

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5057987号

(P5057987)

(45) 発行日 平成24年10月24日(2012.10.24)

(24) 登録日 平成24年8月10日(2012.8.10)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 36/00 (2006.01)

A 6 1 K 35/78

W

A 6 1 K 36/18 (2006.01)

A 6 1 K 35/78

C

A 6 1 K 36/71 (2006.01)

A 6 1 K 35/78

F

A 6 1 K 36/53 (2006.01)

A 6 1 K 35/78

Q

A 6 1 K 31/7068 (2006.01)

A 6 1 K 31/7068

請求項の数 10 (全 89 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2007-540194 (P2007-540194)
 (86) (22) 出願日 平成17年11月9日(2005.11.9)
 (65) 公表番号 特表2008-519767 (P2008-519767A)
 (43) 公表日 平成20年6月12日(2008.6.12)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2005/040605
 (87) 国際公開番号 W02006/053049
 (87) 国際公開日 平成18年5月18日(2006.5.18)
 審査請求日 平成20年11月7日(2008.11.7)
 (31) 優先権主張番号 60/625,943
 (32) 優先日 平成16年11月9日(2004.11.9)
 (33) 優先権主張国 米国(US)
 (31) 優先権主張番号 11/100,433
 (32) 優先日 平成17年4月7日(2005.4.7)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

(73) 特許権者 503469393
 イエール ユニバーシティ
 アメリカ合衆国 コネチカット州 ニュー
 ヘブレン トウ ホイットニー アベニュー
 (74) 代理人 100079108
 弁理士 稲葉 良幸
 (74) 代理人 100093861
 弁理士 大賀 眞司
 (74) 代理人 100109346
 弁理士 大貫 敏史
 (72) 発明者 チェン, ユンーチ
 アメリカ合衆国, コネチカット州 065
 25, ウッドブリッジ, バルドウィン ロ
 ード 961

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 薬草組成物PHY906及びその化学療法における使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

哺乳類における癌を治療するための製剤を製造するための、薬草製剤、ゲムシタビン、及びオキサリプラチンの使用であって、治療有効量の

i) スクテラリア (Scutellaria)、グリキリザ (Glycyrrhiza)、ジジフス (Ziziphus)、及びパエオニア (Paeonia) から本質的になる薬草製剤と、

i i) ゲムシタビンと、

i i i) オキサリプラチンと、を併用することを含む、使用。

【請求項2】

前記癌が膵癌である、請求項1に記載の使用。

【請求項3】

前記薬草製剤、ゲムシタビン、及びオキサリプラチンが前記哺乳類に別々に投与される、請求項1又は2に記載の使用。

【請求項4】

癌治療がされている哺乳類における化学療法の副作用を緩和するための製剤を製造するための、薬草製剤、ゲムシタビン、及びオキサリプラチンの使用であって、治療有効量の

i) スクテラリア (Scutellaria)、グリキリザ (Glycyrrhiza)、ジジフス (Ziziphus)、及びパエオニア (Paeonia) から本質的になる薬草製剤と、

10

20

i i) ゲムシタビンと、

i i i) オキサリプラチンと、を併用することを含む、使用。

【請求項 5】

前記癌が膀胱癌である、請求項 4 に記載の使用。

【請求項 6】

前記薬草製剤、ゲムシタビン、及びオキサリプラチンが前記哺乳類に別々に投与される、請求項 4 又は 5 に記載の使用。

【請求項 7】

ゲムシタビン及びオキサリプラチンの組み合わせで癌治療がされている哺乳類におけるゲムシタビン及びオキサリプラチンの組み合わせの治療指数を増大させるための製剤を製造するための、スクテラリア (Scutellaria)、グリキリザ (Glycyrrhiza)、ジジフス (Ziziphus)、及びパエオニア (Paeonia) から本質的になる薬草製剤の使用。

10

【請求項 8】

前記癌が膀胱癌である、請求項 7 に記載の使用。

【請求項 9】

前記薬草製剤、ゲムシタビン、及びオキサリプラチンが前記哺乳類に別々に投与される、請求項 7 又は 8 に記載の使用。

【請求項 10】

i) スクテラリア (Scutellaria)、グリキリザ (Glycyrrhiza)、ジジフス (Ziziphus)、及びパエオニア (Paeonia) から本質的になる薬草製剤と、

20

i i) ゲムシタビンと、

i i i) オキサリプラチンと、を含む、薬剤の組合せ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2005年4月7日出願の米国特許出願第11/100,433号明細書、及び2004年11月9日出願の米国仮出願第60/625,943号明細書の利益を主張するが、これらは参照によりその全体が本明細書で援用される。

30

【0002】

本出願は、2000年3月9日出願で現在放棄された米国特許出願第09/522,055号明細書の一部継続出願である2001年3月8日出願の国際特許出願第PCT/US01/07353号明細書の国内段階である2002年12月30日出願の米国特許出願第10/220,876号明細書に関するが、そのすべては参照によりその全体が本明細書で援用される

【0003】

発明の分野

本発明は、疾患、特にウイルス感染及び癌の新生物の治療において使用されるものを含む薬剤の治療指数を増大させるために有用な薬草組成物および薬草抽出物に関する。本発明の方法を使用し、化学療法を受ける個人の生活の質を改善することができる。具体的には、本発明は、薬草組成物PHY906による化学療法薬の治療指数を増大させることによる疾患の治療に関する。さらに具体的には、本発明は、薬草組成物PHY906による癌化学療法薬の治療指数の増大による癌の治療に関する。

40

【背景技術】

【0004】

発明の背景

本明細書におけるすべての刊行物および特許出願は、個々の刊行物又は特許出願の各々が具体的かつ個別に参照により援用されるべきことが示されているかのごとくある程度参

50

照により援用される。

【0005】

薬草医薬

薬草医薬は何世紀もの間アジア及びヨーロッパの人々によって使用されている。米国（U S）においては、薬草は栄養補助食品工業及びホリスティック医学において商業的に重要となった。米国人口のおよそ3分の1は何らかの代替医療を少なくとも1回試みている（アイゼンベルク（E i s e n b e r g）ら、N. E n g l. J. M e d.、328：246－252頁（1993年））。植物学でも疾患を治療する新しい活性剤の同定が焦点となった。植物抽出物由来の活性化合物は、製薬工業の継続的な関心である。例えば、西洋イチイの樹皮から得られる抗新生物薬タクソールは、乳癌の治療において有用であることがわかっている（ゴメス・エスプッフ（G o m e z - E s p u c h）ら、B o n e M a r r o w T r a n s p l a n t、25（3）：231－235頁（2000年））。

10

【0006】

世界中にはアーユルベダ、ユナーニー、シッダ、及び漢方（T C M）など薬草医薬の多くの部門がある。近代西洋医学は一般的に特定の生化学経路を中断する能力がある単一の化学物質を投与するステップからなるが、T C Mの各々の処方は、協調的に体内の複数の標的と相互作用するように設計されているいくつかの薬草からの何百もの化学物質を含有する。実証的実践が有意義なやり方で薬草組成物およびこれら古来の薬草医薬の処方において寄与したが、それらは、さまざまな程度に、解剖学、薬理学、病理学、診断治療等の点で近代西洋医学のものとすべて異なる一連の理論によっても支持されている。種々の薬草医薬分野の中で、T C Mは数世紀にわたってより完全な一連の理論を発展させ、これらは大中華圏および朝鮮や日本を含む東アジアにおける（13億人を超す）莫大な人口をケアする現場の医師によって十分に裏づけされ、かつ実践されている。

20

【0007】

漢方

西洋医学では、一般に、主に単一の生理的標的を対象とする天然又は合成のいずれかの精製化合物を使用する。しかし、T C Mにおいて使用される組成物は通常、独自及びホリスティックなコンセプトに基づく体内の複数の標的を対象とする複数の薬草及び化合物からなる。T C Mでは主に加工された生の天然物をさまざまな組合せおよび製剤とともに使用し、種々のコンホメーションを治療し、副作用をもたらしことが少ない。世界の人口の大多数のためのT C Mの大きな可能性は未だ実現されていない。

30

【0008】

単一の化合物というより、植物性抽出物の混合物が疾患の管理のために世界中で広く使用され、西欧諸国における受容が徐々に増大している（オカダ（O k a d a）、F.、L a n c e t 348：5－6頁（1996年）、シャオ（X i a o）P G、シン（X i n g）S T、およびワン（W a n g）L W、J o u r n a l o f E t h n o p h a r m a c o l 38：167－175頁（1993年））。漢方の使用は、多数の分子標的及び細胞機序で同時にかつ相乗的に作用する薬草製剤における多くの化学生物の相互作用に基づく。これらの成分はさまざまな機能を果たし、一部は効果に関与しうるが、その他は毒性を減少させ、又はバイオアベイラビリティを増加させうる。漢方製剤は、おそらく最もよく知られた植物性薬品であり、数千年にわたるヒトにおける実証的所見に由来したものである。所定の漢方製剤の主張されている適応は、多くの場合、単一というより多数である。これは、多数の標的で作用を発揮しうる製剤における多くの植物化学成分により意外ではない。漢方製剤が癌化学療法剤の使用と関連する2つ以上の副作用を軽減しうる事が可能である。

40

【0009】

典型的なT C M処方における薬草は、補助、アジュバント、及び誘導薬草を含む主たる薬草および二次的な薬草としての役割が割り当てられている。主たる薬草は疾患の原因及び主な症状の治療における主要な効果をもたらす。補助薬草は、主たる薬草の効果を強化するために役立ち、随伴症状の治療における主要な効果をもたらす。3種類のアジュバン

50

ト薬草がある。すなわち、1) 主たる及び補助薬草の治療効果を増強し、又は第三の症状を治療するもの、2) 主たる及び補助薬草の毒性及び他の副作用を削減又は除去するもの、及び3) 主たる薬草によって特異的に影響されない相補的標的組織で作用するものである。誘導薬草は、他の薬草の効果を患部に方向づけ、及び／又は処方または製剤における他の薬草の効果を調整及び介在する。単一の植物の1つ又はそれ以上の部分からなる薬草医薬又は栄養補助食品の大部分とは対照的に、TCMの意図された効果は多数の組織に向けられている。

【0010】

例えば、喘息の治療に使用される公知のTCM処方箋「麻黄湯 (Ephedra Decoction)」は、マオウ、シナモンの小枝、苦味のある杏仁、及びリコリスからなる。風邪を駆逐する主たる薬草としてのマオウは、発汗を誘発し、肺気 (Lung Qi) 流を促進し、主症状である喘息を軽減する。補助薬草としてのシナモンの小枝はマオウの発汗誘導を増強し、経路を暖め、頭痛及び全身痛を削減するための陽気流を確保する。アジュバント薬草としての苦味のある杏仁は、有害な肺気流を促進し、マオウによる喘息の軽減を強化する。誘導薬草としてのリコリスは、マオウ及びシナモンの両方の効果を加減し、生気の恒常性を確保する。4つの薬草の各々は、明らかにそのそれぞれの活性を示すが、それらは組合されると互いに補完するとともに補足する。実際に、主たる薬草は、患者の受診時の症状によって1つ又はそれ以上の二次的薬草と配合されうる (Prescriptions of Traditional Chinese medicine、第1章、10-16頁、E. チャン (Zhang)、編集長、パブリッシング・ハウス (Publishing House)、上海漢方大学 (Shanghai University of Traditional Chinese medicine)、1998年)。

【0011】

気 (Qi) は体の総エネルギーを指す。薬草は気の最適なバランスを達成するために使用され、そのバランスは患者の全体的な健康及び活力において自然に顕になる (K. C. ファン (Huang)、The Pharmacology of Chinese Herbs、第2版、2頁、1999年、CRCプレス (Press))。

【0012】

薬草医薬及び鍼など他の手段による病気の治療を指導するTCMの主な理論は、1) 陰と陽の理論、2) 五行の理論、3) 内臓と腸の理論、4) 気、血液、及び体液の理論、並びに5) 経路と側副の理論である。

【0013】

TCMにおいて、適切な診断を行う第1の重要な態様は、疾患が陰又は陽であるかを確認することであるが、この2つの力を中国人は宇宙の営みを制御すると考えている。陰は自然の女性の側面、包括的な暗、静寂、死、冷たさ、及び湿りを表すが、陽は男性の原理、包括的な明、活性、高さ、熱、及び乾燥を表す (K. C. ファン (Huang)、The Pharmacology of Chinese Herbs、第2版、2頁、1999年、CRCプレス (Press))。陰は一般的に負の力であると解釈されるが、陽は正の力を表す。この2つの力は相補的であり、いずれも他方なしに存在しえない。したがって、TCMでは陰と陽とのバランスを達成することが試みられる。

【0014】

陰と陽の哲学に基づく患者の診断においては、熱を有し、のどが渇いており、便秘になり、又は頻脈状態を有するような患者は陽の特徴である。寒さを嫌い、のどが渇いておらず、下痢であり、徐脈状態を有するような個人は、陰の特徴である。薬草の特性、風味、及び機能も陰と陽の理論に従って分類されうる。例えば、寒冷の性質の薬草は陰に属するが、性質が暖熱である薬草は陽に属する。酸っぱく、苦く、かつ塩辛い風味の薬草が陰に属するが、ピリッとした、甘い、かつ味気ない風味が陽に属する。収斂及び沈殿機能を有する薬草は陰に属するが、分散、上昇、及び浮遊機能を有する薬草は陽に属する。TCMにおいて、治療の原理は陰と陽の優位又は弱さに基づく。薬草はその陰と陽の特性及び陰

10

20

30

40

50

と陽の不均衡を修復するためのその機能に従って処方される。その際に、治療の利点は達成される。

【0015】

五行の理論によれば、物質世界を構成する5つの基本的な物質がある（すなわち、木、火、土、金属、水）。TCMにおいて、この理論は人体の生理及び病理を説明し、臨床診断及び治療を指導するために使用されている。薬草医師は、五行の発生、制限、征服、及び逆制限の法則を適用し、金属を発生させる土の強化（肺のためになる脾の機能の強化）、木を育てる水の補充（肝のためになる腎の本質を育てる）、木を制限する土の支持（肝の活動亢進を治療する脾の機能の補完）、及び火を制御する水の強化（心臓の活動亢進を治療する腎の本質の補充）などの多くの有効かつ特異的な治療法を案出した。具体的には、一部の薬草の特性は、TCM処方箋の処方を指導するために五行の各々に割り当てられる。

10

【0016】

TCMにおいて、人体の内臓は3群に分けられる。すなわち、五臓（心臓、肝臓、脾臓、肺、および腎臓）、六腑（胆嚢、胃、大腸、小腸、膀胱、および三焦経）、奇恒の腑（脳、髄、骨、血管、胆嚢、及び子宮）である。TCMにおいて、臓又は腑は、解剖的構成単位だけではなく、種々の臓器間の相互作用に関する生理及び病理のコンセプトでもある。例えば、心臓は、精神機能の一部および血液、髪、舌、及び皮膚の影響関数も指す。陰と陽及び五行は、これらの臓器、臓、腑、及び奇恒の腑間の相互作用に影響を及ぼす。理論の相互作用の複雑性は、以下で論じられように、それに対して薬草が処方される疾患の病理を説明するために使用される。

20

【0017】

TCMにおける薬草医薬の処方診断は開始するが、これは4つの主な項目からなる。すなわち、問診、検査、聴診と嗅覚、検脈と触診である。問診段階中、主症状の特徴を含む多くの情報が集められる。例えば、主症状が加温及び加圧によって軽減される上胃部の鈍痛によって特徴づけられる場合は、これは脾一陽の機能不全を示す。腰及び膝の痛み及び脱力、冷えた四肢による冷えの不耐性は腎一陽の衰弱を明白に示す。検査中、活力、肌色、及び全体的な様子や舌の状態の観察が行われる。例えば、青ざめた顔色は内部ではその気が乾燥している初老期の肺に対応する。これは陽気が不足し、気及び血液の循環が障害されている場合、又は経路及び側副における冷えがそれらの収縮をもたらす場合に起こりうる。

30

【0018】

TCMにおいて、臓及び腑、経路及び側副、組織、並びにその生理的機能を行うための他の臓器によって必要とされるエネルギーを生じさせるのは気、血液、及び体液からであり、気、血液、及び体液の形成並びに代謝はそれに依存する。TCMの処方では治療のための気及び血液に対する薬草効果が考慮される。

【0019】

TCMでは、経路、側副、及びその付属部が体全体にわたって分布されることを維持する。薬草が病理的標的に対する影響を発揮し、病気の改善を達成するのはそれらを通じてである。例えば、マオウは、喘息を軽減し利尿を促進するために汗を誘発するために肺及び膀胱の経路に作用する。上記の通り、鍼の臨床用途は経路および側副の理論によっても指導される。

40

【0020】

要約すれば、TCMにおける各々の薬草の性質又は特性が、陰又は陽として、かつ五行の1つに割り当てられうるが、それらは経路および側副を通じて作用し、気、血液、及び体液によって介在されて臓及び腑などの標的に対する治療効果をもたらす。病原因子は、経路及び側副の全く同じ系によりおとりと見せかけられ、臓及び腑の機能に悪影響を及ぼし、したがって病気をもたらしうる。

【0021】

米国における薬草組成物の特許化

50

米国特許は、ヒトを含む哺乳類を苦しめるさまざまな疾患および他の健康関連性問題の治療に使用される薬草組成物について発行されている。例えば、*Paeonia suffuticosa*を含む薬草組成物は、ヘルペス及びポリオウイルスからの感染を含むウイルス感染の治療に有用であることがわかっている（米国特許第5, 411, 733号明細書）。

【0022】

眼の炎症は、植物性アルカロイドテトランドリンを含有する医薬組成物で治療されうる（米国特許第5, 627, 195号明細書）。米国特許第5, 683, 697号明細書は、抗炎症、抗熱、去痰、又は鎮咳作用を有する医薬組成物を開示しているが、この組成物は、メリア (*Melia*)、アングピカ (*Angepica*)、デンドロビウム (*Dendrobium*)、インパチエンス (*Impatiens*)、シトルス (*Citrus*)、ロランツス (*Loranthus*)、セロシア (*Celosia*)、シナンチュム (*Cynanchum*)、およびグレーニア (*Glehnia*) 種からの植物部分を含む。アルフィニア (*Alphinia*)、スミラックス (*Smilax*)、チノスポラ (*Tinospora*)、トリブルス (*Tribulus*)、ウィタニア (*Withania*)、及びジンジャー (*Zingiber*) の根、根茎、及び／又は草木の抽出物を含んでなる薬草製剤が、関節リウマチ、変形性関節炎、及び反応性関節炎と関連した症状を削減又は改善し、かつ炎症性サイトカインの産生を削減することがわかっている（米国特許第5, 683, 698号明細書）。タルク、カイコの糞、及び12種類の薬草の成分を含有する組成物が、哺乳類における炎症、疼痛、及び熱の削減において有効であることが証明されている（米国特許第5, 908, 628号明細書）。

【0023】

癌及び癌関連性健康問題の治療において使用される薬草組成物に対する特許も発行されている。例えば、米国特許第5, 437, 866号明細書は、ヒトにおける悪性腫瘍の効果を改善するために使用される、スクテラリア・バルバータ (*Scutellaria barbata*) の種、及びその抽出物を含む薬草の混合物を含んでなる組成物を開示している。米国特許第5, 665, 393号明細書は、前立腺癌の治療のためのグリキリザ・グラブラ (*Glycyrrhiza glabra*) L. 及びスクテラリア・バイカレンシス・ゲオロギ (*Scutellaria baicalensis Georgi*)、ラブドシア・ルーベセンス (*Rabdosia rubescens*)、及びセレノア・レペンス (*Serenoa repens*) を含むさまざまな薬草組成物を開示している。さらに、抗腫瘍薬草組成物としては、マイトマイシンD及びドキソルビシンの抗腫瘍活性の増大において使用するためのアストラガリ・ラディックス (*Astragal radix*)、パエオニア・ラディックス (*Paeonia radix*)、シナモニ・コルテクス (*Cinnamomi cortex*)、レマニア・ラディ (*Rhemannia radi*)、及びグリキリザエ・ラディックス (*Glycyrrhizae radix*) が挙げられる（米国特許第4, 613, 591号明細書及び米国特許第4, 618, 495号明細書）。

【0024】

癌及び癌化学療法の悪影響

癌は、依然として米国における死亡の第2の全体的原因である。その高い発生率のためではなく、むしろ、特に膀胱癌及び肝癌患者の高い死亡率のため結腸直腸癌、肝癌、及び膀胱癌を含む胃腸癌を治療するための方法に関心がある（ベルグスランド (*Bergsland*) ら、*Current Opinion in Oncology*、12:357-361頁 (2000年)、フェルナンデス (*Fernandez*) ら、*Curr Opin Gastroenterol*、18:563-567頁 (2002年)、ジェマール (*Jemal*) ら、*Cancer J Clin*、52:23-47頁 (2002年)、スコルニック (*Skolnick*) ら、*The Journal of the American Medical Association*、276:1457-1458頁 (1996年))。1992-1999年の試験では、結腸直腸癌の5年相対生存率は62

10

20

30

40

50

． 3 %であったが、肝癌のそれは6． 9 %であり、膵癌では4． 4 %であったことが示された。肝癌の平均生存は3． 5 週間～6 か月であったが、膵癌では4～6 か月であった（ジェマール（Jemal）ら、Cancer J Clin、52：23－47頁（2002年））。きわめて不十分な化学療法投薬計画しか利用できないことにより、膵癌は、米国におけるすべての癌の中で死亡率が最も高く、診断からの5年の生存率は5 %未満である（ジェマール（Jemal）ら、Cancer J Clin、52：23－47頁（2002年））。一部の治療方は、現在、肝細胞癌の臨床試験において使用されているが、入手可能なFDA承認化学療法剤はない。膵癌及び肝細胞癌の低い生存率は、診断が困難であるためであり、腫瘍増殖はきわめて悪性であり、腫瘍の外科的除去は可能性が低く、腫瘍は高い化学療法耐性率を有する。

10

【0025】

ゲムシタピンは、膵癌の唯一臨床的に承認された化学療法剤であるが、しかし、ゲムシタピンに対する患者における反応率は6－11 %でしかなく、全体的な生存期間は一般に4－6 か月である。ゲムシタピンは、ヌクレオチド二リン酸をデオキシヌクレオチド三リン酸に変換し、DNA合成に必要とされ、かつDNA合成における偽塩基としてデオキシシチジン三リン酸と競合する酵素であるリボヌクレオチドレダクターゼの阻害を含む2つの作用機序を有するヌクレオシド類似体である（ジェマール（Jemal）ら、Cancer J Clin、52：23－47頁（2002年）、アブブルゼッセ（Abbruzzese）ら、Cancer Supplement、95：941－945頁、2002年、ヘルテル（Hertel）ら、Cancer Res.、50：4417－4422頁、1990年、ペターソン（Pettersson）ら、Pancreas、23：273－279頁、2001年、フィリップ（Philip）ら、Cancer Supplement、95：908－911頁、2002年、シュルツ（Schultz）ら、Oncology Research、5：223－228頁、1993年、フォン・ホフ（Von Hoff）ら、Current Opinion in Oncology、14：621－627頁、2002年）。ゲムシタピン単剤療法の低い反応率及び生存率により、一部のゲムシタピン併用剤投薬計画が治療効果を改善するために臨床試験されている。これらの試験としては、他の一般的に使用され、FDA承認された、CPT-11、カペシタピン、及びオキサリプラチンを含む抗癌剤とのゲムシタピンが挙げられる（ブルンス（Bruns）ら、Clinical Cancer Research、6：1936－1948頁、2000年、ヤコブス（Jacobs）ら、Cancer Supplement、95：923－927頁、2002年、マクギン（Macginn）ら、Cancer Supplement、95：933－940頁、2002年、エトル（Oettle）ら、Cancer Supplement、95：912－922頁、2002年）。残念ながら、満足できる併用剤投薬計画は発見されておらず、膵癌の有効な治療法・投薬計画が緊急に必要とされている。

20

30

【0026】

肝細胞癌は、現在、外科手術及び化学療法によって処置されている。外科的除去及び術後療法は一部の患者の前途を改善しうる。残念ながら、肝細胞癌を有する患者の大多数は切除不能癌を有する。一部の治療法は、現在、肝細胞癌の臨床試験において使用されているが、入手可能なFDA承認化学療法剤はない。全身化学療法は歴史的に価値がないが、5-フルオロウラシル（5-FU）およびアドリアマイシン（ADM）は10～20 %の明らかな反応率を有する（スアー（Suart）ら、Am. J. Clin. Oncol.、19：136－139頁、1996年）。カペシタピン（ゼローダ（Xeloda）（登録商標））は、経口プロドラッグとして胃腸管から効率よく吸収され、好ましくは新生物組織において5-FUに変換されるように合理的に設計されている。現在、カペシタピンは、毒性が減少した結腸直腸癌および乳癌の治療のファーストライン療法として承認されている（ベルグ（Berg）ら、Semin. Oncol.、25：53－59頁、1998年、シュウェッツ（Schwetz）ら、JAMA、286：2085頁、2001年）。カペシタピンは、潜在的に刺激的な新しい治療薬である。肝癌において5-FU

40

50

又はADMと同様の臨床反応（13％）を共有するが、カペシタピンは肝細胞癌患者の生活の質を改善する比較的低い毒性の経口投与される薬剤であることなど明らかな利点を有する（アグアヨ（Aguiayo）ら、*Seminars In Oncology*、28：503－513頁、2001年、レオン（Leung）ら、*Seminars In Oncology*、28：514－520頁、2001年、ロザノ（Lozano）ら、肝胆管癌（肝細胞癌、胆管癌、及び胆嚢癌）の治療のための経口カペシタピン（ゼロダ）（*Oral Capecitabine (Xeloda) for the Treatment of Hepatobiliary Cancers (Hepatocellular Carcinoma, Cholangiocarcinoma, and Gallbladder Cancer)*。）19、2000、ASCOの会報（*Proceedings of ASCO*））。

10

【0027】

結腸直腸癌は、米国における癌死の第3の最も一般的な原因であることが報告されている（ACS癌の事実と数字（*Cancer Facts and Figures*）。米国癌学会、2004年）。最近、FDAは、進行性結腸直腸癌を有する患者のファーストライン治療としてのオキサリプラチン／5-FU／LVの三重併用を承認した。オキサリプラチンは、シスプラチンと同様、白金-DNA付加体形成をもたらし、DNAの完全性を破壊する合成ジアミノシクロヘキサン白金化合物である（エリック・レイモンド（Eric Raymond）ら、*Molecular Cancer Therapeutics*、1：227－235頁、2002年）。5-FU、CPT-11など他の種類の化学療法剤は、結腸直腸癌の治療において使用される一般的な化学療法剤である。残念ながら、重篤な下痢が化学療法で処置される患者の中で用量規定毒性の1つとして確認されている。

20

【0028】

内科的腫瘍学は、以前には致死的なさまざまな悪性腫瘍の根治治療が確認されているように、過去数十年における医療活動の変更において大きな影響を有した。しかし、一般的な使用における薬剤のカテゴリのうち、抗癌薬よりも狭い治療指数および有害な副作用を引き起こす大きな可能性を有するものはほとんどない（カラブレシ（Calabresi）とチャブナー（Chabner）、1996年）。

【0029】

適度の選択性のみ有する他の多くの強い薬物と同様に抗癌剤は重篤な毒性を引き起こしうる。癌化学療法と関連した一般的な副作用としては、胃腸合併症（例えば、下痢、吐き気、嘔吐、拒食症、および粘膜炎）、疼痛、食欲の喪失、骨髄／血液学的合併症（例えば、白血病、好中球減少症、貧血、出血、血小板減少症）、疲労、及び睡眠障害が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0030】

本発明の発明者は、癌化学療法と関連した症状の治療に使用されている漢方薬の文献調査を行った。7つの薬草を有する植物性製剤、TJ-14は、癌患者におけるCPT-11によって引き起こされる下痢を強く予防することが報告された（カセ（Kase）、Y、ハヤカワ（Hayakawa）T、及びアブラダ（Aburada）M. ら、*Jpn. J. Pharmacol.* 75、407－413頁（1997年）、マリタ（Marita）M.、ナガイ（Nagai）Eとハギワラ（Hagiwara）H. ら、*Xenobiotica*、23、5－10頁（1993年））。下痢は、腸内微生物によって生成されるCPT-11の活性代謝産物、SN-38の蓄積により発生すると仮定された。発明者は、β-グルクロニダーゼの阻害剤であるバイカリンが、CPT-11によって引き起こされる下痢を緩和するTJ-14における活性成分であると考えている（カセ（Kase）、Y、ハヤカワ（Hayakawa）T、およびアブラダ（Aburada）M. ら、*Jpn. J. Pharmacol.* 75、407－413頁（1997年）、マリタ（Marita）M.、ナガイ（Nagai）Eとハギワラ（Hagiwara）H. ら、*Xenobiotica*、23、5－10頁（199

40

50

3年)、タカスナ (Takasuna) K、タケヒロ (Takehiro) H、ヒロハシ (Hirohashi) Mら、Cancer Chemother Pharmacol . 42:280-286 (1998年)、タカスナ (Takasuna) K、タケヒロ (Takehiro) H、ヒロハシ (Hirohashi) M、カトウ (Kato) Mら、Cancer Res. 56:3752-3757頁 (1996年))。したがって、バ
リカンが豊富であるスクテラリア・バイカレンシス・ゲオロギ (*Scutellaria
baicalensis* Georgi) の根を含有する一部の漢方製剤が評価された
。実験室で検査された一部の製剤の中から発明者はPHY906を選択した。この特定の
製剤は下痢、腹部攣縮、熱、頭痛、嘔吐、吐き気、極度の口渇、および噴門部膨張の治療
のために1500年以上前に確立された (漢代の傷寒論 (Shang Han Lun
of the Han Dynasty)、Hong-Yen Hsu and Cha
u-Shin Hsu、図入りで漢方製剤に広く利用される (Commonly use
d Chinese Herb Formulas with Illustratio
ns)、東洋医学研究所 (Oriental Healing Art Institu
te)、カリフォルニア州 (California)、(1980年))。PHY906
は、スクテラリア・バイカレンシス・ゲオロギ (*Scutellaria baical
ensis* Georgi) (オウゴン)、パエオニア・ラクチフローラ・パル (*Pa
onia lactiflora* pall) (シロシャクヤク)、グリキリザエ・ウラ
レンシス・フィッシュ (*Glycyrrhizae uralensis* Fisch)
(リコリス)、およびフルクツス・ジジフィ (*Fructus ziziphi*) (ナツ
メヤシ) の実をそれぞれ、1.5:1.0:1.0:1.0の乾燥重量比で混合した4つ
の薬草からなる。注目すべきは、各々の薬草が、表1に示されているように、抗癌および
抗ウイルス活性、血液学および免疫学的刺激、鎮痛活性、血管拡張、肝保護、抗酸化、
および食欲改善を含む明確な薬理学的プロフィールを有することである。

【0031】

10

20

【表 1】

表1. PHY906製剤における個々の薬草の推定の生物活性

	抗癌	免疫調節	抗細菌	抗炎症	神経系	その他
Scuellaria baicalensis Georgi	+	+	+	+	-	抗ウイルス、抗細菌性抗下痢、利尿、血管拡張、 ↓脂質、抗凝固、抗酸化、制吐、肝保護
Paeonia lactiflora pall	+	+	+	+	+	血管拡張、肝保護、利尿、抗凝固、↓腸運動
Fructus ziziphi	+	↑マクロファージ活性 二官能性モジュレータ	-	-	+	肝保護、筋持久性、食欲改善
Glycyrrhiza uralensis Fisch	+	抗IgE作用 ↑マクロファージ活性 ↑インターフェロンおよび↑IL-1 ↑リンパ球 ↑インターフェロンおよび↑IL-2 ↑NK活性 ↓IgE	+	+	↑睡眠 +	抗利尿 ↓腸運動 ↓脂質(LDL、TC) 抗酸化 抗ウイルス 抗凝固 抗補体

↑:増加 ↓:減少 ↑↓:減少または増加 +:有効 -:無効

【0032】

現在まで、PHY906は、合成薬剤との併用ではなく、単剤のみとして処方されている。しかし、PHY906の裏づけされた使用の1つが化学療法によって誘発される副作用の緩和において実質的に有用でありうることが考えられる。PHY906の4つの薬草の各々における主要な化学成分の一部は同定され、かつその薬理学的活性が検査されている (Chinese Botany Shanghai Science and Te

10

20

30

40

50

chnology Publishing Company (1999年)、ファン (Huang), H-C、ワン (Wang), H-R、及びシー (Hsieh), L-M.、Eur J of Pharmacol 251:91-93頁 (1994年)、リン (Lin), C-C及びシー (Shieh)、Am J Chinese Med 1:31-36頁 (1996年)、タン (Tang), W. 及びアイゼンブランド (Eisenbrand), G.、Chinese Drugs of Plant Origin: Chemistry, Pharmacology and Use in Traditional and Modern Medicine、919-929頁、シュプリンガー・フェルラーク・プレス (Springer-Verlag Press)、ニューヨーク州 (New York)、(1992年)) が、PHY906の生物学的特性は同定成分によって完全には予測しえない。

10

【発明の開示】

【0033】

発明の概要

本発明の発明者は、薬草組成物PHY906が、1つ又はそれ以上の化学療法化合物の治療指数を増大させるために、かつ造血活性を調節するためにさまざまな方法において使用されうること意外にも発見した。本明細書で開示された方法を使用し、それらがPHY906と共に投与されると化学療法剤の有効性を増大させ、かつ薬剤の毒性を減少させることによって化学療法患者の生活の質を改善させることができる。

【0034】

20

本発明は、薬剤として許容される担体と組合され、場合により1つ又はそれ以上の化学療法化合物若しくは抗ウイルス剤を含む薬草組成物PHY906を提供する。PHY906の特定の製剤を製造するために選択される4つの植物種は、各々4つの異なる薬草群、すなわちスクテラリア (Scutellaria)、リコリス (Licorice)、ペオニー・アルバ (Peony Alba)、紅棗 (Ziziphi fruit) の1つから選択される。これらの薬草は、PHY906の1つ又はそれ以上の所望の特性を得るために選択されるが、かかる特性としては、1つ又はそれ以上の化学療法化合物の治療指数の増大、1つ又はそれ以上の化学療法化合物の抗腫瘍活性の増強、あるいは1つ又はそれ以上の抗ウイルス剤の抗ウイルス活性の増強、造血活性の調節、血液学的及び免疫学的活性の調節、及び化学療法若しくは抗ウイルス療法を受ける哺乳類の生活の質の改善が挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0035】

本発明によって包含される化学療法化合物又は薬剤としては、癌、寄生虫感染、及び微生物感染を治療するために有用なものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0036】

本発明によって包含される抗ウイルス化合物または薬剤としては、ウイルス感染、疾患、又は状態を治療するために有用であるものが挙げられる。

【0037】

本発明の組成物及び方法は、すべての哺乳類の治療に有用である。さらに具合的には、本発明の方法がヒトの治療に有用である。

40

【0038】

さらに、本発明は、薬剤として許容される担体、以下の薬草属、すなわち、スクテラリア (Scutellaria)、グリキリザ (Glycyrrhiza)、ジジフス (Ziziphus)、及びパエオニア (Paeonia) の各々植物種からの材料又は化学物質、及び1つ又はそれ以上の化学療法化合物を含む組成物を提供する。好ましくは、この組成物は、薬剤として許容される担体、スクテラリア (Scutellaria)、グリキリザ (Glycyrrhiza)、ジジフス (Ziziphus)、及びパエオニア (Paeonia) を含んでなる薬草製剤、及び1つ又はそれ以上の化学療法剤若しくは抗ウイルス剤を含んでなる化学療法製剤を含んでなる。より好ましくは、薬草製剤は、スクテラリア (Scutellaria)、グリキリザ (Glycyrrhiza)、ジジ

50

フス (*Ziziphus*)、及びパエオニア (*Paeonia*) からの材料又は化学物質を含んでなる。最も好ましくは、本発明は、スクテラリア・バイカレンシス (*Scutellaria baicalensis*)、グリキリザ・ウラレンシス (*Glycyrrhiza uralensis*)、ジジフス・ジュジュバ (*Ziziphus jujuba*)、及びパエオニア・ラクチフローラ (*Paeonia lactiflora*) を含むかかる組成物を提供する。

【0039】

本発明の薬草組成物は、イリノテカン (CPT-11、カンプトサル (登録商標))、5-フルオロウラシル (FU又は5-FU)、ロイコポリン (LV)、VP-16、ペーター-ルジオオキソラン-シチジン (L-OddC)、カペシタビン、ゲミシタビン、オキサリプラチン、ドキシソルビシン、サリドマイド、及び、FU/LV、CPT-11/FU/LV、オキサリプラチン/FU/LV、及びゲムシタビン/オキサリプラチンであるがこれらに限定されないその組合せによる治療などであるが、これらに限定されない癌化学療法により特に有用である。本発明は、PHY906、及びCPT-11、5-FU、VP-16、L-OddC、カペシタビン、ゲミシタビン、オキサリプラチンのほか、FU/LV、CPT-11/FU/LV、及びオキサリプラチン/FU/LVであるが、これらに限定されないその組合せなどであるが、これらに限定されない1つ又はそれ以上の化学療法剤を含んでなる組成物を提供する。本発明は、PHY906、及びCPT-11、5-FU、VP-16、L-OddC、LV、カペシタビン、ゲミシタビン、ドキシソルビシン、サリドマイド、及びオキサリプラチンなどの化学療法剤の1つ又はそれ以上の類似体および誘導体を含んでなる組成物をも提供する。

【0040】

本発明の薬草組成物は特に抗ウイルス療法により有用である。好ましくは、薬草組成物はAIDSの治療に有用な抗ウイルス剤と共に投与される。より好ましくは、薬草組成物は、AZT、D4T、DDI、3TC、ddC、及びFTGからなる群から選択される抗ウイルス剤と共に投与される。

【0041】

本発明は、癌の治療において使用される癌治療化合物の治療指数を増大させるための方法を提供する。本発明は、抗ウイルス疾患の治療において使用される抗ウイルス剤の治療指数を増大させるための方法をも提供する。さらに具体的には、本発明は、薬剤として許容される担体、及び以下の薬草属、すなわち、スクテラリア (*Scutellaria*)、グリキリザ (*Glycyrrhiza*)、ジジフス (*Ziziphus*)、およびパエオニア (*Paeonia*) の各々植物種からの材料又は化学物質、またはこれらを含んでなる薬草製剤を含んでなる治療有効量の組成物と組合せた1つ又はそれ以上の抗癌若しくは抗ウイルス剤を投与するステップを含む、かかる方法を提供する。本発明の方法は、水及びアルコールを含むがこれらに限定されない水溶液からの顆粒抽出物の形であるかかる薬草を含んでなる材料、化学物質、又は薬草製剤の使用を提供する。かかる組成物は、粉末、カプセル、液体、及び錠剤などであるが、これらに限定されない摂取可能形でありうる。あるいは、本発明の方法は、かかる組成物を坐薬の形で使用する。

【0042】

本発明は、薬剤として許容される担体、以下の薬草属、すなわち、スクテラリア (*Scutellaria*)、グリキリザ (*Glycyrrhiza*)、ジジフス (*Ziziphus*)、及びパエオニア (*Paeonia*) の各々植物種からの材料若しくは化学物質、又はこれらを含んでなる薬草製剤、及び1つ又はそれ以上の化学療法化合物を含んでなる治療有効量の組成物を投与するステップを含む、かかる治療を必要とする哺乳類における疾患を治療する方法をも提供する。

【0043】

さらに、本発明は、薬剤として許容される担体、以下の薬草属、すなわち、スクテラリア (*Scutellaria*)、グリキリザ (*Glycyrrhiza*)、ジジフス (*Ziziphus*)、およびパエオニア (*Paeonia*) の各々植物種からの材料または

化学物質、又はこれらを含んでなる薬草製剤を含む1つ又はそれ以上の化学療法化合物又は抗ウイルス剤及び組成物の治療有効量を投与するステップを含む、かかる治療を必要とする哺乳類における疾患を治療する方法を提供する。本発明は、組成物が、1つ又はそれ以上の化学療法化合物の投与前に投与されるかかる方法を含む。本発明は、組成物が、1つ又はそれ以上の化学療法化合物の投与後に投与されるかかる方法を含む。

【0044】

本発明は、実質的に薬剤として許容される担体、及び以下の薬草属、すなわち、スクテラリア (*Scutellaria*)、グリキリザ (*Glycyrrhiza*)、ジジフス (*Ziziphus*)、及びパエオニア (*Paeonia*) の各々植物種からの材料又は化学物質からなる組成物の治療有効量を、かかる治療を必要とする哺乳類に投与することによって疾患の治療のために造血活性を調節する方法を提供する。本発明は、薬草からの材料又は化学物質が、水及びアルコールを含むがこれらに限定されない水溶液からの顆粒抽出物の形であるかかる方法を提供する。具体的には、本発明は、組成物が粉末、カプセル、液体、及び錠剤などであるが、これらに限定されない摂取可能形であるかかる方法を提供する。あるいは、本発明は、組成物が坐薬の形であるかかる方法を提供する。

10

【0045】

本発明は、1つ又はそれ以上の化学療法化合物、および
i) 薬剤として許容される担体と、
ii) 以下の薬草属、すなわち、スクテラリア (*Scutellaria*)、グリキリザ (*Glycyrrhiza*)、ジジフス (*Ziziphus*)、及びパエオニア (*Paeonia*) の各々植物種からの材料又は化学物質とを含む組成物の治療有効量を投与するステップを含む、化学療法又は抗ウイルス療法を受ける哺乳類の生活の質を改善する方法をも提供する。

20

【0046】

本発明は、薬剤として許容される担体、及び以下の薬草属、すなわち、スクテラリア (*Scutellaria*)、グリキリザ (*Glycyrrhiza*)、ジジフス (*Ziziphus*)、及びパエオニア (*Paeonia*) の各々植物種を含む薬草製剤を含む組成物との1つ又はそれ以上の化学療法剤の組合せを含む、化学療法製剤を投与するステップを意図する。

【0047】

本発明は、薬剤として許容される担体、及び以下の薬草属、すなわち、スクテラリア (*Scutellaria*)、グリキリザ (*Glycyrrhiza*)、ジジフス (*Ziziphus*)、及びパエオニア (*Paeonia*) の各々植物種を含む薬草製剤を含む組成物との1つ又はそれ以上の抗ウイルス剤の組合せを含む抗ウイルス剤を投与するステップを意図する。

30

【0048】

本発明は、化学療法剤の抗腫瘍活性を増大させ、抗ウイルス剤の抗ウイルス活性を増大させ、化学療法剤又は抗ウイルス剤の毒性を減少させ、哺乳類の血液学的及び免疫学的活性を調節し、かつ化学療法又は抗ウイルス療法を受ける哺乳類の生活の質を改善するための開示された薬草組成物を使用する。

40

【0049】

一の態様において、本発明は、1つ又はそれ以上の化学療法化合物、及び薬剤として許容される担体と、スクテラリア (*Scutellaria*)、グリキリザ (*Glycyrrhiza*)、ジジフス (*Ziziphus*)、及びパエオニア (*Paeonia*) を含む薬草製剤を含む組成物を含む化学療法投薬計画を含む治療の方法を開示する。別の態様では、本発明は、1つ又はそれ以上の抗ウイルス剤、及び薬剤として許容される担体と、スクテラリア (*Scutellaria*)、グリキリザ (*Glycyrrhiza*)、ジジフス (*Ziziphus*)、及びパエオニア (*Paeonia*) を含む薬草製剤を含む組成物を含む抗ウイルス治療法を含む治療の方法を開示する。

【0050】

50

さらに、本発明は、1つ又はそれ以上の化学療法若しくは抗ウイルス化合物を含む治療投薬計画、及び薬剤として許容される担体、及びスクテラリア (Scutellaria)、グリキリザ (Glycyrrhiza)、ジジフス (Ziziphus)、及びパエオニア (Paeonia) を含む薬草製剤を含む組成物を提供する。

【0051】

また、本発明は、3つの化学療法化合物、好ましくは、CPT-11/FU/LV又はオキサリプラチン/CPT-11/FU/LV、及びスクテラリア (Scutellaria)、グリキリザ (Glycyrrhiza)、ジジフス (Ziziphus)、及びパエオニア (Paeonia)、若しくは以下の薬草属、スクテラリア (Scutellaria)、グリキリザ (Glycyrrhiza)、ジジフス (Ziziphus)、及びパエオニア (Paeonia) の各々植物種からの材料又は化学物質を含む薬草製剤を含む化学療法投薬計画及び組成物を開示する。本発明は、1つ又はそれ以上の抗ウイルス剤を含む抗ウイルス療法を意図する。

【発明を実施するための最良の形態】

【0052】

好ましい実施形態の詳細な説明

I. 一般の説明

本発明は、部分的に、PHY906が体重減少及び死亡率を含む化学療法誘発毒性を削減し、かつPHY906がインビボ動物モデルにおけるCPT-11、5-FU、VP-16、L-OddC、カペシタビン、ゲムシタビン、オキサリプラチン、ドキソルビン、サリドマイド、CPT-11/5-FU/LV、ゲムシタビン/オキサリプラチン、及びオキサリプラチン/5-FU/LVなどの広スペクトルの抗癌剤の抗腫瘍効果も増強したという所見に基づく。PHY906は4種類の薬草からなる漢方植物性製剤であり、約1800年間、その一部は化学療法を受ける癌患者において一般的に確認される副作用である胃腸の病気を治療するために使用されている。

【0053】

本発明は、部分的に、PHY906が肝細胞癌及び膵癌モデルにおいて試験された科学療法剤の治療指数を有意に増強した所見に基づく。PHY906は、ヒト肝細胞異種移植片マウスモデルにおける経口5-FUプロドラッグカペシタビン、CPT-11、ドキソルビン、又はサリドマイドのいずれかと、及びマウス膵癌モデルにおけるゲムシタビンオキサリプチン、ゲムシタビン/オキサリプチンと同時投与された。動物モデルにおけるカペシタビン又はゲムシタビンのいずれかとのPHY906の同時投与は、カペシタビン、ゲムシタビン、又はそのそれぞれの代謝産物の薬物プロファイルを変化させなかった。

【0054】

PHY906の効果は、結腸直腸癌マウスモデルにおけるオキサリプラチン、5-FU/LV、及びオキサリプラチン/5-FU/LVの抗腫瘍活性に対しても検査された。本発明は、部分的に、PHY906が図35及び36に示されているように、オキサリプラチン、及びオキサリプラチン/5-FU/LVの抗腫瘍活性を増強した所見に基づく。PHY906は死亡率を60%に削減しただけではなく、図37に示されているように、オキサリプラチン/5-FU/LVによって引き起こされる動物死の発生も遅らせた。

【0055】

生化学試験は、PHY906製剤が広範囲の薬理学的活性を有することを示した。PHY906の作用の潜在的機序としては、(1) 腸CYP3A4における阻害により薬理学的活性剤の経口摂取の増強、(2) NF-κB活性の阻害、(3) MMP活性の阻害、及び(4) 肝癌における類洞の完全性の破壊が挙げられる。

【0056】

これらの前臨床インビボ試験は、臨床設定においてPHY906を開発する論理的根拠を提供した。PHY906のI/IIA相二重盲検、プラセボ対照、用量拡大試験を開始し、結腸直腸癌患者におけるCPT-11/5-FU/LVのボーラス週1回スケジュールと関連したCPT-11誘発下痢の調節におけるPHY906の潜在的効果を評価した

10

20

30

40

50

。第2のI/I相非盲検、用量拡大臨床試験では患者増加にオープンにされ、肝細胞癌の治療におけるカペシタビンとのPHY906の組合せの役割を評価した。

【0057】

PHY906は、マウスモデルにおいて、治療薬の抗腫瘍効果を強化し、かつさまざまな宿主毒性を削減することによって、イリノテカン(CPT-11)、5-フルオロウラシル(5-FU)、イリノテカン/5-フルオロウラシル/ロイコボリン(LV)、エトポシド(VP-16)、およびL-OddCなどの一部の抗癌剤の治療指数を増強することも証明されている。完全に確認される生物活性を達成するために4つの植物のすべての必要があるかを調査するため、5つの製剤、すなわち、4つのすべての植物および植物成分の1つを欠く4つの製剤の各々(A=スクテラリア(*Scutellaria*)、B=パエオニア(*Paeonia*)、C=ジジフス(*Ziziphus*)、及びD=グリシルヒス(*Glycyrrhiz*))を試験した。Colon38腫瘍モデルを有するBDF-1マウスにおいて、CPT-11の抗腫瘍効果の強化は、植物A又は植物BのいずれかがPHY906製剤から除去されると損なわれた。対照的に、植物C及びDは、CPT-11の抗腫瘍効果の強化に寄与することが確認されなかった。しかし、CPT-11の望ましくない毒性副作用として体重減少を検査すると、Bを除く植物のすべてが体重減少に対する保護に寄与した。したがって、確認されたPHY906の生物活性は4つの植物のすべてを必要とする。

【0058】

インビトロでのシトクロムP450アイソザイム(CYP1A2、2C9、2C19、2D6、及び3A4)に対する植物の効果の試験も行われ、単離酵素標的に対する植物の潜在的作用を検査した。これらの酵素の1つ、CYP3A4は、CPT-11の主要な代謝酵素であることが知られている。Colon38腫瘍モデルを有するBDF-1マウスにおける試験では、PHY906がCPT-11の薬物動態又は薬理動態に対する効果を有さないことを示すが、PHY906は異なる効力で個々のシトクロムP450アイソザイムの阻害剤として作用することがわかった。単一の植物及び3つの植物の4つの別個の製剤の個々のP450阻害試験は、個々の酵素阻害効果を調節する特定の植物間に相互作用があることを示す。これらの試験は、最初の漢方の哲学と調和するインビボ及びインビトロ試験における植物性薬剤の作用の複雑、補完的、及び多元的性質を示す。PHY906は、結腸直腸患者におけるCPT-11/5-FU/LVのモジュレータとしてI/I

【0059】

要約すれば、本発明は、部分的に以下の所見に基づく。すなわち、

1. 種々のマウスモデルにおいて、PHY906は、ヒト膀胱癌、肝細胞癌、及び結腸直腸癌におけるさまざまな種類の化学療法剤の治療指数を増大させた。具体的には、PHY906は、抗腫瘍活性を増強し、死亡率を減少させ、かつ体重減少に対して保護することによって広スペクトルの化学療法剤の治療指数を増大させた。

2. PHY906は、マウスモデルにおけるこれら化学療法剤の薬物動態を変化させなかった。

3. 試験された癌化学療法剤の強化におけるPHY906の薬剤作用の機序は、NF- κ B、MMPに対する阻害、又は肝癌類洞の完全性の破壊に関与しうが、これらに限定されない。

4. 4つの薬草すべて(A=スクテラリア(*Scutellaria*)、B=パエオニア(*Paeonia*)、C=ジジフス(*Ziziphus*)、及びD=グリシルヒス(*Glycyrrhiz*))が、あらゆる種類の確認有効性のPHY906処方に必要であった。すなわち、

・薬草Aは、PHY906処方における体重減少保護及び抗腫瘍強化の両方に寄与した($p < 0.05$)。

・薬草Bは、PHY906の抗腫瘍活性の増強に寄与した($p < 0.05$)が、癌化学療法剤誘発体重減少の保護には寄与しなかった。

- ・薬草C及びDは、癌化学療法剤によって引き起こされる体重減少に対して保護した。
5. 種々のバッチのPHY906は、ヒトCYP450阻害および細胞増殖阻害における一貫性を示した。すなわち、
- ・薬草Aは、ヒトCYP450及び細胞増殖の強力な阻害剤であった。
 - ・薬草Dは、検査した細胞系においてきわめて低い細胞毒性を示し、ヒトCYP450のきわめて弱い阻害剤である。
6. PHY906は、インビトロでヒトCYP450に対する強い阻害活性を示した。しかし、動物データでは、PHY906はCPT-11代謝に影響を及ぼさず、又は化学療法剤の抗癌活性を損なうことはなかった。

【0060】

10

癌化学療法剤は、しばしば、患者の生活の質に影響を及ぼし、かつ、治療投薬計画を妨害しうる重篤な有害な副作用を誘発する。本発明は、部分的に、標準抗癌剤と組合せた漢方薬が癌化学療法剤の有害な副作用を削減し、化学療法を受ける患者の生活の質を改善するために有用であるという発見に基づく。4つの異なる薬草からなる植物性製剤、PHY906は、中国においてさまざまな胃腸病及び他の病気の治療のために何世紀もの間使用されている。本発明は、結腸直腸癌患者における癌化学療法剤によって誘発される副作用の緩和におけるPHY906の潜在的有効性を評価する動物モデルにおいて実行された実験の結果に基づく。具体的には、本発明は、部分的に、PHY906が、CPT-11、FU、FU/LV、CPT-11/FU/LV、L-OddC、VP-16、サリドマイド、ドキソルビシン、カペシタビン、ゲムシタビン、オキサリプラチン、ゲムシタビン/オキサリプラチン、又はオキサリプラチン/FU/LV治療によって誘発されるさまざまな宿主毒性を削減するとともに、化学療法剤の抗腫瘍活性を維持し、かつ、強化もする所見に基づく。さらに具体的には、PHY906は、治療薬剤の抗腫瘍効果を強化し、さまざまな宿主毒性を削減することによって、CPT-11、5-FU、カペシタビン、オキサリプラチン、ドキソルビシン、サリドマイド、VP-16、L-OddC、およびCPT-11/FU/LVとオキサリプラチン/FU/LVの三重組合せの治療指数を増強する。これらの所見は1つの特定の抗癌剤または1つの特定の腫瘍モデルに限定されない。

20

【0061】

本発明は、部分的に、さまざまな抗癌剤と共に使用し、投与量規制毒性を削減し、薬剤の有効性を増大させる投薬計画の発見にも基づく。この発見は、ヒト癌の治療方法の道具にきわめて重要な付加である。

30

【0062】**II. 定義**

別段の規定がない限り、本明細書で使用されるすべての技術及び学術用語は、本発明が属する当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載されたものと同様または等価の方法および材料はすべて本発明の実施又は試験において使用されるが、好ましい方法及び材料が記載される。

【0063】

本明細書で使用される「癌化学療法」又は「癌化学療法剤」は、腫瘍性疾患又は癌の治療のための化学療法剤を指す。

40

【0064】

本明細書で使用される「化学療法」は、化学物質又は薬剤による疾患の治療を指す。

【0065】

本明細書で使用される「化学療法製剤」という語は化学療法剤を含む組成物を指す。

【0066】

本明細書で使用される「抽出物」は、適切な溶媒（溶剤）により活性成分を除去し、すべてまたはほぼすべての溶剤を蒸発させ、かつ、残渣塊又は粉末を定められた基準値に調節することによって得られる植物又は動物薬剤の濃縮製剤を指す。抽出物は、3つの形態、半流動体又はシロップ状の稠度の、丸薬又は固体、及び乾燥粉末として調製される（<http://www.graylab.ac.uk/cgi-bin/omd?quer>

50

y = extract を参照)。

【0067】

1つの実施形態において、抽出物は、さまざまな固体及び半固体剤形で使用される生薬の濃縮形態である (Remington's Pharmaceutical Sciences 第17版 (ジェナロ (Gennaro) 編)、84章、1516-1517頁)、マック・パブリッシング社 (Mack Publishing Co)、Easton、ペンシルベニア州 (PA) (1985年))。例えば、丸薬 (すなわち、丸薬用錠剤) 抽出物は、丸薬用錠剤に適切であり、丸薬に製造される稠度のものである (例えば、純粋グリキリザ (Glycyrrhiza) 抽出物 USP)。さらに、丸薬用錠剤は軟膏および坐薬での使用に十分に適している。粉末抽出物は、カプセル剤、粉末剤、及び錠剤などの粉末製剤に十分に適している。さらに、半流動体又はシロップ状の稠度の抽出物が医薬製剤の製造において使用されうる (Remington's Pharmaceutical Sciences、1985年)。

10

【0068】

関連態様において、抽出物は、液体中に植物又は動物生薬の製剤を浸漬することによって (マセレーション) 又は薬剤として使用するためにかかる生薬を多孔性物質に通過させることによって (パーコレーション) 得られる活性成分の溶液とみなされうる。さらに、この種類の薬剤は、チンキ剤または流エキス剤 [sic] の形でありうる (Remington's Pharmaceutical Sciences、1985年)。

【0069】

20

一の実施形態において、抽出物はチンキ剤の形である。例えば、チンキ剤は、植物性物質又は化学物質から調製されるアルコール又は水アルコール溶液を含みうるが、これらに限定されない。チンキ剤は、パーコレーション又はマセレーションのいずれにかによって製造されうるとともに、100mlのチンキ剤当たり薬剤の規定重量 (グラム) の活性の量によって伝統的に割り当てられた効力である (Remington's Pharmaceutical Sciences、1985年)。例えば、橙皮チンキ剤は、チンキ剤100ml当たり50gの橙皮を含有する。

【0070】

別の実施形態において、抽出物は流エキス剤 [sic] の形である。例えば、流エキス剤としては、溶剤若しくは保存剤として、又はその両方としてアルコールを含む植物性薬剤の液体製剤が挙げられるが、これに限定されず、ここで伝統的に各々のmlは、それが表す1グラムの薬剤の治療成分を含有する。流エキス剤は一般の方法としてパーコレーションによって製造されうる (Remington's Pharmaceutical Sciences、1985年)。

30

【0071】

本明細書で使用される「血液学的活性」という語は、血液及び造血臓器と関連した活性を指す。

【0072】

専門的に言えば、「薬草」という語は、小さな、木ではない (すなわち、多肉質の茎)、一年生又は多年生種子を有する植物を指し、ここで気中部分のすべては各生育期の終わりに枝枯れする。薬草は、その医薬、風味、または芳香の質の点から高く評価されている。この語がより一般に使用され、かつ、この語が本明細書で使用されると、薬草は、栄養補助食品、医薬品、薬剤、治療、又は生命増強の用途を有する植物又は植物部分を指す。したがって、本明細書で使用されるように、薬草は薬草の植物学的定義に限定されず、薬草、低木、亜低木、及び木を含む植物界の植物種又は亜種の植物あるいは植物部分を含む、かかる目的のために使用される植物学的、植物又は植物部分に限定される。薬草組成物において使用される植物部分としては、種子、葉、幹、小枝、枝、芽、花、球根、穀類、塊茎、根茎、走茎、根、実、コーン、液果、形成層、及び樹皮が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0073】

50

本明細書で使用される「薬草組成物又は製剤」は、薬草、薬草植物、薬草植物部分、及び／又は薬草抽出物を含む組成物又は製剤を指す。したがって、本明細書で使用される薬草組成物又は製剤は、薬草栄養補助食品、薬草医薬、薬草製剤、及び医療食品を含む薬草製剤を含む。薬草組成物の例としては、以下の要素を含むが、これらに限定されない。すなわち、単一植物種の全植物又は植物部分、多重植物種の全植物又は植物部分、単一植物種由来の多重要素、多重植物種由来の多重要素、薬草抽出物、又はこれらさまざまな要素の組合せである。単一又は多重植物種由来の1つ又はそれ以上の化学物質を含む薬草組成物も意図されている。

【0074】

さまざまな薬草組成物の徹底的な検討については、例えば、その全体が本明細書で援用される、キー・チャン・ファン (Kee Chang Huang)、The Pharmacology of Chinese Herbs、CRCプレス (Press) (1993年) を参照。

10

【0075】

本明細書で使用される「免疫学的活性」という語は、免疫系、免疫、誘発感受性、及びアレルギーに関連した活性を指す。

【0076】

本明細書で使用される「死亡率 (mortality rate)」という語は、人口における死亡の割合または人口の特定の数を指し、ここで死亡率 (mortality) は死亡率 (death rate) すなわち全人口に対する死亡の総数の比率と定義される。例えば、虚血性脳卒中の症状発症後30日の死亡率は約13.3% (例えば、組織型プラスミノゲン活性化因子による治療後、アルバーツ (Alberts) ら、JAMA (2000年) 283 (9) : 1145-1150頁を参照) から約65%以上 (例えば、出血発作、マハフェイ (Mahaffey) ら、Am Heart J (1999年) 138 (3 Pt 1) : 493-499頁を参照) までのばらつきがありうる。

20

【0077】

本明細書で使用される「生活の質 (QOL)」という語は、動物、特に哺乳類、さらに具体的には、ヒトの全体的な健康を指す。個人のQOLは、1つのパラメータ、2つ又はそれ以上のパラメータの群、又は一般の全体的な評価若しくはスコアに基づき評価される。QOLを評価するための有用な指標の例としては、睡眠パターン、摂食パターン、飲みパターン、敏捷性、可動性、肌の色合い、視力、髪の保持／喪失／増殖、筋肉の張り、筋肉量、体力、体重、洞の健康状態、炎症の有無又は程度、不快感、特定作業の達成能、不安レベル、反応時間、集中力、記憶力、言語能力、音知覚、頭痛の有無又は程度、筋攣縮、神経障害、味覚、触角、嗅覚、日和見疾患の有無、及び寄生虫の有無に関連するものが挙げられるが、これらに限定されない。

30

【0078】

本明細書で使用される「レジメン (投薬計画)」という語は、治療のプログラムを指す。

【0079】

本明細書で使用される「治療指数」という語は、薬剤が所望の効果を引き起こすことにおいてどの程度選択的であるかを指す。治療指数はLD₅₀のED₅₀との比である。平均有効用量であるED₅₀は、集団の50%において特定の効果を引き起こすために必要とされる薬剤の用量である。LD₅₀は、実験動物において決定される平均致死量である。

40

【0080】

III. 特定の実施形態

A. 化学療法

一般に、化学療法は、疾患、特に新生物、寄生虫感染、及び微生物疾患の、何らかのやり方で感染生物又は腫瘍に対して作用する化学薬剤による治療を指す。

【0081】

50

1. 癌化学療法

はじめに：化学療法は引き続き患者における癌を治療するための最も有効な様式の1つである。きわめて有効ではあるが、化学療法剤は患者の生活の質を有害に混乱させることも公知である。一部の一般的に確認される副作用としては、骨髄抑制及び免疫抑制、下痢、末梢神経障害、吐き気及び嘔吐、熱、肝不全、及び心毒性等が挙げられる。（「Physicians Desk Reference」（1999年）メディカル・エコノミックス社（Medical Economics Company）。多くの場合、これらの有害な副作用は、患者が増量、又はそれによってこれら薬剤の有効性を含む追加の療法コースを受けるのを妨げる。化学療法剤の抗癌活性を含むことなしに、これらの副作用の一部又は全部の軽減は、癌患者の生活の質（QOL）を改善するだけではなく、より積極的な治療プロトコールも可能にし、結果としておそらく臨床的奏功の改善をもたらす。現在、大部分の支持的療法では、制吐剤、抗粘膜炎剤、及びコロニー増殖因子など、個々の副作用を標的とするが、癌化学療法に関連した広範囲の副作用に対処することはない単剤を使用する（ブライベルグ（Bleiber）Hとクビトコビック（Cvitkovic）E.、Eur J Cancer 32A（補遺3）：S18-S23頁（1996年）、ウィルダ（Wierda）D. とマタモロス（Matamoros）M.、Toxicol & Applied Pharmacol 75：25-34頁（1984年）、ゴルバー（Golber）R. M. とエアリッヒマン（Erllichman）C、Oncology 12：59-63頁（1988年））。

【0082】

癌を治療する薬剤としては、パクリタキセル（タクソール（TAXOL））などのより従来型の天然物、エトポシドなどの半合成物質、及びインターロイキン-2とオールトランスレチノイン酸など多くの新しいさまざまな薬剤が挙げられる。腫瘍性疾患の治療において有用な化学療法剤の包括的リストについては、例えば、カラブレシ（Calabresi）とチャブナー（Chabner）（1996年）の1227-1229頁の表X-1を参照。

【0083】

一般的に投与される癌化学療法薬に関連した主な有害影響は表2に示されている。

【0084】

【表2】

表2. 癌化学療法の主な有害影響

主な有害な健康への影響	抗腫瘍薬
肺炎	VP-16、araC
脱毛症	VP-16、ドキソルビシン、タクソール、FU、araC
心毒性	タクソール、ドキソルビシン
皮膚	ドキソルビシン
下痢	CPT-11
呼吸困難	ara C
潮赤	タモキシフェン
発熱/悪寒	VP-16、ドキソルビシン
肝毒性	VP、タクソール、ara C、メトトレキサート
腎毒性	シスプラチン
聴器毒性	シスプラチン
骨髄形成不全	ほぼすべての抗癌剤

【0085】

5-フルオロウラシル：フルオロピリミジン類似体、5-フルオロウラシル（5-FU 又はFU）は広スペクトルの臨床活性を示す。これはアジュバント及び進行性疾患状況における結腸直腸癌の治療のほか、他のGI悪性腫瘍においても依然として最も活性の薬剤の1つである（ピネド（Pinedo）とペータース（Peters）（1988年）。また、この薬剤は、乳房及び頭頸部の癌に対して活性である。

【0086】

結腸直腸癌の療法における最近の進歩により生化学的調節が使用され、特定のピリミジン代謝経路を選択的に活性化した。還元葉酸、ロイコポリン（LV）は有効な生化学的モジュレータであり、FUと組合せた臨床治療において使用されている（ペータース（Peters）とファン・グレンニンゲン（van Groeningen）、1991年、ジョリア（Jouliia）ら、1999年）。LVの形で外因性葉酸の追加は臨床試験においてFUに対する反応を増強することが証明されている（カラブレシ（Calabresi）とチャブナー（Chabner）、1250頁、1996年）。LVの相互作用と言われている機序は増強されたチミジル酸合成阻害である。

【0087】

進行性疾患を有する患者におけるFUに対する反応率は10%－12%（FU治療のみ）から20%－30%（FU/LV治療）まで改善される。

【0088】

カペシタビン：カペシタビン（ゼローダ（Xeloda）（登録商標））は癌の治療に使用される経口薬である。カペシタビンは、パクリタクセル（Taxol（登録商標））、ドキソルビン、及びアドリアマイシン（登録商標）など他の薬剤に耐性である転移性乳癌の治療用に1998年にFDAによって承認された。2001年には、しばしば5-FUで処置される転移性結腸直腸癌の治療用にFDAによって承認された。これは一般に14日間投与された後、各21日サイクル中に7日間の休息期間を伴う。

【0089】

カペシタビンは、抗腫瘍活性を有するカルバミン酸フルオロピリミジンである。カペシタビンの化学名は、5'-デオキシ-5-フルオロ-N-[(ペンチルオキシ)カルボニル]-シチジンである。カペシタビンは、本明細書で参照によりその全体が援用される米国特許第5,472,949号明細書に記載されている。

【0090】

カペシタビンは、抗代謝産物として知られる化学療法剤のグループに属する。これは独自の活性化機序を有する5'-デオキシ-5-フルオロウリジン（5'-DFUR）のプロドラッグである。カペシタビンは、肝に局在しているカルボキシエステラーゼ又はシチジンデアミナーゼのいずれかによって5'-DFURに変換される。5'-DFURは、腫瘍におけるチミジンホスホリラーゼ（dThdPase）によって5-FUの活性形態に変換される。カペシタビンは、健康組織と比べ腫瘍組織におけるdThdPaseの高濃度を利用し、5-FUの腫瘍選択的生成をもたらす。さらに、5-FUは、2つの活性代謝産物、5-フルオロ-2-デオキシウラジーンリン酸塩（FdUMP）及び5-フルオロウラジーン三リン酸塩（FUTP）に正常及び腫瘍細胞内で代謝される。FdUMPは、正常チミジン産生を削減することによってDNA合成を阻害するが、FUTPはウリジン三リン酸塩と競合することによってRNAおよびタンパク質合成を阻害する。カペシタビンの活性部分、5-FUは、細胞周期特異性（S期）である。

【0091】

試験によりカペシタビンは静脈内（i.v.）投与される5-FU/LVと比べ優れた反応を示すことが証明された。1つの試験において、カペシタビンで処置した患者は、5-FU/LVによる11%と比べ21%の有意に（P=0.0014）優れた反応率を達成した。カペシタビン及び5-FU/LVによる疾患進行までの平均期間は、それぞれ、128日及び131日であり（非有意（NS））、平均生存期間は、それぞれ、380日及び407日であった（NS）（ホフ（Hoff）ら、J Clin Oncol. 19

10

20

30

40

50

：2282－2292頁、2001年）。別の試験においても、カペシタビンで処置した患者は、5-FU/LVによる14%と比べ21%の有意に（ $P=0.027$ ）優れた反応率を達成した。疾患進行までの平均期間は、それぞれ、137日及び131日であり（NS）、平均生存期間は、それぞれ、404日及び369日であった（NS）（ファン・カッツェン（Van Cutsem）ら、J Clin Oncol. 19:4097－4106頁、2001年）。カペシタビンは、i.v. 5-FU/LVと比べ改善された安全性プロファイルも明らかに示した。

【0092】

カペシタビンと5-FU/LVを使用する併用療法は、結腸直腸癌の治療に5-FU/LV単独と比べ生存の利点を示した。結腸直腸癌の治療用のカペシタビンとその他の潜在的併用療法としては、カペシタビン/オキサリプラチン、カペシタビン/イリノテカン、カペシタビン/オキシリプラチン/ゲフィチミブ、カペシタビン/オキサリプラチン/5-FU/LV、及びカペシタビン/放射線療法が挙げられるが、これらに限定されない。乳癌治療用の併用療法としては、カペシタビン/イリノテカン、カペシタビン/ドセタキセル（タクソテレ（Taxotere）（登録商標））、カペシタビン/パクリタキセル、及びカペシタビン/5'-DFURが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0093】

他の化学療法と同様、カペシタビンの摂取に関連した副作用がある。カペシタビンによる最も一般的な副作用としては、下痢、吐き気、嘔吐、口の疼痛性腫脹、疲労、疼痛性発疹、及び手足の腫脹、低い白血球数（感染をもたらさうる）、低い血小板数（出血をもたらさうる）、及び貧血が挙げられる。カペシタビンが投与される患者の約3例中1例は重篤な副作用を有するが、これらの副作用は、通常、薬剤が停止され、あるいは用量が低減されると可逆性である。

20

【0094】

5-FU及びカペシタビンを含むフルオロピリミジン類似体の治療的使用の詳細な説明については、例えば、チャブナー（Chabner）ら、1996年を参照。

【0095】

CPT-11：イリノテカン（CPT-11）は、複製細胞においてトポイソメラーゼIを阻害する半合成カンプトテシン類似体である。これは、FU/LVによるファーストライン治療を欠く癌患者において抗腫瘍活性を示す（ブライベルグ（Bleiberg）ら、1999年、スタッキー・マーシャル（Stucky-Marshall）、1999年）。

30

【0096】

CPT-11は、進行性結腸直腸癌患者のセカンドライン療法としてFDA承認されているが、確認される反応率は約10%－15%でしかない。

【0097】

この薬剤と関連した主要な副作用としては、白血球減少症、貧血、吐き気/嘔吐、拒食症、及び下痢が挙げられる。したがって、CPT-11の抗腫瘍活性の有効性を増強し、及び/又はCPT-11治療と関連した毒性副作用の一部を緩和しうるモジュレータ薬剤を開発し、癌患者の全体的な生活の質及び一般状態が改善されることが望ましい。

40

【0098】

CPT-11/FU及びCPT-11/FU/LV併用：結腸直腸癌は北米における癌死の第2の主な原因であることが報告されている。結腸直腸癌の治療用にFDAによって現在承認されている2つの薬剤は、イリノテカン（CPT-11、カンプトサル（Camptosar）（登録商標））及び5-フルオロウラシル（FU）である。FUは、DNAの合成に必要とされる酵素のチミジル酸合成を阻害する抗代謝産物薬剤である。FUは一般的に、チミジル酸合成に対するFUの親和性を増大させる還元葉酸であるLVと共に投与される。この療法は、現在、転移性結腸癌のファーストライン治療として使用されている（ムラカミ（Murakami）K、サクカワ（Sakukawa）, R、サノ（Sano）, Mら、Clin Cancer Res. 5:2304－2310頁（19

50

99年)、ファン・デア・ヴィルト(van der Wilt) C. L、ファン・グレンニンゲン(van Groeningen), C. J、ピネド(Pinedo) H. Mら、J. Cancer Res. Clin. Oncol. 123:595-601頁(1997年))。CPT-11は、複製中のDNAの巻き戻しに参与する核酵素であるトポイソメラーゼIの強力な阻害剤である。CPT-11は、FUの失敗後のセカンドライン治療として転移性結腸癌に対する抗腫瘍活性を明らかに示した(カセ(Kase), Y、ハヤカワ(Hayakawa), T、トガシ(Togashi), Yら、Jpn J Pharmacol、75:399-405頁(1997年)、アラキ(Araki) E、イシカワ(Ishikawa) M、イイゴ(Iigo) Mら、Jpn J Cancer Res 84:697-702頁(1993年)、ビセリー(Bissery) MC、ヴリングノー(Vrignaud) P、ラベル(Lavelle) Fら、Anti-Cancer Drugs 7:437-460頁(1996年)、ザルツ(Saltz) L. B、Cox J. V、ブランク(Blanke) Cら、New. Eng. J. Med. 343:905-914頁(2000年))。最近、FDAは、進行性結腸直腸癌のファーストライン治療としてCPT-11/FU/LVの三重併用を承認した。残念ながら、重篤な下痢がこの併用療法で処置した患者の中で用量規定毒性の1つとして確認されている(ザルツ(Saltz) L. B、コックス(Cox) J. V、ブランク(Blanke) Cら、New. Eng. J. Med. 343:905-914頁(2000年)、ムラカミ(Murakami) K、サクカワ(Sakukawa), R、サノ(Sano), Mら、Clin Cancer Res. 5:2304-2310頁(1999年)、ファン・デア・ヴィルト(van der Wilt) CL、ファン・グレンニンゲン(van Groeningen), CJ、ピネド(Pinedo) H. Mら、J. Cancer. Clin. Oncol. 123:595-601頁(1997年))。

【0099】

VP-16(エトポシド):エトポシドとしても知られるVP-16は、小細胞肺癌、精巣癌、リンパ腫、及び白血病(オドワイヤー(O'Dwyer), P. ら、Etoposide(VP-16-213)、Current Status of an Active Anti-cancer Drug、New Engl. J. Med. 312:692-700頁(1985年))及びホジキン病、乳糖種ウイルス、及びびまん性組織球型リンパ腫において見られる新生物に対する有意な臨床的活性を示す。

【0100】

エトポシドは、DNAが開裂され、酵素に共有結合される酵素DNA複合体を安定化させることによってDNAトポイソメラーゼIIの触媒活性を阻害すると考えられている。参照によりすべてが本明細書で具体的に援用される、チェン(Chen), G. L、ヤング(Yang), L、ロー(Rowe) T. C、ハリガン(Halligan), B. D、テウエイ(Tewey), K、及びリユー(Liu), L、J. Biol. Chem. 259:13560頁(1984年)、ロス(Ross), W、ロー(Rowe), T、グリソン(Glissson), B、ヤロヴィッチ(Yalowich), J、及びリユー(Lie), L、Cancer Res. 44:5857頁(1984年)、ロー(Rowe), T、クッファー(Kupffer), G、及びロス(Ross), W、Biochem. Pharmacol. 34:2483頁(1985年))を参照。

【0101】

背景として、トポイソメラーゼは、DNAのトポロジー状態を制御する酵素である。II型トポイソメラーゼはDNAにおける一時的な二重鎖の切断によりDNAの鎖の通過を触媒する。DNAの結合数における結果として生じる変化は、これらの酵素が、超らせん形成及び超らせん形成の緩和、連鎖化及び脱連鎖化、結び目、及び結び目解消などDNA相互変換を介在することを可能にする。本明細書で具体的に参照により援用される、ワング(Wang), J. C、Annu. Rev. Biochem. 54:665頁(1985年)及びマックスウェル(Maxwell), A、及びゲラート(Gellert

10

20

30

40

50

), M. Adv. Protein Chem., 38:69頁(1986年)を参照。

【0102】

II型DNAトポイソメラーゼ酵素は、DNA複製と転写、及び染色体分離を含む多くの重要な細胞プロセスに関与することが証明されている。したがって、これらの酵素は、エトポシド及びビテニポシドを含む多種多様の抗癌薬の作用の重要な標的である。細胞死をもたらす重要なステップは、上記のように、DNAトポイソメラーゼIIの触媒活性を阻害するこれらの薬剤の能力でありうる。

【0103】

ベーター-L-ジオキソラン-シチジン(L-OddC):ベーター-L-ジオキソラン-シチジン[L-OddC]は、抗癌活性を有することが証明された非天然L構成を有する第1のヌクレオチド類似体である(グローブ(Grove)ら、Cancer Res(1996年)56(18):4187-4191頁)。この化合物はヒト前立腺および肝細胞異種移植片腫瘍モデルにおける有力な抗腫瘍活性を有することが証明されている(グローブ(Grove)ら、Cancer Res(1995年)55:3008-3011頁)。さらに、L-OddCは、インビトロでのヒトケラチノサイトにおける過剰増殖性活性に対して有効であることが証明されている(シュワルツ(Schwartz)ら、Skin Pharmacol Appl Skin Physiol(1998年)11(4-5):207-213頁)。

【0104】

この化合物は、細胞のDNAへ取込まれている均衡感受性及び非感受性ヌクレオシド輸送系による細胞への迅速な転位によって機能する。DNA取込みは、ヌクレオソーム間ラダーリングの生成なしに大きな断片へのDNAの分解をもたらす。

【0105】

ゲムシタビン:ゲムシタビン(ゲムザー(Gemzar)(登録商標))は、初期療法として、又は化学療法剤フルオロウラシルによるその後の治療として、局所進行性又は転移性膀胱癌の治療用に1996年にFDAによって承認された。これは、化学療法剤シスプラチン(プラチノール(Platinol)(登録商標))と組合せて、局所進行性又は転移性非小細胞肺癌の治療用にも承認されている。ゲムシタビンは静脈内(i.v.)投与され、用量は、処置される状態、患者のサイズ、使用される特定の治療投薬計画、及び患者の全体的な健康状態を含むいくつかの因子によって決まる。

【0106】

ゲムシタビンは、2'-デオキシ-2', 2'-ジフルオロ-シチジンの一般名である。これは化学的に1-(4-アミノ-2-オキソ-1H-ピリミジン-1-イル)-2'-デオキシ-2', 2'-ジフルオロリボースとしても知られている。ゲムシタビンは米国特許第4,808,614号明細書および同第5,464,826号明細書に開示されており、これらは感受性新生物を治療するためのゲムシタビンをいかに合成し、形成し、かつ、使用するかの開示について参照により本明細書で援用される。ゲムシタビンは、一塩酸塩として、かつ、β-異性体として市販されている。

【0107】

ゲムシタビンは、抗代謝産物と呼ばれる薬剤のグループに属する。一般に、抗代謝産物は、DNAを産生又は修復する細胞の能力を阻害し、それによって細胞が自ら複製又は修復することを不可能にし、最終的に細胞死をもたらすことによってその抗癌効果を産生する。ゲムシタビンは、細胞期特異性、主にDNA合成(S期)を受ける細胞の殺傷、及びG1/S期境界を通過する細胞の増殖の阻害を示す。ゲムシタビンは、ヌクレオチドキナーゼによって活性二リン酸(dFdCDP)及び三リン酸(dFdCTP)ヌクレオシドに細胞内代謝される。ゲムシタビンの細胞毒性効果は、二リン酸及び三リン酸ヌクレオシドの2つの作用の組合せによって生じるが、これはDNA合成の阻害をもたらす。第一に、ゲムシタビン二リン酸は、DNA合成のためのデオキシヌクレオシド三リン酸を生成する反応の触媒に関与するリボヌクレオチドレダクターゼを阻害する。二リン酸ヌクレオシドによるこの酵素の阻害は、dCTPを含むデオキシヌクレオチドの濃度の減少をもたら

10

20

30

40

50

す。第二に、ゲムシタビン三リン酸はDNAへ取込むためのdCTPと競合する。dCTPの（二リン酸塩の作用による）細胞内濃度の減少はゲムシタビン三リン酸のDNAへの取込むみ増強する（自己増強）。ゲムシタビンスクレオチドはDNAへ取込まれた後、唯一の追加のヌクレオチドがDNAへ取込まれる。この追加の後、さらなるDNA合成の阻害がある。

【0108】

他の化学療法剤と同様、ゲムシタビンは望ましくない副作用を引き起こす。ゲムシタビンの使用による一般的な副作用としては、感染のリスク増大とともに白血球数の減少、出血、吐き気、嘔吐のリスク増大とともに血小板数の減少、肝機能血液検査の増加、及び疲労が挙げられるが、これらに限定されない。あまり一般的ではない副作用は、下痢、口中または唇上の痛み、インフルエンザに似た症状、皮膚発疹、手、足首、及び顔の腫脹、髪が薄くなること、および掻痒である。

10

【0109】

オキサリプラチン：オキサリプラチン（エロキサチン（Eloxatin）（登録商標））が、結腸及び直腸の転移性癌患者のセカンドライン治療用に2002年8月にFDAによって承認された。2005年2月、これは進行性結腸直腸癌のファーストライン治療用に承認された。この最近の承認では、5-フルオロウラシル及びロイコボリン（5-FU/LV）と組合せたオキサリプラチンの使用が推奨される。オキサリプラチンは静脈内投与され、用量は、処置される状態、患者のサイズ、使用される特定の治療投薬計画、及び患者の全体的な健康状態を含むいくつかの因子によって決まる。

20

【0110】

オキサリプラチンは、シスプラチンと同じ付加体形成の部位のDNA損傷を引き起こすことが知られているジアミノシクロヘキサン化合物である。これはL-OHPとしても知られ、第三世代白金錯体である。オキサリプラチンの化学名は、cis-オキサラト（トランス-1-1, 2-シクロヘキサジアン）白金（II）である。オキサリプラチンは米国特許第4, 169, 846号明細書および関連特許の米国特許第5, 290, 961号明細書、米国特許第5, 298, 642号明細書、米国特許第5, 338, 874号明細書、米国特許第5, 420, 319号明細書、及び国際特許出願PCT/IB/00614号明細書に記載されており、これらは参照によりその全体が本明細書で援用される。

30

【0111】

本明細書で使用される「オキサリプラチン」という語は、cis-オキサラト（トランス-1-1, 2-ジアミノシクロヘキサン）白金（II）、その光学異性体cis-オキサラト（トランス-d-1, 2-ジアミノシクロヘキサン）白金（II）、及びそのラセミ混合物を包含する。「オキサリプラチン」という語は、高い光学純度、すなわち約99.5%以上の光学純度を有するcis-オキサラト（トランス-1-1, 2-ジアミノシクロヘキサン）白金（II）、例えば、米国特許第5, 338, 874号明細書（参照によりその全体が援用される）に記載された方法に従って得られる、融点が約198℃～292℃であるcis-オキサラト（トランス-1-1, 2-ジアミノシクロヘキサン）白金（II）、並びに、特に、約99.94%以上の光学純度及び約198.3℃～約199.7℃の融点を有し、参照によりその全体が援用される、米国特許第5, 420, 319号明細書に開示された方法に従って得られるcis-オキサラト（トランス-1-1, 2-シクロヘキサジアン）白金（II）をも包含する。オキサリプラチンの誘導体としては、カルボプラチン及びシスプラチンが挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0112】

オキサリプラチンは、新しいクラスの白金薬剤に属する。これはシュウ酸及びジアミノシクロヘキサン（DACH）と複合した白金原子を含有する。大量のDACHはシスプラチン及びカルボプラチンよりも大きな細胞毒性に関与すると考えられている（ワイズマン（Wiseman）ら、Drugs Aging 1999年、14（6）：459-75頁）。オキサリプラチンの正確な作用機序は不明である。オキサリプラチンは、DNA

50

分子の鎖間架橋及び鎖間架橋結合を形成することによってDNA合成を阻害すると考えられている反応性白金錯体を形成する。オキサリプラチンは、一般に、おそらくDACH群及びDNAミスマッチ修復への耐性によりシスプラチン又はカルボプラチンに対して交差耐性ではない（ワイズマン（Wiseman）ら、*Drugs Aging* 1999年、14（6）：459－75頁、ミセッ（Misset）ら、*Critical Reviews in Oncology-Hematology* 2000年、35（2）：75－93頁）。前臨床試験では、オキサリプラチンがフルオロウラシル、及びイリノテカンの活性代謝産物SN-38と相乗的であることが証明された（シビトコビック（Cvitkovic）ら、*Semin Oncol* 1999年、26（6）：647－62頁）。オキサリプラチンは放射線感作薬剤である（フレイヤー（Freyer）ら、*Proc Am Soc Clin Oncol* 2000年、19：260a、カラロ（Carraro）ら、*Proc Am Soc Clin Oncol* 2000年、19：291a）。これは細胞周期非特異的である（サノフィ・サンテラボ（Sanofi-Synthelabo）、エロキサチン（Eloxatin）：製品概要（Summary of product characteristics）（ヨーロッパ（Europe））：フランス、1999年10月1日）。

【0113】

他の化学療法剤と同様、オキサリプラチンの使用による副作用がある。より一般的な副作用としては、吐き気、嘔吐、神経刺激による手及び／又は足の痺れと疼き、唇の痺れ、下痢、腹痛、口のびらん、呼吸困難、及び疲労が挙げられる。あまり一般的ではない副作用としては、歩行困難、感染のリスク増大とともに白血球数の減少、出血のリスク増大とともに血小板数の減少、嚥下又は呼吸困難、低温に対する耐性不良、及び発疹、掻痒、唇又は舌の腫脹、又は突然の咳によるアレルギー反応が挙げられる。

【0114】

サリドマイド：グルタミン酸の誘導体であるサリドマイドは、1950年代に制吐剤として最初に処方された。残念ながら、サリドマイドは胎児の発達において催奇形効果を有することがわかった。したがって、サリドマイドは市場から引きずり出された。近年、サリドマイドは他の医療分野で検討されている。サリドマイドは新血管の形成を大幅に減少させ、血液学的悪性腫瘍の重要な進行である血管内皮増殖因子（VEGF）誘発血管形成を阻害することがわかった。いくつかの臨床試験ではサリドマイドが抗腫瘍特性も有していることが示された。

【0115】

サリドマイドは、右手型及び左手型として指定される2つの異性体で存在する。これら2つの異性体は、自然に互いに変換してラセミ混合物を形成する。サリドマイド由来類似体としては、免疫モジュレータ剤（IMiD）及びSe1CID（選択的サイトカイン阻害剤）が挙げられる。IMiDの例としては、CC-4047及びCC-5013が挙げられるが、これらに限定されない。Se1CIDの例としては、CC-7034及びCC-9088が挙げられるが、これらに限定されない。サリドマイドの他の誘導体としては、レナリドマイド、 α -EM12、 β -EM12、及びフタリミドフタリマイドが挙げられるが、これらに限定されない。

【0116】

近年、サリドマイドは、AIDS、ハンセン病、関節リウマチ、及び癌などであるが、これらに限定されないさまざまな疾患の治療において何らかの効果を有することがわかっている。具体的には、HIV患者において、サリドマイドは悪液質の効果（体重及び筋肉量の進行性減少）の削減、およびアフタ性潰瘍（口および喉の痛みの増加）の治療において有用であることがわかった。サリドマイドは、HIV複製の停止にも有効である。サリドマイドは、ベーチェット病、サルコイドーシス、強皮症、及びクローン病の治療において潜在的に有効にさせる抗炎症特性及び免疫抑制特性を有することも証明されている。

【0117】

さらに、サリドマイドは、進行性再発性及び不応性多発性骨髄腫（MM）の治療に有効

10

20

30

40

50

な療法として確立されている（シンガル（Singhal）ら、1999年、N. Engl. J. Med. 341:1565-1571頁）。試験によりサリドマイド及びIMiDは血管形成を阻害するように作用するだけでなく、抵抗性骨髄腫細胞におけるアポトーシス及び増殖停止を誘発するように直接作用することが明らかにされた。それらは骨髄腫細胞の骨髄間質細胞への接着及びアポトーシスに対する関連性保護も阻害し、かつ骨髄腫細胞の骨髄間質細胞への結合によって誘発される骨髄骨髄腫細胞増殖、生存、及びインターロイキン-6、腫瘍壊死因子アルファ（TNF- α ）、及び血管内皮増殖因子など遊走因子の分泌増大を阻害する。また、それらは天然キラー細胞及びT細胞数を拡大させ、ヒト骨髄腫細胞に対する機能を改善するとともに、インビボでの抗体依存細胞介在細胞毒性に対するその感受性を強化する。（例えば、アンダーソン（Anderson）ら、2001年 Semin Hematol 38:6-10頁、ヒデシマ（Hideshima）ら、2000年 Blood 96:2943-2950頁、グプタ（Gupta）ら、2001年 Leukemia 15:1950-1961頁、デイビス（Davies）ら、2001年 Blood 98:210-216頁、トレオン（Treon）ら、2001年 J Immunother 24:236-271頁、レンチュ（Lentzsch）ら、2003年 Leukemia 17:41-44）を参照）。しかし、サリドマイドの有効性は、鎮静、神経障害、便秘、及び深部静脈血栓症を含む有害影響によって大幅に制限されている）。

【0118】

ドキシソルビシン：ドキシソルビシン（アドリアマイシン、DOX、ADM）は、真菌ストレプトミセス・ペウセティウによって生産されるアンチラサイクリン系抗生物質であり、さまざまな癌の療法のために承認されている。ドキシソルビシンは、DNAトポイソメラーゼIIの阻害剤であり、これはアンチラサイクリン系タンパク質のインターカレーション、金属イオンのキレート化、またはフリーラジカルの生成によってDNAを損傷する。肝細胞癌の治療のために利用可能なFDA承認化学療法剤はないが、ドキシソルビシンは現在の「標準」化学療法として使用されている。評価可能な患者475例を含む8つの試験において16%（0-35%）の反応率が報告されている（エングストローム（Engstrom）PFら、（1993年）Cancer Medicine Holland JF、フライ（Frei）E（編）1430-1441頁、ロンドン（London）：リー（Lea）とフェビガー（Febiger））。

【0119】

生活の質（QOL）：癌治療の奏功の標準評価尺度としては、腫瘍量及び種類の変化のほか、腫瘍拡散の率及び量（評価される腫瘍の局所及び遠位）が挙げられるが、これらに限定されない。化学療法評価の当業者であれば、特定の治療が患者の平均余命及び生活の質を（通常の治療に反応しない患者についても）強化できるかどうかを決定することもできる。例えば、胃腸疾患の有効な治療は、腸炎スコア（腹痛、痙攣、血便、及び下痢などの臨床症状の複合スコアに基づく）のほか、送達される化学療法薬量率、入院日数、輸血、静脈内輸液療法、抗運動剤、及び摂食能などの関連評価項目を含むが、これらに限定されないいくつかの基準によって決定されうる。

【0120】

治療効果に関して、患者の自覚症状は医師によって行われる検査の結果とつねに一致することはない。例えば、好ましくない結果が得られる場合でも、尿失禁及び排尿の頻度が減少していると、生活の質（QOL）が改善している結果により、患者は治療が効いたと考える。化学療法中、脱毛、体重減少、食欲の喪失、疲労、下痢、吐き気、嘔吐など患者の生活におけるマイナスの副作用は持続し、患者には肉体的精神的に耐えることができない昼夜の慢性の苦痛をもたらさう。したがって、本発明の方法の治療効果は、腫瘍増殖または癌退縮における疼痛又は削減からの部分的または完全な軽減だけではなく、治療と一般的に関連した副作用の削減又は除去の結果としての、全体的な結果が生活の質の増強である軽減を指すことが意味される。

【0121】

基準評価は治療プロトコールの一環として記入されうるが、それによってさまざまな評価が測定され、QOLと相関される。さらに、患者は、「相当に」感じる、または「中等度の」疼痛を経験などの事象を患者日誌で報告することができる。次いで、これらの尺度を治療中及び治療後に使用し、生活の質が改善したと患者が感じているかどうか評価する。

【0122】

2. 寄生虫感染の化学療法

寄生原虫は、ヒト及び動物における多種多様の感染の原因であり、寄生原虫によって引き起こされる多くの疾患は宿主の生命を脅かす。例えば、マラリアは、依然として、疾患を根絶する大規模な国際的な試みにもかかわらずヒトに対する重大な健康上の脅威であり、クルーズ・トリパノソーマ (*Trypanosoma cruzi*) によって引き起こされるシャーガス病などトリパノソーマ症、及びT. ブルセイ (*brusei*) によって引き起こされるアフリカ睡眠病は、アフリカ及び南米においてまれではなく、ニューモシスティス・カリニ (*Pneumocystis carinii*)、トキソプラズマ原虫 (*Toxoplasma gondii*)、クリプトスポリジウム属原虫 (*Cryptosporidium spp.*) によって引き起こされる免疫不全宿主における日和見感染は発展途上国においてますます深刻になっている。

【0123】

シャーガス病などの一部の原虫疾患においては、満足のいく治療はなく、その他においては、原虫の薬剤耐性株が成長しうる。したがって、新しい有効な抗原虫剤を同定する継続的な必要が存在する。しかし、抗寄生虫剤の発見は、大部分、寄生虫の一団に対する天然物および合成化合物の生物学的スクリーニングによる無作為で面倒な過程であった。

【0124】

ワクチン開発の進展の促進にもかかわらず、化学療法は依然として、大部分の寄生虫感染を制御する唯一の最も効果的、効率的、かつ費用のかからない手段である (トレーシー (Tracy) とウェブスター (Webster)、Chemotherapy of Parasitic Infections、グッドマンとジルマンの (Goodman & Gilman's) The Pharmacological Basis of Therapeutics、第9版、955-985頁、1996年)。現在利用可能な薬剤は、吸虫類及び腸内寄生虫によって引き起こされるヒト感染の治療において特に有効である。しかし、囊虫症、フィラリア症、リーシュマニア症、旋毛虫病、トリパノソーマ症などかかる全身感染の治療に有効であり、かつマラリア及び他の原虫によって特に現れる薬剤耐性の発現を妨げる新しいまたはより優れた医薬品が緊急に必要である。原虫は、蠕虫よりも容易に薬剤に対する耐性を発現し、これは宿主におけるそのより迅速な増殖と一致する。

【0125】

抗寄生虫剤が、患者において安全かつ有効であることが重要である。抗寄生虫剤の治療有効性は複雑であり、宿主、寄生虫、及び環境因子に依存する。したがって、最善の薬剤及び最適な用量治療は、しばしば、流行性感染患者の注意深い薬物動態及び薬力学的試験からではなく試行錯誤によって決定される。適切な評価のために、適切な疫学試験により感染のパターン、及び疾患に対する感染の年齢特異的有病率及び強度の関係が明らかにされた後にのみ人口に基づく開始すべきである。最適な結果のために、化学療法を、特定の感染、環境、及び宿主集団に適切な化学療法を他の公衆衛生手段と組み合わせるべきである。集団化学療法の理想的な薬剤は、感染寄生虫のすべての発達段階に対する広スペクトルの活性を有する。これは、また安全に高い治療用量で1日のみ経口投与され、使用条件下に化学的に安全であり、薬剤耐性の誘導剤として有効であり、かつ廉価なものとなる。現時点では、利用可能な抗寄生虫剤はほとんどこれらの基準を満たしていない。

【0126】

無性赤血球マラリア寄生虫に対して有効である化学療法剤としては、クロロキン、キニン、キニジン、メフロキン、及びハロファントリンが挙げられる。ピリメタミン、スルホ

10

20

30

40

50

ナミド、スルホン、及びテトラサイクリンなど他の薬剤は、上記の薬剤よりもゆっくり作用し、あまり有効ではなく、したがって、通常、他の化学療法剤と組合せて使用される。アトバクオン、クロロキン、フロノ酸ジロキサニド、エフロルニチン、エメチンおよびデヒドロエメチン、8-ヒドロキシキノリン、メラルソプロール、メトロニダゾール、ニフルチモックス、ペンタミジン、キナクリン、スチボグルコン酸ナトリウム、及びスラミンなどの薬剤は、トリパノソーマ症、リーシュマニア症、アメーバ症、ランブル鞭毛虫症、及びトリコモナス症を含む寄生虫感染の治療において有効である。最後に、寄生虫による感染、蠕虫病は、通常、ベンズイミダゾール、ジエチルカルバマジン、イベルメクチン、メトリホナート、ニクロスアミド、オキサムニキン、ピペラジン、プラジクアンテル、及びパモ酸ピランテルなどの駆虫剤で処置される。寄生虫感染の化学療法のための薬剤の検討には、上記のトレーシー (Tracy) とウェブスター (Webster) を参照。

10

【0127】

3. 微生物疾患の化学療法

1936年、コールブルック (Colebrook) とケニー (Kenny) 及びバトル (Buttle) らによって報告された産褥熱および髄膜炎菌感染症におけるスルファニルアミドを使用する好ましい臨床結果は、医療の専門家を抗菌化学療法の新しい分野へ目覚ませた。1941年、ペニシリンが大量生産され、最初に限定された臨床試験に利用可能となった。現在、全入院患者の少なくとも30%が抗生物質による1つ又はそれ以上の治療コースを受けており、何百万の潜在的に致死的な感染症が治療されている。

【0128】

20

抗生物質は、他の微生物の増殖を抑制し、最終的にそれらを破壊しうるさまざまな種類の微生物 (細菌、真菌、放線菌) によって生成される物質である。しかし、一般的な用法は、微生物の産物ではないスルホンアミド及びキノロンなど合成細菌薬剤を含む期間を延長させる。抗生物質は、物理的、化学的、薬理学的特性、抗菌スペクトル、及び作用機序の点で異なる。

【0129】

化学構造及び作用の提案機序に基づく抗微生物剤の最も一般的な分類は、以下の通りである。すなわち、(1) 細菌細胞壁の合成を阻害する薬剤、例えば、構造的に同様であるペニシリンとセファロスポイン、及びシクロセリン、バンコマイシン、バシトラシンなどの異なる薬剤、並びにミコナゾール、ケトコナゾール、及びクロトリマゾールなどのイミダゾール抗菌剤、(2) 微生物の細胞膜に直接作用し、透過性に影響を及ぼし、かつ、細胞内化合物の漏れをもたらす薬剤であり、これらには界面活性剤、ポリミキシン、及びコリスチメタート、及び細胞壁ステロールと結合するポリエン抗菌剤が含まれ、(3) 30S又は50Sリボソールサブユニットの機能に影響を及ぼし、タンパク質合成の可逆性阻害をもたらす薬剤であり、これら静菌剤としては、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、エритроマイシン、及びクリンダマイシンが挙げられ、(4) 30Sリボソールサブユニットと結合するとともにタンパク質合成を変化させ、最終的に細胞死をもたらす薬剤であり、これらにはアミノグリコシドが含まれ、(5) 核酸代謝に影響を及ぼし、DNA依存RNAポリメラーゼを阻害するリファマイシン (例えば、リファピン)、及びギラーゼを阻害するキノロンなどの薬剤、(6) 微生物に必須である特異的代謝ステップを阻害するトリメトプリム及びスルホンアミド類を含む抗代謝産物、(7) DNA合成に必須であるウイルス酵素を阻害し、したがって、ウイルス複製を停止させるジドブジン、ガンシクロビル、ビダラビン、及びアシクロビルなどの核酸類似体。(チャンバース (Chambers) とサンデ (Sande)、Section IX Chemotherapy of Microbial Diseases: Antimicrobial Agents、グッドマンとジルマンの (Goodman & Gilman's) The Pharmacological Basis of Therapeutics、第9版、1029頁、1996年を参照。)

30

40

【0130】

抗生物質が感染の治療に有効かどうかはいくつかの因子に依存する。抗生物質が有効で

50

あるためには、十分な濃度の抗生物質が細菌増殖を阻害する感染の部位で達成されなければならない。しかし、薬剤の濃度は依然としてヒト細胞に対し毒性である濃度以下でなければならない。微生物を阻害または殺傷するために必要な抗生物質の濃度が安全に達成されうる濃度を超える場合には、微生物は抗生物質に耐性であるとみなされる。細菌は、薬剤がその標的に達することができず、薬剤が不活性化され、又は標的が変化しているため抗微生物剤に耐性でありうる。一部の細菌は、細胞表面及びその内部に存在し、薬剤を不活性化する酵素を産生する。その他は、薬剤の流入を防ぐ不浸透性細胞膜を有する。一部の細菌は、親水性薬剤を使用し細菌の外膜を横切るポーリンで構成された水性経路において不完全であるが、その他は薬剤の細菌細胞への侵入に必要な輸送系を欠く。抗生物質耐性病原体の出現は、抗微生物疾患を治療する新しい薬剤及び新しい方法のさらに増大

10

【0131】

B. 抗ウイルス療法

1. ウイルス及びウイルス性疾患

ウイルスは、自らによって再生できない微生物である。しかし、宿主細胞の感染と同時に、ウイルスは宿主細胞の代謝機構を利用し、より多くのウイルス物質を産生する。宿主細胞におけるウイルス感染および複製は一般に、宿主が動物又は植物に関係なく疾患をもたらす。ウイルス感染によって引き起こされるヒト疾患としては、例えば、後天性免疫不全症候群（AIDS）及び肝炎が挙げられる。この分野の一般の考察は、Fundamental Virology、第2版（B. N. フィールズ（Fields）、D. M. クニープ（Knipe）、R. M. チャノック（Chanock）、M. S. ヒルシュ（Hirsh）、J. L. メルニック（Melnick）、T. P. モナス（Monath）、及びB. ロイズマン（Roizman）編、ラーベン・プレス社（Raven Press, Ltd.）、New York、ニューヨーク州（N. Y.）、1991年）に示されている。数種類のウイルスの例およびそれらが引き起こす疾患について以下で論じる。

20

【0132】

レトロウイルス：レトロウイルスは、主に脊椎動物に感染するウイルスの大ファミリーを構成する。一部の腫瘍の誘導を含む多くの疾患は、レトロウイルス感染と関係がある（Fundamental Virology、上記、645-708頁を参照）。レトロウイルスは、DNA媒介物により複製されるRNAゲノムを含有する。レトロウイルスの生活環の早期には、RNAゲノムはウイルスコード逆トランスクリプターゼ（RT）によってDNAへ複製される。この酵素はRNAおよびDNAテンプレートを使用し、それによって、感染RNAゲノムからDNAの第1の鎖（マイナス鎖）及びテンプレートとして第1のDNA鎖を使用するDNAの相補的な第2の鎖（プラス鎖）を生成しうる。これらのDNA鎖を合成するために、RTはオキシヌクレオシド三リン酸（dNTP）と呼ばれる細胞基質を利用する。

30

【0133】

ヒトレトロウイルスは、白血病ウイルス（HTLV型ウイルス）及び免疫不全ウイルス（HIV型ウイルス）に分類することができる。HTLV感染は白血球の1つの形態をもたらす。HIV感染は後天性免疫不全症候群（AIDS）を引き起こす。2つの関連ヒト免疫不全ウイルス、HTV-1及びHTV-2がある。HIV-1はHIV-2よりも毒性である。HTLV及びHIVは、いずれも末梢血リンパ球（PBL）に感染する。

40

【0134】

他の動物レトロウイルスとしては、ネコ白血球ウイルス（FeLV）及びレンチウイルスが挙げられる。毒性FeLV感染は、一般に結果としてネコにおける致死性の再生不良性貧血をもたらす。レンチウイルスは、ヒツジにおけるビスナ及びウマにおける感染性貧血を引き起こすさまざまな神経学的及び免疫学的疾患を引き起こす。

【0135】

ヒト、動物、及び植物に感染する一部の他のウイルスも複製のために逆トランスクリプ

50

ターゼに依存する。これらには、ヒトにおけるH T L V－1のほか、カリフラワーモザイクウイルス（植物ウイルス）など逆トランスクリプターゼ依存D N Aウイルスを含む一部の種に存在することが知られている白血病ウイルスなどのレトロウイルスが含まれる。

【0136】

ウイルス肝炎：肝炎はヒト肝の疾患である。これは肝の炎症により現れ、通常、ウイルス感染によって、しばしば毒性薬剤によって引き起こされる。肝炎は肝硬変、肝癌、及び最終的に死に進行しうる。A、B、C、D、E、及びG型肝炎など一部のウイルスは、さまざまな種類のウイルス肝炎を引き起こすことが知られている。その中でもH B V及びH C Vが最も重篤である。

【0137】

B型肝炎はD N Aウイルスによって引き起こされる。これは50－160日の長い潜伏期間を有する。これは通常、感染血液又は血液誘導体に注射によって、あるいは汚染針、ランセット、又は他の器具の使用によって伝染される。B型肝炎ウイルスは、広範囲の肝損傷をもたらす。さらに、慢性B型肝炎感染は、主な死因である肝細胞癌のその後の発現と関係がある。

【0138】

C型肝炎はR N Aウイルスによって引き起こされる。約75%の感染で6－8週間の潜伏期間は無症状であり、慢性の持続性感染を生じる。高率で慢性肝疾患を発現し、硬変及び考えうる肝細胞癌をもたらす。C型肝炎は治療が困難であり、世界中で5億人がこれに感染していることが推定される（H I V感染者の約15倍）。

【0139】

ヘルペスウイルス：ヒトから単離されるヘルペスウイルスとしては、単純ヘルペスウイルス1型（「H S V－1」）、単純ヘルペスウイルス2型（「H S V－2」）、ヒトサイトメガロウイルス（「H C M V」）、水疱瘡ウイルス（「V Z V」）、エプスタイン・バーウイルス（「E B V」）、ヒトヘルペスウイルス6型（「H H V 6」）、単純ヘルペスウイルス7型（「H S V－7」）、単純ヘルペスウイルス8型（「H S V－8」）が挙げられるが、これらに限定されない。ヘルペスウイルスはウマ、ウシ、ブタ（仮性狂犬病ウイルス（「P S V」）およびブタサイトメガロウイルス）、ニワトリ（伝染性喉頭気管炎ウイルス）、チンパンジー、鳥（マレック病ヘルペスウイルス1型および2型）、シチメンチョウ及び魚が挙げられるが、これらに限定されない（「H e r p e s v i r i d a e : A B r i e f I n f o r m a t i o n」、V i r o l o g y、第2版、B. N. フィールドズ（F i e l d s）、64章、1787頁（1990年））。

【0140】

単純ヘルペスウイルス（「H S V」）感染は、一般に、わずかに隆起した炎症性の基底部の澄んだ体液で満たされた単一または多重のクラスターの小胞の皮膚又は粘膜上の出現によって特徴づけられる再発性ウイルス感染である。

【0141】

単純ヘルペスウイルスは、比較的な大きなサイズのウイルスである。H S V－2は、一般的に口唇ヘルペスを引き起こす。H S V－2は、通常、常にではないが、生殖器外傷から回収可能である。通常、H S V－2は性行為によって感染する。

【0142】

水疱瘡ウイルス（ヒトヘルペスウイルス3型）によって引き起こされる疾患としては、水痘（鶏痘）及び帯状疱疹（s h i n g l e s）が挙げられる。サイトメガロウイルス（ヒトヘルペスウイルス5型）は、乳児における巨細胞封入体症の原因である。エプスタイン・バーウイルス（ヒトヘルペスウイルス4型）は、感染性単核症の原因となる因子であり、パーキットリンパ腫及び鼻咽頭癌と関係がある。ヒトに問題をもたらす動物ヘルペスウイルスとしては、B型ウイルス（オナガザル科のヘルペスウイルス）及びマーモセットヘルペスウイルス（オマキザル科のヘルペスウイルス）が挙げられる。

【0143】

2. 抗ウイルス剤

10

20

30

40

50

抗ウイルス剤としては、陰部ヘルペスを治療するアシクロビル（ACV）などの薬剤からAIDSを治療する薬剤、例えば、ジドブジン（AZT）及びジオキシノシン（DDI）が挙げられる。数種類の抗ウイルス剤の例について以下で論じる。

【0144】

何年にもわたって、抗レトロウイルス剤はAIDSの治療のために開発されている。抗レトロウイルス剤としては、例えば、アバカビル（ABC）、アデホビル（ADV）、アムプレナビル（APV）、ジドブジン（AZT）、ジダノシン（ddI）、ザルシタビン（ddC）、スタブジン（D4T）、エファビレンツ（EFV）、ラミブジン（3TC）、サキナビル（SQV）、インジナビル（IDV）、リトナビル（RTV）、デラビルジン（DLV）、ネルフマビル（NFV）、ネビラピン（NVP）が挙げられる。しかし、抗ウイルス剤でAIDSを治療する試みは所望の程度の奏功と合致していない。抗ウイルス剤の一部の高い有効性にもかかわらず、初期のインビトロ／インビボ試験は、これらの薬剤に耐性のHTV-1の変形の迅速は発症によって特徴づけられている。また、抗ウイルス剤の使用による毒性の潜在的可能性がある。AIDSを治療する有効かつ安全な手段の必要性がある。

10

【0145】

表在性ヘルペス性角膜炎における局所イドクスウリジン可能な例外として単純ヘルペスウイルスを治療するために有効であることが明らかにされている局所又は全身化学療法剤はない。皮膚ヘルペスにおけるこの化合物に関する報告は矛盾している。HSVを治療するために使用されている他の薬剤としては、トリフルオロチミジン、ビダラビン（アデニンアラビノシド、ara-A）、アシクロビルが挙げられ、ウイルスDNA合成の他の阻害剤はヘルペス性角膜炎において有効でありうる。これらの薬剤は、単純ヘルペスウイルス複製を阻害し、臨床症状を抑制しうる。しかし、単純ヘルペスウイルスは依然として感覚神経節において潜伏し、再発率は薬剤処置個人および未処置個人において同様である。さらに、一部の薬剤耐性ヘルペスウイルス株が明らかになった。したがって、単純ヘルペスウイルスと関係した疾患を治療するより有効な手段を開発する必要もある。

20

【0146】

B型肝炎ウイルス（HBV）感染の現行の予防は、安全かつ有効であるB型肝炎ワクチン接種である。しかし、ワクチン接種はすべて感染した者（すなわち、保菌者及び患者）の治療においては有効ではない。多くの薬剤が慢性B型肝炎の治療に使用されており、インターフェロンを除き、有効であることが判明しているものはない。

30

【0147】

C型肝炎に現在利用可能な有効な免疫化はなく、C型肝炎は衛生条件の改善および伝染経路の遮断など他の予防的手段によってのみ制御されうる。現在、慢性C型肝炎の唯一許容される治療は、少なくとも6か月の治療を必要とするインターフェロン、又は感染細胞におけるウイルス複製を阻害し、一部の患者における肝機能も改善しうるリババリンである。しかし、リババリンの有無にかかわらずインターフェロンによる治療の長期効果は限定的であり、反応率は約25%である。

【0148】

C. PHY906

40

はじめに：PHY906は、その各々が4つの薬草群からの1つから選択される4つの薬草からなる伝統的な中国の植物性製剤である。4つの薬草群は一般的に、しばしば角鱗（Scute）と呼ばれるスクテラリア（Scutellaria）、リコリス（Licorice）、ペオニー・アルバ（Peony Alba）、および紅棗（Ziziphifruit）である（表3）。したがって、1つの植物種は、本発明の所望の薬草組成物を製造するために表3にリストアップされた4つの植物群の各々1つから選択される。リストアップされた植物の特定の組合せは好ましいPHY906製剤の例として示されているが、本発明の組成物および方法は、植物種が表3の4つの群の各々1つから選択される4つの植物種の任意の組合せを包含する。本発明は、本明細書に記載されたPHY906に帰する生物活性または所望の効果の少なくとも1つを有するかかる薬草のかかる組

50

合せを包含する。

【 0 1 4 9 】

【表 3】

表3. PHY906を製造するために使用されうる4属の特定種の例

TCM薬草群の一般英名			
Scutellaria	Licorice	Peony Alba	Ziziphi Fruit
Anemone rivularis Buch.-Ham. ex DC.	Abrus mollis Hance	Paeonia delavayi Franch. var. lutea (Delavay ex Franch.) Finet et Gagnep.	Ziziphus jujuba Mill.
Thalictrum omelense W.T. Wang et S.H. Wang	Glycyrrhiza aspera Pall.	Paeonia lactiflora Pall.	Ziziphus jujuba Mill. var. inermis
Mahonia bealei (Fort.) Carr.	Glycyrrhiza Eurycarpa P.C.Li	Paeonia Mairei Levi.	

10

【 0 1 5 0 】

20

【表 4】

TCM薬草群の一般英名			
Scutellaria	Licorice	Peony Alba	Ziziphi Fruit
Nandina domestica Thunb.	Glycyrrhiza glabra L.	Paeonia obovata Maxim. var. willmottiae (Stapi) Stern	
Scutellaria amoena C.H. Wright	Glycyrrhiza inflata Bat.	Daphne papyracea Wall. ex Steud.	10
Scutellaria amoena C.H. Wright var. cinerea Hand. -Mazz.	Glycyrrhiza squamulosa Franch.	Cyababchum otophyllum Schneid.	
Scutellaria baicalensis Georgi	Glycyrrhiza uralensis Fisch.	Codonopsis lanceolara Sieb. et Zucc. Trautv.	
Scutellaria baicalensis Georgi var. albiflora K. Onuma	Phlomis betonicoides Diels		20
Scutellaria chungtienensis C.Y. Wu			
Scutellaria hypericifolia Levl			
Scutellaria likiangensia Diels			
Scutellaria obtusifolia Hemsl. var. trinervata (Vant.) C.Y. Wu et H.W. Li			30
Scutellaria regeliana Nakai			
Scutellaria regeliana Nakai var. ikonnikovii (Juz.) C.Y. Wu et H.W. Li			
Scutellaria rehderiana Diels			40

【表 5】

TCM薬草群の一般英名			
Scutellaria	Licorice	Peony Alba	Ziziphi Fruit
Scutellaria tenax W.W. Smith var. patentipilosa (Hand. -Marz.) C.Y. Wu			
Scutellaria viscidula Bunge			

10

【0152】

この薬草製剤は、心拡張、腹部、攣縮、発熱、頭痛、嘔吐、吐き気、口渇、及び粘液状便などさまざまな病気を治療するためにアジアにおいて長く使用されている（ハニ・オカ（H a n i O k a）とタキ・ノ（T a k i N o）、1998年）。PHY906の好ましい製剤が表4に示されている。

【0153】

20

【表 6】

表4. TCM配合PHY906の薬草成分

学名	比率	一般名	伝統的使用
Scutellaria baicalensi	33.3	Scute Baical Skullcap Root	毛細管透過性を削減し、炎症を削減し、腸炎および赤痢を治療し、胆汁の分泌を増大させて黄疸を治療し、筋攣縮を緩和して咳を治療し、寄生虫を駆除するために使用
Glycyrrhiza uralensis	22.2	Licorice Root	肺を湿らせて咳を止め、攣縮を緩和して疼痛を止め、薬草の作用を加減し、炎症を削減し、毒素を放出させるために使用
Ziziphus jujuba	22.2	Date	利尿および強化効果を有する
Paeonia lactiflora	22.2	White peony Root	疼痛を抑制し緩和し、靱帯を緩和して血液を浄化するために使用

30

【0154】

PHY906の別の製剤は、スクテラリア（S c u t e l l a r i a）、グリキリザ（G l y c y r r h i z a）、ジジフス（Z i z i p h u s）、及びパエオニア（P a e o n i a）を以下の相対比率、すなわち、それぞれ、4／14：3／14：4／14：3／14で有する。

40

【0155】

PHY906の薬草の特定の比率が例として示されているが、本発明の組成物及び方法は、本明細書に記載された所望の生物活性を有する4つの薬草成分の任意の比率を包含する。

【0156】

現在、表4に示されている製剤を使用するPHY906のゼラチンカプセル剤及び顆粒パウチ剤が、サン・テン・ラボラトリーズ社（S u n T e n L a b o r a t o r i e

50

s, Inc.）、Irvine、カリフォルニア州（CA）（台湾のサン・テン製薬会社（Sun Ten Co. Ltd.）の姉妹会社）によって製造されている。このPHY906の製剤は、ブリオン・ハーブ社（Brion Herbs Corporation）（12020 B Centralia Road, Hawaiian Garden, カリフォルニア州（CA）、90716）によって1983年以来、栄養補助食品として販売されている。

【0157】

製造：PHY906を製造するために使用されうる方法の簡単な検討を示す。最初に、適切な比率の薬草原料成分をジャケット付き反応器に配置し、混合して高い一定温度で、水で抽出する。比率はマスター調法記録（Master Formula Record）から再現された製造指示書に記載されている。次いで、固形物を120メッシュスクリーンで液体から分離する。ろ過物を回収し、次いで減圧下に水を蒸発させることによって濃縮する。濃縮液を高温でスプレー乾燥させて乾燥粉末を得、次いでこれを加工して顆粒粉末を得る。次いで、このバルク物質を所望の剤形に形成する。

【0158】

プロセス制御を利用し、製品の均一性及び完全性を確保する。かかるプロセス制御としては、プロセス液の量の点検、原材料の同一性を確認する化学的フィンガープリント法を確立するHPLC測定、並びに媒介物及び最終製品の点検および試験が挙げられるが、これらに限定されない。許容品質水準（AQL）限界は各行われた分析と製造及び生産制御の各々のステップに対して確立される。

【0159】

製造工程において使用される成分のすべては製造指示記録に特定のロット番号が割り当てられる。品質管理記録をバッチがリリースされる前に検討する。

【0160】

精製マーカー物質を原材料と薬草物質の識別及び品質管理のために使用する。表5は、PHY906薬草物質の製剤において使用される各々の原材料のマーカー物質を示す。

【0161】

【表7】

表5. PHY906の野草成分のマーカー物質

薬草	薬草産地の起源	マーカー物質
Scutellaria baicalensis Georgi.	上海市、中国	バイカリン
Glycyrrhiza uralensis Fisch.	内モンゴル、中国	グリチルリチン
Ziziphus jujuba Mill.	河北/山東省、中国	ケリドン酸
Paeonia lactiflora Pall.	安徽省、中国	ペオニフロリン

【0162】

D. PHY906の医薬製剤

本発明の組成物は、非経口、皮下、静脈内、筋内、腹腔内、経皮、又は口腔経路によって投与されうる。あるいは、同時に、投与は経口経路によってありうる。投与される投与量は、レシピエントの年齢、健康状態、及び体重、もしあれば、同時治療の種類、治療頻度、および所望効果の性質によって決まる。

【0163】

本発明による全身投与のための医薬製剤は、腸内、非経口、又は局所投与のために形成されうる。実際には、3種類の製剤のすべてを同時に使用し、活性成分の全身投与を達成することができる。

【0164】

さらに、本発明は、さまざまな種類の癌を治療し、及び／又は結核（T. B.）、天然キラー細胞（NK）、単球、及び樹状細胞の免疫調節など造血活性を調節する1つ又はそれ以上の薬剤を含有する組成物を提供する。

【0165】

個々の必要性にはばらつきがあるが、各々の成分の有効量の最適な範囲の測定は、従来技術の中でまかなえる。

【0166】

薬理学的活性薬剤に加えて、本発明の組成物は、作用部位への送達のために医薬品として使用されうる製剤への活性化化合物の加工を促進する賦形剤及び助剤を含む適切な薬剤として許容される担体を含有しうる。

10

【0167】

PHY906は、医薬製剤の形で、例えば、活性成分としてPHY906を含有する固体、半固体、若しくは液体の形で、外部、腸内、又は非経口用途に適切な有機若しくは無機担体又は賦形剤と混合して使用されうる。活性成分は、例えば、錠剤、ペレット剤、カプセル剤、坐薬、溶液、乳剤、懸濁液、及び使用に適切な他の形態のための通常の高毒性薬剤として許容される担体と化合されうる。本発明の製剤は、固体、半固体、又は液体の形でタルク、水、グルコース、乳糖、アラビアゴム、ゼラチン、マニトール、でんぷん糊、三ケイ酸マグネシウム、コーンスターチ、ケラチン、コロイド状シリカ、ジャガイモでんぷん、尿素、及び製剤の製造において使用するために適切な他の担体を含み、さらに補助、安定化、濃厚化と着色剤、及び香料が使用されるものを包含する。

20

【0168】

錠剤又はカプセル剤など固形組成物を調製するために、PHY906は、医薬品担体（例えば、コーンスターチ、乳糖、ショ糖、ソルビトール、タルク、ステアリン酸、ステアリン酸マグネシウム、リン酸二カルシウム、又はゴムなど従来の錠剤化成分）及び他の希釈剤（例えば、水）と混合され、PHY906の実質的に同質の混合物、又はその高毒性の薬剤として許容される塩を含有する固体予備処方組成物を形成する。実質的に同質としての予備処方組成物を指す場合、これは活性成分が組成物の全体を通じて均一に分散され、組成物が容易に均等に錠剤、丸剤、及びカプセル剤など有効な単位剤形へ分割されうるようになっている。次いで、この固体予備処方組成物は、本発明の組成物の有効な

30

【0169】

PHY906を含有する錠剤又は丸剤は、コーティングされ、又は化合され、延長した作用の利点を示す剤形を提供しうる。例えば、錠剤又は丸剤は、内部調剤及び外部調剤成分を含んで成りうるが、後者は前者上の外皮の形である。2つの成分は、胃内の崩壊に抵抗し、その内部成分を無傷に十二指腸に通し、又は放出が遅延されるために役立つ腸内層によって分離されうる。多くのポリマー酸及びポリマー酸とセラック、セチルアルコール、及び酢酸セルロースなどの材料との混合物を含むようなさまざまな材料がかかる腸内層又はコーティングのために使用されうる。

【0170】

40

PHY906が経口又は注射による投与のために組込まれる液体の形態としては、水溶液、適切な風味のシロップ、水性又は油性懸濁液、及び綿実油、ゴマ油、ココナッツ油、又はピーナッツ油などの食用油のほか、エリキシル剤、及び同様の医薬溶剤による風味乳剤が挙げられる。水性懸濁液用の適切な分散または懸濁剤としては、トラガカント、アカシアなどの合成天然ゴム、デキストラン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ポリビニルピロリドン、又はゼラチンが挙げられる。

【0171】

経口投与のための液体製剤は、例えば、溶液、シロップ、若しくは懸濁液の形を取り、又はそれらは使用前に水若しくは他の適切な溶媒との再構成のための乾燥製品として提示されうる。かかる液体製剤は、懸濁剤（例えば、ソルビトールシロップ、メチルセルロー

50

ス、又は水素化食用脂)、乳化剤(例えば、レシチン若しくはアカシア)、非水性溶媒(例えば、アーモンド油、油性エステル、又はエチルアルコール)、保存剤(例えば、p-ヒドロキシ安息香酸若しくはソルビン酸メチル又はプロピル)、及び人工又は天然着色料若しくは甘味料などの薬剤として許容される添加剤による従来の手段によって、調製される。

【0172】

口腔投与のために、本発明の組成物は従来の方法で形成される錠剤又はトローチ剤の形を取りうる。

【0173】

PHY906は、従来のカテーテル法又は注入の使用を含む注射によって非経口投与のためにも形成されうる。注射用製剤は、単位剤形、例えば、アンプル、又は多用量容器で追加の保存剤とともに提示されうる。組成物は、油性又は水性溶液中の懸濁液、溶液、若しくは乳剤としてかかる形態を取り、かつ懸濁、安定化、及び／又は分散薬剤など配合剤を含有しうる。あるいは、活性成分は、適切な溶媒、例えば、ピロゲンを含まない滅菌水で使用前に再構成するための粉末形態でありうる。

【0174】

非経口投与のための適切な製剤としては、水溶性形態、例えば、水溶性塩での活性化化合物の水性溶液が挙げられる。また、適切な油性注射懸濁液としての活性化化合物の懸濁液が投与されうる。適切な親油性溶剤若しくは溶媒としては、脂肪油、例えば、ゴマ油、又は合成脂肪酸エステル、例えば、オレイン酸エチル、又はトリグリセリドが挙げられる。水性注射懸濁液は、懸濁液の粘度を増加させる物質を含有し、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトール、及び／又はデキストランを含む。場合により、懸濁液は、安定剤をも含有しうる。リポソームを使用し、細胞への送達のために薬剤をカプセル化することもできる。

【0175】

本発明の方法の実施において、PHY906は、単独で、若しくは他の治療薬又は診断薬と組合せて使用されうる。一部の好ましい実施形態において、本発明の化合物は、一般に許容される医療に従って癌化学療法のために、一般的に処方される他の化合物と共に同時投与されうる。本発明の化合物は、通常、ヒト、ヒツジ、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコ、ラット、及びマウスなど哺乳類においてインビボで若しくはインビトロで、利用されうる。

【0176】

投与可能な組成物及び対象に投与するために必要な調整物を調製するための実際の方法は、当業者には周知又は明らかであり、例えば、Remington's Pharmaceutical Science、第17版、マック・パブリッシング社(Mack Publishing Company)、Easton、ペンシルベニア州(Pa)(1985年)に詳細に記載されており、これは参照により本明細書で援用される。

【0177】

「治療指数」は、治療薬及び悪影響が比較される場合に薬剤の選択性の質的記述を指定するために使用される。例えば、悪影響がT(毒性)と指定され、治療効果がEと指定される場合は、治療指数はTD50/E50と規定され、又は何らかの他の任意の反応レベルで同様の比でありうる。

【0178】

E. PHY906を使用する方法

本発明は、さまざまな疾患、状態、又は障害の治療のための治療薬と組合せてPHY906を使用する方法を提供する。

【0179】

具体的には、本発明は、疾患、状態、又は障害の治療のための化学療法剤と組合せてPHY906を使用する方法を提供する。好ましくは、本発明は、PHY906と組合せて1つ又はそれ以上の癌化学療法剤を患者に投与するステップを含む、癌を治療する方法を

提供する。化学療法剤としては、CPT-11、5-FU/LV、VP-16、L-Odd C、カペシタビン、ゲムシタビン、オキサリプラチン、サリドマイド、ドキソルビシン、及びその組合せが挙げられるが、これらに限定されない。より好ましくは、本発明は、CPT-11/FU/LV、オキサリプラチン/FU/LV、又はPHY906と組合せたオキサリプラチン/ゲムシタビンを投与するステップを含む、結腸直腸癌、膀胱癌、肝細胞癌を治療する方法を提供する。

【0180】

本発明では、疾患、状態、又は障害の治療のための抗ウイルス剤と組合せたPHY906を使用する方法が意図される。好ましくは、本発明は、PHY906と組合せた1つ又はそれ以上の抗ウイルス剤を患者に投与するステップを含む、ウイルス感染と関係した疾患を治療する方法を提供する。より好ましくは、本発明は、PHY906と組合せた1つ又はそれ以上の抗レトロウイルス剤を投与するステップを含む、AIDSを治療する方法を提供する。さらにより好ましくは、抗ウイルス剤は、AZT、D4T、DDC、3TC、およびDDLからなる群から選択される。最も好ましくは、3つの抗ウイルス剤及びPHY906を含む組合せが患者に投与される。3つの抗ウイルス剤の好ましい組合せとしては、1) D4T、3TC、及びプロテアーゼ阻害剤、2) AZT、3TC、及びプロテアーゼ阻害剤、並びに3) AZT、DDI、及びプロテアーゼ阻害剤が挙げられるが、これらに限定されない。HIVを治療するための好ましいプロテアーゼ阻害剤としては、ネルフィナビル、インジナビル、サキナビル、及びリトナビルが挙げられるが、これらに限定されない。

【0181】

本発明の一の態様において、PHY906は、細胞系、例えば、癌または癌細胞系およびHIV細胞系に投与され、異なる細胞系でのPHY906の毒性を評価する。好ましくは、癌又は癌細胞系としては、ジャーカット、KB、Hep G2、Hep G1.6、T細胞リンパ腫 (CEM)、Colon26、Colon38、HCT116、PANC01、PANC02、HPACが挙げられるが、これらに限定されず、かつ、HIV細胞系としては、H9細胞及びMT-2細胞が挙げられるが、これらに限定されない。

【0182】

本発明の別の態様において、1つ又はそれ以上の化学療法若しくは抗ウイルス剤とのPHY906の組合せが動物に投与され、PHY906が、薬剤の治療指数及び化学療法又は抗ウイルス療法を受ける動物の生活の質を増大させることにおいて有効であるかどうか判定する。好ましくは、動物は哺乳類である。より好ましくは、哺乳類はヒトである。

【0183】

動物は、特定の癌又はウイルス疾患の動物モデルでありうる。また、動物は不完全な免疫系を有しうる。かかる動物モデルは当業界で公知である。天然由来免疫不全マウスが、後天性免疫不全症候群又はAIDSを含む免疫系、癌、及び感染性疾患を試験するために使用されている。例えば、ヌード (NU) マウスは無胸腺であり、T細胞分化及び成熟が起こりえない。ヌードマウスは、異種移植片、特にヒト腫瘍、及び抗癌剤の試験の宿主として何年にもわたって役立った。重症複合免疫不全症候群 (SCID) マウスは、TCR (T細胞受容体) 及び免疫グロブリン遺伝子を不完全に再配置するように思われ、重篤な免疫不全を示す。ページュ (BG) マウスは、機能的天然キラー細胞における欠陥を有するが、X染色体連鎖免疫不全 (XID) マウスはB細胞の産生における欠陥を有する。また、さまざまな株間の交差が行われ、より包括的な免疫不全表現型を有する系を生成する (例えば、BG/NU及びBG/NU/XID)。

【0184】

それ自身の免疫系をほとんどもしくはまったく有さず、又は薬剤若しくは放射線で処置され、又は伝統的な遺伝発生若しくは遺伝工学により抑制された免疫系、弱くなった免疫系、若しくは改変免疫系を有し、又は、例えば、SCIDウマ及び他のSCID動物などまったく免疫系を有さない他の実験動物、及び動物の免疫系の破壊又は不活性化後にAIDSの進行が停止されている潜在的にAIDS感染動物は、本発明において使用するため

の実験動物候補とみなされうる（ペリーマン（Perryman）L. E.、マックギア（McGuire）、T. C.、トルベック（Torbeck）、R. L.、およびマグソン（Magnuson）、N. S.、Clin. Immunol. Immunopath.、23（1）：1－9頁、1982年）。

【0185】

経胎盤又は周産期抗レトロウイルス療法を試験するマウスモデルが周知である（シャルペ（Sharpe）ら、（1987年）Science 236：1617－1674頁、シャルペ（Sharpe）ら、（1988年）Proc. Natl. Acad. Sci.（USA）85：9792－9796頁、シャルペ（Sharpe）ら、（1989年）J. Virol. 63：1049－1053頁）。また、アカゲザルを使用する哺乳類モデルが、サルサイトメガロウイルス、ベネズエラ及び西部ウマ脳炎ウイルス、及びムンプスウイルスによる非レトロウイルス胎児感染の経過を試験するために確立されている（ロンドン（London）ら、（1986年）Teratology 33：323－331頁；ロンドン（London）ら、（1977年）Teratology 16：285－296頁、ロンドン（London）ら、（1982年）Teratology 25：71－79、ロンドン（London）ら、（1979年）J. Inf. Diseases 139：324－328頁）。アカゲザル（Macaca Mulatta）のサル免疫不全ウイルス（SIV）による感染は、ヒトにおけるHIV－1感染にきわめて似ている。HIV－1及びSIVは同様の分子アーキテクチャーを有するレンチウイルスであり（チャクラバルティ（Chakrabarti）ら、（1987年）Nature 328：543－547頁）、いずれも免疫不全を引き起こし、結果として日和見感染及び中枢神経系損傷をもたらす（レトヴィン（Letvin）ら、（1989年）Science 230：71－73頁）。

【0186】

AIDS及び骨髄細胞分化を試験するために生成された動物モデルが報告されているが、ここではヒト胎児肝、胸腺、及びリンパ節をSCIDマウスへ同時移植しSDID/nuマウスを形成するとヒトリンパ球が一時的に増殖される（マックーン（McCune）ら、（1988年）Science 241：1632－1686頁）。これらのマウスにおけるヒト免疫組織はヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染の影響を受けやすく（ナミカワ（Namikawa）ら、Science 242：1684－1686頁）、モデルは最近、AIDSウイルスの複製の遅延におけるAZTの有効性を試験するために使用されている。

【0187】

米国特許第6, 184, 436号明細書は、AIDSの小動物モデルとして役立つトランスジェニックマウスを開示している。このマウスは、マウスCD4遺伝子のエンハンサーによってフランキングされるヒトCD4プロモータとの機能的連結におけるHIV－1をコードするDNA配列を含むトランス遺伝子を含む。マウスは、重篤なAIDS疾患を発症し、早期死亡に至る。

【0188】

好ましい実施形態において、PHY906と組合せた1つ又はそれ以上の化学療法若しくはウイルス薬剤により処置した動物を、体重減少及び生存率について評価し、1つ又はそれ以上の化学療法又は抗ウイルス剤のみ投与される対照動物と比較する。抗腫瘍若しくは抗ウイルス活性に対するPHY906の効果を評価し、PHY906の有効性を判定することもできる。

【0189】

具体的には、PHY906をAIDSなど抗ウイルス療法のモジュレータとして評価することができる。上記のAIDSの動物モデルのいずれかを使用することができる。第1のステップは、動物の体重減少を評価することによって健康な動物に投与する抗ウイルス剤又は抗ウイルス剤の組合せの最大耐量を決定するステップを含む。第2のステップは、PHY906と組合せた抗ウイルス剤または薬剤をAIDSと診断された動物に投与する

ステップを含む。動物の体重を評価し、治療コースにわたってPHY906が投与されなかった対照動物と比較する。また、PHY906及び抗ウイルス剤若しくは薬剤の組合せの血液学的毒性を、赤血球数多は血小板数を測定することによって評価する。動物の白血球数を評価し、AIDSの動物の治療におけるPHY906及び抗ウイルス剤又は薬剤の組合せの有効性を判定する。各々のアッセイの結果をPHY906が投与されていない対照動物のものと比較する。

【0190】

F. 併用療法のための製剤

本発明は、癌、具体的には、結腸直腸癌、膵癌、及び肝細胞癌の治療用の1つ又はそれ以上の化合物及びPHY906を含有する組成物を含む併用療法を提供する。好ましくは、化合物は、CPT-11、5-FU、LV、VP-16、L-OddC、カペシタビン、ゲムシタビン、サリドマイド、ドキソルビシン、及びオキサリプラチンなどの化学療法剤である。化合物は、AZT、DDI、3TC、及びD4Tなどの抗ウイルス剤でもありうる。併用療法では、化合物を組成物としてPHY906と共に投与し、又は化合物をPHY906の投与から分離して投与しうる。療法は本発明の組成物のみと、又は別の療法（例えば、手術、放射線、生物学的療法）と共に実行されうる。

【0191】

組成物の各々の成分の投与量及び投与頻度は、独立して制御されうる。例えば、1つの成分は1日3回経口投与されうるが、第2の成分は1日1回筋内投与されうる。化合物及びPHY906は、1回の投与で療法の成分が送達されるように共に形成もされうる。剤形及び投与量を以下に記載する。

【0192】

医薬組成物の剤形：組成物の各々化学療法剤及びPHY906の投与は、他の成分と組合せて、具体的には標的部位に達すると抗腫瘍性である化合物の濃度が生じる適切な手段によって行われうる。化学療法剤は、適切な担体物質中に適切な量で含有されうるが、一般に組成物の総量の1-95重量%の量で存在する。組成物は、経口、非経口（例えば、静脈内、筋内）、直腸、皮膚、鼻、膣、入水管、皮膚（パッチ）、又は眼の投与経路に適切である剤形で提供されうる。したがって、組成物は、例えば、ヒドロゲル、ペースト、軟膏、クリーム、硬膏、ドレンチ、送達デバイス、坐薬、浣腸、注入物質、インプラント、スプレー、またはエアロゾルを含む錠剤、カプセル、丸剤、粉末、顆粒、懸濁液、乳剤、溶液、ゲルの形でありうる。医薬組成物は、従来の薬務に従って形成されうる（例えば、レミントン（Remington）：The Science and Practice of Pharmacy、（19版）、A. R. ジェナロ（Gennaro）編、1995年、マック・パブリッシング社（Mack Publishing Company）、Easton、ペンシルベニア州（Pa）、およびEncyclopedia of Pharmaceutical Technology、J. スワルブリック（Swarbrick）とJ. C. ボイラン（Boylan）編、1988-1999年、Marcel Dekker、ニューヨークを参照。

【0193】

本発明による医薬組成物は、活性化合物を実質的に投与と同時に、若しくは投与後所定の時点で、又は時間周期で放出させるように形成されうる。後者の種類の組成物は一般に制御放出製剤として知られるが、これには、（i）長時間にわたって体内に薬剤の実質的に一定の濃度を引き起こす製剤、（ii）所定の遅延時間後に長時間にわたって体内に薬剤の実質的に一定の濃度を引き起こす製剤、（iii）活性薬物質の血漿レベルにおける変動（鋸歯状動的パターン）と関連した望ましくない副作用の同時の最小限化により体内の比較的一定の有効な薬剤レベルを維持することによって所定時間の間に薬物作用を持続する製剤、（iv）例えば、疾患組織または臓器に隣接した、又はそれらにおける制御放出組成物の空間的配置によって薬物作用を局在する製剤、及び（v）特定の標的細胞型に薬剤を送達する担体又は化学誘導体を使用することによって薬物作用を標的する製剤が含まれる。

【0194】

制御放出製剤の形での化合物の投与が、単独又はPHY906と組合せた化合物が、(i) 狭い治療指数（すなわち、有害な副作用又は毒性反応をもたらす血漿濃度と治療効果もたらす血漿濃度との差が小さく、一般に、治療指数、TIは、平均致死量(LD₅₀)の平均有効量(ED₅₀)との比と定義される)を有し、(ii) 胃腸管における狭い吸収窓を有し、又は(iii) きわめて短い半減期を有し、治療レベルでの血漿レベルを維持するために1日の間に頻回の投与が必要である場合に特に好ましい。

【0195】

放出の速度が、問題の化合物の代謝の速度を上回る制御放出製剤を得るために多くの方法のすべてを適用することができる。1つの実施例において、制御放出は、例えば、さまざまな種類の制御放出組成物及びコーティングを含む、さまざまな製剤パラメータ及び成分の適切な選択によって得られる。したがって、薬剤物質は適切な賦形剤で、生物への投与と同時に活性物質を制御された方法で放出する医薬組成物へ形成される。例としては、単一若しくは多重単位錠剤又はカプセル組成物、油性溶液、懸濁液、乳剤、マイクロカプセル、マイクロスフェア、ナノ粒子、パッチ、及びリポソームが挙げられる。

【0196】

経口使用のための固形剤形：経口使用のためのPHY906及び1つ若しくはそれ以上の化合物を含む組成物の製剤としては、非毒性の薬剤として許容される賦形剤と組合せた活性成分を含有する錠剤が挙げられる。これらの賦形剤は、例えば、不活性希釈剤又は充填剤（例えば、ショ糖、ソルビトール、糖、マニトール、微晶質セルロース、ジャガイモでんぷんを含むでんぷん、炭酸カルシウム、塩化ナトリウム、乳糖、リン酸カルシウム、硫酸カルシウム、又はリン酸カルシウム）、造粒及び崩壊剤（例えば、微晶質セルロースを含むセルロース誘導体、ジャガイモでんぷんを含むでんぷん、クロスカルメロースナトリウム、アルギン酸塩、又はアルギン酸）、結合剤（例えば、ショ糖、グルコース、ソルビトール、アカシア、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、ゼラチン、でんぷん、アルファ化でんぷん、微晶質セルロース、ケイ酸マグネシウムアルミニウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、エチルセルロース、ポリビニルピロリドン、またはポリエチレングリコール）、及び潤滑剤、流動促進剤と抗接着剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸亜鉛、ステアリン酸、シリカ、水素化植物油、又はタルク）でありうる。他の薬剤として許容される賦形剤は、着色剤、芳香剤、可塑剤、保湿剤、緩衝剤などでありうる。あるいは、化合物は経口使用のためにPHY906から分離して形成されうる。

【0197】

錠剤はコーティングされなくてもよく、又はそれらは既知の方法によってコーティングされ、場合により胃腸管における崩壊および吸収を遅らせ、それによって長期間にわたる持続的な作用を提供することができる。コーティングは、所定のパターンで活性薬剤物質を放出するように適合され（例えば、制御放出製剤を達成するために）、又は胃の通過後までは活性薬剤物質を放出させないように適合されうる（腸内コーティング）。コーティングは糖コーティング、フィルムコーティング（例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース、メチルヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、アクリレートコポリマー、ポリエチレングリコールおよび／またはポリビニルピロリドンに基づく）、又は腸内コーティング（例えば、メタクリル酸コポリマー、酢酸フタル酸セルロース、フタル酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース、酢酸コハク酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース、酢酸フタル酸ポリビニル、セラック、及び／又はエチルセルロースに基づく）でありうる。さらに、例えば、モノステアリン酸グリセリル又はジステアリン酸グリセリルなど時間遅延物質を使用することができる。

【0198】

固形錠剤組成物は、望ましくない化学変化（例えば、活性薬剤物質の放出前に化学的分

10

20

30

40

50

解) から組成物を保護するように適合されたコーティングを含みうる。コーティングは、上記の Encyclopedia of Pharmaceutical Technology に記載されたものと同様の方法で固形剤形上に適用されうる。

【0199】

化合物及び P H Y 9 0 6 は錠剤中に混合され、又は分割されうる。一の実施例において、第 1 の薬剤は錠剤の内側に含まれ、第 2 の薬剤は外側に含まれ、第 2 の薬剤の実質的部分が第 1 の薬剤の放出前に放出されるようになっている。

【0200】

経口使用のための製剤は咀嚼錠として、又は硬質ゼラチンカプセルとしても提示されるが、ここで活性成分は不活性固形希釈剤（例えば、ジャガイモでんぷん、乳糖、微晶質セルロース、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム又はカオリンと混合され、又は軟質ゼラチンカプセルとしても提示され、ここで活性成分は水、又は油性培地、例えば、ピーナッツ油、液体パラフィン、又はオリーブ油と混合される。粉末及び顆粒は、例えば、ミキサー、流動床装置、又はスプレー乾燥器を使用して従来の方法で錠剤及びカプセル下に上記の成分を使用して調製されうる。

【0201】

制御放出経口剤形：経口使用のために化合物又は P H Y 9 0 6 と組合せて含有する制御放出組成物は、例えば、活性薬剤物質の溶解及び／又は分散を制御することによって活性薬剤物質を放出するように構成されうる。

【0202】

溶解又は分散制御放出は、化合物の錠剤、カプセル、ペレット、若しくは顆粒製剤の適切なコーティングによって、又は問題の化合物を適切なマトリックスへ組込むことによって達成されうる。制御放出コーティングは、1 つ又はそれ以上の上記のコーティング物質及び／又は、例えば、セラック、蜜ろう、糖ろう、ヒマシろう、カルナウバろう、ステア ril アルコール、モノステアリン酸グリセリル、ジステアリン酸グリセリル、パルミトステアリン酸グリセロール、エチルセルロース、アクリル樹脂、ジーポリ乳酸、酢酸酪酸セルロース、塩化ポリビニル、酢酸ポリビニル、ビニルピロリドン、ポリエチレン、ポリメタクリレート、メチルメタクリレート、2-ヒドロキシメタクリレート、メタクリレートヒドロゲル、1, 3-ブチレングリコール、エチレングリコールメタクリレート、および／またはポリエチレングリコールを含みうる。制御放出マトリックス製剤において、マトリックス材料は、例えば、水酸化メチルセルロース、カルナウバろう及びステア ril アルコール、カルボポール 9 3 4、シリコーン、トリステアリン酸グリセリル、メチルアクリレート-メチルメタクリレート、塩化ポリビニル、ポリエチレン、及び／又はハロゲン化フルオロカーボンも含みうる。

【0203】

1 つ若しくはそれ以上の請求された化合物を含有する制御放出組成物は、浮遊錠又はカプセル（すなわち、経口投与と同時に、一定時間、胃内容物の上部に浮遊する錠剤又はカプセル）の形でもありうる。化合物の浮遊錠剤は、賦形剤、及びヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、及びヒドロキシプロピルメチルセルロースなどの 20-75% w/w の親水コロイドと薬剤の混合物を顆粒化することによって調製されうる。次いで、得られた顆粒は、錠剤へ圧縮されうる。胃酸との接触時に、錠剤はその表面の周りに実質的に不透水性のゲルバリアを形成する。このゲルバリアは、1 未満の密度の維持に関与し、それによって錠剤が胃酸中で浮遊性のままであることを可能にする。

【0204】

経口投与のための液体：単独又は P H Y 9 0 6 と組合せた化合物を経口投与のための液体として形成されうる。水の添加による水性懸濁液の製剤に適切な粉末、分散性粉末、または顆粒は経口投与に便利な剤形である。懸濁液としての製剤は、活性成分を分散または湿潤剤、懸濁剤、及び 1 つ若しくはそれ以上の保存剤と混合して提供する。適切な分散または湿潤剤は、例えば、天然由来のホスファチド（例えば、レシチン若しくは脂肪酸とのエチレンオキシドの縮合生成物、長鎖脂肪族アルコール、又は脂肪酸由来部分エステル）

10

20

30

40

50

、及びヘキシトール若しくはヘキシトール無水物（例えば、ステアリン酸ポリオキシエチレン、ポリオキシエチレンソルビトールモノオレアート、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレアートなど）である。適切な懸濁剤は、例えば、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、アルギン酸ナトリウムなどである。

【0205】

非経口組成物：単独又はPHY906と組合せた化合物を含む本出願の医薬組成物は、剤形、製剤、又は従来の非毒性の薬剤として許容される担体及びアジュバントを含有する適切な送達デバイス若しくはインプラントで注射、注入、又は移植（静脈内、筋肉内、皮下など）によって非経口投与もされうる。かかる組成物の剤形及び製剤は、医薬品製剤の当業者に公知である。特定の製剤は、レミントン（Remington）：The Science and Practice of Pharmacy、上記に見出すことができる。

10

【0206】

非経口使用の組成物は、単位剤形（例えば、一回量アンプル）、若しくは数用量を含有し、適切な保存剤が添加されうるバイアルで提示されうる（下記参照）。組成物は、溶液、懸濁液、乳剤、注入デバイス、若しくは移植のための送達デバイスの形であり、又は使用前に水若しくは別の適切な溶媒で構成される乾燥粉末として提示されうる。活性薬剤は別として、組成物は適切な非経口に許容される担体及び／又は賦形剤を含みうる。化合物は、制御放出のためにマイクロスフェア、マイクロカプセル、ナノ粒子、リポソームなどへ組込まれうる。さらに、組成物は、懸濁液、安定化剤、安定化、pH調節剤、及び／又は分散剤を含みうる。

20

【0207】

上記の通り、本発明による医薬組成物は滅菌注射に適切な形でありうる。かかる組成物を調製するために、適切な化合物は溶解され、又は非経口的に許容される液体溶媒中に懸濁される。中でも使用されうる許容される溶媒及び溶剤は、水、適切な量の塩酸、水酸化ナトリウム、又は適切な緩衝液の添加によって適切なpHに調節した水、1, 3-ブタンジオール、リンガー液、及び等張性塩化ナトリウム溶液である。水性製剤は1つ若しくはそれ以上の保存剤（例えば、p-ヒドロキシ安息香酸メチル、エチル、又はn-プロピル）も含有しうる。化合物の1つが水中で難溶性又はわずかに可溶性である場合、溶解増強または可溶化剤を添加することができ、又は溶媒は10-60% w/wのプロピレングリコールなどを含みうる。

30

【0208】

制御放出非経口組成物：制御放出非経口組成物は、水性懸濁液、マイクロスフェア、マイクロカプセル、磁気マイクロスフェア、油性溶液、油性懸濁液、乳剤の形でありうる。あるいは、化合物は生体適合性担体、リポソーム、ナノ粒子、インプラント、又は注入デバイスに組込まれうる。

【0209】

マイクロスフェア及び／又はマイクロカプセルの製剤において使用するための材料は、例えば、ポリグラクチン、ポリ（イソブチルシアノアクリレート）、ポリ（2-ヒドロキシエチル-L-グルタミン）及びポリ（乳酸）など生分解性／生体内分解性ポリマーである。制御放出非経口製剤を形成する際に使用されうる生体適合性担体は、炭水化物（例えば、デキストラン）、タンパク質（例えば、アルブミン）、リポタンパク質、又は抗体である。

40

【0210】

インプラントにおいて使用するための材料は非生分解性（例えば、ポリジメチルシロキサン）又は生分解性（例えば、ポリ（カプロラクトン）、ポリ（乳酸）、ポリ（グリコール酸）、又はポリ（オルトエステル））でありうる。

【0211】

直腸組成物：単独又はPHY906と組合せた化合物は直腸投与のために形成されうる。直腸適用のために、組成物の適切な剤形としては、坐薬（乳剤又は懸濁タイプ）、及び

50

直腸ゼラチンカプセル（溶液又は懸濁液）が挙げられる。典型的な坐薬製剤において、活性薬剤は、カカオバター、エステル化脂肪酸、グリセリン化ゼラチンと、ポリエチレングリコール及びポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルのようなさまざまな水溶性又は分散性基剤など適切な薬剤として許容される坐薬基剤と組合される。さまざまな添加剤、増強剤、又は界面活性剤が組込まれる。

【0212】

吸入用の組成物：単独又はPHY906と組合せた化合物は吸入のために形成される。吸入による投与のために、一般的な剤形としては、鼻口腔用スプレー及びエアロゾルが挙げられる。一般的に鼻腔用製剤において、活性成分は適切な溶媒中に溶解又は分散される。薬剤として許容される溶媒及び賦形剤（並びに希釈剤、増強剤、芳香剤、及び保存剤など組成物に存在する他の薬剤として許容される材料）は、医薬品を製造する当業者によって理解されるようにして従来の薬務に従って選択される。

10

【0213】

経皮および局所組成物：単独又はPHY906と組合せた化合物は、経皮及び局所投与のために形成される。この医薬組成物は、マイクロスフェア及びリポソームを含む従来的に非毒医薬として許容される担体及び賦形剤を含有する剤形又は製剤で経皮吸収のために皮膚に局所投与される。製剤は、クリーム、軟膏、ローション、リニメント、ゲル、ヒドロゲル、溶液、懸濁液、スティック、スプレー、ペースト、硬膏、及び他の種類の経皮薬物送達系を含む。薬剤として許容される担体又は賦形剤は、乳化剤、抗酸化剤、緩衝剤、保存剤、保湿剤、浸透促進剤、キレート化剤、ゲル形成剤、軟膏基剤、香水、及び皮膚保護剤を含む。

20

【0214】

乳化剤の例は天然由来ゴム（例えば、アラビアゴム又はトラガントゴム）及び天然由来リン脂質（例えば、ダイズレシチン及びソルビタンモノオレアート誘導体）である。抗酸化剤の例はブチル化ヒドロキシアニゾール（BHA）、アスコルビン酸及びその誘導体、トコフェロール及びその誘導体、ブチル化ヒドロキシアニゾール、及びシステインである。保存剤の例は、p-ヒドロキシ安息香酸メチル又はプロピルなどのパラベン、及び塩化ベザルコニウムである。保湿剤の例は、グリセリン、プロピレングリコール、ソルビトール、及び尿素である。浸透増強剤の例は、プロピレングリコール、DMSO、トリエタノールアミン、N,N-ジメチルアセトアミド、N,N-ジメチルホルムアミド、2-ピロリドン及びその誘導体、テトラヒドロフルフリルアルコール、及びアゾン（Azon）（商標）である。キレート化剤の例はナトリウムEDTM、クエン酸、及びリン酸である。ゲル形成剤の例は、カルボポール（Carbopol）（商標）、セルロース誘導体、ベントナイト、アルギン酸塩、ゼラチン、及びポリビニルピロリドンである。軟膏基剤の例は、蜜ろう、パラフィン、パルミチン酸セチル、植物油、脂肪酸のソルビタンエステル（Span）、ポリエチレングリコール、及び脂肪酸のソルビタンエステルとエチレンオキシドとの間の縮合生成物（例えば、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレアート（Tween））である。

30

【0215】

皮膚の局所投与用の上記の医薬組成物は、処置される体の部分又はその近くへの局所投与に関連しても使用される。この組成物は体の関連開口部（例えば、直腸、尿道、膣、または口腔）への直接適用又は導入のために適合される。組成物は、包帯あるいは他の硬膏、パッド、スポンジ、ストリップ、又は適切な可撓性材料の他の形態など特殊な薬物送達デバイスによって適用される。

40

【0216】

制御放出経皮及び局所組成物：単独又はPHY906と組合せた化合物は、制御放出経皮及び局所投与のために形成される。薬剤の放出及び経皮浸透の速度制御を提供する、膜減速系、接着拡散制御系、マトリックス分散型系、及びマイクロレザバー系を含むいくつかの方法がある。制御放出経皮及び／又は局所組成物は、上記の方法の適切な混合物を使用することによって得られる。

50

【0217】

膜減速系において、活性薬剤は、金属プラスチック薄板など薬剤不浸透性薄板、及び細孔性又は無孔性ポリマー膜（例えば、エチレンビニル酢酸コポリマー）など速度制御ポリマー膜で成形された浅いコンパートメントに全体的にカプセル化されているレザバーに存在する。活性化化合物は、速度制御ポリマー膜を通じて放出されることだけが可能である。薬剤レザバーにおいて、活性薬剤物質は固形ポリマーマトリックスに分散されうるか、シリコーン液など粘性液体培地に懸濁されうる。ポリマー膜の外表面には、接着性ポリマーの薄い層が適用され、皮膚表面と経皮系の緊密な接触を達成する。接着性ポリマーは、好ましくは、活性薬剤と適合性である低刺激性ポリマーである。

【0218】

10

接着性分散制御系において、活性薬剤のレザバーは接着性ポリマーに活性薬剤を直接分散し、次いで活性薬剤を含有する接着剤を実質的に薬剤不浸透性金属プラスチック下地の平板へ広げ、薄い薬剤レザバー層を形成する。マトリックス分散型系は、活性薬剤物質のレザバーが親水性又は親油性ポリマーマトリックス中に活性薬剤物質を実質的に均一に分散させ、次いで薬剤含有ポリマーを実質的に明確な表面積及び厚さを有する円板へ成形する点で特徴づけられる。接着性ポリマーは外周に沿って広がり、円板の周りに接着剤のストリップを形成する。

【0219】

マイクロレザバー系において、活性物質のレザバーは、最初に水溶性ポリマーの水溶液中に薬剤固体を懸濁し、次いで親油性ポリマー中に薬剤懸濁液を分散し、薬剤レザバーの複数の微小球体を形成する。

20

【0220】

投与量：各々の化合物の投与量は、投与方法、処置される疾患、疾患の重篤度、疾患は処置されか予防されるか、処置される人の年齢、体重、健康状態を含むいくつかの因子によって決まる。

【0221】

化合物は、好ましくは、1日約0.1-30mg/kg体重の量で、かつ、より好ましくは、1日約0.5-15mg/kg体重の量で投与される。上記の通り、問題の化合物は、錠剤、カプセル、エリキシル剤若しくはシロップの形で経口投与され、又は坐薬の形で直腸投与されうる。化合物の非経口投与は、食塩水の形で適切に実行される。化合物がそれ自体で溶解されるために十分に可溶性でない場合、エタノールなどの可溶化剤を適用することができる。

30

【0222】

上述の一般の考察に照らして、以下に提示された特定の実施例は例示に限られており、本発明の範囲を限定することは意図されていない。他の一般的かつ特定の構成は当業者に明らかであろう。

【実施例】

【0223】

材料と方法

CPT-11（イリノテカン、カンプトサル（Camptosar）（登録商標））をファルマシア・アンド・アップジョン社（Pharmacia & Upjohn Co.）（Kalamazoo、ミシガン州（MI））から購入した。5-フルオロウラシル（5-FU又はFU）、フォリン酸（ロイコボリン、LV）、ロペラミド、（大腸菌（E. coli））ベーターグルクロニダーゼ、メチレンブルー、及びフェノールフタレイングルクロニデートをシグマ社（Sigma, Co.）（St. Louis、ミズーリ州）から購入した。MEME培地をエール大学癌センター（Yale University Cancer Center）で標準法に従って調製した。RPMI1640培地をJRH社（JRH Co.）から購入した。カナマイシン、パンクレアチン、及びトリパンブルーをジブコ社（Gibco Co.）（Grand Island、ニューヨーク州（NY））から購入した。PHY906、PHY-915、PHY-14ST、及びPHY-

40

50

15ST植物性製剤は、サン・テン製薬会社 (Sun Ten Inc.) (台北、台湾) によって提供された。PHY-14STは、以前はTJ-14STと呼ばれ、7つの薬草からなる。すなわち、ピネリアエ・テルナタ・ブライト (*Pinelliae ternata Breit*)、スクエラリア・バイカレンシス・ゲオルギ (*Scuellaria baicalensis Georgi*)、コプティス・シネンシス・フランチ (*Coptis chinensis Franch*)、グリキリザ・ウラレンシス・フィッシュ (*Glycyrrhiza uralensis Fisch*)、フルクツス・ジジフィ (*Fructus ziziphi*)、パナックス・ジンセング・C. A. ・メイ (*Panax ginseng C. A. Mey*)、及びジンギバー・オフィシナーレ・ロスク (*Zingiber officinale Rose*) である。PHY-15STは、以前はTJ-15STと呼ばれ、プエラリア・ロバタ・オーウイ (*Pueraria lobata Ohwi*)、コプティス・シネンシス・フランチ (*Coptis chinensis Franch*)、スクエラリア・バイカレンシス・ゲオルギ (*Scuellaria baicalensis Georgi*)、及びグリキリザ・ウラレンシス・フィッシュ (*Glycyrrhiza uralensis Fisch*) からなる。PHY-915は5つの薬草からなる。すなわち、パナックス・ジンセング・C. A. ・メイ (*Panax ginseng C. A. Mey*)、ジンギバー・オフィシナーレ・ロスク (*Zingiber officinale Rose*)、アトラクチロデス・マルコセファラ・コイズ (*Atractylodes macrocephala Koiz*)、サポシュニコビア・ディバリカタ・シシュク (*Saposhnikovia divaricata Schischk*)、及びシトルス・レチクラータ・ブランコ (*Citrus reticulata Blanco*) である。

【0224】

乾燥粉末からの薬草抽出物の調製：1グラムの (A) 50% (研究用バッチ) 又は10% (臨床用バッチ) でんぷん賦形剤を含有するPHY906乾燥粉末、又は (B) 未知の量の賦形剤を含有するPHY-915、PHY-14ST、又はPHY-15ST薬草製剤を80℃のH₂O 10mlに添加し、80℃で30分間インキュベートした。上清を遠心分離 (2060g、15分) によってデブリから分離し、直ちに使用した。PHY906上清の濃度を、未加工薬草の水性抽出物の乾燥重量に基づき、50mg/ml (研究用バッチ) 又は90mg/ml (臨床バッチ) のいずれかとして計算する。他の薬草製剤の濃度を粉末の乾燥重量に基づき100mg/mlとみなした。組織培養における増殖阻害試験のために、0.45µm滅菌アクロディスク (Acrodisc) フィルタ (ゲルマン・サイエンス社 (Gelman Sciences)) を使用して上清を滅菌した。

【0225】

マウス：メスBDF-1マウス (4-6週齢) をチャールズ・リバー・ラボラトリーズ (Charles River Laboratories) (Wilmington、マサチューセッツ州 (MA)) から購入した。オス無胸腺NCrヌードマウス (4週齢) をタコニック・ファームズ (Taconic Farms) (Garmantown、ニューヨーク州 (NY)) から購入した。体重が16g~20gの両種類のマウスを本試験のために使用した。

【0226】

抗腫瘍試験：マウスColon38 (PBS 0.1ml中1-2×10⁶細胞) 又はヒトHepG2細胞 (PBS 0.1ml中1-2×10⁶細胞) を、それぞれ、BDF1又はNCr無胸腺ヌードマウスへ皮下移植した。腫瘍の長さ及び幅を、毎日、滑動計で測定した。腫瘍重量を次式に従って推計した (ピゾルノ (Pizzorno) G、ウィーガント (Wiegand) R、レンツ (Lentz) Sら、Cancer Res. 52: 1660-1665頁 (1992年))：

$$\text{腫瘍重量 (mg)} = \text{長さ (mm)} \times \text{幅 (mm)}^2 / 2。$$

【0227】

10~14日後、腫瘍重量が150-200mgのマウス (5匹/群) を薬剤試験のた

10

20

30

40

50

めに選択した（グオ（Guo）X、レルナー・タング（Lerner-Tung）M、チェン（Chen）HXら、Biochem Pharmacol 49:1111-1116頁（1995年））。腫瘍サイズが体重の10%に達した場合にマウスを犠死させた。PHY906を単独又は抗癌化学療法剤のいずれかと経口投与した。PHY906の抗腫瘍有効性に対する効果及び薬剤による毒性の削減を評価した。CPT-11を選択用量によるPHY906投与後30分に腹腔内（i. p.）投与した。FU/LV併用療法のレジメン・投薬計画を以下の通り与えた：

（A）FU/LVのみによる治療：LVの第1の用量（50mg/kg、i. p.）、次いで直ちにFUを投与（100mg/kg、i. p.）

（B）FU/LV+PHY906による治療：LVの第1の用量（50mg/kg、i. p.）の後、30分後にPHY906（500mg/kg経口）、その30分後にLVの第2の用量（0mg/kg、i. p.）、次いで直ちにFU用量（100mg/kg、i. p.）

【0228】

CPT-11/FU/LV三重薬剤併用は、以下の通り与えられた。すなわち、群（A）CPT-11/FU/LVのみ：CPT-11の投与1時間前にLVの第1用量（50mg/kg、i. p.）を投与し、次いで直ちにLV（50mg/kg、i. p.）およびFU（100mg/kg、i. p.）を投与した。

【0229】

群（B）CPT-11/FU/LV+PHY906：マウスに対しPHY906（500mg/kg経口）の30分前にLVの第1の用量（50mg/kg、i. p.）を投与した。次いで、PHY906投与の30分後、マウスをCPT-11で処置し、その後直ちにLV（50mg/kg、i. p.）及びFU（100mg/kg、i. p.）を0日目に投与した。

【0230】

治療の第1日を0日と規定した。PHY906を0日目から4日又は8日間、1日2回（午前10と午後3時）経口投与した。対照群については、マウスには、溶媒、i. p.にはPBS、又はp. o.（経口投与）にはH₂Oを投与した。動物を死亡率、体重減少、および腫瘍サイズについて毎日モニタリングした。

【0231】

血球数：血液（20μl）を0、3、6、9、及び12日に微小毛細血管チューブで採取した。次いで、血液を生理食塩水（0.85%塩化ナトリウム）で200μlに希釈した。WBC、RBC、及び血小板をベーカー・システム（BAKER SYSTEM）9100（商標）ヘマトロジー・アナライザ（HEMATOLOGY ANALYZER）（バイオケム・イムノシステムズ社（Biochem ImmunoSystems Inc.）、Allentown、ペンシルベニア州（PA）18103-9562）で計算した。

【0232】

細胞系及び培養条件：ヒトHepG2（肝細胞癌）、HCT116（結腸癌）、CEM（白血病）、及びKB（口腔扁平上皮癌）、並びにマウスColon38細胞系をアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション（American Type Culture Collection）（Rockville、メリーランド州（MD）から購入した。HepG2細胞系を10%ウシ胎仔血清（FBS）及び100μg/mlカナマイシンを補充したMEME培地でルーチンに増殖させた。Colon38、HCT116、KB、及びCEM細胞系を10%ウシ胎仔血清（FBS）並びに100μg/mlカナマイシンを含むRPMI-1640培地中で増殖させた。細胞を5%CO₂、95%大気の湿気のある環境下に37℃でインキュベートした。

【0233】

ヒトまたはマウス癌細胞系における細胞毒性：メチレンブルー取込みアッセイを使用して細胞増殖阻害を測定した。癌細胞（1×10⁴）を1mlのMEME培地中又は10%

10

20

30

40

50

ウシ胎仔血清（FBS）及び $100\mu\text{g}/\text{ml}$ カナマイシンを含むRPMI 1640中のいずれかに0日目に24ウェルプレートに接種した。新しく調製し、滅菌したPHY906抽出物を、1日目にさまざまな濃度で細胞に添加し、 37°C で3日間インキュベートした。次いで培地を除去し、細胞層を30分間、 0.5% （w/v）メチレンブルー溶液（ 50% エタノール中） 0.3ml で染色した。プレートを3回水道水で洗浄し、乾燥させ、細胞層を 1% サルコシル溶液（PBS中） 1ml で溶解した。溶解物溶液をElx800動態マイクロプレートリーダー（バイオテック・インストルメンツ社（Bio-Tek Instruments, Ins）により 595nm で読み取った。

【0234】

実施例1：種々の細胞系に対するPHY906の毒性の評価

10

手短に言えば、PHY906の各々バッチの 1g ラムを水（ $1\text{mg}/\text{ml}$ ） 10ml と共に添加した。バッチ特性については表6を参照。

【0235】

【表8】

表6. バッチ特性PHY906

特性	バッチA	バッチB
供給源	台湾、順天堂(Sun-Ten)	台湾、順天堂(Sun-Ten)
調製法	標準	標準

20

【0236】

上清を遠心分離後に回収し、 $0.22\mu\text{m}$ フィルタによりろ過した。4つの細胞型を使用し、PHY906の各々のバッチの生物学的効果について試験した。すなわち、a) KB細胞（ATCCカタログ番号CCL-17）、b) HepG2細胞（ATCCカタログ番号HB-8065）、c) T細胞リンパ腫細胞系（CEM細胞）、d) Colon38、及びe) HCTT116（ATCCカタログ番号CCL-247）。

【0237】

癌細胞（ 1×10^4 ）を 1ml のMEME培地中または 10% ウシ胎仔血清（FBS）及び $100\mu\text{g}/\text{ml}$ カナマイシンを含むRPMI 1640中のいずれかに0日目に24ウェルプレートに接種した。24時間後、PHY906抽出物を、さまざまな濃度で細胞に添加し、 37°C で3日間インキュベートした。次いで培地を除去し、細胞層を30分間、 0.5% （w/v）メチレンブルー溶液（ 50% EtOH中） 0.3ml で染色した。プレートを3回水道水で洗浄し、乾燥させ、細胞層を 1% サルコシル溶液（PBS中） 1ml で溶解した。溶解物溶液をElx800動態マイクロプレートリーダー（バイオテック・インストルメンツ社（Bio-Tek Instruments, Ins）により 595nm で読み取った。

30

【0238】

細胞毒性試験をヒトT細胞リンパ腫細胞系（CEM）で行った。CEM細胞（ 5×10^4 ）を、 20% 表示ウシ胎仔血清を含むRPMI 1640培地 1ml 中で増殖させた。PHY906抽出物を0日目に添加した。細胞の増殖をPHY906の添加3日後に評価した。細胞の数を、血球計を使用して推計した。

40

【0239】

2つのバッチを使用するアッセイの結果は表7に示されている。これらのデータに基づき、PHY906のソースA及びBは、KB、CEM、及びHCTT116細胞に対して相対的に小さい毒性を有したが、Colon38及びHepG2細胞に対する毒性効果は有意に大きかった（表7を参照）。同様の結果は実施例11、表10に示されている。

【0240】

【表 9】

表7. 異なる細胞系における伝統的な薬草製剤の細胞毒性

	IC ₅₀ (mg/ml) ^a				
薬草製剤 ^b	KB	HepG2	CEM	Colon 38	HCT116
PHY906A	1.35 ± 0.52	0.28 ± 0.17	1.45 ± 0.45	0.08	1.3
PHY906B	1.80 ± 0.99	0.17 ± 0.12	1.28 ± 0.02	0.08	1.2

^a 薬草製剤の乾燥重量に基づく^b 50%賦形剤を含有するPHY906の異なる研究用バッチ

10

【0241】

実施例2：BDF-1及びヌードマウスでのCPT-11用量の測定

動物の体重減少を抗癌化学療法剤によって引き起こされる毒性の指標としてモニタリングした。腫瘍を有さないBDF-1マウスにおける体重減少に対するCPT-11の効果を6種類の投与量、すなわち、100、200、300、400、600、又は800mg/kg体重を使用して試験し、マウスにおける最大耐量を測定した。CPT-11の1回ボーラス量を試験の開始時点で腹腔内(i.p.)投与し、体重減少を12日間、毎日モニタリングした。

【0242】

20

CPT-11の1用量を各々のマウスに試験の開始時点でi.p.投与し、次いで体重減少を12日間、毎日モニタリングした。

【0243】

200mg/kg未満の投与量は体重に対する効果をほとんど示さなかった(CPT-11治療を受けない対照マウスと比較した)。対照的に、600mg/kg以上の薬剤量は、結果として、CPT-11投与後2日目に動物の死をもたらした。一般に、マウスは400mg/kgまでの用量に耐えることができた。

【0244】

生存マウスの体重減少のプロフィールが図1に示されている。300mg/kg CPT-11で処置したマウスの平均体重は、治療後5日までCPT-11による処置を受けなかったマウスの平均体重よりも有意に低かった(図1)。これら2群のマウスの平均体重は、治療後5日から試験の終了まで有意に異なることはなかった。体重減少の持続期間および程度は動物に投与されるCPT-11の用量に敏感であった。

30

【0245】

体重減少がCPT-11治療直後に確認され、400mg/kgのCPT-11を注射したマウスにおいて6日連続して継続した。これらの動物は、12日目に徐々にその最初の体重を回復した。これらの結果に基づき、400mg/kg又は300mg/kgのいずれかのCPT-11をBDF-1マウスモデルにおいて使用した。しかし、ヒト腫瘍細胞を接種したヌードマウスは、正常BDF-1マウスよりもCPT-11治療に有意により敏感であった。ヒトHepG2異種移植片を有するヌードマウスにおけるCPT-11の最大耐量は、200mg/kgであった(データを示さず)。

40

【0246】

実施例3：腫瘍を有するBDF-1マウスにおけるCPT-11誘発体重減少に対するPHY906の効果

Colon38腫瘍細胞を接種したマウスにおける毒性副作用に対するCPT-11療法のモジュレータとしてPHY906を評価した。以前の所見(実施例2)に基づき、400mg/kg CPT-11の1回ボーラス量を選択し、CPT-11の毒性と関係した体重減少に対するPHY906の効果を試験した。PHY906がCPT-11の抗腫瘍効果を損なうかどうか評価するために、マウスに対しColon38腫瘍細胞を皮下移植した。接種後10～14日にマウスをPHY906の非存在または存在下でCPT-11

50

(400 mg/kg i. p.) で処置し、これは1日2回さまざまな用量 (125 mg/kg、250 mg/kg、及び500 mg/kg) で経口投与した。PHY906治療を連続8日間、指示用量で継続した。

【0247】

図2は、CPT-11処置マウスにおける体重減少に対するPHY906の効果が用量依存性であることを示す。500 mg/kg/b. i. d. のPHY906による追加治療を受けるCPT-11処置動物は、体重の維持における有意な改善を示し、その最初の体重をより迅速に回復した ($p < 0.01$)。表8は統計的結果を示す。しかし、250 mg/kg/b. i. d. のPHY906を受けるマウスは体重減少における差を示さなかった。

【0248】

【表10】

表8. CPT-11で処置した腫瘍を有するマウスにおける体重減少に関するPHY906の統計的分析

N=5	無処置	CPT-11	CPT-11/PHY906 500mg/kg	CPT-11/PHY906 250 mg/kg	CPT-11/PHY906 125 mg/kg
無処置	----	$P < 0.01$	$P < 0.05$	$P < 0.01$	$P < 0.01$
CPT-11	$P < 0.01$	----	$P < 0.01$	$P > 0.1$	$P > 0.1$
CPT-11/PHY906 500 mg/kg	$P < 0.05$	$P < 0.01$	----	$P < 0.01$	$P < 0.01$
CPT-11/PHY906 250 mg/kg	$P < 0.01$	$P > 0.1$	$P < 0.01$	----	$P > 0.1$
CPT-11/PHY906 125 mg/kg	$P < 0.01$	$P > 0.1$	$P < 0.01$	$P > 0.1$	----

【0249】

実施例4：CPT-11及びPHY906で処置したColon38接種マウスの腫瘍重量

マウスを実施例3に記載されているように処置し、9日間にわたって腫瘍重量について評価した。結果は、PHY906による治療ではCPT-11の抗腫瘍効果が妨げられず、損なわれないことを明らかに示す (図3)。現に、データは、この薬草医薬がCPT-11抗腫瘍活性を増強しうることを示す。

【0250】

これらの予備結果は、薬草組成物PHY906をCPT-11化学療法のモジュレータとして使用し、CPT-11の抗腫瘍効果を損なうことなく、CPT-11の毒性副作用を改善し、緩和することができる。

【0251】

実施例5：Colon38腫瘍を有するBDF-1におけるCPT-11の抗腫瘍活性及び血液学的毒性に対するPHY906の効果

上記の試験で得られた結果に基づき、500 mg/kg/b. i. d. のPHY906は、400 mg/kgのCPT-11の最大耐量によって誘発される宿主毒性に対する最良の保護を提供する。この一連の投与量を次の試験のために使用した。CPT-11の1用量 (400 mg/kg i. p.) で処置したColon38を有するBDF-1マウスに対し4日又は8日間、500 mg/kg/b. i. d. PHY906を経口投与した

。5匹のマウスを各群で使用し、実験を8回繰り返した。図3は、実験のすべての典型的な結果を示す。腫瘍サイズによって測定されるCPT-11の抗腫瘍活性は、動物モデルにおける同時PHY906療法によって損なわれなかった。現に、腫瘍サイズのわずかな削減が発生し、PHY906がCPT-11の抗腫瘍活性を強化しうることを示す。

【0252】

骨髄抑制はCPT-11で処置した患者の中で一般的な副作用である（ブライベルグ（Bleiberg）Hとクビトコビック（Cvitkovic）E.、Eur J Cancer 32A（補遺3）：18-23頁（1996年）。PHY906がCPT-11によって誘発される骨髄毒性を有利に逆転するかどうか評価するために、Colon38腫瘍を有するBDF-1マウスにおける血液学的活性を検査した。図4に示されているように、PHY906は、すべてのレジメン（投薬計画）の中で赤血球数又は血小板数に対する影響がないことがわかり、CPT-11によって誘発される骨髄抑制に対する保護を示さなかった。抗腫瘍活性及び血液学的活性に関して、PHY906のCPT-11との4日又は8日の同時治療間に有意差はなかった（データを示さず）。

10

【0253】

実施例6：Colon38腫瘍を有するBDF-1マウスに対するCPT-11の死亡率に対するPHY906の効果

マウスをさまざまな治療レジメン（投薬計画）により4群に分けた。すなわち、群（A）溶媒にいる治療、群（B）i. p. 注射による400mg/kgのCPT-11の一回量による治療、群（C）PHY906（500mg/kg/b. i. d.）のみによる治療、又は群（D）400mg/kgのCPT-11+500mg/kg/b. i. d.のPHY906の4日又は8日間の一用量による治療。各々の治療レジメン（投薬計画）の順序は材料と方法に見られる。表9に示されているように、A群の腫瘍を有するマウス35匹中35匹（100%）及びC群のマウス15匹中15匹（100%）は、4日又は8日間、溶媒又はPHY906のみのいずれかの治療を生き延び、PHY906の毒性がないか、又はきわめて低いことを示した。対照的に、CPT-11のみ（B群）による治療は結果として腫瘍を有するマウス40匹中33匹（82.5%）が8日後に生き延びた。しかし、この生存率は、CPT-11と組合せたPHY906治療を4日または8日間受けた（D群）後に95%（マウス20匹中19匹）又は100%（マウス24匹中24匹）のいずれかに劇的に改善した。これは、PHY906治療が400mg/kgのCPT-11の一回量によって誘発される死亡率に対してマウスを保護しうることを示す。

20

30

【0254】

【表 1 1】

表9. Colon38腫瘍を有するCPT-11処置BDF-1マウスの生存に対するPHY906の効果

	処置				マウスの総数		
投薬	CPT-11		PHY906		処置 N	生存 N	生存 ^a %
レジメン	用量 (mg/kg)	日	用量 (mg/kg)	日			
A	0	0	0	0	35	35	100
B ^b	400	1	0	0	40	33	82.5
C	0	0	500	4	35	35	100
	0	0	500	8	15	15	100
D ^c	400	1	500	4	20	19	95
	400	1	500	8	24	24	100

^a 全動物を14日間観察した^b CPT-11処置マウス40匹中7匹が5日(N=1)、6日(N=3)、7日(N=1)、および8日(N=2)に死亡した^c CPT-11とPHY906(4日)処置の組合せ処置によりマウス1匹が6日目に死亡した

【0255】

実施例7: Colon38腫瘍を有するBDF-1マウスにおけるFU/LVの抗腫瘍活性に対するPHY906の効果

FU/LVの組合せは強力な抗腫瘍活性を示し、患者における結腸直腸癌のファーストライン治療として使用されている（ゴールドバー（Goldber）R. M. とエラリヒマン（Erl ichman）C、Oncology 12:59-63頁（1988年）、ザルツ（Saltz）L. B.、コックス（Cox）J. V、ブランケ（Blank e）Cら、New. Eng. J. Med. 343:905-914頁（2000年））。したがって、CPT-11治療に対する上記と同様の試験を動物におけるFU/LVで行った。Colon38腫瘍を有するマウスを4群に分けた。すなわち、群（A）溶媒による治療、群（B）: PHY906のみによる治療、群（C）FU/LVのみによる治療、およびFU/LV+PHY906による治療。各々の治療レジメン（投薬計画）の順序は材料と方法に見られる。この一連の実験において、FU/LVをマウスに0日目には1回のみ投与したが、PHY906は連続4日間、1日2回投与した。

【0256】

体重及び腫瘍サイズの変化を、それぞれ、図5及び6に示されているように毎日モニタリングした。図5に示されているように、4群において体重の変化はほとんど起こらなかった。この所見はCPT-11治療で得られたものとは対照的である。体重減少についてFU/LVの用量反応試験は行われなかったため、この実験で投与されるFU/LVの用量は、毒性及び関連した体重減少を誘発するには十分に高くなかった。体重減少はFU/LVに対するPHY906の保護効果を明らかにするには不十分であったが、図6はPHY906の同時治療がColon38腫瘍を有するBDF-1マウスにおけるFU/LVの抗腫瘍活性を損なうことはなかったことを示す。D群における動物の腫瘍増殖プロフィールはC群におけるよりも低く、PHY906がこの動物モデルにおけるFU/LVの抗腫瘍活性を増強しうることを示している。また、PHY906が同時に投与された処置マウスにおけるFU/LVの血液学的毒性を4、8、及び12日にモニタリングした。FU/LVによって誘発される公知の副作用である白血球減少症および血小板減少症（ファン・デア・ウィルト（van der Wilt）CL、ファン・グレニンゲン（van Groeningen）, CJ、ピネド（Pinedo）H. Mら、J. Cancer

Res. Clin. Oncol. 123:595-601頁(1997年))は、PHY 906によって食い止められなかった(図7)。

【0257】

実施例8: Colon38腫瘍を有するBDF-1マウスにおけるCPT-11/FU/LVの抗腫瘍活性に対するPHY906の効果

FDAは、最近、CPT-11+FU/LVの三重療法を進行性結腸直腸癌のファーストライン治療として承認した(ゴールドバー(Goldber) R. M. とエラリッヒマン(Erllichman) C、Oncology 12:59-63頁(1988年)、ザルツ(Saltz) L. B.、コックス(Cox) J. V、ブランケ(Blanke) Cら、New. Eng. J. Med. 343:905-914頁(2000年))。このレジメン(投薬計画)は腫瘍増殖の進行及び死亡率を遅らせることが証明されている。しかし、重症の、遅発型の下痢が、しばしば、この三重治療レジメン(投薬計画)を受ける患者において確認される。以前の試験では、Colon38腫瘍を有するBDF-1マウスにおけるCPT-11の治療指数を増大しうることが明らかにされた。したがって、三重化学療法の用量規定毒性の緩和に対するその効果について実施例7と同様のプロトコルを使用してPHY906を評価した。Colon38腫瘍を有するBDF-1マウスを2群に分けた。すなわち、群(A)CPT-11/FU/LVのみによる治療、群(B)CPT-11/FU/LV+PHY906による治療。両群において使用されるFU及びLVの用量は、きわめて低い毒性がこれらの用量で以前の試験で確認されたため、各々100mg/kgであった。CPT-11の用量依存試験はこの三重化学療法レジメン(投薬計画)では行われず、200mg/kg又は300mg/kgのいずれかのCPT-11を使用した。各々の治療レジメン(投薬計画)の順序は材料と方法に見られる。PHY906は化学療法後4日間、1日2回投与された。

【0258】

結果は、PHY906が、図8及び9に示されているように、それぞれ、200mg/kg及び300mg/kgの両方のCPT-11での三重療法の抗腫瘍効果を損なうことがないことを示す。図8に示されているように、三重併用療法で200mg/kgのCPT-11を使用することにより、PHY906は、14日目に腫瘍抑制をわずかに増強する($p=0.045$)。300mg/kgのCPT-11では、腫瘍抑制におけるPHY906の増強は14日目では有意ではなかった($p=0.05$)が、PHY906治療を受けなかった群と比べ、21日目では有意であった($p=0.014$)。この結果は、CPT-11/FU/LVの腫瘍抑制に対するPHY906の増強を確認するには長時間が必要でありうることを示す。試験した用量では、PHY906は三重併用療法及びCPT-11治療における抗腫瘍活性に対する同様の有利な効果を示した。

【0259】

三重併用治療で使用された用量では、動物は体重減少を示した。しかし、PHY906は、図10に示されているように、療法中にゆっくりの体重減少を示すことはなかった。また、PHY906は体重減少の回復に影響を及ぼすことはなかった。

【0260】

実施例9: PHY906の存在および非存在下にColon38腫瘍を有するBDF-1マウスにおけるCPT-11/FU/LVの薬物動態

PHY906の存在および非存在下にColon38腫瘍を有するBDF-1マウスにおけるCPT-11/FU/LVの薬物動態が図18-20に示されている。PHY906-は、10%賦形剤(でんぶん)を含有するPHY906の臨床バッチである。

【0261】

血漿中のCPT-11の曲線下面積(AUC)は、CPT-11/FU/LVの三重併用とのPHY906の同時投与後に増大する。PHY906同時投与後に腫瘍又は肝組織のいずれかにおけるCPT-11の有意な変化は認められない。

【0262】

CPT-11の活性代謝産物のSN-38は、血漿、肝、又は腫瘍において無変化のま

まである。

【0263】

血漿及び肝におけるFUおよびそのヌクレオチド／ヌクレオチド代謝産物（FU＋FUR＋FUMP）のAUCは、CPT－11／FU／LVの三重併用とのPHY906の同時投与後に変化する。

【0264】

実施例10：ヒトHepG2腫瘍を有するヌードマウスにおけるCPT－11の抗腫瘍活性および毒性に対するPHY906の効果

上記実施例、具体的には、実施例5、7、及び8の結果は、化学療法剤とのPHY906の組合せは化学療法剤の抗腫瘍効果を強化し、さらに腫瘍増殖を遅らせる。PHY906に含まれる薬草の既知の薬理学的プロファイルに基づき（表1）、この増強効果は正常マウスにおける免疫系及び／又は血液系により作用しうることが考えられる。したがって、実験は、免疫系及び血液系が不足しているヌードマウスにおいてこの仮説を試験するように考えられた。

【0265】

ヒトHepG2腫瘍細胞をNcrヌードマウスに移植し、CPT－11の抗腫瘍活性に対するPHY906の効果を試験した。以前の実験では、ヌードマウスにおけるCPT－11の最大耐量が、本試験で使用された200mg/kgであったことを示した。CPT－11（200mg/kg/kg i. p.）を0日目に投与した。PHY906を0日目から500mg/kgで1日2回投与した。図11に示されているように、PHY906はヌードマウスにおけるヒトHepG2異種移植片に対するCPT－11の抗腫瘍効果を損なうことはなかった。しかし、BDF－1マウスにおける所見とは異なり、PHY906は、CPT－11によって引き起こされる体重減少（図12）又は動物死（データを示さず）の予防に対する有利な効果を示さなかった。PHY906が正常マウスでは保護されるように、ヌードマウスを体重減少から保護することがないという事実は、PHY906がその効果を、ヌードマウスには欠けている血液系および免疫系によって発揮することを示す。

【0266】

実施例11：CPT－11の抗腫瘍効果に対する種々の漢方薬剤の効果、マウスにおける体重減少、生存

下痢は、癌化学療法剤で処置した患者における用量規定毒性の1つである。PHY906に加えて、他の下痢止め薬を試験した。これらには、PHY－14ST、PHY－15ST、及びPHY－915などの漢方のほか、CPT－11誘発遅延発症型下痢に対する下痢止め薬として現在推奨されているロペラミドが含まれた。

【0267】

腫瘍増殖阻害及び体重減少に加えて、われわれは、CPT－11の1回ボラス投与と組合せた種々の薬草製剤を投与するマウスにおける生存率を試験した。試験したいくつかの製剤のうち、PHY906は、PHY906に含まれる特定の薬草は他の薬草製剤中にも存在しているが、CPT－11の抗腫瘍活性を増強することが確認される唯一の製剤であった（表9）。死亡率試験において、PHY906は、動物の死亡率に対する統計的効果を示さなかった（ $P=0.044$ ）。PHY－14ST、PHY－15ST、およびロペラミドなど試験した他の下痢止め薬は、CPT－11の体重減少に対する保護又は抗腫瘍効果の増強において完全に無効であることが確認された。意外にも、PHY915は、CPT－11の抗腫瘍活性を減少させることが確認された（表10）。

【0268】

【表 1 2】

表10. Colon 38腫瘍を有するCPT-11処置BDF-1マウスに対する異なる薬草製剤の効果

薬草製剤 (1 g ^c /kg、 bid、8日)	体重減少 からの保護	P値 ^{b、d}	抗腫瘍効果	P値 ^{b、e}	動物の死亡 ^a (死亡/総)
なし					7/40
PHY906	有意	0.0004	強化	0.0027	0/24
PHY14ST	無変化	0.1072	無変化	0.2742	1 ^f /10
PHY15ST	無変化	0.3259	無変化	0.6535	0/3
PHY915	有意	0.0306	減少	0.0885	0/5
ロペラミド	無変化	0.9706	無変化	0.1595	3 ^g /10

^a 全動物を14日間観察した^b p値は対応のあるスチューデントのt検定を使用して計算された^c 賦形剤を含有する製剤の乾燥重量に基づく^d CPT-11処置マウスが最大の体重減少に達した日に計算^e 初期薬剤治療後6日での腫瘍サイズで計算^f マウス1匹が6日目に死亡した^g マウスが3日目(N = 1)、4日目(N = 1)、および5日目(N = 1)に死亡した

【0 2 6 9】

実施例 1 2：種々の細胞系における P H Y 9 0 6 の細胞毒性

品質保証の尺度としてインビトロ細胞モデルを評価するために、種々のヒト腫瘍細胞系及びマウス C o l o n 3 8 腫瘍細胞系の増殖阻害に対する P H Y 9 0 6 の 2 種類の製剤 (P H Y 9 0 6 A および P H Y 9 0 6 B) の効果を試験した。表 1 1 に示されているように、 P H Y 9 0 6 A 及び P H Y 9 0 6 B は、細胞系の中で増殖阻害活性における有意差を示さなかった。注目すべきは、 H e p G 2 細胞系は、ヒト細胞系以外の P H Y 9 0 6 により敏感であることがわかった。

【0 2 7 0】

【表 1 3】

表11. 異なる細胞系におけるPHY906の細胞毒性

薬草 製剤 ^b	KB	IC ₅₀ (mg/ml) ^a			
		HepG2	CEM	HCT116	Colon 38
PHY906A	0.67±0.26	0.14±0.08	0.73±0.17	0.65	0.08±0.02
PHY906B	0.90±0.5	0.09±0.06	0.64±0.01	0.6	0.07±0.02

^a 未加工薬草の水性抽出物の乾燥重量に基づく^b PHY906の異なる研究用バッチ

【0 2 7 1】

上記の実験の結果は、 P H Y 9 0 6 が、 C P T - 1 1、 F U / L V、又は C P T - 1 1

／FU／LVによる三重併用療法の治療によって誘発される一部の宿主毒性を削減することを示す。植物性薬剤PHY906は、試験した化学療法剤の抗腫瘍活性を維持するだけでなく、強化もする。実際に、PHY906は、Colon38腫瘍を有するマウス及びヌードマウスにおけるヒトHepG2異種移植片における全体的な抗腫瘍活性を増大させることによってCPT-11、FU／LV、及びCPT-11／FU／LVの治療指数を増強する。これらの所見は2種類の腫瘍モデルにおけるいくつかの抗癌薬剤で試験された（図3、6、8、9、および11）。

【0272】

実施例13：L-OddCで処置したColon38接種マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906の効果

10

PHY906を、Colon38腫瘍細胞を接種したマウスにおける腫瘍増殖のL-OddC（ベーター-ル-ジオキソラン-シチジン）のモジュレータとして評価した。マウスにマウスColon38腫瘍細胞の皮下注射を受けさせた。癌細胞の接種の数日後、マウスをL-OddC（25mg/kg）で腹腔内及びPHY906（500mg/kg b.i.d.）の経口投与で処置した。次いで、動物に対し同じ用量のPHY906のみを実験の残りの間、継続的に投与した。

【0273】

図13に示されているように、L-OddCによる治療は、PHY906がL-OddCの抗腫瘍効果を妨げることも損なうこともないことを示す。現に、データは、この薬草医薬が実質的にL-OddC抗腫瘍活性を増強しうることを示す。

20

【0274】

したがって、これらの結果は、薬草PHY906をL-OddC化学療法のモジュレータとして使用し、L-OddCの抗腫瘍効果を損なうことなく毒性副作用を有意に改善および緩和しうることを示す。

【0275】

実施例14：VP-16で処置したColon38接種マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906の効果

PHY906を、Colon38腫瘍細胞を接種したマウスにおける腫瘍増殖のVP-16（エトポシド、トポイソメラーゼII阻害剤）療法のモジュレータとして評価した。マウスにマウスColon38腫瘍細胞の皮下注射を受けさせた。癌細胞の接種の数日後、マウスをVP-16（25mg/kg）で腹腔内およびPHY906（500mg/kg b.i.d.）の経口投与で処置した。次いで、動物に対し同じ用量のPHY906のみを実験の残りの間、継続的に投与した。

30

【0276】

図14に示されているように、VP-16による治療は、PHY906によりVP-16の抗腫瘍効果を妨げることも損なうこともないことを示す。実際に、データはこの薬草医薬が実質的にVP-16の抗腫瘍活性を強化しうることを示す。

【0277】

したがって、これらの結果は、薬草PHY906をVP-16化学療法のモジュレータとして使用し、VP-16の抗腫瘍効果を損なうことなく毒性副作用を有意に改善および緩和しうることを示す。

40

【0278】

実施例15：5-フルオロウラシルで処置したColon38接種マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906の効果

PHY906を、Colon38腫瘍細胞を接種したマウスにおける腫瘍増殖の5-フルオロウラシル（FU）のモジュレータとして評価した。マウスにマウスColon38腫瘍細胞の皮下注射を受けさせた。癌細胞の接種の数日後、マウスを5-フルオロウラシルで2つの用量（0日目に250mg/kg 1回量、または30mg/kgを毎日、0日から4日目まで投与）で腹腔内、及びPHY906（500mg/kg b.i.d.）を経口投与によって処置した。次いで、動物に対し同じ用量のPHY906のみを実験

50

の残りの間、継続的に投与した。

【0279】

図15及び16に示されているように、5-フルオロウラシルによる治療は、PHY906により5-フルオロウラシルの抗腫瘍効果が妨げられず、損なわれないことを明らかに示す。現に、データは、この薬草医薬が実質的に5-フルオロウラシルの抗腫瘍活性を増強しうることを示す。

【0280】

したがって、これらの結果は、薬草PHY906を5-フルオロウラシル化学療法のもジュレータとして使用し、5-フルオロウラシルの抗腫瘍効果を損なうことなく毒性副作用を有意に改善及び緩和しうることを示す。

10

【0281】

実施例16：CPT-11及びロペラミドで処置したColon38接種マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906の効果

PHY906を下痢止め薬ロペラミドの存在下にColon38腫瘍細胞を接種したマウスにおける腫瘍増殖のCPT-11療法のモジュレータとして評価した。マウスにマウスColon38腫瘍細胞の皮下注射を受けさせた。癌細胞の接種の数日後、CPT-11(400mg/kg i.p.)を単独で、経口投与されるPHY906(500mg/kg i.d.)の存在下、又はロペラミド(2mg/kg, p.o., b.i.d.)の存在下にマウスを処置した。

【0282】

20

図17は、PHY906及びロペラミドの抗腫瘍効果の比較である。図17に示されているように、PHY906存在下のCPT-11は、ロペラミドよりも腫瘍増殖の削減により有効である(初期腫瘍重量の比率で判定)。

【0283】

これらの予備結果は、薬草PHY906が、遅延型CPT-11誘発下痢についてロペラミドの標準投与よりも有効であることを示す。

【0284】

実施例17：イリノテカンと併用した場合のPHY906投与の最小有効量(MED)および最適な持続期間を決定する

はじめに：いくつかの試験では、7つの薬草からなる漢方薬が、動物におけるCPT-11誘発下痢の発生を予防し、インビボでCPT-11誘発下痢の重篤度を削減することにおいて有効であることが示されている(モリ(Mori)、1998年)。

30

【0285】

PHY906もインビボ動物モデル評価されており、イリノテカン誘発毒性の重篤度を削減することが証明されている。したがって、ヒトにおける安全性を明らかにする長い歴史的経験(1500年)、動物モデルにおける本化合物の有望な前臨床活性、及びこの状況における関連薬草化合物について注目される潜在的活性に基づき、試験を行い、体重減少、下痢、全体的な一般状態、および生活の質などの化学療法誘発毒性の重症度、及び不応性進行性結腸直腸癌患者におけるイリノテカン又は他の薬剤の抗腫瘍活性に対するPHY906の効果を評価することができる。

40

【0286】

本試験には組織学的に確認された、FU不応性、進行性結腸直腸癌患者が含まれる。測定可能又は評価可能な疾患は必要ではない。中枢神経系(CNS)転移を有する患者は、CNS疾患が手術、化学療法、及び/又は放射線療法の終了後少なくとも4週間安定したままであったことを条件として適格である。

【0287】

試験の参加者は年齢18歳以上であり、重大な基礎内科疾患を有さない。すべての患者は、ECOD 0-2の一般状態、少なくとも3か月の余命を有し、かつインフォームドコンセントを行った。(ECOGは東部癌共同研究グループ(Eastern Cooperative Oncology Group)の略語である。ECOG 0=正常な

50

活動を行う患者、E C O G 1 = 最小限の症状を有する患者、E C O G 2 = 病床時間が50%未満の患者、E C O G 3 = 病床時間が50%を超える患者、E C O G 4 = 寝たきりの患者。) 患者は以前の手術の影響から完全に回復している必要があり、本試験への参加の4週間以内に広範囲放射線または化学療法を受けていない(ニトロソウレアまたはマイトマイシンCでは6週間)。A N C (絶対好中球数)が $1500/\mu\text{l}$ 以上、血小板数が $40\text{ml}/\text{分}$ 以上、及び総ビリルビンが $2.0\text{mg}/\text{dl}$ 以下が試験参加のために必要である。

【0288】

治療前評価：治療開始前、すべての患者は完全な病歴、身体検査、及びその一般状態の測定を行う。実験室検査には、差動装置による完全血球算定(CBC)、血清アルブミン、電解質、グルコース、血中尿素窒素(BUN)、クレアチニン、血清カルシウム及びマグネシウム、肝機能検査、プロトロンビン及び部分トロンボプラスチン時間、及び尿検査が含まれる。

10

【0289】

治療：イリノテカンを凍結乾燥粉末から滅菌水 2ml へ再構成し、D5W(水中5%デキストロース) 100ml 中に希釈し、 $125\text{mg}/\text{m}^2$ の用量で90分間にわたって投与する。イリノテカン化学療法は、参加病院の各々の外来クリニックで2週間の休息期間を含む4週間の週単位スケジュールで行われる。

【0290】

PHY906は、食前30分の空腹時に摂取される。化学療法の治療日、最初の用量はイリノテカンの投与前に摂取される。

20

【0291】

PHY906は 0.60g の初期用量で開始して各食事前に1日3回経口投与される。(総1日量、 $1.80/\text{gm}/\text{日}$)。アジアの患者によって現在使用されているPHY906の用量は $7.2\text{gm}/\text{日}$ であり、現在まで、有害事象は確認されていない。したがって、本試験を開始するために提案されている用量は薬草医薬の通常の用量の $1/4$ である。PHY906は、2週間の休息を含むイリノテカンと共に化学療法の全4週間コースの間投与される。最小3例の患者をこの初期用量レベルのPHY906で処置する。患者3例は全6週間の周期を完了し、患者3例中1例も用量規定毒性(DLT)を経験しない場合は、次の高い用量をその後の患者3例の群のために使用する。すべての患者において、薬物動態試験を第1の周期の化学療法の開始後24時間行う。

30

【0292】

患者3例中1例がDLTを経験した場合は、さらに患者3例を同じ用量レベルで処置する。次の3例中1例以上がDLTを経験した場合は(全患者6例中1例または2例)、そのような事象が倍化スキーム中に起こり、次の拡大が修正フィボナッチスキームでレベル $n+1$ になる場合を除き、次ぎの用量レベルに拡大する(表12)。

【0293】

【表 1 4】

表12. PHY906の用量拡大スケジュール

用量レベル	拡大	総量(gm/日)
1	開始	1.8
2	2×レベル1	3.6
3	2×レベル2	7.2
7.2 gm/日用量レベルが達成され、同レベル「n」でグレード2以上の毒性が確認されない場合、 以下に示される修正フィボナッチ拡大を実行する		
N+1	1.5×レベルn	
N+2	1.33×レベルn+1	
N+3	1.25×レベルn+2	
すべてのその後のレベル:最大耐量が達成されるまで25%増加		

10

【0 2 9 4】

PHY906の用量拡大スケジュール：臨床的に示され、治験責任医師によって必要とみなされる場合は、上記のレベルではなく、低い用量レベルを使用することができる。

20

【0 2 9 5】

被験者の参加及び次ぎの用量レジメン（投薬計画）への拡大の程度は、各用量レベルで参加した患者の安全性プロファイルの評価によって決まる。NCI臨床試験ガイドライン（CTG）拡大一般毒性基準に従って毒性を評価して採点する。

【0 2 9 6】

このプロトコールのための制吐スケジュールは、生理食塩水50ml中に混合したグラニセトロン1－2mgから成り、各治療日に化学療法の1／2時間前に投与される。制吐薬（静脈内又は経口投与される）は、必要に応じて8時間毎に繰り返し、吐き気及び／又は嘔吐を制御する。治療は毎週、連続4週間繰り返した後、2週間休息する。これが1周期の療法を構成する。

30

【0 2 9 7】

イリノテカン注入中またはその直後に起こる下痢は、アトロピン（0.5－1mg）静脈内で処置を行う。イリノテカン投与後12時間以上起こる下痢については、最初の下痢の徴候の時点で、ロペラミド4mg経口で処置した後、2時間毎に2mg経口（夜間は4時間毎に4mg経口）で少なくとも12時間、下痢の完全解消まで処置する。下痢が血性であり、101.6°F以上の熱を伴い、12時間以上継続して衰えない場合は、患者を入院させ、さらに検査と治療を行う。

【0 2 9 8】

イリノテカンの用量変更：本試験におけるイリノテカンの用量拡大は行われたい。毒性に対する用量変更は、メーカーによって提供される添付文書で推奨されている通り行う（表13）。

40

【0 2 9 9】

【表 15】

表13. 週1回および3週1回のスケジュール用の推奨用量修正

新しい治療コースは顆粒球数が $1500/\text{mm}^3$ 以上に回復し、血小板数が $100,000/\text{mm}^3$ に回復し、かつ治療関連性下病が完全に消散されるまで開始しないこと。治療は1〜2週間遅らせ、治療関連性毒性からの回復を可能にする。患者が2週間遅延後に回復しなかった場合は、カンプトサルルの中止を考慮すべきである。

週1回毒性 NCLグレード ^b 値	治療コース中	次の治療の開始時(十分な回復後)、以前のコースにおける開始用量と比較 ^a	
	週1回	週1回	3週1回
毒性なし	用量レベルを維持	最大量 $150 \text{ mg}/\text{m}^2$ まで $\uparrow 25 \text{ mg}/\text{m}^2$	1 用量レベルを維持
好中球減少症 1($1500 \sim 1999/\text{mm}^3$) 2($1000 \sim 1499/\text{mm}^3$) 3($550 \sim 999/\text{mm}^3$) 4($<500/\text{mm}^3$)	用量レベルを維持 $\downarrow 25 \text{ mg}/\text{m}^2$ 用量省略、次いでグレード2以下に消散すると $\downarrow 25 \text{ mg}/\text{m}^2$ 用量省略、次いでグレード2以下に消散すると $\downarrow 50 \text{ mg}/\text{m}^2$	用量レベルを維持 用量レベルを維持 $\downarrow 25 \text{ mg}/\text{m}^2$ $\downarrow 50 \text{ mg}/\text{m}^2$	用量レベルを維持 用量レベルを維持 $\downarrow 25 \text{ mg}/\text{m}^2$ $\downarrow 50 \text{ mg}/\text{m}^2$
好中球減少性 発熱 (グレード4 好中球減少症および グレード2発熱)	用量省略、次いで消散すると $50 \text{ mg}/\text{m}^2$	$\downarrow 50 \text{ mg}/\text{m}^2$	$\downarrow 50 \text{ mg}/\text{m}^2$
その他の 血液 毒性	白血球減少症、血小板減少症用、およびNCI毒性基準にも基づく用量修正、およびその後の治療コースの開始時に同じものが上記の好中球減少症(neutropenia)に推奨される		
下痢 1(2-3便/日>pretx ^c) 2(4-6便/日>pretx ^c) 3(7-9便/日>pretx ^c) 4(=10便/日>pretx ^c)	用量レベルを維持 $\downarrow 25 \text{ mg}/\text{m}^2$ 用量省略、次いでグレード2以下に消散すると $\downarrow 25 \text{ mg}/\text{m}^2$ 用量省略、次いでグレード2以下に消散すると $\downarrow 50 \text{ mg}/\text{m}^2$	用量レベルを維持 用量レベルを維持 $\downarrow 25 \text{ mg}/\text{m}^2$ $\downarrow 50 \text{ mg}/\text{m}^2$	用量レベルを維持 用量レベルを維持 $\downarrow 50 \text{ mg}/\text{m}^2$ $\downarrow 50 \text{ mg}/\text{m}^2$
その他 非血液 毒性 1 2 3 4		用量レベルを維持 用量レベルを維持 $\downarrow 25 \text{ mg}/\text{m}^2$ $\downarrow 50 \text{ mg}/\text{m}^2$	用量レベルを維持 用量レベルを維持 $\downarrow 25 \text{ mg}/\text{m}^2$

^a すべての用量修正は最悪の先行毒性に基づくこと

^b 国立癌研究所共通毒性基準

^c 前処置

【0300】

反応及び毒性評価：毒性は毎週の身体検査及び血球数によって評価され、国立癌研究所一般毒性基準に従って採点される。これらの評価及び完全化学プロフィールを各治療前に繰返す。

【0301】

患者もその腸の傾向及び抗運動剤の使用の日誌をつける。この日誌には、PHY906

10

20

30

40

50

の摂取時間、その腸運動の頻度及び稠度（形成、ゆるい、又は水っぽい）、及びこの症状を管理するために患者によって使用された抗運動治療が含まれる。

【0302】

治験看護師が最初の周期の間の来院間の少なくとも週1回、各患者と接し、下痢の管理および日誌の完了に関する指示を補強する。無力、吐き気、嘔吐、食欲喪失を含む全体的な生活の質も確立されたF A S T法を使用して評価する。

【0303】

錠剤数は、治療のための臨床診察に対して薬剤師によって行われ、PHY906のコンプライアンスを評価する。疾患反応の評価を2回の治療周期毎に行う。反応はECOG基準に従って定義され、測定可能又は評価可能な疾患を有するすべての患者において評価されるが、本試験における評価項目を構成することはない。

10

【0304】

イリノテカンの薬物動態：選択患者において、薬物動態試験を行い、PHY906がイリノテカンの代謝及び除去に影響を及ぼすかどうか評価する。これらの患者において、イリノテカンの第1の用量のみを投与し（周期1／1日目）、PHY906を2日目に開始する。

【0305】

周期1、1日目、及び周期1、8日目、イリノテカン投与直前、イリノテカンの注入中30、60、90分、及び注入の終了後0.5、1.5、3.5、及び6時間にヘパリン化チューブに採血する。ポリスチレンチューブ中内部標準溶液500 μ lに添加した血漿2.50 μ lで検体を直ちに処理する。内部標準溶液は、100ml中4.0mlの氷酢酸で酸性化したアセトニトリル中カンプトセシン50 μ g/mlからなる。検体を30秒間ボルテックスし、15分間40℃水浴中に配置し、室温で冷却し、次いで25mMトリエチルアミン緩衝液（pH4.2）900 μ lと混合する。上清を1.5mlエッペンドルフチューブに移し、微小遠心管で4分間13,000 x gで遠心分離し、澄んだ上清のアリコートを高性能液体クロマトグラフィー（HPLC）によって分析する。

20

【0306】

クロマトグラフィー分析を λ EX372nm及び λ Em535nm（ファルマシア・アンド・アップジョン（Pharmacia & Upjohn）SOP#UPJ-120-5）を使用する1ml/分で72:28（v/v）25mM TEA/アセトニトリル緩衝液で溶出したマイクロソール（Microsorb）C18（4.5×250mm、5 μ 粒径）逆相HPLCカラムで行う。最大血漿濃度、終末半減期、及びAUC（曲線下面積）をPC-NONLINソフトウェア（サイエンティフィック・コンサルティング・レキシントン（Scientific Consulting Lexington）、ケンタッキー州（KY）および標準薬物動態方程式を利用するデータの非コンパートメント分析によって測定する。薬物動態試験を、周期1／1日目及び周期1／8日目にを行い、PHY906への曝露の延長によりイリノテカンの血漿クリアランスに対する累積効果が生じるかどうか判定する。

30

【0307】

実施例18：膀胱癌、肝細胞癌、及び結腸直腸癌に対するPHY906の効果

40

A. 材料と方法

薬剤：ゲムシタビンHCl（ゲムザール（Gemzar）（登録商標））をエリ・リリー・アンド・カンパニー（Eli Lilly and company）（Indianapolis、インディアナ州（IN）から購入した。³H-ゲムシタビン（50% EtOH中14 Ci/mmol、1mCi/ml）をモラベック・バイオケミカルズ社（Moravsek Biochemicals, Inc.）（Brea、カリフォルニア州（CA））から購入した。テトラヒドロウリジン（THU）をカルビオケム（Calbiochem）（San Diego、カリフォルニア州（CA））から購入した。³’-アジド-3’-デオキシチミジン（AZT）及び5-フルオロウラシル（5-FU）をシグマ・ケミカル社（Sigma Chemical Co.）（St. Louis、ミズー

50

リ州 (MO)) から購入した。カペシタビン (ゼローダ (Xeloda) (登録商標)、CAP) をロシュ・ラボラトリーズ社 (Roche Laboratories Inc.) (Nutley、ニュージャージー州) から購入した。PHY906の臨床パッチ (PHY906-6、FDA 165542) は10%賦形剤とともにサン・テン製薬会社 (Sun Ten Inc.) (台北、台湾) によって調製された。PHY906処方 は4つの薬草からなる。すなわち、スクテラリア・バイカレンシス・ゲオロギ (*Scutellaria baicalensis Georgi*)、パエオニア・ラクチフローラ・パル (*Paeonia lactiflora Pall*)、ジジフス・ジュジュバ・ミル (*Ziziphus jujuba Mill*)、及びグリキリザ・ウラレンシス・フィッシュ (*Glycyrrhizae uralensis Fisch*) であり、相対重量比は3:2:2:2である。賦形剤が未知の量の非臨床パッチ906MTをミン・トン製薬会社 (Min Tong Pharmaceutical Co., Ltd) (台中、台湾) から購入した。

10

【0308】

マウス：体重が16~20g (4~6週齢) のメスBDF-1及びC57BL/6マウスをチャールズ・リバー・ラボラトリーズ (Charles River Laboratories) (Wilmington、マサチューセッツ州 (MA)) から購入した。体重が16~20g (4~6週齢) のオスNCr無胸腺ヌードマウス (4週齢) をタコニック・ファームズ (Taconic Farms) (Garmantown、ニューヨーク州 (NY)) から購入した。マウス膀胱癌PAN02をNCI-フレデリック癌研究施設 (Frederick Cancer Research Facility) (Frederick、メリーランド州 (MD)) から購入した。

20

【0309】

ゲムシタビン溶液の調製：ゲムシタビンHCl粉末200mgをPBS (リン酸緩衝生理食塩水) 6.66mlで30mg/mlの最終濃度に再構成。

【0310】

³H-ゲムシタビン溶液の調製：³H-ゲムシタビン10マイクロリットル (10μl C) をスピードバック (Speedvac) 下に乾燥させ、エタノールを除去し、次いで30mg/mlゲムシタビン250μlと混合し、0.4mCi/mmolの放射能特異性を有する最終溶液を得た。この³H-ゲムシタビンの最終濃度は30mg/mlであった。

30

【0311】

カペシタビン錠からのカペシタビン溶液の調製：カペシタビン (150mg/錠) を溶媒として5%アラビアゴムを含有する40mMクエン酸緩衝液 (pH6.0) 中に溶解した。最終溶液はカペシタビン36mg/mlを含有する。

【0312】

乾燥粉末からの薬草抽出物の調製：薬草抽出の調製をSOP#HERB-001-PHY906に従った。手短に言えば、10% (PHY906の臨床パッチ) でんぷん賦形剤を含有するPHY906乾燥粉末の種々のパッチ1グラムを80℃H₂O 10mlに添加し、80℃で30分間インキュベートした。上清を室温で遠心分離 (2060g、15分) によってデブリから分離した。PHY906上清の濃度を、乾燥粉末の乾燥重量に基づき、PHY906 (1g/10ml×0.9) の臨床パッチに対して90mg/mlとして計算した。906MTの賦形剤量は未知であったため、この製剤の濃度を100mg/mlとみなした。薬草抽出物を水で50mg/mlに希釈し、室温で保存し、24時間以内に使用した。静置で生じた残留沈殿剤を懸濁液へボルテックスし、動物の治療のために使用した。

40

【0313】

腫瘍細胞：ヒト肝細胞癌HepG2、ヒトPANC-1膀胱癌細胞系、及びマウスColon38結腸直腸癌細胞系をアメリカン・タイプ・カルチャー・コレクション (American Type Culture Collection) (Rockville、

50

メリーランド州 (MD) から購入した。Hep G2 及び Colon 38 細胞系はルーチンに MEME 培地で増殖させたが、PANC-1 細胞系は、10% ウシ胎仔血清 (FBS) を補充した DMEM 培地で増殖させた。NCI からマウス PANO2 の小さい塊を総量 0.8 ml としての PBS 溶液中に懸濁した。細胞をマウスの左脇腹に移植した。マウスからマウスへの腫瘍移植を腫瘍が 1500-2000 mm³ に達した場合に行った。

【0314】

マウス腫瘍モデル：腫瘍細胞 (0.1 ml PBS 中 5×10^6 細胞) をマウスの左脇腹に皮下移植した。14 日後、サイズが 300-500 mm³ の腫瘍を薬剤試験のために選択した。各々の腫瘍の長さ及び幅を滑動計で測定した。腫瘍重量を次式に従って推計した：

$$\text{腫瘍重量 (mm}^2\text{)} = \text{長さ (mm)} \times \text{幅 (mm)}^2 / 2。$$

試験を行い、動物をエール動物施設 (Yale Animal Facility) で維持した。

【0315】

PHY906 の存在又は非存在下の化学療法剤の抗腫瘍活性：全部で 20 匹の腫瘍を有するマウスを 4 群 (N=5 マウス/群) に分けた。すなわち、

- 1) 溶媒
- 2) PHY906
- 3) 化学療法剤
- 4) PHY906 + 化学療法剤

【0316】

薬剤治療の第 1 日を 1 日目と規定した。PHY906 (500 mg/kg、bid) を指示日の化学療法剤の 30 分前にマウスに経口投与した。化学療法剤を指示した用量及びスケジュールで腹腔内又は経口のいずれかで投与した。マウスの腫瘍サイズ、体重、死亡率を毎日モニタリングした。腫瘍サイズが体重の 10% に達した場合に犠死させた。

【0317】

血漿処理：マウス血漿を 4℃ 下 10 分間、10,000 g で遠心分離によって血液から分離した。

a) カペシタビン含有試料：血漿 (50 µl) を内部標準として 5-ヨードウラシル (IU) (50 µg/ml) 10 µl の存在下にアセトニトリル 200 µl で抽出した。遠心分離後、カペシタビン含有試料からの上清をスピードバックによって乾燥させ、0.1 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (pH 4.8) 50 µl で再構成し、水飽和酢酸エチル 1.3 ml で抽出した。有機層を遠心分離 (4℃ 下 10 分間 10,000 g) 後に分離し、スピードバックによって乾燥させ、水 100 µl で再構成した。

b) ゲムシタビン含有血漿：血漿 (50 µl) を内部標準として 0.1 mM AZT 5 µl の存在下にアセトニトリル (ACN) 200 µl で抽出した。遠心分離後、上清をスピードバックによって乾燥させ、2.5% ACN 及び 97.5% の 15 mM 酢酸アンモニウム (pH 5.0) を含有する溶液 100 µl で再構成した。

【0318】

次いで、結果として生じる分析物を UV 吸収及び/又は放射能による HPLC によって分析した。

【0319】

試験の統計的分析及び統計的検出力 (ジグル (Diggle) ら、Analysis of Longitudinal Data、第 2 版、Oxford: オックスフォード・サイエンス・パブリケーションズ (Oxford Science Publications) (1984 年))：無作為効果モデルを使用し、同様の投与動物試験からのデータを分析した。SAS における PROC MIXED 法を使用し、同じマウスから採集した所見の相関を考慮した。

【0320】

以下のモデルを使用し、時系列データを分析した： $y_{ijk} = \mu + \alpha t_k + \beta (I_D t_k) + \gamma (I_P t_k) + \delta (I_D I_P t_k) + e_{ijk}$ 、
ここで、 k 時点で i 群（未治療、薬剤のみ、PHY906のみ、及び薬剤+PHY906）の j 個人の相対腫瘍サイズであり、 t_k は k 時点、 α は基準時間効果（未治療群）、 I_D 及び I_P は、薬剤処置とPHY906処置を有するための指標変数、 β は薬剤特異的線形時間効果、 γ はPHY906特異的線形時間効果、 δ は薬剤－PHY906相乗線形時間効果、及び e_{ijk} は残留（誤差）項である。われわれは、異なる個人からの誤差は独立しており、異なる時点での同じ個人からの誤差は自己回帰モデル、AR(1)に従うと想定し、同じ治療群内の同じ個人からの所見はより相関性であり、より近い時点からの反応は同じ個人内でより関連性であるということを考慮した。SAS 8.01におけるPROC MIXEDを使用し、統計的分析を行った。

【0321】

B. 結果

1. 膀胱癌

a) マウスPAN02を有するC57/BLマウスにおけるゲムシタビンの種々の用量の抗腫瘍活性におけるPHY906の効果

ゲムシタビンの抗腫瘍活性の改善のためにPHY906とゲムシタビンの併用における最良の投与計画を決定するために、500mg/kgでの固定用量のPHY906と組合せたゲムシタビンの150、300、及び600mg/kgの3種類の用量を、PAN02マウス膀胱癌を有するC57/BL6マウスにおいて試験した（表14）。図21-23に示されているように、PHY906はPAN02を有するマウスにおけるゲムシタビンの抗腫瘍活性を有意に増強した（ゲムシタビンの3つの用量すべてにおいて $p < 0.001$ ）。明らかに、600mg/kgでのゲムシタビンで処置したマウスは、低いゲムシタビン用量でよりも優れた抗腫瘍効果を示した。150mg/kgの用量でのゲムシタビンは、PHY906のみではそうであったように、このマウスモデルでは抗腫瘍活性を有することはなかった。

【0322】

【表16】

表14. PAN02マウス膀胱癌モデルにおけるPHY906およびゲムシタビンの治療条件の要約

実験番号	セット	マウス系	腫瘍の 開始サイズ (mm ³)	ゲムシタビン の用量 (mg/kg) (ip, D1 & 8)	PHY906 のバッチ	PHY906 ^a の用量 (mg/kg) (po, D1-4 & 8-11)
1	2	C57/BL6	300-500	150	906-6	500
2	2	C57/BL6	300-500	300	906-6	500
3	2	C57/BL6	300-500	600	906-6	500
4	3	BDF-1	300-500	300	906-6	500
5	3	BDF-1	300-500	600	906-6	500
6	3	BDF-1	300-500	300	906MT	1000 ^b

^a PHY906の濃度は正確な賦形剂量に基づき計算された(10%)

^b 906MTにおける賦形剤の量は未知であり、濃度は乾燥粉末の乾燥重量に基づき計算された

【0323】

b) マウスPAN02を有するBDF-1マウスにおけるゲムシタビンの種々の用量の

抗腫瘍活性における P C R の効果

C 5 7 / B L 6 マウスに加えて、P H Y 9 0 6 も種々のマウス種におけるゲムシタビンの抗腫瘍活性について試験した。したがって、P A N 0 2 腫瘍を B D F - 1 マウスに移植した。図 2 4 - 2 5 に示されているように、3 0 0 m g / k g から 6 0 0 m g / k g までのゲムシタビン投与量の増加により、ゲムシタビンのみと P H Y 9 0 6 及びゲムシタビン治療の同時使用との間の腫瘍増殖速度の相違が増大した。結果は、ゲムシタビンの抗腫瘍活性における P H Y 9 0 6 の強化が、マウスモデルに関係なく明らかであることを示した。また、6 0 0 m g / k g でのゲムシタビンの用量を、その後の動物実験のために選択した。

【 0 3 2 4 】

c) ヒト P A N C - 1 異種移植片におけるゲムシタビンの抗腫瘍活性における P H Y 9 0 6 の効果

P H Y 9 0 6 を、ヒト P A N C - 1 を有するヌードマウスにおけるゲムシタビンの抗腫瘍活性について試験した。図 2 6 に示されているように、ゲムシタビンと P H Y 9 0 6 の組合せは、第 1 の周期の薬剤治療後にほぼ 6 0 % 腫瘍サイズを縮ませた。投与周期は 1 週間と規定されるが、4 日の P H Y 9 0 6 治療 + 3 日の休息である。腫瘍サイズは、併用薬剤治療の第 2 の周期後に 6 0 % の腫瘍収縮により安定して維持した。マウスは、図 2 7 に示されているように、第 2 の投与周期の開示時に 2 0 % までの体重減少を経験した。併用薬剤治療の第 3 の周期は、腫瘍サイズが 2 1 日目に最初のサイズに戻った場合に 2 6 日目まで開始しなかった。

【 0 3 2 5 】

d) P A N 0 2 を有する B D F - 1 における抗腫瘍活性におけるゲムシタビンに対する P H Y 9 0 6 の非臨床パッチの効果

異なるメーカーからの P H Y 9 0 6 のいくつかの非臨床パッチは、異なる化学的および生物学的反応を明らかに示した。問題は、これらインビトロでの差異が異なるインビボ反応をもたらすかどうかである。P H Y 9 0 6 の臨床パッチからのきわめて異なる化学的および生物学的活性を有した 9 0 6 M T を、P A N 0 2 を有する B D F - 1 マウスにおけるゲムシタビンの抗腫瘍活性における P H Y 9 0 6 と比較した。9 0 6 M T における賦形剤の量は不明であったため、9 0 6 M T の用量を、粉末の乾燥重量に基づき、1 g / k g * で使用した。ゲムシタビンの用量は、1 日目及び 8 日目で 3 0 0 m g / k g b i d であった。9 0 6 M T の投与スケジュールは臨床パッチ P H Y 9 0 6 と同じであった。

【 0 3 2 6 】

図 2 4 に示されているように、P H Y 9 0 6 はゲムシタビンの抗腫瘍活性における効果を有するように思われたが、9 0 6 M T は、図 2 8 に示されているように、ゲムシタビンの抗腫瘍活性における有意な増強を示すことはなかった。これらのインビボ結果は、他のインビトロ薬理学的結果（データを示さず）と一致する。結果は、異なる比率または異なる種のスクテラリア (S c u t e l l a r i a) 、グリキリザ (G l y c y r r h i z a) 、ジジフス (Z i z i p h u s) 、及びパエオニア (P a e o n i a) を含有する製剤が、化学療法における P H Y 9 0 6 と同じ治療効果を有さないことを示した。

【 0 3 2 7 】

e) ゲムシタビン (d F d C) 及びその代謝産物 d F d U の薬物動態に対する P H Y 9 0 6 の効果

将来の臨床試験のために、P H Y 9 0 6 がゲムシタビンの代謝を変化させるかどうか判定するため、腫瘍を有するマウスにおける薬物動態分析を行った。マウスを 1 5 匹の 3 つのセットに分けた。すなわち、ゲムシタビンのみ、ゲムシタビン + P H Y 9 0 6 、及び溶媒対照である。セットの各々のマウスは 2 つの異なる時点で 2 回採血した。血漿を材料と方法に記載した通り処理し、ピーク同一性および定量の放射能確認により H P L C によって分析した。試験は、図 2 9 に示されているように、P H Y 9 0 6 の存在若しくは非存在下に循環 (d F d U) におけるゲムシタビン又はその代謝産物のレベルにおける劇的な差はないことを示した。血漿におけるゲムシタビン及び d F d U の A U C (曲線下面積) 、

10

20

30

40

50

C_{max} （最大薬剤濃度）、 T_{max} （最大薬剤濃度の時間）、及び $T_{1/2}$ （半減期）の計算結果は、表 15 に示されているように、単独又は P H Y 9 0 6 と組合せて投与されたゲムシタビンの有意差を示すことはなかった。

【 0 3 2 8 】

【表 17】

表15. PAN02を有するBDF-1マウスの血漿におけるゲムシタピン(dFdC)およびその代謝産物(dFdU)の薬理動態パラメータに対するPHY906の効果(HPLC-UV/VIS検出データ)

化合物	検出方法	AUC (mg/ml.分)		Cmax (mg/ml)		Tmax (分)		T1/2 (分)	
		dFdC のみ	dFdC+ PHY906	dFdC のみ	dFdC + PHY906	dFdC のみ	dFdC+ PHY906	dFdC のみ	dFdC+ PHY906
dFdC	UV	10.8	15.4	0.23	0.25	15	15	27.0	31.0
dFdC	放射能	15.6	25.0	0.36	0.40	15	15	26.5	34.2
dFdU	UV	3.1	4.4	0.014	0.022	60	120	98.3	69.8
dFdU	放射能	5.8	8.5	0.031	0.048	60	120	93.0	49.2

【0329】

10

20

30

40

50

f) ヒトPANC-1腫瘍を有するゲムシタビン+オキサリプラチン処置Ncrヌードマウスに対するPHY906の効果

膵癌におけるゲムシタビンの単剤療法の不十分な反応により、ゲムシタビンとのいくつかの併用療法が臨床試験のさまざまな相で行われている。中でもオキサリプラチンとゲムシタビンの併用療法である。

【0330】

PHY906は、オキサリプラチンとゲムシタビンの併用療法で腫瘍の進行を遅らせるだけではなく、図30に示されているように、ヒトPANC-1異種移植片マウスモデルにおける初期薬剤治療の7日目に腫瘍サイズを50%に削減したこともわかった。

【0331】

2. 肝細胞癌

a) ヒトHepG2腫瘍を有するヌードマウスに対するCPT-11の抗腫瘍活性に対するPHY906の効果

以前の試験では、さまざまな化学療法剤と組合せたPHY906が、結腸直腸および膵癌インビボモデルにおける化学療法剤の抗腫瘍効果を強化することが示された。PHY906が含まれる薬草の既知の薬理学的プロフィールに基づき、増強効果は正常マウスにおける免疫系及び／又は血液系により作用しうることが考えられる。したがって、実験は、免疫系及び血液系が不足しているヌードマウスにおいてこの仮説を試験するように考えられた。ヒト肝細胞癌HepG2細胞をNcrヌードマウスに移植し、CPT-11の抗腫瘍活性に対するPHY906の効果を試験した。以前の試験では、ヌードマウスにおけるCPT-11の最大耐量が、本試験で使用された200mg/kgであったことを示した。CPT-11(200mg/kg/kg i.p.)を0日目に投与した。PHY906を0日目から500mg/kgで1日2回投与し、8日間続けた。31に示されているように、PHY906はヌードマウスにおけるヒトHepG2異種移植片に対するCPT-11の抗腫瘍効果を増強した。しかし、BDF-1マウスにおける所見とは異なり、PHY906は、CPT-11によって引き起こされる体重減少または動物死の予防に対する有利な効果を示さなかった(データを示さず)。PHY906が、正常マウスでは保護されるように、ヌードマウスを体重減少から保護することがないという事実は、PHY906がその効果を、ヌードマウスには欠けている血液系及び免疫系によって発揮することを示す。

【0332】

b) ヒトHepG2腫瘍を有するヌードマウスに対するカペシタビンの抗腫瘍活性に対するPHY906の効果

カペシタビンは当初、高濃度の活性細胞毒性薬、5-FUを腫瘍組織に送達することが可能な経口利用可能フルオロピリジン類似体として開発された。経口投与後、カペシタビンは肝におけるカルボシキルエステラーゼによって5'-デオキシ-5'-フルオロシチジン(5'-DFCR)に代謝され、次いで肝又は腫瘍におけるシチジンデアミナーゼによって5'-デオキシ-5'-フルオロウリジン(5'-DFUR)に変換される。さらに、5'-DFURは、腫瘍又は肝において豊富である、ピリミジンホスホリラーゼによって5'-フルオロウラシル(5-FU)に触媒活性される(ベルグ(Berg)ら、Semin. Oncol., 25:53-59頁、1998年、シュベッツ(Schwetz)ら、JAMA, 286:2085頁、2001年)。カペシタビンはロザノ(Lozano)らによって、切除不可能な肝胆道癌患者55例を治療する試験が行われたが、わずか13%の反応率しか確認されなかった(アグアヨ(Aguayo)ら、Seminars in Oncology, 28:503-513頁、2001年、レウン(Leung)ら、Seminars in Oncology, 28:514-520頁、2001年、ロザノ(Lozano)ら、Oral Capecitabine(Xeloda) for the Treatment of Hepatobiliary Cancers(Hepatocellular Carcinoma, Cholangiocarcinoma, and Gallbladder Cancer). 19. 2000年、

10

20

30

40

50

P r o c e e d i n g s o f A S C O .

【0333】

動物試験におけるPHY906による5-FUおよびCPT-11/5-FU/LVの抗腫瘍活性における増強に基づき、PHY906が、5-FUの経口プロドラッグであるカペシタビンの抗腫瘍活性を増強するかどうか試験する実験を行った。HepG2ヒト肝細胞を移植した全部で20匹のNcrヌクレオチドマウスを4群に分けた(N=5マウス/群)。すなわち、群(A)溶媒対照、群(B)PHY906(500mg/kg bid、0-3日および7-10日)処置、群(C)カペシタビン(360mg/kg bid×14日)処置、群(D)PHY906(500mg/kg bid、0-3日、7-10日)+カペシタビン(360mg/kg bid×14日)処置。本試験で使

10

【0334】

c) ヒトHepG2腫瘍を有するヌードマウスに対するドキソルビシンの抗腫瘍活性に対するPHY906の効果

PHY906が、ドキソルビシンの抗腫瘍活性を増強するかどうか、PHY906(500mg/kg、po、bid)をドキソルビシン(7.5mg/kg、qd、1、4、7日)と共に、1-4及び8-11日にHepG2異種移植片を有するマウスに投与した。

20

【0335】

d) ヒトHepG2腫瘍を有するヌードマウスに対するサリドマイドの抗腫瘍活性に対するPHY906の効果

ヒトHepG2腫瘍を有するマウスを4群に分けた。すなわち、群A)対照群、B)PHY906治療群：マウスにPHY906(500mg/kg)を1-4日目に1日2回経口投与した、C)サリドマイド群：マウスにサリドマイド(1g/kg)を連続14日間1日1回腹腔内投与した、およびD)PHY906およびサリドマイド群：PHY906をサリドマイドの30分前に投与した。PHY906は、図34に示されているように、ヒトHepG2異種移植片マウスモデルにおけるサリドマイドの抗腫瘍活性を増強した。

30

【0336】

3. 結腸直腸癌

米国特許第10/220,876号明細書及びPCT出願第PCT/US01/07353号明細書(これらは参照によりその全体が援用される)は、Colon38腫瘍を有するマウスにおけるCPT-11、5-FU、CPT-11/5-FU/LV、L-OddC、VP-16の抗腫瘍活性を増強することを示した。結腸直腸癌におけるオキサリプラチンおよびオキサリプラチン/5-FU/LVなど他の投薬計画も調査した。オキサリプラチンは、合成ジアミノシクロヘキサン白金化合物及びシスプラチンの第3世代薬剤であり、白金-DNA付加体形成をもたらし、DNAの完全性を破壊する。オキサリプラチンは結腸直腸癌における有効性を示す最初の白金化合物である(レイモンド(Raymond)ら、Annals of Oncology、9:1053-1071頁、2004年、マーテ(Mathé)ら、Biomedicine & Pharmacotherapy、43:237-250頁、2004年)。オキサリプラチン/5-FU/LVの併用療法は最近、結腸直腸癌患者におけるファーストライン治療としてFDA承認を受けた。オキサリプラチン/5-FU/LVの反応(~50%)は、結腸直腸癌患者における5-FU/LVのものよりも優れている。

40

【0337】

Colon38腫瘍を有するBDF-1マウスにおけるオキサリプラチン、5-FU/

50

L V、及びオキサリプラチン／5-FU／L Vの抗腫瘍活性に対するPHY906の効果を検査した。マウスを8群に分けた（各群N=5）。すなわち、（A）対照溶媒、群（B）オキサリプラチンによる処置、群（C）5-FU／L Vによる処置、群（D）オキサリプラチン／5-FU／L Vによる処置、群（E）PHY906による処置、群（F）PHY906＋オキサリプラチンによる処置、群（G）PHY906＋5-FU／L Vによる処置、及び群（H）PHY906＋オキサリプラチン＋5-FU／L Vによる処置。結果は、図35及び36に示されているように、PHY906が、オキサリプラチン、及びオキサリプラチン／5-FU／L Vの抗腫瘍活性をそれぞれ増強することを示した。オキサリプラチン／5-FU／L Vの併用療法において使用された用量は、結果として、動物における100%の死亡率をもたらした。しかし、データは、PHY906が死亡率を60%に削減するだけでなく、図37に示されているように、オキサリプラチン／5-FU／L Vによって引き起こされる動物死の発生も遅らせることを示した。薬剤処置群の中で、オキサリプラチン／5-FU／L Vによる処置群を除き、治療中に体重減少を経験した動物はいなかった。死亡率により、図38に示されているように、PHY906がオキサリプラチン／5-FU／L Vによって引き起こされる体重減少に対する保護を有するかどうか見出すことはできなかった。

10

【0338】

C. 考察

マウスにおけるオキサリプラチン、5-FU／L V、オキサリプラチン／5-FU／L V、ゲムシタビン／オキサリプラチン、ドキソルビシン、及びサリドマイドの抗腫瘍活性に対するPHY906の効果を検査した。結果は、PHY906が、図30、33、34、35、及び36に示されているように、オキサリプラチン、オキサリプラチン／5-FU／L V、ゲムシタビン／オキサリプラチン、ドキソルビシン、及びサリドマイドの抗腫瘍活性を増強したことを示す。結果もPHY906が死亡率を60%に削減しただけではなく、図37に示されているように、オキサリプラチン／5-FU／L Vによって引き起こされる動物死の発生も遅らせることを示す。

20

【0339】

以前に論じたように、PHY906は、4種類の薬草からなる伝統的な漢方薬であり、1800年以上にわたって、その一部が化学療法を受ける癌患者において一般的に確認される副作用である胃腸病を治療するために使用されている。PHY906は、マウス結腸直腸癌モデルにおけるCPT-11、5-FU、CPT-11／5-FU／L V、VP-16、L-Odd C、及びオキサリプラチンなど広範囲の抗癌剤の抗腫瘍効果の増強に加えて、体重減少や死亡率を含む化学療法誘発毒性を削減することがわかった。

30

【0340】

ヒト肝細胞異種移植片マウスモデルにおいて経口5-FUプロドラッグカペシタビン、ドキソルビシン、サリドマイド、又はCPT-11のいずれかと、またマウス膀胱癌モデルにおけるゲムシタビン、オキサリプラチン、ゲムシタビン／オキサリプラチンとPHY906を同時投与した。試験は、PHY906が化学療法剤の治療指数を有意に増強したことを示す。試験は、PHY906とCPT-11／5-FU／L V及びPHY906とカペシタビン及びPHYとゲムシタビンの動物モデルにおける同時投与が、CPT-11、5-FU、カペシタビン、ゲムシタビン、又はそのそれぞれの代謝産物の薬物動態プロフィールを変化させなかったことも示した。

40

【0341】

生化学試験は、PHY906製剤が広範囲の薬理学的活性を有することを示した。PHY906の作用の潜在的機序としては、（1）MDRの阻害によって化学療法剤の細胞取込みの増強、（2）NF-κB活性の阻害、（3）MMP活性の阻害、及び（4）血管形成の阻害が挙げられる。

【0342】

これらの前臨床インビボ試験は、臨床状況においてPHY906を開発するための論理的根拠提供した。現在、I／II相非盲検用量拡大臨床試験が、肝細胞癌の治療における

50

カペシタビンと組合せた P H Y 9 0 6 の役割を評価するために患者の登録に開放されている。

【0343】

D. 要約

4種類の薬草からなる漢方製剤である P H Y 9 0 6 は、下痢、吐き気、及び嘔吐を含む胃腸（G I）病を治療するために約1800年間使用されている。これらの副作用は、癌化学療法を受ける患者においてきわめて一般的であり、それによって、癌患者におけるかかる症状を緩和し、その生活の質を改善するために P H Y 9 0 6 を使用する可能性が生じる。腫瘍を有するマウスモデルにおいて、P H Y 9 0 6 は、死亡率及び体重減少を削減することによって、C P T-11 ベース及びオキサリプラチンベースの化学療法によって誘発される宿主毒性を有意に減少させた。注目すべきは、P H Y 9 0 6 は、結腸直腸、膵、および肝腫瘍マウスモデルにおいて、C P T-11、C P T-11 / 5-FU / L V、サリドマイド、カペシタビン、ドキソルビシン、ゲムシタビン、オキサリプラチン、及びゲムシタビン / オキサリプラチンを含むさまざまな化学療法剤の抗腫瘍活性を増強したことである。P H Y 9 0 6 は、C P T-11-、C P T-11 / 5-FU / L V-、もしくはカペシタビンベース又はゲムシタビン治療の薬物動態または組織分布を有意に変化させることはなかった。P H Y 9 0 6 の作用機序は、さまざまなサイトカインの調節、細胞透過性および活性化化学物質の輸送の増強、M M P 活性の阻害、及び N F- κ B 発現の制御を含む多因子性である。化学的および生物学的特徴の包括的パネルが開発され、P H Y 9 0 6 の製品の一致性を確実にした。この薬草製剤は、ファーストラインで C P T-11 / 5-FU / L V（ザルツ（S a l z）レジメン投薬計画）で処置された結腸直腸癌患者、又は進行性結腸直腸癌患者のセカンドライン治療における C P T-11 単独での I / I I a 相臨床試験において潜在的な細胞毒性保護剤として試験された。P H Y 9 0 6 が肝細胞癌患者におけるカペシタビンの抗腫瘍活性を増強するかどうか判定するために、第2の臨床試験が進行中である。

【0344】

上述の考察及び実施例は一部の好ましい実施形態の詳細な説明を示しているにすぎないことを理解すべきである。したがって、さまざまな変更や等価物が本発明の趣旨及び範囲を逸脱することなくなされうことは当業者には明らかである。本特許出願において特定されるすべての雑誌の論文、他の文献、特許、及び特許出願は参照によりその全体が援用される。

【0345】

上述の詳細な説明は、あくまでも理解を明確にするために示されており、変更が当業者には明らかであるようにそれらから不必要な制限を解するべきではない。

【0346】

本発明はその特定の実施形態に関連して記載されているが、さらなる変更が可能であり、本出願は、一般に、本発明の原理に従い、かつ、本発明が関係する技術の範囲内で既知のもしくは習慣的なやり方に入り、上述の本質的な特徴、及び以下の通り添付の請求項の範囲に適用されうような本開示からの逸脱を含む本発明の変形、使用、又は適合に及ぶことが意図されていると理解される。

【0347】

本明細書中において完全な引用をしていない文献
これらの文献は、その全体を本願にて援用する。

【表 1 8】

Bienvenu JA, Monneret G, Gutowski MC. et al. Cytokine assays in human sera and tissues *Toxicology* 129: 55-61(1998).

Bleiberg, H.: CPT-11 in Gastrointestinal Cancer. *European Journal of Cancer*, Vol. 35, No. 3, 371-379, 1999.

Bleiberg, H., Cvitkovic, E.: Characterization and clinical management of CPT-11 (irinotecan)-induced adverse events: The European perspective. *Eur. J. Cancer* 32A(Suppl 3):S18-S23, 1996.

10

Calabresi P. and Chabner BA: *Chemotherapy of Neoplastic Diseases*, Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Ninth Edition, Section X:1225-1232, 1996.

Chabner BA, Allegra CJ, Curt GA, Calabresi P.: *Antineoplastic Agents*, Goodman & Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Ninth Edition, Chapter 51:1233-1287.

Chen J. J.W, Wu R, Yang PC, et al. Profiling expression patterns and isolating differentially expressed genes by cDNA microarray system with colorimetry detection. *Genomics* 51:313-324 (1998).

Chu, X-Y, Kato, Y, Ueda, K. et al. Biliary Excretion Mechanism of CPT-11 and Its Metabolites in Humans: Involvement of Primary Active Transporters. *Cancer Res.* 58:5137-5143, 1998.

20

Douillard J., Cunningham D., Roth A., Germa J., James R., Karasek P., Jandik P., Iveson T., Carmichael J., Gruija G., Dembak M., Silbaud D., Rougier P.: A randomized phase III trial comparing Irinotecan + 5FU/Follicle Acid (FA) to the same schedule of 5FU/FA in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (MCRC) as front line chemotherapy (CT), *Proc. ASCO*, Vol. 18, 233a, 1999.

Gilman, M. 1993. Ribonuclease protection assay. In *Current Protocols in Molecular Biology*, Vol. 1. (Ausubel, F.M., R. Brent, R.E. Kingston, D.D. Moore, J.G. Seidman, J.A. Smith and K. Stuhl, eds.), pp 4.7.1-4.7.8, John Wiley and Sons, Inc., New York.

30

Guo X, Lerner-Tung M, Chen HX, Chang CN, Zhu JL, Chang CP, Pizzorno G, Lin, TS, Cheng YC. 5-Fluoro-2 pyrimidinone, A liver aldehyde oxidase-activated prodrug of 5-fluorouracil. *Biochem Pharm*, 49, 1111-1116 (1995)

Gupta E, Mick R, Ramirez J, Wang X, Lestingi TM, Vokes EE, Ratain MJ: Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of the topoisomerase inhibitor irinotecan in cancer patients. *J Clin Oncol* 15:1502-1510, 1997.

【 0 3 4 8 】

40

【表 19】

Haaz M.C., Rivory, L., Riche, C., et al. Metabolism of irinotecan (CPT-11) by human hepatic microsomes: participation of cytochrome P-450 3A and drug interactions. *Cancer Res* 58:468-472 (1998).

Hani Oka Hiroshi, Taki No Ko Suke: Application of 212 formula of Kampo Medicine. Kabusiki Kaishya, Tokyo, Japan, 1998.

Hsu H. and Hsu C., Commonly used Chinese herbal formulas; Companion Handbook, Ohai Press.

10

Joulia, J., Pinguet, F., Ychou, M., Duffour, J., Astre, C. and Bressolle, F.: Plasma and Salivary Pharmacokinetics of 5-Fluorouracil (FU) in Patients with Metastatic Colorectal Cancer Receiving FU Bolus Plus Continuous Infusion with High-dose Folinic Acid. *European Journal of Cancer*, Vol. 35, No. 2, 26-301, 1999.

Kaneda N., Nagata H., Furuta T., Yokokura T.: Metabolism and pharmacokinetics of the camptothecin analogue CPT-11 in the mouse. *Cancer Res* 50:1715-1720, 1990.

Kivisto K.T., Kroemer H.K. and Eichelbaum M. The role of human cytochrome P450 enzymes in the metabolism of anticancer agents: implications for drug interactions. *Br J. Clin Pharmacol* 40:523-530 (1995).

20

Koima K., et. al. Long-term administration of Asho-saiko-to@increase cytochrome P-450 mRNA level in mouse liver. *Biol. Pharm. Bull.* 21:426-428, 1998.

Lombardi V.R.M, Garcia M and Cacabelos L.R.R. Characterization of cytokine production, screening of lymphocyte subset patterns and in vitro apoptosis in healthy and Alzheimer's Disease (AD) individuals. *Journal of Neuroimmunol* 97:163-171(1999).

Miller CL and Eaves CJ. Expansion in vitro of adult murine hematopoietic stem cells with transplantable lympho-myeloid reconstituting ability. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94:13648-13653 (1997).

30

Mori K., Hirose T., Machida S., Tominaga K.: Kampo medicines for the prevention of irinotecan-induced diarrhea in advanced non-small cell lung cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* 25:1159-63, 1998.

Marita M., Nagai E., Hagiwara H., Aburada M., Yokoi T., Kamataki T.: Inhibition of beta-glucuronidase by natural glucuronides of kampo medicines using glucuronide of SN-38 (7-ethyl-10-hydroxycamptothecin) as a substrate. *Xenobiotica* 23:5-10, 1993.

Peters, G. and van Groeninger, C.: Clinical relevance of biochemical modulation of 5-fluorouracil. *Annals of Oncology* 2: 469-480, 1991.

40

Pinedo, H. and Peters, G.. Fluorouracil: Biochemistry and Pharmacology. *Journal of Clinical Oncology*, Vol. 6, No. 10 (October), 1633-1664, 1988.

【 0 3 4 9 】

【表 20】

Pizzorno G., Wiegand R., Lentz S. and Handschumacher R., Brequinar Potentiates 5-Fluorouracil antitumor activity in a Murine model colon 38 tumor by tissue-specific modulation of uridine nucleotide pools. *Cancer Res.*, 52: 1660-1665, 1992

Roby C.A., Anderson GD and Dryer DA et al. St John's Wort: Effect on CYP3A4 activity. *Clin. Pharmacol. Ther.* 67, 451-457 (2000).

Saliba F, Hagipantelli R, Misset J-L, Bastian G, vassal G, Bonnay M, Herait P, Cote C, Mahjoubi M, Mignard D, Cvitkovic E: Pathophysiology and therapy in irinotecan-induced delayed-onset diarrhea in patients with advanced colorectal cancer: A prospective assessment. *J Clin Oncol* 16:2745-2751, 1998.

10

Saltz LB, Locker PK, Plotta N, Elfring GL, Miller LL: Weekly Irinotecan (CPT-11), Leucovorin (LV), and Fluorouracil (FU) is superior to daily x5 LV/FU in patients (PTS) with previously untreated metastatic colorectal cancer (CRC), *Proc. ASCO*, Vol.18, 233a, 1999.

Stucky-Marshall, L.: New Agents in Gastrointestinal Malignancies: Part 1: Irinotecan in Clinical Practice, *Cancer Nursing*, 22(3): 212-219, 1999.

Takasuna K, Takehiro H, Hirohashi M, Kato M, et al. Involvement of b-glucuronidase in intestinal microflora in the intestinal toxicity of the antitumor camptothecin derivative irinotecan hydrochloride (CPT-11) in rats. *Cancer Res.* 56:3752-3757 (1996).

20

Takasuna K, Takehiro H, Hirohashi M, et al. Inhibition of intestinal microflora β -glucuronidase modifies the distribution of the active metabolite of the antitumor agent, irinotecan hydrochloride (CPT-11) in rats. *Cancer Chemother Pharmacol.* 42:280-286 (1998).

Wasserman E., Myara A., Lokiec F., Goldwasser F., Trivin F., Mahjoubi M., Misset J., Cvitkovic E.: Severe CPT-11 toxicity in patients with Gilbert's syndrome: Two case reports. *Ann Oncol* 8:1049-1051, 1997.

30

Wierda D. and Matamoros M. Partial characterization of bone marrow hemopoiesis in mice after cisplatin administration. *Toxicol & Applied Pharmacol* 75:25-34(1984).

Xu Guo-Jun, Introduction to the Chinese Materia Medica, China Pharmaceutical Science Publication Inc., Beijing, China, 1996, p.398.

【図面の簡単な説明】

【0350】

図面の簡単な説明

【図1】腫瘍を有さないBDF-1マウスにおけるCPT-11の異なる投与量に対する効果を示す図である。CPT-11を0日目のみ腹腔内(i.p.)投与した(各群N=5)。

40

【図2】Colon38腫瘍を有するCPT-11処置BDF-1マウスにおける体重に対するPHY906の効果を示す図である。CPT-11(400mg/kg)を0日目のみ腹腔内投与した。PHY906を0日目から8日間、指示用量で1日2回経口投与した(各群N=5)。

【図3】Colon38腫瘍を有するCPT-11処置BDF-1マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906の効果を示す図である。CPT-11(400mg/kg)を0日目のみ腹腔内投与した。PHY906(500mg/kg)を0日目から8日間1日2回経口投与した。対応のあるスチューデントのt検定を使用してp値を計算した。(各群N=5)。

50

【図4】Colon 38腫瘍を有するCPT-11処置BDF-1マウスにおける血液学的変化に対するPHY906の効果を示す図である（各群N=5）。CPT-11（400mg/kg）を0日目のみ腹腔内投与した。PHY906（500mg/kg）を0日から4日間1日2回経口投与した（各群N=5）。

【図5】Colon 38腫瘍を有するFU/LV処置BDF-1マウスにおける体重に対するPHY906の効果。LV（100mg/kg）およびFU（100mg/kg）の連続投与を、材料と方法に記載されている通り、0日目のみ1時間の間、腹腔内投与した。PHY906を0日目のLVの最初の投与後30分に経口投与し、500mg/kgで4日間、1日2回継続した（各群N=5）。

【図6】Colon 38腫瘍を有するFU/LV処置BDF-1マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906の効果を示す図である。LV（100mg/kg）およびFU（100mg/kg）の連続投与を、材料と方法に記載されている通り、0日目のみ1時間の間、腹腔内投与した。PHY906を0日目のLVの最初の投与後30分に経口投与し、500mg/kgで4日間、1日2回継続した（各群N=5）。

【図7】Colon 38腫瘍を有するFU/LV処置BDF-1マウスにおける血液学的変化に対するPHY906の効果を示す図である。LV（100mg/kg）およびFU（100mg/kg）の連続投与を、材料と方法に記載されている通り、0日目のみ1時間の間、腹腔内投与した。PHY906を0日目のLVの最初の投与後30分に経口投与し、500mg/kgで4日間、1日2回継続した（各群N=5）。

【図8】Colon 38腫瘍を有するCPT-11/FU/LV処置BDF-1マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906の効果を示す図である。LV（100mg/kg）、CPT-11（200mg/kg）、及びFU（100mg/kg）の連続投与を、材料と方法に記載されている通り、0日目のみ1時間の間、腹腔内投与した。PHY906を0日目のLVの最初の投与後30分に経口投与し、500mg/kgで4日間、1日2回継続した（各群N=5）。

【図9】Colon 38腫瘍を有するCPT-11/FU/LV処置BDF-1マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906の効果を示す図である。LV（100mg/kg）、CPT-11（300mg/kg）、及びFU（100mg/kg）の連続投与を、材料と方法に記載されている通り、0日目のみ1時間の間、腹腔内投与した。PHY906を0日目のLVの最初の投与後30分に経口投与し、500mg/kgで4日間、1日2回継続した（各群N=5）。

【図10】Colon 38腫瘍を有するCPT-11/FU/LV処置BDF-1マウスにおける体重変化に対するPHY906の効果を示す図である。LV（100mg/kg）、CPT-11（300mg/kg）、及びFU（100mg/kg）の連続投与を、材料と方法に記載されている通り、0日目のみ1時間の間、腹腔内投与した。PHY906を0日目のLVの最初の投与後30分に経口投与し、500mg/kgで4日間、1日2回継続した（各群N=5）。

【図11】ヒトHepG2腫瘍を有するCPT-11処置NCrヌードマウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906の効果を示す図である。CPT-11（200mg/kg）を0日目のみ腹腔内投与した。PHY906を0日目のCPT-11前の30分に経口投与し、500mg/kgで8日間、1日2回継続した（各群N=5）。

【図12】ヒトHepG2腫瘍を有するCPT-11処置NCrヌードマウスにおける体重に対するPHY906の効果を示す図である。CPT-11（200mg/kg）を0日目のみ腹腔内投与した。PHY906を0日目のCPT-11前の30分に経口投与し、500mg/kgで8日間、1日2回継続した（各群N=5）。

【図13】Colon 38を有するBDF-1マウスに対するPHY906によるL-OddCの抗腫瘍効果を示す図である。メスBDF-1マウス（8-10週齢、平均約20g）に対しColon 38腫瘍細胞を皮下注射した。L-OddC（ベーターL-ジオキソラン-シチジン25mg/kg、q. d. X5）をゼロ日目から5日間連続して腹腔内注射した。PHY906をゼロ日目およびに実験の完了まで毎日経口投与した（1g/kg

10

20

30

40

50

g、b. i. d.) (q. d. は「*quaque die*」の略語であり、1日1回、を意味する。q. d. X5はマウス5匹の各々1匹が5日連続して1日1回投与を受けたことを意味し、b. i. d. は1日2回を意味する「*bis in die*」の略語である)。(各群N=5)。

【図14】Colon38を有するBDF-1マウスに対するPHY906によるVP-16の抗腫瘍効果を示す図である。メスBDF-1マウス(8-10週齢、平均体重約20g)に対しColon38腫瘍細胞を皮下注射した。VP-16(エトポシド25mg/kg、q. d. X5)を0日目に1日1回及び5日連続で腹腔内注射した。PHY906を0日目および実験の完了まで毎日経口投与した(1g/kg、b. i. d.)。(各群N=5)。

10

【図15】PHY906とともに5-フルオロウラシル(FU)の抗腫瘍効果を示す図である。各群のメスBDF-1マウス(8-10週齢、平均体重約20g)5匹に対しColon38腫瘍細胞を皮下注射した。1用量のFU(250mg/kg)のみをゼロ日目に腹腔内注射した。PHY906をゼロ日目及び実験の完了まで毎日経口投与した(1g/kg、b. i. d.)。(各群N=5)。

【図16】PHY906とともに5-フルオロウラシル(FU)の抗腫瘍効果を示す図である。メスBDF-1マウス(8-10週齢、平均体重約20g)に対しColon38腫瘍細胞を皮下注射した。FU(30mg/kg、q. d. X5)を0日に開始して5日連続して毎日腹腔内注射した。PHY906をゼロ日目及び実験の完了まで毎日経口投与した(1g/kg、b. i. d.)。(各群N=5)。

20

【図17】Colon38を有するBDF-1マウスに対する対ロペラミドのPHY906とともにCPT-11の抗腫瘍効果を示す図である。メスBDF-1マウス(8-10週齢、平均体重約20g)に対しColon38腫瘍細胞を皮下注射した。マウスに対し無処置、PHY906のみ、CPT-11のみ、CPT-11およびPHY906、またはロペラミドのみのいずれを投与した。PHY906及びCPT-11を図3に記載したように投与した。1用量のロペラミドのみゼロ日目に経口投与した(2mg/kg、p. o. (経口投与)、b. i. d.)。(各群N=5)。

【図18A-C】血漿におけるCPT-11/FU/LVの薬物動態を示す図である。PHY906-6はPHY906の臨床バッチである。SN-38はCPT-11の活性代謝産物である。FUR+FUMPはヌクレオシド及びFUのヌクレオチド代謝産物である。

30

【図19A-C】肝におけるCPT-11/FU/LVの薬物動態を示す図である。PHY906-6はPHY906の臨床バッチである。SN-38はCPT-11の活性代謝産物である。FUR+FUMPはヌクレオシド及びFUのヌクレオチド代謝産物である。

【図20A-B】腫瘍におけるCPT-11/FU/LVの薬物動態を示す図である。PHY906-6はPHY906の臨床バッチである。SN-38はCPT-11の活性代謝産物である。

【図21】マウスPAN02腫瘍を有するゲムシタビン(150mg/kg、q d、D1および8)処置C57/BL6マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906(500mg/kg、b i d、D1-4および8-11)の効果を示す図である。ゲムシタビン(150mg/kg)を1日及び8日目に1日1回腹腔内投与した。PHY906(500mg/kg)を1-4日目及び8-11日目に1日2回ゲムシタビンの30分前に経口投与した(各群N=5)。

40

【図22】マウスPAN02腫瘍を有するゲムシタビン(300mg/kg、q d、D1および8)処置C57/BL6マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906(500mg/kg、b i d、D1-4および8-11)の効果を示す図である。ゲムシタビン(300mg/kg)を1日及び8日目に1日1回腹腔内投与した。PHY906(500mg/kg)を1-4日目及び8-11日目に1日2回ゲムシタビンの30分前に経口投与した(各群N=5)。

【図23】マウスPAN02腫瘍を有するゲムシタビン(600mg/kg、q d、D1

50

および8) 処置C57/BL6マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906 (500mg/kg、bid、D1-4および8-11) の効果を示す図である。ゲムシタビン (600mg/kg) を1日及び8日目に1日1回腹腔内投与した。PHY906 (500mg/kg) を1-4日目及び8-11日目に1日2回ゲムシタビンの30分前に経口投与した (各群N=5)。

【図24】マウスPAN02腫瘍を有するゲムシタビン (300mg/kg、qd、D1および8) 処置BDF-1マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906 (500mg/kg、bid、D1-4及び8-11) の効果を示す図である。ゲムシタビン (300mg/kg) を1日及び8日目に1日1回腹腔内投与した。PHY906 (500mg/kg) を1-4日目及び8-11日目に1日2回ゲムシタビンの30分前に経口投与した (各群N=5)。

10

【図25】マウスPAN02腫瘍を有するゲムシタビン (600mg/kg、qd、D1および8) 処置BDF-1マウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906 (500mg/kg、bid、D1-4及び8-11) の効果を示す図である。ゲムシタビン (600mg/kg) を1日及び8日目に1日1回腹腔内投与した。PHY906 (500mg/kg) を1-4日目及び8-11日目に1日2回ゲムシタビンの30分前に経口投与した (各群N=5)。

【図26】ゲムシタビン (300mg/kg、qd、D1、8、26、および33) 処置ヒトPANC-1腫瘍異種移植片における腫瘍増殖に対するPHY906 (500mg/kg、bid、D1-4、8-11、26-29、及び33-36) の効果を示す図である。ゲムシタビン (300mg/kg) を1、8、26、及び33日目に1日1回腹腔内投与した。PHY906 (500mg/kg) を1-4、8-11、26-29、及び33-36日目に1日2回ゲムシタビンの30分前に経口投与した (各群N=5)。

20

【図27】ゲムシタビン (300mg/kg、qd、D1、8、26、および33) 処置ヒトPANC-1腫瘍異種移植片における体重変化に対するPHY906 (500mg/kg、bid、D1-4、8-11、26-29、及び33-36) の効果を示す図である。ゲムシタビン (300mg/kg) を1、8、26、及び33日目に1日1回腹腔内投与した。PHY906 (500mg/kg) を1-4、8-11、26-29、及び33-36日目に1日2回ゲムシタビンの30分前に経口投与した (各群N=5)。

【図28】マウスPAN02腫瘍を有するゲムシタビン (300mg/kg、qd、D1及び8) 処置BDF-1マウスにおける腫瘍増殖に対する906MT (1g/kg^{*}、bid、D1-4及び8-11) の効果を示す図である。ゲムシタビン (300mg/kg) を1および8日目に1日1回腹腔内投与した。906MT (1g/kg^{*}) を1-4日目および8-11日目に1日2回ゲムシタビンの30分前に経口投与した (各群N=5)。
906MTは市場で調達される伝統的な製剤である。したがって、使用される量 (1g/kg^{*}) は近似的である。

30

【図29】血漿における(A)ゲムシタビン(dFdC)及び(B)その代謝産物(dFdU)の薬物動態を示す図である。1用量のゲムシタビン (600mg/kg) 及び/又はPHY906 (500mg/kg) を経口投与した。PHY906をゲムシタビンの30分前に投与した。各々のマウスを異なる時点で2回出血させ、マウス3匹を各時点で出血させた。

40

【図30】ヒトPANC-1腫瘍を有するゲムシタビン+オキサリプラチン処置NCrヌードマウスに対するPHY906の抗腫瘍効果を示す図である。オキサリプラチン (10mg/kg) を1日目に1日1回ゲムシタビン (300mg/kg) の30分前に腹腔内注射した。PHY906 (500mg/kg) を1-4日目に1日2回オキサリプラチンの30分前に経口投与した (各群N=5)。

【図31】ヒトHepG2腫瘍を有するCPT-11処置Ncrヌードマウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906の効果を示す図である。CPT-11 (200mg/kg) を0日目のみに腹腔内投与した。PHY906を0日目にCPT-11の30分前に経口投与し、500mg/kgで8日間1日2回継続した (各群N=5)。

50

【図32】ヒトHepG2腫瘍を有するカペシタビン処置NCrヌードマウスにおける腫瘍増殖に対するPHY906の効果を示す図である。カペシタビン（360mg/kg）を0日目に開始して連続14日間1日2回経口投与した。PHY906を500mg/kgで0-3日目及び7-10日目に断続的に1日2回カペシタビンの30分前に経口投与した（各群N=5）。

【図33】ヒトHepG2腫瘍を有するドキソルビシン処置NCrヌードマウスに対するPHY906の抗腫瘍効果を示す図である。ドキソルビシン（7.5mg/kg）を1、4、及び7日目に1日1回腹腔内投与した。PHY906（500mg/kg）を1-4日目及び8-11日目に1日2回ドキソルビシンの30分前に経口投与した（各群N=5）。

10

【図34】ヒトHepG2腫瘍を有するサリドマイド処置NCrヌードマウスに対するPHY906の抗腫瘍効果を示す図である。サリドマイド（1g/kg）を1-14日目に断続的に1日1回腹腔内投与した。PHY906（500mg/kg）を1-4日目に1日2回サリドマイドの3時間前に経口投与した（各群N=5）。

【図35】Colon38を有するBDF-1マウスにおけるオキサリプラチンの抗腫瘍活性に対するPHY906の効果を示す図である。オキサリプラチン（10mg/kg、D1）を1日目に腹腔内投与した。PHY906を500mg/kgで1-4日目に1日2回オキサリプラチンの30分前に経口投与した（各群N=5）。

【図36】Colon38を有するBDF-1マウスにおけるオキサリプラチン/5-FU/LVの抗腫瘍活性に対するPHY906の効果を示す図である。5-FUおよびLV（各々50mg/kg）を1、2、8、及び9日目に腹腔内注射した。オキサリプラチン（5mg/kg）を1及び8日目に腹腔内投与した。PHY906を500mg/kgで1-4日目及び8-11日目に1日2回5-FU/LVの30分前に経口投与した（各群N=5）。

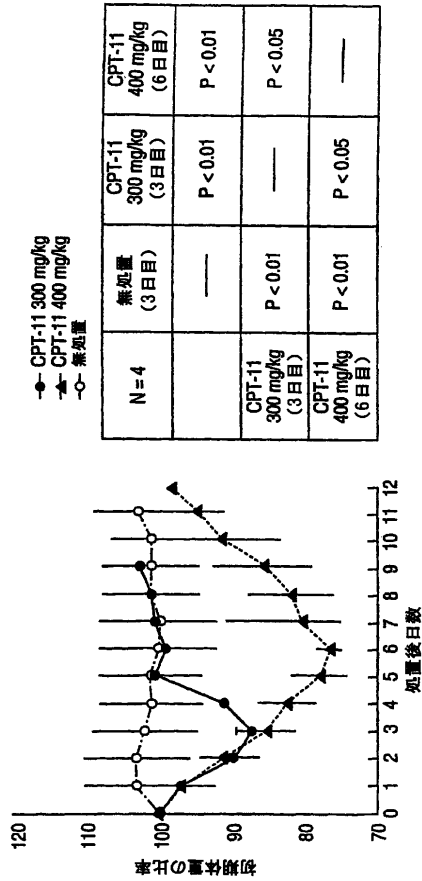
20

【図37】（A）溶媒、（B）オキサリプラチン/5-FU/LV、又は（C）PHY906+オキサリプラチン/5-FU/LVで処置したColon38を有するBDF-1マウスに対する Kaplan-Meier 生存プロットを示す図である。オキサリプラチン（10mg/kg、D1）及び5-FU/LV（各々50mg/kg、D1-2）を1日目から腹腔内投与した。PHY906を500mg/kgで1-4日目に1日2回オキサリプラチン/5-FU/LVの30分前に経口投与した（各群N=5）。

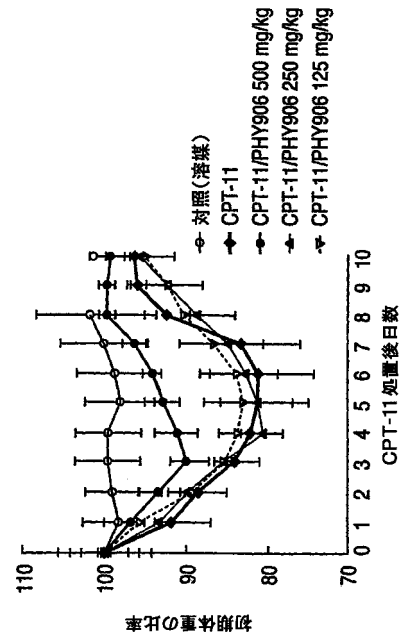
30

【図38】オキサリプラチン、5-FU/LV、及びオキサリプラチン/5-FU/LVで処置したColon38を有するBDF-1マウスの体重に対するPHY906の効果を示す図である。オキサリプラチン（5mg/kg、D1）を1日目に腹腔内投与した。5-FU及びLV（各々50mg）を1、2、8、及び9日目に腹腔内投与した。PHY906を500mg/kgで1-4日目及び8-11日目に1日2回5-FU/LV又はオキサリプラチンの30分前に経口投与した（各群N=5）。

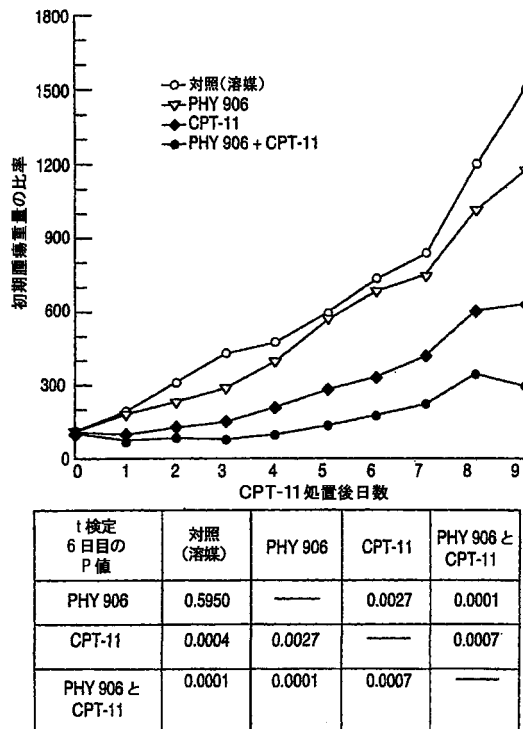
【図 1】



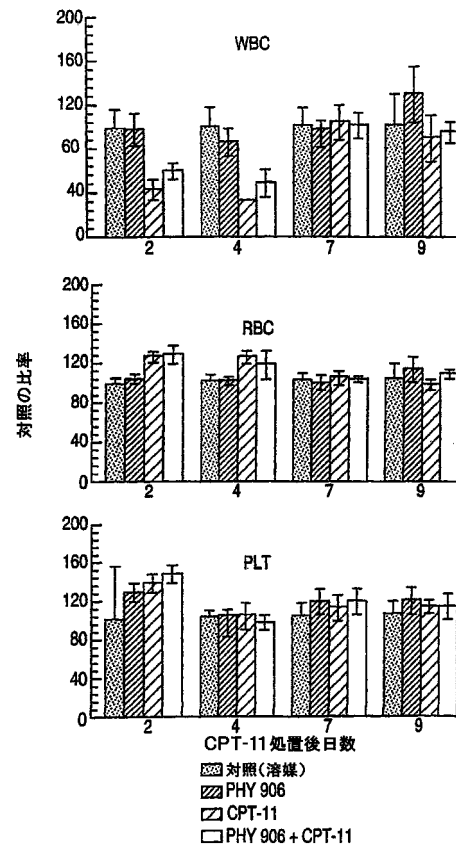
【図 2】



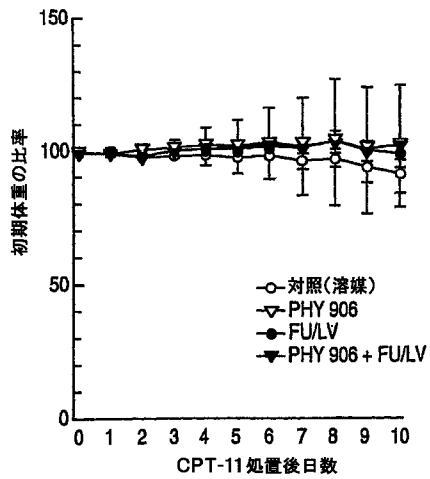
【図 3】



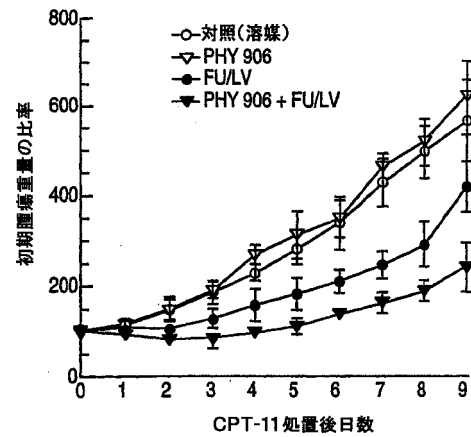
【図 4】



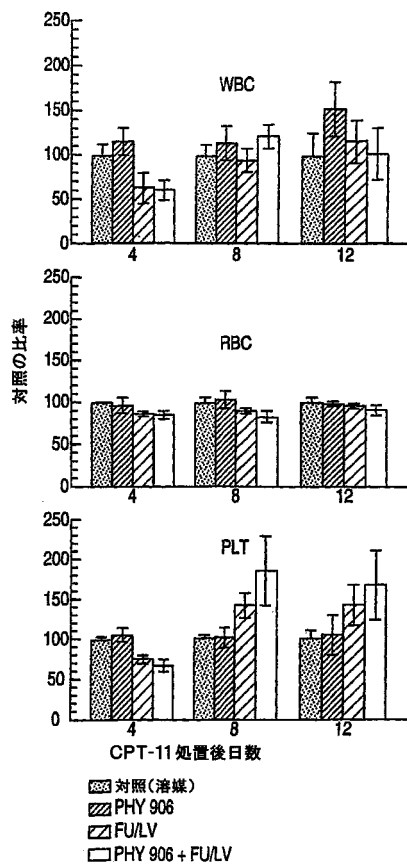
【図 5】



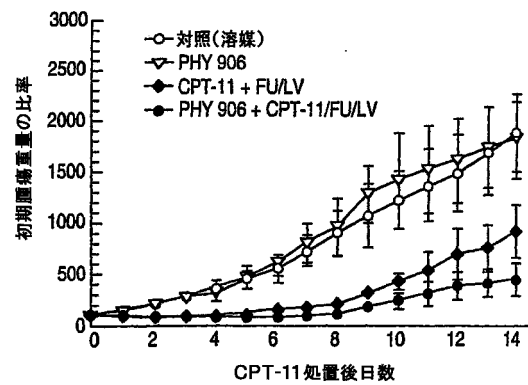
【図 6】



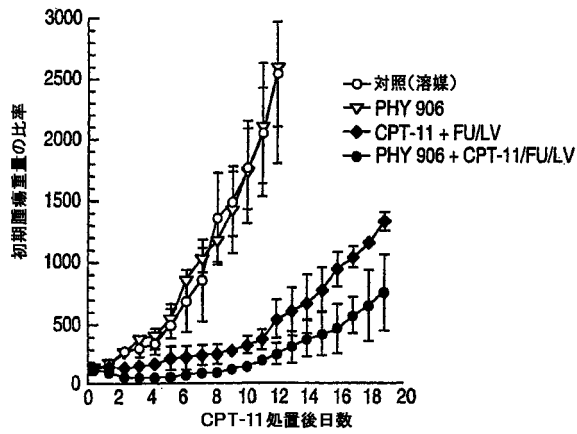
【図 7】



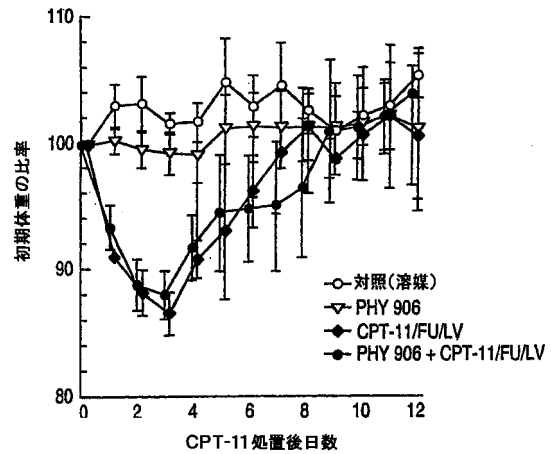
【図 8】



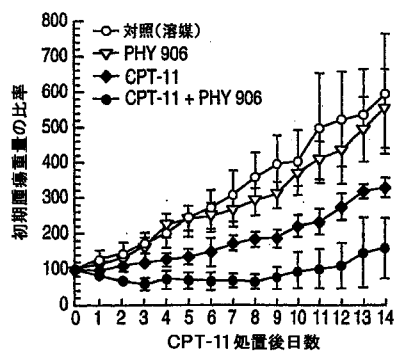
【図 9】



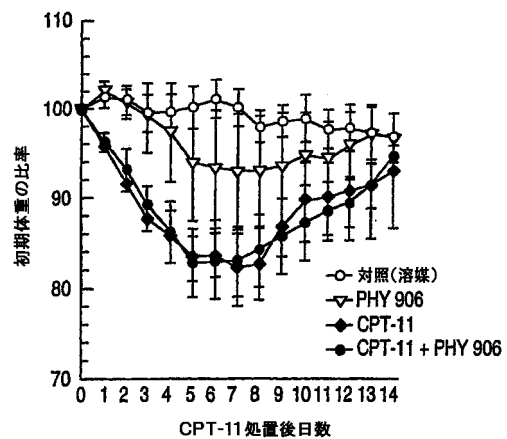
【図 10】



【図 11】

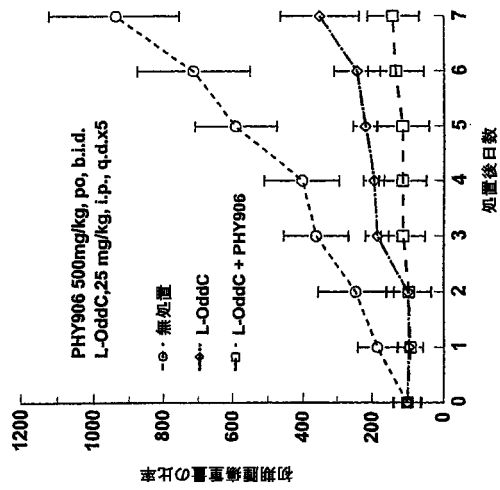


【図 12】

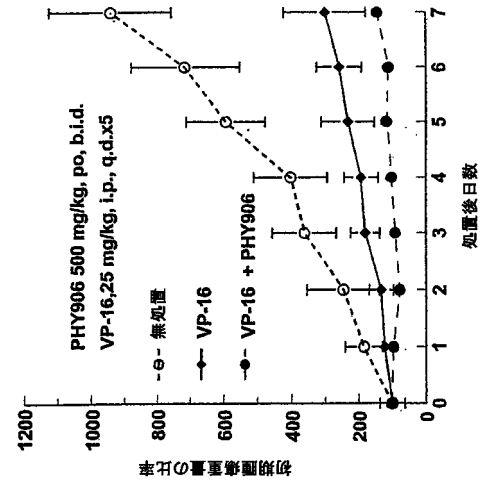


t検定(*P値) 14日目	対照 (溶媒)	CPT-11	PHY 906
CPT011	0.02	—	0.02
PHY 906	0.6	0.02	—
CPT-11 + PHY 906	0.002	0.01	0.003

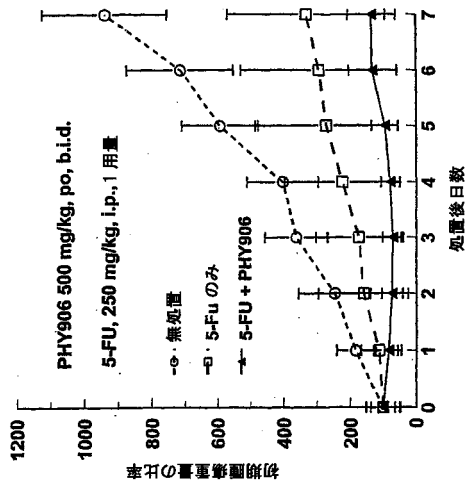
【図 13】



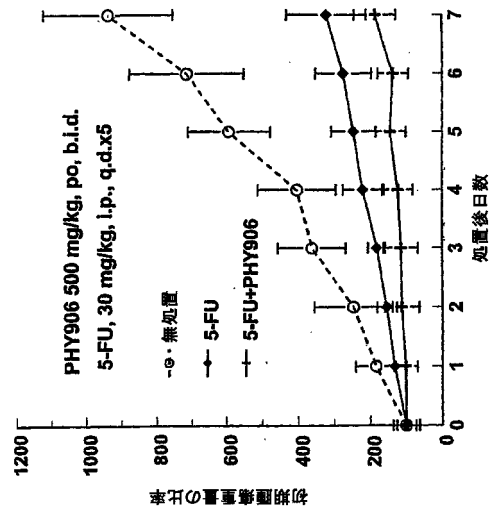
【図 14】



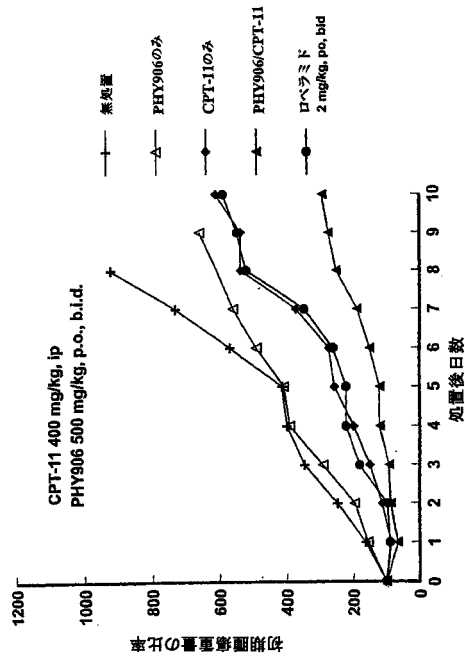
【図 15】



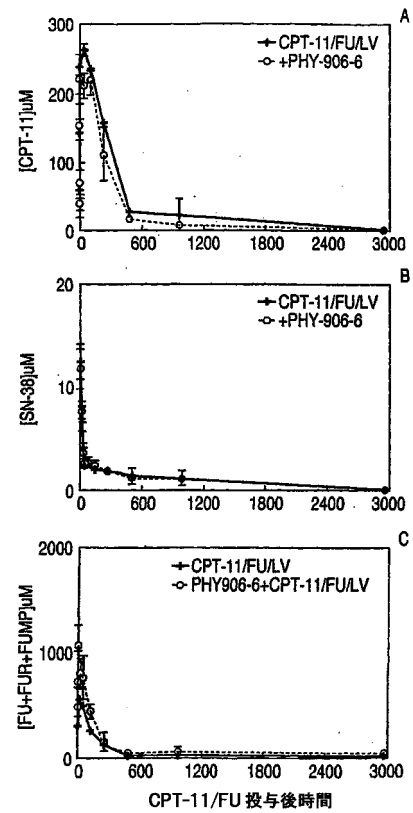
【図 16】



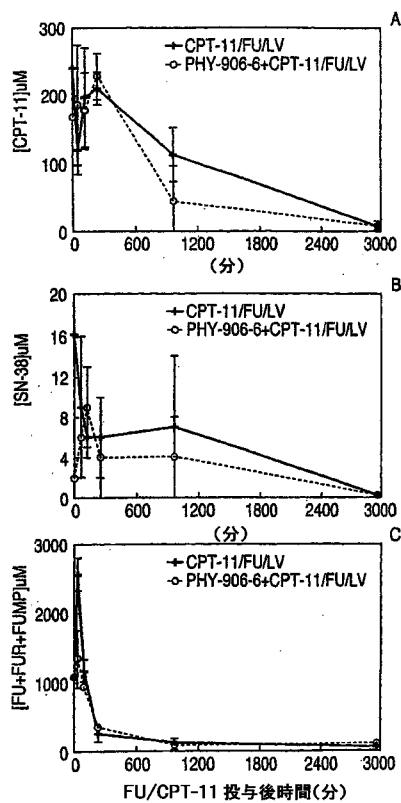
【図 17】



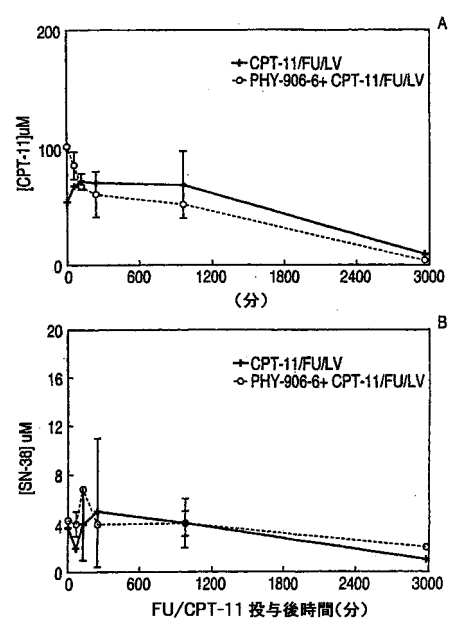
【図 18】



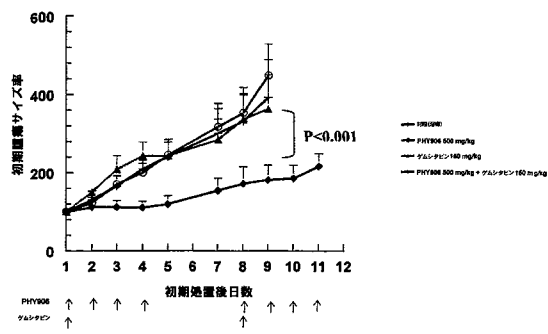
【図 19】



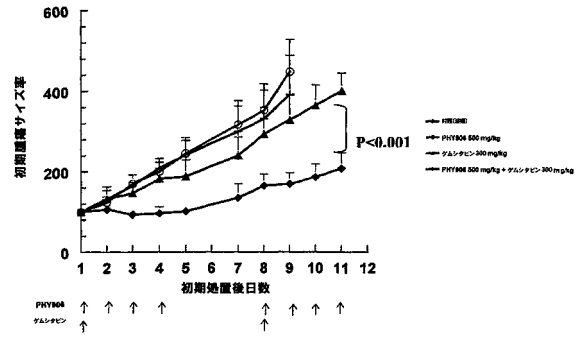
【図 20】



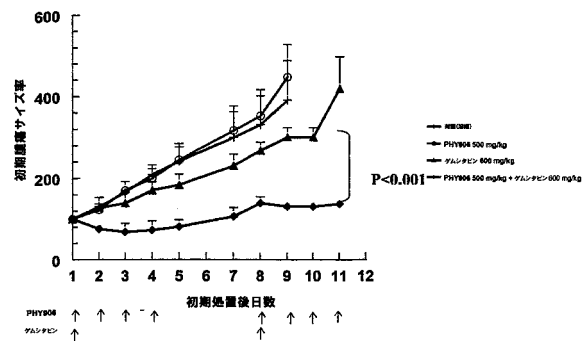
【図 2 1】



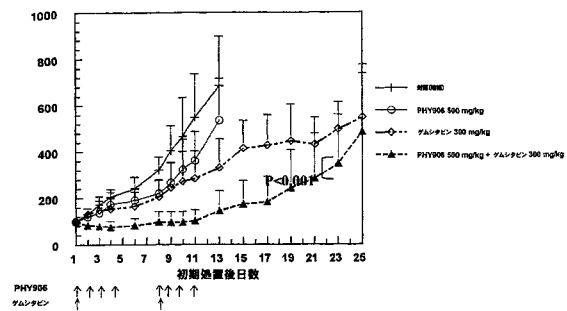
【図 2 2】



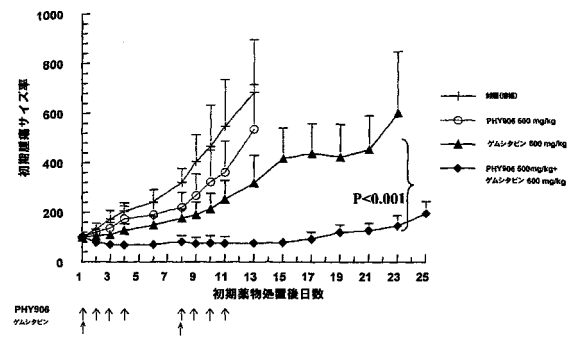
【図 2 3】



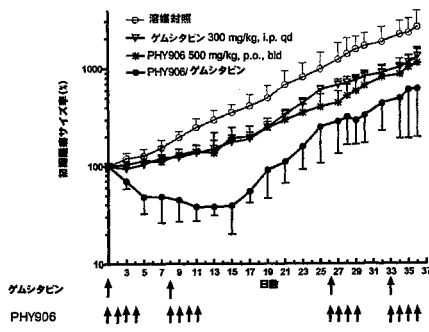
【図 2 4】



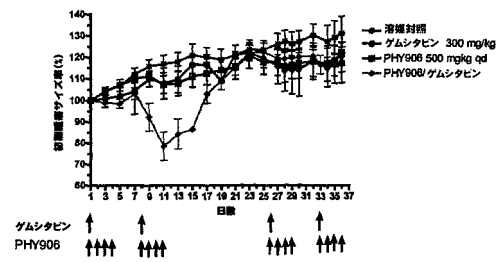
【図 2 5】



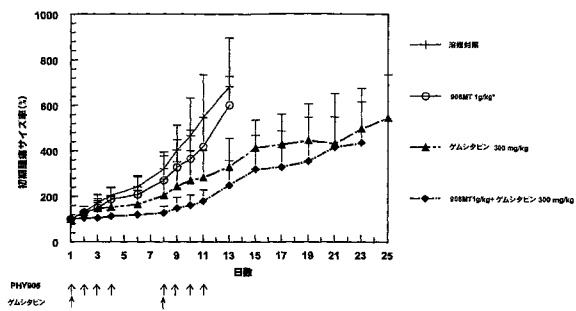
【図 26】



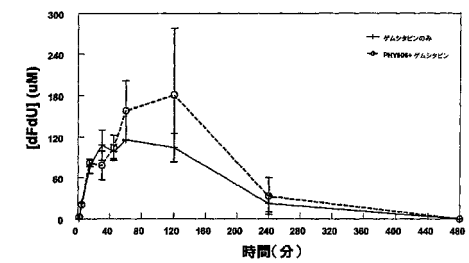
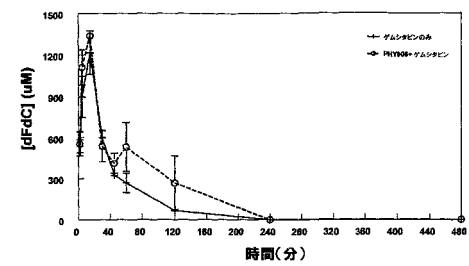
【図 27】



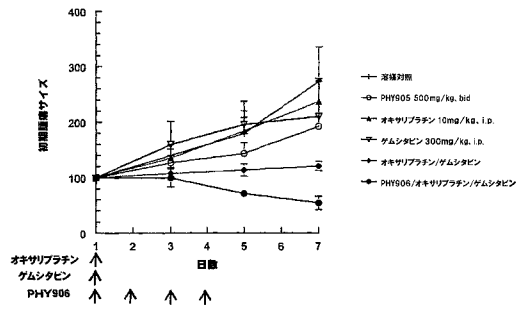
【図 28】



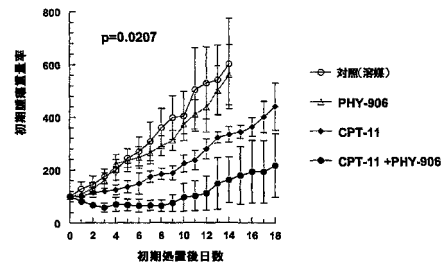
【図 29】



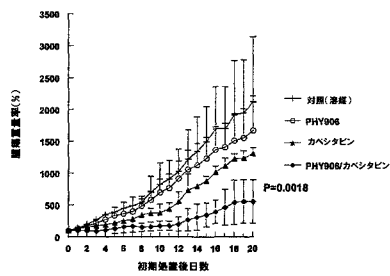
【図 30】



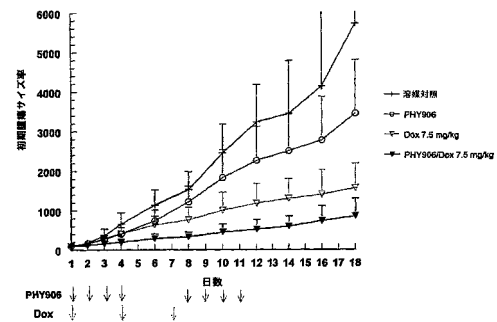
【図 31】



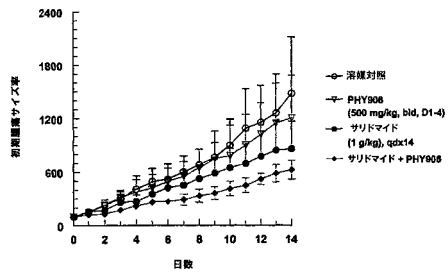
【図 32】



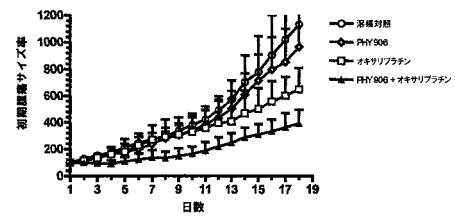
【図 33】



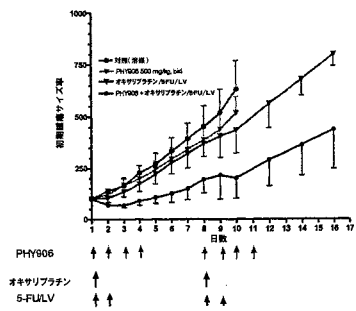
【図 3 4】



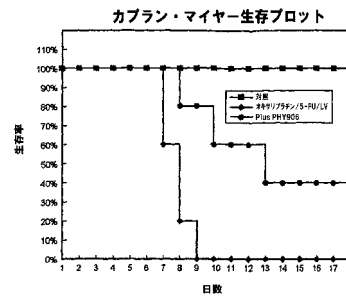
【図 3 5】



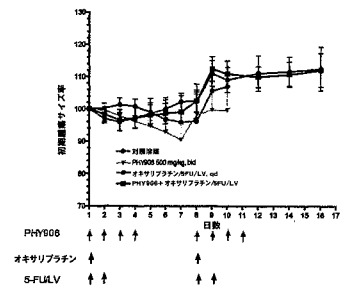
【図 3 6】



【図 3 7】



【図 38】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
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 P 35/00 (2006.01)		A 6 1 P 35/00

(72)発明者 リウ, シュウーフェイ
アメリカ合衆国, コネチカット州 0 6 4 4 3, マディソン, ジョシュア トレイル 9 2

審査官 鶴見 秀紀

(56)参考文献 特開2004-500390 (JP, A)
Liu, Shwu-Huey et al, Developing PHY906 as a broad- spectrum modulator of chemotherapeutic agents in cancer therapy, Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual Meeting, 2004年 3月, Vol.45, pp.128

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A61K 31/282
A61K 31/454
A61K 31/513
A61K 31/704
A61K 31/7068
A61K 36/18
A61K 36/53
A61K 36/71
A61P 35/00
A61P 43/00
CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)