

(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2006-527232

(P2006-527232A)

(43) 公表日 平成18年11月30日(2006.11.30)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 6
A 6 1 K 38/46 (2006.01)	A 6 1 K 37/54	4 C 2 0 6
A 6 1 K 31/704 (2006.01)	A 6 1 K 31/704	
A 6 1 K 38/55 (2006.01)	A 6 1 K 37/64	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 15 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2006-515900 (P2006-515900)	(71) 出願人	504412990
(86) (22) 出願日	平成16年6月11日 (2004.6.11)		メディカル エンザイムズ アクチエンゲ
(85) 翻訳文提出日	平成18年1月12日 (2006.1.12)		ゼルシャフト
(86) 国際出願番号	PCT/EP2004/006320		Medical Enzymes AG
(87) 国際公開番号	W02004/108153		ドイツ連邦共和国 ベルリン アンナール
(87) 国際公開日	平成16年12月16日 (2004.12.16)		イーゼーカルシューシュトラーセ 7
(31) 優先権主張番号	10326821.9		Anna-Louisa-Karsch-
(32) 優先日	平成15年6月11日 (2003.6.11)		Str. 7, D-10178 Berli
(33) 優先権主張国	ドイツ(DE)		n, Germany
		(74) 代理人	100061815
			弁理士 矢野 敏雄
		(74) 代理人	100094798
			弁理士 山崎 利臣
		(74) 代理人	100099483
			弁理士 久野 琢也

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 グルタミナーゼ及び抗新生物性のアントラサイクリン類又は白金化合物を含有する癌治療のための薬剤学的な組合せ製剤

(57) 【要約】

本発明は、腫瘍細胞の異常な成長を阻害する薬剤学的な組合せ製剤に関する。これらの組合せ製剤は、作用物質としてグルタミナーゼ - 活性を有する化合物を特定の抗新生物薬との組合せで含んでいる。特に本発明はグルタミナーゼ - 活性を有する化合物と細胞増殖抑制に有効な化合物との組合せ製剤に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

作用物質として、

a) グルタミナーゼ - 活性を有する少なくとも 1 つの化合物及び

b) 白金 - 錯体及びアントラサイクリン類から選択される、少なくとも 1 つの抗新生物薬を含んでいる、癌治療のための薬剤学的な組合せ製剤。

【請求項 2】

グルタミナーゼ - 活性を有する化合物がグルタミナーゼ、グルタミナーゼアスパラギナーゼ、グルタミナーゼ - 類似体、これらの誘導体又は変異体であり、かつ天然由来であるか又は合成的に製造されたものである、請求項 1 記載の製剤。

10

【請求項 3】

シュードモナス (Pseudomonas) 由来のグルタミナーゼ - 活性を有する化合物が、好ましくはシュードモナス (Pseudomonas) 7 A グルタミナーゼ - アスパラギナーゼである、請求項 2 記載の製剤。

【請求項 4】

グルタミナーゼ - 活性を有する化合物が、好ましくはポリエチレングリコールで、修飾されている、請求項 1 から 3 までのいずれか 1 項記載の製剤。

【請求項 5】

ドキシソルピシン、ダウノマイシン、アクチノマイシン D 又は / 及びミトザントロンを含んでいる、請求項 1 から 4 までのいずれか 1 項記載の製剤。

20

【請求項 6】

シスプラチン、オキサリプラチン又は / 及びカルボプラチンを含んでいる、請求項 1 から 5 までのいずれか 1 項記載の製剤。

【請求項 7】

作用物質を、場合により薬剤学的に常用の担持剤又は助剤と一緒に、混合し、経口又は非経口の適用形に加工する、請求項 1 から 6 までのいずれか 1 項記載の薬剤学的製剤の製造方法。

【請求項 8】

抗新生物療法のための薬剤を製造するための、グルタミナーゼ - 活性を有する特に 1 つの化合物並びに白金 - 錯体及びアントラサイクリン類から選択される少なくとも 1 つの抗新生物薬の使用。

30

【請求項 9】

グルタミナーゼ - 活性を有する少なくとも 1 つの化合物及び白金 - 錯体又はアントラサイクリン類から選択される少なくとも 1 つの抗新生物薬を、1 : 10 ないし 1 : 1000 と 10 : 1 ないし 1000 : 1 との間のモル比で適用し、その際に一日の投与すべき用量は単独成分当たり 0.005 ~ 100 mg / kg 体重であることを特徴とする、癌及び異常な細胞増殖と関係している他の病気の処置方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、腫瘍細胞の異常な成長を阻害する薬剤学的な組合せ製剤に関する。これらの組合せ製剤は、作用物質としてグルタミナーゼ - 活性を有する化合物を、特定の抗新生物薬との組合せで含んでいる。特に、本発明はグルタミナーゼ - 活性を有する化合物と細胞増殖抑制に有効な化合物との組合せ製剤に関する。

40

【0002】

上位概念である癌には、細胞が制御されずに成長し、細胞分化を欠き、かつ隣接した組織に侵入し、並びに転移が形成されることにより特徴付けられる、多数の多様な生命にかかわる (悪性の) 疾患が包摂されている。ほぼあらゆる組織がそのような悪性疾患の発生源でありうる。

【0003】

50

抗新生物性の作用物質を用いる今日の標準 - 癌治療法は、進歩した展開にもかかわらず、患者にとってかなりの欠点及びリスクをはらんでいる。それらの非特異的な抗増殖効果及び高い用量決定に基づいて、これらの抗新生物薬により腫瘍細胞だけでなく、健康な、速やかに成長する細胞、例えば粘膜、造血系（骨髄）の細胞及び毛嚢も傷つけられる。故に抗新生物薬での処置はたいいてい、患者の一般的な健康な状態を損ね（急性副作用）、健康な組織の不可逆的な傷害をまねき、かつ二次腫瘍のリスクを高める強い副作用と結びついている。さらに腫瘍は作用物質に対して耐性を形成しうるので、このことは患者への繰り返し適用の際に作用損失をまねく。

【0004】

より良好な有効性を達成するため及び耐性形成を回避するために、しばしば複数の作用物質が組み合わされ、かつ同時に治療法に使用される（多剤併用療法、Polychemotherapy）。この戦略にもかかわらず、前記の問題はこれまで満足のいくように解決されていない。故に経済的かつ医学的な見地から、癌撲滅のための新規でかつ穏やかな治療法を見出すことがすぐにも必要である。

【0005】

そのような悪性疾患の治療法のための可能なアプローチは、血液循環中のグルタミン - 濃度の減少である。グルタミンは、血液循環中で最も頻度の高いアミノ酸であり、かつ窒素源及びエネルギー源として並びに多くの細胞固有の合成のための基本成分として大きな役割を果たす。特に腫瘍細胞は、それらの激しい成長に基づいて血液循環からのグルタミンに依存している。

【0006】

1980年代には、腫瘍から必要とされるグルタミンを奪い取る、グルタミンを脱離させる酵素又は反応性グルタミン類似体を癌治療法のために使用するという多数のアプローチが追求されていた。Roberts他は、シュードモナス(Pseudomonas) 7 A グルタミナーゼ - アスパラギナーゼが、腹水 - 腫瘍及び特定の充実性腫瘍に対して、げっ歯類の場合に多数の白血病 - 疾患に対する抗新生物活性を有することを示した（DE 41 40 003 A1及びW0 94 /13817 A1）。付加的に、無胸腺マウスを用いる動物実験において、グルタミン - 類似体（例えば6 - ジアゾ - 5 - オキソ - L - ノルロイシン（DON））及びグルタミナーゼの組合せが、ヒトの結腸癌、乳癌及び肺癌に強い阻害作用を有することが突きとめられた（McGregor, W & Roberts, J (1989): Proc. Amer. Assoc. Cancer Res. 30, 578)。さらに、グルタミナーゼでの処置がメトトレキセートに対する耐性形成を遅くすることが示されていた（Roberts, J., Schmid, F.A. & Rosenfeld, H.J. (1979): Cancer Treat. Rep.63: 1045-1054）。

【0007】

しかしながら、初めは極めて期待の持てた動物実験は商品化可能な医薬を依然としてもたらさなかった、それというのも、グルタミナーゼ又はグルタミン類似体（例えばDON、アシビシン(Acivicin)）を用いる全ての治療法のアプローチは、まず最初に強すぎる有毒な副作用のために中断されなければならなかったからである（Medina MA (2001), Glutamin and cancer, The Journal of Nutrition, 131 (9)巻: 2539S-42S）。グルタミン - 枯渴 - 治療法の理想的な作用原理にもかかわらず、故に、グルタミナーゼ - 活性を有するタンパク質をベースとする治療法は成果をおさめることができなかった。

【0008】

しかしながら今日まで癌疾患は、不十分にのみ処置されることができに過ぎなかったので、グルタミン - 枯渴 - 治療法の極めて期待の持てるアプローチが今後利用されることができるよう手段を見出すことは医学的かつ経済的に最も重要であろう。

【0009】

故に、毒性及び抗体形成を引き起こさないかもしくは僅かに引き起こす濃度で使用されることができ、抗新生物薬の作用を上昇させ、かつ製剤を提供するという課題が本発明の基礎となっていた。

【0010】

10

20

30

40

50

意外にも、この課題を解決するために、グルタミナーゼ - 活性を有する化合物との組合せでの、それ自体として公知の特定の抗新生物薬が適していることが見出された。前記の組合せは、分裂している細胞に相乗的に、直接に又は間接に有毒作用を有し、それゆえ抗新生物療法に使用されることができる。グルタミナーゼ - 活性を有する成分は、抗新生物薬の必要な用量を低下させ、かつ副作用並びに一連の遅発反応(Spaetfolgen)を減少させる増強剤(Verstaerker)として利用される。抗新生物薬として、白金 - 錯体、特にシス - プラチン、オキサリプラチン(Oxaliplatin)、カルボプラチン又はそれらの誘導体又はアントラサイクリン類、特にドキシソルピシン又はダウノマイシン又はそれらの誘導体を使用される。

【 0 0 1 1 】

10

特に本発明はグルタミナーゼ - 活性を有する化合物及び細胞増殖抑制に有効な化合物の組合せ製剤に関する。細胞増殖抑止剤は抗新生物療法において既に長い間、定評があり、かつ広く行き渡った処置原理である。これらは、抑制されない成長挙動を有する悪性細胞を破壊するために使用される。正常で健康な細胞はできるだけあまり傷つけられるべきではない。

【 0 0 1 2 】

意外なことに、抗新生物薬との組合せでのグルタミナーゼ活性を有する化合物が、相乗作用を及ぼすことが見出された。こうして、本発明により使用される細胞増殖抑止剤の適用の場合に、抗増殖性又は抗腫瘍性の効果の増強が生じることが確認された。

【 0 0 1 3 】

20

本発明の範囲内で、グルタミナーゼ - 活性を有する化合物は、天然に存在するか又は合成的に製造され、かつグルタミン産生を阻害する、タンパク質もしくは酵素であるグルタミナーゼ；グルタミナーゼ - アスパラギナーゼ；グルタミナーゼ - 類似体；誘導体及び変異体(Modifizierungen)であると理解される。一実施変法において、化合物は修飾されていてよい又は保護物質を有してよい。好ましくはポリエチレングリコール修飾された化合物が使用される。特に好ましくは遺伝子工学的に製造されるグルタミナーゼ又はノ及びシュードモナス(Pseudomonas) - グルタミナーゼが使用される。本発明により好ましくは使用可能なグルタミナーゼはW0 94/13817に記載されている。

【 0 0 1 4 】

抗新生物薬は、微生物、寄生生物又は腫瘍細胞を傷つけるため又は破壊するために適しており、かつそのために使用される物質であると理解される。その際に、特に次の群からの細胞増殖抑止剤もしくはそれらの誘導体を挙げることができる：

30

1 . アルキル化しかつ架橋する(quervernetzende)化合物：これらはDNAを不可逆的に傷つける；これにはナイトロジェンマスタード(Stickstofflost) - 誘導体、例えばシクロホスファミド、イホスファミド、N - ニトロソ - 化合物、例えばカルムスチン、エチレンイミン - (アジリジン)誘導体、例えばチオテパ、メタンスルホン酸エステル、例えばブスルファン、白金 - 錯体、例えばシスプラチン、オキサリプラチン又はカルボプラチン、さらにプロカルバジン、メルファラン等が属する。

【 0 0 1 5 】

2 . 代謝拮抗物質：これらは、天然の物質代謝構成成分を抑圧する；例えば葉酸 - アンタゴニスト、例えばメトトレキセート、ヌクレオシド - 類似体、例えばメルカプトプリン、フルオロウラシル等。

40

【 0 0 1 6 】

3 . 有糸分裂阻害剤：これらは核紡錘体の合成又は分解を阻害する、特にビンカ - アルカロイド(例えばビンクリスチン、ビンブラスチン)及びタキサン(Taxane)(例えばパクリタクセル)。

【 0 0 1 7 】

4 . 細胞増殖抑制性の抗生物質：アントラサイクリン類(例えばダウノルピシン、ドキシソルピシン)、プレオマイシン及びマイトマイシンは、とりわけDNAへのインターカレーション及びトポイソメラーゼ(例えばエトポシド)の阻害により細胞を傷つける並びに

50

アクチノマイシン類、例えばアクチノマイシンD及びミトザントロン。

【0018】

5. ホルモン及びホルモン-アンタゴニスト：これらは、成長がホルモンに依存している腫瘍の場合に使用される；ここにはアロマターゼ-阻害剤、例えばホルメスタン(Formestane)を含めた(抗-)エストロゲン(例えばタモキシフェン)、ゲスターゲン及び抗男性ホルモン、例えばフルタミド(Flutamid)が属する。

【0019】

原則的に、挙げられたこれら全ての化合物が、グルタミナーゼ-活性を有する化合物と一緒に組合せ製剤の製造に使用されることができる。

【0020】

本発明の対象は、前記の組合せ製剤に加え、癌及び異常な細胞増殖と関係している他の病気を処置するための、グルタミナーゼ-活性を有する化合物と一緒に抗新生物薬の使用である。

【0021】

特に、そのような作用物質の組合せは、グルタミナーゼアスパラギナーゼ、好ましくはシュードモナス7Aグルタミナーゼ-アスパラギナーゼ、及び前記の群からの1つ又はそれ以上の抗新生物薬からなる。

【0022】

本発明の組合せは、従来の抗新生物薬の抗腫瘍作用がグルタミナーゼ-活性を有する化合物との組合せにより著しく増強され、かつタンパク質作用物質自体が有毒な作用を引き起こさない濃度で使用されることができることにより特徴付けられる。

【0023】

本発明によれば、癌治療のための組合せ製剤が使用されることができる。特に、グルタミナーゼ-活性を有する化合物及び相乗的に腫瘍細胞成長を阻害する抗新生物薬の治療学的以下の(subtherapeutische)用量が使用されることができる。このことは、作用物質の組合せが、この作用物質クラスの作用物質がその都度単独の場合よりも、本質的により大きな抗新生物活性を有することを意味する。

【0024】

組合せに適している抗新生物性の作用物質には、本発明によれば、白金-錯体、特にシス-プラチン、オキサリプラチン、カルボプラチン又はそれらの誘導体、並びにアントラサイクリン類、例えばアクチノマイシンD、ミトザントロン、及びDNA-インターカレート剤であるドキシルピシン、ダウノマイシン(ダウノルピシン)が属する。組合せに採用されることができる別の抗新生物性の作用物質は、DNA-アルキル化作用物質であるシクロホスファミド、イホスファミド、メルファラン；代謝拮抗物質であるメトトレキサート、5-フルオロウラシル；紡錘体毒又は微小管毒であるピンクリスチン、ピンブラスチン、パクリタクセル；トポイソメラーゼ阻害剤であるエトポシド；抗生物質であるアクチノマイシンD、マイトマイシン、ミトザントロン；ホルモンであるタモキシフェン及びフルタミドを含む。

【0025】

本発明の薬剤学的製剤を用いる組合せ療法の実用は、単一物質の抗腫瘍有効性の相乗的な増強の利点を提供する。それにより、さらに、単一物質を組合せた際に抗腫瘍有効性を同時に維持しながら、単一物質の用量、ひいては毒性の減少の可能性がもたらされる。前記の単独療法原理の組合せ療法はさらに、細胞増殖抑制剤-耐性の克服の可能性を提供し、その際に物質群耐性並びに多剤耐性(多面的な細胞増殖抑制剤耐性)が考慮の対象となる。

【0026】

理論と結びついている訳ではないが、本発明により観察された相乗効果は次の作用機序に基づくと推測される。アルキル化する細胞増殖抑制剤、例えば白金製剤は、特に細胞分裂の間に癌細胞に作用を及ぼす。グルタミナーゼを用いてグルタミンを奪取することによる並びにグルタミナーゼによりDNA-合成の際にグルタミンを欠乏させることによるエ

10

20

30

40

50

エネルギー貧窮を通じて、細胞分裂時間の延長、ひいてはアルキル化する物質のために癌細胞の易損期の延長となる。公知であるように（例えば組織培養検査から）、癌細胞は培地中でグルタミンの特定の濃度以上ではじめて増加する。さらに、フローサイトメトリーを用いて、急性骨髄性白血病に特に早朝の時間に細胞増殖抑制療法が効果をおさめることが確認された。付加的に、癌細胞には細胞内で並びに重要な抗酸化剤の外側でのグルタミン奪取により欠乏しており、このことはさらに細胞増殖抑止剤による易損性に貢献する。

【0027】

組合せ療法の適用の場合に、作用物質をいわゆる固定の組合せで、すなわち双方の作用物質が含まれている単一の薬剤学的製剤で投与すること、又は作用物質が別個の薬剤学的製剤の形で同時に又はしかしまた順次に適用されることができるといわれる自由な組合せを選択することが可能である。

10

【0028】

作用物質が固体である場合には、作用物質は常法により、例えば双方の作用物質が互いに混合され、かつ常用の担持剤又は助剤と一緒に例えば錠剤へプレスされることによって、固体の医薬製剤に加工されることができるといわれる。しかしまた、作用物質を互いに別個にすぐに販売できる(verkaufsfertigen)パッケージユニットで提供することも可能であり、その際にパッケージユニットは双方の作用物質を別個の薬剤学的製剤で有する。

【0029】

作用物質が注射溶液の形で提供される場合には、これらは考慮の対象となる作用物質の組合せを既に完成したすぐ注射できる溶解された形で含有してよい。しかしまた原則的には、考慮の対象となる各々の作用物質の非経口製剤ごとにパッケージユニットで提供することも可能であるので、注射溶液は場合により互いに別個に適用されることができるといわれる。互いに作用物質の不適合性の場合に、適用のこの形は好ましい方法である。

20

【0030】

非経口投与形の場合に、作用物質はまた、バルクで、場合により常用の薬剤学的助剤と一緒に、例えば凍結乾燥された形で存在してよく、かつ薬剤学的に常用の注射媒体の添加により再構成又は可溶化されることができるといわれる。

【0031】

薬剤学的製剤は、液体又は固体の形で腸内又は非経口的に適用される。この際に、常用の全ての適用形、例えば錠剤、カプセル剤、糖衣錠、シロップ剤、溶液、懸濁剤が考慮の対象になる。注射媒体として好ましくは、注射溶液の場合に常用の添加剤、例えば安定化剤、溶解助剤及び緩衝液を含有する水が使用される。そのような添加剤は、例えば酒石酸及びクエン酸緩衝液、エタノール、錯化剤、例えばエチレンジアミン四酢酸及びそれらの無毒な塩、並びに粘度調節のための高分子量ポリマー、例えば液体ポリエチレンオキシドである。注射溶液用の液体担持剤は無菌でなければならず、かつ好ましくはアンプル中に詰められる。固体担持剤は、例えばでんぷん、ラクトース、ケイ酸、高分子量の脂肪酸、例えばステアリン酸、ゼラチン、寒天、リン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、動物及び植物の脂肪、固体の高分子量ポリマー、例えばポリエチレングリコールであり；経口適用に適している製剤は、所望の場合には矯味矯臭剤及び甘味剤を含有してよい。

30

40

【0032】

用量決定は、多様な因子、例えば適用形式、種、年齢及び個々の状態に依存する。一日の投与すべき用量は単一成分当たり0.005~100mg/kg体重である。

【0033】

組合せ製剤の場合に作用物質間の比は極めて幅広い範囲内で変えることができる。こうして、考慮の対象となる作用物質の有効性に応じて、例えば1:10ないし1:1000と10:1ないし1000:1との間のモル比が可能である。細胞増殖抑止剤との組合せの場合に、1:100~100:1の比が好ましい。

【0034】

特に好ましい実施態様において、本発明は、グルタミナーゼ - 活性を有する少なくとも

50

1つの化合物及び少なくとも1つの白金-錯体、特にシス-プラチンからなる薬剤学的な組合せ製剤に関する。グルタミナーゼ、特にシュードモナス-グルタミナーゼとの組合せでの白金-錯体が、120倍までの多様なTu-細胞株への組織培養における相乗効果を示すことが確認された。シス-プラチン及びグルタミナーゼの用量はそれによりその都度明らかに、単独療法の場合に必要とされる用量の量に比較して低下されることができる。例えば、本発明による組合せ製剤におけるグルタミナーゼについての治療上の用量は好ましくは50~150 I.U./m²、特に100~130 I.U./m²である。白金-錯体、特にシス-プラチンの用量は、本発明による組合せ製剤の場合に好ましくは1~20 mg/m²、特に2~15 mg/m²及びさらにより好ましくは5~10 mg/m²体表面積である。そのような用量決定の場合に、5日間の投与で充実性腫瘍の応答が既に観察される。3週間の投与の場合に、用量は好ましくは10~100 mg/m²、特に20~50 mg/m²である。

10

【0035】

グルタミナーゼ及びアントラサイクリン、特にドキソルピシンを含む組合せ製剤の場合に、グルタミナーゼについての用量はそしてまた好ましくは50~150 I.U./m²、特に100~130 I.U./m²体表面積である。ドキソルピシンの量は毎週の適用の1回で、有利には1~20 mg/m²、特に2~15 mg/m²及びさらにより好ましくは5~10 mg/m²体表面積である。3週間の投与の場合に、好ましい用量は5~60 mg/m²、特に10~50 mg/m²及びさらにより好ましくは15~30 mg/m²体重である。

20

【0036】

次の例は、幾つかの代表的な組合せ製剤の相乗作用を証明する。

【0037】

例1

作用物質の抗腫瘍作用を調べるための試験管内試験

物質の抗腫瘍作用を、スルホローダミン法を用いる試験管内細胞培養-試験において調べた(Boyd MR, The NCI In Vitro Anticancer Drug Discovery Screen. In: Anticancer Drug Development Guide: Preclinical Screening, Clinical Trials and Approval (Teicher B.及びTotowa N編), 1985-1995; Skehan P他(1990), "New Clorimetric Assay for Anticancer Drug Screening", J Natl. Can. Instit. 82: 1107-1112)。試験のために、乳(MCF7)、肺(NCI-H460、A549)、結腸(SW-60、HT29)及びCNS(SF-539)の腫瘍からの細胞株を使用した。腫瘍細胞の培養を、ウシ胎児血清7.5%を有するRPMI 1640培地中で37及び5% CO₂で行った。24時間に亘り細胞を増加させた後に、試験すべき物質でのインキュベーションを48時間に亘り行った。対照として、作用物質なしのバッチを利用し、零点を作用物質の添加の前に測定した。

30

【0038】

試験に使用した抗新生物薬を細胞培養-品質でSigmaから購入した。

【0039】

グルタミナーゼとして、ポリエチレングリコールで修飾されたシュードモナス(Pseudomonas) 7Aグルタミナーゼ-アスパラギナーゼ(DE 41 40 003 A1、WO 94/13817 A1及びWO 02/31498 A2)を使用した。

40

【0040】

例2

相乗効果の測定

48時間のインキュベーション時間後に、細胞成長を、575 nmで結合したスルホローダミン-染料の吸収を用いて測定した。百分率の成長を次のように算出した：

【0041】

【数 1】

$$PW = \frac{(T_t - T_0)}{(C - T_0)} \cdot 100$$

ここで、

PWは百分率の成長を表し、

Cは未処置の対照細胞を表し、

Tは処置された細胞の量を表し、

及び添え字

0及びtは0の時点及び48時間後の細胞の量を表す。

【0042】

例2a

マイトマイシン及びグルタミナーゼからなる組合せ

図1には、CNS腫瘍(SF-539)及び乳(MCF7)腫瘍の細胞へのマイトマイシン0.026 μg/mLの抗腫瘍作用が単独で及びグルタミナーゼ0.001 U/mLとの組合せで示されている。マイトマイシンは単独でCNS-細胞への作用を示さないが、グルタミナーゼとの組合せで成長は対照と比較して7%に減少される。マイトマイシンは乳腫瘍MCF7の細胞の成長を対照と比較して66%に減少させる。グルタミナーゼ0.001 U/mLとの組合せにより、成長は40%に減少される。

10

20

【0043】

例2b

ミトザントロン及びグルタミナーゼからなる組合せ

図2には、乳(MCF7)、肺(NCI-H460)及び結腸(SW-60)腫瘍の細胞へのミトザントロン0.3 μg/mLの抗腫瘍作用が単独で及びグルタミナーゼ0.001 U/mLとの組合せで示されている。グルタミナーゼは単独で3つの腫瘍へ僅かな作用を示すに過ぎない。ミトザントロンは腫瘍細胞-成長を単独で23%~47%に減少させる。組合せで、乳-、肺-及び結腸-腫瘍の細胞の成長は1%、9%もしくは25%に減少される。

【0044】

例2c

シスプラチン及びグルタミナーゼからなる組合せ

図3には、肺(A549)、乳(MCF7)及び結腸(HAT29)腫瘍の細胞へのシスプラチン2 μg/mLの抗腫瘍作用が単独で及びグルタミナーゼ0.001 U/mLとの組合せで示されている。シスプラチンは単独で、41%、86%もしくは65%への成長の減少を生じさせる。グルタミナーゼとの組合せで、腫瘍細胞の成長は15%、18%もしくは2%に減少される。

30

【0045】

例2d

エトポシド及びグルタミナーゼからなる組合せ

図4には、肺(A549及びNCI-1-123)及び乳(MCF7)腫瘍の細胞へのエトポシド2.3 μg/mLの抗腫瘍作用が単独で及びグルタミナーゼ0.001 U/mLとの組合せで示されている。エトポシドは単独でこれらの細胞の成長を、単独で対照と比較して約40%に減少させる。グルタミナーゼとの組合せで、腫瘍細胞の成長は18及び6%もしくは26%に減少される。

40

【0046】

例2e

メルファラン及びグルタミナーゼからなる組合せ

図5には、肺(NCI-H23)腫瘍の細胞へのメルファラン68 μg/mLの抗腫瘍作用が単独で及びグルタミナーゼ0.001 U/mLとの組合せで示されている。メルファランは腫瘍成長を34%に減少させる。グルタミナーゼとの組合せで、成長は10%に減少され

50

る。

【図面の簡単な説明】

【0047】

【図1】単独で及びグルタミナーゼ0.001U/mLとの組合せでの、CNS腫瘍(SF-539)及び乳(MCF7)腫瘍の細胞へのマイトマイシン0.026μg/mLの抗腫瘍作用を示すグラフ。

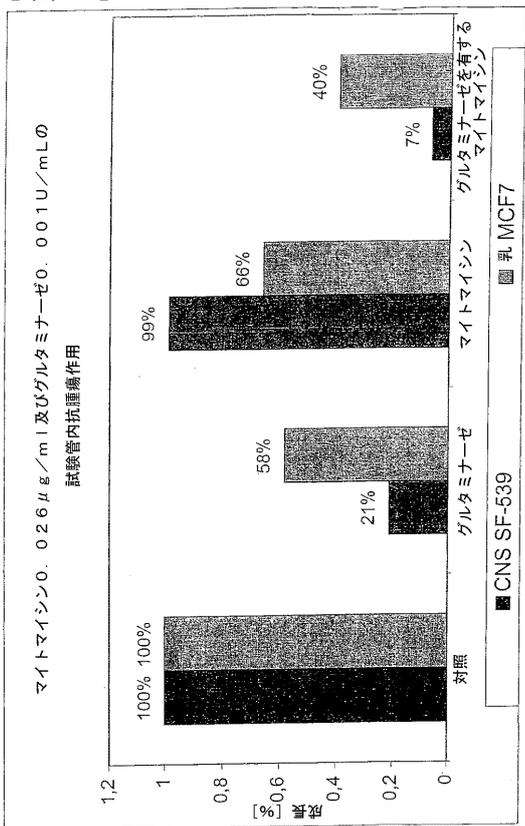
【図2】単独で及びグルタミナーゼ0.001U/mLとの組合せでの、乳(MCF7)、肺(NCI-H460)及び結腸(SW-60)腫瘍の細胞へのミトザントロン0.3μg/mLの抗腫瘍作用を示すグラフ。

【図3】単独で及びグルタミナーゼ0.001U/mLとの組合せでの、肺(A549)、乳(MCF7)及び結腸(HAT29)腫瘍の細胞へのシスプラチン2μg/mLの抗腫瘍作用を示すグラフ。

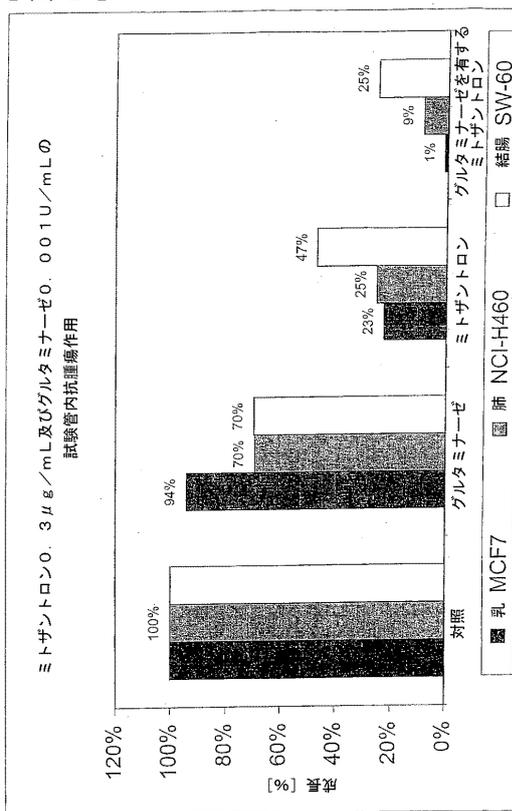
【図4】単独で及びグルタミナーゼ0.001U/mLとの組合せでの、肺(A549及びNCI-1-123)及び乳(MCF7)腫瘍の細胞へのエトポシド2.3μg/mLの抗腫瘍作用を示すグラフ。

【図5】単独で及びグルタミナーゼ0.001U/mLとの組合せでの、肺(NCI-H23)腫瘍の細胞へのメルファラン68μg/mLの抗腫瘍作用を示すグラフ。

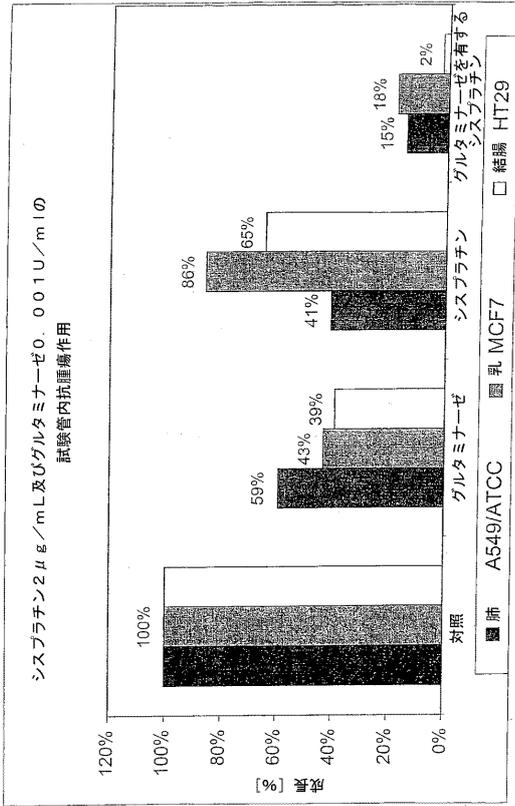
【図1】



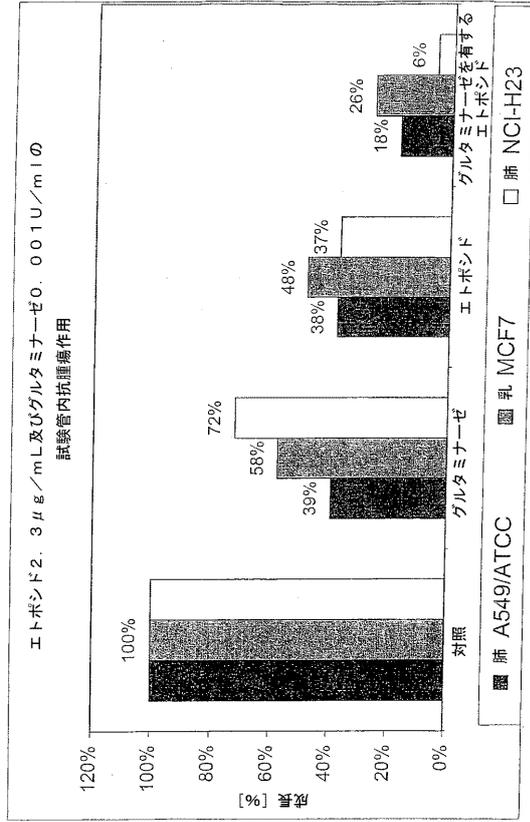
【図2】



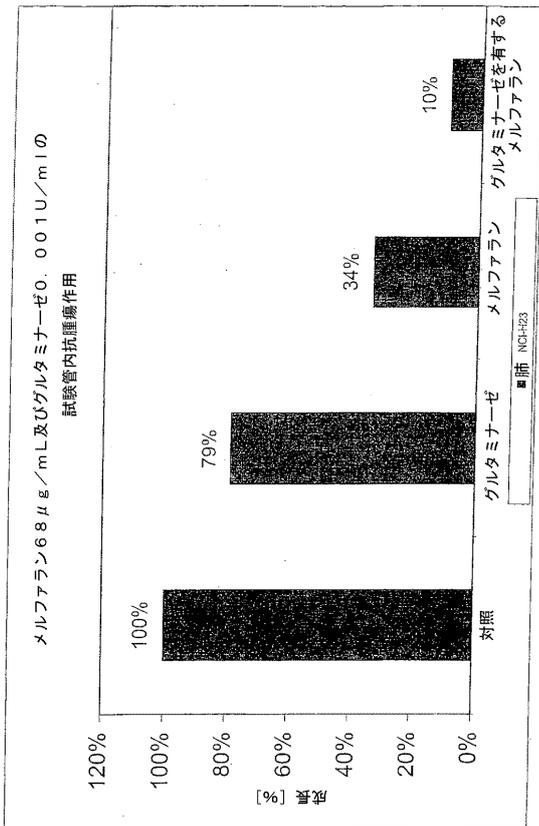
【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International Application No
 PCT/EP2004/006320

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K38/50 A61P35/00		
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 7 A61K		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 41 40 003 A (-) 9 June 1993 (1993-06-09) cited in the application pages 1-2	1-9
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* 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 document 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. *Z* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 6 October 2004		Date of mailing of the international search report 10/11/2004
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl, Fax: (+31-70) 340-8016		Authorized officer Ludwig, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP2004/006320

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4140003	A	09-06-1993	DE 4140003 A1	09-06-1993
			US 2002064862 A1	30-05-2002

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/006320

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES IPK 7 A61K38/50 A61P35/00		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Forscherteil der Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK 7 A61K		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 41 40 003 A (-) 9. Juni 1993 (1993-06-09) in der Anmeldung erwähnt Seiten 1-2	1-9
<input type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benützung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absenddatum des internationalen Recherchenberichts
6. Oktober 2004		10/11/2004
Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Ludwig, G

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT
Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP2004/006320

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 4140003	A	09-06-1993	DE 4140003 A1	09-06-1993
			US 2002064862 A1	30-05-2002

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テマコード(参考)
A 6 1 K 31/136 (2006.01)	A 6 1 K 31/136	
A 6 1 K 33/24 (2006.01)	A 6 1 K 33/24	
A 6 1 K 31/282 (2006.01)	A 6 1 K 31/282	

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

(74) 代理人 100114890
弁理士 アインゼル・フェリックス＝ラインハルト

(74) 代理人 230100044
弁護士 ラインハルト・アインゼル

(72) 発明者 フランク レンダース
ドイツ連邦共和国 ベルリン マクシミリアンシュトラッセ 4 5 アー

(72) 発明者 ヴェンケ ザイフェルト
ドイツ連邦共和国 ベルリン パウル - ロベソン - シュトラッセ 7

F ターム(参考) 4C084 AA02 AA19 BA44 CA04 DA43 DC25 DC26 MA02 NA05 NA06
ZB261 ZB262 ZC751
4C086 AA01 AA02 DA32 EA10 HA12 MA02 MA04 NA05 NA06 ZB26
ZC75
4C206 AA01 AA02 FA31 MA02 MA04 NA05 NA06 ZB26