

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3859699号  
(P3859699)

(45) 発行日 平成18年12月20日(2006.12.20)

(24) 登録日 平成18年9月29日(2006.9.29)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 31/122 (2006.01)	A 6 1 K 31/122
A 6 1 K 31/375 (2006.01)	A 6 1 K 31/375
A 6 1 K 31/7072 (2006.01)	A 6 1 K 31/7072
A 6 1 K 31/513 (2006.01)	A 6 1 K 31/513
A 6 1 K 31/355 (2006.01)	A 6 1 K 31/355

請求項の数 16 (全 19 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平6-500028	(73) 特許権者 503194004
(86) (22) 出願日 平成5年5月28日(1993.5.28)	センター・フォー・モレキュラー・バイオリジー・アンド・メディシン
(65) 公表番号 特表平8-500091	CENTRE FOR MOLECULAR BIOLOGY AND MEDICINE
(43) 公表日 平成8年1月9日(1996.1.9)	オーストラリア3121ビクトリア州リッチモンド、ホドル・ストリート185-187番
(86) 国際出願番号 PCT/AU1993/000251	(74) 代理人 100062144
(87) 国際公開番号 W01993/024650	弁理士 青山 稜
(87) 国際公開日 平成5年12月9日(1993.12.9)	(74) 代理人 100068526
審査請求日 平成12年5月9日(2000.5.9)	弁理士 田村 恭生
(31) 優先権主張番号 PL2641	
(32) 優先日 平成4年5月28日(1992.5.28)	
(33) 優先権主張国 オーストラリア(AU)	
(31) 優先権主張番号 PL2642	
(32) 優先日 平成4年5月28日(1992.5.28)	
(33) 優先権主張国 オーストラリア(AU)	

最終頁に続く

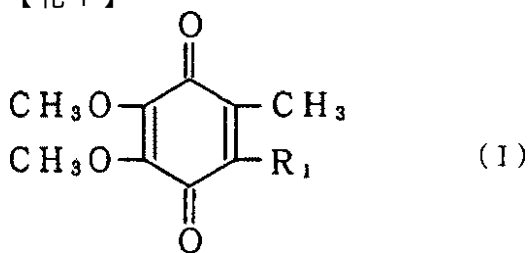
(54) 【発明の名称】 治療用組成物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

ウリジンまたはオロト酸(orotic acid)と、レドックス化合物を含有する、ミトコンドリア的に易感染性である細胞に起因するバイオエネルギー的(bioenergetic)疾患に罹患した動物の細胞バイオエネルギーを増強させるための薬剤；ただし、上記レドックス化合物は、式：

【化1】



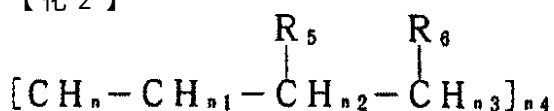
[式中、

R<sub>1</sub>はハロゲン、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルコキシ、アルキルチオ、アミノ、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>ハロアルキルおよびC<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>ハロアルコキシからなる群から選択された置換基で置換されたまたは置換されていないH、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>アルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>アルコキシ、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>アルケニル、C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub>アルキニル、C<sub>3</sub>-C<sub>10</sub>シクロアルキル、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>アルキルチオ、C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>ハロアルキル、フェニル、フェノキシまたはチオフェノキシであるか、また

は

R<sub>1</sub>は式：

【化2】



(式中、nおよびn<sub>1</sub>は各々1または2；n<sub>2</sub>は0または1；n<sub>3</sub>は1または2；n<sub>4</sub>は1 - 40であり、R<sub>5</sub>およびR<sub>6</sub>は同一または異なって各々ハロゲン、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>アルコキシ、アルキルチオ、アミノ、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>ハロアルキルおよびC<sub>1</sub> - C<sub>5</sub>ハロアルコキシからなる群から選択された置換基で置換されたまたは置換されていないH、C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>アルコキシ、C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>アルキニル、C<sub>3</sub> - C<sub>10</sub>シクロアルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>アルキルチオ、C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>ハロアルキル、フェニル、フェノキシまたはチオフェノキシである。)で示される基である。]

10

で表される構造を有し、ピルベート不存在下、脊椎動物由来培養細胞の繁殖性好氣的成長を可能ならしめる点でフェリシアニドに置換しうるものである。

【請求項2】

動物がヒト、家畜動物、研究実験動物、ペットもしくは捕獲したまたは自由な野生動物からなる群から選択された哺乳類である、請求項1記載の薬剤。

【請求項3】

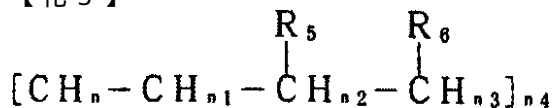
動物がヒトである、請求項1記載の薬剤。

20

【請求項4】

R<sub>1</sub>が式：

【化3】



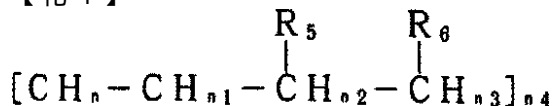
(式中、nおよびn<sub>1</sub>は各々1または2；n<sub>2</sub>は0または1；n<sub>3</sub>は1または2；n<sub>4</sub>は1 - 40であり、R<sub>5</sub>およびR<sub>6</sub>は同一または異なって各々ハロゲン、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>アルコキシ、アルキルチオ、アミノ、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>ハロアルキルおよびC<sub>1</sub> - C<sub>5</sub>ハロアルコキシからなる群から選択された置換基で置換されたまたは置換されていないH、C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>アルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>アルコキシ、C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>アルキニル、C<sub>3</sub> - C<sub>10</sub>シクロアルキル、C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>アルキルチオ、C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>ハロアルキル、フェニル、フェノキシまたはチオフェノキシである。)で示される基である、請求項1～3のいずれか記載の薬剤。

30

【請求項5】

R<sub>1</sub>が式：

【化4】



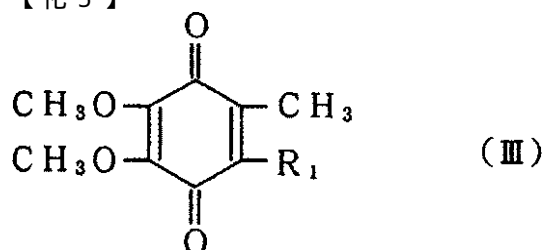
(式中、nおよびn<sub>1</sub>は各々0、1または2；n<sub>2</sub>は0または1；n<sub>3</sub>は0、1または2；n<sub>4</sub>は1 - 40であり、R<sub>6</sub>はHであり、R<sub>5</sub>はC<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>アルキル、C<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>アルキニル、C<sub>1</sub> - C<sub>10</sub>アルコキシまたはC<sub>2</sub> - C<sub>10</sub>アルケニルである。)で示される基である、請求項1～4のいずれか記載の薬剤。

40

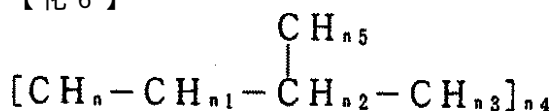
【請求項6】

ウリジンまたはオロト酸と、レドックス化合物を含有する、ミトコンドリア的に易感染性である細胞に起因するバイオエネルギー的疾患に罹患した動物の細胞バイオエネルギーを増強させるための薬剤；ただし、上記レドックス化合物は、式：

【化5】

〔式中、R<sub>1</sub>は式：

【化6】



(式中、nは1または2、n<sub>1</sub>は1または2、n<sub>2</sub>は0または1、n<sub>3</sub>は2または3、n<sub>4</sub>は1 - 40、n<sub>5</sub>は2または3である。)で示される基である。]

で表される構造を有し、ピルベート不存在下、脊椎動物由来培養細胞の繁殖性好氣的成長を可能ならしめる点でフェリシアニドに置換しうるものである。

【請求項7】

レドックス化合物とウリジン含有する、請求項1～6のいずれか記載の薬剤。

【請求項8】

レドックス化合物とオロト酸含有する、請求項1～6のいずれか記載の薬剤。

【請求項9】

レドックス化合物の投与量が約10 μg ~ 50 mg / kg (体重) / 日である、請求項1～8のいずれか記載の薬剤。

【請求項10】

レドックス化合物の投与量が約100 μg ~ 15 mg / kg (体重) / 日である、請求項9記載の薬剤。

【請求項11】

抗酸化剤の有効量と共に使用する、請求項1～10のいずれか記載の薬剤。

【請求項12】

抗酸化剤がビタミンCまたはビタミンEである、請求項11記載の薬剤。

【請求項13】

老化関連疾患、全身または血管性疾患もしくは化学療法における、低下したバイオエネルギー活力を改善するための、請求項1～12のいずれか記載の薬剤。

【請求項14】

心臓病、神経性または筋肉性疾患もしくは糖尿病の患者に対して使用する、請求項13記載の薬剤。

【請求項15】

さらに抗レトロウイルス剤と共に使用する、請求項1～12のいずれか記載の薬剤。

【請求項16】

抗レトロウイルス剤がAZTである、請求項15記載の薬剤。

【発明の詳細な説明】

本発明は一般的に1またはそれ以上のレドックス化合物を含む治療用組成物に関する。本発明の治療用組成物は細胞性ATP生成の促進に有用であり、それにより加齢、全身または血管性疾患または化学療法との関連に伴い発生するような生体エネルギー容量の減少の作用を改善する。

細胞内生成ATPに要求される生物学的エネルギー(生体エネルギー)に見合うことができない細胞は、非機能性となり、一般的に死ぬ。生体エネルギー閾値は種々の細胞型および体内の組織により異なる。例えば、脳、骨格筋および心筋は高い酸素要求を有し、ミトコンドリア酸化的リン酸化に高度に依存する。低い生体エネルギー要求の他の組織は比較

10

20

30

40

50

して少ないミトコンドリアを有し、ATPの源として解糖により大きい程度依存している。

細胞性ATP生成の原因である2つの基本的な機構は、サイトゾル解糖およびミトコンドリア呼吸である。解糖法を経由するATP合成は、 $NAD^+$ から $NADH$ への還元と組み合わせられたグルコースからピルビン酸への酸化を含む。この経路を維持するために、 $NAD^+$ の供給はレドックス巢を経由して連続して再生されなければならない。例えば、筋肉組織中では、 $NADH$ の再酸化は乳酸デヒドロゲナーゼによるピルビン酸の乳酸への変化によりなし得る。この場合、筋肉乳酸はその組織においてレドックス巢として再生される。ミトコンドリアの機能的呼吸における酸化的リン酸化によるATPの生成は、電子輸送系の活性を経由する $NADH$ の再酸化により統合される。この場合、還元ピリジンヌクレオチドの供給が必要である。解糖により生成される $NADH$ に加えて、更なる量の“還元力”（ピリジンおよびフラビンヌクレオチドの両方）が、ミトコンドリア中のTCAサイクルの活性化および脂肪酸の $\beta$ -酸化の活動により生成される。細胞 $NAD^+/NADH$ レドックスバランスの維持に含まれる他の重要な細胞系は、原形質膜酸化還元酵素系（クランら、ジャーナル・オブ・バイオエネルギー・バイオメンバー、23、773-803、1991）である。ミトコンドリア電子輸送鎖が不対である場合（ミトコンドリア疾病および加齢工程のような）、ATP生成 $NADH$ に付随するある条件下での減少を確実にすることが提案されている。このようなミトコンドリアの機能悪化の代謝的結果は、原形質膜 $NADH$ 酸化還元酵素系と一致して働く細胞維持および成長に必要なATP生成のためのサイトゾル解糖の細胞の信頼を高めるであろう。細胞性生体エネルギーの鍵となる特性は、従って、解糖経路、ミトコンドリア呼吸および原形質膜酸化還元酵素系の相互作用により維持されなければならない（ $NAD^+/NADH$ 比で例示される）これらのヌクレオチドコエンザイムの酸化および還元形間のバランスである。

細胞は、直接または間接的にミトコンドリアの呼吸鎖機能を妨害するミトコンドリア毒；ミトコンドリアDNA（mtDNA）の変異が原因である退行性疾患；およびmtDNA中の非常に高い割合の身体遺伝子変異の結果であり得る加齢の結果としてその生体エネルギー閾値に見合うことができなくなり得る。ミトコンドリアゲノムは、主に細胞遊離ラジカル（ミトコンドリア電子輸送鎖）の主要な源へのその閉鎖近接が主たる原因でおよびミトコンドリア細胞小器官がDNA修理系を欠くことが原因で、高変異率の対象となる。ミトコンドリアゲノム（16,569 bp）は本質的にエネルギー生成に関する遺伝子のみをコード化する。それは呼吸鎖の複合体Iの7個のタンパク質の構造遺伝子、複合体IIIの1のサブユニットタンパク質、複合体IVの3個のサブユニットおよびATPシンターゼ（複合体V）の2個のサブユニットの構造遺伝子を含む；残りのミトコンドリアDNAは、ミトコンドリアタンパク質合成に特異的な細胞小器官rRNAおよびtRNAをコードする。哺乳類およびヒトミトコンドリア遺伝子間のスペーサー領域の不足があるとすれば、mtDNAの変異は細胞生体エネルギー方法に関する可能な効果に関係する、ゲノムの機能的に重要な領域に含まれることが殆ど確実であろう。

本発明に至る仕事において、発明者等は、サイトゾル $NAD^+$ の生成に必要な終点に達するために種々のレドックス化合物がピルビン酸と置き換えることができることを発見した。この仕事は、減少した生体エネルギー容量を示すミトコンドリア的に汚染された細胞の生存能力および成育を可能にすることにおいて原形質膜酸化還元酵素および解糖の間の相互作用の鍵となる役割を確立する。この状態は“生体エネルギー的疾患”と知られ、とりわけ加齢、全身および血管性疾患およびある化学療法に関連する。後者に関して、化学療法は、例えばウイルスおよび特に、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染のようなレトロウイルス感染の治療に一般に使用されている。HIV感染は、最初の潜伏期間の後の種々の重症度の増加の段階を経て進行する。本ウイルスは、免疫反応の確立に含まれるヒトT-リンパ球の亜集団（ヘルパーT-細胞）を破壊することによる免疫不全の原因となる。ジドブジン（AZT）はHIV感染の処置により抜きの医薬である。

AZTはHIV感染に比較的有効であり、それは、無害化合物AZTとして考慮されないが、その代謝産物または不純物が、本医薬による長期治療を制限する多くの副作用の原因

10

20

30

40

50

となる。A Z Tは、筋肉内で特に明白で、ミオパシーの原因となる細胞性細胞毒性を示す。ミオパシーを誘発するA Z Tは、筋肉痛、筋肉脆弱および血清クレアチンキナーゼの上昇（ランペルスら、ラボラトリー・インベンション、65(6)742-730、1991）を特徴とする。H I VはまたA Z Tにより誘発されるのと同様な筋肉ミオパシーを生成し得る。A Z Tの細胞性細胞毒性は、ミトコンドリア毒としてのその活性の一部に起因し得、ミトコンドリア鎖機能に不利に働く。

従って、原因となる機構が減少した生体エネルギー容量を改善するものは何でも、A T Pを生成する細胞能力を改善する方法が必要である。本発明は、従って、生体エネルギー疾患の作用の改善に特に有効である。

従って、本発明の一つの態様は、動物細胞内の細胞性A T P生成の促進法を意図し、上記方法は動物に一定時間、および動物の細胞性酸化還元酵素系の活性および/または作用の増加またはあるいは上昇に十分な条件下で有効量のレドックス化合物を投与することを含む。所望により、抗酸化剤および/またはウリジン（その機能的誘導体および/または前駆体を含む）も投与してもよい。酸化還元酵素系の例はミトコンドリア電子輸送系を含む。

10

レドックス化合物の“有効量”は、動物細胞の1またはそれ以上の細胞性酸化還元酵素系の活性および/または作用を増加しあるいは上昇を可能にするレドックス化合物の量である。単一レドックス化合物は投与し得、または多重化合物は同時または連続して与え得る。動物は、好ましくはヒト、家畜動物（例えば馬、牛、羊または山羊）、研究実験動物（例えばマウス、ラット、ウサギまたはモルモット）、ペット（例えば猫または犬）もしくは捕獲したまたは自由な野生動物のような哺乳類である。最も好ましくは、動物はヒトである。

20

本発明の本態様は、特に加齢、全身または血管性疾患または化学療法に関連した減少した生体エネルギー容量の作用の改善を指向する。

本発明の他の態様は、抗レトロウイルス剤を使用した動物の抗ウイルス治療における細胞毒性またはあるいは逆作用の改善法を指向し、本方法は上記抗レトロウイルス剤と同時または連続したレドックス化合物の投与を含む。所望により、抗酸化剤および/またはウリジン（その機能的誘導体および/または前駆体を含む）を投与してもよい。

“動物”は、一般的に上記定義の通りであり、最も好ましくはヒトである。レドックス化合物の有効量は、抗ウイルス治療の細胞毒性副作用を予防、減少またはあるいは改善するのに必要なものである。好ましくは、レドックス化合物の有効量は、動物細胞内の細胞性酸化還元酵素系の活性および/または作用を増加または上昇させる量である。

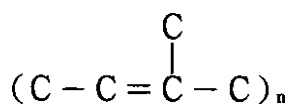
30

抗レトロウイルス剤は、ウイルス吸着、複製および/またはレトロウイルス生存サイクル中の他の段階を阻害しうる分子および化学化合物の範囲を含む。好ましい態様において、抗ウイルス剤はA Z Tまたは3'-アミノ-3'-デオキシチミジン（A M T）である。細胞毒性作用は、A Z TまたはA M Tにより直接にまたはその代謝物または汚染物質に起因し得る。

“連続または同時の投与”は、レドックス化合物および抗レトロウイルス剤の両方を含む治療的レジメを意味する。連続投与は、両化合物が同じ組成物で共投与できない場合に何れかの順番で起こる。例えば、レドックス化合物を経口で投与し、抗レトロウイルス剤化合物を静脈内で投与し得る。あるいは、両方の化合物を同じ経路で、秒、分、時間、日または週の適当な範囲の間隔の異なった時間に投与し得る。連続投与は、例えばレドックス化合物の単一投与および抗レトロウイルス剤化合物の多重投与に及ぶ。

40

本発明の別の態様は、治療的に有効量のレドックス化合物および抗酸化剤と、1またはそれ以上の薬理的に許容可能な担体および/または希釈剤を含む医薬組成物を提供する。抗酸化剤はフリー酸素ラジカルを掃除し、ビタミンE、カルテノイド、ビタミンCおよびコエンザイムQ<sub>10</sub>およびコエンザイムQ<sub>6</sub>のようなイソプレノイド側鎖含有化合物を含むが、これらに限定はされない。イソプレノイド側鎖は、



〔式中、 $n$ は1から40、好ましくは1から20および更に好ましくは1から10である。〕

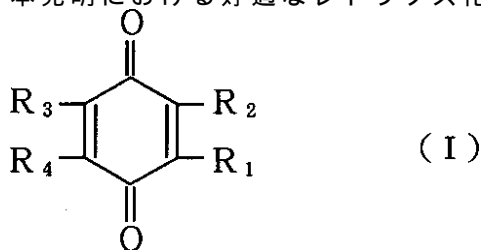
で示され得る。 $Q_{10}$ では $n$ は10、および $Q_6$ では $n$ は6である。

更に別の態様において、本発明は治療的に有効量のレドックス化合物および抗レトロウィルス剤を、1またはそれ以上の薬理的に許容可能な担体および/または希釈剤と共に含む。一般的に、抗レトロウィルス剤はAZTまたはAMTである。

本組成物は、上記のような抗酸化剤も含み得る。上記の両方の組成物は、ウリジンまたはその機能的誘導体および/または好適なその前駆体（例えばオロト酸）を含み得る。

本明細書で使用する“レドックス化合物”の語は、還元および酸化反応を進行することができ、還元および酸化状態の間を再循環することができる1またはそれ以上の化合物に関する。

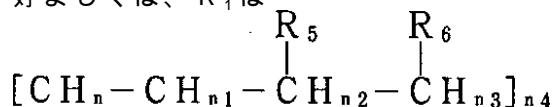
本発明における好適なレドックス化合物は、式(I)、



〔式中、 $R_1$ 、 $R_2$ 、 $R_3$ および $R_4$ は同一または異なって各々ハロゲン、 $C_1 - C_6$ アルキル、 $C_1 - C_6$ アルコキシ、アルキルチオ、アミノ、 $C_1 - C_6$ ハロアルキルおよび $C_1 - C_5$ ハロアルコキシからなる群から選択された置換基で置換され、又はされていないH、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_1 - C_{10}$ アルコキシ、 $C_2 - C_{10}$ アルケニル、 $C_2 - C_{10}$ アルキニル、 $C_3 - C_{10}$ シクロアルキル、 $C_1 - C_{10}$ アルキルチオ、 $C_1 - C_{10}$ ハロアルキル、フェニル、フェノキシ、チオフェノキシであり得る。〕

で示される化合物を含む。

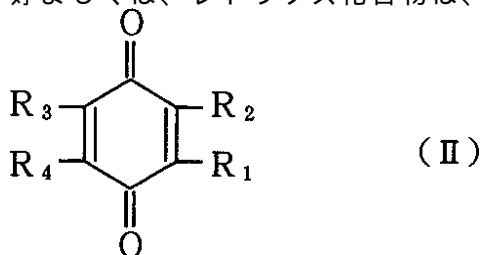
好ましくは、 $R_1$ は



〔式中、 $n$ 、 $n_1$ および $n_2$ は各々1または2； $n_3$ は1 - 3； $n_4$ は0 - 40であり、 $R_5$ および $R_6$ は、同一または異なって各々ハロゲン、 $C_1 - C_6$ アルキル、 $C_1 - C_6$ アルコキシ、アルキルチオ、アミノ、 $C_1 - C_6$ ハロアルキルおよび $C_1 - C_5$ ハロアルコキシからなる列記で置換され、又はされないH、 $C_1 - C_{10}$ アルキル、 $C_1 - C_{10}$ アルコキシ、 $C_2 - C_{10}$ アルキニル、 $C_3 - C_{10}$ シクロアルキル、 $C_1 - C_{10}$ アルキルチオ、 $C_1 - C_{10}$ ハロアルキル、フェニル、フェノキシ、チオフェノキシであり得る。〕

である。

好ましくは、レドックス化合物は、式(II)：



〔式中、 $R_2$ はHまたはメチル； $R_3$ および $R_4$ は同一または異なってメチルまたはメトキシ；および $R_1$ は

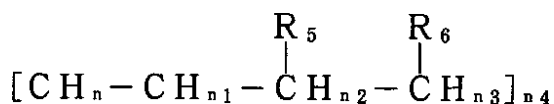
10

20

30

40

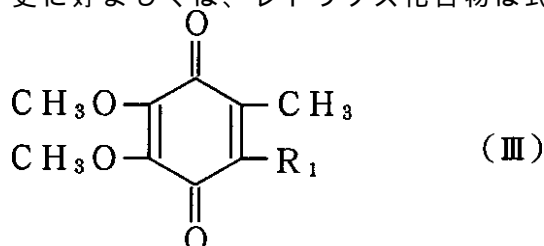
50



(式中、 $n$ 、 $n_1$ および $n_2$ は各々1または2、 $n_3$ は2または3、 $\text{R}_5$ は $\text{C}_1 - \text{C}_{10}$ アルキル、 $\text{C}_1 - \text{C}_{10}$ アルキニル、 $\text{C}_1 - \text{C}_{10}$ アルコキシまたは $\text{C}_2 - \text{C}_{10}$ アルケニルを除く。)である。]

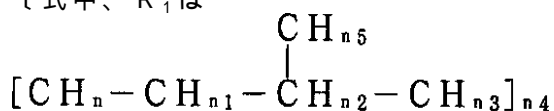
で示される化合物である。

更に好ましくは、レドックス化合物は式(III)：



10

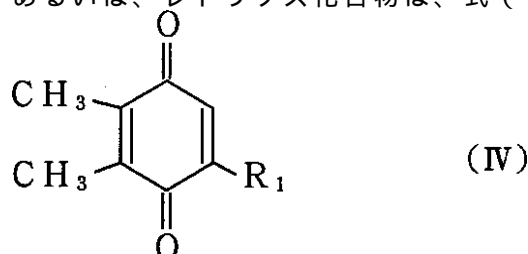
[式中、 $\text{R}_1$ は



(式中、 $n$ は1または2； $n_1$ は1または2； $n_2$ は0または1； $n_3$ は2または3； $n_4$ は0 - 40；および $n_5$ は2または3である。)] 20

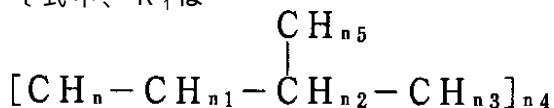
で示される化合物である。

あるいは、レドックス化合物は、式(IV)：



30

[式中、 $\text{R}_1$ は



(式中、 $n - n_5$ は各々上記式(III)で定義のとおり。)]

で示される化合物である。

好ましい実施態様において、式(I) - (IV)の化合物中の $n_4$ は0から20、更に好ましくは0から10およびより更に好ましくは6から10である。最も好ましい態様において、 $n_4$ は10である。

他の好適なレドックス化合物は、所望により置換されていてもよいベンゾキノン、ナフトキノンおよび所望により置換されていてもよいナフトキノン(例えばビタミンKシリーズ)、フラビン(例えばリポフラビン)、アスコルビン酸および他の還元酸、有機レドックス物質、無機レドックス物質(例えばフェリリアン化カリウムのようなもの)等を含む。所望による置換基は、アミノ、ニトロ、ハロゲン(例えばF、Cl、BrおよびI)および直鎖または分枝鎖アルキルまたはアルコキシ基等から選択し得る。

40

細胞性ATP生成の促進におけるレドックス化合物の活性を評価するための簡便なアッセイは、候補化合物を、ミトコンドリア酸化的リン酸化経路でATP合成のできない哺乳類細胞(例えば、細胞をエチジウムブロミドの存在下で培養することにより生成されるいわゆる“°細胞”、キング・エム・ピーおよびアッタルジー・ジー・サイエンス、246:500-503、1989)と共にインキュベーションすることを含む。このような細胞は

50

、非ミトコンドリア呼吸系（例えば解糖）を経由した細胞性A T P生成を促進する化合物と共に培養した場合のみ、ミトコンドリア呼吸機能無しで成育できる。あるいは、細胞を、永久的または一時的にミトコンドリア電子輸送/酸化リン酸化活性の阻害を受けて使用できる。一時的阻害細胞の例は、A Z Tで処理された細胞を含む。全体または一部ミトコンドリア電子輸送/酸化リン酸化活性を阻害されたそのような細胞は全て、本明細書において、A T P生成減少能力を有すると呼ぶ。本発明の本態様により、細胞性A T P生成を促進するレドックス化合物のアッセイ法が提供され、該方法は酸化リン酸化によるA T P合成能力の減少した動物細胞（例えば哺乳類細胞）を、試験すべき化合物とともに、一定時間、および細胞の関連する成育の制御に十分な条件下で（制御は休眠し続けまたは死亡し得る細胞を含む）インキュベーションすること、続いて上記細胞の成育を促進する化合物を選択することを含む。好ましくは動物およびレドックス化合物は、上記記載の通りである。加えて、抗酸化剤および/またはウリジン（その機能的誘導体および/または前駆体を含む）を本試験系に加え得る。

10

本発明の他の態様により、細胞性A T P生成を促進することができるレドックス化合物のアッセイ法が提供され、該方法は候補の化合物を、酸化リン酸化によりA T Pを生成できない哺乳類細胞と共にインキュベートすること、その後、それにより上記細胞の生体エネルギー容量を上方制御する化合物の細胞性A T P生成の促進能力の指標として上記細胞の生存をアッセイすることを含む。

本発明の更に別の態様は、レドックス化合物として働くことが可能な式(I)-(IV)で示される化合物またはベンゾキノン、ナフトキノンまたはフラビンまたは上記方法による測定で証明される他のレドックス化合物を意図する。

20

その上更に別の本発明の態様は、細胞性A T P生成を促進し、所望によりA Z Tまたは他の抗レトロウイルス剤を含む、抗レトロウイルス処置の細胞毒性効果を改善するための医薬の製造におけるレドックス化合物の使用を提供する。抗酸化剤および/またはウリジン（その機能的誘導体および/または前駆体を含む）もまた本医薬の製造において使用し得る。

細胞性A T Pを促進しおよび/または抗レトロウイルス剤の作用を改善する所望の効果を成し遂げるために必要なレドックス化合物の量は、多くの因子、特に具体的な投与、具体的に使用するレドックス化合物の性質、投与経路および患者の状態に依存するであろう。しかしながら、本発明の範囲を限定することなく、一般的に、患者当たり一日当たり1000 μgから5000 mgまたはそれ以上の一日または1週間の容量が考えられる。更に好ましい容量は、患者当たり一日当たり10 mgから300 mgである。

30

投与されるレドックス化合物の具体的な容量は、上記のように処置すべき状態、患者の状態および投与経路に依存するが、典型的には体重kg当たり一日当たり100 μgから50 mg、更に好ましくは体重kg当たり一日当たり100 μgから15 mg、より更に好ましくは体重kg当たり一日当たり1 mgから10 mgである。投与プロトコールおよび有効量は、抗レトロウイルス剤と同時にまたは連続投与かどうかにより、特に変化し得る。例えば、一日、二日または1週間または一月を基本にした多重投与をし得る、レドックス化合物がA Z Tと共に投与される場合、A Z T 100 μgから2000 mgが、患者当たり一日、二日、1週間または一月当たり必要であり得る。同量のA Z Tをレドックス化合物との連続投与の間使用する。ウリジン化合物がまた投与される場合、患者当たり一日当たり100 μgから2000 mgまたはそれ以上の範囲の量が投与される。

40

本発明に従って、1またはそれ以上の抗レトロウイルス化合物（例えばA Z T）と共にまたは無しでレドックス化合物を投与するための医薬（以後、製剤と略称）の製造において、抗レトロウイルス化合物と共にまたは無しでのレドックス化合物は、典型的に、とりわけ1またはそれ以上の許容可能な担体および/または希釈剤と混合する。担体は、もちろん、製剤中の他の成分と調和できる点で許容可能でなければならず、患者に対して有毒であってはならない。担体は固体または液体、または両方であり得、好ましくは、0.5%から95重量%の活性成分を含み得る錠剤、例えば錠剤のような単位容量製剤として化合物と共に調剤される。1またはそれ以上の活性成分と、本質的に所望により1またはそれ

50

以上の補助成分を含む成分を混合することを含む、調剤の周知の技術により製造し得る本発明の製剤中に含まれ得る。

本発明の製剤は、経口、直腸、局所、バツカル（例えば舌下）、非経口（例えば皮下、筋肉内、皮内または静脈内）および経皮投与に好適なものを含むが、投与する場合の最も好適な経路は、処置する状態の激しさの性質および具体的に使用する活性化合物の性質に依存する。

経口投与に好適な製剤は、各々あらかじめ決定した量の活性成分を含むカプセル、カシェー、糖衣剤または錠剤のような個別の単位；粉末または顆粒；水性または非水性液体中の溶液または懸濁液；水中油型または油中水型エマルジョンとして存在し得る。このような製剤は活性成分および担体（上記のように1またはそれ以上の補助成分を含み得る）を関連するようにすることを含む、任意の好適な調剤の方法で製造し得る。一般に、本発明の製剤は、活性成分を液体または微細に分割した固体担体および/または希釈剤または両方と均質に親密に混合し、必要であれば得られた混合物を形を整えることにより、製剤し得る。例えば、錠剤は、活性成分、所望により1またはそれ以上の補助成分を含む粉末または顆粒を圧縮または造形することにより製造し得る。

10

圧縮錠剤は、粉末または顆粒のような自由に流れる形の化合物を、所望により結合剤、滑沢剤、不活性希釈剤および/または界面活性および/または分散剤と共に好適な機械で圧縮して製造し得る。造形錠剤は、不活性液体結合剤で湿らせた粉末の化合物を、好適な機械中で造形することにより製造し得る。錠剤は、種々の穀物等のような動物の食物中にまたはその一部として含まれ得る。

20

バツカル（舌下）投与に好適な製剤は、香味基剤、通常シュークロースおよびアカシアまたはトラカガント中の活性成分を含む糖衣錠；およびゼラチンおよびグリセリンまたはシュークロースおよびアカシアのような不活性基剤中の化合物を含むトローチを含む。

非経口投与に好適な本発明の製剤は、簡便には活性成分の滅菌水性調製物を含み、その調製物は好ましくは意図されたレシピにより血液と等張である。本調製物は静脈内投与が好ましいが、皮下、筋肉内または皮内注射の手段でも有効に投与し得る。

そのような調製物は、化合物を水又はグリシン緩衝液を混合し、得られる溶液を血液と無菌及び脱イオンすることにより便利に調製しうる。本発明による注射可能な製剤は、一般に0.1ないし5%のw/vの活性化合物を含む。

直腸投与に適した製剤は、単位用量座薬として与えるのが好ましい。これらは活性化合物を一又はそれ以上の慣用の固体担体、例えばココアバターと混合し、次いで得られる混合物を成型することにより調製しうる。

30

皮膚への局所投与に適した製剤は、好ましくは軟膏、クリーム、ローション、ペースト、ゲル、スプレー、エアロゾル又はオイルの形を取る。用いられうる担体は、バセリン、リノリン、ポリエチレングリコール、アルコール及びその二又はそれ以上の組合せを含む。活性化合物は、一般に、0.1ないし15% w/w、例えば0.5ないし2% w/wの濃度で存在する。

経皮的に適した製剤は、長期間レシピエントの表皮との接触を密接に保つ分離性パッチで与えうる。そのようなパッチは、該活性化合物に関し、例えば0.1 - 0.2 M濃度の所望により緩衝化された水性溶液として活性化合物を適当に含む。

40

又、経皮的投与に適した製剤は、イオン泳動法（例えばファーマシューティカル・リサーチ3(6)318, 1986参照）により導出され、そして典型的には、活性化合物の所望により緩衝化された水性溶液の形を取る。適当な製剤は、クエン酸塩又はビス/トリス緩衝液（pH 6）又はエタノール/水を含み、0.1ないし0.2 M活性成分を含む。直腸、局所、舌下及び経皮的投与に適した組成物は、当分野でよく知られ、例えばレミントンズ・ファーマシューティカル・サイエンシズ（14版、フーパー、T. E.等、編集、マック・パブリッシング・カンパニー、イーストン、ペンシルバニア、1970）に記載される標準的製剤方法によって調製しうる。

本発明は、細胞不透過性レドックス化合物フェリシアニドが細胞の成長及び生存度を持続するのに用いられることを示した。フェリシアニドの成長修復作用は、原形質膜NAD

50

Hオキシダーゼ作用を含みうるNADH連結原形質膜オキシダーゼにより仲介されると信じられる。従って適当な細胞内NAD<sup>+</sup>レベルの連続逆反応は、最終的にフェリシアニド作用により達成され、これはグリコリシスを可能にし、ミトコンドリアの呼吸性無能。細胞の成長にATPを与える。他のレドックス化合物は、細胞に透過性であれ、不透過性であれ、原形質膜オキシダーゼ系及び他の細胞オキシドレダクターゼ系による細胞ATP生成を増強するのに用いうる。

その活性が、レドックス化合物の存在下に増加されうる細胞オキシダーゼ系は、原形質膜オキシダーゼ系及び他の細胞オキシダーゼ系を含む。

本発明は特に、例えば老化、血管又は全身性疾患或は以下の化学治療により生じる生体エネルギー疾患の影響の修復に向けられる。ミトコンドリア呼吸連鎖機能の分配 (disruption) と関連する疾患は、mtDNAの変化から生じる疾患、例えばレバース病、遺伝性視神経病並びに脳ミオパシー乳酸アシドーシス、発作様エピソード、慢性進行性外眼疾患、カーンス・セイル症候群、ピアソン骨髄/膵臓症候群及び種々の心筋症となりうる体細胞mtDNA変異を含む)。本発明の方法及び組成物により処置しうる他の状態は、パーキンソン病及び他の神経細胞病並びにアルツハイマー病を含む。又、血管及び全身性疾患は、心臓の状態、例えば心不全、発作及びII型糖尿病を含む。本発明のレドックス化合物は、幾つかのレトロウイルス剤、例えばAZTの推定ミトコンドリア毒性効果を回復しうる。従って、本発明の他の局面は、抗レトロウイルス剤とレドックス化合物を所望により製薬上許容されうる担体及び/又は希釈剤と共に含むHIV感染の処置のための医薬の製造法を意図する。好ましくは、抗レトロウイルス剤はAZTである。抗酸化剤及び/又はウリジンも要求されうる。 10 20

本発明による医薬の製造において、レドックス化合物及び例えばAZTは、典型的には許容されうる担体及び/又は希釈剤と混合する。担体及び/又は希釈剤は、製剤中の他の成分と適合性であるという意味で許容され得なければならない。又、患者に対し有害であってはならない。担体は、固体又は液体、或は両者であり得、好ましくは、単位投与量製剤、例えば0.5ないし95重量%の活性化合物を含みうる錠剤として化合物を含んで製剤化される。

本発明の他の局面によれば、そのような処置が必要な患者に、治療に有効なAZT及びレドックス化合物を投与することを含む、AZTの細胞傷害性影響を修復する方法を提供する。好ましくは、AZT及びレドックス化合物は、HIV感染の処置のための患者に投与される。 30

AZT及びレドックス化合物は、患者に(a)同時に(所望により通常 of 担体に2つの化合物を一緒に製剤することにより)又は(b)通常 of 処置スケジュール経過の間に異なる時間に、投与しうる。後者の場合、2つの化合物は十分に近い時間に投与して意図した治療効果を達成することができる。

AZT及びレドックス化合物は、単一組成物の形で投与されるし、経口、直腸、局所、舌下、非経口及び経皮投与に適した製剤を既に述べたように調製しうる。

AZTは、慣用的に行われる方法及び量で投与しうる。好ましくは、AZTの有効量は、1日当り250から7000mg又はそれ以上、より好ましくは500ないし1000mgの1日投与量を含む。レドックス化合物の有効量は、1日当り100µgないし1000mg又はそれ以上、好ましくは1日当り1mgないし500mgを含む。患者に投与されるAZT又はレドックス化合物の量は、本発明で限定しているのではなく、むしろ本発明は、例えばHIV感染に掛かっている患者に、HIV感染の調整での全体の処置スケジュールの一部として治療に有効である量のAZTを、及びAZT、その代謝物(例えばAMT)又はそれらの内の不純物の細胞傷害性影響を修復するのに有効な量のレドックス化合物を、投与することを含むことを理解すべきである。 40

AZTによる慣用処置は長期間にわたる毎日用量のAZTを含むので、本発明の方法は、又、有効量のAZT及び治療に有効な量のレドックス化合物の長期間毎日投与(例えば1ないし12カ月又はそれ以上)を含む。

AZTは酸化/リン酸化系及びミトコンドリアマトリックスのガンマ-DNAポリメラー 50

ぜを阻害することによるミトコンドリア呼吸性鎖のコンプレックスI、III及びIVの活性に影響を及ぼし、それによりミトコンドリアゲノムの遺伝子生成物のミトコンドリアを事実上枯渇させるミトコンドリア毒である。AZT（及びその不純物及び代謝物）は、細胞の能力に影響を及ぼして結果的に細胞機能障害に、そして又、細胞死に至らしめるATPを生成する。

レドックス化合物がAZT（又はその不純物又は代謝物）の細胞傷害性影響を修復する正確な機構（複数もあり）は明らかでない。作用の如何なる特別な理論又はモードに限定されることなく、本発明者等は、レドックス化合物が、（a）原形質膜又は他の細胞オキシダーゼ系の活性を増加して（NADHから） $\text{NAD}^+$ を生成させることの/又はそれ以上によりAZTの細胞傷害性影響を修復しうる。次いで $\text{NAD}^+$ は細胞内で解糖させてATPを生成する；（b）レドックス化合物、例えばコエンザイム $\text{Q}_{10}$ は、ミトコンドリア内で電子輸送と酸化的リン酸化を助けてATP生成を促進する。

本発明の他の局面では、患者に治療的に有効量の明細書で述べたようなレドックス化合物を投与することを含む。ミトコンドリア毒（例えばAZT、ヌクレオシド薬物、抗腫瘍化合物、抗菌及び抗ウイルス化合物等）の影響を修復する方法を提供する。レドックス化合物は、ミトコンドリア毒が治療利益を有する状況ではミトコンドリア毒素と共に投与しうる。

本発明の本局面は、培養でのヒト細胞の成育に対するAZTの影響を調べるインビトロ実験を引用して、以下に記載する。本モデルは、もちろん個々の細胞と比較される、組織及び器管のレベルで、インビボで繰り返されるAZTの細胞毒性に直接的洞察を提供する。本発明は男性不妊症の処置でのウリジン（及びその官能性誘導体又はプレカーサー）及び/又は抗酸化剤を存在させ或は存在させない、一又はそれ以上のレドックス化合物の用途に及ぶ。しばしば男性不妊症は、精子の低又は減少可動性の結果として生じる。従って本発明に従って男性患者を処置することにより、生体エネルギー欠損の影響を修復でき、それにより精子可動性の増加を可能にする。

本発明は以下の非限定図面及び実施例を引用してさらに記載される。

図面中、

図1は、レドックス化合物を用いるヒト $\circ$ 細胞の救済を示すグラフ表示である。生存可能細胞の総数（ $\times 10^5$ ）を培養日数に対してプロットする。

（a） $\circ$ 細胞を栄養培地（ $\square$ ）およびピルビン酸塩を含む栄養培地（ $\square$ ）、フェリシアニドを含む栄養培地（ $\square$ ）、およびジフェリクトランスフェリン（ $\square$ ）を含む栄養培地でインキュベートし、（b） $\circ$ 細胞を栄養培地（ $\square$ ）、 $\text{Q}_{10}$ （ $\square$ ）、 $\text{Q}_{10c}$ （ $\square$ ）、 $\text{Q}_{6c}$ （ $\square$ ）、 $\text{Q}_{4c}$ （ $\square$ ）および $\text{Q}_{3c}$ （ $\square$ ）および $\text{Q}_6$ （ $\square$ ）でインキュベートした。

図2は、ヒトナマルワ細胞の成長におけるAZTの効果をj示すグラフ表示である。ml当たりの細胞数（ $\times 10^5$ ）を培養日数に対してプロットする。細胞をAZTなしで（対照）、および $10 \mu\text{g/ml}$  AZT（ $\square$ ）、 $10 \mu\text{g/ml}$  AZT（ $\square$ ）および $100 \mu\text{g/ml}$  AZT（ $\square$ ）の存在下でインキュベートした。

図3は、ヒトナマルワ細胞の成長におけるAMTの効果を示すグラフ表示である。ml当たりの細胞数（ $\times 10^5$ ）を培養日数に対してプロットする。細胞をAMTなしで（対照）、および $1 \mu\text{g/ml}$  AMT（ $\square$ ）、 $10 \mu\text{g/ml}$  AMT（ $\square$ ）および $100 \mu\text{g/ml}$  AMT（ $\square$ ）の存在下でインキュベートした。

図4は、AZTの存在下で成長させたヒトナマルワ細胞の $\text{Q}_{10}$ レドックス救済を示すグラフ表示である。ml当たりの細胞数（ $\times 10^5$ ）を培養日数に対してプロットする。細胞をAZTなしで（対照）、および $100 \mu\text{g/ml}$  AZTおよび $10 \mu\text{g/ml}$   $\text{Q}_{10}$ （ $\square$ ）および $100 \mu\text{g/ml}$  AZT（ $\square$ ）中でインキュベートした。

図5は、AMTの存在下で成長させたヒトナマルワ細胞の $\text{Q}_{10}$ レドックス救済を示すグラフ表示である。ml当たりの細胞数（ $\times 10^5$ ）を培養日数に対してプロットする。細胞をAMTなしで（対照）、および $100 \mu\text{g/ml}$  AMTおよび $10 \mu\text{g/ml}$   $\text{Q}_{10}$ （ $\square$ ）および $100 \mu\text{g/ml}$  AMT（ $\square$ ）中でインキュベートした。

図6は、若成体ラット（太線、 $n = 3$ ）、老齢ラット（破線、 $n = 10$ ）および老齢 $\text{Q}_{10}$

10

20

30

40

50

処理ラット（点線、 $n = 7$ ）由来のヒラメ筋の平均疲労プロフィールのグラフ表示である。

#### 実施例 1

ヒトナマルワ細胞を 10% v/v 胎児牛血清とウリジン（50  $\mu\text{g/ml}$ ）を補足した RPM I - 1640 中で培養した。ビルビン酸塩、フェリシアニド、ジフェリクトランスフェリン、補酵素類  $Q_{10}$ 、 $Q_{10c}$ 、 $Q_6$ 、 $Q_{6c}$ 、 $Q_{4c}$  および  $Q_{3c}$ （以後、それぞれ“ $Q_{10}$ ”、“ $Q_{10c}$ ”、“ $Q_6$ ”、“ $Q_{6c}$ ”、“ $Q_{4c}$ ” および “ $Q_{3c}$ ” として表す）をそれぞれ、最終濃度 1 mM、100  $\mu\text{M}$ 、10  $\mu\text{g/ml}$ 、12  $\mu\text{M}$ 、10  $\mu\text{M}$ 、10  $\mu\text{M}$ 、5  $\mu\text{M}$ 、10  $\mu\text{M}$  および 10  $\mu\text{M}$  まで加えた。フェロシアニドをフェリシアニドの代わりに用いても良い。

°細胞を、デシャージン等、モレキュラー・セル・オブ・バイオロジー、5 巻、116 3 - 1169 頁、1985 年およびキングおよびアタージ、サイエンス、246 巻、500 - 503 頁、1989 年の方法に従い、エチジウムブロマイドで長期間処理することにより、得た。

図 1 に示したように、栄養培地の存在下でインキュベートした °細胞は、生存能力がなく、培養 7 日にわたり測定可能な細胞数増加が見られなかった。全く対照的に、レドックス化合物 100  $\mu\text{M}$  フェリシアニドおよび  $Q_{10}$  -  $Q_{3c}$  でインキュベートした °細胞は、全て、前記のレドックス化合物により細胞 ATP レベルが増加した結果として、7 日のインキュベーション期間にわたり生存可能細胞の顕著な成長が見られた。

哺乳類細胞は、フェリシアニドに対し不浸透性であり（クレーン等、B. B. A.、81 1 巻、233 - 264 頁、1985 年）、従って、°細胞におけるフェリシアニドの成長回復作用は、この化合物を能率良い外部電子アクセプターとして利用し、細胞 NAD レベルを創製する NADH 結合原形質膜レドックス酵素により媒介されるようである。従って、適切な細胞内 NAD レベルの連続回復は、フェリシアニドが細胞に外部的に作用し、これにより解糖が起こって、ミトコンドリア呼吸不全の °細胞を成長させるための ATP を与えることにより達成される。

$Q_{10}$  が、°細胞を好気性条件下で成長させる能力は、 $Q_{10}$  作用の様態が、原形質膜結合 NADH 脱水素酵素または酸化酵素に対し電子アクセプターとして働き得ることを示している。呼吸電子伝達は、°細胞においては、非機能的であるので、 $Q_{10}$  および  $Q_{3c}$  は、この状況では、損傷した酸化的リン酸化を回復するバイパス試薬として働くことが出来ないことから、レドックスシンクとして働き、細胞質 NAD を創製する（フェリシアニドのように）。

°細胞によって例示されるようなミトコンドリアリア損傷細胞モデルは、生体エネルギー欠乏の細胞検出の強力な手段である。これらの細胞における ATP 生産の保持/増加は、動物におけるイン・ピボで増加させることができる。したがって、レドックス化合物は、その生エネルギーの要求に適合できない細胞の治療に使用することができ、よって、老化の治療や、ミトコンドリア酸化的リン酸化を遮断するミトコンドリアリア中毒剤の軽減作用や、ミトコンドリアリア酸化的リン酸化の機能停止または機能不全に関連する疾患状態の治療に使用することができる。

#### 実施例 2

実施例 1 記載のような RPM I - 1640 増殖培地においてヒトナマルワ細胞を培養した

。AZT および AMT を増殖培養物へ種々の濃度で添加し、生存細胞をトリパン・ブルー・エクスクルージョン・アッセイ（trypan blue exclusion assay）で測定した。

図 2 は、AZT のナマルワ細胞の増殖に対する作用を示す。コントロール細胞は培養培地での培養で期待されたような指数方法で分裂した。濃度 10  $\mu\text{g/ml}$ 、100  $\mu\text{g/ml}$  および 500  $\mu\text{g/ml}$  の AZT は生存細胞の数を減少させた。濃度 10  $\mu\text{g/ml}$  では、細胞数は増加したが、培養の 5 日後プラトー状態になった。濃度 100  $\mu\text{g/ml}$  の AZT では、培養物中の細胞数は比較的一定のままであった。500  $\mu\text{g/ml}$  の AZT では、培養 5 日後に残存生存細胞は存在せず、よって AZT は著しい細胞毒性を示した。

図 3 は、AMT のヒト・ナマルワ細胞培養に対する、AMT、AZT 代謝産物および AZ

T組成物中に存在しうる不純物による効果を示す。図3から明白なように、AMTは、濃度10 µg/mlおよび100 µg/mlで著しい細胞毒性を示す。よって、図2に示したデータと比較すると、AMTはAZTよりもより大きなオーダーの毒性を示す。

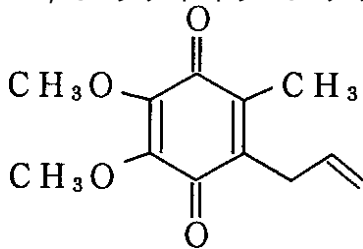
図4は、ヒト・ナマルワ細胞におけるAZTの毒性作用の軽減を示す。濃度100 µg/mlで、AZTは明確な細胞毒性を示す。しかし、細胞をQ<sub>10</sub> 10 µg/mlとの組み合わせでAZT 100 µg/mlとともにインキュベートした場合、AZTの毒性作用は、改善され、生存として評価される細胞の割合が著しくなるが、この結果はAZT不存在でインキュベートした対照細胞とほぼ等しい。

図4と同様な結果は、レドックス化合物Q<sub>10</sub>がナマルワ細胞におけるAMTの細胞毒性作用を緩和する図5に示される。AMT 10 µg/mlは著しい細胞毒性を示す。しかし、Q<sub>10</sub> 10 µg/mlの存在では、AMT 10 µg/mlの細胞毒性作用は、AMT不存在下にインキュベートされた対照細胞と同様な方法でナマルワ細胞が培養物中に分割され生存したままであるように、逆転または緩和される。

本発明の式(I)~(IV)の範囲内の有用なレドックス化合物の例示を、以下の実施例3~14に示す。

#### 実施例 3

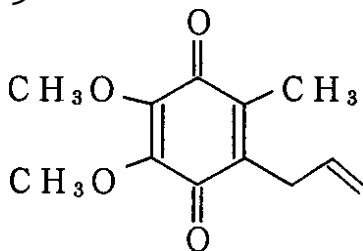
2,3-ジメトキシ-5-メチル-6-プロプ-2'-エニル-1,4-ベンゾキノ



20

#### 実施例 4

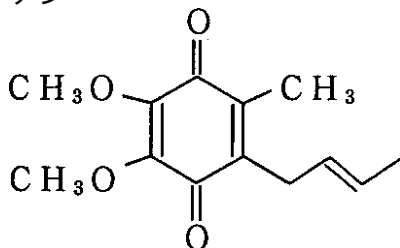
2,3-ジメトキシ-5-メチル-6-(1'-メチルプロプ-2'-エニル-1,4-ベンゾキノ



30

#### 実施例 5

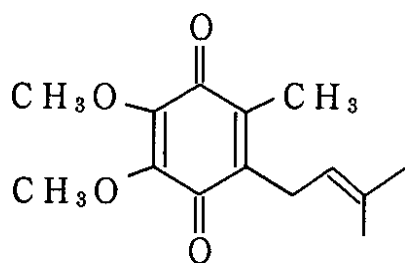
6-(E)-ブタノール-エール-2,3-ジメトキシ-5-メチル-1,4-ベンゾキノ



40

#### 実施例 6

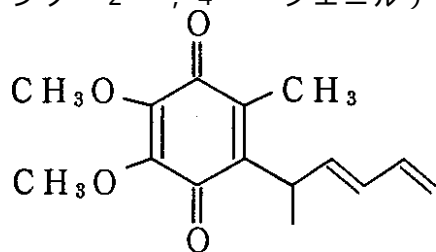
2,3-ジメトキシ-5-メチル-6-(3'-メチルブト-2'-エニル)-1,4-ベンゾキノ



## 実施例 7

2,3-ジメトキシ-5-メチル-6-(2'-(E),4'-(E)-1'-メチルペンタ-2',4'-ジエニル)-1,4-ベンゾキノ

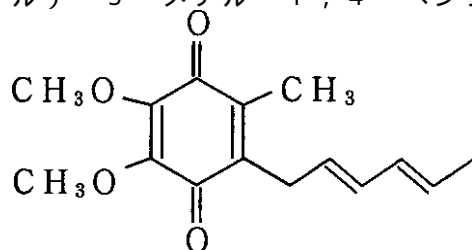
10



## 実施例 8

2,3-ジメトキシ-6-(2'-(e),4'-(e)-ヘキサ-2',4'-ジエニル)-5-メチル-1,4-ベンゾキノ

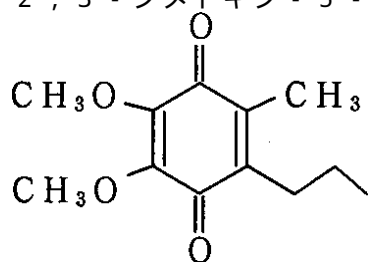
20



## 実施例 9

2,3-ジメトキシ-5-メチル-6-プロピル-1,4-ベンゾキノ

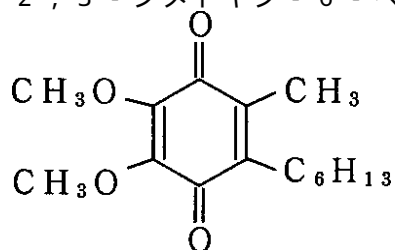
30



## 実施例 10

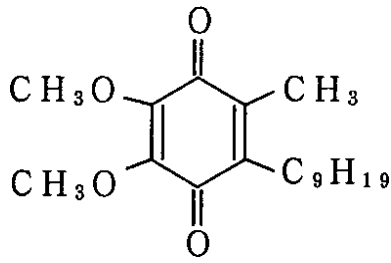
2,3-ジメトキシ-6-ヘキシル-5-メチル-1,4-ベンゾキノ

40



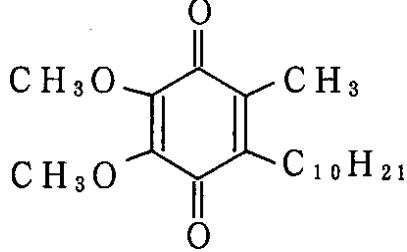
## 実施例 11

2,3-ジメトキシ-5-メチル-6-ノニル-1,4-ベンゾキノ



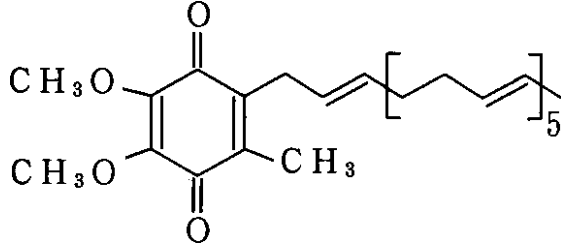
## 実施例 1 2

6 - デシル - 2 , 3 - ジメトキシ - 5 - メチル - 1 , 4 - ベンゾキノ



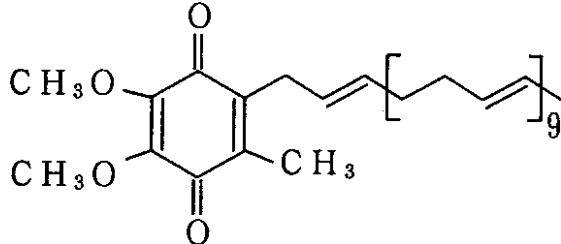
## 実施例 1 3

ウビキノ



## 実施例 1 4

ウビキノ



## 実施例 1 5

本発明の有用な化合物は以下の動物モデルにおいて処理することができる。

年令約 2 6 月のスプラグ・ドウリイ・ラットを用いる。実験は、ヒラメ筋を用い、イン・ビボの条件下で行う。この筋肉は、タイプ I 線維 8 5 ~ 9 0 % およびタイプ II A 線維 1 0 ~ 1 5 % を含んでいるため、これを選択した。タイプ I 線維は、緩慢なけいれんを示し、高ミトコンドリア密度であり、また通常高い疲労耐性を示す。タイプ II A 線維は、急激なけいれんを示し、比較的高いミトコンドリアであり、また疲労耐性を示す。別の有用な骨格筋肉は内側はい腹筋である。ヒラメ筋に類似の内側はい腹筋は果関節筋であるが著しく異なるタイプの組成である。これは、主としてタイプ II A と II B (急激なけいれんおよび疲労性) および低い割合のタイプ I 線維を含む。よって、ヒラメ筋は高い疲労耐性の骨格筋肉である一方、内側はい腹筋は身体の大数の筋肉のより代表例に近い。

ヒラメ筋および内側はい腹筋をイン・ビボで麻酔したラットを用いて調べた ( 4 ml / 体重 1 kg、2 5 W / V % 溶液中ウレタン、新たに調製、腹腔内投与 )。筋肉を、その神経を介し、無傷の血液供給により温度 3 5 °C で刺激した。記録の条件は最適な長さ設定した筋肉に応じて相異なる。基本的相異の収縮特性を測定し、次いで筋肉を、8 0 0 0 秒までの期間、毎秒 3 3 ms の 4 0 H z ( 即ち、1 / 3 秒の刺激と 2 / 3 秒の停止からなる定期サイク

10

20

30

40

50

ル)で刺激した。収縮応答および筋肉右の筋電図検査信号をテープに記録し、選択した記録をコンピューター・ベース・データ・ロギング・システムにより線としてとらえた。

#### 実施例 16

動物モデルで年齢による持続及び機能能力の減少を測定するため、6カ月の若年動物と老令動物(約26カ月)由来の筋肉の間で比較を行った。

予備的結果(図6)は、2時間を上回る期間、延長した反復刺激(毎秒40Hz、330ms)の後、若年ラットヒラメ筋により示された最初の力の約70%に速やかに減少したことを示す。次いでこのレベルの力は、刺激の間維持される。しかしながら老年動物では、力の最初の減少がもっと大きく(最初の力の約40%)、その後、減少を続けた。4週間、毎日腹腔内注射によりコエンザイム $Q_{10}$ で処置した24-26月のラットから得られた結果は、コエンザイム $Q_{10}$ が、力の最初の減少を防止することはできないけれども、力の進行する減少は首尾よく防止し得たことを示す(図6)。本実験で、 $Q_{10}$ は2mg/kg/日HCO-60溶媒中の用量レベルで投与し、これは、ヒトミトコンドリア疾患患者により受入れられる経口用量レベルに相当する。腹腔内ルートでの投与は、経口ルートよりもむしろ用いられ、化合物の高吸収を達成するのを確実にする。

10

#### 実施例 17

予備実験では、本発明者等は、4週間の間、10mg/kg/日(HIV陽性且つAIDS患者に与えられる経口投与量レベルに相当する)の用量レベルで腹腔内注射によりAZTを投与することは、反復刺激に対するヒラメ筋の収縮反応をほとんど完全に終止させることを示した。動物は正常であるように見え、又、餌を食べ、毛づくろいすることができた。骨格筋実行での減少に対するAZT処置の影響をさらに研究するため、ラットをコエンザイム $Q_{10}$ (2mg/kg/日)及びAZT(10mg/kg/日)で付随的に処置する。骨格筋の反応は、1、2及び4週でそれぞれ研究する。別のグループのラットは、 $Q_{10}$ 及びAZTによる混合処置前、4週間 $Q_{10}$ のみを受ける。これらの動物は12のグループで、1、2及び4週でそれぞれ研究する。動物は又、AZT及びHCO-60( $Q_{10}$ 担体)を1、2及び4週の間それぞれ受け、最初の2グループについてはコントロール群として用いる。

20

#### 実施例 18

本発明によって心臓外科手術の誘発虚血の前又は間、レドックス化合物による患者の処置が初老心筋層の虚血及び再灌流に対するトレランスを改善することを意図する。心臓外科手術の間の誘発停止(心臓麻痺)は、心臓麻痺後の回復期間、酸素消費、代謝効率及びエネルギー供給を生ずる。

30

誘発虚血の前又は間にレドックス化合物により処置が初老心筋層の虚血傷害に対するトレランスを改善するかどうかを測定する。分離作業心臓装置でクレブ緩衝液を灌流したラットの耳で実施しうる。特別な試薬の防止効果が確認されると、本試薬は次いで開放性心臓外科手術の間に用いたように心肺機械で血液を灌流した若及び老グレーハウンド犬でさらに試験する。

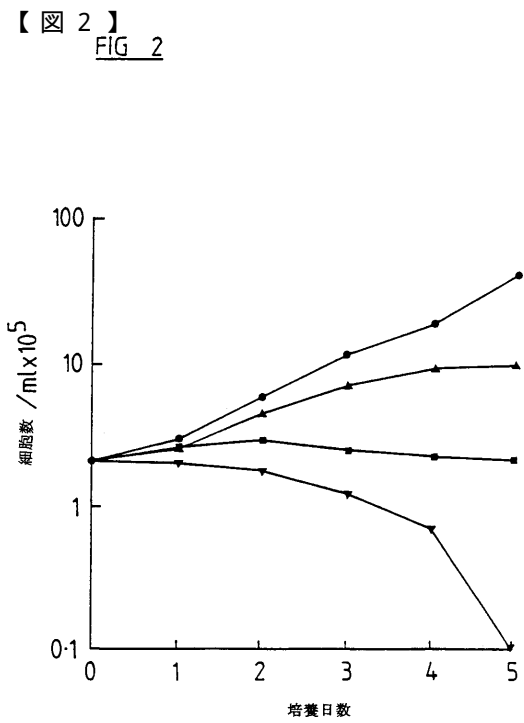
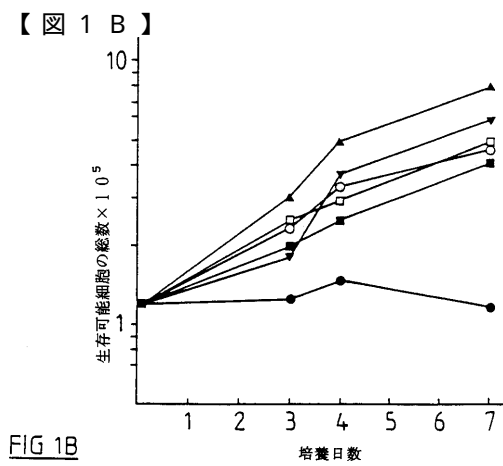
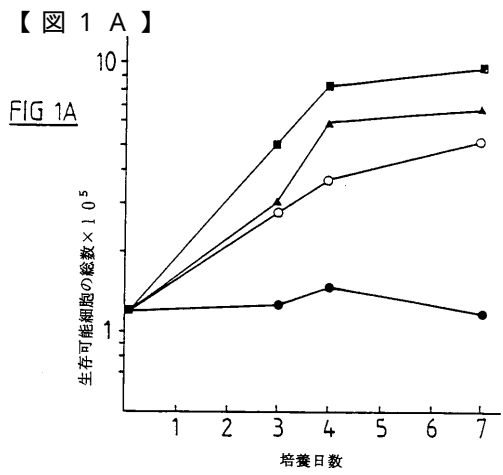
ヒト心臓組織も研究しうる。最近の開発は、心筋収縮機能の評価に用いることができるヒト及び心房壁、心房柱からの、並びに乳頭筋肉からの薄心筋細片の調製品を可能にする。そのような少量の筋肉調製品(ムリーリ等、サキュレーション・リサーチ、65, 1441-1444, 1989)のうまく行く応用への鍵は、解剖の間、心臓組織を機能的且つ構造的に保護し、断面1mm<sup>2</sup>以下の機能的ヒト心筋層細片の分離を可能にする2, 3-ブタンジオンモノキシム(BDM)の使用である。これらの細片は器管浴に設置することができ、次いで動力変換器に供給し、電氣的に刺激して収縮を誘発させる。次いでこれらの細片は、調節条件下、低酸素症及び急速電気刺激により誘発される高作業負荷を含む種々のストレスに付すことができる。本発明により、器管浴に含まれたレドックス化合物の効力は、抗酸化剤及び/又はウリジン(或はその誘導体又は前駆体)を存在させ又は存在させることなく、これらのストレスに付された心筋層細片について評価できる。

40

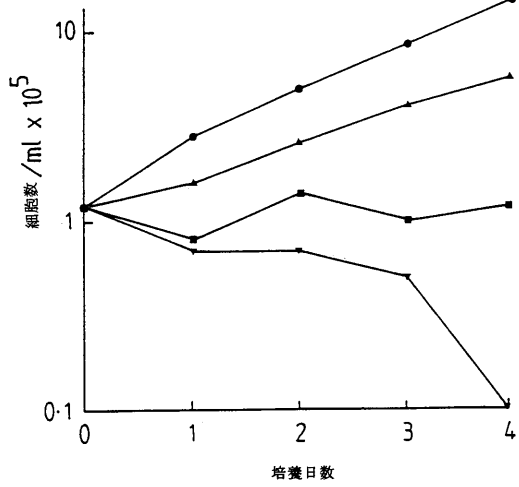
当業者は、ここに記載された発明が、特別に記載されたもの以外の変更及び修飾を推測しうることを識別するであろう。本発明は、その精神及び範囲内にある全てのそのような変更及び修飾を含むことを理解すべきである。本発明は又、本明細書に個々に又は集合的に

50

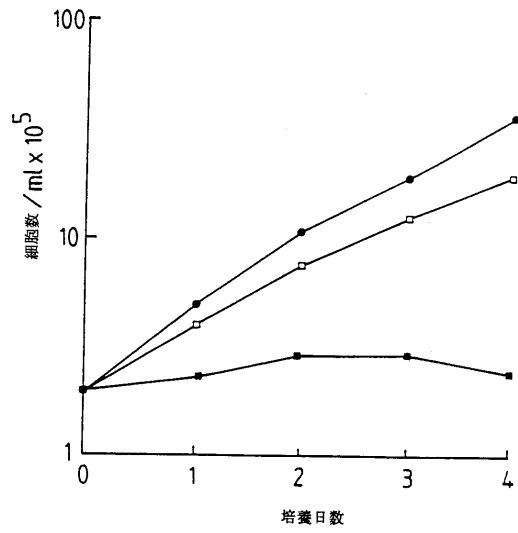
引用され又は示される全ての段階、特徴、組成物或は化合物並びに全ての2又はそれ以上の該段階又は特徴のいずれかの、又は全ての組合せをも含む。



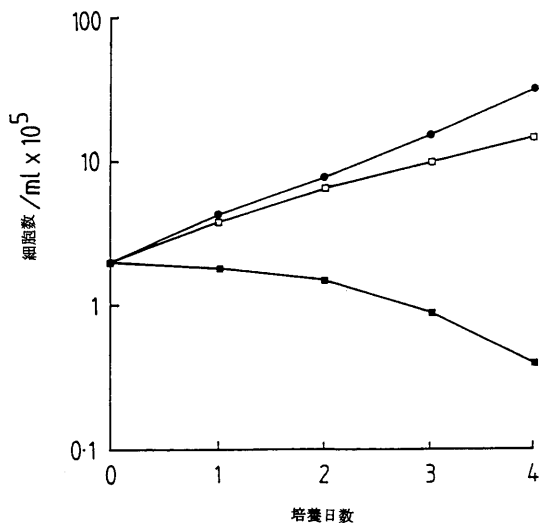
【 図 3 】  
FIG 3



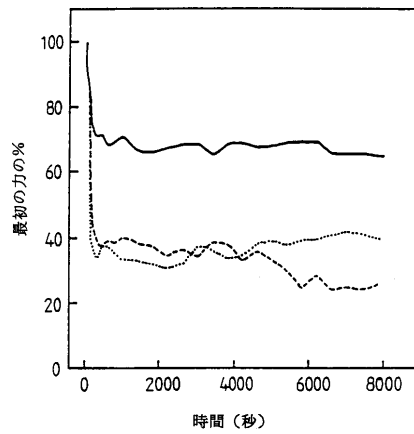
【 図 4 】  
FIG 4



【 図 5 】  
FIG 5



【 図 6 】  
FIG 6



## フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I  
**A 6 1 P 43/00 (2006.01)** A 6 1 P 43/00 1 0 7

- (72)発明者 ナグレイ、フィリップ  
 オーストラリア連邦3 1 6 2 ビクトリア、サウス・コールフィールド、タカピューナ・ストリート 5番
- (72)発明者 リナン、アントニー・ウイリアム  
 オーストラリア連邦3 1 2 6 ビクトリア、カンタベリー、チョーサー・クレセント 15番
- (72)発明者 マーティナス、リャン・デニス  
 オーストラリア連邦3 1 4 3 ビクトリア、アーマデル、アーマデル・ストリート 3 / 1 5番
- (72)発明者 バイラント、フランコイス  
 オーストラリア連邦3 0 2 0 ビクトリア、サンシャイン、マーンダ・ストリート 40番、フラット4

審査官 八原 由美子

- (56)参考文献 特開昭62 - 053924 (JP, A)  
 特開昭59 - 163316 (JP, A)  
 特開昭60 - 100517 (JP, A)  
 特開平01 - 165522 (JP, A)  
 国際公開第91 / 017761 (WO, A1)  
 Anthony W. Linnane et al., The Lancet, 1989年, p.642-645  
 William Lewis et al., J. Clin. Invest., 1992年 4月, Vol.89, p.1354-1360

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 31/122  
 A61K 31/355  
 A61K 31/375  
 A61K 31/513  
 A61K 31/7072  
 A61P 43/00  
 CA(STN)  
 MEDLINE(STN)