[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl[7]
A61K 31/70
A61P 1/00

[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 97181590.9

[45] 授权公告日 2003 年 10 月 29 日

[11] 授权公告号 CN 1125640C

[22] 申请日 1997.12.10 [21] 申请号 97181590.9
[30] 优先权
[32] 1996.12.10 [33] JP [31] 329901/1996
[86] 国际申请 PCT/JP97/04544 1997.12.10
[87] 国际公布 WO98/25629 日 1998.6.18
[85] 进入国家阶段日期 1999.7.29
[71] 专利权人 CCI 株式会社
地址 日本关市
共同专利权人 吉川敏一
[72] 发明人 吉川敏一 吉田宪正 村濑博宣
审查员 张 伟

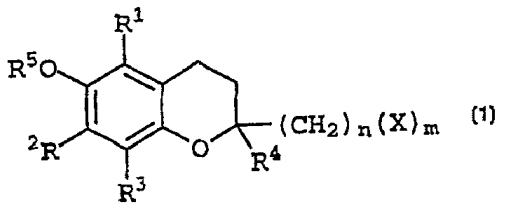
[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 刘元金 杨丽琴

权利要求书 1 页 说明书 15 页

[54] 发明名称 炎症性肠疾病预防与治疗剂

[57] 摘要

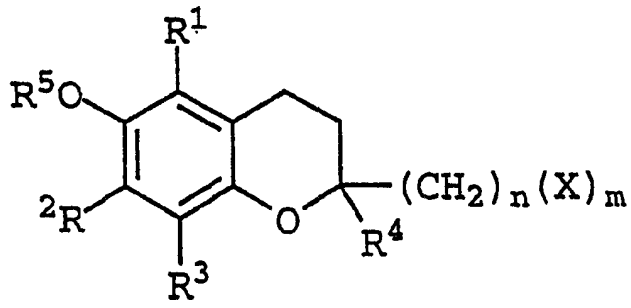
一种炎症性肠疾病预防和治疗剂，其中包含通式(1)所代表的色原烷醇配糖体作为有效成分，式中 R^1、R^2、R^3、和 R^4 可以相同或不同，且各自代表一个氢原子或一个低级烷基；R^5 代表一个氢原子、一个低级烷基、或一个低级酰基；X 代表一个单糖残基或一个寡糖残基，其中，糖残基中的羟基氢原子可以代之以一个低级烷基或一个低级酰基；n 是 0～6 的整数；且 m 是 1～6 的整数。 由于它含有一种水溶性并具有优异抗氧化活性和抗自由基活性的色原烷醇配糖体作为有效成分，因而它可以显著防止炎症性肠疾病的任何病理学变化，和显著改善该病理学。 进而，它可以制成一种含有高浓度有效成分的水基制剂，而该水基制剂可以以少量有效地作用于患部来预防或治疗炎症性肠疾病，且由于不伴随副作用，因而可以非常安全地使用。



(1)

ISSN1008-4274

1. 如下通式（1）所示的色原烷醇配糖体用于制造预防和治疗炎症性肠疾病的药物的用途



(1)

式中，R^1、R^2、R^3和R^4相同或不同，表示氢原子或低级烷基，R^5表示氢原子、低级烷基或低级酰基，X表示糖残基中的羟基氢原子任选地被低级烷基或低级酰基取代的单糖残基或寡糖残基，n是0～6的整数，且m是1～6的整数。

2. 权利要求1记载的用途，其中，所述色原烷醇配糖体是2－（α－D－吡喃葡萄糖基）甲基－2,5,7,8－四甲基色原烷－6－醇。

3. 权利要求1或权利要求2记载的用途，其中所述炎症性肠疾病是溃疡性大肠炎或节段性回肠炎。

4. 权利要求1～3中任何一项记载的用途，其中所述药物是水基制剂。

炎症性肠疾病预防与治疗剂

技术领域

本发明涉及新型炎症性肠疾病预防与治疗剂。具体地说，涉及以水溶性色原烷醇配糖体为有效成分的炎症性肠疾病预防与治疗剂。

背景技术

生物体内存在着抗氧化酶和抗氧化物质，它们有预防病理学上过量地产生自由基或消除所产生的自由基的作用，但已知在溃疡性大肠炎或节段性回肠炎等炎症性肠疾病患者的肠粘膜上，超氧物歧化酶（SOD）、谷胱甘肽、α－生育酚等抗氧化酶或抗氧化物质因被消耗而减少（G. D. Buffinton, W. F. Doe: Free. Radic. Biol. Med., 19 (1995) 911－918），人们认为，在这些疾病的预防和治疗上，给药具有抗氧化作用的药剂来强化抗氧化防御体系的方法是有效的。

然而，自由基正如所谓“双刃剑”，不仅在病态形成方面有作用，而且即使作为生物体防御体系也是非常重要的，不能简单地清除全部自由基，这就是使抗自由基疗法难以临床应用的最大原因。

具有抗氧化作用的药剂中，已经作为内科治疗药对溃疡性大肠炎或节段性回肠炎进行临床应用的，自古以来有甾类药剂和水杨酸偶氮磺胺吡啶（SASP, Salazopyrin）；而正在进行基础研究的，有 Mn-SOD、CuZn-SOD 等 SOD，别嘌呤醇、porapurezinc [sic]等锌制剂，α－生育酚，谷胱甘肽，谷胱甘肽过氧化物酶，21－氨基甾类化合物，四逆散等中药，rebamipido[sic]等。

其中，α－生育酚是代表性的维生素 E，具有能从其色原烷环的 6 位羟基给出氢原子而使自由基消除的功能，而且已知是一种抗氧化剂。

然而，维生素 E 因其分子内有长链烃基（植基）而成为不溶于水的粘稠性油状物。因此，在以抑制、调节生物体内的自由基为目的而给药维生素 E 的情况下，有不能以内服液或注射剂等溶液形态使用这样的致命缺点。为了克服这样的缺点，开发了以羧基取代 2 位植基从而赋予其水溶性的 6－羟基－2,5,7,8－四甲基色原烷－2－羧酸，并以 Trolox 这样的名称作为水溶性抗氧化剂上市销售，但其水溶性极低（约 15

mg/100 ml），还不能令人满意。此外，同样也开发了用醇取代了2－位植基的2－羟甲基－2,5,7,8－四甲基色原烷－6－醇（以下称“TMC－2－取代甲醇”）。这种TMC－2－取代甲醇有约100 mg/100 ml的水溶性，是Trolox水溶性的约6.3倍，但即使具有这样比较高的水溶性，也还是有水溶性不能令人满意这样的问题，例如，为了对患者给药1 g，必须用1升这样大量的水溶解。

本发明鉴于上述先有技术所具有的问题，目的是要提供新型炎症性肠疾病预防和治疗剂，使之没有副作用伴随且用量少就能有效起作用，能预防炎症性肠疾病，或改善、治愈病态。

本发明的另一个目的是要提供新型炎症性肠疾病预防和治疗剂，使之有优异的抗氧化作用，而且能有效地抑制、调节炎症性肠疾病患病部位肠粘膜中的自由基反应。

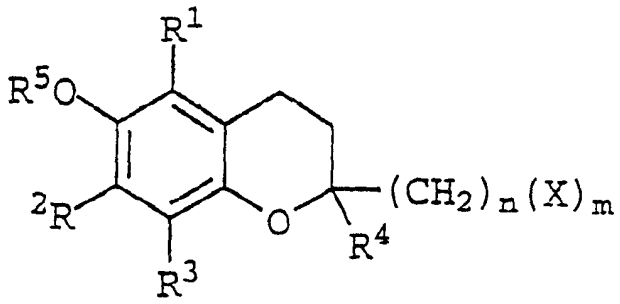
本发明的又一个目的是要提供新型炎症性肠疾病预防和治疗剂，使之能抑制细胞粘连分子的表达，显著减少嗜中性白细胞向（大肠）组织中润湿（的作用）。

本发明的再一个目的是要提供新型炎症性肠疾病预防和治疗剂，使之能制成含有高浓度有效成分的水基制剂。

发明公开

本发明者等人以前曾经成功地通过在水溶性不能令人满意的TMC－2－取代醇的2位羟基上结合糖来合成有高水溶性的色原烷醇配糖体（特开平7－118287号公报），这回又令人惊讶地发现，以该色原烷醇配糖体为有效成分的炎症性肠疾病预防和治疗剂既具有优异的抗氧化作用和抗自由基作用，又具有抑制细胞粘连分子的表达，显著减少嗜中性白细胞向大肠组织中润湿的作用，因而能极有效地预防、治疗溃疡性大肠炎或节段性回肠炎等炎症性肠疾病，从而完成了本发明。

即，本发明是以如下通式（1）所示的色原烷醇配糖体为有效成分的炎症性肠疾病预防和治疗剂



(1)

（式中，R^1、R^2、R^3和R^4相同或不同，表示氢原子或低级烷基，R^5表示氢原子、低级烷基或低级酰基，X表示糖残基中的羟基氢原子也

可以用低级烷基或低级酰基取代的单糖残基或寡糖残基，n是0～6的整数，且m是1～6的整数）。

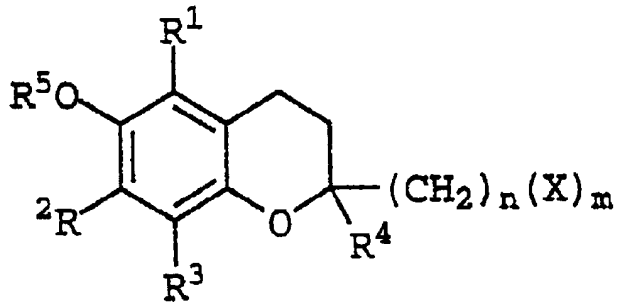
本发明还涉及上述色原烷醇配糖体是2－（α－D－吡喃葡萄糖基）甲基－2,5,7,8－四甲基色原烷－6－醇的所述炎症性肠疾病预防和治疗剂。

本发明进一步涉及所述炎症性肠疾病是溃疡性大肠炎或节段性回肠炎的所述炎症性肠疾病预防和治疗剂。

此外，本发明涉及属于水基制剂的所述炎症性肠疾病预防和治疗剂。

发明的最佳实施形态

本发明的炎症性肠疾病预防和治疗剂，其特征在于以如下通式（1）所示的色原烷醇配糖体为有效成分，



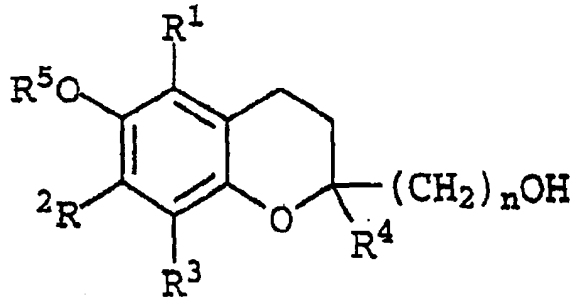
(1)

（式中，R^1、R^2、R^3和R^4相同或不同，表示氢原子或低级烷基，R^5表示氢原子、低级烷基或低级酰基，X表示糖残基中的羟基氢原子也可以用低级烷基或低级酰基取代的单糖残基或寡糖残基，n是0～6的整数，且m是1～6的整数）。

上述通式（1）中，作为R^1、R^2、R^3、R^4和R^5的低级烷基，可以是碳原子数1～8、较好1～6的烷基，例如，可以列举甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、戊基、异戊基、己基、庚基、辛基等。这些当中，较好的是甲基或乙基。而且，作为R^5的低级酰基，可以是碳原子数1～8、较好1～6的低级酰基，例如，可以列举甲酰基、乙酰基、丙酰基、丁酰基、异丁酰基、戊酰基、异戊酰基、新戊酰基、己酰基、庚酰基、辛酰基等。这些当中，较好的是乙酰基、丙酰基或丁酰基。此外，作为X的单糖残基，可以列举葡萄糖、半乳糖、夫糖、木糖、甘露糖、鼠李糖、阿拉伯糖、来苏糖、核糖、阿洛糖、阿蜀糖、艾杜糖、

太洛糖、脱氧核糖、2－脱氧核糖、奎诺糖、阿比可糖等的糖残基。作为X的寡糖残基，可以列举上述单糖2～4个相结合而成者，例如麦芽糖、乳糖、纤维二糖、棉子糖、木二糖、蔗糖的糖残基等。这些当中，较好的是葡萄糖、半乳糖、夫糖、木糖、鼠李糖等的单糖残基。此外，X的糖残基中的羟基氢原子也可以用碳原子数1～8的低级烷基、或者低级酰基、较好碳原子数1～10的低级酰基取代。进而，n是0～6、较好1～4的整数，m是1～6、较好1～3的整数。作为通式（1）所示色原烷醇配糖体的较好实例，可以列举2－（α－D－吡喃葡萄糖基）甲基－2,5,7,8－四甲基色原烷－6－醇，2－（α－D－吡喃半乳糖基）甲基－2,5,7,8－四甲基色原烷－6－醇，2－（β－L－吡喃夫糖基）甲基－2,5,7,8－四甲基色原烷－6－醇、2－（α－L－吡喃鼠李糖基）甲基－2,5,7,8－四甲基色原烷－6－醇、2－（β－D－吡喃木糖基）甲基－2,5,7,8－四甲基色原烷－6－醇等。

本发明中使用的色原烷醇配糖体可以按照诸如特开平7－118287号公报中记载的方法，使如下通式（2）所示的2－取代醇



(2)

（式中，R^1、R^2、R^3、R^4、R^5和n的定义同上）与寡糖类、可溶性淀粉、淀粉或环糊精在能催化相应糖转位作用的酶的存在下反应，从而发生使糖的特定羟基特异性与2－取代醇的2位羟基结合的酶反应来制造（酶法）。

上述反应中可以作为原料使用的通式（2）所示的2－取代醇（以下简称为“2－取代醇”）是已知物质，可以用诸如特公平1－43755号公报或特公平1－49135号公报等中公开的方法得到。而且，诸如通式（2）中R^1、R^2、R^3和R^4为甲基、R^5为氢原子、n为1的2－取代醇，通过使Trolox在氢化锂铝的存在下在二乙醚中加热回流处理等，就可以容易地得到。

上述反应中可以使用的能催化糖转位作用的酶，按照各该反应中使用的糖的种类，较好划分如下。

（1）在葡萄糖残基以α－键与2－取代醇结合的情况下：

（a）对于从麦芽糖到麦芽四糖位的麦芽寡糖，较好的是用α－葡糖苷酶（α-glucosidase, EC 3.2.1.20）起作用。作为α－葡糖苷酶，来自几乎所有来源的都可以用，具体地可以列举来自东洋纺织公司制酵母菌属（Saccharomyces sp.）的α－葡糖苷酶，来自东方酵母工业公司制酿酒酵母（Saccharomyces cerevisiae）的α－葡糖苷酶，来自天野制药公司制黑曲霉（Aspergillus niger）的α－葡糖苷酶，来自和光纯药工业公司制酵母菌属（Saccharomyces sp.）的α－葡糖苷酶，来自SIGMA公司制面包酵母（Bakers yeast）的α－葡糖苷酶，来自芽胞杆菌属（Bacillus）的α－葡糖苷酶等。

（b）对于可溶性淀粉或淀粉，较好的是用4－α－葡聚糖转移酶（4－α－D－glucanotransferase, EC 2.4.1.25）起作用。

（2）在葡萄糖残基或麦芽寡糖残基以α－键与2－取代醇结合的情况下：

（a）对于麦芽寡糖、可溶性淀粉、淀粉或环糊精（α、β、γ）等，较好的是用环糊精葡聚糖转移酶（cyclodextrin glucanotransferase, EC 2.4.1.19）起作用。作为代表性实例，可以列举来自天野制药公司制软化芽胞杆菌（Bacillus macerans）的环糊精葡聚糖转移酶，来自株式会社林原生物化学研究所制硬脂嗜热芽胞杆菌（Bacillus stearothermophilus）的环糊精葡聚糖转移酶，此外，还有来自巨大芽胞杆菌（Bacillus megaterium）、环状芽胞杆菌ATCC 9995（Bacillus circulans ATCC 9995）的环糊精葡聚糖转移酶等。

（3）在葡萄糖残基以β键与2－取代醇结合的情况下：

（a）对于纤维二糖、curdlan或laminaran等以β－键形成的寡糖，较好用β－葡糖苷酶（β－glucosidase, EC 3.2.1.21）起作用。

（b）对于磷酸存在下的纤维二糖，较好用纤维二糖磷酸化酶（cellobiose phosphorylase, EC 2.4.1.20）起作用。

（4）在半乳糖残基以α－键与2－取代醇结合的情况下：

（a）对于蜜二糖或棉子糖等，较好用α－半乳糖苷酶（α－galactosidase, EC 3.2.1.22）起作用。

（5）在半乳糖残基以β－键与2－取代醇结合的情况下：

（a）对于乳糖等，较好用β－半乳糖苷酶（β－galactosidase, EC 3.2.1.23）起作用。

（b）对于阿拉伯半乳聚糖等，较好用桥－1,4－β－半乳聚糖酶（Endo－1,4－β－galaclanase, EC 3.2.1.89）起作用。

（6）在果糖残基以β－键与2－取代醇结合的情况下：

（a）对于蔗糖、棉子糖或蜜二糖等，较好用果聚糖蔗糖酶（levansucrase, EC 2.4.1.10）起作用。

（b）对于蔗糖，较好用β－呋喃果糖苷酶（β－fructofuranosidase, EC 3.2.1.26）起作用。

（c）对于菊粉等，较好用菊粉果糖转移酶（inulin fructotransferase, EC 2.4.1.93）起作用。

上述反应中的反应条件，因所使用的色原烷醇配糖体或酶的种类而异，但诸如在用α－葡糖苷酶合成通式（1）中m为1的色原烷醇配糖体的情况下，较好把2－取代醇溶解在糖溶液中。为此，较好添加有机溶剂，可以列举诸如二甲基亚砜，N,N－二甲基甲酰胺、甲醇、乙醇、丙酮、和乙腈等，而且若考虑到提高α－葡糖苷酶的转移活性这一点，较好使用二甲基亚砜或N,N－二甲基甲酰胺。有机溶剂的添加浓度是1～50%（体积比），若考虑到反应效率，则较好的是3～35%（体积比）。

2－取代醇的浓度，较好的是在反应液中达到饱和浓度或接近于饱和浓度的浓度。所用的糖的种类，可以是从麦芽糖到麦芽四糖位的低分子，较好的是麦芽糖。糖的浓度是1～70%（重量/体积）、较好是30～60%（重量/体积）。pH是4.5～7.5、较好是5.0～6.5。反应温度是10～70℃、较好是30～60℃。反应时间是1～40小时、较好是2～24小时。但这些条件当然也会因所使用的酶量等而受影响。反应结束后，反应液用以XAD（ORGANO公司）为载体的柱色谱法处理，可以得到高纯度的目的色原烷醇配糖体。

此外，在诸如用环糊精葡聚糖转移酶合成通式（1）中m为1的色原烷醇配糖体的情况下，反应条件较好的是把2－取代醇溶解在糖溶液中。为此，较好的是添加有机溶剂，可以列举二甲基亚砜、N,N－二甲基甲酰胺、甲醇、乙醇、丙酮和乙腈。所添加有机溶剂的浓度是1～50%（体积比），若考虑反应效率，则较好的是5～35%（体积比）。

2－取代醇的浓度较好的是在反应液中达到饱和浓度或接近于饱和浓度的高浓度。

作为上述反应中可以使用的糖的种类，较好可以列举具有麦芽三糖以上聚合度的麦芽寡糖、可溶性淀粉、淀粉和环糊精（α，β，γ）等。糖的浓度是1～70%（重量/体积）、较好是5～50%（重量/体积）。pH是4.5～8.5、较好是5.0～7.5。反应温度是10～70℃、较好是30～60℃。反应时间是1～60小时、较好是2～50小时。但这些条件会因所使用的酶量而受影响。用这样的反应得到的色原烷醇配糖体成m数为1～8的混合物。因此，这种混合物用葡糖淀粉酶（glucoamylase，EC3.2.1.3）处理，可以得到通式（1）中m仅为1的色原烷醇配糖体。此时的反应温度为20～70℃、较好30～60℃，反应时间为0.1～40小时、较好1～24小时。但这些条件会受到所使用酶的量影响。然后，上述葡糖淀粉酶处理的溶液用以XAD（ORGANO公司）为载体的柱色谱法处理，可以得到高纯度的、通式（1）中m为1的色原烷醇配糖体。

在要得到通式（1）中m为2的色原烷醇配糖体的情况下，可以在与上述同样的条件下，让β－淀粉酶（EC 3.2.1.2）作用于用环糊精葡聚糖转移酶得到的、有通式（1）中m为1～8的混合物形态的色原烷醇配糖体，从而得到通式（1）中m仅为1或2的色原烷醇配糖体。此时的反应温度是20～70℃、较好30～60℃，反应时间是0.1～40小时、较好1～24小时。但这些条件受到所使用酶的量影响。β－淀粉酶处理后的溶液用以XAD（ORGANO公司）为载体的柱色谱法处理，可以得到高纯度的、通式（1）中m为2的色原烷醇配糖体，同时也可以得到通式（1）中m为1的色原烷醇配糖体。

在要得到通式（1）中m为3以上的色原烷醇配糖体的情况下，可以在与上述同样的条件下，对用环糊精葡聚糖转移酶得到的、有通式（1）中m为1～8的混合物形态的色原烷醇配糖体，进行采用HPLC的分离色谱法等的处理，从得到各m值均为高纯度的色原烷醇配糖体。

上述实施形态记载了以葡萄糖残基或麦芽寡糖残基作为糖残基与2－取代醇结合的情况下的形态，但以半乳糖残基作为糖残基与2－取代醇结合这样的形态也可以很好地用于本发明。在这样的形态中，如同上述催化糖转位作用的酶那一项中所说明的，当使用乳糖等作为糖时就使

用β－半乳糖苷酶作为酶，而当使用阿拉伯半乳聚糖等作为糖时就使用桥－1,4－β－半乳聚糖酶作为酶，此外，进行与上述实施形态同样的操作，就能高纯度地得到作为目的的色原烷醇配糖体。

另一方面，本发明中使用的色原烷醇配糖体也可以按照特愿平9－77918号公报中记载的方法，使其6－位羟基用保护基加以保护的上述2－取代醇（以下称“糖受体”）与在异头物位导入了离去基团并用保护基保护了其它羟基的糖衍生物（以下称“糖供体”）发生缩合反应来制备（有机合成法）。

作为保护上述反应中使用的糖受体的6位羟基的保护基，可以列举乙酰基、苯甲酰基、新戊酰基、氯乙酰基、乙酰丙酰基、苄基、对甲氧基苄基、烯丙基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、三甲基甲硅烷基和三苯甲基等，尤其好的是乙酰基和苯甲酰基。

作为要导入上述反应中使用的糖供体的异头物位的离去基团，可以列举氯、溴或氟等卤素原子，硫代甲基、硫代乙基或硫代苯基等含硫化合物，以及三氯乙酰亚胺基等，尤其好的是溴、氯、硫代甲基、硫代乙基、硫代苯基和三氯乙酰亚胺基。此外，作为保护异头物位以外的羟基的保护基，可以列举乙酰基、苯甲酰基、新戊酰基、氯乙酰基和乙酰丙酰基等酰基类保护基，以及苄基、对甲氧基苄基、烯丙基、叔丁基二甲基甲硅烷基、叔丁基二苯基甲硅烷基、三甲基甲硅烷基和三苯甲基等醚类保护基，其中较好的是酰基类保护基，尤其是乙酰基。

这些糖供体通过用众所周知的方法向糖的全部羟基上导入保护基，然后把异头位置换成离去基团，就可以容易地制备。

如果要对上述糖受体与糖供体的缩合反应加以显示，则首先把糖受体与糖供体溶解在非极性溶剂中。糖受体与糖供体的添加量可以是，相对于糖受体而言，糖供体的摩尔比为1.0～1.5，较好1.1～1.3。作为非极性溶剂，可以列举二氯甲烷、苯等。

然后，在无水条件下，在活化剂的存在下，进行糖供体与糖受体的缩合反应。作为活化剂，可以列举三氟化硼酸·醚配合物、过氯酸银、三氟甲磺酸银、溴化汞、氯化汞、N－碘琥珀酰亚胺－三氟甲磺酸、三氟甲磺酸二甲基甲硫基锍、对甲苯磺酸等，尤其在使用溴作为糖衍生物的离去基团的情况下较好使用过氯酸银等重金属盐。反应温度可以是5～30℃、较好10～25℃，反应时间可以是12～48小时、较好是20～

30 小时。

然后，所得到的反应物用硅胶柱色谱法等精制，并通过用氢氧化钠和甲醇－盐酸等使保护基脱保护，就可以得到目的色原烷醇配糖体。

用上述酶法或有机合成法得到的色原烷醇配糖体，一般是有极高水溶性（约 100 g/100 ml）而且也富于油溶性（辛醇/水分配系数 > 3）的亲水亲油两性分子。换言之，按照本发明的色原烷醇配糖体可以说是具有高亲油性的水溶性维生素 E。因此，按照本发明的色原烷醇配糖体不同于先有技术上不溶或贫溶于水的维生素 E 衍生物，即使在水中溶解后使用也能保持高亲油性，因而可以透过细胞膜、进而也进入细胞内，增强生物体内的抗氧化防御体系，有效地抑制、调节患病部位肠粘膜中的自由基反应，飞跃性地改善炎症性肠疾病的病态。此外，用上述反应得到的色原烷醇配糖体、即使就热稳定性和 pH 稳定性而言，与生育酚、Trolox 或 2－取代醇相比也有显著提高。

本发明的炎症性肠疾病预防和治疗剂，可以在所述色原烷醇配糖体中配合制药上可接受的载体，制成经口给药用或非经口给药用组合物，再对患者给药。在本发明药剂作为经口给药用的情况下，可以将所述色原烷醇配糖体与适当的添加剂，例如乳糖、蔗糖、甘露醇、玉米淀粉、合成胶或天然胶、结晶纤维素等赋形剂，淀粉、纤维素衍生物、阿拉伯胶、明胶、聚乙烯基吡咯烷酮等粘结剂，羧甲基纤维素钙、羧甲基纤维素钠、淀粉、玉米淀粉、藻酸钠等崩解剂，滑石、硬脂酸镁、硬脂酸钠等润滑剂，碳酸钙、碳酸钠、磷酸钙、磷酸钠等填充剂或烯释剂等适当混合，制成锭剂、散剂（粉末剂）、丸剂、和颗粒剂等固体制剂。此外，也可以用硬质或软质胶囊等制成胶囊剂。对这些固体制剂，也可以用羟丙基甲基纤维素酞酸酯、羟丙基甲基纤维素乙酸酯·琥珀酸酯、纤维素乙酸酯·酞酸酯、甲基丙烯酸酯共聚物等包衣用基剂实施肠溶性包衣。进而上述色原烷醇配糖体还可以溶解在精制水等一般使用的惰性烯释剂中，且必要时向此溶液中适当添加润湿剂、乳化剂、分散助剂、表面活性剂、甜味剂、矫味矫臭剂、芳香物质等，制成糖浆剂、酏剂等液体制剂。

此外，在本发明炎症性肠疾病预防和治疗剂作为非经口给药用的情况下，可以将所述色原烷醇配糖体制成与精制水，磷酸缓冲液等适当缓冲液，生理食盐水、Ringer 溶液、Locke 溶液等生理盐类溶液，乙醇，

甘油及惯用表面活性剂等适当组合的灭菌水溶液、非水溶液、悬浮液、脂质体或乳液，较好制成注射用灭菌水溶液，经静脉内、皮下、肌肉内、腹腔内、肠内等给药。此时，较好的是，液体制剂有生理学 pH、较好在 6～8 范围内的 pH。

进而，本发明的炎症性肠疾病预防和治疗剂也可以用药片埋入法、或者使用了栓剂用基剂的栓剂形式给药。

在以上所述中，较好的给药形态或给药途径等要由负责治疗的医生选择。

本发明的炎症性肠疾病预防和治疗剂中所含的色原烷醇配糖体的浓度，因给药时的形态、疾病的种类或严重程度或目标给药量等而各种各样，但一般来说，相对于原料总重量而言，是 0.1～100%（重量）、较好是 20～90 %（重量）。具体地说，在本发明制剂经口给药的情况下，相对于原料总重量而言，是 10～100 %（重量）、较好是 20～90%（重量）；在非经口给药的情况下，相对于原料总体积而言，是 0.1～90%（体积）、较好 1～80%（体积）。此时，若色原烷醇配糖体的浓度超过上述上限值，则不能达到与过剩给药量相称的病态改善效果，因而不好，而若色原烷醇配糖体的浓度低于上述下限值，则不能期待令人满意的病态改善效果，因而也不好。

本发明的炎症性肠疾病预防和治疗剂的给药量因患者的年龄、体重和症状、作为目标的给药形态或方法、治疗效果、和处置时间长短等而异，正确给药量要由医生决定，但色原烷醇配糖体的给药量范围通常是 0.01～10000 mg/kg 体重/日。本发明的炎症性肠疾病预防和治疗剂经口给药的情况下，换算成色原烷醇配糖体的给药量，给药量范围是 0.1～10000 mg/kg 体重/日，可 1 日分 1～3 次给药。此时，在每 1 日经口给药量多的情况下，也可以 1 次给药多个片剂等的制剂。此外，在本发明的炎症性肠疾病预防和治疗剂非经口给药的情况下，换算成色原烷醇配糖体的给药量，其给药量是 0.01～1000 mg/kg 体重/日，也可以 1 日分 1～3 次给药。

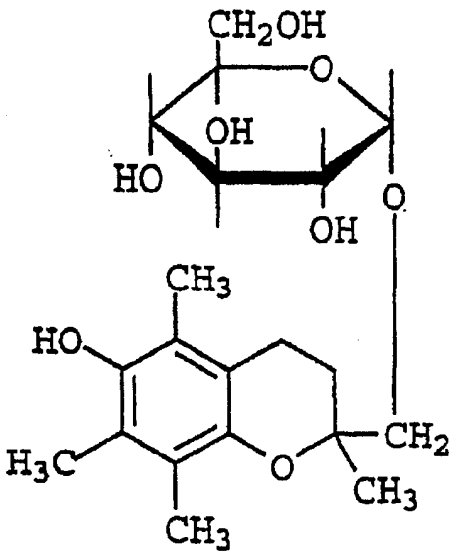
以下通过用动物进行药理试验，更详细地说明本发明的炎症性肠疾病预防和治疗剂的药理效果。

在 TNB 诱发大肠炎中的病变抑制效果

据说，三硝基苯磺酸（ TNB ）诱发的大肠炎类似于人的炎症性肠

疾病，特别是节段性回肠炎。在这个模型中，作为嗜中性白细胞向组织中浸润的指标的髓过氧物酶（ MPO ）活性从 TNB 给药初期起在大肠粘膜中就显著增加，然后发生包括肠管浮肿、糜烂、坏死在内的全厚度炎症。在这种粘膜病变中，作为脂质过氧化物指标的硫巴比妥酸（ TBA ）反应物质也增加，反之， SOD 活性、谷胱甘肽过氧化物酶（ GPx ）活性、α－生育酚这样的抗氧化物质则下降。用同一模型，考察了色原烷醇配糖体对 TNB 诱发的大肠炎的病变抑制效果。

作为色原烷醇配糖体，是用特开平 7－118287 号公报实施例 1 记载的方法制备的如下式（ 3 ）所示的 2－（α－D－吡喃葡萄糖基）甲基－2, 5, 7, 8－四甲基色原烷－6－醇（ TMG ），在水溶液中以 20 mg/ml 、 2 mg/ml 和 0.2 mg/ml 的浓度完全溶解，制成注肠用制剂。



（3）

使用 7 周龄、 190～210 g 的 Wistar 品系雄性大鼠 1 组 6 只，绝食 48 小时后，以 1 ml/kg 的剂量经肠给药在 50 % 乙醇中溶解的 120 mg TNB/ml 。然后，每日经腹腔内给药 1 ml 上述配制的 TMG 制剂，评价 1 周后的体重增加量、以及肛门一侧 8 cm 范围内大肠的损害评分（ Damage Score ）、湿重量、 TBA 反应物质和 MPO 活性。

这些结果、连同以同量生理食盐水代替 TNB 给药的正常组、以及用 TNB 诱发大肠炎后各以同量生理食盐水代替 TMG 制剂给药的对照组的结果一起列于表 1 和 2 中。要说明的是，上述评价项目中损害评分、TBA 反应物质和 MPO 活性用以下方法测定。

（1）损害评分评价法

大肠粘膜面病变按照 Morris 分类法（G. P. Morris 等，Gastroenterology, 96 (1989), 795-803）分类为 0～5 分，进而把大肠粘膜一侧愈合的程度分类为 0～3 分（0：未愈合；1：有非连续性愈合；2：有连续性愈合；3：有块状愈合），将两者合计，进行评价。

（2）TBA 反应物质测定法

用 Ohkawa 法测定（H. Ohkawa 等, Anal. Biochem., 95 (1979), 351-358）。将大肠 8 cm 长的粘膜用（10 mM 磷酸缓冲液+30 mM 氯化钾溶液）1.5 ml 均化，向其中 0.2 ml 中添加蒸馏水 0.6 ml 和 8.1 %硫酸氢钠 0.2 ml，再添加 pH 3.5 的 20 % 乙酸缓冲液 1.5 ml、0.8 % TBA1.5 ml 和 1 % BHT 40 μl，在 95 ℃加热 1 小时后冷却 10 分钟。进而，添加蒸馏水 1.0 ml 和丁醇－吡啶（丁醇:吡啶＝15:1）5.0 ml，搅拌。此物在室温以 3000 rpm 离心分离 10 分钟，得到的上清液用分光光度计在波长 535 nm 测定吸光度。用蒸馏水 0.8 ml 代替大肠粘膜均化液 0.2 ml 和蒸馏水 0.6 ml 作为空白，以蒸馏水 0.3 ml 和 TEP 0.5 ml 作为标准，从两者得到一条校准曲线，据此测定样品的 TBA 反应物质。

（3）MPO 活性测定法

通过邻联（二）茴香胺－过氧化氢反应来测定（J. E. Krrawisz 等, Gastroenterology, 87 (1984), 1344-1350）。将大肠 8 cm 长的粘膜用（10 mM 磷酸缓冲液＋30 mM 氯化钾溶液）1.5 ml 均化，其中 1.0 ml 在 4 ℃以 15000 rpm 离心分离 15 分钟，向所得到的沉淀物中添加 300 μl 0.5% HTAB（50 mM 磷酸缓冲液），使之再溶解。此物进一步在 4 ℃以 15000 rpm 离心分离 15 分钟，得到的上清液作为样品。在 pH 6.0 的 50 mM 磷酸钾缓冲液中溶解 16.7 mg 邻联（二）茴香胺盐酸盐，进而混合 0.5% 过氧化氢 100 μl，向由此配制的反应溶液 950 μl 中添加样品 50 μl，用分光光度计测定波长 460 nm 的吸光度变化。25 ℃每 1 分钟能使 1 μmol 过氧化氢水溶液改变的 MPO 为 1 单位（U）。

表 1

		体重增加量（g/1 周）	损害评分	湿重量 (g/8 cm)
正常组		93.5	0	0.58
对照组		17.5	7.25	2.6
TMG 给药组	20 mg/ml	57	4	0.86
	2 mg/ml	64	3.75	1.15
	0.2 mg/ml	63	4.75	1.06

表 2

		TBA 反应物质 (ng/mg 蛋白质)	MPO 活性 (U/l/mg 蛋白质)
正常组		0.13	0.19
对照组		0.53	0.74
TMG 给药组	20 mg/ml	0.35	0.48
	2 mg/ml	0.38	0.64
	0.2 mg/ml	0.31	0.52

如同从表 1 和表 2 可以清楚看到的，1 周的体重增加在 TNB 诱发大肠炎模型（对照组）中受到显著抑制，但在 TMG 制剂给药组中这样的现象得到改善。此外，在 TNB 诱发大肠炎模型中损害评分、湿重量、TBA 反应物质和 MPO 活性全都显著上升，但在 TMG 制剂给药组中这些指标受到显著抑制。

急性毒性试验

对本发明的炎症性肠疾病预防和治疗剂进行了急性毒性试验，确认了其安全性。用 4～5 周龄的 ICR 品系小鼠 1 组 3 只，作为色原烷醇配糖体，与上述相同的 TMG 悬浮在 5 % 阿拉伯胶溶液中之后，以 TMG 计经口给药 500 mg/kg，观察 1 周。此时，作为对照组，经口给药 5 % 阿拉伯胶溶液 0.3 ml。结果，在所有给药组中均未发现小鼠死亡例。

产业上利用的可能性

本发明的炎症性肠疾病预防和治疗剂是以色原烷醇配糖体为有效成分的，该物质既有优异的抗氧化作用、抗自由基作用、又有抑制细胞粘连分子表达、显著减少嗜中性白细胞向大肠组织中润湿的作用，因而可以显著抑制炎症性肠疾病中的病变，飞跃性地改善病态。

此外，本发明是以有高水溶性的色原烷醇配糖体为有效成分的，因而除可以作为固体制剂使用外，还可以制成含有高浓度有效成分的水基制剂，小剂量就能有效地作用于患部，可以预防、治疗炎症性肠疾病，此外，由于不伴随副作用，因而可以极安全地使用。