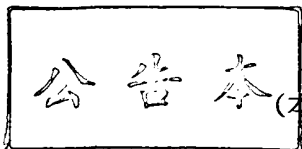


(此處由本局於收
文時黏貼條碼)

842494

發明專利說明書



(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：92130286

※申請日期：92 年 10 月 30 日

※IPC 分類：A61K 31/221 (2006.01)

A61P 25/04 (2006.01)

壹、發明名稱：

(中) 用於預防及／或治療末梢神經病變之藥物

(外) Medicament for preventing and/or treating peripheral neuropathies

貳、申請人：(共 1 人)

1. 姓 名：(中) 西格瑪 陶製藥廠

(英) SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.P.A.

代表人：(中) 1. 史提法諾 馬瑞諾

(英) 1. MARINO, STEFANO

地 址：(中) 義大利羅馬·艾爾莎士比亞四十七號

(英) Viale Shakespeare 47, 00144 Roma RM, Italy

國籍：(中英) 義大利 ITALY

參、發明人：(共 3 人)

1. 姓 名：(中) 可羅狄歐 卡凡薩

(英) CAVAZZA, CLAUDIO

地 址：(中) 義大利羅馬波梅奇亞旁帝納路三〇四〇〇 k m

(英) Via Pontina, km 30,400, 00040 Pomezia RM, Italy

2. 姓 名：(中) 克勞迪歐 彼沙諾

(英) PISANO, CLAUDIO

地 址：(中) 義大利羅馬波梅奇亞旁帝納路三〇四〇〇 k m

(英) Via Pontina, km 30,400, 00040 Pomezia RM, Italy

3. 姓 名：(中) 羅瑞達納 維希

(英) VESCI, LOREDANA

地 址：(中) 義大利羅馬波梅奇亞旁帝納路三〇四〇〇 k m

(英) Via Pontina, km 30,400, 00040 Pomezia RM, Italy

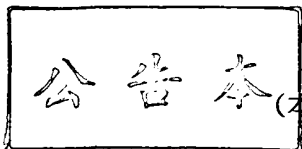
肆、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家(地區)申請專利 ☐ 主張國際優先權：

(此處由本局於收
文時黏貼條碼)

842494

發明專利說明書



(本申請書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：92130286

※申請日期：92 年 10 月 30 日

※IPC 分類：A61K 31/221 (2006.01)
A61P 25/04 (2006.01)

壹、發明名稱：

(中) 用於預防及／或治療末梢神經病變之藥物

(外) Medicament for preventing and/or treating peripheral neuropathies

貳、申請人：(共 1 人)

1. 姓 名：(中) 西格瑪 陶製藥廠

(英) SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.P.A.

代表人：(中) 1. 史提法諾 馬瑞諾

(英) 1. MARINO, STEFANO

地 址：(中) 義大利羅馬·艾爾莎士比亞四十七號

(英) Viale Shakespeare 47, 00144 Roma RM, Italy

國籍：(中英) 義大利 ITALY

參、發明人：(共 3 人)

1. 姓 名：(中) 可羅狄歐 卡凡薩

(英) CAVAZZA, CLAUDIO

地 址：(中) 義大利羅馬波梅奇亞旁帝納路三〇四〇〇 k m

(英) Via Pontina, km 30,400, 00040 Pomezia RM, Italy

2. 姓 名：(中) 克勞迪歐 彼沙諾

(英) PISANO, CLAUDIO

地 址：(中) 義大利羅馬波梅奇亞旁帝納路三〇四〇〇 k m

(英) Via Pontina, km 30,400, 00040 Pomezia RM, Italy

3. 姓 名：(中) 羅瑞達納 維希

(英) VESCI, LOREDANA

地 址：(中) 義大利羅馬波梅奇亞旁帝納路三〇四〇〇 k m

(英) Via Pontina, km 30,400, 00040 Pomezia RM, Italy

肆、聲明事項：

◎本案申請前已向下列國家(地區)申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1.美國 ; 2002/11/13 ; 10/292,823 ☒有主張優先權

(1)

玖、發明說明

【發明所屬之技術領域】

本發明係有關 L-肉毒鹼及烷醯基 L-肉毒鹼在製備可用於治療腫瘤之藥物上的應用，尤其是與抗癌劑結合使用。

【先前技術】

已使用在人類醫療中使用抗癌劑會導致許多毒性或副作用，而可能對於患者之生活形成威脅。此等併發症實際上可能導致藥物劑量減低，有時可能會使治療本身中斷。

劑量減低或中斷治療在許多情況下皆會傷及個體之一般狀況，因為此種情況有利於舊疾復發，結果有時會危及患者之生命。

在醫院設置及腫瘤患者家庭中有另一極重要且感受極強的層面就是「改善治療中之患者的生活品質」的觀念。

同樣已知進行癌症之一般綜合化療之患者的體重大幅減輕。

人類醫療中使用之抗癌劑的數目及重要性日漸增加（主要限制係產生毒性或副作用）表示此項問題仍相當重要。

因此，極期望可發現可大幅降低因為人類醫療中所使用之抗癌劑導致之毒性或副作用的新穎藥物或不同藥物之新穎組合物。

L-肉毒鹼與抗癌劑結合使用係先前已知。

(2)

在實驗動物模型中，證明單獨使用阿黴素（doxorubicin）治療之白鼠所減輕之體重大於使用相同物質與 L-肉毒鹼結合來進行治療之白鼠（Senekowitsch R, Lohninger A, Kriegel H., Staniek H., Krieglsteiner HP., Kaiser E. Protective effects of carnitine on adriamycin toxicity to heart. In: Kaiser E., Lohninger A.,(eds.). Carnitine: its role in lung and heart disorders: 126-137. Karger, Basel-New York, 1987）。

美國專利第 4,713,370 號描述肉毒鹼與細胞生長抑制劑（諸如柔紅黴素、N-乙醯基柔紅黴素及柔紅黴素肟）結合使用，以降低此等化合物之心臟毒性。美國專利第 4,267,163 號描述肉毒鹼與細胞抑制劑（諸如阿黴素（adriamycin）、阿黴素-14 辛酸酯、4'-表阿黴素、阿黴素 β -異頭物及 4'-表阿黴素 γ -異頭物）結合使用，以降低此等化合物之心臟毒性。美國專利第 4,751,242 號描述乙醯基 L-肉毒鹼用於治療末梢神經病變之應用。後一專利中，末梢神經病變係定義為腦幹及脊髓之運動神經元及／或原發性感覺神經元及／或末梢自主神經元之持續性失調，包括末梢神經元及其附帶之支撐結構。就其病因而言，末梢神經病變構成異質疾病，因為其病因可能是繼發性到病毒感染（帶狀泡疹）、局部缺血（動脈硬化）、代謝不平衡（糖尿病、腎及肝功能不足）、藥物-誘發之毒性（阿黴素、異菸酸肟、硝基呋喃妥因）、機械應力（壓迫、受壓、骨骼斷裂或脫位）、輻射、遺傳因素及免疫系統病因

(3)

。然而，不論疾病形成之實際病因為何，始終可偵測到因為細胞脂質、膽固醇及神經結糖苷之改變所導致之膜流動性改變。脂質在界定三級及四級蛋白質濃縮及保持嘌呤核苷三磷酸酯酶結構之安定性中扮演著極重要之角色。實際上，若無脂質，則導致酶失活。就此言之，假設乙醯基 N-肉毒鹼可能對於自由基（超氧化物、過氧化氫化物）產生「清除劑」作用，該等自由基係於不規則或不充分灌流或於發炎過程中，因為控制介於四價及雙價厭氧路徑之間的代謝變化之細胞色素氧化酶的活性降低而形成。乙醯基 L-肉毒鹼藉著增加還原穀胱甘肽（最重要之抗氧化劑代謝物中之一）的濃度，且可能增加細胞色素氧化酶之濃度，可能產生自由基清除效果，並大體上恢復四價氧化-還原劑呼吸機制，尤其是神經元者。而且，乙醯基 L-肉毒鹼會因為增加 ATP-酶及 AChE（最佳神經傳遞所必需）而影響神經元。

其他研究係有關肉毒鹼對於由綽環類抗生素所誘發之心臟毒性的保護效果的評估（Neri B., Comparini T., Milani A., Torcia M., Clin. Trial J. 20, 98-103, 1983; De Leonardis V., De Scalzi M., Neri B., et al. Int. J. Clin. Pharm. Res. 70, 307-311, 1987）。

前述專利及所列之圖書參考資料說明許多嘗試降低抗癌劑之毒性或副作用的努力，但尚未令人滿意地解決此項嚴重問題。

碳鉑係為順氯氨鉑之結構同質物，而其所帶之腎毒性

(5)

微管係為保持細胞形狀、各種細胞作用及軸漿轉運之必要要素。神經元及軸突中之微管功能不全可能是該兩類化學療劑之神經毒性的來源。

紫杉鹼主要誘發全身分佈之感覺末梢神經病變，此種情況同時與藥物之單一及累積劑量有關，可能與投藥方案有關。紫杉醇之神經毒性係起因於獨特之作用機制；其鍵結於微管蛋白且促使微管組成（Schiff P.B.等人，Nature 1979; Parnass J. and Horowitz S.B., J. Cell. Biol. 1981）。在紫杉醇存在下所形成之微管在一般會將其解聚的條件下（包括存有鈣及寒冷）保持安定性。帕克里塔西（paclitaxel）亦改變微管組合之動力學，去除了一般在開始組合之前所發現之遲滯期（Horowitz S.B.等人，Ann. N.Y. Acad. Sci. 1986）。此種機制與抑制微管組合之長春花生物鹼的機制競爭。

此種競爭性機制使得難以發現一種同時作用於兩個不同方式誘發之神經病變的藥物。

使用不具有骨髓毒性之造血生長因子，神經毒性變成劑量-限制因子（Schiller 等人，J. Clin. Oncol. 1994）。症狀可能早在使用高值單一劑量（ >250 毫克／米²）治療之後的 24 至 72 小時開始出現，但神經毒性一般是累積性，在高及低劑量下，每次治療之後症狀皆持續惡化。

該症狀通常可忍受（NCI 第 1 或 2 級）。神經系統檢測性地顯示高值臨界值，且於末梢、對稱、手套-及-長襪模式下感知振動。通常，大纖維感覺實體（振動，本體

(6)

感覺) 較喪失小纖維感覺實體 (疼痛, 溫度) 更常受到影響。亦常影響腱反射, 固定沒有或降低末稍 (踝) 反射。

神經傳導研究顯示感覺神經作用電位幅度以對稱、末端、與長度有關之方式降低。有症狀之患者之腓腸感覺神經作用幅度實際上始終較低或不存在。

輕度感覺症狀通常在停用紫杉醇後之數個月內改善或完全舒解。

順氯氨鉑誘發末稍感覺軸突神經病變, 影響大直徑及 (較輕微地) 小直徑感覺纖維。感覺異常及受損之本體感受是最常見之症狀 (Thompson S.W.等人, Cancer 1984)。
。順氯氨鉑累積於且損壞背根神經, 在神經元受損之後產生軸突變化 (Warner E., Int. J. Gynecol. Cancer 1995)。

由順氯氨鉑誘發之神經病變的發生與累積劑量極有關係, 症狀係開始於順氯氨鉑總劑量為 330 至 400 毫克/米² 時。順氯氨鉑緊密且不可逆地鍵結於神經組織, 這說明了有時在順氯氨鉑療法停止之後發生神經受損之情況。

長春花生物鹼誘發末稍感覺-運動綜合神經病變及自主神經病變, 此等病變在數個月後有部分可逆 (Potsma T.J.等人, J. Neurooncol. 1993)。

伊波提酮家族具有類似紫杉烷之毒性曲線 (Lee FY 等人 Proc Am Assoc Cancer Res, 2002, 792)。

使用於癌症治療之數種其他化合物亦出現輕度至嚴重

(13)

N-肉毒鹼之整體保護活性（兼指預防及治療）係出乎於以技術經驗所預測者之外。如同背景部分所討論，推測乙醯基 L-肉毒鹼似乎藉著增加還原穀胱甘肽之濃度，而對自由基產生「清除劑」效果。該段落亦說明本發明研究之抗癌藥物損壞末梢神經的機制。就鉑家族而言，亦已知還原清除劑易影響藥物活性，因其係經由自由基機制作用，故不建議使用自由基清除劑。

乙醯基 L-肉毒鹼（ALC）藉著強化神經生長因子（NGF）之效果，來產生對抗因為抗癌劑誘發之末梢神經病變的保護效果（Gacaletti, G.等人, *Journal of Neurology*, Vol. 249, Suppl. 1, June 2002: 1/28, 78）。NGF 在技術界係已經徹底研究而與順氯氨鉑及紫杉醇神經毒性有關之神經保護劑。乙醯基 L-肉毒鹼可藉著促進不同基因之表現，而強化 NGF 對於 PC12 細胞之影響，如同微量陣列（microarray）分析所評估，亦記錄在促進 PC12 神經炎發展時的 NGF 與乙醯基 N-肉毒鹼之間的關係。在由順氯氨鉑所誘發之慢性感覺神經病變的動物模型中發現介於乙醯基 L-肉毒鹼與 NGF 之間的不同關係。此模型中，感覺神經病變開始與 NGF 循環濃度降低量之間有一先前已證明的密切關係。

在使用紫杉醇-乙醯基 L-肉毒鹼治療組中的紫杉醇神經毒性活體內模型中亦發現神經病變之嚴重性大幅降低。除了在經順氯氨鉑治療之動物體內降低 NGF 之外，乙醯基 L-肉毒鹼似乎增加細胞對於 NGF 之反應。有關基於乙

(14)

醯基 L-肉毒鹼之保護效果的分子機制，本發明所進行之研究顯示保護劑經由組蛋白乙醯化（與基因表示之調節有關）來促進神經元 NGF 反應。乙醯基 L-肉毒鹼之乙醯基係於 NGF-歧化 PC12 細胞中轉移至組蛋白。乙醯基 L-肉毒鹼之存在增加由 NGF 誘發之組蛋白乙醯化。而且，添加乙醯基 L-肉毒鹼於 PC12 細胞明顯刺激 NGFI-A（具有腫瘤抑制效果之轉錄因子的基因編碼）之表現。此外，NGFI-A 蛋白質參與數個生理過程，顯然在組織修補中具有重要角色。結果，本發明顯示乙醯基 L-肉毒鹼係為針對於在使用本發明所研究之抗癌劑治療之後的化學療法誘發神經病變的特定保護劑。與此點有關的是不會對藥物抗腫瘤活性產生任何干擾。最後，乙醯基 L-肉毒鹼可在化學療法誘發之神經病變中促進生理 NGF 之支持效果，因此避免外在投予 NGF 之局部及整體副作用問題，此問題係為此種神經保護策略的主要問題。

當 ALC 使用於本發明時，未發現對藥物之抗癌作用產生任何負面影響。

ALC 可簡便地經口投藥，但不因此排除熟習此項技術者可能建議採用之其他投藥路徑，特別是注射，以於（例如）相同輸液管瓶中與抗癌劑同時投藥，或依序投藥，如同熟習此項技術者已知。

因為 L-肉毒鹼及其他烷醯基 L-肉毒鹼（以下總稱為「肉毒鹼」），尤其是丙醯基 L-肉毒鹼（PLC），同時顯示療效與抗癌劑治療活性，如前述 WO 00/06134 所揭示

(15)

，故較佳係提供作為保護劑之乙醯基 L-肉毒鹼及一或多種「肉毒鹼」與本發明抗癌劑之組合物（亦為個別劑型，或有時為結合劑型）。根據本發明組合的結果，此種組合物亦可包含其他抗癌劑，此劑誘發實質減輕之副作用，尤其是末梢神經病變。後一具體實例有利於綜合化學療法。添加 L-肉毒鹼於前述組合物中亦佳。

因此，更佳係提供一種三元組合物，其包含個別劑型或有時結合劑型之作為保護劑的乙醯基 L-肉毒鹼、作為協合劑之丙醯基 L-肉毒鹼、及本發明抗癌劑中之一。根據本發明組合之結果，此種組合物亦包含其他顯示協合效果或誘發實質減輕之副作用的抗癌劑。後一具體實例有利於綜合療法。添加 L-肉毒鹼於前述組合物亦佳。

本發明之一特定目的係為一種醫藥組成物，其包含治療有效量之本發明抗癌劑中之一與保護量之乙醯基 L-肉毒鹼及協合量之乙醯基 L-肉毒鹼，其與醫藥上可接受之佐藥及／或賦形劑混合。

就與工業應用有關之層面而言，本發明亦於其可能具體實例中之一中提供一種套組，其含有 a) 一種醫藥組成物，其包含治療有效量之抗癌劑；b) 一種醫藥組成物，其包含乙醯基 L-肉毒鹼或其醫藥上可接受之鹽，用量係適於產生對抗該抗癌劑對末梢神經系統之副作用的實質保護作用。本發明套組亦可為包含下列者之形式：a) 一種醫藥組成物，其包含治療有效量之抗癌劑；b) 一種醫藥組成物，其包含乙醯基 L-肉毒鹼，用量係適於產生對抗

(16)

該抗癌劑對末梢神經系統之副作用的實質保護作用。

套組之指導說明參照前述 WO 00/6134，尤其是與其他肉毒鹼組合時。

現在參照較佳具體實例揭示進行本發明之方式，使用草酸鉑（Oxaliplatin）、或伊波提酮（epothilone）或唯諾賓（Vinorelbine）作為抗癌劑。

已知熟習此項技術者可依其本身之技術常識完成實驗方案，可能視需要再分成兩相鄰部分。

下文中記錄適於說明藉著結合 L-肉毒鹼或其衍生物與前述抗癌劑所得之令人意外且令人驚異的保護效果之最重要實驗的結果。實驗細節可參考 WO 00/6134 及此申請案所列之文獻。

實施例 1

乙醯基 L-肉毒鹼對於草酸鉑所誘發之末梢神經病變的保護效果—預防處理

此項研究之目的係說明且評估在草酸鉑治療之前一日投藥歷經 4 週之乙醯基 L-肉毒鹼的預防保護性質。

末梢神經病變係藉著腹膜內投予溶解於經蒸餾滅菌水中之草酸鉑，每週兩次歷經 4 週（共投藥 8 次）而誘發。

乙醯基 L-肉毒鹼係溶解於蒸餾水中，且於皮下投藥。基於個別體重投予 100 毫克 / 1.5 毫升 / 公斤 / 日之劑量。ALC 治療係每日進行，在草酸鉑治療之前一日開始，歷經 4 週。對照組及草酸鉑組皆使用佐藥進行 s.c. 治療。

(17)

每隻動物各於開始治療之前（基準值）及最後一次投予草酸鉍之日（最終值），於氟烷（halotane）麻醉下，測定神經傳導速度（NCV）。

使用下列方法測定 NCV：動物使用包含 0.45 氟烷、一氧化二氮（nitrogen protoxide）及氧之氣體混合物麻醉。於尾部測定神經傳導速度，將刺激電極放置於尾部基於，一對記錄環電極放置於尾部末稍距離刺激電極 5 及 10 厘米處。

測定於神經刺激後於兩部位上記錄之電位勢（波峰到波峰），且據以計算神經傳導速度。

在各動物體內進行重複檢測時，藉著使用永久性墨液標記尾部，使刺激及記錄部位係保持固定。

尾部神經之記錄及刺激係使用 Ote Biomedica Phasis II 肌電圖儀，使用等於極限值之刺激強度，於 10 微秒之持續時間進行。就視動物體溫度而定之神經傳導速度的文獻中的記錄而言，前者需於整體實驗期間借助 BM 70002 型動物用控溫器（Biomedica Mangoni）保持定值，使用直腸探針測量。

所有組別動物皆同時於基礎條件下及於治療 5 週之後測量速度。

結果表示為平均值 $\pm$ 標準偏差；同時針對個別及成對數據使用“t”-試驗評估有效值，統計有效值截止點 $p < 0.05$ 。

於尾部神經上測量之感覺神經傳導速度係出示於下表

(18)

1 中。

表 1

草酸鉑所誘發之神經病變：在基礎條件下及使用乙醯基 L-肉毒鹼治療後於動物尾部上測量之感覺神經傳導速度（米／秒）

治療		
組別	基礎條件	草酸鉑第 8 次治療
對照組	31.0 ±1.4	35.8±1.7
草酸鉑	31.3 ±1.7	30.8±1.2*
乙醯基 L-肉毒鹼 +草酸鉑	31.4±1.5	33.6±2.6§

數值係為平均值±標準偏差。

t-試驗（個別數據）

*= $p < 0.001$ 相對於對照組

§= $p < 0.001$ 相對於草酸鉑

實施例 2

乙醯基 L-肉毒鹼對於由草酸鉑-誘發之末梢神經病變的實驗模型之保護效果—治療處理

此項研究之目的係證明且評估在草酸鉑治療結束時，於 3 週追蹤周期期間投藥之乙醯基 L-肉毒鹼之治療保護性質。

末梢神經病變係藉著腹膜內投予溶解於蒸餾無菌水中之草酸鉑（3 毫克／公斤／1.5 毫升）每次兩次歷經 4 週

(19)

(共投藥 8 次) 而誘發。

乙醯基 L-肉毒鹼係溶解於蒸餾水中，於追蹤周期內以皮下投藥。基於個人體重投予 100 毫克 / 1.5 毫升 / 公斤 / 日之劑量。ALC 治療係於最後一次草酸鉑投藥之後開始。

對照組及草酸鉑組皆使用佐藥進行 s.c. 治療。

每隻動物各於開始治療之前（基準值）、最後一次投予草酸鉑之日（最終值）及於 3 週之追蹤周期中每次一次，於氟烷（halotane）麻醉下，測定神經傳導速度（NCV）。

NCV 係如實施例 1 般測定。

於尾部神經上測量之感覺神經傳導速度係出示於下表 2 中。

表 2

草酸鉑所誘發之神經病變：於基礎條件下及於使用乙醯基 L-肉毒鹼治療之後，於動物尾部上測量之感覺神經傳導速度（米／秒）

治療		復原			
組別	基礎條件	第 8 次草酸鉑治療	第 1 週	第 2 週	第 3 週
對照組	31.0±1.4	35.8±1.7 ***	37.8±2.3 ***	38.2±1.5 ***	39.3±1.2 ***
草酸鉑	31.6±2.0	30.8±0.6 ***	31.6±2.7 ***	32.0±1.9 **	35.9±1.8 *
乙醯基 L-肉毒鹼+草酸鉑	31.0±1.7	30.6±1.5	34.1±2.6 §	35.1±1.9 §§	36.6±2.0

數值係為平均值±標準偏差。

t-試驗（個別數據）

*=p<0.001 相對於對照組；**=p<0.005 相對於對照組；***=p<0.0001 相對於對照組

§=p<0.001 相對於草酸鉑；§§=p<0.01 相對於草酸鉑

(21)

實施例 3

乙醯基 L-肉毒鹼保護末梢神經防止因草酸鉑所誘發之損害的效果-治療及預防處理

使用腳掌縮回試驗 (Randall-Sellitto) 來決定機械性痛覺過敏。感覺傷害極限值係使用 Ugo Basile 痛覺測量計，藉著施加漸增之壓力於左邊及右邊後掌而測量。感受傷害極限值係定義為白鼠縮回其腳掌的壓力 (克數)。較低之極限值係對應於對痛覺較高之敏感性。此種行為試驗係於自藥物或佐藥投藥開始的不同時間 (日數) 進行。實驗之前的一週內，使白鼠熟悉測試方法及研究人員之操作。

使用約 10 週大之 Wistar 雌鼠 (Charles River)。於鹽水中之草酸鉑 (3 毫克 / 公斤 i.p.) 在頭兩週係每週投藥三次，之後每週兩次歷經兩週，隨後每週一次。

預防處理係如下進行：自草酸鉑治療之第 1 日開始，每日投予草酸鉑 3 毫克 / 公斤 i.p. + ALC 100 毫克 / 公斤 s.c.。

治療性處理係如下進行：自草酸鉑治療之第 24 日開始，每日投予草酸鉑 3 毫克 / 公斤 i.p. + ALC 100 毫克 / 公斤 s.c.。

感受傷害極限值數據 (Randall-Sellitto) 係出示於下表 3 中。

(22)

表 3

草酸鉑所誘發之神經病變：於動物後掌上測量之感受傷害極限值（克）（平均±S.D.）

組別	N	日數									
		0	9	16	23	30	37	40	44	51	
鹽水	9	235 48.6	245 83.8 d	214 38.4 a	204 41.5 d	234 59.5 d	215 37.2	234 65.3 d	204 39.4	209 46.0	
鹽水+ALC	9	210 37.4	244 99.1 d	232 65.5 d	234 77.9 d	250 96.9 d	260 100.0 a	216 79.6 a	199 81.8	216 82.7	
草酸鉑	15	217 41.2	129 35.7	133 41.2	121 42.2	114 59.1	151 94.3	143 46.4	147 107.1	136 60.8	
ALC+草酸鉑預防組	12	242 34.0	206 104.5	207 110.8 a	238 46.0 d	247 115.7 d	276 114.0 d	241 87.5 d	283 129.4 d	291 95.2 d	
ALC+草酸鉑治療組	14	221 32.3	181 92.2	136 44.0	116 42.1	182 76.9	179 50.2	191 46.3	186 68.5	196 98.1	

ANOVA：相對於草酸鉑之 Dunnett 氏多重對照試驗。a=p<0.05，d=p<0.001。

(23)

統計分析係出示於下表 4 中。

表 4

	D.F.	F	P<
鹽水相對於草酸鉑（0-51 日）	1-22	28.16	0.001
治療	8-176	2.03	0.045
相互作用			
草酸鉑 + ALC-預防相對於草酸鉑（0-51 日）	1-25	21.98	0.001
治療	8-200	3.06	0.003
相互作用			
鹽水相對於草酸鉑（23-51 日）	1-22	17.95	0.001
治療	5-110	1.10	NS
相互作用			
草酸鉑 + ALC-治療相對於草酸鉑（23-51 日）	1-27	6.03	0.021
治療	5-135	1.41	NS
相互作用			

實施例 4

乙醯基 L-肉毒鹼保護末梢神經防止唯諾賓（Vinorelbine）所誘發之損害的效果-治療及預防處理

使用如同實施例 3 之腳掌縮回試驗（Randall-Sellitto）。使用約 3 個月大（約 350 克）之 Sprague Dawley 雄

(24)

鼠 (Harlan) 。 在 鹽 水 中 之 唯 諾 賓 (Vinorelbine) (0.200 毫 克 / 公 斤 i.p.) 每 週 投 藥 三 次 , 直 至 實 驗 結 束 。

如 下 進 行 預 防 處 理 : 自 唯 諾 賓 (Vinorelbine) 治 療 之 第 一 日 開 始 每 日 投 予 唯 諾 賓 (Vinorelbine) 3 毫 克 / 公 斤 i.p. + ALC 100 毫 克 / 公 斤 s.c. (一 週 6 日) 。 使 用 ALC 處 理 直 至 第 25 日 。

治 療 性 處 理 係 如 下 進 行 : 自 唯 諾 賓 (Vinorelbine) 治 療 之 第 9 日 開 始 , 每 日 投 予 草 酸 鉑 3 毫 克 / 公 斤 i.p. + ALC 100 毫 克 / 公 斤 s.c (每 週 6 日) 。 ALC 治 療 係 進 行 至 第 25 日 。

每 週 進 行 測 試 兩 次 。

感 受 傷 害 極 限 值 數 據 (Randall-Sellitto) 係 出 示 於 下 表 5 中 。

表 5

唯諾賓 (Vinorelbine) 所誘發之神經病變：於動物後掌上測量之感受傷害極限值 (克) (平均±S.D.)

(25)

組別	N	日數									
		0	4	9	11	16	18	23	25		
鹽水	10	228.5 44.1	214.6 59.2	229.8 54.1 c	242.9 35.5 d	220.7 38.6 d	205.0 38.9 d	196.8 46.9 c	214.8 54.5 d		
唯諾賓	12	211.4 32.9	173.5 51.6	168.8 45.6	156.8 50.5	135.8 36.0	127.7 38.2	136.2 45.4	122.7 40.9		
ALC+唯諾賓預防組-1 日	10	222.0 23.8	197.4 39.6	234.0 74.5 a	211.2 41.4 b	235.4 44.4 d	204.6 35.6 d	202.6 41.8 c	201.2 36.1 d		
ALC+唯諾賓治療組-9 日	12	216.5 44.3	167.5 41.6	160.2 60.6	190.6 70.2	196.2 49.5 b	227.2 72.6 d	209.0 56.9 c	206.7 59.8 d		

Student 氏 t-檢驗相對於唯諾賓， $a=p \leq 0.05$ ， $b=p \leq 0.01$ ， $c=p \leq 0.01$ ， $d=p \leq 0.001$ 。

(26)

實施例 5

乙醯基 L-肉毒鹼保護末梢神經防止長春新鹼-誘發之損害的效果-治療及預防處理

使用如同實施例 3 之腳掌縮回試驗 (Randall-Sellitto)。

使用約 3 個月大 (約 350 克) 之 Sprague Dawley 雄鼠 (Harlan)。在鹽水中之長春新鹼 (0.150 毫克 / 公斤 i.p.) 每週投藥三次，直至實驗結束。

如下進行預防處理：每日投予長春新鹼 0.150 毫克 / 公斤 i.p. (每週三次) + ALC 100 毫克 / 公斤 s.c. (一週 6 日)。

治療性處理係如下進行：自長春新鹼治療之第 15 日開始，每日投予長春新鹼 0.150 毫克 / 公斤 i.p. + ALC 100 毫克 / 公斤 s.c. (每週 6 日)。

每週進行測試兩次。

感受傷害極限值數據 (Randall-Sellitto) 係出示於下表 6 及表 7 中。

表 6

長春新鹼所誘發之神經病變：於動物後掌上測量之受傷害極限值（克）（平均值±S.D.）-預防處理

(27)

組別	N°	日數						
		0	3	8	10	15	17	22
鹽水	30	212.7 50.4	220.0 67.4 d	202.0 59.2 d	221.3 63.5 d	213.3 60.2 d	213.3 72.3 d	222.0 73.9 d
	30	222.0 43.8	137.3 52.6	114.7 53.1	117.3 43.8	126.7 69.6	94.7 80.5	133.0 73.9
ALC+長春新鹼	30	210.7 41.1	206.7 66.8 d	209.3 81.1 d	213.3 83.8 d	213.3 59.2 d	202.7 64.6 d	215.0 72.8 d

表 7

長春新鹼所誘發之神經病變：於動物後掌上測量之受傷害極限值（克）（平均值±S.D.）-治療處理

組別	N°	日數										
		0	4	8	10	15	22	24	29	31	36	38
鹽水	10	197.2	233.5	201.5	209.4	224.8	231.0	223.5	215.9	222.2	250.4	248.6
		24.0	60.7	55.7	47.4	59.5	47.4	62.6	44.9	46.2	86.3	62.0
長春新鹼	10	199.4	173.6	145.6	131.4	127.4	120.6	133.0	128.0	129.2	137.8	154.2
		25.0	64.8	71.8	31.9	50.9	40.2	74.6	56.9	46.2	52.8	64.2
ALC+長春新鹼	10	216.2	212.8	186.8	152.6	128.0	188.6	230.5	248.4	282.0	265.0	281.6
		38.9	62.9	87.3	59.5	39.8	72.4	68.9	100.2	76.8	71.5	97.1

Student 氏 t-檢驗相對於長春新鹼，b=p≤0.02，c=p≤0.01，d=p≤0.001。

柒、（一）、本案指定代表圖為：無

（二）、本代表圖之元件代表符號簡單說明：無

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：無

(4)

98.10.02 年 月 日修正替換頁

低於順氯氨鉑，唯未達到可忽略之程度。末稍神經毒性係為抗腫瘤藥物順氯氨鉑的劑量限制性副作用（Cavaletti 等人，Journal of the Peripheral Nervous System, Vol. 6, Number 3; September 2001, 136 - 2001 Meeting of the Peripheral Nerve Society）。

長春新鹼係為眾所周知之抗癌劑，其具有毒性，尤其是對於免疫系統。

紫杉醇（taxol）係為天然萃取液，最早是從 *Taxus brevifolia* 之樹皮單離，具有抗癌性質，且對人類具有公認之神經毒性及骨髓毒性。用於治療對於鉑療法具有抗藥性之腫瘤，但於末稍神經系統中產生更大之累積毒性。亦確定紫杉醇於接受治療之患者體內誘發嗜中性白血球減少症（Rowinsky 等人；Semin. Oncol. (1993), Aug. 20 (4 suppl 3), 1-15; Onetto e al. J. Natl. Cancer Inst. Monogr. (1993), (15).131-9）。

不同類型之化學療法藥物皆誘發末稍神經毒性，特別提及：紫杉鹼（taxoids）、鉑化合物、長春花生物鹼、伊波提酮類、法呢基轉移酶抑制劑、酞胺哌啶酮、5-氟尿嘧啶、隱藻素同質物、蛋白酶體抑制劑。

有數種末稍神經病變會導致療法修飾，而輕度或中度之情況仍會出現限制患者生活品質之重要耐受性問題。

而長春花生物鹼係鍵結於微管蛋白，防止其自可溶性二聚物聚合成為微管，紫杉鹼係促進微管形成，且防止其解聚，導致存有大量剛性微管。

(7)

年 月 日修正替換頁
98.10.02

(11-16頁)

之神經病變。其中，特別提及法呢基轉移酶抑制劑，諸如 R11577 (Adjei, A.A., 等., J. Clin. Oncol., 2003, May, 1, 21 (9): 1760-6) ; 酞胺哌啶酮 (Rajkumar, S. V., 等., Leukemia, 2003, Apr; 17 (4): 775-9) ; 5-氟尿嘧啶 (van Laarhoven, H. W., et al., Anticancer Res., 2003, Jan-Feb; 231 (1B) : 647-8) ; 朵西特塞 (Docetaxel) (Thongprasert, S., et al., J. Med. Assoc. Thai, 2002, Dec; 85 (12): 1296-300) ; 隱藻素同質物，諸如 LY355703 (Sessa, C., et al., Eur. J. Cancer., 2002, Dec; 38 (18): 2388-96) ; 及蛋白酶體抑制劑，諸如 PS431 (Aghajanian, C., et al. Clin. Cancer Res., 2002, Aug; 8 (8). 2505-11) 。。

醫藥治療常見問題中之一係為藥物之治療指數，即治療有效劑量相對於毒性劑量之比例，或於任何比例下開始產生副作用之劑量。

醫藥界仍需要一種可使患者面對治療（特別難以忍受之抗癌化學療法）之治療方案，同時保有可接受之生活品質。此等考慮亦適用於動物之治療，例如所謂寵物。

降低劑量的自然傾向，因此所致之適於治療使用之投藥的醫藥形式（不使患者太頻繁地服藥）的使用，與各抗癌劑之一般最低有效劑量形成對比。

國際申請案 WO 00/06134 揭示 L-肉毒鹼及其烷醯基衍生物於製備含有抗癌劑之醫藥的應用。該申請案尤其揭示烷醯基 L-肉毒鹼與抗癌劑之組合物的應用，其改善治

療指數且減輕抗癌劑一般所具之副作用。該申請案特別揭示 L-肉毒鹼對於一般毒性之影響，以抗癌劑之存活期或重量損失表示。詳言之，所列申請案提供一種藉由丙醯基 L-肉毒鹼針對抗癌劑（例如紫杉醇）活性產生之協合作用。就相關數種抗癌劑特定毒性而言，該申請案提供對抗博來黴素（bleomycin）之肺毒性、由紫杉醇所誘發之嗜中性白血球減少症、及由紫杉醇誘發之末梢神經病變的保護作用實例。

此種基於肉毒鹼家族之概略揭示無法引導熟習此項技術者來預測乙醯基 L-肉毒鹼在預防及／或治療因部分抗癌劑所誘發之末梢神經病變的特定活性。

相同理由可應用於乙醯基 L-肉毒鹼在預防及／或治療因順氯氨鉑所致之末梢神經病變的效果的描述（Vitali, G. 等., *Annals of Oncology*, Vol. 13, 2002, Supplement 5: 179, 659P; Cavaletti, G. 等., *Journal of Neurology*, Vol. 249, Suppl. 1, June 2002: 1/28, 78; Cavaletti, G. 及 Zanna, C., *European Journal of Cancer*, 38 (2002): 1832-7）。

【發明內容】

現在發現協調（co-ordinated）使用一此用辭將明確定義於下文—末梢神經病變誘發性抗癌劑及乙醯基 L-肉毒鹼，可對於該抗癌劑之神經病變誘發活性產生預防及／或治療效果。

在本發明中，協調使用治療有效量之末梢神經病變誘

發性抗癌劑，尤其是鉑化合物家族、紫杉烷、伊波提酮（epothilone）類及長春花生物鹼、法呢基轉移酶抑制劑、酰胺哌啶酮、5-氟尿嘧啶、隱藻素同質物、蛋白酶體抑制劑，及解毒量之乙醯基 L-肉毒鹼或其醫藥上可接受之鹽中之一，可產生對抗末梢神經毒性及抗癌劑副作用之強效保護效果，而不損及其療效，因此特別可大幅改善生活品質，且延長接受治療之患者之壽命本身，不論對人類患者或動物皆然。

本發明之目的係使用乙醯基 L-肉毒鹼或其醫藥上可接受之鹽以製備藥物之應用，該藥物係用以預防及／或治療因為服用末梢神經病變誘發性抗癌藥物所致之末梢神經病變，該藥物係以協調方式投予患有該末梢神經病變之患者，或可能患有該末梢神經病變之患者，其先決條件為該抗癌劑並非紫杉醇或順氯氨鉑。

本發明另一目的係一種乙醯基 L-肉毒鹼或其醫藥上可接受之鹽與末梢神經病變誘發性抗癌劑及相關醫藥組成物之組合物。

已知去除乙醯基 L-肉毒鹼之毒性或副作用使得此種化合物之使用特別的安全，即使長期投藥亦然。

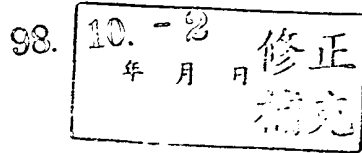
施行本發明亦改善接受治療之患者的生活品質；僅需想像因為末梢神經病變所致之生理上的痛苦。

本發明之此等及其他目的將以發明具體實例形式詳細描述，具體實例亦供作實施例。

本發明中，已知「抗腫瘤」、「抗癌」及「抗增殖」

(10)

用辭基本上係同義。

**【實施方式】**

本發明內文中，「協調使用」前述化合物無異於（i）共同投藥，即實質同時或依序投予乙醯基 L-肉毒鹼或其醫藥上可接受之鹽中之一及抗癌劑，或（ii）投予包含組合物及混合物形式之前述活性成份之組成物，附加有選擇性醫藥上可接受之賦形劑及／或佐藥。

本發明因此同時涵蓋共同投予乙醯基 L-肉毒鹼或其醫藥上可接受之鹽中之一及抗癌劑及投予包含兩種活性成份之混合物的醫藥組成物，可經口、非經腸或經鼻投藥，包括控釋型式。

本發明中使用共同投藥係表示對於抗癌劑之可能副作用（即末梢神經病變）產生預防性處理（亦稱為預防）的可能性。另一具體實例中，共同投藥之使用係於本發明中表示抗癌劑副作用之治療性處理（亦稱為處理或治療）。若為預防性處理，則乙醯基 L-肉毒鹼應視已知涉及末梢神經病變之抗癌劑治療的需要來投藥。投藥始點、後續時程表（即劑量學）及在開始使用抗癌劑治療之後對於繼續投藥的決定應在臨床專家的經驗範圍內，亦視抗癌劑種類、預測副作用之類型及嚴重性、患者狀況而定。例如，乙醯基 N-肉毒鹼之投藥可在恰於手術移除腫瘤之前或之後立即開始，但所有情況皆在抗癌劑開始投藥之前，在手術前先投予抗癌劑時亦然。若在手術之前先投予抗癌劑或用

以取代手術，則可同時施予預防及治療。

共同投藥亦表示一套裝物或製造成品，其包含不連續投藥形式之乙醯基 L-肉毒鹼或其醫藥上可接受之鹽中之一及抗癌劑，同時有根據由主治醫師基於患者狀況所建立之劑量方案的活性成份之協調性同時或分時服用的指示。此種套裝物同時適用於預防及治療。在不同之本發明具體實例中，套裝物或製造物件係包含一單元投藥劑量，其同時含有抗癌劑及乙醯基 L-肉毒鹼。

乙醯基 L-肉毒鹼之醫藥上可接受之鹽係表示前者與不產生毒性或副作用之酸的任何鹽。此等酸係藥理學家及製藥技術專家所熟知。

L-肉毒鹼或烷醯基肉毒鹼之醫藥上可接受之鹽的實例（非僅只有此等）有氯化物、溴化物、碘化物、天冬胺酸鹽、酸式天冬胺酸鹽、檸檬酸鹽、酸式檸檬酸鹽、酒石酸鹽、酸式酒石酸鹽、磷酸鹽、酸式磷酸鹽、反丁烯二酸鹽、酸式反丁烯二酸鹽、甘油磷酸鹽、葡萄糖磷酸鹽、乳酸鹽、順丁烯二酸鹽、酸式順丁烯二酸鹽、黏酸鹽、乳清酸鹽、草酸鹽、酸式草酸鹽、硫酸鹽、酸式硫酸鹽、三氯乙酸鹽、三氟乙酸鹽、甲磺酸鹽、雙羥萘酸鹽、及酸式雙羥萘酸鹽。該鹽類係揭示於申請人名下之數項專利中。

乙醯基 L-肉毒鹼臨床使用之每日投藥的一較佳型式係為包含 0.1 至 3 克（以 0.5 至 3 克為佳）之乙醯基 L-肉毒鹼或等量之醫藥上可接受之鹽。

本發明有利於預防或治療末梢神經病變。

98. 10. - 2

實質保護效果係表示預防、減輕或消除或總歸是處理該副作用至統計上有效之程度。

本文所述之本發明具體實例因為增加保持定時治療方案之機率或增加化學療劑之劑量（不因為禁忌徵而中斷治療）以增加治療成功率，故亦可治癒且延長患者壽命。

使用本發明所得之另一項優點係有關接受治療之患者的生活品質；如前文所述，實際上，消除或減輕因為末梢神經病變所致之生理上的痛苦有利於患者自給之能力。就經濟觀點而言，顯然可節省用以看護患者之醫院設備或家庭所產生之成本。

本發明之第一較佳具體實例中，乙醯基 L-肉毒鹼係以協調方式與抗癌劑一起投藥，該抗癌劑係選自鉑化合物家族、紫杉烷（taxane）、伊波提酮（epothilone）類及長春花生物鹼、法呢基轉移酶抑制劑、酞胺哌啶酮、5-氟尿嘧啶、隱藻素同質物、蛋白酶體抑制劑。

本發明之第二較佳具體實例中，乙醯基 L-肉毒鹼對於因為抗癌劑所致之末梢神經病變顯示意料之外的保護活性程度，該抗癌劑係選自碳鉑、草酸鉑（Oxaliplatin）、朵西特塞（Docetaxel）、伊波提酮（epothilone）、唯諾賓（Vinorelbine）、長春新鹼、法呢基轉移酶抑制劑 R11577、酞胺哌啶酮、隱藻素同質物 LY355703、蛋白酶體抑制劑 PS341。已知此種保護效果應兼指該副作用之預防及該保護效果之治療。

雖本發明者不想受限於理論推測，但應強調乙醯基

伍、中文發明摘要

98.10.02 修正替換頁

發明之名稱：用於預防及／或治療末梢神經病變之藥物

本發明揭示乙醯基 L-肉毒鹼或其醫藥上可接受之鹽用於製備藥物之應用，該藥物係用以預防及／或治療因為服用末梢神經病變誘發性抗癌劑所誘發之末梢神經病變。該抗癌劑特別是選自鉑化合物家族、紫杉烷(taxane)、伊波提酮(epothilone)類及長春花生物鹼、法呢基轉移酶抑制劑、酞胺哌啶酮、5-氟尿嘧啶、隱藻素同質物、蛋白酶體抑制劑。該藥物可共同投藥於患有該末梢神經病變或可能患有該末梢神經病變之患者。改善患者生活品質且改善抗癌劑之治療指數。

陸、英文發明摘要

發明之名稱：

Medicament for preventing and/or treating peripheral neuropathies

This invention disclosed the use of acetyl L-carnitine or of a pharmaceutically acceptable salt thereof for the preparation of a medicament for preventing and/or treating peripheral neuropathies induced by the administration of a peripheral neuropathy - inducing anticancer agent. In particular said anticancer agent is selected from the group consisting of the family of platin compounds, taxanes, epothilone class and vinca alkaloids, farnesyl transferase inhibitors, thalidomide, 5-fluorouracil, cryptophycin analogues, proteasome inhibitors. Said medicament can be administered in a co-ordinated manner to a subject suffering from said peripheral neuropathies, or expected to suffer from said peripheral neuropathies. Beneficial effects on the patient's quality of life are achieved and an improvement of therapeutic index of the anticancer agent is obtained.



附件 3A : 第 092130286 號申請專利範圍修正本

民國 100 年 11 月 11 日修正

拾、申請專利範圍

100. 11. 11 補正

1. 一種使用乙醯基 L-肉毒鹼或其醫藥上可接受之鹽於製備藥物的用途，該藥物係用於預防及／或治療因為投予末稍神經病變誘發性抗癌劑所誘發之末稍神經病變，其中該抗癌劑係酞胺哌啶酮 (thalidomide)。

2. 如申請專利範圍第 1 項之用途，其中該乙醯基 L-肉毒鹼之醫藥上可接受的鹽係選自鹽酸鹽、氫溴酸鹽、乳清酸鹽、酸式天冬胺酸鹽、酸式檸檬酸鹽、酸式磷酸鹽、反丁烯二酸鹽及酸式反丁烯二酸鹽、順丁烯二酸鹽及酸式順丁烯二酸鹽、酸式草酸鹽、酸式硫酸鹽、葡萄糖磷酸鹽、酒石酸鹽及酸式酒石酸鹽。

3. 一種用於預防及／或治療因為投予末稍神經病變誘發性抗癌劑所誘發之末稍神經病變的組成物，其包含乙醯基 L-肉毒鹼或其醫藥上可接受之鹽及作為抗癌劑之酞胺哌啶酮 (thalidomide)。

4. 如申請專利範圍第 3 項之組成物，其中該乙醯基 L-肉毒鹼之醫藥上可接受的鹽係選自鹽酸鹽、氫溴酸鹽、乳清酸鹽、酸式天冬胺酸鹽、酸式檸檬酸鹽、酸式磷酸鹽、反丁烯二酸鹽及酸式反丁烯二酸鹽、順丁烯二酸鹽及酸式順丁烯二酸鹽、酸式草酸鹽、酸式硫酸鹽、葡萄糖磷酸鹽、酒石酸鹽及酸式酒石酸鹽。

5. 一種用於預防及／或治療因為投予末稍神經病變誘

發性抗癌劑所誘發之末梢神經病變的套組，其包含乙醯基 L-肉毒鹼或其醫藥上可接受之鹽及作為抗癌劑之酞胺哌啶酮（thalidomide）。

6.如申請專利範圍第 5 項之套組，其中該乙醯基 L-肉毒鹼之醫藥上可接受的鹽係選自鹽酸鹽、氫溴酸鹽、乳清酸鹽、酸式天冬胺酸鹽、酸式檸檬酸鹽、酸式磷酸鹽、反丁烯二酸鹽及酸式反丁烯二酸鹽、順丁烯二酸鹽及酸式順丁烯二酸鹽、酸式草酸鹽、酸式硫酸鹽、葡萄糖磷酸鹽、酒石酸鹽及酸式酒石酸鹽。