

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6738412号
(P6738412)

(45) 発行日 令和2年8月12日 (2020.8.12)

(24) 登録日 令和2年7月21日 (2020.7.21)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 D 311/60 (2006.01)

C O 7 D 311/60 C S P

A 6 1 K 31/352 (2006.01)

A 6 1 K 31/352

A 6 1 P 27/02 (2006.01)

A 6 1 P 27/02

請求項の数 11 (全 28 頁)

(21) 出願番号 特願2018-513919 (P2018-513919)
 (86) (22) 出願日 平成28年5月27日 (2016.5.27)
 (65) 公表番号 特表2018-515626 (P2018-515626A)
 (43) 公表日 平成30年6月14日 (2018.6.14)
 (86) 国際出願番号 PCT/FR2016/051262
 (87) 国際公開番号 W02016/189260
 (87) 国際公開日 平成28年12月1日 (2016.12.1)
 審査請求日 令和1年5月24日 (2019.5.24)
 (31) 優先権主張番号 1554761
 (32) 優先日 平成27年5月27日 (2015.5.27)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 フランス (FR)

(73) 特許権者 517411313
 バイオフィティス
 フランス国, 75001 パリ, 14 ア
 ベニュー ドゥ ロペラ
 (73) 特許権者 518170446
 ソルボンヌ ユニベルシテ
 フランス国, 75006 パリ, 21 リ
 ュ ドゥ レコール ドゥ メドゥスイン
 (73) 特許権者 506316557
 サントル ナショナル ドゥ ラ ルシェ
 ルシュ シアンティフィック
 フランス国 75794 パリ セデック
 ス 16、リュ ミシェル - アンジュ
 、3

最終頁に続く

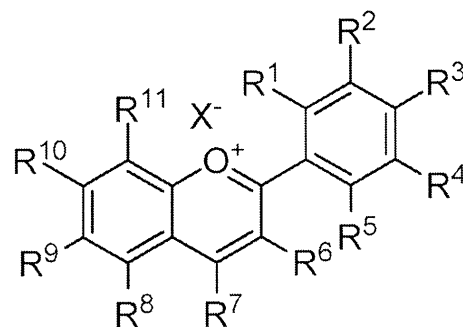
(54) 【発明の名称】 眼疾患の処置のための3-デオキシアントシアニジンの使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

A M D、シュタルガルト病および／または色素性網膜症の処置、防止および／または安定化における使用のための医薬組成物であって、式 I：

【化1】



の化合物を含み、式中、

R¹、R²、R³、R⁴およびR⁵は、それぞれ独立的に、水素、ハロ、ヒドロキシル、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシルオキシ、アルキル、アリ

ール、アラルキル、アルキルアリール、アルケニル、ニトロ、ニトリル、アミノから選択される基であり、但し、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 または R^5 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり；

R^6 は、水素、ハロ、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシルオキシ、アルキル、アリール、アラルキル、アルキルアリール、アルケニル、ニトロ、ニトリル、アミノから選択される基であり；

R^7 は、水素、ハロ、ヒドロキシル、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシルオキシ、アルキル、アリール、アラルキル、アルキルアリール、アルケニル、ニトロ、ニトリル、アミノから選択される基であり；

R^8 、 R^9 、 R^{10} および R^{11} は、それぞれ独立的に、水素、ハロ、ヒドロキシル、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシルオキシ、アルキル、アリール、アラルキル、アルキルアリール、アルケニル、ニトロ、ニトリル、アミノから選択される基であり、但し、 R^8 、 R^9 、 R^{10} または R^{11} のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり；

X^- は、鉍酸に由来するアニオン、有機酸に由来するアニオン、または硫酸基もしくはスルホン酸基に由来するアニオンから選択されるアニオンである、医薬組成物。

【請求項2】

X^- は、臭素アニオン、塩素アニオン、四フッ化ホウ素アニオンおよび過塩素酸アニオンから選択される鉍酸に由来するアニオン、または酢酸アニオン、ホウ酸アニオン、クエン酸アニオン、酒石酸アニオン、重硫酸アニオン、硫酸アニオンおよびリン酸アニオンから選択される有機酸に由来するアニオンである、請求項1に記載の医薬組成物。

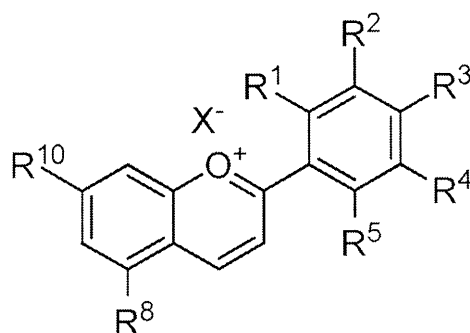
【請求項3】

R^6 が水素原子である、請求項1または2に記載の医薬組成物。

【請求項4】

前記化合物が、式I a：

【化2】



の化合物である、請求項1～3のいずれか1項に記載の医薬組成物であって、式中、

R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^8 、 R^{10} および X^- は、請求項1で定義されるものである、

医薬組成物。

【請求項5】

R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシルおよびアルコキシから選択される基であり、但し、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 または R^5 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり；

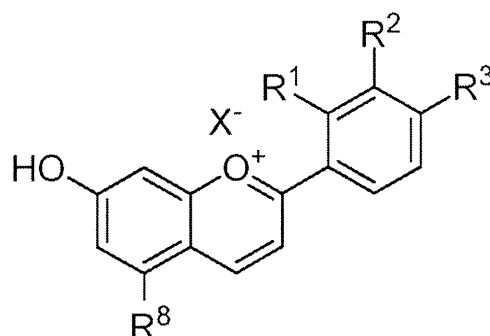
R^8 および R^{10} は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシルおよびアルコキシから選択される基であり、但し、 R^8 または R^{10} のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件である、

請求項 1 ～ 4 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記化合物が、式 I b：

【化 3】



10

の化合物である、請求項 1 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物であって、式中、
R¹、R²、R³、R⁸およびX⁻は、請求項 1 で定義されるものである、
医薬組成物。

【請求項 7】

20

R⁸が水素原子である、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

前記化合物が、

2', 7-ジヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリド；

2', 3', 7-トリヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリド；

3', 7-ジヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリド；

4', 5, 7-トリヒドロキシフラベリウムクロリド；

3', 5, 7-トリヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリド；

3', 4', 5', 5, 7-ペンタドロキシフラベリウムクロリド；および

3', 4', 5, 7-テトラヒドロキシフラベリウムクロリド；

30

から選択される、請求項 1 ～ 7 のいずれか 1 項に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

2', 7-ジヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリド；

2', 3', 7-トリヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリド；

から選択される、化合物。

【請求項 10】

請求項 9 に記載の化合物を医薬的に許容される担体とともに含む、医薬組成物。

【請求項 11】

請求項 9 に記載の化合物を含む、医薬品。

【発明の詳細な説明】

40

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、眼疾患の処置、防止および／または安定化のための（特に、加齢黄斑変性（AMD）、シュタルガルト病、色素性網膜症および／または糖尿病網膜症の処置、防止および／または安定化のための）、フラボノイドファミリーの化合物であるアントシアニン（特に 3-デオキシアントシアニン）の使用に関する。

【背景技術】

【0002】

先行技術

50

網膜色素上皮（R P E）の細胞などの網膜細胞におけるリポフスチンの蓄積は、様々な眼疾患に関与し、加齢の過程で現れる。R P E細胞のリポフスチンは、脂質と、タンパク質と、フルオロフォア（特にA 2 E（N－レチニル－N－レチニリデンエタノールアミン））の不均一な混合物と、を含む。

【0003】

A 2 Eは、視覚サイクル（図1）の副産物であり、光受容体の外節において、リン脂質に連結した前駆体の形態で生成される。視覚サイクルでは、11－シス－レチナールは、光受容体において光の影響下で全トランス－レチナールに異性化される。R P E細胞は、全トランス－レチナールから11－シス－レチナールを再生することを可能にする。さらに、R P E細胞は、その基部における新しい乳頭の再生を可能にするために、光受容体の外節の膜の一部を毎日吸収して分解する。しかし、全トランス－レチナールの全てが11－シス－レチナールに再生されることはなく、一部は、2分子の全トランス－レチナールとエタノールアミンとの縮合によってA 2 Eに変換される。年齢とともに、A 2 EはR P E細胞に漸進的に蓄積する。

10

【0004】

R P E細胞におけるリポフスチンの蓄積（特にA 2 Eの蓄積）はR P E細胞の死を増加させるということが示されている。実際、青色光の作用下および酸素の存在下において、A 2 Eは、タンパク質、脂質およびDNAへの損傷を引き起こす反応種を生じさせ、従って、老化するR P E細胞において相当な酸化ストレスを生じさせる（Sparrow J R and Cai B., Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001, 42, 1356－1362; Sparrow J R et al., J Biol Chem, 2003, 278(20), 18207－18213）。このようにして形成された老廃物は蓄積し、最終的にR P E細胞の死をあちこちで引き起こし、次いで、それらが結合していた光受容体の死を引き起こす。

20

【0005】

例えばAMDまたはシュタルガルト病など、様々な眼疾患が、R P E細胞におけるリポフスチンの蓄積に関連付けられている。

【0006】

AMDは、進行性で衰弱性の慢性網膜変性疾患であり、高齢の対象が罹患し、その原因は多因子性である。AMDは、（特にヨーロッパおよび北米において）高齢者集団における不可逆的な失明の原因である。

30

【0007】

AMDは、黄斑と呼称される網膜の中央部分に影響を及ぼし、重度の視力障害および中心視野の不可逆的な喪失をもたらす。AMDの病態生理学的メカニズムは依然としてほとんど理解されていないが、リポフスチンの漸進的蓄積およびR P Eの老化が関与している可能性があるということが確立されている。

【0008】

AMDの初期段階は、視力に僅かにしか影響しないドルーゼン沈着と呼称される沈着を特徴とする。この疾患の後期段階には、2種類の重症型のAMDが包含される：地図状萎縮とも呼称される乾燥型、および滲出型または新生血管型という名称でも知られている湿潤型。乾燥型は湿潤型よりも頻度が高いが、現在のところ、後者しか処置の恩恵を受けない。

40

【0009】

防止または処置の試みは、現在のところ、一般的な抗酸化化合物（例えば、亜鉛、ビタミンA、CおよびEなど）を含む栄養補助食品に基づいているが、治療効果は限られている。

【0010】

従って、AMD（特に乾燥型AMD）の処置、防止および／または安定化のための、さらには網膜細胞におけるリポフスチンの蓄積に関連付けられる眼疾患（シュタルガルト病など）の処置、防止および／または安定化のための、新しい活性化合物が必要とされてい

50

る。

【0011】

この目的のために、天然抽出物に由来するアントシアニンの使用が報告された (L i u et al., British J. Nutr., 2012, 108, 16-27; Wang et al., J. Sci. Food Agric., 2015, 95, 936-944)。

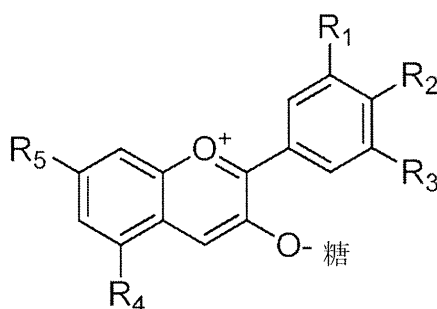
【0012】

アントシアニンは、ポリフェノール化合物のクラスに属し、果実および花に天然に存在する色素の一部である。これらの化合物の構造は、グリコシドに連結したフラビリウムカチオンを含む (スキーム1)。本質的に、アントシアニンは、様々な糖 (グルコース、ガラクトースおよびアラビノースが最も一般的である) に連結した6種の異なるアグリコンに基づいている。アントシアニンのアグリコン部分は、アントシアニジンと呼称される。

10

【0013】

【化1】



20

スキーム1. 天然のアントシアニンの一般構造 (式中、 $R_1 \sim R_5$ は、好ましくはHまたはOHである)

【0014】

Sparrow et al. (WO2005/077176) も、RPE細胞におけるA2Eの蓄積に関連付けられる眼疾患の処置または防止のためのアントシアニンの使用について記載した。特定のアントシアニンの活性が、それらの対応するアントシアニジンと比較された。特に、シアニジン、ペツニジンおよびマルビジン (表1) が評価され、対応するアントシアニンについて得られたものと同等の光保護活性を示し、青色光に曝露されたRPE細胞の細胞生存は、100 μ Mの化合物とのインキュベーションの後では、30~70%の範囲であった。

30

【0015】

表1: その光保護活性について試験された天然のアントシアニジン

【表 1】

	R₁	R₂	R₃
シアニジン	OH	OH	H
デルフィニジン	OH	OH	OH
マルビジン	OCH ₃	OH	OCH ₃
ペオニジン	OCH ₃	OH	H
ペツニジン	OH	OH	OCH ₃

【0016】

天然のアントシアニジンの使用がRPE細胞に対する光保護効果を有する可能性があるということが他の研究でも示されている（Tanaka et al., J. Agric. Food Chem., 2011, 59, 528-536; Tanaka et al., Life Sciences, 2013, 92, 17-25; FR 2996773）。特に、これらの研究ではシアニジン、デルフィニジン、ペオニジンおよびマルビジンが評価された。シアニジンおよびデルフィニジンは、マルビジンとは対照的に、光保護効果を有するようである。ペオニジンについては、相反する結果が得られた。

【0017】

しかし、他の研究では、反対に、（特にシアニジン、デルフィニジン、ペオニジン、ペツニジンおよびマルビジンに関して）RPE細胞の細胞生存に対してアントシアニジンは効果が無いと結論付けられている（Hanneken et al., Invest. Ophthalm. Visual Sci., 2006; 47(7), 3164-3177; Majumdaar and Srirangam, J. Pharm. Pharmacol., 2010, 62, 951-965）。

【0018】

従って、先行技術は、RPE細胞の光保護におけるアントシアニジンの有効性に関して、相反する結果を提示する。

【発明の概要】

【0019】

既存の否定的な見解にもかかわらず、本出願人は、RPE細胞の光保護についての天然および非天然のアントシアニジンの活性に関する詳細な研究を実施した。

【0020】

驚くべきことに、本出願人は、環Aと環Bに少なくとも1つのヒドロキシル基を含む3-デオキシアントシアニジンが非常に良好な光保護活性を有するということを見出した。特に、本発明は、AMD、シュタルガルト病、色素性網膜症および／または糖尿病網膜症の処置、防止および／または安定化のための、式I：

10

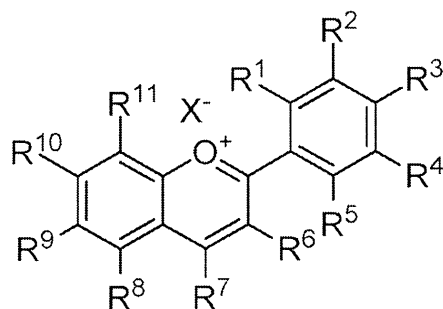
20

30

40

50

【化 2】



10

の 3-デオキシアントシアニジンの使用であって、式中、

R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} および X^- は、以下で定義される通りであり、特に、 R^6 はヒドロキシルではなく、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 または R^5 のうちの少なくとも 1 つはヒドロキシルであり、 R^8 、 R^9 、 R^{10} または R^{11} のうちの少なくとも 1 つはヒドロキシルである、使用に関する。

【0021】

本出願人は、これらの化合物が、RPE の初代培養に対して A2E による処理と青色光による照射処理とを合わせることによって誘発される光毒性の細胞モデルにおいて有効であるということを示した。本出願人はまた、これらの化合物がインビボモデルにおいて光保護をもたらすということも示した。

20

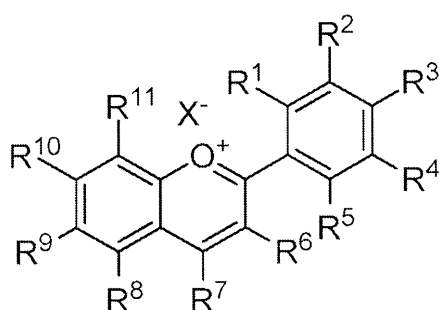
【0022】

概要

【0023】

従って、本発明は、AMD、シュタルガルト病、色素性網膜症および／または糖尿病網膜症の処置、防止および／または安定化におけるその使用のための式 I：

【化 3】



30

の化合物であって、式中、

R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、それぞれ独立的に、水素、ハロ、ヒドロキシル、アルコキシ、アリーールオキシ、ヘテロアリーールオキシ、アシルオキシ、アルキル、アリーール、アラールキル、アルキルアリーール、アルケニル、ニトロ、ニトリル、アミノから選択される基であり、但し、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 または R^5 のうちの少なくとも 1 つはヒドロキシルであるという条件であり；

R^6 は、水素、ハロ、アルコキシ、アリーールオキシ、ヘテロアリーールオキシ、アシルオキシ、アルキル、アリーール、アラールキル、アルキルアリーール、アルケニル、ニトロ、ニトリル、アミノから選択される基であり；

40

50

R^7 は、水素、ハロ、ヒドロキシル、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシルオキシ、アルキル、アリール、アラルキル、アルキルアリール、アルケニル、ニトロ、ニトリル、アミノから選択される基であり；

R^8 、 R^9 、 R^{10} および R^{11} は、それぞれ独立的に、水素、ハロ、ヒドロキシル、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシルオキシ、アルキル、アリール、アラルキル、アルキルアリール、アルケニル、ニトロ、ニトリル、アミノから選択される基であり、但し、 R^8 、 R^9 、 R^{10} または R^{11} のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり；

X^- は、鉱酸に由来するアニオン（例えば、臭素アニオン、塩素アニオン、四フッ化ホウ素アニオンまたは過塩素酸アニオンなど）、有機酸に由来するアニオン（例えば、酢酸アニオン、ホウ酸アニオン、クエン酸アニオン、酒石酸アニオン、重硫酸アニオン、硫酸アニオンまたはリン酸アニオンなど）、または硫酸基もしくはスルホン酸基に由来するアニオンから選択されるアニオンである、化合物に関する。

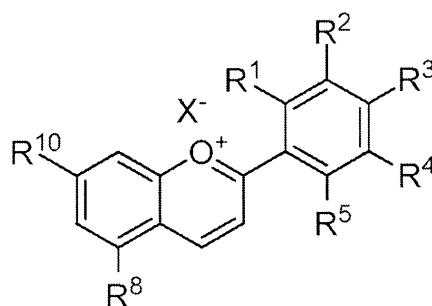
【0024】

一実施形態によれば、式 I の化合物において、 R^6 は水素原子である。

【0025】

一実施形態によれば、式 I の化合物は、式 I a：

【化 4】



の化合物であり、式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^8 、 R^{10} および X^- は、上記で定義される通りである。

【0026】

一実施形態によれば、本発明の化合物において、

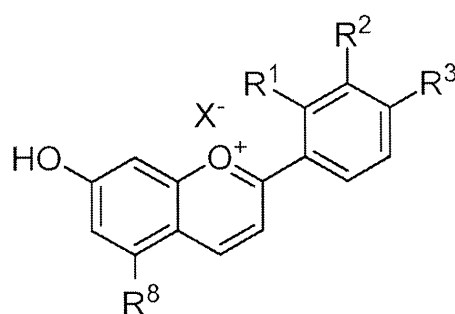
R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシルおよびアルコキシから選択される基であり、但し、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 または R^5 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり；

R^8 および R^{10} は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシルおよびアルコキシから選択される基であり、但し、 R^8 または R^{10} のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件である。

【0027】

一実施形態によれば、式 I の化合物は、式 I b：

【化 5】



10

の化合物であり、式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^8 および X^- は、上記で定義されるものである。

【0028】

一実施形態によれば、本発明の化合物において、 R^8 は水素原子である。

【0029】

一実施形態によれば、本発明による使用のための化合物は、

- 2', 7-ジヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリド；
- 2', 3', 7-トリヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリド；
- 3', 7-ジヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリド；
- 4', 5, 7-トリヒドロキシフラベリウムクロリド；
- 3', 5, 7-トリヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリド；
- 3', 4', 5', 7-ペンタドロキシフラベリウムクロリド；
- 3', 4', 5, 7-テトラヒドロキシフラベリウムクロリド；

20

から選択される。

【0030】

本発明はまた、

- 2', 7-ジヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリド；
- 2', 3', 7-トリヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリド；

30

から選択される化合物にも関する。

【0031】

本発明はまた、2', 7-ジヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリドおよび2', 3', 7-トリヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリドから選択される化合物を医薬的に許容される担体とともに含む医薬組成物にも関する。

【0032】

本発明はまた、2', 7-ジヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリドおよび2', 3', 7-トリヒドロキシ-4'-メトキシフラベリウムクロリドから選択される化合物を含む医薬品にも関する。

【発明を実施するための形態】

40

【0033】

定義

本発明において、以下の用語は、次のように定義される。

【0034】

「アシルオキシ」は、 $-(C=O)-O-$ アルキル基に関する。

【0035】

「アルケニル」は、少なくとも1つの二重結合を有する任意選択で置換されていてもよい2～12個の炭素原子（好ましくは2～6個の炭素原子）の任意の直鎖状または分枝状の炭化水素鎖（例えば、ビニルまたはアリルなど）に関する。

【0036】

50

「アルキルアリール」は、アルキル-アリール基に関する。

【0037】

「アルキル」は、1～12個の炭素原子の直鎖状または分枝状の飽和炭化水素、好ましくは1～6個の炭素原子の直鎖状または分枝状の飽和炭化水素、より好ましくはメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、*sec*-ブチル、イソブチル、*tert*-ブチル、に関する。

【0038】

「アルコキシ」は、-O-アルキル基に関する。

【0039】

「アミノ」は、-NH₂基を指すか、あるいは、置換されているか置換されていない脂肪族または芳香族の有機基での1つまたは複数の水素原子の置換によって-NH₂から生じる任意の基を指す。好ましくは、-NH₂から生じる基はアルキルアミノ基（すなわちN-アルキルの基）であり、これらにはモノアルキルアミノ基およびジアルキルアミノ基が包含される。

【0040】

「アラルキル」は、アリール-アルキル基に関する。

【0041】

「アリール」は、1つまたは複数の芳香環を有する5～20個（好ましくは6～12個）の炭素原子の単環系または多環系に関し、中でも、フェニル基、ビフェニル基、1-ナフチル基、2-ナフチル基、テトラヒドロナフチル基、インダニル基およびビナフチル基を挙げることができる。アリール基は、ヒドロキシル基、1、2、3、4、5もしくは6つの炭素原子を含む直鎖状もしくは分枝状のアルキル基（特にメチル、エチル、プロピル、ブチル）、アルコキシ基またはハロゲン原子（特に臭素、塩素およびヨウ素）から互いに独立的に選択される1～3つの置換基で置換されていてよい。

【0042】

「アリールオキシ」は、-O-アリール基に関する。

【0043】

「ハロ」は、フルオロ、クロロ、ブロモまたはヨードを指す。

【0044】

「ヘテロアリール」は、1つまたは複数の炭素原子がヘテロ原子（好ましくはN、OまたはS）で置き換えられている、1つまたは複数の芳香環を有する5～20個（好ましくは5～12個）の炭素原子の単環式または多環式の基に関し、ここで、窒素および硫黄のヘテロ原子は任意選択で酸化されていてもよく、窒素のヘテロ原子は任意選択で四級化されていてもよい。そのような環は、アリール基、シクロアルキル基、ヘテロアリール基またはヘテロシクリル基に縮合されていてよい。そのようなヘテロアリール基の非限定的な例は次のものである：ピロリル、フラニル、チオフェニル、ピラゾリル、イミダゾリル、オキサゾリル、イソキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、トリアゾリル、オキサジアゾリル、チアジアゾリル、テトラゾリル、オキサトリアゾリル、チアトリアゾリル、ピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、ピリダジニル、オキサジニル、ジオキシニル、チアジニル、トリアジニル、イミダゾ[2, 1-*b*] [1, 3] チアゾリル、チエノ[3, 2-*b*] フラニル、チエノ[3, 2-*b*] チオフェニル、チエノ[2, 3-*d*] [1, 3] チアゾリル、チエノ[2, 3-*d*] イミダゾリル、テトラゾロ[1, 5-*a*] ピリジニル、インドリル、インドリジニル、イソインドリル、ベンゾフラニル、イソベンゾフラニル、ベンゾチオフェニル、イソベンゾチオフェニル、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、1, 3-ベンズオキサゾリル、1, 2-ベンズイソキサゾリル、2, 1-ベンズイソキサゾリル、1, 3-ベンズチアゾリル、1, 2-ベンズイソチアゾリル、2, 1-ベンズイソチアゾリル、ベンゾトリアゾリル、1, 2, 3-ベンズオキサジアゾリル、2, 1, 3-ベンズオキサジアゾリル、1, 2, 3-ベンズチアジアゾリル、2, 1, 3-ベンズチアジアゾリル、チエノピリジニル、プリニル、イミダゾ[1, 2-*a*] ピリジニル、6-オキソ-ピリダジン-1 (6H) -イル、2-オキソ-ピリジン-1 (2H) -イル、6

10

20

30

40

50

ーオキソーピルダジンー1（6H）ーイル、2ーオキソーピリジンー1（2H）ーイル、1,3ーベンゾジオキソリル、キノリニル、イソキノリニル、シンノリニル、キナゾリニル、キノキサリニル。

【0045】

「ヘテロアリアルオキシ」は、ーOーヘテロアリアル基に関する。

【0046】

「対象」は、動物（ヒトを含む）を指す。本発明に関しては、対象は、「患者」（すなわち、医療を受けている人間、医学的処置を受けているか受けたことがある人間、または疾患の発症をモニタリングされている人間）であってよい。

【0047】

「処置」は、疾患の少なくとも1つの望ましくない影響または症状を防止、低減または減弱することを意味する。

【0048】

「疾患の防止」は、疾患の少なくとも1つの望ましくない影響または症状の発生を防止することを意味する。本発明では、「防止」なる用語は、二次的防止（すなわち、症状の再発の防止または疾患の再発の防止）を指してよい。

【0049】

「疾患を安定化する」は、疾患の少なくとも1つの望ましくない影響または症状の悪化を停止または鈍化させることを意味する。「疾患を安定化する」はまた、一度確立した疾患の結果を低減する作用を指してもよい。

【0050】

「有効量」は、疾患または障害の1つまたは複数の症状の進行、悪化または増悪を鈍化または停止させるのに、あるいは疾患または状態の症状の緩和に、あるいは疾患または障害の治癒に、必要かつ十分な活性薬剤の量を指す。

【0051】

「医薬的に許容される担体」は、動物（好ましくはヒト）に投与される場合に望ましくないアレルギー反応または他の反応を何ら生じさせない賦形剤を指す。「医薬的に許容される担体」には、溶媒、分散媒体、コーティング剤、抗細菌剤および抗真菌剤、等張剤、吸収遅延剤ならびに同様の化合物の全てが包含される。ヒトでの投与の場合、調製物は、規制機関（例えば、FDAまたはEMAなど）が要求するような、無菌性、一般的な安全性および純度についての基準を満たさなければならない。

【0052】

「投与」は、症状または疾患が処置または防止されなければならない対象に活性薬剤を単独で、または医薬的に許容される組成物の一部として、与えることを意味する。

【0053】

詳細な説明

【0054】

化合物

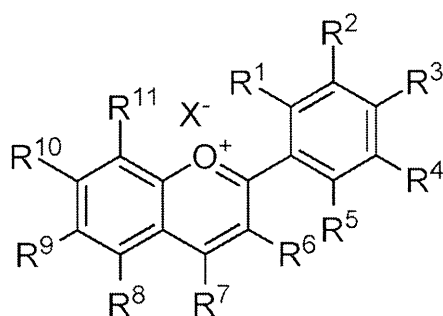
本発明は、式I：

10

20

30

【化 6】



10

の 3-デオキシアントシアニジンに関し、式中、

R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、それぞれ独立的に、水素、ハロ、ヒドロキシル、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシルオキシ、アルキル、アリール、アラルキル、アルキルアリール、アルケニル、ニトロ、ニトリル、アミノから選択される基であり、但し、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 または R^5 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり；

R^6 は、水素、ハロ、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシルオキシ、アルキル、アリール、アラルキル、アルキルアリール、アルケニル、ニトロ、ニトリル、アミノから選択される基であり；

20

R^7 は、水素、ハロ、ヒドロキシル、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシルオキシ、アルキル、アリール、アラルキル、アルキルアリール、アルケニル、ニトロ、ニトリル、アミノから選択される基であり；

R^8 、 R^9 、 R^{10} および R^{11} は、それぞれ独立的に、水素、ハロ、ヒドロキシル、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシルオキシ、アルキル、アリール、アラルキル、アルキルアリール、アルケニル、ニトロ、ニトリル、アミノから選択される基であり、但し、 R^8 、 R^9 、 R^{10} または R^{11} のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり；

X^- は、鉱酸に由来するアニオン（例えば、臭素アニオン、塩素アニオン、四フッ化ホウ素アニオンまたは過塩素酸アニオンなど）、有機酸に由来するアニオン（例えば、酢酸アニオン、ホウ酸アニオン、クエン酸アニオン、酒石酸アニオン、重硫酸アニオン、硫酸アニオンまたはリン酸アニオンなど）、または硫酸基もしくはスルホン酸基に由来するアニオンから選択されるアニオンである。

30

【0055】

特定の実施形態において、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシル、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシルオキシから選択される基であり、但し、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 または R^5 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり、好ましくは、 R^1 、 R^2 または R^3 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件である。

40

【0056】

特定の実施形態において、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシル、アルコキシから選択される基であり、但し、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 または R^5 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり、好ましくは、 R^1 、 R^2 または R^3 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件である。好ましくは、アルコキシ基はメトキシ基である。

【0057】

特定の実施形態において、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシル、メトキシから選択される基であり、但し、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 または R^5 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり、好ましくは

50

、 R^1 、 R^2 または R^3 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件である。

【0058】

特定の実施形態において、 R^1 は水素またはヒドロキシルであり、好ましくは、 R^1 は水素である。

【0059】

特定の実施形態において、 R^1 は水素またはヒドロキシルである。

【0060】

特定の実施形態において、 R^3 はヒドロキシルまたはアルコキシである。特定の実施形態において、 R^3 はヒドロキシルである。特定の実施形態において、 R^3 はアルコキシであり、好ましくはメトキシである。

10

【0061】

特定の実施形態において、 R^4 は水素である。特定の実施形態において、 R^5 は水素である。特定の実施形態において、 R^4 および R^5 は水素である。

【0062】

特定の実施形態において、 R^6 は水素、アルキル、アルコキシまたはアリールである。特定の実施形態において、 R^6 は水素である。

【0063】

特定の実施形態において、 R^7 は水素、ヒドロキシルまたはアルコキシであり、好ましくは、 R^7 は水素である。

20

【0064】

特定の実施形態において、 R^8 、 R^9 、 R^{10} および R^{11} は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシル、アルコキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、アシルオキシから選択される基であり、但し、 R^8 、 R^9 、 R^{10} または R^{11} のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり、好ましくは、少なくとも R^8 または R^{10} はヒドロキシルであるという条件である。

【0065】

特定の実施形態において、 R^8 、 R^9 、 R^{10} および R^{11} は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシル、アルコキシから選択される基であり、但し、 R^8 、 R^9 、 R^{10} または R^{11} のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり、好ましくは、少なくとも R^8 または R^{10} はヒドロキシルであるという条件である。好ましくは、アルコキシ基はメトキシ基である。

30

【0066】

特定の実施形態において、 R^8 、 R^9 、 R^{10} および R^{11} は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシルから選択される基であり、但し、 R^8 、 R^9 、 R^{10} または R^{11} のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり、好ましくは、少なくとも R^8 または R^{10} はヒドロキシルであるという条件である。

【0067】

特定の実施形態において、 R^8 は水素、ヒドロキシルまたはアルコキシである。特定の実施形態において、 R^8 は水素である。特定の実施形態において、 R^8 はヒドロキシルである。特定の実施形態において、 R^6 および R^8 は水素である。

40

【0068】

特定の実施形態において、 R^9 は水素、ヒドロキシルまたはアルコキシである。特定の実施形態において、 R^9 は水素である。

【0069】

特定の実施形態において、 R^{10} は水素、ヒドロキシルまたはアルコキシである。特定の実施形態において、 R^{10} はヒドロキシルである。

【0070】

特定の実施形態において、 R^{11} は水素、ヒドロキシルまたはアルコキシである。特定の実施形態において、 R^{11} は水素である。

50

【0071】

特定の実施形態において、 R^9 および R^{11} は水素である。特定の実施形態において、 R^8 、 R^9 および R^{11} は水素である。

【0072】

特定の実施形態において、 R^8 および R^{10} はヒドロキシルである。

【0073】

特定の実施形態において、 R^8 、 R^9 および R^{11} は水素であり、 R^{10} はヒドロキシルである。特定の実施形態によれば、 R^9 および R^{11} は水素であり、 R^8 および R^{10} はヒドロキシルである。

【0074】

特定の実施形態において、 X^- は、鉍酸に由来するアニオン（例えば、臭素アニオン、塩素アニオン、四フッ化ホウ素アニオンまたは過塩素酸アニオンなど）であり、好ましくは、 X^- は、塩素イオンまたは臭素イオンであり、より好ましくは、 X^- は、塩素イオンである。

【0075】

特定の実施形態において、 X^- は、有機酸に由来するアニオン（例えば、酢酸アニオン、ホウ酸アニオン、クエン酸アニオン、酒石酸アニオン、重硫酸アニオン、硫酸アニオンまたはリン酸アニオンなど）である。

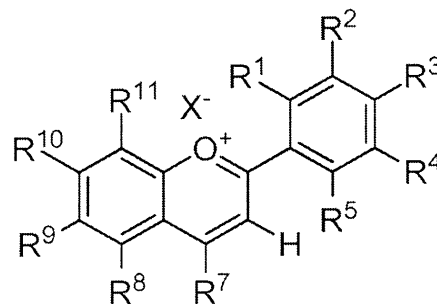
【0076】

特定の実施形態において、 X^- は、硫酸基またはスルホン酸基に由来するアニオンである。

【0077】

一実施形態によれば、式 I の化合物は、式 I'：

【化7】



の化合物であり、式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} および X^- は、式 I において定義されるものである。

【0078】

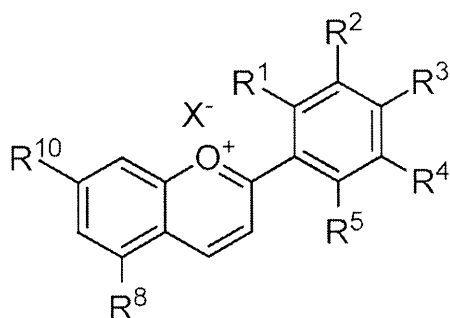
一実施形態によれば、式 I の化合物は、式 Ia：

10

20

30

【化 8】



10

の化合物であり、式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^8 、 R^{10} および X^- は、上記で定義されるものである。

【0079】

特定の実施形態によれば、式 I a において、

R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 および R^5 は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシルおよびアルコキシから選択される基であり、但し、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 または R^5 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり；

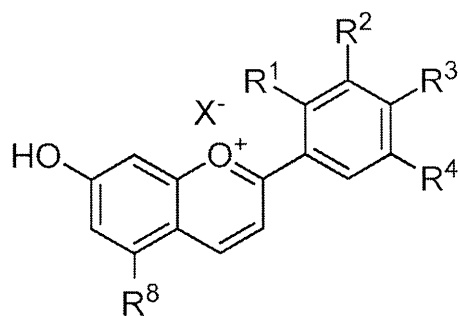
R^8 および R^{10} は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシルおよびアルコキシから選択される基であり、但し、 R^8 または R^{10} のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件である。

20

【0080】

一実施形態によれば、式 I の化合物は、式 I b：

【化 9】



30

の化合物であり、式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^8 および X^- は、上記で定義されるものである。

【0081】

特定の実施形態によれば、式 I b において、

R^1 、 R^2 、 R^3 および R^4 は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシルおよびアルコキシから選択される基であり、但し、 R^1 、 R^2 、 R^3 または R^4 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり；

R^8 は、水素、ヒドロキシルおよびアルコキシから選択される基である。

40

【0082】

特定の実施形態によれば、式 I b において、

R^1 、 R^2 、 R^3 および R^4 は、それぞれ独立的に、水素、ヒドロキシルおよびメトキシから選択される基であり、但し、 R^1 、 R^2 、 R^3 または R^4 のうちの少なくとも1つはヒドロキシルであるという条件であり；

R^8 は水素またはヒドロキシルである。

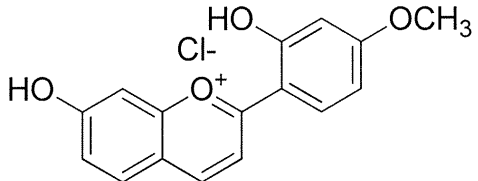
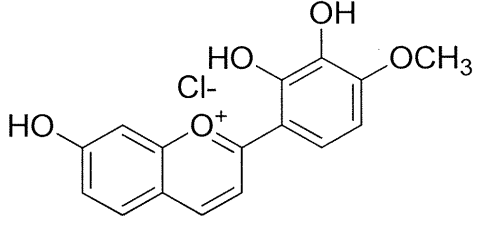
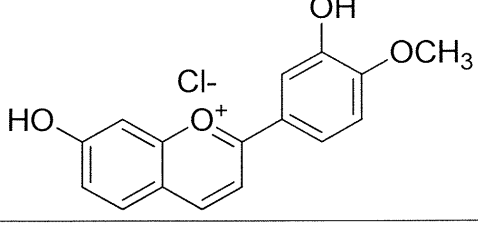
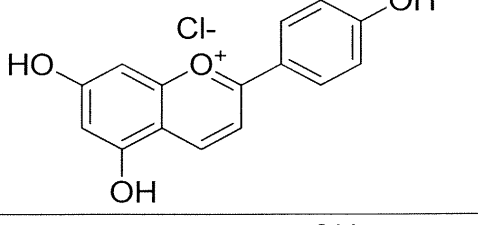
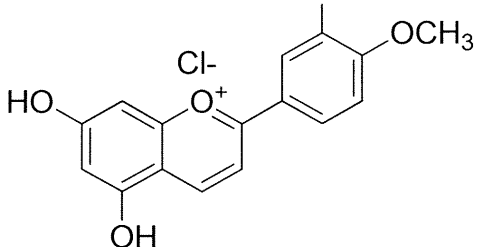
50

【0083】

一実施形態によれば、式 I の化合物は、以下の表に列挙されるものである。

【0084】

【表 2】

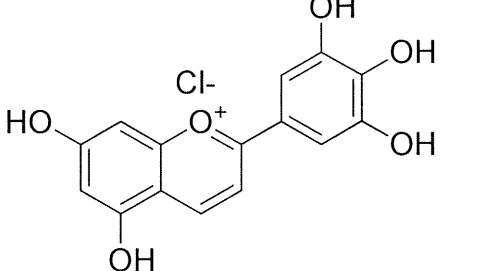
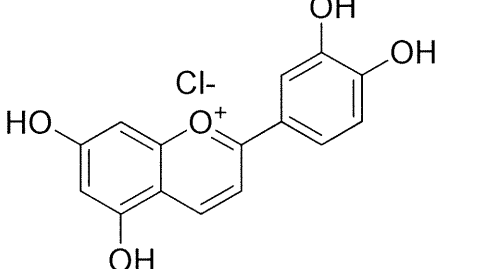
化合物番号	構造	名称
1		2', 7-ジヒドロキシ-4'-メトキシフラビリウムクロリド
2		2', 3', 7-トリヒドロキシ-4'-メトキシフラビリウムクロリド
3		3', 7-ジヒドロキシ-4'-メトキシフラビリウムクロリド
4		4', 5, 7-トリヒドロキシフラビリウムクロリド (アピゲニニン)
5		3', 5, 7-トリヒドロキシ-4'-メトキシフラビリウムクロリド (ジオスメチニン)

10

20

30

40

6		3', 4', 5', 5', 7-ペンタドロキシ シーフラビリウムクロリド (トリセチニジン)
7		3', 4', 5', 7-テトラヒドロキシ ーフラビリウムクロリド (ルテオリニジン)

10

【0085】

特定の実施形態によれば、式 I の化合物は、化合物番号 1 および 2 である。

【0086】

20

一実施形態によれば、式 I の化合物は、天然起源の化合物（例えば、アピゲニニン、ジオスメチニン、トリセチニンまたはルテオリジン（luteolidin）など）である。天然起源の化合物は、天然産物から（特に植物および／または果実から）抽出できるか、あるいは、全合成によるものであろうと天然化合物（例えば、対応するアントシアニンなど）を用いた半合成によるものであろうと化学合成によって得ることができる。

【0087】

別の実施形態によれば、式 I の化合物は、非天然化合物である。非天然化合物は、全合成または半合成のいずれかによる化学合成によって得ることができる。

【0088】

式 I の化合物は、当業者に公知の反応によって調製できる。

30

【0089】

使用

本発明は、式 I の化合物と生理学的に許容される担体とを含む組成物に関する。一実施形態によれば、本発明の組成物は、式 I の化合物を医薬的に許容される担体とともに含む医薬組成物である。

【0090】

本発明は、式 I の化合物を含む医薬品に関する。

【0091】

以下で説明される使用は、本発明による、式 I の化合物の使用、医薬組成物の使用または医薬品の使用に関する。

40

【0092】

本発明は、眼疾患の処置、防止および／または安定化のための、式 I の化合物の使用に関する。一実施形態によれば、本発明は、網膜細胞におけるリポフスチンの蓄積に関連付けられる眼疾患の処置、防止および／または安定化のための（特に、AMD またはシュタルガルト病の処置、防止および／または安定化のための）、式 I の化合物の使用に関する。

【0093】

一実施形態によれば、本発明は、AMD、シュタルガルト病、色素性網膜症および／または糖尿病網膜症の処置、防止および／または安定化のための、式 I の化合物の使用に関する。

50

【0094】

一実施形態によれば、本発明は、AMDの処置、防止および／または安定化のための、式Iの化合物の使用に関する。特定の実施形態によれば、本発明は、AMDの中間型の処置、防止および／または安定化のための、式Iの化合物の使用に関する。「中間型」なる用語は、視力に僅かにしか影響しないドルーゼン沈着と呼称される沈着を特徴とする、AMDの初期段階を指す。特定の実施形態によれば、本発明は、AMDの重症型（特に、AMDの乾燥型および／または湿潤型）の処置、防止および／または安定化のための、式Iの化合物の使用に関する。特定の実施形態によれば、本発明は、乾燥型AMDの処置、防止および／または安定化のための、式Iの化合物の使用に関する。特定の実施形態によれば、本発明は、湿潤型AMDの処置、防止および／または安定化のための、式Iの化合物の使用に関する。

10

【0095】

一実施形態によれば、本発明は、シュタルガルト病の処置、防止および／または安定化のための、式Iの化合物の使用に関する。

【0096】

一実施形態によれば、本発明は、色素性網膜症の処置、防止および／または安定化のための、式Iの化合物の使用に関する。

【0097】

一実施形態によれば、本発明は、糖尿病網膜症の処置、防止および／または安定化のための、式Iの化合物の使用に関する。

20

【0098】

本発明はまた、青色放射への曝露によって網膜に引き起こされ得る損傷を防止するための、式Iの化合物の使用にも関する。「青色放射」なる用語は、可視光スペクトルの青帯域（すなわち、435～490nmの波長）に該当する放射を意味する。

【0099】

一実施形態によれば、本発明は、網膜色素上皮（RPE）の細胞死を減少させるための、式Iの化合物の使用に関する。

【0100】

一実施形態によれば、本発明は、RPE細胞におけるリポフスチンの蓄積を低減または防止するための、式Iの化合物の使用に関する。一実施形態において、リポフスチンは、A2Eおよび／またはA2Eの異性体もしくは酸化型を含む。

30

【0101】

一実施形態によれば、本発明は、RPE細胞の膜を安定化するための、式Iの化合物の使用に関する。一実施形態において、細胞の膜は、細胞膜、リソソーム膜、核膜またはミトコンドリア膜であってよい。

【0102】

一実施形態によれば、上記で言及される使用は、式Iの化合物、または複数の式Iの化合物の混合物に関する。

【0103】

一実施形態によれば、上記で言及される使用は、別の活性薬剤と組み合わせられた1つまたは複数の式Iの化合物に関する。特に、活性薬剤は、抗酸化剤（例えば、亜鉛またはビタミンA、CもしくはEなど）であってよい。

40

【0104】

本発明はまた、眼疾患を処置および／または防止するための方法であって、前記眼疾患を改善および／または防止するのに有効な量で本発明による式Iの化合物を対象に投与することを含む方法にも関する。一実施形態によれば、本発明は、網膜細胞におけるリポフスチンの蓄積に関連付けられる眼疾患の処置、防止および／または安定化のための（より具体的には、AMDまたはシュタルガルト病の処置、防止および／または安定化のための）方法であって、前記眼疾患を改善および／または防止するのに有効な量で本発明による式Iの化合物を対象に投与することを含む方法に関する。

50

【0105】

一実施形態によれば、本発明は、AMD、シュタルガルト病、色素性網膜症および／または糖尿病網膜症を処置および／または防止するための方法に関する。

【0106】

本発明はまた、眼疾患の処置、防止および／または安定化のための医薬品の調製のための、式Iの化合物の使用にも関する。一実施形態によれば、本発明は、網膜細胞におけるリポフスチンの蓄積に関連付けられる眼疾患の処置、防止および／または安定化のための（より具体的には、AMDまたはシュタルガルト病の処置、防止および／または安定化のための）医薬品の調製のための、式Iの化合物の使用に関する。

【0107】

一実施形態によれば、本発明は、AMD、シュタルガルト病、色素性網膜症および／または糖尿病網膜症の処置、防止および／または安定化のための医薬品の調製のための、式Iの化合物の使用に関する。

【0108】

一実施形態によれば、対象は動物であり、好ましくは哺乳動物であり、より好ましくはヒトである。

【0109】

一実施形態によれば、患者は、AMD、シュタルガルト病、色素性網膜症および／または糖尿病網膜症と診断される。別の実施形態によれば、対象は、AMD、シュタルガルト病、色素性網膜症および／または糖尿病網膜症を発症するリスクがある。一実施形態によれば、対象は、AMD、シュタルガルト病、色素性網膜症および／または糖尿病網膜症を発症する遺伝的素因を有する。

【0110】

一実施形態によれば、本発明の式Iの化合物は、眼内経路で投与される。「眼内経路」なる用語は、化合物を眼の内部に直接投与することを指す。眼の内部としては、特に、前眼房、後眼房、硝子体、脈絡膜、黄斑、網膜、眼の後部領域で血管形成するか眼の後部領域を神経支配する血管と神経が挙げられる。一実施形態によれば、式Iの化合物は、後眼部に眼内経路で投与される。一実施形態によれば、式Iの化合物は、硝子体内に投与される。別の実施形態によれば、式Iの化合物は、眼の網膜下コンパートメントに投与される。別の実施形態によれば、式Iの化合物は、結膜下に投与される。

【0111】

一実施形態によれば、式Iの化合物は、局所投与される。点眼または浸漬が用いられてよい。また、本発明の化合物の眼内への局所的吸収を促進するために、当業者に公知のイオン導入法が用いられてもよい。

【0112】

一実施形態によれば、式Iの化合物は、経口投与されない。

【0113】

一実施形態によれば、式Iの化合物は、注射できる形態に製剤化される。一実施形態において、式Iの化合物は、溶液の形態（例えば、無菌水溶液、分散系、エマルジョン、懸濁液など）に、あるいは液体の添加による溶液または懸濁液の調製に適した固体形態に、製剤化される。

【0114】

一実施形態によれば、式Iの化合物は、持続放出および／または制御放出が起こり得るような様式で製剤化される。特に、式Iの化合物は、インプラントの形態に、あるいは生体吸収型マトリックスに、製剤化されてよい。生体吸収型マトリックスには、カルボマーまたはポリマーが包含され得る。ポリマーは、生分解性ミクロスフェアであってよい。あるいは、式Iの化合物は、リポソームの形態に製剤化されてよい。当業者に知られている、活性物質の持続放出および／または制御放出を得ることを可能にする任意の眼用製剤が使用されてよい。

【0115】

一実施形態によれば、式 I の化合物は、多くて 1 ヶ月に 1 回、好ましくは 2 ヶ月に 1 回、より好ましくは 4 ヶ月に 1 回、さらにより好ましくは 6 ヶ月に 1 回、という頻度で投与される。

【0116】

一実施形態によれば、式 I の化合物は、片眼あたり 0.01 mg ~ 1 mg (好ましくは片眼あたり 0.1 mg ~ 0.5 mg) の範囲の用量での毎日の放出を可能にする形態で硝子体内に投与される。

【図面の簡単な説明】

【0117】

【図1】図1は、視覚サイクルの主なステップを要約するスキームである。

10

【図2】図2および図3は、光毒性の誘発から1週間後のマウスの網膜電図を示すグラフである。波A(図2)は、光受容体の電気的活動を示し、波B(図3)は、内網膜の細胞の電気的活動を示す。データは、分散の分析に続く Dunnett 検定によって統計的に分析された。 $* p < 0.05$ 、 $** p < 0.01$ 、 $*** p < 0.001$ 。

【図3】図2および図3は、光毒性の誘発から1週間後のマウスの網膜電図を示すグラフである。波A(図2)は、光受容体の電気的活動を示し、波B(図3)は、内網膜の細胞の電気的活動を示す。データは、分散の分析に続く Dunnett 検定によって統計的に分析された。 $* p < 0.05$ 、 $** p < 0.01$ 、 $*** p < 0.001$ 。

【図4】図4は、ジオスメチニジンの硝子体内注射の後の、視神経からの距離に応じた光受容体の層の数を示すグラフである。

20

【実施例】

【0118】

非限定的に本発明を示す以下の実施例を閲覧すれば、本発明をより理解するであろう。

【0119】

実施例1：本発明の化合物の合成

【0120】

化合物1.

2, 4-ジヒドロキシベンズアルデヒド(69 mg)および2'-ヒドロキシ-4'-メトキシ-アセトフェノン(83 mg-1当量)を500 μ Lのエタノールに入れて溶液にする。40 μ Lの塩化チオニルをこの反応媒体中に直接添加すると、すぐに高度に着色する。1時間の攪拌の後、反応媒体を蒸発させ、残渣を酢酸エチル中で沈殿させ、濾過し、乾燥させて、最終化合物を得る(77 mg-収率50%)。

30

【0121】

化合物2.

2, 4-ジヒドロキシベンズアルデヒド(276 mg)および2', 3'-ジヒドロキシ-4'-メトキシ-アセトフェノン(364 mg-1当量)を2 mLのエタノールと2 mLの酢酸エチルに入れて溶液にする。500 μ Lの塩化チオニルをこの反応媒体中に直接添加すると、すぐに高度に着色する。1時間の攪拌の後、反応媒体を蒸発させ、残渣を酢酸エチル中で沈殿させ、濾過し、乾燥させる。この固体を最小限のメタノールに入れて溶液にし、等体積のtert-butylメチルエーテル(TBME)を添加することによって沈殿させる。固体を濾過し、乾燥させる。純度が的確になるまで、この手順を繰り返す。最終的な収率は60%である。

40

【0122】

得られた化合物は95%超の純度(HPLC)を有し、それらの同一性は、MSおよびNMR分光法によって確認した。高分解能質量スペクトルは、NSIソース(nano-ESI)を備えたLTQ Orbitrap-XL分光計(ThermoFisher Scientific)において実施した。プロトン(^1H)の核磁気共鳴スペクトル(NMR)は、Bruker Avance DPX300装置においてDMSO- d_6 +1%CF₃COOD中で実施した(300.16 MHz)。

【0123】

50

HRMS (Orbitrap)

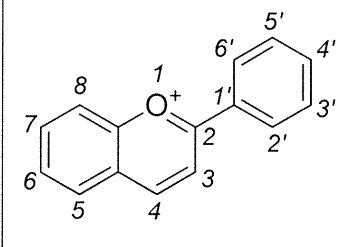
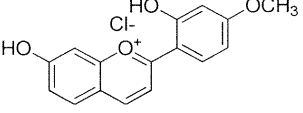
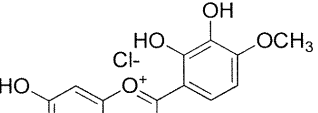
化合物 1 : m/z 269.0809 (M)⁺、 $C_{16}H_{13}O_4$ は計算上 269.0808、 $\Delta = 0.054$ ppm。

化合物 2 : m/z 285.0757 (M)⁺、 $C_{16}H_{13}O_5$ は計算上 285.0757、 $\Delta = -0.105$ ppm

【0124】

¹H-NMR スペクトル (δ ppm)

【表 3】

	化合物 1	化合物 2
		
3-H	7.44 (dd, 8.9, 2.2 Hz)	7.42 (dd, 8.9, 2.2 Hz)
4-H	9.11 (d, 9.0 Hz)	9.09 (d, 9.0 Hz)
5-H	8.65 (d, 9.0 Hz)	8.64 (d, 8.9 Hz)
6-H	6.77 (d, 2.3 Hz)	6.94 (d, 9.4 Hz)
8-H	7.57 (d, 2.0 Hz)	7.53 (d, 1.9 Hz)
2'-H	8.18 (d, 8.9 Hz)	8.16 (d, 9.0 Hz)
3'-H	6.82 (dd, 9.2, 2.1 Hz)	7.92 (d, 9.3 Hz)
4'-OCH ₃	3.92 (3H, s)	4.01 (3H, s)
5'-H	8.36 (d, 9.1 Hz)	—
6'-H	—	—

【0125】

実施例 2 : 光保護活性のインビトロアッセイ

【0126】

方法

RPE の初代培養に対して A2E による処理と青色光による照射処理とを合わせることによって誘発される光毒性の細胞モデルを使用し、この細胞モデルにおいて細胞生存を測定した。このモデルは、成体ブタの網膜色素上皮の初代培養を使用する。

【0127】

このモデルは、特に、AMD の乾燥型の処置のための新しい候補の発見を目的とした分子のスクリーニングを行うことを可能にする。このモデルは、文献で一般に使用されている細胞株よりも「生理学的」状態に近い。なぜなら、使用される細胞が、動物の食餌によってもたらされる保護物質を含有しているので「欠乏」の状態にないため、および、それらの攪乱が、培地への A2E の添加によって引き起こされるためである。

【0128】

96ウェルプレートで培養された細胞を、最終濃度が5または20 μM となるようにした試験化合物（5 mMのDMSO溶液）で48時間処理し、その最後の19時間は、A2E（最終濃度30 μM ）の存在下であった。次いで、この前処理された細胞を、96 LED W7113PBC/H（Kingbright）による青色光（470 nm）で50分間照射する（ビーム角度16°；8.6 mAの電流の下において1440 mcd（ミリカンデラ）で照射）。24時間後に細胞生存を測定する。

【0129】

Hoechst（核のマーカー）およびエチジウム（死細胞の核のマーカー）で細胞を着色することによって、光毒性の誘発から24時間後に細胞の生存および死を検出する。Metamorphソフトウェアによって制御される電動ステージを備えた蛍光顕微鏡で各ウェルの画像を取得し、専用の定量化プログラムによって細胞の生存を定量化する。実験は、96ウェルマイクロプレートにおいて四連で実施し、各実験を少なくとも4回再現する。

【0130】

結果は、試験される分子で処理されたウェル中の生細胞の数を（A2Eを含まない希釈媒体で処理された）対照ウェル中の生細胞の数で割って100を掛けた比率で表す。A2Eで処理されるが分子では処理されない対照の値は、39.7 $\pm$ 3.7である。

【0131】

結果

本発明の化合物は、20 μM ならびに5 μM において、非常に高い細胞生存パーセンテージを得ることを可能にする（表2）。

【0132】

表2：細胞生存：本発明の化合物

【表4】

化合物	20 μM	5 μM
1	89.9 $\pm$ 4.9	NA
2	86.7 $\pm$ 2.3	NA
3	77.0 $\pm$ 2.7	NA
4	89.5 $\pm$ 3.5	71 $\pm$ 3.6
5	90.8 $\pm$ 3.6	84.5 $\pm$ 1.4
6	99.3 $\pm$ 3.3	74.9 $\pm$ 4.2
7	93.6 $\pm$ 6.7	72 $\pm$ 4.4

NA：データなし

【0133】

比較のために、3-ヒドロキシアントシアニジンを試験した（表3）。

【0134】

表3：試験された3-ヒドロキシアントシアニジン

【表 5】

	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅
シアニジン	OH	H	OH	H	H
デルフィニジン	OH	OH	OH	H	H
フィセチニン	H	OH	H	H	H
ゴシペチニン	H	OH	OH	H	OH
グイボウルチニン	H	H	H	H	H
マルビジン	OCH ₃	OCH ₃	OH	H	H
ペオニン	OCH ₃	H	OH	H	H
ペツニン	OH	OCH ₃	OH	H	H
クエルセタゲチニン	OH	H	OH	OH	H

10

20

【0135】

3-ヒドロキシアントシアニジンの存在下での細胞生存の結果を表4に示す。

30

【0136】

表4：細胞生存：3-ヒドロキシアントシアニン

【表 6】

化合物	20 μ M	5 μ M
シアニジン	92.9 $\pm$ 1.9	56.4 $\pm$ 8.8
デルフィニジン	57.8 $\pm$ 5.6	40.5 $\pm$ 6.2
フィセチニジン	39.3 $\pm$ 3.2	NA
ゴシペチニジン	36.5 $\pm$ 14.4	NA
グイボウルチニジン	42.8 $\pm$ 6.9	NA
マルビジン	51.5 $\pm$ 6.9	NA
ペオニジン	60.4 $\pm$ 8.5	NA
ペツニジン	67.2 $\pm$ 6.9	NA
クエルセタゲチニジン	54.3 $\pm$ 6.6	NA

10

20

【0137】

これらの結果は、アントシアニジンの3位にヒドロキシル基が存在することが光保護の有効性を大幅に低下させるということを示す。シアニジンだけが、20 μ Mにおいて相当な光保護効果を有する。しかし、低濃度では、その有効性は大幅に低下し、これは本発明の化合物とは対照的である。

【0138】

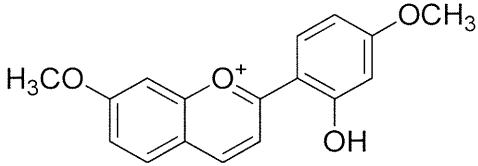
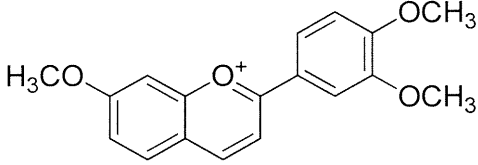
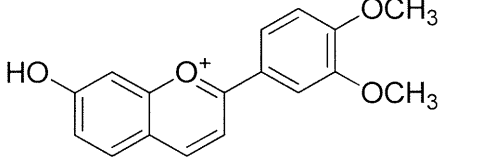
比較のために、環Aと環Bに少なくとも1つのフリーのヒドロキシルを有さない3-デオキシアントシアニジンも試験した（表5）。

30

【0139】

表5：細胞生存：環Aまたは環Bに少なくとも1つのヒドロキシルを有さない3-デオキシアントシアニジン

【表 7】

化合物	20 μ M	5 μ M
(a) 	39.2 $\pm$ 7.4	NA
(b) 	48.7 $\pm$ 5.5	NA
(c) 	46.1 $\pm$ 4.7	NA

10

20

【0140】

20 μ Mで取得された細胞生存のパーセンテージは50%未満であり、従って、5 μ Mの濃度は試験しなかった。

【0141】

30

得られた結果は、環Aおよび環Bの各々に少なくとも1つのヒドロキシル基が存在しない場合、本発明の化合物の場合よりも光保護の有効性が遥かに低いということを明確に示す。

【0142】

実施例3：マウスにおける光保護活性のインビボアッセイ

【0143】

Maeda et al. (Invest Ophthalmol. Vis. Sci., 2009, 50, 4917-4925)によって開発された遺伝子組換えマウスモデルを用いて、本発明の化合物の光保護活性を試験した。

【0144】

40

このマウスモデルでは、視色素サイクルに関与する2つの遺伝子(ABCA4およびRdh8;図1を参照のこと)が不活性化されており、これが、眼におけるA2Eの早期蓄積をもたらす。従って、この動物モデルは、ヒトでの病態を表すものである。

【0145】

7週齢のマウスを用いて、DMSO中の可溶化ジオスメチニジン(50 μ M)をPBSで希釈(1:200)したものを片側の硝子体内に注射し、100~130 μ Mという硝子体内濃度を得た。PBSで希釈したDMSOを対照の動物に注射した。暗所に24時間置いた後、マウスを青色光に曝露させた(4000ルクス、1時間)。

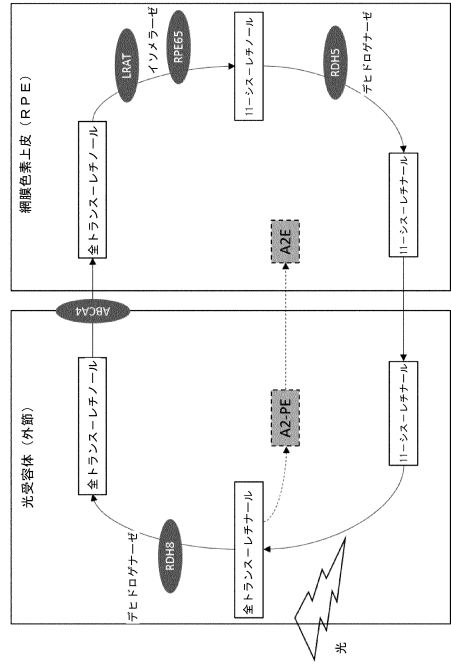
【0146】

7日後に実施した網膜電図はジオスメチニジンの保護効果を示し、ジオスメチニジンの

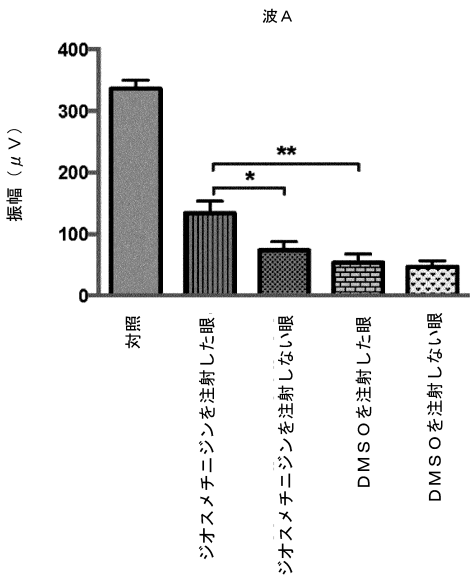
50

存在は、有意な電氣的活動（図 2 および図 3）および光受容体の良好な生存（図 4）を維持することを可能にした。

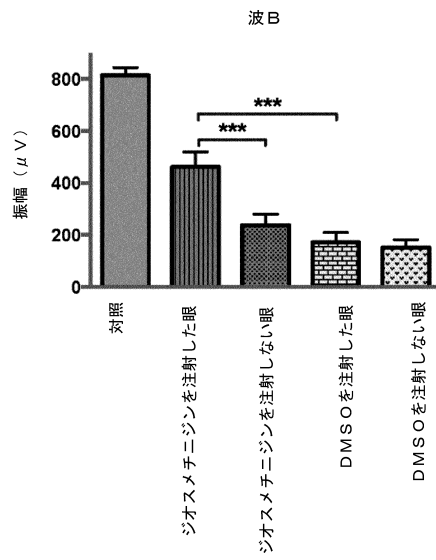
【図 1】



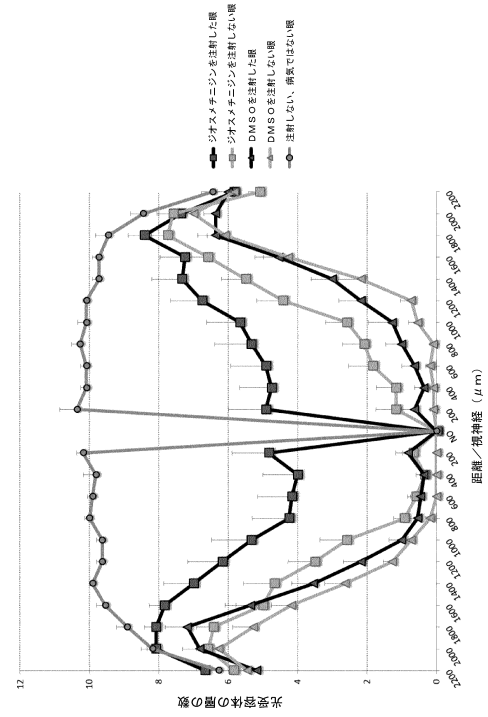
【図 2】



【図 3】



【図 4】



フロントページの続き

(73)特許権者 514203362

インセルム (インスティテュート ナショナル デ ラ サンテ エ デ ラ リシェルシェ メ
ディカル)

フランス国, エフー 7 5 6 5 4 パリ セデックス 1 3, 1 0 1 ル デ トルビアック

(74)代理人 100114775

弁理士 高岡 亮一

(74)代理人 100121511

弁理士 小田 直

(74)代理人 100202751

弁理士 岩堀 明代

(74)代理人 100191086

弁理士 高橋 香元

(72)発明者 フォンテーヌ, ヴァレリー

フランス国, 9 4 2 3 0 カシャン, 1 2 リュ コスト

(72)発明者 ラフォン, ルネ

フランス国, 7 5 0 1 6 パリ, 3 0 リュ クロード ロラン

(72)発明者 サヘル, ホセーアライン

フランス国, 7 5 0 1 3 パリ, 4 リュ デュラフォイ

(72)発明者 ベイユ, スタニスラス

フランス国, 9 1 6 0 0 サヴィニー-シュルーオルジュ, 3 リュ ドゥ ドクトゥール マキ
シム メナード

審査官 長部 喜幸

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 4 / 1 7 4 7 0 3 (WO, A 1)

国際公開第 2 0 0 4 / 1 0 3 9 8 6 (WO, A 1)

特表 2 0 1 4 - 5 1 0 7 4 0 (JP, A)

特開 2 0 1 6 - 1 5 0 9 1 5 (JP, A)

特表 2 0 1 4 - 5 1 4 3 6 6 (JP, A)

L. COSTANTINO, Anthocyanidines as inhibitors of xanthine oxidase, Pharmazie, 1 9 9 5
年, Vol.50, No.8, Pages 573-574

Jelisaveta M. Baranac, Structural Transformations of Apigeninidin-Type Flavylum Salts
, J. Agric. Food Chem., 1 9 9 0 年, Vol.38, Pages 2111-2115

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C 0 7 D 3 1 1 / 6 0

A 6 1 K 3 1 / 3 5 2

C A p l u s / R E G I S T R Y (STN)