

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成19年1月25日(2007.1.25)

【公表番号】特表2002-529414(P2002-529414A)

【公表日】平成14年9月10日(2002.9.10)

【出願番号】特願2000-580624(P2000-580624)

【国際特許分類】

C 07D 417/06	(2006.01)
A 61K 8/49	(2006.01)
A 61K 8/00	(2006.01)
A 61Q 19/00	(2006.01)
A 61K 31/431	(2006.01)
A 61K 31/4439	(2006.01)
A 61K 31/454	(2006.01)
A 61K 31/4709	(2006.01)
A 61K 31/496	(2006.01)
A 61K 31/5377	(2006.01)
A 61K 31/541	(2006.01)
A 61K 31/55	(2006.01)
A 61P 9/14	(2006.01)
A 61P 13/12	(2006.01)
A 61P 17/00	(2006.01)
A 61P 27/02	(2006.01)
C 07D 277/20	(2006.01)
C 07D 277/22	(2006.01)

【F I】

C 07D 417/06	
A 61K 7/00	D
A 61K 7/48	
A 61K 31/431	
A 61K 31/4439	
A 61K 31/454	
A 61K 31/4709	
A 61K 31/496	
A 61K 31/5377	
A 61K 31/541	
A 61K 31/55	
A 61P 9/14	
A 61P 13/12	
A 61P 17/00	
A 61P 27/02	
C 07D 277/20	
C 07D 277/22	

【手続補正書】

【提出日】平成18年11月10日(2006.11.10)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【書類名】明細書

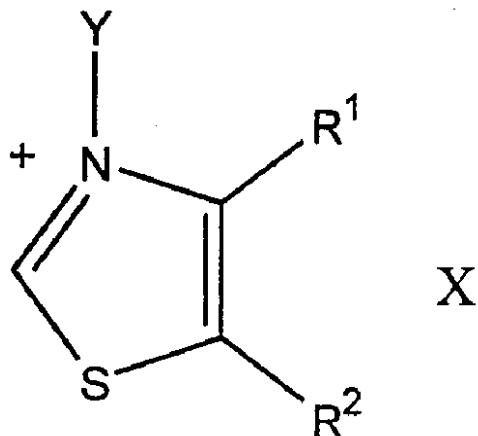
【発明の名称】複素環置換チアゾリウム塩を使用する進行したグリコシル化架橋物の逆転

【特許請求の範囲】

【請求項1】

式

【化1】



〔式中〕

$R^1$ 及び $R^2$ は、独立に水素、及びヒドロキシリ基置換されることもあるアルキル基からなる群から選択される。

$Y$ は式 $-CH_2C(=O)-R$ の基であり、ここで $R$ は、4~10員環の酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される1~3個のヘテロ原子を含有したアルキレンジオキシアリール以外の複素環基であり、該複素環基はアルキル、オキソ、アルコキシカルボニルアルキル、アリール及びアラルキルからなる群から選択される1以上の置換基によって置換されることもある複素環基であり、そして該1以上の置換基は1以上のアルキル又はアルコキシ基で置換されることもあるか、又は

$Y$ は式 $-CH_2C(=O)-NR'$ の基であり、ここで $R'$ は、4~10員環の酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される1~3個のヘテロ原子を含有したアルキレンジオキシアリール以外の複素環基であり、該複素環基は1以上のアルコキシカルボニルアルキル基で置換されることもあり、

$X$ は製薬上受け入れられるイオンである。]の化合物類からなる群から選択される化合物の製薬上有効量；及び

該化合物の為の製薬上受け入れられる担体；  
を含む、動物に投与するための製剤組成物。

【請求項2】

$Y$ が式 $-CH_2C(=O)R$ の基であり、アルキル、アルキレン及びアルコキシ基が6個までの炭素原子を含む請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

複素環基が、アゼビニル、アゾニル、ヘキサメチレンイミノ、イミダゾリル、イソキサゾリル、フェニルイソキサゾリル、モルホリニル、チオモルホリニル、ピペリジニル、ホモピペリジニル、ピペラジニル、ピリジル、ピリミジニル、テトラヒドロキノリル、ピロリジニル、チアゾリル、チアゾリニル、チエニル、チオナフテニル、チオフェニル、又は1,2,4-トリアゾリルである請求項2に記載の組成物。

【請求項4】

$Y$ が、

3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]、

3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-(2-(2-フラニル)-2-オキソエチル)、  
 3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)、  
 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)、  
 3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)、  
 3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)、  
 3-[2-(4-[2-メトキシフェニル]-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-(2-(オクタヒドロ-1-アゾシニル)-2-オキソエチル)、  
 3-(2-(2-ピリジニル)-2-オキソエチル)、  
 3-[2-(2-メチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(2,6-ジメチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、及び  
 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]からなる群から選択される請求項3に記載の組成物。

## 【請求項5】

化合物が、  
 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-チアゾリウム、  
 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4-メチル-5-(2-ヒドロキシエチル)-チアゾリウム、  
 3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(1-ピペリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(2-フラニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
 3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4-メチル-5-ヒドロキシエチルチアゾリウム、  
 3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(4-[2-メトキシフェニル]-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、

または

3-[2-(4-ベンジル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムの塩である請求項4に記載の組成物。

## 【請求項6】

Yが式 - C H<sub>2</sub> C ( = O ) - N H R'の基であり、アルキル、アルキレン及びアルコキシ基が6個までの炭素原子を含む式を化合物が有している、請求項1に記載の組成物。

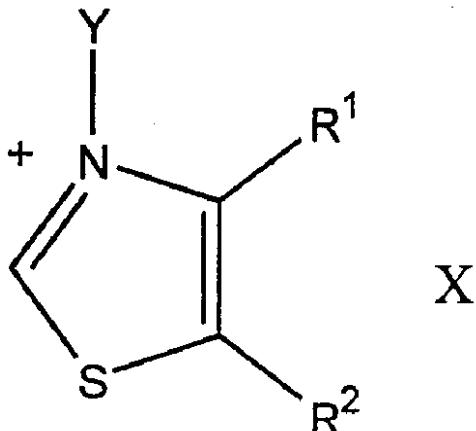
【請求項7】

化合物が、3-[2-[4-(2-エトキシ-2-オキソエチル)-2-チアゾリル]アミノ-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム塩である請求項6に記載の組成物。

【請求項8】

式

【化2】



〔式中

R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、独立に水素、及びヒドロキシリ基置換されることもあるアルキル基からなる群から選択され、

Yは式 - C H<sub>2</sub> C ( = O ) - Rの基であり、ここでRは、4~10員環の酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される1~3個のヘテロ原子を含有したアルキレンジオキシアリール以外の複素環基であり、該複素環基はアルキル、オキソ、アルコキカルボニルアルキル、アリール及びアラルキルからなる群から選択される1以上の置換基によって置換されることもある複素環基であり、そして該1以上の置換基は1以上のアルキル又はアルコキシ基で置換されることもあるか、又は

Yは式 - C H<sub>2</sub> C ( = O ) - N H R'の基であり、ここでR'は、4~10員環の酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される1~3個のヘテロ原子を含有したアルキレンジオキシアリール以外の複素環基であり、該複素環基は1以上のアルコキカルボニルアルキル基で置換されることもあり、

Xは製薬上受け入れられるイオンである。]の化合物類からなる群から選択される化合物の有効量を含有する、動物の糖尿病又は糖尿病の悪い余病を処置するための組成物。

【請求項9】

Yが式 - C H<sub>2</sub> C ( = O ) Rの基であり、アルキル、アルキレン及びアルコキシ基が6個までの炭素原子を含むものである請求項8に記載の組成物。

【請求項10】

複素環基が、アゼピニル、アゾシニル、ヘキサメチレンイミノ、イミダゾリル、イソキサゾリル、フェニルイソキサゾリル、モルホリニル、チオモルホリニル、ピペリジニル、ホモピペリジニル、ピペラジニル、ピリジル、ピリミジニル、テトラヒドロキノリル、ピロリジニル、チアゾリル、チアゾリニル、チエニル、チオナフテニル、チオフェニル、又は1,2,4-トリアゾリルである請求項8に記載の組成物。

【請求項11】

Yが、

- 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、

3-(2-(2-フラニル)-2-オキソエチル)、  
 3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)、  
 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)、  
 3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)、  
 3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)、  
 3-[2-(4-[2-メトキシフェニル]-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-(2-(オクタヒドロ-1-アゾシニル)-2-オキソエチル)、  
 3-(2-(2-ピリジニル)-2-オキソエチル)、  
 3-[2-(2-メチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(2,6-ジメチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、及び  
 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]からなる群から選択される請求項  
 10に記載の組成物。

#### 【請求項12】

化合物が、  
 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-チアゾリウム、  
 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4-メチル-5-(2-ヒドロキシエチル)-チアゾリウム、  
 3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(1-ピペリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(2-フラニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
 3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4-メチル-5-ヒドロキシエチルチアゾリウム、  
 3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(4-[2-メトキシフェニル]-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(オクタヒドロ-1-アゾシニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(2-ピリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(2-メチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(2,6-ジメチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 または  
 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムである請求項11に記載の組成物。

#### 【請求項13】

化合物が式-C<sub>n</sub>H<sub>2n</sub>C(=O)-NH<sub>n</sub>R'のY基を有し、アルキル、アルキレン及びアルコキシ基が6個までの炭素原子を含む請求項8に記載の組成物。

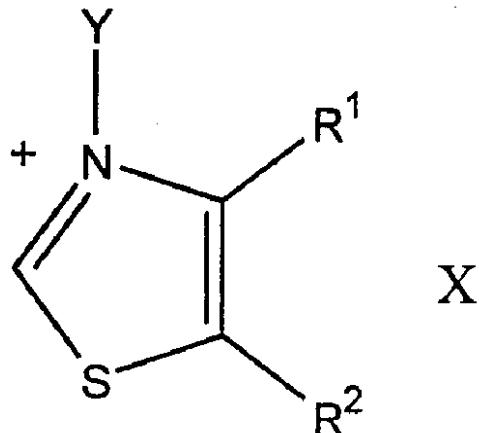
#### 【請求項14】

化合物が、3-[2-[4-(2-エトキシ-2-オキソエチル)-2-チアゾリル]アミノ-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライドまたは他の生物学的に許容される塩である、請求項13に記載の組成物。

【請求項15】

式

【化3】



〔式中

R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、独立に水素、及びヒドロキシリ基置換されることもあるアルキル基からなる群から選択され、

Yは式-C H<sub>2</sub>C(=O)-Rの基であり、ここでRは、4~10員環の酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される1~3個のヘテロ原子を含有したアルキレンジオキシアリール以外の複素環基であり、該複素環基はアルキル、オキソ、アルコキシカルボニルアルキル、アリール及びアラルキルからなる群から選択される1以上の置換基によって置換されることもある複素環基であり、そして該1以上の置換基は1以上のアルキル又はアルコキシ基で置換されることもあるか、又は

Yは式-C H<sub>2</sub>C(=O)-NHR'の基であり、ここでR'は、4~10員環の酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される1~3個のヘテロ原子を含有したアルキレンジオキシアリール以外の複素環基であり、該複素環基は1以上のアルコキシカルボニルアルキル基で置換されることもあり、

Xは製薬上受け入れられるイオンである。〕の化合物類からなる群から選択される化合物の有効量、およびその担体を含む、哺乳類の腎臓の損傷、血管系損傷の治療、皮膚の弾力改良又は皺の減少、又は水晶体の損傷の治療をするための組成物。

【請求項16】

Yが式-C H<sub>2</sub>C(=O)Rの基であり、アルキル、アルキレン及びアルコキシ基が6個までの炭素原子を含む請求項15に記載の組成物。

【請求項17】

複素環基が、アゼビニル、アゾシニル、ヘキサメチレンイミノ、イミダゾリル、イソキサゾリル、フェニルイソキサゾリル、モルホリニル、チオモルホリニル、ピペリジニル、ホモピペリジニル、ピペラジニル、ピリジル、ピリミジニル、テトラヒドロキノリル、ピロリジニル、チアゾリル、チアゾリニル、チエニル、チオナフテニル、チオフェニル、又は1,2,4-トリアゾリルである請求項15に記載の組成物。

【請求項18】

Yが、

- 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、
- 3-(2-(2-フラニル)-2-オキソエチル)、

3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]、

3-[2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル]、

3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]、

3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]、

3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)、

3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)、

3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)、

3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)、

3-[2-(4-[2-メトキシフェニル]-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]、

3-(2-(オクタヒドロ-1-アゾシニル)-2-オキソエチル)、

3-(2-(2-ピリジニル)-2-オキソエチル)、

3-[2-(2-メチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、

3-[2-(2,6-ジメチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、

3-[2-(4-ベンジル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、

及び3-[2-(4-ベンジル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]からなる群から選択される、

請求項17に記載の組成物。

#### 【請求項19】

化合物が、

3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-チアゾリウム、

3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4-メチル-5-(2-ヒドロキシエチル)-チアゾリウム、

3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-(2-(1-ピペリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-(2-(2-フラニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、

3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-[2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4-メチル-5-ヒドロキシエチルチアゾリウム、

3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-[2-(4-[2-メトキシフェニル]-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-(2-(オクタヒドロ-1-アゾシニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-(2-(2-ピリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-[2-(2-メチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-[2-(2,6-ジメチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-[2-(4-ベンジル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、

3-[2-(4-ベンジル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム又は他の生物学的に許容される塩である請求項18に記載の組成物。

#### 【請求項20】

Yが式-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>C(=O)-NHR'の基であり、アルキル、アルキレン及びアルコキシ基が6個までの炭素原子を含む式を化合物が有している請求項17に記載の組成物。

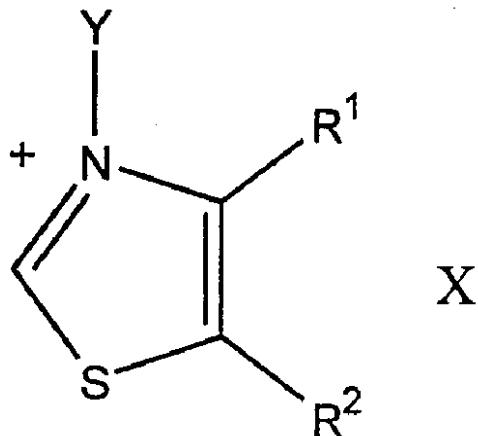
#### 【請求項21】

化合物が、3-[2-[4-(2-エトキシ-2-オキソエチル)-2-チアゾリル]アミノ-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム塩である請求項20に記載の組成物。

## 【請求項 22】

式

## 【化4】



## 〔式中〕

R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、独立に水素、及びヒドロキシリ基置換されることもあるアルキル基からなる群から選択され、

Yは式 - C H<sub>2</sub> C ( = O ) - R の基であり、ここでRは、4～10員環の窒素及び硫黄からなる群から選択される1個のヘテロ原子、又は酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される2～3個のヘテロ原子を含有したアルキレンジオキシアリール以外の複素環基であり、該複素環基はアルキル、オキソ、アルコキシカルボニルアルキル、アリール及びアラルキルからなる群から選択される1以上の置換基によって置換されることもある複素環基であり、そして該1以上の置換基は1以上のアルキル又はアルコキシ基で置換されることもあるが、但しRはフラニルではないことを条件とし、又は

Yは式 - C H<sub>2</sub> C ( = O ) - N H R' の基であり、ここでR'は、4～10員環の酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される1～3個のヘテロ原子を含有したアルキレンジオキシアリール以外の複素環基であり、該複素環基は1以上のアルコキシカルボニルアルキル基で置換されることもあり、

Xは製薬上受け入れられるイオンである。〕の化合物。

## 【請求項 23】

Yが式 - C H<sub>2</sub> C ( = O ) R の基であり、アルキル、アルキレン及びアルコキシ基が6個までの炭素原子を含む式を化合物が有している、請求項22に記載の化合物。

## 【請求項 24】

複素環基が、アゼビニル、アゾシニル、ヘキサメチレンイミノ、イミダゾリル、イソキサゾリル、フェニルイソキサゾリル、モルホリニル、チオモルホリニル、ピペリジニル、ホモピペリジニル、ピペラジニル、ピリジル、ピリミジニル、テトラヒドロキノリル、ピロリジニル、チアゾリル、チアゾリニル、チエニル、チオナフテニル、チオフェニル、又は1,2,4-トリアゾリルである請求項22に記載の化合物。

## 【請求項 25】

Yが、

- 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、
- 3-(2-(2-フラニル)-2-オキソエチル)、
- 3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]、

3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)、  
 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)、  
 3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)、  
 3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)、  
 3-[2-(4-[2-メトキシフェニル]-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-(2-(オクタヒドロ-1-アゾシニル)-2-オキソエチル)、  
 3-(2-(2-ピリジニル)-2-オキソエチル)、  
 3-[2-(2-メチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(2,6-ジメチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、  
 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、及び  
 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]からなる群から選択される請求項  
 2 4 に記載の化合物。

## 【請求項 2 6】

化合物が、  
 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-チアゾリウム、  
 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4-メチル-5-(2-ヒドロキシエチル)-チアゾリウム、  
 3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(1-ピペリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(2-フラニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
 3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4-メチル-5-ヒドロキシエチルチアゾリウム、  
 3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(4-[2-メトキシフェニル]-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(オクタヒドロ-1-アゾシニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-(2-(2-ピリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(2-メチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(2,6-ジメチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム、  
または  
 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムである請求項 2 5 に記載の化合物。

## 【請求項 2 7】

Y が式 - C H<sub>2</sub> C ( = O ) - N H R' の基であり、アルキル、アルキレン及びアルコキシ基が 6 個までの炭素原子を含む式を化合物が有している、請求項 2 2 に記載の化合物。

## 【請求項 2 8】

化合物が、3-[2-(2'-アミノ-5'-カルボエトキシメチレン-チアゾリル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウム塩である請求項 2 7 に記載の化合物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0 0 0 1】

## 【発明の背景（産業上の利用分野）】

本発明は、一般に、グルコース及び他の還元糖との反応から生じる蛋白質の老化、より詳しくは、進行したグリコシル化（グリケーション）最終生成物の形成の結果造られる架橋物を逆転（逆反応）又は解裂することに関する。

#### 【0002】

##### 【従来の技術と発明が解決しようとする課題】

グルコースと蛋白質の間の反応はかなり以前から知られている。一番初期にそれが現われたのは、食物の調理の間に褐色の色素が出現することからであって1912年にメイラードにより同定され、彼はグルコース又は他の還元糖が、アミノ酸と反応してアダクトを形成し、これが一連の脱水素及び解裂を受けて安定な褐色色素を形成することを観察した。更に研究がなされて、貯蔵され熱処理された食品がグルコースとポリペプチド鎖の反応の結果として非酵素的褐変を受けること、蛋白質は結果として架橋されそれに対応して蛋白質は生物への利用性が減少すること、が示唆される。

#### 【0003】

参考により本明細書に取り込まれる係属中の米国出願番号08/588,249出願に於て記載されるように、これらの反応は生体内で類似物（同等物）を有し、水晶体、コラーゲン及び神経蛋白質等の多様な他の生体蛋白質で起きることがわかった。これらの反応は、真性糖尿病を有する人で起きる高グルコース水準の存在下に於て促進されるが、正常なグルコース水準に於ても生体内で起きる。述べられた進行したグリコシル化（又はグリケーション）最終生成物（AGE = advanced glycosylation end products）は、生体内に於ける構造的な蛋白質及びその他の蛋白質を伴う架橋生成物は、例えば結合組織の異常な物理化学的性質につながるのみならず、種々の細胞型上の特異的なレセプターにより認識される新たな化学構造の形成を生じ、それらが認識される結果糖尿病及び老化の併発症につながる病的機構が開始されてしまう。

#### 【0004】

生体内のAGEの蓄積に干渉することに基づく、いくつかの治療方法が成功している。米国特許4,758,583に例示される一つの方法は、参考により本明細書に取り込まれるが、アミノグアニジン及び関連化合物等の薬剤の投与により、前駆体からAGEが形成することを阻害することに関連している。標的蛋白質とグルコースの間の元の反応から生じる初期グリコシル化生成物と反応することにより、これらの薬剤はAGEの形成を封じ、更にAGE及び架橋物が組織中に形成されることを阻害する。この方法の有効性は、大静脈、腎臓、網膜、及び神経系の病理学における陽性の効果を含めた、糖尿病及び老化の数多くの動物モデルにおいて実証されている。これらのデータは、プラッサラ(Vlassara)等, 1994, 「病気の生物学進行したグリコシル化の病原的な効果：糖尿病と老化に対する生化学的、生物学的、及び臨床的な意味」*Laboratory Investigation* 70 : 138-151; ブラウンリー(Brownlee), 1995, 「蛋白質グリケーションの病理学的な意味」, *Clin. Invest. Med.*, 18: 275-281; 及びブラウンリー(Brownlee), 1995, 「糖尿病と老化に於ける進行した蛋白質グリコシル化」, *Ann. Rev. Med.* 46: 223-34によって評論されている。

#### 【0005】

組織、特にAGE架橋物が準臨床的又は臨床的な病気に対する原因である水準に既に蓄積している組織中の、AGEの水準を制御する別の薬理学的な方法に於て、AGE架橋物を逆転又は破壊する薬剤の投与で、巧くいくことが立証されている。米国特許第5,656,261号及び係属中の米国特許出願08/588,249及び08/848,776に記載されるように（これらは全部が参考により本明細書に取り込まれる）、薬剤及び方法は、既存のAGE架橋物をインビトロ（試験管内）及びインビボ（生体内）で逆転するものが開示されている。実験的な糖尿病で促進される老化と関連する心臓血管系の併発症に対するそのような薬剤の陽性の効果は研究により実証されている（ウォルフェンバッテル等, 1998, 「進行したグリケーション最終生成物の破壊者が実験的な糖尿病に於ける大動脈の性質を元通りにする」*Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 95: 4630-4634を参照）。これらの研究に於いて、9週間糖尿病であり、続いて1~3週間AGE破壊化合物の投与を受けたラットは、糖尿病で

誘発される大動脈の強直(stiffness)の増加の逆転を生じた。改良されたパラメーターには、心臓血液搏出量、末梢血管抵抗、全身的な動脈のコンプライアンス、心房の入力インピーダンス、及び頸動脈のコンプライアンスが含まれる。

#### 【0006】

本発明が向けられているのは、AGE架橋物を逆転することが出来る別の薬剤を同定することである。

#### 【0007】

##### 【課題を解決する手段(発明のまとめ)】

本発明に従って、AGE架橋物の逆転の為の化合物及び方法が開示される。生体又は食べ物中に存在する、リボース、ガラクトース、及びフラクトースを含めた他の反応性の糖によって生じるAGE架橋物も本発明の方法及び組成物によって逆転される。

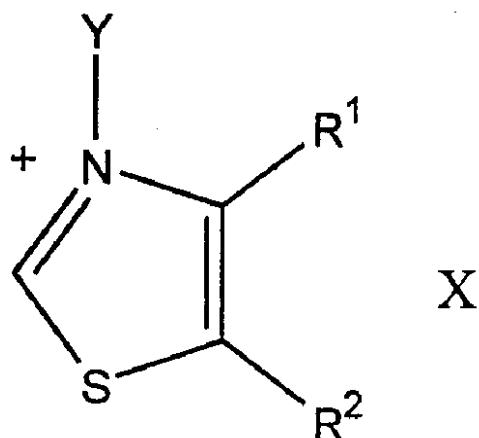
#### 【0008】

本発明に於いて有用な薬剤は、チアゾリウムとして知られている化合物類のメンバーであり、特に複素環基で置換されたチアゾリウム化合物類である。

#### 【0009】

この薬剤類は、次の構造式を有する化合物類からなっている。

#### 【化5】



式中R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、独立に水素、及びヒドロキシル基置換されることもあるアルキル基からなる群から選択され、

Yは式-C H<sub>2</sub>C(=O)-R基であり、ここでRは、4~10員環の酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される1~3個のヘテロ原子を含有したアルキレンジオキシアリール以外の複素環基であり、該複素環基はアルキル、オキソ、アルコキシカルボニルアルキル、アリール及びアラルキルからなる群から選択される1以上の置換基によって置換されることもある複素環基であり、そして該1以上の置換基は1以上のアルキル又はアルコキシ基で置換されることもあるか、又は

Yは式-C H<sub>2</sub>C(=O)-NHR'基であり、ここでR'は、4~10員環の酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される1~3個のヘテロ原子を含有した複素環基であり、該複素環基は1以上のアルコキシカルボニルアルキル基で置換されることもあり、

Xはハライドイオン、トシレートイオン、メタンスルホネートイオン、又はメシチレンスルホネートイオンである。

#### 【0010】

既に形成された進行したグリコシル化生成物を逆転する能力は、進行したグリケーション及びそれに伴う分子架橋が重大な決定因子である全ての用途に於いて重要な意味を持っている。食品技術の分野に於いて、例えば架橋物の解裂は、例えば貯蔵の間にAGEの形成から生じる堅さの増加を逆転する。好ましい具体例に於いて、メイラード工程を逆転することが出来る薬剤の応用はAGE架橋物が体内のかなりの蛋白質塊のいくつかに悪影響を及ぼすので、生体内で特に有益であり、なかでもコラーゲン、エラスチン、水晶体蛋白質、及び腎糸球体の基礎膜に於いて有益である。これらの蛋白質は年齢とともに(従って

用語「蛋白老化」を使用)、そして糖尿病の結果としてより迅速に、悪化していく。従って、これらの蛋白質の架橋物を逆転させる能力、即ち、進行したグリコシル化最終生成物と他の蛋白質との間の体内に存在する架橋物の量を減少させることは、糖尿病及び老化の併発症に対し有効(有望)であり、それにより動物及び人の寿命の質とおそらくは長さとを改良する。

## 【0011】

本発明の更に別の目的は進行したグリコシル化最終生成物中に存在する-ジカルボニルに基づく蛋白質架橋物を解裂することによって、前記の進行したグリコシル化反応経路の結果として形成される進行したグリコシル化最終生成物を逆転させる薬剤を提供することである。

## 【0012】

本発明の更に別の目的は進行したグリコシル化反応に由来する架橋物の逆転又は解離を達成するために、前記の方法及び薬剤に頼ることによって、分子の老化又は蛋白質の老化の悪い結果を処置する治療方法を提供することである。

## 【0013】

本発明の更に別の目的は、本発明の薬剤を有する、製剤組成物を含めた組成物を提供することである。

## 【0014】

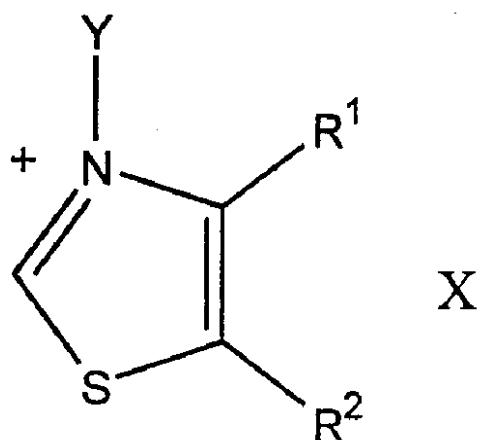
次の記載を考慮することによって、他の目的及び利点は当業者に明らかとなるであろう。

## 【0015】

## 【発明の詳細な記載】

本発明に従って、既に形成されている進行したグリコシル化最終生成物に由来する架橋物(AGE架橋物)を逆転させる薬剤、その薬剤を含有している製剤組成物を含めた組成物、及び関連する方法が記載される。例えば、有用な薬剤は構造式

## 【化6】



を有する化合物を含む。式中R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、独立に水素、及びヒドロキシル基置換されることもあるアルキル基からなる群から選択され、

Yは式-C H<sub>2</sub>C(=O)-R基であり、ここでRは、4~10員環の酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される1~3個のヘテロ原子を含有し、アルキレンジオキシアリール以外である複素環基であり、該複素環基はアルキル、オキソ、アルコキシカルボニルアルキル、アリール及びアラルキルからなる群から選択される1以上の置換基によって置換されることもある複素環基であり、そして該1以上の置換基は1以上のアルキル又はアルコキシ基で置換されることもあるか、又は

Yは式-C H<sub>2</sub>C(=O)-NHR'基であり、ここでR'は、4~10員環の酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される1~3個のヘテロ原子を含有した複素環基であり、該複素環基は1以上のアルコキシカルボニルアルキル基で置換されることもあり、

Xはハライドイオン、トシレートイオン、メタンスルホネトイオン、又はメシチレン

スルホネートイオンである。

#### 【0016】

ここで記載される複素環基は、少なくとも1個、そして3個迄のヘテロ原子、例えば酸素、窒素、又は硫黄、及び種々の不飽和度をその中に有している4~8員環のものを含んでいる。そのような複素環基の代表は、イソキサゾリル、フェニルイソキサゾリル、フラン、モルホリノ、チオモルホリノ、ピリミジニル、ピペリジノ、ホモピペリジノ、ピペラジノ、メチルピペラジノ、ヘキサメチレンイミノ、テトラヒドロキノリル、ピリジル、メチルピリジル、イミダゾリル、ピロリジニル、2,6-ジメチルモルホリノ、フルフリル、1,2,4-トリアゾリル(トリアゾイリル)、チアゾリル、チオフェニル、チアゾリニル、メチルチアゾリルなどのものである。除外されるものは、参照により本明細書に含められる係属中の米国出願番号08/588,249中に記載されるアルキレンジオキシアリール置換基である。

本発明の複素環基は更に、例えばオキソ基で置換することが出来、例えば2-オキソ-テトラヒドロキノリニル基を形成することが出来るか、又は1以上のアルキル、アルコキシカルボニルアルキル、アリール又はアラルキルによって置換されることができ、そしてそのような置換基は更に1以上のアルキル又はアルコキシ基で置換されることが出来る。

#### 【0017】

本発明の化合物のY基の例は、制限するものではないが、次のものを含む。

- 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]、
- 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)、
- 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)、
- 3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)、
- 3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)、
- 3-[2-(4-[2-メトキシフェニル]-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]、
- 3-(2-(オクタヒドロ-1-アゾシニル)-2-オキソエチル)、
- 3-(2-(2-ピリジニル)-2-オキソエチル)、
- 3-[2-(2-メチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(2,6-ジメチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、
- 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]、及び
- 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]。

#### 【0018】

上記のアルキル基は、1から約18個の炭素原子を含有し、例えばメチル、エチル、ブロピル、ブチル、ペンチル、ヘキシル、オクチル、デシル、ドデシル、オクタデシル、及び対応するそれらの分枝鎖異性体類を含む。1~6個の炭素原子の低級アルキル基が好ましい。ヒドロキシル基で置換されることもあるアルキル基としては、任意の位置でヒドロキシル基で置換された前に定義のアルキル基が挙げられ、例えば限定されるものではないが、次の例がある。ヒドロキシメチル、1-ヒドロキシエチル、2-ヒドロキシエチル、1-ヒドロキシプロピル、2-ヒドロキシプロピル、3-ヒドロキシプロピル、6-ヒドロキシヘキシル等。上に定義されたようなヒドロキシ置換低級アルキル基が好ましい。同様に、アルコキシ基は、1~18個の炭素原子を含有し、例えばメトキシ、エトキシ、プロポキシ、ブトキシ、ペントキシ、ヘキソキシ、デコキシ、及びオクタデコキシ、及び対応するそれらの分枝鎖異性体類を含む。約1~約6個の炭素原子の低級アルコキシ基が好ましい。上の式に包含されるアルコキシカルボニルアルキル基には、アルコキシ部分が1~約18個の

炭素原子を含有しアルキル部分が1～約18個の炭素原子を含有するものが含まれる。典型的なアルコキシカルボニル部分は、例えばアセトキシ即ちエタノイロキシ、プロパノイロキシ、ブタノイロキシ、ペンタノイロキシ、ヘキサノイロキシ、デカノイロキシ及びオクタデカノイロキシ及び対応するそれらの分枝鎖異性体類等である。これらの分子の好ましいアルキル部分は1～約6個の炭素原子を有している。

## 【0019】

上の式により包含されるアリール基は、6～10個の炭素原子を含有しているものであり、例えばナフチル、フェニル、及びアルキル又はアルコキシ置換フェニル、例えばトルイル及びキシリルがある。

## 【0020】

本発明の目的には、本発明の化合物は生物学的及び製薬学的に受け入れられる塩として形成される。有用な塩形は、ハライド塩、特にプロマイド塩及びクロライド塩、トシレート塩、メタンスルホネート塩、及びメシチレンスルホネート塩である。同様の無毒の生物学的及び製薬学的に受け入れられる陰イオンを使用して他の関連する塩を形成出来る。

## 【0021】

本明細書に包含される化合物のうち、ある種の置換基が好ましい。例えばR<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>が水素又はアルキル基である化合物が好ましい。また非常に好ましいのは、Yがチオフェニル、チオモルホリニル、フラニル、2-オキソテトラヒドロキノリニル及びピロリジニルの複素環基を有する、2-オキソエチル基である化合物類である。

## 【0022】

上の式に記載されるように、複素環基は、式 - CH<sub>2</sub>C(=O) - RのR基によって表わされるか、又は式 - CH<sub>2</sub>C(=O) - NH R'のR'基によって表わされ得る。本発明の限定されない化合物の代表例は以下のものである。

- 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-チアゾリウムプロマイド、
- 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、
- 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4-メチル-5-(2-ヒドロキシエチル)-チアゾリウムプロマイド、
- 3-[2-[4-(2-エトキシ-2-オキソエチル)-2-チアゾリル]-アミノ-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、
- 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4-メチル-5-(6-ヒドロキシヘキシル)-チアゾリウムプロマイド、
- 3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、
- 3-(2-(1-ピペリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、
- 3-(2-(2-フラニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、
- 3-(2-(2-フラニル)-2-オキソエチル)-4-(2-ヒドロキシペンチル)-チアゾリウムプロマイド、
- 3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、
- 3-[2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、
- 3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、
- 3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、
- 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、
- 3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4-メチル-5-ヒドロキシエチルチアゾリウムプロマイド、
- 3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、
- 3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイ

ド、

3-[2-(4-[2-メトキシフェニル]-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、

3-(2-(オクタヒドロ-1-アゾシニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、

3-(2-(2-ピリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、

3-[2-(2-メチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、

3-[2-(2,6-ジメチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、

3-[2-(4-ベンジル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、

3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4-オクチルチアゾリウムプロマイド、

3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、

3-[2-[4-(2-エトキシ-2-オキソエチル)-2-チアゾリル]-アミノ-2-オキソエチル]-4,5-ジプロピルチアゾリウムクロライド、

3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジオクタデシルチアゾリウムプロマイド、

3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジフェニルチアゾリウムプロマイド、

3-(2-(1-ピペリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジドデシルチアゾリウムプロマイド、

3-(2-(2-フラニル)-2-オキソエチル)-5-デシルチアゾリウムプロマイド、

3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジオクチルチアゾリウムプロマイド、

3-(2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジエチルチアゾリウムプロマイド、

3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジフェニルチアゾリウムプロマイド、

3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-チアゾリウムプロマイド、

3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-チアゾリウムプロマイド、

3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4-メチル-5-(6-ヒドロキシヘキシル)-チアゾリウムプロマイド、

3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)-チアゾリウムプロマイド、

3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジオクチルチアゾリウムプロマイド、

3-(2-(オクタヒドロ-1-アゾシニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジデシルチアゾリウムプロマイド、

3-(2-(2-ピリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジオクチルチアゾリウムプロマイド、

3-[2-(2-メチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジプロピルチアゾリウムクロライド、

3-[2-(2,6-ジメチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4-メチルチアゾリウムクロライド、

3-[2-(4-ベンジル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-5-メチルチアゾリウムクロライド、

3-[2-(4-ベンジル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4-オクチルチアゾリウムクロライド。

【 0 0 2 3 】

上記の化合物類は、蛋白質上の既に形成された進行したグリコシル化最終生成物を逆転させることが出来る。進行したグリコシル化最終生成物の形成による蛋白質の架橋は、他

の蛋白質を捕らえることに寄与し、弾力性の減少や皮膚の皺、ある種の腎臓の病気、アテローム性動脈硬化症、骨関節炎等の症状の生体内に於ける発達を生じる。同様に、非酵素的な褐変を受ける植物及び動物物質を含む食べ物は悪くなり、駄目になるか又は堅くなり、従って食べられなくなるか口に合わなくなるか、又は栄養が豊富でなくなる。従って、この発明に従って用いられる化合物類は、蛋白質物質中に既に存在する進行グリコシル化最終生成物関連架橋物の水準を減少させる。

#### 【0024】

この方法及び組成物は、動物中のものでも植物中のものでもキーとなる蛋白質の老化を逆転させる効果（可能性）を有するものであり、これに伴って、その結果としての経済的且つ医学的な利点の両方を与える。食べ物の場合に於いて、本組成物の投与は、貯蔵している食べ物に生じる物理化学的な変化、例えば、熟成（老化）又は貯蔵の間に生じる肉の堅さが増加すること、を逆転させる可能性を有するものである。

#### 【0025】

本発明の治療的な意味は、老化工程の逆転であるが、老化は前に示したように進行したグリコシル化及び架橋によってキーとなる蛋白質が老化されることが同定され例示されてきた。従って、体の、特に構造的な蛋白質、例えばコラーゲン、エラスチン、水晶体、神経蛋白質、及び腎糸球体基礎膜、及び他の血管外マトリックス成分は全てそれらの耐久性と機能に於いて、本発明実施からの作用を受けて、利益をうけるであろう。従って本発明は、例えば網膜症、白内障、糖尿病的腎臓病、糸球体硬化症、末梢血管病、閉塞性動脈硬化症、末梢神経病、卒中、高血圧症、アテローム性動脈硬化症、骨関節炎、心房周辺の硬縮、皮膚の弾力の消失及び皺、関節の強直、糸球体腎炎などの、架橋された標的蛋白質による蛋白質の捕捉を含む病理の発症を減少させる。同様に全てのこれらの症状は高血糖の結果として真性糖尿病にかかっている患者に於いて目立っており促進された速度で生じる傾向にある。従って本発明の治疗方法は、年齢がすすんでいるか又は述べられた病気の一つにかかっているかのいずれかの患者におけるこれらの症状及び関連する症状の治療に適している。

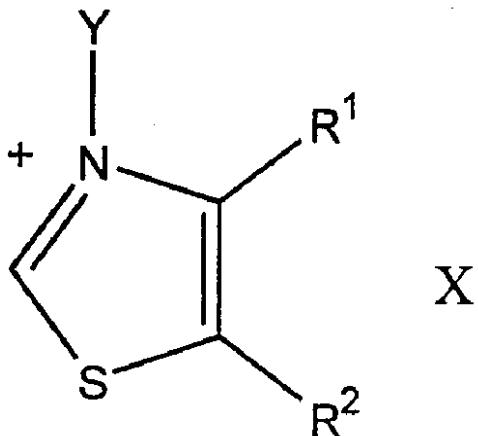
#### 【0026】

進行したグリコシル化生成物の形成を通じた分子の架橋は血管壁に於けるコラーゲン等の構造蛋白質の可溶性を減少させ、リポ蛋白質等の血清蛋白質をコラーゲンに対しトラップし得るものもある。また、進行したグリコシル化最終生成物及び関連する架橋物の存在は、内皮の透過性の増加を生じ得るものであり、従って内皮下のマトリックス中の溢血（内出血）した血漿蛋白質の共有結合による捕捉並びに血漿蛋白質及びマトリックス蛋白質の両方が酵素により生理学的な分解を受けることについての感受性の減少を生じ得る。これらの理由の為、慢性的な高血糖により誘発された糖尿病的血管の進行的な閉塞が、糖に由来し、特にグルコースに由来する架橋物の過度の形成から生じる、との仮説がなされた。そのような糖尿病の微小血管における変化及び微小血管における閉塞は、本発明の組成物及び方法を用いて進行したグリコシル化生成物架橋形成の化学的な逆転又は分解によって、効果的に逆転することができる。

#### 【0027】

本明細書に記載される化合物のあるものは新規である。

#### 【化7】



式中 R<sup>1</sup> 及び R<sup>2</sup> は、独立に水素、及びヒドロキシリ基置換されることもあるアルキル基からなる群から選択され、

Y は式 - C H<sub>2</sub> C ( = O ) - R 基であり、ここで R は、4 ~ 10員環の、硫黄及び窒素からなる群から選択される1個のヘテロ原子を含有するか、又は酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される2 ~ 3個のヘテロ原子を含有していて、アルキレンジオキシアリール以外である複素環基であり、該複素環基はアルキル、オキソ、アルコキシカルボニルアルキル、アリール及びアラルキル基からなる群から選択される1以上の置換基によって置換されることもある複素環基であり、そして該1以上の置換基は1以上のアルキル又はアルコキシ基で置換されることもあるか、又は

Y は式 - C H<sub>2</sub> C ( = O ) - N H R' 基であり、ここで R' は、4 ~ 10員環の、酸素、窒素及び硫黄からなる群から選択される1 ~ 3個のヘテロ原子を含有した複素環基であり、該複素環基は1以上のアルコキシカルボニルアルキル基で置換されることもあり、

X はハライドイオン、トシレートイオン、メタンスルホネートイオン、又はメシチレンスルホネートイオンである。

#### 【0028】

ここで記載される複素環基は、少なくとも1個の窒素又は硫黄原子を有する4 ~ 8員環を含むか、又は2 ~ 3個迄のヘテロ原子、例えば酸素、窒素、又は硫黄を有する4 ~ 8員環を含み、種々の程度の不飽和を含んでいる。そのような複素環基の代表は、イソキサゾリル、フェニルイソキサゾリル、モルホリノ、チオモルホリノ、ピリミジニル、ピペリジノ、ホモピペリジノ、ピペラジノ、メチルピペラジノ、ヘキサメチレンイミノ、テトラヒドロキノリル、ピリジル、メチルピリジル、イミダゾリル、ピロリジニル、2,6-ジメチルモルホリノ、フルフリル、1,2,4-トリアゾリル、チアゾリル、チオフェニル、チアゾリニル、メチルチアゾリルなどのものである。除外されるものは、参照により本明細書に含められる係属中の米国出願番号08/588,249中に記載されるアルキレンジオキシアリール置換基である。本発明の複素環基は更に、例えばオキソ基で置換されて例えば2-オキソ-テトラヒドロキノリニル基を形成することが出来るか、又は1以上のアルキル、アルコキシカルボニルアルキル、アリール又はアラルキルによって置換されることができ、そしてそのような置換基は更に1以上のアルキル又はアルコキシ基で置換が出来る。

#### 【0029】

アルキル基、アルコキシ基、アルコキシカルボニルアルキル基、アリール基及び塩類は上に記載した通りである。

#### 【0030】

上の式に記載されるように、複素環基は式 - C H<sub>2</sub> C ( = O ) - R の R 基で表わされるか、又は式 - C H<sub>2</sub> C ( = O ) - N H R' の R' 基で表わされ得る。本発明の新規な化合物の代表例は次のものである。

#### 【0031】

3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-チアゾリウムプロマイド、3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロ

マイド、

3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4-メチル-5-(2-ヒドロキシエチル)-チアゾリウムプロマイド、  
3-[2-[4-(2-エトキシ-2-オキソエチル)-2-チアゾリル]-アミノ-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、  
3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
3-(2-(1-ピペリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
3-[2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4-メチル-5-ヒドロキシエチルチアゾリウムプロマイド、  
3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
3-[2-(4-[2-メトキシフェニル]-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、  
3-(2-(オクタヒドロ-1-アゾシニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
3-(2-(2-ピリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
3-[2-(2-メチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、  
3-[2-(2,6-ジメチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、  
3-[2-(4-ベンジル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、  
3-[2-(4-ベンジル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド。

### 【 0 0 3 2 】

上の発明の背景のところで記載したように、他のAGE架橋物解裂薬剤に対する研究は、糖尿病の実験的なモデルに於いて、心臓血管の損傷を逆転させる能力を示した。糖尿病は、特に大血管の併発症には、しばしば促進された老化のモデルと考えられるので、本発明の薬剤はそのような老化の併発症における治療用途に対して適しており、その例は上に記載されている。

以下の実施例に示されるように、そして上に引用されるように、AGE架橋物を逆転させることができる化合物は、蛋白質の老化に関連する種々の病気及び併発症の治療に於いて重要な有効性を示すものである。IgGの赤血球細胞膜に対する共有結合架橋を逆転させる能力、又はコラーゲン架橋物を解裂する能力について、化合物類が評価されるAGE架橋のインビトロモデルに於いて活性の化合物は、蛋白質の老化モデルに於いて対応して生体内活性を有する。上に記載したように、そのような研究は、そのような薬剤の実験的な糖尿病において促進される老化と関連する心臓血管症状に対し正の効果を実証した。（ウォルフェンバッテル等, 1998, 「進行したグリケーション最終生成物の破壊者が実験的な糖尿病に於ける大動脈の性質を元通りにする」 Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 95: 4

630-4634を参照）。これらの研究に於いて、9週間糖尿病であり、続いて1～3週間AGE破壊化合物の投与を受けたラットは、糖尿病で誘発される大動脈の硬縮の増加の逆転を生じた。改良されたパラメーターには、心臓血液搏出量、末梢血管抵抗、全身的な動脈のコンプライアンス、心房の入力インピーダンス、及び頸動脈のコンプライアンスが含まれる。

従って、本発明の活性AGE逆転化合物は、蛋白質の老化の併発症の治療に対する候補者である。

【 0 0 3 3 】

本発明の組成物は、生体内又は治療的な目的の為に使用される場合に、本発明で使用される薬剤は生物適合性 (biocompatible) であることが注目される。種々の生物学的又は製薬学的に受け入れられる塩を使用出来、例えばハライド類、トシレート類等を使用できる。製剤組成物は本発明の薬剤又は化合物の治療的有効量で造ることが出来、この目的の為に使用される既知の物質から選択される製薬上受け入れられる担体を含み得る。そのような組成物は、投与方法に依存して種々の形態で調製できる。また、本発明の化合物の種々の製薬上受け入れられる付加塩も使用できる。

[ 0 0 3 4 ]

投与が静脈内、筋肉内、又は腹腔内注射による場合に於いて、液体形を使用できるであろう。適当である場合には、固体投与形、例えば錠剤、カプセル剤又は液体投与処方物、例えば溶液又は懸濁液等を経口投与の為に調製できる。局所的又は皮膚又は目に対する皮膚投与の為には、恐らく皮膚又は目への浸透を助ける担体を含んでいる、溶液、ローション又は軟膏として、水、エタノール、プロピレン glycolelなどの賦形剤中の薬剤を処方することが出来る。例えば局所製剤は、式 I の化合物を約 10 % 含み得る。他の体の組織への適用の為の他の適当な形態も考えられる。

( 0 0 3 5 )

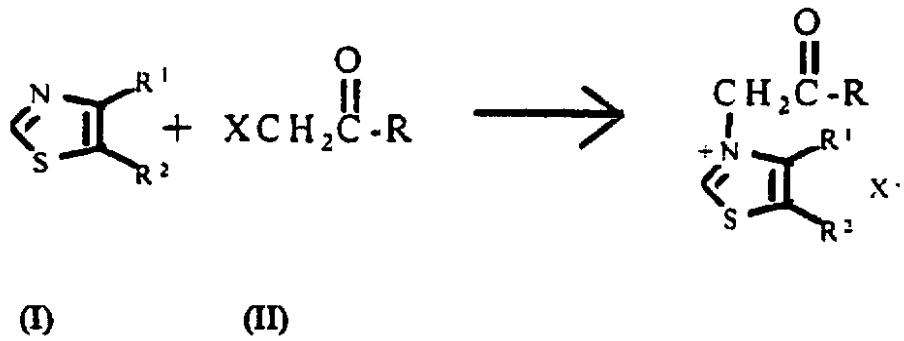
本発明の方法が治療的な用途を有している場合には、治療が意図されている動物宿主に適當な製薬形態の薬剤の1以上のある量が投与され得る。投与は、既知の技術により達成出来、例えば経口、局所、及び非経口的な技術、例えば皮膚内、皮下、静脈内、又は腹腔内注射、並びに他の慣用の手段により達成される。薬剤の投与は、例えば約30mg/kg迄の投与水準に於いて、長い期間にわたって実施できる。

本発明の薬剤は、進行したグリコシル化最終生成物の生成を阻止及び逆転するのに有用な量で、組成物に処方される。勿論この量は使用される特定の薬剤、特定の投与形によって変化するが、典型的には特定の処方物の重量で0.01%～1.0%の範囲である。

[ 0 0 3 6 ]

本発明の化合物類は、一般に、ポツ (Potts) 等、1976, J. Org. Chem. 41: 187 及びポツ (Potts) 等、1977, J. Org. Chem. 42: 1648 に記載された方法、又は次の反応経路に示されるものに従って製造することが出来る。式中 R は複素環基であり、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>、及び Z は上に記載した通りであり、X はハロゲン原子である。

【化 8】



〔 0 0 3 7 〕

上の反応経路に於いて、式 I の置換された適当なチアゾール化合物は、式 II の適当なハ

ハロ化合物と反応させられ、本発明の所望化合物を与える。全ての置換基は上に定義した通りである。

#### 【0038】

ハロ反応体はこの分野で知られた技術によって製造できる。例えば、3-(2-チオフェニル-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイドの製造の為には、反応体2-ブロモチオフェンをジメチルチアゾールと反応させる。2-ブロモチオフェンはキング等, 1964, J. Org. Chem. 29: 3459の方法に従って、2-アセチルチオフェンの臭化銅(II)での臭素化によって製造することが出来る。個々の方法は、以下の実施例に記載されている。

#### 【0039】

ハロ化合物とチアゾール誘導体の反応の条件は一般にそれらの混合物を110℃で油浴中で3~7時間アセトニトリル等の溶媒の最少量とともに還流すること、又はエタノール又はアセトニトリル中でそれらの混合物を3~5時間還流することを含んでいる。ハロ反応体は、塩素を含有するなら最初の条件が使用される。臭素化合物については第二の条件が好みしい。

#### 【0040】

##### 【実施例】

本発明は次の非限定実施例を参考することによってよりよく理解され得る。これらの実施例は、発明の例示として提供される。次の実施例は本発明の好みしい具体例をより詳しく説明するために与えられる。しかしこれらは決して本発明の広い範囲を制限するように解釈されるべきではない。

#### 【0041】

##### 実施例1

3-(2-(1-チエニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイドの製造

この化合物は4,5-ジメチルチアゾールを2-ブロモアセチルチオフェンと反応させることによって造られた。2-ブロモアセチルチオフェンは、キング等, 1964, J. Org. Chem. 29: 3459の方法に従って、2-アセチルチオフェンの臭化銅(II)での臭素化によって造った。2-アセチルチオフェン(6g, 47.6mモル)をクロロホルム(60ml)中に溶解し、酢酸エチル(120ml)中の臭化銅(II)(13.5g, 60.44mモル)のスラリーに加えた。混合物を6時間還流し、次に熱いうちにセライトのパッドを通して濾過した。フィルターケーキを酢酸エチルで洗浄し、一緒にした濾液を蒸発させて、2-ブロモアセチルチオフェン(9.5g, 97.3%)を得た。粗生成物を次の反応に直接使用した。

#### 【0042】

エチルアルコール(20ml)中の4,5-ジメチルチアゾール(2.2g, 19.2mモル)及び2-ブロモアセチルチオフェン(4g, 19.4mモル)の溶液を3時間還流した。これを室温に冷却し、t-ブチルメチルエーテル(10ml)を加えた。反応混合物を室温で一夜攪拌しながら放置した。白色の生成物を分離し、濾過して乾燥した。これはエチルアルコールから結晶化された。(4.42g, 73%)、融点203~205℃。

#### 【0043】

##### 実施例2

3-(2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライドの合成

3-(2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライドは、N-(クロロアセチル)ピロリジンの4,5-ジメチルチアゾールとの反応から造られた。N-(クロロアセチル)ピロリジンを次の様にして製造した。ピロリジン(63.9g, 0.9モル)を塩化メチレン(640ml)に入れ、塩冰浴中で0℃に冷却した。攪拌混合物に塩化クロロアセチル(450mlのCH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>中の101.8g, 0.9モル)を内部温度を15℃以下に保ちながら滴下した。塩化クロロアセチルを加えた後、混合物を5℃で1時間攪拌した。水酸化ナトリウム溶液(7M, 190ml)を激しく攪拌しながら、内部温度が20℃を越えないように加えた。混合物を15分間攪拌し、水層を分離した。有機層を順次飽和重炭酸ナトリウム溶液(2×200ml)、水(1×100ml)で洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥した。溶媒を真空で除去し、残留物をヘキサンか

ら再結晶し、白色プレート状の結晶64.5g(48.6%)を得た。融点43。

【0044】

N-(クロロアセチル)ピロリジン(37.3g,0.25モル)、4,5-ジメチルチアゾール(28.69g,0.25モル)及びアセトニトリル(17ml)の混合物を油浴中で105~110で7時間還流した。反応混合物にアセトニトリル(230ml)を加え、20分間加熱し続け、次にt-ブチルメチルエーテル(250ml)を加えた。反応混合物を室温で一夜保った。生成物を濾過し、t-ブチルメチルエーテルとアセトニトリル(1:1 v/v,100ml)及びt-ブチルメチルエーテル(150ml)の混合物で洗浄し、白色固体59.64g(90.2% 収率)を得た。粗生成物(59.64g)を加熱しながらアセトニトリル(350ml)中に溶解し、濾過し、t-ブチルメチルエーテル(350ml)を加え、溶液を室温で3時間冷却した。生成物を濾過し、t-ブチルメチルエーテルとアセトニトリル(1:1 v/v,300ml)及びt-ブチルメチルエーテル(300ml)の混合物で洗浄し、白色結晶59.95g(86.1%収率)を生成した。融点 196~198。

【0045】

実施例3

実施例1及び2に記載の手順を用いて次の化合物を対応する反応体を使用して製造した。融点が示される。

3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-チアゾリウムプロマイド、  
213-214

3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、 245-246 (分解)

3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]-4-メチル-5-(2-ヒドロキシエチル)-チアゾリウムプロマイド、 209-210 (分解)

3-[2-[4-(2-エトキシ-2-オキソエチル)-2-チアゾリル]-アミノ-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、 120-121

3-[2-(4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
197-198 (分解)

3-[2-(2,6-ジメチル-4-モルホリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、 215-216 (分解)

3-(2-(1-ペリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、  
240-242

3-(2-(2-フラニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、 195-196 (分解)

3-[2-(2-オキソ-1,2,3,4-テトラヒドロ-6-キノリニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、 274-275 (分解)

3-[2-(1-ピロリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、  
189-198

3-[2-(3-メチル-2-チアナフテニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、 171-172

3-[2-(4-フェニル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、 150-152

3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、 203-205

3-(2-(2-チエニル)-2-オキソエチル)-4-メチル-5-ヒドロキシエチルチアゾリウムプロマイド、 175-176

3-(2-(4-チオモルホリニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、  
232-233 (分解)

3-(2-ヘキサヒドロ-1-アゼビニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、 218-219 (分解)

3-[2-(4-[2-メトキシフェニル]-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、 215-216 (分解)

3-(2-(オクタヒドロ-1-アゾシニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、 210-212 (分解)  
 3-(2-(2-ピリジニル)-2-オキソエチル)-4,5-ジメチルチアゾリウムプロマイド、 17  
 8-179  
 3-[2-(2-メチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、 220-221 (分解)  
 3-[2-(2,6-ジメチル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、 248-249 (分解)  
 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペリジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド、 170-171  
 3-[2-(4-ベンジル-1-ピペラジニル)-2-オキソエチル]-4,5-ジメチルチアゾリウムクロライド。 180-182

## 【0046】

## 実施例4

典型的な製剤投与形は以下の様に造られる。

## m g / 錠剤

本発明の化合物	5 0
澱粉	5 0
マンニットール	7 5
ステアリン酸マグネシウム	2
ステアリン酸	5

## 【0047】

化合物、澱粉の一部、及び乳糖を一緒にし、澱粉ペーストで湿潤顆粒化する。湿潤顆粒をトレイに入れ、一夜45°の温度で乾燥させる。乾燥顆粒を粉碎機中で粉碎し、およそ20メッシュの粒径とする。ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、及び残りの澱粉を加え、全混合物を適当な錠剤プレスでの圧縮前にブレンドする。錠剤を232mgの重量で1/32インチパンチを用いて4kgの硬度で圧縮する。これらの錠剤はU S P XVI中に記載される方法に従って30分以内に分解するであろう。

## 【0048】

## 実施例5

ローション	m g / g
式 I の化合物	1 . 0
エチルアルコール	4 0 0 . 0
ポリエチレングリコール 4 0 0	3 0 0 . 0
ヒドロキシプロピルセルロース	5 . 0
プロピレングリコール	1 . 0 g にする十分量

## 【0049】

## 実施例6

## 老化架橋物の逆転

AGE架橋物を逆転する本発明の化合物の活性を以下のように生体内モデルで評価した。ストレプトゾトシン糖尿病(streptozotocin-diabetic)ラット(6~8週の糖尿病)からヘパリン化した/heparinized試験管中で血液を集め、2500×gで15分間40°で遠心し、血漿及び軟膜(軟層=淡黄色白血球層)を吸引除去した。RBC(赤血球)をPBS(血液mlあたり約5mlのPBS)で3回洗浄した。

## 【0050】

試験化合物をPBS中に溶解し、pHを必要ならば7.0に調節した。200μlの洗浄したRBCを2mlの試験化合物溶液に加え、混合物を37°で一夜培養した。対照として、200μlのRBCを2mlのPBS中で培養した。

## 【0051】

一夜培養後、反応混合物を遠心し、RBCペレットをPBSで3回洗浄し、続いてPB

S 中で 1 : 30 に希釈した。次に洗浄した RBC の表面に結合したイムノグロブリン G (IgG) を測定した。

#### 【 0052 】

RBC-IgG に対するアッセイ :

このアッセイは、マルチスクリーン - HA, 0.45 μm セルロース混合エステル膜密封 96 ウェルプレート (ミリポア製 M A H A S 45) 中で実施した。最初に 100 μl の PBS をウェルに充填することによって膜を湿らせ、そしてウェルをミリタイター (Millititer) 減圧管により真空を適用することによって空にした。300 μl のスーパー ブロック (Superblock) (37℃ に予備加温) を次に各ウェルに加え、37℃ で 1 時間培養した。このスーパー ブロックを次にウェルから真空を適用することによって除去し、次にウェルを 1 度 300 μl の PBS-Tween (0.05%) で洗浄し、3 度 PBS で洗浄した。次に真空を止めた。

#### 【 0053 】

100 μl の PBS を次に各ウェルに加えた。各 RBC 試料を穏やかにかきませ、50 μl のピペットで 6 重でウェルに入れた。A1-A3 と標識したウェルを試薬プランクとして残し、A4-A6 のウェルを抗体プランクとしてとっておいた。次に真空を適用して緩衝液を除去し、RBC を 1 度 PBS で洗浄する。アルカリホスファターゼ標識ウサギ抗ラット IgG を PBS 中で 1 : 25000 に希釈し、そして 50 μl を各試料のウェルに 3 重で加えた。PBS 単独を各試料の他の 3 つのウェルに加えた。これらはどんな外的なアルカリホスファターゼ活性についても調節するために試料プランクとして役立てられる。試料を室温で 2 時間放置した。次に真空を適用して溶液を除去し、赤血球を PBS-Tween で 2 回、PBS で 2 回、そして TBS で 2 回洗浄した。プレートの底を蒸留水で濯ぎ、ペーパータオルで吸収って乾燥させた。次に各ウェルに 100 μl の p-ニトロフェニルホスフェート基質 (ジエタノールアミン緩衝液中 1mg/ml, pH 9.5) を加え、色を 37℃ で 2 時間発色させた。次に各ウェル中の溶液を減圧管内の 96 個ウェルミクロ滴定プレートに移した。100 μl の PBS を各ウェルに、そして真空を再度適用し、全ての残っている溶液をミクロ滴定プレートに移した。410nm における光学密度 (OD) を次にダイナテックプレートリーダー (サンプルフィルター 1、参照フィルター 4) 中で読み取った。

#### 【 0054 】

データ分析の為に分解活性 (逆転パーセント) を PBS 単独中で培養した RBC と比較した試験化合物と共に RBC を培養することによって生じた光学密度の減少パーセントとして表現した。上のアッセイを用いて本発明の化合物についてデータを造った。

#### 【 0055 】

##### 実施例 7

##### コラーゲン架橋物の逆転

循環している蛋白質とコラーゲンの間の AGE 架橋物を本発明の化合物が逆転する能力を更に評価するのに、AGE-BSA をラット尾の腱 (tail tendon) コラーゲン (1型) 被覆した 96 ウェルミクロ滴定プレートに対し架橋させ、架橋の逆転を測定した。

#### 【 0056 】

##### AGE-BSA 調製物 :

0.4M 磷酸ナトリウム緩衝液, pH 7.4 中の BSA (400mg/ml) の溶液を、同じ緩衝液中の 400 mM グルコース溶液の等容量と共に 37℃ で 12 週間培養することによって AGE-BSA を造った。培養混合物の pH を毎週モニターし、必要ならば pH 7.4 に調節した。12 週間後、AGE-BSA 溶液を 4 回の緩衝液変更により PBS に対し 48 時間透析した。蛋白質濃度をミクロローリー (micor-Lowry) 法によって測定した。

#### 【 0057 】

##### アッセイプロトコル :

バイオコート (コラボレイティブバイオメディカルプロダクツ製) プレートを 37℃ で 1 時間スーパー ブロック (300ml/ウェル) でブロックし、3 回 PBS-Tween で洗浄した。予備実験で測定した最大架橋を得るのに必要とされる濃度に、AGE-BSA を PBS 中で希釈した。100 μl の AGE-BSA ワーキング溶液を試験ウェルに加え、同様の濃度の

B S A をブランクのウェルに加えた。最初の 3 つのウェルは、試薬ブランクとして空のままにした。プレートを 37 度で 4 時間培養し、P B S -ツイーンで 3 回洗浄した。試験化合物を P B S 中に溶解し、p H を必要なら 7.0 に調節した。100 μ l の試験化合物を 3 重でウェルに加えた。最大の架橋を測定するために 100 μ l の P B S を 3 ~ 6 個のウェルに加えた。試験化合物及び P B S を B S A で培養した 3 重のウェルに加え、ブランクの読みを得た。次にプレートを 37 度で一夜培養した。プレートを P B S -ツイーンで洗浄し、50 ml のウサギ抗 B S A 抗体 ( P B S 中で 1:4000 ) を各ウェルに加え、プレートを室温で 60 分培養した。プレートを P B S -ツイーンで洗浄した後、50 ml の西洋わさびバーーオキシダーゼコンジュゲート化ヒツジ抗ウサギ Ig G ( P B S 中 1:4000 ) を最初の 3 つのウェルを除く各ウェルに加えた。プレートを室温で 30 分培養し、P B S -ツイーンで洗浄した。200 μ l の A B T S 基質 ( 脱イオン水中で 1:10 に希釈し 50 × A B T S 試薬 ( シグマ ) と混合した H R P -基質緩衝液 10 × ( シグマ ) から調製 ) を各ウェルに加え、37 度で 15 分間発色させた。ダイナテック E L I S A プレートリーダー上で、410 nm で光学密度を読み取ったが、試料フィルターは「 1 」にセットし参考フィルターは「 5 」にセットした。

#### 【 0 0 5 8 】

データ分析 :

平均光学密度 ( O D ) を各 3 重の測定について計算した。補正 O D = ( A G E - B S A ウェルの O D 平均 - B S A ウェルの O D 平均 ) 。試験化合物による破壊パーセントを、P B S で培養した T T C - A G E - B S A ウェルと比較した、試験化合物で培養した T T C - A G E - B S A ウェルの O D の減少パーセントとして表現した。

#### 【 0 0 5 9 】

上の手順を使用すると、3 mM の 3-[2-(3-フェニル-5-イソキサゾリル)-2-オキソエチル]チアゾリウムプロマイドは、A G E 架橋物の 15 % の逆転を生じた。

#### 【 0 0 6 0 】

本発明の精神又は本質的な特徴からはずれることなしに、本発明は他の形態で具体化でき、又は別 の方法で実施できる。従ってこの開示は全ての点に於いて説明的であって制限的ではないもと考えられるべきであり、添付の特許請求の範囲により示される発明の範囲及び均等の意味及び範囲内の全ての変更は本発明に包含されることが意図される。本明細書に種々の文献の引用が示されているが、全てそれらは全体が本明細書に取り込まれる。