

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4288263号
(P4288263)

(45) 発行日 平成21年7月1日(2009.7.1)

(24) 登録日 平成21年4月3日(2009.4.3)

(51) Int. Cl.	F I
C07C 237/24 (2006.01)	C07C 237/24 CSP
A61K 31/165 (2006.01)	A61K 31/165
A61K 45/00 (2006.01)	A61K 45/00
A61P 1/04 (2006.01)	A61P 1/04
A61P 1/06 (2006.01)	A61P 1/06

請求項の数 47 (全 99 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2005-501895 (P2005-501895)
 (86) (22) 出願日 平成15年10月22日(2003.10.22)
 (65) 公表番号 特表2006-503920 (P2006-503920A)
 (43) 公表日 平成18年2月2日(2006.2.2)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2003/033681
 (87) 国際公開番号 W02004/039320
 (87) 国際公開日 平成16年5月13日(2004.5.13)
 審査請求日 平成17年7月5日(2005.7.5)
 (31) 優先権主張番号 60/421, 640
 (32) 優先日 平成14年10月25日(2002.10.25)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 60/423, 062
 (32) 優先日 平成14年11月1日(2002.11.1)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 505152055
 コレジウム ファーマシューティカル,
 インク.
 COLLEGIUM PHARMACEU
 TICAL, INC.
 アメリカ合衆国 ロードアイランド州 O
 2864 カンバーランド コーポレート
 ドライブ ハイランド 400
 400 Highland Corpor
 ate Drive, Cumberlan
 d, RI 02864 (US).
 (74) 代理人 100136630
 弁理士 水野 祐啓
 (74) 代理人 100127878
 弁理士 遠藤 淳二

最終頁に続く

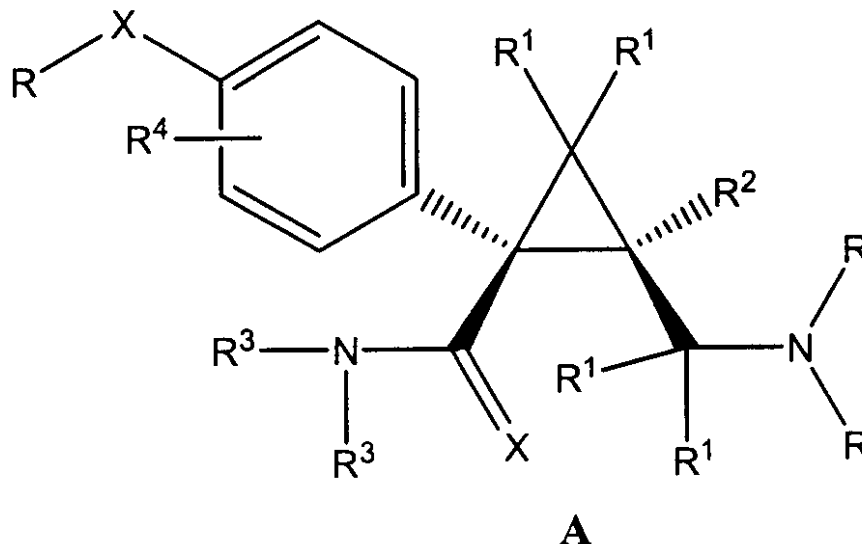
(54) 【発明の名称】 p-ヒドロキシ-ミルナシブランの立体異性体およびその使用方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

式A(化1)で表される、単離された化合物。

【化1】



式中、Xは、それぞれ個別に、O、S、またはNRを表し、
Rは、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、ホルミル、アシル、シリル、(アルキルオキシ)カルボニル、(アリールオキシ)カルボニル、(アリールアルキルオキシ)カルボニル、(アルキルアミノ)カルボニル、(アリールアミノ)カルボニル、(アリールアルキルアミノ)カルボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、または-(CH₂)_m-R80を表し、

R1は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アリールアルキルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アリールアルキルアミノ(arylakylamino)、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、アリールアルキルチオ(arylakylthio)、ニトロ、アジド、アルキルセレノ、ホルミル、アシル、カルボキシル、シリル、シリルオキシ、(アルキルオキシ)カルボニル、(アリールオキシ)カルボニル、(アリールアルキルオキシ)カルボニル、(アルキルアミノ)カルボニル、(アリールアミノ)カルボニル、(アリールアルキルアミノ)カルボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、または-(CH₂)_m-R80を表し、

10

R2は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、または-(CH₂)_m-R80を表し、

R3は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、または-(CH₂)_m-R80を表し、

20

R4は、1~4回存在する、または存在しない、

R4は、もし存在すれば、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アリールアルキルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アリールアルキルアミノ(arylakylamino)、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、アリールアルキルチオ(arylakylthio)、ニトロ、アジド、アルキルセレノ、ホルミル、アシル、カルボキシル、シリル、シリルオキシ、(アルキルオキシ)カルボニル、(アリールオキシ)カルボニル、(アリールアルキルオキシ)カルボニル、(アルキルアミノ)カルボニル、(アリールアミノ)カルボニル、(アリールアルキルアミノ)カルボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、または-(CH₂)_m-R80を表し、

30

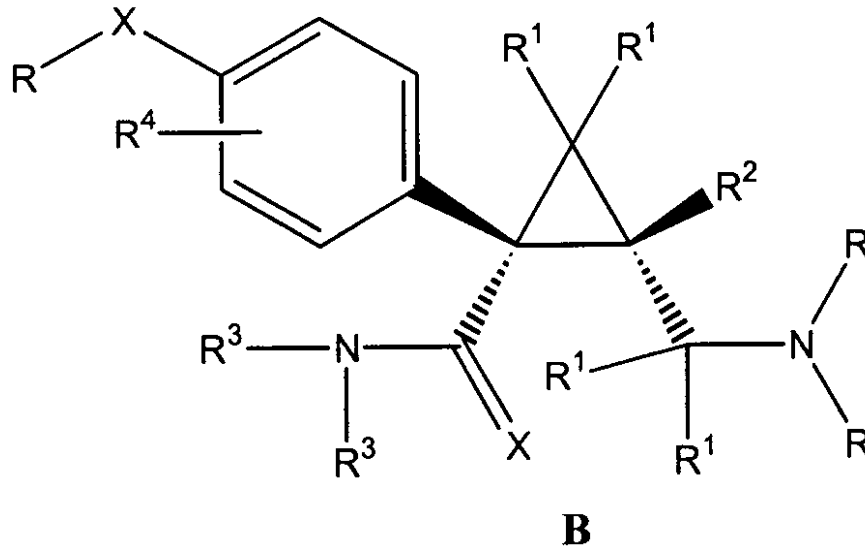
R80は、それぞれ個別に、アリール、シクロアルキル、シクロアルケニル、ヘテロ環、またはポリシクリル部分を表し、

mは、それぞれ個別に、0~8の間の整数であり、そして化合物は、単一のエナンチオマーであり；または、それらの薬学的に許容される塩もしくはプロドラッグである。

【請求項2】

式B(化2)で表される、単離された化合物。

【化2】



式中、Xは、それぞれ個別に、O、S、またはNRを表し、
Rは、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロ
アリール、アリールアルキル、ホルミル、アシル、シリル、(アルキルオキシ)カルボニル、
(アリールオキシ)カルボニル、(アリールアルキルオキシ)カルボニル、(アルキル
アミノ)カルボニル、(アリールアミノ)カルボニル、(アリールアルキルアミノ)カル
ボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、または-(CH₂)_m-R₈₀を表し、

R₁は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、
ヘテロアリール、アリールアルキル、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシル、
アリーロキシ、アリールアルキロキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、
アリールアルキルアミノ(arylalkylamino)、スルフヒドリル、アルキルチ
オ、アリールチオ、アリールアルキルチオ(arylalkylthio)、ニトロ、アジ
ド、アルキルセレノ、ホルミル、アシル、カルボキシル、シリル、シリロキシ、(アル
キルオキシ)カルボニル、(アリーロキシ)カルボニル、(アリールアルキルオキシ)
カルボニル、(アルキルアミノ)カルボニル、(アリールアミノ)カルボニル、(アリー
ルアルキルアミノ)カルボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、または-(
CH₂)_m-R₈₀を表し、

R₂は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、
ヘテロアリール、アリールアルキル、または-(CH₂)_m-R₈₀を表し、

R₃は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、
ヘテロアリール、アリールアルキル、または-(CH₂)_m-R₈₀を表し、

R₄は、1~4回存在する、または存在しない、

R₄は、もし存在すれば、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケ
ニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル
、アルコキシル、アリーロキシ、アリールアルキロキシ、アミノ、アルキルアミノ、
アリールアミノ、アリールアルキルアミノ(arylalkylamino)、スルフヒド
リル、アルキルチオ、アリールチオ、アリールアルキルチオ(arylalkylthio)
)、ニトロ、アジド、アルキルセレノ、ホルミル、アシル、カルボキシル、シリル、シリ
ロキシ、(アルキルオキシ)カルボニル、(アリーロキシ)カルボニル、(アリール
アルキルオキシ)カルボニル、(アルキルアミノ)カルボニル、(アリールアミノ)カル
ボニル、(アリールアルキルアミノ)カルボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホ
ニル、または-(CH₂)_m-R₈₀を表し、

R₈₀は、それぞれ個別に、アリール、シクロアルキル、シクロアルケニル、ヘテロ

10

20

30

40

50

環、またはポリシクリル部分を表し、
 m は、それぞれ個別に、0～8の間の整数であり、そして
 化合物は、単一のエナンチオマーであり；または、
 それらの薬学的に許容される塩もしくはプロドラッグである。

【請求項3】

XがOを表す、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項4】

RがHを表す、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項5】

R^1 がHを表す、請求項1または2に記載の化合物。

10

【請求項6】

R^2 がHを表す、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項7】

R^3 がアルキルを表す、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項8】

R^4 が存在しない、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項9】

XがOを表し、RがHを表す、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項10】

XがOを表し、RがHを表し、 R^1 がHを表す、請求項1または2に記載の化合物。

20

【請求項11】

XがOを表し、RがHを表し、 R^1 がHを表し、 R^2 がHを表す、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項12】

XがOを表し、RがHを表し、 R^1 がHを表し、 R^2 がHを表し、 R^3 がアルキルを表す、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項13】

XがOを表し、RがHを表し、 R^1 がHを表し、 R^2 がHを表し、 R^3 がアルキルを表し、 R^4 が存在しない、請求項1または2に記載の化合物。

【請求項14】

XがOを表し、RがHを表し、 R^1 がHを表し、 R^2 がHを表し、 R^3 がエチルを表し、 R^4 が存在しない、請求項1または2に記載の化合物。

30

【請求項15】

請求項1または2に記載の化合物、および薬学的に許容される添加剤を含む、製剤。

【請求項16】

請求項1または2に記載の化合物、ならびに鎮痛剤、抗炎症剤、解熱剤、抗抑鬱剤、抗てんかん薬、抗ヒスタミン剤、抗片頭痛薬、抗ムスカリン作動薬、抗不安剤、鎮静剤、催眠薬、抗精神病薬、気管支拡張剤、抗喘息薬、心臓血管薬、コルチコステロイド、ドーパミン作動薬、電解液、胃腸薬、筋弛緩剤、栄養剤、ビタミン剤、副交感神経作動薬、刺激剤、抗ナルコレプシー薬、および食思減退薬からなる群から選択される化合物を含む、製剤。

40

【請求項17】

請求項1または2に記載の化合物、ならびにアセクロフェナク、アセトアミノフェン、アドメキセチン (adomexetine)、アルモトリプタン、アルプラゾラム、アマンタジン、アムシノニド、アミノシクロプロパン、アミトリプチリン、アモロジピン (amlodipine)、アモキサピン、アンフェタミン、アリピラゾール、アスピリン、アトモキサチン、アザセロトニン (azasetron)、アザタジン、ベクロメタゾン、ベナクチジン、ベノキサプロフェン、ベルモプロフェン、ベタメタゾン、ビシファジン (bicycladine)、プロモクリプチン、ブデソニド、ブプレノルフィン、ブプロピオン、ブスピロン、ブトルファノール、ブトリプチリン、カフェイン、カルバマゼピン、カルビドーパ、カリソプロドール、セ

50

レコシブ、クロルジアゼポキシド、クロルプロマジン、サリチル酸コリン、シタロプラム、クロミブラミン、クロナゼパム、クロニジン、クロニタゼン、クロラゼペート、クロチアゼパム、クロキサゾラム、クロザピン、コデイン、コルチコステロン、コルチゾン、シクロベンザプリン、シプロヘプタジン、デメキシプチリン (demexiptiline)、デシブラミン、デソモルフィン (desomorphine)、デキサメタゾン、デキサナピノール、デキストロアンフェタミンスルフェート、デキストロモラミド、デキストロプロボキシフェン、デゾシン、ジアゼパム、ジベンゼピン、ジクロフェナクナトリウム、ジフルニサル、ジヒドロコデイン、ジヒドロエルゴタミン、ジヒドロモルフィン、ジメタクリン、ジバルプロキセス、ジザトリプタン (dizatRIPTAN)、ドラセトロン、ドネペジル、ドチエピン、ドキセピン、デュロキセチン、エルゴタミン、エスシタロプラム、エスタゾラム、エトスクシミド、エトドラク、フェモキセチン、フェナメート、フェノプロフェン、フェンタニル、フルジアゼパム、フルオキセチン、フルフェナジン、フルラゼパム、フルビプロフェン、フルタゾラム、フルボキサミン、フロバトリプタン、ガバペンチン、ガランタミン、ゲピロン、ギンコビルボア (ginko bilboa)、グラニセトロン、ハロペリドール、フェルジン A、ヒドロコドン、ヒドロコルチゾン、ヒドロモルホン、ヒドロキシジン、イブプロフェン、イミプラミン、インディプロン、インドメタシン、インドプロフェン、イブリンドール、イブサピロン、ケタセリン、ケトプロフェン、ケトロラク、レソピトロン (lesopitron)、レボドーパ、リパーゼ、ロフェプラミン、ロラゼパム、ロクサピン、マプロチリン、マチンドール、メフェナム酸、メラトニン、メリトラセン、メマンチン、メベリジン、メプロバメート、メサラミン、メタプラミン、メタキサロン、メタドン、メタドンメタンフェタミン、メトカルバモール、メチルドーパ、メチルフェニデート、メチルサリチラート、メチセルジド、メトクロプラミド、ミアンセリン、ミフェプリストン、ミルナシبران、ミナプリン、ミルタザピン、モクロベミド、モダフィニル、モリンドン、モルフィン、モルフィンヒドロクロリド、ナブメトン、ナドロール、ナプロキセン、ナラトリプタン、ネファゾドン、ニューロンチン、ノミフェンシン、ノルトリプチリン、オランザピン、オルサラジン、オندانセトロン、オピプラモール、オルフェナドリン、オキサフロザン (oxaflozane)、オキサプラジン (oxaprazin)、オキサゼパム、オキシトリプタン、オキシコドン、オキシモルフォン、パンクレリパーゼ、パレコシブ (parecoxib)、パロキセチン、ペモリン、ペンタゾシン、ペプシン、ペルフェナジン、フェナセチン、フェンジメトラジン、フェンメトラジン、フェニルブタゾン、フェニトイン、ホスファチジルセリン、ピモジド、ピルリンドール、ピロキシカム、ピゾチフェン、ピゾチリン、パラミペキソール (pramipexole)、プレドニソロン、プレドニソン、プレガバリン、プロパノール、プロピゼピン (propizepine)、プロボキシフェン、プロトリプチリン、クアゼパム、キヌブラミン (quinupramine)、レボキシチン、レセルピン、リスペリドン (risperidone)、リタンセリン、リバスチグミン、リザトリプタン、ロフェコシブ、ロピニロール、ロチゴチン、サルサレート、セルトラリン、シブトラミン、シルデナフィル、スルファサラジン、スリンダク、スマトリプタン、タクリン、テマゼパム、テトラベノジン (tetra benozine)、チアジド、チオリダジン、チオチキセン、チアブリド、チアシピロン (tiasipirone)、チザニジン、トフェナシン、トルメチン、トロキサトン、トピラメート、トラマドール、トラゾドン、トリアゾラム、トリフルオロペラジン、トリメトベンズアミド、トリミブラミン、トロピセトロン、バルデコシブ (valdecocoxib)、バルプロ酸、ベンラファキシン、ピロキサジン、ビタミン E、ジメルジン、ジブラシドン、ゾルミトリプタン、ゾルピデム、およびゾピクロンからなる群から選択される化合物を含む、製剤。

【請求項 18】

請求項 1 または 2 に記載の化合物の治療的有効量を含む、鬱病を患う哺乳動物の処置剤

【請求項 19】

請求項 1 または 2 に記載の化合物の治療的有効量を含む、線維筋痛症候群を患う哺乳動物の処置剤。

【請求項 20】

10

20

30

40

50

請求項 1 または 2 に記載の化合物の治療的有効量を含む、機能的体細胞性障害、鬱病、線維筋痛症候群、慢性疲労症候群、痛み、注意欠陥多動性障害、および内臓痛症候群（VPS）、過敏性腸症候群（IBS）、非心臓性胸痛（NCCP）、機能的消化不良、間質性膀胱炎、本態性外陰痛（essential vulvodynia）、尿道症候群、睾丸痛、抑鬱性障害、主要な抑鬱性障害、胸腺機能不全、非定型の鬱病、不安障害、全身性不安障害、恐怖症、強迫性障害、パニック障害、心的外傷後ストレス障害、月経前不快性障害、顎関節障害、非定型の顔面痛、片頭痛、ならびに緊張性頭痛を含む精神的障害を患う哺乳動物の処置剤

【請求項 2 1】

前記哺乳動物が霊長類、ウマ、イヌ、ネコである、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

10

【請求項 2 2】

前記哺乳動物がヒトである、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

【請求項 2 3】

前記処置剤が、経口投与剤である、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

【請求項 2 4】

前記処置剤が、静脈投与剤である、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

【請求項 2 5】

前記処置剤が、舌下投与剤である、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

【請求項 2 6】

前記処置剤が、眼からの投与剤である、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

20

【請求項 2 7】

前記処置剤が、経皮投与剤である、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

【請求項 2 8】

前記処置剤が、直腸投与剤である、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

【請求項 2 9】

前記処置剤が、膣投与剤である、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

【請求項 3 0】

前記処置剤が、局所投与剤である、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

【請求項 3 1】

前記処置剤が、筋肉投与剤である、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

30

【請求項 3 2】

前記処置剤が、皮下投与剤である、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

【請求項 3 3】

前記処置剤が、頬側投与剤である、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

【請求項 3 4】

前記処置剤が、経鼻投与剤である、請求項 1 8、1 9 または 2 0 に記載の処置剤。

【請求項 3 5】

選択的セロトニン再摂取抑制剤および請求項 1 または 2 に記載の化合物を含む組成物。

【請求項 3 6】

選択的ノルエピネフリン再摂取抑制剤、および請求項 1 または 2 に記載の化合物を含む組成物。

40

【請求項 3 7】

選択的セロトニン再摂取抑制剤、選択的ノルエピネフリン再摂取抑制剤、および請求項 1 または 2 に記載の化合物を含む組成物。

【請求項 3 8】

選択的ノルエピネフリン再摂取抑制剤が、ミルナシプランである、請求項 3 6 または 3 7 に記載の組成物。

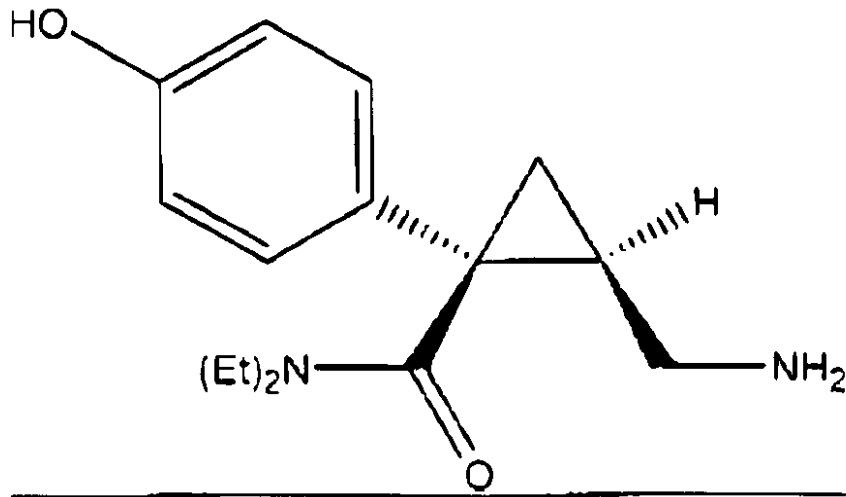
【請求項 3 9】

前記化合物が、下記式で表される化合物の塩酸塩である、請求項 3 5 ~ 3 7 のいずれか

50

1項に記載の組成物。

【化3】



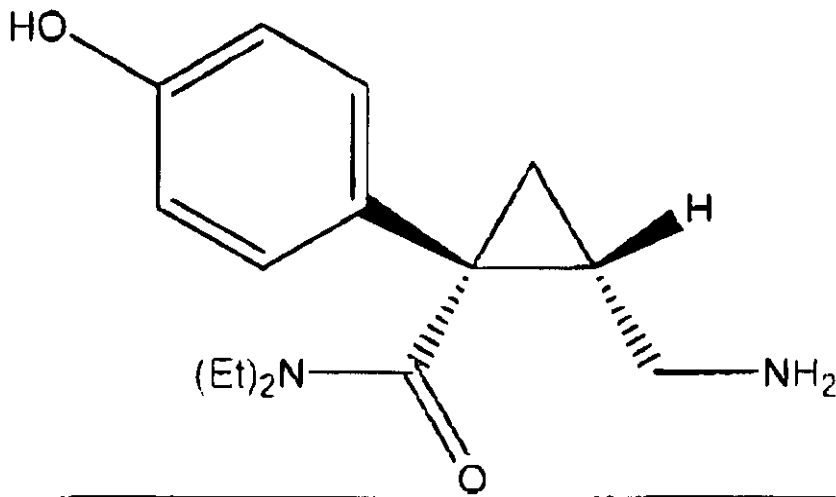
10

【請求項40】

前記化合物が、下記式で表される化合物の塩酸塩である、請求項35～37のいずれか1項に記載の組成物。

20

【化4】

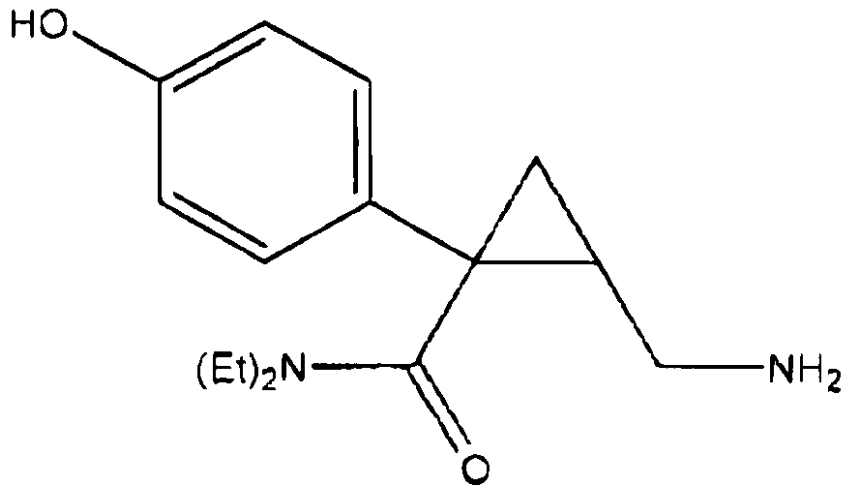


30

【請求項41】

前記組成物が、下記式で表される化合物の塩酸塩をさらに含む、請求項35～40のいずれか1項に記載の組成物。

【化5】

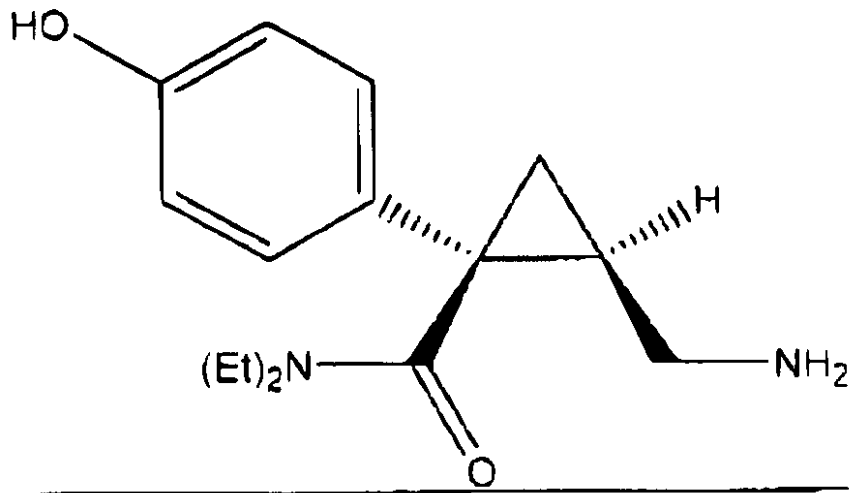


10

【請求項42】

選択的セロトニン再摂取抑制剤および下記式で表される化合物の塩酸塩を含む組成物。

【化6】



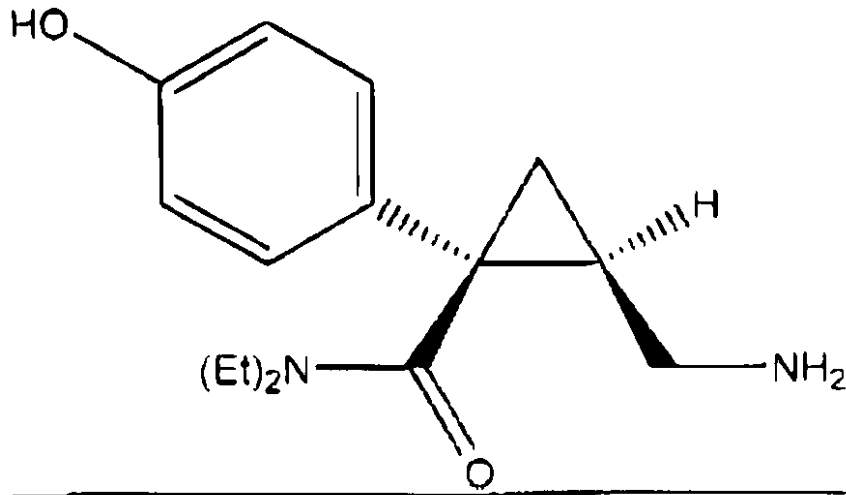
20

30

【請求項43】

選択的ノルエピネフリン再摂取抑制剤および下記式で表される化合物の塩酸塩を含む組成物。

【化 7】

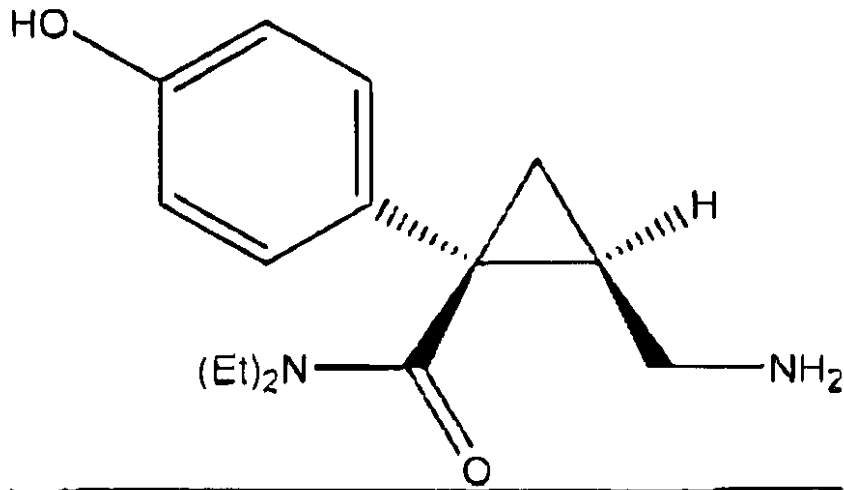


10

【請求項 4 4】

選択的セロトニン再摂取抑制剤、選択的ノルエピネフリン再摂取抑制剤、および下記式で表される化合物の塩酸塩を含む組成物。

【化 8】



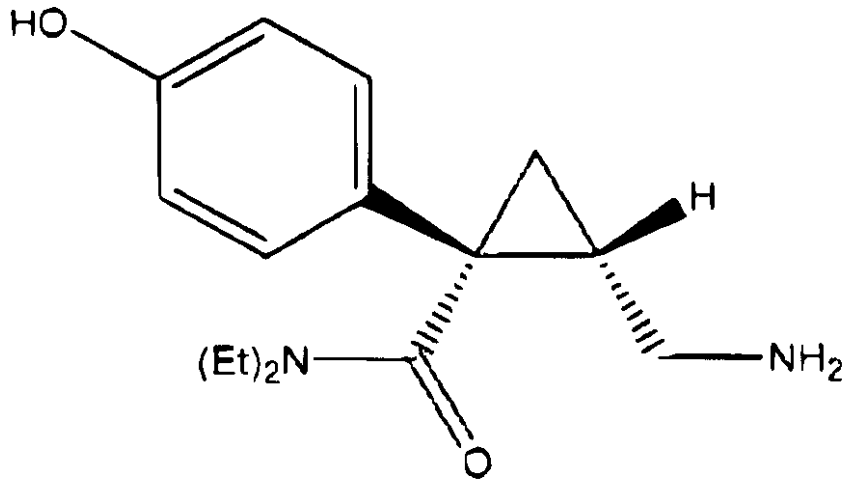
20

30

【請求項 4 5】

選択的セロトニン再摂取抑制剤および下記式で表される化合物の塩酸塩を含む組成物。

【化 9】



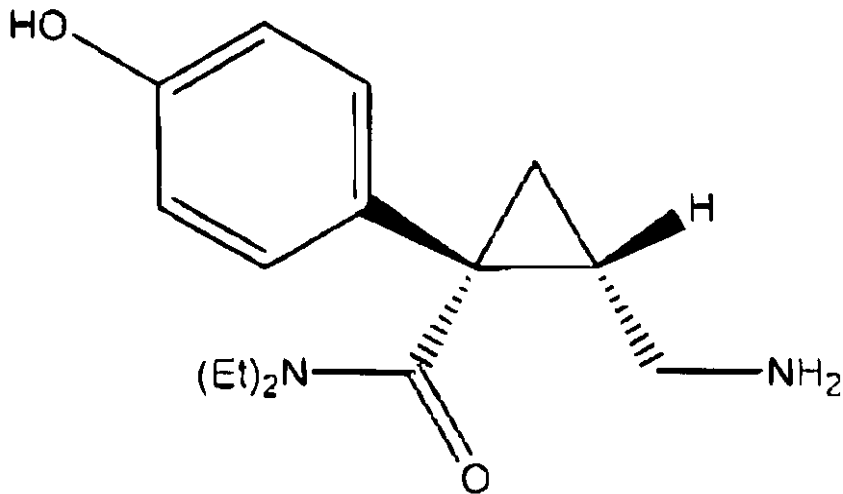
10

【請求項 4 6】

選択的ノルエピネフリン再摂取抑制剤および下記式で表される化合物の塩酸塩を含む組成物。

20

【化 1 0】



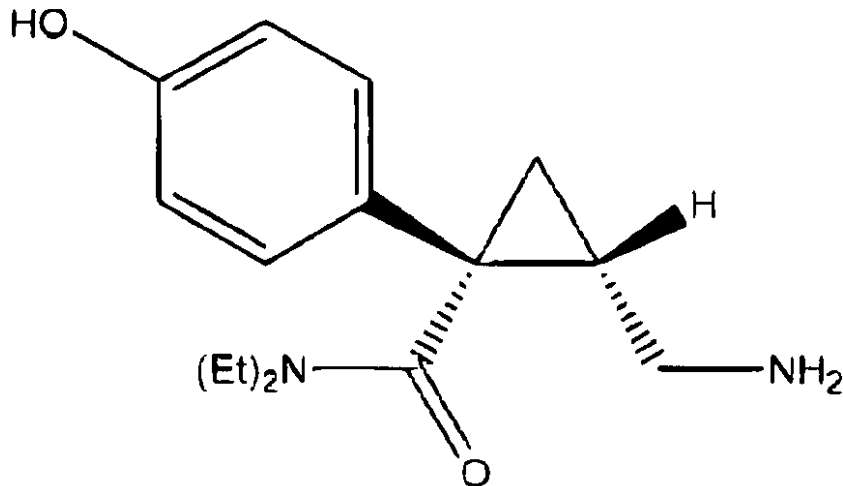
30

【請求項 4 7】

選択的セロトニン再摂取抑制剤、選択的ノルエピネフリン再摂取抑制剤および下記式で表される化合物の塩酸塩を含む組成物。

40

【化 1 1】



10

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の背景

20

有効性と認容性は、精神の抑鬱および機能的体細胞性障害 (Functional Somatic Disorders) を含むその他の精神障害に対する薬物療法の選択を決定する際の重要な因子である。三環性の抗抑鬱剤 (TCA) から、選択的セロトニン再摂取抑制剤 (SSRI) への移行は、TCA の有害な副作用の原因となる直接的な受容体相互作用失くすだけでなく、ノルエピネフリンの再摂取を阻害する能力をも含む。単一の神経伝達物質、セロトニンに対して選択性を有することから、特により重篤な鬱においては、SSRI が TCA よりも効果が低くなる傾向にあることの理由が説明され得る (Lopez-Ibor J. et al., 1996, Int. Clin. Psychopharm., 11:41-46)。

より古い TCA は、有意な行動毒性、特に、精神運動性および認識障害および鎮静に関連している。SSRI には、主としてこれらの作用はない。しかし、吐気や消化不良などの消化管障害は、これらの作用物質に共通している (Hindmarch I., 1997, Human Psychopharmacology, 12:115-119)。例えば、広く処方されてきた SSRI セルトラリン (Zoloft (登録商標)、Pfizer) については、治療の中断と関連する 3 つの主な副作用は、吐気、不眠および下痢であった (Physician's Desk Reference, 57th Edition, 2003, Thomson Medical)。

30

【0002】

抗抑鬱剤を用いた薬物療法を向上させようとする努力は、鬱病におけるモノアミン機能を高める治療的能力を支持する神経化学的および臨床的研究において証明されてきたものの累積によって導かれる。デュロキセチン、ベンラファキシン、ミルナシブランといった多くの抗抑鬱剤、セロトニンおよびノルエピネフリン再摂取抑制剤 (SNRI) は、それらとセロトニン (5-HT) およびノルエピネフリン (NE) 受容体の双方との相互作用に基づいて開発されてきた。ミルナシブランはまた、ノルエピネフリン (「NE」) とセロトニン (「5-HT」) との比率が 2 : 1 であるので、ノルエピネフリンおよびセロトニン再摂取抑制剤 (NSRI) と呼ばれることも多い (Moret et al., 1985, Neuropharmacology, 24:1211-1219; Palmier et al., 1989, Eur. J. Clin. Pharmacol., 37:235-238)。現時点での臨床的な証拠は、これらの新規な作用物質は、SSRI と比較して、有効性の向上および/または作用の迅速な開始をもたらすかもしれないことを示唆している (Tran P.V. et al., 2003, J. Clin. Psychopharmacol., 23:78-86)。ミルナシブランの最近の試験によれば、この

40

50

化合物は、鬱病に関連する、および無関係の痛みを除去するのに効果的であることを示唆されている (Briley M., 2003, *Curr. Opin. Investig. Drugs*, 4:42-45; Cypress Bioscience Inc., Cypress Bioscience Inc. Announces Final Results of Milnacipran Phase II Clinical Trial in Fibromyalgia, Media Release, March 21, 2003, Available from: URL: <http://www.cypressbio.com>)。

【 0 0 0 3 】

米国特許第4,478,836号にミルナシプランおよびその合成方法が記載されている。ミルナシプラン (ミダシプラン (midalcipran)、ミダシプラン (midacipran)、F 2 2 0 7) は、NE 対 5 - HT の比率 2 : 1 で、ノルエピネフリン (NE) およびセロトニン (5 - HT) の双方の摂取を阻害する (Moret et al., 1985, *Neuropharmacology*, 24:1211-1219; Palmier et al., 1989, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 37:235-238) が、ドーパミンの摂取には影響を及ぼさない。ミルナシプランは、アルファおよびベータアドレナリン作動性、ムスカリン作動性、ヒスタミン作動性、およびドーパミン作動性の受容体に対して親和性を持たない。このことは、ミルナシプランは、アンチコリン作動性効果、鎮静効果および刺激効果を生ずる能力が低いことを示唆している。ミルナシプランは、慢性投与後、ラット皮質においてベータアドレナリン受容体の数に影響を及ぼさない (Briley M. et al., *Int. Clin. Psychopharmacol.*, 1996, 11:10-14)。ミルナシプランに関する更なる情報については、Merck Index、第 2 版、見出し6281に見出すことができる。

【 0 0 0 4 】

ミルナシプラン (Ixel (登録商標)、Pierre Fabre) は、用量を増やすことで認容性を減少させたヒト臨床試験において、無数の副作用を示した (Puech A. et al., 1997, *Int. Clin. Psychopharm.*, 12:99-108)。二重盲検、無作為抽出で、多機関で研究を行ったところ、1日2回100 mg / 日のミルナシプラン投与において最も頻繁に自発的に報告された副作用は、腹痛 (13%)、便秘 (10%) および頭痛 (9%) であった。興味深いことに、同様の研究において、ミルナシプランを200 mg / 日で1日2回投与した場合、副作用に関連する痛みは減少した (頭痛は8%、腹痛7%となった) が、吐気および嘔吐が著明な副作用として、患者の7%において認められた (Guelfi J.D., 1998, *Int. Clin. Psychopharm.*, 13:121-128)。219例の高齢の鬱病患者を対象とした二重盲検による比較研究においては、TCAイミプラミンレシピエントよりも、ミルナシプランレシピエントにおいてより頻繁に報告された唯一の副作用は吐気であった。患者に対して、1日2回8週間、ミルナシプランまたはイミプラミンのいずれかを75 ~ 100 mg / 日投与した (Tignol J. et al., 1998, *Acta Psychiatrica Scandinavica*, 97:157-165)。ミルナシプランを10例の患者に静脈投与したとき、5例が吐気を報告したことが観察された。吐気は、主にミルナシプラン血漿濃度がピークに達したときに報告された (Caron J. et al., 1993, *Eur. Neuropsychopharmacol.*, 3:493-500)。本研究は、吐気がミルナシプラン血漿濃度と直接的に関連していることを明らかに証明した。さらに、本研究においては、薬物は静脈投与されるので、吐気は中枢作用的に媒介された副作用であり得ることが示唆されている。他の研究からのデータによれば、ミルナシプランは、胃の刺激によって局所的に媒介された吐気もまた誘発し得る可能性を示唆している (血漿濃度がピークに達する前にさえ、吐気が急速に発症することが観察された)。

【 0 0 0 5 】

プラシーボを用いた対照群の臨床試験において自発的に報告されたミルナシプランの副作用の発生率を図63に示す (副作用は、ミルナシプラン100 mg / 日投与群において頻度が2%より高い場合にリストに記載している)。図63に示されたデータから明らかのように、吐気、嘔吐、発汗、熱感、動悸、振戦、不安感、排尿障害および不眠といった特定の副作用の発生率は、用量に伴って増加する。

【 0 0 0 6 】

早期の鬱病試験の1つにおいて、副作用を減少させるためにミルナシبران用量を増加させた1週間後でさえ、副作用によって治療を中断した最も一般的な理由は、吐気と嘔吐であったことに注目することが重要である (Leinonen E., 1997, *Acta Psychiatr. Scand.* 96:497-504)。ミルナシبران副作用を減少させるために長期的用量増加 (4週間) を行った線維筋痛症の最近の臨床試験において、患者から報告された最も一般的な用量関連性の副作用は吐気であった (Cypress Bioscience Inc., Cypress Bioscience Inc. Announces Final Results of Milnacipran Phase II Clinical Trial in Fibromyalgia, Media Release, March 21, 2003)。

10

【0007】

図63に示したデータから、現在即座に入手可能なミルナシبرانの放出製剤は、1日1回もしくは2回投与の場合、患者の認容性が低くなる治療的緊急副作用の発生率が高いため、ミルナシبرانの用量が100mg/日以上必要な健康状態の治療には適さないことがわかる。重篤な鬱病および他の関連疾患の治療においては、より高い用量が必要である。早期の抗抑鬱剤の臨床試験において示されているように、200mg/日のミルナシبران用量は、低用量よりもすぐれている (Von Frenckell R et al., 1990, *Int. Clin. Psychopharmacology.*, 5:49-56)。毎日100~250mgのミルナシبران投与計画が、線維筋痛症治療に関して最近報告された (米国特許第6,602,911号)。用量関連性の緊急の副作用および必要な用量に到達するために長期間滴定する必要があることから、現在入手可能な製剤を用いた用量の範囲の上限に到達することは、非常に難しいであろう。

20

【0008】

ミルナシبرانの (+) - デキストロ (dexitro) エナンチオマー (F2695、(+)-1S、2R - ミルナシبران) は、ノルエピネフリンおよびセロトニン再摂取の阻害活性が、そのラセミ混合物の約2倍である。Viazzo et al. *Tetrahedron Lett.* 1996, 37, 4519-4522; Deprez et al. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 1998, 23, 166-171参照。さらに、ミルナシبرانの (-) - レプロ (levro) エナンチオマー (F2696、(-)-1R、2S - ミルナシبران) は、はるかに力価が低い。i d . 参照。

30

【0009】

総合的に、ミルナシبرانは、主な鬱病の発症の治療において合理的に有効ではあるが、主な鬱病および機能的体細胞的障害を含む他の精神的な障害の発症を効果的に治療するためには、より有効な方法が必要である。

【発明の開示】

【0010】

本発明の一面は、パラ - ヒドロキシ - ミルナシبرانのエナンチオマーまたはその同種に関する。生物学的アッセイによって、(+)-パラ - ヒドロキシ - ミルナシبرانは、セロトニン摂取の阻害と比較して、ノルエピネフリンの摂取の阻害が約2倍であることが明らかにされた。対照的に、(-)-パラ - ヒドロキシ - ミルナシبرانは、ノルエピネフリン摂取の阻害と比較して、セロトニンの摂取の阻害が約2倍である。パラ - ヒドロキシ - ミルナシبرانの各エナンチオマーの阻害特性は、セロトニン摂取およびノルエピネフリン摂取をほぼ等しい力価で阻害するラセミ混合物のそれと対照的である。本発明の別の局面は、上記化合物の塩およびプロドラッグの形態に関する。本発明の第3の局面は、機能的体細胞性障害を含む種々の精神的障害、例えば、鬱病、慢性痛、または線維筋痛症に苦しむ哺乳動物を治療する方法であって、本発明の化合物の治療的有効量を、それを必要とする哺乳動物に投与することを含む方法に関する。本発明のさらに別の局面は、本発明の化合物および薬学的に許容される添加剤を含む製剤に関する。

40

【発明を実施するための最良の形態】

【0011】

定義

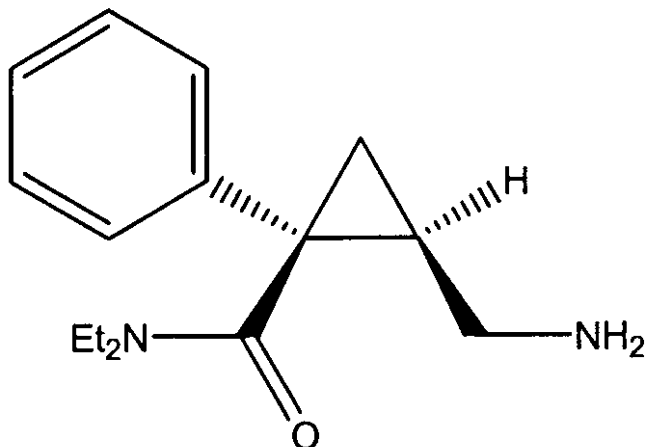
50

便宜上、本明細書、実施例、および添付の請求の範囲において採用した特定の用語をここに集めた。

【0012】

用語「ミルナシプラン」は、下記式によって表される三置換のシクロプロペンのラセミ混合物を意味する。

【化3】



Racemic milnacipran

【0013】

用語「ED₅₀」は、その最高の反応または効果の50%をもたらす薬物の用量を意味する。あるいは、被験体もしくは調製物の50%において、所定の反応が生じる用量を意味する。

【0014】

本明細書および図面において言及された化合物は、6文字の英数字コードを用いて確認されている。例えば、ラセミ型 p - ヒドロキシ - ミルナシプランは、CS1814である。いくつかの例においては、6文字の英数字コードは、前にスラッシュのついた数字が後に続いて記載される。前にスラッシュの付いた数字は、そのデータを取得したバッチを示している。例えば、CS1814/1とは、化合物は、p - ヒドロキシ - ミルナシプランであり、そのデータはバッチ1から取得されたことを意味する。

【0015】

用語「LD₅₀」は、被験体の50%が死に到る薬物の用量を意味する。

【0016】

用語「治療指数」は、LD₅₀/ED₅₀として定義される薬物の治療指数を表す。

【0017】

用語「構造活性相関(SAR)」は、薬物の分子構造を変更することによって、それらの、受容体、酵素などとの相互作用を変更する方法を意味する。

【0018】

用語「アゴニスト」は、天然の輸送体の作用に類似する、または天然の輸送体が知られていない場合は、他の受容体リガンドの不存在下で、受容体複合体において変化をもたらす化合物を意味する。

【0019】

用語「アンタゴニスト」は、受容体部位に結合するが、他の受容体リガンドが存在しない場合は、いかなる生理学的変化も引き起こさない化合物を意味する。

【0020】

用語「競合的アンタゴニスト」は、受容体部位に結合する化合物であって、その作用はアゴニストの濃度を増加させることによって取り除くことができる。

【0021】

用語「部分的アゴニスト」は、受容体部位に結合するが、その濃度とは無関係に最大の効果を生成することはない化合物を意味する。

【0022】

用語「逆アゴニスト」は、構成活性のある受容体に結合し、その生理学的機能を減少させる化合物を意味する。

【0023】

用語「リガンド」は、受容体部位に結合する化合物を意味する。

【0024】

本明細書において用いられる用語「ヘテロ原子」は、炭素または水素以外のあらゆる元素の原子を意味する。好ましいヘテロ原子は、ホウ素、窒素、酸素、リン、硫黄およびセレンウムである。

10

【0025】

用語「電子吸引基」は、当該技術分野において認識されており、置換基が隣接する原子から価電子を引き付ける置換基の傾向、すなわち、置換基が隣接する原子に対して電気陰性であることを意味する。電子吸引能のレベルの定量化は、Hammettシグマ()定数によって得られる。この公知の定数は、多くの文献、例えば、J. March, Advanced Organic Chemistry,

McGraw Hill Book Company, New York, (1977年版) pp. 251-259に記載されている。Hammett定数値は、通常、電子供与基(NH₂では [P] = -0.66)では負の値、電子吸引基(ニトロ基では [P] = 0.78)では正の値となる。[P]は、パラ置換を意味する。電子吸引基の例としては、ニトロ、アクリル、ホルミル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、トリフルオロメチル、シアノ、クロリドなどが挙げられる。電子供与基の例としては、アミノ、メトキシなどが挙げられる。

20

【0026】

用語「アルキル」は、直鎖アルキル基、分枝鎖アルキル基、シクロアルキル(脂環式)基、アルキル置換シクロアルキル基、およびシクロアルキル置換アルキル基を含む飽和脂肪族基のラジカルを意味する。好ましい態様において、直鎖または分枝鎖アルキルは、その骨格に30以下の炭素原子を有している(例えば、直鎖ではC₁-C₃₀、分枝鎖ではC₃-C₃₀)、そしてより好ましくは20以下の炭素原子を有している。同様に、好ましいシクロアルキルは、それらの環構造に3~10、より好ましくは、5、6または7の炭素原子を有している。

30

【0027】

本明細書において用いられている用語「アラルキル」は、アリール基で置換されたアルキル基を言う(例えば、芳香族基またはヘテロ芳香族基)。

【0028】

「アルケニル」および「アルキニル」は、長さが類似し、上述のアルキルに置換することができるが、少なくとも1つの二重または三重結合をそれぞれ含有する不飽和脂肪族基を言う。

【0029】

炭素数が特に規定されていなければ、本明細書において用いられている「低級アルキル」は、上で定義したように、その骨格構造に1~10の炭素原子、より好ましくは1~6の炭素原子を有するアルキル基を意味する。同様に、「低級アルケニル」および「低級アルキニル」は、同様の鎖長を持つ。好ましいアルキル基は、低級アルキルである。好ましい態様において、本明細書において、アルキルとして示されている置換基は、低級アルキルである。

40

【0030】

本明細書において用いられている用語「アリール」は、0~4個のヘテロ原子を含むことができる5、6および7員環芳香族基を含む。例えば、ベンゼン、ピロール、フラン、チオフェン、イミダゾール、オキサゾール、チアゾール、トリアゾール、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリダジンおよびピリミジンなどが含まれる。環構造中にヘテロ原子

50

を持つこれらのアリアル基はまた、「アリアルヘテロ環」または「ヘテロ芳香族」とも呼ばれる。芳香族環は、1以上の環位置において上記したような置換基、例えば、ハロゲン、アジド、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アルコキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホナート、ホスフィナート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、アルキルスルホニル、アリアルスルホニル、スルホンアミド、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロ環、芳香族もしくは芳香族部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ などと置換することができる。用語「アリアル」もまた、2以上の炭素原子が2つの結合環に共通しており（そのような環を「融合環」という）、そのような環の少なくとも1つが芳香族である（例えば、他の環式環は、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリアルおよび/またはヘテロ環であることができる）、2以上の環式環を持つ多環系を含む。

10

【0031】

用語オルト、メタおよびパラは、1, 2 -、1, 3 - および 1, 4 - ジ置換ベンゼンにそれぞれ該当する。例えば、1, 2 - ジメチルベンゼンおよびオルト - ジメチルベンゼンは同義である。

【0032】

用語「ヘテロ環」または「ヘテロ環基」は、その環構造が1~4のヘテロ原子を含む3~10員環、より好ましくは3~7員環構造を言う。ヘテロ環はまた、多環であることもできる。ヘテロ環基としては、例えば、チオフエン、チアンスレン、フラン、ピラン、イソベンゾフラン、クロメン、キサントレン、フェノキサチン、ピロール、イミダゾール、ピラゾール、イソチアゾール、イソオキサゾール、ピリジン、ピラジン、ピリミジン、ピリダジン、イソインドリジン、イソインドール、インドール、インダゾール、プリン、キノリジン、イソキノリン、キノリン、フタラジン、ナフチリジン、キノキサリン、キナゾリン、シンノリン、プテリジン、カルバゾール、カルボリン、フェナントリジン、アクリジン、ピリミジン、フェナントロリン、フェナジン、フェナルサジン、フェノチアジン、フラザン、フェノキサジン、ピロリジン、オキサラン、チオラン、オキサゾール、ペペリジン、ペペラジン、モルホリン、ラクトン、アゼチジノンおよびピロリジノンなどのラクタム、スルタム、サルトンなどが挙げられる。ヘテロ環式環は、1以上の位置において上記の置換基、例えば、ハロゲン、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホナート、ホスフィナート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、アルキルスルホニル、アリアルスルホニル、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロ環、芳香族もしくはヘテロ芳香族部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ などと置換され得る。

20

30

【0033】

用語「多環」または「多環基」は、2以上の炭素原子が2つの結合環に共通している（例えば、そのような環は「融合環」である）、2以上の環（例えば、シクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリアル、および/またはヘテロ環）を意味する。隣接しない原子を介して結合する環は、「架橋された」環と呼ばれる。多環の環のそれぞれは、上記のような置換基、例えば、ハロゲン、アルキル、アラルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヒドロキシル、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミノ、ホスホナート、ホスフィナート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、アルキルスルホニル、アリアルスルホニル、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロ環、芳香族もしくはヘテロ芳香族部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ などと置換される。

40

【0034】

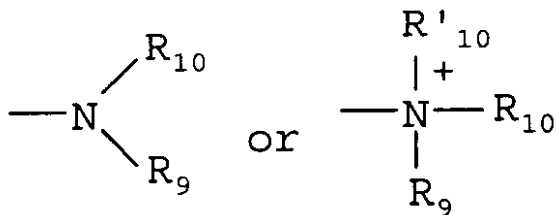
本明細書において用いられている用語「ニトロ」は、 $-NO_2$ を意味する。用語「ハロゲン」は、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$ または $-I$ を表す。用語「スルフヒドリル」は、 $-SH$ を意味する。用語「ヒドロキシ」および「ヒドロキシル」は、 $-OH$ を意味する。そして、用語「スルホニル」は、 $-SO_2-$ を意味する。

【0035】

50

用語「アミン」および「アミノ」は、当該技術分野において認識されており、置換されていない、および置換されたアミン、例えば、下記の一般式によって表され得る部分を言う。

【化4】



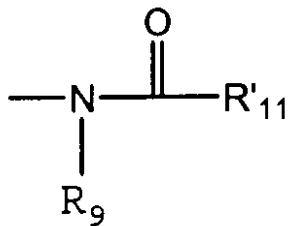
10

式中、 R_9 、 R_{10} および R'_{10} は、それぞれ個別に原子価の法則によって許容される基を表す。

【0036】

用語「アシルアミノ」は、当該技術分野において認識されており、下記の一般式によって表され得る部分を言う。

【化5】



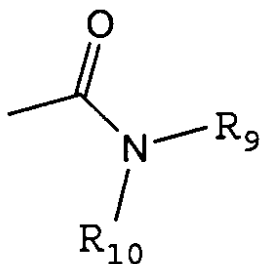
20

式中、 R_9 は上述したとおりであり、 R'_{11} は、水素、アルキル、アルケニルまたは $-(\text{CH}_2)_m - \text{R}_8$ を表し、ここで m および R_8 は上で定義したとおりである。

【0037】

用語「アミド」は当該技術分野においてアミノ置換されたカルボニルとして認識されており、下記の一般式によって表され得る部分を言う。

【化6】



30

式中、 R_9 および R_{10} は、上で定義したとおりである。アミドの好ましい態様は、不安定かもしれないイミドを含まない。

【0038】

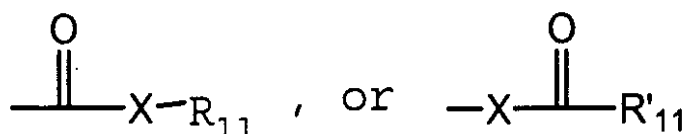
用語「アルキルチオ」は、上で定義したように、それに付着した硫黄ラジカルを持つアルキル基を言う。好ましい態様において、「アルキルチオ」部分は、 $-S-$ アルキル、 $-S-$ アルケニル、 $-S-$ アルキニルおよび $-S-(\text{CH}_2)_m - \text{R}_8$ (m および R_8 は、上で定義したとおりである) のいずれかによって表される。代表的なアルキルチオ基は、メチルチオ、エチルチオなどを含む。

【0039】

用語「カルボニル」は、当該技術分野において認識されており、下記の一般式で表すことができる部分を含む。

40

【化7】



式中、Xは、結合であり、酸素または硫黄を表し、 R_{11} は、水素、アルキル、アルケニル、 $-(CH_2)_m-R_8$ もしくは薬学的許容される塩を表し、 R'_{11} は、水素、アルキル、アルケニルもしくは $-(CH_2)_m-R_8$ （ m および R_8 は、上で定義したとおり）を表す。Xが酸素であり、 R_{11} または R'_{11} が水素でないとき、式は「エステル」を表す。Xが酸素であり、 R_{11} が上記したとおりであるとき、部分は、本明細書においてカルボキシル基と呼ぶ。特に、 R_{11} が水素であるとき、該式は、「カルボン酸」を表す。Xが酸素であり、 R'_{11} が水素であるとき、該式は「ホルマー」を表す。一般的に、上記式の酸素原子を硫黄で置換した場合、該式は「チオールカルボニル」基を表す。Xが硫黄であり、 R_{11} または R'_{11} が水素でないとき、該式は「チオールエステル」を表す。Xが硫黄であり、 R_{11} が水素であるとき、該式は、「チオールカルボン酸」を表す。Xが硫黄であり、 R'_{11} が水素であるとき、該式は、「チオールホルマー」を表す。一方、Xが結合であり、 R_{11} が水素でないとき、上記式は「ケトン」基を表す。Xが結合であり、 R_{11} が水素であるとき、上記式は「アルデヒド」基を表す。

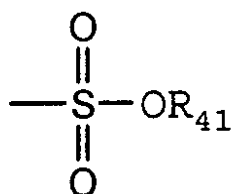
【0040】

本明細書において用いられている用語「アルコキシル」または「アルコキシ」は、上で定義したように、それに付着した酸素ラジカルを持つアルキル基を言う。代表的なアルコキシ基としては、メトキシ、エトキシ、プロピルオキシ、第3ブトキシなどがある。「エーテル」は、酸素によって共有結合した2つの炭化水素である。したがって、アルキルの置換基は、そのアルキルに対してエーテルを付与するか、またはアルコキシルに類似する。例えば、 $-O-$ アルキル、 $-O-$ アルケニル、 $-O-$ アルキニル、 $-O-(CH_2)_m-R_8$ （ m および R_8 は、上で定義したとおりである）である。

【0041】

用語「スルホン酸塩」は、当該技術分野において認識されており、下記の一般式で表すことができる部分を含む。

【化8】



式中、 R_{41} は、電子対、水素、アルキル、シクロアルキル、またはアリールである。

【0042】

用語トリフリル (triflyl)、トシル (tosyl)、メシル (mesyl) およびノナフリル (nonaflyl) は、当該技術分野において認識されており、トリフルオロメタンスルホニル、 p -トルエンスルホニル、メタンスルホニル、およびノナフルオロブタンスルホニル基をそれぞれ示す。用語トリフラート、トシラート、メシラート、およびノナフラート (nonaflyate) は、当該技術分野において認識されており、トリフルオロメタンスルホン酸エステル、 p -トルエンスルホン酸エステル、メタンスルホン酸エステル、およびノナフルオロブタンスルホン酸エステル官能基および前記基を含有する分子をそれぞれ示す。

【0043】

略語 Me、Et、Ph、Tf、Nf、Ts、Ms は、メチル、エチル、フェニル、トリフルオロメタンスルホニル、ノナフルオロブタンスルホニル、 p -トルエンスルホニル、

10

20

30

40

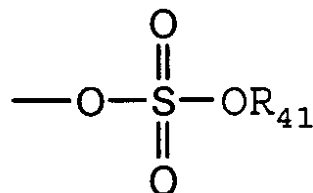
50

およびメタンスルホニルをそれぞれ表す。通常の技量を有する有機化学者によって用いられている、より総合的な略語のリストは、Journal of Organic Chemistryの各版の第1刊に記載されている。このリストは典型的に、Standard List of Abbreviationsというタイトルの表中に示されている。前記リストに含まれている略語、および通常の技量を有する有機化学者によって用いられている略語の全てを本明細書において引用によって援用する。

【0044】

用語「硫酸塩」は、当該技術分野において認識されており、下記の一般式で表すことができる部分を含む。

【化9】



10

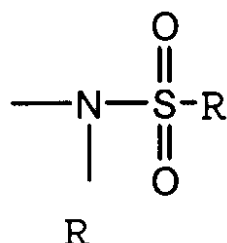
式中、 R_{41} は、上で定義したとおりである。

【0045】

用語「スルホニルアミノ」は、当該技術分野において認識されており、下記の一般式で表すことができる部分を含む。

20

【化10】

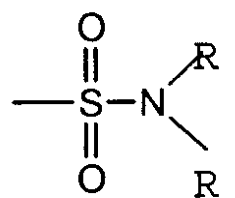


30

【0046】

用語「スルファモイル」は、当該技術分野において認識されており、下記の一般式で表すことができる部分を含む。

【化11】

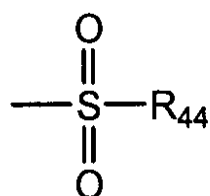


40

【0047】

本明細書において用いられている「スルホニル」は、下記の一般式で表すことができる部分を含む。

【化12】



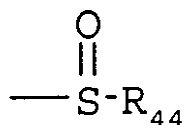
50

式中、 R_{44} は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アリール、またはヘテロアリールからなる群から選択される。

【0048】

本明細書において用いられている「スルホキッド」は、下記の一般式で表すことができる部分を用いる。

【化13】



10

式中、 R_{44} は、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アルキル、またはアリールからなる群から選択される。

【0049】

「セレンアルキル」は、置換されたセレン基が付着したアルキル基を意味する。アルキル上で置換され得る「セレンエーテル」の例としては、 $-Se-$ アルキル、 $-Se-$ アルケニル、 $-Se-$ アルキニル、および $-Se-(CH_2)_m-R_7$ (m および R_7 は上で定義したとおりである) から選択される。

【0050】

類似の置換を行ってアルケニルおよびアルキニル基を、例えば、アミノアルケニル、アミノアルキニル、アミドアルケニル、アミドアルキニル、イミノアルケニル、イミノアルキニル、チオアルケニル、チオアルキニル、カルボニル置換アルケニルまたはアルキニルを生成することができる。

20

【0051】

本明細書において記載されているように、例えば、アルキル、 m 、 n などの各表現の定義は、それがあらゆる構造に複数回発生するとき、同じ構造中の他の箇所のその定義とは独立していることが意図される。

【0052】

「置換」または「 \sim で置換された」は、そのような置換が、その置換された原子および置換基の許容される原子価にしたがっていること、および置換の結果、例えば、再組み換え、環形成、除去などの変性を自発的に行わない安定した化合物が得られるという暗黙の条件を含んでいることが理解されるであろう。

30

【0053】

本明細書において用いられている用語「置換された」は、有機化合物の全ての許容可能な置換基を含むことを意図している。広い局面において、許容可能な置換基は、非環式および環式、枝分かれしているおよび枝分かれしていない、炭素環式およびヘテロ環式、芳香族および非芳香族基の置換基を含む。例示の置換基は、例えば、本明細書において上記したものを含む。許容可能な置換基は、1もしくは複数の、および同じもしくは異なる適切な有機化合物とすることができる。本発明の目的において、窒素などのヘテロ原子は、水素置換基、および/または、本明細書に記載した、該ヘテロ原子の原子価を満たすあらゆる有機化合物の許容可能な置換基を含むことができる。本発明は、許容可能な、有機化合物の置換基によって、いかなる方法においても制限されることを意図していない。

40

【0054】

本明細書において用いられているフレーズ「保護基」は、潜在的に反応性のある官能基を望ましくない化学的変性から保護する一時的な置換基を意味する。そのような保護基の例としては、カルボン酸のエステル、アルコールのシリルエーテルおよびアセタール、ならびにアルデヒドのケタールおよびケトンを含め、保護基化学の分野は概説されている (Greene, T.W.; Wuts, P.G.M. Protective Groups in Organic Synthesis, 2nd ed.;

Wiley: New York, 1991)。

50

【 0 0 5 5 】

本発明のいくつかの化合物は、特定の幾何学形状または立体異性体形状で存在し得る。本発明は、シス - およびトランスアイソマー、R - およびS - エナンチオマー、ジアステレオマー、(d) - アイソマー、(l) - アイソマー、そのラセミ混合物、およびその他の混合物を含む全てのそのような化合物を本発明の範囲であると考えている。さらに非対称的な炭素原子は、アルキル基などの置換基に存在することができる。そのような全てのアイソマーならびにその混合物は、本発明に含まれることが意図されている。

【 0 0 5 6 】

例えば、本発明の化合物の特定のエナンチオマーが望ましい場合、それは非対称合成、またはキラル補助によって調製してもよい。ここでは、得られたジアステレオマー混合物が分離され、補助基が切断され、純粋な所望のエナンチオマーが提供される。あるいは、分子がアミノなどの塩基性官能基、またはカルボキシルなどの酸性官能基を含有する場合、ジアステレオマー塩は、適切な、任意に活性のある酸または塩基を用いて形成され、当該技術分野において公知の分別結晶作用またはクロマトグラフィーの手段によって形成されたジアステレオマーを溶解させ、その後純粋なエナンチオマーが回収される。

【 0 0 5 7 】

上記した化合物と均等であると考えられているものとして、それに対応し、同じ一般的な特性(例えば、鎮痛剤として機能する)を有し、化合物の有効性に悪影響を及ぼさない1以上の単純な置換基の変形がシグマ受容体との結合中に形成されている化合物を含む。一般的に、本発明の化合物は、例えば、下記の一般的な反応スキームに示されている方法によって、またはその変形例によって、容易に入手可能な開始物質、試薬および従来の合成手順を用いて、調製することができる。これらの反応においては、公知であるが、ここに記載していない変形例を使用することも可能である。

【 0 0 5 8 】

本発明の目的において、化学元素は、CAS版、Handbook of Chemistry and Physics, 第67刷、1986~87年の裏表紙に記載の元素周期表によって確認される。

【 0 0 5 9 】

p-ヒドロキシ-ミルナシプランの個別のエナンチオマーの合成

4 - メトキシベンジルシアニドとエナンチオマーとして純粋なエピクロルヒドリン(図1)(双方とも市販されており入手可能)の縮合反応によって、対応するラクトンCS1590およびCS1591を十分な収率で取得した。引き続いて、ブチルリチウムおよびジエチルアミンから生成されたリチウムジエチルアミドの存在下でラクトンを切断し、CS1608と対応するエナンチオマーをそれぞれ供給した。1級アルコールCS1608およびCS1609のアジドCS1628およびCS1648への変換は、対応するメシラートのin situ生成、それに続く、アジ化ナトリウムとの求核性の置き換えによって、ポット処理において達成された。このプロトコルの後、所望のアジドが収率36~40%で得られた。続いて、ホウ素トリプロミドの存在下で、-30で48時間、保護基の除去を行い、脱保護されたフェノールCS1649およびCS1658を収率66%で得た。標準的な反応条件下でのCS1649およびCS1658のアジド部分の最終的な還元によって、所望の標的化合物CS1665およびCS1710が得られた。ジオキサン中で塩酸を使用して、塩酸塩の調製を行い、続いて溶媒を除去した。

【 0 0 6 0 】

エナンチオマーの分解方法

個別のエナンチオマーの別の単離手順は、エナンチオマーのラセミ混合物からの溶解によるものである。今日、陽イオン性薬物のキャピラリー電気泳動法によるキラル分離は、負に帯電したシクロデキストリン(CD)を、流れる緩衝液に付加することによって行われる。一方、陰イオン性または中性薬物の分離は、二重性CD系(中性CDおよび帯電性CDの混合物)の使用が必要である。いくつかの塩基性薬物(イダゾキサン、エファロキサン(efaroxan)、ミルナシプラン)のキラル分離は、硫酸塩d - -CD(S - -CD)およびヒドロキシプロピル - -CD(HP - -CD)との混合物を用いて研究さ

10

20

30

40

50

れてきた。下記のパラメータ（中性CDの性質および濃度、S - - CDの濃度）が、多くの分離ファクター（電気泳動移動度、選択性、効率性、非対称ファクター、分解能）に及ぼす影響は、第2の移動エナンチオマーの対称性を向上させるために二重CD系が塩基性薬物のキラル分離に有用であることを示している。実際、中性のCDは、移動回転による電気移動の範囲を減少させる。最終的に、0.5 mg / mLのS - - CDと5 mg / mLのHP - - CD二重系がイダゾキサノンエファロキサノンおよびミルナシプランエナンチオマーを9分未満でキラル分離させた。Grard, S. et al. Electrophoresis 2000, 21, 3028-3034を参照されたい。

【0061】

生物学的活性の分析

CS1814、CS1713、CS1714および種々の参照化合物の生物学的試験の結果を図32～62に示す。CS1814（バイアル番号1）、CS1713（バイアル番号2）およびCS1714（バイアル番号3）を種々の放射性リガンド結合アッセイでCYP450 3A4を10 μMの開始濃度での阻害について評価した。図59および60に示したように、セロトニン輸送体結合部位（バイアル番号1、 $K_i = 6.73 \text{ nM}$ 、バイアル番号2、 $K_i = 3.88 \text{ nM}$ 、バイアル番号3、 $K_i = 8.15 \text{ nM}$ ）およびノルエピネフリン輸送体結合部位（バイアル番号1、 $K_i = 0.218 \mu\text{M}$ 、バイアル番号2、 $K_i = 0.112 \mu\text{M}$ 、バイアル番号3、 $K_i = 1.68 \mu\text{M}$ ）からの放射性リガンドのズレに関して、有意な活性（50%）が認められた。

【0062】

さらに、セロトニンおよびノルエピネフリン摂取の阻害に関して、CS1713（バイアル番号2）、CS1714（バイアル番号3）およびCS1814（バイアル番号1）を評価した。

【0063】

図61に示されているように、CS1814（バイアル番号1）は、セロトニンおよびノルエピネフリン摂取の阻害はほぼ等しかった（ノルエピネフリンについては、 $IC_{50} = 28.6 \text{ nM}$ 、セロトニンについては、 $IC_{50} = 21.7 \text{ nM}$ ）。興味深いことに、CS1713（バイアル番号2）は、セロトニン摂取よりもノルエピネフリン摂取に対してより強力な阻害剤である（ノルエピネフリンについては、 $IC_{50} = 10.3 \text{ nM}$ 、セロトニンについては、 $IC_{50} = 22 \text{ nM}$ ）。対照的に、CS1714（バイアル番号3）は、ノルエピネフリン摂取と比較して、セロトニン摂取に対してより強力な阻害剤である（ノルエピネフリンに対しては、 $IC_{50} = 88.5 \text{ nM}$ 、セロトニンに対しては、 $IC_{50} = 40.3 \text{ nM}$ ）。CS1713（バイアル番号2）がノルエピネフリン摂取のより強力な阻害剤であるという事実は、ノルエピネフリン摂取に関する疾患の優れた治療薬であることを示すものである。さらに、CS1714（バイアル番号3）は、セロトニン摂取の選択的阻害を必要とする治療条件にとって有用である。

【0064】

重要なことに、10 μMでは、CS1713（バイアル番号2）、CS1714（バイアル番号3）またはCS1814（バイアル番号1）について、細胞毒性は認められなかった。さらに、CS1814（バイアル番号1）は、ノルエピネフリンおよびセロトニン受容体の選択的阻害剤である。CS1814が通常他の受容体と結合しないという事実は、図32および33に示すように、実質的に、患者に対して当該化合物を投与することに関する否定的な副作用のリスクを減少させることを示す。したがって、CS1713およびCS1714は、有害な副作用を持たないであろう。

【0065】

本発明の化合物および方法

いくつかの態様において、本発明の化合物は、下記式Aで表された単離された化合物である。

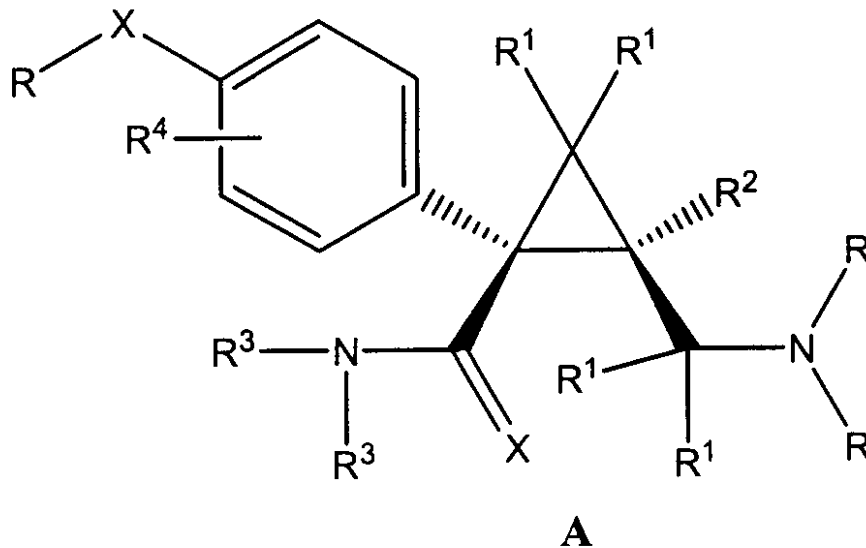
10

20

30

40

【化14】



10

式中、Xは、それぞれ個別に、O、S、またはNRを表し、
Rは、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、ホルミル、アシル、シリル、(アルキルオキシ)カルボニル、(アリーロキシ)カルボニル、(アリールアルキルオキシ)カルボニル、(アルキルアミノ)カルボニル、(アリールアミノ)カルボニル、(アリールアルキルアミノ)カルボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、または $-(CH_2)_m-R_{80}$ を表し、

20

R^1 は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシル、アリーロキシ、アリールアルキルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アリールアルキルアミノ(arylakylamino)、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、アリールアルキルチオ(arylakylthio)、ニトロ、アジド、アルキルセレノ、ホルミル、アシル、カルボキシル、シリル、シリルオキシ、(アルキルオキシ)カルボニル、(アリーロキシ)カルボニル、(アリールアルキルオキシ)カルボニル、(アルキルアミノ)カルボニル、(アリールアミノ)カルボニル、(アリールアルキルアミノ)カルボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、または $-(CH_2)_m-R_{80}$ を表し、

30

R^2 は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、または $-(CH_2)_m-R_{80}$ を表し、

R^3 は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、または $-(CH_2)_m-R_{80}$ を表し、

R^4 は、1~4回存在する、または存在しない、

R^4 は、もし存在すれば、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシル、アリーロキシ、アリールアルキルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アリールアルキルアミノ(arylakylamino)、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、アリールアルキルチオ(arylakylthio)、ニトロ、アジド、アルキルセレノ、ホルミル、アシル、カルボキシル、シリル、シリルオキシ、(アルキルオキシ)カルボニル、(アリーロキシ)カルボニル、(アリールアルキルオキシ)カルボニル、(アルキルアミノ)カルボニル、(アリールアミノ)カルボニル、(アリールアルキルアミノ)カルボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、または $-(CH_2)_m-R_{80}$ を表し、

40

R_{80} は、それぞれ個別に、アリール、シクロアルキル、シクロアルケニル、ヘテロアシル、またはポリシクリル部分を表し、

50

mは、それぞれ個別に、0～8の間の整数であり、そして化合物は、単一のエナンチオマーであり;または、それらの薬学的に許容される塩もしくはプロドラッグである。

【0066】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Aおよび付属の定義によって表され、XはOを表す。

【0067】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Aおよび付属の定義によって表され、RはHを表す。

【0068】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Aおよび付属の定義によって表され、R¹はHを表す。

【0069】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Aおよび付属の定義によって表され、R²はHを表す。

【0070】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Aおよび付属の定義によって表され、R³はアルキルを表す。

【0071】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Aおよび付属の定義によって表され、R⁴は存在しない。

【0072】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Aおよび付属の定義によって表され、XはOを表し、RはHを表す。

【0073】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Aおよび付属の定義によって表され、XはOを表し、RはHを表し、R¹はHを表す。

【0074】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Aおよび付属の定義によって表され、XはOを表し、RはHを表し、R¹はHを表し、R²はHを表す。

【0075】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Aおよび付属の定義によって表され、XはOを表し、RはHを表し、R¹はHを表し、R²はHを表し、R³はアルキルを表す。

【0076】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Aおよび付属の定義によって表され、XはOを表し、RはHを表し、R¹はHを表し、R²はHを表し、R³はアルキルを表し、R⁴は存在しない。

【0077】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Aおよび付属の定義によって表され、RはHを表し、R¹はHを表し、R²はHを表し、R³はエチルを表し、R⁴は存在しない。

【0078】

哺乳動物GPCRに基づくアッセイにおいて、構造Aによるいくつかの化合物において、IC₅₀値は、10μM未満、より好ましくは1μM未満、さらに好ましくは100nM未満、そして最も好ましくは10nMである。

【0079】

哺乳動物GPCRに基づくアッセイにおいて、構造Aによるいくつかの化合物において、EC₅₀値は、10μM未満、より好ましくは、μM未満、さらに好ましくは100nM未満、そして最も好ましくは10nMである。

【0080】

10

20

30

40

50

いくつかの態様において、構造 A の化合物は、鬱病に罹患した哺乳動物の治療に有効である。

【0081】

いくつかの態様において、構造 A の化合物は、線維筋痛症に罹患した哺乳動物の治療に有効である。

【0082】

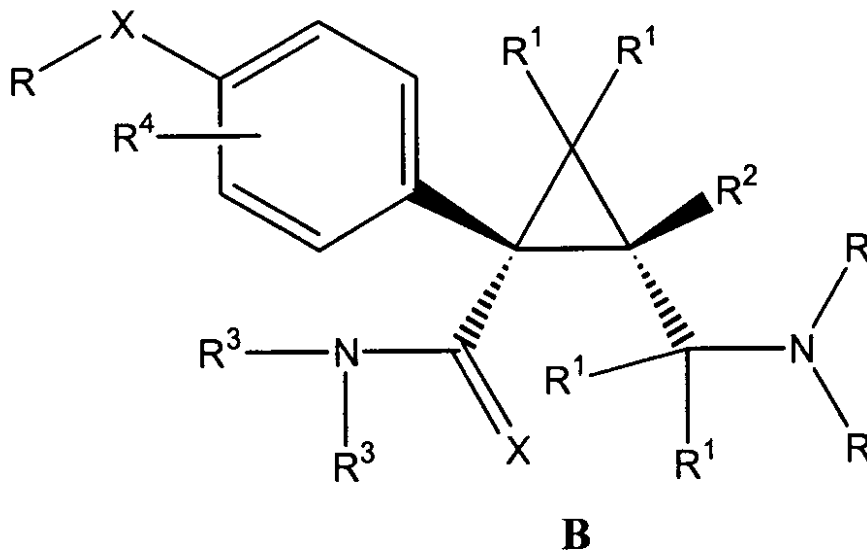
いくつかの態様において、構造 A に示されている化合物は、機能的体細胞性障害、例えば、鬱病、線維筋痛症候群、慢性疲労症候群、痛み、注意欠陥多動性障害、および内臓痛症候群 (VPS)、例えば、過敏性腸症候群 (IBS)、非心臓性胸痛 (NCCP)、機能性消化不良、間質性膀胱炎、本態性外陰痛 (essential vulvodynia)、尿道症候群、睾丸痛、ならびに抑鬱性障害 (主要な抑鬱性障害、胸腺機能不全、非定型の鬱病) および不安障害 (全身性不安障害、恐怖症、強迫性障害、パニック障害、心的外傷後ストレス障害)、月経前不快性障害、顎関節障害、非定型の顔面痛、片頭痛、ならびに緊張性頭痛を含む精神的疾患に罹患した哺乳動物の治療に効果的である。

10

【0083】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、下記式 B で表された単離された化合物である。

【化15】



20

30

式中、X は、それぞれ個別に、O、S、またはNRを表し、
R は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、ホルミル、アシル、シリル、(アルキルオキシ)カルボニル、(アリールオキシ)カルボニル、(アリールアルキルオキシ)カルボニル、(アルキルアミノ)カルボニル、(アリールアミノ)カルボニル、(アリールアルキルアミノ)カルボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、または $-(CH_2)_m-R_{80}$ を表し、

40

R^1 は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アリールアルキルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アリールアルキルアミノ (arylakylamino)、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、アリールアルキルチオ (arylakylthio)、ニトロ、アジド、アルキルセレノ、ホルミル、アシル、カルボキシル、シリル、シリルオキシ、(アルキルオキシ)カルボニル、(アリールオキシ)カルボニル、(アリールアルキルオキシ)カルボニル、(アルキルアミノ)カルボニル、(アリールアミノ)カルボニル、(アリールアルキルアミノ)カルボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、または $-(CH_2)_m-R_{80}$ を表し、

50

R^2 は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、または $-(CH_2)_m-R_{80}$ を表し、

R^3 は、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、または $-(CH_2)_m-R_{80}$ を表し、

R^4 は、1 ~ 4 回存在する、または存在しない、

R^4 は、もし存在すれば、それぞれ個別に、H、アルキル、シクロアルキル、アルケニル、アリール、ヘテロアリール、アリールアルキル、シアノ、ハロゲン、ヒドロキシル、アルコキシル、アリールオキシ、アリールアルキルオキシ、アミノ、アルキルアミノ、アリールアミノ、アリールアルキルアミノ (arylakylamino)、スルフヒドリル、アルキルチオ、アリールチオ、アリールアルキルチオ (arylakylthio)、ニトロ、アジド、アルキルセレノ、ホルミル、アシル、カルボキシル、シリル、シリルオキシ、(アルキルオキシ)カルボニル、(アリールオキシ)カルボニル、(アリールアルキルオキシ)カルボニル、(アルキルアミノ)カルボニル、(アリールアミノ)カルボニル、(アリールアルキルアミノ)カルボニル、アルキルスルホニル、アリールスルホニル、または $-(CH_2)_m-R_{80}$ を表し、

R_{80} は、それぞれ個別に、アリール、シクロアルキル、シクロアルケニル、ヘテロアシル、またはポリシクリル部分を表し、

m は、それぞれ個別に、0 ~ 8 の間の整数であり、そして

化合物は、単一のエナンチオマーであり;または、

それらの薬学的に許容される塩もしくはプロドラッグである。

【0084】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、B および付属の定義によって表され、X はOを表す。

【0085】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、B および付属の定義によって表され、R はHを表す。

【0086】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、B および付属の定義によって表され、 R^1 はHを表す。

【0087】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、B および付属の定義によって表され、 R^2 はHを表す。

【0088】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、B および付属の定義によって表され、 R^3 はアルキルを表す。

【0089】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、B および付属の定義によって表され、 R^4 は存在しない。

【0090】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、B および付属の定義によって表され、X はOを表し、R はHを表す。

【0091】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、B および付属の定義によって表され、X はOを表し、R はHを表し、 R^1 はHを表す。

【0092】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、B および付属の定義によって表され、X はOを表し、R はHを表し、 R^1 はHを表し、 R^2 はHを表す。

【0093】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、B および付属の定義によって表され、X はOを表し、R はHを表し、 R^1 はHを表し、 R^2 はHを表し、 R^3 はアルキルを表す。

10

20

30

40

50

【0094】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Bおよび付属の定義によって表され、XはOを表し、RはHを表し、R¹はHを表し、R²はHを表し、R³はアルキルを表し、R⁴は存在しない。

【0095】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、Bおよび付属の定義によって表され、RはHを表し、R¹はHを表し、R²はHを表し、R³はエチルを表し、R⁴は存在しない。

【0096】

哺乳動物GPCRに基づくアッセイにおいて、構造Bによるいくつかの化合物において、IC₅₀値は、10 μM未満、より好ましくは1 μM未満、さらに好ましくは100 nM未満、そして最も好ましくは10 nMである。

10

【0097】

哺乳動物GPCRに基づくアッセイにおいて、構造Bによるいくつかの化合物において、EC₅₀値は、10 μM未満、より好ましくは、μM未満、さらに好ましくは100 nM未満、そして最も好ましくは10 nMである。

【0098】

いくつかの態様において、構造Bの化合物は、鬱病に罹患した哺乳動物の治療に有効である。

【0099】

いくつかの態様において、構造Bの化合物は、線維筋痛症に罹患した哺乳動物の治療に有効である。

20

【0100】

いくつかの態様において、構造Aに示されている化合物は、機能的体細胞性障害、例えば、鬱病、線維筋痛症候群、慢性疲労症候群、痛み、注意欠陥多動性障害、および内臓痛症候群(VPS)、例えば、過敏性腸症候群(IBS)、非心臓性胸痛(NCCP)、機能性消化不良、間質性膀胱炎、本態性外陰痛(essential vulvodinia)、尿道症候群、睾丸痛、ならびに抑鬱性障害(主要な抑鬱性障害、胸腺機能不全、非定型の鬱病)および不安障害(全身性不安障害、恐怖症、強迫性障害、パニック障害、心的外傷後ストレス障害)、月経前不快性障害、顎関節障害、非定型の顔面痛、片頭痛、ならびに緊張性頭痛を含む精神的疾患に罹患した哺乳動物の治療に効果的である。

30

【0101】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、1S、2R
1-(4-メトキシ-フェニル)-3-オキサ-ビシクロ[3.1.0]ヘキサン-2-オン(CS1590)、1R、2S
1-(4-メトキシ-フェニル)-3-オキサ-ビシクロ[3.1.0]ヘキサン-2-オン(CS1591)、1S、2R
2-ヒドロキシメチル-1-(4-メトキシ-フェニル)-シクロプロパンカルボン酸ジエチルアミド(CS1608)、1R、2S
2-ヒドロキシメチル-1-(4-メトキシ-フェニル)-シクロプロパンカルボン酸ジエチルアミド(CS1609)、1S、2R
2-アジドメチル-1-(4-メトキシ-フェニル)-シクロプロパンカルボン酸ジエチルアミド(CS1628)、1R、2S
2-アジドメチル-1-(4-メトキシ-フェニル)-シクロプロパンカルボン酸ジエチルアミド(CS1648)、1S、2R
2-アジドメチル-1-(4-ヒドロキシ-フェニル)-シクロプロパンカルボン酸ジエチルアミド(CS1649)、1R、2S
2-アジドメチル-1-(4-ヒドロキシ-フェニル)-シクロプロパンカルボン酸ジエチルアミド(CS1658)、1S、2R
2-アミノメチル-1-(4-ヒドロキシ-フェニル)-シクロプロパンカルボン酸ジエチルアミド(CS1665)、1R、2S
2-アミノメチル-1-(4-ヒドロキシ-フェニル)-シクロプロパンカルボン酸ジエチルアミド(CS1710)、およびラセミ型2-アミノメチル-1-(4-ヒドロキシ-フェニル)-シクロプロパンカルボン酸ジエチルアミド(CS1814)からなる群から選択される。

40

50

【 0 1 0 2 】

いくつかの態様において、本発明は、上記概説した構造のいずれかによって表される化合物と、薬学的に許容される添加剤とを含む製剤に関する。

【 0 1 0 3 】

いくつかの態様において、本発明の化合物は、鎮痛剤、抗炎症剤、解熱剤、抗抑鬱剤、抗てんかん薬、抗ヒスタミン剤、抗片頭痛薬、抗ムスカリン作動薬、抗不安剤、鎮静剤、催眠薬、抗精神病薬、気管支拡張剤、抗喘息薬、心臓血管薬、コルチコステロイド、ドーパミン作動薬、電解液、胃腸薬、筋弛緩剤、栄養剤、ビタミン剤、副交感神経作動薬、刺激剤、抗ナルコレプシー薬、および食思減退薬などの他の活性化化合物とともに補助的に投与することができる。

10

【 0 1 0 4 】

本発明の化合物とあわせて、補助的に投与することができる化合物の具体例としては、限定されないが、アセクロフェナク、アセトアミノフェン、アドメキシチン (adomexetine)、アルモトリプタン、アルプラゾラム、アマンタジン、アムシノニド、アミノシクロプロパン、アミトリプチリン、アモロジピン (amolodipine)、アモキサピン、アンフェタミン、アリピラゾール、アスピリン、アトモキシチン、アザセロトニン (azasetron)、アザタジン、ベクロメタゾン、ベナクチジン、ベノキサプロフェン、ベルモプロフェン、ベタメタゾン、ビシファジン (bicyclafadine)、プロモクリプチン、ブデソニド、ブプレノルフィン、ブプロピオン、ブスピロン、ブトルファノール、ブトリプチリン、カフェイン、カルバマゼピン、カルビドopa、カリソプロドール、セレコシブ、クロルジアゼポキシド、クロルプロマジン、サリチル酸コリン、シタロプラム、クロミプラミン、クロナゼパム、クロニジン、クロニタゼン、クロラゼパート、クロチアゼパム、クロキサゾラム、クロザピン、コデイン、コルチコステロン、コルチゾン、シクロペンザプリン、シプロヘプタジン、デメキシプチリン (demexiptiline)、デシプラミン、デソモルフィン (desomorphine)、デキサメタゾン、デキサナビノール、デキストロアンフェタミンスルフェート、デキストロモラミド、デキストロプロボキシフェン、デゾシン、ジアゼパム、ジベンゼピン、ジクロフェナクナトリウム、ジフルニサル、ジヒドロコデイン、ジヒドロエルゴタミン、ジヒドロモルフィン、ジメタクリン、ジバルプロキセス、ジザトリプタン (dizatriptan)、ドラセトロン、ドネペジル、ドチエピン、ドキシピン、デュロキシチン、エルゴタミン、エスシタロプラム、エスタゾラム、エトスクシミド、エトドラク、フェモキシチン、フェナメート、フェノプロフェン、フェンタニル、フルジアゼパム、フルオキシチン、フルフェナジン、フルラゼパム、フルビプロフェン、フルタゾラム、フルボキサミン、フロバトリプタン、ガバペンチン、ガランタミン、ゲピロン、ギンコビルボア (ginkgo bilboa)、グラニセトロン、ハロペリドール、フペルジン A、ヒドロコドン、ヒドロコルチゾン、ヒドロモルホン、ヒドロキシジン、イブプロフェン、イミプラミン、インディプロン、インドメタシン、インドプロフェン、イブリンドール、イブサピロン、ケタセリン、ケトプロフェン、ケトロラク、レスピトロン (lesopitron)、レボドopa、リパーゼ、ロフェプラミン、ロラゼパム、ロクサピン、マプロチリン、マチンドール、メフェナム酸、メラトニン、メリトラセン、メマンチン、メペリジン、メプロバメート、メサラミン、メタプラミン、メタキサロン、メタドン、メタドンメタンフェタミン、メトカルバモール、メチルドopa、メチルフェニデート、メチルサリチラート、メチセルジド、メトクロープラミド、ミアンセリン、ミフェプリストン、ミルナシプラン、ミナプリン、ミルタザピン、モクロベミド、モダフィニル、モリンドン、モルフィン、モルフィンヒドロクロリド、ナブメトン、ナドロール、ナプロキセン、ナラトリプタン、ネファゾドン、ニューロンチン、ノミフェンシン、ノルトリプチリン、オランザピン、オルサラジン、オンダンセトロン、オピプラモール、オルフェナドリン、オキサフロザン (oxaflozane)、オキサプラジン (oxaprazin)、オキサゼパム、オキシトリプタン、オキシコドン、オキシモルフォン、パンクレリパーゼ、パレコシブ (parecoxib)、パロキシチン、ペモリン、ペントゾシン、ペプシン、ペルフェナジン、フェナセチン、フェンジメトラジン、フェンメトラジン、フェニルブタゾン、フェニトイン、ホスファチジルセリン、ピモジド、ピルリンド

20

30

40

50

ール、ピロキシカム、ピゾチフェン、ピゾチリン、パラミペキソール (pramipexole)、プレドニソロン、プレドニソン、プレガバリン、プロパノロール、プロピゼピン (propizepine)、プロボキシフェン、プロトリプチリン、クアゼパム、キヌブラミン (quinupramine)、レボキシチン、レセルピン、リスペリドン (risperidone)、リタンセリン、リバステグミン、リザトリプタン、ロフェコシブ、ロピニロール、ロチゴチン、サルサレート、セルトラリン、シブトラミン、シルデナフィル、スルファサラジン、スリンダク、スマトリプタン、タクリン、テマゼパム、テトラベノジン (tetrabenazine)、チアジド、チオリダジン、チオチキセン、チアプリド、チアシピロン (tiasipirone)、チザニジン、トフェナシン、トルメチン、トロキサトン、トピラメート、トラマドール、トラゾドン、トリアゾラム、トリフルオロペラジン、トリメトベンズアミド、トリミブラミン、トロピセトロン、バルデコシブ (valdecocixib)、バルプロ酸、ベンラファキシン、ピロキサジン、ビタミンE、ジメルジン、ジブラシドン、ゾルミトリプタン、ゾルピデム、およびゾピクロン、ならびにそれらの異性体、塩、および組み合わせが含まれる。

10

【0105】

補助的投与とは、化合物を同じ剤型で同時に投与すること、別個の剤型で同時に投与すること、および化合物を分離して投与することを含む。

【0106】

いくつかの態様において、本発明は、GPCR、例えば、神経伝達物質の受容体、のためのリガンドであって、上で概説した構造および構造に関連するあらゆる定義によって表されるリガンドに関する。いくつかの態様において、本発明のリガンドは、GPCRのアンタゴニスト、アゴニスト、部分的アゴニスト、または逆アゴニストである。いくつかの好ましい態様において、本発明のリガンドは、セロトニンまたはノルエピネフリンまたはその両方の再摂取のアンタゴニストである。どのような場合でも、本発明のリガンドは、約10マイクロモル未満、より好ましくは、約1マイクロモル未満、さらに好ましくは、約100ナノモル未満、そして最も好ましくは、10ナノモル未満の濃度でGPCRに影響を及ぼすことが好ましい。いくつかの好ましい態様において、本発明のリガンドは、約10マイクロモル未満、より好ましくは、約1マイクロモル未満、さらに好ましくは、約100ナノモル未満、そして最も好ましくは、10ナノモル未満の濃度での、セロトニンまたはノルエピネフリンまたはその両方の再摂取のアンタゴニストとなる。

20

【0107】

本発明の化合物は、炎症性、免疫学的、気管支肺の、心血管系の、腫瘍の、またはCNA変性障害の治療において用いることが指示されている。炎症性および/または免疫学的障害、例えば、喘息、気管支炎、もしくはアトピー性疾患（例えば、鼻炎、アトピー性皮膚炎）といった炎症性障害を含む気道の疾患、炎症性腸障害、例えば、クローン病または大腸炎；自己免疫疾患、例えば、多発性硬化症、糖尿病、アテローム性動脈硬化症、乾癬、全身紅はん性エリテマトーデスもしくはリウマチ性関節炎；悪性疾患、例えば、皮膚癌もしくは肺癌；HIV感染もしくはAIDSの経口または局所治療、臓器移植の拒絶反応の阻害には経口または局所治療が好ましい。本発明の化合物は、心不全の治療、および黄斑の浮腫を伴う糖尿病もしくは糖尿病性の網膜症の患者の治療に用いることが指示されている。

30

40

【0108】

本発明の一態様は、炎症性の痛みを持つ患者の治療である。例えば、いくつかのキナーゼ阻害剤を投与することによって、炎症物質カラゲナンに曝された結果生じる急性および慢性の痛覚過敏が有意に軽減する。さらにいくつかのキナーゼ阻害剤を投与することによって、糖尿病、化学療法または外傷性神経損傷による痛覚過敏が減少する。そのような炎症性の痛みは、急性のこともあるし慢性のこともあり、限定されないが、日焼け、リウマチ性関節炎、変形性関節炎、大腸炎、心臓炎、皮膚炎、筋炎、神経炎、および膠原血管病を含む炎症によって特徴付けられる多くの状態に起因し得る。さらに、本発明の化合物を、炎症の直前、炎症が起こっているとき、および炎症後に被験体に対して投与することによって、被験体がそれでもなお経験する急性の痛みおよび慢性の感覚過敏を緩和すること

50

ができる。

【0109】

本発明の別の好ましい態様は、神経障害的な痛みを持つ患者の治療である。そのような患者は、神経根障害、モノニューロパシー、多発性モノニューロパシー、ポリニューロパシーまたはプレオキソパシー（plexopathy）として分類されるニューロパシーを有している可能性がある。これらのクラスの疾患は、限定されないが、外傷、発作、脱髄性疾患、膿瘍、外科手術、切断術、神経の炎症性疾患、灼熱痛、糖尿病、膠原血管病、三叉神経痛、リウマチ性関節炎、体毒素、癌（直接的もしくは遠隔的（例えば、新生物）神経損傷）、慢性アルコール依存症、ヘルペス感染、AIDS、および化学療法を含む種々の神経損傷状態や処置によって引き起こされ得る。痛覚過敏を引き起こす神経損傷は、末端神経またはCNS神経において起こり得る。本発明のこの態様は、いくつかのキナーゼ阻害剤の投与が化学療法または外傷性神経損傷による痛覚過敏を減少するという事実に基づいている。

10

【0110】

本発明の好ましい態様は、本発明の化合物と、1以上のさらなる痛みを軽減する作用物質とを組み合わせた組成物、およびそのような組成物を投与する方法を含む。個別の痛みの薬物療法は、多くのうちの1つの痛みの導入経路のみを妨害するにすぎないため、部分的に有効な痛みの軽減をもたらすだけであることが多い。あるいは、本発明の化合物は、痛みを感じるプロセスの異なる点において作用する、痛み軽減剤（鎮痛剤）と組み合わせることができる。

20

【0111】

線維筋痛症候群は、全身にわたる広範囲の痛みと硬化を特徴とし、重度の疲労と頭痛を伴う慢性の衰弱状態である。世界中の人口の推定2%～4%がそれに罹患し、米国のリウマチ専門医による診断で、変形性関節炎に次いで2番目に多い一般的な診断となっている。この症候群は、有症率が高く、重篤であるにもかかわらず、米国あるいは他の国においてFMSに特異的な治療は承認されていない。本発明の別の好ましい態様は、本発明の化合物の治療的有効量を、それを必要とする哺乳動物に投与することによって、線維筋痛症を治療することに関する。

【0112】

プロドラッグおよび中間物質

最終的な脱保護段階の前に作製することができる、本発明の化合物のいくつかの保護された誘導体は、そのような薬理活性を有していないかもしれないにもかかわらず、非経口的もしくは経口的に投与され、その後体内で代謝され、薬理的に活性のある本発明の化合物となり得るということを当該技術分野の当業者は理解するであろう。そのような誘導体は、したがって、「プロドラッグ」と記載される。さらに、本発明のいくつかの化合物は、本発明の他の化合物のプロドラッグとして機能し得る。批判的に、本発明の化合物のプロドラッグの全ては、本発明の範囲に含まれる。本明細書においてこれまでに記載したような新規な中間物質、および本発明の他の化合物を製造するためのそれらの使用もまた本発明の一部をなしている。

30

【0113】

薬学的組成物

別の局面において、本発明は、1以上の上記薬学的に許容される単体（添加物）および/または希釈剤とともに製剤される上記化合物の治療的有効量を含む薬学的に許容される組成物を提供する。下記に詳細に示すように、本発明の薬学的組成物は、固体もしくは液体剤型で投与するために具体的に製剤することができる。下記に適用されるものを含む。（1）経口投与、例えば、飲薬（水性もしくは非水性溶液、または懸濁液）、錠剤（例えば、頬側、舌下および全身吸収を目標としたもの）、ポーラス、粉末、顆粒、舌に投与するためのパスタ剤；（2）非経口投与、例えば、皮下、筋内、静脈内もしくは硬膜外注射、例えば、無菌溶液もしくは懸濁液、または持続性放出製剤；（3）局所投与、例えば、クリーム、軟膏、または徐放パッチ、または皮膚に適用されるスプレー；（4）腔内もし

40

50

くは腸内投与、例えば、ペッサリー、クリームもしくは泡剤；（５）舌下投与；（６）眼内投与；（７）経皮投与；または（８）経鼻投与。

【 0 1 1 4 】

本明細書において用いられているフレーズ「治療の有効量」は、化合物、材料、または本発明の化合物を含む組成物の、少なくとも動物の細胞のサブポピュレーションにおいて、あらゆる医学的治療に適用可能な合理的な利益/リスク比で、なんらかの所望の治療的効果を生じさせるのに有効な量を意味する。

【 0 1 1 5 】

本明細書において用いられている「薬学的に許容される」というフレーズは、健全な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー反応もしくは他の問題、または合併症を引き起こすことなく、ヒトおよび動物の組織に接触させて用いるのに適した、合理的な利益/リスク比率をもたらす化合物、材料、組成物および/または剤型を意味する。

【 0 1 1 6 】

本明細書において用いられている「薬学的に許容される担体」というフレーズは、対象となる化合物を１つの臓器から、または体の一部から、他の臓器または体の一部へ運ぶ、または輸送することに関与する、薬学的に許容される材料、組成物、または液体もしくは固体の充填剤などの賦形剤、希釈剤、添加剤、または材料をカプセル化する溶媒を意味する。各担体は、製剤の他の成分と相溶性であるという意味で、「許容可能」でなくてはならず、患者に対して有害であってはならない。薬学的に許容される担体として機能することができる材料のいくつかの例としては、（１）ラクトース、グルコースおよびスクロースなどの糖類；（２）トウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプンなどのデンプン；（３）セルロースおよびその誘導体、例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、および酢酸セルロースなど；（４）粉末化されたトラガカント；（５）麦芽；（６）ゼラチン；（７）タルク；（８）カカオ脂や座剤用ワックスなどの添加剤；（９）ピーナッツオイル、綿実油、ベニバナ油、ゴマ油、オリーブオイル、コーン油および大豆油などの油類；（１０）プロピレングリコールなどのグリコール；（１１）グリセリン、ソルビトール、マンニトールおよびポリエチレングリコールなどのポリオール；（１２）オレイン酸エチルやラウリン酸エチルなどのエステル；（１３）寒天；（１４）水酸化マグネシウムや水酸化アルミニウムなどの緩衝剤；（１５）アルギン酸；（１６）発熱因子を含まない水；（１７）等張塩水；（１８）リンゲル溶液；（１９）エチルアルコール；（２０）pH緩衝溶液；（２１）ポリエステル、ポリカーボネートおよび/またはポリ無水化物；ならびに（２２）薬学的製剤に採用される他の非毒性相溶性物質が含まれる。

【 0 1 1 7 】

上記したように、本発明化合物のいくつかの態様は、アミノまたはアルキルアミノなどの塩基性官能基を含有し、したがって、薬学的に許容される酸を用いて薬学的に許容される塩を作製することができる。この意味における用語「薬学的に許容される塩」は、相対的に非毒性の、本発明の化合物の無機および有機酸添加塩を言う。これらの塩は、賦形剤の投与または剤型製造プロセスにおいて、または精製された本発明の化合物をその遊離塩基形態において個別に好適な有機もしくは無機の酸と反応させ、続く精製の間に形成された塩を単離させることによって *in situ* で調製することができる。代表的な塩としては、水素酸塩、ヒドロクロリド硫酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩、酢酸塩、吉草酸塩、オレイン酸塩、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩、ラウリン酸塩、安息香酸塩、乳酸塩、リン酸塩、トシラート、クエン酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、酒石酸塩、ナフチレート (naphthylate)、メシラート、グルコヘプトン酸、ラクトビオネート (lactobionate)、およびラウリルスルホン酸塩などが含まれる (例えば、Berge et al. (1977) "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66:1-19参照)。

【 0 1 1 8 】

対象となる化合物の薬学的に許容される塩としては、従来の非毒性の塩、例えば、非毒性の有機もしくは無機酸からのまたは化合物の４級アンモニウム塩が含まれる。例えば、

10

20

30

40

50

そのような従来の非毒性塩としては、ヒドロクロリド、臭化水素酸、硫酸、スルファミン酸、リン酸、硝酸などの無機酸由来のもの、および酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、ステアリン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、パルミチン酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、フェニル酢酸、グルタミン酸、安息香酸、サリチル酸、スルファニル酸、2 - アセトキシ安息香酸、フマル酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、シュウ酸、イソチオン酸などの有機酸から調製された塩が含まれる。

【0119】

別の場合において、本発明の化合物は、1以上の酸性官能基を含有し、したがって、薬学的に許容される塩基を用いて薬学的に許容される塩を作製することが可能である。これらの例における用語「薬学的に許容される塩」は、相対的に非毒性の、本発明の化合物の無機および有機塩基添加塩を言う。これらの塩は同様に、賦形剤の投与または剤型製造プロセスにおいて、または精製された本発明の化合物をその遊離塩形態において、個別に好適な塩基、例えば、薬学的許容される金属カチオンのヒドロキシド、カーボネートまたは重炭酸塩、アンモニア、または薬学的に許容される有機1級アミン、2級アミン、もしくは3級アミンとを反応させることによって *in situ* で調製することができる。代表的なアルカリ塩またはアルカリ土類塩としては、リチウム、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムおよびアルミニウム塩などがある。塩基添加塩を作製するために有用な代表的な無機アミンとしては、エチルアミン、ジエチルアミン、エチレンジアミン、エタノールアミン、ジエタノールアミン、ピペラジンなどが挙げられる（例えば、Berge et al. の上掲文献参照）。

【0120】

湿潤剤、乳化剤および潤滑剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウムおよびステアリン酸マグネシウム）、ならびに着色剤、剥離剤、コーティング剤、甘味料および香味剤、防腐剤および抗酸化剤もまた組成物中に含むことができる。

【0121】

薬学的に許容される抗酸化剤の例としては、(1)水溶性抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸、システインヒドロクロリド、ナトリウム重硫酸塩、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウムなど；(2)油溶性抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸パルミテート、ブチルヒドロキシアニソール(BHA)、ブチルヒドロキシトルエン(BHT)、レクチン、プロピルプロピルガレート、アルファトコフェノール、など、ならびに(3)メタルキレート剤、例えば、クエン酸、エチレンジアミンテトラ酢酸(EDTA)、ソルビトール、酒石酸、リン酸、などが含まれる。

【0122】

本発明の製剤は、経口、鼻腔内、局所（頬側および舌下投与を含む）、直腸内、膈内、および/または非経口投与に好適なものを含む。該製剤は、都合よく単一の剤型で存在してもよく、また、薬学の分野において公知の方法によって調製されてもよい。担体とともに組み合わせられて単一の剤型を成す活性成分の量は、治療を受ける患者、特定の投与形態によって変わるであろう。担体材料とともに組み合わせられて単一の剤型を成す活性成分の量は、通常、治療効果を生み出す化合物の量であろう。一般的に、100%中、この量は、約1%~約99%、好ましくは約5%~約70%、最も好ましくは、約10%~約30%の活性成分の量となるであろう。

【0123】

いくつかの態様において、本発明の製剤は、シクロデキストリン、リポソーム、胆汁酸などのミセル形成剤、およびポリエステルやポリ無水物などのポリマー担体から選択される添加剤、ならびに本発明の化合物を含む。いくつかの態様において、上記製剤は、本発明の化合物に経口の生物学的利用可能性を付与する。

【0124】

これらの製剤または組成物を調製する方法は、本発明の化合物を、担体および任意に1以上の副成分と結合させることを含む。一般的に、該製剤は、均一かつ緊密に本発明の化

10

20

30

40

50

合物を液体担体もしくは最終的に分割された固体担体もしくはその両方と結合させることによって、さらに必要であれば、その生成物を形づくることによって、調製される。

【0125】

経口投与に好適な本発明の製剤としては、カプセル、カシェ剤、丸薬、錠剤、ロゼンジ（香料基剤、通常は、スクロースおよびアラビアゴムもしくはトラガカントを用いる）、粉末、顆粒、または水性もしくは非水性溶液または懸濁液、または油中水または水中油液体エマルジョン、またはエリキシル剤もしくはシロップ、または香錠（ゼラチンやグリセリンなどの不活性基剤、アラビアゴムもしくはトラガカントを用いる）、および/またはマウス含嗽液などがある。それぞれは、活性成分として所定量の本発明の化合物を含有している。本発明の化合物はまた、ポーラス、舐剤またはパスタ剤として投与することもできる。

10

【0126】

経口投与のための本発明の固体剤型（カプセル、錠剤、丸薬、糖衣丸、粉末、顆粒など）においては、活性成分は、クエン酸ナトリウム、またはリン酸二カルシウム、および/または下記のうちのいずれかといった1以上の薬学的に許容される担体と混合されている。（1）充填剤または拡張剤、例えば、デンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトールおよび/またはケイ酸；（2）結合剤、例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロースおよび/またはアラビアゴム；（3）湿潤剤、例えば、グリセロール；（4）崩壊剤、例えば、寒天 - 寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモやタピオカのデンプン、および炭酸ナトリウムなど；（5）溶解遅延剤、例えば、パラフィン；（6）吸収促進剤、たとえば、4級アンモニウム化合物；（7）湿潤剤、例えば、セチルアルコール、グリセロールモノステアリン酸、および非イオン界面活性剤；（8）吸着剤、例えば、カオリンやベントナイト粘土など；（9）潤滑剤、例えば、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウムおよびそれらの混合物；ならびに（10）着色剤。カプセル剤、錠剤および丸薬の場合、薬学的組成物は、緩衝剤を含んでもよい。同様の種類の固体組成物は、ラクトースや乳糖、ならびに高分子量ポリエチレングリコールなどのような添加剤を用いた、ゼラチン軟カプセルおよびゼラチン硬カプセルにおいて充填剤として用いることができる。

20

【0127】

錠剤は、任意に1以上の副成分を用いて、圧縮または成形によって作製することができる。圧縮された錠剤は、結合剤（例えば、ゼラチンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロース）、潤滑剤、不活性希釈剤、防腐剤、崩壊剤（例えば、ナトリウムデンプングリコレート、または架橋されたナトリウムカルボキシメチルセルロース）、表面活性剤または分散剤）を用いて調製することができる。成形された錠剤は、好適な機械の中で、不活性液体希釈剤で湿らされた粉末化合物の混合物を成形することによって作製することができる。

30

【0128】

本発明の薬学的組成物の錠剤および他の固体剤型、例えば、糖衣丸、カプセル剤、丸薬、および顆粒は、任意に刻みをつけてもよいし、または例えば、腸溶コーティングや薬学的製剤の技術分野において公知の他のコーティングなどのコーティングやシェルによって調製してもよい。それらはまた、例えば、所望の放出プロファイルを提供するためのヒドロキシプロピルメチルセルロースや他のポリマー基質、リポソームおよび/または小球体を、比率を変えて用いて、その内部の活性成分を徐放または制御された放出させるように製剤することもできる。それらは、急速に放出が行われるように製剤することもできる（例えば、フリーズドライ）。それらは、例えば、細菌捕獲フィルターで濾過することによって、または滅菌水に溶解させることができる滅菌固体組成物の形態に滅菌剤を組み込むことによって、または使用直前にいくつかの他の滅菌注射可能媒体を用いて、滅菌することができる。これらの組成物は、任意に不透明化剤を含有してもよく、好ましくは、胃腸管の特定の部分において、任意に徐放によって、活性成分のみを放出する組成物にしても

40

50

よい。使用可能な埋め込み組成物の例としては、ポリマー物質およびワックスがある。活性成分はまた、適切であれば、1以上の上記添加剤を用いて、マイクロカプセル化の形状で作製することもできる。

【0129】

延長放出製剤は、通常、分散系または浸透系として、例えば、“Remington - The science and practice of pharmacy”（第20版、Lippincott Williams

& Wilkins, Baltimore, MD, 2000）に記載のようにして調製することができる。分散系は、典型的に2つの種類のデバイス、リザーバーおよび基質からなり、当該技術分野において公知であり、記載がある。基質デバイスは、通常、薬物を、緩やかにポリマー担体を錠剤形態に溶解させながら圧縮することによって調製することができる。基質デバイスを調製するときに用いられる物質の3つの主なタイプは、不溶性プラスチック、親水性ポリマー、および脂質化合物である。プラスチック材料としては、限定されないが、メチルアクリレート-メチルメタクリレート、ポリビニルクロリド、およびポリエチレンがある。親水性ポリマーとしては、限定されないが、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、およびカルボポール(carbopol) 934、酸化ポリスチレンが含まれる。脂質化合物には、限定されないが、カルナバワックスおよびグリセロールトリステレート(glycerol tristearate)などの種々のワックスが含まれる。

【0130】

あるいは、延長放出製剤は、浸透系を用いて、または半透性のコーティングを剤型に塗布することによって調製することができる。後の場合、所望の薬物放出プロファイルは、透過性の低いコーティング材料と、透過性の高いコーティング材料とを好適な比率で組み合わせることによって達成することができる。

【0131】

上記異なる放出メカニズムを持つデバイスは、単一もしくは複数のユニットを含む最終的な剤型において、組み合わせることができるだろう。複数のユニットの例としては、多層構造の錠剤や、錠剤、ビーズ、顆粒などを含有するカプセルが含まれる。

【0132】

即時放出層を延長放出コアの上部にコーティングを用いて塗布するか、圧縮プロセスを行うか、または延長および即時放出ビーズを含有するカプセルなどの多数のユニット内において、即時放出部を延長放出系に添加することができる。

【0133】

親水性ポリマーを含有する延長放出錠剤を、直接的な圧縮、湿式顆粒化、または、乾式顆粒化プロセスなどの当該技術分野において公知の技法によって調製する。それらの製剤は、通常、ポリマー、希釈剤、結合剤および潤滑剤、ならびに活性のある医薬品成分を組み込んでいる。通常の希釈剤は、多くの異なる種類のデンプンのいくつか、粉末セルロース、特に結晶セルロースおよび微結晶セルロース、糖類(フルクトース、マンニトール、およびスクロース)、穀類の粉末、および類似の食用の粉末、などの不活性の粉末物質を含む。典型的な希釈剤は、例えば、種々のデンプン、ラクトース、マンニトール、カオリン、リン酸カルシウムもしくは硫酸カルシウム、塩化ナトリウムなどの無機塩、および粉末化した糖が含まれる。粉末化したセルロースの誘導体も有用である。典型的な錠剤結合剤は、デンプン、ゼラチン、およびラクトース、フルクトース、グルコースなどの糖類を含む。アラビアゴム、アルギン酸塩、メチルセルロースおよびポリビニルピロリドンを含む、天然および合成ゴムを用いることもできる。ポリエチレングリコール、親水性ポリマー、エチルセルロースおよびワックスを結合剤として用いることもできる。錠剤製剤中、錠剤と押し抜き具がダイ中でくっつかないようにするために、潤滑剤が必要である。潤滑剤は、タルク、ステアリン酸マグネシウム及びステアリン酸カルシウム、ステアリン酸、並びに、硬化植物油等の粘着性の固体から選択される。

【0134】

ワックス材料を含有する延長放出錠剤は、直接ブレンド法、凝結法、および水性分散法などの、通常当該技術分野において公知の方法を用いて調製される。凝結方法において、薬物は、ワックス材料と混合され、スプレー凝結または凝結され、そして、スクリーニングされ、プロセッシングされる。

【 0 1 3 5 】

徐放製剤は、胃の酸環境では不溶性で、小腸の中性環境では可溶性の固形剤型をポリマーの膜でコーティングすることによって作製される。

【 0 1 3 6 】

徐放剤ユニットは、例えば、薬物または薬物含有組成物を選択されたコーティング材料を用いてコーティングすることによって調製することができる。薬物含有組成物は、例えば、カプセルに挿入するための錠剤、コーティングされた「コア剤型」として使用するための錠剤、または、複数の薬物含有ビーズ、錠剤もしくはカプセルに組み込むための粒子もしくは顆粒とすることができる。好ましいコーティング材料は、生物侵食性で、段階的加水分解可能であり、段階的水溶性であり、および/または酵素分解可能であるポリマーを含み、そして従来の「腸溶」ポリマーであることができる。当該技術分野の当業者は理解するであろうが、「腸溶」ポリマーは、胃腸管下部の高 pH 環境においては可溶性であり、または該剤型が胃腸管を通過するときにゆっくりと侵食する。一方、酵素分解可能なポリマーは、胃腸管下部、特に結腸に存在する細菌性酵素によって分解される。徐放を引き起こす好ましいコーティング材料としては、限定されないが、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースアセテートスクシネート、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、メチルセルロース、エチルセルロース、酢酸セルロース、酢酸セルロースフタレート、酢酸セルローストリメリットおよびカルボキシメチルセルロースナトリウムなどのセルロースポリマー；好ましくは、アクリル酸、メタクリル酸、メチルアクリレート、エチルアクリレート、メチルメタクリレートおよび/またはエチルメタクリレート、およびEudragit（登録商標）L 3 0 D - 5 5 および L 1 0 0 - 5 5（pH 5.5 以上で可溶）、Eudragit（登録商標）L - 1 0 0（pH 6.0 以上で可溶）、Eudragit（登録商標）S（高度のエステル化の結果 pH 7.0 以上で可溶）および Eudragits（登録商標）NE, RL および RS（異なる程度の浸透性と拡張性を持つ水不溶性ポリマー）を含むEudragit（登録商標）（Rohm Pharma; Westerstadt, Germany）という商標名で市販されている他のメタクリル樹脂から作製されるアクリル酸ポリマーおよびコポリマー；ポリビニルピロリドン、ビニルアセテート、ビニルアセテートフタレートなどのビニルポリマーおよびコポリマー、ビニルアセテートクロトン酸コポリマー、およびエチレン-ビニルエチルアセテートコポリマー；アゾポリマー、ペクチン、キトサン、アミロースおよびグアルゴムなどの酵素分解性ポリマー；ゼインおよびシェラックが含まれる。異なるコーティング材料の組み合わせを用いることもできる。異なるポリマーを用いた多層コーティングを適用することもできる。

【 0 1 3 7 】

コーティング材料の好ましいコーティング重量は、異なる量の種々のコーティング材料を用いて調製した錠剤、ビーズおよび顆粒の個別の放出プロファイルを評価することによって、当該技術分野の当業者によって容易に変更される。望ましい放出特性をもたらす材料、方法および投与形態の組み合わせについては、当業者が臨床的研究からのみ決定することができる。

【 0 1 3 8 】

コーティング組成物は、可塑剤、顔料、着色料、安定剤、グリダント (glidants) などの従来の添加剤を含むことができる。通常、コーティングの脆弱さを減少させるために可塑剤は存在し、ポリマーの乾燥重量に対して一般的に約 10 重量% ~ 50 重量%である。典型的な可塑剤の例としては、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、トリアセチン、ジメチルフタレート、ジエチルフタレート、ジブチルフタレート、ジブチルセバケート (sebacate)、クエン酸トリエチル、クエン酸トリブチル、アセチルクエン酸トリ

10

20

30

40

50

エチル、ひまし油、およびアセチル化されたモノグリセリドが含まれる。安定剤は、分散中、粒子を安定化するために用いることが好ましい。典型的な安定剤は、ソルビタンエステル、ポリソルベートおよびポリビニルピロリドンなどの非イオン系の乳化剤である。グリダントは、成膜および乾燥中の固着作用を減少させるために用いることが推奨される。そしてそれは通常、コーティング溶液中のポリマー重量の約25重量%~100重量%である。1つの効果的なグリダントは、タルクである。ステアリン酸マグネシウムやグリセロールモノステアリン酸などの他のグリダントも用いることができる。二酸化チタンなどの顔料も用いることができる。シリコン（例えば、シメチコン）などの少量の抗発泡剤もコーティング用組成物に添加することができる。

【0139】

別法として、徐放性錠剤は、薬物を、親水性ポリマーまたは脂質化合物などの好適な材料の基質内に分散させることによって製剤してもよい。親水性ポリマーは、上記のようにセルロース、セルロースエステル、アクリル酸、メタクリル酸、メチルアクリレート、エチルアクリレート、およびビニルのポリマーもしくはコポリマー、または酵素分解可能なポリマーもしくはコポリマーから構成することができる。これらの親水性ポリマーは、徐放性基質を提供するために特に有用である。用いられる脂質化合物は、限定されないが、ワックス（例えば、カルナバワックス）およびグリセロールトリステアリン酸である。一旦、活性成分を基質材料と混合して、混合物を錠剤中に圧縮することができる。

【0140】

本発明の化合物の経口投与用液体剤型は、薬学的に許容されるエマルジョン、マイクロエマルジョン、溶液、懸濁液、シロップおよびエリキシル剤を含む。活性成分に加えて、該液体剤型は、当該技術分野において一般的に用いられる不活性の希釈剤、例えば、水もしくは他の溶媒、可溶化剤および乳化剤、例えば、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、エチルカーボネート、酢酸エチル、ベンジルアルコール、ベンジル安息香酸、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、オイル（特に、綿実油、落花生油、胚芽油、オリーブオイル、ひまし油、およびゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフリルアルコール、ポリエチレングリコール、およびソルビタンの脂肪酸エステル、およびその混合物が含まれる。

【0141】

不活性希釈剤の他に、経口組成物はまた、湿潤剤、乳化剤および懸濁化剤、甘味料、香料、着色剤、香料および防腐剤などのアジュバントも含むことができる。

【0142】

懸濁液は、活性化化合物に加えて、例えば、エトキシ化されたイソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトールおよびソルビタンエステル、微結晶セルロース、アルミニウムメタヒドロキシド、ベントナイト、寒天-寒天およびトラガカントおよびその混合物のような懸濁化剤を含有することができる。

【0143】

本発明の直腸投与または膣投与用の薬学的組成物の製剤は、1以上の本発明の化合物を、例えば、カカオ脂、ポリエチレングリコール、坐剤用ワックスもしくはサリチレートを含み、室温では固体であるが、体温では液体となり、したがって、直腸もしくは膣腔では液体となり活性化化合物を放出させる、1以上の好適な非刺激性の添加剤もしくは担体と混合させることによって調製され得る坐剤である。

【0144】

膣内投与に好適な本発明の製剤はまた、当該技術分野において適切であることが既知の担体を含有する、ペッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、パスタ剤、泡剤またはスプレー製剤が含まれる。

【0145】

局所または経皮投与用の本発明の化合物の剤型は、粉末、スプレー、軟膏、パスタ剤、クリーム、ローション、ゲル、溶液、パッチおよび吸入剤が含まれる。活性化化合物は、必要かもしれない、薬学的に許容される担体および防腐剤、緩衝剤、もしくは噴射剤と、無

10

20

30

40

50

菌条件の下で混合することができる。

【0146】

軟膏、パスタ剤、クリームおよびゲルは、本発明の化合物に加えて、動物油および植物油、オイル類、ワックス、パラフィン、デンプン、トラガカント、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコン、ベントナイト、珪酸、タルクおよび酸化亜鉛、またはそれらの混合物などの添加剤を含有することができる。

【0147】

粉末およびスプレーは、本発明の化合物に加えて、ラクトース、タルク、珪酸、水酸化アルミニウム、珪酸カルシウムおよびポリアミド粉末、またはこれらの物質の混合物などの添加剤を含有することができる。スプレーは、さらに、クロロフルオロカーボネートなどの通常の噴射剤、およびブタンやプロパンなどの揮発性非置換型炭化水素を含有することができる。

10

【0148】

経皮パッチは、本発明の化合物の体へのコントロールされた送達を提供するという更なる利点を有する。そのような剤型は、適切な媒体中に化合物を溶解させるか、または分散させることによって作製することができる。皮膚を介しての化合物の流動を増加させるために吸収増強剤を用いることもできる。そのような流動の速度は、速度制御膜を設けるか、またはポリマー基質またはゲル中に化合物を分散させることによって制御することができる。

【0149】

眼科用製剤、眼内軟膏、粉末、溶液なども、本発明の範囲に含まれると考えられる。

20

【0150】

非経口投与に好適な本発明の薬学的組成物は、1以上の本発明の化合物を、1以上の薬学的に許容される無菌の等張水溶液もしくは非水溶液、分散液、懸濁液、もしくはエマルジョン、または使用直前に無菌の注射可能溶液もしくは分散剤に再構成し得る無菌の粉末と組み合わせて含む。それは、糖、アルコール、抗酸化剤、緩衝剤、静菌薬、製剤を予定されているレシipientの血液と等張にするための溶質、または懸濁化剤もしくは硬化剤を含有することができる。

【0151】

本発明の薬学的組成物に用いることができる好適な水溶性および非水溶性担体の例としては、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコールなど）、および好適なそれらの混合物、オリーブオイルなどの植物油、オレイン酸エチルなどの注入可能な有機エステルが挙げられる。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングを用いることによって、分散剤の場合、必要な粒子サイズを維持することによって、および界面活性剤を使用することによって維持することができる。

30

【0152】

これらの組成物は、防腐剤、湿潤剤、乳化剤、および分散などのアジュバントを含むこともできる。微生物の活動の障害は、種々の抗菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、ソルビン酸フェノールなどを含むことによって確実に行うことができる。糖類、塩化ナトリウムなどの等張剤を組成物に含むことも望ましいかもしれない。さらに、注入可能な剤型の持続性吸収は、アルミニウムモノステアリン酸やゼラチンなど、吸収を遅らせる物質を含むことによってもたらされる。

40

【0153】

いくつかのケースにおいて、薬物の効き目を持続させるために、皮下または筋内注射からの薬物の吸収を遅らせることが望ましい。これは、水溶性の低い結晶性もしくは非結晶性の液体懸濁剤を用いることによって達成してもよい。そのとき、薬物の吸収速度は、溶解の速度に依存し、ひいては、結晶サイズおよび結晶の形状に依存する。別法として、非経口的に投与される薬物の吸収を遅らせることは、油性賦形剤中に薬物を溶解もしくは懸濁させることによって達成することができる。

50

【 0 1 5 4 】

注射可能なデポー製剤は、対象となる化合物を、ポリラクチド - ポリグリコリドなどの生物分解性のポリマー中でマイクロカプセル基質を作製することによって作製することができる。薬物とポリマーの比率、および用いられる特定のポリマーの性質に基づいて、薬物の放出速度を制御することができる。他の生物分解性のポリマーの例としては、ポリ(オルトエステル)およびポリ(無水物)が含まれる。デポー注射可能製剤はまた、体組織に相溶性のリポソームまたはマクロエマルジョン中に薬物をエンタラップすることによって調製することができる。

【 0 1 5 5 】

本発明の化合物を調合薬として、ヒトおよび動物に投与するとき、それ自身または、例えば、0.1 ~ 99.5% (より好ましくは、0.5 ~ 90%) の活性成分を薬学的に許容される担体と組み合わせて含有する薬学的組成物として投与される。

10

【 0 1 5 6 】

本発明の調剤は、経口的、非経口的、局所的、または直腸的に投与される。それらはもちろん、各投与経路のために好適な形状で付与される。例えば、それらは、錠剤またはカプセル形状、注射、吸入剤、眼内ローション、軟膏、坐剤などの、注射、注入もしくは吸入による投与、および坐剤による直腸投与によって投与される。経口投与が好ましい。

【 0 1 5 7 】

本明細書において用いられているフレーズ「非経口投与」および「非経口的に投与される」は、経腸および局所投与以外の投与形態、通常は注射による投与を意味し、それは、限定されないが、静脈内、筋内、動脈内、鞘内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、気管内、皮下、表皮下、関節内、被膜下、クモ膜下、髄腔内、ならびに組織内に注射および注入される。

20

【 0 1 5 8 】

本明細書において用いられている「全身投与」、「全身に投与される」、「末端投与」および「末端に投与される」というフレーズは、化合物、薬物または他の物質の、中枢神経系に直接投与しない投与で、患者の系に入り、代謝などのプロセスを経るような投与、例えば、皮下投与を意味する。

【 0 1 5 9 】

これらの化合物は、ヒトおよび他の動物に、経口、経鼻(例えば、スプレーによる)、経直腸、経膈、非経口、嚢内および局所(粉末、軟膏または滴剤、頬側および舌下を含む)を含めたあらゆる好適な投与経路によって投与される。

30

【 0 1 6 0 】

選択された投与経路とは無関係に、好適な水和された形状で用いられ得る本発明の化合物、および/または本発明の薬学的組成物は、当該技術分野の当業者に公知の従来からの方法によって、薬学的に許容される剤型に製剤される。

【 0 1 6 1 】

本発明の薬学的組成物中の活性成分の実際のレベルは、特定の患者の所望の治療的反応、組成物、および投与形態を、患者に対して毒性をもたらさずに達成するのに有効な活性成分の量を取得するために変化させてもよい。

40

【 0 1 6 2 】

選択された用量レベルは、用いられた本発明の特定の化合物またはエステル、塩またはそのアミドの活性、投与経路、投与時間、用いられた特定の化合物の排出または代謝の速度、治療の継続時間、用いられた化合物と組み合わせて用いられる他の薬剤、化合物、および/または材料、治療を受ける患者の年齢、性別、体重、健康状態、全身的な健康状態、および病歴、および当該技術分野において公知の同様のファクターを含む種々のファクターに依存する。

【 0 1 6 3 】

通常の技量を有する内科医または獣医は、必要とされる薬学的組成物の有効量を容易に決定し、処方することができる。例えば、薬学的組成物中において用いられる本発明の化

50

化合物の用量を、所望の治療効果を達成するために必要なものより低いレベルで開始し、所望の効果を達成するため徐々に用量を増加させることができる。

【0164】

通常、本発明の化合物の好適な1日用量は、治療効果を達成するために有効な最低限の用量となる化合物の用量であろう。そのような有効用量は、通常上記のファクターに依存するであろう。通常、ある患者に対する本発明の化合物の静脈内、脳室内および皮下の用量は、指示した鎮痛剤効果に用いられる場合、体重1kgあたり、1日0.0001~約100mgであろう。

【0165】

望ましければ、活性のある化合物の1日の有効用量は、1日を通して適切な間隔で、任意にユニット剤型で、別個に投与される、2、3、4、5、6またはそれ以上のサブ用量として投与してもよい。

【0166】

本発明の化合物は単独で投与することができるが、該化合物は、薬学的製剤（組成物）として投与することが好ましい。

【0167】

別の局面において、本発明は、治療的有効量の1以上の上記対象となる化合物を含み、1以上の薬学的に許容される担体（添加剤）および/または希釈剤とともに製剤される薬学的に許容される組成物を提供する。下記に詳細に示すように、本発明の薬学的組成物は、固体もしくは液体剤型で投与するために特別に製剤することができる。下記に適用されるものを含む。（1）経口投与、例えば、飲薬（水性もしくは非水性溶液、または懸濁液）、錠剤（例えば、頬側、舌下および全身吸収を目標としたもの）、ポーラス、粉末、顆粒、舌に投与するためのパスタ剤；（2）非経口投与、例えば、皮下、筋内、静脈内もしくは硬膜外注射、例えば、無菌溶液もしくは懸濁液、または持続性放出製剤；（3）局所投与、例えば、クリーム、軟膏、または徐放パッチ、または皮膚に適用されるスプレー；（4）腔内もしくは腸内投与、例えば、ペッサリー、クリームもしくは泡剤；（5）舌下投与；（6）眼内投与；（7）経皮投与；または（8）経鼻投与。

【0168】

本発明の化合物は、他の製剤との類似性によって、ヒトまたは獣医学的医療に使用するのに都合のよいあらゆる投与方法のために製剤することができる。

【0169】

用語「治療」は、予防、治療および治癒をも含むことが意図される。

【0170】

この治療を受ける患者は、霊長類、特にヒトおよび他の哺乳動物、例えば、ウマ、家畜、ブタおよびヒツジなど、ならびに家禽および一般的なペット動物を含んだ、治療を必要とするあらゆる動物である。

【0171】

本発明の化合物は、そのまま、または薬学的に許容される担体との混合物において投与ことができ、ペニシリン、セファロスポリン、アミノグルコシドおよびグリコペプチドなどの殺菌薬と組み合わせて投与することもできる。したがって、組み合わせの治療は、引き続いて投与が行われたとき、最初の投与の治療効果が全て消失してしまわないように、連続的、同時、および別個に化合物を投与することを含む。

【0172】

本発明の活性な化合物の、動物の餌への添加は、活性な化合物の治療的有効量を含む適切な飼料プレミックスを調製し、そのプレミックスを完全な糧食に組み込むことによって達成することができる。

【0173】

あるいは、中間濃縮物または活性成分を含む餌補充剤を餌に混合させることができる。そのような餌プレミックスおよび完全な糧食を調製し、投与する方法は、参照文献に記載されている（例えば、"Applied Animal Nutrition", W.H.

10

20

30

40

50

Freedman and CO., San Francisco, U.S.A., 1969 or "Livestock Feeds and Feeding" O and B books, Corvallis, Ore., U.S.A., 1977)

【 0 1 7 4 】

組み合わせ療法

本発明の化合物は、1以上の治療薬と組み合わせる患者に投与してもよい。補助薬または薬物を主要な薬物と混合して、単一の錠剤、丸薬、カプセル、または非経口投与用の溶液などに製剤してもよい。あるいは、主要な薬物と補助薬を別個の組成物、例えば、別個の錠剤もしくは溶液を介して投与してもよい。主要な薬物は、補助薬と同時に投与してもよく、または主要な薬物は、完全な薬物とともに断続的に投与してもよい。補助薬の用量は、通常、治療を受ける患者の健康状態、所望の治療の範囲、同時に行う治療の性質および種類、もしあれば、治療の頻度および所望の効果の性質を含む多くの要因に依存するであろう。一般的に、補助薬の用量範囲は、体重1kg当たり1日0.001~約250mg/kgであることが多い。体重約70kgの正常の成人では、典型的に体重1kg当たり1日約0.1~約25mg/kgが好ましい。しかしながら、この一般的な用量範囲は、治療を受ける被験体の年齢および体重、意図されている投与経路、投与される特定の薬物などにしたがって変化させる必要がある。2以上の異なる活性剤が治療と組み合わせで使用されているので、各薬物の力価およびそれらを一緒に用いることによって達成される相互作用を考慮しなければならない。しかしながら、用量の範囲の決定および特定の哺乳動物にとっての最適な用量も十分に、本開示の利点を持つ、当該技術分野の当業者の能力の範囲内である。いくつかの態様において、本発明の化合物は、鎮痛剤、抗炎症剤、解熱剤、抗抑鬱剤、抗てんかん薬、抗ヒスタミン剤、抗片頭痛薬、抗ムスカリン作動薬、抗不安剤、鎮静剤、催眠薬、抗精神病薬、気管支拡張剤、抗喘息薬、心臓血管薬、コルチコステロイド、ドーパミン作動薬、電解液、胃腸薬、筋弛緩剤、栄養剤、ビタミン剤、副交感神経作動薬、刺激剤、抗ナルコレプシー薬、および食思減退薬などの他の化合物と組み合わせる投与することができる。

10

20

【 0 1 7 5 】

本発明の別の態様は、本発明の化合物とセロトニン輸送体、ノルエピネフリン輸送体、またはその両方を阻害する1以上の化合物との組み合わせ療法に関する。組み合わせ療法における治療薬の相対的比率は、セロトニン輸送体とノルエピネフリン輸送体に対する阻害の特定のレベルを達成すべく選択される。例えば、いくつかの態様において、セロトニン輸送体とノルエピネフリン輸送体を同じ力価で阻害する組み合わせ療法を用いて、患者を治療することが有用かもしれない。しかしながら、いくつかの態様において、セロトニン輸送体に対する阻害を、ノルエピネフリン輸送体に対する阻害よりも大きくした組み合わせ療法を用いて患者を治療することが有用かもしれない。例えば、いくつかの態様において、ノルエピネフリン輸送体の阻害に対するセロトニン輸送体に対する阻害の比率は2、4、6もしくは10である。あるいは、いくつかの態様において、セロトニン輸送体の阻害に対するノルエピネフリン輸送体に対する阻害の比率は2、4、6もしくは10である。いくつかの態様において、組み合わせ療法は、2つの治療薬を含む。しかしながら、組み合わせ療法は、2より多くの、例えば、3、4、5の治療薬を含むことができるであろう。

30

40

【 0 1 7 6 】

いくつかの態様において、組み合わせ療法は、選択的セロトニン再摂取抑制剤(SSRI)および式AまたはBの化合物を含む。いくつかの態様において、組み合わせ療法は、選択的ノルエピネフリン再摂取抑制剤(SNRI)および式AまたはBの化合物を含む。いくつかの態様において、組み合わせ療法は、SSRI、SNRIおよび式AまたはBの化合物を含む。いくつかの態様において、組み合わせ療法は、少なくとも1つの本発明の化合物、SSRIおよびSNRIを含む。いくつかの態様において、SNRIは、ミルナシプランである。

【 0 1 7 7 】

いくつかの態様において、組み合わせ療法は、CS1713およびSSRIである。い

50

くつかの態様において、組み合わせ療法は、CS1713およびSNRIである。いくつかの態様において、組み合わせ療法は、CS1713、SSRIおよびSNRIである。

【0178】

いくつかの態様において、本発明は、さらにC1814を含むCS1713の上記組み合わせ療法に関する。

【0179】

いくつかの態様において、組み合わせ療法は、CS1714およびSSRIである。いくつかの態様において、組み合わせ療法は、CS1714およびSNRIである。いくつかの態様において、組み合わせ療法は、CS1714、SSRIおよびSNRIを含む。いくつかの態様において、本発明は、本発明は、さらにC1814を含むCS1713の上記組み合わせ療法に関する。

10

【0180】

いくつかの態様において、組み合わせ療法は、CS1814およびSSRIを含む。いくつかの態様において、組み合わせ療法は、CS1814およびSNRIを含む。いくつかの態様において、組み合わせ療法は、CS1814、SSRIおよびSNRIを含む。

【0181】

コンビナトリアルライブラリー

対象となる化合物は、薬学的、アグロケミカルもしくは他の生物学的もしくは医学に関連する活性、または材料に関連する質のスクリーニングを行うためのコンビナトリアルライブラリーを利用する、コンビナトリアルケミストリーの方法を用いて容易に調製される。本発明の目的のためのコンビナトリアルライブラリーは、所望の特性についてスクリーニングすることができる、化学的に関連する化合物の混合物であり、前記ライブラリーは、溶液の形状でもよいし、または固体支持体に共有結合されていてもよい。多くの関連する化合物の、単一の反応における調製は、行う必要のある多くのスクリーニングプロセスを大いに減らし、単純化する。適切な生物学的、薬学的、農薬学的または物理学的特性のスクリーニングは、従来の方法によって行ってもよい。

20

【0182】

ライブラリーの多様化は、種々の異なるレベルで可能である。例えば、コンビナトリアルアプローチに用いられる基質アリール基は、コアアリール部分の点で多様であることができる（例えば、リング構造について多様である）、および/または他の置換基に関して多様であることができる。

30

【0183】

小有機分子のコンビナトリアルライブラリーを作製するためには、当該技術分野における種々の技法を用いることができる。例えば、Blondelle et al. (1995) Trends Anal. Chem. 14:83; Affymaxの米国特許第5,359,115号および第5,362,899号; Eilmanの米国特許第5,288,514号; StillらのPCT国際公開公報WO 94/08051号; Chen et al. (1994) JACS

116:2661; Kerr et al. (1993) JACS

115:252; PCT国際公開公報 W092/10092号、W093/09668号およびW091/07087号; Lerner et alらのPCT国際公開公報 W093/20242号)を参照されたい。したがって、約16~1,000,000以上のダイバーソマーを持つ、種々のライブラリーを合成し、特別の活性もしくは特性についてスクリーニングすることができる。

40

【0184】

ある実施態様において、置換されたダイバーソマー (diversomer) のライブラリーは、StillらのPCT国際公開公報WO

94/08051号に記載の望ましい技法に適用される対象となる反応、例えば、加水分解可能または光分解可能基によるポリマービーズに結合させる、例えば、基質の部分基質の1つに位置づけるといった反応を用いて合成することができる。Stillらの技法によれば、ライブラリーは、1セットのビーズ上に合成される。各ビーズは、ビーズ上の特別のダイバーソマーを同定する1セットのタグを含んでいる。酵素阻害剤を発見するために特に好適な

50

ある態様において、該ビーズは、浸透膜の表面に分散させることができ、ダイバーソマーは、ビーズリンカーの溶解によってビーズから放出され得る。各ビーズからのダイバーソマーは、膜を超えてアッセイ帯域まで分散し、酵素アッセイと相互作用することになる。多くのコンビナトリアル方法の詳細な説明を以下に示す。

【 0 1 8 5 】

A . 直接的な特徴づけ

コンビナトリアルケミストリーの分野において増大している傾向は、例えば、化合物のサブフェムトモル量の特徴を調べる、および直接的にコンビナトリアルライブラリーから選択された化合物の化学的構造を決定するために用いることができるマススペクトロメトリー (MS) などの技法の開発である。例えば、ライブラリーが、不溶性支持体基質上に設けられている場合、化合物の別個のポピュレーションをまず最初に支持体から放出させ、MSによって特徴付けることができる。別の態様において、MSサンプル調製技法の一部として、そのようなMS技法をMALDIとして使用して、特に、当初から化合物を基質につなぐために、不安定な結合が用いられている場合に、基質から化合物を放出させることができる。例えば、ライブラリーから選択されたビーズは、MALDIステップにおいて、基質からダイバーソマーを放出し、MS分析するために該ダイバーソマーをイオン化するために、照射することができる。

【 0 1 8 6 】

B) マルチピン合成

当該方法のライブラリーは、マルチピンライブラリーフォーマットを用いることができる。簡潔に言えば、Geysenと共同研究者 (Geysen et al. (1984) PNAS 81:3998-4002) は、マイクロタイタープレートフォーマットに配列されたポリアクリル酸グレート (grated) ポリエチレンピン上でのパラレル合成によって化合物ライブラリーを作製する方法を導入した。Geysenの技法を使用して、マルチピン法を用いて、1週間に数千もの化合物を合成およびスクリーニングすることができる。そして、結合された化合物は、多くのアッセイにおいて再利用することができる。適切なリンカー部分をピンに付加して用い、純度の評価およびさらなる評価を行った後、化合物を支持体から切断してもよい (Bray et al. (1990) Tetrahedron Lett 31:5811-5814; Valerio et al. (1991) Anal Biochem 197:168-177; Bray et al. (1991) Tetrahedron Lett 32:6163-6166 参照)。

【 0 1 8 7 】

C) 分割 - 結合 - 組換え

さらに別の態様において、化合物の多様なライブラリーは、分割 - 結合 - 組換え法を用いて、1セットのビーズ上に設けることができる (例えば、Houghten (1985) PNAS 82:5131-5135; and 米国特許第4,631,211号; 第5,440,016号; 第5,480,971号参照)。簡潔に述べれば、名前が示唆しているように、縮退がライブラリーに導入される各合成ステップにおいては、ビーズをライブラリーの特定の位置に付加されるべき異なる置換基の数と等しい別個のグループに分割して入れ、別個の反応において異なる置換基を結合し、そして次の反復のために1つのプールに組み込んだ。

【 0 1 8 8 】

ある態様において、Houghtenが最初に開発した、内部の多孔性のポリプロピレンバッグに密閉された樹脂上で化合物の合成が行われる、いわゆる「ティーバッグ」法に類似するアプローチを用いた分割 - 結合 - 組換え法を用いることができる (Houghten et al. (1986) PNAS 82:5131-5135)。バッグを適切な反応溶液に置くことによって、置換基を化合物を持つ樹脂に結合する。一方、全てに共通のステップ、例えば、樹脂洗浄や脱保護は、1つの反応容器において同時に行われる。合成が終わったとき、各バッグは、単一の化合物を含有している。

【 0 1 8 9 】

D) 光指示、空間アドレス可能なパラレル化学合成によるコンビナトリアルライブラリー

二

合成基質上のその位置によって化合物の同定がなされるコンビナトリアル合成のスキームを空間アドレス可能合成と呼ぶ。ある態様において、コンビナトリアルプロセスは、化学的試薬を、固体支持体の特異的な位置への添加をコントロールすることによって行うことができる (Dower et al. (1991) Annu Rep Med Chem 26:271-280; Fodor, S.P.A. (1991) Science 251:767; Pirrung et al. (1992) 米国特許第5,143,854号; Jacobs et al. (1994) Trends Biotechnol 12:19-26)。フォトリソグラフィーの空間分解能によって小型化が可能になる。この技法は、感光性保護基を用いた保護/脱保護反応によって行うことができる。

10

【0190】

この技法のキーポイントは、Gallop et al. (1994) J Med Chem 37:1233-1251に示されている。合成基質は、感光性ニトロベラトリルオキシカルボニル (NVOC) 保護アミノリンカーまたは他の感光性リンカーの共有結合的付着を介して結合するために調製される。結合のための合成支持体の特異的な領域を活性化するために光が選択的に用いられる。感光保護基を光によって除去 (脱保護) した結果、選択された領域が活性化される。活性化の後、それぞれ感光性保護基をアミノ末端に有している第1のアミノ酸アナログのセットを表面全体に曝露する。先行するステップにおいて、光によってアドレス指定された領域にのみ結合が生じる。反応を止め、プレートを洗浄し、基質を第2のマスクを介して再び照射し、第2の保護構築ブロックを用いた反応の異なる領域を活性化

20

【0191】

光指向型化学合成において、生成物は、その照射パターンおよび反応物の添加のレベルに依存する。リソグラフィーのパターンを変化させることによって、多くの異なるセットの試験化合物を同時に合成することができる。この特徴によって、多くの異なるマスクング法を作り出すことになる。

30

【0192】

E) コードされたコンビナトリアルライブラリー

さらに別の態様において、対象となる方法は、コードされたタグシステムを備えた化合物ライブラリーを使用する。近年、所与のピーズの反応ステップを独自にコードするタグ用いた化学的指標系および推測でそれが持つ構造を採用して、コンビナトリアルライブラリーからの活性化化合物の同定が向上している。概念上、このアプローチは、活性が発現したペプチドに由来するファージディスプレイライブラリーを模倣しているが、活性ペプチドの構造は、対応するゲノムDNA配列から推論される。合成コンビナトリアルライブラリーの第1のコード化は、コードとしてDNAを採用した。配列可能なバイオ-オリゴマー (例えば、オリゴヌクレオチドおよびペプチド)、および更なる非配列可能なタグを用いたバイナリーコード化を含む、他の形態の種々のコード化が報告されている。

40

【0193】

1) 配列可能なバイオオリゴマーを用いたタグ付け

コンビナトリアル合成ライブラリーをコードするオリゴヌクレオチドを用いる原則は、1992年に記載されている (Brenner et al. (1992) PNAS 89:5381-5383)。そのようなライブラリーの例は、翌年にも報告されている (Needles et al. (1993) PNAS 90:10700-10704)。各々、特異的なジヌクレオチド (それぞれTA、TC、CT、AT、TT、CAおよびAC) によってコードされているArg、Gln、Phe、Lys、Val、d-ValおよびThr (3文字アミノ酸コード) の全ての組み合わせからなる、名目上 7^7 (= 823, 543) 個のペプチドのコンビナトリアルライブラリーを、固体

50

支持体上で一連のペプチドおよびオリゴヌクレオチド合成を交互に行うことによって調製した。本研究において、ビーズ上のアミン結合機能性は、ビーズを、オリゴヌクレオチド合成のための保護OH基およびペプチド合成のための保護NH₂基（ここでは、比率は1：20）を生成する試薬を用いて同時にプレインキュベートし、ペプチドまたはオリゴヌクレオチド合成へ特異的に分化させた。完了時、タグはそれぞれ69量体からなり、そのうち14ユニットはコードを有していた。ビーズ結合ライブラリーを、蛍光標識した抗体、および強く蛍光発光した結合抗体を含有するビーズを蛍光活性化された細胞分類によって回収した（FACS）。DNAタグは、PCRによって増幅し、配列させ、予測されるペプチドを合成した。そのような技法を行った後、当該方法で使用するために化合物ライブラリーを誘導することができ、タグのオリゴヌクレオチド配列は、特定のビーズが行う連続的なコンビナトリアル反応を同定し、したがって、ビーズ上で化合物を同定する。

10

【0194】

オリゴヌクレオチドタグによって、優れて感受性の高いタグ分析が可能となる。そうであっても、この方法は、タグとライブラリーメンバーの共合成を選択するために必要とされる保護基の直交系の選択には注意が必要である。さらに、タグの化学的不安定性、特にリン酸塩と糖のアノマー結合は、非オリゴマーライブラリーに用いることができる試薬の選択と条件を制限することになる。好ましい態様において、ライブラリーは、アッセイのための試験化合物ライブラリーメンバーの選択的解離を可能とするリンカーを採用する。

【0195】

ペプチドもまた、コンビナトリアルライブラリーのタグ分子として使用されてきた。2つのアプローチの例が当該技術分野において記載されている。その双方は、コーディングおよびリガンド鎖が交互に作製された固体相への分枝リンカーを採用している。第1のアプローチにおいては（Kerr JM et al. (1993) *J Am Chem Soc* 115:2529-2531）、コード鎖の酸不安定保護および化合物鎖の塩基不安定保護を採用することによって、合成の直交性が達成されている。

20

【0196】

もう一方のアプローチ（Nikolaiev et al. (1993) *Pept Res* 6:161-170）では、コードユニットと試験化合物の両方が樹脂上の同じ官能基に付着することができるように分枝リンカーが採用される。ある態様においては、切断によってコードと化合物の双方を含有する分子を放出することができるように切断可能なリンカーを分枝点とビーズの間に配置する（Ptek et al. (1991) *Tetrahedron Lett* 32:3891-3894）。別の態様において、切断可能なリンカーは、コードを後ろにした状態で、試験化合物が選択的にビーズから分離され得るように配置することができる。この最後の構築物は、特に価値がある。なぜなら、それは、コード基に妨害される可能性なく、試験化合物のスクリーニングを可能とするからである。独立した切断およびペプチドライブラリーメンバーの配列の例、並びに、それらの対応するタグによって、該タグが正確にペプチド構造を予測することができることが確認された。

30

【0197】

2) 非配列可能タグ：バイナリーコーディング

試験化合物ライブラリーをコードするための別の形態は、バイナリーコードとして使用される一連の配列可能な電気泳動的な分子のタグ付けを採用する（Ohlmeyer et al. (1993) *PNAS*

40

90:10922-10926)。タグの例としては、トリメチルシリルエーテルとして、電子捕獲型ガスクロマトグラフィー（ECGC）によって、フェムトモル量未満で検出可能なハロ芳香族アルキルエーテルがあげられる。アルキル鎖の長さ、ならびに芳香族ハライド置換基の性質および位置を変化させることで、原則的に2⁴⁰（例えば、10¹²まで）の異なる分子をコードすることができる、少なくとも40のそのようなタグの合成が可能となる。最初の報告（Ohlmeyer et al., 上掲）においては、該タグは、ペプチドライブラリーの約1%の入手可能なアミン基へ、光分裂可能なo-ニトロベンジルリンカーを介して結合している。このアプローチは、ペプチド様もしくは他のアミン含有分子を調製する場合に

50

便利である。しかしながら、本質的にあらゆるコンビナトリアルライブラリーをコードすることが可能な、より万能な系が開発された。ここで、化合物は、光分裂可能なリンカーを解して固体支持体に付着し、タグは、カテコールエーテルリンカーに、カルベンのビーズ基質への挿入を介して結合することになる (Nestler et al. (1994) *J Org Chem* 59: 4723-4724)。この直交な付着法によって、溶液中のアッセイのためのライブラリーメンバーの選択的付着および、続く、タグセットの酸性の分解後の E C G C によるデコーディングを可能とする。

【0198】

当該技術分野におけるいくつかのアミド結合ライブラリーは、アミン基に付着した電気泳動的タグを用いたバイナリーコーディングを採用しているが、これらのタグを直接的にビーズ基質に付着させることによって、コードされたコンビナトリアルライブラリーにおいて調製可能な構造中にさらに高い万能性をもたらす。このように付着されているので、タグおよびそれらのリンカーは、殆どビーズ基質自身として反応しない。電気泳動的タグが直接的に固体相に付着した2つのバイナリーコードされたコンビナトリアルライブラリーが報告されており (Ohlmeyer et al. (1995) *PNAS* 92:6027-6031)、対象となる化合物ライブラリーを生成する指示を提供している。双方のライブラリーは、ライブラリーメンバーが固体相に結合し、タグが、強い酸化によってのみ分解されうるリンカーを介して付着された、直交付着法を用いて構築された。ライブラリーメンバーは、それぞれ固体支持体から部分的に光溶出が可能であるので、ライブラリーメンバーは、多くのアッセイにおいて使用することができる。連続した光溶出は、非常にハイスループットの相互作用的スクリーニング法を可能にしている。第1に、多数のビーズを96ウェルマイクロタイタープレートに置き、第2に、化合物をアッセイプレートに部分的に付着させ、移し、第3に、金属結合アッセイが活性なウェルを同定し、第4に、対応するビーズを新しいマイクロタイタープレートに単一に再配列し、第5に、単一の化合物を同定し、そして第6に、構造をデコーディングする。

【0199】

毒物学的評価

薬物開発プロセスにおいて、潜在力のある治療薬または薬物候補物質は、使用するには、安全性と有効性の両方が実証されなければならない。薬物開発プロセスにおいて、潜在力のある薬物候補物質について、安全性を実証するための毒性学的評価を行う。

【0200】

通常、化合物とポピュレーションとを接触させて、化合物がポピュレーションのメンバーに及ぼす効果を測定した。化合物がポピュレーションのメンバーに及ぼす効果は通常、1以上の異なる表現型パラメータを評価することによって決定される。本発明の対象となる所与のアッセイにおいて評価される表現型パラメータは、少なくとも部分的に、用いられる多細胞生物の性質によって、広く変化する。典型的に、所与のアッセイにおいて評価される表現型パラメータは、(1)生存力；(2)形態学的不良；および(3)生殖能力のうちの1以上を含む。評価され得る特異的なパラメータは、(1)致死量(例えば、LD₅₀、LD₁₀など)；(2)成長不良；(3)不妊効果用量；(4)発育不全；(5)神経学的損傷；(5)寿命調節、例えば、寿命の延長または短縮などのうちの1以上を含む。

【0201】

多くの異なるタイプの非哺乳類多細胞生物を用いて毒物学的評価を行うことができる。ここでは、これらのタイプの生物は、昆虫、両生類、魚類などを含む。関連する具体的な生物としては、アフリカツメガエル、ゼブラフィッシュ、線虫(Caenorhabditis)、ショウジョウバエなどが含まれる。特に興味深いものは、無脊椎動物、特に、節足動物門のメンバーである。より特別には、昆虫綱のメンバーである。特に興味深いものは、ハエである。例えば、ショウジョウバエファミリーのハエであり、キイロショウジョウバエであることが多い。用いられる多細胞生物は、それらの生命のいずれの段階のものでもよく、例えば、幼虫の段階でもよく、成虫の段階でもよい。

【 0 2 0 2 】

例えば、化合物を多細胞生物のポピュレーションと接触させて、化合物が、ポピュレーションの個別の生物の全部でなくとも、少なくとも実質的な部分に活性を及ぼし得るようにする。実質的な部分とは、40数量%、通常少なくとも50数量%、より通常少なくとも60数量%である。ここで、数量%は、80、90または95%以上であってもよい。通常、生物によって内部移行されるように、各化合物をポピュレーションのメンバーに接触させる。典型的には、内部移行は、経口摂取によって、すなわち、経口的に成されるであろう。その結果、化合物を栄養培地、例えば、水、生物の更なる栄養剤の水溶液などに組み込むことによって、各化合物が複数の生物と接触するのである。例えば、多細胞生物がハエである場合、候補物質は、該物質をハエ栄養培地に混合し、該培地をハエ（幼虫または成虫、通常は幼虫）の存在下に配置し、ハエが培地上で栄養を供給されるようにすることによって、ハエに経口投与される。

10

【 0 2 0 3 】

上記パラメータに加えて、試験生物の遺伝子発現レベルをアッセイすることができる。例えば、治療された幼虫、さなぎ、および/またはハエにおいて遺伝子発現を評価することができる。遺伝子は、どの組織または細胞の種類が、そしていつ影響を受けるかを評価するための基本的な代謝情報を発育途上の組織特異的遺伝子に供給する「ハウスキーピング」遺伝子由来であることができる。アッセイベースのプロトコルを含む、種々の異なる遺伝子発現プロトコルが当該技術分野の当業者に公知であり、欧州特許第0 328 829 B1号、ならびに米国特許第5,468,613号、第5,580,726号、第5,599,672号、第5,512,462号、第5,162,209号、および第5,162,209に記載されている。それらの開示を引用によって本明細書に援用する。異なる遺伝子発現を分析する方法もまたManiatis, et al., *Molecular Cloning, A Laboratory Manual* (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.) (1989); *Nucleic Acid Hybridization, A Practical Approach* (Hames, B. D., and Higgins, S. J. eds, IRL Press, Oxford) (1985); WO 95/21944; Chalifour, et al., *Anal. Biochem.* (1994) 216: 299-304; Nguyen et al., *Genomics* (1995) 29: 207-216; Pietu et al., *Genome Res.* (1996) 6: 492-503; and Zhao et al., *Gene* (1995) 166: 207-213に記載されている。

20

30

【 0 2 0 4 】

化合物が、評価される特定の物理的パラメータまたは複数のパラメータに及ぼす作用は、手動またはロボットによって決定することができる。その結果、多くの態様において、化合物が生物に及ぼす作用は、自動化された手順によって達成される。

【 0 2 0 5 】

次に、化合物が表現型パラメータまたは複数のパラメータに及ぼす作用は、その化合物の毒性に関連している。そうであるので、表現型パラメータに及ぼす作用を用いて、アッセイされた化合物についての毒性プロファイルを導く。毒性プロファイルは、所与の化合物の毒性、すなわち、その1以上の毒性（致死性、不妊症を引き起こす活性など）の集合を意味する。

40

【 0 2 0 6 】

毒性学のためのハエモデル

候補化学物質を、飽和点またはそれに近い点で水に溶解する。この保存溶液を段階希釈して、ハエのインスタント培地を再水和する（Fisher Scientific）。特に、ある毒性アッセイは、純粋な化学物質の保存溶液で再水和したハエのインスタント培地を含む。一方、別のアッセイは、化学物質の10%溶液（水中）で再水和する。このフォーマットは、それぞれの被検化学物質について4～5ログ用量（log dose）範囲でデータを作成するために使用することができるであろう。

【 0 2 0 7 】

50

公知の量の胚、典型的には、40～50を入力に用いる。具体的に、40～50の胚を計数し、試験される培地/化学物質の混合物を含有する貯蔵容器に入れる。胚は、手動または自動（例えば、ダイオードを流れる胚の液体懸濁液）で計数できる。幼虫は、培地/化学物質上で栄養供給される。幼虫段階から成虫への発展の全ての局面は、通常化学物質の存在下で行われる。幼虫およびハエが取得可能な食物と水のソースのみが化学物質を含有している。容易にアッセイすることが可能な、幼虫に化学物質を供給することによるプロトコルを用いて期待できる摂取量は可変であることが示されている。具体的に、鉄、銅、亜鉛が選択されてきた。これらの化学物質を1重量部/ミリオンの濃度まで分析するための、高感度の正確なキットが市販されており入手可能である。これについて、定量的アッセイを行い、試験貯蔵容器に入れた幼虫と異なる貯蔵容器に入れた幼虫の間の可変性が測定される。

10

【0208】

発育途中の幼虫およびさなぎを、正常の成長および発達について調べる。次いで、成虫のハエについて、致死性、不妊性、発育不全および寿命変化について分析する。致死性は、含まれる成虫ハエの数を、貯蔵容器に入った胚の数で割ることによって求める。不妊性は、それらを正常のハエと交配させて、雌雄について調べる。成虫の身体検査によって、手足の欠陥、組織形成上の欠陥、異常な状態など目に見える欠陥を明らかにする。最終的に、ハエは、それらの天然の平均寿命の間生存することができ、ハエの平均寿命を短くするもしくは長くするのか、いずれの効果を発生させたかを決定することができる。

【実施例】

20

【0209】

本発明を概略的に解説したところで、以下の実施例を参考にすれば、より容易に理解されようが、以下の実施例は単に本発明の特定の局面および態様の描写を目的に含まれたものであり、本発明を限定するものとは、意図していない。

【0210】

実施例1

CS1590およびCS1591の合成

攪拌棒、サーモメーターおよびガスアダプターを備えた200mLの三口丸底フラスコに、4-メトキシフェニルアセトニトリル(9.38g、63.76mmol)およびベンゼン(70mL)を充填した。その反応混合物を0℃に冷却させ、ナトリウムアミド(4.97g、127.5mmol)を加え、さらに2時間この温度で攪拌した。この期間の後、(R)-エピクロルヒドリン(5.9g、63.76mmol)を添加し、得られた反応混合物を一晩攪拌し、その溶媒を減圧下で還元し、残基をエタノール(50mL)および水溶性水酸化ナトリウム(1mol/L、40mL)中に溶解した。次いでその溶液を加熱し、一晩還流させ、濃縮した塩酸を添加し、pH=1に調節した。その水相を第3ブチルメチルエーテル(200mL)および酢酸エチル(200mL)を用いて抽出した。有機相を結合させ、飽和塩化ナトリウムで洗浄し、乾燥し(MgSO₄)、溶媒を減圧下で還元し、粗CS1590を得た。それを、溶離剤として、酢酸エチル/ジクロロメタン(1:4)を用いたシリカゲル上で、カラムクロマトグラフィーによって精製した。所望の生成物を含有する画分を結合させ、減圧下で還元し、CS1590(5.42g、41.7%)をオフホワイトの固体として得た。

30

40

【0211】

同様の方法で、所望のエナンチオマーCS1591を合成した。

【0212】

実施例2

CS1608およびCS1609の合成

攪拌棒、サーモメーターおよびガスアダプターを備えた200mLの三口丸底フラスコに、n-ブチルリチウム(1.6mol/L、29.8mL、47.7mmol)を充填し、0℃に冷却し、エチルアミン(3.49g、47.7mmol)を加えた。その溶液を20分間攪拌し、-78℃に冷却させ、CS1590(6.08g、29.8mmol

50

)のテトラヒドロフラン溶液(50 mL)を添加した。その反応混合物を一晩室温に加温し、その後その反応混合物をクエンチングし、塩化アンモニウム(200 mL)の飽和水溶液に入れ、次いで酢酸エチルで抽出した。有機相を分離し、乾燥し(MgSO₄)、溶媒を減圧下で還元し、粗CS1608(8.19 g、98%)を得た。それをさらなる精製を行わずに次のステップに用いた。

【0213】

同様の方法で、所望のエナンチオマーCS1609を合成した。

【0214】

実施例3

CS1628およびCS1648の合成

10
攪拌棒、サーモメーターおよびガスアダプターを備えた200 mLの三口丸底フラスコに、CS1608(5.6 g、20.19 mmol)およびN,N-ジメチルホルムアミド(20 mL)を充填し、0 に冷却し、アジ化ナトリウム(5.2 g、80.76 mmol)、トリエチルアミン(10.2 g、100.95 mmol)およびメタンシルホクロリド(4.6 g、60.57 mmol)を添加した。その懸濁液を24時間攪拌し、水(200 mL)の中に入れてクエンチングし、酢酸エチル(2×200 mL)で抽出し、乾燥し(MgSO₄)、その溶媒を減圧下で還元し、粗CS1628を得た。それを、溶離剤としてヘプタン/酢酸エチル(5:1)を用いたシリカゲル上で精製し、CS1628(2.2 g、36%)をオフホワイトの固体として得た。

【0215】

同様の方法で、所望のエナンチオマーCS1648を合成した。

【0216】

実施例4

CS1649およびCS1658の合成

30
攪拌棒、サーモメーターおよびガスアダプターを備えた50 mLの三口丸底フラスコに、CS1628(2.2 g、7.27 mmol)およびジクロロメタン(200 mL)を充填し、-35 に冷却し、三臭化ホウ素のジクロロメタン溶液(1.0 mol/L、21.8 mL、21.8 mmol)を加えた。その反応混合物を48時間、-28 で保ち、-40 に冷却し、メタノールを添加した。得られた混合物を水(200 mL)中に注ぎ、酢酸エチル(2×200 mL)で抽出し、乾燥し(MgSO₄)、その溶媒を減圧下で還元し、粗CS1649を得た。それを、溶離剤としてヘプタン/酢酸エチル(2:1)を用いたシリカゲル上でカラムクロマトグラフィーにより精製し、CS1649(1.39 g、66.5%)をオフホワイトの固体として得た。

【0217】

同様の方法で、所望のエナンチオマーCS1658を合成した。

【0218】

実施例5

CS1665およびCS1710の合成

40
200 mLの水素化ボトルに、CS1649(1.1 g、3.81 mmol)、メタノール(50 mL)および触媒量のPd/Cを充填した。完全な変換が観察されるまで、その反応物に1バールの水素圧をかけ、その反応混合物をセライトのパッドを介して濾過し、減圧下で溶媒を除去し、粗CS1655を得た。それを、溶離剤として、ジクロロメタン/メタノール/トリエチルアミン(10:0.5:0.25)を用いたシリカゲル上でカラムクロマトグラフィーによって精製し、CS1665(0.80 g、80%)をオフホワイトの固体として得た。

【0219】

同様の方法で、所望のエナンチオマーCS1710を合成した。

【0220】

CS1665の分析データ

【表 1】

外観	オフホワイトの固体
¹ H NMR (MeOd-4):	図 1 2
¹³ C{ ¹ H} NMR (apt) (MeOd-4):	図 1 3
旋光性 [α] _D ²⁰ (c 0.5、メタノール):	-89
IR (KBr、Neat、溶媒):	N/A
HPLC:	純度: 97% @ 220 nm、100% @ 254 nm 方法: 勾配 10%アセトニトリル~95%アセトニトリル、8分以上、均衡化 2分、95%、0.1% TFA、 流速: 2.0 mL/分 カラム: Zorbax XDB-C8
元素分析:	N/A
マスペクトル (ESI):	m/z = 263 [C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O ₂ +H] ⁺

10

【 0 2 2 1 】

C S 1 7 1 0 の分析データ

20

【表 2】

外観	オフホワイトの固体
¹ H NMR (MeOd-4):	図 1 6
¹³ C{ ¹ H}-NMR (apt) (MeOd-4):	図 1 7
旋光性 [α] _D ²⁰ (c 0.5、メタノール):	+86.2
IR (KBr、Neat、溶媒):	N/A
HPLC:	純度: 98% @ 220 nm、100% @ 254 nm 方法: 勾配 10%アセトニトリル~95%アセトニトリル、8分以上、均衡化 2分、95%、0.1% TFA、 流速: 2.0 mL/分 カラム: Zorbax XDB-C8
元素分析:	N/A
マスペクトル (ESI):	m/z = 263 [C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O ₂ +H] ⁺

30

40

【 0 2 2 2 】

実施例 6C S 1 7 1 3 および C S 1 7 1 4 の合成

10 mL の丸底フラスコに、C S 1 6 6 5 (0.51 g、1.71 mmol) およびジ
オキサン (5 mol/L、10 mL) を充填した。混合物を室温で1時間攪拌し、減圧下
で溶媒を除去し、C 1 7 1 3 (0.43 g、84%) をオフホワイトの固体として得た。

【 0 2 2 3 】

同様の方法で、所望のエナンチオマー C S 1 7 1 4 を合成した。

【 0 2 2 4 】

C S 1 7 1 3 の分析データ

50

【表 3】

外観	オフホワイトの固体
¹ H NMR (MeOd-4):	図 2 0
¹³ C{ ¹ H}-NMR (apt) (MeOd-4):	図 2 1
旋光性[α] _D ²⁰ (c 0.1、メタノール):	+80
IR (KBr、Neat、溶媒):	N/A
HPLC:	純度: 97% @ 220 nm、98% @ 254 nm 方法: 勾配 10% アセトニトリル~95% アセトニトリル、8分以上、均衡化 2分、95%、0.1% TFA、流速: 2.0 mL/min カラム: Zorbax XDB-C8
元素分析:	N/A
マスペクトル (ESI):	m/z = 263 [C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O ₂ +H] ⁺

10

20

【 0 2 2 5 】

C S 1 7 1 4 の分析データ

【表 4】

外観	オフホワイトの固体
¹ H NMR (MeOd-4):	図 2 4
¹³ C{ ¹ H}-NMR (apt) (MeOd-4):	図 2 5
旋光性[α] _D ²⁰ (c 0.1、メタノール):	-74
IR (KBr、Neat、溶媒):	N/A
HPLC:	純度: 96% @ 220 nm、100% @ 254 nm 方法: 勾配 10% アセトニトリル~95%アセトニトリル、8分以上、均衡化 2分、95%、0.1% TFA、流速: 2.0 mL/分、カラム: Zorbax XDB-C8
元素分析:	N/A
マスペクトル (ESI):	m/z = 263 [C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O ₂ +H] ⁺

30

40

【 0 2 2 6 】

実施例 7

C S 1 8 1 4 の調製

マグネティック攪拌棒を備えた 10 mL のフラスコに、C S 1 6 6 5 / 2 (1 2 0 mg、0.46 mmol)、C S 1 7 1 0 / 1 (1 2 0 mg、0.46 mmol) および塩酸の入ったジオキサン (5 mol / L、5 ml) を充填した。その懸濁液を 1 時間攪拌し、減圧下で還元し、残基を再び塩酸の入ったジオキサン (5 mol / L、1 ml) に取り上げた。その懸濁液をさらに 1 時間攪拌し、減圧下で還元し、C S 1 8 1 4 (2 4 0 mg 量) をオフホワイトの固体として得た。その固体をメタノール (1 0 mL、均質溶液) に溶解し、2 0 mL の丸底フラスコに移し、そのフラスコをさらに 5 mL のメタノールで洗浄

50

し、上記溶液と混合し（合計量約15 mL、均質溶液）、減圧下で還元し、CS1814（240 mg量）をオフホワイトの固体として得た。その固体を高真空化で乾燥させた。この物質の50 mgを取り出し、メタノール（10 mL）中に溶解させ、続いて、旋光性を測定した。後にその溶液を20 mLのフラスコ（均質溶液）に移し、減圧下で溶媒を除去した。

【0227】

CS1814の分析データ

【表5】

外観	オフホワイトの固体	10
¹ H NMR (MeOd-4):	図30	
¹³ C{ ¹ H}-NMR (apt) (MeOd-4):	図31	
旋光性[α] _D ²⁰ (c 0.5、メタノール):	0 ラセミ	
IR (KBr, Neat, 溶媒):	N/A	
HPLC:	純度: 97% @ 220 nm、98% @ 254 nm 方法: 勾配 10% アセトニトリル~95% アセトニトリル、8分以上、均衡化 2分、95%、0.1% TFA、流速: 2.0 mL/分 カラム: Zorbax XDB-C8	20
元素分析:	N/A	
マスペクトル (ESI):	m/z = 263 [C ₁₅ H ₂₂ N ₂ O ₂ +H] ⁺	

【0228】

実施例 8

CS1814および参照化合物の生物学的試験

CS1814および種々の参照化合物の生物学的試験の結果を図32~40および59に示す。図59のデータは、CS1814は、ノルエピネフリン輸送体の阻害については $IC_{50} = 0.22 \mu M$ 、セロトニン輸送体の阻害については $IC_{50} = 12.7 nM$ であることを示している。CS1814の結合定数は、ノルエピネフリン輸送体については $K_i = 0.218 \mu M$ 、セロトニン輸送体については、 $K_i = 6.73 nM$ である。

【0229】

本研究において用いた方法は、信頼性および再生性を最大化するために、科学文献から採用した。参照は、各アッセイのインテグラルパートとして行い、得られた結果の有効性を確認した。アッセイは、下記に示した条件下で行った。各アッセイの文献の符号については、下記にまとめている。本明細書においてそれを引用によって援用する。

【0230】

示されている場合、 IC_{50} 値は、Data Analysis ToolboXTM (MDL Information Systems, San Leandro, CA, USA)を用いた、非線形の少なくとも2乗回帰分析によって測定した。阻害定数 (K_i) が示されている場合、 K_i 値は、試験された化合物の観察された IC_{50} 、アッセイにおいて採用した放射性リガンドの濃度、およびリガンドの K_d のヒストリカル値 (MDS

Pharma Servicesにおいて実験によって取得)を用いて、ChengとPrusoffの式 (Cheng, Y., Prusoff, W.H., Biochem. Pharmacol.

22:3099 - 3108, 1973) を使って計算したものである。示されている場合、競合する結合曲線の傾斜を定義する Hill 係数 (n_H) は、Data Analysis Toolbox (登録商標) を用いて計算した。Hill 係数が 1.0 と有意に異なる場合、結合のズレは、単一の結合

10

20

30

40

50

部位を持つ質量作用の法則に従わないことを示唆するかもしれない。IC₅₀、K_iおよび/またはn_Hのデータが、Standard Error of the Mean (SEM)なしで示されている場合、データは、量的に不十分であり、示された値(K_i、IC₅₀、n_H)の解釈には注意が必要である。

【0231】

方法：

118050 CYP450、1A2

起源：ヒト組換えSf9昆虫細胞

基質剤：5 μMの3-シアノ-7-エトキシクマリン

賦形剤：0.1% DMSO

プレインキュベーション時間/温度：なし

インキュベーション時間/温度：30分/37

インキュベーション緩衝液：75 mMのリン酸カリウム緩衝液、pH 7.5

定量方法：3-シアノ-7-ヒドロキシクマリンの分光蛍光法による定量化

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

10

【0232】

118070 CYP450、2C19

起源：ヒト組換えSf9昆虫細胞

基質剤：25 μMの3-シアノ-7-エトキシクマリン

賦形剤：0.1% DMSO

プレインキュベーション時間/温度：なし

インキュベーション時間/温度：45分/37

インキュベーション緩衝液：75 mMのリン酸カリウム緩衝液、pH 7.5

定量方法：3-シアノ-7-ヒドロキシクマリンの分光蛍光法による定量化

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

20

【0233】

118060 CYP450、2C9

起源：ヒト組換えSf9昆虫細胞

基質剤：25 μMの3-シアノ-7-エトキシクマリン

賦形剤：0.1% DMSO

プレインキュベーション時間/温度：なし

インキュベーション時間/温度：45分/37

インキュベーション緩衝液：75 mMのリン酸カリウム緩衝液、pH 7.5

定量方法：3-シアノ-7-ヒドロキシクマリンの分光蛍光法による定量化

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

30

【0234】

118080 CYP450、2D6

起源：ヒト組換えSf9昆虫細胞

基質剤：50 μMの3-シアノ-7-エトキシクマリン

賦形剤：0.1% DMSO

プレインキュベーション時間/温度：なし

インキュベーション時間/温度：45分/37

インキュベーション緩衝液：75 mMのリン酸カリウム緩衝液、pH 7.5

定量方法：3-シアノ-7-ヒドロキシクマリンの分光蛍光法による定量化

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

40

【0235】

118090 CYP450、3A4

起源：ヒト組換えSf9昆虫細胞

基質剤：50 μMの7-ベンジルオキシ-4-(トリフルオロメチル)-クマリン

賦形剤：0.1% DMSO

50

- プレインキュベーション時間 / 温度 : なし
 インキュベーション時間 / 温度 : 30分 / 37
 インキュベーション緩衝液 : 75 mM のリン酸カリウム緩衝液、pH 7.5
 定量方法 : 7 - ヒドロキシ - 4 - (トリフルオロメチル) - クマリンの分光蛍光法による定量
- 有意性評価基準 : 刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0236】**
 200510 アデノシンA₁
 起源 : ヒト組換えCHO細胞
 リガンド : 1 nM の [³H]DPCPX 10
 賦形剤 : 0.1% DMSO
 インキュベーション時間 / 温度 : 90分 / 25
 インキュベーション緩衝液 : 20 mM のHEPES、pH 7.4、10 mM のMgCl₂、100 mM のNaCl
 非特異的リガンド : 100 μM R(-)-PIA
 K_d : 1.4 nM*
 B_{max} : 2.7 pmole/mg のタンパク質*
 特異的結合 : 85%*
 定量方法 : 放射リガンド結合
 有意性評価基準 : 刺激または阻害の最大値の50%以上 20
- 【0237】**
 200610 アデノシンA_{2A}
 起源 : ヒト組換えHEK-293細胞
 リガンド : 0.05 μM の [³H]CG5-21680
 賦形剤 : 0.1% DMSO
 インキュベーション時間 / 温度 : 90分 / 25
 インキュベーション緩衝液 : 50 mM のトリス塩酸、pH 7.4、10 mM のMgCl₂、1 mM のEDTA、2 U/mL のアデノシンデアミナーゼ
 非特異的リガンド : 50 μM のNECA
 K_d : 0.064 μM* 30
 B_{max} : 7 pmole/mg のタンパク質*
 特異的結合 : 85%*
 定量方法 : 放射リガンド結合
 有意性評価基準 : 刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0238】**
 203100 アドレナリン作動薬_{1A}
 起源 : Wistarラット顎下腺
 リガンド : 0.25 nM の [³H]プラゾシン
 賦形剤 : 0.1% DMSO
 インキュベーション時間 / 温度 : 60分 / 25 40
 インキュベーション緩衝液 : 50 mM のトリス塩酸、0.5 mM のEDTA、pH 7.4
 非特異的リガンド : 10 μM のフェントラミン
 K_d : 0.17 nM*
 B_{max} : 0.18 pmole/mg のタンパク質*
 特異的結合 : 90%*
 定量方法 : 放射リガンド結合
 有意性評価基準 : 刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0239】**
 203200 アドレナリン作動薬_{1B} 50

起源：Wistarラット肝臓

リガンド：0.25 nMの $[^3\text{H}]$ プラゾシン

賦形剤：0.1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、0.5 mMのEDTA、pH 7.4

4

非特異的リガンド：10 μM のフェントラミン

K_d ：0.31 nM*

B_{max} ：0.18 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：90%*

10

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0240】

203400 アドレナリン作動薬 1D

起源：ヒト組換えHEK-293細胞

リガンド：0.6 nMの $[^3\text{H}]$ プラゾシン

賦形剤：0.1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸

非特異的リガンド：10 μM のフェントラミン

20

K_d ：0.58 nM*

B_{max} ：0.17 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：80%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0241】

203620 アドレナリン作動薬 2A

起源：ヒト組換え昆虫Sf9細胞

リガンド：1 nMの $[^3\text{H}]$ MK-912

賦形剤：0.1% DMSO

30

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：75 mMのトリス塩酸、pH 7.4、12.5 mMのMg

Cl₂、2 mMのEDTA

非特異的リガンド：10 μM のWB-4101

K_d ：0.6 nM*

B_{max} ：4.6 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：95%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0242】

40

203710 アドレナリン作動薬 2B

起源：ヒト組換えCHO-K1細胞

リガンド：2.5 nMの $[^3\text{H}]$ ラウオイシン (Rauwoiscine)

賦形剤：0.1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、1 mMのEDTA、12.5 mMのMgCl₂、pH 7.4、0.2% BSA、25

非特異的リガンド：10 μM のプラゾシン

K_d ：2.1 nM*

B_{max} ：2.1 pmole/mgのタンパク質*

50

特異的結合：90%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0243】

204010 アドレナリン作動薬₁

起源：ヒト組換え Rex16 細胞

リガンド：0.03 nM の [¹²⁵I]シアノピンドロール

賦形剤：0.1% DMSO

インキュベーション時間/温度：2時間/25

インキュベーション緩衝液：50 mM のトリス塩酸、5 mM の EDTA、1.5 mM の CaCl₂、120 mM の NaCl、1.4 mM のアスコルビン酸、10 mg/L の B5A, pH 7.4 10

非特異的リガンド：100 μM の 5(-)-プロプラノール

K_d：0.041 nM*

B_{max}：0.072 pmole/mg のタンパク質*

特異的結合：95%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0244】

204110 アドレナリン作動薬₂ 20

起源：ヒト組換え CHO-NBR1 細胞

リガンド：0.2 nM の [³H]CGP-12177

賦形剤：0.1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：50 mM のトリス塩酸、0.5 mM の EDTA、5.0 mM の MgCl₂、120 mM の NaCl、pH 7.4

非特異的リガンド：10 μM の 1Cl-118551

K_d：0.44 nM*

B_{max}：0.437 pmole/mg のタンパク質*

特異的結合：95%* 30

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0245】

212500 ブラジキニン B₁

起源：ヒト Hs729 細胞

リガンド：2.5 nM の [³H](Des-Arg¹⁰)-カリジン

賦形剤：0.1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：20 mM の HEPES、125 mM の N-メチル-Dグルタミン、5 mM の KCl、1 mM の 1,10-フェナントロリン、pH 7.4 40

非特異的リガンド：10 μM の (Des-Arg⁹-Leu⁸)-ブラジキニン

K_d：0.5 nM*

B_{max}：0.059 pmole/mg のタンパク質*

特異的結合：70%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0246】

212610 ブラジキニン B₂

起源：ヒト組み換え CHO-K1 細胞

リガンド：0.2 nM の [³H]ブラジキニン 50

- 賦形剤：0.1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：90分/25
 インキュベーション緩衝液：24 mMのTES-NH₄OH、pH 6.8、1 mMの1,10-フェナントロリン、0.3% BSA
 非特異的リガンド：5 μMのブラジキニン
 K_d：0.29 nM*
 B_{max}：2 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：90%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上 10
- 【0247】
 214510 カルシウムチャネルL型、ベンゾチアゼピン
 起源：Wistarラット脳
 リガンド：2 nMの[³H]ジルチアゼム
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：3時間/4
 インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、0.1% BSA、pH 7.4、25
 非特異的リガンド：10 μMのジルチアゼム
 K_d：0.016 μM* 20
 B_{max}：0.21 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：73%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0248】
 214600 カルシウムチャネルL型、ジヒドロピロリジン
 起源：Wistarラット大脳皮質
 リガンド：0.1 nMの[³H]ニトレンジピン
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：90分/25 30
 インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.7、25
 非特異的リガンド：1 μMのニトレンジピン
 K_d：0.18 nM*
 B_{max}：0.23 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：91%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0249】
 216000 カルシウムチャネルN型
 起源：Wistarラット前頭葉 40
 リガンド：10 pMの[¹²⁵H]-コノトキシン GVIA
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：30分/4
 インキュベーション緩衝液：20 mMのトリス塩酸、pH 7.4、0.1% BSA
 非特異的リガンド：0.1 μMの -コノトキシン GVIA
 K_d：0.051 nM*
 B_{max}：0.88 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：96%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上 50

【 0 2 5 0 】

2 1 9 5 0 0 ドーパミン D₁

起源：ヒト組換え CHO 細胞

リガンド：1.4 nM の [³H]SCH - 23390

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間 / 温度：2 時間 / 37

インキュベーション緩衝液：50 mM のトリス塩酸、pH 7.4、150 mM の NaCl、1.4 mM のアスコルビン酸、0.001% BSA

非特異的リガンド：10 μM の (+) - ブタクラモール

K_d：1.4 nM*B_{max}：0.63 pmol/mg のタンパク質*

特異的結合：90%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

10

【 0 2 5 1 】

2 1 9 5 0 0 ドーパミン D_{2L}

起源：ヒト組換え CHO 細胞

リガンド：0.16 nM のスピペロン

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間 / 温度：2 時間 / 25

インキュベーション緩衝液：50 mM のトリス塩酸、pH 7.4、150 mM の NaCl、1.4 mM のアスコルビン酸、0.001% BSA

非特異的リガンド：10 μM のハロペリドール

K_d：0.08 nM*B_{max}：0.48 pmol/mg のタンパク質*

特異的結合：85%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

20

【 0 2 5 2 】

2 1 9 8 0 0 ドーパミン D₃

起源：ヒト組換え CHO 細胞

リガンド：0.7 nM のスピペロン

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間 / 温度：2 時間 / 37

インキュベーション緩衝液：50 mM のトリス塩酸、pH 7.4、150 mM の NaCl、1.4 mM のアスコルビン酸、0.001% BSA

非特異的リガンド：25 μM の S (-) - スルピリド

K_d：0.36 nM*B_{max}：1.1 pmol/mg のタンパク質*

特異的結合：85%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

30

40

【 0 2 5 3 】

2 1 9 8 0 0 ドーパミン D_{4.2}

起源：ヒト組換え CHO 細胞

リガンド：0.5 nM の [³H]スピペロン

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間 / 温度：2 時間 / 25

インキュベーション緩衝液：50 mM のトリス塩酸、pH 7.4、150 mM の NaCl、1.4 mM のアスコルビン酸、0.001% BSA

50

非特異的リガンド：10 μ Mのハロペリドール

K_d ：0.27 nM*

B_{max} ：1 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：90%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0254】

224010 エンドセリンET_A

起源：ヒト組換えCHO細胞

リガンド：0.03 nMの[¹²⁵I]エンドセリン-1

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：2時間/37

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4、0.5 mMのCaCl₂、0.05%のトウィーン-20、1 mg/mlのBSA

非特異的リガンド：0.1 μ Mのエンドセリン-1

K_d ：0.048 nM*

B_{max} ：0.35 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：90%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

10

20

【0255】

224110 エンドセリンET_B

起源：ヒト組換えCHO-K1細胞

リガンド：0.1 nMの[¹²⁵I]エンドセリン-1

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：2時間/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのHEPES、1 mMのCaCl₂、5 mMのMgCl₂、0.5%のBSA、pH 7.4（プロテアーゼなし）

非特異的リガンド：0.1 μ Mのエンドセリン-1

K_d ：0.085 nM*

B_{max} ：4.3 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：75%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

30

【0256】

225500 上皮成長因子(EGF)

起源：ヒトA431細胞

リガンド：0.05 nMの[¹²⁵I]上皮成長因子(EGF)(ネズミ)

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのHEPES、138 mMのNaCl、5 mMのKCl、1.2 mMのMgSO₄、1.2 mMのCaCl₂、1 mg/mlのBSA、pH 7.7

非特異的リガンド：10 nMの上皮成長因子(EGF)(ヒト)

K_{d1} ：0.032 nM*

K_{d2} ：0.03 nM*

B_{max1} ：1 pmole/mgのタンパク質*

B_{max2} ：4.1 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：95%*

定量方法：放射リガンド結合

40

50

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0257】

226010 エストロゲンER

起源：ヒト組換え昆虫Sf9細胞

リガンド：0.5 nMの $[^3\text{H}]$ エストラジオール

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：2時間/25

インキュベーション緩衝液：10 mMのトリス塩酸、pH 7.5、10%グリセロール、1 mMのDTT、1 mg/mlのBSA

非特異的リガンド：1 μM のジエチルstilbestロール

10

K_d ：0.2 nM*

B_{max} ：1400 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：85%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0258】

226500 GABA_A、アゴニスト部位

起源：Wistarラット脳（マイナス、小脳）

リガンド：1 nMの $[^3\text{H}]$ ムスシモール

賦形剤：1% DMSO

20

インキュベーション時間/温度：10分/4

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4

非特異的リガンド：0.1 μM のムスシモール

K_d ：3.8 nM*

B_{max} ：1.8 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：90%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0259】

226600 GABA_A、ベンゾジアゼピン、中枢

30

起源：Wistarラット脳（マイナス、小脳）

リガンド：1 nMの $[^3\text{H}]$ フルニトラゼパム

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのNa-Kホスフェート、pH

非特異的リガンド：10 μM のジアゼパム

K_{d1} ：4.4 nM*

K_{d2} ：0.3 nM*

B_{max1} ：1.2 pmole/mgのタンパク質*

B_{max2} ：4.1 pmole/mgのタンパク質*

40

特異的結合：91%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0260】

228510 GABA_B、非選択的

起源：Wistarラット脳

リガンド：0.6 nMの $[^3\text{H}]$ CGP-54626

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：20分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、2.5 mMのCaCl₂、pH 7

50

. 4、25

非特異的リガンド：100 μ MのCGP - 54626

K_d ：2.3 nM*

B_{max} ：1.1 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：80%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0261】

232010 グルココルチコイド

起源：ヒトHeLa53細胞

リガンド：6 nMの $[^3H]$ デキサメタゾン

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：2時間/25

インキュベーション緩衝液：RPMI 1640、10 mMのHEPES、pH 7.2

非特異的リガンド：20 μ Mのデキサメタゾン

K_d ：5 nM*

B_{max} ：61000 R/細胞*

特異的結合：75%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0262】

232700 グルタメート、カイニン酸塩 (Kainate)

起源：Wistarラット脳 (マイナス小脳)

リガンド：5 nMの $[^3H]$ カイニン酸

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/4

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4

非特異的リガンド：1000 μ MのL-グルタメート

K_d ：0.012 μ M*

B_{max} ：0.35 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：80%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0263】

232810 グルタメート、NMDA、アゴニズム

起源：Wistarラット大脳皮質

リガンド：2 nMの $[^3H]$ CGP - 39653

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：20分/4

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4

非特異的リガンド：1000 μ MのL-グルタメート

K_d ：0.019 μ M*

B_{max} ：2.3 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：70%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0264】

232910 グルタメート、NMDA、グリシン

起源：Wistarラット大脳皮質

リガンド：0.33 nMの $[^3H]$ MDL - 105519

10

20

30

40

50

賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：30分/4
 インキュベーション緩衝液：50 mMのHEPES、pH 7.7
 非特異的リガンド：10 μ MのMDL-105519
 K_d ：6 nM*
 B_{max} ：3.7 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：85%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0265】

10

233000 グルタメート、NMDA、フェンシクリジン

起源：Wistarラット大脳皮質

リガンド：4 nMの[³H]TCP

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：45分/25

インキュベーション緩衝液：10 mMのトリス塩酸、pH 7.7

非特異的リガンド：1 μ Mのジゾルシピン (Dizolcipine) (MK-801)

K_d ：8.4 nM*

B_{max} ：0.78 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：94%*

20

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0266】

239610 ヒスタミンH₁

起源：ヒト組換えCHO-K1細胞

リガンド：1.2 nM[³H]ピリラミン

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：3時間/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4、2 mMのMgCl₂

、100 mMのNaCl、250 mMのスクロース

30

非特異的リガンド：1 μ Mのピリラミン

K_d ：1.1 nM*

B_{max} ：6.7 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：94%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0267】

239710 ヒスタミンH₂

起源：ヒト組換えCHO-K1細胞

リガンド：0.1 nM[¹²⁵I]アミノポテンチジン (Aminopotentidine)

40

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：2時間/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのKH₂PO₄/Na₂HPO₄、pH 7.4

非特異的リガンド：3 μ Mのチオチジン

K_d ：0.45 nM*

B_{max} ：6.9 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：90%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0268】

50

- 239810 ヒスタミンH₃
 起源：ヒト組換えCHO-K1細胞
 リガンド：3 nM [³H]R(-)-メチルヒスタミン(RAMH)
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：90分/25
 インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4、10 mMのMgCl₂、0.04%のBSA
 非特異的リガンド：1 μMのR(-)-メチルヒスタミン(RAMH)
 K_d：2.4 nM*
 B_{max}：4.2 pmole/mgのタンパク質* 10
 特異的結合：95%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0269】
 241000 イミダゾリン、I₂、中枢
 起源：Wistarラット大脳皮質
 リガンド：2 nMの[³H]イダゾキサン
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：30分/25
 インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、0.5 mMのEDTA、pH 7.4、25 20
 非特異的リガンド：1 μMのイダゾキサン
 K_d：4 nM*
 B_{max}：0.14 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：85%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0270】
 243510 非選択性 30
 起源：マウス3T3細胞
 リガンド：10 pMの[¹²⁵I]インターロイキン-I (IL-1)
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：2時間/37
 インキュベーション緩衝液：RPMI 1640、20 mMのHEPES、0.1%アジ化ナトリウム、1%のBSA、pH 7.2
 非特異的リガンド：0.03 μMのインターロイキン-I (IL-1)
 K_d：6 pM*
 B_{max}：8.3 fmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：70%*
 定量方法：放射リガンド結合 40
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0271】
 250600 ロイコトリエンLTD₄
 起源：Duncan Hartley 由来モルモット肺
 リガンド：0.2 nMの[³H]ロイコトリエンD₄(LTD₄)
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：60分/25
 インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、0.01%のBSA、5 mMのCaCl₂、5 mMのMgCl₂、100 μg/mLのバシトラシン、1 mMのベンズアミジン、0.1 mMのフェニルメチルスルホニルフロリド 50

非特異的リガンド：0.1 μ MのロイコトリエンD₄ (LTD₄)

K_d：0.2 nM*

B_{max}：0.24 pmoles/mgのタンパク質*

特異的結合：85%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0272】

252600 ムスカリン作動性M₁

起源：ヒト組換え昆虫Sf9細胞

リガンド：0.29 nMの[³H]メトスコポラミン

10

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4、10 mMのMgCl

2、1 mMのEDTA

非特異的リガンド：1 μ Mのアトロピン

K_d：0.092 nM*

B_{max}：2.1 pmoles/mgのタンパク質*

特異的結合：95%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

20

【0273】

252700 ムスカリン作動性M₂

起源：ヒト組換え昆虫Sf9細胞

リガンド：0.29 nMの[³H]メトスコポラミン

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4、10 mMのMgCl

2、1 mMのEDTA

非特異的リガンド：1 μ Mのアトロピン

K_d：0.16 nM*

B_{max}：4.9 pmoles/mgのタンパク質*

特異的結合：96%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

30

【0274】

252800 ムスカリン作動性M₃

起源：ヒト組換え昆虫Sf9細胞

リガンド：0.29 nMの[³H]メトスコポラミン

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4、10 mMのMgCl

2、1 mMのEDTA

非特異的リガンド：1 μ Mのアトロピン

K_d：0.078 nM*

B_{max}：3.2 pmoles/mgのタンパク質*

特異的結合：96%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

40

【0275】

257000 ニューロペプチドY₁

50

- 起源：ヒトSK-N-MC細胞
 リガンド：0.013 nMの $[^{125}\text{I}]$ ペプチドYY
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：45分/25
 インキュベーション緩衝液：HBSS、2 mg/mlのBSA、1 mMの MgCl_2 、
 1 mMの CaCl_2
 非特異的リガンド：0.1 μM のニューロペプチドY (ヒト、ラット)
 K_d ：0.62 nM*
 B_{max} ：5800 R / 細胞受容体 / 細胞*
 特異的結合：85%* 10
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0276】**
 257110 ニューロペプチドY₂
 起源：ヒトKAN-TS神経芽腫細胞
 リガンド：20 pMの $[^{125}\text{I}]$ ペプチドYY
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：2時間/37
 インキュベーション緩衝液：25 mMのHEPES、2.5 mMの CaCl_2 、1 mM
 の MgCl_2 、0.1%のパシトラシン、pH 7.4 20
 非特異的リガンド：1 μM のニューロペプチドY (13-36) (ブタ)
 K_d ：0.012 nM*
 B_{max} ：0.5 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：90%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0277】**
 258590 ニコチン性アセチルコリン
 起源：ヒトIMR-32細胞 30
 リガンド：0.1 nMの $[^{125}\text{I}]$ エピバチジン (Epibatidine)
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：60分/25
 インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4
 非特異的リガンド：300 μM の(-)-ニコチン
 K_d ：0.22 nM*
 B_{max} ：0.46 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：97%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0278】** 40
 260110 オピエート5 (OP1、DOP)
 起源：ヒト組換えCHO細胞
 リガンド：0.9 nMのナルトリンドール
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：2時間/25
 インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、5 mMの MgCl_2 、pH 7.4
 非特異的リガンド：10 μM のナロキソン
 K_d ：0.49 nM*
 B_{max} ：8.6 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：80%* 50

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0279】

260210 オピエート (OP2、KOP)

起源：ヒト組換えHEK-293細胞

リガンド：0.6 nMの $[^3\text{H}]$ シプレノルフィン

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4

非特異的リガンド：10 μM のナロキソン

K_d ：0.4 nM*

B_{max} ：1.1 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：90%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0280】

260410 オピエート μ (OP3、MOP)

起源：ヒト組換えCHO細胞

リガンド：0.6 nMの $[^3\text{H}]$ シプレノルフィン

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4

非特異的リガンド：10 μM のナロキソン

K_d ：0.41 nM*

B_{max} ：3.8 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：90%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0281】

264500 ホルボルエステル

起源：ICRマウス脳

リガンド：3 nMの $[^3\text{H}]$ PDBu

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：5 mMの CaCl_2 を含有する20 mMのトリス塩酸、pH 7.4、25

非特異的リガンド：1 μM のPDBu

K_d ：8.7 nM*

B_{max} ：26 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：80%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0282】

265010 血小板活性化因子 (PAF)

起源：ヒト血小板

リガンド：0.12 nMの $[^3\text{H}]$ PAF

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：3時間/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4、100 mMのKCl、5 mMのEDTA、5 mMの MgCl_2 、0.25%のBSA (w/v)

10

20

30

40

50

非特異的リガンド：1 μ MのPAF

K_d ：0.13 nM*

B_{max} ：120 R/細胞*

特異的結合：90%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0283】

265600 カリウムチャネル[K_{ATP}]

起源：シリアンハムスター膵臓ベータ細胞HIT-T15

リガンド：5 nMの[³H] グリベンクラミド

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：2時間/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのMOPS、0.1 mMのCaCl₂、pH 7.4

4

非特異的リガンド：1 μ Mのグリブライド

K_d ：0.64 nM*

B_{max} ：1 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：90%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0284】

268700 プリン作動性P_{2x}

起源：ニュージーランドアルビノラビット膀胱

リガンド：8 nMの[³H]、 γ -メチレン-ATP

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：30分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4

非特異的リガンド：100 μ Mの、 γ -メチレン-ATP

K_{d1} ：2.2 nM*

K_{d2} ：2.2 μ M*

B_{max1} ：2 pmole/mgのタンパク質*

B_{max2} ：790 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：80%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0285】

268810 プリン作動性P_{2r}

起源：Wistarラット脳

リガンド：0.1 nMの[³⁵S]ATP-S

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/25

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4

非特異的リガンド：10 μ MのADP-S

K_d ：0.015 μ M*

B_{max} ：16 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：87%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0286】

271110 セロトニン(5-ヒドロキシトリプタミン)5-HT_{1A}

10

20

30

40

50

- 起源：ヒト組換えCHO細胞
 リガンド：1.5 nMの $[^3\text{H}]8\text{-OH-DPAT}$
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：60分/25
 インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、10 mMの MgSO_4 、0.5 mMのEDTA、0.1%のアスコルビン酸、pH 7.4
 非特異的リガンド：10 μM のメテルゴリン
 K_d ：2 nM*
 B_{max} ：1.3 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：75%* 10
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0287】**
 271910 セロトニン(5-ヒドロキシトリプタミン)5-HT₃
 起源：ヒト組換えHEK-293細胞
 リガンド：0.69 nMの $[^3\text{H}]GR-65630$
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：60分/25
 インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.5、1 mMのEDTA、5 mMの MgCl_2 20
 非特異的リガンド：10 μM のMDL-72222
 K_d ：0.2 nM*
 B_{max} ：11 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：90%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0288】**
 278110 シグマ₁
 起源：ヒトジャーカット(jurkat)細胞 30
 リガンド：8 nMの $[^3\text{H}]$ ハロペリドール
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：4時間/25
 インキュベーション緩衝液：5 mMの K_2HPO_4 / KH_2PO_4 緩衝液、pH 7.5
 非特異的リガンド：10 μM のハロペリドール
 K_d ：5.8 nM*
 B_{max} ：0.71 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：80%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0289】** 40
 278200 シグマ₂
 起源：Wistar ラット脳
 リガンド：3 nMの $[^3\text{H}]$ イフェンプロジル
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：60分/37
 インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4
 非特異的リガンド：10 μM のイフェンプロジル
 K_d ：4.8 nM*
 B_{max} ：1.3 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：85%* 50

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0290】

279450 ナトリウムチャネル、部位1

起源：Wistar ラット脳

リガンド：2 nMの $[^3\text{H}]$ サキシトキシン

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：30分/4

インキュベーション緩衝液：(1) ホモゲナイズ緩衝液、140 mMのNaCl、20 mMのトリス塩酸、pH 7.1、1 mMのPMSF、(2) 75 mMのHepes / 140 mMのNaCl、pH 7.5、(3) アッセイ緩衝液、ホモゲナイズ緩衝液：緩衝液(2) = 1 : 4

非特異的リガンド：10 μM のテトロドトキシン

K_d ：1.4 nM*

B_{max} ：3.7 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：90%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0291】

279510 ナトリウムチャネル、部位2

起源：Wistar ラット脳

リガンド：5 nMの $[^3\text{H}]$ バトラコトキシニンA 20 - - ベンゾエート

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：60分/37

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、pH 7.4、25 、50 mMのHEPES、130 mMのコリン - Cl、5.4 mMのKCl、0.8 mMのMgSO₄、7 H₂O (またはMgCl₂)、5.5 mMのグルコース、40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のLqTx

非特異的リガンド：100 μM のベラトリジン

K_d ：0.052 μM *

B_{max} ：0.7 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：77%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0292】

255510 タヒキニンNK₁

起源：ヒト組換えCHO細胞

リガンド：0.25 nMの $[^3\text{H}]$ SR-140333

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：90分/25

インキュベーション緩衝液：20 mMのHEPES、pH 7.4、1 mMのMnCl₂、0.01%のBSA

非特異的リガンド：2 μM のL-703、606

K_d ：0.3 nM*

B_{max} ：10 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：85%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0293】

285010 テストステロン

起源：ラット組換え大腸菌

10

20

30

40

50

- リガンド：1.5 nMの $[^3\text{H}]$ ミボレロン
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：4時間/4
 インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸 (pH 7.5)、0.8 MのNaCl、10%のグリセロール、2 mMのジチオトレイトール、1 mg/mlのBSA、2%エタノール
 非特異的リガンド：10 μM のミボレロン
 K_d ：3 nM*
 B_{max} ：930 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：90%* 10
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0294】**
 220320 テストステロン、ドーパミン (DAT)
 起源：ヒト組換えCHO細胞
 リガンド：0.15 nMの $[^{125}\text{I}]$ RTI-55
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：3時間/4
 インキュベーション緩衝液：100 mMのNaCl、50 mMのトリス塩酸、1 μM のロイペプチン、10 μM のPM5F、pH 7.4 20
 非特異的リガンド：10 μM のノミフェンシン
 K_d ：0.58 nM*
 B_{max} ：0.047 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：90%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上
- 【0295】**
 224410 テストステロン、ノルエピネフリン (NET)
 起源：ヒト組換えMDCK細胞
 リガンド：0.2 nMの $[^{125}\text{I}]$ RTI-55 30
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：3時間/4
 インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、100 mMのNaCl、1 μM のロイペプチン、10 μM のPM5F、pH 7.4
 非特異的リガンド：10 μM のデシプラミン
 K_d ：0.024 nM*
 B_{max} ：2.5 pmole/mgのタンパク質*
 特異的結合：75%*
 定量方法：放射リガンド結合
 有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上 40
- 【0296】**
 274020 テストステロン、セロトニン (5-ヒドロキシトリプタミン) (SERT)
 起源：ヒト組換えHEK-293細胞
 リガンド：0.15 nMの $[^{125}\text{I}]$ RTI-55
 賦形剤：1% DMSO
 インキュベーション時間/温度：3時間/4
 インキュベーション緩衝液：100 mMのNaCl、50 mMのトリス塩酸、1 μM のロイペプチン、10 μM のPM5F、pH 7.4
 非特異的リガンド：10 μM のイミプラミン 50

K_d : 0 . 1 7 n M *

B_{max} : 0 . 4 1 p m o l e / m g のタンパク質*

特異的結合 : 9 5 % *

定量方法 : 放射リガンド結合

有意性評価基準 : 刺激または阻害の最大値の f 5 0 %

【 0 2 9 7 】

2 2 6 4 0 0 テストステロン、G A B A

起源 : Wistarラット大脳皮質

リガンド : 6 n M の [³ H] G A B A

賦形剤 : 1 % D M S O

インキュベーション時間 / 温度 : 2 0 分 / 2 5

インキュベーション緩衝液 : 1 0 m M の N a - H E P E S 、 1 2 0 m M の N a C l 、 4 m M の C a アセテート、1 0 μ M の イソグバシン、1 0 μ M の (-) バクロフェン、p H 7 . 5

非特異的リガンド : 1 0 μ M の N O - 7 1 1

K_d : 0 . 3 μ M *

B_{max} : 6 0 p m o l e / m g のタンパク質*

特異的結合 : 8 0 % *

定量方法 : 放射リガンド結合

有意性評価基準 : 刺激または阻害の最大値の 5 0 % 以上

* は、ヒストリカル値を示す。

【 0 2 9 8 】

文献の引用

カタログ番号、引用文献

118050. Crespi, C. L.,

Miller, V. P. and Penman, B.W. (1997)、 Microtiter plate assays for inhibition of human, drug-metabolizing cytochromes P450. Anal Biochem 248(1): 188 - 190. Gentest Technical

Bulletin (Version 4.2: Revised 27 September 2000) A high throughput method for measuring cytochrome P450 inhibition. Gentest Technical Bulletin

(Version 4-2. Revised 27 September 2000).118060. Crespi, C. L., Miller, V. P. a nd

Penman, B.W. (1997) Microtiter plate assays for inhibition of human, drug-metabolizing cytochromes P450. Anal Biochem 248(1):

188-190. Gentest Technical Bulletin (Version 4.2: Revised 27 September 2000)

A high throughput method for measuring cytochrome P450 inhibition. Gentest

Technical Bulletin (Version 4-2: Revised 27 September

2000).118070. Crespi, C. L.,

Miller, V. P. and Penman, B.W. (1997) Microtiter plate assays for inhibition of human, drug-metabolizing cytochromes P450. Anal Biochem 248(1):

188 - 190. Gentest Technical Bulletin (Version 4.2: Revised 27 September

2000)

A high throughput method for measuring cytochrome P450 inhibition. Gentest

Technical Bulletin (Version 4-2: Revised 27 September

2000).118080. Crespi, C. L.,

Miller, V. P. and Penman, B.W. (1997) Microtiter plate assays for inhibition of human, drug-metabolizing cytochromes P450. Anal Biochem 248(1):

188 - 190. Gentest Technical Bulletin (Version 4.2: Revised 27 September 2000) A high throughput method for measuring cytochrome P450 inhibition. Gentest

Technical Bulletin (Version 4-2: Revised 27 September 2000).118090. Crespi, C.

10

20

30

40

50

- L., Miller, V. P. and Penman, B.W. (1997) Microtiter plate assays for inhibition of human, drug-metabolizing cytochromes P450. *Anal Biochem* 248M: 188 - 190. Gentest Technical Bulletin (Version 4.2: Revised 27 September 2000) A high throughput method for measuring cytochrome P450 inhibition. Gentest Technical Bulletin (Version 4.2: Revised 27 September 2000). 200510.
- Libert, F., Sande, J.V., Lefort, A., Czernilofsky, A., Dumont, J.E., Vassart, G., Ensinger, H.A. and Mendla, K.D. (1992). Cloning and functional characterization of a human A1 adenosine receptor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 187:919- 926. 200610. 10
- Varani, K., Gessi, S., Dalpiaz, A. and Borea, P. A. (1996) Pharmacological and biochemical characterization of purified A2A adenosine receptors in human platelet membranes by [³H]CG521680 binding. *Br. J. Pharmacol.* 117:1693-1701 20310 0.
- Michel, A.D., Loury, D.N., Whiting, R.L. (1989) Identification of a single a1A-adrenoceptor corresponding to the a1A-subtype in rat submaxillary gland. *Br. J. Pharmacol.* 98:883-889. 203200. Garcia-Sainz, J.A., Romero-Avila, M.T., Hernandez, R.A., Macias-Silva, M., Olivares-Reyes, A., Gonzalez-Espinosa, C. (1992) Species heterogeneity of hepatic al-adrenoceptors: at A-, al B-, and at C-subtypes. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 186:760-767. Michel 20
- , A.D., Loury, D.N., and Whiting, R.L. (1989) Identification of a single al A-adrenoceptor corresponding to the al A subtype in the rat submaxillary gland. *Br. J. Pharmacol.* 98:833-889. 203400. Kenny, B. A., Chalmers, D. H., Philpott, P. C. and Naylor A.
- M. (1995) Characterization of an al D-adrenoceptor mediating the contractile response of rat aorta to noradrenaline. *British Journal of Pharmacology.* 115: 981 - 986 203620.
- UhlSn, S., Porter, A.C., Neubig, R.R. (1994) The novel alpha-2 30
adrenergic radioligand [³H]MK912 is alpha-2C selective among human alpha-2A, alpha-2B and alpha-2C adrenoceptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 271:1558-1565. 203710. Uhlen S., Dambrova, M., Nasman, J., Schioth, H.B., Gu, Y., Wikberg-Matsson, A., Wikberg, J.E., (1998) Alpha 213- and alpha 2C- adrenoceptors. comparison with MK912, RX821002, rauwolscine and yohimbine. *Eur. J. Pharmacol.* 343 (1): 93-101. 204010. Fève, B., Elhadri, K., Quignard-Boulange, A., Pairault, J. (1994) Transcriptional down-regulation by insulin of the b3-adrenergic receptor expression in 3T3-F442A adipocytes: a mechanism for repressing the CAMP signalling pathway. *Proc. NatL Acad. Sci. USA* 91:5677-5681. 204110. 40
- McCrea, K.E. and Hill S.J. (1993) Salmeterol, a long-acting b2-adrenoceptor agonist mediating cyclic AMP accumulation in a neuronal cell line. *Brit. J. Pharmacol.* 110:619-626. 204410. Galli, A., De Felice, L., Duke, B.-J., Moore, K., Blakely, R. (1995) Sodium dependent norepinephrine induced currents in norepinephrine transporter transfected HEK293 cells blocked by cocaine and antidepressants. *J. Exp. Biol.* 198:2197-2212. 212500. Menke, J., Borkowski, J.A., Bierilo, K.K., MacNeil, T., Derrick, A.W., Schneck, K.A., Ransom, R.W. Strader, C.D., 50

- Linemeyer, D.L., Hess, J.F. (1994) Expression cloning of a human B1 bradykinin receptor. *J. Biol. Chem.* 269:21583-21586.212610. Eggerickx, D., Raspe, E., Bertrand, D., Vassart, G., Parmentier, M. (1992) Molecular cloning, functional expression and pharmacological characterization of a human bradykinin B2 receptor gene. *Biochem Biophys Res Commun* 187 (3): 1306 - 1313.214510. Schoemaker, H. and Langer S.Z. (1985) [3H]Diltiazem binding to calcium channel antagonist recognition sites in rat cerebral cortex. *Eur. J. Pharmacol.* 111:273-277.214600. Ehlert, F.J., Roeske, W.R., Itoga, E., and Yamamura, H.I. (1982) The binding of [3H]nitrendipine to receptors for calcium channel antagonists in the heart, cerebral cortex and ileum of rats. *Life Sci.* 30:2191-2202. Gould R.J., Murphy, K.M.M., Snyder, S.H. (1982) [3H]nitrendipine-labeled calcium channels discriminate inorganic calcium agonists and antagonists. *Proc Natl. Acad. Sci. USA* 79:3656-3650.216000. Moresco, R.M., Govoni, S., Battaini, F., Trivulzio, S., Trabucchi, M. (1990) Omegaconotoxin binding decreases in aged rat brain. *Neurobiol. of Aging* 11:433-436.219500. Dearry, A., Gingrich, J. A., Falardeau, P., Freneau, R.Tjr., Bates, M.D., Caron, M.G. (1990) Molecular cloning and expression of the gene for a human D1 dopamine receptor. *Nature* 347:72-76. Sunahara, R.K., Niznik, H.B., Weiner, D.M., Stormann, T.M., Brann, M.R., Kennedy, J.L., Gelernter, J.E., Rozmahel, R., Yang, Y., Israel, Y., Seeman, P., and O'Dowd, B.F. (1990) Human Dopamine D1 receptor encoded by an intronless gene on chromosome 5. *Nature* 347:80-83. Zhou, Q.-Y., Grandy, D.K., Thambi, L., Kushner, J.A., Van To[, H.H.M., Cone, R., Pribnow, D., Salon, J. Bunzow, J.R., and Civelli, O. (1990) Cloning and expression of human and rat D1 dopamine receptors. *Nature* 347:76-80.219600. Bunzo, J.R., Van To[, H.H.M., Grandy, D.K., Albert, P., Salon, J., Christie, M., Machida, C.A., Neve, K.A., and Civelli, O. (1988) Cloning and expression of rat D2 dopamine receptor cDNA *Nature* 336:783-787. Grandy, D.K., Marchionni, M.A., Makam, H., Stofko, R.E., Alfano, M., Frothingham, L, Fischer, J.B. Burke-Howie, K.J., Bunzow, J.R., Seiver, A.C., Civelli, O. (1989) Cloning of the cDNA and gene for a human D2 dopamine receptor. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 86:9762-9766. Hayes, G., Biden, T.J., Selbie, L.A., and Shine, J. (1992) Structural subtypes of the dopamine D2 receptor are functionally distinct: Expression of the clone D2A and D2B subtypes in a heterologous cell line. *Molec. Endocrin.* 6:920-926.219800. Sokoloff, P., Giros, B., Martres, M.P., Bouthenet, M.L., Schwartz, J.C. (1990) Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature* 347:146-151.219900. Van Tot, H.H.M., Bunzow, J. R., Guan, H.C., Sunahara, R.K., Seeman, P., Niznik, H.B., Civelli, O. (1991) Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature* 350:610-614. Van To[, H.H.M., Wu, C.M., Guan, H.-C., Ohara, K., Bunzow, J.R., Civelli, O., Kennedy, J., Seeman, P. Niznik, H.B., and Jovanovic, V. (1992) Multiple dopamine D4 receptor variants in the human population. *Nature* 358:149-152.220320. Giros, B. and Caro

- n., M.G. (1993). Molecular characterization of the dopamine transporter. *Trends. Pharmacol. Sci.* 14: 43-49.220320. Gu, H., Wall, S., Rudnick, G. (1994) Stable expression of biogenic amine transporters reveals differences in inhibitor sensitivity, kinetics, and ion dependence. *J. Biol. Chem.* 269(10):7124-7130.224010. Pharmacological characterization of a potent norepinephrine receptor antagonist, 97 - 139. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 268: 1122 - 1127.224110. Cain, M.J., Garlick, R.K. and Sweetman, P.M. (1991) Endothelin-1 receptor binding assay for high throughput chemical screening. *J Cardiovasc Pharmacol* 17 Suppl 7: 5150-5151. Chiou, W.J., Magnuson, S.R., Dixon, D., Sundy, S., Opgenorth, T.J. and Wu-Wong, J.R. (1997) Dissociation characteristics of endothelin receptor agonists and antagonists in cloned human type-B endothelin receptor cells. *J. Biol. Chem.* 272:25495-25500. Dittadi, R., Gion, M., Brazzale, A., Bruscia, M.T., Bruscia, G. (1990) Radioligand binding assay of epidermal growth factor receptor: Causes of variability and standardization of the assay. *Clin. Chem.* 36:849-854. Massague, J. (1983) Epidermal growth factor-like transforming growth factor: II. Interaction with epidermal growth factor receptors in human placenta membranes and A431 cells. *J. Biol. Chem.* 258:13614-13620.226010. Obourn, J. D., Koszewski, N. J. and Notides, A. C. (1993) Hormone- and DNA-binding mechanism of the recombinant human estrogen receptor. *Biochemistry.* 32: 6229 - 6236.226400. Shank, R.P., Baldy, W.J., Matucci, L.C., Villani, F.J. Jr. (1990) Ion and temperature effects on the binding of gamma-aminobutyrate to its receptors and the high-affinity transport system. *J. Neurochem.* 54:2007-2015.226500. Enna, S.J., and Snyder, S.H. (1976) Influences of ions, enzymes and detergents on gamma-aminobutyric acid-receptor binding in synaptic membranes of rat brain. *Mol. Pharmacol.* 13:442-453. Martinin, C., Rigacci, T., Lucacchini, A. (1983) [³H]muscimol binding site on purified benzodiazepine receptor. *J. Neurochem.* 41:1183-1185. Snodgrass, S.R. (1978) Use of [³H]muscimol for GABA receptor studies. *Nature* 273:392-394.226600. Damm, H.W., Mueller, W.E., Schlaefer, U., Wollert, U. (1978) [³H]flunitrazepam: Its advantages as a ligand, for the identification of benzodiazepine receptors in rat brain membranes. *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol.* 22:597-600. Speth, R.C., Wastek, G.J., and Yamamura, H.I. (1979) Benzodiazepine receptors: temperature dependence of [³H]flunitrazepam binding. *Life Sci.* 24:351-357.228510. Facklam, M. and Bowery, N., G. (1993) Solubilization and characterization of GABA_B receptor binding sites from porcine brain synaptic membranes. *Br. J. Pharmacol.* 110: 1291-1296.228510. Mathivet P., Bernasconi, R., Barry, J. D., Marescaux, C., Bittiger, H. (1992) Binding characteristics of gamma-hydroxybutyric acid as a weak but selective GABA_B receptor agonist. *Eur. J. Pharmacol.* 321: 67-75.232010. Cidlowski, J. A. and Cidlowski, N. B. (1981) Regulation of glucocorticoid receptors by glucocorticoids in Cultured HeLa S3 Cells. *Endocrinology* 109: 1975 - 1982.232700. London, E.D. and Coyle J.

- T. (1979)
Specific binding of [3H]kainic acid to receptor sites in rat brain. *Mol. Pharmacol.* 15:492-505.232810.
- Sills, M. A. Fagg, G. Pozza, M. Angst, C. Brundish, D. E. Hurt, S. D. Wilusz, E. J. and Williams, M. (1991).
[³H]CGP 39653: a new N-methyl-D-aspartate antagonist radioligand with low nanomolar affinity in rat brain. *European Journal of Pharmacology* 192: 19-24.232910. Seifel, B.W., Sreekrishna, K., Baron, B.M. (1996) Binding of the radiolabeled glycine antagonist [3H]MDS105,519 to homomeric NMDA-NR1a receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 312:357-365.233000. 10
- Goldman, M.E., Jacobson, A.E., Rice, K.C., Paul, S.M. (1985)
Differentiation of [3H] phencyclidine and (+)-[3H]SKF-10047 binding sites in rat cerebral cortex. *FEBS Lett.* 190:333-336.239610. De Backer, M. D., Gommeren, W., Moereels, H., Nobels, G., Van Gompel, P., Leysen, J. E. and Luyten, W. H. (1993) Genomic cloning, heterologous expression and pharmacological characterization of a human histamine H1 receptor. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 1601 - 1608.239710. Ruat, M., Traiffort, E., Bouthenet, M. 20
- L., Schwartz, J. C., Hirschfeld, J., Buschauer, A. and Schunack, W. (1990)
Reversible and irreversible labeling and autoradiographic localization of the cerebral histamine H2 receptor using [¹²⁵I]iodinated probes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 87(5): 1658- 1662.239810. Yanai, K., Ryu, J. H., Sakai, N., Takahashi, T., Iwata, R., Ido, T., Murakami, K. and Watanabe, T.(1994) Binding characteristics of a histamine H3-receptor antagonist, [3H]S-methylthioperamide: comparison with [3H](R)α methylhistamine binding to rat tissues. *Japanese Journal of Pharmacology.* 65(2): 107 - 112. 30
- Zhu, Y., Michalovich, D., Wu, H., Tan, K. B., Dytko, G. M., Mannan, 1. J., Boyce, R., Alston, J. Tierney, L. A., Li, X., Herrity, N. C., Vawter, L., Sarau, H. M., Ames, R.S., Davenport, C. M., Hieble, J. P., Wilson, S., Bergsma, D. J. et al. (2001) Cloning, expression, and pharmacological characterization of a novel human histamine receptor. *Molecular pharmacology.* 59(3): 434 - 441, 2001.241000. Brown, C.M., Mackinnon, A.C., McGrath, J.C., Spedding, M., Kilpatrick, A.T. (1990) α2-Adrenoceptor subtypes and imidazoline-like binding in the rat brain. *Br. J. Pharmacol.* 99:803-809.243510. Chin, J., Cameron, P.M., Rupp, E., and Schmidt, J.A. (1987) 40
Identification of a high affinity receptor for native interleukin-1 a and interleukin-1 b on normal human lung fibroblasts. *J. Exp. Med.* 165:70-86.250600. Bruns, R.F., Thomsen, W.J., Pugsley, T.A. (1983) Binding of leukotrienes C4 and D4 to membranes from guinea pig lung: regulation by ions and guanine nucleotides. *Life Sci.* 33:645-653. Mong, S., Wu, H.-L, Hogaboom, G.K., Clark, M.A., Croke, S.T. (1984) Characterization of the leukotriene D4 receptor in guinea pig lung. *Eur. J. Pharmacol.* 102:1-11.252600. Buckley, N.J., Bonner, T.I., Buckley, 50

- C.M., Brann, M.R. (1989) Antagonist binding properties of five clonal muscarinic receptors expressed in CHO-K1 cell. *Mot. Pharmacol.* 35:469-476.
- Luthin, G.R. and Wolfe, B.B. (1984) Comparison of [3H]pirenzepine and [3H]quinuclidinyl-benzilate binding to muscarinic cholinergic receptors in rat brain. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 228:648-665. Watson, M., Yamamura, H.I., and Ro eske, W.R. (1983) A unique regulatory profile and regional distribution of [3H]pirenzepine binding in the rat provide evidence for distinct M1 and M2 muscarinic receptor subtypes. *Life Sci.* 32:3001-3011.252700. Buckley, N.J., Bonner, T.I., Buckley, C.M., Brann, M.R. (1989) Antagonist binding properties of five clonal muscarinic receptors expressed in CHO-Kt cell. *Mot. Pharmacol.* 35:469-476. Delmendo, R.E, Michel, A.D., and Whiting, R.L. (1989) Affinity of muscarinic receptor antagonists for the three putative muscarinic binding sites. *Br. J. Pharmacol.* 96:457-464.252800. Buckley, N.J., Bonner, T.I., Buckley, C.M., Brann, M.R. (1989) Antagonist binding properties of five clonal muscarinic receptors expressed in CHO-K1 cell. *Mot. Pharmacol.* 35:469-476.255510 . Patacchini, R. and Maggi, C.A. (1995) Tachykinin receptors and receptor subtypes. *Arch. Int. Pharmacodyn.* 329:161-184. 20 257000. Fuhlendorff, J., Gether, U., Aakerlund, L., Langeland-Hohansen, N., Thogersen, H., Melberg, S.G., Olsen, U.B., Thastrup, O., and Schwartz, T.W. (1990) [Leu31,Pro34]neuropeptide Y: a specific Y1 receptor agonist. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:182-186.
- Sheikh, S.P., O'Hare, M.M., Tortroa, O., Schwartz, T.W. (1989) Binding of monoiodinated neuropeptide Y to hippocampal membranes and human neuroblastoma cell line. *J. Biol. Chem.* 264:6648-6654.257110. Rose, P.M., Fernandes, P., Lynch, J.S., Frazier, S.T., Fisher, S.M., Kodukuta, K., Kienzle, B., and Seethala, R. (1995) 30 Cloning and functional expression of a cDNA encoding a human type 2 neuropeptide Y receptor. *J. Biol. Chem.* 270(39):22661-22664.258590. Davila-Garcia, M. 1., Musachio, J. L., Perry, D. C., Xiao, Y., Horti, A., London, E. D., Dannals, R. F. and Kellar, K. J. (1997) [125I]IPH, an epibatidine analog, binds with high affinity to neuronal nicotinic cholinergic receptors. *The journal of pharmacology and experimental therapeutics.* Z821: 445 - 451.258590. Whiteaker, P., Jimenez, M., McIntosh, J. M., Collins, A. C. and Marks, M.J. (2000) Identification of a novel nicotinic binding site in mouse brain using [(125)I]-epibatidine. *British journal of pharmacology.* 131(4) : 40 729 - 739.260110. Simonin, F. et al. (1994) The human d-opioid receptor: Genomic organization, cDNA cloning, functional expression, and distribution in human brain. *Mol. Pharmacol.* 46: 1015-1021.260210. Patricia, M., et al.. (1992) Pharmacological profiles of fentanyl analogs as + and + opiate receptors. *Eur. J. Pharmacol.* 213: 219-225. Simonin, F., et al. (1995) Kappa-opioid receptor in humans: cDNA and genomic cloning, chromosomal assignment, functional expression, pharmacology and expression pattern in the central 50

- nervous system. PNAS U.S.A. 92 15 : 1431-1437.260410. Wang, J.B., Johnson, P.S., Persico, A.M., Hawkins, A. L., Griffin, C. A., and Uhl, G.R. (1994) Human mu opiate receptor: cDNA and genomic clones, pharmacologic characterization and chromosomal assignment. FEBS Lett. 338:217-222.264500.
- Ashendel, C.L. (1985) The phorbol ester receptor: a phospholipid-regulated protein kinase. Biochem. Biophys. Acta 822:219-242.265010 . Herbert, J. M., Castro-Faria-Neto, H. C., Barbosa-Filho, J. M., Cordeiro, R. S. B., Tibirica, E. (1997) Pharmacological evidence for the putative existence of two different subtypes of PAF receptors on platelets and leukocytes; studies with yangambin. J. Lipid Mediat. Cell Signal. 17: 1-14.265600. Gaines, K.L., Hamilton, S. Boyd, A.E. 3rd (1988) Characterization of the sulfonylurea receptor on beta cell membranes. J. Biol. Chem. 263:2589-2592.268700. Bo, X., and Burnstock, G. (1990) High- and low-affinity binding sites for [3H]-a,b-methylene ATP in rat urinary bladder membranes. Br. J. Pharmacol. 101:291-296. Ziganshin, A.U., Hoyle, C.H., Bo, X., Lambrecht, G., Mutschler, E., Baumert, H.G., Burnstock, G. (1993) PPADS selectively antagonized P2X-purinoceptor-mediated responses in the rabbit urinary bladder. Br. J. Pharmacol. 110:1491-1495.268810. Boyer, J. L., Cooper, C. L. and Harden T. K. (1990) [¹³²P]3'-O-(4-Benzoyl)benzoyl ATP as a photoaffinity label for a phospholipase C-coupled P2Y-Purinergic receptor. J. Biol Chem. Vol. 265 No. 23: pp. 13515 - 13520.271110. Martin, G.R. and Humphrey, P.P.A. (1994) Receptor for 5-hydroxytryptamine: current perspectives on classification and nomenclature. Neuropharm. 33:261-273.271910. 1. Millerk, W. E. , Fletcher, P. W. , and Teitler, M. (1992) Membrane-bound and solubilized brain 5-HT3 receptor: improved radioligand binding assay using bovine area postrema or rat cortex and the radioligand [3H]GR65630, [3H]BRL43694, and [3H]LY278584 Synapse, 11:58 - 66. Boess, F. G., Steward, L. J., Steele, J. A., Liu, D., Reid, J., Glencorse, T. A. and Martin, 1. L. (1997) Analysis of the ligand binding site of the 5-HT₃ receptor using site- directed mutagenesis: importance of glutamate 106. Neuropharmacology, 36: 637 - 647.274020. Gu, H., Wall, S., Rudnick, G. (1994) Stable expression of biogenic amine transporters reveals differences in inhibitor sensitivity, kinetics, and ion dependence. J. Biol. Chem. 269(10):7124-7130.278110. Ganapathy, M. E., Prasad, P. D., Huang, W., Seth, P. , Leibach, F. H. and Ganapathy, V. (1999) Molecular and ligand-binding characterization of the s-receptor in the Jurkat human T lymphocyte cell line. Pharmacol Exp. Ther 289: 251 - 260.278200. Hashimoto, K., and London, E.D. (1993) Further characterization of [3H]ifenprodil binding to sigma receptors in rat brain. Eur. J. Pharmacol. 236:159-163.279450. Doucette, G.J. Logan, M. M., Ramsdell, J. S. and Van Dolah, F. M. (1997) Development and preliminary validation of a microtiter plate-based receptor

10

20

30

40

50

binding assay for paralytic shellfish poisoning toxins. *Toxicon*, 35 (5): 625 - 636.279510. Catterall, W.A., Morrow, C.S., Daly, J.W., Brown, G.B. (1981) Binding of batrachotoxin A 20-alpha-benzoate to a receptor site associated with sodium channels in synaptic nerve ending particles. *J. Biol. Chem.* 256:8922-8927.285010. Chang, C. and Liao, S. (1987) Topographic recognition of cyclic hydrocarbons and related compounds by receptors for androgens, estrogens, and glucocorticoids. *J. Steroid Biochem.* 27(1-3): 123 - 131.

Traish, A. M., Muller R. E. and Wotiz, H. H. (1986) Binding of 7a, 17a-dimethyl-19-nortestosterone (mibolerone) to androgen and progesterone receptors in human and animal tissues. *Endocrinology* 118(4): 1327 - 1333.

10

【 0 2 9 9 】

実施例 9C S 1 8 1 4、C S 1 7 1 3 および C S 1 7 1 4 の生物学的試験

C S 1 8 1 4、C S 1 7 1 3、C S 1 7 1 4 および種々の参照化合物の生物学的試験の結果を図 4 1 ~ 5 8 および 6 0 ~ 6 2 に示す。方法は、信頼性および再生性を最大化するために、科学文献から採用した。参照は、各アッセイのインテグラルパートとして行い、得られた結果の有効性を確認した。アッセイは、下記に示した条件下で行った。各アッセイの文献の符号については、下記にまとめている。本明細書においてそれを引用によって援用する。

20

【 0 3 0 0 】

示されている場合、 IC_{50} 値は、Data Analysis ToolboXTM (MDL Information Systems, San Leandro, CA, USA) を用いた、非線形の少なくとも 2 乗回帰分析によって測定した。阻害定数 (K_i) が示されている場合、 K_i 値は、試験された化合物の観察された IC_{50} 、アッセイにおいて採用した放射性リガンドの濃度、およびリガンドの K_D のヒストリカル値 (MDS

Pharma Servicesにおいて実験によって取得) を用いて、ChengとPrusoffの式 (Cheng, Y., Prusoff, W.H., *Biochem. Pharmacol.*

30

22:3099 - 3108, 1973) を使って計算したものである。示されている場合、競合する結合曲線の傾斜を定義する Hill 係数 (n_H) は、Data Analysis Toolbox (登録商標) を用いて計算した。Hill 係数が 1.0 と有意に異なる場合、結合のズレは、単一の結合部位を持つ質量作用の法則に従わないことを示唆するかもしれない。 IC_{50} 、 K_i および/または n_H のデータが、Standard Error of the Mean (SEM) なしで示されている場合、データは、量的に不十分であり、示された値 (K_i 、 IC_{50} 、 n_H) の解釈には注意が必要である。

【 0 3 0 1 】

C S 1 7 1 3 (バイアル番号 2)、C S 1 7 1 4 (バイアル番号 3) および C S 1 8 1 4 (バイアル番号 1) を、細胞セロトニンおよびノルエピネフリン再摂取について評価した。さらに、C S 1 7 1 3 (バイアル番号 2) および C S 1 7 1 4 (バイアル番号 3) を、C Y P 4 5 0 3 A 4 を、 $10 \mu M$ の開始濃度での阻害について、種々の放射線リガンド結合アッセイにおいて評価した。図 6 0 に示されているように、放射性リガンドのセロトニン輸送体結合部位からのズレについて (バイアル番号 2: $K_i = 3.88 nM$ 、バイアル番号 3: $K_i = 8.15 nM$)、およびノルエピネフリン輸送体結合部位からのズレについて (バイアル番号 2: $K_i = 0.112 \mu M$ 、バイアル番号 3: $K_i = 1.68 \mu M$)、有意な活性 (50% 以上) が観察された。

40

【 0 3 0 2 】

図 6 1 に示されているように、C S 1 8 1 4 (バイアル番号 1) は、セロトニンおよびノルエピネフリンの摂取 (ノルエピネフリンにおいては、 $IC_{50} = 28.6 nM$ 、セロ

50

トニンにおいて、 $IC_{50} = 21.7 \text{ nM}$) がほぼ等電位である。興味深いことに、CS 1713 (バイアル番号2) は、セロトニン摂取よりノルエピネフリン摂取をより強く阻害する (ノルエピネフリンにおいては、 $IC_{50} = 10.3 \text{ nM}$ 、セロトニンにおいては、 $IC_{50} = 22 \text{ nM}$)。対照的に、CS 1714 (バイアル番号3) は、ノルエピネフリン摂取より、セロトニン摂取をより強く阻害する (ノルエピネフリンにおいては、 $IC_{50} = 88.5 \text{ nM}$ 、セロトニンにおいては、 $IC_{50} = 40.3 \text{ nM}$)。CS 1713 (バイアル番号2) がノルエピネフリン摂取のより強い阻害剤であるという事実は、ノルエピネフリン摂取に関連する疾患を治療するための優れた治療薬を提供する。さらに、CS 1714 (バイアル番号3) は、セロトニン摂取の選択的阻害を治療するために有用であろう。

10

【0303】

重要なことに、CS 1713 (バイアル番号2)、CS 1714 (バイアル番号3)、またはCS 1814 (バイアル番号1) は、 $10 \mu\text{M}$ において、細胞毒性は認められなかった。さらに、CS 1814 (バイアル番号1) は、ノルエピネフリン輸送体およびセロトニン輸送体の選択的阻害剤である。図32および33に示すように、通常CS 1814が他の受容体に結合しないという事実は、患者に当該化合物を投与することに関する、否定的な副作用のリスクを実質的に減少させる。したがって、CS 1713およびCS 1714は、副作用を有害な副作用を持たない。

【0304】

方法：

118090 CYP450、3A4

起源：ヒト組換え Sf9 昆虫細胞

基質剤： $50 \mu\text{M}$ の7-ベンジルオキシ-4-(トリフルオロメチル)-クマリン

賦形剤：0.1% DMSO

プレインキュベーション時間/温度：なし

インキュベーション時間/温度：30分/37

インキュベーション緩衝液：75 mMのリン酸カリウム緩衝液、pH 7.5

定量方法：7-ヒドロキシ-4-(トリフルオロメチル)-クマリンの分光蛍光法による定量化

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

20

30

【0305】

212610 ブラジキニン B₂

起源：ヒト組み換え CHO-K1 細胞

リガンド：0.2 nMの [³H]ブラジキニン

賦形剤：0.1% DMSO

インキュベーション時間/温度：90分/25

インキュベーション緩衝液：24 mMのTES-NH₄OH、pH 6.8、1 mMの1

, 10-フェナントロリン、0.3% BSA

非特異的リガンド：5 μMのブラジキニン

K_D：0.29 nM*B_{MAX}：2 pmol/mgのタンパク質*

特異的結合：90%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

40

【0306】

214510 カルシウムチャネルL型、ベンゾチアゼピン

起源：Wistarラット脳

リガンド：2 nMの [³H]ジルチアゼム

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：3時間/4

50

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、0.1% BSA、pH 7.4、25

非特異的リガンド：10 μ Mのジルチアゼム

K_D ：0.016 μ M*

B_{MAX} ：0.21 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：73%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0307】

204410 輸送体、ノルエピネフリン (NET) 10

起源：ヒト組み換えMDCK細胞

リガンド：0.2 nMの $[^{125}I]$ RTI-55

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：3時間/4

インキュベーション緩衝液：50 mMのトリス塩酸、100 mMのNaCl、1 μ Mのロイペプチン、10 μ MのPMSF、pH 7.4

非特異的リガンド：10 μ Mのデシプラミン

K_D ：0.024 μ M*

B_{MAX} ：2.5 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：75%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値の50%以上

【0308】

274020 輸送体、セロトニン (5-ヒドロキシトリプタミン) (SERT) 30

起源：ヒト組み換えHEK-293細胞

リガンド：0.15 nMの $[^{125}I]$ RTI-55

賦形剤：1% DMSO

インキュベーション時間/温度：3時間/4

インキュベーション緩衝液：100 mMのNaCl、50 mMのトリス塩酸、1 μ Mのロイペプチン、10 μ MのPMSF、pH 7.4

非特異的リガンド：10 μ Mのイミプラミン

K_D ：0.17 nM*

B_{MAX} ：0.41 pmole/mgのタンパク質*

特異的結合：95%*

定量方法：放射リガンド結合

有意性評価基準：刺激または阻害の最大値のf 50%

【0309】

302100 細胞毒性、ノルエピネフリン摂取

標的：ヒトMDCK細胞イヌ腎臓

賦形剤：0.4% DMSO 40

インキュベーション時間/温度：30分/25

インキュベーション緩衝液：5 mMのトリス塩酸、7.5 mMのHEPES、120 mMのNaCl、5.4 mMのKCl、1.2 mMのCaCl₂、1.2 mMのMgSO₄、5 mMのグルコース、1 mMのアスコルビン酸、pH 7.1

定量方法：Alamar Blueの分光蛍光法による定量化

有意性評価基準 - Ag：該当なし

有意性評価基準 - Ant：蛍光強度の、賦形剤対照に対する50%以上の減少

【0310】

364100 細胞毒性、セロトニン (5-ヒドロキシトリプタミン) 摂取

標的：ヒトHEK-293細胞ヒト胎児性腎臓 50

賦形剤：0.4% DMSO

インキュベーション時間/温度：30分/25

インキュベーション緩衝液：5 mMのトリス塩酸、7.5 mMのHEPES、120 mMのNaCl、5.4 mMのKCl、1.2 mMのCaCl₂、1.2 mMのMgSO₄、5 mMのグルコース、1 mMのアスコルビン酸、pH 7.1

定量方法：Alamar Blue の分光蛍光法による定量化

有意性評価基準 - Ag：該当なし

有意性評価基準 - Ant：蛍光強度の、賦形剤対照に対する50%以上の減少

【0311】

302000 摂取、ノルエピネフリン

10

標的：ヒトMDCK細胞イヌ腎臓

賦形剤：0.4% DMSO

インキュベーション時間/温度：10分/25

インキュベーション緩衝液：5 mMのトリス塩酸、7.5 mMのHEPES、120 mMのNaCl、5.4 mMのKCl、1.2 mMのCaCl₂、1.2 mMのMgSO₄、5 mMのグルコース、1 mMのアスコルビン酸、pH 7.1

定量方法：[³H]ノルエピネフリンの定量化

有意性評価基準 - Ag：該当なし

有意性評価基準 - Ant：デシプラミン反応に対する、[³H]ノルエピネフリン摂取の50%以上の阻害

20

【0312】

364000 摂取、セロトニン(5-ヒドロキシトリプタミン)

標的：ヒトHEK-293細胞ヒト胎児性腎臓

賦形剤：0.4% DMSO

インキュベーション時間/温度：10分/25

インキュベーション緩衝液：5 mMのトリス塩酸、7.5 mMのHEPES、120 mMのNaCl、5.4 mMのKCl、1.2 mMのCaCl₂、1.2 mMのMgSO₄、5 mMのグルコース、1 mMのアスコルビン酸、pH 7.1

定量方法：[³H]セロトニン摂取の定量

有意性評価基準 - Ag：該当なし

有意性評価基準 - Ant：フルキセチン(fluxetine)反応に対する[³H]セロトニン摂取の50%以上の阻害

30

【0313】

文献の引用

(カタログ番号、引用)

118090.

Crespi, C. L., Miller, V. P and Penman, B.W. (1997) Microtiter plate assays for inhibition of human, drug-metabolizing cytochromes P450. *Anal Biochem* 248(1):

188-190.

40

Gentest Technical Bulletin (Version 4.2: Revised 27 September 2000) A high throughput method for measuring cytochrome P450 inhibition. *Gentest Technical Bulletin*

(Version 4.2) Revised 27 September 2000).

204410. Galli,

A., DeFelice, L., Duke, B.-J., Moore, K. Blakely, R. (1995) Sodium dependent norepinephrine induced currents in norepinephrine transporter transfected HEK293 cells blocked by cocaine and antidepressants. *J. Exp. Biol.* 198:2197-2212.

50

212610.

Eggerickx, D., Raspe, E. Bertrand, D., Vassart, G., Parmentier, M.
 (1992) Molecular cloning, functional expression and pharmacological
 characterization of a human bradykinin B2 receptor gene. *Biochem Biophys Res
 Commun* 187 (3): 1306 - 1313.

214510.

Schoemaker, H. and Langer, S.Z. (1985) [3H]Diltiazem binding to calcium
 channel antagonist recognition sites in rat cerebral cortex. *Eur. J. Pharmacol.*
 111:273-277.

274020. Gu,

H., Wall, S., Rudnick, G. (1994) Stable expression of biogenic amine
 transporters reveals differences in inhibitor sensitivity, kinetics, and ion
 dependence. *J. Biol. Chem.* 269(10):7124-7130.

302000. Galli,

A., DeFelice, L. Duke, B.-J., and Blakely, R. (1995) Sodium dependent
 norepinephrine-induced currents in
 norepinephrine-transporter-transfected
 HEK-293 cells blocked by cocaine and antidepressants. *J. Exp. Biol.* 198:2197-22
 12.

302100. Page,

B., Page, M. and Noel, C. (1993) A new fluorometric assay for cytotoxicity
 measurements in vitro. *Ing. I*
 3:473-476, 1993.

364000. Gu,

H., Wall, S., Rudnick, G. (1994) Stable expression of biogenic amine
 transporter reveals differences in inhibitor sensitivity, kinetics, and ion
 dependence. *J. Biol. Chem.* 269(1):7124-7130.

364100. Page,

B., Page, M. and Noel, C. (1993) A new fluorometric assay for cytotoxicity measu
 rements
 in vitro. *Int. J. Oncology* 3:473-476,
 1993.

【 0 3 1 4 】

引用された更なる特許および文献

1 . 米国特許第4,478,836号

2 . 米国特許第5,034,541号

3 . 米国特許第5,621,142号

4 . Moret, C. et al. *Neuropharmacology* 1985,
 24, 1211-1219.

5 . Bonnaud, B. et al. *J. Med. Chem.* 1987, 30, 318-325.

6 . Shuto, S. et al. *J. Med. Chem.* 1995, 38, 2964-2968.

7 . Viazzo, P. et al. *Tetrahedron Lett.* 1996, 37, 4519-4522.

8 . Shuto, S. et al. *Tetrahedron Lett.* 1996, 37, 641-644.

9 . Shuto, S. et al. *J. Med. Chem.* 1996, 39, 4844-4852.

1 0 . Shuto, S. et al. *J. Med. Chem.* 1998, 41, 3507-3514.

1 1 . Deprez, D.

et al. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 1998, 23, 166-171.

1 2 . Puozzo, C.

et al. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 1998, 23, 273-279.

1 3 . Puozzo C.

10

20

30

40

50

et al. Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet. 1998, 23, 280-286.

14. Shuto, S. et al. Jpn. J. Pharmacol. 2001, 85, 207-213.

15. Doyle, M.P. et al. Adv. Synth. Catal. 2001, 343, 299-302.

16. Kazuta, Y. et al. Bioorg. Med. Chem. 2002, 10, 1777-1791.

17. Labat, L. et al. J. Chromatogr. B 2002, 773, 17-23.

18. Grard, S. et al. Electrophoresis 2000, 21, 3028-3034.

【0315】

引用による援用

本明細書において引用されている、すべての特許および文献を本明細書に引用によって援用する。

10

【0316】

均等物

当業者なら、ルーチンの実験法を用いるだけで、ここに記載された本発明の特定の実施形態に対して多くの均等物を認識または確認することになる。そのような均等物は、以下の請求項に包含されることが意図される。

【図面の簡単な説明】

【0317】

【図1】図1は、p-ヒドロキシ-ミルナシプランの個別のエナンチオマーを調製するために用いられる合成経路を示す図である。

【図2】図2は、ラクトンCS1590の¹H NMRスペクトルを示す図である。

20

【図3】図3は、ラクトンCS1590の¹³C NMRスペクトルを示す図である。

【図4】図4は、アミドCS1608の¹H NMRスペクトルを示す図である。

【図5】図5は、アミドCS1608の¹³C NMRスペクトルを示す図である。

【図6】図6は、CS1628の¹H NMRスペクトルを示す図である。

【図7】図7は、CS1628の¹³C NMRスペクトルを示す図である。

【図8】図8は、CS1649の¹H NMRスペクトルを示す図である。

【図9】図9は、CS1649の¹³C NMRスペクトルを示す図である。

【図10】図10は、CS1665のHPLCクロマトグラムを示す図である（HPLC条件：10%～95%アセトニトリルで8分以内；0.1%TFAを含む95%LMで2分、流速：2.0mL/分、Saule: Zorbax XDB-C8）。

30

【図11】図11は、CS1665のマススペクトルを示す図である。

【図12】図12は、CS1665の¹H NMRスペクトルを示す図である。

【図13】図13は、CS1665の¹³C NMRスペクトルを示す図である。

【図14】図14は、CS1710のHPLCクロマトグラムを示す図である（HPLC条件：10%～95%アセトニトリルで8分以内；0.1%TFAを含む95%LMで2分、流速：2.0mL/分、Saule: Zorbax XDB-C8）。

【図15】図15は、CS1710のマススペクトルを示す図である。

【図16】図16は、CS1710の¹H NMRスペクトルを示す図である。

【図17】図17は、CS1710の¹³C NMRスペクトルを示す図である。

【図18】図18は、CS1713のHPLCクロマトグラムを示す図である（HPLC条件：10%～95%アセトニトリルで8分以内；0.1%TFAを含む95%LMで2分、流速：2.0mL/分、Saule: Zorbax XDB-C8）。

40

【図19】図19は、CS1713のマススペクトルを示す図である。

【図20】図20は、CS1713の¹H NMRスペクトルを示す図である。

【図21】図21は、CS1713の¹³C NMRスペクトルを示す図である。

【図22】図22は、CS1714のHPLCクロマトグラムを示す図である（HPLC条件：10%～95%アセトニトリルで8分以内；0.1%TFAを含む95%LMで2分、流速：2.0mL/分、Saule: Zorbax XDB-C8）。

【図23】図23は、CS1714のマススペクトルを示す図である。

【図24】図24は、CS1714の¹H NMRスペクトルを示す図である。

50

【図25】図25は、CS1714の ^{13}C NMRスペクトルを示す図である。

【図26】図26は、CS1814のHPLCクロマトグラムを示す図である（ラセミ型 p - ヒドロキシ - ミルナシبرانヒドロクロリド；HPLC条件：10%～95%アセトニトリルで8分以内；0.1% TFAを含む95% LMで2分、流速：2.0 mL / 分、Saule: Zorbax XDB-C8）。

【図27】図27は、CS1814のLC/MSクロマトグラムを示す図である。

【図28】図28は、CS1814のLC/MSクロマトグラムからの選択されたピークのマススペクトルを示す図である。

【図29】図29は、CS1814のLC/MSクロマトグラムからのピークのマススペクトルを示す図である。

10

【図30】図30は、CS1814の ^1H NMRスペクトルを示す図である。

【図31】図31は、CS1814の ^{13}C NMRスペクトルを示す図である。

【図32】図32は、ヒト(hum)およびラットの受容体を用いたアッセイにおけるCS1814の生物学的活性データを示す図である。

【図33】図33は、ヒト(hum)、マウス、モルモット(gp)、シリアンハムスター(syh)およびラットの受容体を用いたアッセイにおけるCS1814の生物学的活性データを示す図である。

【図34】図34は、ヒト(hum)およびラットの受容体を用いたアッセイにおけるCS1814の生物学的活性データを示す図である。

【図35】図35は、ヒト(hum)受容体を用いたアッセイにおけるCS1814の生物学的活性データを示す図である。

20

【図36】図36は、種々の参照化合物の生物学的活性データを示す図である。

【図37】図37は、種々の参照化合物の生物学的活性データを示す図である。

【図38】図38は、種々の参照化合物の生物学的活性データを示す図である。

【図39】図39は、CS1814(バイアル番号1)によるノルエピネフリン(Norephrine)輸送体(NET)の%阻害を示すグラフである。

【図40】図40は、CS1814(バイアル番号1)によるセロトニン輸送体(NET)の%阻害を示すグラフである。

【図41】図41は、CS1713(バイアル番号2)およびCS1714(バイアル番号3)の生物学的活性データを示す図である。

30

【図42】図42は、CS1713(バイアル番号2)およびCS1714(バイアル番号3)の生物学的活性データを示す図である。

【図43】図43は、CS1713(バイアル番号2)およびCS1714(バイアル番号3)の生物学的活性データを示す図である。

【図44】図44は、CS1713(バイアル番号2)、CS1714(バイアル番号3)およびCS1814(バイアル番号1)の生物学的活性データを示す図である。

【図45】図45は、CS1713(バイアル番号2)、CS1714(バイアル番号3)、およびCS1814(バイアル番号1)の生物学的活性データを示す図である。

【図46】図46は、CS1714(バイアル番号3)の生物学的活性データを示す図である。

40

【図47】図47は、CS1814(CEL-1)およびデシプラミンによるノルエピネフリン摂取の%阻害を示すグラフである。

【図48】図48は、CS1814(CEL-1)およびフルオキセチンによるセロトニン摂取の%阻害を示すグラフである。

【図49】図49は、CS1713(CEL-3)およびデシプラミンによるノルエピネフリン摂取の%阻害を示すグラフである。

【図50】図50は、CS1713(CEL-3)およびGBR-12909によるセロトニン輸送体の%阻害を示すグラフである。

【図51】図51は、CS1713(CEL-3)およびデシプラミンによるノルエピネフリン摂取の%阻害を示すグラフである。

50

【図52】図52は、CS1713 (CEL-3) およびフルオキセチンによるセロトニン摂取の%阻害を示すグラフである。

【図53】図53は、CS1714 (CEL-5) およびデシプラミンによるノルエピネフリン輸送体摂取の%阻害を示すグラフである。

【図54】図54は、CS1714 (CEL-5) およびGBR-12909によるセロトニン輸送体摂取の%阻害を示すグラフである。

【図55】図55は、CS1714 (CEL-5) およびデシプラミンによるノルエピネフリン摂取の%阻害を示すグラフである。

【図56】図56は、CS1714 (CEL-5) およびフルオキセチンによるセロトニン摂取の%阻害を示すグラフである。

【図57】図57は、参照化合物の細胞アッセイデータを示す図である。

【図58】図58は、参照化合物の細胞アッセイデータを示す図である。

【図59】図59は、CS1814の有意な第1の結果をまとめた図である。

【図60】図60は、CS1713 (バイアル番号2) およびCS1714 (バイアル番号3) の有意な第1の結果をまとめた図である。

【図61】図61は、CS1814 (バイアル番号1)、CS1713 (バイアル番号2)、およびCS1714 (バイアル番号3) の有意な第1の結果をまとめた図である。

【図62】図62は、CS1814 (バイアル番号1)、CS1713 (バイアル番号2)、およびCS1714 (バイアル番号3) の第2の結果をまとめた図である。

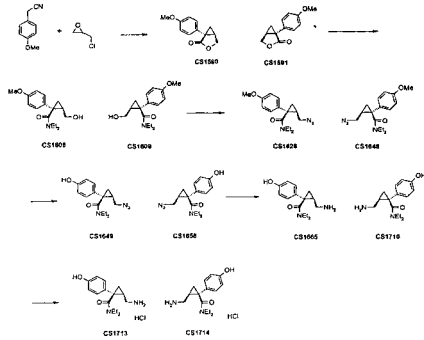
【図63】図63は、プラシーボを用いた対照群の臨床試験において自発的に報告されたミルナシプランの有害履歴の発生率を示す図である。

10

20

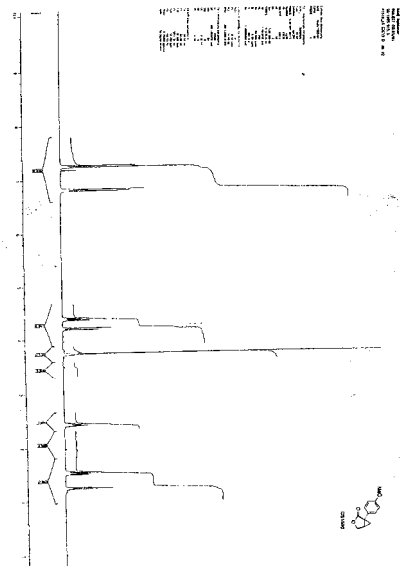
【図1】

Figure 1



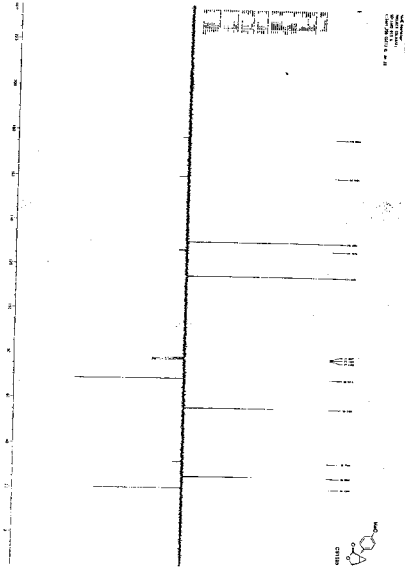
【図2】

Figure 2



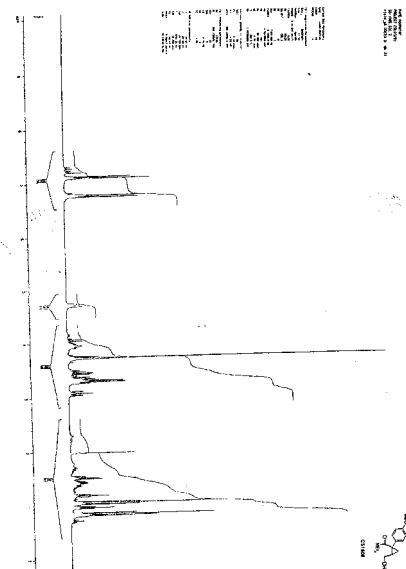
【 3 】

Figure 3



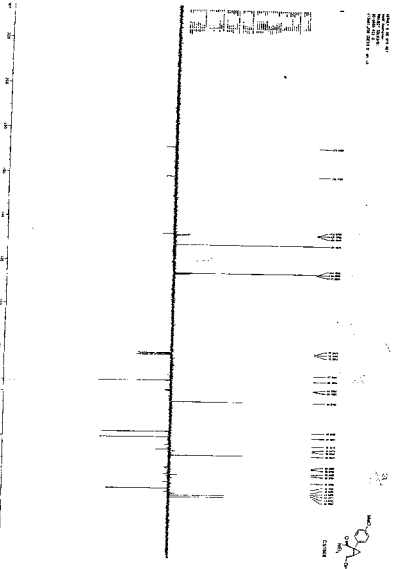
【 4 】

Figure 4



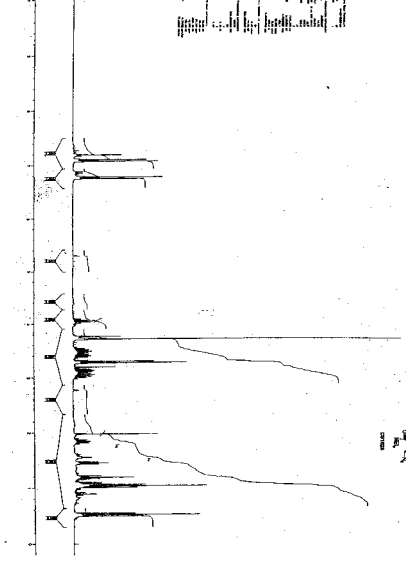
【 5 】

Figure 5



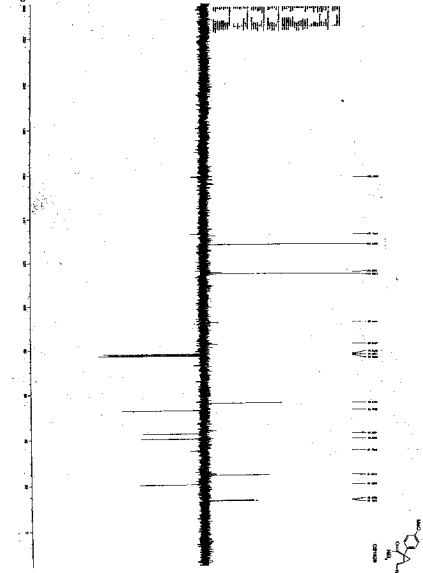
【 6 】

Figure 6



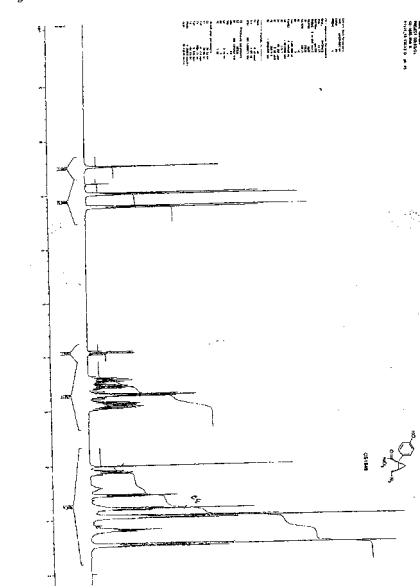
【 7 】

Figure 7



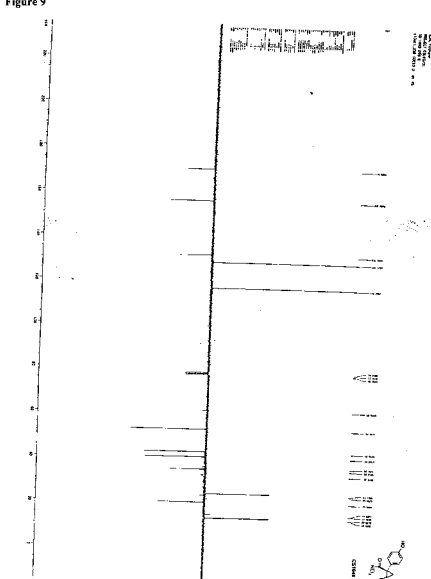
【 8 】

Figure 8



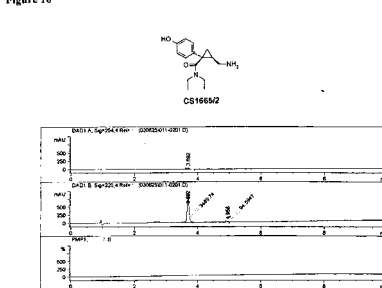
【 9 】

Figure 9



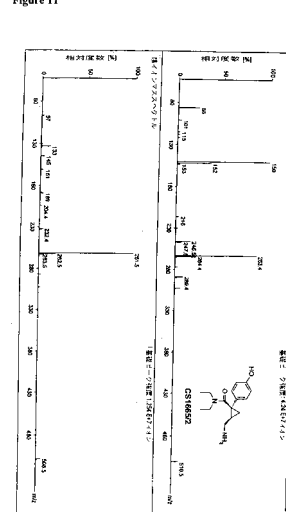
【 10 】

Figure 10



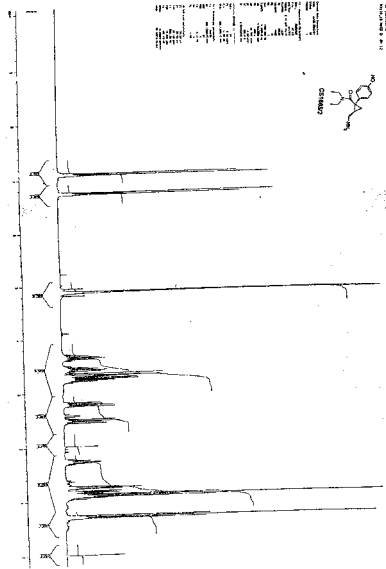
【 11 】

Figure 11



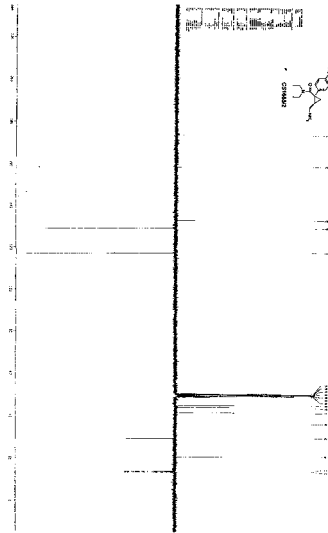
【 1 2 】

Figure 12



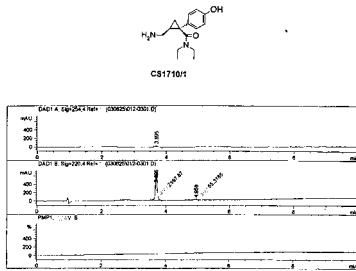
【 1 3 】

Figure 13



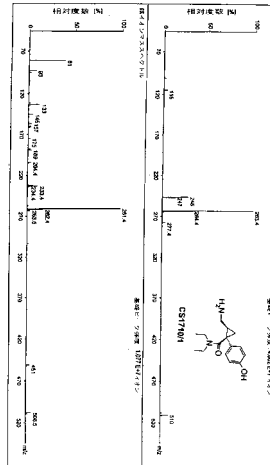
【 1 4 】

Figure 14



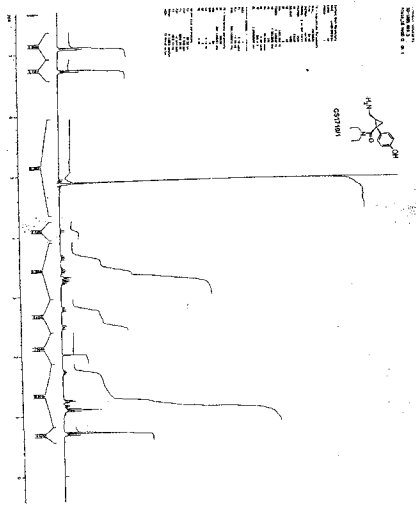
【 1 5 】

Figure 15



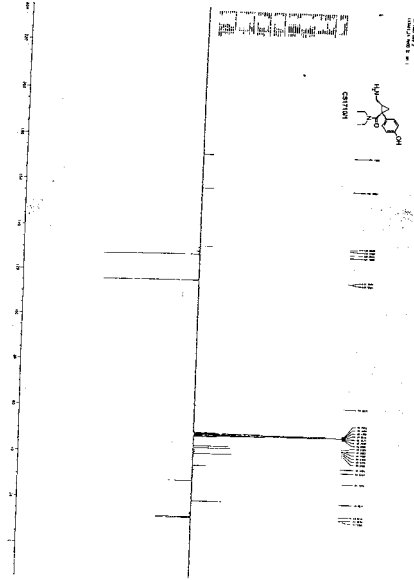
【 16 】

Figure 16



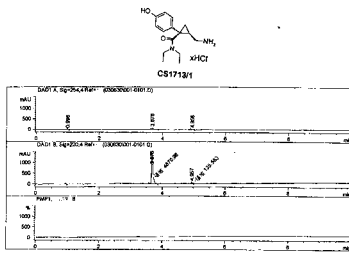
【 17 】

Figure 17



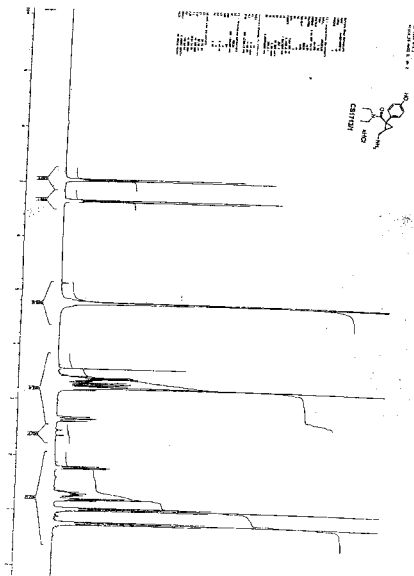
【 18 】

Figure 18



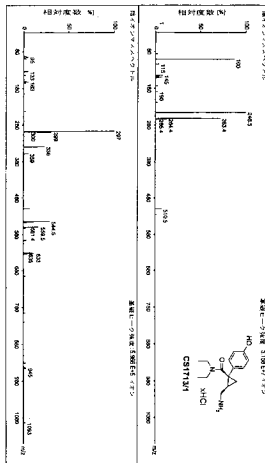
【 20 】

Figure 20



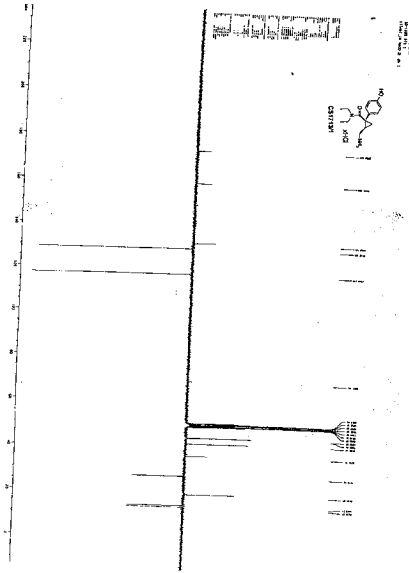
【 19 】

Figure 19



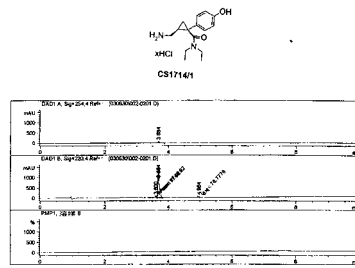
【 2 1 】

Figure 21



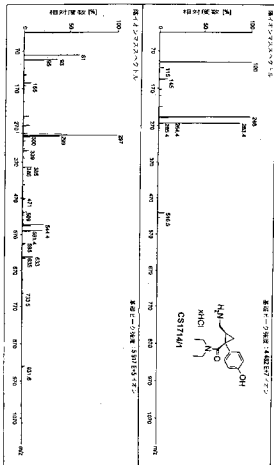
【 2 2 】

Figure 22



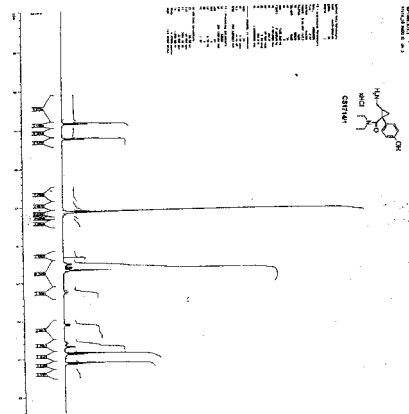
【 2 3 】

Figure 23



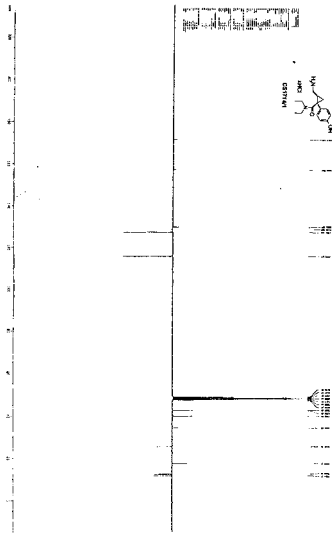
【 2 4 】

Figure 24



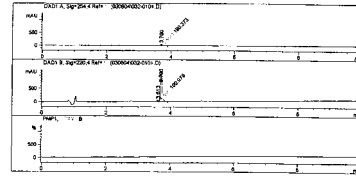
【 25 】

Figure 25



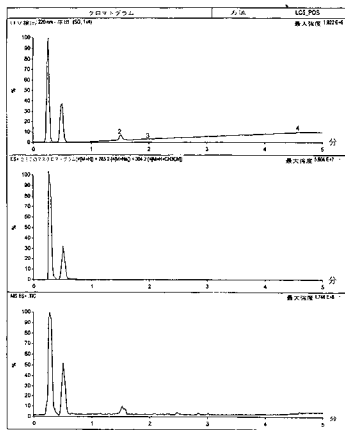
【 26 】

Figure 26



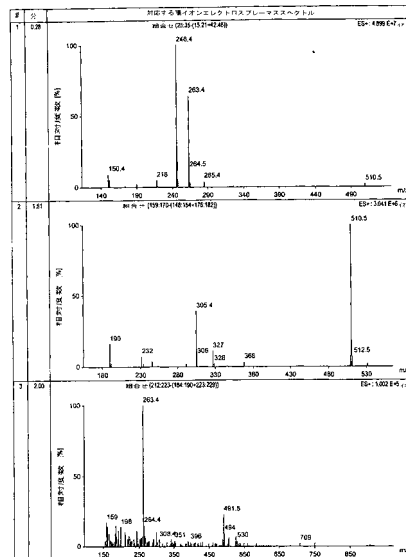
【 27 】

Figure 27



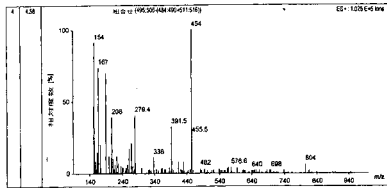
【 28 】

Figure 28



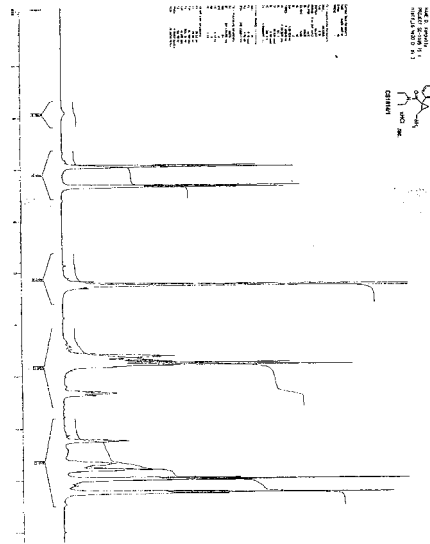
【 29 】

Figure 29



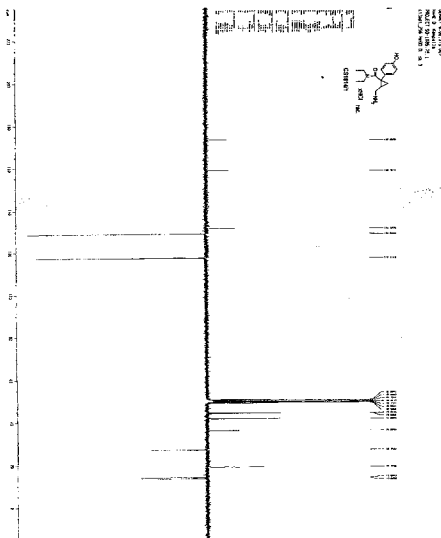
【 30 】

Figure 30



【 31 】

Figure 31



【 32 】

Figure 32

検出番号	検出物質	ピーク番号	検出濃度	検出率	検出率 (%)	検出率 (%)	検出率 (%)	検出率 (%)	検出率 (%)
110050	CP450.142	93172	Num 2	10 µM	1				
110070	CP450.2019	93174	Num 2	10 µM	13				
110080	CP450.2079	93173	Num 2	10 µM	7				
110090	CP450.2095	93172	Num 2	10 µM	16				
110090	CP450.3044	93143	Num 2	10 µM	21				
200510	アクリル酸	92720	Num 2	10 µM	-5				
200610	アクリル酸	92719	Num 2	10 µM	-2				
203100	アクリル酸	92818	Num 2	10 µM	16				
203200	アクリル酸	92819	Num 2	10 µM	5				
203400	アクリル酸	92820	Num 2	10 µM	16				
203620	アクリル酸	92621	Num 2	10 µM	15				
203710	アクリル酸	92922	Num 2	10 µM	14				
204010	アクリル酸	92721	Num 2	10 µM	6				
204310	アクリル酸	92722	Num 2	10 µM	3				
212500	アクリル酸	92644	Num 2	10 µM	10				
212610	アクリル酸	92628	Num 2	10 µM	20				
214510	アクリル酸	92643	Num 2	10 µM	26				
214600	アクリル酸	92614	Num 2	10 µM	-4				
215000	アクリル酸	92700	Num 2	10 µM	-5				
219100	アクリル酸	92810	Num 2	10 µM	-4				
219600	アクリル酸	92811	Num 2	10 µM	-6				
219800	アクリル酸	92813	Num 2	10 µM	-11				
219900	アクリル酸	92814	Num 2	10 µM	-1				
224010	アクリル酸	92716	Num 2	10 µM	0				
224110	アクリル酸	92716	Num 2	10 µM	-5				
225500	アクリル酸	92641	Num 2	10 µM	3				
226110	アクリル酸	92633	Num 2	10 µM	7				
226500	アクリル酸	92616	Num 2	10 µM	-10				
226600	アクリル酸	92820	Num 2	10 µM	40				
228510	アクリル酸	92715	Num 2	10 µM	9				
232010	アクリル酸	92804	Num 2	10 µM	0				

検出率は、ローアブソリュートにおいて検出された物質の検出率を示す。
 Fは5の倍数の検出率を示す。検出率は、検出率の絶対値で示す。
 Numは検出率を示す。
 µMは検出率を示す。
 µMは検出率を示す。

【 33 】

Figure 33

Table with columns: 化合物名, アッセイ名, 参考化合物, IC50, Kd, Rg, R. Lists various compounds and their assay results.

この表は、同一アッセイにおいて同時に測定される化合物を表す。

↑は50%以上の阻害率が観察された化合物を示す結果を表で示している。(後の欄は、阻害率が阻害者の数値を示す)

IC50: 阻害剤の濃度
Kd: 結合剤の濃度
Rg: 阻害剤の濃度
R: 阻害剤の濃度

【 34 】

Figure 34

Table with columns: 化合物名, アッセイ名, 参考化合物, IC50, Kd, Rg, R. Lists various compounds and their assay results.

この表は、同一アッセイにおいて同時に測定される化合物を表す。

↑は50%以上の阻害率が観察された化合物を示す結果を表で示している。(後の欄は、阻害率が阻害者の数値を示す)

IC50: 阻害剤の濃度
Kd: 結合剤の濃度
Rg: 阻害剤の濃度
R: 阻害剤の濃度

【 35 】

Figure 35

Table with columns: 化合物名, アッセイ名, 参考化合物, IC50, Kd, Rg, R. Lists various compounds and their assay results.

この表は、同一アッセイにおいて同時に測定される化合物を表す。

↑は50%以上の阻害率が観察された化合物を示す結果を表で示している。(後の欄は、阻害率が阻害者の数値を示す)

IC50: 阻害剤の濃度
Kd: 結合剤の濃度
Rg: 阻害剤の濃度
R: 阻害剤の濃度

【 36 】

Figure 36

Table with columns: 化合物名, アッセイ名, 参考化合物, IC50, Kd, Rg, R. Lists various compounds and their assay results.

この表は、同一アッセイにおいて同時に測定される化合物を表す。

【 37 】

Figure 37

Table with columns: 化合物名, アッセイ名, 参考化合物, IC50, Kd, Rg, R. Lists various compounds and their assay results.

この表は、同一アッセイにおいて同時に測定される化合物を表す。

【 38 】

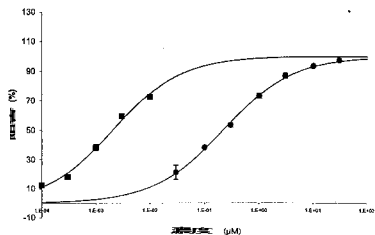
Figure 38

Table with columns: 化合物名, アッセイ名, 参考化合物, IC50, Kd, Rg, R. Lists various compounds and their assay results.

この表は、同一アッセイにおいて同時に測定される化合物を表す。

【 図 3 9 】

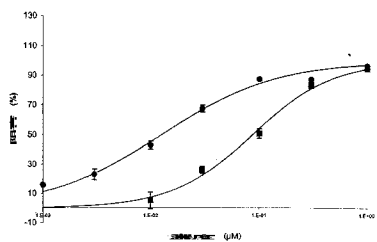
Figure 39



Compound	IC ₅₀	K _i	h ₀
● パンツェン #1 (020182)	0.22 ± 0.01 µM	0.28 ± 0.01 µM	0.578 ± 0.041
○ パンツェン	2.05 ± 0.08 µM	2.03 ± 0.048 µM	0.594 ± 0.035

【 図 4 0 】

Figure 40



Compound	IC ₅₀	K _i	h ₀
● パンツェン #1 (020182)	0.0127 ± 0.001 µM	0.72 ± 0.042 µM	0.225 ± 0.0614
○ 626-1209	0.008 ± 0.001 µM	0.0467 ± 0.006 µM	1.17 ± 0.008

【 図 4 2 】

Figure 42

化合物コード	P-T番号	パツタ	種	濃度	1% 阻害濃度 (IC ₁₀)					IC ₅₀	K _i	h ₀	R			
					100	90	80	70	60							
204410 糖鎖阻害剤、フルボキサミン (NRT)	● パンツェン 3	1037045	94891	hum	2	3 µM	61	58	55	52	50	1.67 µM	1.65 µM	0.745		
						1 µM	46									
						0.3 µM	18									
						0.1 µM	9									
						20 µM	92									
						10 µM	77									
	○	95109	hum	2	3 µM	68						1.43 µM	1.42 µM	0.377		
					1 µM	45										
					0.3 µM	21										
					20 µM	76										
					10 µM	72										
					3 µM	57										
274020 糖鎖阻害剤、フルボキサミン (SRT)	● パンツェン 2	1037044	94762	hum	2	10 µM	89					0.0077 µM	7.17 µM	3.91 µM	0.999	
						0.3 µM	95									
						0.1 µM	85									
						0.03 µM	80									
						10 nM	59									
						3 nM	31									
○	95326	hum	2	0.1 µM	10						0.69 nM	4.63 nM	0.806			
				0.03 µM	30											
				10 nM	53											
				3 nM	28											
				1 nM	11											
				0.1 µM	92											
274020	● パンツェン 2	1037044	94762	hum	2	10 µM	89					0.0123 µM	6.22 nM	1.05		
						0.3 µM	95									
						0.1 µM	85									
						0.03 µM	80									
						10 nM	59									
						3 nM	16									
○	95372	hum	2	0.3 µM	97											
				0.1 µM	89											
				0.03 µM	72											
				10 nM	45											
				3 nM	18											
				1 nM	11											

●パツタは、同一パツタにおいて同時に試験される化合物を表す。○は in vivo試験結果に部分的に溶解
 ●一濃度の異なる化合物を表す。○は
 ●10%以上の阻害を示す結果を表す。○は (真の値は、結合または酵素活性の阻害に相当する)
 ●阻害剤の種類
 hum=ヒト

【 図 4 1 】

Figure 41

化合物コード	P-T番号	パツタ	種	濃度	1% 阻害濃度 (IC ₁₀)					IC ₅₀	K _i	h ₀	R		
					100	90	80	70	60						
212610 プラジネロン	● パンツェン 2	1037044	94766	hum	2	10 µM	15								
						0.3 µM	2								
						0.1 µM	2								
118090 CYP450.3A4	● パンツェン 2	1037044	95160	hum	2	10 µM	24								
						0.3 µM	39								
						0.1 µM	39								
214510 カルシウムチャンネル阻害剤、ベシトリアジウム	● パンツェン 2	1037044	94767	ラット	2	10 µM	26								
						0.3 µM	24								
						0.1 µM	24								
204410 糖鎖阻害剤、フルボキサミン (NRT)	● パンツェン 2	1037044	94769	hum	2	10 µM	92								
						3 µM	65								
						1 µM	82								
						0.3 µM	83								
						0.1 µM	59								
						0.03 µM	30								
	○	95324	hum	2	3 µM	86						0.101 µM	0.1 µM	0.493	
					1 µM	74									
					0.3 µM	62									
					0.1 µM	51									
					0.03 µM	35									
					3 µM	84									
● パンツェン 3	1037045	94769	hum	2	10 µM	84									
					3 µM	87									
					1 µM	87									
					0.3 µM	87									
					0.1 µM	47									
					0.03 µM	23									

●パツタは、同一パツタにおいて同時に試験される化合物を表す。○は in vivo試験結果に部分的に溶解
 ●一濃度の異なる化合物を表す。○は
 ●10%以上の阻害を示す結果を表す。○は (真の値は、結合または酵素活性の阻害に相当する)
 ●阻害剤の種類
 hum=ヒト

【 図 4 3 】

Figure 43

化合物コード	P-T番号	パツタ	種	濃度	1% 阻害濃度 (IC ₁₀)					IC ₅₀	K _i	h ₀	R	
					100	90	80	70	60					
274020 糖鎖阻害剤、フルボキサミン (SRT)	● パンツェン 2	1037044	95372	hum	2	3 µM	35							
						1 nM	14							
						0.3 µM	100							
						0.1 µM	86							
						0.03 µM	93							
						0.1 µM	84							
	○	95324	hum	2	3 µM	87								
					1 µM	44								
					0.3 µM	17								
					0.1 µM	91								
					0.03 µM	61								
					0.03 µM	59								
● パンツェン 3	1037045	94762	hum	2	10 µM	100								
					3 µM	86								
					1 µM	96								
					0.3 µM	93								
					0.1 µM	84								
					0.03 µM	87								
○	95324	hum	2	3 µM	17									
				1 µM	44									
				0.3 µM	91									
				0.1 µM	61									
				0.03 µM	59									
				0.03 µM	59									
● パンツェン 3	1037045	94762	hum	2	10 µM	100								
					3 µM	86								
					1 µM	96								
					0.3 µM	93								
					0.1 µM	84								
					0.03 µM	87								
○	95372	hum	2	0.3 µM	97									
				0.1 µM	89									
				0.03 µM	72									
				10 nM	45									
				3 nM	18									
				1 nM	11									

●パツタは、同一パツタにおいて同時に試験される化合物を表す。○は in vivo試験結果に部分的に溶解
 ●一濃度の異なる化合物を表す。○は
 ●10%以上の阻害を示す結果を表す。○は (真の値は、結合または酵素活性の阻害に相当する)
 ●阻害剤の種類
 hum=ヒト

【 図 4 4 】

Figure 44

細胞アッセイ										
%抑制										
化合物コード	PT番号	バッチ	組織	種	濃度	平均値±標準	AG	ANT	R	
001600 細胞毒性、ノルエピネフリン誘起	バッチ#1	1036183	95055	MDOCK細胞	Num	2	10 µM ± 5.0%			9
		1036183	95055	MDOCK細胞	Num	2	1 µM ± 5.0%			8
				MDOCK細胞	Num	2	0.1 µM ± 5.0%			-4
				MDOCK細胞	Num	2	10 nM ± 5.0%			0
				MDOCK細胞	Num	2	1 nM ± 5.0%			-6
				MDOCK細胞	Num	2	0.1 nM ± 5.0%			11
	バッチ#2	1037044	95055	MDOCK細胞	Num	2	10 µM ± 5.0%			14
				MDOCK細胞	Num	2	1 µM ± 5.0%			7
				MDOCK細胞	Num	2	0.1 µM ± 5.0%			8
				MDOCK細胞	Num	2	10 nM ± 5.0%			3
				MDOCK細胞	Num	2	1 nM ± 5.0%			-4
				MDOCK細胞	Num	2	0.1 nM ± 5.0%			-6
064100 細胞毒性、セロトニン (5-ヒドロキシトリプトファン) 誘起	バッチ#1	1036183	95055	HEK293細胞	Num	2	10 µM ± 5.0%			2
				HEK293細胞	Num	2	1 µM ± 5.0%			-2
				HEK293細胞	Num	2	0.1 µM ± 5.0%			0
				HEK293細胞	Num	2	10 nM ± 5.0%			-3
				HEK293細胞	Num	2	1 nM ± 5.0%			-6
				HEK293細胞	Num	2	0.1 nM ± 5.0%			-8
	バッチ#2	1037044	95055	HEK293細胞	Num	2	10 µM ± 5.0%			-2
				HEK293細胞	Num	2	1 µM ± 5.0%			-7
				HEK293細胞	Num	2	0.1 µM ± 5.0%			-2
				HEK293細胞	Num	2	10 nM ± 5.0%			0
				HEK293細胞	Num	2	1 nM ± 5.0%			2
				HEK293細胞	Num	2	0.1 nM ± 5.0%			-6

*バッチは、細胞アッセイにおいて同時に試験される化合物を表す。† = in vitro試験濃度(50%抑制)に等しい濃度
 *重要な基準を満たす濃度
 *Agarアッセイ: AG, 細胞アッセイ: ANT, Respa: R, MDOCK細胞アッセイ: MDOCK, HEK293細胞アッセイ: HEK293

【 図 4 5 】

Figure 45

細胞アッセイ										
%抑制										
化合物コード	PT番号	バッチ	組織	種	濃度	平均値±標準	AG	ANT	R	
064100 細胞毒性、セロトニン (5-ヒドロキシトリプトファン) 誘起	バッチ#1	1037045	95056	HEK293細胞	Num	2	10 nM ± 5.0%			4
				HEK293細胞	Num	2	1 nM ± 5.0%			-1
				HEK293細胞	Num	2	10 µM ± 5.0%			95
				HEK293細胞	Num	2	1 µM ± 5.0%			95
				HEK293細胞	Num	2	0.1 µM ± 5.0%			76
				HEK293細胞	Num	2	10 nM ± 5.0%			95
	バッチ#2	1037044	94864	MDOCK細胞	Num	2	1 nM ± 5.0%			7
				MDOCK細胞	Num	2	10 µM ± 5.0%			95
				MDOCK細胞	Num	2	1 µM ± 5.0%			90
				MDOCK細胞	Num	2	10 nM ± 5.0%			95
				MDOCK細胞	Num	2	1 nM ± 5.0%			5
				MDOCK細胞	Num	2	10 µM ± 5.0%			97
064000 細胞毒性、セロトニン (5-ヒドロキシトリプトファン) 誘起	バッチ#1	1036183	94865	HEK293細胞	Num	2	10 µM ± 5.0%			100
				HEK293細胞	Num	2	1 µM ± 5.0%			94
				HEK293細胞	Num	2	0.1 µM ± 5.0%			75
				HEK293細胞	Num	2	10 nM ± 5.0%			98
				HEK293細胞	Num	2	1 nM ± 5.0%			4
				HEK293細胞	Num	2	10 µM ± 5.0%			99
	バッチ#2	1037044	94865	HEK293細胞	Num	2	10 µM ± 5.0%			98
				HEK293細胞	Num	2	1 µM ± 5.0%			95
				HEK293細胞	Num	2	0.1 µM ± 5.0%			93
				HEK293細胞	Num	2	10 nM ± 5.0%			6
				HEK293細胞	Num	2	1 nM ± 5.0%			95
				HEK293細胞	Num	2	10 µM ± 5.0%			9

*バッチは、細胞アッセイにおいて同時に試験される化合物を表す。† = in vitro試験濃度(50%抑制)に等しい濃度
 *重要な基準を満たす濃度
 *Agarアッセイ: AG, 細胞アッセイ: ANT, Respa: R, MDOCK細胞アッセイ: MDOCK, HEK293細胞アッセイ: HEK293

【 図 4 6 】

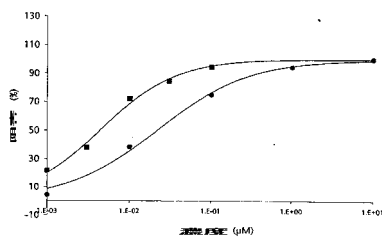
Figure 46

細胞アッセイ										
%抑制										
化合物コード	PT番号	バッチ	組織	種	濃度	平均値±標準	AG	ANT	R	
064000 細胞毒性、セロトニン (5-ヒドロキシトリプトファン) 誘起	バッチ#1	1037045	94865	HEK293細胞	Num	2	10 µM ± 5.0%			100
				HEK293細胞	Num	2	1 µM ± 5.0%			65
				HEK293細胞	Num	2	0.1 µM ± 5.0%			65
				HEK293細胞	Num	2	10 nM ± 5.0%			33
				HEK293細胞	Num	2	1 nM ± 5.0%			-4
				HEK293細胞	Num	2	0.1 nM ± 5.0%			

*バッチは、細胞アッセイにおいて同時に試験される化合物を表す。† = in vitro試験濃度(50%抑制)に等しい濃度
 *重要な基準を満たす濃度
 *Agarアッセイ: AG, 細胞アッセイ: ANT, Respa: R, MDOCK細胞アッセイ: MDOCK, HEK293細胞アッセイ: HEK293

【 図 4 8 】

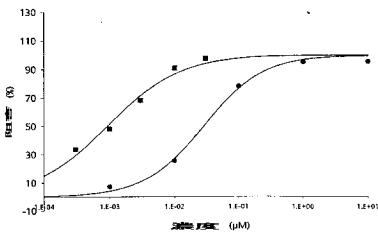
Figure 48



化合物	IC ₅₀	R ₂
● Cel-1 (020160)	0.277 µM	0.76
■ レsveratrol	4.36 µM	0.93

【 図 4 7 】

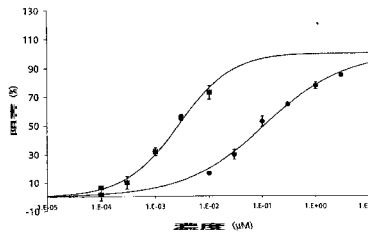
Figure 47



化合物	IC ₅₀	R ₂
● Cel-1 (020160)	0.286 µM	0.94
■ レsveratrol	0.822 µM	0.78

【 49 】

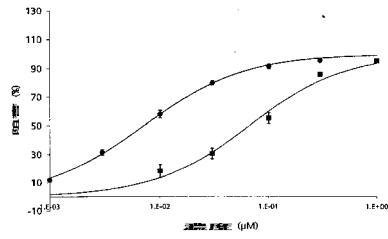
Figure 49



化合物	IC_{50}	$I_{0.1}$	$I_{0.9}$
● CEL-3 (1037044)	$0.112 \pm 0.013 \mu\text{M}$	$0.111 \pm 0.013 \mu\text{M}$	0.584 ± 0.046
■ アスピリン	$2.78 \pm 0.496 \mu\text{M}$	$2.76 \pm 0.494 \mu\text{M}$	0.672 ± 0.008

【 50 】

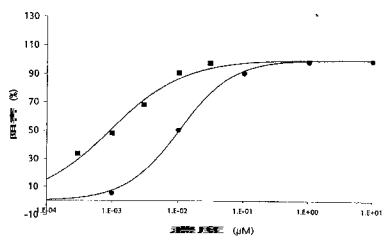
Figure 50



化合物	IC_{50}	$I_{0.1}$	$I_{0.9}$
● CEL-3 (1037044)	$7.3 \pm 0.768 \mu\text{M}$	$3.88 \pm 0.460 \mu\text{M}$	0.945 ± 0.027
■ GSK-12099	$0.6075 \pm 0.0103 \mu\text{M}$	$0.0339 \pm 0.0046 \mu\text{M}$	1.01 ± 0.195

【 51 】

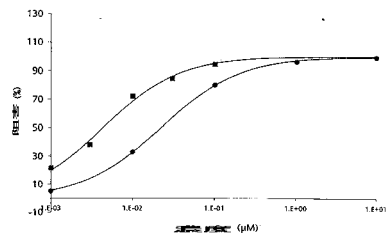
Figure 51



化合物	IC_{50}	$I_{0.1}$
● CEL-1 (1037040)	$0.0103 \mu\text{M}$	1.00
■ アスピリン	$0.022 \mu\text{M}$	0.78

【 52 】

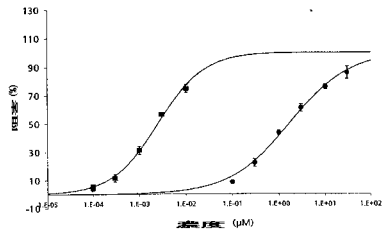
Figure 52



化合物	IC_{50}	$I_{0.1}$
● CEL-3 (1037040)	$0.022 \mu\text{M}$	0.902
■ アスピリン	$4.36 \mu\text{M}$	0.841

【 53 】

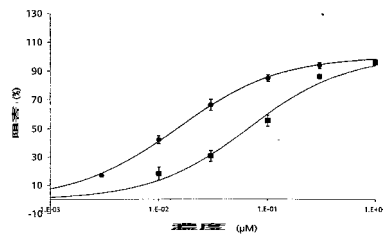
Figure 53



化合物	IC ₅₀	K _i	h _i
● CL-5 (1037045)	1.66 ± 0.149 μM	1.67 ± 0.148 μM	0.675 ± 0.076
■ フルオロウラシル	2.52 ± 0.291 nM	2.5 ± 0.229 nM	0.802 ± 0.076

【 54 】

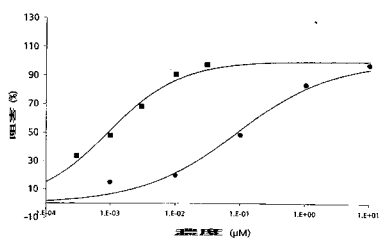
Figure 54



化合物	IC ₅₀	K _i	h _i
● CL-5 (1037045)	0.0153 ± 0.002 μM	0.15 ± 0.13 nM	0.54 ± 0.054
■ G66-12909	0.0675 ± 0.0105 μM	0.0339 ± 0.006 μM	1.01 ± 0.105

【 55 】

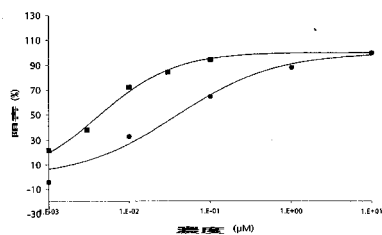
Figure 55



化合物	IC ₅₀	h _i
● CL-5 (1037045)	0.0851 μM	0.592
■ フルオロウラシル	0.922 nM	0.78

【 56 】

Figure 56



化合物	IC ₅₀	h _i
● CL-5 (1037045)	0.0403 μM	0.718
■ フルオロウラシル	4.16 nM	0.50

【 57 】

Figure 57

ATPase阻害剤	アッセイ名	参照化合物	IC ₅₀ (μM)	h _i	IC ₅₀ (μM)
302100	細胞毒性、フルボキサミン阻害-アストラゴロスト	DMSO	29 %	0.055	19.9 %
304100	細胞毒性、セロニシン阻害-アストラゴロスト	DMSO	29 %	0.056	27.5 %
300000	阻害、フルボキサミン	フルボキサミン	1.9 nM	0.054	0.32 nM
064000	阻害、サロトロン	フルボキサミン	7.1 nM	0.065	4.36 nM

*h_iは、ATPase阻害剤に対して阻害される化合物を表す。
 †フルボキサミンは、ATPase阻害剤として阻害される化合物を表す。

【 58 】

Figure 58

ATPase阻害剤	アッセイ名	参照化合物	IC ₅₀	K _i	h _i	IC ₅₀ (μM)
118000	CYP450, T4A	アストラゴロスト	0.22 μM			0.5160
512810	フルボキサミン阻害	フルボキサミン	0.89 nM	0.53 nM	0.3	0.4766
214510	フルボキサミン阻害 (NET)	フルボキサミン	0.93 μM	0.02 μM	0.3	0.4767
204410	阻害剤、フルボキサミン (NET)	フルボキサミン	0.93 nM	0.92 nM	0.6	0.4769
		フルボキサミン	0.93 nM	0.92 nM	0.6	0.4891
		フルボキサミン	0.93 nM	0.92 nM	0.6	0.5190
		フルボキサミン	0.93 nM	0.92 nM	0.6	0.5204
		フルボキサミン	0.93 nM	0.92 nM	0.6	0.5271
274020	阻害剤、セロニシン (セロニシン阻害剤-フルボキサミン阻害)	G66-12909	0.11 μM	0.97 μM	0.8	0.4782
		G66-12909	0.11 μM	0.97 μM	0.8	0.5110
		G66-12909	0.11 μM	0.97 μM	0.8	0.5236
		G66-12909	0.11 μM	0.97 μM	0.8	0.5372

*h_iは、ATPase阻害剤に対して阻害される化合物を表す。
 †フルボキサミン阻害剤 (部分的) に阻害

【 59 】

Figure 59

第1の生化学的試験結果							
カテゴリー	第1の生化学的試験項目	種	濃度	% 変異	IC ₅₀ *	K _d	
26413	輸送体、ノルエピネフリン (NET)	hum	8.3 μM	51	0.22 ± 0.01 μM	0.218 ± 0.018 μM	0.678 ± 0.042
274020	輸送体、マドロニオン (5-HT) マドロニオン (5-HT) (SERT)	hum	0.03 μM	63	0.027 ± 0.001 μM	6.73 ± 0.442 nM	0.825 ± 0.0916

*変異が多岐の、独立した決定に基づく場合、中間値の標準誤差を示している

IC₅₀はIC₅₀, hump, NET, 5-HT, マドロニオン (5-HT)

【 60 】

Figure 60

第1の生化学的試験結果								
化合物名	P T 番号	種	濃度	% 変異	IC ₅₀ *	K _d	R ₁	
264410	輸送体、ノルエピネフリン (NET)	1037044	hum	0.1 μM	51	0.132 ± 0.013 μM	0.111 ± 0.010	0.584 ± 0.046
		1037045	hum	3 μM	57	1.68 ± 0.149 μM	1.57 ± 0.148 μM	0.679 ± 0.078
		1037045	hum	3 μM	57	1.68 ± 0.149 μM	1.57 ± 0.148 μM	0.679 ± 0.078
274020	輸送体、マドロニオン (5-HT) マドロニオン (5-HT) (SERT)	1037044	hum	10 μM	55	7.3 ± 0.766 μM	3.82 ± 0.408 μM	0.649 ± 0.059
		1037045	hum	0.05 μM	59	0.0153 ± 0.001 μM	0.15 ± 0.019 μM	0.54 ± 0.064
		1037045	hum	0.05 μM	59	0.0153 ± 0.001 μM	0.15 ± 0.019 μM	0.54 ± 0.064

* In vitro試験結果に基いて評価
変異が多岐の、独立した決定に基づく場合、中間値の標準誤差を示している

【 61 】

Figure 61

第1の生化学的試験結果										
化合物名	P T 番号	種	濃度	% 変異	IC ₅₀ *	K _d	AG	ANT	EC ₅₀ /IC ₅₀ **	
302000	輸送体、ノルエピネフリン (NET)	1037044	hum	MOCK 細胞	0.1 μM	± 50%			78	0.0281 μM
		1037044	hum	MOCK 細胞	10 μM	± 50%			80	0.0103 μM
		1037045	hum	MOCK 細胞	1 μM	± 50%			80	0.0085 μM
364000	輸送体、マドロニオン (5-HT) マドロニオン (5-HT) (SERT)	1037044	hum	HEK293 細胞	0.1 μM	± 50%			75	0.0112 μM
		1037044	hum	HEK293 細胞	0.1 μM	± 50%			80	0.022 μM
		1037045	hum	HEK293 細胞	0.1 μM	± 50%			66	0.0403 μM

* In vitro試験結果に基いて評価
変異が多岐の、独立した決定に基づく場合、中間値の標準誤差を示している
** EC₅₀/IC₅₀はIC₅₀, hump, NET, 5-HT, マドロニオン (5-HT)

【 62 】

Figure 62

第1の生化学的試験結果										
化合物名	P T 番号	種	濃度	% 変異	IC ₅₀ *	K _d	AG	ANT	EC ₅₀ /IC ₅₀ **	
302000	輸送体、ノルエピネフリン (NET)	1037044	hum	MOCK 細胞	10 μM	± 50%			5	
		1037044	hum	MOCK 細胞	10 μM	± 50%			11	
		1037045	hum	MOCK 細胞	10 μM	± 50%			6	
364000	輸送体、マドロニオン (5-HT) マドロニオン (5-HT) (SERT)	1037044	hum	HEK293 細胞	10 μM	± 50%			2	
		1037044	hum	HEK293 細胞	10 μM	± 50%			4	
		1037045	hum	HEK293 細胞	10 μM	± 50%			3	

* In vitro試験結果に基いて評価
変異が多岐の、独立した決定に基づく場合、中間値の標準誤差を示している
** EC₅₀/IC₅₀はIC₅₀, hump, NET, 5-HT, マドロニオン (5-HT)

【 63 】

Figure 63

副作用	副作用の頻度 (%)			
	プラシーボ	50 mg/日 1日2回	100 mg/日 1日2回	200 mg/日 1日2回
	N=394	N=425	N=1871	N=865
吐気	10.9	12.7	11.2	19.4*
頭痛	17.0	14.6	8.4	13.5
発汗の増加	1.3	14.0	4.3*	11.6*
便秘	4.3	8.0	6.5	11.4*
不眠	10.7	9.2	6.1	11.3
口内乾燥	5.6	9.4	7.9	9.0
嘔吐	3.6	3.8	3.9	7.9*
腹痛	5.1	6.1	6.5	7.6
便秘	1.5	0.9	2.5	6.7*
不安感	1.3	2.8	4.1	5.1
動悸	1.8	2.3	2.7	4.6
眩暈	1.8	1.6	5.0	4.5
疲労	3.0	2.8	2.5	4.4
排尿障害	0.3	1.4	2.1*	3.7*
顔面潮紅	0	1.6	3.0	3.6
脱力	3.8	5.4	2.3	3.5
動悸	3.0	1.6	3.3	2.9
神経質	2.0	4.2	2.0	2.8
消化不良	4.1	3.5	2.1	2.2

* プラシーボより有意に高い

フロントページの続き

(51) Int.Cl.			F I		
A 6 1 P	1/14	(2006.01)	A 6 1 P	1/14	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	9/04	(2006.01)	A 6 1 P	9/04	
A 6 1 P	9/10	(2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	11/02	(2006.01)	A 6 1 P	11/02	
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	13/02	(2006.01)	A 6 1 P	13/02	
A 6 1 P	13/10	(2006.01)	A 6 1 P	13/10	
A 6 1 P	15/00	(2006.01)	A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P	17/00	(2006.01)	A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	17/16	(2006.01)	A 6 1 P	17/16	
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	25/04	(2006.01)	A 6 1 P	25/04	
A 6 1 P	25/06	(2006.01)	A 6 1 P	25/06	
A 6 1 P	25/14	(2006.01)	A 6 1 P	25/14	
A 6 1 P	25/22	(2006.01)	A 6 1 P	25/22	
A 6 1 P	25/24	(2006.01)	A 6 1 P	25/24	
A 6 1 P	25/32	(2006.01)	A 6 1 P	25/32	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	31/18	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	31/22	(2006.01)	A 6 1 P	31/18	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	31/22	
A 6 1 P	37/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	37/00	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	37/06	
			A 6 1 P	43/00	1 1 1
			A 6 1 P	43/00	1 1 4

(31)優先権主張番号 60/445,142

(32)優先日 平成15年2月5日(2003.2.5)

(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 レリー, ローマン, ブイ.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 4 オールストン # 4 2 ケルトン ストリート 2 4 5

(72)発明者 ヘファーナン、マイケル

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 0 4 3 - 2 8 5 5 ヒングム ギャリソン ロード 4 1

(72)発明者 バックウォールド, スティーブン, エル.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 5 5 8 ニュートン ランカスター ロード 2 5

(72)発明者 スエイジャー, ティモシー, エム.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 5 8 ニュートン コプリー ストリート 1 8

審査官 藤森 知郎

(56)参考文献 特開昭58-004752(JP,A)
特開平03-056415(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl.,DB名)

C07C 237/24

A61K 31/165

A61K 45/00

A61P