

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6161734号  
(P6161734)

(45) 発行日 平成29年7月12日 (2017. 7. 12)

(24) 登録日 平成29年6月23日 (2017. 6. 23)

(51) Int. Cl.		F I	
A 6 1 K	9/16	(2006. 01)	A 6 1 K 9/16
A 6 1 K	9/20	(2006. 01)	A 6 1 K 9/20
A 6 1 K	9/48	(2006. 01)	A 6 1 K 9/48
A 6 1 K	47/38	(2006. 01)	A 6 1 K 47/38
A 6 1 K	47/36	(2006. 01)	A 6 1 K 47/36

請求項の数 10 (全 17 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-560158 (P2015-560158)
(86) (22) 出願日	平成25年4月19日 (2013. 4. 19)
(65) 公表番号	特表2016-510026 (P2016-510026A)
(43) 公表日	平成28年4月4日 (2016. 4. 4)
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/037268
(87) 国際公開番号	W02014/143085
(87) 国際公開日	平成26年9月18日 (2014. 9. 18)
審査請求日	平成27年8月28日 (2015. 8. 28)
(31) 優先権主張番号	PCT/US2013/031817
(32) 優先日	平成25年3月15日 (2013. 3. 15)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	513175734 アイホル コーポレーション アメリカ合衆国 89148 ネバダ州、 ラスベガス、ファースト オン ドライブ 448
(74) 代理人	100106002 弁理士 正林 真之
(74) 代理人	100120891 弁理士 林 一好
(74) 代理人	100165157 弁理士 芝 哲央
(74) 代理人	100126000 弁理士 岩池 満

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 グリコサミノグリカンを含む医薬製剤

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

医薬的に許容可能な不活性物質を含むコアと、  
前記コアを取り囲む、腸疾患を治療するための治療有効量の薬剤を含む薬剤層と、  
前記薬剤層を直接取り囲む、グリコサミノグリカンを含むグリコサミノグリカン層と、  
前記グリコサミノグリカン層を取り囲む、少なくとも5.5のpH値で溶解する疎水性  
ポリマーを含む隔離層と、

前記隔離層を取り囲む、少なくとも6.8のpH値で溶解する腸溶ポリマーを含む腸溶  
コーティング層

とを備えるペレットを少なくとも含有し、

前記疎水性ポリマーと、前記腸溶ポリマーとは互いに異なる、医薬製剤。

【請求項 2】

前記コア、薬剤層、グリコサミノグリカン層、隔離層及び腸溶コーティングの重量比が  
100:137~141:25~29:9~13:60~64である、請求項1に記載の  
医薬製剤。

【請求項 3】

前記医薬的に許容可能な不活性物質が、セルロース、でんぷん、糖又は酸化ケイ素であ  
る、請求項1に記載の医薬製剤。

【請求項 4】

前記薬剤層がバインダをさらに含む、請求項1に記載の医薬製剤。

## 【請求項 5】

前記バインダが、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース又はポリビニルピロリドンである、請求項 4 に記載の医薬製剤。

## 【請求項 6】

前記薬剤が、メサラミン、緩下剤、止痢薬、グルココルチコイド、抗菌薬、免疫抑制剤、化学療法剤、抗がん剤、ペプチド、タンパク質、心血管治療薬、向精神薬、H<sub>2</sub>ブロッカー、抗喘息薬、抗ヒスタミン剤、ステロイド、非ステロイド性抗炎症薬(NSAID)、抗生物質、抗炎症薬及びこれらの誘導体から成る群から選択される、請求項 1 に記載の医薬製剤。

## 【請求項 7】

前記グリコサミノグリカンが、ヒアルロン酸若しくはその塩、コンドロイチン硫酸、ヘパリン硫酸、ヘパリン、ケラタン硫酸又はデルマトン硫酸である、請求項 1 に記載の医薬製剤。

## 【請求項 8】

疎水性ポリマーが、ポリ(メタクリル酸 - コ - エチルアクリレート) 1 : 1、ポリ(メタクリル酸 - コ - メチルメタクリレート) 1 : 1、ポリ(メチルアクリレート - コ - メチルメタクリレート - コ - メタクリル酸) 7 : 3 : 1、酢酸フタル酸セルロース、セルロースアセテートスクシネート、メチルセルロースフタレート、メチルヒドロキシプロピル - セルロースフタレート、エチルヒドロキシセルロースフタレート、ポリビニルアセテートフタレート、ポリビニルブチレートアセテート、ビニルアセテート無水マレイン酸コポリマー、スチレン - マレイン酸モノエステルコポリマー、メチルアクリレート - メタクリル酸コポリマー又はメタクリレート - メタクリル酸 - オクチルアクリレートコポリマーである、請求項 1 に記載の医薬製剤。

## 【請求項 9】

前記腸溶ポリマーが、ポリ(メタクリル酸 - コ - エチルアクリレート) 1 : 1、ポリ(メチルアクリレート - コ - メチルメタクリレート - コ - メタクリル酸) 7 : 3 : 1、酢酸フタル酸セルロース、セルロースアセテートスクシネート、メチルセルロースフタレート、メチルヒドロキシプロピル - セルロースフタレート、エチルヒドロキシセルロースフタレート、ポリビニルアセテートフタレート、ポリビニルブチレートアセテート、ビニルアセテート無水マレイン酸コポリマー、スチレン - マレイン酸モノエステルコポリマー、メチルアクリレート - メタクリル酸コポリマー及びメタクリレート - メタクリル酸 - オクチルアクリレートコポリマーから成る群から選択される、請求項 1 に記載の医薬製剤。

## 【請求項 10】

前記ペレットがカプセル又は錠剤中にある、請求項 1 に記載の医薬製剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2013年3月15日に本願の出願の国際出願PCT/US2013/031817号に対して優先権を主張するものであり、この文献は参照により本明細書に援用される。

## 【0002】

本開示は医薬製剤に関する。より具体的には、本開示は、グリコサミノグリカンを含む医薬製剤に関する。

## 【背景技術】

## 【0003】

腸疾患の治療効率を改善しようと長年にわたって腸溶コーティングの開発がなされた結果、薬剤の使用量を削減できるようになった。しかしながら、薬剤の使用量をさらに削減するために、腸疾患の治療効率は依然として改善を必要としている。

## 【0004】

10

20

30

40

50

メサラジン又は5 - アミノサリチル酸 ( 5 - A S A ) としても知られるメサラミンは、消化管の炎症である潰瘍性大腸炎及び軽度 ~ 中等度のクローン病の治療に使用される抗炎症薬である。メサラミンは腸特異的なアミノサリチル酸薬であり、腸で局所的に作用し、またその作用は腸を中心としているため、全身に及び副作用は殆どない。サリチル酸の誘導体として、メサラミンは、フリーラジカル ( 有害となる可能性がある代謝副産物 ) を捕捉する抗酸化物質であるとも考えられている。N - アセチル - 5 - A S A は 5 - A S A の代謝産物である。吸収された 5 - A S A は、腸粘膜壁及び肝臓を通して速やかにアセチル化される。主として腎臓により、N - アセチル - 5 - A S A として排出される。

【 0 0 0 5 】

特許文献 1 には、有効成分として 5 - アミノサリチル酸又はその医薬的に許容可能な塩若しくはエステルを含有している医薬組成物は、経口投与により、潰瘍性大腸炎又はクローン病を治療できると開示されている。特別な徐放性錠剤構成及びその調製が開示されている。この特許の欠点は、薬剤が腸内で自然に広がってしまい目的とする部位で特異的に分散しないことから、より良い治療成果を得るためにはより多い用量を必要とし、また炎症部に付着する薬剤量が少ないため治療効果が低くなることである。

10

【 0 0 0 6 】

特許文献 2 には、アニオン性ポリマーでコーティングした薬理的に活性な物質を含有する固形の剤形、例えばカプセル、錠剤が開示されており、このアニオン性ポリマーは胃液及び pH 7 より低い腸液には不溶性だが結腸液には十分な量で可溶であり、経口剤形は結腸に到達するまで原形を保つ。この発明では pH 7 を下回る環境で薬剤を特異的に放出しているが、障害が起きている部位で薬剤濃度を上昇させることは依然としてできない。この欠点は、上述のものと全く同じである。

20

【 0 0 0 7 】

特許文献 3 にも、特許文献 2 に実によく似た固形の剤形が開示されている。この特許は、前の特許により多くの限定条件を加えたに過ぎない。

【 0 0 0 8 】

特許文献 4 には腸管を治療するための経口投与可能な医薬ペレット製剤が開示されており、コアと腸溶コーティングとを備え、コアは、医薬的に活性な化合物としてアミノサリチル酸又はその医薬的に容認可能な塩若しくは誘導体を含むと開示されている。欠点はまたしても上述のものと全く同じである。

30

【 0 0 0 9 】

特許文献 5 には、有効成分である 5 - アミノ - サリチル酸を含有する放出制御経口医薬組成物が開示されている。この組成物は、( a ) 9 0 未満の融点を有する物質から成り、有効成分が少なくとも部分的に球体化している内方親油性マトリックスと、( b ) 親油性マトリックスが分散している外方親水性マトリックスと、( c ) 任意の他の賦形剤とを含む。欠点はまたしても上述のものと全く同じである。

【 0 0 1 0 】

特許文献 6 には、ヒト又は下等動物における経口投与用の固形単位剤形の医薬組成物が開示されている。この医薬組成物は、( a ) 安全且つ有効な量の治療的に活性な物質と、( b ) ポリ ( メタクリル酸、メチルメタクリレート ) 1 : 2、ポリ ( メタクリル酸、メチルメタクリレート ) 1 : 1 及びこれらの混合物から成る群から選択される内方コーティング層と、( c ) 腸溶ポリマー又はフィルムコーティング物質を含む外方コーティング層とを備える。しかしながら、欠点はまたしても上述のものと全く同じである。

40

【 0 0 1 1 】

特許文献 7 には、炎症性腸疾患を患う患者において炎症性腸疾患を治療するための組成物が開示されており、( a ) 治療量の N - アセチル - グルコサミンと ( b ) 薬理的に許容可能な担体とを含み、患者に結腸経路で投与するように構成されている。この特許の欠点は、N - アセチル - グルコサミン以外の薬剤が足りないことである。このため、この組成物は、N - アセチル - グルコサミンともう一方の薬剤、例えばメサラミンとの間を互いに補うものを欠く。

50

## 【0012】

上で挙げたこれらの特許の組成物は全て通常量の薬剤又はN - アセチル - グルコサミン下で使用しなくてはならないため、これらの組成物では、いずれか一方の一般的な治療用量(量)を削減することができない。

## 【0013】

グリコサミノグリカンは、極めて数多くの供給源(例えば、雄鶏のトサカ、気管、へその緒、皮膚、関節液及び特定の細菌、例えば連鎖球菌種)から得られる。殆どのグリコサミノグリカンはN - アセチルグルコサミン、N - アセチルグルクロン酸及び/又はN - アセチルガラクトサミン等の糖の繰り返しから構成される(これらは非硫酸化グリコサミノグリカンとして知られる)。そのようなグリコサミノグリカンが硫黄基を有する場合は、硫黄化グリコサミノグリカンとして知られる。グリコサミノグリカンの例には、ヒアルロン酸(N - アセチルグルコサミン及びグルクロン酸の繰り返し単位から成る)、コンドロイチン硫酸、デルマトン硫酸、ケラタン硫酸及びヘパリンが含まれ、全てN - アセチルグルコサミン又はアミノ糖、N - アセチルガラクトサミンを含有する。グリコサミノグリカンはプロテオグリカンにおいても提示され、プロテオグリカンは、ポリペプチド又はタンパク質コアに結合した多数のグリコサミノグリカン鎖を含有する構造体である。

10

## 【先行技術文献】

## 【特許文献】

## 【0014】

【特許文献1】米国特許第4980173号明細書

20

【特許文献2】米国特許第5541170号明細書

【特許文献3】米国特許第5541171号明細書

【特許文献4】米国特許第6551620号明細書

【特許文献5】米国特許第6773720号明細書

【特許文献6】米国特許第6893662号明細書

【特許文献7】米国特許第6046179号明細書

## 【発明の概要】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0015】

したがって、一態様において、本発明は、腸疾患の治療効率を改善するための、少なくともペレットを含有する医薬製剤を対象とする。

30

## 【0016】

別の実施形態において、上記のペレットは、コアと、コアを取り囲む薬剤層と、薬剤層を取り囲むグリコサミノグリカン層と、グリコサミノグリカン層を取り囲む隔離層と、隔離層を取り囲む腸溶コーティング層とを備える。

## 【0017】

したがって、コア、薬剤層、グリコサミノグリカン層、隔離層及び腸溶コーティングの重量比は、100 : 137 ~ 141 : 25 ~ 29 : 9 ~ 13 : 60 ~ 64、好ましくは100 : 139 : 27 : 11 : 62である。

## 【0018】

ある実施形態において、上記のペレットは、コアと、コアを取り囲む薬剤層と、薬剤層を取り囲むグリコサミノグリカン層と、グリコサミノグリカン層を取り囲む腸溶コーティング層とを備える。

40

## 【0019】

したがって、コア、薬剤層、グリコサミノグリカン層及び腸溶コーティングの重量比は、100 : 137 ~ 141 : 25 ~ 29 : 60 ~ 64、好ましくは100 : 139 : 27 : 62である。

## 【0020】

一実施形態において、上記のコアは、医薬的に許容可能な不活性物質、例えばセルロース、でんぶん、糖又は酸化ケイ素、好ましくは微結晶性セルロースを含む。

50

## 【 0 0 2 1 】

別の実施形態において、上記の薬剤層は、腸疾患を治療するための薬剤を含む。

## 【 0 0 2 2 】

別の実施形態において、上記の薬剤層は、メサラミン、緩下剤、止痢薬、グルココルチコイド、抗菌薬、免疫抑制剤、化学療法剤、抗がん剤、ペプチド、タンパク質、心血管治療薬、向精神薬、H<sub>2</sub>ブロッカー、抗喘息薬、抗ヒスタミン剤、ステロイド、非ステロイド性抗炎症薬（NSAID）、抗生物質、抗炎症薬又はこれらの誘導体を含めた薬剤を含む。

## 【 0 0 2 3 】

さらに別の実施形態において、上記の薬剤層は、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース又はポリビニルピロリドン等のバインダをさらに含む。

10

## 【 0 0 2 4 】

さらに別の実施形態において、グリコサミノグリカン層は例えば、ヒアルロン酸若しくはその塩、コンドロイチン硫酸、ヘパリン硫酸、ヘパリン、ケラタン硫酸又はデルマタン硫酸を含む。

## 【 0 0 2 5 】

さらに別の実施形態において、隔離層は、少なくとも5.5のpH値で溶解可能な疎水性ポリマーを含む。疎水性ポリマーは例えば、ポリ（メタクリル酸 - コ - エチルアクリレート）1：1、ポリ（メタクリル酸 - コ - メチルメタクリレート）1：1、ポリ（メチルアクリレート - コ - メチルメタクリレート - コ - メタクリル酸）7：3：1、酢酸フタル酸セルロース、セルロースアセテートスクシネート、メチルセルロースフタレート、メチルヒドロキシプロピル - セルロースフタレート、エチルヒドロキシセルロースフタレート、ポリビニルアセテートフタレート、ポリビニルブチレートアセテート、ビニルアセテート無水マレイン酸コポリマー、スチレン - マレイン酸モノエステルコポリマー、メチルアクリレート - メタクリル酸コポリマー及びメタクリレート - メタクリル酸 - オクチルアクリレートコポリマーになり得る。

20

## 【 0 0 2 6 】

さらに別の実施形態において、隔離層又は腸溶コーティング層は、少なくとも6.8のpH値で溶解可能な腸溶ポリマー又はpH耐性ポリマーを含む。腸溶ポリマーは例えば、酢酸フタル酸セルロース、セルロースアセテートスクシネート、メチルセルロースフタレート、エチルヒドロキシセルロースフタレート、ポリビニルアセテートフタレート、ポリビニルブチレートアセテート、ビニルアセテート無水マレイン酸コポリマー、スチレン - マレイン酸モノエステルコポリマー、メチルアクリレート - メタクリル酸コポリマー、メタクリレート - メタクリル酸 - オクチルアクリレートコポリマー又はこれらの組み合わせになり得る。

30

## 【 0 0 2 7 】

さらに別の実施形態において、ペレットはカプセル又は錠剤中にある。

## 【 0 0 2 8 】

上では、読み手が基本的なことを理解できるように開示を簡潔にまとめている。この要約は本開示の詳細にまで及んだ全体像ではなく、本発明の重要な/決定的な要素を明らかにしてもいなければ、本発明の範囲を定めてもいない。その唯一の目的は、後出のより詳細な説明の前置きとして、本明細書で開示の一部の概念を簡略化した形で示すことである。付随する特徴の多くは、以下の詳細な説明を添付の図面と共に参照して理解を深めるにつれてたやすくわかるようになる。

40

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 0 2 9 】

【 図 1 A 】 本発明の実施形態によるペレットの構造を示す図である。

【 図 1 B 】 本発明の別の実施形態によるペレットの構造を示す図である。

【 図 2 】 正常な及び損傷を受けた結腸組織におけるHAの親和性を蛍光インデックスにより示す（\* p < 0.05）。

50

【図3】結腸組織生検時間、Colasa（登録商標）（1mlの溶液中に20mgのメサラミンを含有する注腸製剤のブランド）又はHA-メサラミンを投与した後のメサラミン濃度プロファイルを示す。

【図4A】pH6.8のバッファ溶液に溶解させたペレットの溶解プロファイルである。

【図4B】pH4.5のバッファ溶液に溶解させたペレットの溶解プロファイルである。

【発明を実施するための形態】

【0030】

以下の詳細な説明においては、説明を目的として、開示の実施形態の完全な理解が得られるように、非常に多くの具体的な細部について明記する。しかしながら、1つ以上の実施形態をこれらの具体的な細部なしに実践し得ることは明らかである。他の例においては、図を簡略化するために、周知の構造体及びデバイスを概略的に示す。

10

【0031】

用語の定義

本明細書で使用の「被検体」は任意の動物である。被検体には、薬剤（例えば、メサラミン）治療を必要としている個体（患者）及び薬剤治療を必要としない個体（例えば、正常で健康なボランティア）が含まれる。ヒトが好ましい被検体及び患者である。

【0032】

「治療有効量」又は「有効量」の薬剤（例えば、メサラミン）とは、過度に有害な副作用を伴うことなく所望の薬理学的効果又は治療上の改善を得るのに必要な量である。薬剤（例えば、メサラミン）の有効量は、具体的な患者及び疾患に応じて当業者によって選択される。薬剤（例えば、メサラミン）代謝における差異、被検体の年齢、体重、全身状態、治療対象とする状態、治療対象とする状態の重症度、薬を処方する医師の判断により「有効量」又は「治療有効量」が被検体毎に異なり得ることがわかる。さらに、当業者ならば、担当薬物管理機関により承認された薬剤投与監督当局に登録された薬剤の添付文書又はラベルにしたがって「量」又は「用量」を明確に理解することができる。

20

【0033】

「治療する」又は「治療」とは障害又は疾患のいかなる治療をも指し、例えばある障害又は疾患になりやすいがまだその障害又は疾患を患っているとは診断されていない被検体においてその障害又は疾患が生じるのを予防すること、障害又は疾患を阻害すること、例えば障害又は疾患の発症を止めること、障害又は疾患を緩和すること、障害又は疾患を後退させること、疾患又は障害によって引き起こされる状態を緩和すること、あるいは疾患又は障害の徴候を減少させることである。

30

【0034】

序論

本発明は、炎症面に結合するヒアルロン酸（HA）の量が結腸組織の非炎症領域より多かったという発明者の過去の試験結果をベースとしている。さらに、試験結果は、HAを、薬剤と混合した場合に、炎症及び/又はアレルギー及び/又は損傷の治療に適した薬剤（例えば、メサラミン）を担持させるための送達ビヒクルと見なすことができると示した。そのため、HAとメサラミンとを組み合わせると、薬剤濃度は、非炎症領域より炎症面で高くなる。したがって、薬剤の用量を通常量より低下させることができ、また薬剤が治癒を必要とする場所に特に付着することから治療効果も大きく改善される。したがって、本発明は、上述の結果を踏まえて、本発明の製剤をさらに発展させるものである。

40

【0035】

ペレットを含有する医薬製剤

したがって、本発明の態様は、腸疾患の治療効率を改善するための、少なくともペレットを含有する医薬製剤を提供することである。ペレットは放出制御製剤（遅延放出製剤としても知られる）であり、薬剤を長時間にわたって送達する、すなわち薬剤を投与直後以外の任意の時点で及び/又は即放性剤形で達成できる場所より遠位にある消化管の別の場所で放出するように設計される。

50

## 【0036】

この医薬製剤における各ペレットの構造を図1A又は1Bに示す。医薬製剤は、カプセル、錠剤又は少なくともペレットを必要とする他の種類の製剤を含む。すなわち、ペレットは、カプセルにカプセル封入又は錠剤に圧縮することができる。

## 【0037】

図1Aは、本発明のある実施形態におけるペレットの構造を示す図である。図1Aにおいて、ペレット100aは内側から外側に向かって順にコア110、薬剤層120、グリコサミノグリカン層130、隔離層140及び腸溶コーティング層150を含む。コア110、薬剤層120、グリコサミノグリカン層130、隔離層140及び腸溶コーティング層150の重量比は表1に示す通りである。

10

## 【0038】

## 【表1】

表1:ペレット100aにおける各部の重量比

構成要素	重量比
コア110	100
薬剤層120	137-141
グリコサミノグリカン層130	25-29
隔離層140	9-13
腸溶コーティング層150	60-64

20

## 【0039】

コア110は、後続の層のコーティングを促進するためのコーティングシードとして使用される。したがって、コア110の直径は約500~800 $\mu$ m、例えば700 $\mu$ mである。コア110の組成物は任意の医薬的に許容可能な不活性物質になり得て、例えばセルロース、でんぷん、糖又は二酸化ケイ素である。セルロースは例えば、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ナトリウムカルボメチルセルロース又は微結晶性セルロースになり得る。でんぷんは例えば、トウモロコシでんぷん、小麦でんぷん、米でんぷん、ジャガイモでんぷん又はコーンスターチに又は由来になり得る。糖は例えば、マルトース、ラクトース、フルクトース、ガラクトース、トレハロース、スクロース、マンニトール又はソルビトールになり得る。

30

## 【0040】

薬剤層120は、腸疾患を治療するのに適した薬剤を含有する。例えば、腸炎を治療する場合、薬剤は、抗生物質又は鎮痙剤になり得る。消化性潰瘍を治療する場合、薬剤は、血液凝固薬、抗生物質、制酸剤、H<sub>2</sub>ブロッカー、カリウム水素イオンポンプブロッカー(PPI)、細胞保護剤又は粘膜保護剤になり得る。炎症性腸疾患(IBD)を治療する場合、薬剤は、ステロイド、免疫抑制剤、抗生物質、5-ASA(5-アミノサリチル酸)及び誘導体又は抗炎症剤になり得る。したがって、薬剤は、例えば上記のものいずれにもなり得る。好ましくは、薬剤層120中の薬剤は、正に帯電した官能基を有する。

40

## 【0041】

薬剤層120は、薬剤の力をコア110に結合するためのバインダをさらに含み得る。バインダは例えば、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース又はポリビニルピロリドンになり得る。

## 【0042】

グリコサミノグリカン層130はグリコサミノグリカンを顕著に含有し、グリコサミノグリカンは薬剤層120中の薬剤と消化管内の腸粘膜とをつなぐために使用される。グリコサミノグリカンはヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン硫酸、ヘパリン、ケラタン硫酸又はデルマトン硫酸になり得る。

## 【0043】

50

ある実施形態において、グリコサミノグリカンはヒアルロン酸である。ヒアルロン酸（以下、HAと省略）は、結合組織、上皮組織及び神経組織全体に広く分布しているアニオン性の非硫酸化グリコサミノグリカンである。したがって、HAは生体組織、例えば粘膜に対する高い親和性を有する。HAは負に帯電したカルボキシレート基を有するため、HAは正に帯電した官能基と相互作用可能である。したがって、薬剤層120中の薬剤が正に帯電した官能基を有するならば、腸疾患をより良好に治療し投与する薬剤の無駄を減らすために、HAは薬剤と相互作用して薬剤を腸粘膜上に固定し、薬剤を特定の領域、例えば損傷部に集めることで薬剤の効果及び効率を高めることができる。この現象は、本発明の試験的な結果からも推論することができ、試験的な結果では、正常な領域より損傷を受けた領域においてより緊密な付着が見られた。

10

## 【0044】

隔離層140は、ペレットの後の調製ステップ中にグリコサミノグリカン層130が水に接触しないように保護するために使用される。グリコサミノグリカン層130中のグリコサミノグリカンがHAの場合、HAは水と接触するとすぐにHA膜を形成してしまうため、ペレットが凝集してコーティングを妨害する問題が起きる。したがって、隔離層140に使用する物質は、少なくとも5.5のpH値で溶解可能な疎水性ポリマーになり得る。

## 【0045】

疎水性ポリマーは、ポリ（メタクリル酸 - コ - エチルアクリレート）1：1、ポリ（メタクリル酸 - コ - メチルメタクリレート）1：1、ポリ（メチルアクリレート - コ - メチルメタクリレート - コ - メタクリル酸）7：3：1、酢酸フタル酸セルロース、セルロースアセテートスクシネート、メチルセルロースフタレート、メチルヒドロキシプロピルセルロースフタレート、エチルヒドロキシセルロースフタレート、ポリビニルアセテートフタレート、ポリビニルブチレートアセテート、ビニルアセテート無水マレイン酸コポリマー、スチレン - マレイン酸モノエステルコポリマー、メチルアクリレート - メタクリル酸コポリマー又はメタクリレート - メタクリル酸 - オクチルアクリレートコポリマーになり得る。これらの疎水性ポリマーは単体で又は組み合わせて又は上記のもの以外のポリマーと共に使用し得る。

20

## 【0046】

腸溶コーティング150は腸溶ポリマーを顕著に含有し、腸溶ポリマーは、より酸性度の高い胃の環境と比較して酸性度が低い小腸、大腸又はその両方の環境において優先的に可溶である。pH依存性の溶解度プロファイルを示すいずれのアニオン性ポリマーも本発明の実践において腸溶コーティングとして使用し得ると予測される。ある実施形態において、腸溶ポリマーは、少なくとも6.8のpH値で溶解可能である。腸溶ポリマーは、酢酸フタル酸セルロース、セルロースアセテートスクシネート、メチルセルロースフタレート、エチルヒドロキシセルロースフタレート、ポリビニルアセテートフタレート、ポリビニルブチレートアセテート、ビニルアセテート無水マレイン酸コポリマー、スチレン - マレイン酸モノエステルコポリマー、メチルアクリレート - メタクリル酸コポリマー、メタクリレート - メタクリル酸 - オクチルアクリレートコポリマー等になり得る。これらの腸溶ポリマーは、単体で又は組み合わせて、あるいは上記のもの以外のポリマーと共に使用し得る。

30

40

## 【0047】

図1Bは、本発明の別の実施形態によるペレットの構造を示す図である。図1Bにおいては、図1Aにおけるペレット100aの隔離層140を除外してペレット100bの構造を形成している。

## 【0048】

医薬製剤中のペレットの調製方法

本発明の別の態様は、カプセル又は錠剤を充填するペレットの調製方法を提供することである。図1A又は1Bに示すペレット100a又は100bの各層は、流動床システム（Huttlin（ドイツ）から購入）によりコーティングされる。ペレット100a又

50



は100bの各層のためのコーティング溶液については以下で説明する。

【0049】

薬剤層120のコーティングのために、薬剤コーティング溶液を、以下のステップにより調製する。まず、上で挙げたバインダの少なくとも1種を水に添加し、攪拌することで粘度4.8~7.2cP(センチポイズ)を有する透明な溶液を調製する。次に、バインダのこの透明な溶液に凝固防止剤及び薬剤を連続的に添加し、次に攪拌することで均一な薬剤コーティング溶液を調製する。凝固防止剤、例えばタルク(すなわち、水和ケイ酸マグネシウム)を使用することでペレットの凝集を回避する。

【0050】

グリコサミノグリカン層130のコーティングのために、グリコサミノグリカンコーティング溶液を、以下のステップで調製する。まず、バインダをエタノール(99.9%)に添加し、攪拌することで透明な溶液を調製する。次に、グリコサミノグリカンバインダのこの透明な溶液に添加し、次に攪拌することで均一なグリコサミノグリカンコーティング懸濁液を調製する。バインダは、ヒドロキシプロピルセルロース(HPC-L等)になり得る。

【0051】

隔離層140のコーティングのために、隔離コーティング溶液を以下のステップで調製する。疎水性ポリマーをエタノール(95%)に添加し、攪拌することで透明な溶液を調製する。次に、クエン酸トリエチル及びタルクを疎水性ポリマーの透明な溶液に添加し、攪拌することで均一な隔離コーティング溶液を調製する。

【0052】

腸溶コーティング層150のコーティングのために、腸溶コーティング溶液を以下のステップで調製する。少なくとも腸溶ポリマー、水、グリセリルモノステアレート、クエン酸トリエチル及びポリソルベート80(Plasacryl-T20)を含有するエマルション並びに水を混合することで均一な溶液を調製する。次に、溶液を60メッシュの篩で濾過する。

【実施例】

【0053】

実施形態1：結腸組織におけるHAの付着  
手順：

(I) 0.25gの高分子量ヒアルロン酸ナトリウム粉末(HHAと省略。MW:2MDa、Freda)及び0.25gの低分子量ヒアルロン酸ナトリウム粉末(LHAと省略。MW:350kDa、Freda)を50mlのPBSバッファ(リン酸緩衝食塩水)にそれぞれ添加することで0.5%溶液を調製し、次に粉末が完全に溶解するまで6時間にわたって攪拌した。0.05gのLHA粉末及び0.2gのHHA粉末(比2:8、平均MWは1MDa。中分子量ヒアルロン酸ナトリウム粉末として示され、MHAと省略)を50mlのPBSバッファに添加し、次に粉末が完全に溶解するまで6時間にわたって攪拌した。

【0054】

(II) 蛍光HA(HA-fと省略)を以下のステップで調製した。  
(1) MESバッファ溶液：0.39gのMES遊離酸(2-(N-モルホリノ)エタン  
スルホン酸、Calbiochem)を100mlの再蒸留水に溶解させた。  
(2) 溶液A：65mgのフルオレセインアミン粉末(異性体I、Fluka)を9ml  
の95%EtOH溶液に溶解させ、次に光を禁じた条件下で10分間にわたって攪拌した。  
(3) 溶液B：359mgのEDC粉末[N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N-エ  
チルカルボジイミドヒドロクロリド、Sigma]を9mlのMESバッファに溶解させ、次に10分間にわたって攪拌した。  
(4) 溶液C：216mgのNHS粉末(N-ヒドロキシスクシンイミド、Sigma)  
を9mlのMESバッファに溶解させ、次に10分間にわたって攪拌した。

10

20

30

40

50

(5) 3 ml の溶液 A を 50 ml の 0.5% HA 溶液にゆっくりと滴下し、次に光を禁じた条件下で 10 分間にわたって攪拌した。

(6) 3 ml の溶液 B 及び 5 ml の溶液 C を別々にステップ (5) の溶液に滴下し、次に光を禁じた条件下で 10 分間にわたって攪拌した。

(7) 0.02 M の MES バッファ溶液を、体積が 100 ml に達するまでステップ (6) の溶液にゆっくりと添加し、次に 24 時間にわたって室温、光を禁じた条件下で攪拌した。

(8) 反応後の生成物を、透析溶液として 5 L の再蒸留水を使用した透析チューブ (MW : 12000 ~ 14000) に注ぎ、次に 5 日にわたって 4 で光を禁じた条件下、12 時間毎に透析溶液を交換しながら透析溶液が蛍光を有さなくなるまで攪拌した。

(9) 透析後の液体を 50 ml のプラスチック製遠心分離管に取り分け、次に -20 の冷蔵庫で一晩保存し、続いて凍結乾燥機において光を禁じた条件下で乾燥させた。

(10) 乾燥させた HA-f 粉末を -20 の冷蔵庫で保存した。

(11) 50 mg の HA-f 粉末をゆっくりと 10 ml の PBS バッファに添加し、次に粉末が完全に溶解するまで 6 時間にわたって攪拌した。

#### 【0055】

(III) 生後 7 ~ 8 週間の SD ラット (スプライン・ドリーラット) の結腸組織をメスで切除し、次に PBS バッファで洗浄し、続いて長さ 3 ~ 4 cm に切断し、最後に PBS バッファに浸漬した。

#### 【0056】

(IV) ハブラシで 20 回にわたって長手方向にこすり、次に PBS バッファに浸漬することで損傷を受けた結腸組織を用意した。

#### 【0057】

(V) 正常な及び損傷を受けた結腸組織を 12 ウェルプレートに入れ、次に 1 ml の 0.5% HA-f 溶液を各ウェルに加え、2 時間にわたって室温で振盪させた。2 時間後に余分な HA-f 溶液をチップで吸引し、次に PBS バッファに 10 分間にわたって浸漬し、続いて PBS バッファを繰り返し 3 回にわたって除去した。

#### 【0058】

(VI) 清浄化した結腸組織を内膜組織を上にして 12 ウェルプレートに置き、次に IVIS (生体内画像化装置、XENOGEN) のドックに置いた。デフォルトのパラメータを GFP (緑色蛍光タンパク質) として設定し、励起は 465 nm、発光は 500 nm であり、画像をソフトウェアによりキャプチャした。

#### 【0059】

(VII) 表中の全ての値は、n 回の観察の平均値として表される。組織学的インデックスを、学生 t 検定により分析した。

#### 【0060】

結果：

図 2 は、正常な及び損傷を受けた結腸組織における HA の親和性を蛍光インデックスにより示す (\*  $p < 0.05$ )。図 2 において、正常な結腸組織の蛍光インデックスは 1 と定義された。その他の結腸組織試験を、正常な結腸組織の蛍光インデックスによりキャリブレーションした。結果は、同じ平均 MW を有する HA の付着量が、正常な結腸組織においてより損傷を受けた結腸組織で明らかに高かったことを示した ( $P < 0.01$ )。3 つの異なる平均分子量を有する HA (すなわち、HHA、MHA、LHA) の損傷を受けた結腸組織における異なる付着量を比較すると、損傷結腸組織による 350 kDa の HA (すなわち、LHA) の付着の蛍光インデックスは、2 MDa 及び 1 MDa の MW の残り 2 つの HA (すなわち、HHA、MHA) のものより明らかに高かった。

#### 【0061】

実施形態 2：異なるメサラミン製剤を腔内点滴注入した後のメサラミン結腸組織濃度の比較研究

手順：

10

20

30

40

50

## ( I ) 実験動物 :

生後 8 週間のオスの S P F グレードスプラーグ・ドーリーラット ( 2 8 0 ~ 3 3 0 g ) を、 B i o L A S C O T a i w a n C o . L t d . から調達した。

## 【 0 0 6 2 】

## ( I I ) 試験薬剤 :

( A ) C o l a s a ( 登録商標 ) 浣腸剤 ( 2 0 m g / m l 、 U n i t e d B i o m e d i c a l , I n c . A s i a )

( B ) 5 m g / m L のメサラミンを含有する P B S ( p H 7 . 4 ) 中の 0 . 2 5 % ( w / w ) H A 混合物 ( 8 : 2 = 2 0 0 0 K D a H A : 3 5 0 K D a H A ) ( H A - M と省略)

10

## 【 0 0 6 3 】

## ( I I I ) 試験薬剤の腔内点滴注入

Z o l e t i l 5 0 で軽く麻酔してから、ラットの腹側を外科用鋏で切開し、結腸を特定した。結腸を 2 区画 (それぞれ 2 c m )、木綿糸で結び、0 . 5 m l の試験薬剤を、隔離した結腸区画の管腔内に注入した。0 . 5、1、1 . 5 又は 2 時間後、ラットを屠殺し、結腸区画を取り出した。腔内点滴注入の各時点につき、3 匹のラットを使用した。

## 【 0 0 6 4 】

## ( I V ) 試験片の準備

組織生検材料を P B S 溶液で洗浄して表面の汚れを除去し、計量し、液体窒素で速やかに凍結させ、- 8 0 で使用する時まで保存した。生検材料を粉碎し、5 0 m M の K H <sub>2</sub> P O <sub>4</sub> 溶液 ( p H 7 . 4 ) を加えた。懸濁液に挿入したマイクロプローブを使用して 1 0 秒間にわたって組織細胞を超音波で破壊し、次に超音波による破壊を 2 0 秒間にわたって 2 5 W で全部で 1 0 分間にわたって停止させた。ポルテックスによる混合後、試料を 3 0 分間にわたって室温で静置することでタンパク質を沈殿させ、次に 1 3 0 0 0 g で 3 0 分間にわたって遠心分離した。

20

## 【 0 0 6 5 】

## ( V ) 結腸組織生検材料におけるメサラミン濃度の分析

メサラミンを、超高性能液体クロマトグラフィ ( U P L C ) により測定した。この方法は検証されている。W a t e r s ( 英国 ) の A C Q U I T Y システム及び蛍光検出装置 ( 励起 3 1 5 n m 、 発光 4 3 0 n m ) を使い、データを E m p o w e r 2 を使用して分析した。W a t e r s ( 英国 ) から購入した A C Q U I T Y カラム ( C 1 8 、 内径 1 0 0 x 2 . 1 m m 、 1 . 7 μ m 粒子 ) を V a n g u a r d カラム ( C 1 8 、 内径 5 x 2 . 1 m m 、 1 . 7 μ m 粒子、W a t e r s ) で保護した。移動相は、トリエチルアミンを伴う p H 4 . 3 の 0 . 1 M の酢酸及びアセトニトリル ( 8 5 0 : 1 5 0 ) から成った。流量は 0 . 2 m L / 分であり、得られた圧力は 5 4 0 0 p s i であり、分析を 4 0 で行った。注入量は 5 μ l であった。試料をプロピオン酸無水物で誘導体化することで、メサラミンの蛍光特性を強化した。トリエチルアミンをイオン対化剤 ( i o n p a i r i n g a g e n t ) として使用することでピーク対称性を向上させた。メサラミン分析の U P L C 法を、1 0 ~ 1 0 0 0 n g / m l の公称線形範囲でのメサラミン測定について検証した。この研究で用いた方法の線形相関係数 ( R <sup>2</sup> ) は 1 . 0 0 である。

30

40

## 【 0 0 6 6 】

## 結果 :

図 3 は、結腸組織生検時間、C o l a s a ( 登録商標 ) ( 1 m l の溶液中に 2 0 m g のメサラミンを含有する注腸剤のブランド ) 又は H A - メサラミン ( H A - M と省略 ) を投与した後のメサラミン濃度プロファイルを示す。図 3 において、C o l a s a ( 登録商標 ) を点滴注入した後の結腸組織生検材料中のメサラミン ( 中央値 ) 濃度は、1 時間の点滴注入後にピークに達した。その後、メサラミン濃度は急速に低下した。それに対して、H A - M は 2 時間の間、メサラミンを絶え間なく放出し、メサラミン濃度は上昇しており、2 時間の点滴注入後の C o l a s a ( 登録商標 ) のものよりずっと高かった。

## 【 0 0 6 7 】

50

この実施形態の結果から、HA-Mが、市販のメサラミン浣腸剤(Colasa(登録商標))よりずっと長くメサラミンを放出し続けたことが明らかとなった。しかしながら、HA-MはColasa(登録商標)におけるメサラミン濃度の1/4しかメサラミンを含有していなかった。上のデータ結果は、HA-Mでは通常の治療有効量の1/4しかメサラミンを用いていないのに、ラットにおいて人工的に誘発させたIBDの炎症を改善するほぼ同じ有効性を有することを示した。

【0068】

実施形態3：ペレットの溶解試験

この実施形態においては、ペレットを、上述の調製方法にしたがって製造した。各層に使用した材料を以下の表2に挙げる。

【0069】

【表2】

表2

層	原料(商品名)	重量 (mg)	*直径又は *厚さ ( $\mu\text{m}$ )
コア	微結晶性セルロース(Cellets 500)	160.0	652
薬剤層	タルク	8.0	900
	ヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC606)	15.0	
	メサラミン(薬剤)	200.0	
グリコサミノグリカン層	ヒアルロン酸ナトリウム	31.25	911
	ヒドロキシプロピルセルロース(グレードL)	11.75	
隔離層	ポリ(メタクリル酸-コ-メチルメタクリレート) 1:1(Eugragit L100)	11.0	935
	タルク	6.0	
	クエン酸トリエチル	1.0	
腸溶コーティング層	ポリ(メチルアクリレート-コ-メチルメタクリレート-コ-メタクリル酸) 7:3:1 (Eudragit FS30D)	81.0	943
	ポリ(メタクリル酸-コ-エチルアクリレート) 1:1(Eudragit L30D-55)	9.0	
	水、グリセリルモノステアレート、クエン酸トリエチル及びポリソルベート80(PlasACRYL-T20)を含有するエマルジョン	9.0	

\* 走査型電子顕微鏡(SEM)で測定

【0070】

次に、上記のペレットについて溶解実験を行った。この溶解実験においては、各溶解試験につき6個のカプセルを使用した。カプセルを溶解させるのに使用したバッファ溶液のpH値はそれぞれ4.5、6.8であった。pH4.5のバッファ溶液を、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 及び $\text{H}_3\text{PO}_4$ の溶液を混合することで調製し、pH6.8のバッファ溶液を、 $\text{KH}_2\text{P}$

10

20

30

40

50

O<sub>4</sub>、NaOH及びKOHの溶液を混合することで調製した。溶解試験を $37.0 \pm 0.5$ で行い、パドルを100rpmで回転させた。溶解したメサラミンの濃度を検出するために、オンラインUV検出器を330nmに設定した。溶解したメサラミンの濃度を求めるために、様々な量のメサラミンをある量のpH4.5又はpH6.8のバッファ溶液に溶解させて標準試料とした。

【0071】

図4A、4Bは、pH6.8及びpH4.5のバッファ溶液に溶解させたペレットの溶解プロファイルである。図4Aにおいて、ペレットの溶解速度は90分から急速に上昇した。しかしながら、図4Bにおいて、ペレットはpH4.5のバッファ溶液に少なくとも2時間にわたって溶解しなかった。したがって、この実施形態のペレットがpH6.8の

10

【0072】

実施形態4：大腸炎の場合のDNBS誘発ブタモデルに対するペレット100aの治癒有効性

手順：

(I)ブタを、LY系統の雄ブタ(父方はランドレース種、母方はヨークシャー種)から選択した。試験中のブタの週齢は9週±1週であった。9頭のブタをA、B、Cの3つのグループに分けた。

【0073】

20

(II) 試薬

(a)ブタを鎮静化させるための40mg/mlのStresnil(China Chemical & Pharmaceutical Co., Ltd.台湾)

(b)ブタに麻酔をかけるための50mg/mlのZoletil-50(Virbac Laboratories、フランス)

(c)Zoletil50と組み合わせている間に唾液の分泌を阻害するための1mg/mlのアトロピン(Tai Yu Chemical & Pharmaceutical Co., Ltd.台湾)

(d)50%エタノールに溶解させた150mg/mlの2,4-ジニトロベンゼンスルホン酸(DNBS)(Sigma-Aldrich Co., 米国)

30

【0074】

(III) 試験薬剤：

グループA：カプセル内の腸用コーティングが施されたペレット100a。有効成分量200mgの5-ASA/カプセル。

グループB：コントロールとしてのでんぶんのカプセル

グループC：関連作用薬、商品名Pentasa、500mgの5-ASA/カプセル

【0075】

(IV)全てのブタを2日間絶食させた。1日目には、消化管内視鏡で大腸の状態を検査するためにブタに麻酔をかけた。

【0076】

40

(V)40mlのDNBS(150mg/mL)を直腸経路で投与し、大腸炎を誘発させるために1時間にわたって結腸で保持した。その後、残ったDNBSを抜き出し、次に100mlの蒸留水で直腸を洗浄した。

【0077】

(VI)7、14、35及び49日目に、肛門から40、35、25、20、15、10、5cmの地点でのDNBSにより引き起こされた腸の状態を観察、記録した。

【0078】

(VII)8日目に、グループに応じて、試験薬剤を1日2回、28日間にわたって投与した。薬剤の毎日の投与時間は9:00~11:00及び16:30~18:30であった。

50

## 【 0 0 7 9 】

( V I I I ) 血液試料を、ヘパリンリチウム抗凝固剤管により 0 日目 ( 誘発前 )、7 日目 ( 誘発後 )、8 日目 ( 試験薬剤投与初日 ) 並びに 1 2、1 4 及び 3 5 日目に採取した。チューブを 3 0 0 0 r p m で遠心分離し、次に分析した。

## 【 0 0 8 0 】

( I X ) 3 5 日目に、炎症を起こした組織及び正常な組織を内視鏡生検で採取した ( 肛門から約 5 ~ 1 0 c m )。

## 【 0 0 8 1 】

結果 :

期間終了までの異なるグループによる回復率の結果を表 3 に示す。表 3 から、グループ A ( H A + 4 0 0 m g の 5 - A S A / 日 ) の回復率がグループ B ( プラセボ ) 及びグループ C ( 1 0 0 0 m g の 5 - A S A / 日 ) より良好であることがわかる。この結果は、H A + 薬剤の効果により、使用する薬剤の用量又は量を削減できることを証明しており、上の実施形態 2 の結果と一致し、したがってペレット 1 0 0 a の製剤は、通常量の単剤よりずっと良好な治療効果を有する。

## 【 0 0 8 2 】

## 【表 3】

表3:期間終了までの異なるグループの回復率

*回復率	グループA	グループB	グループC
D7-D14	45±16	22±20	41±19
D7-D35	81±5	50±0	62±7
D7-D49	88±3	73±20	66±5

\* 回復率の値は平均±SDとして記載

## 【 0 0 8 3 】

異なるグループの血漿における 5 - A S A ( すなわち、メサラミン ) 及び N - アセチル - 5 - A S A ( 5 - A S A の代謝産物 ) の濃度を表 4 に示す。血漿中の 5 - A S A 濃度が低ければ低いほど、副作用が少ない。表 4 において、グループ A の血漿における 5 - A S A 平均濃度はグループ C のものより低く、これは H A + 薬剤の剤形では安全性問題が排除

## 【 0 0 8 4 】

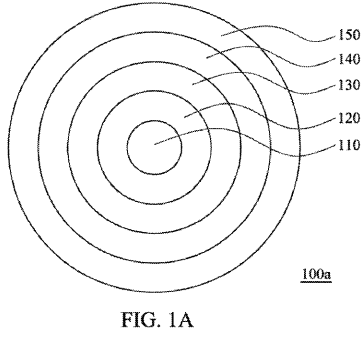
## 【表 4】

表4

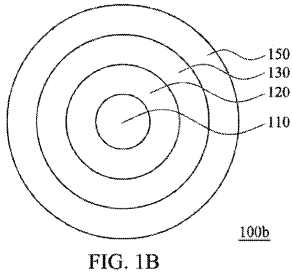
*血漿濃度 (ng/mL)	グループA		グループB		グループC	
	5-ASA	N-アセチル-5-ASA	5-ASA	N-アセチル-5-ASA	5-ASA	N-アセチル-5-ASA
D0	0	0	0	0	0	0
D7	0	0	0	0	0	0
D8	14.9	253.5±41.7	0	0	32.8±8.1	802.3±141.8
D12	30.0±5.4	745.9±301.7	0	0	398.5±351.1	4119.8±2116.5
D14	144.5±76.8	1448.3±644.1	0	0	389.6±204.5	3595.1±1555.9
D35	109.5±63.6	1927.8±367.9	0	0	303.0±224.2	3567.1±1300.8

\* 血漿濃度は平均±SDとして記載

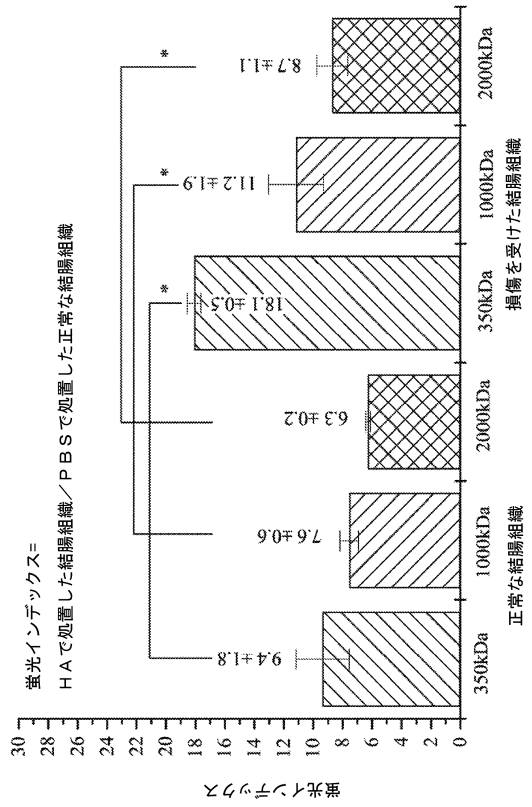
【図1A】



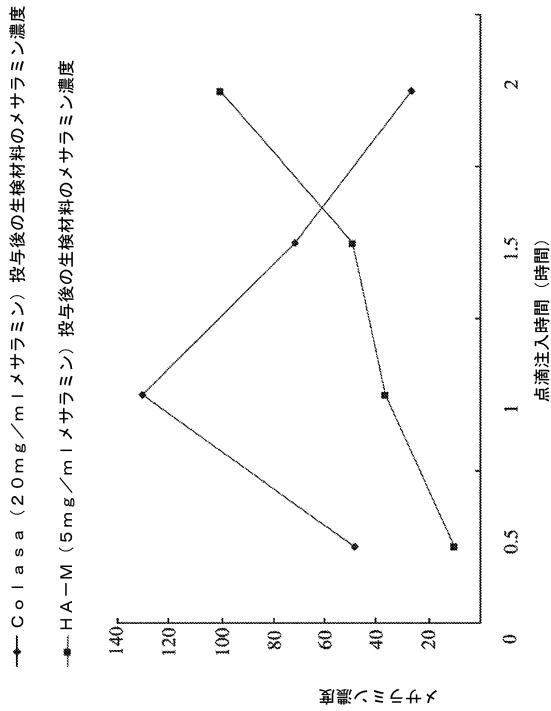
【図1B】



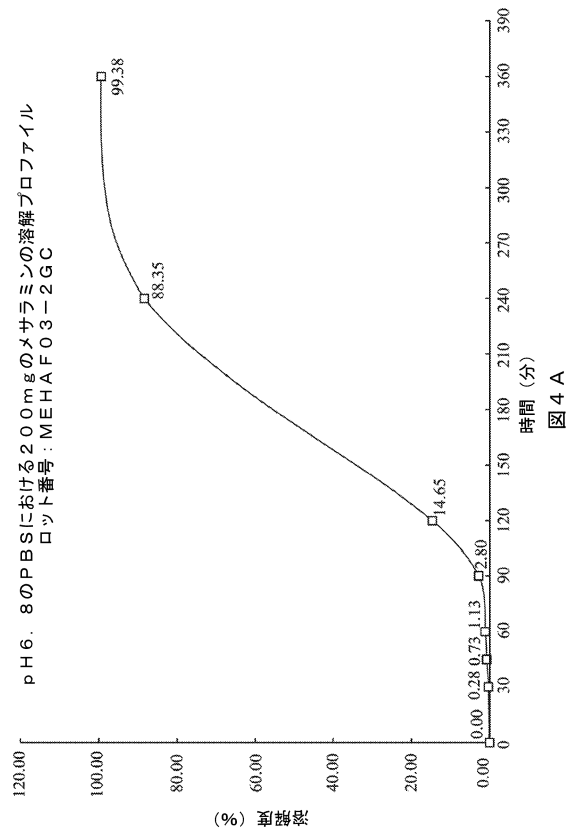
【図2】



【図3】



【図4A】



【 図 4 B 】

pH4. 5のPBSにおける200mgのメサラミンの溶解プロファイル  
ロット番号: MEHAF03-2GC

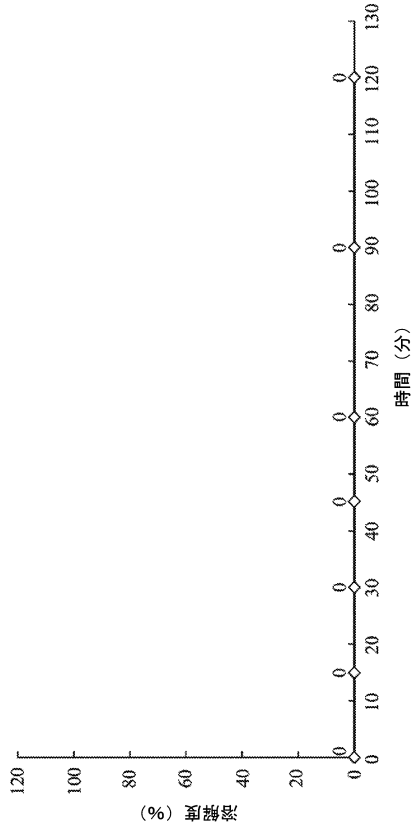


図 4 B



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K 47/26	(2006.01)	A 6 1 K 47/26
A 6 1 K 47/04	(2006.01)	A 6 1 K 47/04
A 6 1 K 47/32	(2006.01)	A 6 1 K 47/32
A 6 1 K 31/196	(2006.01)	A 6 1 K 31/196
A 6 1 K 45/00	(2006.01)	A 6 1 K 45/00

(72)発明者 チャン パオ - ホ  
 台湾 302 シンチュー カウンティー チューベイ シティ シェンイー ロード セクショ  
 ン 2 ナンバー36 2階

審査官 天野 貴子

(56)参考文献 特開昭63-101332(JP,A)  
 国際公開第2012/136816(WO,A1)  
 米国特許出願公開第2011/0189271(US,A1)  
 特表2002-512195(JP,A)  
 特表平04-504404(JP,A)  
 国際公開第01/066094(WO,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 9 / 1 6  
 A 6 1 K 9 / 2 0  
 A 6 1 K 9 / 4 8  
 A 6 1 K 3 1 / 1 9 6  
 A 6 1 K 4 5 / 0 0  
 A 6 1 K 4 7 / 0 4  
 A 6 1 K 4 7 / 2 6  
 A 6 1 K 4 7 / 3 2  
 A 6 1 K 4 7 / 3 6  
 A 6 1 K 4 7 / 3 8