

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-527975

(P2015-527975A)

(43) 公表日 平成27年9月24日(2015.9.24)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
A61K 33/04 (2006.01)	A 61 K 33/04	4 C04 7
A61P 9/10 (2006.01)	A 61 P 9/10	4 C06 6
A61K 9/08 (2006.01)	A 61 K 9/08	4 C07 6
A61J 1/10 (2006.01)	A 61 J 1/00	3 3 1
A61J 1/05 (2006.01)	A 61 J 1/00	3 1 1

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 49 頁) 最終頁に続く

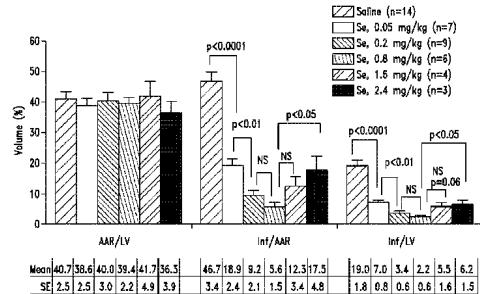
(21) 出願番号	特願2015-517392 (P2015-517392)	(71) 出願人	506139369 フレッド ハッchinソン キャンサー リ サーチ センター
(86) (22) 出願日	平成25年6月12日 (2013.6.12)		アメリカ合衆国 ワシントン州 シアトル フェアビュー アベニュー ノース 1 1 O O
(85) 翻訳文提出日	平成26年12月12日 (2014.12.12)	(74) 代理人	100078282 弁理士 山本 秀策
(86) 國際出願番号	PCT/US2013/045395	(74) 代理人	100113413 弁理士 森下 夏樹
(87) 國際公開番号	W02013/188528	(74) 代理人	100181674 弁理士 飯田 貴敏
(87) 國際公開日	平成25年12月19日 (2013.12.19)	(74) 代理人	100181641 弁理士 石川 大輔
(31) 優先権主張番号	61/659,311		
(32) 優先日	平成24年6月13日 (2012.6.13)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	61/798,043		
(32) 優先日	平成25年3月15日 (2013.3.15)		
(33) 優先権主張国	米国(US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】カルコゲニドを含む組成物および関連方法

(57) 【要約】

本発明は、カルコゲニドを還元型で含む組成物、カルコゲニドを還元型で含む組成物を製造する関連方法、被験体に還元型の化合物を送達するためのデバイス、ならびにカルコゲニドを還元型で含む組成物を使用して傷害または疾患を処置または予防するための方法に関する。本発明のある実施形態は、還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する方法に関し、ここで、この方法は、カルコゲンまたはカルコゲンの酸、および還元剤を、酸素減少環境において、還元剤の大部分の酸化およびカルコゲンの大部分の還元を可能にするために十分な条件下および時間期間、混合し、それによって、還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する工程を備える。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する方法であって、前記方法は、

カルコゲンまたはカルコゲンの酸、および還元剤を、酸素減少環境において、還元剤の大部分の酸化およびカルコゲンの大部分の還元を可能にするために十分な条件下および時間期間、混合し、

それによって、還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する工程を備える、方法。

【請求項 2】

前記カルコゲンが硫黄またはセレンである、請求項 1 に記載の方法。 10

【請求項 3】

前記カルコゲンの酸が亜セレン酸または亜セレン酸ナトリウムまたはセレン元素である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 4】

前記還元剤が約 0 . 4 V より低いか約 0 . 4 V に等しい還元電位 (E °) を有する、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 5】

前記還元剤が水素化ホウ素ナトリウム (NaBH₄) である、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の方法。 20

【請求項 6】

還元剤対カルコゲンまたはカルコゲンの酸のモル比が約 5 : 1 ~ 約 0 . 5 : 1 である、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 7】

還元剤対カルコゲンまたはカルコゲンの酸のモル比が約 2 : 1 である、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記還元剤が水素化ホウ素ナトリウムであり、前記カルコゲンが硫黄またはセレンであり、そして前記カルコゲンの酸が亜セレン酸である、請求項 6 または 7 のいずれか 1 項に記載の方法。 30

【請求項 9】

前記還元剤が水素化ホウ素ナトリウムであり、前記カルコゲンがセレンであり、そして前記水素化ホウ素ナトリウム対セレンのモル比が約 2 : 1 である、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

前記セレンが約 1 mM ~ 1 M (79 mg / L ~ 79 g / L) の量で存在する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記水素化ホウ素ナトリウムが 1 M 水溶液中に存在する、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

前記方法が酸素を含まない環境において実施される、請求項 1 ~ 11 のいずれか 1 項に記載の方法。 40

【請求項 13】

前記方法が窒素下で実施される、請求項 1 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 14】

前記窒素が前記酸素減少環境中に注入される、請求項 1 3 に記載の方法。

【請求項 15】

前記窒素が約 100 c c / 分の速度で注入される、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 16】

前記酸素減少環境が酸素を含まない環境を有する容器である、請求項 1 ~ 15 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 17】

50

前記容器がチューブまたはバイアルである、請求項 1 6 に記載の方法。

【請求項 1 8】

前記容器が入口の閉鎖可能なポートを備える、請求項 1 6 または請求項 1 7 に記載の方法。

。

【請求項 1 9】

前記容器が、ラバーセプタムを備える密封可能なチューブ、例えば、Hungate チューブである、請求項 1 8 に記載の方法。

【請求項 2 0】

チューブの中への窒素の注入およびチューブからの取り出しがセプタムを貫通する 2 本の針を介して行われ、該 2 本の針のうちの一方が窒素を該チューブの中に運ぶためのポートとして使用され、該 2 本の針のうちの第 2 の針が窒素を該チューブから取り出すために使用される、請求項 1 9 に記載の方法。

10

【請求項 2 1】

前記条件がほとんど室温の温度を含む、請求項 1 ~ 2 0 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 2】

前記時間期間の後で前記混合物を加熱する工程をさらに備える、請求項 1 ~ 2 1 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 2 3】

前記混合溶液が視覚的に透明に見えるときに前記時間期間が終了する、請求項 1 ~ 2 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

20

【請求項 2 4】

前記加熱する工程はいかなるバブリングも観察されなくなるまで継続される、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 5】

前記加熱する工程の後で前記混合物を冷却する工程をさらに備える、請求項 2 2 ~ 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 6】

前記冷却する工程が前記混合物を氷上に配置することによって実施される、請求項 2 5 に記載の方法。

30

【請求項 2 7】

前記冷却する工程が、前記混合溶液からホウ酸ナトリウムが沈殿するまで継続される、請求項 2 5 または請求項 2 6 に記載の方法。

【請求項 2 8】

前記混合溶液を遠心分離して沈殿したホウ酸ナトリウムから上清を分離する工程、および該上清を除去する工程をさらに備える、請求項 2 7 に記載の方法。

【請求項 2 9】

前記上清が、前記還元型カルコゲニドを含む前記安定した組成物を含む、請求項 2 8 に記載の方法。

【請求項 3 0】

少なくとも 90 % の前記カルコゲニドが少なくとも 1 時間、還元型で存在している、請求項 1 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

【請求項 3 1】

前記混合物を酸で酸性化する工程およびセレン化水素ガスを溶液を通してバブリングする工程をさらに備え、前記酸は還元性でありかつ揮発性でなく、前記溶液は 3 . 9 を超える pH を有する、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 3 2】

前記酸が亜リン酸であり、前記溶液がリン酸緩衝化生理食塩水 (P B S) である、請求項 3 1 に記載の方法。

【請求項 3 3】

前記還元型のカルコゲニドが - 2 の酸化状態である、請求項 1 ~ 3 2 のいずれか 1 項に記

50

載の方法。

【請求項 3 4】

前記還元型のカルコゲニドが H_2Se 、 Na_2Se 、 $NaHS$ e、または HSe^- アニオンである、請求項 1 ~ 3 2 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 3 5】

還元されたカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する方法であって、該方法は、

鉛油またはテトラヒドロフラン (THF) を含む溶液中でセレン元素 (Se) または硫黄元素 (S) および水素化ナトリウムを混合し、

それによって、セレン化水素ナトリウムまたは硫化ナトリウムを含む安定な組成物を製造する工程、

を備える、方法。

【請求項 3 6】

前記混合溶液に水を添加し、それによって水素化ナトリウムを除去する工程をさらに備える、請求項 3 5 に記載の方法。

【請求項 3 7】

前記溶液が鉛油を含み、前記方法が、混合溶液の水相を除去する工程をさらに備え、前記還元されたカルコゲニドが前記水相中に存在している、請求項 3 5 または請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 3 8】

前記溶液が THF を含み、前記方法が前記混合溶液を約 70 度煮沸させることによって前記 THF を除去する工程をさらに備える、請求項 3 5 または請求項 3 6 に記載の方法。

【請求項 3 9】

還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物であって、前記組成物中の少なくとも 90 % の前記カルコゲニドが、室温で保管したときに、少なくとも 1 時間、前記還元型で存在する、組成物。

【請求項 4 0】

薬学的に受容可能なキャリア、希釈剤、または賦形剤をさらに含む、請求項 3 9 に記載の安定な組成物。

【請求項 4 1】

前記還元型のカルコゲニドがカルコゲンをその -2 の酸化状態で含み、前記還元型のカルコゲニドが、任意に、 H_2Se 、 Na_2Se 、 $NaHS$ e、または HSe^- アニオンである、請求項 3 9 または請求項 4 0 に記載の安定な組成物。

【請求項 4 2】

請求項 1 ~ 3 8 のいずれか 1 項に記載の方法によって製造された還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物。

【請求項 4 3】

前記安定な組成物が、1つまたは1つより多くの還元剤、等張化剤、安定剤、界面活性剤、リコプロテクタント、ポリオール、抗酸化剤、または保存剤をさらに含む、請求項 3 9 ~ 4 2 のいずれか 1 項に記載の安定な組成物。

【請求項 4 4】

前記カルコゲン元素がセレンまたは硫黄である、請求項 4 3 に記載の安定な組成物。

【請求項 4 5】

前記安定な組成物がさらに溶媒を含む、請求項 3 9 ~ 4 4 のいずれか 1 項に記載の安定な組成物。

【請求項 4 6】

前記溶媒が水である、請求項 4 5 に記載の安定な組成物。

【請求項 4 7】

化合物を還元型に維持するためのデバイスであって、該デバイスは酸素不透過性容器を備える、デバイス。

【請求項 4 8】

10

20

30

40

50

前記容器がガラスである、請求項 4 7 に記載のデバイス。

【請求項 4 9】

前記容器の壁が酸素不透過性ポリマーを含む、請求項 4 7 に記載のデバイス。

【請求項 5 0】

前記ポリマーが、シリコーンゴム、天然ゴム、低密度ポリエチレン (L D P E)、ポリスチレン (P S)、ポリエチレン (P E)、ポリカーボネート (P C)、ポリ酢酸ビニル (P V A c)、アモルファスポリエチレンテレフタレート (A P E T)、ポリ塩化ビニル (P V C)、ナイロン 6 (N y 6)、ポリフッ化ビニル (P V F)、ポリ塩化ビニリデン (P V d C)、ポリアセトニトリル (P A N)、エチレンビニルアルコール (E V O H)、およびポリビニルアルコール (P V A) からなる群より選択される、請求項 4 9 に記載のデバイス。
10

【請求項 5 1】

前記ポリマーの酸素透過係数が 10^{-10} [cm³ (S T P) / cm / (cm² + s + Pa)] 未満である、請求項 4 9 または請求項 5 0 に記載のデバイス。

【請求項 5 2】

前記容器の壁が 1 つまたは 1 つより多くの酸素不透過性ポリマーの複数の層を含む、請求項 4 7 ~ 5 1 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 5 3】

前記容器が入口の閉鎖可能なポートを備える、請求項 4 7 ~ 5 2 のいずれか 1 項に記載のデバイス。
20

【請求項 5 4】

前記容器が 2 つまたは 2 つより多くの入口の閉鎖可能なポートを備える、請求項 4 7 ~ 5 3 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 5 5】

前記容器がボトル、バッグ、チューブ、バイアル、またはシリンジである、請求項 4 7 ~ 5 4 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 5 6】

前記デバイスが静脈内バッグまたはシリンジである、請求項 5 5 に記載のデバイス。

【請求項 5 7】

前記容器が、ラバーセプタムを備える密封可能なチューブ、例えば、Hungate チューブである、請求項 4 7 ~ 5 5 のいずれか 1 項に記載のデバイス。
30

【請求項 5 8】

前記デバイスが、入口の閉鎖可能なポートを通して前記容器に連結された送達手段をさらに備える、請求項 4 7 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 5 9】

前記送達手段が、前記容器から溶液を、それを必要とする被験体に静脈内送達するように構成されている、請求項 5 8 に記載のデバイス。

【請求項 6 0】

前記送達手段が針またはカニューレを備える、請求項 5 8 または請求項 5 9 に記載のデバイス。
40

【請求項 6 1】

前記送達手段が酸素減少環境を含む、請求項 5 8 ~ 6 0 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 6 2】

前記化合物がカルコゲニドである、請求項 4 7 ~ 6 1 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 6 3】

前記還元型のカルコゲニドが H₂Se、Na₂Se、NaHS e、または HSe - アニオンである、請求項 6 2 に記載のデバイス。

【請求項 6 4】

前記デバイスが請求項 3 9 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の安定な組成物を含む、請求項 4
50

7 ~ 6 3 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 6 5】

被験体における傷害を軽減させるかまたは疾患を処置するための方法であって、請求項 3 9 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の安定な組成物を前記被験体に提供する工程を備える、方法。

【請求項 6 6】

前記安定な組成物が、請求項 4 7 ~ 6 4 のいずれか 1 項に記載のデバイスを使用して前記被験体に提供される、請求項 6 5 に記載の方法。

【請求項 6 7】

前記傷害が虚血または再灌流の結果である、請求項 6 5 または請求項 6 6 に記載の方法。 10

【請求項 6 8】

前記傷害が心臓発作または脳卒中によって引き起こされる梗塞である、請求項 6 5 ~ 6 7 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 6 9】

前記傷害が、炎症、心臓発作、冠状動脈バイパス手術、虚血、腸虚血、肝虚血、腎虚血、脳卒中、外傷性脳傷害、肢虚血、眼虚血、敗血症、喫煙、熱傷、または急性肺傷害によって引き起こされる、請求項 6 5 または請求項 6 6 に記載の方法。

【請求項 7 0】

薬物送達デバイスであって、

請求項 3 9 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の安定な組成物を還元型で含有するためのリザーバー；および 20

リザーバーと液体連通している液体連通部材であって、患者への送達の間に少なくとも 9 0 % の組成物を還元型に維持するように構成されている、液体連通部材を備える、デバイス。

【請求項 7 1】

前記リザーバーが酸素不透過性ポリマーで形成されている、請求項 7 0 に記載のデバイス。

【請求項 7 2】

前記ポリマーが、シリコーンゴム、天然ゴム、低密度ポリエチレン (LDPE)、ポリスチレン (PS)、ポリエチレン (PE)、ポリカーボネート (PC)、ポリ酢酸ビニル (PVC)、APE、ポリ塩化ビニル (PVC)、ナイロン 6 (Ny 6)、ポリフッ化ビニル (PVF)、ポリ塩化ビニリデン (PVdC)、ポリアセトニトリル (PAN)、エチレンビニルアルコール (EVOH)、およびポリビニルアルコール (PVA) からなる群より選択される、請求項 7 1 に記載のデバイス。 30

【請求項 7 3】

前記ポリマーの酸素透過係数が $10^{-10} [cm^3 (STP) / cm / (cm^2 + s + Pa)]$ 未満であり、ここで、Pa = パスカル；STP = 標準温度および標準圧力 (25 および 1 気圧)；そして s = 秒である、請求項 7 1 または請求項 7 2 に記載のデバイス。

【請求項 7 4】

前記リザーバーが酸素不透過性ポリマーの複数の層を含む、請求項 7 0 ~ 7 3 のいずれか 1 項に記載のデバイス。 40

【請求項 7 5】

前記リザーバーが再密封可能なポートを含む、請求項 7 0 ~ 7 4 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 7 6】

前記リザーバーが複数の再密封可能なポートを含む、請求項 7 0 ~ 7 5 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 7 7】

前記リザーバーがボトル、バッグ、チューブ、バイアル、またはシリンジである、請求項 7 0 ~ 7 6 のいずれか 1 項に記載のデバイス。 50

【請求項 7 8】

前記デバイスが静脈内バッグまたはシリンジである、請求項 7 7 に記載のデバイス。

【請求項 7 9】

前記リザーバーがチューブ部材であり、該チューブ部材が、該チューブ部材を気密に封止するように構成されたセプタムを有する、請求項 7 0 ~ 7 7 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 8 0】

前記チューブ部材が Hungate チューブである、請求項 7 9 に記載のデバイス。

【請求項 8 1】

前記液体連通部材が、再密封可能なポートを通して前記リザーバーと液体連結されるよう 10 に構成されている、請求項 7 0 ~ 8 0 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 8 2】

前記液体連通部材が、前記リザーバーから組成物を、それを必要とする被験体に静脈内送達するように構成されている、請求項 8 1 に記載のデバイス。

【請求項 8 3】

前記液体連通部材が針およびカニューレの少なくとも 1 つを含む、請求項 8 1 または請求項 8 2 に記載のデバイス。

【請求項 8 4】

前記液体連通部材が酸素減少環境または酸素を含まない環境に配置される、請求項 8 1 ~ 20 8 3 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 8 5】

前記組成物が還元型のカルコゲニドを含む、請求項 7 0 ~ 8 4 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 8 6】

前記還元型のカルコゲニドが H₂Se、Na₂Se、または NaHS_e である、請求項 8 5 に記載のデバイス。

【請求項 8 7】

前記デバイスが酸素減少環境または酸素を含まない環境に配置される、請求項 7 0 ~ 8 6 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 8 8】

前記酸素減少環境または酸素を含まない環境が容器の内部であり、任意に、前記容器がバッグである、請求項 8 7 に記載のデバイス。

【請求項 8 9】

前記容器が酸素不透過性ポリマーを含む、請求項 8 8 に記載のデバイス。

【請求項 9 0】

前記ポリマーが、シリコーンゴム、天然ゴム、低密度ポリエチレン (LDPE)、ポリスチレン (PS)、ポリエチレン (PE)、ポリカーボネート (PC)、ポリ酢酸ビニル (PVAc)、アモルファスポリエチレンテレフタレート (APET)、ポリ塩化ビニル (PVC)、ナイロン 6 (Ny 6)、ポリフッ化ビニル (PVF)、ポリ塩化ビニリデン (PVdC)、ポリアセトニトリル (PAN)、エチレンビニルアルコール (EVOH)、およびポリビニルアルコール (PVA) からなる群より選択される、請求項 8 9 に記載のデバイス。

【請求項 9 1】

前記ポリマーの酸素透過係数が 1.0 ~ 1.0 [cm³ (STP) / cm / (cm² + s + Pa)] 未満である、請求項 8 9 または請求項 9 0 に記載のデバイス。

【請求項 9 2】

前記容器の壁が 1 つまたは 1 つより多くの酸素不透過性ポリマーの複数の層を含む、請求項 8 8 ~ 9 1 のいずれか 1 項に記載のデバイス。

【請求項 9 3】

哺乳動物における傷害を軽減させるための方法であって、請求項 3 9 ~ 4 6 のいずれか 1

10

20

30

40

50

項に記載の安定な組成物を該哺乳動物に提供することによる、方法。

【請求項 9 4】

前記安定な組成物が、請求項 7 0 ~ 9 2 のいずれか 1 項に記載のデバイスを使用して前記哺乳動物に提供される、請求項 9 3 に記載の方法。

【請求項 9 5】

前記傷害が虚血または再灌流の結果である、請求項 9 3 または請求項 9 4 に記載の方法。

【請求項 9 6】

前記傷害が心臓発作または脳卒中によって引き起こされる梗塞である、請求項 9 3 ~ 9 5 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 9 7】

前記傷害が炎症によって引き起こされる、請求項 9 3 または請求項 9 4 に記載の方法。

【請求項 9 8】

安定な治療組成物を還元型にてそれを必要とする患者に送達する方法であって、該方法は、

リザーバーの中に治療組成物を含有させる工程であり、該リザーバーは、該治療組成物を還元型に維持するように構成されている、工程；

該リザーバーと該患者の間の液体連通を確立する工程；

実質的に酸素を含まない環境において、該リザーバーから該患者に、所定量の該治療組成物を送達する工程

を備える、方法。

【請求項 9 9】

前記方法がグルタチオンをカルコゲンおよび還元剤とともに混合する工程を備える、請求項 3 9 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 0 0】

前記方法が前記安定な組成物にグルタチオンを添加する工程を備える、請求項 3 9 ~ 4 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 1 0 1】

前記安定な組成物が、約 1 . 5 μ M ~ 約 1 0 M、約 1 5 μ M ~ 約 1 M、約 1 5 0 μ M ~ 約 1 M、約 1 . 5 mM ~ 約 1 M、約 1 0 mM ~ 約 5 0 0 mM、約 1 0 mM ~ 約 2 5 0 mM、または約 1 0 0 mM、約 1 2 0 mM、約 1 5 0 mM、約 1 7 0 mM、または約 2 0 0 mM の濃度でグルタチオンを含む、先行する請求項のいずれかに記載の組成物、方法、またはデバイス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

(関連する出願に対する相互参照)

本願は、2012年6月13日に出願された米国仮特許出願第 6 1 / 6 5 9 , 3 1 1 号明細書および2013年3月15日に出願された米国仮特許出願第 6 1 / 7 9 8 , 0 4 3 号明細書の利益を主張し、これらのそれぞれが、本明細書においてその全体が参考として援用される。

【0 0 0 2】

(発明の分野)

本発明は、カルコゲニドを還元型で含む組成物、カルコゲニドを還元型で含む組成物を製造する関連方法、被験体にカルコゲニドを還元型で送達するためのデバイス、ならびにカルコゲニドを還元型で含む組成物を使用して傷害および疾患 (injuries and diseases) を処置または予防するための方法に関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

(発明の背景)

10

20

30

40

50

カルコゲン元素、すなわち、周期表の6族の元素を含有する化合物は、酸化物を除き、共通して「カルコゲニド」または「カルコゲニド化合物」と呼ばれる。これらの元素には、硫黄(S)、セレン(Se)、テルル(Te)、およびポロニウム(Po)が含まれる。一般的なカルコゲニドは、他の元素に加えて、1つまたは1つより多くのS、Se、およびTeを含有する。

【0004】

カルコゲニドを用いる処置は、生物学的物質の鬱血を誘導し、そして低酸素性および虚血性の傷害から生物学的物質を保護することが示されてきた。これらの研究において、酸素消費の強力な阻害剤である硫化水素(H₂S)ガスが、代謝を低下させ、マウスおよびラットを低酸素傷害から保護できることが実証された(PCT公開番号WO2005/041655)。硫化水素ガスは、典型的には、医療ガスとは考えられてこなかったが、この予期せぬ効果は、多くの動物およびヒトの疾患、特に、低酸素症ならびに虚血関連疾患および傷害の処置または予防のための刺激的な可能性を提示した。

10

【0005】

ある特定のカルコゲニド化合物(例えば、H₂Sおよびセレン化水素(H₂Se))は、酸素と化学的に反応するそれらの能力に起因して、酸素の存在下で安定ではなく、それらの酸化および化学転換に導く。潜在的な酸化剤には、酸素、二酸化炭素、および酸化生成物の混合物を生成することができる固有の金属不純物(例えば、亜硫酸塩、硫酸塩、チオ硫酸塩、ポリスルフィド、ジチオン酸塩、ポリチオン酸塩、および硫黄元素またはセレン元素)が挙げられる。このカルコゲニド化合物の化学転換により、限られた安定性、限られた貯蔵寿命、および製造、保管、または使用の間の酸化生成物の導入の可能性に起因して、医薬としてのそれらの使用が制限される。加えて、市販されているNa₂Seは高度に酸化されており、水に溶解しない実質的な量のセレン元素を含有しているので、動物へのその注射は毛細血管中の血液の流れを遮断し得る。

20

カルコゲニドを用いる処置の必要がある細胞または被験体に薬学的な利点を提供するために、安定で、再現性よく製造され、そして標準的な投与経路のために設計されたカルコゲニド組成物が必要とされている。明らかに、安定なカルコゲニドの組成物についての必要性が当該分野において存在し、これには、例えば、疾患の処置のために制御された医学的環境において、緊急の間の野外での処置として、または壊滅的な傷害もしくは生命の危険がある医学的事象に応答した救命救急診療での治療において患者に便利に投与されてもよい、硫化物またはセレン化物を含有するものが挙げられる。本発明は、安定なカルコゲニドの組成物を提供することによってこの必要性を満たし、これは、低酸素および/または虚血性状態から生じる傷害、ならびに他の傷害および疾患状態から動物を保護することが本明細書で実証される。本発明は、安定なカルコゲニドの組成物を製造する方法もまた提供する。

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】国際公開第2005/041655号

40

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

(発明の簡単な概要)

本発明は、還元型カルコゲニドを含む安定な組成物を製造する方法、および還元型カルコゲニドを被験体に送達するための関連方法、ならびに還元型カルコゲニドを含む組成物、および化合物、例えば、カルコゲニドを還元型に維持するための関連デバイスを提供する。したがって、本発明の組成物および方法は、虚血などの被験体における傷害または疾患を処置、予防、阻害、または軽減させるために有用である。

【0008】

本発明のある実施形態は、還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する方法に

50

関し、ここで、この方法は、カルコゲンまたはカルコゲンの酸、および還元剤を、酸素減少環境において、還元剤の大部分の酸化およびカルコゲンの大部分の還元を可能にするために十分な条件下および時間期間、混合し、それによって、還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する工程を備える。

【0009】

1つの実施形態において、カルコゲンは硫黄またはセレンである。別の実施形態において、カルコゲンの酸は亜セレン酸または亜セレン酸ナトリウムまたはセレン元素である。

【0010】

ある実施形態において、還元剤は約0.4Vより低いか約0.4Vに等しい還元電位(E_{o})を有する。別の実施形態において、還元剤は水素化ホウ素ナトリウム(NaBH₄)である。1つの実施形態において、還元剤対カルコゲンまたはカルコゲンの酸のモル比は約5:1～約0.5:1である。特定の実施形態において、還元剤対カルコゲンまたはカルコゲンの酸のモル比は約2:1である。ある実施形態において、還元剤は水素化ホウ素ナトリウムであり、カルコゲンは硫黄またはセレンである。ある実施形態において、還元剤は水素化ホウ素ナトリウムであり、カルコゲンの酸は亜セレン酸である。関連する実施形態において、還元剤は水素化ホウ素ナトリウムであり、カルコゲンは硫黄またはセレンであり、そしてカルコゲンの酸は亜セレン酸である。1つの実施形態において、還元剤は水素化ホウ素ナトリウムであり、カルコゲンはセレンであり、そして水素化ホウ素ナトリウム対セレンのモル比は約2:1である。関連する実施形態において、セレンは約1mM～1M(79mg/L～79g/L)の量で存在する。なお別の実施形態において、水素化ホウ素ナトリウムは1M水溶液中に存在する。

10

20

30

40

【0011】

1つの実施形態において、還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する方法は、酸素を含まない環境において実施される。別の実施形態において、この方法は窒素下で実施される。関連する実施形態において、窒素は酸素減少環境中に注入される(perfused into)。特定の実施形態において、窒素は約100cc/分の速度で注入される。

【0012】

還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する方法の1つの実施形態において、酸素減少環境は、酸素を含まない環境を有する容器である。ある実施形態において、容器はチューブまたはバイアルである。別の実施形態において、容器は入口の閉鎖可能なポートを備える。関連する実施形態において、容器は、ラバーセプタムを備える密封可能なチューブ、例えば、Hungateチューブである。1つの実施形態において、チューブの中への窒素の注入およびチューブからの取り出しがセプタムを貫通する2本の針を介して行われ、ここで、2本の針のうちの一方が窒素をチューブの中に運ぶためのポートとして使用され、2本の針のうちの第2の針が窒素をチューブから取り出すために使用される。

【0013】

別の実施形態において、この方法の条件はほとんど室温の温度を含み、またはこの方法はほとんど室温で実施される。1つの実施形態において、この方法は、この時間期間の後で混合物を加熱する工程をさらに備える。別の実施形態において、混合溶液が視覚的に透明に見えるときに、この時間期間が終了する。なお別の実施形態において、加熱する工程はいかなるバブリングも観察されなくなるまで継続される。ある実施形態において、この方法は、加熱する工程の後で混合物を冷却する工程をさらに備える。1つの実施形態において、冷却する工程は混合物を氷上に配置することによって実施される。別の実施形態において、冷却する工程は、混合溶液からホウ酸ナトリウムが沈殿するまで継続される。関連する実施形態において、この方法は、混合溶液を遠心分離して沈殿したホウ酸ナトリウムから上清を分離する工程、および上清を除去する工程をさらに備える。1つの実施形態において、上清は、還元されたカルコゲニドを含む安定した組成物を含む。

【0014】

ある実施形態において、組成物中の少なくとも90%のカルコゲニドが少なくとも1時

50

間、還元型で存在している。1つの実施形態において、この方法は、混合物を酸で酸性化する工程およびセレン化水素ガスを溶液を通してバブリングする工程をさらに備え、ここで、この酸は還元性でありかつ揮発性でなく、この溶液は3.9を超えるpHを有する。別の実施形態において、酸は亜リン酸であり、前記溶液はリン酸緩衝化生理食塩水(PBS)である。

【0015】

1つの実施形態において、還元型のカルコゲニドは-2の酸化状態である。別の実施形態において、還元型のカルコゲニドはH₂Se、Na₂Se、NaHS_e、またはHS_e-アニオンである。

【0016】

ある実施形態は、還元されたカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する方法に関し、ここで、この方法は、鉱油またはテトラヒドロフラン(THF)を含む溶液中でセレン元素(Se)または硫黄元素(S)および水素化ナトリウムを混合し、それによって、セレン化水素ナトリウムまたは硫化ナトリウムを含む安定な組成物を製造する工程を備える。

【0017】

1つの実施形態において、還元されたカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する方法は、混合溶液に水を添加し、それによって水素化ナトリウムを除去する工程をさらに備える。別の実施形態において、この溶液は鉱油を含み、この方法は、混合溶液の水相を除去する工程をさらに備え、ここで、還元されたカルコゲニドは水相中に存在している。1つの実施形態において、この溶液はTHFを含み、この方法は混合溶液を約70℃で煮沸させることによってTHFを除去する工程をさらに備える。

【0018】

ある実施形態は、還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物に関し、ここで、組成物中の少なくとも90%のカルコゲニドは、室温で保管したときに、少なくとも1時間、還元型で存在する。

【0019】

1つの実施形態において、この安定な組成物は、薬学的に受容可能なキャリア、希釈剤、または賦形剤をさらに含む。別の実施形態において、還元型のカルコゲニドはカルコゲンをその-2の酸化状態で含む。特定の実施形態において、還元型のカルコゲニドは、任意に、H₂Se、Na₂Se、NaHS_e、またはHS_e-アニオンである。1つの実施形態において、還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物は、上記の方法によって製造される。ある実施形態において、安定な組成物は、1つまたは1つより多くの還元剤、等張化剤、安定剤、界面活性剤、リコプロテクト(lycoprotectant)、ポリオール、抗酸化剤、または保存剤をさらに含む。特定の実施形態において、カルコゲン元素はセレンまたは硫黄である。別の実施形態において、安定な組成物はさらに溶媒を含む。1つの実施形態において、溶媒は水である。

【0020】

ある実施形態は、化合物、例えば、カルコゲニドを還元型に維持するためのデバイスに関する。特定の実施形態において、このデバイスは酸素不透過性容器を備える。

【0021】

1つの実施形態において、この容器はガラスである。別の実施形態において、この容器の壁は酸素不透過性ポリマーを含む。関連する実施形態において、このポリマーは、シリコーンゴム、天然ゴム、低密度ポリエチレン(LDPE)、ポリスチレン(PS)、ポリエチレン(PE)、ポリカーボネート(PC)、ポリ酢酸ビニル(PVAc)、アモルファスポリエチレンテレフタレート(APET)、ポリ塩化ビニル(PVC)、ナイロン6(Ny6)、ポリフッ化ビニル(PVF)、ポリ塩化ビニリデン(PVdC)、ポリアセトニトリル(PAN)、エチレンビニルアルコール(EVOH)、およびポリビニルアルコール(PVA)からなる群より選択される。別の実施形態において、このポリマーの酸素透過係数は10⁻¹⁰[cm³(STP)/cm/(cm²+s+Pa)]未満である。1つの実施形態において、この容器の壁は1つまたは1つより多くの酸素不透過性ポリ

10

20

30

40

50

マーの複数の層を含む。別の実施形態において、この容器は入口の閉鎖可能なポートを備える。なお別の実施形態において、この容器は2つまたは2つより多くの入口の閉鎖可能なポートを備える。1つの実施形態において、この容器は、ボトル、バッグ、チューブ、バイアル、またはシリンジである。別の実施形態において、このデバイスは静脈内バッグまたはシリンジである。1つの実施形態において、この容器は、ラバーセプタムを備える密封可能なチューブ、例えば、Hungateチューブである。

【0022】

別の実施形態において、このデバイスは、入口の閉鎖可能なポートを通して容器に連結された送達手段をさらに備える。1つの実施形態において、この送達手段は、容器から溶液を、それを必要とする被験体に静脈内送達するように構成されている。1つの実施形態において、この送達手段は針またはカニューレを備える。別の実施形態において、この送達手段は酸素減少環境を含む。

10

【0023】

ある実施形態において、この化合物はカルコゲニドである。1つの実施形態において、還元型のカルコゲニドはH₂Se、Na₂Se、NaHS_e、またはHS_e-アニオンである。別の実施形態において、このデバイスは、上記の安定な組成物のいずれか1つを含む。

【0024】

ある実施形態は、被験体における傷害または疾患または障害を処置、予防、阻害、または軽減させるための方法であって、本明細書に記載される安定な組成物のいずれか1つを被験体に提供し、それによって、傷害または疾患または障害を処置、予防、阻害、または軽減させる工程を備える、方法に関する。特定の実施形態において、傷害は低酸素傷害または虚血性傷害または再灌流傷害である。ある実施形態において、傷害は、例えば、血液の損失、心臓発作、または脳卒中に起因する組織損傷である。特定の実施形態において、安定な組成物には、カルコゲン、例えば硫黄またはセレンを-2価状態で含む還元型のカルコゲニドが含まれる。特定の実施形態において、還元型のカルコゲニドは、H₂Se、Na₂Se、NaHS_e、HS_e-、H₂S、NaHS、Na₂S、またはHS-である。関連する実施形態において、還元型のカルコゲニドは、本明細書に記載される方法によって製造される。

20

【0025】

この方法の1つの実施形態において、安定な組成物は、上記のデバイスのいずれか1つを使用して被験体に提供される。別の実施形態において、傷害は虚血または再灌流の結果である。1つの実施形態において、傷害は、心臓発作または脳卒中によって引き起こされる梗塞である。別の実施形態において、傷害は、炎症、心臓発作、冠状動脈バイパス手術、虚血、腸虚血、肝虚血、腎虚血、脳卒中、外傷性脳傷害、肢虚血、眼虚血、敗血症、喫煙、熱傷、または急性肺傷害によって引き起こされる。

30

【0026】

ある実施形態は、上記の安定な組成物のいずれか1つを還元型で含有するためのリザーバー、およびこのリザーバーと液体連通している液体連通部材(fuide communication)を備える、薬物送達デバイスに関し、この液体連通部材は、患者への送達の間に、組成物中で少なくとも90%の化合物、例えば、カルコゲニドを還元型に維持するように構成されている。

40

【0027】

1つの実施形態において、このリザーバーは酸素不透過性ポリマーで形成されている。別の実施形態において、このポリマーは、シリコーンゴム、天然ゴム、低密度ポリエチレン(LDPE)、ポリスチレン(PS)、ポリエチレン(PE)、ポリカーボネート(PC)、ポリ酢酸ビニル(PVAc)、APET、ポリ塩化ビニル(PVC)、ナイロン6(Ny6)、ポリフッ化ビニル(PVF)、ポリ塩化ビニリデン(PVdC)、ポリアセトニトリル(PAN)、エチレンビニルアルコール(EVOH)、およびポリビニルアルコール(PVA)からなる群より選択される。1つの実施形態において、前記ポリマーの

50

酸素透過係数は、 $10^{-10} [\text{cm}^3 (\text{STP}) / \text{cm} / (\text{cm}^2 + s + Pa)]$ 未満であり、ここで、Pa = パスカル；STP = 標準温度および標準圧力(25 および1気圧)；そしてs = 秒である。ある実施形態において、リザーバーは酸素不透過性ポリマーの複数の層を含む。

【0028】

1つの実施形態において、このリザーバーは再密封可能なポートを含む。別の実施形態において、このリザーバーは複数の再密封可能なポートを含む。なお別の実施形態において、このリザーバーは、ボトル、バッグ、チューブ、バイアル、またはシリンジである。関連する実施形態において、このデバイスは静脈内バッグまたはシリンジである。1つの実施形態において、このリザーバーはチューブ部材であり、このチューブ部材は、該チューブ部材を気密に封止するように構成されたセプタムを有する。特定の実施形態において、このチューブ部材は Hungate チューブである。10

【0029】

別の実施形態において、この液体連通部材は、再密封可能なポートを通してリザーバーと液体連結されるように構成されている。関連する実施形態において、この液体連通部材は、リザーバーから組成物を、それを必要とする被験体に静脈内送達するように構成されている。1つの実施形態において、この液体連通部材は、針およびカニューレの少なくとも1つを含む。別の実施形態において、この液体連通部材は、酸素減少環境または酸素を含まない環境に配置される。1つの実施形態において、この組成物は還元型のカルコゲニドを含む。特定の実施形態において、還元型のカルコゲニドは、H₂Se、Na₂Se、またはNaHS_eである。20

【0030】

ある実施形態において、このデバイスは、酸素減少環境または酸素を含まない環境に配置される。1つの実施形態において、酸素減少環境または酸素を含まない環境は容器の内部であり、任意に、この容器はバッグである。別の実施形態において、この容器は酸素不透過性ポリマーを含む。特定の実施形態において、このポリマーは、シリコーンゴム、天然ゴム、低密度ポリエチレン(LDPE)、ポリスチレン(PS)、ポリエチレン(PE)、ポリカーボネート(PC)、ポリ酢酸ビニル(PVAc)、アモルファスポリエチレンテレフタレート(APET)、ポリ塩化ビニル(PVC)、ナイロン6(Ny6)、ポリフッ化ビニル(PVF)、ポリ塩化ビニリデン(PVdC)、ポリアセトニトリル(PAN)、エチレンビニルアルコール(EVOH)、およびポリビニルアルコール(PVA)からなる群より選択される。1つの実施形態において、このポリマーの酸素透過係数は $10^{-10} [\text{cm}^3 (\text{STP}) / \text{cm} / (\text{cm}^2 + s + Pa)]$ 未満である。別の実施形態において、この容器の壁は1つまたは1つより多くの酸素不透過性ポリマーの複数の層を含む。30

【0031】

本発明のある実施形態において、この安定な組成物(cosition)はグルタチオンを含む。ある実施形態において、この安定な組成物は、約1.5 μM～約10M、約15 μM～約1M、約150 μM～約1M、約1.5 mM～約1M、約10 mM～約500 mM、約10 mM～約250 mM、約100 mM、約120 mM、約150 mM、約170 mM、または約200 mMの濃度でグルタチオンを含む。40

【0032】

本発明のある態様は、上記の安定な組成物を哺乳動物に提供することにより、哺乳動物(mammal)における傷害を軽減、処置、予防、もしくは阻害し、または疾患もしくは障害を処置、予防、軽減、もしくは阻害するための方法に関する。

【0033】

1つの実施形態において、この安定な組成物は、上記のデバイスを使用して哺乳動物に提供される。別の実施形態において、この傷害は虚血または再灌流の結果である。1つの実施形態において、この傷害は心臓発作または脳卒中によって引き起こされる梗塞である。別の実施形態において、この傷害は炎症によって引き起こされる。50

【0034】

本発明のある態様は、安定な治療組成物を還元型にてそれを必要とする患者に送達する方法に関し、この方法は、治療組成物を還元型に維持するように構成されたりザーバーの中に治療組成物を含有させる工程；リザーバーと患者の間の液体連通を確立する工程；および、実質的に酸素を含まない環境において、リザーバーから患者に、所定量の治療組成物を送達する工程を備える。

【0035】

本発明の方法、組成物、およびデバイスのある実施形態において、安定な組成物は、カルコゲンに加えて、グルタチオンをさらに含む。特定の実施形態において、安定な組成物は、セレン化物およびグルタチオンを含む。本発明の方法、組成物、およびデバイスのある実施形態において、還元剤または抗酸化剤は、グルタチオン、例えば、還元状態のグルタチオン（GSH）である。10

【図面の簡単な説明】

【0036】

【図1】図1は、セレンがマウスにおける心筋虚血および再灌流後の梗塞サイズを低減させたことを示す棒グラフである。マウスを60分間のLAD結紮に供し、続いて2時間の再灌流を行った。再灌流の5分前に、セレン化ナトリウム（NaHSe）または食塩溶液を、大腿静脈を通して静脈内投与した。左から右にかけての6つの棒は、生理食塩水、0.05mg/kg NaHSe、0.2mg/kg NaHSe、0.8mg/kg NaHSe、1.6mg/kg NaHSe、および2.4mg/kg NaHSe処理群を表す。左のパネルは、左心室（LV）の割合としてのリスク面積（AAR）を示し、AAR/LVはすべての群において同様の値であった。中央のパネルはリスク面積の割合としての梗塞サイズ（Inf）を示し、そして右のパネルは左心室の割合としての梗塞サイズを示す。NaHSeは、0から0.8mg/kgの間で用量依存的な様式で、AARまたはLVの割合として測定されたときの梗塞サイズを有意に小さくした。20

【0037】

【図2】図2は、代表的な中央部の心筋の断面画像を示す。図2Aおよび図2Bは、TTcおよびエバンスブルーで二重染色した心臓を示す。図2Cおよび図2Dは、図2Aおよび図2Bの画像をPhotoshop（登録商標）で一定の閾値を設定することにより、偏らない方法で処理することから導き出された画像である。図2Aおよび図2Cは生理食塩水を受容したマウスから的心臓切片を描写し、図2Bおよび図2Dは0.8mg/kg NaHSeを受容したマウスから的心臓切片を描写する。30

【0038】

【図3】図3は、セレン化ナトリウム投与が血漿心臓トロポニンIを低減させたことを示す棒グラフである。マウスを、60分間のLAD結紮、続いて、2時間の再灌流に供した。再灌流の5分前に、マウスに、大腿静脈を通しての静脈内注射によって、0.2mg/kg NaHSe、0.05mg/kg NaHSe、または生理食塩水を与えた。再灌流の最後に、血液を採取し、そして血漿心臓トロポニン-I（cTnI、ng/mL）をELISAによって測定した。セレン化物による処置は、心筋梗塞の心臓における血漿cTnIレベルを有意に低減させた。*T検定により、生理食塩水に対してp < 0.05。**Mann Whitney検定により、生理食塩水に対してp < 0.01。40

【0039】

【図4】図4は、再灌流なしで60分間のLAD結紮の直後（ベースライン）、および60分間のLAD結紮後48時間の再灌流における、短縮率（図4A）およびLV駆出率（図4B）を示す棒グラフを提供する。各セットの左の棒は生理食塩水処置群を示し、各セットの右の棒はNaHSe処置群を示す。

【0040】

【図5】図5は、セレン化ナトリウム投与によって、心臓発作後の動物の心筋における好中球の蓄積が減少したことを示す顕微鏡写真（図5A）および棒グラフ（図5B）を提供する。好中球を、生理食塩水（左）およびセレン化ナトリウム（右）で処置した動物の心50

臓の切片において計数した。矢印は好中球を指し示す。

【0041】

【図6】図6は、亜セレン酸ナトリウムが心臓発作モデルにおいて利点を提供しないことを示す棒グラフである。マウスに、心臓発作モデルにおける再灌流の時点で、生理食塩水、0.8 mg/kg NaHSe(セレン化物)、または0.8 mg/kg亜セレン酸ナトリウム(亜セレン酸塩)を与えた。セレン化ナトリウムは梗塞サイズに関してマウスに利点を提供したが、亜セレン酸ナトリウムは利点を提供しなかった。

【0042】

【図7】図7は、セレンが、血中で欠乏しており(図7B)、梗塞サイズの増加の関数として心臓中で増加していることを示す2つの線グラフを提供する。図7Aについては:傾き=330.0±112.5; X=0.0のとき、Y切片=1741±2438; Y=0.0のとき、X切片=-5.277; および1/傾き=0.003030; 95%信頼区間について:傾き=-153.9~813.9; X=0.0のとき、Y切片=-8747±12230; Y=0.0のとき、X切片=-無限大~10.91; および適合度について:R平方=0.8115。図7Bについては:ベストフィット値、傾き=-96.70±17.36; X=0.0のとき、Y切片=3278±376.2; Y=0.0のとき、X切片=33.90; および1/傾き=-0.01034; 95%信頼区間について:傾き=-171~-22.01; X=0.0のとき、Y切片=1659~4897; Y=0.0のとき、X切片=28.09~76.66; および適合度について:R平方=0.9395。

10

20

30

40

【0043】

【図8】図8は、虚血後の再灌流の間にセレンが心臓に動員されることを示す棒グラフである。心臓組織における放射性セレンの相対測定は、ネイティブマウス、再灌流なし(No R)での60分間の虚血処置マウス、および60分間の虚血、続いて2時間の再灌流(I/R)処置マウスにおいて求めた。虚血および再灌流心臓は、再灌流なしで虚血を受けた動物からの心臓よりも、有意により高いレベルのセレンを有した。

【0044】

【図9】図9は、グルタチオンがセレン化物を酸化から保護することを実証する写真を提供する。これらの写真は、調製直後の8分にわたる水または150mM GSHのいずれかにおける50mMセレン化物のサンプルを示す。酸化型のセレン化物は溶液中で暗く見え、グルタチオン中のサンプルは、各時点で酸化のレベルが低減したことを明確に示す。

【発明を実施するための形態】

【0045】

(発明の詳細な説明)

本発明は、部分的には、還元型のカルコゲニド、例えば、セレン化物または硫化物を含む安定な組成物を調製するための方法の開発に基づいている。セレン化物および硫化物などの、ある還元型のカルコゲニドは、酸化に対して極度に感受性である。したがって、ある還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物は、製造および/または保管することが困難または不可能であったので、疾患または傷害の処置または予防における医薬剤としての使用は限られていた。

【0046】

本発明はまた、部分的には、グルタチオンが、セレン化物を含むカルコゲニドなどの化合物を安定化し、またはその化合物の酸化を妨げるという驚くべきかつ予測されなかつた知見に基づく。それゆえに、本発明はまた、任意に、疾患または傷害、例えば、低酸素症、虚血、または再灌流に付随するものを処置または予防するために使用されてもよいさらなる活性薬剤と組み合わせて、グルタチオン、およびカルコゲニドなどの化合物、例えば、その還元型(セレン化物など)を含む組成物(例えば、安定な組成物)を含む。

【0047】

本発明は、セレン化物および硫化物などの還元型カルコゲニドの安定な組成物の製造を可能にし、これは、様々な疾患および傷害の処置における医薬として、ならびに、組織ま

50

たは動物における鬱血を誘導するために使用されてもよい。特定の実施形態において、この組成物は、静脈内投与、注入による投与、または経口投与のために製剤化される。

【0048】

本発明の組成物は、これらがカルコゲニドなどの還元型活性薬剤の安定な組成物をもたらすので特に有利である。組成物がグルタチオンを含む、ある(certain)実施形態において、グルタチオンはカルコゲニドの酸化を阻害し、したがって、より安定な組成物を製造することは、その貯蔵寿命を延長させる。加えて、本発明は、被験体、すなわち、動物への投与の間にカルコゲニド(または別の化合物(compound)または活性薬剤)をその還元型に維持する薬物送達デバイスを提供する。

(定義および略語)

10

【0049】

単語「1つの(a)」および「1つの(an)」は、特に記されていない限り、1以上を示す。

【0050】

「約」は、数量(quantity)、レベル、値、数、頻度、パーセンテージ、寸法、サイズ、量(amount)、重量、または長さが、参照の数量、レベル、値、数、頻度、パーセンテージ、寸法、サイズ、量、重量、または長さに対して、30、25、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2、または1%までの大きさで変動することを意味する。用語「約」とともに使用される数値の文脈において議論される任意の実施形態において、約という用語は省略できることが具体的に企図される。

20

【0051】

文脈上他に必要でない限り、本明細書および特許請求の範囲を通して、「含む(comprise)」という単語、ならびにその変形、例えば「含む(comprises)」および「含むこと(comprising)」は、オープンな包括的な意味で解釈され、これは「含むが限定されない」と同様である。

【0052】

「からなる(constisting of)」は、「からなる」という語句の前に何が付いても、それを含みかつそれに限定されることを意味する。それゆえに、「からなる」という語句は、列挙された要素が必要であるかまたは必須であること、および他の要素が存在し得ないことを示す。

30

【0053】

「から本質的になる」は、この語句の前に列挙される任意の要素を含み、かつ列挙された要素に関して本開示において特定される活性または作用と干渉しないか、またはそれに寄与しない他の要素に限定されることを意味する。それゆえに、「から本質的になる」という語句は、列挙された要素が必要であるかまたは必須であるが、しかし、他の要素は任意であり、それらが列挙された要素の活性または作用に影響を与えるかどうかに依存して、存在し得る場合と存在し得ない場合があることを示す。

【0054】

本明細書を通しての「1つの実施形態」または「一実施形態」への言及は、実施形態に関連して記載される特定の特色、構造、または特徴が本発明の少なくとも1つの実施形態に含まれることを意味する。それゆえに、本明細書を通しての様々な場所における「1つの実施形態において」または「一実施形態において」という語句の出現は、必ずしもすべてが同じ実施形態に言及しているわけではない。さらに、特定の特色、構造、または特徴は、1つまたは1つより多くの実施形態における任意の適切な様式で組み合わされてもよい。

40

【0055】

「増加した」または「増強した」量は、典型的には、「統計学的に有意な」量であり、すなわち、1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、または50倍もしくは5

50

0倍より多い（例えば、100倍、500倍、1000倍）（1より上のすべての整数およびその間の小数点を含み、例えば、2.1、2.2、2.3、2.4など）の、本明細書に記載される量またはレベルである増加を含んでもよい。

【0056】

「減少した」または「低減した」または「より少ない」量は、典型的には、「統計学的に有意な」量であり、すなわち、約1.1倍、1.2倍、1.3倍、1.4倍、1.5倍、1.6倍、1.7倍、1.8倍、1.9倍、2倍、2.5倍、3倍、3.5倍、4倍、4.5倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、15倍、20倍、30倍、40倍、または50倍もしくは50倍より多い（例えば、100倍、500倍、1000倍）（1より上のすべての整数およびその間の小数点を含み、例えば、1.5、1.6、1.7、1.8など）の、本明細書に記載される量またはレベルである減少を含んでもよい。
10

【0057】

「組成物」は、活性薬剤、例えば、カルコゲン、および不活性または活性なキャリア、例えば、薬学的に受容可能なキャリア、希釈剤、または賦形剤を含むことができる。特定の実施形態において、組成物は、滅菌されており、エンドトキシンを実質的に含まないか、または使用される投薬量もしくは濃度においてはレシピエントに対して非毒性である。

【0058】

「薬学的に受容可能なキャリア、希釈剤、または賦形剤」には、限定されないが、ヒトまたは家畜における使用に受容可能であるとして米国食品医薬品局によって認可されている、任意のアジュバント、キャリア、賦形剤、流動促進剤（glidant）、甘味料、希釈剤、保存剤、色素／着色料、香味増強剤、界面活性剤、湿潤剤、分散剤、懸濁剤、安定剤、等張剤、溶媒または乳化剤が挙げられる。
20

【0059】

「生物学的物質」という用語は、細胞、組織、器官、および／または生物体、ならびにこれらの任意の組み合わせを含む、任意の生きている生物学的材料をいう。本発明の方法は、生物体の一部が生物体の中に残っているか、もしくは生物体から除去されたかに関わらず、生物体の一部（たとえば、細胞内、組織内、および／または1つまたは1つより多い器官内）に対して、または生物体全体に対して、実施されてもよいことが意図される。さらに、細胞および組織の文脈において、同種および異種の細胞集団が本発明の実施形態の対象であり得ることが企図される。「インビオ生物学的物質」という用語は、インビオである、すなわち、なあ生物体の中にあるかまたは生物体に付随している生物学的物質をいう。さらに、「生物学的物質」という用語は、「生物学的材料」という用語と同義語として理解される。特定の実施形態において、1つまたは1つより多くの細胞、組織、または器官が生物体から分離されていることが企図される。「単離された」という用語は、このような生物学的物質を説明するために使用できる。本発明の方法は、インビオおよび／または単離された生物学的物質に対して実施されてもよいことが企図される。
30

【0060】

「哺乳動物」および「被験体」という用語には、例えば、ヒト、マウス、ラット、ウサギ、サル、ウシ、ブタ、ヒツジ、ウマ、イヌ、およびネコなどのヒトおよび非ヒト哺乳動物が含まれる。

【0061】

「薬学的に受容可能な塩」には、硫酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、シュウ酸塩、塩化物、臭化物、ヨウ化物、硝酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、酸性リン酸塩、イソニコチニ酸塩（isonicotinate）、乳酸塩、サリチル酸塩、酸性クエン酸塩、酒石酸塩、オレイン酸塩、タンニン酸塩、パントテン酸塩、重酒石酸塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチジン酸塩、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルカルネート（glucaronate）、サッカリニン酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、カノニアスルホン酸塩、パモン酸塩、フェニル酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、アクリル酸塩、クロロ安息香酸塩、ジニトロ安息香酸塩（dimtrobenzoate）、ヒドロ
40

10

20

30

40

50

キシ安息香酸塩、メトキシ安息香酸塩、メチル安息香酸塩、o - アセトキシ安息香酸塩、ナフタレン - 2 - 安息香酸塩、イソ酪酸塩、フェニル酪酸塩、アルファ - ヒドロキシ酪酸塩、ブチン - 1 , 4 - ジカルボン酸塩、ヘキシン - 1 , 4 - ジカルボン酸塩、カプリン酸塩、カプリル酸塩、ケイ皮酸塩、グリコール酸塩、ヘプタン酸塩、馬尿酸塩、リンゴ酸塩、ヒドロキシマレイン酸塩、マロン酸塩、マンデル酸、メシリ酸塩、ニコチン酸塩 (m c o t i n a t e) 、フタル酸塩、テレフタル酸塩 (t e r a p h t h a l a t e) 、プロピオル酸塩、プロピオン酸塩、フェニルプロピオン酸塩、セバシン酸塩、スペリン酸塩、p - ブロモベンゼンスルホン酸塩、クロロベンゼンスルホン酸塩、エチルスルホン酸塩、2 - ヒドロキシスルホン酸塩、メチルスルホン酸塩、ナフタレン - 1 - スルホン酸塩、ナフタレン - 2 - スルホン酸塩、ナフタレン - 1 , 5 - スルホン酸塩、キシレンスルホン酸塩、および酒石酸塩が挙げられる。「薬学的に受容可能な塩」という用語はまた、カルボン酸官能基などの酸性官能基、および塩基を有する、カルコゲニドなどの化合物または活性薬剤の塩もいう。適切な塩基には、限定されないが、ナトリウム、カリウム、およびリチウムなどのアルカリ金属の水酸化物、カルシウムおよびマグネシウムなどのアルカリ土類金属の水酸化物、アルミニウムおよび亜鉛などの他の金属の水酸化物、アンモニア、非置換またはヒドロキシ置換されたモノ - 、ジ - 、もしくはトリアルキルアミン、ジシクロヘキシルアミン、トリブチルアミン、ピリジン、N - メチル、N - エチルアミン、ジエチルアミン、トリエチルアミン、モノ - 、ビス - 、もしくはトリス - (2 - O H - 低級アルキルアミン) 、例えはモノ - 、ビス - 、もしくはトリス - (2 - ヒドロキシエチルアミン) 、2 - ヒドロキシ - t e r t - ブチルアミン、またはトリス - (ヒドロキシメチル) メチルアミン、N , N - ジ - 低級アルキル - N - (ヒドロキシ - 低級アルキル) - アミン、例えはN , N - ジメチル - N - (2 - ヒドロキシエチル) アミンまたはトリ - (2 - ヒドロキシエチル) アミン、N - メチル - D - グルカミンなどの有機アミン、ならびにアルギニン、リジンなどのアミノ酸などが挙げられる。「薬学的に受容可能な塩」という用語はまた、本発明の化合物の水和物も含む。

【 0 0 6 2 】

「組織」および「器官」という用語は、それらの通常かつ明白な意味に従って使用される。組織は細胞から構成されるが、「組織」という用語は、1つの明確な種類の構造的材料を形成する同様な細胞の集合体をいうことが理解される。さらに、器官は、特定の型の組織である。ある実施形態において、組織または器官は「単離されており」、このことは生物体の中に位置していないことを意味する。

【 0 0 6 3 】

「低酸素症」および「低酸素」という用語は、正常より下の酸素のレベルを有する環境をいう。低酸素症は、正常な生理学的レベルの酸素が細胞、組織、または器官に供給されていないときに起こる。「正常酸素 (n o r m o x i a) 」は、問題の特定の細胞型、細胞状態、または組織についての正常な生理学的レベルの酸素をいう。「無酸素」は酸素の非存在である。「低酸素状態」は、細胞、器官、または生物体の低酸素症に導く状態である。これらの状態は、細胞型に依存し、組織または器官の中の細胞の特定の構造または位置、ならびに細胞の代謝的状態に依存する。本発明の目的のために、低酸素状態には、酸素濃度が正常な大気状態であるかそれより低い状態、すなわち 2 0 . 8 % 、 2 0 % 、 1 9 % 、 1 8 % 、 1 7 % 、 1 6 % 、 1 5 % 、 1 4 % 、 1 3 % 、 1 2 % 、 1 1 % 、 1 0 % 、 9 % 、 8 % 、 7 % 、 6 % 、 5 % 、 4 % 、 3 % 、 2 % 、 1 % 、 0 . 5 % 、 0 % より下 (l e s s t h a t) の状態が含まれる。あるいは、これらの数字は1気圧 (1 0 1 . 3 k P a) における大気のパーセントを表すことができる。「無酸素」は酸素の非存在である。0パーセントの酸素濃度は無酸素状態と定義する。それゆえに、いくつかの実施形態において、少なくとも 0 . 5 % の低酸素状態が実施されるが、低酸素状態には無酸素状態が含まれる。本明細書において使用される場合、「正常酸素状態」は、約 2 0 . 8 % または約 2 0 . 8 % より大きい酸素濃度を構成する。

【 0 0 6 4 】

「緩衝液」という用語は、本明細書で使用される場合、薬学的調製物の pH を安定化さ

10

20

30

40

50

せる薬学的に受容可能な賦形剤を示す。適切な緩衝液は当該分野において周知である。適切な薬学的に受容可能な緩衝液には、限定されないが、酢酸緩衝液、ヒスチジン緩衝液、クエン酸緩衝液、コハク酸緩衝液、トリス緩衝液、およびリン酸緩衝液が挙げられる。ある実施形態において、緩衝液の濃度は、約0.01 mM～約1000 mM、約0.1 mM～約1000 mM、約0.1 mM～約500 mM、約0.1～約200 mM、約0.1～約100 mM、約1 mM～約1000 mM、約1 mM～約500 mM、約1 mM～約200 mM、約1 mM～約100 mM、約1 mM～約50 mM、約2 mM～約60 mM、約4 mM～約60 mM、または約4 mM～約40 mM、約5 mM～約20 mM、または約5 mM～約25 mMである。

【0065】

10

薬学的に受容可能な「凍結保護物質」は当該分野において公知であり、限定されないが、例えば、スクロース、トレハロース、およびグリセロールが挙げられる。薬学的に受容可能な凍結保護物質によって、凍結および／または凍結乾燥の効果から、組成物または組成物中の1種または1種より多くの活性成分の安定性の保護がもたらされる。

【0066】

20

「等張化剤」または「等張化調整剤」という用語は、本明細書で使用される場合、組成物の等張性を調整するために使用される薬学的に受容可能な薬剤を示す。適切な等張化剤には、限定されないが、塩化ナトリウム、ソルビトール、トレハロース、塩化カリウム、グリセリン、および本明細書に定義されるようなアミノ酸、糖の群からの任意の成分、ならびにこれらの組み合わせが挙げられる。ある実施形態において、等張化剤は、約1 mM～約1000 mM、約1 mM～約500 mM、約5 mM～約500 mM、約10 mM～約450 mM、約20 mM～約400 mM、約50 mM～約300 mM、約100 mM～約200 mM、または約125 mM～約175 mMの量で使用されてもよい。ある実施形態において、等張化剤は、組成物中に存在するアミノ酸を約5 mM～約500 mMで含む。

【0067】

30

「安定剤」という用語は、製造、保管、および適用の間に、活性薬学的成分（単数または複数）もしくは薬剤（単数または複数）および／または組成物を、化学的および／または物理的分解から保護する、薬学的に受容可能な賦形剤を示す。安定剤には、限定されないが、糖、アミノ酸、ポリオール、界面活性剤、抗酸化剤、保存剤、シクロデキストリン、例えば、ヒドロキシプロピル- - シクロデキストリン、スルホブチルエチル- - シクロデキストリン、- シクロデキストリン、ポリエチレングリコール、例えば、PEG 3000、PEG 3350、PEG 4000、PEG 6000、アルブミン、例えば、ヒト血清アルブミン（HSA）、ウシ血清アルブミン（BSA）、塩類、例えば、塩化ナトリウム、塩化マグネシウム、塩化カルシウム、およびキレーター、例えば、EDTAが挙げられる。安定剤は、約0.1 mM～約1000 mM、約1 mM～約500 mM、約10～約300 mM、または約100 mM～約300 mMの量で組成物中に存在してもよい。

【0068】

40

本明細書で使用される場合、「界面活性剤」という用語は、両親媒性構造を有する薬学的に受容可能な有機物質をいい；すなわち、溶解傾向が反対の基、典型的には、親油性炭化水素鎖および水溶性イオン基から構成される。界面活性剤は、界面活性部分の電荷に依存して、アニオン性、カチオン性、および非イオン性の界面活性剤に分類できる。界面活性剤は、薬学的組成物のため、および生物学的材料の調製のための、湿潤剤、乳化剤、可溶化剤、および分散剤として使用されてもよい。本明細書に記載される組成物のいくつかの実施形態において、界面活性剤の量は、重量／体積パーセント（w / v %）で表されるパーセンテージとして記載される。適切な薬学的に受容可能な界面活性剤には、限定されないが、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル（Tween）、ポリオキシエチレンアルキルエーテル（Brij）、アルキルフェニルポリオキシエチレンエーテル（Trition-X）、ポリオキシエチレン-ポリオキシプロピレンコポリマー（ポロキサマー、フルロニック）、またはドデシル硫酸ナトリウム（SDS）の群が挙げられる。ポリオキシエチレンソルビタン- 脂肪酸エステルには、ポリソルベート20（Tween 20）

50

(商標)の商標で販売されている)およびポリソルベート80(Tween80(商標))の商標で販売されている)が挙げられる。ポリエチレン・ポリプロピレンコポリマーには、ブルロニック(登録商標)F68またはポロキサマー188(商標)の名称で販売されているものが挙げられる。ポリオキシエチレンアルキルエーテルには、Brij(商標)の商標で販売されているものが挙げられる。アルキルフェノールポリオキシエチレンエーテルには、Triton-Xの商標で販売されているものが挙げられる。ポリソルベート20(Tween20(商標))およびポリソルベート80(Tween80(商標))は、組成物の総体積の約0.001%w/v~約1%w/vまたは約0.002%w/v~約0.1%w/v、あるいは、約0.003%w/v~約0.007%w/vの濃度範囲で一般的に使用されている。いくつかの実施形態において、Tween80(商標)は、約0.003%w/v、約0.004%w/v、約0.0045%w/v、約0.005%w/v、約0.0055%w/v、約0.006%w/v、または約0.007%w/vで使用されている。いくつかの実施形態において、Tween80(商標)は約0.005%w/vで使用されている。この様子において、「w/v」は、組成物の総体積あたりの界面活性剤の重量を意図する。10

【0069】

「リオプロテクタント」とは、凍結乾燥の間に、タンパク質、核酸、または他の活性薬学的成分(単数または複数)もしくは薬剤(単数または複数)を安定化する、薬学的に受容可能な物質をいう。リオプロテクタントの例には、限定されないが、スクロース、トレハロース、またはマンニトールが挙げられる。20

【0070】

「ポリオール」とは、複数のヒドロキシル基を含有するアルコール、または糖アルコールをいう。糖アルコールは、炭水化物の水素化型であり、そのカルボニル基(アルデヒドまたはケトン、還元糖)は、一級または二級ヒドロキシル基(したがって、アルコール)まで還元されている。糖アルコールは、一般式H(HCHO)_{n+1}Hを有するのに対して、糖はH(HCHO)_nHCOを有する。

【0071】

「抗酸化剤」とは、他の分子の酸化を遅くするかまたは防ぐことが可能な分子をいう。抗酸化剤は、多くの場合、還元剤、キレート剤、および、チオール、アスコルビン酸、またはポリフェノールなどの酸素スカベンジャーである。抗酸化剤の非限定的な例には、アスコルビン酸(AA、E300)、チオ硫酸塩、メチオニン、トコフェロール(E306)、没食子酸プロピル(PG、E310)、三級ブチルヒドロキノン(TBHQ)、ブチル化ヒドロキシアニソール(BHA、E320)、およびブチル化ヒドロキシトルエン(BHT、E321)が挙げられる。30

【0072】

「保存剤」は、微生物の増殖によるかまたは望ましくない化学的变化による分解を防ぐために、食品、医薬組成物、塗料、生物学的サンプル、木材などの製品に添加される、天然または合成の化学薬品である。保存添加物は、単独で、または他の保存方法とともに使用できる。保存剤は、細菌および真菌の増殖を阻害する抗微生物保存剤、または構成成分の酸化を阻害する酸素吸収剤などの抗酸化剤であってもよい。抗微生物保存剤の例には、塩化ベンザルコニウム、安息香酸、クロルヘキシジン(chloro-rohexidine)、グリセリン、フェノール、ソルビン酸カリウム、チメロサール、亜硫酸塩(二酸化硫黄、亜硫酸水素ナトリウム、亜硫酸水素カリウムなど)、およびEDTA二ナトリウムが挙げられる。他の保存剤には、ベンジルアルコール、フェノール、m-クレゾール、クロロブタノール、またはメチルパラベンなどの、非経口(patentental)タンパク質組成物の中で一般的に使用されているものが挙げられる。40

本明細書および添付の特許請求の範囲において使用される場合、反対のことが特定されない限り、以下の用語は示される意味を有する:

【0073】

「哺乳動物」には、ヒト、ならびに、実験用動物および家庭内ペットなどの飼育動物(

10

20

30

40

50

例えば、ネコ、イヌ、ブタ、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、およびウサギ)と、野生動物などの非飼育動物の両方が含まれる。

【0074】

「任意の」または「任意に」は、引き続いで記載される状況の事象が起こってもよいし、起こらなくてもよいこと、およびその記載が、前記事象または状況が起こる場合と、それが起こらない場合を含むことを意味する。

【0075】

「薬学的組成物」とは、哺乳動物、例えば、ヒトに生物学的に活性な化合物を送達するために当該分野において一般的に受容されている、化合物および媒体の製剤をいう。したがって、このような媒体は、任意の薬学的に受容可能なキャリア、希釈剤、または賦形剤を含んでもよい。

10

【0076】

「硫化物」とは、硫黄のその -2 価状態、例えば、H₂Sとしてまたはその塩(例えば、NaHS、Na₂Sなど)としてのいずれかをいう。

「セレン化物」とは、セレンのその -2 価状態、例えば、H₂Seとしてまたはその塩(例えば、NaHSe、Na₂Seなど)としてのいずれかをいう。

【0077】

「カルコゲニド」または「カルコゲニド化合物」とは、カルコゲン元素、すなわち、周期表の 6 属の元素を含有する化合物であるが、酸化物を除く化合物をいう。これらの元素は、硫黄(S)、セレン(Se)、テルル(Te)およびポロニウム(Po)である。具体的なカルコゲニドおよびそれらの塩には、限定されないが、以下が挙げられる:H₂S、Na₂S、NaHS、K₂S、KHS、Rb₂S、CS₂S、(NH₄)₂S、(NH₄)HS、BeS、MgS、CaS、SrS、BaS、H₂Se、Na₂Se、NaHS e、K₂Se、KHSe、Rb₂Se、CS₂Se、(NH₄)₂Se、(NH₄)HS e、BeSe、MgSe、CaSe、SrSe、PoSe、およびBaSe。

20

【0078】

本明細書で使用される場合、「酸化生成物」とは、硫化物またはセレン化物の化学転換から生じる生成物をいい、例えば、亜硫酸塩、硫酸塩、チオ硫酸塩、ポリ硫化物、ジチオン酸塩、ポリチオン酸塩、硫黄元素、亜セレン酸塩、セレン酸塩、チオセレン酸塩、ポリセレン化物、およびセレン元素が含まれる。このような硫化物またはセレン化物酸化の生成物は、加工、製造、または保管の結果として起こり得る(例えば、酸化による)。

30

【0079】

「治療有効量」とは、哺乳動物、好ましくは、ヒトに投与されたときに、哺乳動物、好ましくは、ヒトにおける疾患または状態の、以下に定義されるような処置をもたらすために十分な本発明の化合物の量をいう。「治療有効量」を構成する本発明の化合物の量は、化合物、状態およびその重篤度、投与の様式、および処置される哺乳動物の年齢に依存して変動するが、しかし、これは、当業者によって、当業者自身の知識および本開示に関して日常的に決定できる。

【0080】

「処置すること」または「処置」は、本明細書で使用される場合、関心対象の疾患または状態を有する哺乳動物、好ましくは、ヒトにおける、関心対象の疾患または状態、例えば、組織傷害の処置を網羅し、これには以下が含まれる:(i) 哺乳動物において、特に、このような哺乳動物が状態に対して素因があるが、それを有するとまだ診断されていないときに、疾患もしくは状態が起こることを予防もしくは阻害すること;(ii) 疾患もしくは状態を阻害すること、すなわち、その発達を阻止すること;(iii) 疾患もしくは状態を軽減すること、すなわち、疾患もしくは状態を退行させること;または(iv) 疾患もしくは状態から生じる徴候を軽減すること。本明細書で使用される場合、「疾患」、「障害」、および「状態」という用語は、交換可能に使用されてもよく、または、特定の疾病もしくは状態が既知の原因因子を有さないかもしれない(その結果、病因がまだ解決されていない)、したがって、疾患として認識されていないが、望ましくない状態または

40

50

症候群としてのみ認識され、ここで、多かれ少なかれ特定の症候群のセットが臨床医によって同定されてきたという点で、異なっていてもよい。

(A. 安定な還元されたカルコゲニド組成物)

【0081】

ある実施形態において、本発明は、還元型のカルコゲニドを含む組成物、ならびにその調製および使用において有用な方法を含む。特定の実施形態において、還元型のカルコゲニドは、カルコゲン、例えば、硫黄またはセレンを -2 値状態で含む。特定の実施形態において、組成物は、2 種または 2 種より多くの還元型カルコゲニドを含む。関連する実施形態において、組成物は安定な組成物である。本発明の組成物は薬学的組成物であり得る。

10

【0082】

この組成物 (compositions) は、還元型のカルコゲニド、またはカルコゲニド化合物、またはその塩、もしくはその前駆体の安定な組成物を含み、これらの治療剤としての有効性は、通常は、酸化生成物を生成する酸化反応の結果として、製造および保管の間に損なわれる。本発明の組成物は、貯蔵寿命を増加させ、容易かつ再現性よく製造され、標準的な投与経路のために設計され、そして、以前にまたはガス状のカルコゲニド組成物が考慮された疾患および状態の処置および予防において有利である。本発明は、疾患または傷害、特に、虚血性傷害または低酸素性傷害から生物学的組織を保護する方法、ならびに、被験体における傷害または疾患を処置または予防する方法におけるそれらの使用を企図する。

20

【0083】

安定な組成物のある実施形態において、前記組成物中の少なくとも 90 % の前記カルコゲニドが、室温、4 、 25 、 40 、または 50 でのいずれかで保管したとき、少なくとも 1 時間、前記還元型で存在する。関連する実施形態において、この組成物中の少なくとも 70 % 、少なくとも 80 % 、少なくとも 91 % 、少なくとも 92 % 、少なくとも 93 % 、少なくとも 94 % 、少なくとも 95 % 、少なくとも 96 % 、少なくとも 97 % 、少なくとも 98 % 、または少なくとも 99 % のカルコゲニドが、室温で保管したとき、または 4 で保管したときのいずれかで、少なくとも 1 時間、前記還元型で存在する。安定な組成物のある実施形態において、前記組成物中の少なくとも 90 % の前記カルコゲニドが、室温で保管したとき、または 4 、 25 、 40 、もしくは 50 で保管したときのいずれかで、少なくとも 1 日、少なくとも 1 週間、少なくとも 1 ヶ月間、少なくとも 2 ヶ月間、少なくとも 4 ヶ月間、少なくとも 6 ヶ月間、または少なくとも 1 年間、前記還元型で存在する。関連する実施形態において、この組成物中の少なくとも 70 % 、少なくとも 80 % 、少なくとも 91 % 、少なくとも 92 % 、少なくとも 93 % 、少なくとも 94 % 、少なくとも 95 % 、少なくとも 96 % 、少なくとも 97 % 、少なくとも 98 % 、または少なくとも 99 % のカルコゲニドが、室温で保管したとき、または 4 で保管したときのいずれかで、少なくとも 1 日、少なくとも 1 週間、少なくとも 1 ヶ月間、少なくとも 2 ヶ月間、少なくとも 4 ヶ月間、少なくとも 6 ヶ月間、または少なくとも 1 年間、前記還元型で存在する。特定の実施形態において、この組成物中の少なくとも 98 % のカルコゲニドが、4 で保管したときに、少なくとも 1 ヶ月間、または少なくとも 6 ヶ月間、前記還元型で存在する。関連する実施形態において、この組成物中の少なくとも 70 % 、少なくとも 80 % 、少なくとも 91 % 、少なくとも 92 % 、少なくとも 93 % 、少なくとも 94 % 、少なくとも 95 % 、少なくとも 96 % 、少なくとも 97 % 、少なくとも 98 % 、または少なくとも 99 % のカルコゲニドが、室温で保管したとき、または室温もしくは 25 で保管したときのいずれかで、少なくとも 1 日、少なくとも 1 週間、少なくとも 1 ヶ月間、少なくとも 2 ヶ月間、少なくとも 4 ヶ月間、少なくとも 6 ヶ月間、または少なくとも 1 年間、前記還元型で存在する。特定の実施形態において、この組成物中の少なくとも 98 % のカルコゲニドが、室温または 25 で保管したとき、少なくとも 1 ヶ月間または少なくとも 6 ヶ月間、前記還元型で存在する。関連する実施形態において、この組成物中の少なくとも 70 % 、少なくとも 80 % 、少なくとも 91 % 、少なくとも 92 % 、少なくとも 9

30

40

50

3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、または少なくとも 9 9 % のカルコゲニドが、室温で保管したとき、または 40 もしくは (or or) 50 で保管したときのいずれかで、少なくとも 1 日、少なくとも 1 週間、少なくとも 1 ヶ月間、少なくとも 2 ヶ月間、少なくとも 4 ヶ月間、少なくとも 6 ヶ月間、または少なくとも 1 年間、前記還元型で存在する。特定の実施形態において、この組成物中の少なくとも 9 8 % のカルコゲニドが、40 または 50 で保管したとき、少なくとも 1 ヶ月間、または少なくとも 6 ヶ月間、前記還元型で存在する。

【0084】

特定の実施形態において、還元型のカルコゲニドは、カルコゲン、例えば、硫黄またはセレンを -2 値状態で含む。特定の実施形態において、還元型のカルコゲニドは、H₂Se、Na₂Se、NaHS_e、HS_e-、H₂S、NaHS、Na₂S、またはHS-である。関連する実施形態において、還元型のカルコゲニドは、本明細書に記載の方法によって製造される。

【0085】

特定の実施形態において、本明細書に記載される任意の安定な組成物は、薬学的に受容可能なキャリア、希釈剤、または賦形剤を含む。さらに、任意の安定な組成物は、1つまたは1つより多くの緩衝液、還元剤、等張化剤、安定剤、界面活性剤、リコプロテクタント、ポリオール、抗酸化剤、または保存剤を含んでもよい。

【0086】

特定の実施形態において、安定な組成物は、1種または1種より多くの溶媒を含んでもよい。特定の実施形態において、溶媒は水である。特定の実施形態において、溶媒はリン酸緩衝液生理食塩水である。

【0087】

本発明の安定な組成物は、任意の所望の濃度で、カルコゲニドまたはカルコゲニド化合物またはその塩もしくはその前駆体を含んでもよい。この濃度は、便利な様式でかつ適切な時間フレームにわたって有効量を送達するために、例えば、処置される傷害または疾患の型、および投与経路に依存して、容易に最適化され得る。ある実施形態において、カルコゲニドまたはカルコゲニド化合物またはその塩もしくはその前駆体の濃度は、約 0.001 mM ~ 約 5,000 mM、約 1 mM ~ 約 1,000 mM、約 10 mM ~ 約 500 mM、約 50 mM ~ 約 500 mM、約 75 mM ~ 約 250 mM、または約 95 mM ~ 150 mM である。

【0088】

特定の実施形態において、安定な組成物は、約 0.1 mM ~ 約 1,000 mM、約 1 mM ~ 約 1,000 mM、約 5 mM ~ 約 1,000 mM、約 10 mM ~ 約 1,000 mM、約 10 mM ~ 約 750 mM、約 50 mM ~ 約 500 mM、約 100 mM ~ 約 500 mM、約 100 mM ~ 約 500 mM、1 mM ~ 約 500 mM、または約 10 mM ~ 約 250 mM の濃度でセレン化物を含む。

【0089】

特定の実施形態において、安定な組成物は、約 0.1 mM ~ 約 1,000 mM、約 1 mM ~ 約 1,000 mM、約 5 mM ~ 約 1,000 mM、約 10 mM ~ 約 1,000 mM、約 10 mM ~ 約 750 mM、約 50 mM ~ 約 500 mM、約 100 mM ~ 約 500 mM、約 100 mM ~ 約 500 mM、1 mM ~ 約 500 mM、または約 10 mM ~ 約 250 mM の濃度で硫化物を含む。

【0090】

ある実施形態において、本発明の安定なカルコゲニド組成物中の還元型のカルコゲニド、例えば、セレン化物または硫化物の濃度は、約、少なくとも約、または最大で約、0.001、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.2、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9、2.0、2.1、2.2、2.3、2.4、2.5、2.6、2.7、2.8

10

20

30

40

50

、 2 . 9 、 3 . 0 、 3 . 1 、 3 . 2 、 3 . 3 、 3 . 4 、 3 . 5 、 3 . 6 、 3 . 7 . 3 . 8
 、 3 . 9 、 4 . 0 、 4 . 1 、 4 . 2 、 4 . 3 、 4 . 4 、 4 . 5 、 4 . 6 、 4 . 7 、 4 . 8
 、 4 . 9 、 5 . 0 mM または M もしくは M より大きい、またはそこにおいて引き出され得る任意の範囲である（標準温度および標準圧力（S T P）において）。

【 0 0 9 1 】

本明細書で使用される場合、「%」という用語は、条件（w / v、v / v、またはw / wを伴うような）なしで使用されるとき、固体が液体中にある溶液については重量体積%（w / v）、気体が液体中にある溶液については重量体積%（w / v）、液体が液体中にある溶液については体積%（v / v）、そして固体および半固体の混合物については重量（w / w）を意味する（Remington's Pharmaceutical Sciences（2005）；第21版、Troy, David B. 編 Lippincott, Williams and Wilkins）。 10

【 0 0 9 2 】

1つの実施形態において、安定な組成物は、80%～100%（w / v）と測定されたセレン化物または硫化物を含む。1つの実施形態において、安定な組成物は、90%～100%（w / v）と測定されたセレン化物または硫化物を含む。1つの実施形態において、安定な組成物は、95%～100%（w / v）と測定されたセレン化物または硫化物を含む。1つの実施形態において、安定な組成物は、98%～100%（w / v）と測定された硫化物を含む。 20

【 0 0 9 3 】

特定の実施形態において、本発明の安定な組成物のpHは、3.0～12.0の範囲であるが、一方、他の実施形態において、pHは5.0～9.0の範囲である。薬学的組成物のpHは、生理学的に適合可能な範囲に調整されてもよい。例えば、1つの実施形態において、安定な組成物のpHは6.5～8.5の範囲である。他の実施形態において、本発明の安定な組成物は、pHが7.5～8.5または7.4～9.0の範囲である。 30

【 0 0 9 4 】

特定の実施形態において、酸素は、本発明の安定な組成物中に、0 μM～5 μMまたは0 μM～1 μMまたは0 μM～0.1 μMまたは0 μM～0.01 μMの範囲の濃度で存在する。特定の実施形態において、酸素は、安定な組成物中に、3 μM未満、1 μM未満、0.1 μM未満、0.01 μM未満、または0.001 μM未満の濃度で存在する。 30

【 0 0 9 5 】

本発明の薬学的組成物は、限られた量の酸化生成物をさらに含んでもよい。本発明の酸化生成物には、限定されないが、亜セレン酸塩、チオセレン酸塩、ポリセレン化物、セレン元素、セレン酸塩、亜硫酸塩、硫酸塩、チオ硫酸塩、ポリ硫化物、ジチオン酸塩、ポリチオン酸塩、および硫黄元素が挙げられる。種々の実施形態において、これらの酸化生成物の1種または1種より多くが、組成物中の総カルコゲニドの10%未満、5.0%未満、2.0%未満、1.0%未満、0.5%未満、0.2%未満、0.1%未満、0.05%未満、または0.01%未満（w / v）の量で、安定な組成物中に存在する。 40

【 0 0 9 6 】

1つの実施形態において、安定な組成物は、200～400 mOsmol/Lの範囲の容量オスモル濃度を有する。NaClは容量オスモル濃度を調整するための賦形剤として使用されてもよい。 40

【 0 0 9 7 】

ある実施形態において、安定な組成物の等張性は、これが投与の際の痛みの低減を生じ、高張または低張の組成物に付随する潜在的な溶血性効果を最小化とするので、望ましい。それゆえに、本発明の安定な組成物は、酸および酸の塩型からなる他のより従来的な緩衝系を使用する製剤と比較したときに、増大した保管安定性を有するのみならず、投与の際の痛みの実質的な低減という追加の利点も有する。

【 0 0 9 8 】

1つの実施形態において、安定な組成物は、不透過性容器の中にパッケージングされる

10

20

30

40

50

。「不透過性容器」とは、ガス分子の通過に対して、永続的な障壁をもたらす容器をいう。不透過性容器は当業者に公知であり、限定されないが、「静脈内バッグ」またはガス不透過性構成材料を含むシリンジ、または密封ガラスバイアルが挙げられる。特定の実施形態において、安定な組成物は、不活性大気、不活性ガス、または希ガスを含有する不透過性容器にパッケージングされてもよい。希ガスとは、ヘリウム(He)、ネオン(Ne)、アルゴン(Arg)、クリプトン(Kr)、キセノン(Xe)、およびラドン(Rn)をいう。不活性ガスとは窒素(N₂)をいう。「不活性大気」という用語は、容器中の窒素またはアルゴン大気をいう。特定の実施形態において、この容器は、酸素減少環境か、または酸素を含まない環境を含む。「酸素減少環境」は、100 ppm未満の酸素濃度を有する環境である。安定な組成物は、光防護バイアルまたは容器、例えば、アンバーバイアルの中にパッケージングされてもよい。1つの実施形態において、この組成物は、ガラスアンプル中に密封され、保管される。

10

【0099】

いくつかの実施形態において、本発明の安定な組成物は、保管の間に、カルコゲニドの酸化を防ぐかまたは阻害するために含まれる1種または1種より多くの賦形剤を含み、ここで、保管は、1ヶ月～12ヶ月または12ヶ月より長い範囲である。いくつかの実施形態において、保管は、1ヶ月～6ヶ月の範囲である。いくつかの実施形態において、保管は、3ヶ月～6ヶ月の範囲である。いくつかの実施形態において、保管は、4ヶ月～5ヶ月の範囲である。本発明の実施形態では、単一の賦形剤または賦形剤の組み合わせを使用してもよい。多くの適切な賦形剤が存在する。例えば、キレーター、pH調整剤、還元剤、抗酸化剤、スピントラップ剤および保存剤が挙げられる。

20

【0100】

1つの実施形態において、本発明の安定な組成物は、キレーターまたはキレート剤を任意に含有してもよい。可溶性金属錯体を生じるキレート剤はまた、金属イオン封鎖剤とも呼ばれている。キレート剤は、典型的には、-O、-NH₂、または-COO-などの金属に電子対を供与する官能基を少なくとも2つ有する。天然に存在するキレーターの例には、ポリサッカリドを含む炭水化物、1つより多くの配位基を有する有機酸、脂質、ステロイド、アミノ酸および関連化合物、ペプチド、リン酸、ヌクレオチド、テトラピロール、フェリオキサン、イオノフォア、例えばグラミシジン、モネンシン(monensin)、バリノマイシン、およびフェノール類が挙げられる。合成キレーターの例には、限定されないが、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)、ジエチレントリアミン五酢酸五ナトリウム塩(DTPA5)、CaDTPAH、ジメルカプロール(BAL)、デフェロキサン、デスフェラール、2,2'-ビピリジルジメルカブトプロパンノールエチレンジアミノ四酢酸、エチレンジオキシ-エチレン-ジニトリロ-四酢酸(EDTA)、CaNa₂エチレンジアミン四酢酸、エチレングリコール-ビス-(2-アミノエチル)-N,N,N',N'-四酢酸(EGTA)、イオノフォア、ニトリロ三酢酸(NTA)、オルト-フェナントロリン、サリチル酸、サクシマー(メソ-2,3-ジメルカブトコハク酸、(DMSA)、トリエタノールアミン(TEA)、N-(2-ヒドロキシエチル)エチレンジアミン-N,N',N'-三酢酸三ナトリウム塩(HEDTA)、ニトリロ三酢酸(NTA)が挙げられる。1つの実施形態において、合成キレーターはDTPAである。ある実施形態において、DTPAの濃度は、約、少なくとも約、または最大で約0、0.001、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mMもしくはM、またはそこにおいて引き出され得る任意の範囲である。1つの実施形態において、DTPAは0.1 mM～50 mMの範囲である。1つの実施形態において、合成キレーターはDTPA5からなる。ある実施形態において、DTPA5の濃度は(0.0001%～0.1%) (w/v)の範囲である。別の実施形態において、DTPA5は(0%～1.0%) (w/v)の範囲である。1つの実施形態において、DTPA5は(0%～0.01%) (w/v)の範囲である。1つの実施形態において、合成キレーターはCaDTPAである。ある実施形態において、CaDTPAの濃

30

40

50

度は、(0.0001% ~ 0.1%) (w/v) の範囲である。1つの実施形態において、CaDTPAは(0% ~ 0.01%) (w/v) の範囲である。別の実施形態において、CaDTPAは(0% ~ 1.0%) (w/v) の範囲である。1つの実施形態において、合成キレーターはデフェロキサミンである。ある実施形態において、デフェロキサミンの濃度は、約、少なくとも約、または最大で約0.001、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mMもしくはM、またはそこにおいて引き出され得る任意の範囲である。1つの実施形態において、デフェロキサミンは0.1 mM ~ 10 mMの範囲である。1つの実施形態において、合成キレーターはEDTAである。ある実施形態において、EDTAの濃度は、約、少なくとも約、または最大で約0.001、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mMもしくはM、またはそこにおいて引き出され得る任意の範囲である。ある実施形態において、EDTAは0% ~ 1% (w/v) の範囲である。別の実施形態において、EDTAは0.0001% ~ 0.1% (w/v) の範囲である。別の実施形態において、EDTAは0% ~ 1.0% (w/v) の範囲である。1つの実施形態において、EDTAは0% ~ 0.01% (w/v) の範囲である。

【0101】

本発明の安定な組成物は、1種または1種より多くのpH調整剤をさらに含んでもよい。pH調整剤には、限定されないが、無機塩、例えば、炭酸亜鉛、炭酸マグネシウム、炭酸カルシウム、水酸化マグネシウム、リン酸水素カルシウム、酢酸カルシウム、水酸化カルシウム、乳酸カルシウム、マレイン酸カルシウム、オレイン酸カルシウム、シュウ酸カルシウム、リン酸カルシウム、酢酸マグネシウム、リン酸水素マグネシウム、リン酸マグネシウム、乳酸マグネシウム、マレイン酸マグネシウム、オレイン酸マグネシウム、シュウ酸マグネシウム、塩化ナトリウム、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウム、水酸化カリウム、リン酸カリウム、重炭酸ナトリウム、チオグリコール酸、酢酸亜鉛、リン酸水素亜鉛、リン酸亜鉛、乳酸亜鉛、マレイン酸亜鉛、オレイン酸亜鉛、シュウ酸亜鉛、およびこれらの組み合わせが挙げられる。他のpH調整剤には、例えば、酢酸、フマル酸、リンゴ酸、硝酸、リン酸、プロピオン酸、硫酸、酒石酸、二酸化炭素、炭酸、N-メチル-D-グルカミン、4-(2-ヒドロキシエチル)-モルホリン、トロメタミン、オロチン酸、および塩酸が挙げられる。1つの実施形態において、pH調整剤は水酸化ナトリウムである。

【0102】

pH調整剤は、すでに酸性または塩基性である溶液に添加され、次いで、これが新しいpHに調整されかつ維持されるときには、緩衝剤として兼ねてもよい(The United States Pharmacopeia-National Formulary第29版(2006)Rockville, Md.; Stahl, P. Wermuth, C.編 Handbook of Pharmaceutical Salts Properties, Selection and Use. Wiley(2002)を参照のこと)。

【0103】

ある実施形態において、本発明の安定な組成物は、例えば、グルタチオン(米国特許第6,586,404号を参照のこと)、トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン塩酸塩(TSEP)、I-システイン、システイン、またはメチオニンなどの還元剤である1種または1種より多くの賦形剤を含む。1つの実施形態において、還元剤はグルタチオン(Vincentら、Endocrine Reviews(2004)25:612-628を参照のこと)、ジチオスレイトール(DTT)(Weirら、Respiratory and Physiological Biology;(2002)132:121-30)またはジチオエリストール(DTE)である。ある実施形態において、グルタチオンの濃度は、約、少なくとも約、または最大で約0.001、0.01、0.02、0.03、0.04

10

20

30

40

50

、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mMまたはMもしくはMより大きい、またはそこにおいて引き出され得る任意の範囲である。特定の実施形態において、安定な組成物は、約1.5 μM～約10M、約15 μM～約1M、約150 μM～約1M、約1.5 mM～約1M、約10 mM～約500 mM、約10 mM～約250 mM、または約100 mM、約120 mM、約150 mM、約170 mM、または約200 mMの濃度でグルタチオンを含む。ある実施形態において、本発明の安定な組成物中の少なくとも50%、少なくとも75%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも98%、または少なくとも99%のグルタチオンが還元型(GSH)である。ある実施形態において、ジチオスレイトール(DTT)濃度は、約、少なくとも約、または最大で約0.001、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mMもしくは1M、またはそこにおいて引き出され得る任意の範囲で存在する。ある実施形態において、還元剤はジチオエリスリトール(DTE)であり、これは、約、少なくとも約、または最大で約0.0001、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mMもしくはM、またはそこにおいて引き出され得る任意の範囲で存在する。

【0104】

本発明の安定な組成物は、フリーラジカルスカベンジャーまたは抗酸化剤を任意に含んでもよい。フリーラジカルスカベンジャーまたは抗酸化剤の例には、限定されないが、アスコルビン酸(ビタミンC)、D-アルファトコフェロール酢酸、DL-アルファ-トコフェロール(ビタミンE)、メラトニン、重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、Trolox(6-ヒドロキシ-2,5,7,8-テトラメチルクロマン-2-カルボン酸)、トリス(2-カルボキシエチル)ホスフィン塩酸塩(TCEP)、メラトニン、亜ジチオン酸塩、ピロ亜硫酸塩、システイン、重亜硫酸カリウム、チオグリコール酸ナトリウム、チオエチレングリコール、L-スレオアスコルビン酸、アセチルサリチル酸、サリチル酸、レシチン、パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニドール、アスコルビン酸、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒドロキシキノン、ブチルヒドロキシアニソール、ヒドロキシクマリン、ブチル化ヒドロキシトルエン、セファルム、没食子酸エチル、没食子酸プロピル、没食子酸オクチル、没食子酸ラウリル、ヒドロキシ安息香酸プロピル、トリヒドロキシブチロフェノン(trihydroxybutyrophene)、ジメチルフェノール、レシチン、エタノールアミン、メグルミン、およびこれらの組み合わせが挙げられる(米国2005/0106214号を参照のこと)。1つの実施形態において、抗酸化剤はスピントラップ剤である。スピントラップ剤の例には、限定されないが、N-t-ブチル-フェニルニトロン(PBN)(Kotake, Y., Antioxid Redox Signal(1999)481を参照のこと)、4-ヒドロキシ-2,2,6,6-テトラメチルピペリジン-1-オキシル(TEMPOL)(Garibaldi, M.B.,ら(2000),Free Radic. Biol. Med. 29:633; Miura, Y.,ら、J. Radiat. Res. (Tokyo)(2000)41:103; Mota-Filipe, H.,ら(1999), Shock 12:255R:22-41; S:39-26, 2, 2, 6, 6-テトラメチルピペリジン-N-オキシル(TEMPO)(Lapchak, ら、Stroke(2001)32:147-53を参照のこと);(ジナトリウム-[tert-ブチルイミノ]メチル]ベンゼン-1,3-ジスルホネートN-オキシド(NXY-059)(Lapchakら、CNS Drug Rev(2003)9:253-62を参照のこと)が挙げられる。いくつかの実施形態において、スピントラップ剤はTEMPOであり、これは、0mg/kg～1,000mg/kgの範囲で存在する。いくつかの実施形態において、スピントラップ剤はTEMPOであり、100mg/kg～1,000mg/kgの範囲で存在する。別の実施形態において、スピントラップ剤はTE

10

20

30

40

50

MPOであり、0mg/kg～100mg/kgの範囲で存在する。

【0105】

本発明の安定な組成物は、1つまたは1つより多くの保存剤を任意に含んでもよい。本明細書で使用される場合、「保存剤」という用語は、微生物の増殖を防ぐために使用される化合物を意味することが意図される。このような化合物には、例として、限定されないが、以下が挙げられる：塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、安息香酸、ベンジルアルコール、ブチル化ヒドロキシアニソール(BHA)、臭化セトリモニウム、塩化セチルピリジニウム、クロロブタノール、クロロクレゾール、クレゾール、メチルパラベンナトリウム、フェノール、フェノキシエタノール(phenoxethanol)、フェニルエチルアルコール、酢酸フェニル水銀、硝酸フェニル水銀、酢酸フェニル水銀、チメロサール、メタクレゾール、ミリストルガンマ塩化ピコリニウム、安息香酸カリウム、ソルビン酸カリウム、安息香酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、ソルビン酸、チオグリセロール、チメロサール、チモール、およびメチルパラベン、エチルパラベン、プロピルまたはブチルパラベン、ならびに当業者に公知である他の保存剤。このような保存剤は、安定な組成物中で、記載されるような受容可能な薬学的実務に従う典型的な濃度で使用される(The United States Pharmacopeia-National Formulary第29版(2006)Rockville, Md.; Remington's Pharmaceutical Sciences(2005)第21版、Troy, D. B., 編 Lippincott, Williams and Wilkinsを参照のこと)。ある実施形態において、保存剤はベンジルアルコールであり、0%～1.0%(w/v)の範囲で存在する。1つの実施形態において、保存剤はベンジルアルコールであり、0%～0.5%(w/v)の範囲で存在する。1つの実施形態において、保存剤は、0%～0.5%(w/v)の範囲のフェノールである。ある実施形態において、保存剤は、0.0%～0.25%(w/v)の範囲のメチルパラベンである。ある実施形態において、保存剤は、0%～0.25%(w/v)の範囲のエチルパラベンである。ある実施形態において、保存剤は、0%～0.25%(w/v)の範囲のプロピルパラベンである。ある実施形態において、保存剤は0%～0.4%(w/v)の範囲のブチルパラベンである。ある実施形態において、保存剤は、0%～0.02%(w/v)の範囲の塩化ベンザルコニウムである。

【0106】

本発明はさらに、本発明の安定な組成物を含むキットを含む。ある実施形態において、このようなキットは、本発明の安定な組成物を保管するための1つまたは1つより多くの容器を備える。1つの実施形態において、安定な組成物は、容器の中で不活性ガスまたは希ガスの下で保管され、そしてこの容器は密封され、かつ酸素不透過性光防護容器(例えば、アンバーバイアル)を有する。ある実施形態において、容器は酸素不透過性容器である。

(B. 安定な還元されたカルコゲニド組成物を調製する方法)

【0107】

ある実施形態において、本発明は、還元型のカルコゲニド、例えば-2価状態のセレンまたは硫黄を含むカルコゲニド、例えばセレン化物または硫化物、を含む安定な組成物を調製する方法を提供する。

【0108】

特定のカルコゲニド化合物(例えば、硫化水素、セレン化水素)は、酸素と化学的に反応するそれらの能力に起因して、酸素の存在下では安定ではなく、それらの酸化および化学転換に導く。したがって、酸素は、これらの方法において使用される液体または溶液から、当該分野において公知である方法を使用して除去されてもよい。これらの方法には、限定されないが、液体または溶液に陰圧をかけること(真空脱気)、または溶液を、酸素を結合させるかもしくは「キレート」して溶液から酸素を効果的に除去する試薬と接触させることが挙げられる。一般的に、本発明の安定な組成物を調製する方法は、製造および保管の各態様において酸素含量を限定することを含む。

10

20

30

40

50

【0109】

1つの実施形態において、本発明は、還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する方法を含み、前記方法は、カルコゲンまたはカルコゲンの酸、および還元剤を、酸素減少環境において、還元剤の大部分の酸化およびカルコゲンの大部分の還元を可能にするために十分な条件下および時間期間、混合する工程を備える。ある実施形態において、この条件は、約室温の温度を含む。特定の実施形態において、この時間期間は、約1時間、約2時間、約3時間、または一晩、例えば、約12時間である。特定の実施形態において、この時間期間は、混合溶液が視覚的に透明に見えるか、またはバブリング（水と反応する水素化ホウ素からの水素の生成に起因）が停止もしくは観察されなくなるときに完了または終了する。

10

【0110】

特定の実施形態において、カルコゲンは硫黄またはセレンであり、還元型のカルコゲニドは硫黄またはセレンを-2の酸化状態で含む。ある実施形態において、カルコゲンの酸は亜セレン酸または亜セレン酸ナトリウムまたはセレン元素であり、還元型のカルコゲニドは硫黄またはセレンを-2の酸化状態で含む。

【0111】

特定の実施形態において、還元剤は約0.4Vより低いか約0.4Vに等しい還元電位(E°)を有する。1つの実施形態において、還元剤は水素化ホウ素ナトリウム(NaBH₄)である。ある実施形態において、還元剤対カルコゲン、またはカルコゲンの酸のモル比は、約5:1～約0.5:1、または約3:1～約1:1である。1つの実施形態において、還元剤対カルコゲン、またはカルコゲンの酸のモル比は約2:1である。

20

【0112】

特定の実施形態において、還元剤は水素化ホウ素ナトリウムであり、前記カルコゲンは硫黄またはセレンであり、そして前記カルコゲンの酸は亜セレン酸である。1つの特定の実施形態において、還元剤は水素化ホウ素ナトリウムであり、カルコゲンはセレンであり、そして水素化ホウ素ナトリウム対セレンのモル比は約2:1である。特定の実施形態において、セレンは約1mM～約10M、または約1mM～1M(79mg/L～79g/L)の量で存在する。特定の実施形態において、水素化ホウ素ナトリウムは1M水溶液に存在する。

【0113】

30

ある実施形態において、この方法は、酸素減少環境または酸素を含まない環境で実施される。ある実施形態において、この方法は、不活性ガスまたは希ガス下で実施される。ある実施形態において、この方法は、窒素下で実施される。例えば、窒素は前記酸素減少環境に注入されてもよい。ある実施形態において、窒素は約100cc/分の速度で注入される。特定の実施形態において、酸素減少環境は酸素を含まない環境を有する容器である。特定の実施形態において、この容器は、シリング、静脈内バッグ、チューブ、またはバイアルである。ある実施形態において、この容器は入口の閉鎖可能なポートまたは再密封可能なポートを備える。1つの実施形態において、この容器は、ラバーセプタムを備える密封可能なチューブ、例えば、Hungateチューブである。

【0114】

40

この方法の特定の実施形態において、容器、例えば、チューブの中への窒素の注入およびチューブからの取り出しが、容器のセプタムを貫通する2本の針を介して行われ、ここで、2本の針のうちの一方が窒素をチューブの中に運ぶためのポートとして使用され、2本の針のうちの第2の針が窒素をチューブから取り出すために使用される。

【0115】

特定の実施形態において、この方法は、前記時間期間の後で混合物を加熱する工程をさらに含む。特定の実施形態において、加熱する工程はいかなるバブリングも観察されなくなるまで継続される。これらの方法は、加熱する工程の後で混合物を冷却する工程をさらに含んでもよい。冷却する工程は、例えば、混合物を氷上に配置することによって実施されてもよい。ある実施形態において、冷却する工程は、混合溶液からホウ酸ナトリウムが

50

沈殿するまで継続される。

【0116】

これらの方法はまた、混合溶液を遠心分離して沈殿したホウ酸ナトリウムから上清を分離する工程、および前記上清を除去する工程をさらに含み得、ここで、上清が、前記還元されたカルコゲニドを含む前記安定した組成物を含む。

【0117】

特定の実施形態において、これらの方法は、混合物を酸で酸性化する工程およびセレン化水素ガスまたは硫化水素ガスを溶液を通してバブリングする工程をさらに含み、ここで、前記酸は還元性でありかつ揮発性でなく、上記溶液は3.9より大きいpHを有する。いかなる特定の理論にも束縛されることを望まないが、非揮発性酸（例えば、リン酸）が、溶液中に望ましくない非揮発性化合物を有し得る還元されたカルコゲニドの溶液に添加される場合、これはpHをカルコゲニドのpKよりも低い値に低下させ、それゆえに、気体状（例えば、H₂SまたはH₂Se）を生成すると考えられる。この気体状を、混合物を通して窒素を通過させることによって溶液から噴出させ、カルコゲニドをガスではないイオン状にするpKを超えるpHを有する第2の溶液に運ぶことが可能である（すなわち、カルコゲニド（chacogenide）をトラップする）。

10

【0118】

ある実施形態において、酸は亜リン酸であり、前記溶液はリン酸緩衝化生理食塩水（PBS）である。これにより、セレン化水素または硫化水素ガスがベッセル中にトラップされ得る。

20

【0119】

本明細書に記載される安定な組成物を製造する任意の方法の特定の実施形態において、還元型のカルコゲニドはマイナス2の酸化状態またはマイナス2価状態である。ある実施形態において、還元型のカルコゲニドは、H₂Se、Na₂Se、NaHS_e、またはHS_e-アニオンである。

30

【0120】

別の実施形態において、本発明は、還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物を製造する別のある方法を含み、この方法は、鉱油またはテトラヒドロフラン（THF）を含む溶液中でセレン元素（Se）または硫黄元素（S）および水素化ナトリウムを混合し、それによって、セレン化水素ナトリウムまたは硫化ナトリウムを含む安定な組成物を製造する工程を含む。ある実施形態において、この方法は、混合溶液に水を添加し、それによって水素化ナトリウムを除去する工程もまた含む。溶液が鉱油を含む特定の実施形態において、この方法は、混合溶液の水相を除去する工程をさらに含み、ここで、還元されたカルコゲニドは水相中に存在している。溶液がTHFを含む特定の実施形態において、この方法は、前記混合溶液を約70度煮沸させることによって前記THFを除去する工程をさらに含む。

30

【0121】

種々の実施形態において、本発明の安定な組成物を調製する方法は、組成物のpHを調整する工程をさらに含む。ある実施形態において、pHは、塩化水素、二酸化炭素、窒素、または硫化水素の1つまたは1つより多くの添加により調整される。別の実施形態において、pHは、窒素、二酸化炭素、セレン化水素、または硫化水素、またはこれらの任意の組み合わせを、組成物に溶解することによって調整される。

40

【0122】

ある実施形態において、本発明の安定な組成物を製造する方法は、グルタチオンをカルコゲンおよび還元剤とともに混合する工程、または安定な組成物にグルタチオンを添加する工程を含む。グルタチオンは還元状態（GSH）および酸化状態（GSSG）で存在する。

40

【0123】

一旦製造されると、種々の実施形態において、安定な組成物は、不透過性容器、例えば、酸素不透過性容器の中で保管される。これは、還元型のカルコゲニドの酸化を防ぐため

50

に特に望ましい。不透過性容器は当業者に公知であり、これには、限定されないが、ガス不透過性構成材料を含む「静脈内バッグ」または密封ガラスバイアルが挙げられる。特定の実施形態において、不透過性容器は、 $10^{-10} [\text{cm}^3 (\text{STP}) / \text{cm} / (\text{cm}^2 + s + Pa)]$ 未満の酸素透過係数を有する酸素不透過性材料を含み、ここで、STP = 標準温度および標準圧力(25 および1気圧)；PA = パスカル、およびs = 秒である。例えば、容器の壁は酸素不透過性ポリマーの層を含んでもよい。例示的な酸素不透過性ポリマーには、限定されないが、シリコーンゴム、天然ゴム、低密度ポリエチレン(LDPE)、ポリスチレン(PS)、ポリエチレン(PE)、ポリカーボネート(PC)、ポリ酢酸ビニル(PVAc)、アモルファスポリエチレンテレフタレート(APET)、ポリ塩化ビニル(PVC)、ナイロン6(Ny6)、ポリフッ化ビニル(PVF)、ポリ塩化ビニリデン(PVdC)、ポリアセトニトリル(PAN)、エチレンビニルアルコール(EVOH)、およびポリビニルアルコール(PVA)が挙げられる。ある実施形態において、前記ポリマーの酸素透過係数は $10^{-10} [\text{cm}^3 (\text{STP}) / \text{cm} / (\text{cm}^2 + s + Pa)]$ 未満である。特定の実施形態において、容器の壁は1種または1種より多くの酸素不透過性ポリマーの複数の層を含む。

10

【0124】

さらなる実施形態において、この容器は、1つまたは1つより多くの再密封可能なまたは閉鎖可能な入口のポートを備える。ある実施形態において、この容器は、2つまたは2つより多くの再密封可能なまたは閉鎖可能な入口のポートを備える。上述のように、ある特定の実施形態において、この容器は、ボトル、バッグ、チューブ、バイアル、またはシリンジである。ある実施形態において、この容器は静脈内バッグまたはシリンジである。特定の実施形態において、この容器は、ラバーセプタムを備える密封可能なチューブ、例えば、Hungateチューブである。

20

【0125】

関連する実施形態において、このデバイスは、再密封可能なまたは閉鎖可能な入口のポートを通して、容器に連結された送達手段をさらに備える。特定の実施形態において、この送達手段は、容器から溶液を、それを必要とする被験体に静脈内送達するように構成されている。例えば、この送達手段は針またはカニューレであってもよい。ある実施形態において、この送達手段は、酸素減少環境もしくは酸素を含まない環境を含むか、または酸素減少環境もしくは酸素を含まない環境下で存在する。

30

【0126】

本発明の保管または送達デバイスの特定の実施形態において、化合物はカルコゲニドである。ある実施形態において、化合物は還元型のカルコゲニド、例えば、 H_2Se 、 Na_2Se 、 $NaHS$ e、または HSe^- アニオンまたは本明細書に記載される他の化合物である。ある実施形態において、このデバイスは本発明の安定な組成物を含む。

【0127】

気密保管容器中で空気への曝露を防ぐために、窒素またはアルゴンなどの不活性ガスまたは希ガスが、閉鎖前に本発明の安定な組成物を含有する容器に導入されてもよい。

【0128】

他の関連する実施形態において、安定な組成物は、耐光容器もしくは光防護容器またはアンバーバイアルなどのバイアルの中で保管される。この組成物は、ガラスバイアル中にパッケージングされてもよい。これは、組成物の酸化的分解を防ぐ/遅延させるために、不活性大気、例えば、窒素中で、わずかに過圧まで充填されてもよく、光の進入を防ぐような形態で含有され、それによって、組成物の光化学的分解を防いでもよい。これは、アンバーバイアルを使用して達成され得る。多くの静脈内溶液が酸素に対して感受性であるので、溶液が酸素を含まない環境において保管されることを可能にするさらなる容器系が知られている。例えば、充填または密封プロセスの間に酸素がバージされるガラス容器が使用され得る。別の実施形態において、軟質プラスチック容器が利用可能であり、これは、酸素に対して密封するための上包みに封入されてもよい。基本的に、酸素が、安定な組成物と相互作用することを防ぐ任意の容器が使用されてもよい(例えば、米国特許第6,

40

50

458, 758号を参照のこと)。1つの実施形態において、この容器は、1つまたは1つより多くの酸素スカベンジャーを含む。例えば、酸素捕捉性組成物は、酸素透過に対する障壁として機能する手段を支持または保持する生成物の内部表面にコーティングまたはライニングとして適用できる(例えば、米国特許第5,492,742号を参照のこと)。

(C. 安定な還元されたカルコゲニド組成物を使用する方法)

【0129】

ある実施形態において、本発明の安定な組成物は、生物学的材料、例えば、被験体、例えば、ヒトなどの哺乳動物における傷害または疾患を処置または予防(preven)または阻害するために使用される。特定の実施形態において、本発明の安定な組成物は、虚血性状態もしくは低酸素状態、または再灌流への曝露の前、その間、またはその後に被験体(または生物学的材料)を処置するために使用される。生物学的材料は、インビボまたはエキソビボで処置されてもよい。特定の実施形態において、本発明の安定な組成物は、心臓発作または心臓発作から生じる梗塞によって引き起こされる傷害を処置または予防するために使用される。

10

【0130】

1つの実施形態において、本発明の安定な組成物は、疾患、傷害、外傷、または救命救急診療処置を受けたか、それを受けているか、またはその感受性がある被験体を処置するために使用される。特定の実施形態において、傷害は、外部損傷、例えば、熱傷、創傷、切断、銃創、または外科的外傷、腹部手術、前立腺手術、内部損傷、例えば、敗血症ショック、脳卒中もしくは心停止、例えば、循環の急激な低下を生じる心臓発作、または寒さもしくは放射線への曝露などの非侵襲性ストレスに起因する循環の低下によって引き起こされ得る。細胞レベルでは、傷害は、多くの場合、細胞、組織、および/または器官の低酸素状態への曝露を生じ、それによって、プログラムされた細胞死、すなわち「アポトーシス」の誘導を生じる。特定の実施形態において、傷害は、虚血性事象の後の細胞、組織、器官、または哺乳動物への酸素の再灌流から生じる。

20

【0131】

1つの実施形態において、本発明は、組織、器官、肢、および生物体全体さえも、傷害の有害な効果からそれらを保護し、または傷害の有害な効果を低減させる方法として、有効量の本発明の安定な組成物と接触させることを企図する。本発明はまた、創傷治癒および組織再生の遅延を生じ得る生物学的プロセスの阻害/防止/遅延により、組織再生および創傷治癒を誘導するための方法も企図する。これに関連して、実質的な創傷が肢または生物体に対して存在するシナリオにおいて、生物学的物質を本発明の安定な組成物と接触させることは、治癒および再生を阻害する生物学的プロセスを管理することにより、創傷治癒および組織再生プロセスの助けとなる。創傷治癒に加えて、本発明の方法は、心停止または脳卒中、および出血性ショックなどの外傷を予防、阻害、または処置するために実施できる。本発明は、開胸術(thoracotomy)、開腹術、および脾臓処置(transsection)または心臓手術、動脈瘤、手術、脳手術などの緊急外科的手順からの外傷のリスクに関して重要性を有する。

30

【0132】

ある実施形態において、本発明の方法は、生存率を増強するため、または虚血性傷害を処置、阻害、もしくは予防するため、または、例えば、心停止もしくは脳卒中から生じる再灌流傷害を処置、阻害、もしくは予防するために実施できる。したがって、1つの実施形態において、本発明は、心停止または脳卒中に罹患しているか、またはそのリスクがある被験体において、生存率を増強するか、または虚血性傷害もしくは再灌流傷害を軽減させる方法を含み、この方法は、心筋梗塞、心停止、または脳卒中の前、その後、またはその前後の両方で、患者に有効量の本発明の安定な組成物を提供することを含む。「虚血」とは、組織への血液供給の制限をいい、これは細胞代謝に必要とされる酸素およびグルコースの不足を引き起こす。これは血管に関する問題によって引き起こされ得、罹患した組織に対して損傷をもたらす。ある実施形態において、これは、血管収縮、血栓症、心筋梗

40

50

塞、脳卒中、または塞栓症から生じる。本明細書で使用される場合、「再灌流傷害」とは、虚血または酸素の欠如の期間後に組織に戻った血液から生じる組織損傷をいう。虚血期間の間の血液からの酸素および栄養素の非存在は、循環の回復が酸化ストレスの誘発を通して炎症および酸化的損傷を生じる状態を作り出すと考えられている。ある実施形態において、この方法は、安定な組成物を用いる処置がない場合のサイズと比較して、梗塞サイズの低減を生じる。

【0133】

ある実施形態において、本発明の方法は、虚血性傷害、低酸素傷害、もしくは再灌流傷害、または疾患発作 (disease insult) の前に、本発明の安定な組成物を用いて、生物学的材料、例えば、被験体を前もって処置する工程を含む。これらの方法は、虚血または低酸素症を引き起こす可能性を有する傷害または疾患があらかじめスケジュールされるかもしくは選択されるとき、または起こる可能性が高いことがあらかじめ予測されるときに、使用できる。例えば、限定されないが、自発的にもしくは手順の結果として血液の損失が起こり得る大手術、血液への酸素取り込みが損なわれ得るか、もしくは血液の血管送達が低減し得る（冠動脈バイパスグラフト（CABG）手術の設定において）心肺バイパス、または臓器移植を必要とするレシピエントへの輸送および移植のためのドナー臓器を取り出す前の臓器ドナーの処置が挙げられる。例えば、限定されないが、傷害または疾患の進行のリスクが固有である医学的状態（例えば、不安定な狭心症、血管形成術後、動脈瘤の出血、出血性発作、大きな外傷または血液損失後の状況において）、または医学的診断テストを使用してリスクが診断できる医学的状態が挙げられる。

10

20

30

40

【0134】

関連して、本発明のさらなる実施形態は、生存率を増強すること、および適切な血液供給の欠如からなどの、細胞または組織に対する血液の損失または他の酸素取り込みの欠如からの不可逆的損傷を予防することに関係がある。これは、例えば、実際の血液損失の結果であり得るか、または、これは、細胞もしくは組織への血流の遮断を引き起こすか、生物体において局所的もしくは全体的に血圧を低下させるか、血中に運ばれる酸素の量を低減させるか、または血液中の酸素を運ぶ細胞の数を低減させる、状態または疾患からであり得る。関係し得る状態および疾患には、限定されないが、凝血および塞栓症、囊胞、増殖、腫瘍、貧血（鎌形赤血球貧血を含む）、血友病、他の血液凝固疾患（例えば、ファン・ヴィレブランド病、またはITP）、およびアテローム性動脈硬化症が挙げられる。このような状態および疾患にはまた、傷害、疾患、または状態により、生物体の中の細胞または組織について、本質的に低酸素または無酸素状態を作り出すものが挙げられる。

【0135】

1つの実施形態において、本発明は、出血性ショックを受けており、または再灌流を受けている生物学的材料（例えば、哺乳動物または哺乳動物内の組織もしくは器官）に対して、生存率を増強し、または傷害もしくは損傷を軽減もしくは予防する方法を提供し、これは、出血性ショックのリスクがあるかまたはその状態にある生物学的材料を、実用的にはできるだけ早く、理想的には傷害の1時間以内に、有効量の安定な組成物と接触させる工程を含む。この方法によって、傷害の最初の原因が対処可能である、制御された環境（例えば、手術）に被験体を移すことが可能となり、次いで、患者は制御された様式で正常機能まで戻すことができる。この適応のために、「黄金時間」と呼ばれる傷害後の最初の1時間は、首尾よい転帰のために重要である。

【0136】

様々な他の実施形態において、本発明の方法は、虚血、低酸素症、または再灌流と関連する神経変性疾患の処置において、低体温症の処置に置いて、過剰増殖性障害の処置において、および免疫障害の処置において、使用されてもよい。様々な他の実施形態において、生物学的状態は、以下の任意の1つまたは組み合わせである：神経疾患、心臓血管疾患、代謝性疾患、感染性疾患、肺疾患、遺伝性疾患、自己免疫疾患、および免疫関連疾患。

【0137】

ある実施形態において、本発明の方法は、例えば、単離された細胞、組織、および器官

50

を含む、低酸素状態または虚血性状態に供されたエキソビオ生物学的物質の生存率を増強するために使用される。このようなエキソビオ生物学的材料の具体的な例には、血小板および他の血液製剤、ならびに移植される組織および臓器が挙げられる。

【0138】

ある実施形態において、生物学的材料、例えば、哺乳動物または哺乳動物中の組織に提供される本発明の安定な組成物の量または有効量は、約、少なくとも、少なくとも約、または最大で約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、441、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800、810、820、830、840、850、860、870、880、890、900、910、920、930、940、950、960、970、980、990、1000 mgもしくはmg/kg、もしくはmg/m²、またはそこにおいて引き出され得る任意の範囲である。あるいは、この量は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、441、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800、810、820、830、840、850、860、870、880、890、900、910、920、930、940、950、960、970、980、990、1000 mMもしくはM、またはそこにおいて引き出され得る任意の範囲として表現されてもよい。

【0139】

本発明のいずれかの方法の特定の実施形態において、生物学的材料、例えば、被験体は、有効量の本発明の安定な組成物で処置されるか、またはそれと接触し、ここで、前記有効量は約0.01 mg/kg～約20 mg/kg、約0.05 mg/kg～約10 mg/kg、約0.1 mg/kg～約5 mg/kg、約0.5 mg/kg～約2 mg/kg、約0.5 mg/kg～約1 mg/kg、約0.5 mg/kg～約0.5 mg/kg、約0.6 mg/kg、約0.7 mg/kg、約0.8 mg/kg、約0.9 mg/kg、約1.0 mg/kg、約1.1 mg/kg、または約1.2 mg/kgである。特定の実施形態において、この安定な

10

20

30

40

50

組成物は、セレン化物、例えば、セレン化ナトリウムまたは - 2 の状態での別の形態のセレン化物を含む。

【 0 1 4 0 】

特定の実施形態において、有効量の安定な組成物は、再灌流の前に、例えば、再灌流の直前少なくとも 1 分、2 分、3 分、4 分、5 分、または 10 分 (t e m m i n u t e s o f t h e t e n m i n u t e s)、または 30 分間、生物学的材料、例えば、組織または被験体に投与される。特定の実施形態において、この安定な組成物の投与は、再灌流傷害の軽減を生じる。ある実施形態において、再灌流傷害は、安定な組成物を用いる処置の非存在下での再灌流傷害の 80 % 未満、70 % 未満、60 % 未満、50 % 未満、40 % 未満、または 30 % 未満である。特定の実施形態において、安定な組成物は、カルコゲン、例えば、硫黄またはセレンを - 2 価状態で含むカルコゲニドを含む。特定の実施形態において、還元型のカルコゲニドは、H₂Se、Na₂Se、NaHS_e、HS_e-、H₂S、NaHS、Na₂S、または HS- である。関連する実施形態において、還元型のカルコゲニドは、本明細書に記載される方法によって製造される。

10

【 0 1 4 1 】

特定の実施形態において、傷害、例えば、心臓発作または脳卒中後の本発明の安定な組成物を用いる生物学的材料、すなわち、被験体の処置は、傷害、例えば、梗塞サイズの低減を生じる。ある実施形態において、傷害または梗塞サイズは、安定な組成物を用いる処置の非存在で起こる重篤度または梗塞サイズの 80 % 未満、70 % 未満、60 % 未満、50 % 未満、40 % 未満、または 30 % 未満である。特定の実施形態において、安定な組成物は、カルコゲン、例えば、硫黄またはセレンを - 2 価状態で含むカルコゲニドを含む。特定の実施形態において、還元型のカルコゲニドは、H₂Se、Na₂Se、NaHS_e、HS_e-、H₂S、NaHS、Na₂S、または HS- である。関連する実施形態において、還元型のカルコゲニドは、本明細書に記載される方法によって製造される。

20

【 0 1 4 2 】

特定の実施形態において、心臓発作の (o r) 10 分以内、30 分以内、1 時間以内、または 2 時間以内での、安定な組成物を用いる生物学的物質、例えば、被験体の処置は、安定な組成物を用いる処置の非存在下と比較して、心臓損傷の減少、または短縮率もしくは左心室機能の増加を生じる。特定の実施形態において、心臓損傷の減少は、安定な組成物を用いる処置の非存在下と比較して、少なくとも 10 %、少なくとも 20 %、少なくとも 30 %、少なくとも 40 %、または少なくとも 50 % である。心臓損傷の減少は、処置後の被験体の血液中の心臓特異的タンパク質、すなわち心臓トロポニン I のレベルを評価することによって検出され得る。特定の実施形態において、短縮率または左心室機能の増加は、安定な組成物を用いる処置の非存在下と比較して、少なくとも 20 %、少なくとも 30 %、少なくとも 40 %、または少なくとも 50 % である。特定の実施形態において、安定な組成物は、カルコゲン、例えば、硫黄またはセレンを - 2 価状態で含むカルコゲニドを含む。特定の実施形態において、還元型のカルコゲニドは、H₂Se、Na₂Se、NaHS_e、HS_e-、H₂S、NaHS、Na₂S、または HS- である。関連する実施形態において、還元型のカルコゲニドは、本明細書に記載される方法によって製造される。

30

【 0 1 4 3 】

ある実施形態において、本発明は、本発明の安定な組成物を被験体に投与することによる、被験体、例えば、哺乳動物の心臓における炎症、すなわち心臓発作を軽減させる方法を含む。ある実施形態において、心臓炎症の減少は、安定な組成物を用いる処置の非存在下と比較して、少なくとも 10 %、少なくとも 20 %、少なくとも 30 %、少なくとも 40 %、または少なくとも 50 % である。炎症は、付随する実施例において記載されるように測定されてもよい。特定の実施形態において、安定な組成物は、カルコゲン、例えば、硫黄またはセレンを - 2 価状態で含むカルコゲニドを含む。特定の実施形態において、還元型のカルコゲニドは、H₂Se、Na₂Se、NaHS_e、HS_e-、H₂S、NaHS、Na₂S、または HS- である。関連する実施形態において、還元型のカルコゲニド

40

50

は、本明細書に記載される方法によって製造される。

【0144】

本発明の方法の様々な実施形態において、生物学的材料、例えば、器官、被験体、または被験体中の組織は、本発明の安定な組成物に、約、少なくとも、少なくとも約、または最大で約30秒間、1、2、3、4、5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55分間、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24時間、1、2、3、4、5、6、7日間または7日間より長く、およびそこにおける任意の範囲または組み合わせで曝露される。

【0145】

さらに、投与が静脈内であるとき、以下のパラメーターが適用され得ることが企図される。ある実施形態において、流速は、約、少なくとも約、または最大で約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100g tt / 分もしくは μ g tt / 分、またはそこにおいて引き出され得る任意の範囲である。いくつかの実施形態において、安定な組成物の量は、安定なカルコゲニド組成物の濃度に依存して、体積で特定される。ある実施形態において、時間量は、約、少なくとも約、または最大で約1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60分間、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24時間、1、2、3、4、5、6、7日間、1、2、3、4、5週間、および/もしくは1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12ヶ月間、またはそこにおいて引き出され得る任意の範囲であり得る。

【0146】

ある実施形態において、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、210、220、230、240、250、260、270、280、290、300、310、320、330、340、350、360、370、380、390、400、410、420、430、440、441、450、460、470、480、490、500、510、520、530、540、550、560、570、580、590、600、610、620、630、640、650、660、670、680、690、700、710、720、730、740、750、760、770、780、790、800、810、820、830、840、850、860、870、880、890、900、910、920、930、940、950、960、970、980、990、1000m1もしくはリットルの体積、またはそこにおける任意の範囲が、全体または単回セッションで投与されてもよい。

10

20

30

40

50

【0147】

本発明の方法の様々な実施形態にしたがって、生物学的材料は、本発明の安定な組成物を、例えば、静脈内、皮内、動脈内、腹腔内、病巣内、頭蓋内、関節内、前立腺内、胸膜内、気管内、鼻内、硝子体内、膣内、直腸内、局在的、腫瘍内、筋肉内、腹腔内、眼内、皮下、結膜下、小胞内、粘膜、心膜内、臍帯内、眼球内 (intraocularally) 、経口的、局在的、局所的、注射により、注入により、連続注入により、吸収により、吸着により、浸漬により、局所的かん流により、カテーテルを介して、または洗浄液を介して提供される。特定の実施形態において、これは、非経口的に、例えば、静脈内で、または吸入により提供される。「非経口」とは、消化管を介する以外の物質の投与の任意の経路をいう。治療剤は活性薬剤である。

10

(D. 送達デバイス)

【0148】

さらなる実施形態において、本発明は、還元型の活性物質、例えば、還元型のカルコゲニドなどの酸化を限定、防止、または阻害するように設計された薬物送達デバイスを含む。特定の実施形態において、この薬物送達デバイスは、還元型の活性薬剤または活性物質、例えば、治療剤をその還元型に維持する。特定の実施形態において、このデバイスは、例えば、セレン化物または硫化物などの還元型のカルコゲニドを含む。特定の実施形態において、この薬物デバイスは、本発明の安定な組成物を含む。

【0149】

製造業者によって準備され、あらかじめ混合された、すぐに使用できる製品は、静脈内薬物安全性に対する有用なアプローチを表す。なぜなら、これらは、静脈内薬物を測定および希釈することに関連する誤りを除いているからである。したがって、ある実施形態において、本発明は、還元型の治療剤を含むすぐに使用できる製品の投与のための薬物送達デバイスを含む。特定の実施形態において、還元型の治療剤は、還元型のカルコゲニド、例えば、セレン化物または硫化物である。

20

【0150】

加えて、シリンジまたはバッグに薬剤を引き込むプロセスの間に、治療剤を含むバイアルに空気を注入することを包含し得る、治療剤を送達するための従来の方法は、還元型である治療剤の望ましくない酸化を生じ得ることが理解される。したがって、本発明は、被験体への送達の間に、治療剤の酸素との接触を最小にするかまたは防ぐ送達デバイスを提供する。

30

【0151】

1つの実施形態において、本発明は薬物送達デバイスを含み、これは、
本発明の安定な組成物を含有するためのリザーバー；および

被験体への送達の間に、安定な組成物中の還元型の活性薬剤、例えば、カルコゲニドの少なくとも 90 % を還元型に維持するように構成された液体連通部材を備える。特定の実施形態において、これは、被験体への投与の間に、還元型の活性薬剤、例えば、カルコゲニドの少なくとも 95 %、少なくとも 96 %、少なくとも 97 %、少なくとも 98 %、または少なくとも 99 % を還元型に維持するように構成される。ある実施形態において、液体連通部材は、リザーバーと液体連通されている。他の実施形態において、これは、リザーバーと液体連通するように配置できる。

40

【0152】

ある実施形態において、リザーバーは酸素不透過性であり、および / またはこれは酸素不透過性ポリマーから形成される。ある実施形態において、リザーバーは、例えば、その内部表面に酸素不透過性層を含み、これには以下が含まれ得る：ポリエチレン (LDPE) 、ポリスチレン (PS) 、ポリエチレン (PE) 、ポリカーボネート (PC) 、ポリ酢酸ビニル (PVAc) 、APET、ポリ塩化ビニル (PVC) 、ナイロン 6 (Ny6) 、ポリフッ化ビニル (PVF) 、ポリ塩化ビニリデン (PVdC) 、ポリアセトニトリル (PAN) 、エチレンビニルアルコール (EVOH) 、またはポリビニルアルコール (PVA) 。ある実施形態において、前記ポリマーの酸素透過係数は、 $10^{-10} [cm^3(S$

50

$T P) / cm / (cm^2 + s + Pa)$] 未満である。関連する実施形態において、これは、 $10^{-9} [cm^3 (STP) / cm / (cm^2 + s + Pa)]$ 未満、 $10^{-8} [cm^3 (STP) / cm / (cm^2 + s + Pa)]$ 未満、または $10^{-7} [cm^3 (STP) / cm / (cm^2 + s + Pa)]$ 未満である。関連する実施形態において、リザーバーは酸素不透過性ポリマーの複数の層を含む。

【0153】

特定の実施形態において、リザーバーは再密封可能なポートを含む。再密封可能なポートは、本発明の安定な組成物などの治療剤を含む溶液をリザーバーに導入するために使用され得る。再密封可能なポートは、液体連通部材に連結するために使用され得る。特定の実施形態において、リザーバーは複数の再密封可能なポートを含む。ある実施形態において、リザーバーは、ボトル、バッグ、チューブ、バイアル、またはシリンジである。特定の実施形態において、これは、静脈内バッグ(i.v.バッグ)またはシリンジである。特定の実施形態において、これはチューブ部材であり、このチューブ部材は、該チューブ部材を気密に封止するように構成されたセプタムを有する。1つの実施形態において、このチューブ部材は Hungate チューブである。

10

【0154】

特定の実施形態において、液体連通部材は、再密封可能なポートを通してリザーバーに液体連結されるように構成される。関連する実施形態において、液体連通部材は、治療剤、例えば、本発明の安定な組成物を、リザーバーから治療剤を、それを必要とする被験体に静脈内送達するように構成される。ある実施形態において、液体連通部材は、針およびカニューレの少なくとも1つを含む。

20

【0155】

ある実施形態において、液体連通部材を含むデバイスは、酸素減少環境または酸素を含まない環境に配置される。特定の実施形態において、酸素減少環境または酸素を含まない環境は容器の中であり、任意に、前記容器は、例えば、バッグを通してデバイスの構成要素の操作を可能にする、例えば、最初は連結されてない実施形態においてリザーバーへの液体連通部材を連結する、バッグまたは可鍛性容器である。特定の実施形態において、この容器は、上記に記載されたもののいずれかを含む、1種または1種より多くの酸素不透過性ポリマーを含む。特定の実施形態において、この容器の壁は、1種または1種より多くの酸素不透過性ポリマーの複数の層を含む。

30

【0156】

特定の実施形態において、デバイスは、リザーバーの中に、還元型の活性薬剤、例えば、還元型のカルコゲニドを含む安定な組成物を含む。ある実施形態において、還元型のカルコゲニドは、 H_2Se 、 Na_2Se 、または $NaHS$ e、または硫化性化合物である。

【0157】

特定の実施形態において、このデバイスは、還元型の活性薬剤、例えば、セレン化物または硫化物などの還元型のカルコゲニドの送達を可能にし、ここで、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、または少なくとも99%の治療剤が、還元型で被験体に送達される。

40

【0158】

本発明はさらに、本発明の安定な組成物を被験体に提供することによって、前記被験体において、傷害を軽減し、または疾患を処置するための方法を含み、ここで、前記安定な組成物は、本発明のデバイスを使用して前記哺乳動物に提供される。特定の実施形態において、傷害または疾患は、本明細書に記載されるもののいずれかであり、限定されないが、虚血または再灌流から生じる傷害が挙げられる。特定の実施形態において、傷害は心臓発作または脳卒中によって引き起こされる梗塞である。他の実施形態において、傷害は炎症によって引き起こされる。

関連して、本発明はまた、安定な治療組成物を還元型にてそれを必要とする患者に送達する方法を含み、この方法は、

治療組成物を還元型に維持するように構成されたリザーバーの中に治療組成物を含有さ

50

せる工程；

リザーバーと患者の間の液体連通を確立する工程；

実質的に酸素を含まない環境において、リザーバーから患者に所定量の治療組成物を送達する工程

を備える。

【0159】

特定の実施形態において、本発明のデバイスは、(1)本発明の安定な組成物を含む静脈内バッグ；および(2)チューブを備え、ここで、前記静脈内バッグは酸素不透過性であり、前記チューブは、チューブの第1末端において、静脈内バッグの中のポートを通して、静脈内バッグに連結されているか、または前記チューブは、チューブの第1末端において、静脈内バッグの中のポートを通して、静脈内バッグに連結が可能であり、前記チューブは、チューブの第2末端において、針またはカニューレに連結されているか、または前記チューブは、チューブの第2末端において、針またはカニューレに連結が可能であり、前記デバイスは、酸素減少環境または酸素を含まない環境を備えるバッグの中に含有される。特定の実施形態において、静脈内バッグおよび／またはバッグは、本明細書に記載される1種または1種より多くの酸素不透過性ポリマーを含む。特定の実施形態において、このバッグは柔軟性であり、例えば、デバイスがバッグの中で密封されたままで、ユーザーがチューブを静脈内バッグおよび／または針に連結することを可能にする。

10

【0160】

特定の実施形態において、本発明のデバイスは、(1)本発明の安定な組成物を含む静脈内バッグ；および(2)チューブを備え、ここで、前記静脈内バッグは酸素不透過性であり、前記チューブは、チューブの第1末端において、静脈内バッグの中のポートを通して、静脈内バッグに連結されているか、または前記チューブは、チューブの第1末端において、静脈内バッグの中のポートを通して、静脈内バッグに連結が可能であり、前記チューブは、チューブの第2末端において、針またはカニューレに連結されているか、または前記チューブは、チューブの第2末端において、針またはカニューレに連結が可能であり、前記デバイスは、酸素減少環境または酸素を含まない環境を備えるバッグの中に含有される。特定の実施形態において、静脈内バッグおよび／またはバッグは、本明細書に記載される1種または1種より多くの酸素不透過性ポリマーを含む。特定の実施形態において、このバッグは柔軟性であり、例えば、デバイスがバッグの中で密封されたままで、ユーザーがチューブを静脈内バッグおよび／または針に連結することを可能にし、そして、ユーザーが静脈内バッグに圧力をかけて、チューブを通して安定な組成物が針またはカニューレに向けてまたはその中へ流れ始めることを可能にする。

20

【0161】

特定の実施形態において、本発明のデバイスは、(1)本発明の安定な組成物を含むシリング；および(2)針またはカニューレを備え、ここで、前記シリングは酸素不透過性であり、前記針もしくはカニューレは、シリング中のポートを通してシリングに連結されるか、または前記針もしくはカニューレは、シリング中のポートを通してシリングに連結が可能であり、前記デバイスは、酸素減少環境または酸素を含まない環境を備えるバッグ中に含有される。特定の実施形態において、シリングおよび／またはバッグは、本明細書に記載される1種または1種より多くの酸素不透過性ポリマーを含む。特定の実施形態において、このバッグは柔軟性であり、例えば、デバイスがバッグの中で密封されたままで、ユーザーが針またはカニューレをシリングに連結することを可能にし、そして、ユーザーがシリングに圧力をかけて、安定な組成物が針またはカニューレの中へ流れ始めることを可能にする。

30

【0162】

特定の実施形態において、このデバイスは、治療有効量の治療剤すなわち安定な組成物を含む。

【実施例】

【0163】

40

50

(実施例 1)

(セレン化ナトリウムは心筋梗塞の転帰を改善する)

【 0 1 6 4 】

この実施例は、セレン化ナトリウム (N a H S e) が、任意の他の方法によって見られたものを超える程度まで、心臓発作のマウスモデルにおいて転帰を改善することを実証する。この結論の根拠は、梗塞サイズの低減、溶解した心筋細胞の血液マーカーの低減、組織学的測定、および心エコー検査によって判断されるような心臓機能の改善（例えば、駆出率および短縮率）を含む独立したいくつかの一連の証拠によるものである。これらの結果を以下に要約する。

(心臓発作モデル)

10

【 0 1 6 5 】

心筋梗塞モデルのために、左冠動脈下行枝の開胸結紮 (L A D 結紮) をマウスにおいて実施した。虚血の開始の 55 分後に、ビヒクルまたは試験薬剤のいずれかを各マウスの大脚静脈に注射した。心臓の筋肉を、虚血の開始の 60 分後に結紮を解放することによって再灌流した。次いで、マウスを、梗塞サイズ測定および血液分析または心臓機能アッセイのために、それぞれ、以下に記載されるように、再灌流の 2 時間後または 2 日後のいずれかで屠殺した。

(梗塞サイズ)

【 0 1 6 6 】

心筋梗塞サイズに対する N a H S e の効果を調べるために、マウスを L A D 結紮に供し、そして再灌流の 2 時間後に、梗塞サイズを形態計測によって測定した（図 1）。6 つのマウス群を本研究において利用し、これには、生理食塩水ビヒクル群、ならびに 50 、 200 、 800 、 1600 および 2400 $\mu\text{g} / \text{kg}$ の N a H S e を受けた 5 つの試験群が含まれた。本研究におけるすべての動物を同様の方法で処置したことを確認するために、左心室の割合としてのリスク面積 (A A R) を決定した（図 1、左のパネル）。

20

【 0 1 6 7 】

リスク面積および梗塞サイズ (I n f) を、特異的色素 T T C およびエバンスブルーを使用して測定した。この染色の結果の例を図 2 に示す。加工した画像を、偏らない方法で、一定の閾値を設定し、 P h o t o s h o p (登録商標) によって加工した画像を生成し得ることによって生成し、定量して図 1 を得た。

30

【 0 1 6 8 】

これらの結果は、 50 から 2,400 $\mu\text{g} / \text{kg}$ の間の N a H S e の増加濃度を受けた 5 つすべての試験群に対して生理食塩水群を比較したときに、統計学的に有意な用量依存的な梗塞サイズの減少があったことを示す（図 1、中央のパネル）。本研究において、最適用量は、ビヒクル単独と比較して、梗塞サイズの 88 % 低減を生じた、 800 $\mu\text{g} / \text{kg}$ であるようであった。

(血液分析)

【 0 1 6 9 】

改善のための試験の独立した手段を提供するために、心臓特異的タンパク質、すなわち心臓トロポニン I のレベルを、 2 時間の再灌流期間後に動物の血液中で評価した。再灌流の 5 分前に、 3 つの群のマウスに、 200 $\mu\text{g} / \text{kg}$ N a H S e 、 50 $\mu\text{g} / \text{kg}$ N a H S e 、または生理食塩水を、大脚静脈を通して静脈内注射した。 2 時間の再灌流の最後に、血液を採取し、血漿心臓トロポニン I を E L I S A で測定した。 50 $\mu\text{g} / \text{kg}$ および 200 $\mu\text{g} / \text{kg}$ 試験群は、生理食塩水対照と比較して、統計学的に有意な心臓トロポニン I の減少を示し、これは、 N a H S e 投与によって心臓損傷が減少することを示す（図 3）。セレン化物処置は、心筋梗塞心臓において、血漿心臓トロポニン I のレベルを有意に低減させた。

40

(心臓機能)

【 0 1 7 0 】

N a H S e が心筋梗塞後の転帰を改善するという仮説をさらに調べるために、マウスを

50

、心臓発作手順後2日間生存させ、次いで、心エコー検査に供した。この技術を使用して、 $800\mu\text{g}/\text{kg}$ のNaHSeの投与によって、短縮率と左心室駆出率の両方で統計学的に有意な改善を生じたことが示された（図4）。

【0171】

心臓発作手順後の動物の心臓において、NaHSeが炎症を減少させたか否かを決定するために、生理食塩水およびNaHSeで処置した動物の心臓の切片において、好中球を計数した。これらの結果は、NaHSe投与により、心臓発作後の心筋中の好中球の蓄積が有意に低減したことを示した（図5）。

（セレン化ナトリウムと比較した亜セレン酸ナトリウム）

【0172】

セレンは、過酸化水素の分解に重要な特異的タンパク質の合成に必要とされる。過酸化水素が救命救急診療患者の細胞中で損傷を引き起こすと広く考えられているので、医師は、臨床転帰を改善するために患者にセレンを投与することに興味を持っていた。本明細書に記載される本発明者らの研究の前には、セレノタンパク質合成のための基質を作製することは可能ではなく、セレン化物、および亜セレン酸塩が結果として使用されてきた。亜セレン酸塩を使用する21例の救命救急診療疾患トライアルが存在したが、これらのすべてが失敗した（trials.gov）。したがって、現在のモデルにおける亜セレン酸ナトリウムをセレン化ナトリウムと比較することが所望であった。3つの群のマウスに、心臓発作モデルの再灌流において、生理食塩水ビヒクル、 $800\mu\text{g}/\text{kg}$ NaHSe、または $800\mu\text{g}/\text{kg}$ 亜セレン酸ナトリウムを与えた。結果は、亜セレン酸ナトリウムが利点を提供しなかったことを示す（図6）。

10

（心臓発作後のセレンレベル）

【0173】

他の研究者らによる何十年もの研究により、敗血症、熱傷、肝不全、心停止、心臓バイパス手術、および慢性心不全を含む多くの様々な疾患を経験した患者、ならびにあらゆる原因のために集中治療室に入れられた患者の血液中で、セレンレベルが減少していることが示される。このため、心臓および血液中のセレンレベルが、梗塞のサイズによって変化し得るという仮説を調べた。心臓発作の5日前に、より微量の放射性セレンを静脈内で与えた動物を使用して、心臓（heat）発作モデルを実施した。梗塞サイズの増加に伴って心臓においてセレンレベルが増加したこと、および梗塞サイズの増加に伴って血液中のセレンレベルが減少したことが分かった（図7）。これらの結果は、マウスモデルにおける心臓発作の間に、セレンが血液から心臓に移動していることを示唆した。

20

【0174】

手順の間、いつセレンが心臓の中に蓄積したかを理解するために、上記のように放射性セレンで標識された動物から、虚血期間直後または再灌流期間直後のいずれかで心臓を採取した。3つの群のマウス（ネイティブ、60分間の虚血で再灌流なし、および60分間の虚血で2時間の再灌流）からの心臓組織中の放射性セレンの相対測定を行った。心臓発作手順を受けた動物の心臓において、放射性セレンの再灌流依存的な蓄積が存在したことが分かった（図8）。さらなる分析の際に、損傷を受けていない組織と比較して、梗塞組織において、セレンが消失していたことが分かった（図9）。

30

（セレノタンパク質の合成）

【0175】

セレンの唯一の機能は、セレノタンパク質の合成のための基質であることである。セレノタンパク質の合成に必要とされるセレンの化学形態はセレン化物である。グルタチオンペルオキシダーゼなどのいくつかのセレノタンパク質は、過酸化水素を分解し、過酸化水素は心臓発作における組織損傷の原因であると考えられている。

40

【0176】

したがって、セレン化ナトリウムの治療的価値が、グルタチオンペルオキシダーゼなどのセレノタンパク質の合成のための、再灌流の間の心筋細胞におけるその蓄積であるという仮説を調べた。生理食塩水で処置されたか、またはNaHSe（ $800\mu\text{g}/\text{kg}$ ）で

50

処置された動物からの心臓切片を、セレノタンパク質、すなわちグルタチオンペルオキシダーゼ 2 (G P X - 2) に特異的な抗体で染色した。生理食塩水および偽（心臓発作なし）動物からの切片と比較したとき、N a H S e を投与した動物から得られた切片中ではこの抗体での染色が顕著に増加していた（図 10）。これらの結果より、セレン化ナトリウムからの利点が、セレノタンパク質の発現を増強することを通して付与されたことが示唆される。

（実施例 2）

（グルタチオンはセレン化物を安定化する）

【 0 1 7 7 】

グルタチオンがセレン化物の酸化を防ぐことを実証するために、50 mM セレン化物の溶液を、水または150 mM G S H のいずれかにて調製し、調製直後の8分間観察した。図9において、酸化型のセレン化物は溶液中で暗く見え、グルタチオン中のサンプルは、各時点において、酸化のレベルの低減を明確に示す。

【 0 1 7 8 】

本明細書中に引用され、および／または出願データシートにおいて列挙された、すべての上記米国特許、米国特許出願公開、米国特許出願、外国特許、外国特許出願、および非特許刊行物は、それらの全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【 0 1 7 9 】

前述から、本発明のある特定の実施形態が例示の目的で本明細書に記載されてきたが、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、種々の変更が行われ得ることを理解されたい。

【 図 1 】

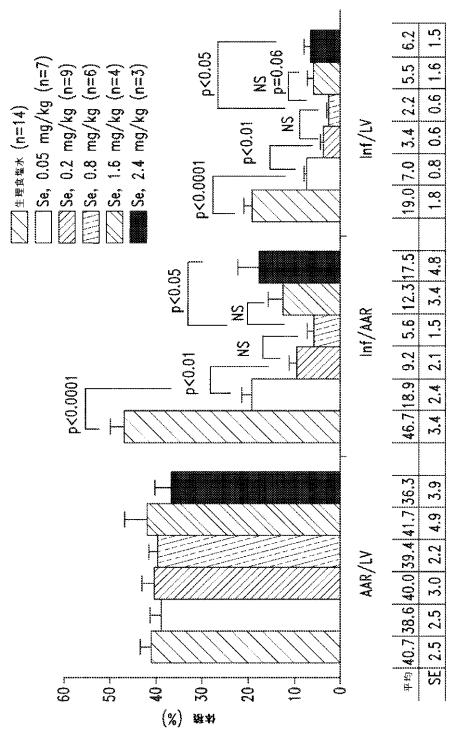


FIG. 1

【 図 3 】

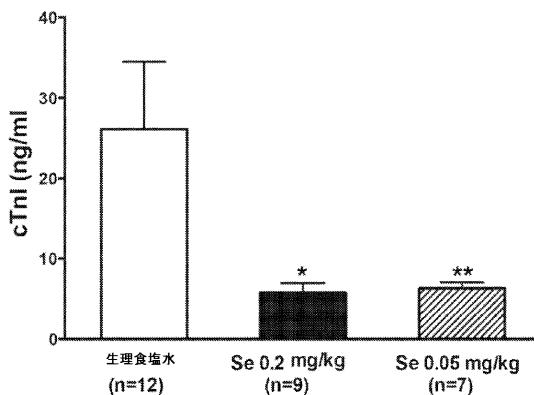


FIG. 3

10

20

【図4】

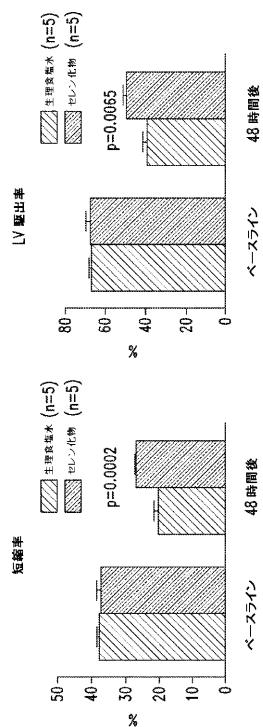


FIG. 4A

FIG. 4B

【図6】

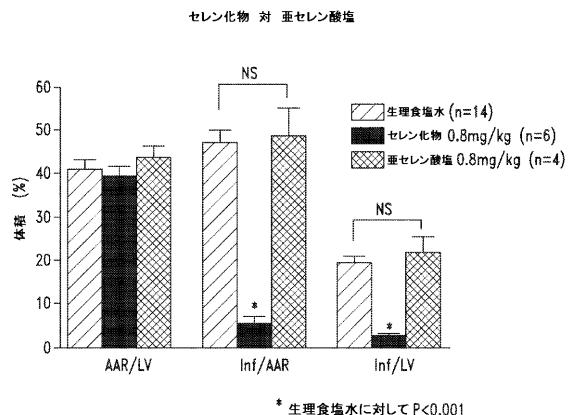


FIG. 6

【図7】

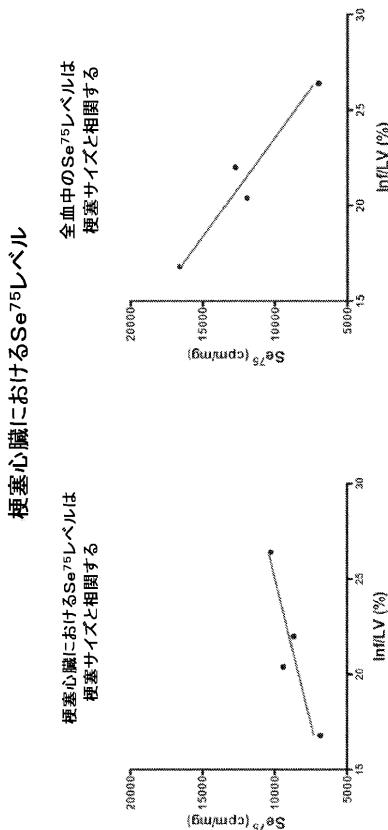


FIG. 7B

FIG. 7A

【図8】

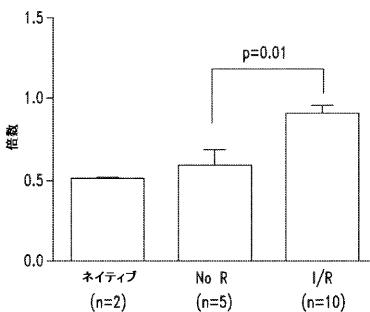


FIG. 8

【図2】

生理食塩水

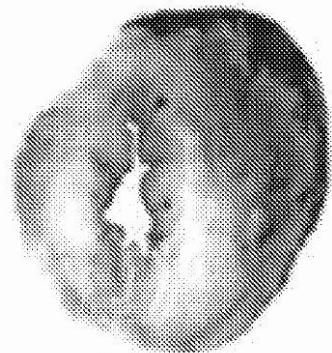


FIG. 2A

セレン化物 0.8mg/kg

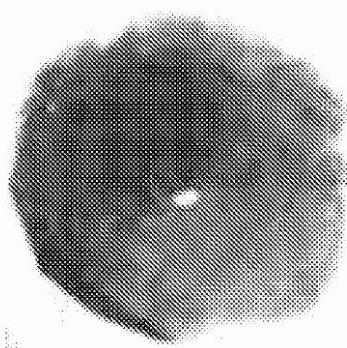


FIG. 2B

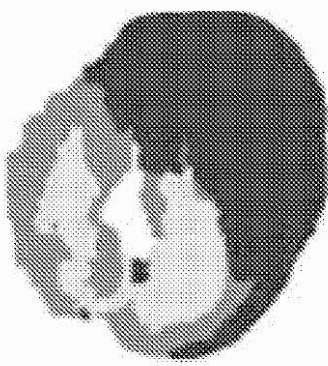


FIG. 2C

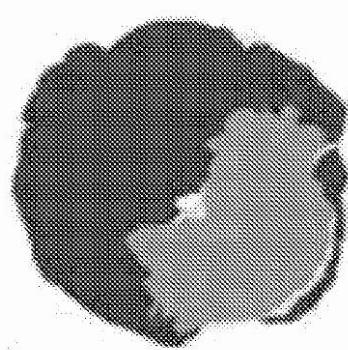


FIG. 2D

【図5】

生理食塩水 セレン化物

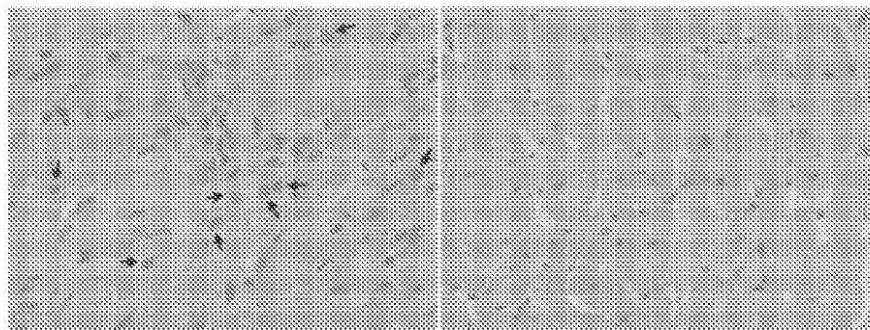


FIG. 5A

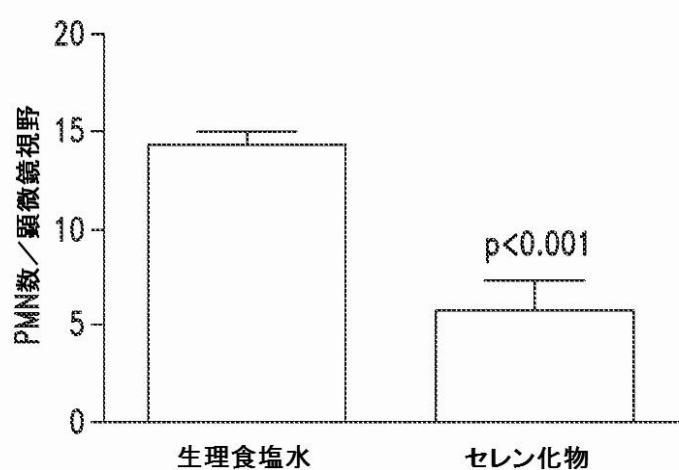


FIG. 5B

【図9】

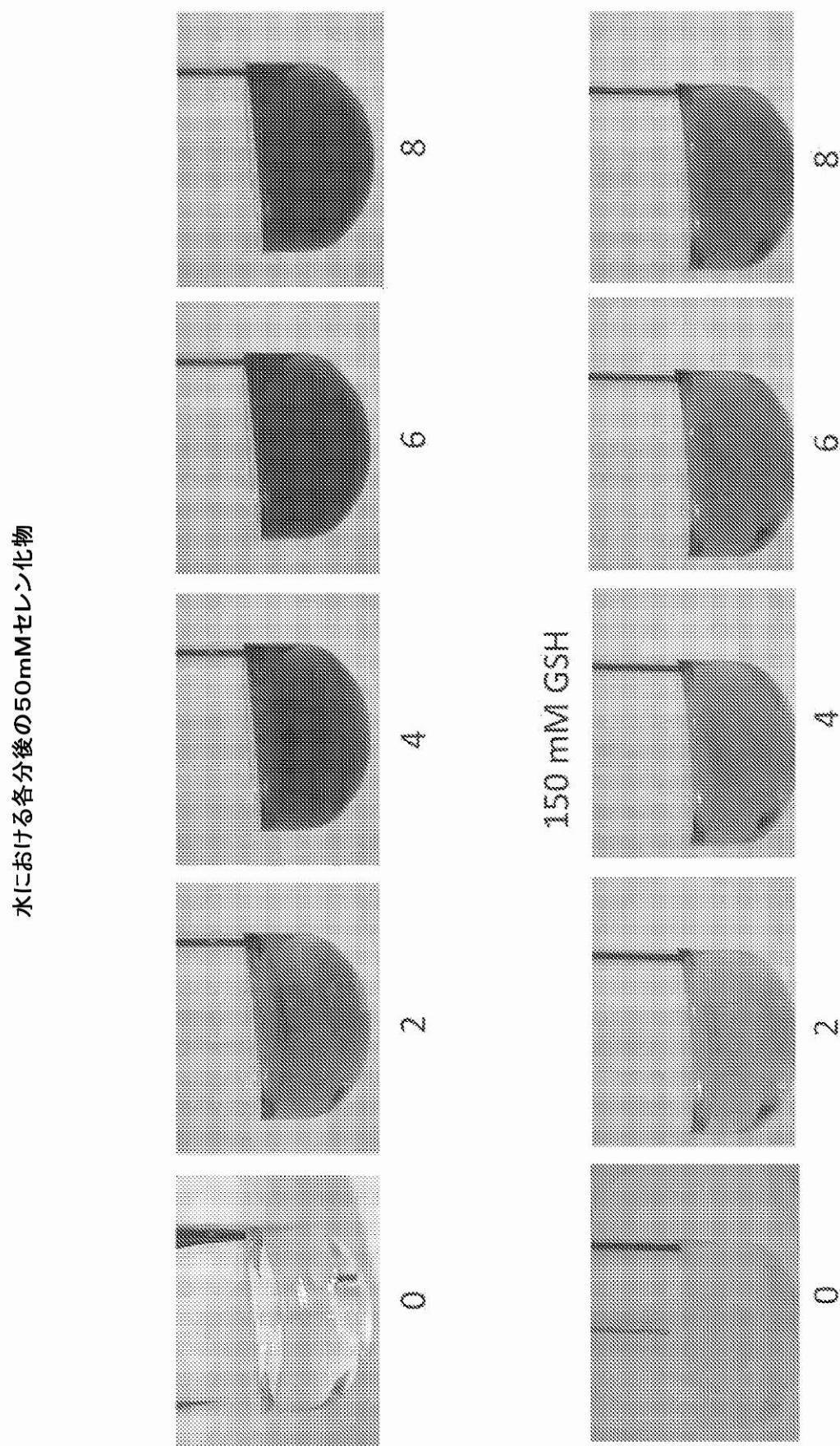


FIG. 9

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US13/45395
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - C12N 5/00; A61K 33/06 (2013.01) USPC - 424/682, 702 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC(8): C12N 5/00; A61K 33/06, 33/04; A61P 39/00 (2013.01) USPC: 424/682, 702, 708, 703; 435/375		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) MicroPatent (US-G, US-A, EP-A, EP-B, WO, JP-bib, DE-C,B, DE-A, DE-T, DE-U, GB-A, FR-A); DialogPRO; Google Scholar; Google; IP.com; chalcogen*, chalcogenide*, composition*, formula*, pharmaceu*, drug*, medic*, treat*, prescrp*, sulfur*, selenium*, reducing*, agent*, sodium* hydride*, sodium* borohydride*, stab*, quench*, solvent*, liquid*, aqueous*, boil*		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2008/0187604 A1 (TOMASELLI, KJ et al.) 07 August 2008; abstract; paragraphs [0045], [0081], [0083], [0085], [0088], [0091], [0140]-[0141], [0115], [0141], [0278], [0287]	39-40, 41/39-40, 47-48, 98 --- 1-3, 4/1-3, 49-50, 51/49-50
Y	WO 2000/029605 A1 (BUISMAN, C et al.) 25 May 2000; abstract; page 7, lines 14-22; claim 1	1-3, 4/1-3, 35-36, 37/35-36, 38/35-36
Y	US 2008/0226750 A1 (ROTH, MB et al.) 18 September 2008; abstract; paragraphs [0434], [0441], [0450]	35-36, 37/35-36, 38/35-36
Y	US 2009/0291917 A1 (AKAMA, T et al.) 28 November 2009; abstract; paragraphs [0280], [0302], [1212]	35-36, 37/35-36, 38/35-36
Y	US 2005/0147778 A1 (TAI, S et al.) 07 July 2005; abstract; table 3; paragraphs [0197], [0524], [0601]-[0602]	49-50, 51/49-50
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 11 November 2013 (11.11.2013)	Date of mailing of the international search report 22 NOV 2013	
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Shane Thomas PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US13/45395

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.: because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.: 5-34, 42-46, 52-97, 99-101 because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 M 5/14 (2006.01)	A 6 1 J 1/00	3 1 3
A 6 1 M 5/178 (2006.01)	A 6 1 J 1/00	3 3 5
C 0 1 B 19/00 (2006.01)	A 6 1 M 5/14	
	A 6 1 M 5/178	
	C 0 1 B 19/00	Z

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,R,S,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,H,R,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 ロス, マーク ビー.

アメリカ合衆国 ワシントン 98103, シアトル, ノース ボウドイン プレイス 50
8

(72)発明者 モリソン,マイケル エル.

アメリカ合衆国 ワシントン 98199, シアトル, 31エスティー アベニュー ウエスト
3239

(72)発明者 イワタ, アキコ

アメリカ合衆国 ワシントン 98115, シアトル, 37ティーエイチ アベニュー ノー
スイースト 6825

F ターム(参考) 4C047 AA05 AA11 AA21 AA27 BB13 BB14 BB18 BB22 BB23 BB24
BB25 BB26 BB28 CC04 GG04
4C066 BB01 CC01 EE06 FF04 FF05 GG07
4C076 AA11 BB13 CC11 FF12 FF68
4C086 AA01 HA08 MA02 MA05 MA17 MA66 NA10 ZA36