

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特許公報公報 (B9)

(11) 特許番号

特許7062268
(P7062268)

(45) 発行日 令和4年5月6日 (2022. 5. 6)

(24) 登録日 令和4年4月22日 (2022. 4. 22)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A61K 31/192	A61K 31/192	
A61P 43/00	A61P 43/00 111	
A23L 33/105	A23L 33/105	

請求項の数 3

(21) 出願番号	特願2017-236846 (P2017-236846)	(73) 特許権者	504173471
(22) 出願日	平成29年12月11日 (2017. 12. 11)		国立大学法人北海道大学
(65) 公開番号	特開2019-104691 (P2019-104691)		北海道札幌市北区北8条西5丁目
(43) 公開日	令和1年6月27日 (2019. 6. 27)	(74) 代理人	100124431
審査請求日	令和2年12月3日 (2020. 12. 3)		弁理士 田中 順也
		(74) 代理人	100174160
			弁理士 水谷 馨也
		(74) 代理人	100175651
			弁理士 迫田 恭子
		(72) 発明者	門出 健次
			北海道札幌市北区北8条西5丁目 国立大 学法人北海道大学内
		(72) 発明者	村井 勇太
			北海道札幌市北区北8条西5丁目 国立大 学法人北海道大学内

最終頁に続く

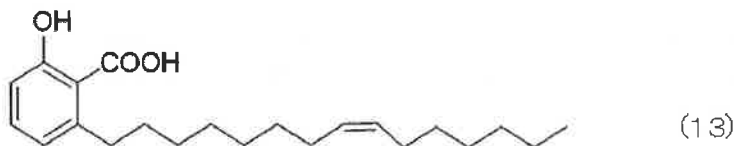
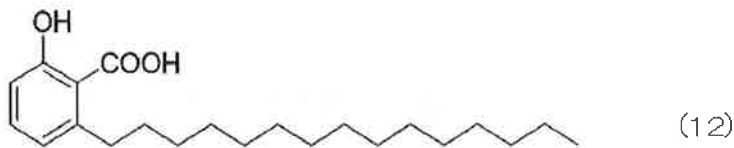
(54) 【発明の名称】 スフィンゴミエリン合成酵素阻害剤

【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記一般式 (12) 及び/又は (13) に示される化合物を有効成分とする、スフィンゴミエリン合成酵素阻害剤 (但し、メタボリックシンドローム、肥満、2型糖尿病、又はアルツハイマー病等の神経変性疾患の治療、若しくは、血清トリグリセリド又はコレステロールの低下に用いる場合を除く)。

【化1】



【請求項2】

請求項1に記載のスフィンゴミエリン合成酵素阻害剤を含む、スフィンゴミエリン合成酵素阻害用の飲食品。

【請求項3】

請求項1に記載のスフィンゴミエリン合成酵素阻害剤を含む、スフィンゴミエリン合成酵素阻害用の医薬品。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、スフィンゴミエリン合成酵素（SMS）の活性を阻害できるSMS阻害剤に関する。

【背景技術】**【0002】**

SMSは、ホスファチジルコリンのホスホコリン部分をセラミドに転移することによりスフィンゴミエリンを生成する酵素であり、SMS1、SMS2、及びSMSrの3種のアイソフォームが存在し、細胞の恒常性、シグナル伝達等において重要な役割を担っていることが知られている。SMSは、スフィンゴミエリンとセラミドの代謝に関与するため、従来、SMSを創薬ターゲットとして検討が行われている。

【0003】

従来、SMSを阻害することによって、アテローム性動脈硬化、動脈性心疾患等の疾患の治療に有用であることが報告されている（例えば、非特許文献1及び2参照）。また、SMS2は、脂肪肝、肥満、II型糖尿病、メタボリックシンドロームの発症にも関与しており、SMS2の阻害がこれらの疾患の予防又は治療に有効であることも報告されている（例えば、非特許文献3参照）。更に、SMSの阻害は、アミロイドβの発現量を低減でき、アルツハイマーの治療に有効であることも報告されている（非特許文献4）。

【0004】

更に、SMSの阻害は、基質として使用されるセラミドを生体内で蓄積させるので、セラミドが改善をもたらす疾患や症状に対しても効果が期待される。例えば、乾燥肌、荒れ肌、アトピー性皮膚炎、老人性乾皮症、乾癬等の皮膚症状では、角質層中のセラミドの減少による保湿機能や皮膚バリア機能の低下が生じていることが知られており、SMSの阻害は、保湿機能や皮膚バリア機能を向上させ、これらの皮膚症状の改善に有効であると考えられている。更に、本発明者等によって、セラミドは生体内でエクソソームの産生を促進することが明らかにされており、SMSの阻害はエクソソームの産生促進にも有用であるといえる（特許文献1）。

【先行技術文献】**【非特許文献】****【0005】**

【非特許文献1】 Ya-li Li et al., Bioorg. Med. Chem., Vol.23, 2015, p.6173-6184

【非特許文献2】 Bin Lou et al., PLOS ONE, Vol.9, 2014, e102641

【非特許文献3】 Mitsutake S. et al., J. ZBiol. Chem., Vol.286, 2011, p.28544-28555

【非特許文献4】 Hisao JH et al., PLOS ONE, Vol.8, 2013, e74016

【特許文献】**【0006】**

【特許文献1】 特願2017-48977号明細書

【発明の概要】**【発明が解決しようとする課題】****【0007】**

本発明の目的は、SMSの活性を阻害できる成分を見出し、SMS阻害剤を提供することである。

【課題を解決するための手段】**【0008】**

本発明者は、前記課題を解決すべく鋭意検討を行ったところ、ギンコール酸及びその誘導体には、SMSの活性を阻害する作用があり、SMS阻害剤として有用であることを見出した。本発明は、かかる知見に基づいて更に検討を重ねることにより完成したものである。

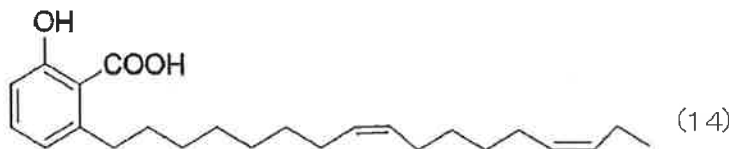
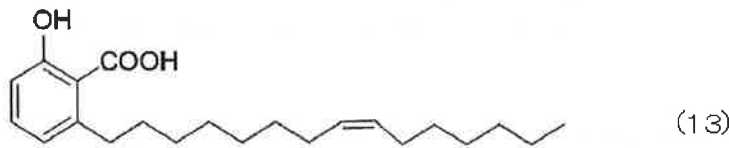
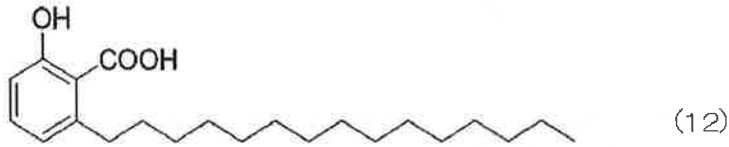
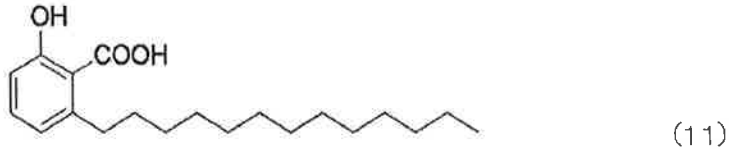
【0009】

即ち、本発明は、下記に掲げる態様の発明を提供する。

項1. ギンコール酸及び／又はその誘導体を有効成分とする、SMS阻害剤。

項2. ギンコール酸が下記一般式(11)～(14)に示される化合物の内の少なくとも1種である、項1に記載のSMS阻害剤。

【化1】



項3. 項1又は2に記載のSMS阻害剤を含む、SMS素阻害用の飲食品。

項4. 項1又は2に記載のSMS阻害剤を含む、SMS阻害用の医薬品。

【発明の効果】

【0010】

本発明のSMS阻害剤によれば、生体内でのSMSの活性を阻害できるので、生体機能の維持又は改善、SMSが要因になっている疾患や症状の予防又は治療が可能になる。また、本発明のSMS阻害剤は、経口投与、飲食品の形態で投与又は摂取できるので、非侵襲的で患者への負担が少ない手法で、SMSの活性を阻害することができる。

【発明を実施するための形態】

【0011】

本発明のSMS阻害剤は、ギンコール酸及び/又はその誘導体を有効成分とすることを特徴とする。以下に、本発明のSMS阻害剤について詳述する。

【0012】

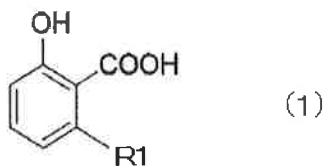
〔有効成分〕

本発明のSMS阻害剤では、有効成分として、ギンコール酸及び/又はその誘導体を使用する。

【0013】

ギンコール酸とは、イチョウ (*Ginkgo biloba*) の葉、幹、種等に含まれている天然化合物であり、下記一般式(1)で示される構造を有している。

【化2】



【0014】

一般式(1)において、R1は、飽和又は不飽和の炭化水素基である。

【0015】

前記炭化水素基の炭素数については、特に制限されないが、通常7~25、好ましくは9~21、更に好ましくは13、15又は17である。

【0016】

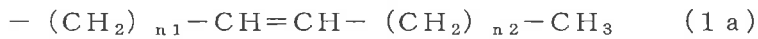
R1が、不飽和の炭化水素基である場合、当該不飽和の炭化水素基に含まれる不飽和二重結合の数に

については特に制限されないが、例えば、1～3個、好ましくは1又は2個である。

【0017】

具体的には、R1が、不飽和二重結合を1つ有する炭化水素基である場合、その具体例として、下記一般式(1a)に示す炭化水素基が挙げられる。

【化3】



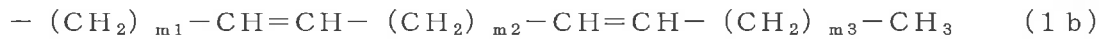
【0018】

一般式(1a)において、n1は、5～11の整数、好ましくは7～9の整数、更に好ましくは7である。一般式(1a)において、n2は、3～7の整数、好ましくは5～7の整数、更に好ましくは5である。また、一般式(1a)においてn1とn2の合計値は、通常8～18、好ましくは12～16、更に好ましくは12である。

【0019】

また、R1が、不飽和二重結合を2つ有する炭化水素基である場合、その具体的として、下記一般式(1b)に示す炭化水素基が挙げられる。

【化4】



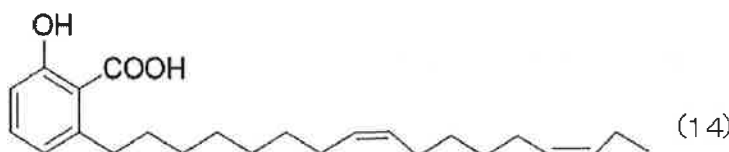
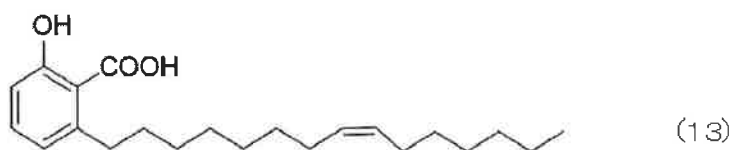
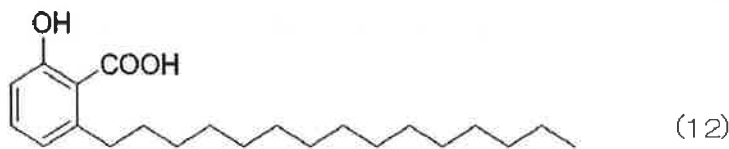
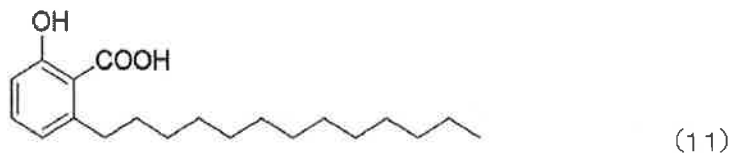
【0020】

一般式(1b)において、m1は、5～11の整数、好ましくは7～9の整数、更に好ましくは7である。一般式(1b)において、m2は、2～6の整数、好ましくは2～4の整数、更に好ましくは4である。一般式(1b)において、m3は、0～4の整数、好ましくは0～2の整数、更に好ましくは0である。また、一般式(1b)においてm1とm2とm3の合計値は、通常7～21、好ましくは9～17、更に好ましくは12である。

【0021】

本発明で使用されるギンコール酸として、具体的には、下記一般式(11)～(14)で示される化合物が挙げられる。下記一般式(11)で示される化合物はギンコール酸(C13:0)、下記一般式(12)で示される化合物はギンコール酸(C15:0)、下記一般式(13)で示される化合物はギンコール酸(C15:1)、下記一般式(14)で示される化合物はギンコール酸(C17:2)として知られており、イチヨウに含まれている天然化合物である。

【化5】

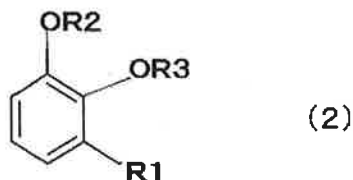


【0022】

本発明で使用されるギンコール酸の誘導体については、特に制限されないが、例えば、下記一般式(

2) に示す化合物が挙げられる。

【化6】



【0023】

一般式(2)において、R1は、飽和又は不飽和の炭化水素基であり、その具体例等については、前記一般式(1)におけるR1と同様である。

【0024】

一般式(2)において、R2は、低級アルキル基、低級アシル基、又は水素原子である。低級アルキル基としては、具体的には、炭素数1～5の直鎖状又は分岐状のアルキル基、好ましくは炭素数1～3の直鎖状又は分岐状のアルキル基、更に好ましくはメチル基、及びエチル基が挙げられる。低級アシル基としては、具体的には、炭素数1～5の直鎖状又は分岐状のアシル基、好ましくは炭素数1～3の直鎖状又は分岐状のアシル基、更に好ましくはホルミル基、及びアセチル基が挙げられる。

【0025】

一般式(2)において、R3は、低級アルキル基、又は水素原子である。低級アルキル基の具体例等については、R2における低級アルキル基と同様である。

【0026】

一般式(2)において、R2及びR3の一方が水素原子である場合には、他方は水素原子以外の基である。

【0027】

本発明のSMS阻害剤では、ギンコール酸及びその誘導体の中から1種を選択して単独で使用してもよく、2種以上を組み合わせ使用してもよい。

【0028】

ギンコール酸及びその誘導体の中でも、より効果的にSMS阻害作用を発揮させるという観点から、好ましくはギンコール酸、更に好ましくは前記一般式(11)～(14)で示されるギンコール酸、特に好ましくはギンコール酸(C15:0)(前記一般式(12)、及びギンコール酸(C15:1)(前記一般式(13))が挙げられる。

【0029】

本発明のSMS阻害剤では、ギンコール酸及び／又はその誘導体として、ギンコール酸及び／又はその誘導体を含む植物から抽出することにより得られた精製品、粗精製品、又は抽出物を使用してもよく、また合成又は半合成によって得られたものを使用してもよい。

【0030】

例えば、ギンコール酸は、イチョウ(*Ginkgo biloba*)の葉、幹、種等に含まれており、これらの植物部位を抽出処理することにより得ることができる。ギンコール酸の抽出に使用される抽出溶媒については、ギンコール酸を抽出可能であることを限度として特に制限されないが、例えば、メタノール、エタノール、プロパノール、ブタノール等のアルコール類；酢酸メチル、酢酸エチル等のエステル類；テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル等のエーテル類、ジクロロメタン、ジクロロエタン、クロロホルム等のハロゲン化炭化水素類；ヘキサン、ペンタン等の脂肪族炭化水素類；トルエン等の芳香族炭化水素類等が挙げられる。前記植物部位からギンコール酸を抽出するには、公知の抽出処理を用いればよい。また、必要に応じて、複数回の抽出処理を行ってもよく、これにより抽出されるギンコール酸量が高めることもできる。

【0031】

[添加成分]

本発明のSMS阻害剤は、ギンコール酸及び／又はその誘導体以外に、本発明の効果を損なわない範囲で、剤型、適用形態等に応じて、他の添加成分を含有していてもよい。本発明のSMS阻害剤に使用できる添加成分としては、例えば、水、油脂類、ロウ類、炭化水素類、脂肪酸類、高級アルコール類、エステル類、植物抽出エキス類、水溶性高分子、界面活性剤、金属石鹼、アルコール、多価アルコール、pH調整剤、酸化防止剤、紫外線吸収剤、防腐剤、香料、粉体、増粘剤、色素、キレート剤などが挙げられる。これらの添加成分は、1種単独で使用してもよく、また2種以上を組み合わせ

使用してもよい。また、これらの添加成分の含有量については、使用する添加成分の種類や、本発明のSMS阻害剤が適用される製品の剤型等に応じて適宜設定される。

【0032】

[使用対象となる製品]

本発明のSMS阻害剤が使用される製品の剤型については、特に制限されず、固体状、半固体状、又は液体状のいずれであってもよく、SMS阻害剤の適用方法等に応じて適宜設定すればよい。

【0033】

本発明のSMS阻害剤の適用方法としては、特に制限されず、全身投与、局所投与、等のいずれであってもよい。具体的には、経口、経血管内（動脈内又は静脈内）、経皮、経腸、経肺、経鼻投与等が挙げられる。血管内投与には、血管内注射、持続点滴も含まれる。これらの中でも、SMS阻害効果をより一層効果的に奏せるとする観点から、好ましくは経口投与、経皮投与が挙げられる。

【0034】

本発明のSMS阻害剤が使用される製品の製剤形態については、特に制限されないが、例えば、外用医薬品、内服用医薬品等の医薬品；飲食品；化粧品等が挙げられる。

【0035】

例えば、本発明のSMS阻害剤を内服用医薬品に使用する場合、本発明のSMS阻害剤を、そのまま又は他の添加成分と組み合わせて所望の形態に調製すればよい。このような内服用医薬品としては、具体的には、カプセル剤（ソフトカプセル剤、ハードカプセル剤）、錠剤、顆粒剤、粉剤、ゼリー剤、シロップ剤、リポソーム製剤等が挙げられる。これらの内服用の医薬品の中でも、好ましくはカプセル剤、更に好ましくはソフトカプセル剤が挙げられる。

【0036】

本発明のSMS阻害剤を外用医薬品に使用する場合、本発明のSMS阻害剤を単独で、又は他の薬理活性成分、薬学的に許容される基剤や添加成分等と組み合わせて所望の形態に調製すればよい。このような外用医薬品の形態としては、特に制限されないが、具体的には、乳液剤、懸濁液剤、軟膏剤、クリーム剤、ローション剤、ゲル剤、噴霧剤、貼付剤、パップ剤、リニメント剤、エアゾール剤、軟膏剤、パック剤などの経皮投与製剤等が挙げられる。

【0037】

本発明のSMS阻害剤を飲食品に使用する場合、本発明のSMS阻害剤を、そのまま又は他の食品素材や添加成分と組み合わせて所望の形態に調製すればよい。このような飲食品としては、一般の飲食品の他、特定保健用食品、栄養補助食品、機能性食品、病者用食品等が挙げられる。これらの飲食品の形態として、特に制限されないが、具体的にはカプセル剤（ソフトカプセル剤、ハードカプセル剤）、錠剤、顆粒剤、粉剤、ゼリー剤、リポソーム製剤等のサプリメント；栄養ドリンク、果汁飲料、炭酸飲料、乳酸飲料等の飲料；団子、アイス、シャーベット、グミ、キャンディー等の嗜好品等が例示される。これらの飲食品の中でも、好ましくはサプリメント、より好ましくはカプセル剤が挙げられる。

【0038】

本発明のSMS阻害剤を化粧品に使用する場合、本発明のSMS阻害剤を香粧学的に許容される基材や添加成分と組み合わせて所望の形態に調製すればよい。このような化粧品の形態としては、特に制限されないが、具体的には、クリーム剤、乳液、化粧水（ローション）、パック、洗浄剤、メーキャップ化粧品、頭皮・毛髪用品、オイル、リップ、口紅、ファンデーション、アイライナー、頬紅、マスカラ、アイシャドー、マニキュア・ペディキュア（及び除去剤）、シャンプー、リンス、ヘアトリートメント、パーマメント剤、染毛料、ひげ剃り剤、石けん（ハンドソープ、ボディソープ、洗顔料）等が挙げられる。

【0039】

本発明のSMS阻害剤の各種製品への配合量については、特に制限されず、配合される製品の製剤形態、期待される効果等に応じて適宜設定すればよいが、例えば、有効成分であるギンコール酸及び／又はその誘導体の配合量として0.1～90質量%、好ましくは0.2～50質量%、更に好ましくは0.5～30質量%が挙げられる。

【0040】

[用途]

本発明のSMS阻害剤は、SMSの活性を阻害する目的で使用される。本発明のSMS阻害剤の阻害対象となるSMSのアイソフォームについては、特に制限されず、SMS1、SMS2、及びSMS_rのいずれであってもよいが、より効果的な阻害作用を発揮せるとする観点から、阻害対象として

SMS 1及びSMS 2が好適である。

【0041】

本発明のSMS阻害剤は、SMSの阻害によって改善が見込まれる症状や疾患に対する予防又は治療剤として使用できる。

【0042】

例えば、SMSの阻害は、アテローム性動脈硬化、動脈性心疾患等の疾患の改善に有効であることが知られているので、本発明のSMS阻害剤は、これらの疾患の予防又は治療剤として使用することができる。

【0043】

また、SMS 2の阻害は、脂肪肝、肥満、I I型糖尿病、メタボリックシンドロームの改善に有効であることも知られているので、本発明のSMS阻害剤は、これらの疾患の予防又は治療剤として使用することができる。

【0044】

また、SMSの阻害は、アミロイドβの発現量を低減し、アルツハイマーの改善に有効であることが知られているので、本発明のSMS阻害剤はアルツハイマーの予防又は治療剤として使用することもできる。

【0045】

更に、SMSの阻害は、SMSの基質となるセラミドを生体内で蓄積させるので、本発明のSMS阻害剤はセラミドが改善をもたらす用途にも有効である。セラミドが改善をもたらす用途としては、具体的には、保湿機能や皮膚バリア機能の向上；乾燥肌、荒れ肌、アトピー性皮膚炎、老人性乾皮症、乾癬等の皮膚症状の予防又は治療等が挙げられる。更に、本発明者等によって、セラミドは生体内でエクソソームの産生を促進することが明らかにされており、本発明のSMS阻害剤はエクソソームの産生促進用途にも使用できる。また、エクソソームの産生促進は、アルツハイマー病、パーキンソン病、前頭側頭型変性症、ポリグルタミン病等の神経変性疾患等の予防又は治療に有効であることが報告されているので、本発明のSMS阻害剤をエクソソーム産生促進用途に使用する場合には、これらの疾患の予防又は治療に好適に使用される。

【0046】

本発明のSMS阻害剤の適用量としては、特に限定されず、使用される製品の製剤形態、SMS阻害剤の使用目的、適用対象者の年齢、期待される効果等に応じて、SMS活性を阻害できる有効量を適宜設定すればよい。

【実施例】

【0047】

以下、本発明を実施例によりさらに詳細に説明するが、本発明は、これらの例によって何ら限定されるものではない。

【0048】

1. ギンコール酸(C15:1)の単離

北海道で採取したイチョウの幹を乾燥して粉碎し、イチョウの幹の乾燥粉末を得た。得られた乾燥粉末乾燥粉末500gにメタノール2Lを加えて室温で24時間抽出処理を行った。次いで、固液分離を行い、回収した固形分に対して、同様の抽出処理を2回行った。3回の抽出処理により得られた抽出液を混合し、減圧により濃縮して、黒褐色の残渣15.9gを得た。

【0049】

得られた残渣を20%メタノール水溶液500mLに溶解し、ヘキサン250mLを添加して分配抽出を行い、ヘキサン画分とメタノール水溶液画分を回収した。回収したメタノール水溶液画分に対して、同様の分配抽出を2回行った。

【0050】

3回の分配抽出により得られたヘキサン画分を混合し、n-ヘキサンと酢酸エチルの混合溶媒を溶出液として、グラジエントをかけたシリカゲルクロマトグラフィーに供し、ギンコール酸含有画分を回収した。

【0051】

更に、前記で得られたギンコール酸含有画分を、再度、n-ヘキサンと酢酸エチルの混合溶媒を溶出液として、グラジエントをかけたシリカゲルクロマトグラフィーに供し、ギンコール酸含有画分を回収した。

【0052】

回収したギンコール酸含有画分について、¹H NMR及びエレクトロスプレーイオン化質量分析 (ESI-MS) に供したところ、ギンコール酸 (C15 : 1) が精製されていることが確認された。ギンコール酸 (C15 : 1) : 淡黄色のオイル状 ; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 10.99 (1H, s), 7.37 (1H, t, 7.9 Hz), 6.88 (1H, d, J=8.3 Hz), 6.78 (1H, d, J=7.5 Hz), 5.32-5.38 (2H, m), 2.97-3.00 (2H, t, J=7.5 Hz), 2.02-2.06 (4H, m), 1.60-1.62 (2H, m), 1.26-1.33 (19H, m), 0.88 (3H, t, J=6.6 Hz). ESI-MS: Exact-346.5 found- (M+1) = 347.7

【0053】

2. ギンコール酸 (C15 : 0) の合成

ギンコール酸 (C15 : 1) (50 mg, 0.14 mmol) を含む酢酸エチル10 mlに、10% Pd/C (30 mg, 0.028 mmol) を添加し、水素雰囲気下、室温で終夜攪拌した。次いで、濾過にて固形分を取り除き、濾液を減圧下で濃縮した。得られた濃縮残渣を、n-ヘキサンと酢酸エチルの混合溶媒を溶出液として、グラジエントをかけたシリカゲルクロマトグラフィーに供し、ギンコール酸を精製した。

【0054】

得られたギンコール酸について、¹H NMR及びエレクトロスプレーイオン化質量分析 (ESI-MS) に供したところ、ギンコール酸 (C15 : 0) であることが確認された。ギンコール酸 (C15 : 0) ; 白色固形状 ; ¹H NMR (CDCl₃, 500 MHz) δ 11.13 (1H, s), 7.37 (1H, t, 8.0 Hz), 6.88 (1H, d, J=8.3 Hz), 6.73 (1H, d, J=7.3 Hz), 3.00 (2H, t, J=7.8 Hz), 1.59-1.65 (4H, m), 1.57-1.56 (2H, m), 1.29-1.34 (26H, m), 0.89 (3H, t, J=6.8 Hz). ESI-MS: Exact-348.5 found- (M+1) = 349.3

【0055】

3. SMS阻害活性の評価

(1) SMS1及びホスファチジルコリンを含有する細胞ライセートの準備

SMS1及びSMS2の双方をノックアウトしたKOマウス (胎児) の胚由来組織から線維芽細胞を回収し、当該線維芽細胞に対して細胞不死化薬 (simian vulirus 40 (SV40) T抗原) を使用して不死化处理した。次いで、不死化处理した線維芽細胞に対して、pQCXIPベクターを用いてマウスSMS1遺伝子をトランスフェクトし、SMS1のみを発現するZS/SMS1細胞を得た。

【0056】

培養したZS/SMS1細胞約 2×10^6 cellsをPBSで洗浄した後に、セルスクレーパーで回収する。遠心で上清を除去後、20 mM トリスバッファー1 mlを添加し、冷やしながら超音振盪器で溶解した。タンパク濃度が $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{l}$ となるように20 mMトリスバッファーで調整し、SMS1及びホスファチジルコリンを含有する細胞ライセートを得た。

【0057】

(2) SMS2及びホスファチジルコリンを含有する細胞ライセートの準備

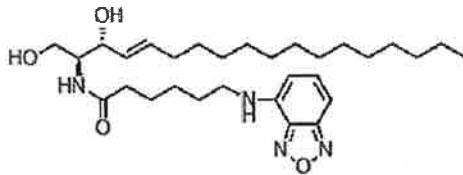
不死化处理した線維芽細胞に対して、マウスSMS2遺伝子を導入したこと以外は、前記(1)と同条件で、SMS2及びホスファチジルコリンを含有する細胞ライセートを得た。

【0058】

(3) SMS阻害活性の測定

トリス緩衝液 (pH 7.5) に、下記構造のNBD (7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazole) 標識セラミド (反応開始時の濃度: $0.05 \mu\text{M}$)、及びギンコール酸 (C15 : 1) 又はギンコール酸 (C15 : 0) (反応開始時の濃度: 0, 0.1, 0.5, 1, 5, 10, 25, 50, 及び $100 \mu\text{M}$) を添加して、37°Cに加熱した。これに、前記細胞ライセート (反応開始時の濃度: 細胞ライセート由来のタンパク濃度で $10 \mu\text{g}/100 \mu\text{l}$) を添加し、37°Cで180分間インキュベートした。その後、クロロホルム及びメタノールの混合溶液 (クロロホルム:メタノールの容量比2:1) を添加して反応を停止し、HPLCによりNBDの蛍光強度を測定することにより、反応液中のスフィンゴミエリン濃度を測定し、50%阻害濃度 (IC₅₀) を算出した。

【化7】



NBD標識セラミド

【0059】

得られた結果を表1に示す。この結果、ギンコール酸 (C15:1) 及び (C15:0) は、SMS 1 及びSMS 2を阻害する活性が高く、SMS阻害剤として使用できることが明らかとなった。

【0060】

【表1】

	I C ₅₀	
	SMS 1	SMS 2
ギンコール酸 (C15:1)	1.5 μ M	1.5 μ M
ギンコール酸 (C15:0)	2.0 μ M	2.5 μ M

フロントページの続き

- (72)発明者 マカナハリ マデゴウダ マハデバ スワミィ
北海道札幌市北区北8条西5丁目 国立大学法人北海道大学内
審査官 新熊 忠信
- 参考文献 国際公開第2015/176153(WO, A1)
参考文献 特開平05-170645(JP, A)
参考文献 国際公開第2005/097097(WO, A1)
参考文献 国際公開第2013/054534(WO, A1)
参考文献 特表2013-544752(JP, A)
参考文献 Mango, Dalila, Ginkgolic acid protects against Ab-induced synaptic dysfunction in the hippocampus, *Frontiers in Pharmacology*, 2016年, 7巻, 401-407
- (58)【調査した分野】 (Int. Cl., DB名)
A61K 31/00-33/44
A61K 36/00-36/9068
A61P 1/00
A61P 3/00
A61P 9/00
A61P 17/00
A61P 25/00
A61P 37/00
A61P 43/00
A23L 33/00-33/29
JSTPx