. からの CellTiter 96 AQueous One Solution Cell Proliferation Assay で評価された。細胞増殖抑制率の指数が、陰性対照に対する治療群の OD₄₉₀ データを比較することによって得られた。薬剤反応率 IC₅₀ が SPSS 16.0 システムで計算された。結果は、図 6 に示される。

【0089】

ACHN 細胞に対して、CB-CBP による細胞の数を減少する効果は、カルボプラチニンと同等である。CB-CBP の IC₅₀ は、 $11.647 \mu M$ であり、カルボプラチニン及び 5-FU の IC₅₀ は、それぞれ $11.034 \mu M$ 及び $6.454 \mu M$ であった (図 6)。

【0090】

HL-7002 肝細胞株細胞は、段階的な濃度の薬剤 (CB-CBP, 5-FU、又はシ

10

20

30

40

50

スプラチソ)で処理され、細胞生存性は、Promega Corp.からのCell Titer 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assayで評価された。細胞増殖抑制率の指標が、陰性対照に対する治療群のOD₄₉₀データを比較することによって得られた。薬剤反応率IC₅₀がSPSS 16.0システムで計算された。結果は、図7に示される。

【0091】

HL-7002細胞に対して、CB-CBPの最小の毒性しか検出されなかった。同様の条件では、CB-CBPの毒性は、カルボプラチソのそれの約1/10であり、5-FUのそれの約1/8であった。CB-CBPのIC₅₀は、351μMであり、カルボプラチソ及び5-FUのIC₅₀は、それぞれ34μM及び45μMであった(図7)。

10

【0092】

HEK293腎臓細胞株細胞は、段階的な濃度の薬剤(CB-CBP, 5-FU、又はシスプラチソ)で処理され、細胞生存性は、Promega Corp.からのCell Titer 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assayで評価された。細胞増殖抑制率の指標が、陰性対照に対する治療群のOD₄₉₀データを比較することによって得られた。薬剤反応率IC₅₀がSPSS 16.0システムで計算された。結果は、図8に示される。

【0093】

HEK293に対して、CB-CBPの最小の毒性しか検出されなかった。同様の条件では、CB-CBPの毒性は、カルボプラチソのそれの約1/5であり、5-FUのそれの約1/4であった。CB-CBPのIC₅₀は、1204μMであり、カルボプラチソ及び5-FUのIC₅₀は、それぞれ237μM及び356μMであった(図8)。

20

【0094】

方法:

細胞培養: 腎臓がん細胞株A498及びAChNは、Tongmai Biotech(中国、上海)から購入された。胎児肝細胞HL-7002及びヒト胚腎臓細胞HEK393は、ATCCから購入された。細胞は、RPMI+5%胎児ウシ血清(FBS)で培養された。

【0095】

薬剤治療及び細胞生存性(MTS)分析: 細胞(10⁵/100mL/ウェル)は、96ウェルプレートで培養され、0.01~300μMの段階的な濃度で薬剤(例えばCB-CBP)で処理された。溶媒で処理された細胞は、陰性対照として使用され、カルボプラチソ及び5-FUは、陽性対照として使用された。細胞は、毎日監視され、細胞生存性は、製造者の指示に従ってPromega Cell Titer 96 Aqueous One Solution Cell Proliferation Assay(Promega)で評価された。細胞生存性は、バイオスペクトロメータ(Perkin Elmer)で読むOD₄₉₀で監視された。

30

【0096】

データ分析: OD₄₉₀読み取りデータは、溶菌緩衝液の添加後の1時間から4時間で毎時間収集された。細胞増殖抑制率の指標が、陰性対照に対する治療群のOD₄₉₀データを比較することによって得られた。薬剤反応率IC₅₀がSPSS 16.0システムで計算された。

40

【0097】

ウイルス感染に対するCB-CBPの効果

CB-CBPは、DNAウイルス、RNAウイルス、及びレトロウイルスでの感染を減少するために効果的である。ハンターンウイルス(HTNV)及びB型肝炎ウイルス(HBV)に対するCB-CBPの効果が調査された。CB-CBPは、正常細胞に対する低い毒性及び抗ウイルス剤としての適度な活性を示すことを見出した。予備的な研究は、追加の治療薬又はアジュバントが活性を促進しあつ毒性を低下する際に必須であり、追加の治療薬又はアジュバントが葉酸、補酵素Q10、クルクミン、グルタチオン(GSH)、アロエ

50

、オリザノール、5-フルオロウラシル、ボルテゾミブ、又はそれらの組み合わせであることができる事を示した。

【0098】

Vero E6 細胞に対する CBCBP の抗 HTNV 効果

HTNV に感染した Vero E6 は、CBCBP で処理された。感染細胞の百分率割合は、各視野における全ての細胞とウイルス感染細胞を比較することによって計算され、IC₅₀ は、回帰式に従って計算された。CBCBP の IC₅₀ は、33.684 μg / mL である。結果は、表 1 に示される。

【0099】

表1 HTNVの抑制に対するCBCBP濃度の効果

10

時間 (d)	濃度 (μg/mL) / 抑制率 (%)					IC ₅₀ (μg/mL)
	2.3	4.6	9.3	18.7	37.5	
7	6.5	20.0	25.5	40.0	50.0	33.684

【0100】

Vero E6 細胞に対する CBCBP の IC₅₀ は、三つの化学薬品の細胞毒性及び抗 HTNV の効果と比較することによって 58.367 μg / mL である。全ての試験された化学薬品は、用量と効果の関係で有意な抗 HTNV 効果を示した。

20

【0101】

HepG2. 2. 15 細胞によって分泌された HBV 抗原に対する CBCBP の効果

化学処理された HepG2. 2. 15 細胞における HbsAg 及び HbeAg のレベルは、酵素結合免疫吸着検定法 (ELISA) によって検出された。表 2 に示されるように、HepG2. 2. 15 細胞によって分泌された HbsAg レベルに対する CBCBP の効果は、HbsAg 及び HbeAg に対する抑制を示した。

【0102】

表2 HepG2. 2. 15細胞によって分泌されたHBV抗原に対する CBCBP の影響

30

HBV 抗原	濃度 (μg/mL) / 抑制率 (%)				ID ₅₀ (μg/mL)	
	3.125	6.25	12.5	25		
HbsAg	3d	19.5	23.6	37.3	48.5	36.303
HbcAg	3d	0.6	25.0	25.3	28.5	67.311

【0103】

CBCBP の製造

40

CBCBP は、共結晶形成体としてのカルボプラチン及び 1,2-シスシクロブタンジカルボキシレートから形成された。包括的な共結晶スクリーニングは、スラリー / 攪拌、加熱及び冷却、回転式蒸発、凍結乾燥、冷却、及び蒸発によって実施された。一つの共結晶が得られ、共結晶形態 A と名付けられた。

【0104】

単結晶構造分析によれば、CBCBP は、1 : 1 のモル比のカルボプラチンとシス-シクロブタン-1,2-ジカルボン酸からなる。結果として、共結晶が製造され、その構造は、形態 A として示された。一方、その単結晶が得られ、特徴づけられた。形態 A は、X 線粉末回折パターン (XRD) (図 9)、熱重量分析 (TGA)、及び示差走査熱量測定 (DSC) (図 10) によって特徴づけられた。単結晶の分析は、形態 A が 1 : 1 の比

50

のカルボプラチニンと 1 , 2 - シス - シクロブタンジカルボキシレートの共結晶であることを示した。形態 A の X R P D は、図 9 に示される。 T G A は、 150 に加熱するとき、重量損失が 6 . 4 % であることを示し、一方 D S C は、 46 . 4 及び 174 . 5 で明らかな吸収を示した。

【 0105 】

冷却及び凍結乾燥法は、共結晶形態 A を製造するためにスケールアップされた。出発材料のモル比及びリーン法は、最適化された。数百ミリグラムの共結晶が得られた。

【 0106 】

図 11 に示されるように、異なる比率の共結晶形成体は、異なる品質の形態 A の形成に導く（方法 A）。カルボプラチニンと 1 , 2 - シス - シクロブタンジカルボキシレートの好ましい比は、 1 : 11 である。 C B C B P が冷却乾燥法（方法 B）によって製造されたとき、水及びエタノール / ヘプタンでの洗浄は、高品質共結晶を得るために重要である。
10

【 0107 】

特に、 C B C B P は、方法 A で製造された： 120 . 0 m g のカルボプラチニン、 512 . 4 m g の 1 , 2 - シス - シクロブタンジカルボキシレート、及び 0 . 5 m L の蒸留水を約 30 で 0 . 5 時間攪拌し、次いで得られた溶液を 5 で一晩冷却し、混合物を遠心分離で処理し、約 30 m g の結晶化合物を得た。収率は、約 18 % であった。

【 0108 】

得られた生成物を X R P D , D S C / T G A 、及びプロトン核磁気共鳴（ H - N M R ）によって分析した。さらに、得られた C B C B P を走査電子顕微鏡（ S E M ）で観察した（図 21 、図 22 、及び図 23 ）。

【 0109 】

C B C B P はまた、方法 B で製造された： 555 . 8 m g のカルボプラチニン、 494 m g の 1 , 2 - シス - シクロブタンジカルボキシレート、及び 0 . 1 m L の蒸留水を約 30 で 0 . 5 時間攪拌し、次いで得られた溶液を 0 . 45 μ m フィルターで濾過し、溶液を冷却によって乾燥した。冷却乾燥の結果として、約 770 m g の粗共結晶を得た。粗結晶をエタノール及びヘプタンで処理し、 448 m g の純結晶を得、 5 で一晩冷却した。得られた化合物を X R P D , D S C / T G A , H - N M R 、及び S E M によって分析し、この化合物が方法 A の得られた生成物と同じであることを見出した。
20

【 0110 】

C B C B P の特性決定

単結晶形態の分析は、 C B C B P の化学構造を明らかにした。図 15 及び図 16 に示されるように、 1 : 1 の比のカルボプラチニンと 1 , 2 - シス - シクロブタンジカルボキシレートが共結晶中に存在することが明らかになった。

【 0111 】

C B C B P の好適な単結晶は、播種で 4 の水における遅い蒸発によって得られた。これらの単結晶の一つを使用して構造決定が実施され、結果は、図 17 、図 18 、図 19 、及び図 20 に示される。構造は、 1 : 1 の共結晶を確認した。シクロブタン - 1 , 2 - ジカルボン酸は、シス異性体である。カルボプラチニン及びシス - シクロブタン - 1 , 2 - ジカルボン酸は、水素結合に関与する（ N - H · · · O , O - H · · · O 、及び O - H · · · N ）。結晶 a b 面に沿った二次元構造は、分子間水素結合によって形成される。
40

【 0112 】

カルボプラチニンシス - シクロブタン - 1 , 2 - ジカルボン酸共結晶の結晶構造は、単結晶（ 807604 - 10 - A3 ）から収集された一組の回折データを使用してうまく決定された。結晶データ及び構造精密化は、表 3 に示される。

【 0113 】

表3: CBCBPの単結晶についての結晶データ及び構造精密化

識別コード	CP2758	-
実験式	C ₁₂ H ₁₈ N ₂ O ₈ Pt	-
式量	513.37	-
温度	296(2)	-
波長	0.71073 Å	-
結晶系、空間群	单斜晶系	P2 ₁ /c
単位胞寸法	$a = 5.5860(11)$ Å $b = 11.488(2)$ Å $c = 25.167(5)$ Å	$\alpha = 90$ 度 $\beta = 92.079(4)$ 度 $\gamma = 90$ 度
体積	1614.0(5) Å ³	-
Z, 計算密度	4	2.113 Mg/m ³
吸収係数	8.736 mm ⁻¹	-
F(000)	984	-
結晶サイズ	0.28 × 0.25 × 0.10 mm ³	-
データ収集のためのシータ範囲	1.95 ~ 27.59 度	-
限界指數	-7 ≤ h ≤ 7 -14 ≤ k ≤ 14 -32 ≤ l ≤ 26	-
集められた反射／唯一の反射	9905 / 3677 [R(int) = 0.0418]	-
完全性	98.2 %	-
精密化法	F ² についての完全行列最小二乗法	-
データ／束縛／パラメータ	3677 / 5 / 221	-
F ² の適合度	1.157	-
最終R指数 I>2シグマ(I)	R ₁ = 0.0873	wR ₂ = 0.1901
最大差ピーク及びホール	3.081 及び -5.807 e·Å ⁻³	-

【0114】

C B C B P の絶対構造は、図 15 に示される。図 16 は、C B C B P の分子構造を示す。シクロブタン - 1 , 2 - ジカルボン酸は、シス構造（図 16）であることが確認された。結晶構造のORTEP図は、図 17 に示される。一つの酸素原子は、二つの位置（O5 及び O5'）で 0 . 5 対 0 . 5 の比で秩序を乱されている。結晶構造は、図 18 に示される一つの単位において四つのカルボプラチニン及び四つのシス - シクロブタン - 1 , 2 - ジカルボン酸分子を有する 1 : 1 共結晶を確認した。

【0115】

構造において、カルボプラチニン及びシス - シクロブタン - 1 , 2 - ジカルボン酸は、水素結合に関する (N - H · · · O , O - H · · · O, 及び O - H · · · N)。水素結合相互作用は、図 19 に示される。結晶 a b 面に沿った二次元構造は、図 20 に示される結晶充填によって示されるように分子間水素結合を通して形成される。単結晶構造から計算された理論的 X R P D パターンは、図 13 に示されるように実験のもの (807603 - 23 - A1) と良く一致する。

10

20

30

40

50

【0116】

分析方法

X線粉末回折(XRPD)：偏光顕微鏡写真は、室温(RT)で撮影された。X線強度データは、Bruker APEX II CCD回折計(MoK放射線、 $\lambda = 0.71073\text{ \AA}$)を使用して296(2)Kで収集された。XRPDパターンは、RTでPanalytical Empyreanシステムによって収集された。F2に対して直接法構造解、差分フーリエ計算、及び完全行列最小二乗精密化が、SHELXTL及びOLEX2で実施された(Sheldrick, Acta Crystallographica A, 64: 112-122, 2008; 及び Dolomanov, J. Appl. Cryst. 42, 339-341, 2009; 及び Brandenburg, DIAMOND, 1999, Crystal Impact GbR, Bonn, Germany 参照)。分子グラフィックスは、Brandenburg, K. DIAMOND, 1999, Crystal Impact GbR, Bonn, Germanyに従って作られた。

【0117】

分析機器：Panalytical Empyrean。X線粉末回折は、結晶材料のサンプルをSi単結晶低バックグラウンドホルダー上に装着して、顕微鏡スライドの助けを借りてサンプルを薄層に広げることによって行なわれた。2位置は、Panalytical 640 Si粉末標準に対して校正された。45kV及び40mAで作動する銅の長精密焦点管によって生成されたX線でサンプルは照射された。K1の波長は1.540589オングストロームであり、K2の波長は、1.544426オングストロームであった(K2/K1の強度比は、0.50)。観測されたX線源は、プログラムされた10mmの発散スリットの組を通過させられ、反射された放射線は、5.5mmの散乱防止スリットを通して指向された。サンプルは、シータ-シータモードで3°~40°の2シータの範囲にわたって0.013°の2シータ増分あたり16.3秒間露光された(連続走査モード)。作動時間は、3分57秒であった。機器は、RTMS検出器(X Celerator)を備えていた。制御及びデータ取得は、データ収集ソフトウェアを使用して作動するDe 11 Optiplex 780 XPによって行なわれた。

【0118】

X線粉末回折の業界の熟練者は、ピークの相対強度が、例えば30ミクロンより上の大きさの粒子によって影響を受けることがあること、及び非一元アスペクト比は、サンプルの分析に影響を与えることがあることを認識するだろう。また、X線粉末回折の業界の熟練者は、反射の位置が、サンプルが回折計中に位置する正確な高さ、及び回折計のゼロ校正によって影響を受けることがあることも認識するだろう。サンプルの表面平滑性も、限定された影響を有することがある。従って、示される回折パターンのデータは、絶対値に限定されることを意図されない。

【0119】

示差走査熱量測定(DSC)

DSCは、サンプルの温度を上昇させるために必要な熱の量の差を測定するための熱分析方法として使用された。参照は、温度の関数として測定された。DSCの一般的なプロセスは、公知である。以下の実施例で使用された特定の機器及び条件は、以下の通りである：

分析機器：TA Instruments Q2000 DSC；
加熱速度：10 / 分；及び
バージガス：窒素。

【0120】

5.3 熱重量分析(TGA)

TGAは、(一定の加熱速度での)上昇する温度の関数としての、又は(一定の温度及び/又は一定の質量損失での)時間の関数としての、サンプルの物理的及び化学的特性の変化を測定するために使用された。TGAの一般的なプロセスは、公知である。以下の実

施例で使用された特定の機器及び条件は、以下の通りである：

分析機器： T A I n s t r u m e n t s Q 5 0 0 0 T G A ；

加熱速度： 1 0 / 分； 及び

バージガス： 窒素。

【 0 1 2 1 】

C B C B P を含むサンプル医薬組成物及び投与

本発明の水性又は固体医薬組成物は、少なくとも一種の追加の治療薬又はアジュバントの適切な量を有して又は有さずに、有効量の C B C B P を含む。 C B C B P 、並びに治療薬又はアジュバントは、医薬的に許容可能な担体又は水性媒体中に溶解又は分散されることができる。

10

【 0 1 2 2 】

治療される特定のがんに依存して、本発明による医薬組成物の投与は、ターゲット組織に経路を介して到達できる限りいかなる一般的な経路を介することができる。例えば、医薬組成物は、点滴、注射、又は経口経路によって投与されることができる。

【 0 1 2 3 】

多数の医薬組成物が製造された：

医薬組成物サンプル A : 7 0 g の C B C B P を予め処理された生理食塩水又は 5 % の水性グルコース（水中）に溶解し、溶液の最終体積を 5 . 0 L に調整した。次いで、溶液を 0 . 2 2 μ m フィルターで濾過し、アンプル瓶にそれぞれ 5 0 m L で分散した。

20

【 0 1 2 4 】

医薬組成物サンプル B : 7 0 g の C B C B P 及び 2 0 g のグルタチオン（ G S H ）を予め処理された生理食塩水又は 5 % の水性グルコース（水中）に溶解し、溶液の最終体積を 5 . 0 L に調整した。次いで、溶液を 0 . 2 2 μ m フィルターで濾過し、アンプル瓶にそれぞれ 5 0 m L で分散した。

【 0 1 2 5 】

医薬組成物サンプル C : 7 0 g の C B C B P 、 2 0 g のグルタチオン（ G S H ）、 1 4 0 0 g のクルクミン、及び 2 0 g の補酵素 Q 1 0 を均一に混合した。混合物を均一に 1 4 0 0 0 個のカプセルに分配した。

【図1】

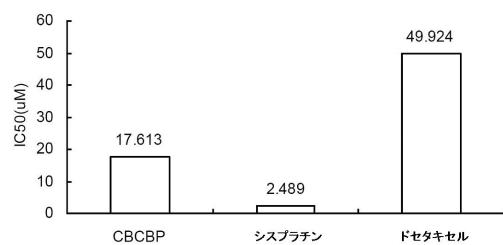


Fig. 1

【図3】

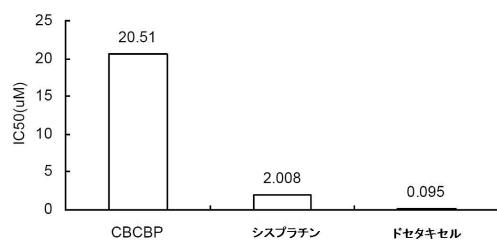


Fig. 3

【図2】

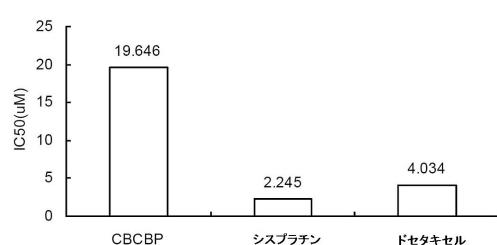


Fig. 2

【図4】

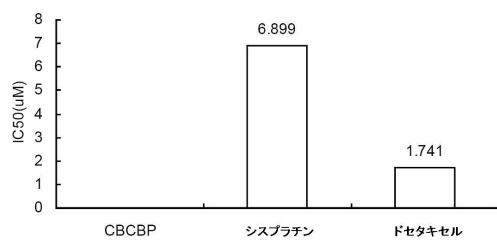


Fig. 4

【図5】

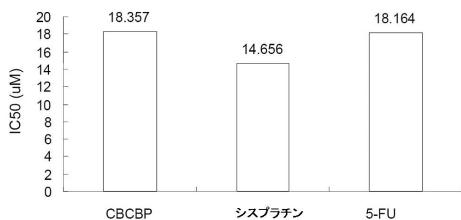


Fig. 5

【図7】

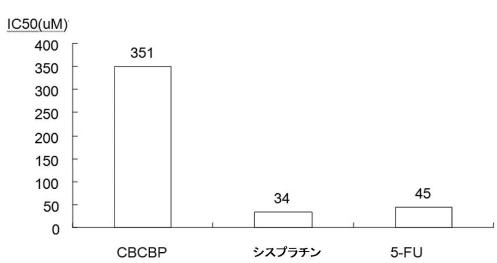


Fig. 7

【図6】

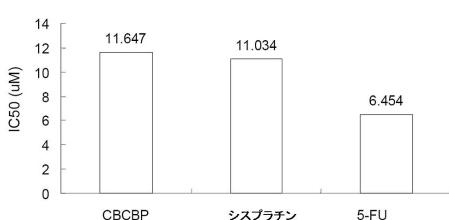


Fig. 6

【図8】

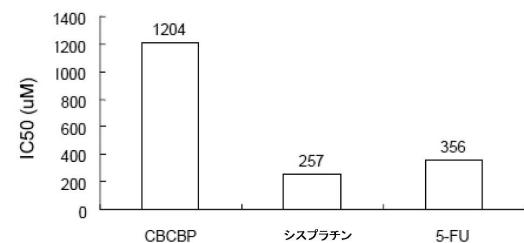


Fig. 8

【図 9】

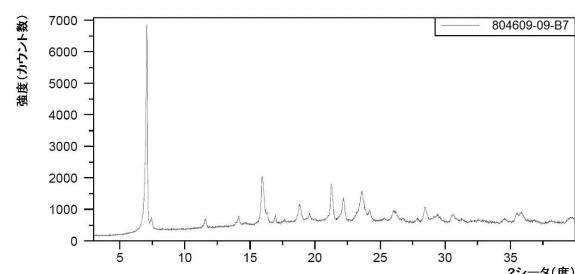


Fig. 9

【図 11】

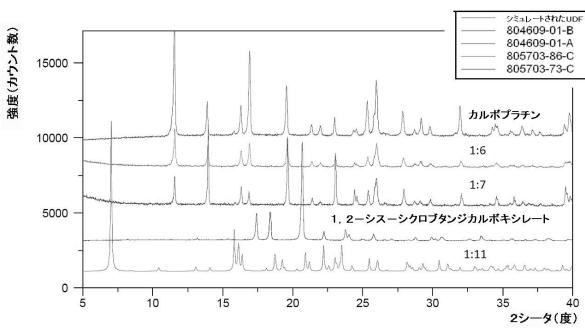


Fig. 11

【図 10】

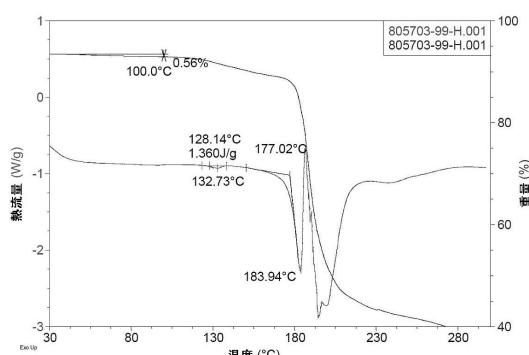


Fig. 10

【図 12】

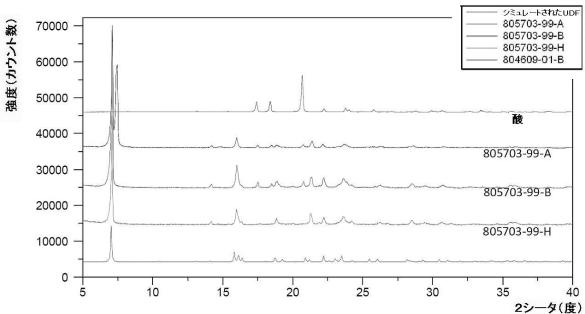


Fig. 12

【図 13】

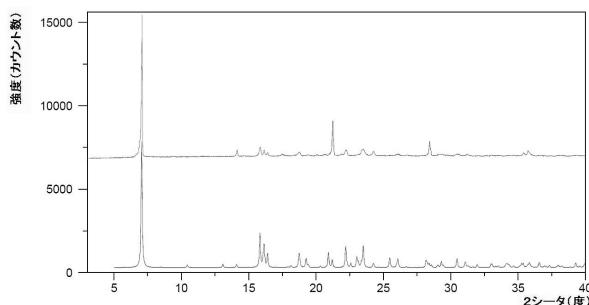


Fig. 13

【図 14】

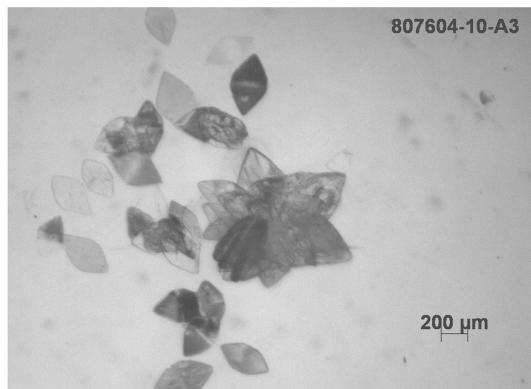


Fig. 14

【図 15】

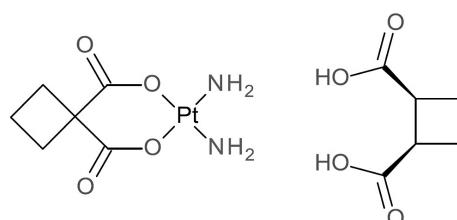


Fig. 15

【図 16】



Fig. 16

【図17】

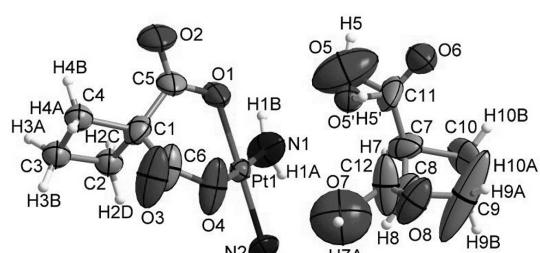


Fig. 17

【図18】

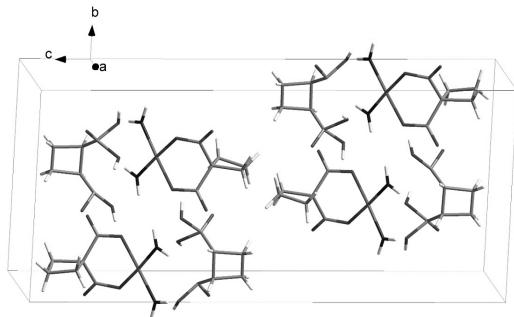
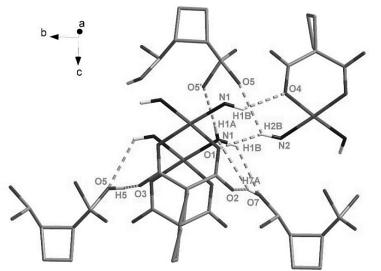


Fig. 18

【図19】



D-H \cdots A
 $d(D\cdots A)/\text{\AA}$

N(1)-H(1A) \cdots O(5')	2.86(6)	D-H \cdots A $d(D\cdots A)/\text{\AA}$	3.16(12)
N(1)-H(1B) \cdots O(4)	3.13(5)	N(2)-H(2B) \cdots O(5)	3.07(12)
N(1)-H(1B) \cdots O(7)	3.17(8)	O(5)-H(5) \cdots O(3)	3.09(6)
N(2)-H(2B) \cdots O(1)	3.20(4)	O(7)-H(7A) \cdots O(2)	3.17(8)

Fig. 19

【図20】

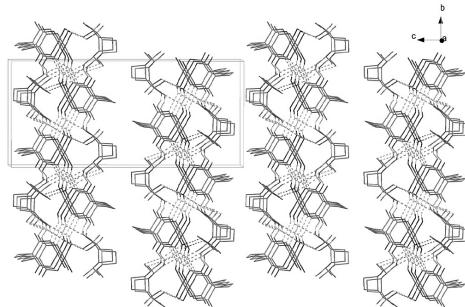
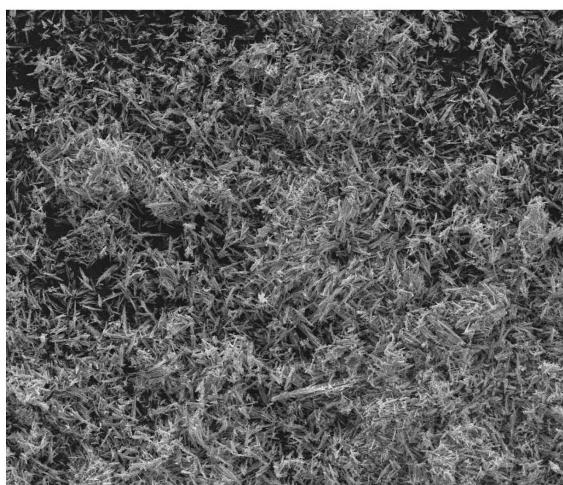


Fig. 20

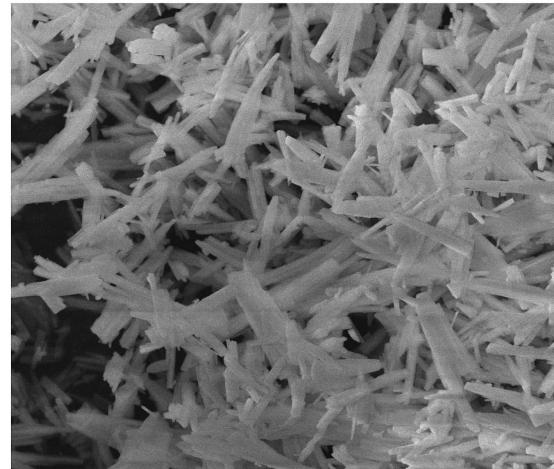
【図21】



HV	WD	倍率	モード	HFW	Fウェル	検出	—50 μm—
10.0kV	5.3mm	1,000x	SE	240μm	6μs	TLD	Nova Nano SEM230

Fig. 21

【図22】



HV	WD	倍率	モード	HFW	Fウェル	検出	—5 μm—
10.0kV	5.2mm	10,000x	SE	24.0μm	6μs	TLD	Nova Nano SEM230

Fig. 22

【図23】



HV	WD	倍率	モード	HFW	ド・ウェル	検出	—— 3 μm ——
10.0kV	5.2mm	20,000x	SE	12.0μm	6μs	TLD	Nova Nano SEM230

Fig. 23

 フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P	31/12	(2006.01) A 6 1 P 31/12
A 6 1 P	31/14	(2006.01) A 6 1 P 31/14
A 6 1 P	31/20	(2006.01) A 6 1 P 31/20
A 6 1 P	31/22	(2006.01) A 6 1 P 31/22
A 6 1 P	31/18	(2006.01) A 6 1 P 31/18
A 6 1 P	31/16	(2006.01) A 6 1 P 31/16
A 6 1 K	31/282	(2006.01) A 6 1 K 31/282
A 6 1 P	43/00	(2006.01) A 6 1 P 43/00 1 2 1
A 6 1 K	45/00	(2006.01) A 6 1 K 45/00
A 6 1 K	31/122	(2006.01) A 6 1 K 31/122
A 6 1 K	31/12	(2006.01) A 6 1 K 31/12
A 6 1 K	38/06	(2006.01) A 6 1 K 38/06
A 6 1 K	31/519	(2006.01) A 6 1 K 31/519
A 6 1 K	31/56	(2006.01) A 6 1 K 31/56
A 6 1 K	31/513	(2006.01) A 6 1 K 31/513
A 6 1 K	31/69	(2006.01) A 6 1 K 31/69
A 6 1 K	36/886	(2006.01) A 6 1 K 36/886

審査官 前田 憲彦

- (56)参考文献 特表2005-515195(JP,A)
 特表2003-529566(JP,A)
 特表2009-525273(JP,A)
 特表2005-519112(JP,A)
 国際公開第2004/099224(WO,A1)
Analyst, 2015年 2月 5日, 140(8), p.2704-2712
Chemico-Biological Interactions, 1990年, 73(2-3), p.337-351

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 F	1 5 / 0 0
A 6 1 K	3 1 / 0 0
C 0 7 C	6 1 / 0 0
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)	