

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6116482号
(P6116482)

(45) 発行日 平成29年4月19日 (2017. 4. 19)

(24) 登録日 平成29年3月31日 (2017. 3. 31)

(51) Int. Cl.

F 1

A 6 1 K 31/47 (2006. 01)

A 6 1 K 31/47 ZMD

A 6 1 K 31/513 (2006. 01)

A 6 1 K 31/513

A 6 1 K 31/7072 (2006. 01)

A 6 1 K 31/7072

A 6 1 K 31/53 (2006. 01)

A 6 1 K 31/53

A 6 1 P 35/00 (2006. 01)

A 6 1 P 35/00

請求項の数 2 (全 24 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-542158 (P2013-542158)
 (86) (22) 出願日 平成23年12月1日 (2011. 12. 1)
 (65) 公表番号 特表2013-544844 (P2013-544844A)
 (43) 公表日 平成25年12月19日 (2013. 12. 19)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2011/062747
 (87) 国際公開番号 W02012/075211
 (87) 国際公開日 平成24年6月7日 (2012. 6. 7)
 審査請求日 平成26年11月20日 (2014. 11. 20)
 (31) 優先権主張番号 61/418, 840
 (32) 優先日 平成22年12月1日 (2010. 12. 1)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 513202959
 ニーキ ファーマ インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 フロリダ州 タンパ ス
 ベクトラム プールバード 3720 ス
 イート 104
 (74) 代理人 100102978
 弁理士 清水 初志
 (74) 代理人 100102118
 弁理士 春名 雅夫
 (74) 代理人 100160923
 弁理士 山口 裕孝
 (74) 代理人 100119507
 弁理士 刑部 俊
 (74) 代理人 100142929
 弁理士 井上 隆一

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ガリウム錯体を用いる併用療法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

癌を処置または予防するために、5 - フルオロウラシルまたはそのプロドラッグより選択される 1 つまたは複数の剤と併用するための医薬の製造のための、治療有効量のトリス (8 - キノリノラト) ガリウム (III) またはその薬学的に許容される塩の使用であって、プロドラッグがカベシタピン、S1またはテガフルである、使用。

【請求項 2】

5 - フルオロウラシルまたはそのプロドラッグより選択される 1 つまたは複数の剤と、治療有効量のトリス (8 - キノリノラト) ガリウム (III) またはその薬学的に許容される塩とを併用してなる、癌を処置または予防するための医薬であって、前記プロドラッグがカベシタピン、S1またはテガフルである、医薬。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連米国出願の相互参照

本願は、2010年12月1日に出願された米国特許仮出願第61/418,840号の恩典を主張し、その内容を参照により本明細書に組み入れる。

【0002】

発明の分野

本発明は、全体として、癌を処置するための薬学的組成物および方法、特にガリウム錯

20

体を用いる併用療法に関する。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)は、特定タイプの癌において有用であることが示唆されている有機ガリウム錯体である。例えば、米国特許第7,919,486号(特許文献1)は、黒色腫を処置するためのトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)および関連化合物の使用を開示し、特許請求している。

【先行技術文献】

【特許文献】

10

【0004】

【特許文献1】米国特許第7,919,486号

【発明の概要】

【0005】

驚くべきことに、以下の式(1)の化合物、特にトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)と、特定の抗癌薬の併用が、選択された腫瘍細胞を殺傷しそれによって選択された癌を処置する際に予想外の相乗作用を生じることが発見された。第1の局面において、本発明は、乳癌または結腸直腸癌をその処置を必要とする患者において処置する方法であって、該患者に式(1)の化合物および5-フルオロウラシルまたはそのプロドラッグの治療有効量を投与する工程を含む、方法を提供する。

20

【0006】

第2の局面において、本発明は、乳癌をその処置を必要とする患者において処置する方法であって、該患者に式(1)の化合物およびパクリタキセルまたはそのプロドラッグの治療有効量を投与する工程を含む、方法を提供する。

【0007】

第3の局面において、本発明は、癌(例えば、肺癌または腎細胞癌腫)をその処置を必要とする患者において処置する方法であって、該患者に式(1)の化合物およびゲムシタビンまたはテムシロリムスである第2の薬物の治療有効量を投与する工程を含む、方法を提供する。

【0008】

30

第4の局面において、本発明は、前立腺癌をその処置を必要とする患者において処置する方法であって、該患者に式(1)の化合物およびドセタキセルである第2の薬物の治療有効量を投与する工程を含む、方法を提供する。

【0009】

別の局面において、本発明は、癌(例えば、黒色腫または膠芽細胞腫)をその処置を必要とする患者において処置する方法であって、該患者に式(1)の化合物およびテモゾロミドの治療有効量を投与する工程を含む、方法を提供する。

【0010】

さらに別の局面において、本発明は、癌(例えば、多発性骨髄腫、MDS)をその処置を必要とする患者において処置する方法であって、該患者に式(1)の化合物およびレナリドマイドまたはサリドマイドの治療有効量を投与する工程を含む、方法を提供する。

40

【0011】

さらに別の局面において、本発明は、癌(例えば、非小細胞肺癌)を処置する方法であって、処置を必要とする患者に、最初に治療有効量の式(1)の化合物(例えば、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III))を、次いで治療有効量のエルロチニブを連続的に投与する工程を含む、方法を提供する。

【0012】

さらに別の局面において、本発明は、癌(例えば、非小細胞肺癌)を処置する方法であって、処置を必要とする患者に、最初に治療有効量のパクリタキセルを、次いで治療有効量の式(1)の化合物(例えば、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III))を連続的に投与す

50

る工程を含む、方法を提供する。

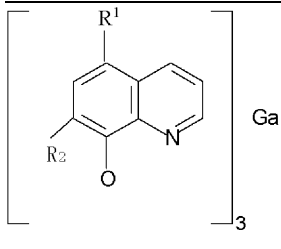
【0013】

治療有効量の以下の式(I)の化合物、特にトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)および上記の第2の抗癌薬を含む、薬学的組成物およびキットも提供される。

【0014】

[本発明1001]

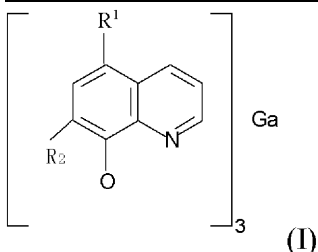
癌を処置または予防するために、5-フルオロウラシルまたはそのプロドラッグ（例えば、カベシタピン、S1、テガフル）、パクリタキセル、アブラキサン、ドセタキセル、ゲムシタピン、テムシロリムス、テモゾロミド、エルロチニブ、レナリドマイドおよびサリドマイドの群より選択される1つまたは複数の剤と併用するのに有用な医薬の製造のための、治療有効量の(1)式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用：



式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、Mは金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 はClでありかつ R^2 はIである。

[本発明1002]

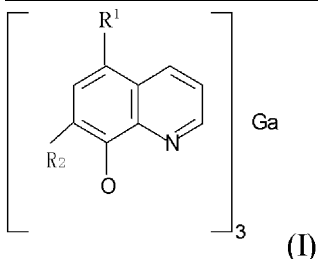
乳癌または結腸直腸癌を処置するための方法であって、そのような癌の処置を必要とする患者に、治療有効量の(1)式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩および(2)5-フルオロウラシルまたはそのプロドラッグ（例えば、カベシタピン、S1、テガフル）を同時にまたは連続的に投与する工程を含む、方法：



式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、Mは金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 がClでありかつ R^2 はIである。

[本発明1003]

乳癌を処置するための方法であって、そのような癌の処置を必要とする患者に、治療有効量の(1)式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩および(2)パクリタキセルまたはアブラキサンを同時にまたは連続的に投与する工程を含む、方法：

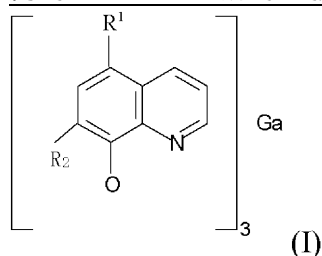


式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、Mは金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 はClでありかつ R^2 はIである。

[本発明1004]

癌を処置するための方法であって、そのような癌の処置を必要とする患者に、治療有効量の(1)式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩および(2)テムシロリムスを

同時にまたは連続的に投与する工程を含む、方法：



式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、 M は金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 は Cl でありかつ R^2 は I である。

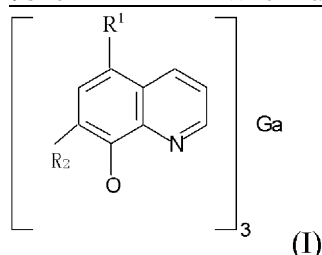
10

[本発明1005]

前記癌が肺癌または腎癌である、本発明1004の方法。

[本発明1006]

肺癌を処置するための方法であって、そのような癌の処置を必要とする患者に、治療有効量の(1)式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩および(2)ゲムシタビンを同時にまたは連続的に投与する工程を含む、方法：

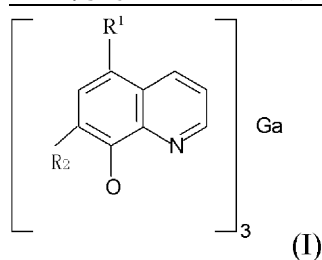


20

式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、 M は金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 は Cl でありかつ R^2 は I である。

[本発明1007]

前立腺癌を処置するための方法であって、そのような癌の処置を必要とする患者に、治療有効量の(1)式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩および(2)ドセタキセルを同時にまたは連続的に投与する工程を含む、方法：



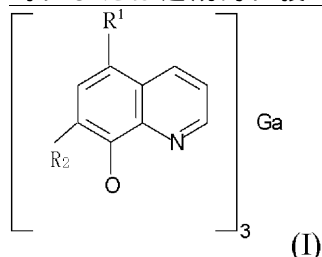
30

式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、 M は金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 は Cl でありかつ R^2 は I である。

[本発明1008]

癌を処置するための方法であって、そのような癌の処置を必要とする患者に、治療有効量の(1)式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩および(2)テモゾロミドを同時にまたは連続的に投与する工程を含む、方法：

40



式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、 M は金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 は Cl でありかつ R^2 は I である。

50

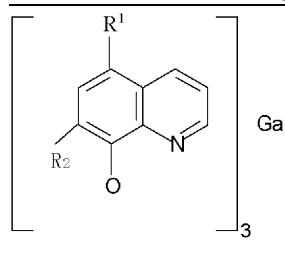
²は水素を表すか、またはR¹はClでありかつR²はIである。

[本発明1009]

前記癌が黒色腫または脳癌である、本発明1008の方法。

[本発明1010]

癌を処置するための方法であって、そのような癌の処置を必要とする患者に、治療有効量の(1)式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩および(2)レナリドマイドまたはサリドマイドを同時にまたは連続的に投与する工程を含む、方法：



10

式中、R¹は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基SO₃Mを表し、Mは金属イオンであり、かつR²は水素を表すか、またはR¹はClでありかつR²はIである。

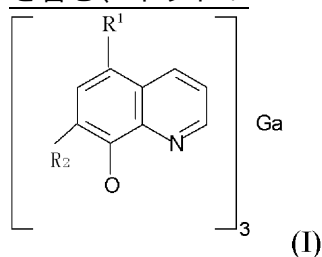
[本発明1011]

前記癌が多発性骨髄腫またはMDSである、本発明1010の方法。

[本発明1012]

仕切り付きの容器内に、

式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を有する、第1の単位剤形；ならびに
テモゾロミド、テムシロリムス、レナリドマイドおよびサリドマイドから選択される1つまたは複数の薬物を有する、第2の単位剤形
を含む、キット：



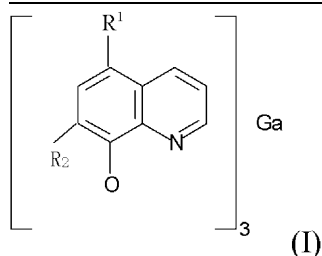
20

30

式中、R¹は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基SO₃Mを表し、Mは金属イオンであり、かつR²は水素を表すか、またはR¹はClでありかつR²はIである。

[本発明1013]

式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩ならびにテモゾロミド、テムシロリムス、レナリドマイドおよびサリドマイドから選択される1つまたは複数の薬物の治療有効量を含む、薬学的組成物：



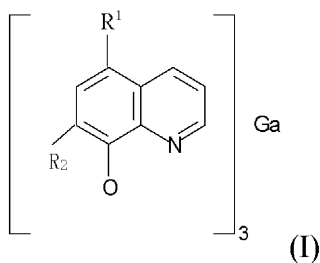
40

式中、R¹は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基SO₃Mを表し、Mは金属イオンであり、かつR²は水素を表すか、またはR¹はClでありかつR²はIである。

[本発明1014]

癌を処置するための方法であって、処置を必要とする患者に、治療有効量の(1)パクリタキセルまたはアブラキサンおよび(2)式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を連続的に投与する工程を含む、方法：

50



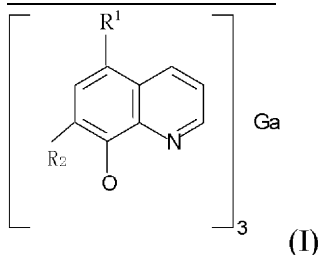
式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、 M は金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 は Cl でありかつ R^2 は I である。

[本発明1015]

前記癌が肺癌である、本発明1014の方法。

[本発明1016]

癌を処置するための方法であって、処置を必要とする患者に、治療有効量の(1)式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩および(2)エルロチニブを連続的に投与する工程を含む、方法：



式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、 M は金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 は Cl でありかつ R^2 は I である。

[本発明1017]

前記癌が肺癌である、本発明1016の方法。

[本発明1018]

式(I)の化合物がトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)である、本発明1001～1017のいずれかの方法またはキットまたは組成物。

本発明の上記およびその他の利点ならびに特徴、ならびに同じことを達成する手段は、以下の発明の詳細な説明を、好ましく例示的な態様を示す不随の実施例と共に検討することで、より容易に明らかにされるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】乳癌腫細胞株ZR-75-1における、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)と5-FUの間の相加的活性から相乗的活性までを示す併用指数プロットである。

【図2】乳癌腫細胞株ZR-75-1における、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)とパクリタキセルの間の相加活性から相乗的活性までを示す併用指数プロットである。

【図3】結腸直腸腺癌細胞株LoVoにおける、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)と5-FUの間の相加活性から相乗的活性までを示す併用指数プロットである。

【図4】前立腺癌腫細胞株LNCaP-1における、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)とドセタキセルの間の相加活性から相乗的活性までを示す併用指数プロットである。

【図5】肺癌腫細胞株A549における、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)とテムシロリムスの間の相加活性から相乗的活性までを示す併用指数プロットである。

【図6】肺癌腫細胞株A549における、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)とゲムシタピンの間の相加活性から相乗的活性までを示す併用指数プロットである。

【図7】悪性黒色腫細胞株G361における、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)とテモゾロミドの間の相加活性から相乗的活性までを示す併用指数プロットである。

【図8】多発性骨髄腫腫瘍細胞株RPMI-8226に対するトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)とレナリドマイドの併用成長阻害活性を示す。Y軸：%対照；X軸：濃度(μM)。

【図 9】最初にエルロチニブで、次いでトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)で、連続的に処理した肺癌腫細胞株A549における、エルロチニブとトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)の間の拮抗作用(丸)；およびその逆の順序で処置した場合の相乗作用(四角)を示す併用指数プロットを示している。

【図 10】最初にトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)で、次いでパクリタキセルで連続的に処理した肺癌腫細胞株NCI-H322Mにおける、パクリタキセルとトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)の間の拮抗作用(四角)を示しているが、逆の順序で使用した場合は、2つの薬物間の相乗作用(丸)を示す併用指数プロットを示している。

【図 11】結腸癌LoVo細胞株における、ドキソルピシンとトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)の間の拮抗作用を示す併用指数プロットを示している。

10

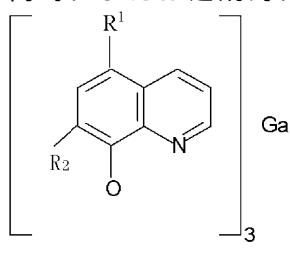
【図 12】結腸直腸腺癌細胞株LoVoにおける、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)とパクリタキセルの間の拮抗的活性を示す併用指数プロットを示している。

【発明を実施するための形態】

【0016】

発明の詳細な説明

本発明は、併用療法により癌を処置する方法を提供する。この方法は、処置を必要とする癌患者を、治療有効量の(1)式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩、および同時にまたは連続的に(2)以下に記載される第2の抗癌薬で処置する工程を含み、



20

式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、Mは金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 はClでありかつ R^2 はIである。

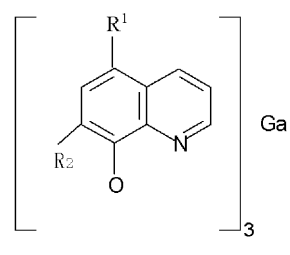
【0017】

本明細書で使用される場合、「・・・を・・・で処置する」というフレーズは、患者に化合物を投与すること、または患者の体内で化合物を形成させることを意味する。本明細書で使用される場合、「薬学的に許容される塩」という用語は、活性化合物の相対的に非毒性の有機塩または無機塩を表し、これには該化合物の無機酸付加塩または有機酸付加塩が含まれる。

30

【0018】

1つの局面においては、患者の乳癌または結腸直腸癌を処置する方法が提供され、該方法は、(1)処置を必要とする癌患者に、治療有効量の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与する工程；および、同時にまたは連続的に(2)該癌患者に、治療有効量の5-フルオロウラシルまたはそのプロドラッグ(例えば、カペシタピン、S1またはテガフル)を投与する工程を含み、



40

式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、Mは金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 はClでありかつ R^2 がIである。別の見方をすると、この局面にしたがい、この方法は、5-フルオロウラシルもしくはそのプロドラッグ(例えば、カペシタピン、S1もしくはテガフル)の処置を受けている癌患者に、治療有効量の上記式(I)

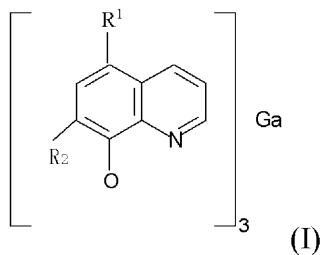
50

の化合物もしくはその薬学的に許容される塩を投与する工程、または上記式(I)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩の処置を受けている癌患者に、治療有効量の5-フルオロウラシルもしくはそのプロドラッグ（例えば、カペシタピン、S1もしくはテガフル）を投与する工程を含む。また、別の見方をすると、本発明は、乳癌または結腸直腸癌を処置するために5-フルオロウラシルまたはそのプロドラッグ（例えば、カペシタピン、S1またはテガフル）と同時にまたは連続的に併用するのに有用な医薬の製造のための、上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。別の態様において、本発明は、乳癌または結腸直腸癌を処置するために上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩と併用するのに有用な医薬の製造のための、5-フルオロウラシルまたはそのプロドラッグ（例えば、カペシタピン、S1またはテガフル）の使用を提供する。

10

【0019】

別の局面においては、患者の乳癌を処置する方法が提供され、該方法は、(1) 処置を必要とする癌患者に、治療有効量の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与する工程；および、同時にまたは連続的に(2) 該癌患者に、治療有効量のパクリタキセルまたはそのプロドラッグ（例えば、アブラキサン（登録商標）（注射可能懸濁物用のパクリタキセルタンパク質結合粒子））を投与する工程を含み、



20

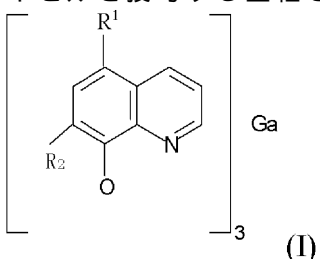
式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、Mは金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 はClでありかつ R^2 はIである。別の見方をすると、この局面にしたがい、該方法は、パクリタキセルもしくはそのプロドラッグの処置を受けている乳癌患者に、治療有効量の上記式(I)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩を投与する工程、または上記式(I)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩の処置を受けている癌患者に、治療有効量のパクリタキセルもしくはそのプロドラッグ（例えば、アブラキサン（登録商標）（注射可能懸濁物用のパクリタキセルタンパク質結合粒子））を投与する工程を含む。また、別の見方をすると、本発明は、乳癌を処置するためにパクリタキセルまたはそのプロドラッグ（例えば、アブラキサン（登録商標）（注射可能懸濁物用のパクリタキセルタンパク質結合粒子））と同時にまたは連続的に併用するのに有用な医薬の製造のための、上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。別の態様において、本発明は、乳癌を処置するために上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩と（同時にまたは連続的に）併用するのに有用な医薬の製造のための、パクリタキセルまたはそのプロドラッグの使用を提供する。

30

【0020】

別の局面においては、患者の前立腺癌を処置する方法が提供され、該方法は、(1) 処置を必要とする癌患者に、治療有効量の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与する工程；および、同時にまたは連続的に(2) 該癌患者に、治療有効量のドセタキセルを投与する工程を含み、

40



式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、Mは金属イオンであり、かつ

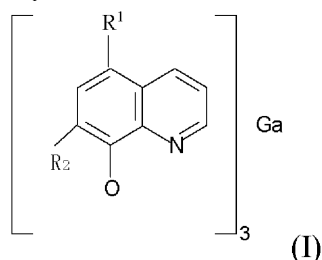
50

²は水素を表すか、またはR¹はClでありかつR²はIである。別の見方をすると、この局面にしたがい、該方法は、ドセタキセルもしくはそのプロドラッグの処置を受けている前立腺癌患者に、治療有効量の上記式(I)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩を投与する工程、または上記式(I)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩の処置を受けている癌患者に、治療有効量のドセタキセルを投与する工程を含む。また、別の見方をすると、本発明は、前立腺癌を処置するためにドセタキセルと（同時にまたは連続的に）併用するのに有用な医薬の製造のための、上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。別の態様において、本発明は、前立腺癌を処置するために上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩と（同時にまたは連続的に）併用するのに有用な医薬の製造のための、ドセタキセルの使用を提供する。

10

【 0 0 2 1 】

別の局面においては、患者の肺癌（例えば、非小細胞肺癌または小細胞肺癌）を処置する方法が提供され、該方法は、（1）処置を必要とする癌患者に、治療有効量の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与する工程；および、同時にまたは連続的に（2）該癌患者に、治療有効量のゲムシタピンを投与する工程を含み、



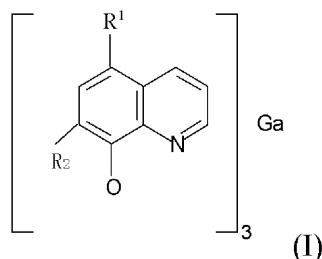
20

式中、R¹は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基SO₃Mを表し、Mは金属イオンであり、かつR²は水素を表すか、またはR¹はClでありかつR²はIである。別の見方をすると、この局面にしたがい、該方法は、ゲムシタピンの処置を受けている肺癌患者に、治療有効量の上記式(I)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩を投与する工程、または上記式(I)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩の処置を受けている肺癌患者に、治療有効量のゲムシタピンを投与する工程を含む。また、別の見方をすると、本発明は、肺癌を処置するためにゲムシタピンと（同時にまたは連続的に）併用するのに有用な医薬の製造のための、上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。別の態様において、本発明は、肺癌を処置するために上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩と（同時にまたは連続的に）併用するのに有用な医薬の製造のための、ゲムシタピンの使用を提供する。

30

【 0 0 2 2 】

別の局面においては、患者の癌（例えば、非小細胞肺癌、腎細胞癌腫または神経内分泌腫瘍（例えば、膵神経内分泌腫瘍））を処置する方法が提供され、該方法は、（1）処置を必要とする癌患者に、治療有効量の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与する工程；および、同時にまたは連続的に（2）該癌患者に、治療有効量のテムシロリムスを投与する工程を含み、



40

式中、R¹は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基SO₃Mを表し、Mは金属イオンであり、かつR²は水素を表すか、またはR¹はClでありかつR²はIである。別の見方をすると、この局面にしたがい、該方法は、テムシロリムスの処置を受けている癌患者（例えば、非小細胞肺癌、腎細胞癌腫もしくは神経内分泌腫瘍（例えば、膵神経内分泌腫瘍））に、治療有効量の

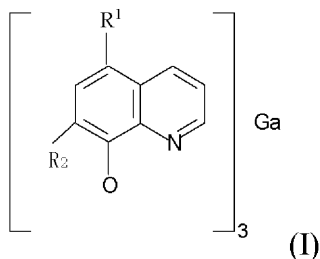
50

上記式(1)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩を投与する工程、または上記式(1)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩の処置を受けている癌患者（例えば、非小細胞肺癌、腎細胞癌腫もしくは神経内分泌腫瘍（例えば、膵神経内分泌腫瘍））に、治療有効量のテムシロリムスを投与する工程を含む。また、別の見方をすると、本発明は、癌（例えば、非小細胞肺癌、腎細胞癌腫または神経内分泌腫瘍（例えば、膵神経内分泌腫瘍））を処置するためにテムシロリムスと（同時にまたは連続的に）併用するのに有用な医薬の製造のための、上記式(1)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。別の態様において、本発明は、癌（例えば、非小細胞肺癌、腎細胞癌腫または神経内分泌腫瘍（例えば、膵神経内分泌腫瘍））を処置するために上記式(1)の化合物またはその薬学的に許容される塩と（同時にまたは連続的に）併用するのに有用な医薬の製造のための、テムシロリムスの使用を提供する。

10

【0023】

別の局面においては、患者の癌（例えば、黒色腫または脳腫瘍、例えば膠芽細胞腫）を処置する方法が提供され、該方法は、（1）処置を必要とする癌患者に、治療有効量の式(1)の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与する工程；および、同時にまたは連続的に（2）該癌患者に、治療有効量のテモゾロミドを投与する工程を含み、



20

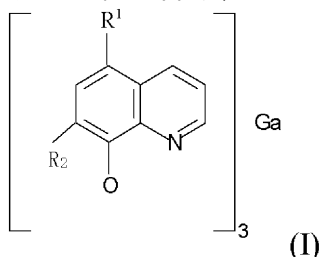
式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、 M は金属イオンであり、かつ R^2 は水素を表すか、または R^1 は Cl でありかつ R^2 は I である。別の見方をすると、この局面にしたがい、該方法は、テモゾロミドの処置を受けている癌患者（例えば、黒色腫もしくは脳腫瘍、例えば膠芽細胞腫と診断されたもの）に、治療有効量の上記式(1)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩を投与する工程、または上記式(1)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩の処置を受けている黒色腫患者に、テモゾロミドの治療有効量を投与する工程を含む。また、別の見方をすると、本発明は、癌（例えば、黒色腫または脳腫瘍、例えば膠芽細胞腫）を処置するためにテモゾロミドと（同時にまたは連続的に）併用するのに有用な医薬の製造のための、上記式(1)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。別の態様において、本発明は、癌（例えば、黒色腫または脳腫瘍、例えば膠芽細胞腫）を処置するために上記式(1)の化合物またはその薬学的に許容される塩と（同時にまたは連続的に）併用するのに有用な医薬の製造のための、テモゾロミドの使用を提供する。

30

【0024】

別の局面においては、患者の癌（例えば、多発性骨髄腫または骨髄異形成症候群（MDS））を処置する方法が提供され、該方法は、（1）処置を必要とする癌患者に、治療有効量の式(1)の化合物またはその薬学的に許容される塩を投与する工程；および、同時にまたは連続的に（2）該癌患者に、治療有効量のレナリドマイドまたはサリドマイドを投与する工程を含み、

40



式中、 R^1 は水素、ハロゲンもしくはスルホノ基 SO_3M を表し、 M は金属イオンであり、かつ

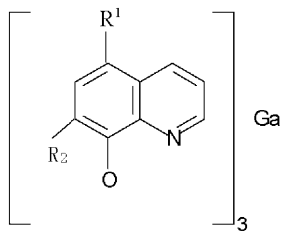
50

²は水素を表すか、またはR¹はClでありかつR²はIである。別の見方をすると、この局面にしたがい、該方法は、レナリドマイドもしくはサリドマイドの処置を受けている癌患者（例えば、多発性骨髄腫もしくはMDSを有するもの）に、治療有効量の上記式(I)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩を投与する工程、または上記式(I)の化合物もしくはその薬学的に許容される塩の処置を受けている癌（例えば、多発性骨髄腫もしくはMDS）患者に、治療有効量のレナリドマイドもしくはサリドマイドを投与する工程を含む。また、別の見方をすると、本発明は、癌（例えば、多発性骨髄腫またはMDS）を処置するためにレナリドマイドまたはサリドマイドと（同時にまたは連続的に）併用するのに有用な医薬の製造のための、上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩の使用を提供する。別の態様において、本発明は、癌（例えば、多発性骨髄腫またはMDS）を処置するために上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩と（同時にまたは連続的に）併用するのに有用な医薬の製造のための、レナリドマイドまたはサリドマイドの使用を提供する。

10

【0025】

さらに別の局面において、本発明は、癌（例えば、非小細胞肺癌）を処置する方法を提供し、該方法は、処置を必要とする癌患者に、最初に治療有効量の式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩（例えば、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)）を、次いで治療有効量のエルロチニブを連続的に投与する工程を含み、



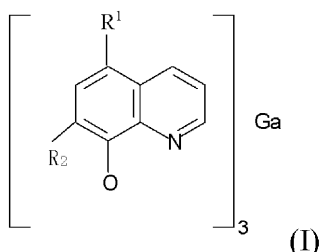
20

式中、R¹が水素、ハロゲンもしくはスルホノ基SO₃Mを表し、Mが金属イオンであり、かつR²が水素を表すか、またはR¹がClでありかつR²がIである。別の見方をすると、本発明は、癌（例えば、非小細胞肺癌）を処置するためにエルロチニブと連続的に併用するのに有用な医薬の製造のための、上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩（例えば、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)）の使用であって、上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩（例えば、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)）が最初に投与され、エルロチニブが次に投与される、使用を提供する。

30

【0026】

さらに別の局面において、本発明は、癌（例えば、非小細胞肺癌）を処置する方法を提供し、該方法は、処置を必要とする癌患者に、最初に治療有効量のパクリタキセルまたはそのプロドラッグ（例えば、アブラキサン（登録商標）（注射可能懸濁物用のパクリタキセルタンパク質結合粒子））を、次いで治療有効量の式(I)による化合物またはその薬学的に許容される塩（例えば、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)）を連続的に投与する工程を含み、



40

式中、R¹が水素、ハロゲンもしくはスルホノ基SO₃Mを表し、Mが金属イオンであり、かつR²が水素を表すか、またはR¹がClでありかつR²がIである。別の見方をすると、本発明は、癌（例えば、非小細胞肺癌）を処置するためにパクリタキセルまたはそのプロドラッグ（例えば、アブラキサン（登録商標）（注射可能懸濁物用のパクリタキセルタンパク質結合

50

粒子))と連続的に併用するのに有用な医薬の製造のための、上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩(例えば、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III))の使用であって、パクリタキセルまたはそのプロドラッグ(例えば、アブラキサン(登録商標)(注射可能懸濁物用のパクリタキセルタンパク質結合粒子))が最初に投与され、上記式(I)の化合物またはその薬学的に許容される塩(例えば、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III))が次に投与される、使用を提供する。

【0027】

上記の異なる局面の好ましい態様において、式(I)の化合物は、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)である。トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)は、トリス-(8-ヒドロキシキノリン)ガリウムとしても公知であり、Bernhard Keppler教授によって最初に作製されたガリウム錯体化合物であり、例えば米国特許第5,525,598号に開示されている。

【0028】

したがって、本発明にしたがうこれらの様々な態様においては、癌(例えば、上記の特定タイプの癌)を有する患者が特定または診断され、かつその患者が、治療有効量の抗癌薬、例えば5-FUまたはそのプロドラッグ(例えば、カペシタビン、テガフル、S1)、パクリタキセルまたはそのプロドラッグ(例えば、アブラキサン(登録商標)(注射可能懸濁物用のパクリタキセルタンパク質結合粒子))、ドセタキセル、ゲムシタビン、テムシロリムス、テモゾロミド、レナリドマイド、サリドマイドおよびエルロチニブと、治療有効量の式(I)の化合物、例えばトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)を(同時にまたは連続的に)併用して処置される。

【0029】

本発明の併用療法において、式(I)の化合物、例えばトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)と他の抗癌薬は、ほぼ同時に、または、それらの各々の投薬スケジュールもしくはレジメンにしたがって別々に、投与することができる。ほぼ同時に投与する場合、このガリウム化合物および他の抗癌薬は、同一の薬学的組成物として、または別個の単位剤形として、投与することができる。例えば、本発明の併用法の1つの態様において、化合物トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)は、例えば1日4回、例えば0.1mgから3000mgの用量で経口的に投与され得、他の抗癌薬は、FDAの承認を受けた処方情報において提供された用量および投薬スケジュールで投与され得る。上記の連続的併用療法において、好ましくは連続的に併用される薬物は、第1の薬物の血漿レベルが実質的に低下または除去された後に第2の薬物が投与されるよう、それらの薬物動態プロファイルにしたがって投与される。トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)の薬物動態パラメータは、Hofheinz et al., International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 43(12): 590-591 (2005)に開示されている。上記の他の薬物の薬物動態プロファイルは、一般に当技術分野で公知である。

【0030】

上記の用量の範囲は一例にすぎず本発明の範囲を限定することを意図したものではないことを理解されるべきである。当業者には明らかであるとおり、各活性化合物の治療有効量は、使用される化合物の活性、患者の体内での活性化合物の安定性、軽減させたい状態の重篤度、処置される患者の総体重、投与経路、身体による活性化合物の吸収、分配および排出の容易性、処置される患者の年齢および感受性、副作用等を含むがこれらに限定されない要因によって変化するものであり得る。投与量は、様々な要因が時間と共に変化するのに合わせて調節することができる。

【0031】

本発明の方法において、薬学的化合物は、任意の適当な単位剤形で投与することができる。適当な経口用剤は、錠剤、カプセル、懸濁物、シロップ、チューインガム、ウエハース、エリキシル等の形態であり得る。経口用薬学的組成物には、薬学的に許容される担体、例えば結合剤、賦形剤、滑沢剤および甘味または風味剤を含めることができる。望ましい場合は、味、色および形状を特別な形態に改変するための従来の剤を含めることもできる。加えて、嚥下困難患者における経腸栄養チューブによる投与を容易にするために、

活性化合物を、許容される脂溶性植物油ビヒクル、例えばオリーブ油、コーン油およびサフラワー油に溶解させることができる。

【0032】

注射可能製剤に関して、薬学的組成物は、適当なバイアルまたはチューブに入れられた、適当な賦形剤と混合された凍結乾燥粉末であり得る。病院での使用の前に、薬物は、凍結乾燥粉末を適当な溶媒系に溶解させることによって再構成され、静脈内または筋肉注射に適した組成物が形成され得る。

【0033】

本発明の別の局面にしたがい、治療有効量の式(1)の化合物、例えばトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)ならびにカペシタビン、テガフル、S1、パクリタキセル、パクリタキセルのプロドラッグ（例えば、アブラキサン（登録商標）（注射可能懸濁物用のパクリタキセルタンパク質結合粒子）、ドセタキセル、ゲムシタビン、テムシロリムス、テモゾロミド、レナリドマイドおよびサリドマイドの群より選択される治療有効量の第2の薬物を含む薬学的組成物が提供される。好ましい態様において、この薬学的組成物は、治療有効量の式(1)の化合物、例えばトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)およびカペシタビン、テガフル、S1、テムシロリムス、テモゾロミド、レナリドマイドまたはサリドマイドを含む。1つの態様において、この組成物は、治療有効量（例えば、0.1mgから約3000mg）のトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)および治療有効量（例えば、0.1mgから約2000mg）の上記の第2の抗癌薬を含む、経口投与可能な形態（例えば、錠剤またはカプセルまたはシロップ等）であり得る。特定の態様において、第2の抗癌薬は、テムシロリムス、テモゾロミド、レナリドマイドまたはサリドマイドであり、この組成物は、5mgから約250mgのテモゾロミド、または25mgのテムシロリムス、または50mgから250mgのレナリドマイド、または5mgから25mgのサリドマイド、または10mgから500mgのカペシタビン、または10～200mgのS1、または10～200mgのテガフルを含む。

【0034】

本発明の別の局面にしたがい、仕切り付きの容器内に、(1)式(1)の化合物、例えばトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)の単位剤形；および(2)カペシタビン、テガフル、S1、パクリタキセル、パクリタキセルのプロドラッグ（例えば、アブラキサン（登録商標）（注射可能懸濁物用のパクリタキセルタンパク質結合粒子）、ドセタキセル、ゲムシタビン、テムシロリムス、テモゾロミド、レナリドマイドおよびサリドマイドの群より、好ましくはテガフル、S1、テムシロリムス、テモゾロミド、レナリドマイドおよびサリドマイドの群より選択される第2の薬物の単位剤形を含む、薬学的キットが提供される。当業者には明らかなとおり、単位剤形中の治療化合物の量は、本発明の方法において患者に対して使用される用量によって決定される。このキットの1つの態様において、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)は、例えば単位剤形あたり0.1mgから約3000mgの量の、錠剤またはカプセルまたは任意のその他の適当な形態である。このキットはさらに、錠剤もしくはカプセル形態または凍結乾燥粉末で、約0.1mgから約2000mgの単位用量の上記の第2の抗癌薬を含む。特定の態様において、第2の抗癌薬は、テムシロリムス、テモゾロミド、レナリドマイドまたはサリドマイドであり、このキットは、5mgから約250mgのテモゾロミドのカプセル、または25mgの凍結乾燥粉末のテムシロリムスのバイアル、または50mgから250mgのレナリドマイドのカプセル、または5mgから25mgのサリドマイドのカプセル、または経口用剤形、例えば錠剤もしくはカプセルの10mgから500mgのカペシタビン、または経口用剤形の10～200mgのS1、または経口用剤形の10～200mgのテガフルを含む。任意で、このキットはさらに、本発明にしたがう併用治療において同キットを使用するための説明書を含む。

【実施例】

【0035】

実施例1

ヒト腫瘍細胞株A549、LNCapクローンFGC、LoVo、ZR-75-1およびG361の培養物を、標準的なインビトロ培養法ならびに供給元の推奨する培地および添加物質を用いて、175cm² G

10

20

30

40

50

reiner（登録商標）またはCorning（登録商標）組織培養用処理フラスコ中で樹立した。すべての細胞培養物を、加湿された37℃、5% CO₂、95%空気の環境下でインキュベートした。対数期増殖を維持するため、細胞を定期的に継代培養した。EC₅₀プレート播種の日に、各株の細胞を処理し、1回に1つの細胞株を96ウェル細胞培養用処理プレートに播種した。この細胞を、滅菌コニカルチューブに準備しておいたトリプシン溶液を用いてそれらの培養フラスコから取り除き、室温で5分間、350×gで遠心分離した。ペレット化した細胞を完全培地に再懸濁し、次いでNeubauer Bright-Line（登録商標）血球計測器およびトリパンプルー生死判別染色を用いて計数した。72時間96ウェルプレートアッセイ用に細胞株ごとに事前に決定しておいた播種密度に基づく最終懸濁密度（細胞/ml）となるよう、細胞懸濁物を、（生細胞数に基づき）完全培地を用いて希釈した。EC₅₀試験のための組織培養用処理プレートに、以下の表1に示されている密度で播種し、これを37℃、5% CO₂、95%空気の加湿雰囲気下で一晩インキュベートし、細胞を接着させた。

【 0 0 3 6 】

（表1）EC₅₀アッセイ法における播種密度

細胞株	タイプ	細胞数/ウェル (x10 ³)
A549	肺癌	2.5
LNCaP	前立腺癌	4.0
LoVo	結腸直腸癌	12.0
G361	悪性黒色腫癌	2.5
ZR-75-1	乳癌	3.0

【 0 0 3 7 】

単剤の各々または試験剤の組み合わせについて、高濃度混合物（2×最終処理濃度）を、滅菌した1.5mlマイクロ遠心分離チューブ内で作製し、次いでこれを処理用希釈プレートの第1ウェルに直接移した。

【 0 0 3 8 】

トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)（細かい中間的な黄色の粉末；ロットQ04014、M.W. 502.19、>95%親化合物）は、Parafilm（登録商標）で密封されたねじぶた付き透明ガラスバイアルに入ったものをNiiki Pharma, Inc.から入手し、光への曝露を防ぐために覆いをした箱の中に入れて-20℃で保管した。5-フルオロウラシルは、TEVA Parenteral Medicinesによって製造され、水溶液中50mg/ml（384.4mM）の濃度のものをバイアルで提供された。Fluka製のドセタキセルを秤量（1.6mg）し、かつ0.990mlの100% DMSOを添加し断続的に1～15秒間ボルテックスすることによって2,000 μM溶液を作製した。これをさらに100% DMSOで希釈し、40 μMストック溶液を作製した。（10 μlの2,000 μMドセタキセル + 490 μlのDMSO）。5.8mgのゲムシタピン（Eli Lilly and Company製）を秤量し、188 μlの滅菌水を添加することによって50mMの無色透明のストック溶液を作製した。これをさらに完全培地で1,000倍希釈し、50 μMストック溶液を作製した（10 μlの50mMゲムシタピン + 9.990mlの培地）。

【 0 0 3 9 】

パクリタキセル（細かい白色の粉末；ロットTECH600600-A、M.W. 853.9、99%親化合物）は、Cedarburg Hauserによって製造され、Parafilm（登録商標）で密封されたねじぶた付き琥珀色ガラスバイアルで提供された。これを、光への曝露から保護するために覆いをした箱の中に入れて-20℃で保管した。パクリタキセル（100% DMSO中2mMの無色透明のストック溶液）は以前に作製されたものであり、光への曝露から保護するために覆いをした箱の中に入れて-20℃で保管した。使用直前に、2mMパクリタキセルストック溶液のバイアルを1本、手の中で素早く解凍した。この2mMストック溶液を完全培地で1000倍希釈し（10

μLの2mMバクリタキセル + 9.990mLの培地)、2 μMワーキングストック溶液を作製した。

【 0 0 4 0 】

テムシロリムス(白色の中間的な粒状の粉末; ロットBTM-104、M.W. 1030.29、>99%純度)はLC Laboratoriesから入手し(製品#T-8040)、琥珀色ガラスバイアルで提供された。これを、光および湿気への曝露を制限するために、-20 °Cの暗所で保管し、Parafilm(登録商標)で密封した。テムシロリムス(6.1および8.1mg)を秤量し、それぞれ59.2および39 μLの100% DMSOを添加することによって100および200mMの無色透明のストック溶液を作製した。

【 0 0 4 1 】

テモゾロミド(非常に淡い桃色のついた粒状の粉末; ロット7BTR042、M.W. 194.15、55.84%親化合物)はSchering Corporationによって製造され、琥珀色ガラスバイアルで提供された。これを、光および湿気への曝露を制限するために、室温の暗所で保管し、Parafilm(登録商標)で密封した。テモゾロミド(20.7mg)を秤量し、かつ149 μLの100% DMSOを添加し超音波水槽中で加熱せずに軽く超音波処理(約10~20秒)することによって400mMの白濁懸濁物を作製した。

【 0 0 4 2 】

試験剤の抗増殖活性を、MTT Cell Proliferation Assay Kit(ATCCカタログ#30-1010K)を用いて評価した。MTTアッセイ法は、黄色のテトラゾリウムであるMTT(3-(4,5-ジメチルチアゾリル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロミド)が代謝的に活性な細胞により還元されて紫色のホルマザン結晶を形成することに基づくものである。紫色のホルマザンは、界面活性剤によって可溶化され、570nmで分光光度的に定量される。対数増殖期の細胞を、上記の表1に列挙されている指定された密度で、96ウェル培養用処理プレートの、培地のための対照のために取っておいた1つのカラムを除くすべてのウェルの0.1mLの完全培地に播種した。この細胞を、試験剤による処理の前に、一晚のインキュベーションの間に接着させた。試験剤を、完全培養培地(適当な場合は、+ 1% DMSO)で連続希釈し、各ウェルに0.1mL量を添加し、合計最終量の0.2mL/ウェル(使用した場合、最終0.5% DMSO)にした。細胞を、試験剤に72時間曝露した。試験剤への曝露の後、各プレートのすべてのウェルから0.1mLの培養上清を慎重に取り出し、0.01mLのMTT試薬を各ウェルに添加した。このプレートを、インキュベーターに4時間戻した。インキュベーション期間の後、キット同封の界面活性剤試薬(0.1mL)をすべてのウェルに添加した。このプレートを、蒸発を防ぐためにプラスチックラップで覆い、室温の暗所で一晚静置した。次の日に、SpectraMAX Plusプレートリーダー(Molecular Devices)を用いて570 nmの吸光度を測定した。SoftMax(登録商標)Pro(バージョン5.2、Molecular Devices)を用いるEC₅₀の算出のために、吸光度の値を対照に対するパーセントに変換し、試験剤濃度に対してプロットした。対照に対するパーセントを算出する前に、すべてのウェルからプレートのブランクシグナルの平均を差し引いた。対照に対するパーセント値は、各試験ウェルの吸光度の値を、薬物不使用対照の平均(カラム11の値; 細胞 + ビヒクル対照)で割り、これに100を乗じることによって算出した。化合物濃度対対照に対するパーセントのプロットを、4パラメータ式を用いて分析し、EC₅₀値およびシグモイド型の用量応答曲線を示すその他のパラメータを得た。

【 0 0 4 3 】

組み合わせのデータを、CompuSyn(登録商標)ソフトウェアを用いて分析し、相乗作用を評価するための併用指数(CI)値を算出した。被影響率(Fractional Affect)(Fa)は、対照に対するパーセント(SoftMax(登録商標)Proに由来する)から、式: 1 - (パーセント対照/100)を用いて算出した。相乗作用の存在/不存在の評価のために、組み合わせで試験した化合物の用量、被影響率およびモル比をCompuSyn(登録商標)ソフトウェアに入力した。CompuSyn(登録商標)は、増殖に対する化合物の影響のレベルを格付けする併用指数(CI)値を与える。1より小さいCI値は、相乗作用の存在を示し、1より大きいCI値は、拮抗作用を示す。1に近いCI値は、相加作用を示す。Chou, Pharmacol. Rev., 58(3):621-81 (2006)を参照のこと。以下の表2は、相乗的な組み合わせのCI値をまとめたも

10

20

30

40

50

のである。図1～8は、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)と上記の他の薬物との間の相乗作用を示す併用指数プロットである。

【0044】

(表2) 併用指数値

組み合わせ	細胞株	併用指数 (CI) 値*
試験薬物 + ドセタキセル	LNCaP-1	0.752
試験薬物 + 5-フルオロウラシル	Lovo	0.766
	ZR-75-1	0.638
試験薬物 + ゲムシタビン	A549	0.778
試験薬物 + パクリタキセル	ZR-75-1	0.831
試験薬物 + テモゾロミド	G361	0.906
試験薬物 + テムシロリムス	A549	0.791

* 0.1～0.90 = 相乗作用；0.90～1.10 = 相加作用；1.10～10 = 拮抗作用。

【0045】

実施例2

ヒト多発性骨髄腫腫瘍細胞株RPMI 8226に対するトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)とレナリドマイドの抗増殖活性を、PromegaのCell Titer-Glo(登録商標)アッセイ法を用いて測定した。ヒト腫瘍細胞を、適当な密度で96ウェルマイクロカルチャープレートにプレATINGし、総成長時間を96時間とした。37℃、5% CO₂および95%空気の加湿インキュベーター中で24時間インキュベーションした後、成長培地で連続希釈した試験剤を各ウェルに添加した。CO₂インキュベーター中で計96時間培養した後、製造元の指示にしたがいCell Titer-Glo(Promega #G7571)を用いてプレート进行处理した。発光は、Tecan GENiosマイクロプレートリーダーを用いて検出した。未処理の対照ウェルに対する細胞成長の阻害率(%)を算出した。すべての試験を、濃度レベルごとに2通り実施した。試験剤のIC₅₀値は、Prism 3.03を用いて、以下の4パラメータロジスティック式を用いるデータの曲線フィッティングにより概算した：

$$Y = \frac{Top - Bottom}{1 + \left(\frac{X}{IC_{50}}\right)^n} + Bottom$$

式中、Topは、対照吸光度に対する最大%であり、Bottomは最高剤濃度における最小の対照吸光度に対する%であり、Yは対照吸光度に対する%であり、Xは剤濃度であり、IC₅₀は対照細胞との比較で細胞成長を50%阻害する剤の濃度であり、かつnは曲線の勾配である。

【0046】

上記と同じPromega Cell Titer-Glo(登録商標)アッセイ法を併用研究に使用した。トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)およびレナリドマイドのIC₅₀値を使用して、Chou-Talalayの固定比デザイン(constant ratio design)に基づく併用研究における適当な薬物比および濃度範囲を決定した。薬物比は、併用される剤の各々のIC₅₀の比と同じにした。併用応答がほぼ相加的なものと仮定して、薬物濃度は、それぞれのIC₅₀の半分を足したものとし、連続希釈は、併用される剤の阻害曲線に基づき選択し(典型的には1.5倍希釈)、計7つの薬物濃度にした。96時間後に、細胞数を、上記のとおりCell Titer Glo(登録商標)アッセイ法を用いて測定した。図9は、多発性骨髄腫腫瘍細胞株RPMI-8226に対するトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)とレナリドマイドの併用成長阻害活性を示している。Y軸：%対照；X軸：濃度(μM)。図9に示されるとおり、一定量のレナリドマイドの添加は、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)の効果を増強した。そのIC₅₀値は、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)単独による約0.9からレナリドマイド併用による0.5まで低下した。

【0047】

実施例3

このデータは、トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)をエルロチニブまたはパクリタキセルと併用投与する際の順序が、それが相乗的な組み合わせであるかまたは拮抗的な組み合わせであるかを判定する際に重要であることを示している。注：トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)とこれらの薬物のいずれかの同時インキュベーションは、拮抗作用を示した（以下の表4および5を参照のこと；グラフには示されていない）。

【 0 0 4 8 】

A549およびNCI-H322Mヒト腫瘍細胞株を、それぞれ、American Type Culture Collection (ATCC) またはNational Cancer Institute (NCI) から入手した。細胞培養物を、標準的なインビトロ培養法ならびに細胞株供給元の推奨する培地および添加物質を用いて、175cm² Greiner（登録商標）組織培養用処理フラスコ中で樹立した。すべての細胞培養物を、加湿された37℃、5% CO₂、95%空気の環境下でインキュベートした。対数増殖を維持するため、細胞を定期的に継代培養した。EC₅₀プレート播種の日、各株の細胞を処理し、1回に1つの細胞株を96ウェル細胞培養用処理プレートに播種した。

【 0 0 4 9 】

（表3）EC₅₀ アッセイ法における播種密度

細胞株	細胞数/ウェル (x10 ³)
A549	3
NCI-H322M	10

【 0 0 5 0 】

トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)による初期処理のために、42mgを秤量し、100% DMSOを用いて200mM懸濁物を作製した。1:100の希釈のために、この懸濁物100μlを、各細胞株用の完全培地9.9mlに直接移した。次いでこれを、96ウェル希釈プレートの9つのウェルにわたって0.1% DMSOを含有する完全培地で1:4の連続希釈を行い、2,000~0.008μMのトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)/0.1% DMSOの範囲の計10種の濃度にした。トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)による48時間処理のために、39mgを秤量し、100% DMSOを用いて均一な懸濁物を作製した。1:100の希釈のために、この懸濁物100μlを、両方の細胞株用の完全培地9.9mlに直接移した。次いでこれを、96ウェル希釈プレートの9つのウェルにわたって、0.1% DMSOを含有する完全培地で1:4の連続希釈を行い、2,000~0.008μMのトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)の範囲の計10種の濃度にした。

【 0 0 5 1 】

エルロチニブは、LC Laboratoriesから入手した。40mMストック溶液を作製した。この溶液を、細胞株ごとの完全培地で直ちに1:80の希釈を行った（100μlの40mMエルロチニブを7.9mlの培地に）。次いでこれを、96ウェル希釈プレートの9つのウェルにわたって、1.25% DMSOを含有する完全培地で1:4の連続希釈を行い、250~0.002μMの範囲の計10種の濃度にした。

【 0 0 5 2 】

パクリタキセルは、Cedarburg Hauserにより製造された。100% DMSOを用いて2,000μMの無色透明のストック溶液を作製した。これを、96ウェル希釈プレートの第1ウェルで最高濃度の2,000nM（0.1% DMSO）になるよう完全培地で1,000倍希釈した。次いでこれを、希釈プレートの9つのウェルにわたって完全培地で1:4の連続希釈を行い、2,000~0.008nMの範囲の計10種の濃度にした。

【 0 0 5 3 】

試験剤の抗増殖活性を、MTT Cell Proliferation Assay Kit（ATCCカタログ#30-1010K）を用いて評価した。対数増殖期の細胞を、示された密度で、96ウェル培養用処理プレートの、培地のみの対照（ブランク）のために取っておいたカラム12を除くすべてのウェルの0.1mlの完全培地に播種した。この細胞を、試験剤による処理の前に、一晩のインキュベーションの間に接着させた。試験剤を、完全培養培地（適当な場合は、DMSOを添加した）で連続希釈し、各ウェルに0.1ml量を添加し、合計最終量の0.2ml/ウェルにした。細胞

を、試験剤に計4日間（96時間）曝露した。試験剤への曝露の後、各プレートのすべてのウェルから0.1mlの培養上清を慎重に取り出し、0.01mlのMTT試薬を各ウェルに添加した。このプレートを、インキュベーターに4時間戻した。インキュベーション期間の後、キット同封の界面活性剤試薬（0.1ml）をすべてのウェルに添加した。このプレートを、蒸発を防ぐためにプラスチックラップで覆い、室温の暗所で一晩静置した。次の日に、SpectraMAX Plusプレートリーダー（Molecular Devices）を用いて570 nmの吸光度を測定した。

【 0 0 5 4 】

SoftMax（登録商標）Pro（バージョン5.2、Molecular Devices）を用いる EC_{50} の算出のために、吸光度の値を対照に対するパーセントに変換し、試験剤濃度に対してプロットした。対照に対するパーセントを算出する前に、すべてのウェルからプレートのブランクシグナルの平均を差し引いた。対照に対するパーセント値は、各試験ウェルの吸光度の値を、薬物不使用対照の平均（カラム11の値；細胞 + ビヒクル対照）で割り、これに100を乗じることによって算出した。化合物濃度対対照に対するパーセントのプロットを、4パラメータ式を用いて分析し、 EC_{50} 値およびシグモイド型の用量応答曲線を示すその他のパラメータを得た。

【 0 0 5 5 】

組み合わせのデータを、CompuSyn（登録商標）ソフトウェアを用いて分析し、試験剤の相乗作用を評価するための併用指数（CI）値を算出した。被影響率（Fa）は、対照に対するパーセント（SoftMax（登録商標）Proに由来する）から、式： $1 - (\text{パーセント対照}/100)$ を用いて算出した。相乗作用の存在 / 不存在の評価のために、組み合わせで試験した化合物の用量、被影響率およびモル比をCompuSyn（登録商標）ソフトウェアに入力した。CompuSyn（登録商標）分析において使用したデータ点は、 EC_{50} SoftMax Pro（登録商標）データの処理応答グラフの用量応答曲線遷移領域（効果あり領域と効果なし領域の間）から選択した。CompuSyn（登録商標）は、増殖に対する化合物の併用の影響のレベルを格付けする併用指数（CI）値を与える。1より小さいCI値は、相乗作用の存在を示し、1より大きいCI値は、拮抗作用を示す。1に近いCI値は、相加作用を示す。

【 0 0 5 6 】

（表4）トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)（「試験薬物」）およびエルロチニブの併用効果

組み合わせ	細胞株	効果	CI
試験薬物48時間、 洗浄、 エルロチニブ48時間	A549 (肺)	相乗作用	0.356
エルロチニブ48時間、 洗浄、 試験薬物48時間	A549 (肺)	拮抗作用	1.23
エルロチニブおよび 試験薬物の同時 インキュベーション72時間	A549 (肺)	拮抗作用	1.26

【 0 0 5 7 】

図9は、最初にエルロチニブで48時間処理して、洗浄し、次いでトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)で48時間処理した肺癌腫細胞株A549におけるエルロチニブとトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)の間の拮抗作用（丸）、および最初にトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)で48時間処理して、洗浄し、次いでエルロチニブで48時間処理したA549細胞株におけるこれら2つの薬物の間の相乗作用（四角）を示す併用指数プロットを示している。これにより、正しい処置の順の重要性が実証されている。

【 0 0 5 8 】

（表5）トリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)（「試験薬物」）およびパクリタキセルの併用効果

組み合わせ	細胞株	効果	CI
パクリタキセル24時間、 洗浄、 試験薬物48時間、 洗浄、 新鮮な培地24時間	NCI-H322M (肺)	相乗作用	0.353
試験薬物48時間、 洗浄、 パクリタキセル24時間、 洗浄、 新鮮な培地24時間	NCI-H322M (肺)	拮抗作用	2.05
試験薬物および パクリタキセルの同時 インキュベーション72時間	NCI-H322M (肺)	拮抗作用	1.59

10

【 0 0 5 9 】

図10は、最初にトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)で48時間処理して、洗浄し、次いでパクリタキセルで24時間処理して、洗浄し、次いで新鮮な培地中で24時間培養した肺癌細胞株NCI-H322Mにおけるパクリタキセルとトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)の間の拮抗作用(四角)、および最初にパクリタキセルで24時間処理して、洗浄し、次いでトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)で48時間処理して、洗浄し、次いで新鮮な培地中

20

で24時間培養したNCI-H322M細胞株におけるこれら2つの薬物の間の相乗作用(丸)を示す併用指数プロットを示している。

【 0 0 6 0 】

比較実施例

ヒト腫瘍細胞株LoVoをAmerican Type Culture Collection(ATCC)から入手し、これを供給元の推奨する培地および条件下で培養した。72時間96ウェルプレートアッセイ法のために、細胞を1ウェルあたり 12.0×10^3 個となるよう播種し、これを37℃、5% CO₂、95%空気の加湿雰囲気下で一晩インキュベートして細胞を接着させた。試験剤、例えばトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)およびパクリタキセルは、実施例3で上述されているとおりに調製した。ドキソルビシンは、Teva Parenteral Medicinesから入手し、3.45mMストック

30

水溶液を完全培地で直接希釈した。

【 0 0 6 1 】

試験剤の抗増殖EC₅₀活性を、MTT Cell Proliferation Assay Kit(ATCCカタログ#30-1010K)を用いて評価し、そのデータを他の実施例で上述されているとおりに分析した。以下の表6は、これらの組み合わせのCI値をまとめたものである。

【 0 0 6 2 】

(表6) 併用指数値

組み合わせ	細胞株	併用指数 (CI) 値 *
試験薬物 + ドキソルビシン	LoVo	1.19
試験薬物 + パクリタキセル	LoVo	5.98

40

* 0.1 ~ 0.90 = 相乗作用 ; 0.90 ~ 1.10 = 相加作用 ; 1.10 ~ 10 = 拮抗作用。

【 0 0 6 3 】

図11は、結腸癌LoVo細胞株におけるドキソルビシンとトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)の間の拮抗作用を示す併用指数プロットを示している。図12は、結腸直腸腺癌細胞株LoVoにおけるトリス(8-キノリノラト)ガリウム(III)とパクリタキセルの間の拮抗活性を示す併用指数プロットを示している。

【 0 0 6 4 】

本明細書中で言及されているすべての刊行物および特許出願は、本発明の属する技術分

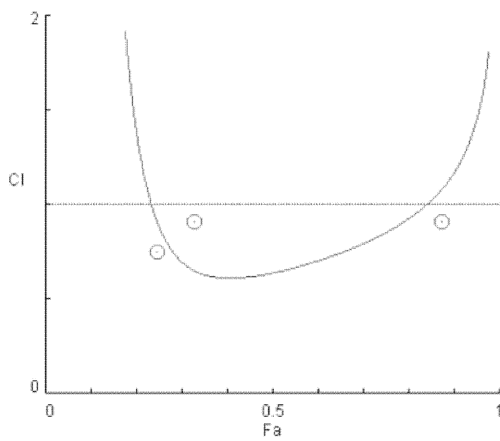
50

野の当業者のレベルのものを示すものである。すべての刊行物および特許出願は、各々個々の刊行物または特許出願が具体的かつ個別に参照により組み入れられることが示されている場合と同じように、参照により本明細書に組み入れられる。単にその刊行物および特許出願に言及しただけでは、それらが本願の先行技術であることを承認したことにはならない。

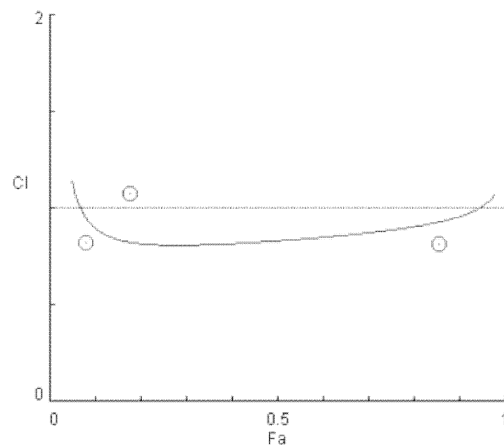
【 0 0 6 5 】

上記の発明は、理解を確実にする目的で、実例および実施例によってある程度詳細に記載されているが、添付の特許請求の範囲の中で一定の変更および修正がなされ得ることは明らかであろう。

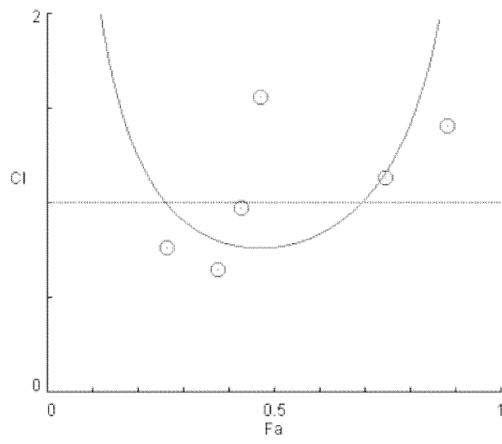
【 図 1 】



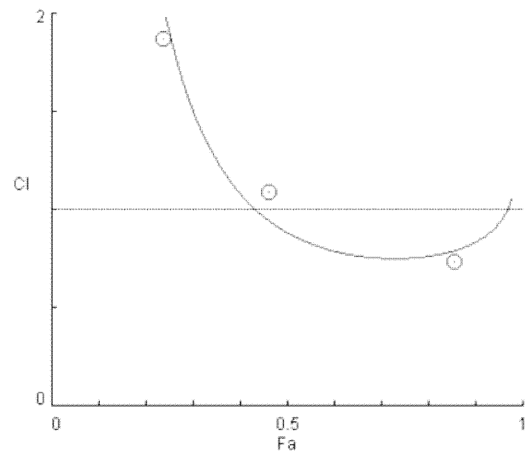
【 図 2 】



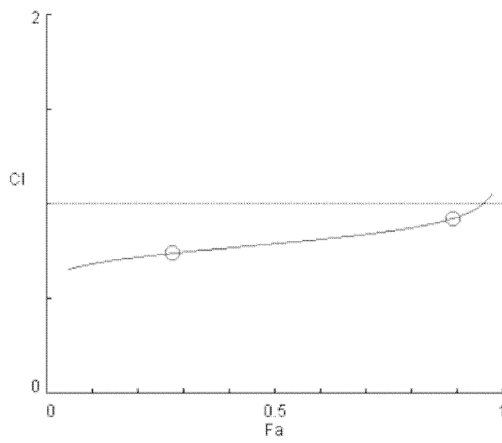
【図 3】



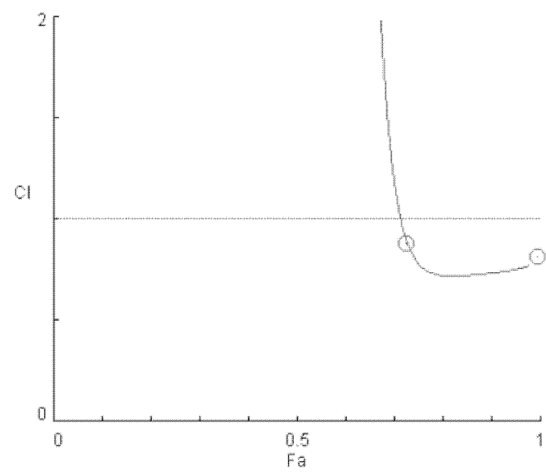
【図 4】



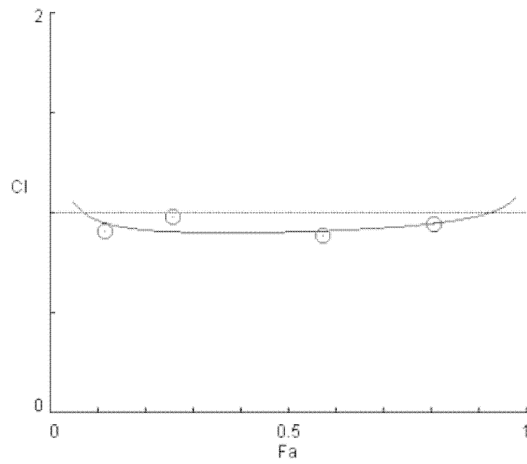
【図 5】



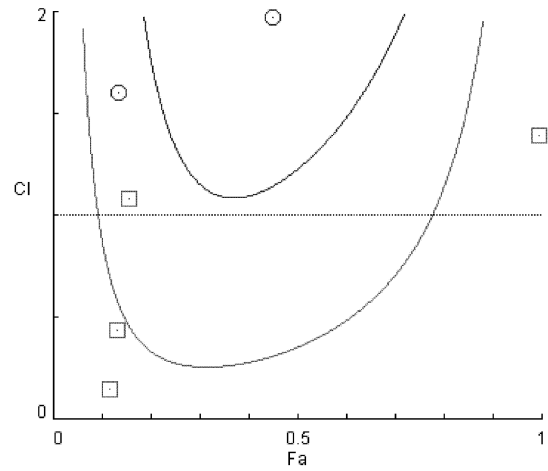
【図 6】



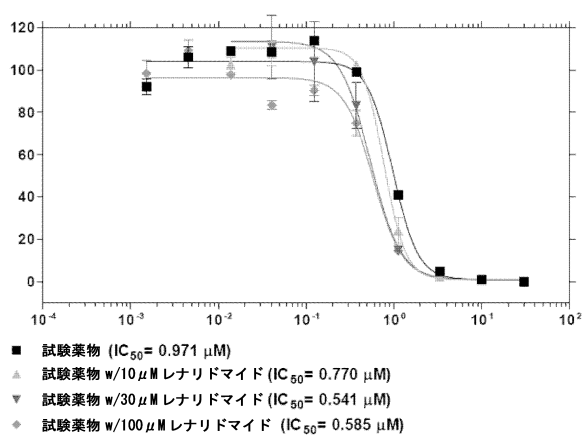
【図 7】



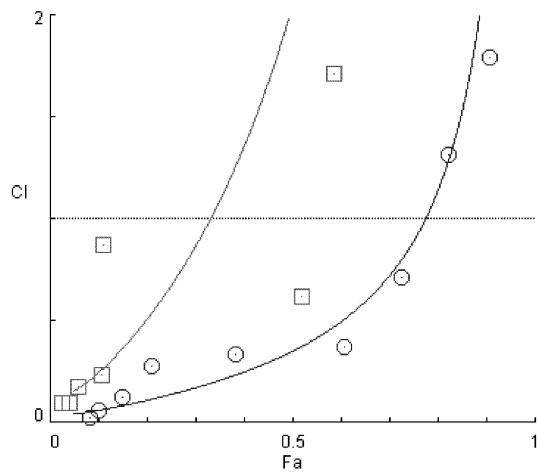
【図 9】



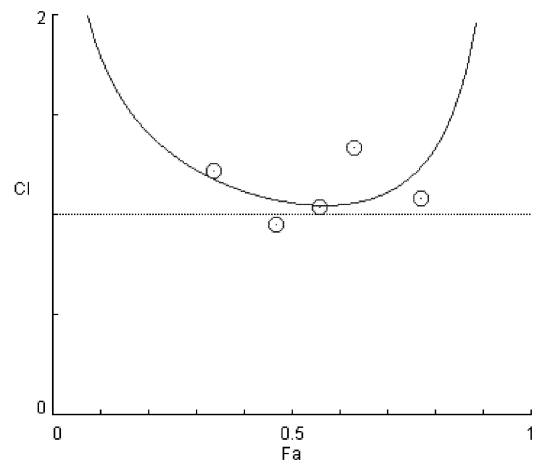
【図 8】

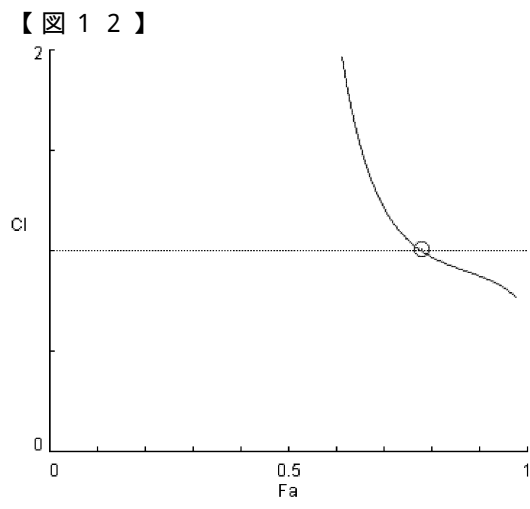


【図 10】



【図 11】





フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 1 2 1

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889

弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 シェシュバラダラン フーシュマンド

アメリカ合衆国 ニュージャージー州 ホボケン リバー ストリート 80 スイート 5ディ
 ー

審査官 長岡 真

(56)参考文献 国際公開第2002/074304(WO, A1)

Cancer Research, 1993, vol.53, p.1862-1866

治療薬マニュアル2007, 2007, 医学書院, p.1449-1452

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 3 1 / 4 7

A 6 1 K 3 1 / 5 1 3

A 6 1 K 3 1 / 5 3

A 6 1 K 3 1 / 7 0 7 2

A 6 1 P 3 5 / 0 0

A 6 1 P 4 3 / 0 0

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)