

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6923659号
(P6923659)

(45) 発行日 令和3年8月25日(2021.8.25)

(24) 登録日 令和3年8月2日(2021.8.2)

(51) Int.Cl.	F 1
A 6 1 K 31/60	(2006.01)
A 6 1 K 45/00	(2006.01)
A 6 1 P 29/00	(2006.01)
A 6 1 P 37/06	(2006.01)
A 6 1 P 17/00	(2006.01)
	A 6 1 K 31/60
	A 6 1 K 45/00
	A 6 1 P 29/00
	A 6 1 P 37/06
	A 6 1 P 17/00

請求項の数 7 (全 22 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2019-541901 (P2019-541901)
(86) (22) 出願日	平成29年10月16日(2017.10.16)
(65) 公表番号	特表2019-531356 (P2019-531356A)
(43) 公表日	令和1年10月31日(2019.10.31)
(86) 國際出願番号	PCT/IB2017/056417
(87) 國際公開番号	W02018/069907
(87) 國際公開日	平成30年4月19日(2018.4.19)
審査請求日	令和2年9月25日(2020.9.25)
(31) 優先権主張番号	62/408,459
(32) 優先日	平成28年10月14日(2016.10.14)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)
(31) 優先権主張番号	62/570,973
(32) 優先日	平成29年10月11日(2017.10.11)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)

(73) 特許権者 519137981
アンスティテュ パストール デ モンテ
ビデオ
INSTITUT PASTEUR DE
MONTEVIDEO
ウルグアイ国 11400 モンテビデオ
マタオホ 2020

(73) 特許権者 519137992
ユニベルシダ デ ラ レブブリカ
UNIVERSIDAD DE LA R
EPUBLICA
ウルグアイ国 11200 モンテビデオ
アベニーダ 18 デ フリオ 196

8

最終頁に続く

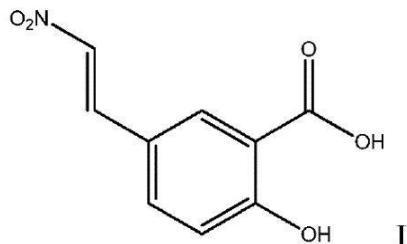
(54) 【発明の名称】多能性抗炎症及び代謝調節剤を用いた炎症関連症状の治療方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

急性及び慢性炎症状態を治療するための医薬組成物の製造における、治療的有効量の式 I の化合物：

【化 1】



10

又はその薬学的に許容される塩の使用。

【請求項 2】

前記医薬組成物は第 2 の治療剤を更に含む、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 3】

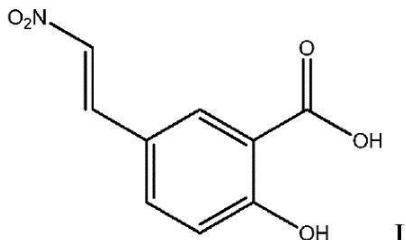
第 2 の治療剤は、抗血小板薬、アンジオテンシンⅡ阻害薬、ACE阻害薬、Ca⁺⁺チャネル遮断薬、インスリン感作薬、HMG-CoAレダクターゼ阻害薬、遮断薬、非ス

20

テロイド系抗炎症薬、ステロイド系抗炎症薬、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体（P P A R）モジュレーター、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項2に記載の使用。

【請求項4】

臓器移植拒絶反応を治療するための医薬組成物の製造における、有効量の式Iの化合物：
【化2】



10

の使用。

【請求項5】

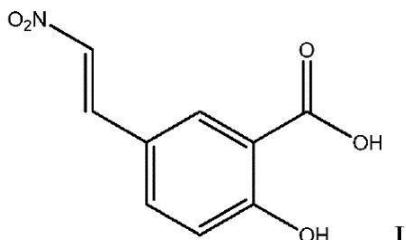
臓器移植が皮膚同種移植である、請求項4に記載の使用。

【請求項6】

臓器移植拒絶反応を治療するための医薬組成物の製造における、有効量の式Iの化合物：

【化3】

20



30

又はその薬学的に許容される塩、及び担体の使用。

【請求項7】

臓器移植が皮膚同種移植である、請求項6に記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本開示は、多能性抗炎症及び代謝調節剤を用いた炎症関連症状の治療方法に関する。

【背景技術】

【0002】

急性及び慢性の炎症は、今日の慢性疾患の全てではないにしても大部分、例えば、心血管疾患、2型糖尿病、慢性腎臓病、アルツハイマー病及び癌の根底にあると考えられる〔非特許文献1〕。しかしながら、非ステロイド系抗炎症薬（N S A I D）やステロイド系抗炎症薬（S A I D）を含む古典的な抗炎症薬は、これらの疾患に対する通常の治療法の一部として適応されていない。一般的な治療法には、抗血小板薬、アンジオテンシンII阻害薬、インスリン感作薬、H M G - C o A レダクターゼ阻害薬、及び遮断薬が含まれる。さらに、古典的なN S A I D及びS A I Dは、心血管疾患、代謝性疾患、神経変性疾患、癌及び慢性腎臓病の治療において、有害作用はないにしても、いかなる有益性も示さなかった〔非特許文献2〕。したがって、本明細書に記載の本発明の実施形態は、今日のほとんどの慢性の非伝染性疾患の根底にある軽度の慢性炎症の抗炎症治療を包含する。

【先行技術文献】

40

50

【非特許文献】

【0003】

【非特許文献1】Manabe, I. "Chronic Inflammation Links Cardiovascular, Metabolic and Renal Diseases," *Circ J.* 75(12): 2739 - 48 (2011)

【非特許文献2】Antman, EM et al. "Use of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update for clinicians: a scientific statement from the American Heart Association," *Circulation* 115(12): 1634 - 42 (2007年3月27日) 10

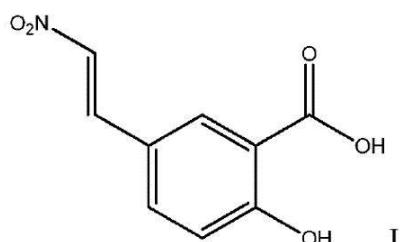
【発明の概要】

【0004】

本発明の範囲内の一実施形態は、治療的有効量の式Iの化合物：

【0005】

【化1】



10

20

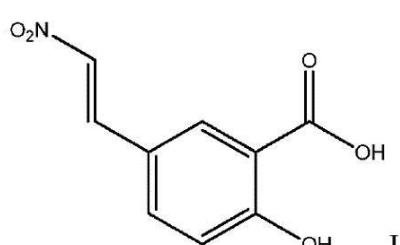
【0006】

又はその薬学的に許容される塩を、それを必要とする対象に投与することを含む、急性及び慢性炎症状態を治療する方法である。

別の実施形態では、本発明は、治療的有効量の式Iの化合物：

【0007】

【化2】



30

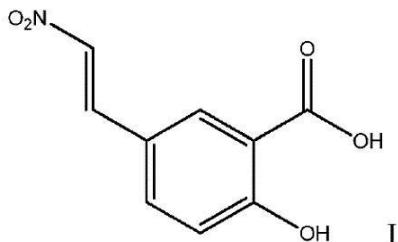
【0008】

又はその薬学的に許容される塩、及び第2の治療剤を、それを必要とする対象に投与することを含む、炎症関連症状を治療する方法である。 40

本発明の範囲内の一実施形態は、治療的有効量の式Iの化合物：

【0009】

【化3】



【0010】

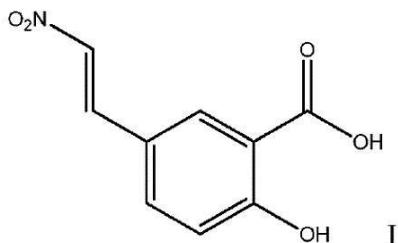
10

又はその薬学的に許容される塩を、それを必要とする対象に投与することを含む、組織同種移植片拒絶反応を治療する方法である。

本発明の範囲内の別の実施形態は、治療的有効量の式Iの化合物：

【0011】

【化4】



20

【0012】

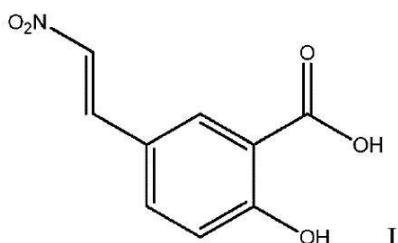
又はその薬学的に許容される塩を、それを必要とする対象に投与することを含む、臓器移植拒絶反応を治療する方法である。

一実施形態において、臓器移植拒絶反応を治療する方法は、治療的有効量の式Iの化合物：

【0013】

【化5】

30



【0014】

40

又はその薬学的に許容される塩を、それを必要とする対象に投与することを含む、皮膚同種移植拒絶反応の治療を含む。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】 - メルカプトエタノール (BME) 及びグルタチオン (GSH) とのSANAの付加物形成を示す。

【図2】SANAとBMEとの間の反応が2次速度定数を有することを示す。

【図3】THP-1マクロファージにおけるLPS誘導性NF-B/p65細胞内局在に対するSANAの効果を示す。

【図4】SANAによるヒトマクロファージにおけるNF-B依存性遺伝子発現の阻害を示す。

50

【図5】S A N Aがサリチル酸よりもこれらの細胞におけるN F - B依存性遺伝子発現のより強力な阻害剤であることを示す。

【図6】第2相酵素N r f 2 / K e a p 1依存性遺伝子発現がS A N Aにより誘導され、サリチル酸では誘導されないことを示す。

【図7】第2相酵素N r f 2 / K e a p 1依存性遺伝子発現がS A N Aにより誘導され、サリチル酸では誘導されないことを示す。

【図8】マクロファージに分化したT H P - 1細胞(P M A 2 0 0 n M、4 8時間)におけるインフラマソームが、S A N Aにより阻害され、サリチル酸では阻害されないことを示す。

【図9】マクロファージに分化したT H P - 1細胞(P M A 2 0 0 n M、4 8時間)におけるインフラマソームが、S A N Aにより阻害され、サリチル酸では阻害されないことを示す。 10

【図10】in vivoでのA M P K リン酸化に対するS A N Aの効果を示す。

【図11】約1 0 0 m g / k gから約3 0 0 m g / k gの投与量レベルでマウス肝臓中のサリチル酸と比較したS A N Aのp A M P K リン酸化レベルを示す。

【図12】約1 0 0 m g / k gから約4 0 0 m g / k gの投与量レベルでマウス肝臓中のサリチル酸と比較したS A N Aのp A M P K リン酸化レベルを示す。

【図13】S A N Aがin vivoで腹膜へのL P S 誘導性I l - 1 b 分泌を減少させることを示す。

【図14】S A N Aが、H F D 誘発肥満マウスにおいてインスリン抵抗性を逆転させることを示す。 20

【図15】S A N Aが予想外にもG A P D H活性を阻害しないのに対し、ニトロアルケンではそれが一般的に観察されることを示す。

【図16】S A N Aが皮膚同種移植片拒絶反応を対照群よりも良好に治療したことを示す。

【図17】S A N Aが同種移植片拒絶反応をサリチル酸よりも良好に治療したことを示す。

【発明を実施するための形態】

【0 0 1 6】

本発明の組成物及び方法を記載する前に、本発明は記載されている特定の方法、組成物、又は方法論に限定されず、変更され得ることを理解されたい。また、説明に使用されている用語は、特定のバージョン又は実施形態を説明することのみを目的としており、添付の特許請求の範囲によってのみ限定される本発明の範囲を限定することを意図しないことを理解されたい。他に定義されない限り、本明細書中で使用される全ての技術的及び科学的用語は、当業者によって一般的に理解されるのと同じ意味を有する。本明細書に記載のものと類似又は同等の任意の方法及び材料を本発明の実施形態の実施又は試験に使用することができるが、好ましい方法、装置、及び材料を今から説明する。本明細書で言及された全ての刊行物は、それらの全体が参考として援用される。本明細書中のいかなる開示内容も、本発明が先行発明によってそのような開示に先行する権利がないことを認めるものとして解釈されるべきではない。 30

【0 0 1 7】

本明細書及び添付の特許請求の範囲で使用されるとき、単数の表現「1つの」、及び「その」、「前記」は、文脈が明らかにそうでないことを示さない限り、複数を含むことにも留意されたい。つまり、例えば「細胞」は、1つ以上の細胞及び当業者に知られているその同等物にも言及するものとする、などである。

【0 0 1 8】

本明細書で使用されるとき、用語「約」は、それが使用されている数の数値の±5%を意味する。したがって、約50%は45%~55%の範囲内を意味する。

「投与」は、治療と組み合わせて使用される場合、治療薬を対象に直接投与することを意味し、それによって薬剤は標的に積極的に影響を与える。組成物の「投与」は、例えば 50

注射、経口投与、局所投与によって、又は他の公知の技術と組み合わせたこれらの方法によって達成することができる。そのような組み合わせの技術には、加熱、放射線照射、超音波、及び送達剤の使用が含まれる。化合物が1つ以上の他の活性剤（例えば、スタチン類などの他の抗アテローム性動脈硬化剤）と組み合わせて提供される場合、「投与する」及びその活用形はそれぞれ、化合物又は塩と他の薬剤との同時及び順次供給を含むと理解される。

【0019】

「薬学的に許容される」とは、担体、希釈剤、アジュvant、又は賦形剤が製剤の他の成分と親和性であり、かつそのレシピエントに有害であってはならないことを意味する。

本明細書で使用される「組成物」は、特定された成分を特定された量で含む製品、ならびにその特定された成分の特定された量での組み合わせから直接的又は間接的に得られる任意の製品を包含することを意図している。「医薬組成物」に関するそのような用語は、活性成分及び担体を構成する不活性成分を含む製品の他、成分のうち任意の2つ以上の組み合わせ、錯化もしくは凝集から、又は成分のうち1つ以上の解離から、あるいは成分のうち1つ以上の他の種類の反応又は相互作用から、直接又は間接的に得られる任意の製品も包含することを意図している。したがって、本発明の医薬組成物は、本発明の化合物と薬学的に許容される担体とを混合することによって製造される任意の組成物を包含する。

【0020】

本明細書で使用されるとき、用語「薬剤」、「活性剤」、「治療剤」、又は「治療薬」は、患者の望ましくない症状又は疾患の治療、対処、改善、予防又は改善に利用される化合物又は組成物を意味する。さらに、「薬剤」、「活性剤」、「治療剤」、又は「治療薬」という用語は、本発明の化合物のうちの1つ又は複数の組み合わせを包含する。

【0021】

組成物の「治療的有効量」又は「有効量」は、所望の効果を達成するために、すなわち、細胞の活性化、遊走、増殖、細胞機能の変化を阻害、遮断、又は逆転させるために、及び細胞の正常な機能を維持するために計算された所定量である。本明細書に記載の方法によって企図される活性は、必要に応じて医学的治療的処置及び/又は予防的処置の両方を含み、本発明の組成物は、記載される症状のいずれかにおける改善をもたらすために使用され得る。本明細書に記載される組成物は、健康な対象又は症状を示さないが特定の疾患を発症する危険がある個体に投与され得ることもまた企図される。治療的及び/又は予防的効果を得るために本発明に従って投与される化合物の具体的な用量は、もちろん、例えば投与される化合物、投与経路、及び治療される症状を含む、症例を取り巻く特定の状況によって決定される。しかしながら、選択された投与量範囲は、本発明の範囲を限定することを意図していないことが理解されよう。本発明の化合物の治療的有効量は、典型的には、生理学的に許容される賦形剤組成物中で投与されるときに、有効全身濃度又は組織中の局所濃度を達成するのに十分であるような量である。

【0022】

本明細書で使用される「治療する」、「治療された」、又は「治療すること」という用語は、望ましくない生理学的状態、疾患、又は病気を予防又は遅延（軽減）すること、あるいは有益な又は望ましい臨床結果を得ることを目的とする治療的処置及び予防法又は予防手段の両方を指す。本発明の目的に関して、有益な又は望ましい結果は、病状の軽減；症状、疾患、又は病気の程度の軽減；症状、疾患、又は病気の状態の安定化（すなわち悪化しない）；症状、疾患、又は病気の発症の遅延又は進行の遅延；症状、疾患、又は病気の状態の改善；寛解（部分的か全体的かを問わず）、検出可能又は検出不可能か、あるいは症状、疾患、又は病気の増強又は改善を含むが、これに限定されない。治療は、治療を受けない場合に予想される生存期間と比較した生存期間の延長を含む。

【0023】

本明細書で使用される「対象」という用語は、本開示による組成物及び化合物による治療を実施することができる、哺乳動物を含む生物を表す。開示された方法の恩恵を受けることができる哺乳動物種には、類人猿、チンパンジー、オランウータン、ヒト、サル、な

10

20

30

40

50

らびに、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ニワトリ、マウス、ラット、モルモット、及びハムスターなどの他の動物が含まれるが、これらに限定されない。典型的には、対象はヒトである。

【0024】

本明細書で使用される「組織」という用語は、細胞、典型的には特定の種類の細胞と、それらの対象の構造材料の1つを形成する細胞間物質との集合体を表す。本明細書で使用される「臓器」という用語は、特定の機能を果たす一群の組織を表す。例えば、皮膚は、本明細書に具現化された臓器の一種である。

【0025】

投与及び組成物

10

化合物及びその薬学的に許容される塩は、活性剤とその剤を作用させる部位との接触を生じさせる手段によって投与することができる。それらは、医薬と共に使用するのに利用可能な従来の手段により、1日当たり $0.001\sim1000\text{mg/kg}$ 哺乳動物（例えばヒト）体重の用量範囲で単回投与又は分割投与することができる。1つの用量範囲は、単回投与又は分割投与で経口的に1日当たり $0.01\sim500\text{mg/kg}$ 体重である。投与は、個々の治療剤として又は治療剤の組み合わせで送達することができる。それらは単独で投与することができるが、典型的には選択された投与経路及び標準的な薬学的実践に基づいて選択された薬学的に許容される賦形剤と共に投与される。

【0026】

化合物は1つ又は複数の方法で投与することができる。例えば、以下の経路を利用することができる：経口、非経口（皮下注射、静脈内、筋肉内、胸骨内注射又は点滴技術を含む）、吸入、口腔内、舌下又は直腸内により、有効量の化合物と、任意選択で1つ以上の薬学的に許容される賦形剤、例えば安定化剤、抗酸化剤、滑沢剤、增量剤、充填剤、担体、アジュバント、ビヒクリ、希釈剤、及び標準的な薬学的実践に基づいて容易に分かる他の賦形剤とを含む医薬組成物の単位用量の形態で。

20

【0027】

経口投与に適した液体製剤（例えば、懸濁液、シロップ、エリキシル剤及び他の類似の液体）には、水、グリコール、油、アルコールなどの媒体を使用することができる。経口投与に適した固体製剤（例えば、散剤、丸剤、カプセル剤及び錠剤）には、デンプン、糖、カオリン、滑沢剤、結合剤、崩壊剤、抗酸化剤などの固体賦形剤を使用することができる。

30

【0028】

非経口組成物は、典型的には、担体として滅菌水を使用し、任意選択で溶解助剤などの他の成分を使用する。注射用溶液は、例えば、食塩水、グルコース溶液、又は食塩水とグルコースの混合物を含む溶液を含む担体を用いて調製することができる。医薬組成物を調製する際の使用に適した方法についてのさらなる指針は、Remington: The Science and Practice of Pharmacy、第21版（Lippincott Williams & Wilkins、2006）に提供されている。

【0029】

治療用化合物は、単回投与又は分割投与で1日当たり約 $0.001\sim1000\text{mg/kg}$ 哺乳動物（例えばヒト）体重の用量範囲で経口投与することができる。1つの用量範囲は、単回投与又は分割投与で経口的に1日当たり約 $0.01\sim500\text{mg/kg}$ 体重である。経口投与のためには、組成物は、治療される患者への投薬量の対症療法的調整のため、約 $1.0\sim500\text{mg}$ の有効成分、特に約1、5、10、15、20、25、50、75、100、150、200、250、300、400、500、及び 750mg の有効成分を含有する錠剤又はカプセル剤の形態で提供することができる。任意の特定の患者に対する具体的な用量レベル及び投薬頻度は様々であり得、用いられる具体的な化合物の活性、その化合物の代謝安定性及び作用の持続性、年齢、体重、全体的な健康、性別、食事、投与方法及び投与時間、排泄率、薬物の組み合わせ、特定の症状の重症度、及び治療を受けている主体を含む様々な要因に依存し得る。具体的な用量レベル及び頻度に影響を及

40

50

ぼす要因を考慮して、用量頻度は、毎日の複数回の投与から毎月の投与までの範囲であり得ると考えられる。好ましい投与頻度は、1日2回から2週間ごとの範囲である。より好ましい投与頻度は、1日に2回から毎週の範囲である。最も好ましい投与頻度は、1日に2回から週に2回の範囲である。

【0030】

種々の実施形態の方法において、活性剤を含む医薬組成物は対象に「有効量」で投与することができる。有効量は、患者に有益な効果をもたらす任意の量であり得、特定の実施形態において、有効量は、1) 対象が、病状の診断、特定、及び治療などのために投与された薬剤に関連する1つ以上の副作用を経験することを防止し得る量、2) 医学的治療の結果として対象が経験する副作用を減少させる、又はそのような治療から生じることが知られている副作用を減少させる量、及び/又は、3) 活性剤の投与前に対象が経験している治療から生じる副作用を排除する量、又はそのような治療から生じることが知られている副作用を排除する量であり得る。有効量はさらに、患者に有益な効果をもたらす任意の量であり得、特定の実施形態において、有効量は、1) 組織同種移植片の拒絶反応を防止又は低減する量、及び/又は、2) 移植臓器の拒絶反応を防止又は低減する量であり得る。

【0031】

本発明の化合物及び適切な担体を含有する医薬製剤は、有効量の本発明の活性剤を含む固体、溶液、粉末、液体エマルジョン、液体懸濁液、半固体、及び乾燥粉末を含むがこれらに限定されない様々な形態であり得る。当分野ではまた、活性成分がそのような製剤に、薬学的に許容される希釈剤、充填剤、崩壊剤、結合剤、潤滑剤、界面活性剤、疎水性ビヒクル、水溶性ビヒクル、乳化剤、緩衝剤、湿潤剤、保湿剤、可溶化剤、酸化防止剤、防腐剤などと共に含まれ得ることも知られている。投与のための手段及び方法は当分野において公知であり、当業者は手引きとして様々な薬理学的参考文献を参照することができる。例えば、Modern Pharmaceutics、Banker & Rhodes、Marcel Dekker, Inc. (1979)；及びGoodman & Gilman's、The Pharmaceutical Basics of Therapeutics、第6版、MacMillan Publishing Co.、ニューヨーク(1980)を参照することができ、これらは共に、全体が参考により本明細書に組み入れられる。

【0032】

本発明の他の実施形態は、カプセル剤、錠剤、丸剤、散剤及び顆粒剤を含む経口投与用の固体剤形として製剤化される、上記のように調製された活性剤を含む。そのような実施形態では、活性化合物は、スクロース、ラクトース、又はデンプンなどの1つ以上の不活性希釈剤と混合することができる。そのような剤形はまた、通常の実施におけるように、不活性希釈剤以外の追加の物質、例えばステアリン酸マグネシウムのような滑沢剤を含んでもよい。カプセル剤、錠剤及び丸剤の場合、剤形は緩衝剤を含んでもよく、さらに腸溶性コーティングを用いて調製することができる。

【0033】

別の例示的な実施形態では、上記のように調製された活性剤の油性調製物を凍結乾燥して固体を形成し、それを1つ以上の薬学的に許容される賦形剤、担体又は希釈剤と混合して錠剤を形成し得る。また別の実施形態では、活性剤を結晶化して固体を形成し、それを薬学的に許容される賦形剤、担体又は希釈剤と組み合わせて錠剤を形成し得る。

【0034】

錠剤化のための手段及び方法は当分野において公知であり、当業者は手引きとして様々な参考文献を参照することができる。例えば、Pharmaceutical Manufacturing Handbook: Production and Processes、Shayne Cox Gad, John Wiley & Sons, Inc.、ニュージャージー州、ホーボーケン(2008)を参照することができ、これは参考によりその全体が本明細書に組み入れられる。

10

20

30

40

50

【0035】

活性剤の経口投与に有用であり得るさらなる実施形態としては、液体剤形が挙げられる。そのような実施形態では、液体調剤は、水などの当分野で一般的に使用される不活性希釈剤を含有する薬学的に許容されるエマルジョン、溶液、懸濁液、シロップ、及びエリキシル剤を含み得る。そのような組成物はまた、湿潤剤、乳化剤及び懸濁剤、ならびに甘味剤、香味剤及び芳香剤などのアジュバントを含み得る。したがって、例えば、化合物は、適切なポリマー材料又は疎水性材料（例えば、許容される油中のエマルジョンとして）又はイオン交換樹脂と共に、又は難溶性誘導体として、例えば難溶性塩として製剤化することができる。他の適切な希釈剤としては、下記のものが挙げられるが、これらに限定されない。

10

【0036】

植物油：本明細書で使用されるとき、用語「植物油」は、少なくとも1つのポリエチレングリコール鎖が植物油に共有結合している、植物油のエトキシル化から形成される化合物又は化合物の混合物を指す。いくつかの実施形態において、脂肪酸は、約12個～約18個の炭素を有し得る。いくつかの実施形態において、エトキシル化の量は、エチレングリコール繰り返し単位の約2～約200、約5～100、約10～約80、約20～約60、又は約12～約18まで変動し得る。植物油は水素化されていてもいなくてもよい。適切な植物油としては、ヒマシ油、硬化ヒマシ油、ゴマ油、コーン油、ピーナッツ油、オリーブ油、ヒマワリ油、ベニバナ油、大豆油、安息香酸ベンジル、ゴマ油、綿実油、及びパーム油が挙げられるが、これらに限定されない。他の適切な植物油としては、Miglyol（商標）810及び812（スウェーデンのDynamit Nobel Chemicalsから入手可能）、Neobee（商標）M5（Drew Chemical Corp.から入手可能）、Alofine（商標）（Jarchem Industriesから入手可能）、Lubritab（商標）シリーズ（JRS Pharmaから入手可能）、Sterotex（商標）（Abitec Corp.から入手可能）、Softisan（商標）154（Sasolから入手可能）、Croduret（商標）（Crodaから入手可能）、Fancol（商標）（Fanning Corp.から入手可能）、Cutina（商標）HR（Cognisから入手可能）、Simulso1（商標）（CJ Petrowから入手可能）、Emcon（商標）CO（Amisol Co.から入手可能）、Lipvol（商標）CO、SES、及びHS-K（Lipoから入手可能）、及びSterotex（商標）HM（Abitec Corp.から入手可能）などの市販の合成油が挙げられるが、これらに限定されない。ゴマ油、ヒマシ油、トウモロコシ油、及び綿実油を含む他の適切な植物油としては、参照により本明細書にその全体が組み入れられる、R.C.Rowe及びP.J.Shesky、Handbook of Pharmaceutical Excipients, (2006)、第5版に挙げられているものがある。適切なポリエトキシル化植物油としては、Crema-phor（商標）EL又はRHシリーズ（BASFから入手可能）、Emulphor（商標）EL-719（Stepan製品から入手可能）、及びEmulphor（商標）EL-620P（GAFから入手可能）が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【0037】

鉱油：本明細書で使用されるとき、用語「鉱油」は、未精製及び精製（軽質）鉱油の両方を指す。適切な鉱油は、Avatech（商標）グレード（Avatar Corp.から入手可能）、Drakeol（商標）グレード（Penrecoから入手可能）、Sirius（商標）グレード（Shellから入手可能）、及びCitation（商標）グレード（Avatarから入手可能）を含むが、これらに限定されない。

30

【0038】

ヒマシ油：本明細書で使用されるとき、用語「ヒマシ油」は、少なくとも1つのポリエチレングリコール鎖がヒマシ油に共有結合している、ヒマシ油のエトキシル化から形成される化合物を指す。ヒマシ油は、水素化されていてもいなくてもよい。ポリエトキシル化ヒマシ油の同義語には、ポリオキシルヒマシ油、水素化ポリオキシルヒマシ油、リシノー

40

50

ル酸マクロゴールグリセロール、ヒドロキシステアリン酸マクロゴールグリセロール、ポリオキシル35ヒマシ油、及びポリオキシル40硬化ヒマシ油が含まれるが、これらに限定されない。適切なポリエトキシリ化ヒマシ油としては、Nikkol(商標)HCO-30、HC-40、HC-50、及びHC-60(ポリエチレンギリコール-30硬化ヒマシ油、ポリエチレンギリコール-40硬化ヒマシ油、ポリエチレンギリコール-50硬化ヒマシ油、及びポリエチレンギリコール-60硬化ヒマシ油)などのNikkol(商標)HCOシリーズ(Nikkō Chemicals Co. Ltd.から入手可能)、Emulphor(商標)EL-719(Stepan Productsから入手可能なヒマシ油40モル-エトキシレート)、Cremophore(商標)RH40、RH60、及びEL35(それぞれ、ポリエチレンギリコール-40硬化ヒマシ油、ポリエチレンギリコール-60硬化ヒマシ油、及びポリエチレンギリコール-35硬化ヒマシ油)を含むCremophore(商標)シリーズ(BASFから入手可能)、及びEmulgins(商標)RO及びHREシリーズ(Cognis PharmaLineから入手可能)が挙げられるが、これらに限定されない。他の適切なポリオキシエチレンヒマシ油誘導体としては、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる、R.C.Rowe及びP.J.Shesky、Handbook of Pharmaceutical Excipients、(2006)、第5版に挙げられているものが挙げられる。

【0039】

ステロール：本明細書で使用されるとき、用語「ステロール」は、ステロール分子のエトキシリ化から誘導される化合物、又は化合物の混合物を指す。適切なポリエトキシリ化ステロールとしては、PEG-24コレステロールエーテル、Soluulan(商標)C-24(Americanから入手可能)；PEG-30コレスタノール、Nikkol(商標)DHC(Nikkōから入手可能)；フィットステロール、GENEROL(商標)シリーズ(Henkelから入手可能)；PEG-25フィットステロール、Nikkol(商標)BPSH-25(Nikkōから入手可能)；PEG-5大豆ステロール、Nikkol(商標)BPS-5(Nikkōから入手可能)；PEG-10大豆ステロール、Nikkol(商標)BPS-10(Nikkōから入手可能)；PEG-20大豆ステロール、Nikkol(商標)BPS-20(Nikkōから入手可能)；及びPEG-30大豆ステロール、Nikkol(商標)BPS-30(Nikkōから入手可能)が挙げられるが、これらに限定されない。

【0040】

ポリエチレンギリコール：本明細書で使用されるとき、用語「ポリエチレンギリコール」又は「PEG」は、式-O-CH₂-CH₂-のエチレンギリコールモノマー単位を含有するポリマーを指す。適切なポリエチレンギリコールは、ポリマー分子の各末端に遊離のヒドロキシリル基を有していてもよく、又は低級アルキル、例えばメチル基でエーテル化された1つ以上のヒドロキシリル基を有していてもよい。エステル化可能なカルボキシ基を有するポリエチレンギリコールの誘導体も適している。本発明において有用なポリエチレンギリコールは、任意の鎖長又は分子量のポリマーであり得、そして分岐を含み得る。いくつかの実施形態では、ポリエチレンギリコールの平均分子量は約200～約9000である。いくつかの実施形態では、ポリエチレンギリコールの平均分子量は約200～約5000である。いくつかの実施形態では、ポリエチレンギリコールは約200～約900である。いくつかの実施形態では、ポリエチレンギリコールの平均分子量は約400である。適切なポリエチレンギリコールとしては、ポリエチレンギリコール-200、ポリエチレンギリコール-300、ポリエチレンギリコール-400、ポリエチレンギリコール-600、及びポリエチレンギリコール-900が挙げられるが、これらに限定されない。名称中のダッシュに続く数字は、ポリマーの平均分子量を指す。いくつかの実施形態では、ポリエチレンギリコールはポリエチレンギリコール-400である。適切なポリエチレンギリコールとしては、Carbowax(商標)及びCarbowax(商標)Sentryシリーズ(Dowから入手可能)、Lipoxol(商標)シリーズ(Brenntagから入手可能)、Lutrol(商標)シリーズ(BASFから入手可能)、及

10

20

30

40

50

び Pluriol (商標) シリーズ (BASF から入手可能) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0041】

プロピレングリコール脂肪酸エステル：本明細書で使用されるとき、用語「プロピレングリコール脂肪酸エステル」は、プロピレングリコール又はポリプロピレングリコールと脂肪酸との間に形成されるモノエーテル又はジエステル、又はそれらの混合物を指す。プロピレングリコール脂肪族アルコールエーテルを誘導するのに有用な脂肪酸には、本明細書で定義したものが含まれるが、これらに限定されない。いくつかの実施形態では、モノエステル又はジエステルはプロピレングリコールから誘導される。いくつかの実施形態において、モノエステル又はジエステルは、約1～約200のオキシプロピレン単位を有する。いくつかの実施形態では、分子のポリプロピレングリコール部分は約2～約100のオキシプロピレン単位を有する。いくつかの実施形態において、モノエステル又はジエステルは、約4～約50のオキシプロピレン単位を有する。いくつかの実施形態において、モノエステル又はジエステルは、約4～約30のオキシプロピレン単位を有する。適切なプロピレングリコール脂肪酸エステルとしては、プロピレングリコールラウレート：Lauroglycol (商標) FCC 及び 90 (Gattefosse から入手可能)；プロピレングリコールカプリレート：Capryol (商標) PGMC 及び 90 (Gattefossé から入手可能)；及びプロピレングリコールジカプリロカブレート：Labrafac (商標) PG (Gattefossé から入手可能) が挙げられるが、これらに限定されない。10

【0042】

ステアロイルマクロゴールグリセリド：ステアロイルマクロゴールグリセリドは、主にステアリン酸から、又はステアリン酸から誘導される化合物から合成されるポリグリコール化グリセリドを指すが、他の脂肪酸又は他の脂肪酸から誘導される化合物も合成に使用できる。適切なステアロイルマクロゴールグリセリドとしては、Gelucire (商標) 50/13 (Gattefossé から入手可能) が挙げられるが、これに限定されない。20

【0043】

いくつかの実施形態において、希釈剤成分は、マンニトール、ラクトース、スクロース、マルトデキストリン、ソルビトール、キシリトール、粉末セルロース、微結晶セルロース、カルボキシメチルセルロース、カルボキシエチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、メチルヒドロキシエチルセルロース、デンプン、デンブングリコール酸ナトリウム、アルファ化デンプン、リン酸カルシウム、金属炭酸塩、金属酸化物、又は金属アルミノケイ酸塩の1つ以上を含む。30

【0044】

固体及び/又は液体剤形で使用するための例示的な賦形剤又は担体としては、限定されないが、以下が挙げられる。

ソルビトール：適切なソルビトールとしては、Pharm Sorb idex E420 (Cargill から入手可能)、Liponic 70-NC 及び 76-NC (Lipo Chemical から入手可能)、Neosorb (Roquette から入手可能)、Partech SI (Merck から入手可能)、及びSorbo gem (SPI Polyoils から入手可能) が挙げられるが、これらに限定されない。40

【0045】

デンプン、デンブングリコール酸ナトリウム、及びアルファ化デンプンとしては、参照により本明細書にその全体が組み入れられる、R.C.Rowe 及び P.J.Shesky、Handbook of Pharmaceutical Excipients (2006)、第5版に記載されているものが挙げられるが、これらに限定されない。

【0046】

崩壊剤：崩壊剤は、クロスカルメロースナトリウム、カルメロースカルシウム、クロスポビドン、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸カリウム、アルギン酸カルシ50

ウム、イオン交換樹脂、食用酸及び炭酸アルカリ成分に基づく発泡系、粘土、タルク、デンプン、アルファ化デンプン、デンブングリコール酸ナトリウム、セルロースフロック、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ケイ酸カルシウム、金属炭酸塩、重炭酸ナトリウム、クエン酸カルシウム、又はリン酸カルシウムのうちの1つ以上を含み得る。

【0047】

本発明のさらなる実施形態は、例えば、アジュバント、プロテアーゼ阻害剤、もしくは他の親和性のある薬物又は化合物などの他の活性物質と組み合わせて投与される活性剤を含み、このような組合せは、本明細書に記載の方法の所望の効果を達成するために望ましいか、又は有利であると考えられる。 10

【0048】

本発明の他の実施形態は、有効量の活性剤及び1つ以上の薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。他の実施形態は、有効量の活性剤の薬学的に許容される塩を含む医薬組成物を含む。他の実施形態は、有効量の活性剤の薬学的に許容される塩及び薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を含む。

【0049】

さらに他の実施形態では、活性剤を1つ以上の第2の治療剤と組み合わせることができる。第2の治療剤としては、抗血小板薬、アンジオテンシンⅠⅠ阻害薬、ACE阻害薬、Ca⁺⁺チャネル遮断薬、インスリン感作薬、HMG-CoAレダクターゼ阻害薬、遮断薬、非ステロイド系抗炎症薬、ステロイド系抗炎症薬、ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体(PPAR)モジュレーター、及びそれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されない。 20

【0050】

本明細書に記載の多能性抗炎症及び代謝調節剤ならびにそれらの医薬組成物を対象に投与して、多数の急性及び慢性の両方の炎症性及び代謝性症状を治療することができる。いくつかの実施形態において、本明細書に記載の多能性抗炎症及び代謝調節剤ならびにそれらの医薬組成物は、全身性炎症、自己免疫疾患、自己炎症性疾患、動脈狭窄、臓器移植拒絶及び火傷を含む急性症状、ならびに、慢性肺傷害及び呼吸困難、糖尿病、高血圧、肥満、関節炎、神経変性疾患及び種々の皮膚疾患などの慢性症状を治療するために使用され得る。 30

【0051】

しかしながら、他の実施形態では、本明細書に記載の多能性抗炎症及び代謝調節剤ならびにそれらの医薬組成物は、例えば関節炎、狼瘡、ライム病、痛風、敗血症、異常高熱、潰瘍、腸炎、骨粗鬆症、ウイルス性又は細菌性感染症、サイトメガロウイルス、歯周病、糸球体腎炎、サルコイドーシス、肺疾患、肺炎症、肺線維症、喘息、後天性呼吸窮迫症候群、タバコ誘発性肺疾患、肉芽腫形成、肝臓の線維化、移植片対宿主病、術後炎症、血管形成術後の冠動脈及び末梢血管再狭窄、ステント留置術又はバイパス移植術、冠動脈バイパス移植術(CABG)、急性及び慢性白血病、Bリンパ球白血病、新生物疾患、動脈硬化、アテローム性動脈硬化症、心筋炎、乾癥、免疫不全、播種性血管内凝固症候群、全身性硬化症、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症、パーキンソン病、アルツハイマー病、脳脊髄炎、浮腫、炎症性腸疾患、ハイパーIgE症候群、癌転移又は増殖、養子免疫療法、再灌流症候群、放射線熱傷、脱毛などの慢性又は急性炎症を含む症状を有する任意の症状を治療するために使用され得る。 40

【0052】

本明細書に記載の式Iの化合物及びその医薬組成物は、組織同種移植片拒絶反応を治療するために対象に投与することができる。他の実施形態では、本明細書に記載の式Iの化合物及びその医薬組成物は、移植臓器の拒絶反応を防止又は低減するために対象に投与することができる。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の式Iの化合物及びその医薬組成物は、移植組織の生存期間を延ばすために使用され得る。いくつかの実施形態では、本明細書に記載の式Iの化合物及びその医薬組成物は、移植臓器の生存期間を延ばすため 50

に使用され得る。

【0053】

実施例

以下の実施例は、式Iの化合物を調製する詳細な方法を含む。これらの詳細な説明は、本発明の一部をなす上記の一般的合成スキームを例示する役割を果たす。これらの詳細な説明は、例示目的のためにのみ提示されており、本発明の範囲に対する制限として意図されていない。特記しない限り、全ての部は重量によるものであり、温度は摂氏度である。全ての化合物はそれらの帰属構造と一致するNMRスペクトルを示した。

【0054】

実施例1：2-ヒドロキシ-5-(2-ニトロエテニル)安息香酸(SANA)

10

エタノール(16.5mL)中の5-ホルミルサリチル酸(1g、6.02mmol)の溶液に、ニトロメタン(5.5mL、0.10mmol)及び酢酸アンモニウム(1.39g、18.06mmol)を加えた。反応混合物を60で1時間加熱し、室温まで冷まし、冷蔵庫に15分間入れた。形成された橙色の沈殿物を濾別し、水(約250mL)に溶解した。完全に沈殿するまで、溶液を濃HCl(約10滴)で酸性化した。形成された黄色固体を濾別し、真空中で乾燥させた。収量：1.18g(93%)。

【0055】

¹H NMR(アセトン-d₆)：δ = 8.35(d, J = 2.3Hz, 1H)、8.14(d, J = 13.7, 1H)、8.06(dd, J = 8.7, 2.3Hz, 1H)、7.99(d, J = 13.7Hz, 1H)、7.11(d, J = 8.7Hz, 1H)。
¹³C NMR(アセトン-d₆)：δ = 171.09, 164.66, 137.94, 136.51, 135.94, 133.21, 121.95, 118.51, 113.08

20

生物学的活性

記載されている以下の方法は、生物学的活性及び治療的使用を実証するために使用されており、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。

【0056】

in vitro活性

図1に示されるように、リン酸緩衝液100mM、pH7.4中のSANA(100mM)を-B-メルカプトエタノール(BME)(1mM)又はグルタチオン(GSH)(1mM)と共にインキュベートし、反応を分光測定により追跡した(1分間に1回のスキャンで15分まで)。紫外可視スペクトルは、Varian Cary 50 Bioにより得た。スキャンは15分まで毎分行った。

30

【0057】

SANAとBME又はGSHとの間の反応は、360nmの波長で増大した吸収を示した。360nmでのこの増大は、SANAとBME又はGSHとの間の付加物形成を実証する。

【0058】

図2には、SANAとBMEとの間の反応は2次速度定数であると決定されたことが示されている。R×2000ストップトフローナライザー(Applied Photo physics)を用いてストップトフロー速度測定を行った。150μLのNATx0(25μM)と0.54mM、1.09mM、1.64mM、2.18mM、及び2.73mMの濃度のBMEの溶液との混合物。

40

【0059】

反応を260nmでの吸光度を追跡することによってモニタリングし、プロットをOrigin labソフトウェア(バージョン8.0)を用いて単純指数関数的減衰関数に適合させた。各濃度のBMEで観察された疑1次定数を式から抽出し、BMEの濃度に対してプロットした。反応の第二速度定数は曲線の勾配から導かれ、182±6M⁻¹s⁻¹であった。全ての実験は25で3回行った。

【0060】

核因子カッパB(NF- κ B)は、免疫応答及び細胞周期調節に関与する広範囲の遺伝

50

子の誘導性発現を調節する、全ての真核細胞に存在する炎症誘発性転写因子のファミリーを表す。NF-Bの活性化は、NF-Bの核内移行を伴う。したがって、図3は、その抗炎症効果をさらに実証するために、SANAの存在下ではNF-Bの核内移行がないことを示す。具体的には、図3はTHP-1マクロファージにおけるLPS誘導NF-B/p65細胞内局在に対するSANAの効果を示す免疫蛍光及び落射蛍光顕微鏡分析を示す。予想外にも、LPS(1 μg/mL)で活性化する2時間前に0.1 mMの濃度のSANAで処理した細胞は、1 mMのサリチル酸で処理した細胞と同じ効果を示した。このデータは、SANAがサリチル酸よりも著しく強力であることを示している。

【0061】

図4は、SANAによるヒトマクロファージにおけるNF-B依存性遺伝子発現の阻害を示す。THP-1細胞はマクロファージに分化した。次いで細胞をSANA(100及び200 μM)又はサリチル酸(SA: 100及び200 μM)で2時間処理した。次いで細胞をLPSで刺激した(1 mg/mL、3時間)。mRNAを抽出し、対照に対するIL-6、TNF-α及びMCP-1の倍数変化遺伝子発現をqPCRによって定量した。興味深いことに、図4は、同じ濃度で使用した場合、SAはこれらの細胞におけるNF-B依存性遺伝子発現を阻害できなかったことを示す。

【0062】

図5において、マウスRAW264.7マクロファージを、SANA(0、50; 100及び200 μM、2時間)又はSA(1 mM)を用いて/用いずに処理して、マウスマクロファージにおけるNF-kB依存性遺伝子発現の潜在的阻害を調べた。次いで細胞をLPSで刺激した(50 ng/mL、16時間)。上清を集め、IL-6をELISAにより測定した。Bonferroni i ポスト-ホスト(post-host)による一元配置分散分析統計検定を適用した。(∗): LPS-DMSOと比較してp < 0.05。図5は、SANAがSAよりもこれらの細胞におけるNF-kB依存性遺伝子発現のより強力な阻害剤であることを示す。

【0063】

図6及び7は、第2相酵素Nrf2/Keap1依存性遺伝子発現がSANAにより誘導され、SANでは誘導されないことを示す。HepG2細胞をSANA(0.1 mM)又はサリチル酸(0.2及び5 mM)で5時間処理した。mRNAを細胞から抽出し、qPCRによりHO-1、GCLM及びNQO1遺伝子発現を測定した。

【0064】

図8及び9は、第1(図8)又は第2(図9)のシグナルと一緒に適用した場合、マクロファージに分化(PMA 200 nM、48時間)したTHP-1細胞におけるインフラマソームがSANAによって阻害され、SAでは阻害されないことを示す。図8では、細胞をLPS刺激と共にサリチル酸(0.25 mM)又はSANA(0.05; 0.125及び0.25)で処理した。細胞をLPS(250 ng/mL、3時間)、次いでATP(5 mM、45分)で刺激した。上清を集め、IL-1bをELISAにより測定した。細胞生存率をMTTアッセイにより評価した。値は平均±SDとして示されている。

【0065】

図9において、PMA(200 nM、48時間)を用いてTHP-1細胞をマクロファージに分化させた。細胞をLPS(250 ng/mL、3時間)、次いでATP(5 mM、45分)で刺激した。次いで、ATP処理と共に、細胞をNATxME(10 μM)、サリチル酸(0.25 mM)又はSANA(0.05; 0.125及び0.25 mM)で処理した。上清を集め、IL-1b分泌をELISAにより測定した。細胞生存率をMTTアッセイによって評価した。値は平均±SDとして示されている。図8及び9は、SANが第1又は第2のシグナルと共に適用された場合にインフラマソームの強力な阻害剤となるのに対して、SAはこの強力な炎症誘発性細胞経路を阻害できないことを示している。

【0066】

in vivo活性

10

20

30

40

50

図10は、*in vivo*でのAMPKリン酸化に対するSANAの効果を示す。C57BL/6マウスをSANA(200mg/kg、強制経口)又はPBS(Na₂HPO₄ 76mM; NaH₂PO₄ 24mM; NaCl 17mM pH 7.4)で処置した。投与から1時間後、肝臓を摘出し、次いでNETN溶解緩衝液中にホモジナイズした。その後、pAMPKをウエスタンプロットにより検出した。各状態を2匹のマウスで調べた(n=2)。

【0067】

図11において、C57BL/6マウスをSANA又はSA(100、200及び300mg/kg、腹腔内)又はPBS、pH 7.4(Na₂HPO₄ 76mM; NaH₂PO₄ 24mM; NaCl 17mM)で処置した。投与から2時間後、肝臓を摘出し、次いでNETN溶解緩衝液中にホモジナイズした。その後、pAMPKをウエスタンプロットにより検出した。各状態を1匹のマウスで調べた(n=1)。

【0068】

図12では、C57BL/6マウスを腹腔内に最大400mg/kgのSANAで、又はPBS、pH 7.4(Na₂HPO₄ 76mM; NaH₂PO₄ 24mM; NaCl 17mM)で処置した。投与の2時間後、肝臓を摘出し、次いでNETN溶解緩衝液中にホモジナイズした。その後、pAMPKをウエスタンプロットにより検出した。各状態を1匹のマウスで調べた(n=1)。

【0069】

図13は、SANAが*in vivo*で腹膜へのLPS誘導性IL-1b分泌を減少させることを示す。

図14は、SANAが、HFD誘発肥満マウスにおいてインスリン抵抗性を逆転させることを示す。最大7ヵ月までHFDを受けたマウス(平均体重約40g)をSANA(100mg/kg;強制経口)又はリン酸緩衝液(対照)で4週間毎日処置した。耐糖能試験を、周知の標準的な手順に従って行った。

【0070】

図15は、SANAが予想外にもGAPDH活性を阻害しないのに対し、ニトロアルケンではそれが一般的に観察されることを示す。

図16に示されるように、対象にSANAを投与することは、対照群と比較して移植皮膚の生存期間の延長を示した。C57BL/6雌マウスに、C57BL/6雄マウスの尾から皮膚を移植した。皮膚移植片は小さな正方形(1cm²)であり、それは雌マウスの左肩甲骨下部領域に移植された。移植の1日前から15日後まで、マウスをSANA(100mg/kg、強制経口投与による; SANA群)又はビヒクル(対照群)で毎日処置した。使用したビヒクルは、カルボキシメチルセルロース0.5% m/v及びTween(登録商標)80 0.5% v/vの溶液であった。投与15日目の終わりに、同種移植片を48/72時間毎に検査して移植皮膚の状態を評価した。同種移植片がそのサイズの50%以上を失った時、及び/又は同種移植片の10%以上が壊死した時、拒絶反応を臨床的に診断した。

【0071】

図17からの結果は、SANAによる治療がサリチル酸と比較して皮膚同種移植片拒絶反応の有意な減少をもたらしたことを示している。この研究は、図1について上記したプロトコルに従ったが、さらにサリチレート群を含んでいた。C57BL/6雌マウスに、C57BL/6雄マウスの尾から皮膚を移植した。皮膚移植片は小さな正方形(1cm²)であり、それは雌マウスの左肩甲骨下部領域に移植された。移植の1日前から15日後まで、マウスをサリチレート(100mg/kg、強制経口投与; サリチレート群)、SANA(100mg/kg、強制経口投与、SANA群)又はビヒクル(対照群)で毎日処置した。使用したビヒクルは、カルボキシメチルセルロース0.5% m/v及びTween(登録商標)80 0.5% v/vの溶液であった。投与15日目の終わりに、同種移植片を48/72時間毎に検査して移植皮膚の状態を評価した。同種移植片がそのサイズの50%以上を失った時、及び/又は同種移植片の10%以上が壊死した時、拒絶反応

10

20

30

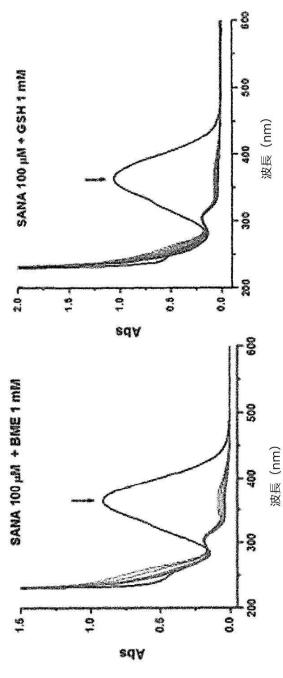
40

50

を臨床的に診断した。

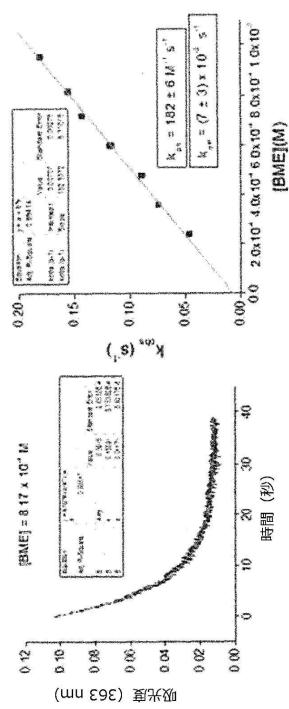
【図1】

SANA求電子反応性



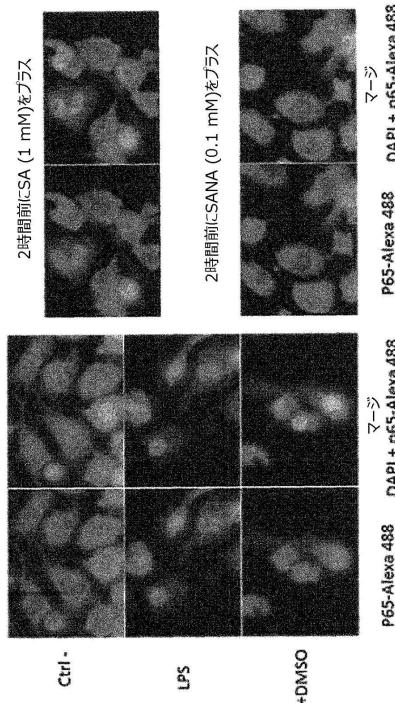
【図2】

SANA求電子反応性



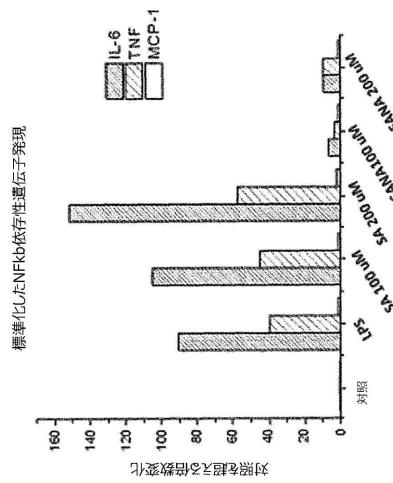
【図3】

SANAはTHP-1細胞におけるNF-κB/p65のLPS誘導性核内移行をSAよりも10倍低い濃度で阻害する



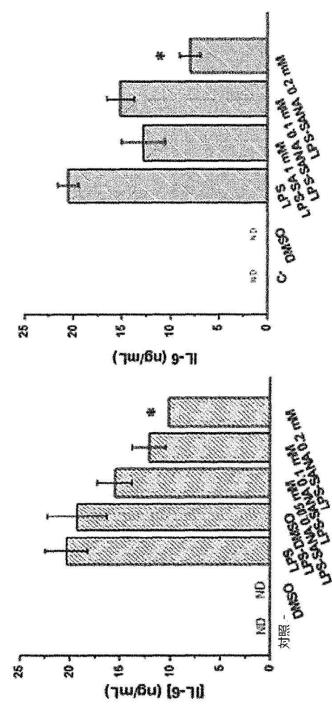
【図4】

SANAはTHP-1細胞におけるLPS誘導性NF-κB依存性遺伝子発現を阻害する



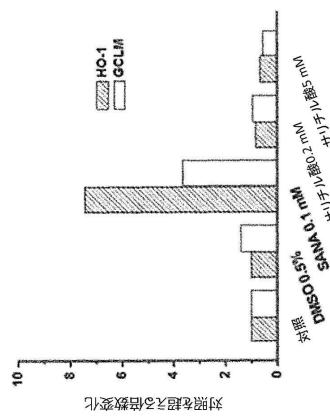
【図5】

SANAはRAW 264.7細胞におけるLPS誘導性NF-κB依存性IL-6分泌を阻害する



【図6】

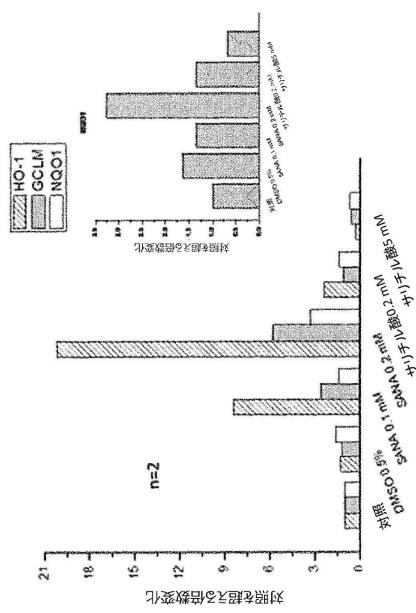
SANAはヒト肝臓細胞 (Hep G2) におけるNrf2/Keap1依存性遺伝子発現を誘導する



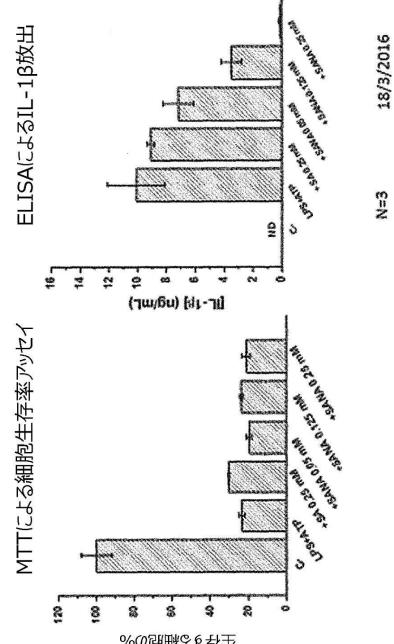
図X. 第2相酵素Nrf2/Keap1依存性遺伝子発現。Hep G2細胞をSANA (0.1 mM) 又はガリチル酸 (0.2%及ぶ0.5 mM) で5時間処理した。mRNAを細胞から抽出し、qPCRによりHO-1、GCLM及びNQO1遺伝子発現を測定した。

【図7】

SANAはヒト肝臓細胞（Hep G2）におけるNrf2/Keap1
依存性遺伝子発現を誘導する

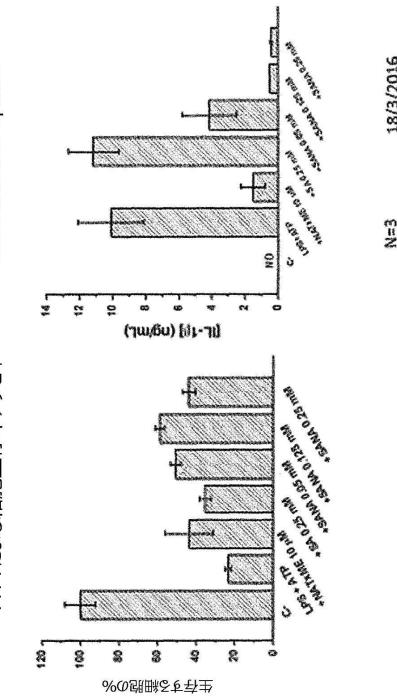


【図8】



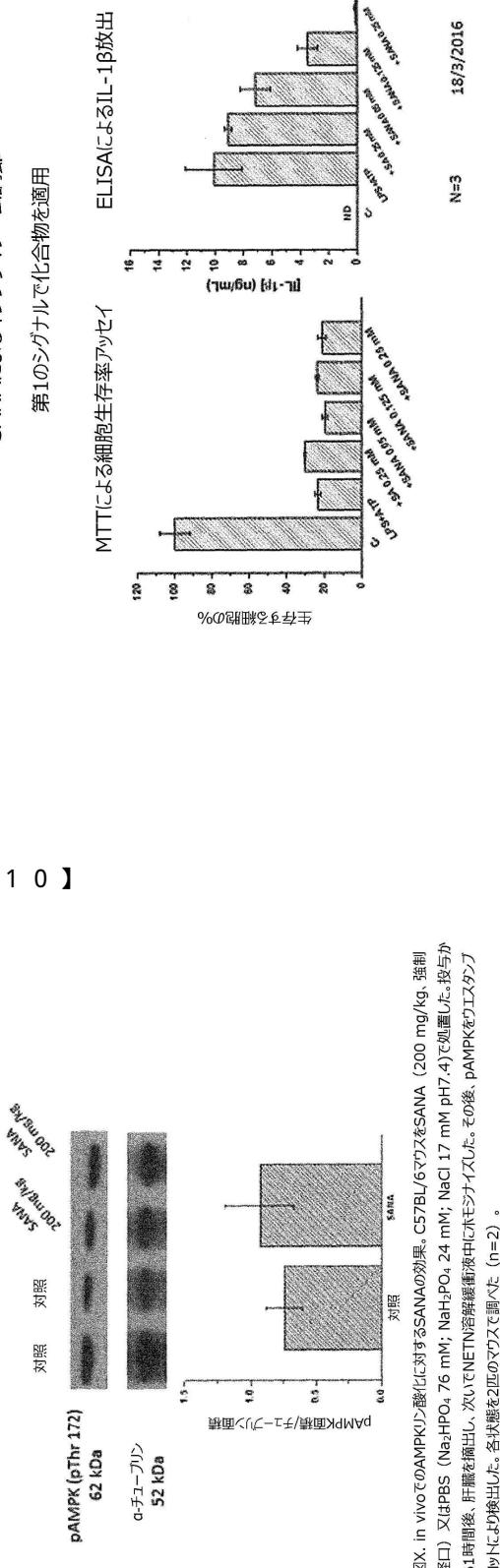
【図9】

SANAによるインフランサー調節
第2のシグナルでニトロアルケンを適用



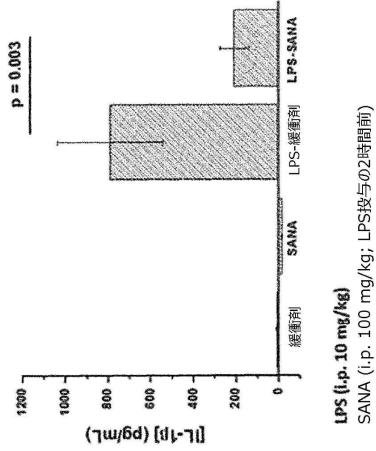
【図10】

SANAによるインフランサー調節
第1のシグナルで化合物を適用



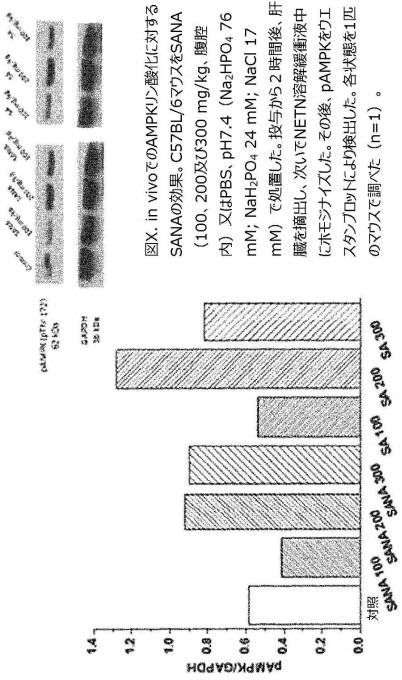
【図 1 1】

SANA又はサリチル酸で処置したマウスにおけるpAMPK検出



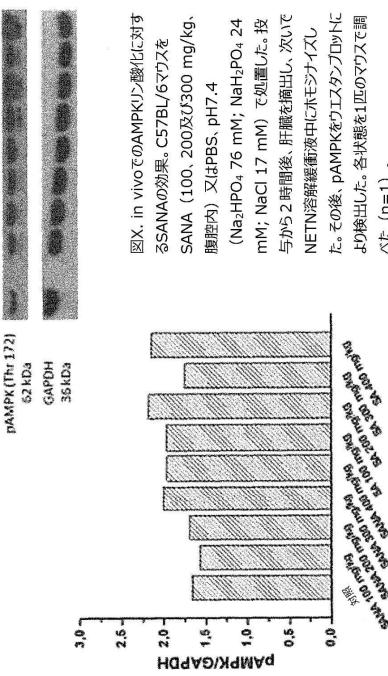
【図 1 3】

SANAがin vivoで腹膜へのLPS誘導性IL-1 β 分泌を減少させる



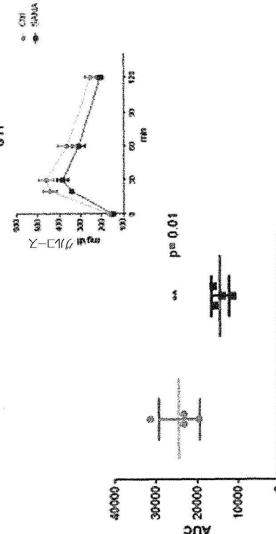
【図 1 2】

SANA又はサリチル酸で処置したマウスにおけるpAMPK検出



【図 1 4】

SANAはHFD誘発肥満マウスにおいてインスリン抵抗性を逆転させる

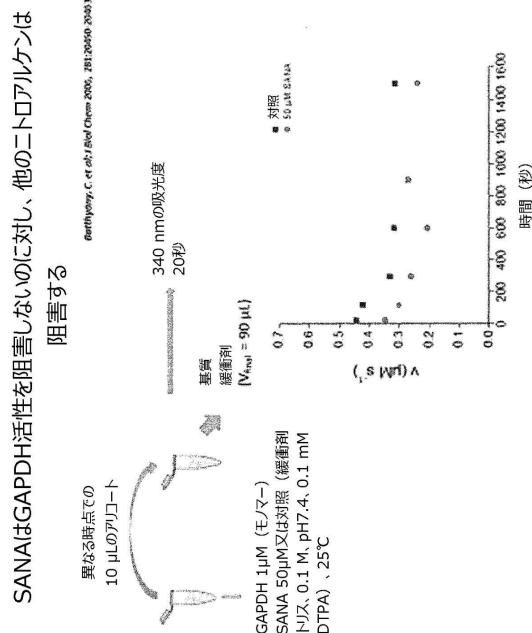


耐糖能試験。最大7ヶ月までHFDを受けたマウス（平均体重約40 g）をSANA (100 mg/kg；強制経口) 又はリ酸緩衝液（対照）で4週間毎日処置した。GTTを通常のおり行つた。注：処置前のGTTでは、群の間に差異は見られなかつた。

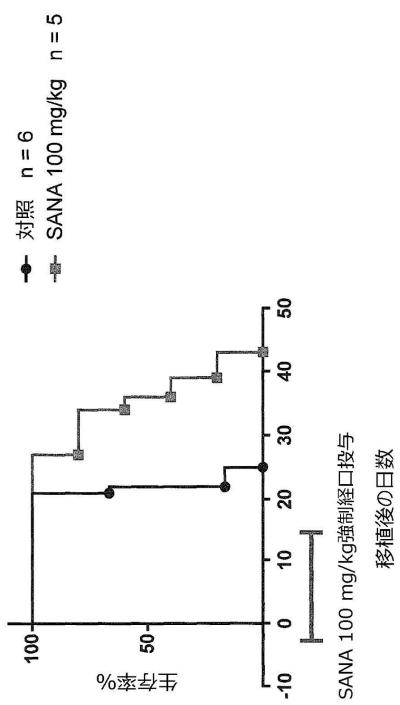
【図 X】

図X. in vivoでのAMPK α 酸化に対するSANAの効果。C57BL/6マウスをSANA (100, 200及300 mg/kg, 腹腔内) 又はPBS, pH7.4 (Na₂HPO₄ 76 mM; NaH₂PO₄ 24 mM; NaCl 17 mM) で処置した。投与から2時間後、肝臓を摘出し、次いでNETN溶解緩衝液中（ホモジナイズ）に於て処理した。その後、pAMPKをWestern blotにより検出した。各状態を1匹のマウスで調べた。 $(n=1)$ 。

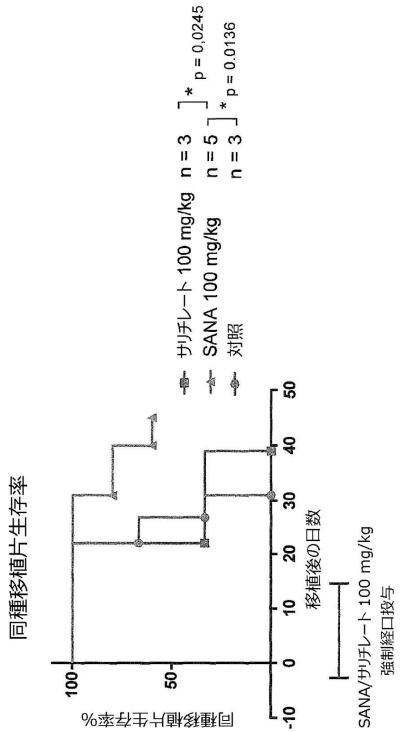
【図 15】



【図 16】



【図 17】



 フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
 A 6 1 P 43/00 (2006.01) A 6 1 P 43/00 121

(73)特許権者 519138003

バッチャーニ、カルロス
 B A T T H Y A N Y , C a r l o s
 ウルグアイ国 セーペー 11500 モンテビデオ ロンバルディア 66058 エーエセク
 ー・アンコーナ

(74)代理人 100105957

弁理士 恩田 誠

(74)代理人 100068755

弁理士 恩田 博宣

(74)代理人 100142907

弁理士 本田 淳

(74)代理人 100152489

弁理士 中村 美樹

(72)発明者 バッチャーニ、カルロス

ウルグアイ国 セーペー 11500 モンテビデオ ロンバルディア 66058 エーエセク
 ー・アンコーナ

(72)発明者 ロペス、グローリア

ウルグアイ国 150002 モンテビデオ ブエノス アイレス マサーナ 56 ソラール
 9

(72)発明者 エスカンデ、カルロス

ウルグアイ国 11400 モンテビデオ マタオホ 2020

(72)発明者 ロドリゲス ドゥアルテ、ホルヘ

ウルグアイ国 11400 モンテビデオ マタオホ 2020

(72)発明者 ポルカル キンタ、ウィリアムズ

ウルグアイ国 11400 モンテビデオ マタオホ 2020

(72)発明者 ダプエト カブッチョ、ロジーナ

ウルグアイ国 11400 モンテビデオ マタオホ 2020

(72)発明者 ガリウッシ ロペス、ヘルマン

ウルグアイ国 11400 モンテビデオ マタオホ 2020

(72)発明者 ガラット ヌニエス、マリア

ウルグアイ国 11400 モンテビデオ マタオホ 2020

(72)発明者 ヒル、マルセロ

ウルグアイ国 15000 カネロネス パルケ デ ミラマール ケグアイ 8067

(72)発明者 セゴビア、メルセデス

ウルグアイ国 15000 カネロネス パルケ デ ミラマール ケグアイ 8067

審査官 鶴見 秀紀

(56)参考文献 特開昭48-34850(JP,A)

特表2002-516283(JP,A)

特表2012-513774(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 31 / 00 - 31 / 8 0

A 6 1 P 29 / 0 0

A 61K 45 / 00

A 61P 43 / 00

A 61P 37 / 06

JSTPplus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)