(19)日本国特許庁(JP)　(12)公開特許公報(A)　(11)特許出願公開番号
特開2004-18489
(P2004-18489A)
(43)公開日　平成16年1月22日(2004.1.22)

| (51)Int.Cl.[7] | F I | | テーマコード（参考） |
|---|---|---|---|
| A61K 31/662 | A61K | 31/662 | 4C086 |
| A61P 3/06 | A61P | 3/06 | 4H050 |
| A61P 9/10 | A61P | 9/10　101 | |
| A61P 43/00 | A61P | 43/00　111 | |
| // C07F 9/6541 | C07F | 9/6541 | |

審査請求 未請求　請求項の数 3　OL　（全 25 頁）

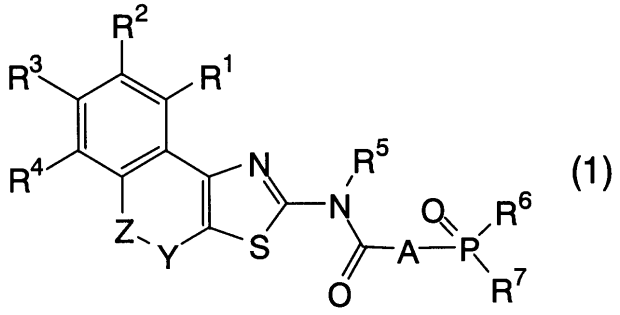
(21)出願番号　特願2002-178207(P2002-178207)
(22)出願日　平成14年6月19日(2002.6.19)

(71)出願人　000149435
株式会社大塚製薬工場
徳島県鳴門市撫養町立岩字芥原１１５
(74)代理人　100065215
弁理士　三枝　英二
(74)代理人　100076510
弁理士　掛樋　悠路
(74)代理人　100086427
弁理士　小原　健志
(74)代理人　100090066
弁理士　中川　博司
(74)代理人　100094101
弁理士　舘　泰光
(74)代理人　100099988
弁理士　斎藤　健治

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ＡＣＡＴ－１阻害剤

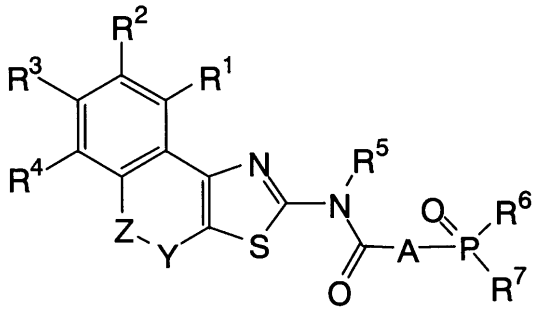
(57)【要約】
【課題】ＡＣＡＴ－１阻害剤を提供する。
【解決手段】一般式
【化１】



(1)

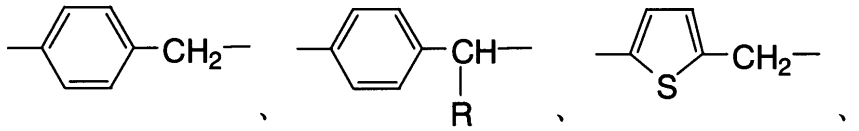
〔式中、$R^1$、$R^2$、$R^3$、$R^4$、$R^5$、$R^6$、$R^7$および－Ｚ－Ｙ－はそれぞれ本文に記載した基を示し、Ａは、基
【化２】

【特許請求の範囲】
【請求項１】
一般式（１）：
【化１】

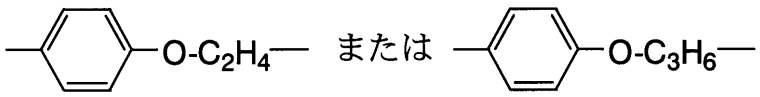


(1)

〔式中、$R^1$、$R^2$、$R^3$および$R^4$は、同一または異なって水素原子、低級アルキル基、低級アルコキシ基、ハロゲン原子、ハロゲン置換低級アルキル基、ニトロ基、シアノ基、フェニルチオ基、フェニルスルフィニル基、フェニルスルホニル基、フェニル低級アルキルチオ基またはジ低級アルコキシホスホリル低級アルキル基を有するベンゾイルオキシ基を示す。また$R^3$および$R^4$は互いに結合して基－ＣＨ＝ＣＨ－ＣＨ＝ＣＨ－を形成してもよい。$R^5$は、水素原子、低級アルキル基またはフェニル基を示す。$R^6$および$R^7$は同一または異なって低級アルコキシ基、フェニル基またはフェニル低級アルコキシ基を示す。
Ａは、基
【化２】

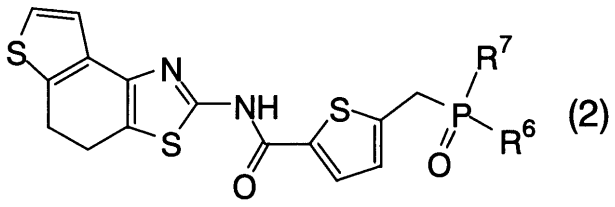


、 、 、



または

（上記基においてＲは低級アルキル基またはフェニル低級アルキル基である）を示す。また、－Ｚ－Ｙ－は、－ＣＨ$_2$－、－ＣＨ（Ｐｈ）－（Ｐｈ：フェニル基）、－Ｃ$_2$Ｈ$_4$－、－ＣＨ（ＣＨ$_3$）ＣＨ$_2$－、－Ｏ－ＣＨ$_2$－、－Ｏ－ＣＨ（ＣＨ$_3$）－、－Ｏ－ＣＨ（Ｐｈ）－（Ｐｈ：フェニル基）、－ＣＨ＝ＣＨ－または－Ｃ$_3$Ｈ$_6$－を示す。〕で表されるホスホン酸ジエステル誘導体、および
一般式（２）：
【化３】



(2)

〔式中、$R^6$および$R^7$は同一または異なって低級アルコキシ基、フェニル基またはフェニル低級アルコキシ基を示す。〕で表されるホスホン酸ジエステル誘導体
から選ばれる少なくとも１種を有効成分として含有することを特徴とするＡＣＡＴ－１阻

害剤。
【請求項２】
有効成分が一般式（１）で表されるホスホン酸ジエステル誘導体である請求項１に記載のＡＣＡＴ－１阻害剤。
【請求項３】
有効成分が一般式（２）で表されるホスホン酸ジエステル誘導体である請求項１に記載のＡＣＡＴ－１阻害剤。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
【発明の属する技術分野】
本発明は、ホスホン酸ジエステル誘導体を含有するＡＣＡＴ－１阻害剤（ａｃｙｌ－ｃｏｅｎｚｙｍｅ Ａ： ｃｈｏｌｅｓｔｅｒｏｌ ａｃｙｌｔｒａｎｓｆｅｒａｓｅ－１阻害剤）に関する。
【０００２】
【従来の技術】
ＡＣＡＴは、コレステロールの３位の水酸基にアシルコエンザイムＡから長鎖脂肪酸を転移し、コレステロールエステルを生成する反応を触媒する細胞内酵素である（Ｃｈａｎｇ，Ｔ．Ｙ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，６６，６１３－６３８（１９９７））。この酵素の一般的な役割は、過剰の細胞内遊離コレステロールをエステル化し、遊離コレステロールレベルを一定に保つことであり、臓器によって異なる役割を持っている。例えば小腸では、腸管からコレステロールが小腸上皮に吸収され、ＡＣＡＴによってコレステロールエステルに変換された後、カイナミクロンの構成脂質として組み込まれる。肝臓においては、ＡＣＡＴによって合成されたコレステロールエステルがＶＬＤＬのコアに存在する構成脂質として組み込まれ、血中に放出される。副腎皮質などのステロイドホルモン産生細胞や動脈硬化病変のマクロファージにおいては、ＡＣＡＴの作用によりコレステロールエステルが顕著に蓄積される。
【０００３】
従って、ＡＣＡＴの阻害活性を有する薬物の投与によれば、小腸においては小腸上皮のコレステロールのエステル化が抑制され、小腸上皮の遊離コレステロールレベルが高くなることにより、腸管腔との間のコレステロール勾配が失われ、コレステロールの吸収が阻害され、かくして血中コレステロールレベルの低下が期待できる。肝臓においては、ＡＣＡＴ阻害によってコレステロールエステルの合成を阻害すると、ＶＬＤＬの肝細胞内分解が促進され、該ＶＬＤＬの細胞外への分泌が抑制され、かくして血中ＬＤＬレベルの低下が期待できる。また、動脈硬化病変部位においては、ＡＣＡＴ阻害によって病変部位のコレステロールエステルの蓄積が抑制され、直接的な抗動脈硬化作用が期待できる。
【０００４】
上記ＡＣＡＴ阻害活性を有する薬物（ＡＣＡＴ阻害剤）として、現在、ＦＲ１４５２３７（ＮｉｐｐｏｎＲｉｎｓｈｏ，２００１ Ｍａｒ；５９ Ｓｕｐｐｌ．３：６７５－６８０），Ｆ－１３９４（Ｎｉｐｐｏｎ Ｙａｋｕｒｉｇａｋｕ Ｚａｓｓｈｉ，２００１ Ｄｅｃ；１１８（６）：３８９－３９５），Ｄｕｐ１２８（Ｎｉｐｐｏｎ Ｒｉｎｓｈｏ，２００１ Ｍａｒ；５９ Ｓｕｐｐｌ．３：６７５－６８０），Ｅ５３２４（Ｊｐｎ．Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．，１９９９ Ｆｅｂ；７９（２）：１５１－１５８），ＣＬ２７７０８２（Ｍｅｔａｂｏｌｉｓｍ，１９９８ Ｍａｒ；４７（３）：３２５－３３２），ＮＴＥ－１２２（Ｊｐｎ．Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．，２００１ Ｍａｙ；８６（１）：１２０－１２３）などの尿素（$H_2N-CO-NH_2$）に由来する構造を持つウレア剤と、５８－０３５（Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｓｃｉ．，２００１ Ｎｏｖ；９０（１１）：１８５９－１８６７），ＣＩ－９７６（Ｊ．Ｐｈａｒｍ．Ｓｃｉ．，２００１ Ｎｏｖ；９０（１１）：１８５９－１８６７），ＣＩ－１０１１（Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．，２００２ Ｆｅｂ １；６３（３）：３４９－３６０）

などのアミド（－ＮＨ－ＣＯ－）の構造を持つアミド剤とが知られている。

【０００５】

しかしながら、これまでの多くのＡＣＡＴ阻害剤は、抗高脂血症剤としてコレステロール吸収阻害作用に重点を置いて研究、開発されたものであった。

【０００６】

最近、ＡＣＡＴには小腸のみに存在するタイプ（ＡＣＡＴ－２）と、肝臓、マクロファージ、副腎および小腸に存在するタイプ（ＡＣＡＴ－１）の２つのサブタイプが存在することが報告された。このサブタイプに従うと、これまで開発されたＡＣＡＴ阻害剤の多くは、上記ＡＣＡＴ－２の阻害を目指したものであることが明らかにされた。

【０００７】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、従来知られていない新しい構造を持つＡＣＡＴ－１阻害剤を提供することを目的とする。

【０００８】

本願人は、医薬品分野で利用できる有効成分化合物につき鋭意研究、開発を続ける過程において、先に、脂質低下作用、血糖降下作用などを有するホスホン酸ジエステル誘導体を開発した（特許第２９２６２７３号およびＷＯ９７／２４３６０号公開公報参照）。

【０００９】

引き続く研究の結果、本発明者らは上記ホスホン酸ジエステル誘導体中に、上記目的に合致するＡＣＡＴ－１阻害活性を有する化合物が存在することを見出し、ここに本発明を完成するに至った。

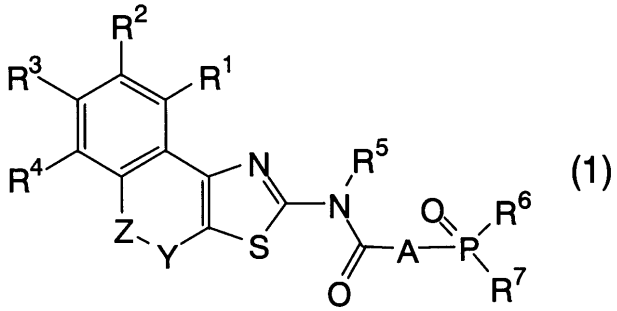
【００１０】

【課題を解決するための手段】

本発明は、下記一般式（１）および（２）で表されるホスホン酸ジエステル誘導体から選ばれる少なくとも１種を有効成分として含有することを特徴とするＡＣＡＴ－１阻害剤を提供する。

【００１１】

【化４】



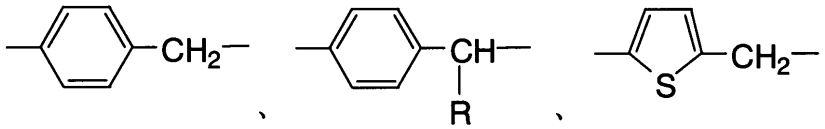

(1)

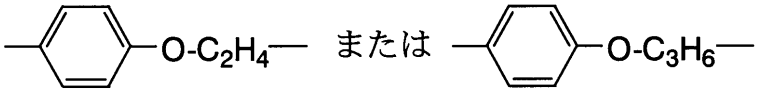
【００１２】

〔式中、$R^1$、$R^2$、$R^3$および$R^4$は、同一または異なって水素原子、低級アルキル基、低級アルコキシ基、ハロゲン原子、ハロゲン置換低級アルキル基、ニトロ基、シアノ基、フェニルチオ基、フェニルスルフィニル基、フェニルスルホニル基、フェニル低級アルキルチオ基またはジ低級アルコキシホスホリル低級アルキル基を有するベンゾイルオキシ基を示す。また$R^3$および$R^4$は互いに結合して基－ＣＨ＝ＣＨ－ＣＨ＝ＣＨ－を形成してもよい。$R^5$は、水素原子、低級アルキル基またはフェニル基を示す。$R^6$および$R^7$は同一または異なって低級アルコキシ基、フェニル基またはフェニル低級アルコキシ基を示す。Ａは、基

【００１３】

【化５】

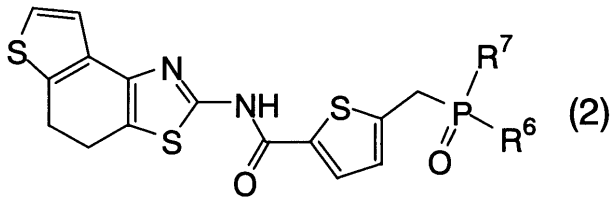



【００１４】
（上記基においてＲは低級アルキル基またはフェニル低級アルコキシ基である）を示す。また、－Ｚ－Ｙ－は、－ＣＨ$_2$－、－ＣＨ（Ｐｈ）－（Ｐｈ：フェニル基）、－Ｃ$_2$Ｈ$_4$－、－ＣＨ（ＣＨ$_3$）ＣＨ$_2$－、－Ｏ－ＣＨ$_2$－、－Ｏ－ＣＨ（ＣＨ$_3$）－、－Ｏ－ＣＨ（Ｐｈ）－（Ｐｈ：フェニル基）、－ＣＨ＝ＣＨ－または－Ｃ$_3$Ｈ$_6$－を示す。〕

【００１５】

【化６】




【００１６】
〔式中、Ｒ$^6$およびＲ$^7$は前記に同じ。〕
また本発明は、有効成分が一般式（１）で表されるホスホン酸ジエステル誘導体である上記ＡＣＡＴ－１阻害剤および有効成分が一般式（２）で表されるホスホン酸ジエステル誘導体である上記ＡＣＡＴ－１阻害剤を提供する。

【００１７】
本発明の一般式（１）および（２）で表されるホスホン酸ジエステル誘導体は、動脈硬化症予防剤およびコレステロール吸収阻害剤として有用である。

【００１８】
【発明の実施の形態】
本発明ＡＣＡＴ－１阻害剤の有効成分であるホスホン酸ジエステル誘導体を表す前記一般式（１）および（２）並びにその他の本明細書中に用いられている各基は、それらが各式に示される基として用いられる場合および該基の置換基として用いられる場合のいずれの場合も、具体的にはそれぞれ次の通りである。本明細書において炭素を含む各基につき用いられる「低級」なる語は、「炭素数１－６の」なる意味で用いられるものとする。

【００１９】
低級アルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ペンチル、ヘキシル基などの炭素数１－６の直鎖または分枝鎖状のアルキル基を例示することができる。

【００２０】
低級アルコキシ基としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシ、イソブトキシ、ｔｅｒｔ－ブトキシ、ペンチルオキシ、ヘキシルオキシ基などの炭素数１－６の直鎖状または分岐鎖状のアルコキシ基を例示することができる。

【００２１】
ハロゲン原子としては、弗素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子を例示することができる。

【００２２】
ハロゲン置換低級アルキル基としては、トリクロロメチル、トリフルオロメチル、トリブロモメチル、ペンタフルオロエチル、ヘプタフルオロプロピル、ノナフルオロブチル、ウンデカフルオロペンチル、トリデカフルオロヘキシル基などのハロゲン原子で置換された炭素数１－６の直鎖状または分枝鎖状アルキル基を例示することができる。
【００２３】
フェニル低級アルキルチオ基としては、ベンジルチオ、１－フェニルエチルチオ、２－フェニルエチルチオ、３－フェニルプロピルチオ、４－フェニルブチルチオ、５－フェニルペンチルチオ、６－フェニルヘキシルチオ基などのフェニル基を置換基として有する炭素数１－６の直鎖状または分枝鎖状アルキルチオ基を例示することができる。
【００２４】
ジ低級アルコキシホスホリル低級アルキル基を有するベンゾイルオキシ基としては、４－［（ジメトキシホスホリル）メチル］ベンゾイルオキシ、４－［（ジエトキシホスホリル）メチル］ベンゾイルオキシ、４－［（ジプロポキシホスホリル）メチル］ベンゾイルオキシ、４－［（ジイソプロポキシホスホリル）メチル］ベンゾイルオキシ、４－［（ジブトキシホスホリル）メチル］ベンゾイルオキシ、４－［（ジイソブトキシホスホリル）メチル］ベンゾイルオキシ、４－［（ｊｅｒｔ－ブトキシホスホリル）メチル］ベンゾイルオキシ、４－［（ジペンチルオキシホスホリル）メチル］ベンゾイルオキシ、４－［（ジヘキシルオキシホスホリル）メチル］ベンゾイルオキシ、４－［２－（ジメトキシホスホリル）エチル］ベンゾイルオキシ、４－［３－（ジメトキシホスホリル）プロピル］ベンゾイルオキシ、４－［４－（ジメトキシホスホリル）ブチル］ベンゾイルオキシ、４－［５－（ジメトキシホスホリル）ペンチル］ベンゾイルオキシ、４－［６－（ジメトキシホスホリル）ヘキシル］ベンゾイルオキシ、２－［（ジエトキシホスホリル）メチル］ベンゾイルオキシ、３－［（ジエトキシホスホリル）メチル］ベンゾイルオキシ基などの、アルコキシ部分およびアルキル部分がそれぞれ炭素数１－６の直鎖状または分枝鎖状アルコキシ基およびアルキル基であるジアルコキシホスホリルアルキル基をフェニル基上に有するベンゾイルオキシ基を例示することができる。
【００２５】
フェニル低級アルコキシ基としては、ベンジルオキシ、１－フェニルエチルオキシ、２－フェニルエチルオキシ、３－フェニルプロピルオキシ、４－フェニルブチルオキシ、５－フェニルペンチルオキシ、６－フェニルヘキシルオキシ基などのフェニル基を置換基として有する炭素数１－６のアルコキシ基を例示することができる。
【００２６】
一般式（１）および（２）で表される各誘導体は、優れたＡＣＡＴ－１阻害活性を有しており、ＡＣＡＴ－１阻害剤として有用である。また、この活性に基づいて、動脈硬化症予防剤、コレステロール吸収阻害剤などとして、医薬品分野で有用である。
【００２７】
本発明ＡＣＡＴ－１阻害剤において有効成分とする上記一般式（１）および（２）で表される各誘導体は、本願人の先の出願にかかる前記各公報に記載の方法に従い製造することができる。その詳細は、後記参考例に詳述するとおりである。
【００２８】
得られる目的化合物は、通常の分離、精製手段、例えば、吸着クロマトグラフィー、プレパラティブ薄層クロマトグラフィー、再結晶、溶媒抽出などにより容易に単離、精製できる。
【００２９】
本発明ＡＣＡＴ－１阻害剤は、一般式（１）および（２）で表される少なくとも１種の化合物とともに、製剤学的に許容される担体を用いて、一般的な医薬組成物の形態に調製されて実用される。
【００３０】
本発明医薬組成物に利用される製剤学的に許容される担体としては、製剤の使用形態に応

じて通常使用される希釈剤または賦形剤、例えば充填剤、増量剤、結合剤、付湿剤、崩壊剤、表面活性剤、滑沢剤などを例示できる。これらは調整される医薬製剤の投与単位形態に応じて適宜選択使用される。

【００３１】

医薬製剤の投与単位形態としては、各種の形態が治療目的に応じて適宜選択できる。その代表的なものとしては、錠剤、丸剤、散剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤、カプセル剤、坐剤、注射剤（液剤、懸濁剤など）、軟膏剤などが挙げられる。

【００３２】

錠剤の形態に成形するに際しては、製剤学的に許容される担体として、例えば、乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、尿素、デンプン、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、ケイ酸、リン酸カリウムなどの賦形剤；水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ブドウ糖液、デンプン液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、メチルセルロース、ポリビニルピロリドンなどの結合剤；カルボキシメチルセルロースナトリウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、低置換度ヒドロキシプロピルセルロース、乾燥デンプン、アルギン酸ナトリウム、カンテン末、ナミナラン末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウムなどの崩壊剤；ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル類、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸モノグリセリドなどの界面活性剤；白糖、ステアリン、カカオバター、水素添加油などの崩壊抑制剤；第４級アンモニウム塩基、ラウリル硫酸ナトリウムなどの吸収促進剤；グリセリン、デンプンなどの保湿剤；デンプン、乳糖、カオリン、ベンナイト、コロイド状ケイ酸などの吸着剤；精製タルク、ステアリン酸塩、ホウ酸末、ポリエチレングリコールなどの滑沢剤などを使用できる。更に、錠剤は、必要に応じ通常の剤皮を施した錠剤、例えば糖衣錠、ゼラチン被包錠、腸溶被錠、フィルムコーティング錠または二重錠、多層錠とすることができる。

【００３３】

丸剤の形態に成形するに際しては、製剤学的に許容される担体として、例えば、ブドウ糖、乳糖、デンプン、カカオ脂、硬化植物油、カオリン、タルクなどの賦形剤；アラビアゴム末、トラガント末、ゼラチン、エタノールなどの結合剤；ラミナラン、カンテンなどの崩壊剤などを使用できる。

【００３４】

坐剤の形態に形成するに際しては、製剤学的に許容される担体として、例えば、ポリエチレングリコール、カカオ脂、高級アルコール、高級アルコールのエステル類、ゼラチン、半合成グリセライドなどを使用できる。

【００３５】

カプセル剤は、常法に従い、通常本発明化合物を上記で例示した各種の製剤学的に許容される担体と混合して、硬質ゼラチンカプセル、軟質ゼラチンカプセルなどの充填して調製される。

【００３６】

液剤、乳剤、懸濁剤などの注射剤として調製される場合、これらは殺菌され且つ血液と等張であるのが好ましい。これらの形態にするに際しては、希釈剤として、例えば、水、エタノール、マクロゴール、プロピレングリコール、エトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステルなどを使用できる。尚、この場合、等張性の溶液を調製するに充分な量の食塩、ブドウ糖またはグリセリンを医薬製剤中に含有させてもよく、また通常の溶解補助剤、緩衝剤、無痛化剤などを添加してもよい。

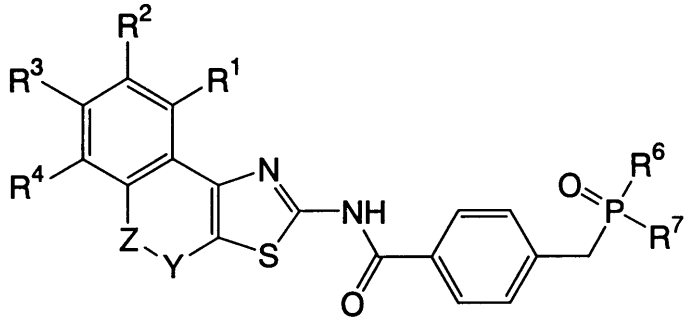
【００３７】

ペースト、クリーム、ゲルなどの軟膏剤の形態に調製するに際しては、希釈剤として、例えば、白色ワセリン、パラフィン、グリセリン、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコーン、ベンナイトなどを使用できる。

【００３８】

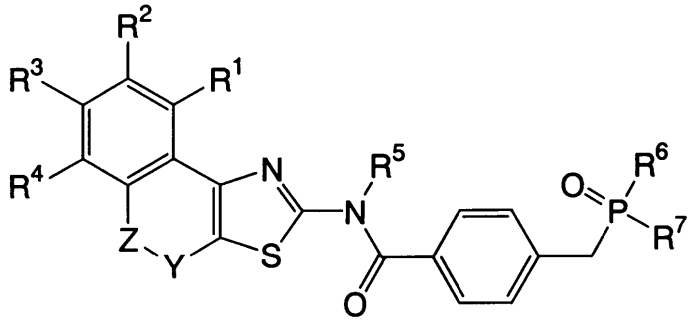
更に、本発明医薬組成物中には、必要に応じて着色剤、保存剤、香料、風味剤、甘味剤な

どや他の医薬品を含有させることもできる。
【００３９】
本発明医薬組成物中に配合される本発明化合物（有効成分化合物）の量は、特に限定されず広範囲より適宜選択される。通常医薬組成物中に、約０．５－９０重量％、好ましくは約１－８５重量％程度配合されるのがよい。
【００４０】
本発明医薬製剤の投与方法は特に制限がなく、各種製剤形態、患者の年齢、性別その他の条件、疾患の程度などに応じて決定される。例えば、錠剤、丸剤、液剤、懸濁剤、乳剤、顆粒剤およびカプセル剤は経口投与され、注射剤は単独でまたはブドウ糖、アミノ酸などの通常の補液と混合して静脈内に、或いは筋肉内、皮内、皮下または腹腔内に投与され、坐剤は直腸内投与される。
【００４１】
本発明医薬製剤の投与量は、その用法、患者の年齢、性別その他の条件、疾患の程度などにより適宜選択される。通常有効成分である本発明化合物の量が１日成人１人当たり体重１ｋｇ当たり約０．５－２０ｍｇ程度、好ましくは１－１０ｍｇ程度とするのがよい。該製剤は１日に１回または２－４回に分けて投与することができる。
【００４２】
【実施例】
以下、本発明を更に詳しく説明するため、本発明化合物の製造例を参考例として挙げ、次いで本発明化合物につき行われた薬理試験例および本発明化合物を有効成分とする医薬の製剤例を挙げる。
【００４３】
【参考例１】
（１）　２－アミノ－８Ｈ－インデノ［１，２－ｄ］チアゾール（臭化水素酸塩）の製造
１－インダノン６．６１ｇをクロロホルム８０ｍＬとメタノール２０ｍＬの混合溶媒に溶解させ、室温撹拌下、この溶液中にフェニルトリメチルアンモニウム　トリブロミド２０．３５ｇを加えた。室温で５時間撹拌後、反応混合物中に水１００ｍＬを加え、クロロホルムで抽出した。クロロホルム層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥し、溶媒を減圧留去した。残渣をエタノール１００ｍＬに溶解した後チオ尿素３．８１ｇを加え２時間加熱還流した。反応混合物を室温に放冷し、析出した沈殿を濾取した。得られた粗結晶をエタノール－ｎ－ヘキサンより再結晶して、目的化合物（融点：２５７－２６０℃）７．０３ｇを得た。
（２）　ジエチル　４－［Ｎ－（８Ｈ－インデノ［１，２－ｄ］チアゾール－２－イル）カモバモイル］ベンジルホスホナートの製造
２－アミノ－８Ｈ－インデノ［１，２－ｄ］チアゾール（臭化水素酸塩）３．７６ｇとピリジン１０ｍＬを乾燥ジクロロメタン３０ｍＬに溶かし、氷冷撹拌下、この混合物中に４－［（ジエトキシホスホリル）メチル］ベンゾイル　クロリド５．８１ｇの乾燥ジクロロメタン１０ｍＬ溶液をゆっくり滴下した。室温で１０時間撹拌した後、反応混合物中に、１０％炭酸水素ナトリウム水溶液３０ｍＬを加え、クロロホルムで抽出した。クロロホルム層を１０％塩酸３０ｍＬおよび水で順次洗浄した後、無水硫酸ナトリウム上で乾燥し、溶媒を減圧留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（展開溶媒…クロロホルム：酢酸エチル＝１：１０）に付し、得られた粗結晶をエタノール－ｎ－ヘキサンより再結晶して、目的化合物の無色結晶３．７９ｇ（化合物１、融点：１９１－１９３℃）を得た。
【００４４】
上記（１）および（２）と同様にして表１に化合物１０１－１０９として示す各化合物を製造した。各化合物の構造および融点を表１に併記する。
【００４５】
【表１】



| 化合物 | $R^1$ | $R^2$ | $R^3$ | $R^4$ | $R^6$=$R^7$ | -Z-Y- | 物 性 (融点) (℃) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 101 | H | H | H | $OCH_3$ | $OCH(CH_3)_2$ | $-C_2H_4-$ | 164.5-165.5 |
| 102 | H | $OCH_3$ | H | H | $OCH(CH_3)_2$ | $-C_2H_4-$ | 166-167 |
| 103 | H | H | $OCH_3$ | H | $OCH(CH_3)_2$ | $-C_2H_4-$ | 208(分解) |
| 104 | H | $OCH_3$ | H | H | $OCH(CH_3)_2$ | $-CH_2-$ | 222-223 |
| 105 | H | $OCH_3$ | $OCH_3$ | H | $OCH(CH_3)_2$ | $-C_2H_4-$ | 196-196.5 |
| 106 | H | $OCH_3$ | $OCH_3$ | H | $OCH(CH_3)_2$ | $-CH_2-$ | 206.5-207.5 |
| 107 | H | $CH_3$ | H | $CH_3$ | $OCH(CH_3)_2$ | $-C_2H_4-$ | 229.5-230.5 |
| 108 | H | H | H | H | $OCH(CH_3)_2$ | $-CH(CH_3)-CH_2-$ | 121-122 |
| 109 | H | F | H | H | $OCH(CH_3)_2$ | $-O-CH(CH_3)-$ | 187-188 (分解) |

【００４６】
【薬理試験例１】ＡＣＡＴ－１阻害作用試験１
上記表１に記載の各化合物および下記表２－７に記載の化合物（化合物１－８３）を被験物質として利用し、これらの各化合物の有するＡＣＡＴ－１阻害作用を以下のとおり試験した。なお、表においてＰｈはフェニル基を示す。
【００４７】
【表２】

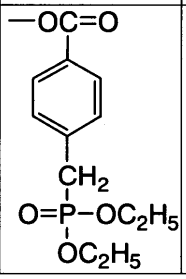


| 化合物 | $R^1$ | $R^2$ | $R^3$ | $R^4$ | $R^5$ | $R^6$=$R^7$ | -Z-Y- |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | H | H | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 2 | H | H | H | H | H | $OCH_3$ | —$CH_2$— |
| 3 | H | H | H | H | H | $OCH(CH_3)_2$ | —$CH_2$— |
| 4 | H | $CH_3$ | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 5 | H | $C_2H_5$ | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 6 | H | $OCH_3$ | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 7 | H | F | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 8 | H | Cl | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 9 | H | Br | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 10 | H | H | $OCH_3$ | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 11 | H | H | F | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 12 | H | H | Cl | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 13 | H | H | Br | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 14 | H | H | H | $CH_3$ | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 15 | H | H | H | Cl | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |

【００４８】
【表３】

| 化合物 | $R^1$ | $R^2$ | $R^3$ | $R^4$ | $R^5$ | $R^6$=$R^7$ | -Z-Y- |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 16 | H | H | H | $CF_3$ | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 17 | H | $OCH_3$ | $OCH_3$ | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 18 | $OCH_3$ | $OCH_3$ | $OCH_3$ | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 19 | $OCH_3$ | $OCH_3$ | $OCH_3$ | Br | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 20 | H | H | H | H | H | $OC_2H_5$ | —CH(Ph)— |
| 21 | H | H | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$C_2H_4$— |
| 22 | H | H | H | H | H | $OCH(CH_3)_2$ | —$C_2H_4$— |
| 23 | H | $OCH_3$ | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$C_2H_4$— |
| 24 | H | $NO_2$ | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$C_2H_4$— |
| 25 | H | H | $OCH_3$ | H | H | $OC_2H_5$ | —$C_2H_4$— |
| 26 | H | H | H | $OCH_3$ | H | $OC_2H_5$ | —$C_2H_4$— |
| 27 | H | $CH_3$ | H | $CH_3$ | H | $OC_2H_5$ | —$C_2H_4$— |
| 28 | H | H | H | H | H | $OC_2H_5$ | —CH($CH_3$)$CH_2$— |
| 29 | H | H | H | H | H | $OC_2H_5$ | —O-$CH_2$— |
| 30 | H | F | H | H | H | $OC_2H_5$ | —O-$CH_2$— |
| 31 | H | Cl | H | H | H | $OC_2H_5$ | —O-$CH_2$— |
| 32 | H | F | H | H | H | $OC_2H_5$ | —O-CH($CH_3$)— |
| 33 | H | H | H | H | H | $OC_2H_5$ | —O-CH(Ph)— |
| 34 | H | H | Cl | H | Ph | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |

【００４９】
【表４】

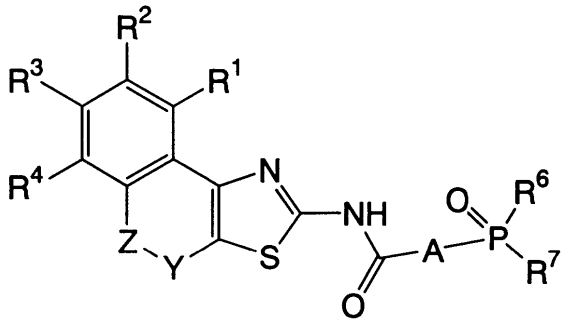
| 化合物 | $R^1$ | $R^2$ | $R^3$ | $R^4$ | $R^5$ | $R^6$=$R^7$ | -Z-Y- |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 35 | H | H | Cl | H | $CH_3$ | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 36 | $CH_3$ | H | H | H | H | $OCH_3$ | —$CH_2$— |
| 37 | $CH_3$ | H | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 38 | $OCH_3$ | H | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 39 | H | H | $CH_3$ | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 40 | H | H | Cl | H | H | $OCH_3$ | —$CH_2$— |
| 41 | H | H | Cl | H | $C_2H_5$ | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 42 | H | H | Cl | H | H | $OCH(CH_3)_2$ | —$CH_2$— |
| 43 | H | H | Cl | H | H | $O(CH_2)_3CH_3$ | —$CH_2$— |
| 44 | H | H | CN | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 45 | H | H | SPh | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 46 | H | H | SOPh | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 47 | H | H | $SO_2Ph$ | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 48 | H | H | $SCH_2Ph$ | H | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 49 | H | H | H | $OCH_3$ | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 50 | H | H | H | $OCH_2Ph$ | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 51 | H | H | H |  | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |

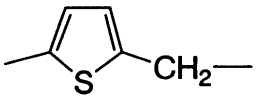
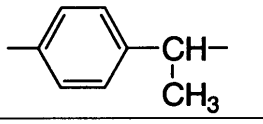
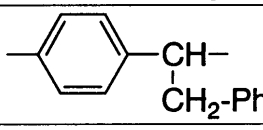
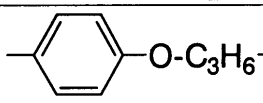
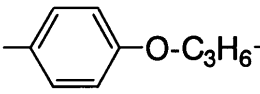
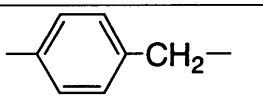
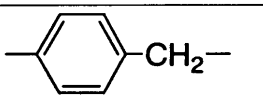
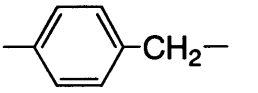
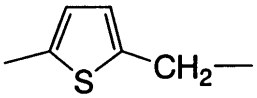
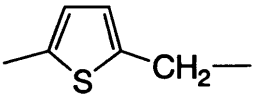
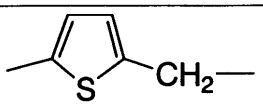


【００５０】
【表５】

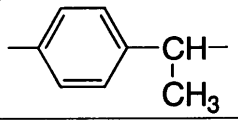
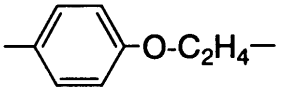
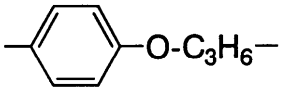
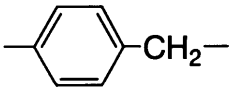
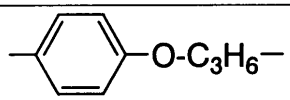
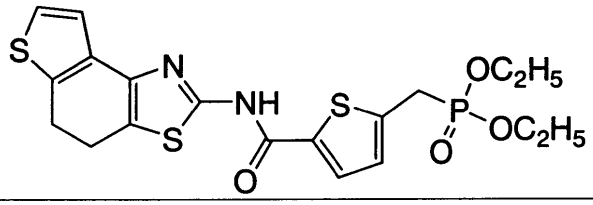
| 化合物 | $R^1$ | $R^2$ | $R^3$ | $R^4$ | $R^5$ | $R^6$=$R^7$ | -Z-Y- |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 52 | H | H | H | Br | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 53 | H | H | H | CN | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 54 | H | H | H | H | H | $OCH_3$ | —$C_2H_4$— |
| 55 | H | H | H | $OCH_2Ph$ | H | $OC_2H_5$ | —$C_2H_4$— |
| 56 | H | H | H | H | H | $OC_2H_5$ | —CH=CH— |
| 57 | H | H | H | H | H | $OCH_3$ | —$C_3H_6$— |
| 58 | H | H | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$C_3H_6$— |
| 59 | H | H | H | H | H | $OCH(CH_3)_2$ | —$C_3H_6$— |
| 60 | H | F | H | H | H | $OC_2H_5$ | —$C_3H_6$— |
| 61 | H | F | H | H | H | $OCH_3$ | —O-$CH_2$— |
| 62 | H | F | H | H | H | $OCH(CH_3)_2$ | —O-$CH_2$— |
| 63 | H | H | H | Cl | H | $OC_2H_5$ | —O-$CH_2$— |
| 64 | H | H | H | $NO_2$ | H | $OC_2H_5$ | —O-$CH_2$— |
| 65 | H | H | H | F | H | $OC_2H_5$ | —$CH_2$— |
| 66 | H | H | -CH=CH-CH=CH- | | H | $OC_2H_5$ | —$C_2H_4$— |

【００５１】
【表６】



| 化合物 | $R^1$ | $R^2$ | $R^3$ | $R^4$ | $R^6$ | $R^7$ | A | -Z-Y- |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 67 | H | H | Cl | H | $OC_2H_5$ | $OC_2H_5$ |  | $-CH_2-$ |
| 68 | H | H | Cl | H | $OC_2H_5$ | $OC_2H_5$ |  | $-CH_2-$ |
| 69 | H | H | Cl | H | $OC_2H_5$ | $OC_2H_5$ |  | $-CH_2-$ |
| 70 | H | H | Cl | H | $OC_2H_5$ | $OC_2H_5$ |  | $-CH_2-$ |
| 71 | H | H | Cl | H | $OC_2H_5$ | $OC_2H_5$ |  | $-CH_2-$ |
| 72 | H | H | Cl | H | $OC_2H_5$ | $OCH(CH_3)_2$ |  | $-CH_2-$ |
| 73 | H | H | Cl | H | $OC_2H_5$ | $OCH_2Ph$ |  | $-CH_2-$ |
| 74 | H | H | Cl | H | $OC_2H_5$ | Ph |  | $-CH_2-$ |
| 75 | H | H | H | Cl | $OC_2H_5$ | $OC_2H_5$ |  | $-CH_2-$ |
| 76 | H | F | H | H | $OC_2H_5$ | $OC_2H_5$ |  | $-C_3H_6-$ |
| 77 | H | F | H | H | $OC_2H_5$ | $OC_2H_5$ |  | $-O-CH_2-$ |

【００５２】
【表７】

| 化合物 | $R^1$ | $R^2$ | $R^3$ | $R^4$ | $R^6$ | $R^7$ | A | -Z-Y- |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 78 | H | F | H | H | $OC_2H_5$ | $OC_2H_5$ |  | -O-$CH_2$- |
| 79 | H | F | H | H | $OC_2H_5$ | $OC_2H_5$ |  | -O-$CH_2$- |
| 80 | H | F | H | H | $OC_2H_5$ | $OC_2H_5$ |  | -O-$CH_2$- |
| 81 | H | F | H | H | $OC_2H_5$ | $OCH(CH_3)_2$ |  | -O-$CH_2$- |
| 82 | H | H | H | H | $OC_2H_5$ | $OC_2H_5$ |  | -CH=CH- |
| 83 |  | | | | | | | |

【００５３】
ＡＣＡＴ－１酵素活性の測定は、再構成法（ｒｅｃｏｎｓｔｉｔｕｔｅｄ ｖｅｓｉｃｌｅ ａｓｓａｙ）［Ｊ．Ｌｉｐｉｄ Ｒｅｓ．，２９，１６８３－１６９２（１９８８）、Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ，９８２，１８７－１９５（１９８９）、Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２７０，２９５３２－２９５４０（１９９５）］に従った。

【００５４】
Ｉ．Ｂｒｏｋｅｎ Ｈｏｍｏｇｉｎａｔｅの作製
ＳＷ－１３細胞（ヒト副腎皮質癌由来細胞）を、１０％ウシ胎児血清（ＦＢＳ）含有Ｌ－１５培地中、炭酸ガスインキュベーター内で、培養プレートにコンフレントになるまで培養した。

【００５５】
文献記載の方法［ｈｙｐｏｔｏｎｉｃ ｓｈｏｃｋ ａｎｄ ｓｃｒａｐｐｉｎｇ ｍｅｔｈｏｄ，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，１１６，２９８－３０２（１９８１）］に従い、Ｂｒｏｋｅｎ Ｈｏｍｏｇｉｎａｔｅを採取した。蛋白定量（Ｂｒａｄｆｏｒｄ法）を行い、使用するまで、－８０℃で保存した。

【００５６】
ＩＩ．Ｃｈｏｌｅｓｔｅｒｏｌ／Ｐｈｏｓｐｈａｔｉｄｙｌｃｈｏｌｉｎｅ（Ｃｈｏｌ／ＰＣ） ｖｅｓｉｃｌｅの作製
チャンらの方法［Ｃｈａｎｇ，Ｔ．Ｙ．，ｅｔ ａｌ．，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，１５７，３２３－３３０（１９８６）］に従い、Ｃｈｏｌ／ＰＣ ｖｅｓｉｃｌｅ（Ｃｈｏｌ／ＰＣ＝３．９ ｍＭ／１２．８ｍＭ）を作製した。

【００５７】
ＩＩＩ．５×ＤＯＣ／ＰＣの作製
ホスファチジルコリン（ｐｈｏｓｐｈａｔｉｄｙｌｃｈｏｌｉｎｅ）５０ｍｇを５０ｍｇ／ｍＬ ｓｏｄｉｕｍ ｄｅｏｘｙｃｈｏｌａｔｅ－Ｂｕｆｆｅｒ Ａ（５０ｍＭ Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ，５ｍＭ ＥＤＴＡ，０．０５ｍＭ ＰＭＳＦ（ｐｈｅｎｙｌｍｅｔ

ｈｙｌ　ｓｕｌｆｏｎｙｌ　ｆｌｕｏｒｉｄｅ，　和光純薬株式会社、ｐＨ　７．８）５ｍＬに溶解した。

【００５８】

ＩＶ．　酵素液の作製

蛋白濃度２．５ｍｇ／ｍＬのＢｒｏｋｅｎ　Ｈｏｍｏｇｉｎａｔｅ　２．６ｍＬに、５×ＤＯＣ／ＰＣ　０．６５ｍＬを加え、攪拌後、氷中で２０分放置した。これに、Ｃｈｏｌ／ＰＣ　ｖｅｓｉｃｌｅ　２２ｍＬを加え、攪拌し、さらに氷中で２０分放置した。遠心後、浮遊物を除去し、これを酵素液とした。

【００５９】

Ｖ．　アッセイ

被験物質は、$1\times10^{-2}$ｍｏｌ／Ｌの濃度となるようにＤＭＳＯに溶解した。

【００６０】

ネジ口ガラス試験管に、被験物質またはＤＭＳＯ（コントロールとして）２．５μＬ、酵素液２００μＬおよび基質溶液（１５０　ｍＭリン酸カリウム緩衝液（ｐＨ７．０）、１５ｍｇ／ｍＬ　ＢＳＡ　（ＦＦＡ　ｆｒｅｅ）、２ｍＭ　ＤＴＴおよび０．１ｍＭ　［$1-^{14}$Ｃ］ｏｌｅｏｙｌ　ｃｏｅｎｚｙｍｅ　Ａ　（８．０Ｃｉ／ｍｏｌ）］５０μＬを加えた。３７℃で３０分間反応させた。ヘキサン４ｍＬ、２Ｍ　ＮａＣｌ　１ｍＬおよび［$^{3}$Ｈ］－ｃｈｏｌｅｓｔｅｒｙｌ　ｏｌｅａｔｅ添加エタノール１ｍＬ（約１０，０００　ｄｐｍ）を加えて反応を停止させた。５分間振盪後、遠心し、上層のヘキサン相のうちの２ｍＬをガラス試験管に移し、また１ｍＬをシンチレーションバイアルに移した。

【００６１】

ガラス試験管中のヘキサン相は、窒素ガス気流下で溶媒を除去し、得られた脂質抽出物をクロロホルム／メタノール（２：１）混合液１００μＬに再溶解後、ＴＬＣプレートへスポットした。ＴＬＣ　プレートを、ヘキサン／ジエチルエーテル／酢酸（７３：２５：２）で展開し、バイオイメージアナライザー（ＢＡＳ２０００ＩＩ，　富士フィルム株式会社製）で、コレステロールエステル画分の$^{14}$Ｃを定量した。

【００６２】

また、シンチレーションバイアル中のヘキサン相は、シンチレーションカクテルを加え、$^{3}$Ｈをカウントし、加えた［$^{3}$Ｈ］－ｃｈｏｌｅｓｔｅｒｙｌ　ｏｌｅａｔｅ添加エタノールの$^{3}$Ｈ量より抽出効率を計算した。抽出効率より生成した全コレステロールエステル量を計算した。コントロールの場合と比べ、被験物質添加時に減少する生成全コレステロールエステル量を、パーセント表示したものを、ＡＣＡＴ－１酵素阻害率とした。

【００６３】

ＶＩ．　結果

結果を、下記表８－１１に示す。

【００６４】

【表８】

| 化 合 物 | ACAT-1 酵素阻害率(%) |
|---|---|
| 1 | 32 |
| 2 | 22 |
| 3 | 66 |
| 4 | 28 |
| 5 | 32 |
| 6 | 28 |
| 7 | 47 |
| 8 | 44 |
| 9 | 34 |
| 10 | 38 |
| 11 | 21 |
| 12 | 24 |
| 13 | 40 |
| 14 | 34 |
| 15 | 26 |
| 16 | 45 |
| 17 | 17 |
| 18 | 50 |
| 19 | 35 |
| 20 | 40 |
| 21 | 42 |
| 22 | 66 |
| 23 | 39 |
| 24 | 60 |
| 25 | 39 |

【００６５】
【表９】

| 化 合 物 | ACAT-1 酵素阻害率(%) |
|---|---|
| 26 | 62 |
| 27 | 32 |
| 28 | 54 |
| 29 | 40 |
| 30 | 12 |
| 31 | 40 |
| 32 | 63 |
| 33 | 57 |
| 34 | 51 |
| 35 | 26 |
| 36 | 29 |
| 37 | 55 |
| 38 | 21 |
| 39 | 40 |
| 40 | 15 |
| 41 | 33 |
| 42 | 76 |
| 43 | 25 |
| 44 | 27 |
| 45 | 39 |
| 46 | 43 |
| 47 | 33 |
| 48 | 39 |
| 49 | 39 |
| 50 | 59 |

【００６６】
【表１０】

| 化 合 物 | ACAT-1 酵素阻害率(%) |
|---|---|
| 51 | 71 |
| 52 | 10 |
| 53 | 13 |
| 54 | 20 |
| 55 | 74 |
| 56 | 18 |
| 57 | 29 |
| 58 | 37 |
| 59 | 63 |
| 60 | 48 |
| 61 | 26 |
| 62 | 62 |
| 63 | 33 |
| 64 | 25 |
| 65 | 32 |
| 66 | 14 |
| 67 | 20 |
| 68 | 49 |
| 69 | 71 |
| 70 | 59 |
| 71 | 39 |
| 72 | 46 |
| 73 | 57 |
| 74 | 64 |
| 75 | 16 |

【００６７】
【表１１】

| 化合物 | ACAT-1酵素阻害率(%) |
|---|---|
| 76 | 40 |
| 77 | 46 |
| 78 | 61 |
| 79 | 48 |
| 80 | 43 |
| 81 | 56 |
| 82 | 29 |
| 83 | 29 |
| 101 | 87 |
| 102 | 46 |
| 103 | 45 |
| 104 | 34 |
| 105 | 44 |
| 106 | 21 |
| 107 | 67 |
| 108 | 60 |
| 109 | 59 |

【００６８】
ＶＩＩ．　考察
表８－１１に示される結果より、本発明において有効成分とする一般式（１）および（２）に属する各化合物は、いずれも優れたＡＣＡＴ－１阻害活性を有することが明らかである。
【００６９】
このようなＡＣＡＴ－１阻害活性を有する化合物が、動脈硬化予防剤およびコレステロール吸収阻害剤として有効であることは、例えばＴｈｅ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，　Ｖｏｌ．２７６，　Ｎｏ．２８，　Ｊｕｌｙ　１４，　ｐｐ．２１３２４－２１３３０，　２０００およびＴｈｅ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，　Ｖｏｌ．２７５，　Ｎｏ．３６，　Ｓｅｐｔｅｍｂｅｒ　８，　ｐｐ．２８０８３－２８０９２，　２０００の記載から明らかである。
【００７０】
【薬理試験例２】ＡＣＡＴ－１阻害作用試験２（ＴＨＰ－１細胞泡沫化抑制作用試験）
表１－６に示される被験物質のＴＨＰ－１細胞泡沫化抑制作用（ＡＣＡＴ－１阻害作用）を以下のとおり試験した。
【００７１】
Ｉ．試験方法

２４ウェルプレートに、１ウェルあたり７．５×１０$^{5}$細胞となるように２００ｎＭフォルボール １２－ミリステート １３－アセテート（ｐｈｏｒｂｏｌ １２－ｍｙｒｉｓｔａｔｅ １３－ａｃｅｔａｔｅ，ＰＭＡ）添加１０％ ＦＢＳ－ＲＰＭＩ１６４０培養液で調整したＴＨＰ－１細胞を播種し、炭酸ガスインキュベーター内で３日間培養して、マクロファージ様細胞へと分化させた。ＲＰＭＩ１６４０培養液で１回洗浄した後、培養液を５％ Ｌｉｐｏｐｒｏｔｅｉｎ Ｄｅｆｉｃｉｅｎｔ Ｓｅｒｕｍ（ＬＰＤＳ；Ｒ．Ｊ．Ｍａｙｅｒ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２６６，２００７０（１９９１）：Ｄ．Ｅ．Ｖａｎｃｅ，ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ，７９２，３９（１９８４））－ＲＰＭＩ１６４０ １ｍＬ／ウェルに変更して、更に８時間培養した。８時間後、蛋白濃度５０μｇ／ｍＬのアセチルＬＤＬ（Ａｃ ＬＤＬ；袴田秀樹ら、「動脈硬化＋高脂血症研究ストラテジー」、ｐｐ３６－４１（１９９６）秀潤社）、ＢＳＡ－［$^{14}$Ｃ］ ｏｌｅａｔｅ ｃｏｍｐｌｅｘ（Ｊ．Ｌ．Ｇｏｌｄｓｔｅｉｎ，ｅｔ ａｌ，Ｍｅｔｈｏｄ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．，９８，２４１（１９８３））２．５μＬおよび被験物質（最終濃度：１×１０$^{-5}$ｍｏｌ／Ｌ）を加えた５％ ＬＰＤＳ－ＲＰＭＩ１６４０培養液５００μＬに培養液を交換した。１６時間培養した後、細胞を０．３％ ＢＳＡ－ＰＢＳ（－）で１回、ＰＢＳ（－）で２回洗浄した。細胞内の脂質成分を抽出するために、１ウェルあたりヘキサン／２－プロパノール（３：２） ０．５ｍＬを加えて静置した。３０分後、抽出液をガラス試験管にプールした。同じ抽出操作をもう一度繰り返し、先の抽出液と合わせ、窒素ガス気流下で溶媒を除去した。得られた脂質抽出物をクロロホルム／メタノール（２：１）１００μＬで再溶解し、ＴＬＣプレートにスポットした。ＴＬＣプレートは、ヘキサン／ジエチルエーテル／酢酸（７３：２５：２）で展開し、オートラジオグラフィーにより、コレステロールエステル画分の$^{14}$Ｃを定量した。定量には、バイオイメージアナライザーＢＡＳ２０００ＩＩ（富士フィルム株式会社製） を用いた。また、脂質抽出の終わった各ウェルに０．１Ｎ ＮａＯＨ－０．１％ ＳＤＳ ０．３ｍＬを加え、ラバーポリスマンでプレートに付着している細胞を剥がし回収した。この細胞可溶化液中の蛋白量をＢＣＡ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ａｓｓａｙキット（ＰＩＥＲＣＥ社）にて定量した。

【００７２】

定量したコレステロールエステル量（ｐｍｏｌ）を蛋白量（ｍｇ）で割った値と、被験物質を加えなかった場合のそれとを比較して減少率（％）を算出し、これを被験物質のＴＨＰ－１細胞泡沫化抑制率（％）として、被験物質のＡＣＡＴ－１活性の指標とした。

【００７３】

ＩＩ．結果

試験の結果を、下記表１２に示す。

【００７４】

【表１２】

| 化 合 物 | 泡沫化抑制率(%) |
|---|---|
| 3 | 95 |
| 18 | 89 |
| 22 | 97 |
| 24 | 64 |
| 26 | 93 |
| 32 | 82 |
| 33 | 99 |
| 37 | 88 |
| 42 | 96 |
| 51 | 59 |
| 55 | 97 |
| 69 | 93 |
| 107 | 91 |
| 108 | 97 |
| 109 | 88 |

【００７５】
ＩＩＩ．　考察
表１２に示される結果からも、表８－１１に示される結果からと同様に、一般式（１）および一般式（２）に示される本発明有効成分化合物は、優れたＡＣＡＴ－１阻害活性を有することが明らかである。
【００７６】
このようなＡＣＡＴ－１阻害活性を有する化合物が、動脈硬化予防剤およびコレステロール吸収阻害剤として有効であることは、例えばＴｈｅ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，　Ｖｏｌ．２７６，　Ｎｏ．２８，　Ｊｕｌｙ　１４，　ｐｐ．２１３２４－２１３３０，　２０００およびＴｈｅ　Ｊｏｕｒｎａｌ　ｏｆ　Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，　Ｖｏｌ．２７５，　Ｎｏ．３６，　Ｓｅｐｔｅｍｂｅｒ　８，　ｐｐ．２８０８３－２８０９２，　２０００の記載から明らかである。
【００７７】
【製剤例１】
有効成分として、参考例１で得た本発明化合物を用いて、１錠当りその３００ｍｇを含有する錠剤（２０００錠）を、次の処方により調製した。
参考例１で得た本発明化合物　　６００ｇ
乳糖（日本薬局方品）
　　６７ｇ
コーンスターチ（日本薬局方品）
３３ｇ

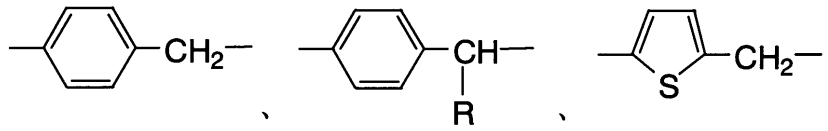
カルボキシメチルセルロースカルシウム（日本薬局方品）　２５ｇ
メチルセルロース（日本薬局方品）　１２ｇ
ステアリン酸マグネシウム（日本薬局方品）　３ｇ
即ち、上記処方に従い、参考例１で得た本発明化合物、乳糖、コーンスターチおよびカルボキシメチルセルロースカルシウムを充分混合し、メチルセルロース水溶液を用いて混合物を顆粒化し、２４メッシュの篩を通し、これをステアリン酸マグネシウムと混合して、錠剤にプレスして、目的の錠剤を得た。
【００７８】
【製剤例２】
有効成分として、参考例１で得た本発明化合物を用いて、１カプセル当りその２００ｍｇを含有する硬質ゼラチンカプセル剤（２０００カプセル）を、次の処方により調製した。
参考例１で得た本発明化合物　４００ｇ
結晶セルロース（日本薬局方品）　６０ｇ
コーンスターチ（日本薬局方品）　３４ｇ
タルク（日本薬局方品）　４ｇ
ステアリン酸マグネシウム（日本薬局方品）　２ｇ
即ち、上記処方に従い、各成分を細かく粉末にし、均一な混合物となるように混和した後、所望の寸法を有する経口投与用ゼラチンカプセルに充填して、目的のカプセル剤を得た。

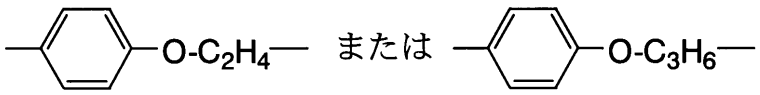
フロントページの続き

(74)代理人 100105821
弁理士 藤井 淳
(74)代理人 100099911
弁理士 関 仁士
(74)代理人 100108084
弁理士 中野 睦子
(72)発明者 宮田 一義
徳島県板野郡松茂町笹木野字山南１６番地３１
(72)発明者 堺 恭大
徳島県徳島市国府町早渕１５３
(72)発明者 友安 崇浩
徳島県板野郡松茂町広島字北川向二ノ越１４８－１５
(72)発明者 黒田 晃功
徳島県鳴門市撫養町斎田字北浜１０５
(72)発明者 井上 泰秀
徳島県鳴門市撫養町弁財天字ハマ１１－５４
(72)発明者 萩 彰文
徳島県徳島市南蔵本町２丁目１０－１ フレグランス蔵本１０３号
(72)発明者 三木 新也
徳島県板野郡北島町北村字西久保５７－１２
(72)発明者 吉永 至宏
徳島県鳴門市撫養町北浜字宮ノ西９５－２ カサ・エスペラル北浜Ｃ－１２２
(72)発明者 土居 雅子
徳島県鳴門市撫養町斎田字浜端西６４
(72)発明者 津田 可彦
徳島県鳴門市撫養町小桑島字前浜１２７

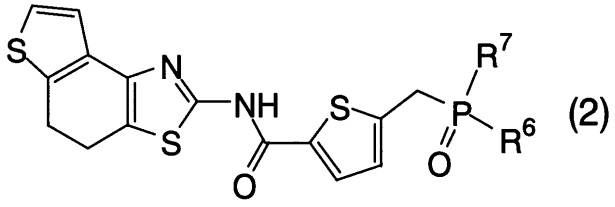
Ｆターム(参考) 4C086 AA01 AA02 DA38 NA14 ZA45 ZC20 ZC33 ZC41
4H050 AA03 AB23 AC50 BA92 BB12

【要約の続き】




（上記基においてＲは本文に記載した基である）を示す。〕で表されるホスホン酸ジエステル誘導体および一般式【化３】



〔式中、$R^6$ および$R^7$ は本文に記載した基を示す。〕で表されるホスホン酸ジエステル誘導体から選ばれる少なくとも１種を有効成分として含有するＡＣＡＴ－１阻害剤。

【選択図】なし