

明 細 書

発明の名称：

脂質異常症又は心臓血管病の予防・治療のための組合せ医薬

技術分野

[0001] 本発明は、例えば、アテローム性動脈硬化症、高コレステロール血症のような脂質異常状態や動脈硬化症、心血管イベントのような心臓血管病を予防及び／又は治療することを目的とした配合剤又は薬剤の併用に関する。

背景技術

[0002] 動脈硬化性疾患は、動脈硬化を基盤とし発症する心筋梗塞などの虚血性疾患や脳梗塞などの脳血管障害を引き起こし、がんに次ぐ死因の二位を占めている。生活習慣の多様化及び急速に進行する高齢化を背景とした脂質異常症、すなわち、高LDLコレステロール（LDL-C）血症、高トリグリセリド血症、低HDLコレステロール（HDL-C）血症、高non-HDL-C血症等は増加傾向にあり、脂質異常状態は動脈硬化の危険因子である。特に高LDL-C血症、低HDL-C血症、及び高TG血症は、疫学的に動脈硬化性疾患の危険因子であることが立証されており、日本動脈硬化学会の「動脈硬化性疾患予防ガイドライン2017年版」及び「動脈硬化性疾患予防のための脂質異常症診療ガイド2018年度版」においても、これら脂質異常症管理の重要性が示されている。

[0003] 脂質異常症、特に高コレステロール血症は、スタチンの登場によりすでにかなり医療満足度の高い疾患領域になった。しかし多くの大規模臨床試験の結果から、血中LDL-Cをより下げることが冠動脈疾患の予防に繋がること（the lower, the better）が判明し、より厳しい脂質コントロールが求められている。スタチンだけでは目標の血中LDL-C値に到達できない患者も多く、多剤併用も求められるようになっている。

[0004] 脂質異常症のみならず、高血圧、糖尿病、慢性腎臓病、肥満及びメタボリックシンドロームは、いずれも、危険因子として冠動脈疾患（corona

ry artery disease : CAD) との関連が示唆されている。トリグリセリド (TG) の高値が冠動脈疾患リスクと関連すること、糖尿病が動脈硬化性疾患の高リスク病態であること、及び肥満を代表とするメタボリックシンドロームも心血管疾患発症リスクの高い病変であることが報告されている (非特許文献 1)。また非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) / 非アルコール性脂肪性肝炎 (NASH) はメタボリックシンドロームの肝臓におけるひとつの表現型であり、冠動脈疾患、糖尿病などの危険因子であることが多数報告されている (非特許文献 2)。

[0005] Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) は、核内受容体ファミリーに属する受容体の一つである。この受容体には 3 つのサブタイプ (α 、 γ 、 δ) の存在が知られている (非特許文献 3)。これらのうち、PPAR α は主に肝臓に発現しており、PPAR α が活性化されるとアポ C-III の産生が抑制され、次いでリポプロテインリパーゼ (LPL) が活性化されて、その結果、脂肪が分解される。PPAR α アゴニストとしては、不飽和脂肪酸や、フェノフィブラート、ベザフィブラート、ゲムフィブロジル等のフィブラート系薬剤等が知られている (非特許文献 4)。また、近年、従来のフィブラート系薬剤よりも強力かつ選択的に PPAR α 活性化作用をもつ化合物が報告されている (特許文献 1)。

[0006] ATP クエン酸リアーゼ (以下、「ACL」と称する) は脂質合成系の最上流に位置し、細胞内において脂質合成の材料となるアセチル CoA を解糖系中間体であるクエン酸から生成させる酵素である。ACL は多くの癌、心血管疾患および代謝障害で異常に発現していることが報告されており、大規模なヒトコホート研究のメンデリア無作為化法によって、ACL が LDL-C 低減およびアテローム性動脈硬化症保護のための有望な治療標的として使用できることが検証されている (非特許文献 5)。ACL 阻害剤としては 8-ヒドロキシ-2, 2, 14, 14-テトラメチルペンタデカン二酸 (ベムペド酸、特許文献 2)、SB-204990 (非特許文献 6) 等の薬剤が知

られている。

先行技術文献

特許文献

[0007] 特許文献1：国際公開2005/023777号

特許文献2：国際公開2004/067489号

非特許文献

[0008] 非特許文献1：動脈硬化性疾患予防ガイドライン（2017年度版；日本動脈硬化学会刊）

非特許文献2：NAFLD/NASH診療ガイドライン2020（日本消化器学会・日本肝臓学会共編）

非特許文献3：J. Lipid Research, 37, 907-925 (1996)

非特許文献4：Trends in Endocrinology and Metabolism, 15 (7), 324-330 (2004)

非特許文献5：Progress in Lipid Research 77 (2020) 101006

非特許文献6：Biochem. J., 334 (1) 113-119 (1998)

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] 本発明の課題は、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症のような脂質異常症又は動脈硬化症、心血管イベントのような心臓血管病を予防及び／又は治療するための組合せ医薬組成物及び薬剤の併用を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0010] 本発明者らは、斯かる実情に鑑み、鋭意研究した結果、選択的なPPAR α 活性化剤として報告されている(R)-2-[3-[N-(ベンズオキ

サゾール-2-イル)-N-3-(4-メトキシフェノキシ)プロピル]アミノメチル]フェノキシ]酪酸(特許文献1の実施例85:以下、化合物Aと称する場合がある)と、ベムペド酸(特許文献2の化合物339:以下、化合物Bと称する場合がある)を併用することにより、肝臓中コレステロール低下作用と血中TG低下作用を発揮する事実を見出し、本発明を完成した。

[0011] すなわち本発明は、PPAR α アゴニストとACL阻害剤との組み合わせを特徴とする組成物やキット等に関する。より具体的には、次の[1]から[39]に関する。

[1] PPAR α アゴニストとACL阻害剤との組み合わせを特徴とする脂質異常症又は心臓血管病の予防及び/又は治療剤。

[2] 脂質異常症が高コレステロール血症又は高トリグリセリド血症である前記[1]に記載の予防及び/又は治療剤。

[3] 心臓血管病が、動脈硬化症又は心血管イベントである前記[1]又は[2]のいずれかに記載の予防及び/又は治療剤。

[4] PPAR α アゴニストが、(R)-2-[3-[N-(ベンズオキサゾール-2-イル)-N-3-(4-メトキシフェノキシ)プロピル]アミノメチル]フェノキシ]酪酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である前記[1]~[3]のいずれかに記載の予防及び/又は治療剤。

[5] ACL阻害剤が、8-ヒドロキシ-2, 2, 14, 14-テトラメチルペンタデカン二酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である前記[1]~[4]のいずれかに記載の予防及び/又は治療剤。

[6] 配合剤である前記[1]~[5]のいずれかに記載の予防及び/又は治療剤。

[7] キットである前記[1]~[5]のいずれかに記載の予防及び/又は治療剤。

[0012] [8] PPAR α アゴニストとACL阻害剤とを組み合わせる脂質異常症又は心臓血管病の予防及び/又は治療における使用のための医薬。

〔 9 〕 脂質異常症が高コレステロール血症又は高トリグリセリド血症である前記〔 8 〕に記載の医薬。

〔 10 〕 心臓血管病が、動脈硬化症又は心血管イベントである前記〔 8 〕又は〔 9 〕のいずれかに記載の医薬。

〔 11 〕 PPAR α アゴニストが、(R)-2-[3-[N-(ベンズオキサゾール-2-イル)-N-3-(4-メトキシフェノキシ)プロピル]アミノメチル]フェノキシ]酪酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である前記〔 8 〕～〔 10 〕のいずれかに記載の医薬。

〔 12 〕 ACL阻害剤が、8-ヒドロキシ-2, 2, 14, 14-テトラメチルペンタデカン二酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である前記〔 8 〕～〔 11 〕のいずれかに記載の医薬。

〔 13 〕 配合剤である前記〔 8 〕～〔 12 〕のいずれかに記載の医薬。

〔 14 〕 キットである前記〔 8 〕～〔 13 〕のいずれかに記載の医薬。

[0013] 〔 15 〕 PPAR α アゴニスト及びACL阻害剤を含有してなる脂質異常症又は心臓血管病の予防及び／又は治療用医薬組成物。

〔 16 〕 脂質異常症が、高コレステロール血症又は高トリグリセリド血症である前記〔 15 〕に記載の医薬組成物。

〔 17 〕 心臓血管病が、動脈硬化症又は心血管イベントである前記〔 15 〕又は〔 16 〕のいずれかに記載の医薬組成物。

〔 18 〕 PPAR α アゴニストが、(R)-2-[3-[N-(ベンズオキサゾール-2-イル)-N-3-(4-メトキシフェノキシ)プロピル]アミノメチル]フェノキシ]酪酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である前記〔 15 〕～〔 17 〕のいずれかに記載の医薬組成物。

〔 19 〕 ACL阻害剤が、8-ヒドロキシ-2, 2, 14, 14-テトラメチルペンタデカン二酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である前記〔 15 〕～〔 18 〕のいずれかに記載の医薬組成物。

〔 20 〕 薬学的に許容される担体をさらに含有する、前記〔 15 〕～〔 19 〕のいずれかに記載の医薬組成物。

[0014] [21] 治療を必要とする対象に有効量のPPAR α アゴニストと有効量のACL阻害剤とを投与する工程を含む、脂質異常症又は心臓血管病の予防及び／又は治療方法。

[22] 脂質異常症が、高コレステロール血症又は高トリグリセリド血症である前記[21]に記載の予防及び／又は治療方法。

[23] 心臓血管病が、動脈硬化症又は心血管イベントである前記[21]又は[22]に記載の予防及び／又は治療方法。

[24] PPAR α アゴニストが、(R)-2-[3-[[N-(ベンズオキサゾール-2-イル)-N-3-(4-メトキシフェノキシ)プロピル]アミノメチル]フェノキシ]酪酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である前記[21]～[23]のいずれかに記載の予防及び／又は治療方法。

[25] ACL阻害剤が、8-ヒドロキシ-2, 2, 14, 14-テトラメチルペンタデカン二酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である前記[21]～[24]のいずれかに記載の予防及び／又は治療方法。

[0015] [26] 脂質異常症又は心臓血管病の予防及び／又は治療剤の製造のための、PPAR α アゴニストとACL阻害剤との使用。

[27] 脂質異常症が、高コレステロール血症又は高トリグリセリド血症である前記[26]に記載の使用。

[28] 心臓血管病が、動脈硬化症又は心血管イベントである前記[26]又は[27]のいずれかに記載の使用。

[29] PPAR α アゴニストが、(R)-2-[3-[[N-(ベンズオキサゾール-2-イル)-N-3-(4-メトキシフェノキシ)プロピル]アミノメチル]フェノキシ]酪酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である前記[26]～[28]のいずれかに記載の使用。

[30] ACL阻害剤が、8-ヒドロキシ-2, 2, 14, 14-テトラメチルペンタデカン二酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である前記[26]～[29]のいずれかに記載の使用。

[31] 予防及び／又は治療剤が配合剤である前記[26]～[30]のい

ずれかに記載の使用。

[32] 予防及び／又は治療剤がキットである前記[26]～[30]のいずれかに記載の使用。

[0016] [33] 脂質異常症又は心臓血管病の予防及び／又は治療するための、PPAR α アゴニストとACL阻害剤との組合せ。

[34] 脂質異常症が、高コレステロール血症又は高トリグリセリド血症である前記[33]に記載の組合せ。

[35] 心臓血管病が、動脈硬化症又は心血管イベントである前記[33]又は[34]のいずれかに記載の組合せ。

[36] PPAR α アゴニストが、(R)-2-[3-[[N-(ベンゾオキサゾール-2-イル)-N-3-(4-メトキシフェノキシ)プロピル]アミノメチル]フェノキシ]酪酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である前記[33]～[35]のいずれかに記載の組合せ。

[37] ACL阻害剤が、8-ヒドロキシー-2, 2, 14, 14-テトラメチルペンタデカン二酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である前記[33]～[36]のいずれかに記載の組合せ。

[38] 予防及び／又は治療剤が配合剤である前記[33]～[37]のいずれかに記載の組合せ。

[39] 予防及び／又は治療剤がキットである前記[33]～[37]のいずれかに記載の組合せ。

発明の効果

[0017] 本発明の治療剤、医薬、医薬組成物、治療方法、使用又は組合せは、優れた肝臓中総コレステロール低下作用と血中TG低下作用を有しており、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症のような脂質異常症又は動脈硬化症、心血管イベントのような心臓血管病に対する予防及び／又は治療を提供することができる。

図面の簡単な説明

[0018] [図1]図1は、Wisterラットに対して、化合物A(0.3 mg/kg)

、化合物B（30 mg/kg）の単独及び併用投与を1日1回2週間実施した時のTG index（%）を示す図である。Ctrlは溶媒投与の対照を表す。

[図2]図2は、Wisterラットに対して、化合物A（0.3 mg/kg）、化合物B（30 mg/kg）の単独及び併用投与を1日1回2週間実施した時の肝臓中PPAR α 遺伝子発現量（mRNAの相対発現量）を示す図である。Ctrlは溶媒投与の対照を表す。

[図3]図3は、db/dbマウスに対して、化合物A（0.3 mg/kg）、化合物B（10 mg/kg）の単独及び併用投与を1日1回2週間実施した時の肝臓中総コレステロール値（mg/g）を示す図である。Ctrlは溶媒投与の対照を表す。

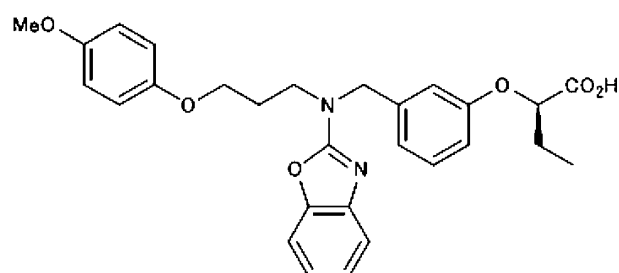
発明を実施するための形態

[0019] 本発明において、PPAR α アゴニストとは、核内受容体の1つであるペルオキシソーム増殖剤応答性レセプター（PPAR）の中の脂肪の酸化などに関与するPPAR α 型受容体を活性化する化合物の総称を意味する。具体的には、フェノフィブラート、クロフィブラート、ベザフィブラート、クリノフィブラート、シプロフィブラート、エトフィブラート、ゲムフィブロジール等のフィブラート類、WY-14643（ピリニクス酸）、GW-7647、ペマフィブラート等が挙げられる。

[0020] 本発明の実施例に用いた（R）-2-[3-[N-（ベンズオキサゾール-2-イル）-N-3-（4-メトキシフェノキシ）プロピル]アミノメチル]フェノキシ]酪酸（化合物A）は、一般名ペマフィブラートとしても知られており、化合物Aを化学構造式で記載すると、以下の通りである。

[0021]

[化1]



化合物A

[0022] 化合物Aは、例えば、国際公開2005/023777号（特許文献1）等に記載の方法に従って製造することができる。また、文献に記載の方法に準じて製造することもできる。さらに、本発明では化合物Aの塩若しくは溶媒和物を用いることもできる。それら塩及び溶媒物は常法により、製造することができる。

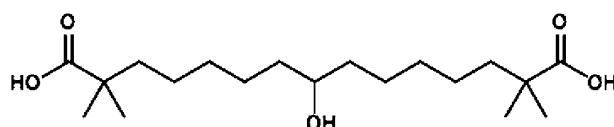
[0023] 化合物Aの塩としては、薬学的に許容できるものであれば特に制限はないが、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩；アンモニウム塩、トリアルキルアミン塩等の有機塩基塩；塩酸塩、硫酸塩等の鉱酸塩；酢酸塩等の有機酸塩等が挙げられる。

[0024] 化合物A、若しくはその塩の溶媒和物としては、水和物、アルコール和物（例えば、エタノール和物）等が挙げられる。

[0025] 本発明において、ATPクエン酸リアーゼ（ACL）とは脂質合成系の最上流に位置し、細胞内において脂質合成の材料となるアセチルCoAを解糖系中間体であるクエン酸から生成させる酵素である。ACL阻害剤はこの酵素ACLを阻害する物質の総称である。ACL阻害剤としては、8-ヒドロキシ-2, 2, 14, 14-テトラメチルペンタデカン二酸（ベムペド酸、化合物B）、SB-204990、クルクミン、レスベラトロール、シナモンポリフェノール、ヒドロキシクエン酸、パン酵母グルカン、Medica 16、3-Thiadicarboxylic acid、2-Hydroxy-N-arylbenzenesulfonamide等が挙げられる。

[0026] 本発明の実施例で用いた8-ヒドロキシ-2,2,14,14-テトラメチルペンタデカン二酸（化合物B）は、別名ペムペド酸として知られており、化合物Bを化学構造式で記載すると、以下の通りである。

[0027] [化2]



化合物B

[0028] 化合物Bは、例えば、国際公開2004/067489号（特許文献2）等に記載の方法に従って製造することができる。また、文献に記載の方法に準じて製造することもできる。さらに、本発明では化合物Bの塩若しくは溶媒和物を用いることもできる。塩及び溶媒物は常法により、製造することができる。

[0029] 化合物Bの塩としては、薬学的に許容できるものであれば特に制限はないが、例えば、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩；カルシウム塩、マグネシウム塩等のアルカリ土類金属塩；アンモニウム塩、トリアルキルアミン塩等の有機塩基塩；塩酸塩、硫酸塩等の鉱酸塩；酢酸塩等の有機酸塩等が挙げられる。

[0030] 化合物B、若しくはその塩の溶媒和物としては、水和物、アルコール和物（例えば、エタノール和物）等が挙げられる。

[0031] 本明細書において「脂質異常症」とは、血液中の総トリグリセリド（TG）量、総コレステロール（TC）量、VLDLコレステロール（VLDL-C）量、LDLコレステロール（LDL-C）量、又はHDLコレステロール（HDL-C）量のいずれかひとつ、又はこれらの2種以上が、正常値の範囲を逸脱している場合をいう。本発明における脂質異常症としては、LDLコレステロール（LDL-C）量が正常値の範囲を逸脱している場合、総トリグリセリド（TG）量が正常値の範囲を逸脱している場合が好ましい治療対象として挙げられる。また、本発明におけるLDLコレステロール（L

D L - C) の低下を必要とする疾患とは、血液中の L D L - C 量が正常値よりも上昇している場合をいい、本発明における総トリグリセリド (T G) の低下を必要とする疾患とは、血液中の T G 量が正常値よりも上昇している場合をいう。

[0032] 本発明において「心臓血管病」とは、おもに動脈硬化によって血管の内腔が狭窄し臓器への酸素を豊富に含んだ血液の供給が不足する疾患群を意味する。具体的には以下の三つのカテゴリー、すなわち、冠動脈疾患、脳梗塞、末梢動脈疾患を含む。

[0033] 「配合剤」とは、1つの製剤に複数の有効成分を含有する医薬品のことである。本発明においては、P P A R α アゴニストと A C L 阻害剤のそれぞれの有効量を含有する1つの錠剤が、例として挙げられる。

[0034] 「キット」とは、複数の薬剤を同時に又は間隔を置いて別々に服用又は投与されるための、医薬品の組み合わせのことである。本発明においては、P P A R α アゴニストの有効量を含有する医薬品と A C L 阻害剤の有効量を含有する医薬品を組み合わせたものが、例として挙げられる。

[0035] 本発明の医薬組成物は単独又は他の薬学的に許容される担体を用いて、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、粉末剤、ローション剤、軟膏剤、注射剤、座剤等の剤型とすることができる。これらの製剤は、公知の方法で製造することができる。例えば、経口投与用製剤とする場合には、トラガントガム、アラビアガム、ショ糖脂肪酸エステル、レシチン、オリーブ油、大豆油、P E G 4 0 0 等の溶解剤；澱粉、マンニトール、乳糖等の賦形剤；メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルセルロース等の結合剤；結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム等の崩壊剤；タルク、ステアリン酸マグネシウム等の滑沢剤、軽質無水ケイ酸等の流動性向上剤等を適宜組み合わせて処方することにより製造することができる。

[0036] 本発明の医薬組成物の使用形態は、a) 化合物 A、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物、及び、b) 化合物 B、若しくはその塩又はそれらの溶媒和

物を組み合わせた使用である。薬剤個々の作用に加えて、両薬剤投与による相乗的なLDL-C低下作用、TG低下作用を用いて高コレステロール血症、高LDL-C血症、高TG血症等の脂質異常症の予防及び／又は治療、さらには動脈硬化症、心血管イベントのような心臓血管病の予防及び／又は治療に対する効果が得られるような形態として使用することができるが、これらの使用形態に限定されるものではない。化合物A、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物と化合物B、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物は同時に投与してもよいし、間隔を置いて別々に（例えば、同日中の別々の時刻に）投与してもよい。

[0037] 化合物A、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物と化合物B、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物を単一製剤化するか又は両薬剤を別々に製剤化してキットとして使用してもよい。即ち、本発明の医薬組成物は、化合物A、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物から選ばれる少なくとも1種を有効成分として含有してなる薬剤、及び、化合物B、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物の少なくとも1種を含有してなる薬剤を組み合わせてなるキットであってもよい。

[0038] 化合物A、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物と化合物B、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物を別々に製剤化する場合は、両薬剤の剤型は同一でもよく、異なってもよい。また、各成分の投与回数は異なってもよい。

[0039] 本発明の化合物A、若しくはその塩又はこれらの溶媒和物は、経口投与又は非経口投与により投与される。本発明の医薬の投与量は、患者の体重、年齢、性別、症状等によって異なるが、通常成人の場合、化合物Aとして0.001～1000mg、好ましくは0.01～100mg、特に好ましくは0.01～20mgを一日1～3回に分けて投与するのがよい。また、化合物B、若しくはその塩、又はこれらの溶媒和物は、化合物Bとして1～10000mg、好ましくは10～5000mg、特に好ましくは50～1000mgを一日1～3回に分けて投与するのがよい。

[0040] 本発明において、両薬剤を単一製剤として投与する場合、化合物A、若し

くはその塩又はそれらの溶媒和物と化合物B、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物の配合比は、それぞれの有効成分の有効投与量の範囲で適宜選定することができるが、一般的には化合物Aに対する化合物Bの質量比で1 : 1 ~ 1 : 10000の範囲が好ましく、1 : 5 ~ 1 : 4000の範囲がより好ましく、また1 : 10 ~ 1 : 1000の範囲が特に好ましい。化合物A、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物と化合物B、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物を別々に投与する場合の一日当たりの用量の質量比の範囲も、上記と同様である。

実施例

[0041] 以下、実施例により本発明をより具体的に説明するが、本発明はこれら実施例により何ら限定されるものではない。

[0042] 実施例1 ラットのTG indexに対する化合物Aと化合物Bの併用効果
1. 方法

雄性ラット（7週齢、Wistar [Crj : W1]、日本チャールズリバー株式会社）を実験に使用した。飽食下に頸静脈より採血し、血漿中TG、TC及び体重をもとに4群（N=6）に群分けした。翌日から、溶媒（0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液：CMC）、化合物A（ペマフィブラート）単独、化合物B（ベムペド酸）単独、ペマフィブラートとベムペド酸の併用を1日1回2週間経口投与した。薬物の最終投与4時間後にイソフルラン麻酔下にて採血し、血漿を得た。血中パラメーターを自動分析装置（Labospect 003、株式会社日立ハイテクノロジーズ）を用いて測定した。肝臓中脂質含量は、J. Biol. Chem. 226（1），497-509（1957）に記載の方法（FOLCH法）を用いて測定した。TG index（%）は血中TG濃度と肝臓中TG含量の積を求めControlに対する比率で表した。

なお、本実施例において、化合物Aは前記特許文献1に記載の方法に従って調製し、使用した。また、化合物Bは前記特許文献2に記載の方法に従い、MedChemExpress社製のBempedoic acidをベム

ペド酸として用い調製し、使用した。

2. 群構成

第1群：Control（溶媒のみ）

第2群：化合物A 0.3mg/kg

第3群：化合物B 30mg/kg

第4群：化合物A 0.3mg/kgと化合物B 30mg/kg

3. 統計解析及びデータ処理法

結果は、平均値±標準誤差で示した。対照群と薬物投与群との比較はDunnettの多重比較検定で行い、危険率5%未満を有意差ありと判定した。

4. 結果

TG indexを算出した結果を図1に示す。TG indexに対して、化合物Aは65.4%、化合物Bは60.6%であった。併用におけるTG indexはバルジ算出値（ $0.654 \times 0.606 \times 100 = 39.6\%$ ）に対して、実測値は37.9%であり、理論値を上回るTG index低下、すなわち、化合物Aと化合物Bによる相乗的効果が示された。また、併用群はControl群と比べても有意な低下作用を示した（Dunnett's test）ことから、両化合物の投与により、TG indexに対して特異的に低下作用を示すことが明らかとなった（図1中、アスタリスク（*）は $p < 0.05$ の有意差を示す）。

上記の成績は、化合物A及び化合物Bに関して、単剤では薬物治療による有意な作用が認められない用量でも組み合わせにより効力を発揮することを示している。すなわち、本発明の薬剤及び医薬組成物である化合物A及び化合物Bの組み合わせにより強力な脂質異常改善作用を発揮することが示された。

[0043] 実施例2 ラットの肝臓中PPAR α 遺伝子発現量に対する化合物Aと化合物Bの併用効果

1. 方法

雄性ラット（7週齢、Wistar [Crj:WI]、日本チャールズリバー株式会社）を実験に使用した。飽食下に頸静脈より採血し、血漿中TG、TC及び体重をもとに4群（N=6）に群分けした。翌日から、溶媒（0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液：CMC）、化合物A（ペマフィブラート）単独、化合物B（ベムペド酸）単独、ペマフィブラートとベムペド酸の併用を1日1回2週間経口投与した。薬物の最終投与4時間後にイソフルラン麻酔下にて採血し、肝臓を採取した。肝臓中RNAはISOGEN（ニッポンジーン）を用いて抽出し、High-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit（Thermo Fischer Scientific）を用いてcDNAを調製した。調製したcDNAを用いて定量的PCR（Polymerase Chain Reaction）を実施し、内部標準として β -actinを用いて、標記遺伝子発現量の相対値を算出した。尚、PPAR α 遺伝子検出にはForwardプライマー：5'-TCATACTCGCAGGAAAGACT-3'（配列番号1）、Reverseプライマー：5'-ACCTCTGCC TCCTTGTTTTTC-3'（配列番号2）を用いた。 β -actin遺伝子検出にはForwardプライマー：5'-AGCCATGTACGT AGCCATCC-3'（配列番号3）、Reverseプライマー：5'-ACCCTCATAGATGGGCACAG-3'（配列番号4）を用いた。

2. 群構成

第1群：Control（溶媒のみ）

第2群：化合物A 0.3mg/kg

第3群：化合物B 30mg/kg

第4群：化合物A 0.3mg/kgと化合物B 30mg/kg

3. 統計解析及びデータ処理法

結果は、平均値±標準誤差で示した。対照群と薬物投与群との比較はDunnettの多重比較検定で行い、危険率5%未満を有意差ありと判定した

。

4. 結果

肝臓中P P A R α 遺伝子 (P p a r α) 発現量を示した結果を図2に示す。C o n t r o l に対し、化合物Aは1. 17倍、化合物Bは1. 22倍であった。併用における肝臓中P P A R α 遺伝子発現量はバルジ算出値 (1. 17 $\times$ 1. 22 = 1. 43倍) に対して、実測値は1. 85倍であり理論値を上回るP P A R α 遺伝子発現量の増加、すなわち、化合物Aと化合物Bによる相乗的効果が示された。また、併用群はC o n t r o l 群と比べても有意な増加作用を示した (D u n n e t ' s t e s t) ことから、両化合物の投与により、肝臓中P P A R α 遺伝子発現量に対して特異的に増加作用を示すことが明らかとなった (図2中、アスタリスク (**)) は $p < 0. 01$ の有意差を示す)。

上記の成績は、化合物A及び化合物Bに関して、単剤では薬物治療による有意な作用が認められない用量でも組み合わせにより効力を発揮することを示している。すなわち、本発明の薬剤及び医薬組成物である化合物A及び化合物Bの組み合わせにより強力な脂質異常改善作用を発揮することが示された。

[0044] 実施例3 マウスの肝臓中総コレステロール含量に対する化合物Aと化合物Bの併用効果

1. 方法

雄性マウス (8週齢、d b / d b : B K S. C g - + L e p r d b / + L e p r d b / J c l , L e a n : B K S. C g - m + / m + / J c l 、日本クレア株式会社) を実験に使用した。体重をもとに4群 (N = 8) に群分けした。翌日から、溶媒 (0. 5 %メチルセルロース水溶液 : M C) 、化合物A (ペマフィブラート) 単独、化合物B (ベムペド酸) 単独、ペマフィブラートとベムペド酸の併用を1日1回2週間経口投与した。薬物の最終投与4時間後にイソフルラン麻酔下にて肝臓を摘出し、肝臓中T C濃度は前述のF O L C H法を用いて測定した。

2. 群構成

第1群：Control（溶媒のみ）

第2群：化合物A 0.3mg/kg

第3群：化合物B 10mg/kg

第4群：化合物A 0.3mg/kgと化合物B 10mg/kg

3. 統計解析及びデータ処理法

結果は、平均値±標準誤差で示した。対照群と薬物投与群との比較はTukeyの多重比較検定で行い、危険率5%未満を有意差ありと判定した。

4. 結果

db/dbマウスの肝臓中総コレステロール含量を示した結果を図3に示す。Controlに対し、化合物Aは86.2%、化合物Bは87.0%であった。併用における肝臓中総コレステロール含量は76.5%であり、併用群でのみControl群と比べ有意な低下作用を示した（Tukey's test）ことから、両化合物の投与により、肝臓中総コレステロール含量に対して特異的に低下作用を示すことが明らかとなった（図3中、十字（+++）は $p < 0.001$ の有意差を示す）。

上記の成績は、化合物A及び化合物Bに関して、単剤では薬物治療による有意な作用が認められない用量でも組み合わせにより効力を発揮することを示している。すなわち、本発明の薬剤及び医薬組成物である化合物A及び化合物Bの組み合わせにより強力な脂質異常改善作用を発揮することが示された。

産業上の利用可能性

[0045] 本発明の治療剤、医薬、医薬組成物、治療方法、使用又は組合せは、優れた肝臓中コレステロール低下作用と血中TG低下作用を有しており、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症のような脂質異常症又は動脈硬化症、心血管イベントのような心臓血管病に対する予防及び／又は治療に有用であることから、産業上利用可能性を有している。

請求の範囲

- [請求項1] P P A R α アゴニスト及びA C L 阻害剤を含有してなる脂質異常症又は心臓血管病の予防及び／又は治療用医薬組成物。
- [請求項2] 脂質異常症が、高コレステロール血症又は高トリグリセリド血症である、請求項1に記載の医薬組成物。
- [請求項3] 心臓血管病が、動脈硬化症又は心血管イベントである、請求項1又は2のいずれかに記載の医薬組成物。
- [請求項4] P P A R α アゴニストが、(R) - 2 - [3 - [[N - (ベンズオキサゾール - 2 - イル) - N - 3 - (4 - メトキシフェノキシ) プロピル] アミノメチル] フェノキシ] 酪酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である、請求項1～3のいずれかに記載の医薬組成物。
- [請求項5] A C L 阻害剤が、8 - ヒドロキシ - 2, 2, 14, 14 - テトラメチルペンタデカン二酸、若しくはその塩又はそれらの溶媒和物である、請求項1～4のいずれかに記載の医薬組成物。