世界知的所有権機関
国際事務局

PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5
A61K 37/02, 9/107

A1

(11) 国際公開番号 WO 94/00142

(43) 国際公開日
1994年1月6日 (06.01.1994)

(21) 国際出願番号 PCT/JP93/00840
(22) 国際出願日 1993年6月22日(22. 06. 93)

(30) 優先権データ
特願平4/191347 1992年6月26日(26. 06. 92) JP
特願平5/111133 1993年4月15日(15. 04. 93) JP

(71) 出願人(米国を除くすべての指定国について)
日本化薬株式会社
(NIPPON KAYAKU KABUSHIKI KAISHA)〔JP/JP〕
〒102 東京都千代田区富士見一丁目11番2号 Tokyo, (JP)
(72) 発明者;および
(75) 発明者/出願人(米国についてのみ)
大脇和男(OHTSUKI, Kazuo)〔JP/JP〕
〒115 東京都北区志茂3-17-10 Tokyo, (JP)
大熊高明(OHKUMA, Takaaki)〔JP/JP〕
〒369-01 埼玉県北足立郡吹上町富士見二丁目5番13号
Saitama, (JP)
高塩一俊(TAKASHIO, Kazutoshi)〔JP/JP〕
高橋 渉(TAKAHASHI, Wataru)〔JP/JP〕
〒370-12 群馬県高崎市岩鼻町239 Gunma, (JP)
(74) 代理人
弁理士 浅村 皓, 外(ASAMURA, Kiyoshi et al.)
〒100 東京都千代田区大手町2丁目2番1号 新大手町ビル331
Tokyo, (JP)

(81) 指定国
AT(欧州特許), BE(欧州特許), CH(欧州特許), DE(欧州特許), DK(欧州特許), ES(欧州特許), FR(欧州特許), GB(欧州特許), GR(欧州特許), IE(欧州特許), IT(欧州特許), LU(欧州特許), MC(欧州特許), NL(欧州特許), PT(欧州特許), SE(欧州特許), US.

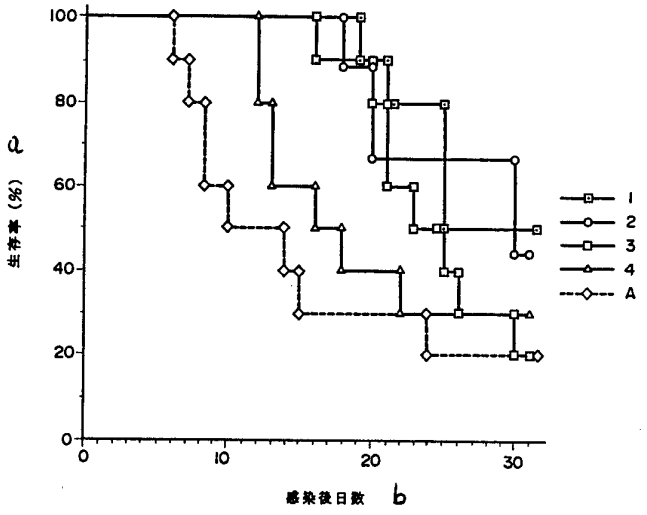
添付公開書類
国際調査報告書
補正書

(54) Title : EMULSIFIED PREPARATION OF AUREOBASIDIN

(54) 発明の名称 オーレオバシジン類の乳化製剤

a ... Survival rate

b ... Days elapsed after infection



(57) Abstract

An object of the invention is to make aureobasidins, useful as an antifungal agent, usable in the form of an emulsified preparation for, for example, injection. This preparation contains an aureobasidin, fat or oil, and water as the essential ingredients, and an oily phase containing the aureobasidin is dispersed in a water phase to form an emulsion. A preferable concentration of the fat or oil ranges from 1 to 30 % w/v. The preparation further contains an emulsifier comprising a phospholipid and/or polyoxyethylene-polyoxypropylene glycol and optionally a dissolution aid comprising an aromatic carboxylic acid and an ester and an emulsion stabilizer comprising a higher fatty acid or an acidic phospholipid.

(57) 要約

抗真菌剤として有用なオーレオバシジン類を、乳化製剤とし、たとえば注射用製剤としての使用を可能にする。

オーレオバシジン類、油脂及び水を必須成分とし、オーレオバシジン類を含む油相が水相に分散乳化していることを特徴とする乳化製剤である。例えば、好ましくは油脂濃度が1～30%w／vであり、リン脂質及び／又はポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類を乳化剤として、所望により芳香族カルボン酸及びエステル類を溶解補助剤として、また高級脂肪酸又は酸性リン酸脂質を乳化安定剤として含むものである。

情報としての用途のみ
PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AT オーストリア
AU オーストラリア
BB バルバードス
BE ベルギー
BF ブルキナ・ファソ
BG ブルガリア
BJ ベナン
BR ブラジル
BY ベラルーシ
CA カナダ
CF 中央アフリカ共和国
CG コンゴー
CH スイス
CI コート・ジボアール
CM カメルーン
CN 中国
CS チェッコスロヴァキア
CZ チェッコ共和国
DE ドイツ
DK デンマーク
ES スペイン
FI フィンランド
FR フランス
GA ガボン
GB イギリス
GN ギニア
GR ギリシャ
HU ハンガリー
IE アイルランド
IT イタリー
JP 日本
KP 朝鮮民主主義人民共和国
KR 大韓民国
KZ カザフスタン
LI リヒテンシュタイン
LK スリランカ
LU ルクセンブルグ
LV ラトヴィア
MC モナコ
MG マダガスカル
ML マリ
MN モンゴル
MR モーリタニア
MW マラウイ
NE ニジェール
NL オランダ
NO ノルウェー
NZ ニュー・ジーランド
PL ポーランド
PT ポルトガル
RO ルーマニア
RU ロシア連邦
SD スーダン
SE スウェーデン
SI スロヴェニア
SK スロヴァキア共和国
SN セネガル
TD チャード
TG トーゴ
UA ウクライナ
US 米国
UZ ウズベキスタン共和国
VN ヴェトナム

明　細　書

オーレオバシジン類の乳化製剤

技術分野

本発明は抗真菌剤として有用なオーレオバシジン類の乳化製剤に関するものであり、たとえば、注射用製剤などとして使用できる。

背景技術

オーレオバシジン類は既知化合物であり、例えばオーレオバシディウム属に属する1菌株（国際寄託番号：ＦＥＲＭ－ＢＰ１９３８）によって生産され、抗真菌剤としての有用性が期待されている（特開平２－１３８２９６、同３－２２９９５、同３－４４３９８）。深在性真菌症は、癌や臓器移植、後天性免疫不全症候群など免疫の抑制状態にある患者にとって致命的な疾患であり、近年増加しつつある。これらの重症の患者に対し、オーレオバシジン類を注射により投与できる製剤が望まれる。

オーレオバシジン類は水に実質的に溶解しない環状のペプチドであり、水に溶解して注射用製剤とすることが困難である。水に不溶の薬物を注射用の製剤とする方法としては、非イオン性の界面活性剤を用いてミセル可溶化する方法が一般的である。例えば、脂溶性のビタミンを界面活性剤により水に可溶化して注射用製剤とすることが広く行われている。抗真菌剤の例では、ミコナゾー

ルの界面活性剤による可溶化製剤が注射剤として市販されている。また、水に難溶性の環状ペプチドのサイクロスポリンAも、界面活性剤によって可溶化した注射用製剤が調製され市販されている。注射用に用いられる界面活性剤としては、溶血性並びに組織障害性の低い非イオン性界面活性剤、ポリオキシエチレンヒマシ油誘導体、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油誘導体、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類が一般的に使用される。これらの活性剤のうちポリオキシエチレンヒマシ油誘導体並びにポリオキシエチレン硬化ヒマシ油誘導体は、患者によっては注射した際に稀にアナフィラキシーショックを起こすことが知られており、その使用は決して好ましいものではない。また、オーレオバシジン類は非常にミセル可溶化しにくく、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類やポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類では、可溶化できない。

そのため安全性が高く、注射に使用できる製剤の開発が望まれている。

発明の開示

水に実質的に不溶性のオーレオバシジン類を、注射用にも使用できる安全性の高い製剤とするため鋭意検討した結果、オーレオバシジン類、油脂及び水を必須成分とし、オーレオバシジン類を含む油相を水相に分散乳化して得られる乳化製剤とすれば、安定性もよくかつ安全性

の高い製剤が得られることを見出し、本発明を完成した。

本発明の乳化製剤は、通常オーレオバシジン類を油脂に溶解し、次いで分散乳化剤を添加し、均一に分散懸濁し、次いで適量の水を加えて乳化することによって得られたものである。

図面の簡単な説明

第1図は、カンジタ菌感染マウスに、本発明の実施例1の製剤及び対照製剤を投与した場合の生存率曲線を示す図である。

第2図は、カンジタ菌感染マウスに、本発明の実施例2の製剤及び対照製剤を投与した場合の生存率曲線を示す図である。

第3図は、カンジタ菌感染マウスに、本発明の実施例1の製剤及び対照製剤を投与した場合並びに非感染無処置の場合の体重変化曲線を示す図である。

第4図は、カンジタ菌感染マウスに、本発明の実施例2の製剤及び対照製剤を投与した場合並びに非感染無処置の場合の体重変化曲線を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

本発明におけるオーレオバシジン類としては、特開平2－138296（USA－5057493、USA－5158876、EPA－352092）記載の新規抗生物質R106（オーレオバシジンA：以下R106－Iと略す）及びそれらの類縁化合物、誘導体などがあげられる。具体的には前記公報開示の化合物などが含まれ、

これらの刊行物の記載を参照として組みいれる。

オーレオバシジン類を溶解する油脂としては大豆油、紅花油、トウモロコシ油、オリーブ油、ゴマ油、ラッカセイ油、綿実油、菜種油やヤシ油などの天然由来の植物油や合成油脂等の脂肪酸トリグリセリド（脂肪酸の炭素数６～２２、好ましくは８～２０）を用いることが可能である。溶解度の点からいえば、炭素数８～１２の中鎖脂肪酸トリグリセリド、たとえばカプリン酸トリグリセリドやカプリル酸トリグリセリドなどを用いることが好ましい。また、オーレオバシジン類の油脂中の溶解性を向上させるなどの目的でこれらの油脂を２種以上混合して用いても構わない。これらの油脂は常温（約１０～３０℃）で液状のものが好ましい。使用される油脂の量は油脂の種類によっても異なるが、オーレオバシジン類１部に対し通常５部（重量、以下同じ）以上であり、好ましくは１０部から１００部、より好ましくは２０部から５０部の範囲である。

オーレオバシジンを溶解した油相を水相に分散乳化するために使用される乳化剤としては、医薬用に使用できるものが使用可能である。通常、ホスファチジルコリンを主成分とするリン脂質あるいはポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類が好ましい。

リン脂質としては、卵黄リン脂質や大豆リン脂質などの天然由来のリン脂質を注射用に精製したもの、又はこれらに水素添加したリン脂質や合成リン脂質が用いられ

る。これらのリン脂質の添加量は油相１００部に対して１部から２００部、好ましくは５部から１５０部、より好ましく１０部から１００部、最も好ましくは１０部から５０部の範囲である。

ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類としては、ポリプロピレングリコールにエチレンオキシドを付加重合した分子式$HO(C_2H_4O)_a(C_3H_6O)_b(C_2H_4O)_aH$で表されるもので、エチレンオキシドの平均重合度ａは１２～１４１、プロピレンオキシドの平均重合度ｂは２０～５６が好ましい。ポリプロピレングリコール部分の平均分子量は約１８００且つエチレングリコール部分の平均分子量が全体の平均分子量の約８０％のものがより好ましい。すなわち、通常ａが約８０、ｂが約３０であるポリオキシエチレン〔１６０〕ポリオキシプロピレン〔３０〕グリコール（ポロクサマー１８８）が用いられる。これらのポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類の添加量は、油相１００部に対して１部から２００部、好ましくは５部から１５０部、より好ましくは１０部から１００部、最も好ましくは１５部から５０部の範囲である。

なお、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類とリン脂質は併用しても構わない。併用した場合の添加量は、両者を合わせて油相１００部に対して１部から２００部、好ましくは５部から１５０部、より好ましくは１０部から１００部、最も好ましくは１５部か

ら５０部の範囲である。また、併用した場合の両者の添加量の比は、ポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール１００部に対してリン脂質が１部～１００部、好ましくは１０～５０部程度である。

水は、オーレオバシジン類の最終製剤における濃度が０．０１％～５％ｗ／ｖ、好ましくは０．１～２％ｗ／ｖ、最も一般的には０．２～１％ｗ／ｖ程度になるように使用される。

また、本発明の乳化製剤には、上記成分以外に他の医薬品添加剤が添加されていてもよい。それらの添加剤としては、オーレオバシジン類の溶解補助剤、乳化安定剤、ｐＨ調整剤、ｐＨ緩衝剤、浸透圧調節剤、酸化防止剤、保存剤などがあげられる。

オーレオバシジン類の溶解補助剤としては、芳香族カルボン酸及びそのエステル類などをあげることができ、例えば、安息香酸類（安息香酸及び１～２個の水酸基を有するヒドロキシル安息香酸等）、それらのカルボキシル基と低級アルコール（炭素数１～４）とのエステル誘導体及びそれらの水酸基と低級脂肪酸（炭素数１～３）とのエステル誘導体等が使用できる。これらの添加量はオーレオバシジン類１０部に対し、通常、０．５部～２０部、好ましく１部～１０部である。

乳化安定剤としては、脂肪乳剤の粒子どうしの凝集合一を防止する作用を有する中級脂肪酸、高級脂肪酸が好ましく、医薬用に使用しうるものであれば特に制限はな

い。通常、炭素数８～２４程度、好ましくは炭素数１０～２０の飽和又は不飽和脂肪酸などがあげられる。最も好ましいものとしては、炭素数１４～２０の不飽和脂肪酸があげられる。これらの脂肪酸の例としては、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、リノレン酸、アラキドン酸等があげられ、オレイン酸が最も好ましい。これらの化合物は、オーレオバシジン類の油脂に対する溶解性を向上させる作用もあり、添加が好ましい。これらの脂肪酸の添加量は油脂に対して、０．１％～４０％ｗ／ｗ、好ましくは１％～２０％ｗ／ｗ、通常２％ｗ／ｗ～１５％ｗ／ｗ程度である。

また、乳化安定剤として酸性リン脂質もあげられ、天然由来酸性リン脂質及び合成リン脂質が用いられる。酸性リン脂質としてはホスファチジン酸、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール等があげられ、その添加量は乳化剤に対し０．１％～５０％ｗ／ｗ、好ましくは０．５～２０％ｗ／ｗ、より好ましくは１～１０％ｗ／ｗ程度である。

溶解補助剤及び乳化安定剤の添加量は、通常、両者を合わせて、乳化製剤全体に対し、０～２０％ｗ／ｖ、好ましくは０．１～１０％ｗ／ｖである。

ｐＨ調整剤及びｐＨ緩衝剤としては、注射剤に通常使用される生理的に安全性の高い酸及び塩基を使用することができる。これらの例として、塩酸、硫酸、リン酸などの無機酸やクエン酸などの有機酸及びこれらのアルカ

リ金属塩が使用される。調整するpHは、生理的に許容されるpHならば制限はないが、安全性及び乳化の安定性を保持するためには5～9の範囲が好ましく、一般的には6～8である。

浸透圧調整剤としては、生理的に安全性の高い塩類や糖類、糖アルコール類やアルコール類が用いられる。乳化製剤の安定性を保持するためにはブドウ糖などの糖類、マンニトールなどの糖アルコール、グリセリンなどの多価アルコール、C_2～C_4の低級アルコール等の非イオン性物質を用いることが好ましい。これらの添加量は、乳化製剤の浸透圧を生理的に安全な程度の浸透圧に保つのに必要な量であればよい。通常、生理食塩液の浸透圧に対する比として0．7以上、好ましくは0．7～4の比となるような浸透圧を得るのに必要な濃度を得る量であればよい。

その他の添加剤としては、酸化防止剤や保存剤などがあげられる。特に不飽和結合を含む油脂を製剤中に含むときは、油脂の酸化を防止する目的で酸化防止剤としてビタミンE類、ブチルヒドロキシトルエン、ブチルヒドロキシアニソールなどの脂溶性の抗酸化剤を用いることができる。これらの抗酸化剤の添加量は、通常油脂1部に対し0．0001部から0．01部の範囲である。また、脂質の酸化による変化を防ぐため、容器中の大気を窒素ガスなどの不活性ガスで置換することも通常行われる。

オーレオバシジン類は水に実質的に溶解しないため、長期保存する場合は、乳化液中にオーレオバシジン類の結晶が析出する可能性がある。この結晶析出を防ぐためにエタノール、グリセリン等の注射剤に通常使用される生理的に安全性の高い極性有機溶媒を使用することができる。エタノール等の極性有機溶媒の添加量は乳化製剤に対し２０％ｗ／ｖ以下、好ましくは１～１０％ｗ／ｖである。

次に本発明の製造法をより詳しく説明する。

オーレオバシジン類の油脂への溶解は常温で行ってもよいが、通常３０℃～８０℃程度に加熱して溶解するのが好ましい。溶解補助剤、乳化安定剤及び保存剤等を使用する場合は、これらをあらかじめ油脂中に混合溶解しておくことが好ましいが、場合により後で添加してもよい。

通常オーレオバシジン類を溶解させた油脂溶液に乳化剤を加え、充分に混合し、均一に分散させる。乳化剤の混合は加温下、常温下いずれで行ってもよい。

乳化工程は、乳化剤を分散した油脂溶液を水相に添加し、乳化機を用いて乳化することにより行うことができる。乳化機としては、ホモミキサーやホモジナイザーなどの乳化機を用いることができる。注射剤として好ましい粒径の乳化製剤を調製するためには、マントンゴーリン（登録商標）型ホモジナイザーやマイクロフルイダイザー（登録商標）等の高圧乳化装置を用いて乳化するこ

とが好ましい。

乳化した油脂の粒子径は注射したときの安全性及び乳化製剤の安定性を保持するためには０．０５～１μｍであることが好ましく、平均粒子径は０．４μｍ以下の範囲にあることが好ましい。

得られた乳濁液はメンブランフィルターを用いて、異物を除くことができる。また、ろ過した乳濁液は滅菌した容器に充填し密封したのち高圧蒸気滅菌することも可能である。

得られた乳化製剤の好ましい組成を下記に示す。組成割合はいずれも乳化製剤全体に対する割合である。

オーレオバシジン類	０．０１～５％ｗ／ｖ、好ましくは０．１～２％ｗ／ｖ
油脂	１～３０％ｗ／ｖ、好ましくは５～２０％ｗ／ｖ
乳化剤	０．５～２０％ｗ／ｖ、好ましくは１～１０％ｗ／ｖ
その他の医薬品添加剤	０～２０％ｗ／ｖ、好ましくは１～１０％ｗ／ｖ
水	残部

更に好ましい組成を下記に示す。組成割合はいずれも乳化製剤全体に対する割合である。

オーレオバシジン Ｒ１０６－Ｉ	０．０１～５％ｗ／ｖ、好ましくは０．１～２％ｗ／ｖ
油脂として炭素数	１～３０％ｗ／ｖ、好ましく

8～20の脂肪酸トリグリセリド（天然由来の植物油を含む）	は5～20％w／v
乳化剤としてポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類もしくはポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類とリン脂質の併用	0．5～20％w／v、好ましくは1～8％w／v
乳化安定剤としてオレイン酸	0．1～5％w／v、好ましくは0．2～2％w／v
その他の医薬品添加剤	0～18％w／v、好ましくは1～8％w／v
水	残部

実施例

本発明を実施例をあげて詳しく説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

実施例1

オーレオバシジンR106－I，0．25gを大豆油9．75gとオレイン酸0．25gの混合物に50～60℃で加熱溶解し、これに精製卵黄リン脂質1．2gを

均一に分散懸濁した。得られた混合物にグリセリン１．２５ｇを加え、注射用水適量を加え、全量を５０mlとし、ホモジナイザー（イカ社製）により一次乳化を行った。得られた乳濁液を更にマイクロフルイダイザー（マイクロフルイディック社製）により高圧で二次乳化を行った。この乳化液に適量の塩酸及び水酸化ナトリウムを加えてｐＨを６．６に調整した。得られた乳濁液をメンブランフィルター（孔径０．４μｍ）を用いてろ過し、滅菌した注射用の容器に充填し、窒素ガス置換して密封した。得られた注射剤は均一な白色の乳濁液であり、光散乱粒子径測定装置による平均粒子径は０．２６μｍであった。

実施例２

オーレオバシジンＲ１０６－Ｉ，０．２５ｇを大豆油１０ｇに５０～６０℃で加熱溶解し、これに精製卵黄リン脂質１．２ｇを均一に分散懸濁した。得られた混合物にグリセリン１．２５ｇを加え、注射用水適量を加え、全量を５０mlとし、ホモジナイザー（イカ社製）により一次乳化を行った。得られた乳濁液を更にマイクロフルイダイザー（マイクロフルイディック社製）により高圧で二次乳化を行った。この乳化した液に適量の塩酸及び水酸化ナトリウムを加えてｐＨを６．５に調整した。得られた乳濁液をメンブランフィルター（孔径０．４μｍ）を用いてろ過し、滅菌した注射用の容器に充填し、窒素ガス置換して密封した。得られた注射剤は均一な白色の乳濁液であり、光散乱粒子径測定装置による平均粒

子径は０．２９μｍであった。

実施例３

オーレオバシジンＲ１０６－Ｉ，０．２５ｇをカプリル酸トリグリセリド（パナセート８００、日本油脂㈱）４．７５ｇとオレイン酸０．２５ｇの混合物に５０～６０℃で加熱溶解した。これに精製卵黄リン脂質１．０ｇを均一に分散懸濁した。得られた混合物にグリセリン１．２５ｇを加え、注射用水適量を加え全量５０mlとし、ホモジナイザー（イカ社製）により一次乳化を行った。得られた乳濁液を更にマイクロフルイダイザー（マイクロフルイディック社製）により高圧で二次乳化を行った。この乳化した液に適量の塩酸及び水酸化ナトリウムを加えてｐＨを７．４に調整した。得られた乳濁液をメンブランフィルター（孔径０．２μｍ）を用いてろ過し、滅菌した注射用の容器に充填し、窒素ガス置換して密封した後、高圧蒸気滅菌（１２１℃、２０分間）を施し、注射用製剤とした。得られた注射剤は均一な白色の乳濁液であり、光散乱粒子径測定装置による平均粒子径は０．２４μｍであり、滅菌前の平均粒子径０．１８μｍからほとんど変化が認められなかった。また、滅菌による含量低下は認められず、滅菌前に対する含量は１０１．５％であった。

実施例４

オーレオバシジンＲ１０６－Ｉ，０．１２５ｇを大豆油４．７５ｇとオレイン酸０．２５ｇの混合物に５０か

ら６０℃で加熱溶解し、これに水素添加大豆リン脂質１．０ｇを均一に分散懸濁した。得られた混合物にグリセリン１．２５ｇを加え、注射用水適量を加え全量５０mlとし、ホモジナイザー（イカ社製）により一次乳化を行った。得られた乳濁液を更にマイクロフルイダイザー（マイクロフルイディック社製）により高圧で二次乳化を行った。この乳化した液に適量の塩酸及び水酸化ナトリウムを加えて pHを７．５に調整した。得られた乳濁液をメンブランフィルター（孔径０．２μｍ）を用いてろ過し、滅菌した注射用の容器に充填し、窒素ガス置換して密封した後、高圧蒸気滅菌（１２１℃、２０分間）を施し注射用製剤とした。得られた注射剤は均一な白色の乳濁液であり、光散乱粒子径測定装置による平均粒子径は０．１７μｍであった。また、滅菌による含量低下は認められず、滅菌前に対する含量は１００．４％であった。

実施例５

オーレオバシジンＲ１０６－Ｉ，０．５ｇを大豆油９．５ｇとオレイン酸０．５ｇの混合物に５０～６０℃で加熱溶解し、これに精製卵黄リン脂質１．２ｇを均一に分散懸濁した。得られた混合物にグリセリン２．５ｇを加え、注射用水適量を加え全量１００mlとし、ホモジナイザー（イカ社製）により一次乳化を行った。得られた乳濁液を更にマイクロフルイダイザー（マイクロフルイディック社製）により高圧で二次乳化を行った。この乳化した液に適量の塩酸及び水酸化ナトリウムを加えて pH

を７．５に調整した。得られた乳濁液をメンブランフィルター（孔径０．４μｍ）を用いてろ過し、滅菌した注射用の容器に充填し、窒素ガス置換して密封した後、高圧蒸気滅菌（１２１℃、２０分間）を施し、注射用製剤とした。得られた注射剤は均一な白色の乳濁液であり、光散乱粒子径測定装置による平均粒子径は０．２２μｍであり、滅菌前の平均粒子径０．２０μｍからほとんど変化が認められなかった。また、滅菌による含量の低下は認められず、滅菌前に対する含量９７．６％であった。

実施例６

オーレオバシジンＲ１０６－Ｉ，０．２５ｇを大豆油４．７５ｇとオレイン酸０．２５ｇの混合物に５０～６０℃で加熱溶解し、これに精製卵黄リン脂質５ｇを均一に分散懸濁した。得られた混合物にグリセリン２ｇを加え、注射用水適量を加え全量１００mlとし、ホモジナイザー（イカ社製）により一次乳化を行った。得られた乳濁液を更にマイクロフルイダイザー（マイクロフルイディック社製）により高圧で二次乳化を行った。この乳化した液に適量の塩酸及び水酸化ナトリウムを加えて pHを７．３に調整した。得られた乳濁液をメンブランフィルター（孔径０．４μｍ）を用いてろ過し、滅菌した注射用の容器に充填し、窒素ガス置換して密封した後、高圧蒸気滅菌（１２１℃、２０分間）を施し、注射用製剤とした。得られた注射剤は均一な白色の乳濁液であり、光散乱粒子径測定装置による平均粒子径は０．１１μｍ

であり、滅菌前の平均粒子径０．１１μｍから変化が認められなかった。また、滅菌による含量の低下は認められず、滅菌前に対する含量１０３．６％であった。

実施例７

オーレオバシジンＲ１０６－Ｉ，０．５ｇとプロピルパラベン０．５ｇを大豆油９．５ｇとオレイン酸０．５ｇの混合物に５０～６０℃で加熱溶解し、これに精製卵黄リン脂質２ｇを均一に分散懸濁した。得られた混合物にグリセリン２ｇを加え、注射用水適量を加え全量１００mlとし、ホモジナイザー（イカ社製）により一次乳化を行った。得られた乳濁液を更にマイクロフルイダイザー（マイクロフルイディック社製）により高圧で二次乳化を行った。この乳化した液に適量の塩酸及び水酸化ナトリウムを加えてｐＨを７．４に調整した。得られた乳濁液をメンブランフィルター（孔径０．４μｍ）を用いてろ過し、滅菌した注射用の容器に充填し、窒素ガス置換して密封した後、高圧蒸気滅菌（１２１℃、２０分間）を施し注射用製剤とした。得られた注射剤は均一な白色の乳濁液であり、光散乱粒子径測定装置による平均粒子径は０．２０μｍであり、滅菌前の平均粒子径０．２１μｍから変化が認められなかった。また、滅菌による含量の低下は認められず、滅菌前に対する含量９５．９％であった。

実施例８

オーレオバシジンＲ１０６－Ｉ，１．７５ｇを大豆油

３１．５ｇとオレイン酸３．５ｇの混合物に５０～６０℃で加熱溶解し、これに精製卵黄リン脂質７ｇを均一に分散懸濁した。得られた混合物に注射用水適量及びエタノール１７．５ｇを加え全量３５０mlとし、ホモジナイザー（イカ社製）により一次乳化を行った。得られた乳濁液を更にマイクロフルイダイザー（マイクロフルイディック社製）により高圧で二次乳化を行った。この乳化した液に適量の塩酸及び水酸化ナトリウムを加えてｐＨを７．２に調整した。得られた乳濁液をメンブランフィルター（孔径０．４μｍ）を用いてろ過し、滅菌した注射用の容器に充填し、窒素ガス置換して密封した後、高圧蒸気滅菌（１２１℃、２０分間）を施し注射用製剤とした。得られた注射剤は均一な白色の乳濁液であり、光散乱粒子径測定装置による平均粒子径は０．１８μｍであり、滅菌前の平均粒子径０．１８μｍから変化が認められなかった。滅菌による含量の低下は認められず、滅菌前に対する含量は１０２．３％であった。

実施例９

オーレオバシジンＲ１０６－Ｉ，０．４ｇを中鎖脂肪酸トリグリセリド（パナセート８１０、日本油脂㈱）２０ｇに５０～６０℃で加熱溶解し、これに精製卵黄リン脂質４ｇを均一に分散懸濁した。得られた混合物にグリセリン４ｇを加え、注射用水適量を加え全量２００mlとし、ホモジナイザー（イカ社製）により一次乳化を行った。得られた乳濁液を更にマイクロフルイダイザー（マ

イクロフルイディック社製）により高圧で二次乳化を行った。この乳化した液に適量の塩酸及び水酸化ナトリウムを加えてpHを7．1に調整した。得られた乳濁液をメンブランフィルター（孔径0．4μm）を用いてろ過し、滅菌した注射用の容器に充填し、窒素ガス置換して密封した後、高圧蒸気滅菌（121℃、20分間）を施し注射用製剤とした。得られた注射剤は均一な白色の乳濁液であり、光散乱粒子径測定装置による平均粒子径は0．14μmであり、滅菌前の平均粒子径0．15μmから変化が認められなかった。滅菌による含量低下は認められず、滅菌前に対する含量は98．0％であった。

実施例10

オーレオバシジンR106－I，0．5gを大豆油9gとオレイン酸1gに50～60℃で加熱溶解し、これにポリオキシエチレン〔160〕ポリオキシプロピレン〔30〕グリコール，2．5gを均一に分散懸濁した。得られた混合物にグリセリン2gを加え、注射用水適量を加え全量100mlとし、ホモジナイザー（イカ社製）により一次乳化を行った。得られた乳濁液を更にマイクロフルイダイザー（マイクロフルイディック社製）により高圧で二次乳化を行った。この乳化した液に適量の塩酸及び水酸化ナトリウムを加えてpHを6．6に調整した。得られた乳濁液をメンブランフィルター（孔径0．45μm）を用いてろ過し、滅菌した注射用の容器に充填し、窒素ガス置換して密封した後、高圧蒸気滅菌（1

２１℃、２０分間）を施し注射用製剤とした。得られた注射剤は均一な白色の乳濁液であり、光散乱粒子測定装置による平均粒子径は０．１５μｍであり、滅菌前の平均粒子径０．１６μｍからほとんど変化が認められなかった。滅菌による含量の低下は認められず、滅菌前に対する含量９６．８％であった。

実施例１１

オーレオバシジンＲ１０６－Ｉ，０．５ｇをエタノール１ｇに溶解し、大豆油９ｇとオレイン酸１ｇを加え均一溶液とした。これにポリオキシエチレン〔１６０〕ポリオキシプロピレン〔３０〕グリコール，２．５ｇと精製卵黄リン脂質０．５ｇを均一に分散懸濁した。得られた混合物に注射用水適量及びエタノール４ｇを加え全量１００mlとし、ホモジナイザー（イカ社製）により一次乳化を行った。得られた乳濁液を更にマイクロフルイダイザー（マイクロフルイディック社製）により高圧で二次乳化を行った。この乳化した液に適量の塩酸及び水酸化ナトリウムを加えてｐＨを６．６に調整した。得られた乳濁液をメンブランフィルター（孔径０．４５μｍ）を用いてろ過し、滅菌した注射用の容器に充填し、窒素ガス置換して密封した後、高圧蒸気滅菌（１２１℃、２０分間）を施し注射用製剤とした。得られた注射剤は均一な白色の乳濁液であり、光散乱粒子測定装置による平均粒子径は０．１１μｍであり、滅菌前の平均粒子径０．１１μｍから変化が認められなかった。滅菌による含量

の低下は認められず、滅菌前に対する含量９７．０％であった。

（試験例：本発明品のｉｎ　ｖｉｖｏ抗真菌効果）

本発明品実施例１及び２の製剤の抗真菌効果を対照製剤と比較して示す。

カンジダ菌(Candida albicans TIMM1768)、２×１０^{6}／０．２mlをマウス尾静脈より静注して感染させた。感染当日より５日間、本発明品の実施例１及び２の製剤をＲ１０６－Ｉの投与量で５、１０、２０、５０mg／kgを投与した。また、実施例１及び２の製剤からＲ１０６－Ｉを除いたものを対照製剤として投与した、各投与群のマウスは１０匹とし、真菌感染当日より３１日間その生死及び体重を観察した。体重の観察では、感染及び薬剤投与を行わない無処置群の体重変化と比較した。

本発明品実施例１及び２の抗真菌効果を生存曲線によりそれぞれ第１図及び第２図に対照製剤と比較して示した。また、実施例１及び２それぞれの体重変化を第３図及び第４図に対照製剤及び無処置群と比較して示した。

第１図において、１～４は実施例１の製剤を投与した群、Ａは対照製剤を投与した群を示し、Ｒ１０６－Ｉの投与量として１は５０mg／kg、２は２０mg／kg、３は１０mg／kg、４は５mg／kg、Ａは０mg／kgである。

第２図において、１～４は実施例２の製剤を投与した群、Ａは対照製剤を投与した群を示し、Ｒ１０６－Ｉの投与量として１は５０mg／kg、２は２０mg／kg、３は１

0 mg／kg、4は5 mg／kg、Aは0 mg／kgである。

第3図において、1～4は実施例1の製剤を投与した群、Aは対照製剤を投与した群、Bは非感染無処置群を示し、R106－Iの投与量として1は50 mg／kg、2は20 mg／kg、3は10 mg／kg、4は5 mg／kg、A及びBは0 mg／kgである。

第4図において、1～4は実施例2の製剤を投与した群、Aは対照製剤を投与した群、Bは非感染無処置群を示し、R106－Iの投与量として1は50 mg／kg、2は20 mg／kg、3は10 mg／kg、4は5 mg／kg、A及びBは0 mg／kgである。

本発明品は実施例いずれにおいても投与量を多くするに従い、顕著な生存率の延長及び体重変動における回復が認められ、本発明品の抗真菌効果及び安全性が高いことが示された。

産業上の利用可能性

本発明において乳化剤としてリン脂質及び／又はポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類を用いて得られた注射剤は優れた抗真菌効果を有し、更にアナフィラキシーショック等の副作用を有しないため、安全性が高い。また、本発明の乳化製剤では、高圧蒸気滅菌により油相の分離や、分散油粒子径の増大が認められず、高圧蒸気滅菌が可能である。したがって、注射剤の調製における無菌性の保証も容易であり、安定性の優れた製剤を得ることが可能である。

請求の範囲

1. オーレオバシジン類、油脂、乳化剤及び水を必須成分とし、オーレオバシジン類を含む油相が水相に分散乳化していることを特徴する乳化製剤

2. 乳化製剤中の油脂濃度が１～３０％ｗ／ｖである請求項１の製剤

3. 芳香族カルボン酸及びそのエステル類の中から選択される化合物を油脂中のオーレオバシジン類の溶解補助剤として含む請求項１の製剤

4. 乳化剤がリン脂質及び／又はポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類であり、乳化製剤中の油脂量１００部に対して乳化剤量が１～２００部である請求項１の製剤

5. 高級脂肪酸又は酸性リン脂質を含む請求項１の製剤

6. 極性有機溶媒を含む請求項１の製剤

7. 全体に対する組成割合がオーレオバシジン類０．１～２％ｗ／ｖ、油脂１０～２０％ｗ／ｖ、乳化剤１～１０％ｗ／ｖ、その他の医薬品添加剤１～１０％ｗ／ｖ、水が残部である請求項１の製剤

8. 乳化安定剤がオレイン酸であり、乳化剤がポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類もしくはポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類とリン脂質との併用であり、乳化剤の添加量がオレイ

ン酸添加量1部に対して1部～5部である請求項1の製剤

補正された請求の範囲

[1993年11月15(15.11.93)国際事務局受理;新しく請求の範囲6が加えられた;出願当初の請求の範囲6-8は請求の範囲7-9に番号が付け替えられた;他の請求の範囲は変更なし。(2頁)]

1. オーレオバシジン類、油脂、乳化剤及び水を必須成分とし、オーレオバシジン類を含む油相が水相に分散乳化していることを特徴する乳化製剤。

2. 乳化製剤中の油脂濃度が1～30%w／vである請求項1の製剤。

3. 芳香族カルボン酸及びそのエステル類の中から選択される化合物を油脂中のオーレオバシジン類の溶解補助剤として含む請求項1の製剤。

4. 乳化剤がリン脂質及び／又はポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類であり、乳化製剤中の油脂量100部に対して乳化剤量が1～200部である請求項1の製剤。

5. 高級脂肪酸又は酸性リン脂質を含む請求項1の製剤。

6. （追加）高級脂肪酸を乳化製剤中の油脂量に対して1%～20%w／w、又は酸性リン脂質を乳化製剤に対して0．5～20%w／w含む請求項1の製剤。

7. （前請求の範囲第6項）極性有機溶媒を含む請求項1の製剤。

8. （前請求の範囲第7項）全体に対する組成割合がオーレオバシジン類0．1～2%w／v、油脂10～20%w／v、乳化剤1～10%w／v、その他の医薬品添加剤1～10%w／v、水が残部である請求項1の製

剤。

9. （前請求の範囲第8項）乳化安定剤がオレイン酸であり、乳化剤がポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類もしくはポリオキシエチレンポリオキシプロピレングリコール類とリン脂質との併用であり、乳化剤の添加量がオレイン酸添加量1部に対して1部～5部である請求項1の製剤。

FIG. 1

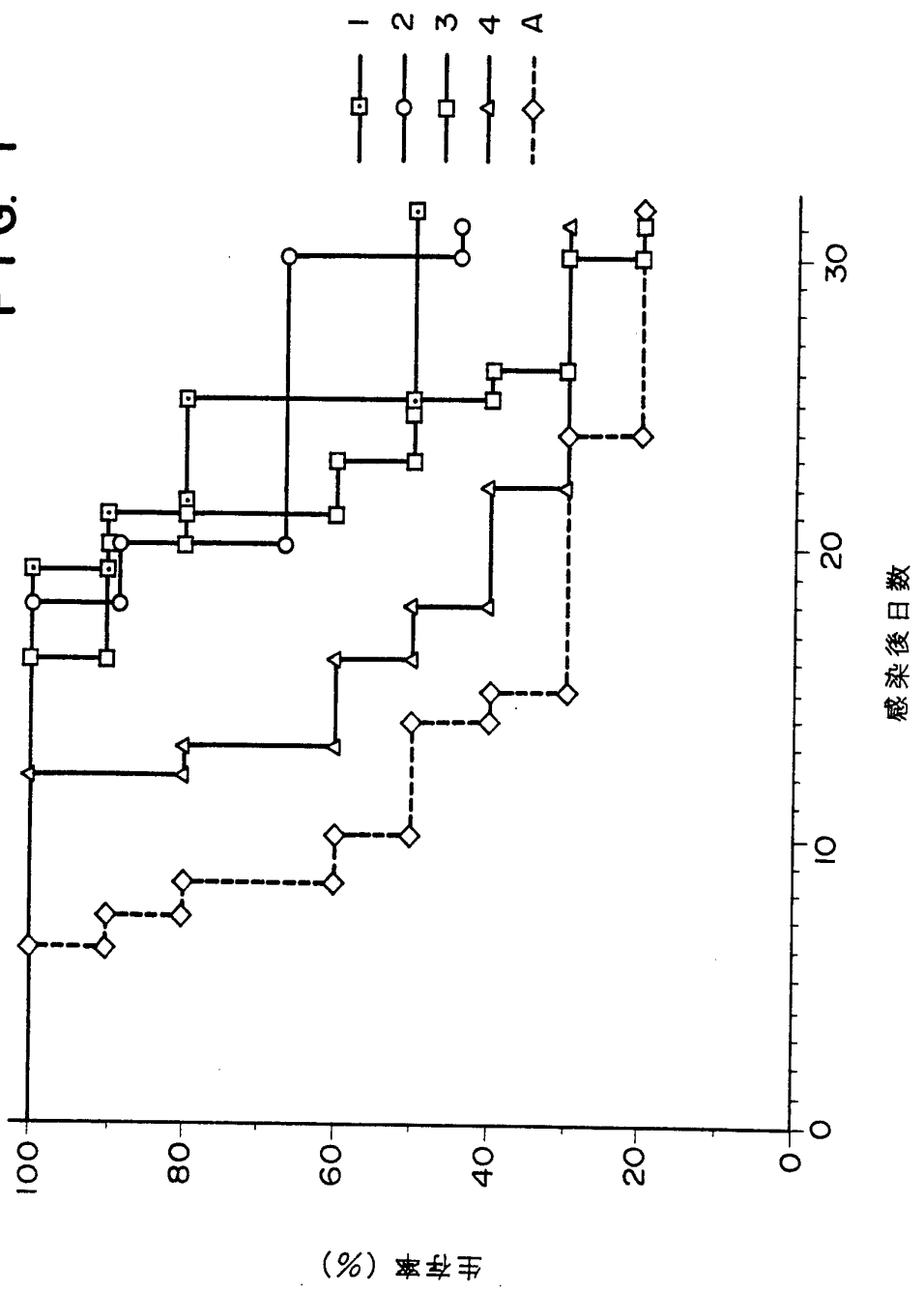


FIG. 2

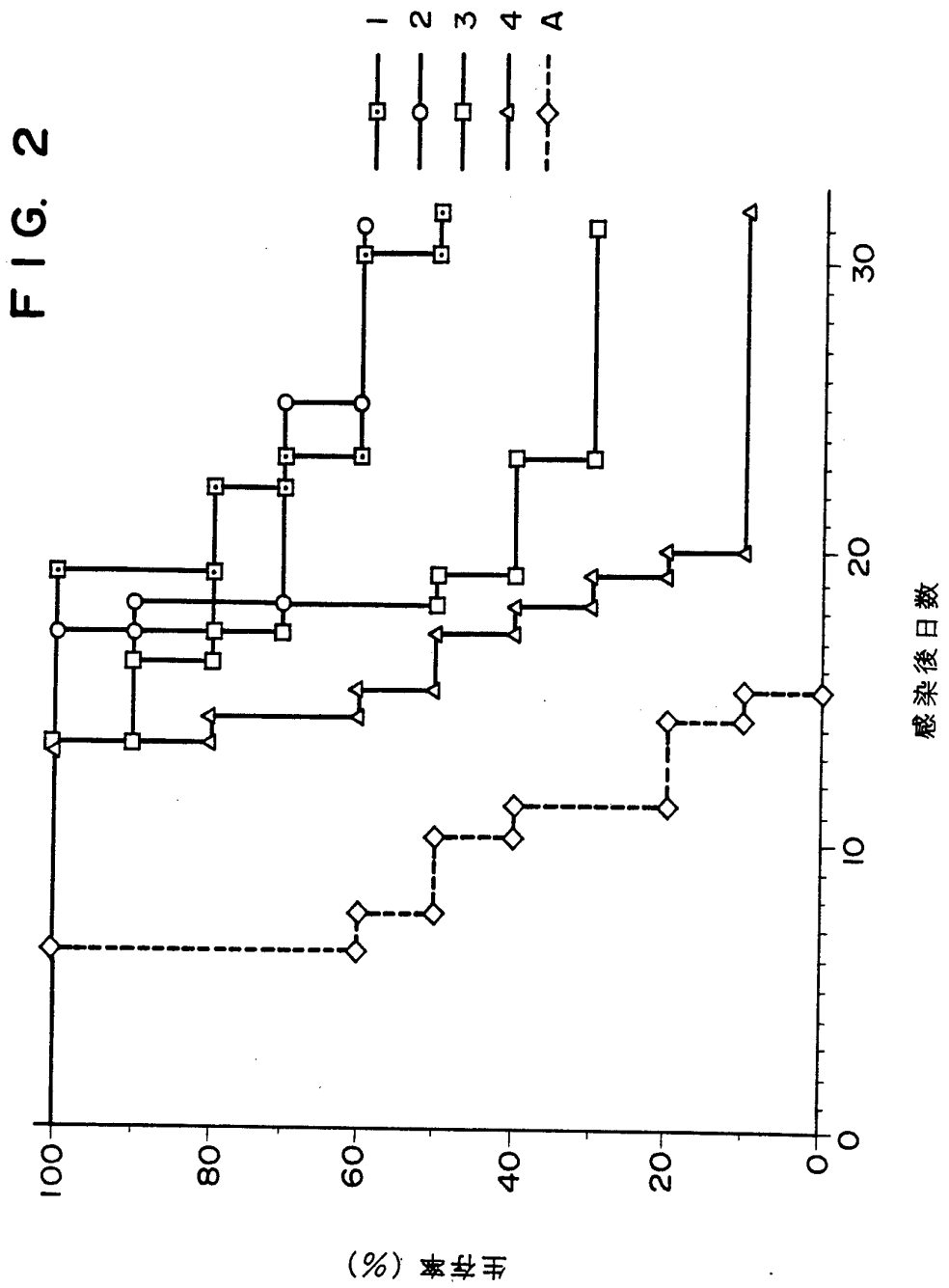


FIG. 3

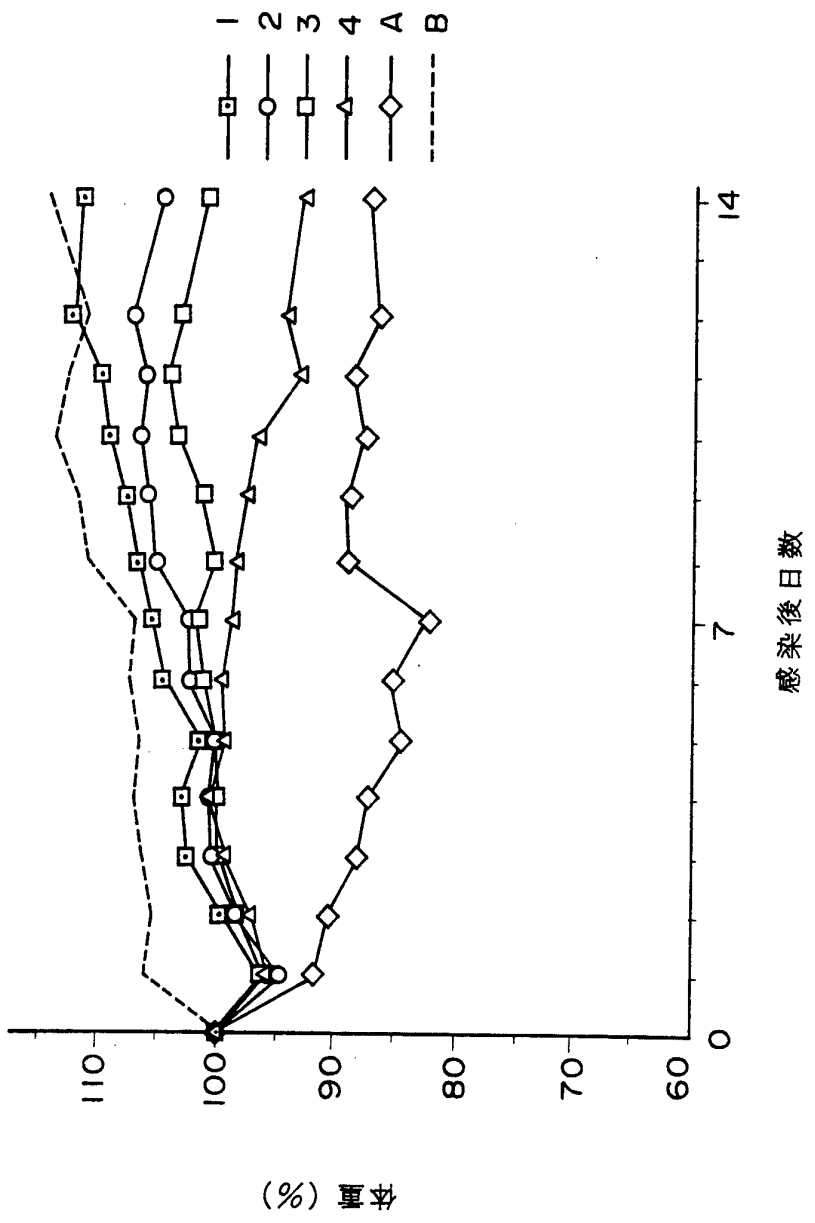
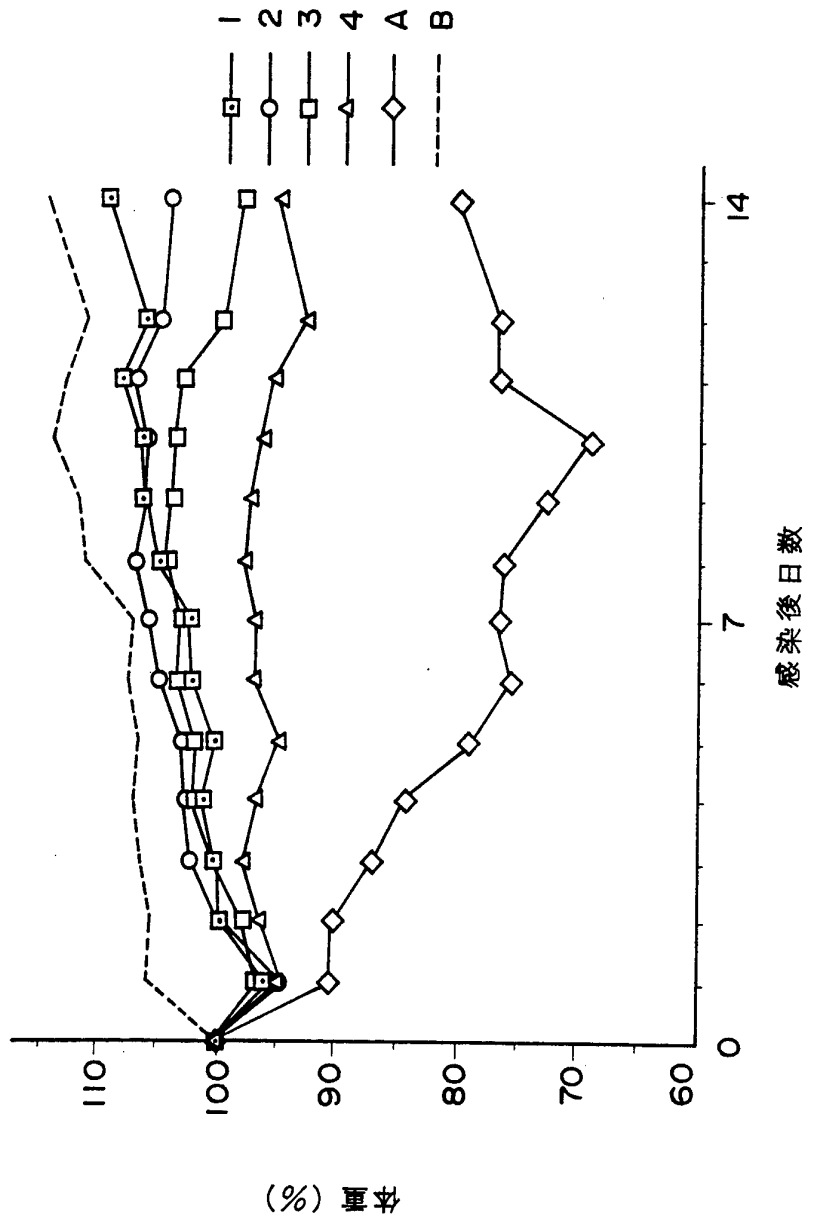


FIG. 4



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP93/00840

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl^5 A61K37/02, 9/107

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)

Int. Cl^5 A61K37/02, 9/107

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

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

CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, A, 3-220199 (Takara Shuzo Co., Ltd.), September 27, 1991 (27. 09. 91), & EP, A, 443719 & US, A, 5200505	1-8
Y	JP, A, 2-138296 (Takara Shuzo Co., Ltd.), May 28, 1990 (28. 05. 90), & EP, A, 352092 & US, A, 5057493	1-8
Y	JP, A, 3-106812 (Shiseido Co., Ltd.), May 7, 1991 (07. 05. 91), (Family: none)	1-8
Y	JP, A, 62-29511 (Abbot Laboratories), February 7, 1987 (07. 02. 87), & EP, A, 211258	1-8

[X] 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 document 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	Date of mailing of the international search report
September 3, 1993 (03. 09. 93)	September 21, 1993 (21. 09. 93)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

国 際 調 査 報 告

国際出願番号 PCT/JP 93/00840

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

Int. Cl[5] A61K37/02, 9/107

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））

Int. Cl[5] A61K37/02, 9/107

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

国際調査で使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）

CAS ONLINE

C. 関連すると認められる文献

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	関連する請求の範囲の番号
Y	JP, A, 3-220199（資福造株式会社） 27. 9月. 1991（27. 09. 91） &EP, A, 443719&US, A, 5200505	1-8
Y	JP, A, 2-138296（資福造株式会社） 28. 5月. 1990（28. 05. 90） &EP, A, 352092&US, A, 5057493	1-8
Y	JP, A, 3-106812（株式会社 資生堂）	1-8

☑ 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、一般的技術水準を示すもの
「E」先行文献ではあるが、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矛盾するものではなく、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
03. 09. 93

国際調査報告の発送日
21.09.93

名称及びあて先
日本国特許庁（ISA/JP）
郵便番号100
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官（権限のある職員）
松 浦 新 司 4C 8314

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

様式PCT/ISA/210（第2ページ）（1992年7月）

C（続き）．　関連すると認められる文献

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	関連する請求の範囲の番号
	7. 5月. 1991(07. 05. 91), (ファミリーなし)	
Y	JP, A, 62-29511(アボット ラボラトリーズ) 7. 2月. 1987(07. 02. 87) &EP, A, 211258	1-8