

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-519945  
(P2009-519945A)

(43) 公表日 平成21年5月21日(2009.5.21)

(51) Int.Cl.

**C07C** 229/12 (2006.01)  
**C07K** 7/06 (2006.01)  
**A61K** 38/00 (2006.01)  
**A61K** 8/44 (2006.01)  
**A61K** 8/64 (2006.01)

F 1

C O 7 C 229/12  
C O 7 K 7/06  
A 6 1 K 37/02  
A 6 1 K 8/44  
A 6 1 K 8/64

### テーマコード（参考）

2G045  
4C083  
4C084  
4C086  
4C206

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 106 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2008-545836 (P2008-545836)
(86) (22) 出願日	平成18年12月15日 (2006.12.15)
(85) 翻訳文提出日	平成20年8月8日 (2008.8.8)
(86) 國際出願番号	PCT/US2006/047860
(87) 國際公開番号	W02007/070672
(87) 國際公開日	平成19年6月21日 (2007.6.21)
(31) 優先権主張番号	60/751, 165
(32) 優先日	平成17年12月16日 (2005.12.16)
(33) 優先権主張国	米国 (US)
(31) 優先権主張番号	60/814, 240
(32) 優先日	平成18年6月16日 (2006.6.16)
(33) 優先権主張国	米国 (US)
(31) 優先権主張番号	60/814, 355
(32) 優先日	平成18年6月16日 (2006.6.16)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

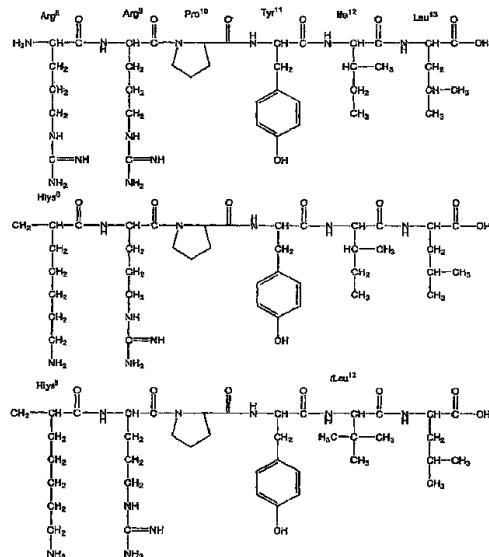
(71) 出願人	508178283 アルゴリン・バイオサイエンス・インコーポレーテッド アメリカ合衆国サウスカロライナ州29405ノースチャールストン・スイート110・スピーセガードライブ2750
(71) 出願人	508178294 メディカル・ユニバーシティ・オブ・サウスカロライナ アメリカ合衆国サウスカロライナ州29425チャールストン・アシュリーラベニユート-171
(74) 代理人	110000741 特許業務法人小田島特許事務所

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】非天然アミノ酸およびそれらのニューロテンシンアナログ

(57) 【要約】

本発明は、非天然デスアミノアミノ酸化合物、作成方法、およびそれらのN末端部分としてこれらの化合物を含有するペプチドに関する。好ましい一例は、N末端がデスアミノN,Nジメチルホモリシン残基であるニューロテンシン(8-13)である。



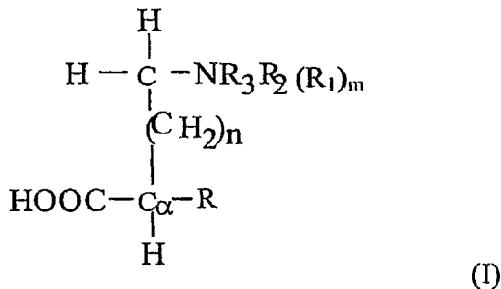
## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

下記式 I、II、III若しくはIVよりなる群から選択される式で表される非天然のデスマニノアルキルアミノ酸化物：

(a) 式 I は

【化 1】



であり、かつ、式中

$n$  は 0 から 5 までの整数であり；

$m$  は 0 若しくは 1 の整数であり；

$R$  は H であり；

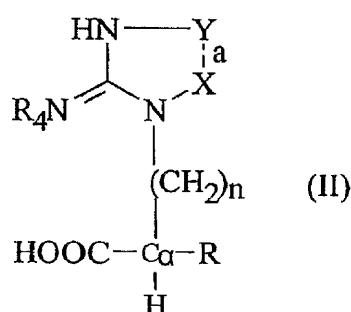
$R_1$ 、 $R_2$  および  $R_3$  は、独立して、水素、あるいは、 $C_1$  -  $C_6$  の分枝状若しくは直鎖アルキル、アルケニル若しくはアルキニル、あるいは  $C_6$  -  $C_{18}$  の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、 $C_4$  -  $C_18$  ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基であり、かつ、但し、 $R_1$ 、 $R_2$  および  $R_3$  の最大 2 個が、芳香族、置換芳香族、ヘテロ芳香族若しくは置換ヘテロ芳香族基であるように選択することができ、また、但し、 $m$  が 0 若しくは 1 でありかつ  $n$  が 0 ないし 5 である場合に、 $R_1$ 、 $R_2$  および  $R_3$  が全部 H ではなく；

そして、C は  $R$  若しくは S いずれかの立体化学を有する炭素原子であり；

あるいは、そのカルボン酸基のエステル、アミド、アルキルアミドまたは金属陽イオン若しくはアンモニウム塩、あるいはそのアミン基の有機若しくは無機酸塩、あるいはそれらのいずれかの組合せであり；

(b) 式 II は

【化 2】



でありかつ、式中、

$n$  は 0 から 6 までの整数であり；

破線 a が存在しない場合、X および Y は、独立して、水素、または  $C_1$  -  $C_6$  の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、アルケニル若しくはアルキニルであり；

破線 a が存在する場合、X - Y は  $(\text{CH}_2)_z$  であり、式中 Z は 1 - 8 からの整数であり；

40

20

30

40

50

R は H であり；

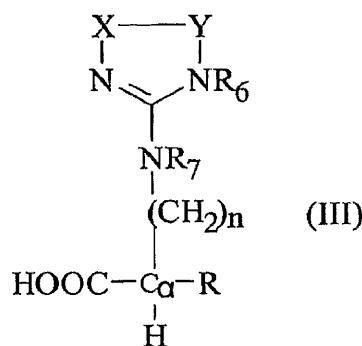
R<sub>4</sub> は、水素、あるいは、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、アルケニル若しくはアルキニル、あるいはC<sub>6</sub> - C<sub>18</sub> の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、C<sub>4</sub> - C<sub>18</sub> ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基であり、そして；

C は炭素原子でありかつ C の立体化学は R 若しくは S いずれかであり；

あるいは、そのカルボン酸基のエステル、アミド、アルキルアミドまたは金属陽イオン若しくはアンモニウム塩、あるいはそのアミン基の有機若しくは無機酸塩、あるいはそれらのいずれかの組合せであり；

(c) 式 I I I は

【化 3】



10

20

でありかつ、式中、

n は 0 から 5 までの整数であり；

X - Y は (C H<sub>2</sub>)<sub>z</sub> であり、式中 z は 0 から 6 までの整数であり；

R は H であり；

R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> は、独立して、水素、あるいは、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、アルケニル若しくはアルキニル、あるいはC<sub>6</sub> - C<sub>18</sub> の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、C<sub>4</sub> - C<sub>18</sub> ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基であり；そして

30

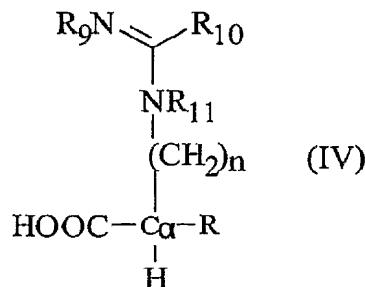
C は炭素原子でありかつ C の立体化学は R 若しくは S いずれかであり；

あるいは、そのカルボン酸基のエステル、アミド、アルキルアミドまたは金属陽イオン若しくはアンモニウム塩、あるいはそのアミン基の有機若しくは無機酸塩、あるいはそれらのいずれかの組合せであり；

(d) 式 I V は、

40

## 【化4】



でありかつ、式中

10

$n$  は 0 から 5 までの整数であり；

$R$  は  $H$  であり；

$R_9$ 、 $R_{10}$  および  $R_{11}$  は、独立して、水素、あるいは、 $C_1$  -  $C_6$  の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、アルケニル若しくはアルキニル、あるいは  $C_6$  -  $C_{18}$  の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、 $C_4$  -  $C_{18}$  ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基であり、かつ、但し、 $R_9$ 、 $R_{10}$  および  $R_{11}$  の最大 2 個が、芳香族、置換芳香族、ヘテロ芳香族若しくは置換ヘテロ芳香族基であるように選択されることができ；そして

20

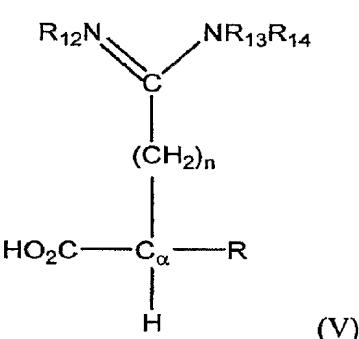
$C$  は炭素原子でありかつ  $C$  の立体化学は  $R$  若しくは  $S$  いずれかであり；

あるいは、そのカルボン酸基のエステル、アミド、アルキルアミドまたは金属陽イオン若しくはアンモニウム塩、あるいはそのアミン基の有機若しくは無機酸塩、あるいはそれらのいずれかの組合せであり；

さらに、

(e) 式 V は：

## 【化5】



30

でありかつ、式中

40

$n$  は 0 から 5 までの整数であり；

$R$  は、 $H$ 、あるいは、 $C_1$  -  $C_6$  の直鎖若しくは分枝状鎖アルキル基、あるいは  $C_6$  -  $C_{18}$  の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、 $C_4$  -  $C_{18}$  ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基のような有機置換基であり；そして

$R_{12}$ 、 $R_{13}$  および  $R_{14}$  は、独立して、水素、あるいは、 $C_1$  -  $C_6$  の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、アルケニル若しくはアルキニル、あるいは  $C_6$  -  $C_{18}$  の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはア

50

ルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、C<sub>4</sub> - C<sub>18</sub> ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基であり、かつ、但し、R<sub>1-2</sub>、R<sub>1-3</sub> および R<sub>1-4</sub> の最大 2 個が、芳香族、置換芳香族、ヘテロ芳香族若しくは置換ヘテロ芳香族基であるように選択されることができ；

あるいは、そのカルボン酸基のエステル、アミド、アルキルアミドまたは金属陽イオン若しくはアンモニウム塩、あるいはそのアミン基の有機若しくは無機酸塩、あるいはそれらのいずれかの組合せである。

10

#### 【請求項 2】

化合物が式 V の構造を有する場合には C の立体化学が S である、請求項 1 に記載の化合物。

#### 【請求項 3】

R、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub> および R<sub>3</sub> が、独立して、水素若しくはメチルである、請求項 1 に記載の化合物。

#### 【請求項 4】

(a) 化合物が式 I のものである場合には n が 2 から 5 までの整数であり；(b) 化合物が式 II 若しくは III のものである場合には、n が 2 から 5 までの整数であり、かつ、Z が 2 から 4 までの整数であり；そして (c) 化合物が式 IV のものである場合には、n が 2 から 4 までの整数である、請求項 1 に記載の化合物。

20

#### 【請求項 5】

側鎖アミノ基、側鎖カルボキシル基、若しくは側鎖アミノ基およびカルボキシル基双方が、アミノ基、カルボキシル基若しくは双方の基の望ましくない反応を予防しかつ他の基の切断もまた引き起こさない化学的方法により除去可能であるそれぞれの保護基により保護されている、請求項 1、2、3 若しくは 4 に記載の化合物。

#### 【請求項 6】

保護基が、B O C (t-ブトキシカルボニル)、F M O C (フルオレニルメトキシカルボニル)、A l l o c (アリルオキシカルボニル)、C B Z (ベンジルオキシカルボニル)、P b f (2,2,4,6,7-ペンタメチルジヒドロベンゾフラン-5-スルホニル)、N O 2 (ニトロ)、P m c (2,2,5,7,8-ペンタメチルクロマン-6-スルホニル)、M t r (4-メトキシ-2,3,6-トリメチルベンゼンスルホニル) 若しくは T o s (トシリル) である、請求項 5 に記載の化合物。

30

#### 【請求項 7】

請求項 1、2、3、4、5 若しくは 6 に記載の非天然アミノ酸化合物を含んでなる半合成ペプチド。

#### 【請求項 8】

非天然アミノ酸化合物が半合成ペプチドの N 末端部分である、請求項 7 に記載の半合成ペプチド。

#### 【請求項 9】

半合成ペプチドが、(i) ニューロテンシン (8-13)、(i i) 転写因子、(i i i) 細胞受容体のリガンド、(i v) ホルモン、(v) 細胞外結合ペプチド、(v i) オフェンケフリン (o f e n k e p h l i n)、(v i i) L H R H 若しくはそのアナログ、(v i i i) ニューロペプチド、(i x) グリコインクレチニン、(x) インテグリン若しくはそのアナログ、(x i) グルカゴン、(x i i) グルカゴン様ペプチド、(x i i i) 抗血栓ペプチド、(x i v) サイトカイン、(x v) インターロイキン、(x v i) トランスフェリン、(x v i i) インターフェロン、(x v i i i) エンドセリン、(x i x) ナトリウム利尿ホルモン、(x x) 細胞外キナーゼリガンド、(x x i) アンジオテンシン酵素阻害剤、(x x i i) ペプチド性抗ウイルス化合物、(x x i i i) トロンビン、(x x i v) サブスタンス P、(x x v) サブスタンス G、(x x v i) ソマトト

40

50

ロピン、(x x v i i) ソマトスタチン、(x x v i i i) GnRH 若しくはそのアナログ、(x x i x) セクレチン、(x x x) ブラジキニン、(x x x i) バソプレッシン若しくはそのアナログ、(x x x i i) インスリン若しくはそのアナログ、(x x x i i i) プロインスリン、または(x x x i v) 成長因子の半合成ペプチドである、請求項 8 に記載の半合成ペプチド。

【請求項 10】

ABS205、ABS207、ABS208、ABS210、ABS211、ABS212、ABS220、ABS225、ABS226、ABS227、ABS228、ABS230、ABS232、ABS234 若しくはABS239 である、請求項 9 に記載の半合成ペプチド。

10

【請求項 11】

半合成ペプチドが、該半合成ペプチドと同一のアミノ酸配列を有するがしかしそのN末端部分として置換された非天然アミノ酸化合物を有しないペプチドと比較した場合に、in vivo および / 若しくは in vitro で延長された半減期を有する、請求項 7、8、9 若しくは 10 に記載の半合成ペプチド。

【請求項 12】

請求項 7、8、9、10 若しくは 11 に記載のペプチドおよび製薬学的担体を含んでなる製薬学的組成物。

【請求項 13】

ペプチドが単位投薬形態物にある、請求項 21 に記載の製薬学的組成物。

20

【請求項 14】

化粧品用基剤製剤、および (a) 請求項 1、2、3、4、5 若しくは 6 に記載のデスマニノアルキルアミノ酸化合物；または (b) 請求項 7、8、9、10 若しくは 11 に記載のペプチドを含んでなる化粧品用製剤。

【請求項 15】

化粧品用基剤製剤が水性若しくは油性基剤である、請求項 14 に記載の化粧品用製剤。

【請求項 16】

医学的治療での使用のための、請求項 1、2、3、4、5 若しくは 6 に記載の化合物、または請求項 7、8、9、10 若しくは 11 に記載のペプチド。

【請求項 17】

哺乳動物における精神病、疼痛、癌、肥満、糖尿病若しくは覚醒剤濫用を処置するのに有用な医薬品の製造のための、請求項 1、2、3、4、5 若しくは 6 に記載の化合物または請求項 7、8、9、10 若しくは 11 に記載のペプチドの使用。

30

【請求項 18】

精神病が統合失調症である、請求項 17 に記載の使用。

【請求項 19】

患者の体温を低下させるように、(a) 有効量の請求項 7、8、9、10 若しくは 11 に記載のペプチド、または (b) 有効量の請求項 12 若しくは 13 に記載の組成物を患者に投与することを含んでなる、患者の体温の低下方法。

【請求項 20】

癌を処置するように、(a) 有効量の請求項 7、8、9、10 若しくは 11 に記載のペプチド、または (b) 有効量の請求項 12 若しくは 13 に記載の組成物を患者に投与することを含んでなる、癌の処置方法。

40

【請求項 21】

疼痛を処置するように、(a) 有効量の請求項 7、8、9、10 若しくは 11 に記載のペプチド、または (b) 有効量の請求項 12 若しくは 13 に記載の組成物を患者に投与することを含んでなる、疼痛の処置方法。

【請求項 22】

疼痛が神経因性疼痛である、請求項 21 に記載の方法。

【請求項 23】

50

精神病を処置するように、(a) 有効量の請求項7、8、9、10若しくは11に記載のペプチド、または(b) 有効量の請求項12若しくは13に記載の組成物を患者に投与することを含んでなる、精神病を伴う患者の処置方法。。

【請求項24】

肥満を処置するように、(a) 有効量の請求項7、8、9、10若しくは11に記載のペプチド、または(b) 有効量の請求項12若しくは13に記載の組成物を患者に投与することを含んでなる、肥満の処置方法。

【請求項25】

a) 既知のアミノ酸配列を有する第一のペプチドの生物学的活性を測定する段階(該第一のペプチドは非天然アミノ酸化合物を有さず)；および

b) 請求項7、8、9、10若しくは11に記載の半合成ペプチドの同一の生物学的活性を測定する段階(該半合成ペプチドは第一のペプチドと同一のアミノ酸配列を有するか、若しくは第一のペプチドの切断型バージョンである)

を含んでなる、非天然アミノ酸化合物を含有するペプチドの活性についてのスクリーニング方法。

【請求項26】

生物学的活性が、選択性、ポトーシス(photosis)、アポトーシス、細胞シグナリング、リガンド結合、転写、翻訳、代謝、細胞成長、細胞分化、恒常性、半減期、溶解性、輸送若しくは安定性である、請求項25に記載の方法。

【請求項27】

生物学的活性が、生物学的障壁を通過する半合成ペプチドの能力の直接若しくは間接的評価を包含する、請求項25に記載の方法。

【請求項28】

請求項7、8、9、10若しくは11に記載の半合成ペプチドを患者に投与することを含んでなり、該半合成ペプチドは、非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドと同一の配列を有するか、若しくは非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドの切断型バージョンである、既知の第一のペプチドの患者への投与により影響を及ぼされる疾患を伴う患者の処置方法。

【請求項29】

疾患が脳の疾患であるか、若しくは既知の第一のペプチドが身体障壁を横断する、請求項28に記載の方法。

【請求項30】

請求項7、8、9、10若しくは11に記載の半合成ペプチドを既知のペプチドの代わりに用いることを含んでなり、該半合成ペプチドは、非天然アミノ酸化合物を除き、既知のペプチドと同一の配列を有するか若しくは既知のペプチドの切断型バージョンである、生物学的障壁を横断する既知のペプチドの能力の増大、既知のペプチドの選択性の増大、若しくはペプチダーゼによる消化に対する既知のペプチドの抵抗性の増大方法。

【請求項31】

障壁が、血液脳関門、細胞膜、腸上皮、皮膚若しくは血液眼を含んでなる、請求項30に記載の方法。

【請求項32】

障壁が血液脳関門である、請求項31に記載の方法。

【請求項33】

請求項7、8、9、10若しくは11に記載の半合成ペプチドを既知のペプチドの代わりに用いることを含んでなり、該半合成ペプチドは、非天然アミノ酸化合物を除き、第一のペプチドと同一の配列を有するか若しくは第一のペプチドの切断型バージョンである、in vivoで延長された半減期をもつ半合成ペプチドの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

10

20

30

40

50

本特許文書は、2005年12月16日出願の米国仮出願第60/751,165号；2006年6月16日出願の米国仮出願第60/814,240号；および2006年6月16日出願の米国仮出願第60/814,355号（それらの全部は引用することにより本明細書に組み込まれる）に対する優先権の利益を主張する。

【背景技術】

【0002】

数種の非天然アミノ酸がペプチドの構造的および生物学的活性に対し有する影響は簡潔に研究された。例えば、Mooreら（非特許文献1）は、カルボキシリックペプチダーゼ（carboxylic peptidase）B<sup>1</sup>（CPB）によるベンゾイルジペプチドの加水分解に対する塩基性アミノ酸側鎖の長さおよび最後から2番目の残基の影響を開示した。ホモリシンおよびホモアルギニンを包含する非天然アミノ酸を小型ペプチド鎖に組み込み、そして該ペプチドのCPBに触媒される加水分解について動態パラメータを測定した。また、Lindbergら（非特許文献2）は、非天然アミノ酸を組み込んだ1-デアミノ-4-L-バリン-8-DL-ホモリシン-バソプレッシンおよび保護された1-デアミノ-4-L-バリン-8-D-リシン-バソプレッシンの合成を開示した。非天然アミノ酸は、それぞれ非天然アミノ酸ホモリシンおよびホモアルギニンを生成するためのリシンおよびアルギニンへのメチレン基の付加により形成した。該研究は、ホモリシンおよびホモアルギニンをもつペプチドが該ペプチドの抗利尿活性を低下させたことを示した。

10

【0003】

天然に存在する内因性ペプチドは、生物学的過程を促進および調節することにおけるそれらの無数の活性のおかげで理想的な薬物候補リードである。しかしながら、それらを不十分な薬物候補にもまたするいくつかの因子はペプチドの化学および生物学に固有である。ペプチドは、最もしばしば、限局性の効果を発揮しあつて体内で迅速に分解される。加えて、大多数のペプチドは、小腸および血液脳関門（BBB）を包含する生物学的膜を横断することが不可能である。最後に、ペプチドはしばしば1種以上の受容体若しくは受容体サブタイプに結合し、従って実現可能な薬物候補の必要とされる選択性をまれに示す。従って、ペプチドが実現可能な薬物候補となるために、固有の結合アフィニティーを除去することなく、血液安定性、受容体選択性および障壁横断の改良がなされるべきである。

20

【0004】

エキソペプチダーゼ活性を予防するためのNおよびC末端修飾、アミドバックボーン修飾、ならびにペプチダーゼ分解からペプチドを隠すためのコンホメーションの制約の導入を包含する多数の戦略が、ペプチド安定性の改良方法として開発された。他の治療的化合物は、その全体的疎水性を改変することを意図しているプロドラッグ部分を使用し、それは生物学的膜を横断する化合物をもたらし得る。この場合、化合物は内因性酵素によりその活性成分に切断される。これらの戦略のそれぞれはペプチドを薬物候補として改良するために使用されている一方、生物学的障壁を横断する安定な受容体選択性ペプチドを創製するための普遍的解決策は発見されていない。

30

【0005】

結果として、例えば改良された診断的若しくは疾患と闘う活性のような優れた効果を達成するためにこうした酸を組み込む非天然のアミノ酸およびペプチドに対する当該技術分野での必要性が存在する。従って、非天然アミノ酸の概念は、新たなペプチド医薬品の開発に応用し得る。こうした開発の一例はニューロテンシンのようなニューロペプチドへの応用である。ニューロテンシン（NT）は主に脳で見出される13アミノ酸残基のペプチドである。それは2種のニューロテンシン受容体（NTR）、NTR-1およびNTR-2の結合および活性化により明示される多機能的活性を有する（非特許文献3を参照されたい）。NTの完全な活性はそのC末端の6アミノ酸配列（NH<sub>2</sub>-Arg<sup>(8)</sup>-Arg<sup>(9)</sup>-Pro<sup>(10)</sup>-Try<sup>(11)</sup>-Ile<sup>(12)</sup>-Leu<sup>(13)</sup>-COOH、NT[8-13]と呼称される、非特許文献4を参照されたい）に存するとは言え、該C末端の6アミノ酸配列は、血液中でのその不安定性、ならびに血液脳関門および/若

40

50

しくは腸閥門を横断することの不能により、IP若しくは経口で投与される場合に活性を有しない。

【非特許文献1】Can. J. Biochem. 1978, 56, 315

【非特許文献2】Int. J. Peptide Protein Res. 1977, 10, 240

【非特許文献3】CarrawayとLeeman, J. of Biol. Chem. 248: 6854 (1973)

【非特許文献4】CarrawayとLeeman, J. Biol. Chem. 250: 1907 (1975)

【発明の開示】

10

【0006】

【発明の要約】

本発明は、正に荷電した側鎖を保有することが可能である - デスアミノアミノ酸化合物（デスアミノアミノ酸化合物）、それらの合成、生物学的に活性のペプチドの天然のアミノ酸部分の代替物としてのそれらの応用、および、同様に、生じるペプチドに関する。とりわけ、 - デスアミノアルギニン、リシンおよびオルニチン、ならびにそれらの置換および誘導体化した側鎖アナログが本発明の好ましい態様を構成する。これらのデスアミノアミノ酸化合物は、置換されたペプチドが置換位置で切断されることができるような、いずれかの既知の生物学的に活性のペプチドのアルギニンおよび／若しくはリシン部分の代わりに用いることができる。あるいは、これらのデスアミノアミノ酸化合物は、いずれかの既知の生物学的に活性のペプチドのN末端のアミノ基にカップリングして伸長されたペプチドを生じ得る。切断型および伸長型ペプチドは、アミノペプチダーゼ分解に対するそれらの抵抗性のおかげで、有意の生物学的選択性および生物学的半減期を有する。

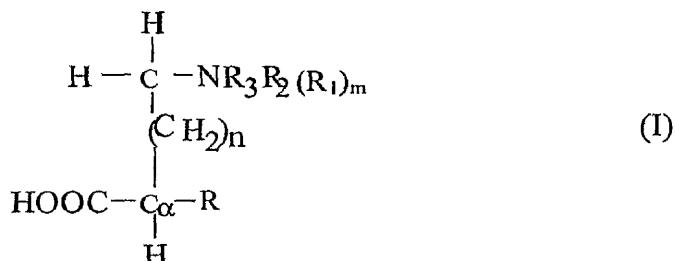
20

【0007】

第一のアスペクトにおいて、本発明は、式I:

【0008】

【化1】



30

【0009】

式中

nは0から5まで、好ましくは2ないし5の整数であり；

mは0若しくは1の整数であり；

RはH、あるいは、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>の直鎖若しくは分枝状鎖アルキル基、あるいはC<sub>6</sub> - C<sub>18</sub>の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される1若しくは2個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、C<sub>4</sub> - C<sub>18</sub>ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される1若しくは2個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される1若しくは2個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基のような有機置換基であり；

40

R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>およびR<sub>3</sub>は、独立して、水素、あるいは、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub>の分枝状若しくは直鎖アルキル、アルケニル若しくはアルキニル、あるいはC<sub>6</sub> - C<sub>18</sub>の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される1若しくは2個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、C<sub>4</sub> - C<sub>18</sub>

50

8 ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基であり、かつ、但し、 $R_1$ 、 $R_2$  および  $R_3$  の最大 2 個が、芳香族、置換芳香族、ヘテロ芳香族若しくは置換ヘテロ芳香族基であるように選択されることができ、また、但し、 $m$  が 0 若しくは 1 でありかつ  $n$  が 0 ないし 5 である場合は、 $R_1$ 、 $R_2$  および  $R_3$  が全部 H ではなく；

C は、R の置換基が有機置換基である場合に R 若しくは S いずれかの立体化学を有する炭素原子であり；

あるいは、そのカルボン酸基のエステル、アミド、アルキルアミドまたは金属陽イオン若しくはアンモニウム塩、あるいはそのアミン基の有機若しくは無機酸塩、あるいはそれらのいずれかの組合せ

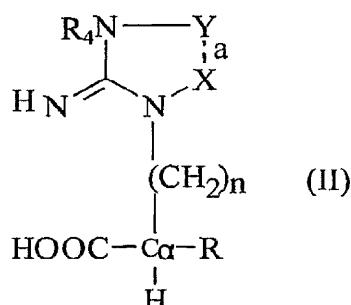
を有する非天然のデスマニノアミノ酸化合物に関する。

[ 0 0 1 0 ]

第二のアспектにおいて、本発明は、式(1)：

[ 0 0 1 1 ]

【化 2】



【 0 0 1 2 】

式中、

$n$  は 0 から 6 まで、好みしくは 2 ないし 5 の整数であり；

破線 a が存在しない場合、X および Y は独立して水素、または C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、アルケニル若しくはアルキニルであり；

破線 a が存在する場合、 X - Y は  $(CH_2)_z$  であり、式中 z は 1 - 8 から、好ましくは 2 ないし 4 の整数であり；

R は、H、あるいは、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> の直鎖若しくは分枝状鎖アルキル基、あるいはC<sub>6</sub> - C<sub>18</sub> の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、C<sub>4</sub> - C<sub>18</sub> ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基のような有機置換基であり；

$R_4$  は、水素、あるいは、 $C_1 - C_6$  の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、アルケニル若しくはアルキニル、あるいは $C_6 - C_{18}$  の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、 $C_4 - C_{18}$  ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基であり、ならびに；

C は炭素原子であり、かつ、R の置換基が有機置換基である場合、C の立体化学は R 若しくは S いずれかであり；

あるいは、そのカルボン酸基のエステル、アミド、アルキルアミドまたは金属陽イオン若しくはアンモニウム塩、あるいはそのアミン基の有機若しくは無機酸塩、あるいはそれらのいずれかの組合せ

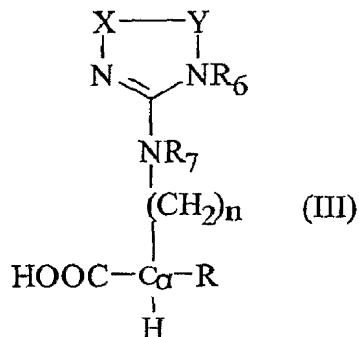
の非天然のデスアミノアミノ酸化合物に関する。

【0013】

本発明の第三のアспектは、式III：

【0014】

【化3】



【0015】

式中、

nは0から5まで、好ましくは2ないし5の整数であり；

X-Yは( $\text{CH}_2$ )<sub>z</sub>であり、式中zは0から6まで、好ましくは2ないし4の整数であり；

RはH、あるいは、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>の直鎖若しくは分枝状鎖アルキル基、あるいはC<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される1若しくは2個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、C<sub>4</sub>-C<sub>18</sub>ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される1若しくは2個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される1若しくは2個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基のような有機置換基であり；

R<sub>6</sub>およびR<sub>7</sub>は、独立して、水素、あるいは、C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、アルケニル若しくはアルキニル、あるいはC<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される1若しくは2個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、C<sub>4</sub>-C<sub>18</sub>ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される1若しくは2個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される1若しくは2個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基であり；ならびに

C<sub>α</sub>は炭素原子であり、かつ、Rの置換基が有機置換基である場合、C<sub>α</sub>の立体化学はR若しくはSいずれかであり；

あるいは、そのカルボン酸基のエステル、アミド、アルキルアミドまたは金属陽イオン若しくはアンモニウム塩、あるいはそのアミン基の有機若しくは無機酸塩、あるいはそれらのいずれかの組合せ

の非天然のデスアミノアミノ酸化合物に関する。

【0016】

本発明の第四のアспектは、式IV：

【0017】

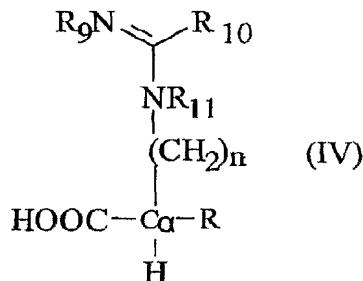
20

20

30

40

【化4】



【0018】

10

式中

$n$  は 0 から 5 まで、好ましくは 2 ないし 4 の整数であり；

$R$  は H、あるいは、 $C_1 - C_6$  の直鎖若しくは分枝状鎖アルキル基、あるいは $C_6 - C_{18}$  の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、 $C_4 - C_{18}$  ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基のような有機置換基であり；

$R_9$ 、 $R_{10}$  および  $R_{11}$  は、独立して、水素、あるいは、 $C_1 - C_6$  の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、アルケニル若しくはアルキニル、あるいは $C_6 - C_{18}$  の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、 $C_4 - C_{18}$  ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基であり、かつ、但し、 $R_9$ 、 $R_{10}$  および  $R_{11}$  の最大 2 個が、芳香族、置換芳香族、ヘテロ芳香族若しくは置換ヘテロ芳香族基であるように選択されることができ；ならびに

$C$  は炭素原子であり、かつ、 $R$  の置換基が有機置換基である場合、 $C$  の立体化学は  $R$  若しくは S いずれかであり；

あるいは、そのカルボン酸基のエステル、アミド、アルキルアミドまたは金属陽イオン若しくはアンモニウム塩、あるいはそのアミン基の有機若しくは無機酸塩、あるいはそれらのいずれかの組合せ

の非天然のデスアミノアミノ酸化合物に関する。

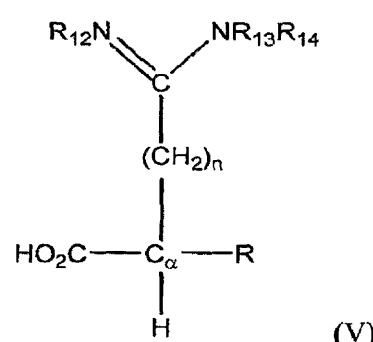
【0019】

30

本発明の第五のアспектは、式 V：

【0020】

【化5】



【0021】

40

式中

50

*n* は 0 から 5 まで、好ましくは 2 ないし 4 の整数であり；

*R* は、H、あるいは、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> の直鎖若しくは分枝状鎖アルキル基、あるいはC<sub>6</sub> - C<sub>18</sub> の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、C<sub>4</sub> - C<sub>18</sub> ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基のような有機置換基であり；

*R<sub>1-2</sub>*、*R<sub>1-3</sub>* および *R<sub>1-4</sub>* は、独立して、水素、あるいは、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、アルケニル若しくはアルキニル、あるいはC<sub>6</sub> - C<sub>18</sub> の芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換芳香族基、あるいは、C<sub>4</sub> - C<sub>18</sub> ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される 1 若しくは 2 個のヘテロ原子のヘテロ芳香族基、またはいずれかの組合せのハロゲン、アルキルオキシ、カルボキシ、アミド若しくはアルキルから選択される 1 若しくは 2 個の置換基をもつ対応する置換ヘテロ芳香族基であり、かつ、但し、*R<sub>1-2</sub>*、*R<sub>1-3</sub>* および *R<sub>1-4</sub>* の最大 2 個が、芳香族、置換芳香族、ヘテロ芳香族若しくは置換ヘテロ芳香族基であるように選択されることができ；ならびに

*C* は炭素原子であり、かつ、*R* の置換基が有機置換基である場合、*C* の立体化学は *R* 若しくは S いずれかであり；

あるいは、そのカルボン酸基のエステル、アミド、アルキルアミドまたは金属陽イオン若しくはアンモニウム塩、あるいはそのアミン基の有機若しくは無機酸塩、あるいはそれらのいずれかの組合せ

の非天然のデスアミノアミノ酸化合物に関する。

#### 【0022】

本発明のさらなる一局面は、生物学的に活性のペプチドの N 末端アミノ基への本発明の非天然のデスアミノアミノ酸化合物の付加、若しくは生物学的に活性のペプチドの天然に存在する同種アミノ酸部分の代わりのそれらの使用に関する。好ましい同種部分はアルギニンおよび／若しくはリシンを包含する。

#### 【0023】

既知の生物学的に活性のペプチドの N 末端アミノ基への付加は、該既知の生物学的に活性のペプチドと同一種類の選択的な持続性の生物学的活性を有する伸長されたペプチドを提供する。該付加は、アシリアルジドカップリング、カルボジイミドカップリング、酸イオン交換樹脂、トリアミノボランおよび酵素カップリングの使用を包含する、アミド結合を形成するための酸およびアミン基の一組の既知のカップリング方法により達成し得る。好ましい一方法は、ペプチド結合形成を促進する条件下でのアミノエキソペプチダーゼの使用を必要とする。本発明のいくつかの態様において、半合成ペプチドは、NT (8 - 13) の N 末端アルギニン残基の代わりに非天然アミノ酸化合物を使用することにより製造する（例えば ABS 205、ABS 207、ABS 208、ABS 210、ABS 211、ABS 212、ABS 220、ABS 225、ABS 226、ABS 227、ABS 228、ABS 230、ABS 232、ABS 234 若しくは ABS 239）。

#### 【0024】

伸長されるペプチドが基づくペプチドの好ましい態様は、異常状態 (malcondition) の処置若しくは予防に有用な生物学的に活性のペプチドを包含する。好ましい範疇および例の一覧を下の節に包含する。いくつかの好ましい範疇は、限定されるものでないが、転写因子、細胞受容体のリガンド、ホルモンおよび細胞外結合ペプチドを挙げることができる。いくつかの好ましい例は、限定されるものでないが、エンケフリン (enkephlin)、LHRH およびアナログ、ニューロペプチド、グリコインクレチニン (glycoincretin)、インテグリンおよびアナログ、グルカゴンおよびグルカゴン様ペプチド、抗血栓ペプチド、サイトカインおよびインターロイキン、トランスフェ

10

20

30

40

50

リン、インターフェロン、エンドセリン、ナトリウム利尿ホルモン、細胞外キナーゼリガンド、アンジオテンシン酵素阻害剤、ペプチド性抗ウイルス化合物、トロンビン、サブスタンスP、サブスタンスG、ソマトトロピン、ソマトスタチン、GnRHおよびアナログ、セクレチン、ブラジキニン、バソプレッシンおよびアナログ、インスリンおよびそのアナログ、成長因子ならびに他者を挙げることができる。伸長されたペプチドは、本発明のデスアミノアミノ酸化合物のカルボキシル基に基礎ペプチドのN末端アミノ基を結合することにより形成する。

【0025】

生物学的に活性のペプチドのアルギニン若しくはリシン部分の代わりのデスアミノアミノ酸部分の使用は、選択的な持続性の生物学的活性を有する切断型(*truncated*)ペプチドを提供する。そのアミノ酸配列内にアルギニンおよび/若しくはリシン部分を有するいかなる既知の生物学的に活性のペプチドも、対応する切断型ペプチドの基礎としてはたらくことができる。そのARG若しくはLYS部分で開始して、切断型ペプチドは、既知の生物学的に活性のペプチドと同一の下流配列を有することができるが、しかし上流配列は非存在であることができる。加えて、そのARG若しくはLYS部分は、デスアミノアミノ酸部分と交換することができ、従って切断型ペプチドを提供する。数種の既知の生物学的に活性のペプチドは、プロペプチドすなわち前駆体の切断位置にアルギニン若しくはリシン部分をもつプロペプチドとして最後から2番目に形成されるか、または、切断されて活性の切断型ペプチドを提供し得る位置にアルギニン若しくはリシン部分を含有する最終的なペプチドとして形成される。トリプシンはこうした切断位置に特異的な酵素である。例は、グルカゴン様ペプチド、ニューロテンシン、プロインスリンおよびトロンビンを包含する。アルギニン若しくはリシン部分の代わりに用いられるデスアミノアミノ酸化合物を伴うこれらの例の切断型バージョンは、選択的な持続性の生物学的活性を提供する。

10

20

30

40

【0026】

本発明のさらなる一つのアспектは、デスアミノアミノ酸化合物、伸長若しくは切断されたペプチド、およびそれらの組合せの製薬学的および化粧品用組成物を包含する。該製薬学的組成物の単位投薬形態物および生物学的に有効な製剤が包含される。化粧品用製剤は、適切な油、クリーム、蛻若しくは水性基剤の化粧品用担体を包含する。

【0027】

本発明のなお別の局面は、本発明のデスアミノアミノ酸化合物および/または付加若しくは切断型ペプチドを使用するスクリーニング、診断および処置方法を包含する。

【0028】

本発明の一態様は、そのN末端アミノ酸部分としてデスアミノアミノ酸を有する切断型ニューロテンシンペプチドである。

【0029】

本発明はまた、式I、II、III、III、IVおよび/若しくはVの化合物ならびにこうした化合物を含有するペプチドのような本発明の化合物を製造するのに有用である、本明細書に開示される方法および中間体も提供する。こうした中間体の一分類は、式I、II、III、III、IVおよびVのN-保護若しくはカルボキシル保護またはN-およびカルボキシル保護された化合物を包含する。これらの保護された中間体は、本出願の以下の節に詳細に記述される。こうした中間体の別の分類は、式I、II、III、III、IVおよびVの化合物のカルボン酸塩、それらの化合物の有機若しくは無機酸のアミン塩および複塩(カルボン酸塩、アミン塩)を包含する。

【0030】

[発明の詳細な記述]

本発明の定義

本明細および付随する請求の範囲で使用されるところの単数形「ある」(「a」、「a n」)および「該(the)」は、文脈が別な方法で明瞭に指図しない限り、複数の指示物を包含する。

50

## 【0031】

本出願を通じての  $R_1$  -  $R_3$ 、n、z、X、Y、C およびC のような変数は、それと反対に述べられない限り、本明細書で定義されると同一の変数である。

## 【0032】

本明細書で使用されるところの「アルキル」という用語は、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソブチル、t-ブチル、ペンチル、ヘキシル、ヘプチル、オクチル、デシル、テトラデシル、ヘキサデシル、エイコシル、テトラコシルなどのような、1ないし24個の炭素原子の分枝状若しくは非分枝状の飽和炭化水素基を指す。本明細書で好ましいアルキル基は1から6個までの炭素原子を含有する。

## 【0033】

本明細書で使用されるところの「アルケニル」という用語は2ないし24個の炭素原子の炭化水素基を指し、この分類内の好ましい基は2ないし6個の炭素原子含有し、また、構造式は1個の炭素-炭素二重結合を含有する。

## 【0034】

本明細書で使用されるところの「アルキニル」という用語は2ないし24個の炭素原子の炭化水素基を指し、この分類内の好ましい基は2ないし6個の炭素原子を含有し、また、構造式は1個の炭素-炭素三重結合を含有する。

## 【0035】

別の方法で定義されない限り、とりわけアルキル、アルケニルおよびアルキニルに言及して本明細書で使用されるところの「低級」という用語は、1から6個までの炭素原子、好ましくは1ないし4個の炭素原子、より好ましくは1ないし2個の炭素原子を有する部分を指す。

## 【0036】

本明細書で提供されるところの「アルキル化剤」という用語は、構造式  $RX$  (式中Rは以前に記述されたところのアルキル、アルケニル若しくはアルキニル基であり、また、Xは好ましくは塩化物、臭化物若しくはヨウ化物のようなハロゲン化物である)をもつ化合物である。

## 【0037】

本明細書で使用されるところの「非天然アミノ酸」という用語は、それが天然のアミノ酸の構造および反応性を模倣するように天然のアミノ酸に類似の構造をそれが有するために天然のアミノ酸の同種物である有機化合物を指す。本明細書で定義されるところの非天然のアミノ酸は、該非天然のアミノ酸がペプチドの天然のアミノ酸単位の代わりに用いられるか若しくはペプチドに別の方法で組み込まれるかのいずれかである場合に、ペプチドの特性(例えば選択性、安定性)を全般に増大するすなわち高める。

## 【0038】

本明細書で使用されるところの「ペプチド」という用語は、一緒に化学結合されたアミノ酸から構成される化合物の一分類を指す。一般に、アミノ酸はアミド結合(-CONH-)を介して一緒に化学結合されるが；しかしながらアミノ酸は当該技術分野で既知の他の化学結合により一緒に結合されてもよい。例えば、アミノ酸はアミン結合により結合されうる。本明細書で使用されるところのペプチドは、アミノ酸のオリゴマー、ならびにポリペプチドを包含する小型および大型ペプチドを包含する。

## 【0039】

本明細書で使用されるところの「活性」という用語は生物学的活性を指す。

## 【0040】

本明細書で使用されるところの「薬理学的活性」という用語は、ペプチド若しくはポリペプチドの固有の物理特性を指す。これらの特性は、限定されるものでないが半減期、溶解性、および安定性、ならびに他の薬物動態特性を挙げることができる。

## 【0041】

本明細書で使用されるところの「有機酸塩」という用語は、アルキル若しくはアリール  $C_1$  -  $C_9$  カルボン酸、スルホン酸若しくはリン酸とアミン基の塩の形態を指す。

10

20

30

40

50

## 【0042】

本明細書で使用されるところの「無機酸塩」という用語は、塩酸、硫酸、スルホン酸、リン酸、硝酸、亜硝酸若しくは臭化水素酸のような無機酸とアミン基の塩の形態を指す。

## 【0043】

本明細書で使用されるところの「C<sub>6</sub>ないしC<sub>18</sub>の芳香族」という用語は、フェニル、ナフチル、アントラセニルのような芳香族炭化水素、またはベンジル、フェネチル若しくはナフチルメチレンののようなアリールアルキル炭化水素を指す。

## 【0044】

本明細書で使用されるところの「C<sub>4</sub>ないしC<sub>18</sub>ならびにいずれかの組合せの酸素、イオウおよび窒素から選択される1若しくは2個のヘテロ原子のヘテロ芳香族」という用語は、チエニル、フリル、ピロリル、アザチエニル、アザフリル、ピリジニル、チアピリジニル、ピラジニル、メチレンルピリジニル、エチレンルピリジニル、メチレンルピロリルなどのような1若しくは2個のヘテロ原子を含有するヘテロ芳香族炭化水素またはアルキルヘテロ芳香族炭化水素を指す。

10

## 【0045】

立体化学に関しての「R若しくはS」という用語は、選択された炭素の光学異性を呼称する通常の意味を有する。この文脈でのRは置換基としてのRと混同されるべきでない。本明細書で使用される化学的、製薬学的および生物学的用語は、当該分野のPh.D.研究者のような当業者がそれらに帰すとみられる通常のかつ通例の意味に従う。こうした意味は、限定されるものでないが、“Hawley's Condensed Chemical Dictionary”、第11版、編者SaxとLewis、Van Noststrand Reinhold Publishing、ニューヨーク州ニューヨーク1987; “Concise Chemical and Technical Dictionary”、増補第4版、編者Bennett、Chemical Publishing Inc.、ニューヨーク州ニューヨーク、1986、“The Merck Index”第11および後続の版、Merck & Co. ニュージャージー州ローウェイ1989およびより最近; “Advanced Organic Chemistry”第4版、J. March、Wiley Interscience、ニューヨーク州ニューヨーク1992; “Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology”、Pei-Show Juo編、CRC Press、ニューヨーク州ニューヨーク1996; “Molecular Cell Biology”、Darnell、Lodish、Baltimore、Scientific American Books、ニューヨーク州ニューヨーク1986(これらの辞書及び協定文書の全部の開示は引用することにより本明細書に組み込まれる)を挙げることができる適切な技術的辞書および協定文書に見出しうる。

20

## 【0046】

本発明は、ある種のデスアミノアミノ酸化合物、既知の生物学的に活性のペプチド中の伸長体(extender)若しくは同種体としてのそれらの組み込み、ならびに医学的診断、処置およびスクリーニングにおける該化合物およびペプチドの使用に向けられる。本発明のいくつかの局面は、デスアミノアミノ酸化合物の天然のアミノ酸アルギニンおよび/若しくはリシンの模倣に関する。既知の生物学的に活性のペプチドでのこれらの天然のアミノ酸部分の同種体としてのそれらの使用により、生物学的活性が既知のペプチドのものより選択的かつ持続性である該ペプチドの切断型バージョンを製造し得る。伸長体としてのそれらの使用により、既知の生物学的に活性のペプチドのN末端部分付加物としてのそれらの位置が、既知のペプチドのものより持続性の生物学的活性もまた提供することができる。

30

## 【0047】

切断型ペプチド中の本発明のデスアミノアミノ酸化合物の使用の一例がニューロテンシンにより提供される。ニューロテンシン(NT)は神経学的特性を有する13アミノ酸の

40

50

ペプチドである。切断型ニューロテンシン(8-13)を生じるためのAA7でのその切断は選択的生物学的活性を有するペプチドを提供する。本発明により、AA8アルギニンのデスアミノアミノ酸部分への転化は、有意かつ選択的な生物学的活性もまた有するペプチドをもたらす。NTおよび転化されたバージョンの例を図1に示す。

## 【0048】

本発明の生物学的に活性のペプチドはそれらのN末端部分としてデスアミノアミノ酸部分を有する。これらのペプチドは、デスアミノアミノ酸が既知ペプチドのN末端アミン基とアミド結合により共有結合されている(伸長型ペプチド)か、若しくは該ペプチド内のその対応する同種部分(類似の天然のアミノ酸部分)の代わりに用いられる(切断型バージョン)のいずれかである、生物学的に活性のアミノ酸の既知のアミノ酸配列を有する。別の代替において、該ペプチドは、デスアミノアミノ酸部分が新たなN末端となりかつこの位置の上流のアミノ酸残基がもはや該配列の一部でないよう、置換の位置で切断されたようになる(切断型ペプチド)。伸長型および切断型ペプチドはin vivoでより長い寿命を有し得、また、活性がより選択的になることができる除き、天然のペプチドのもののような生物学的活性を有し得る。

10

## 【0049】

本発明のデスアミノアミノ酸化合物の一局面は上で示された式Iにより提供される。式Iの好ましい態様は、

R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>およびR<sub>3</sub>が、独立して、水素、またはC<sub>1</sub>-C<sub>5</sub>の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、より好ましくは水素若しくはメチルであるが、但し、mが0若しくは1でありかつnが0ないし5である場合に、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>およびR<sub>3</sub>は全部がHではないものを包含する。別の態様において、nは4である。なおさらなる一態様において、RはH、メチル、エチル若しくはプロピルである。付加的な好ましい態様は、RがH、メチル、エチル、プロピル若しくはブチルであり、ならびに

20

a) nが4であり、mが0であり、R<sub>1</sub>が水素であり、R<sub>2</sub>がメチルであり、式Iの化合物が酸であり、およびCの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

b) nが4であり、mが1であり、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>がメチルであり、R<sub>3</sub>が水素若しくはメチルであり、式Iの化合物が酸であり、Cの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

30

c) nが4であり、mが1であり、R<sub>1</sub>がメチルであり、R<sub>2</sub>およびR<sub>3</sub>が水素であり、式Iの化合物が酸であり、Cの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

d) nが4であり、mが1であり、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>およびR<sub>3</sub>が水素であり、式Iの化合物が酸であり、ならびにCの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

e) nが3であり、mが0であり、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>がメチルであり、式Iの化合物が酸であり、Cの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

f) nが3であり、mが0であり、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>がエチルであり、式Iの化合物が酸であり、Cの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

40

g) nが3であり、mが0であり、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>がプロピルであり、式Iの化合物が酸であり、Cの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

h) nが3であり、mが0であり、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>がブチルであり、式Iの化合物が酸であり、Cの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

i) nが2であり、mが0であり、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>がメチルであり、式Iの化合物が酸であり、Cの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場

50

合に R 若しくは S である；

j ) n が 2 であり、 m が 0 であり、 R<sub>1</sub> および R<sub>2</sub> がエチルであり、式 I の化合物が酸であり、 C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

k ) n が 2 であり、 m が 0 であり、 R<sub>1</sub> および R<sub>2</sub> がプロピルであり、式 I の化合物が酸であり、 C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

l ) n が 2 であり、 m が 0 であり、 R<sub>1</sub> および R<sub>2</sub> がブチルであり、式 I の化合物が酸であり、 C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である

ものを包含する。

#### 【 0 0 5 0 】

前述の好ましい態様 a ~ l のいずれのエステル若しくは塩もまた好ましい。

#### 【 0 0 5 1 】

本発明のデスマニノアミノ酸化合物の別の局面は上に示される式 II により具体的に説明される。式 II の好ましい態様は、 n が 3 である場合に破線が存在しないものを包含する。付加的な好ましい態様は、 X が水素であり、ならびに、 Y および R<sub>4</sub> が同一の低級分枝状若しくは直鎖アルキルであるものを包含する。なお別の好ましい態様において、 R<sub>4</sub> および R<sub>5</sub> は独立して水素若しくはメチルである。別の好ましい態様において、破線 a は存在せず、 X は水素、または C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、好ましくはメチル若しくはエチルであり、および Y は水素、または C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> の低級分枝状若しくは直鎖アルキル、好ましくはメチルであるか、あるいは破線 a が存在しつつ z が 2 であり、そして好ましくは n は 3 である。付加的な好ましい態様は、 R が H 、メチル、エチル、プロピル若しくはブチルであり、かつ

a ) n が 3 であり、破線 a が存在せず、式 II の化合物が酸であり、 R<sub>4</sub> が水素であり、 X が水素であり、 Y がメチルであり、および C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

b ) n が 3 であり、破線 a が存在せず、式 II の化合物が酸であり、 R<sub>4</sub> がメチルであり、 X が水素であり、 Y がメチルであり、および C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

c ) n が 3 であり、破線 a が存在し、式 II の化合物が酸であり、 z が 2 であり、 R<sub>4</sub> が水素であり、および C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

d ) n が 3 であり、破線 a が存在し、式 II の化合物が酸であり、 z が 2 であり、 R<sub>4</sub> がメチルであり、および C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

e ) n が 3 であり、破線 a が存在せず、式 II の化合物が酸であり、 R<sub>4</sub> が水素であり、 X がメチルであり、 Y が水素であり、および C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

f ) n が 3 であり、破線 a が存在せず、式 II の化合物が酸であり、 R<sub>4</sub> が水素であり、 X がエチルであり、 Y が水素であり、および C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

g ) n が 2 であり、破線 a が存在せず、式 II の化合物が酸であり、 R<sub>4</sub> が水素であり、 X が水素であり、 Y がメチルであり、および C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

h ) n が 2 であり、破線 a が存在せず、式 II の化合物が酸であり、 R<sub>4</sub> がメチルであり、 X が水素であり、 Y がプロピルであり、および C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

i ) n が 4 であり、破線 a が存在し、式 II の化合物が酸であり、 z が 2 であり、 R<sub>4</sub> が水素であり、および C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブ

10

20

30

40

50

チルである場合に R 若しくは S である；

j ) n が 3 であり、破線 a が存在し、式 I I の化合物が酸であり、z が 2 であり、R<sub>4</sub> がメチルであり、および C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

k ) n が 2 であり、破線 a が存在し、式 I I の化合物が酸であり、z が 3 であり、R<sub>4</sub> がメチルであり、および C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

l ) n が 3 であり、破線 a が存在せず、式 I I の化合物が酸であり、R<sub>4</sub> がメチルであり、X が水素であり、Y がエチルであり、および C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

ものを包含する。

### 【 0 0 5 2 】

前述の好ましい態様 a ~ l のいずれのエステル若しくは塩もまた好ましい。

### 【 0 0 5 3 】

本発明のデスマニノアミノ酸化合物の第三の局面は式 I I I により具体的に説明される。式 I I I の好ましい態様は、R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> が独立して水素または C<sub>1</sub> - C<sub>5</sub> の低級アルキル若しくは直鎖アルキル、好ましくは水素若しくはメチルであり、なにより好ましくは全部が水素であるものを包含する。別の態様において、z は 2 若しくは 3、好ましくは 3 である。好ましい一態様において n は 3 である。付加的な好ましい態様は、R が H、メチル、エチル、プロピル若しくはブチルであり、かつ

a ) n が 3 であり、z が 2 であり、R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> が水素であり、式 I I I の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

b ) n が 3 であり、z が 3 であり、R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> が水素であり、式 I I I の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

c ) n が 2 であり、z が 2 であり、R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> が水素であり、式 I I I の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

d ) n が 4 であり、z が 2 であり、R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> が水素であり、式 I I I の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

e ) n が 2 であり、z が 3 であり、R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> が水素であり、式 I I I の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

f ) n が 4 であり、z が 3 であり、R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> が水素であり、式 I I I の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

g ) n が 2 であり、z が 2 であり、R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> がメチルであり、式 I I I の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

h ) n が 4 であり、z が 2 であり、R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> がメチルであり、式 I I I の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

i ) n が 2 であり、z が 3 であり、R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> がメチルであり、式 I I I の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

j ) n が 4 であり、z が 3 であり、R<sub>6</sub> および R<sub>7</sub> がメチルであり、式 I I I の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である

10

20

30

40

50

ものを包含する。

【0054】

好みしい前述の態様a～jのエステル若しくは塩もまた好みしい。

【0055】

本発明の第四の局面は式IVのデスマニノアミノ酸化合物により提供される。式IVの化合物の好みしい態様は、R<sub>9</sub>、R<sub>10</sub>およびR<sub>11</sub>が、独立して、水素、またはC<sub>1</sub>～C<sub>5</sub>の低級直鎖若しくは分枝状鎖アルキル、好みしくは水素、メチル若しくはエチルであるものを包含する。別の態様において、R<sub>10</sub>はメチルである。なお別の好みしい態様において、R<sub>9</sub>は水素であり、R<sub>10</sub>はメチルであり、R<sub>11</sub>は水素であり、そしてnは3である。付加的な好みしい態様は、RがH、メチル、エチル、プロピル若しくはブチルであり、ならびに

a) nが3であり、R<sub>9</sub>およびR<sub>11</sub>が水素であり、R<sub>10</sub>がメチルであり、式IVの化合物が酸であり、ならびにCの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

b) nが3であり、R<sub>9</sub>が水素であり、R<sub>10</sub>およびR<sub>11</sub>がメチルであり、式IVの化合物が酸であり、ならびにCの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

c) nが3であり、R<sub>9</sub>が水素であり、R<sub>10</sub>がメチルであり、R<sub>11</sub>がエチルであり、式IVの化合物が酸であり、およびCの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

d) nが2であり、R<sub>9</sub>およびR<sub>11</sub>が水素であり、R<sub>10</sub>がメチルであり、式IVの化合物が酸であり、ならびにCの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

e) nが2であり、R<sub>9</sub>が水素であり、R<sub>10</sub>およびR<sub>11</sub>がメチルであり、式IVの化合物が酸であり、ならびにCの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

f) nが4であり、R<sub>9</sub>が水素であり、R<sub>10</sub>がメチルであり、R<sub>11</sub>がエチルであり、式IVの化合物が酸であり、およびCの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである

ものを包含する。

【0056】

前述の好みしい態様a～fのエステル若しくは塩もまた好みしい。

【0057】

本発明の第五の局面は式Vのデスマニノアミノ酸化合物により提供される。式Vの化合物の好みしい態様は、R<sub>12</sub>、R<sub>13</sub>およびR<sub>14</sub>が、独立して、水素またはC<sub>1</sub>～C<sub>5</sub>の低級直鎖若しくは分枝状鎖アルキル、好みしくは水素、メチル若しくはエチルであるものを包含する。別の態様において、R<sub>12</sub>はメチルである。なお別の好みしい態様において、R<sub>13</sub>は水素であり得、R<sub>14</sub>はメチル、エチル若しくはプロピルであり得、R<sub>13</sub>およびR<sub>14</sub>は水素、メチル、エチル若しくはプロピルのいずれの組合せでもあり得、ならびにnは2若しくは3である。付加的な好みしい態様は、RがH、メチル、エチル、プロピル若しくはブチルであり、ならびに

a) nが3であり、R<sub>12</sub>およびR<sub>13</sub>が水素であり、R<sub>14</sub>がメチルであり、式Vの化合物が酸であり、ならびにCの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

b) nが3であり、R<sub>12</sub>がメチルであり、R<sub>13</sub>およびR<sub>14</sub>がメチルであり、式Vの化合物が酸であり、ならびにCの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

c) nが3であり、R<sub>12</sub>がメチルであり、R<sub>13</sub>がメチルであり、R<sub>14</sub>がエチルであり、式Vの化合物が酸であり、およびCの立体化学はRの置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合にR若しくはSである；

10

20

30

40

50

d) n が 2 であり、R<sub>1~2</sub> がメチルであり、R<sub>1~3</sub> が水素であり、および R<sub>1~4</sub> がメチルであり、式 V の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

e) n が 2 であり、R<sub>1~2</sub> がメチルであり、R<sub>1~3</sub> および R<sub>1~4</sub> がメチルであり、式 V の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である；

f) n が 4 であり、R<sub>1~2</sub> がメチルであり、R<sub>1~3</sub> がメチルであり、および R<sub>1~4</sub> がエチルであり、式 V の化合物が酸であり、ならびに C の立体化学は R の置換基がメチル、エチル、プロピル若しくはブチルである場合に R 若しくは S である

ものを包含する。

10

【0058】

前述の好ましい態様 a ~ f のエステル若しくは塩もまた好ましい。

【0059】

本発明のとりわけ好ましい非天然のデスマニノアミノ酸化合物は、R が H、メチル若しくはエチルである図 2 に提供される式を包含する。

【0060】

本発明のある態様は、本発明の保護された中間体および保護された非天然アミノ酸を提供する。ある態様は、アミノ基の望ましくない反応を予防しかつアミド基切断もまた引き起こさない化学的方法により除去可能である保護基により側鎖アミン基が保護されている、本発明の保護された中間体および保護された非天然アミノ酸を提供する。ある態様は、カルボキシル基の望ましくない反応を予防しかつカルボキシル基切断もまた引き起こさない化学的方法により除去可能である保護基により側鎖カルボキシル基が保護されている、本発明の保護された中間体および保護された非天然アミノ酸を提供する。ある態様において保護基は t - プトキシカルボニル (BOC) 若しくはフルオレニルメトキシカルボニル (FMO) である。ある態様において、保護基は、BOC、FMO、A11oc (アリルオキシカルボニル)、CBZ (ベンジルオキシカルボニル)、Pbf (2, 2, 4, 6, 7 - ペンタメチルジヒドロベンゾフラン - 5 - スルホニル)、NO<sub>2</sub> (ニトロ)、Pmc (2, 2, 5, 7, 8 - ペンタメチルクロマン - 6 - スルホニル)、Mtr (4 - メトキシ - 2, 3, 6 - トリメチルベンゼンスルホニル) 若しくは Tos (トシリル) である。

20

【0061】

一態様において、式 I ~ V の非天然のデスマニノアミノ酸の構造は、天然に存在するアミノ酸リシン、アルギニン、ならびに天然に存在するグルタミン酸合成中間体オルニチンのものに類似である。好ましい態様において、本発明の化合物は、とりわけ (i) ペプチド中の隣接アミノ酸単位と N 末端結合を形成するカルボキシル末端、(ii) アミノ基の代わりの - H 若しくはアルキル基の存在、および (iii) アミン側鎖の有機基置換の間のより長い若しくはより短いメチレン架橋により、対応する天然のアミノ酸と異なる。好ましくは、天然のアミノ酸架橋と比較して本発明の伸長された架橋は 1 炭素長さより長い若しくはより短い (すなわちホモ若しくはデス体)。他の好ましい態様において、本発明の化合物は、とりわけより長い、より短い、若しくは同等なメチレン架橋長さを有し、そして、比較可能な天然のアミノ酸に比較して、多様な部分で置換を有し、異なる部分を形成し、若しくは部分を連結して環構造を形成する。

30

【0062】

本発明の化合物のそれぞれは酸、アミド、塩若しくはエステルとして製造し得る。水中で、本発明の非天然アミノ酸は荷電することができるが、しかしながら、細胞膜および細胞の他の非極性領域で、非天然アミノ酸は荷電していないことがある。一態様において、本発明の非天然アミノ酸のエステル基は、メチル、エチル、t - ブチル、ベンジル若しくはアリルである。別の態様において、非天然アミノ酸の塩の対イオンは、ナトリウム、カリウム、アンモニウムおよびテトラアルキルアンモニウムである。

40

【0063】

50

本発明のいくつかの態様は、本発明の非天然アミノ酸化合物を含んでなる半合成ペプチドを提供する。いくつかの態様において、半合成ペプチドはそのN末端部分として非天然アミノ酸化合物を含んでなる。いくつかの態様において、半合成ペプチドは、ニューロテンシン(8-13)の半合成ペプチドのN末端部分として非天然アミノ酸化合物を含んでなる。一態様において、半合成ペプチドは、ABS201、ABS202、ABS205、ABS207、ABS208、ABS210、ABS211、ABS212、ABS220、ABS225、ABS226、ABS227、ABS228、ABS230、ABS232、ABS234若しくはABS239である。いくつかの態様において、半合成ペプチドは、そのN末端部分として置換された非天然アミノ酸化合物を含まない半合成ペプチドと同一配列を有するペプチドと比較して、in vivoで延長された半減期を有する。いくつかの態様において、半合成ペプチドは鎮痛および/若しくは抗精神病活性を有する。抗精神病および/若しくは鎮痛活性を有する半合成ペプチドの例を下の表に示す。

【0064】

【表1】

表1-抗精神病特性をもつ半合成ペプチド

ペプチド	N-末端	配列*	構造*
ABS201 (KH28)	CH <sub>3</sub>	L-hLys-Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu	図7 (KH28)
KH29	CH <sub>3</sub>	7-Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu	図7
KH30	CH <sub>3</sub>	9-Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu	図7
ABS13	N <sub>3</sub>	L-hLys-Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu	スキーム1
ABS41	N <sub>3</sub>	13-Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu	スキーム1
ABS44	N <sub>3</sub>	7-Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu	スキーム1
ABS46	N <sub>3</sub>	9-Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu	スキーム1
ABS201	CH <sub>3</sub>	L-hLys-Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu	スキーム1
ABS202	CH <sub>3</sub>	28-Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu	スキーム2
ABS203	CH <sub>3</sub>	29-Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu	スキーム2

\*「tLeu」若しくは「t-Leu」はtert-Leuを意味している。配列中の数字若しくは「L-hLys」という用語は非天然アミノ酸部分を示し、その構造は図7または構造スキーム1若しくは2に示す。

【0065】

【表2】

表2-鎮痛特性をもつ半合成ペプチド

ペプチド	N-末端	配列*	構造*
ABS1	NH <sub>2</sub>	X-Arg-Pro-Tyr-soleu-Leu	図26
ABS13	N <sub>3</sub>	X-Arg-Pro-Tyr-tleu-Leu	図26
ABS201	CH <sub>3</sub>	X-Arg-Pro-Tyr-tleu-Leu	図26
ABS15	N <sub>3</sub>	X-Arg-Pro-Tyr-soleu-Leu	図26
ABS16	N <sub>3</sub>	X-Arg-Pro-Tyr-soleu-Leu	図26
ABS17	N <sub>3</sub>	X-Arg-Pro-Tyr-soleu-Leu	図26
ABS19	NH <sub>2</sub>	X-Arg-Pro-Tyr-soleu-Leu	図26

\*配列中の「X」という文字は非天然アミノ酸部分を示し、その構造は図26に示す。

【0066】

10

20

30

40

50

【表3】

表3—鎮痛および抗精神病特性をもつ半合成ペプチド

ペプチド	N-末端	配列*	構造*
ABS201	CH <sub>3</sub>	hLys-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS202	CH <sub>3</sub>	1-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS203	CH <sub>3</sub>	2-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS204	CH <sub>3</sub>	3-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS205	CH <sub>3</sub>	Lys-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS206	CH <sub>3</sub>	4-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS207	CH <sub>3</sub>	5-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS208	CH <sub>3</sub>	6-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS209	CH <sub>3</sub>	Orn-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS210	CH <sub>3</sub>	7-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS211	CH <sub>3</sub>	8-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS212	CH <sub>3</sub>	9-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS213	CH <sub>3</sub>	Arg-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS214	CH <sub>3</sub>	10-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS215	CH <sub>3</sub>	11-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS216	CH <sub>3</sub>	12-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS217	CH <sub>3</sub>	13-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS218	CH <sub>3</sub>	18-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS220	CH <sub>3</sub>	15-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS221	CH <sub>3</sub>	16-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS224	CH <sub>3</sub>	アルケン-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS700		Boc-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS225	H	hLys-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS226	H	1-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS227	H	2-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3
ABS228	H	3-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> -Leu-Leu	スキーム3

【0067】

【表4】

ABS229	H	Lys-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS230	H	4-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS231	H	5-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS232	H	6-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS233	H	Orn-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS234	H	7-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS235	H	8-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS236	H	9-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS237	H	Arg-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS238	H	10-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS239	H	11-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS240	H	12-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS241	H	13-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS242	H	18-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS243	H	19-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS244	H	15-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS245	H	16-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3
ABS246	H	17-Arg-Pro-Tyr- <i>t</i> Leu-Leu	スキーム3

\*「*t*Leu」若しくは「*t*-Leu」は*tert*-Leuを意味している。配列中の数字若しくは「L-hLys」という用語は非天然アミノ酸部分を示し、その構造はスキーム3に示す。

## 【0068】

30

本発明のある態様は、本発明のペプチドおよび製薬学的担体を含んでなる製薬学的組成物を提供する。ある態様において、ペプチドは単位投薬形態物中に存在する。

## 【0069】

30

本発明のある態様は、本発明の非天然アミノ酸化合物および化粧品用基剤製剤を含んでなる化粧品用製剤を提供する。本発明のある態様は、本発明の半合成ペプチドおよび化粧品用基剤製剤を含んでなる化粧品用製剤を提供する。ある態様において、化粧品用基剤製剤は水性若しくは油性基剤である。

## 【0070】

40

本発明のある態様は、医学的治療での使用のための本発明の非天然アミノ酸化合物を提供する。

## 【0071】

40

本発明のある態様は、哺乳動物の精神病を処置するのに有用な医薬品の製造のための本発明の非天然アミノ酸化合物の使用を提供する。本発明のある態様は、哺乳動物の精神病を処置するのに有用な医薬品の製造のための本発明の半合成ペプチドの使用を提供する。ある態様において、精神病は統合失調症である。

## 【0072】

40

本発明のある態様は、哺乳動物の癌、肥満、パーキンソン病若しくは覚醒剤濫用を処置するのに有用な医薬品の製造のための本発明の化合物の使用を提供する。

## 【0073】

50

本発明のある態様は、哺乳動物の疼痛を処置するのに有用な医薬品の製造のための本発

明の化合物の使用を提供する。

【0074】

本発明のある態様は、医学的治療での使用のための本発明の半合成ペプチドを提供する。

【0075】

本発明のある態様は、患者の体温を低下させるように、有効量の本発明の半合成ペプチドを患者に投与することを含んでなる、患者の体温の低下方法を提供する。

【0076】

本発明のある態様は、患者の体温を低下させるように、有効量の本発明の組成物を患者に投与することを含んでなる、患者の体温の低下方法を提供する。

10

【0077】

本発明のある態様は、精神病を治療するように、有効量の本発明のペプチドを患者に投与することを含んでなる、精神病を伴う患者の処置方法を提供する。

【0078】

本発明のある態様は、精神病を治療するように、有効量の本発明の組成物を患者に投与することを含んでなる、精神病を伴う患者の処置方法を提供する。

20

【0079】

本発明のある態様は、癌を処置するように、有効量の本発明のいずれかのペプチドを患者に投与することを含んでなる、癌の処置方法を提供する。

【0080】

本発明のある態様は、癌を処置するように、有効量の本発明の組成物を患者に投与することを含んでなる、癌の処置方法を提供する。

30

【0081】

本発明のある態様は、疼痛を処置するように、有効量の本発明のペプチドを患者に投与することを含んでなる、疼痛の処置方法を提供する。

【0082】

本発明のある態様は、疼痛を処置するように、有効量の本発明の組成物を患者に投与することを含んでなる、疼痛の処置方法を提供する。

【0083】

本発明のある態様は、a)既知のアミノ酸配列を有する第一のペプチドの生物学的活性を測定する段階；およびb)本発明のいずれかの半合成ペプチドの同一の生物学的活性を測定する段階を含んでなる、非天然アミノ酸化合物を含有するペプチドの活性についてのスクリーニング方法を提供し、該半合成ペプチドは、非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドと同一配列を有するか、若しくは非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドの切断型バージョンである。本発明のある態様において、生物学的活性は、ポトーシス、アポトーシス、細胞シグナル伝達、リガンド結合、転写、翻訳、代謝、細胞成長、細胞分化、恒常性、半減期、溶解性若しくは安定性である。本発明のある態様において、生物学的活性は、生物学的障壁を通過する半合成ペプチドの能力の直接若しくは間接的評価を包含する。本発明のある態様において、生物学的活性は選択性である。

30

【0084】

本発明のある態様は、本発明の半合成ペプチドを患者に投与することを含んでなる、既知の第一のペプチドの患者への投与により影響を及ぼされる疾患を伴う患者の処置方法を提供し、該半合成ペプチドは、非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドと同一配列を有するか、若しくは非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドの切断型バージョンである。

40

【0085】

本発明のある態様は、本発明の半合成ペプチドを代用することを含んでなる、被験体の生物学的障壁を横断する既知の第一のペプチドの能力の増大方法を提供し、該半合成ペプチドは、非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドと同一配列を有するか、若しくは非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドの切断型バージョンである。ある態様において

50

、障壁は、血液脳関門、細胞膜、腸上皮、皮膚若しくは血液眼を含んでなる。

【0086】

本発明のある態様は、本発明の半合成ペプチドを既知のペプチドの代わりに用いることを含んでなる、既知のペプチドの選択性の増大方法を提供し、該半合成ペプチドは、非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドと同一配列を有するか、若しくは非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドの切断型バージョンである。

【0087】

本発明のある態様は、本発明の半合成ペプチドを既知のペプチドの代わりに用いることを含んでなる、ペプチダーゼによる消化に対する既知のペプチドの抵抗性の増大方法を提供し、該半合成ペプチドは、非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドと同一配列を有するか、若しくは非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドの切断型バージョンである。

10

【0088】

本発明のある態様は、本発明の半合成ペプチドを患者に投与することを含んでなる、身体障壁を横断する既知の第一のペプチドの患者への投与により影響を及ぼされる疾患を伴う患者の処置方法を提供し、該半合成ペプチドは、非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドと同一配列を有するか、若しくは非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドの切断型バージョンである。

【0089】

本発明のある態様は、本発明のいずれかの半合成ペプチドを患者に投与することを含んでなる、既知の第一のペプチドの患者への投与により影響を及ぼされる脳の疾患を伴う患者の処置方法を提供し、該半合成ペプチドは、非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドと同一配列を有するか、若しくは非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドの切断型バージョンである。

20

【0090】

本発明のある態様は、本発明の半合成ペプチドを既知のペプチドの代わりに用いることを含んでなる、in vivoでの延長された半減期をもつ半合成ペプチドの製造方法を提供し、該半合成ペプチドは、非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドと同一配列を有するか、若しくは非天然アミノ酸化合物を除き第一のペプチドの切断型バージョンである。

30

本明細書で使用されるところの化合物指示子ABS201、ABS48、KH48およびペプチド28は、別の方法で示されない限り同一化合物を表す。

【0091】

デスマニノアミノ酸化合物の製造法

本発明のデスマニノアミノ酸化合物の製造法は図3に描かれる全体的合成スキームに従う。この方法の第一段階は、式IからVのnに対応するメチレン単位鎖長を有するハロゲンカルボン酸の製造である。以下の論考および図3において、この中間体は化合物27と称される。化合物27の製造後に、その-ハロ基は過剰の求核剤で容易に置換されて式I～Vのデスマニノアミノ酸化合物を生じ得る。

40

【0092】

R = Hである場合、ハロゲン化合物は後に続く段階で直接使用し得る。Rが有機置換基である場合、R基は後に続く合成により付加される。Rが有機置換基である場合、化合物27の製造のための反応条件は、アシルオキサゾロンの形成によるカルボン酸のカルボキシル基の保護を必要とする。アシルオキサゾロンはエノラートに転化され、そして該エノラートはアルキルヨウ化物若しくはアルキルメシラートのようなアルキル化剤と組合されて化合物27を形成する。大過剰のアルキル化剤および長い反応時間の使用が化合物27の大きな収量を促進する。

【0093】

図3の合成スキームに示されるとおり、ハロカルボン酸化合物25は、適切な側鎖部分および化合物25のハロ基をカップリングすることにより、側鎖修飾のいずれかに転

50

化し得る。カルボキシル基の適切な保護もまた有利に使用される。これらの反応の条件、ならびに適切なアルキル化剤および置換剤は、“Advanced Organic Chemistry”第4版、J. March、Wiley InterScience、ニューヨーク州ニューヨーク 1992（その開示全体は引用することにより本明細書に組み込まれる）に示される教示に従う。

【0094】

とりわけ、式Iの化合物を製造するために（図3および4の合成スキームを参照されたい）、ハロカルボン酸化合物27を、アンモニア、一級アミン若しくは二級アミンのような適切なアミン求核剤と組み合わせ得る。アミン求核剤の式は式Iの側鎖部分に対応する。反応条件は、上で引用されかつ完全に反復されるかのように本明細書に組み込まれる“Advanced Organic Chemistry”に開示されるところのアミン求核置換に適切なものに従うことができる。これらの化合物はその後のペプチド合成で直接使用し得るが、但し、側鎖アミン基は適切に保護されるか若しくはカルボキシル縮合から別の方で阻害される。

10

【0095】

同様に、式IIの化合物を製造するために（図3および5の合成スキームを参照されたい）、ハロ化合物27を最初にカルボキシル位置で保護することができ、そしてその後ジアミンおよび臭化シアンと連続して反応させ得る。脱保護および精製が式IIのデスマニノアミノ酸化合物を提供することができる。これらの化合物は、適切な側鎖保護を伴いペプチド合成で直接使用し得る。

20

【0096】

式IIIおよびIVの化合物（図3および6の合成スキームを参照されたい）もまた、ハロカルボン酸化合物27への側鎖部分の付加により製造し得る。この例ではカルボキシル基の保護は不要である。適切なチオ尿素化合物の製造は、チオ尿素、N-置換チオ尿素若しくはN,N-二置換チオ尿素（商業的に入手可能）へのアルキル、アルケニル若しくはアルキニルハロゲン化物のようなアルキル化剤の付加により達成し得る。生じる適切なチオ尿素化合物の塩基性条件下での化合物27のハロ位置での求核置換が、式IVのデスマニノアミノ酸化合物を提供する。同様に、塩基性条件下でのハロ化合物27への適切な環状チオ尿素化合物の付加は、式IIIのデスマニノアミノ酸化合物を提供する。適切な環状チオ尿素化合物は、アルキル、アルケニル若しくはアルキニルハロゲン化物のようなアルキル化剤を、対応する未置換、N-置換若しくはN,N-二置換環状ジアザチオン（商業的に入手可能）と結合することにより製造し得る。粗反応生成物は、イオン交換クロマトグラフィーのような既知の方法により精製して式IIIおよびIVのデスマニノアミノ酸化合物を生じ得、それらは適切な側鎖保護を伴いペプチド合成で直接使用し得る。

30

【0097】

式Vの化合物は、アシルオキサゾロンのようなカルボキシル基の第一の保護により製造し得る。保護されたカルボン酸の形成の後、炭素の有機置換基（R）を、所望の場合は上で示された手順に従って付加し得る。次の段階で、ハロ基をシアン化物と反応させてシアノ保護カルボン酸を形成し得る。この中間体をアルカリ金属有機アミン（XNR<sub>1</sub>、R<sub>1</sub>、R<sub>2</sub>）と反応させてアミジン陰イオンを形成し得る。該アミジン陰イオンを酸、水若しくはアルカリハロゲン化物でクエンチして、それぞれアミジンの未置換イミン部分若しくはアミジンのアルカリ置換イミン部分いずれかを形成しうる。このアミジン保護カルボン酸をその後、所望のペプチドの製造のための上述された合成スキームで使用しうる。

40

【0098】

ペプチド合成でのそれらの使用前に、式I～Vの化合物の側鎖は、適切に保護しうるか、若しくはそれらがペプチド縮合反応に進入することができないように十分に障害されていることを決定しうるかのいずれかである。例えば、式Iの化合物の側鎖が一級アミン基である場合、それはペプチド合成に関連する当該技術の教示に従って適切に保護しうる。例えば、”Compendium of Organic Synthetic Methods”

50

h o d s ”、I & S H a r r i s o n、W i l e y I n t e r s c i e n c e、ニユーヨーク州ニューヨーク、1971（その開示は引用することにより本明細書に組み込まれる）に提供されるアミン保護基の総説を参照されたい。これらの例で、適切な保護基は、頭字語 B O C を有する t - プトキシカルボニル若しくは頭字語 F M O C を有するフルオレニルメトキシカルボニルであり得る。B O C および F M O C 保護基は、それぞれ水性トリフルオロ酢酸のような酸およびピペリジンのような塩基での穏やかな処理により除去し得る。

【0099】

あるいは、ハロカルボン酸化合物27を、最後から2番目のペプチドとカップリングして、最後から2番目のペプチドのN末端にハロアシル部分を形成し得る。ハロカルボン酸化合物27はその側鎖にアミノ部分を含有しないため、保護および誤ったペプチド形成はより小さい懸念である。この代替において、アミノ部分は、式I～Vの化合物の形成について上述されたところのアシル化された最後から2番目のペプチドのハロ基との求核反応を受け得る。そのN末端に式I～Vの化合物の残基を有する所望のペプチドが製造される。この代替において、カルボキシルおよびアミノ側鎖の適切な保護ならびにC末端の適切な保護を、これらの基の望ましくない反応を予防するために使用しうる。

10

【0100】

ペプチド合成および精製

本発明は、それらのN末端部分として式I、II、III、IV若しくはVの化合物の残基を含有する切断型および伸長型ペプチドを包含する。これらのペプチドは、当業者にとって確立されたペプチド製造方法であるMerrifield固相法により合成し得る。Merrifield固相ペプチド合成の説明およびその条件については、R. B. Merrifield, Science, 232, 341-347 (1986)（その開示は引用することにより本明細書に組み込まれる）を参照されたい。あるいは、N末端アミノ酸単位を除くペプチドすなわち最後から2番目のペプチドを、既知の生物学的方法により組換え発現し得、そして、式I～Vのデスマミノアミノ酸化合物を、アミノペプチダーゼを使用する酵素的縮合によりN末端として付加し得る。ペプチドの組換え発現の説明およびその条件については、“Enzyme Structure and Mechanism”, Alan Fersht, W. H. Freeman、ニューヨーク州ニューヨーク(1985)（その開示は引用することにより本明細書に組み込まれる）を参照されたい。式I～Vの化合物は、側鎖アミノ基で標準的保護基で適切に保護し得る。好ましい一態様において、保護基はB O C および／若しくはF M O C である。

20

【0101】

簡潔には、固相合成のため、最後から2番目のペプチドを大量に製造し得、そしてその後、保護およびMerrifield固相合成のカップリング技術を使用して、式I～Vの化合物のいずれかにカップリングし得る。アミノ基露出のため設計された適切なアンカーチェーンで出発して、F M O C 基のようなアミノ保護基を有するペプチドのカルボキシ末端アミノ酸単位を、選択的に切断可能なカルボキシルカップリング連結により樹脂に固定する。固定されたカルボキシ末端単位のアミノ基をその後脱保護し、そして付加的なアミノ保護されたアミノ酸単位をその後、適正な順序で順次カップリングする。各カップリング段階は、固定されたペプチド鎖の保護されたアミノ基の脱保護、次いでその脱保護されたアミノ基と次のアミノ酸単位のカルボキシル基の間のペプチド縮合を必要とする。該縮合は、カルボジイミドカップリング、Schotten-Baumann反応若しくは活性化アシル基縮合によりたやすく得ることができる。これらの縮合反応は、上で引用された“Advanced Organic Chemistry”に記述されている。ペプチド縮合に進入するアミノ基の保護基と異なる適切な保護基を使用するアミンおよびカルボキシル側鎖の保護は、連続するアミノ酸単位の選択的ペプチド縮合を可能にすることができる。固相ペプチド合成のための適切な保護基および条件の選択は、上で引用されたMerrifieldの参考文献に記述されている。

30

【0102】

40

50

最後から 2 番目のペプチドはまた組換え発現によっても製造しうる。この生物学的方法は、最後から 2 番目のペプチドを発現するための微生物の再工作を必要とする。最後から 2 番目のペプチド配列をコードする DNA セグメントを、プラスミド、若しくは DNA の微生物発現を引き起こすことが可能な他のベクターに適正な読み枠で挿入し得る。ベクターはまた適切な制御、プロモーターおよび選択 DNA セグメントも含有することができる。大腸菌 (E. coli) 若しくは枯草菌 (B. subtilis) のような微生物への挿入に際して、対応する選択剤での処理により、適切なトランスフェクションについて微生物の混合物を選択し得る。典型的には、該剤は抗生物質であることができ、また、ベクターは該抗生物質の対応する解毒酵素をコードする配列を含有することができる。クロラムフェニコールおよびペニシリンはこうした剤の 2 種である。トランスフェクトした微生物を培養すること、および、発現されたペプチドを、培地の分泌された物質として若しくは微生物細胞を溶解することによるかのいずれかで収集することが、最終製品から 2 番目前の生原料ペプチドを提供することができる。最終製品から 2 番目前のペプチドは凍結乾燥、クロマトグラフィーなどの既知技術により精製しうる。ペプチド発現のためのこれらの組換え技術は、“Cold Spring Harbor-Current Protocols in Molecular Biology”、Wiley Interscience、コールドスプリングハーバー (2003) (その開示は引用することにより本明細書に組み込まれる) に完全に示されている。

10

20

30

40

50

#### 【0103】

固相ペプチド製造の一例が、一組のニューロテンシン (8-13) 化合物 (NT ペプチド) の開発により提供される。これらの化合物はそれらの N 末端として式 I ~ V のデスマニノアミノ酸化合物を組み込む。それらは新規分類の抗精神病薬であり、それらの生物学的研究および背景を下の節に記述する。

#### 【0104】

NT ペプチド合成 - 概略。

該ペプチドの最後から 2 番目の配列すなわち NT (9-13) は、p-アルコキシベンジルアルコールの固相の方法論 (65) を使用して大量で合成し得、そして完全に保護された形態で保存し得る。

#### 【0105】

出発原料。p-アルコキシベンジルアルコール樹脂に結合した N - Fmoc - ロイシン、N - Fmoc - イソロイシン、N - Fmoc - tert - ロイシン、N - Fmoc - (But) - チロシン、N - Fmoc - (Boc) - トリプトファン、N - Fmoc - プロリンおよび N - Fmoc - (Pbf) - アルギニンは、Advanced Chemtech (ケンタッキー州ルイビル) から購入した。PyBOP (R) は Novabiochem (カリフォルニア州サンディエゴ) から購入した。N - ヒドロキシベンゾリニアゾール (N - hydroxybenzoriazole) (HOBt)、無水 N , N - デミチルホルムアミド (DMF)、N , N - デイソプロピルエチルアミン (DIPA)、トリイソプロピルシラン (TIS) およびトリフルオロ酢酸 (TFA) は Aldrich (ウィスコンシン州ミルウォーキー) から購入した。非天然アミノ酸アナログは製造したとおり使用した。略語。Fmoc、フルオレニルメトキシカルボニル；NH<sub>3</sub>、アンモニア；NH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、メチルアミン；NH (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、ジメチルアミン；N (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、トリメチルアミン；EtOH、エタノール。

#### 【0106】

簡潔には、樹脂に結合した N - Fmoc - ロイシンを、ピペリジン (DMF 中 20 %) での Fmoc 切断前に DMF 中で膨潤し得る。ピペリジン溶液を真空濾過で除去し、そして樹脂に結合したアミノ酸を DMF および CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で洗浄する。アミノ酸 (4 等量) を DMF 中で HOBt (4 等量)、PyBOP (4 等量) および DIPA (10 等量) で活性化し得、そしてペプチド反応容器に直接添加し得る。アミノ酸カップリングはおよそ 6 時間実施し得、樹脂を DMF および CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> で洗浄し得、そして遊離アミンの存在について Kaiser 試験 (66) でモニターし得る。必要な場合は残基を再カップ

リングし得る。

【0107】

この手順を後のアミノ酸を用いて反復して最後から2番目のペプチド配列を生じる。樹脂に結合した五量体のアリコートをその後、式I～Vの化合物と上述されたとおりカップリングして所望のペプチドを生じ得る。酸で触媒される脱保護を、適切なスカベンジャーを含有するTFA溶液を用いて実施し得、そして、粗ペプチドを氷冷エーテル中で沈殿させ得る。

【0108】

ペプチド精製 - 全般

逆相高速液体クロマトグラフィーを使用して前述の粗ペプチドを精製し得る。例えば、Waters C18ラジアル圧縮カラムと組合せのWatersデュアルポンプ系をこの目的上使用し得る。流出液を280nmのUV吸光度によりモニターし得る。

10

【0109】

非天然アミノ酸含有ペプチドのスクリーニング

本発明は、活性若しくは薬理学的活性についてのペプチドのスクリーニング方法を提供する。該方法は：a)選択された天然のアミノ酸配列を有するペプチドの活性若しくは薬理学的活性を測定する段階、およびb)N末端が上述された式I～Vを有する非天然アミノ酸である、前述のペプチドと同一のアミノ酸配列に基づき伸長若しくは切断されたペプチドの同一の活性若しくは薬理学的活性を測定する段階；ならびにc)段階a)およびb)からのペプチドの測定された活性若しくは薬理学的活性を比較して、段階b)のペプチドが所望の活性若しくは薬理学的活性を有するかどうかを決定する段階を包含する。

20

【0110】

本発明がスクリーニングする活性は、生物学的に活性のペプチド若しくはペプチド模倣物と関連するいかなる活性も包含し得る。以下は、本スクリーニング方法で測定し得る多くの活性の部分の一覧である。

1. 受容体アゴニスト／アンタゴニスト活性：これらの活性を測定するための特異的スクリーニングの一覧表は、“The R B I Handbook of Receptor Classification and Signal Transduction” K. J. Watling, J. W. Kebebian, J. L. Neumeyer 編

30

Research Biochemicals International, マサチューセッツ州ナティック、1995、およびその中の参考文献に見出し得る。分析方法は、T. Kenakin “Pharmacological Analysis of Drug-Receptor Interactions” 第2版 Raven Press、ニューヨーク、1993、およびその中の参考文献に見出し得る。

2. 酵素阻害：これらの活性を測定するための特異的スクリーニングの一覧表は、H. Zollner “Handbook of Enzyme Inhibitors”、第2版 VCH Weinheim, FRG、1989およびその中の参考文献に見出し得る。

3. 中枢神経系、自律神経系（心血管系および胃腸管）、抗ヒスタミン、抗炎症、麻酔、細胞傷害性および避妊活性：これらの活性を測定するための特異的スクリーニングの一覧表は、E. B. Thompson, “Drug Bioscreening: Drug Evaluation Techniques in Pharmacology”、VCH Publishers、ニューヨーク、1990、およびその中の参考文献に見出し得る。

40

4. 抗癌活性：これらの活性を測定するための特異的スクリーニングの一覧表は、I. J. FidlerとR. J. White “Design of Models for Testing Cancer Therapeutic Agents”、Van Nostrand Reinhold Company、ニューヨーク、1982およびその中の参考文献に見出し得る。

5. 抗生物質および抗ウイルス（とりわけ抗HIV）活性：これらの活性を測定するため

50

の特異的スクリーニングの例の一覧表は、“antibiotics in Laboratory Medicine”、第3版、V. Lorian編 Williams and Wilkins、ボルチモア、1991、およびその中の参考文献に見出し得る。これらの活性を測定するための抗HIVスクリーニングの一覧表は、“HIV Volume 2: Biochemistry, Molecular Biology and Drug Discovery”、J. Karn編、IRL Press、オックスフォード、1995およびその中の参考文献に見出し得る。

6. 免疫調節活性：これらの活性を測定するための特異的スクリーニングの例の一覧表は、V. St. Georgiev (1990) “Immunomodulatory Activity of Small Peptides” Trends Pharm. Sci. 11, 373-378に見出し得る。10

7. 薬物動態特性：該スクリーニング方法でアッセイされる薬理学的活性は、とりわけ半減期、溶解性若しくは安定性を包含する。例えば、薬物動態特性の分析および測定方法は、J. - P. Labaune “Handbook of Pharmacokinetics: Toxicity Assessment of Chemicals”、Ellis Horwood Ltd.、チチェスター、1989およびその中の参考文献に見出し得る。

#### 【0111】

スクリーニング方法において、段階a)のペプチドは天然のアミノ酸からなることができる。あるいは、段階a)のペプチドは主として天然のアミノ酸を含有し得るが、しかし1個若しくは少数の非天然アミノ酸もまた含有し得る。こうしたペプチドは天然のアミノ酸より本質的になるとみなされる。20

#### 【0112】

スクリーニング方法において、段階b)のペプチドは上述されたところの本発明の切断若しくは伸長されたペプチドであることができる。一態様において、式I～Vの非天然アミノ酸の構造は、天然に存在するアミノ酸リシンおよびアルギニンのものに類似であることができる。

#### 【0113】

従って、本明細書で企図しているスクリーニング方法において、いかなる伸長若しくは切断されたペプチドも、該伸長若しくは切断されたペプチドが同一若しくは異なるレベルの同一若しくは類似の活性若しくは薬理学的活性を有するかどうかを決定するように、同一の下流の配列を有しかつ既知の活性若しくは薬理学的活性を有するいずれかのペプチドと比較し得る。測定段階をどのように実施するかという詳細に依存して、本スクリーニング方法は、伸長若しくは切断されたペプチドにより表される活性若しくは薬理学的活性を検出するのにもまた使用し得る。また、該スクリーニング方法は、同一若しくは類似の活性若しくは薬理学的活性の質的および量的差違を検出かつ測定するのに使用し得る。30

#### 【0114】

従って、本発明の方法は、伸長若しくは切断されたペプチドの活性の変化の評価を提供する。典型的には、該ペプチドの疎水性が増大され、それは結合にデスマニノアミノ酸部分が関与する場合（例えば受容体 - リガンド結合、酵素 - 補助因子結合、酵素 - 基質結合）に増大された結合活性を間接的にもたらし得、そして、結合強さは活性と相關するため、ペプチドのより高い効力（より高い測定される活性レベル）が生じ得る。40

#### 【0115】

さらに、本発明のデスマニノアミノ酸はペプチドの薬理学的活性もまた高め得るすなわち増大させ得る。例えば、デスマニノアミノ酸はより疎水性（すなわちより親油性）であるため、非天然アミノ酸を含有するペプチドは身体障壁（例えば血液脳、血液眼、皮膚、腸上皮）を通過することがより可能である。加えて、デスマニノアミノ酸は増大された選択性および安定性をペプチドに賦与するため、他のペプチドと比較した場合に薬理学的活性もまたスクリーニングし得る。

#### 【0116】

10

20

30

40

50

## 処置

本発明はさらに、式Ⅰ～Ⅴを有するアミノ酸をそのN末端として有する伸長若しくは切断されたペプチドを被験体に投与することを含んでなる、異常状態の被験体における処置若しくは予防方法に関する。伸長若しくは切断されたペプチドがそれから形成される基礎ペプチドは、処置若しくは予防されるべき異常状態と生化学的、生理学的、薬理学的若しくは生物学的関係を有することができるか、若しくは有すると考えることができる。異常状態は、疾患、生物学的すなわち器質の機能異常、または限定されるものでないが皮膚発疹、ざ瘡などのような化粧上の異常状態を挙げることができる、通常は疾患若しくは機能異常とみなされない望ましくない生物学的状態でありうる。被験体は、ヒトのような哺乳動物、およびイヌ、ネコ、ウシ、ヒツジ、ブタのようなヒト以外の哺乳動物ならびに鳥類を包含する、医学的若しくは獣医学的患者でありうる。

10

## 【0117】

本発明の方法において、処置若しくは予防し得る異常状態および使用し得るペプチドは多数である。例えば、本発明の非天然アミノ酸を組み込むニューロテンシンペプチドアナログを合成し得る。本発明のこうした合成NTペプチドは、肥満、糖尿病、性機能障害、パーキンソン病、アテローム硬化症、インスリン抵抗性、耐糖能異常、高コレステロール血症若しくは高トリグリセリド血症を処置するのに使用し得る。本発明の合成NTペプチドは、血管拡張、筋弛緩を誘発するため若しくは食欲を低下させるためにもまた使用し得る。

20

## 【0118】

加えて、本発明の合成NTペプチドは、高体温状態；低体温状態；胃腸潰瘍；物質濫用；うつ；アルツハイマー病；晩発性ジスキネジー；パニック発作；胃腸逆流性障害；炎症性腸症候群；下痢；胆汁（cholic）；消化不良；膵炎；食道炎；胃不全麻痺；統合失調症、精神病、不安、躁鬱病、せん妄性認知症、重症精神遅滞のような神経学的疾患、ならびにハンチントン病およびトゥーレット症候群のようなジスキネジー；HIV-1およびHIV-2感染症を包含する真菌およびウイルス感染症；疼痛（すなわち鎮痛剤）；癌（胃腸腫瘍を包含する）；食思不振；過食症；喘息；パーキンソン病；急性心不全；低血圧；高血圧；尿遺残；骨粗鬆症；狭心症；心筋梗塞；アレルギー；炎症；若しくは良性前立腺肥大を処置するのに使用し得る。

30

## 【0119】

本発明の処置方法は、肥満若しくは他の疾患の処置に有用な他の製薬学的有効成分を本発明の合成NTペプチドとともに使用する併用療法もまた包含し得る。

## 【0120】

肥満患者は、アテローム硬化症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、高血圧、性機能障害（勃起不全を包含する）、インスリン抵抗性、耐糖能異常、糖尿病〔とりわけインスリン非依存性糖尿病（NIDDMすなわち2型糖尿病）〕のようなある種の疾患、ならびに腎症、ニューロパシー、網膜症、心筋症、白内障および多囊胞性卵巣症候群のような糖尿病と関連する疾患のより高い発生率を有することが既知である。これらの疾患は、本発明の合成NTペプチドを使用して肥満を処置することにより間接的に、若しくは、本発明の合成NTペプチドを使用して特定の疾患それ自身を処置することにより直接的に処置し得る。これらの疾患は、肥満の非存在下で、本発明の合成NTペプチドを使用して処置し得る。

40

## 【0121】

本発明の一態様において、肥満患者、若しくは肥満になるという危険にさらされている患者は、1)本発明の合成NTペプチド；ならびに2)肥満、糖尿病〔(NIDDM)ならびに腎症、ニューロパシー、網膜症、心筋症、白内障および多囊胞性卵巣症候群のような糖尿病と関連する状態および／若しくは疾患を包含する〕、アテローム硬化症、高コレステロール血症、高トリグリセリド血症、性機能障害（勃起不全を包含する）、インスリン抵抗性または耐糖能異常を処置するのに有用な付加的な化合物、あるいはこれらの疾患を処置するのに有用な化合物の組合せの組合せを投与され得る。

50

## 【0122】

肥満を処置するのに使用し得る化合物の分類の例は、Adipex (R)、Bontril (R)、Desoxyn Gradumet (R)、Fastin (R)、Ionamin (R) および Meridia (R) のような食欲抑制剤、ならびに Xenical (R) のようなリバーゼ阻害剤中の有効成分（1種若しくは複数）を包含する。本発明の合成NTペプチドとともに使用し得る付加的な抗肥満剤は、3-アドレナリン受容体アゴニスト、コレシストキニン-Aアゴニスト、モノアミン再取り込み阻害剤、交感神経興奮剤、セロトニン作動薬、ドーパミンアゴニスト、メラノサイト刺激ホルモン受容体アゴニスト若しくは模倣物、メラノサイト刺激ホルモン受容体アナログ、カンナビノイド受容体アンタゴニスト、メラニン濃縮ホルモンアンタゴニスト、レプチン、レプチンアナログ、レプチン受容体アゴニスト、ガラニンアンタゴニスト、ボンベシンアゴニスト、ニューロペプチド-Yアンタゴニスト (NPY-1 および NPY-5 を包含する)、甲状腺様作用薬 (thyromimetic agent)、デヒドロエピアンドロステロン若しくはそのアナログ、グルココルチコイド受容体アゴニスト若しくはアンタゴニスト、オレキシン受容体アンタゴニスト、ウロコルチン結合タンパク質アンタゴニスト、グルカゴン様ペプチド-1受容体アゴニスト、ならびに毛様体神経栄養因子を包含する。

10

## 【0123】

本発明の別の局面において、本発明の合成NTペプチドは、高血圧を処置することが既知である化合物と組合せで投与し得る。高血圧を処置するのに使用し得る化合物の分類の例は、カルシウム拮抗薬、ACE阻害薬、利尿薬、アンジオテンシンII受容体阻害薬、

20

-遮断薬および -アドレナリン遮断薬を包含する。加えて、上で列挙された分類の化合物の組合せが高血圧を処置するのに使用されている。本発明の合成NTペプチドと組合せで使用し得る特定の化合物のいくつかの例は、キナブリル；ベシリ酸塩を包含するアムロジピン；ニフェジピン；メシリ酸塩を包含するドキサゾシン；および塩酸塩を包含するプラゾシンを包含する。

20

## 【0124】

別の局面において、本発明の合成NTペプチドは、耐糖能異常、インスリン抵抗性、インスリン依存性糖尿病（1型）およびインスリン非依存性糖尿病（NIDDMすなわち2型）を包含する糖尿病の処置に有用な化合物と組合せで使用し得る。ニューロパシー、腎症、網膜症、心筋症若しくは白内障のような糖尿病合併症もまた糖尿病の処置に包含されることを意図している。

30

## 【0125】

本発明の合成NTペプチドはアルドース還元酵素阻害剤と組合せでもまた使用し得る。アルドース還元酵素阻害剤は、糖尿病性ニューロパシーおよび腎症のような糖尿病の合併症から生じる状態を処置することにおけるそれらの利用性について広範に知られるようになった化合物の一分類を構成する。こうした化合物は当業者に公知であり、そして標準的生物学的試験により容易に同定される。

30

## 【0126】

本発明の合成NTペプチドは、ソルビトール脱水素酵素阻害剤と組合せでもまた使用し得る。ソルビトール脱水素酵素阻害剤は果糖濃度を低下させ、そしてニューロパシー、網膜症、腎症、心筋症、微小血管症および大血管症のような糖尿病合併症を処置若しくは予防するのに使用されている。

40

## 【0127】

本発明の合成NTペプチドは、グルココルチコイド受容体アンタゴニストと組合せでもまた使用し得る。グルココルチコイド受容体 (GR) はグルココルチコイド応答性細胞に存在し、そこでそれはそれがアゴニストにより刺激されるまで不活性状態でサイトゾル中に存する。刺激に際して、グルココルチコイド受容体は細胞核に転移し、そこでそれはDNAおよび / 若しくはタンパク質（1種若しくは複数）と特異的に相互作用しかつグルココルチコイド応答性の様式で転写を調節する。GRアンタゴニストは、身体中のグルココルチコイドの過剰若しくは欠乏と関連した疾患の処置に使用し得る。であるから、それら

50

は、以下、すなわち、肥満、糖尿病、心血管系疾患、高血圧、シンドロームX、うつ、不安、緑内障、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)若しくは後天的免疫不全症候群(AIDS)、神経変性(例えばアルツハイマー病およびパーキンソン病)、認知増強、クッシング症候群、アジソン病、骨粗鬆症、虚弱(frailty)、炎症性疾患(変形性関節症、関節リウマチ、喘息および鼻炎のような)、副腎機能障害、ウイルス感染症、免疫不全、免疫調節、自己免疫疾患、アレルギー、創傷治癒、強迫性行動、多剤耐性、嗜癖、精神病、食思不振、悪液質、心的外傷後ストレス症候群、術後骨折、医学的異化作用、ならびに筋虚弱の予防を処置するのに使用しうる。

## 【0128】

加えて、本発明の合成NTペプチドは、コレステロール生合成阻害剤およびコレステロール吸収阻害剤、とりわけHMG-CoA還元酵素阻害剤およびHMG-CoA合成酵素阻害剤、HMG-CoA還元酵素および合成酵素遺伝子発現阻害剤、CETP阻害剤、胆汁酸封鎖剤、フィブラーート類、ACAT阻害剤、スクアレン合成酵素阻害剤、抗酸化剤ならびにナイアシンのような他の製薬学的剤とともに投与し得る。本発明の合成NTペプチドはまた、血漿コレステロール濃度を低下させるよう作用する天然に存在する化合物と組合せでも投与しうる。これらの天然に存在する化合物は栄養補給食品と一般に呼ばれ、そして例えばニンニク抽出液、Benevol<sup>(R)</sup>およびナイアシンを包含する。

10

## 【0129】

本発明の合成NTペプチドを、とりわけ肥満、高脂血症、高リポタンパク質血症、シンドロームXなどを包含する、過剰のトリグリセリド、遊離脂肪酸、コレステロール、コレステロールエステル若しくはブドウ糖の存在から生じる状態の処置で典型的に使用される、リバーゼ阻害剤および/若しくはグルコシダーゼ阻害剤とともに投与することもまた企図している。

20

## 【0130】

いかなるリバーゼ阻害剤若しくはグルコシダーゼ阻害剤も本発明の合成NTペプチドとともに使用しうる。好ましいリバーゼ阻害剤はオルリリストットのような胃若しくは臍リバーゼ阻害剤を含んでなる。好ましいグルコシダーゼ阻害剤はアミラーゼ阻害剤を含んでなる。リバーゼ阻害剤は、食事のトリグリセリドの遊離脂肪酸およびモノグリセリドへの代謝的切断を阻害する化合物である。正常な生理学的条件下で、脂質分解は、リバーゼ酵素の活性化されたセリン部分のアシル化を必要とする2段階過程を介して起こる。これが脂肪酸-リバーゼヘミアセタール中間体の產生に至り、これがその後切断されてジグリセリドを遊離する。さらなる脱アシル化後に、リバーゼ-脂肪酸中間体が切断されて遊離リバーゼ、モノグリセリドおよび脂肪酸をもたらす。結果として生じる遊離脂肪酸およびモノグリセリドは、胆汁酸-リン脂質のミセルに取り込まれ、それがその後小腸の刷子縁の水準で吸收される。該ミセルはついにはカイロミクロンとして末梢循環に進入する。従って、摂取された脂肪前駆体の吸收を選択的に制限若しくは阻害するリバーゼ阻害剤を包含する化合物は、肥満、高脂血症、高リポタンパク質血症、シンドロームXなどを包含する状態の処置で有用である。多様なリバーゼ阻害剤が当業者に既知である。

30

## 【0131】

いかなるグルコシダーゼ阻害剤も本発明の合成NTペプチドとともに使用しうるが、しかしながら、一般に好ましいグルコシダーゼ阻害剤はアミラーゼ阻害剤である。アミラーゼ阻害剤は、デンプン若しくはグリコーゲンの麦芽糖への酵素的分解を阻害するグルコシダーゼ阻害剤である。こうした酵素的分解の阻害は、ブドウ糖および麦芽糖を包含する生物学的に利用可能な糖の量、ならびにそれから生じる付随する有害な状態の低下において有益である。グルコシダーゼおよびアミラーゼ阻害剤は当業者に既知である。

40

## 【0132】

加えて、本発明は、アポB分泌/MTP阻害剤と組合せの本発明の合成NTペプチドの使用を包含する。多様なアポB分泌/MTP阻害剤が当業者に既知である。本発明の合成NTペプチドは、ニューロテンシン受容体リガンドである1種若しくはそれ以上の付加的な化合物と組合せでもまた使用し得る。

50

## 【0133】

本発明の非天然アミノ酸はまた、下に示されるところの異常状態を処置するために他のペプチドにも組み込み得る。

## 【0134】

BおよびT細胞活性を誘発するペプチドを、ブドウ膜炎、コラーゲン誘発性、アジュバント関節炎および関節リウマチ、甲状腺炎、重症筋無力症、多発性硬化症ならびに糖尿病を包含する自己免疫疾患を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例はインターロイキン (Aulitzky, W.E.; Schuler, M.; Peschel, C.; Huber, C.; Interleukins. Clinical pharmacology and therapeutic use. Drugs. 48 (5): 667-77, 1994 Nov. で言及される) およびサイトカイン (Peters, M.; Actions of cytokines on the immune response and viral interactions: an overview. Hepatology. 23 (4): 909-16, 1996 Apr. で言及される) である。

## 【0135】

エンケフリンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストを、AIDS、ARCおよび癌、疼痛調節、ハンチントン病、パーキンソン病を処置するのに使用し得る。

## 【0136】

LHRHならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、前立腺腫瘍、ならびに乳癌を包含する生殖生理病理学および不妊症を処置するのに使用し得る。

## 【0137】

決定的に重要な酵素、癌遺伝子若しくは癌遺伝子産物、腫瘍抑制遺伝子およびそれらの産物、増殖因子およびそれらの対応する受容体を標的とするペプチドおよびペプチド模倣物を、癌を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Unger, C. Current concepts of treatment in medical oncology: new anticancer drugs. Journal of Cancer Research & Clinical Oncology. 122 (4): 189-98, 1996 に記述されている。

## 【0138】

ニューロペプチドYおよび他の脳ポリペプチド、ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、ストレス、不安、うつおよび関連する血管収縮活動を処置するのに使用し得る。

## 【0139】

胃阻害性ポリペプチド、グルコース依存性インスリン分泌性ポリペプチド、PACAP / グルカゴンならびにグルカゴン様ポリペプチド-1および2を包含するグルコインクリチン、ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、II型糖尿病性高血糖症を処置するのに使用し得る。

## 【0140】

心房性ナトリウム利尿因子ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストはうつ血性心不全を処置するのに使用し得る。

## 【0141】

インテグリンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、骨粗鬆症、瘢痕形成、骨合成、血管閉塞の阻害、ならびに腫瘍浸潤および転移の阻害を処置するのに使用し得る。

## 【0142】

グルカゴン、グルカゴン様ペプチド1、PACAP / グルカゴンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、糖尿病性心血管系緊急事態を処置するのに使用し得る。

## 【0143】

抗血栓性ペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは心血管系およ

10

20

30

40

50

び脳血管系疾患を処置するのに使用し得る。これらのペプチドRGD、D-Phe-Pro-Argおよび命名された他者の例は、Ojima I. ; Chakravarty S. ; Dong Q. *Antithrombotic agents: from RGD to peptide mimetics. Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 3 (4) : 337-60, 1995に記述されている。

【0144】

サイトカイン/インターロイキンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、炎症性疾患、免疫応答機能不全、造血、菌状息肉症、再生不良性貧血、血小板減少症、および悪性黒色腫を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、AulitzkyらおよびPetersらで言及されるインターロイキンである。

10

【0145】

エンドセリンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、動脈性高血圧症、心筋梗塞、うっ血性心不全、アテローム硬化症、ショック状態、腎不全、喘息および血管痙攣を処置するのに使用し得る。

【0146】

ナトリウム利尿ホルモンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは心血管系疾患および急性腎不全を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Espinier, E. A. ; Richards, A. M. ; Yandle, T. G. ; Nichols, M. G. ; *Natriuretic hormones. Endocrinology & Metabolism Clinics of North America*. 24 (3) : 481-509, 1995で命名かつ記述されている。

20

【0147】

チロシンキナーゼを活性化若しくは阻害する、またはTKを活性化若しくは阻害するペプチドに結合するペプチド、ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、慢性骨髄性および急性リンパ球性白血病、乳房および卵巣癌、ならびに他のチロシンキナーゼ関連疾患を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Smithgall, T. E. ; SH2 and SH3 domains: potential targets for anti-cancer drug design. *Journal of Pharmacological & Toxicological Methods*. 34 (3) : 125-32, 1995に記述されている。

30

【0148】

レニン阻害剤アナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、高血圧症およびうっ血性心不全を包含する心血管系疾患を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Rosenberg, S. H. ; *Renin inhibition. Cardiovascular Drugs & Therapy*. 9 (5) : 645-55, 1995に記述されている。

【0149】

アンジオテンシン変換酵素阻害剤、アナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、高血圧症およびうっ血性心不全を包含する心血管系疾患を処置するのに使用し得る。

【0150】

チロシンホスホリラーゼを活性化若しくは阻害するペプチドは心血管系疾患を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Srivastava, A. K. ; *Protein tyrosine phosphorylation in cardiovascular system. Molecular & Cellular Biochemistry*. 149-150 : 87-94, 1995に記述されている。

40

【0151】

ペプチドに基づく抗ウイルス薬はウイルス性疾患を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Toes, R. E. ; Feltkamp, M. C. ; Ressing, M. E. ; Vierboom, M. P. ; Blom, R. J. ; Brandt, R. M. ; Hartman, M. ; Offringa, R. ; Melief, C. J. ; Kast

50

, W. M. ; Cellular immunity against DNA tumor viruses: possibilities for peptide-base d vaccines and immune escape. Biochemical Society Transactions. 23 (3) : 692 - 6, 1995 に記述されている。

## 【0152】

副腎皮質刺激ホルモン放出因子ならびにペプチドアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、高CRFと関連する疾患、すなわちアルツハイマー病、神経性食思不振、抑うつ障害、関節炎および多発性硬化症を処置するのに使用し得る。

10

## 【0153】

血小板由来創傷治癒製剤 (platelet-derived wound-healing formula) (PDWHF) のペプチドアゴニストおよびアンタゴニストは、ドナー組織の制限および外科手術における創傷治癒の制約の治療として使用し得る。これらのペプチドの例は、Rudkin, G. H. ; Miller, T. A. ; Growth factors in surgery. Plastic & Reconstructive Surgery. 97 (2) : 469 - 76, 1996 に記述されている。

## 【0154】

フィブロネクチン、フィブリノペプチド阻害剤ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、転移（すなわち酵素阻害、腫瘍細胞移動、侵襲および転移）を処置するのに使用し得る。

20

## 【0155】

ケモカイン（インターロイキン-8、RANTES および単球走化性ペプチドを包含するサイトカインの種類）アナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、関節炎、過敏症、血管新生、腎疾患、糸球体腎炎、炎症および造血を処置するのに使用し得る。

## 【0156】

神経エンドペプチダーゼ阻害剤ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、高血圧および炎症を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Gregoire, J. R ; Sheps, S. G ; Newer antihypertensive drugs. Current Opinion in Cardiology. 10 (5) : 445 - 9, 1995 に記述されている。

30

## 【0157】

サブスタンスPならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、免疫系の機能障害、疼痛伝達 / 認識、ならびに自律神経反射および行動を処置するのに使用し得る。

## 【0158】

-メラノサイト刺激ホルモンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、 AIDS、関節リウマチおよび心筋梗塞を処置するのに使用し得る。

## 【0159】

プラジキニン (BK) ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、炎症性疾患（浮腫など）、喘息、アレルギー反応（鼻炎など）、麻酔用途および敗血症ショックを処置するのに使用し得る。

40

## 【0160】

セクレチンは心血管系緊急事態を処置するのに使用し得る。

## 【0161】

GnRHならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストはホルモン依存性の乳癌および前立腺腫瘍を処置するのに使用し得る。

## 【0162】

ソマトスタチンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは消化管神経内分泌腫瘍を処置するのに使用し得る。

## 【0163】

ガストリン、ガストリン放出ペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニ

50

ストは、小細胞肺癌および他の悪性病変における化学療法若しくは外科手術の補助療法として、またはアレルギー性呼吸器疾患、喘息およびアレルギー性鼻炎を処置するのに使用し得る。

【0164】

ラミニン、ラミニン誘導体転移抑制薬YIGSRペプチド、ラミニン由来合成ペプチドアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、腫瘍細胞増殖、血管新生、再生研究、糖尿病での眼の血管新生、および虚血を処置するのに使用し得る。この範疇のペプチドは白血病細胞の腫瘍増殖および転移を阻害し得、かつ、白血病性浸潤の潜在的治療的試薬として有用でありうる。この配列を含有するペプチドは実験的転移もまた阻害する。例示的参考文献は、McGowan KA. Marinkovich MP. Laminins and human disease. *Microscopy Research & Technique*. 51(3):262-79, 2000 Nov 1; Yoshida N. Ishii E. Nomizu M. Yamada Y. Mohri S. Kinukawa N. Matsuzaki A. Oshima K. Hara T. Miyazaki S. The laminin-derived peptide YIGSR (Tyr-Ile-Gly-Ser-Arg) inhibits human pre-B leukaemic cell growth and dissemination to organs in SCID mice. *British Journal of Cancer*. 80(12):1898-904, 1999を包含する。これらのペプチドの例は、Kleinman, H. K.; Weeks, B. S.; Schnaper, H. W.; Kibbey, M. C.; Yamamura, K.; Grant, D. S.; The laminins: a family of basement membrane glycoproteins important in cell differentiation and tumor metastases. *Vitamins & Hormones*. 47:161-86, 1993にもまた記述されている。

【0165】

デフェンシン、コルチコスタチン(corticosstatin)、デルマセプチン(dermaseptin)、マンガイニン(mangainin)ならびに他の抗生物質(抗菌(antibacterial)および抗真菌(antimicrobial))ペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、感染症、組織炎症および内分泌調節を処置するのに使用し得る。

【0166】

パソプレッシンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは神経学的障害、ストレスおよび尿崩症を処置するのに使用し得る。

【0167】

オキシトシンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、神経学的障害を処置しつつ分娩を誘発するのに使用し得る。

【0168】

ACTH関連ペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、神経栄養性、神経保護性、および末梢性脱髓性ニューロパシー剤として使用し得る。

【0169】

アミロイドペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストはアルツハイマー病を処置するのに使用し得る。

【0170】

上皮増殖因子、受容体、ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、壞死性腸炎、ゾリンジャー・エリソン症候群、胃腸潰瘍形成、大腸炎および先天性微絨毛萎縮癌腫(atrophy carcinoma)を処置するのに使用し得る。

【0171】

白血球接着分子およびそれらのリガンド、ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタ

ゴニストは、アテローム硬化症、炎症を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Barker, J. N. ; Adhesion molecules in cutaneous inflammation. Ciba Foundation Symposium. 189 : 91 - 101 に記述されている。

## 【0172】

主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 結合ペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、自己免疫性、免疫機能障害性、免疫調節性疾患を処置するのに使用し得、かつ、ならびにそれらの対応する治療に使用し得る。これらのペプチドの例は、Appella, E. ; Padlan, E. A. ; Hunt, D. F ; Analysis of the structure of naturally processed peptides bound by class I and class II major histocompatibility complex molecules. EXS. 73 : 105 - 19、1995 に記述されている。

10

## 【0173】

副腎皮質刺激ホルモン放出因子は神経学的障害を処置するのに使用し得る。

## 【0174】

ニューロトロphins (脳由来神経栄養因子 (BDNF)、神経成長因子およびニューロトロphins 3を包含する)ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、神経学的障害を処置するのに使用し得る。

20

## 【0175】

細胞傷害性T細胞活性化ペプチドは感染性疾患および癌を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Chesnut R. W. ; Sette, A. ; Celis, E. ; Wentworth, P. ; Kubo, R. T. ; Alexander, J. ; Ishioka, G. ; Vitiello, A. ; Grey, H. M ; Design and testing of peptide-based cytotoxic T-cell-mediated immunotherapeutics to treat infectious diseases and cancer. Pharmaceutical Biotechnology. 6 : 847 - 74、1995 に記述されている。

20

## 【0176】

HIV-1 および HTLV-1 レトロウイルス感染症の予防のためのペプチド免疫原は AIDS を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Hart, M. K. ; Palker, T. J. ; Haynes, B. F ; Design of experimental synthetic peptide immunogens for prevention of HIV-1 and HTLV-1 retroviral infections. Pharmaceutical Biotechnology. 6 : 821 - 45、1995 に記述されている。

30

## 【0177】

ガラニンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、アルツハイマー病、うつ、摂食障害、慢性疼痛、虚血性損傷の予防、および成長ホルモン調節を処置するのに使用し得る。

40

## 【0178】

タキキニン (ニューロキニンA およびニューロキニンB)ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、疼痛伝達 / 認識、ならびに自律神経反射および行動において処置するため使用し得る。

## 【0179】

RGD 含有ペプチドは、細胞接着、抗血栓薬および急性腎不全が関与する多様な疾患を処置するのに使用し得る。

## 【0180】

骨形成性増殖ペプチド (osteogenic growth peptide) なら

50

びにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは全身性骨量減少の処置として使用し得る。これらのペプチドの例は、Babb I A. Regulatory role of osteogenic growth peptide in proliferation, osteogenesis, and hemopoiesis. Clinical Orthopaedics & Related Research. (313): 64-8, 1995に記述されている。

【0181】

副甲状腺ホルモン、副甲状腺ホルモン関連ペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、カルシウム恒常性（高カルシウム血症）、骨代謝、血管疾患およびアテローム硬化症に影響を及ぼす疾患を処置するのに使用し得る。

10

【0182】

カリジンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、組織傷害若しくは炎症およびCNSの病理学的状態を知らせる疼痛を処置するのに使用し得る。

【0183】

T細胞受容体ペプチドワクチンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは免疫療法で使用し得る。これらのペプチドの例は、Brostoff, SW; T cell receptor peptide vaccines as immunotherapy. Agents & Actions - Supplements. 47: 53-8, 1995に記述されている。

20

【0184】

血小板由来増殖因子（PDGF）ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、非腫瘍性過剰増殖障害、ドナー組織の制限および外科手術における創傷治癒の制約の治療を処置するのに使用し得る。

【0185】

アミリン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（GRP）ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、インスリン依存性糖尿病を処置するのに使用し得る。

【0186】

血管作用性小腸ポリペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、アレルギー性呼吸器疾患、喘息およびアレルギー性鼻炎、ならびに生殖機能の神経制御を処置するのに使用し得る。

30

【0187】

成長ホルモン放出ホルモンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、成長ホルモン欠乏症および免疫調節を処置するのに使用し得る。

【0188】

HIVプロテアーゼ阻害ペプチドはAIDSを処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Bugelski, P. J.; Kirsh, R.; Hart, T. K; HIV protease inhibitors: effects on viral maturation and physiologic function in macrophages. Journal of Leukocyte Biology. 56(3): 374-80, 1994に記述されている。

40

【0189】

サイモポエチン活性フラグメントペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、関節リウマチおよびウイルス感染症を処置するのに使用し得る。

【0190】

セクロピンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは抗菌薬として使用し得る。

【0191】

甲状腺放出ホルモンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、脊髄傷害およびショックを処置するのに使用し得る。

【0192】

50

エリスロボエチンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは貧血を処置するのに使用し得る。

【0193】

線維芽細胞増殖因子（FGF）、受容体ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、骨形成の刺激としてであり得、ならびに、カポジ肉腫、ニューロン再生、前立腺増殖、腫瘍増殖阻害および血管新生の処置として使用し得る。

【0194】

幹細胞因子ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは貧血を処置するのに使用し得る。

【0195】

G P 1 2 0 、 G P 1 6 0 、 C D 4 フラグメントペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは A I D S を処置するのに使用し得る。

10

【0196】

インスリン様成長因子、受容体ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、乳癌および他の癌、インスリン非依存性糖尿病、細胞増殖、アポトーシス、造血、A I D S 、成長障害、骨粗鬆症およびインスリン抵抗性を処置するのに使用し得る。

【0197】

コロニー刺激因子（顆粒球・マクロファージコロニー刺激因子、顆粒球コロニー刺激因子、およびマクロファージコロニー刺激因子ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、貧血を処置するのに使用し得る。

20

【0198】

ケントシン（k e n t s i n ）ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは免疫調節に使用し得る。

【0199】

リンパ球活性化ペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは免疫調節に使用し得る。これらのペプチドの例は、L o l e i t , M . ; D e r e s , K . ; W i e s m u l l e r , K . H . ; J u n g , G . ; E c k e r t , M . ; B e s s l e r , W . G . ; B i o l o g i c a l a c t i v i t y o f t h e E s c h e r i c h i a c o l i l i p o p r o t e i n : d e t e c t i o n o f n o v e l l y m p h o c y t e a c t i v a t i n g p e p t i d e s e g m e n t s o f t h e m o l e c u l e a n d t h e i r c o n f o r m a t i o n a l c h a r a c t e r i z a t i o n . B i o l o g i c a l C h e m i s t r y H o p p e - S e y l e r . 3 7 5 ( 6 ) : 4 0 7 - 1 2 , 1 9 9 4 J u n に記述されている。

30

【0200】

タフトシンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは免疫調節に使用し得る。

【0201】

プロラクチンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、リウマチ性疾患、全身性エリテマトーデスおよびh y p e r p r o l a c e m i a を処置するのに使用し得る。

40

【0202】

アンジオテンシンIIおよび受容体（1種若しくは複数）ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、高血圧、血行動態調節、神経学的障害、糖尿病性腎症、a o r t o a r t e r i t i e s 誘発性R V H 、高アルドステロン症、重金属誘発性の心血管系の影響、糖尿病および甲状腺機能障害を処置するのに使用し得る。

【0203】

ダイノルフィンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、神経学的障害、疼痛管理、痛覚過敏、脊髄傷害および癲癇を処置するのに使用し得る。

【0204】

50

カルシトニンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、神経学的障害、免疫系の機能障害、カルシウム恒常性および骨粗鬆症を処置するのに使用し得る。

【0205】

下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチドは、成長におけるある役割、シグナル伝達血管活性の役割、未だ決定されていない疾患でのまさにその役割を演じ得る。

【0206】

コレシストキニンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、摂食障害、パニック障害および抗オピオイド特性を処置するのに使用し得る。

【0207】

ペプスタチンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、ペプシンおよびHIVプロテアーゼ阻害剤 (AIDS) として使用し得る。 10

【0208】

ベスタチンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、筋ジストロフィー、抗癌、抗白血病、免疫応答調節物質および急性非リンパ球性白血病を処置するのに使用し得る。

【0209】

ロイペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、プロテアーゼ阻害剤、未だ決定されていない疾患でのまさにその役割として使用し得る。

【0210】

黄体形成ホルモンおよび放出ホルモンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは不妊症男性避妊薬として使用し得る。 20

【0211】

ニューロテンシンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、例えば、例えば神経保護を提供するように体温下降を誘発することにより例えば卒中の犠牲者を処置するための抗精神病、鎮痛、抗癌および／若しくは神経保護剤として使用し得る。

【0212】

モチリンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは胃排出の制御に使用し得る。

【0213】

インスリンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは糖尿病を処置するのに使用し得る。 30

【0214】

トランスフォーミング増殖因子 (TGF) ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、細胞増殖および分化、癌処置、免疫調節、ドナー組織の制限、および外科手術における創傷治癒の制約の治療に使用し得る。

【0215】

骨形成タンパク質 (BMP) ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、ドナー組織の制限、骨形成、および外科手術における創傷治癒の制約の治療として使用し得る。

【0216】

ポンベシンおよびエンテロスタチン (enterostatin)、ならびにそれらのアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、腫瘍細胞の増殖、摂食の調節および神経内分泌機能を予防するのに使用し得る。これらのペプチドは上述されたニューロメジンの上位範疇 (supercategory) 内にある。これらのペプチドは、Yamada K. Wada E. Wada K. Bombesin-like peptides: studies on food intake and social behaviour with receptor knock-out mice. Annals of Medicine. 32 (8) : 519 - 29, 2000 Nov. ; Ohki-Hamazaki H. Neuromedin B. Progress in Neurobiology. 62 (3) : 297 - 312, 2000 Oct. ; Still C 40

ポンベシンおよびエンテロスタチン (enterostatin)、ならびにそれらのアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、腫瘍細胞の増殖、摂食の調節および神経内分泌機能を予防するのに使用し得る。これらのペプチドは上述されたニューロメジンの上位範疇 (supercategory) 内にある。これらのペプチドは、Yamada K. Wada E. Wada K. Bombesin-like peptides: studies on food intake and social behaviour with receptor knock-out mice. Annals of Medicine. 32 (8) : 519 - 29, 2000 Nov. ; Ohki-Hamazaki H. Neuromedin B. Progress in Neurobiology. 62 (3) : 297 - 312, 2000 Oct. ; Still C 50

D. Future trends in weight management. Journal of the American Osteopathic Association. 99 (10 Sup 2) : S18-9, 1999; Martinez V. Tache Y. Bombesin and the brain-gut axis. Peptides. 21 (11) : 1617-25, 2000; Afferent signals regulating food intake. Proceedings of the Nutrition Society. 59 (3) : 373-84, 2000; Takenaka Y. Nakamura F. Jinsmaa Y. Lipkowsky AW. Yoshikawa M. Enterostatin (VPD PR) has anti-analgesic and anti-amnesic activities. Bioscience Biotechnology & Biochemistry. 65 (1) : 236-8, 2001 Jのような例示的参考文献に記述されている。 10

【0217】

グルカゴン、グルカゴン様ペプチド1ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、糖尿病の心血管系緊急事態を処置するのに使用し得る。

【0218】

パンクレアスタチン、クロモグラニンA、BおよびC、ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニスト-インスリン分泌、外分泌性膵分泌および胃酸分泌の阻害、ならびにegradat i分泌の刺激。 20

【0219】

エンドルフィンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、神経学的障害、疼痛を軽減すること、オピオイド濫用の処置、肥満および糖尿病を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Dalay eun, J. F. ; Nores, J. M. ; Bergal, S. ; Physiology of beta-endorphins. A close-up view and a review of the literature. Biomedicine & Pharmacotherapy. 47 (8) : 311-20, 1993に命名かつ記述されている。

【0220】

(限定されるものでないが)副腎ペプチドE、カゼインフラグメント、カソモルフィン、デルモルフィン、キヨートルフィン、メトファミド(metophamide)ニューロペプチドFF(NPFF)、メラノサイト阻害因子を挙げることができる雑多なオピオイドペプチド、ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、神経学的障害、疼痛を軽減することを処置するため、ならびにオピオイド濫用の処置に使用し得る。 30

【0221】

バソトシンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、決定されるべき臨床用途に使用し得る。

【0222】

タンパク質キナーゼCおよび阻害剤ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、癌、アポトーシス、平滑筋機能およびアルツハイマー病を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Philip, P. A. ; Harris, A. L ; Potential for protein kinase C inhibitors in cancer therapy. Cancer Treatment & Research. 78 : 3-27, 1995に命名かつ記述されている。 40

【0223】

アミロイド、アミロイド線維素、フラグメント、ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、神経変性疾患および糖尿病を処置するのに使用し得る。

【0224】

カルバインおよび他のカルモジュリン阻害性タンパク質、ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、神経変性障害、脳虚血、白内障、心筋虚血、筋ジストロフィ 50

ーおよび血小板凝集を処置するのに使用し得る。

【0225】

カリブドトキシンA、アパミンならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、神経変性疾患、ならびに疼痛および脳虚血の処置に使用し得る。

【0226】

ホスホリバーゼA2および受容体阻害／活性化ペプチドならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、急性膵炎、膵癌、腹部外傷、ならびに炎症、例えば敗血症、感染症、急性膵炎、多様な形態の関節炎、癌、妊娠の合併症および術後状態を処置するのに使用し得る。

【0227】

カリウムチャネル活性化および阻害タンパク質ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、多様な疾患を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Edwards, G. ; Weston, A. H ; Pharmacology of the potassium channel openers. Cardiovacular Drugs & Therapy. 9 Suppl 2 : 185 - 93, 1995 Mar. に記述されている。

10

【0228】

IgG活性化物質、阻害剤ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、自己免疫疾患および免疫機能障害を処置するのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Mouthon, L. ; Kaveri, S. V. ; Spalter, S. H. ; Lacrouix-Desmazes, S. ; Lefranc, C. ; Desai, R. ; Kazatchkine, M. D. ; Mechanisms of action of intravenous immune globulin in immune-mediated diseases. Clinical & Experimental Immunology. 104 Suppl 1 : 3 - 9, 1996 に記述されている。

20

【0229】

内毒素および阻害剤ならびにアナログ、アゴニストおよびアンタゴニストは、心拍出量、全身性低血圧、組織への低下された血流およびO<sub>2</sub>送達、強度の肺血管収縮および高血圧、気管支狭窄、増大された浸透性、肺浮腫、換気血流不同、低酸素血症ならびに血液濃縮を低下させるのに使用し得る。これらのペプチドの例は、Burrell, R ; Human responses to bacterial endotoxin. Circulatory Shock. 43 (3) : 137 - 53, 1994 Jul. に命名かつ記述されている。

30

【0230】

オーファン受容体リガンド（限定されるものでないがADNF、アドレノモジュリン、アペリン、グレリン、マストパラン（MCDペプチド）、メラニン濃縮ホルモン、ノシセプチン／ノシスタチン、オレキシン、受容体活性調節タンパク質、ウロテンシンを挙げることができる）。定義上、オーファン受容体はそれらと関連する機能を有しないが、しかし将来の薬物開発で重要な演者であると考えられる。これらのオーファン受容体リガンドは、In DS. Orphan G protein-coupled receptors and beyond. Japanese Journal of Pharmacology. 90 (2) : 101 - 6, 2002 ; Maguire JJ. Discovering orphan receptor function using human in vitro pharmacology. Current Opinion in Pharmacology. 3 (2) : 135 - 9, 2003 ; Szekeres PG. Functional assays for identifying ligands at orphan G protein-coupled receptors. Receptors & Channels. 8 (5 - 6) : 297 - 308, 2002 ; Shiau AK. Coward P. Schwarz M. Lehmann JM. Orphan nuclear receptors: from

40

50

new ligand discovery technologies to novel signaling pathways. Current Opinion in Drug Discovery & Development. 4 (5) : 575 - 90, 2001; Civelli O, Notthacker HP, Saito Y, Wang Z, Lin SH, Reinscheid RK. Novel neurotransmitters as natural ligands of orphan G-protein-coupled receptors. Trends in Neurosciences. 24 (4) : 230 - 7, 2001; Darland T, Heinricher MM, Grandy DK. Orphan in FQ/nociceptin: a role in pain and analgesia, but so much more. Trends in Neurosciences. 21 (5) : 215 - 21, 1998 (これらの開示は引用することにより本明細書に組み込まれる) のような参考文献に記述されている。

【0231】

別の範疇は糖タンパク質 IIb / IIIa 阻害剤を包含する。急性冠動脈症候群 (ACS) の発病における血小板豊富な血栓の中心的役割が公知である。糖タンパク質 IIb / IIIa (Gp IIb / IIIa) 受容体アンタゴニストは、ACS の自然経過に好影響を及ぼすことが期待されうる、血小板機能の強力な阻害剤である。この範疇の例示的参考文献は、Bhatt DL, Topol EJ. Current role of platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in acute coronary syndromes. JAMA. 284 (12) : 1549 - 58, 2000; Kereiakes DJ. Oral blockade of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor: fact or fancy?. American Heart Journal. 138 (1 Pt 2) : S39 - 46, 1999; Bassand JP. Low-molecular-weight heparin and other anti-thrombotic agents in the setting of a fast-track revascularization in unstable coronary artery disease. Haemostasis. 30 Suppl 2 : 114 - 21; discussion 106 - 7, 2000 を包含する。

【0232】

身体障壁を通過するためのデスマミノアミノ酸 (1 個若しくは複数) を含有するペプチドの使用

本発明は、その N 末端として化合物式 I ~ V の 1 残基を有する伸長若しくは切断されたペプチドの使用による、被験体の身体障壁を横断するペプチドの能力の増大方法に関する。

【0233】

本発明は、さらに、伸長若しくは切断されたペプチドの投与 (それに際して該伸長若しくは切断されたペプチドが非天然アミノ酸を有しないペプチドより多量で身体障壁を横断する) により処置若しくは予防される疾患若しくは状態の被験体での処置若しくは予防方法に関する。

【0234】

本発明はまた、伸長若しくは切断されたペプチドの投与により処置若しくは予防される脳の疾患若しくは状態の被験体での処置若しくは予防方法にも関する。

【0235】

治療薬としてのペプチドの使用は身体障壁を横断するそれらの不能により制限される。「身体障壁」という句は、ある種の分子の自由 (例えば拡散) 通過を予防するように機能する細胞膜若しくは他の構造と本明細書で定義する。本発明の伸長若しくは切断されたペプチドの使用は、結果として生じるペプチドの、多様な身体障壁の通過を容易にする。身

10

20

30

40

50

体障壁の例は、限定されるものでないが、血液脳関門、細胞膜、腸上皮、皮膚細胞若しくは血液眼を挙げることができる。好ましい一態様において、身体障壁は血液脳関門である。

#### 【0236】

非天然アミノ酸（1個若しくは複数）を含有するペプチドの選択性および安定性

本発明のある態様は、上述されたところの選ばれたペプチドの配列に基づく伸長若しくは切断されたペプチドの使用による、選ばれたペプチドの選択性の増大方法に関する。

#### 【0237】

生物学的標的に対する薬物の選択性を高めることは非常に重要である。一態様において、アルギニンおよび／若しくはリシンを含有するペプチドは、ペプチドの選択性を増大するため、本発明により、伸長若しくは切断されたペプチドに転化し得る。別の態様において、本明細書に開示される非天然アミノ酸のいずれも、ペプチドの選択性を増大するために使用し得る。

10

#### 【0238】

製薬学的組成物

本発明のペプチドは、対応する既知のペプチドが関連するいかなる疾患若しくは生理学的問題も処置するため、当業者に利用可能いかなる治療手順でも使用し得る。

#### 【0239】

本発明のペプチドは製薬学的組成物として処方し得、そして、選ばれた投与経路に適合された、すなわち経口若しくは非経口で、静脈内、筋肉内、局所若しくは皮下経路による多様な投薬形態物で、ヒト患者のような哺乳動物宿主に投与し得る。

20

#### 【0240】

従って、該ペプチドは、例えば注入（infusion）若しくは注入（injection）により静脈内で若しくは腹腔内に全身投与し得る。ペプチド若しくはペプチド複合物の溶液は、場合によっては非毒性界面活性剤と混合した水中で製造し得る。分散系もまた、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、トリアセチンおよびそれらの混合物ならびに油中で製造し得る。貯蔵および使用の通例の条件下で、これらの製剤は微生物の増殖を予防するための保存剤を含有する。

#### 【0241】

注入（injection）若しくは注入（infusion）に適する製薬学的投薬形態物は、無菌の水性溶液若しくは分散系、または、場合によってはリポソームに被包化された無菌の注入可能（injectable）若しくは注入可能（infusible）な溶液若しくは分散系の即座の製造に適合されている有効成分（1種若しくは複数）を含んでなる無菌粉末を包含し得る。全部の場合で、最終的な投薬形態物は、製造および貯蔵の条件下で無菌、流動性かつ安定でなければならない。液体の担体若しくはベヒクルは、例えば、水、エタノール、多価アルコール（例えばグリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコールなど）、植物油、非毒性のグリセリルエステルおよびそれらの適する混合物を含んでなる溶媒若しくは液体の分散媒であり得る。適正な流動性は、例えばリポソームの形成、分散系の場合には必要とされる粒子径の維持若しくは界面活性剤の使用により維持し得る。微生物の作用の予防は、多様な抗菌および抗真菌剤、例えばパラベン類、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサールなどによりもたらし得る。多くの場合に、等張剤、例えば糖類、緩衝剤若しくは塩化ナトリウムを包含することが好ましいであろう。注入可能な組成物の持続吸収は、吸収を遅延させる剤、例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンの組成物中の使用によりもたらし得る。

30

#### 【0242】

無菌の注入可能な溶液は、必要とされるところの上で挙げられた多様な他の成分とともに適切な溶媒に必要とされる量のペプチド若しくはペプチド複合物を組み込むこと、次いで濾過滅菌により製造する。無菌の注入可能な溶液の製造のための無菌粉末の場合、こうした粉末の好ましい製造方法は、事前に滅菌濾過した溶液中に存在する有効成分およびい

40

50

ずれかの付加的な所望の成分の粉末を生じる真空乾燥および凍結乾燥技術である。

【0243】

いくつかの例において、本発明のペプチドは、不活性希釈剤若しくは同化できる可食性担体のような製薬学的に許容できるベヒクルとともに経口でもまた投与し得る。該ペプチドは、硬若しくは軟殻ゼラチンカプセルに封入しうるか、錠剤に圧縮しうるか、または患者の食事の食物と直接組み込みうる。経口の治療的投与のため、該ペプチド若しくはペプチド複合物は、1種若しくはそれ以上の賦形剤と組合せかつ摂取可能な錠剤、顆側錠、トローチ剤、カプセル剤、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ剤、カシェ剤などの形態で使用しうる。こうした組成物および製剤は最低0.1%の有効成分を含有するべきである。組成物および製剤の割合はもちろん変動してよく、かつ、便宜的に、所定の単位投薬形態物の重量の約2ないし約60%ないし約90%の間でありうる。こうした治療上有用な組成物中のペプチドの量は、有効投薬量レベルを得ることができるようである。

【0244】

錠剤、トローチ剤、丸剤、カプセル剤などは、以下、すなわちトラガカントガム、アラビアゴム、トウモロコシデンプン若しくはゼラチンのような結合剤；第二リン酸カルシウムのような賦形剤；トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、アルギン酸などのような崩壊剤；ステアリン酸マグネシウムのような滑沢剤もまた含有することができ；および、ショ糖、果糖、乳糖若しくはアスパルテームのような甘味料、またはペパーミント、冬緑油若しくはサクランボ香料のような着香料を添加しうる。単位投薬形態物がカプセル剤である場合、それは、上の型の物質に加え、植物油若しくはポリエチレングリコールのような液体担体を含有しうる。多様な他の物質が、コーティングとして、若しくは固体の単位投薬形態物の物理的形態を別の方法で改変するために存在しうる。例えば、錠剤、丸剤若しくはカプセル剤をゼラチン、蝋、セラック若しくは糖などでコーティングしうる。シロップ剤若しくはエリキシル剤は、有効成分、甘味料としてのショ糖若しくは果糖、保存剤としてのメチルおよびプロピルパラベン、染料、ならびにサクランボ若しくはオレンジ香味料のような着香料を含有しうる。もちろん、いかなる単位投薬形態物の製造において使用されるいかなる物質も、使用される量で製薬学的に許容できかつ実質的に非毒性であるべきである。加えて、本発明のペプチドは徐放製剤および装置に組み込みうる。

【0245】

有用な固体担体は、タルク、粘土、結晶セルロース、シリカ、アルミナなどのような微細に分割された固体を包含する。有用な液体担体は、場合によっては非毒性界面活性剤の助けを借りて本化合物を有効濃度で溶解若しくは分散し得る、水、アルコール若しくはグリコールまたは水・アルコール／グリコール配合物を包含する。香料および付加的な抗菌剤のような補助物質を、所定の使用のため特性を至適化するのに添加し得る。

【0246】

合成ポリマー、脂肪酸、脂肪酸塩およびエステル、脂肪アルコール、修飾セルロース若しくは改変無機物質のような増粘剤もまた、直接使用者の皮膚への塗布のための塗布性のパスタ剤、ゲル剤、軟膏剤、石鹼などを形成するために液体担体とともに使用し得る。

【0247】

本発明のペプチドの有用な投薬量は、それらのin vitro活性および本明細書に記述される動物モデルでのin vivo活性を相關させることにより決定し得る。

【0248】

本発明のペプチドの治療上有効な量は、被験体および処置されるべき疾患若しくは生理学的问题とともに必然的に変動し、そして、対応する既知ペプチドの有効量と相關する。例えば、体重1kgあたり30ないし112,000μgの間の治療量が静脈内投与に有効であり得る。当業者が認識するであろうとおり、該量は投与方法に依存して変動し得る。処置での使用に必要とされる本発明のペプチドの量は、投与経路、しかしあた処置されている状態の性質ならびに患者の齢および状態とともにまた変動することができ、そして最終的には主治医若しくは臨床家の判断であることができる。

【0249】

10

20

30

40

50

該化合物は、例えば単位投薬形態物あたり1ないし1000mg、便宜的には10ないし750mg、最も便宜的には20ないし500mgのペプチドを含有する単位投薬形態物で便宜的に投与し得る。

#### 【0250】

理想的には、該ペプチドは、約0.1から約75μMまで、好ましくは約1ないし50μM、最も好ましくは約2ないし約30μMのピーク血漿濃度を達成するように投与すべきである。これは、例えば、場合によっては生理的食塩水中の該ペプチドの0.05ないし5%溶液の静脈内注入により達成しうるか、若しくは約1~100mgの該ペプチドを含有するボーラスとして経口投与しうる。所望の血中濃度は、約0.01~5.0mg/kg/時間を提供するような連続注入、若しくは約0.4~15mg/kgの有効成分(1種若しくは複数)を含有する間欠的注入により維持しうる。

10

#### 【0251】

所望の用量は、単一用量で、分割された用量として、若しくは連続注入として便宜的に提示しうる。所望の用量は例えば1日あたり2、3、4若しくはそれ以上の下位用量として適切な間隔で投与し得る。

#### 【0252】

##### 化粧品用製剤

メーキャップ化粧品の重要な一役割は「美化」すなわち外観をより美しくすることである。しばしば、その役割は、皮膚の粗さ、傷および色ならびに生気の補正を伴う。

#### 【0253】

本発明の化粧品用組成物は、典型的かつ一般的な基礎担体ならびに本発明のデスマニノアミノ酸化合物を含有する。通常、本発明の化合物はこの目的上エステル、アミド若しくは塩の形態であることができる。一般に、化粧品用基剤は、処方されているメーキャップの種類、すなわち顔用クリーム、顔用パウダー、パンケーキメーキャップ、肌用クリーム、口紅、紅などに依存することができる。これらの基剤は、適切な非毒性の着色料、emulsifiant、油、蜡、溶媒、乳化剤、脂肪酸、アルコール若しくはエステル、ガム、無機不活性ビルダーなどを含有することができる。

20

#### 【0254】

例えば、ガムは、多様な既知の多糖化合物、例えばセルロース、ヘミセルロース、アラビアガム、トラガカントガム、タマリンドガム、ペクチン、デンプン、マンナン、グアルガム、ローカストビーンガム、マルメロ種子ガム、アルギン酸、カラギーナン、寒天、キサンタンガム、デキストラン、フルラン、キチン、キトサン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸などを包含することができ、多糖化合物の誘導体、例えばカルボキシメチル化誘導体、硫酸エステル誘導体、リン酸化誘導体、メチル化誘導体、エチル化誘導体、エチレンオキシド若しくはプロピレンオキシドのようなアルキレンオキシドの付加誘導体、アシル化誘導体、陽イオン化誘導体、低分子量誘導体および他の多糖誘導体を挙げることができる。

30

#### 【0255】

本発明の外用組成物に包含しうる別の成分は粉末成分である。タルク、カオリン、雲母、绢雲母、ドロマイド、金雲母、合成雲母、鱗雲母、黒雲母、リチア雲母、バーミキュライト、炭酸マグネシウム、炭酸カルシウム、ケイ酸アルミニウム、ケイ酸バリウム、ケイ酸カルシウム、ケイ酸マグネシウム、ケイ酸ストロンチウム、タンゲステン酸の金属塩、マグネシウム、シリカ、ゼオライト、硫酸バリウム、焼結硫酸カルシウム(焼結石膏)、リン酸カルシウム、フッ素リン灰石、ヒドロキシアパタイト、セラミック粉末、金属石鹼(ミリスチン酸亜鉛、パルミチン酸カルシウム、ステアリン酸アンモニウム)、ホウ塩化物などの無機成分；およびポリアミド樹脂粉末(ナイロン粉末)、ポリエチレン粉末、ポリメチルメタクリレート粉末、ポリスチレン粉末、スチレンおよびアクリル酸のコポリマー樹脂粉末、ベンゾグアナミン樹脂粉末、シリコーン樹脂粉末、シリコーンゴム粉末、シリコーン樹脂被覆ゴム粉末、ポリエチレンテトラフルオリド粉末、セルロース粉末などの有機粉末成分に基づく粉末成分を挙げることができる。

40

50

## 【0256】

さらに、シリコーン化合物、フッ素修飾シリコーン化合物、フッ素化合物、高級脂肪族酸、高級アルコール、脂肪族酸エステル、金属石鹼、アルキルリン酸塩などによりこれらの粉末成分の表面を処理することにより得られる粉末成分を、必要に依存して、本発明の外用組成物中で処方しうる。

## 【0257】

既知の染料若しくは色素を使用しうる。例えば、二酸化チタン、酸化亜鉛のような無機白色色素、酸化鉄（ベンガラ）、チタン酸鉄のような無機赤色色素、-酸化鉄のような無機褐色色素；黄色酸化鉄、黄色土のような無機黄色色素；黒色酸化鉄、カーボンブラック、低級酸化チタンのような無機黒色色素、および；マンゴーバイオレット、コバルトバイオレットのような無機紫色色素；酸化クロム、水酸化クロム、チタン酸コバルトのような無機緑色色素；ブルシアンブルー、群青のような青色色素；酸化チタン被覆雲母、酸化チタン被覆オキシ塩化ビスマス、酸化チタン被覆タルク、着色酸化チタン被覆雲母、オキシ塩化ビスマス、魚鱗のようなパール色素；アルミニウム粉末、銅粉末のような金属粉末色素；リソールルビンB（赤色201号）、リソールルビンBCA（赤色202号）、レーキレッドCBA（赤色204号）、リソールレッド（赤色205号）、ディープマルーン（赤色220号）、ヘリドンピンクCN（赤色226号）、パーマトーンレッド（赤色228号）、パーマネントレッドF5R（赤色405号）、パーマネントオレンジ（橙色203号）、ベンジジンオレンジ（橙色204号）、ベンジジンイエローG（黄色205号）、ハンザイエロー（黄色401号）、青色404号のような、ジルコニウム、バリウム若しくはアルミニウムレークなどの有機色素、および他の有機色素；エリスロシン（赤色3号）、フロキシンB（赤色104号）、アシッドレッド（赤色106号）、ファーストアシッドマゲンタ（赤色227号）、エオシンYS（赤色230号）、ビオラミンR（赤色401号）、オイルレッドXO（赤色505号）、オレンジII（橙色205号）、タートラジン（黄色4号）、サンセットイエローFCF（黄色5号）、ウラニン（黄色202号）、キノリンイエロー（黄色203号）、ファーストグリーンFCF（緑色3号）、ブリリアントブルーFCF（青色1号）を挙げることができる。

## 【0258】

本発明の化粧品用組成物は液体とともに処方しうる。液体として、化粧品のような外用組成物で通常使用される揮発性成分を選択することが可能である。とりわけ、例えば揮発性シリコーン油、水若しくは低級アルコール（またはその混合物）を挙げることが可能である。これらの揮発性成分は、本発明の外用組成物の特定の形態（例えば、後者は「粗さを補正する組成物」若しくは「メーキャップ組成物」などを挙げる）または担体の型（例えば油基剤若しくは乳剤基剤など）に依存して適して選択しうる。これらの揮発性成分を処方することにより、本発明の外用組成物の使用時点での製品の粘度を調節すること、および皮膚上の該外用組成物の被覆の厚さを調節することが可能である。

## 【0259】

揮発性シリコーン油として、化粧品および他の外用組成物の分野で使用される揮発性シリコーン油を使用することが可能である。それはとりわけ制限されない。とりわけ、例えば、ヘキサメチルジシロキサン、オクタメチルトリシロキサン、デカメチルシクロペンタシロキサン、ドデカメチルシクロヘキサシロキサンおよびテトラデカメチルシクロヘプタシロキサンのような低沸点直鎖状シリコーン油；オクタメチルシクロテトラシロキサン、デカメチルシクロペンタシロキサン、ドデカメチルシクロヘキサシロキサン、およびテトラデカメチルシクロヘプタシロキサンのような低沸点環状シリコーン油などを挙げることができる。

## 【0260】

本発明の外用組成物は、本発明の所望の効果を減じない程度まで、補助成分として以下の他成分を必要に依存して含有しうる。

## 【0261】

例えば、油成分として、流動パラフィン、等流動パラフィン（isolidquidp 50

araaffin)、スクアランのような炭化水素油、オリーブ油、パーム油、ココナッツ油、マカダミアナッツ油、ホホバ油のような油および脂肪；イソステアリルアルコールのような高級アルコール；高級脂肪族油およびミリスチン酸イソプロピルのようなエステル油などを、本発明の外用組成物中に処方しうる。これらの油成分のなかで、とりわけ、本発明の外用組成物中で極性油を処方することは、時間の経過に伴う安定性の改良を可能にする。

【0262】

さらに、ベンゾフェノン誘導体、パラアミノ安息香酸誘導体、パラメトキシコハク酸誘導体、サリチル酸誘導体および他のUV吸収剤；湿潤剤、血液循環促進剤、冷却剤、発汗抑制剤、殺菌剤、皮膚活性化物質、抗炎症剤、ビタミン、抗酸化剤、抗酸化剤補助物質、保存剤、香味および香料などを本発明の外用組成物に配合しうる。

10

【0263】

本発明の化粧品用製剤は、限定されるものでないが、パスタ、粉末、ケーキ、クリーム、油、ローション、油脂、蝶若しくは類似の化粧品用基剤を挙げることができる適切な媒体中で製造しうる。製造方法は、化粧品用成分、および好ましくはエステル、アミド若しくは塩としての式I～Vのいずれかのデスアミノ酸化合物を組合せることを必要とする。該組合せは、使用のための実質的に均質な塊すなわち混合物を形成するように混合、混練、圧延、粉碎、加熱若しくは別の方法で処理する。これらの段階は、混練機、研削砥石、ローラー、ミキサー、熱交換機、押出機などの使用により達成し得る。

20

【0264】

上で説明されたとおり、本発明は天然のペプチドニューロテンシンの改変により例示される。以下の節で、ニューロテンシンおよび本発明の対応するペプチドの背景、改変および生物学的活性を論考する。

【0265】

ニューロテンシンの構造および生物学

ニューロテンシン(NT)は、1973年にCarrawayとLeemanにより降圧ペプチドとしてウシ視床下部から最初に単離された。それ以来、NTは中枢神経系(CNS)および末梢で多数の異なる生理学的効果を有することが示された。体温下降、抗侵害受容、d-アンフェタミン誘発性の自発運動の亢進の減弱、およびバルビツール酸誘発性鎮静の増強が、脳へのNTの直接注入により促進される。末梢では、NTは血圧低下を誘発しつつ胃酸分泌を低下させるホルモンとして作用する。構造的には、NTは以下の配列：pGlu-Leu-Tyr-Glu-Asn-Lys-Pro-Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-OHをもつ直鎖状トリデカペプチドである。NT研究の歴史の早期に、C末端ヘキサペプチドフラグメントArg<sup>8</sup>-Arg<sup>9</sup>-Pro<sup>10</sup>-Tyr<sup>11</sup>-Ile<sup>12</sup>-Leu<sup>13</sup>[NT(8-13)]が、NTの生理学的効果を生じることにおいてin vitroおよびin vivoで効力が等しかったことが示された。

30

【0266】

Tanakaらが1990年にラット脳からNT受容体(NT<sub>R1</sub>)を最初に同定した。それ以来、ヒトNT<sub>R1</sub>は成功裏にクローニングかつ発現されている。双方は7個の膜貫通(7TM)ドメインを含有する古典的Gタンパク質共役型受容体であり、そして84%の相同性を共有する。cGMP産生、カルシウム動員およびホスファチジルイノシトールターンオーバーを包含するセカンドメッセンジャー系が、NT<sub>R1</sub>活性化に際して始動される。NT<sub>R1</sub>のmRNAはラットおよびヒトの脳および腸双方で発現される。NT<sub>R1</sub>よりNTに対し実質的に低い親和性をもつ第二のNT受容体(NT<sub>R2</sub>)（それぞれ

40

K<sub>d</sub>  
【数1】

≡

2.5および0.5nM)もまたラットおよびヒトの脳で同定された(23-25)。NT<sub>R2</sub>もまた7TM/Gタンパク質共役型受容体であるが、なお、NT<sub>R1</sub>に比較してよ

50

り短いN末端細胞外尾部およびより長い第三の細胞質内ループを有する。第三の受容体( $NTR_3$ )がヒト脳cDNAライブラリーからクローニングされ、そして以前にクローニングされた $g p 95$ /ソーティリンに同一であることが見出された。 $NTR_3$ は、ただ単一の膜貫通領域を有する非Gタンパク質共役型局在化タンパク質である。

#### 【0267】

##### 内因性神経遮断薬としてのNT

いくつかの異なる系統の証拠が統合失調症の病理生理学にNTを関係させている。統合失調症のドーパミン理論の進歩が、中脳辺縁系ドーパミン系に対する多様な神経回路の集合の欠陥が該障害の発症の原因であることを裏付ける。NT系の解剖学的位置決めは、それが脳内のグルタミン作動性、ドーパミン作動性、GABA作動性およびセロトニン作動性の系と相互作用するようである。とりわけ、NTおよびドーパミン系は側坐核(妄想および幻覚の原因であると考えられる脳の領域)内で緊密に関係付けられる。 $NTR_1$ 受容体は腹側被蓋領域(上述された神経系と緊密に関連する脳領域)で密である。NT受容体のほぼ90%がドーパミン作動性ニューロンに位置し、また脳中のドーパミンニューロンの80%超が $NTR_1$ を発現する。統合失調症に関係している脳領域とのNT系の共局在もまたその関与を意味している。

#### 【0268】

##### ニューロテンシンおよびその生物学的活性

NTは「内因性神経遮断薬」として仮定され、また、NT(8-13)がその活性フラグメントと同定されて以来、NT(8-13)誘導体を潜在的抗精神病薬として開発するための努力がなされた。とりわけ2つのグループすなわちエーザイ株式会社(東京)およびRichelsonの研究グループ(Mayo Clinic、フロリダ州ジャクソンビル)が、抗精神病薬として有望性を示したNT(8-13)アナログの多数の誘導体を製造した。とりわけ、Arg<sup>8</sup>、Arg<sup>9</sup>、Tyr<sup>11</sup>およびIle<sup>12</sup>のアミノ酸置換が、末梢投与後に中枢性に活性である数種のアナログを生じた。

#### 【0269】

エーザイの一化合物(エーザイのヘキサペプチド)は、抹消投与後に行動的效果を導き出した最初のNT(8-13)アナログであった。しかしながら、このペプチドに組み込まれた多様な改変は $NTR_1$ での結合親和性の700倍の喪失をもたらした。加えて、このアナログは経口投与後に中枢活性を導き出すことが可能でなかった。

#### 【0270】

より最近、NT69Lが、 $NTR_1$ でナノモル濃度の結合親和性( $K_d = 1.55 \text{ nM}$ )を維持し(55)かつ1mg/kg注入後に顕著な体温下降効果(P190分で-5.3)を表す(41)NT(8-13)アナログとして、Richelsonのグループにより開発された。NT69Lはコカインおよびd-アンフェタミン双方により誘発される運動亢進もまた減弱する。しかしながら、その体温下降効果およびd-アンフェタミン誘発性の運動亢進のその抑制に対する耐性が、該化合物の慢性投与後に観察された。エーザイのヘキサペプチドと同様、NT69Lは経口投与後にわずかな体温下降応答のみを生じた。

#### 【0271】

##### [実施例]

##### [実施例1]

#### 【0272】

##### 本発明のNTペプチドの神経学的效果の要約

本発明により製造したNT(8-13)のN末端メチル、デスマニノホモリシルおよびオリンチルアナログ(前述の全般的論考および実施例を参照されたい)を合成し、そして抗精神病能力を予測する多数の行動アッセイで活性についてスクリーニングした。これらのペプチドは経口投与後に用量依存性の様式で体温下降を誘発した。加えて、該ペプチドの経口投与は、d-アンフェタミン誘発性の自発運動の亢進を有意に低下させた(現在の若しくは潜在的APDの治療的有効性の一尺度)。これらのアッセイで経口投与後に

10

20

30

40

50

有意の応答を導き出すペプチドの低用量(10mg/kg)は有意である。該ペプチドはまた、反復投与後に有効性を維持する能力も示す。事実、それらは、長期にわたる最大体温下降応答を増大させる能力を示し、反復投与がそれらのCNS活動を実際に改善しうることを意味している。従って、本発明のNTペプチドは、既知の天然に存在するペプチドNTのもののような生物学的活性を有することが示され、かつ、より選択的である。これらの効果の詳細は後に続くとおりである。

【0273】

CNS活性の予備スクリーニングとしての体温下降。NTは、CNSに直接投与される場合に体温下降を誘発する。結果として、誘発された体温下降を、末梢投与後に BBBを横断する本発明のNT(8-13)ペプチドの能力を決定しつつそれらのin vivo

10

CNS活性を間接的に測定するのに使用し得る。NTの体温下降効果は、NTR<sub>1</sub>(統合失調症の病理生理学で最もしばしば関係しているNTR)でのその作用に帰すことができる。IP注入後に体温下降を誘発したNT(8-13)ペプチドは従って抗精神病薬であることが示される。有意の体温下降効果は、該ペプチドが血液安定性および膜横断における顕著な改良を示したこととみられる。

【0274】

IP注入は、ニューロテンシンアナログの BBB横断の程度を決定するための標準投与経路である。方法およびプロトコルは実施例の節に提供する。IV投与は、全身循環に完全に利用可能である用量をもたらす。対照的に、IP注入は、該ペプチドが肝で初回通過代謝に曝露されるため、安定性のより厳格な試験である。

20

【0275】

5mg/kg IP注入後のペプチド28~30の体温下降効果を表4に示す。各ペプチドは5時間の時間経過にわたり有意の効果を表した。これら3種のペプチドの体温下降の結果は、N末端アミン基の代わりのアルキル基(すなわち-メチル基)の使用がNT(8-13)ペプチドのin vivo活性を消失しないことを示す。抗統合失調症医薬品としての使用のため、経口投与後にCNS活性を導き出すこれらのペプチドの能力を評価した。

【0276】

【表5】

表4

30

NT(8-13) アナログのアミノ酸配列。

ペプチド	アミノ酸配列							
	N-末端	8 <sup>a</sup>	9	10	11	12	13	C-末端
<b>KH28</b> (ABS201)	CH <sub>3</sub>	L-Hlys	L-Arg	L-Pro	L-Tyr	L-tLeu	L-Leu	COOH
<b>KH29</b>	CH <sub>3</sub>	7	L-Arg	L-Pro	L-Tyr	L-tLeu	L-Leu	COOH
<b>KH30</b>	CH <sub>3</sub>	9	L-Arg	L-Pro	L-Tyr	L-tLeu	L-Leu	COOH

40

【0277】

## 【表6】

表5

NT(8-13) およびNT(8-13) アナログのIP投与に対する体温下降応答。

ペプチド <sup>a</sup>	t <sub>max</sub> (min) <sup>b</sup>	BT の Δ (°C) <sup>c</sup>
NT(8-13)	90	-0.45 ± 0.17 <sup>d</sup>
<b>ABS201</b>	150	-2.51 ± 0.17
<b>KH29</b>	150	-3.75 ± 0.24
<b>KH30</b>	300	-3.84 ± 0.20

<sup>a</sup> IP用量は全ペプチドについて5mg/kgであった。<sup>b</sup> t<sub>max</sub>(分)=最大温度下降までの時間。<sup>c</sup> BTのΔ(°C)=t<sub>max</sub>で測定した体温の低下<sup>d</sup> 全ペプチドについてN=5。

10

20

30

## 【0278】

経口投与。抗統合失調症医薬品としてのNT(8-13)ペプチドの開発での最終目標は、経口投与後にCNS活性を表すそれらの能力を測定することである。既知のNTペプチド、NT69Lおよびエーザイのヘキサペプチドは、この点に関して、経口で与えられる場合に中枢活性を導き出すことに失敗する。従って、N末端メチルペプチド28~30を、経口投与後に体温下降を誘発するそれらの能力について試験した。

## 【0279】

本発明のペプチドの一例ABS201は、2以上の大体温下降応答を示し(表6)、そして、その最大体温下降効果はIP投与後のその体温下降効果に等しく(図9)、25%のおよその経口生物学的利用率をもたらした。ペプチド29および30は経口でもまた活性であった一方、IP活性に対する経口活性のそれらの比は、ABS201のものほど均衡が取れていなかった。ABS201の経口活性は、抗精神病能力のさらなる評価のためのリードNT(8-13)アナログとしてそれを裏付けるための重要な因子であった。

## 【0280】

## 【表7】

表6

ABS201の慢性IP投与に対する体温下降応答。

ペプチド <sup>a</sup>	t <sub>max</sub> (min) <sup>b</sup>	BT の Δ (°C) <sup>c</sup>
生理的食塩水 <sup>d</sup>	180	0.70 ± 0.20
第1日	120	2.72 ± 0.24
第2日	90	2.85 ± 0.26
第3日	120	3.74 ± 0.13
第4日	120	3.71 ± 0.13
第5日	90	3.83 ± 0.24

40

<sup>a</sup> IP用量は全日について5mg/kgであった。<sup>b</sup> t<sub>max</sub>(分)=最大温度下降までの時間。<sup>c</sup> BTのΔ(°C)=t<sub>max</sub>で測定した体温の低下<sup>d</sup> 全日についてN=5。

## 【0281】

## 【表8】

表7

IP投与後のペプチドABS201の最大体温下降効果の比較。

用量	ペプチド ABS201 <sup>a</sup>
0.1 mg/kg	-1.14 ± 0.21
0.5 mg/kg	-1.92 ± 0.12
1.0 mg/kg	-2.63 ± 0.21
5.0 mg/kg	-3.61 ± 0.22

<sup>a</sup>体温の変化 (°C) は各個々の用量について記録された最大下降である。

10

## 【0282】

統合失調症の検討。「DAアゴニスト」d-アンフェタミンにより引き起こされる運動の遮断は、統合失調症の処置のための現在若しくは潜在的薬物候補の治療的有効性の標準的尺度となった。このモデルは、大脳辺縁系DA系内のDA受容体の直接刺激が運動応答の原因であるという仮定で機能する。

## 【0283】

げっ歯類で緊張性静止の状態と一般に定義されるカタレプシーは、ヒトでの（錐体外路系副作用）EPS-Eに類似とみなされる。結果、カタレプシーは成功裏の薬物候補で回避されるべき副作用である。同時に、薬物候補がラットでカタレプシーを引き起こす程度は、その特定の候補と関連するEPS-Eのありそうな発生に対する予測因子としてもまた使用しうる。

20

## 【0284】

体温下降分析。ABS201の抗精神病特性を検査するため、IP投与後の体温下降誘導についての用量応答曲線を生成した。加えて、ABS201(10 mg/kg ~ 30 mg/kg)の経口投与により導き出される体温下降効果を測定した。IPおよび経口双方の投与後のd-アンフェタミン誘発性の自発運動の亢進を低下させるABS201の能力もまた測定した。ABS201の持続的処置により引き起こされるCNS活性に対する効果を評価するため、体温下降、およびd-アンフェタミン誘発性の自発運動の亢進の減弱を、反復連日投与後に測定した。最後に、バーテストを利用して、ヒトでのEPS-Eの予測因子としてのカタレプシーを測定した。

30

## 【0285】

0.1 ~ 10 mg/kgの濃度範囲にわたるIP注入後のABS201の用量応答曲線（図11）はいくらか相反する結果を示した。第一に、5 mg/kgで導き出される最大効果（PI150分で-3.61 ± 0.22）は、予備スクリーニング後に見られた最大効果（PI150分で-2.51 ± 0.17）より完全な程度、より大きかった。この矛盾は、もっともありそうには、ラットの応答に影響を及ぼし得る環境因子（気温、直腸プローブ、ラットの大きさなど）による。最も重要なことに、ABS201はこれらの差違に関係なく有意のCNS効果を導き出すことを継続した。ABS201のED<sub>50</sub>値（0.943 mg/kg）は、CNS活性をもつ他のNT(8-13)アナログと好都合に匹敵する（41、60）。

40

## 【0286】

ABS201はまた、経口投与後にも用量依存性の様式で体温下降を誘発した（図12）。有意の体温下降効果が試験した最低用量（10 mg/kg）で示された（PI150分で-1.02 ± 0.10）。ABS201の経口投与のED<sub>50</sub>値の生成は、完全な用量応答曲線を生じるのに必要なペプチドの極端な量により、実際的でなかった。抗精神病化合物として開発中であった以前のNT(8-13)アナログはTrp<sup>11</sup>置換を含有した。本明細書に提示される研究からの証拠は、この変更がNTアナログの経口生物学的利用性でTy<sub>11</sub>が何の特定の役割を演じているかを決定するためにさらなる研究が必要である。

50

## 【0287】

「D Aアゴニスト」d - アンフェタミンにより引き起こされる運動の遮断は、現在若しくは潜在的な統合失調症薬物候補の治療的有効性の標準的尺度となり、そして、候補として現在検討中のN T (8 - 13)アナログは、d - アンフェタミン誘発性の運動亢進を用量依存的様式で減少させる能力を示した。音および光を減弱した運動ケージを使用して、d - アンフェタミン誘発性の運動亢進を低下させる潜在的候補の能力を測定した。

## 【0288】

変動する用量でのd - アンフェタミン誘発性の運動亢進に対するA B S 2 0 1の効果もまた検査した。A B S 2 0 1は、試験した全用量(3 mg / kgおよび10 mg / kgの用量は示されない)について自発運動の亢進を有意に低下させた。現在のA P Dの別の特徴は自発的運動活動を低下させる能力である。全部のA B S 2 0 1投与群は、薬物相の間、生理的食塩水より有意により低く応答し、自発的活動を低下させるA B S 2 0 1の能力を示した。

10

## 【0289】

経口投与後のd - アンフェタミン誘発性の自発運動の亢進を減弱させる能力もまたA B S 2 0 1により示される。薬物相の間に、10および30 mg / kg用量のみが自発的運動活動を低下させた。20 mg / kg用量で見られた有意性の欠如は、もっともありそうには、この群のラットについての応答のわずかな変動から生じる異常である。しかしながら、用量の主効果が基礎相の間に検出され、多様な投与群にわたる基礎活性の有意の差違が存在しないことを示した。

20

## 【0290】

A B S 2 0 1は、反復連日投与後に有意のC N S効果を維持し(表6)、また、5日間にわたり絶対的体温下降応答が増大した。第1および5日のA B S 2 0 1の誘導された体温下降の比較を行った。第5日に、最大体温下降応答は第1日(120分)に比較してより迅速に(90分)達成された。第1日と対照的に、第5日に、最大体温下降効果は長時間維持されず、反復投与が最大効果を低下させない一方でそれは体温下降効果の持続時間を短縮しうることを意味した。反復連日投与は、d - アンフェタミン誘発性の自発運動の亢進を減弱させるA B S 2 0 1の能力に対する影響を有しなかった。急性および慢性双方の投与群は運動亢進の低下を生じ、それはアンフェタミン投与後ほぼ2時間有意であった。注目すべきは、A B S 2 0 1の慢性投与は自発的運動活動に対するその阻害効果を消失した。

30

## 【0291】

カタレプシー分析。実験室の試験で、カタレプシーは、不自然な体勢での設置後にその位置を是正することの動物の不能を特徴とする。カタレプシー試験は多数の変数により大きく影響され得る。これらは、新たな環境により引き起こされるカタレプシーのストレス誘発性阻害、および同一動物での反復測定に際し生じ得る学習された「擬似カタレプシー」の寄与を包含する。これらの潜在的交絡因子を克服するため、試験は、静寂な制御された環境で一動物で1度のみ実施する。

## 【0292】

A B S 2 0 1(5 mg / kg)も生理的食塩水も末梢投与後にカタレプシーを引き起こさなかった。ラットで完全なカタレプシー応答を生じることが既知の典型的抗統合失調症薬ハロペリドールは、30秒以上持続したカタレプシーを誘発した。これらの結果は、A B S 2 0 1が末梢投与後にカタレプシーを誘発しない(現在臨床上有効な候補の特徴)ことを示す。

40

## 【0293】

C A C O - 2細胞を用いる生物学的利用性試験。ヒト結腸直腸癌由來のC a c o - 2細胞は、十分に発達した微絨毛および刷子縁酵素を表す極性化した細胞に自発的に分化する。これらの特徴は該細胞をヒト小腸の優れたモデルとする。C a c o - 2細胞モデルでの化合物の取り込みと化合物の経口生物学的利用性の間の強い相関が同定されている。

## 【0294】

50

A B S 2 0 1 はラット血清中で 2 4 時間以上安定であるが、しかしながら細胞中でのその安定性は測定されていない。結果、取り込み実験で C a c o - 2 細胞に進入する無傷のペプチドの能力の測定は、経口生物学的利用性および細胞安定性を示すことができる。逆相 H P L C は、可溶化した細胞成分を A B S 2 0 1 および A B S 2 0 1 分解生成物について分析するための理想的な方法である。この分析は経口生物学的利用性および細胞安定性を示すことができる。画分を決められた間隔で収集しあつ L S C を介して放射活性を計数し得る。標準的勾配を介して A B S 2 0 1 溶離時間を確立することにより、取り込み実験後の C a c o - 2 細胞の内容物に対し直接比較を行い得る。

#### 【 0 2 9 5 】

無傷のペプチドが C a c o - 2 細胞に進入していることを確認するため、および予備的な試みで細胞培養物中の該ペプチドの安定性を評価するために、細胞取り込み後の A B S 2 0 1 を分析するための R P - H P L C アッセイを実施し得る。2 分のインキュベーション後に、無傷の A B S 2 0 1 は H P L C 技術を使用して細胞内で同定され得ることがありそうである。これらの研究は、A B S 2 0 1 が C a c o - 2 細胞により広範囲に取り込まれて従ってその経口生物学的利用性を示し得ることを示すことができる。

10

#### 【 実施例 2 】

#### 【 0 2 9 6 】

#### 化合物の合成

以下の実施例およびプロトコルは、本明細書で特許請求される化合物がどのように作成かつ評価されるかの完全な開示および記述を当業者に提供するように述べられ、そして、本発明の純粹に例示であることを意図しておりかつ発明者が彼らの発明であるとみなすものの範囲を制限することを意図していない。数（例えば量、温度など）に関する正確さを確実にするために努力がなされたが、しかし何らかの誤りおよび逸脱が説明されるべきである。別の方で示されない限り、部分は重量部分であり、温度は ででありかつ室温であり、ならびに圧力は大気圧若しくはそれ近くである。

20

#### 【 0 2 9 7 】

出発原料。別の方で示されない限り、溶媒は F i s h e r S c i e n t i f i c ( ペンシルバニア州ピッツバーグ ) から、また、試薬は A l d r i c h ( ウィスコンシン州ミルウォーキー ) からである。

30

#### 【 0 2 9 8 】

略語。 T r i s y l - N <sub>3</sub> 、 2 , 4 , 6 - トライソプロピルベンゼンスルホニルアジド ; E t <sub>3</sub> N 、 トリエチルアミン ; t - B u C O C l 、 塩化トリメチルアセチル ; n - B u L i 、 n - ブチルリチウム ; H <sub>2</sub> 、 水素ガス ; P d - C 、 活性炭上パラジウム ; X p s 、 ( S ) - ( - ) - 4 - ベンジル - 2 - オキサゾリジノン ; K H M D S 、 ビス ( トリメチルシリル ) アミドカリウム ; C H <sub>3</sub> I 、 ヨウ化メチル ; H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 、 過酸化水素 ; L i O H 、 水酸化リチウム ; T H F 、 テトラヒドロフラン ; C H <sub>2</sub> C l <sub>2</sub> 、 ジクロロメタン ; M g S O <sub>4</sub> 、 硫酸マグネシウム ; H e x 、 ヘキサン、 E t O A c 、 酢酸エチル ; N a H C O <sub>3</sub> 、 重炭酸ナトリウム ; H C l 、 塩酸 ; N <sub>2</sub> 、 窒素 ; H <sub>2</sub> O 、 蒸留水。

#### 【 0 2 9 9 】

( 3 ( 2 S ) , 4 S ) - 3 - ( 2 - メチル - 5 - ブロモ - 1 - オキソバレリル ) - 4 - ( フェニルメチル ) - 2 - オキサゾリジノン ( 2 4 a ) ( 図 3 )。中間体 2 3 a は以前に記述されたとおり ( 5 7 ) 製造した。 1 7 . 4 m L ( 5 等量 ) のビス ( トリメチルシリル ) アミドカリウム ( K H M D S ) の溶液を 1 0 0 m L の無水テトラヒドロフラン ( T H F ) に添加し、そして陽窒素 ( N <sub>2</sub> ) 圧下で - 7 8 に冷却した。 N <sub>2</sub> 下の 1 0 m L T H F 中の 2 3 a ( 5 . 1 8 g 、 1 5 . 2 3 m m o l ) の溶液を - 7 8 に冷却し、そして K H M D S 溶液にカニューレ挿入した。この混合物を - 7 8 で 3 0 分間攪拌してエノレート形成を遂げた。ヨウ化メチル ( C H <sub>3</sub> I ) ( 1 . 9 0 m L 、 2 等量 ) を、カニューレを介して溶液に添加し、そして - 7 8 で 1 時間攪拌し、その時点で反応を 4 . 0 9 m L ( 5 等量 ) の氷酢酸でクエンチした。溶液を 2 時間にわたり攪拌しながら室温に加温し、そして T H F を真空中で除去した。生じる黄色スラリーを 2 0 0 m L の半飽和塩水に溶解し

40

50

かつ  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 100 \text{ mL}$ ) で抽出した。 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  層を合わせ、無水硫酸マグネシウム ( $\text{MgSO}_4$ ) で乾燥し、濾過し、そして真空中で蒸発させて黄色油状物を生じた。該粗油状物を、3:1のヘキサン:酢酸エチル ( $\text{Hex:EtOAc}$ ) で溶離するシリカゲルで精製して、2.81g (52% 収率) の純粋な 26a を生じた。 $^1\text{H}$  NMR ( $400 \text{ MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ) 7.38 - 7.15 (m, 5H)、4.71 - 4.63 (m, 1H)、4.18 - 4.15 (d,  $J = 5.0 \text{ Hz}$ , 2H)、3.71 - 3.65 (m, 1H)、3.41 - 3.33 (m, 2H)、3.27 - 3.20 (dd,  $J = 4.0, 13.8 \text{ Hz}$ , 1H)、2.89 - 2.81 (dd,  $J = 10.0, 14.2 \text{ Hz}$ , 1H)、1.90 - 1.55 (m, 4H)、1.24 - 1.20 (d,  $J = 7.4, 3 \text{ Hz}$ , 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $100 \text{ MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ) 176.8, 153.2, 135.2, 129.6, 129.1, 127.6, 66.4, 55.6, 38.3, 37.6, 33.8, 32.2, 31.8, 17.9。 10

## 【0300】

(3(2S), 4S) - 3 - (2 - メチル - 6 - ブロモ - 1 - オキソヘキサニル) - 4 - (フェニルメチル) - 2 - オキサゾリジノン (24b)。わずかに改変した手順を使用して 24b を生じた。23b への KHMDs 添加直後に、5 等量の  $\text{CH}_3\text{I}$  を添加し、そして反応を  $\text{N}_2$  下 - 78 $^\circ\text{C}$  で 1 時間攪拌した。氷酢酸でのクエンチング、ならびにその後の抽出および精製プロトコルは 24a について上述されたとおりであった。100%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  で溶離する追加のシリカゲル精製が 10% 収率で純粋な 24b を生じた。 $^1\text{H}$  NMR ( $400 \text{ MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ) 7.36 - 7.19 (m, 5H)、4.72 - 4.65 (m, 1H)、4.25 - 4.16 (d,  $J = 4.2 \text{ Hz}$ , 2H)、3.77 - 3.67 (m, 1H)、3.46 - 3.36 (t,  $J = 7.0 \text{ Hz}$ , 2H)、3.29 - 3.22 (dd,  $J = 4.0, 14.0 \text{ Hz}$ , 1H)、2.82 - 2.74 (dd,  $J = 9.0, 14.0 \text{ Hz}$ , 1H)、1.92 - 1.74 (m, 3H)、1.50 - 1.42 (m, 3H)、1.25 - 1.21 (d,  $J = 7.2 \text{ Hz}$ , 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $100 \text{ MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ) 176.9, 153.2, 135.3, 129.6, 129.1, 66.4, 55.6, 38.1, 37.8, 34.1, 32.8, 32.5, 26.1, 18.7。 20

## 【0301】

(3(2S), 4S) - 3 - (2 - メチル - 7 - ブロモ - 1 - オキソヘプチル) - 4 - (フェニルメチル) - 2 - オキサゾリジノン (24c)。化合物 24c は、化合物 26a について概説された手順に従い、23c から 56% 収率で製造した。 $^1\text{H}$  NMR ( $400 \text{ MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ) 7.41 - 7.22 (m, 5H)、4.74 - 4.66 (m, 1H)、4.25 - 4.19 (d,  $J = 4.0 \text{ Hz}$ , 2H)、3.77 - 3.70 (m, 1H)、3.45 - 3.39 (t,  $J = 7.0 \text{ Hz}$ , 2H)、3.31 - 3.23 (dd,  $J = 3.7, 13.7 \text{ Hz}$ , 1H)、2.84 - 2.77 (dd,  $J = 10.0, 1.2 \text{ Hz}$ , 1H)、1.91 - 1.77 (m, 3H)、1.50 - 1.32 (m, 5H)、1.25 - 1.20 (d,  $J = 7.0 \text{ Hz}$ , 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR ( $100 \text{ MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ) 177.2, 153.1, 135.4, 129.7, 129.1, 127.5, 66.4, 55.7, 38.2, 37.9, 34.3, 33.4, 32.8, 28.4, 27.7, 17.8。 40

## 【0302】

2(S) - メチル - 5 - ブロモ吉草酸 (25a)。100mL の THF および 40mL の  $\text{H}_2\text{O}$  中の 24a ( $10.41 \text{ g}$ 、 $29.4 \text{ mmol}$ ) の溶液を攪拌しながら 0 $^\circ\text{C}$  に冷却した。この溶液に 12.12mL (3.5 等量) の 30% 過酸化水素 ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )、次いで 2.41g (2 等量) の水酸化リチウム ( $\text{LiOH}$ ) を添加し、そして溶液を 0 $^\circ\text{C}$  で 50 分間攪拌した。50 分後に 94mL の硫酸ナトリウム ( $0.183 \text{ g/mL}$   $\text{H}_2\text{O}$ ) および 288mL の 0.5N 重炭酸ナトリウム ( $\text{NaHCO}_3$ ) を添加した。THF を真空中で除去し、そして残存する水性溶液を  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  ( $3 \times 100 \text{ mL}$ ) で抽出した。水層を 25%  $\text{HCl}$  で pH 2 に酸性化しあつ  $\text{EtOAc}$  ( $3 \times 100 \text{ mL}$ ) で抽出した。 50

。 EtOAc 画分を合わせ、そして真空中で濃縮して 4.01 g (70% 収率) の 27a を青白色油状物として生じた。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 3.46 - 3.38 (t, J = 6.0 Hz, 2H)、2.56 - 2.46 (m, 1H)、1.95 - 1.60 (m, 4H)、1.25 - 1.20 (d, J = 7.0 Hz, 3H)；<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 183.1, 38.9, 33.6, 32.1, 30.5, 17.3。

### 【0303】

2(S)-メチル-6-ブロモヘキサン酸 (25b)。化合物 25b は 25a について概説された手順に従い 24b から 77% 収率で製造した。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 3.45 - 3.38 (t, J = 6.2 Hz, 2H)、2.55 - 2.45 (m, 1H)、1.92 - 1.85 (m, 2H)、1.77 - 1.68 (m, 1H)、1.55 - 1.46 (m, 3H)、1.24 - 1.19 (d, J = 7.8 Hz, 3H)；<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 183.5, 39.5, 33.8, 32.9, 32.7, 26.0, 17.2。

### 【0304】

2(S)-メチル-7-ブロモヘプタン酸 (25c)。化合物 25c は 25 について概説された手順に従い 24c から 74% 収率で製造した。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 3.43 - 3.36 (t, J = 6.8 Hz, 2H)、2.51 - 2.42 (m, 1H)、1.90 - 1.64 (m, 3H)、1.49 - 1.32 (m, 5H) 1.20 - 1.14 (d, J = 7.0 Hz, 3H)；<sup>13</sup>C NMR (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) 183.6, 39.5, 34.1, 33.5, 32.7, 28.2, 26.6, 17.1。

### 【実施例 3】

### 【0305】

メチル、デスアミノ、N 置換ホモリシリルおよびオリンチル (8) ニューロテンシン (8-13)

メチル、デスアミノ N 置換ホモリシリルおよびオリンチル (8) ニューロテンシン (8-13) を合成した (図 7)。-メチルブロモ酸 27a および c を、全般の節で概説されたとおり樹脂結合したペプチドにカップリングした。固相カップリングは後に続くとおり実施した。

### 【0306】

樹脂結合した N-Fmoc ロイシンを、ピペリジン (DMF 中 20%) での Fmoc 切断前に DMF 中で膨潤させた。ピペリジン溶液を真空濾過により除去し、そして樹脂結合したアミノ酸を DMS およびジクロロメタン (各 5 回) で洗浄した。アミノ酸 (4 等量) を DMF 中で HOBt (4 等量) PyBOP ((4 等量) および DIPPEA (10 等量) で活性化し、そしてペプチド反応容器に直接添加した。アミノ酸を 6 時間カップリングし、樹脂を DMF およびジクロロメタンで洗浄し、そして遊離アミンの存在について Kaiser 試験でモニターした。必要な場合は樹脂を再カップリングした。この手順をその後のアミノ酸を用いて反復して、最後から 2 番目のペプチド配列 (五量体) を生じた。

### 【0307】

樹脂結合した五量体のアリコートをその後、上述されたとおり適切な ブロモカルボン酸とカップリングして、N-ブロモアシリル五量体を生じた。N-アシリル五量体をその後、これらの実施例で記述されたとおりアンモニア、ジメチルアミン若しくはトリメチルアミンと反応させて、本発明の所望のペプチドを製造した。側鎖保護基の酸触媒される脱保護を、適切なスカベンジャーを含有する TFA 溶液で実施した。

### 【0308】

4 mL / 分の一定流速で 55 分にわたる 15% ないし 75% B の直線的勾配を使用する RP-HPLC 精製が、純粋な ブロモペプチド 53 および 54 を供給した。これらのブロモペプチドを、150 等量の水酸化アンモニウム (H<sub>2</sub>O 中 29%)、メチルアミン (H<sub>2</sub>O 中 40%)、ジメチルアミン (H<sub>2</sub>O 中 40%) 若しくはトリメチルアミン (H<sub>2</sub>O 中 40%) で希釈した。

10

20

30

40

50

中 40 %) とエタノール (EtOH) 中 40 % で 12 時間反応させた。溶媒を真空中で除去し、そして粗ペプチドを移動層に溶解しかつ 4 mL / 分の一定流速で 65 分にわたる 2 % ないし 50 % B の直線的勾配を用いて精製した。

【0309】

ペプチドは、Voyager DE-STR 装置 4117 質量分析計 (Applied Biosystems、カリフォルニア州フォスター・シティ) での MALDI-TOF MS を介して特徴付けしかつ純度について評価した。ペプチドは 95 % 以上純度で *in vivo* で使用した。

【実施例 4】

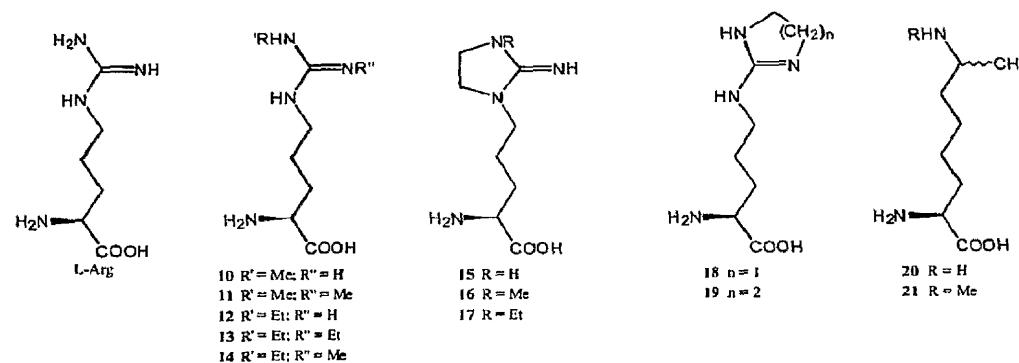
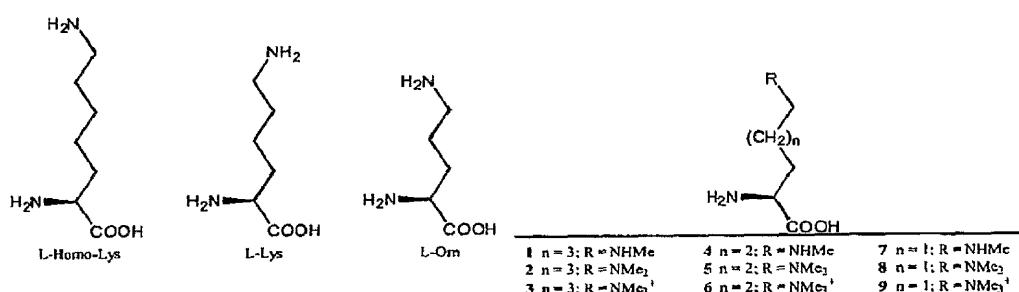
【0310】

抗精神病 NT ペプチドアナログの同定

化合物の構造。評価されるペプチドアナログは 1 個の非天然アミノ酸 (スキーム 1) 若しくはデスアミノ酸 (スキーム 2) を含有する。

【0311】

【化 6】



スキーム 1. NT アナログの生成において使用した非天然アミノ酸。

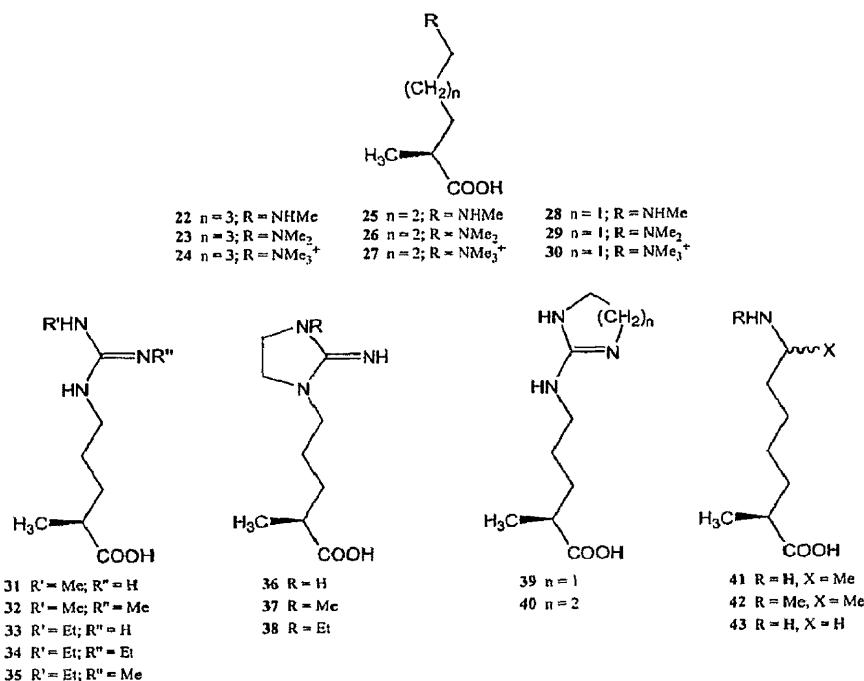
【0312】

10

20

30

## 【化7】



スキーム2. NTアナログの生成において使用したデスアミノアミノ酸

10

20

30

## 【0313】

ベンチマーク化合物。約50種の化合物の初期スクリーニングから、表8に列挙されるものを、抗精神病化合物としてのさらなる試験および開発のため選択した。これらの化合物はニューロテンシンフラグメントNT(8-13)に基づく。これらの化合物は、それぞれ、統合失調症に関する脳ニューロテンシン受容体NTR-1に*in vitro*で競合的アゴニストとして結合し、中枢活性の代理物として体温下降を使用して、ラットでIP注入した場合に、中枢活性を示し(NTR-1結合によってもまた起こる)、および、統合失調症のラット行動モデルで適切な活性を導き出したような有用な特徴を有した。

## 【0314】

## 【表9】

表8. NT[8-13]に基づくペプチドの構造。

ペプチド番号	構造 <sup>1</sup>
NT(8-13)	NH <sub>2</sub> -Arg-Arg-Pro-Tyr-Ile-Leu-COOH
ABS13	N <sub>3</sub> -L-ホモシン-Arg-Pro-Tyr- <i>tert</i> Leu-Leu-COOH
ABS41	N <sub>3</sub> -13-Arg-Pro-Tyr- <i>tert</i> Leu-Leu-COOH
ABS44	N <sub>3</sub> -7-Arg-Pro-Tyr- <i>tert</i> Leu-Leu-COOH
ABS46	N <sub>3</sub> -9-Arg-Pro-Tyr- <i>tert</i> Leu-Leu-COOH
ABS201	43-Arg-Pro-Tyr- <i>tert</i> Leu-Leu-COOH
ABS202	28-Arg-Pro-Tyr- <i>tert</i> Leu-Leu-COOH
ABS203	29-Arg-Pro-Tyr- <i>tert</i> Leu-Leu-COOH <sup>2</sup>

40

<sup>1</sup>ペプチド構造内の太字の数字は、スキーム1および2に示される非天然のArgおよびLys残基を指す。

## 【0315】

該化合物をさらに特徴付けるため、体温下降誘発(NTR-1受容体結合)活性を、各化合物の経口およびIP双方の投与後に評価した。表9に見られるとおり、ABS201

50

を除く化合物の全部が<10%の経口活性を表した。興味深いことに、ABS201は、以前の最も活性の化合物を上回る経口活性の300%増大を有した。加えて、ABS201はIPに対して経口で投与される場合により迅速な応答を達成した。これはNT(8-13)誘導体の間で独特である。

【0316】

【表10】

表9. IPおよび経口投与後のNT(8-13)アナログの体温下降効果。

ペプチド	IP 用量 <sup>a</sup>		経口用量 <sup>b</sup>		明白性 経口
	t <sub>max</sub> <sup>c</sup> (min)	BT の Δ <sup>d</sup> (°C)	t <sub>max</sub> <sup>c</sup> (min)	BT の Δ <sup>d</sup> (°C)	
生理的食塩水	240	-0.60 ±	180	-0.64 ±	NA
ABS13	150	-4.26 ±	90	-1.66 ±	NA
ABS31	180	-6.87 ±	150	-1.05 ±	NA
ABS44	150	-5.07 ±	150	-1.58 ±	
ABS46	180	-4.68 ±	180	-2.03 ±	
ABS201	150	-2.51 ±	90	-2.49 ±	NA
ABS202	150	-3.75 ±	120	-1.09 ±	NA
ABS203	300	-3.84 ±	150	-1.30 ±	NA

<sup>a</sup> IP用量は全ペプチドについて5mg/kgであった。

<sup>b</sup> 経口用量は全ペプチドについて20mg/kgであった。

<sup>c</sup> t<sub>max</sub>(分)=最大温度低下までの時間。

<sup>d</sup> BTのΔ(°C)=t<sub>max</sub>で測定した体温の低下。

<sup>°</sup>有意の応答(p<0.05)を示す。

<sup>f</sup> およその経口生物学的利用率は、投与された化合物の量について補正した、各投薬レジメンの相対体温下降曲線下面積から計算した。

<sup>g</sup> NA=明らかでない(経口投与が基礎を超えて有意でなかったため)

【実施例5】

【0317】

#### ABS201の神経試験のプロトコル

全般的動物プロトコル。雄性Sprague Dawleyラット(250~350g)若しくはBrattleboroラット(270~310g)をHarlan(インジアナ州インジアナポリス)から得、そして一定温度および湿度で維持したAAALAC承認済居住室(colony room)に収容した。照明は12時間の明:暗周期で制御し、午前7時に照明を点灯した。動物はケージあたり2匹を収容し、そして実験室食および水を随意に供給した。全実験は明周期の間に実施した。

【0318】

動物拘束。ラットは動きを拘束するための木製だぼを装備したPlas-Labs(®)プラスチック製ケージに拘束した。鉛物油を塗った直腸温度プローブ(Physitemp(®)、RET-2、ニュージャージー州クリifton)を各動物の直腸に挿入した。プローブは、熱電対セレクタ(Physitemp(®)、SWT-5)とともにマイクロプローブ温度計(Physitemp(®)、BAT-12)に接続した。ラットをIP注入前の1時間、ケージに馴化させた。

【0319】

ペプチド製剤。試験した各ペプチドは、I.P.注入の適切な最終濃度(1mLの0.9%NaCl中10、30若しくは100mg NT[8-13]または等モル濃度のアナログの同等物)まで0.9%NaClに溶解した。経口投与のため、試験物品は胃管栄養(gavaging)により動物の胃に直接投与した。対照は0.9%NaClの投与を伴った。従って、ペプチドを生理的食塩水に溶解し、そして平衡期間後に、ラットにペプチド(5mg/kg)若しくは生理的食塩水(1mL/kg)のIP注入を与えた。初期温度値は注入の直前および直後のラットの平均温度であった。その後の測定は30分ごとに5時間行った。統計学的解析は、一元配置分散分析(ANOVA)、次いで有意性を

10

20

30

40

50

測定するための Graph Pad Prism<sup>(R)</sup> を使用する多重比較のための Tukey の事後検定を使用して実施した。結果は  $p < 0.05$  について有意とみなした。

【0320】

体温下降。体温下降誘発は、脳に進入しかつ NTR-1 (精神病に関する受容体) に結合するニューロテンシン誘導体の簡便かつ直接的尺度である。これらの実験のため、動物を、敷きわらを伴わない個別の Plexiglass 製ケージに 25 で収容した。各ラットについて、サーミスタプローブを直腸中 4.5 cm に設置し、化合物の注入前のケージへの慣れを可能にするように基礎温度を 1 時間記録した。

【0321】

体温下降誘発の用量応答曲線。全部の動物拘束および体温下降プロトコルは上述されたとおりであった。可変傾斜 (variable slope) 用量応答曲線および ED<sub>50</sub> 値は、Graph Pad Prism<sup>(R)</sup> を使用して生成した。

10

【0322】

d - アンフェタミン誘発性の自発運動の亢進。実験的に、I 雄性 Prague - Dawley ラットを上述されたとおり収容した。ラットは、試験日に実験者が誘発する自発運動の亢進を最小限にするように、試験前 3 日間取り扱った。実験のため、音および光を減弱した自動光電池ビーム活動チャンバー (Accuscan Instruments, Inc., オハイオ州コロンバス) を使用して運動を測定した。ケージを、垂直および水平活動を記録するための Versamax 1.80 - 0146 ソフトウェア (Accuscan) を使用する IBM 製コンピュータとともに Versamax 分析装置 (Accuscan) に接続した。記録された総活動値は垂直および水平活動の総和であった。

20

【0323】

各動物の活動は、動物がコンピュータ制御光電池活動チャンバー (San Diego Instruments, カリフォルニア州サンディエゴ) の光ビームを 1 分あたり何回「切斷する」かにより測定した。チャンバーは、別個の収容室とほぼ同一の周囲光および温度を伴う静寂な室中の 4 段のラックに配置した。実験は 1 日 1 回正午に 6 日間行った。各日に、6 匹のナイーブなラットを各処置条件に割り当てた。用量は、異なるチャンバーの照明などの変動について制御する、装置全体に分配した 12 個のチャンバーでそれが評価されるように割り当てた。

30

【0324】

ラットを活動チャンバーに 30 分間入れて慣らしかつ基礎活動レベルを確立した。その後ラットを取り出し、そして IP 若しくは経口用量のペプチド (N = 7) 若しくは生理的食塩水 (N = 8) を与え、そして自発活動レベルに対するペプチドの影響を確立するためチャンバーに戻した。投与約 30 分後にラットを取り出しかつ d - アンフェタミン (1 mg / kg) 若しくはベヒクルの IP 注入を与え、そして誘発される自発運動の亢進に対するペプチドの影響を評価するため、さらなる 1 時間、チャンバーに戻した。

30

【0325】

慢性試験プロトコル。慢性体温下降試験のため、ラットに ABS201 (5 mg / kg) 若しくは生理的食塩水の IP 注入を 1 日 1 回連続 5 日間与えた。誘発された体温下降をモニターし、そして上述されたとおり有意性について検定した。反復投与後の d - アンフェタミン誘発性の自発運動の亢進を低下させる ABS201 の能力を評価するため、ラットを 3 投与群 (慢性、急性および対照 (全群について N = 7) に分割した。第 1 ~ 4 日に、慢性群は ABS201 (5 mg / kg) の IP 注入を受領した一方、急性および対照群は生理的食塩水を受領した。試験日 (第 5 日) に、慢性および急性動物は ABS201 (5 mg / kg) を受領した一方、対照動物は生理的食塩水を受領した。第 5 日の試験プロトコルは上述されたとおりであった。

40

【0326】

カタレプシー評価。ABS201 (5 mg / kg) を生理的食塩水 (1 ml / kg) に溶解した。ラットにペプチド (5 mg / kg)、生理的食塩水若しくはハロペリドール (1 mg / kg) の IP 注入を与えた。3 時間後に水平バー テストを使用してカタレプシー

50

を測定した。簡潔には、ケージ床の7.5 cm上に設置した直径5 mmの水平バー上に直接前足を置いた。ラットをこの姿勢で3秒間維持しそしてその後開放した。開放から足がケージ床に戻るまでの時間を測定かつ記録した。30秒のカットオフ時間を観察し、カタレブシー動物はバーに固定されるため、これは完全にカタレブシーの動物を示した。正常動物は事実上即座に引っ込める。測定は30分ごとに4時間反復した。データは平均±SEM ( $p < 0.01$ ) である。

#### 【実施例6】

##### 【0327】

##### A B S 2 0 1 の神経試験の結果

I P および P O 投与による A B S 2 0 1 による体温下降誘発。A B S 2 0 1 は、I P で投与した場合に約1 mg / kg、および経口で投与した場合に10 mg / kg の E D<sub>50</sub> を有する（体温下降データは示されない。下のアンフェタミン誘発性の自発運動の亢進の結果を参照されたい）。図9に見られるとおり、A B S 2 0 1 は、各化合物のおよその E D<sub>50</sub> の2倍で、経口で投与した場合にI P に対しより迅速な体温下降効果を実際に誘発する。

##### 【0328】

用量応答曲線。0.1~10.0 mg / kg の濃度範囲にわたるI P 注入後のA B S 2 0 1 の用量応答曲線を図11に示す。計算された E D<sub>50</sub> 値は0.943 mg / kg である。10.0~30.0 mg / kg の濃度範囲にわたるA B S 2 0 1 の経口投与に対する体温下降応答を図12に示す。

##### 【0329】

I P および経口投与後のd-アンフェタミン誘発性の自発運動の亢進の減弱。図13は、I P 送達されたA B S 2 0 1 が、約1 mg / kg の E D<sub>50</sub> を伴い、アンフェタミン誘発性の自発運動の亢進を阻害することを具体的に説明する。図14は、経口投与により送達されたA B S 2 0 1 が、約10 mg / kg のおよその E D<sub>50</sub> を伴い、自発運動の亢進を誘発したことを具体的に説明する。より多い用量は、十分な物質の欠如により P O 投与実験で試みられなかつたが、しかしながら、該 I P データは、自発運動の亢進の効果が完全に逆転され得ることを明瞭に具体的に説明する。

##### 【0330】

用量×時間に対する別個の二元配置 A N O V A を、アッセイの各異なる時間相について実施した。I P 投与および経口投与実験の相は、慣らし（時間点10~60）、薬物（時間点70~120）およびアンフェタミン（時間点130~240）よりなつた。

##### 【0331】

I P 投与実験のため、慣らし相の間、時間の主効果 [ $F(5, 185) = 264.335$  ( $p < 0.001$ )] が存在し、用量に関係なく時間にわたる活動レベルの次第の低下を示した。用量全体で急激に低下した T u k e y の事後検定は、時間点10~30の活動レベルが時間点40~60より有意により高かつた ( $p < 0.001$ ) ことを示した。これらの結果は新規環境と関連する初期の自発的探求活動に帰される。薬物相の間、時間の主効果 [ $F(5, 185) = 12.336$  ( $p < 0.001$ )] および用量の主効果 [ $F(5, 37) = 11.775$  ( $p < 0.001$ )] が存在した。時間の主効果は第一の時間点（70分）に関する全用量の活動の低下から生じた。時間全体で急激に低下した T u k e y の事後検定は、全用量が生理的食塩水と有意に異なる応答した ( $p < 0.001$ ) ことを示した。アンフェタミン相の間、用量×時間の交互作用 [ $F(55, 407) = 4.474$  ( $p < 0.001$ )] が存在した。T u k e y の事後検定は、全 A B S 2 0 1 用量群が生理的食塩水に比較して時間点130~200について低下された運動活動 ( $p < 0.05$ ) を示したことを示した。

##### 【0332】

経口投与実験については、慣らし相の間、時間の主効果 [ $F(5, 120) = 201.979$  ( $p < 0.001$ )] が存在し、用量に関係なく時間にわたる活動レベルの次第の低下を示した。用量全体で急激に低下した T u k e y の事後検定は、各時間点で活動レベ

10

20

30

40

50

ルが有意に低下したことを示した。薬物相の間は用量×時間の交互作用 [  $F(15, 120) = 11.584$  ( $p < 0.037$ ) ] が存在した。時間全体で急激に低下した Tukey の事後検定は、 $10 \text{ mg} / \text{kg}$  および  $30 \text{ mg} / \text{kg}$  用量群のみが生理的食塩水と有意に異なる応答した ( $p < 0.01$ ) ことを示した。アンフェタミン相の間に用量×時間の交互作用 [  $F(11, 264) = 35.616$  ( $p < 0.001$ ) ] が存在した。Tukey の事後検定は、全用量群が生理的食塩水に比較して時間点  $140 \sim 180$  について低下された運動活動を示した ( $p < 0.05$ ) ことを示した。加えて、 $20 \text{ mg} / \text{kg}$  および  $30 \text{ mg} / \text{kg}$  用量群は、時間点  $190 \sim 200$  で生理的食塩水群より有意に低く応答した。

## 【0333】

10

体温下降誘発の慢性 ABS 201 投与の効果。ABS 201 は、反復連日投与後に有意の CNS 効果を維持し (表 6)、また 5 日間にわたり絶対的体温下降応答が増大した。

## 【0334】

20

d - アンフェタミン誘発性の運動亢進に対する反復 ABS 201 投与の影響。群×時間の別個の二元配置 ANOVA を、実験の各異なる時間相について実施した。相は上述されたものと一致した。慣らし相の間は時間の主効果 [  $F(5, 90) = 146.164$  ( $p < 0.001$ ) ] が存在し、群に関係なく時間にわたる活動レベルの次第の低下が存在したことを示した。用量全体で急激に低下した Tukey の事後検定は、時間点  $10 \sim 20$  の活動レベルが時間点  $30 \sim 60$  より有意により高かった ( $p < 0.001$ ) ことを示した。これらの結果は時間にわたる新規環境に対するラットの慣れに帰される。薬物相の間に時間の主効果 [  $F(5, 90) = 13.512$  ( $p < 0.001$ ) ] および群の主効果 [  $F(2, 18) = 4.37$  ( $p = 0.028$ ) ] が存在した。時間の主効果は、最初の時間点 (70 分) に関する全用量の活動の低下から生じた。時間全体で急激に低下した Tukey の事後検定は、急性群のみが薬物相の間に生理的食塩水と有意に異なる応答した ( $p < 0.05$ ) ことを示した。アンフェタミン相の間に群×時間の交互作用 [  $F(22, 198) = 4.069$  ( $p < 0.001$ ) ] が存在した。Tukey の事後検定は、急性および慢性双方の群が、生理的食塩水に比較して時間点  $140 \sim 220$  について低下された運動活動を示した ( $p < 0.05$ ) ことを示した。

## 【0335】

30

プレパルス抑制の逆転。音響驚愕のプレパルス抑制 (PPI) は、薬物投与されていない統合失調症患者で低下され、かつ、類似の欠陥を、薬理学的、環境若しくは神経解剖学的操作によりラットで誘発し得る。最近、単一遺伝子突然変異をもつ Brattleboro (BB) ラット (Long Evans (LE) 一系統) が、統合失調症患者で観察されるものと相同な PPI の固有の欠陥を有することが報告された (Feifelら Neuropsychopharmacology 29: 731 (2004) を参照されたい)。非定型の抗精神病薬がこのモデルで活性である。図 15 に見られるとおり、経口投与された ABS 201 は Brattleboro ラットで PPI を逆転する。

## 【0336】

40

カタレプシー評価。ABS 201 ( $5 \text{ mg} / \text{kg}$ ) も生理的食塩水も末梢投与後にカタレプシーを引き起こさなかった ( $N = 5$ )。ラットで完全なカタレプシー応答を生じることが既知の典型的 AED、ハロペリドールは、30 秒間以上持続したカタレプシーを誘発した。図 16 を参照されたい。

## 【0337】

50

用量耐性。上述されたプロトコルを使用するモニタリング方法のような体温下降の誘発およびアンフェタミン誘発性運動の阻害の双方を使用して、ED50 の 5 倍の ABS 201 を連続 5 日間動物に I.P. 投与した。用量耐性はいずれの化合物でも観察されなかつた (図 17 および 18 を参照されたい)。

## 【0338】

ABS 201 の行動的効果の要約。抗精神病能力をもつ分子を評価するための「黄金基準」の動物モデルは、アンフェタミン誘発性の自発運動の亢進の阻害である。ABS 20

50

1はIPで注入されるにしろ経口で注入されるにしろ用量依存性の様式で活性である(図13および14)。ABS201の作用はIVおよびPO双方の投与後に明らかであり、用量依存性で、かつ長時間作用性(投与後1時間に観察可能および追加の最低1時間明らか)である。

【0339】

カタレプシーに対するABS201およびハロペリドールの効果をラットで検査した。ラット(N=5)にABS201(5mg/kg)若しくはハロペリドール(1mg/kg)のIP注入を与えた。2時間後に水平バーテストを使用してカタレプシーを測定した。データは平均±SEM(p<0.01)である。ABS201はラットでカタレプシー状態を誘発せず(図16)、抗侵害受容性でなく、そして、複数回投与に対する耐性は、体温下降をモニターすること若しくはアンフェタミン誘発性の自発運動の亢進の阻害いずれでも起こらない(図17および18)。従って、ABS201は、IVおよびPO双方投与後にげっ歯類で体温下降を確実に誘発する。ABS201の作用は、用量依存性かつ長時間作用性であり、投与後3~4時間観察可能である。体温下降を生じる用量は、d-アンフェタミン応答を逆転させるものに同一でない場合は類似である。

10

【0340】

中性の生理学的生理的食塩水中で投与される50mg/kg(IV)若しくは250mg/kg(PO)のABS201HC1をそれぞれ受領する3匹の雄性および3匹の雌性ラットの経口および静脈内投与を観察した。2および24時間の投与後臨床観察期間の間、中核体温の測定を行った。

20

【0341】

以下が、ABS201の静脈内投与のすぐ間および直後の期間に観察された。すなわち、投与期間の間(穏やかな圧力;尾静脈を介し>1分<2分)、ABS201HC1を受領する動物は身体拘束ケージ中で目に見えて穏やかになり;拘束ケージからの取り出しに際して、動物は、明らかに鎮静され、自発的卓上(benchtop)運動活動を欠き、取り扱いに際して巻き付く姿勢を取り、および、大きく損なわれた復元反射若しくはその喪失を表したが、にもかかわらず、眼瞼下垂は非存在であり、筋緊張は実質的に低下されたとは言え、弛緩性麻痺の証拠は存在せず、瞳孔反射が存在し、後肢挾み応答は損なわれたか若しくは非存在であり、副交感神経応答の証拠は存在せず、例えば自発的排尿、排便、唾液分泌および流涙は非存在であり、急性交感神経応答の証拠、例えば起毛の証拠は存在せず、発作(緊張性若しくは間代性いずれか)の証拠は存在しなかった。急性効果は短時間であり、復元反射は完全な投薬期間(およそ30分)の終了までに復帰した。2時間の投与後観察期間で、全動物はほぼ正常に見えたとは言え、顕著な低体温状態が存在した。投与後24時間の観察期間で、全動物はほぼ正常に見え、体温下降は非存在であった。ABS201HC1を経口投与した動物は全時間点でほぼ正常に見えた。従って、証拠は、ABS201HC1(50mg/kg)の静脈内投与後の動物の急性の行動的外見および応答(1種若しくは複数)を、急速かつ顕著な中枢神経系の効果に直接帰すことができるることを示す。

30

【実施例7】

【0342】

ABS201の経口生物学的利用性試験

40

放射活性ABS201の生成のためのFmoc-プロリン-OH<sup>\*</sup>の合成(図19)。L-プロリン(20.7mg、0.18mmol)(Advanced Chemtech)を450μLの10%Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液に溶解し、それに250μCiのL-[U-<sup>14</sup>C]egrada(Moravec、カリフォルニア州ブレア)を含有する5mLのEtOH:H<sub>2</sub>O(2:98)を添加した。3mLのジメトキシエタン(DME)中のFmoc-N-ヒドロキシスクシンイミド(Fmoc-Osu)(100mg、1.5等量)を攪拌するアミノ酸溶液に一滴ずつ添加した。反応を室温で12時間攪拌させ、そしてDMEを真空中で除去した。残存する水性溶液を10mLのH<sub>2</sub>Oで希釈し、そして飽和N-ブタノール(4×10mL)で抽出した。ブタノール抽出液を合わせかつ濃縮して

50

青白色油状物を生じた。残余の F m o c - O s u を、 M e O H : C H <sub>2</sub> C l <sub>2</sub> ( 5 0 : 5 0 ) で溶離してシリカゲルで除去した。粗 F m o c - プロリン - O H \* はさらなる精製を伴わずにペプチド合成で使用した。

#### 【 0 3 4 3 】

C a c o - 2 細胞モデルを使用する A B S 2 0 1 の経口生物学的利用性の研究。ヒト結腸直腸癌由来の C a c o - 2 細胞は、十分に発達した微絨毛および刷子縁酵素を表す極性化した細胞に自発的に分化する ( 7 8 )。これらの特徴は該細胞をヒト小腸の優れたモデルにする。C a c o - 2 細胞モデルでの取り込みと経口生物学的利用性の間の強い相関が同定されている ( 7 9 )。C a c o - 2 細胞を横断するペプチドの輸送に焦点を当てた研究は、溶質 - 溶媒の水素結合を該ペプチドの浸透性における主要な決定因子と同定した。非天然アミノ酸の技術を、溶質 - 溶媒相互作用、とりわけ水素結合により起こる水の溶媒和を低下させるよう設計し、これゆえに現在の改変は C a c o - 2 細胞で高められた腸吸収を賦与するはずである。下述される研究は、 N T ( 8 - 1 3 ) アナログの潜在的経口生物学的利用性およびそれらの取り込みの原因の輸送の機構を評価するように設計されている。

10

#### 【 0 3 4 4 】

A B S 2 0 1 は、新規 A P D としての N T ( 8 - 1 3 ) アナログの開発のためのリード化合物である。A B S 2 0 1 は、従って N T ( 8 - 1 3 ) アナログの細胞取り込みを評価するための原型として機能し得る。液体シンチレーション計数 ( L S C ) は、細胞単層からのペプチドの抽出が必要とされず、かつ、溶解された細胞成分を、矛盾する分析をもたらす不正確であり得る抽出プロトコルなしに直接分析し得るため、これらのアッセイの好み深い分析方法である。L - [ U - <sup>14</sup> C ] e g r a d a をこれらの研究の放射標識として使用した。プロリンは、塩基不安定性の F m o c 部分を用いるペプチド合成のため - アミンで容易に保護される。加えて、 P r o <sup>10</sup> は N T ( 8 - 1 3 ) の主要切断部位と同定されていない。抗精神病能力を示す N T ( 8 - 1 3 ) アナログは P r o <sup>10</sup> 修飾を包含していない。

20

#### 【 0 3 4 5 】

N T ( 8 - 1 3 ) アナログの細胞取り込みの発生および機構を検査するため、 C a c o - 2 細胞 ( 腸上皮の十分に確立されたモデル ) を利用し得る。これらの研究は、該ペプチドアナログの経口活性の潜在性への洞察を提供するよう設計した。上述されたとおり、 N T ( 8 - 1 3 ) アナログは経口投与後に C N S 活性を導き出す。それらは経口活性を表すための N T ( 8 - 1 3 ) の最初のアナログであり、そして、これらの予備研究は、高められた経口活性をもつ今後のペプチドアナログの開発で補助する情報を提供するはずである。

30

#### 【 0 3 4 6 】

これらの取り込み試験に使用された A B S 2 0 1 の濃度 ( 2 0 0 μ M ) は 2 つの異なる理由から選ぶことができる。生理的食塩水 ( 1 m L / k g ) 中で送達されるペプチドの 2 0 m g / k g 用量の濃度は 2 4 m M である。胃管栄養法投与は胃への直接投与を保証するため、 2 4 m M のわずかにのみ下の濃度は小腸により見られるはずである。従って、 C a c o - 2 細胞に添加される濃度は i n v i v o で理論上見られるものより十分に下である。加えて、ラットでの標準的循環血容量は 6 4 m L / k g である ( 8 2 )。胃管栄養法投与後に、ラット全体を通じて循環する 2 0 m g / k g 用量のペプチドの濃度は 3 7 7 μ M である。これらの理由から、 2 0 0 μ M が、 A B S 2 0 1 の取り込みを i n v i t r o で研究するための生理学的に適切な濃度であると決定される。

40

#### 【 実施例 8 】

#### 【 0 3 4 7 】

#### A B S 2 0 1 の前臨床試験

受容体スクリーニング。3種の別個の濃度の A B S 2 0 1 ( 1 0 <sup>-9</sup> 、 1 0 <sup>-7</sup> 、 1 0 <sup>-5</sup> M ) を、以下の 1 6 種の受容体、すなわち、アドレナリン ( 1 、 2 、 ) 、ドーパミン、ヒスタミン ( H 1 、 H 2 、 H 3 ) 、ムスカリーン ( 中枢、末梢 ) 、ニコチン、オピ

50

オイド（非選択的）、オルファニン、セロトニン（輸送体、非選択的）、モノアミンオキシダーゼ（A、B）に対し個別にスクリーニングした。受容体の内因性基質の置換は観察されなかった。これゆえに、ABS201はこれらの受容体のいずれとも結合すると思われない。対照的に、ABS201は標的受容体（NTR<sub>1</sub>）に対するnMの親和性を有する。

【0348】

肝受容体スクリーニング（スタンフォード研究所（Stanford Research Institute）研究B213-06）。ABS201（10<sup>-3</sup>、10<sup>-2</sup>、0.1M）を、以下の肝CYPすなわちCYP1A2、CYP2B6、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4に対しスクリーニングした。これらの酵素へのいずれの濃度のABS201の基質結合の阻害も観察されなかった（薬物-薬物相互作用の潜在性の欠如の表示）。

10

【0349】

血液分布および代謝の同定。ABS201を、新たに単離したラット全血に100μg/mLの濃度まで添加し、分配させ、そして細胞画分を遠心分離により除去した。この濃度のABS201は細胞と血清画分の間でほぼ等しく分布する。ABS201の代謝は検出されず、非常に長い血清/血漿半減期が示された以前の実験と矛盾しなかった。

【0350】

最大許容薬量。ABS201を、100mg/kgまでのIV用量および500mg/kgまでの経口用量でラットに投与した。該化合物の副作用（体重減少、死亡、異常な臨床評価パネル）は投与後48時間まで見られなかった。これらの実験は、従って、抗精神病および脳活動を反映する他の試験における該化合物のED<sub>50</sub>の100倍のABS201のMTDのより低い限界を規定する。

20

【0351】

遺伝毒性学。小核試験、マウスリンパ腫試験およびAmes試験を実施した。小核試験は、マウス骨髄細胞で誘発された小核多染性赤血球により明示されるところの遺伝子損傷を引き起こすその潜在性について、合成NTPeptidesを評価した。マウスリンパ腫試験は、活性化されないおよびS9代謝活性化条件下の双方でのL5178Y TK<sup>+/ -</sup>マウスリンパ腫細胞のチミジンキナーゼ遺伝子座で突然変異を引き起こすその潜在性について、合成NTPeptidesを評価した。Ames試験は、活性化されないおよびS9代謝活性化条件下の双方での、ネズミチフス菌（Salmonella typhimurium）株TA98、TA100、TA1535およびTA1537のヒスチジンオペロン、ならびに大腸菌（Escherichia coli）株WP2 uvrAのトリプトファンオペロン中で突然変異を引き起こすその潜在性について、合成NTPeptidesを評価した。実験プロトコルは後に続くとおりである。

30

【0352】

小核試験において、該試験で使用した90匹のCD-1マウスは、群1~4（対照、低、中および高用量）で10匹/性/群、ならびに陽性対照群で5匹/性になった。経口で投与されたところの試験ペプチド、経口で投与されるところの陽性対照（80mg/kgのシクロホスファミド）。投与のおよそ24および48時間後にマウスを殺し、そして双方の大腿骨から骨髄を得た。骨髄懸濁液のスライドを調製し、ライト-ギムザ染色で染色し、乾燥しつつ盲検評価した。全赤血球（多染性赤血球（PCE）+正常染色赤血球（NCE））のなかのPCEの数を、最低200赤血球を計数することにより各動物について決定した。小核多染性赤血球（MPC-E）の数をその後、動物あたり2000PCEについて評価した。1種若しくはそれ以上の用量レベルで対照に比較してMCEの数の正の用量応答性の傾向すなわち統計学的に有意の増加が存在する場合に、陽性の結果が得られた。

40

【0353】

マウスリンパ腫試験においては、雄性Sprague-DawleyラットをAroclor-1254またはフェノバルビタールおよび/若しくは -ナフトフラボンで誘導

50

することにより、標準的ラット肝S-9を調製した。陽性対照は、代謝活性化を伴わずにTK遺伝子座で突然変異を誘発するメタンスルホン酸ヒカントン(HYC)、および代謝活性化を伴いTK遺伝子座で突然変異を誘発する7,12-ジメチルベンズ[ ]アントラセン(DMBA)を包含した。範囲発見試験を実施して0~100%毒性を生じるABS201の濃度を同定した。陽性対照(HYCおよびDMBA)ならびに5濃度のABS201を、代謝活性化を伴うおよび伴うアッセイで使用した。細胞を各ABS用量に曝露し、そして上清を得かつ20および44時間インキュベートした。2日の発現期間後に、培養物を制限剤トリフルオロチミジン(TK-/-細胞のみの増殖を可能にする)若しくはベヒクル対照でクローン化した。突然変異の頻度および誘発された突然変異の頻度を計算した。最低1種の培養物が、対応する溶媒対照培養物の平均MFより2倍若しくはそれ以上大きかったMFを有しかつ該応答が用量依存性であった場合に、陽性の結果が得られた。変異アッセイの結果を確認するため、S-9活性化を伴わずに確認アッセイを実施した。

10

## 【0354】

Ames試験では、合成NTペプチドアナログを、ネズミチフス菌(Salmonella 11a typhimurium)株TA98、TA100、TA1535、TA1537のヒスチジンオペロン、および大腸菌(Escherichia coli)株WP2 uvrAのトリプトファンオペロン中で突然変異を引き起こすその能力について評価した。簡潔には、雄性Sprague-DawleyラットをArachlor-1254またはフェノバルビタールおよび/若しくは-ナフトフラボンで誘導することにより、標準的ラット肝S-9を調製した。使用した細菌株は、ネズミチフス菌(Salmonella 11a typhimurium)株TA98、TA100、TA1535、TA1537、および大腸菌(Escherichia coli)株WP2 uvrAであった。陽性対照は2-AA、2-NF、9-AA、NaAzおよびMMSを包含した。溶解性/混合可能性アッセイを実施して、選択された溶媒(水、DMSO、アセトン若しくはエタノール)中でのペプチドアナログの最大の達成可能な濃度を決定した。範囲発見試験を、0~100%毒性を生じるABS201の濃度を同定するため、テスター株TA100およびWP2 uvrAのみを使用して、S-9活性化を伴いおよび伴わずに実施した。突然変異アッセイは、プレート取り込み処理法を使用して、4種のネズミチフス菌(Salmonella 11a typhimurium)株(TA98、TA100、TA1535、TA1537)および大腸菌(Escherichia coli)株WP2 uvrA株を使用して実施した。株TA98若しくはTA100いずれかが、対応する溶媒対照プレートの平均復帰突然変異頻度の2倍以上若しくはそれに等しい平均復帰突然変異頻度を生じる用量を有する場合、または、株TA1535、TA1537若しくはWP2 uvrAのいずれかが、溶媒対照の頻度に比較して平均復帰突然変異頻度の3倍若しくはそれ以上の増大を生じる用量を有する場合に、応答を陽性とみなした。

20

## 【0355】

初期データはABS201が全3種のアッセイで不活性であることを示す。

30

## 【0356】

hERGアッセイ。hERG試験の目的は、HEK293細胞株で安定に発現されるhERG(ヒトether-a-go-go関連遺伝子)チャンネルにより伝導される迅速活性化内向き整流性カリウム電流(I<sub>Kr</sub>)に対する試験物品の効果を評価することである。使用される方法は後に続くとおりである。hERG cDNAで安定にトランスクレクトしたHEK293細胞を該試験で使用した。全実験は生理学的温度近く(35±2)で実施した。陽性対照(60nMターフェナジン)を2細胞(n=2)に適用した。細胞を記録チャンバーに移しかつHB-PS溶液で表面灌流した。記録チャンバーおよび浴溶液は、インライン溶液プレヒーター、チャンバー床ヒーターおよびフィードバック温度制御装置の組合せを使用して35±2の温度で維持した。浴温度はサーミスタプローブを使用して測定した。

40

## 【0357】

50

パッチピペットは、P-97マイクロピペットラー (Sutter Instruments、カリフォルニア州) を使用して、ガラス製毛細管から作成した。商業的パッチクランプ増幅器を全細胞記録に使用した。デジタル化前に、電流記録をサンプリング頻度の1/5で低域フィルタリングした。

【0358】

hERGを安定に発現する細胞を-80mVで保持した。ABS201によるhERG電流の発生および定常状態遮断を、固定振幅(調製前パルス: +20mV 1秒間; 5秒間隔)で反復した-80mVへの再分極試験傾斜(-0.5V/秒)をもつパルスパターンを使用して測定した。各記録は、内因性電流の寄与を評価するため、参照物質の超極大濃度(E-4031、500nM)の最終適用で終了した。残存する遮断されない電流はデータからオフラインでデジタルで差し引き、hERG阻害に対するABS201の効力を決定した。

10

【0359】

初期の結果は、ABS201がhERG試験で不活性であることを示す。

【0360】

ABS201の薬物動態および脳分布。ABS201を1IV用量(5mg/kg)若しくは経口用量(50mg/kg)でラットに投与した。選択した時間点で血液を取り出すか若しくは脳を収集し、そして該ペプチドアナログの濃度をLC/MS/MSを使用して測定した。ABS201はIVおよび経口双方の投与後120分まで、血液および脳中で検出し得たことが示された。脳中の量は観察された行動効果を生じさせるようにNTR-1を飽和するのに十分であった。

20

【0361】

ABS201を、化合物が5mg/kgのIV投与後120分まで低レベルで測定可能であった初期相および第二相を伴う2相で全血から透明にし、全血中のABS201の濃度は化合物(50mg/kg)の経口投与後全時点でLLDより下であり、脳中のABS201の濃度はIV投与後全時点でLLDより下であり、そして、測定可能な量のABS201が、50mg/kgの経口投与15分後に3動物のうち2匹の脳で検出された。

【0362】

ABS201のIVおよび経口投与の血漿濃度対時間曲線を図20および21に示す。IV注入後、全身クリアランスの平均値は2.45L/時間/kgであり、これはラット肝血流の74.02%に対応した。半減期およびV<sub>z</sub>の平均値は0.29時間および0.87L/kgであった。ABS201は組織に十分に分布する。末期相の分布の容量は0.87±0.27L/kgであり、これはラットの総体内水分(0.67L/kg)に同様であった。経口投与後のABS201の生物学的利用率は、0.9%生理的食塩水溶液の場合に0.07%であった。半減期の平均値は0.99時間であった。

30

【0363】

脳中のABS201の薬物動態研究のため、血漿サンプルおよび脳サンプルを、試験物品ABS201・2HClの静脈内注入後4時点(SDラットから収集した。これらのサンプルをその後、BBB浸透および薬物動態パラメータを推定するためのLC/MS/MSによる血漿および脳の薬物濃度の測定に使用した。時間経過の結果を図22に示す。100mg/kgのABS201・2HClの15分静脈内注入後に、全身クリアランスの値は22.77L/時間/kgであり、これはラット肝血流(3.31L/時間/kg)の6.88倍に対応した。ABS201・2HClの半減期(T<sub>1/2</sub>)の値は0.49時間であった。100mg/kgの用量での静脈内注入後のC<sub>max</sub>(25分で)の平均値は5459.78μg/Lであった。AUC<sub>0-∞</sub>の値は4391.09時間\*μg/Lであった。

40

【0364】

ABS201・2HClは組織に十分に分布する。末期相の分布の容量は16.10L/kgであり、これはラットの総体内水分(0.67L/kg)より大きかった。

50

## 【0365】

100 mg / kg の A B S 2 0 1 · 2 H C 1 の 15 分 静脈内注入後、 $C_{max}$  (45 分で) および脳中 A U C <sub>0-t</sub> の値はそれぞれ 32.93 ng / g および 60.96 時間 \* ng / g であった。A B S 2 0 1 : 2 H C 1 の半減期 ( $T_{1/2}$ ) の値は 4.85 時間であった。静脈内注入後 25 分から 135 分までの脳対血漿比は 0.0015 から 0.1453 までの範囲にわたった。これらの結果は、A B S 2 0 1 が脳に選択的に取り込まれることを示す (それが血液中より有意により長い半減期を有するため)。脳の半減期は A B S 2 0 1 について見られる行動効果の半減期と整合している。

## 【0366】

A B S 2 0 1 の 血漿 および 脳 の 薬物動態を、非絶食ラットへの 1 mg / kg の A B S 2 0 1 の I V 投与 および 30 mg / kg の 経口投与 後にもまた試験した。この試験の結果は、A B S 2 0 1 が I V 投与 後に 約 5 分 の  $t_{1/2}$  で 血漿 から 迅速に 消失され、該化合物の濃度が 45 分までに L L O D より下に低下し、A B S 2 0 1 の 濃度は 経口投与 後 全 時点で L L O D より下で あり、そして 脳中の A B S 2 0 1 濃度が I V および P O 双方の投与 後の全 時点で L L O D より下で あつたことを示した。

## 【0367】

A B S 2 0 1 の *in vitro* 代謝 および 区画化。血液中の A B S 2 0 1 の 分布、血漿中の タンパク質結合 の 程度を 評価するため、ならびに 血液 および 血漿中の A B S 2 0 1 の 代謝 の 予備評価を得るため。この試験の結果は、37で5若しくは30分インキュベーション後の 血漿 タンパク質への A B S 2 0 1 の ほとんど若しくは 全くない 結合、37で5若しくは30分インキュベーション後の 全 血 若しくは 血漿中の A B S 2 0 1 の 代謝 の 証拠なし、および 全 血 を A B S 2 0 1 と 37で5若しくは30分間インキュベートした場合の 血液の 細胞要素への A B S 2 0 1 の 約 33パーセント の 迅速な 分布を示した。

## 【0368】

P O 投与 脳から の A B S 2 0 1 の 取り込み の 部位 の 評価。処方により A B S 2 0 1 の 全 体的 経口 生物学的 利用性 を 究極的に 増大させる という 最終目標 を もって、消化管の 取り込み 部位 を 評価した。この研究の 目的は、*in situ* ループ モデルで、試験 物品 A B S 2 0 1 · 2 H C 1 の 胃内、十二指腸内、空腸内 および 結腸内 投与 後の 多様な 時間点で S D ラット から 血漿サンプル を 収集する こと であつた。これらのサンプルを、薬物動態 パラメータ および 区分 吸収 を 推定するための L C / M S / M S による 血漿 薬物 の 測定 に 使用した。静脈内投与 および 胃管栄養法 に関する 胃内、十二指腸内、空腸内、結腸内 投与 の 生物学的 利用率 を 計算した。図 23 に 見る こと が できる と おり、A B S 2 0 1 は 腸で ほぼ 完全に 吸収され、十二指腸内 が 取り込み の 最大量 を 表した。事実上、A B S 2 0 1 は 胃で 取り込まれない。

## 【0369】

要約。A B S 2 0 1 を 製造するための A B S 1 3 の ホモリシン の N 末端 - アジド 基 (スキーム 1) の メチルデスアミノ誘導体 4 3 (スキーム 2) での 置換は、潜在的 抗精神病薬 の 重要な 特徴 を 有する 分子 を もたらした。とりわけ、A B S 2 0 1 は、N T R - 1 に対し 高度に 選択性 あり、また、I P 若しくは 経口 いずれで 投与する 場合も、精神病 の 重要な ラット モデル で 有効な 抗精神病 活性 を 表す。A B S 2 0 1 は 経口 で 投与される 場合 に 中枢活性 の 300% 増大 を 表し、そして I V 注入 に対し 経口 で より 迅速な 応答 を 達成した (これらの 独特の 属性は デスアミノ 改変 に 帰す こと が できる)。A B S 2 0 1 は カタレプシー を 引き起さない か 若しくは 薬物耐性 を 誘導しない。初期 ラット 毒性 および 突然変異誘発 実験 は 陰性 であった。

## 【0370】

A B S 2 0 1 の 薬物動態、区画化 および 可能な 代謝を *in vitro* および *in vivo* で 評価した。該結果は、ほとんど若しくは 全くない 代謝、および、該化合物が 最初に 血液 から の 迅速な 消失、次いで より 持続性 の 深部 コンパートメント 現象 を 受ける ことを 示す 複雑な 薬物動態 を 示唆する。

## 【0371】

10

20

30

40

50

また、A B S 2 0 1 の薬力学応答はI V およびP O 双方の投与後に持続性(2 ~ 4 時間)であり、I V のA B S 2 0 1 の急性効果は中枢神経系を介して媒介され、該化合物は血漿若しくは全血との共インキュベーションに際して代謝されるようではなく、A B S 2 0 1 はi n v i t r o で血液の水性および細胞相の間で分配し；全血中のA B S 2 0 1 のP Kプロファイルは二相クリアランス過程と矛盾せず、そして観察された薬力学応答は同様に二相クリアランス過程と矛盾しない。

## 【0 3 7 2】

A B S 2 0 1 は、それが血液から喪失される速度の約10%でそれが脳から喪失するため、おそらく能動輸送過程により脳に優先的に取り込まれる。ラット脳でのA B S 2 0 1 の長い見かけの半減期(投与後6時間まで検出可能)、および該薬物が血液要素内で蓄積場所(すなわち薬物の徐放送達系)を形成するという証拠を考えれば、半合成ペプチドA B S 2 0 1 のような本発明の化合物は1日1回若しくは2回投与し得る。

10

## 【実施例9】

## 【0 3 7 3】

生物活性ペプチド中の-CH<sub>3</sub>の代わりの-Hの使用から生じる生物学的改良

ArgおよびLysの一連のアミノ酸アナログを創製した。米国特許第6,043,218号；同第6,358,922号；同第6,566,330号；同第6,783,946号；同第6,858,396号明細書を参照されたい。NT(8-13)のArg8の代わりに使用される場合、抗精神病および鎮痛双方の活性を有する一連の化合物を生成した。これらの化合物の例は下の表10に見出し得る(A B S 2 0 2、A B S 2 0 3、A B S 2 0 4、A B S 2 0 6)。非天然側鎖に加え、N末端-NH<sub>2</sub>の代わりの-CH<sub>3</sub>の使用が双方の適応症に対し最も活性の化合物をもたらしたことが示された。2005年6月17日出願の第PCT/US2005/021580号、および2004年6月17日出願の米国仮出願第60/581,333号明細書を参照されたい。

20

## 【0 3 7 4】

これらの化合物の生物学的活性における-CH<sub>3</sub>の役割を評価するために末端の-Hを-CH<sub>3</sub>の代わりに用いたさらなる一組の化合物を生成した(A B S 2 2 6、A B S 2 2 7、A B S 2 2 8、A B S 2 3 0、表10)。化合物A B S 2 0 2 およびA B S 2 0 3 の構造を表8に示す。化合物A B S 2 2 6 およびA B S 2 2 7 は、A B S 2 0 2 およびA B S 2 0 3 のN末端-CH<sub>3</sub>基がA B S 2 2 6 およびA B S 2 2 7 中で-H基により置換されているために、それぞれA B S 2 0 2 およびA B S 2 0 3 と異なる。A B S 2 0 4 の構造は、30-Arg-Pro-Tyr-Ile-tertLeu-COOH[式中30はスキーム2に示される非天然の残基を指す]である。A B S 2 0 6 の構造はN-Me-Lys-Arg-Pro-Tyr-Ile-tertLeu-COOHである。化合物A B S 2 2 8 およびA B S 2 3 0 は、A B S 2 0 4 およびA B S 2 0 6 のN末端-CH<sub>3</sub>基がA B S 2 2 8 およびA B S 2 3 0 中で-H基により置換されているために、それぞれ化合物A B S 2 0 4 およびA B S 2 0 6 と異なる。

30

## 【0 3 7 5】

化合物A B S 2 2 6、A B S 2 2 7、A B S 2 2 8 およびA B S 2 3 0 のそれぞれを、適切なラットモデルで、抗精神病および鎮痛活性についてそれぞれその親化合物A B S 2 0 2、A B S 2 0 3、A B S 2 0 4、A B S 2 0 6 に対し評価した。前者の活性は、NT R-1結合および受容体活性化作用ならびに従って抗精神病活性の尺度である誘発された低体温状態(中核体温低下)の程度を測定することにより最も容易にモニターされる。体温下降は、デジタル読み出しボックスに接続した温度計プローブのラットの肛門への挿入により、時間にわたり慣例に追跡する。鎮痛は、52に維持される壁で囲まれた金属表面上でホットプレート測定を行うホットプレートアッセイによりモニターする。ラットを表面上に置いた時間とそれがその後足を舐める場合の間の待ち時間を測定する。動物が30秒でその後足を舐めない場合、それを除去し、そして100%の最大陽性効果(すなわちM P E)を記録する。中間応答は0 ~ 100%の間のM P Eを達成し、生理的食塩水対照は0%待ち時間を規定する。

40

50

【0376】

【表11】

表10

化合物 <sup>1</sup>	N-末端	位置8 <sup>2</sup>	体温下降 (Δ °C)	体温下降 (tmax, 分)	% MPE	%MPE (tmax, 分)
ABS202	-CH <sub>3</sub>	hLys-Me	-4.00	150	100	45
ABS226	-H	hLys-Me	-4.25	150	40	45
ABS203	-CH <sub>3</sub>	hLys-Me2	-1.0	150	61	60
ABS227	-H	hLys-Me2	-1.7	135	29	60
ABS204	-CH <sub>3</sub>	hLys-Me3	-1.6	150	20	45
ABS228	-H	hLys-Me3	-2.0	120	60	75
ABS206	-CH <sub>3</sub>	Lys-Me	-1.8	180	56	60
ABS230	-H	Lys-Me	-3.8	180	100	30

<sup>1</sup> 全化合物は・Arg<sup>(9)</sup>-Pro<sup>(10)</sup>-Tyr<sup>(11)</sup>-tertLeu<sup>(12)</sup>-Leu<sup>(13)</sup>-COOH の同一の9 - 13の残基を有していた。

<sup>2</sup> Arg 若しくは Lys の特定の特許取得される非天然アノログを示す。

【0377】

表10に見られるとおり、-CH<sub>3</sub> の代わりの -H の使用は各場合で効果を有する。ABS226 は ABS202 とほぼ同一の抗精神病能力を有するが、しかしそのはるかによ

り小さい鎮痛活性はより乏しいNTR-2結合から生じている。従って、該化合物はNTR-1に対しより選択的かつより良好な抗精神病薬候補である。類似の効果がABS203およびABS227で見られる。ABS228はABS224より良好な鎮痛活性を有し、これゆえにそれはNTR-2に対しより選択的である。ABS226は双方の潜在的適応症でより活性である。

#### 【0378】

要約するため、-Hをもつ非天然のArgおよびLysアミノ酸は、生物学的活性ペプチド中で-CH<sub>3</sub>若しくは-NH<sub>2</sub>の代わりに用いられる場合に、該化合物全体活性の増大された若しくは目的の受容体サブタイプに対する増大された選択性の結果として、より良好な製薬学的候補を生じ得る。

10

#### 【実施例10】

#### 【0379】

NTR誘導体の鎮痛活性のアッセイ

動物。Charles River Laboratories、ノースカロライナ州ローリー(230~260g)若しくはHarlan、アラバマ州プラットビル(240~280g)からの実験的にナイーブな雄性Sprague-Dawleyラットを、実験前およそ1週間、任意の食餌および水を伴う規則的明/暗周期(点灯6:00~18:00)で、動物居住区にケージあたり4匹で維持した。試験の2日の体重の範囲は230~260グラムであった。実験は1日に行い、動物は実験を反復する前に3日間回復させた。

20

#### 【0380】

ペプチド調製。試験物品は、各用量およびベヒクルについてN=6でI.P注入若しくは胃管栄養法投与いずれかのため生理的食塩水中所望の濃度で調製する。モルヒネ(5mg/kg)を有するプロトコルについて対照として使用する。具体的には、試験ペプチドを0.9%NaClに懸濁し、そして10mg/kgの用量を与えるように1mL/kg(ラット重量230~260g)の容量でI.P.注入した。アポモルヒネHCl(Sigma-Aldrich、ミズーリ州セントルイス)を、5mg/kgの用量を与えるように1mL/kg S.C.での注入のため、投与40分以内に5mg/mLの濃度で蒸留水に溶解した。完全なED<sub>50</sub>を決定する場合、ペプチドの投薬範囲は、2桁の対数の範囲を包括する推定ED<sub>50</sub>の1.0、3.、1、0.3、0.1であることができる。

30

#### 【0381】

ホットプレートアッセイ。ホットプレートアッセイ(慢性疼痛の標準的ラットモデル(Le Barsら、Pharmacol. Rev. 53:597-652(2001)およびChapmanら、Pain 22:1-31(2002)を参照されたい))は後に続くとおり実施した。52ないし53に維持したホットプレートを、プレートの上に6インチ伸長したプレキシグラス製チャンバー中で4枚のスライドガラスで囲んだ。動物をプレート上に置き、そしてラットを表面上に置いた時間とそれが後足を持ち上げる若しくは舐める(痛覚を暗示する)場合の間の待ち時間を測定した。動物は30秒のカットオフ待ち時間で即座に取り除く。アッセイは、応答なしに30秒間ホットプレート上に留まるラットに対応する、100%と定義する最大可能効果のパーセント(%MPE)として評価する。従って、%MPEは以下の等式、すなわち、%MPE=[(薬物後待ち時間-薬物前待ち時間)/(カットオフ薬物前待ち時間)]×100%を使用して計算する。全実験についてN=6若しくはそれ以上。

40

#### 【0382】

各組の実験の値に、因子として用量(ベヒクルおよび5レベル)を用いる分散分析を受けさせることができる。分散分析での有意の効果に従い、各用量をNewman-Keul's検定によりベヒクルと比較することができる。効果はp<0.05の場合に有意とみなすことができる。

#### 【0383】

テールフリック(tail flick)アッセイ。実験あたり6ラットのそれぞれを

50

Plexiglas製拘束ボックスに入れた。標準的な実験室湯浴を49に維持した。ラットの尾の遠位3cmを湯に浸漬し、そして挿入から尾のはねすなわち湯からの尾の除去までの時間を記録した。動物は10秒のカットオフ待ち時間で即座に取り除く。MPEを計算した(100%のMPEは10秒間湯浴中に留まるラットの尾に対応した)。これを3回反復した。試験の間に尾を乾燥しかつ20秒間休ませた。ラットにその後適切な量のペプチドを与え、そして実験を30および60分に反復した。処置条件は、暦時間および投与の順序のような因子について制御するように釣り合わせたデザインで試験全体に割り振った。全実験についてN=6若しくはそれ以上。

#### 【0384】

ホルマリンアッセイ。6匹のナイーブなラットを单一処置条件に割り当て、上で詳述されたところの試験ペプチド若しくは生理的食塩水(対照)いずれかを与え、そして、敷きわらを伴わないPlexiglas製観察ケージ(43cm×24cm×20cm)に入れ、そしてそれらの行動を15分間モニターした。動物を、毎分、以下の段階、すなわち0=前足が床上で平坦、1=前足が床に触れているだけ、2=前足が床から離れて持ち上げられている、および3=前足を舐める若しくは噛む、で評価した。この基礎測定後に、動物に、37%ホルムアルデヒドの5%溶液(26G3/8針を伴う1.0mLシリンジ中で調製した無菌生理的食塩水中5%ホルムアルデヒド50mL)を右前足に皮下注入した。動物を即座に観察ケージに入れ、そしてそれらの行動を後に続く30分にわたり記録した。各実験後に、ラットをCO<sub>2</sub>、次いで頸部脱臼で安樂死させた。試験した各ペプチドについて、基礎およびホルマリンのみ対照に対する時間にわたる平均疼痛等級付けをプロットし、そして一元配置分散分析(ANOVA)を使用して統計学的解析を実施した。差違は5%信頼区間で統計学的に有意とみなした。全実験についてN=6若しくはそれ以上。初期疼痛刺激を反映する初期相(注入後およそ3分)、次いで炎症過程の誘因による感作を反映する約30分後の第二相を伴う二相行動応答を確立した。

10

20

30

40

#### 【0385】

Chungアッセイ。触覚閾値を評価するため、ラットを、個別の区画に分割した透明プラスチック製のワイヤメッシュ底のケージに入れる。動物を馴化させ、そしてその後、薬物処置前に基礎閾値を評価する。足引っ込み(paw withdrawal)の50%機械的閾値を評価するため、隆起(足蹠)を回避して後足足底中央(planatar mid-hind paw)にvon Frey毛を適用する。使用した8本のvon Frey毛を[(log(10)\*毛を曲げるのに必要とされる力(mg))]により呼称し、そして0.4~15.1グラムからの範囲にわたる(#3.61~5.18)。各毛は、わずかな曲がりを引き起こすのに十分な力で足に対し垂直に押し、そしておよそ6~8秒間保持する。足が敏速に引っ込められる場合に陽性応答が示される。毛の除去に際して即座にひるむこともまた陽性応答とみなす。応答の非存在('-)は次の連続するより強い刺激を与えるための原因であり、陽性応答('+')は次のより弱い刺激を与えるための原因である。6個のデータ点が収集されるか、または最大若しくは最小刺激に達するかのいずれかまで、連続して刺激を与える。最小刺激が達せられかつ陽性応答がおこる場合は、閾値に0.25グラムという自由裁量の最小値を割り当て、最大刺激が与えられかつ応答が起らなければ、15グラムという最大閾値を割り当てる。下降から上昇へ若しくはその逆の刺激の提示の方向の変化を引き起こす、「-」から「+」若しくは「+」から「-」いずれかの応答の変化が発生する場合、4個の追加のデータ点を変化の後に収集する。生じる応答パターンを表にし、そして50%応答閾値を、式: log(閾値(mg) × 10) = Xf + kd [式中:

- Xf = 適用した最後のvon Frey毛の値;
- kd = 応答パターンに基づく補正係数(較正表から)
- d = 刺激間の平均距離(log単位で)]

を使用して計算する。

#### 【0386】

正常の未処置(un-operated)ラットおよび擬似処置ラットでの観察結果に

50

基づき、15.1 g の毛のカットオフを試験の上限として選択する。

【実施例 11】

【0387】

潜在的鎮痛薬としての A B S 2 0 1

N T および誘導体の抗精神病および体温下降効果は N T R - 1 受容体活性化作用により媒介される一方、鎮痛効果は N T R - 2 受容体活性化作用により媒介される。実現可能な鎮痛薬であるために、N T 誘導体は、i n v i t r o で N T R - 2 に高親和性で結合しかつ i n v i v o で経口で利用可能かつ安定であるべきである。A B S 2 0 1 はこれらの要件の全部を満たす。すなわち、表 11 に示されるところのマイクロモル濃度以下の N T R - 2 親和性延長された血漿安定性および経口生物学的利用性を有する。

10

【0388】

【表 12】

表11

指示物	N T [8-13]	A B S 2 0 1
NTR-1受容体結合 (ED <sub>50</sub> , nM) <sup>1</sup>	0.21 ± 0.01	3.92 ± 0.01
機能的 NTR-1アゴニスト <sup>2</sup>	はい	はい
NTR-2受容体結合 (ED <sub>50</sub> , nM) <sup>1</sup>	4.1 ± 0.01	N.D.
機能的 NTR-2アゴニスト <sup>2</sup>	はい	はい
血漿安定性 T <sub>1/2</sub> (min) <sup>3</sup>	5	>10,000
運動活動を阻害する <sup>4</sup>	CNS 投与	CNS, IP, 経口投与
自発運動の亢進の阻害 <sup>4</sup>	CNS 投与	CNS, IP, 経口投与
カタレプシー <sup>4</sup>	なし	なし
委性 <sup>5</sup>	--	なし (>100 × ED <sub>50</sub> )
耐用量 <sup>6</sup>	--	なし

20

30

<sup>1</sup> 放射標識NT[8-13]に対する競合的NTR結合親和性 [103]

<sup>2</sup> cAMPおよびイノシトールリン酸産生の誘導 (Orwig, Ph. D. 論文、2005)。

<sup>3</sup> われわれの研究室で開発された定量的MALDI-MSアッセイ [53]。

<sup>4</sup> [103] に記述されるところの行動アッセイ法。

<sup>5</sup> I. P. 投与した100 × ED50の単回急性用量 [未発表]

<sup>6</sup> 5日にわたり連日投与した10 × ED50。[103]。

【0389】

A B S 2 0 1 は、程度および持続期間がモルヒネに匹敵する、ホットプレートアッセイでの% M P E により示されるところの鎮痛活性もまた表す (図 2 4)。しかしながら、これらのペプチドの投与後の動物の情動の差違が興味深い。モルヒネを与えられたラットは「もうろうとした」ように見え、より硬直しかつ環境刺激に対し完全に不応答になった一方、動物は A B S 2 0 1 を与え、単純に弛緩しているようであった。5日間連続して投与されたラットは最初投与された場合と統計学的に同一の% M P E を示すため、ラットは A B S 2 0 1 の鎮痛活性に対し耐性にならない (図 2 5)。ラットは投与の時間経過の終了までに実験的にナイーブでなくなり、これはそれらがホットプレートを回避することを学習することをもたらしかつ鎮痛薬の能力を遮蔽し得るため、これはとりわけ注目すべきである。最後に、A B S 2 0 1 の鎮痛活性はその体温下降効果に結び付けられない。該 2 者は平行したキネティクスを示さない - とりわけ、鎮痛効果が徐々に消える一方で体温下降

40

50

効果はなお強いからである。これは、該効果が異なる受容体により媒介されることを明瞭に示す。全体として、これらのデータは、潜在的鎮痛薬および抗精神病薬としての A B S 2 0 1 の有用性を示す。

【実施例 1 2】

【0 3 9 0】

側鎖グアニジニウム基を有する鎮痛性ペプチド

A B S 2 0 1 が高親和性で N T R - 1 および - 2 双方を結合するという事実によって、N T R - 1 結合と関連する効果が該ペプチドを鎮痛薬としてより少なく望ましくし得る可能性が存在する。これらの効果は、ヒトで実際に非常に小さな効果である (D. F e i f e 1、私信) ラットにおける全身体温下降の誘発、および望ましくないかもしれない抗精神病効力を包含する。A B S 2 0 1 の好都合な属性の全部を維持する、N T R - 2 に高度に選択的なペプチドは、「浄化体 (c l e a n e r)」鎮痛薬候補であるとみられる。

10

【0 3 9 1】

N T R - 2 選択的リガンドを開発する過程において、図 2 6 に示されるペプチドを評価した。これらのペプチドは N T R - 1 に対し高められた N T R - 2 結合親和性を表し、また、該 2 種の受容体に対する相対選択性を表 1 2 に提供する。

【0 3 9 2】

【表 1 3】

表 12

20

ペプチド	NTR-1 (nM)	NTR-2 (nM)	NTR-1/NTR-2 選択性
NT[8-13]	0.21 ± 0.01	4.1 ± 0.01	19.5
ABS1	0.38 ± 0.07	0.7 ± 0.02	1.8
ABS13	5.7 ± 0.37	11.1 ± 0.1	1.9
ABS201	11.2 ± 0.3	n/d	n/d
ABS15	0.4 ± 0.1	0.9 ± 0.2	2.5
ABS16	0.3 ± 0.05	0.67 ± 0.07	2.2
ABS17	0.25 ± 0.07	0.3 ± 0.1	1.2
ABS19	1.2 ± 0.7	0.23 ± 0.05	0.19

競合的

30

【0 3 9 3】

N T [ 8 - 1 3 ] は N T R - 2 を上回る N T R - 1 結合に対する 2 0 倍の好みを有する(表 1 2)ため、それは N T R - 2 選択的リガンドとしてより少なく有用である。しかしながら、ペプチド A B S 1 、 A B S 1 3 および A B S 2 0 1 のデータは、- アミノ基を変動することにおいて構造結合効果が存在することを示す。A B S 1 の極性の - N H <sub>2</sub> (生理学的 p H でプロトン供与され、その親水性に有意に追加する) を非極性の荷電していない - N <sub>3</sub> (A B S 1 3 ) に変えることは、N T R - 1 に対する N T R - 2 の選択性の約 1 0 倍の向上をもたらした。加えて、アルギニン側鎖がより大きくかつより非極性になるため、N T R - 2 への有意により良好な結合が生じた。N T R - 2 のアルギニン側鎖結合部位の差違は、A B S 1 5 、 A B S 1 6 、 A B S 1 7 、 A B S 1 9 の連続で具体的に説明される。A B S 1 9 は N T R - 2 に対する 5 倍の選択性、および N T [ 8 - 1 3 ] を上回る約 1 0 0 倍の全体的選択性向上を有する。加えて、受容体結合親和性の有意の喪失は、その親より 5 0 倍より少なく効果的に結合する A B S 2 0 1 が、経口で与えられる場合にラット統合失調症モデルで飽和可能な効果をなお表したため、この系で許容される。A B

40

50

S 2 0 1 は、経口で投与される場合に統合失調症のラット行動モデルで A B S 1 3 より約 3 倍生理的に活性であり、これを - アミノ基の最良の置換と明瞭に規定する。この理論的根拠に基づき、より良好な N T R - 2 選択的リガンドであるよう設計されたペプチドを創製し、そしてそれらの構造を図 2 7 に提示する。これらのペプチドの全部は R = A r g - P r o - T y r - t e r t l e u - L e u - C O O H および A B S 2 0 1 の N 末端メチル基を含有し、それらは経口活性の能力に必要とされる。これらのペプチドは、グアニジウム基の周囲の付加された立体的嵩（（ N 末端メチル基がするように） N T [ 8 - 1 3 ] に対する N T R - 1 選択性に対し N T R - 2 を明示的に改良する要素）もまた組み込む。所望の鎮痛ペプチドは、（ 1 ） I P 注入される場合にホットプレート、テールフリックおよびホルマリンアッセイで A B S 2 0 1 に匹敵する若しくはより良好な鎮痛活性を表す、（ 2 ）経口投与される場合に活性を表す、（ 3 ）所望の N T R - 1 および N T R - 2 結合活性を有する、ならびに（ 4 ）血漿安定性を表すものである。

10

## 【実施例 1 3 】

## 【 0 3 9 4 】

## 鎮痛性 N T ペプチドアナログ

A B S 2 0 1 の同定の過程は、生物学的安定性および血液脳関門横断に必要な重要な構造パラメータの定義を可能にした。従って、 I P 若しくは経口生物学的利用性を高めうる構造要素を組み込む一群のニューロテンシン（ N T ） [ 8 - 1 3 ] 誘導体を創製した。これらのパラメータ内で、治療薬としての潜在的開発に適切な多様な薬理学的および行動パラメータに影響を及ぼし得る他の専有の構造変化を組み込んだ。要するに、（ 1 ）それらの受容体に対する高められた結合親和性、例えば高められた結合および選択性（例えば、脳 N T R - 2 に対する選択性をもつ N T 誘導体は鎮痛活性を有する一方、 N T R - 1 に対する選択性をもつものは抗精神病活性を有する）；（ 2 ）高められた生物学的障壁横断；（ 3 ）高められた安定性；ならびに（ 4 ）実行可能な合成費用に対する可能性をもつペプチドを同定した。

20

## 【 0 3 9 5 】

とりわけ、確立された N T [ 8 - 1 3 ] 誘導体に対する化学的变化は、位置 8 の非天然アミノ酸残基の組み込みを包含した。該新たなペプチドは、 A r g ( 8 ) 残基および N 末端の部分を変動させつつ、経口活性に必要である抗精神病リード A B S 2 0 1 の構造要素を保持するよう設計した。高められた鎮痛活性をもつ、すなわち N T R - 2 選択性を有することが予測されるペプチドを、上述されるところの鎮痛薬のラットホットプレートモデルで、 I P 注入を介してスクリーニングした。上述された鎮痛活性についての 3 種の異なるアッセイを使用する 5 種のペプチドの初期スクリーニング実験は、該アッセイが比較可能な相対活性を生じ、ホットプレートアッセイが最も感受性であったことを示した。選ばれた I P 用量は、 % M P E ( 最大陽性効果 ) により測定されるところの有効成分から最大応答を生じるよう設計された。 1 0 0 % の M P E は、ラットが 3 0 秒のカットオフを使用してホットプレート上で長時間疼痛を感じなかつたことを示す。 T m a x は最大応答が観察された投与後の時間を示す。全化合物の t m a x が各化合物の鎮痛効果の持続期間の指標を与えたため、これを記録した。 1 0 0 % の % M P E を表した化合物は経口投与で評価した。表 1 3 は、試験したペプチドの配列、体温下降を誘発する能力により示されるところの N T R - 1 若しくは N T R - 2 に対する選択性、およびホットプレートアッセイの結果を提供する。 \* を伴う化合物はホットプレートアッセイで有意の活性を表した。

30

## 【 0 3 9 6 】

40

【表14】

表13. ABS201由来の化合物の鎮痛活性<sup>1</sup>

ペプチド <sup>*</sup>	N-末端 <sup>3</sup>	ペプチド配列 <sup>2</sup>	体温 <sup>下脳</sup> (I.P.)	Tmax	体温 <sup>下脳</sup> (経口)	MPF (I.P.) <sup>4</sup>	Tmax (I.P.) <sup>4</sup>	MPF (経口) <sup>5</sup>	Tmax (経口) <sup>5</sup>
ABS201*	CH <sub>3</sub>	hLys-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-5.20	150.00	-2.58	100	15.45	39	30
ABS202*	CH <sub>3</sub>	1-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-4.00	150.00	-2.15	100	30.75	52	45
ABS203	CH <sub>3</sub>	2-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.00	150.00	ND	60	60	ND	ND
ABS204	CH <sub>3</sub>	3-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.60	150.00	ND	19	45	ND	ND
ABS205*	CH <sub>3</sub>	Lys-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-4.00	195.00	-2.50	86	15.30	66	30
ABS206	CH <sub>3</sub>	4-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.80	180.00	ND	55	60	ND	ND
ABS207*	CH <sub>3</sub>	5-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.90	165.00	-1.50	84	45	36	60
ABS208*	CH <sub>3</sub>	6-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.80	135.00	-0.20	67	135	26	105
ABS209	CH <sub>3</sub>	Orn-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.55	195.00	ND	89	60	IP	IP
ABS210*	CH <sub>3</sub>	7-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.18	180.00	-2.13	82	60	49	75
ABS211*	CH <sub>3</sub>	8-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-4.20	210.00	-1.15	100	15.45-7.5	16	120
ABS212*	CH <sub>3</sub>	9-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-4.20	240.00	-2.45	100	30-135	39	120
ABS213	CH <sub>3</sub>	Arg-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.65	180.00	ND	48	30	ND	ND
ABS214	CH <sub>3</sub>	10-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-4.20	195.00	-2.40	100	30-7.5	30	15
ABS215	CH <sub>3</sub>	11-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.45	165.00	ND	63	45	ND	ND
ABS216	CH <sub>3</sub>	12-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.83	195.00	ND	74	120	ND	ND
ABS217	CH <sub>3</sub>	13-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.80	90.00	ND	8	45	ND	ND
ABS218	CH <sub>3</sub>	18-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.88	180.00	ND	79	45	ND	ND
ABS220	CH <sub>3</sub>	15-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-4.30	180.00	-1.30	55	45	36	15
ABS221	CH <sub>3</sub>	16-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.80	165.00	ND	76	60	ND	ND
ABS224	CH <sub>3</sub>	アルケン-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.30	195.00	ND	45	150	ND	ND
ABS501	CH <sub>3</sub>	15-Arg-Pro-Tyr-t-Ile-Leu	-4.20	100.00	ND	ND	ND	ND	ND
ABS700		Boc-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.05	90.00	ND	51	90	ND	ND

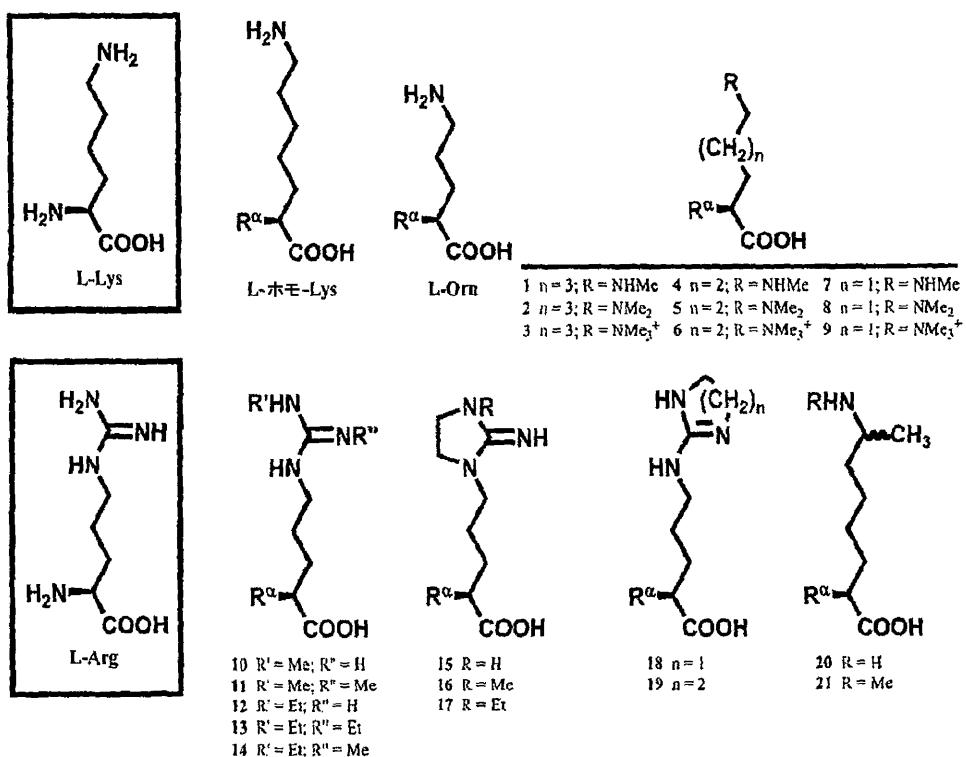
【表15】

ABS225*	H	hLys-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-3.00	180.00	-1.20	100	15.45	38	30
ABS226	H	1-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-3.55	150.00	-0.48	59	45	32	15
ABS227	H	2-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.70	135.00	ND	29	60	ND	ND
ABS228	H	3-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.98	120.00	ND	55	75	ND	ND
ABS229	H	Lys-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.85	105.00	ND	48	60	ND	ND
ABS230*	H	4-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-3.75	180.00	-1.10	100	30	36	30
ABS231	H	5-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.38	135.00	-1.63	100	30-60	20	30
ABS232*	H	6-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-3.87	240.00	-0.38	84	45	49	60
ABS233	H	Orn-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.40	180.00	ND	51	45	ND	ND
ABS234*	H	7-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-4.18	240.00	-0.83	100	15-120	39	75
ABS235	H	8-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.58	165.00	-2.18	100	30-75	20	60
ABS236	H	9-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.37	180.00	ND	100	30-60	IP	IP
ABS237	H	Arg-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.85	165.00	ND	50	30	ND	ND
ABS238	H	10-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-3.80	165.00	-2.08	100	30,60-75	37	30
ABS239	H	11-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-3.53	165.00	-0.78	92	15	32	60
ABS240	H	12-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.55	165.00	ND	37	45	ND	ND
ABS241	H	13-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-3.35	135.00	-0.75	95	60	IP	IP
ABS242	H	18-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.65	135.00	ND	76	30	ND	ND
ABS243	H	19-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-2.38	135.00	ND	79	60	ND	ND
ABS244	H	15-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-4.25	165.00	-1.50	82	45	26	30
ABS245	H	16-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-3.13	165.00	-1.27	50	45	ND	ND
ABS246	H	17-Arg-Pro-Tyr-t-Leu-Leu	-1.68	165.00	ND	80	45	ND	ND

1 ポットブレート測定は52°Cに維持した壁で囲まれた金属表面上で行った。ラットを表面に置いた時間とそれがその後足を舐める場合の間の待ち時間を測定する。動物は30秒の待ち時間(100%の%MPEに応答する)で即座に取り除く。2スキーム3で定義されるところの8位の側鎖。3 α-アミノ基の代わりに用いられる基。4 10mg/kgでIP投与される化合物の%MPEおよび%MPEのTmax。5 20mg/kgで経口投与される化合物の%MPEおよび%MPEのTmax。ND = 測定されず、IP = 測定中。

## 【化8】

スキーム3 - 非天然アミノ酸の構造



## 【0399】

全ペプチドの初期スクリーニングは、(1)IP若しくは経口で投与される場合のそれらの鎮痛能力(NTR-2受容体活性化作用を暗示する)を評価すること、および(2)IPの場合に体温下降を誘発するそれらの能力(NTR-1アゴニスト活性の副次的効果)を評価することを包含した。IP投与される場合に有意の鎮痛活性(すなわち設定された閾値レベルより大きい)を表したペプチドを経口投与で評価した。経口で投与した場合に高い鎮痛および低い体温下降誘発活性を有する(NTR-2に対する高選択性を示す)ペプチドが好ましかった。しかしながら、高い体温下降活性をもつペプチドは有意により大きい経口生物学的利用性を示すことがあり、そして、NTR-1結合の副作用が小さかった場合にとりわけ、それらがより良好な鎮痛薬候補であったために、また好ましかった。第三のパラメータは、IP鎮痛薬が経口で投与されるペプチドと異なる利用性および効力を有しうることであった。規定された用量応答曲線もまた鎮痛薬候補の選択において考慮した。従って、多様なパラメータを比較検討し、そして全体的な類似のプロファイルを示しつつ上の分析下で他者ほど「良好」でなかったペプチドは選択しなかった。経口で投与される場合に鎮痛を評価することを伴った二次スクリーニングを実施し、そして最良のペプチドを完全な用量応答分析にかけた。

## 【0400】

上の基準に基づき、ペプチドABS201、ABS202、ABS205、ABS207、ABS208、ABS210、ABS211、ABS212、ABS220、ABS225、ABS230、ABS232、ABS234およびABS239を好ましい鎮痛ペプチドと同定した。これらのペプチドの構造を以下の表に要約する。

## 【0401】

10

20

30

40

【表16】

表14

ペプチド	N-末端(R <sub>α</sub> )	C-末端*
ABS201	CH <sub>3</sub> -	<b>h</b> Lys-Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS202	CH <sub>3</sub> -	<b>1</b> -Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS205	CH <sub>3</sub> -	<b>Lys</b> -Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS207	CH <sub>3</sub> -	<b>5</b> -Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS208	CH <sub>3</sub> -	<b>6</b> -Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS210	CH <sub>3</sub> -	<b>7</b> -Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS211	CH <sub>3</sub> -	<b>8</b> -Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS212	CH <sub>3</sub> -	<b>9</b> -Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS220	CH <sub>3</sub> -	<b>15</b> -Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS225	H-	<b>h</b> Lys-Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS230	H-	<b>4</b> -Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS232	H-	<b>6</b> -Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS234	H-	<b>7</b> -Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH
ABS239	H-	<b>11</b> -Arg-Pro-Tyr-tLeu-Leu-COOH

\*N末端部分の構造については上のスキーム3を参照されたい。

【実施例14】

10

【0402】

## 選択されたNTアナログの鎮痛効果の評価

20mg/kgの用量で胃管栄養法により投与されたABS201、ABS205、ABS210、ABS212およびABS220の鎮痛効果を図28に示す。これらの結果は、ABS201、ABS205、ABS210およびABS220が経口で与えられる場合にABS212と同じくらい若しくはより活性であったことを示す。ホットプレートアッセイを使用して測定されるところのABS232およびABS239の鎮痛効果を図29AおよびBに具体的に説明する。

【0403】

I.P.注入により投与される場合、しかしながら、最も活性のペプチドはABS212であった。ABS212の鎮痛特性を、ホットプレート、テールフリックおよびホルマリンアッセイを使用してモルヒネのものと比較した。ホットプレートアッセイおよびホルマリンアッセイから得た結果をそれぞれ図30AおよびBに示す一方、テルフリックアッセイから得た結果を下の表15に要約する。

【0404】

およそ等モル比のABS212は、ホットプレートアッセイにおいて、程度および持続時間においてモルヒネに匹敵するか若しくはより良好な鎮痛活性(%MPE)を表す(図30A)。しかしながら、これらのペプチドの投与後の動物の情動の差違が興味深い。モルヒネを与えられたラットは「もうろうとした」ように見え、より硬直しつつ環境刺激に対し完全に不応答になった一方、動物はABS212を与え、単純に弛緩しているようであった。加えて、連続5日間投与されたラットは最初投与された場合と統計学的に同一の%MPEを示すため、ラットはABS212の鎮痛活性に対し耐性にならない(データは示されない)。ラットは投与の時間経過の終了までに実験的にナイーブでなくなり、これはそれらがホットプレートを回避することを学習することもたらしつつ鎮痛薬の能力を遮蔽し得るため、これはとりわけ注目すべきである。図30BおよびCはそれぞれIP若しくは経口投与された場合のABS212の用量応答データを示す。IPおよび経口用量のおよそのED<sub>50</sub>はそれぞれ2.5~5mg/kgおよび30~40mg/kgである。

【0405】

ホルマリンアッセイにおいて、ABS212は実験の時間経過の間完全な鎮痛効果を提

20

30

40

50

供する(図31A)。ホットプレートアッセイでもまた見られるとおり、ほぼ等モル濃度のモルヒネは30分後に活性を喪失する。ABS212は、しかしながら、I.P.注入により投与される場合により顕著な鎮痛効果を有する。図31BおよびCは、それぞれI.P.および経口投与についてのホルマリンアッセイを使用して測定された用量応答を示す。およそのIPおよび経口のED<sub>50</sub>は上で実施されたアッセイと同一範囲にある。鎮痛活性ABS212は、非常にわずかの体温下降(NTR-1結合の副次的効果)が治療的鎮痛用量でこのペプチドから導き出されるため、NTR-2に対し高度に選択的であるようである。(in vitro受容体結合研究は進行中である)。

## 【0406】

テールフリックアッセイにおいて、ABS212は、生理的食塩水と比較した場合に、60分で見かけのより大きい効果を伴い、30分で統計学的に有意の鎮痛を表した(表15を参照されたい)。ABS212は統計学上モルヒネに匹敵する。

## 【0407】

## 【表17】

表15. テールフリックアッセイにおけるABS212 (10mg/kg) のモルヒネ (5mg/kg) および生理的食塩水との比較

処置	MPE (0分)	MPE (30分)	MPE (60分)
生理的食塩水	-0.37 +/- 0.57	9.7 +/- 5.6	14.6 +/- 7.1
モルヒネ	0.03 +/- 0.05	63.7 +/- 41.9	67.5 +/- 25.8
ABS212	1.16 +/- 0.05	75.4 +/- 28.4	88.7 +/- 19.6

## 【0408】

図32AおよびBは、テールフリックアッセイにおけるそれぞれI.P.および経口投与された場合のABS212の用量応答データを示す。およそのIPおよび経口ED<sub>50</sub>は上のアッセイで見られたと同一の範囲にある。図33は、ABS212が、I.P.注入により投与される場合に神経因性疼痛のChungモデルで高度に活性であることを示す。要するに、ABS212は多様な疼痛状態、すなわち急性(ホットプレート、テールフリック)、慢性(ホルマリン)および神経因性(Chung)の4種の重要なラットモデルで高度に効果的に鎮痛性である。

## 【実施例15】

## 【0409】

## ABS212の前臨床特徴付け

ABS212の薬物動態を評価するため、血漿サンプルを、試験物品ABS212の静脈内および経口投与後の多様な時間点でPrague-Dawley (SD) ラットから収集した。これらのサンプルを、薬物動態パラメータおよび経口生物学的利用性を推定するためのLC/MS/MSによる血漿親薬物濃度の測定に使用した。ABS212のIVおよび経口投与の濃度対時間曲線を図34AおよびBに示す。

## 【0410】

5.2.5および1mg/kgのABS-212·2HCLのIVボーラス注入後の全身クリアランスの平均±SD値は0.40±0.05、0.40±0.17および1.07±0.15L/時間/kgであり、それらはそれぞれラット肝血流(3.31L/時間/kg)の12.08%、12.08%および32.33%に対応する。ABS-212·2HCLの半減期(T<sub>1/2</sub>)の平均±SD値は0.29±0.13、0.28±0.11および0.28±0.08時間であった。ABS-212·2HCLは組織中に十分に分布しない。5.2.5および1mg/kgの公称用量でのIV注入後の末期相の分布の容量はそれぞれ0.16±0.06、0.15±0.01および0.43±0.15L/kgであり、それらはラットの総体内水分(0.67L/kg)より小さかった。用量を正規化したAUC(0-∞)は、5.2.5および1mg/kgのそれぞれの用量で2.68:2.92:1であった一方、用量を正規化したC<sub>max</sub>は、5.2.5および1

10

20

30

40

50

mg / kg の用量でそれぞれ 2.68 : 2.46 : 1 であり、高投薬量で与えられた場合に飽和可能な排出が存在したことを示唆した。

## 【0411】

50 mg / kg の用量の ABS - 212 · 2 HCL の経口投与後の ABS - 212 · 2 HCL の  $C_{max}$  および  $T_{max}$  の平均  $\pm$  SD 値はそれぞれ 27.08  $\pm$  11.55  $\mu$ g / L および 0.14  $\pm$  0.05 時間であり、AUC (0 -  $\infty$ ) および半減期 (  $T_{1/2}$  ) の平均  $\pm$  SD 値はそれぞれ 53.06  $\pm$  39.65 時間 \*  $\mu$ g / L および 1.42  $\pm$  0.87 時間であった。ABS - 212 · 2 HCL の生物学的利用率の平均  $\pm$  SD 値は、IV 用量データとして 1 mg / kg 群の選択を用い 0.11  $\pm$  0.08 % であった。

## 【0412】

## 文書の一覧

文書の以下の一覧は、背景情報、合成情報、科学的情報、プロトコルおよび関連する開示を提供する。各文書の完全な本文は、それが完全に反復されたかのように本出願の不可欠の部分として本明細書に組み込まれ、また、本明細書で引用される全部の刊行物、特許および特許出願は、引用することにより本明細書に組み込まれる。

## 【0413】

## 【表18】

- (1) Rowley, M., Bristow, L.J., and Hutson, P.H., "Current and novel approaches to the drug treatment of schizophrenia." J Med Chem. 44: 477-501, 2001.
- (2) Kitabgi, P. and Nemeroff, C.B. Eds. "The Neurobiology of Neurotensin." Ann NY Acad Sci. 668: 1-374, 1992.
- (3) Kapur, S., Remington, G., Jones, C., Wilson, A., DaSilva, J., Houle, S., and Zipursky, R. "High levels of dopamine D<sub>2</sub> receptor occupancy with low dose haloperidol treatment: a PET study." Am J Psych. 153: 948-50, 1996.
- (4) Alvir, J.M.J., Lieberman, J.A., Safferman, A.Z., Schwimmer, J.L., and Schaff, J.A. "Clozapine-induced agranulocytosis: incidence and risk factors in the United States." New Eng J Med. 329: 162, 1993.
- (5) Andreasen, N.C., Arndt, S., Swayze, V., Cizadlo, T., Flaum, M., Oleary, D., Ehrhardt, J.C., and Yuh, W.T.C. "Thalamic abnormalities in schizophrenia visualized through magnetic resonance imaging averaging." Science. 266: 294-98, 1994.
- (6) Lawrie, S.M. and Abukmeil, S.S. "Brain abnormality in schizophrenia. A systematic and quantitative review of volumetric magnetic resonance imaging studies." Br J Psych. 55: 433-40, 1998.
- (7) Silberweig, D.A., Stern, E., Frith, C., Cahill, C., Holmes, A., Grootoont, S., Seaward, J., McKenna, P., Chua, S.E., and Schnorr, L. "A functional neuroanatomy of hallucinations in schizophrenia." Nature. 378: 176-79, 1995.
- (8) McGaffin, P., Owen, M.J., and Farmer, A.E. "Genetic basis of schizophrenia." Lancet. 346: 678-82, 1995.

10

20

30

40

50

【 0 4 1 4 】

【 表 1 9 】

- (9) Carlsson, A. and Lindquist, M. "Effect of chlorpromazine and haloperidol on formation of methoxytyramine and normetanephrine in mouse brain." Acta Pharmacol Toxicol. 20: 140-44, 1963.
- (10) Creese, I., Burt, D.R., and Snyder, S.H. "Dopamine receptor binding predicts clinical and pharmacological potencies of antischizophrenic drugs." Science. 192: 481-83, 1976. 10
- (11) Nyberg, S., Nakashima, Y., Nordstrom, A.L., Hallidin, C., and Farde, L. "Positron emission tomography of *in vivo* binding characteristics of atypical antipsychotic drugs: review of D<sub>2</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptor occupancy studies and clinical response." Br J Psych. 168 (suppl 29): 40-44, 1996.
- (12) Carraway, R. and Leeman, S.E "The isolation of a new hypotensive peptide, neuropeptin, from bovine hypothalamus." J Biol Chem. 248: 6854-61, 1973.
- (13) Bissette, G., Nemeroff, C.B., Loosen, P.T., Prange Jr., A.J., and Lipton, M.A. "Hypothermia and intolerance to cold induced by intracisternal administration of the hypothalamic peptide neuropeptin." Nature. 262: 607-9, 1976. 20
- (14) Nemeroff, C.B., Osbahr, A.J., Manberg, P.J., Ervin, G.N., and Prange Jr., A.J. "Alterations in nociception and body temperature after intracisternal administration of neuropeptin,  $\beta$ -endorphin, other endogenous peptides, and morphine." Proc Natl Acad Sci USA. 76: 5368-71, 1979.
- (15) Skoog, K.M., Cain, S.T., and Nemeroff, C.B. "Centrally administered neuropeptin suppresses locomotor hyperactivity induced by d-amphetamine but not by scopolamine or caffeine." Neuropharmac. 25:777-82, 1986. 30
- (16) Nemeroff, C.B., Bissette, G., Prange Jr., A.J., Loosen, P.T., Barlow, T.S., and Lipton, M.A. "Neuropeptin: central nervous system effects of a hypothalamic peptide." Brain Res. 128: 485-96, 1977.
- (17) Kitabgi, P., Checler, F., Mazella, J., and Vincent, J.P. "Pharmacology and biochemistry of neuropeptin receptors." Rev Clin Basic Pharmacol. 5: 397-486, 1985. 40
- (18) Carraway, R. and Leeman, S.E. "The amino acid sequence of a hypothalamic peptide, neuropeptin." J Biol Chem. 250: 1907-11, 1975.

【 0 4 1 5 】

## 【表20】

- (19) Carraway, R. and Leeman, SE. "Structural requirements for the biological activity of neuropeptides, a new vasoactive peptide." Edited by R. Walter and J. Meienhofer. Peptides: Chemistry, Structure, and Biology. Ann Arbor: Ann Arbor Science, 1975, p. 679-85.
- (20) Tanaka, K., Masu, M., and Nakanishi, S. "Structure and functional expression of the cloned rat neuropeptide receptor." Neuron. 4: 847-54, 1990. 10
- (21) Vita, N., Laurent, P., Lefort, S., Chalon, P., Dumont, X., Kaghad, M., Gully, D., Le Fur, G., Ferrara, P., and Caput, D. "Cloning and expression of a complementary DNA encoding a high affinity human neuropeptide receptor." FEBS Lett. 317: 139-42, 1993.
- (22) Hermans, E. and Maloteaux, J. "Mechanisms of regulation of neuropeptide receptors." Pharmacol Ther. 79: 89-104., 1998.
- (23) Vincent, J.P. "Neuropeptide receptors: binding properties, transduction pathways, and structure." Cell Mol Neurobiol. 15: 501-12, 1995. 20
- (24) Chalon, P., Vita, N., Kaghad, M., Guillemot, M., Bonnin, J., Delpech, B., Le Fur, G., Ferrara, P., and Caput, D. "Molecular cloning of a levocabastine-sensitive neuropeptide receptor binding site." FEBS Lett. 386: 91-4, 1996.
- (25) Vita, N., Oury-Donat, F., Chalon, P., Guillemot, M., Kaghad, M., Bachy, A., Thurneyssen, O., Garcia, S., Poinot-Chazel, C., Casellas, P., Keane, P., Le Fur, G., Maffrand, J.P., Soubrie, P., Caput, D., and Ferrara, P. "Neuropeptides are antagonists of the human neuropeptide NT2 receptor expressed in Chinese hamster ovary cells." Eur J Pharmacol. 360: 265-72, 1998. 30
- (26) Vincent, J.P., Mazella, J., and Kitabgi, P. "Neuropeptide and neuropeptide receptors." Trends Pharm Sci. 20: 302-9, 1999.
- (27) Mazella, J., Zsurga, N., Navarro, V., Chabry, J., Kaghad, M., Caput, D., Ferrara, P., Vita, N., Gully, D., Maffrand, J.P., and Vincent, J.P. "The 100 kDa neuropeptide receptor is gp95/sortilin, a non-G-protein-coupled receptor." J Biol Chem. 273: 26273-6, 1998.
- (28) Binder, E.B., Kinkead, B., Owens, M.J., and Nemeroff, C.B. "The role of neuropeptides in the pathophysiology of action of antipsychotic drugs." Biol Psych. 50: 856-72, 2001. 40

【表21】

- (29) Binder, E.B., Kinkead, B., Owens, M.J., and Nemeroff, C.B. "Neurotensin and dopamine interactions." Pharm Reviews. 53: 453-86, 2001.
- (30) Quirion, R., Rowe, W.B., Lapchak, P.A., Araujo, D.M., and Beaudet, A. "Distribution of neurotensin receptors in mammalian brain. What it is telling us about its interactions with other neurotransmitter systems." Ann NY Acad Sci. 668: 109-19, 1992.
- (31) Kinkead, B., Binder, E.B., and Nemeroff, C.B. "Does neurotensin mediate the effects of antipsychotic drugs?" Biol Psychiatry. 46: 340-51, 1999. 10
- (32) Garver, D.L., Bissette, G., Yao, J.K., and Nemeroff, C.B. "Relation of CSF neurotensin concentrations to symptoms and drug response of psychotic patients." Am J Psych. 148: 484-88, 1991.
- (33) Breslin, N.A., Suddath, R.L., Bissette, G., Nemeroff, C.B., Lowrimore, P., and Weinberger, D.R. "CSF concentrations of neurotensin in schizophrenia: An investigation of clinical and biochemical correlates." Schizophr Res. 12: 35-41, 1994. 20
- (34) Sharma, R.P., Janicak, P.G., Bissette, G., and Nemeroff, C.B. "CSF neurotensin concentrations and antipsychotic treatment in schizophrenia and schizoaffective disorder." Am J Psych. 154: 1019-21, 1997.
- (35) Kitabgi, P., Poustis, C., Granier, C., Van Rietschoten, J., Rivier, J., Morgat, J.L., and Freychet, P. "Neurotensin binding to extraneuronal and neural receptors: comparison with biological activity and structure-activity relationships." Mol Pharmacol. 18: 11-19, 1980. 30
- (36) Fuxe, K., Von Euler, G., Agnati, L.F., Merlo Pich, E., O'Connor, W.T., Tanganelli, S., *et al*. "Intermembrane interactions between neurotensin receptors and dopamine D<sub>2</sub> receptors as a major mechanism for the neuroleptic-like action of neurotensin." Ann NY Acad Sci. 668: 186-204, 1992.
- (37) Li, X.M., Ferraro, L., Tanganelli, S., O'Connor, W.T., Hasselrot, U., Ungerstedt, U., *et al*. "Neurotensin peptides antagonistically regulate postsynaptic dopamine D<sub>2</sub> receptors in rat nucleus accumbens: A receptor binding and microdialysis study." J Neural Trans. 102: 125-37, 1995. 40
- (38) Binder, E.B., Kinkead, B., Owens, M.J., Kilts, C.D., and Nemeroff, C.B. "Enhanced neurotensin neurotransmission is involved in the

【0417】

## 【表22】

clinically relevant behavioral effects of antipsychotic drugs: evidence from animal models of sensorimotor gating.” *J Neurosci*. 21: 601-8, 2001.

(39) Al-Rodhan, N.R., Richelson, E., Gilbert, J.A., McCormick, D.J., Kanba, K.S. Pfenning, M.A., Nelson, A., Larson, E.W., and Yaksh, T.L.

“Structure-antinociceptive activity of neurotensin and some novel analogues in the periaqueductal gray region of the brainstem.” *Brain Res*. 557(1-2): 227-35, 1991.

10

(40) Pettibone, D.J., Hess, J.F., Hey, P.J., Jacobson, M.A., Leviten, M., Lis, E.V., Mallorga, P.J., Pascarella, O.M., Snyder, M.A., Williams, J.B., and Zeng, Z. “The effects of deleting the mouse neurotensin receptor NTR1 on central and peripheral responses to neurotensin.” *J Pharm Exp Ther*. 300: 305-313, 2001.

(41) Tyler-McMahon, B.M., Stewart, J.A., Farinas, F., McCormick, D.J., and Richelson, E. “Highly potent neurotensin analog that causes hypothermia and antinociception.” *Eur J Pharmacol*. 390: 107-11, 2000.

20

(42) Farra, C.D., Sarret, P., Navarro, V., Botto, J.M., Mazella, J., and Vincent, J.P. “Involvement of the neurotensin receptor subtype NTR3 in the growth effect of neurotensin on cancer cell lines.” *Int J Cancer*. 92: 503-9, 2001.

(43) Moody, T.W., Chiles, J., Casibang, M., Moody, E., Chan, D., and Davis, T.P. “SR48692 is a neurotensin receptor antagonist which inhibits the growth of small cell lung cancer cells.” *Peptides*. 22: 109-15, 2001.

(44) Iwase, K., Evers, B.M., Hellmich, M.R., Kim, H.J., Higashide, S., Gully, D., Thompson, J.C., and Townsend Jr., C.M. “Inhibition of neurotensin-induced pancreatic cancer growth by a nonpeptide neurotensin receptor antagonist, SR48692.” *Cancer*. 79: 1787-93, 1997.

30

(45) Schimpff, R.M., Avard, C., Fenelon, G., Lhiaubet, A.M., Tenneze, L., Vidailbet, M., and Rostene, W. “Increased plasma neurotensin concentrations in patients with Parkinson’s disease.” *J Neurol Neuro Psych*. 70: 784-6, 2001.

(46) Boules, M., Warrington, L., Fauq, A., McCormick, D., and Richelson, E. “Antiparkinson-like effects of a novel neurotensin analog in unilaterally 6-hydroxydopamine lesioned rats.” *Eur J Pharmacol*. 428: 227-33, 2001.

40

## 【0418】

## 【表23】

- (47) Beeson, C.C. and Dix, T.A. "Thermodynamic description of a contact and solvent-separated ion pair as a function of solvation: A model for salt bridges and proton-transfer reactions in biology." *J Am Chem Soc.* 115: 10275-81, 1993.
- (48) Kennedy, K.J., Lundquist, J.T., Simandan, T.L., Kokko, K.P., Beeson, C.C., and Dix, T.A. "Design rational, synthesis, and characterization of non-natural analogs of the cationic amino acids arginine and lysine." *J Pept Res.* 55: 348-58, 2000. 10
- (49) Cusack, B., McCormick, D.J., Pang, Y.P., Sonder, T., Garcia, R., Fauq, A., and Richelson, E. "Pharmacological and biochemical profiles of unique neuropeptides 8-13 analogs exhibiting species selectivity, stereoselectivity, and superagonism." *J Biol Chem.* 270: 18359-66, 1995.
- (50) Lundquist, J.T. and Dix, T.A. "Synthesis and human neuropeptides receptor binding activities of neuropeptides(8-13) analogues containing position 8 alpha-azido-N-alkylated derivatives of ornithine, lysine, and homolysine." *J Med Chem.* 42: 4914-8, 1999. 20
- (51) Lee, Y.C., Uttenthal, L.O., Smith, H.A., and Bloom, S.R. "In vitro degradation of neuropeptides in human plasma." *Peptides.* 7: 383-7, 1986.
- (52) Kokko, K.P., Hadden, M.K., Price, K.L., Orwig, K.S., See, R.E., and Dix, T.A. "Pharmacokinetic and behavioral effects of stable, receptor-selective neuropeptides(8-13) analogues that cross the blood-brain barrier." *Neuropharmacol.* Under Revision.
- (53) Kokko, K.P. and Dix, T.A. "Monitoring neuropeptides [8-13] degradation in human and rat serum utilizing matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry." *Anal Biochem.* 308: 34-41, 2002. 30
- (54) Kokko, K.P., Hadden, M.K., Orwig, K.S., Mazella, J., and Dix, T.A. "In vitro analysis of stable, receptor-selective neuropeptides(8-13) analogues." *J Med Chem.* 46: 4141-48, 2003.
- (55) Tyler-McMahon, B.M., Boules, M., and Richelson, E. "Neuropeptides: peptide for the next millennium." *Reg Pept.* 93: 125-36, 2000. 40
- (56) Bednarek, M.A., Macneil, T., Kalyani, R.N., Tang, R., Van der Ploeg, L.H.T., and Weinberg, D.H. "Analogs of MTII, lactam derivatives of  $\alpha$ -

## 【表 24】

melanotropin, modified at the N-terminus, and their selectivity at human melanocortin receptors 3,4, and 5." Biochem Biophys Res Comm. 261: 209-13, 1999.

(57) Lunquist, J.T. and Dix, T.A. "Asymmetric synthesis of  $\omega$ -bromo-2(S)-azido acids as precursors for the synthesis of novel amino acids." Tet Lett. 39: 775-8, 1998.

(58) Evans, D.A., Britton, T.C., Ellman, J.A., and Dorow, R.L. "The asymmetric synthesis of  $\alpha$ -amino acids. Electrophilic azidation of chiral imide enolates, a practical approach to the synthesis of (R)- and (S)- $\alpha$ -azido carboxylic acids." J Am Chem Soc. 112: 4011-30, 1990.

(59) Taylor, R.E., Galvin, G.M., Hilfiker, K.A., and Chen, Y. "A formal total synthesis of epothilone A: Enantioselective preparation of the C1-C6 and C7-C12 fragments." J Org Chem. 63: 9580-3, 1998.

(60) Boules, M., McMahon, B., Warrington, L., Stewart, J., Jackson, J., Fauq A., McCormick, D., and Richelson, E. "Neurotensin analog selective for hypothermia over antinociception and exhibiting atypical neuroleptic-like properties." Brain Res. 919: 1-11, 2001.

(61) Dubuc, I., Remande, S., and Costentin, J. "The partial agonist properties of levocabastine in neurotensin-induced analgesia." Eur J Pharmacol. 381: 9-12, 1999.

(62) Kennedy, K.J., Simandan, T.L., and Dix, TA. "A facile route to cyclic and acyclic alkyl-arginines." Synthetic Comm. 28: 741-6, 1998.

(63) Lundquist, J.T., Orwig, K.S., and Dix, T.A. "Synthesis of ethylene-bridge (N<sup>8</sup> to N<sup>6</sup>) analogues of arginine." J Org Chem. 64:9265-7, 1999.

(64) Lundquist, J.T., and Pelletier, J.C. "Improved solid-phase peptide synthesis method utilizing alpha-azide protected amino acids." Org Lett. 3: 781-3, 2001.

(65) Meienhofer, J., Waki, M., Heimer, E.P., Lambros, T.J., Makofske, R., and Chang, C.C. "Solid phase synthesis without repetitive acidolysis; preparation of leucyl-alanyl-glycyl-valine using 9-fluorenylmethyloxycarbonyl amino acids." Int J Pep Pro Res. 13: 35-42, 1979.

## 【表25】

- (66) Kaiser, E., Colescott, R.L., Bossinger, C.D., and Cook, P.I. "Color test for detection of free terminal amino groups in the solid-phase synthesis of peptides." Anal Biochem. 34: 595-98, 1970.
- (67) Boules, M., Warrington, L., Fauq, A., McCormick, D., and Richelson, E. "A novel neuropeptide Y analog blocks cocaine- and D-amphetamine-induced hyperactivity." Eur J Pharmacol. 426: 73-6, 2001.
- (68) Tyler, B.M., Douglac, C.L., Faur, A., Pang, Y.P., Stewart, J.A., Cusack, B., McCormick, D.J., and Richelson, E. "In vitro binding and CNS effects of novel neuropeptide Y agonists that cross the blood-brain barrier." Neuropharmacology. 38: 027-34, 1999.
- (69) Richelson, E., Cusack, B., Pang, Y.P., McCormick, D.J., Fauq, A., Tyler, B.M., and Boules, M. United States Patent 6,214,790. United States Patent and Trademark Office, Mayo Foundation for Medical Education and Research, USA, 2000.
- (70) Machida, R., Tokumura, T., Tsuchiya, Y., Sasaki, A., and Abe, K. "Pharmacokinetics of a novel hexapeptide with neuropeptide Y activity in rats." Biol Pharm Bull. 16: 43-7, 1993.
- (71) Ogren, S.O. "The behavioural pharmacology of typical and atypical antipsychotic drugs." Handbook of Experimental Pharmacology. Edited by J.G. Csernansky, Springer, Berlin, 1996, p. 225-66.
- (72) Jones, G.H. and Robbins, T.W. "Differential effects of mesocortical, mesolimbic, and mesostriatal dopamine depletion on spontaneous, conditioned and drug-induced locomotor activity." Pharmacol Biochem Behav. 43: 887-95, 1992.
- (73) Hertel, P., Byskov, L., Didriksen, M., and Arnt, J. "Induction of tolerance to the suppressant effect of the neuropeptide Y analogue NT69L on amphetamine-induced hyperactivity." Eur J Pharmacol. 422: 77-81, 2001.
- (74) Lowe, J.A., Seeger, T.F., and Vineck F.J. "Atypical antipsychotics – recent findings and new perspectives." Med Res Rev. 8: 475-97, 1998.
- (75) Dunn, A.J., Snijders, R., Hurd, R.W., and Krammer, N.R. "Induction of catalepsy by central nervous system administration of neuropeptide Y." Ann NY Acad Sci. 400: 345-53, 1982.

10

20

30

40

## 【表26】

- (76) Sarhan, S., Hitchcock, J.M., Grauffel, C.A., and Wettstein, J.G. "Comparative antipsychotic profiles of neurotensin and a related systemically active peptide agonist." Peptides. 18: 1223-27, 1997.
- (77) Cusack, B., Boules, M., Tyler, B.M., Faud, A., McCormick, D.J., and Richelson, E. "Effects of a novel neurotensin peptide analog given extracranially on CNS behaviors mediated by apomorphine and haloperidol." Brain Res. 865: 48-54, 2000. 10
- (78) Hilgers, A.R., Conradi, R.A., and Burton, P.S. "Caco-2 cell monolayers as a model for drug transport across the intestinal mucosa." Pharm Res. 7: 902-10, 1990.
- (79) Artursson, P. and Karlsson, J. "Correlation between drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells." Biochem Biophys Res Comm. 175: 880-5, 1991.
- (80) Borchardt, R.T. "Optimizing oral absorption of peptides using prodrug strategies." J Cont Rel. 62: 231-38, 1999. 20
- (81) Conradi, R.A., Hilgers, A.R., Ho, N.F.H., and Burton, P.S. "The influence of peptide structure on transport across Caco-2 cells." Pharm Res. 8: 1453-60, 1991.
- (82) McGuill, M.W. and Rowan, A.N. "Biological effects of blood loss; implication for sampling volumes and techniques." ILAR Journal. 31(4), 1989.
- (83) Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. "Protein measurement with the folin phenol reagent." J Biol Chem. 193: 265-75, 1951. 30
- (84) Hadjiagapiou, C., Schmidt, L., Dudeja, K., Layden, T.J., and Ramaswamy, K. "Mechanism(s) of butyrate transport in Caco-2 cells: role of monocarboxylate transporter 1." Am J Physiol. 279: G775-80, 2000.
- (85) Brandsch, M., Miyamoto, Y., Ganapathy, V., and Liebach, F. "Expression of protein kinase C-dependent regulation of peptide/H<sup>+</sup> co-transport system in the Caco-2 human carcinoma cell line." Biochem J. 299: 253-60, 1994. 40

## 【表27】

- (86) Garcia, C.K., Goldstein, J.L., Pathak, R.K., Anderson, R.G.W., and Brown, M.S. "Molecular characterization of a membrane transporter for lactate, pyruvate and other monocarboxylates: implications for the cori cycle." Cell. 76: 865-73, 1994.
- (87) Tamai, I., Sai, Y., Ono, A., Kido, Y., Yabuuchi, H., Takanaga, H., Satoh, E., Ogihara, T., Amano, O., Izeki, S., and Tsuji, S. "Immunohistochemical and functional characterization of pH-dependent intestinal transport of weak organic acids by the monocarboxylic acid transporter MCT1." J Pharm Pharmacol. 51: 1113-21, 1999. 10
- (88) Tamai, I., Onashi, R., Nezu, J., Yabuuchi, H., Oku, A., Shimane, M., Sai, Y., and Tsuji, A. "Molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity human carnitine transporter OCTN2." J Biol Chem. 273: 20378-82, 1998.
- (89) Walgren R.A., Karnaky, K.J., Lindenmayer, G.E., and Walle, T. "Efflux of dietary flavonoid quercetin 4'- $\beta$ -glucoside across human intestinal Caco-2 cell monolayers by apical multidrug resistance-associated protein-2." J Pharm Exp Ther. 294:830-6, 2000. 20
- (90) Hunter, J., Jepson, M.A., Tsuruo, T., Simmons, N.L., and Hirst, B.H. "Functional expression of P-glycoprotein in apical membranes of human intestinal Caco-2 cells. Kinetics of vinblastine secretion and interaction with modulators." J Biol Chem. 268: 14991-7, 1993.
- (91) Jedlitschky, G., Leier, I., Buchholz, U., Center, M., and Keppler, D. "ATP-dependent transport of glutathione S-conjugates by the multidrug-resistance-associated protein." Cancer Res. 54: 4833-36, 1994. 30
- (92) Bohme, M., Buchler, M., Muller, M., and Keppler, D. "Differential inhibition by cyclosporins of primary-active ATP-dependent transporters in the hepatocyte canalicular membranes." FEBS Lett. 333: 193-6, 1993.
- (93) Hayer-Zillgen, M., Bruss, M., and Bonisch, H. "Expression and pharmacological profile of the human organic cation transporters hOCT1, hOCT2, and hOCT3." Br J Pharmacol. 136: 829-36, 2002. 40

## 【表 2 8】

- (94) Grundemann, D., Liebich, G., Kiefer, N., Koster, S., and Schomig, E. "Selective substrates for non-neuronal monoamine transporters." *Mol Pharmacol.* 56; 1-10, 1999.
- (95) Mentlein, R. and Dahms, P. "Endopeptidases 24.16 and 24.15 are responsible for the degradation of somatostatin, neuropeptides, and other neuropeptides by cultivated rat cortical astrocytes." *J Neurochem.* 62; 27-36, 1994. 10
- (96) Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J., "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings." *Adv Drug Del Rev.* 46: 3-26, 2001.
- (97) Kilts, C.D. "Animal behavioral models of schizophrenia." *Current Issues in the Psychology of Schizophrenia*, edited by A. Breier. Lippincott Williams and Wilkins, 2001, p. 111-130.
- (98) Material in this section abstracted from "Schizophrenia" NIH Publication No. 99-3517. 20
- (99) Lieberman, J.A., et. al (2005) Effectiveness of antipsychotic drugs in patients with chronic schizophrenia. *New Engl. J. Med.* 353, 1209-1222.
- (100) The Boston Globe, September 20, 2005.
- (101) Vincent J.-P.; Mazella, J.; and Kitabgi, P. (1999) Neurotensin and neurotensin receptors. *Trends. Pharmacol. Sci.* 20, 302-309.
- (102) Carraway, R. and S.E. Leeman, (1975) The amino acid sequence of a hypothalamic peptide, neurotensin. *J. Biol. Chem.* 259, 1907-1913. 30
- (103) Nemeroff, C.B. (1980) Neurotensin: perchance an endogenous neuroleptic? *Biol. Psychiatry*, 15: 283-302.
- (104) Benzing, W.C.; Mufson, E.J.; Jennes, L.; and Armstrong, D.M. (1990) Reduction of neurotensin immunoreactivity in the amygdala in Alzheimer's disease. *Brain Res.* 537: 298-302.
- (105) Govoni, S.; Hong, J.S.; Yang, H.Y.; and Costa, E. (1980) Increase of neurotensin content elicited by neuroleptics in nucleus accumbens. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 215: 413-417. 40
- (106) Widerlov, E.; Lindstrom, L.H.; Besev, G.; Manberg, P.J.; Nemeroff, C.B.; Breese, G.R.; Kizer, J.S.; and Prange Jr., A.J. (1982) Subnormal

## 【表29】

CSF levels of neuropeptides in a subgroup of schizophrenic patients: normalization after neuroleptic treatment. *Am. J. Psychiatry*, **139**: 1122-1126.

(107) Garver, D.L.; Bissette, G.; Yao, J.K.; and Nemeroff, C.B. (1991) Relation of CSF neuropeptides concentrations to symptoms and drug response of psychotic patients. *Am. J. Psychiatry*, **148**: 484-488.

(108) Baldessarini, R.J. (1996) "Drugs and the treatment of psychiatric disorders: psychosis and anxiety." Hardman, J.G.; and Limbird, L.E., eds. in *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9<sup>th</sup> ed. 399-420. 28.

(109) Kinkead B.; Binder EB. and Nemeroff CB. (1999) Does neuropeptides mediate the effects of antipsychotic drugs? *Biological Psychiatry*. **46**, 340-51.

(110) Hadden, M.K.; Kokko, K.P.; Orwig, K.; Mazella, J. and Dix, T.A. (2005) Design, synthesis, and evaluation of the antipsychotic potential of orally bioavailable neuropeptides (8-13) analogues containing non-natural arginine and lysine residues. *Neuropharmacology* **49**, 1149-1159.

(111) Orwig, K. (2005) Ph.D. dissertation, Medical University of South Carolina.

(112) Ogren S.O. (1996) The behavioral pharmacology of typical and atypical antipsychotic drugs, in *Handbook of Experimental Pharmacology* (Csernansky J.G. ed.) pp 225-266, Springer, Berlin.

(113) Hitzemann, R. (2000) Animal models of psychiatric disorders and their relevance. *Alcohol Res. And Health* **24**, 149-158.

(114) Feifel, D.; Melendez, G. and Shilling, P.D. (2004) Reversal of sensorimotor gating deficits in Brattleboro rats by acute administration of clozapine and a neuropeptide agonist, but not haloperidol: a potential predictive model for novel antipsychotic effects. *Neuropsychopharmacology* **29**, 731-738.

(115) MacPherson, R.D., *The pharmacological basis of contemporary pain management*. Pharmacology & Therapeutics, 2000. **88**(2): p. 163.

(116) Smith, B.H., et al., *The impact of chronic pain in the community*. Family Practice, 2001. **18**(3): p. 292.

(117) Nitu, A.N., et al., Emerging trends in the pharmacotherapy of chronic pain. [Review] [101 refs]. (1354-3784).

10

20

30

40

## 【表30】

- (118) Jones, S.C., *Relative Thromboembolic Risks Associated with COX-2 Inhibitors*. The Annals of Pharmacotherapy, 2005. **39**(7): p. 1249.
- (119) Garber, K., *Peptides lead new class of pain drugs*. Nature Biotech., 2005. **23**: p. 399.
- (120) Carraway, R. and S.E. Leeman, *The Isolation of a New Hypotensive Peptide, Neurotensin, from Bovine Hypothalami*. Journal of Biological Chemistry, 1973. **248**(19): p. 6854. 10
- (121) Carraway, R. and S.E. Leeman, *The amino acid sequence of a hypothalamic peptide, neurotensin*. Journal of Biological Chemistry, 1975. **250**(5): p. 1907.
- (122) Chapman, C.R., et al., *Pain measurement: an overview*. Pain, 1985. **22**(1): p. 1.
- (123) Le Bars, D., M. Gozariu, and S.W. Cadden, *Animal Models of Nociception*. Pharmacological Reviews, 2001. **53**(4): p. 597.
- (124) Mogil, J.S. and S.E. Crager, What should we be measuring in behavioral studies of chronic pain in animals? Pain, 2004. **112**(1-2): p. 12. 20
- (125) Gracely, R.H., *Pain Measurement*. Acta Anaesthesiol. Scand., 1999. **43**: p. 897-908.
- (126) Mogil, J.S., B. Kest, B. Sadowski, and J.K. Belknap Differential Genetic Mediation to morphine in genetic models of opiate antinociception: Influence of nociceptive assay. J. Pharmacol. Exp. Ther. 1996, **276**, 532-544.
- (127) Kim S.H. and Chung J.M. An experimental model for peripheral neuropathy produced by segmental spinal nerve ligation in the rat. Pain **50**: 355-363. 30

## 【0426】

本発明の付加的な利点は、部分的に、記述から明らかであることができるか、若しくは本発明の実務により学習されうる。本発明の利点は、付随する請求の範囲にとりわけ指摘される要素および組合せによって理解かつ達成されるであろう。

## 【0427】

本出願を通じ、刊行物が言及される場合、これらの刊行物の開示は、本発明が属する従来技術をより完全に記述するために、そっくりそのまま本出願に引用することによりここに組み込まれる。

## 【図面の簡単な説明】

## 【0428】

【図1】NT(8-13)、中間体NTアナログおよびABS201の構造比較。

【図2】式I～Vの化合物の代表例。

【図3A-3C】式I～Vの化合物の合成のためのスキーム。

【図4】-ブロモ酸の非対称合成。

【図5】エチレン架橋(N<sup>5</sup>からN<sup>7</sup>)アルギニンアナログの合成。

【図6】環式および非環式アルギニンアナログの合成。

【図7】本発明の代表的ペプチドのペプチド合成。

【図8A-8C】-メチルNT(8-13)アナログによる誘発された体温下降の比較

。

【図9】それぞれ2mg/kgおよび20mg/kgのIP(黒記号)および経口投与(白記号)後のABS201の体温下降効果。

【図10A-10B】KH29(10A)およびKH30(10B)のIPおよび経口投与後の体温下降効果の比較。

【図11A-11B】IP投与後のABS201の用量応答曲線。

【図12】経口投与後のABS201に対する用量依存性の体温下降応答。

【図13】ABS201のIP投与後のd-アンフェタミン誘発性運動亢進の減弱。

【図14】ABS201の経口投与後のd-アンフェタミン誘発性運動亢進の減弱。

【図15】経口投与したABS201によるBrattlebororラットで誘発されるPPIの逆転。 10

【図16】カタレプシーに対するABS201およびハロペリドールの効果。

【図17】5mg/kg ABS201の連日投与後のABS201の慢性投与の体温下降効果。

【図18】5mg/kg ABS201の連日投与後のd-アンフェタミン誘発性の自発運動の亢進に対するABS201の反復連日投与の効果。 20

【図19】Fmoc-プロリン-OH\*の合成。

【図20】5mg/kgの遊離塩基の用量でのABS201・TFAの静脈内投与後の雄性SDラットにおける血中濃度-時間曲線(n=3)。

【図21】50mg/kgの遊離塩基の用量でのABS201・TFAの経口投与後の雄性SDラットにおける血中濃度-時間曲線(n=3)。 20

【図22】100mg/kgの遊離塩基の用量でのABS201・TFAの静脈内投与後の雄性SDラットにおける血漿および脳の濃度-時間曲線(n=3)。

【図23】GI管中のABS201の吸収の部位の比較。

【図24】ABS201(5mg/kg)およびモルヒネ(5mg/kg)の抗侵害受容活性。 20

【図25】MPEにより測定されるところの、5日間の5mg/kg ABS201を連日投与したラットにおけるABS耐性の評価。

【図26】NTR-1に対し高められたNTR-2結合親和性を表すNT[8-13]ならびにペプチドABS1、ABS13、ABS201、ABS15、ABS16、ABS17およびABS19の構造。 30

【図27】より良好なNTR-2選択的リガンドとなるよう設計したペプチドの構造。

【図28】20mg/kgの用量で胃管栄養法により投与した(A)ABS201、(B)ABS205、(C)ABS210、(D)ABS212および(E)ABS220の鎮痛効果。

【図29】20mg/kgの用量で胃管栄養法により投与した(A)ABS232および(B)ABS239の鎮痛効果。

【図30】ホットプレートアッセイを使用して測定したABS212の鎮痛効果。ABS212(10mg/kg)およびモルヒネ(5mg/kg)の鎮痛効果の比較(A); I.P.注入により(B)若しくは経口で(C)投与したABS212の用量応答データ。 40

【図31】ホルマリンアッセイを使用して測定したABS212の鎮痛効果。ABS212(10mg/kg)およびモルヒネ(5mg/kg)の鎮痛効果の比較(A); I.P.注入により(B)若しくは経口で(C)投与したABS212の用量応答データ。

【図32】テールフリックアッセイで測定されたところのI.P.(A)および経口で(B)投与したABS212の用量応答データ。

【図33】神経因性疼痛のChungモデルを使用して測定した、I.P.注入により投与したABS212の効果。

【図34】5mg/kgの遊離塩基の用量のABS212・2HClの静脈内投与(A)および50mg/kgの遊離塩基の用量のABS212・2HClの経口投与(B)後の雄性SDラットにおける濃度時間曲線(n=3)。 50

〔 図 1 〕

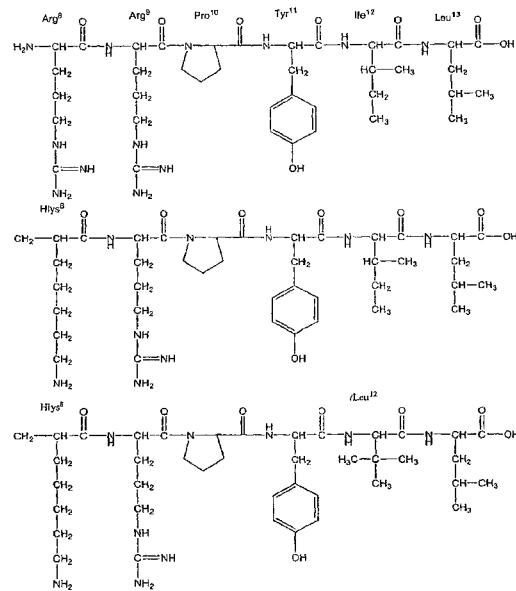


FIG. 1

( 2 )

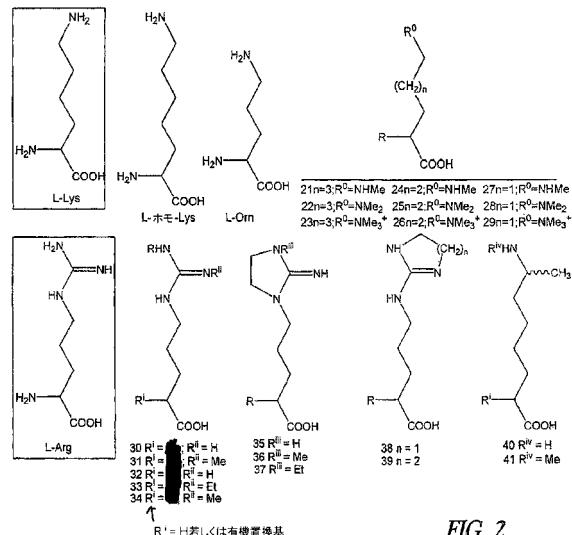


FIG. 2

〔 3 A 〕

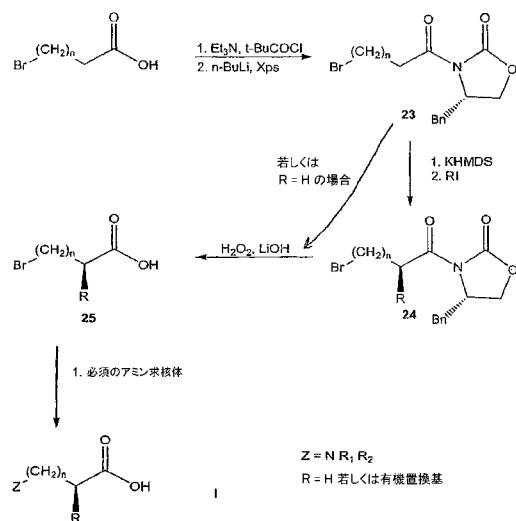


FIG. 3A

【 3 B 】

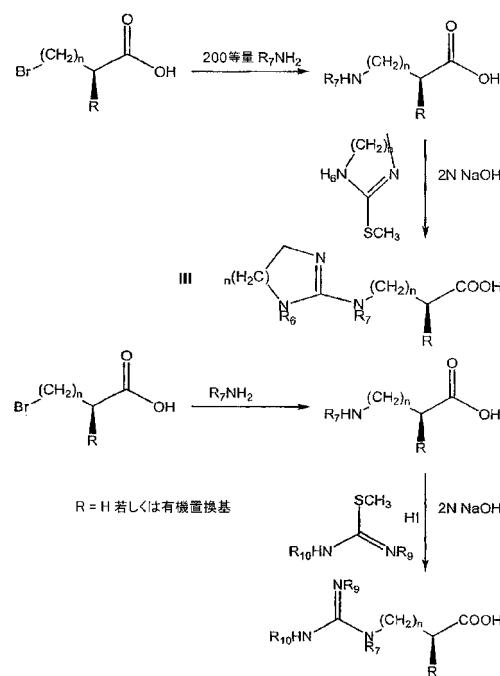


FIG. 3B

【 3 C 】

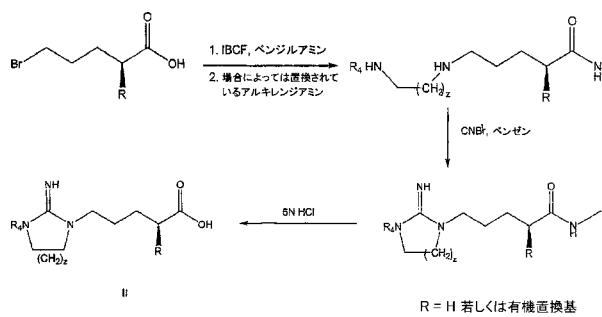


FIG. 3C

( 5 )

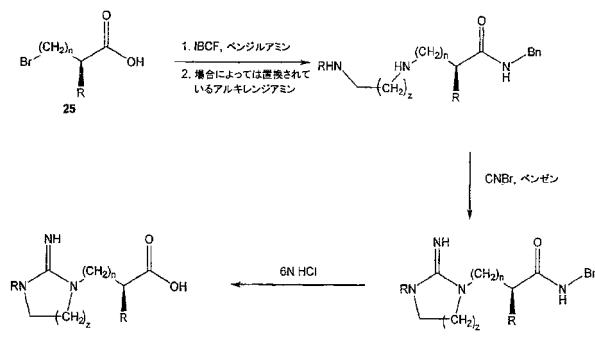


FIG. 5

〔四〕

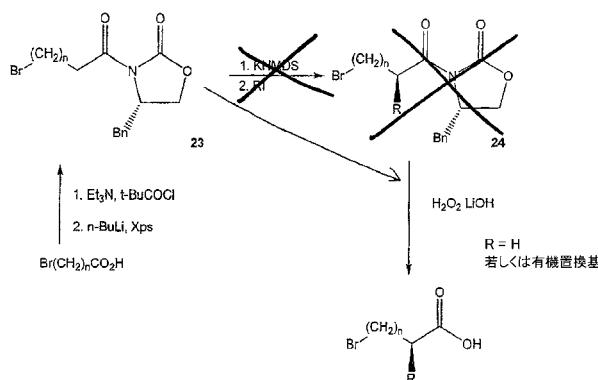


FIG. 4

【図6】

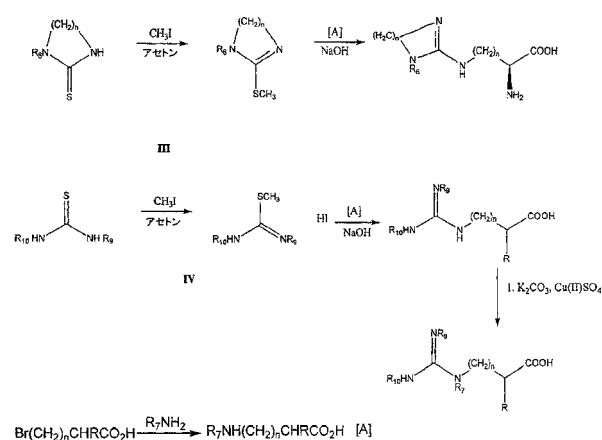


FIG. 6

〔 図 7 〕

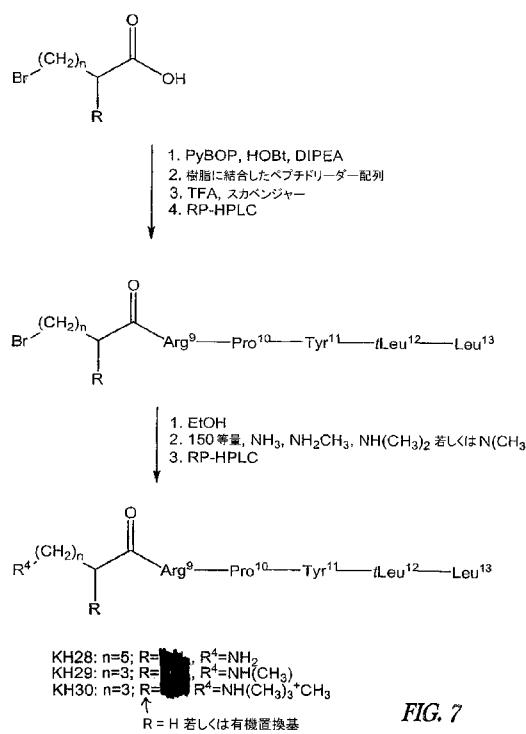


FIG. 7

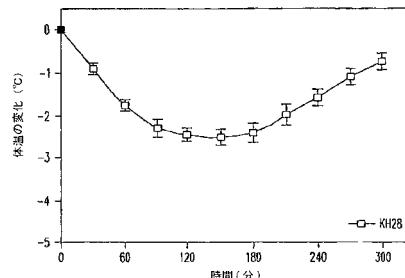
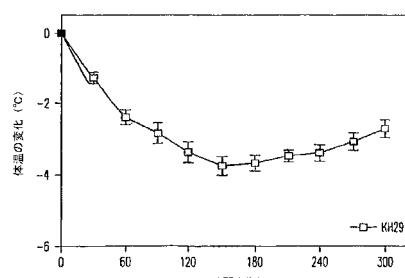


FIG. 8A

【 8 B 】



時間(分)

【図 8 C】

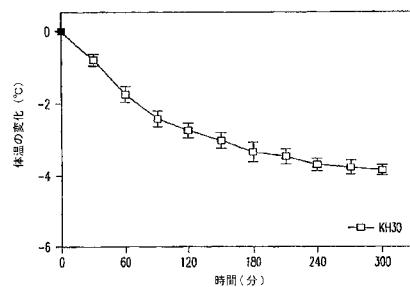


FIG. 8C

【図 10 A】

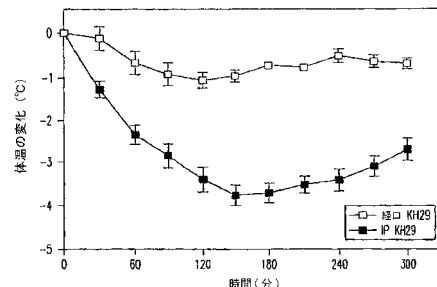


FIG. 10A

【図 9】

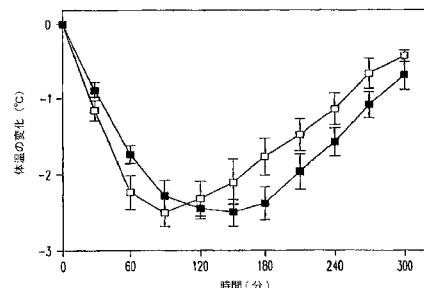


FIG. 9

【図 10 B】

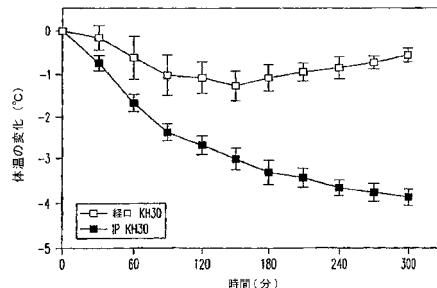


FIG. 10B

【図 11 A】

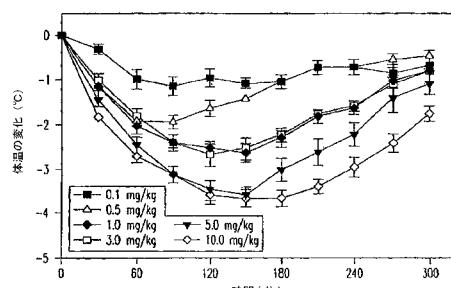


FIG. 11A

【図 12】

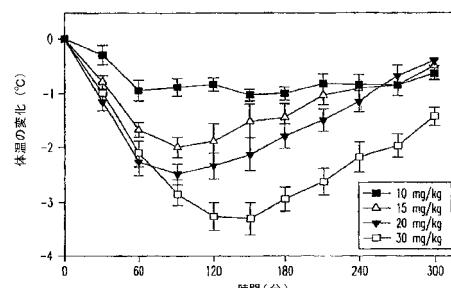


FIG. 12

【図 11 B】

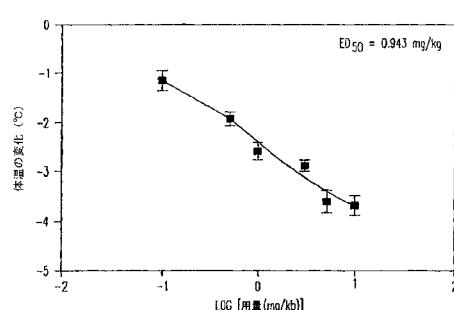


FIG. 11B

【図 13】

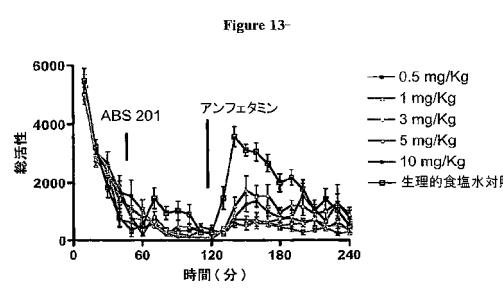
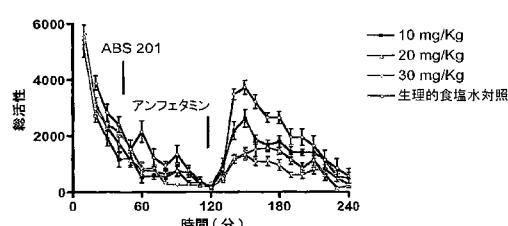


Figure 13-

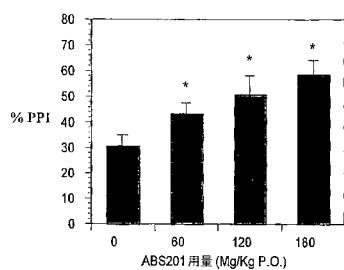
【図14】

Figure 14



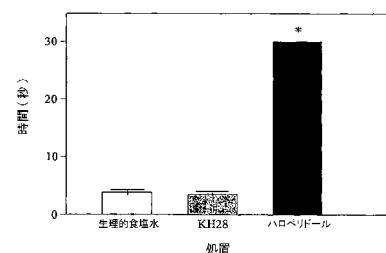
【図15】

Figure 15



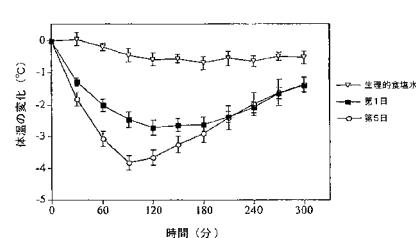
【図16】

Figure 16



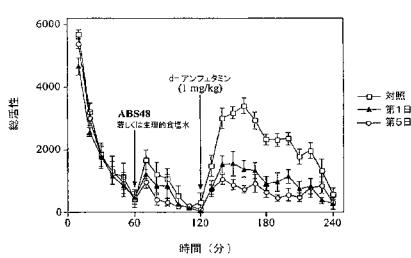
【図17】

Figure 17



【図18】

Figure 18



【図19】

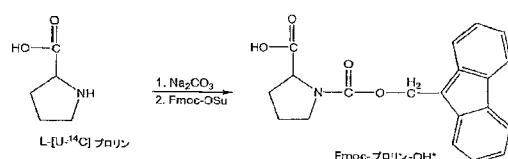
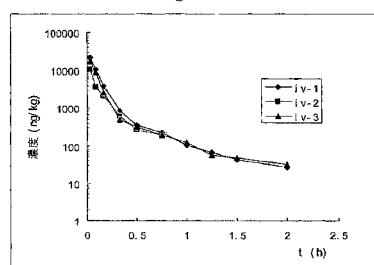


FIG. 19

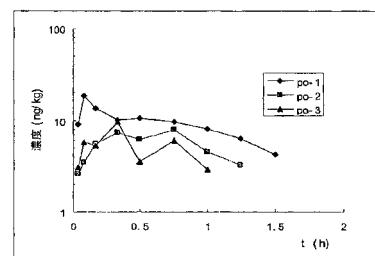
【図20】

Figure 20



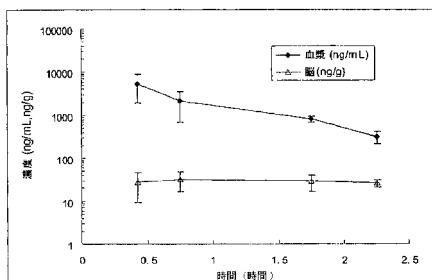
【図21】

Figure 21



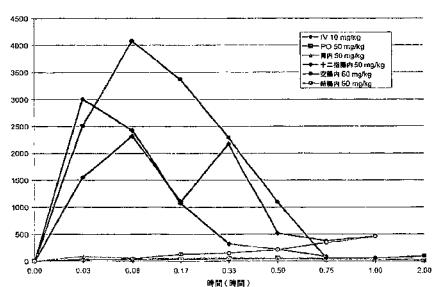
【図22】

Figure 22



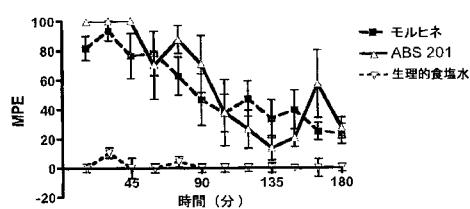
【図23】

Figure 23



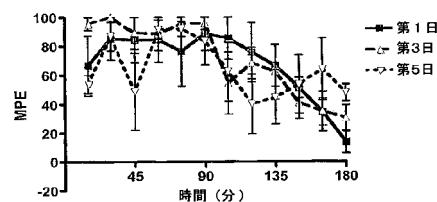
【図24】

Figure 24



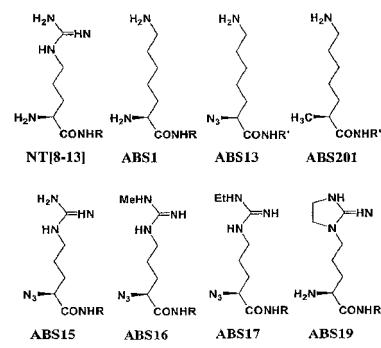
【図25】

Figure 25



【図26】

Figure 26

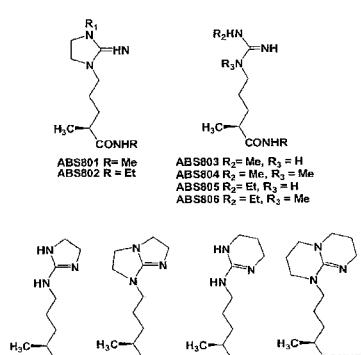


R = Arg-Pro-Tyr-isoleu-Leu-COOH

R' = Arg-Pro-Tyr-tert-leu-Leu-COOH

【図27】

Figure 27

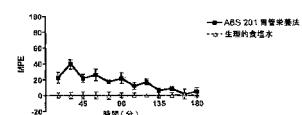


R = Arg-Pro-Tyr-tert-leu-Leu-COOH

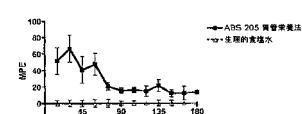
【図28】

Figure 28

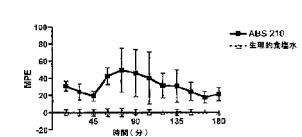
A.



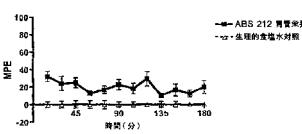
B.



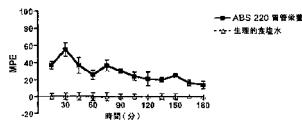
C.



D.

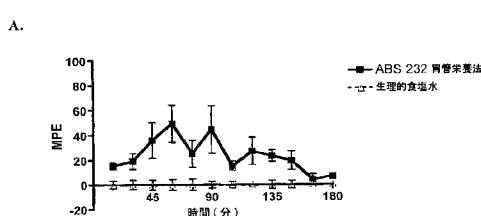


E.

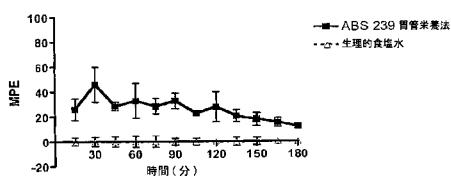


【図29】

Figure 29

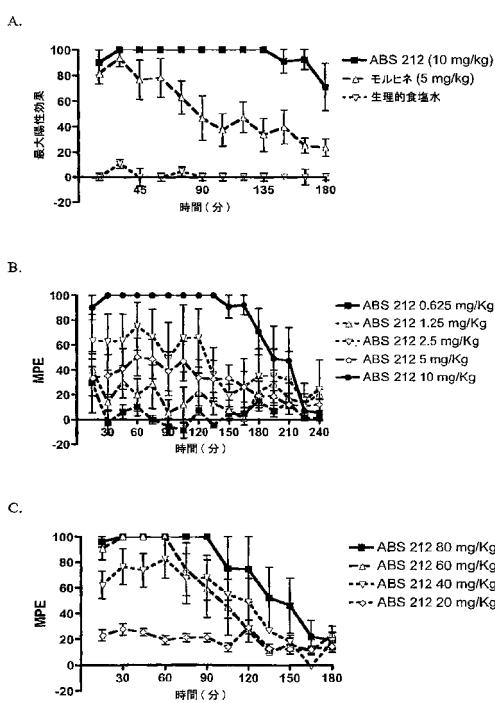


B.



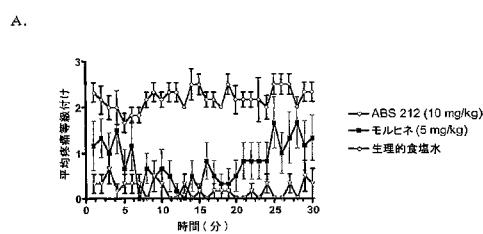
【図30】

Figure 30

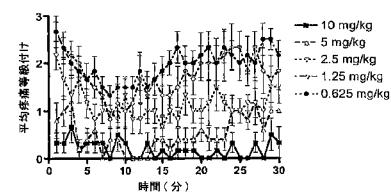


【図31】

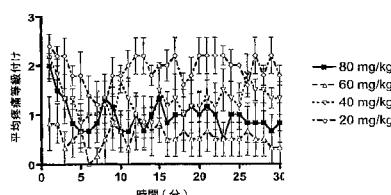
Figure 31



B.

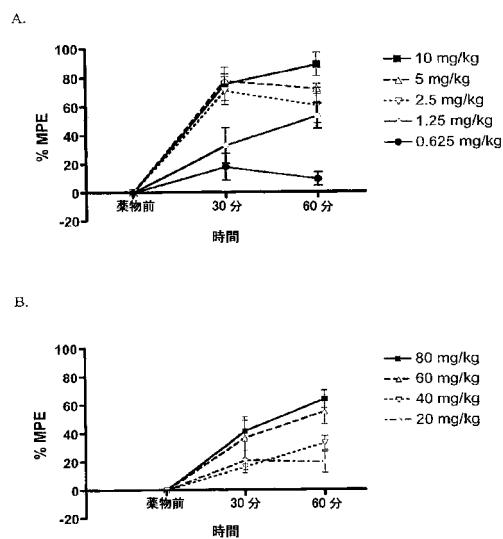


C.



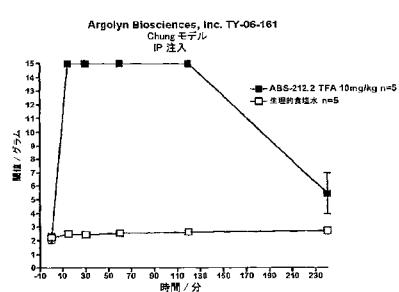
【図32】

Figure 32



【図33】

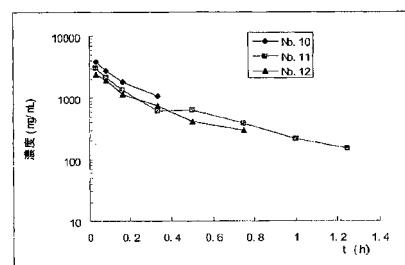
Figure 33



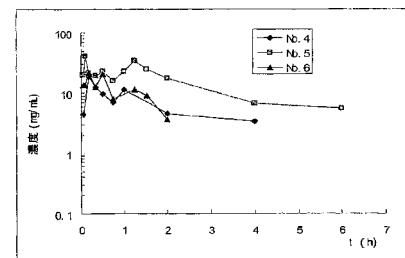
【図34】

Figure 34

A.



B.



## 【国際調査報告】

60800600015



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US06/47860

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC: A61K 38/00(2006.01)

USPC: 514/2

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

U.S. : 514/2

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
East-Internal USPTO, PubMed

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	US 4,956,461 A (ROSOWKY) 11 September 1990 (11.09.1990), entire document, especially Table 1.	1-33
Y	US 6,949,509 B2 (WOODROW) 27 September 2005 (27.09.2005), entire document, espec. col. 2, line 65.	1-33

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

Special categories of cited documents:	
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"A"	document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 June 2008 (23.06.2008)

Date of mailing of the international search report

03 JUL 2008

Name and mailing address of the ISA/US  
Mail Stop PCT, Attn: ISA/US  
Commissioner for Patents  
P.O. Box 1450  
Alexandria, Virginia 22313-1450  
Facsimile No. (571) 273-3201

Authorized officer  
Maury Aulet  
Signature: *Ruthie Lawrence for Maury Aulet*  
Telephone No. 572-272-0960 27.10.2008

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 25/18 (2006.01)	A 6 1 P 25/18	4 H 0 0 6
A 6 1 P 25/04 (2006.01)	A 6 1 P 25/04	4 H 0 4 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
A 6 1 P 25/36 (2006.01)	A 6 1 P 25/36	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 K 31/155 (2006.01)	A 6 1 K 31/155	
A 6 1 K 8/43 (2006.01)	A 6 1 K 8/43	
A 6 1 K 8/49 (2006.01)	A 6 1 K 8/49	
A 6 1 K 31/4172 (2006.01)	A 6 1 K 31/4172	
C 0 7 D 233/46 (2006.01)	C 0 7 D 233/46	C S P
A 6 1 K 31/505 (2006.01)	A 6 1 K 31/505	
C 0 7 D 239/14 (2006.01)	C 0 7 D 239/14	
A 6 1 K 31/197 (2006.01)	A 6 1 K 31/197	
C 0 7 K 7/08 (2006.01)	C 0 7 K 7/08	
C 0 7 K 14/00 (2006.01)	C 0 7 K 14/00	
C 0 7 K 14/47 (2006.01)	C 0 7 K 14/47	
C 0 7 K 14/52 (2006.01)	C 0 7 K 14/52	
C 0 7 K 14/575 (2006.01)	C 0 7 K 14/575	
C 0 7 K 14/705 (2006.01)	C 0 7 K 14/705	
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/15	Z

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,L,A,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 ブラワー,ジヤステイン・オー

アメリカ合衆国サウスカロライナ州29456ラドソン・ファルムードコート122

(72)発明者 ディツクス,トーマス・エイ

アメリカ合衆国サウスカロライナ州29464マウントプレザント・マーシュグラスブルーバード  
541

F ターム(参考) 2G045 AA29 DA36

4C083 AC621 AC622 AC741 AC742 AC851 AC852 AD411 AD412 CC01 CC11  
EE11  
4C084 AA02 AA07 BA03 BA10 BA16 BA32 BA44 CA59 NA14 ZA01  
ZA08 ZA70 ZB26 ZC35 ZC39  
4C086 AA01 AA02 BC38 BC42 MA01 MA04 NA14 ZA01 ZA08 ZA70  
ZB26 ZC35 ZC39  
4C206 AA01 AA02 FA44 HA31 MA01 MA04 NA14 ZA01 ZA08 ZA70  
ZB26 ZC35 ZC39  
4H006 AA01 AA03 AB84 BS10 BU32  
4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 BA14 BA15 BA16 BA17 CA40 DA01  
DA30 DA50 DA57 DA89 EA20 EA50 FA33 FA44 FA58 FA61

GA25