

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6837960号  
(P6837960)

(45) 発行日 令和3年3月3日(2021.3.3)

(24) 登録日 令和3年2月15日(2021.2.15)

(51) Int.Cl.	F I	
A 6 1 K 31/7048 (2006.01)	A 6 1 K 31/7048	
A 6 1 K 31/4045 (2006.01)	A 6 1 K 31/4045	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
A 6 1 K 31/675 (2006.01)	A 6 1 K 31/675	
請求項の数 5 (全 17 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2017-502689 (P2017-502689)	(73) 特許権者	512233329
(86) (22) 出願日	平成27年3月5日(2015.3.5)		プロバイオティカル・ソシエタ・ベル・ア チオニ
(65) 公表番号	特表2017-520611 (P2017-520611A)		PROBIOTICAL S. P. A.
(43) 公表日	平成29年7月27日(2017.7.27)		イタリア、イー28100ノヴァーラ(ノ ヴァーラ)、ヴィア・エ・マッテイ3番
(86) 国際出願番号	PCT/IB2015/000284	(74) 代理人	100100158
(87) 国際公開番号	W02016/009256		弁理士 鮫島 睦
(87) 国際公開日	平成28年1月21日(2016.1.21)	(74) 代理人	100150500
審査請求日	平成30年2月21日(2018.2.21)		弁理士 森本 靖
(31) 優先権主張番号	M12014A001308	(74) 代理人	100176474
(32) 優先日	平成26年7月17日(2014.7.17)		弁理士 秋山 信彦
(33) 優先権主張国・地域又は機関	イタリア(IT)		
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 化学療法に耐性である腫瘍の処置において用いるための、メラトニンおよびフラボノイド類を含む組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

化学療法耐性の腫瘍の処置における使用のための組成物であって、該腫瘍が乳腺癌であり：

(i) ルチンおよびオキセルチンを含む群より選択される少なくとも1つのフラボノイド；ならびに

(ii) メラトニンを含む混合物を含む、組成物。

【請求項2】

該混合物が：

(iii) 化学療法剤をさらに含む、請求項1に記載の使用のための組成物。

【請求項3】

該化学療法剤がシクロホスファミド、5-フルオロウラシル、メトトレキサート、白金錯体類、タキサン類、ドキソルピシン、エピルピシン、およびミトキサントロンを含む群より選択される、請求項2に記載の使用のための組成物。

【請求項4】

該混合物が(i) ルチンおよび(ii) メラトニン；または(i) ルチン、(ii) メラトニン、ならびに(iii) メトトレキサートおよび/もしくはシクロホスファミドを含む、請求項1～3のいずれか一項に記載の使用のための組成物。

## 【請求項5】

構成要素(i)～(iii)の少なくとも1つが微粉化形態である、請求項2～4のいずれか一項に記載の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

(本発明の概要)

本発明は、腫瘍の処置、特に現在使用中の化学療法剤に耐性である腫瘍の処置のための、ヒトおよび獣医薬において用いられる化学療法処置の有効性を増加させるのに用いるための、メラトニンと組合せて天然または合成起源の少なくとも1のフラボノイドを含む組成物であって、該少なくとも1のフラボノイドが、ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される、好ましくはルチンである、組成物に関する。

10

## 【背景技術】

## 【0002】

(背景技術)

現在、化学療法処置への腫瘍細胞の耐性は、莫大な割合の問題および連続的な発展における問題を表す。薬物耐性は、固形腫瘍およびリンパ系の腫瘍両方においてそれ自体現れ、処置の当初から生じ得るか、または処置への最初の陽性な応答の後に生じ得る。極めて頻繁に、例えば、化学療法耐性は再発性腫瘍の処置中にそれ自体現れる。さらにより重大な問題は、複合的な化学療法耐性、すなわち所与の化学療法剤での処置後の他の化学療法剤に対する耐性の発生である。

20

## 【0003】

初期に化学療法処置に応答する大多数の腫瘍においてそれ自体現れる、化学療法耐性の起源に関する最も信用されている仮説は、薬物耐性は、腫瘍細胞のレベルにおける一連の変異の結果であり、化学療法剤を代謝する、DNAへの化学療法誘導損傷を修復する、化学療法誘導アポトーシスを防止することを「学習する」腫瘍細胞の能力であると示唆する。

## 【0004】

化学療法耐性の問題を克服しようとするための1つのアプローチが、異なるタイプの化学療法剤を組み合わせる治療である：しかしながら、この場合もまた、結果は満足ではなく、実際、様々な化学療法剤に対する複合的耐性が、増え続けかつ憂慮すべき頻度で生じる。組合せにおいても使われる、新規薬物の研究および継続的開発にもかかわらず癌細胞の順応性性質を考慮すると、化学療法耐性の問題は存在し、明らかに不可避である(非特許文献1)。

30

## 【0005】

したがって、この問題を克服する必要性が非常に大きい。

## 【0006】

フラボノイド類は、ポリフェノール性化合物であって、植物の二次代謝物である。それらは、通常グリコシドとして植物に存在し、同じ植物においてアグリコンは種々の糖類と組合せて存在し得る。好ましくは、本発明のフラボノイド類は、ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される。

40

## 【0007】

オキセルチンは、弾性に有利に働き、毛細管透過性を低下させ、それ故に微小循環の生理学的改善および浮腫の形成の軽減に有利に働くのに有用であると示している。

## 【0008】

ヘスペリジンは、グリコシル化フラバノンであって、とりわけ柑橘類の果実において見られるフラボノイドのタイプである。それは特に、該果実の皮および果肉で豊富である。そのアグリコンは、ヘスペリチンと呼ばれる。ヘスペリジンは、有効な血管保護剤であり、コラーゲンおよび結合組織の性能を増加させると示している。

## 【0009】

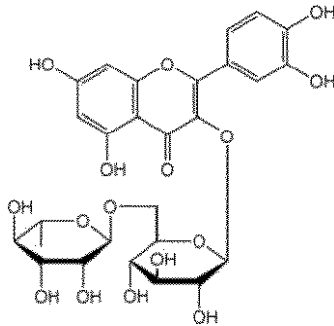
50

ジオスミンは、合成分子であり（ヘスペリジン分子から開始し修飾される）、フラボノイド類のファミリーに属する。それは、血管の構造に欠損を示すすべての病理、例えば慢性静脈機能不全ならびに急性および慢性痔疾患において血管保護剤として、および痔核切除後のアジュバント治療として用いられるフレボトロピック（phlebotropic）薬である。

【0010】

ルチンは、その化学名が2-(3,4-ジヒドロキシフェニル)-4,5-ジヒドロキシ-3-{3,4,5-トリヒドロキシ-6-[(3,4,5-トリヒドロキシ-6-メチル-オキサン-2-イル)オキシメチル]オキサン-2-イル}オキシ-クロメン-7-オンであり、二糖類ルチノースと結合したアグリコンケルセチン（フラボノール）からなるフラボノイドグリコシドである。

【化1】



10

【0011】

ルチン（一般にルトシドとしても知られる）は、多数の植物、特にシトラス（Citrus）およびレウム（Rheum）（ダイオウ）属の植物、ソバ、赤ワイン、アスパラガス、ペパーミント、ユーカリならびに多くのベリー、例えばクランベリー（バシニウム・マクロカルポン（*Vaccinium macrocarpon*））およびマルベリーにおいて天然に見られる。

20

【0012】

毛細管の壁に対するルチンの補強効果、およびより一般的には微小循環に対するその有益な作用は、痔核および血腫の処置のために開発される。

【0013】

現在の研究により、ルチンの薬理特性、特に血小板におけるその抗凝集活性（非特許文献2）；その抗炎症活性（非特許文献3）；および抗酸化活性（非特許文献4）が強調されている。

30

【0014】

インビトロの研究により、ルチンが血管内皮細胞増殖因子を阻害でき、それ故に血管新生阻害剤として作用できると実証されている（非特許文献5）。

【0015】

現在、非特許文献6には、ルチンを含むハマダ・スコパリア（*Hammada scoparia*）の抽出物は白血病細胞の接着においてアポトーシスを誘導できると記載されている。特許文献1には、急性骨髄性白血病の処置、腫瘍再発の防止および/または固形腫瘍転移の発症の防止のためのルチンの使用が記載されている。化学療法剤に耐性である腫瘍細胞に対するルチンの影響は報告されていない。

40

【0016】

特許文献2には、ケルセチンを含む組成物および薬用植物の多数の抽出物が記載されているが、化学療法耐性の細胞に対する活性に言及はなされていない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0017】

【特許文献1】EP 2 119 434

【特許文献2】WO 200178783

【非特許文献】

【0018】

50

【非特許文献1】Fojo T. and Bates S., *Cancer Discov*; 3(1); 20-3, 2012

【非特許文献2】Navarro-Nunez et al. (2008); *J. Agric. Food Chem.* 56 (9): 2970-6

【非特許文献3】Guardia et al. (2001); *Il Farmaco* 56 (9): 683-7; Chan Hun Jung et al. (2007); *Arch. Pharmacol Research* 30 (12): 1599-1607

【非特許文献4】Metodiewa et al. (1997); *IUBMB Life* 41 (5); 1067

【非特許文献5】Luo et al. (2008); *Nutrition and Cancer* 60 (6); 800-9

【非特許文献6】Boutogaa et al. *Leukemia Research* 35(2011) 1093-1101

【発明の概要】

【0019】

(発明の説明)

ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される化合物は、耐性の腫瘍細胞株、好ましくは女性の乳癌の細胞株の化学療法処置への感受性をメラトニンの存在下で再確立することが実際に見出された。

【0020】

それ故に、本発明は：(i)ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイド；ならびに(ii)メラトニンを含むかまたはそれらからなる混合物を含む組成物であって、化学療法に耐性である腫瘍、好ましくは固形腫瘍および女性の乳癌の処置における使用のための、組成物に関する。有利には、該混合物は、ルチンおよびメラトニンを含むかまたはそれらからなる。

【0021】

また本発明は：(i)ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイド；ならびに(ii)メラトニンを含むかまたはそれらからなる混合物を含む組成物であって、化学療法に耐性である腫瘍の処置のための化学療法剤へのアジュバントとして用いるため、すなわち、特に現在使用中の化学療法剤に耐性の場合、腫瘍、好ましくは固形腫瘍の処置のためのヒトおよび獣医薬において使用される化学療法処置の有効性を増大させるための、組成物に関する。有利には、アジュバントとしての該組成物の使用は、用いられる用量および投与される化学療法剤の1日量を減少させることを可能にする。

【0022】

本発明はまた、ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイドと、メラトニンとの組合せであって、ルチンおよびメラトニンの個別または連続投与にも適した形態である、組合せに関する。

【0023】

さらに本発明は、化学療法耐性の腫瘍の処置における使用のための組成物であって：(i)ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイド；(ii)メラトニン；(iii)化学療法剤；および/または(iv)アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリン、ケレリトリンおよびハルパゴフィツム・プロクンベンス (*harpagophytum procumbens*) (デビルズクロー、これはPGE2の合成を抑制する)を含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1の化合物をそれ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態で含むかまたはそれらからなる混合物を含む、組成物に関する。該組成物はまた、特に現在使用中の化学療法剤に耐性の場合、腫瘍、好ましくは固形腫瘍の処置のためのヒトおよび獣医薬において使用される化学療法処置の有効性を増大させるために使用されるものである。

【0024】

それ故に、本発明はまた、ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイドと、メラトニンおよび化学療法剤との組合せであって、フラボノイド、メラトニンおよび化学療法剤の個

10

20

30

40

50

別または連続投与にも適した形態である、組合せに関する。

【0025】

ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される該少なくとも1のフラボノイドは、メラトニンと、すべての公知な化学療法剤と組合せて、本発明に従い用いられ得て、該化学療法剤は、単独、または化学療法プロトコール（特に固形腫瘍の治療のためのもの）と組合せのいずれかで用いられる。該化学療法剤の例は、シクロホスファミド、5-フルオロウラシル、メトトレキサート、白金錯体類（シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチンなど）、タキサン類、ドキシソルピシン、エピルピシンおよびミトキサントロンを含むかまたはそれらからなる。一実施態様において、ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1の化合物は、耐性の腫瘍細胞株の化学療法処置への感受性を回復もしくは増加させるため、または腫瘍の処置、好ましくは固形腫瘍の処置のために、メラトニンと、シクロホスファミドを含むかまたはそれらからなる化学療法剤と組合せられる。

10

【0026】

好ましい実施態様によれば、ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンルチンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1の化合物は、耐性の腫瘍細胞株の化学療法処置への感受性を回復もしくは増加させるため、または腫瘍の処置、好ましくは固形腫瘍の処置のために、メラトニン、シクロホスファミドおよびメトトレキサートと組合せて用いられる。好ましくは、ルチンは、メラトニン、シクロホスファミドおよびメトトレキサートと組合せて用いられる。

20

【0027】

固形腫瘍は、成長し、浮遊した細胞からなる液性腫瘍と異なる組織のコンパクトな塊からなる。固形腫瘍は、健全な組織のものと似ている特定構造を有し、2つの相互に依存する部分である実質と間質を含む。いくつかの固形腫瘍（上皮細胞が起源であるものを含む）には間質からの腫瘍細胞のブロックを分離している基底膜がある；しかしながら、この基底膜は不完全であることが多い。固形腫瘍が大多数のヒト腫瘍を表すが、それらを特徴付ける遺伝子および染色体の変異についてほとんど知られておらず；これは、第一に、悪性組織から満足のいく染色体調製物を得ることが極めて困難であるため、第二に、これらの腫瘍細胞の核型がしばしば珍しい染色体を多数示すためである。このことは、腫瘍表現型が完全に変化しているとき、原発性遺伝子変化を後で生じるものから区別することを困難にする。しかしながら、これらの困難にもかかわらず、細胞培養、染色体分染法およびハイブリダイゼーション、例えばCGH（比較ゲノムハイブリダイゼーション）、FISH（蛍光インサイチュハイブリダイゼーション）およびSKY（スペクトル核型決定）の新規な技術は、固形腫瘍において遭遇する細胞遺伝学的異常の分子特性評価の顕著な増加に寄与している。これらの技術は、腫瘍細胞における実質的な染色体の転位、および特異的な染色体の変化と特定のタイプの固形腫瘍（とりわけ間葉性腫瘍）との間の親密な関連を明らかにした。我々の知識がまだ限られていても、関連する遺伝子の多くは、クローンを作られ、分析された。新生物細胞は、良性および悪性に分けられ；両方のタイプの細胞は、さらに起源の組織に従って、間葉性、上皮性、神経系、胎児性（embryonal）および胚性（germinal）腫瘍細胞に分けられる。これらの腫瘍と並んで、細胞学的な起源が未知のものもある。

30

40

【0028】

本発明の別の一態様によれば、本発明は：(i)ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイド；(ii)メラトニン；および(iii)シクロホスファミド、5-フルオロウラシル、メトトレキサート、白金錯体類（シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチンなど）、タキサン類、ドキシソルピシン、エピルピシンおよびミトキサントロンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1の化学療法剤；および/または(iv)メギ科（Berberidaceae）、ケシ科（Papaveraceae）から選択される少なくとも1のアルカロイドおよび

50

キク科 (Asteraceae) 由来のリグナン類を含む組成物に関する。

【0029】

本発明の別の一態様によれば、本発明は、メラトニンと、メギ科、ケシ科およびキク科由来のリグナン類から選択される少なくとも1の化合物と組合せて、好ましくはルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイドを含む組成物に関する。

【0030】

本発明の一態様によれば、本発明は、メギ科および/またはケシ科由来のアルカロイド類と、キク科由来のリグナン類と、オキセルチン、ジオスミン、ヘスペリジンおよびルチンを含むかまたはそれらからなる群より選択される化合物との組合せを含むかまたはそれらからなる組成物に関するものであるか；または本発明は、メギ科および/またはケシ科由来のアルカロイド類と、キク科由来のリグナン類と、オキセルチン、ジオスミン、ヘスペリジンおよびルチンを含むかまたはそれらからなる群より選択される化合物と、天然または合成物質を含むかまたはそれらからなる群より選択される化合物であって、これらの物質がアピゲニン、アスパラガス(ウルソール酸)、クルクミン、リコピン、唐辛子(カプサイシン)、レスベラトロール、緑茶(Camellin B)およびウンカリア属(Uncaria ss pp.)を含むかまたはそれらからなる群より選択され；および/またはメラトニンである、化合物；好ましくはメラトニンとの組合せを含むかまたはそれらからなる組成物に関するものである。

【0031】

特に、本発明の組成物は、好ましくは、リグナン類のアルクチゲニンおよび/またはアルクチイン、アルカロイド類のベルベリン、および/またはベルバミン、および/またはサンギナリン、および/またはケレリトリン、および/またはオキセルチン、ジオスミン、ヘスペリジンおよびルチンを含むかまたはそれらからなる群より選択される化合物を含むか；または本発明の組成物は、好ましくは、リグナン類のアルクチゲニンおよび/またはアルクチイン、アルカロイド類のベルベリン、および/またはベルバミン、および/またはサンギナリン、および/またはケレリトリン、および/またはオキセルチン、ジオスミン、ヘスペリジンおよびルチンを含むかまたはそれらからなる群より選択される化合物、および天然または合成物質を含むかまたはそれらからなる群より選択される化合物であって、これらの物質がアピゲニン、アスパラガス(ウルソール酸)、クルクミン、リコピン、唐辛子(カプサイシン)、レスベラトロール、緑茶(Camellin B)およびウンカリア属を含むかまたはそれらからなる群より選択され；および/またはメラトニンである、化合物；好ましくはメラトニンを含む。

【0032】

本発明の別の一態様によれば、本発明は：(i)好ましくはルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイド；(ii)メラトニン；ならびに(iv)アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリンおよびケレリトリンおよびハルパゴフィツム・プロクンベンス(デビルズクロー、これはPGE2の合成を抑制する)を含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のアルカロイドをそれ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態で含むかまたはそれらからなる組成物に関する。

【0033】

別の一実施態様によれば、本発明は：(i)好ましくはルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイド；(ii)メラトニン；(iii)シクロホスファミド、5-フルオロウラシル、メトトレキサート、白金錯体類(シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチンなど)、タキサン類、ドキシソルピシン、エピルピシンおよびミトキサントロンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1の化学療法剤；ならびに(iv)アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリンおよびケレリトリンおよびハルパゴフィツム・プロクンベンス(デビルズクロー、これはPGE2の合成を抑制する)を含むかま

10

20

30

40

50

たはそれらからなる群より選択される少なくとも1のアルカロイドをそれ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態で含むかまたはそれらからなる組成物に関する。好ましくは、組成物は、ルチン、メラトニン、シクロホスファミド、メトトレキサート、アルクチゲニン、アルクチン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリンおよびケレリトリンを含む。

【0034】

好ましくは、本発明の組成物は、アピゲニン、アスパラガス(ウルソール酸)、クルクミン、リコピン、唐辛子(カプサイシン)、レスベラトロール、緑茶(Camellin B)およびウンカリア属を含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1の化合物をさらに含む。

10

【0035】

本発明の組成物は、新生物の防止および/または処置、ならびに抗生長剤(antiblastics)への化学療法耐性および/または放射線療法への放射線耐性の防止/抑制に特に有用である。

【0036】

本発明の組成物は、化学療法に耐性である腫瘍、好ましくは固形腫瘍の処置のための化学療法剤へのアジュバントとして特に有用である。

【0037】

本発明の組成物は、特に現在使用中の化学療法剤に耐性の場合、腫瘍の処置のためのヒトおよび獣医薬において使用される化学療法処置の有効性を増大させるのに特に有用である。

20

【0038】

本願出願人は、驚くべきことに、本発明の組成物が化学療法耐性のヒト腫瘍細胞の細胞生存率を顕著に低下させることを見出した。特に、メラトニンの強力な抗炎症活性は、本発明のフラボノイド類、フラボノイド類と抽出物の組合せおよびフラボノイド類と化学療法剤の組合せの抗腫瘍活性を向上させる。特に、メラトニンは、従来の化学療法剤への腫瘍細胞の感受性の改善または耐性の逆転に寄与する。この多標的治療アプローチは、化学療法耐性の腫瘍細胞の発生を軽減させ、これはまた、抗酸化、抗炎症、抗癌および免疫調節特性を含む、メラトニンの異なる薬理活性によるものである。また、腫瘍の微小環境において炎症性細胞が転移の形成に影響を及ぼすことを考慮すると、メラトニンは、他の離れた組織に侵入する腫瘍細胞の能力を遮断することにより抗転移剤として作用する。上記の理由で、本発明の組成物は、すでに化学療法耐性を生じた腫瘍を処置するだけでなく、腫瘍細胞による化学療法耐性の発生および転移の形成を防ぐのにも有効に用いられ得る。

30

【0039】

したがって、本願の1の目的は、医薬において一般に用いられる処置より化学療法耐性の腫瘍の処置に効果的である化学療法処置であって、特に化学療法耐性の腫瘍の場合、腫瘍の処置において必要な化学療法薬の量を低下させるかまたは完全に排除しさえすることを可能にし、そして化学療法耐性の発生および転移の形成を防ぐのに有用であり得る、処置を提供することである。

【0040】

40

キク科(アルクティウム・ラッパ(*Arctium lappa*))、クニカス・ベネディクタス(*Cnicus benedictus*)およびサウスレア・メデュサ(*Saussurea medusa*)またはサウスレア(*Saussurea*)の他の種)に属する植物は、アルクチゲニンおよびアルクチン(それらの抗腫瘍作用が既に知られている分子)の含量により特徴付けられる。癌治療および予防におけるアルクティウム・ラッパの抽出物の使用は、例えば、CN 1560265に記載されている。抗腫瘍剤としてのサウスレアの使用は、例えば特許出願WO 2006 032380に記載されている。サウスレア・メデュサの空中部分から抽出されたリグナンの抗腫瘍活性は、*Cancer Letters*, New York, USA, vol. 158, N 1, 1.1.2000, pages 53-59に記載されている。

【0041】

メギ科(ベルベリス・ブルガリス(*Berberis vulgaris*))、ベルベリス・アリスタータ

50

(*Berberis aristata*)、ベルベリス (*Berberis*) の他の種、およびマホニア・アキフォリウム (*Mahonia aquifolium*) に属する植物は、活性物質、例えばベルベリンおよびベルバミンを含む。前者は、化学療法耐性および放射線耐性、血管新生およびテロメラーゼを阻害し；それは、抗高コレステロール血症、抗糖尿病および心臓保護効果を有する。しかしながら、それは、MDR (多剤薬物耐性) を誘導し得るという点で重大な欠点を有する。この望ましくない効果に対抗するために、ベルベリンについて既に上述した心臓保護効果に加えて、MDRへの特異的な抗腫瘍効果および抗不整脈効果を示すベルバミンを用いることが可能である。MDRに対抗するためのベルバミンを含む植物の使用についての知識が要約されている、*Alternative and Complementary Therapies*, Mary Ann Liebert, Larchmont, New York, USA. Vol 8, No 6, 1.12.2002, pages 336-340で発表された論文も参照。ベルベリス・ブルガリスの果実の細胞毒性効果は、*Int. J. Cancer Res.* (Vol 2, No 1, 2006, pages 1-9) に記載されている。

10

## 【 0 0 4 2 】

ケシ科 (エスコルチア・カリフォルニカ (*Eschscholzia californica*)、マクレアヤ・コルダータ (*Macleaya cordata*) またはボッコニア・フルテセンス (*Bocconia frutescens*)) に属する植物は、ケレリトリンおよびサンギナリンを含む。ケレリトリンは、TNF- $\alpha$  の産生への阻害効果を有し；この効果は、早期の段階における腫瘍には不適切であるが、しかしながら、前終期および終期の段階の腫瘍患者において典型的である摂食障害、カヘキシーおよび痛覚過敏を抑制するため、前終期および終期の段階において有益である。さらに、ケレリトリンは、腫瘍細胞のミトコンドリアにおいてすでに不十分であると知られている、ミトコンドリアの呼吸を低下させる。サンギナリンは、NF- $\kappa$ BおよびAP-1の両方を阻害し (*Biochem. Pharmacol.* 2004 Sep 15; 68(6): 1101-11)；両方が通常、抗腫瘍性の抗生長剤または電離放射線への曝露の結果として活性化される静止因子である。ケレリトリンを含むマクレアヤ・コルダータまたはケリドニウム・マジユス (*Chelidonium majus*) (フードサプリメントとして許可されていない植物) の抗腫瘍性抽出物の製造が、CN 1470513に記載されている。ベンゾフェナントリジンアルカロイド類、例えばケレリトリンおよびサンギナリン、ならびにプロトベルベリンアルカロイド類、例えばベルベリンの抗腫瘍活性もまた、*Planta Medica*, Vol 69(2), 1.2.2003, pages 97-108に記載されている。

20

## 【 0 0 4 3 】

したがって本発明は、適切な添加剤との混合物中にアルクチゲニン、アルクチン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリン、ケレリトリンおよびルチンを含む組成物に関する。

30

## 【 0 0 4 4 】

活性成分は、ルチンに加えて、実質的に純粋で単離された形態または植物 (1つがキク科に属し、1つがメギ科に属し、1つがケシ科に属する) の少なくとも3つの異なる抽出物の形態で存在し得る。

## 【 0 0 4 5 】

キク科に属する植物は、好ましくはアルクティウム・ラッパ、クニカス・ベネディクタスおよびサウスレア・メデュサである。

40

## 【 0 0 4 6 】

メギ科に属する植物は、好ましくはベルベリス・ブルガリス、ベルベリス・アリストタータおよびマホニア・アキフォリウムである。

## 【 0 0 4 7 】

ケシ科に属する植物は、好ましくはエスコルチア・カリフォルニカ、マクレアヤ・コルダータおよびボッコニア・フルテセンスを含む群から選択される。

## 【 0 0 4 8 】

本発明は、新生物の処置ならびに抗生長剤への化学療法耐性および/または放射線療法への放射線耐性の防止/抑制における使用のための：(i)ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1の

50

化合物；および/または(ii)メラトニン；および/または(iv)アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリンおよびケレトリンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1の化合物をそれ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態で含むかまたはそれらからなる混合物を含む組成物に関する。好ましくは、混合物は：(i)ルチン、オキセルチン、ジオスミンおよびヘスペリジンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイド；(ii)メラトニン；および/または(iv)アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリンおよびケレトリンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1の化合物をそれ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態で含むかまたはそれらからなる。

**【0049】**

好ましい実施態様によれば、本発明の混合物は：(i)ルチン；(ii)メラトニン；および/または(iv)化合物アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリンおよびケレトリンをそれ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態で含むかまたはそれらからなる。

**【0050】**

好ましくは、本発明の組成物/混合物は、アピゲニン、アスパラガス(ウルソール酸)、クルクミン、リコピン、唐辛子(カプサイシン)、レスベラトロール、緑茶(Camellin B)およびウンカリア属を含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1の化合物をさらに含む。

**【0051】**

好ましい態様によれば、本発明の組成物/混合物は、オキセルチン、ジオスミン、ヘスペリジンおよびルチンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイドに加えて、メラトニンと組合せて：

アルクティウム・ラッパ(特に種子由来のもの)；

ベルベリス・ブルガリス；

エスコルチア・カリフォルニカ；

に由来する抽出物を含む。

**【0052】**

好ましい態様によれば、種々の科に属する各植物由来の抽出物は、20%~60%の間に含まれる割合で存在する。

**【0053】**

抽出物から単離された化合物の1日用量は、通常、以下の範囲に含まれる：

アルクチゲニンおよびアルクチイン：0.1~1.0 g/日

ベルベリンおよびベルバミン：0.1~1.0 g/日

サンギナリンおよびケレトリン：0.01~0.250 g/日、好ましくは0.020~0.150 g/日

ルチン：0.1~0.2 g/日。

**【0054】**

本発明によれば、用いられる植物の抽出物は、油冷浸物(oily macerate)、アルコール抽出物、乾燥抽出物(エタノールもしくはメタノールまたは超臨界CO<sub>2</sub>での抽出により得られる)、液体抽出物、またはマザーチンクチャー(mother tincture)の形態であり得る。

**【0055】**

本発明の組成物は、経口投与のために適切に製剤化されたフードサプリメント、医療用デバイスまたは医薬組成物として用いられ得て、それらの最終的な用途に許容される添加剤、希釈剤、賦形剤および固化防止剤を用いて、医薬分野で周知な従来の方法(例えば、"Remington's Pharmaceutical Handbook", Mack Publishing Co., N.Y., USAに記載)に従って製造される。投与形態の例は、軟カプセル剤(密閉された液体含有カプセル剤)、半固形または硬カプセル剤(粉末または顆粒を含む二部外被を有する)、トローチ剤、錠剤、ワッフル(waffles)、顆粒剤、粉末の単回用量サシェ剤、シロップ剤、およびバイアルである。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 5 6 】

バイオアベイラビリティを向上させるために、組成物の構成要素の少なくとも1つは微粉化形態であることが好ましい。微粉化化合物は、医薬分野で周知な従来の方法を用いて製造される。微粉化化合物において、好ましくは、粒子の平均直径は10 $\mu$ m未満であり；より好ましくは、粒子の平均直径は5 $\mu$ m未満であり、さらにより好ましくは、それは1 $\mu$ m未満である。

## 【 0 0 5 7 】

本発明は、さらに、新生物の処置ならびに抗生長剤への化学療法耐性および/または放射線療法への放射線耐性の防止/抑制のための組成物を製造するための、アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリン、ケレリトリン、メラトニンならびに、好ましくはオキセルチン、ジオスミン、ヘスペリジンおよびルチンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイドの組合せの使用に関する。

10

## 【 0 0 5 8 】

本発明のいくつかの実施態様の製剤番号を以下に示す：

## 【 0 0 5 9 】

製剤1. 化学療法剤と、および/またはアルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリン、ケレリトリンおよびハルパゴフィツム・プロクンベンス（デビルズクロー、これはPGE2の合成を抑制する）をそれ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態で組合せた、化学療法耐性の腫瘍の処置における使用のためのルチン。

20

## 【 0 0 6 0 】

製剤2. 化学療法剤がシクロホスファミド、5-フルオロウラシル、メトトレキサート、白金錯体類、タキサン類、ドキシソルピシン、エピルピシンおよびミトキサントロンから選択される、製剤1に記載の使用のためのルチン。

## 【 0 0 6 1 】

製剤3. 適切な添加剤との混合物中、アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリン、ケレリトリンおよびルチンをそれ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態で含む組成物。

## 【 0 0 6 2 】

製剤4.

- a) アルクティウム・ラッパ、クニカス・ベネディクタスおよびサウスレア・メデュサを含む群から選択されるキク科に属する植物；
  - b) ベルベリス・ブルガリス、ベルベリス・アリストタータおよびマホニア・アキフォリウムを含む群から選択されるメギ科に属する植物；
  - c) エスコルチア・カリフォルニカ、マクレアヤ・コルダータまたはボッコニア・フルテセンスを含む群から選択されるケシ科に属する植物
- に由来する抽出物を含む、製剤3に記載の組成物。

30

## 【 0 0 6 3 】

製剤5.

- a) アルクティウム・ラッパ；
  - b) ベルベリス・ブルガリス；
  - c) エスコルチア・カリフォルニカ
- に由来する抽出物を含む、製剤4に記載の組成物。

40

## 【 0 0 6 4 】

製剤6. 新生物の処置における使用ならびに抗生長剤への化学療法耐性および/または放射線療法への放射線耐性の防止/抑制のための、アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリン、ケレリトリンおよびルチンそれ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態での組合せ。

## 【 0 0 6 5 】

メラトニンと、合成化学療法剤（シクロホスファミド/メトトレキサート）および/ま

50

たはアルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリンおよびケレリトリン（表中、用語「抽出物」で示される）と組み合わせた、好ましくはオキセルチン、ジオスミン、ヘスペリジンおよびルチンを含むかまたはそれらからなる群より選択される少なくとも1のフラボノイドの組合せの活性を、腺癌および癌腫の耐性細胞株において、化学療法感受性腫瘍細胞株および細胞株と比較して研究した。

【0066】

本発明は：好ましくは450~850 ng/ml、例えば650 ng/mlの濃度の、抽出物；好ましくは10 μM~100 μM、例えば20、30、40および50 μMの濃度の、ルチン；好ましくは500~1500 ng/ml、好ましくは850 ng/ml、1000 ng/mlまたは1300 ng/mlの濃度の、シクロホスファミドおよび/またはメトトレキサート；および0.1 g~3 g/用量、好ましくは1~2 g/用量の濃度の、メラトニンを含むかまたはそれらからなる、混合物を含む組成物に関する。

10

【0067】

本発明の更なる実施態様の製剤番号を以下に示す：

【0068】

製剤a.

(i)化学療法剤、および/または

(ii)アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリン、ケレリトリンおよびハルパゴフィツム・プロクンベンス（デビルズクロー、これはPGE2の合成を抑制する）それ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態、および/または

(iii)アピゲニン、アスパラガス（ウルソール酸）、クルクミン、リコピン、唐辛子（カプサイシン）、レスベラトロール、緑茶（Camellin B）およびウンカリア属を含むかまたはそれらからなる群より選択される更なる化合物、またはメラトニンと組合せた、化学療法耐性の腫瘍の処置における使用のためのルチン。

20

【0069】

製剤b. 化学療法剤がシクロホスファミド、5-フルオロウラシル、メトトレキサート、白金錯体類、タキサン類、ドキソルピシン、エビルピシンおよびミトキサントロンより選択され；好ましくは、シクロホスファミドである、製剤aに記載の使用のためのルチン。

【0070】

製剤c. 該ルチンが：

(i)シクロホスファミド、5-フルオロウラシル、メトトレキサート、白金錯体類、タキサン類、ドキソルピシン、エビルピシン、ミトキサントロンを含むかまたはそれらからなる群より選択され；好ましくは、シクロホスファミドである、化学療法剤

30

(ii)アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリンおよびケレリトリンそれ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態；および

(iii)更なる化合物、例えばメラトニン

との組合せである、製剤aに記載の使用のためのルチン。

【0071】

製剤d. 該組成物が、一実施態様製剤a、製剤bまたは製剤cに記載のルチンを含む、化学療法耐性の腫瘍の処置における使用のための組成物。

【0072】

製剤e. 該組成物が、適切な添加剤との混合物中、アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリン、ケレリトリンおよびルチンをそれ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態で含む、製剤dに記載の使用のための組成物。

40

【0073】

製剤f. 該組成物が：

d)アルクティウム・ラッパ、クニカス・ベネディクタスおよびサウスレア・メデュサを含む群から選択されるキク科に属する植物；

e)ベルベリス・ブルガリス、ベルベリス・アリスタータおよびマホニア・アキフォリウムを含む群から選択されるメギ科に属する植物；

f)エスコルチア・カリフォルニカ、マクレアヤ・コルダータまたはボッコニア・フルテセ

50

ンスを含む群から選択されるケシ科に属する植物

に由来する抽出物を含む、製剤dまたは製剤eに記載の使用のための組成物。

【0074】

製剤g. 該組成物が：

- a) アルクティウム・ラッパ；
- b) ベルベリス・ブルガリス；
- c) エスコルチア・カリフォルニカ

に由来する抽出物を含む、製剤fに記載の使用のための組成物。

【0075】

製剤h. アルクチゲニン、アルクチイン、ベルベリン、ベルバミン、サンギナリン、ケレリトリンおよびルチンをそれぞれ自体でまたは該化合物を含む植物抽出物の形態で含むかまたはそれらからなる組合せであって；該組合せがさらに、アピゲニン、アスパラガス（ウルソール酸）、クルクミン、リコピン、唐辛子（カプサイシン）、レスベラトロール、緑茶（Camellin B）およびウンカリア属またはメラトニンを含むかまたはそれらからなる群より選択され好ましくはメラトニンである、更なる化合物を含み、該組合せが新生物の処置における使用ならびに抗生長剤への化学療法耐性および/または放射線療法への放射線耐性の防止/抑制のためである、組成物。

【実施例】

【0076】

特に、化学療法耐性のヒト腫瘍細胞MDA-MB-231（乳腺癌）、ECV-304（膀胱癌腫）、HuH-7（肝細胞癌腫）およびHTB-43（咽頭の扁平上皮細胞癌腫）、化学療法感受性腫瘍細胞MCF-7（乳腺癌）および非腫瘍の健全なヒト哺乳類線維芽細胞（HMF）を用いた。

【0077】

表1~3に示す結果は、化学療法剤への腫瘍細胞の耐性と、抽出物および/またはルチンと組み合わせた化学療法剤の有効性との間に、直線関係ではないが正比例関係を実証する。

【表1】

表1

処理	細胞生存率 (%)		
	MDA-MB-23	MCF-7	HMF
	1		
コントロール	100	100	100
シクロホスファミド1300 ng/mL	89	8.6	42
シクロホスファミド1000 ng/mL	93	7.5	48
シクロホスファミド850 ng/mL	96	6.9	54
抽出物850 ng/mL	94	5	82
抽出物650 ng/mL	100	8	84
抽出物450 ng/mL	100	12	92
ルチン100 μM	51	4	86
ルチン50 μM	58	5	88
ルチン20 μM	66	8	92

10

20

30

40

【表 2】

表2

処理	細胞生存率 (%)	
	MDA-MB-231	
抽出物650 ng/mL+シクロホスファミド850 ng/mL	58	
ルチン50 $\mu$ M+シクロホスファミド850 ng/mL	11	
抽出物650 ng/mL+ルチン50 $\mu$ M	16	
抽出物650 ng/mL+ルチン50 $\mu$ M+シクロホスファミド850 ng/mL	3	

10

【表 3】

表3

処理	細胞生存率 (%)		
	ECV-304	HuH-7	HTB-43
コントロール	100	100	100
シクロホスファミド850 ng/mL	70	58	36
抽出物650 ng/mL	24	74	24
ルチン50 $\mu$ M+シクロホスファミド 850 ng/mL	17	46	21
抽出物650 ng/mL+ルチン50 $\mu$ M+シクロホスファミド850 ng/mL	12	32	12

20

## 【 0 0 7 8 】

下記の表4は、ケルセチン（ルチンのアグリコン）単独でまたはシクロホスファミドと組合せた、MDA-MB-231細胞についての得られたデータを示す。ルチンで見られたものと異なり、相乗効果が生じていないことは明らかである。

【表 4】

表4

処理	細胞生存率 (%)	
	MDA-MB-231	
ケルセチン100 $\mu$ M	76	
ケルセチン50 $\mu$ M	81	
ケルセチン20 $\mu$ M	91	
ケルセチン100 $\mu$ M+シクロホスファミド850 ng/mL	62	
ケルセチン50 $\mu$ M+シクロホスファミド850 ng/mL	66	
ケルセチン20 $\mu$ M+シクロホスファミド850 ng/mL	79	

30

## 【 0 0 7 9 】

表5. 化学療法耐性のMDA-MB-231ヒト腫瘍細胞（乳腺癌）の生存率を、特定の化合物での処理24、48および72時間後に測定した。表5において、化合物cycloは、シクロホスファミドに対応し、一方、化合物methoはメトトレキサートに対応する。

40

試験条件：5x10<sup>3</sup>細胞；xCELLigenceアッセイ

【表5】

	処理	24 h	48 h	72 h
1	コントロール (未処理)	100	100	100
2	ルチン (50 $\mu$ M)+メラトニン (1 mM)	25.32 $\pm$ 1.09	10.12 $\pm$ 0.85	3.25 $\pm$ 0.42
3	ルチン (20 $\mu$ M)+メラトニン (10 mM)	5.46 $\pm$ 0.68	4.02 $\pm$ 0.49	3.03 $\pm$ 0.29
4	Cyclo (20 $\mu$ M)+Metho (2 $\mu$ M)+ルチン (50 $\mu$ M)	16.18 $\pm$ 0.79	9.69 $\pm$ 0.57	4.59 $\pm$ 0.77
5	Cyclo (20 $\mu$ M)+Metho (2 $\mu$ M)+ルチン (50 $\mu$ M)+メラトニン (1 mM)	10.70 $\pm$ 0.73	7.46 $\pm$ 0.43	4.06 $\pm$ 0.49
6	Cyclo (10 $\mu$ M)+Metho (1 $\mu$ M)+ルチン (50 $\mu$ M)	20.73 $\pm$ 0.96	10.78 $\pm$ 0.87	6.18 $\pm$ 0.47
7	Cyclo (10 $\mu$ M)+Metho (1 $\mu$ M)+ルチン (50 $\mu$ M)+メラトニン (1 mM)	13.59 $\pm$ 0.86	9.65 $\pm$ 0.68	5.03 $\pm$ 0.75
8	Cyclo (20 $\mu$ M)+Metho (2 $\mu$ M)+ルチン (20 $\mu$ M)+メラトニン (10 mM)	4.58 $\pm$ 0.35	3.46 $\pm$ 0.27	2.95 $\pm$ 0.38
9	Cyclo (10 $\mu$ M)+Metho (1 $\mu$ M)+ルチン (20 $\mu$ M)+メラトニン (10 mM)	4.31 $\pm$ 0.56	3.35 $\pm$ 0.36	3.08 $\pm$ 0.45

10

## 【0080】

表6. 化学療法感受性のMCF-7腫瘍細胞 (乳がん) の生存率を、特定の化合物での処理24、48および72時間後に測定した。表6において、化合物cycloは、シクロホスファミドに対応し、一方、化合物methoはメトトレキサートに対応する。

試験条件：5x10<sup>3</sup>細胞 xCELLigenceアッセイ

【表6】

処理	24 h	48 h	72 h
コントロール (未処理)	100	100	100
Cyclo (20 $\mu$ M)+Metho (2 $\mu$ M)+ルチン (50 $\mu$ M)	12.68 $\pm$ 0.61	8.24 $\pm$ 0.49	3.69 $\pm$ 0.62
Cyclo (20 $\mu$ M)+Metho (2 $\mu$ M)+ルチン (50 $\mu$ M)+メラトニン (1 mM)	9.32 $\pm$ 0.59	6.83 $\pm$ 0.68	2.67 $\pm$ 0.49
Cyclo (10 $\mu$ M)+Metho (1 $\mu$ M)+ルチン (50 $\mu$ M)	14.43 $\pm$ 0.62	9.75 $\pm$ 0.29	4.06 $\pm$ 0.38
Cyclo (10 $\mu$ M)+Metho (1 $\mu$ M)+ルチン (50 $\mu$ M)+メラトニン (1 mM)	10.63 $\pm$ 0.73	7.04 $\pm$ 0.37	2.86 $\pm$ 0.45
ルチン (50 $\mu$ M)+メラトニン (1 mM)	15.59 $\pm$ 0.94	8.62 $\pm$ 0.56	3.04 $\pm$ 0.45
ルチン (20 $\mu$ M)+メラトニン (10 mM)	4.46 $\pm$ 0.48	3.73 $\pm$ 0.38	2.64 $\pm$ 0.52
Cyclo (20 $\mu$ M)+Metho (2 $\mu$ M)+ルチン (20 $\mu$ M)+メラトニン (10 mM)	3.79 $\pm$ 0.39	2.34 $\pm$ 0.46	2.05 $\pm$ 0.24
Cyclo (10 $\mu$ M)+Metho (1 $\mu$ M)+ルチン (20 $\mu$ M)+メラトニン (10 mM)	4.02 $\pm$ 0.46	2.79 $\pm$ 0.34	2.53 $\pm$ 0.31

20

30

40

## 【0081】

得られた結果は、メラトニンがフラボノイド類の抗腫瘍活性を向上させることを実証する。組成物がメラトニンおよびフラボノイド類に加えて化学療法剤および/または抽出物を含む場合、効果は、さらにより顕著である。

## 【0082】

50

本発明において用いられる抽出物の製造の実施例、および本発明の組成物の実施例を以下に示す。

【0083】

実施例1 - 新鮮な植物からのアルコール抽出物の製造

3つの植物からなる530 g (各々20% ~ 60%の割合) を1100 mlのエタノール/水混合物 (40% ~ 90%エタノール) に入れ、ミキサーで細かくした。細かくした植物が溶液中に沈んだままであることが確実になるように注意しながら、得られたものを4~8日間「休息」させる。この期間後、液体部分を取り出し、植物部分を圧縮し、液体を回収し、その後ろ過する。

【0084】

これにより得られた抽出物は、茶色がかった濃い緑色である。

【0085】

実施例2 - 乾燥した植物からのアルコール抽出物の製造

370~450 gを含む乾燥植物の量を1200 mlの含水アルコール溶液 (40% ~ 90%エタノール) に用いる。得られたものを2週間「休息」させる。溶媒の含浸/染色後、液体部分を取り出し、植物部分を圧縮し、液体を回収し、その後ろ過する。

【図面の簡単な説明】

【0086】

【図1】図1のヒストグラムは、MDA-MB-231細胞におけるメラトニン (M) を示す (24時間、試験条件:  $50 \times 10^3$  細胞; xCELLigenceアッセイ)。

【図2】図2のヒストグラムは、MDA-MB-231細胞におけるメラトニン (M) を示す (48時間、試験条件:  $50 \times 10^3$  細胞; xCELLigenceアッセイ)。

【図3】図3のヒストグラムは、MDA-MB-231細胞におけるメラトニン (M) を示す (72時間、試験条件:  $50 \times 10^3$  細胞; xCELLigenceアッセイ)。

【図4】図4のヒストグラムは、MCF-7細胞におけるメラトニン (M) を示す (24時間、試験条件:  $50 \times 10^3$  細胞; xCELLigenceアッセイ)。

【図5】図5のヒストグラムは、MCF-7細胞におけるメラトニン (M) を示す (48時間、試験条件:  $50 \times 10^3$  細胞; xCELLigenceアッセイ)。

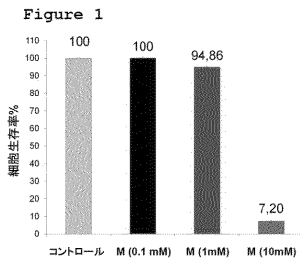
【図6】図6のヒストグラムは、MCF-7細胞におけるメラトニン (M) を示す (72時間、試験条件:  $50 \times 10^3$  細胞; xCELLigenceアッセイ)。

10

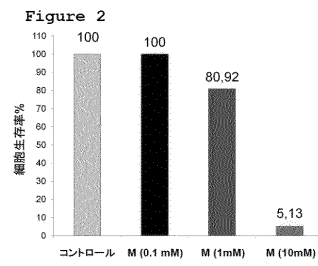
20

30

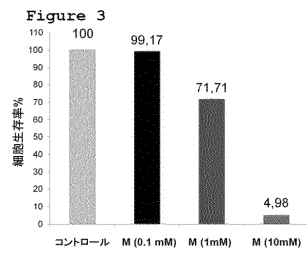
【 図 1 】



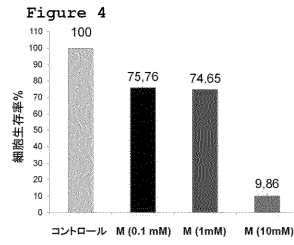
【 図 2 】



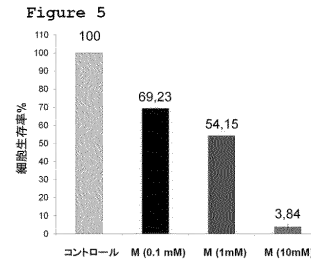
【 図 3 】



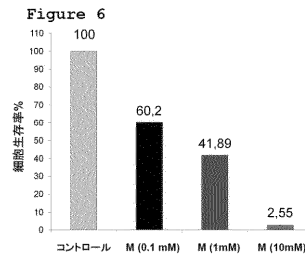
【 図 4 】



【 図 5 】



【 図 6 】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K 31/513	(2006.01)	A 6 1 K 31/513
A 6 1 K 31/519	(2006.01)	A 6 1 K 31/519
A 6 1 K 33/24	(2019.01)	A 6 1 K 33/24
A 6 1 K 31/704	(2006.01)	A 6 1 K 31/704

(72)発明者 ジョヴァンニ・モーニャ  
 イタリア、イ - 2 8 1 0 0 ノヴァーラ、ヴィア・エ・マッテイ 3 番、プロバイオティカル・ソチエ  
 タ・ペル・アツィオーニ内

審査官 金子 亜希

(56)参考文献 Archives of medical research , 2 0 1 3 年 , 44 , 346-351  
 Integrative cancer therapies , 2 0 0 8 年 , 7(3) , 189-203  
 Cancer res , 2 0 0 6 年 , 66(20) , 9789-9793  
 Anticancer research , 2 0 1 2 年 , 32 , 2747-2753  
 REVATHI MANI B; VENKATESWARI R , INSILICO ANALYSIS ON THE EFFECT OF RUTIN BIOFLAVONOID  
 AND CHEMOTHERAPEUTIC 以下備考 , INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMA AND BIO SCIENCES , P. MU  
 THUPRASANNA PUB. & ED. , 2 0 1 4 年 1 月 1 日 , VOL:5, NR:1 , PAGE(S):B560 - B569 , DRUG  
 CYCLOPHOSPHAMIDE ON NUCLEAR FACTOR KAPPA-B PROTEIN EXPRESSION

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)

A 6 1 K 3 1 / 7 0 4 8  
 A 6 1 K 3 1 / 4 0 4 5  
 A 6 1 K 3 1 / 5 1 3  
 A 6 1 K 3 1 / 5 1 9  
 A 6 1 K 3 1 / 6 7 5  
 A 6 1 K 3 1 / 7 0 4  
 A 6 1 K 3 3 / 2 4  
 A 6 1 P 3 5 / 0 0  
 A 6 1 P 4 3 / 0 0  
 J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )  
 C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )