

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成19年9月13日(2007.9.13)

【公表番号】特表2003-506322(P2003-506322A)

【公表日】平成15年2月18日(2003.2.18)

【出願番号】特願2001-507071(P2001-507071)

【国際特許分類】

C 0 7 K 5/097 (2006.01)

A 6 1 K 31/164 (2006.01)

A 6 1 P 25/28 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

C 0 7 C 235/06 (2006.01)

C 0 7 C 237/12 (2006.01)

C 1 2 N 9/99 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

【F I】

C 0 7 K 5/097 Z N A

A 6 1 K 31/164

A 6 1 P 25/28

A 6 1 P 43/00 1 1 1

C 0 7 C 235/06

C 0 7 C 237/12

C 1 2 N 9/99

A 6 1 K 37/02

【手続補正書】

【提出日】平成19年6月25日(2007.6.25)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

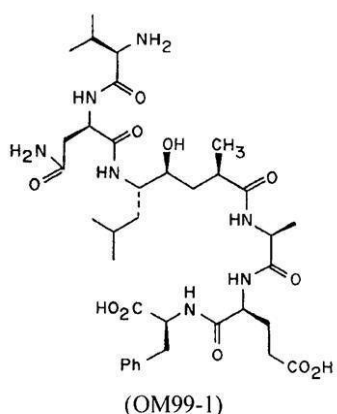
【補正方法】変更

【補正の内容】

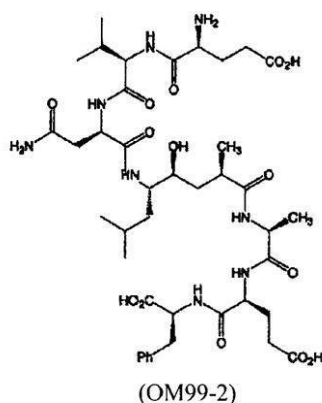
【特許請求の範囲】

【請求項1】

式



または

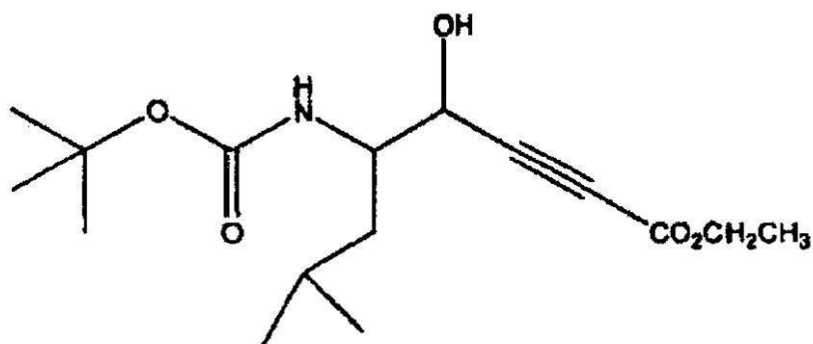


(式中、Phはフェニル基である)

を有する化合物、またはその薬学的に許容され得る塩。

【請求項2】

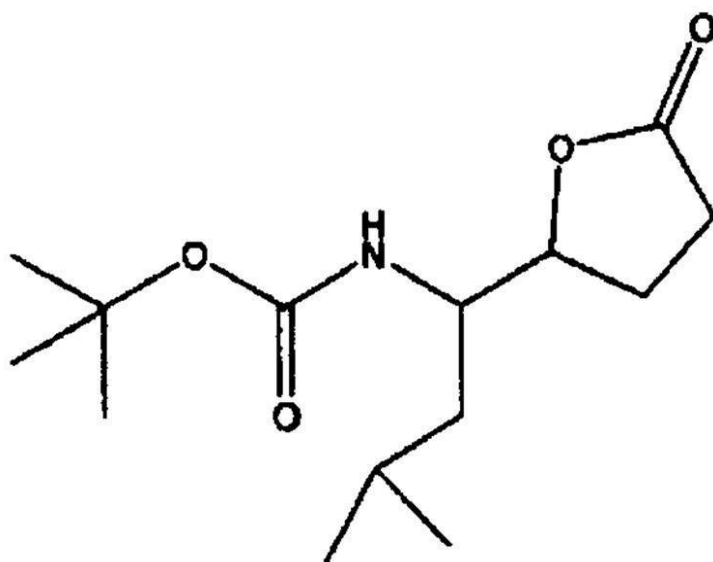
a) n-ブチルリチウムまたはリチウムジイソプロピルアミンの存在下でエチルプロピオラートおよびN-(tert-ブトキシカルボニル)-ロイシナールを反応させて、以下の構造式：



で表されるエチル - 5 - { (t e r t - ブトキシカルボニル) アミノ } - 4 - ヒドロキシ - 7 - メチルオクト - 2 - イノエートを形成する工程、

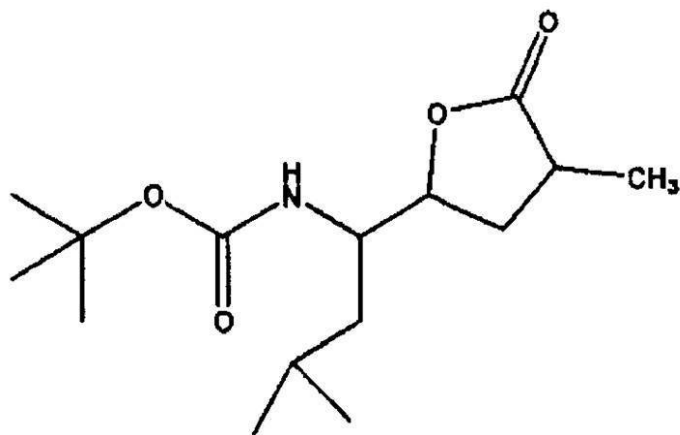
b) Pd/BaSO₄の存在下でエチル - 5 - { (t e r t - ブトキシカルボニル) アミノ } - 4 - ヒドロキシ - 7 - メチルオクト - 2 - イノエートを水素と反応させて、中間体を形成する工程、

c) 該中間体を酸と反応させて、以下の構造式：

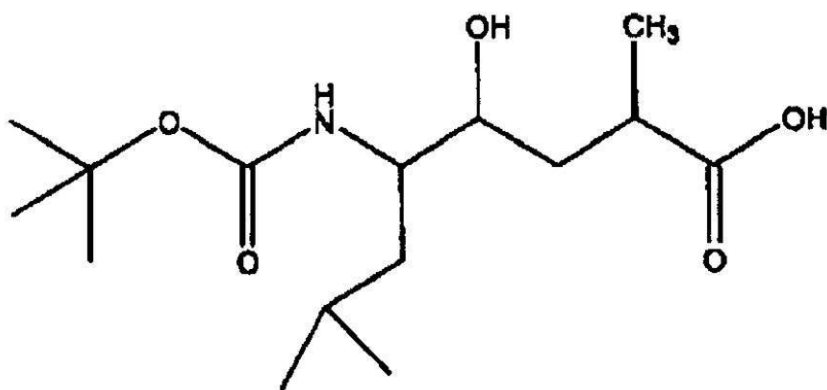


で表される 5 - { 1 ' - { (t e r t - ブトキシカルボニル) アミノ } - 3 ' - メチルブチ

ル}-ジヒドロフラン-2(3H)-オンを形成する工程、
d)ヘキサメチルジシラザンの存在下でヨードメタンを5-{1'-(tert-ブトキシカルボニル)アミノ}-3'-メチルブチル}-ジヒドロフラン-2(3H)-オンと反応させて、以下の構造式：



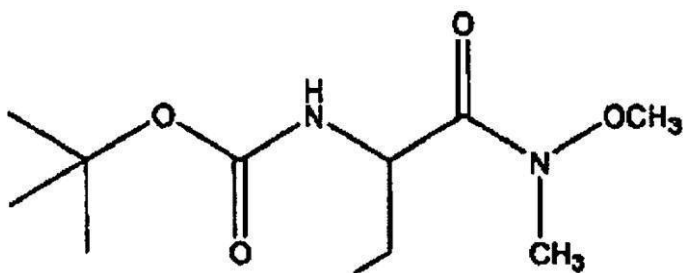
で表される5-{1'-(tert-ブトキシカルボニル)アミノ}-3'-メチルブチル}-3-メチル-ジヒドロフラン-2(3H)-オンを形成する工程、および
e)5-{1'-(tert-ブトキシカルボニル)アミノ}-3'-メチルブチル}-3-メチル-ジヒドロフラン-2(3H)-オンを塩基と反応させて、以下の構造式：



で表されるLeu*Alaジペプチド等配電子体を形成する工程を含む、Leu*Alaジペプチド等配電子体を製造する方法。

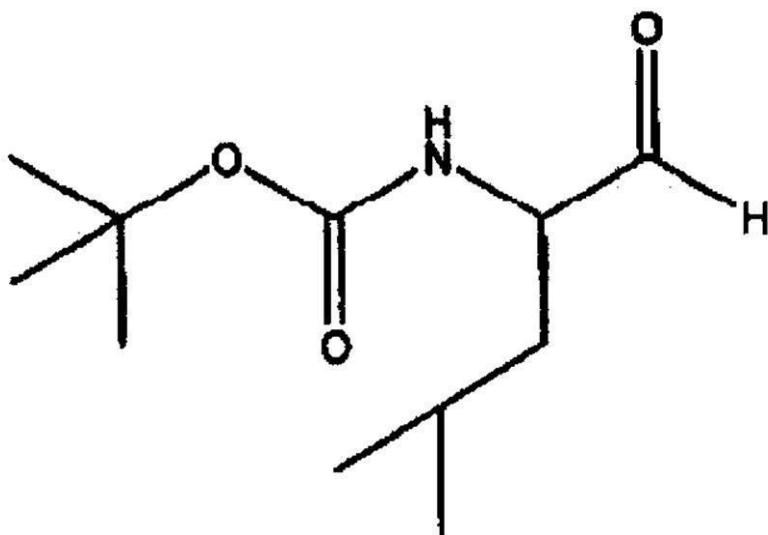
【請求項3】

a)非プロトン塩基の存在下でN-{tert-ブチルオキシカルボニル}-ロイシンをN,O-ジメチルヒドロキシアミン塩酸塩と反応させて、以下の構造式：



で表されるN-(tert-ブトキシカルボニル)-ロイシン-N'-メトキシ-N'-メチルアミドを形成する工程、および

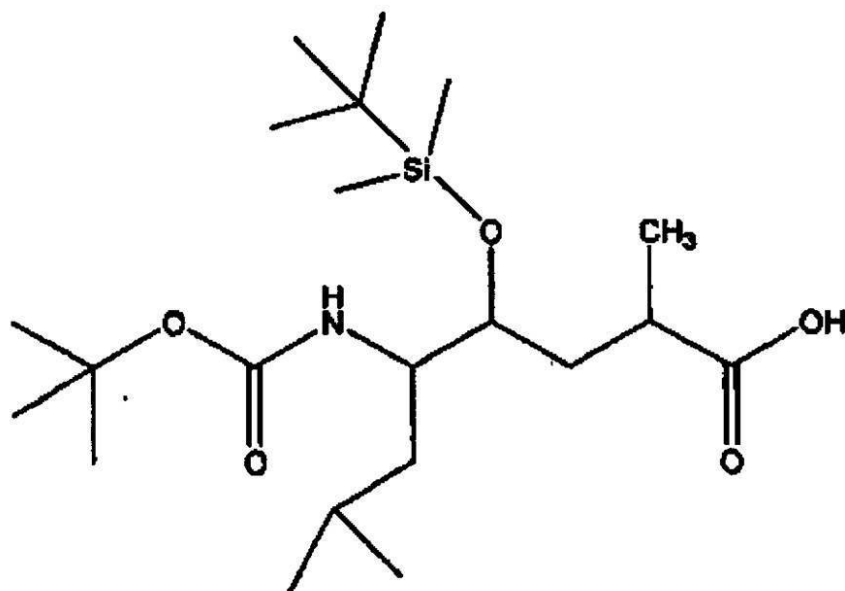
b) N-(tert-ブトキシカルボニル)-ロイシン-N'-メトキシ-N'-メチルアミドをリチウムアルミニウム水素化物と反応させて、以下の構造式：



で表されるN-(tert-ブトキシカルボニル)-ロイシナールを形成する工程をさらに含む、請求項2記載の方法。

【請求項4】

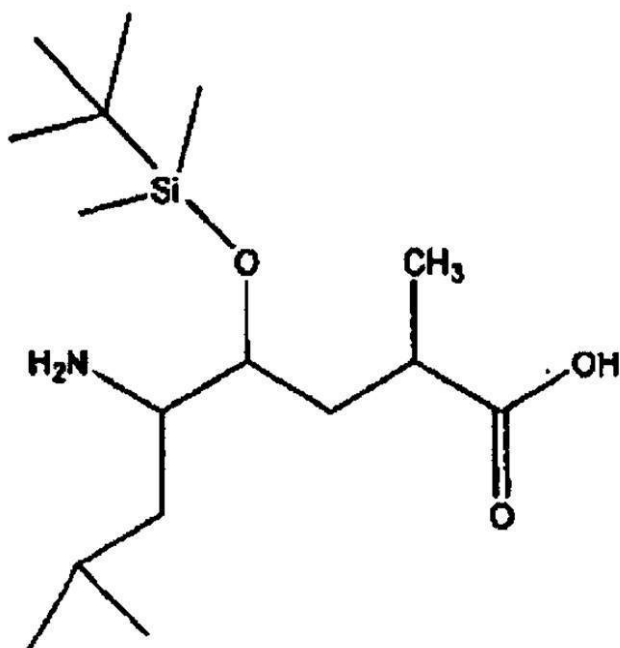
塩基の存在下でLeu*Alaジペプチド等配電子体をtert-ブチルジメチルクロロシランと反応させて、以下の構造式：



で表されるヒドロキシ保護 Leu*Alaジペプチド等配電子体を形成する工程をさらに含む、請求項 2 または 3 記載の方法。

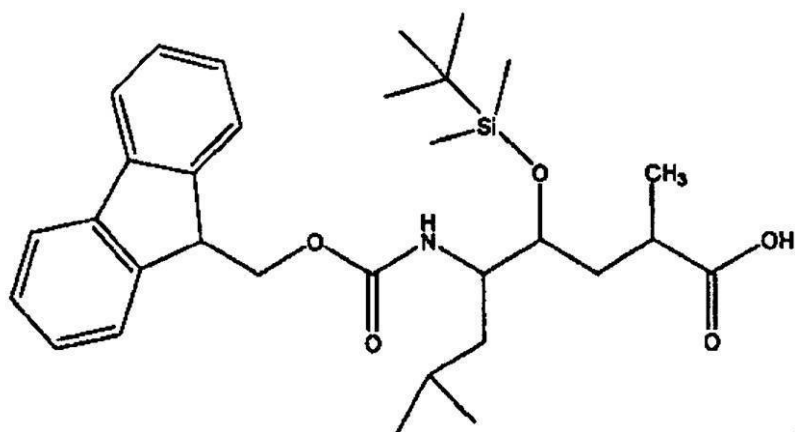
【請求項 5】

a) ヒドロキシ保護 Leu*Alaジペプチド等配電子体を酸で処理して、以下の構造式：



で表される脱保護アミン基を有する Leu*Alaジペプチド等配電子体を形成する工程、および

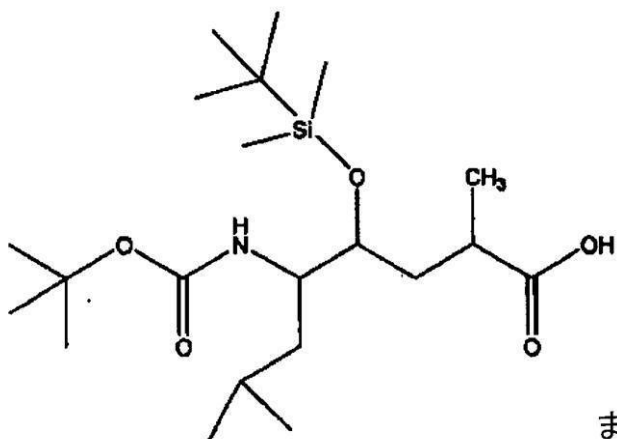
b) 塩基の存在下でアミン脱保護 Leu*Alaジペプチド等配電子体を N-(9-フルオレニルメトキシカルボニル-スクシニミド (Fmoc) と反応させて、以下の構造式：



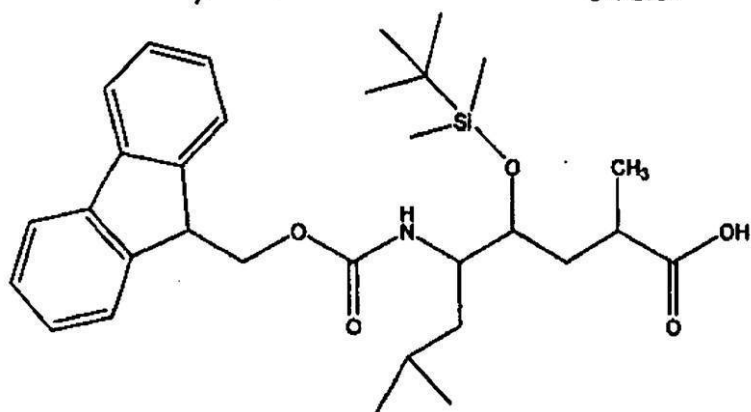
で表されるFmoc保護Leu*Alaジペプチド等配電子体を形成する工程をさらに含む、請求項2～4いずれか記載の方法。

【請求項6】

式：



または



の化合物。

【請求項7】

請求項 1 または 6 記載の化合物を含む組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】図 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図 6】

図 6 は、OM99-2 が結合したメマブシン 2 プロテアーゼドメインの結晶構造の立体図である。メマブシン 2 のポリペプチド骨格をリボン図で示す。N-ローブおよび C-ローブは、それぞれ「青色」および「黄色」で示される。ただし例外として、C-ローブ中の挿入ループ（A～G で示す、図 6 参照）は「マゼンタ色」で示され、C 末端伸長は「緑色」で示される。これらのローブの間のインヒビター結合は「赤色」で示される。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】図 7

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図 7】

図 7 は、メマブシン 2 およびペプシンの三次元構造の比較を示す立体図である。前者の分子表面は、表面ループならびにヘリックスの挿入および C 末端伸長により、かなり大きいものとなっている。ヒトメマブシン 2 の鎖のトレースは「濃い青色」で示され、ヒトペプシンの場合は「グレー色」で示される。「薄い青色」として示されたボールは、トポロジー同等である同じ残基を示す。ジスルフィド結合は、メマブシン 2 の場合は「赤色」で示され、およびペプシンの場合は「オレンジ色」で示される。C 末端伸長は「緑色」で示される。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】図 9

【補正方法】変更

【補正の内容】

【図 9】

図 9 は、インヒビター OM99-2（「オレンジ色」で示される）とメマブシン 2（「薄い青色」で示される）との相互作用を示す立体図である。窒素原子および酸素原子はそれぞれ「青色」および「赤色」で示される。水素結合は破線で示される。結合サブサイトを含むメマブシン 2 残基が含まれる。OM99-2 の残基 P₄、P₃、P₂、P₁ および P₁'（図 8 中で規定）は、より広い範囲の立体配座の中にある。インヒビター鎖は残基 P₂' で折り返しており、この位置で目立ったキック（kink）を形成する。P₃' および P₄' の骨格により、該インヒビターは活性部位からはみ出ている。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0083

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0083】

実施例 3 . 大腸菌 (E. coli) におけるプロメマブシン 2 cDNA の発現、プロメマブシン 2 のリフォールディングと精製

プロメマブシン 2 を PCR 増幅して、pET11a ベクターの BamHI 部位にクローニングした。得られたベクターは、Ala-8p から Ala326 までの配列をもつプロメマブシン 2 を発現する。図 1 に 2 種類の発現ベクター pET11-メマブシン 2-T1 (以下 T1) と pET11-メマブシン 2-T2 (以下 T2) の構造を示す。いずれのベ

クターにおいても、発現された組換えタンパク質のN - 末端側の15残基は、発現ベクターに由来するものである。プロメマブシン2の残基は、残基Ala - 16から開始する。2種類の組換えプロメマブシン2は、C - 末端側の長さが異なっている。クローンT1はThr - 456で終わっており、クローンT2はAla - 421で終わっている。T1構築物はT2構築物よりも長いC - 末端を持っているが、予想される膜貫通ドメインを全く発現しない。