

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B1)

(11) 特許番号

特許第6343851号
(P6343851)

(45) 発行日 平成30年6月20日(2018.6.20)

(24) 登録日 平成30年6月1日(2018.6.1)

(51) Int.Cl. F 1
A 6 1 K 33/24 (2006.01)
A 6 1 P 31/04 (2006.01)
A 6 1 P 1/04 (2006.01)

F 1
 A 6 1 K 33/24
 A 6 1 P 31/04
 A 6 1 P 1/04

請求項の数 5 (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2017-156951 (P2017-156951)
 (22) 出願日 平成29年7月28日(2017.7.28)
 審査請求日 平成29年9月20日(2017.9.20)

特許法第30条第2項適用 輪嶋将一は、平成29年2月1日開催のパプラーン勉強会にて、白金コロイドの研究成果を口頭で発表した。

特許法第30条第2項適用 輪嶋将一は、平成29年4月5日、株式会社東洋厚生製薬所ホームページ (<http://www.toyokosei.co.jp/>)にて、白金コロイドの研究成果を掲載した。

早期審査対象出願

(73) 特許権者 397046397

株式会社東洋厚生製薬所
 東京都日野市日野1321番地

(72) 発明者 輪嶋 将一

東京都日野市日野1321番地 株式会社
 東洋厚生製薬所内

審査官 岩下 直人

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 抗ピロリ菌剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

白金コロイド、及び、パラジウムコロイドを有効成分として含有する抗ピロリ菌剤。

【請求項2】

白金コロイドとパラジウムコロイドのモル比率が1～10：1～30である、請求項1に記載の抗ピロリ菌剤。

【請求項3】

白金コロイドの濃度が0.08～16mM、かつ、パラジウムコロイドの濃度が0.1～30mMの液剤である、請求項1又は2に記載の抗ピロリ菌剤。

【請求項4】

ピロリ菌が関与する疾患の予防剤、治療剤又は再発予防剤である、請求項1～3のいずれか一項に記載の抗ピロリ菌剤。

【請求項5】

ピロリ菌が関与する疾患が、胃炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、胃癌又は十二指腸癌である、請求項4に記載の抗ピロリ菌剤。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、抗ピロリ菌剤及びピロリ菌が関与する疾患の予防剤、治療剤又は再発予防剤に関する。

【背景技術】

【0002】

ヘリコバクター・ピロリ (*Helicobacter pylori* : 以下「ピロリ菌」という。) は、ヒトの胃粘膜に感染するグラム陰性微好気性らせん状桿菌であり、胃炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、胃癌、十二指腸癌等の原因の一つとして注目されている。

【0003】

ピロリ菌が、ヒトの胃粘膜上皮に炎症反応や細胞増殖等を発症させるメカニズムにおいて、ピロリ菌由来の病原タンパク質 CagA が、重要な役割を担っていることが報告されている (非特許文献 1)。

【0004】

具体的には、ピロリ菌が保有する病原タンパク質 CagA が、ピロリ菌の表面にある注射針様 I V 型分泌装置を介して胃上皮細胞内に注入される。次いで、CagA が細胞内の Src ファミリーチロシンキナーゼによってチロシンリン酸化され、これがヒトがんタンパク質として知られる SHP2 (Src homology 2-containing protein tyrosine phosphatase) と複合体を形成し、SHP2 を活性化する。活性化された SHP2 は、Erk-MAP キナーゼ経路を介して異常な増殖シグナルを生成し、細胞内のシグナルを攪乱し、癌化を促進すること等が報告されている (非特許文献 2 及び 3)。

【先行技術文献】

【0005】

【非特許文献 1】Cell Host Microbe 12 (1) : 20-33 (2012)

【非特許文献 2】Cell Host Microbe 15 (3) : 306-316 (2014)

【非特許文献 3】Scientific Reports 5 : 15749 (2015)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

一般に、ピロリ菌に対する抗菌剤として、ペニシリン系、セファロスポリン系、テトラサイクリン系、マクロライド系等の抗生物質が知られている。しかし、これらの抗生物質は、抗菌力は高いものの、過敏症、下痢、口内炎、味覚障害等の副作用を生じさせることがあり、これらを長期間にわたって継続投与した場合には、臓器障害、血液障害等の重篤な副作用を引き起こすおそれもある。また、これらの抗生物質に対して耐性を獲得したピロリ菌が出現する等の問題も生じている。

【0007】

このような事情に鑑み、新たな抗ピロリ菌剤の開発が待たれている。そこで、本発明は新たな抗ピロリ菌剤の提供を目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、鋭意検討を進めた結果、白金コロイドが抗ピロリ菌作用を有することを見いだし、さらに白金コロイドを含有する抗ピロリ菌剤を生体内に継続投与することによって、胃粘膜上皮におけるチロシンリン酸化された CagA の発現割合を抑制できることを見いだし、本発明を完成させるに至った。

【0009】

すなわち、本発明は以下の [1] ~ [7] を提供する。

[1] 白金コロイドを有効成分として含有する抗ピロリ菌剤。

[2] 白金コロイドの濃度が 0.08 ~ 16 mM の液剤である、[1] に記載の抗ピロリ菌剤。

[3] さらにパラジウムコロイドを含有する [1] に記載の抗ピロリ菌剤。

[4] 白金コロイドとパラジウムコロイドのモル比率が 1 ~ 10 : 1 ~ 30 である、[3]

10

20

30

40

50

】に記載の抗ピロリ菌剤。

【5】白金コロイドの濃度が0.08～16mM、かつ、パラジウムコロイドの濃度が0.1～30mMの液剤である、【3】に記載の抗ピロリ菌剤。

【6】ピロリ菌が関与する疾患の予防剤、治療剤又は再発予防剤である、【1】～【5】に記載の抗ピロリ菌剤。

【7】ピロリ菌が関与する疾患が、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、胃炎、胃癌又は十二指腸癌である、【6】に記載の抗ピロリ菌剤。

【発明の効果】

【0010】

本発明の抗ピロリ菌剤は、抗ピロリ菌作用を示し、さらに生体内に継続的に投与することによって胃粘膜における病原タンパク質であるチロシンリン酸化されたCagAの発現割合を減少させる。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】コントロール液の保存開始時の生菌数測定平板の写真である。

【図2】試験液を保存して1分後の生菌数測定平板の写真である。

【図3】コントロール液を保存して1分後の生菌数測定平板の写真である。

【図4】試験液を保存して3分後の生菌数測定平板の写真である。

【図5】コントロール液を保存して3分後の生菌数測定平板の写真である。

【図6】試験液を保存して5分後の生菌数測定平板の写真である。

【図7】コントロール液を保存して5分後の生菌数測定平板の写真である。

【図8】白金パラジウムコロイドをラットに28日間継続投与後の胃粘膜におけるチロシンリン酸化CagAの発現割合減少効果を示したグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0012】

以下、本発明の好適な実施形態について詳細に説明する。ただし、本発明は以下の実施形態に限定されるものではない。

【0013】

本発明の一実施形態に係る抗ピロリ菌剤は、白金コロイドを含有する。

【0014】

白金コロイドの製造方法として、種々知られており（例えば、特公昭57-43125号公報、特公昭59-120249号公報、特公平2-43801号公報、特開平9-225317号公報、特開平10-176207号公報等）、当業者は上記方法を参照することによって、白金コロイドを適宜調製することができる。白金コロイドの製造方法として、薬理学的又は生理学的に許容されるものであれば、特に制限されないが、例えば、沈殿法又は金属塩還元反応法として知られる化学的な方法、あるいは燃焼法として知られる物理的な方法等を利用することができる。白金コロイドの製造方法として、ピロリ菌の抗菌作用を増強するという観点から、燃焼法を用いることが好ましい。

【0015】

燃焼法としては、例えば、塩化白金酸溶液及び低級アルコールの混合溶液、並びに、水素ガスを、それぞれ別の供給系から送出し、燃焼させた水素ガス炎と、上記混合溶液とを混合させ830～870℃で燃焼させ、燃焼火炎をコロイド生成槽中の槽底近くに達する渦流を生じさせた液体分散媒中に吹き込むこと等によって、白金コロイドを製造する方法が挙げられる。

【0016】

本実施形態に係る抗ピロリ菌剤が液剤である場合において、白金コロイドの濃度は特に限定されず、使用される白金コロイドの種類、当該抗ピロリ菌剤の用途、製剤形態、使用方法等によって適宜設定される。

液剤における白金コロイドの濃度としては、生体内で抗ピロリ菌作用を奏し、かつ継続投与した場合にも副作用を起りにくくするという観点から、0.08～16mMである

10

20

30

40

50

ことが好ましく、0.1～10mMであることが好ましく、0.4～8mMであることがさらに好ましい。

【0017】

本発明の別の実施形態に係る抗ピロリ菌剤は、白金コロイド、及び、パラジウムコロイドを含有する。

【0018】

パラジウムコロイドの製造方法として、種々知られており（例えば、特公昭57-43125号公報、特公昭59-120249号公報、特公平2-43801号公報、特開平9-225317号公報、特開平10-176207号公報等）、当業者は上記方法を参照することによって、パラジウムコロイドを適宜調製することができる。パラジウムコロイドの製造方法として、薬理的又は生理学的に許容されるものであれば、特に制限されないが、例えば、沈殿法又は金属塩還元反応法として知られる化学的な方法、あるいは燃焼法として知られる物理的な方法等を利用することができる。パラジウムコロイドの製造方法として、白金の酸化による劣化を防止するという観点から、燃焼法を用いることが好ましい。

10

【0019】

燃焼法としては、例えば、塩化パラジウム溶液及び低級アルコールの混合溶液、並びに、水素ガスを、それぞれ別の供給系から送出し、燃焼させた水素ガス炎と、上記混合溶液とを混合させ630～670℃で燃焼させ、燃焼火炎をコロイド生成槽中の槽底近くに達する渦流を生じさせた液体分散媒中に吹き込むこと等によって、パラジウムコロイドを製造する方法が挙げられる。

20

【0020】

本実施形態に係る抗ピロリ菌剤に含まれる白金コロイド及びパラジウムコロイドのモル比率は、特に制限されず、使用される白金コロイド及びパラジウムコロイドの種類及び濃度、該抗ピロリ菌剤の用途、製剤形態、使用方法等に応じて適宜設定される。上記抗ピロリ菌剤に含まれる白金コロイド及びパラジウムコロイドのモル比率としては、抗ピロリ菌作用を有効に奏するという観点から、白金コロイド：パラジウムコロイド＝1～10：1～30であることが好ましく、白金コロイド：パラジウムコロイド＝1～3：1～9であることがより好ましい。

【0021】

30

本実施形態に係る抗ピロリ菌剤が液剤である場合において、パラジウムコロイドの濃度は特に限定されず、使用されるパラジウムコロイドの種類、併用される白金コロイドの種類及び濃度、当該抗ピロリ菌剤の用途、製剤形態、使用方法等によって適宜設定される。

液剤におけるパラジウムコロイドの濃度としては、白金の酸化による劣化を防止し、かつ継続投与した場合にも副作用を起こりにくくするという観点から、0.1～30mMであることが好ましく、0.4～16mMであることがより好ましく、0.8～12mMであることがさらに好ましい。

【0022】

本実施形態に係る抗ピロリ菌剤は、さらに界面活性剤を含有していてもよい。

【0023】

40

界面活性剤としては、薬理的又は生理学的に許容されるものであれば特に制限されず、非イオン性界面活性剤、両性界面活性剤、陰イオン性界面活性剤、陽イオン性界面活性剤のいずれであってもよい。本実施形態に係る抗ピロリ菌剤に含有させる界面活性剤として、抗ピロリ菌作用を有効に奏するという観点から、非イオン性界面活性剤を含有させることが好ましい。

【0024】

非イオン性界面活性剤としては、例えば、モノラウリン酸POE(20)ソルビタン(ポリソルベート20)、モノパルミチン酸POE(20)ソルビタン(ポリソルベート40)、モノステアリン酸POE(20)ソルビタン(ポリソルベート60)、トリステアリン酸POE(20)ソルビタン(ポリソルベート65)、モノオレイン酸POE(20)

50

）ソルビタン（ポリソルベート80）等のPEOソルビタン脂肪酸エステル；POE（40）硬化ヒマシ油（ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油40）、POE（60）硬化ヒマシ油（ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油60）等のPOE硬化ヒマシ油；POE（9）ラウリルエーテル等のPOEアルキルエーテル；POE（20）POP（4）セチルエーテル等のPOE-POPアルキルエーテル；POE（196）POP（67）グリコール（ポロキサマー407、プルロニックF127）、POE（200）POP（70）グリコール等のポリオキシエチレン・ポリオキシプロピレンブロックコポリマー；ポリオキシエチレンヒマシ油35、ポリオキシエチレンヒマシ油40、ポリオキシエチレンヒマシ油50、ポリオキシエチレンヒマシ油60等の酸化エチレンの平均付加モル数が30を上回るポリオキシエチレンヒマシ油等が挙げられる。

10

本実施形態に係る抗ピロリ菌剤において、上記非イオン性界面活性剤を、1種単独で使用してもよく、また2種以上を組み合わせ使用してもよい。

【0025】

本実施形態に係る抗ピロリ菌剤は、個体、液体、ペースト等のいずれの形状であってもよく、タブレット（素錠、糖衣錠、発泡錠、フィルムコート錠、チュアブル錠、トローチ剤等を含む。）、カプセル剤、丸剤、粉末剤（散剤）、細粒剤、顆粒剤、液剤（懸濁液、乳濁液、シロップ等を含む。）、ペースト等の形態であってもよい。これらの各種製剤は、薬理学的又は生理学的に許容されるものであれば、賦形剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤、安定剤、懸濁化剤等の添加剤を混合し、周知の方法で製造することができる。

【0026】

20

本実施形態に係る抗ピロリ菌剤は、ヒトに投与又は摂取されても、非ヒト哺乳動物に投与又は摂取されてもよい。本実施形態に係る抗ピロリ菌剤の投与量（摂取量）は、白金コロイドの質量に換算して、成人1日あたり、例えば、0.06～6mgであることが好ましく、0.1～4mgであることがより好ましく、0.3～3mgであることがさらに好ましい。投与量は、個体の状態、年齢等に応じて適宜決定することができる。

【0027】

本実施形態に係る抗ピロリ菌剤は、経口投与（摂取）されてもよく、非経口投与されてもよいが、経口投与されることが好ましい。抗ピロリ菌剤は、1日あたりの白金コロイドの質量に換算した値が上記範囲内にあれば、1日1回投与されてもよく、1日複数回に分けて投与されてもよい。

30

【0028】

本実施形態に係る抗ピロリ菌剤は、継続的に投与（摂取）されることによって、チロシンがリン酸化されたCagAの発現割合を減少させる効果がより高まる。本実施形態に係る抗ピロリ菌剤は、2週間以上継続して投与（摂取）されることが好ましく、3週間以上継続して投与（摂取）されることがより好ましく、4週間以上継続して投与（摂取）されることがさらに好ましい。

【0029】

本実施形態に係る抗ピロリ菌剤は、ヒトの胃粘膜上皮に炎症反応や細胞増殖等を発症させる病原タンパク質であるチロシンリン酸化CagAの発現割合を減少させることができ、胃炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、胃癌、十二指腸癌等の予防剤、治療剤又は再発予防剤として有効である。

40

【実施例】

【0030】

以下に、実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明する。

【0031】

〔試験例1：抗ピロリ菌作用〕

＜試験菌株＞

試験菌株として、ピロリ菌（*Helicobacter pylori* JCM 12093）を使用した。

【0032】

50

<試験菌の培養条件>

上記試験菌を、5%馬脱繊維血液加 Blood Agar Base No. 2（オキソイド社製）を用いて37℃±1℃の条件で3～4日間かけて微好気培養した。その後、再度馬脱繊維血液加 Blood Agar Base No. 2を加えてさらに37℃±1℃の条件で3～4日間かけて微好気培養した。試験菌を生理食塩水に浮遊させ、菌数が $10^8 \sim 10^9$ / mLになるように調製し、これを試験菌液とした。

【0033】

<試験操作>

検体：白金パラジウムコロイド溶液（PAPLAL（登録商標）（6 mLの水溶液中、白金コロイドが1.2 mg、パラジウムコロイドが1.8 mg含まれている。）：株式会社東洋厚生製薬所製）

対照：生理食塩水

検体10 mLに試験菌液0.1 mLを接種し、これを試験液とした。またコントロールとして対照10 mLに試験菌液0.1 mLを接種し、これをコントロール液とした。

試験液及びコントロール液をそれぞれ20℃±1℃で保存し、1分後、3分後、5分後に、保存した試験液及びコントロール液をSCDL P培地（日本製薬株式会社製）で10倍に希釈し、生菌数を測定した。

【0034】

<試験結果>

表1は、試験液及びコントロール液を保存してから、それぞれ1分後、3分後、5分後の生菌数を測定した結果を示した表である。

また表1中の減少率（%）は、コントロール液の生菌数を100%とした場合に、試験液の生菌数の割合を示した値である。

【0035】

【表1】

対象	生菌数（/mL）			
	開始時	1分後	3分後	5分後
試験液	—	1.4×10^5	5.8×10^4	5.4×10^4
コントロール液	3.1×10^6	7.9×10^6	1.9×10^6	5.4×10^6
減少率	—	1.8%	3.1%	1%

保存温度：20℃

【0036】

表1から、白金コロイド及びパラジウムコロイドを含有する検体を、試験菌であるピロリ菌に接種した場合に、保存してから1分後、3分後及び5分後のいずれの試験液においてもピロリ菌の生菌数が減少することが分かる。

【0037】

[試験例2：チロシンリン酸化Ca g Aの発現量減少作用]

<動物の準備>

6週齢の雄性PMSS1（ピロリ菌PMSS1株）陽性SD系ラット（チャールズリバー社製）10匹を、試験環境下で7日間馴化した。飼育環境として、室温25℃±1℃、湿度20%±2%以下、1日12時間照明の飼育室にて、金属ケージに5匹ずつ収容し、市販の固形飼料と水を自由に摂取させた。

【0038】

<試験群の構成>

試験には7週齢のラットを用いた。10匹のラットを対照群と投与群とに分けそれぞれ5匹ずつとした。対照群には生理食塩水を、投与群には被験物質としてPAPLAL 600 µl / Kg BWを、それぞれ1日1回投与し、これを28日間継続して行った。

28日間経過後、投与群について、一般状態、死亡率、体重変化、血液学的検査、血液

生化学的検査、臓器重量、肉眼的病理検査、組織学的病理検査において、対照群と比較したところ、有害事象は認められず、通常投与による毒性学的・非生理学的影響も認められなかった。

【0039】

【表2】

	28日間継続投与（飲水暴露）
被験物質	PAPLAL
試験期間	28日（自由飲水）
動物数	投与群：雄5匹／群（対照群：雄5匹）
投与濃度	600 μ l / kg BW
臨床兆候	有意な臨床兆候は認められない
体重増加	体重増加に関連する有意な影響は認められない
血液学的検査	有意な変化なし
血液生化学的検査	有意な変化なし
臓器重量	有意な変化なし
肉眼的病理検査	有意な所見なし
組織学的病理検査	有意な所見なし

10

【0040】

<チロシンリン酸化CagAの発現割合>

対照群及び投与群のラットから切除した胃粘膜組織をそれぞれ個別に常法に従いホモジナイズ処置後、遠心分離を行い、その上清（可溶性画分）を採取した。

免疫沈降とイムノプロットの第1抗体として、anti-CagAポリクローナル抗体（Austral Biologicals, San Ramon, Ca, USA）とanti-リン酸化チロシン抗体（Upstate Biotechnology Inc., Lake Placid, NY, USA）を使用した。

上清を、タンパク質を吸着可能なセファロース4Bに吸着させ、洗浄後、anti-CagA抗体又はanti-リン酸化チロシン抗体を加え、4℃で60分反応させた。十分洗浄をした後、HRPラベルされた第二抗体と1時間反応させ、過酸化水素加DAB（3, 3'-ジアミノベンジジン）にて発色させ発色強度を測定した。またチロシンリン酸化CagAの発現割合の評価は、anti-CagA抗体とanti-リン酸化チロシン抗体を用いた場合の発色割合から評価した（図3）。

その結果を表3に示す。

【0041】

【表3】

群	チロシンリン酸化CagA	S. D.
対照群	100.0	3.2
投与群	84.6	2.3

40

【0042】

表3から、PAPLAL投与群は、対照群に比べて、CagA全体におけるチロシンリン酸化CagAの発現割合が有意に減少していることが分かる。

白金コロイドが、in vivoにおいて抗ピロリ菌作用を示すだけであれば、ピロリ菌から注入されるCagAの全体量が減少するだけにとどまる。しかし、試験例2では、PAPLAL投与群において、CagA全体にしめるチロシンリン酸化CagAの発現割合が減少しており、白金コロイドにはCagAのチロシンリン酸化を抑制する作用も有することが分かる。

【0043】

50

チロシンリン酸化C a g Aは、胃炎、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、胃癌、十二指腸癌等の病原タンパク質として作用する。このため、生体内においてC a g A全体に占めるチロシンリン酸化C a g Aの発現割合を減少させる作用を有する白金コロイドは、チロシンリン酸化C a g Aが関与する上記疾患の予防剤、治療剤又は再発予防剤として有効である。

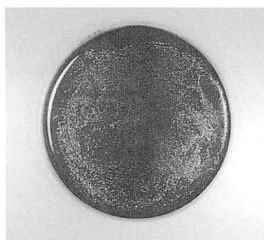
【要約】

【課題】新たな抗ピロリ菌剤を提供すること。

【解決手段】白金コロイドを含有する抗ピロリ菌剤。

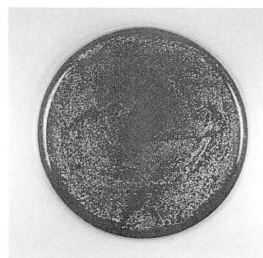
【選択図】なし

【図 1】



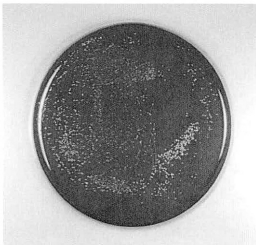
ピロリ菌 対照 開始時 (試験液0.01mL)

【図 3】



ピロリ菌 対照 1分後 (試験液0.01mL)

【図 2】



ピロリ菌 検体 1分後 (試験液0.01mL)

【図 4】



ピロリ菌 検体 3分後 (試験液0.01mL)

【図 5】



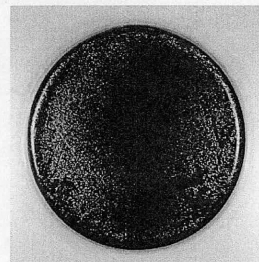
ピロリ菌 対照 3分後(試験液0.01mL)

【図 6】



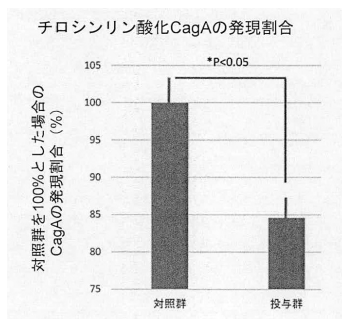
ピロリ菌 検体 5分後(試験液0.01mL)

【図 7】



ピロリ菌 対照 5分後(試験液0.01mL)

【図 8】



フロントページの続き

(56)参考文献 国際公開第2004/073723 (WO, A1)

特開2005-139157 (JP, A)

曲曉非, パプラールのラット胃障害モデルに対する効果, 薬理と臨床, 1998年 5月, Vol. 8, No.3, p.215-218

川上智史ほか, 白金パラジウムによるヒト胃がん・大腸がん細胞増殖抑制効果に関する検討, 第19回日本統合医療学会 プログラム・抄録集, 2015年11月27日, p.130

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 33/24

A61P 1/04

A61P 31/04

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)