

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】令和1年11月7日(2019.11.7)

【公表番号】特表2018-537517(P2018-537517A)

【公表日】平成30年12月20日(2018.12.20)

【年通号数】公開・登録公報2018-049

【出願番号】特願2018-535221(P2018-535221)

【国際特許分類】

C 07 D 319/04 (2006.01)

C 07 H 5/02 (2006.01)

A 61 K 31/357 (2006.01)

A 61 K 31/7016 (2006.01)

A 61 K 45/00 (2006.01)

A 61 K 45/06 (2006.01)

A 61 K 33/42 (2006.01)

A 61 K 31/047 (2006.01)

A 61 K 31/045 (2006.01)

【F I】

C 07 D 319/04

C 07 H 5/02 C S P

A 61 K 31/357

A 61 K 31/7016

A 61 K 45/00

A 61 K 45/06

A 61 K 33/42

A 61 K 31/047

A 61 K 31/045

【手続補正書】

【提出日】令和1年9月20日(2019.9.20)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

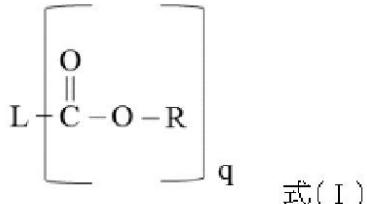
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

式(I)

【化1】



〔式中、

Lは飽和または不飽和脂肪族基であり；

Rは水素、ポリオール基および(G)_nのサッカライド基からなる群から選択され、ここで

、Gは単糖残基であり、pは1～100の整数であり、(G)_pにおけるヒドロキシル基の少なくとも1個はハロゲン原子により置換されており；
qは2～4の整数であり、Rの各々は同一または異なる]により表される化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項2】

Lが1～40炭素原子を有するアルキル基である、請求項1に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項3】

Lが分枝鎖アルキル基、ベンゼン環で置換された直鎖アルキル基、ベンゼン環で置換された分枝鎖アルキル基、直鎖脂肪族基で置換されたベンゼニル基および分枝鎖脂肪族基で置換されたベンゼニル基からなる群から選択される、請求項1に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項4】

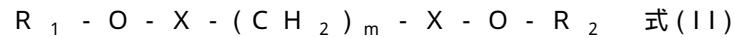
ポリオール基が直鎖または環状、置換または非置換である、請求項1～3のいずれか1項に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項5】

単糖残基がヘキソースである、請求項1～4のいずれか1項に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項6】

式(II)



[式中、

XはC=Oであり；

R₁およびR₂は同一または異なり、水素、ポリオール基および(G)_pのサッカライド基からなる群から選択され、ここで、Gは単糖残基であり、pは1～100の整数であり、(G)_pにおけるヒドロキシル基の少なくとも1個はハロゲン原子により置換されており、R₁が水素であるならば、R₂は水素ではなく；

mは1～40の整数である]

により表される化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項7】

ポリオール基が-CH(CH₂OH)_nCH₂OHであり、ここで、nが1～18の整数である、請求項6に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項8】

(G)_pにおけるヒドロキシル基の2個以上がハロゲン原子により置換されている、請求項6に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項9】

単糖残基がヘキソースである、請求項6または8に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項10】

ヘキソースがアルドヘキソースおよびケトヘキソースからなる群から選択される、請求項9に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項11】

サッカライド基R₁またはR₂が-G₁-O-G₂により表され、ここで、G₁およびG₂は同一または異なり、アルドヘキソースおよびケトヘキソースからなる群から選択され、G₁におけるヒドロキシル基の少なくとも1個またはG₂におけるヒドロキシル基の少なくとも1個がハロゲン原子により置換されている、請求項6および8～10のいずれか1項に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項12】

ハロゲン原子が塩素、臭素およびヨウ素からなる群から選択される、請求項6および8～11のいずれか1項に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項 1 3】

ハロゲン原子が塩素である、請求項 6 および 8 ~ 12 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

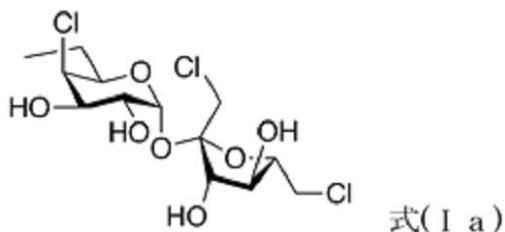
【請求項 1 4】

G_1 がグルコースであり、ここで、ヒドロキシル基の 1 個が塩素で置換されており、 G_2 はフルクトースであり、ここで、ヒドロキシル基の 2 個が塩素で置換されている、請求項 1 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項 1 5】

R_1 または R_2 が式(I a)

【化 2】



により表される、請求項 1 1 に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

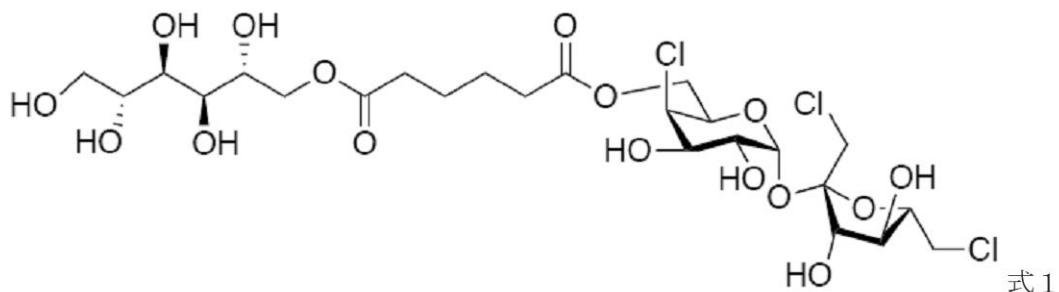
【請求項 1 6】

m および n が 4 である、請求項 7 に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩。

【請求項 1 7】

式 1

【化 3】

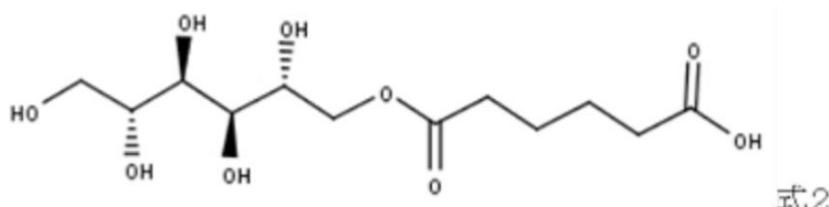


の ((2R, 3R, 4R, 5R, 6R) - 6 - (((2R, 5R) - 2, 5 - ビス(クロロメチル) - 3, 4 - ジヒドロキシテトラヒドロフラン - 2 - イル)オキシ) - 3 - クロロ - 4, 5 - ジヒドロキシテトラヒドロ - 2H - ピラン - 2 - イル)メチル((2R, 3R, 4R) - 2, 3, 4, 5, 6 - ペンタヒドロキシヘキシル)アジペートからなる群から選択される、請求項 1 に記載の化合物、またはその薬学的に許容される塩。

【請求項 1 8】

式 2

【化 4】

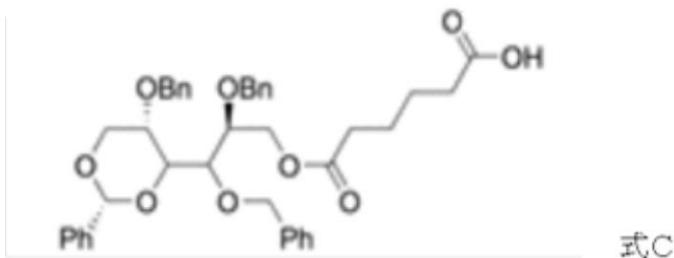


の C 6 - マンニトールである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 1 9】

式 C

【化5】



〔式中、Phはフェニルであり、Bnはベンジルである。〕
により表される、化合物。

【請求項20】

請求項1～18のいずれか1項に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩を薬学的に許容される担体と共に含む、医薬組成物。

【請求項21】

請求項1～18のいずれか1項に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩を含む、医薬。

【請求項22】

請求項1～18のいずれか1項に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩、ならびに

(i)ポリエチレングリコールソルビタンモノラウレート(Tween 20)、微結晶セルロース、リン酸二カルシウム水和物、Brij 35、サッカリン、マンニトール、Cremophor RH40、スクラロース、クロスポビドン、デンブングリコール酸ナトリウム、Eudragit S100、クロスカルメロースナトリウム、Pluronics F68、メントール、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、アルファ化デンプン、Dextrosates NF水和、クエン酸、Cremophor EL、Aerosil 200、Myrr 52、ソルビン酸、レモン油、ヒドロキシプロピルセルロース、ソルビトール、アセスルファムカリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ラクトースー水和物、マルトデキストリン、Brij 58、Brij 76、Tween 80、Tween 40、PEG 400、PEG 4000、PEG 8000、Span 60、安息香酸ナトリウム、ヒドロキシエチルメチルセルロース、メチルセルロース、Span 80、シクラミン酸ナトリウム、ベヘン酸グリセリル、赤色酸化鉄、グリセリンモノステアレート、CoポビドンK28、デンブンアセテート、ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、Providone K30、PEG 2000およびN-アセチルシステイン(NAC)およびこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される第一活性剤；

(ii)ラウリル硫酸ナトリウム、メントール、スクラロース、マンニトール、ソルビトール、サッカリン、グリセリン、安息香酸ナトリウム、赤色酸化鉄、アルファ化デンプン、シクラミン酸ナトリウム、ソルビン酸、レモン油、クエン酸、ブチル化ヒドロキシアニソール、ポンシリント、イソビテキシン、エリオジクチオール、エルゴステロール、-ミルセン、ヒペロシド、(+)-カテキン、ガランギン、モリン、シアドピチシン、ジジミン、ゴスシピン、ルテオリン-7-グルコシド、(+)-タキシフォリン、トランス桂皮酸、ジオスミン、リナリン、キシリトール、ルテオリン、スウェルチアマリン、ブエラリン、フロリジン、シネンセチン、(-)-エピガロカテキン、ケンペロール、ウルソール酸、シリマリン、(+)-リモネン、ヘスペリジン、(-)-エピカテキン-3-ガレート、シリビン、ホルモノネチン、ミリスチン酸エチルエステル、エイコサペンタエン酸(EPA)、オウゴニン、ポビドンK-30、プロトカテク酸、ウンベリフェロン、ヘスペレチン、ノルジヒドログアヤレチン酸、ネオヘスペリジン、ナリンギン、(-)-エピカテキン、グリチルリチン、バイカリン、クエルシトリン、バイカレインおよびこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される第二活性剤；および

(i) および(ii)の任意の組み合わせ

からなる群から選択される 1 以上の付加的薬剤を含む、組合せ医薬であって、請求項 1 ~ 18 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩が 1 以上の付加的薬剤と組み合わせて投与される、組合せ医薬。

【請求項 2 3】

1 以上の付加的薬剤がリン酸二カルシウム二水和物、メントール、マンニトール、スクロース、N - アセチルシステイン(NAC)およびこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項 2 2 に記載の組合せ医薬。

【請求項 2 4】

1 以上の付加的薬剤が(1)サッカリンとマンニトールの組み合わせ、(2)メントールとマンニトールの組み合わせ、(3)スクロースとマンニトールの組み合わせ、(4)エリオジクチオールとマンニトールの組み合わせ、(5)エリオジクチオールとスクロースの組み合わせ、(6)メントールとマンニトールとエリオジクチオールの組み合わせおよび(7)スクロースとマンニトールとエリオジクチオールの組み合わせからなる群から選択される、請求項 2 2 に記載の組合せ医薬。

【請求項 2 5】

請求項 1 ~ 18 のいずれか 1 項に記載の化合物またはその薬学的に許容される塩および 1 以上の付加的薬剤が同時にまたは逐次的に投与される、請求項 2 2 ~ 2 4 のいずれか 1 項に記載の組合せ医薬。

【請求項 2 6】

処置を必要とする対象におけるチトクロム P 450 活性増加またはフリーラジカルレベル上昇により特徴付けられる疾患または状態の予防または処置に用いるための、請求項 2 0 に記載の医薬組成物、請求項 2 1 に記載の医薬、または請求項 2 2 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の組合せ医薬。

【請求項 2 7】

処置を必要とする対象における臓器傷害の予防または処置に用いるための請求項 2 0 に記載の医薬組成物、請求項 2 1 に記載の医薬、または請求項 2 2 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の組合せ医薬。

【請求項 2 8】

臓器傷害が肝臓または腎臓においてである、請求項 2 7 に記載の医薬組成物、医薬または組合せ医薬。

【請求項 2 9】

臓器傷害が治療剤、CCl₄ または脂質が原因である、請求項 2 7 または 2 8 に記載の医薬組成物、医薬または組合せ医薬。

【請求項 3 0】

治療剤がアセトアミノフェンである、請求項 2 9 に記載の医薬組成物、医薬または組合せ医薬。

【請求項 3 1】

処置を必要とする対象における肝毒性の予防または処置に用いるための、請求項 2 0 に記載の医薬組成物、請求項 2 1 に記載の医薬、または請求項 2 2 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の組合せ医薬。

【請求項 3 2】

肝毒性が治療剤、CCl₄ または脂質が原因である、請求項 3 1 に記載の医薬組成物、医薬または組合せ医薬。

【請求項 3 3】

治療剤がアセトアミノフェンである、請求項 3 2 に記載の医薬組成物、医薬または組合せ医薬。

【請求項 3 4】

脂肪肝の予防もしくは処置、肝機能保護、または脂肪肝もしくは他の関連障害が原因の肝疾患改善に用いるための、請求項 2 0 に記載の医薬組成物、請求項 2 1 に記載の医薬、

または請求項 2 2 ~ 2 5 のいずれか 1 項に記載の組合せ医薬。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 0 8

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 0 8】

脂肪肝は、肝損傷に至る他の因子であると考えられる。正常な状況下、脂肪は、肝臓の3重量%を構成する。臨床的に、“脂肪性肝疾患(FLD)”は、肝臓内の脂肪が肝臓の5重量%を超えること、または、肝組織切片における10%を超える肝細胞が小胞性脂肪変化を示すことを意味する。疾患の原因により、脂肪肝はアルコール性脂肪性肝疾患(AFLD)、非アルコール性脂肪性肝疾患(NALD)または薬物のような他の因子由来の他の脂肪性肝疾患に分けることができる。脂肪性肝疾患は、脂肪変態または脂肪肝、脂肪性肝炎などの出現により、病理学的に特徴付けられる。脂肪肝に罹患している肝細胞のパーセンテージから、脂肪肝は軽度(< 33%)、中程度(33~66%)および重度(> 66%)に分類される。以前は、脂肪肝は良性および可逆性状態と考えられ、故に、あまり重大に受け取られていなかったが、最近の試験で、それが重度の肝線維症および硬変および肝臓癌にいたることが判明している。肥満人口が増えるに連れ、FLDの有病率も増加する。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 2 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 2 9】

【図4】動物における肝組織のH & E染色結果を示す。(A)正常対照、(B)APP誘発肝傷害の対照群、(C)NACで処置の陽性対照群、(D)マンニトール(1.67mg/kg)で処置の実験群、(E)スクラロース(1.67mg/kg)で処置の実験群、(F)マンニトール(2.51mg/kg) + スクラロース(2.51mg/kg)で処置の実験群、(G)マンニトール(3.34mg/kg) + スクラロース(3.34mg/kg)で処置の実験群および(H)NACおよびマンニトール(3.34mg/kg)とスクラロース(3.34mg/kg)の組み合わせで処置の実験群。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 3 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 3 0】

【図5】脂肪肝を誘発し、その後、群により異なる試験化合物で4週間処置したマウスから採った肝組織切片を示す。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 6 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 6 4】

このような疾患または状態の例を、表Aに挙げる。

【表1】

表A

疾患	
アルコール性肝炎	肝芽腫
薬誘発性肝炎	肝臓、腎臓慢性疾患
アルコール性肝硬変	肥満
肝疾患	中毒
肝硬変	インスリン抵抗性
アルコール濫用	慢性肝疾患
イソニアジド毒性	肝炎慢性
非アルコール性脂肪性肝炎	腎疾患
結核	炎症
肝炎	アルコール離脱
脂肪性肝疾患	アルコール性硬変
肝細胞癌	肝損傷
アルコール性肝疾患	アルコール依存
ハロタン肝炎	肝炎毒性
脂肪肝アルコール性	
脂肪肝	肝臓壊死
アルコール関連障害	硬変
脳血管疾患	急性アルコール性肝炎
冠動脈疾患	肝臓、腎臓病理組織学
肝臓、腎細胞損傷	エタノール誘発および肥満誘発酸化ストレスおよび肝傷害
肝臓、腎臓壊死	重金属中毒
慢性C型肝炎	肝線維症
心血管疾患	アテローム性動脈硬化症

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0070

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0070】

ここで使用する用語“肝脂肪含量”は、対象の肝臓に蓄積される脂肪の含量をいい、トリグリセリド(TG)およびコレステロールのような広義に定義される脂質を含む。ここで使用する用語“肝脂肪含量減少”は、一般に対象における異常肝脂肪含量の減少、すなわち異常肝脂肪の含量の、より具体的に、異常肝脂肪含量の正常レベルまで低減するための減少をいう。例えば、正常な状況下、脂肪は肝臓の3重量%を構成する。肝臓における脂肪が肝臓の5重量%を超えたたら、異常脂肪蓄積として定義される(上記肝脂肪含量は例示のための相対的パーセンテージであり、民族性および他の因子により変わり得る)。特定の態様において、ここで使用する用語“肝脂肪含量減少”は、対象における異常肝脂肪の含量が、例えば、肝臓の5重量%以上から、肝臓の3重量%まで減少することを意味する。肝脂肪含量は、超音波分析、磁気共鳴画像法(MRI)、磁気共鳴分光法(MRS)、コンピュータ断層撮影法(CT)および肝臓生検を含むが、これらに限定されない標準的分析法

により評価できる。

【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0072

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0072】

ここで使用する用語“肝疾患”は、肝機能不全に至る可能性がある、ある因子が原因の肝細胞傷害または損傷をいう。本発明により、ここで提案される化合物を、ある実施態様において脂肪肝が原因の肝疾患改善に使用できる。より具体的に、ここで使用する“肝損傷”は、正常肝臓と比較して、組織学的または生化学的機能不全を有する肝臓をいう。特定の実施態様において、“肝損傷”は、アルコール性または非アルコール性因子、例えば、高脂肪食または肥満または治療薬または有機溶媒が原因である肝臓病変をいう。特定の実施態様において、“肝損傷”は、脂肪肝、小葉炎症、肝細胞肥大化および肝細胞により產生される小胞性脂肪滴から選択される、1以上の特徴を有する肝組織損傷であり得る。特定の実施態様において、“肝損傷”は、アラニンアミノ基転移酵素(ALT)またはアスパラギン酸アミノ基転移酵素(AST)の活性から決定できる、肝臓の生化学的機能不全であり得る。ALTまたはASTの活性が高い程、肝臓の生化学的機能の機能不全が重度であることが示される。

【手続補正8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0073

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0073】

ここで使用する用語“肝臓抗酸化活性”は、酸化的ストレスに対する活性または能力をいう。本発明の化合物による対象の肝臓抗酸化活性改善は、酸化的ストレス減少または抗酸化システムのメンバーの酵素活性もしくは含量の増強を含むことをいうが、これに限定されない。抗酸化システムのメンバーは、グルタチオンペルオキシダーゼ(GPx)、グルタチオン(GSH)、グルタチオンレダクターゼ(GRd)および/またはスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)であり得る。

【手続補正9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0074

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0074】

本発明により、ここに記載する化合物は、一般的な添加物およびバイオフラボノイドを含み、これは、肝脂肪含量減少および関連障害軽減に使用され得る。ここに記載する用語“関連障害”は、脂肪性肝疾患、急性および慢性アルコール性脂肪性肝疾患、急性および慢性非アルコール性脂肪性肝疾患、急性および慢性アルコール性肝炎、急性および慢性非アルコール性脂肪性肝炎、非アルコール性硬変およびアルコール性硬変を含むが、これらに限定されない、肝脂肪の異常蓄積が原因の障害を含む(ICD-9-CM Diagnosis Codes: 571.8, 571.0, 571.1, 571.2, 571.3, 571.4, 571.5, 571.9)。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0091

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0091】

P 4 5 0 阻害に作用するある活性剤(“第一活性剤”と称する)は、P C T / C N 2 0 1 3 / 0 8 7 0 4 9 号(U S S N 1 4 / 4 4 1, 3 1 7、その内容を引用によりその全体を本明細書に包含させる)に記載される。特定のこのようなP 4 5 0 阻害の具体例は、ポリエチレングリコールソルビタンモノラウレート(T w e e n 2 0)、微結晶セルロース、リン酸二カルシウム二水和物、B r i j 3 5、サッカリン、マンニトール、C r e m o p h o r R H 4 0、スクラロース、クロスポビドン、デンプングリコール酸ナトリウム、E u d r a g i t S 1 0 0、クロスカルメロースナトリウム、P l u r o n i c F 6 8、メントール、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、アルファ化デンプン、D e x t r a t e s N F 水和、クエン酸、C r e m o p h o r E L、A e r o s i l 2 0 0、M y r j 5 2、ソルビン酸、レモン油、ヒドロキシプロピルセルロース、ソルビトール、アセスルファムカリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ラクトース水和物、マルトデキストリン、B r i j 5 8、B r i j 7 6、T w e e n 8 0、T w e e n 4 0、P E G 4 0 0、P E G 4 0 0 0、P E G 8 0 0 0、S p a n 6 0、安息香酸ナトリウム、ヒドロキシエチルメチルセルロース、メチルセルロース、S p a n 8 0、シクラミン酸ナトリウム、ベヘン酸グリセリル、赤色酸化鉄、グリセリンモノステアレート、C o ポビドンK 2 8、デンプンアセテート、ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、P r o v i d o n e K 3 0、P E G 2 0 0 0 およびN - アセチルシステイン(N A C)およびこれらの任意の組み合わせを含むが、これらに限定されない。

【手続補正1 1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 9 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 9 3】

抗脂肪肝活性を有するある活性剤(“第二活性剤”と称する)はP C T / C N 2 0 1 6 / 0 7 8 0 3 9 号に記載され、その内容を引用によりその全体を本明細書に包含させる。抗脂肪肝活性を有する活性剤の具体例は、(ii)ラウリル硫酸ナトリウム、メントール、スクラロース、マンニトール、ソルビトール、サッカリン、グリセリン、安息香酸ナトリウム、赤色酸化鉄、アルファ化デンプン、シクラミン酸ナトリウム、ソルビン酸、レモン油、クエン酸、ブチル化ヒドロキシアニソール、ポンシリノ、イソビテキシン、エリオジクチオール、エルゴステロール、-ミルセン、ヒペロシド、(+)-カテキン、ガランギン、モリン、シアドピチシン、ジジミン、ゴスシピン、ルテオリン-7-グルコシド、(+)-タキシフォリン、トランス桂皮酸、ジオスミン、リナリン、キシリトール、ルテオリン、スウェルチアマリン、ブエラリン、フロリジン、シネンセチン、(-)-エピガロカテキン、ケンペロール、ウルソール酸、シリマリン、(+)-リモネン、ヘスペリジン、(-)-エピカテキン-3-ガレート、シリビン、ホルモノネチン、ミリスチン酸エチルエステル、エイコサペンタエン酸(E P A)、オウゴニン、ポビドンK-3 0、プロトカテク酸、ウンベリフェロン、ヘスペレチン、ノルジヒドログアヤレチン酸、ネオヘスペリジン、ナリンギン、(-)-エピカテキン、グリチルリチン、バイカリン、クエルシトリノ、バイカレインおよびこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される第二活性剤を含むが、これらに限定されない。

【手続補正1 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 0 9 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 0 9 4】

ある実施態様において、式(I)の本発明の化合物と組み合わせて使用する1以上の第二活性剤は、ラウリル硫酸ナトリウム、メントール、スクラロース、マンニトール、ソルビ

トール、サッカリン、グリセリン、安息香酸ナトリウム、赤色酸化鉄、アルファ化デンプン、シクラミン酸ナトリウム、ソルビン酸、レモン油、クエン酸、ブチル化ヒドロキシアニソール、ポンシリソル、イソビテキシン、エリオジクチオール、エルゴステロール、-ミルセン、ヒペロシド、(+) - カテキン、ガランギン、モリン、シアドピチシン、ジジミン、ゴスシピン、ルテオリン - 7 - グルコシド、(+) - タキシフォリン、トランス桂皮酸、ジオスミン、リナリン、キシリトール、ルテオリン、スウェルチアマリンおよびこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。

【手続補正13】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0095

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0095】

ある実施態様において、式(I)の本発明の化合物と組み合わせて使用する1以上の第二活性剤は、ブエラリン、フロリジン、シネンセチン、(-) - エピガロカテキン、ケンペロール、ウルソール酸、シリマリン、(+) - リモネン、ヘスペリジン、(-) - エピカテキン - 3 - ガレート、シリビン、ホルモノネチン、ミリスチン酸エチルエステル、エイコサペンタエン酸(EPA)、オウゴニン、ポビドンK - 30、プロトカテク酸、ウンベリフェロン、ヘスペレチン、ノルジヒドログアヤレチン酸、ネオヘスペリジン、ナリンギン、(-) - エピカテキン、グリチルリチン、バイカリン、クエルシトリソル、バイカレインおよびこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。

【手続補正14】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0140

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0140】

結果は、A P A P 肝毒性群において肝傷害が生じていることを示している。対照的に、このような肝傷害や生存率は、マンニトールおよび/またはスクラロースの使用によって、用量依存的に改善され得る。特に、マンニトールとスクラロースの組み合わせは、相乗効果をもたらす; 結果は正常対照の結果と類似しており、N A C による標準治療の陽性対照よりも優れている。さらに、アエロジル200、デンブングリコール酸ナトリウム、クロスボビドン、微結晶セルロースおよびポビドンK - 30等の他の成分は、肝傷害の治療に有効であり、N A C による標準治療の陽性対照よりも優れている。

改善された結果は、対応する肝組織においても反映されている。

【手続補正15】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0159

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0159】

6.1.1.2 肝臓の抗酸化能力の分析

屠殺した動物から肝組織約0.1gを採取し、バイオマッシャーで10分間遠心分離することによりホモジナイズした。ホモジナイズした組織に9倍量(w/w)の緩衝液(pH 7.4、50mmol/L Tris-HCl、180mmol/L KCl)を加え、ボルテックスミキサーでよく混合して使用した。得られた肝組織のホモジナイゼーション溶液試料を用いて、グルタチオンペルオキシダーゼ(GPx)、グルタチオン(GSH)、グルタチオンレダクターゼ(Grd)およびスーパーオキシドジスムターゼ(SOD)含め、肝臓抗酸化系の各種メンバーを分析した。関連の分析方法は、例えば、台湾厚生省が発表した「健康食品の肝臓保護と健康管理の有効性を評価する方法」の草案などの公知の文献に見出すことができる。

【手続補正 1 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 6 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 6 3】

【表 1 0】

表6：試験化合物により減少した脂肪肝細胞におけるTG含量

試験物質 (1.0 μ M)	TG減少率 (%)
シリマリン対照	35.33 \pm 1.96
ペラリン	49.91 \pm 7.73
フロリジン	42.35 \pm 6.05
ダイゼイン	42.3 \pm 5.34
ラウリル硫酸ナトリウム	38.73 \pm 4.65
ポンシリン	38.12 \pm 7.22
シネンセチン	36.97 \pm 4.84
(-)エピガロカテキン	36.78 \pm 6.67
ケンペロール	36.51 \pm 4.78
イソビテキシン	35.93 \pm 3.35
ウルソール酸	35.86 \pm 8.92
エリオジクチオール	35.11 \pm 0.87
(+)リモネン	35.02 \pm 10.04
ヘスペリジン	34.81 \pm 5.25
エルゴステロール	34.19 \pm 3.69
β -ミルセン	33.97 \pm 11.22
(-)エピカテキン-3-ガレート	32.7 \pm 4.33
ヒペロシド	30.51 \pm 2.8
シリビン	30.26 \pm 3.24
(+)カテキン	29.57 \pm 4.02

【表 11】

ホルモノネチン	29.55	± 1.44
ミリスチン酸エチルエステル	28.88	± 3.91
ガランギン	28.11	± 8.62
スクラロース	26.68	± 2.93
エイコサペンタエン酸(EPA)	26.15	± 6.14
モリン	25.84	± 10.65
マンニトール	22.35	± 5.74
シアドピチシン	21.83	± 5.04
オウゴニン	20.78	± 1.12
ジジミン	20.37	± 12.69
ゴスシピン	20.25	± 4.63
ソルビトール	20.06	± 2.57
ルテオリン-7-グルコシド	19.33	± 4.59
ポビドンK-30	18.93	± 5.13
プロトカテク酸	18.57	± 7.6
(+)-タクシフォリン	17.91	± 8.35
サッカリン	17.53	± 6.96
ウンベリフェロン	17.4	± 2.57
グリセリン	16.23	± 4.25
ヘスペリチン	16.08	± 5.55
ノルジヒドログアヤレチン酸	15.92	± 2.3
トランス桂皮酸	15.85	± 0.82

【表12】

安息香酸ナトリウム	14.35	± 4.86
赤色酸化鉄	13.59	± 2.08
ネオヘスペリジン	13.29	± 7.21
ナリンギン	12.69	± 3.72
ジオスミン	11.86	± 3.73
(-)-エピカテキン	10.76	± 8.92
グリチルリチン	10.55	± 7.4
リナリン	9.24	± 12.34
バイカリン	9.21	± 6.21
クエルシトリン	9.15	± 9.24
キシリトール	7.36	± 6.34
バイカレイン	7.09	± 10.88
ルテオリン	6.95	± 15.23
スウェルチアマリン	6.72	± 11.04
ブチル化ヒドロキシアニソール	6.21	± 3.8
シクラミン酸ナトリウム	4.77	± 4.49
メントール	66.24	± 1.87
クエン酸	2.55	± 4.43
レモン油	0.56	± 1.07
アルファ化デンプン	7.18	± 13.41
ソルビン酸	2.03	± 1.96

【手続補正17】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0164

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0164】

【表13】

表6-1: 脂肪肝細胞中のTG含量が減少した表6の試験化合物の一部

試験物質 (1.0 μ M)	TG減少率 (%)
ペラリン	49.91 ± 7.73
フロリジン	42.35 ± 6.05
ダイゼイン	42.3 ± 5.34
シネンセチン	36.97 ± 4.84
(-)-エピガロカテキン	36.78 ± 6.67
ケンペロール	36.51 ± 4.78
ウルソール酸	35.86 ± 8.92
シリマリン対照	35.33 ± 1.96
(+)-リモネン	35.02 ± 10.04
ヘスペリジン	34.81 ± 5.25
(-)-エピカテキン-3-ガレート	32.7 ± 4.33
シリビン	30.26 ± 3.24
ホルモノネチン	29.55 ± 1.44
ミリスチン酸エチルエステル	28.88 ± 3.91
エイコサペンタエン酸(EPA)	26.15 ± 6.14
オウゴニン	20.78 ± 1.12
ポビドンK-30	18.93 ± 5.13
プロトカテク酸	18.57 ± 7.6
ウンベリフェロン	17.4 ± 2.57
ヘスペリチン	16.08 ± 5.55
ノルジヒドログアヤレチン酸	15.92 ± 2.3
ネオヘスペリジン	13.29 ± 7.21
ナリンギン	12.69 ± 3.72
(-)-エピカテキン	10.76 ± 8.92
グリチルリチン	10.55 ± 7.4
バイカリン	9.21 ± 6.21
クエルシトリン	9.15 ± 9.24
バイカレイン	7.09 ± 10.88

【手続補正18】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0165

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0165】

【表14】

表6-2: 脂肪肝細胞中のTG含量が減少した表6の試験化合物の一部
(バイオフラボノイド)

試験物質 (1.0 μ M)	TG減少率 (%)
ポンシリソ	38.12 \pm 7.22
イソビテキシン	35.93 \pm 3.35
エリオジクチオール	35.11 \pm 0.87
エルゴステロール	34.19 \pm 3.69
β -ミルセン	33.97 \pm 11.22
ヒペロシド	30.51 \pm 2.8
(+)-カテキン	29.57 \pm 4.02
ガランギン	28.11 \pm 8.62
モリン	25.84 \pm 10.65
シアドピチシン	21.83 \pm 5.04
ジジミン	20.37 \pm 12.69
ゴスシピン	20.25 \pm 4.63
ルテオリン-7-グルコシド	19.33 \pm 4.59
(+)-タクシフォリン	17.91 \pm 8.35
トランス桂皮酸	15.85 \pm 0.82
ジオスミン	11.86 \pm 3.73
リナリン	9.24 \pm 12.34
キシリトール	7.36 \pm 6.34
ルテオリン	6.95 \pm 15.23
スウェルチアマリン	6.72 \pm 11.04

【手続補正19】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0173

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0173】

6.2.2.2 試験化合物は肝臓の脂質を減少させるのに有効である

図5は、肝門領域付近(胆管、門脈、肝動脈を含む)の脂肪肝の肝細胞が多くの大きな小胞性脂肪滴で覆われた脂肪肝を示すように誘導され、肝細胞の肥大化が出現したマウスを示し、脂肪肝の動物モデルが誘導によりうまく確立されたことを示している。

複数の試験化合物が、4週間または8週間の投与後、動物肝臓における脂質減少の効果を示すことを動物実験の結果は示した。結果を表8-1および8-2に示した。

【手続補正20】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0179

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0179】

6.2.2.3 試験化合物は肝損傷を減少させるのに有効である

6.2.2.3.1 肝脂肪および肝組織の肝損傷の減少の効果

複数の試験化合物が、4週間の試験期間中の肝脂肪および肝組織損傷の低下という有効性を示すことを動物実験の結果は示した。図5は、脂肪肝を有する動物の肝組織損傷を示す。肝組織損傷には、肝門領域付近(胆管、門脈、肝動脈を含む)の肝細胞を覆う多くの大きな小胞性脂肪滴および肝細胞の肥大化が含まれた。比較により、シリマリン、メントール、エリオジクチオールまたはマンニトールによって4週間処置された後、肝組織切片において肝細胞内の大きな小胞性脂肪滴は、顕著に減少した。小さな破損した小滴の一部が、シリマリンで処置されたマウスでまだ観察されたが、メントール、エリオジクチオールまたはマンニトールで処置されたマウスの肝組織タイプは、プランク群の動物のものに近く、これは軽度の脂肪性肝疾患を示している。さらに、NASスコア付けの結果を表9に示した。

【手続補正21】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0180

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0180】

【表20】

表9：試験化合物は動物において肝損傷の状態を減少させることができた

品目	NAS		
単位	mg/g 肝臓		
ブランク (n=13)	0.7	± 0.5	***
HFD (n=12)	3.3	± 1.7	
陽性対照			
シリマリン 5.0 mg/kg(n=6)	0.8	± 0.4	***
シリマリン 1.5 mg/kg(n=6)	1.5	± 0.8	*
1つの試験化合物			
フロリジン 2.5 mg/kg(n=6)	1.8	± 1.0	
エリオジクチオール 5.0 mg/kg(n=6)	1.5	± 0.8	*
エリオジクチオール 2.5 mg/kg(n=6)	1.8	± 1.1	
エリオジクチオール 1.5 mg/kg(n=6)	1.8	± 2.0	
メントール 1.5 mg/kg(n=6)	1.8	± 1.6	
マンニトール 7.5 mg/kg(n=6)	1.7	± 0.8	*
マンニトール 4.5 mg/kg(n=6)	2.7	± 1.9	
マンニトール 1.5 mg/kg(n=6)	1.3	± 0.8	*
サッカリン 1.5 mg/kg(n=3)			
ブエラリン 2.5 mg/kg(n=6)			
ヘスペリチン 2.5 mg/kg(n=6)	1.7	± 0.5	
2つの試験化合物の組合せ			
サッカリン + マンニトール			
1.5 mg/kg + 1.5 mg/kg(n=6)			
メントール + マンニトール	2.2	± 1.5	
4.5 mg/kg + 4.5 mg/kg(n=6)			
メントール + マンニトール	0.7	± 0.5	***
1.5 mg/kg + 1.5 mg/kg(n=6)			
メントール + マンニトール	2.5	± 1.8	
.5 mg/kg + .5 mg/kg(n=6)			
3つの試験化合物の組合せ			
メントール + マンニトール+ エリオジクチオール	2.0	± 1.4	
.5 mg/kg + .5 mg/kg + .8 mg/kg(n=6)			
データを平均±SDで表した。ANOVAおよびLSDから得られた統計学的差異を単語で示した。HFDと比較して、*p<0.05、**p<0.01、***p<0.005。			
ヘスペリチン			
ブエラリン			
エリオジクチオール			
フロリジン			
マンニトール			
メントール			
スクラロース			
サッカリン			

【手続補正22】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0181

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0181】

NAS (Nonalcoholic Fatty Liver Disease Activity Score)は、非アルコール性脂肪性肝疾患の活動性スコアを示し(Hepatology. 2005 Jun;41(6):1313-21)、脂肪症、小葉内炎症および肝細胞の肥大化の度合を包括的に評価した。スコア表を表10に示した。より高いスコアは、重篤な肝損傷を示す。

【表21】

表10: NAS評価計画			
項目	スコア	度合	定義および説明
脂肪症	0	<5%	低～中倍の試験で評価される脂肪症に含まれる表面積の量を指し；脂肪変化が極めてわずかである生検を過剰に重視するのを避けるために最小の脂肪症(<5%)はスコア0を付ける。
	1	5-33%	
	2	>33-66%	
	3	>66%	
小葉内炎症	0	病巣なし	好酸体はこの評価に含まれないか、または門脈の炎症でない。
	1	<2病巣 /200x	
	2	2~4病巣 /200x	
	3	>4病巣 /200x	
肝細胞の肥大化	0	なし	
	1	わずかな肥大細胞	用語「わずかな」は稀であるが一定の肥大化した肝細胞ならびに診断的に境界線上である場合を意味する。
	2	多くの細胞/顕著な肥大化	顕著な肥大化を有する大部分の場合はマロリーヒアリンも有するが、マロリーヒアリンはNASに関して別個にスコアを付けられない。

【手続補正23】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0182

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0182】

脂肪肝が誘導されたマウスにおいて肝組織損傷が生じたこと(NASの増加)を結果は示した。別々に投与された試験化合物のうち、エリオジクチオールおよびマンニトールは、肝損傷を顕著に減少させることができた。2つの試験化合物の組合せを投与したとき、メントールとマンニトールの組合せが優れた効果を達成したことは顕著である。肝損傷の出現はほとんどなかった。NASは、ブランクのものと同一であった。

【手続補正24】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0195

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0195】

要約すると、マンニトールおよびスクラロースなどを含む試験した化合物は、肝臓の脂肪含有量を減少させること、肝損傷を減少させること、肝臓の抗酸化活性を向上させることができる。これらの化合物は、動物実験により安全であることが確認されており、そして、肝脂肪を減少させ、関連障害、例えば脂肪性肝疾患、急性および慢性アルコール性脂肪性肝疾患、急性および慢性非アルコール性脂肪性肝疾患(N A F L D)、急性および慢性アルコール性肝炎、急性および慢性非アルコール性脂肪性肝炎、非アルコール性硬変、ならびにアルコール性硬変(ICD-9-CM Diagnosis Codes: 571.8, 571.0, 571.1, 571.2, 571.3, 571.4, 571.5, 571.9)を改善するための、健康食品または薬物に開発される可能性を有することが見出された。