

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5711140号
(P5711140)

(45) 発行日 平成27年4月30日(2015.4.30)

(24) 登録日 平成27年3月13日(2015.3.13)

(51) Int.Cl.

F 1

C07C 59/42	(2006.01)	C07C	59/42	C S P
C07C 59/58	(2006.01)	C07C	59/58	
C07C 69/145	(2006.01)	C07C	69/145	
C07C 57/03	(2006.01)	C07C	57/03	
C07F 9/143	(2006.01)	C07F	9/143	

請求項の数 13 (全 43 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2011-539060 (P2011-539060)
(86) (22) 出願日	平成21年12月4日 (2009.12.4)
(65) 公表番号	特表2012-511510 (P2012-511510A)
(43) 公表日	平成24年5月24日 (2012.5.24)
(86) 國際出願番号	PCT/ES2009/070561
(87) 國際公開番号	W02010/066931
(87) 國際公開日	平成22年6月17日 (2010.6.17)
審査請求日	平成24年3月1日 (2012.3.1)
(31) 優先権主張番号	P200803480
(32) 優先日	平成20年12月9日 (2008.12.9)
(33) 優先権主張国	スペイン (ES)

前置審査

(73) 特許権者	511138294 ユニバーシタト デ レス イイエス バ レアス スペイン, イー-07122 パルマ デ マリヨルカ, 5, ケーエム. 7, シト ラ. デ バルデモッサ
(74) 代理人	100082072 弁理士 清原 義博
(72) 発明者	エスクリバ ルイズ, パブロ ビセンテ スペイン, イー-07122 パルマ デ マリヨルカ, 5, ケーエム. 7, シト ラ. デ バルデモッサ, ユニバーシタト デ レス イイエス バレアス

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 薬物として使用するためのシスー不飽和脂肪酸の α 誘導体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- ヒドロキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム、 - アセチル - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム、 - メトキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウムまたは - ジエチル - ホスファチジル - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウムから選択されることを特徴とする化合物。

【請求項 2】

薬物として使用するためのものであることを特徴とする、請求項 1 記載の化合物。

【請求項 3】

癌、血管病変、肥満、皮膚病変、代謝病変、神経変性病変、炎症過程、または、感染性病変の、予防および / または処置に使用されるためのものであることを特徴とする請求項 2 に記載の化合物。

10

【請求項 4】

神経再生の誘発、神経纖維病変の予防および / または処置、および / または、疼痛の予防および / または処置に使用されるための、請求項 2 に記載の化合物。

【請求項 5】

神経再生の誘発、神経纖維病変の予防および / または処置、および / または、疼痛の予防および / または処置において、アルブミンと組み合わせて使用されるための、請求項 2 に記載の - ヒドロキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム。

【請求項 6】

20

癌、肥満、または高血圧の予防および／または処置において、独立して、または、少なくとも1つの他の化合物と組み合わせて使用されるための、請求項2に記載の - ヒドロキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム。

【請求項7】

テモゾロミド、エルロチニブ、ゲムシタビン、および、シスプラチンから選択される少なくとも別の化合物と組み合わせて、癌の予防および／または処置に使用されるための、請求項2に記載の - ヒドロキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム。

【請求項8】

- ヒドロキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム、 - アセチル - シス - 9
- オクタデセン酸ナトリウム、 - メトキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム、
- ジエチル - ホスファチジル - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウムまたはこれらの
組み合わせを含むことを特徴とする医薬組成物。 10

【請求項9】

- ヒドロキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム及びテモゾロミド、エルロチニブ、ゲムシタビン、および、シスプラチンから選択される治療活性を持つ少なくとも1つ別の化合物を含むことを特徴とする、請求項8記載の医薬組成物。

【請求項10】

- ヒドロキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム、 - アセチル - シス - 9
- オクタデセン酸ナトリウム、 - メトキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム、
- ジエチル - ホスファチジル - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウムまたはこれらの
組み合わせを含むことを特徴とする栄養補助組成物。 20

【請求項11】

- ヒドロキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム及びテモゾロミド、エルロチニブ、ゲムシタビン、および、シスプラチンから選択される治療活性を持つ少なくとも1つ別の化合物を含むことを特徴とする、請求項10記載の栄養補助組成物。

【請求項12】

皮膚の外見を改善するための化粧品組成物を調製するための、 - ヒドロキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム、 - アセチル - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム、 - メトキシ - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウム、 - ジエチル - ホスファチジル - シス - 9 - オクタデセン酸ナトリウムまたはこれらの組み合わせの使用。 30

【請求項13】

前記化粧品組成物が局所経路を介して投与されることを特徴とする、請求項12記載の使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、好ましくは、その基礎的な病因が、細胞膜の脂質の変化、例えば、これらの脂質のレベル、組成、または、構造などの変化に基づく疾患の予防および／または処置において、薬物として使用される、化式Iのシス - 一不飽和脂肪酸の薬学的に許容可能な誘導体、それらの塩または誘導体（本発明の記載を参照）を指す。本発明は、細胞膜の脂質の組成および構造の調節が病理状態の逆転を引き起こす病状に、それらを使用することについても言及している。加えて、本発明で、（X）がOH、NH₂、または、CH₃によって置換され、または、（R）がHと置換される化式Iの化合物を、ヒトにおける心疾患と肥満の予防および処置のために、肺癌、脳腫瘍、または前立腺癌の処置のために使用することは除外される。 40

【0002】

したがって、その広い応用範囲ゆえに、本発明を、医学と薬学の一般的な分野に含むことができる。

【背景技術】

【0003】

最先端技術

細胞膜は、細胞とそれらが包含する細胞小器官の全体を定義する構造である。生物学的プロセスの大部分は、細胞膜内または細胞膜近傍で生じ、それらの成分脂質は、構造的な役割を有するだけでなく、重要なプロセスの活動を調節する。さらに、細胞膜の脂質組成の調節は、Gタンパク質およびPKCなどの細胞生理の制御に関与する重要なタンパク質の位置または機能に影響を及ぼす(Escriba et al., 1995; 1997; Yang et al., 2005; Martinez et al., 2005)。これらの研究と他の研究は、重要な細胞の機能の制御における脂質の重要性を実証する。事実、癌、心血管の病状、神経変性プロセス、肥満、代謝障害、炎症、感染症、および、自己免疫疾患を含む多くのヒトの疾患は、生体膜に存在する脂質のレベルまたは組成の変化に関連付けられてきた。そのような疾患を逆転させるために採用される場合、細胞膜の脂質の組成と構造を調節する本発明とは別の脂肪酸による処置の有益な効果によって、さらなる証拠が提供される(Escriba, 2006)。

【0004】

食事で摂取される脂質は、細胞膜の脂質の組成を調節する(Alemany et al., 2007)。同様に、様々な生理的および病理的な状況は、細胞膜に存在する脂質を変えることができる(Buda et al., 1994; Escriba, 2006)。細胞膜の脂質の組成の変化は、細胞の信号伝達に影響を与え、疾患の発症を引き起こす可能性があり、または、疾患の進行を逆転させる(Escriba, 2006)。食事で摂取される飽和脂肪酸は、細胞膜の組成と構造に悪影響を及ぼし、該影響は、癌、代謝病(metabolopathies)(糖尿病、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症など)、肥満、心疾患および血管疾患、炎症、神経変性の過程などの様々な病理を引き起こしかねない。この理論は、かつて、多くの場合で恒久的な障害や死につながる壊滅的な結果を伴う中毒症候群を引き起こした、変性した菜種油などの他の脂質によって引き起こされた変化についても説明するものであった。対照的に、有益な健康への影響を伴うそれらの脂質は、すべての細胞には有益で、したがって、多数の病理学的プロセスに作用し得る。このことは、本発明の脂肪酸が広い治療範囲を有することを示唆する。

【0005】

さらに、膜脂質の組織および/または機能の調節に関与する治療を、これらの脂質が著しい変化を示していない病状に適用することができるが、(薬物手段または栄養補助食品手段を介して)それらに介入がなされた結果、細胞の機能は調整され、病理学的過程を逆行させる。

【0006】

近年行なわれた様々な研究は、膜脂質が現在まで評価されていたよりもさらに非常に重要な役割を有していることを示している(Escriba et al., 2008)。この重要性の一例は、温度が変化する川に住んでいる魚で示される。この魚の脂質は、川の温度が20(夏)から4(冬)まで下がると、(膜の組成と脂質の種類において)著しい変化を起こす(Buda et al., 1994)。そのような研究は、膜脂質の変化が、正確な細胞生理を維持するために細胞の機能の一連の協調的な変化を引き起こすということを実証している。可変温度の水に暮らす魚の場合には、膜脂質の調節によって、非常に多様な細胞型において機能を維持することが可能となる。したがって、膜脂質は、複数の細胞情報伝達機構を上手く機能させるか否かを決定することができると言われている。

【0007】

細胞が病気にかかっているため、その病気の生物体は病気にかかっていると仮定すると、膜脂質の変化は疾患の発症を生じさせ得る。膜脂質レベルを調節することを目的とする、類似して、治療上の、栄養補助食品の、または、局所的/美容のための介入が、病理学的過程を予防するか、または、逆転させる(治療する)ことができる。さらに、多くの研究は、飽和脂肪およびトランス-一不飽和脂肪の消費が健康状態の劣化と関係があることを示している。血管疾患と他の疾患および腫瘍は、これらのタイプの脂質と直接関係があ

10

20

30

40

50

った (Stender and Dyerberg, 2004)。生物の劣化はこれらの疾患および他のタイプの疾患の発現において明らかである。この意味において、特定のタイプの脂質の消費は、明らかな正または負の効果を有する。一方では、上記のように、飽和またはトランス - 不飽和脂肪酸は、多くの生理的パラメータに悪影響を及ぼし、例えば、代謝病（高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、糖尿病、メタボリック症候群など）、癌、心血管系の病理、炎症などの多くの病状を生じさせる脂質の変化に関連している。対照的に、シス - 一不飽和および多不飽和脂肪酸は、これらの疾患の予防または該疾患からの回復に関連付けられている。これらの結果はすべて、脂質の変化が細胞生理に有害な変化を引き起こしかねないこと、および、膜の組成と脂質構造の調節が、特定の細胞の機能を協調的調節することによってこれらの負の変化を逆転させることができることを明白に示している。

10

【0008】

したがって、膜の組成および構造の変化は、多くの病状の病因と関係があり、多くの場合、特定の疾患の兆候は、これらの変化と、膜と相互作用するかまたはそれと相互作用する他のタンパク質のシグナル配列に含まれる特定のタンパク質に影響を与える他の変化との組み合わせによる。したがって、本発明によって包含される分子を介した生体膜の構造および機能への介入は、特定の病理学的過程を逆転させるという最終結果を備えた、特定の細胞の機能を効果的に修正することができる。細胞膜に存在する脂質の構造的および機能的な両方の変化の、多様な種類の様々な疾患との既知の関係を仮定すると（この病因によって単一に関連付けられるものであるが）、本発明は、これらの疾患の処置および/または予防に使用される、シス - 一不飽和脂肪酸の薬学的に許容可能な 誘導体、それらの塩および誘導体に焦点を当てるものである。驚くべきことに、シス - 一不飽和脂肪酸の誘導体を首尾よく用いることで、重大な疾患の発症を防ぐか、または、重大な疾患からの回復をもたらして、細胞情報伝達を調節することができるということが、本発明で示されている。

20

【0009】

特許（特許文献 1 と特許文献 2）は、基本的に心疾患（高血圧など）と肥満の予防および処置に言及し、さらに、シス配置またはトランス配置を伴う化式 $\text{C}_\text{OOH} - \text{C}_\text{H}_\text{R} - (\text{C}_\text{H}_2)_m - \text{C}_\text{H} = \text{C}_\text{H} - (\text{C}_\text{H}_2)_n - \text{C}_\text{H}_3$ の化合物の使用による、肺癌、脳腫瘍、または前立腺癌の処置に言及する。R 基は、H、OH、NH₂ あるいは CH₃、または、200da 未満の分子量を備えた他の基によって置換可能であり、カルボキシル基は水素原子（H）を有する。しかしながら、特許（特許文献 1 と特許文献 2）の文書は、癌の予防、および/または、皮膚病変、神経変性病変、神経纖維病変、疼痛、炎症過程、感染性病変、または、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、糖尿病、またはメタボリック症候群などの代謝病理の予防および/または処置に、これらの同じ化合物を使用することについては言及していない。さらに、これらの特許は、この化式の化合物の使用については言及していないが、位置 R（本発明での X）が、癌、血管病変、皮膚病変、代謝病変、神経変性病変、炎症過程、および、感染性病変の、予防および/または処置における、F、F₃C、HS、または、O - C₂H₃などの異なるラジカルによって置換可能である。同様に、これらの特許は、この化式の化合物の使用を明らかにしていないが、位置 R（本発明での X）が、例えば、OH、NH₂、CH₃、F、F₃C、HS、O - C₂H₃、PO₄ (CH₂ - CH₃)₂、または、CH₃COO などの異なる基によって置換可能であり、カルボキシル基の位置 H（本発明での R）は、癌、血管病変、皮膚病変、代謝病変、神経変性病変、炎症過程、および、感染性病変の、予防および/または処置における、例えば、ナトリウム（Na）、メチルエステル（OMe）、エチルエステル（EE）、または、アンモニウム（NH₃）などの異なる基によって置換可能である。同様に、これらの特許は、この化式の化合物の使用も明らかにしてはいないが、位置 R（本発明での X）が、例えば、PO₄ (CH₂ - CH₃)₂ または CH₃COO などの異なる基によって置換可能であり、カルボキシル基の位置 H（本発明での R）は、癌、血管病変、皮膚病変、代謝病変、神経変性病変、炎症過程、および、感染性病変の、予防および/または処置にお

30

40

50

いて、Hとして保持される。最終的に、最先端技術で見られるいづれの文書も、この化式の化合物の使用については明らかにしていないが、位置R(本発明でのX)が、例えば、OH、NH₂、CH₃、F、F₃C、HS、O-CH₃、PO₄(CH₂-CH₃)₂、または、CH₃COOなどの異なる基によって置換可能であり、カルボキシル基の位置H(本発明でのR)は、神経再生の誘発、神経纖維病変の予防および/または処置、および/または、疼痛の予防および/または処置における、例えば、H、ナトリウム(Na)、メチルエステル(OME)、エチルエステル(EE)、または、アンモニウム(NH₃)などの異なる基によって置換可能である。

【0010】

したがって、シス配置を備えた異性体のより高い有効性が本発明で実証され、疾患の予防および/または処置の中で成功裡に使用された化合物をもたらす新しい基が選択されており、共通の病因は、癌、血管病変、皮膚病変、代謝病変、神経変性病変、神経纖維病変、疼痛、炎症過程、HIVおよびマラリアなど、細胞膜で見られる脂質の構造的および/または機能的变化に基づく。加えて、先に言及したように、本発明は、特許(特許文献1と特許文献2)で明らかにされた化合物用の新しい使用を実証するものであり、それらは、癌、皮膚病変、神経変性病変、炎症過程、および、感染性病変、神経纖維病変、および、疼痛など様々なタイプの予防および処置である。同様に、新しい誘導体、および、本発明の分子と他の活性成分および賦形剤との組み合わせがみられ、両方の場合で、いくつかの病状の処置のために、さらに高い医薬的有効性を備えている。

【0011】

最先端技術で見られる文献のいづれも、本発明で主張される目的のための、他の活性成分と賦形剤とによる併用療法において、シス-一不飽和脂肪酸の誘導体とそれらの塩を特異的に使用することについて言及していない。加えて、シス-一不飽和脂肪酸の誘導体の共通の構造的特徴(シス配置での二重結合、および、炭素内にあり、カルボキシル基プロトンと薬学的に許容可能な関連する構造との特定の置換基)を備えた化合物を選択することの特別な重要性が本発明で実証されることで、疾患の処置において効果的に適用可能である。このとき、病因は膜脂質の機能的および/または構造的な変化に関連する。したがって、本発明は比較例を示し、本発明で使用される化合物と類似するもののこれらの構造的な特徴を共有していない他の化合物は、本発明のシス-一不飽和脂肪酸の誘導体ほど有効ではないということが実証される。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0012】

【特許文献1】国際公開公報WO2005041691号

【特許文献2】国際公開公報WO2003030891号

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明は、好ましくは、膜脂質の構造的または機能的变化と関係のある病因によって結び付けられる疾患の処置および/または予防で薬物として使用される、シス-一不飽和脂肪酸の誘導体、および、それらの塩または薬学的に許容可能な形態について言及する。式中、(X)がOH、NH₂、または、CH₃と置換され、(R)がHと置換される化式Iの化合物を、ヒトの心血管疾患と肥満の予防および処置、および、肺癌、脳腫瘍、または前立腺癌の処置のために使用することは除外される。

【0014】

共通の病因によって関連付けられ、本発明のシス-一不飽和脂肪酸の誘導体の使用によって予防または処置される疾患または病状は、例えば、以下の通りである。

- ・癌(表2を参照)：前立腺癌、乳癌、肺癌、白血病、子宮頸癌、結腸癌、脳腫瘍、肺癌。
- ・血管病変：動脈硬化症、心筋症、血管新生、心臓肥大、および、高血圧。

10

20

30

40

50

- ・皮膚病変：セルライト、白斑、および、乾癬。
- ・代謝病変：高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、糖尿病、メタボリック症候群、および、肥満。
- ・神経変性病変：アルツハイマー病、パーキンソン病、および、硬化症。
- ・疼痛、心疾患、全身性疾患、老化、呼吸器疾患、および、関節リウマチを引き起こす炎症過程。
- ・感染性病変：AIDSとマラリア。
- ・神経纖維病変：神経細胞の損傷、皮質脊髄路の機能障害を伴うまたは該機能障害を伴わない異常な自発的運動機能、中枢性感作の構成要素を伴うまたは伴わない脊髄損傷に起因する痙攣など。したがって、本発明の化合物は神経再生を誘発するのに有効である。
- ・中枢神経系への損傷によって生じた疼痛：鎮痛、神経因性疼痛、痛覚などの変化を要求とする過程。

【0015】

この目的のために本発明で使用されるシス-一不飽和脂肪酸（以下、本発明の脂肪酸と呼ぶ）の誘導体は、表1に示される構造基1、および、表5の化合物に属し、一般的な化式（I）を有していることにより特徴づけられる：



式中、(a)と(b)は0から14の間の任意の値をとることができ、炭素原子にリンクした(X)は原子量/分子量が4~200Daの任意の原子または原子群に置換可能であり、(R)は原子量/分子量が1~200Daの任意の原子または原子群に置換可能であり、(X)と(R)は両方とも、例えば、アルコール、有機酸、アルキル基、アミノ基、ハロゲン、アルキルハロゲン、アルキルオキシ基、および、メルカプト基から選択される。

【0016】

本発明の特定の実施例において、ラジカル(X)は、OH、NH₂、CH₃、F、F₃C、HS、O-CH₃、PO₄(CH₂-CH₃)₂、および、CH₃COOから選択される基によって置換可能である。

【0017】

本発明の別の特定の実施例において、ラジカル(R)は、H、ナトリウム(Na)、メチルエステル(OMe)、エチルエステル(EE)、アンモニウム(NH₃)、および、化式Iの化合物の塩または薬学的に許容可能な形態を作る任意の他のラジカルによって置換可能である。

【0018】

この構造を効果的に機能させるためには、シス配置での二重結合(=)と炭素上でのこれらの置換基が必要不可欠である。化式Iに記載の分子と類似する分子で行われたが、トランス二重結合を有しているかまたは二重結合(飽和脂肪酸)を欠く炭素原子上の置換基を欠いている(Xは水素原子である)試験によれば、炭素原子は、本発明の脂肪酸によって示されたものと比較して予防または治療の活性が低いことがわかった。

【0019】

本発明の分子の異なる塩が研究された(表5)。それらの有効性は、場合によっては、遊離脂肪酸の有効性よりも著しく優れている。この効果は、化合物の吸収、または、化合物の分布の改善による。したがって、本発明において、カルボキシル基(R)の水素の置換は、遊離脂肪酸それ自体よりも薬理学的により優れた活性を示した特定の塩または誘導体を生じさせることが実証された。例えば、RがNaによって置換されるナトリウム塩は、RがHによって置換される形態よりも、腫瘍量の劇的な軽減を誘発する。したがって、ナトリウム塩は、癌の予防または処置のための医薬組成物または栄養補助組成物を調整するための好ましい選択の1つである。

【0020】

細胞内部のメッセージの伝播に含まれる特定の周辺のシグナル伝達タンパク質を、表面のパッキング(packing)が緩い領域にアンカー可能である(図1)。シス配置で

10

20

30

40

50

、かつ、Hによる置換とは異なる 炭素での置換では不飽和の脂肪酸は、（その遊離形態で、または、リン脂質などのより大きな構造の一部を形成するかのいずれかで）膜内に配され、Gタンパク質、P K C およびR A S型タンパク質が結合する細胞壁の表面で見られるリン脂質の極性頭部のパッキングの断絶を引き起こす。対照的に、飽和脂肪酸またはトランスー不飽和脂肪酸は、細胞シグナル伝達に干渉して、細胞膜へのこれらのタンパク質の付着を防ぐ。このことは、飽和脂肪酸が食餌から取り除かれなければならないことを意味しているのではなく、平均レベルから高水準レベルの国々の標準食にあるこれらの脂質の摂取水準が、その機能を適切に実行させるために細胞が必要とする脂質のレベルよりも高いことを意味している。実際に、細胞膜に現われる様々な脂質のミクロドメイン（例えば、「脂質ラフト」）は、（タンパク質 - 脂質相互作用に基づいた）これらのドメインに対する親和性を備えたタンパク質が集まり、細胞のシグナルの伝播を可能にする生産的な相互作用を有することが可能な、空間と時間の両方に存在する（s p a c i o t e m p o r a l）プラットフォームである。これらのドメインの密度または構造の任意の変化は、細胞内のシグナル伝達信号に影響を与え、その結果、膜脂質の調節につながる医薬品または栄養補助食品による介入は、タンパク質または核酸を直接標的とする介入よりも、多かれ少なかれ、効果的である。

【0021】

本発明の脂肪酸によって提供される広範囲の治療適用は、様々な現象によって実証される。第1に、負の効果（飽和脂質およびトランスー不飽和脂質）または正の効果（シス - 一不飽和脂肪）を伴う脂質の摂取が、同じような方法で生物の全ての細胞に影響を及ぼすことで、負及び正の両方の効果は、多くの手法：肥満、高血圧、癌などの誘発または減少などで示される。特定の種類の脂質が摂取されると、該脂質は生物全体に分布され、すべての器官の細胞膜で脂質種の調整を生じさせる。（変温魚における寒冷水への順化などの）特定の生理的または病理学的な過程の結果としての脂質のレベルの変化は、生物体の細胞すべてに実際に影響する（B u d a e t a l . , 1 9 9 4）。最後に、脂肪酸を保存または分解することで、エネルギーを生成することができる。実際に、これらの分子は例外的な細胞の燃料であるので、その結果、未修飾の脂肪酸を直接使用することは健康に適度な影響を及ぼす。しかしながら 炭素原子に修飾を加えることによってその分解を防ぐことで、細胞質と膜の両方で、これらの分子が長い間持続することを可能にし、したがって、それらの治療効果を有効なものとする。この意味で、シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体の血漿レベルが注入1時間後で高度で維持される（最初のレベルの50 - 60%）ことが示される一方で、天然の脂肪酸はこの期間後には事実上消えた（2 - 4%のレベル）。したがって、本発明で使用されるシス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体は、観察可能な二次的な効果を伴わない広範囲の正の効果を引き起こす。シス配置において不飽和で、かつ、H以外の原子による 炭素上で置換基を有し、および、他の類似構造ではない脂肪酸のみが、様々なレベルでの治療的特性を有していることを実証するために、異なる構造基（1 - 4）に属する異なる種の脂肪酸（表1を参照）を本発明で試験した：シス - 一不飽和脂肪酸（本発明の脂肪酸）の 誘導体（1）、シス配置で二重結合を備えるが、Hに対する以外に 炭素の修飾を伴わない脂肪酸（2）、H以外のラジカルによって置換される 炭素を有するが、シス配置での二重結合を有していない脂肪酸（3）、シス配置での二重結合もH以外の 炭素での置換も伴わない脂肪酸（4）。

【0022】

（生体膜の組成および構造の調節に基づく）これらの分子の作用機構は、（タンパク質、または、ほとんどの場合、核酸との相互作用に基づく）ヒトの病態を処置するために用いられる医薬品の大部分とは異なる。したがって、少なくとも1つの別の分子（活性成分および/または賦形剤）に加えて本発明の化合物の一つが使用される併用療法で、それらを用いることができ、併用療法は、1つの化合物だけを用いる単独療法よりもはるかに効果的になりえる。本発明では、例えば、研究された抗腫瘍医薬品（テモゾロミド、エルロチニブ、ゲムシタビン、シスプラチン）のいずれかと組み合わせたO H O Dが、別々に使用された化合物のいずれよりも高い治療効果を有していることが実証されている。

10

20

30

40

50

【0023】

本発明の脂肪酸によって提示される広範囲な治療適用は、シス - 一不飽和構造を有する脂質が、これらの膜内で、および、該膜によって行なわれるプロセスの適切な活性を可能にする特定の構造特性を与えるという一般的な仮定を可能にするものである。言い換えれば、病因が、レベル、組成、構造の変化、あるいは、生体膜脂質に対する任意の他の種の変化と、または、生体膜中に存在する脂質のこれらの変化の結果としての細胞内シグナル伝達の調節の変化とのいずれかに関連している任意の疾患の予防および/または処置に、本発明の脂肪酸を効果的に使用することができる。

【0024】

したがって、本発明は、ヒトと動物において薬物として独立してまたは他の化合物と組み合わせて使用される、化式Iの化合物、薬学的に許容可能なシス - COOR - XCH - (CH₂)_a - CH = CH - (CH₂)_b - CH₃、その塩およびその誘導体について言及し、式中、(a)と(b)は0から14の間の任意の値をとることができ、(X)は原子量/分子量が4~200Daの任意の原子または原子群によって置換可能であり、(R)は、原子量/分子量が1~200Daの任意の原子または原子群によって置換可能であり、(X)と(R)は両方とも、例えば、アルコール、有機酸、アルキル基、アミノ基、ハロゲン、アルキルハロゲン、アルキルオキシ基、および、メルカプト基から選択され、心疾患と肥満の予防および処置のための、および、肺癌、脳腫瘍、および、前立腺癌の処置のための、式中、(R)がHであり、(X)がOH、NH₂、または、CH₃によって置換されるような化式Iの化合物を除く。

10

20

【0025】

好ましい実施形態では、化式Iにおいて、(X)は、OH、NH₂、および、CH₃から選択された基によって置換され、(R)は、Hによって置換され、癌の予防、および/または、皮膚病変、神経変性病変、炎症過程、感染性病変、または、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、糖尿病、あるいは、メタボリック症候群などの代謝病変の予防および/または処置において使用される化合物を生じさせる。

【0026】

別の好ましい実施形態では、化式Iにおいて、(X)は、F、F₃C、HS、および、O - CH₃から選択される基によって置換され、(R)は、Hによって置換され、癌、血管病変、皮膚病変、代謝病変、神経変性病変、炎症過程、感染性病変の予防および/または処置において使用される化合物を生じさせる。

30

【0027】

別の好ましい実施形態では、化式Iにおいて、(X)は、OH、NH₂、CH₃、F、F₃C、HS、O - CH₃、PO₄(CH₂ - CH₃)₂、および、CH₃COOから選択された基によって置換され、(R)は、化式Iのナトリウム(Na)、メチルエステル(OMe)、エチルエステル(EE)またはアンモニウム(NH₃)によって置換可能であり、癌、血管病変、皮膚病変、代謝病変、神経変性病変、炎症過程、および、感染性病変の予防および/または処置で使用される化合物を生じさせる。

【0028】

別の好ましい実施形態では、化式Iにおいて、(X)は、PO₄(CH₂ - CH₃)₂およびCH₃COOから選択された基によって置換され、(R)は、Hによって置換され、癌、血管病変、皮膚病変、代謝病変、神経変性病変、炎症過程および感染性病変の予防および/または処置で使用される化合物を生じさせる。

40

【0029】

別の好ましい実施形態では、神経再生の誘発、神経纖維病変の予防および/または処置、および/または、疼痛の予防および/または処置で使用するために、化式Iにおいて、(X)は、OH、NH₂、CH₃、F、F₃C、HS、O - CH₃、PO₄(CH₂ - CH₃)₂、および、CH₃COOから選択された基によって置換され、(R)は、H、ナトリウム(Na)、メチルエステル(OMe)、エチルエステル(EE)、または、アンモニウム(NH₃)から選択された基によって置換される。

50

【0030】

別の好ましい実施形態では、化式Iの化合物は、OHHD、OHOD、MOD、AOD、FOD、TFMOD、MOOD、SHOD、MOD11、OHOD11、OHEE、OHDE、Na-OHOD、OMe-OHOD、EE-OHOD、NH₃-OHOD、ACOD、Na-ACOD、OMe-ACOD、EE-ACOD、Na-MOOD、OMe-MOOD、EE-MOOD、DEPOD、Na-DEPOD、OMe-DEPOD、および、EE-DEPODである。

【0031】

先に記載されているように、化合物を、他の活性成分または賦形剤と組み合わせて使用することで、癌、血管病変、皮膚病変、代謝病変、神経変性病変、炎症過程または感染性病変の予防および/または処置において、および/または、神経再生の誘発、神経纖維病変の予防および/または処置、および/または、疼痛の予防および/または処置のために役立つ医薬組成物および/または栄養補助組成物を生じさせることができる。10

【0032】

したがって、本発明の脂肪酸は、独立して投与されるか、または、例えば、結合剤、充填剤、崩壊剤、滑沢剤、コーティング剤(coaters)、甘味料、調味料、着色料、担体など、および、それらの組み合わせといった賦形剤に脂肪酸を組み合せた医薬組成物または栄養補助組成物で処方されることが可能である。同様に、本発明の脂肪酸は、他の活性成分と組み合わせて医薬組成物または栄養補助組成物の一部を形成することができる。本発明の目的のために、栄養補助という用語は、食餌中に周期的に摂取する化合物として、または、疾患(この場合、疾患とは、病因が細胞膜の脂質の変化に関連付けられる)を予防するかまたは逆転させるために役立つ食物補体(food complement)として定義される。20

【0033】

本発明の脂肪酸の投与は、上記の形態で、または、例えば、メチル、エチル、リン酸塩、他のエステルタイプのラジカル、エーテル、アルキルなどの任意の薬学的に許容可能な形態で、例えば、腸内(消化管によって)、経口(丸剤、カプセル剤、粉剤、エマルジョン、錠剤、またはシロップ剤)、直腸(rectoral)(坐剤または浣腸剤)、局所的(クリーム剤またはパッチ剤)、吸入剤、注射剤、静脈注射、筋肉注射、または、皮下注射などの任意の経路によって行うことができる。30

【0034】

したがって、本発明は、化式Iの化合物(式中、(a)と(b)は0から14の間の任意の値をとることができ、(X)は原子量/分子量が4~200Daの任意の原子または原子群によって置換可能であり、(R)は、原子量/分子量が1~200Daの任意の原子または原子群によって置換可能である)と、治療活性または賦形剤活性を有する少なくとも1つの第2の化合物とを含む医薬組成物および/または栄養補助組成物についても言及している。

【0035】

本発明の好ましい実施例において、本発明の化合物と組み合わせて処方されたこの賦形剤は、アルブミンであり、例えば、ヒト、ウシ、マウス、または、ウサギ起源のオバルブミン、ラクトアルブミン、天然アルブミンまたは組み換え型アルブミン、好ましくは、ヒト血清アルブミンまたはウシ血清アルブミンである。したがって、本発明の脂肪酸とアルブミンとを含む組成物は、先に列挙された兆候の予防および/または処置で有効であり、好ましくは、神経再生の誘発、神経纖維病変の予防および/または処置、および/または、疼痛の予防および/または処置で有効である。好ましい実施形態では、組成物は、OHOD、または、その任意の誘導体、例えば、Na-OHODおよびアルブミンなどを含む。

【0036】

本発明の脂肪酸と別の活性成分とを含む組成物は、先に列挙された兆候の予防および/または処置で有効であり、好ましくは、活性成分が抗癌性の化合物である場合、癌の予防40

および処置に有効である。好ましい実施形態では、組成物は、O H O D および / または N a - O H O D と、例えば、テモゾロミド、エルロチニブ、ゲムシタビンおよびシスプラチ ンから選択された抗癌性の化合物を含む。

【 0 0 3 7 】

本発明の別の態様は、皮膚の外観を改善するための美容（治療的ではない）方法について言及し、該方法は、有効な量の少なくとも 1 つの薬学的にまたは美容的に許容可能な化式 I の化合物および / またはその塩または誘導体を、皮膚に投与する工程を含み、式中、(a) と (b) は 0 から 1 4 の間の任意の値をとることができ、(X) は原子量 / 分子量が 4 ~ 2 0 0 D a の任意の原子または原子群によって置換可能であり、(R) は、原子量 / 分子量が 1 ~ 2 0 0 D a の任意の原子または原子群によって置換可能であり、アルコール、有機酸、アルキル基、アミノ基、ハロゲン、アルキルハロゲン、アルキルオキシ基、および、メルカプト基から選択される。

【 0 0 3 8 】

最後に、本発明は、共通の病因が細胞膜の脂質の構造的および / または機能的な変化に関連する、ヒトと動物の疾患の予防および / または治療的な処置のための方法について言及している。本方法は、心疾患と肥満の予防および処置のため、および、肺癌、脳腫瘍、および前立腺癌の処置のために、(R) が H であり、(X) が O H 、 N H ₂ または C H ₃ によって置換されるような化式 I の化合物の投与を除いて、治療上有効な量の少なくとも 1 つの薬学的に許容可能な式 I の化合物（独立して、または、他の化合物と組み合わせて）、その塩または誘導体を患者に投与する工程を含み、式中、(a) と (b) は 0 から 1 4 の間の任意の値をとることができ、(X) は原子量 / 分子量が 4 ~ 2 0 0 D a の任意の原子または原子群によって置換可能であり、(R) は、原子量 / 分子量が 1 ~ 2 0 0 D a の任意の原子または原子群によって置換可能であり、(X) と (R) は、両方ともアルコール、有機酸、アルキル基、アミノ基、ハロゲン、アルキルハロゲン、アルキルオキシ基、および、メルカプト基から選択される。

【 0 0 3 9 】

本発明の目的のために、「治療上有効な量」という用語は、二次的な副作用を示すことなく、疾患を逆転させるかまたは予防するような量、または、そのような効果が引き起こされる場合に、それらが医薬品の規制当局によって定義される基準（基本的に、有益性が生じた有害性よりも高い場合、例えば、吐き気の発症は深刻な癌と予測された患者では許容可能である）によって許容可能なものであるような量であると理解される。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 4 0 】

【 図 1 】細胞内シグナル伝達タンパク質の細胞膜との結合。周辺の細胞内シグナル伝達タンパク質（ A 、 B および C ）は、膜脂質との特定の相互作用、静電相互作用、および / または、疎水性領域を非層状の傾向が強い領域に挿入することなどの、シス - 一不飽和脂質によって仲介される 1 または複数の機構を介して細胞膜に結合される。したがって、シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体は、特定の膜と細胞の細胞内シグナル伝達タンパク質との相互作用を調節することができる。

【 図 2 】腫瘍進行に対する様々な脂肪酸の予防的効果。横軸は、癌の進行の予防に使用された脂肪酸のタイプを示し、縦軸は腫瘍の容積を示す。動物は腫瘍細胞の注入前に処置を受け、その後も維持した。対照群の動物を処置せず、それらの腫瘍の容積を基準値（ 1 0 0 % ）として得た。本発明の脂肪酸（ O H H D 、 O H O D 、 M O D 、 A O D 、 F O D 、 T F M O D 、 M O O D 、 S H O D 、 M O D 1 1 、 O H O D 1 1 、 O H E E 、および、 O H D E ）は、 位置において誘導体を含まないシス - 一不飽和脂肪酸（ E E 、 D E 、 H O D 、 O D O ）よりも、同一の長さの飽和脂肪酸（ H D 、 O D 、 E O ）よりも、および、シス - 一不飽和脂肪酸でなかつた脂肪酸（ O H S 、 t O H O D ）の 誘導体よりも、さらに有意な効果（すべてのケースで p < 0 . 0 5 ）を有していた（表 1 を参照）。

【 図 3 A 】癌細胞（ A 5 4 9 ）を様々な濃度の O H O D と M O D 1 1 で処理し、その効果が濃度に依存したものかどうかを測定した。横軸は、使用される脂肪酸の μ M 濃度を示し

10

20

30

40

50

、縦軸は、未処理の A 5 4 9 細胞（%対照）の生存率を示す。これらの細胞を、様々な濃度（0 - 4 0 0 μ M）の O H O D と M O D 1 1 で処理し、細胞の数をフローサイトメトリーで測定した。両方の化合物が腫瘍細胞の成長を抑制し、48時間のインキュベーション後に 5 0 ~ 1 0 0 μ M の範囲で I C _{5 0}（生存細胞の数を 5 0 % まで減らす濃度）の値を示した。2 0 0 ~ 4 0 0 μ M の容量は、すべての場合で、腫瘍細胞の完全な消失をもたらした。

【図 3 B】癌細胞（A 5 4 9）を、1 5 0 μ M で 48 時間、横軸上で示された化合物で処理した。その後、細胞を数え、その数と未処理の（対照）の百分率を縦軸上で表した。これらの培養液において、1 5 0 μ M の本発明の脂肪酸をインキュベーションすることで、腫瘍細胞の成長の抑制を引き起こし（すべてのケースで、p < 0 . 0 5 ）、これらは癌の処置に有効な分子であることを示している。
10

【図 4】癌細胞（A 5 4 9）を、O H O D（1 0 0 μ M、48 時間）の不在下（左）および存在下（右）でインキュベートした。その後、それらを固定し、カドヘリンに対する抗体の存在下でインキュベートし、共焦点顕微鏡で観察した。5 0 μ M の O H O D による処理（48 時間）は、このタンパク質のレベルで、7 3 . 6 ± 5 . 4 % の増加を誘発した。本発明の脂肪酸による処理では、カドヘリンレベルの著しい増加が観察された。

【図 5】5 0 μ M（M 5 0）と 1 0 0 μ M（M 1 0 0）の O H O D（2 - ヒドロキシ - 9 - シス - オクタデセン酸）の不在下（対照、C）または存在下における、および、異なる回数における、培養液中の肺癌細胞（A 5 4 9）の浸潤能。O H O D の存在下で培養された肺癌細胞は、未処理細胞（C）により示されるよりも低い浸潤能を示した（p < 0 . 0 5 ）。これらの結果は、本発明の脂肪酸を使用して、腫瘍転移の進行を予防または処置することができるということを示している。これらの結果の右側の図は、縦軸上に浸潤細胞の数を、横軸上に時（時間）を示す。
20

【図 6 A】動物の癌モデルにおけるヒトの肺癌に対する O H O D の異なる塩の効果。様々な処理を受けた S F 7 6 7 ヒト脳腫瘍細胞に感染したヌードマウスの腫瘍の容積（対照群と比較した百分率として表現される）。動物は、50日間にわたって毎日、ビヒクル（水：対照群）、遊離脂肪酸の形態の 6 0 0 m g / k g の O H O D（O H O D）、6 0 0 m g / k g の O H O D のナトリウム塩（N a - O H O D）、または、6 0 0 m g / k g の O H O D のアンモニウム塩（N H ₃ O H O D）を受けた。この処理のすべては、処理した動物において腫瘍の大きさの著しい減少をもたらし（* * * p < 0 . 0 0 1 ）、N a - O H O D による処理は、遊離脂肪酸、O H O D（p < 0 . 0 5 ）による処理よりも著しく効能があった。
30

【図 6 B】動物の癌モデルにおけるヒトの肺癌に対する O H O D の異なる塩の効果。S F 7 6 7 細胞に感染させて、50日間にわたって、ビヒクル（対照群、0 m g / k g）、1 0 0 m g / k g（1 0 0）、2 0 0 m g / k g（2 0 0）、4 0 0 m g / k g（4 0 0）、および、6 0 0 m g / k g（6 0 0）で処理したマウスにおける腫瘍の容積に関して、異なる容量の O H O D のナトリウム塩（N a - O H O D）の効果を示す（* p < 0 . 0 5 ；* * * p < 0 . 0 0 1 ）。

【図 7 A】動物モデルでのヒトの腫瘍の様々なタイプへの、O H O D のナトリウム塩（N a - O H O D）の効果。免疫欠損マウス（「ヌード」）と、ヒト白血病細胞（ジャーカット細胞）に感染した免疫欠損マウスとの腫瘍の容積に対する N a - O H O D（50日間、毎日 6 0 0 m g / k g）の効果。この図は、N a - O H O D 形態（O H O D のナトリウム塩）が、免疫欠損マウスに異種移植された様々なタイプのヒト癌：白血病、前立腺癌、乳癌および結腸癌の処置において、対応する遊離脂肪酸よりも高い有効性を示すことを実証するものである。
40

【図 7 B】動物モデルでのヒトの腫瘍の様々なタイプへの、O H O D のナトリウム塩（N a - O H O D）の効果。ヒト前立腺癌細胞を接種したヌードマウスの腫瘍の容積に対する N a - O H O D（50日間、毎日 6 0 0 m g / k g）の効果。この図は、N a - O H O D 形態（O H O D のナトリウム塩）が、免疫欠損マウスに異種移植された様々なタイプのヒト癌：白血病、前立腺癌、乳癌および結腸癌の処置において、対応する遊離脂肪酸よりも
50

高い有効性を示すことを実証するものである。

【図7C】動物モデルでのヒトの腫瘍の様々なタイプへの、OHODのナトリウム塩(Na-OHOD)の効果。ヒト乳癌細胞(MDA-MB-231細胞)を接種したヌードマウスの腫瘍の容積に対するNa-OHOD(50日間、毎日600mg/kg)の効果。この図は、Na-OHOD形態(OHODのナトリウム塩)が、免疫欠損マウスに異種移植された様々なタイプのヒト癌：白血病、前立腺癌、乳癌および結腸癌の処置において、対応する遊離脂肪酸よりも高い有効性を示すことを実証するものである。

【図7D】動物モデルでのヒトの腫瘍の様々なタイプへの、OHODのナトリウム塩(Na-OHOD)の効果。ヒト結腸癌細胞(HT29細胞)で同上。すべての処理を50日間継続し、対照動物をビヒクル(水)で処理した(** p < 0.01 ; *** p < 0.001)。この図は、Na-OHOD形態(OHODのナトリウム塩)が、免疫欠損マウスに異種移植された様々なタイプのヒト癌：白血病、前立腺癌、乳癌および結腸癌の処置において、対応する遊離脂肪酸よりも高い有効性を示すことを実証するものである。

【図8A】Na-OHOD(OHODのナトリウム塩)と様々な医薬品(テモゾロミド(TMZ)、エルロチニブ、ゲムシタビン、および、シスプラチニン(シス-Pt)による組み合わせの、モデルにおける様々な種類のヒト癌への効果。ヒト脳腫瘍(SF767)に感染した免疫欠損マウスにおける、60日間、ビヒクル(対照)、テモゾロミド(TMZ、80mg/kg)、Na-OHOD(OHOD、600mg/kg)、および、Na-OHOD(同じ用量で同時に)を加えたTMZによる処理の効果。Na-OHODとこれらの医薬品のいずれかとの組み合わせは、Na-OHODが単独で与えられた後か、または、先に示された抗腫瘍性医薬品が単独で与えられた後のいずれかで、腫瘍とそれより著しく小さな腫瘍の容積の顕著な減少をもたらすことが示されている。さらに、Na-OHODで処理された動物の大部分、特に、2つの分子で同時に処理された動物のすべてで観察された残存腫瘍は、脳腫瘍を再生成する能力のない死細胞から構成されていた。したがって、これらの併用療法が動物の処置に移植されたヒトの腫瘍に有効であったと考えることができる。

【図8B】Na-OHOD(OHODのナトリウム塩)と様々な医薬品(テモゾロミド(TMZ)、エルロチニブ、ゲムシタビンおよびシスプラチニン(シス-Pt)による組み合わせの、モデルにおける様々な種類のヒト癌への効果。ヒト肺癌細胞(A549)に感染したヌードマウスにおける、Na-OHOD(OHOD、600mg/kg)、エルロチニブ(Erlotinib、40mg/kg)、シスプラチニン(シス-Pt、100mg/kg)、エルロチニブ(OHO-Er)を加えたNa-OHOD、または、シスプラチニン(OHO-Pt)を加えたNa-OHODによる、同上。Na-OHODとこれらの医薬品のいずれかとの組み合わせは、Na-OHODが単独で与えられた後か、または、先に示された抗腫瘍性医薬品が単独で与えられた後のいずれかで、腫瘍とそれより著しく小さな腫瘍の容積の顕著な減少をもたらすことが示されている。さらに、Na-OHODで処理された動物の大部分、特に、2つの分子で同時に処理された動物のすべてで観察された残存腫瘍を再生成する能力のない死細胞から構成された。したがって、これらの併用療法が動物に移植されたヒトの腫瘍に有効であったと考えることができる。

【図8C】Na-OHOD(OHODのナトリウム塩)と様々な医薬品(テモゾロミド(TMZ)、エルロチニブ、ゲムシタビンおよびシスプラチニン(シス-Pt)による組み合わせの、モデルにおける様々な種類のヒト癌への効果。ヒト膵癌細胞(BXPC3)に感染したヌードマウスにおいて、同じ量を用いて、Na-OHOD(OHOD、600mg/kg)、ゲムシタビン(Gemcitab、40mg/kg)、または、ゲムシタビン(OHO-Gem)を加えたNa-OHODによる、同上。Na-OHODとこれらの医薬品のいずれかとの組み合わせは、Na-OHODが単独で与えられた後か、または、先に示された抗腫瘍性医薬品が単独で与えられた後のいずれかで、腫瘍とそれより著しく小さな腫瘍の容積の顕著な減少をもたらすことが示されている。さらに、Na-OHODで処理された動物の大部分、特に、2つの分子で同時に処理された動物のすべてで観察された残存腫瘍を再生成する能力のない死細胞から構成された。したがって、これらの併用

10

20

30

40

50

療法が動物に移植されたヒトの腫瘍に有効であったと考えることができる。

【図9】 $200\mu M$ の濃度で48時間のインキュベーション後、A10大動脈細胞の増殖に対する様々な分子の効果。使用する脂肪酸を横軸に、細胞の数(%対照)を縦軸に示す。すべての細胞は、血清を取り除くフラスクの1つを除けば(血清なしで)、温度、pH、および、培地の同一条件下で成長した。本発明の脂肪酸は、 $200\mu M$ の濃度で(多くの細胞成長因子を含む)ウシの胎児の血清を除去することによって生じたものと類似した細胞増殖の停止を誘発した(すべての場合で、 $p < 0.05$)。この結果は、これらの分子が、毒性作用を有することなく、心血管細胞の増殖を停止させることを示す(細胞の数は同じであるか、または、血清のないサンプル中よりも高い)。

【図10】SHRラットにおける高血圧の発症の予防と処置の際の様々な脂肪酸の効果。使用する脂肪酸を横軸に示し、動脈圧(Hg)を縦軸に示す。本発明の脂肪酸で処置した動物は高血圧を発症させなかつたことが観察されたが(すべての場合で、 $p < 0.05$)、未処理の動物または化式Iで示す構造を有していない脂肪酸で処理した動物は、高血圧を発症させた。

【図11】SHRラットの大動脈における、ノルアドレナリン(NA)によって誘発された収縮反応に対するOHODの効果。NAの対数を横軸に示し、濃度(g)を縦軸に示す。酸素を備えたリンガー培地(Ringer medium)において、 $37^{\circ}C$ の浴槽内で60分間、OHOD(黒丸)またはビヒクル(空丸)で大動脈を処理した。図は、ノルアドレナリン(NA)によって誘発された収縮反応がこの脂肪酸であらかじめ処理されたラットの大動脈においてはるかに高かったことを示している($p < 0.05$)。この結果は、血管組織増加の柔軟性が本発明の脂肪酸の存在下で著しく増加することを明確に示している($p < 0.05$)。

【図12】マウスのメラニン形成細胞(B16細胞、左側の明るいバー)におけるメラニンの生成と、脂肪細胞(3T3-L1細胞、右側の暗いバー)の増殖に対する、(横軸で示される)本発明の脂肪酸の効果。結果は、3つの独立した実験の平均である。この意味で、48時間にわたるこれらの化合物の $100\mu M$ の濃度は、B16細胞のメラニン含有量の減少を引き起こした(すべての場合で、 $p < 0.05$)。同様に、化式Iの構造を有する分子は、3T3-L1細胞(脂肪細胞(adiposeまたはadipocyte))の成長を抑制したが(すべての場合で、 $p < 0.05$)、化式Iの構造を有していない分子は、脂肪細胞の増殖には著しい効果を示さなかった。

【図13】夫々左から右への4つのバーは、コレステロール値(左側の4つのバー群)、トリグリセリド(中央の4つのバー群)、および、グルコース(右側の4つのバー群)に対する、ビヒクル(対照、第1のバー)、 200mg/kg のOHOD(第2のバー)、 400mg/kg のOHOD(第3のバー)、および、 600mg/kg のOHOD(第4のバー)による処置の効果を示す。その処置はすべての場合で経口で、30日間維持された。示された値は、1つの群当たり6匹の動物で得られた平均である。OHODによる処置は、コレステロール、トリグリセリド、および、グルコースのレベルの著しい減少を引き起こしたことが観察された(すべての場合で、 $p < 0.05$)。

【図14】コレステロール、トリグリセリドおよびグルコースのレベルに対する、ビヒクル(対照)または本発明の脂肪酸(600mg/kg)による処置の効果。示された値は、6匹の動物で得られた値の平均である。3つのバーの群は、それぞれ、コレステロールに対応する左のバー、トリグリセリドに対応する中央のバー、および、グルコースに対応する右のバーで、異なる脂肪酸による処置を表わす。化式Iの構造を備える脂肪酸は、3つのパラメータの著しい減少を引き起こすことが観察された($p < 0.05$)が、化式Iの構造を有していない類似の分子は、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、糖尿病、および、メタボリック症候群のような代謝病変の有効な処置には効果がなかった。

【図15】アルツハイマー病のマウスでの認知的指標。この調査について、生後6か月のマウスは、ヒトでアルツハイマー病を引き起こすとともに、この疾患の神経学的症状および認知的症状を示す変異と同一の一連の変異とともに用いられた(Jackson Laboratories-Charles River)。バーは、ミラーの放射状アーム

10

20

30

40

50

迷路試験 (Miller radial arm maze test) で得られた結果の平均として測定された、認知的指標に相当する。このミラーの試験では、学習後にプラットフォームを見つけるための時間によって割った、学習前にプラットフォームを見つけるための時間を測定し、100%として表した。この試験では、ビヒクル (水、対照) で処置した動物によって得られた時間を、100%であるとみなした。このパラメータの高い値は、学習後にプラットフォームを見つける時間の減少に対応するものであり、これは動物の記憶の改善に起因する。放射状アームの迷路では、トレーニング後の試みの数によって割った、トレーニング前に刺激 (食物) によって迷路でプラットフォームを見つけるまでの試みの平均数を得た。対照動物でのこの平均係数を100%とみなした。このパラメータの増加は、動物の記憶容量に関して、より少ない数の試みによるものである。使用的する脂肪酸を横軸に示す。動物の各群 ($n = 8$) をそれぞれ、ビヒクル (対照) または本発明の脂肪酸 (100 mg / kg) で処置した。調査後、本発明の脂肪酸が、認知パラメータの改善に基づいて神経変性の過程 (アルツハイマー病) の進行を防ぐのに非常に有効であることが観察された (すべての場合で、 $p < 0.05$)。

【図16A】挫傷 (Cont) による神経纖維病変後のロータロッド上の随意運動の機能 (Y軸) としての神経纖維病変 (X軸) 後4日から28日目までの運動回復の変化。挫傷前 (100%) に得られた各群の対照と比較して、該装置上で費やされる時間のパーセンテージとして表現される。10 μlの生理食塩水のみ (Sal)、アルブミンオレイン酸 (4 mMのAlb-OA)、アルブミン-OHOD (4 mMのAlb-2OHOD) で処理した群の結果を示す。

【図16B】ヒトのグリオーマ細胞 (U118) は、分化を失った中枢神経系 (CMS) のアストロサイトである (対照)。Na-OHOD (200 μM) の存在下では、グリオーマ細胞は分化し、グリアの表現型 (glial phenotype) に進化し、アストロサイトに特有な突起を放つ。この分化活動は、運動活動の回復に必要な神経再生過程に関与し得る。これらの結果は、OHODと誘導体 (例えば、Na-OHOD) が、神経纖維病変を処置するのに必要な神経再生処置に有効であったことを示している。

【図17】初期の反応の割合として表現される適度なレベルのT8挫傷以下で存在する前脛骨筋の反底反射 (tibialis anterior plantar reflex) (TA) の時間的加重に対する、10 μlのナトリウム食塩水、アルブミンオレイン酸 (Alb-OA - 4 mM) とアルブミン-2-ヒドロキシ-オレイン酸 (Alb-2OH OA - 4 mM) の効果。グラフのX軸は刺激の数を表し、y軸は (最初の反応の%として) 前脛骨筋反射の全体の増加を表す。アルブミン-OHOD (4 mM、くも膜下腔内経路による10 μl) で処理したラットは、食塩水またはアルブミンオレイン酸で処理したラットと比較して、神経纖維病変の28日後に前脛骨筋の足底の引込め反射の時間的加重の高い抑制を示した。これらの結果は、アルブミン-OHOD複合体が急性および慢性的の疼痛の処置に非常に有効であることを示唆している。

【図18】細菌性リポ多糖 (LPS) による炎症促進性の処置の不在下 (対照) または存在下でのヒト単球における、インターロイキン6 IL-6 (左のバー) と転写因子TNF- のレベル。LPSで処理した細胞を、横軸に示された様々な脂肪酸の不在下 (対照 + LPS) または存在下で培養した。細胞炎症モデル (細菌性リポ多糖 (LPS) で刺激した培地におけるU937単球) では、本発明の脂肪酸 (250 μM、72 h) は、最も重要な炎症性サイトカイン (IL-6およびTNF-、 $p < 0.05$) の発現を有意に抑制した。

【図19A】シクロオキシゲナーゼ-1 (COX-1) の活性の阻害 (ケイマンのCOX-1インヒビタースクリーニング系) における様々な脂肪酸の効果。横軸は使用される脂肪酸のタイプを示し、縦軸はCOX-1活性 (対照の%) を示す。細胞培養物 (U937の分化した単球) を、本発明の脂肪酸 (250 μM、6 h) で処理した。縦軸は処理後のCOX-1活性を示す。本発明の脂肪酸 (OHHD、OHOD、MOD、AOD、FOD、TFMOD、MOOD、SHOD、MOD11、OHOD11、OHEE、および、OHDE) は、位置に誘導体を伴わないシス-1不飽和脂肪酸 (EE、DE、HOD、O

10

20

30

40

50

D O) よりも、同一の長さの飽和脂肪酸 (H D と O D) よりも、および、シス - 一不飽和でなかった脂肪酸 (O H S 、 t O H O D) の 誘導体よりもさらに有意な効果 (全ての場合で、 $p < 0.05$) を有することが観察された。

【図 19 B】シクロオキシゲナーゼ - 2 の (タンパク質の濃度) 抑制における様々な脂肪酸の効果 (C O X - 2 の免疫プロット法) 。横軸は使用される脂肪酸のタイプを示し、縦軸は C O X - 2 の細胞の濃度を示す (対照の %) 。細胞培養物 (U 9 3 7 の分化した単球) を、本発明の脂肪酸で処理した (2 5 0 μ M 、 6 h) 。本発明の脂肪酸 (O H H D 、 O H O D 、 M O D 、 A O D 、 F O D 、 T F M O D 、 M O O D 、 S H O D 、 M O D 1 1 、 O H O D 1 1 、 O H E E 、 および、 O H D E) は、 位置で誘導体を伴わないシス - 一不飽和脂肪酸 (E E 、 D E 、 H O D 、 O D O) よりも、同一の長さの飽和脂肪酸 (H D 、 O D 、 E O) よりも、および、シス - 一不飽和でなかった脂肪酸 (O H S 、 t O H O D) の 誘導体よりも、さらに有意な効果を有することが観察された (全ての場合で、 $p < 0.05$) 。

【図 20】示差走査熱量測定法によって測定されたジエライドイル (d i e l a i d o y l) ホスファチジルエタノールアミン (D E P E) のモデル膜における層状の六角形の相転移温度。使用される脂肪酸を横軸に示し、温度を縦軸に示す。この転移温度の変化が高ければ高いほど、ヒトの細胞または A I D S ウィルスを囲むような、膜の構造を調節する能力が高くなる。本発明の脂肪酸 (脂肪酸 : D E P E の比率は 1 : 2 0 、 m o l : m o l) は、層状の六角形の転移温度の有意な減少 (すべての場合で、 $p < 0.05$) を誘発した。

【図 21 A】「膜ラフト」に対する本発明の脂肪酸の効果を代表する実施例。 O H O D が不在下 (左) または存在下 (右) でのスフィンゴミエリン / ホスファチジルコリン / コレスチロールのモデル膜 (膜ラフトモデル) 。この脂肪酸の存在は、膜ラフトとそれらの平均サイズによって占有された表面の減少を誘発した。

【図 21 B】図式は、スフィンゴミエリン / ホスファチジルコリン / コレスチロール膜において、膜ラフトの L d 領域 (膜の不規則な層状領域 ; 1 0 0 % の値が対照膜に割り当てられた) とその平均サイズ (平均直径) と比較して (右欄) 、膜ラフトの総表面領域 (または、膜の規則的な層状領域、 L o 、左欄)) に対する様々な脂肪酸の効果の数量化を示す。本発明の脂肪酸は、ウィルス感染を引き起こし増幅させるのに必要なウィルス細胞間の相互作用に介入することによって、「脂質ラフト」の構造を調節する。

【図 22】4 8 時間にわたって 1 0 0 μ M の濃度で様々な脂肪酸 (横軸) による処置後の A 5 4 9 細胞中の D H F R (ジヒドロ葉還元酵素) のレベル。本発明の脂肪酸は、この酵素の非常に顕著な減少を誘発したため、それらは、マラリアおよび他の感染過程の予防および / または処置で有意な活性を有している。

【 0 0 4 1 】

【表1】

脂肪酸	系	省略形	構造基	(a),(b)	(X)
α -ヒドロキシシス- Δ 9-ヘキサデカン	16:1	OHHD	1	4, 7	OH
α -ヒドロキシシス- Δ 9-オクタデセン	18:1	OHOD	1	6, 7	OH
α -メチルシス- Δ 9-オクタデセン	18:1	MOD	1	6, 7	CH ₃
α -アミノシス- Δ 9-オクタデセン	18:1	AOD	1	6, 7	NH ₂
α -フルオロシス- Δ 9-オクタデセン	18:1	FOD	1	6, 7	F
α -トリフルオロメチルシス- Δ 9-オクタデセン	18:1	TFMOD	1	6, 7	F ₃ C
α -メトキシシス- Δ 9-オクタデセン	18:1	MOOD	1	6, 7	O-CH ₃
α -メルカプトシス- Δ 9-オクタデセン	18:1	SHOD	1	6, 7	HS
α -メチルシス- Δ 11-オクタデセン	18:1	MOD11	1	4, 9	CH ₃
α -ヒドロキシシス- Δ 11-オクタデセン	18:1	OHOD11	1	4, 9	OH
α -ヒドロキシシス- Δ 11-エイコセン	20:1	OHEE	1	6, 9	OH
α -ヒドロキシシス- Δ 13-ドコセン	22:1	OHDE	1	6,11	OH
シス-エイコセン	20:1	EE	2	6, 9	—
シス-ドコセン	22:1	DE	2	6,11	—
α -ヒドロキシオクタデカン	18:0	OHS	3	—	OH
トランス-ヘキサデセン	16:1	HD	2	4, 7	—
トランス-オクタデセン	18:1	OD	4	6, 7	—
エイコサン	20:0	EO	4	—	—
ヘキサデセン	16:0	HDO	4	—	—
オクタデセン	18:0	ODO	4	—	—
α -ヒドロキシトランス-オクタデセン	18:1	tOHOD	3	6, 7	OH

(1) シス-不飽和脂肪酸(本発明の脂肪酸)の誘導体

(2) シス配置で二重結合を備えるが、炭素上に修飾を有していない脂肪酸

(3) 修飾された炭素を有するが、シス配置に二重結合を有していない脂肪酸

(4) シス配置で二重結合を有しておらず、炭素上に修飾を有していない脂肪酸

【発明を実施するための形態】

【0042】

実施例

実施例1：癌を予防および処置するための、本発明の脂肪酸、および、それらの塩の使用。

本発明の脂肪酸が腫瘍過程の進行の防止に様々な用途を有しているかどうか判断するために、動物の癌モデルを使用した。このモデルは、非小球性のヒト肺癌細胞を注入した(動物当たりの 5×10^6 A549細胞)免疫欠損動物[Crl: Nu (Ico) - Fo × 1]ヌードマウスからなる。(癌細胞に感染したがまだ処置をしていない)対照群は、数日後に目に見える腫瘍を成長させ始めた。腫瘍のサイズを、腫瘍移植後10日目に初め

10

20

30

40

50

て測定し、デジタルキャリパーによる移植後31日目までその測定を続けた。腫瘍の容積を以下の方程式で計算した：

$$V = w^2 \times l / 2$$

式中、 V が腫瘍の容積であり、 w はその幅で、 l はその長さである。癌の進行に対する予防的な処置を適用した。これらの処置を行うために、腫瘍細胞の注入前に2週間、1日当たり $400 \text{ mg} / \text{kg}$ を投与した。腫瘍細胞の移植後1ヶ月間、この処置を続けて、動物内の腫瘍の容積を測定した。各実験群は8匹の動物からなる。シス-一不飽和脂肪酸の誘導体の経口投与は、癌の進行（ヒト肺癌のA549細胞）（図2）を妨げた。しかしながら、飽和脂肪酸またはトランス-一不飽和脂肪酸（天然および誘導体の両方）は、実験動物の癌の発生を妨げなかつた。したがつて、脂肪酸の構造内のシス配置に二重結合を導入することが、脂肪酸による癌の進行の予防および処置における重大な因子であることが結論付けられた。同様に、炭素上での修飾の存在は、脂肪酸による癌の進行の予防および処置の有効性を、著しくかつ非常に顕著に増加させた（図2）。この意味で、シス-一不飽和脂肪酸（OHHD、OHOD、MOD、AOD、FOD、TFMOD、MOOD、SHOD、MOD11、OHEE、およびOHDE）の誘導体は、位置で誘導体を有していないシス-一不飽和脂肪酸（EE、DE、HOD、ODO）よりも、同一の長さの飽和脂肪酸（HD、OD、EO）よりも、または、シス-一不飽和でなかつた脂肪酸（OHS、tOHOH）の誘導体よりも、もっと顕著な効果を有していた（表1を参照）。

【0043】

同様に、シス-一不飽和脂肪酸の一連の誘導体は、癌の処置におけるその効果を調査するために用いられた。2種類の実験を行なつた。第1に、濃度に対する抗腫瘍効果の依存度を調査した。これらの試験を行なうために、37で、かつ、 $5\% \text{ CO}_2$ の存在下で、 $10\% \text{ ウシ胎児アルブミン}$ 、 10 mM Hepes （pH 7.4）、 2 mM グルタミン 、 $2 \text{ g} / \text{l 炭酸水素塩}$ 、 $1 \text{ g} / \text{l グルコース}$ 、 $100 \text{ ユニット} / \text{ml ペニシリン}$ 、 $0.1 \text{ mg} / \text{ml ストレプトマイシン}$ 、 $0.25 \mu\text{g} / \text{ml アムホテリシンB}$ で補つた RPMI 媒地で、ヒトの肺癌細胞（A549）を培養した。最初の一連の実験では、OHODとMOD11の様々な濃度（ $0 - 400 \mu\text{M}$ ）でこれらの細胞を処理し、細胞の数をフローサイトメトリーによって測定した（図3A）。両方の化合物は、腫瘍細胞の成長を抑制し、48時間のインキュベーション後に $50 - 100 \mu\text{M}$ の範囲内で IC_{50} の値（生細胞の数を50%まで減らす濃度）を示した。 $200 - 400 \mu\text{M}$ の用量は、腫瘍細胞の完全な消失をもたらした。第2の一連の実験では、A549肺癌細胞に対する抗腫瘍効果を、単一の濃度（ $150 \mu\text{M}$ ）で、かつ、48時間目に調査した（図3B）。これらの培地において、 $150 \mu\text{M}$ のシス-一不飽和脂肪酸の誘導体によるインキュベーションは、腫瘍細胞の成長の抑制を引き起こし、このことは、これらが癌の処置のための有効な分子であることを示している。（修飾の型とは無関係に）炭素上に誘導体を備え、シス配置に二重結合を備える分子は、先に示した化式に一致してあり（しかし、トランス配置においてではない）、抗腫瘍効果を示した。対照的に、炭素上で修飾を欠く分子（EE、DE、HD、OD、EO、HDO、ODO）は、抗腫瘍効果を示さなかつた。同様に、トランス配置に二重結合を有する分子（tOHOH）または、二重結合を有していない分子（OHS、EO、HDO、ODO、OHS）は、抗腫瘍効果を欠いていた。明らかに、先の分子のなかのいくつかの分子は、炭素上での修飾と、シス配置における二重結合の両方を欠いており（EO、HDO、ODO）、治療効果を有していなかつた。これらの結果は、化式Iに対応する構造を備えた脂肪酸のみが治療上有効であることを実証するものである。

【0044】

これらの分子が様々なタイプの腫瘍の処置に有効かどうかを発見するために設計された第2の実験群において、異なるタイプの癌のヒト細胞に対する、様々な濃度のOHODの効果を研究した。M220およびHT-29細胞株をDMEM培地で培養し、MDA-MB-231株を、 $15\% \text{ ウシ胎児アルブミン}$ で補つたLeibowith L-15培地

10

20

30

40

50

でインキュベートした以外は、以前に記載したようにこれらの実験を行った。これらの分子は広範囲の作用を有しており、したがって、様々なタイプの癌（肺、神経膠腫、前立腺、胸、膵臓、白血病、子宮、結腸、など、表2）の処置にそれらを使用することができることがわかった。これらの分子が深刻な副次的作用を誘発せず、経口で投与可能であり、および、大量に摂取可能であるとすれば、これらの分子を製剤としても栄養補助調製物としても使用することができる。腫瘍過程の性質が要求するのであれば、適用は局所的（黒色腫および癌性の性質の他の皮膚異常を処置するための活性産物を皮膚上に使用すること）であってもよい。審美的な欠陥を修正する試みがなされる場合に、このことを美容処置としてみなすことができる。

【0045】

10

【表2】

細胞株	癌の種類	作用機構 ¹	抗腫瘍効果 ²	
PC3	前立腺	P A	+++	
LNcaP	前立腺	A	+++	
MDA-MB-231	乳	A	++	
M220	膵臓	A	++	
L-1210	Lym-白血病	A	+++	
ジャーカット	Lym-白血病	A	+++	
HL-60	Myel-白血病	P D A	+++	20
HeLa	子宮頸部	A	+++	
HT-29	結腸	A	++	
C-6	Glio-脳	P D	+++	
SH-SY5Y	神経芽細胞腫	P	+	
A549	肺	P D	+++	
T98G	神経膠腫	D	+++	
A172	神経膠腫	D	++	
A118	神経膠腫	D	+++	
SF-767	神経膠腫	D	++	30
U87-MG	神経膠腫	D	+++	
SF-268	神経膠腫	nd	+++	
MCF7	乳	nd	+++	
NCI-H460	肺(CPNM)	nd	+++	
IMR90	清浄な線維芽細胞	nd	-	

¹ P [抗増殖性] D [分化] A [アボトーシス] nd [未測定]² +[成長の阻害], ++[成長の全停止], +++[腫瘍細胞の全除去]

【0046】

40

さらに、シス-一不飽和脂肪酸の 誘導体は、カドヘリン発現を誘発することができる。カドヘリンは細胞付着タンパク質である。カドヘリンを発現する細胞は、周囲の細胞に付着すると、それらの組織位置から頻繁に外れたりはしない。このタンパク質を合成する能力を失わせる腫瘍細胞は、腫瘍細胞が生じた組織から他の体組織に移動することができる。そこで、腫瘍は転移として知られる過程によって新しい腫瘍病巣を進行させることができる。シス-一不飽和脂肪酸の 誘導体による処置で、カドヘリンレベルの著しい増加が観察された（図4）。癌細胞の浸潤能についても、培養プレートの浸潤モデルで調査した。このモデルでは、細胞は、それらがその培養皿の全体の基質に浸潤するまで成長することができる。その後、培養皿の領域をこすり、抗転移化合物の存在下および不在下において、様々な時間に、この領域に浸潤する細胞の数をカウントする。図5が示すように、O

50

HOD の存在下で培養された肺癌細胞は未処理の細胞よりも湿潤能が低かった。これらの結果は、シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体を用いて腫瘍転移の進行を防いだり、処置したりすることができるということを示している。

【 0 0 4 7 】

加えて、シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体は、血管細胞（以下を参照）の増殖を妨害し、このことが腫瘍の進行に必要な血管の形成を防ぐ。したがって、これらの分子を腫瘍抗血管新生薬として使用することができる。

【 0 0 4 8 】

本発明に包含される分子の重要な 1 つの特徴は、それらが様々な種類の塩を形成することができるということである。図 6 A と表 5 は、シス - 一不飽和脂肪酸の様々な 誘導体とそれらの塩の治療効果を示す。この意味で、おそらくこれらの分子の優れた吸収または分布によって、これらの化合物のうちのいくつかは、遊離脂肪酸形態によって示される効果よりもはるかに高い効果を有しており、このことは、この疾患の処置のための薬を調合する際に、または、治療を計画する際に、上記のような形態が好ましいであろうということを示すものである。この有効性の特異性は、用量と、これらの分子が動物に移植されたヒト腫瘍の容積に対して有する効果との関係によって測定される（図 6 B）。Na - OH O D 形態（OHOD のナトリウム塩）が対応する遊離脂肪酸よりも有効だと仮定して、その抗腫瘍効果が、様々なタイプのヒト癌（白血病、前立腺癌、乳癌および結腸癌）の異種移植後の免疫欠損マウスで研究された（図 7）。

【 0 0 4 9 】

シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体が現在使用されている他の抗腫瘍医薬品とは非常に異なる作用機構を有していると仮定すると、任意の抗腫瘍医薬品とこれらの脂肪酸の組み合わせは、より高い効果を生じさせることができると可能であり、それらはヒト癌に感染した動物を処置する際にさらに成功を収めることができる。図 8 は、免疫欠損マウスモデルにおけるヒト神経膠腫（脳腫瘍）、ヒト肺癌、および、ヒト膀胱癌を処置するために、Na - OH O D 単独の効果と、テモゾロミド、エルロチニブ、ゲムシタビンおよびシスプラチントとの組み合わせの効果とを示す。一方では、Na - OHOD は、癌の処置のためにヒトで使用される他の医薬品よりも有効であることが観察された。他方では、Na - OHOD とこれらの薬剤のいずれかとの組み合わせは、腫瘍の容積の顕著な減少を引き起こすとともに、Na - OHOD が単独で与えられるか、または、先に示した抗腫瘍薬医薬品のいずれかが単独で与えられるかした後よりも腫瘍の著しい小型化を引き起こした。さらに、Na - OH O D で処理された動物の大部分で、および、実際には、同時に 2 つの分子で処理された動物のすべてで観察された残存腫瘍は、腫瘍を再生成する能力のない死細胞から構成されていた。したがって、これらの併用療法が動物に移植されたヒトの腫瘍を処置するのに有効であったと考えられ得る。

【 0 0 5 0 】

この情報はすべて、シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体を、腫瘍細胞に対する直接的な効果によって、癌の（ a ）予防と（ b ）処置で使用することができるということを示す。加えて、それらは、非常に異なる種類の様々な腫瘍細胞の成長を妨害するように、幅広い薬剤である。それらは有毒ではないので、喫煙者、癌の進行を引き起こしかねない生物学的リスクまたは放射線リスクに晒された人々、多様な種類の腫瘍の進行に関連する遺伝学的異常または身体上の異常のキャリアなど、大きな危険性に晒されている人々に使用可能である。腫瘍過程が進行しているかもしれない患者において転移と血管新生の過程の予防および処置にもそれらを使用することができる。これらの分子は経口で投与可能であり、明白な毒作用を示さないため、それらを薬または機能性食品として使用することができる。加えて、皮膚腫瘍では、局所的な経路を介してそれらを使用することができる。

【 0 0 5 1 】

実施例 2：血管細胞増殖、および、心臓ならびに血管の他の病状の予防および / または処置のための、本発明の脂肪酸の使用

血管細胞の増殖は、腫瘍の血管新生と同様に、アテローム性動脈硬化、心筋症、心臓の

10

20

30

40

50

肥大、高血圧、および、他の心臓ならびに血管の病変などといった特定の病状の根底にあるものである。血管細胞の増殖に対するシス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体の効果を測定するために、大動脈に由来する正常な血管細胞である A 1 0 細胞の増殖に対する様々な脂肪酸の効果を研究した。シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体は、A 1 0 血管細胞の高増殖を阻害する高い抗力を示した。化合物の追加後に細胞の数は減少しなかったが、細胞の増殖を誘発する分子を含む胎児血清の存在下で該細胞の増殖が妨げられたので、この効果は有毒ではない。A 1 0 細胞の培養については、先に示された他の添加物および条件を使用して、胎児ウシ血清で補った R P M I 1 6 4 0 培地を用いた。表 1 に列挙した脂肪酸を、2 つの成長対照群を使用して、培地に加えた。これらの第 1 の群はいずれの脂肪酸も欠いていたが、第 2 の群は脂肪酸および胎児のウシ血清（血清を含まない）を欠いていた。最後に、細胞をフローサイトメトリーでカウントした。

【 0 0 5 2 】

2 0 0 μ M の濃度のシス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体は、（多くの細胞成長因子を含む）胎児のウシ血清の除去によって生じた際と類似する細胞増殖の停止を誘発した（図 9）。これらのデータは、シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体が、薬または機能性食品を介して、腫瘍、心臓の肥大、高血圧に依存するアテローム性動脈硬化、心筋症、血管新生、および、他の関連する病状の予防または処置のために使用可能な分子であるということを示す。

【 0 0 5 3 】

対照的に、二重結合を有していないか、または、二重結合がトランス配置を有している場合の脂肪酸は、A 1 0 大動脈細胞の増殖を抑制するのに有効ではなかった。同様に、炭素上に修飾を有していない脂肪酸は、A 1 0 細胞の増殖には著しい効果がなかった。対照的に、シス配置において二重結合を備え、炭素上に修飾を備える脂肪酸は、この炭素上で誘発されたラジカルとは無関係に、効果をもたらした。腫瘍の血管新生は、癌細胞周辺の血管細胞の増殖によって媒介される。したがって、シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体は、新しく形成される腫瘍に栄養分を提供する血管の増殖を防ぐために使用することが可能な強力な血管新生因子である。

【 0 0 5 4 】

別の一連の実験では、高血圧の発症を防ぐ際の様々な脂肪酸の有効性を調査した。高血圧ラット（ S H R ）は、シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体と他の脂肪酸で処理した（図 1 0）。成熟に達して、高血圧性の条件を得るまで、S H R ラットは生後最初の数か月の間は正常血圧である（3 ~ 4 か月の年齢）。使用される誘導体が高血圧の進行を防ぐことができたのかどうかを測定するために、生後 1 0 週の S H R ラットを様々な脂肪酸で処理した。この動物は、1 3 0 ~ 1 4 0 m m H g の動脈圧（これは処置の最初に測定されたものである）を有するこの年齢では依然として正常血圧である。平均動脈圧がすべての群で類似する（実験開始時全ての群で平均値 1 2 8 ~ 1 3 2 m m H g ）やり方で、動物を 8 匹の実験動物群に分けた。高血圧の進行の予防に関する研究は、1 0 週間、動物に 1 日当たり 2 0 0 m g / k g の用量を投与すること、および、処置の終了時に動物の動脈圧を測定することによって行なわれた。図 1 0 において、シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体で処理した動物は、高血圧を発症しなかったことが観察されたが、未処理の動物または化式 I で示した構造を有していない脂肪酸で処理した動物は、高血圧を発症した。この結果は、高血圧の処置の効果とは明らかに異なる。なぜなら、予防は、動物が生涯のうちのいくつかの時点で高血圧に苦しむのを防ぐものであるからである。したがって、高血圧の発症の予防は、心臓肥大、心血管発作リスク、虚血（ i s q u e m i a ）などのような、この状態に関連する問題をすべて回避する。実際に、シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体で処理した動物では、高血圧動物と比較して、心臓の重量の著しい減少（本発明で包含される化合物に関して S H R ラットの心臓の重量の 2 % と 7 % の間の減少）が観察された。高血圧動物は、血液の流れに対する血管系の抵抗を補おうとする過剰な心臓の努力を行うため、該動物は心臓の肥大を呈する。したがって、本発明の化合物は、心臓の肥大の過程に関係する様々な病状の処置に使用可能である。

10

20

30

40

50

【0055】

別の実験では、一連のシス - 一不飽和脂肪酸を用いたが（表5）、再度、Na - OHODがOHODよりも有効であったことを示した。このことは、ナトリウム（Na）によるRの位置における水素（H）の置換が、高血圧の処置において脂肪酸の治癒力を高めることを示している。

【0056】

これらの結果はすべて、化式Iに示された構造が、心臓と血管の細胞増殖に関連する病状の予防および処置の両方に最も適切なものであることを実証している。これらの処置は、医薬品、栄養補助食品、または、局所的な調製剤／審美的な調製剤として投与可能である。

10

【0057】

アテローム性動脈硬化または動脈硬化症は、血管の収縮力の喪失が特徴の病状である。この喪失は多様な因子に関連しており、その因子のなかで、血管腔上での沈着物の形成が、血管細胞の増殖、血流の減少、および、神経伝達物質（ノルアドレナリンなど）ならびにホルモンに対する血管収縮反応ならびに血管拡張反応を引き起こす。浴槽（organ bath）で分離したラット大動脈の研究では、ノルアドレナリンに反応した大動脈の筋肉の収縮力が、OHOD酸による前処理後に非常に顕著に増加したことが示された。加えて、化式Iの構造を備えたすべての化合物が、血管筋肉に同様の効果があった。これらの結果は、アテローム性動脈硬化および関連する病状を予防または処置する際のこれらの化合物の能力を明白に示す。図11は、SHRラット大動脈の収縮能力に対する、OHODによるインヴィトロでの前処理（浴槽）の効果を示す。図は、ノルアドレナリン（NA）によって誘発された収縮能力が、この脂肪酸であらかじめ処理されたラットの大動脈において、はるかに高かったことを示している。この結果は、血管組織の柔軟性がこの化合物の存在下で有意に増加したことを示しており（p < 0.05）、アテローム性動脈硬化と他の心臓血管の病状の予防および処置において、シス - 一不飽和脂肪酸の誘導体の実用性を実証するものである。加えて、大動脈の収縮反応の改善は、これらの化合物を、健康な被験体の血管組織の維持のために、および、心血管の病状を有する患者の損傷した血管の処置にも使用可能であることを示している。

20

【0058】

実施例3：皮膚病変および関連疾患の予防および／または処置のための、本発明の脂肪酸の使用

30

メラニン生成の異常は、皮膚色素沈着における異常を生じさせ、事実上、病的であり得る。皮膚色素沈着症の処置において、シス - 一不飽和脂肪酸の誘導体の潜在的な用途を研究するために、マウスのメラニン形成細胞（B16細胞）におけるメラニンの生成を測定した。細胞をNaOHで破壊し、メラニンの濃度を、Curto et al.（1999）によって先に記載された方法を用いて、490nmで吸収分光法によって測定した。48時間にわたるこれらの化合物の100μMの濃度は、B16細胞のメラニン含有量の減少を引き起こした（図12）。これらの結果は、化式Iの構造を備えたシス - 一不飽和脂肪酸の誘導体を、色素沈着病状と関連した皮膚の問題の処置のために使用することができるということを示している。他の病状の処置による調査結果と同様に、化式Iの構造を有していない脂肪酸は、メラニン含有量を調節する際の有意な効果を欠いていた（図12）。

40

【0059】

図12は、脂肪細胞（3T3 - L1細胞）の増殖に対する、シス - 一不飽和脂肪酸の誘導体（100μM、48時間）の効果を示す。化式Iの構造を有する分子は、3T3 - L1細胞の成長を阻害した。一方で、化式Iの構造を有していない分子は、脂肪細胞の増殖に対しては有意な効果がなかった（図12）。これらのタイプの脂肪細胞は、皮下領域で、異常に成長するか、または、異常に増加しうる（脂肪細胞の肥大または肥厚化）。異常成長は、肥満や蜂巣炎などの様々なタイプの病理学的過程を生じ得る。

【0060】

50

ここで示された結果は、シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体が、肥満、蜂巣炎、乾癬、皮膚のシミ、および、同様のものといった病状の予防および処置に使用可能であるということを示している。皮膚とその下の層の特別な類型学を前提として、これらの病状のうちのいくつかの処置を局所的に行なうことができ、したがって、これらの分子は化粧品として使用可能である。これらの病状も、薬理学的な調製剤および栄養補助調製剤を介して処理することができる。

【 0 0 6 1 】

実施例 4 : 代謝症 (metabolopathies) (代謝病変 : 高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、糖尿病)、および、肥満の予防および / または処置のための、本発明の脂肪酸の使用

10

代謝病は、血清または組織中の特定の分子 (コレステロール、トリグリセリド、グルコースなど) の蓄積または欠損によって特徴付けられる一連の病状を形成する。これらの変化は、特定の酵素の活性における、または、これらのタンパク質の制御におけるエラーに通常関連付けられる機能障害の反映である。最も重要な代謝症のなかに、高コレステロール血症 (コレステロールレベルの上昇)、高トリグリセリド血症 (トリグリセリドレベルの上昇)、および、糖尿病 (グルコースレベルの上昇) がある。これらの病状は、高い発生率、高い罹患率、および、高い死亡率を有していることから、処置が第一に必要である。この意味で、O H O D による処置は、スプレーグ・ドーリー (Sprague-Dawley) ラット (300 g のメス) において、コレステロール、トリグリセリド、および、グルコースのレベルの著しい減少をもたらした (図 13)。これらの実験については、示された脂肪酸の用量 (0 mg / kg, 200 mg / kg, 400 mg / kg、および、600 mg / kg) を、経口経路を介して毎日供給した。処置の終了時 (30 日)、対照と処理した動物 (n = 6) とから血液を採取し、標準的な比色法を用いて、コレステロール、トリグリセリドおよびグルコースのレベルを測定した。観察された効果は用量に依存しており、その効果が特異的であることを示した。

20

【 0 0 6 2 】

さらなる実験では、単回投与 (600 mg / kg) での様々な分子の効果を調査した。これらの研究では、シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体は、コレステロール、トリグリセリド、および、グルコースの減少に対して有意な重要な効果を示した。対照的に、化式 I で示した構造を有していない分子は、治療効果を示さなかった (図 13)。この意味で、炭素上の修飾とシス配置での二重結合とは、先に示した治療効果をもたらすための決定的な要素である。化式 I の構造を有していない類似分子は、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、および、糖尿病の処置ほどには有効ではなかった (図 14)。最後に、肥満の予防に対するシス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体の効果を調査した。これについては、高カロリー食品が動物の体重を非常に顕著に増加させるカフェテリアでの食餌によって誘発されたラット肥満のモデルを使用した。様々な実験群 (表 3 を参照) があり、その各々は、重さ 250 - 300 g の 6 匹のメスのウィスター京都 (Wistar Kyoto) ラットからなる。すべての動物は 2 週間、標準的な食餌を摂った。加えて、該群のうちの 2 匹は、ビヒクルの経口用の予防的な前処理を受け、残りの群は、以下に示す 300 mg / kg の脂肪酸を受けた。その後、対照群のうちの 1 つには標準的な食餌 (痩せている対照) を維持し、その他の群にはカフェテリアでの食餌 (肥満の対照) を与えた。処理した動物群にはカフェテリアの食餌を与えた。予防的な前処理はすべての群について維持した。これらの食餌を与えて 2 週後に、痩せている対照群は、平均で 16 ± 16 g だけ体重を増加させたが、その一方で、肥満の対照群は、平均で 43 ± 17 g (統計的に有意な差、 $p < 0.01$) だけ体重を増加させた。シス - 一不飽和脂肪酸の 誘導体で処理したラットは、痩せていた対照群に類似し、かつ、同じ食餌を摂取する肥満の対照群よりも著しく少ない体重の増加を示した ($p < 0.05$)。したがって、これらの脂肪酸で前処理した動物は、同じカフェテリアの食餌を受けた動物と比較して、顕著で、かつ、統計的に有意な体重の減少を示した。この文脈では、本発明に含まれる脂肪酸の特定の誘導体 (塩) を用いることで、遊離脂肪酸による処理後に観察された際よりも優れた、コレステロー

30

40

50

ル(CHO)とトリグリセリド(TG)のレベルの減少とともに、場合によっては高い治療効果をもたらした(表5)。

【0063】

処理された動物の体重は、肥満の対照ラットの体重より統計的に少なく、痩せた対照ラットの体重とは統計的には区別ができなかった。これらの結果は、体重増加の予防(表3)と、脂肪細胞の進行の抑制(図12)とともに、シス-一不飽和脂肪酸の誘導体が、肥満の進行の処置および予防のための活性分子であるということを示している。動物によるこの一連の実験において(表5)、事前処理がなかったことが明らかにされ、このことは、Na-OHODがOHODよりも肥満の処置に有効であったことを示している。同様に、これらと他の代謝症を処置するための塩および他の薬学的に許容可能な形態の両方は、それらのいずれかが最良の薬理学的な安全性を示す形態の中から使用または選択されるように、高い治療活性を示している。

【0064】

【表3】

摂取した食餌と予防的処置	開始時体重	最終体重
標準+ビヒクル処置(痩せた対照)	264±21	280±16
カフェテリア+ビヒクル処置(肥満の対照)	265±14	308±17
カフェテリア+OHHD 処置	259±21	275±19*
カフェテリア+OHOD 処置	269±11	284±13*
カフェテリア+MOD 処置	255±12	268±12*
カフェテリア+AOD 処置	249±14	272±15*
カフェテリア+FOD 処置	261±13	279±13*
カフェテリア+TFMOD 処置	262±12	278±14*
カフェテリア+MOOD 処置	251±21	263±22*
カフェテリア+SHOD 処置	254±16	269±16*
カフェテリア+MOD11 処置	257±16	274±18*
カフェテリア+OHOD11 処置	256±10	269±12*
カフェテリア+OHEE 処置	252±9	264±11*
カフェテリア+OHDE 処置	260±12	273±15*
カフェテリア+EE 処置	258±14	301±17‡
カフェテリア+DE 処置	253±11	305±12‡
カフェテリア+HDO 処置	255±15	299±15‡
カフェテリア+ODO 処置	259±19	301±18‡
カフェテリア+EO 処置	262±12	298±12‡
カフェテリア+HD 処置	260±16	309±15‡
カフェテリア+OD 処置	259±14	311±17‡
カフェテリア+OHS 処置	251±10	314±11‡
カフェテリア+tOHOD 処置	258±17	312±19‡

* 肥満の対照よりも著しく低い($p<0.05$)

‡ 肥満の対照と統計的には区別ができない($p<0.05$)

【0065】

これらの病変の様々な組み合わせは、メタボリック症候群と呼ばれるプロセスを生じさせる。この部分で示される結果は、シス-一不飽和脂肪酸の誘導体が、薬剤または栄養

10

20

30

40

50

補助調製剤を介して、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、糖尿病、メタボリック症候群、肥満、および、他の代謝症の予防および処置に関して非常に活性な分子であることを明白に示している。

【0066】

実施例5：神経変性病変の予防および／または処置のための、本発明の脂肪酸の使用

神経変性の過程は、様々な兆候を備えた一連の疾患を生じさせるが、共通の特徴は、中枢神経系および／または末梢神経系の細胞の変性である。アルツハイマー病または老人性認知症などのこれらの神経変性過程のうちのいくつかは、患者の認知能力の著しい衰退を意味する。他の神経変性過程は、パーキンソン病および様々なタイプの硬化症などの運動の変化を引き起こす。最後に、特定の神経変性病変は、盲目、聴覚問題、失見当識、情動の変化を引き起こす過程を生じさせうる。

【0067】

よく特徴付けられた神経変性障害の一例は、アルツハイマー病であり、アルツハイマー病では、老人斑の形成が観察され、老人斑は、誤って処理されて細胞の外部に蓄積する膜タンパク質（例えば、 β -アミロイドペプチド）の残りと、細胞内部に現れる神経フィラメントのもつれとによって形成される。この過程は、コレステロール代謝の変化と、結果として生じる膜のコレステロールレベルの変化に関係してきた（Raid et al., 2007）。実際に、この疾患の進行は、脂質の代謝の変化、より詳細には、コレステロールの変化が心臓血管のタイプの変化などと記載される他の病状に関連付けられる。

【0068】

硬化症および他の神経変性の過程は、「脱髓」に関連付けられ、この脱髓の最終結果は、ニューロンの軸索鞘における脂質の喪失であり、電気信号の伝播過程において結果として生じる変化を伴う。ミエリンは、多くのニューロンの軸索を囲み、グリア細胞（シュワントン細胞）の原形質膜の一連の螺旋状の折り畳みによって形成される脂質層である。これらの理由で、脂質が神経変性病変の進行に非常に重要な役割を果たすことは明らかである。

【0069】

化式Iの構造を備えた脂質がコレステロールレベルを下げることができると仮定すると（図13および14）、それらが神経変性疾患の処置に有効なことも演繹的にはありうる。シス-一不飽和脂肪酸の誘導体は、研究において、動物モデルでの神経変性を防ぐのに非常に有効であることが示された（図15）。Apob-100を過剰発現するこの研究で使用されたトランスジェニックマウスは、ヒトにおける神経変性過程で見られるものと類似する認知障害と細胞組織学的な特徴を備えた、アルツハイマー病に似た症候群の早期開始によって特徴づけられる。これらの動物において、シス-一不飽和脂肪酸の誘導体による処理は、動物において認知パラメータの著しく顕著な改善をもたらした。この調査のために、6か月にわたって週に5度（月曜日～金曜日）、マウス（n=8）に100mg/kgの脂肪酸を経口で投与した。対照群は、試験群に対するのと同じ方法で、ビヒクル（水）で処理したマウス（n=8）からなる。動物の認知能力を測定するために、放射状迷路およびミラー試験を用いて、対照動物（未処理）の認知能力を100%として定義した（Wise et al., 2007; Patil et al., 2006）。様々なタイプの脂肪酸で処理した動物の認知能力を、これらの試験を行う際に測定されたパーセンテージ改善率として表現した。その結果は、薬剤および栄養補助調製剤を介して、アルツハイマー病、様々なタイプの硬化症、パーキンソン病などといった神経変性病変の処置に、シス-一不飽和脂肪酸の誘導体を使用することができるということを示した。

【0070】

実施例6：神経纖維病変および疼痛の予防および／または処置のための、本発明の脂肪酸の使用

中枢神経系は、脂肪組織に次いで、生物体に最も多量の脂質を含んでいる。このことから、脂質がニューロンとグリア細胞にとって非常に重要であることが推定可能である。この文脈において、本発明に包含される脂肪酸は、例えば、神経纖維病変によって引き起こ

10

20

30

40

50

される運動機能の喪失、神経因性疼痛、または、痙攣といった機能的な症状を予防および処置することができる。化合物の単独注射の後に、O H O D と同様の脂肪酸の放出を延長するために、それらは、ウシ血清アルブミン（アルブミン脂肪酸複合体、または、A - A G (A G は O H O D でもあり得る)) に結合されるか、および、運動活性の回復が観察された（図 16）。

【0071】

図 16 A が示すように、くも膜下腔内経路によって与えられる 10 μ l 中の 4 mM の用量のアルブミン - O H O D 複合体は、生理食塩水またはアルブミンオレイン酸複合体で処理した動物と比較して、ラット内の神経纖維病変の 4 日から 28 日後に自発的な運動機能の回復を一般的には向上させた。これらの結果は、アルブミン - O H O D 複合体が、神経纖維病変の慢性期の間に、神経再生と神経栄養に有効であったことを実証している。この効果は、神経纖維病変によって失われた接続を再確立するために必要な神経突起の発芽が誘発されることによるものもある。U 118 細胞における突起の分化と放出に対する O H O D (ナトリウム塩) の効果が、図 16 B 内で示され、これは、シス - 一不飽和脂肪酸の誘導体の神経再生および神経栄養能力を実証するものである。

【0072】

インビボアッセイは、A - A G 複合体の投与が感受性および感覚運動の機能の変化を抑制することができるため、痛覚と疼痛の変化の処置に適用され得るということも実証している。具体的には、アルブミン - O H O D (くも膜下腔内経路によって、4 mM、10 μ l) で処理したラットは、生理食塩水またはアルブミンオレイン酸で処理したラットと比較して、神経纖維病変の 28 日後に、前脛骨筋の足底の引っ込み反射の時間的加重のより大きな抑制を示した（図 17）。これらの結果は、アルブミン - O H O D 複合体が慢性疼痛の処置に非常に有効となりえることを示唆している。

【0073】

したがって、実施された試験は、運動麻痺の発症の予防に、および、神経纖維病変に由来する神経因性疼痛と痙攣の処置に、本発明に含まれる分子を使用することができるということを示している。

【0074】

上記の調査結果を考慮して、A - A G 複合体に基づく薬は、神経纖維病変、特に、外傷性病変の処置を可能にする。

【0075】

特定の実施形態において、アルブミンは、ヒト、ウシ、マウス、および、ラビット由來の天然または組み換え型アルブミン、あるいは、オバルブミンおよびラクトアルブミンから選択され、好ましくは、使用されるアルブミンは、本書類の実施例で用いられるようないくつかのアルブミンである。これらのアルブミンはすべて、同様の構造および機能を有する。例えば、ウシアルブミンおよびヒトアルブミンの配列を比較すると、76 % のアミノ酸配列で一致したことを示した。控えめな変化を考慮に入れると、その一致は 88 % まで上昇する。

【0076】

これらの試験については、アルブミン脂肪酸複合体 (A - A G) を 2 % (w / v) アルブミン溶液およびオレイン酸で調整するか、または、O H O D を 78 mM の最終濃度まで加えた。78 mM の濃度で、生理食塩水に溶解させて、50 % アルブミン脂肪酸 (1 : 1) の溶液を調整した。

【0077】

神経纖維病変の後の運動回復に対するこの効果については、損傷を受けていないニューロン、特に、樹枝状成長、G A P - 43 の高調節、および、微小管に関係するタンパク質をもたらす神経突起の基部 (M A P - 2, Tabernero, Lavado, 2001 ; Rodriguez - Rodriguez et al., 2004) の脂質膜に対する神経栄養効果によって説明することができる（例えば、Kim et al., J. Gen. Physiol. 2000 ; 115 (3) : 287 - 304）。アルブミン受容

10

20

30

40

50

体であるメガリンは、乏突起膠細胞の細胞膜、特に脊柱の延髄中で同定された (Wicher et al., J. Neurol. Neurol. Res. 2006; 83. (5) : 864 - 73)。

【0078】

神経纖維病変後の有害な (nocice) 刺激に対する中枢感受性への効果については、オレイン酸によるギャップ結合の阻害による脂質膜を介したアストログリオーシスの調節によって (Lavado et al., J. Neurochem. 1997; 69 (2) : 71 - 8)、または、アルブミンによるアストロサイト細胞の反応形態の減少によって (Manning and Sntheimer, Glia 1997; 20. (2) : 163 - 72)、説明することができる。

10

【0079】

実施例 7：炎症過程の予防および／または処置のための本発明の脂肪酸の使用

組織および細胞の炎症過程は、病原体（感染）または抗原の攻撃によって引き起こされた刺激の後に、免疫系の細胞（リンパ球、好中球、単球、マクロファージなど）によって放出された炎症性サイトカイン（インターロイキン 4、-6、-8、-10、TNF-など）の作用によって特徴づけられる。炎症過程は、多種多様な疾患を引き起こし、そのなかでも、心疾患、全身性疾患、運動器官の疾患、老化、および、喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、ならびに、様々な種類の炎症といった呼吸器疾患を引き起こす。炎症性サイトカインのこの制御できない放出は、基本的には、NF-B 転写因子の病的な活性化によるものである（Barnes et al., 1997）。

20

【0080】

細胞の炎症モデル（細菌性リポ多糖、LPS で刺激された培養液中の U937 单球）では、シス-一不飽和脂肪酸の 誘導体（250 μM、72 h）は、最も重要な炎症性サイトカイン（IL-6 と TNF-）の発現を著しく抑制した。対照的に、化式 I の構造を有していないかった化合物は、これらの炎症性サイトカインの発現を抑制しなかった（図 18）。

【0081】

細菌性リポ多糖（LPS）で刺激された U937 中の様々な炎症性サイトカイン（IL-1b、IL-6、IL-8、IL-10）および TNF- の放出に関する追加研究では、これらの分子レベルの顕著な減少が、250 μM 濃度で 72 時間のインキュベーションの OHHD による処置の後に観察された（表 4）。COX-1 および COX-2 シクロオキシゲナーゼの活性および発現に対する、シス-一不飽和脂肪酸の 誘導体（250 μM、6 h）の効果を、同じ系で調査した。これらの脂肪酸は、COX-1 の活性（図 19 A）と、COX-2 の発現（図 19 B）を著しく抑制した。対照的に、化式 I の構造を有していない化合物は、これらの炎症性サイトカインの発現を阻害しなかった（図 19）。

30

【0082】

これらの結果は、シス-一不飽和脂肪酸の 誘導体が、関節リウマチ患者ではそのレベルが著しく増加する炎症性サイトカインの産生を抑制することによって、関節リウマチとして知られている自己免疫の炎症性疾患の処置に有効になりえるということを示している。これらの脂肪酸による COX-1 および COX-2 機能の阻害は、これらの化合物が疼痛と炎症の処置に役立つことを示している。これらの脂肪酸を、非ステロイド抗炎症剤（NSAIDs）の新しい世代と考えることができる。したがって、COX-1 および COX-2 機能の活性の阻害は、これらの脂肪酸が、心疾患の処置または予防に使用可能であるとともに、心臓発作のような虚血性イベントのリスクを減らすことができるということを示している。したがって、シス-一不飽和脂肪酸の 誘導体による炎症性サイトカインの発現の重要な阻害によって、それらが、全身レベルと局所レベルの両方で、および、薬剤、栄養補助調製剤、ならびに、局所的な調製剤／化粧品を介して、疼痛と関節リウマチのような炎症過程と誘導体過程の予防および処置に使用可能である。

40

【0083】

【表4】

OHODによる炎症性サイトカインの放出の阻害			
サイトカイン	対照(pg/ml)	LPS(pg/ml)	LPS+OHHD(pg/ml)
IL-1 β	12±2	132±2	41±5
IL-6	24±3	1072±4	68±8
IL-8	345±7	967±8	529±7
IL-10	32±1	315±9	53±3
TNF- α	15±6	1504±7	65±9
p < 0.001 3通りで行われた6つの実験の平均±標準誤差			

10

【0084】

実施例8：感染性病変の予防および/または処置のための本発明の脂肪酸の使用

後天性免疫不全症候群（AIDS）は、ヒト免疫不全症ピコルナウィルス（HIV）による感染によって引き起こされる。このウィルスは、脂質の被膜を有しており、ウィルス被膜の整合性は、ヒト細胞膜との融合には必要不可欠である。シス-一不飽和脂肪酸の誘導体は、AIDSウィルスと類似したモデル膜の構造を修正するため（図20）、その結果、それらをこの疾患の処置に使用することができる。

【0085】

HIVと宿主細胞との結合もCD4受容体によって媒介される。この真核細胞タンパク質は、「細胞膜ラフト」として知られている細胞膜の特定領域に位置する。シス-一不飽和脂肪酸の誘導体は、「脂質ラフト」の構造を解体するため、それらは感染を引き起こすとともに増幅するために必要なウィルス細胞間の相互作用に干渉する（図21）。したがって、シス-一不飽和脂肪酸の誘導体を、AIDSの予防および処置に使用することができる。

20

【0086】

マラリアは、AIDSのように、この場合は熱帯熱マラリア原虫として知られている原生動物によって引き起こされる感染症である。この生物は、非常に急速な細胞分裂を行うため、絶えずDNAを合成する必要がある。DNAの合成のためには、高レベルのテトラヒドロ葉酸が必要とされる。これは、DNAを合成するためにヌクレオチドを生成するいくつかの酵素のためにコエンザイムとして働く。テトラヒドロ葉酸を作る酵素は、ジヒドロ葉酸還元酵素（DHFR）である。したがって、メトトレキサートのようなDHFRの阻害剤は、マラリアを治療するために現在使用されている（Nduati et al., 2008）。シス-一不飽和脂肪酸の誘導体は、この酵素の非常に顕著な減少を誘発する。これは、DHFRレベルの有意な低下をもたらすため（図22）、マラリアの進行に対する重要な活性を有することもある。メトトレキサートなどの医薬品と比較して、シス-一不飽和脂肪酸の誘導体は、2つの長所を有する。第一に、それらの毒性の方が低いことである。第二に、酵素の発現の減少が、（処置終了時に活性化可能な高レベルの酵素をもたらす）その阻害よりもはるかに有効な機構であるということである。したがって、シス-一不飽和脂肪酸の誘導体は、マラリア処置のために有効な薬物になりえる。

30

【0087】

同様に、テトラヒドロ葉酸の生成を抑制する薬剤は、有効な抗菌剤である。この事実は、種々なタイプの感染過程の進行に対するシス-一不飽和脂肪酸の誘導体の効果に関するこの実施例で提示される証拠とともに、これらの分子が感染性病変の予防または処置に有効な薬剤になりえることを示す。

40

【0088】

実施例9：様々な病変の予防および/または処置のための本発明の脂肪酸と様々な塩の使用

薬理活性を備えた分子上の決まった位置にある特定の原子は、その吸収、生物体での分布、または、細胞高分子との相互作用を変化させることができる。このことは、活性成分

50

の治療有効性における、陽性と陰性の両方向の変化を意味し得る。表5は、癌、代謝症（高コレステロール血症、高トリグリセリド血症）、肥満および高血圧の処置に関する、シス-一不飽和脂肪酸の誘導体の様々な塩の潜在的な治療有効性を示している。この意味で、OHODのナトリウム塩（Na-OHOD）が様々な病状を逆転させるために、遊離脂肪酸よりも有効であることを実証することは可能であった。同じことがDEPODと比較してNa-DEPODで観察された。したがって、シス-一不飽和脂肪酸の誘導体を備えた薬物の処方の際に、これらの物質のナトリウム誘導体を使用するほうが好ましいであろう。

【0089】

【表5】

10

様々な病変におけるシス-一不飽和脂肪酸の α 誘導体の
様々な誘導体とその塩の治療効果

	IC ₅₀ A549	IC ₅₀ SF767	% 対照 CHO	体重 (g) (対照 = 311 g)	PA (対照 214 mmHg)
OHOD	62	71	55	38	292
Na-OHOD	47	52	51	32	281
OMe-OHOD	94	107	71	64	299
EE-OHOD	79	68	62	47	295
NH ₃ -OHOD	81	85	59	62	290
ACOD	153	179	59	53	301
Na-ACOD	124	132	49	35	298
OMe-ACOD	246	214	86	74	296
EE-ACOD	185	176	72	56	294
MOOD	61	73	65	64	279
Na-MOOD	77	91	63	68	272
OMe-MOOD	149	128	77	69	296
EE-MOOD	168	195	64	66	297
DEPOD	57	99	58	43	301
Na-DEPOD	32	104	45	37	298
OMe-DEPOD	66	43	63	45	293
EE-DEPOD	77	82	69	49	295

20

OHOD : α -ヒドロキシシス- Δ 9-オクタデセン酸；ACOD : α -アセチルシス- Δ 9-オクタデセン酸；MOOD : α -メトキシシス- Δ 9-オクタデセン酸；DEPOD : α -ジエチルホスファチジルシス- Δ 9-オクタデセン酸。化式IのRを置換する原子または分子は、ナトリウム（接頭辞「Na」を備えた）、メチルエステル（OMe）、エチルエステル（EE）、アンモニウム（NH₃）、または、水素（接頭辞なし）である。抗腫瘍効能を測るために測定されたパラメータは、A549とSF767のヒト腫瘍細胞で、IC₅₀（細胞の数を半分に減らす濃度）であった。その値をミクロモル濃度（ μ M）で表現する。第2列は、未処理の対照（100%）と比較して、コレステロール（CHO）およびトリグリセリド（TG）のレベルを百分率で示している。毎日600mg/kgの物質を摂取したラットを表に示す（処置の他の詳細に関しては本文を参照のこと）。第3列は、2週間にわたってカフェテリアの食事を摂取したラットの体重（g）を示す。対照ラット（処理の終了時、体重は311gであった）（6匹の動物の平均）はビヒクル（水）を受けたが、毎日300mg/kgの物質を摂取する処理済みの動物を表で示した。PA : 動脈圧（mmHg）。動脈圧は、示された化合物（400mg/kg）の各々で8日間処置した後の高血圧ラットで測定された。表のヘッダーに示されるように、未処理のラットの平均PAは214mmHgであった。この表に示される動物によるすべての実験群で、処置は常に経口であった。

30

【0090】

引用文献

40

1. Alemany R, Perona JS, Sanchez-Dominguez JM, Montero e, Canizares j, Brezan R, Escriba PV and Ruiz-Gutierrez V (2007). G protein-coupled receptor systems and their lipid environment in health disorders during aging. *BBA Biomembr*. 1768. 964-975.
2. Barnes PJ, Karin M (1997). Nuclear factor-kappaB: A pivotal transcription fact

50

- or in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 336:1066-71.
3. Buda c, Dey i, Balogh N, Horvath LI, Maderspach K, Juhasz M, Yeo YK, Farkas T (1994). Structural order of membranes and composition of phospholipids in fish brain cells during thermal acclimatization. *Proc Natl Acad Sci USA* 91.8234-8238.
4. Curto EV, Kwong c, Hersmendorfer H, Glatt H, Santis c, Virador V, Hearing VJ Jr., Dooley TP (1999). *Biochem Pharmacol* 57:663-672.
5. Escriba PV, Sastre M, Garcia-Sevilla JA. (1995). Disruption of cellular signaling pathways by daunomycin through destabilization of nonlamellar membrane structures. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 92.7595-7599.
6. Escriba PV, Ozaita a, Ribas c, Miralles a, Fodor e, Farkas T, Garcia-Sevilla JA (1997). Role of lipid polymorphism in G protein-membrane interactions: nonlamellar-prone phospholipids and peripheral protein binding to membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 94.11375-11380.
7. Escriba PV (2006). Membrane-lipid therapy: a new approach in molecular medicine. *Trends Mol Med*. 12.34-43.
8. Escriba PV, Gonzalez-Ros JM, Goni FM, Kinnunen PKJ, Vigh L, Sanchez-Magraner L, Fernandez AM, Busquets X, Horvath i, Barcelo-Coblijn G (2008). Membranes: a meeting point for lipids, proteins and therapeutics. *J Cell Mol Med*. 12:829-875.
9. Martinez JO, Casas J f, Alemany R, Prades j, Nagy T, Baamonde c, Kasprzyk P, Teres S, Saus c, Escriba PV. (2005). Membrane structure modulation, protein kinase C alpha activation, and anticancer activity of minerval. *Mol Pharmacol* 67.531-40.
- .
10. Nduati et al. (2008). Effect of folate derivatives on the activity of antifolate drugs used against malaria and cancer. *Parasitol Res* 102:1227-1234.
11. Patil CS, Singh VP, Kulkarni SK (2006). Modulatory effect of Sildafanil in diabetes and electroconvulsive shock-induced cognitive dysfunction in rats. *Pharmacological Reports* 58:373-380.

10

20

30

40

50

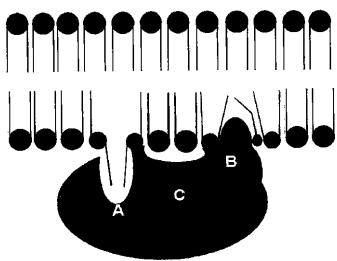
12. Raid PC, Urano Y, Kodama T, Hamakubo T (2007). Alzheimer's disease: cholesterol, membrane rafts, Isoprenoids and statins. *J Cell Mol Med* 11:383-392.

13. Stender S, Dyerberg J (2004). Influence of trans fatty acids on health. *Ann. Nutr. Metab.* 48:61-66.

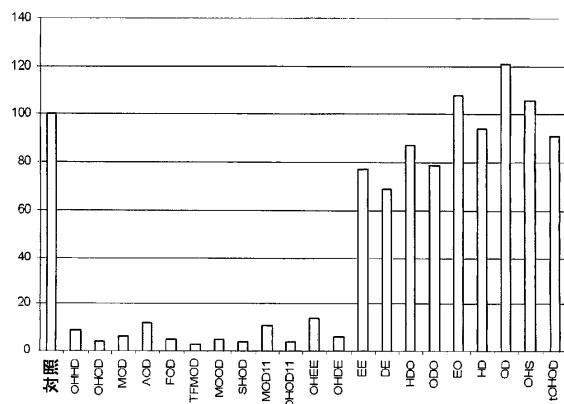
14. Wise LE, Iredale PA, Stokes RJ, Litchman AH (2007). Combination of Rimonabant and Donepezil prolongs spatial memory duration. *Neuropsychopharmacology* 32:1805-1812. 10

15. Yang, Q, Alemany, R, Casas, j, Kita jka, K, Lanier, SM, Escriba PV (2005). Influence of the membrane lipid structure on signal processing via Gprotein-coupled receptors. *Mol Pharmacol* 68:210-7.

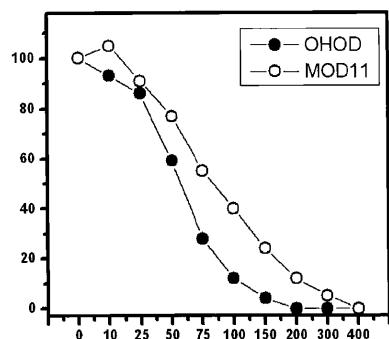
【 図 1 】



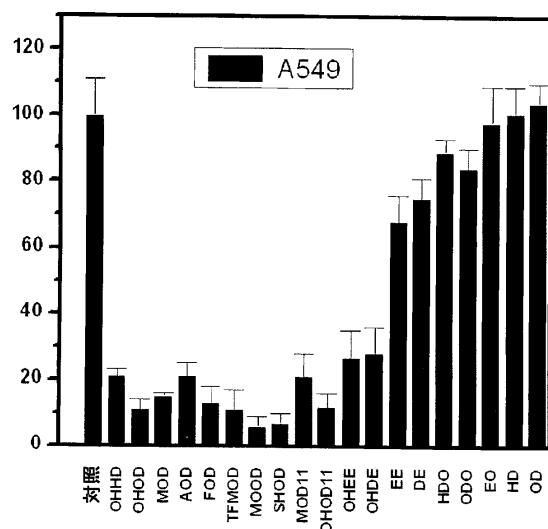
【 図 2 】



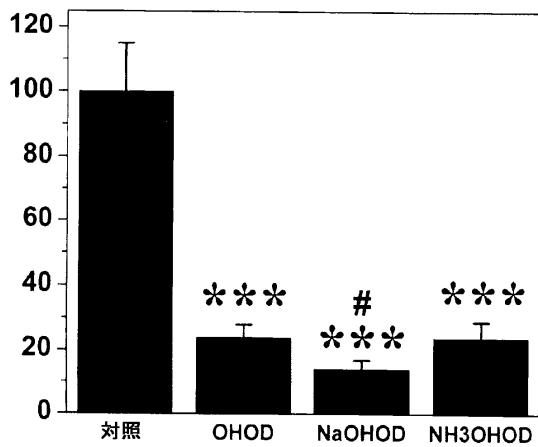
【図3A】



【図3B】

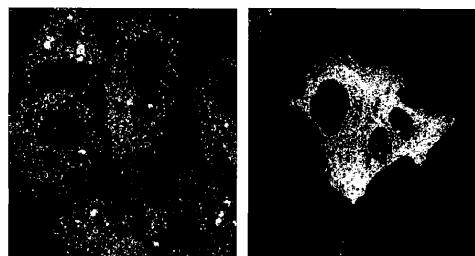


【図6A】

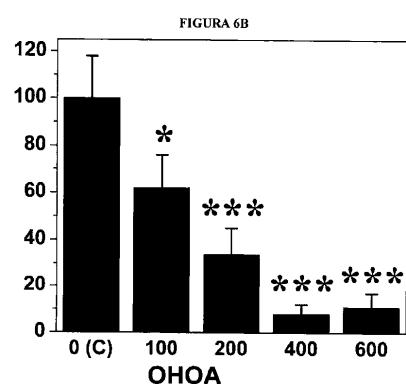


【図4】

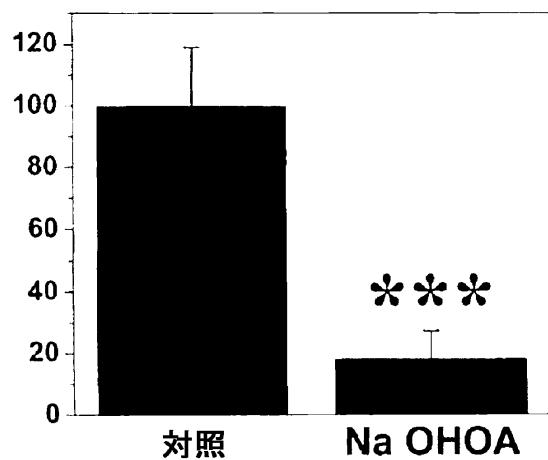
FIGURA 4



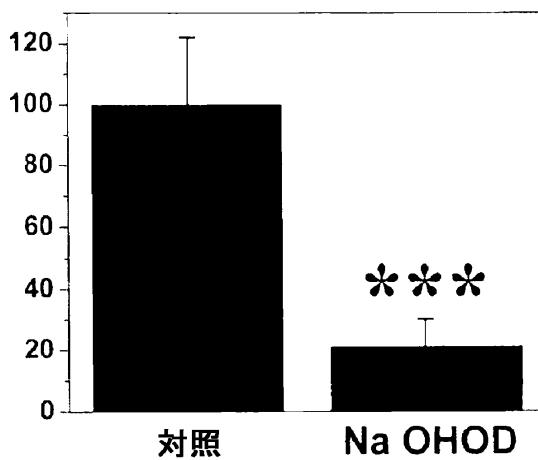
【図6B】



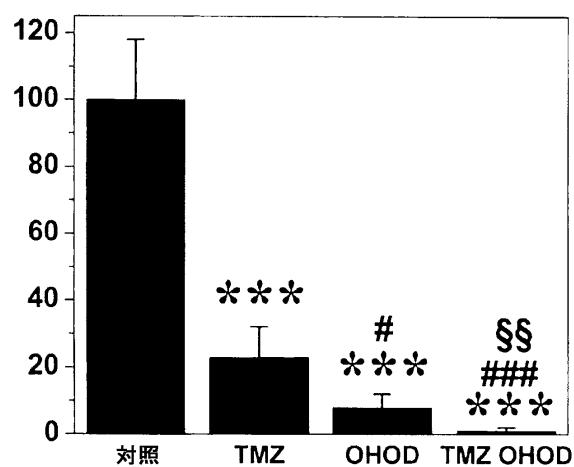
【図7A】



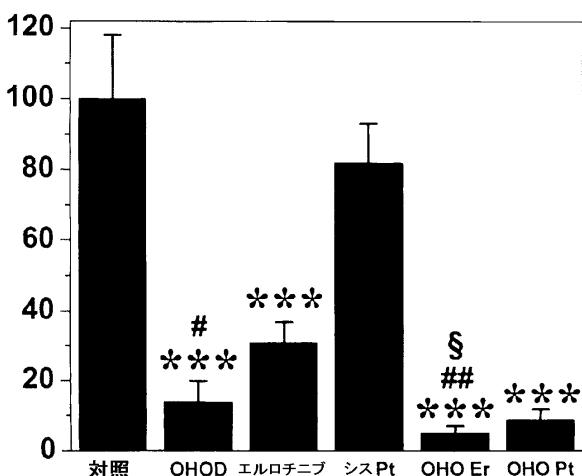
【図7B】



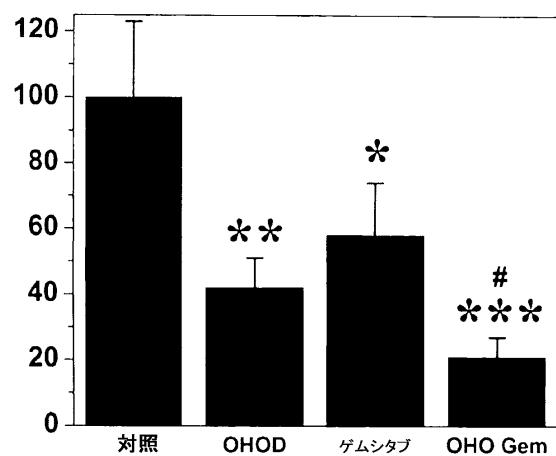
【図 8 A】



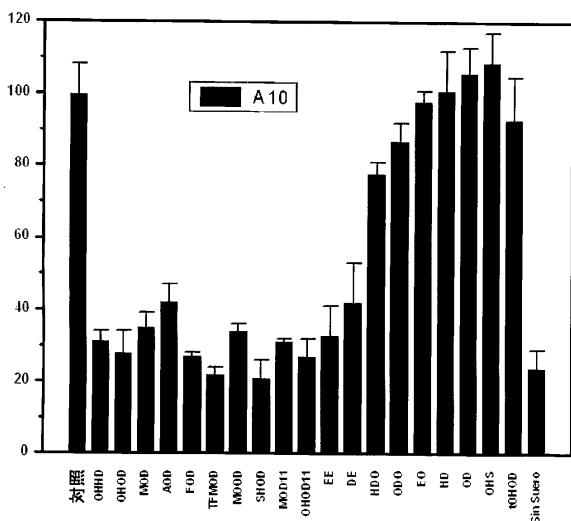
【図 8 B】



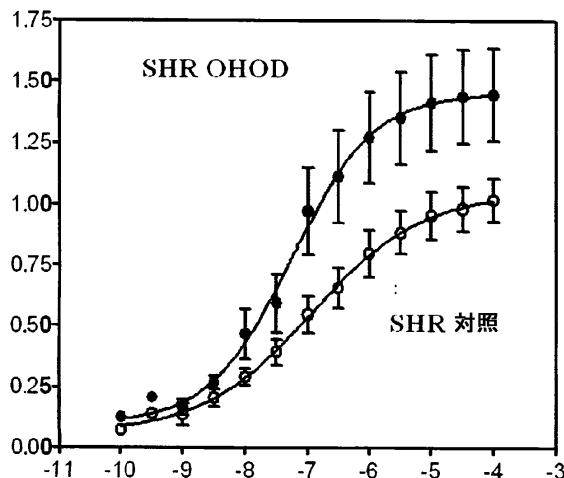
【図 8 C】



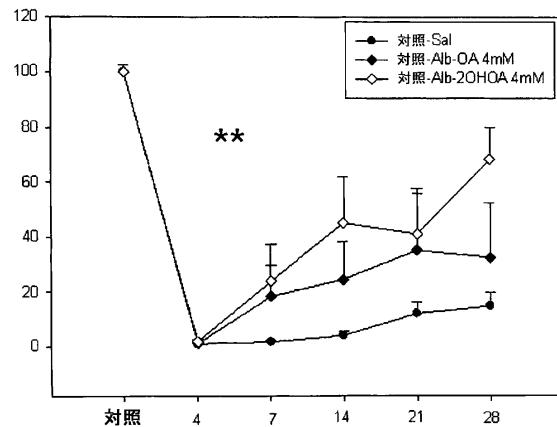
【図 9】



【図 1 1】

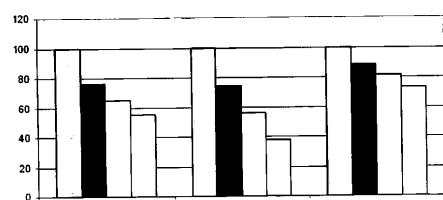


【図 1 6 A】

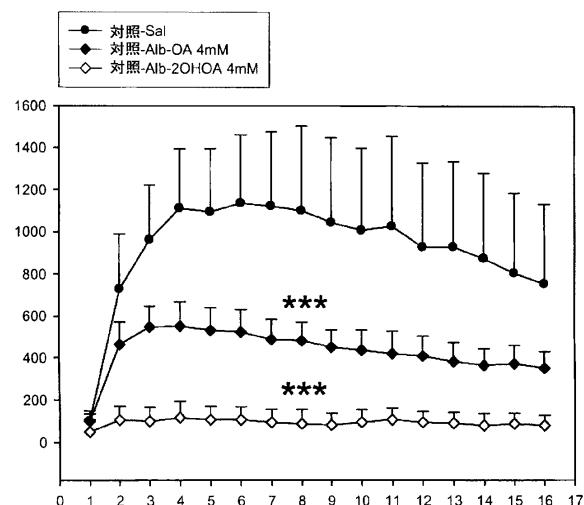


【図 1 3】

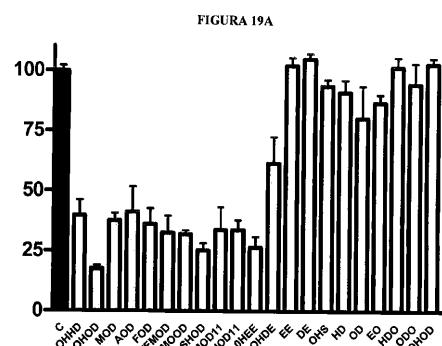
FIGURA 13



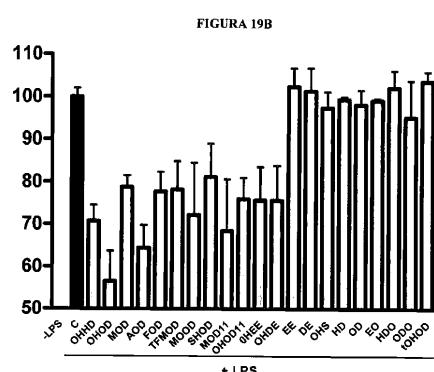
【図 1 7】



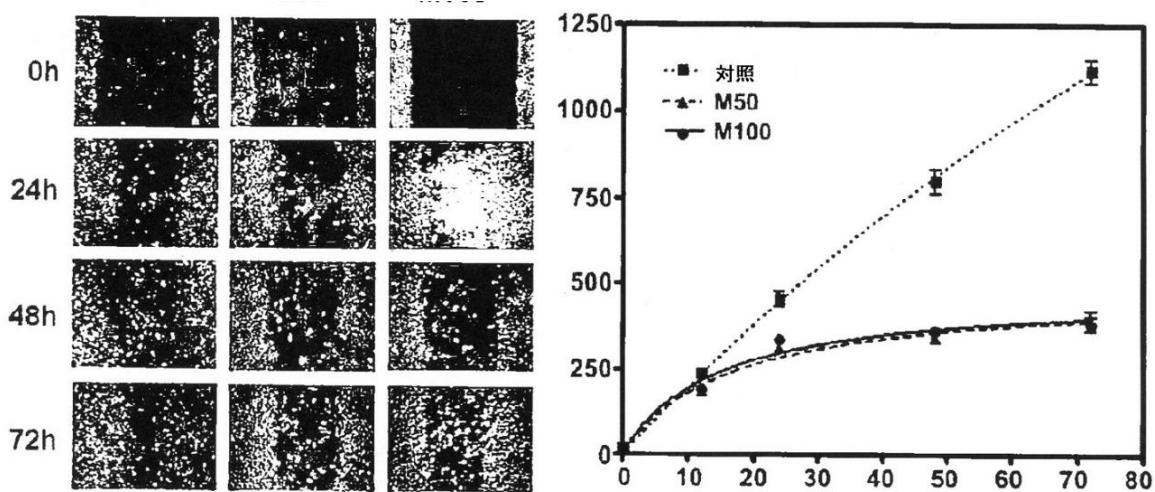
【図 1 9 A】



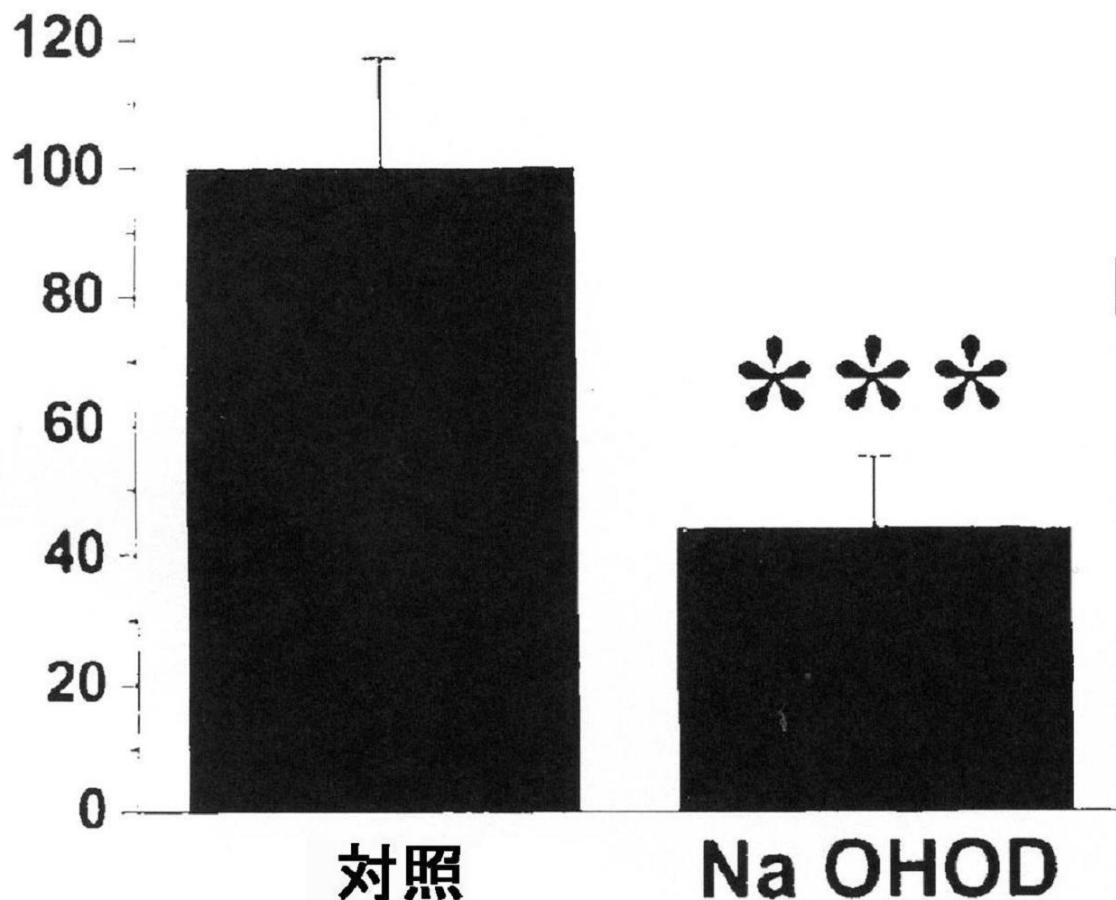
【図 1 9 B】



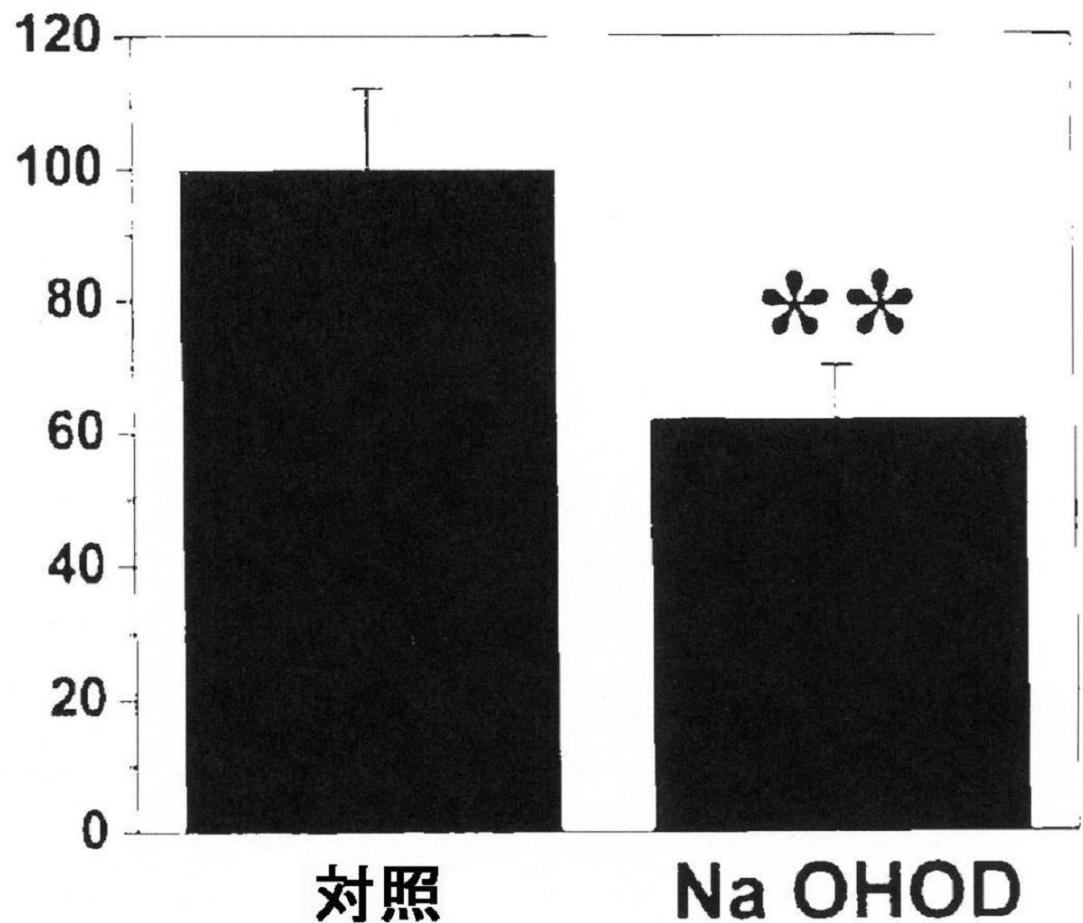
【図5】



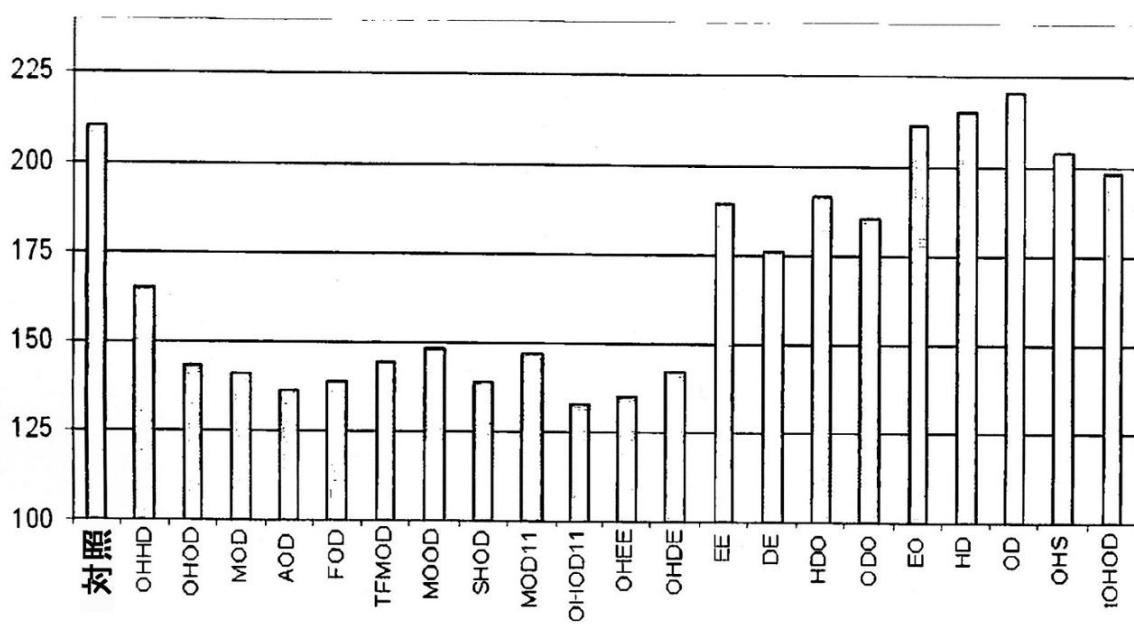
【図7C】



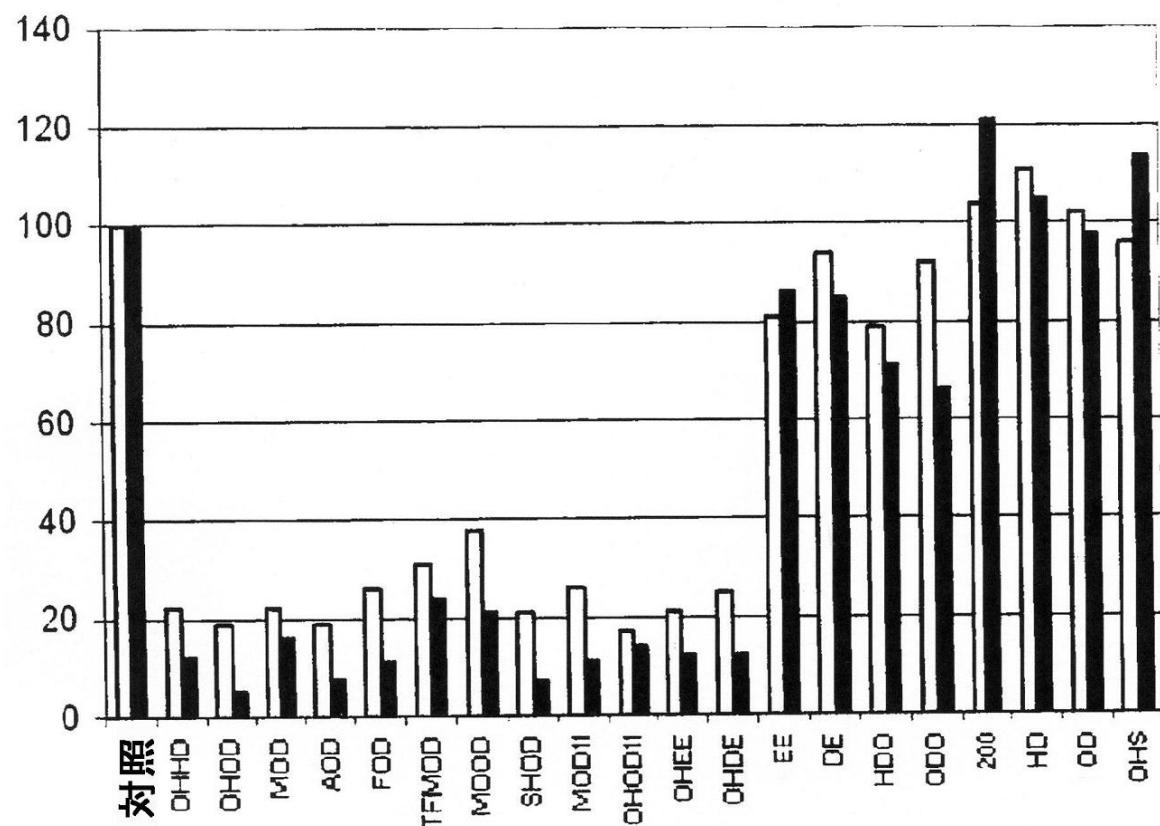
【図7D】



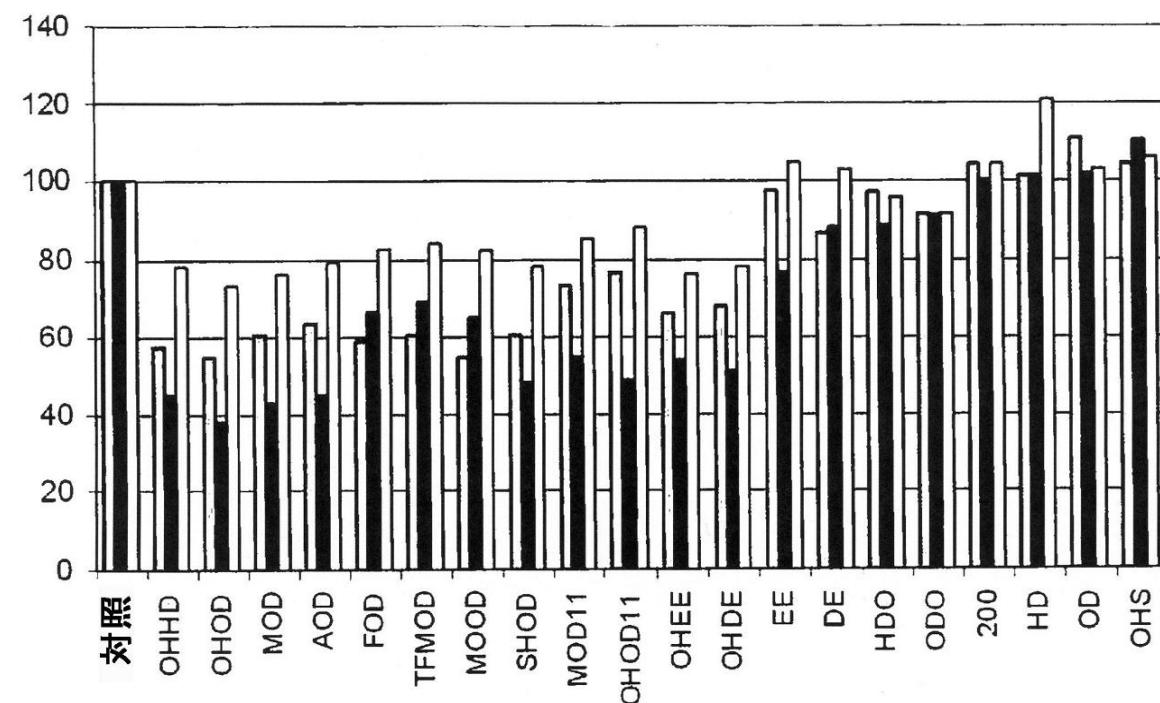
【図10】



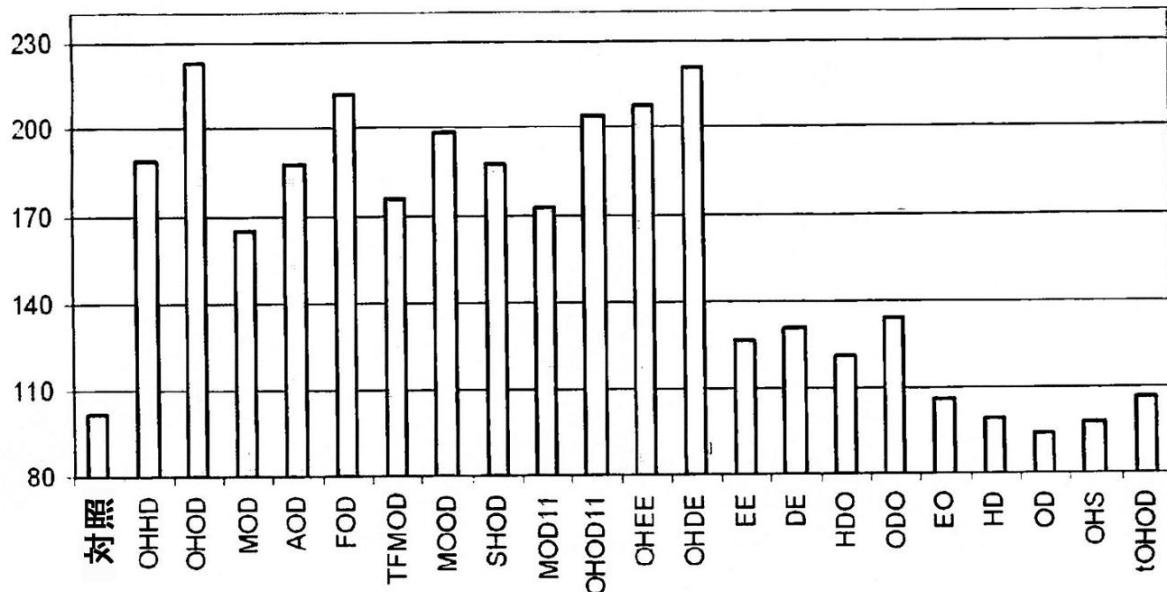
【図12】



【図14】

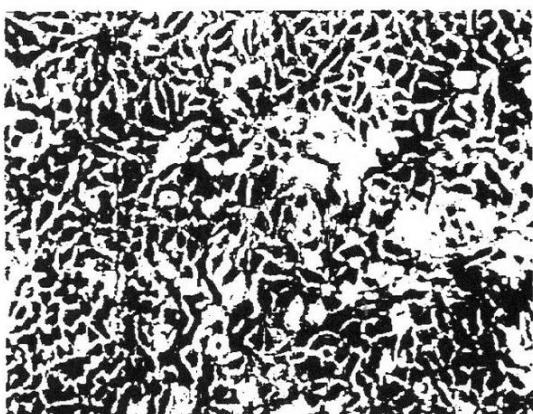


【図15】

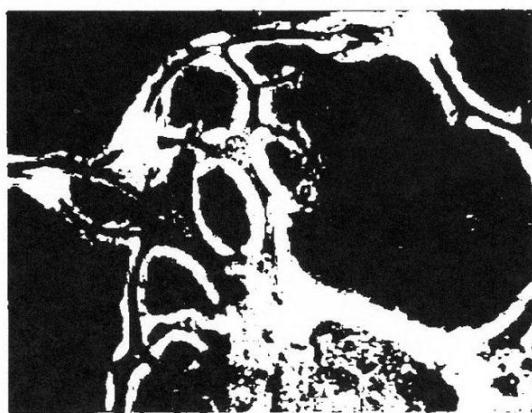
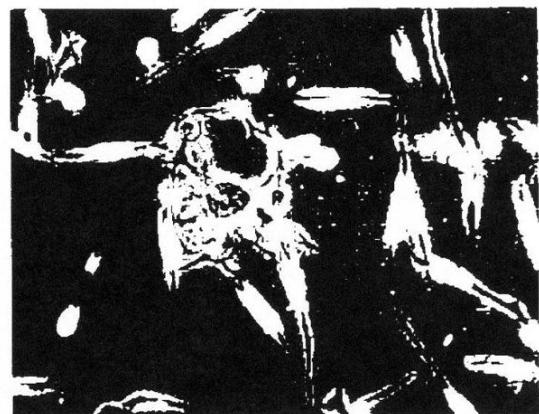


【図16B】

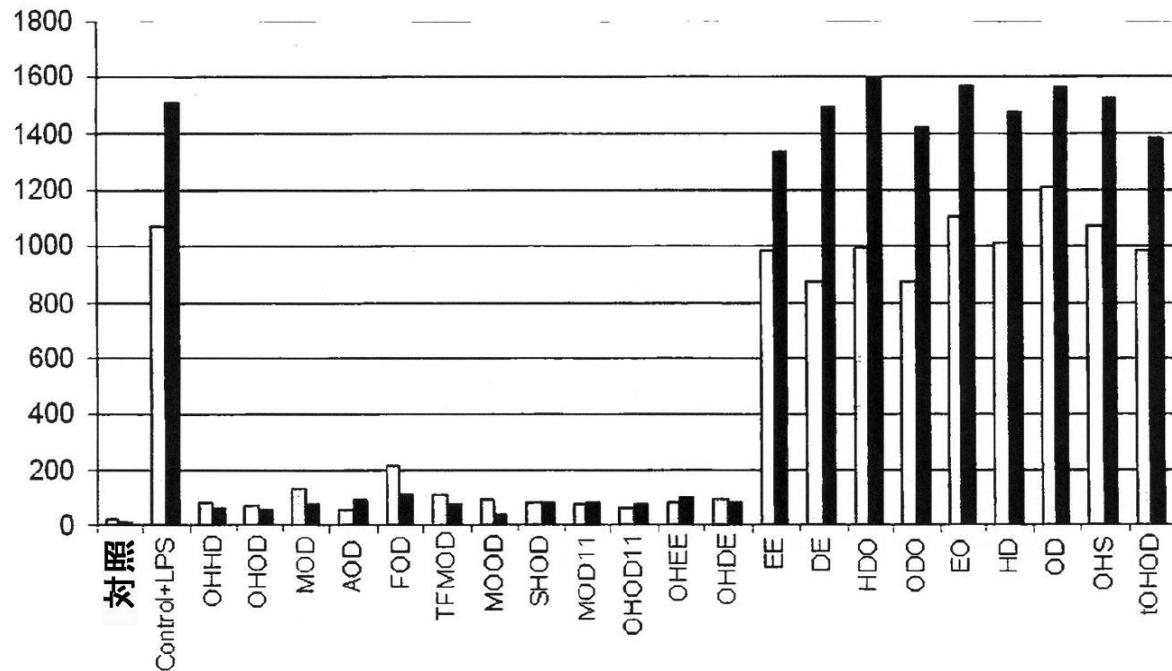
対照



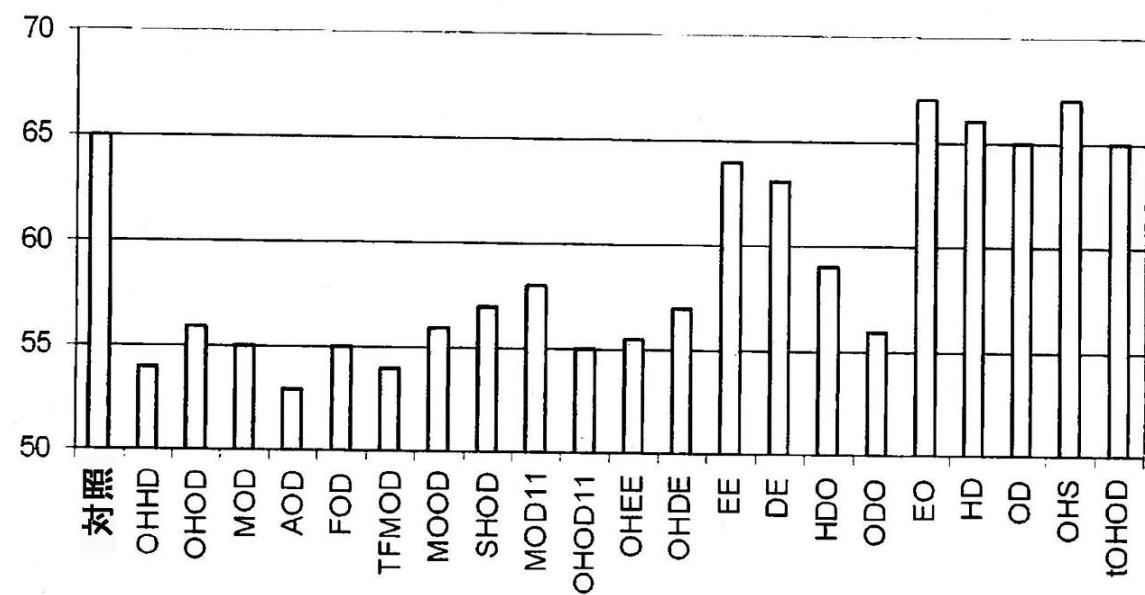
NaOHOD



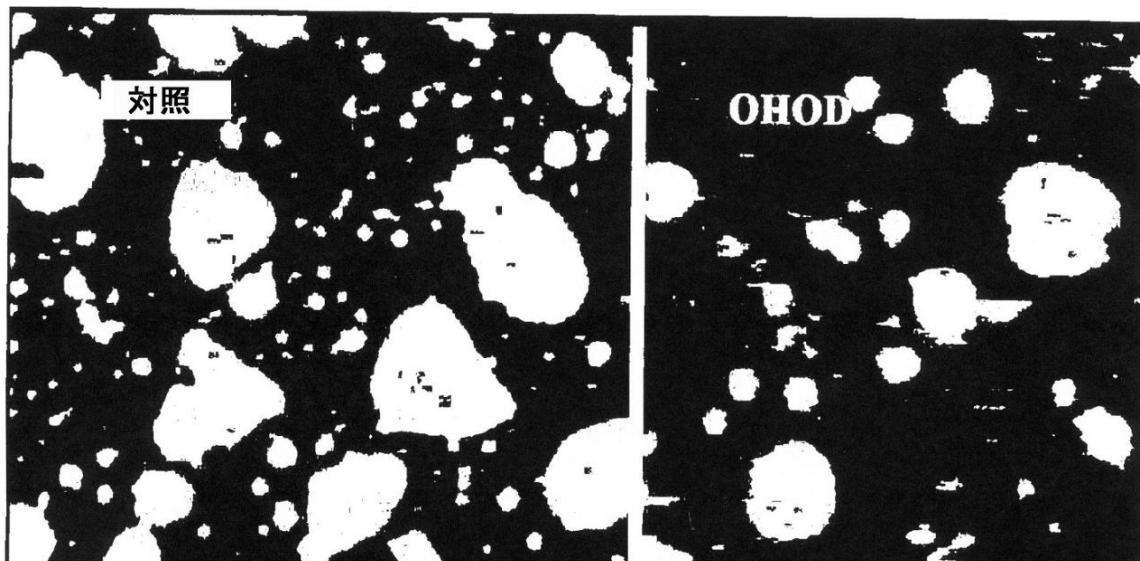
【図18】



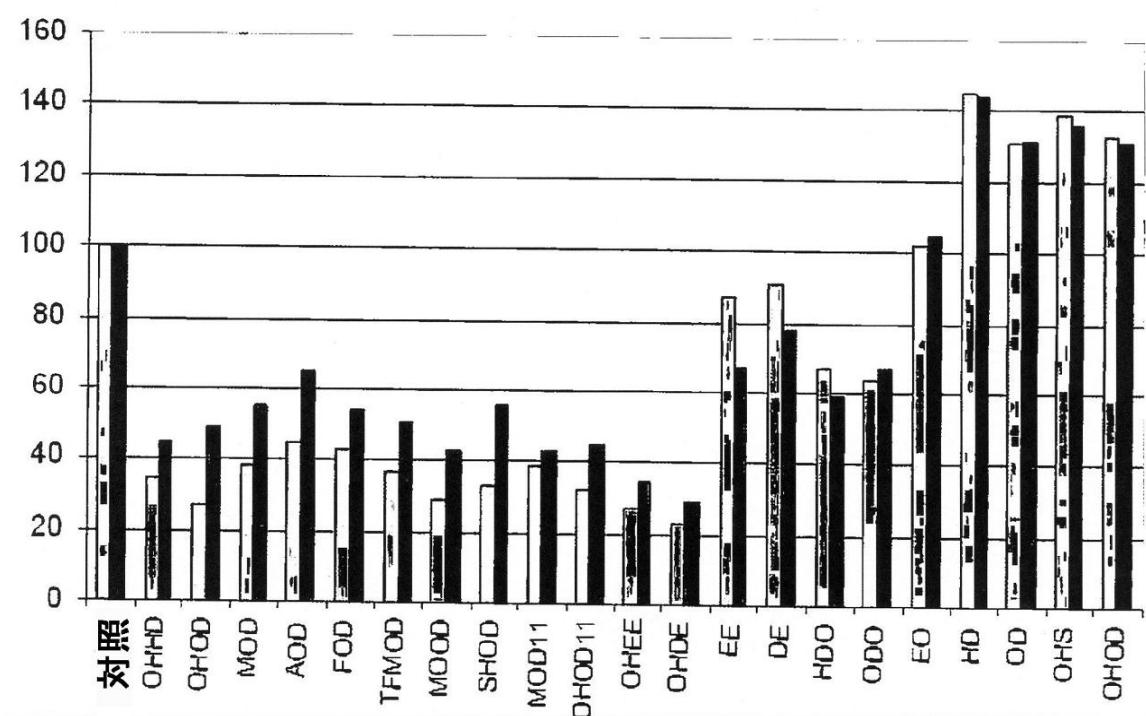
【図20】



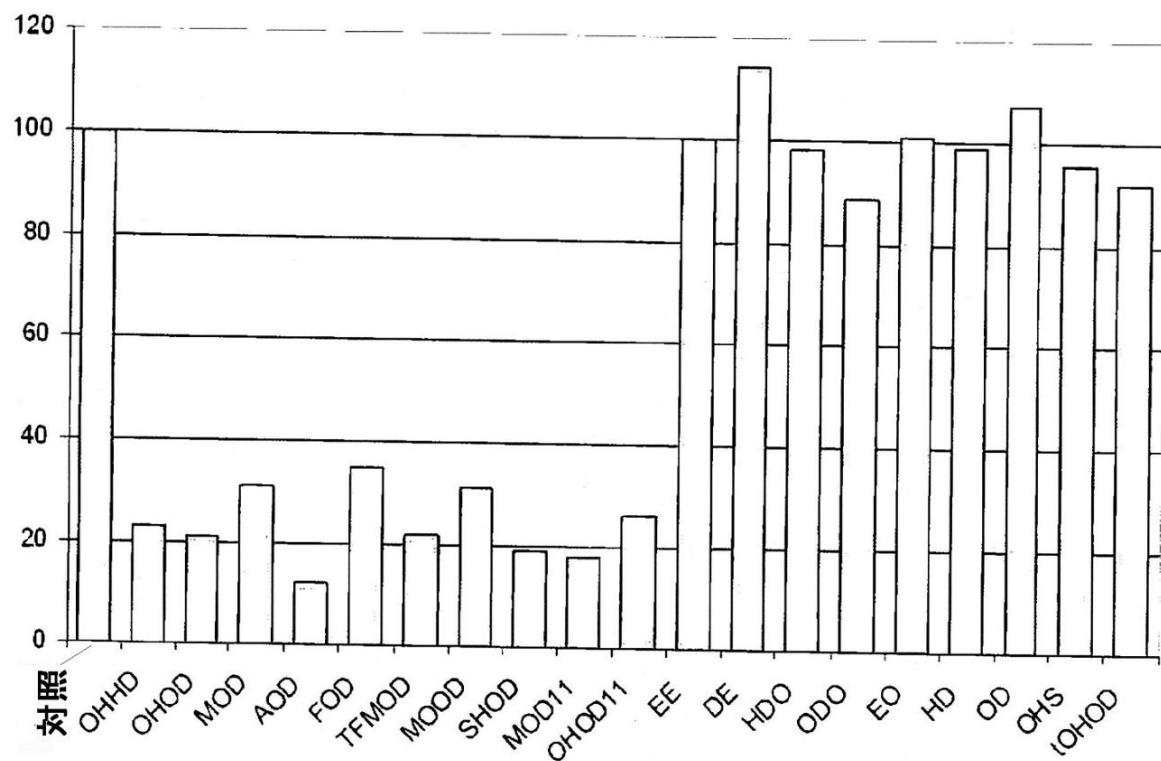
【図21A】



【図21B】



【図22】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 P	35/00	(2006.01) A 6 1 P 35/00
A 6 1 P	17/00	(2006.01) A 6 1 P 17/00
A 6 1 P	25/28	(2006.01) A 6 1 P 25/28
A 6 1 P	29/00	(2006.01) A 6 1 P 29/00
A 6 1 P	31/00	(2006.01) A 6 1 P 31/00
A 6 1 P	3/06	(2006.01) A 6 1 P 3/06
A 6 1 P	3/10	(2006.01) A 6 1 P 3/10
A 6 1 P	3/04	(2006.01) A 6 1 P 3/04
A 6 1 K	45/00	(2006.01) A 6 1 K 45/00
A 6 1 P	9/12	(2006.01) A 6 1 P 9/12
A 6 1 K	33/24	(2006.01) A 6 1 K 33/24
A 6 1 K	31/7068	(2006.01) A 6 1 K 31/7068
A 6 1 K	31/517	(2006.01) A 6 1 K 31/517
A 6 1 K	31/4188	(2006.01) A 6 1 K 31/4188
A 6 1 P	43/00	(2006.01) A 6 1 P 43/00 1 2 1
A 6 1 K	31/045	(2006.01) A 6 1 K 31/045
A 6 1 K	31/01	(2006.01) A 6 1 K 31/01
A 6 1 K	31/131	(2006.01) A 6 1 K 31/131
A 6 1 K	31/02	(2006.01) A 6 1 K 31/02
A 6 1 K	31/08	(2006.01) A 6 1 K 31/08
A 6 1 K	31/095	(2006.01) A 6 1 K 31/095
C 0 7 C	57/12	(2006.01) C 0 7 C 57/12
C 0 7 C	57/52	(2006.01) C 0 7 C 57/52
C 0 7 C	229/30	(2006.01) C 0 7 C 229/30
C 0 7 C	323/54	(2006.01) C 0 7 C 323/54

- (72)発明者 ブスクエツツ ザウベット, ザビィアー
スペイン, イー- 0 7 1 2 2 パルマ デ マリヨルカ, 5, ケーエム. 7, シトラ. デ バ
ルデモッサ, ユニバーシタト デ レス イイエス バレアス
- (72)発明者 バルセロ コブリジン, ゲエドリン
スペイン, イー- 0 7 1 2 2 パルマ デ マリヨルカ, 5, ケーエム. 7, シトラ. デ バ
ルデモッサ, ユニバーシタト デ レス イイエス バレアス
- (72)発明者 ラド カネラス, ピクトリア
スペイン, イー- 0 7 1 2 2 パルマ デ マリヨルカ, 5, ケーエム. 7, シトラ. デ バ
ルデモッサ, ユニバーシタト デ レス イイエス バレアス
- (72)発明者 アルバレス マーチネズ, ラファエル
スペイン, イー- 0 7 1 2 2 パルマ デ マリヨルカ, 5, ケーエム. 7, シトラ. デ バ
ルデモッサ, ユニバーシタト デ レス イイエス バレアス
- (72)発明者 テレス ジメネズ, シルビア
スペイン, パルマ デ マリヨルカ シトラ. デ バルデ, 1 7 モドゥロ シー- 8 パーク
ビット エディフィシオ, 4, ケーエム 7, シトラ. デ バルデモッサ, エス. エル., リポ
ファーマ セラピューティクス
- (72)発明者 ロペズ, ダニエル
スペイン, イー- 0 7 1 2 2 パルマ デ マリヨルカ, 1 7 モドゥロ シー- 8, パークビッ
ト エディフィシオ, 4, ケーエム 7, シトラ. デ バルデモッサ, エス. エル., リポファ
ーマ セラピューティクス
- (72)発明者 バルセロ エスタレラス, ジュアナ

スペイン, イー-07122 パルマ デ マリヨルカ, 17 モドゥロ シー-8, パークビット エディフィシオ, 4, ケーエム 7, シトラ. デ バルデモッサ, エス.エル., リポファーマ セラピューティクス

(72)発明者 テイラー グリーン, ジュリアン

スペイン, イー-45071 トレド, エス/エヌ, フィンカ ラ ペラレダ, パラ ラ インヴェスティガシオン ウイ ラ インテグラシオン, ファンダシオン デル ホスピタル ナシオナル デ パラプレジコス

(72)発明者 アビラ マーチン, ゲラルド

スペイン, イー-45071 トレド, エス/エヌ, フィンカ ラ ペラレダ, パラ ラ インヴェスティガシオン ウイ ラ インテグラシオン, ファンダシオン デル ホスピタル ナシオナル デ パラプレジコス

審査官 高橋 直子

(56)参考文献 特表2005-527479 (JP, A)

特表2007-524344 (JP, A)

特開平09-110635 (JP, A)

特開平10-182338 (JP, A)

特開平05-139947 (JP, A)

特表平10-505064 (JP, A)

米国特許第03872141 (US, A)

ANTICANCER RESEARCH, 2001年, 21, 2835 - 2840

Journal of Biomedical Materials Research, 1997年, 38(1), 43 - 48

Tetrahedron Letters, 1984年, Vol.25, No.36, 3991 - 3994

J. Nat. Prod., 1998年, 61, 1543 - 1546

Synthesis, 1994年, 3, 273 - 275

Eur. J. Org. Chem., 1998年, 2013 - 2018

Chemistry Letters, 1981年, 315 - 318

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07C 59/42

A61K 31/01

A61K 31/02

A61K 31/045

A61K 31/08

A61K 31/095

A61K 31/131

A61K 31/4188

A61K 31/517

A61K 31/7068

A61K 33/24

A61K 45/00

A61P 3/04

A61P 3/06

A61P 3/10

A61P 9/12

A61P 17/00

A61P 25/28

A61P 29/00

A61P 31/00

A 6 1 P 3 5 / 0 0
A 6 1 P 4 3 / 0 0
C 0 7 C 5 7 / 0 3
C 0 7 C 5 7 / 1 2
C 0 7 C 5 7 / 5 2
C 0 7 C 5 9 / 5 8
C 0 7 C 6 9 / 1 4 5
C 0 7 C 2 2 9 / 3 0
C 0 7 C 3 2 3 / 5 4
C 0 7 F 9 / 1 4 3
C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)