

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7386967号

(P7386967)

(45)発行日 令和5年11月27日(2023.11.27)

(24)登録日 令和5年11月16日(2023.11.16)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/352 (2006.01)	A 6 1 K	31/352
A 6 1 K	47/34 (2017.01)	A 6 1 K	47/34
A 6 1 K	47/32 (2006.01)	A 6 1 K	47/32
A 6 1 K	9/51 (2006.01)	A 6 1 K	9/51
A 6 1 K	9/107(2006.01)	A 6 1 K	9/107

請求項の数 18 (全17頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2022-505252(P2022-505252)

(86)(22)出願日 令和2年7月26日(2020.7.26)

(65)公表番号 特表2022-542585(P2022-542585 A)

(43)公表日 令和4年10月5日(2022.10.5)

(86)国際出願番号 PCT/CN2020/104704

(87)国際公開番号 WO2021/013262

(87)国際公開日 令和3年1月28日(2021.1.28)

審査請求日 令和4年1月24日(2022.1.24)

(31)優先権主張番号 201910679309.0

(32)優先日 令和1年7月25日(2019.7.25)

(33)優先権主張国・地域又は機関
中国(CN)

(73)特許権者 521546876

北京盛諾基医薬科技股▲フン▼有限公司

BEIJING SHENOGEN PH
ARMA GROUP LTD.中華人民共和國102206北京市昌平
区生命園路26号院1号楼Building 1, No. 26 Y
ard, Life Science P
ark Road, Changping
District, Beijing,
China

(74)代理人 100108453

弁理士 村山 靖彦

(74)代理人 100110364

弁理士 実広 信哉

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 イカリチンナノミセル製剤、その調製方法及びその応用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

イカリチンナノミセル製剤であって、イカリチンとポリマー補助材料とを含み、前記ポリマー補助材料が、ポリビニルカプロラクタムーポリ酢酸ビニルーポリエチレングリコールグラフト共重合体、コポビドンV A 6 4、ポロキサマー188、ポロキサマー407、トコフェロールポリエチレングリコールコハク酸塩及びポリエチレングリコールー15ヒドロキシシステアリン酸塩のうちの1つ以上から選択される、液体製剤又は固形製剤を含む経口製剤である、製剤。

【請求項2】

前記製剤が固形製剤であり、前記製剤が重量基準で1部のイカリチンと1～20部の前記ポリマー補助材料とを含む、請求項1に記載の製剤。

【請求項3】

前記製剤が重量基準で1部のイカリチンと6部の前記ポリマー補助材料とを含む、請求項2に記載の製剤。

【請求項4】

前記製剤が液体製剤であり、前記製剤が重量基準で1部のイカリチンと2～20部の前記ポリマー補助材料と20～500部の水とを含む、請求項1に記載の製剤。

【請求項5】

前記製剤が液体製剤であり、前記製剤が重量基準で1部のイカリチンと6部の前記ポリマー補助材料と193部の水とを含む、請求項4に記載の製剤。

【請求項 6】

前記製剤が固形製剤であり、その中にあるイカリチンが非晶質状態で存在し、粉末 X 線回折パターンが図 3 に示される、請求項 1 に記載の製剤。

【請求項 7】

請求項 1 ～ 6 のいずれか一項に記載のイカリチンナノミセルを調製する方法であって、以下のステップ：

A) 第一に、イカリチンの溶解能を有する溶媒にイカリチンを溶解させてイカリチン溶液を形成するステップ；

B) 前記ポリマー補助材料の溶解能を有する溶媒に前記ポリマー補助材料を分散させてポリマー溶液を形成するステップ；

C) 前記イカリチン溶液を前記ポリマー溶液に加えて懸濁液を形成するステップ；

D) 前記懸濁液を遠心し、沈殿物を除去して上清を回収するステップ；及び

E) 前記上清を濃縮してミセル濃縮物にするステップ

を含む、方法。

【請求項 8】

ステップ E の後にステップ E'：風味添加剤、保存剤及び消泡剤のうちの 1 つ以上を前記イカリチンミセル濃縮物に加え、それを均一に混合して液体イカリチンナノミセル製剤を得るステップを更に含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

以下のステップ：

F) 前記イカリチンミセル濃縮物又は前記液体イカリチンナノミセル製剤に凍結乾燥用補助材料を加え、それを凍結乾燥して凍結乾燥錠剤又は凍結乾燥粉末にするステップを含む、請求項 7 又は 8 に記載の方法。

【請求項 10】

凍結乾燥を用いて得られる前記凍結乾燥粉末を粉碎して顆粒、錠剤又はカプセルが調製され、前記調製されたイカリチンナノミセル製剤が固形製剤である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記凍結乾燥用補助材料が、マンノース、デキストラン、ラクトース、スクロース、グルコース、グリシン、トレハロース及びポリビニルピロリドン 10 K のうちの 1 つ以上から選択され、前記凍結乾燥用補助材料が、前記イカリチンミセル濃縮物又は前記液体イカリチンナノミセル製剤の全質量の 1 ～ 50 % である、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 12】

前記凍結乾燥用補助材料が、前記イカリチンミセル濃縮物又は前記液体イカリチンナノミセル製剤の全質量の 2 ～ 20 % である、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

イカリチンの溶解能を有する前記溶媒が、テトラヒドロフラン、メタノール、エタノール、アセトン、N, N-ジメチルホルムアミド、又はアルカリ性水溶液を含み、前記アルカリ性水溶液が、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム又は炭酸ナトリウム水溶液を含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 14】

前記ポリマー補助材料の溶解能を有する前記溶媒が、石油エーテル、n-ヘキサン、水、塩酸、硫酸、硝酸、亜硫酸又はリン酸水溶液を含む、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 15】

前記風味添加剤が甘味料と香料とを含み、前記甘味料が非糖甘味料であり、前記液体イカリチンナノミセル製剤の質量の 0.01 ～ 1 % を占め、前記香料が前記液体イカリチンナノミセル製剤の質量の 0.01 ～ 5 % を占める、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 16】

前記保存剤が前記液体イカリチンナノミセル製剤の質量の 0.01 ～ 1 % を占め、前記消泡剤が前記液体イカリチンナノミセル製剤の質量の 0.01 ～ 1 % を占める、請求項 8

10

20

30

40

50

に記載の方法。

【請求項 17】

ステップ C) において、前記イカリチン溶液が 20～2000 rpm/分の速度で撹拌しながら前記ポリマー溶液に加えられ；及びステップ D) において、前記懸濁液が 1,000～20,000 rpm/分の速度で遠心される、請求項 7 に記載の方法。

【請求項 18】

ステップ E) において、濃縮後の前記ミセル濃縮物の濃度が 5～50 mg イカリチン/mL である、請求項 7 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0001】

本発明は、医学分野に属するイカリチンナノミセル製剤、その調製方法及びその応用に関する。

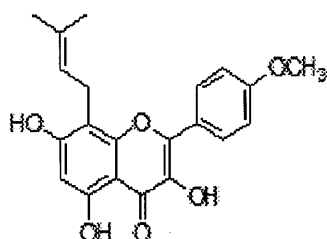
【背景技術】

【0002】

イカリチン、別名アンヒドロイカリチンは、中医学伝統薬イカリソウ (Epimedium) から抽出及び分離される主活性成分であるイカリインの酵素変換によって得られる新規の有効な単量体であり、式 (I) によって表される構造を有する：

【化 1】

20



(I)

30

【0003】

アンヒドロイカリチンの調製方法は、中国特許出願第 200710099025.1 号明細書に開示されており、この方法によれば、イカリインが β -グリコシダーゼで酵素的に加水分解されてアンヒドロイカリチンが得られる。

【0004】

中国特許出願第 200910025047.2 号明細書は、アンヒドロイカリチンリボソームの経口製剤を開示しており、この製剤の成分の質量分率は、50%～85%ダイズレシチン、10～35%コレステロール、及び 2～25%アンヒドロイカリチンであり、ここではリン脂質二重層がリボソームの表面として働き、この二重層の外側にある親水基が親水性キャップを形成し、二重層の内側にある親水基が内部水相を成し、及び二重層の間にある疎水基が疎水性領域を成して、アンヒドロイカリチンはリボソームのリン脂質二重層に埋め込まれる。しかしながら、実際には、上述の製剤は高価であり、大量生産には好適でない。

40

【0005】

中国特許出願第 200910184281.X 号明細書は、アンヒドロイカリチンを含む医薬組成物を開示しており、ここでこの組成物は、アンヒドロイカリチンとリン脂質とを 1:0.5～5 の質量比で含む。しかしながら、ある研究によれば、この製剤はバイオアベイラビリティが低いことが明らかになっている。

【0006】

中国特許出願第 201410185323.2 号明細書は、結晶形のイカリチン化合物

50

、この結晶形を含有する薬物、及びその応用を開示している。この特許は、加えて、無水結晶形のイカリチンを開示しており、この結晶形には、安定性が高く、有効期間が長く、且つ過酷な気候の下での輸送及び保管に好適であるという利点がある。

中国特許出願第201310526018.0号明細書は、イカリチンの経口製剤について記載し、ここでこの製剤は、粒径が90 µm未満のイカリチンと、植物油と、懸濁剤とを含む。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0007】

【文献】中国特許出願第200710099025.1号明細書

10

【文献】中国特許出願第200910025047.2号明細書

【文献】中国特許出願第200910184281.X号明細書

【文献】中国特許出願第201410185323.2号明細書

【文献】中国特許出願第201310526018.0号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

しかしながら、本発明の発明者は、経口イカリチン製剤の調製時に、先行技術に開示されるイカリチン製剤が概して低いバイオアベイラビリティを示すことに気付いた。従って、大量工業生産に好適で、且つバイオアベイラビリティが高い新規のイカリチン経口製剤が必要とされている。

20

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明の目的は、イカリチンナノミセル製剤を提供することであり、この製剤は、バイオアベイラビリティが高いという利点を有する。

【0010】

本発明の別の目的は、本発明のイカリチンナノミセル製剤を調製する方法を提供することである。

【0011】

本発明の一態様によれば、イカリチンナノミセル製剤であって、イカリチンとポリマー補助材料とを含む製剤が提供される。

30

【0012】

好ましくは、本製剤は経口製剤である。

【0013】

好ましくは、本製剤は液体製剤又は固形製剤である。

【0014】

好ましくは、製剤が固形製剤であるとき、本製剤は重量基準で1部のイカリチンと1～20部のポリマー補助材料とを含む。

【0015】

より好ましくは、本製剤は重量基準で1部のイカリチンと6部のポリマー補助材料とを含む。

40

【0016】

好ましくは、製剤が液体製剤であるとき、本製剤は重量基準で1部のイカリチンと2～20部のポリマー補助材料と20～500部の水とを含む。

【0017】

好ましくは、製剤が液体製剤であるとき、本製剤は重量基準で1部のイカリチンと6部のポリマー補助材料と193部の水とを含む。

【0018】

好ましくは、製剤が固形製剤であるとき、その中にあるイカリチンは非晶質状態で存在する。

50

【0019】

好ましくは、イカリチンナノミセル製剤が固形製剤であるとき、粉末X線回折パターンは図3に示される。

【0020】

好ましくは、ポリマー補助材料は、ポリビニルカプロラクタムーポリ酢酸ビニルーポリエチレングリコールグラフト共重合体、コポビドンVA 64、ポリエチレングリコール4000、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリビニルピロリドンK25、ポリビニルピロリドンK30、ポリビニルピロリドンK90、ポロキサマー188、ポロキサマー407、トコフェロールポリエチレングリコールコハク酸塩及びポリエチレングリコールー15ヒドロキシステアリン酸塩のうちの1つ以上から選択される。

10

【0021】

本発明の別の態様によれば、本発明のイカリチンナノミセル製剤を調製する方法であって、以下のステップ：

A) 第一に、イカリチンの溶解能を有する溶媒にイカリチンを溶解させてイカリチン溶液を形成するステップ；

B) 補助材料の溶解能を有する溶媒にポリマー補助材料を分散させてポリマー溶液を形成するステップ；

C) イカリチン溶液をポリマー溶液に加えて懸濁液を形成するステップ；

D) 懸濁液を遠心し、沈殿物を除去して上清を回収するステップ；及び

E) 上清を濃縮してミセル濃縮物にするステップ

20

を含む方法が提供される。

【0022】

好ましくは、本方法は、ステップEの後にステップE'：風味添加剤、保存剤及び消泡剤のうちの1つ以上をイカリチンミセル濃縮物に加え、それを均一に混合して液体イカリチンナノミセル製剤を得るステップを更に含む。

【0023】

好ましくは、本方法は、

F) イカリチンミセル濃縮物又はイカリチンナノミセル製剤に凍結乾燥用補助材料を加え、それを凍結乾燥して凍結乾燥錠剤又は凍結乾燥粉末にするステップを更に含む；

30

好ましくは、凍結乾燥を用いて得られる凍結乾燥粉末を粉碎して顆粒、錠剤又はカプセルが調製され、この調製されたイカリチンナノミセル製剤は固形製剤である。

【0024】

好ましくは、凍結乾燥用補助材料は、マンノース、デキストラン、ラクトース、スクロース、グルコース、グリシン、トレハロース及びポリビニルピロリドン10Kのうちの1つ以上から選択され、凍結乾燥用補助材料は、イカリチンミセル濃縮物又は液体イカリチンナノミセル製剤の全質量の1～50%である。

【0025】

より好ましくは、凍結乾燥用補助材料は、イカリチンミセル濃縮物又は液体イカリチンナノミセル製剤の全質量の2～20%である。

40

【0026】

好ましくは、イカリチンの溶解能を有する溶媒としては、テトラヒドロフラン、メタノール、エタノール、アセトン、N，N-ジメチルホルムアミド、又はアルカリ性水溶液が挙げられ、アルカリ性水溶液としては、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム又は炭酸ナトリウム水溶液が挙げられる。

【0027】

好ましくは、ポリマー補助材料の溶解能を有する溶媒としては、石油エーテル、n-ヘキサン、水、塩酸、硫酸、硝酸、亜硫酸又はリン酸水溶液が挙げられる。

【0028】

好ましくは、風味添加剤は甘味料と香料とを含み、甘味料は非糖甘味料であり、液体イ

50

カリチンナノミセル製剤の質量の0.01～1%を占め、香料は液体イカリチンナノミセル製剤の質量の0.01～5%を占める。

【0029】

好ましくは、保存剤は液体イカリチンナノミセル製剤の質量の0.01～1%を占め、消泡剤は液体イカリチンナノミセル製剤の質量の0.01～1%を占める。

【0030】

好ましくは、ステップC)において、イカリチンは20～2000rpm/分の速度で攪拌しながらポリマー溶液に加えられ；及びステップD)において、懸濁液は1,000～20,000rpm/分の速度で遠心される。

【0031】

好ましくは、ステップE)において、濃縮後の濃縮溶液の濃度は5～50mgイカリチン/mLである。

【0032】

好ましくは、凍結乾燥法が行われる温度値は-10℃～-80℃の範囲である。

【0033】

好ましくは、非糖甘味料は、スクラロース、ステビオシド、ステビオール、マンニトール、ラクチトール、マルチトール、アリテーム、アスパルテーム、サッカリン、サッカリンナトリウム、サッカリンカルシウム、アセスルファムカリウム及びタウマチンのうちの1つ以上から選択される。

【0034】

好ましくは、香料は、サクランボ風味、レモン風味、ライム風味、オレンジ風味、タンジェリン風味、柑橘類風味、ミント風味、イチゴ風味、カラメル風味、モモ風味、キイチゴ風味、グレープフルーツ風味、バニラ風味、クリーム風味、チョコレート風味及びブドウ風味の香料のうちの1つ以上から選択される。

【0035】

好ましくは、保存剤は、パラベンエステル類、クロロブタノール、プロピオン酸及びソルベートのうちの1つ以上から選択される。

【0036】

好ましくは、消泡剤は、鉱油、アルコール、脂肪酸、脂肪酸エステル、アミド、リン酸エステル、シリコーン、ポリエーテル及びポリエーテル修飾ポリシロキサン消泡剤のうちの1つ以上から選択される。

【0037】

有益には、本発明は、イカリチンナノミセル製剤及びその調製方法を提供する。本発明のイカリチンナノミセル製剤中のミセルはナノサイズの粒径を有し、非晶質状態で存在するため、高いバイオアベイラビリティにつながる。イカリチントウモロコシ油を含有する経口製剤と比較して、ナノミセル製剤を投与した動物ではバイオアベイラビリティが14.9倍に増加し、最高血漿濃度がほぼ9.5倍に増加する。

【図面の簡単な説明】

【0038】

【図1】本発明のイカリチンナノミセルの走査型電子顕微鏡アトラスを示す。

【図2】本発明のイカリチンナノミセル溶液の粒径分布図を示す。

【図3】本発明の実施例2のイカリチンナノミセルの凍結乾燥粉末についての粉末X線回折パターンを示す。

【図4】本発明の実施例2の固形イカリチンナノミセルの凍結乾燥粉末についての示差走査熱量測定マップを示す。

【図5】ビーグル犬におけるイカリチンナノミセル経口溶液及びイカリチン油分散型軟カプセル剤の血漿濃度－時間曲線を示す。

【発明を実施するための形態】

【0039】

特に指定されない限り、本明細書において用語「ナノミセル」とは、外側の親水性極性

10

20

30

40

50

部分と内側の疎水性部分とを含む複合体であり、この複合体は、イカリチン製剤が液体である（凍結乾燥製剤に水が加えられた状態を含む）とき、走査型電子顕微鏡下で観察されるとおり、一体となったイカリチンとポリマー補助材料とにより形成される。走査型電子顕微鏡下では、ナノミセルは球状、層状又は棒状であってよく、その直径又は幅は、数十ナノメートルから数百ナノメートルに及ぶ範囲である。

【0040】

特に指定されない限り、本明細書において用語「固形製剤」は、本発明のナノミセル凍結乾燥製剤と、本発明の液体ナノミセル製剤を乾燥させることによって得られる固形製剤との両方を含む。

【0041】

特に指定されない限り、本明細書において用語「非晶質状態」は、Cu-K α 線を用いて測定したとき粉末X線回折が0～40°の2 θ 範囲に分散ピークを示す固形イカリチンナノミセル製剤（乾燥させた液体製剤を含む）中にイカリチンが非晶質状態で存在することを意味する。

【0042】

特に指定されない限り、本明細書において「ポリビニルカプロラクタム-ポリ酢酸ビニル-ポリエチレングリコールグラフト共重合体」は、BASFから商標名Soluplusで購入される。

【0043】

特に指定されない限り、本明細書において用語「コポリドンVA 64」は、60：40の比のN-ビニル-2-ピロリドン及び酢酸ビニルから合成された水溶性コポリマーである。本明細書においてコポリドンVA 64は、BASFからKollidon VA 64及びKollidon VA 64 Fineの商標名で購入される。

【0044】

特に指定されない限り、本明細書において用語「ポリエチレングリコール4000」は、エチレンオキシドと水との重縮合によって形成される高分子ポリマーであり、分子式はHO(CH₂CH₂O)_nH（式中、nは平均オキシエチレン基数を表し、ポリエチレングリコール4000では4000に近い）と表される。

【0045】

特に指定されない限り、本明細書において用語「カルボキシメチルセルロースナトリウム」はAshlandから購入され、分子量は250,000～720,000である。

【0046】

特に指定されない限り、本明細書において用語「ポリビニルピロリドンK25」は、ビニルピロリドンのポリマーを指し、ここでK値は、ビニルピロリドンのポリマーの平均分子量範囲を表す。K値は、PVP水溶液の相対粘度に関連する特性値であり、粘度は、ポリマーの分子量と関係している物理量である。従って、K値を使用してPVPの平均分子量を特徴付けることができる。概して、K値が大きいほど粘度が高く、より強い結合特性につながる。本明細書においてポリビニルピロリドンK25は、Ashlandから商標名Plasdone PVP K25で購入される。

【0047】

特に指定されない限り、本明細書において用語「ポリビニルピロリドンK30」はポリビニルピロリドンK25に準じて定義され、ポリビニルピロリドンK30は、Ashlandから商標名Plasdone PVP K30で購入される。

【0048】

特に指定されない限り、本明細書において用語「ポリビニルピロリドンK90」はポリビニルピロリドンK25に準じて定義され、本明細書においてポリビニルピロリドンK90は、Ashlandから商標名Plasdone PVP K90で購入される。

【0049】

特に指定されない限り、本明細書において用語「ポロキサマー188」、別名Pluronic F68は、平均分子量が7680～9510の、ポリオキシエチレン、ポリオ

10

20

30

40

50

キシプロピレン及びポリオキシエチレンからなるPEO-PPG-PEOトリブロック共重合体を指し、ここではオキシエチレン単位が75～85%を占め、オキシプロピレン単位が25～30%を占める。ポロキサマー188の商標名は、Kolliphor P188である。

【0050】

特に指定されない限り、本明細書において用語「ポロキサマー407」は、約70%のエチレンオキシドと30%のプロピレンオキシドとで構成され、平均分子量9840～14600、商標名Kolliphor P407である。

【0051】

特に指定されない限り、本明細書において用語「トコフェロールポリエチレングリコールコハク酸塩及び2-ヒドロキシエチル12-ヒドロキシー18酸エステル」は、略してTPGSと称され、cas番号9002-96-4、商標名Kolliphor TPGSである。

【0052】

特に指定されない限り、本明細書において用語「ポリエチレングリコール-15ヒドロキシアリル酸塩」は、英語では「Solutol HS15」に対応し、cas番号70142-34-6である。

【0053】

特に指定されない限り、本明細書において用語「風味添加剤」は、望ましくない匂い、強い苦味又はその他、鼻を突く辛味などの不快な味を使用者が感知困難なほどまでに改善し、又は隠すための医薬品補助材料を指す。

【0054】

特に指定されない限り、本明細書において用語「甘味料」は、本発明の製剤に甘味を付与する医薬品添加剤を指す。

【0055】

特に指定されない限り、本明細書において用語「香料」は、本発明の製剤に匂いを付与する医薬品添加剤を指す。

【0056】

特に指定されない限り、本明細書において用語「シメチコン」は、Guangzhou Biaomei Pharmaceutical auxiliary material Co., Ltd. から購入され、CAS番号8050-81-5であり、これは本発明において消泡剤として使用される。

【0057】

特に指定されない限り、本明細書において用語「Span 85」、別名「ソルビタントリオレート」は、Xi'an Jinxiang Pharmaceutical Auxiliary Material Co., Ltd. から商品番号18091874298で購入され、これは本発明において消泡剤として使用される。

【0058】

特に指定されない限り、本明細書において用語「凍結乾燥用補助材料」は、凍結乾燥用プロパント (proppant) 又は凍結乾燥用添加剤とも称され、製剤を凍結乾燥した後の製剤の状態、安定性及び良好な溶解性を維持する補助材料として働く。

【0059】

特に指定されない限り、本明細書において用語「カプセル剤」は、薬物又は好適な補助材料が中空の硬カプセル剤に充填されているか、又は軟カプセル剤に密閉されているか、又は錠剤に圧縮されている固形製剤を指す。カプセル剤は、主に経口用途の、硬カプセル剤、軟カプセル剤（膠球）、持続放出性カプセル剤、放出制御カプセル剤、腸溶性コーティングカプセル剤又は錠剤に分類することができる。

【0060】

特に指定されない限り、本明細書において用語「AUC_{last}」は、投与時点から最後の時点までの血漿濃度曲線と時間軸とによって囲まれた面積を表す。「AUC_{last}」は

10

20

30

40

50

、「薬物曝露量」と称されることが多い。

【0061】

特に指定されない限り、本明細書において用語「 AUC_{INF} 」は、0から無限大までの時間軸と血漿濃度曲線とによって囲まれた面積を表す。

【実施例】

【0062】

実施例1

イカリチンナノミセル経口液剤の調製

2.4gのイカリチン原材料を120mLの0.2mol/L水酸化ナトリウム水溶液に溶解させて、4.8gのポリビニルカプロラクタム-ポリ酢酸ビニル-ポリエチレングリコールグラフト共重合体及び4.8gのポロキサマー407を480mLの0.05mol/L塩酸水溶液に溶解させる。1000rpm/分の高速で攪拌しながら、イカリチンと混合した水酸化ナトリウム溶液を蠕動ポンプでポリマーの塩酸水溶液に加え、次に20分間攪拌する。次に混合物を10,000rpm/分で20分間遠心して沈殿物を除去し、この上清がイカリチンミセル溶液である。イカリチン濃度は3.6mg/mLである。得られた溶液を限外ろ過カップの再生セルロースフィルター膜(100KDa)で限外ろ過すると、高濃度のイカリチンミセル溶液が得られ、ここでイカリチン濃度は30mg/mLである。

【0063】

得られた混合イカリチン溶液を透明の試験ボトルに入れ、溶液中に光線を透過させると、入射光と垂直な方向から溶液中に明るい「通路」が観察される。従って、混合イカリチン溶液ではチンダル効果が起こり、混合イカリチンミセル溶液が形成される。

【0064】

イカリチンミセル溶液を電子顕微鏡下(10KV、走査型電子顕微鏡)で調べると、図1に示されるとおりの電子顕微鏡アトラスが得られる。図1と目盛りとを比較することにより、イカリチンミセル粒子が200nm未満の粒径のナノサイズの粒径分布を有することが分かる。

【0065】

実施例1で得られたミセル溶液を動的光散乱レーザー粒度分析器(Malvern Master size Nano ZS)にかけると、図2に示されるとおりの粒径分布が得られる。図2の粒径分布曲線によって示されるとおり、イカリチンミセルは、平均粒径が約80nmの単分散系である。

【0066】

実施例2

イカリチンミセル濃縮物の調製

2gのイカリチン原材料を140mLのアセトンに溶解させる一方、20.0gのポリエチレングリコール15ヒドロキシステアリン酸塩及び5.0gのトコフェロールポリエチレングリコールコハク酸塩を500mLの精製水に溶解させる。蠕動ポンプによって1000rpm/分の高速で攪拌しながら、イカリチンを溶解させたアセトン溶液をポリエチレングリコール15ヒドロキシステアリン酸塩とトコフェロールポリエチレングリコールコハク酸塩を含む溶液に滴下して加える。その後、混合物を20分間攪拌する。その後、反応溶液を通気のある場所に置き、アセトンが完全に揮発するまで200rpm/分で攪拌しながら36時間超にわたって中のアセトンを揮発させる。残った溶液を20℃及び12000rpm/分で20分間遠心して沈殿物を除去し、この上清がイカリチンミセル溶液である。イカリチン濃度は6mg/mLである。再生セルロースフィルター膜(100KDa)を使用して膜ろ過及び濃縮すると、12mg/mLのイカリチンミセル濃縮溶液が調製される。

【0067】

実施例3

イカリチンミセル濃縮物の調製

1. 0 g のイカリチンを 70 mL のアセトン溶液に溶解させて、20.0 g のポリエチレングリコール 15 ヒドロキシステアリン酸塩及び 0.25 g のラウリル硫酸ナトリウムを 200 mL の精製水に溶解させる。蠕動ポンプによって 1000 rpm/分の高速で攪拌しながら、イカリチンを溶解させたアセトン溶液をポリエチレングリコール 15 ヒドロキシステアリン酸塩とラウリル硫酸ナトリウムを含む溶液に滴下して加える。その後、混合物を 10 分間攪拌する。その後、反応溶液を通気のある場所に置き、アセトンが完全に揮発するまで 300 rpm/分で攪拌しながら 24 時間超にわたって中のアセトンを揮発させる。残った溶液を 20℃及び 12000 rpm/分で 20 分間遠心して沈殿物を除去し、この上清がイカリチンミセル溶液である。イカリチン濃度は 5 mg/mL である。再生セルロースフィルター膜 (100 Kda) を使用して膜ろ過及び濃縮すると、45 mg/mL のイカリチンミセル溶液が調製される。

10

【0068】

実施例 4

イカリチンミセル濃縮物の調製

1. 2 g のイカリチン原材料を 60 mL の 0.2 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液に溶解させて、2.4 g のトコフェロールポリエチレングリコールコハク酸塩及び 1.2 g のポロキサマー 188 を 240 mL の 0.05 mol/L 塩酸水溶液に溶解させる。1000 rpm/分の高速で攪拌しながら、イカリチンと混合した水酸化ナトリウム溶液を蠕動ポンプでポリマーの塩酸水溶液に加え、次に 20 分間攪拌する。次に混合物を 10000 rpm/分で 20 分間遠心して沈殿物を除去し、この上清がイカリチンミセル溶液である。イカリチン濃度は 3.8 mg/mL である。得られた溶液を限外ろ過カップの再生セルロースフィルター膜 (100 Kda) で限外ろ過すると、高濃度のイカリチンミセル濃縮溶液が得られ、ここでイカリチン濃度は 20 mg/mL である。

20

【0069】

実施例 5

イカリチンミセル濃縮物の調製

2. 4 g のイカリチン原材料を 60 mL の 0.4 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液に溶解させる一方、9.6 g のコポビドン VA 64 を 240 mL の 0.1 mol/L 塩酸水溶液に溶解させる。1000 rpm/分の高速で攪拌しながら、イカリチンと混合した水酸化ナトリウム溶液を蠕動ポンプでポリマーの塩酸水溶液に加え、次に 20 分間攪拌する。次に混合物を 5000 rpm/分で 20 分間遠心して沈殿物を除去し、この上清がイカリチンミセル溶液である。イカリチン濃度は 7.8 mg/mL である。得られた溶液を限外ろ過カップのポリフェニレンエーテルスルホンフィルター膜 (100 Kda) で限外ろ過すると、高濃度のイカリチンミセル濃縮溶液が得られ、ここでイカリチン濃度は 28 mg/mL である。

30

【0070】

実施例 6

イカリチンミセル経口液剤の調製

実施例 1～3 の方法のとおりイカリチンミセル濃縮物を調製する。以下の表に示されるとおりの処方組成に従い他の成分を加える。

40

【0071】

【表 1】

処方組成	処方 1	処方 2	処方 3
イカリチンミセル濃縮物	30 mg/ml	12 mg/ml	45 mg/ml
シメチコン	0.20 g	/	/
イチゴ風味芳香料	/	0.40 g	0.40 g
バニラ風味芳香料	0.80 g	/	0.80 g
スクラロース	0.30 g	0.10 g	0.45 g
メチルパラベン	0.45 g	0.45 g	0.45 g
リン酸水素二ナトリウム-リン酸一水素ナトリウム緩衝溶液	pH = 6.8	pH = 6.8	pH = 6.8
総容積	400 ml	400 ml	400 ml

【0072】

絶えず攪拌しながら、実施例 1～3 の溶液に、処方の投薬量及び比率に基づき消泡剤－シメチコン、イチゴ風味芳香料、バニラ風味芳香料、スクラロース、及びパラベンを順次加える。次にリン酸水素二ナトリウム－リン酸二水素ナトリウム緩衝溶液を加えることにより、溶液の pH 値を 6.8 に調整する。完全に均一に攪拌し、ろ過した後、調製した溶液を琥珀色のガラスボトルに入れ、保管のため密封する。

【0073】

実施例 7

イカリチンミセル経口液剤の調製

実施例 4～5 の方法のとおりイカリチンミセル濃縮物を調製する。以下の表に示されるとおりの処方組成に従い他の成分を加える。

【0074】

10

20

30

40

50

【表 2】

処方組成	処方 4	処方 5
イカリチンミセル濃縮物	20 mg/ml	28 mg/ml
シメチコン	0.10 g	/
Span 85	/	0.20 g
イチゴ風味芳香料	0.40 g	/
バニラ風味芳香料	0.40 g	0.80 g
スクラロース	0.20 g	0.30 g
メチルパラベン	0.45 g	0.30 g
プロピルパラベン	/	0.20 g
リン酸水素二ナトリウム-リン酸 二水素ナトリウム緩衝溶液	pH = 6.0	pH = 6.0
総容積	400 ml	400 ml

【0075】

絶えず攪拌しながら、実施例 1～3 の溶液に、処方の投薬量及び比率に基づき消泡剤－シメチコン、Span 85、イチゴ風味芳香料、バニラ風味芳香料、スクラロース、メチルパラベン及びプロピルパラベンを順次加える。次にリン酸水素二ナトリウム－リン酸二水素ナトリウム緩衝溶液を加えることにより、溶液の pH 値を 6.0 に調整する。

【0076】

完全に均一に攪拌し、ろ過した後、調製した溶液を琥珀色のガラスボトルに入れ、保管のため密封する。

【0077】

実施例 8

実施例 2 のミセル濃縮物にイカリチン及び 5 % w/w スクロースを加え、均一に混合及び攪拌し、アリコートに分ける。アリコートを 10 mL ガラスボトルに入れ（3 mL / ボトル）、48 時間の凍結乾燥に供してイカリチンナノミセルを形成する。凍結乾燥粉末を粉末 X 線回折パターン特定に供すると、図 3 に示されるとおりのパターンが得られる。図 3 から、粉末 X 線回折パターンに分散ピークが現れることが分かる。示差走査熱量測定試験を実施する。図 4 は、曲線 b 及び曲線 a が、それぞれ、本例のイカリチンナノミセルの凍結乾燥粉末及び無水結晶形のイカリチンの示差走査熱量曲線であることを示している。曲線 b は平坦な曲線であり、38 °C～388 °C の全温度範囲で熱変化を呈さず、曲線 a は、無水結晶形のイカリチンの曲線であり、約 260 °C に明らかな融解吸熱ピークを呈する。これらから、本例の方法のとおり調製した固形イカリチンナノミセルの凍結乾燥粉末がイカリチン結晶を含むのではなく、非晶質状態のイカリチンを含むことが分かる。

【0078】

実施例 9

イカリチン錠剤の調製。実施例 8 のとおりに調製される凍結乾燥粉末に、希釈剤としてラクトース、崩壊剤として微結晶性セルロース、結合剤としてクロスカルメロースナトリウム、並びに滑沢剤としてヒドロキシプロピルセルロース及びステアリン酸マグネシウムを加える。

【0079】

【表 3】

処方組成	処方 1	処方 2
イカリチン凍結乾燥粉末 (イカリチン基準で計算)	100 mg	50 mg
ラクトース	100 mg	50 mg
微結晶性セルロース	20 mg	10 mg
クロスカルメロースナトリウム	20 mg	10 mg
ヒドロキシプロピルセルロース	4 mg	2 mg
ステアリン酸マグネシウム	8 mg	4 mg
二酸化ケイ素	8 mg	4 mg

【0080】

イカリチン凍結乾燥粉末を取り、粉碎し、篩でろ過することにより、後の使用のため粒径 $D_{90} \leq 75 \mu\text{m}$ にする；イカリチン凍結乾燥粉末の処方投薬量（イカリチン基準で計算）をラクトース、微結晶性セルロース、処方投薬量の 3 分の 1 のクロスカルメロースナトリウム及び処方投薬量の 2 分の 1 のステアリン酸マグネシウムと十分に混合し、次に非スラリーペレット化に供し、造粒機により 30 メッシュ篩にかける。処方投薬量の残り 3 分の 2 のクロスカルメロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース、処方投薬量の残り 2 分の 1 のステアリン酸マグネシウム、及び二酸化ケイ素を加えて混合する；錠剤機で打錠した後、混合物を保存のため梱包する。

【0081】

実施例 10 イカリチン凍結乾燥錠剤の調製

実施例 1 の方法のとおりイカリチンミセル濃縮物を調製する。以下の表に示されるとおりの処方組成に従い他の成分を加える。

【0082】

【表 4】

処方組成	処方
イカリチンミセル濃縮物 (イカリチン基準で計算)	3 ml, 20 mg/mL
シメチコン	0.03 g
バニラ風味芳香料	0.15 g
ステピオシド	0.03 g
スクロース	0.1 g
リン酸水素二ナトリウム-リン酸 二水素ナトリウム緩衝溶液	pH = 6.8

【0083】

処方投薬量のとおりにイカリチンミセル濃縮物にシメチコン、芳香料、ステビオシド、及びスクロースを順次加え、十分に攪拌した後、リン酸水素二ナトリウム－リン酸二水素ナトリウム緩衝溶液を加えてpH値を6.8に調整する。

【0084】

この溶液を二重アルミニウムパッケージ用成型型に充填し、凍結乾燥機に移して凍結乾燥錠剤を調製する。

【0085】

実施例11

イカリチンナノミセル凍結乾燥粉末の硬カプセル剤

実施例8の方法のとおりに凍結乾燥法によってイカリチンミセル凍結乾燥粉末を調製し、HPLCによれば、その薬物負荷能は14%である。

【0086】

凍結乾燥粉末を40メッシュ篩でろ過する。その後、714mgの凍結乾燥粉末を1号硬カプセルに充填し、これがイカリチンカプセル剤と見なされ、ここでこのカプセル剤は100mgのイカリチンを含む。

【0087】

比較例

イカリチン軟カプセル剤の調製

純度97%超の無水結晶形のイカリチンを粉碎し、170メッシュ篩でろ過する。イカリチン原材料の調製については中国特許出願第200710099025.1号明細書を参照し、その無水結晶形の調製については中国特許出願第201410185323.2号明細書を参照する。検出を実施し、微粉碎したイカリチンは粒径が90μm未満である。次に0.4gの蜜ろう及び15gのトウモロコシ油を70℃に加熱して溶解させて、均一に混合する；トウモロコシ油及び蜜ろうを含むこの溶液にイカリチンを加えて油性物質を調製する。この油性物質を軟カプセルに加えてイカリチン油性軟カプセル剤を作り、ここで各イカリチン軟カプセル剤は100mgのイカリチンを含む。

【0088】

実施例12

ビーグル犬におけるインビボ薬物動態実験

雄ビーグル犬(2～3歳、約8～10kg)をBeijing Marshall Biotechnology Co. Ltd. から購入し、 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ 及び $55 \pm 10\%$ 湿度、12時間昼夜間隔の室内に、水及び餌は自由摂取として置く。餌及び水を24時間与えないでおいた後、ビーグル犬に実施例1のイカリチンナノミセル経口液剤及び比較例のイカリチン軟カプセル剤を、両方とも20mgイカリチン/kg体重の投薬量で投与する。0、0.167、0.5、1、2、4、6、8、12、及び24時間の時点で末梢静脈から血液試料を採取し、次に $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 、4000rpm/分で10分間遠心して血漿を入手する。次に血漿を $-75 \pm 15^\circ\text{C}$ で保存する。群1にイカリチンナノミセル経口液剤とし、群2にイカリチン軟カプセル剤とする。

【0089】

この実験は、群2と比較して群1でイカリチンの経口バイオアベイラビリティが亢進するかどうかを評価することを目的としている。ビーグル犬は薬物動態パラメータがマウスと著しく異なり、むしろヒトに近いので、ビーグル犬で薬物動態試験を行う。群1には4匹のビーグル犬を使用し、群2には6匹を使用する。薬物動態パラメータ及び比較値を表1に掲載する。図5は、実験全体の血漿濃度曲線を示す。経口投与後、イカリチンの最高濃度 $C_{\max}$ は群1において絶食状態で $595 \pm 350 \text{ ng/mL}$ であり、これは群2の9.5倍である($p < 0.05$)。群1では、 AUC_{last} は $3592 \pm 2267 \text{ h} \cdot \text{ng/mL}$ であり、これは群2の14.9倍である($p < 0.05$)。これらの結果から、群1のナノミセル調製状態によってイカリチンの吸収が有意に増加し得ることが明らかである。群1は群2と比べて高いイカリチン溶解度及び透過性を示し、イカリチンの $C_{\max}$ 及

10

20

30

40

50

び AUC_{last} の有意な増加につながる。

【0090】

ビーグル犬に投与した群 1 及び群 2 の薬物動態パラメータを以下に示す。

【0091】

【表 5】

表 1

PK パラメータ	群 1 (n = 4)	群 2 (n = 6)
T_{max} (h)	1.25 ± 0.50	1.42 ± 0.66
C_{max} (ng/mL)	595 ± 350	62.7 ± 14.3
$T_{half-life}$ (h)	NA	2.04 ± 0.32
AUC_{last} (hr*ng/mL)	3592 ± 2267	241 ± 283
AUC_{INF} (hr*ng/mL)	NA	245 ± 293

NA: 報告値なし

10

20

30

40

50

【図面】
【図 1】

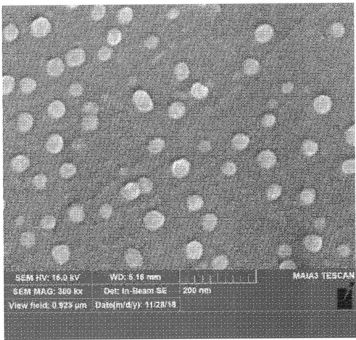


図 1

【図 2】

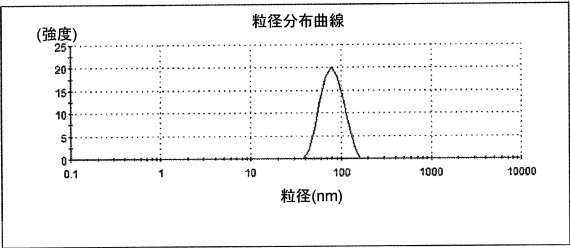


図 2

10

【図 3】

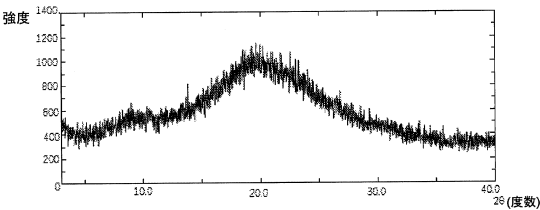


図 3

【図 4】

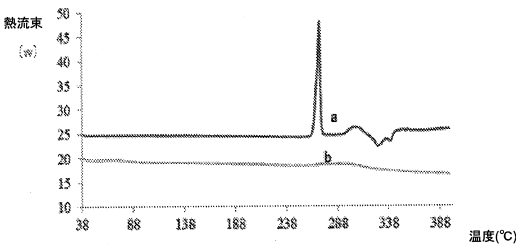


図 4

20

【図 5】

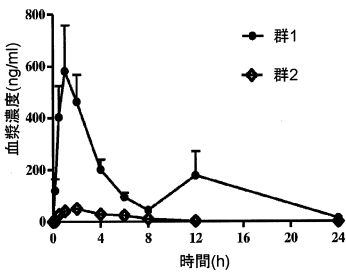


図 5

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 K 9/20 (2006.01)

F I

A 6 1 K 9/20

(74)代理人 100133400

弁理士 阿部 達彦

(72)発明者 ▲湯▼ 城

中華人民共和国 1 0 2 2 0 6 北京市昌平区生命科学▲園▼路 2 6 号院

(72)発明者 ▲陳▼ 小明

中華人民共和国 1 0 2 2 0 6 北京市昌平区生命科学▲園▼路 2 6 号院

(72)発明者 姚 ▲華▼

中華人民共和国 1 0 2 2 0 6 北京市昌平区生命科学▲園▼路 2 6 号院

(72)発明者 ▲張▼ 然然

中華人民共和国 1 0 2 2 0 6 北京市昌平区生命科学▲園▼路 2 6 号院

(72)発明者 孟 坤

中華人民共和国 1 0 2 2 0 6 北京市昌平区生命科学▲園▼路 2 6 号院

審査官 榎本 佳予子

(56)参考文献 特表 2 0 1 0 - 5 0 6 8 8 6 (J P , A)

特開 2 0 0 3 - 0 1 2 5 0 5 (J P , A)

Journal of Biomedical Nanotechnology, 2019年04月, Vol.15, No.4, p.674-685

高分子, 2003年, Vol.52, No.9, p.687-691

Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 2018年, Vol.46, No.S3, p.S546-S555

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 3 / 4 4

A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9

A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2

A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)

C a p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)