

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4634040号
(P4634040)

(45) 発行日 平成23年2月16日(2011.2.16)

(24) 登録日 平成22年11月26日(2010.11.26)

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 31/685 (2006.01) A 6 1 K 31/685
 A 6 1 K 31/164 (2006.01) A 6 1 K 31/164
 A 6 1 K 31/661 (2006.01) A 6 1 K 31/661
 A 6 1 K 31/353 (2006.01) A 6 1 K 31/353
 A 2 3 L 1/30 (2006.01) A 2 3 L 1/30

Z

請求項の数 6 (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2003-567392 (P2003-567392)
 (86) (22) 出願日 平成15年2月7日(2003.2.7)
 (65) 公表番号 特表2005-525335 (P2005-525335A)
 (43) 公表日 平成17年8月25日(2005.8.25)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2003/001233
 (87) 国際公開番号 W02003/068210
 (87) 国際公開日 平成15年8月21日(2003.8.21)
 審査請求日 平成18年1月20日(2006.1.20)
 (31) 優先権主張番号 M12002A000270
 (32) 優先日 平成14年2月12日(2002.2.12)
 (33) 優先権主張国 イタリア(IT)
 (31) 優先権主張番号 M12002A002512
 (32) 優先日 平成14年11月26日(2002.11.26)
 (33) 優先権主張国 イタリア(IT)

(73) 特許権者 503232410
 ウンザー ディ ピストレージ エルヴィ
 ラ エ チ. エッセ. ア. エッセ.
 HUNZA DI PISTOLESI
 ELVIRA E C. S. A. S.
 イタリア国 イー20148 ミラノ ヴ
 ィア ガヴィラーテ 7
 (74) 代理人 100123788
 弁理士 宮崎 昭夫
 (74) 代理人 100106297
 弁理士 伊藤 克博
 (74) 代理人 100106138
 弁理士 石橋 政幸

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 リン脂質混合物、ホスホビオフラボン複合体及び該ホスホリオフラボン複合体を含む組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

肥満及び体重超過の治療のためのリン脂質混合物であって、リン脂質が下記成分からなることを特徴とするリン脂質混合物：(A) N-アシル-ホスファチジル-エタノールアミン (NAPE)、及び／又は(B) N-アシル-エタノールアミン (NAE) と、ホスファチジン酸 (PA) 及び／又はリゾホスファチジン酸 (LPA)。

【請求項 2】

前記 NAPE が、N-オレオイル-ホスファチジル-エタノールアミン (NOPE) で
ある、請求項 1 記載のリン脂質混合物。

【請求項 3】

医薬、機能食品又は化粧品である、請求項 1 又は 2 記載のリン脂質混合物。

【請求項 4】

緑茶カテキンと、NAPE、NAE+PA 及び NAE+LPA からなる群より選ばれた
リン脂質活性成分とのホスホビオフラボン複合体。

【請求項 5】

請求項 4 記載のホスホビオフラボン複合体を含む肥満及び体重超過の治療のための組成
物。

【請求項 6】

医薬、機能食品又は化粧品である、請求項 5 記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、肥満及び体重超過の治療のためのリン脂質混合物、詳しくは、(A) N-アシル-ホスファチジル-エタノールアミン (NAPE)、及び／又は (B) N-アシル-エタノールアミン (NAE) とホスファチジン酸 (PA) 及び／又はリゾホスファチジン酸 (LPA) を含むリン脂質混合物に関する。

【0002】

また、本発明は、NAPE、NAE+PA又はNAE+LPAと、緑茶カテキン (B.F.) との新規なホスホビオフラボノイド複合体及び該ホスホビオフラボノイド複合体を含む組成物を開示する。

10

【背景技術】

【0003】

N-アシル-エタノールアミン (NAE) 及びN-アシル-ホスファチジル-エタノールアミン (NAPE) は多くの動物や野菜原料の食物中に存在することが知られ (非特許文献1)、特に、大豆、卵、チョコレートのような食品中に豊富に含まれている (非特許文献2、非特許文献3)。

【0004】

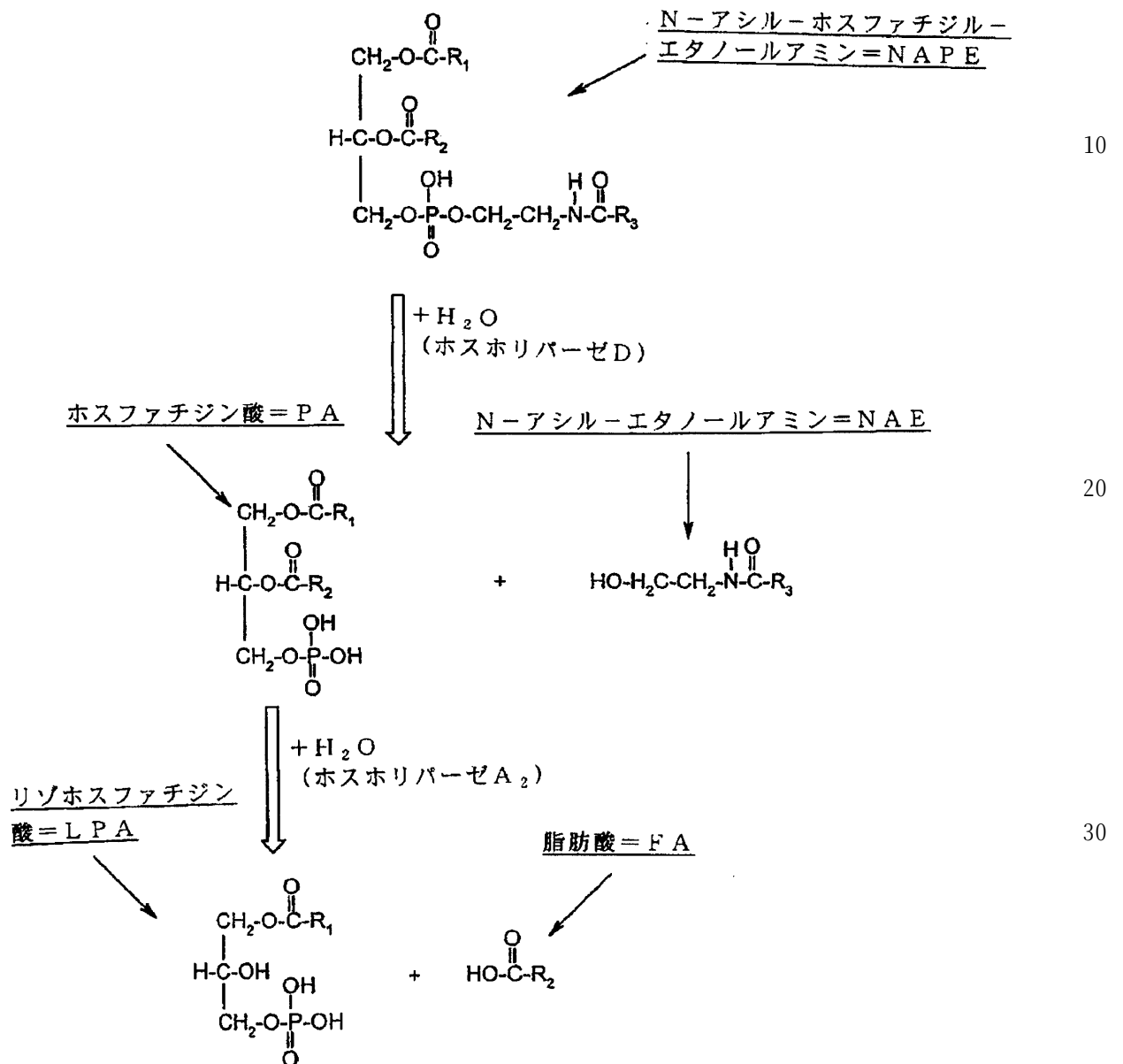
NAE は、生体内でNAPE分子のNAEとホスファチジン酸 (PA) の混合物を与える加水分解によって作られ、PAは、次いで、次のスキーム1によってリゾホスファチジン酸 (LPA) に加水分解される。

20

【0005】

【化 1】

スキーム 1



エタノールアミンは腹膜内の経路によって投与した時ラットにおいて顕著な食欲減退性を持つ（非特許文献7）。NAEは容易にフリーの脂肪酸とエタノールアミンに胃腸内で加水分解されることが知られているので、その活性は経口経路では期待できない。

【特許文献1】英国特許2051069

【特許文献2】ヨーロッパ特許-A-0550006

【非特許文献1】H. H. Schmidら、1990、Prog. Lipid Res.、29、1-43

【非特許文献2】K. D. Chapmanら、1993、Arch. Biochem. Biophys.、301、21-23

【非特許文献3】E. Di Tomasoら、1996、Nature、382、677-687 10

【非特許文献4】L. Hanus、1993、J. Med. Chem.、36、3032-3034

【非特許文献5】L. Facciら、1995、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、92、3376-3380

【非特許文献6】N. M. Gulayara、1998、Chem. Phys. Lipids、97、49-54

【非特許文献7】F. Rodriguez de Fonsecaら、2001、Nature、414、209-212

【発明の開示】 20

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明は、(A) N-アシル-ホスファチジル-エタノールアミン (NAPE)、及び／又は (B) N-アシル-エタノールアミン (NAE) と、ホスファチジン酸 (PA) 及び／又は リゾホスファチジン酸 (LPA) を含有する、肥満及び体重超過の治療のためのリン脂質混合物であり、該組成物は医薬、機能食品又は化粧品であってよい。

【0009】

NAPE、NAE、PA 及び LPA の構造式は スキーム 1 で示され、ここで R_1 、 R_2 及び R_4 は、特に、パルミチン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、共役リノール酸、リノレン酸、 γ -リノレン酸、エイコサペンタエン酸及びドコサヘキサン酸等のような長鎖脂肪酸のアシル残基である。 30

【0010】

リン脂質混合物は、本発明の組成物においては、これらと、ビオフラボノイド（緑茶カテキン）との複合体の形で存在しても良い。今後「ホスホビオフラボン複合体」と呼び、該複合体は本発明のさらなる目的物でもある。

【発明を実施するための最良の形態】

【0011】

レシチン類、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン及びホスファチジルセリンのようなリン脂質と、多くの植物抽出物との複合体が開示されている（US 4963527、US 4895839、EP 283713）。該複合体は、植物抽出物の生物学的利用能を増加すると報告されている。本発明のホスホビオフラボン複合体において、NAPE、NAE + (PA 及び／又は LPA) は、考慮された用途に予期せぬ相乗効果を与え、ビオフラボンの単なる運び屋として働いているものではない。 40

【0012】

リン脂質活性成分 (NAPE、NAE + PA、NAE + LPA) と、一種以上のビオフラボノイドとの集合により構成される、該複合体は、好ましくは 40～65℃で、酸性 pH（好ましくは pH 3～5）に緩衝させた水性アルコール溶液（好ましくはアルコール 70～90％）、好ましくは一種以上のビオフラボノイド類を 0.5～15 質量％で含む水性アルコール溶液中、乾燥リン脂質成分を強撹拌下に数分間懸濁することで得られる。撹拌を中止して、得られたエマルジョンから減圧で部分的にエタノールを蒸発し、スプレイ 50

乾燥によって脱水して、ホスホビオフラボン複合体の乾燥粒状の残渣を製造する。

【0013】

これらのホスホビオフラボン複合体を製造するために使用されるビオフラボノイドの例は以下のである：

- a) 桂皮酸、クマリン酸、カフェイン酸及びフェルラ酸のような単純なポリフェノール類；
- b) ヘスペリジン、ナリンゲニン及びタキシフォリンのようなフラボン類；
- c) ケンブフェロールグリコサイド、ケルセチン、クエルセチングリコサイド、ミリセチン及びミリセチングリコサイドのようなフラボノール類；
- d) ゲニステイン及びダイゼインのようなイソフラボン類；
- e) プロシアニジン B 1、プロシアニジン B 2、プロシアニジン B 3 及びプロシアニジン C 1 のようなプロアンソシアニジン類；
- f) ペラルゴニジン、デルフィニジン、マルビジン及びペツニジンのようなアントシアニジン類；
- g) エピカテキン、エピカテキンガラート、エピガロカテキン、カテキン類及びガロカテキン類のようなカテキン類；
- h) タンニン類。

10

【0014】

上記したように、N A P E、N A E、P A 及び L P A は、人間の食物に通常使用されている多くの食品の脂質成分中に自然に存在し（大豆レシチン、卵類、ココア、肉、種々の種子の油性抽出物等）、及び通常の方法で種々の純度で容易に抽出、分離される。また、N A P E と N A E は以前から知られた化学プロセスによっても得られる。

20

【0015】

N A E はエタノールアミンと対応する脂肪酸から、例えば以下に記載された方法によって製造される：

- ・ R o c E. T. ら、(1952)、J. Am. Chem. Soc.、74、3442
- ・ C h a n d r a k u m a r N. S. ら、(1982)、B i o c h i m. B i o p h y s A c t a、711、357。

【0016】

N A P E はホスファチジルエタノールアミンと対応する脂肪酸塩化物又は無水物から、以下に記載された方法によって製造される：

- ・ S c h m i d P. C. ら、(1988)、J. B i o l. C h e m.、288(6)、9802
- ・ E p p s D. E. ら、(1980)、B i o c h i m. B i o p h y s A c t a、618、420
- ・ イギリス特許 2051069 B。

30

【0017】

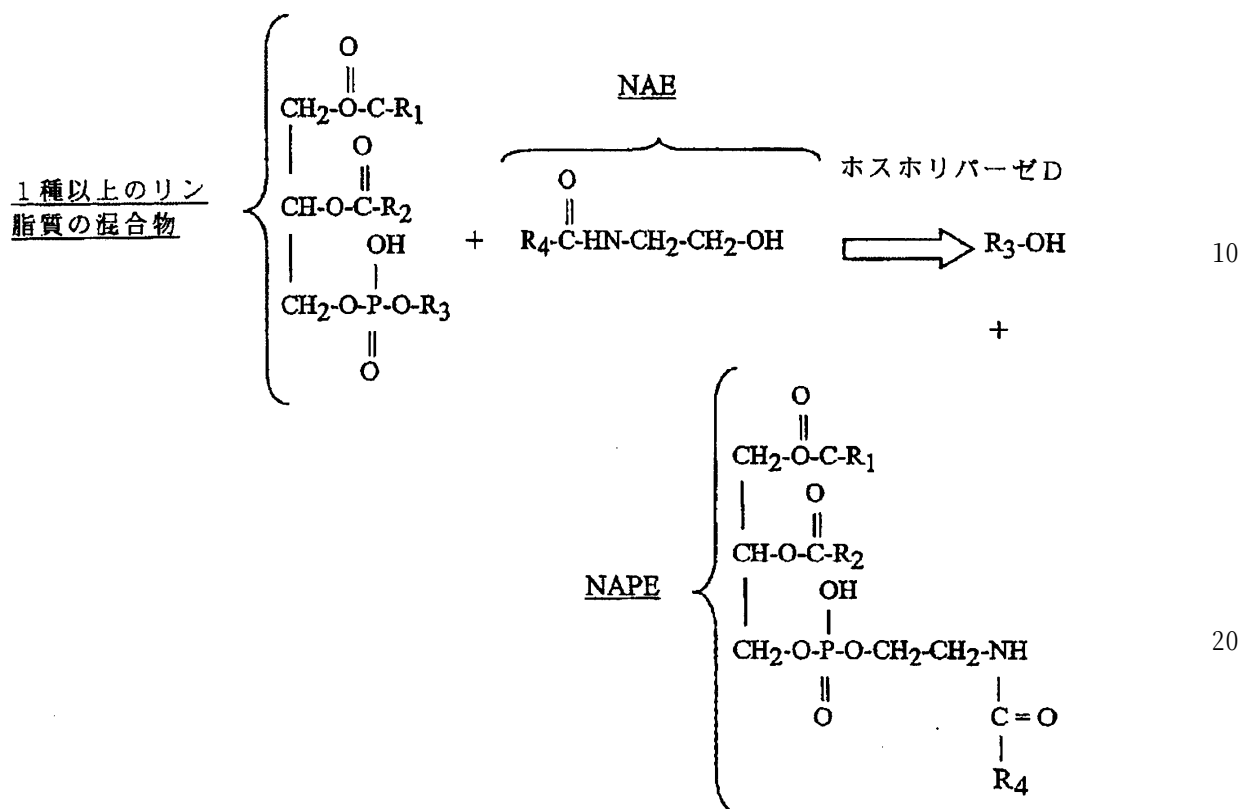
ホスホリパーゼ D 酵素により N A P E を製造する他の方法は U S 4 7 8 3 4 0 2 に記載され、次のスキームで示される：

【0018】

40

【化 2】

スキーム 2



【0019】

ここで、 R_1 、 R_2 及び R_4 は炭素数12-22の飽和、モノ又は多不飽和の脂肪酸のアルキル鎖を表し；

R_3 はコリン、エタノールアミン、イノシトール、グリセロール、セリンの残基を表す。

【0020】

NAPE及び／又はNAE+(PA及び／又はLPA)に基づく製剤では治療上の有効量は変わる：

a) NAPEの場合は、体重1kg当り、0.5～50mg/日、好ましくは1～10mg/日；

b) NAE+(PA及び／又はLPA)の場合は、体重1kg当り、0.5～100mg/日、好ましくは2～10mg/日。このNAE+(PA及び／又はLPA)の混合物の場合、NAEの割合は、混合脂質の合計の1～70%、好ましくは25～50%の間で変える。

【0021】

本発明の組成物はNAPE及び／又はNAE+(PA及び／又はLPA)の治療上の性質と効果をさらに充足する他の栄養成分を含んでもよい。これらの成分の例は以下の通りである：

a) ビタミンE、ビタミンC、β-カロチン類、ビタミンA、リボ酸及びCoQのようなビタミン類とビタミン様要素；

b) モノ及びジテルペン類、サポニン類及びフィトステロール類を基本とする野菜又は薬用植物の抽出物類；

c) グルタチオン、カルノシン、アルギニン、グルタミン、カルニチン、クレアチン、タウリン等のタンパク質類、ペプチド類又はアミノ酸類及びこれらの誘導体類；

d) Ca、Mg、Cr、Se、Va、Zn及びCuのような微量元素類又は無機塩類；

e) NAPE及び／又はNAE+(PA及び／又はLPA)の混合物と組み合わせて種々

のタイプの脂質エマルジョン中生体内で吸収や生物学的利用能を助けることができる、リン脂質類及びリゾホスホリピド類；糖脂質類；両親媒性タンパク質類；モノー及びジグリセライド類；胆汁酸類又はその塩類のような天然両親媒性洗剤混合物。

【0022】

脱水顆粒又は粉末として貯蔵された活性成分は、そのまま、あるいはゼラチンカプセル、錠剤、糖衣錠、小袋、発泡性又は非発泡性カプセル、チューインガム等のような種々の生薬を作るための水性又は油性溶液として使用できる。

【0023】

乾燥顆粒又は粉末の形で、該活性成分は種々の機能食品を作るためにも使用することができる：

- a) 種々のドレッシング類、ソース類、クリーム類、マヨネーズ等を作るために油と混合される；
- b) パン、パスタ、クラッカー、ビスケット及び他の焼いた製品を作るために小麦粉と混合される；
- c) フルーツジュース類及びスカッシュ類、ミネラルウォーター類、ソフトドリンクや他の飲料に添加される；
- d) ミルク及びその誘導体（ヨーグルト、フラン、リコッタ及びチーズ）に添加される。

【0024】

本発明の薬品又は栄養組成物は以下示すような驚くべき活性を与える：

- a) 体重超過の調節と結果としての体重超過や肥満に関連した危険性の低減；
- b) ミトコンドリアの機能と細胞エネルギーの産出の増進；
- c) 種々の組織の酸化防止能の増進；
- d) 細胞膜の「流動性」の向上と結果としての膜タンパク質の機能（酵素、受容体、必須養分や微量成分の運搬体等）の向上。

【0025】

本発明の製剤は、それ故、老化とそれに関連した多くの代謝の障害（肥満及び体重超過；糖尿病；アルツハイマー症、パーキンソン病及び老人性痴呆のような脳退化性障害；ストレス、うつ病；腫瘍；更年期障害；骨粗しょう症；前立腺肥大；皮膚の老化；パニキュロパシー（蜂巣炎）；及び脱毛）を治療する補助剤として、たぶん既知の薬品又は栄養補助剤と組み合わせて、使用できる。

【0026】

本発明は、食欲減退活性を有する薬剤又は老化、肥満及び体重超過；糖尿病；アルツハイマー症、パーキンソン病及び老人性痴呆のような脳退化性障害；ストレス、うつ病；腫瘍；更年期障害；骨粗しょう症；前立腺肥大；皮膚の老化；パニキュロパシー（蜂巣炎）及び脱毛の治療のための薬品又は食品の製造に、

- A) N-アシル-ホスファチジルエタノールアミン (N A P E)、及び／又は、
- B) N-アシル-エタノールアミン (N A E) と、ホスファチジン酸 (P A) 及び／又はリソホスファチジン酸 (L P A) を含むリン脂質混合物を含むリン脂質混合物類を使用することにも関する。

【実施例】

【0027】

発明はより詳細に以下の実施例によって説明される。

【0028】

実施例 1

N-リノレオイル-ホスファチジルエタノールアミン 98 g

+

d-α-トコフェノール 1 g

+

リポ酸 1 g

種々の化合物は 10 倍容量のクロロフォルム：メタノール（2：1、容量／容量）に溶

10

20

30

40

50

解され、混合される。溶媒は減圧で蒸発され、得られる乾燥物は生理的 pH に緩衝されている水溶液に再懸濁され、活性成分（N-リノレオイル-ホスファチジル-エタノールアミン）を含むリン脂質エマルジョンの水性混合物を生成する。水性混合物は凍結され、脱水されて、リン脂質活性成分の乾燥残渣が得られる。

【0029】

実施例 2

N-エイコサペンタエノイル-エタノールアミン	20 g
+	
ホスファチジン酸	60 g
+	
大豆ホスファチジルコリン	80 g
+	
<u>d-α-トコフェノール</u>	1 g
+	
リポ酸	1 g

種々の化合物はクロロフォルム：メタノールに溶解され、実施例 1 に記載されているように処理されて活性成分（N-エイコサペンタエノイル-エタノールアミン及びホスファチジン酸）を含むリン脂質エマルジョンの水性混合物が得られる。水性混合物は凍結され、脱水されて、実施例 1 で記載したようにリン脂質活性成分の乾燥残渣が得られる。

【0030】

実施例 3

N-リノレノイル-エタノールアミン	20 g
+	
リゾホスファチジン酸	40 g
+	
<u>d-α-トコフェノール</u>	1 g
+	
リポ酸	1 g

種々の化合物はクロロフォルム：メタノールに溶解され、実施例 1 に記載されているように処理されて活性成分（N-リノレノイル-エタノールアミンとリゾホスファチジン酸）を含むリン脂質エマルジョンの水性混合物が得られる。水性混合物は凍結され、脱水されて、実施例 1 で記載したようにリン脂質活性成分の乾燥残渣が得られる。

【0031】

実施例 4

N-γ-リノレノイル-ホスファチジル-エタノールアミン	20 g
+	
リゾホスホリピド類混合物（45%リゾホスファチジルコリン+35%リゾホスファチジルエタノールアミン+20%リゾホスファチジレイノシトール）	80 g
+	
d-α-トコフェノール	1 g
+	
リポ酸	1 g

種々の化合物はクロロフォルム：メタノールに溶解され、実施例 1 に記載されているように処理されて活性成分（N-γ-リノレノイル-ホスファチジル-エタノールアミン）を含むリン脂質エマルジョンの水性混合物が得られる。水性混合物は凍結され、脱水されて、実施例 1 で記載したようにリン脂質活性成分の乾燥残渣が得られる。

【0032】

実施例 5

上記実施例 1～4 に記載されたようにして得られた乾燥リン脂質残渣	20 g
+	

油溶液（オリーブ油、大豆油、トウモロコシ油、ヒマワリ油、ルリジサ油、クロフサスグリ油、魚油、海草油、又はこれ等の混合物） 200 g

乾燥リン脂質残渣20 gはゆっくりかつ連続的に攪拌されている油溶液200 gにゆっくり溶解される。乾燥残渣のリン脂質は油溶液中で再構成され、活性成分を含む油分散ミセル組織体が形成される。

【0033】

実施例6

実施例1記載のようにして得られたN-ドコサヘキサノイルホスファチジル-エタノールアミンの乾燥リン脂質残渣100 gが、pHが4.5に緩衝され、5質量%の緑茶カテキンとエピカテキンを含む水性アルコール溶液（75%アルコール）900 mlに45℃で、5分間強攪拌で再懸濁される。得られるエマルジョンはその後室温に冷却され、噴霧乾燥で乾燥され、N-ドコサヘキサノイル-ホスファチジル-エタノールアミンと緑茶カテキンのホスホビオフラボノイド複合体の顆粒状残渣が形成される。

【0034】

実施例7

N-リノレノイル-エタノールアミン50 g及びリゾホスファチジン酸（CLPA）50 gが、pHが4.0に緩衝されている、10質量%のブドウの種から抽出されたカテキン、エピカテキン及びプロアントシアニジンの混合物を含む水性アルコール溶液（85%アルコール）900 mlに強攪拌下60℃で加えられ、10分間でエマルジョン化される。攪拌を止めて、得られたエマルジョンは室温に冷却され、噴霧乾燥で乾燥され、N-リノレノイル-エタノールアミンとブドウ種ビオフラボノイドとのホスホビオフラボノイド複合体の顆粒状残渣が形成される。

【0035】

[薬理及び／又は食事試験]

本発明の組成物の薬理及び／又は食事特性の研究のため、一連のラットへの実験的試験及び人間に対する臨床試験が行なわれた。

【0036】

実験的試験において、ラットには高カロリー、高トリグリセライド、高コレステロール餌が与えられた。次のパラメータは20日間の処理で評価された：

- 1) 血漿、肝臓、脳及び心臓中のリポ過氧化物レベルへの組成物の効果；
- 2) 体重の変化への組成物の効果；
- 3) ゴースト赤血球及び血漿血小板の膜流動性の変化への組成物の効果；
- 4) a) 酸素消費量、b) グルタチオンの減少、c) ミトコンドリア膜電位の測定評価による肝臓のミトコンドリアの機能への組成物の影響；
- 5) 総コレステロールとHDL-コレステロールの血漿レベルへの組成物の効果；
- 6) 総トリグリセライドの血漿レベルへの組成物の効果。

【0037】

各体重150-200 gの雄ラット80匹が用いられた。動物は10匹ずつの8グループに分けられた。

【0038】

第1グループ：対照（C）；10匹の動物（時間0での対照標準）がそのまま用いられ、10匹には、カゼイン20%；微量成分と鉱物塩の混合物3.5%；ビタミン混合物0.1%；酒石酸水素コリン0.2%；セルロース2%；コレステロール0.5%；胆汁酸ナトリウム0.25%；蔗糖58.44%；ラード10.0%及びオリーブオイル4.9%よりなる標準の高カロリー、高脂肪、高コレステロール餌が与えられた。

【0039】

第2グループ：N-オレオイル-エタノールアミンそのままの投与（NOE）；動物には50 mgのNOEに同量のオリーブオイルを取り替えた以外は対照におけると同様の餌（オリーブオイル4.85%使用）が20日間与えられた。

【0040】

第3グループ：実施例1に記載されたようにして作られたN-オレオイル-ホスファチジルエタノールアミンの投与（NOPE）；動物には50mgのNOPEに同量のオリーブオイルを取り替えた以外は対照におけると同様の餌（オリーブオイル4.85%使用）が20日間与えられた。

【0041】

第4グループ：実施例2に記載されたようにして作られたN-オレオイル-エタノールアミン+ホスファチジン酸の投与（NOE+PA）；動物には400mgの実施例2の生成物（約50mgのNEOと150mgのPA含有）に同量のオリーブオイルを取り替えた以外は対照におけると同様の餌（オリーブオイル4.5%使用）が20日間与えられた。

【0042】

第5グループ：実施例3に記載されたようにして作られたN-オレオイル-エタノールアミン+リゾホスファチジン酸の投与（NOE+LPA）；動物には150mgの実施例3の生成物（～50mgのNEOと100mgのLPA含有）に同量のオリーブオイルを取り替えた以外は対照におけると同様の餌（オリーブオイル4.75%使用）が20日間与えられた。

【0043】

第6グループ：実施例6に記載されたようにして作られたN-オレオイル-ホスファチジル-エタノールアミンと緑茶ビオフラボン（B.F.）の“ホスホビオフラボン複合体”の投与（NOPE+B.F.）；動物には50mgのNOPEと25mgのB.F.（約75mgの実施例6記載の生成物に対応）に同量のオリーブオイルを取り替えた以外は対照におけると同様の餌（オリーブオイル4.825%使用）が20日間与えられた。

【0044】

第7グループ：緑茶ビオフラボンの投与（B.F.）；動物には25mgのB.F.に同量のオリーブオイルを取り替えた以外は対照におけると同様の餌（オリーブオイル4.875%使用）が20日間与えられた。

【0045】

【表1】

表I 20日間の餌投与の前後でのラットのゴースト赤血球と血漿血小板の膜流動性の変化割合（時間0における対照値のa%で表現）

	膜流動性 （ゴースト赤血球）	膜流動性 （血漿血小板）
1A) 対照ラット 時間0	100%	100%
1B) 対象ラット20日給餌後	72%	69%
2) 投与ラット（NOE）	72%	70%
3) 投与ラット（NOPE）	84%	81%
4) 投与ラット（NOE+PA）	86%	81%
5) 投与ラット（NOE+LPA）	83%	80%
6) 投与ラット（NOPE+B.F.）	91%	92%
7) 投与ラット（B.F.）	73%	70%

【0046】

10

20

30

40

【表 2】

表 I I 20 日間の餌投与の前後での血漿、肝臓、脳及び心臓におけるリポ過酸化物レベル (マロニルジアルデヒド (MDA) の nmol e 数 (対 g 組織又は対 ml 血漿))

	MDA 血漿	MDA 肝臓	MDA 脳	MDA 心臓
1 A) 対照ラット 時間 0	2.5±0.5	25.5±5.9	55±4	24±5
1 B) 対象ラット 20 日給餌後	5.1±0.6	44.2±8.2	108±6	45±6
2) 投与ラット (NOE)	5.0±0.6	44.1±8.2	106±7	44±9
3) 投与ラット (NOPE)	3.8±0.4	33.1±6.5	85±9	32±7
4) 投与ラット (NOE+PA)	3.7±0.4	31.8±8.2	88±7	34±9
5) 投与ラット (NOE+LPA)	3.0±0.3	33.5±7.8	77±5	34±7
6) 投与ラット (NOPE+B.F.)	2.8±0.3	29.7±6.8	75±4	30±6
7) 投与ラット (B.F.)	5.0±0.5	44.0±7.1	105±7	44±7

【0047】

【表 3】

表 I I I 20 日間の餌投与の前後での体重、血漿中の総コレステロール、HDL コレステロール及びトリグリセライドレベルの変化

	総コレス テロール (mg·dl ⁻¹)	HDL コレ ステロール (mg·dl ⁻¹)	総トリグ ロセリド (mg·dl ⁻¹)	体重 (g m)
1 A) 対照ラット 時間 0	35.6±1.8	26.2±1.4	50.2±7.7	180±12
1 B) 対象ラット 20 日給餌後	126.2±13.5	29.4±1.6	82.5±9.5	224±19
2) 投与ラット (NOE)	120.4±12.7	28.9±2.8	80.5±6.8	221±16
3) 投与ラット (NOPE)	110.3±10.1	31.6±3.9	71.4±8.7	209±18
4) 投与ラット (NOE+PA)	103.9±12.4	29.9±2.0	70.4±10.5	208±14
5) 投与ラット (NOE+LPA)	101.7±8.9	32.1±3.8	68.5±7.9	206±20
6) 投与ラット (NOPE+B.F.)	80±7.5	31.4±3.9	60.2±6.4	191±14
7) 投与ラット (B.F.)	123.5±12.4	29.3±1.5	80.7±7.1	218±17

【0048】

【表 4】

表 I V 時間 0 の対照ラットと 20 日間の餌投与後での肝細胞の酸素消費、ミトコンドリア膜電位と肝細胞のグルタチオン含量の減少の変化

	肝細胞の 酸素消費量 (μ moleO ₂ /min per 10 ⁷ cells)	グルタチオン 減少 (nmole per 10 ⁶ cells)	ミトコンド リア膜電位
1 A) 対照ラット 時間 0	480±60	48±5	100%
1 B) 対象ラット 20 日給餌後	360±45	36±4	68%
2) 投与ラット (NOE)	368±52	36±6	70%
3) 投与ラット (NOPE)	408±62	41±5	81%
4) 投与ラット (NOE+PA)	412±58	43±6	82%
5) 投与ラット (NOE+LPA)	409±63	43±8	83%
6) 投与ラット (NOPE+B.F.)	421±51	45±5	88%
7) 投与ラット (B.F.)	366±41	38±5	71%

【0049】

ゴースト赤血球と血漿血小板の膜流動性が測定されるとき、C a i m i F. ら、1999、Thromb. Hoemost.、82 pp. 149 に記載された方法に従って、TMA-DPH が蛍光プローブとして用いられる。

【0050】

マロニルジアルデヒドは、K. Yagiら、“生物学と医薬における脂肪過酸化物”、Academic Press、New York、99. 324-340に記載された方法によって検定される。

【0051】

肝細胞の酸素消費、ミトコンドリア膜電位及びグルタチオンの含量の減少は、T. M. Hagenら、1999, FASEB J., 13, 99. 411に記載の方法によって検定される。

【0052】

表I、II、III及びIVに示されたデータは、活性成分（NOPE；NOE+PA；NOE+LPA；NOPE+B. F.）を含む組成物の投与が以下であることを示す：

- 1) ゴースト及び血小板の膜流動性を回復する；
- 2) 血漿、肝臓、脳及び心臓の抗酸化性を高める；
- 3) 体重の過剰な増加を制限する；
- 4) 血漿中のコレステロールとトリグリセライドレベルの過剰な上昇を制限する；
- 5) ミトコンドリアの機能を改善する。

【0053】

本発明に従って製造された薬剤（NOPE；NOE+PA；NOE+LPA；NOPE+B. F.）の経口投与によって得られるこれらの効果は、常に統計的に有意である。N-オレオイル-エタノールアミンそのままを同等量経口投与しても統計的に有意な恩恵が得られないことに注目するのは重要である。上記に述べられたデータは、NAPE及び／又はNAE+PAと種々のビオフラボノイド分子間で観察された驚くべき共同作用を示している；NAPEのホスホビオフラボン複合体（表I、II、III及びIVに示されているデータ参照）及びNAE+PA及び／又はLPAの投与により得られる治療効果は、常に同等量のNAPE（又はNAE）及びビオフラボノイドを個別単独の投与で得ることのできる恩恵の和よりも常に遥かに高い。

【0054】

人間に対する全ての食事療法試験において、本発明で請求されている経口的処方（NAPE；NAE+PA；NAE+LPA；NAPE+B. F. 及びNAE+PA及び／又はLPA+B. F.）によって得られる効果は、老化の生物学的な兆候を防ぐこと（ミトコンドリア活性の改善、膜流動性の向上、血漿の抗酸化性の防御の改善、体重増加の抑制）及び老化、及びそれに関係のある代謝疾患に関係して調べられる臨床上のパラメータを改善することの両方において、常に高い顕著な成績と有利さをもたらした。人間においても、N-オレオイル-エタノールアミンだけを同様に経口投与するのでは取るに足らない恩恵しかえられないことは注目すべきである。

10

20

30

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 K 8/55 (2006.01) A 6 1 K 8/55
A 6 1 P 3/04 (2006.01) A 6 1 P 3/04

(72)発明者 ピストレーシ、 エルヴィーラ
イタリア国 イー２０１４８ ミラノ ヴィア ガヴィラーテ ７
(72)発明者 チェスターロ、 ベンヴェヌート
イタリア国 イー２０１４８ ミラノ ヴィア ガヴィラーテ ７

審査官 高橋 樹理

(56)参考文献 英国特許出願公開第０２０５１０６９（GB, A）
特開平０６－２７９４６７（JP, A）
特開昭６３－１９８６９３（JP, A）
特開平０６－３１６５５３（JP, A）
特開平１０－０８４８８０（JP, A）
国際公開第０３／０２２２８８（WO, A１）
特開２０００－２１９８８０（JP, A）
CHAPMAN, K.D. et al., ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY, １９９３年, Vol.301, No.1, p.21-33

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A61K 31/685
A61K 9/00- 9/72
A61K 47/00-47/48
CA/REGISTRY(STN)