

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2021年10月7日(07.10.2021)



(10) 国際公開番号

WO 2021/201264 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 31/7028 (2006.01) A61K 31/255 (2006.01)
A61K 31/12 (2006.01) A61P 19/02 (2006.01)
A61K 31/223 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2021/014273

(22) 国際出願日: 2021年4月2日(02.04.2021)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2020-066739 2020年4月2日(02.04.2020) JP

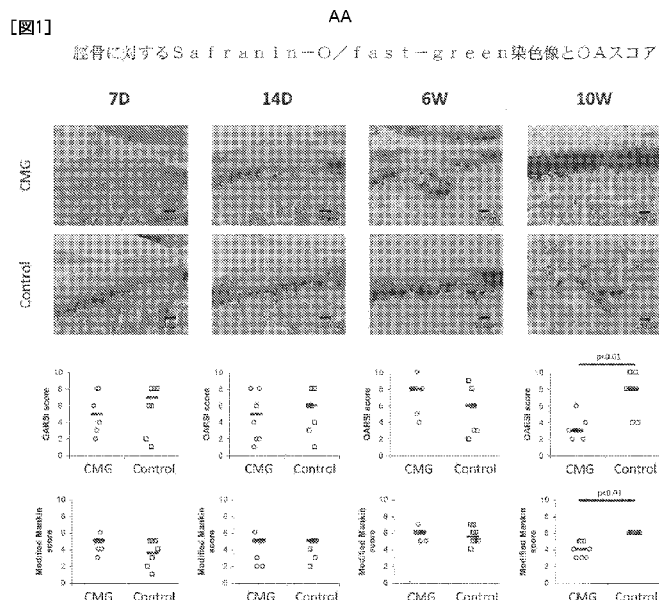
(71) 出願人: 株式会社セラバイオファーマ (THERABIOPHARMA INC.) [JP/JP];
〒2130012 神奈川県川崎市高津区坂戸3-2-1 KSPイノベーションセンタービル 東604

Kanagawa (JP). 国立大学法人京都大学(KYOTO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町3番地1 Kyoto (JP). 独立行政法人国立病院機構(NATIONAL HOSPITAL ORGANIZATION) [JP/JP]; 〒1528621 東京都目黒区東が丘二丁目5番21号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 黒木 裕士 (KUROKI, Hiroshi); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町3番地1 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP). 中畑 晶博(NAKAHATA, Masahiro); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町3番地1 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP). 中川 泰彰(NAKAGAWA, Yasuaki); 〒6128555 京都府京都市伏見区深草向畑町1-1 独立行政法人国立病院機構京都医療センター内 Kyoto (JP). 今泉 厚(IMAIZUMI, Atsushi); 〒2130012

(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION FOR PARENTERAL ADMINISTRATION FOR TREATING, PREVENTING OR ALLEVIATING OSTEOARTHRITIS

(54) 発明の名称: 変形性関節症の治療、予防又は緩和のための非経口投与用医薬組成物



AA Image of Safranin-O/fast-green staining of tibia and OA score

(57) Abstract: The present invention addresses the problem of providing a pharmaceutical composition for parenteral administration for treating, preventing or alleviating osteoarthritis. A pharmaceutical composition for parenteral administration for treating, preventing or alleviating osteoarthritis, said pharmaceutical composition comprising, as an active ingredient, a conjugate of curcumin with a water-soluble substance.

神奈川県川崎市高津区坂戸 3 - 2 - 1 K S
P イノベーションセンタービル 株式会社セ
ラバイオファーマ内 Kanagawa (JP).

(74) 代理人: 特許業務法人アルガ特許事務所(**THE PATENT CORPORATE BODY ARUGA PATENT OFFICE**); 〒1030013 東京都中央区
日本橋人形町 1 丁目 3 番 8 号 沢の鶴
人形町ビル Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ,
BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ,
EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,
HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH,
KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY,
MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ,
NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT,
QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL,
ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,
US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS,
MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ,
TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ,
DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT,
LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS,
SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第21条(3))

(57) 要約: 変形性関節症の治療、予防又は緩和のための非経口投与用医薬組成物を提供することを課題とする。 クルクミン類の水溶性物質抱合体を有効成分として含む、変形性関節症の治療、予防又は緩和のための非経口投与用医薬組成物。

明 細 書

発明の名称：

変形性関節症の治療、予防又は緩和のための非経口投与用医薬組成物

技術分野

[0001] 本発明は、変形性関節症の治療、予防又は緩和のための非経口投与用医薬組成物に関する。

背景技術

[0002] 社会の高齢化や生活慣習の変化などにより、関節炎の患者数は増加する傾向にある。関節炎の中でも、変形性関節症（*osteoarthritis*；OA）は、全世界で約2億5000万人の患者がいる、最も一般的な変性関節疾患である（非特許文献1）。

国内での変形性膝関節症の患者数は、自覚症状を有する患者数で約1000万人、潜在的な患者数（X線診断による患者数）で約3000万人と推定される。発病率は高齢になるほど増加し、50歳以上の患者男女比では、女性の方が男性よりも1.5～2倍多い。

変形性膝関節症の治療方法としては、運動療法、ヒアルロン酸注射、ステロイド注射及び手術等や、サプリメントによる予防等を含め、極めて多数知られている。

しかしながら、その効果は十分とは言えず、有効な医学療法の提供、さらには関節軟骨や軟骨下骨に悪影響を及ぼさない有効な医学療法の提供が望まれている。またさらに、予防補給が望まれている。

[0003] クルクミンは、近年、腫瘍形成阻害作用、抗酸化作用、抗炎症作用、コレステロール低下作用、抗アレルギー作用、脳疾患予防作用、心疾患予防治療作用等の薬理作用を有することが明らかとなり、食品（例えば、機能性食品）、医薬品や化粧品等への利用が検討されている。

関節炎に関しては、ルテイン及びグルコサミンを有効成分として含有する関節炎の予防剤において、他の有効成分の一つとしてクルクミンが例示列挙

されているが、その効果について具体的な記載はなされていない（特許文献1）。

一方、クルクミンを水溶性物質（例えばグルクロン酸、硫酸、グルタチオン及びアミノ酸等）との抱合体とし、この抱合体を有効成分とする非経口投与用医薬組成物が、水難溶性なクルクミンの吸収性を改善した結果、クルクミンが有する抗腫瘍作用などの薬理作用が十分に得られることが報告されている（特許文献2）。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特開2013-95723号公報

特許文献2：国際公開第2018/003857号

非特許文献

[0005] 非特許文献1：SHEN J., et al. Recent progress in osteoarthritis research. The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons, 2014; 22 (7) : 467-468.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0006] 本発明は、副作用が低減化された、変形性関節症の治療、予防又は緩和用非経口投与用医薬組成物を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0007] そこで、本発明者は、変形性関節症のモデル動物を用いて、種々の成分を非経口投与して関節軟骨に対する損傷度、関節軟骨中のⅠ型コラーゲンその他の関節症マーカー、軟骨下骨の嚢胞及び骨棘などについて評価したところ、クルクミン類の水溶性物質抱合体が、関節軟骨及び軟骨下骨の両者において、変形性関節症特有のこれらの症状を改善又は抑制すること、さらにク

ルクミン類の水溶性物質抱合体の非経口投与によって全身性症状が認められなくなることを見出し、本発明を完成した。

[0008] すなわち、本発明は、次の発明〔１〕～〔１１〕を提供するものである。

〔１〕 クルクミン類の水溶性物質抱合体を有効成分として含む、変形性関節症の治療、予防又は緩和のための非経口投与用医薬組成物。

〔２〕 クルクミン類が、クルクミン及びその誘導体から選ばれる１種以上である上記〔１〕記載の非経口投与用医薬組成物。

〔３〕 クルクミンの誘導体が、ビスデメトキシクルクミン、デメトキシクルクミン及びテトラヒドロクルクミンから選ばれる１種以上である上記〔２〕記載の非経口投与用医薬組成物。

〔４〕 前記水溶性物質が、グルクロン酸、硫酸、グルタチオン及びアミノ酸から選ばれる１種以上である上記〔１〕～〔３〕のいずれかに記載の非経口投与用医薬組成物。

〔５〕 前記水溶性物質が、グルクロン酸及び硫酸から選ばれる１種以上である上記〔１〕～〔３〕のいずれかに記載の非経口投与用医薬組成物。

〔６〕 前記クルクミン類の水溶性物質抱合体が、クルクミンモノグルクロニドである上記〔１〕記載の非経口投与用医薬組成物。

〔７〕 前記組成物が、変形性関節症の治療、予防又は緩和用治療剤である、上記〔１〕～〔６〕のいずれかに記載の非経口投与用医薬組成物。

〔８〕 前記変形性関節症が、変形性膝関節症、変形性股関節症又は変形性肘関節症である、上記〔１〕～〔６〕のいずれかに記載の非経口投与用医薬組成物。

〔９〕 変形性関節症の治療、予防又は緩和のための非経口投与用医薬組成物製造のための、クルクミン類の水溶性物質抱合体の使用。

〔１０〕 変形性関節症の治療、予防又は緩和のために非経口投与するための、クルクミン類の水溶性物質抱合体。

〔１１〕 クルクミン類の水溶性物質抱合体の有効量を非経口投与することを特徴とする、変形性関節症の治療、予防又は緩和方法。

発明の効果

[0009] 本発明のクルクミン類の水溶性物質抱合体を有効成分として含む、変形性関節症の治療、予防又は緩和のための非経口投与用医薬組成物は、変形性関節症における関節軟骨及び軟骨下骨の各種症状を改善又は抑制することができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]図1は、実施例1のラット脛骨に対するS a f r a n i n O a n d F a s t - g r e e n染色の結果を示す。上2段は図面代用写真で、第1段目はCMG投与群、第2段目はコントロール群で、いずれも7日、14日、6週、10週時点の染色結果である。代用写真の下2段は、S a f r a n i n O a n d F a s t - g r e e n染色結果に基づき定量化したO Aスコアの結果を示す。第1段目はO A R S Iスコアを、第2段目はm o d i f i e d M a n k i n h i s t o l o g i cスコアを示す。

[図2]図2は、実施例1のラット脛骨に関する免疫組織学的評価結果を示す。上の2段は図面代用写真で、第1段目（上段及び下段）にI型コラーゲンの局在状況、第2段目（上段及び下段）にII型コラーゲンの局在状況を示す。代用写真の下2段は、第1段目はI型コラーゲンの最低輝度、第2段目はII型コラーゲンの平均輝度を示す。

[図3]図3は、実施例1のラット脛骨に関するI L 1 - β 及びI L 6の免疫組織学的評価結果を示す。上の2段は図面代用写真で炎症性サイトカインI L 1 - β 及びI L 6発現状況を示し、下の2段は、I L 1 - β 、I L 6の陽性細胞割合（％）を示す。

[図4]図4は、実施例1のラット脛骨に関する炎症性サイトカインT N F - α の免疫組織学的評価結果を示す。上段は図面代用写真でT N F - α の発現状況を示し、下段はT N F - α 陽性細胞割合（％）を示す。

[図5]図5は、実施例1のラット脛骨における軟骨下骨（S B）の囊胞数、最大囊胞径と骨棘量を示す。上段に軟骨下骨のマイクロC T撮像結果を示す図面代用写真と、下段に軟骨下骨の囊胞（C y s t s）数との直径（m m）、

並びに骨棘 (Osteophyte) の量 (mm³) を示す。

[図6]図6は、実施例1のラット膝蓋軟骨に対するSafranin O and Fast-green染色の結果とOAスコアを示す。上2段は図面代用写真で、第1段目はCMG投与群、第2段目はコントロール群で、いずれも7日、14日、6週、10週時点の染色結果である。代用写真の下2段は、Safranin O and Fast-green染色結果に基づき定量化したOAスコアの結果を示す。第1段目はOARSIスコアを、第2段目はmodified Mankin histologicスコアを示す。

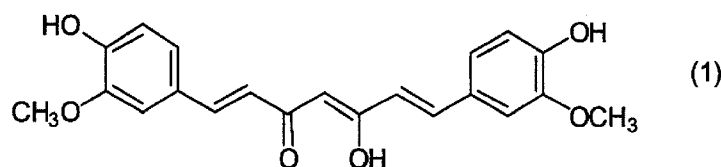
[図7]図7は、実施例1のラット膝蓋軟骨に関する免疫組織学的評価結果を示す。上の2段は図面代用写真で、Ⅰ型及びⅡ型コラーゲンの局在状況を示す。代用写真の下2段は、Ⅰ型コラーゲンの最低輝度、Ⅱ型コラーゲンの平均輝度を示す。

発明を実施するための形態

[0011] 本発明の変形性関節症の治療、予防又は緩和のための非経口投与用医薬組成物の有効成分は、クルクミン類の水溶性物質抱合体である。

クルクミンは、ウコン色素に含まれるクルクミノイドの主成分であり、下記構造式(1)で表される化合物である。

[0012] [化1]



[0013] 本発明のクルクミン類は、クルクミン及びその誘導体から選ばれる1種以上である。クルクミンの誘導体としては、ビスデメトキシクルクミン、デメトキシクルクミン及びテトラヒドロクルクミンが挙げられる。

本発明においてクルクミンは、化学合成されたクルクミンを用いてもよいし、ウコン色素として流通しているものを用いてもよい。ウコン色素として

は、ショウガ科ウコン (*Curcuma longa* LINNE) の根茎の乾燥物を粉末にしたウコン末、該ウコン末を適当な溶媒（例えば、エタノール、油脂、プロピレングリコール、ヘキサン、アセトンなど）を用いて抽出して得られる粗製クルクミン或いはオレオレジン（ターメリックオレオレジン）、及び精製したクルクミンを挙げることができる。

なお、クルクミンには、互変異性体であるケト型及びエノール型のいずれも含まれる。

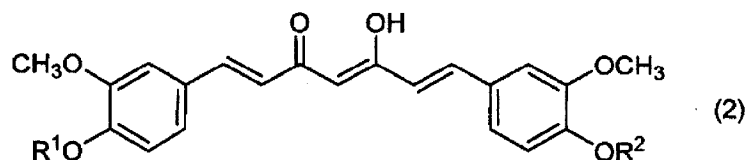
[0014] 本発明のクルクミン類の水溶性物質抱合体の水溶性物質としては、グルクロン酸、硫酸、グルタチオン及びアミノ酸から選ばれる１種以上が挙げられる。アミノ酸としては、生体内に存在するアミノ酸、例えば必須アミノ酸が挙げられる。

クルクミン類の水溶性物質抱合体は、遊離型クルクミンの血中濃度を高い値で維持することができる。これにより、クルクミンが有する薬理作用が十分に得られ、またクルクミン抱合体はクルクミンの生体内代謝産物であることから、安全性が非常に高いので好ましい。

クルクミン類の水溶性物質抱合体におけるクルクミンと前記水溶性物質との結合モル比は、クルクミン：水溶性物質＝１：１～１：３であるのが好ましく、１：１～１：２がより好ましく、１：１がさらに好ましい。

[0015] クルクミンと前記水溶性物質の抱合形態（結合形態）は、例えば式（２）の形態である。

[0016] [化2]



[0017] （式中、 R^1 及び R^2 の少なくとも一方は前記水溶性物質の残基であり、残余は水素原子である。）

[0018] 前記式（２）中、 R^1 及び R^2 の一方又は両方はグルクロン酸残基又は硫酸

残基が好ましく、残余は水素原子が好ましい。このうち、 R^1 及び R^2 の一方又は両方はグルクロン酸残基であり、残余が水素原子であるのがより好ましい。なかでも、 R^1 がグルクロン酸残基で R^2 が水素原子であるクルクミンモノグルクロニドが、変形性関節症に対する治療、予防及び緩和効果が優れている点から、さらに好ましい。

[0019] クルクミン類の水溶性物質抱合体は、前記特許文献2記載の方法によって製造することができる。

[0020] クルクミン類の水溶性物質抱合体は、後記実施例に示すように、非経口投与によって、関節軟骨及び軟骨下骨の両者において、変形性関節症特有の種々の症状を改善又は抑制し、さらにクルクミン類の水溶性物質抱合体の非経口投与によって全身性症状が認められなくなる。

ここで、変形性関節症特有の症状としては、関節軟骨に対する損傷、関節軟骨中のⅠ型コラーゲン、炎症マーカーなどの関節症マーカー、軟骨下骨の嚢胞及び骨棘の形成などが挙げられる。クルクミン類の水溶性物質抱合体は、これらの関節軟骨に対する損傷、関節軟骨中のⅠ型コラーゲン、炎症マーカーなどの関節症マーカー、軟骨下骨の嚢胞及び骨棘の形成などを顕著に抑制する。

本発明の非経口投与用医薬組成物が対象とする変形性関節症としては、例えば、変形性膝関節症、変形性股関節症、変形性肘関節症等を例示することができ、なかでも変形性膝関節症を好ましいものとして挙げるができる。

[0021] 本発明の非経口投与用医薬組成物中のクルクミン類の水溶性物質抱合体の含有量は、変形性関節症の種類、患者の性別、年齢、症状などに応じて適宜決定されるため、一概に決定することはできないが、例えば、1～100質量%が好ましく、5～100質量%がより好ましく、10～100質量%がさらに好ましい。

本発明の組成物は、治療剤の形態で用いる場合の剤形としては、特に限定されない。例えば、液状製剤として、あるいは凍結乾燥したものを用時調製

した製剤として使用することもできる。また持続性剤形及び徐放性剤形であってもよい。また、医薬製剤に通常用いられる担体、賦形剤等の添加剤を用いて調製することもできる。

[0022] 本発明の医薬組成物の投与経路は、非経口投与であればよく、疾患、症状等に応じて、全身投与及び局所投与が挙げられる。具体的には、注射剤（例えば、局所注、静注、筋注等）が挙げられる。注射剤の場合、通常の静脈内投与、動脈内投与の他、関節内、皮下、皮内、筋肉内等への注射により投与できる。

[0023] 注射剤用の水性の溶剤は、例えば、蒸留水又は生理食塩水であり得る。注射剤用の非水性の溶剤は、例えば、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、オリーブ油のような植物油、エタノールのようなアルコール類、又はポリソルベート80（局方名）であり得る。このような製剤は、さらに等張化剤（例えば、塩化ナトリウム、ブドウ糖等）、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、分散剤、安定化剤、pH調節剤（例えば、クエン酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、リン酸ナトリウム等）、緩衝剤、局所麻酔剤（例えば、塩酸プロカイン、塩酸リドカイン等）又は溶解補助剤を含有してもよい。

これらの製剤は、例えば、バクテリア保留フィルターによる濾過、殺菌剤の配合、又は放射線照射によって無菌化され得る。また、無菌の固体組成物を使用前に無菌の水又は注射用溶媒に溶解又は懸濁して得られた組成物をこれらの製剤として使用することもできる。これらの製剤は、製剤工程において通常用いられる公知の方法により製造することができる。

[0024] 本発明の医薬組成物が、変形性膝関節症、変形性股関節症又は変形性肘関節症等の治療剤、予防又は緩和用剤である場合、注射剤、なかでも関節内腔注射剤として投与するのが好ましい。この場合、本発明の組成物の形態は用時溶解型の粉末充填剤でもよいし、水溶液でもよい。非経口投与用組成物には、クルクミン類の水溶性物質抱合体の他、水、生理食塩水、pH調整剤、糖類、酸、アルカリ、緩衝剤、等張化剤、安定剤、無痛化剤、防腐剤等を配合することができる。

糖類としては、単糖類、二糖類、三糖類、多糖類、糖アルコール等が挙げられる。酸、アルカリとしては、水溶性無機酸、水溶性無機酸塩、水溶性有機酸、水溶性有機酸塩、アミノ酸、アミノ酸塩等が挙げられる。

[0025] 本発明の医薬組成物には、さらにヒアルロン酸などの高分子基材を組み合わせることができる。

[0026] 変形性膝関節症、変形性股関節症又は変形性肘関節症に関しては治療のみならず病態の予防または緩和のために用いられる。

実施例

[0027] 次に実施例を挙げて本発明を更に具体的に説明するが、本発明の範囲は下記に説明する特定の態様に限定されることはない。

[0028] 製造例 1

(クルクミンの水溶性物質抱合体 (クルクミンモノグルクロニド) の調製方法)

WO 2018/03857 号公報記載の方法に準じて、クルクミンモノグルクロニドを合成した。すなわち、アセトブローモ- α -D-グルクロン酸メチルエステル 1.0 g (2.52 mmol) とバニリン 326.0 mg (2.15 mmol) を原料として反応させて化合物 (1) (β -D-グルコピラノシドuron酸, 4-ホルミル-2-メトキシフェニル, メチルエステル, トリアセタート) 491.6 mg (収率 49%) を得た。一方、2, 4-ペンタジオン 3.3 mL (32.07 mmol) とバニリン 2.2 g を原料として反応させて化合物 (2) (5-ヒドロキシ-1-(4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル)-1, 4-ヘキサジエン-3-オン) を得た。化合物 (1) と化合物 (2) とを反応させて化合物 (3) (クルクミン β -D-グルコピラノシドuron酸 2, 3, 4-トリ-O-アセチル, メチルエステル) を得た。次いで化合物 (3) の脱アセチル化・精製によりクルクミンモノグルクロニド (253.1 mg) を得た。

[0029] 実施例 1

(クルクミンモノグルクロニド (CMG) の *in vivo* ラット OA モデ

ルに対する効果)

(1) In vivoラットOAモデルの作成とCMG投与

ラット (Wistar 12週齢 雄) の右膝内側半月板前節部の脛骨付着部を切離する内側半月板不安定化手術 (destabilization of the medial meniscus; DMM surgery) によりOAを誘発する、ラットOAモデルを作成した (Glasson, S. S. et al, The surgical destabilization of the medial meniscus (DMM) model of osteoarthritis in the 29/SvEv mouse. Osteoarthritis Cartilage 15, 1061-1069, (2007))。同じラットの左膝には皮膚及び関節包の切開のみを行いSham手術側とした。

作成されたOAモデルラット64匹をCMGが膝関節内に投与される投与群と生理食塩水が膝関節内に投与されるコントロール群とに分けた。それぞれの観察期間は術後7日(7D)、14日(14D)、6週(6W)、及び10週(10W)とした(それぞれn=8匹)。観察期間が術後7Dのラットには術後3日、7日にそれぞれ関節内投与し(CMG30mg/mlもしくは生理食塩水、50μl)、術後14Dラットには術後3日、7日、10日、14日に関節内投与した。観察期間が術後6Wと10Wのラットでは術後1週間後より屠殺直前まで毎週関節内投与した。

[0030] それぞれ観察期間終了時に関節内投与を行った1時間後に屠殺し、膝関節を摘出した。膝関節はマイクロCT撮影後、組織観察のため、PFA固定、脱灰、脱水を行った後にパラフィン包埋し、薄切標本を作製して、以下の評価に供した。

(1) 組織学的評価

SafraninO and Fast green染色(脛骨高原内側部及び膝蓋軟骨の中央を通る矢状断で作成した切片を染色して評価)

(2) OARSIスコア((Osteoarthritis Resear

ch Society Internationalによる組織学的スコアリングシステムによる定量化された関節軟骨組織評価) : Glasson, S. S. et al, The OARSI histopathology initiative—recommendations for histological assessments of osteoarthritis in the mouse, J. Osteoarthritis and Cartilage, 18, 2010, S17–S23に準じてSafranin O and Fast green染色に基づいて、下のGradeとStageからスコアリング(0–24)する。

<Grade>

- 0 : 正常、関節軟骨損傷なし
- 1 : 軟骨損傷はないが、関節軟骨表面の線維化や細胞死がみられる
- 2 : 基質の染色低下を伴う関節軟骨表面の損傷、不整がみられる
- 3 : 関節軟骨に垂直方向の亀裂があり、基質の染色性も深く低下する
- 4 : 表層の関節軟骨は剥離。関節軟骨中間層まで陥没している
- 5 : 関節軟骨が深く損傷し、軟骨下骨が露出している
- 6 : 関節軟骨が深く損傷、軟骨下骨が露出し、骨棘ができています

<Stage>

- 0 : OA所見がみられない
- 1 : <10%
- 2 : 10–25%
- 3 : 25–50%
- 4 : >50%

(3) Modified Mankin (MM) スコア (関節軟骨損傷の重症度の評価) : スコアは、以下の各項目の合計値により算出。

<Pericellular Matrix Staining>

- 0 : 正常

1 : 一部分の輝度が上昇

2 : 40%以上の軟骨で輝度が上昇

<Spatial Arrangement of Chondrocytes>

0 : 正常

1 : 広い範囲で軟骨細胞増加

2 : 一部分の軟骨細胞の減少

3 : 広い範囲で軟骨細胞減少

<Interritorial Matrix Staining>

0 : 正常

1 : 染色性低下

2 : 一部分の染色性消失

3 : 40%以上の関節軟骨で染色性消失

[0031] (4) 免疫組織学的評価 (I型及びII型コラーゲン、IL1- β 、IL6、TNF- α の評価)

I型コラーゲン : 染色後、脛骨高原内側部及び膝蓋軟骨の関節軟骨の輝度をImage-Jを用いて、最低 (最も色濃く暗い) 輝度を測定

II型コラーゲン : 染色後、脛骨高原内側部及び膝蓋軟骨の関節軟骨の輝度をImage-J (NIH)を用いて、平均輝度を測定

IL1- β 、IL6、TNF- α : それぞれ染色後、脛骨高原内側部の軟骨細胞の内、陽性細胞の数の割合を算出

(5) CT撮影による軟骨下骨の嚢胞 (Cysts) 及び骨棘 (Osteophyte) の評価

マイクロCT撮影像から軟骨下骨及び骨棘の評価を行った。骨嚢胞は数と最大嚢胞の径を計測した。骨棘はAmira (Thermo Fisher Scientific)を用いて、脛骨高原内側部の骨棘量を算出した。

[0032] (II) 評価結果

まず、術後7D、14D、6Wにおいて、クルクミンと想定される蛍光物質を関節軟骨から検出できた。

[0033] (脛骨高原内側部の組織学的評価)

Safranin O and Fast-green染色画像とOASコアを図1に示す。

染色画像のうち、CMG投与群（上段）では、術後早期の炎症の強い時期においてはCMG投与によるOA抑制効果が少ないものの、10W時にOASコアでは、OARSスコア（上段）とMMHスコア（下段）のいずれのスコアでも、CMG投与群は有意に小さく、CMG投与により慢性期でOAの進行を抑制出来ていることが分かる。

(脛骨高原内側部の免疫組織学的評価)

また、図2、図3、及び図4に示した免疫組織学的評価結果から、10W時のⅠⅠ型コラーゲンにおいてCMG投与群で有意（ $p < 0.05$ ）に平均輝度が低く濃く染色されており（図2）、OAによるⅠⅠ型コラーゲンの分解が抑制されていることが分かる。炎症性サイトカインIL-1 β とIL6（図3）、及びTNF- α （図4）の陽性細胞発現割合（%）がCMG投与群では6W時で有意（ $p < 0.05$ ）に小さくなっており、炎症性サイトカイン発現が抑制されていることが分かる。

[0034] (脛骨高原内側部の軟骨下骨の評価)

マイクロCT撮像結果（図5）から、10W時に嚢胞数と最大嚢胞径がCMG投与群では有意に小さく（ $p < 0.01$ ）、また10W時の骨棘量もCMG投与群で有意に小さく（ $p < 0.01$ ）、OAの進行を抑制できていることが分かる。

(膝蓋軟骨の評価)

脛骨高原内側部の関節軟骨の評価と同様に膝蓋軟骨の評価も行った。Safranin O and Fast-green染色像とOASコアを図6に、免疫組織学的評価結果（Ⅰ型及びⅠⅠ型コラーゲン）を図7に示す。10W時のOARSスコア（図6の上段）がCMG投与群では有意に小さ

く ($p < 0.01$)、10W時のⅠⅠ型コラーゲン平均輝度がCMG投与群では有意に小さく ($p < 0.05$)、OAが抑制できていることがわかる。

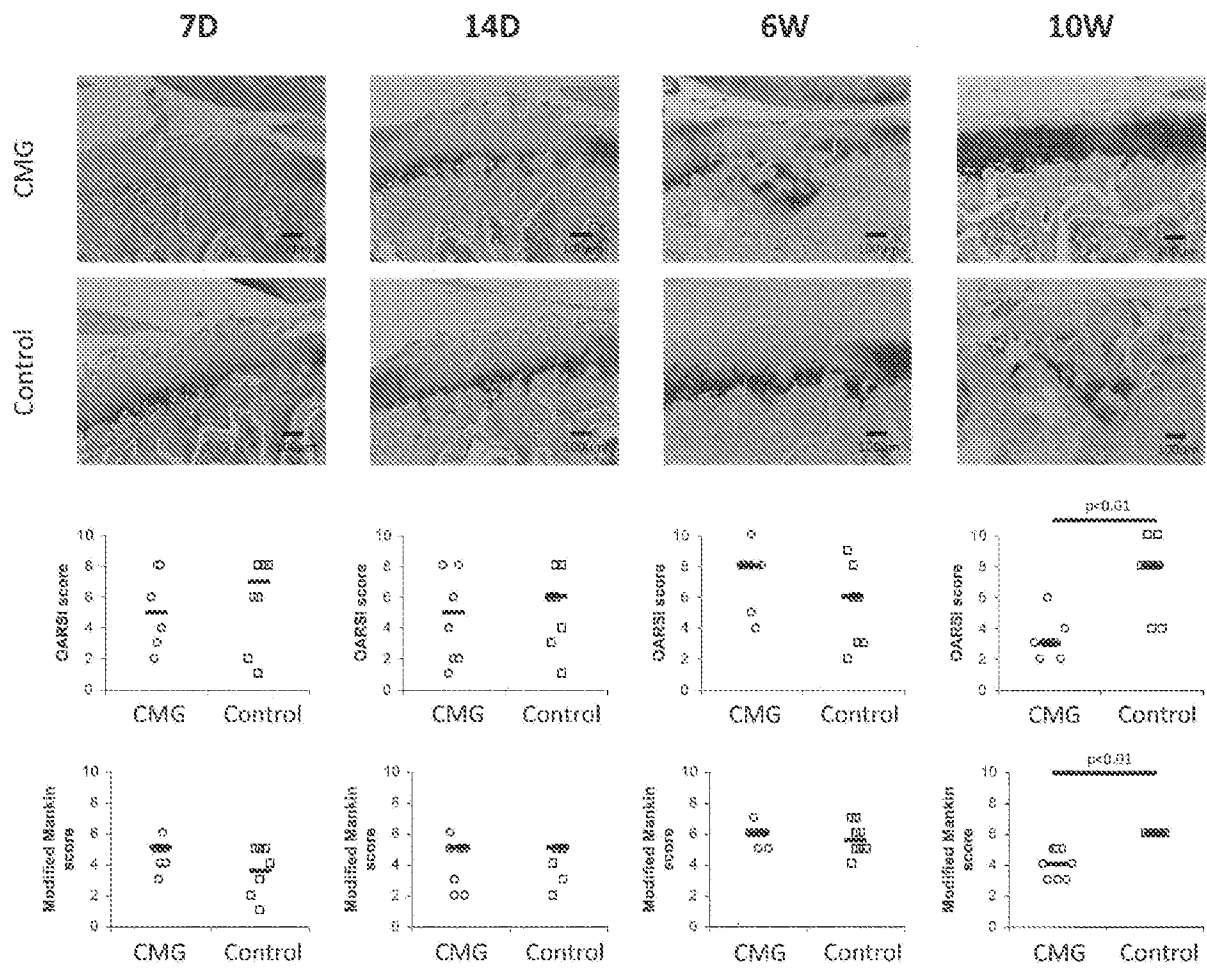
[0035] 以上から、関節軟骨、軟骨下骨のいずれも、6W～10WにかけてOA症状が改善されていることが確認された。なお、いずれのCMG投与群においても顕著な全身毒性症状は認められず、軟骨や軟骨下骨に悪影響を及ぼさないことも確認された。

請求の範囲

- [請求項1] クルクミン類の水溶性物質抱合体を有効成分として含む、変形性関節症の治療、予防又は緩和のための非経口投与用医薬組成物。
- [請求項2] クルクミン類が、クルクミン及びその誘導体から選ばれる1種以上である請求項1記載の非経口投与用医薬組成物。
- [請求項3] クルクミンの誘導体が、ビスデメトキシクルクミン、デメトキシクルクミン及びテトラヒドロクルクミンから選ばれる1種以上である請求項2記載の非経口投与用医薬組成物。
- [請求項4] 前記水溶性物質が、グルクロン酸、硫酸、グルタチオン及びアミノ酸から選ばれる1種以上である請求項1～3のいずれか1項記載の非経口投与用医薬組成物。
- [請求項5] 前記水溶性物質が、グルクロン酸及び硫酸から選ばれる1種以上である請求項1～3のいずれか1項記載の非経口投与用医薬組成物。
- [請求項6] 前記クルクミン類の水溶性物質抱合体が、クルクミンモノグルクロニドである請求項1記載の非経口投与用医薬組成物。
- [請求項7] 前記組成物が、変形性関節症の治療又は緩和のための非経口投与用医薬組成物である、請求項1～6のいずれか1項記載の非経口投与用医薬組成物。
- [請求項8] 前記変形性関節症が、変形性膝関節症、変形性股関節症又は変形性肘関節症である、請求項1～7のいずれか1項記載の非経口投与用医薬組成物。
- [請求項9] 変形性関節症の治療、予防又は緩和のための非経口投与用医薬組成物製造のための、クルクミン類の水溶性物質抱合体の使用。
- [請求項10] 変形性関節症の治療、予防又は緩和のために非経口投与するための、クルクミン類の水溶性物質抱合体。
- [請求項11] クルクミン類の水溶性物質抱合体の有効量を非経口投与することを特徴とする、変形性関節症の治療、予防又は緩和方法。

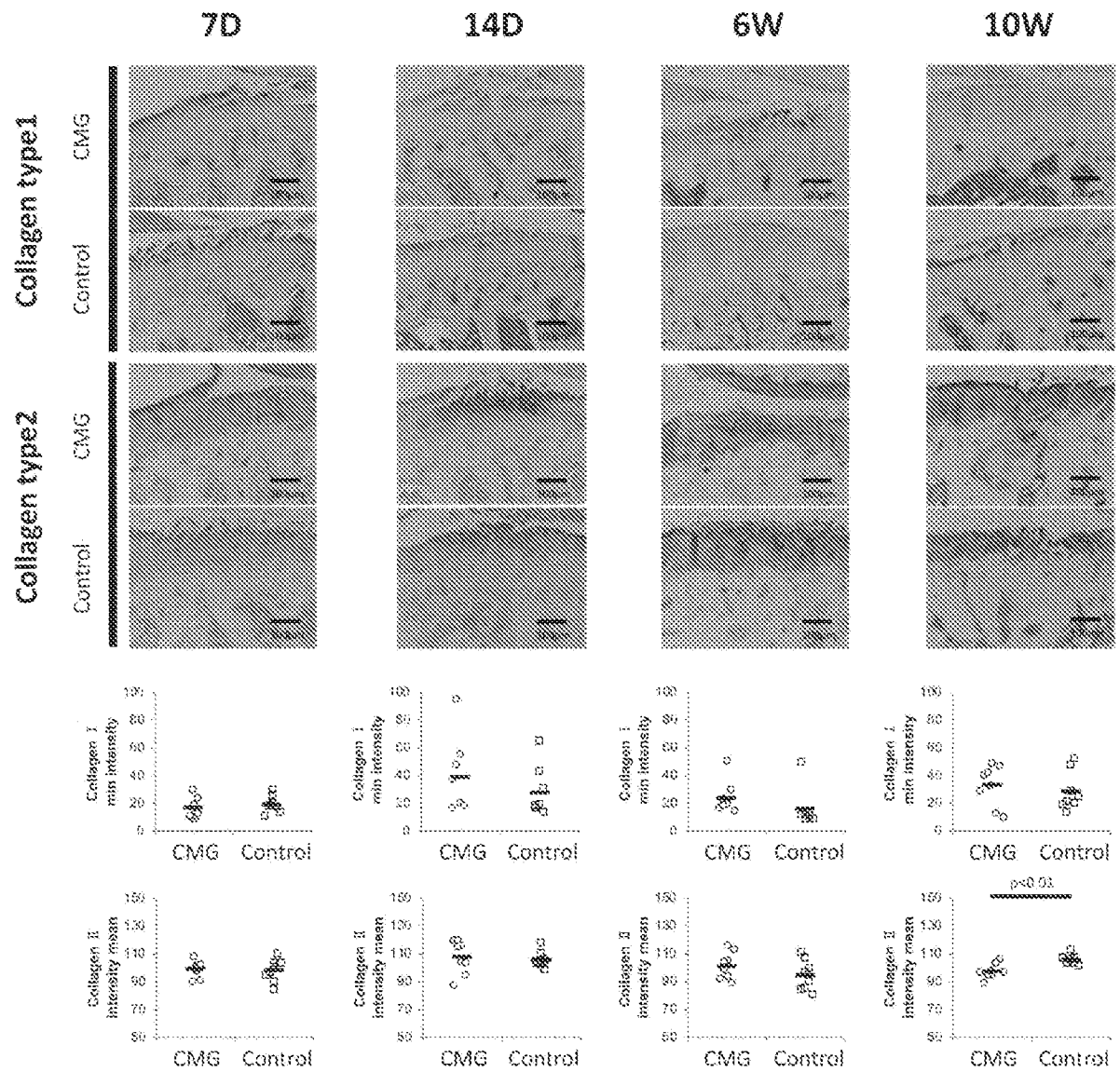
[図1]

脛骨に対するSafranin-O/fast-green染色像とOAスコア

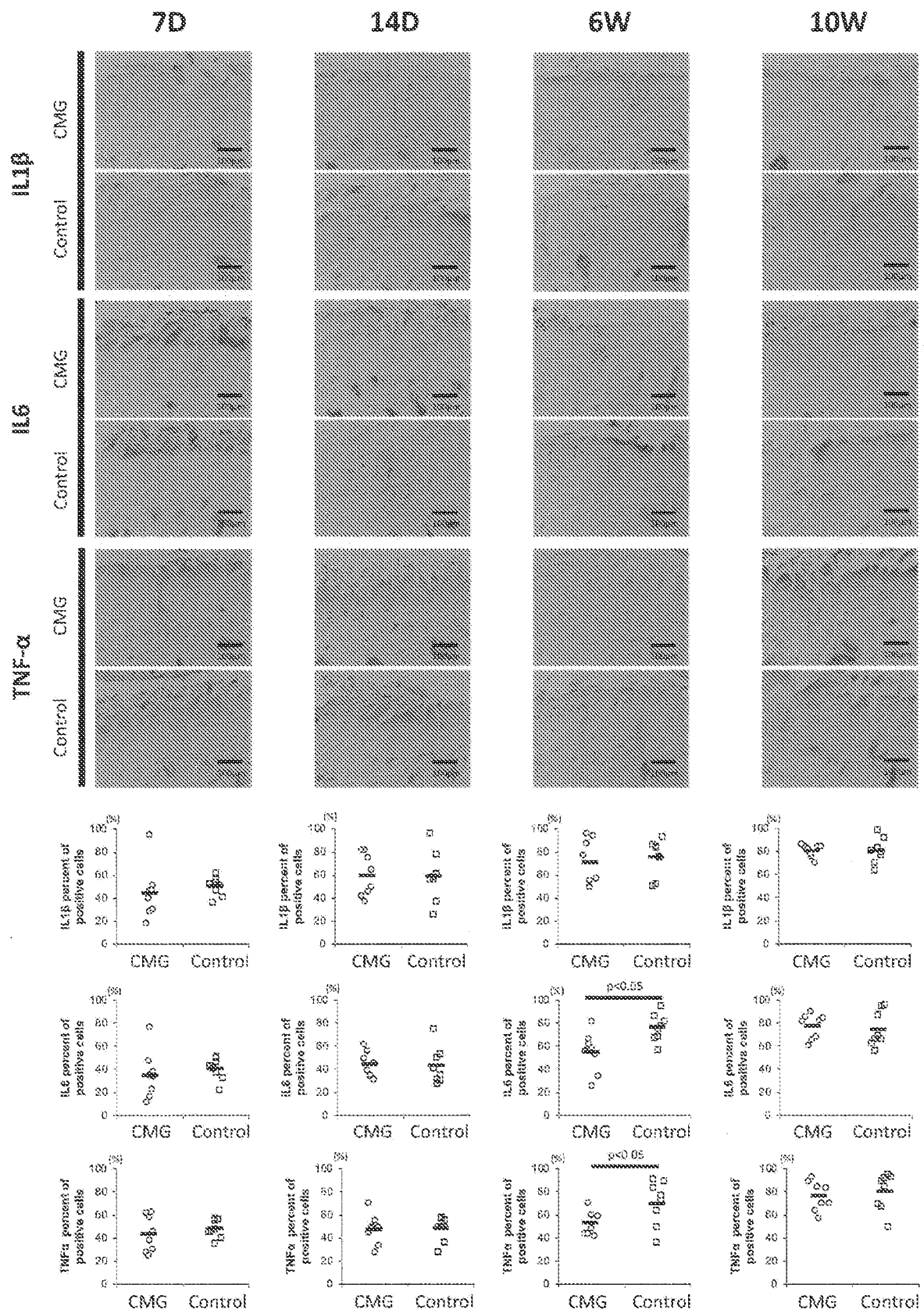


[図2]

脛骨に関する免疫組織学的評価（I型及びII型コラーゲン）

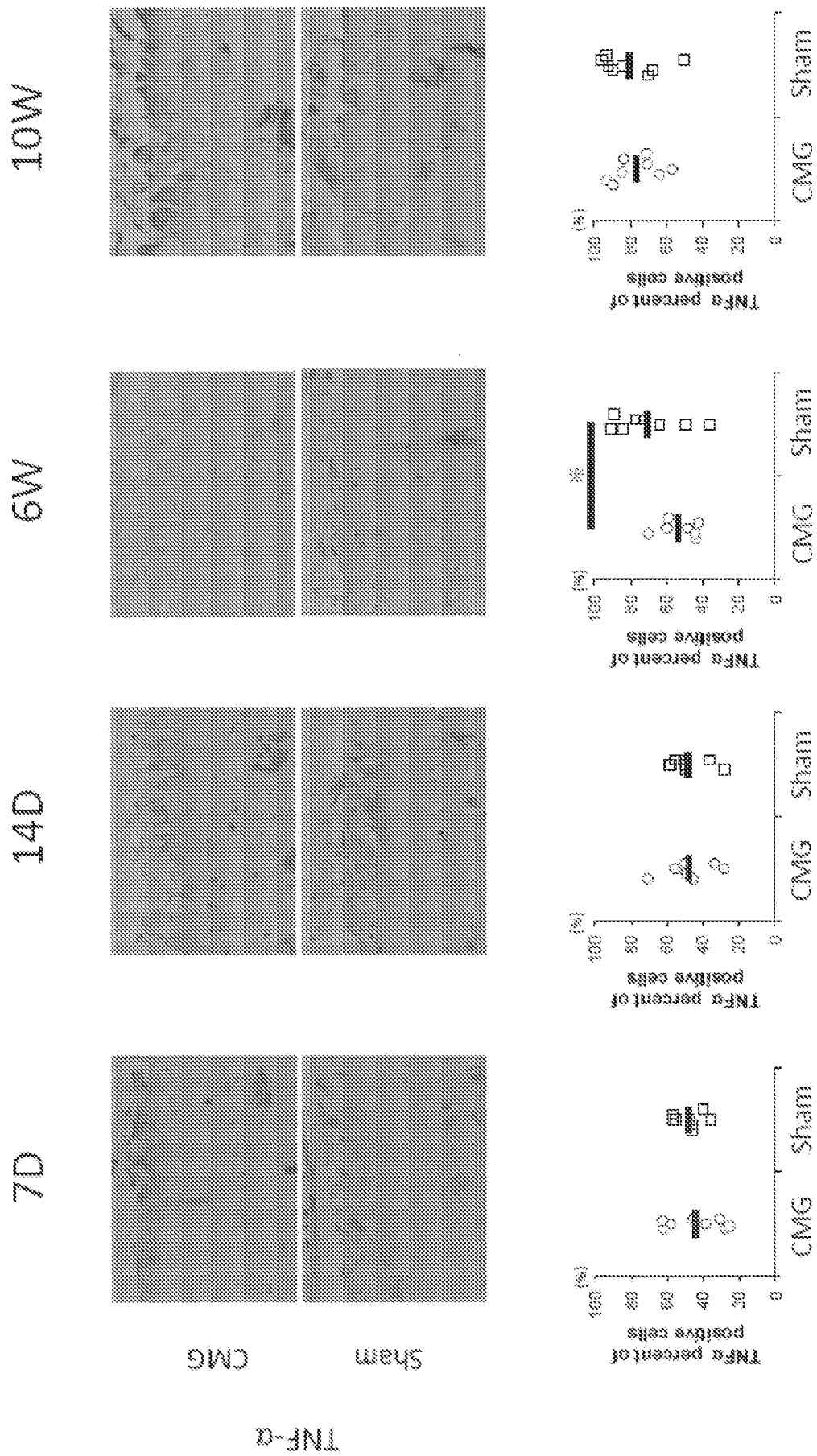


[図3]

脛骨に関する免疫組織学的評価 (IL1- β 、IL6)

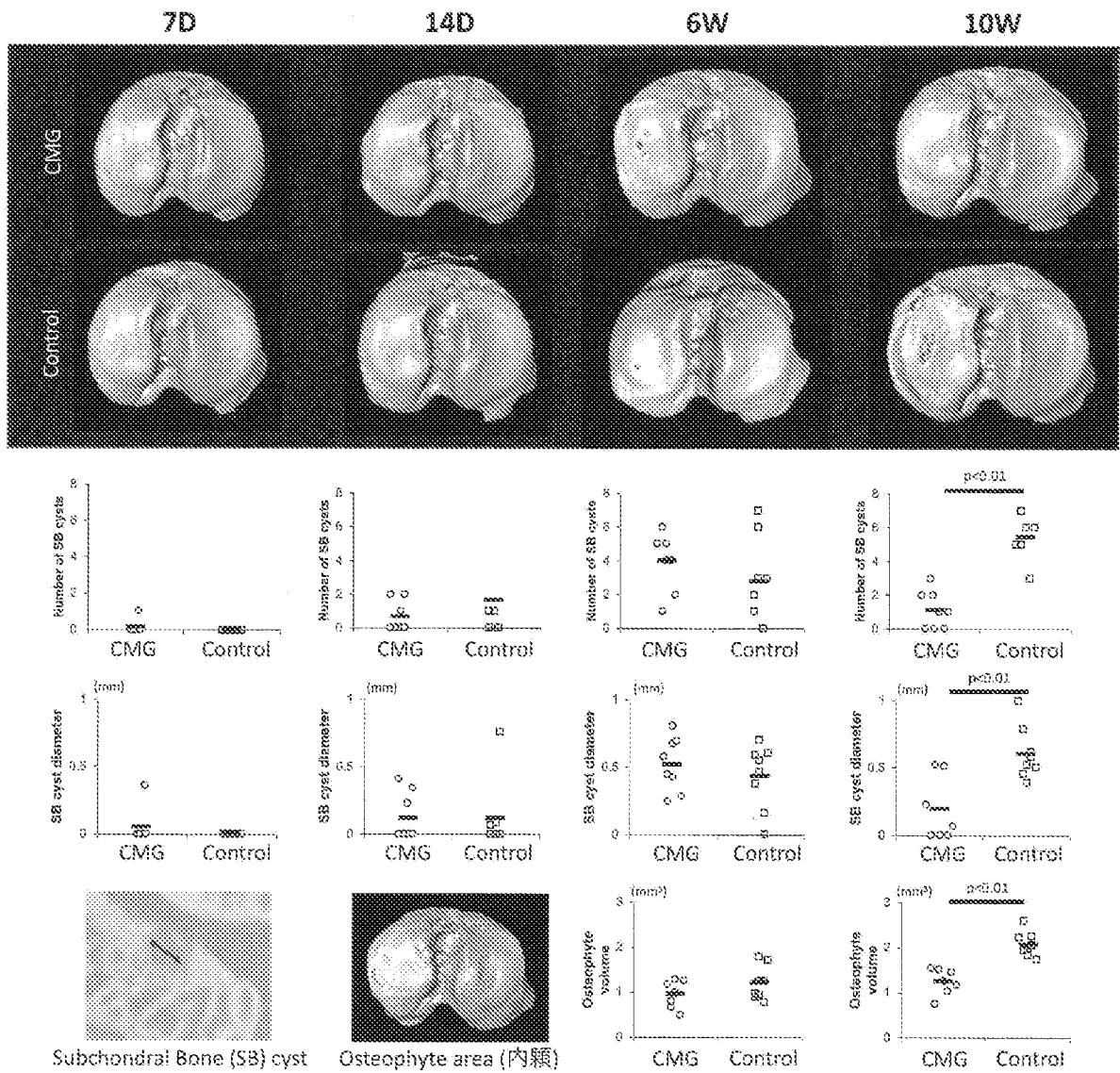
[図4]

脛骨に関する免疫組織学的評価 (TNF- α)



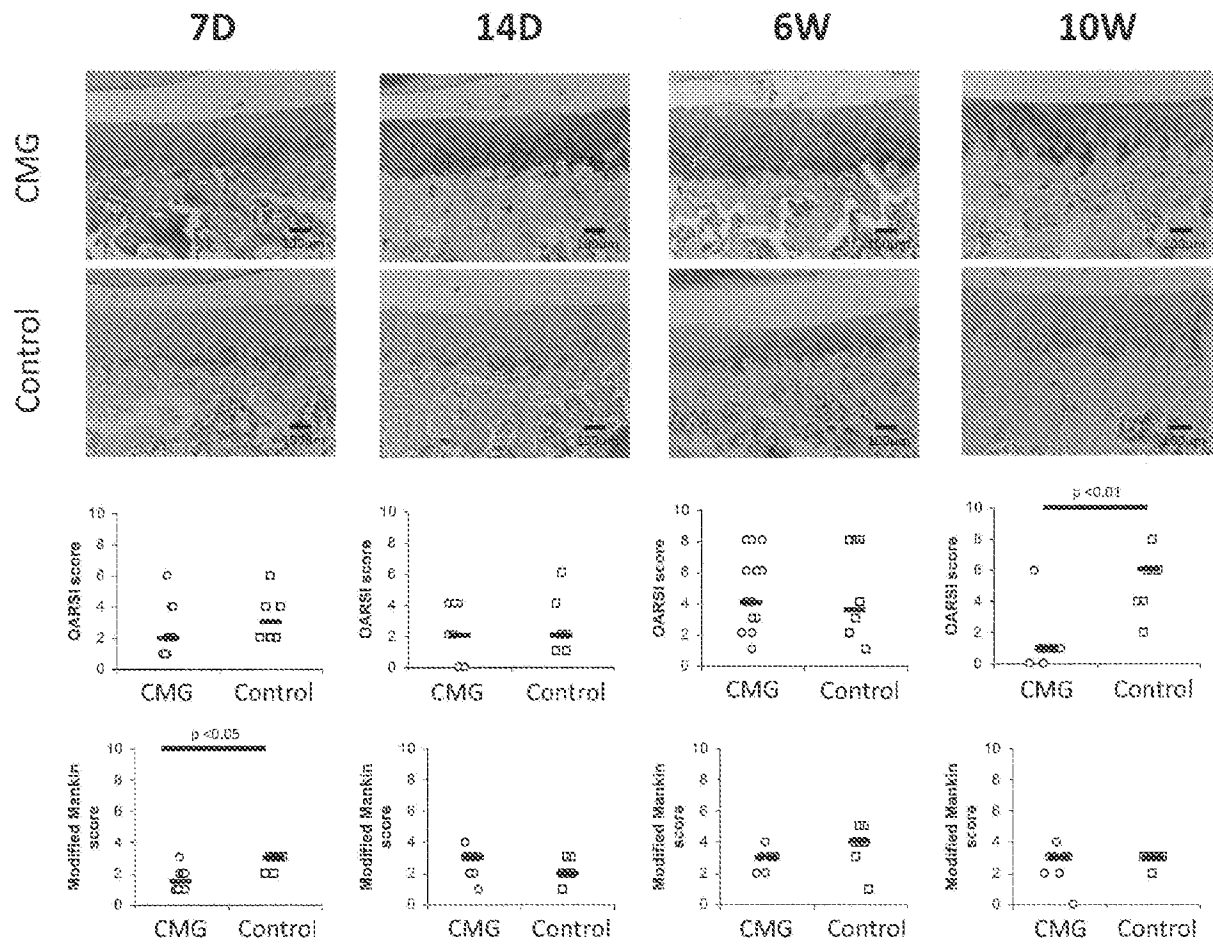
[図5]

脛骨における軟骨下骨（SB）の囊胞数、最大囊胞径と骨棘量



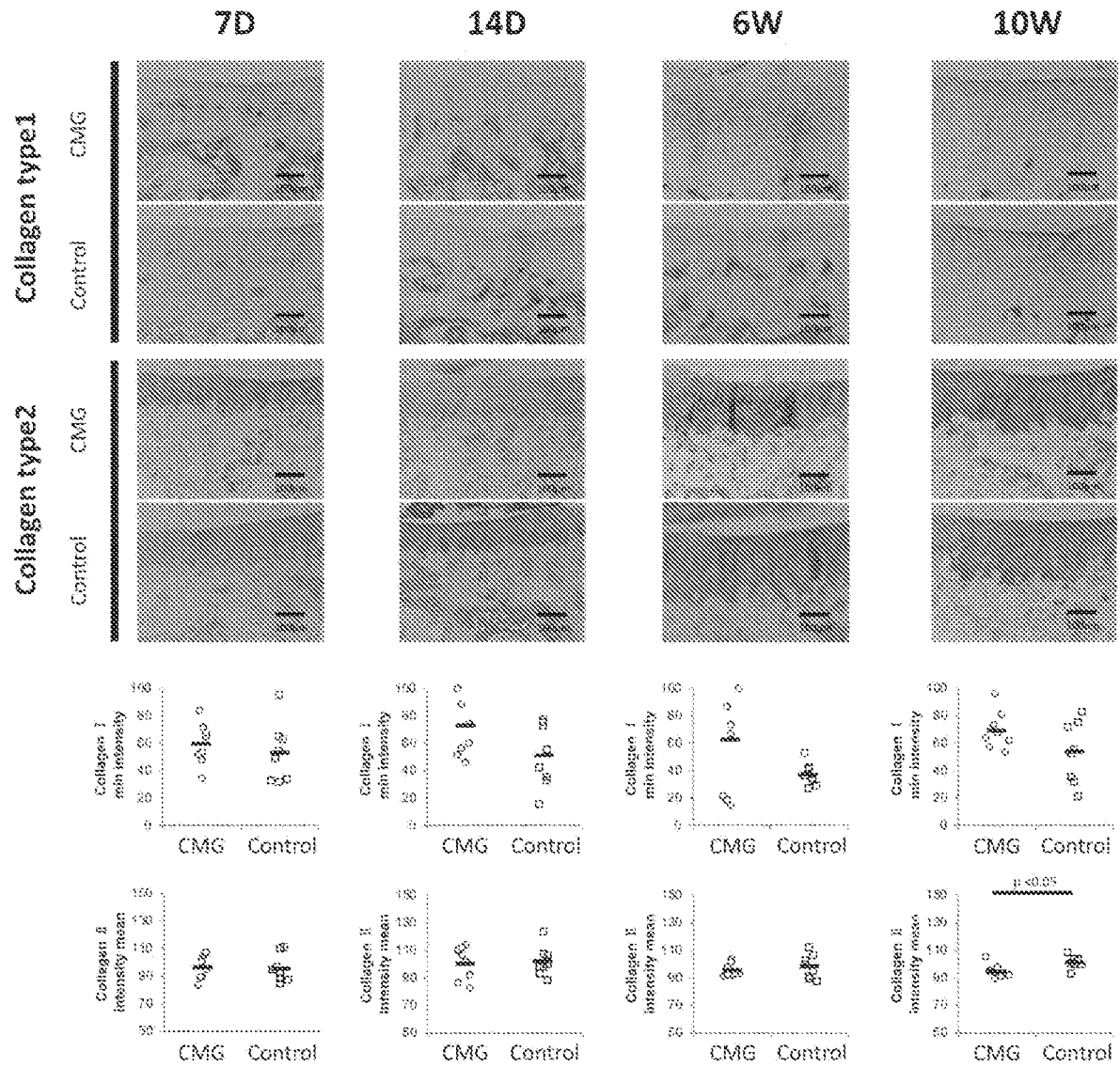
[図6]

膝蓋軟骨に対するSafranin-O/fast-green染色像とOAスコア



[図7]

膝蓋軟骨に関する免疫組織学的評価（Ⅰ型及びⅡ型コラーゲン）



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/014273

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 31/7028(2006.01)i; A61K 31/12(2006.01)i; A61K 31/223(2006.01)i; A61K 31/255(2006.01)i; A61P 19/02(2006.01)i
FI: A61K31/7028; A61P19/02; A61K31/255; A61K31/12; A61K31/223

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)

A61K31/7028; A61K31/12; A61K31/223; A61K31/255; A61P19/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2021
Registered utility model specifications of Japan	1996-2021
Published registered utility model applications of Japan	1994-2021

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2018/003857 A1 (THERABIOPHARMA INC.) 04 January 2018 (2018-01-04) claims 1-2, paragraphs [0005], [0009], production example 1, test examples 1-3	1-11
Y	JP 2015-526445 A (ABBOTT LABORATORIES) 10 September 2015 (2015-09-10) example 12	1-11
Y	US 2017/0095522 A1 (INDENA. S.P.A.) 06 April 2017 (2017-04-06) example 3	1-11
Y	JP 2017-535289 A (NWO STEM CURE, LLC) 30 November 2017 (2017-11-30) paragraphs [0023]-[0024]	1-11
Y	JP 2017-186335 A (KOBAYASHI PHARMACEUT CO., LTD.) 12 October 2017 (2017-10-12) paragraph [0029]	1-11

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family 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 application or patent 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
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
28 April 2021 (28.04.2021)

Date of mailing of the international search report
18 May 2021 (18.05.2021)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2021/014273

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
WO 2018/003857 A1	04 Jan. 2018	US 2019/0224325 A1 claims 1-2, paragraphs [0005], [0014], production example 1, test examples 1-3 EP 3479828 A1 CN 109562118 A	
JP 2015-526445 A	10 Sep. 2015	US 2015/0164824 A1 example 12 WO 2014/028621 A1 EP 2884970 A1 CA 2881680 A1 CN 104703591 A MX 2015002013 A HK 1210945 A1 BR 112015003399 A2 IN 1942DEN2015 A SG 11201501121V A	
US 2017/0095522 A1	06 Apr. 2017	WO 2017/055481 A1 EP 3150214 A1	
JP 2017-535289 A	30 Nov. 2017	WO 2016/072992 A1 paragraphs [0023]- [0024] CA 2966487 A1 KR 10-2017-0082576 A CN 107073062 A	
JP 2017-186335 A	12 Oct. 2017	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61K 31/7028(2006.01)i; A61K 31/12(2006.01)i; A61K 31/223(2006.01)i; A61K 31/255(2006.01)i; A61P 19/02(2006.01)i FI: A61K31/7028; A61P19/02; A61K31/255; A61K31/12; A61K31/223																				
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61K31/7028; A61K31/12; A61K31/223; A61K31/255; A61P19/02 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2021年</td> </tr> </table> 国際調査で利用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2021年	日本国実用新案登録公報	1996-2021年	日本国登録実用新案公報	1994-2021年										
日本国実用新案公報	1922-1996年																			
日本国公開実用新案公報	1971-2021年																			
日本国実用新案登録公報	1996-2021年																			
日本国登録実用新案公報	1994-2021年																			
C. 関連すると認められる文献 <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Y</td> <td>WO 2018/003857 A1 (株式会社セラバイオファーマ) 04.01.2018 (2018-01-04) 請求項1-2, 段落[0005],[0009], 製造例1, 試験例1-3</td> <td>1-11</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2015-526445 A (アボット・ラボラトリーズ) 10.09.2015 (2015-09-10) 実施例12</td> <td>1-11</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>US 2017/0095522 A1 (INDENA S.P.A.) 06.04.2017 (2017-04-06) Example 3</td> <td>1-11</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2017-535289 A (エヌダブリュオー ステム キュア、エルエルシー) 30.11.2017 (2017-11-30) 段落[0023]-[0024]</td> <td>1-11</td> </tr> <tr> <td>Y</td> <td>JP 2017-186335 A (小林製薬株式会社) 12.10.2017 (2017-10-12) 段落[0029]</td> <td>1-11</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	Y	WO 2018/003857 A1 (株式会社セラバイオファーマ) 04.01.2018 (2018-01-04) 請求項1-2, 段落[0005],[0009], 製造例1, 試験例1-3	1-11	Y	JP 2015-526445 A (アボット・ラボラトリーズ) 10.09.2015 (2015-09-10) 実施例12	1-11	Y	US 2017/0095522 A1 (INDENA S.P.A.) 06.04.2017 (2017-04-06) Example 3	1-11	Y	JP 2017-535289 A (エヌダブリュオー ステム キュア、エルエルシー) 30.11.2017 (2017-11-30) 段落[0023]-[0024]	1-11	Y	JP 2017-186335 A (小林製薬株式会社) 12.10.2017 (2017-10-12) 段落[0029]	1-11
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号																		
Y	WO 2018/003857 A1 (株式会社セラバイオファーマ) 04.01.2018 (2018-01-04) 請求項1-2, 段落[0005],[0009], 製造例1, 試験例1-3	1-11																		
Y	JP 2015-526445 A (アボット・ラボラトリーズ) 10.09.2015 (2015-09-10) 実施例12	1-11																		
Y	US 2017/0095522 A1 (INDENA S.P.A.) 06.04.2017 (2017-04-06) Example 3	1-11																		
Y	JP 2017-535289 A (エヌダブリュオー ステム キュア、エルエルシー) 30.11.2017 (2017-11-30) 段落[0023]-[0024]	1-11																		
Y	JP 2017-186335 A (小林製薬株式会社) 12.10.2017 (2017-10-12) 段落[0029]	1-11																		
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。																				
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献																				
国際調査を完了した日 28.04.2021		国際調査報告の発送日 18.05.2021																		
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		権限のある職員（特許庁審査官） 梅田 隆志 4C 1785 電話番号 03-3581-1101 内線 3452																		

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2021/014273

引用文献			公表日	パテントファミリー文献			公表日
WO	2018/003857	A1	04.01.2018	US	2019/0224325	A1	
				請求項1-2, 段落[0005], [0014], 製造例1, 試験例1-3			
				EP	3479828	A1	
				CN	109562118	A	
JP	2015-526445	A	10.09.2015	US	2015/0164824	A1	
				実施例12			
				WO	2014/028621	A1	
				EP	2884970	A1	
				CA	2881680	A1	
				CN	104703591	A	
				MX	2015002013	A	
				HK	1210945	A1	
				BR	112015003399	A2	
				IN	1942DEN2015	A	
				SG	11201501121V	A	
US	2017/0095522	A1	06.04.2017	WO	2017/055481	A1	
				EP	3150214	A1	
JP	2017-535289	A	30.11.2017	WO	2016/072992	A1	
				段落[0023]-[0024]			
				CA	2966487	A1	
				KR	10-2017-0082576	A	
				CN	107073062	A	
JP	2017-186335	A	12.10.2017	(ファミリーなし)			