

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2008-520681

(P2008-520681A)

(43) 公表日 平成20年6月19日 (2008.6.19)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 D 277/06 (2006.01)	C 0 7 D 277/06	4 C 0 3 3
A 6 1 K 31/425 (2006.01)	A 6 1 K 31/425	4 C 0 8 6
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 O 1	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 17 頁)		

(21) 出願番号 特願2007-543186 (P2007-543186)
 (86) (22) 出願日 平成17年11月16日 (2005.11.16)
 (85) 翻訳文提出日 平成19年5月16日 (2007.5.16)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2005/041458
 (87) 国際公開番号 W02006/055597
 (87) 国際公開日 平成18年5月26日 (2006.5.26)
 (31) 優先権主張番号 10/990,933
 (32) 優先日 平成16年11月17日 (2004.11.17)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

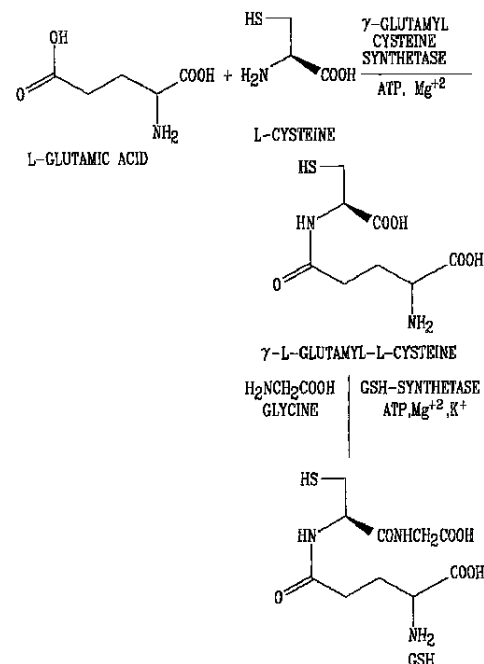
(71) 出願人 507160403
 バイオシューティカルズ, インコーポレ
 イテッド
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 902
 75, ランチョ パロス ベルデス,
 パーチフィールド アベニュー 2643
 9
 (74) 代理人 100078282
 弁理士 山本 秀策
 (74) 代理人 100062409
 弁理士 安村 高明
 (74) 代理人 100113413
 弁理士 森下 夏樹

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 細胞におけるグルタチオンの送達およびATPレベルを増強することによって低酸素症を処置するためのリボース-システインの使用

(57) 【要約】

治療方法が提供され、この方法は、低酸素症に供している哺乳動物を一定量の2(R,S)-D-リボ-(1',2',3',4'-テトラヒドロキシブチル)チアゾリジン-4(R)-カルボン酸(RibCys)またはその薬学的に受容可能な塩で処置して、その組織におけるATPレベルおよびグルタチオン(GSH)レベルの両方を維持し、かつ回復または増加させる工程を包含する。本発明は、低酸素状態(低酸素症)に脅かされているか、または低酸素状態(低酸素症)に苦しむ哺乳動物を処置するための方法を提供する。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

低酸素状態に脅かされているか、または低酸素状態に苦しむ哺乳動物において低酸素症を処置するために、A T P レベルおよびグルタチオンレベルの両方を維持、回復または増加させるために有効な医薬を調製するための、R i b C y s またはその薬学的に受容可能な塩の使用。

【請求項 2】

前記低酸素症が虚血性発作に起因する、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 3】

前記虚血性発作が、心臓外科手術、臓器移植、血管形成またはステント留置術の間に生じる、請求項 2 に記載の使用。

【請求項 4】

前記虚血性発作が、心血管疾患、心筋症、気絶心筋、末梢血管疾患、間欠跛行、頻脈または虚血性再灌流に起因する、請求項 2 に記載の使用。

【請求項 5】

前記低酸素症が、感受性、身体的体重圧力、敗血症、脳卒中、外科的手順、熱傷、肺機能不全、身体運動または慢性疾病に起因する、請求項 1 に記載の使用。

【請求項 6】

低酸素症に供している哺乳動物を、その組織における A T P レベルおよびグルタチオン (G S H) レベルの両方を維持、回復または増加させるために有効な一定量の 2 (R , S) - D - リボ - (1 ' , 2 ' , 3 ' , 4 ' - テトラヒドロキシブチル) チアゾリジン - 4 (R) - カルボン酸 (R i b C y s) またはその薬学的に受容可能な塩で処置する工程を包含する、治療方法。

【請求項 7】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 6 に記載の方法。

【請求項 8】

前記 R i b C y s が経口投与される、請求項 6 または 7 に記載の方法。

【請求項 9】

前記 R i b C y s が非経口投与される、請求項 6 または 7 に記載の方法。

【請求項 10】

前記 R i b C y s が、静脈内投与または腹腔内投与される、請求項 9 に記載の方法。

【請求項 11】

前記哺乳動物が、虚血性発作に供されていたか、虚血性発作に供しているかまたは虚血性発作に供される、請求項 6 または 7 に記載の方法。

【請求項 12】

前記組織が心血管組織である、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記組織が心筋組織である、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記虚血性発作が、心臓外科手術、臓器移植、血管形成またはステント留置術の間に生じる、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 15】

前記 R i b C y s 溶液が、心臓の心室に直接注入されるか、または静脈内に注入される、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】

前記虚血が、心血管疾患、心筋症、気絶心筋、末梢血管疾患、間欠跛行、頻脈または虚血性再灌流に起因する、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 17】

前記低酸素症が、感受性、身体的体重圧力、敗血症、脳卒中、外科的手順、熱傷、肺機能不全、身体運動または慢性疾病に起因する、請求項 6 または 7 に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 18】

前記体重圧力が圧迫潰瘍を生じる、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記慢性疾病がウイルス感染に起因する、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 20】

前記ウイルス感染が、HCMV、HIV または EBV に起因する、請求項 19 に記載の方法。

【請求項 21】

前記慢性疾病が細菌感染に起因する、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 22】

前記慢性疾病が癌である、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 23】

低酸素事象の間に哺乳動物の組織においてリボースおよびシステインが上昇するように、低酸素症に対する該哺乳動物の耐性を増大させるために有効な量で RibCys を該哺乳動物に投与する工程を包含する、治療方法。

【請求項 24】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 25】

RibCys が、約 10 グラム ~ 150 グラムの投薬量で投与される、請求項 6、7、23 または 24 に記載の方法。

【請求項 26】

前記 RibCys またはその塩が、前記低酸素事象の発生の少なくとも 5 分前に投与される、請求項 23 に記載の方法。

【請求項 27】

前記 RibCys またはその塩が、投与前の RibCys のインビトロ解離を阻害するために有効な量の遊離リボースを含む液体ビヒクルに投与される、請求項 6、7、23 または 24 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

(発明の背景)

有害なフリーラジカルを発生させる外因性ストレスおよび内因性ストレスに対する哺乳動物細胞の保護機構は、抗酸化補酵素のグルタチオン (GSH) を利用する。GSH は、細胞および細胞小器官の膜の構造的完全性を維持すること、ならびに微小管および高分子の合成において重要である。非特許文献 1 を参照のこと。ラット腎上皮細胞および胃細胞における GSH 合成の刺激は、それぞれ、細胞をシクロホスファミドおよびセロトニンの毒性効果から保護することが見出されている。逆に、グルタチオン合成およびグルタチオン枯渇の阻害は、以下の効果を有することが見出されている：(a) 細胞生存度の減少、(b) 効果および照射に対する細胞の感受性の増加、(c) 過酸化物質細胞溶解に対する腫瘍細胞の感受性の増加、(d) プロスタグランジン E およびロイコトリエン C の合成の減少、ならびに (e) マウスにおけるトリパノソーマ類の選択的破壊。

【0002】

グルタチオン (GSH) の生合成は、2 つの逐次反応を含み、この反応は、図 1 に示されるように、ATP を利用し、酵素である - グルタミルシステインシンターゼおよびグルタチオンシンターゼ (GSH シンターゼ) (3 つの前駆アミノ酸 (L - グルタミン酸、L - システイン、およびグリシン) を用いる) によって触媒される。

【0003】

すべての基質レベルの反応物は、その細胞レベルが非常に低い L - システインを除いて、インビボにおいて酵素飽和濃度付近で生じる。したがって、L - システインが必要とされる第一の反応 (すなわち、- グルタミル - L - システインの合成) は、グルタチオン

10

20

30

40

50

生合成の律速段階である。それゆえ、細胞内 L - システインのアベイラビリティは、G S Hの全体的な生合成において重要な要素である。

【 0 0 0 4 】

ヌクレオチドサルベージ経路を介する A T P の生合成において、組織に存在し得るヌクレオチド前駆物質は A M P に変換され、さらに A T P にリン酸化される。アデノシンは、A M P に直接リン酸化され、一方でキサンチンおよびイノシンは 5 - ホスホリボシル - 1 - ピロホスフェート (P R P P) によってまずリボシル化され、次いで A M P に変換される。

【 0 0 0 5 】

リボースは、通常、食物に非常に少量でのみ見出され、ペントースリン酸経路によって体内で合成される。デノボ合成経路において、リボースは、P R P P にリン酸化され、アデニンと縮合して中間体アデノシンーリン酸 (A M P) を形成する。A M P は、高エネルギー結合を介してさらにリン酸化されて、アデノシン二リン酸 (A D P) および A T P を形成する。

10

【 0 0 0 6 】

エネルギー消費の間、A T P は、1 つの高エネルギー結合を失って、A D P を形成し、この A D P は、A M P に加水分解され得る。A M P およびその代謝産物であるアデニン、イノシンおよびヒポキサンチンは、筋細胞から自由に拡散し得、サルベージ経路を介する A T P への再合成には利用可能できない可能性がある。

20

【 0 0 0 7 】

P R P P のアベイラビリティは、サルベージ経路およびデノボ経路の両方、ならびに A T P へのアデノシンの直接変換の活性を制御するようである。ペントースリン酸経路を介するグルコースからの P R P P の生成は、酵素のグルコース - 6 - リン酸デヒドロゲナーゼ (G 6 P D H) によって制限されるようである。グルコースは、G 6 P D H のような酵素によってリボース - 5 - リン酸に変換され、P R P P にさらにリン酸化され、この P R P P はデノボ経路およびサルベージ経路、ならびにアデノシンの利用を増強する。

【 0 0 0 8 】

多くの状態が低酸素症を生じる。そのような状態は、動脈がアテローム硬化性プラークによって部分的に遮断される冠動脈疾患または末梢血管疾患に起因して組織への血流が減少された場合に、急性または慢性の虚血を含む。特許文献 1 において、虚血の間に心筋において A T P が A M P に加水分解されるとき、A M P がさらにアデノシン、イノシンおよびヒポキサンチンに代謝され、これらは再灌流の際に細胞から失われることが開示されている。A M P の非存在下では、A D P および A T P への再リン酸化は起こり得ない。前駆物質は細胞から洗浄されるので、ヌクレオチドサルベージ経路は A T P レベルを補充するのに利用可能ではない。リボースが静脈内灌流を介して虚血から回復している心臓に投与された場合、A T P レベルの回復が増強されることが開示されている。

30

【 0 0 0 9 】

一過性低酸素症頻発 (t r a n s i e n t h y p o x i a f r e q u e n c y) は、麻酔および / または外科的手順を受けており組織への血流が一時的に遮断されている個体において生じる。末梢血管疾患は、間欠跛行において模倣され得、一時的な動脈痙攣が類似の症状を引き起こす。最後に、激しい身体的運動行っているかまたは高高度に直面している人は低酸素症になり得る。特許文献 2 は、低酸素症に対する耐性は、低酸素事象の前のリボース投与によって増大され得ることを開示する。

40

【 0 0 1 0 】

低酸素症または虚血はまた、G S H を枯渇し得る。例えば、激しい有酸素運動もまた、骨格筋から、そして時折他の器官からも抗酸化物を枯渇し得る。運動は、組織によりエネルギーを発生させるように要求することによって、身体の酸化的負荷を増す。より A T P を作製することはより酸素を使用することを必要とし、これは順に、酸素フリーラジカルのさらなる生成を生じる。ヒトおよび動物における研究は、G S H が運動によって枯渇され、習慣的運動者に対する G S H 前駆物質の補充がパフォーマンスレベルを維持すること

50

において有効であり得ることを示す。非特許文献 2 を参照のこと。

【 0 0 1 1 】

熱傷に由来するような組織損傷、虚血および再灌流、外科手術、敗血症性ショック、または外傷もまた、組織 G S H を枯渇し得る。例えば、非特許文献 3、非特許文献 4、非特許文献 5、非特許文献 6、非特許文献 7、非特許文献 8 および非特許文献 9 を参照のこと。

【 0 0 1 2 】

哺乳動物細胞への L - システインの送達、その細胞にこの生化学的 G S H 前駆物質を供給することによって G S H レベルを上昇し得ると仮定されている。しかし、システイン自体は、哺乳動物に投与された場合、神経毒であり、迅速に分解される。以前の研究において、N - アセチル - L - システイン、L - 2 - オキソチアゾリジン - 4 - カルボキシレート、ならびに 2 (R , S) - n - プロピル - , 2 (R , S) - n - ペンチルおよび 2 (R , S) - メチル - チアゾリジン - 4 R - カルボキシレートが、肝毒性用量のアセトアミノフェンからマウスを保護し得ることが示された。非特許文献 1 0 および A , M e i s t e r ら、特許文献 3 を参照のこと。L - 2 - オキソチアゾリジン - 4 - カルボキシレートは、酵素の 5 - オキソ - L - プロリナーゼによって L - システインに変換される。図 2 に示されるように、式 1 の化合物 (例えば、式中 R = C H ₃) は、L - システイン (2) のプロドラッグ形態として機能し、非酵素的開環および加水分解によってこのスルフヒドリルアミノ酸を遊離する。しかし、L - システインを得るための解離は、必ず等モル量のアルデヒド (3) (R C H O) を放出する。R が芳香族残基またはアルキル残基である場合

10

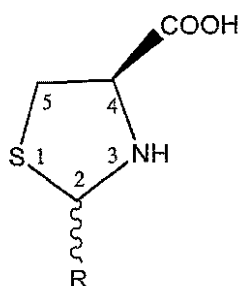
20

【 0 0 1 3 】

特許文献 4 は、哺乳動物細胞を式 (I) の化合物の有効量と接触させることによってその細胞におけるグルタチオンの生合成を刺激する工程を包含する方法を開示し、

【 0 0 1 4 】

【 化 1 】



(1)

30

ここで、R は、(C H O H) _n C H ₂ O H であり、n は 1 ~ 5 である。n が 3 である化合物は、2 (R , S) - D - リボ - (1 ' , 2 ' , 3 ' , 4 ' - テトラヒドロキシブチル) チアゾリドン - 4 (R) - カルボン酸 (リボース - システイン、R i b C y s) である。インビボ投与後、R i b C y s は、非酵素的加水分解によってシステインを放出する。R i b C y s は、アセトアミノフェン誘発性肝毒性および腎毒性から保護するのに有効であることが示されている。非特許文献 1 1。R i b C y s はまた、放射線傷害から大腸および小腸を保護し得る。非特許文献 1 2。これらの保護効果は、G S H 生合成の刺激に起因し、これが細胞内 G S H を上昇させると考えられている。しかし、G S H の生合成を駆動するために必要な A T P の貯蔵およびその前駆物質が枯渇した低酸素状態に供された哺乳動物組織において細胞内 G S H 貯蔵を回復または維持するための方法に対する必要性が存在する。

40

【特許文献 1】米国特許第 4 , 7 1 9 , 2 0 1 号明細書

【特許文献 2】米国特許第 6 , 2 1 8 , 3 6 6 号明細書

【特許文献 3】米国特許第 4 , 3 3 5 , 2 1 0 号明細書

【特許文献 4】米国特許第 4 , 8 6 8 , 1 1 4 号明細書

50

【非特許文献1】C. D. Klassen, Fundamental and Applied Toxicology, 5, 806 (1985)

【非特許文献2】L. L. Ji, Free Rad. Biol. Med., 18, 1079 (1995)

【非特許文献3】K. Yagi, Lipid Peroxides in Biology and Medicine, Academic Press, N.Y. (1982), 223 ~ 242 頁

【非特許文献4】A. Blaustein, Circulation, 80, 1449 (1989)

【非特許文献5】H. B. Demopoulos, Pathology of Oxygen, A. P. Autor 編, Academic Press, N.Y. (1982) 127 ~ 128 頁

【非特許文献6】J. Vina, Brit. J. Nutr., 68, 421 (1992)

【非特許文献7】C. D. Spies, Crit. Care Med., 22, 1738 (1994)

【非特許文献8】B. M. Lomaestro, Annals. Pharmacother., 29, 1263 (1995)

【非特許文献9】P. M. Kidd, Alt. Med. Res., 2, 155 (1992)

【非特許文献10】H. T. Nagasawa, J. Med. Chem., 27, 591 (1984)

【非特許文献11】A. M. Lucus, Toxicol. Pathol., 28, 697 (2000)

【非特許文献12】M. P. Carroll, Dis. Colon Rectum, 38, 716 (1995)

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

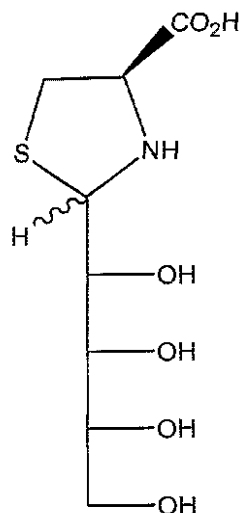
【0015】

(発明の要旨)

本発明は、低酸素状態（低酸素症）に脅かされているか、または低酸素状態（低酸素症）に苦しむ哺乳動物を処置するための方法を提供し、この方法は、その哺乳動物の組織における低酸素症に対抗するのに有効な、式 Ia :

【0016】

【化2】



(Ia)

の化合物 (Rib Cys) またはその薬学的に受容可能な塩の有効量を投与する工程を包

含する。本発明はまた、低酸素状態（低酸素症）に脅かされているか、または低酸素状態（低酸素症）に苦しむ哺乳動物（例えば、ヒト）を処置するために有用な医薬を調製するための、式 I（a）の化合物またはその塩の使用を提供する。

【0017】

上述のように、低下したグルタチオンレベルは多くの低酸素状態に関与しているが、そのような状態を防止するか、そのような状態に対抗するか、または他の方法でそのような状態を処置するための R i b C y s またはその塩の使用は報告されていない。システインのような G S H 前駆物質を単に投与することは、A T P 貯蔵の枯渇が G S H の生合成に対する阻害に寄与する場合、低酸素症の多くの例に有効ではないと考えられる。システインについてのプロドラッグとして機能するのと同様に、有効量の R i b C y s の投与は、一定量のリボースを A T P が枯渇した組織に送達し得、これが A T P のインピボ合成を刺激し、また N A D P H（ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリリン酸、還元型）の合成を刺激し得る。この補酵素は、グルタチオンレダクターゼに電子を供給し、これは順に G S S G を介して酸化型 G S H を有利の G S H に再利用し、これは細胞において抗酸化酵素の補因子としてその役割を再開する。必要に応じて、化合物（I a）は、さらなる量の遊離のリボースとともに投与され得る。必要に応じて、化合物 I（a）を含む医薬は、さらなる量の遊離のリボースを含み得る。好ましくは、投与は、経口投与（特に、予防的または前負荷状況において）によるが、注射（i n j e c t i o n）または注入（i n f u s i o n）によるような非経口投与がいくつかの状況で必要であり得る。

10

20

【発明を実施するための最良の形態】

【0018】

（発明の詳細な説明）

本明細書で使用される場合、用語 R i b C y s とは、2（R，S）-D-リボ-（1'，2'，3'，4'-テトラヒドロキシブチル）チアゾリジン-4（R）-カルボン酸、ならびに（I a）の 2 R または 2 S 鏡像異性体、およびその薬学的に受容可能な塩をいう。そのような塩としては、カルボン酸部分のアルカリ金属塩、および N H 部分の安定な酸付加塩（無機酸および有機酸の両方の塩（例えば、クエン酸塩、リンゴ酸塩、グルコン酸塩、グルタミン酸塩、塩酸塩、硫酸塩など）を含む）が挙げられる。

【0019】

本明細書で使用される場合、用語「低酸素症」または「低酸素状態」は、哺乳動物の 1 以上の組織における酸素が生理学的レベルよりも下に（例えば、最適レベル未満に）下げられる状態を意味すると定義される。低酸素症はまた、ストレス（例えば、有酸素運動、身体的重量圧力、麻酔、外科手術、貧血、急性呼吸促進症候群、慢性疾患、慢性疲労症候群、外傷、熱傷、皮膚潰瘍、がんおよび他の異化状態に起因する悪疫質など）に起因して組織において酸素レベルが下げられる状態を含む。低酸素症はまた、血管の狭窄または遮断に起因するような血流の減少に起因して組織が酸素を喪失する「虚血」または「虚血性状態」を含む。虚血および/または虚血性状態としては、冠動脈疾患、心筋症（アルコール性心筋症を含む）、血管形成、ステント留置術、心臓外科手術（例えば、バイパス手術または心臓修復手術（「心臓切開手術」））、臓器移植、組織への長期の重量圧力（褥瘡性潰瘍または褥瘡）、移植された臓器もしくは組織に損傷をもたらし得る虚血再灌流傷害などによって引き起こされるものが挙げられる。本発明は、低酸素症に起因する G S H 枯渇および A T P 枯渇を処置するのに有効であり、したがって、低酸素状態の根底にある問題（例えば、ウイルス感染もしくは細菌感染、細菌毒素もしくは他の毒素への曝露、赤血球数の減少、加齢、癌または継続的な運動）に影響を及ぼさないが、被験体のエネルギーレベル強度および福利を増大するのに有効である。

30

40

【0020】

用語「処置する」または「処置」は、本明細書で使用される場合、健常者および慢性疾患もしくは急性疾患に苦しむ患者の両方に対する R i b C y s 投与の効果、および保護効果を誘導すること、ならびに過去もしくは継続している低酸素状態の少なくとも 1 つの症状を減少させることを含む。

50

【0021】

RibCysの有効量は、処置されるべき患者の状態、年齢および体重、処置されるべき状態ならびに投与の様式に依存して変化する。システイン（インビボで動物モデルにおいてRibCysから放出された場合）およびリボース（ヒト被験体に直接投与された場合）のいずれも、広範な投薬量範囲にわたって本質的に無毒性であることが見出されている。例えば、リボースは、成人1人あたり8～10g/日の投薬量で経口摂取した場合に、健常なヒト被験体における運動能力を増大させることが報告されている。米国特許第6,5334,480号明細書を参照のこと。8mmol/kg i.p.でマウスに投与されたRibCysは、多くの器官でグルタチオンレベルを増加させた（心臓（1.5倍）および筋組織（2.5倍））。J.C.Roberts, Toxicol. Lett., 59, 245 (1991)。同様に、8mmol/kgでのRibCysは、保護有効量のシステインをシクロホスファミドに曝露されたマウスに送達することが見出されている。この用量は、約70～80gのリボースおよび約60～70gのシステインを成人のヒトに送達し得る。J.C.Roberts, Anticancer Res., 14, 383 (1994)を参照のこと。2g/kg RibCysの用量は、A.M.Lucasら、Toxicol. Pathol., 20, 697 (2000)によって、アセトアミノフェン肝毒性および腎毒性からマウスを保護することが報告された。1g/kg RibCysの用量は、放射線誘発性腸傷害からマウスを保護することが報告された（J.K.Roweら、Dis. Colon Rectum, 36, 681, (1993)）。J.E.Fuher（米国特許第4,719,201号）は、少なくとも5日間の約3g/日のリボース用量が、虚血に供されたイヌ（心臓発作モデル）においてATPレベルを効果的に回復し、維持したことを報告した（送達された用量は30kgのイヌに対して約550～700mg/kgである）。

10

20

30

【0022】

臨床的实施において、これらの化合物、およびその薬学的に受容可能な塩は、薬学的に受容可能なキャリアと組み合わせて活性成分を含む薬学的単位投薬形態の形態で投与され得、そのキャリアは、固体、半固体もしくは液体の希釈剤であり得る。化合物の単位投薬量はまた、キャリア物質を伴わずに投与され得る。薬学的調製物の例としては、錠剤、散剤、カプセル剤、水性液剤、濃縮物を含む懸濁剤、リボソーム、および他の徐放性処方物、ならびに経皮送達形態が挙げられるが、これらに限定されない。代表的に、単位投薬形態は、約0.001～99%の活性物質を含む。

【0023】

化合物は、任意の適切な手段（例えば、局所的手段、経口的手段、非経口的手段）によって送達され得る。好ましくは、送達形態は、液体または固体（例えば、摂取可能な液体に攪拌され得る粉末）である。局所組成物、経口組成物または非経口組成物のための標準的な薬学的キャリアが使用され得、それらの多くは、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Paに記載されている。

【0024】

例えば、経口投与について、適切な薬学的キャリアまたは希釈剤は、マンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、滑石、グルコース、および炭酸マグネシウムを含み得る。経口組成物は、錠剤、カプセル剤、散剤、液剤、懸濁剤、持続放出处方物などの形態であり得る。典型的な錠剤またはカプセル剤は、40～99%のラクトース、1～2%のステアリン酸マグネシウム、および10～20%のコーンスターチを活性物質（好ましくは、約0.001～20%）とともに含み得る。水性液剤は、飽和レベルまでのRibCysまたはその塩を、好ましくは早発性インビトロ解離を防止または阻害するために有効である一定量の添加されたりボースとともに含み得る。

40

【0025】

非経口投与について、適切な薬学的キャリアとしては、水、生理食塩水、デキストロース、ハanks溶液、リンガー溶液、グリセルロールなどが挙げられ得る。非経口組成物は

50

、懸濁剤、液剤、乳化剤などの形態であり得る。非経口投与は、通常、注射または注入によってであり、皮下、筋内または静脈内であり得る。

【実施例】

【0026】

(実施例1)

2(R, S) - D - リボ - 1', 2', 3', 4', - テトラヒドロキシブチルチアゾリジン - 4(R) - カルボン酸 (RibCys)

この化合物を、R. Bognarら、Z. Liebig's Ann. Chem., 738, 68 (1970) (この開示は参考として本明細書に援用される) によって記載されるように、リボース (Rib) を用いて合成した。生成物を回収して、4.71g (92.2% 収率) の淡黄色物質を得た (mp 149 ~ 151、dec. []_D²⁵ - 103.1° (c = 0.52、H₂O); IR (KBr) 3220 (br、OH、COO⁻)、1610 cm⁻¹ (COO⁻))。

10

【0027】

(実施例2)

L - システインプロドラッグおよびブチオニンスルホキシミン (BSO) による阻害による単離されたラット肝細胞におけるグルタチオン生合成の刺激

ラット肝細胞を、P. O. Seglen, Exper. Cell Res., 74, 450 (1972) にしたがって単離した。最後のプレーティングの後、肝細胞を使用する前に培養物中で維持した。初代培養物のみを、研究の全体にわたって使用した。肝細胞をシステインプロドラッグのNACおよび(Ia)とともに4時間インキュベートし、吸引によって培地を除去した後、細胞を冷リン酸緩衝化生理食塩水でリンスし、5% スルホサリチル酸でタンパク質を除去した。総GSH含量 (GSH + GSSG) を、F. Tietze, Anal. Biochem., 27, 502 (1969) のDTNB [5, 5' - ジチオビス (2 - ニトロ安息香酸)] グルタチオンレダクターゼ再利用法の改変形によって決定した。サンプル中のGSH濃度を、そのサンプルの循環率を決定すること (412 nm / 分でのOD) によって定量した。BSOによる阻害研究のために、細胞をL - システインプロドラッグでの処理前にBSO (0.20 mM) に予め曝露した。

20

【0028】

結果を以下の表1に示す：

30

【0029】

【表1】

表1

L-システインプロドラッグとのインキュベーション後のラット肝細胞の グルタチオン[GSH]含量の増加			
システインプロドラッグ	濃度 (mM)	[GSH] ± SE (nmol/10 ⁶ 細胞)	コントロールに対する [GSH]
コントロール(なし)	-	35.4 ± 0.75	1
RibCys (Ia)	1.0	61.2 ± 1.52	1.7
N-アセチル-L-システイン (NAC)	2.5	45.8 ± 1.27	1.3

40

表1から理解され得るように、RibCysはこれらの肝細胞においてコントロールと比べてGSHレベルを約1.7倍上昇させた。N - アセチル - L - システイン (NAC) (アセトアミノフェン過剰投与の臨床的処置のために現在使用される薬物) もまた、この系においてGSHレベルを30%上昇させたが、匹敵する上昇のために2.5倍のチアゾ

50

リジンプロドラッグ濃度が必要であった。(L. F. Prescottら、Brit. Med. J., 2, 1097 (1979); B. J. Lautenbourgら、J. Clin. Invest., 71, 980 (1983)およびG. B. Corcoranら、J. Pharmacol. Exp. Ther., 232, 864 (1985)を参照のこと)。

【0030】

GSH生合成がプロドラッグからの生化学的前駆物質であるL-システインの遊離によって刺激されたことは、0.20 mMのブチオニンスルホキシイミン(BSO)の存在下で行われた実験によって示された。O. W. Griffithsら、J. Biol. Chem., 254, 7558 (1979)は、BSOがγ-グルタミルシステインシンターゼ(この酵素はGSH生合成の第一の工程を触媒することに関与する)の特異的インヒターであることを示している。以下の表2に要約されたデータは、GSHレベルがRibCysの存在下でさえこのインヒターによって低下したことを示し、したがって観察されたGSHレベルの増加が実際にチアゾリジンプロドラッグによって提供されたL-システインからのデノボGSH生合成に起因する証拠を提供する。

10

【0031】

【表2】

表2

ラット肝細胞においてL-システインプロドラッグによって誘発されるGSH上昇におけるブチオニンスルホキシイミン(BSO)の阻害効果

20

プロドラッグ (1.0 mM)	BSO (0.2 mM)	[GSH] ± SE (nmol/10 ⁶ 細胞)	コントロールに対する [GSH]
なし(コントロール)	-	35.4 ± 0.78	1.0
なし	+	18.4 ± 2.08	0.5
RibCys (1a)	+	16.2 ± 3.60	0.5
N-アセチル-L-システイン	+	25.5 ± 1.59	0.7

30

。

【0032】

(実施例3)

RibCysは心臓および筋肉組織においてGSHを上昇させる

J. C. Robertsら、Toxicol. Lett., 59, 245 (1991)によって報告されたように、RibCysは、腫瘍を有するCDF1マウスの多くの器官においてグルタチオン(GSH)レベルを首尾よく上昇させた。GSH含量を、RibCys投与(8 mmol/kg, i.p.)の1時間後、2時間後、4時間後、8時間後および16時間後にアッセイした；種々の器官は様々な時点で最大GSH含量を達成した。肝臓中のGSHは、16時間の時点で無処理のコントロールと比べて1.5倍上昇した。腎臓GSHもまた、16時間で最大であり、コントロール値の1.6倍を達成した。筋肉中のGSHは、コントロール動物の2.5倍のレベルを達成し、一方で膀胱は、2.1倍上昇し、心臓は1.8倍であった。試験した他の組織(脾臓、膵臓、肺)は、GSH含量において1.1倍および1.2倍の増加を示した。移植したL1210腫瘍におけるGSHもまた、わずか1.2倍上昇した。

40

【0033】

(実施例4)

50

全心筋虚血 (global myocardial ischemia) 後の作動しているイヌ心臓の回復

J . E . F o k e r (米国特許第 4 , 6 0 5 , 6 4 4 号) の実施例 1 ~ 2 に報告されるように、ノーマルな (0 . 9 %) 生理食塩水中のリボースの希釈溶液がイヌモデルにおいて心筋虚血後の A T P 回復時間を減少させるのに有効であることが見出された。例えば、リボースで 8 0 m M であるノーマルな生理食塩水の約 1 m l / 分の速度での約 2 4 . 0 時間の注入により、A T P 回復時間が 8 分の 1 に減少した。この処置期間の間、約 1 7 . 0 g のリボースを循環系に導入した ; 総用量は体重 1 k g あたり約 5 5 0 ~ 7 7 0 m g のリボースであった。所定のヒト被験体における A T P レベルおよび心機能の最適な回復のために適切な用量は、A T P レベル、心機能などについての公知のアッセイを含む経験的な研究によって、容易に確立され得る。

10

【 0 0 3 4 】

米国特許第 4 , 6 0 5 , 6 4 4 号の実施例の研究は、遊離のリボースを含む溶液を用いて心臓の虚血後のエネルギー回復を増強することに向けられていたが、本発明の方法は、システイン / リボースプロドラッグの R i b C y s もまた低酸素症 (例えば、抗酸化剤増強および A T P 回復が役立つ虚血性発作) を患った任意の組織または器官に適用可能であると考えられることを利用する。これらの状況としては、心筋梗塞、脳卒中、臓器保存を伴う臓器移植、新生児サポート (neonatal support) 、複数臓器系不全、循環不全をもたらすショックおよび外傷などが挙げられるが、これらに限定されない。多くの場合、無併発性の一般的な麻酔でさえ、ある程度の低酸素症を生じ得、付随的な浸潤性医学的手順は外傷を負った組織においてフリーラジカルの構築をもたらし得る。同様に、回復期または健常な固体における有酸素運動は、A T P 枯渇および環境の酸化剤からのフリーラジカルの構築をもたらし得る。したがって、本発明は、それにより正常な A T P レベルを迅速に回復し維持するように低酸素組織が処置されて、組織の生存度が改善されかつ一般的な身体的回復を促進し得る方法を提供する。

20

【 0 0 3 5 】

すべての公報、特許および特許出願は、本明細書で参考として援用される。上記の明細書において本発明はその特定の好ましい実施形態に関して記載され、多くの詳細が例示目的のために示されてきたが、本発明がさらなる実施形態を許容し得ること、および本明細書で記載された特定の詳細が本発明の基本理念から逸脱することなく大幅に変更され得ることは当業者に明らかである。

30

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 3 6 】

【 図 1 】 図 1 は、L - グルタミン酸からのグルタチオン (G S H) の代謝合成を示す。

【 図 2 】 図 2 は、システインおよびアルデヒドを得るための式 I の化合物のインビボ解離を示す。

【圖 2】



FIG. 2

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ational application No

/US2005/041458

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER A61K31/426 A61P9/10 A61P43/00		
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) A61K		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data, PASCAL, SCISEARCH		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 6 218 366 B1 (ST. CYR JOHN ET AL) 17 April 2001 (2001-04-17) cited in the application the whole document	1-27
Y	EP 0 257 992 A (YAMANOUCHI PHARMACEUTICAL CO. LTD) 2 March 1988 (1988-03-02) page 2, line 38 - line 41 example 3 ----- -/-	1-27
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> 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. "G" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
23 February 2006		24/03/2006
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Albrecht, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ational application No
/US2005/041458

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	ROBERTS J C ET AL: "PRODRUGS OF L-CYSTEINE AS PROTECTIVE AGENTS AGAINST ACETAMINOPHEN-INDUCED HEPATOTOXICITY, 2-(POLYHYDROXYALKYL)- AND 2-(POLYACETOXYALKYL)THIAZOLIDINE-4(R)-CARBOXYLIC ACIDS" JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, US, vol. 30, 1987, pages 1891-1896, XP001019184 ISSN: 0022-2623 abstract page 1893, column 2	1-27
Y	ROBERTS J C ET AL: "TIME COURSE FOR THE ELEVATION OF GLUTATHIONE IN NUMEROUS ORGANS OF L1210-BEARING CDF1 MICE GIVEN THE L CYSTEINE PRODRUG RIBCYS" TOXICOLOGY LETTERS (SHANNON), vol. 59, no. 1-3, 1991, pages 245-252, XP002369286 ISSN: 0378-4274 cited in the application the whole document	1-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

ational application No.
PCT/US2005/041458

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 6-27
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 6-27 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

/US2005/041458

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6218366	B1	17-04-2001	AU 4575299 A	05-01-2000
			CA 2334415 A1	23-12-1999
			CN 1306431 A	01-08-2001
			EP 1087779 A2	04-04-2001
			JP 2002518321 T	25-06-2002
			NZ 508478 A	31-10-2003
			WO 9965476 A2	23-12-1999
			US 6159942 A	12-12-2000
EP 0257992	A	02-03-1988	DE 3781064 D1	17-09-1992
			DE 3781064 T2	17-12-1992
			JP 63152325 A	24-06-1988

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72)発明者 ナガサワ, ハーバート ティー.

アメリカ合衆国 カリフォルニア 92603, アーバイン, ジンジャーウッド 22

Fターム(参考) 4C033 AB04 AB20

4C086 AA01 AA02 BC82 MA01 MA04 NA14 ZA36 ZA59 ZC51