

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4657164号  
(P4657164)

(45) 発行日 平成23年3月23日(2011.3.23)

(24) 登録日 平成23年1月7日(2011.1.7)

(51) Int.Cl.		F 1
<b>A 6 1 K 47/16</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 47/16
<b>A 6 1 K 47/20</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 47/20
<b>A 6 1 K 47/22</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 47/22
<b>A 6 1 K 9/08</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 9/08
<b>A 6 1 K 9/20</b>	<b>(2006.01)</b>	A 6 1 K 9/20

請求項の数 13 (全 30 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2006-192105 (P2006-192105)	(73) 特許権者	503179908
(22) 出願日	平成18年7月12日(2006.7.12)		エミスフェア・テクノロジーズ・インク
(62) 分割の表示	特願平6-523595の分割		アメリカ合衆国・ニューヨーク・1053
原出願日	平成6年4月22日(1994.4.22)		2・ホーソーン・スカイライン・ドライブ
(65) 公開番号	特開2006-273875 (P2006-273875A)		・15
(43) 公開日	平成18年10月12日(2006.10.12)	(74) 代理人	100064908
審査請求日	平成18年8月11日(2006.8.11)		弁理士 志賀 正武
(31) 優先権主張番号	051,019	(74) 代理人	100089037
(32) 優先日	平成5年4月22日(1993.4.22)		弁理士 渡邊 隆
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	ミルステイン、サム ジェイ
(31) 優先権主張番号	205,511		アメリカ合衆国・ニューヨーク・1053
(32) 優先日	平成6年3月2日(1994.3.2)		8・ラーチモント・ノウルウッド・ドライブ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		・1

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 経口薬剤移送組成物およびその方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

(A) 少なくとも1つの生物学的活性剤と；

(B) 式：



[式中、Arは、置換または無置換フェニルであり；

Yは、 $-C(=O)-$  または  $-SO_2-$  であり；R<sup>1</sup>は、 $-N(R^4)-R^3-C(=O)-$  であり；ここで、R<sup>3</sup>は、フェニル、(C<sub>1</sub>からC<sub>10</sub>アルキル)フェニル、またはフェニル(C<sub>1</sub>からC<sub>10</sub>アルキル)であり；R<sup>3</sup>は、任意に、C<sub>1</sub>からC<sub>4</sub>アルキル、C<sub>1</sub>からC<sub>4</sub>アルケニル、C<sub>1</sub>からC<sub>4</sub>アルコキシ、  
-OH、-SH、-CO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>、シクロアルキル、シクロアルケニル、複素環、アリール、  
アルカリール、ヘテロアリール、または、ヘテロアルカリール、または、これらの組み合わせにより置換され；R<sup>5</sup>は、水素、C<sub>1</sub>からC<sub>4</sub>アルキル、または、C<sub>1</sub>からC<sub>4</sub>アルケニルであり；R<sup>3</sup>には、任意に、酸素、窒素、イオウ、またはこれらの組みあわせが介在していてもよく；R<sup>4</sup>は、水素であり；nは、1から5である]を有する化合物  
を含有する経口組成物。

10

20

## 【請求項 2】

前記生物学的活性剤が、製薬的又は治療用薬剤である、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 3】

前記生物学的活性剤が、ペプチド、多糖、ムコ多糖、炭水化物、脂質、殺虫剤、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 4】

前記生物学的活性剤が、ヒト成長ホルモン、ウシ成長ホルモン、成長ホルモン - 放出ホルモン、インターフェロン、インターロイキン - I、インターロイキン - II、インスリン、ヘパリン、低分子量ヘパリン、カルシトニン、エリスロポイエチン、心房性ナチュレティック (naturetic) 因子、抗原、モノクローナル抗体、ソマトスタチン、アドレノコルチコトロピン、ゴナドトロピン放出ホルモン、オキシトシン、バソプレッシン、ナトリウムクロモリン、バンコマイシン、デスフェリオキサミン、またはこれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項 1 に記載の組成物。

10

## 【請求項 5】

前記生物学的活性剤が、インターフェロン、インスリン、成長ホルモン、ヘパリン、カルシトニン、ナトリウムクロモリンを含む、請求項 3 に記載の組成物。

## 【請求項 6】

前記生物学的活性剤が、カルシトニンである、請求項 3 に記載の組成物。

## 【請求項 7】

前記生物学的活性剤が、成長ホルモンである、請求項 3 に記載の組成物。

20

## 【請求項 8】

前記生物学的活性剤が、インターフェロンである、請求項 3 に記載の組成物。

## 【請求項 9】

前記生物学的活性剤が、ナトリウムクロモリンである、請求項 3 に記載の組成物。

## 【請求項 10】

(A) 請求項 1 に記載の組成物；および

(B) (a) 賦形剤、

(b) 希釈剤、

(c) 崩壊剤、

(d) 潤滑剤、

(e) 可塑剤、

(f) 着色剤、

(g) 投与ビヒクル、または

(h) これらのあらゆる組み合わせ

を含有する、投与単位。

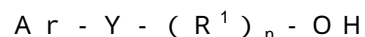
30

## 【請求項 11】

錠剤、カプセル、または液剤を含む、請求項 10 に記載の投与単位。

## 【請求項 12】

生物学的活性剤を含む経口組成物の製造における、式：



40

[式中、Ar は、置換または無置換フェニルであり；

Y は、 $-C(=O)-$  または  $-SO_2-$  であり；

$R^1$  は、 $-N(R^4)-R^3-C(=O)-$  であり；

ここで、 $R^3$  は、フェニル、 $(C_1$  から  $C_{10}$  アルキル) フェニル、またはフェニル ( $C_1$  から  $C_{10}$  アルキル) であり；

$R^3$  は、任意に、 $C_1$  から  $C_4$  アルキル、 $C_1$  から  $C_4$  アルケニル、 $C_1$  から  $C_4$  アルコキシ、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-CO_2R^5$ 、シクロアルキル、シクロアルケニル、複素環、アリール、アルカリール、ヘテロアリール、または、ヘテロアルカリール、または、これらの組み合わせにより置換され；

$R^5$  は、水素、 $C_1$  から  $C_4$  アルキル、または、 $C_1$  から  $C_4$  アルケニルであり；

50

R<sup>3</sup>には、任意に、酸素、窒素、イオウ、またはこれらの組みあわせが介在していてもよく；

R<sup>4</sup>は、水素であり；

nは、1から5である]を有する化合物の使用。

【請求項13】

(A) 少なくとも1つの生物学的活性剤と；

(B) 式：



[式中、Arは、置換または無置換フェニルであり；

Yは、 $-C(=O)-$ または $-SO_2-$ であり；

R<sup>1</sup>は、 $-N(R^4)-R^3-C(=O)-$ であり；

ここで、R<sup>3</sup>は、フェニル、(C<sub>1</sub>からC<sub>10</sub>アルキル)フェニル、またはフェニル(C<sub>1</sub>からC<sub>10</sub>アルキル)であり；

R<sup>3</sup>は、任意に、C<sub>1</sub>からC<sub>4</sub>アルキル、C<sub>1</sub>からC<sub>4</sub>アルケニル、C<sub>1</sub>からC<sub>4</sub>アルコキシ、  
-OH、-SH、-CO<sub>2</sub>R<sup>5</sup>、シクロアルキル、シクロアルケニル、複素環、アリール、  
アルカリアル、ヘテロアリール、または、ヘテロアルカリアル、または、これらの組み合わせにより置換され；

R<sup>5</sup>は、水素、C<sub>1</sub>からC<sub>4</sub>アルキル、または、C<sub>1</sub>からC<sub>4</sub>アルケニルであり；

R<sup>3</sup>には、任意に、酸素、窒素、イオウ、またはこれらの組みあわせが介在していてもよく；

R<sup>4</sup>は、水素であり；

nは、1から5である]を有する化合物

を混合することを含む、経口組成物の調製方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

経口薬剤移送組成物およびその方法 発明の分野 本発明は、経口薬剤移送に適した組成物に関し、特に、修飾アミノ酸類および修飾アミノ酸誘導体を生物学的活性ペプチド類等の感受性薬剤用キャリアとして使用する組成物に関する。修飾アミノ酸類またはその誘導体は、動物に対しての経口投与に適した生物学的活性剤類との非共有混合物を形成可能である。該組成物の調製方法および投与方法も開示されている。

【背景技術】

【0002】

発明の背景 生物学的薬剤、たとえばこれらに限定されるわけではないが、薬理的薬剤および治療薬剤を動物に移送する従来の手段は、体による化学的バリアおよび物理的バリアのために、きびしく制限されることがある。胃腸管(GI)における過度なpH変化、強力な消化酵素、および、活性剤が胃腸管に浸透しないことなどの化学的及び物理的バリアがなければ、多くの生物学的活性剤の経口移送は、種々のルートで行われる。経口投与に典型的に適するわけではない薬剤としては、カルシトニンおよびインスリンなどの生物学的に活性なペプチドがあげられる。該物理化学バリアにより影響される他の化合物の例としては、多糖類、特にムコ多糖類があげられ、たとえばこれらに限定されるわけではないが、ヘパリン；ヘパリノイド類；抗生物質類；および他の有機物質類が挙げられる。該薬剤は、酸加水分解、酵素などにより胃腸管において直ちに破壊される。

【0003】

破壊されやすい薬剤を経口投与する従来の方法は、人工的に腸壁の浸透性を向上させるために、添加物(たとえば、レゾルシノール類および非イオン界面活性剤、たとえばポリオキシエチレンオレイルエーテルおよびn-ヘキサデシルポリエチレンエーテルなど)と共に投与すること、および、酵素分解を抑制するために、酵素抑制剤(たとえば、膵臓トリプシン抑制剤、ジソプロピルフルオロホスファート(DFF)およびトラシロール)と共に投与することに依存していた。リポソームはまた、インスリン及びヘパリン用の薬剤

10

20

30

40

50

移送システムとしても開示されている。たとえば、文献（米国特許 4, 239, 754 ; Patel et al. (1976) FEBS Letters Vol. 62, p. 60 ; および Hashimoto et al. Endocrinol. Japan, Vol. 26, P. 337) 参照。しかしながら、前記薬剤移送システムを広範囲に使用することは、以下の理由から妨げられる：(1) 添加物または抑制剤を毒性量使用する必要がある；(2) 適当な低 MW 被移送体 (cargo) の欠如；(3) システムの寿命および安定性が乏しく、保存性が適当でない；(4) システム調製の困難性；(5) 活性成分を保護するためのシステムがない；および(6) 活性剤の吸収促進用システムがない。

【0004】

近年、混合アミノ酸類のプロテノイド類または人工ポリマー類の微球体が、薬剤移送用として開示されている。たとえば、米国特許 4, 925, 673 は、微球体構造を有する薬剤およびその調製及び使用方法を開示する。該プロテノイド微球体は、多くの活性剤を移送するのに有用である。

【特許文献 1】米国特許 4, 239, 754

【特許文献 2】米国特許 4, 925, 673

【非特許文献 1】Patel et al. (1976) FEBS Letters Vol. 62, p. 60

【非特許文献 2】Hashimoto et al. Endocrinol. Japan, Vol. 26, P. 337

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

生物学的に活性な薬剤を広範囲に移送可能であり、容易に調製される簡便で高価ではない移送システムが所望されている。

【課題を解決するための手段】

【0006】

修飾アミノ酸、アミノ酸誘導体、ペプチド、およびペプチド誘導体をキャリアとして組み入れている生物学的活性剤の経口薬剤移送用組成物が提供される。

【0007】

該組成物は、(A) 少なくとも 1 つの生物学的活性剤と；

(B) 少なくとも 1 つのキャリアとを含有する組成物であって、該キャリアが、(a) (i) アミノ酸の少なくとも 1 つのアシル化アルデヒド、(ii) アミノ酸の少なくとも 1 つのアシル化ケトン、(iii) ペプチドの少なくとも 1 つのアシル化アルデヒド、(iv) ペプチドの少なくとも 1 つのアシル化ケトン、または、(v) (a) (i)、(a) (ii)、(a) (iii)、および (a) (iv) の種々の組み合わせ；

(b) (i) カルボキシメチル - フェニルアラニン - ロイシン、(ii) 2 - カルボキシ - 3 - フェニルプロピオン - ロイシン、(iii) 2 - ベンジルコハク酸、または、(iv) アクチノニン、または、(v) 式： $Ar - Y - (R^1)_n - OH$  (式中、Ar は、置換または無置換フェニルまたはナフチルであり；

Y は、 $-CO-$  または  $-SO_2-$  であり；

$R^1$  は、 $-N(R^4) - R^3 - CO-$  であり；

ここで、 $R^3$  は、 $C_1$  から  $C_{24}$  アルキル、 $C_1$  から  $C_{24}$  アルケニル、フェニル、ナフチル、( $C_1$  から  $C_{10}$  アルキル) フェニル、( $C_1$  から  $C_{10}$  アルケニル) フェニル、( $C_1$  から  $C_{10}$  アルキル) ナフチル、( $C_1$  から  $C_{10}$  アルケニル) ナフチル、フェニル ( $C_1$  から  $C_{10}$  アルキル)、フェニル ( $C_1$  から  $C_{10}$  アルケニル)、ナフチル ( $C_1$  から  $C_{10}$  アルキル)、および、ナフチル ( $C_1$  から  $C_{10}$  アルケニル) であり；

$R^3$  は、 $C_1$  から  $C_4$  アルキル、 $C_1$  から  $C_4$  アルケニル、 $C_1$  から  $C_4$  アルコキシ、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-CO_2R^5$ 、シクロアルキル、シクロアルケニル、ヘテロサイクリック、アリール、アルカリール、ヘテロアリール、または、ヘテロアルカリール、または、これらの組み合わせにより、任意に置換され；

$R^5$  は、水素原子、 $C_1$  から  $C_4$  アルキル、または、 $C_1$  から  $C_4$  アルケニルであり；

$R^3$  には、任意に、酸素原子、窒素原子、イオウ原子、またはこれらの組み合わせが入

10

20

30

40

50

っていてもよく；

$R^4$ は、水素原子、 $C_1$ から $C_4$ アルキル、または、 $C_1$ から $C_4$ アルケニルであり；

$n$ は、1から5である)で表わされる化合物；

(vi) (b) (i)、(b) (ii)、(b) (iii)、(b) (iv)、および(b) (v)の種々の組み合わせ；または、(c) (a)と(b)の組み合わせを含有する、組成物である。

【0008】

また、少なくとも1つの生物学的活性剤を、上記少なくとも1つのキャリアと、任意にビヒクルとを混合することを含有する、該組成物の調製方法も提供される。

【0009】

他の実施態様においては、該無毒性キャリアが、投与前に生物学的活性剤とキャリアを混合または配合することによって、移送システムの一部として動物に経口投与される。該キャリアはまた、活性剤の存在下、微球体を形成可能である。活性剤を含有する微球体は、次いで経口投与される。また、本発明は、該組成物を含有する投与単位製剤を提供するものである。

10

【発明を実施するための最良の形態】

【0010】

修飾形態におけるアミノ酸およびアミノ酸誘導体が、種々の理由から経口投与不可能であると考えられていた、ヘパリンなどの多糖類、インスリン、カルシトニンなどのホルモン(これらに限られるわけではないが)を含有する、経口感受性生物学的活性剤を移送するのに使用可能である。たとえばインスリンは、胃腸管の変性状態に敏感である。ヘパリンもまた、その電荷および親水性特性のために、胃腸管からは容易に吸収されない。本発明による修飾アミノ酸および修飾アミノ酸誘導体とは対照的に、修飾していないフリーのアミノ酸は、不安定な生物学的活性剤の胃腸管における破壊に対して保護しない。

20

【0011】

本発明の組成物は、種々の動物、たとえば、鳥類、哺乳類、たとえば霊長類、特にヒト、および虫類に生物学的活性剤を投与するのに有用である。

【0012】

本発明により提供される他の優位性は、修飾アミノ酸誘導体を調製して単離する方法において、容易に入手可能で高価でない出発原料を使用することである。

該方法は、簡便に実施され、商業的製品用にスケールアップことができる。

30

【0013】

ここに開示するキャリアとともに使用するのに適する生物学的活性剤としては、胃腸粘膜を通過しないか、ゆっくりとわずかにしか通過せず、および/または胃腸管における酸および酵素によって化学的破壊を受けやすいペプチド類、特にスモールペプチドホルモン；多糖類、特にムコ多糖の混合物；炭水化物；脂質；またはこれらの混合物があげられるが、これらに限定されるわけではない。前記生物学的活性剤の例としては、ヒト成長ホルモン、ウシ成長ホルモン、成長ホルモン-放出ホルモン、インターフェロン、インターロイキン-11、インスリン、ヘパリン、特に低分子量ヘパリン、カルシトニン、エリスロポイエチン、心房性ナチュレティック(naturetic)因子、抗原、モノクローナル抗体、ソマトスタチン、アドレノコルチコトロピン、ゴナドトロピン放出ホルモン、オキシトシン、バソプレッシン、ナトリウムクロモリン(ナトリウム=またはジナトリウム=クロモグリカート)、バンコマイシン、デスフェリオキサミン(DFO)、またはこれらの組み合わせが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。

40

【0014】

さらに、本発明のキャリアは、殺虫剤等の他の活性剤を移送するのに使用可能である。

ここで使用するアミノ酸とは、天然または合成アミノ酸を含有する、少なくとも1つのフリーのアミン基を有する種々のカルボン酸である。好ましいアミノ酸としては、 $\alpha$ -アミノ酸、より好ましくは天然 $\alpha$ -アミノ酸であり、非 $\alpha$ -アミノ酸も同様に有用である。

【0015】

ここで使用するポリアミノ酸は、結合可能な他の基、たとえば、エステル、無水物また

50

は無水結合により形成された結合によって結合した2以上のアミノ酸またはペプチドのことをいう。

ペプチドとは、ペプチド結合により結合した2以上のアミノ酸を含有することを意味する。ペプチドは、2つのアミノ酸を含有するジペプチドから数百のアミノ酸を含有するポリペプチドで、種々の長さのものであってもよい。文献(Chambers Biological Dictionary, editor Peter M. B. Walker, Cambridge, England: Chambers Cambridge, 1989, page 215)参照のこと。本発明において最も有用なペプチド類は、ジペプチド、トリペプチド、テトラペプチド、およびペンタペプチドがあげられる。好ましいペプチドは、ジペプチド、トリペプチドである。ペプチドは、ホモ-またはヘテロ-ペプチドであってもよく、天然アミノ酸、合成アミノ酸、またはこれらの組み合わせであってもよい。

10

#### 【0016】

ここで使用するアミノ酸誘導体およびペプチド誘導体とは、アミノ酸アルデヒドまたはケトンおよび/またはペプチドアルデヒドまたはケトンを意味し、ここで、-COOH基は、ケトンまたはアルデヒドに変換されているものである。

#### 【0017】

修飾アミノ酸、ペプチド、およびそれらの誘導体とは、以下に記載するように少なくとも1つのフリーのアミン基を、これと反応するアシル化剤またはスルホン化剤と反応させることによってアシル化またはスルホン化することにより修飾されたアミノ酸、アミノ酸誘導体、ペプチド、およびペプチド誘導体を意味する。

20

#### 【0018】

本発明においてアミノ酸またはペプチドの成分として使用される好ましい天然アミノ酸は、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、シトルリン、システイン、シスチン、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、オルニチン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、バリン、ヒドロキシプロリン、 $\beta$ -カルボキシグルタマート、またはO-ホスホセリンである。最も好ましいアミノ酸は、アルギニン、ロイシン、リジン、フェニルアラニン、チロシン、およびバリンである。

#### 【0019】

本発明においてアミノ酸またはペプチドの成分として使用される好ましい非天然アミノ酸は、 $\beta$ -アラニン、フェニルグリシン、 $\beta$ -アミノ酪酸、 $\gamma$ -アミノ酪酸、4-(4-アミノフェニル)酪酸、 $\beta$ -アミノイソ酪酸、 $\beta$ -アミノカプロン酸、7-アミノヘプタン酸、 $\beta$ -アスパラギン酸、アミノ安息香酸、(アミノメチル)安息香酸、(アミノフェニル)酢酸、アミノ馬尿酸、 $\beta$ -グルタミン酸、システイン(ACM)、 $\beta$ -リジン、 $\beta$ -リジン(A-Fmoc)、メチオニン=スルホン、ノルロイシン、ノルバリン、オルニチン、d-オルニチン、p-ニトロ-フェニルアラニン、ヒドロキシ=プロリン、およびチオプロリンである。

30

#### 【0020】

本発明に有用なアミノ酸は、以下の式： $\text{HN}(\text{R}^4) - (\text{R}^2)_n - \text{OH}$ で表わされる。

(式中、 $\text{R}^2$ は、式： $-\text{R}^3 - \text{CO}-$ で表わされ、ここで、 $\text{R}^3$ は、 $\text{C}_1$ から $\text{C}_{24}$ アルキル、 $\text{C}_1$ から $\text{C}_{24}$ アルケニル、フェニル、ナフチル、( $\text{C}_1$ から $\text{C}_{10}$ アルキル)フェニル、( $\text{C}_1$ から $\text{C}_{10}$ アルケニル)フェニル、( $\text{C}_1$ から $\text{C}_{10}$ アルキル)ナフチル、( $\text{C}_1$ から $\text{C}_{10}$ アルケニル)ナフチル、フェニル( $\text{C}_1$ から $\text{C}_{10}$ アルキル)、フェニル( $\text{C}_1$ から $\text{C}_{10}$ アルケニル)、ナフチル( $\text{C}_1$ から $\text{C}_{10}$ アルキル)

40

、および、ナフチル( $\text{C}_1$ から $\text{C}_{10}$ アルケニル)であり；

任意に、 $\text{R}^3$ は、 $\text{C}_1$ から $\text{C}_4$ アルキル、 $\text{C}_1$ から $\text{C}_4$ アルケニル、 $\text{C}_1$ から $\text{C}_4$ アルコキシ、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{CO}_2\text{R}^5$ 、またはこれらの組み合わせにより、置換され；

$\text{R}^5$ は、水素原子、 $\text{C}_1$ から $\text{C}_4$ アルキル、または、 $\text{C}_1$ から $\text{C}_4$ アルケニルであり；

$\text{R}^3$ には、任意に、酸素原子、窒素原子、イオウ原子、またはこれらの組み合わせが入っていてもよく；

50

$R^4$ は、水素原子、 $C_1$ から $C_4$ アルキル、または、 $C_1$ から $C_4$ アルケニルである)。

フェニルまたはナフチル基は、任意に置換されてもよい。適当な置換基は、 $C_1$ から $C_6$ アルキル、 $C_1$ から $C_6$ アルケニル、 $C_1$ から $C_6$ アルコキシ、ヒドロキシ、チオ、または $CO_2R^6$ であり、式中、 $R^6$ は、水素原子、 $C_1$ から $C_6$ アルキル、 $C_1$ から $C_6$ アルケニルであるが、これらに限定されるわけではない。

#### 【0021】

本発明のアミノ酸誘導体またはペプチド誘導体は、アミノ酸エステルまたはペプチドエステルの適当な還元剤をもちいた還元反応によって容易に調製可能である。たとえば、アミノ酸アルデヒドまたはペプチドアルデヒドは、文献(R. Chen et al., Biochemistry, 1979, 18, 921-926)にしたがって調製可能である。アミノ酸またはペプチドケトン

10

は、文献(Organic Syntheses, Col. Vol. IV, Wiley, (1963), pages 5-6)にしたがって調製可能である。アミノ酸、ペプチド、アミノ酸エステル、ペプチドエステル、および、該誘導体を調製するのに必要な他の薬剤は、商業的に入手可能であり、たとえば、アルドリッチ社(ミルオーキー、WI、米国);シグマ社(セントルイス、MO、米国);およびフルカ社(ロンコンコマ、NY、米国)から入手可能である。

アミノ酸およびペプチドは、少なくとも1つのフリーのアミン基を、該少なくとも1つのフリーのアミン基と反応するアシル化剤またはスルホン化剤で、アシル化またはスルホン化することにより、修飾される。アミノ酸およびペプチドを修飾するのに適当な薬剤としては、以下のものが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。

#### 【0022】

式： $R^7-CO-X$ または $R^7-SO_2-X$ で表わされるアシル化剤またはスルホン化剤。

(式中、 $R^7$ は、好ましくは $C_1$ から $C_{20}$ の、アルキルまたはアルケニル、または、 $C_6$ から $C_{20}$ の芳香族である)。

20

$R^7$ 基は、置換されていて、置換されていないかともよい。好ましい置換基は、 $C_1$ から $C_4$ アルキル、 $C_1$ から $C_4$ アルケニル、 $C_1$ から $C_4$ アルコキシ、 $CO_2R^8$ であり、ここで $R^8$ は、水素原子、 $C_1$ から $C_4$ アルキル、 $C_1$ から $C_4$ アルケニルである。

好ましくは、 $R^7$ は、メチル、エチル、フェニル、ベンジル、またはナフチルである。より好ましくは、 $R^7$ は、フェニル、またはアセチルである。Xは、脱離基である。基体分子が開裂する反応においては、その一部(炭素を含有しない部分)は、通常、脱離基と呼ばれる。文献(Advanced Organic Chemistry, 2d edition, Jerry March, New York: McGraw-Hill Book (1977), page 187)参照。典型的な脱離基としては、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子等のハロゲン原子が挙げられるが、これらに限定されるわけではない。

30

#### 【0023】

アミノ酸およびペプチド用アシル化剤またはスルホン化剤の例としては、ハロゲン化アシル、たとえばアセチル=クロライド、プロピル=クロライド、ベンゾイル=クロライド、ヒップリル=クロライドなど、ハロゲン化スルホニル、たとえば、ベンゼン=スルホニル=クロライド、および、無水物、たとえば、無水酢酸、プロピル酸無水物、安息香酸無水物、馬尿酸無水物などが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。好ましいアシル化剤またはスルホン化剤は、ベンゾイル=クロライド、ベンゼン=スルホニル=クロ

40

ライド、およびヒップリル=クロライドである。

修飾酸化合物は、式： $Ar-Y-(R^1)_n-OH$  (式中、Arは、置換または無置換フェニルまたはナフチルであり；

Yは、 $-CO-$ または $-SO_2-$ であり；

$R^1$ は、 $-N(R^4)-R^3-CO-$ であり；

ここで、 $R^3$ は、 $C_1$ から $C_{24}$ アルキル、 $C_1$ から $C_{24}$ アルケニル、フェニル、ナフチル、( $C_1$ から $C_{10}$ アルキル)フェニル、( $C_1$ から $C_{10}$ アルケニル)フェニル、( $C_1$ から $C_{10}$ アルキル)ナフチル、( $C_1$ から $C_{10}$ アルケニル)ナフチル、フェニル( $C_1$ から $C_{10}$ アルキル)、フェニル( $C_1$ から $C_{10}$ アルケニル)、ナフチル( $C_1$ から $C_{10}$ アルキル)、および、ナフチル( $C_1$ から $C_{10}$ アルケニル)であり；

50

$R^3$ は、 $C_1$ から $C_4$ アルキル、 $C_1$ から $C_4$ アルケニル、 $C_1$ から $C_4$ アルコキシ、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-CO_2R^5$ 、または、これらの組み合わせにより、任意に置換され；

$R^5$ は、水素原子、 $C_1$ から $C_4$ アルキル、または、 $C_1$ から $C_4$ アルケニルであり；

$R^3$ には、任意に、酸素原子、窒素原子、イオウ原子、またはこれらの組みあわせが入っていてもよく；

$R^4$ は、水素原子、 $C_1$ から $C_4$ アルキル、または、 $C_1$ から $C_4$ アルケニルである)で表わされる化合物である。

【0024】

アミノ酸誘導体およびペプチド誘導体は、少なくとも1つのフリーのアミン基を、該少なくとも1つのフリーのアミン基と反応するアシル化剤で、アシル化することにより修飾される。アミノ酸誘導体およびペプチド誘導体を修飾するのに有用な適当なアシル化剤の例は、以下の式で表わされる酸塩化物であるが、これらに限定されるわけではない。

10

【0025】

式： $R^9-CO-X$  式中、 $R^9$ は、好ましくは炭素数1~20の、アルキルまたはアルケニル、好ましくは炭素数1~20の、シクロアルキルまたはシクロアルケニル、または、好ましくは炭素数6~20の芳香族である。 $R^9$ 基は、置換されてもされていなくてもよい。好ましい置換基は、 $C_1$ から $C_4$ アルキル、 $C_1$ から $C_4$ アルケニル、 $C_1$ から $C_4$ アルコキシ、 $CO_2R^{10}$ であり、ここで $R^{10}$ は、水素原子、 $C_1$ から $C_4$ アルキル、または $C_1$ から $C_4$ アルケニルである。好ましくは、 $R^9$ 基は、メチル、エチル、シクロヘキシル、シクロペンチル、シクロヘプチル、フェニル、ベンジル、またはナフチルである。より好ましくは、 $R^9$ 基は、フェニル、シクロヘキシル、シクロペンチル、シクロヘプチル、またはアセチルである。 $X$ は脱離基である。典型的な脱離基は、塩素原子、臭素原子、およびヨウ素原子などのハロゲンであるが、これらに限定されるわけではない。

20

【0026】

アミノ酸誘導体およびペプチド誘導体用アシル化剤の例としては、ハロゲン化アシル、たとえばアセチル=クロライド、プロピル=クロライド、シクロヘキサノイル=クロライド、シクロペンタノイル=クロライド、シクロヘプタノイル=クロライド、ベンゾイル=クロライド、ヒップリル=クロライドなど、および、無水物、たとえば、無水酢酸、プロピル酸無水物、シクロヘキサン酸無水物、安息香酸無水物、馬尿酸無水物などが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。好ましいアシル化剤は、ベンゾイル=クロライド、ベンゼン=スルホニル=クロライド、およびヒップリル=クロライド、アセチル=クロライド、シクロヘキサノイル=クロライド、シクロペンタノイル=クロライド、シクロヘプタノイル=クロライドである。

30

【0027】

アミン基はまた、カルボン酸とジシクロヘキシルカルボジイミド等のカップリング剤との反応により変換可能である。ペプチドにおいては、1以上のアミノ酸が誘導体化(アルデヒドまたはケトン)および/または修飾(アシル化)されてもよい。

【0028】

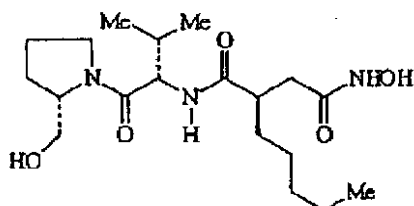
キャリア単独でまたは修飾アミノ酸またはペプチド誘導体とともに使用するキャリアとしては、カルボメトキシ修飾アミノ酸、カルボキシメチル-フェニルアラニン-ロイシン、2-カルボキシ-3-フェニルプロピオニル-ロイシン、2-ベンジルコハク酸およびアクチノニンが挙げられる。アクチノニン化合物としては、アクチノニンまたはエピアクチノニンおよびこれらの誘導体が挙げられる。該化合物は、以下の式で表わされる：

40

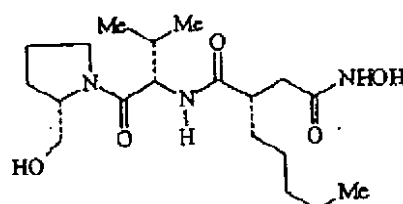
【0029】

## 【化1】

## アクチノニン



## エピアクチノニン

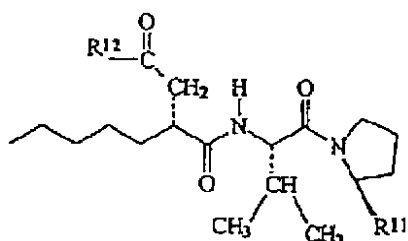


該化合物の誘導体は、米国特許5,206,384に開示されている。

## 【0030】

アクチノニン誘導体は、以下の式：

## 【化2】



## 【0031】

(式中、 $R^{11}$ は、スルホキシメチルまたはカルボキシまたは置換カルボキシ基であり、カルボキサミド、ヒドロキシアミノカルボニルおよびアルコキシカルボニル基から選択され、 $R^{12}$ は、ヒドロキシル、アルコキシ、ヒドロキシアミノ、またはスルホキシアミノ基である)で表わされる。

## 【0032】

修飾アミノ酸誘導体またはペプチド誘導体は、当業者に公知の方法にしたがって、容易に調製し、修飾可能なものである。たとえば、本発明の修飾アミノ酸誘導体は、一つのアミノ酸誘導体またはペプチド誘導体または2以上のアミノ酸またはペプチド誘導体の混合物を、アミドを形成する誘導体に存在するフリーのアミノ部位と反応するアセチル化剤またはアミン修飾剤と、反応させることによって調製可能である。アミノ酸またはペプチドは、修飾して次いで誘導体化するか、誘導体化して次いで修飾するか、または、同時に、修飾して誘導体化することが可能である。保護基は、当業者に公知であるように、所望しない副反応を避けるために使用可能である。

## 【0033】

本発明の修飾アミノ酸および修飾アミノ酸誘導体はまた、一つのアミノ酸、2種以上のアミノ酸、またはアミノ酸エステルの混合物を、アミドまたはスルホンアミドを形成するためのアミノ酸に存在するフリーのアミノ部位と反応するアミン修飾剤と、反応させてもよい。アミノ酸およびアミノ酸エステルは、商業的に入手可能であり、たとえば、アルドリッチ社(ミルオーキー、WI、米国)；シグマ社(セントルイス、MO、米国)；およびフルカ社(ロンコンコマ、NY、米国)から入手可能である。

## 【0034】

たとえば、アミノ酸を、金属水酸化物、たとえば水酸化ナトリウムまたはカリウムのアルカリ水溶液に溶解し、次いで約5 から約70 までのあいだの温度、好ましくは約10 から約40 までの間の温度で、約1時間から約4時間までの間、好ましくは約2.5時間、加熱可能である。アミノ酸における $NH_2$ 基の当量あたり使用されるアルカリの量は、 $NH_2$ 基の当量あたり、約1.25から約3モルまでの間、好ましくは、約1.5から約2.25モルまでの間である。

## 【0035】

10

20

30

40

50

溶液のpHは、約8から約13までの間の範囲で、好ましくは、約10から約12までの間である。

アミノ修飾剤は、攪拌しながらアミノ酸溶液に添加される。該混合物の温度は、約5から約70までのあいだの温度、好ましくは約10から約40までの間の温度で、約1時間から約4時間までの間、保持される。アミノ酸の量に対して使用されるアミノ修飾剤の量は、アミノ酸における全フリーのNH<sub>2</sub>のモルに基づくものである。一般的には、アミノ修飾剤は、アミノ酸における全NH<sub>2</sub>基のモル当量あたり、約0.5から約2.5モル当量までのあいだの量、好ましくは約0.75から約1.25モル当量までの間の量で使用される。

【0036】

反応は、pHが約2から約3までの間になるまで、適当な酸、たとえば濃塩酸で該混合物のpHを調節することによって終了させる。該混合物を室温で放置すると、透明な上層と白またはオフホワイトの沈殿物とが形成される。上層を捨て、修飾アミノ酸を下層からろ過して収集する。該粗修飾アミノ酸を次いで、pHが約9から約13までの間、好ましくはpHが約11から約13までの間で水に溶解する。不溶物をろ過により除去し、ろ液を真空で濃縮する。修飾アミノ酸の収率は一般的には、約30から約60%までの間、通常は約45%である。

【0037】

所望ならば、アミノ酸エステル、たとえばアミノ酸のメチルまたはエチルエステルが、本発明の修飾アミノ酸を調製するのに使用可能である。ジメチルホルムアミドまたはピリジンなどの適当な有機溶媒に溶解されたアミノ酸エステルは、約5から約70までのあいだの温度、好ましくは約25の温度で、約7時間から約24時間までの間、アミノ酸修飾剤と反応させる。アミノ酸エステルに対して使用されたアミノ修飾剤の量は、アミノ酸の場合と同じである。

【0038】

反応溶媒を、負圧下で除去し、エステル官能基を、適当なアルカリ溶液、たとえば1N水酸化ナトリウムで、修飾アミノ酸エステルを、約50から約80までのあいだの温度、好ましくは約70の温度で、エステル基を加水分解し、フリーのカルボキシル基を有する修飾アミノ酸を形成するのに十分な時間、加水分解することによって、除去する。加水分解混合物を次いで、室温まで冷却し、たとえば25%塩酸水溶液で、pH約2から約2.5までの間に酸性化する。

【0039】

該修飾アミノ酸は、溶液から沈殿し、ろ過またはデカンテーションなどの常法にしたがって回収される。

【0040】

該修飾アミノ酸は、再結晶またはカラムによる分離によって、精製可能である。適当な再結晶溶媒システムは、アセトニトリル、メタノールおよびテトラヒドロフランである。分離は、適当なカラムサポートを、たとえば、アルミナで、メタノール/n-プロパノール混合物を移動相として使用して；逆相カラムサポートをトリフルオロ酢酸/アセトニトリル混合物の混合物を移動相として用いて；および移動相として水を用いたイオン交換クロマトグラフィーで行ってもよい。陰イオン交換クロマトグラフィーが行われる場合には、後処理としての0-500mM塩化ナトリウム成分が使用される。修飾アミノ酸はまた、低分子量の非球体材料を除去するために、低級アルコール、たとえばメタノール、ブタノール、またはイソプロパノールを用いて、抽出することによって精製可能である。

【0041】

適当な修飾アミノ酸誘導体としては、N-シクロヘキサノイル-Phe-アルデヒド、N-アセチル-Phe-アルデヒド、N-アセチル-Tyr-ケトン、N-アセチル-Lys-ケトン、および、N-アセチル-Leu-ケトンがあげられるが、これらに限定されるわけではない。特に、修飾アミノ酸誘導体としては、N-シクロヘキサノイル=フェニルラニン=アルデヒドが挙げられる。

10

20

30

40

50

特に、生物学的活性剤としては、カルシトニンが挙げられ、キャリアとしては、アセチル = フェニルアラニン = アルデヒド、カルボメトキシ = フェニルアラニルロイシンおよびアセチル - Phe - Leu - Leu - アルデヒドが挙げられる。

【 0 0 4 2 】

また、特に、前記生物学的活性剤が、1 . 5  $\mu$ g/mLのカルシトニン、1 3 2 mg/mlのアセチル = フェニルアラニン、3 3 mg/mLのカルボメトキシ = フェニルアラニルロイシン、および、2 5 mg/mLのアセチル - Phe - Leu - Leu - Argアルデヒドを含有するものである。

【 0 0 4 3 】

ある実施態様においては、修飾および/または修飾誘導体化アミノ酸は、直接的に、投与前に、活性成分とキャリアとを単純に混合することによって、移送キャリアとして使用可能である。別の実施態様においては、修飾アミノ酸は、活性剤を含有する微球体を形成するために使用可能である。本発明の修飾および/または修飾誘導体化アミノ酸は特に、ある薬理剤、たとえば、それ自体で胃腸粘膜を通過しないか、または、ゆっくりとしか通過しない、および/または、胃腸管における酸および酵素によって化学的分解を受けやすい、スモールペプチドホルモンの経口投与用に有用である。

10

【 0 0 4 4 】

修飾アミノ酸が微球体に変換される場合には、該混合物は、任意に、約20 から約50 までのあいだの温度、好ましくは約40 の温度で、修飾アミノ酸が溶解するまで加熱される。最終溶液は、溶液のmLあたり、修飾アミノ酸を、約1mgから約2000mgまでの間、好ましくは、約1mgから約500mgまでの間で含有する。最終溶液中における活性剤の濃度は、治療の必要投与量に応じて、種々に変換される。必要な場合には、正確な濃度は、たとえば逆相HPLC分析によって定められる。

20

【 0 0 4 5 】

修飾アミノ酸が微球体を調製するのに使用される場合には、以下に示す他の方法が用いられる。修飾アミノ酸を、脱イオン水に、約75から200mg/mlまでの間の濃度で、好ましくは約100mg/mlの濃度で、約25 から約60 まで、好ましくは約40 の温度で溶解する。溶液中に粒状物が残るので、ろ過などの常法にしたがって取り除くことが可能である。

約40 の温度に保持された修飾アミノ酸溶液は、約0 . 05から約2Nまでの、好ましくは約1 . 7Nの酸濃度の酸水溶液(約40 )と、1 : 1 (V/V)で混合する。得られた混合物はさらに、40 で、微球体形成に有効な期間、インキュベートされ、微球体の形成は、顕微鏡で観察される。本発明を実施するにあたり、好ましい添加の順序は、修飾アミノ酸溶液を酸水溶液に添加することである。

30

【 0 0 4 6 】

微球体形成用の適当な酸としては、(a)修飾アミノ酸に悪影響、たとえば化学分解などを与えないもの、(b)微球体形成を妨害しないもの、(c)被移送体(cargo)の微球体カプセル化を妨害しないもの、(d)被移送体(cargo)と逆相互作用しないものが挙げられる。

【 0 0 4 7 】

本発明で使用される好ましい酸は、酢酸、クエン酸、塩酸、りん酸、リンゴ酸、およびマレイン酸である。

40

【 0 0 4 8 】

本発明を実施するにあたり、微球体安定化添加剤が、微球体形成工程の前に、酸水溶液に、またはアミノ酸溶液に組み入れられてもよい。ある薬剤においては、このような添加剤の存在によって、溶液中における微球体の安定性および/または分散性が促進されるものである。

【 0 0 4 9 】

安定化添加剤は、約0 . 1から5% (W/V)までの間、好ましくは約0 . 5% (W/V)の濃度で使用可能である。適当な微球体安定化添加剤としては、アカシアゴム、ゼラ

50

チン、メチルセルロース、ポリエチレングリコール、およびポリリジンが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。好ましい安定化添加剤は、アカシアゴム、ゼラチン、およびメチルセルロースである。

#### 【0050】

上記条件下、修飾アミノ酸分子は、中空または固形マトリックスタイプの微球体を形成し、ここで、被移送体は、キャリアマトリックスまたはカプセルタイプの微球体カプセル液体または固体被移送体に分布される。修飾アミノ酸微球体が、溶解可能な材料、たとえば前記酸水溶液中における薬剤の存在下に形成される場合には、該材料は、微球体内にカプセル化されるものである。このように、薬剤学的に活性な材料、たとえば、ペプチド、タンパク質、および多糖と同様、経口ルートでは通常生物学的活性が低くなる有機分子、たとえば抗微生物剤をカプセル化することが可能である。微球体によってカプセル化可能な薬剤の量は、キャリアへの被移送体の親和性と同様、カプセル化溶液中における薬剤の濃度を含むファクターの数に依存する。

10

#### 【0051】

本発明の修飾アミノ酸微球体は、薬剤学的に無害であり、活性剤の物理的および生物的特性を変えないものである。さらに、カプセル化工程は、活性剤の薬剤学的特性を変えないものである。種々の薬剤が、アミノ酸微球体内にカプセル化可能である。該システムは特に、微球体がターゲットゾーン（すなわち微球体の中身が遊離されるべき場所）に到達する前に、投与された動物の生体内の条件によって破壊されたり、効果がほとんどなくなる化学的または生物学的薬剤を、および、胃腸管においてほとんど吸収されない薬剤を移送するのに優位である。

20

ターゲットゾーンは、使用される薬剤に依存して種々変えることが可能である。

#### 【0052】

微球体の粒子径は、胃腸管のターゲットエリアにおいて、活性剤を放出することを決定するのに重要な役割を有している。好ましい微球体は、約 $< 0.1$ ミクロンから約 $10$ ミクロンまでの間、好ましくは約 $0.5$ ミクロンから約 $5$ ミクロンまでの間の粒子径を有する。微球体は、胃腸管内のターゲットエリアにおいて活性剤を効果的に放出するのに十分小さい。小さい微球体はまた、適当なキャリア流体（たとえば等張食塩水）に懸濁させ、直接循環システムに筋肉内または皮下注射することによって、非経口的に投与可能である。選択された投与モードは、無論、投与される薬剤の必要性に応じて変えられる。大きいアミノ酸微球体（ $> 50$ ミクロン）は、経口移送システムとしてあまり効果的ではない傾向である。

30

#### 【0053】

修飾アミノ酸を水または活性剤を含有する水溶液と接触させることによって形成された微球体のサイズは、物理的または化学的パラメーター、たとえば、カプセル溶液のイオン強度、浸透圧、またはpH、溶液中のイオンサイズなどを操作することによって、および、カプセル化工程において使用された酸の選択によって制御可能である。

#### 【0054】

典型的には、本発明の薬理的組成物は、投与の直前に、活性成分の水溶液とキャリアの水溶液を混合することにより調製する。または、キャリアおよび生物学的活性成分は、製造工程中に混合可能である。該溶液は任意に、りん酸緩衝液塩、クエン酸、酢酸、ゼラチン、およびアラビアゴムなどの添加剤を含有してもよい。

40

#### 【0055】

本発明の実施に際して、安定化添加剤をキャリア溶液に組み入れてもよい。

該添加剤の存在によって、溶液中の薬剤の安定性および分散性が促進される場合がある。

安定化添加剤は、約 $0.1$ から $5\%$ （W/V）までの間、好ましくは約 $0.5\%$ （W/V）の濃度で使用可能である。適当な安定化添加剤としては、アカシアゴム、ゼラチン、メチルセルロース、ポリエチレングリコール、およびポリリジンが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。好ましい安定化添加剤は、アカシアゴム、ゼラチン、および

50

メチルセルロースである。

【0056】

組成物における活性剤の量は、薬理的または生物学的有効量である。しかしながら、該量は、組成物が投与単位製剤で使用される場合、たとえばカプセル、錠剤、または液剤で使用される場合、薬理的または生物学的有効量よりもすくなく含有してもよい。なぜならば、投与単位製剤は、キャリア/生物学的活性剤組成物を種々含有してもよく、また、薬理的または生物学的有効量の分配量を含有してもよいからである。全有効量は、生物学的活性剤の全薬理的または生物学的有効量において含有される累積単位によって投与される。

【0057】

使用される生物学的活性剤の全量は、当業者には定めることが可能である。

しかしながら、驚くべきことに、ある生物学的活性剤、たとえばカルシトニンでは、現在開示されたキャリアを使用すると、極度に効率的な移送が行われる。したがって、同じ血液レベルで治療効果を達成しながら、従来の投与単位製剤または移送システムにおいて使用されるものよりも少ない量の生物学的活性剤を投与することが可能である。

【0058】

本発明の組成物におけるキャリアの量は、移送有効量であり、当業者に良く知られた方法によって生物学的活性剤または特別なキャリアに合わせて定めることが可能である。

【0059】

投与単位製剤はまた、付形剤；希釈剤；分解剤；潤滑剤；かそ剤；着色剤、及びビヒクルなどを含有可能であり、たとえば、水、1, 2-プロパンジオール、エタノール、オリーブ油、またはこれらの組み合わせなどが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。

【0060】

本発明の組成物または投与単位製剤の投与は、経口でも十二指腸注射でもよい。

【0061】

実施例

本発明を以下の実施例においてさらに説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるわけではない。

【0062】

実施例 1

N-シクロヘキサノイルフェニルアラニン = アルデヒドの調製

フェニルアラニン = メチル = エステル (1 g、0.0046 mol) を、5 mL のピリジンに溶解した。塩化シクロヘキサノイル (0.62 mL) を添加し、該混合物を 2 時間撹拌した。反応混合物を粉碎した氷入の塩酸 (1 N) に注いだ。該混合物を 2 回トルエンで抽出した。得られたトルエン抽出物を真空濃縮したところ、1.1 g の N-シクロヘキサノイルフェニルアラニン = メチル = エステルが得られた。

N-シクロヘキサノイルフェニルアラニン = メチル = エステル (0.5 g) を、エチレンジグリコールジメチルエーテル (20 mL) に溶解した。該溶液を -70 °C に冷却し、ジイソブチルアルミニウムヒドリド (トルエン中 1.5 M 溶液を 2.04 mL) を添加した。得られた反応混合物を -70 °C で 2 時間撹拌した。反応は、2 N 塩酸を滴下することにより終了させた。該混合物を冷却した酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル溶液を食塩水で洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥後、真空濃縮し、シリカゲルクロマトグラフィーで精製したところ、白色固体が得られた。

【0063】

$^1\text{H NMR}$  (300 MHz, DMSO- $d_6$ ): 9.5 (s, 1 H)、8.2 (d, 1 H)、7.2 (m, 5 H)、4.2 (m, 1 H)、3.2 (d, 1 H)、2.7 (d, 1 H)、2.1 (m, 1 H)、1.6 (br.m, 4 H)、1.2 (br.m, 6 H)。

IR (KBr): 3300, 3050, 2900, 2850, 2800, 1700, 1600, 1500  $\text{cm}^{-1}$ 。質量分析:  $M + 1$  m/e 261。

10

20

30

40

50

## 【0064】

## 実施例 2

N - アセチルフェニルアラニン = アルデヒドの調製

N - アセチルフェニルアラニン = メチル = エステル ( 4 . 2 g、19 モル ) を、エチレンジグリコールジメチルエーテルに溶解した。該溶液を - 70 に冷却し、水素化ジイソブチルアルミニウム ( 25 . 3 mL の 1 . 5 M トルエン溶液、39 モル ) を添加した。得られた反応混合物を - 70 で 2 時間攪拌した。反応は、2 N の塩酸を添加することによって終了させた。該混合物を、冷却した酢酸エチルで 4 回、およびトルエンで 4 回抽出した。抽出物を混合し、食塩水で洗浄後、硫酸マグネシウムで乾燥して、真空濃縮後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製したところ、白い固体が 2 . 7 g 得られた。NMR から、文献 ( Biochemistry , 1979 , 18 , 921 - 926 ) に記載の化合物と良い一致を示した。

10

## 【0065】

## 実施例 3

3 - アセトアミド - 4 - ( p - ヒドロキシ ) フェニル - 2 - ブタノン ( N - アセチルチロシノン ) の調製

チロシン ( 28 . 9 g、16 モル )、無水酢酸 ( 97 . 9 g、96 モル )、およびピリジン ( 35 g、16 モル ) の混合物を、100 で 1 時間加熱した。

反応混合物を真空濃縮したところ、黄色のオイルが得られた。得られたオイルを減圧濃縮したところ、29 . 9 g のオイルが得られた。

20

## 【0066】

$^1\text{H}$  NMR ( DMSO- $d_6$  ) : NMR (  $d_6$  - DMSO ) ; 8 . 2 ( d , 1 H )、7 . 3 ( d , 2 H )、7 . 0 ( d , 2 H )、4 . 4 ( m , 1 H )、3 . 1 ( dd , 1 H )、2 . 7 ( dd , 1 H )、2 . 3 ( s , 3 H )、1 . 8 ( s , 3 H )。

## 【0067】

## 実施例 4

3 - アセトアミド - 7 - アミノ - 2 - ブタノン ( N - アセチルリジノン ) の調製

実施例 3 の方法にしたがって、リジンを N - アセチルリジノンに変換した。

## 【0068】

$^1\text{H}$  NMR ( DMSO- $d_6$  ) : 8 . 1 ( d , 1 H )、7 . 8 ( br.m , 1 H )、4 . 1 ( m , 1 H )、3 . 0 ( m , 2 H )、2 . 0 ( s , 3 H )、1 . 9 ( s , 3 H )、1 . 3 ( br.m , 6 H )。

30

## 【0069】

## 実施例 5

3 - アセトアミド - 5 - メチル - 2 - ブタノン ( N - アセチルロイシノン ) の調製

実施例 3 の方法にしたがって、ロイシンを N - アセチルロイシノンに変換した。

## 【0070】

$^1\text{H}$  NMR ( DMSO- $d_6$  ) : 8 . 1 ( d , 1 H )、4 . 2 ( m , 1 H )、2 . 0 ( s , 3 H )、1 . 8 ( s , 3 H )、0 . 8 ( d , 6 H )。

## 【0071】

## 実施例 6

4 - ( 4 - アミノフェニル ) 酪酸の塩化ベンゼンスルホニルを用いた修飾

4 - ( 4 - アミノフェニル ) 酪酸 ( 20 g、11 モル ) を、2 N 水酸化ナトリウム水溶液、110 mL に溶解した。室温で約 5 分攪拌後、塩化ベンゼンスルホニル ( 14 . 2 mL、0 . 11 モル ) を 15 分間かけてアミノ酸溶液に滴下した。

室温で約 3 時間攪拌後、該混合物を塩酸を添加することによって pH 2 まで酸性化した。これを、ろ過すると明茶色の沈殿物が得られた。該沈殿物を温水で洗浄して、乾燥した。4 - ( フェニルスルホンアミド ) - 4 - フェニル酪酸の収率は、24 . 3 g ( 69 % ) であった。融点は 123 - 25 であった。

必要ならば、修飾アミノ酸は再結晶および / またはクロマトグラフィーで精製してもよ

50

い。

【 0 0 7 2 】

実施例 7

4 - アミノ安息香酸の塩化ベンゼンスルホニルを用いた修飾

実施例 6 の方法にしたがって、4 - アミノ安息香酸を 4 - (フェニルスルホンアミド)安息香酸に変換した。

【 0 0 7 3 】

実施例 8

4 - アミノフェニル酢酸、4 - アミノ馬尿酸、および 4 - アミノメチル安息香酸の塩化ベンゼンスルホニルを用いた修飾

実施例 6 の方法にしたがって、4 - アミノフェニル酢酸、4 - アミノ馬尿酸、および 4 - アミノメチル安息香酸を、それぞれ 4 - (フェニルスルホンアミド)フェニル酢酸、4 - (フェニルスルホンアミド)馬尿酸、および 4 - (フェニルスルホンアミドメチル)安息香酸に変換した。

【 0 0 7 4 】

実施例 9

アミノ酸の塩化ベンゼンスルホニルを用いた修飾

化学修飾する前に、16 のアミノ酸の混合物を調製した。該混合物の成分を表 1 に示す。65 g のアミノ酸混合物 ( $[-NH_2]$  基の全濃度 = 0.61 モル) を、室温で 1 N 水酸化ナトリウム溶液、760 mL (0.7625 当量) に溶解した。20 分間攪拌後、塩化ベンゼンスルホニル (78 mL、1 当量) を 20 分間かけて添加した。反応混合物をついで 2.5 時間、加熱することなしに攪拌した。

沈殿がおきるので、pH 9.3 になるまで NaOH (2 N) 溶液をさらに添加した。該反応混合物を室温で一昼夜攪拌した。該混合物を希塩酸 (38%、1:4) を用いて酸性化すると、クリーム色の沈殿が生じた。得られた沈殿をデカンテーションによって単離し、水酸化ナトリウム (2 N) 溶液に溶解した。該溶液を次いで真空濃縮したところ、黄色の固体が得られ、これは、凍結乾燥された。

【 0 0 7 5 】

10

20

【表1】

表1：アミノ酸組成物

アミノ酸	重量 (g)	全重量 の%	各アミノ酸 のモル数 ( $\times 10^{-2}$ )	モル数 - [-NH <sub>2</sub> ]
Thr	2.47	3.8	2.07	2.07
Ser	2.25	3.46	2.1	2.1
Ala	4.61	7.1	5.17	5.17
Val	4.39	6.76	3.75	3.75
Met	0.53	0.82	0.35	0.35
Ile	2.47	3.8	0.36	0.36
Leu	3.86	5.94	2.95	2.95
Tyr	1.03	1.58	0.56	0.56
Phe	4.39	6.76	0.27	0.27
His	2.47	3.8	1.6	3.2
Lys	4.94	7.6	3.4	6.8
Arg	5.13	7.9	2.95	5.90
グルタミン	9.87	15.18	6.76	13.42
グルタミン酸	9.87	15.18	6.70	6.70
アスパラギン	3.32	5.11	2.51	5.02
アスパラギン酸	3.32	5.11	2.50	2.50

## 【0076】

## 実施例10

5つのアミノ酸混合物の塩化ベンゼンスルホニルを用いた修飾

アミノ酸混合物(表2参照)、86.1g(NH<sub>2</sub>、0.85モル)を、2N水酸化ナトリウム水溶液、643mL(1.5当量)に溶解した。室温で30分間攪拌後、塩化ベンゼンスルホニル(108mL、0.86当量)を15分間かけて該アミノ酸溶液に滴下した。反応混合物をついで室温で2.5時間攪拌した後、反応混合物のpH(pH5)を、NaOH(2N)溶液によってpH9に調節した。該反応混合物を室温で一昼夜攪拌した。該混合物をpHを希塩酸(4:1、H<sub>2</sub>O:HCl)を用いてpH2.5にすると、形成された修飾アミノ酸の沈殿が生じた。上澄みをすてて、得られた黄色の沈殿をデカンテーションによって単離し、水で洗浄後、水酸化ナトリウム(2N)に溶解した。該溶液を次いで真空濃縮したところ、黄色の固体が得られ、これは、凍結乾燥された。粗修飾アミノ酸の収率は、137.9gであった。

## 【0077】

【表 2】

表 2

アミノ酸	アミノ酸のモル数 ( $\times 10^{-2}$ )	モル数 [-NH <sub>2</sub> ] $\times 10^{-2}$
バリン	7.5	7.5
ロイシン	10.7	10.5
フェニルアラニン	13.4	13.4
リジン	21.0	42.0
アルギニン	6.0	12.0

10

## 【0078】

## 実施例 1 1

5つのアミノ酸混合物の塩化ベンゾイルを用いた修飾

アミノ酸混合物（実施例 1 0における表 2 参照）、86 g（NH<sub>2</sub>、0.85 モル）を、2 N 水酸化ナトリウム水溶液、637 mL（1.5 当量）に溶解した。室温で 10 分間攪拌後、塩化ベンゾイル（99 mL、0.85 モル）を 10 分間かけて該アミノ酸溶液に滴下した。反応混合物を室温で 2.5 時間攪拌した後、反応混合物の pH（pH 12）を、希塩酸（4 : 1、H<sub>2</sub>O : HCl）を用いて pH 2.5 にすると、形成された修飾アミノ酸の沈殿が生じた。1 時間放置した後、得られた沈殿をデカンテーションによって単離し、水で洗浄後、水酸化ナトリウム（2 N）に溶解した。該溶液を次いで真空濃縮したところ、白色の固体として修飾が得られた。（220.5 g）。

20

## 【0079】

## 実施例 1 2

L - バリンの塩化ベンゼンスルホニルを用いた修飾

L - バリン（50 g、0.43 モル）を、2 N 水酸化ナトリウム溶液、376 mL（0.75 当量）に、室温で 10 分間攪拌することにより溶解した。塩化ベンゼンスルホニル（68.7 mL、0.38 モル、1.25 当量）を 20 分間かけて該アミノ酸溶液に室温で滴下した。反応混合物を室温で 2 時間攪拌した後、沈殿が生じた。沈殿を、さらなる 2 N 水酸化ナトリウム水溶液、200 mL を添加することによって溶解した。さらに 30 分間攪拌後、希塩酸（4 : 1、H<sub>2</sub>O : HCl）を用いて pH 2.6 になるまで添加した。形成された修飾アミノ酸の沈殿が生じ、デカンテーションによって回収した。該沈殿物を、水酸化ナトリウム（2 N）に溶解し、次いで真空濃縮したところ、白色の固体が得られた。粗修飾アミノ酸の収率 = 84.6 g、77%。

30

## 【0080】

## 実施例 1 3

フェニルアラニン = メチル = エステルの塩化ヒップリルを用いた修飾

L - フェニルアラニン = メチル = エステル、塩酸塩（15 g、0.084 モル）を、ジメチルホルムアミド（DMF）（100 mL）に溶解し、これにピリジン（30 mL）を添加した。塩化ヒップリル（16.6 g、0.084 モル、100 mL の DMF 中）を直ちに 2 回にわけてアミノ酸エステル溶液に添加した。反応混合物を室温で一昼夜攪拌した。該反応混合物を次いで真空減圧して、1 N 水酸化ナトリウム水溶液に溶解した。該溶液を、メチルエステルをフリーのカルボキシル基に加水分解するために、70 °C で 3 時間加熱した。該溶液を、希塩酸（3 : 1、H<sub>2</sub>O : HCl）を用いて pH 2.25 になるまで酸性化した。ゴム状の沈殿物が形成され、回収した後、1 N 水酸化ナトリウムに溶解した。該溶液を真空濃

40

50

縮したところ、粗修飾アミノ酸生成物が18.6g得られた(収率:18.6g)。

アセトニトリルから再結晶したところ、精製修飾フェニルアラニン(12g)が白色粉末として得られた。融点:223-225。

#### 【0081】

##### 実施例14

##### 投与溶液の調製

試験管において、568mgのアセチル=フェニルアラニン=アルデヒド、132mgのカルボメトキシ=フェニルアラニルロイシン、および100mgのアセチル-Phe-Leu-Leu-Arg=アルデヒドを、2.9mlの15%エタノール中に添加した。該溶液を攪拌し、水酸化ナトリウム(1.0N)を添加してpHを7.2まで上げた。水を添加することによって、全容量を4.0mLとした。該サンプルは、200mg/mLのキャリア濃度を有する。カルシトニン(6μg)を該溶液に添加した。全カルシトニン濃度は、1.5μg/mLであった。

10

類似の方法にしたがって、668mgのアセチル=フェニルアラニン=アルデヒドおよび132mgのカルボメトキシ=フェニルアラニルロイシンをキャリア組成物として有する第2溶液と、キャリアであるアセチル=フェニルアラニン=アルデヒドを有する第3溶液を調製した。各溶液は、1.5μg/mLのカルシトニン濃度を有した。

#### 【0082】

##### 実施例15

##### 修飾アミノ酸/鮭カルシトニン組成物の調製

(a)カプセル化された鮭カルシトニンを含有する修飾アミノ酸微球体の調製 実施例9にしたがって調製された修飾アミノ酸混合物を、蒸留水(pH7.2)に、40で、100mg/mlの濃度で溶解した。該溶液を次いで、0.2ミクロンフィルターでろ過し、温度を40に保持した。鮭カルシトニン(サンドズコーポレーション、バジル、スイス)を、クエン酸(1.7N)水溶液およびゼラチン(5%)に、濃度150mg/mlで溶解した。該溶液を次いで40に加熱した。上記2つの加熱溶液を次いで1:1(v/v)で混合した。得られた微球体懸濁液をガラスウールでろ過し、1000gで50分間遠心分離した。得られたペレットを、0.85Nクエン酸を用いて再懸濁し、オリジナル容量の1/5から1/7の容量にした。再懸濁ペレットの鮭カルシトニン濃度は、HPLCによって定められた。さらなる微球体を、上記方法にしたがって、鮭カルシトニンなしで調製した。該"空の微球体"は、カプセル化した鮭カルシトニン微球体調製物を動物テスト用の最終投与懸濁液に希釈するのに使用された。

20

30

(b)溶解性修飾アミノ酸キャリア/鮭カルシトニンシステムの調製 鮭カルシトニンを含有する溶解性アミノ酸投与製剤を、修飾アミノ酸材料を蒸留水(pH8)中に適当な濃度に溶解することによって調製した。該溶液を40まで加熱し、次いで0.2ミクロンフィルターでろ過した。鮭カルシトニンもまた、蒸留水に溶解し、次いで、修飾アミノ酸溶液に、経口投与する前に添加した。

#### 【0083】

##### 実施例16

##### ラットにおけるインビボ実験

断食した6匹のラットを麻酔し、経口胃管投与によって、実施例15にしたがって調製されたカルシトニン/キャリア製剤の1つを投与した。各サンプルのカルシトニン濃度は、1.5μg/mlであった。各ラットは、2mL/kgずつ投与された。血液サンプルを尾の動脈から連続的に収集した。血清カルシウムは、ダイヤモンド™・カルシウム・キット(シグマ・ケミカル・カンパニー、セントルイス、ミッソーリ、米国から入手可能)を用いたテストによって定めた。テストの結果を図1に示す。

40

#### 【0084】

##### 実施例17

400mg/kgのアセチル-Leu=アルデヒドと10μg/kgのカルシトニン、400mg/kgのアセチル-Phe=アルデヒドと10μg/kgのカルシトニン、200mg/kgのアセチ

50

ル - Leu = アルデヒド、200 mg / kg のアセチル - Phe = アルデヒドと 10  $\mu$ g / kg のカルシトニンを有する 3 つのサンプルを、それぞれ調製した。該サンプルを実施例 16 に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図 2 に示す。

【0085】

実施例 18

350 mg / kg のアセチル - Phe = アルデヒド、50 mg / kg のカルボメトキシ - Phe - Leu - OH および 3  $\mu$ g / kg のカルシトニン、400 mg / kg のアセチル - Phe = アルデヒド、50 mg / kg のカルボメトキシ - Phe - Leu - OH および 10  $\mu$ g / kg のカルシトニンを有する 2 つのサンプルを、それぞれ調製した。該サンプルを実施例 16 に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図 3 に示す。

10

【0086】

実施例 19

プロピレングリコールにおける 50 mg / kg のカルボメトキシ - Phe - Leu - OH と 3  $\mu$ g / kg のカルシトニン、284 mg / kg のアセチル - Phe = アルデヒドと 66 mg / kg のアセチル - Leu - Leu - Arg = アルデヒド；水性エタノールにおける 50 mg / kg のカルボメトキシ - Phe - Leu - OH と 3  $\mu$ g / kg のカルシトニン、284 mg / kg のアセチル - Phe = アルデヒドと 66 mg / kg のアセチル - Leu - Leu - Arg = アルデヒド；と 3  $\mu$ g / kg のカルシトニンを有する 3 つのサンプルを、それぞれ調製した。該サンプルを実施例 16 に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図 4 に示す。

【0087】

20

実施例 20

プロピレングリコールにおける 1.5  $\mu$ g / kg のカルシトニンと 400 mg / kg の 4 - (フェニルスルホンアミド) - 4 - フェニル酪酸；水性エタノールにおける 1.5  $\mu$ g / kg のカルシトニン、200 mg / kg のアセチル - Phe = アルデヒドと 200 mg / kg の 4 - (フェニルスルホンアミド) - 4 - フェニル酪酸；1.5  $\mu$ g / kg のカルシトニンを有する 3 つのサンプルを、それぞれ調製した。該サンプルを断食したラットに十二指腸内注射することにより投与した。テストの結果を図 5 に示す。

【0088】

実施例 21

水性エタノールにおける 10  $\mu$ g / kg のカルシトニンと 600 mg / kg のアセチル - Phe = アルデヒド；10  $\mu$ g / kg のカルシトニン、200 mg / kg のアセチル - Phe = アルデヒド、200 mg / kg の N - アセチルリジニン、200 mg / kg のアセチル - Leu = アルデヒドを有するサンプルを、それぞれ調製した。該サンプルを実施例 16 に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図 6 に示す。

30

【0089】

実施例 22

水性エタノール、ジメチルスルホキシド (DMSO)、およびオリーブ油における、3  $\mu$ g / kg のカルシトニンと 200 mg / kg のアセチル - Phe = アルデヒドを有する 3 つのサンプルを、それぞれ調製した。さらに、DMSO における、3  $\mu$ g / kg のカルシトニンのみのサンプルも調製した。該サンプルを断食したラットに十二指腸内注射することにより投与した。テストの結果を図 7 に示す。

40

【0090】

実施例 23

水性エタノールにおける 3  $\mu$ g / kg のカルシトニンと 400 mg / kg のシクロヘキサノール - Phe = アルデヒドを有するサンプルを調製した。該サンプルを実施例 16 に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図 8 に示す。

【0091】

実施例 24

実施例 16 に記載したように、カプセル化したカルシトニンおよび溶解性修飾アミノ酸キャリア / カルシトニンシステムを含有する修飾アミノ酸微球体のインビボ評価が、ラ

50

ットにおいて行われた。ラットは、経口投与製剤を胃管投与され、血液サンプルが、血清カルシウム濃度決定のために、種々の時間に採取された。

9匹のラットが以下の3グループに分けられた。

1. カルシトニン微球体：10 ugカルシトニン/kg体重、経口胃管投与（3匹）；

2. カルシトニン微球体：30 ugカルシトニン/kg体重、経口胃管投与（3匹）；および

3. 溶解性修飾アミノ酸/カルシトニンシステム：30 ugカルシトニン/kg体重、経口胃管投与（3匹）。該ラットは溶解性システム投与の前に、炭酸水素ナトリウム水溶液、0.7 meqが予め投与された。

ラットの経口胃管投与が行われる。カルシトニン微球体は、投与直前に調製され、グループ1およびグループ2のラットが各々、微球体懸濁液を適量摂取する。グループ3のラットは、カプセル化していないカルシトニン/修飾アミノ酸システムを摂取する。血液を約0.5 ml、各ラットから、投与直前（0時間）、投与後1時間、2時間、および3時間、採取する。血液サンプルからの血清が-20℃で保存される。

グループ1～3のラットから採取された血清のカルシウムレベルを、常法にしたがって分析する。ラットにおける実験結果から、カルシトニンを、基準レベルと比較して、修飾アミノ酸微球体のカプセル、または修飾アミノ酸の混合物のいずれかで経口投与した場合、薬学活性が非常に上昇すること（すなわち、血清カルシウムレベルが減少すること）が例証された。図9に示すように、鯨カルシトニンを含む溶解性修飾アミノ酸溶液によって、経口投与後の基準レベルと比較すると、薬学活性を上昇すること（すなわち、血清カルシウムレベルが減少すること）が例証される。

【0092】

実施例25

10 μg/kgのカルシトニン、33 ng/kgのアクチノニンと366 mg/kgのアセチル-Phe = アルデヒド；10 μg/kgのカルシトニン、33 mg/kgのカルボキシ-Phe-Leu-OH、366 mg/kgのアセチル-Phe = アルデヒドを有する2つのサンプルを、それぞれ調製した。該サンプルを実施例14に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図10に示す。

【0093】

実施例26

3 μg/kgのカルシトニンと400 mg/kgの4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸；および10 μg/kgのカルシトニンと400 mg/kgの4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸を有する2つのサンプルを、それぞれ調製した。該サンプルを実施例14に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図11に示す。

【0094】

実施例27

10 μg/kgのカルシトニンと400 mg/kgの3-(フェニルスルホンアミド)安息香酸；および10 μg/kgのカルシトニンと400 mg/kgの4-(フェニルスルホンアミド)馬尿酸を有する2つのサンプルを、それぞれ調製した。該サンプルを実施例14に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図12に示す。

【0095】

実施例28

10 μg/kgのカルシトニンと400 mg/kgの4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸；および10 μg/kgのカルシトニンと400 mg/kgの4-(フェニルスルホンアミド)安息香酸を有する2つのサンプルを、それぞれ調製した。該サンプルを実施例14に記載したように断食したラットに与えた。

テストの結果を図13に示す。

【0096】

実施例29

10

20

30

40

50

10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ のカルシトニンと400  $\text{mg}/\text{kg}$ の4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸;および10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ のカルシトニンと400  $\text{mg}/\text{kg}$ の4-(フェニルスルホンアミド)フェニル酢酸を有する2つのサンプルを、それぞれ調製した。該サンプルを実施例14に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図14に示す。

【0097】

ラットにおけるインターフェロン製剤のインビボ評価 pH約7~8のトリズマ(Trizma)塩酸塩緩衝液(Tris-HCl)における本発明のキャリアとインターフェロン 2bを含有するサンプルが調製された。動物に経口胃管投与によって薬剤が投与された。移送は、ヒトインターフェロン のエリーザ分析を用いて評価された。

【0098】

実施例30

緩衝液中の800  $\text{mg}/\text{kg}$ の4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸および1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ のインターフェロン 2bを有するサンプルを調製した。該サンプルを実施例14に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図15に示す。

【0099】

実施例31

緩衝液中の400  $\text{mg}/\text{kg}$ の4-(フェニルスルホンアミドメチル)安息香酸および1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ のインターフェロン 2bを有するサンプルを調製した。

該サンプルを実施例14に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図16に示す。

【0100】

実施例32

緩衝液中の800  $\text{mg}/\text{kg}$ の4-(フェニルスルホンアミド)フェニル酢酸および1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ のインターフェロン 2bを有するサンプルを調製した。該サンプルを実施例14に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図17に示す。

【0101】

実施例33

緩衝液中の600  $\text{mg}/\text{kg}$ の4-(フェニルスルホンアミド)馬尿酸および1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ のインターフェロン 2bを有するサンプルを調製した。該サンプルを実施例14に記載したように断食したラットに与えた。テストの結果を図18に示す。

ラットにおける成長ホルモン製剤のインビボ評価 本発明のキャリアと成長ホルモンを含有するサンプルが調製された。動物に経口胃管投与によって薬剤が投与された。移送は、成長ホルモンのエリーザ分析を用いて評価された。

【0102】

実施例34

1000  $\text{mg}/\text{kg}$ の4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸および1  $\text{mg}/\text{kg}$ の成長ホルモンを有するサンプルを調製した。該サンプルを実施例14に記載したように下垂体を切除された(hypophysectomized)ラットに与えた。テストの結果を図19に示す。

【0103】

実施例35

500  $\text{mg}/\text{kg}$ の4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸および1  $\text{mg}/\text{kg}$ の成長ホルモンを有するサンプルを調製した。比較として、キャリアなしの成長ホルモンのサンプルをラットに投与した。該サンプルを実施例14に記載したように下垂体を切除された(hypophysectomized)ラットに与えた。テストの結果を図20に示す。

【0104】

実施例36

500  $\text{mg}/\text{kg}$ の4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸および6  $\text{mg}/\text{kg}$ の成長ホルモンを有する2つのサンプルを調製した。該サンプルを実施例14に記載したように通常のラットに与えた。テストの結果を図21に示す。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 0 5 】

ラットにおけるクロモグリコラート製剤のインビボ評価  
実施例 37

本発明のキャリアとジナトリウム = クロモグリコラートを含有するサンプルが調製された。サンプルは、0.85 N クエン酸および 0.5 % アカシア中における、200 mg / kg の 4 - (フェニルスルホンアミド) - 4 - フェニル酪酸および 50 mg / kg のジナトリウム = クロモグリコラートを含有した。動物に経口胃管投与によって薬剤が投与された。移送は、文献 (A. Yoshimi, in Pharmcobio - Dyn., 15, pages 681 - 686, (1992)) 記載の方法を用いて評価された。テストの結果を図 22 に示した。

## 【 0 1 0 6 】

実施例および図面のデータから明らかなように、本発明の組成物を使用すると、生物学的活性剤の移送において非常に優位である。

## 【 0 1 0 7 】

ここで述べた全ての特許、出願、および公表文献は、本願に参照して組み入れられるものである。

本発明の種々の変換は、上記記載から当業者には明らかであろう。たとえば、アミド結合以外の結合、たとえばエステルまたは無水結合によって形成されたポリ(アミノ酸)は、本発明によるキャリアとして使用するのに、誘導体化および修飾可能である。これら全ての変換は、添付の請求の範囲内のものである。

## 【 図面の簡単な説明 】

## 【 0 1 0 8 】

【 図 1 】 アセチル = フェニルアラニン = アルデヒド、カルボメトキシ Phe - Leu - OH、およびアセチル - Phe - Leu - Leu - Arg アルデヒドキャリアとともに、サケのカルシトニンを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【 図 2 】 アセチルロイシン = アルデヒド、およびアセチルフェニルアラニン = アルデヒドキャリアとともに、サケのカルシトニンを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【 図 3 】 アセチルフェニルアラニン = アルデヒド、およびカルボメトキシ Phe - Leu - OH キャリアとともに、サケのカルシトニンを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【 図 4 】 アセチルフェニルアラニン = アルデヒド、アセチル - Leu - Leu - Arg アルデヒド、およびカルボメトキシ Phe - Leu - OH キャリアとともに、サケのカルシトニンを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【 図 5 】 アセチルフェニルアラニン = アルデヒド、および 4 - (フェニルスルホンアミド) - 4 - フェニル酪酸キャリアとともに、サケのカルシトニンを用いて、ラットに十二指腸注射投与した結果を示すグラフである。

【 図 6 】 アセチルフェニルアラニン = アルデヒド、N - アセチルリジノン、およびアセチル - Leu = アルデヒドキャリアとともに、サケのカルシトニンを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【 図 7 】 アセチルフェニルアラニン = アルデヒドキャリアのエタノール水溶液、ジメチルスルホキシド (DMSO)、およびオリーブ油ビヒクル、および DMSO ビヒクル単独で、サケのカルシトニンを用いて、ラットに十二指腸注射投与した結果を示すグラフである。

【 図 8 】 シクロヘキサノイル - フェニルアラニン = アルデヒドキャリアとともに、サケのカルシトニンを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【 図 9 】 炭酸水素ナトリウム溶液を予備投与後に、サケのカルシトニンを含有する修飾アミノ酸微球体製剤と、サケのカルシトニンを含有する溶解性修飾アミノ酸製剤の 2 投与量レベルで経口投与した後の、ラット血清カルシウムレベルを示すグラフである。

【 図 10 】 アセチル - Phe = アルデヒド、アクチノニン、およびカルボメトキシ - Phe - Leu - OH キャリアとともに、サケのカルシトニンを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

10

20

30

40

50

【図11】4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸キャリアとともに、サケのカルシトニンを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【図12】3-(フェニルスルホンアミド)安息香酸および4-(フェニルスルホンアミド)馬尿酸キャリアとともに、サケのカルシトニンを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【図13】4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸および4-(フェニルスルホンアミド)安息香酸キャリアとともに、サケのカルシトニンを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【図14】4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸および4-(フェニルスルホンアミド)フェニル酢酸キャリアとともに、サケのカルシトニンを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

10

【図15】4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸キャリアとともに、インターフェロン 2b(rhIFN)を用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【図16】4-(フェニルスルホンアミドメチル)安息香酸キャリアとともに、インターフェロン 2bを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【図17】4-(フェニルスルホンアミド)フェニル酢酸キャリアとともに、インターフェロン 2bを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【図18】4-(フェニルスルホンアミド)馬尿酸キャリアとともに、インターフェロン 2bを用いて、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

20

【図19】4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸キャリアを用いた2投与量レベルで成長ホルモン単独で、下垂体を切除された(hypophysectomized)ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

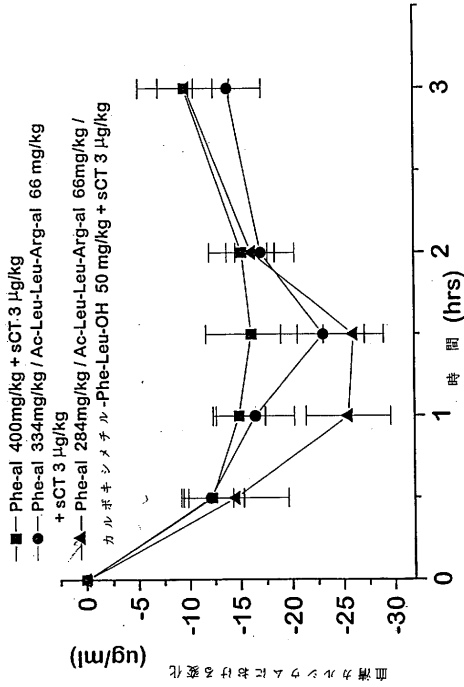
【図20】4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸キャリアを用いた2投与量レベルで成長ホルモン単独で、下垂体を切除された(hypophysectomized)ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

【図21】4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸キャリアとともに成長ホルモンを用いた、ノーマルなラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

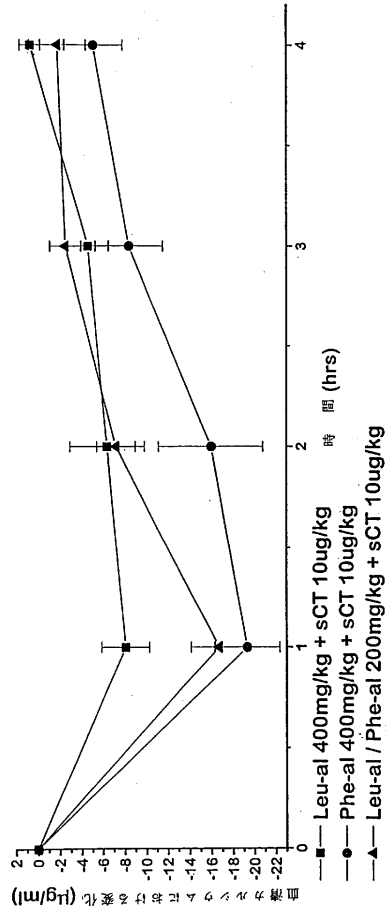
【図22】キャリアとして4-(フェニルスルホンアミド)-4-フェニル酪酸とともにジナトリウム=クロモグリカートを用いた、ラットに経口胃管投与した結果を示すグラフである。

30

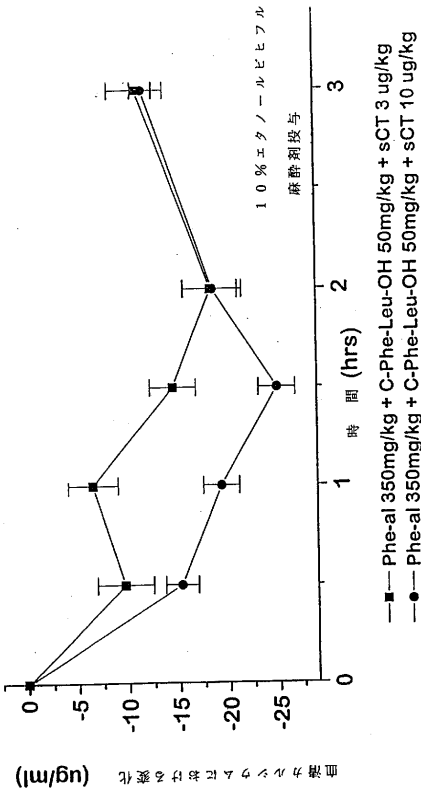
【 図 1 】



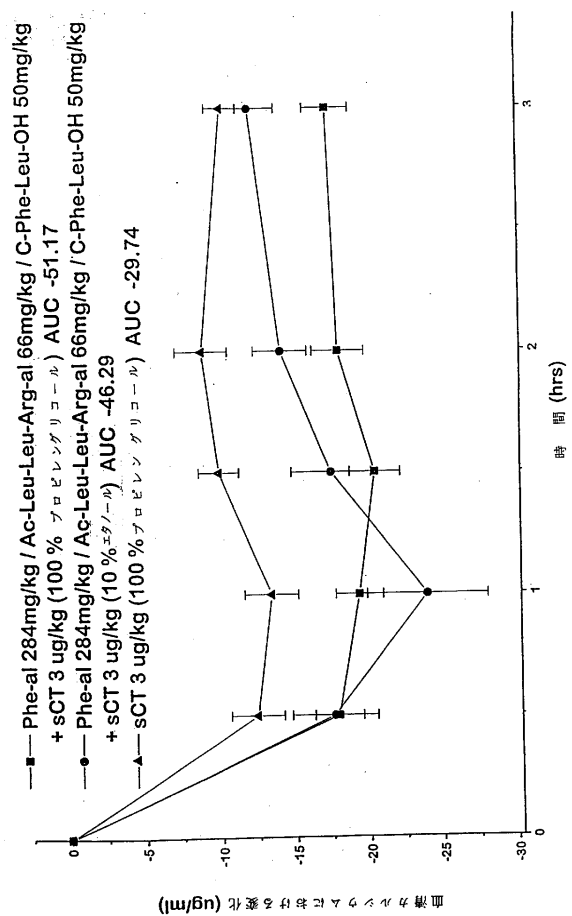
【 図 2 】



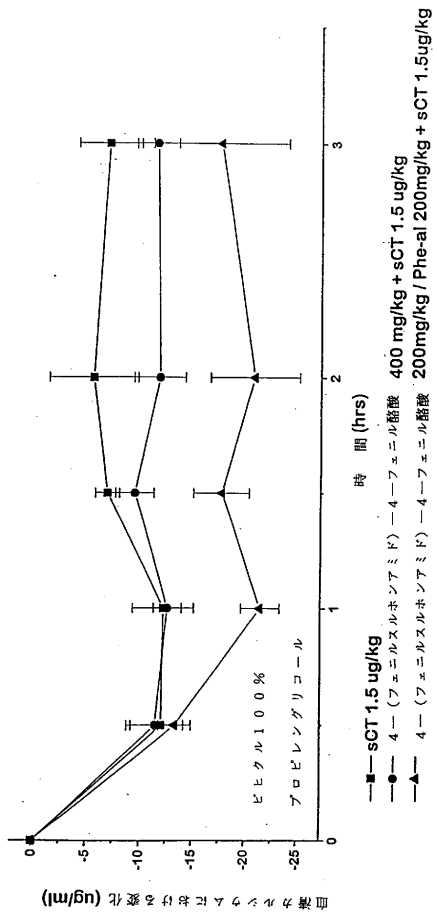
【 図 3 】



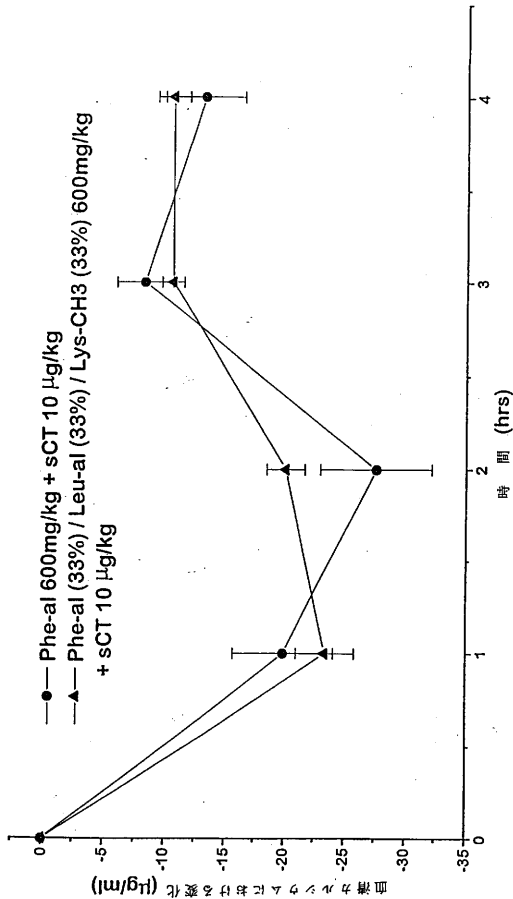
【 図 4 】



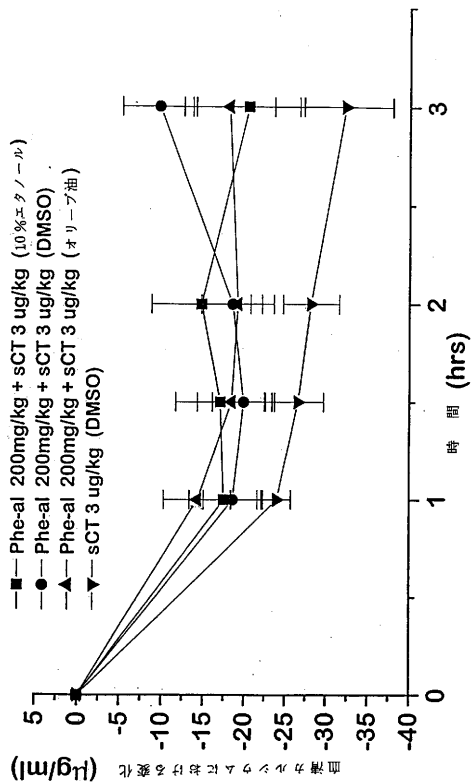
【 図 5 】



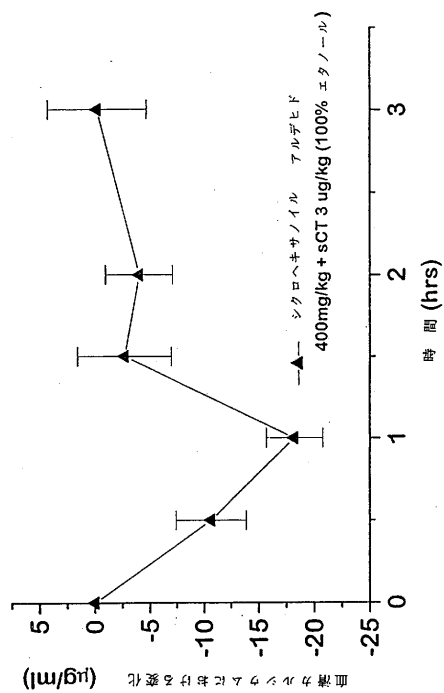
【 図 6 】



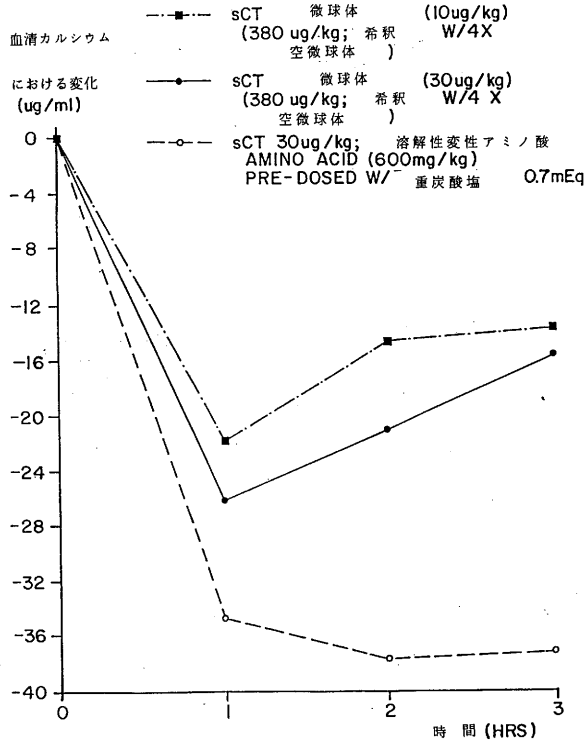
【 図 7 】



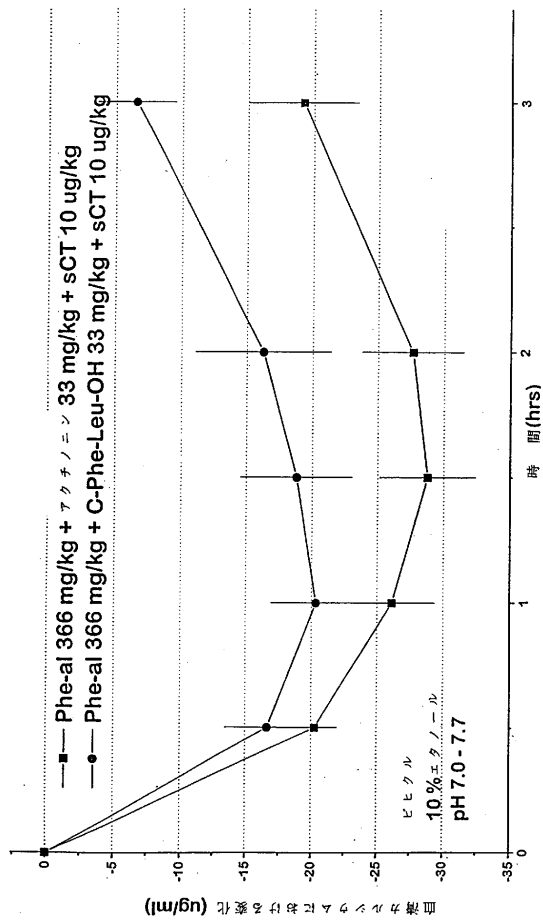
【 図 8 】



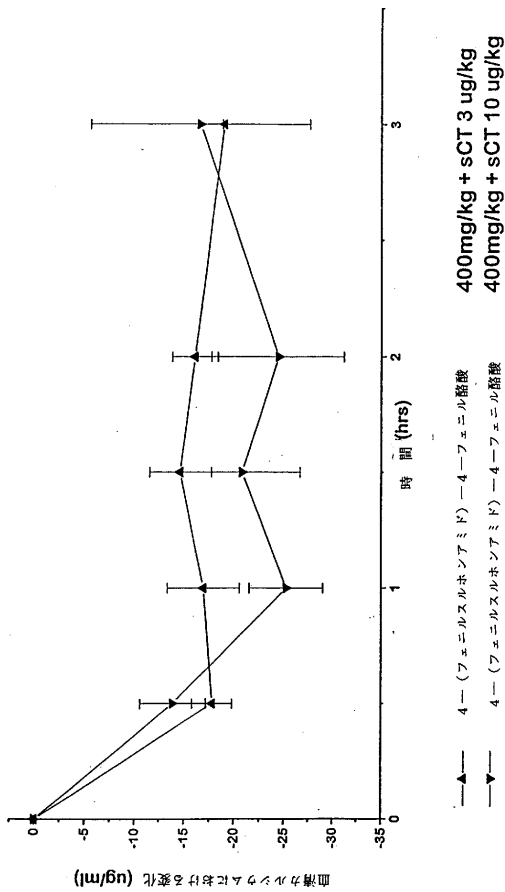
【 図 9 】



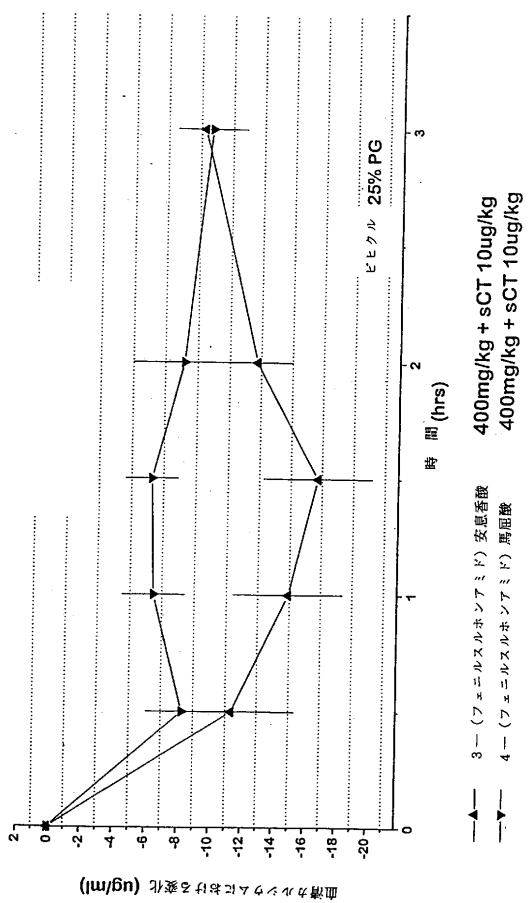
【 図 10 】



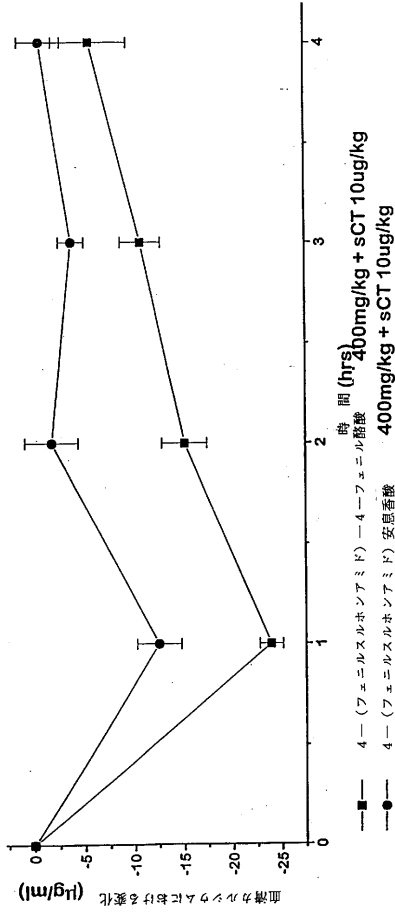
【 図 11 】



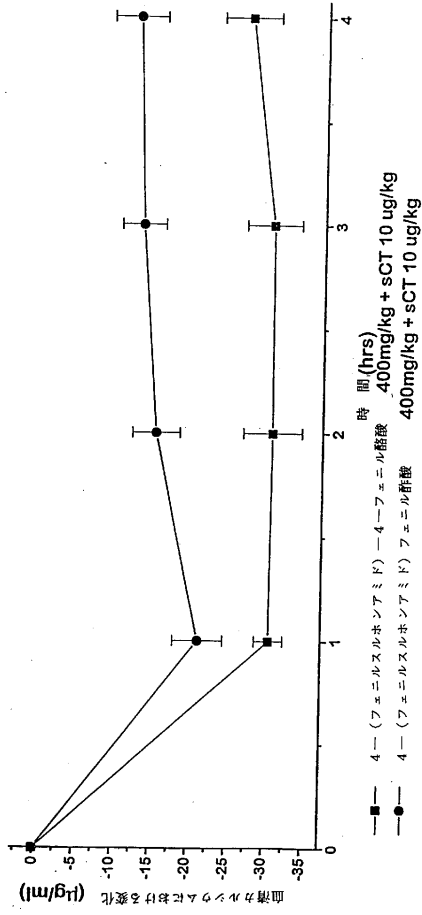
【 図 12 】



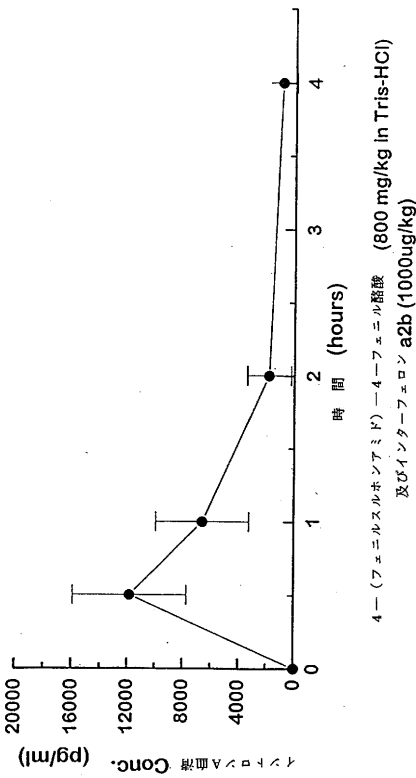
【 図 1 3 】



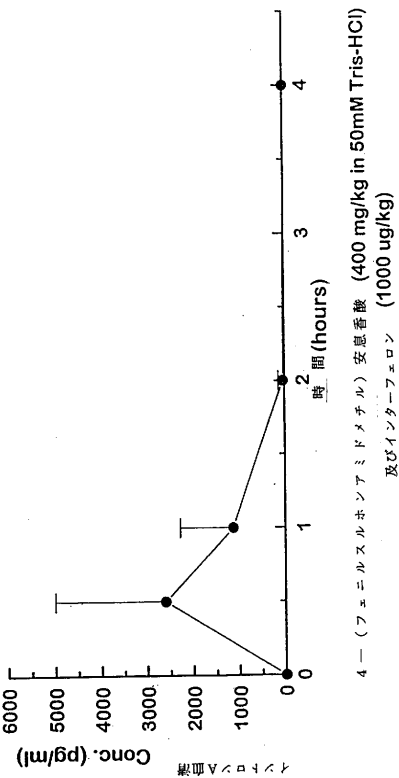
【 図 1 4 】



【 図 1 5 】

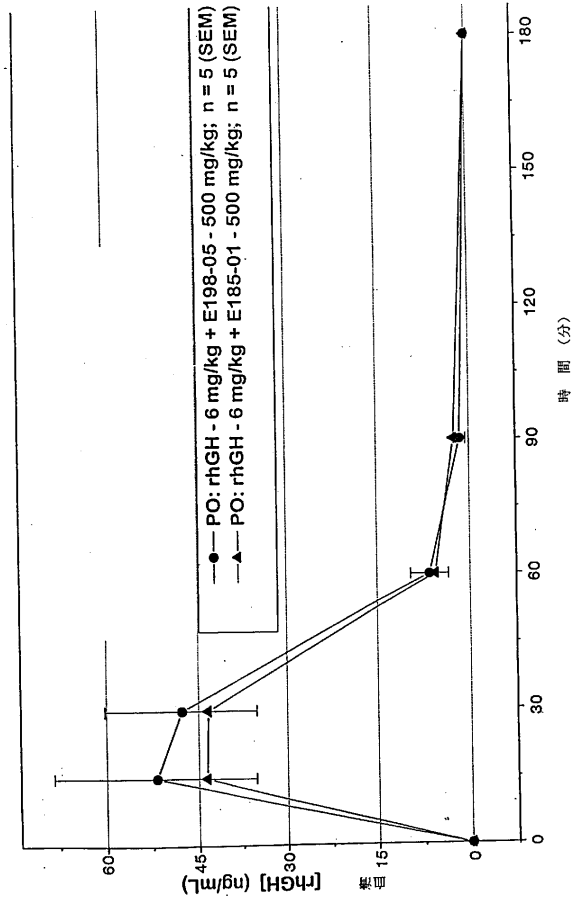


【 図 1 6 】

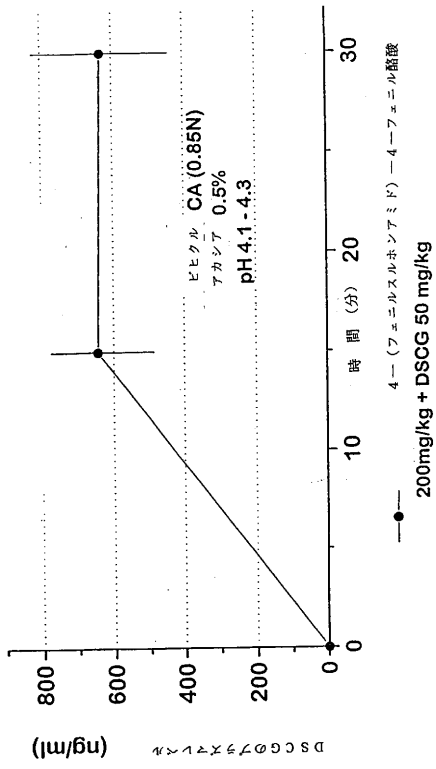




【 図 2 1 】



【 図 2 2 】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I  
 A 6 1 K 9/48 (2006.01) A 6 1 K 9/48  
 A 6 1 K 38/22 (2006.01) A 6 1 K 37/24

(72)発明者 バラントセビッチ、イブグエニ エヌ  
 アメリカ合衆国・ニューヨーク・10801・ニュー・ロシェル・クーパー・ドライブ・127・  
 アpartment・2ビー

(72)発明者 サラビ、ドナルド ジェイ  
 アメリカ合衆国・ニューヨーク・10708・ブロンキシル・ロートン・レイン・18

(72)発明者 リオウネーベイ、アンドリー  
 アメリカ合衆国・コネティカット・06877・リッジフィールド・ウッドランド・ウェイ・20

(72)発明者 ペイトン、ダンカン アール  
 アメリカ合衆国・ニューヨーク・10378・パーディス・ナッシュ・ロード・323

審査官 佐々木 秀次

(56)参考文献 特許第4361601(JP, B2)  
 特開昭57-146721(JP, A)  
 特開昭58-140026(JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
 A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2  
 A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 4 8  
 A 6 1 K 3 8 / 2 2 - 3 8 / 2 3