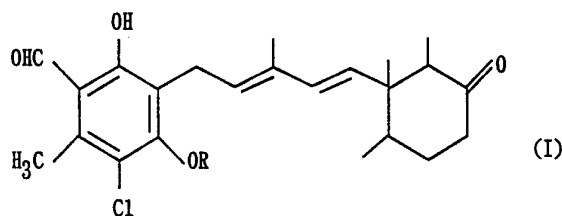




特許協力条約に基づいて公開された国際出願

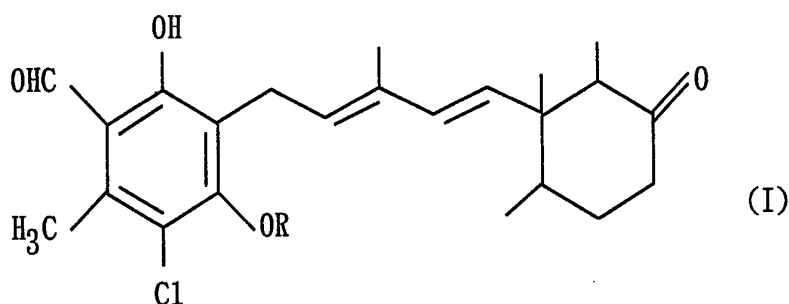
(51) 国際特許分類 5 A61K 31/12, 31/19, 31/22 A61K 31/44	A1	(11) 国際公開番号 WO 94/05274 (43) 国際公開日 1994年3月17日 (17.03.1994)		
<table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> (21) 国際出願番号 PCT/JP93/01249 (22) 国際出願日 1993年9月3日 (03. 09. 93) (30) 優先権データ 特願平4/242051 1992年9月10日 (10. 09. 92) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社イムノジャパン (IMMUNO JAPAN INC.) (JP/JP) 〒167 東京都杉並区は荻窪4丁目80番1 Tokyo, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 細川知良 (HOSOKAWA, Tomoyoshi) (JP/JP) 〒222 神奈川県横浜市港北区菊名6丁目10番18号 Kanagawa, (JP) (74) 代理人 弁理士 湯浅恭三, 外 (YUASA, Kyozo et al.) 〒100 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 湯浅法律特許事務所 Tokyo, (JP) (81) 指定国 CA, KR, 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 </td> <td style="width: 50%;"></td> </tr> </table>			(21) 国際出願番号 PCT/JP93/01249 (22) 国際出願日 1993年9月3日 (03. 09. 93) (30) 優先権データ 特願平4/242051 1992年9月10日 (10. 09. 92) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社イムノジャパン (IMMUNO JAPAN INC.) (JP/JP) 〒167 東京都杉並区は荻窪4丁目80番1 Tokyo, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 細川知良 (HOSOKAWA, Tomoyoshi) (JP/JP) 〒222 神奈川県横浜市港北区菊名6丁目10番18号 Kanagawa, (JP) (74) 代理人 弁理士 湯浅恭三, 外 (YUASA, Kyozo et al.) 〒100 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 湯浅法律特許事務所 Tokyo, (JP) (81) 指定国 CA, KR, 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	
(21) 国際出願番号 PCT/JP93/01249 (22) 国際出願日 1993年9月3日 (03. 09. 93) (30) 優先権データ 特願平4/242051 1992年9月10日 (10. 09. 92) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 株式会社イムノジャパン (IMMUNO JAPAN INC.) (JP/JP) 〒167 東京都杉並区は荻窪4丁目80番1 Tokyo, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) 細川知良 (HOSOKAWA, Tomoyoshi) (JP/JP) 〒222 神奈川県横浜市港北区菊名6丁目10番18号 Kanagawa, (JP) (74) 代理人 弁理士 湯浅恭三, 外 (YUASA, Kyozo et al.) 〒100 東京都千代田区大手町二丁目2番1号 新大手町ビル206区 湯浅法律特許事務所 Tokyo, (JP) (81) 指定国 CA, KR, 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 : GLYCATION INHIBITOR**(54) 発明の名称** グリケイション阻害剤**(57) Abstract**

A glycation inhibitor containing at least one member selected from among ascochlorin and derivatives thereof, represented by general formula (I), as the active ingredient, wherein R represents hydrogen, $-(C_nH_{2n})-R'$ (wherein n represents an integer of 1 to 5; R' represents hydrogen or COOR'' substituted on any one of the n carbon atoms; and R'' represents hydrogen or C₁-C₃ alkyl), or -COR''' (wherein R''' represents pyridyl, amino substituted by a C₁-C₃ group, phenoxyalkyl halogenated on the benzene ring, or phenyl substituted by C₁-C₃ alkoxy or C₁-C₃ alkoxycarbonyl). The compounds (I) are useful for preventing or treating various complications of diabetes, such as diabetic neurosis, nephropathy and retinopathy.

(57) 要約

一般式 (I)



[式中Rは水素原子、 $-(C_nH_{2n})-R'$ (nは1~5の整数、R'は水素原子又はn個の炭素原子のいずれか1つに置換されている基COOR"、ここでR"は水素原子又は炭素数1~3のアルキル基を意味する)か、又は $-COR'''$ (R'''はピリジル基、炭素数1~3で置換されたアミノ基、核にハロゲン原子を有するフェノキシアルキル基又は核に炭素数1~3のアルコキシ基あるいは炭素数1~3のアルコキシカルボニル基を有するフェニル基を意味する)を示す]で表されるアスコクロリン及びその誘導体を1種又は2種以上有効成分として含有するグリケイション阻害剤。上記一般式(I)で示される化合物は糖尿病性神経症、糖尿病性腎症、糖尿病性網膜症等の糖尿病性合併症に対する予防薬あるいは治療薬として有用である。

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

グリケイション阻害剤

【技術分野】

5 本発明は一般式（I）で表されるアスコクロリン及びその誘導体を1種又は2種以上有効成分として含有する医薬品に関する。更に詳しくは、グリケイションを阻害することによる糖尿病性合併症、殊に、糖尿病性神経症、糖尿病性腎症、糖尿病性網膜症の治療剤に関する。

【背景技術】

10 糖尿病の合併症は糖尿病に特徴的ではないが、高率に発症するマクロアングリオパチイと糖尿病に特徴的なミクロアングリオパチイすなわち糖尿病性腎症、糖尿病性網膜症、糖尿病性神経症に大別される。糖尿病は合併症さえ起こらなければ恐ろしい病気ではないとさえ言われており、糖尿病の重症度は変動しやすい
15 血糖レベルでは表現できない。坂本は「血糖のコントロールで糖尿病性合併症の発症の予防は可能か」と疑問を投げかけ、「合併症の発症から悲惨な最終像への進展まで、すべてのプロセスに高血糖が重大な役割を果たし続けるとは考えられない」としている（坂本信夫、「糖尿病」、33, 633, 1990）。
20 また、「糖尿病性合併症の発症・進展を血糖を厳格にコントロールすることによって抑制するという確実な証拠のない現在、低血糖発症の危険性を無視してまで血糖値を健常人に近づけようとするのは無謀でさえある」との意見もみられる（S i p e r s t e i n, 「N. E n g l. J. M e d. 」296, 10
25 60, 1977）。血糖管理と糖尿病性合併症の発症・進展に

関する研究が幅広く進められているが、入院のうえ頻回のインスリン注射療法による厳格な血糖制御を行っても、糖尿病性腎症では尿細管機能への関与は少なく、糖尿病性神経症についても自律神経機能の改善はみられず、糖尿病性網膜症に対しては
5 インスリン1日1回投与では改善例はみられずむしろ悪化する例が多く、インスリン頻回注射群でも改善例よりも悪化する例の方が多数であったと報告している（河盛隆造、「医学のあゆみ」、156, 1034, 1991）。現在、糖尿病性合併症に対する対策が糖尿病治療の最も重要な課題であり、糖尿病性
10 合併症の予防・治療薬の開発が期待されている。

糖尿病性合併症の発症に関しては高血糖に基づく代謝異常を基本に種々の要因が複雑に関与するものと考えられており、それらの要因のうち特に、ミクロアングリオパチイに関してはポリオール代謝とグリケイションが重要であるとされている。ポリ
15 オール代謝に関しては、そのアルドース還元酵素が高血糖下で活性化され組織内にソルビトールが蓄積し糖尿病性神経障害の発症に重要な役割を果たしていると考えられており、アルドース還元酵素阻害剤としてエパルスタットが知られている。しかし、
20 グリケイション阻害剤については未だ有効な治療剤は開発されるには至っていない。

グリケイションはメイラード反応とも言われ、グリケイションを受けた糖化蛋白は腎基底膜肥厚の原因の一つと考えられており、糖化蛋白のレンズ内の核、皮膜への蓄積は糖尿病性網膜症の重要な原因になると考えられている。グリケイションは蛋白
25 白と還元糖との非酵素的な結合反応によりシッフ塩基を作り、

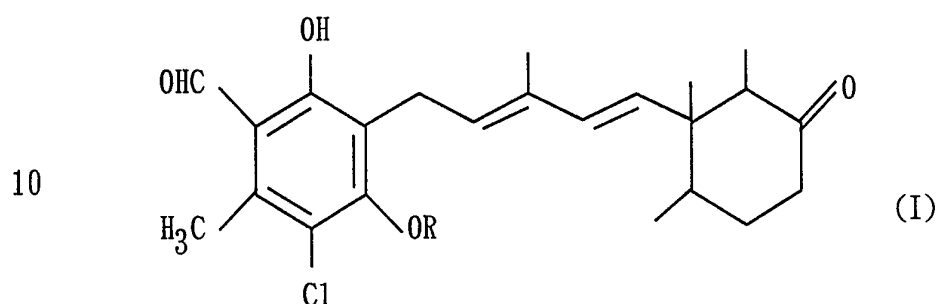
それがアマドリ転位してケトアミンを作る。ここまでの反応はメイラード反応の初期段階と考えられている。このアマドリ化合物ははゆっくりと脱水、転位反応を繰り返し、メイラード反応後期段階へ移行する。初期段階化合物の酸加水分解物の一つにフロシンが、後期段階化合物の一つにペントシジンが知られている。フロシンは糖尿病患者と実験的糖尿病モデル動物の座骨神経、腎臓、腱、水晶体等の組織内含量が著しく増加していることが報告されている (V o l g t. 「D i a b e t e s」、3 1, 1 1 2 3, 1 9 8 2、増田省吾、「糖尿病」、3 4, 5 7 6, 1 9 9 1)。ペントシジンは糖尿病患者の皮膚コラーゲンならびに水晶体の組織内含量が増加していることが報告されている (M o n n i e r. 「P r o c. N a t l. A c a d. S c i.」、8 1, 5 8 3, 1 9 8 4, S e l l. 「J. C l i n. I n v e s t.」、8 5, 3 8 0, 1 9 9 0)。グリケイション反応産物の初期段階化合物の一部は、治療による血糖値の低下に伴って正常化するが、後期段階化合物は高血糖状態が改善されてもグリケイション反応産物は正常化しないとされており (B r o w n l e e. 「N. E n g l. J. M e d.」、3 1 8, 2 0, 1 9 8 8)、非可逆的なグリケイション反応産物の組織内への蓄積は糖尿病性合併症の発症・進展に関与しているとされている。

上述したように、糖尿病性合併症の予防及び治療薬として、グリケイション阻害剤は有用であると考えられるが、これまでに有効なグリケイション阻害剤は開発されていなかった。

25 **【発明の開示】**

本発明はグリケイションを阻害し組織内糖化蛋白の蓄積を軽減し糖尿病性合併症、具体的には糖尿病性神経症、糖尿病性腎症、糖尿病性網膜症の予防及び治療に役立たせようとするものである。

- 5 本発明は一般式（I）で表されるアスコクロリン誘導体を有効成分とするグリケイション阻害剤に関する。

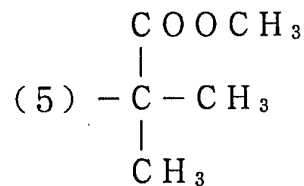
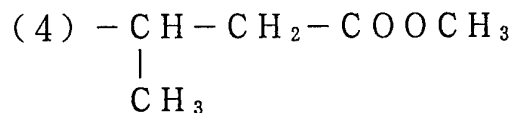
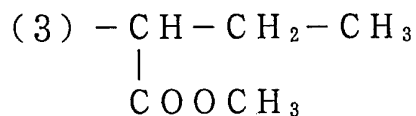
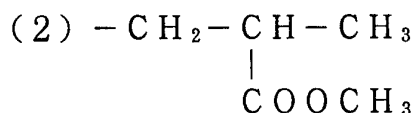
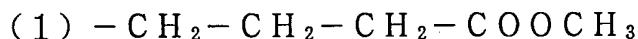


- 15 式中Rは水素原子、 $-(C_nH_{2n})-R'$ （nは1～5の整数、R'は水素原子又はn個の炭素原子のいずれか1つに置換されている基COOR''、ここでR''は水素原子又は炭素数1～3のアルキル基を意味する）か、又は $-COR'''$ （R'''はピリジル基、炭素数1～3で置換されたアミノ基、核にハロゲン原子を有するフェノキシアルキル基又は核に炭素数1～3のアルコキシ基あるいは炭素数1～3のアルコキシカルボニル基を有するフェニル基を意味する）を示す。
- 20

- アスコクロリンは本発明者らによって糸状菌 *Ascochyta visia* の生産物より見いだされた抗生物質である（特許第585252号明細書参照）。その誘導体に関しては
- 25 製法ならびに血糖低下作用が特公平1-41624号公報なら

びに特公平3-6138号公報に記載されている。本発明者は糖尿病性合併症に対して高血糖状態とは相対的に独立して、深く関与しているグリケイションの阻害作用をアスコクロリンならびにその誘導体について検討を行った結果、上記一般式(I)に示す化合物に優れたグリケイション阻害作用を *in vivo* 及び *in vitro* 実験において発見した。

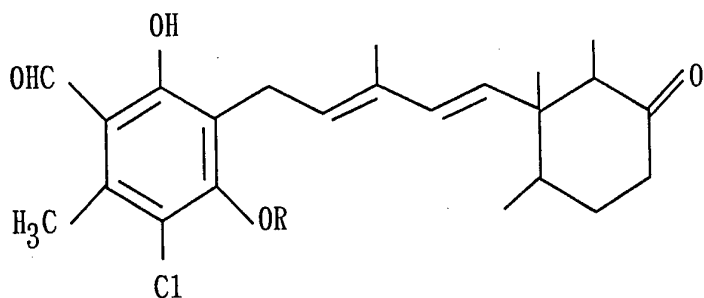
一般式(I)において、Rが $-(C_nH_{2n})-R'$ であって、R'が基 $COOR''$ (R''は水素原子又は炭素数1~3のアルキルを意味する)である場合、R'すなわち $COOR''$ の置換位置はn個の炭素原子のうちのいずれであっても良いことを意味する。また、 $-(C_nH_{2n})-$ は直鎖であっても分枝鎖であってもいずれでも良い。例えば、 $n=3$ 、 $R''=CH_3$ である場合、 $-(C_nH_{2n})-COOR''$ は次の5通りの組合わせがある(但し、光学異性体を除く)。



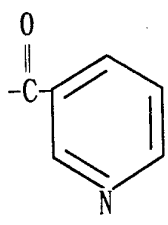
上記のうち(2)～(4)には更に光学活性体が存在し、このような光学活性体もラセミ体とともに本発明の範囲に包含される。なお、R''が炭素数1～3のアルキル基を意味する場合で炭素数が3であるときは、n-プロピル基、イソプロピル基のいずれであっても良い。

R'が-COR'''であって、R'''がピリジル基である場合、ピリジル環上におけるCOの置換位置は2位、3位、4位のいずれであっても良い。また、R'''が、炭素数1～3のアルキル基で置換されたアミノ基である場合、モノアルキル置換、ジアルキル置換のいずれでも良く、炭素数が3であるときは、n-プロピル基、イソプロピル基のいずれであっても良い。R'''が核にハロゲン原子を有するフェノキシアルキル基である場合、ハロゲン原子はF、Cl、Br、Iのうちから選択され、ハロゲン置換基の数は1～3個であり、その置換基の位置はいずれであっても良い。このフェノキシアルキル基におけるアルキルの炭素数は1～5であって、直鎖でも分枝鎖でも良い。更に、R'''が核に炭素数1～3のアルコキシ基あるいは炭素数1～3のアルコキシカルボニル基を有するフェニル基である場合、炭素数が3であるときは、n-プロピル基、イソプロピル基のいずれであっても良く、これらのアルコキシ基あるいはアルコキシカルボニル基のフェニル環上の置換位置はいずれであっても良い。

一般式(I)で示される化合物のうち、代表的な化合物を以下に示す。



(I)

	R	化合物名
1	-H	アスコクロリン
2	-CH ₃	4-O-メチルアスコクロリン
3	-CH ₂ COOH	4-O-カルボキシメチルアスコクロリン (AS-6)
4	$\begin{array}{c} \text{-CH}_2 \\ \\ \text{COOCH}_3 \end{array}$	4-O-メトキシカルボニルメチル アスコクロリン
5	$\begin{array}{c} \text{-CH-CH}_3 \\ \\ \text{COOC}_2\text{H}_5 \end{array}$	4-O-(1-エトキシカルボニル) エチルアスコクロリン
6		4-O-ニコチノイルアスコクロリン

上記以外に特に望ましいRの具体例としては次の置換基を挙げることができる。

- $-\text{C}_2\text{H}_5$, $-(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$,
 $-(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $-(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$,
5 $-(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $-(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$,
 $-\text{CH}(\text{COOH})\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$,
 $-(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$, $-(\text{CH}_2)_5\text{COOH}$,
 $-\text{CH}_2\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-\text{CH}_2\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$,
 $-(\text{CH}_2)_2\text{COOCH}_3$, $-\text{CH}(\text{COOCH}_3)\text{CH}_3$,
10 $-(\text{CH}_2)_2\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-(\text{CH}_2)_2\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$,
 $-(\text{CH}_2)_3\text{COOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_3\text{COOC}_2\text{H}_5$,
 $-(\text{CH}_2)_3\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$, $-(\text{CH}_2)_4\text{COOCH}_3$,
 $-(\text{CH}_2)_4\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-(\text{CH}_2)_4\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$,
 $-(\text{CH}_2)_5\text{COOCH}_3$, $-(\text{CH}_2)_5\text{COOC}_2\text{H}_5$,
15 $-(\text{CH}_2)_5\text{COO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$, イソニコチノイル、
 $-\text{NHCH}_3$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{NHC}_2\text{H}_5$, $-\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$,
 $-\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$, $-\text{N}[(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3]_2$,
 $-\text{NHCH}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{N}[\text{CH}(\text{CH}_3)_2]_2$, 2-クロロフェ
ノキシメチル, 4-クロロフェノキシメチル, 2, 4-ジクロ
20 ロフェノキシメチル, 2-ブロモフェノキシメチル, 4-ブロ
モフェノキシメチル, 2-クロロフェノキシエチル, 4-クロ
ロフェノキシエチル, 2, 4-ジクロロフェノキシエチル, 2
-ブロモフェノキシエチル, 4-ブロモフェノキシエチル, 2
-クロロフェノキシn-プロピル, 4-クロロフェノキシn-
25 プロピル, 2-クロロフェノキシイソプロピル, 4-クロロフェ

ノキシソプロピル, 2-クロロフェノキシn-ブチル, 4-
クロロフェノキシn-ブチル, 2-メトキシフェニル, 2-エ
トキシフェニル, 2-n-プロポキシフェニル, 4-メトキシ
フェニル, 4-エトキシフェニル, 4-n-プロポキシフェニ
5 ル, 2, 4-ジメトキシフェニル, 2, 4-ジエトキシフェニ
ル, 2, 4-ジ-n-プロポキシフェニル, 2-メトキシカル
ボニルフェニル, 2-エトキシカルボニルフェニル, 4-メト
キシカルボニルフェニル, 4-エトキシカルボニルフェニル。

【発明を実施するための最良の形態】

10 本発明のこれらのアスコクロリンならびにその誘導体のグリ
ケイション反応物ケトアミンの酸加水分解産物フロシン生成に
対する効果を検討するために *in vitro* 実験として牛血
清アルブミンとグルコースを含む反応液にアスコクロリンなら
びにその誘導体を添加して長期間培養し、フロシン量を測定す
15 るとともに、*in vivo* 実験としてストレプトゾトシン糖
尿病ラットにアスコクロリン誘導体 4-O-カルボキシメチル
アスコクロリン (AS-6) を1カ月間投与、各組織における
フロシン量を測定した。また、ペントシジン生産に対する影響
を検討するためにリボース、アルギニン、リジンを含む反応液
20 にアスコクロリンならびにその誘導体を添加して4または8日
間培養しペントシジン量を測定した。その結果、アスコクロリ
ンならびにその誘導体はフロシンおよびペントシジンの生産を
抑制しグリケイション反応阻害作用が認められた。これにより
糖尿病性合併症、例えば糖尿病性神経症、糖尿病性腎症、糖尿
25 病性網膜症に対するアスコクロリンならびにその誘導体の予防・

治療効果が期待される。

また、4-0-メチルアスコクロリンを糖尿病性合併症を発症した糖尿病患者に12週間経口投与した結果、糖尿病腎症、糖尿病神経症が著しく改善された。

- 5 本発明の医薬の用量は病態の種類、症状等によって異なるが例えば、注射の場合は成人1日1人当たり5～100mg、経口投与の場合には30～3000mg、坐薬の場合には50～1000mgで目的を達することができる。本発明の化合物は単独で用いても良いが、通常はアルカリで中和して水に溶解したり、懸濁液、賦形剤又はその他の補助剤と混合して非経口投与及び経口投与に適する剤形として製剤することが好ましい。好ましい製剤としては、例えば注射剤、粉剤、顆粒剤、錠剤、糖衣錠、丸錠、カプセル剤、坐剤等が挙げられる。これらの製剤は常法により、例えば賦形剤又は補助剤として、乳糖、蔗糖、
10 種々の澱粉、ぶどう糖、セルローズ、メチルセルローズ、カルボキシメチルセルローズ、ステアリン酸マグネシウム、ラウリル硫酸塩、タルク、植物油、レシチンならびにこれらの2種以上の混合物等を用いて製造される。

【実施例】

- 20 フロシンの定量は0.4mlの血清に0.1mlの40%トリクロロ酢酸を加えて、遠心分離した後、沈殿物を2mlの8%トリクロロ酢酸で2回洗浄し、95℃、30時間加水分解を行った。組織はクロロホルム-メタノール混液にてホモジナイズし、抽出液を除去後、6N塩酸を加え95℃で、30時間反応させ、その反応液10～20μlを高速液体クロマトグラフィ
25

ーに注入した。高速液体クロマトグラフィーは東ソーHLC-803D、カラムはODS-80T（東ソー）を用いた。7m
1リン酸を溶媒とし、流速1ml/min、280nmで測定
するとフロシンは注入後4.2分に検出され、フロシン量はそ
5 の面積で表示した（老耄宗忠、糖尿病、28, 1119, 1985）。

ペントシジンの定量はリボース、アルギニン、リジンを含む
反応液にアスコクロリンならびにその誘導を添加し4または8
日間培養した。反応終了後にその10 μ lを高速液体クロマト
10 グラフィーに注入した。測定機器、カラム、溶媒はフロシン定
量と同様で検出は蛍光（Exc. 335nm, Emi. 385
nm）で測定した。ペントシジンは注入後14分後に検出され、
ペントシジン量はその面積で表示した（Gradheer, J.
Biol. Chem. 266, 11649, 1991）。

15 以下に本発明の実施例を示すが、本発明はこれらの実施例に
何ら限定されるものではない。

[実施例1]

25mg/mlの牛血清アルブミンに400mMのグルコー
スを加え、アスコクロリンならびにその誘導体を1.2mg/
20 mlの割合で添加し、37℃、10日間培養し、生成したフロ
シンを高速液体クロマトグラフィーで測定した。結果は表1に
示した。

【表 1】

	フロシン
対 照 群	401523±16192
5 アスコクロリン	285606±19159
	-28.9% **
4-0-メチルアスコクロリン	303766±19210
	-24.3% **
4-0-ニコチノイルアスコクロリン	328446±16233
10	-18.2% *
4-0-カルボキシメチルアスコクロリン	276427±17352
(AS-6)	-31.2% **
平均値±標準誤差 * p < 0.05 ** p < 0.01	

15 結果は表 1 に示すようにアスコクロリンならびにその誘導体
はいずれもフロシンの生成を有意に抑制した。

[実施例 2]

25 mg/ml の牛血清アルブミンに 400 mM のグルコースを加え、AS-6 は DMSO に溶解して 1 mg/ml 添加し、
20 37℃、5, 10 日間培養、生成したフロシンを高速液体クロマトグラフィーで測定した。結果は表 2 に示した。

【表 2】

フロシン		
5 日目		
5	無添加群	387325±7586
	A S - 6	292779±14159
		-24.4% **
10 日目		
10	無添加群	549598±28869
	A S - 6	435365±38178
		-20.8% **
平均値±標準誤差 ** p < 0.01		

結果は表 2 に示すように A S - 6 はフロシンの生成を有意に抑制した。

〔実施例 3〕

25 mg / ml の牛血清アルブミンに 400 mM のグルコースを加え、A S - 6 は DMSO に溶解して 0.1, 0.4, 1.6 mg / ml 添加、37℃で培養し、生成したフロシンを高速液体クロマトグラフィーで測定した。結果は表 3 に示した。

【表 3】

			フロシン
7 日目			
5	無添加群		225688±9402
	A S - 6	1.6m g / m l	170368±14937
			-24.5% **
		0.4	176715±8412
			-21.7% **
10		0.1	195972±12144
			n s
1 4 日目			
	無添加群		373437±20444
	A S - 6	1.6m g / m l	284977±24765
15			-23.7% **
		0.4	287363±13195
			-23.0% **
		0.1	329003±20911
			n s
20	平均値±標準誤差 ** p < 0.01		

結果は表 3 に示したように 7 日目、1 4 日目ともに A S - 6、
0.4 m g / m l 以上の濃度でフロシン生成を有意に抑制した。

[実施例 4]

25 ウイスターラットにストレプトゾトシン (S T Z) を 5 5 m

g / k g 静脈内投与し、同時に A S - 6 の 0 . 1 % 混合飼料を
1 カ月間与えて飼育し、血中ならびに組織中フロシンを測定し
た。結果は表 4 に示した。

【表 4】

5

10

	血中グルコ ース	血中フルク トサミン	血中フロシン 面積 / m l	座骨神経 フロシン 面積 / m g	腎臓フロシン 面積 / m g
	m g / d l	μ m o l e / l	面積 / m l	面積 / m g	面積 / m g
STZ-対照群	604.8 $\pm$ 11.5	218.1 $\pm$ 5.3	113272 $\pm$ 3014	14843 $\pm$ 615	12492 $\pm$ 730
STZ-AS-6	492.6 $\pm$ 35.3	183.3 $\pm$ 4.9	88611 $\pm$ 2526	11394 $\pm$ 578	8652 $\pm$ 959
	-18.6% **	-16.0% **	-21.8% **	-23.2% **	-30.7% **
正常-対照群	119.4 $\pm$ 6.6	131.6 $\pm$ 2.1	42086 $\pm$ 2111	2205 $\pm$ 185	2702 $\pm$ 259
	-80.3% **	-39.7% **	-62.8% **	-85.1% **	-78.4% **
平均値 $\pm$ 標準誤差 ** p < 0. 0 1					

15

20

結果は表 4 に示したように S T Z 投与対照群の血糖値は正常
対照群に比べて 5 . 1 倍に上昇したが、A S - 6 投与により血
糖値は 1 9 % 低下し、フルクトサミン値は 6 6 % 上昇したが、
A S - 6 投与により 1 6 % 低下した。S T Z 投与対照群の血中
フロシン値は正常対照群に比べて 2 . 7 倍上昇したが、A S -
6 投与により 2 2 % 低下した。S T Z 投与対照群の座骨神経中、
腎臓中フロシン量は正常対照群に比べてそれぞれ 6 . 7 倍、 4 .
6 倍に増加したが、A S - 6 投与によりそれぞれ 2 3 % , 3 1
% 減少した。

[実施例 5]

25

各 1 0 m M のリボース、アルギニン、リジンを含む反応液に
アスコクロリンならびにその誘導体 1 m g / m l を添加して、

8日間培養し、生成したペントシジンを高速液体クロマトグラフィーで測定した。結果は表5に示した。

【表5】

5	ペントシジン	
	対照群	608457±24314
	アスコクロリン	0
	4-O-メチルアスコクロリン	119248±4821
		-80.4% **
10	4-O-カルボキシメチルアスコクロリン	0
	(AS-6)	
	平均値標準誤差 ** p < 0.01	

結果は表5に示すように、アスコクロリンとAS-6はペントシジンの生成を100%抑制し、4-O-メチルアスコクロリンは80.4%抑制した。

[実施例6]

10mMのリボース、アルギニン、リジンを含む反応液に4-O-カルボキシメチルアスコクロリン(AS-6)を1000, 500, 200, 20μl/ml添加して、4, 8日間培養し、高速液体クロマトグラフィーで生成したペントシジンを測定した。結果は表6に示した。

【表 6】

		ペントシジン	
		4 日	8 日
5	対照群	310249±6061	507788±18683
	A S - 6 1000 μ g/ml	0	0
	500 μ g/ml	0	0
	100 μ g/ml	70743±1191	65840±2382
		-77.2% **	-87.0% **
10	20 μ g/ml	232877±17514	301744±21269
		-24.9% **	-40.6% **

平均値±標準誤差 ** p < 0. 0 1

表 6 から明らかなように、A S - 6 の 1 0 0 0 , 5 0 0 μ g / m l 添加では 4 日目、8 日目ともにペントシジンの生成を 1 0 0 % 抑制した。1 0 0 , 2 0 μ g / m l 添加でも有意に抑制した。

【実施例 7】

4 - O - メチルアスコクロリン 1 2 0 m g を毎食後 3 回、糖尿病患者 1 6 人（このうち神経症自覚症状（神経痛、知覚低下等）あり：1 2 人、自覚症状なし：4 人）に 1 2 週間投与し、神経症に対する改善効果を検討した。結果は表 7 に示した。

【表 7】

	0 週	4 週	8 週	1 2 週
5 症状なし	4	9	1 0	1 4
症状あり	1 2	7	6	2

4-0-メチルアスコクロリン投与によって神経症の自覚症状は経時的に改善され、“症状あり”は12人から12週後には2人に減少した。

10 【実施例 8】

4-0-メチルアスコクロリン120mgを毎食後3回、糖尿病患者30人に12週間投与し、尿の生化学検査を行い腎症に対する改善結果を検討した。結果は表8に示した。

【表 8】

	投与前	投与後
15 尿沈渣	陽性 5 例	消失 2 例 改善 3 例
尿蛋白	+++ 1 例	0 例
	++ 3 例	2 例
20 +	7 例	5 例
±	0 例	2 例
-	0 例	2 例
多 尿	症状なし 0 例	2 9 例
	症状あり 3 0 例	1 例

4-O-メチルアスコクロリン12週間投与によって腎症は著しく改善された。

【産業上の利用可能性】

前記一般式(I)で表される化合物は、優れたグリケイション反応阻害作用を示すので、糖尿病性神経症、糖尿病性腎症、糖尿病性網膜症等の糖尿病性合併症に対する予防薬あるいは治療薬として有用である。

10

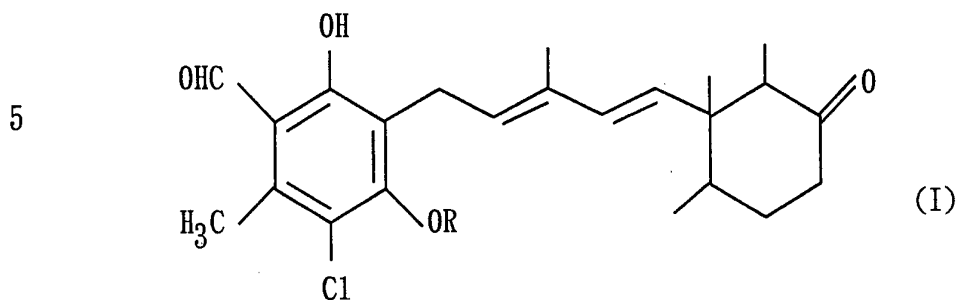
15

20

25

請 求 の 範 囲

1. 一般式 (I)



10 [式中Rは水素原子、 $-(C_nH_{2n})-R'$ (nは1~5の整数、R'は水素原子又はn個の炭素原子のいずれか1つに置換されている基COOR"、ここでR"は水素原子又は炭素数1~3のアルキル基を意味する)か、又は $-COR'''$ (R'''は

15 ピリジル基、炭素数1~3で置換されたアミノ基、核にハロゲン原子を有するフェノキシアルキル基又は核に炭素数1~3のアルコキシ基あるいは炭素数1~3のアルコキシカルボニル基を有するフェニル基を意味する)を示す]で表されるアスコクロリン及びその誘導体を1種又は2種以上有効成分として含有するグリケイション阻害剤。

20 2. 糖尿病性神経症、糖尿病性腎症、糖尿病性網膜症の群から選ばれる疾患の予防及び治療のための請求項1記載のグリケイション阻害剤。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/01249

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁵ A61K31/12, 31/19, 31/22, 31/44

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 A61K31/12, 31/19, 31/22, 31/44

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)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Chemical Abstracts, Vol. 106, No. 19, Refer to Abstract No. 149241u, Arterialsclerosis, Vol. 14, No. 3, p. 609-17 (1986)	1, 2
A	Chemical Abstracts, Vol. 98, No. 9, Refer to Abstract No. 65305w, Agric, Biol, Chem., Vol. 46, No. 11, p. 2865-9	1, 2
A	JP, A, 3-291220 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), December 20, 1991 (20. 12. 91), (Family: none)	1, 2
A	EP, A, 74628 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), March 23, 1983 (23. 03. 83), & JP, A, 58-43938 & JP, A, 58-69860 & US, A, 4500544 & US, A, 4542143	1, 2

☒ 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 4, 1993 (04. 11. 93)

Date of mailing of the international search report

November 22, 1993 (22. 11. 93)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP93/01249

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, B, 45-9832 (Hajime Arima), April 9, 1970 (09. 04. 70), (Family: none)	1, 2

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ A 61K 31/12, 31/19, 31/22, 31/44

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.⁸ A 61K 31/12, 31/19, 31/22, 31/44

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)

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	Chemical Abstracts, Vol 106, No 19, 要約番号 149241u 参照, 動脈硬化, Vol 114, No 3, p 609-17 (1986)	1, 2
A	Chemical Abstracts, Vol 98, No 9, 要約番号 65305w 参照, Agric. Biol. Chem., Vol 46, No 11, P 2865-9	1, 2
A	JP. A. 3-291220 (中外製薬株式会社),	1, 2

☒ 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

04.11.93

国際調査報告の発送日

22.11.93

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)

穴 吹 智 子

4 C 8 4 1 3

電話番号 03-3581-1101 内線

3453

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
A	20. 12月. 1991 (20. 12. 91) (ファミリーなし) EP, A, 74628 (中外製薬株式会社), 23. 3月. 1983 (23. 03. 83) & JP, A, 58-43938 & JP, A, 58-69860 & US, A, 4500544 & US, A, 4542143	1, 2
A	JP, B, 45-9832 (有馬 啓), 9. 4月. 1970 (09. 04. 70) (ファミリーなし)	1, 2