

明 細 書

発明の名称： p-ボロノフェニルアラニンを含む注射液剤

技術分野

[0001] 本発明は、p-ボロノフェニルアラニンを含む注射液剤に関する。

背景技術

[0002] 近年、放射性アイソトープを利用したがんの治療方法として、ホウ素中性子捕捉療法（BNCT）が注目を集めている。ホウ素中性子捕捉療法は、ホウ素10同位体（ ^{10}B ）を含むホウ素化合物をがん細胞に取り込ませ、低エネルギーの中性子線（たとえば熱外中性子）を照射して、細胞内で起こる核反応により局所的にがん細胞を破壊する治療方法である。この治療方法では、ホウ素10を含むホウ素化合物をがん組織の細胞に選択的に蓄積させることが、治療効果を高める上で重要であるため、がん細胞に選択的にかつ確実に取り込まれるホウ素化合物を開発することが必要となる。

[0003] BNCTに用いる薬剤として基本骨格にホウ素原子またはホウ素原子団を導入したホウ素含有化合物が合成されている。実際の臨床で用いられている薬剤としては、p-ボロノフェニルアラニン（BPA）やメルカプトウンデカハイドロドデカボレート（BSH）がある。

[0004] p-ボロノフェニルアラニンは、生理的pHでの溶解性が極めて乏しい。

[0005] 水に対するp-ボロノフェニルアラニンの溶解度を改善する為に、p-ボロノフェニルアラニンのフルクトース錯体を生成したり（例えば特許文献1）、p-ボロノフェニルアラニンにアルカリ溶液中（水酸化ナトリウム水溶液中など）で、単糖またはポリオールを添加し、イオン交換樹脂により無機塩を除去して利用したり（例えば特許文献2）という方法が試みられている。

[0006] さらに、p-ボロノフェニルアラニンの溶解度を改善する他の技術も提案されている（特許文献3）。

特許文献1：米国特許第5492900号

特許文献2：米国特許第6 1 6 9 0 7 6号

特許文献3：特許第5 3 4 5 7 7 1号

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] しかしながら、ホウ素中性子捕捉療法として効果を発揮するために必要な投与時の血液中ホウ素濃度は限られている。この為、血液中のホウ素濃度を一定範囲に調整すること及び投与速度は厳密に定められる必要がある。一方で、被験者への効果を最大限にしつつ、投与時の有害事象のない、バランスの良い処方確立が望まれている。

[0008] そこで、本発明の目的は、安定性に優れ、点滴静注剤としての安全性も確保されており、投与される対象への負担も少ない、p-ボロノフェニルアラニンを含む注射液剤を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、上記の課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、化合物中のホウ素原子のうち、ホウ素10の割合を制御し、さらに、糖アルコールや抗酸化剤を含むさせ、pH値、及び浸透圧比を調整することによって、注射液剤中でのp-ボロノフェニルアラニンの溶解性、幅広い温度域での安定性、安全性を高めながら、被験者への優れた効果を有する製剤を作製できることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0010] 即ち、本発明は、下記に掲げる注射液剤を提供する。

[1]

化合物中のホウ素原子のうち、ホウ素10の割合が、75%以上である、
p-ボロノフェニルアラニン又はその薬学的に許容される塩；

糖アルコール；

抗酸化剤；及び

水を含むし、pH6.5～7.8であり、浸透圧比が、1.0～1.8である、点滴静脈注射で投与される為の、ホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

[2]

p-ボロノフェニルアラニン濃度として、 $150 \sim 250 \text{ mg/kg}$ ／時間の割合で、 $1.5 \sim 3$ 時間投与した後に、 $80 \sim 120 \text{ mg/kg}$ ／時間の割合で、 $0.5 \sim 1.5$ 時間減速投与を行いながら、該減速投与時に熱外中性子線を照射する為の、項1に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

[3]

前記糖アルコールが、ソルビトール又はマンニトールである、項1又は2項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

[4]

前記糖アルコールの濃度が、 $2.6 \sim 6.5 \text{ w/v\%}$ である項1～3のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

[5]

前記糖アルコールの含有割合が、p-ボロノフェニルアラニンの含有量に対して、モル比で、 0.9 から 3.0 までの範囲である、項1～4のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

[6]

抗酸化剤が、亜硫酸塩である、項1～5のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

[7]

前記抗酸化剤濃度が、 $0.01 \sim 0.6 \text{ w/v\%}$ の項6に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

[8]

前記亜硫酸塩が、ピロ亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、又は亜硫酸水素ナトリウムである項6又は7に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

[9]

固形がん治療用である、項1～8のいずれか1項に記載の注射液剤。

発明の効果

[0011] 本発明の注射液剤は、安定性に優れ、点滴静注剤としての安全性も確保さ

れており、ヒトや動物への投与にも良好な特性を有する。

図面の簡単な説明

[0012] [図1]図1は、実施例の組成物を被験者に点滴した時間（横軸（h r））と、 ^{10}B の血中濃度（縦軸（ $\mu\text{g}/\text{ml}$ ））の関係を示す図である。

発明を実施するための形態

[0013] 本明細書において、単位「質量％」は、「 $\text{g}/100\text{g}$ 」と同義である。

「 $\text{w}/\text{v}\%$ 」は、「 $\text{g}/100\text{ml}$ 」と同義である。

[0014] 本発明の注射液剤は、化合物中のホウ素原子のうち、ホウ素10の割合が、75％以上である、 p -ボロノフェニルアラニン又はその薬学的に許容される塩；

糖アルコール；

抗酸化剤；及び

水を含有し、 pH 6.5～7.8であり、浸透圧比が、1.0～1.8である、点滴静注で投与される為の、ホウ素中性子捕捉療法（BNCT）用注射液剤である。

[0015] [ホウ素中性子捕捉療法（BNCT）用注射液剤]

（ p -ボロノフェニルアラニン又はその薬学的に許容される塩）

本発明で用いられる p -ボロノフェニルアラニンは、化合物中のホウ素原子のうち、ホウ素10の割合が、75％以上であり、好ましくは、80％以上、より好ましくは、90％以上、さらにより好ましくは、95％以上、特に好ましくは、99％以上である。

[0016] 天然のホウ素（ホウ素）には、ホウ素10とホウ素11が同位体として、ホウ素10が20％、ホウ素11が80％の割合で存在する。従って、本発明の p -ボロノフェニルアラニンを含む注射液剤の製造に先立って、質量数が10のホウ素（ホウ素10）を濃縮する。この為に、天然ホウ素化合物中のホウ素10とホウ素11を選り分け、高濃縮のホウ素10を製造する。本発明で用いられるホウ素は、ホウ素10を濃縮して、その濃度を高めても良いし、市販されている製品を用いてもよい。市販品としては、例えば、 ^{10}B

濃縮ホウ酸（ステラケミファ株式会社製）を出発物質とすることができる。

[0017] ここで、ホウ素10の測定方法としては、Agilent 7500（Agilent社製）を使用し、四重極質量分析部を用いた四重極型ICP-MS（ICP-QMS）法にて行うことができる。測定に使用するICP-QMSは、JIS K 0133に準じて調整する。

[0018] p-ボロノフェニルアラニンとして、現在用いられているのは、L体であり、本発明においてもL-p-ボロノフェニルアラニンが好ましく用いられ得るが、これに限定されない。すなわち、D体あるいはD体とL体の両方を含むラセミ体のp-ボロノフェニルアラニンも本発明に用いられうる。

[0019] ここで、p-ボロノフェニルアラニンは、一旦ホウ素10の割合を高めたホウ素を入手した後に、又はホウ素10の割合を高めたホウ酸を入手した後に、例えば、公知の方法で合成して（例えば、H. R. Synder, A. J. Reedy, W. M. J. Lennarz, J. Am. Chem. Soc., 1958, 80, 835; C. Malan, C. Morin, SYNLETT, 1996, 167; 米国特許第5157149号: 特開2000-212185号公報: および特許第2979139号）使用することができる。

[0020] ここで、塩としては、薬理学的に許容されるものであれば、特に制限されない。p-ボロノフェニルアラニンの塩としては、例えば、有機酸との塩、無機酸との塩、有機塩基との塩、無機塩基との塩等が挙げられる。

[0021] 有機酸との塩としては、例えば、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、フマル酸塩、マレイン酸塩、乳酸塩、酒石酸塩、クエン酸塩、メタンスルホン酸塩等が挙げられる。無機酸との塩としては、例えば、塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩、臭化水素酸塩、リン酸塩等が挙げられる。有機塩基との塩としては、例えば、トリエタノールアミンとの塩等が挙げられる。無機塩基との塩としては、例えば、アンモニウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、マグネシウム塩等が挙げられる。

[0022] 本発明の注射液剤において、注射液剤の全量に対するp-ボロノフェニル

アラニン又はその塩の含有量は、他の成分とのバランスによって適宜設定される。注射液剤の全量に対して、*p*-ボロノフェニルアラニン及び／又はその塩の総含有量は、特に限定されないが、好ましくは、2.0～5.5 w／v %であり、より好ましくは、2.5～5.0 w／v %であり、さらに好ましくは、2.5～4.0 w／v %である。

[0023] 本発明の注射液剤中の *p*-ボロノフェニルアラニンの含有量が上記の範囲内である場合、臨床での応用の際に適宜の液量に収まり、溶液安定性が良好で、かつ投与時の効果に優れる。

[0024] (糖アルコール)

本発明に用いられる糖アルコールとしては、医薬品分野において注射剤の成分として用いられるものであれば特に限定されない。糖アルコールとしては、限定はされないが、単糖糖アルコールが好ましく、ソルビトール及び／又はマンニトールが特に好ましい。

[0025] ソルビトールとしては、現在医薬品への使用が認可されており、安全性が確認されているD-ソルビトールが好ましく用いられうるが、これに限定されない。すなわち、本発明においては、L体あるいは、L体とD体との混合体を用いることもできる。

[0026] マンニトールとしては、現在医薬品への使用が認可されており、安全性が確認されているD-マンニトールが好ましく用いられうるが、これに限定されない。すなわち、本発明においては、L体あるいは、L体とD体との混合体を用いることもできる。

[0027] 本発明の注射液剤に使用される糖アルコールの総含有量は、他の添加剤の配合量にもよるが、注射液剤の全量に対して、好ましくは、2.0～7.0 w／v %、より好ましくは、2.6～6.5 w／v %、さらに好ましくは、2.6～4.2 w／v %である。

[0028] *p*-ボロノフェニルアラニンの量に対して、糖アルコールの量は、モル比で、好ましくは0.9～3.0、より好ましくは、0.9～2.0、さらに好ましくは、1.1～1.5の範囲である。糖アルコールの量がこの範囲で

あると、p-ボロノフェニルアラニンの析出を抑制することができ、浸透圧比を適正に調整できる。

[0029] (抗酸化剤)

本発明に用いられる抗酸化剤としては、医薬品分野において注射剤の成分として用いられるものであれば特に限定されない。抗酸化剤としては、限定はされないが、亜硫酸、亜硫酸水素、ピロ亜硫酸、亜硝酸、アスコルビン酸、L-システイン、チオグリコール酸、及びそれらの塩からなる群より選択される1種以上であることが好ましい。

[0030] ここで、亜硫酸、亜硫酸水素、ピロ亜硫酸、亜硝酸、アスコルビン酸、L-システイン、又はチオグリコール酸の塩としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩などのアルカリ土類金属塩；ならびにアルミニウム塩、アンモニウム塩などの無機塩基が挙げられる。さらには、例えばトリメチルアミン、トリエチルアミン、ピリジン、ピコリン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、トリエタノールアミン、ジシクロヘキシルアミン、N, N'-ジベンジルエチレンジアミンなどの有機塩基との塩も使用することができる。特に好ましくは、ナトリウム塩、カリウム塩、又はアンモニウム塩である。

[0031] 本発明に用いられる抗酸化剤として特に好ましいのは、亜硫酸ナトリウム、乾燥亜硫酸ナトリウム、亜硫酸カリウム、亜硫酸カルシウム、亜硫酸水素ナトリウム、亜硫酸水素カリウム、亜硫酸水素アンモニウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、及びピロ亜硫酸カリウムからなる群より選択される1種以上である。

[0032] 本発明の注射液剤に使用される抗酸化剤の総含有量は、他の添加剤の配合量にもよるが、注射液剤の全量に対して、好ましくは、0.005～2.0 w/v%、より好ましくは、0.005～1.5 w/v%、さらに好ましくは、0.005～1.2 w/v%、さらにより好ましくは、0.01～0.6 w/v%、最も好ましくは、0.01～0.03 w/v%である。

[0033] (水)

本発明の注射液剤は、さらに水を含む。本発明に用いられる水としては、医薬品分野において注射剤の成分として用いられるものであれば特に限定されない。

[0034] 本発明の注射液剤に使用される水の含有量は、他の添加剤の配合量にもよるが、注射液剤の全量に対して、好ましくは、 $80\text{ w/v}\%$ 以上、より好ましくは、 $85\text{ w/v}\%$ 以上であり、好ましくは $95\text{ w/v}\%$ 以下、さらに好ましくは、 $94\text{ w/v}\%$ 以下である。

[0035] (pH)

本発明の注射液剤のpHは、生体への投与と安定性のバランスを考慮して、中性～弱アルカリ性付近のpHであることが好ましい。より具体的には、 $6.5\sim 7.8$ の範囲であり、より好ましくは、 $7.0\sim 7.8$ 、特に、低温域で長期間の安定性の点からは、好ましくは、pH 7.4 超過～ 7.8 以下の範囲であり、特に好ましくはpH 7.5 超過 7.8 以下付近である。pHの調節には必要に応じて、当該技術分野で用いられる適当なpH調節剤、緩衝剤などを使用してもよい。

[0036] (浸透圧比)

本発明の注射液剤の浸透圧比は特に限定されないが、生理食塩水対比で、 $1.0\sim 1.8$ の範囲内にあることが好ましい。より好ましくは、 $1.1\sim 1.5$ の範囲である。この範囲にある場合には、大量の静脈注射の場合、痛みの軽減、静脈炎発症の回避や投与時間の短縮が可能になる。

[0037] 本発明の注射液剤中には、その生体内外での安定性を図る為、適宜、生体に含まれていても良い各種金属イオンが含まれていてもよい。好ましくは、ナトリウムイオンが含まれており、その濃度は、特に限定はされないが、 130 mEq/L から 160 mEq/L が特に好ましい。細胞内液と細胞外液の電解質バランスが大きく崩れないように体液のNaイオン濃度範囲に近いこの数値範囲が好ましい。

[0038] (pH調整剤)

本発明の注射液剤には、必要に応じて、適宜、塩酸、リン酸などの無機酸

、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムなどのアルカリ性成分などのpH調整剤を加えることができる。さらには、無機酸に加えて、又は無機酸の代わりに、有機酸を使用することも好ましい。有機酸としては、クエン酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、フマル酸、マレイン酸、乳酸、酒石酸、又はメタンスルホン酸を使用することが好ましく、クエン酸又は乳酸を使用することがさらに好ましい。

[0039] [その他の成分]

本発明の注射液剤には、必要に応じて、リン酸緩衝液、トリス塩酸緩衝液、酢酸緩衝液、炭酸緩衝液、クエン酸緩衝液等の緩衝剤を加えてもよい。これらの緩衝剤は、製剤の安定化や刺激性の低下に有用な場合がある。

[0040] さらに本発明の組成物には、本発明の目的に反しないかぎり、通常、当該技術分野で用いられる他の成分を、必要に応じて含有させることができる。そのような成分として、通常、液体、特に水性の組成物に用いられる添加剤、例えば、塩化ベンザルコニウム、ソルビン酸カリウム、塩酸クロロヘキシジン等の保存剤、エデト酸Na等の安定化剤、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース等の増粘剤、塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセリン、ショ糖、ブドウ糖等の等張化剤、ポリソルベート80、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等の界面活性剤、塩化ナトリウム、塩化カリウム、グリセリン等の等張剤、水酸化ナトリウム等のpH調整剤が挙げられる。

[0041] 本発明の注射液剤を、医薬品として用いる場合、液剤による静注用の注射液剤の形態であり得る。特に、点滴静脈注射液剤であり得る。

[0042] 注射液剤としては、一定量の有効成分を分散剤（例えば、ポリソルベート80、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60、ポリエチレングリコール、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム等）、保存剤（例えば、メチルパラベン、プロピルパラベン、ベンジルアルコール、クロロブタノール、フェノール等）、等張化剤（例えば、塩化ナトリウム、グリセリン、D-マンニトール、グルコース等）等と共に水性溶剤（例えば、注射用蒸留水

、生理的食塩水、リンゲル液等）あるいは油性溶剤（例えば、オリーブ油、ゴマ油、綿実油、トウモロコシ油等の植物油、プロピレングリコール等）等に溶解、懸濁あるいは乳化することにより製造される。この際、所望により溶解補助剤（例えば、サリチル酸ナトリウム、酢酸ナトリウム等）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン等）、無痛化剤（例えば、ベンジルアルコール等）等の添加物を用いてもよい。更に必要に応じて抗酸化剤、着色剤等や他の添加剤を含有せしめてもよい。

[0043] また、「薬学的に許容される担体」を用いることもできる。このような物質としては、液状製剤における、溶剤、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、界面活性剤、無痛化剤等が挙げられる。また、必要に応じて、保存剤（防腐剤）、着色剤等の製剤添加物を常法に従って用いることもできる。

[0044] 「溶剤」の好適な例としては、例えば、アルコール（エタノール等）、プロピレングリコール、マクロゴール等が用いられる。

[0045] 溶解補助剤としては、例えば、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、安息香酸ベンジル、トリスアミノメタン、コレステロール、トリエタノールアミン、炭酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム等が挙げられる。

[0046] 「懸濁化剤」の好適な例としては、例えば、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース等の親水性高分子等が例示できる。

[0047] 「等張化剤」の好適な例としては、例えば、グルコース、塩化ナトリウム、グリセリン、等が挙げられる。

「界面活性剤」として、例えば、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリルアミノプロピオン酸、レシチン、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、モノステアリン酸グリセリン等が挙げられる。

「無痛化剤」の好適な例としては、例えば、ベンジルアルコール等が挙げられる。

[0048] 「保存剤」の好適な例としては、例えば、パラオキシ安息香酸エステル類

、クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェネチルアルコール、デヒドロ酢酸、ソルビン酸等が挙げられる。

[0049] [注射液剤の製造方法]

本発明の注射液剤の製造方法としては、特に限定はされないが、一例として、水酸化ナトリウムなどのpH調整剤、水、及びp-ボロノフェニルアラニンを混合した後に、糖アルコールを加え、調製することができる。ここで、調製の際には、より効率の良い製造の為に、順番が重要になり得る。特に好ましくは、水と水酸化ナトリウムなどのアルカリ成分のpH調整剤の混合液をまず調製し、次にp-ボロノフェニルアラニンを加えて攪拌する。その後糖アルコールを加えて溶解させ、注射液剤を調製することができる。このようなプロトコールに従うことで、各成分を短時間に効率良く溶解でき、優れた注射液剤を効率良く調製することができる。

この時の水、及びp-ボロノフェニルアラニン、糖アルコール、pH調整剤の量は、ホウ素中性子捕捉療法用注射液剤に記載した量に準じる。

[0050] [中性子捕捉療法]

(投与)

本発明の注射液剤の用途としては、点滴静注剤としての利用が好ましく、特にホウ素中性子捕捉療法に用いられるような点滴静注剤であることが好ましい。中性子捕捉療法は、腫瘍細胞に取り込まれたホウ素10と中性子との核反応により発生する強力な粒子線（アルファ線、 γ 線）によって治療を行う方法であり、本発明の注射液剤は、この方法に特に好都合に用いることができる。

[0051] 照射に先立って、本発明の注射液剤をあらかじめ被験者あるいは動物に投与し、腫瘍にホウ素10が集まるように調整した上で、熱外中性子線を照射することができる。あるいは、照射に先立って、本発明の注射液剤をあらかじめ被験者あるいは動物に投与し、腫瘍にホウ素10が集まるように調整した上で、さらに投与を継続しながら熱外中性子線を照射することもできる。本発明の注射液剤の投与量については、特に限定はされないが、好ましい細

胞内ホウ素濃度を達成する為に、制御することができる。このような投与量は、適用対象となる腫瘍の種類や進行度、被験者の年齢や体重等に応じて、設定されるが、本発明の注射液剤を静脈内投与用として用いる場合、1時間当たり、200～500ml、の速度で、1.5～4.0時間の間、好ましくは、2.0～3.6時間の間、静脈に点滴投与する。投与開始のタイミングは、中性子照射開始前から照射の間連続的に行うことが特に好ましい。

[0052] 例えば、限定はされないが、脳腫瘍の患者又は頭頸部がんの患者に対して、好ましくは、p-ボロノフェニルアラニン濃度が150～250mg/kg/時間、より好ましくは200mg/kg/時間なるように調整し、好ましくは1.5～3時間、より好ましくは2時間投与後、次に好ましくは、p-ボロノフェニルアラニン濃度が80～120mg/kg/時間、より好ましくは、100mg/kg/時間となるように減速投与し、このような減速投与を、最大0.5～1.5時間、好ましくは、最大1時間行いながら、熱外中性子線を照射することも効果的である。本発明の注射液剤を用いれば、用時調製を行う必要がなく、1つの注射液剤で、投与の始めから減速投与終了までの一連の投与を行うことも可能である。

[0053] 投与によるp-ボロノフェニルアラニンについて、ホウ素10の腫瘍組織内の濃度は、20ppm（細胞1個当たり、ホウ素10原子が109個）以上60ppm以下、好ましくは、20ppm以上45ppm以下程度であることが望ましい。実際には、血中濃度を測定し、これらの腫瘍組織内又は細胞内での量を予測することもできる。

[0054] （照射）

腫瘍細胞内で、効率よく、熱外中性子の核反応が生じ、核反応により発生したアルファ線と7Li粒子が腫瘍細胞のみを殺傷できるように、制御することが好ましい。血液中のホウ素濃度と、組織に照射された中性子フルエンスを基に線量を計算し、その線量にp-ボロノフェニルアラニンの実効生物学的効果比（RBE）を乗じてX線等価線量を計算することができる。

[0055] 例えば、限定はされないが、脳腫瘍の患者に対して、皮膚線量として、好

ましくは、 $6 \sim 12 \text{ Gy-Eq}$ 、より好ましくは、 8.5 Gy-Eq 程度とし、照射は1回最大60分程度とすることができる。もしくは、限定はされないが、頭頸部がんの患者に対しては、粘膜線量として、好ましくは、 $10 \sim 15 \text{ Gy-Eq}$ 、より好ましくは、 12 Gy-Eq 程度とし、照射は1回最大60分程度とすることができる。

[0056] <本発明の作用効果>

本発明の抗腫瘍剤は、生体に対する安全性が高く、しかも高い抗腫瘍作用を発揮することができる。

[0057] 本発明の注射液剤の投与に先立って、 p -ボロノフェニルアラニンの集積性を測定するために、陽電子放射線断層法 (Positron Emission Tomography: PET) を利用することもできる。例えば、 p -ボロノフェニルアラニンに加えて、 p -ボロノフェニルアラニンに放射性核種 ^{18}F で標識した放射性化合物 (^{18}F -fluoroboronophenylalanine: FBPA) を投与し、その全身分布をPET検査で画像化することによりホウ素化合物の集積性を推測することも可能である。限定はされないが、このようなPET検査でがん組織／正常組織のホウ素濃度比が2.5以上、好ましくは、3以上である対象に投与することが特に好ましい。

[0058] 本発明の注射液剤は、このように、特に中性子捕捉療法に好ましく用いられる。対象疾患は限定はされないが、固形がんであることが好ましく、特に好ましくは、上皮細胞から発生するがん（上皮性腫瘍）であり得る。代表的には、メラノーマなどを含む皮膚がん、肺がん、乳がん、胃がん、大腸がん、子宮がん、卵巣がん、頭頸部のがん（口腔がん、喉頭がん、咽頭がん、舌がん等）であり得る。あるいは、非上皮性細胞から発生する肉腫であっても対象となり得る。代表的には、骨肉腫、軟骨肉腫、横紋筋肉腫、平滑筋肉腫、線維肉腫、脂肪肉腫、血管肉腫があり得る。これらの他に、神経膠腫、中枢神経系原発悪性リンパ腫、髄膜腫、下垂体腺腫、神経鞘腫、頭蓋咽頭腫などの脳腫瘍が、治療の対象疾患となり得る。初発・単発がんのみならず、個

別臓器に広がったがんや転移性がん、難治性がんも対象とすることができる。

[0059] 即ち、本発明は、下記に掲げる注射液剤の各態様を含む。

(1)

化合物中のホウ素原子のうち、ホウ素10の割合が、75%以上である、
p-ボロノフェニルアラニン又はその薬学的に許容される塩；

糖アルコール；

抗酸化剤；及び

水を含有し、pH 6.5～7.8であり、浸透圧比が、1.0～1.8である、点滴静脈注射で投与される為の、ホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(2)

p-ボロノフェニルアラニン濃度として、150～250 mg/kg/時間の割合で、1.5～3時間投与した後に、80～120 mg/kg/時間の割合で、0.5～1.5時間減速投与を行いながら、該減速投与時に熱外中性子線を照射する為の、(1)に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

。

(3)

前記糖アルコールが、ソルビトール又はマンニトールである、(1)又は(2)に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(4)

前記糖アルコールの濃度が、2.6～6.5 w/v%である(1)～(3)のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(5)

前記糖アルコールの含有割合が、p-ボロノフェニルアラニンの含有量に対して、モル比で、0.9から3.0までの範囲である、(1)～(4)のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(6)

抗酸化剤が、亜硫酸塩である、(1)～(5)のいずれか1項に記載のホ

ウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(7)

前記抗酸化剤濃度が、 $0.01 \sim 0.6 \text{ w/v} \%$ の(6)に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(8)

前記亜硫酸塩が、ピロ亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、又は亜硫酸水素ナトリウムである(6)又は(7)に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(9)

さらに、pH調整剤を含む、(1)～(8)のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(10)

前記pH調整剤が、少なくとも塩酸を含み、該塩酸の量が、 $0.001 \sim 0.5 \text{ w/v} \%$ である、(9)に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(11)

pHが、 $7.5 \text{ 超過} \sim 7.8$ である、(1)～(10)のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(12)

固形がん治療用である、(1)～(11)のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(13)

前記固形がんが、頭頸部のがん又は脳腫瘍である、(1)～(12)のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(14)

前記化合物中のホウ素原子のうち、ホウ素10の割合が、90%以上である、(1)～(13)のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(15)

少なくとも前記化合物中のホウ素原子のうち、ホウ素10の割合が、90%以上である、(1)～(14)のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(16)

さらに、有機酸を含む、(1)～(15)のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

(17)

前記有機酸が、クエン酸及び／又は乳酸である、(1)～(16)のいずれか1項に記載のホウ素中性子捕捉療法用注射液剤。

実施例

[0060] 以下に実施例を示して、本発明をより詳細に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

[0061] (製造例)

p-ボロノフェニルアラニン(BPA;ここではL体を使用)を含む注射液剤の製造に先立って、質量数が10のホウ素(ホウ素10)を濃縮した10B96%濃縮ホウ酸(ステラケミファ社製)を使用した。得られた高濃縮のホウ素10を用いて、常法にて、p-ボロノフェニルアラニン(BPA)を製造した。

[0062] [実施例1～68]

(BPAソルビトール水溶液の調製)

2.5w/v%～5.0w/v%のBPA、及びD-ソルビトール、亜硫酸水素ナトリウム又はピロ亜硫酸ナトリウムを含む水溶液を次のとおりにして調製した。すなわち、まず、水175mlに水酸化ナトリウム1.05～2.08gを溶かした溶液にBPA5g～10gを懸濁させた。D-ソルビトール5.25～13.0gを加え、攪拌し、溶解した。亜硫酸水素ナトリウム又はピロ亜硫酸ナトリウム0.02gを加えて溶かし、1mol/l塩酸1.22ml(pH7.6の際)又は適量加え、pHを調整し、水を加えて全量200mlにした。ついで、0.2μmのフィルターでろ過した。そ

れぞれの水溶液の組成、浸透圧比、pHは、表1及び表2に示す通りである。

[0063] (BPAマンニトール水溶液の調製)

ソルビトールの代わりに、マンニトールを用いて、BPAソルビトール水溶液と同様にして、表2に示す水溶液を調製した。それぞれの水溶液の組成、浸透圧比、pHは、表2に示す通りである。

[0064] (BPA糖アルコール水溶液の調製)

ソルビトールに加えてマンニトールを併存させて、BPAソルビトール水溶液と同様にして、表2に示す水溶液を調製した。それぞれの水溶液の組成、浸透圧比、pHは、表2に示す通りである。

[0065] [比較例1]

(L-BPA-フルクトース水溶液の調製)

L-BPAとフルクトースとを水に加え、同様に、L-BPA-フルクトース水溶液の調製を行った。

[0066] <安定性試験1>

安定性評価は、主に、ICHガイドラインに基づく医薬品苛酷安定性試験の標準的な条件として、以下の機種や条件を用いて行った。

[0067] まず、安定性試験1として、40℃での保存試験を行った。この保存試験では、40℃±2℃、75±5%RH、暗所で、保管装置：LH21-13M(ナガノサイエンス製)にて、2週間および4週間置き、それぞれの液をサンプリングして、BPA濃度測定、Tyr濃度、Phe濃度、及びAc-BPA濃度(高速液体クロマトグラフNexera X2シリーズ、島津製作所製)を測定し、試験開始時と比較した。

[0068] ここで、HPLCによる測定条件は、以下の通りである。

使用カラム：Mightysil RP-18GP (5μm、4.6×150mm) 関東化学製

移動相：0.05mol/Lりん酸二水素ナトリウム試液(pH2.5) / メタノール(95:5)

カラム温度：40℃付近の一定温度

流速：約0.8 ml / 分

注入量：10 μ l

検出波長：223 nm

[0069] 実施例の組成物と安定性評価1の結果を表1～表2に示す。なお、表中BPA残存量は、安定性試験1において、製造に用いたBPA量を100%とした場合に、保存後4週間経過後のBPAの残存量を示す。また、表には示していないが、初期チロシン量について、組成物中で、BPA以外の成分が併存していることによる初期でのBPA分解の状況を示す指標として評価した。

[0070]

[表1]

実施例	BPA 濃度	添加剤 1	添加剤 2	実測浸透圧 比	実測 pH	4週間後のBPA残存量
実施例 1	2.5%	ソルビトール 2.825%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.0	7.4	99%以上
実施例 2				1.0	7.6	
実施例 3				1.0	7.8	
実施例 4	3.5%	ソルビトール 3.875%		1.5	7.4	
実施例 5				1.5	7.6	
実施例 6				1.4	7.8	
実施例 7	4.0%	ソルビトール 4.2%		1.7	7.4	
実施例 8				1.6	7.6	
実施例 9				1.6	7.8	
実施例 10	2.5%	ソルビトール 2.825%	ピロ亜硫酸ナトリウム 0.01%	1.0	7.4	99%以上
実施例 11				1.0	7.6	
実施例 12				1.0	7.8	
実施例 13	3.5%	ソルビトール 3.875%		1.5	7.4	
実施例 14				1.4	7.6	
実施例 15				1.4	7.8	
実施例 16	4.0%	ソルビトール 4.2%		1.7	7.4	
実施例 17				1.6	7.6	
実施例 18				1.6	7.8	
実施例 19	3.0%	ソルビトール 3.15%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.2	7.4	99%以上
実施例 20				1.2	7.6	
実施例 21				1.2	7.8	
実施例 22	3.0%	ソルビトール 4.7%		1.6	7.4	
実施例 23				1.5	7.6	
実施例 24				1.5	7.8	
実施例 25	3.0%	ソルビトール 5.75%		1.8	7.4	
実施例 26				1.7	7.6	
実施例 27				1.8	7.8	
実施例 28	3.0%	ソルビトール 3.15%	ピロ亜硫酸ナトリウム 0.01%	1.2	7.4	99%以上
実施例 29				1.2	7.6	
実施例 30				1.2	7.8	
実施例 31	3.0%	ソルビトール 4.7%		1.6	7.4	
実施例 32				1.5	7.6	
実施例 33				1.5	7.8	
実施例 34	3.0%	ソルビトール 5.75%		1.8	7.4	
実施例 35				1.8	7.6	
実施例 36				1.7	7.8	
実施例 37	3.0%	ソルビトール 4.7%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.6	7.2	99%以上
実施例 38	2.5%	ソルビトール 5.35%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.6	7.4	99%以上
実施例 39				1.6	7.6	
実施例 40				1.6	7.8	
実施例 41	2.5%	ソルビトール 6.5%		1.8	7.4	
実施例 42				1.8	7.6	
実施例 43				1.8	7.8	
実施例 44	2.5%	ソルビトール 5.35%	ピロ亜硫酸ナトリウム 0.01%	1.6	7.4	99%以上
実施例 45				1.6	7.6	
実施例 46				1.6	7.8	
実施例 47	2.5%	ソルビトール 6.5%		1.8	7.4	
実施例 48				1.8	7.6	
実施例 49				1.8	7.8	

(BPA及び添加剤の％は、w／v％を意味する)

[0071] 表1に示した通り、いずれの実施例の組成物も良好な安定性を示した。BPA濃度を2.5w／v％として、ソルビトール濃度を5.35w／v％、6.5w／v％と上げた場合で、抗酸化剤の種類と濃度を同様の条件で検証したところでも、同様に良好な安定性を示す組成物が得られた。

[0072]

[表2]

実施例	BPA 濃度	添加剤 1	添加剤 2	実測浸透圧比	実測 pH	4週間後のBPA残存量
実施例 50	2.5%	ソルビトール 2.625%	亜硫酸水素ナトリウム 0.2%	1.1	7.6	99%以上
実施例 51	2.5%	ソルビトール 2.625%	亜硫酸水素ナトリウム 0.6%	1.4	7.6	
実施例 52	2.5%	ソルビトール 2.625%	亜硫酸水素ナトリウム 1.2%	1.9	7.6	
実施例 53	2.5%	ソルビトール 2.625%	ピロ亜硫酸ナトリウム 0.2%	1.1	7.6	99%以上
実施例 54	2.5%	ソルビトール 2.625%	ピロ亜硫酸ナトリウム 0.6%	1.4	7.6	
実施例 55	2.5%	ソルビトール 2.625%	ピロ亜硫酸ナトリウム 1.2%	1.9	7.6	
実施例 56	2.5%	マンニトール 2.625%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.0	7.8	99%以上
実施例 57	2.5%	マンニトール 5.35%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.6	7.4	
実施例 58	2.5%	マンニトール 5.35%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.6	7.6	
実施例 59	2.5%	マンニトール 5.35%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.6	7.8	
実施例 60	2.5%	ソルビトール 2.625%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.5	7.6	99%以上
実施例 61	2.5%	ソルビトール 2.625%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.8	7.6	99%以上
実施例 62	2.5%	ソルビトール 2.625%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	2.1	7.6	99%以上
実施例 63	2.5%	ソルビトール 1.31% マンニトール 1.31%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.0	7.6	99%以上
実施例 64	2.5%	ソルビトール 2.625% マンニトール 2.625%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.6	7.6	
実施例 65	2.5%	ソルビトール 3.25%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.9	7.4	
実施例 66		マンニトール 3.25%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.8	7.6	
実施例 67		マンニトール 3.25%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	1.8	7.8	
実施例 68	5.0%	ソルビトール 5.25%	亜硫酸水素ナトリウム 0.01%	2.1	7.6	99%以上

(BPA及び添加剤の％は、w／v％を意味する)

[0073] 表2の組成物でも、保存試験では、実施例の水溶液では、4週間以上経過しても、p-ボロノフェニルアラニンは、ほぼ99%以上保持されていることが分かった。保持性状観察では、色の変化、見た目からも成分の変化は見られなかった。実施例50～55で、初期のチロシン含量の増加が見られた。一方、フルクトース製剤は分解や色の変化が著しく、BPA濃度が大きく

低下するのに対し、ソルビトールあるいはマンニトールを含有する実施例の注射液剤は濃度変化が少なく、安定である。

[0074] 溶解性、保存試験の結果を総合的に判断して、実施例のソルビトール又はマンニトールを含有する注射液剤は、pH 7.4～7.8で、40℃保存における安定性に優れ、液の均質性にも優れていることがわかった。

[0075] [実施例69～72]

(BPAソルビトール水溶液の調製)

3w/v%のBPA、及びD-ソルビトール、亜硫酸水素ナトリウムを含む水溶液を次のとおりにして調製した。すなわち、まず、水87mlに水酸化ナトリウム0.62gを加えて攪拌した。L-BPA3gを懸濁させた。D-ソルビトールを3.15g加え、室温で30分間攪拌し、完全に溶解した。亜硫酸水素ナトリウム0.02gを加え、室温で1mol/l塩酸又は1mol/lクエン酸を適量加え、pHを調整し、水を加えて全量100mlにした。

[0076] <安定性試験2>

このように調整したBPAソルビトール水溶液を安定性試験2に供した。この試験では、5℃での保存試験に供した。この保存試験では、5℃±3℃/ambH/暗所で静置し、白濁の有無、白濁が起きるまでの時間を測定した。その結果を表3に示す。

[0077] [表3]

	HCl		クエン酸		pH	pH調整後攪拌時間		状態
実施例 69	2.5	ml (mmol)	0	ml (mmol)	7.0	180	min	澄明→5℃・7日保存後、わずかに白濁が見られた
実施例 70	0	ml (mmol)	0.8	ml (mmol)	7.1			5℃・7日保存後、澄明確認
実施例 71	0	ml (mmol)	0.8	ml (mmol)	7.2			5℃・7日保存後、澄明確認
実施例 72	0	ml (mmol)	0.8	ml (mmol)	7.4			5℃・7日保存後、澄明確認

実施例69：HCl 0.09w/v%

実施例70、71、72：クエン酸0.15w/v%

[0078] この結果、pHが7.0で塩酸を調整剤として使用した実施例69では、

保存後に白濁が生じる場合があることがわかった。

[0079] 次に、3 w／v %のB P A、及びD－ソルビトール、亜硫酸水素ナトリウムを含む水溶液を次のとおりにして調製した。すなわち、まず、水43 m lに水酸化ナトリウム0.32 gを加えて攪拌した。L－B P Aを、1.50 gを懸濁させた。D－ソルビトールを1.575 g加え、室温で30分間攪拌し、完全に溶解した。亜硫酸水素ナトリウム0.01 gを加え、室温で1 m o l／l塩酸を適量加え、p Hを調整し、水を加えて全量50 m lにした。

[表4]

	試験例 1	試験例 2	試験例 3	試験例 4
pH	6.8	7.0	7.2	7.6
塩酸	19 時間	26 時間	66 時間	90 時間まで白濁は観察されず

[0080] この結果、塩酸を用いた場合には、特にp Hの低めの領域で、5℃での保存で白濁が生じる場合があった。一方、塩酸の代わりにクエン酸を入れることで、析出を抑制できた。静脈注射剤では、不溶性微粒子の存在（析出）が問題になるが、低温での保存においても析出を抑制できることで、安定で優れた製剤の調製が可能となる。

[0081] <頭頸部がん被験者への投与試験>

亜硫酸水素ナトリウム0.02%とし、浸透圧比1.3とした以外は、実施例20と同様の水溶液を注射液剤として、標準治療では効果を有さない状態である頭頸部がん21例の被験者に対して、中性子捕捉療法を実施した。注射液剤の投与に先立って、p－ボロノフェニルアラニンの集積性を測定するために、陽電子放射線断層法（Positron Emission Tomography：PET）を利用した。p－ボロノフェニルアラニンに放射性核種 ^{18}F で標識した放射性化合物（ ^{18}F -fluoroboronophenylalanine：FBPA）を投与し、その全身分布をPET検査で画像化することによりホウ素化合物の集積性を推測した。

。このようなPET検査でがん組織／正常組織の硼素濃度比が3以上である対象に投与した。

[0082] 照射に先立って、注射液剤をあらかじめ被験者に投与した。腫瘍にホウ素10が集まるように、注射液剤を、点滴静脈内投与用として、各患者毎に、BPA濃度が200mg/kg/時間になるように調整し、2時間投与後、100mg/kg/時間となるように減速投与し、減速投与中に熱外中性子線を照射した。

[0083] 投与によるp-ボロノフェニルアラニンについて、ホウ素10の血中濃度は、20ppm（細胞1個当たり、ホウ素10原子が109個）以上45ppm以下程度であることが確認できた。このように、血中濃度を測定し、これらの腫瘍組織内又は細胞内での量を予測した。

[0084] （照射）

各頭頸部がんの患者に対して、粘膜線量として、12Gy-Eq程度とし、照射は1回最大60分程度とした。この試験で使用した注射液剤を被験者に点滴した時間（横軸（hr））と、¹⁰Bの血中濃度（縦軸（μg/ml））の関係を示す図を示す（図1）。投与によるp-ボロノフェニルアラニンについて、ホウ素10の血中濃度が、20ppm以上45ppm以下であることを確認し、特に効果のあった被験者について、投与開始後、2時間以降3時間を超える時間帯に、この範囲の値であることが示された（図1）。

[0085] この結果、まず、注射液剤の投与時における有害事象は、いずれの被験者においても、一切観察されなかった。すなわち、いずれの被験者も投与時に、ショック症状を起こすことはなかった。また、投与後に静脈炎は観察されなかった。中性子照射後に、15例では、90日に亘り、腫瘍の縮小の効果を得ることができた。90日の奏効率は、71.4%であった。

[0086] ＜脳腫瘍被験者への投与試験＞

亜硫酸水素ナトリウム0.02%とし、浸透圧比1.3とした以外は、実施例20と同様の水溶液を注射液剤として、標準治療では効果を有さない状態である脳腫瘍の被験者に対して、中性子捕捉療法を実施した。注射液剤の

投与に先立って、p-ボロノフェニルアラニンの集積性を測定するために、陽電子放射線断層法 (Positron Emission Tomography : PET) を利用した。p-ボロノフェニルアラニンに放射性核種 ^{18}F で標識した放射性化合物 (^{18}F -fluoro-boronophenylalanine : FBPA) を投与し、その全身分布を PET 検査で画像化することによりホウ素化合物の集積性を推測した。このような PET 検査でがん組織／正常組織の硼素濃度比が 3 以上である対象に投与した。

[0087] 照射に先立って、注射液剤をあらかじめ被験者に投与した。腫瘍にホウ素 ^{10}B が集まるように、注射液剤を、点滴静脈内投与用として、各患者毎に、FBPA 濃度が 200 mg/kg/時間 になるように調整し、2 時間投与後、 100 mg/kg/時間 となるように減速投与し、減速投与中に熱外中性子線を照射した。

[0088] 投与による p-ボロノフェニルアラニンについて、ホウ素 ^{10}B の血中濃度は、 20 ppm (細胞 1 個当たり、ホウ素 ^{10}B 原子が 109 個) 以上 45 ppm 以下程度であることが確認できた。このように、血中濃度を測定し、これらの腫瘍組織内又は細胞内での量を予測した。

[0089] (照射)

各脳腫瘍の患者に対して、皮膚線量として、 8.5 Gy-Eq 程度とし、照射は 1 回最大 60 分程度とした。

[0090] この結果、まず、注射液剤の投与時における有害事象は、いずれの被験者においても、一切観察されなかった。すなわち、いずれの被験者も投与時に、ショック症状を起こすことはなかった。また、投与後に静脈炎は観察されなかった。中性子照射後に、27 例中、1 年間に亘る延命率は、 81.5% であった。