



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

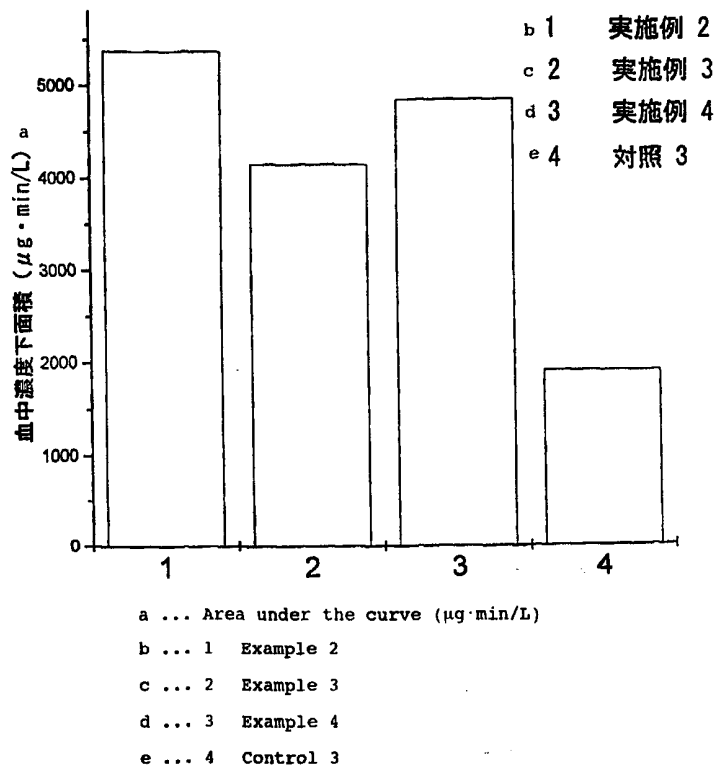
<p>(51) 国際特許分類6 A61K 38/27, 47/30</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO99/39730</p> <p>(43) 国際公開日 1999年8月12日(12.08.99)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP98/00529</p> <p>(22) 国際出願日 1998年2月9日(09.02.98)</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 科研製薬株式会社 (KAKEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.)[JP/JP] 〒113-0021 東京都文京区本駒込二丁目28番8号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 森屋文佳(MORIYA, Fumiyoshi)[JP/JP] 落合明子(OCHIAI, Akiko)[JP/JP] 後藤 貴(GOTO, Takashi)[JP/JP] 平山 信(HIRAYAMA, Makoto)[JP/JP] 大谷淑郎(OTANI, Yoshiro)[JP/JP] 〒426-0054 静岡県藤枝市源助301 科研製薬株式会社 総合研究所内 Shizuoka, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 中村静男(NAKAMURA, Shizuo) 〒110-0016 東京都台東区台東2丁目24番10号 エスティビル3階 Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 JP, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>

(54) Title: ORAL PREPARATIONS CONTAINING PEPTIDES PROMOTING THE SECRETION OF GROWTH HORMONE

(54) 発明の名称 成長ホルモン分泌促進ペプチド含有経口製剤

(57) Abstract

Oral preparations containing peptides promoting the secretion of growth hormone, wherein the absorbability of the peptides, which have a high chemical stability, activate the passive transportation after the administration and inhibit proteases to thereby promote the secretion of growth hormone, has been enhanced. These preparations contain (A) peptides capable of promoting the secretion of growth hormone or salts thereof; and (B) crystalline cellulose or water-swellaible cellulose.



(57)要約

化学的安定性が良好であり、経口投与後の受動輸送を活性化させるとともに、タンパク質分解酵素の活性を抑制し、成長ホルモンの分泌を促進するペプチドの吸収性を向上させた成長ホルモン分泌促進ペプチド含有経口製剤が開示されている。

本発明の成長ホルモン分泌促進ペプチド含有経口製剤は、(A)成長ホルモンの分泌を促進するペプチドまたはその塩と、(B)結晶セルロースや水膨潤性変性セルロースとを含有するものである。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール
AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサオ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国	TR	トルコ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ	ML	マリ	TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
CA	カナダ	ID	インドネシア	MW	マラウイ	US	米国
CF	中央アフリカ	IE	アイルランド	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CG	コンゴ	IL	イスラエル	NE	ニジェール	VN	ヴェトナム
CH	スイス	IN	インド	NL	オランダ	YU	ユーゴスラビア
CI	コートジボアール	IS	アイスランド	NO	ノルウェー	ZA	南アフリカ共和国
CM	カメルーン	IT	イタリア	NZ	ニュージーランド	ZW	ジンバブエ
CN	中国	JP	日本	PL	ポーランド		
CU	キューバ	KE	ケニア	PT	ポルトガル		
CY	キプロス	KG	キルギスタン	RO	ルーマニア		
CZ	チェッコ	KP	北朝鮮	RU	ロシア		
DE	ドイツ	KR	韓国	SD	スーダン		
DK	デンマーク	KZ	カザフスタン	SE	スウェーデン		
EE	エストニア	LC	セントルシア				

## 明 細 書

### 成長ホルモン分泌促進ペプチド含有経口製剤

#### 技術分野

本発明は、成長ホルモン分泌促進ペプチド含有経口製剤に関し、さらに詳しくは、化学的安定性が良好である上、経口投与後の受動輸送を活性化させるとともに、タンパク質分解酵素の活性を抑制し、成長ホルモンの分泌を促進するペプチドまたはその塩（Growth Hormone releasing peptide、以下GHRPと略記することがある。）の吸収性を向上させた成長ホルモン分泌能に優れる経口製剤に関するものである。

#### 背景技術

成長ホルモン（Growth Hormone）は、脳下垂体前葉の好酸性細胞で産生される成長促進ペプチドホルモンであって、このホルモンが欠乏すると成長ホルモン分泌不全性低身長症や成長ホルモン分泌不全が認められるターナー症候群などの疾患をもたらす。これらの疾患の治療には、現在、成長ホルモンそのものを、医療機関において週に2～3回程度筋肉注射するか、あるいは週6～7回程度皮下へ自己注射する処置がとられている。しかしながら、この成長ホルモンによる療法は注射療法であるため、患者は注射の苦痛からは逃れられず、長期間の治療は患者に対して多くの負担を負わせているため、より負担の少ない治療法の開発が望まれている。

ところで、上記成長ホルモンは、視床下部中に存在する成長ホルモン分泌促進因子と抑制因子のソマトスタチンによって、その分泌が調節されることが知られている。この視床下部中に存在する成長ホルモン分泌促進因子は、ヒトの場合約40個のアミノ酸残基を有するペプチドであり、ヒトの細胞から分離、精製したもの、あるいはペプチドシンセサイザーを用いて合成したものなどが、体内診断薬や小人症の治療薬として用いられ始めている。しかしながら、ヒトの細胞から分離、精製する方法は量的に限りがあり、また、合成法では、40個近くのアミ

ノ酸を縮合せねばならず、操作が煩雑で、かつ長時間を要し、コストが高いという問題がある。

そこで、アミノ酸の結合数が短かく、合成が容易であって、かつ成長ホルモンの分泌を促進するペプチドの開発研究が積極的に行われ、例えば5個のアミノ酸残基と1個のアミノ酸誘導体残基からなるペプチドであるL-ヒスチジル-2-メチル-D-トリプトフィル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミド (Hexarelin、ヘキサレリン)、D-アラニル-3-(ナフタレン-2-イル)-D-アラニル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミド二塩酸塩などが、GHRPとして有用であることが見出されている。

しかしながら、近年、多くのペプチドやタンパク質からなる医薬品が医療に供されているが、これらは一般に化学的に不安定である上、経口投与した場合、生物学的利用率が極めて低く、有効な薬理効果が発現できず、かつ消化管に存在する種々のタンパク質分解酵素により分解されやすいことから、多くは注射剤として供されている。また、ペプチドやタンパク質からなる医薬品について、経口投与による消化管からの吸収促進についても、吸収促進剤の併用、タンパク質分解酵素阻害剤の併用、イオントフォーシス、混合ミセルなど、様々な研究がなされているが、未だ実用化に至っていないのが現状である。

上記GHRPが小人症治療用に注射薬として供された場合、上述のように治療上頻回の投与を余儀なくされ、その結果、苦痛や通院などにより、患者に大きな負担を強いることになる。したがって、この問題を解決するには、経口製剤として供することが必要不可欠となる。しかしながら、このGHRPはペプチド医薬品であることから、汎用される添加物との相互作用が頻発し、また、単一では相互作用を起こさない添加物でもその複数を組み合わせると相互作用が顕著に現われることがあり、変色や含量低下を起こしやすく、長期的に化学的安定性が保持される経口製剤を製造することは容易ではないのが実状であった。また、消化管における吸収性が低い上、タンパク質分解酵素による分解を受けやすいなどの問題もあり、経口製剤として供するには、これらの問題を解決することも不可欠である。

### 発明の開示

本発明は、このような事情のもとで、汎用される添加物との相互作用が小さく、化学的に安定であり、消化管における吸収性が良く、かつタンパク質分解酵素による分解を受けにくいなどの特徴を有し、成長ホルモン分泌促進能に優れる、成長ホルモン分泌促進ペプチド含有経口製剤を提供することを目的とするものである。

そこで、本発明者らは、前記の優れた性質を有する成長ホルモン分泌促進ペプチド含有経口製剤を開発すべく鋭意研究を重ねた結果、GHRPと結晶セルロースや水膨潤性変性セルロースとを組み合わせたものは、(1) 化学的に安定であること、(2) 経口投与後に消化液を吸収して、GHRPの濃度が部分的に高いスラリーを形成することにより、いわゆる受動輸送による吸収が増加すること、(3) GHRPと結晶セルロースや水膨潤性変性セルロースとの間に生じる吸着平衡に伴う立体障害により、あるいは水膨潤性変性セルロースが酸性物質であることにより、タンパク質分解酵素の活性を抑制しうること、などの機能を同時に有し、成長ホルモン分泌促進ペプチド含有経口製剤として、その目的に適合しうることを見出し、この知見に基づいて本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、(A) 成長ホルモンの分泌を促進するペプチドまたはその塩と、(B) 結晶セルロースおよび水膨潤性変性セルロースの中から選ばれる少なくとも1種とを含有することを特徴とする成長ホルモン分泌促進ペプチド含有経口製剤を提供するものである。

### 図面の簡単な説明

図1は、実施例2、3、4および対照3の製剤をヒトに投与した場合の分泌された成長ホルモンの最高血中濃度の比較を示す図である。図2は、実施例2、3、4および対照3の製剤をヒトに投与した場合の分泌された成長ホルモンの血中濃度下面積の比較を示す図である。

### 発明を実施するための最良の形態

本発明の経口製剤において、(A)成分として用いられるGHRPにおけるペプチドは、下垂体からの成長ホルモン分泌を促進させる薬理活性を有するペプチドであればよく、そのアミノ酸残基やアミノ酸誘導体残基の数および由来(例えば、ヒトの細胞より分離、精製したもの、合成品、半合成品、遺伝子工学により得られたものなど)などについては、特に制限はないが、薬理活性および吸収性などの点から、アミノ酸残基またはアミノ酸誘導体残基あるいはその両方を3~10個有するペプチドまたはその塩が好適である。

上記アミノ酸誘導体残基を形成するアミノ酸誘導体としては、アルキル置換トリプトファン、 $\beta$ -ナフチルアラニン、 $\alpha$ -ナフチルアラニン、3,4-ジヒドロフェニルアラニン、メチルバリンなどが挙げられる。また、アミノ酸およびアミノ酸誘導体はL体、D体のいずれも含む。

また、GHRPにおける塩は酸付加塩であり、この酸付加塩を形成しうる酸としては、例えば塩酸、硫酸、臭化水素酸、リン酸、硝酸などの無機酸、ギ酸、酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グルコール酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、マレイン酸、フタル酸、フェニル酢酸、安息香酸、サリチル酸、メタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、蔞酸、トリフルオロ酢酸などの有機酸、アスパラギン酸、グルタミン酸などのアミノ酸などの中から、医薬上許容される酸付加塩を形成しうるものが適宜選ばれる。

アミノ酸残基またはアミノ酸誘導体残基あるいはその両方を3~10個有するGHRPとしては、例えばD-アラニル-3-(ナフタレン-2-イル)-D-アラニル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミド、L-ヒスチジル-2-メチル-D-トリプトフィル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミド(Hexarelin、ヘキサレリン)、L-アラニル-L-ヒスチジル-3-(ナフタレン-2-イル)-D-アラニル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミド、L-ヒスチジル-D-トリプトフィル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミドおよびD-アラニル-2-メチル-D-トリプトフィル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミドまたはこれらの塩、さらには特開平5-5

07066号公報、特開平5-509105号公報、特開平7-507039号公報、WO96/10040公報などに記載されているものなどが挙げられるが、これらの中で、特に薬理活性の面から、D-アラニル-3-(ナフタレン-2-イル)-D-アラニル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミド二塩酸塩(以下、GHRP-2と称す)が好適である。

本発明の経口製剤においては、該(A)成分として、GHRPを1種用いてもよいし、2種以上組み合わせて用いてもよい。

次に、本発明の経口製剤においては、(B)成分として、結晶セルロースおよび水膨潤性変性セルロースの中から選ばれる少なくとも1種が用いられる。ここで結晶セルロースとは、 $\alpha$ -セルロースを鉱酸により部分的に解重合(加水分解)して非結晶領域を除去し、結晶領域のセルロースを精製、乾燥することによって得られた白色~灰白色の結晶性粉末のことである。このような結晶セルロースは「アビセル」[商品名、旭化成工業(株)製]などの市販品として容易に入手することができる。

また、この結晶セルロース粒子の表面を水溶性高分子化合物で被覆したもの(以下、粒子表面を水溶性高分子化合物で被覆された結晶セルロースは、コロイダルタイプ結晶セルロースと称す)は、水中に投入すると、水溶性高分子化合物がまず膨潤溶解して二次凝集物である個々の粒子が崩壊し、構成単位である微細なセルロース結晶体がコロイド分散体となった網目構造を形成する(この際、水溶性高分子化合物が保護コロイドとして作用する)性質を有しており、したがって、GHRPに配合した場合、後述のようにタンパク質分解酵素の活性が効果的に阻害されるので、特に好適である。このような粒子表面を水溶性高分子化合物で被覆した結晶セルロースは、上記「アビセル」のコロイダルグレードとして入手することができる。

一方、水膨潤性変性セルロースとは、セルロースを化学的に変性して、水膨潤性を付与したセルロースのことである。ここで、水膨潤性とは、水に投入した場合、水に実質上不溶であるが、水を吸収して体積増加する性質を指す。本発明においては、25℃、pH7の水に5時間浸漬した場合、体積が1.1~50倍に膨潤する水膨潤度を有するものが好ましく用いられる。より好ましい水膨潤度は

1. 2～30倍であり、特に好ましい水膨潤度は1.3～20倍である。

変性方法としては、上記水膨潤度を有し、かつ医薬品用添加物として許容されるものが得られる方法であればよく、特に制限はないが、特にアルキル化、カルボキシメチル化、ヒドロキシアルキル化、置換あるいは無置換アミノアルキル化、などの変性手段が挙げられる。また上記の各種変性手段で得られた変性物を無機または有機塩に変性したのも本発明の変性セルロースに含まれる。このような水膨潤性セルロースの例としては、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルボキシメチルセルロースナトリウム、低置換度ヒドロキシプロピルセルロースなどが好ましく挙げられる。

ここで、クロスカルボキシメチルセルロースナトリウムとは、カルボキシメチルセルロースナトリウムの架橋重合体であり、「Ac-Di-Sol」〔商標名、旭化成工業（株）製〕などの市販品として容易に入手することができる。

また、低置換度ヒドロキシプロピルセルロースは、セルロースの水酸基の一部にプロピレンオキシドを付加してなるヒドロキシプロポキシ基の含有量が5～20重量%程度のものである。このヒドロキシプロポキシ基の含有量が5重量%未満のものでは水膨潤性が十分に付与されないし、20重量%を超えると水に溶けやすくなり、本発明の目的が達せられないおそれがある。

本発明の経口製剤においては、(B)成分として、上記結晶セルロースや水膨潤性変性セルロース（以下、両者を総称して、水膨潤性セルロース類と称すことがある。）を1種用いてもよいし、2種以上組み合わせて用いてもよい。

本発明の経口製剤においては、(A)成分のGHRPに対し、上記(B)成分の水膨潤性セルロース類を配合することにより、下記の効果を奏する。

例えば、pH1.2～6.8の緩衝液を用いたGHRP（ここでは、GHRP-2を使用）の溶出試験において、GHRPに結晶セルロースや水膨潤性変性セルロースを配合したものは、水溶性添加物を配合したものに比べて溶出速度が遅延する傾向がみられる。これは結晶セルロースや水膨潤性変性セルロースが緩衝液を吸収して膨潤し、スラリーを形成するため、GHRPの緩衝液中への溶出が抑制されるためであると推察される。すなわち、緩やかな攪拌状態では、スラリー中において、GHRPの濃度が、比較的長い時間高い状態で保持されると考え



られる。これは、高分子マトリックス中に薬剤を包埋させ、強力な徐放効果を与えるということとは意味が異なり、スラリーを強く攪拌した場合には、セルロースの拡散とともに、GHRPもすべて簡単に緩衝液中に溶出する状態、すなわち、スラリーがGHRPの高濃度液をその内部に含んで保持している状態にあることを意味する。このことは、製剤として経口投与した場合、消化液を吸収して形成されるスラリー中のGHRPを、消化管粘膜に対して局所的に高い濃度で接触させることが可能であることを示し、いわゆる受動輸送による吸収が増加する可能性を示唆するものである。

また、GHRPに、結晶セルロース、特にコロイダルタイプ結晶セルロースまたは水膨潤性変性セルロース、特にカルボキシメチルセルロースを配合したものは、タンパク質分解酵素、特にGHRPを分解しやすいトリプシンやキモトリプシンの活性至適pHであるpH7~8付近の環境で、GHRPがコロイダルタイプ結晶セルロースまたはカルボキシメチルセルロースとの間に吸着平衡を生じ、その立体障害によると考えられるタンパク質分解酵素の活性の阻害化傾向が認められる。このことから、本発明の製剤を経口投与した場合、GHRPがタンパク質分解酵素による分解を受けずに未変化体として消化管内に存在する時間が長くなり、吸収性が改善されるものと考えられる。さらに、水膨潤性変性セルロースがカルボキシメチルセルロースである場合、水に分散させると酸性を示すことから、消化管内のpHを酸性側に移動させ、タンパク質分解酵素の活性を低下させることも考えられる。

本発明の経口製剤においては、必要に応じ、かつ製剤の形態に応じて、さらにD-マンニトール、キシリトール、D-ソルビトール、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、タルクおよび軽質無水ケイ酸からなる群より選ばれた少なくとも1種の添加剤を、製剤の形態に応じて、適宜選択して含有させることができる。

本発明の経口製剤における(A)成分であるGHRPと(B)成分との重量比は、製剤の形態に応じて適宜選択すべきであるが、一般的には1:1.5~200、好ましくは1:2~100、さらに好ましくは1:3~50である。

本発明の経口製剤の形態には特に制限はなく、通常の間口投与剤型、例えば錠

剤、顆粒剤、カプセル剤、散剤（細粒剤）、ドライシロップ剤、シロップ剤、丸剤、懸濁剤、軟カプセル剤などが可能である。

本発明のGHRPの経口製剤は、GHRPに結晶セルロースや水膨潤性変性セルロースを配合することにより、スラリーによるGHRPの部分的な高濃度領域が形成され、かつタンパク質分解酵素による分解を遅延させ、特に水膨潤性変性セルロースがカルボキシメチルセルロースの場合、それ自体が酸性を示すことから、タンパク質分解酵素の活性を低下させ、その結果、GHRPのタンパク質分解酵素による分解が抑制され、吸収性が改善される。

また、これらの水膨潤性セルロース類とGHRPに対して化学的に安定な添加物を用いることで、化学的に安定性の高いGHRPの経口製剤を供することが可能であり、かつ一般的な経口製剤に求められる、流通期間をも考慮した室温保存で、3年間の有効期限は確保できると考えられる。

次に、本発明を実施例および試験例によってさらに詳細に説明するが、本発明は、これらの例に限定されるものではない。

なお、使用した材料のメーカーや商品名（規格）を下記の表1に示す。

（以下余白）

表 1

	メーカー	商品名 (規格)
(1) コロイダルタイプ結晶セルロース	旭化成工業(株)	アビセルRC591NF
(2) 結晶セルロース	旭化成工業(株)	アビセルPH-101, -301
(3) カルボキシメチルセルロース	五徳薬品(株)	NS300
(4) カルボキシメチルセルロース・カルシウム	五徳薬品(株)	ECG505
(5) 低置換ヒドロキシプロピルセルロース	信越化学(株)	LH-11(ヒドロキシプロピル基含量:10.0~13.0重量%、 粒度:149 $\mu$ mパス98重量%、 粒度:177 $\mu$ mオン0.6重量%)  LH-11(ヒドロキシプロピル基含量:10.0~13.0重量%、 粒度:74 $\mu$ mパス90重量%、 粒度:105 $\mu$ mオン1.0重量%)
(6) ヒドロキシプロピルセルロース	日本ソーダ(株)	HPC (ヒドロキシプロピル基含量:58.4~77.5%)
(7) ヒドロキシプロピルメチルセルロース	信越化学(株)	JC-5
(8) D-マニトール	協和醗酵(株)	
(9) 乳酸	DMV(株)	Pharmatose
(10)白糖	三井製糖(株)	
(11)タルク	勝光山鉱山(株)	タルクHJ
(12)ステアリン酸	純正化学(株)	
(13)塩化ナトリウム	和光純薬(株)	
(14)メタクリル酸ポリマー	レーム・ファーム(株)	オイドラギッド
(15)マクロゴール6000	日本油脂(株)	
(16)軽質無水ケイ酸	日本アエロジル	
(17)アスパルテーム	味の素(株)	パルスイートダイエット
(18)クエン酸	純正化学(株)	

## 実施例 1

顆粒剤処方 (1000mg 中)

GHRP-2	10 mg
コロイダルタイプ結晶セルロース	400 mg
マンニトール	574 mg
ヒドロキシプロピルセルロース	16 mg
計	1000 mg

GHRP-2 10g、コロイダルタイプ結晶セルロース400gおよびマンニトール574gを攪拌造粒機により混合し、混合末を得た。別に、ヒドロキシプロピルセルロース16gをイソプロパノール200mlに溶解して液状結合剤とした。

混合末に液状結合剤を添加し、練合を行い、0.8mm孔径のスクリーンをセットした押し出し造粒機を用いて顆粒を製造した。50℃で3時間乾燥した後、12メッシュおよび42メッシュの篩を用いて篩別し、顆粒剤を得た。

## 比較例 1

顆粒剤処方 (1000mg 中)

GHRP-2	10 mg
マンニトール	974 mg
ヒドロキシプロピルセルロース	16 mg
計	1000 mg

GHRP-2 10gおよびマンニトール974gを攪拌造粒機により混合し、混合末を得た。別に、ヒドロキシプロピルセルロース16gをイソプロパノール200mlに溶かして液状結合剤とした。

混合末に液状結合剤を添加し、練合を行い、0.8mm孔径のスクリーンをセットした押し出し造粒機を用いて顆粒を製造した。50℃で3時間乾燥した後、12メッシュおよび42メッシュの篩を用いて篩別し、顆粒剤を得た (以下、対照1と称す)。

## 実施例 2

錠剤処方 (1錠中)

GHRP-2	11 mg
結晶セルロース	121 mg
乳糖	20 mg
タルク	6 mg
低置換度ヒドロキシプロピルセルロース	20 mg
ステアリン酸マグネシウム	2 mg
計	180 mg

GHRP-2 1.1 g、結晶セルロース（アビセルPH-301）12.1 g、乳糖2 g、タルク0.6 gおよび低置換度ヒドロキシプロピルセルロース（LH-11）2 gを乳鉢を用いて混合し、更にステアリン酸マグネシウム0.2 gを添加して混合して混合末を得た。

上記混合末を直径8.0 mmの臼および碁石型の杵をセットした成形機で1錠180 mgとなるように圧縮成形し、錠剤を得た。

### 実施例3

散剤処方（1000 mg中）

GHRP-2	11 mg
コロイダルタイプ結晶セルロース	400 mg
白糖	100 mg
アスパルテーム	40 mg
D-マンニトール	387 mg
ヒドロキシプロピルセルロース	12 mg
クエン酸	40 mg
塩化ナトリウム	10 mg
計	1000 mg

GHRP-2 1.1 g、コロイダルタイプ結晶セルロース40 g、白糖10 g、アスパルテーム4 g、D-マンニトール38.7 g、クエン酸4 gおよび塩化ナトリウム1 gを攪拌造粒機により混合末とした。別にヒドロキシプロピルセルロース1.2 gをイソプロパノール40 mlに溶かし、液状結合剤とした。

混合末に液状結合剤を添加し、造粒を行い、50℃で3時間乾燥した後、42

メッシュの篩を用いて篩過し、散剤を得た。

#### 実施例 4

顆粒剤処方 (1000 mg 中)

GHRP-2	11	mg
乳糖	841.7	mg
カルボキシメチルセルロース	45.7	mg
ヒドロキシプロピルセルロース	18.3	mg
メタクリル酸コポリマー	60.7	mg
ヒドロキシプロピルメチルセルロース	6.8	mg
マクロゴール6000	11.3	mg
ステアリン酸マグネシウム	4.5	mg
計	1000	mg

GHRP-2 12.2 g、乳糖921.8 gおよびカルボキシメチルセルロース50 gを攪拌造粒機により混合末とした。別にヒドロキシプロピルセルロース20 gをイソプロパノール200 mlに溶かし、液状結合剤とした。

混合末に液状結合剤を添加し、練合を行い、0.8 mm孔径のスクリーンをセットした押し出し造粒機を用いて顆粒を製造した。50°Cで3時間乾燥した後、16メッシュおよび30メッシュの篩を用いて篩別し、顆粒を得た。

顆粒80 gに対しメタクリル酸コポリマー6.63 g、ヒドロキシプロピルメチルセルロース0.74 g、マクロゴール6000 1.23 gおよびステアリン酸マグネシウム0.49 gを水20重量%およびエタノール80重量%の混液93 mlに溶かし皮膜剤液とし、流動層コーティング装置を用いて皮膜を施した。

#### 比較例 2

カプセル剤処方 (1000 mg 中)

GHRP-2	11	mg
乳糖	189	mg
計	200	mg

GHRP-2 0.22 gおよび乳糖3.779 gを乳鉢を用いて均一に混合し、混合末を得た。混合末0.2 g (GHRP-2含量11 mg)を1号サイズ

のゼラチンカプセルに充填し、カプセル剤とした（以下、対照3と称す）。

#### 実施例5

##### 錠剤処方（1錠中）

GHRP-2	20	mg
結晶セルロース	60	mg
D-マンニトール	68.4	mg
タルク	6	mg
カルボキシメチルセルロース	17.5	mg
ヒドロキシプロピルセルロース	1.6	mg
ステアリン酸マグネシウム	1.8	mg
計	175.3	mg

GHRP-2 20 g、結晶セルロース（アビセルPH-30）60 g、D-マンニトール68.4 g、タルク6 gおよびカルボキシメチルセルロース17.5 gを攪拌造粒機により混合末とした。別にヒドロキシプロピルセルロース1.6 gをエタノール50 mlに溶解し、液状結合剤とした。

混合末に液状結合剤を添加し、造粒を行い顆粒を製造した。50℃で3時間乾燥した後、42メッシュの篩を用いて篩過し、滑沢剤としてステアリン酸マグネシウム1.8 gを添加し、ポリ袋を用いて混合した。

上記混合末を直径7.5 mmの臼および碁石型の杵をセットした成形機で1錠175.3 mgとなるように圧縮成形し、錠剤を得た。

#### 実施例6

ヒドロキシプロピルメチルセルロース78重量%およびプロピレングリコール22重量%から成る混合末を、水90重量%およびイソプロパノール10重量%の混液に溶解して皮膜剤液とし、実施例5の錠剤に対し1.5重量%に相当する皮膜をコーティング装置を用いて施し、フィルムコーティング錠を得た。

#### 実施例7

##### 顆粒剤処方（1000 mg中）

GHRP-2	20	mg
コロイダルタイプ結晶セルロース	50	mg

D-マンニトール	909 mg
ヒドロキシプロピルセルロース	16 mg
軽質無水ケイ酸	5 mg
計	1000 mg

GHRP-2 20 g、コロイダルタイプ結晶セルロース（アビセルRC591NF）50 gおよびD-マンニトール909 gを攪拌造粒機により混合末とした。別にヒドロキシプロピルセルロース16 gをイソプロパノール200 mlに溶解し、液状結合剤とした。

混合末に液状結合剤を添加し、練合を行い、0.8 mm孔径のスクリーンをセットした押し出し造粒機を用いて顆粒を製造した。50°Cで3時間乾燥した後、12メッシュおよび42メッシュの篩を用いて篩別し、凝集防止剤として軽質無水ケイ酸5重量%に相当する量を添加し、ポリ袋中で混合し顆粒剤を得た。

#### 実施例 8

散剤処方（1000 mg中）

GHRP-2	20 mg
コロイダルタイプ結晶セルロース	400 mg
D-マンニトール	567 mg
ヒドロキシプロピルセルロース	8 mg
軽質無水ケイ酸	5 mg
計	1000 mg

GHRP-2 20 g、コロイダルタイプ結晶セルロース（アビセルRC591NF）400 gおよびD-マンニトール567 gを攪拌造粒機により混合末とした。別にヒドロキシプロピルセルロース8 gをイソプロパノール100 mlに溶解し、液状結合剤とした。

混合末に液状結合剤を添加し、造粒を行い、50°Cで3時間乾燥した後、42メッシュの篩を用いて篩過し、凝集防止剤として軽質無水ケイ酸を0.5重量%に相当する量を添加し、ポリ袋中で混合し散剤を得た。

#### 実施例 9

顆粒剤処方（1000 mg中）



GHRP-2	10 mg
カルボキシメチルセルロース	30 mg
ヒドロキシプロピルセルロース	16 mg
マンニトール	894 mg
アスパルテーム	45 mg
軟質無水ケイ酸	5 mg
計	1000 mg

GHRP-2 10 g、カルボキシメチルセルロース 30 g、マンニトール 894 g およびアスパルテーム 45 g を攪拌造粒機により混合末とした。別に、ヒドロキシプロピルセルロース 16 g をイソプロピルアルコール 200 ml に溶解し、液状結合剤とした。

混合末に液状結合剤を添加し、練合を行い、0.8 mm 孔径のスクリーンをセットした押し出し造粒機を用いて顆粒を製造した。50°C で 3 時間乾燥した後、12 メッシュおよび 42 メッシュの篩を用いて篩別し、凝集防止剤として軟質無水ケイ酸 5 重量% に相当する量を添加し、ポリ袋中で混合し顆粒剤とした。

#### 実施例 10

##### GHRP-2 / カルボキシメチルセルロース懸濁剤

GHRP-2	0.1 mg
カルボキシメチルセルロース	10 mg
水	1 ml

GHRP-2 0.1 mg を水 1 ml に溶かしたのち、カルボキシメチルセルロース 10 mg を加えて懸濁させ、懸濁剤とした。

#### 実施例 11

##### GHRP-2 / コロイダルタイプ結晶セルロース懸濁剤

GHRP-2	0.1 mg
コロイダルタイプ結晶セルロース	10 mg
水	1 ml

GHRP-2 0.1 mg を水 1 ml に溶かしたのち、コロイダルタイプ結晶セルロース 10 mg を加えて懸濁させ、懸濁剤とした。

## 実施例 1 2

## GHRP-2 / 結晶セルロース懸濁剤

GHRP-2	0.1 mg
結晶セルロース	10 mg
水	1 ml

GHRP-2 0.1 mg を水 1 ml に溶かしたのち、結晶セルロース（アビセル PH-301）10 mg を加えて懸濁させ、懸濁剤とした。

## 比較例 3

## GHRP-2 水溶液

GHRP-2	0.1 mg
水	1 ml

GHRP-2 0.1 mg を水 1 ml に溶かした（対照 2）。

## 実施例 1 3

## GHRP-2 / カルボキシメチルセルロース懸濁剤

GHRP-2	0.1 mg
カルボキシメチルセルロース	0.3 mg
水	0.1 mg

カルボキシメチルセルロース 0.3 mg に 0.1 重量% GHRP-2 水溶液 0.1 ml を加えて懸濁させ、懸濁剤とした。

## 実施例 1 4

## GHRP-2 / カルボキシメチルセルロースカルシウム懸濁剤

GHRP-2	0.1 mg
カルボキシメチルセルロースカルシウム	0.3 mg
水	0.1 mg

カルボキシメチルセルロースカルシウム 0.3 mg に 0.1 重量% GHRP-2 水溶液 0.1 ml を加えて懸濁させ、懸濁剤とした。

## 実施例 1 5

## GHRP-2 / コロイダルタイプ結晶セルロース懸濁剤

GHRP-2	0.1 mg
--------	--------

コロイダルタイプ結晶セルロース	2.0 mg
水	0.1 mg

コロイダルタイプ結晶セルロース 2.0 mg に 0.1 重量% GHRP-2 水溶液 0.1 ml を加えて懸濁させ、懸濁剤とした。

#### 実施例 16

##### GHRP-2 / 結晶セルロース懸濁剤

GHRP-2	0.1 mg
結晶セルロース	0.6 mg
水	0.1 mg

結晶セルロース 0.6 mg に 0.1 重量% GHRP-2 水溶液 0.1 ml を加えて懸濁させ、懸濁剤とした。

#### 実施例 17

##### GHRP-2 / 賦型剤混合物

GHRP-2 水溶液	2.5 又は 5 ml (GHRP-2 を 10 又は 20 mg)
アスパルテーム	45 mg
D-マンニトール	894 mg
カルボキシメチルセルロース	30 mg
ヒドロキシメチルセルロース	16 mg
軽質無水ケイ酸	5 mg

アスパルテーム 45 mg、D-マンニトール 894 mg、ヒドロキシメチルセルロース 16 mg、軽質無水ケイ酸 5 mg、カルボキシメチルセルロース 30 mg および 0.4 重量% GHRP-2 水溶液 2.5 又は 5 ml (GHRP-2 を 10 又は 20 mg) を混合し、GHRP-2 / 賦型剤混合物とした。

#### 実施例 18

##### GHRP-2 / 賦型剤混合物 (固形分 1,000 mg 中)

GHRP-2 水溶液	2.5 ml (GHRP-2 を 10 mg)
カルボキシメチルセルロース	10 ~ 90 mg
賦型剤混合末	900 ~ 980 mg

計 1000 mg

アスパルテーム 0.936 g、D-マンニトール 18.628 g、ヒドロキシメチルセルロース 16.6 g、軽質無水ケイ酸 5.2 g を乳鉢を用いて混合し、賦型剤混合末とした。この賦型剤混合末 900~980 mg、カルボキシメチルセルロース 10~90 mg および 0.4 重量% GHRP-2 水溶液 2.5 ml (GHRP-2 を 10 mg) を混合して、GHRP-2/賦型剤混合物とした。

#### 実施例 19

GHRP-2/賦型剤混合物 (固形分 1,000 mg 中)

GHRP-2 水溶液	5.0 ml (GHRP-2 を 20 mg)
カルボキシメチルセルロース	10~90 mg
賦型剤混合末	900~980 mg

計 1000 mg

アスパルテーム 0.936 g、D-マンニトール 18.628 g、ヒドロキシメチルセルロース 16.6 g、軽質無水ケイ酸 5.2 g を乳鉢を用いて混合し、賦型剤混合末とした。この賦型剤混合末 900~980 mg、カルボキシメチルセルロース 10~90 mg および 0.4 重量% GHRP-2 水溶液 5.0 ml (GHRP-2 を 20 mg) を混合して、GHRP-2/賦型剤混合物とした。

次に、試験例により、本発明の効果につき詳細に説明する。

#### 試験例 1

実施例 1 および比較例 1 (対照 1) の顆粒剤各 1 g (各々 GHRP-2 10 mg 含有) につき、pH 1.2 の緩衝液 (日本薬局方、第 1 液) を試験液とし、パドル法 (50 rpm) により、溶出試験を実施した。結果を表 2 に示す。

(以下余白)

表 2

溶出時間 (分)	溶 出 率 (%)	
	実施例 1	比較例 1 (対照 1)
2	50	80
4	64	100
6	67	103
8	72	102
10	75	102
15	80	101
20	85	102

比較例 1 (対照 1) の製剤では約 4 分程度で溶出が完了 (溶出率 100%) したが、実施例 1 の製剤では 4 分後で 64%、20 分でも 85% 程度の溶出率であり、コロイダルタイプ結晶セルロースがフラスコの底で円錐状のスラリーを形成しながら回転していた。このスラリーの中では GHRP-2 が試験液中への拡散を抑制され、濃度の高い状態で存在していると考えられる。

このことは液中でスラリーを形成する結晶セルロースまたは水膨潤性変性セルロースと GHRP-2 を合わせて経口投与した場合、消化管粘膜に対し GHRP-2 の高濃度の水溶液を接触させるのと同様の状態となり、GHRP-2 の吸収が改善される可能性を示唆するものである。

#### 試験例 2

実施例 13~16 の組成からなる GHRP-2 を含むセルロース類懸濁剤と、GHRP-2 の水溶液 (比較例 3) におけるタンパク分解酵素に対する GHRP-2 の安定性を評価した。

実施例 13~16 の懸濁剤と比較例 3 の水溶液に pH 8.0 のトリス塩酸緩衝液 80  $\mu$ l を加え、更にトリプシンを溶かしたトリス塩酸緩衝液 20  $\mu$ l (20 単位) を加え、37°C で反応させ 0.5, 1 および 2 時間後に 10 重量% TCA (トリクロロ酢酸) 水溶液を加えて酵素反応を停止させた。塩酸/塩化ナトリウ

ム水溶液 0.9 ml を加え、水不溶性のセルロース類に吸着した GHRP-2 を脱着させ、沈殿を遠心分離後、上清 0.65 ml に内標準溶液 50  $\mu$ l および高速液体クロマトグラフィー用移動相 100  $\mu$ l を加え試料溶液とした。別に凍結保存の標準品水溶液 (1 mg / 1 ml) 50  $\mu$ l をとり、内標準溶液 50  $\mu$ l を加え、更に高速液体クロマトグラフィー用移動相 700  $\mu$ l を加えて標準溶液とした。

試料溶液および標準溶液につき高速液体クロマトグラフィーを用いて残存する GHRP-2 量を求めた。

なお、高速液体クロマトグラフィーによる測定は、下記の条件によって行った。

高速液体クロマトグラフィー装置：LC-6A および LC-10A (島津製作所)

検出器：SPD-6A および SPD-10A (島津製作所)

測定カラム：Cosmosil AR (ODS) 4.5 mm  $\times$  25 cm (ナカライテック製)

移動相：アセトニトリル・水混液・トリフルロ酢酸 (15 : 5 : 0.01)

試料溶解液：反応停止液を遠心分離し、上清を用いて調製した。

内標準溶液：p-ヒドロキシ安息香酸プロピルの移動相液 (1  $\rightarrow$  2000)

結果を表 3 に示す。

(以下余白)

表 3

セルロースの種類	GHRP-2 残存率 (%)		
	0.5時間	1.0時間	2.0時間
実施例 1 3 (カルボキシメチルセルロース)	100.2	99.8	96.5
実施例 1 4 (カルボキシメチルセルロースカルシウム)	85.9	79.5	70.8
実施例 1 5 (コロイダルタイプ結晶セルロース)	65.4	52.5	47.4
実施例 1 6 (結晶セルロース)	61.3	40.5	21.7
比較例 3 (水溶液)	54.7	34.1	18.9

表3に見られるように、比較例3のGHRP-2水溶液と比較すると、一般的に経口製剤に使用される量の水膨潤性セルロース類を配合した実施例13～16の懸濁剤では、トリプシンによる分解が遅延されることが確認された。特にカルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、コロイダルタイプ結晶セルロースは、分解遅延の効果が顕著に現われた。

### 試験例3

実施例2、3、4および比較例2（対照3）で得られた製剤をヒトに対し、それぞれGHRP-2 11mgを含む量で経口投与し、GHRP-2の吸収により分泌される成長ホルモンの血中動態を評価比較した（対照3について6名、実施例2、3、4について各5名）。また、実施例3については、投与時に、ドライシロップとして水50mlに十分に攪拌懸濁させてから投与した。結果を図1および図2に示す。図1および図2は、それぞれ実施例2～4と対照3の製剤をヒトに投与した場合の成長ホルモン最高血中濃度および血中濃度下面積の比較を示す図である。

水膨潤性セルロース類を含まない対照3による6名の平均の成長ホルモン分泌量は、最高血中濃度 (C<sub>max</sub>) で  $22 \mu\text{g/L}$ 、血中濃度下面積 (AUC) で  $1909 \mu\text{g} \cdot \text{min/L}$  であった。これに対し、実施例2、3、4の各5名の平均の成長ホルモン分泌量は、最高血中濃度 (C<sub>max</sub>) で各々67.7、50.5、65.8  $\mu\text{g/L}$  であり、血中濃度下面積 (AUC) は5378、4152、4854  $\mu\text{g} \cdot \text{min/L}$  であった。したがって、GHRP-2の製剤に結晶セルロースまたは水膨潤性変性セルロースを配合した製剤は、比較例2の製剤に比べて、最高血中濃度 (C<sub>max</sub>) で約2.3~3.0倍、血中濃度下面積 (AUC) で約2.2~2.8倍の成長ホルモン放出効果を示した。このことは、対照3に比較して実施例2、3、4は結晶セルロース、コロイダルタイプ結晶セルロース、カルボキシメチルセルロース等の水膨潤性セルロース類を配合することで、試験例1、2に示した効果によりGHRP-2の吸収が改善されたためと考えられる。

#### 試験例4

GHRP-2、水膨潤性セルロース類およびGHRP-2に対し化学的に安定な添加物を配合し、更にGHRP-2の安定性の改善を目的とした経口製剤である実施例5、6、7、8につき、60℃および40℃、相対湿度75%の環境で30日間の安定性試験を実施した。本試験では、各製剤の肉眼による色調の変化の観察および高速液体クロマトグラフィーを用いて各製剤中のGHRP-2の含量変化を調査した。

なお、高速液体クロマトグラフィーによる測定は、下記の条件にて行った。

高速液体クロマトグラフィー：LC-6AおよびLC-10A（島津製作所製）

検出器：SPD-6A，SPD-10A（224nm）（島津製作所製）

測定カラム：Cosmosil AR (ODS) 4.5mm×25cm（ナカライテスク製）

移動相：アセトニトリル・水混液・トリフルオロ酢酸（15：5：0.01）

試料溶解液：局方第1液を用いて抽出し、ろ過後、ろ液を用いて調製した。

内標準溶液：p-ヒドロキシ安息香酸プロピルの移動相溶液（1→500）

結果を表4に示す。



表 4

	試験開始時	60℃ (30日間)	40℃, 75%RH (30日間)
実施例 5	白色 18.8mg/錠 (100%)	白色 19.7mg/錠 (100%)	白色 19.0mg/錠 (100%)
実施例 6	白色 19.9mg/錠 (100%)	白色 19.9mg/錠 (99%)	白色 19.7mg/錠 (99%)
実施例 7	白色 19.9mg/g (100%)	白色 19.7mg/g (99%)	白色 19.8mg/g (99%)
実施例 8	灰黄白色 19.7mg/g (100%)	灰黄白色 19.5mg/g (99%)	灰黄白色 19.7mg/g (100%)

注) 表中、中段は製剤 1 錠又は 1 g 当りに含まれる GHRP-2 の量を示し、  
下段は試験開始時の GHRP-2 の量を 100% としたときの残存率を示す。

表 4 から分かるように、実施例 5、6、7、8 は何れの環境下においても色調  
の変化は認められなかった。

また、GHRP-2 の含量の点においても、実施例 5、6、7、8 は殆ど含量  
低下が認められなかった。このことは、本発明による GHRP-2 の製剤は化学  
的に安定であることを示すものである。

#### 試験例 5

水膨潤性セルロース類を含有する実施例 13~16 の懸濁剤を用いて、GHR  
P-2 の水膨潤性セルロース類への吸着率を測定した。

実施例 13~16 の懸濁剤に、pH 8.0 のトリス塩酸緩衝液 100  $\mu$ l を加  
え攪拌する。37℃で 1 時間放置した後、遠心分離を行い上清 100  $\mu$ l に内標  
準溶液 50  $\mu$ l および高速液体クロマトグラフィー用移動相 650  $\mu$ l を加え試

料溶液とした。別に凍結保存の標準品水溶液（ $1\text{ mg}/1\text{ ml}$ ） $100\text{ }\mu\text{ l}$ をとり、トリス塩酸緩衝液 $100\text{ }\mu\text{ l}$ を加え攪拌し、この液 $100\text{ }\mu\text{ l}$ をとり内標準溶液 $50\text{ }\mu\text{ l}$ を加え、更に高速液体クロマトグラフィー用移動相 $650\text{ }\mu\text{ l}$ を加えて標準溶液とした。

試料溶液および標準溶液につき高速液体クロマトグラフィーを用いて試料液中のGHRP-2量を求め、この値からGHRP-2の水膨潤性セルロース類への吸着率を算定した。

なお、高速液体クロマトグラフィーによる測定は、下記の条件によって行った。

高速液体クロマトグラフィー装置；：LC-6AおよびLC-10A（島津製作所）

検出器：SPD-6AおよびSPD-10A（島津製作所）

測定カラム：Cosmosil AR (ODS)  $4.5\text{ mm}\times 25\text{ cm}$ （ナカライテック製）

移動相：アセトニトリル・水混液・トリフロル酢酸（ $15:5:0.01$ ）

試料溶解液：反応停止液を遠心分離し、上清を用いて調製した。

内標準溶液：p-ヒドロキシ安息香酸プロピルの移動相液（ $1\rightarrow 2000$ ）

結果を表5に示す。

表 5

セルロースの種類	吸着率 (%)
実施例 13 (カルボキシメチルセルロース)	48.1
実施例 14 (カルボキシメチルセルロースカルシウム)	39.3
実施例 15 (コロイダルタイプ結晶セルロース)	29.5
実施例 16 (結晶セルロース)	3.4

表5に見られるようにカルボキシメチルセルロース > カルボキシメチルセルロースカルシウム > コロイダルタイプ結晶セルロース > 結晶セルロースの順で吸着率が高いことが確認された。この結果は、試験例2のトリプシンによるGHRP-2分解遅延の検討結果もGHRP-2の残存率が同様の順であったことから、GHRP-2の水膨潤性セルロース類への吸着率とトリプシンによる分解遅延の間に相関性が見られた。このことは、GHRP-2の分解遅延が、GHRP-2の水膨潤性セルロース類への吸着平衡に伴う立体障害によるものであることが推察された。

#### 試練例6

実施例17のGHRP-2/賦型剤混合物について、pH1, 2, 3, 4, 5, 6.5及び7.2の緩衝液を用いてGHRP-2/賦型剤混合物中のGHRP-2のカルボキシメチルセルロースへの吸着率について検討した。

吸着試験は、以下の方法で行った。

日本薬局方1液(pH1.2)、酢酸アンモニウム(pH3)、酢酸ナトリウム・酢酸緩衝液(pH4、pH5)、リン緩衝液(pH6.6、pH7.2)、各50mlに実施例12で得られたGHRP-2/賦型剤混合物をそれぞれ加え、1時間攪拌した。この懸濁液を0.45 $\mu$ mのメンブレンフィルターでろ過し、ろ液を5mlに水を加えて正確に50mlとし試料溶液とした。別に0.4重量% GHRP-2水溶液2.5又は5.0mlをとり、水で正確に50mlとした。この液5mlをとり、水で正確に50mlとし標準溶液とした。

試料溶液及び標準溶液につき分光光度計を用いて278nmにおける吸光度から試料溶液中のGHRP-2の量を求め、この値から更にカルボキシメチルセルロースへのGHRP-2の吸着率を求めた。結果を表6に示す。

(以下余白)

表 6

GHRP-2 10mg		GHRP-2 20mg	
pH	吸着率 (%)	pH	吸着率 (%)
1.0	1.8	1.0	6.8
3.0	0.3	3.0	5.7
4.0	44.6	4.0	58.9
5.0	32.5	5.0	60.2
6.5	78.8	6.5	90.4
7.2	60.5	7.2	79.7

表6から明らかなようにpH4以上の条件下でGHRP-2のカルボキシメチルセルロースへの吸着が強いことが確認された。このことは、ヒトの十二指腸以降の消化管のpHが通常6.5以上であることから本発明の経口製剤が、消化管でカルボキシメチルセルロースがGHRP-2を吸着し、その立体障害により蛋白質分解酵素による分解を遅延させることが可能と考えられた。

#### 試験例7

試験例6においてGHRP-2は、pH4以上の条件下でカルボキシメチルセルロースに対する吸着率が高くなることが判明した。従って本試験例では、GHRP-2とカルボキシメチルセルロースの適切な混合比をpH6.5におけるGHRP-2のカルボキシメチルセルロースに対する吸着率で検討した。

吸着試験は、以下の方法で行った。

実施例18、19で得られたGHRP-2/賦型剤混合物をリン緩衝液(pH6.5、pH7.2)にそれぞれ加え、1時間攪拌した。この懸濁液を0.45 $\mu$ のメンブレンフィルターでろ過し、ろ液を5mlに水を加えて正確に50mlとし試料溶液とした。別に0.4重量%GHRP-2水溶液2.5又は5.0mlをとり、水で正確に50mlとした。この液5mlをとり、水で正確に50mlとし標準溶液とした。

試料溶液及び標準溶液につき分光光度計を用いて278nmにおける吸光度から試料溶液中のGHRP-2の量を求め、この値から更にカルボキシメチルセル

コースへのGHRP-2の吸着率を求めた。結果を表7に示す。

表 7

GHRP-2 10mg		GHRP-2 20mg	
CMC量 (mg)	吸着率 (%)	CMC量 (mg)	吸着率 (%)
10	0	10	0
20	37.7	20	1.9
30	53.7	30	40.0
40	59.0	40	61.2
50	61.2	50	72.6
60	62.1	60	76.5
70	63.7	70	78.8
90	68.8	90	80.2

CMC：カルボキシメチルセルロース

表7から明らかなように、GHRP-2のカルボキシメチルセルロースへの吸着率は、GHRP-2 10mg又は20mgに対してカルボキシメチルセルロースの量が30mg又は60mg付近（GHRP-2とカルボキシメチルセルロースの配合比 1：3）までは急激に増加し、それ以降は緩やかに増加する傾向が見られた。経口製剤における製造面の容易性も考慮した場合、GHRP-2のカルボキシメチルセルロースの適切な配合比は1：3前後であると考えられる。製造方法が容易である散剤（顆粒剤）などの剤形においては、1：200程度の配合も可能と考えられる。

#### 産業上の利用可能性

本発明の成長ホルモン分泌促進ペプチド含有経口製剤は、化学的安定性が良好である上、経口投与後の受動輸送を活性化させるとともに、タンパク質分解酵素の活性を抑制し、成長ホルモンの分泌を促進するペプチドまたはその塩の吸収性を向上させた成長ホルモン分泌能に優れた経口製剤である。

## 請求の範囲

(1) (A) 成長ホルモンの分泌を促進するペプチドまたはその塩と、(B) 結晶セルロースおよび水膨潤性変性セルロースの中から選ばれる少なくとも1種とを含有することを特徴とする成長ホルモン分泌促進ペプチド含有経口製剤。

(2) (A) 成分のペプチドまたはその塩が、アミノ酸残基またはアミノ酸誘導体残基あるいはその両方を3～10個有するものである請求項1に記載の経口製剤。

(3) (A) 成分のペプチドまたはその塩が、

D-アラニル-3-(ナフタレン-2-イル)-D-アラニル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミド、

L-ヒスチジル-2-メチル-D-トリプトフィル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミド、

L-アラニル-L-ヒスチジル-3-(ナフタレン-2-イル)-D-アラニル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミド、

L-ヒスチジル-D-トリプトフィル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミド、

およびこれらの塩からなる群から選ばれる請求項2に記載の経口製剤。

(4) (A) 成分が、D-アラニル-3-(ナフタレン-2-イル)-D-アラニル-L-アラニル-L-トリプトフィル-D-フェニルアラニル-L-リジンアミド二塩酸塩である請求項3に記載の経口製剤。

(5) (A) 成分と(B)成分の重量比が1:1.5～200である請求項1に記載の経口製剤。

(6) (B) 成分の結晶セルロースが、その粒子表面を水溶性高分子化合物で被覆したものである請求項1に記載の経口製剤。

(7) (B) 成分の水膨潤性変性セルロースが、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、クロスカルボキシメチルセルロースナトリウムおよび低置換度ヒドロキシプロピルセルロースからなる群より選ばれる

少なくとも1種である請求項1に記載の経口製剤。

(8) 低置換度ヒドロキシプロピルセルロースが、ヒドロキシプロポキシ基5～20重量%を含有するものである請求項7に記載の経口製剤。

図 1

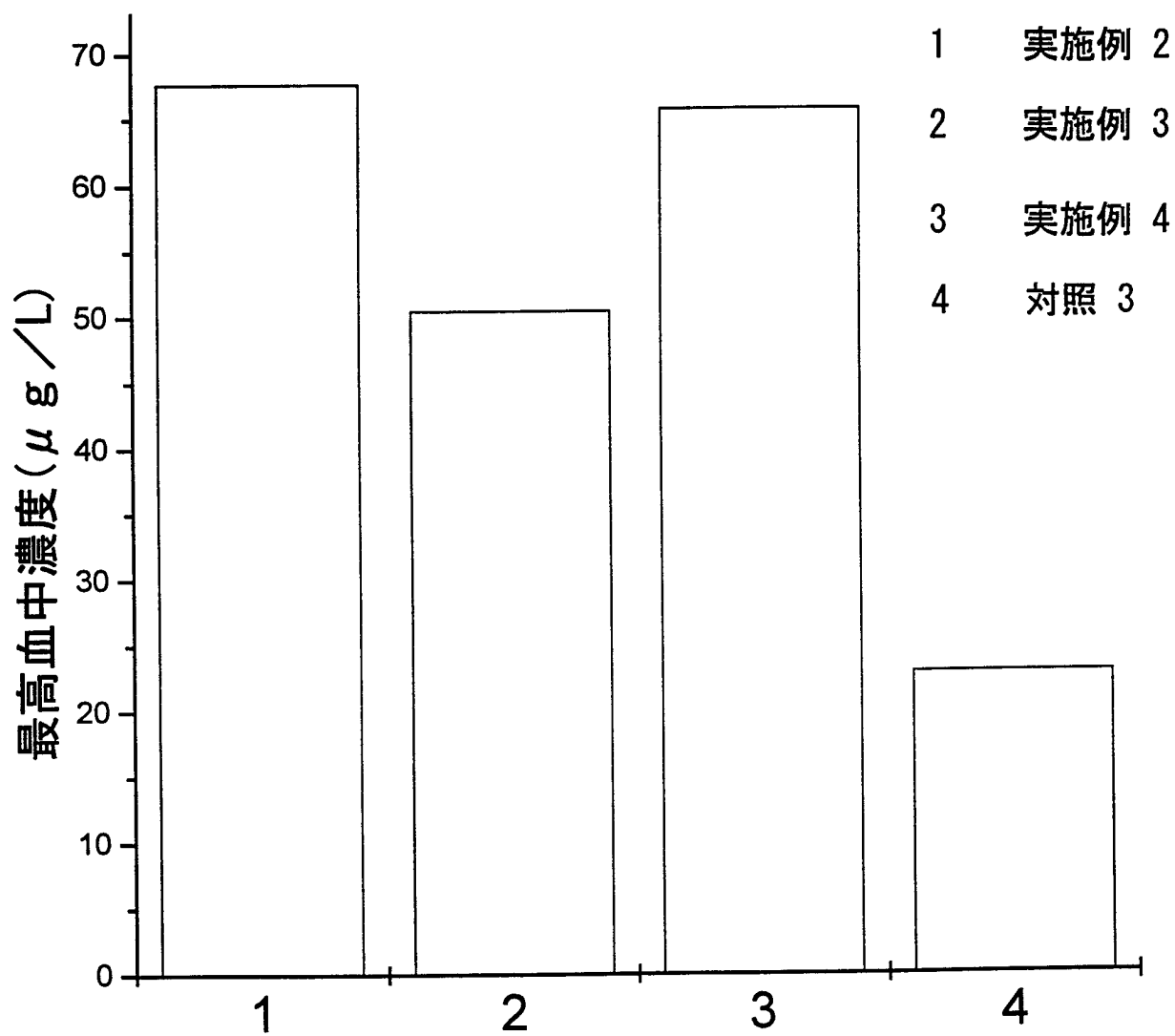
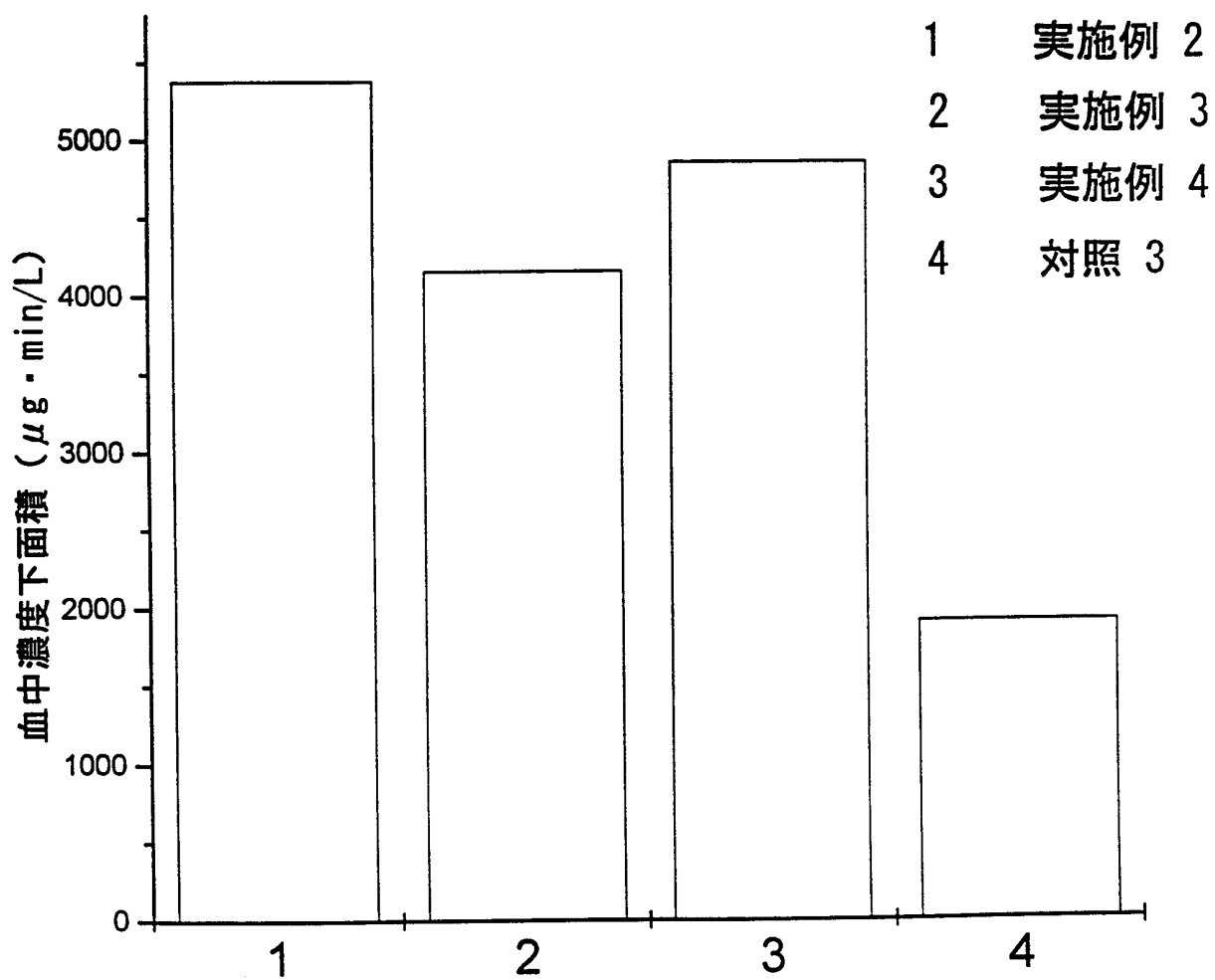




図 2



**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP98/00529

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
Int.Cl.<sup>6</sup> A61K38/27, A61K47/30

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.<sup>6</sup> A61K38/27

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)  
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 7-507039, A (Tulane Medical School), August 3, 1995 (03. 08. 95) & WO, 93/4081, A1 & EP, 605484, A1 & US, 5663146, A	1-8
Y	JP, 5-509105, A (Polygen Holding Corp.), December 16, 1993 (16. 12. 93) & WO, 92/1711, A & EP, 540676, A1 & US, 5486505, A	1-8
Y	WO, 96/10040, A1 (DEGHENGI), April 4, 1996 (04. 04. 96) & EP, 783521, A1	1-8
Y	JP, 1-9938, A (Director General, Agency of Industrial Science and Technology), January 13, 1989 (13. 01. 89) (Family: none)	1-8
Y	US, 5582837, A (Depomed, Inc.), December 10, 1996 (10. 12. 96) (Family: none)	1-8

Further documents are listed in the continuation of Box C.  See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search  
May 1, 1998 (01. 05. 98)

Date of mailing of the international search report  
May 12, 1998 (12. 05. 98)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/JP98/00529

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
EX	JP, 10-45619, A (Kaken Pharmaceutical Co., Ltd.), February 17, 1998 (17. 02. 98) (Family: none)	1-8

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>6</sup> A61K38/27, A61K47/30

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<sup>6</sup> A61K38/27

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)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

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, 7-507039, A (ツレーン メディカル スクール) 3. 8月. 1995 (03. 08. 95) & WO, 93/4081, A1 & EP, 605484, A1 & US, 5663146, A	1-8
Y	JP, 5-509105, A (ポリゲン ホールディング コーポレーション) 16. 12月. 1993 (16. 12. 93) & WO, 92/1711, A & EP, 540676, A1 & US, 5486505, A	1-8
Y	WO, 96/10040, A1 (DEGHENGI) 4. 4	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

01. 05. 98

国際調査報告の発送日

12.05.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

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)

田村 聖子

印

4C 9051

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

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
Y	月. 1996 (04. 04. 96) & EP, 783521, A 1	1-8
Y	JP, 1-9938, A (工業技術院長) 13. 1月. 1989 (13. 01. 89) (ファミリーなし)	1-8
EX	US, 5582837, A (Depomed, Inc.) 10. 12月. 1996 (10. 12. 96) (ファミリーなし)	1-8
	JP, 10-45619, A (科研製薬株式会社) 17. 2月. 1998 (17. 2月. 1998) (ファミリーなし)	1-8