

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3856825号
(P3856825)

(45) 発行日 平成18年12月13日(2006.12.13)

(24) 登録日 平成18年9月22日(2006.9.22)

(51) Int. Cl.		F I
A 6 1 K 38/44	(2006.01)	A 6 1 K 37/50
A 6 1 K 47/42	(2006.01)	A 6 1 K 47/42
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00

請求項の数 5 (全 15 頁)

<p>(21) 出願番号 特願平8-520616 (86) (22) 出願日 平成8年1月12日(1996.1.12) (65) 公表番号 特表平10-511944 (43) 公表日 平成10年11月17日(1998.11.17) (86) 国際出願番号 PCT/FR1996/000055 (87) 国際公開番号 W01996/021462 (87) 国際公開日 平成8年7月18日(1996.7.18) 審査請求日 平成13年8月2日(2001.8.2) (31) 優先権主張番号 95/00309 (32) 優先日 平成7年1月12日(1995.1.12) (33) 優先権主張国 フランス(FR)</p>	<p>(73) 特許権者 フラクタレス バイオテック フランス 78470 サン-レミ シェブルーズ アレ デュ プチ シュバ ンクール 12 (74) 代理人 弁理士 野河 信太郎 (72) 発明者 ポステール エリック フランス エフ-92170 バンヴ、リ ユ アリスティド-ブリアン、35 (72) 発明者 レグノルト コリーヌ フランス エフ-92160 アントニ、 アベニュー ジャン-モネ、63</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 スーパーオキシドジスムターゼ含有医薬組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

スーパーオキシドジスムターゼと、プロラミンおよびプロラミンベースのポリマーフィルムからなる群から選択される少なくとも1つの化合物との組み合わせと、及び任意に1以上の薬理的に受容し得る賦形剤からなることを特徴とする経口投与用の医薬組成物。

【請求項2】

プロラミンが植物起源であり、小麦、ライ麦、大麦、エンバク、米、キビ及びトウモロコシからなる群から選択される種々の穀類から誘導されることを特徴とする、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

プロラミンベースのポリマーフィルムが、好ましくは

- 少なくとも1つの植物起源のプロラミン、
- 炭水化物とエステル類からなる群から選択され、プロラミンとの比が2 : 1 ~ 2 : 0 . 5である、少なくとも1つの可塑剤、及び
- モノオール、ジオール及び水から選択される5 ~ 30%の少なくとも1つの溶媒、からなる疎水性ポリマーからなり、
- それらが、アルコール力値40 ~ 80%の水性アルコール溶媒に溶解した40 ~ 80%の少なくとも1つのプロラミンと、アルコールプロラミン溶液との比が0 . 10 : 1 ~ 0 . 50 : 1である少なくとも1つの可塑剤からなる原料組成物の存在する溶媒の少なくとも一部を、より濃い又は薄い濃度の均一溶液が得られるまで蒸発させて得ることができる

ことを特徴とする、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

結合賦形剤としてリポソームを含むことを特徴とする、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載の組成物。

【請求項 5】

炎症治療用医薬の製造のための、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 つに記載の組成物の使用。

【発明の詳細な説明】

本発明は、良好な生体利用性及び治療効力を確実にするスーパーオキシドジスムターゼ (SOD) の経口投与に特に好適な新規医薬組成物に関する。

マッコードとフリードピーク (J. Biol. Chem., 1969, 244, 6049 - 6055) による 1968 年の特性化決定以来、スーパーオキシドジスムターゼは多くの疾病で研究されている。スーパーオキシドジスムターゼは実際には不均化によりスーパーオキシドラジカル ($\cdot O_2^-$) 除去を促進する酵素であり、このために大気中の酸素から生体内で生成しうるこのラジカルの心身に有害な作用からの保護を供する系を構成する。この結果、この酵素は、細胞や生物が、酸素 (ピラジカル) が不対電子を失っている (還元) 酸素化された大気に暴露され、その結果生じる毒性作用を防ぐのに基本的な役割を果たしている。

フリーラジカルは多くの疾病に関与しているので、治療における SOD の使用が、異なる炎症性作用 (特にリウマチや線維症)、ウイルス性作用 (特に HIV 感染)、及び多量の酸素の存在と関連している毒性症状 (中枢神経系、虚血、非血管性胃腸障害、眼性障害又は抗癌治療の望ましくない効果抑制) で推奨されている (グリーンウォールド R. A., Free Radical Biol. Med., 1990, 8, 201 - 209) 。

試験されている SOD の遊離型は、Cu、Zn - SOD (植物起源又は動物起源: ウシ、ラット又はヒト)、Mn - SOD (ヒト、植物、藻類起源)、Fe - SOD 及び組換え SOD である。

天然 SOD の血漿半減期は、非常に様々である (例えば、Cu、Zn - SOD は数分のオーダー、Mn - SOD は数時間のオーダーである)。

非経口投与のための別の改変型が、これら SOD の血漿半減期を増加させるために提案されている。改変型には、ポリエチレングリコールとの結合 SOD (SOD - PEG)、ヘパリンとの結合 SOD (SOD - ヘパリン)、アルブミンとの結合 SOD (SOD - アルブミン)、SOD ポリマー又は SOD コポリマー及びリポソーム SOD が挙げられる。しかし、これらの種々の SOD は経口投与時に吸収性が非常に低いという大きな欠点を有している。

それ故、出願者は、治療されるべき上述の疾病の大部分に特に価値のある投与形態である経口投与で、SOD の効果的な吸収を可能にし得るガレナス型の開発を計画した。

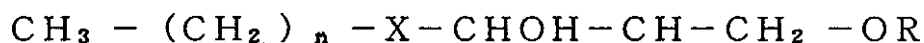
本発明は、本質的にスーパーオキシドジスムターゼと、脂質及びタンパク質からなる群から選択される少なくとも 1 つの化合物との組み合わせと、任意に一以上の薬理的に受容し得る賦形剤からなることを特徴とし、経口投与に特に好適な医薬組成物に関する。

該組成物の 1 つの有利な具体例では、脂質は植物脂質、好ましくはセラミド、リン脂質、チラコイド及びジアシルグリセロールからなる群より選択される。

該組成物の別の有利な具体例では、タンパク質は植物タンパク質、好ましくはプロラミン及びプロラミンベースのポリマーフィルムよりなる群から選択される。

リポソームは組成物と関連し得る好ましい賦形剤として挙げられる。

該組成物の有利な具体例では、セラミド (又は N - アシルスフィンゴシン) は合成、動物又は植物起源、好ましくは植物起源であり、下式;



〔式中、nは5～15、好ましくは12～15であり、

Xは - CH = CH - 又は - CHOH - であり、

Rは水素原子又は糖（グルコース、ガラクトース）であり、かつ、R'はC₃ - C₃₀アルキル基である〕

のスフィンゴシンのN - アシル脂肪酸誘導体である。

前記の植物起源のセラミドは、好ましくは穀類（穀粉）、特に小麦より有利に誘導され、
下式；



〔式中、Rは水素原子又はグルコースであり、かつ

R'は上述の通り〕を有する。

このような（グリコシル化又は非グリコシル化された）植物セラミドは、特にINOCOSM研究所の名において国際特許出願PCT WO 第92/00182号に記載の方法で得ることがきる。

該組成物の別の有利な具体例では、プロラミンは植物起源が好ましく、種々の穀類、特に小麦、ライ麦、大麦、エンバク、米、キビ及びトウモロコシ、好ましくは小麦から得ることができ（グリアジン）、かつ好ましくは小麦粉又は上記穀類の一つである新鮮なグルテンのどちらかから誘導される天然（すなわち、非変性）プロラミンである。

該組成物の更に別の有利な具体例としては、プロラミンベースのポリマーフィルムは、好ましくは

- 少なくとも1つの植物起源のプロラミン、

- 炭水化物、好ましくはポリオール類と、フタル酸エステル、アジピン酸エステル、セバシン酸エステル、リン酸エステル、クエン酸エステル、酒石酸エステル及びリンゴ酸エステルのようなエステル類からなる群から選択され、プロラミンとの比が2 : 1 ~ 2 : 0 . 5である少なくとも1つの可塑剤、

- モノオール、ジオール及び水より選択される5 ~ 30%の少なくとも1つの溶媒を含む疎水性ポリマーからなり、

- アルコール力価（titre）40 ~ 80%の水性アルコール溶媒に溶解した40 ~ 80%の少なくとも1つのプロラミンと、アルコール性プロラミン溶液に対する比が0 . 10 : 1 ~ 0 . 50 : 1、好ましくは0 . 20 : 1 ~ 0 . 23 : 1である少なくとも1つの可塑剤からなる原料組成物の存在する溶媒の少なくとも一部を、より濃い又は薄い濃度の均一溶液が得られるまで蒸発させて得ることができる。

このようなプロラミンベースのポリマーフィルムは、溶媒の蒸発の程度により、ゲル又は柔軟性もしくは脆化性乾燥フィルム、すなわち大なり小なりプラスチックフィルムのいずれかの形態をとることができる。

予期しなかったことであるが、本発明の組成物は、先行技術のSOD組成物で得られる生体利用性と比べて、SODの生体利用性が著しく増加しているのでSODの経口投与に特に適している。

また予期しないことであるが、本反応の組成物、すなわちSOD + プロラミン（好ましくはグリアジン）ベースのポリマーフィルムは、酸性pH（胃の媒質）中でSODを保護し、かつ持続放出型を構成する。

前述の条項に加えて、本発明は、本発明の対象物の生成方法をどのように行うかの実施例

10

20

30

40

50

と以下の添付図を引用する以下の記載から明らかになるであろう他の記載も含む。

図 1 ~ 3 は、SOD の種々の型（遊離型、リポソーム型、本発明のセラミドを有する型）の皮下投与後に得られる赤血球濃度を示す。

図 4 ~ 7 は、SOD の種々の型の経口投与後に得られる赤血球濃度を示す。

図 8 ~ 15 は、ラット足浮腫（paw oedema）（炎症標準）の容量における本発明の組成物の治療結果（経口投与後に生じる抗炎症特性）を SOD 投与量の関数として示す。

図 16 と 17 は、経口投与した SOD の量と抗炎症作用の関係（摂取（gavage）数の関数としての SOD の阻害割合）を表す。足浮腫は、摂取から 4、5 及び 6 時間後に測定した。

図 18 ~ 20 は、顆粒球活性化における SOD の経口投与の阻害作用と、本発明の組成物の生体利用性の有為な増加を表す。

しかしながら、これら実施例は本発明の対象を表すためのものにすぎず、制限を意味しないことは、理解されるべきである。

実施例 1：本発明による組成物：SOD + グリアジンベースのポリマー

1. グリアジンへの SOD の組み込み方法：

* グリアジン + SOD 配合組成物：

n°	名称	量
1	水性アルコール溶媒 (50% v/v エタノール)	18.25 ml
2	ソルビトール	1.575 g
3	グリセロール	0.675 g
4	グリアジン	4.5 g
5	SOD	1 ml*

* 溶液は、4 mg/ml、2 mg/ml、1 mg/ml を含む。

* 製造方法

水性アルコール溶媒を、40 に温度調節した浴中に置いた小さなビーカーに攪拌しながら導入する。次いで、順に化合物 2、3、4 及び 5 を加える。それぞれ添加した後に、化合物が完全に溶解するまで攪拌する。

グリアジン - グリアジン疎水相互作用を減少させ、それによりグリアジンの可溶性を増大させるために、その混合物を加熱し、攪拌する。

グリセロールを加湿剤として用い、ソルビトールを安定化剤ならびに可塑剤として用いる。得られる混合物は、粘性で、褐色がかっている。

2. 1 で得た混合物の配合：

例えば錠剤の形態で本発明の組成物を得るために、得られたペースト状混合物を適当な支持体（テフロン、ポリプロピレン、ガラス又はステンレススチールの支持体）上に広げ、溶媒を 24 かつ相対湿度 60% で約 40 時間、又は 60 かつ相対湿度 2% で約 20 時間、又は 37 のいずれかで蒸発させる。ランプは、フィルムから 20 cm 離して数時間（2 ~ 10 時間）置く。

次に、錠剤を製造するために、得られた乾燥フィルムを切断して粉碎する。

実施例 2 及び 3：

	配合物(w/w)	粒径(nm)	重分散性	SODのカプセル化の割合
実施例 2 (SOD + リポソーム)	DSPC/CHO/ ステアリルアミン/ (14/7/4/0)	234	3	36.2 %
実施例 3 (異なる濃度の SOD+セラミド)	DSPC/CHO/ ステアリルアミン/ PC (14/7/4/1)	244	4	48.2 %
	DSPC/CHO/ ステアリルアミン/PC (14/7/4/4)	258	3	36.5 %
	DSPC/CHO/ ステアリルアミン/PC (14/7/4/7)	241	3	31.9 %
	DSPC/CHO/ ステアリルアミン/PC (14/7/4/14)	269	4	26.6 %

10

この表において、略語 D S P C は、ジステアロイホスファチジルコリンを示し、略語 C H O はコレステロールを示し、略語 P C は植物セラミドを示す。

20

実施例 2 は、先行技術の組成物に対応しており、実施例 3 は大部分がリポソームでカプセル化された本発明の組成物 S O D + セラミドに対応している (D S P C / C H O / ステアリルアミン)。

リポソームは、ヨーロッパ特許出願第 0 2 7 4 9 6 1 号又は同 0 3 4 9 4 2 9 号に記載の方法で得られ、重分散性の欄に示すように良好な均質性を有する。

実施例 4 : S O D ベース組成物の皮下及び経口投与後の薬物動態比較研究

血漿性 S O D のキネティクスは、麻酔にかけたラットで本発明の組成物の形態の遊離型 S O D、リポソーム型 S O D 又は S O D の経口もしくは皮下投与後に分析する。

- 材料 :

30

* 動物 :

用いたラットは、体重 3 0 0 ~ 4 0 0 g で、病原性形質でなく、同じ血液型ではない雄の O F A、スプローク - ドーレイ (Sprague-Dawley) ラットである (IFAA CREDO 品種)。それらは、環境の変化に関連したあらゆるストレスを避けるために、飼育小屋に到着した後 3 週間そのままにし、実験前の 1 6 ~ 1 8 時間に水のみ与えた。

* 用いた装置 :

・ 摂取 (1 投与当たり 1 つ)、皮下注射及び麻酔用の 5 m l の使い捨て目盛り付プラスチックシリンジ

・ 麻酔用 1 m l シリンジ

・ ストレートの胃管カニューレ 8 5 / 1 4 (1 投与当たり 1 つ)

40

・ 麻酔用使い捨て針 2 5 / 0 . 5

・ 無意識のラットの隔離用クリスタライザー (crystallizer)

・ カテーテル用の外科用備品 :

P E 5 0 カテーテル (Becton-Dickinson)

1 方向タップ (tap) の呼吸補助用導管カニューレ (Vygo)

* 麻酔溶液 :

用いた麻酔は、チオペンタールである (Nesdonal (登録商標))。それを 5 0 m g / k g 体重の速度で投与する。

溶液は、使用直前に調製する。

* ヘパリン溶液 :

50

ヘパリンPVP（ポリビニルピロリドン）500mg/ml + 0.9%NaCl中ヘパリン200IU

* 研究に用いた溶液：

・ 経口投与：

0.9%NaCl中牛赤血球SOD（Allerbiodose（登録商標））1 - 2 - 4mg/ml

、
0.9%NaCl（対照）、

本発明による0.9%NaCl中牛赤血球SOD 1 - 2 - 4mg/ml + 植物セラミド1%（Inocosm）、

0.9%NaCl中植物セラミド1%（対照）、

リポソーム牛赤血球SOD 1 - 2 - 4mg/ml、

リポソーム（対照）、

小麦からのグリアジン抽出物（対照）、

本発明による牛赤血球SOD + グリアジン、

・ 皮下投与：

0.9%NaCl中牛赤血球SOD（Allerbiodose）0.5 - 1 - 2mg/ml、

0.9%NaCl（対照）、

本発明による0.9%NaCl中牛赤血球SOD 0.5 - 1 - 2mg/ml + 植物セラミド1%（Inocosm）、

0.9%NaCl中植物セラミド1%（対照）、

リポソーム牛赤血球SOD 0.5 - 1 - 2mg/ml、

リポソーム（対照）、

本発明による牛赤血球SOD + グリアジン

・ 方法：

* 動物の予備処置：

経口投与による胃管：

動物（n = 4）に、0.9%NaCl溶液中に研究される溶液又は懸濁液1ml容量をT0で摂取させる。この摂取は、1mlのシリンジで固定したカニューレを用いて行い、ラットの口腔に導入する。

皮下投与：

研究される溶液又は懸濁液を、動物の後頭部（n = 4）に（0.9%NaCl溶液中）0.3ml容量を注射してT0で投与する。

実験は、各系とも1投与当たり4匹の動物で行い、各実験で対照の群を常に平行して処理する。

* 頸動脈のカテーテル：

動物に摂取（又は皮下注射）させ、チオペンタール（0.1ml / 100g）をゆっくり腹腔内注射して麻酔にかける。

頸動脈にカテーテルができるように、眠った動物を置く。一對の鉏を用いて、注意深く動物の首の皮膚を切断する。

筋肉を鉏子で分離し、頸動脈に自由に接触できるようにする。

頸動脈を離し、次いで心臓の端にクランプし、そこに細い糸でつなぐ。次に、一方向タップを備えた針で固定したカテーテルを（約1.5cm離して）挿入できるように、一對の鉏で頸動脈をわずかに切開する。カテーテルを心臓の端に二本の結紮糸で保持する。次に、連続的にサンプルを採取する時の血液凝固を避けるために、それをヘパリン溶液でヘパリン化する。

次いで、過剰な乾燥を避けるために、NaCl 0.9%溶液の湿布を傷上に置く。

置いた2つのランプで、実験の間中動物をあたためる。

* 血液サンプル：

一方向タップを介してサンプルを6時間のあいだ毎時間ごとに採取する（400μl）。

血液は、ヘパリンエッペンドルフチューブに回収する（20μlのヘパリン1000 IU

10

20

30

40

50

U/ml)。次いで、それを4000rpmで5分間遠心分離する。次に、血漿を捨て、0.9%NaClで置換する。チューブを4000rpmで5分間再遠心分離する。このように、赤血球を連続的に3回洗浄する。

*赤血球アッセイ：SOD活性測定

(各形態の)赤血球SODの酵素活性のアッセイを各対照又は処理サンプルで行う。

赤血球は、試験中のチューブで生じる阻害が、対照のチューブの阻害の約50%となるように、蒸留水(+0.5mlの1%トリトン溶液)で適宜希釈する。

IU SOD/mlで得られる結果は、IU SOD/mgヘモグロビンで示す。ヘモグロビンは、405nmの分光光度計でアッセイする。

- 結果：

皮下投与SODの赤血球のキネティクスの結果を、図1～3に示す。

図1は、遊離型SODで得られる赤血球濃度に対応し、

図2は、リポソーム型SODで得られる赤血球濃度に対応し、

図3は、本発明のSOD+セラミド組成物で得られる結果に対応する。

経口投与SODの赤血球のキネティクスの結果を、図4～7に示す。

図4は、遊離型SODで得られる赤血球濃度に対応し、

図5は、リポソーム型SODで得られる赤血球濃度に対応し、

図6は、本発明のSOD+セラミド組成物で得られる赤血球濃度に対応し、

図7は、本発明のSOD+グリアジン組成物で得られる赤血球濃度に対応する。

表は、示された種々の曲線に対して得られるキネティクスータを示す。

表1

皮下投与後のラットにおける赤血球のキネティクスに対するA

UC

キネティクス曲線	濃度	AUC (IU.h.mg ⁻¹ of Hb)
SOD	0.5 mg/ml	42.36
	1.0 mg/ml	59.02
	2.0 mg/ml	80.88
リポソームSOD(実施例2)	0.5 mg/ml	62.90
	1.0 mg/ml	93.69
	2.0 mg/ml	118.73
SOD+セラミド(実施例3)	0.5 mg/ml	62.28
	1.0 mg/ml	91.86
	2.0 mg/ml	116.75

*投与量：0.3ml

10

20

30

表 2

経口投与後のラットにおける赤血球のキネティクスに対する AUC

キネティクス曲線	濃度 (mg/ml)	AUC (IU·h·mg ⁻¹ of Hb)	F' (相対的な 生体利用率/SC)
SOD	1.0	2.13	0.05
	2.0	7.97	0.13
	4.0	12.09	0.15
リポソームSOD (実施例2)	1.0	9.90	0.16
	2.0	17.24	0.18
	4.0	25.87	0.22
SOD+セラミド (実施例3)	1.0	45.43	0.73
	2.0	52.16	0.56
	4.0	61.01	0.52
SOD+グリアジン (実施例1)	1.0	>20	ND
	2.0	>50	ND
	4.0	>100	ND

* ND = 測定せず

5. 結果:

* 皮下投与:

T_{max} は、SODの4形態に対して約5時間である。

C_{max} は、遊離型でわずかに低く、リポソーム型及びセラミドとの型で同一である。

SOD+グリアジンで得られるC_{max}は、濃度25 μg/mlで6.52、濃度50 μg/mlで7.48、及び濃度100 μg/mlで65.68である。

* 経口投与:

T_{max} は、遊離型SOD及び実施例2と3の組成物に対して約5時間であるが、グリアジンベースの配合物(実施例1)に対するT_{max}は、6時間以上である。

C_{max} は、遊離型で低く、リポソーム型(実施例2)で中間であり、セラミド又はグリアジンとの配合物(実施例3)に対してはより高い。

したがって、SODは経口投与時に高濃度に達し、本発明の組成物を用いるときに、その移動(passage)は非常に好ましい。

実施例5: 経口投与によるスーパーオキシドジスムターゼの抗炎症特性

A. 足浮腫

1) 研究対照:

異なる濃度における、遊離型SODと本発明の組成物の抗炎症作用キネティクスの比較研究

2) 試験される溶液又は懸濁液(実施例4参照):

* 遊離型SOD

* 対照NaCl

* SOD+セラミド(実施例3)

* 対照セラミド

3) 技術:

* SODでの動物の処置

実施例5に記載のように、ラットの口腔に挿入した0.5mlのシリンジ上の固定したカニューレを用いて動物に摂取させる。

一日当たり2回摂取させる(朝及び夕方)。

* 浮腫の誘導:

足の肉趾にカラギーナン1%を0.1ml注射する。

* 足の容量の測定:

測定は、6時間のあいだ毎時間ごとに行う。

図8~15は、ラット足浮腫の容量(炎症標準)における本発明の組成物の治療結果(抗炎症特性)をSOD投与量の関数として表す。 10

図8は、0.5mg/SODkgで得られる結果(摂取2回)に対応し、

図9は、0.5mg/SODkgで得られる結果(摂取4回)に対応し、

図10は、0.5mg/SODkgで得られる結果(摂取6回)に対応し、

図11は、0.5mg/SODkgで得られる結果(摂取8回)に対応し、

図12は、5mg/SODkgで得られる結果(摂取2回)に対応し、

図13は、5mg/SODkgで得られる結果(摂取3回)に対応し、

図14は、5mg/SODkgで得られる結果(摂取4回)に対応し、

図15は、20mg/SODkgで得られる結果(摂取25回)に対応する。

同じ方法の範囲内で、図16と17は、SODの阻害割合を摂取数の関数として表す。 20

図16は、0.5mg/SODkgで得られる阻害割合に対応し、

図17は、0.5mg/SOD+セラミドkgで得られる阻害割合に対応する。

抗炎症作用が遊離型SODの場合の4又は6回の摂取と同一の投与で決定されるとしても、得られる結果から、経口投与による薬理活性の観点でSODのカプセル化の利点が見られる。

SODのカプセル形態は、摂取数に関わらず、抗炎症作用を常に示す。

B. 顆粒球活性の研究

1) 研究対象:

顆粒球活性に関して異なるSOD形態の阻害作用の比較

2) 研究される溶液又は懸濁液:

実施例5Aと同じ溶液又は懸濁液を用いた。 30

3) 技術:

* サンプル:

サンプルは、胸膜炎の3時間後に回収した。

* アッセイ:

- 対照試薬: PBS⁺(0.65ml) + チトクロームC 5mg/ml (0.15ml)

- 対照細胞: PBS⁺(0.65ml) + チトクロームC 5mg/ml (0.15ml) + G 10M/ml (0.2ml)

- 試験: 対照NaCl(第1欄)、SOD(第2欄)、対照セラミド(第3欄)、SOD + セラミド(第4欄)、対照リポソーム(第5欄)、リポソームSOD(第6欄)を有する、PBS⁺(0.45ml) + チトクロームC 5mg/ml (0.15ml) + Z0 40
又はPMA(0.2ml)。

振動させながら、37℃の水浴中で15分間インキュベートし、氷浴中で10分間反応を停止し、2000rpmで5分間遠心分離する。

4) 結果:

図18~20は、得られた結果を表す。

図18は、刺激後の顆粒球によるスーパーオキシドアニオンの産生を示し、

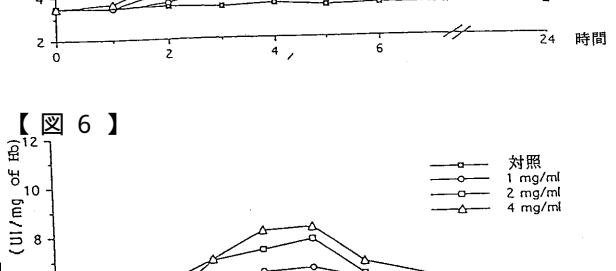
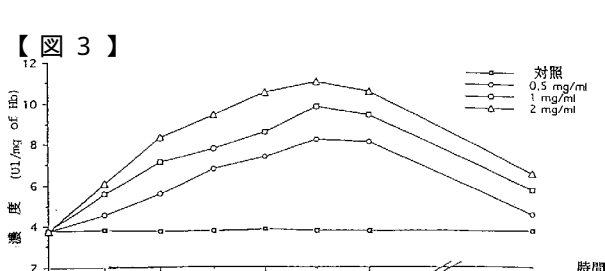
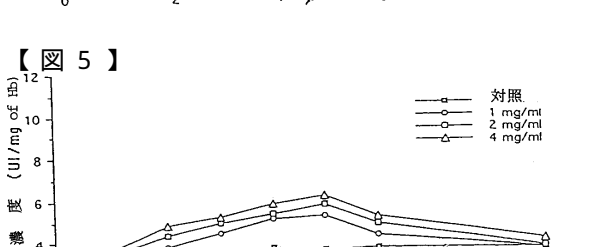
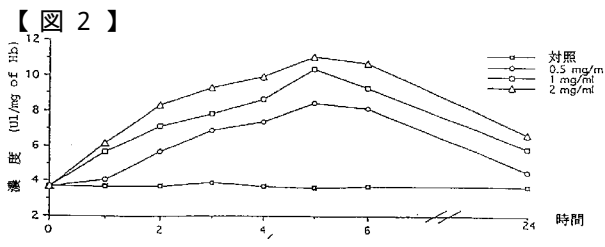
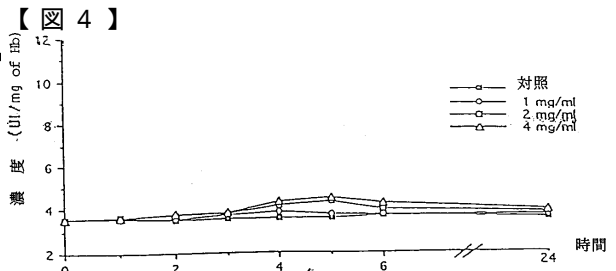
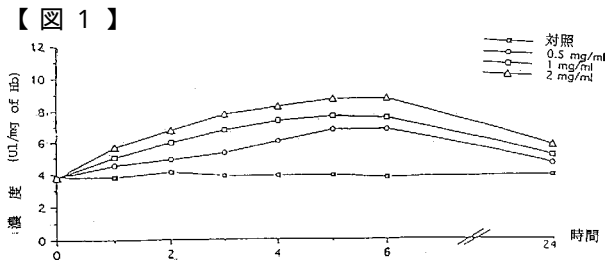
図19は、ザイモサンでの刺激後の顆粒球によるスーパーオキシドアニオンの産生を示し(分光光度計技術)、 50

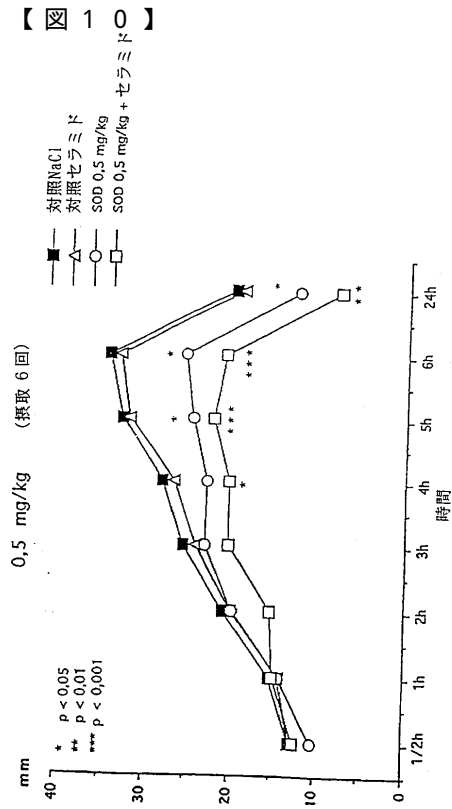
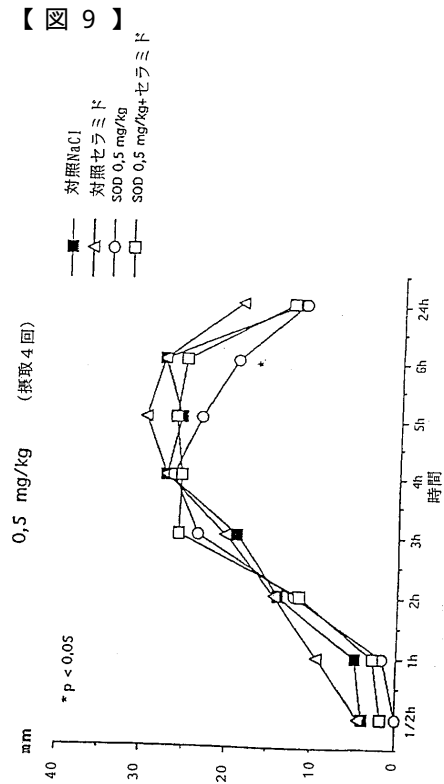
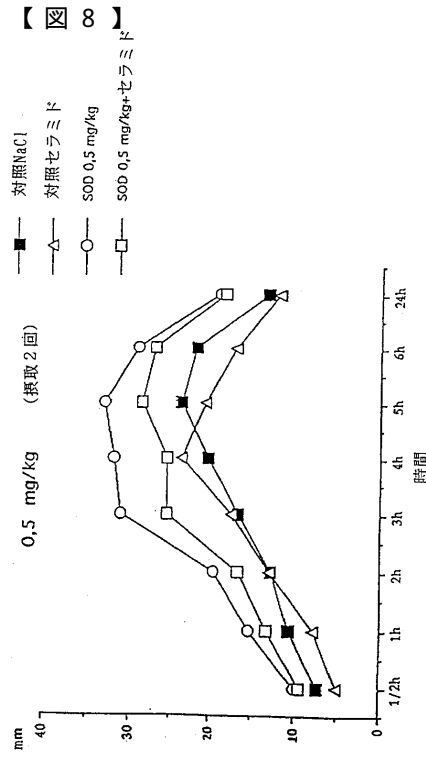
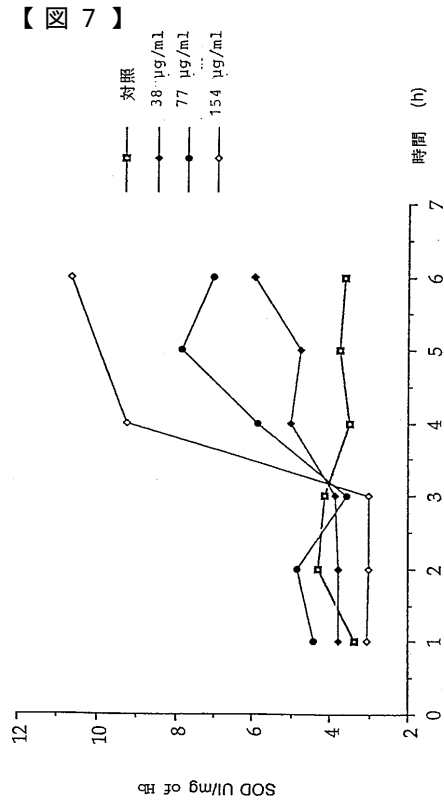
図 20 は、PMAでの刺激後の顆粒球によるスーパーオキシドアニオンの産生を示す（分光光度計技術）。

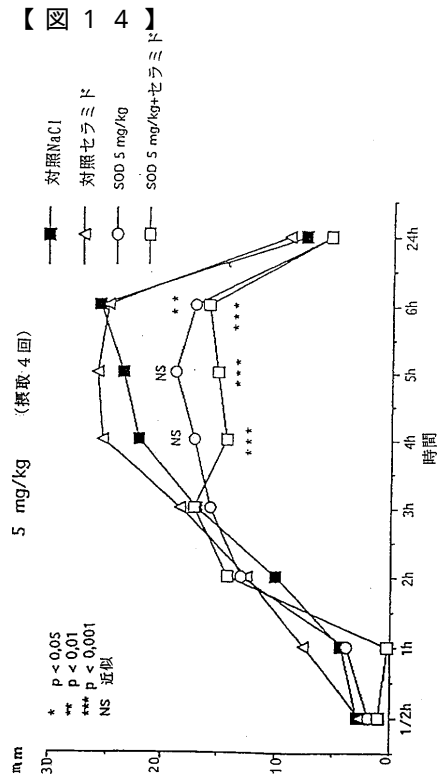
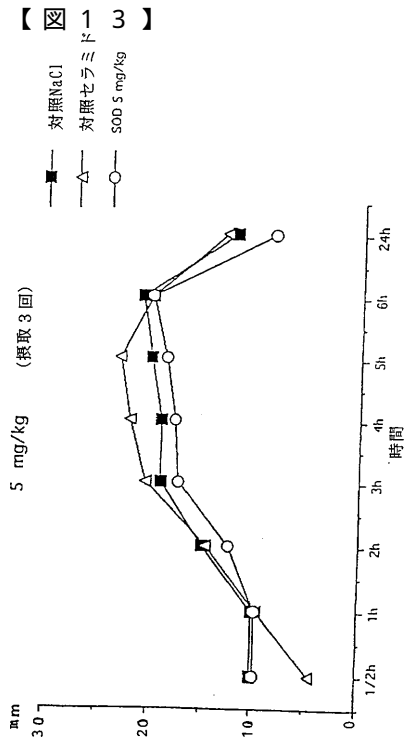
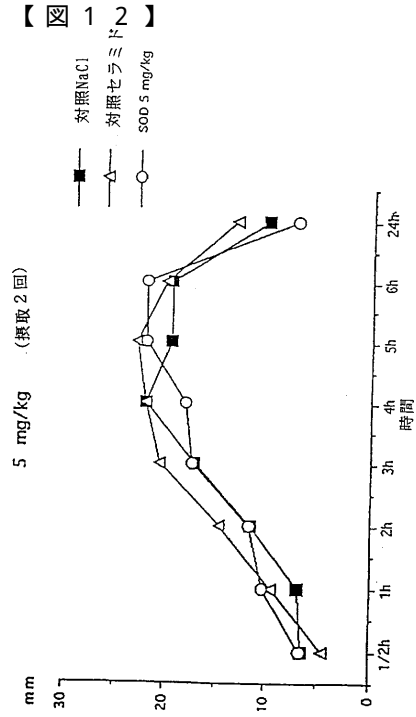
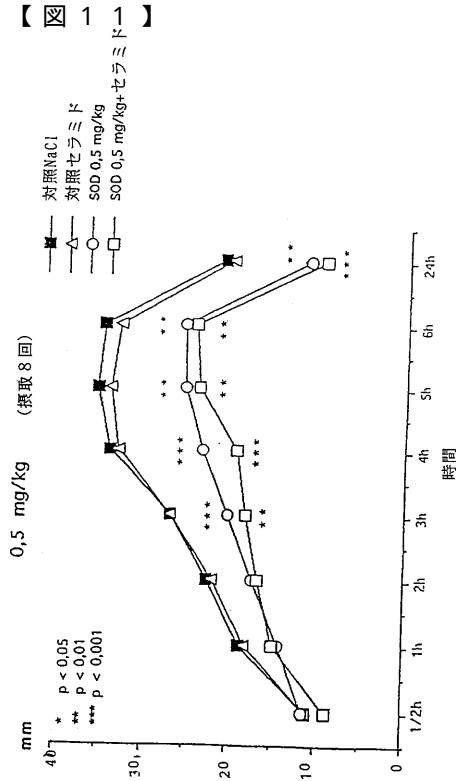
結果は、経口投与による、遊離型SOD（ $P < 0.05$ ）、リポソーム中のカプセルSOD（ $P < 0.07$ ）及びセラミド中のカプセルSOD（ $P < 0.001$ ）の抗炎症性の役割を示している。

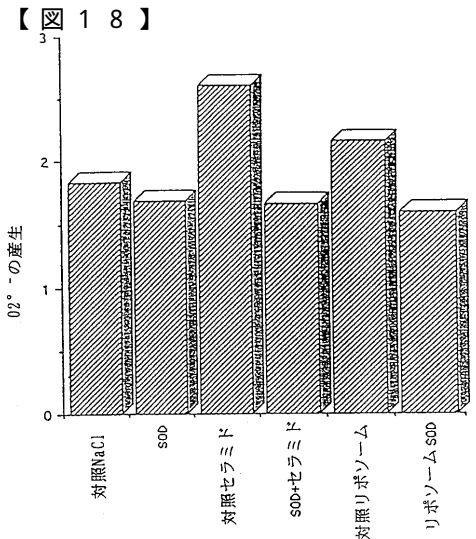
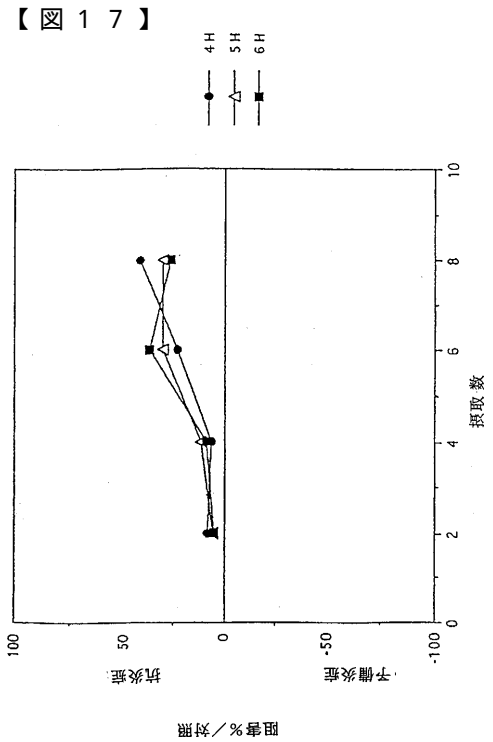
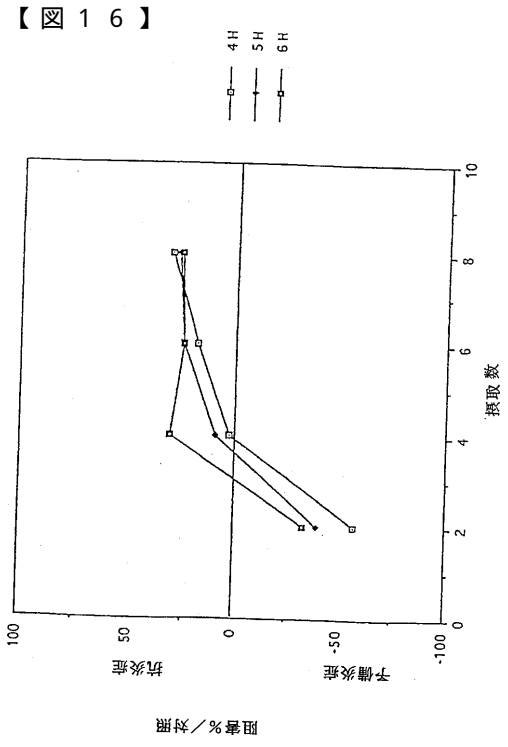
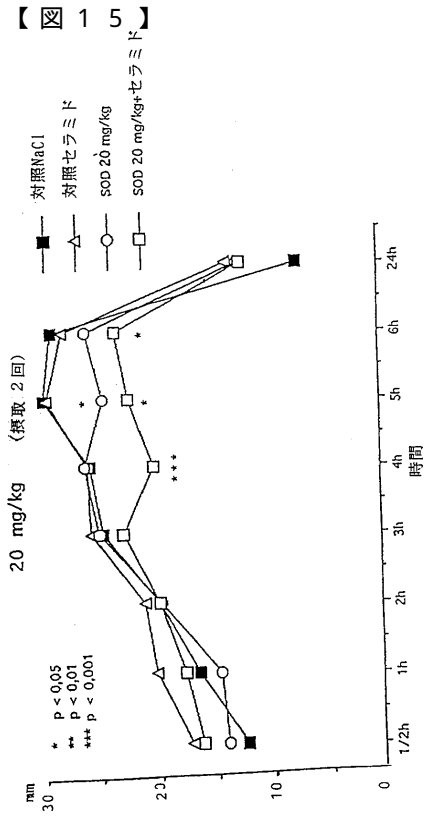
図 17 は、 0.5 mg/kg の投与量において、遊離型SODの抗炎症作用は、4回の摂取から認められることを決定づけているが、図 18 の結果は、セラミド中のカプセルSODは、2回の摂取で抗炎症作用を有していることを決定づけている。

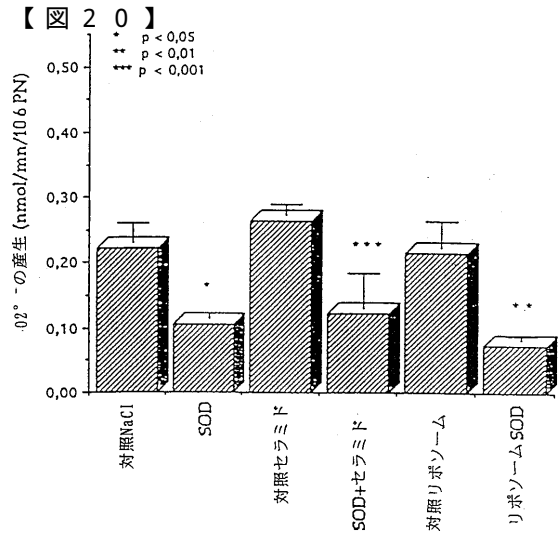
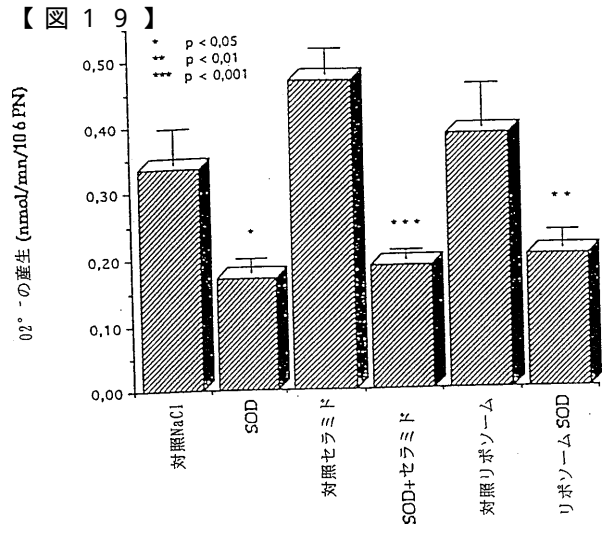
本発明は、上述の記載から明らかになるであろうが、より明確に記載する実施例、具体例及び応用形態のいずれにも制限されない。逆に、本発明は、本発明の構成又は範囲から逸脱せずに、当業者に生じ得るすべてのバリエーションを含むものである。











フロントページの続き

- (72)発明者 ロック - アルヴィエ モニク
フランス エフ - 9 1 1 2 0 パレゾ、リュ シャルル - グノー - 2 2
- (72)発明者 ステラ ヴアレリ
フランス エフ - 7 7 4 1 0 クレイ - スイソー、アレ デ マルグリット、8 0、ル ボワ フ
ルリ
- (72)発明者 ブラク ミシェル
フランス エフ - 9 2 2 7 0 ボワ - コロンブ、ヴィラ - デ - ボワ、1 4
- (72)発明者 ソジエール ジャック
フランス エフ - 7 8 4 7 0 サン - レミーレ - シュブルーズ、リュ ドゥ パリ、8 1

審査官 小堀 麻子

- (56)参考文献 特開平02 - 062829 (JP, A)
WU, P.S. et al, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 1982年, Vol.79, No.18, p.5490-3

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A61K 38/00 - 38/58
A61K 9/00 - 9/72
A61K 47/00 - 47/48
CA(STN)
REGISTRY(STN)