

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 特 許 公 報 (B 2)

(11) 特許番号

第2679852号

(45) 発行日 平成 9 年 (1997) 11 月 19 日

(24) 登録日 平成 9 年 (1997) 8 月 1 日

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K	38/55		A 6 1 K	37/64
	38/21		C 0 7 K	1/113
	38/28			14/47
	38/44			14/555
	38/46			14/585

請求項の数 2 (全 4 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平 1 - 310056	(73) 特許権者	999999999 株式会社サム研究所 東京都千代田区永田町 1 丁目 11 番 28 号
(22) 出願日	平成 1 年 (1989) 11 月 29 日	(72) 発明者	五十嵐 理慧 神奈川県川崎市多摩区南生田 3 - 3 - 12
(65) 公開番号	特開平 3 - 170438	(72) 発明者	武永 美津子 神奈川県川崎市宮前区菅生 2 - 30 - 1
(43) 公開日	平成 3 年 (1991) 7 月 24 日	(72) 発明者	水島 裕 東京都世田谷区代田 4 - 25 - 20
		(72) 発明者	鈴木 康夫 東京都世田谷区砧 5 - 23 - 14
		(72) 発明者	宮尾 興平 東京都文京区向丘 1 - 20 - 6 - 1402
		(74) 代理人	弁理士 内田 明 (外 2 名)
		審査官	田村 聖子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 経口及び局所投与用生物活性蛋白組成物

1

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 レシチン化生物活性蛋白を含む経口及び局所投与用生物活性蛋白組成物。

【請求項 2】 レシチン化生物活性蛋白及び該生物活性蛋白を阻害しない蛋白分解酵素阻害剤を含む経口及び局所投与用生物活性蛋白組成物。

【発明の詳細な説明】

[産業上の利用分野]

本発明は、経口及び局所投与用生物活性蛋白組成物に関する。

[従来技術]

生物活性蛋白例えばカルシトニン、インスリン、インターフェロン類、免疫イムノペプチドなどは、ごく一部を除いてその投与は、非経口投与でなされており、一般的には経口及び局所投与でなされていない。投与が、経

2

口及び局所投与でも行なうことができれば、種々の点からみて非常に好都合である。

[発明の概要]

本発明者は、先に生物活性蛋白をレシチン化すると、生物活性蛋白の薬理活性の強化、副作用の低下などの優れた効果をあげることができることを見出した。さらに、このレシチン化生物活性蛋白単独、又はそれに該生物活性蛋白を阻害しない蛋白分解酵素阻害剤をともに用いると、経口及び局所投与が可能なが分かった。

10 即ち、本発明はレシチン化生物活性蛋白単独、又はそれと該生物活性蛋白を阻害しない蛋白分解酵素阻害剤とを含む経口及び局所投与用生物活性蛋白組成物に関する。

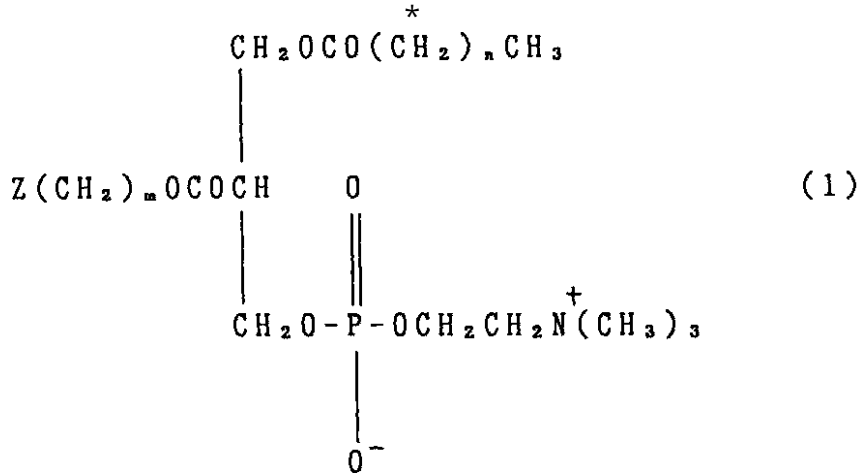
本発明で用いられる生物活性蛋白は、生物活性を有する蛋白であれば、どんなものでも良い。例えば、インス

3

4

リン、カルシトニン、インターフェロン類、カリジノゲナーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ、エラスターゼ、ウロキナーゼ、免疫イムノペプチド、蛋白を置換基に有する薬物などがあげられるが、これらに限定されない。

* 本発明では、これら生物活性蛋白をレシチン化したものを使用する。レシチン化した生物活性蛋白は、下記の式(1)のレシチンに化学的橋かけを経て生物活性蛋白が結合している。

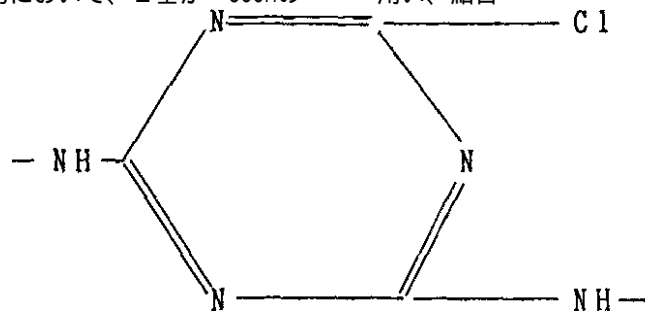


(式中、nは12~20の整数であり、mは1~20の整数であり、Zは-NH₂又は-COOHである)

式(1)の化合物において、mは、好ましくは3~20の整数、最も好ましくは14~20の整数である。Z基が結合しているアルキル基は、1個以上の炭素数1~4のアルキル基により任意に置換されていてもよい。又、化合物の安定化のために、Z基がt-Boc化されているものを使用してもよい。

化学的橋かけを行なう方法としては、以下のものが挙げられる。式(1)の化合物において、Z基が-COOHの

ときには、例えばカルボジイミド法、塩化シアヌル法により行い、-NH₂のときには、例えばSPDP [N-サクシンイミジル 3-(2-ピリジルジチオ)プロピオネート]法、カルボジイミド法、塩化シアヌル法により行なわれる。カルボジイミド法では、例えば1-エチル-3-(ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)又はジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)を用い、-CONH-結合で生物活性蛋白と式(1)の化合物とが結合する。又、塩化シアヌル法では、塩化シアヌルを用い、結合



を経て両者が結合する。さらに、SPDP法では、-NH-CO-CH₂CH₂-S-S-CH₂CH₂CONH-結合により両者が結合する。これらの方法では、反応は従来行なわれている反応条件又はそれらに近い条件で行なわれる。

本発明組成物の一つの態様では、前記のレシチン化生物活性蛋白に加えて該生物活性蛋白を阻害しない蛋白分解酵素阻害剤を含む。これら蛋白分解酵素阻害剤としては、天然又は合成の種々のものが挙げられるが、例えば次のものを挙げることができる。アプロチニン、ウリナスタチン、ヒルジン、ダイズプロテアーゼインヒビター、リマ豆プロテアーゼインヒビター、トウモロコシプロテアーゼインヒビター、メシル酸ガベキサート、メシル酸カモスタット、メシル酸ナファモスタット、など。これら阻害剤は、よく知られているものであるが、簡単

に説明すれば次の通りである。アプロチニンは、ウシの膵臓、肺などから抽出される分子量約6500の塩基性蛋白であり、ウリナスタチンは、ヒトの尿から抽出される分子量約67000の糖蛋白であり、ヒルジンは、ヒルの唾液腺から抽出される分子量約7000の酸性蛋白であり、ダイズプロテアーゼインヒビターは、大豆から抽出される分子量約22000の蛋白であり、リマ豆プロテアーゼインヒビターは、リマ豆から抽出される分子量約9000の蛋白であり、メシル酸ガベキサート(C₁₇H₂₇N₃O₇S)は、融点90~93の白色の結晶又は結晶状の粉末であり、メシル酸カモスタット(C₂₁H₂₆N₄O₈S)は、融点150~155の無臭の白色の結晶又は結晶状の粉末であり、メシル酸ナファモスタットは、融点約260(分解)の白色の結晶状の粉末である。これらの阻害剤の中には、本発明に用

20

40

50

いられる生物活性蛋白を特異的に阻害するものがあるので、そのような生物活性蛋白とはともに用いることはできない。例えば、メシル酸ナファモスタットは、トリプシン、カリジノゲナーゼ、トロンピンを強力且つ選択的に阻害するのでこれらの蛋白とはともに用いることができない。しかし、メシル酸ナファモスタットは、インスリンを阻害しないので、インスリンとはともに用いることができる。このことは、当業者であれば、容易に決めることができる。本発明では、このような阻害剤を含有することにより、本発明の効果をさらに高めることができる。

本発明組成物は、一般の経口及び局所投与用の形態にして投与される。本発明における局所投与としては、経皮、口腔内、経鼻、直腸内、子宮内の投与を意味する。その形態としては、例えば錠剤、カプセル、粉末、顆粒、トローチ、座薬、軟膏、クリーム又はローション、ゲル、スプレー、エアロゾルなどが挙げられる。経口投与の場合、組成物は、腸溶性の形になっていなければならない。これらの投与物の製造に当たっては、当業者に良く知られた方法で行なうことができる。錠剤、カプセルを例にとれば、例えば、従来の添加物例えば結合剤例えば糖液、アラビアガム、ゼラチン、ソルビトール、トラガントガム又はポリビニルピロリドン；充填剤例えばラクトース、砂糖、玉蜀黍澱粉、リン酸カルシウム、ソルビトール又はグリシン；打錠用滑沢剤例えばステアリン酸マグネシウム；崩壊剤例えば澱粉、ポリビニルピロリドン、ナトリウム澱粉グリコラート又は微結晶セルロース；又は湿潤剤例えばナトリウムラウリルサルフェートを使用して混和、充填、打錠、腸溶化などの操作により製造できる。本発明組成物は、0.1~99重量%の有効成分を含む。

本発明組成物は、含有する生物活性蛋白が有効な疾患の治療に使用される。例えば、インスリンでは、インスリン療法が適応となる糖尿病の治療に用いられ、インターフェロンでは、腎癌、多発生骨髄腫の治療に用いられ、カルシトニンは、骨粗鬆症における疼痛・骨量減少の改善、高カルシウム血症、骨ペーজেット病の治療に用いられ、カリジノゲナーゼは、主として循環障害の治療に用いられる。

本発明組成物の投与量は、疾患の程度、患者の体重などにより変化するが、一般に組成物に含まれるそれぞれの生物活性蛋白が有効に作用する量である。例えばインスリンでは、1回4~60単位、1日200単位以下である。蛋白分解酵素阻害剤の量は、合成の阻害剤では一般に1回10~100mg、1日20~1000mgが好適である。投与は、1日1回以上例えば1日数回行なわれるのが好ましい。

本発明組成物は、前記の投与量の範囲内において毒性は認められない。

本発明組成物は、従来注射によってのみしか投与でき

なかつた生物活性蛋白を経口及び局所投与の経路により使用することができる。投与すると、吸収速度が速くその上最大の吸収濃度も高くなる。その上、体内濃度も長期にわたって持続するという優れた効果を挙げる事が可能になった。又、従来経口又は局所投与が可能とされている極一部の生物活性蛋白でも、本発明組成物は、従来の製品に比べて吸収速度が速く、最大の吸収濃度も高く、体内濃度も長期にわたって持続するという利点がある。これら利点は、従来の製品では得ることができなかったものである。

[実施例]

次に、実施例を示す。

実施例 1

式(1)のアミノレシチン(式において、Zはt-Bo cNHであり、nは5である)30mg(0.04mmol)をTFA0.5mlにより脱Bocし、TFAを完全に留去した後、蒸留水に溶解し、Na₂CO₃により中和した。インスリン5mg(0.0008mmol)を加え、1-エチル 3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)を最終濃度が0.1Mとなるように加えて、室温下一夜撹拌した。

ラット(Wister種、オス、250g)を開腹し、十二指腸に、レシチン化インスリン30又は100単位/kg及びメシル酸ナファモスタット10⁻³Mの混合物を投与した。別に、コントロールとして、インスリン100単位/kg及びメシル酸ナファモスタット10⁻³Mの混合物を投与した。

投与0、30、60、90、120及び180分後の血糖値を測定した。結果を表1に示す。

表 1
血糖値(mg/dl)

時間(分)	レシチン化インスリン (単位/kg)		コントロール (単位/kg)
	30	100	100
0	61	60	65
30	116	101	113
60	112	57	114
90	89	65	105
120	83	64	111
180	84	79	119

表1から分かるように、コントロールの血糖値は、殆ど変化せず効果は全く認められないが、本発明の組成物では、コントロールの三分の一の量でも十分に優れた効果が認められる。さらに、長期にわたって効果を持続することができる。

実施例 2

実施例1で用いた式(1)のアミノレシチンを5mg使用し、[³H]-カリジノゲナーゼを250µg使用して、実施例1と同様にしてレシチン化カリジノゲナーゼを得た。

実施例1と同様にして、ラットに[³H]レシチン化カ

10

20

30

40

50

7

8

リジノゲナーゼ60 μg/10 μ l を 1 匹当たり200 μ l 投与した。又、[³H]カリジノゲナーゼを同様に対照として投与した。

血液中の [³H]カリジノゲナーゼ濃度を、投与30、60、90、120及び180分後に測定した。結果を表 2 に示す。

表 2
投与カリジノゲナーゼに対する%

時間(分)	レシチン化物	対照
30	2.20	0.50
60	2.68	1.32
90	2.61	2.06
120	1.98	1.68
180	1.48	1.35

10

表 2 から、カリジノゲナーゼは、従来注射剤の他に腸*

* 溶性製剤として経口投与されているが、本発明組成物は、吸収速度が速く、最大の吸収濃度も高く、体内濃度も長期にわたって持続するという利点があることが分かる。

フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K	38/48		C 0 7 K	14/62
// C 0 7 K	1/113		A 6 1 K	37/26
	14/47			37/553
	14/555			37/66
	14/585			37/50
	14/62			37/54

(72)発明者 西村 干夫
 東京都杉並区阿佐谷南 1 9 17

(72)発明者 猪股 俊秀
 東京都中央区日本橋本町 2 1 5 生
 化学工業株式会社内

(56)参考文献 特開 平 3 - 502924 (J P , A)
 特開 昭 59 - 222410 (J P , A)
 特開 昭 63 - 283735 (J P , A)
 Chemical Abstracts
 s 84 , No . 95569 (1975)