(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4809769号
(P4809769)

(45)発行日　平成23年11月9日(2011.11.9)　(24)登録日　平成23年8月26日(2011.8.26)

(51)Int.Cl.		F I	
C07D 493/04	(2006.01)	C07D 493/04	101E
A61K 31/34	(2006.01)	C07D 493/04	CSP
A61P 9/10	(2006.01)	A61K 31/34	
A61P 17/00	(2006.01)	A61P 9/10	101
A61P 9/00	(2006.01)	A61P 17/00	

請求項の数 11　(全 51 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2006-530042 (P2006-530042)
(86)(22)出願日　平成16年9月29日(2004.9.29)
(65)公表番号　特表2007-507451 (P2007-507451A)
(43)公表日　平成19年3月29日(2007.3.29)
(86)国際出願番号　PCT/EP2004/010882
(87)国際公開番号　WO2005/037842
(87)国際公開日　平成17年4月28日(2005.4.28)
審査請求日　平成18年11月10日(2006.11.10)
(31)優先権主張番号　200302368
(32)優先日　平成15年10月3日(2003.10.3)
(33)優先権主張国　スペイン(ES)

前置審査

(73)特許権者　501140360
レイサー　ソシエダッド　アノニマ
スペイン国　エー０８０２５　バルセロナ　セルデニャ　３５０
(74)代理人　100147485
弁理士　杉村　憲司
(74)代理人　100119530
弁理士　冨田　和幸
(72)発明者　ホセ　レポレス　モリナー
スペイン国　エー０８０２５　バルセロナ　セルデニャ　３５０　レイサー　ソシエダッド　アノニマ内

最終頁に続く

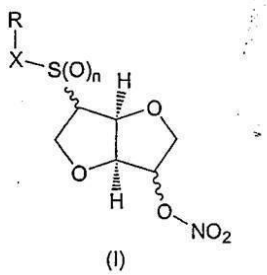
(54)【発明の名称】環状糖の二硫化物、硫化物、スルホキシド及びスルホン誘導体とその使用方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

式（Ｉ）に記載の化合物、又はその互変異性体、その薬学的に許容可能な塩、又はその溶媒和化合物であって、

【化１】



(I)

式中、

ｎは整数の０、１、又は２であり、

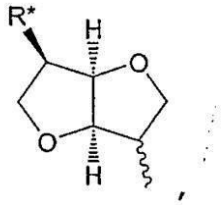
Ｘは単結合又は－Ｓ－を表し、

Ｒは、水素を表すか〔式（Ｉ）において、Ｒが水素、Ｘが単結合、ｎが０である化合物を除き〕、又は残基Ｒ^{a}であり、残基Ｒ^{a}は、

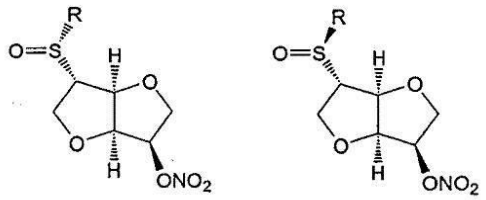
Ｃ$_{1-6}$アルキル、

Ｃ$_{2-6}$アルケニル、

C_{3-8}シクロアルキル、
C_{3-8}シクロアルキルで、１つのCH_2基がＯ、Ｓ、ＮＨ又はNCH_3により入れ替えられているもの、
C_{4-8}シクロアルケニル、
C_{4-8}シクロアルケニルで、１つのCH_2基がＯ、Ｓ、ＮＨ又はNCH_3により入れ替えられているもの、
フェニル、
ピリジル、
チオフェニル、
ニトロシル、
Ｓ－システイニル、
Ｓ－グルタチオニル、及び
【化２】



で、式中、R^*は、水素、C_{1-6}アルキル、C_{2-6}アルケニル、C_{3-8}シクロアルキル、C_{4-8}シクロアルケニル、アセチルオキシ、ヒドロキシル、ONO_2及びハロゲンからなる群より選ばれるもの
からなる群より選ばれ、
ここで、R^aは、随意に、C_{1-6}アルキル、C_{2-6}アルケニル、C_{3-8}シクロアルキル、C_{4-8}シクロアルケニル、アセチルオキシ、ヒドロキシル、ONO_2及びハロゲンから無関係に選ばれた１から３個までの基によって置換される化合物。
【請求項２】
前記Ｒが水素、C_{1-6}アルキル、C_{2-6}アルケニル、C_{3-8}シクロアルキル、C_{4-8}シクロアルケニル、（C_{1-6}アルキル）C_{3-8}シクロアルキル、（C_{1-6}アルキル）C_{4-8}シクロアルケニル、フェニル、（C_{1-6}アルキル）フェニル、５－アセチルオキシイソソルビド－２－イル、５－ヒドロキシイソソルビド－２－イル又は５－ニトラトイソソルビド－２－イルである化合物、又は前記ＲがC_{1-6}アルキルである化合物であって、式（Ｉｃ）又は（Ｉｄ）に記載の化合物である、
【化３】

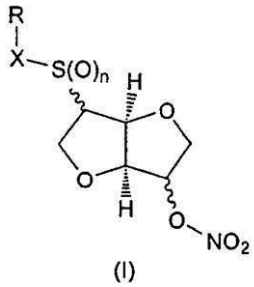


(Ic)

(Id)

請求項１に記載の化合物。
【請求項３】
アテローム性動脈硬化症、内皮機能不全、血管攣縮、心臓同種移植血管障害、循環器系の機能不全、血小板活性化、血栓症、脳卒中、病態で、酸化ストレスがそれらの発症に重要な役割を果たすもの、酸化窒素の不足がそれらの発症に重要な役割を果たすもの、及び／又は虚血による、及び／又は虚血再潅流による組織損傷の処置における使用のための、少なくとも１種の式（Ｉ）の化合物、

【化４】



(I)

又はその互変異性体、その薬学的に許容可能な塩、又はその溶媒和化合物であって、

前記化合物、又はその互変異性体、その薬学的に許容可能な塩、又はその溶媒和化合物は、それを必要としている患者への投与のためのものであり、

式中：

ｎは整数の０、１、又は２であり、

Ｘは単結合又は－Ｓ－を表し、

Ｒは、水素を表すか〔式（Ｉ）において、Ｒが水素、Ｘが単結合、ｎが０である化合物を除き〕、又は残基Ｒ^{a}であり、残基Ｒ^{a}は、

Ｃ$_{1-6}$アルキル、

Ｃ$_{2-6}$アルケニル、

Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、

Ｃ$_{3-8}$シクロアルキルで、１つのＣＨ$_{2}$基がＯ、Ｓ、ＮＨ又はＮＣＨ$_{3}$により入れ替えられているもの、

Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、

Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニルで、１つのＣＨ$_{2}$基がＯ、Ｓ、ＮＨ又はＮＣＨ$_{3}$により入れ替えられているもの、

フェニル、

ピリジル、

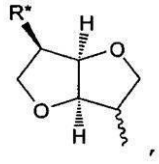
チオフェニル、

ニトロシル、

Ｓ－システイニル、

Ｓ－グルタチオニル、及び

【化５】



で、式中、Ｒ*は、水素、Ｃ$_{1-6}$アルキル、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、アセチルオキシ、ヒドロキシル、ＯＮＯ$_{2}$及びハロゲンからなる群より選ばれるもの

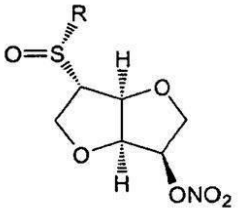
からなる群より選ばれ、

ここで、Ｒ^{a}は、随意に、Ｃ$_{1-6}$アルキル、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、アセチルオキシ、ヒドロキシル、ＯＮＯ$_{2}$及びハロゲンから無関係に選ばれた１から３個までの基によって置換される化合物。

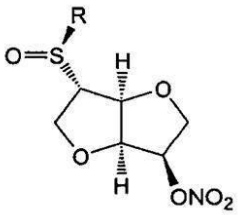
【請求項４】

前記Ｒが水素、Ｃ$_{1-6}$アルキル、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、（Ｃ$_{1-6}$アルキル）Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、（Ｃ$_{1-6}$アルキル）Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、フェニル又は（Ｃ$_{1-6}$アルキル）フェニルを表す化合物であって、前記式（Ｉ）に記載の化合物が式（Ｉｃ）又は（Ｉｄ）

【化６】



(Ic)



(Id)

に記載の化合物である、請求項３に記載の化合物。

【請求項５】

前記式（Ｉ）に記載の化合物が、

５，５’－ジニトラト－２，２’－ジチオジイソソルビド、

２－メチルチオイソソルビド５－モノニトレート、

２－［（Ｒ）－メチルスルフィニル］イソソルビド５－モノニトレート、

２－［（Ｓ）－メチルスルフィニル］イソソルビド５－モノニトレート、

２－メチルスルフィニルイソソルビド５－モノニトレート、

２－メチルスルフォニルイソソルビド５－モノニトレート、

Ｓ－ニトロソ－２－チオイソソルビド５－モノニトレート、

２－（テトラヒドロピラン－２－イル－チオ）イソソルビド５－モノニトレート、

２－（イソソルビジル－２’－ジチオ）イソソルビド５－モノニトレート、

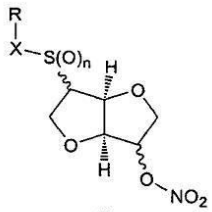
及び

２－（５’－アセチルオキシイソソルビジル－２’－ジチオ）イソソルビド５－モノニトレートから選ばれる、請求項３又は４に記載の化合物。

【請求項６】

式（Ｉ）の化合物、その互変異性体、その薬学的に許容可能な塩、又はその溶媒和化合物を調製する方法であって、

【化７】



(I)

式中：

ｎは整数の０、１、又は２であり、

Ｘは、－Ｓ（Ｏ）$_{m}$－又は単結合を表し、ここでｍは整数の０、１、又は２であり、

及びＲは水素を表し、又は残基Ｒ^{a}であり、残基Ｒ^{a}は、

Ｃ$_{1-6}$アルキル、

Ｃ$_{2-6}$アルケニル、

Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、

Ｃ$_{3-8}$シクロアルキルで、１つのＣＨ$_{2}$基がＯ、Ｓ、ＮＨ又はＮＣＨ$_{3}$により入れ替えられているもの、

Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、

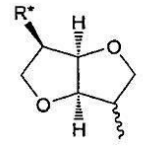
Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニルで、１つのＣＨ$_{2}$基がＯ、Ｓ、ＮＨ又はＮＣＨ$_{3}$により入れ替えられているもの、

フェニル、

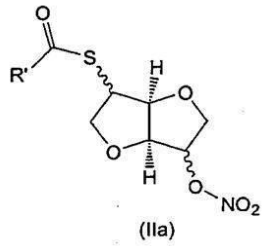
ピリジル、

チオフェニル、

ニトロシル、
Ｓ－システイニル、
Ｓ－グルタチオニル、及び
【化８】

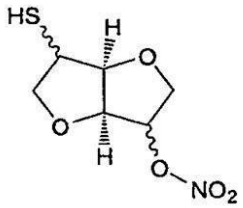


；
で、式中、Ｒ＊は、水素、Ｃ$_{1-6}$アルキル、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、アセチルオキシ、ヒドロキシル、ＯＮＯ$_2$及びハロゲンからなる群より選ばれるもの
からなる群より選ばれ、
ここで、Ｒ^{a}は、随意に、Ｃ$_{1-6}$アルキル、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、アセチルオキシ、ヒドロキシル、ＯＮＯ$_2$及びハロゲンから無関係に選ばれた１から３個までの基によって置換されており、
この方法は以下の工程；
（ａ）式（ＩＩａ）
【化９】

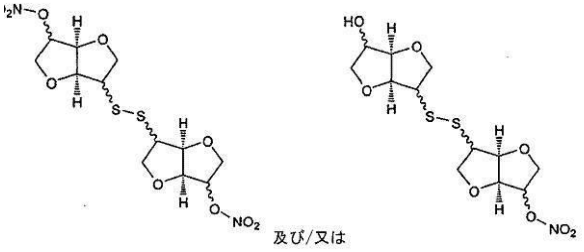


(IIa)

の化合物で、式中、Ｒ’はＣ$_1$－Ｃ$_6$アルキル、メチルであるものの加水分解を、
以下の化合物
【化１０】



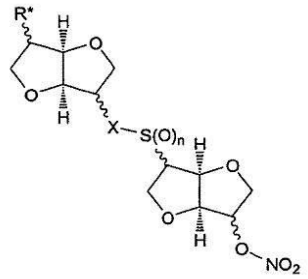
を得るために生じさせる工程、及び
（ｂ）随意に、工程（ａ）により調製した化合物において以下を生じさせる工程
Ｉ．
【化１１】



及び/又は

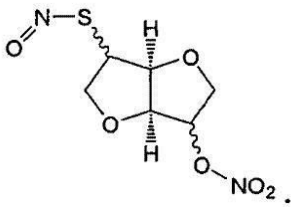
を得るための酸化反応で、
随意に、次いで、以下の化合物

【化１２】



式中：
ｎは１又は２であり、
Ｘは－Ｓ（Ｏ）$_m$－であり、ここでｍは０、１又は２であり、及び
Ｒ＊はヒドロキシル又はＯＮＯ$_2$であるものを得るための第２の酸化によって続けられること、
ＩＩ．式（Ｉ）に記載の化合物で、式中：
ｎは整数の０であり、
Ｘは結合を表し、
及びＲはニトロシルを表さないものを得るための置換反応で、
随意に、次いで、式（Ｉ）に記載の化合物で、式中：
ｎは整数の１又は２であり、
Ｘは結合を表し、
及びＲはニトロシルを表さないものを得るための酸化によって続けられること、
ＩＩＩ．式（Ｉ）に記載の化合物で、式中：
ｎは整数の０であり、及び
Ｘは－Ｓ－を表すものを得るための置換反応で、
随意に、次いで、式（Ｉ）に記載の化合物で、式中：
ｎは整数の１又は２であり、及び
Ｘは－Ｓ（Ｏ）$_m$－を表し、ここでｍは０、１又は２であるものを得るための酸化によって続けられること、又は
ＩＶ．

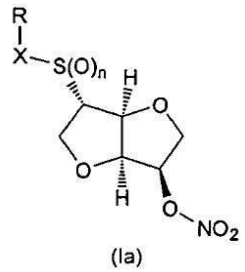
【化１３】



を得るためのニトロソ化反応
を含む、方法。

【請求項７】
式（Ｉａ）の化合物、その互変異性体、その薬学的に許容可能な塩、又はその溶媒和化合物を調製するための方法であって、

【化１４】



(Ia)

式中：

ｎは整数の０、１、又は２であり、

Ｘは、－Ｓ（Ｏ）$_{m}$－又は単結合を表し、ここでｍは整数の０、１、又は２であり、

及びＲは水素を表し、又は残基Ｒ^{a}であり、残基Ｒ^{a}は、

Ｃ$_{1-6}$アルキル、

Ｃ$_{2-6}$アルケニル、

Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、

Ｃ$_{3-8}$シクロアルキルで、１つのＣＨ$_{2}$基がＯ、Ｓ、ＮＨ又はＮＣＨ$_{3}$により入れ替えられているもの、

Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、

Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニルで、１つのＣＨ$_{2}$基がＯ、Ｓ、ＮＨ又はＮＣＨ$_{3}$により入れ替えられているもの、

フェニル、

ピリジル、

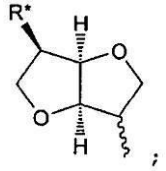
チオフェニル、

ニトロシル、

Ｓ－システイニル、

Ｓ－グルタチオニル、及び

【化１５】



；

で、式中、Ｒ＊は、水素、Ｃ$_{1-6}$アルキル、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、アセチルオキシ、ヒドロキシル、ＯＮＯ$_{2}$及びハロゲンからなる群より選ばれるもの

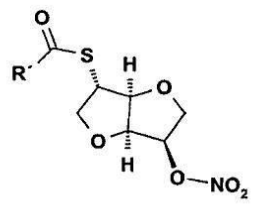
からなる群より選ばれ、

ここで、Ｒ^{a}は、随意に、Ｃ$_{1-6}$アルキル、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、アセチルオキシ、ヒドロキシル、ＯＮＯ$_{2}$及びハロゲンから無関係に選ばれた１から３個までの基によって置換され、

そしてここで、前記方法は以下の工程：

（ａ）式（ＩＩ）の化合物で、

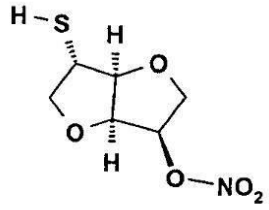
【化１６】



(II)

式中、Ｒ’はＣ$_{1-6}$アルキル、メチルであるものの加水分解を、２－チオイソソルビド５－モノニトレート（１）

【化１７】



(1)

を得るために生じさせる工程、及び

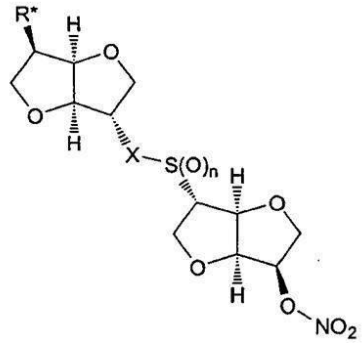
（ｂ）随意に、工程（ａ）により調製した化合物（１）において以下を生じさせる工程：

Ｉ．５，５’－ジニトラト－２，２’－ジチオ－ジイソソルビド（２）又は２－（イソソルビジル－２’－ジチオ）－イソソルビド５－モノニトレート（８）、

を得るための酸化反応、

随意に、次いで、式（Ｉｅ）に記載の化合物で、

【化１８】



(Ie)

式中：

ｎは１又は２であり、

Ｘは－Ｓ（Ｏ）$_m$－であり、ここでｍは０、１又は２であり、及び

Ｒ＊はヒドロキシル又はＯＮＯ$_2$を表すものを得るための第２の酸化によって続けられること、

ＩＩ．式（Ｉａ）に記載の化合物で、式中：

ｎは整数の０であり、

Ｘは結合を表し、

及びＲはニトロシルを表さないものを得るための置換反応で、

随意に、次いで、式（Ｉａ）に記載の化合物で、式中：

ｎは整数の０であり、

Ｘは－Ｓ（Ｏ）$_m$－を表し、ここでｍは整数の０又は１であり、

及びＲはニトロシルを表さないものを得るための酸化によって続けられること、

ＩＩＩ．式（Ｉａ）に記載の化合物で、式中：

ｎは整数の０であり、

Ｘは－Ｓ－を表すものを得るための置換反応で、

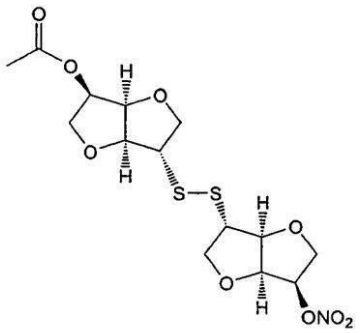
随意に、次いで、式（Ｉａ）に記載の化合物で、式中：

ｎは整数の１又は２であり、及び

Ｘは－Ｓ（Ｏ）$_m$－を表し、ここでｍは０、１又は２であるものを得るための酸化によって続けられること、又は

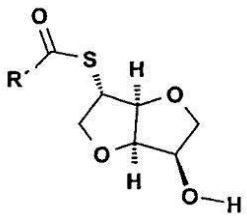
ＩＶ．Ｓ－ニトロソ－２－チオイソソルビド５－モノニトレート（６）を得るためのニトロソ化反応

を含む、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
２－［（Ｒ）－メチルスルフィニル］イソソルビド５－モノニトレート、及び／又は２－［（Ｓ）－メチルスルフィニル］イソソルビド５－モノニトレートの調製のための工程（ａ）及び（ｂ）ＩＩを含む、請求項６又は７に記載の方法。
【請求項９】
双方のジアステレオマーの分離を含む、請求項７に記載の方法。
【請求項１０】
式（１１）の化合物、又はその互変異性体、その薬学的に許容可能な塩、又はその溶媒和化合物を調製するための方法であって、
【化１９】



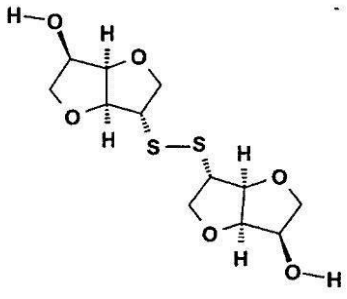
(11)

次の工程：
（ａ）式（ＩＩＩ）の化合物で、
【化２０】



(III)

式中、Ｒ’はＣ$_1$－Ｃ$_6$アルキル、メチルであるものの酸化を、
２，２’－ジチオジイソソルビド（１０）
【化２１】



(10)

を得るために生じさせる工程、及び
（ｂ）無水カルボン酸、無水酢酸の存在下でニトロ化剤（nitrating agent）により、工程（ａ）で調製した化合物のニトロ化を生じさせる工程
を含む、方法。
【請求項１１】
２，２’－ジチオジイソソルビド。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
（発明の分野）
本発明は、１，４：３，６‐ジアンヒドロヘキサイトモノニトレートの二硫化物、硫化物、スルホキシド及びスルホン誘導体、並びに血管障害の予防及び／又は治療のためのそれらの利用に関する。
【０００２】
（技術的な背景）
酸化窒素（ＮＯ）は、自然界の生物学的活性を有する分子のなかで最小で最も単純な分子の１つである。さらに、ＮＯは哺乳類で最も普遍的に存在する分子の１つであるらしい。最も広範に存在するシグナル分子の１つとして、ＮＯは、体のほぼ全ての細胞及び器官の機能を制御するのに大きな役割を果たす。ＮＯは、神経伝達物質、オータコイド、構成的メディエーター、誘導的メディエーター、細胞保護的分子及び細胞毒性分子として機能することのできる唯一の内因性分子である。
【０００３】
ＮＯは多数で多様な器官の機能の制御において多面的な生理的役割を果たすので、ＮＯ経路が欠損すると様々な病態が発現する。このような障害には、高血圧、アテローム性動脈硬化症、冠状動脈疾患、心不全、肺高血圧症、脳卒中、インポテンス、糖尿病に伴う血管合併症、胃腸潰瘍、喘息並びに中枢性及び全身性神経系障害がある。
【０００４】
全ての一酸化窒素ドナー（ＮＯＤｓ）は、生物系に適応した場合にＮＯ関連活性を生み出す共通の特性を有し、これにより内因性のＮＯ応答を模倣する。しかし、ＮＯを産生／放出する経路は、化合物のクラスによって著しく異なり、これは化学反応性についても同様である。酵素触媒作用を必要とする化合物もあるが、非酵素的にＮＯを産生する化合物もある。ある化合物では、還元反応又は酸化反応が起きてから、ＮＯが放出される。この過程は、ｐＨ、酸素、光及び温度に対する化合物それぞれの感受性、並びに分解又は代謝中に起こる副産物形成が異なることにより、更により複雑になる。加えて、所定の化合物からのＮＯ放出の反応速度はしばしば、放出されたＮＯの絶対量よりも重要である。さらに、ＮＯＤの組織分布及びＮＯが産生される部位もまた非常に重要である。これら全てを考慮することにより、文献に記載された様々なＮＯＤにより得られる非常に様々な薬理学的プロファイルが説明され、研究開発において新たに開発されたＮＯＤの薬理学的プロファイルを明らかにすることが必要となるので、これら全てを考慮することは重要である。
【０００５】
イソソルビドモノニトラート骨格を有する薬学的に有用なＮＯＤが、ＷＯ００／２０４２０に開示されている。ここに開示されているような化合物は、本発明の一部を形成するものではない。この出願では、強い血管拡張作用を有すると同時に耐性が少ない又は全くない有機ニトレートが記載されている。しかし、血小板活性化、血栓症、脳卒中、虚血に及び／又は虚血／再潅流による組織障害、酸化ストレスが病因論的に重要な役割を果たす病態、及びアテローム性動脈硬化症のいずれか又は任意の組み合わせを治療するための前記化合物のありうる使用については指摘されていない。従って、前記化合物の新たな使用は本発明の一部を形成する。
【０００６】
文献に記載された、又は臨床的に使用されている有機硝酸化合物の主要な問題の１つに、有機硝酸化合物の作用メカニズムは血管平滑筋の弛緩であり、心臓血管疾患に関する他の病理学的プロセスを改善しない、という事実がある。
【０００７】
組織の虚血により、細胞内のアデノシン三リン酸の蓄積が枯渇し、これにより、内皮細胞における膜関連ＡＴＰ依存イオンポンプの機能が損なわれる。このような膜の機能不全により、細胞内にカルシウム、ナトリウム及び水が流入してしまう。結果としてカルシウ

ム及びその他のイオンが細胞内に蓄積することにより、細胞が膨張し、細胞内の酵素が不適当に活性化することになる。虚血中に細胞内のカルシウムの上昇により活性化させる酵素の１つにキサンチンデヒドロゲナーゼ（ＸＤＨ）がある。通常の状況下では、ヒポキサンチン（ＡＴＰ代謝の分解産物）は、ＸＤＨによりＮＡＤＰＨ依存的に酸化され、キサンチン及び尿酸を生じる。しかし、虚血による低酸素状態では、ＡＴＰの加水分解により細胞内のヒポキサンチンレベルが上昇し、カルシウム依存的にプロテアーゼの活性化が起き、これによりＮＡＤＰＨ還元ＸＤＨは酸素還元型、すなわちキサンチンオキシダーゼ（ＸＯ）に転換される。組織の血流量が回復（再潅流）して酸素分子が導入されると、ＸＯはヒポキサンチンをキサンチンと尿酸に転換し、酸素分子の還元を触媒してスーパオキシドアニオンラジカル（O^{2-}）及び過酸化水素（H_2O_2）を形成する。酸素ラジカル産生のＸＯ依存的なメカニズムは、腸管、脳、心臓及び骨格筋を含む、様々な臓器に対する再潅流傷害においてO^{2-}及びH_2O_2の関与を説明するために考え出された。

【０００８】

虚血後の組織における酸素ラジカルの発生は、内皮細胞及び実質細胞を保護するスーパーオキシドジスムターゼ（ＳＯＤ）、カタラーゼ、グルタチオンのような、内因性抗酸化物質の処理能力を越えるらしい。ＳＯＤやカタラーゼのような外因性の酸化防止剤は、虚血及び再潅流により引き起こされる白血球浸潤及び組織傷害を弱めることが示されている。

【０００９】

一酸化窒素の生物学的利用能は再潅流時に減少しているようであり、これは再潅流において内皮のＮＯ産生が減少し、内細胞由来のO^{2-}によりＮＯの不活性化が減弱していることによるらしい。ＮＯの生物学的利用能が限られているために、再潅流中に異常な細胞間相互作用及び血管の機能不全が起きてしまう。一酸化窒素を供与する化合物は、虚血－再潅流実験モデルにおいて保護剤として保証されている。しかし、虚血再潅流による損傷を起こしたプロセスを考慮すると、ＮＯ供与体であると同時に抗酸化特性も有するという、両方の特性を有する分子を手に入れることは非常に有益であろう。

【００１０】

アテローム性動脈硬化症は、血管内皮の持続的な損傷により始まる進行中の過程である。アテローム性動脈硬化症は内皮の損傷に対する反応であるという考えは、アテローム性動脈硬化症とリスクファクター（高ＬＤＬ血漿レベル、低ＨＤＬ血漿レベル、高血圧、酸化ストレス、喫煙、糖尿病、高Ｌｐ（ａ）血漿レベル、又は酸化や糖化といった特定の受容体からのＬＤＬの除去を阻害するＬＤＬの修飾）との関連が研究されたときに生まれた。ＬＤＬは血管内皮細胞の能動輸送により血管壁に蓄積される。この過程で、ＬＤＬは分子の一部が酸化される。酸化ＬＤＬ（ｏｘ－ＬＤＬ）が存在することは、アテローム硬化型病変の発生に非常に重要である。同程度に、酸化型ＬＤＬがアテローム硬化型病変のいくつかの病理学的特徴の原因となるという理論は培養細胞システムの所見に由来し、その培養細胞システムでは、酸化型ＬＤＬは、動脈の既知の病変の形態と相関している細胞変化が生じるが、それは病変化していないＬＤＬによっては生じない。内皮傷害、内膜間質のＬＤＬ保持、内膜への単球の補充、リポ蛋白質誘導脂質によるマクロファージの腫大、平滑筋細胞遊走並びに増殖、壊死性物質の蓄積、並びに血管収縮及び凝血促進活性傾向は、アテローム性動脈硬化症の特性である。

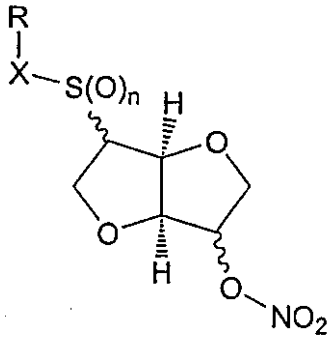
【００１１】

心臓同種移植後血管障害（Cardiac allograft vasculopathy）は、冠動脈硬化症が異常に加速された、びまん性の形をとり、心臓移植の長期成績を制限している。冠動脈内皮の血管拡張機能不全は、心臓同種移植後血管障害の進行の一般的な初期の指標となる。

【００１２】

従って、新たな硝酸有機化合物は、血管拡張性活性に加えて、例えばアテローム性動脈硬化症、並びに虚血及び／又は虚血再潅流による組織損害といった、心臓血管疾患に関する他の病理学的プロセスを改善する活性を組み合わせることができ、現在使用されている化合物に比べ非常に有用である。

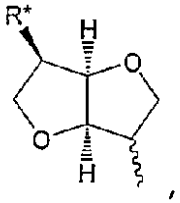
【００１３】
（発明の概要）
本発明の目的は、新たな種類の化合物、すなわちジアンヒドロヘキサイトモノニトレートの誘導体であり、強い血管拡張作用を発揮すると同時に、心臓血管疾患、例えばアテローム性動脈硬化症、心臓同種移植後血管障害、並びに虚血及び／又は虚血再潅流による組織損傷に関与する他の病理学的プロセスを改善する。
【００１４】
本発明の他の目的は、新たな種類の化合物、すなわちジアンヒドロヘキサイトモノニトレートの誘導体であって、これは血圧を変化させない投与量でも抗血栓作用を示すことができる。
【００１５】
本発明の他の目的は、新たな種類の化合物、すなわちジアンヒドロヘキサイトモノニトレートの誘導体であり、血栓溶解薬、抗凝固薬、抗血栓薬、抗酸化薬及び高脂血症治療薬との相乗効果を発揮しうるものである。
【００１６】
本発明の更に他の目的は、アテローム性動脈硬化症に関連した心血管障害を治療するための医薬品組成物を製造するための、ジアンヒドロヘキサイトモノニトレート誘導体の新たな使用方法に関する。
【００１７】
（発明の詳細な説明）
本発明の目的は、構造式（Ｉ）の化合物又はその互変異性体、その薬学的に許容される塩、そのプロドラッグ又はその溶媒和化合物を提供することであり、
【化１】



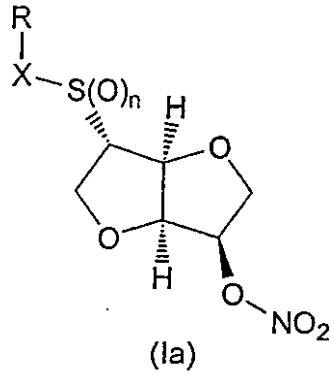
(I)

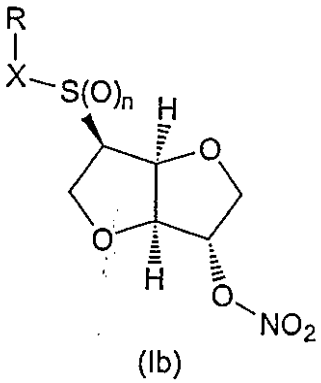
ここで、
ｎは０、１、又は２の整数であり、
Ｘは、－Ｓ（Ｏ）ｍ－、－（Ｃ＝Ｏ）－、又は単結合であり、ｍは０、１又は２の整数であるが、但し、Ｘが－（Ｃ＝Ｏ）－である場合には、ｎは０であり、
Ｒは水素又は残基Ｒ^{a}を示し、Ｒ^{a}は、
Ｃ$_{1-6}$アルキル；
Ｃ$_{2-6}$アルケニル；
Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル；
Ｃ$_{3-8}$シクロアルキルで、ＣＨ$_{2}$基の１つがＯ、Ｓ、ＮＨ又はＮＣＨ$_{3}$により置換されているもの；
Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル；
Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニルで、ＣＨ$_{2}$基の１つがＯ、Ｓ、ＮＨ又はＮＣＨ$_{3}$により置換されているもの；
フェニル；
ピリジル；

チオフェニル；
ニトロシル；
Ｓ－システイニル；
Ｓ－グルタチオニル；および
【化２】

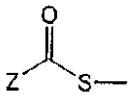


からなるグループから選択され、
ここで、Ｒ＊は、水素、Ｃ$_{1-6}$アルキル、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、アセチルオキシ、ヒドロキシル、ＯＮＯ$_2$及びハロゲンからなる群より選択され、
ここでＲ^{a}は、Ｃ$_{1-6}$アルキル、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、アセチルオキシ、ヒドロキシル、ＯＮＯ$_2$及びハロゲンからなる群より独立に選択された１から３個の官能基によって任意に置換される。
【００１８】
構造式（Ｉ）の化合物において、ＲＸＳ（Ｏ）ｎ－及び－ＯＮＯ$_2$が、構造式（Ｉａ）及び（Ｉｂ）に示すように、環平面について互いにトランスにある場合には、
【化３】





ＲＸＳ（Ｏ）ｎ－は
【化４】



ではなく、ここでＺはＣ$_1$－Ｃ$_4$アルキル基、アリール基又はアラルキル基であるのが好ましい。
【００１９】
驚くべきことに、強い血管拡張作用を有し、耐性は小さいか全くないだけでなく、構造式（Ｉ）に示される化合物は、抗血小板活性化作用、抗血栓作用、抗脳卒中作用、抗酸化作用、虚血及び／又は虚血／再潅流による組織傷害／損傷に抵抗する作用、並びに抗アテローム硬化作用を有する。
【００２０】
本発明の他の態様は、構造式（Ｉ）で示されるジアンヒドロヘキサイトモノニトレート

誘導体、互変異性体、薬学的に許容できる塩、プロドラッグまたは溶媒和化合物を、有効成分として少なくとも１つ有する医薬品組成物に関する。

【００２１】

本発明の更なる態様は、構造式（Ｉ）に従うジアンヒドロヘキサイトモノニトレート誘導体、互変異性体、薬学的に許容できる塩、プロドラッグまたは溶媒和化合物の少なくとも１つを、アテローム性動脈硬化症、内皮機能不全、血管攣縮、心臓同種移植後血管障害、循環系機能不全、血小板活性化、血栓症、脳卒中、アルツハイマー病、酸化ストレスがその病因に重要な役割を果たす病態の予防及び／又は治療のための医薬品組成物を製造するために、有効成分として使用することに関し、その病態において、一酸化窒素の不足がその病因、及び／又は虚血及び／又は虚血再潅流による組織障害に重要な役割を果たす。

【００２２】

上述の表現について以下で詳述する。

「その薬学的に許容できる塩、その溶媒和化合物またはそのプロドラッグ」とは、患者に（直接または間接的に）投与され、本願明細書において記載されている化合物を提供するいかなる薬学的に許容される塩、エステル、溶媒和化合物又は他のいかなる化合物も示す。しかし、薬学的に許容されない塩もまた、本発明の範囲に含まれると考えられる。その理由は、これらの化合物は薬学的に許容される塩を調製するうえで有用でありえるからである。塩、プロドラッグ及び誘導体は、当該技術分野において周知の方法により調製することができる。

【００２３】

例えば、本願明細書に記載されている化合物の薬学的に許容される塩とは、従来の化学的手法により作られた酸性基又は塩基性基を有する対応化合物から合成される。一般に、これらの塩は、例えば、化学量論的量のこれらの化合物の遊離酸又は塩基の型を、水又は有機溶媒又はこれらの混合物に溶解した対応する塩基又は酸と反応させることにより調製する。エーテル、酢酸エチル、イソプロパノール又はアセトニトリルのような非水性溶媒が一般に好適である。酸性塩の例には、塩酸塩、臭化水素酸塩、よう化水素塩、硫酸塩、ニトレート、リン酸塩のような無機酸塩、並びに、酢酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、シュウ酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、マンデル酸塩、メチルスルホナート並びにｐ－トルエンスルホナートのような有機酸塩がある。塩基性塩の例には、ナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウム、マグネシウム、アルミニウムおよびリチウムの塩のような無機塩、並びにエチレンジアミン、エタノールアミン、Ｎ，Ｎ－ジアルキレンエタノールアミン、トリエタノールアミン、グルカミン及びアミノ酸の塩基性塩のような有機塩がある。

【００２４】

特に好適な誘導体又はプロドラッグは、このような化合物が患者に投与された際に、本発明の化合物の生物学的利用能を増加させる（例えば、経口剤型の投与された化合物が血中により素早く吸収されるようにするなど）もの、又は対応する化合物の生物学的コンパートメント（例えば、脳又はリンパ系）への放出を増加させるものである。

【００２５】

構造式（Ｉ）の化合物のプロドラッグであるいかなる化合物も本発明の範囲に含まれる。「プロドラッグ」は最も広い意味で用いられており、「体内で」本発明の化合物へと代謝される誘導体を含む。このような誘導体には、分子の有する官能基に従うものであって限定されるものではないが、エステル、アミノ酸のエステル、リン酸エステル、スルホン化された化合物の金属塩、カルバミン酸エステル並びにアミドエステルが含まれる。

【００２６】

本発明の化合物は、好ましくは、結晶状、又は遊離化合物様、若しく溶媒和化合物様であってもよい。適用することのできる溶媒化方法は、当該技術分野において一般的に知られている方法である。好適な溶媒和化合物は、薬学的に許容される溶媒和化合物である。溶媒和化合物を水和物とするのが好ましい。

【００２７】

構造式（Ｉ）の化合物、又はその塩若しくは溶媒和化合物は、薬学的に許容される実質的に純粋な状態であることが好ましい。薬学的に許容できる形態であるということから、「とりわけ」、薬学的に許容される純度であり、希釈剤やキャリアのような通常の薬学的添加物は除去され、通常の投与量では無毒性であると考えられる材料を含有することが理解される。薬剤の純度は、５０％以上、好ましくは７０％、更により好ましくは９０％以上である。更により好ましい態様として、構造式（Ｉ）の化合物、又はその塩、溶媒和化合物若しくはプロドラッグは、９５％以上の純度を有する。

【００２８】

構造式（Ｉ）により示される本発明の化合物は、キラル中心又は異性体中心の存在、及び／又は多重結合の存在（例えば、Ｚ、Ｅ）の存在による鏡像異性体を含むことができる。純粋な異性体、鏡像異性体又はジアステレオ異性体、及びこれらの混合物は、本発明の範囲に含まれる。

【００２９】

用語「ハロゲン」とは、フッ素、塩素、臭素またはヨウ素のことであり、これらの中で臭素が好ましい。

【００３０】

本願明細書において使用する用語「C_{1-6}アルキル」とは、１～６個の炭素原子を有する直鎖又は分枝鎖アルキル部分を示し、例えば、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、イソ－ブチル、ｓｅｃ－ブチル、ｔ－ブチル、ペンチル及びヘキシルである。

【００３１】

本願明細書において使用する用語「C_{2-6}アルケニル」とは、２～６個の炭素原子を有する直鎖又は分枝鎖アルキル部分を示し、該当する場合には、Ｅ又はＺ立体異性体の２重結合を少なくとも１つ有する。この用語は、例えば、ビニル、アリル、１－及び２－ブテニル並びに２－メチル－２－プロペニルを含む。

【００３２】

本願明細書において使用する用語「C_{3-8}シクロアルキル」とは、３～８個の炭素原子を有する脂環基を示す。このようなシクロアルキル基の具体例として、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル及びシクロヘキシルがある。

【００３３】

従って、用語「C_{3-8}シクロアルキルであって、CH_2基の１つがＯ、Ｓ、ＮＨ又はNCH_3により置換されたもの」とは、３～８個の炭素原子を有する脂環基であって、CH_2基の１つがＯ、Ｓ、ＮＨ又はNCH_3により置換されたものを示す。このような基の具体例として、テトラヒドロピラン、テトラヒドロフラン、ピロリジン、ピペリジン及びテトラヒドロチオフェンがある。

【００３４】

用語「C_{4-8}シクロアルケニル」とは、４～８個の炭素原子を有する脂環基を示す。このようなシクロアルケニル基の具体例として、シクロペンテニル、シクロヘキセニル、シクロヘプテニル及びシクロオクテニルがある。

【００３５】

Ｒが水素、C_{1-6}アルキル、C_{2-6}アルケニル、C_{3-8}シクロアルキル、C_{4-8}シクロアルケニル、（C_{1-6}アルキル）C_{4-8}シクロアルキル、（C_{1-6}アルキル）C_{4-8}シクロアルケニル、フェニル又は（C_{1-6}アルキル）フェニルであることが好ましいが、C_{1-6}アルキルが特に好ましい。

【００３６】

構造式（Ｉ）において、ｍ及びｎの一方又は両方が０であることは更に好ましい。

【００３７】

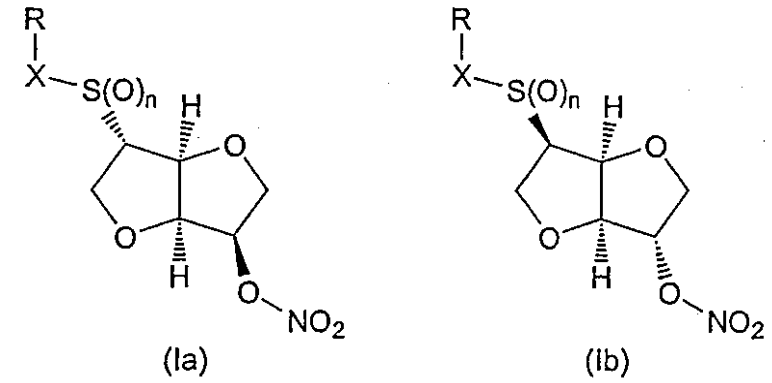
また、Ｘは単結合又は－Ｓ－であることが好ましい。

【００３８】

構造式（Ｉ）の化合物が構造式（Ｉａ）及び／又は構造式（Ｉｂ）により示される化合

物に対応することは特に好ましい。

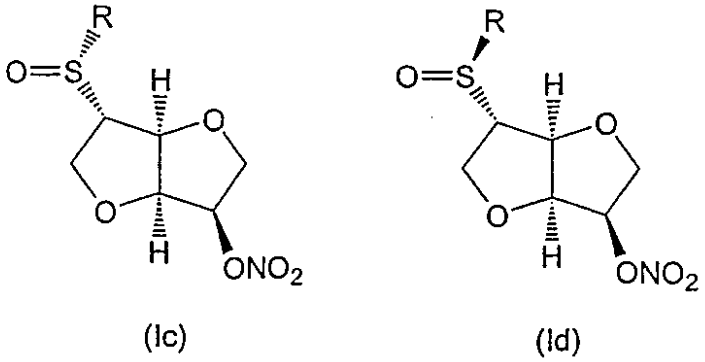
【化５】



【００３９】

構造式（Ｉ）の化合物は、構造式（Ｉｃ）及び（Ｉｄ）に示す、（Ｒ）及び（Ｓ）ジアステレオマも含む。

【化６】



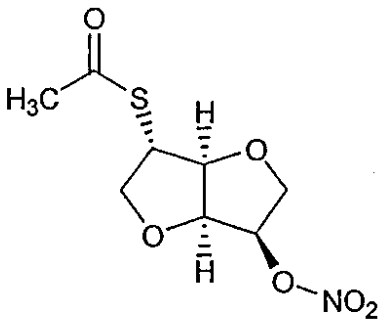
【００４０】

構造式（Ｉ）で示される特に好ましい化合物は、
２－チオイソソルビド５－モノニトレート、
５，５’－ジニトラート－２，２’－ジチオジイソソルビド、
２－メチルチオイソソルビド５－モノニトレート、
２－［（Ｒ）メチルスルフィニル］イソソルビド５－モノニトレート、
２－［（Ｓ）メチルスルフィニル］イソソルビド５－モノニトレート、
２－メチル－スルフィニルイソソルビド５－モノニトレート、
２－メチルスルフォニルイソソルビド５－モノニトレート、
Ｓ－ニトロソ－２－チオイソソルビド５－モノニトレート、
２－（テトラヒドロピラン－２－イル－チオイソソルビド５－モノニトレート、
２－（イソソルビジル－２’－ジチオ）イソソルビド５－モノニトレート、及び
２－（５’－アセチルオキシイソソルビジル－２’－ジチオ）イソソルビド５－モノニトレート、である。

【００４１】

更に、２－アセチルチオイソソルビド－５－モノニトレート（化合物（１２））、その互変異性体、その薬学的に許容できる塩、そのプロドラッグ及び／又はその溶媒和化合物を、

【化７】



12

血栓症、虚血、虚血及び／又は虚血再潅流による細胞／組織損害、高血圧、血管攣縮、アテローム性動脈硬化症及び／又は心臓同種移植後血管障害の予防及び／又は治療のための医薬品組成物を製造するための有効成分として用いるのが特に好まれる。

【００４２】

加えて、構造式（Ｉ）、特に２－アセチルチオイソソルビド５－モノニトレート（１２）、これらの互変異性体、薬学的に許容される塩、プロドラッグ及びその溶媒和化合物を、アテローム性動脈硬化症、心臓同種移植後血管障害、血小板活性化、血栓症、脳卒中、酸化的ストレスが発症に重要な役割を果たす病態、及び／又は虚血及び／又は虚血再潅流による組織障害の予防及び／又は治療のための療法に用いてもよい。これらの化合物は特に、例えば、アレルギー、脳卒中、アルツハイマー病、及び／又は虚血性心臓血管疾患のような、酸化ストレスが発症に重要な役割を果たす病態の予防及び／又は治療に用いることができる。この医薬品組成物は異なる経路により投与してもよい。例えば、錠剤、カプセル、シロップ及び懸濁液のような薬学的に調製された形で経口的に投与してもよい。非経口的には、溶液又は乳剤などの形状で投与してもよい。クリーム、ポマード、バルサムなどの形で局所的に、また例えばパッチ又は包帯の使用によりで経皮的に投与してもよい。座薬として直腸に直接投与してもよい。調製の際に、生理的に許容されるキャリア、医薬品添加物、活性剤、キレート剤、安定化剤、などを含むことができる。注入する場合には、生理的に許容されるバッファー、可溶化剤又は等張液に組み込んでもよい。

【００４３】

本発明による医薬品組成物は更に、血栓溶解薬、好ましくはプラスミノーゲンアクチベータ、ウロキナーゼ、ストレプトキナーゼ、アルテプラーゼ又はアニストレプラーゼを含んでもよい。本発明による医薬品組成物はまた、抗凝固剤、好ましくはヘパリン、ジクマロール、アセノクマロール、エノキサパリン又はペントサンポリ硫酸を含むことができる。更に、本発明による医薬品組成物は加えて抗血栓薬剤、好ましくはアセチルサリチル酸、ジピリダモール、チクロピジン、クロピドロゲル（clopidrogel）、トリフザール、ペントサンポリ硫酸又はアブシキマブを含むことができる。本発明による医薬組成物は更に、糖蛋白質ＩＩｂ／ＩＩＩａ特異的な免疫グロブリン又はその断片を含むことができる。

【００４４】

或いは又、本発明による医薬品組成物は、抗高脂血症薬、好ましくはシンバスタチン、ロバスタチン、アトロバスタチン、プラバスタチン、フルバスタチン、エプタスタチン、リフィブロール、アシフラン、アシテメート、グルニカート、又はロスバスタチンを含むことができる。本発明による医薬品組成物はまた、抗酸化剤／フリーラジカルスカベンジャー薬剤、好ましくはニカラベン、ラノラジン、エモキシピン、グルタチオン、エダラボン、ラキソフェラスト、リコペン、Ｎ－アセチル－Ｌ－システイン、Ｎ－アセチル－Ｄ－システイン、Ｎ－アセチル－Ｌ－システインとＮ－アセチル－Ｄ－システインのラセミ混合物、又はカルベジロールから選択された薬剤を含むこともできる。

【００４５】

本発明による医薬品組成物は、アテローム性動脈硬化症、心臓同種移植後血管障害、血

小板活性化、血栓症、脳卒中、虚血及び／又は虚血再潅流による組織損害、及び／又は酸化ストレスが発症に重要な役割を果たす病態（例えば、アレルギーに限らず、脳卒中、アルツハイマー病、虚血性心疾患など）、及び／又はＮＯの不足が発症に重要な役割を果たす病態の治療及び／又は予防をするために用いてもよい。本発明による医薬品組成物は、循環器系の機能不全、好ましくは心血管及び冠状動脈機能不全を治療及び／又は予防をするために用いてもよい。

【００４６】

１日量は特異的症状、年齢、患者の体重、特異的投与形態等によって異なっていてもよく、成人の通常１日量は０．１～５００ｍｇであり、１日に１回又は数回に分割してもよい。

【００４７】

本発明の化合物は、当該技術分野において公知の調製方法により、当業者に既知の工程を用いることにより、又は後述の新たな工程を用いることにより調製できる。

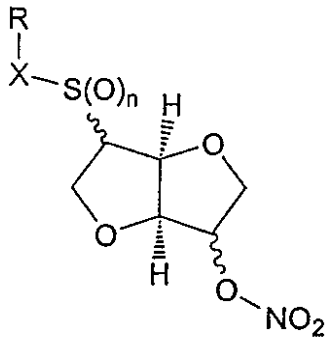
【００４８】

従って、本発明の他の態様は、構造式（Ｉ）に示す化合物、その互変異性体、その薬学的に許容される塩、そのプロドラッグ、及びそれの溶媒和化合物調製する工程に関する。

【００４９】

本発明によると、構造式（Ｉ）の化合物、その互変異性体、その薬学的に許容される塩、そのプロドラッグ又はその溶媒和化合物を以下に概説した製造方法により調製するのが好ましく、

【化８】



(I)

ここで：

ｎは、０、１又は２の整数であり、

Ｘは、－Ｓ（Ｏ）ｍ－、又は単結合であり、ｍは０、１又は２の整数であり、

Ｒは水素又は残基R^aを示し、R^aは

C_{1-6}アルキル；

C_{2-6}アルケニル；

C_{3-8}シクロアルキル；

C_{3-8}シクロアルキルで、CH_2基の１つがＯ、Ｓ、ＮＨ、NCH_3により置換されたもの；

C_{4-8}シクロアルケニル；

C_{4-8}シクロアルケニルで、CH_2基の１つがＯ、Ｓ、ＮＨ、NCH_3により置換されたもの；

フェニル；

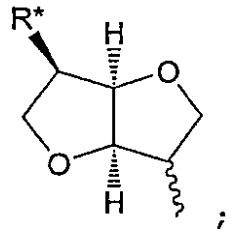
ピリジル；

チオフェニル；

ニトロシル；

Ｓ－システイニル；

Ｓ－グルタチオニル；および
【化９】



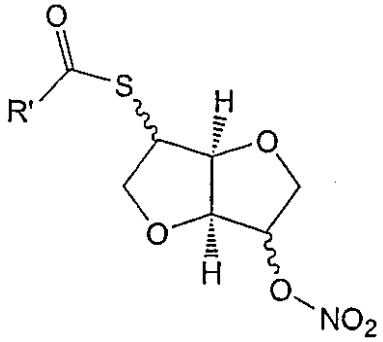
からなる群から選択され、

ここで、Ｒ＊は、水素、Ｃ$_{1-6}$アルキル、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、アセチルオキシ、ヒドロキシル、ＯＮＯ$_2$及びハロゲンからなる群より選択され、

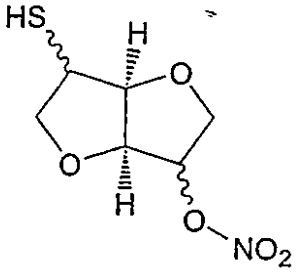
ここでＲ^{a}は、Ｃ$_{1-6}$アルキル、Ｃ$_{2-6}$アルケニル、Ｃ$_{3-8}$シクロアルキル、Ｃ$_{4-8}$シクロアルケニル、アセチルオキシ、ヒドロキシル、ＯＮＯ$_2$及びハロゲンからなる群より独立に選択された１から３個の官能基によって任意で置換され、

この製造方法は、以下の工程の実施を含む。

（ａ）構造式（ＩＩａ）の化合物を加水分解し：
【化１０】



ここで、Ｒ’はＣ$_1$－Ｃ$_6$アルキル、好ましくはメチルであって、
以下の化合物
【化１１】

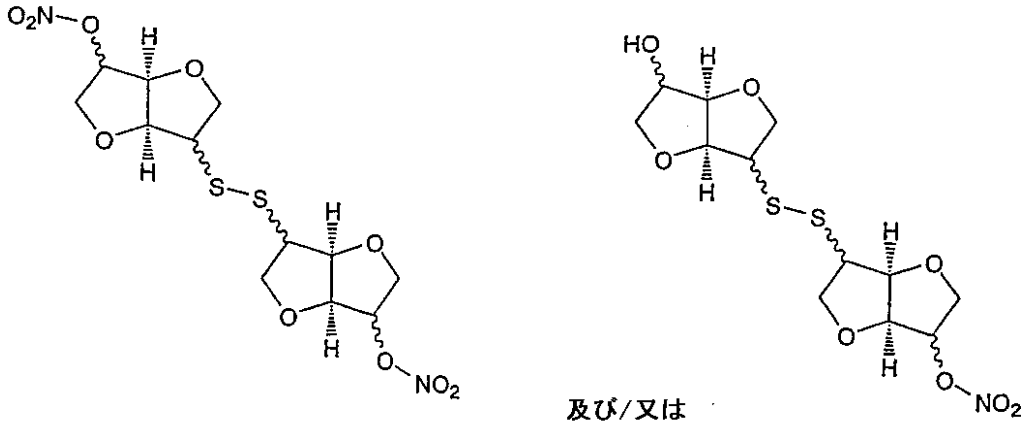


を得る工程、および

（ｂ）任意であるが、工程（ａ）により調製した化合物において以下を達成する工程。

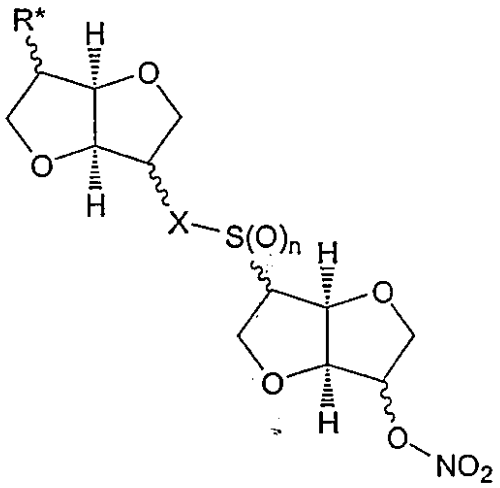
Ｉ．酸化反応を行ない、以下の化合物

【化１２】



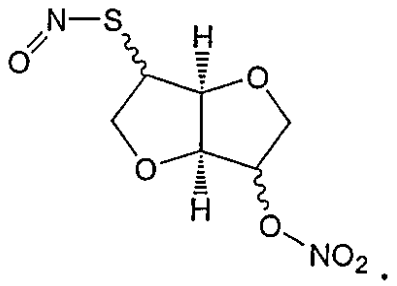
を得る工程：
任意であるが、引き続いての２回目の酸化反応により、以下の化合物を得る工程であって、

【化１３】

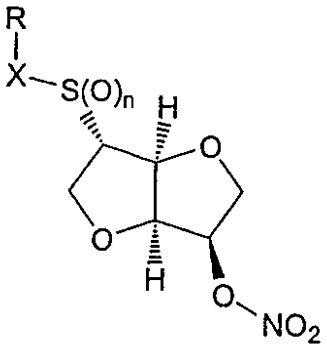


ここで、
ｎは１、２であり、
Ｘは－Ｓ（Ｏ）ｍ－であり、ここでｍは０、１又は２であり、
また、Ｒ＊はヒドロキシル又はＯＮＯ２である、当該工程；
ＩＩ．置換反応を行なって構造式（Ｉ）に記載の化合物を得る工程であって、ここで：
ｎは整数０であり、
Ｘは単結合であり、
Ｒはニトロシルではなく、
任意であるが、引き続いての酸化反応により、構造式（Ｉ）に記載の化合物を得る工程であって、ここで：
ｎは整数０であり、
Ｘは－Ｓ（Ｏ）ｍ－であり、ここでｍは０又は１であり、
Ｒはニトロシルではない、当該工程；
ＩＩＩ．置換反応により構造式（Ｉ）に記載の化合物を得る工程であって、ここで：
ｎは整数０であり、
Ｘは－Ｓ－である当該化合物であって、
任意であるが、引き続いての酸化反応により、構造式（Ｉ）に記載の化合物を得る工程で

あって、ここで：
ｎは整数１又は２であり、
Ｘは－Ｓ（Ｏ）ｍ－であり、ここでｍは０、１又は２である、当該工程、または、
ＩＶ．ニトロソ化反応により以下の化合物
【化１４】

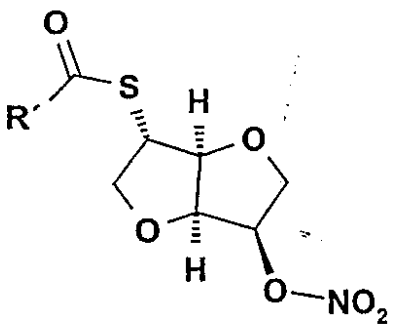


を得る工程である当該工程。
【００５０】
本発明の上記製造方法によれば、構造式（Ｉａ）の化合物、その互変異性体、その薬学的に許容できる塩、そのプロドラッグ又はその溶媒和化合物を調製するのが好ましく、
【化１５】



(Ia)

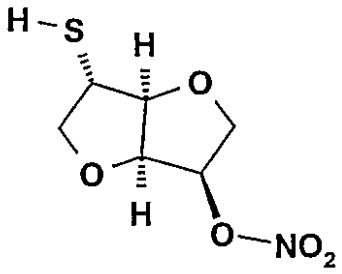
ここで、ｎ、Ｘ、ｍ及びＲは上記の意味を有し、
ここで、前記製造方法は次の工程を行うことを含む。
（ａ）構造式（ＩＩ）の化合物の加水分解し、
【化１６】



(II)

ここで、Ｒ’はＣ$_{1-6}$アルキル、好ましくはメチルであって、
２－チオイソソルビド５－モノニトレート（１）

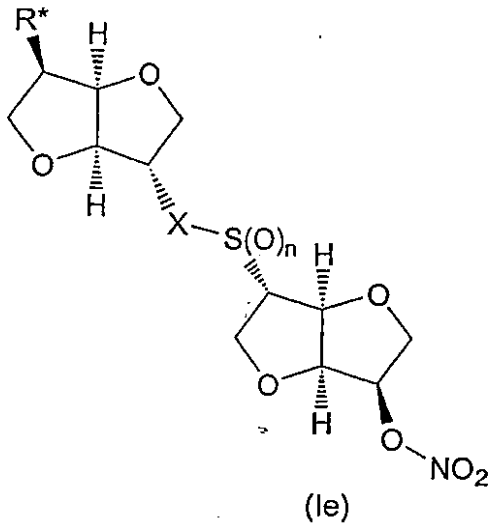
【化１７】



(1)

を得る工程、および、
（ｂ）任意であるが、工程（ａ）により調製した化合物（１）において以下を達成する工程、
Ｉ．酸化反応を行ない、以下の化合物：
５，５’－ジニトラート－２，２’－ジチオジイソソルビド（２）又は２－（イソソルビジル－２’－ジチオイソソルビド５－モノニトレート（８）、
を得る工程、
任意であるが、引き続いての２回目の酸化により、構造式（Ｉｅ）に記載の化合物を得る工程であって、

【化１８】



(Ie)

ここで：
ｎは１又は２であり、
Ｘは－Ｓ（Ｏ）ｍ－であり、ここでｍは０、１又は２であり、
Ｒ＊はヒドロキシル又はＯＮＯ$_2$である、当該工程、
ＩＩ．置換反応により構造式（Ｉａ）に記載の化合物を得る工程であって、ここで：
ｎは整数０であり、
Ｘは単結合で、
Ｒはニトロシルではなく、
任意であるが、引き続いての酸化により、構造式（Ｉａ）に記載の化合物を得る工程であって、ここで：
ｎは整数０であり、
Ｘは－Ｓ（Ｏ）ｍ－であり、ここでｍは整数０又は１であり、

Ｒはニトロシルではない、当該工程、
ＩＩＩ．置換反応により構造式（Ｉａ）に記載の化合物を得る工程であって、ここで：
ｎは整数０であり、
Ｘは－Ｓ－であり、
任意であるが、引き続いての酸化により、構造式（Ｉａ）に記載の化合物を得る工程であって、ここで、
ｎは整数１又は２であり、
Ｘは－Ｓ（Ｏ）ｍ－で、ここでｍは０、１又は２である当該工程、または
ＩＶ．ニトロソ化反応によりＳ－ニトロソ２－チオイソソルビド５－モノニトレート（６）を得る、当該工程。

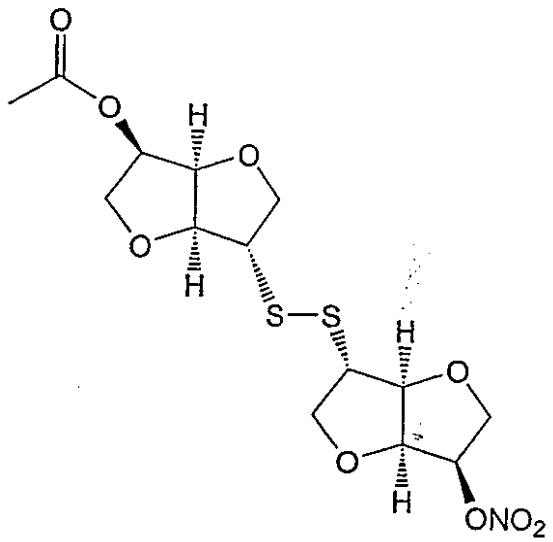
【００５１】
本発明のこの新たな工程である任意の工程（ｂ）は、本発明の特異的な化合物を調製するためのスキーム１～４に模式的に記載されている。これらスキーム１～４はそれぞれ、酸化反応Ｉ、置換反応ＩＩ、置換反応ＩＩＩ及びニトロソ化反応ＩＶに関連する。

【００５２】
本発明の特に好ましい製造方法は、工程（ａ）及び工程（ｂ）ＩＩを含んでおり、２－［（Ｒ）－アルキルスルフィニル］イソソルビド５－モノニトレート及び／又は２－［（Ｓ）－アルキルスルフィニル］イソソルビド５－モノニトレートを調製する。

【００５３】
両方のジアステレオマーがその後分離されるのが更に望ましく、この分離は当該分野において既知である従来の方法を用いて行うことができる。

【００５４】
本発明の更なる好ましい調製の製法は、構造式（１１）または互変異性体の化合物、薬学的に許容される塩、プロドラッグまたはその溶媒和化合物の調製に関するものであり、

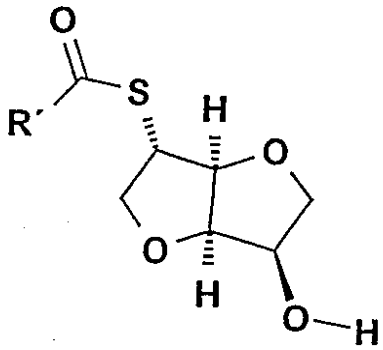
【化１９】



(11)

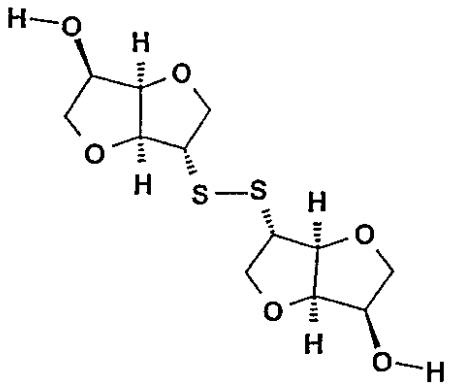
この製法は下記の、
ａ）構造式（ＩＩＩ）の化合物の酸化反応を行ない、

【化２０】



(III)

ここでＲ’は$Ｃ_{1}$－$Ｃ_{6}$アルキル、好ましくはメチルであり、
２，２’－ジチオジイソソルビド（１０）
【化２１】



(10)

を得る工程、および
（ｂ）無水カルボン酸、好ましくは無水酢酸存在下でニトロ化剤により工程（ａ）で調製した化合物をニトロ化反応する工程を含む。
【００５５】
最終的に、本発明の他の態様は、２，２’－ジチオジイソソルビド、化合物（１０）に関するものであり、この化合物は本発明の化合物（１１）を調製する際の中間化合物である。
【００５６】
本願明細書の実施例（下記参照）において、一般式（Ｉ）による様々な化合物を得る好適な工程を詳細に記載する。これらの実施例を見て、本願明細書の実施例を適切に改変することで、本願明細書において明示していない化合物を得ることは、当業者一般の知識の範囲内である。これらの実施例が単に図示する目的だけのためものであって、本発明を制限するために考慮されてはならないことは当業者にとって明らかである。
【実施例】
【００５７】
以下に示す実施例において得られた化合物は、水素（^{1}H-NMR）及び炭素-13（^{13}C-NMR）核磁気共鳴スペクトロスコピーのデータにより同定された。
【００５８】
核磁気共鳴スペクトルは、Ｖａｒｉａｎ　Ｇｅｍｉｎｉ－２０００又はＶａｒｉａｎ　Ｇｉｍｉｎｉ－３００スペクトロメータにより測定した。

【００５９】
スペクトルを記録するのに用いた操作周波数（operating frequency）及び溶媒を１H-NMRスペクトル中に示す。信号の位置は、δ（ppm）で示され、溶媒プロトンの信号を基準とした。重水素を含むクロロホルムの基準値は7.24ppmであり、重水素を含むジメチルスルホキシドの基準値は2.49ppmであった。テトラメチルシラン（ＴＭＳ）プロトンから得られた信号を、場合によっては内部基準とし、基準値として０ｐｐｍとした。電気的積分（electronic integration）及び信号の種類として計測される、各信号でのプロトンの数を括弧内に示し、以下の略語を用いる。s（シングレット)、d（ダブレット)、t（トリプレット)、dd（ダブレットのダブレット)，ddd（ダブレットのダブレットのダブレット)、bs（広いシグナル)、cs（複合的なシグナル)、s．a.D_2O（重水素化によりシンプリファイする)、d．a.D_2O（重水素化により消失する）

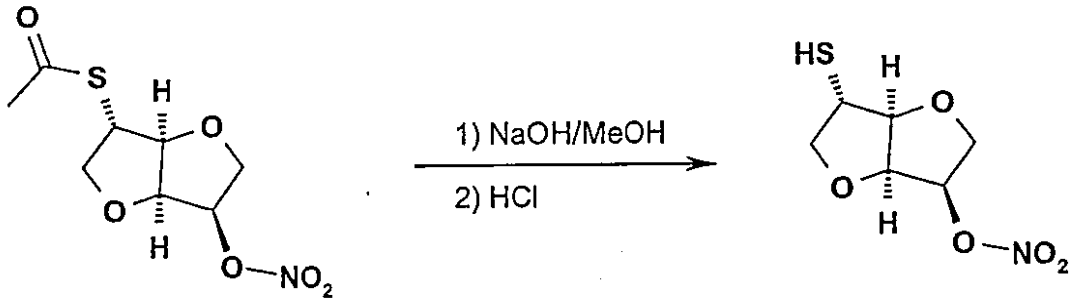
【００６０】
スペクトルを記録するのに用いた操作周波数及び溶媒を13C-NMRスペクトル中に示す。信号の位置は、δ（ppm）で示され、溶媒炭素の信号を基準とした。重炭素を含むクロロホルムの基準値は77.00ppmであり、重炭素を含むジメチルスルホキシドの基準値は39.50ppmであった。

【００６１】
幾つかの場合には、APT（Attached Proton Test)、HETCOR（Heteronuclear Chemical Shift Correlation）またはCOSY（Correlated Spectroscopy）のパルスシークエンスも同定する補助として用いて、核磁気共鳴実験を行なった。

【００６２】
実験に関する部分では、以下の略号を用いる。
ＡｃＯＥｔ　酢酸エチル
ＡｃＯＨ　酢酸
ＤＭＳＯ－ｄ６　ヘキサ重水素を含むジメチルスルホキシド
ＥｔＯＨ　エタノール
ＥｔＯＥｔ　エチルエーテル
ＨＰＬＣ　高速液体クロマトグラフィー
Ｈｘ　ヘキサン
ＭｅＩ　ヨウ化メチル
ＭｅＯＨ　メタノール
ＬＣ－（ＡｐｃＩ）ＭＳ　大気圧化学イオン化液体クロマトグラフ質量分析
ｓ．ｄ．　標準偏差
ｓ．ｅ．ｍ．　標準誤差
ＴＨＰ　テトラヒドロピラニル

【００６３】
実施例１
２－チオイソソルビド５－モノニトレート（１）を得る方法。

【化２２】



12 1

５０ｍＬのフラスコ内で、ＷＯ００／２０４２０により得られた２－アセチルチオイソソルビド５－モノニトレート（１２）１．００ｇ（４．０２ｍｍｏｌ）をメタノール２０．０ｍＬに溶解する。水酸化ナトリウムの10%メタノール溶液１０．０ｍＬを一気に加える。すぐに覆って１分間室温（約２５℃）で撹拌した後、濃塩酸２．２３ｍＬを一気に加えた。撹拌ながら乾燥するまで濃縮し、減圧下で３０℃未満にして溶媒を除去した。

【００６４】

残留物をクロロホルム中に懸濁した。このクロロホルム溶液をフィルターに通し、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。フィルターを通した後に、減圧下で溶媒を除去した。減圧下で乾燥し、ここで関心のある産物に相当する、０．８３ｇの橙黄色の油を得る。収率：１００％。

【００６５】

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 5.36-5.26 (1H, m, $CHONO_2$), 4.95 (1H, t, J=5.0 Hz, CHCHONO$_2$), 4.42 (1H, d, 4.8 Hz, CHCHS), 4.07 (1H, dd, J=4.6 Hz, J=4.4 Hz, H-CHCHS), 3.97 (1H, dd, J=5.64 Hz, J=2.5 Hz, H-CHCHONO2), 3.87-3.76 (2H, cs, H-CHCHS, HCHCHONO$_2$), 3.45-3.35 (1H, m, CHS), 1.77 (1H, d, J=8.6 Hz, SH)

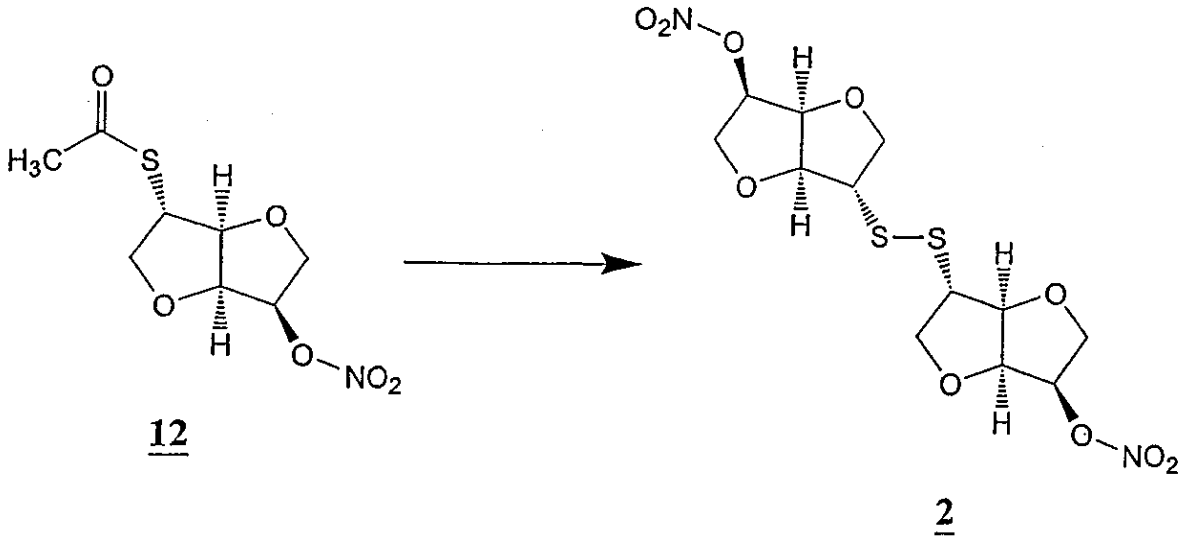
^{13}C-NMR (50 MHz, $CDCl_3$) : 91.21 (CHCHS), 81.22 ($CHONO_2$), 81.07 ($CHCHONO_2$), 76.15 (CH_2CHS), 69.26 (CH_2CHONO_2), 42.82 (CHS)

【００６６】

実施例２

５，５’－ジニトラート－２，２’－ジチオジイソソルビド（２）を得る方法

【化２３】



12 2

手順１：

ＷＯ００／２０４２０により得られた２－アセチルチオイソソルビド５－モノニトレート（１２）０．５ｇをメタノール１０．０ｍＬに溶解する。この溶液を、強力磁石撹拌装置付き２５０ｍＬフラスコにいれたヒト血漿２００ｍＬに一滴ずつゆっくり加える。反応混合液液を１５時間室温で撹拌した。この反応粗製液を激しく撹拌しながらアセトニトリル５００．０ｍＬに注ぐと、血漿タンパク質に相当する凝集した白い固形物がすぐに沈澱するのが観察された。３０００回転／分２０℃で３０分間で遠心し、液体を分離し、固形物（タンパク質塊）をアセトニトリル２５０．０ｍＬに懸濁した。懸濁液を撹拌し、上述した条件と同じ条件（３０００回転／分／２０℃／３０分）にて遠心した。

【００６７】

上澄液をうつし、先ほどのものとあわせた。溶媒を減圧下３０℃未満で蒸発させた。得られた水性残留物（約２００ｍＬ）をクロロホルム５００ｍＬで４回抽出した。これらの有機相を混ぜ、無水硫酸マグネシウムで乾燥した。フィルターを通した後、減圧下で溶媒を濃縮した。フィルタリングの後、溶剤を減圧下で濃縮した。それはクロマトグラフィー（$CHCl_3$/AcOEt ６：1）によって純化される白色固体の350mgを得、2-チオイソソルビド5-モノニトレート二硫化物製品(2)に対応する白色固体の250mgを分離する結果となった。収率：６０％。

【００６８】

手順２：

５０ｍＬのフラスコ内で、ＷＯ００／２０４２０に従って得られた２－アセチルチオイソソルビド５－モノニトレート（１２）１．００ｇ（４．０２ｍｍｏｌ）をメタノール２０．０ｍＬに溶解し、水酸化カリウムの１０％メタノール溶液１０．０ｍＬを加えた。反応混合液を覆い、５時間室温で撹拌した。二硫化物（２）に相当する白色固体の沈澱が反応中に観察される。沈殿物をフィルターにかけ、メタノールで数回洗浄した。減圧下で乾燥し、ここで関心のある２－チオイソソルビド５－モノニトレート二硫化物産物（２）に相当する白色固体０．５８ｇを得た。収率：７０％。

【００６９】

^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d6): 5.51-5.43 (2H, m, $2CHONO_2$), 4.96 (2H, t, J=5.4 Hz, $2CHCHONO_2$), 4.51 (2H, d, J=4,8 Hz, 2CHCHS), 4.04-3.73 (10H, cs, $2CH_2CHONO_2$, $2CH_2$CHS, 2CHS)

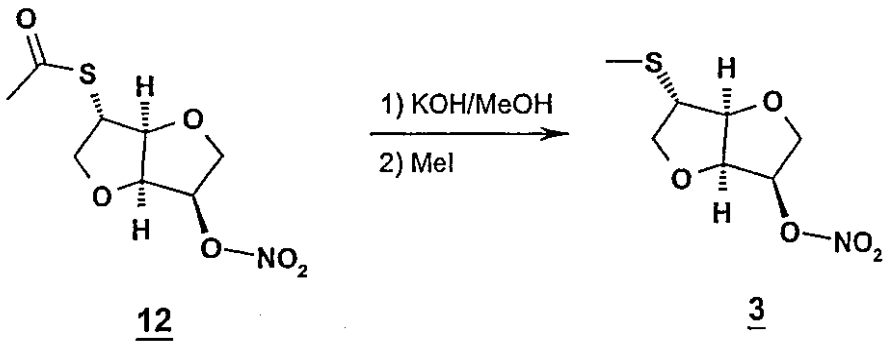
^{13}C-NMR (50 MHz, DMSO-d6): 88.46 (2CHCHS), 83.31 ($2CHONO_2$), 81.50 ($2CHCHONO_2$), 73.24 ($2CH_2CHS$), 69.95 ($2CH_2CHONO_2$), 54.01 (2CHS)

【００７０】

実施例３

２－メチルチオイソソルビド５－モノニトレート（３）を得る方法

【化２４】



12　　3

５０ｍＬのフラスコ内で、ＷＯ００／２０４２０に従って得られた２－アセチルチオイ

ソソルビド５－モノニトレート（１２）１．００ｇ（４．０２ｍｍｏｌ）をメタノール２０．０ｍＬに溶解し、水酸化カリウムの10%メタノール溶液５．０ｍＬを一気に加えた。反応混合液を覆い、５分間室温で撹拌した。ヨウ化メチル（３２．００ｍｍｏｌ）２．０ｍＬを一気に加え、混合液を覆って２時間室温で撹拌した。濃縮して乾燥し、減圧下で溶媒を除去した。残留物をクロロホルム２５０ｍＬに溶解し、水５０ｍＬで洗浄した。有機相を分離し、水５０ｍＬで３回洗浄した。

【００７１】

無水硫酸マグネシウムで乾燥した後、フィルターを通し、溶媒を減圧下で除去した。減圧下で乾燥した後、ここで関心のある産物に相当する、０．６８ｇの白色固形物が得られる。収率：７６％。

【００７２】

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 5.34-5.26 (1H, m, $CHONO_2$), 4.93 (1H, t, J=5.2 Hz, CHCHONO$_2$), 4.48 (1H, d, J=4.8 Hz, CHCHS), 4.14 (1H, dd, J=9.7 Hz, J=4.8 Hz, H-CHCHS), 4.01 (1H, dd, J=11.2 Hz, J=3.0 Hz, H-CHCHONO$_2$)m 4.01-3.81 (2H, cs, H-CHCHS, H-CHCHONO$_2$), 3.30-3.24 (1H, m, CHS), 2.15 (3H, s, CH_3)

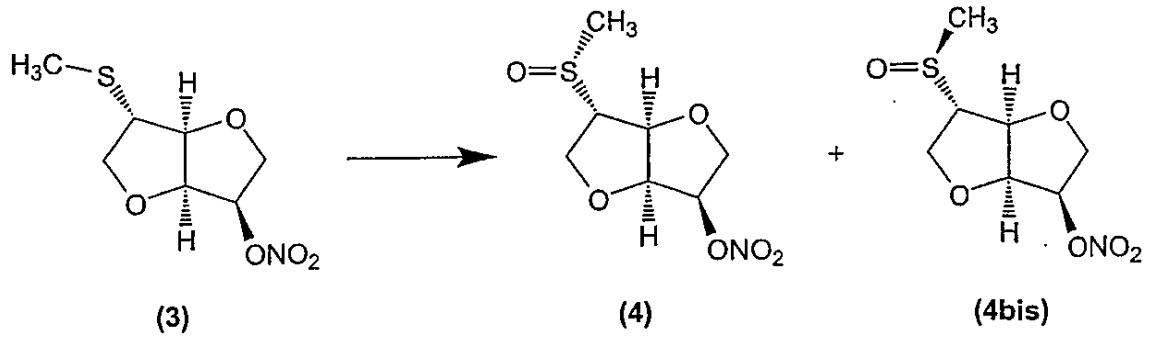
^{13}C-NMR (50 MHz, $CDCl_3$): 88.65 (CHCHS), 81.55 (CHCHONO2), 81.26 ($CHONO_2$), 73.87 (CH_2CHS), 69.10 (CH_2CHONO2), 50.74 (CHS), 14.74 (CH_3)

【００７３】

実施例４

２－［（R）-メチルスルフィニル］イソソルビド５－モノニトレート（４）及び２－［（S）-メチルスルフィニル］イソソルビド５－モノニトレート（４ｂｉｓ）を得る方法

【化２５】



(3) (4) (4bis)

５００ｍＬフラスコ中で、実施例３によって得られた２－メチルチオイソソルビド５－モノニトレート７．３ｇ（３２．９ｍｍｏｌ）をジオキサン７５ｍＬに溶解した。ＮａＩＯ$_4$ ７．０４ｇ（３２．９ｍｍｏｌ）を水１１０ｍＬ溶かした溶液を非常にゆっくりと一滴ずつ加え、１時間室温で撹拌した。混合物をフィルターに通し、減圧下でフィルターからジオキサンを除去した。水１５０ｍＬを加えた。混合物をクロロホルム３００ｍＬで２回抽出した。これを無水硫酸マグネシウムで乾燥してフィルターを通し、減圧下で溶媒を除去した。これにより、６５％の（４）及び３５％の（４ｂｉｓ）のジアステテオマーを含む反応粗製物６．６ｇを得た。この粗製物をジオキサンから２回再結晶化し、ここで関心のある生成物（４）２．９ｇを得、ＨＰＬＣによる純度は９５％であった。１回目の再結晶化からの母液を用いて、溶媒を減圧下で除去し、生じた残留物をジオキサンから再結晶化しＨＰＬＣにより純度９５％のここで関心のある生成物（４ｂｉｓ）１ｇを得た。

【００７４】

２－［（R）-メチルスルフィニル］イソソルビド５－モノニトレート（４）：

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 5.39-5.28 (1H, m, $CHONO_2$), 5.02 (1H, dd, J=5.6 Hz, J=1.6 Hz, CHCHS), 4.89 (1H, t, J=5.5 Hz, CHCHONO$_2$), 4.29 (1H, dd, J=10.4 Hz, J=6.4 Hz, H-CHCHS), 4.20-3.91 (3H, cs, H-CHCHS, CH_2CHONO$_2$), 3.38-3.31 (1H, m, CHSO),

2.61 (3H, s, CH_3)
^{13}C-NMR (50 MHz, $CDCl_3$): 82.11 ($CHCHONO_2$), 81.51 (CHCHS), 80.55 ($CHONO_2$), 69.65 (CH_2CHS), 69.28 (CH_2CHONO_2), 66.24 (CHSO), 37.28 (CH_3)

【００７５】

微量分析
予測値(%): 35.44 C; 4.67 H; 5.90 N; 13.51 S; 40.47 O
実験値(%): 35,31 C; 4.67 H; 5.98 N; 13.5 S; 40.60 O
質量分析(LC- (ApcI) MS to 20V): 238 $(M+1)^+$
融点: 153℃（示熱走査熱量計による）
単結晶X線回折: ジアステレオマー(4)の立体配置は次のように決定した。: (R)-S, (S)-C2, (S)-C3, (S)-C4, (R)-C5

【００７６】

２－［(S)-メチルスルフィニル］イソソルビド５－モノニトレート（４ｂｉｓ）:
^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$) : 5.39-5.28 (1H, m, $CHONO_2$), 4.89 (1H, t, J=5,6 Hz, $CHCHONO_2$), 4.68 (1H, d, 5,4 Hz, CHCHS), 4.40-3.88 (4H, cs, CH^2CHS, CH_2CHONO_2), 3.48-3.40 (1H, m, CHSO), 2.58 (3H, s, CH_3)
^{13}C-NMR (50 MHz, $CDCl_3$): 82.89 (CHCHS), 82.26 ($CHCHONO_2$), 80.55 ($CHONO_2$), 69.19 (CH_2CHONO_2), 67.88 (CH_2CHS), 66.94 (CHSO), 36.64 (CH_3)

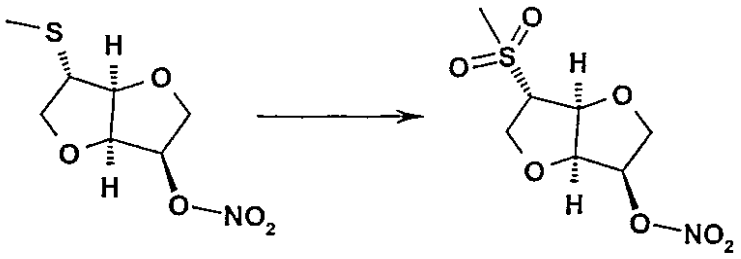
【００７７】

微量分析
予測値(%) : 35.44 C; 4.67 H; 5.90 N; 13.51 S; 40.47 O
実験値(%) : 35.65 C; 4.66 H; 5.87 N; 13.56 S; 40.57 O
質量分析(LC- (ApcI) MS to 20V): 238 $(M+H)^+$
融点: 115℃（示熱走査熱量計による）
単結晶X線回折: 立体異性体（４ｂｉｓ）の立体配置は次のように決定した。: (S) -S, (S) -C2, (S)-C3, (S) -C4, (R)-C5

【００７８】

実施例５
２－メチルスルフォニルイソソルビド５－モノニトレート（５）を得る方法

【化２６】



3　　5

フラスコ内で、実施例３によって得られた２－メチルイソソルビド５－モノニトレート１．０ｇ（４．５ｍｍｏｌ）をアセトニトリル２０ｍＬに溶解した。過ヨウ素酸（H_5IO_6）溶液４．１１ｇ（１８．１ｍｍｏｌ）を一度に加え、４８時間室温で撹拌した。Na_2SO_3飽和溶液５０ｍＬを加えた。これを塩化メチレン３０ｍＬで２回抽出した。有機層を合わせ、Na_2SO_3飽和溶液３０ｍＬで２回洗浄した。これを無水マグネシウム硫酸で乾燥し、フィルターを通し、減圧下で溶媒を除去した。ここで関心のある生成物（５）を６６２ｍｇえた。粗製物６４０ｍｇをヘキサン２５ｍＬに懸濁し、フィルターを通し、クロロフォルム７．５ｍＬで洗浄し、ＨＰＬＣにより純度９９．７％の生成物（５）

４５０ｍｇを得た。

【００７９】

^{1}H-NMR (200 MHz, DMSO-d_6): 5.53-5.47 (1H, m, $CHONO_2$), 5.00-4.88 (2H, cs, $CHCHONO_2$, CHCHS), 4.38 (1H, dd, J=9.8 Hz, J=1.8 Hz, H-CHCHS), 4.12-3.86 (4H, cs, H-CHCHS, $CH2CHONO_2$, $CHSO_2$), 3.07 (3H, s, CH_3)

^{13}C-NMR (50 MHz, DMSO-d_6): 82.77 (CHCHS), 82.36 ($CHCHONO_2$), 81.81 ($CHONO_2$), 68.95 (CH_2CHONO_2), 68.46 (CH_2CHS), 67.48 ($CHSO_2$), 39.31 (CH_3).

【００８０】

微量分析

予測値(%): 33.20 C; 4.38 H; 5.53 N; 12.66 S; 44.23 O

実験値(%): 33.45 C; 4.34 H; 5.52 N; 12.69 S; 44.43 O

質量分析(LC-(ApcI) MS to 20V): 254 $(M+H)^+$

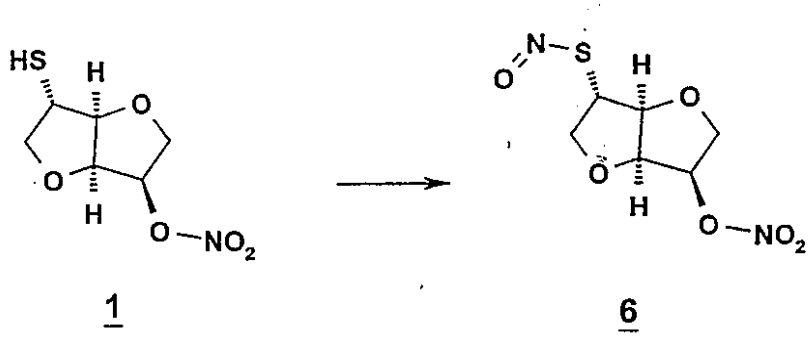
融点: 173℃（示熱走査熱量計による）

【００８１】

実施例６

Ｓ－ニトロソ－２－チオイソソルビド５－モノニトレート（６）を得る方法

【化２７】



アンバーバイアル内で、実施例１によって得られる２－チオイソソルビド５－モノニトレート（１）０．５ｇ（２．４１ｍｍｏｌ）をメタノール４．０ｍＬに溶解し、蓋をして氷浴にて撹拌した。ｔｅｒｔ－ブトキシニトレート３２０μＬ（０．２４９ｇ、２．４１ｍｍｏｌ）を加え、蓋をして低温条件で７時間撹拌した。白い固形物を濾過して除去し、濾過液を遮光しながら室温で、減圧下で濃縮し、乾燥させた。これにより深紅色の固体０．４８ｇ（収率：８４％）が得られ、Ｓ－ニトロソ－２－チオイソソルビド５－モノニトレート（６）であると同定された。

【００８２】

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 200 MHz): 5.40-5.25 (sc, 1H, $CHONO_2$), 4.84-4.64 (sc, 2H, CHSNO, $CHCHONO_2$), 4.40-4.30 (m, 2H, H-CHCHSNO, CHCHSNO), 4.12 (dd, 1H, J=11.4 Hz, J=2.6 Hz, H-$CHCHONO_2$), 4.00-3.80 (sc, 2H, H-CHCHSNO, H-$CHCHONO_2$)

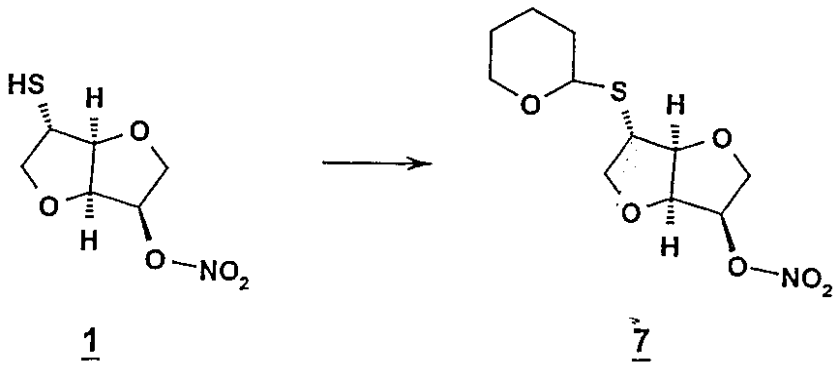
^{13}C-NMR (CDCl3, 50 MHz): 88.2 (CHCHSNO), 81.9+81. 1 ($CHCHONO_2$, $CHONO_2$), 73.4 (CH_2CHSNO), 69.5 (CH_2CHONO_2), 51.6 (CHSNO)

【００８３】

実施例７

２－（テトラヒドロピラン－２－イル－チオ）イソソルビド５－モノニトレート（７）を得る方法

【化２８】



1 7

実施例１によって得られる２－チオイソソルビド５－モノニトレート（１）０．５ｇ（２．４１ｍｍｏｌ）を３，４－ジヒドロ－２Ｈ－ピラン６ｍＬに懸濁し、混合液を氷浴にて冷却した。ｐ－トルエンスルホン酸ピリジニウム０．１０ｇ（０．４０ｍｍｏｌ）を加え、窒素雰囲気中で室温にて一晩にわたって撹拌した。ジエチルエーテル５０ｍＬを加え、混合液を飽和塩化ナトリウム溶液４０ｍＬにて２回洗浄した。これにより反応粗製物１．１５ｇが得られ、さらにクロマトグラフィー（ヘキサン：酢酸エチル＝３：２）により、ここで関心のある生成物が純度８３％で０．６５ｇ得られた。ヘキサンから再結晶化し、純度９５％の生成物０．４５ｇが得られ、スペクトロメトリーのデータから２－（テトラヒドロピラン－２－イル－チオ）イソソルビド５－モノニトレート（７）であると同定された。

【００８４】

^{1}H-NMR ($CDCl_3$, 200 MHz): 5.28 (ddd, 1H, J=11.0 Hz, 5.4 Hz, 2.8 Hz, $CHONO_2$), 5.0-4.85 (sc, 2H, CHSTHP, $CHCHONO_2$), 4.59 (dd, 1H, J=11.2 Hz, 4. 6 Hz, CHCHSTHP), 4.20-3.80 (sc, 5H, CH_2CHSTHP, H-CHCHONO$_2$, CH2 THP), 3.60-3.40 (sc, 2H, H-CHCHONO$_2$, CHTHP), 2.00-1.45 (sc, 6H, $3CH_{2\ THP}$)

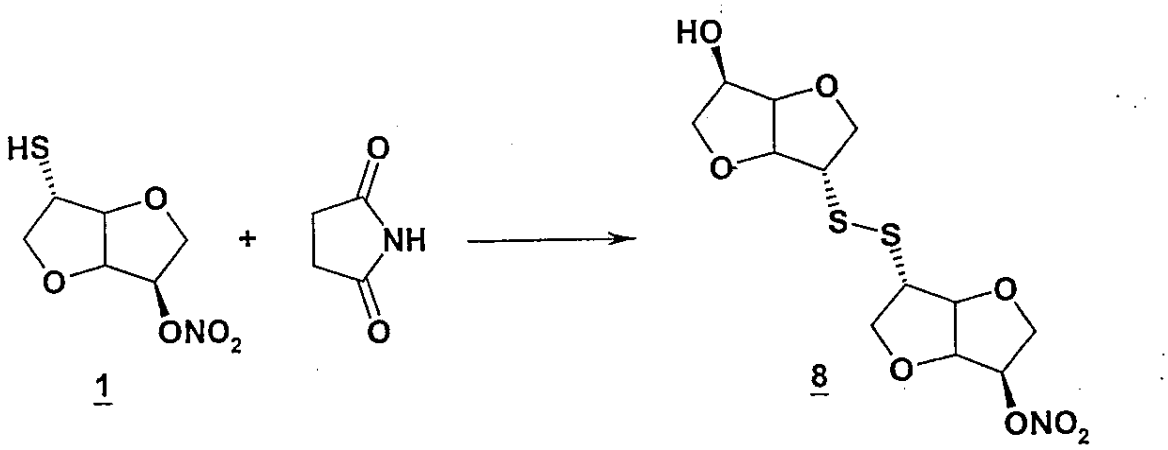
^{13}C-NMR (CDC13, 50 MHz): 89.5及び89. 1 (CHCHS), 83.0及び81. 6 ($CHCHONO_2$), 81.4及び81.3 (CHSTHP, $CHONO_2$), 74.9及び74.1 ($CH_{2\ THP}$), 69.0及び68.9 (CH_2CHSTHP), 64.8及び64.7 (CH_2CHONO_2), 49.1及び47. 6 ($CH_{2\ THP}$), 31.3及び31.2 ($CH_{2\ THP}$), 25.4 ($CH_{2\ THP}$), 21. 7及び21.6 ($CH_{2\ THP}$).

【００８５】

実施例８

２－（イソソルビジル－２‘－ジチオ）イソソルビド）５－モノニトレートを得る方法

【化２９】



1 8

スクシンイミド０．１７０ｇ（１．７２ｍｍｏｌ）のエタノール溶液を２－チオイソソルビド０．３２３ｇ（１．５６ｍｍｏｌ）に加えた。白い沈殿物が生じた後、ＮａＨＣＯ３０．１６８ｍｇ（２ｍｍｏｌ）を加えた。室温で３時間４５分撹拌した後、ＮａＨＣＯ３１００ｍｇ（１．１９ｍｍｏｌ）及び水１０滴を更に加えた。更に１時間３０分撹拌した後、混合液を還流した。還流して２時間後、減圧下でエタノールを除去し、水１５０ｍＬ及び酢酸エチル１５０ｍＬを加えた。乳濁液ができ、これにＮａＣｌ（ｓ）を２層に分離するまで加えた。有機層を分離し、水層を酢酸エチル１５０ｍＬで２回洗浄した。これら３つの有機層をそれぞれ水１００ｍＬで別々に洗浄し、有機層を合わせ、無水Na_2SO_4にて乾燥した。これをフィルターを通して、酢酸エチルで洗浄し、減圧下で濾過液から溶媒を除去し、反応粗製物３３６ｍｇを得、これにフラッシュクロマトグラフィーを行なった。クロロホルム／酢酸エチル１：１混合液をクロマトグラフ分離の溶離液として用い、ここで関心のある生成物（８）９８ｍｇを得た。

【００８６】

^{1}H-NMR (300 MHz, $CDCl_3$): 5.40-5.32 (1H, cs, $CHONO_2$), 5.04-4.98 (1H, cs, $CHCHONO_2$), 4.70-4.60 (3H, cs, 3CH), 4.36-4.26 (1H, cs, CHOH), 4.22-4.12 (2H, cs, 2H-CH), 4.10-4.00 (3H, cs, 3H-CH), 3.94-3.86 (2H, cs,2H-CH), 3.68-3.56 (3H, cs, 2CH-S, 1H-CH), 2.55 (1H, d, J=6.9 Hz, OH)

【００８７】

赤外分光法(臭化カリウムペレット中): 3461 cm^{-1}, 2987 cm^{-1}, 1642 cm^{-1}, 1465cm^{-1}, 1279 cm^{-1}, 1077 cm^{-1}, 846 cm^{-1}

微量分析：

実験値(%) : 39.53 C, 34.70 H, 4.77 Of 3.96 N, 17.04 S.

予測値 (%) : 39.23 C, 34.84 H, 4.660, 3.81 N, 17.45 S.

質量分析:

電子スプレー: 368(M+1).

電子衝撃(m/z, (% 相対存在量)): 367 (7.4) (M+), 261 (3.8), 160 (8.6), 129 (15.5), 127 (14.2), 85 (35.7), 69 (100)

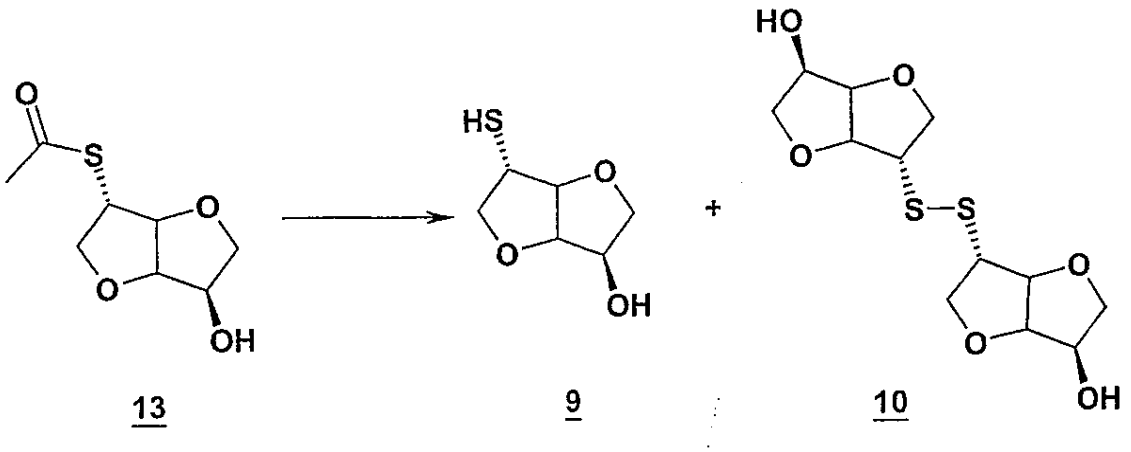
【００８８】

実施例９

工程１

２－チオイソソルビド（９）及び２，２‘－ジチオジイソソルビド（１０）を得る方法

【化３０】



５００ｍＬフラスコ中で、ＷＯ００／２０４２０によって得られた２－アセチルチオイソソルビド（１３）１５ｇ（７４ｍｍｏｌ）をエタノール２２５ｍＬに溶解した。水酸化カリウム１１．３ｇを水１５０ｍＬに溶解した８３％溶液を加えた。このようにして得られた混合液を室温で２時間撹拌し、酢酸（ｃ）により中和し、減圧下でエタノールを除去

した。この溶液を、水酸化ナトリウム（ｓ）を加えて塩基性ｐＨにし、バブリングにより空気を通じながら室温で撹拌した。溶液を塩酸（ｃ）により酸性化し、ｐＨを４にした。減圧下で水を除去し、生じた残留物をジクロロメタンに再び溶解し、フィルターを通し、無水Na_2SO_4により乾燥した。溶液をフィルターに通し、洗浄し、減圧下で溶媒を除去し、反応粗製物９．２２ｇを得、ジクロヘキサン／酢酸エチルからなる様々な混合液を溶離液として用いてフラッシュクロマトグラフィーにより精製した。溶出は、１：１混合液３Ｌから始め、その後、極性溶媒を増やし、次に３：５混合液２Ｌ、更に１：２混合液２Ｌ、最終的には、酢酸エチルのみで溶出した。溶出液から、チオール（９）２．６４ｇと二硫化物（１０）３．０６ｇを分離した。

【００８９】

２－チオイソソルビド（９）

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 4.68-4.58 (1H, cs, CHCHOH), 4.48-4.40 (1H, cs, CHCHSH), 4.34-4.18 (1H, bs, s.a. D_2O, CHOH), 4.16-4.06 (1H, m, H-CHCHSH), 3.96-3.78 (2H, cs, H-CHCHOH, H-CHCHSH), 3.62-3.50 (1H, cs, 1H-CHCHOH), 3.48-3.36 (1H, cs, s.a. D_2O, CHS), 2.80-2.60 (1H, bs, d.a. D_2O, OH), 1.75 (1H, d, J=8 Hz, d.a. D_2O, SH)

^{13}C-NMR (50 MHz, $CDCl_3$): 90.42 (CHCHSH), 81.47 (CHCHOH), 76.27 (CH_2CHSH), 74.00 (CH_2CHOH), 72.04 (CHOH), 43.81 (CHSH)

【００９０】

２，２‘－ジチオジイソソルビド（１０）

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 4.68-4.56 (4H, cs, 2CHCHS, 2CHCHOH), 4.34-4.19 (2H, cs, s.a. D_2O, 2CHOH), 4.19-3.97 (4H, cs, 2CH_2CHS), 3.92-3.80 (2H, cs, 2H-CHCHOH), 3.66-3.52 (4H, cs, 2H-CHCHOH, 2CHS), 2.63 (2H, d, J=6.6 Hz, d.a. D_2O, 2OH).

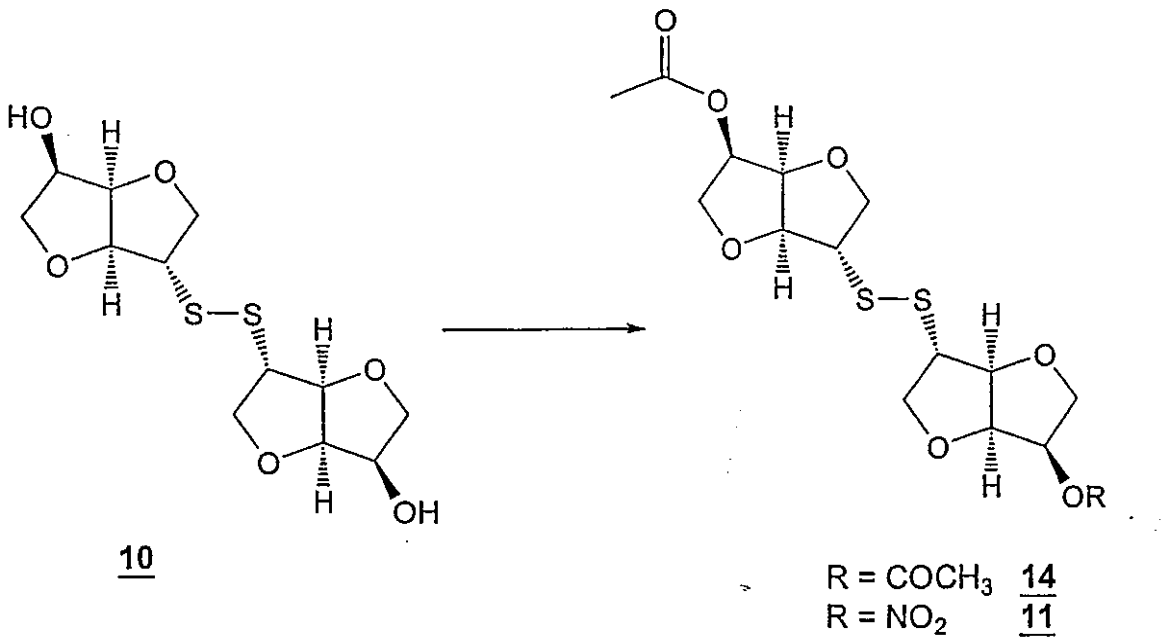
^{13}C-NMR (50 MHz, $CDCl_3$): 87.42 (2CHCHS), 81.98 (2CHCHOH), 73.93 (2CH_2CHOH), 72.89 (2CH_2CHS), 72.07 (2CHOH), 54.74 (2CHS)

【００９１】

工程２

５，５‘－ジアセチルオキシ－２，２’－ジチオジイソソルビド（１４）及び２－（５‘－アセチルオキシイソソルビジル－２’－ジチオ）イソソルビド５－モノニトレート（１１）を得る方法

【化３１】



６０％ＨＮＯ３１．８ｍＬを、無水酢酸７．５ｍＬと酢酸１２．５ｍＬの混合液に、ゆっくり注意しながら０℃下で加え、硫酸化混合液を調製する。還流冷却器、温度計、マグネティックスターラーを取り付けた１００ｍＬフラスコ中で、実施例８によって得られた２，２‘－ジチオ－ジイソソルビド（１０）２．７７ｇ（８．６ｍｍｏｌ）を酢酸１７ｍＬに溶解し、無水酢酸３．５ｍＬを加えた。混合液を氷塩浴で０℃に冷却した。先程調製した硝酸化混合液４ｍＬを１滴ずつ１５分かけて加えた。これを０℃２時間撹拌し、反応粗製物の固化が観察された。この後、２時間３０分室温で撹拌した。反応粗製物を水１００ｍＬに注ぎ、フィルターを通し、大量の水で洗浄した。得られた固体を減圧下でP_2O_5存在下で乾燥した。これにより反応粗製物２．６９ｇが得られ、分取逆相クロマトグラフィーで精製した。クロマトグラフィーの溶離液には、アセトニトリル：水の１：１混合液を用いた。二酢酸（Ｒ＝ＣＯＣＨ$_3$）の分画１．０１ｇ及び酢酸－硝酸（Ｒ＝ＮＯ$_2$）の分画０．５ｇが得られた。

【００９２】

５，５‘－ジアセチルオキシ－２，２’－ジチオジイソソルビド（１４）

^{1}H-NMR (200 MHz, CDCl3): 5.16-5.02 (2H, cs, 2CHOCO), 4.85-4.76 (2H, cs,2CH-O-C), 4.63-4.56 (2H, cs, 2CHOC), 4.17-4.05 (2H, cs, 2H-CH), 4.00-3.74 (6H, cs, 6H-CH), 3.56-3.48 (2H, cs, 2CHS), 2.09 (6H, s,CH_3)

^{13}C-NMR (50 MHz, $CDCl_3$): 170.27 (2CO), 87.73 (2CHCHS), 80.76 (2CHCHO), 73.79 (2CHO), 72.66 ($2CH_2$CHS), 70.46 ($2CH_2$CHO), 54.42 (2CHS), 20.63 ($2CH_3$)

【００９３】

２－（５‘－アセチルオキシイソソルビジル－２’－ジチオ）イソソルビド５－モノニトレート（１１）

^{1}H-NMR (200 MHz, $CDCl_3$): 5.37-5.28 (1H, cs, $CHONO_2$), 5.18-5.06 (1H, cs, CHOCO), 5.02-4.94 (1H, cs, CHOC), 4.87-4.78 (1H, cs, CHOC), 4.64-4.56 (2H, cs, 2CHOC), 4.18-3.75 (8H, cs, $4CH_2$), 3.59-3.50 (2H, cs, 2CHS), 2.10 (3H, s, CH_3)

^{13}C-NMR (50 MHz, $CDCl_3$): 170.29 (CO), 88.25 (CH), 87.43 (CH), 81.58 (CH), 81.16 (CH), 80.79 (CH), 73.80 (CH), 72.78 (CH_2), 72.66 (CH_2), 70.51 (CH_2), 69.32 (CH_2), 54.42 (CHS), 53.72 (CHS), 20.65 (CH_3)

【００９４】

質量分析:

化学イオン化法(NH_3): 410 $(M+1)^+$, 427 $(M+18)^+$

【００９５】

血管弛緩試験

本分析で用いた方法は、以下の参考文献に記載されたものとほぼ同じものである。

* Furchgot, R.F., “Methods in nitric oxide research”; Feelisch & Stamler, eds., John Wiley & Sons, Chichester, England, pp 567-581.
* Trongvanbichnam K., et al., Jpn. J. Pharmacol. 71 (1996); 167-173.
* Salas, E., et al., Eur. J. Pharmacol. 258 (1994); 47-55

【００９６】

異なった化合物を、0.0001～10ｍＭの範囲における５種類の濃度で、６～９個の動脈のリングについて測定した。得られた結果を、対照生成物として用いたイソソルビド５－モノニトレートと比較した。

【００９７】

結果を下記表1にＥＣ$_{50}$（半数影響濃度）として示した。ＥＣ$_{50}$とは、１μＭのフェニレフリンにより収縮させた動脈のリングを最大の５０％相当まで血管拡張させる、試験した各化合物の濃度である。

【００９８】

【表１】

表１　血管弛緩試験	
化合物	EC_{50}　mM（平均±標準偏差）
イソソルビド５－モノニトレート	０．９２±０．２
（１）	０．０４１±０．０００６
（２）	０．００５３±０．００１
（３）	０．０４３±０．００６
（４）	０．３３８±０．０１
（６）	０．００１２±０．０００１
（７）	０．０５±０．０００９
（９）	０．０２４±０．００５
（１２）	０．０２３±０．０１０

【００９９】

表から分かるように、試験を行った全ての化合物は、対照生成物に比べてより血管弛緩能を有する。

【０１００】

生体内血小板凝集阻害試験

本分析で用いた方法は、以下の参考文献に記載されたものとほぼ同じものである。

* Salas, E., et al., Br. J. Pharmacol. 112 (1994); 1071-1076

【０１０１】

化合物は、４種類の異なった濃度で、６人の異なった健常な供与者から採取した血小板を豊富に含む血漿を用いて試験した。得られた結果を、対照生成物として用いたイソソルビド５－モノニトレートと比較した。

【０１０２】

結果を下記表１にIC_{50}（半数阻害濃度）として示した。IC_{50}とは、最大下（submaximal）濃度（１～４μＭ）のＡＤＰにより得られる凝集の５０％相当に阻害する化合物の濃度である。（ＡＤＰの最大下濃度とは、最大の凝集を引き起こすＡＤＰの最小量である。）

【０１０３】

【表２】

表２　血小板凝集阻害試験（ヒトの血小板を豊富に含む血漿）	
化合物	IC_{50}　mM（平均±標準偏差）
イソソルビド５－モノニトレート	２．６８±０．３３
（１）	０．１１±０．０１
（２）	０．０１±０．００７
（３）	０．４１±０．０９
（４）	１．００±０．０１
（４ｂｉｓ）	０．８５±０．１５
（６）	０．００１９±０．０００５
（７）	０．５８±０．０２１
（１２）	０．０８９±０．０１

【０１０４】

表２から分かるように、試験を行った全ての化合物は高い血小板阻害凝集活性を有し、これは対照化合物よりも優れている。

【０１０５】

ヒト単球及び血小板のヒト内皮細胞への接着阻害

血小板及び単球のヒト内皮細胞への接着に対する化合物の効果を測定するための分析で用いた方法は、以下の参考文献に記載されたものとほぼ同じものである。

Del Maschio A. et al., J Cell Biol 1996; 135: 497-510

Bombeli T. et al., Blood 1999; 93: 3831-3838

Colome C. et al; Atherosclerosis 2000; 149: 295 302

Martin-Satue M. et al; British Journal of Cancer 1999; 80: 1169-1174

【０１０６】

細胞接着の阻害効果の測定に用いた方法は、Ｕ９３７単球細胞のＴＮＦ－α（５０ｎｇ／ｍｌ）により活性化されたコンフルエントのヒト微小血管内皮細胞（ＨＭＥＤ－１）への接着、及び血小板へのヒト臍帯静脈内皮細胞への接着である。カルセインＡＭ（Molecular Probes）により予め標識された単球のＴＮＦ－αにより活性化されたＨＭＥＣ－１への接着を、細胞の発する蛍光を測定することにより調べた。抗ＣＤ３６－ＦＩＴＣモノクローナル抗体により予め標識された洗浄ヒト血小板の活性化ＨＵＶＥＣ（最小改変されたＬＤＬを５０μｇ／ｍｌ、ＬＤＬmm）への接着を、レーザー走査サイトメトリー（ＬＳＣ、オリンパス）により細胞の発する蛍光を測定することにより測定した。結果は対照群（化合物の無い状況での細胞の接着）に対する阻害の割合として示した。表３はＵ９３７の活性化ＨＭＥＣ－１への接着に対する化合物の効果を示す。表４は血小板の活性化ＨＵＶＥＣへの接着に対する化合物の効果を示す。

【０１０７】

【表３】

Ｕ９３７単球の活性化HMEＣ－１ヒト内皮細胞への接着の阻害	
化合物	対照群に対する阻害％（平均±標準誤差）
（１）	３０±８
（１２）	１５±２

【０１０８】

【表４】

血小板のＬＤＬmmにより活性化されたＨＵＶＥＣへの接着の阻害	
化合物	対照群に対する阻害％（平均±標準誤差）
（１２）	８７．５％±５．１％

【０１０９】

ヒト微小血管内皮細胞におけるＬＤＬトランスサイトーシスの阻害

化合物のヒト微少血管内皮細胞におけるＬＤＬトランスサイトーシスに対する効果を測定するための分析で用いられている方法は、文献Colome C. et al; Atherosclerosis 2000; 149: 295-302に記載されているものとほぼ同じものである。この試験により、化合物の抗動脈硬化能を予測することが可能となる。その理由は、血管内皮細胞の能動輸送の結果として起こる血管壁へのＬＤＬ蓄積は動脈硬化発症の最初の段階の一つだからである。

【０１１０】

ＬＤＬ粒子を新鮮ヒト血漿から分離し、Ｄｉｌにより標識する方法は、文献Pedreno J. et al., Atherosclerosis 2001; 155: 99-112及び文献Stephan Z. F. and Yuracheck E. C., J. Lipid Res 1993; 34: 325-330に記載されているものとほぼ同じものである。

【０１１１】

活性化した（ヒスタミン１００μM）及び非活性化ＨＭＥＣ－１を共培養用インサート

（inserted of coculture）の上側のウェルで、密集状態になるまで培養した。その後、ＬＤＬ－Ｄｉｌ（最大２００μｇ／ｍｌ）を加え、細胞を化合物存在下又は非存在下で２時間培養した。２時間後、ＬＤＬ－Ｄｉｌ粒子の内皮細胞を通じてのトランスサイトーシスを蛍光の存在を測定することにより調べた。結果は対照群（化合物非存在下）に対する阻害の割合により示した。表５は化合物のＨＭＥＣ－１と通じてのトランスサイトーシスに対する効果を示している。

【０１１２】

【表５】

ヒト微小血管内皮細胞におけるＬＤＬトランスサイトーシスの阻害（対照群に対する阻害％（平均±標準誤差））		
化合物	休止細胞	刺激された細胞
（１）	５８±１５	１２２±８
（１２）	５１±１９	８０±１２

【０１１３】

ＬＤＬ酸化の阻害

化合物のＬＤＬ酸化に対する効果を測定する分析に用いる方法は、以下の参考文献に記載されたものとほぼ同じものである。

Spranger T., et al., Chem. Phys. Lipids 1998; 91: 39-52

Lynch S. M., et al., Biochim Biophys. Acta 2000; 1485: 11-22

Pedreno J., et al., Thromb. Res. 2000; 99: 51-60

【０１１４】

ＬＤＬ粒子を新鮮ヒト血漿から分離する方法は、文献Pedreno J. et al., Atherosclerosis 2001; 155: 99-112に記載されたものとほぼ同じものである。

【０１１５】

低密度リポタンパク質の酸化修飾が、動脈硬化性新血管病の発症における中心的な事象であると現在信じられている。ＬＤＬを、循環赤血球中のヘモグロビン由来のでグロブリンを含まないヘミン（鉄イオン（Fe3+）とプロトポルフィリンIXの複合体）に暴露することにより、LDL酸化を促進する酸化促進剤$Fe3^{+}$の生理的発生源となる。化合物を生体内に加え、ヘミン及び過酸化水素により引き起こされるLDL酸化の阻害活性を測定した。最終濃度０．２ｍｇ／ｍｌのＬＤＬをヘミン２．５μＭ及び過酸化水素５μＭ存在下で培養した。ＬＤＬ粒子の酸化的飾を共役ジエンを測定することにより調べた。実験群の標本を３７℃で培養し、２３４ｎｍにおける吸収の増加を５分ごとに少なくとも５時間にわたって自動的に記録した。ヘミンにより引き起こされたＬＤＬ酸化に対する化合物の効果を７種類の濃度で、７人の健康な供与者からのＬＤＬ調製液を用いて試験した。表６に化合物の１０μＭでの阻害活性を、対照群に対する遅延時間（共役ジエンの形成反応が始まるのに要する時間）の増加割合として示す。

【０１１６】

【表６】

ＬＤＬ酸化の阻害	
化合物	対照群に対する遅延時間の増加割合％（平均±標準誤差）
イソソルビド５－モノニトレート	０
（１）	２９０±８
（１２）	１１７±５６

【０１１７】
血漿酸化の阻害
化合物の血漿酸化能に対する効果を測定する分析に用いる方法は、文献Spranger T. et al., Chem phys Lipids 1998; 91: 39-52に記載されたものとほぼ同じものである。
【０１１８】
生体内の血漿中におけるリポタンパク質の酸化は動脈壁内におけるリポタンパク質の酸化の重要なモデルを示すと考えられる。血漿リポタンパク質の酸化を、ヘパリン添加血漿の酸化能として調べ、２３４ｎｍにおけるの吸収の増加としてスペクトロメトリーにより測定した。化合物を生体内に加え、Ｃｕ（$CuSO_4$）により誘導された血漿酸化能に対する阻害活性を測定した。ヘパリン添加血漿をＮａＣｌを０．１６Ｍ含むリン酸緩衝生理食塩水溶液により希釈し、５０μＭの$CuSO_4$により酸化を開始した。実験標本を３７℃で培養し、１５分ごとに少なくとも１２時間にわたって、２３４ｎｍにおける吸収の増加を自動的に記録した。Ｃｕにより誘導された血漿酸化能に対する化合物の効果を、７人の異なった健常な供与者から得たヘパリン添加血漿を用いて、７種類の濃度で試験した。表７は化合物１０μＭの阻害活性を対照群に対する遅滞期の増加割合を示す。
【０１１９】
【表７】

血漿酸化の阻害	
化合物	コントロールに対する遅延期の増加割合％（平均±標準誤差）
（１）	２４５±２６
（２）	７±１
（１２）	２００±１０
イソソルビド５－モノニトレート	０

【０１２０】
高コレステロール食を与えたウサギにおけるアテローム性動脈硬化に対しての予防及び治療効果
用いた方法は、文献Shore B, Shore V., In: Day CE (ed) Atherosclerosis Drug Discovery, Plenum Press, New York and London, pp 123-141, 1976に記載されたものとほぼ同じものである。
【０１２１】
２１匹のオスのニュージーランド白ウサギ（プロトコル開始時に１０週齢）を標準化した条件下（２２℃、湿度４０％～６０％）で、通常の昼・夜周期にて、水を自由に摂取できるようにして飼育した。動物を、３グループのうちの１つにランダムに割り振った。グループ１（ｎ＝５）には通常の維持食を７５日間与えた。グループ２（ｎ＝１６）には１％（ｗｔ／ｗｔ）コレステロールを追加した以外の点で同じ食事を４５日間与えた。この期間の終わりに、グループ２を２つのグループにランダムに割り振った。治療グループ（ｎ＝９）は、化合物１２を１．９ｍｇ／ｋｇ／日でその後の３０日間投与し（食事は１％コレステロールを継続）、非治療グループ（ｎ＝７）は１％コレステロールを加えた食事をその後３０日間与えた。
【０１２２】
研究対象とする変数には、トリグリセリド及び総コレステロールがある。動物は、プロトコル開始から７５日の時点で、ペントバルビタールを静脈注射して安楽死した。全大動脈を腸骨動脈に１又は２ｃｍ入ったところで摘出し、グルタールアルデヒド（４％）を含む０．１Ｍのリン酸バッファー（ｐＨ７．４）で固定した。標本の肉眼的及び顕微鏡的分析を盲検にて行った。大動脈を解剖し、オイルレッドにて染色した。外膜の脂肪を除去し、動脈を長手方向に切開し、オイルレッド溶液に一晩浸し、プロピレングリコールで洗浄

して平面に固定した。大動脈の写真を標準のカメラで撮影した。その後、大動脈弓部、胸部大動脈、腹部大動脈から３つの部分を取り出した。これらの部分を、パラフィンに補上手いし、ミクロトームウルトラカット（スペイン）で切り、ヘマトキシリンエオジンにて通常の方法で染色した。オイルレッド及びヘマトキシリンエオジンにて染色した大動脈の写真を通常のカメラにて撮影した。写真をＡＧＦＡスライドスキャナを用いてフォトショップ（アドビ）に取り込んだ。Little RD(Little, R.D., 1994, Stain Technology, vol. 19, pp 55)により以前に記載された方法により、全ての動脈の傷害部位の表面、及び組織学標本における大動脈内膜の厚さを測定した。アテローム性動脈硬化による傷害の表面又は領域（オイルレッドで染色した大動脈で評価）を写真のピクセル数をｍｍ２に変換して測定した。大動脈の内膜の厚さ（ヘマトキシリンエオジンにて染色した組織学的標本において評価）を、アテローム性動脈硬化による傷害の表面又は領域について記載したのと同様の方法で、ｍｍにて定量した。このために、脂肪線条による傷害を有する部分を選び、内膜の厚さを測定した（動脈中膜～内膜）。傷害領域の平均の厚みを各部分で大動脈４分の１周について計測し、統計的な平均を算出した。空腹時の血漿総コレステロール、ＨＤＬコレステロール及びトリグリセリドレベルを表８に示す。統計的な検定（スチューデントｔ）により、血漿の脂質については、治療グループと対照グループ（治療はしなかったが、高コレステロールを与えたグループ）とでは有意な差がないことが示された。

【０１２３】

【表８】

血漿脂質の分析結果［ｍｇ／ｄｌ］（平均±標準誤差）				
	対照グループ		化合物例（１２）により治療したグループ	
	開始時	終了時	開始時	終了時
総コレステロール	４２±４．４	１０７３．９±４．９	３３．３±４．１	１４６１±１４７
トリグリセリド	１８５±５０	３１２．７±１３０	１２１±３４	３４７±８２

【０１２４】

アテローム性動脈硬化病変により被覆された領域の割合を表９に示す。

【０１２５】

【表９】

アテローム性動脈硬化病変	
グループ	アテローム性動脈硬化病変の領域の割合（％）（平均±標準誤差）
対照グループ	６２±６
化合物例（１２）により治療したグループ	１５±３

【０１２６】

大動脈の内膜層の厚みを表１０に示す。

【０１２７】

【表１０】

大動脈の内膜層の厚み	
グループ	厚さｍｍ（平均±標準誤差）
対照グループ	０．３２３±０．０１３
化合物例（１２）により治療したグループ	０．０９６±０．００９

【０１２８】

表８において、対照グループと治療グループでは血漿の脂質に違いがないことが示されており、化合物（１２）は脂質代謝に影響を及ぼさないことが示されている。表９及び表１０に見るように、アテローム性動脈硬化病変の領域の割合及び内膜の厚さは、対照グループに比べて、化合物（１２）で治療したグループにおいては、有意に減少していた。

【０１２９】

アポＥ欠損マウスにおけるアテローム発生に対する予防及び治療効果

化合物のアテローム発生に対する予防及び治療効果も、以下の標本を用いて示す。

【０１３０】

化合物のアテローム発生に対する予防及び治療効果をアポＥ欠損マウスにおいて通常の食事モデルで調べた。オス及びメスの月齢３ヶ月のアポＥ欠損マウス（ＯＬＡ１２９ＸＣ５７／ＢＬ６Ｊ）に通常の食事を与えた。対照グループには８匹のオス及び７匹のメスが含まれ、治療グループは８匹のオス及び７匹のメスから成る。実験開始時点では、全ての動物は同様のコレステロール及び体重であった。対照グループ及び治療グループを１２週にわたって研究した。治療グループには、化合物（１２）を５ｍｇ／ｋｇ／日で投与した。

【０１３１】

血漿脂質パラメーター（総コレステロール、ＨＤＬコレステロール及びトリグリセリド）及び酸化ストレス（８－イソ－プロスタグランジンＦ２αレベルとして測定）を所定の間隔をおいて測定した。投与期間終了後、胸部大動脈を取り出して染色し、オイルレッド法（Little, R.D., 1994, Stain Technology, vol. 119, pp 55）に従い、血管内壁に沈着したアテローム性動脈硬化による傷害の領域を測定した。

【０１３２】

総コレステロール、ＨＤＬコレステロール、トリグリセリドの及び８－イソ－プロスタグランジンＦ２αレベルの空腹時における血漿レベルを表１１に示す。

【０１３３】

【表１１】

血漿脂質及び酸化ストレスパラメータ（平均±標準偏差）				
	オス		メス	
	対照グループ	化合物（１２）による治療グループ	対照グループ	化合物（１２）による治療グループ
総コレステロール（ｍｍｏｌ／Ｌ）	１４．３±２	１８±３	９．５±２	１１．３±１．５
ＨＤＬコレステロール（ｍｍｏｌ／Ｌ）	０．５±０．１５	０．４７±０．１５	０．４±０．１	０．４８±０．１３
トリグリセリド（ｍｍｏｌ／Ｌ）	２．６±０．６	１．５±０．４	１．９±０．６	１．３±０．２
８－イソープロスタグランジンＦ２α（ｐｇ／ｍｌ）	２７３±１９	１０１±１３	１８２±１９	９９±７

【０１３４】

血管内壁のアテローム性動脈硬化病変に被覆された領域の割合及びマクロファージにより被覆された領域を表１２に示す。

【０１３５】

【表１２】

グループ	マクロファージにより被覆された領域〔μｍ²〕（平均±標準誤差）	アテローム性動脈硬化病変の領域〔μｍ²〕（平均±標準誤差）
対照グループ	８０±２７	６０±８
化合物例（１２）による治療グループ	５５±１９	４５±９

【０１３６】

表１１において、化合物（１２）はこれらの動物においてトリグリセリドレベルを減少させると同時に、酸化ストレスを減少させることが示されている。表１２では化合物（１２）により、アテローム性動脈硬化病変の領域及びマクロファージにより被覆された領域がどれほど減少するかが示されている。

【０１３７】

生体内抗血栓効果

用いた方法は、Kurz (Kurz K.D., et al., Thromb. Res. 1990, 60: 269-280)により記載され、Feuerstin (Feuerstein G.Z., et al., Artherioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1999, 19: 2554-25562)により改変されたものとほぼ同じものである。

【０１３８】

ラットに、化合物を１００ｍｇ／Ｋｇにて、経口で１回投与した。

【０１３９】

投与してから４５分後に、ラットにナトリウムペントバルビタール（４０ｍｇ／ｋｇ、腹腔内注射）で麻酔をかけた後、温めた（３７℃）手術台に仰臥位で設置した。

【０１４０】

左頸動脈を剥離し、パラフィルムＭシート（７×２０ｍｍ、American National Can）をその下に設置した。電磁探査血流計(Transonic Systems Inc.)を、血流を測定するために動脈に設置した。

【０１４１】

生成物を投与してから６０分後に、$FeCl_3$溶液（７０％）を染み込ませた紙パッチを左頸動脈の探査血流計より下流に設置し（全実験時間にわたって取り外さなかった）、血栓形成を開始させた。動脈にパッチを設置してから６０分間、血流を調節した。

【０１４２】

血流が検出されなくなった時点（０．０ｍｌ／ｍｉｎ）で、血栓形成により血管が完全に閉塞したと判断した。このモデルでは、治療しなかった動物において血栓は通常１５～２０分で形成された。調べた時間（$FeCl_3$持続パッチを設置してから６０分）内に血栓により血管が閉塞されなかった場合には、治療により動物は完全に保護されたと判断した。

【０１４３】

結果を表１３に、治療により完全に保護された動物の割合として示す。

【０１４４】

【表１３】

生体内抗血栓効果	
化合物	完全に保護された動物の割合%
１	１００
３	１００
４	８０
１２	７１

【０１４５】

表１３に観察されるように、試験した全ての化合物は強い生体内抗血栓活性を有する。

【０１４６】

生体内における抗血栓相乗効果

用いた方法は、Kurz (Kurz K.D., et al., Thromb. Res. 1990, 60: 269-280)により記載され、Feuerstin (Feuerstein G.Z., et al., Artherioscler. Thromb. Vasc. Biol. 1999, 19: 2554-25562)により改変されたものとほぼ同じものである。

【０１４７】

ラットに、１種類の化合物又は２種類の化合物の組み合わせを、表１４に記載されているように経口で１回投与した。用いた化合物の投与量は、動物の血圧及び心拍数を変化させるものではなかった。

【０１４８】

投与してから４５分後に、ラットにナトリウムペントバルビタール（４０ｍｇ／ｋｇ、腹腔内注射）で麻酔をかけた後、温めた（３７℃）手術台に仰臥位で設置した。

【０１４９】

左頸動脈を剥離し、パラフィルムＭシート（７×２０ｍｍ、American National Can）をその下に設置した。電磁探査血流計(Transonic Systems Inc.)を、血流を測定するために動脈に設置した。

【０１５０】

生成物を投与してから６０分後に、ＦｅＣｌ$_3$溶液（７０％）を染み込ませた紙パッチを左頸動脈の探査血流計より下流に設置し（全実験時間にわたって取り外さなかった）、血栓形成を開始させた。動脈にパッチを設置してから６０分間、血流を調節した。

【０１５１】

血流が検出されなくなった時点（０．０ｍｌ／ｍｉｎ）で、血栓形成により血管が完全に閉塞したと判断した。このモデルでは、治療しなかった動物において閉塞血栓は通常１５～２０分で形成された。調べた時間（ＦｅＣｌ$_3$持続パッチを設置してから６０分）内に血栓により血管が閉塞されなかった場合には、治療により動物は完全に保護されたと判断した。

【０１５２】

フラクショナル・プロダクト・コンセプト（fractional product concept）を用いて、化合物間の相乗効果を同定した。この考え方に従えば、動物の完全な保護を次のようにみなした。

$$\text{阻害率} = \left(1-\frac{A}{B}\right)\times 100$$

ここで、Ａは治療グループにおける血栓閉塞を生じた動物の割合であり、Ｂは対照グループにおける血栓閉塞を生じた動物の割合である。

【０１５３】

２種類の独立に作用する薬物については、次のようである。

$$\text{阻害率} = \left[1-\left(\frac{A_1}{B}\times\frac{A_2}{B}\right)\right]\times 100$$

ここで、Ａ１は治療グループＡ１における血栓閉塞を生じた動物の割合であり、Ａ２は治療グループにおける血栓閉塞を生じた動物の割合であり、Ｂは対照グループにおける血栓閉塞を生じた動物の割合である。

【０１５４】

薬物を組み合わせる事による保護が、２種類の薬物を別々に作用させたときの阻害率よりも高かった場合には、相乗効果があったと考える。

【０１５５】

結果を表１４に各グループにおける血栓閉塞を生じた動物の割合として示す。

【０１５６】

【表１４】

グループ	血栓閉塞を生じた動物の割合（保護された動物の％）
対照グループ	１（０％）
アセチルサリチル酸（１００ｍｇ／Ｋｇ／日、経口、３日間）	０．５０（５０％）
化合物１２（２２．３ｍｇ／Ｋｇ、経口、検討の日からすぐに（acute the day of study））	０．５（５０％）
アセチルサリチル酸（１００ｍｇ／Ｋｇ／日、経口、３日間）＋化合物１２（２２．３ｍｇ／Ｋｇ、経口、検討の日からすぐに（acute the day of study））	０（１００％）
クロピドロゲル（１．５ｍｇ／Ｋｇ／日、経口、３日間）	０．５０（５０％）
クロピドロゲル（１．５ｍｇ／Ｋｇ／日、経口、３日間）＋化合物１２（２２．３ｍｇ／Ｋｇ、経口、検討の日からすぐに（acute the day of study））	０．１７（８３％）

【０１５７】

$$\text{阻害率（アセチルサリチル酸＋化合物１２）} = \left[1-\left(\frac{0.5}{1}\times\frac{0.5}{1}\right)\right]\times 100 = 75\%$$

２種類の薬物（アセチルサリチル酸＋化合物１２）を組み合わせることにより保護された動物の割合は７５パーセント以上（ここでは１００％）であり、２種類の化合物の間には相乗効果がある。

【０１５８】

$$\text{阻害率（クロピドロゲル＋化合物１２）} = \left[1-\left(\frac{0.5}{1}\times\frac{0.5}{1}\right)\right]\times 100 = 75\%$$

２種類の薬物（クロピドロゲル＋化合物１２）を組み合わせることにより保護された動物の割合は７５パーセント以上（ここでは８３％）であり、２種類の化合物の間には相乗効果がある。

【０１５９】

ＨＵＶＥＣ細胞においてＸＴＴに基づく方法を用いての、酸素ラジカルにより引き起こされる細胞毒性に対するインビトロの保護

用いた方法はCaveda L., et al (J. Clin. Invest. 1996; 98: 886-893)に記載されているものとほぼ同じものである。

【０１６０】

酸素ラジカルにより引き起こされる細胞毒性の阻害能を測定するために、ヒト臍帯静脈内皮細胞（ＨＵＶＥＤ）を用いた。ＨＵＶＥＣはＭ１９９及び２０％ＦＣＳ（胎児ウシ血清）中で分離し培養した。

【０１６１】
ＸＴＴ試験は、代謝の活発な細胞によるＸＴＴテトラゾリウム塩を加水分解して橙色の生成物を形成する反応に基づくものであり、このフォルマザン色素は可溶性でスペクトロメータにより直接定量できる。
【０１６２】
ＨＵＶＥＣ細胞を９６ウェル組織培養プレートで準密集状態まで培養し、５０μＭの化合物で１時間前処理した。この後、細胞を８００μＭの過酸化硝酸で１晩処理した。
【０１６３】
１晩処理した後、細胞を黄色のＸＴＴ溶液（最終濃度０．３ｍｇ／ｍｌ）中で４時間培養した。この培養時間の後、橙色のフォルマザン溶液ができ、この溶液を４５０ｎｍでＥＬＩＳＡプレートリーダを用いて分光光度法により定量した。
【０１６４】
結果を表１５に死細胞の割合として示した。
【０１６５】
【表１５】

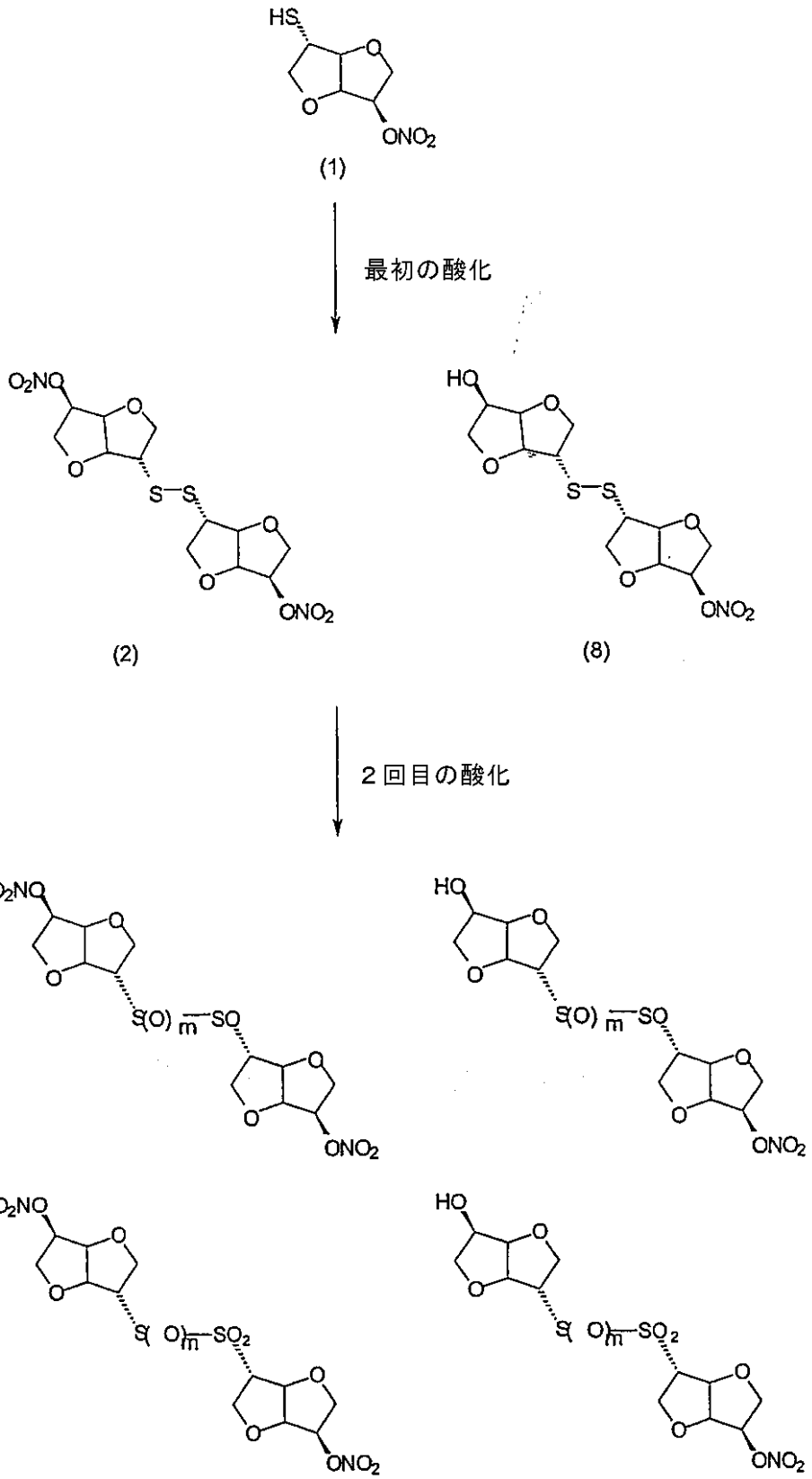
生体内細胞毒性活性	
化合物	死細胞の割合％
１	８０
２	８０
３	８０
１２	５０

【０１６６】
表１５に見られるように、試験した化合物は全て、酸素ラジカルにより引き起こされる細胞障害に対する細胞保護活性（ｐ＜０．０５）を有する。
【０１６７】
生体内における心臓での虚血再還流後障害
実験は、Hirata Y et al (Journal of Cardiovascular Pharmmacology. 1998, 31: 322-326)らにより以前に記載されたモデルに従い行った。
【０１６８】
６時間の絶食期間の後、動物を少なくとも８匹が各々に含まれるグループに分けた。生成物を虚血を引き起こす約１時間前に経口にて投与した。動物にペントバルビタール（４０ｍｇ／ｋｇ、腹腔内注射）により麻酔をかけ、標準肢誘導ＩＩ心電図を記録しＳ波の低下を検出した。０．３Ｕ／ｋｇアルギニン－バソプレシン（ＡＶＰ）（Sigma Chemicals、）を頸動脈に注射し、小さな冠動脈に血管収縮を引き起こさせ、冠動脈抵抗を増加させた。全てのグループで、ＡＶＰは試験薬物の投与から６０分後に投与した。全てのグループで、ＡＶＰを注射してから１０分後に心電図記録を行った。
【０１６９】
結果を表１６にＳ波の低下（μＶｏｌｔｓ）として示した。
【０１７０】

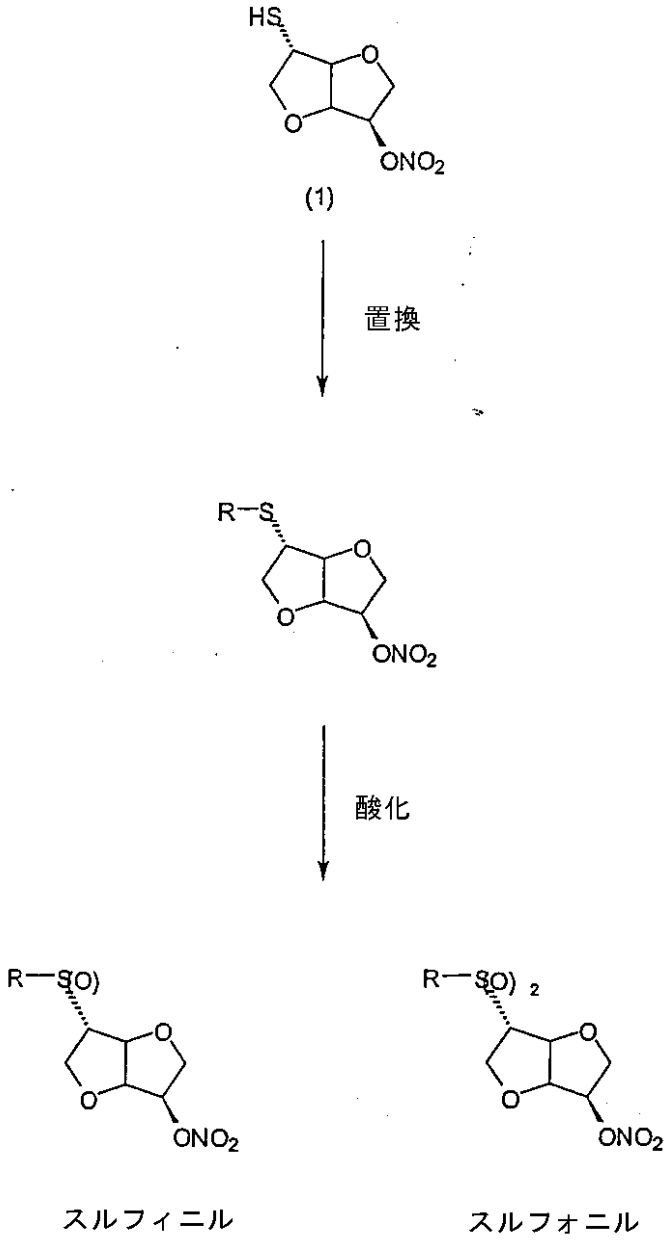
【表１６】

化合物	投与量（ｍｇ／ｋｇ、経口）	Ｓ波低下（μＶ）	Ｓ波低下の阻止（％）
賦形剤（ベヒクル）	－	４６．２±４．９	－
１２	２０	２２．６±５．９	５２
１２	１００	８．６±２．８	８１
９	２０	１６．５±９．８	６４
９	１００	９．７±４．６	７９
４	２０	３６．５±１１．６	２１
４	１００	５．９±３．９	８７

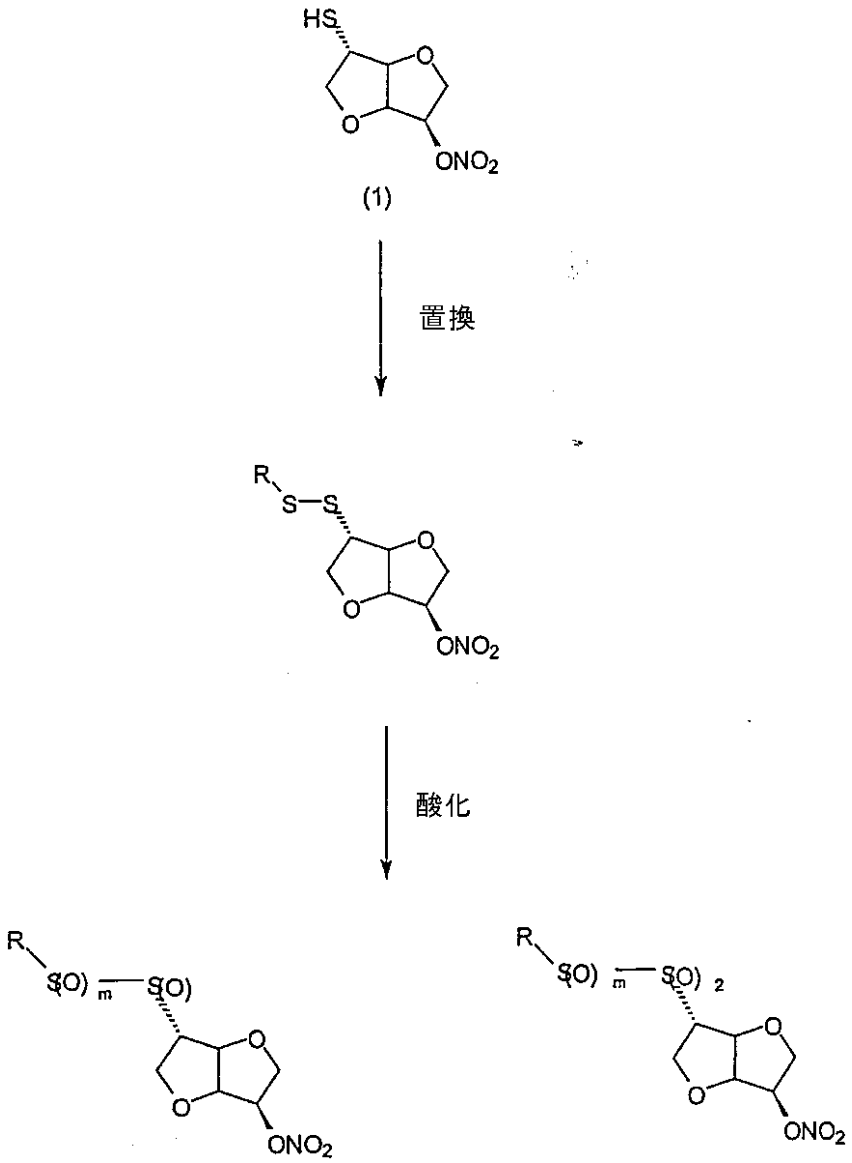
【０１７１】
表１６に見られるように、試験した全ての化合物は、心臓における虚血再還流後の障害を防ぐ。
【０１７２】
スキーム１


HS
ONO2
(1)
最初の酸化
O2NO
S—S
ONO2
(2)
HO
S—S
ONO2
(8)
2回目の酸化
O2NO
S(O)m—SO
ONO2
HO
S(O)m—SO
ONO2
O2NO
S(O)m—SO2
ONO2
HO
S(O)m—SO2
ONO2

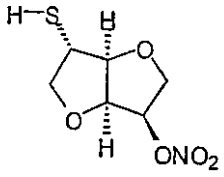
【０１７３】
スキーム２


HS
O
O
ONO2
(1)
置換
R—S
O
O
ONO2
酸化
R—S(O)
O
O
ONO2
スルフィニル
R—S(O)2
O
O
ONO2
スルフォニル

【０１７４】
スキーム３

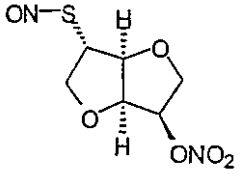


【０１７５】
スキーム４



(1)

ニトロソ化



(6)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		
Ａ６１Ｐ	*9/08*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/00	
Ａ６１Ｐ	*7/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/08	
Ａ６１Ｐ	*7/02*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/04	
Ａ６１Ｐ	*39/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	7/02	
Ａ６１Ｐ	*43/00*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/10	
Ａ６１Ｐ	*37/08*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	39/06	
Ａ６１Ｐ	*25/28*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	43/00	１０５
Ａ６１Ｐ	*9/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	37/08	
Ａ６１Ｐ	*3/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	25/28	
Ａ６１Ｐ	*9/12*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/04	
Ａ６１Ｐ	*15/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/06	
Ａ６１Ｐ	*3/10*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	9/12	
Ａ６１Ｐ	*1/04*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	15/10	
Ａ６１Ｐ	*11/06*	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	3/10	
			Ａ６１Ｐ	1/04	
			Ａ６１Ｐ	11/06	

(72)発明者　エドゥアルド　サラス　ペレスーラシラ
スペイン国　エー０８０２５　バルセロナ　セルデニャ　３５０　レイサー　ソシエダッド　アノニマ内
(72)発明者　フランシスコ　パビル　コーイ
スペイン国　エー０８０２５　バルセロナ　セルデニャ　３５０　レイサー　ソシエダッド　アノニマ内

審査官　三上　晶子

(56)参考文献　特表２００２－５２６５４４（ＪＰ，Ａ）
国際公開第０２／０３４３０３（WO，Ａ１）
特表平０９－５１０９７９（ＪＰ，Ａ）
特表２００１－５２０６７０（ＪＰ，Ａ）
PLOTKINE，M. et al.，European Journal of Pharmacology，１９９１年，Vol.201，No.1，p.115-116

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
C07D493/00-497/22
A61K 31/33- 33/44
A61P 1/00- 43/00
CAplus/REGISTRY(STN)