



特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(51) 国際特許分類 5 C07D 307/62, A61K 31/375	A1	(11) 国際公開番号 WO 94/07883 (43) 国際公開日 1994年4月14日 (14.04.1994)
(21) 国際出願番号 PCT/JP93/01409 (22) 国際出願日 1993年10月1日 (01. 10. 93) (30) 優先権データ 特願平4/264696 1992年10月2日 (02. 10. 92) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP] 〒541 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号 Osaka, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 清水忠一 (SHIMIZU, Tadakazu) [JP/JP] 〒560 大阪府豊中市上野坂1丁目18番14号 Osaka, (JP) 金児龍彦 (KANEKO, Tatsuhiko) [JP/JP] 〒618 大阪府三島郡島本町東大寺3丁目42番地の10 Osaka, (JP) (74) 代理人 弁理士 青山 葆, 外 (AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540 大阪府大阪市中央区城見 1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP) (81) 指定国 AU, CA, FI, JP, KR, NO, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).		添付公開書類 国際調査報告書
(54) Title : LITHIUM SALT OF 2-O-ALKYLASCORBIC ACID (54) 発明の名称 2-O-アルキルアスコルビン酸のリチウム塩 (57) Abstract A lithium salt of a 2-O-Alkylascorbic acid useful for preventing or treating circulatory function disorder.		

(57) 要約

循環系機能障害予防・治療剤などとして有用な 2-0-アルキルアスコ
ルビン酸のリチウム塩の提供。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第1頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AT	オーストリア	CS	チェコスロヴァキア	KR	大韓民国	PL	ポーランド
AU	オーストラリア	CZ	チェッコ共和国	KZ	カザフスタン	PT	ポルトガル
BB	バルバドス	DE	ドイツ	LI	リヒテンシュタイン	RO	ルーマニア
BE	ベルギー	DK	デンマーク	LK	スリランカ	RU	ロシア連邦
BF	ブルキナ・ファソ	ES	スペイン	LU	ルクセンブルグ	SD	スーダン
BG	ブルガリア	FI	フィンランド	LV	ラトヴィア	SE	スウェーデン
BJ	ベナン	FR	フランス	MC	モナコ	SI	スロヴェニア
BR	ブラジル	GA	ガボン	MG	マダガスカル	SK	スロヴァキア共和国
BY	ベラルーシ	GB	イギリス	ML	マリ	SN	セネガル
CA	カナダ	GN	ギニア	MN	モンゴル	TD	チャード
CF	中央アフリカ共和国	GR	ギリシャ	MR	モーリタニア	TG	トーゴ
CG	コンゴ	HU	ハンガリー	MW	マラウイ	UA	ウクライナ
CH	スイス	IE	アイルランド	NE	ニジェール	US	米国
CI	コート・ジボアール	IT	イタリア	NL	オランダ	UZ	ウズベキスタン共和国
CM	カメルーン	JP	日本	NO	ノルウェー	VN	ヴェトナム
CN	中国	KP	朝鮮民主主義人民共和国	NZ	ニュー・ジーランド		

明 細 書

2-O-アルキルアスコルビン酸のリチウム塩

技術分野

本発明は、新規なアスコルビン酸誘導体のリチウム塩に関する。

背景技術

心臓、脳、腎臓などの病気、たとえば、虚血性心疾患、脳虚血障害、虚血性腎障害、虚血性消化器系潰瘍、癌、動脈硬化、糖尿病、白内障などにおける病変の進展(すなわち、細胞機能の低下、障害、破壊、壊死など)に活性酸素種あるいは活性有機ラジカル種が大きな役割を占めていることが明らかにされてきた[アイ・フリドビチ(I. Fridovich), アニュアル・レビュー・オブ・ファーマコロジー・アンド・トキシコロジー (Annual Review of Pharmacology and Toxicology) 23, 239(1983); ジェイ・エム・マッコード(J. M. McCord), ザ・ニューイングランド・ジャーナル・オブ・メディシン(The New England Journal of Medicine), 312, 159(1985); ケイ・ピー・バートン(K. P. Burton), ジェイ・エム・マッコード(J. M. McCord)およびジー・チャイ(G. Chai), アメリカン・ジャーナル・オブ・フィジオロジー (American Journal of Physiology), 246, H776(1984); 井上正雄ら, 活性酵素と病態, 学会出版センター(1992)]。生体における活性酸素種あるいは活性有機ラジカル種としてはスーパーオキシドアニオンラジカル($O^{\cdot -}_2$)、水酸化ラジカル($\cdot OH$)、一重項酸素(1O_2)、過酸化ラジカル($ROO\cdot$)などが考えられている。とりわけ $O^{\cdot -}_2$ の生体内における生成とこれに引きつづいて起こる活性酸素種の細胞または組織

障害との関係は重大な意味を含んでおり、この $O^{\cdot -}_2$ を効果的にまたは特異的に消去するスーパーオキシド・ディスムターゼ(superoxide dismutase)の作用が効果的であることが知られている[ディー・エヌ・グランガー(D. N. Granger), ジー・ルティリ(G. Rutili), ジェイ・エム・マッコード(J. M. McCord), ガストロエンテロロジー(Gastroenterology), 81, 22(1981)]。また、アスコルビン酸、 α -トコフェロール、シスチン、還元型グルタチオンなどの化合物はフリーラジカルの消去作用を有し、これら化合物は、ある疾病状態においてフリーラジカルが関与すると予想される組織障害を予防することができるとされている[アイ・フリドビチ(I. Fridovich), サイエンス(Science), 201, 875(1978)]。

循環系機能障害予防の治療作用を有するアスコルビン酸の誘導体としては例えば2-O-エーテル体が特開昭61-263969号公報(E P-A-202589)に記載されている。

発明の開示

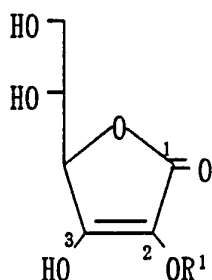
本発明者らは、生体組織障害に活性酸素種および有機ラジカルが極めて重要な役割を示すとするこれまでの基礎的研究に立脚し、上記フリーラジカル消去剤より強力で、薬理学的にも製剤学的にも優れた新しいタイプの活性酸素種および有機ラジカル消去を目的とした薬剤の探索研究を行ってきた。その結果、試験管内実験および疾患動物実験モデルにおいて新規な2-O-置換アスコルビン酸誘導体のリチウム塩が低用量で脂質過酸化酵素活性、虚血性心、脳機能障害などを抑制することを見出し、これらの知見に基づいてさらに研究した結果、本発明を完成した。

すなわち、本発明は、2-O-アルキルアスコルビン酸リチウムを提供する。

本発明の2-O-アルキルアスコルビン酸のリチウム塩は、循環系機能障害予防・治療剤または抗癌剤などとして有用である。

以下、本発明を説明する。

本発明の2-O-アルキルアスコルビン酸のリチウム塩は、下記一般式 [I]



[式中、R¹はアルキル基を示す。]で表わされる化合物のリチウム塩であり、モノ塩、ジ塩またはトリ塩のいずれでもよい。

リチウムの結合部位は1位、2位または3位の酸素原子のうちいずれでもよい。そのうち3位が好ましい。

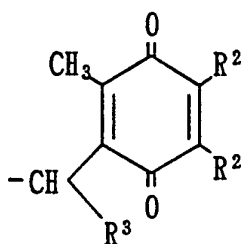
上記一般式[I]において、R¹で表わされるアルキル基としては、たとえば置換基を有していてもよい直鎖状または分枝状のアルキル基が挙げられる。

該置換基を有していてもよい直鎖状または分枝状のアルキル基におけるアルキル基としては、炭素数1～20のものが好ましく、さらに9～20のものが好ましく、とりわけ14～18の直鎖状のものが好ましい。その例としては、たとえばメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、n-ペンチル、n-ヘキシル、n-ヘプチル、n-オクチル、n-ノニル、n-デシル、n-ウンデシル、n-ドデシル、n-トリデシル、n-テトラデシル、n-ペンタデシル、n-ヘキサデシル、n-ヘプタ

デシル、n-オクタデシル、n-ノナデシル、n-エイコシルなどが挙げられる。

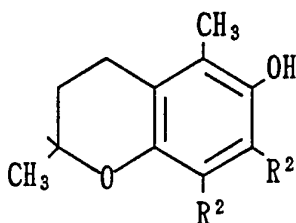
上記の置換基を有している場合の直鎖状または分枝状のアルキル基におけるメチレン基の数は、1～19のものが好ましい。

上記アルキル基の置換基としては、たとえば置換基を有していてもよい水酸基、置換基を有していてもよいアミノ基、置換基を有していてもよいカルボキシル基、置換基を有していてもよいアミノカルボニル基、置換基を有していてもよいビニル基、置換基を有していてもよいエチニル基、置換基を有していてもよいシクロアルキル基、置換基を有していてもよいアリール(aryl)基、置換基を有していてもよい異項環基、式



[式中、 R^2 はメチル基、メトキシ基または2つの R^2 で

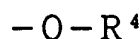
$-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$ 基を形成している場合を、 R^3 は置換基を有していてもよいフェニル、ナフチル、チエニル、ピリジル基をそれぞれ示す。]で表されるキノイル基または式



[式中、各記号は上記と同意義]で表されるクロマン-2-イル基で表され

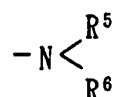
る基などが挙げられる。

上記アルキル基の置換基として例示した置換基を有していてもよい水酸基としては、式



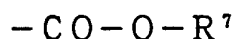
[式中、 R^4 は水素、 C_{1-3} アルキルまたはフェニルを示す。]で表わされる基、すなわち、非置換水酸基の他に、たとえばメトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシなどの C_{1-3} アルコキシおよびフェノキシなどが挙げられる。

上記アルキル基の置換基として例示した置換基を有していてもよいアミノ基としては、式



[式中、 R^5 および R^6 は同一または異なって水素、 C_{1-3} アルキル、フェニルまたはp-ヒドロキシフェニルをそれぞれ示す。]で表わされる基、すなわち、非置換アミノ基の他に、たとえばメチルアミノ、ジメチルアミノ、エチルアミノ、プロピルアミノ、イソプロピルアミノなどのモノ C_{1-3} もしくはジ C_{1-3} アルキル置換アミノやフェニルアミノ、p-ヒドロキシフェニルアミノなどが挙げられる。

上記アルキル基の置換基として例示した置換基を有していてもよいカルボキシル基としては、式



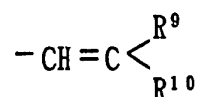
[式中、 R^7 は水素、 C_{1-3} アルキルまたはフェニルを示す。]で表わされる基、すなわち、非置換カルボキシル基の他に、たとえばメトキシカルボニル、エトキシカルボニル、フェノキシカルボニルなどが挙げられる。

上記アルキル基の置換基として例示した置換基を有していてもよいアミノカルボニル基としては、式



[式中、 R^8 は水素、 C_{1-3} アルキル、フェニルまたはp-ヒドロキシフェニルを示す。]で表わされる基、すなわち、非置換アミノカルボニル基の他に、たとえばメチルアミノカルボニル、エチルアミノカルボニル、イソプロピルアミノカルボニル、フェニルアミノカルボニル、p-ヒドロキシフェニルアミノカルボニルなどが挙げられる。

上記アルキル基の置換基として例示した置換基を有していてもよいビニル基としては、式



[式中、 R^9 および R^{10} は、同一または異なって、水素、 C_{1-5} アルキル、フェニル、p-メトキシフェニル、3-ピリジルまたは3,4-メチレンジオキシフェニルを示す。]で表わされる基、すなわち、非置換ビニル基の他に、たとえばプロペニル、ブテニル、ペンテニル、ヘキセニル、ヘプテニル、1,1-ジフェニルエテニル、1-フェニル-1-(3-ピリジル)エテニル、1-フェニル-1-(2-チエニル)エテニルなどが挙げられる。

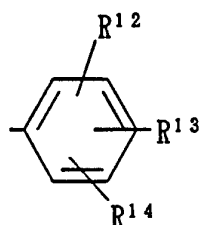
上記アルキル基の置換基として例示した置換基を有していてもよいエチニル基としては、式



[式中、 R^{11} は水素または C_{1-6} アルキルを示す。]で表わされる基、すなわち、非置換エチニル基の他に、たとえばメチルエチニル、エチルエチニル、n-ペンチルエチニルなどが挙げられる。

上記アルキル基の置換基として例示した置換基を有していてもよいシクロアルキル基におけるシクロアルキル基としては、炭素数3～6個のものが好ましく、その例としては、たとえばシクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチルまたはシクロヘキシルなどが挙げられる。該シクロアルキルは、1～3個の置換基を有していてもよく、該置換基としてはたとえばカルボキシル、水酸基または C_{1-3} アルキルなどが挙げられる。置換基を有しているシクロアルキル基としては、たとえば1-カルボキシシクロプロピル、2-カルボキシシクロプロピル、1-カルボキシシクロペンチル、1-カルボキシシクロヘキシル、4-カルボキシシクロヘキシルなどが挙げられる。

上記アルキル基の置換基として例示した置換基を有していてもよいアリール基としては、式



[式中、 R^{12} 、 R^{13} および R^{14} は、同一または異なって、水素、 C_{1-3} アルキル、 C_{1-3} アルコキシ、ハロゲン、エトキシカルボニルエチニル、フェニル、カルボキシル、カルボキシメチルまたは1-カルボキシエチルを示す。]で表わされる基、または1～3個の C_{1-3} アルキル、 C_{1-3} アルコキシ、ハロゲン、カルボキシまたはアセチルで置換されていてもよいナフチルが挙げられる。具体的には、たとえばフェニル、1-または2-ナフチル、2-, 3-または4-モノメチルフェニル、2-, 3-または4-モノ

メトキシフェニル、2-, 3-または4-モノエトキシフェニル、2-, 3-または4-モノハロゲノフェニル(ただしハロゲン原子としては塩素、臭素、フッ素の各原子を示す。)、2, 3-メチレンジオキシフェニル、3, 4-ジメチルフェニル、3, 4-ジメトキシフェニル、4-(エトキシカルボニルエチル)フェニル、4-イソプロピルフェニル、4-メトキシカルボニルフェニル、3, 4, 5-トリメチルフェニル、3, 4, 5-トリメトキシフェニル、4-ビフェニル、4-カルボキシフェニル、4-カルボキシメチルフェニル、4-(1-カルボキシエチル)フェニルなどが挙げられる。

上記アルキル基の置換基として例示した置換基を有していてもよい異項環基における異項環基としては、たとえば1個の硫黄原子、窒素原子または酸素原子を含む5~7員異項環基、2~4個の窒素原子を含む5~6員異項環基、1~2個の窒素原子および1個の硫黄原子または酸素原子を含む5~6員異項環基等が挙げられる。これらは1~3個の置換基を有していてもよく、該置換基としては、たとえばフェニルで置換されていてもよいC₁₋₃アルキル、カルボキシル、水酸基、C₁₋₃アルコキシ、ハロゲンで置換されていてもよいフェニル、ハロゲン、カルボキシメチル、ベンゾイルなどが挙げられる。該置換基を有していてもよい異項環の具体例としては、2-, 3-あるいは4-ピリジル、2-あるいは3-チエニル、モルホリノ、ピロリジニル、ピペリジノ、ピペリジル、ピペラジニル、4-フェニルピペラジニル、4-(p-フロロフェニル)ピペラジニル、4-ジフェニルメチルピペラジニル、4-(p-メトキシフェニル)ピペラジニルなどが挙げられる。

本明細書中で示すC₁₋₆アルキルとしては、たとえばメチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、n-ペンチル、n-

ヘキシルなどが挙げられる。

本明細書中で示す C_{1-3} アルキルとしては、たとえばメチル、エチル、 n -プロピル、イソプロピルなどが挙げられる。

本明細書中で示す C_{1-3} のアルコキシとしては、たとえばメトキシ、エトキシ、 n -プロポキシ、イソプロポキシなどが挙げられる。

本明細書中で示すハロゲンとしては、塩素、臭素、フッ素、ヨウ素が挙げられる。

本発明の2-O-アルキルアスコルビン酸のリチウム塩は、上記一般式[I]で表わされる化合物（以下、化合物[I]と略記する）をリチウム化反応に付すことにより得られる。

上記反応は、通常公知の方法を用い、例えば、炭酸リチウム等のリチウム化合物を反応させることにより実施できる。

本反応は反応を阻害しない溶媒中で行われる。溶媒としては水、アルコール類（例、メタノール、エタノールなど）が用いられる。

炭酸リチウムなどのリチウム化合物の使用量は、原料の化合物[I]に対して約0.5～10倍モルである。

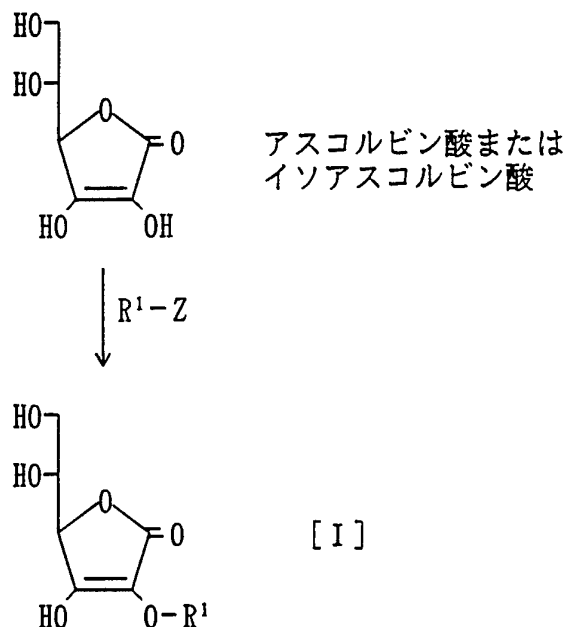
反応温度は約10℃～80℃である。

反応時間は約10分～6時間程度である。

かくして製造される2-O-アルキルアスコルビン酸リチウムは自体公知の分離・精製手段（例、シリカゲル、ポリスチレン系樹脂、活性炭、逆相系などを用いたカラムクロマトグラフィー、再結晶など）により単離採取することができる。

本発明方法においては原料として用いられる化合物[I]は、たとえば下記の反応工程により製造することができる[特開昭61-263969号公報（EP-A-202589）、特開昭60-130582号公報

(US 4 780 549) 等]。



上記方法において、化合物[I]は、アスコルビン酸あるいはイソアスコルビン酸に、自体公知の方法に従って、例えばメトキシメチルクロライド、エトキシメチルクロライド、ベンジルブロマイド、トリメチルシリルクロライド、ジメチル第3ブチルシリルクロライド等の保護基を反応させ、3-O-エーテル体とし、ついで得られたエーテル体に、式 $\text{R}^1\text{-Z}$ [式中、 R^1 は上記と同意義を有し、 Z はハロゲン(例、塩素、臭素)を示す。]で表わされる化合物を反応させることにより製造される。本反応は無機塩基の存在下行われる。無機塩基としては、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウムなどのアルカリ金属水酸化物、炭酸ナトリウム、炭酸カリウムなどのアルカリ金属塩等が用いられる。本反応は反応を阻害しない溶媒中で行われる。溶媒としてはジメチルホルムアミド、ヘキサメチルホスホルアミド等のアミド類、ジメチルスルホキシド等のスルホキシド類、テトラヒドロフラン等の環状エーテル類などの単独またはこれらの二種以上が用い

られる。反応時間は約1ないし18時間である。反応温度は約10ないし60℃である。

本発明の2-O-アルキルアスコルビン酸のリチウム塩は、脂質過酸化酵素、リン脂質加水分解酵素A₂、GST-cdc25Hu2（蛋白質脱リン酸化酵素）を用いた試験管内実験でフリーラジカル消去および抗癌作用を、またラット心臓における虚血-再灌流モデルなどにおいて心機能障害を予防および改善する作用を示し、しかも毒性、副作用は極めて低い。したがって本発明化合物は、哺乳動物（例、マウス、ラット、ウサギ、イヌ、サル、ヒトなど）における虚血性心臓障害（不整脈、冠状動脈攣縮、心臓組織の壊死、心筋梗塞など）、クモ膜下出血障害、虚血性脳組織障害（例、脳梗塞、ぼけ、老人性痴呆症など）、虚血性腎障害、虚血性消化器管障害（例、消化管潰瘍など）、癌、動脈硬化症、糖尿病、白内障などの諸障害に対して治療および予防改善効果が奏されるため、循環系機能障害予防・治療剤または抗癌剤などとして用いることができる。

上記疾患予防・改善剤としての使用の具体例としては、たとえば抗不整脈剤、抗心筋梗塞剤、抗脳梗塞、老人ぼけ、老人性痴呆症予防剤、クモ膜下出血後の治療改善などの循環器系改善剤、腎機能改善剤、ストレス性消化器潰瘍治療剤、抗癌剤などが挙げられる。

本発明化合物は毒性が低く、本発明化合物はそれ自体公知の薬理的に許容される担体、賦形剤、希釈剤などと混合し、自体公知の方法に従って、医薬組成物〔例、錠剤、カプセル剤（ソフトカプセル、マイクロカプセルを含む）、液剤、坐剤、注射剤、経鼻剤、経皮剤、点眼剤など〕として経口的もしくは非経口的に安全に投与することができる。投与量は投与対象、投与経路、症状などによっても異なるが、上記哺乳動物に経口的に投与する場合、本発明の化合物として通常1回量として約0.1mg/kg～500

mg/kg体重、好ましくは約0.5 mg/kg～200 mg/kg体重を1日1～3回程度投与する。

また、非経口的に投与する場合、たとえば坐剤としては本発明の化合物として約5 mg～100 mg/kgを1日1ないし2回投与すればよい。注射剤としては本発明の化合物として約0.1 mg/kg～5 mg/kgを1日1ないし2回行うことが望ましい。

上記経口製剤、例えば錠剤を製造する際には、結合剤(例、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシメチルプロピルメチルセルロース、マクロゴールなど)、崩壊剤(例、デンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウムなど)、賦形剤(例、乳糖、デンプンなど)、滑沢剤(例、ステアリン酸マグネシウム、タルクなど)などを適宜配合することができる。

また、非経口製剤、たとえば注射剤を製造する際には、等張化剤(例、ブドウ糖、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど)、防腐剤(例、ベンジルアルコール、クロロブタノール、パラオキシ安息香酸メチル、パラオキシ安息香酸プロピルなど)、緩衝剤(例、リン酸緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液など)などを適宜配合することができる。

実施例

以下に、実験例および実施例を挙げて、本発明をさらに具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

実験例 1

2-O-オクタデシルアスコルビン酸リチウムの溶血性および溶解度
下記実施例1で得られる2-O-オクタデシルアスコルビン酸リチウム含有生理食塩溶液を37℃に加温し、スピッツロールにとり、あらかじめ37℃に加温したウサギ脱繊維血(注)0.1 mlを加え、おだやかに振り混ぜた後、37℃で1時間加温した。その後、この液を遠心分離し、上澄液

につき、溶血の有無を肉眼的に観察した。

結果は、2-0-オクタデシルアスコルビン酸リチウム $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 以下で、溶血は認められなかった。

(注) ウサギ脱繊維血

ウサギから血液約 20 ml を採血して直径 8 mm のガラス球約 20 個を入れたフラスコにとり、約 5 分間ゆるやかに振り混ぜたのち、ガーゼを用いてろ過した。用時調製した。

水に対する溶解度は、 28°C で $1 \text{ g}/83 \text{ ml}$ (水) であった。

実験例 2

2-0-オクタデシルアスコルビン酸リチウムの毒性

[方法]

Jcl: ICR マウスおよび Jcl: Wistar ラット各雌雄 1 群 2 匹に被検体を経口および静脈内投与した。なお、被検体としては実施例 1 で得られた 2-0-オクタデシルアスコルビン酸リチウムを各々、経口投与の場合 0.5% メチルセルローズに懸濁し、静脈内投与の場合生理食塩水に溶解した。

[結果]

マウス、ラット共に LD_{50} は経口で $2,000 \text{ mg}/\text{kg}$ 以上、静脈内で $25-50 \text{ mg}/\text{kg}$ の範囲であった。性差は認められず、生存例の剖検所見でも異常所見はみられなかった。なお、静脈内投与死亡例の剖検では肺の充血が認められた。

実験例 3

2-0-オクタデシルアスコルビン酸リチウムの脂質過酸化酸素活性阻害作用

[方法]

NADPH生成系であるラット肝ミクロゾーム2mg、被検体（実施例1で得られた2-O-オクタデシルアスコルビン酸リチウム）300 μ Mおよび四塩化炭素20mMを37℃で12分間反応し、その液にチオバルビツール酸および三塩化酢酸の混合液を加え、535nmで吸光度を測定した。

[結果]

酵素活性阻害率は75%であり、被検体がフリーラジカル消去作用を有することが認められた。

実験例4

2-O-オクタデシルアスコルビン酸リチウムのリン脂質加水分解酵素A₂活性阻害作用

[方法]

豚の脾臓由来のリン脂質加水分解酵素A₂を被検体（実施例1で得られた2-O-オクタデシルアスコルビン酸リチウム）300 μ Mおよびラベル化したフォスファチジルコリンを含むpH9の0.1Mグリシン-NaOH緩衝液で10分間反応し、その後2.5mMのCa⁺⁺を加えさらに5分間反応した。該反応液に0.2M EDTA溶液を加えて反応を止め、酸性ヘキセンで抽出し、ヘキセン層部のシンチレーションを測定した。

[結果]

リン脂質加水分解酵素活性は59%阻害された。

実験例5

2-O-オクタデシルアスコルビン酸リチウムのGST-cdc25Hu2（蛋白質脱リン酸化酵素）阻害作用

GST-cdc25Hu2融合蛋白質60 μ g/ml、パラニトロフェニールフォスフェート（和光純薬社（製））10mM、牛血清アルブミン（シグマ社（製）、米国）100 μ g/ml、DDT（ジチオスレイトール）（和

光純薬社（製））10mM、HEPES（2-ヒドロキシエチルピペラジン-N'-2-エタン硫酸）25mM（pH8.0）を含む反応液に被検体（実施例1で得られた2-O-オクタデシルアスコルビン酸リチウム）を80μM加え、37℃で60分間反応させた後、405nmにおける吸光度を測定し、吸光度の減少に基づいて阻害活性を判定した。

[結果]

c d c 25 活性は93.6%阻害された。すなわち被検体に抗癌作用が認められた。

実験例6

2-O-オクタデシルアスコルビン酸のラット心筋梗塞巣進展抑制作用

[方法]

雄性Wistar-Rat（11～12週齢）を用い、Pentobarbital-Naで麻酔し、人工呼吸下正中にて開胸した。心嚢膜を切開後、心臓を露出させた。糸付き縫合針（日本レダリー販売 7-0シルク）にて左冠動脈をその基始部で心筋ごと糸を通し、ポリエチレンチューブに通して糸を引っ張ることによって冠動脈閉塞を行った。1時間後糸を緩めて血流を再開した。再灌流30～60分後に閉胸し、覚醒下に保った。

24時間後に再び麻酔し、すばやく心臓を摘出し氷冷生理食塩水に浸けた。危険領域を求めるため再び冠動脈を閉塞し、大動脈に逆行性に挿入したポリエチレンチューブを介してエバンスブルー（1%）を灌流し、正常領域と危険領域を分離した。その後、左心室を垂直軸に平行に6分割し、Triphenyl Tetrazolium Chloride（TTC）1%で37℃10分間で壊死細胞以外を染色し、梗塞巣を秤量した。被検体薬物（実施例1で得られた2-O-オクタデシルアスコルビン酸リチウム）は生理食塩水に溶解して、冠閉塞30分後に静脈内投与した。

[結果]

生理食塩水(1 ml/kg)の静脈内投与群(N=12)では、危険領域あたりの梗塞率(IS/AR)は $60.2 \pm 1.8\%$ であった。それに対して、被検体1 mg/kgの静脈内投与群(N=7)では $40.5 \pm 4.6\%$ (IS/AR)を示し、対照群に比べ32.7%の有意な抑制が認められた($P < 0.001$)。左心室あたりの危険領域(AR/LV)は2群間で有意な差はなかった。

以上の結果、被検体はラット冠閉塞一再灌流後の心筋梗塞率進展を1 mg/kg, i.v.の用量で有意に抑制することが明らかとなった。

実施例 1

2-O-オクタデシルアスコルビン酸4.28g(10 mM)を水150 mlに懸濁し、攪拌しながら炭酸リチウム0.37g(5 mM)を少量ずつ加えた。次いでエタノール50 mlを加え、透明な均一溶液とし、自然ろ過した。エタノールを減圧下留去し、水溶液を凍結乾燥して粉末を得た。これをアセトンで洗浄した後、デシケータ中で減圧下乾燥し、2-O-オクタデシルアスコルビン酸リチウム(4.0 g)を得た(mp163~165℃)。

実施例 2

2-O-オクタデシルアスコルビン酸リチウム3 mgを含有し、下記の組成を有する錠剤を自体公知の手段により製造した。

2-O-オクタデシルアスコルビン酸リチウム	3 mg
ラクトース	65 mg
コーンスターチ	40 mg
ハイドロキシプロピルセルロース	2 mg
ステアリン酸マグネシウム	0.2 mg
	110.2 mg
	(1錠あたり)

実施例 3

2-0-オクタデシルアスコルビン酸リチウム 500mgを含有し、下記の組成を有する錠剤を自体公知の手段により製造した。

2-0-オクタデシルアスコルビン酸リチウム	500mg
α 化デンプン	15mg
コーンスターチ	22mg
ステアリン酸マグネシウム	3mg
	540mg
	(1錠あたり)

請 求 の 範 囲

1. 2-O-アルキルアスコルビン酸のリチウム塩。
2. アルキルの炭素数が14ないし18である請求項1記載の2-O-アルキルアスコルビン酸のリチウム塩。
3. 2-O-アルキルアスコルビン酸のリチウム塩を含有してなる循環系機能障害予防・治療剤。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/01409

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁵ C07D307/62, A61K31/375

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁵ C07D307/62, A61K31/375

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAS ONLINE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, A, 2-235813 (Jiro Fujimoto), September 18, 1990 (18. 09. 90), Claim (Family: none)	1-3
A	J. Med. Chem., <u>31</u> (4), P. 793-798, 1988	1-3
A	US, A, 4959362 (Takeda Chemical Industries, Inc.), September 25, 1990 (25. 09. 90), Claim & EP, A, 202589	1-3



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

November 26, 1993 (26. 11. 93)

Date of mailing of the international search report

December 14, 1993 (14. 12. 93)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁵ C07D307/62, A61K31/375		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁵ C07D307/62, A61K31/375		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
CAS ONLINE		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	JP, A, 2-235813 (藤本 二郎), 18. 9月. 1990 (18. 09. 90), クレーム (ファミリーなし)	1-3
A	J. Med. Chem., 31 (4), P. 793-798, 1988	1-3
A	US, A, 4959362 (Takeda Chemical Industries, Inc.), 25. 9月. 1990 (25. 09. 90),	1-3
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日	
26. 11. 93	14.12.93	
名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 佐伯 とも子 ㊞	4 C 7 2 5 2
	電話番号 03-3581-1101 内線	3452

C (続き). 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
	クレーム & EP, A, 202589	