

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4338306号
(P4338306)

(45) 発行日 平成21年10月7日(2009.10.7)

(24) 登録日 平成21年7月10日(2009.7.10)

(51) Int.Cl.		F I
A 6 1 K 31/704	(2006.01)	A 6 1 K 31/704
A 6 1 P 25/28	(2006.01)	A 6 1 P 25/28
C 0 7 J 43/00	(2006.01)	C 0 7 J 43/00
C 0 7 J 17/00	(2006.01)	C 0 7 J 17/00
C 0 7 J 51/00	(2006.01)	C 0 7 J 51/00

請求項の数 4 (全 40 頁)

(21) 出願番号 特願2000-513868 (P2000-513868)
 (86) (22) 出願日 平成10年9月28日(1998.9.28)
 (65) 公表番号 特表2001-518477 (P2001-518477A)
 (43) 公表日 平成13年10月16日(2001.10.16)
 (86) 国際出願番号 PCT/CN1998/000204
 (87) 国際公開番号 W01999/016786
 (87) 国際公開日 平成11年4月8日(1999.4.8)
 審査請求日 平成17年9月7日(2005.9.7)
 (31) 優先権主張番号 97 1 19680.X
 (32) 優先日 平成9年9月26日(1997.9.26)
 (33) 優先権主張国 中国 (CN)

(73) 特許権者 500134182
 インスティテュート・オブ・ラディエーション・メディシン, アカデミー・オブ・ミリタリー・メディカル・サイエンス・オブ・ザ・ピーエルエイ
 中華人民共和国 100850 北京, タイピン・ロード 27, インスティテュート・オブ・ラディエーション・メディシン内
 (74) 代理人 100089705
 弁理士 社本 一夫
 (74) 代理人 100071124
 弁理士 今井 庄亮
 (74) 代理人 100076691
 弁理士 増井 忠式

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 痴呆の予防または治療のためのステロイドサポニンの使用、及び新規なステロイドサポニン化合物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

痴呆の予防または治療のための医薬の製造のための、(25S)-26-O- -D-グルコピラノシル-22-ヒドロキシ-5 -フロスト-3 , 26-ジオール-3-O -D-グルコピラノシル(1 2) -D-ガラクトピラノシドまたはその立体異性体の使用。

【請求項2】

痴呆がアルツハイマー病、血管性痴呆、または混合型痴呆である、請求項1に記載の使用。

【請求項3】

活性成分としての(25S)-26-O- -D-グルコピラノシル-22-ヒドロキシ-5 -フロスト-3 , 26-ジオール-3-O -D-グルコピラノシル(1 2) -D-ガラクトピラノシドまたはその立体異性体、及び薬学的に受容できる担体、賦形剤または添加剤を含む、痴呆の予防または治療のための医薬組成物。

【請求項4】

着色剤、保存剤、スパイス、フレーバー及び甘味剤から選択される添加剤をさらに含む請求項3に記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、痴呆の予防または治療のためのステロイドサポニン化合物であって新規なステロイドサポニン化合物及び該化合物を含む医薬組成物に関する。

【0002】

【背景】

痴呆は老年の人々にしばしばみられる疾病であり、そして記憶、論理的に考えること、判断、見当識が徐々に失われていくことを含む、全体的な認識の低下によっても定義される。これは主としてアルツハイマー病(AD)、血管性痴呆(VD)、混合痴呆及びいくつかの他のタイプを含む。痴呆の発生率は65を超えた老人で3~8%であり、80を超える老人には20%程度に高い。中国の上海は米国と協力して最近痴呆の調査を実施し、そしてその結果は痴呆の発生率は上海においては65を超える老人では4.32%であったことを示している。社会の改善及び人の寿命の伸びによって、世界中の各国は老年化社会に入りつつあり、痴呆を患う患者は著しく増加するだろう。痴呆は解決しなければならない医療的及び社会的問題である。

10

【0003】

最近、痴呆を治療するための薬剤の発見と開発に多くの注意が払われている。ADの完全な治療または治癒は無いが、異なる薬剤学的な戦略が積極的に調査されている。現在、コリンエステラーゼインヒビター(タクリン、huperzine A)、血管拡張剤(hydergin)、カルシウム通過インヒビター(nimodipine)、及び神経生長因子は、ADの症状の治療への利用可能なアプローチを示す。痴呆を治療するための新しい有効な薬剤の開発は、大きな社会的重要性及び経済的利点を有する。

20

【0004】

ステロイドサポニンは、スピロスタンから誘導される一群のオリゴ多糖グリコシドである。これはmonocotyledon及びdicotyledonを含む植物、特にDioscoreaceae, Liliaceae, Scrophulariaceae, Smilacaceae, Agavaceae等に広く分布している。例えば、ステロイドサポニンは、*Dioscorea nipponica* Makino、*Dioscorea panthaica* Prain et Burk、*Allium sativum* L.、*Anemarrhena asphodeloides* Bge、*Paris polyphlla*、*Polygonatum odoratum* (Mill) Drace、*Ophiopogon japonicus*、*Agave americana* L等の中に豊富である。ステロイドサポニンは、ステロイド避妊薬、及びホルモン薬のための部分合成のための前駆体であるそのサポゲニンとして有名である。そしてサポゲニンはそれら自体よりも重要である。調査者達はまた、いくつかのステロイドサポニンは、抗腫瘍性であり、血糖を減じ、免疫を適応させ、コレステロールを減じ、心血管の疾患を治療でき、そして防腐の活性を有することが発見された。例えば、*Paris polyphylla*からのサポニンI及びIVはP₃₈₈、L-1210及びKB細胞への細胞毒作用を有する。経口的に摂取された、*Anemarrhena asphodeloides* Bge.からの、プロトチモサポニンAIII及び偽ロトチモサポニンAIIIはストレプトゾトシン-及びアロキサン-糖尿病マウスにおいて、用量依存的に低血糖作用を示す。*Ophiopogon japonicus*からのサポニンはマウスに免疫刺激効果を示す。前のソビエト連邦の学者らは、いくつかのステロイドサポニンがコレステロールを低下させ、そしてスピロスタノールサポニンの活性がフロスタノールサポニンよりも高いことを発見した。ステロイドサポニンは、それがコレステロールとバクテリア細胞膜内で複合体を形成できるので、防腐作用を有する。*Dioscorea zingiberensis* Wrightからの水溶性サポニンは心臓のアンギナを軽減し、代謝を適応させ、そして冠動脈心臓疾患を治療することができる。

30

40

発明の目的

本発明の目的は、高い効果と低い副作用を伴って、痴呆の予防又は治療のための新しいクラスの薬剤を提供することである。

発明の概要

50

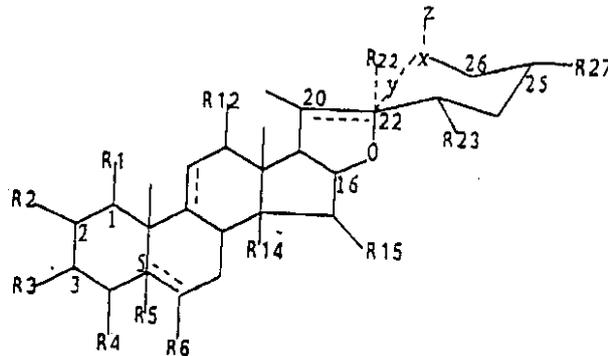
広くそして深い研究を通して、本発明者らは、式 I のサポニンが脳基部動脈を広げ、脳の循環及び代謝を改善し、ニコチンレセプターの数に有意に上に調節し、神経細胞の数を増加させ、そして遊離基を除去することができることを予期せずに発見した。顕著に、2つの細胞系統、SY-SH5Y及びM10の培養試験において、本発明の化合物が効率的にnAChRの数を上に調節し、そして能力がニコチンのものと類似であることを発見した。さらに、効果は濃度に依存する。結果として、式 I の化合物は痴呆の予防及び治療に使用できる。本発明の完成は上記の発見に基づく。

【0005】

本発明の最初の面は式 I のステロイドサポニン及びその立体異性体の痴呆及び治療のための使用に関する。

【0006】

【化18】



式 I

式中、

R_1 は水素 -OH, -O-Xyl, -O-Ara-Rha, -O-Fuc-Rha, -O-Ara-Rha,

-O-Fuc-Glu, -O-Fuc-Xyl, -O-Ara-Rha, O-Ara-Rha, 又は
Ac

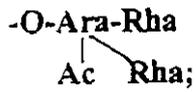
【0007】

【化19】

10

20

30



R₂ は水素 -OH, -O-Fuc, -O-Rha, 又は -O-Glu;

R₃ は -OH, -OCOCH₃, -OCOC₁₅H₃₁, 又はオキリ(=O), 又は

-O-Gal,

-O-Glu,

-O-Gal-Glu,

-O-Glu-Glu,

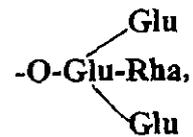
-O-Glu-Ara,

-O-Fuc-Glu,

-O-Rha,

-O-Rha-Glu,

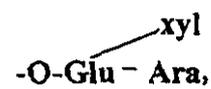
-O-Glu-Glu - Glu,



-O-Glu-Rha,

-O-Man-Glu,

-O-Gal-Glu-Glu,



10

20

30

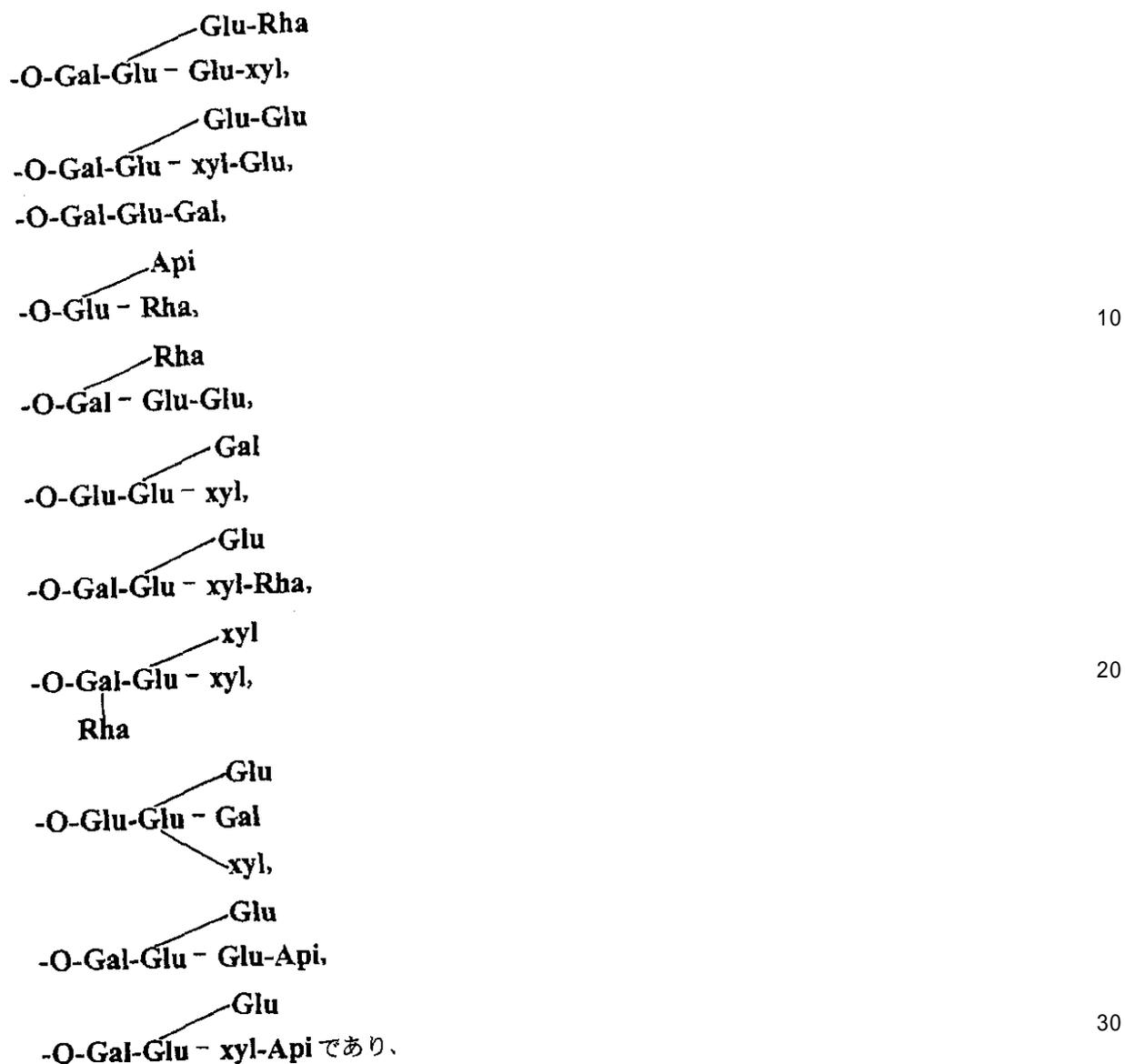
[0 0 0 8]

[化 2 0]

40



【 0 0 0 9 】
 【 化 2 1 】



【 0 0 1 0 】

R₄は水素、-OHまたは-SO₃Na、

R₅は水素、ヒドロキシ、-O-Gluまたは存在せず、

R₆は水素、OH、オキソ(=O)、-O-Qui-Rhaまたは-O-Qui-Xyl

、
R₁₂は水素、-OHまたはオキソ(=O)、

R₁₄は水素、または-OH、

R₁₅は水素、または-OH、 40

R₂₂はヒドロキシ、またはO(CH₂)_nCH₃(nは0~3)、または存在せず、

R₂₃は水素、または-OH、

R₂₇は-CH₃、-CH₂OH、または=CH₂、

XはOまたはNHであり、

[点線と実線の二重線]は単結合または二重結合を表わし、

Yは直接結合であるか、または存在せず、

ZはGluであるか、または存在しない；

ただし、R₁ = R₂ = R₄ = R₆ = R₁₂ = R₁₄ = R₁₅ = R₂₃ = H、R₃ = -OH、R₅ = -
 H、X = Oであり、[点線と実線の二重線]が単結合であり、Yが直接結合であり、R₂₂
 は存在せず、Zは存在せず、R₂₇は-CH_#であり、そしてC₂₅が(S)配置である式I 50

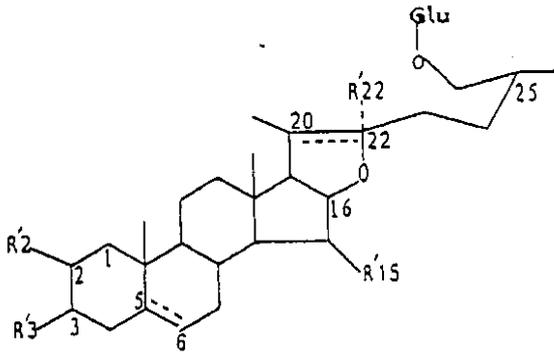
の化合物を含まないことを条件とする。

【 0 0 1 1 】

本発明の第 2 の面は、式 I I によって示される新規なステロイドサポニンに関する。

【 0 0 1 2 】

【 化 2 2 】



式 II

【 0 0 1 3 】

式中、5 位と 6 位の間点線は二重結合を表わさず、5 位は H であり、

C₂₅ は S 配置であり、

R'₁₅ は水素、

R'₂ は -OH 又は -O⁻、

【 0 0 1 4 】

【 化 2 3 】

R'₃ は -O-Gal² Glu,

-O-Gal² Glu² Glu,

-O-Gal⁴ Glu² Glu,

-O-Gal⁴ Glu³ Glu,

-O-Gal⁴ Glu³ Xyl,

-O-Gal⁴ Glu³ Xyl であり、

【 0 0 1 5 】

R'₂₂ は OH または O(CH₂)_nCH₃ (n は 0 ~ 3)、または存在せず、同時に 20 位と 22 位の間点線は二重結合を表わすか、

または

R'₂ は水素、

R'₃ は -O-Gal-Glu であり、

5 位と 6 位の間点線は二重結合を表わさず、5 位は H であり、

C₂₅ は (S) 配置であり、

R'₁₅ は -OH または -O⁻ であり、

R'₂₂ は OH または O(CH₂)_nCH₃ (n は 0 ~ 3)、または存在せず、同時に 20 位と 22 位の間点線は二重結合を表わすか、

または

R'₂ は水素、

5 位と 6 位の間点線は二重結合を表わし、

R' ₁₅ は水素、
 C ₂₅ は R または S 配置であり、
 R' ₂₂ は O (C H ₂) _n C H ₃ (n は 0 ~ 3)、または R' ₂₂ は存在せず、同時に 2 0 位と
 2 2 位の間の点線は二重結合を表わし、
 【 0 0 1 6 】
 【 化 2 4 】

R' ₃ は -O-Gal,

-O-Glu,

-O-Glu ² Rha,

-O-Glu ³ Rha,

-O-Glu ⁴ Rha,

-O-Glu ⁴ Glu,

-O-Gal ⁴ Glu ³ Glu, ² Xyl

-O-Gal ⁴ Glu,

-O-Glu ⁴ Glu, ² Rha

-O-Glu ⁴ Rha, ² Rha

-O-Gal ³ Gal, ² Rha

-O-Glu ³ Glu, ² Glu

又は -O-Glu ³ Glu ² Rha である。

10

20

30

【 0 0 1 7 】

本発明のさらなる面は、活性成分としての式 I の化合物及び薬学的に受容できる担体、賦形剤または添加剤を含む、痴呆の予防及び治療のための医薬組成物に関する。

【 0 0 1 8 】

本発明の他の面は、痴呆の予防または治療のための薬剤の調製のための、式 I の化合物の使用に関する。

【 0 0 1 9 】

本発明の最後の面は、式 I の化合物またはこれを含む薬剤組成物の予防または治療有効量を痴呆の予防または治療を必要とするホストに投与することを含む方法に関する。

40

【 0 0 2 0 】

本発明の詳細な説明

図面の説明

図 1 は、本発明の化合物 I I I の、K C l によって起こされたラットの大動脈収縮の禁止効果を示す。

【 0 0 2 1 】

図 2 は、本発明の化合物 I I I の、ラットにおける脳血流への影響を示す。

図 3 は、本発明の化合物 I I I の、ニコチンレセプターに対する働きを示す。

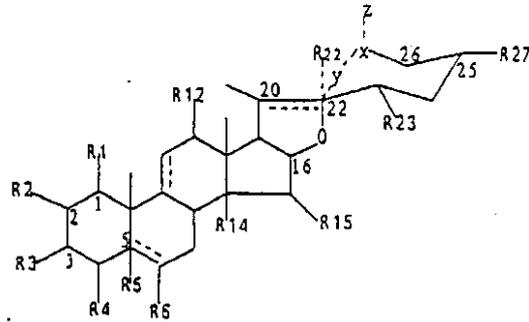
【 0 0 2 2 】

50

図4は、本発明の化合物 I I I の、ニコチンレセプターに対する働きを示す。
本発明は、最初に化合物 I の化合物及びその立体異性体の痴呆の予防及び治療のための使用に関する。

【 0 0 2 3 】

【 化 2 5 】



式 I

式中、

R_1 は水素 $-OH$, $-O-\beta\text{-Xyl}$, $-O\text{-Ara-Rha}$, $-O\text{-Fuc-Rha}$, $-O\text{-Ara-}$

Rha ,

$-O\text{-Fuc-Glu}$, $-O\text{-Fuc-Xyl}$, $-O\text{-Ara-Rha}$, $O\text{-Ara-Rha}$, 又は
Ac

$-O\text{-Ara-Rha}$

Ac Rha であり、

R_2 は水素 $-OH$, $-O\text{-Fuc}$, $-O\text{-Rha}$, 又は $-O\text{-Glu}$;

R_3 は $-OH$, $-OCOCH_3$, $-OCOC_{15}H_{31}$, 又はオキソ(=O), 又は

$-O\text{-Gal}$,

【 0 0 2 4 】

【 化 2 6 】

10

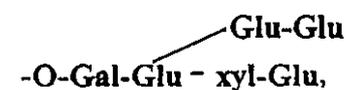
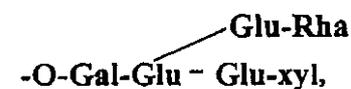
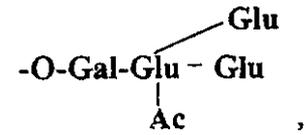
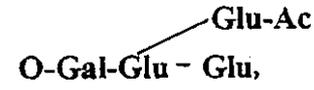
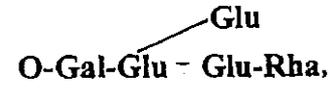
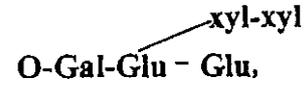
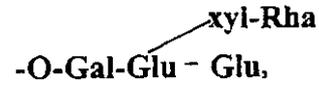
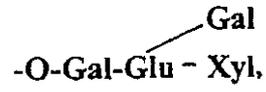
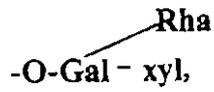
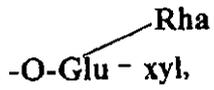
20

30

- O-Glu,
- O-Gal-Glu,
- O-Glu-Glu,
- O-Glu-Ara,
- O-Fuc-Glu,
- O-Rha,
- O-Rha-Glu,
- O-Glu-Glu - Glu, 10
- O-Glu-Rha,
 - Glu
 - Glu
- O-Glu-Rha,
- O-Man-Glu,
- O-Gal-Glu-Glu,
- O-Glu - Glu, 20
 - Rha
- O-Glu - Rha,
 - Rha
- O-Glu - Glu,
 - Glu
- O-Gal - Gal,
 - Rha
- O-Glu - Ara, 30
 - xyl
- O-Gal - Glu,
 - Rha
- O-xyl - Rha,
 - Rha
- O-Glu - Ara, 40
 - Glu

[0 0 2 5]

[化 2 7]



10

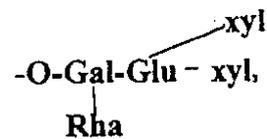
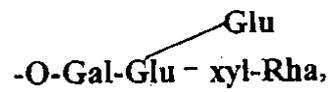
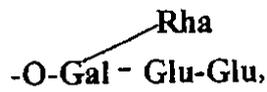
20

30

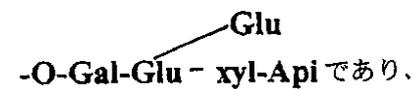
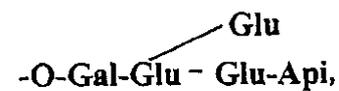
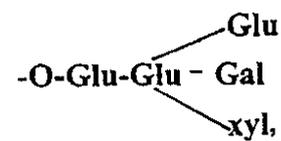
40

[0 0 2 6]

[化 2 8]



10



20

【 0 0 2 7 】

R₄は水素、-OHまたは-SO₃Na、

R₅は水素、ヒドロキシ、-O-Glu、または存在せず、

R₆は水素、OH、オキソ(=O)、-O-Qui-Rhaまたは-O-Qui-Xyl、

R₁₂は水素、-OHまたはオキソ(=O)、

R₁₄は水素、または-OH、

R₁₅は水素、または-OH、

30

R₂₂はヒドロキシ、またはO(CH₂)_nCH₃(nは0~3)、または存在せず、

R₂₃は水素、または-OH、

R₂₇は-CH₃、-CH₂OH、または=CH₂、

XはOまたはNHであり、

[点線と実線の二重線]は単結合または二重結合を表わし、

Yは直接結合であるか、または存在せず、

ZはGluであるか、または存在しない；

ただし、R₁=R₂=R₄=R₆=R₁₂=R₁₄=R₁₅=R₂₃=H、R₃=-OH、R₅=-H、X=Oであり、[点線と実線の二重線]が単結合であり、Yが直接結合であり、R₂₂は存在せず、Zは存在せず、R₂₇は-CH₃であり、そしてC₂₅が(S)配置である式Iの化合物を含まないことを条件とする。

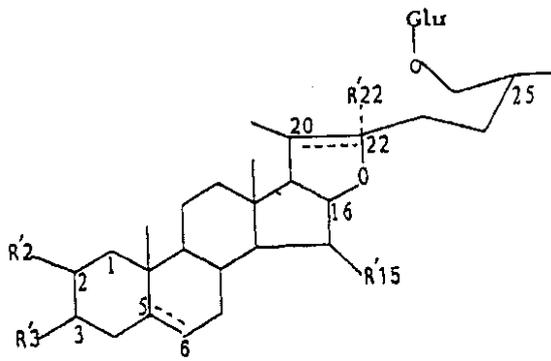
40

【 0 0 2 8 】

本発明のさらなる面は、式IIによって示される新規なステロイドサポニンに関する。

【 0 0 2 9 】

【 化 2 9 】



式II

10

【0030】

式中、5位と6位の間点線は二重結合を表わさず、5位は H であり、
 C_{25} は S 配置であり、
 R'_{15} は水素、
 R'_2 は -OH 又は -O \bar{H} 、

【0031】

【化30】

R'_3 は -O-Gal² Glu,

-O-Gal² Glu² Glu,

-O-Gal⁴ Glu² Glu,

-O-Gal⁴ Glu³ Glu,

-O-Gal⁴ Glu² Glu³ Xyl,

-O-Gal⁴ Glu³ Gal² Xyl,

20

30

【0032】

R'_{22} は OH または $O(CH_2)_nCH_3$ (n は 0 ~ 3)、または存在せず、同時に 20 位と 22 位の間点線は二重結合を表わすか、
 または

R'_2 は水素、

R'_3 は -O-Gal-Glu であり、

5位と6位の間点線は二重結合を表わさず、5位は H であり、

C_{25} は (S) 配置であり、

R'_{15} は -OH または -O \bar{H} であり、

R'_{22} は OH または $O(CH_2)_nCH_3$ (n は 0 ~ 3)、または存在せず、同時に 20 位と 22 位の間点線は二重結合を表わすか、

または

R'_2 は水素、

5位と6位の間点線は二重結合を表わし、

R'_{15} は水素、

C_{25} は R または S 配置であり、

R'_{22} は $O(CH_2)_nCH_3$ (n は 0 ~ 3)、または R'_{22} は存在せず、同時に 20 位と 22 位の間点線は二重結合を表わし、

【0033】

40

50

【化 3 1】

R'_3 は -O-Gal,

-O-Glu,

-O-Glu² Rha,

-O-Glu³ Rha,

-O-Glu⁴ Rha,

-O-Glu⁴ Glu,

-O-Gal⁴ Glu³ Glu,
 $\begin{array}{l} \nearrow^2 \text{Xyl} \\ \text{Glu} \end{array}$

-O-Gal⁴ Glu,

-O-Glu⁴ Glu,
 $\begin{array}{l} \nearrow^2 \text{Rha} \\ \text{Glu} \end{array}$

-O-Glu⁴ Rha,
 $\begin{array}{l} \nearrow^2 \text{Rha} \\ \text{Glu} \end{array}$

-O-Gal³ Gal,
 $\begin{array}{l} \nearrow^2 \text{Rha} \\ \text{Gal} \end{array}$

-O-Glu³ Glu,
 $\begin{array}{l} \nearrow^2 \text{Glu} \\ \text{Glu} \end{array}$

又は -O-Glu³ Glu² Rha² である。

10

20

【0034】

式 I または式 I I の化合物中にキラル炭素原子が存在し、それによって式 I または式 I I によって示される化合物の立体異性体も本発明の範囲に含まれることが理解されるべきである。

30

【0035】

式 I または式 I I において、略号は次に示す通りである。

G l u : グルコース

G a l : ガラクトース

R h a : ラムノース

X y l : キシロース

A r a : アラビノース

F u c : フコース

M a n : マンノース

Q u i : キノボース

A p i : アピオース。

40

【0036】

本発明に従い、好ましいものは、 $R_1 = R_2 = R_4 = R_6 = R_{12} = R_{14} = R_{15} = R_{23} = H$ 、 R_3 は -O-Gal²-Glu、 $R_5 = H$ 、 $R_{27} = CH_3$ 、そして C_{25} が S-配置であり、X は O、Z は -Glu、Y は存在せず、 R_{22} は存在せず、C20位とC22位との間の点線は二重結合であり、他の [点線と実線の二重線] は単結合である式 I の化合物である。

【0037】

本発明に従い、好ましいものは、 $R_1 = R_2 = R_4 = R_6 = R_{12} = R_{14} = R_{15} = R_{23} = H$ 、R

50

$_3$ は - O - - Glu² - - Glu、 $R_5 =$ - H、 $R_{27} =$ - CH₃、そして C₂₅が S - 配置であり、XはO、Zは - - Glu、Yは存在せず、 R_{22} は存在せず、C₂₀位とC₂₂位との間の点線は二重結合であり、他の [点線と実線の二重線] は単結合である式 I の化合物である。

【 0 0 3 8 】

本発明に従い、好ましいものは、 $R_1 = R_2 = R_4 = R_6 = R_{12} = R_{14} = R_{15} = R_{23} =$ H、 R_{22} は OH、 R_3 は - O - - Gal² - - Glu、 $R_5 =$ - H、C₂₅が S - 配置であり、 $R_{27} =$ - CH₃、XはO、Zは - - Glu、Yは存在せず、[点線と実線の二重線] は単結合である式 I の化合物である。

【 0 0 3 9 】

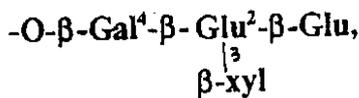
本発明に従い、好ましいものは、 $R_1 = R_2 = R_4 = R_6 = R_{12} = R_{14} = R_{15} = R_{23} =$ H、 R_{22} は - OCH₃、 R_3 は - O - - Gal² - - Glu、 $R_5 =$ - H、そして C₂₅が S - 配置であり、 R_{27} は - CH₃、XはO、Zは - - Glu、Yは存在せず、[点線と実線の二重線] は単結合である式 I の化合物である。

【 0 0 4 0 】

本発明に従い、好ましいものは、 $R_1 = R_2 = R_4 = R_6 = R_{12} = R_{14} = R_{15} = R_{23} =$ H、 R_3 は

【 0 0 4 1 】

【 化 3 2 】



【 0 0 4 2 】

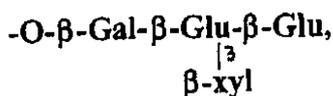
$R_5 =$ - H、 R_{22} は存在せず、 $R_{27} =$ - CH₃、XはO、Yは直接結合、Zは存在せず、[点線と実線の二重線] は単結合であり、C₂₅は R - 配置である式 I の化合物である。

【 0 0 4 3 】

本発明に従い、好ましいものは、 $R_1 = R_2 = R_4 = R_6 = R_{12} = R_{14} = R_{15} = R_{23} =$ H、 R_3 は

【 0 0 4 4 】

【 化 3 3 】



【 0 0 4 5 】

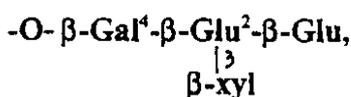
$R_5 =$ - H、 R_{22} は存在せず、 $R_{27} =$ - CH₃、XはO、Yは直接結合、Zは存在せず、[点線と実線の二重線] は単結合であり、C₂₅は S - 配置である式の化合物である。

【 0 0 4 6 】

本発明に従い、好ましいものは、 $R_1 = R_4 = R_6 = R_{12} = R_{14} = R_{15} = R_{22} = R_{23} =$ H、 $R_2 =$ - - OH、 R_3 は

【 0 0 4 7 】

【 化 3 4 】



【 0 0 4 8 】

$R_5 =$ - H、 R_{22} は存在せず、 $R_{27} =$ - CH₃、XはO、Yは直接結合、[点線と実線の二重線] は単結合であり、Zは存在せず、C₂₅は R - 配置である式 I の化合物である。

10

20

30

40

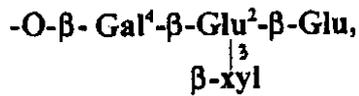
50

【 0 0 4 9 】

本発明に従い、好ましいものは、 $R_1 = R_4 = R_6 = R_{12} = R_{14} = R_{15} = R_{23} = H$ 、 $R_2 = -OH$ 、 R_3 は

【 0 0 5 0 】

【 化 3 5 】



【 0 0 5 1 】

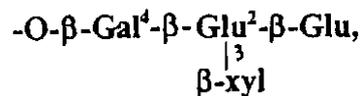
$R_5 = -H$ 、 R_{22} は存在せず、 $R_{27} = -CH_3$ 、 X は O 、 Y は直接結合、[点線と実線の二重線]は単結合であり、 Z は存在せず、 C_{25} は S -配置である式Iの化合物である。

【 0 0 5 2 】

本発明に従い、好ましいものは、 $R_1 = R_2 = R_4 = R_6 = R_{12} = R_{14} = R_{15} = R_{23} = H$ 、 R_3 は

【 0 0 5 3 】

【 化 3 6 】



【 0 0 5 4 】

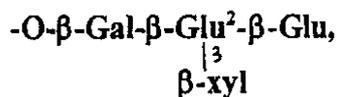
R_{22} は存在せず、 $R_{27} = -CH_3$ 、 X は O 、 Y は直接結合、 Z は存在せず、 C_{25} は R 配置であり、 R_5 は存在せず、 C_{5-6} の[点線と実線の二重線]は二重結合であり、他の[点線と実線の二重線]は単結合である式Iの化合物である。

【 0 0 5 5 】

本発明に従い、好ましいものは $R_1 = R_2 = R_4 = R_6 = R_{12} = R_{14} = R_{15} = R_{23} = H$ 、 R_5 は存在せず、 R_{22} は存在せず、 $R_{27} = -CH_3$ 、 R_3 は

【 0 0 5 6 】

【 化 3 7 】



【 0 0 5 7 】

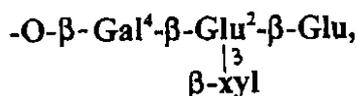
X は O 、 Y は直接結合、 Z は存在せず、 C_{25} は S 配置であり、 C_{5-6} の[点線と実線の二重線]は二重結合であり、他の[点線と実線の二重線]は単結合である式Iの化合物である。

【 0 0 5 8 】

本発明に従い、 $R_1 = R_4 = R_6 = R_{12} = R_{14} = R_{15} = R_{23} = H$ 、 $R_2 = -OH$ 、 R_3 は

【 0 0 5 9 】

【 化 3 8 】



【 0 0 6 0 】

R_{22} は存在せず、 $R_{27} = -CH_3$ 、 X は O 、 Y は直接結合、 Z は存在せず、 C_{25} は R 配置であり、 R_5 は存在せず、 C_{5-6} の[点線と実線の二重線]は二重結合であり、他の[点線と実線の二重線]は単結合である式Iの化合物である。

10

20

30

40

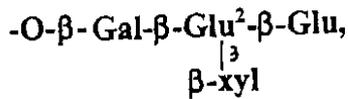
50

【 0 0 6 1 】

好ましいものは、 $R_1 = R_4 = R_6 = R_{12} = R_{14} = R_{15} = R_{23} = H$ 、 $R_2 = -OH$ 、 R_3 は

【 0 0 6 2 】

【 化 3 9 】



【 0 0 6 3 】

R_{22} は存在せず、 $R_{27} = -CH_3$ 、 X は O 、 Y は直接結合、 Z は存在せず、 C_{25} は S 配置であり、 R_5 は存在せず、 C_5-6 の[点線と実線の二重線]は二重結合であり、他の[点線と実線の二重線]は単結合である式Iの化合物である。

10

【 0 0 6 4 】

本発明に従い、式Iの好ましい化合物は、

(25S) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 22 - ヒドロキシ - 5 - フロスト - 3、26 - ジオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル(1 2) - - D - ガラクトピラノシド、

(25S) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 22 - ヒドロキシ - 5 - フロスト - 2、3、26 - トリオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル(1 2) - - D - ガラクトピラノシド、

20

(25R) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 22 - ヒドロキシ - 5 - エン - フロスト - 3、26 - ジオール - 3 - O - - L - ラムノピラノシル(1 2) [- D - グルコピラノシル(1 3)] - - D - グルコピラノシド、

(25R) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 22 - ヒドロキシ - 5 - エン - フロスト - 3、26 - ジオール - 3 - O - - L - ラムノピラノシル(1 2) [- L - ラムノピラノシル(1 4)] - - D - グルコピラノシド、

(25R) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 22 - ヒドロキシ - 5 - エン - フロスト - 3、26 - ジオール - 3 - O - - D - ガラクトピラノシル(1 2) [- D - ガラクトピラノシル(1 3)] - - D - グルコピラノシド、

(25R) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 22 - ヒドロキシ - 5 - エン - フロスト - 3、26 - ジオール - 3 - O - - L - ラムノピラノシル(1 2) - - D - グルコピラノシド、

30

(25S) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 5 - フロスト - 20(22) - エン - 3、26 - ジオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル(1 2) - - D - ガラクトピラノシド

より成る群から選択される。

【 0 0 6 5 】

本発明に従い、式IIの好ましい化合物は、

(25S) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 22 - ヒドロキシ - 5 - フロスト - 2、3、26 - トリオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル(1 2) - - D - ガラクトピラノシド、

40

(25S) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 22 - メトキシ - 5 - フロスト - 2、3、26 - トリオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル(1 2) - - D - ガラクトピラノシド、

(25S) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 5 - フロスト - 20(22) - エン - 2、3、26 - トリオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル(1 2) - - D - ガラクトピラノシド、

(25R) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 22 - ヒドロキシ - 5 - エン - フロスト - 3、26 - ジオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル(1 4) - - D - ガラクトピラノシド、

50

(25R) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 22 - メトキシ - 5 - エン - フロスト - 3 , 26 - ジオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル (1 4) - - D - ガラクトピラノシド、

(25R) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 5 - エン - フロスト - 20 (22) - エン - 3 , 26 - ジオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル (1 4) - - D - ガラクトピラノシド

より成る群から選択される。

【0066】

本発明に従い、本発明の医薬組成物は、活性成分としての式 I の化合物及び薬学的に受容できる担体、賦形剤または添加剤を含む。

10

【0067】

本発明に従い、本発明の医薬組成物は、活性成分としての式 I I の化合物及び薬学的に受容できる担体、賦形剤または添加剤を含む。

【0068】

本発明に従い、本発明はさらに、痴呆の予防または治療のための薬剤の製造のための、式 I の化合物またはその立体異性体の使用に関する。

【0069】

本発明に従い、式 I の化合物またはこれを含む薬剤組成物の予防または治療有効量を痴呆の予防または治療を必要とするホストに投与することを含む方法に関する。

【0070】

本発明において、用語「痴呆」とは、アルツハイマー病、血管性痴呆、混合型の痴呆または他のタイプの痴呆に関する。

20

【0071】

本発明において、式 I 及び式 I I の化合物は、*Anemarrhena asphodeloides* Bge.、*Dioscorea panthaica* Prain et Burk、*Allium sativum* L.、*Paris polyphlla*、*Polygonatum odoratum* (Mill) Drace、*Ophiopogon japonicus*、*Agave americana* L、*Dioscorea nipponica* Makino 等のような植物から得ることができ、または合成によって製造できる。

30

産業上の用途

一般式 (I) によって示される化合物は、通常一般的な医薬剤の形態で医薬として使用される。この医薬剤は、充填剤、増量充填剤、結合剤、湿潤剤、崩壊剤、表面活性剤、潤滑剤のような慣用の希釈剤を使用することによって配合される。医薬剤は、治療目的に従って、種々の投与形態から選択できる。典型的な投与形態について、錠剤、ピル、粉末、液体、サスペンション、エマルジョン、グラニュール、カプセル、座剤、注射剤 (液体、サスペンション等) 等によって例示できる。投与単位形態を錠剤へ付形する目的のために、この分野における周知の種々の担体が広く使用できる。担体の例について、乳糖、白糖、塩化ナトリウム、ブドウ糖、尿素、澱粉、炭酸カルシウム、カオリン、結晶セルロース、珪酸等のような賦形剤；水、エタノール、プロパノール、単シロップ、ブドウ糖溶液、澱粉溶液、ゼラチン溶液、カルボキシメチルセルロース、セラック、メチルセルロース、燐酸カリウム、ポリビニルピロリドン等のような結合剤；乾燥澱粉、アルギン酸ナトリウム、アガー - アガー粉末、ラミナラン粉末、炭酸水素ナトリウム、炭酸カルシウム、ポリエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ラウリル硫酸ナトリウム、ステアリン酸のモノグリセリド、澱粉、乳糖等の崩壊剤；白糖、ステアリン、カカオバター、水素化油等の崩壊禁止剤；4級アンモニウム塩、ラウリル硫酸ナトリウム糖のような吸収促進剤；グリセリン、澱粉のような湿潤剤；澱粉、乳糖、カオリン、ベントナイト、コロイド状珪酸等のような吸着剤；精製タルク、ステアレート、ほう酸粉末、ポリエチレングリコール等の潤滑剤があげられる。錠剤調製物はさらに、通常錠剤コーティングによってコートされた錠剤、例えば糖衣錠、ゼラチンフィルムでコートした錠剤、腸溶性コーティングでコ

40

50

ートした錠剤、フィルムコーティングでコートされた錠剤、または2層錠、多層錠剤へと付形できる。投与単位をピルへと付形する目的のために、この分野で周知の種々の担体可以使用できる。担体の例として、ブドウ糖、乳糖、澱粉、カカオバター、水素化植物油、カオリン、タルク等の賦形剤；粉末アカシア、粉末トラガカント、ゼラチン、エタノール等のような結合剤；ラミナラン、アガー - アガー等のような崩壊剤が例示できる。投与単位を座剤へと付形する目的のために、この分野で周知の種々の担体可以使用できる。担体の例について、ポリエチレングリコール、カカオバター、高級アルコール、高級アルコールのエステル、ゼラチン、半合成グリセリド等があげられる。投与単位をカプセルに付形する目的のために、有効成分としての式Iの化合物が上述の種々の担体と混合され、そしてそのように得られた混合物は硬質のゼラチンカプセルまたは軟質カプセル内におかれる。投与単位を硬質のゼラチンカプセルまたは軟質のカプセルへと付形する目的のために。投与形態を注射製剤と付形する目的のために、液体製剤、エマルジョン製剤及びサスペンション製剤が、滅菌され、さらにこれらの製剤は好ましくは血液に等張であり、そしてこの分野で慣用の全ての希釈剤、例えば水、エチルアルコール、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が使用される。さらに、等張注射溶液を調製する目的のために、適量の塩化ナトリウム、ブドウ糖またはグリセリンを注射製剤に加えることができ、さらに通常の溶解添加剤、緩衝剤、局所麻酔剤等も使用し得る。さらに、もし必要であれば、着色剤、保存剤、スパイス、フレーバー、甘味剤等が医薬製剤に添加し得る。

10

20

【0072】

本発明の医薬製剤内に含まれるべき式Iの化合物の量は、特定の制限されず、そして広い範囲から適切に選択できる。

【0073】

本発明の薬学製剤を投与する方法は制限されず、それらは種々の形態の製剤、患者の年齢、性別、及び他の条件、症状の程度等に従って投与される。例えば、錠剤、ピル、液体、サスペンション、エマルジョン、グラニュール及びカプセルが経口的に投与される。一方、注射製剤は血管内に、単一で、または必要であればブドウ糖またはアミノ酸溶液のような通常のと輸液と混合して投与され、それらは単一で筋肉内、皮内、皮下または腹腔内に投与される。

30

【0074】

本発明の医薬製剤の用量は適切に、使用法、患者の年齢、性別及び他の条件、症状の程度に応じて選択される。

【0075】

以下の実施例及び薬学的試験はこれを詳細に示すが、本発明のいかなる限定を意味しない。

【0076】

Rhizoma Anemarrhenae は、*Anemarrhena asphodeloides* Bge. (Liliaceae) の根茎である。心臓 - 洗浄及び炎症 - 除去機能並びに体液の生成を促進し、かつ肺に滋養になる作用によって、それは頻繁な臨床実践を有する。我々は、*Rhizoma Anemarrhenae* からステロイドサポニンを抽出し、精製し、それらの構造を解明し、そしてその作用を研究した。

40

実施例 1

Anemarrhena asphodeloides Bge. (3 kg) を 90% EtOH で 3 回還流し、真空下に濃縮し、そして EtOH を回収し、粗抽出物 700 g を得た。粗抽出物を水に溶解し、濾過し、水溶性の画分及び水不溶性の画分を得た。水溶性の画分を濃縮し、そして n-BuOH で抽出した。n-BuOH 溶液を濃縮し、そして 90 g の抽出物を得た。それをシリカゲルカラム上のクロマトグラフにかけ、そして CHCl₃ - MeOH - H₂O (60 : 35 : 10 低相) で溶出した。各画分は 150 mL であり、高い極性の画分 54 ~ 画分 62 を合わせて、準画分を回収し、これをシリカゲル上のカラ

50

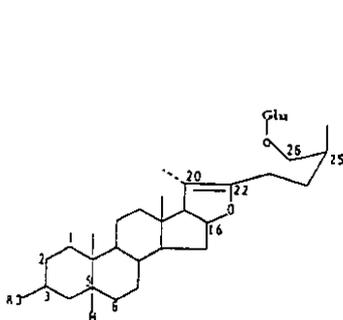
ムクロマトグラフィーに、 $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ (最初 60 : 35 : 10、次に 55 : 35 : 10) の低相で再びかけた。我々は、画分 45 ~ 画分 48 (それぞれ 100 mL) を合わせ、そして 1.2 g の残留物を得た。それを逆相予備 HPLC で繰り返し精製し、そして凍結乾燥して化合物 I (28.0 mg)、化合物 II (11.8 mg)、化合物 III (57.4 mg) 及び化合物 IV (20.0 mg) をそれぞれ得た。

【0077】

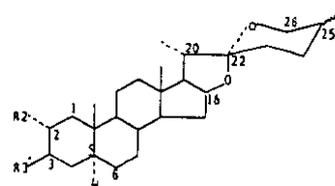
水不溶性画分を $\text{MeOH} - \text{CHCl}_3$ (1 : 1) で還流し、そして溶液を濃縮して淡黄色の抽出物 (38 g) を得、これを $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ の低相でシリカゲル上のカラムクロマトグラフィーにかけ、9つの画分 (画分 I - IX) を得た。画分 IV をシリカゲル上で $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ (60 : 30 : 10 低相) によって再度クロマトグラフィーによって精製した。同じ TLC 特性を有する画分を合わせて、13の画分 (画分 1 ~ 13) を回収した。それらのうち、画分 7 及び 9 を赤外検出器を有する逆相予備 HPLC によって精製した。物質 V (13.0 mg) 及び物質 VII (11.5 mg) として試験的に設計されたステロイド成分を、画分 7 から $\text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ (90 : 10) 溶媒で得、物質 VI (10.6 mg) 及び物質 VIII (11.7 mg) を画分 9 から $\text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ (80 : 20) 溶媒で製造した。物質 V ~ VIII はそれぞれ一対のエピマーの 4つの混合物である。「a」は、25R 異性体を示し、「b」は 25S 異性体を示す。

【0078】

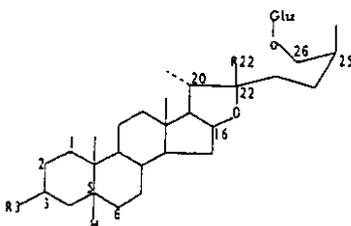
【化40】



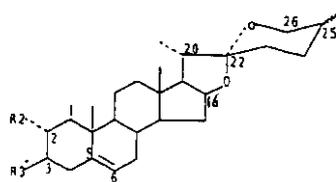
I: $\text{R}_3 = \text{O} - \text{Cal}^2 - \text{Glu}$
 II: $\text{R}_3 = \text{O} - \text{Glu}^2 - \text{Glu}$



Va: 25R, $\text{R}_2 = \text{H}$
 Vb: 25S, $\text{R}_2 = \text{H}$
 VIa: 25R, $\text{R}_2 = \text{OH}$
 VIb: 25S, $\text{R}_2 = \text{OH}$



III: $\text{R}_3 = \text{O} - \text{Cal}^2 - \text{Glu}$, $\text{R}_{22} = \text{OH}$
 IV: $\text{R}_3 = \text{O} - \text{Gal}^2 - \text{Glu}$, $\text{R}_{22} = \text{OCH}_3$



VIIa: 25R, $\text{R}_2 = \text{H}$
 VIIb: 25S, $\text{R}_2 = \text{H}$
 VIIIa: 25R, $\text{R}_2 = \text{OH}$

VIIIb: 25S, $\text{R}_2 = \text{OH}$
 R3* = $\text{O} - \text{Gal}^4 - \text{Glu}^2 - \text{Glu}$

|₃
 Xyl

【0079】

実施例 2

Anemarrhena asphodeloides Bge. の乾燥根茎 (2 kg) を沸騰水で 4 回煎じた。溶液を濃縮し、そして EtOH で沈殿させた (最終濃度: 75%)。上澄みを真空下で濃縮し、次に n-BuOH で抽出した。n-BuOH 溶液を濃縮して、90 g の残留物を得た。これをシリカゲルカラム上のクロマトグラフィーにかけ、そして $\text{CHCl}_3 - \text{MeOH} - \text{H}_2\text{O}$ で繰り返し溶出した。溶出液を TLC でチェックし、そして化合物 III を含む画分を集め、Sephadex LH-20 上のカラムクロマトグラフィーに再びかけて化合物 III (7.1 g) を得た。

構造の解析

化合物 I 白色非晶質粉末、融点 > 226 (分解)。リーベルマン - ブルヒャルト及びモーリシュ反応及びエールリッヒ試薬に陽性である。IR ν_{\max} cm^{-1} :

【0080】

【数1】

3368(OH), 2925, 1692(Δ 20, 22), 1075, 1039(グリコシル C-O).

$^1\text{H-NMR}(\text{C}_5\text{D}_5\text{N})$ δ : 0.66(3H, s, 18-CH₃), 0.96(3H, s, 19-CH₃), 1.01(3H, d, J=6.8Hz, 27-CH₃), 1.60(3H, s, 21-CH₃), 4.82(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H), 4.92(1H, d, J=7.8Hz, Gal 1-H), 5.27(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H), 2.46(1H, d, J=10.3Hz, 17-H).

10

【0081】

$^{13}\text{C-NMR}$ データを表1に示す。化合物 I の構造は、(25S) - 26-O - D - グルコピラノシル - 5 - フロスト - 20(22) - エン - 3, 26 - ジオール - 3 - O - D - グルコピラノシル(12) - D - ガラクトピラノシド(アネマルサポニンB)であると解析された。

【0082】

化合物 II 白色非晶質粉末、融点 > 212 (分解)。リーベルマン - ブルヒャルト及びモーリシュ反応及びエールリッヒ試薬に陽性である。C₄₅H₇₄O₁₈ · 2.5H₂O についての分析計算。

20

【0083】

【数2】

C 57.02, H 8.34; Found (%): C 56.90,

H 8.03. IR ν_{\max} cm^{-1} : 3354(OH), 2929, 2850, 1691(Δ 20, 22), 1075, 1037(グリコシル C-O). FAB-MS m/z 925(M+Na)⁺, 903(M+H)⁺, 741(M+H-Glc)⁺, 579(M+H-Glc × 2)⁺, 417(M+H-Glc × 3)⁺, 399(アグリコン+H-H₂O)⁺, 255, 185, 145. EI-MS m/z 416(アグリコン)⁺, 398(アグリコン-H₂O)⁺, 344, 343, 325, 287, 273, 255, 217, 201, 181(ベース), 163, 139, 109, 95. $^1\text{H-NMR}(\text{C}_5\text{D}_5\text{N}+\text{D}_2\text{O})$ δ : 0.71(3H, s, 18-CH₃), 1.01(3H, s, 19-CH₃), 1.08(3H, d, J=6.8Hz, 27-CH₃), 1.68(3H, s, 21-CH₃), 2.54(1H, d, J=10.3Hz, 17-H), 4.86(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H), 4.99(1H, d, J=7.3Hz, Gal 1-H), 5.49(1H, d, J=7.3Hz, Glc 1-H).

30

【0084】

$^{13}\text{C-NMR}$ データを表1に示す。化合物 III の構造は、(25S) - 26-O - D - グルコピラノシル - 5 - フロスト - 20(22) - エン - 3, 26 - ジオール - 3 - O - D - グルコピラノシル(12) - D - グルコピラノシド(アネマルサポニンC)であると解析された。

40

【0085】

化合物 III 白色非晶質粉末、融点 > 243 (分解)。リーベルマン - ブルヒャルト及びモーリシュ反応及びエールリッヒ試薬に陽性である。

【0086】

【数3】

IR ν_{\max} cm^{-1} : 3348(OH), 2930, 2850, 1075, 1044(グリコシル C-O). FAB-MS m/z 943(M+Na)⁺, 903(M+H-H₂O)⁺, 741(M+H-H₂O-Glc)⁺, 579(M+H-H₂O-Glc × 2)⁺, 417(M+H-H₂O-Glc × 2-Gal)⁺, 399(アグリコン +H-H₂O × 2)⁺, 255, 185, 145. EI-MS m/z 740(M-H₂O-Glc)⁺, 578(M-H₂O-Glc × 2)⁺, 416(アグリコン -H₂O)⁺, 415(アグリコン -H-H₂O)⁺, 357, 273, 217, 181, 139. ¹H-NMR(C₅D₅N) δ : 0.85(3H, s, 18-CH₃), 0.96(3H, s, 19-CH₃), 1.00(3H, d, J=6.4Hz, 27-CH₃), 1.30(3H, d, J=6.8Hz, 21-CH₃), 4.79(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H), 4.90(1H, d, J=7.8Hz, Gal 1-H), 5.27(1H, d, J=7.8Hz, Glc 1-H).

10

【 0 0 8 7 】

¹³C - NMR データを表 1 に示す。化合物 III の構造は、(2S)-2,6-O-D-グルコピラノシル-2,2-ヒドロキシ-5-フロスト-3,26-ジオール-3-O-D-グルコピラノシル(1,2)-D-ガラクトピラノシド(プロトチモサポニン A III) であると解析された。

【 0 0 8 8 】

化合物 IV 白色非晶質粉末、融点 244 (分解)。リーベルマン-ブルヒャルト及びモーリシュ反応及びエールリッヒ試薬に陽性である。

20

【 0 0 8 9 】

【 数 4 】

FAB-

MS m/z 957(M+Na)⁺, 933(M-H)⁺, 903(M+H-MeOH)⁺, 741(M+H-MeOH-Glc)⁺, 579(M+H-MeOH-Glc × 2)⁺, 417(M+H-MeOH-Glc × 2-Gal)⁺, 399(アグリコン +H-MeOH-H₂O)⁺. ¹H-NMR(C₅D₅N) δ : 0.78(3H, s, 18-CH₃), 0.95(3H, s, 19-CH₃), 1.03(3H, d, J=6.0Hz, 27-CH₃), 1.16(3H, d, J=6.6Hz, 21-CH₃), 3.25(3H, s, 22-OCH₃), 4.82(1H, d, J=7.7Hz, Glc 1-H), 4.90(1H, d, J=7.1Hz, Gal 1-H), 5.27(1H, d, J=7.7Hz, Glc 1-H).

30

【 0 0 9 0 】

¹³C - NMR データを表 1 に示す。化合物 V の構造は、(2S)-2,6-O-D-グルコピラノシル-2,2-メトキシ-5-フロスト-3,26-ジオール-3-O-D-グルコピラノシル(1,2)-D-ガラクトピラノシド(アネマルサポニン E) であると解析された。

【 0 0 9 1 】

物質 V 白色非晶質粉末、融点 271 (分解)。リーベルマン-ブルヒャルト及びモーリシュ反応に陽性で、エールリッヒ試薬に陰性である。

40

【 0 0 9 2 】

【 数 5 】

IR ν_{\max} cm^{-1} : 3394, 2930, 1070, 988, 919, 896, 847. FAB-MS (陽 性) m/z 1057(M+Na)⁺, 1035(M+H)⁺, 925(M-Xyl+Na)⁺, 901(M-Xyl-H)⁺, 873(M-Glc+H)⁺, 741(M-Glc-Xyl+H)⁺, 579(M-Xyl-Glc × 2+H)⁺, 417(アグリコン+H)⁺, 399(アグリコン-H₂O+H)⁺. EI-MS m/z 416(アグリコン)⁺, 398(アグリコン-H₂O)⁺, 357, 347, 344, 302, 287, 273, 181, 139.

Va : ¹H-NMR(C₅D₅N) δ : 0.80(s, C-18 CH₃), 0.60(s, C-19 CH₃), 1.12(d, J=6.7Hz, C-21 CH₃), 0.67(d, J=5.5Hz, C-27 CH₃), 4.86(d, J=7.3Hz, Gal 1-H), 5.17(d, J=7.9Hz, Glc (内部) 1-H), 5.21(d, J=7.9Hz Xyl 1-H), 5.55(d, J=7.3Hz, Glc (末端) 1-H).

10

【 0 0 9 3 】

¹³C - NMRデータを表2に示す。化合物Vaは、チゴゲニン - 3 - O - - D - グルコピラノシル (1 2) [- D - キシロピラノシル (1 3)] - - D - グルコピラノシル (1 4) - - D - ガラクトピラノシド (デガラクトチゴニン) である。

【 0 0 9 4 】

【 数 6 】

Vb : ¹H-NMR(C₅D₅N) δ : 0.79(s, C-18 CH₃), 0.60(s, C-19 CH₃), 1.12(d, J=6.7Hz, C-21 CH₃), 1.05(d, J=7.3Hz, C-27 CH₃), 4.86(d, J=7.3Hz, Gal 1-H), 5.17(d, J=7.9Hz, Glc (内部) 1-H) 5.21(d, J=7.9Hz Xyl 1-H), 5.55(d, J=7.3Hz, Glc (末端) 1-H).

20

【 0 0 9 5 】

¹³C - NMRデータを表2に示す。化合物Vbは、ネオチゴゲニン - 3 - O - - D - グルコピラノシル (1 2) [- D - キシロピラノシル (1 3)] - - D - グルコピラノシル (1 4) - - D - ガラクトピラノシド (ジウラアントシドA) である。

【 0 0 9 6 】

物質VI 白色非晶質粉末、融点247 (分解)。リーベルマン - ブルヒャルト及びモーリシュ反応に陽性で、エールリッヒ試薬に陰性である。

30

【 0 0 9 7 】

【 化 7 】

IR ν_{\max} cm^{-1} : 3408, 2931, 2875, 1072, 987, 922, 897, 847. FAB-MS (陽 性) m/z 1073(M+Na)⁺, 1051(M+H)⁺, 595(M-Xyl-Glc × 2+H)⁺, 433(アグリコン +H)⁺, 415 (アグリコン - H₂O+H)⁺. EI-MS m/z 432(アグリコン)⁺, 415(アグリコン-H₂O+H)⁺, 414(アグリコン-H₂O)⁺, 373, 363, 360, 342, 318, 303, 300, 289, 271, 139, 126, 115.

40

VIa: ¹H-NMR(C₅D₅N) δ : 0.78(s, C-18 CH₃), 0.67(s, C-19 CH₃), 1.10(d, J=6.6Hz, C-21 CH₃), 0.67(C-27 CH₃), 4.90(d, J=7.7Hz, Gal 1-H), 5.20(d, J=7.7Hz, Glc (内部) 1-H), 5.23(d, J=7.7Hz Xyl 1-H), 5.57(d, J=7.7Hz, Glc (末端) 1-H).

【 0 0 9 8 】

¹³C - NMRデータを表2に示す。化合物VIaは、ジトゲニン - 3 - O - - D - グルコピラノシル (1 2) [- D - キシロピラノシル (1 3)] - - D - グルコピラノシル (1 4) - - D - ガラクトピラノシド (F - ジトニン) である。

【 0 0 9 9 】

50

【数 8】

VIIb: $^1\text{H-NMR}(\text{C}_5\text{D}_5\text{N})$ δ : 0.77(s, C-18 CH_3), 0.67(s, C-19 CH_3), 1.10(d, $J=6.6\text{Hz}$, C-21 CH_3), 1.05(d, $J=7.1\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.90(d, $J=7.7\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.20(d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(内部) 1-H), 5.23(d, $J=7.7\text{Hz}$ Xyl 1-H), 5.57(d, $J=7.7\text{Hz}$, Glc(末端) 1-H).

【0100】

^{13}C -NMRデータを表2に示す。化合物VIIbは、ネオジトゲニン-3-O- β -D-グルコピラノシル(1 \rightarrow 2)[β -D-キシロピラノシル(1 \rightarrow 3)]- β -D-グルコピラノシル(1 \rightarrow 4)- β -D-ガラクトピラノシド(アネマルサポニンF)である。 10

【0101】

物質VII 白色非晶質粉末、融点242 (分解)。リーベルマン-ブルヒャルト及びモーリシュ反応に陽性で、エールリッヒ試薬に陰性である。

【0102】

【数 9】

IR ν_{max} cm^{-1} : 3394, 2934, 1069, 985, 919, 896, 847. FAB-MS (陽性) m/z 1055(M+Na) $^+$, 1033(M+H) $^+$, 737(M-Glc-Xyl-H) $^+$, 577(M-Xyl-Glc \times 2+H) $^+$, 415(アグリコン+H) $^+$, 397(アグリコン-H $_2$ O+H) $^+$. EI-MS m/z 414(アグリコン) $^+$, 396(アグリコン-H $_2$ O) $^+$, 355, 345, 342, 300, 282, 271, 139. 20

VIIa: $^1\text{H-NMR}(\text{C}_5\text{D}_5\text{N})$ δ : 0.79 (s, C-18 CH_3), 0.85(s, C-19 CH_3), 1.13(d, $J=6.7\text{Hz}$, C-21 CH_3), 0.67(d, $J=5.5\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.87(d, $J=7.4\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.16(d, $J=7.9\text{Hz}$, Glc(内部) 1-H), 5.22(d, Xyl 1-H), 5.55(d, $J=7.9\text{Hz}$, Glc(末端) 1-H).

【0103】

^{13}C -NMRデータを表2に示す。化合物VIIaは、ジオスゲニン-3-O- β -D-グルコピラノシル(1 \rightarrow 2)[β -D-キシロピラノシル(1 \rightarrow 3)]- β -D-グルコピラノシル(1 \rightarrow 4)- β -D-ガラクトピラノシド(アスピジストリン)である。 30

【0104】

【数 10】

VIIb: $^1\text{H-NMR}(\text{C}_5\text{D}_5\text{N})$ δ : 0.79(s, C-18 CH_3), 0.85(s, C-19 CH_3), 1.13(d, $J=6.7\text{Hz}$, C-21 CH_3), 1.05(d, $J=6.7\text{Hz}$, C-27 CH_3), 4.87(d, $J=7.4\text{Hz}$, Gal 1-H), 5.16(d, $J=7.9\text{Hz}$, Glc(内部) 1-H) 5.22 (d, Xyl 1-H), 5.55(d, $J=7.9\text{Hz}$, Glc(末端) 1-H). 40

【0105】

^{13}C -NMRデータを表2に示す。化合物VIIbは、ヤモゲニン-3-O- β -D-グルコピラノシル(1 \rightarrow 2)[β -D-キシロピラノシル(1 \rightarrow 3)]- β -D-グルコピラノシル(1 \rightarrow 4)- β -D-ガラクトピラノシド(3-O- β -リコテトラソイルヤモゲニン)である。

【0106】

物質VII 白色非晶質粉末、融点258 (分解)。リーベルマン-ブルヒャルト及びモーリシュ反応に陽性で、エールリッヒ試薬に陰性である。

【0107】

50

【数 1 1】

IR ν_{\max} cm⁻¹: 3414, 2940, 2902, 1071, 988, 920, 895, 849.

FAB-MS (陽 性) m/z 1071(M+Na)⁺, 1049(M+H)⁺, 855(M-Glc-H)⁺,
 753(M-Glc-Xyl-H)⁺, 593(M-Xyl-Glc × 2+H)⁺, 431 (アグリコン+H)⁺, 413
 (アグリコン - H₂O+H)⁺, 395 (アグリコン - H₂O×2+H)⁺. EI-MS m/z
 430(アグリコン)⁺, 413(アグリコン-H₂O+H)⁺, 412(アグリコン-H₂O)⁺, 371, 361,
 358, 316, 298, 287, 269, 139, 126, 115.

VIIIa : ¹H-NMR(C₅D₅N) δ : 0.78(s, C-18 CH₃), 0.91(s, C-19 CH₃),
 1.11(d, J=6.6Hz, C-21 CH₃), 0.67(d, J=5.5Hz, C-27 CH₃), 4.91(d, J=7.7Hz,
 Gal 1-H), 5.20(d, J=7.7Hz, Glc(内部) 1-H), 5.23(d, J=7.7Hz Xyl 1-H),
 5.57(d, J=7.7Hz, Glc(末端) 1-H).

10

【 0 1 0 8 】

¹³C - NMR データを表 2 に示す。化合物 V I I I a は、ユッカゲニン - 3 - O - - D -
 - グルコピラノシル (1 2) [- D - グリコシピラノシル (1 3)] - - D - グ
 ルコピラノシル (1 4) - - D - ガラクトピラノシド (カラタピオシド A) である。

【 0 1 0 9 】

20

【数 1 2】

VIIIb : ¹H-NMR(C₅D₅N) δ : 0.78(s, C-18 CH₃), 0.91(s, C-19 CH₃), 1.11(d,
 J=6.6Hz, C-21 CH₃), 1.05(d, J=7.1Hz, C-27 CH₃), 4.91(d, J=7.7Hz, Gal 1-
 H), 5.20(d, J=7.7Hz, Glc(内部) 1-H), 5.23(d, J=7.7Hz Xyl 1-H), 5.57(d,
 J=7.7Hz, Glc(末端) 1-H).

【 0 1 1 0 】

¹³C - NMR データを表 2 に示す。化合物 V I I I b は、リラゲニン - 3 - O - - D -
 - グルコピラノシル (1 2) [- D - キシロピラノシル (1 3)] - - D - グルコ
 ピラノシル (1 4) - - D - ガラクトピラノシド (アネマルサポニン G) である。

30

【 0 1 1 1 】

【表 1】

表1. C₅D₅N中の化合物I-IVの¹³C-NMR化学シフト

炭素	I	II	III	IV	
アグリコン					
1	30.9	30.7	30.9	30.9	
2	26.9	26.9	27.0	27.0	
3	75.1	75.2	75.0	75.2	10
4	30.9	30.9	30.9	31.0	
5	36.9	36.8	36.9	36.9	
6	26.8	26.8	26.7	26.7	
7	26.8	26.8	26.7	26.7	
8	35.1	35.1	35.4	35.5	
9	40.1	40.1	40.2	40.2	
10	35.2	35.1	35.2	35.2	
11	21.2	21.3	21.1	21.0	
12	40.0	40.0	40.4	40.5	20
13	43.8	43.8	41.2	41.2	
14	54.7	54.7	56.4	56.4	
15	31.3	31.3	32.4	32.1	
16	84.5	84.5	81.2	81.4	
17	64.6	64.6	64.0	64.4	
18	14.6	14.3	16.7	16.5	
19	24.0	24.0	24.0	24.0	
20	103.5	103.5	40.6	41.2	30
21	11.8	11.8	16.4	16.4	
22	152.3	152.3	110.6	112.6	
23	34.4	34.3	37.1	30.9	
24	23.6	23.6	28.3	28.2	
25	33.7	33.6	34.4	34.4	
26	75.2	75.2	75.3	75.2	
27	17.1	17.1	17.4	17.5	
OCH3				47.3	
【 0 1 1 2 】					40
【 表 2 】					

表1. 続き

ガラクトース又はグルコース (内部C-3)

1	102.6	101.9	102.5	102.5
2	81.8	83.1	81.8	81.7
3	76.9	78.5	76.9	76.9
4	69.8	71.7	69.8	69.8
5	76.6	78.2	76.5	76.6
6	62.1	62.8	62.1	62.1

10

グルコース (末端C-3)

1	106.1	105.9	106.1	106.0
2	75.5	77.0	75.5	75.4
3	78.0	77.9	78.0	78.0
4	71.6	71.5	71.6	71.7
5	78.4	78.5	78.4	78.5
6	62.7	62.6	62.7	62.8

20

C-26 グルコース

1	105.1	105.1	105.1	105.0
2	75.2	75.2	75.2	75.0
3	78.5	78.5	78.5	78.6
4	71.6	71.6	71.6	71.7
5	78.5	78.2	78.4	78.4
6	62.7	62.8	62.7	62.8

30

【0113】

【表3】

表2：化合物 Va-VIIIb の¹³C-NMR化学シフト (100MHz C₅D₅N 中)

Va	Vb	VIa	VIb	VIIa	VIIb	VIIIa	VIIIb	
アグリコン								
1	37.1	45.5		37.5		45.7		
2	29.8	70.7		30.1		70.7		
3	77.4	84.2		78.3		84.4		
4	34.8	34.0		39.2		37.6		
5	44.6	44.5		141.0		140.0		
6	28.8	28.0		121.6		121.9		
7	32.3	32.1		32.3		32.1		
8	35.2	34.5		31.8		31.0		
9	54.3	54.3		50.3		50.1		
10	35.7	36.8		37.0		37.9		
11	21.2	21.4		21.1		21.1		
12	40.1	40.0		39.9		39.7		
13	40.7	40.7		40.4		40.4		
14	56.4	56.2		56.6		56.4		
15	32.1	32.1		32.1		32.1		
16	81.1	81.2	81.2	81.1	81.2	81.1		
17	62.9	62.8	62.9	62.9	62.7	62.6		
18	16.5	16.3	16.6	16.4	16.3	16.3		
19	12.2		13.4	19.4		20.4		
20	41.9	42.4	41.9	42.4	42.0	42.5	41.9	42.4
21	15.0	14.8	15.0	14.8	15.0	14.9	15.0	14.9
22	109.2	109.7	109.2	109.7	109.3	109.8	109.2	109.7
23	31.8	26.3	31.7	26.3	31.6	26.4	31.7	26.3
24	29.2	26.1	29.2	26.2	29.3	26.2	29.2	26.1
25	30.5	27.5	30.5	27.5	30.6	27.5	30.5	27.5
26	66.8	65.0	66.8	65.0	66.9	65.1	66.8	65.0
27	17.3	16.2	17.3	16.2	17.3	16.3	17.3	16.3

【 0 1 1 4 】

【 表 4 】

表2 続き

ガラクトース

1	102.4	103.2	102.7	103.3
2	73.1	72.5	73.1	72.6
3	75.0	75.1	75.1	75.1
4	79.8	79.3	79.8	79.2
5	75.3	75.7	75.3	75.6
6	60.6	60.6	60.6	60.6

10

グルコース (内部)

1	104.7	104.6	104.8	104.6
2	81.2	81.1	81.3	81.1
3	86.7	86.9	86.8	86.9
4	70.4	70.4	70.4	70.0
5	78.5	78.1	78.6	78.1
6	62.4	62.6	63.3	62.8

20

グルコース (末端)

1	104.8	104.7	104.9	104.7
2	75.5	75.4	75.5	75.4
3	78.5	78.4	78.8	78.4
4	70.7	71.3	70.8	71.3
5	77.5	78.7	77.6	78.7
6	63.0	62.9	62.9	62.9

30

キシロース

1	105.0	104.9	105.1	104.9
2	76.1	76.0	76.2	76.0
3	77.7	77.5	77.1	77.5
4	71.0	70.4	71.0	70.3
5	67.2	67.3	67.3	67.3

【 0 1 1 5 】

実施例 1 及び 2 の方法によって、次の化合物が植物から得られる。

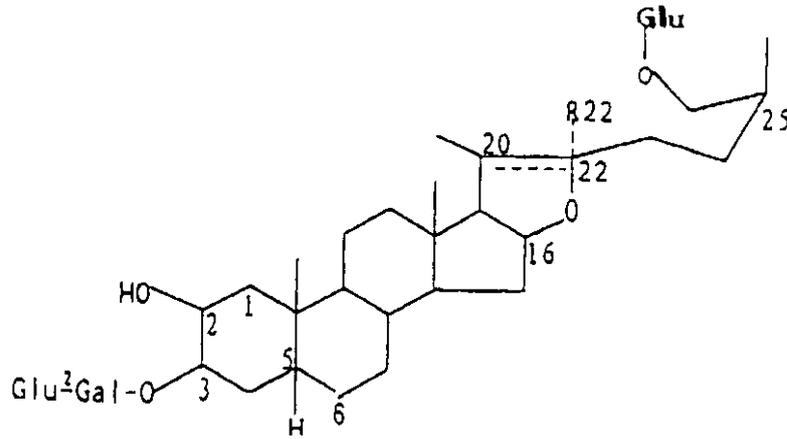
40

- 1 * (2 5 S) - 2 6 - O - - D - グルコピラノシル - 2 2 - ヒドロキシ - 5 - フロスト - 2 , 3 , 2 6 - トリオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル (1 2) - - D - ガラクトピラノシド、
- 2 * (2 5 S) - 2 6 - O - - D - グリコピラノシル - 2 2 - メトキシ - 5 - フロスト - 2 , 3 , 2 6 - トリオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル (1 2) - - D - ガラクトピラノシド、
- 3 * (2 5 S) - 2 6 - O - - D - グリコピラノシル - 5 - フロスト - 2 0 (2 2) - エン - 2 , 3 , 2 6 - トリオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル (1 2) - - D - ガラクトピラノシド。

【 0 1 1 6 】

50

【化 4 1】



10

【 0 1 1 7】

化合物 1 * : $R_{22} = OH$ 、 $C_{20} - C_{22}$ は単結合である。

化合物 2 * : $R_{22} = OCH_3$ 、 $C_{20} - C_{22}$ は単結合である。

化合物 3 * : R_{22} は存在せず、 $C_{20} - C_{22}$ は二重結合である。

【 0 1 1 8】

【表 5】

20

^{13}C -NMRデータ:

炭素	1*	2*	3*		1*	2*	3*	
1	40.6	40.6	40.6	Gal 1	106.1	106.1	106.1	
2	67.2	67.2	67.2	2	75.2	75.1	75.2	
3	81.8	81.8	81.8	3	78.1	78.1	78.1	
4	31.9	31.9	31.9	4	71.9	71.9	71.8	
5	36.6	36.6	36.6	5	78.4	78.5	78.4	
6	26.6	26.6	26.6	6	62.9	62.9	62.9	10
7	26.3	26.3	26.3	Glu 1	103.3	103.3	103.3	
8	35.6	35.6	35.6	2	81.7	81.6	81.7	
9	41.5	41.5	41.5	3	77.0	77.0	77.0	
10	37.1	37.1	37.1	4	69.8	69.9	69.9	
11	21.4	21.4	21.5	5	76.9	76.9	76.9	
12	40.4	40.4	40.0	6	62.0	62.1	62.0	
13	41.3	41.3	43.9	Glu 1	105.1	105.0	105.0	20
14	56.3	56.3	54.6	(C-26) 2	75.2	75.1	75.2	
15	32.4	32.1	31.3	3	78.6	78.6	78.6	
16	81.2	81.4	84.5	4	71.8	71.7	71.8	
17	64.0	64.4	64.6	5	78.4	78.4	78.4	
18	16.7	16.5	14.5	6	62.9	62.8	62.9	
19	23.9	24.0	23.9					
20	40.7	41.2	103.5					30
21	16.4	16.4	11.8					
22	110.7	112.6	152.3					
23	37.1	30.9	34.4					
24	28.3	28.2	23.6					
25	34.4	34.4	33.6					
26	75.4	75.2	75.2					
27	17.5	17.5	17.1					
OCH ₃		47.3						40

【 0 1 1 9 】

【 数 1 3 】

FAB-MS:

1* FAB-MS m/z: 919(M+H-H₂O)⁺, 757(M+H-H₂O-Glu)⁺, 595(M+H-H₂O-Glu × 2), 433(M+H-H₂O-Glu × 2-Gal)⁺, 415(アグリコン+H-H₂O × 2)⁺, 271, 255, 145

2* FAB-MS m/z: 951(M+H)⁺, 919(M+H-MeOH)⁺, 757(M+H-MeOH-Glu)⁺, 595(M+H-MeOH-Glu × 2)⁺, 433(M+H-MeOH-Glu × 2-Gal)⁺, 415(アグリコン+H-MeOH-H₂O)

3* FAB-MS m/z: 919(M+H)⁺, 757(M+H-Glu)⁺, 595(M+H-Glu × 2)⁺, 433(M+H-Glu × 2-Gal)⁺, 415(アグリコン+H-H₂O)⁺

10

【 0 1 2 0 】

1** (25R) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 22 - ヒドロキシ - 5 - エン - フロスト - 3 , 26 - ジオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル (1 4)] - D - ガラクトピラノシド、

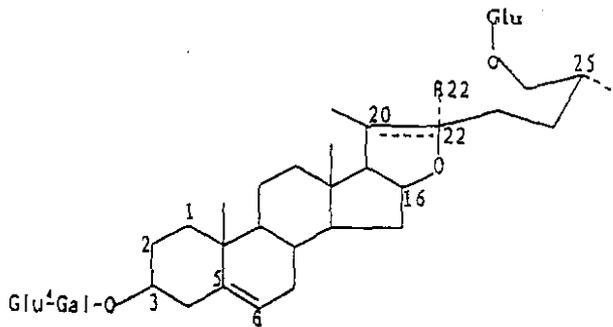
2** (25R) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 22 - メトキシ - 5 - エン - フロスト - 3 , 26 - ジオール - 3 - O - - D - グルコピラノシル (1 4)] - D - ガラクトピラノシド、

3** (25R) - 26 - O - - D - グルコピラノシル - 5 - エン - フロスト - 20 (22) - エン - 3 , 26 - ジオール - 3 - O - - D - ガラクトピラノシル (1 4)] - D - ガラクトピラノシド。

20

【 0 1 2 1 】

【 化 4 2 】



30

【 0 1 2 2 】

化合物 1** : R 2 2 = OH、C₂₀ - C₂₂ は単結合である。

化合物 2** : R 2 2 = OCH₃、C₂₀ - C₂₂ は単結合である。

化合物 3** : R 2 2 は存在せず、C₂₀ - C₂₂ は二重結合である。

【 0 1 2 3 】

【 表 6 】

40

¹³C-NMRデータ:

炭素	1**	2**	3**		1**	2**	3**
1	37.6	37.6	37.6	Gal 1	103.0	103.0	103.0
2	30.4	30.4	30.4	2	73.5	73.5	73.4
3	78.4	78.4	78.4	3	75.4	75.4	75.3
4	39.4	39.4	39.4	4	79.8	79.8	79.8
5	141.2	141.2	141.2	5	75.9	75.8	75.9
6	121.6	121.6	121.6	6	61.0	61.0	61.0
7	32.4	32.4	32.4	Glu 1	107.0	107.1	107.0
8	31.9	31.9	31.9	2	75.2	75.2	75.2
9	50.5	50.5	50.5	3	78.4	78.4	78.2
10	37.2	37.2	37.2	4	72.4	72.6	72.4
11	21.3	21.3	21.4	5	78.7	78.7	78.6
12	40.1	40.1	40.0	6	63.1	63.1	63.2
13	40.6	40.6	43.2	Glu 1	104.6	104.9	104.7
14	56.8	56.8	55.1	(C-26) 2	75.0	75.1	75.1
15	32.4	32.4	31.3	3	78.3	78.6	78.3
16	80.9	81.2	84.2	4	71.6	71.9	71.6
17	63.6	64.2	64.2	5	78.0	78.2	77.9
18	16.5	16.3	14.3	6	62.8	63.1	62.9
19	19.4	19.5	19.4				
20	40.6	40.6	103.2				
21	16.2	16.2	11.6				
22	110.9	112.8	152.1				
23	37.0	30.9	34.3				
24	28.3	28.3	23.5				
25	34.2	34.3	33.4				
26	75.3	75.3	75.2				
27	17.4	17.2	17.1				
OCH3		47.4					

10

20

30

【 0 1 2 4 】

薬理的試験

痴呆は、記憶、論理的に考えること、判断、見当識が徐々に失われていくことを含む、全体的な認識の低下によって定義される、一群の進行性の精神的な劣化である。これは主としてアルツハイマー病 (AD)、血管性痴呆 (VD)、混合痴呆及びいくつかの他のタイプを含む。それらの病因因子は複雑で、ADの機構は今だ不明瞭である。発明者らは、*Anemarrhena asphodeloides* Bge. 特に、化合物 IIII (プロトチモサポニン A IIII) の活性を、異なる角度で観察した。

40

一．脳循環及び代謝への影響

痴呆を治療するための薬剤の開発は、痴呆の病原論であると考えられる。血管性痴呆のために、我々は、*Anemarrhena asphodeloides* Bge. からのステロイドサポニンは血管、特に脳血管を広げるかどうか、及びそれらがインビボのモデルにおいて脳血流を改善できるかどうかを知る必要がある。

1．脳基部動脈での試験

50

方法：

- (1) 1 mg の化合物 I、II、III 及び IV をそれぞれ 1 mL の生理食塩液に溶解する。50 μ L の溶液をとり、5 mL の生理食塩液に再度溶解する。
- (2) 新鮮な脳から大脳及び小脳を除き、そして基部動脈の中央部分をとる。
- (3) 変換器及び増幅器を調節してポインターをゼロにする。
- (4) 基部動脈を変換器に取り付け、そしてそれを浴中に浸す。

結果：

- (1) 50 μ L の化合物 III を浴に加えた後、基部動脈はわずかに広がり、そして血管収縮薬 KCl を加えたときに再度収縮しなかった。
- (2) 同じ体積の化合物 I、II または IV の溶液を加えたときに明らかな影響はなかった。
- (3) 本試験を繰り返し、そして同じ結果を得た。

10

【0125】

結果は、化合物 III は、 10^{-5} g/mL (0.01 mM) の濃度で、脳血管を広げ、そして血管収縮薬によって起こされる収縮に抵抗することができ、これは同じ試験条件における陽性の Ligustrazine のものよりも 2 ケタの大きさ低い。

2. ラットの胸部大動脈での試験

方法：

ラットから胸部大動脈をとり、結合組織及び血液を除き、大動脈を Krebs-Henseleit 液内に浸し、そして酸素を通し、大動脈を変換器にとりつけ、そしてその半径方向の張力を測定した。

20

結果：図 1

図 1 は、化合物 III が 0.04 mM の濃度において、KCl によって起こされるラットの大動脈の収縮を抑止できることを示した。

3. ラットの脳血流への影響

インビボでの試験の後、我々は、化合物 III のインビボモデルにおける脳血流への影響を観察した。

【0126】

方法：水素 - クリーニング法

装置：LS-III 血流メーター

動物：ウイスターラット、雄

方法及び手順：

1. ラットを 10% の抱水クロラルで麻酔し、腿の一般血管を分離し、そして挿管して化合物 III を注入する用意をした。
2. 頭蓋ドリルで皮膚上皮の頭頂葉内に窓を開き、そして水素電極をしまった。
3. 手術後、血流メーター及びコンピューターを動物とつなぎ、30 分間安定化し、そして rCBF (局所脳血流) を測定し始めた。結果：以下の表及び図 2

30

【0127】

【表 7】

脳血流 (rCBF) への化合物 III (50 μ g/kg) の影響

時間 (分)	ラット1	ラット2	ラット3	ラット4	平均	速度
	(ml/mg/分)	(ml/mg/分)	(ml/mg/分)	(ml/mg/分)	(ml/mg/分)	rCBF 増加 (%)
0	114.17	130.86	144.25	135.97	131.3125	0
1	133.30	150.05	139.55	143.35	141.5625	7.805810
10	147.99	143.41	162.10	145.64	149.7850	14.06759
20	158.46	136.33	177.59	121.24	148.4050	13.01666
30	164.61	182.96	171.42	135.00	163.4975	24.51023
40	176.90	202.46	165.94	113.38	164.6700	25.40314
50	176.77	193.57	163.08	131.17	166.1475	26.52832

【0128】

結果及び議論

1. 化合物 III が、50 μ g/kg の濃度でインビボにおいてラットの rCBF を 26.5% 増加できることが示された。このことは、化合物 III が脳血流循環及び代謝を改善でき、そしてそれは痴呆、特に血管性痴呆の改善に有益である。

2. 溶血現象がサポニンについての最大の問題である。この有効濃度での化合物 III の静脈内投与の時に、溶血現象はみられなかった。

二. 化合物 III のニコチンレセプターへの影響

コリン作用系は認識と多くの関係を有している。最近、疫学的調査、病理学的研究及びいくつかの医薬品の活性(タクリン等)は、ニコチンレセプターは AD において重要な役割を演じることを示した。1980 年後半から、いくつかの試験はほとんど、AD を有する患者の脳組織内の Nレセプターの数が通常の人々のものよりも 50% 低いことを、一致して示した。脳の Nレセプターの高親和性結合と低い、そして比較的の高い減少の比率との間に一方に傾いた発現がある。末梢 Nレセプターの数も減少した。ニコチンはニコチンレセプターの数を上にも調節し、そして記憶及び注意を改善する。しかし、ニコチンは、抗痴呆薬剤として、いくつかの潜在的な問題(副作用)を与える。それらの調査者は、中枢ニコチンレセプターと選択的に相互作用する、一連のニコチン誘導体を抗痴呆薬剤として開発しようとする。

【0129】

この試験において、我々は 2 つの異なる細胞系列、SY-SH5Y 及び M10 を使用した。SY-SH5Y は、天然のニコチン及びムスカリンレセプターを出すヒトの神経芽腫細胞であり、M10 細胞はリコンビナント $\alpha 4 \beta 2$ 亜類の鶏ニコチンレセプターを出す。我々は、両方の細胞系列を化合物 III で 3 日間 $1 \mu M \sim 100 \mu M$ の異なる濃度で処理し、そして nAChRs の量を測定した。結果を図 3 及び 4 に示す。

【0130】

この治療は、有意に nAChRs の数を上に調節し、そしてこの効果は濃度に依存性であった。化合物 III は、nAChRs の数を上に調節することにおいて、ニコチンとして同様の能力を示した。それは Anemarrhena asphodeoides Bge の主成分 1 つであり、それは中国において 1 千年以上も使用されてきており、そして毒性がほとんどない。さらに、その構造はニコチンと非常に異なっており、従って我々は、ニコチンレセプターと相互作用する新しい種類の抗痴呆化合物を発見できると希望する。

三. ラットの海馬ニューロン細胞の増殖への影響

方法:

1. ラットの胎児から海馬ニューロン細胞を得、そして予備的な細胞培養を行う。

【0131】

2. 細胞を7日間、異なる濃度でインキュベートする(各群について3または5の平行穴)。

【0132】

3. MTT染色を行い、OD値を測定する。

【0133】

【表8】

結果:

ラット海馬細胞の増殖に対する影響

試料濃度 ($\mu\text{g/ml}$)	化合物III		粗フロスタノールサポニンZMZ	
	ODの平均	増殖率(%)	ODの平均	増殖率(%)
control	0.0624	0	0.0624	0
0.1	0.0773	23.87821	-	-
1	0.0663	6.25000	0.0600	-3.84615
10	0.0860	37.82051	0.0600	-3.84615
50	0.0807	29.32692	0.0480	-23.07692
100	0.0750	20.19231	0.0417	-33.17308
500	0.0903	44.71154	0.0577	-7.53205
1000	0.0673	7.85256	-	-

【0134】

予備細胞培養は、化合物IIIがラットの海馬ニューロン細胞の増殖を促進できることを示した。この化合物へ7日間暴露すると、各群における細胞の数の増加は、 $0.1 \mu\text{M} \sim 500 \mu\text{M}$ の範囲の濃度で23.9%~44.7%の範囲であった。

四. ヒドロキシ遊離基への除去効果

遊離基反応は、神経細胞膜の構造及び機能の損傷を引き起こす顕著な因子の1つであると考えられる。遊離基で仲介されるニューロンの損傷は、アルツハイマー病の病因への主に寄与するものであり得ることへの合意が大きくなりつつある。幾人かの調査者が痴呆を治療するためのいくつかの遊離基除去物を開発している。我々は、*Anemarrhena asphodeloides* Bge.からのサポニンのヒドロキシ遊離基への除去効果をESR(電子スピン共鳴)法によって研究した。

1. 材料及び方法:

ヒドロキシ遊離基を、フェントン反応によって発生させる。 $5 \mu\text{L}$ の 2mM FeSO_4 、 $10 \mu\text{L}$ の 0.8mM DMPO 及び $5 \mu\text{L}$ の 50mM EDTA を混合し、 $5 \mu\text{L}$ の H_2O_2 を混合物へ添加し、次に $25 \mu\text{L}$ のサポニンまたは蒸留水を加え、混合して、そして溶液を石英細管内に入れ、そしてそれを1分後に測定した。

【0135】

試験は、ESP 300 ESRスペクトラムメーター上で行う。

条件: 室温、 $\text{CF} = 3470 \text{GS}$ 、 $\text{SW} = 200 \text{GS}$ 、 $\text{MF} = 25 \text{KHz}$ 、 $\text{MA} = 1 \text{GS}$ 、 $\text{CT} = 84 \text{S}$ 、 P (電力) = 10mW 。

【0136】

化合物I、II、III、IV、V、VI、VII、VIIIをそれぞれ秤量し、そして蒸留水を加えて 10mg/mL の溶液をつくる。各溶液をヒドロキシ遊離基系に、1:1の比率で加える。蒸留水はブランク対照として同じ条件で働く。ESRスペクトル信号の大きさを測定する。

【 0 1 3 7 】

次の式を基に、クリアランス率を計算する。

$$E(\%) = (h_o - h_x) / h_o \times 100$$

「 h_o 」は対照のESPスペクトルの高さを示す。

「 h_x 」はサポニンが加えられたときの相当するピークの高さを示す。

2. 結果

【 0 1 3 8 】

【表 9】

有離基への化合物 I-VIII の除去効果

試料	濃度 (mg/ml)	除去率 (%)
対照	0	0.0
I	5	23.3
II	5	40.0
III	5	56.7
IV	5	33.3
V	5	23.3
VI	5	0.0
VII	5	-20.0
VIII	5	0.0

10

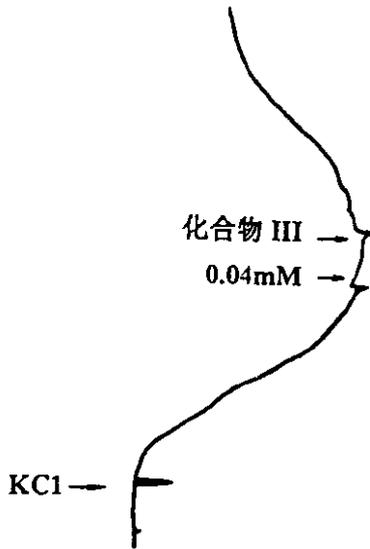
20

【 0 1 3 9 】

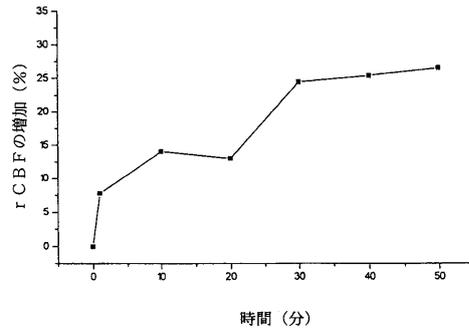
結果は、化合物 I、II、III、IV がフェントン反応 ($Fe^{2+} + H_2O_2$) によって生じたヒドロキシ遊離基を除去できることを示した。化合物 III の効果が最も有効である。5 mM の濃度において、その禁止率は 56.7% である。物質 V、VI、VII 及び VIII は除去効果はなかった。これはそれらが水溶性でないからかもしれない。試験は、化合物 III の抗痴呆活性がその遊離基の除去効果と関係し得ることを示す。

30

【図1】

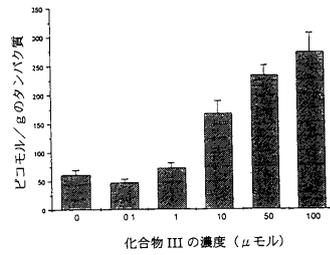


【図2】



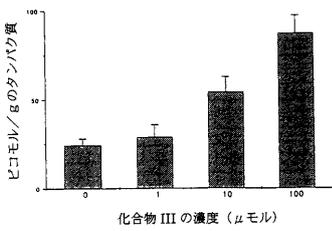
脳血流量 (rCBF) に対する化合物 III (50 μ g/kg) の影響

【図3】



化合物 III で処理されたM10細胞への [³H]ニコチンの特異的結合

【図4】



化合物 III で処理したSY-SH5Y細胞への [³H]エピバチジンの特異的結合

フロントページの続き

- (74)代理人 100075236
弁理士 栗田 忠彦
- (74)代理人 100075270
弁理士 小林 泰
- (74)代理人 100104374
弁理士 野矢 宏彰
- (72)発明者 マ, パイピン
中華人民共和国 100850 北京, タイピン・ロード 27, インスティテュート・オブ・ラ
ディエーション・メディスン内
- (72)発明者 ドン, ジュンキシ
中華人民共和国 100850 北京, タイピン・ロード 27, インスティテュート・オブ・ラ
ディエーション・メディスン内
- (72)発明者 ワン, ピンジ
中華人民共和国 100850 北京, タイピン・ロード 27, インスティテュート・オブ・ラ
ディエーション・メディスン内

審査官 齋藤 恵

- (56)参考文献 KIMURA, M. et al., Combined Potentiating Effects of Byako-ka-ninjin-to, Its Constituents, Rhizomes of Anemarrhena asphodeloides, Timosaponin A-III, and Calcium on Pilocarpine-Induced Saliva Secretion in Streptozocin-Diabetic Mice, *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 1996年, Vol.19, No.7, p.926-931
- NAKASHIMA, N. et al., Isolation of Pseudoprotosaponin AIII from Rhizomes of Anemarrhena asphodeloides and Its Hypoglycemic Activity in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice, *J. Nat. Prod.*, 1993年, Vol.56, No.3, pp.345-350
- 南雲 清二ほか, 知母のサポニン成分について, *薬学雑誌*, 1991年, Vol.111, No.6, pp.306-310
- INOUE, T. et al., Steroidal saponins from the tubers of *Dichelostemma multiflorum* and their inhibitory activity on cyclic-amp phosphodiesterase, *Phytochemistry*, 1995年, Vol.39, No.5, Pages 1103-1110
- LI, X.-C. et al., Steroidal saponins from *Diuranthera major*, *Phytochemistry*, 1990年, Volume 29, Issue 12, Pages 3899-3901
- KAWASAKI, T. et al., Digitalis saponins-IV: Structure of F-gitonin, *Tetrahedron*, 1965年, Volume 21, Issue 3, Pages 299-307
- 毛利 友二郎, A New Diosgenin Glycoside, *Aspidistrin*, from *Aspidistra elatior* BLUME, *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 1973年, Vol.21, No.1, p.224-227
- NL8901732, 1991年
- 杉山 真理ほか, Five Steroidal Components from the Rhizomes of *Polygonatum odoratum* var. *pluriflorum*, *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 1984年, Vol.32, No.4, p.1365-1372
- SON, K.H. et al., Steroidal Saponins from the Rhizomes of *Polygonatum sibiricum*, *J. Nat. Prod.*, 1990年, Vol.53, No.2, pp 333-339
- MA, B. et al., Studies on the furostanol saponins from *Anemarrhena asphodeloides*, *Yaouxue Xuebao*, 1996年, Vol.31, No.4, p.271-277

(58)調査した分野(Int.Cl., D B名)

A61K 31/00-704

C07J 17/00

C07J 51/00
CA/REGISTRY(STN)