

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-8092

(P2017-8092A)

(43) 公開日 平成29年1月12日(2017.1.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/69 (2006.01)	A 6 1 K 31/69	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/155 (2006.01)	A 6 1 K 31/155	4 C 2 0 6
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 K 31/40 (2006.01)	A 6 1 K 31/40	

審査請求 有 請求項の数 8 O L (全 46 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-164455 (P2016-164455)	(71) 出願人	500356887
(22) 出願日	平成28年8月25日 (2016. 8. 25)		トラスティーズ オブ タフツ カレッジ
(62) 分割の表示	特願2014-104397 (P2014-104397) の分割		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O 2 1 1 1 ポストン ハリソン アヴェニ ュー 1 3 6
原出願日	平成11年2月2日 (1999. 2. 2)	(71) 出願人	504311419
(31) 優先権主張番号	60/073, 409		タフツ メディカル センター インコー ポレイテッド
(32) 優先日	平成10年2月2日 (1998. 2. 2)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O 2 1 1 1 ポストン ワシントン ストリ ート 8 0 0
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

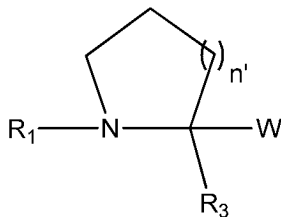
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 グルコース代謝を調節する方法、およびそれに関連する試薬

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 インスリン耐性、高血糖症、インスリン過剰血症、肥満症、高脂血症、高リポタンパク血症を低減させ、体脂肪の貯蔵を調節し、糖尿病、肥満症及び/又はアステローム硬化症を治療する医薬組成物の提供。

【解決手段】 動物においてグルカゴン様ペプチド1 (GLP-1) の代謝を変更するための組成物であって、GLP-1を不活化させるジペプチジルペプチダーゼの阻害因子またはその薬剂的に許容される塩を含み、前記阻害因子がGLP-1のジペプチジルペプチダーゼのタンパク質分解を阻害するのに十分な量で投与される。成人においてII型糖尿病を治療するのに使用するため、該阻害因子が、0.01~2000mg/日の用量で投与され、II型糖尿病を治療するのに十分な量であるがヒトの免疫系を抑制するには十分ではない量で投与される、医薬組成物。前記阻外因子が下記式で表わされる、医薬組成物。



【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

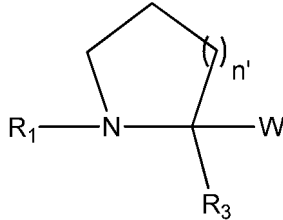
## 【請求項 1】

成人においてII型糖尿病を治療するのに使用するための経口投与用の医薬組成物であって、ジペプチジルペプチダーゼIV(DPIV)の阻害因子またはその薬剂的に許容される塩を含み、該阻害因子が、0.01から2000mgの1日用量で投与され、II型糖尿病を治療するのに十分な量であるがヒトの免疫系を抑制するには十分ではない量で投与される、医薬組成物。

## 【請求項 2】

前記阻害因子が下記式で表される、請求項 1 記載の医薬組成物：

## 【化 1】



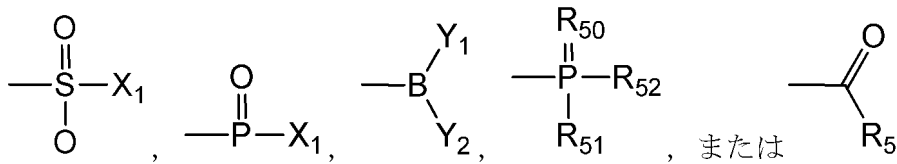
n' は 1 または 2 であり、

R<sub>1</sub> は、C 末端連結アミノ酸残基を表し；

R<sub>3</sub> は、水素、C<sub>1</sub> - C<sub>6</sub> アルキルまたはハロゲンを表し；

W は、-CN、-CN=NR<sub>5</sub>、

## 【化 2】



を表し；

R<sub>5</sub> は、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、-C(X<sub>1</sub>)(X<sub>2</sub>)X<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-OH、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-アルキル、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-アルケニル、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-アルキニル、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-SH、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-アルキル、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-アルケニル、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-アルキニル、-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>、-C(O)C(O)NH<sub>2</sub>、または -C(O)C(O)OR'<sub>7</sub> を表し；

R<sub>7</sub> は、各々の出現ごとに、置換または非置換のアリール、アラルキル、シクロアルキル、シクロアルケニルまたは複素環を表し；

R'<sub>7</sub> は、各々の出現ごとに、水素、あるいは置換または非置換のアルキル、アルケニル、アリール、アラルキル、シクロアルキル、シクロアルケニルまたは複素環を表し；

Y<sub>1</sub> および Y<sub>2</sub> は、独立してまたは一緒に OH であるか、あるいは Y<sub>1</sub> および Y<sub>2</sub> が環構造において 5 から 8 原子を有する環により接続された環状誘導体を含む、ヒドロキシル基に加水分解され得る基であり；

R<sub>50</sub> は O または S を表し；

R<sub>51</sub> は、N<sub>3</sub>、SH<sub>2</sub>、NH<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub> または OR'<sub>7</sub> を表し；

R<sub>52</sub> は、水素、低級アルキル、アミン、OR'<sub>7</sub>、または薬剂的に許容される塩を表わし、あるいは R<sub>51</sub> および R<sub>52</sub> が、それらが結合するリン原子と一緒に、環構造において 5 から 8 原子を有する複素環を形成し；

X<sub>1</sub> はハロゲンを表し；

10

20

30

40

50

$X_2$ および $X_3$ は各々、水素またはハロゲンを表し；  
 $m$ はゼロまたは1から8までの範囲の整数であり；および  
 $n$ は1から8までの範囲の整数である。

【請求項3】

Wは-CNである、請求項2記載の医薬組成物。

【請求項4】

単回投与で投与される、請求項1から3いずれか1項記載の医薬組成物。

【請求項5】

分割投与で投与される、請求項1から3いずれか1項記載の医薬組成物。

【請求項6】

タブレットの形態である、請求項1から5いずれか1項記載の医薬組成物。

【請求項7】

被覆されたタブレットの形態である、請求項1から5いずれか1項記載の医薬組成物。

【請求項8】

メトホルミンをさらに含む、請求項1から7いずれか1項記載の医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、グルコース代謝を調節する方法、およびそれに関連する試薬に関する。

【背景技術】

【0002】

糖尿病は、消化中にグルコースに転化される糖質およびデンプンを体が使用する過程に悪影響を及ぼす。膵臓により生成されるホルモンであるインスリンによって、グルコースはエネルギーのために体の細胞に利用できるようになる。筋肉、脂肪および結合組織において、インスリンは、細胞膜への作用によりグルコースを細胞中に容易に進入させる。摂取されたグルコースは通常、肝臓中で $CO_2$ と $H_2O$ （50%）；グリコーゲン（5%）；および脂肪（30-40%）に転化され、脂肪は脂肪蓄積所に貯蔵される。脂肪組織からの脂肪酸は循環され、トリアセチルグリセロールの再合成のために肝臓に戻され、該組織により利用されるためにケトン体に代謝される。脂肪酸は他の器官によっても代謝される。脂肪の形成は、炭化水素利用のための主要な経路である。

【0003】

インスリンの基本的な作用は、炭水化物、タンパク質および脂肪の貯蔵および使用を促進することにある。インスリン欠乏症は、ヒトのよく知られた重大な病理状態である。インスリン依存型（IDDMまたはI型）糖尿病においては、膵臓はほとんどまた全くインスリンを生成せず、糖尿病患者の生存のためにインスリンを毎日注射しなければならない。インスリン非依存型（NIDDMまたはII型）糖尿病においては、膵臓は、インスリンを生成する能力を維持しており、実際に、正常よりも多い量でインスリンを生成するかもしれないが、細胞のインスリン抵抗性のために、インスリンの量が比較的不十分であるか、または十分に効果的であるよりも少ない。

【0004】

真性糖尿病（DM）は、多くの因果関係を伴うヒトにおいて見られる主な慢性病である。長年続いた糖尿病から生じる合併症としては、失明、腎不全、および四肢切断がある。インスリン依存型真性糖尿病（IDDM）は、真性糖尿病の全ての場合の10-15%を占める。IDDMの作用は、高血糖症（上昇した血糖濃度）を生じること、および糖尿病ケトアシドーシス（DKA）への傾向である。現在の治療には、インスリンの慢性投与が必要である。インスリン非依存型真性糖尿病（NIDDM）は、DKAとは関連のない高血糖症により特徴付けられる。高血糖症の散在的または持続的な発病は、インスリンを投与することによって制御することができる。高血糖症が制御されていないと、インスリンを生成する膵臓の細胞（膵島細胞）を損傷することがあり、長期的には、インスリン欠乏症を酷くしてしまうことがある。現在、経口スルホニルウレアおよびインスリンが、真性糖

10

20

30

40

50

尿病の治療のために米国内で利用できるたった2つの治療薬である。両方の治療薬には、副作用として低血糖症を発病させ、血糖濃度を危険なレベルまで減少させてしまう可能性がある。DMにおいてグルコースレベルの実質的に正常な変動を維持する、一般的に適用でき、一貫して効果的な手段はない。そのため、グルコースレベルを目標値より低く維持しながら、低血糖症の危険を最小にする治療が試みられている。グルコースレベルを制御した状態に維持するために、薬物処方が、炭水化物の食物摂取の制御と組み合わせられている。

#### 【0005】

糖尿病のいずれの形態においても、広範囲に及ぶ異常がある。ほとんどのNIDDM被験者において、異常が由来し得る基本的欠陥は、(1)様々な「周辺(peripheral)」組織へのグルコースの減少した進入および(2)肝臓からの循環中へのグルコースの増大した遊離である。したがって、細胞外グルコース過剰および細胞内グルコース欠乏がある。また、アミノ酸の筋肉中への進入の減少および脂肪分解の増大がある。高リポタンパク血症も糖尿病の合併症である。これらの糖尿病関連異常の累積作用は、血管と神経の重大な損傷である。

10

#### 【0006】

膵島の内分泌は、グルコース、アミノ酸、およびカテコールアミンのような血液運搬代謝産物によるだけでなく、局所的なパラクリン影響によって駆動される複合制御機構により調節される。実際に、膵細胞および膵細胞は、栄養誘発ホルモン放出のための共力(synergistic)メッセンジャーとして環状AMP(cAMP)を発生するホルモン性シグナルに相当依存している。主要な膵島ホルモンであるグルカゴン、インスリンおよびソマトスタチンは、特定の膵細胞型と相互作用して、分泌応答を変調させる。インスリン分布は主に血糖レベルにより制御されるが、ソマトスタチンはグルコース媒介インスリン分泌を阻害する。

20

#### 【0007】

ヒトホルモングルカゴンは、膵A細胞中で生成されるポリペプチドホルモンである。このホルモンは、セクレチン、消化管抑制ペプチド、血管作用性腸管ペプチドおよびグリセンチン(glicentin)を含む構造的に関連したペプチドの多重遺伝子族に属する。これらのペプチドは、炭水化物代謝、胃腸運動および分泌プロセッシングを様々に調節する。しかしながら、膵グルカゴンの主に認識された作用は、肝臓の糖原分解および糖質新生を促進させることにあり、その結果、血糖レベルが上昇する。この点に関して、グルカゴンの作用は、インスリンの作用に対立する調節であり、真性糖尿病に付随する高血糖症に寄与することもある(非特許文献1)。

30

#### 【0008】

グルカゴンの酵素原であるプレプログルカゴンは、360塩基対の遺伝子から翻訳され、処理されて、プログルカゴンを形成する(非特許文献1)。非特許文献2は、プログルカゴンがグルカゴンおよび第2のペプチドに処理されることを示した。その後の実験により、プログルカゴンは、Lys-Arg残基またはArg-Arg残基で開裂されカルボキシル基を持つことが示された(非特許文献1; および非特許文献3)。Bell等はまた、グルカゴンが、グルカゴン、グルカゴン様ペプチド1(GLP-1)、およびグルカゴン様ペプチド2(GLP-2)と称される3つの別々の相同性の高いペプチド領域を含むことを発見した。GLP-1は、インスリン分泌のホルモン性刺激薬として大いに注目を集めた。ヒトにおいては、腸粘膜の細胞によりプログルカゴンから開裂されたこの29-アミノ酸ペプチドは、栄養摂取後に循環中に放出される(非特許文献4; 非特許文献5; 非特許文献6)。

40

#### 【0009】

GLP-1はグルコース依存性インスリン刺激薬であることが分かった(非特許文献7)。GLP-1は今では、インスリン分泌を刺激し(インスリン刺激作用)、血糖レベルを減少させる細胞によるグルコースの摂取を生じることが知られている(例えば、非特許文献8を参照のこと)。例えば、GLP-1は、実験モデルにおいて、ヒトに注入された

50

ときに、効力のあるインスリン分泌促進物質であることが示された（非特許文献7；非特許文献9；非特許文献10；非特許文献11）。したがって、GLP-1は、グルコース媒介インスリン放出に増大した効果を有する「インクレチン(increin)」の役割の候補である。

【0010】

インスリン刺激作用を示す様々なGLP-1類似体が当該技術分野において知られていることにも留意されたい。これらの変種および類似体の例としては、GLP-1(7-36)、Gln<sub>9</sub>-GLP-1(7-37)、D-Gln<sub>9</sub>-GLP-1(7-37)、アセチル-Lys<sub>9</sub>-GLP-1(7-37)、Thr<sub>16</sub>-Lys<sub>18</sub>-GLP-1(3-37)、およびLys<sub>18</sub>-GLP-1(7-37)が挙げられる。GLP-1の誘導体の例としては、酸添加塩、カルボン酸塩、低級アルキルエステル、およびアミドが挙げられる（例えば、特許文献1を参照のこと）。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0011】

【特許文献1】国際公開第91/11457号パンフレット

【非特許文献】

【0012】

【非特許文献1】Lund等(1982)PNAS 79:345-349

【非特許文献2】Patzelt等,Nature, 282:260-266 (1979)

20

【非特許文献3】Bell等(1983)Nature 302:716-718

【非特許文献4】Holst等(1987)FEBS Lett 211:169

【非特許文献5】Orkov等(1987)Diabetologia 30:874

【非特許文献6】Conlon J(1988)Diabetologia 31:563

【非特許文献7】Gutniak等(1992)N.Engl.J.Bled. 326:1316-1322

【非特許文献8】Mojsov, S., Int.J.Peptide Protein Research, 40:333-343 (1992)

【非特許文献9】Mojsov等(1988)J Clin Invest 79:616

【非特許文献10】Schmidt等(1985)Diabetologia 28:704

【非特許文献11】Kreymann等(1987)Lancet 2:1300

【発明の概要】

30

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

本発明の目的の1つは、上述したような治療を必要とする動物の被験体（ヒトを含む）において、インスリン抵抗性、インスリン過剰血症、および高血糖症を減少させ、II型糖尿病を和らげる改良方法を提供することにある。本発明の別の目的は、体脂肪の貯蔵、高脂血症、高リポタンパク血症の内の少なくとも1つを低減させ、アテローム硬化症を緩和させる改良方法を提供することにある。本発明の別の目的は、宿主に有益な様式で、グルコースおよび/または脂質代謝を妨げる方法を提供することにある。

【0014】

本発明のさらに別の目的は、短期間に亘り投与される治療摂生に基づいて上述した疾患の内の少なくとも1つを長期的に低減および緩和させる改良方法を提供することにある。

40

【0015】

本発明のさらに別の目的は、ヒトを含む脊椎動物のグルコース応答および脂質生成応答を長期に亘り調節および変更する方法を提供する。

【0016】

特に、本発明の目的は、以下の事項：インスリンに対するある種の細胞応答の感度（インスリン抵抗性の減少）、血液インスリンレベル、インスリン過剰血症、血糖レベル、体脂肪貯蔵の量、血液リポタンパクレベルの内の1つ以上の持続的で有益な変化を生じる方法を提供し、したがって、糖尿病、肥満症および/またはアテローム硬化症の効果的な治療を提供することにある。

50

## 【課題を解決するための手段】

## 【0017】

グルコース誘導インスリン分泌は、多数のホルモンおよび神経伝達物質により変調される。特に、2つの消化管ホルモンである、グルカゴン様ペプチド-1 (GLP-1) および消化管抑制ペプチド (GIP) は、例えば、ホルモンインスリンの合成または発現を刺激できる、またはそれらの刺激を生じることができる薬である、インスリン刺激薬であり、したがって、グルコ-インクレチンと称される (Dupre, in The Endocrine Pancreas, E.Samois Ed. (Raven Press, New York, (1991), 253-281; and Ebert 等 (1987) Diabetes Metab.Rev. p3)。グルカゴン様ペプチド-1 は、ヒトおよび他のほ乳類の両方においてグルコインクレチンである (Dupre 等 前出. and Kreymann 等 (1987) Lancet 2:300)。これは、腸L細胞中でタンパク質分解式にGLP-1 (1-37) およびGLP-1 (7-36) アミドまたはGLP-1 (3-37) に処理される (Mojsov 等 (1986) J.Biol.Chem. 261:11880; and Habener 等: The Endocrine Pancreas, E.Samois Ed. (Raven Press, New York (1991), 53-71) プレプログルカゴン分子の一部 (Bell 等 (1983) Nature 304:368) である。GLP-1の切形形態のみが、生物学的に活性であり、それらの両方が、ベータ細胞中のインスリン分泌に同一の効果を有している (Mojsov 等 (1987) J.Clin.Invest 79:616; and Weir 等 (1989) Diabetes 38:338)。それらは、記載されてまでのところでは、最も効力のあるグルコインクレチンであり、1-10ピコモルほどと低い濃度で活性である。

10

## 【0018】

外因性GLP-1の代謝結果が、非糖尿病被験者およびII型糖尿病被験者において研究されてきた。皮下GLP-1および静脈GLP-1の両方が、例えば、糖尿病患者中の半減期が実質的に30分未満の時間依存性様式で急速に分解される。例えば、Deacon 等 (1995) Diabetes 44:1126-1131を参照のこと。

20

## 【図面の簡単な説明】

## 【0019】

【図1】ポロプロリン化合物の合成を示す図

【図2】PBP-1の1回の注射が血液中のグルコースレベルを改善することを示すグルコース許容曲線を示すグラフ。グルコース濃度は、グルコースの試験投与の前および後の30分間隔で測定した。この図は、PBP-1の1回の注射がGLP-1の副治療供与に対する応答を増大させることを示す

30

【図3】PBP-2の1回の注射が血液中のグルコースレベル改善することを示すグラフ

【図4】「慢性」状態にあるPBP-3による治療によって、血糖レベルが低下したことを示すグラフ

【図5】Pro-boro-proのGLP-1受容体-/-遺伝子導入マウス中の血漿グルコースレベルを低下させる能力を比較するグラフ

【図6】Pro-boro-proのGLP-1受容体-/-遺伝子導入マウス中の血漿グルコースレベルを低下させる能力を比較するグラフ

## 【発明を実施するための形態】

## 【0020】

40

i. 発明の概要

本発明は、概してインスリン抵抗性、高血糖症、インスリン過剰血症、肥満症、高脂血症、高リポタンパク血症 (カイロミクロン、VLDLおよびLDLのような) を減少させ、体脂肪およびより一般的には脂質の貯蔵を調節するために、およびより一般的には、代謝疾患、特に糖尿病、肥満症および/またはアテローム硬化症に関連する疾患を改善するためのグルコースおよび脂質の代謝を変更し、調節する方法および組成物を提供する。以下により詳しく説明するように、本発明の方法は、GLP-1のタンパク質分解を阻害することができ、したがって、そのホルモンの血漿 (plasma) 半減期を増大させる、1つ以上のジペプチジルペプチダーゼ阻害因子、特に、ジペプチジルペプチダーゼIV (DPIV) 酵素または同様の特異性を有する他の酵素の阻害因子を含む組成物の動物への投与を

50

含む。

【0021】

好ましくは、本発明の方法に用いられる化合物は、免疫抑制薬としてのその化合物に関するEC50よりも少なくとも1、2、3および4桁少ない所望の生物学的効果のためのEC50を産生する。実際に、そのような化合物のペプチジルポロネートとしての重要な特徴は、前記阻害因子は、例えば、ナノモル以下の範囲のグルコース許容量の抑制のためのEC50を産生できるが、該化合物は、 $\mu\text{M}$ 以上の範囲の免疫抑制のためのEC50を有する。したがって、免疫抑制の望ましくない副作用に関しても、好ましい治療指標を達成することができる。

【0022】

いずれの特定の理論により制限することを意図するものではないが、DPIVを阻害する化合物は、必ずしもDPIV阻害それ自体を含む機構によるものではないが、相関的に、ブドウ糖負荷を改善することができることが観察されている。実際に、GLP-1受容体を欠如したマウスにおける効果を示す、実施例6（および図5と6）に記載した結果は、本発明の方法は、GLP-1が他の受容体を有するかもしれないことを除外してはいないが、GLP-1自体を直接巻き込む作用の機構は含まないかもしれないことを示唆している。しかしながら、DPIV阻害との相関関係を考慮すると、好ましい実施の形態において、本発明の方法では、 $1.0\text{nM}$ 以下、より好ましくは、 $0.1\text{nM}$ 以下、さらにより好ましくは、 $0.01\text{nM}$ 以下のDPIV阻害のための $K_i$ を有する薬を用いる。実際に、ピコモル範囲およびさらにフェムトモル範囲の $K_i$ 値を有する阻害因子が検討されている。したがって、活性薬は、便宜上、「DPIV阻害因子」としてここに記載されているが、そのような用語法は、本発明を特定の作用機構に限定することを意図するものではないことが理解されよう。

【0023】

例えば、ある実施の形態において、本発明の方法は、グルコース代謝疾患に関連する1つ以上の異常指標（例えば、グルコース不耐性、インスリン抵抗性、高血糖症、インスリン過剰血症およびII型糖尿病）を改善するのに効果的な量のDPIV阻害因子の、好ましくは、24時間の周期中に所定の回数での投与を含む。

【0024】

他の実施の形態において、本発明の方法は、肥満症に関連する異常指標を改善するのに効果的な量でのDPIV阻害因子の投与を含む。脂肪細胞はホルモンレプチン(leptin)を放出し、レプチンは、血流中を脳まで移動し、そこにあるレプチン受容体により、GLP-1の産生を刺激する。次いで、GLP-1は、満腹であるという感覚を生じる。主な理論は、ほとんどの肥満の人々の脂肪細胞はおそらく十分なレプチンを産生するが、レプチンは、脳内のレプチン受容体を適切に引きつけることができないことがあり、GLP-1の産生を刺激しないというものである。したがって、GLP-1の製剤を食欲抑制薬として使用することへの研究が数多く行われている。本発明の方法は、肥満症に関連する疾患の治療において、内因性GLP-1および異所的に加えられたGLP-1の両方の半減期を増大させる手段を提供する。

【0025】

より一般的な意味において、本発明は、DPIVまたはある他のタンパク質分解活性によって1つ以上のペプチドホルモンのタンパク質分解を阻害することにより、様々な異なるポリペプチドホルモンの薬物速度論(pharmacokinetics)を変更する方法および組成物を提供する。分泌後(post-secretory)代謝は調節ペプチドの全体的なホメオスタシスにおける重要な要素であり、これらの過程に含まれる他の酵素は、本発明の方法による薬物学的介入のための適切な標的であるかもしれない。

【0026】

例えば、本発明の方法は、グリセンチン(glicentin) (PG1-69に対応する)、オキシントモジュリン(ocyntomodulin) (PG33-69)、グリセンチン関連膵ペプチド(GRPP、PG1-30)、介在ペプチド-2(IP-2、PG111-122アミド

10

20

30

40

50

)、およびグルカゴン様ペプチド - 2 ( G L P - 2、 P G 1 2 6 - 1 5 8 ) のような他のプログルカゴン由来ペプチドの半減期を増大させるのに使用することができる。

【 0 0 2 7 】

例えば、 G L P - 2 は、腸上皮の増殖を誘発する原因である因子として同定されてきた。例えば、(1996) PNAS 93:7911を参照のこと。本発明の方法は、例えば、腸粘膜上皮の増殖および修復を向上させることが望ましい、腸組織の損傷、炎症または切除を治療するための養生計画の一部として使用することができる。

【 0 0 2 8 】

D P I V も、成長ホルモン放出因子 ( G H R F ) の代謝および不活化に含まれてきた。 G H R F は、グルカゴン、セクレチン、血管作用性腸ペプチド ( V I P )、ペプチドヒスチジンイソロイシン ( P H I )、脳下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド ( P A C A P )、消化管抑制ペプチド ( G I P ) およびヘロデルミン (helodermin) を含む同種ペプチドの系統群の一員である。Kubiak 等 (1994) Peptide Res 7:153。 G H R F は、視床下部により分泌され、下垂体前葉からの成長ホルモン ( G H ) の放出を刺激する。したがって、本発明の方法は、ある成長ホルモンの欠失した小児の臨床治療を改善するため、および栄養を改善し、体の組成 ( 筋肉対脂肪 ) を変更する成人の臨床治療において使用することができる。本発明の方法はまた、例えば、高収率のミルクの生産および高収率のより脂肪のない家畜を開発するために、家畜の病気治療を実施するために使用することもできる。

10

【 0 0 2 9 】

同様に、本発明の D P I C 阻害因子は、セクレチン、 V I P、 P H I、 P A C A P、 G I P および / またはヘロデルミンの血漿半減期を変更するのに使用することができる。さらに、本発明の方法は、両方とも膵ポリペプチドの系統群の一員である、ペプチド Y Y および神経ペプチド Y の薬物速度論を変更するのに使用することができ、なぜならば、 D P I V が、受容体の選択性を変更する様式でこれらのペプチドのプロセッシングに含まれるからである。

20

【 0 0 3 0 】

本発明の別の態様は、ジペプチジルペプチダーゼ阻害因子、特に D P I V 阻害因子の薬剤組成物、およびペプチドホルモンのホメオスタシスを変更することにより改善できる病気の治療および / または予防におけるそれらの使用に関する。好ましい実施の形態において、前記阻害因子は、高血糖症活性および抗糖尿病性活性を有しており、異常なグルコース代謝 ( 貯蔵を含む ) により特徴付けられる病気の治療に使用することができる。特別な実施の形態において、本発明の方法の組成物は、インシュリン刺激薬 (insulinotropic agent) として、または G L P - 1 のような分子のインシュリン刺激効果を増大させるのに有用である。この点に関して、本発明の方法は、高脂血症、高血糖症、肥満症、ブドウ糖負荷不全症、インシュリン抵抗性および糖尿病合併症の内の 1 つ以上を含む、様々な病気の治療および / または予防に有用であろう。

30

【 0 0 3 1 】

一般的に、本発明の方法の阻害因子は、例えば、7500原子質量単位 ( a m u ) 未満、好ましくは5000 a m u 未満、より好ましくは2000 a m u 未満、さらに1000 a m u の分子量を有する小さな分子である。好ましい実施の形態において、その阻害因子は経口活性である。

40

【 0 0 3 2 】

ある実施の形態において、本阻害因子は、標的とされたタンパク質分解活性の基質特異性に関して、例えば、 C 置換基の選択によって最適化されたペプチジル化合物 ( ペプチド擬態物を含む ) である。これらのペプチジル化合物は、切れやすいペプチド結合の代わりのような、セリン型、システイン型またはアスパラギン酸型プロテアーゼの阻害を適切に促進させる官能基を含む。例えば、そのような阻害因子は、ペプチジル - ジケトンまたはペプチジル - ケトエステル、ペプチドハロアルキルケトン、ペプチドスルホニルフルオリド、ペプチジルボロネート、ペプチジルエポキシド、ペプチジルジアソメタン、

50

ペプチジルホスホネート、イソクマリン、ベンゾキサジン - 4 - オンカルバメート、イソシアネート、イサト酸無水物等であって差し支えない。そのような官能基は他のプロテアーゼ阻害因子において提供されており、それらの一般的な合成経路が知られている。例えば、Angelastro 等, J. Med. Chem. 33:11-13 (1990); Bey 等, EPO 363,284; Bey 等, EPO 364,344; Grubb 等, WO88/10266; Higuchi 等, EPO 393,457; Ewoldt 等, Molecular Immunology 29(6):713-721 (1992); Hernandez 等, Journal of Medicinal Chemistry 35(6): 1121-1129 (1992); Vlasak 等, J Virology 63(5):2056-2062 (1989); Hudig 等, J Immunol 147(4):1360-1368 (1991); Odakc 等, Biochemistry 30(8):2217-2227 (1991); Vijayalakshmi 等, Biochemistry 30(8):2175-2183 (1991); Kam 等, Thrombosis and Haemostasis 64(1):133-137 (1990); Powers 等, J Cell Biochem 39(1):33-46 (1989); Powers 等, Proteinase Inhibitors, Barrett 等, Eds., Elsevier, pp.55-152 (1986); Powers 等, Biochemistry 29(12):3108-3118 (1990); Oweida 等, Thrombosis Research 58(2):391-397 (1990); Hudig 等, Molecular Immunology 26(8):793-798 (1989); Orłowski 等, Archives of Biochemistry and Biophysics 269(1):125-136 (1989); Zunino 等, 27(7):2547-2557 (1988); Parkes 等, Biochem J. 230:509-516 (1985); Green 等, J. Biol. Chem. 256:1923-1928 (1981); Angliker 等, Biochem. J. 241:871-875 (1987); Puri 等, Arch. Biochem. Biophys. 27:346-358 (1989); Hanada 等, Proteinase Inhibitors: Medical and Biological Aspects, Katunuma 等, Eds., Springer-Verlag pp.25-37(1983); Kajiwarra 等, Biochem. Int. 15:935-944 (1987); Rao 等, Thromb. Res. 47:635-637 (1987); Tsujinaka 等, Biochem. Biophys. Res. Commun. 153:1201-1208 (1988)を参照のこと。また、Bachovchin 等の米国特許第4,935,493号; Bachovchin 等の米国特許第5,462,928号; Powers 等の米国特許第5,543,396号; Hanco 等の米国特許第5,296,604号; および Ferring の PCT 公報 PCT/GB94/02615 も参照のこと。

10

20

## 【0033】

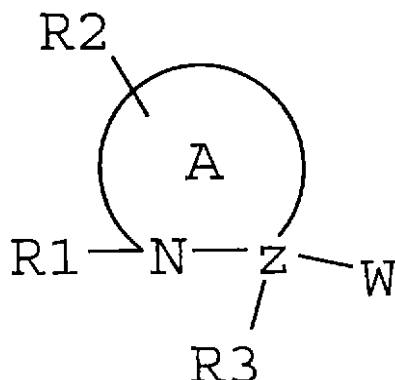
別の実施の形態において、前記阻害因子は、例えば、ここに記載したような薬物スクリーニングアッセイにより同定できる、非ペプチジル化合物である。これらの阻害因子は、単に例として、合成有機体、天然生成物、核酸または炭水化物であって差し支えない。

## 【0034】

本発明の方法に使用する典型的な種類の化合物は、一般式：

## 【0035】

## 【化1】



40

## 【0036】

により表され；

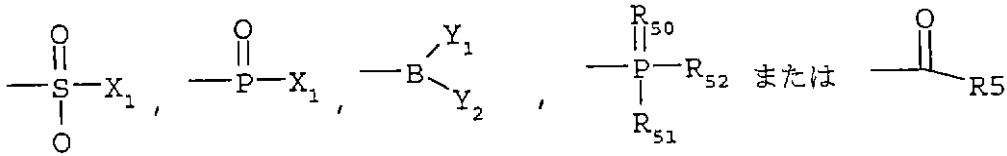
ここで、Aは、NおよびC 炭素を含む4 - 8員の複素環を表し；

ZはCまたはNを表し；

Wは、例えば、-CN、-CN = NR<sub>5</sub>、

## 【0037】

## 【化2】



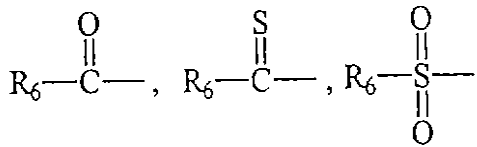
## 【0038】

のような、標的としたプロテアーゼの活性部位残基と反応する官能基を表し；

R<sub>1</sub>は、C末端連結アミノ酸残基またはアミノ酸類似体、またはC末端連結ペプチドまたはペプチド類似体、またはアミノ保護基、または

## 【0039】

## 【化3】



## 【0040】

を表し；

R<sub>2</sub>は、存在しないか、または環Aに対する1つ以上の置換基を表し、それら置換基の各々が、独立して、ハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、カルボニル（カルボキシル、エステル、ホルメート、またはケトンのような）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、チオホルメートのような）、アミノ、アシルアミノ、アミド、シアノ、ニトロ、アジド、スルフェート、スルホネート、スルホンアミド、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-OH、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-低級アルキル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-低級アルケニル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-SH、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-S-低級アルキル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-S-低級アルケニル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>であって差し支えなく；

XがNの場合には、R<sub>3</sub>は水素を表し、XがCの場合には、R<sub>3</sub>は、水素またはハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、カルボニル（カルボキシル、エステル、ホルメート、またはケトンのような）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、チオホルメートのような）、アミノ、アシルアミノ、アミド、シアノ、ニトロ、アジド、スルフェート、スルホネート、スルホンアミド、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-OH、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-低級アルキル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-低級アルケニル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-SH、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-S-低級アルキル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-S-低級アルケニル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>を表し；

R<sub>5</sub>は、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、-C(X<sub>1</sub>)(X<sub>2</sub>)X<sub>3</sub>、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-OH、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-アルキル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-アルケニル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-アルキニル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-SH、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-アルキル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-アルケニル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-アルキニル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>、-C(O)C(O)NH<sub>2</sub>、-C(O)C(O)OR'<sub>7</sub>を表し；

R<sub>6</sub>は、水素、ハロゲン、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-OH、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-アルキル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-アルケニル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-アルキニル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-SH、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-S-アルキル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-S-アルケニル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-S-アルキニル、- (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-R<sub>7</sub>を表し；

R<sub>7</sub>は、各々の出現ごとに、置換または非置換アリール、アラルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、または複素環を表し；

R'<sub>7</sub>は、各々の出現ごとに、水素、もしくは置換または非置換アルキル、アルケニル

10

20

30

40

50

、アリアル、アラルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、または複素環を表し；  
 $Y_1$ および $Y_2$ は、独立してまたは互いにOH、または $Y_1$ および $Y_2$ が環構造（ピナコール等のような）において5から8原子を有する環により接続された環状誘導体を含む、ヒドロキシル基に加水分解されることのできる基であって差し支えなく；

$R_{50}$ はOまたはSを表し；

$R_{51}$ は、 $N_3$ 、 $SH_2$ 、 $NH_2$ 、 $NO_2$ または $OR'_7$ を表し；

$R_{52}$ は、水素、低級アルキル、アミン、 $OR'_7$ 、または薬剂的に許容される塩、もしくは $R_{51}$ および $R_{52}$ が、それらが付着されるリン原子と互いに一緒になって、環構造において5から8原子を有する複素環を完成し；

$X_1$ がハロゲンを表し；

$X_2$ および $X_3$ の各々が水素またはハロゲンを表し；

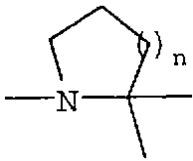
$m$ がゼロまたは1から8までの範囲の整数であり； $n$ が1から8までの範囲の整数である。

【0041】

好ましい実施の形態において、環Aは、例えば、化学式：

【0042】

【化4】



【0043】

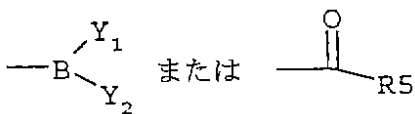
により表された5、6または7員環、より好ましくは5または6員環である。この環は、必要に応じて、さらに置換されていてもよい。

【0044】

好ましい実施の形態において、Wは、

【0045】

【化5】



【0046】

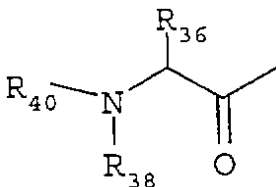
を表す。

【0047】

好ましい実施の形態において、 $R_1$ は、

【0048】

【化6】



【0049】

であり、ここで、 $R_{36}$ は小さな疎水性基、例えば、低級アルキルまたはハロゲンであり、 $R_{38}$ はハロゲンであり、または $R_{36}$ および $R_{37}$ は、上述したAに関して定義されたようなC炭素およびNを含む4-7員の複素環を互いに形成し、 $R_{40}$ は、C末端連結アミノ酸残基またはアミノ酸類似体、またはC末端連結ペプチドまたはペプチド類似体、またはア

10

20

30

40

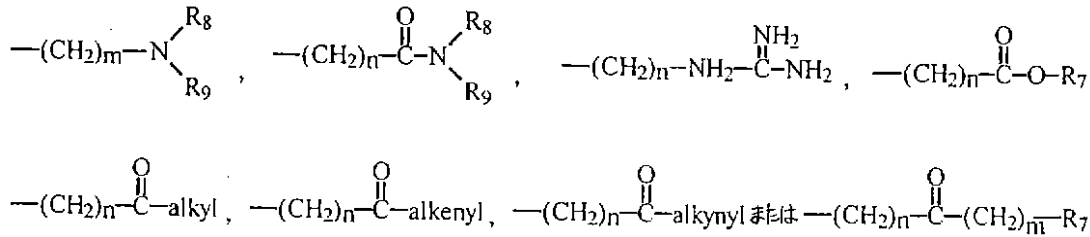
50



)<sub>m</sub> - SH、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - S - アルキル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - S - アルケニル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - S - アルキニル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - S - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - R<sub>7</sub>、

【0061】

【化9】



10

【0062】

を表し；

R<sub>7</sub>は、アリール、シクロアリール、シクロアルケニル、または複素環を表し；

R<sub>8</sub>およびR<sub>9</sub>は、各々が独立して、水素、アルキル、アルケニル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - R<sub>7</sub>、 - C(=O) - アルキル、 - C(=O) - アルケニル、 - C(=O) - アルキニル、 - C(=O) - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - R<sub>7</sub>を表し；

またはR<sub>8</sub>およびR<sub>9</sub>が、それらが付着されるN原子と互いに一緒になって環構造において4から8原子を有する複素環を完成し；

R<sub>11</sub>およびR<sub>12</sub>は、各々が独立して、水素、アルキル、または薬剂的に許容される塩を表し、もしくはR<sub>11</sub>およびR<sub>12</sub>が、それらが付着されるO - B - O原子と互いに一緒になって環構造において5から8原子を有する複素環を完成し；

20

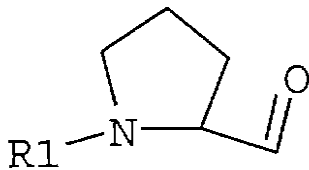
mがゼロまたは1から8までの範囲の整数であり、nが1から8までの範囲の整数である。

【0063】

他の実施の形態において、本DPIV阻害因子は、プロリンのアルデヒド類似体またはプロリル誘導体を含む。本発明の例としてのアルデヒド誘導阻害因子は、一般化学式：

【0064】

【化10】



30

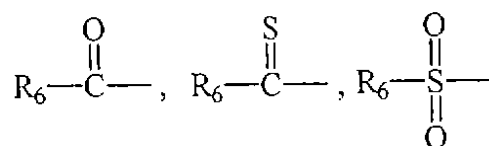
【0065】

により表され、ここで、

R<sub>1</sub>は、C末端連結アミノ酸残基またはアミノ酸類似体、またはC末端連結ペプチドまたはペプチド類似体、または

【0066】

【化11】



40

【0067】

を表し、

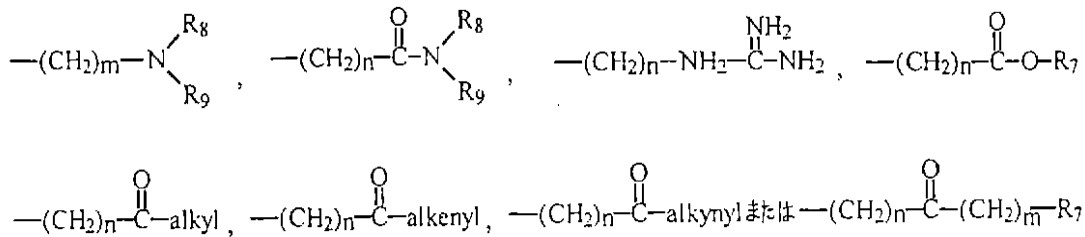
R<sub>6</sub>は、水素、ハロゲン、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - R<sub>7</sub>、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - OH、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - O - アルキル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - O - アルケニル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - O - アルキニル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - O - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - R<sub>7</sub>、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - SH、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - S - アルキル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - S - アルケニル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - S - アルキニル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - S - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - R<sub>7</sub>、

50

$m$ -S-アルキニル、 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_m-R_7$ 、

【0068】

【化12】



10

【0069】

を表し；

$R_7$ は、アリール、シクロアリール、シクロアルケニル、または複素環を表し；

$R_8$ および $R_9$ は、各々が独立して、水素、アルキル、アルケニル、 $-(CH_2)_m-R_7$ 、 $-C(=O)$ -アルキル、 $-C(=O)$ -アルケニル、 $-C(=O)$ -アルキニル、 $-C(=O)$ - $(CH_2)_m-R_7$ を表し；

または $R_8$ および $R_9$ が、それらが付着されるN原子と互いに一緒になって環構造において4から8原子を有する複素環を完成し；

$m$ がゼロまたは1から8までの範囲の整数であり、 $n$ が1から8までの範囲の整数である。

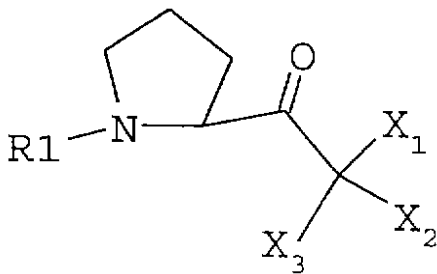
20

【0070】

さらなる実施の形態において、本DPIV阻害因子はアミノ酸のハロメチルケトン類似体である。この種類の例としての阻害因子としては、一般化学式：

【0071】

【化13】



30

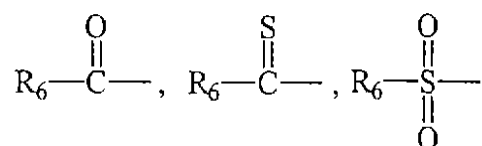
【0072】

により表される化合物が挙げられ、ここで、

$R_1$ は、C末端連結アミノ酸残基またはアミノ酸類似体、またはC末端連結ペプチドまたはペプチド類似体、または

【0073】

【化14】



40

【0074】

を表し、

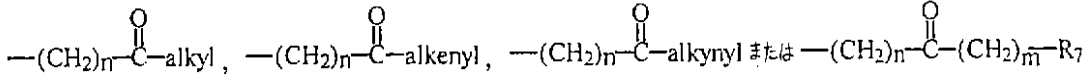
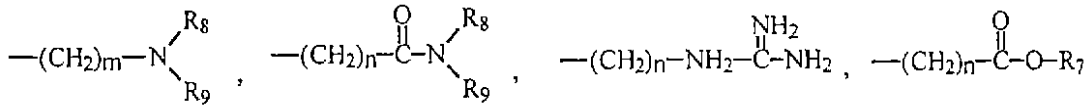
$R_6$ は、水素、ハロゲン、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、 $-(CH_2)_m-R_7$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-O$ -アルキル、 $-(CH_2)_m-O$ -アルケニル、 $-(CH_2)_m-O$ -アルキニル、 $-(CH_2)_m-O$ - $(CH_2)_m-R_7$ 、 $-(CH_2)$

50

)<sub>m</sub> - SH、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - S - アルキル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - S - アルケニル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - S - アルキニル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - S - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - R<sub>7</sub>、

【0075】

【化15】



10

【0076】

を表し；

R<sub>7</sub>は、アリール、シクロアリール、シクロアルケニル、または複素環を表し；

R<sub>8</sub>およびR<sub>9</sub>は、各々が独立して、水素、アルキル、アルケニル、 - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - R<sub>7</sub>、 - C(=O) - アルキル、 - C(=O) - アルケニル、 - C(=O) - アルキニル、 - C(=O) - (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub> - R<sub>7</sub>を表し；

またはR<sub>8</sub>およびR<sub>9</sub>が、それらが付着されるN原子と互いに一緒になって環構造において4から8原子を有する複素環を完成し；

X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>およびX<sub>3</sub>の各々が水素またはハロゲンを表し；

mがゼロまたは1から8までの範囲の整数であり、nが1から8までの範囲の整数である。

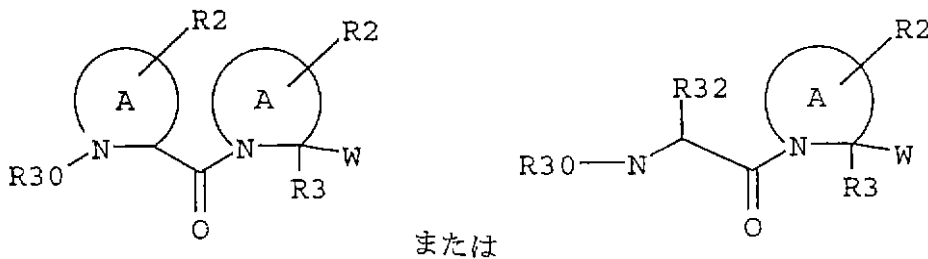
20

【0077】

好ましい実施の形態において、前記DPIV阻害因子は、P1特異性位置にプロピル基またはその類似体を、P2特異性位置に非極性アミノ酸、例えば、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファンまたはメチオニン、もしくはそれらの類似体のような非極性アミノ酸を含む、ペプチドまたはペプチド擬態物である。例えば、DPIV阻害因子は、Ala-ProまたはPro-Proジペプチド配列またはその等価物を含み、一般化学式：

【0078】

【化16】



【0079】

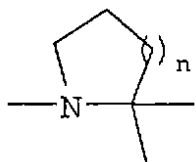
で表されるであろう。

【0080】

好ましい実施の形態において、環Aは、例えば、化学式：

【0081】

【化17】



【0082】

40

50

により表される、5, 6または7員環である。

【0083】

好ましい実施の形態において、 $R_{32}$ は、小さな疎水性基、例えば、低級アルキルまたはハロゲンである。

【0084】

好ましい実施の形態において、 $R_{30}$ は、C末端連結アミノ酸残基またはアミノ酸類似体、またはC末端連結ペプチドまたはペプチド類似体、またはアミノ保護基を表す。

【0085】

好ましい実施の形態において、 $R_2$ は、存在しない、または低級アルキルまたはハロゲンのような小さな疎水性基を表す。

10

【0086】

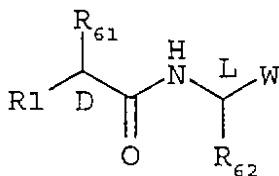
好ましい実施の形態において、 $R_3$ は、水素、または低級アルキルまたはハロゲンのような小さな疎水性基である。

【0087】

本方法に使用する別の典型的な種類の化合物は、例えば、偏左右異性体配向を保持する、(D)-Ala-(L)-Alaのペプチドおよびペプチド擬態物を含む。そのような阻害因子の例としては、一般化学式：

【0088】

【化18】



20

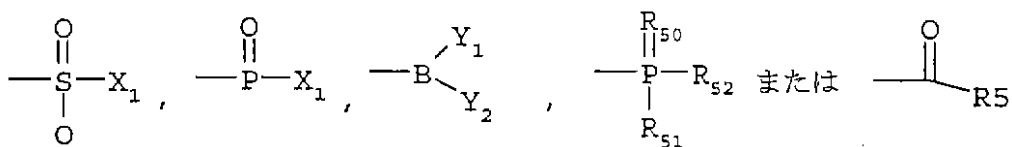
【0089】

により表される化合物が挙げられ、ここで、

Wが、例えば、-CN、-CH=NR<sub>5</sub>、

【0090】

【化19】



30

【0091】

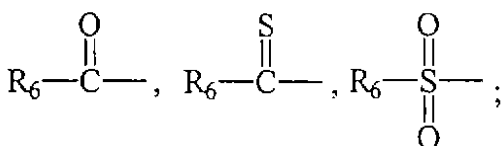
のような、標的とされたプロテアーゼの活性部位残基と反応する官能基を表し；

$R_1$ が、C末端連結アミノ酸残基またはアミノ酸類似体、またはC末端連結ペプチドまたはペプチド類似体、またはアミノ保護基、または

40

【0092】

【化20】



【0093】

を表し；

$R_3$ は、水素またはハロゲン、低級アルキル、低級アルケニル、低級アルキニル、カル

50

ボニル（カルボキシル、エステル、ホルメート、またはケトンのような）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、チオホルメートのような）、アミノ、アシルアミノ、アミド、シアノ、ニトロ、アジド、スルフェート、スルホネート、スルホンアミド、 $-(CH_2)_m-R_7$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-O$ -低級アルキル、 $-(CH_2)_m-O$ -低級アルケニル、 $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R_7$ 、 $-(CH_2)_m-SH$ 、 $-(CH_2)_m-S$ -低級アルキル、 $-(CH_2)_m-S$ -低級アルケニル、 $-(CH_2)_n-S$ - $-(CH_2)_m-R_7$ を表し；

$R_5$ は、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、 $-C(X_1)(X_2)X_3$ 、 $-(CH_2)_m-R_7$ 、 $-(CH_2)_n-OH$ 、 $-(CH_2)_n-O$ -アルキル、 $-(CH_2)_n-O$ -アルケニル、 $-(CH_2)_n-O$ -アルキニル、 $-(CH_2)_n-O-(CH_2)_m-R_7$ 、 $-(CH_2)_n-SH$ 、 $-(CH_2)_n-S$ -アルキル、 $-(CH_2)_n-S$ -アルケニル、 $-(CH_2)_n-S$ -アルキニル、 $-(CH_2)_n-S-(CH_2)_m-R_7$ 、 $-C(O)C(O)NH_2$ 、 $-C(O)C(O)OR'_7$ を表し；

$R_6$ は、水素、ハロゲン、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリール、 $-(CH_2)_m-R_7$ 、 $-(CH_2)_m-OH$ 、 $-(CH_2)_m-O$ -アルキル、 $-(CH_2)_m-O$ -アルケニル、 $-(CH_2)_m-O$ -アルキニル、 $-(CH_2)_m-O-(CH_2)_m-R_7$ 、 $-(CH_2)_m-SH$ 、 $-(CH_2)_m-S$ -アルキル、 $-(CH_2)_m-S$ -アルケニル、 $-(CH_2)_m-S$ -アルキニル、 $-(CH_2)_m-S-(CH_2)_m-R_7$ を表し；

$R_7$ は、各々の出現ごとに、置換または非置換アリール、アラルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、または複素環を表し；

$R'_7$ は、各々の出現ごとに、水素、もしくは置換または非置換アルキル、アルケニル、アリール、アラルキル、シクロアルキル、シクロアルケニル、または複素環を表し；

$R_{61}$ および $R_{62}$ は独立して、小さな疎水性基を表し；

$Y_1$ および $Y_2$ は、独立してまたは互いにOH、または $Y_1$ および $Y_2$ が環構造（ピナコール等のような）において5から8原子を有する環により接続された環状誘導体を含む、ヒドロキシル基に加水分解されることのできる基であって差し支えなく；

$R_{50}$ はOまたはSを表し；

$R_{51}$ は、 $N_3$ 、 $SH_2$ 、 $NH_2$ 、 $NO_2$ または $OR'_7$ を表し；

$R_{52}$ は、水素、低級アルキル、アミン、 $OR'_7$ 、または薬剤的に許容される塩、もしくは $R_{51}$ および $R_{52}$ が、それらが付着されるリン原子と互いに一緒になって環構造において5から8原子を有する複素環を完成し；

$X_1$ がハロゲンを表し；

$X_2$ および $X_3$ の各々が水素またはハロゲンを表し；

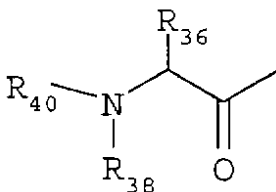
mがゼロまたは1から8までの範囲の整数であり；nが1から8までの範囲の整数である。

【0094】

好ましい実施の形態において、 $R_1$ は、

【0095】

【化21】



【0096】

であり、ここで、 $R_{36}$ は小さな疎水性基、例えば、低級アルキルまたはハロゲンであり、 $R_{38}$ はハロゲンであり、または $R_{36}$ および $R_{37}$ は、上述したAに関して定義されたようなC炭素およびNを含む4-7員の複素環を互いに形成し、 $R_{40}$ は、C末端連結アミノ酸残基またはアミノ酸類似体、またはC末端連結ペプチドまたはペプチド類似体、またはア

10

20

30

40

50

ミノ保護基を表す。

【0097】

好ましい実施の形態において、 $R_3$ は、水素、または低級アルキルまたはハロゲンのような小さな疎水性基である。

【0098】

好ましい実施の形態において、 $R_5$ は、水素、またはハロゲン化低級アルキルである。

【0099】

好ましい実施の形態において、 $X_1$ はフッ素であり、 $X_2$ および $X_3$ は、ハロゲンである場合には、フッ素である。

【0100】

好ましい実施の形態において、 $R_{61}$ および $R_{62}$ は、独立して、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、第三ブチル等のような低級アルキルを表す。

【0101】

また、オレフィン、ホスホネート、アザアミノ酸類似体等のようなペプチド擬態物も含まれる。

【0102】

ボロニック酸エステルおよびハロゲン化物を含む上述した化合物、並びにアセタール、ヘミアセタール、ケタール、およびヘミケタール、および環状ジペプチド類似体を含むカルボニル等価物のいずれかに加水分解により転化されることのできる任意の化合物も等価物として考えられる。

【0103】

ここで用いたように、各々の表現、例えば、アルキル、 $m$ 、 $n$ 等の定義は、任意の構造体において複数回現れた場合、同一構造体のどこか他のところのその定義とは独立していることを意図するものである。

【0104】

本化合物の薬剂的に許容される塩は、例えば非毒性の有機酸または無機酸からの、該化合物の従来の非毒性塩または第四アンモニウム塩を含む。例えば、そのような従来の非毒性の塩としては、塩化水素酸、臭化水素酸、硫酸、スルファミド酸、リン酸、硝酸等のような無機酸から生成された塩；および酢酸、プロピオン酸、琥珀酸、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、オキシマレイン酸、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、エタンジスルホン酸、シュウ酸、イソチオン酸等のような有機酸から調製された塩が挙げられる。

【0105】

本発明の薬剂的に許容される塩は、従来の化学的方法により塩基部分または酸部分を含む本化合物から合成することができる。概して、これらの塩は、遊離塩基または酸を、理論量のまたは過剰の、適切な溶剤中の所望の塩形成無機または有機の酸または塩基と反応させることにより調製される。本化合物の酸の薬剂的に許容される塩はまた、化学式Iの酸を、適切な量の、アルカリまたはアルカリ土類メチル水酸化物（例えば、ナトリウム、カリウム、リチウム、カルシウムまたはマグネシウム）のような塩基またはアミン、ピペリジン、ピロリジン、ベンジルアミン等のような有機塩基、もしくは水酸化テトラメチルアンモニウム等のような第四アンモニウム水酸化物により処理するような従来の工程により容易に調製される。

【0106】

上述した化合物の検討される等価物としては、他の様式でそれに対応し、それと同様な一般的特性（例えば、GLP-1または他のペプチドホルモンまたはそれらの前駆体のタンパク質分解を阻害する能力）を有する化合物であって、検討されている方法に使用する上で該化合物の効力に悪影響を及ぼさない置換基の1つ以上の単純な変種が生成される化合物が挙げられる。一般的に、本発明の化合物は、例えば、以下に説明されるような一般

10

20

30

40

50

的な反応略図において図示された方法により、またはその変更例により、容易に入手できる出発材料、試薬、および従来の合成過程を用いて調製してもよい。これらの反応において、それら自体が知られているが、ここに挙げられていない変種を使用することもできる。

#### 【0107】

##### ii. 定義

便宜上、本発明をさらに説明する前に、本明細書、実施例、および特許請求の範囲に用いた特定の用語をここに集める。

#### 【0108】

「アルキル」という用語は、直鎖アルキル基、枝分れ鎖アルキル基、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、飽和脂肪族の基を称する。好ましい実施の形態において、直鎖または枝分れ鎖のアルキルは、主鎖において、30以下の炭素原子（例えば、直鎖に関しては $C_1 - C_{30}$ 、枝分れ鎖に関しては $C_3 - C_{30}$ ）を、より好ましくは、20以下の炭素原子を有する。同様に、好ましいシクロアルキルは、それらの環構造において、3-10の炭素原子を、より好ましくは、該環構造において5、6または7の炭素原子を有する。

10

#### 【0109】

さらに、本明細書および請求項に亘り用いられている「アルキル」（または「低級アルキル」という用語は、「非置換アルキル」および「置換アルキル」の両方を含むことを意図しており、後者の「置換アルキル」は、炭化水素主鎖の1つ以上の炭素上の水素を置換する置換基を有するアルキル部分を称する。そのような置換基としては、例えば、ハロゲン、ヒドロキシル、カルボニル（カルボキシ、エステル、ホルミル、またはケトンのような）、チオカルボニル（チオエステル、チオアセテート、またはチオホルメートのような）、アルコキシル、ホスホリル、ホスホネート、ホスフィネート、アミノ、アミド、アミジン、イミン、シアノ、ニトロ、アジド、スルフヒドリル、アルキルチオ、スルフェート、スルファモイル、スルホンアミド、スルホニル、ヘテロシクリル(heterocyclyl)、アラルキル、もしくは芳香族またはヘテロ芳香族の部分を挙げることができる。炭化水素鎖上で置換された部分はそれら自体で、適していれば、置換されることができることが当業者には理解されよう。例えば、置換アルキルの置換基としては、アミノ、アジド、イミノ、アミド、ホスホリル（ホスホネートおよびホスフィネートを含む）、スルホニル（スルフェート、スルホンアミド、スルファモイルおよびスルホネートを含む）、およびシリル基、並びに、エーテル、アルキルチオ、カルボニル（ケトン、アルデヒド、カルボキシレート、およびエステルを含む）、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等の置換および非置換形態が挙げられる。例としての置換アルキルを以下に説明する。シクロアルキルを、さらに、アルキル、アルケニル、アルコキシ、アルキルチオ、アミノアルキル、カルボニル置換アルキル、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等で置換しても差し支えない。

20

30

#### 【0110】

ここで用いられている「アラルキル」という用語は、アリール基（例えば、芳香族またはヘテロ芳香族基）により置換されたアルキル基を称する。

#### 【0111】

「アルケニル」および「アルキニル」という用語は、長さとおよび可能性のある置換が上述したアルキルに類似しているが、それぞれ、少なくとも1つの二重結合または三重結合を含む不飽和脂肪族基を称する。

40

#### 【0112】

炭素の数が別記されていない限り、ここで用いられている「低級アルキル」は、上述したようなアルキル基であるが、その主鎖構造において、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」は同様の鎖長を有する。好ましいアルキル基は低級アルキルである。好ましい実施の形態において、アルキルとしてここに称された置換基は低級アルキルである。

50

## 【0113】

ここに用いられる「アリアル」という用語は、ゼロから4までのヘテロ原子を含んでもよい5, 6および7員の1つの環の芳香族基、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等を含む。環構造にヘテロ原子を有するこれらのアリアル基は、「アリアル複素環」または「ヘテロ芳香族」と称してもよい。この芳香族環は、上述したような置換基、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、アミノ、ニトロ、スルフヒドリル、イミノ、アミド、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシ、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、スルホンアミド、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロシクリル、芳香族またはヘテロ芳香族の部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等により、1つ以上の環の位置で置換されていても差し支えない。「アリアル」という用語は、環の内の少なくとも1つが芳香族であり、例えば、他方の環式環がシクロアルキル、シクロアルケニル、シクロアルキニル、アリアルおよび/またはヘテロシクリルであって差し支えない、2つ以上の炭素が2つの隣接する環（これら環は「縮合環」である）に共通している2つ以上の環式環を有する多環式環を含む。

10

## 【0114】

「ヘテロシクリル」または「複素環基」という用語は、その環構造が1つから4つのヘテロ原子を含む、3-10員の環構造、より好ましくは、3-7員の環を称する。複素環は多環式であって差し支えない。ヘテロシクリル基としては、例えば、チオフェン、チアントレン、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(phenoxathiin)、ピロール、イミダゾール、ピラゾール、イソチアゾール、イソキサゾール、ピリジン、ピラジン、ピリミジン、ピリダジン、インドリジン(indolizine)、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(quinolizine)、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(oxolane)、チオラン(thiolane)、オキサゾール、ピペリジン、ピペラジン、モルホリン、ラクトン、アゼチジノンとピロリジノン(pyrrolidone)のようなラクタム、スルタム(sultam)、スルトン等が挙げられる。複素環は、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、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロシクリル、芳香族またはヘテロ芳香族部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等のような、上述した置換基により、1つ以上の位置で置換されていても差し支えない。

20

30

## 【0115】

「ポリシクリル」または「多環式基」という用語は、2つ以上の炭素が2つの隣接する環に共通している、例えば、それらの環が「融合環」である、2つ以上の環（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/またはヘテロシクリル）を称する。非隣接原子により結合された環は、「架橋」環と称される。多環の内の環の各々は、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、ホスホネート、ホスフィネート、カルボニル、カルボキシル、シリル、エーテル、アルキルチオ、スルホニル、ケトン、アルデヒド、エステル、ヘテロシクリル、芳香族またはヘテロ芳香族部分、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 等のような、上述した置換基により、1つ以上の位置で置換されていても差し支えない。

40

## 【0116】

ここで用いられる「炭素環」という用語は、環の各々の原子が炭素である芳香族環または非芳香族環を称する。

50

## 【0117】

ここで用いられる「ヘテロ原子」という用語は、炭素または水素以外の任意の元素の原子を意味する。好ましいヘテロ原子は、窒素、酸素、硫黄およびリンである。

## 【0118】

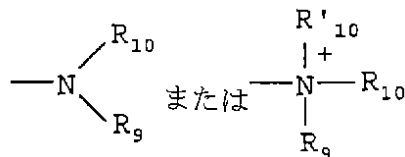
ここで用いられているように、「ニトロ」という用語は  $-NO_2$  を意味し；「ハロゲン」という用語は、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-Br$  または  $-I$  を称し；「スルフヒドリル」という用語は、 $-SH$  を意味し；「ヒドロキシル」という用語は、 $-OH$  を意味し；「スルホニル」という用語は、 $-SO_2-$  を意味する。

## 【0119】

「アミン」および「アミノ」という用語は、当該技術分野において認識されており、非置換アミンおよび置換アミンの両方、例えば、一般化学式：

## 【0120】

## 【化22】



## 【0121】

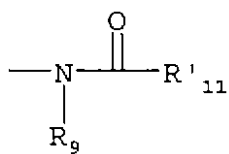
により表せる部分であって、ここで、 $R_9$ 、 $R_{10}$  および  $R'_{10}$  は各々独立して、水素、アルキル、アルケニル、 $-(CH_2)_m-R_8$  を表し、または  $R_9$  および  $R_{10}$  が、それらが付着される N 原子と一緒に、環構造において 4 から 8 原子を有する複素環を完成し； $R_8$  がアリール、シクロアルキル、シクロアルケニル、複素環または多環を表し； $m$  がゼロまたは 1 から 8 までの範囲の整数である部分を称する。好ましい実施の形態において、 $R_9$  または  $R_{10}$  の内の一方のみがカルボニルであることができ、例えば、 $R_9$ 、 $R_{10}$  および窒素は互いにイミドを形成しない。さらに好ましい実施の形態において、 $R_9$  および  $R_{10}$  (および必要に応じて  $R'_{10}$ ) は各々独立して、水素、アルキル、アルケニル、 $-(CH_2)_m-R_8$  を表す。したがって、ここで用いられる「アルキルアミン」は、上述したように、そこに付着された置換アルキルまたは非置換アルキルを有するアミン基を意味する、すなわち、 $R_9$  および  $R_{10}$  の内の少なくとも 1 つがアルキル基である。

## 【0122】

「アシルアミノ」という用語は、当該技術分野において認識されており、一般式：

## 【0123】

## 【化23】



## 【0124】

により表すことのできる部分であって、ここで、 $R_9$  が上述のごとく定義したようなものであり、 $m$  および  $R_8$  が上述のごとく定義したようなものである場合、 $R'_{11}$  が水素、アルキル、アルケニル、 $-(CH_2)_m-R_8$  を表す部分を称する。

## 【0125】

「アミド」という用語は、アミノ置換カルボニルとして当該技術分野において認識されており、一般化学式：

## 【0126】

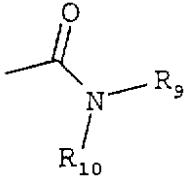
10

20

30

40

## 【化 2 4】



## 【 0 1 2 7】

により表せる部分であって、ここで、 $R_9$ 、 $R_{10}$ が上述のごとく定義されたものである部分を含む。このアミドの好ましい実施の形態は、不安定かもしれないイミドは含まない。

## 【 0 1 2 8】

「アルキルチオ」という用語は、上述したような、そこに付着された硫黄基を有するアルキル基を称する。好ましい実施の形態において、「アルキルチオ」部分は、 $m$ および $R_8$ が上述のごとく定義されたような、 $-S-$ アルキル、 $-S-$ アルケニル、 $-S-$ アルキニル、および $-S-(CH_2)_m-R_8$ の内の1つにより表される。代表的なアルキルチオ基としては、メチルチオ、エチルチオ等が挙げられる。

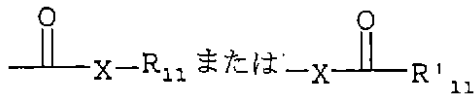
10

## 【 0 1 2 9】

「カルボニル」という用語は、当該技術分野において認識されており、一般式：

## 【 0 1 3 0】

## 【化 2 5】



20

## 【 0 1 3 1】

により表すことのできる部分であって、ここで、 $X$ が結合であるもしくは酸素また硫黄を表し、 $m$ および $R_8$ が上述のごとく定義されたものである場合、 $R_{11}$ が、水素、アルキル、アルケニル、 $-(CH_2)_m-R_8$ または薬剂的に許容される塩を表し、 $R'_{11}$ が、水素、アルキル、アルケニル、または $-(CH_2)_m-R_8$ を表す部分を含む。 $X$ が酸素であり、 $R_{11}$ または $R'_{11}$ が水素ではない場合、この化学式は「エステル」を表す。 $X$ が酸素であり、 $R_{11}$ が上述のごとく定義されたものである場合、前記部分はカルボキシル基として称され、特に、 $R_{11}$ が水素である場合、前記化学式は「カルボン酸」を表す。 $X$ が酸素であり、 $R'_{11}$ が水素である場合、前記化学式は「ホルメート」を表す。一般的に、上述した化学式の酸素原子が硫黄により置換された場合、その化学式は「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 $R'_{11}$ が水素ではない場合、前記化学式は「チオールエステル」を表す。 $X$ が硫黄であり、 $R_{11}$ が水素である場合、前記化学式は「チオールカルボン酸」を表す。 $X$ が硫黄であり、 $R'_{11}$ が水素である場合、前記化学式は「チオールホルメート」を表す。一方で、 $X$ が結合であり、 $R_{11}$ が水素ではない場合、前記化学式は「ケトン」基を表す。 $X$ が結合であり、 $R_{11}$ が水素である場合、上述した化学式は「アルデヒド」基を表す。

30

## 【 0 1 3 2】

ここで用いられる「アルコキシル」または「アルコキシ」という用語は、上述のごとく定義されたように、そこに付着された酸素基を有するアルキル基を称する。代表的なアルコキシル基としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、第三ブトキシ等が挙げられる。「エーテル」は酸素により共有結合された2つの炭化水素である。したがって、そのアルキルをエーテルにする、またはアルコキシルに似ているアルキルの置換基は、 $m$ および $R_8$ が上述のごとく定義されたような、 $-O-$ アルキル、 $-O-$ アルケニル、 $-O-$ アルキニル、および $-O-(CH_2)_m-R_8$ の内の1つにより表すことができる。

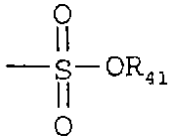
40

## 【 0 1 3 3】

「スルホネート」という用語は、当該技術分野において認識されており、一般化学式：

## 【 0 1 3 4】

【化 2 6】



【0 1 3 5】

により表すことができ、 $R_{41}$ が電子対、水素、アルキル、シクロアルキル、またはアリー  
ルである部分を含む。

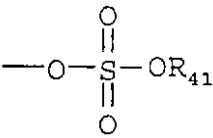
【0 1 3 6】

「スルフェート」という用語は、当該技術分野において認識されており、一般化学式：

10

【0 1 3 7】

【化 2 7】



【0 1 3 8】

により表すことができ、 $R_{41}$ が上述のごとく定義されたものである部分を含む。

【0 1 3 9】

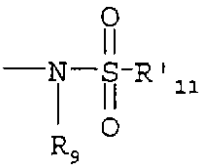
「スルホンアミド」という用語は、当該技術分野において認識されており、一般化学式

20

：

【0 1 4 0】

【化 2 8】



【0 1 4 1】

により表すことができ、 $R_9$ および $R'_{11}$ が上述のごとく定義されたものである部分を含  
む。

30

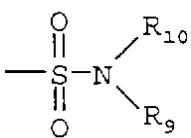
【0 1 4 2】

「スルファモイル」という用語は、当該技術分野において認識されており、一般化学式

：

【0 1 4 3】

【化 2 9】



40

【0 1 4 4】

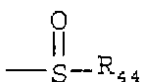
により表すことができ、 $R_9$ および $R_{10}$ が上述のごとく定義されたものである部分を含む  
。

【0 1 4 5】

ここで用いられる「スルホキシド」という用語は、一般化学式：

【0 1 4 6】

【化 3 0】



50

【0147】

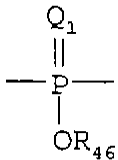
により表すことができ、 $R_{44}$ が、水素、アルキル、アルケニル、アルキニル、シクロアルキル、ヘテロシクリル、アラルキル、およびアリールからなる群より選択される部分を称する。

【0148】

「ホスホリル」という用語は、一般的に、化学式：

【0149】

【化31】



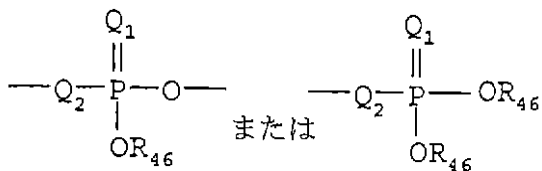
10

【0150】

により表すことができ、ここで、 $Q_1$ はSまたはOを表し、 $R_{46}$ は、水素、低級アルキルまたはアリールを表す。例えば、アルキルを置換するために使用する場合、ホスホリルアルキルのホスホリル基は、一般化学式：

【0151】

【化32】



20

【0152】

により表すことができ、ここで、 $Q_1$ はSまたはOを表し、 $R_{46}$ は独立して、水素、低級アルキルまたはアリールを表し、 $Q_2$ はO、SまたはNを表す。 $Q_1$ がSである場合、ホスホリル部分は「ホスホロチオエート」である。

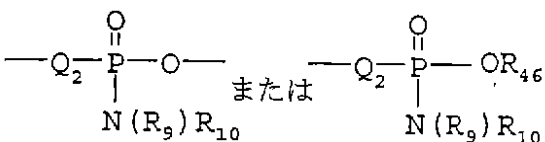
【0153】

「ホスホリアミダイト(phosphoramidite)」は、一般化学式：

30

【0154】

【化33】



【0155】

により表すことができ、ここで、 $R_9$ および $R_{10}$ が上述のごとく定義されたものであり、 $Q_2$ がO、SまたはNを表す。

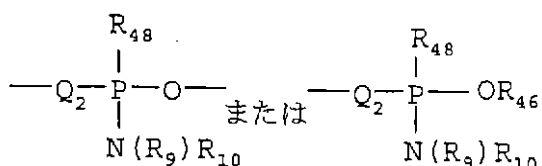
40

【0156】

「ホスホニアミダイト(phosphonamidite)」は、一般化学式：

【0157】

【化34】



【0158】

50

により表すことができ、ここで、 $R_9$ および $R_{10}$ が上述のごとく定義されたものであり、 $Q_2$ がO、SまたはNを表し、 $R_{48}$ は、低級アルキルまたはアリアルを表し、 $Q_2$ がO、SまたはNを表す。

【0159】

「セレノアルキル」は、そこに付着された置換セレノ基を有するアルキル基を称する。アルキル上で置換されていてもよい代表的な「セレノエーテル」は、 $m$ および $R_7$ が上述のごとく定義されたものである、 $-Se-$ アルキル、 $-Se-$ アルケニル、 $-Se-$ アルキニル、および $-Se-(CH_2)_m-R_7$ からなる群より選択される。

【0160】

アルケニル基およびアルキニル基に類似の置換を行って、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。

10

【0161】

「置換」または「により置換された」とは、そのような置換が、置換された原子および置換基の許容された原子価にしたがっており、その置換により、例えば、転位、環化、脱離等によるような変換を自発的に経験しない安定な化合物が得られるという暗黙の条件を含むことが理解されよう。

【0162】

ここで用いられるように、「置換された」という用語は、有機化合物の全ての許容される置換基を含むものと考えられる。広い態様において、前記許容される置換基は、有機化合物の非環式と環式、枝分れと非枝分れ、炭素環式と複素環式、芳香族と非芳香族の置換基を含む。代表的な置換基としては、例えば、上述したような置換基が挙げられる。許容される置換基は、1つ以上であっても、かつ適切な有機化合物について同一または異なっても差し支えない。本発明の目的に関して、窒素のようなヘテロ原子は、水素置換基および/またはヘテロ原子の原子価を満たすここに記載した有機化合物の任意の許容される置換基を有していてもよい。本発明は、有機化合物の許容される置換基によって、いかようにも制限されることを意図するものではない。

20

【0163】

「小さな」置換基は、10原子以下の内の1つである。

30

【0164】

「アミノ酸残基」および「ペプチド残基」という用語により、そのカルボキシル基のOHのないアミノ酸またはペプチド分子を意味する。一般的に、アミノ酸および保護基を称するためにここに用いた省略形は、生化学命名法についてのIUPAC-IUB委員会(国際純正応用化学連合-国際生化学分子生物学連合)の推薦に基づく(Biochemistry (1972) 11:1726-1732を参照のこと)。例えば、Met、Ile、Leu、AlaおよびGlyは、それぞれ、メチオニン、イソロイシン、ロイシン、アラニンおよびグリシンの「残基」を意味する。残基は、カルボキシル基のOH部分および-アミノ基のH部分を除去することにより、対応する-アミノ酸から結いする基を意味する。「アミノ酸側鎖」という用語は、K.D.Kopple, "Peptides and Amino Acids", W.A.Benjaimin Inc., New York and Amsterdam, 1966, pages 2 and 33により定義されているように、 $-CH(NH_2)COOH$ 部分を除いたアミノ酸の部分(側鎖)を称する。一般的なアミノ酸のそのような側鎖の例は、 $-CH_2CH_2SCH_3$ (メチオニンの側鎖)、 $-CH_2(CH_3)-CH_2CH_3$ (イソロイシンの側鎖)、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ (ロイシンの側鎖)または $H-$ (グリシンの側鎖)である。

40

【0165】

ほとんどの部分において、本発明の出願に用いられているアミノ酸は、タンパク質中に見られる天然に生じるアミノ酸、もしくはアミノ基およびカルボキシル基を含有するそのようなアミノ酸の天然に生じる同化または異化生成物である。特に適切なアミノ酸側鎖としては、以下のアミノ酸：グリシン、アラニン、バリン、システイン、ロイシン、イソロ

50

イシニン、セリン、スレオニン、メチオニン、グルタミン酸、アスパラギン酸、グルタミン、アスパラギン、リシン、アルギニン、プロリン、ヒスチジン、フェニルアラニン、チロシン、およびトリプトファン、並びにペプチジルグリカン細菌細胞壁の成分として同定されているアミノ酸およびアミノ酸類似体から選択される側鎖が挙げられる。

【0166】

アミノ酸残基という用語は、さらに、ここに挙げられている任意の特定のアミノ酸の類似体、誘導体および同属種、並びにC末端またはN末端の保護されたアミノ酸誘導体（例えば、N末端またはC末端保護基により修飾されたもの）を含む。例えば、本発明は、環化のためにカルボキシル基、アミノ基または他の反応性前駆体官能基をまだ提供しながら、側鎖が伸長または短縮されたアミノ酸類似体、並びに適切な官能基をもつ様々な側鎖を有するアミノ酸類似体の使用を検討する。例えば、本化合物は、シアノアラニン、カナバニン、ジエンコル酸、ノルロイシン、3-ホスホセリン、ホモセリン、ジヒドロキシフェニルアラニン、5-ヒドロキシトリプトファン、1-メチルヒスチジン、3-メチルヒスチジン、ジアミノピメリン酸、オルニチン、またはジアミノ酪酸のようなアミノ酸類似体を含むことができる。他の天然に生じるアミノ酸代謝物またはここにおいて適切な側鎖を有する前駆体は、当業者により認識され、本発明の範囲に包含される。

10

【0167】

また、前記アミノ酸構造が立体異性体の形態の余地がある場合には、そのようなアミノ酸の(D)および(L)立体異性体も含まれる。ここでのアミノ酸およびアミノ酸残基の形状は、適切な記号(D)、(L)または(DL)により表され、さらにその形状が明示されていない場合には、そのアミノ酸または残基は、形状(D)、(L)または(DL)を有していても差し支えない。本発明の化合物のいくつかの構造は、不斉炭素を含むことに留意されたい。したがって、そのような非対称から生じた異性体が発明の範囲に含まれることも理解すべきである。そのような異性体は、伝統的な分離技術により、かつ立体的に制御された合成により、実質的に純粋な形態で得ることができる。本出願の目的のために、反対のものが明確に言及されていない限りは、指定されたアミノ酸は、(D)および(L)立体異性体の両方を含むものとみなす。

20

【0168】

ここに用いられる「保護基」という語句は、望ましくない化学反応から反応性官能基を保護する置換基を意味する。そのような保護基の例としては、カルボン酸とボロニック酸のエステル、アルコールとアセタールのエーテル、およびアルデヒドとケトンのケタールが挙げられる。例えば、「N末端保護基」または「アミノ保護基」という語句は、ここで用いたように、合成過程中に望ましくない反応に対してアミノ酸またはペプチドのN末端を保護するのに用いることのできる様々なアミノ保護基を称する。適切な基の例としては、ホルミル、ダンシル、アセチル、ベンゾイル、トリフルオロアセチル、スクシニルおよびメトキシスクシニルのようなアシル保護基；ベンジルオキシカルボニル(Cbz)のような芳香族ウレタン保護基；およびt-ブトキシカルボニル(Boc)または9-フルオレニルメトキシカルボニル(Fmoc)のような脂肪族ウレタン保護基が挙げられる。

30

【0169】

上述したように、本発明のある化合物が、特定の幾何学形態または立体異性形態で存在してもよい。本発明は、本発明の範囲に包含されるものとして、シスおよびトランス異性体、RおよびS鏡像体、ジアステレオマー、(D)異性体、(L)異性体、それらのラセミ混合物、並びにそれらの他の混合物を含むそのような化合物の全てを検討する。追加の不斉炭素が、アルキル基のような置換基に存在してもよい。そのような異性体の全て、並びにそれらの混合物は、本発明に含まれることを意図する。

40

【0170】

例えば、本発明の化合物の特定の鏡像体が望ましければ、この鏡像体は、不斉合成により、または得られたジアステレオマー混合物が分離され、補助基(auxiliary group)が開裂されて、純粋な所望の鏡像体が提供される場合には、キラル補助による誘導により調製してもよい。あるいは、その分子が、アミノのような塩基性官能基、またはカルボキシル

50

のような酸性官能基を含む場合には、適切な光学活性酸または塩基によりジアステレオマー塩を形成し、続いて、このように形成されたジアステレオマーの当該技術分野においてよく知られた分別結晶またはクロマトグラフィー手段による分離、およびそれに続く純粋な鏡像体の回収を行う。

#### 【0171】

本発明の目的に関して、化学元素は、the Periodic Table of the Elements, CAS version, Handbook of Chemistry and Physics, 67th Ed., 1986-87, inside coverにしたがって同定される。また、本発明の目的に関して、「炭化水素」という用語は、少なくとも1つの水素および1つの炭素原子を有する全ての許容される化合物を含むものとする。広い態様において、許容される炭化水素は、置換されていても置換されていなくても差し支えない、非環状および環状、枝分れまたは非枝分れ、炭素環および複素環、芳香族および非芳香族有機化合物を含む。

10

#### 【0172】

化合物は、ホルモンインスリンの合成または発現を刺激できる、またはその刺激を生じることのできる場合には、「インスリン刺激活性」を有すると言われる。

#### 【0173】

##### iii. 例としての配合物

##### A. GLP-1効果の作用(agonism)

本発明の方法に有用な阻害因子は、ある実施の形態において、血糖レベルを低下させる能力、肥満を軽減させる能力、欠陥のある糖負荷を緩和させる能力、肝グルコース新生を阻害する能力、血脂質レベルを低下させる能力およびアルドースレダクターゼを阻害する能力を有する。それらの阻害因子は、高血糖症、肥満症、高脂血症、糖尿病合併症(網膜症、腎症、神経障害、白内障、冠状動脈疾患および動脈硬化を含む)並びに肥満関連の高血圧および骨粗鬆症の予防および/または治療に有用である。

20

#### 【0174】

真性糖尿病は、インスリン分泌の相対的または絶対的減少、減少したインスリン感受性またはインスリン抵抗性から生じる高血糖症により特徴付けられる病気である。この病気の罹患率および死亡率は、血管合併症、腎合併症、および神経系合併症に起因する。経口糖負荷試験は、糖尿病を診断するのに用いられる臨床試験である。経口糖負荷試験において、糖負荷または誘発に対する患者の生理的応答が評価される。糖の摂取後、糖誘発に対する患者の生理的応答が評価される。一般的に、これは、いくつかの所定の時点で患者の血糖レベル(患者の血漿、血清または全血中のグルコースの濃度)を測定することにより行われる。

30

#### 【0175】

添付した実施例に記載したように、インビポで、DPIVの高親和性阻害因子が、グルコース代謝の調節に関して生物学的に活性であることを示す。例えば、阻害因子Pro-boro-Pro(構造については実施例を参照のこと)の1回の注射だけで、グルコース調節を改善するのに十分であった。阻害因子Pro-boro-Proの1回の注射は、GLP-1の補助治療的投与量に対する応答を増大させることも観察された。Pro-boro-Proによる長期に亘る(5日より長い)治療によって、空腹時血糖、および経口糖誘発に対する血糖可動域の両方が低下することも観察された。

40

#### 【0176】

上述したように、本発明の方法に有用な阻害因子は、標的タンパク質分解活性のペプチドまたはペプチド類似体由来阻害因子であっても、または、例えば、ここに記載した薬物スクリーニングアッセイにより同定される非ペプチド化合物であっても差し支えない。DPIV阻害因子に関して、本発明の方法の重要な特徴は、あるDPIV阻害因子が、免疫抑制剤として、前記化合物のEC50よりも著しく低い濃度で抗糖尿病活性を有するという予期せぬ発見である。したがって、動物に、抗糖尿病効果のためのEC50でまたはその辺りで阻害因子の血清濃度を提供し、それでも、免疫抑制活性により生じる合併症を避けるようにこの活性に関するEC50よりも十分に低いように設計された処方元で投与

50

することができる。実際に、本阻害因子のあるものに関して、その投与量は、少なくとも抗糖尿病 EC 50 の大きさまたはそれよりも多いが、まだ任意の著しい免疫抑制を生じる投与量よりも十分に低いままであることができると予測される。

【0177】

以下さらに論じるように、DPIV等の潜在的な阻害因子を同定し、並びにそのような阻害因子の様々な生物学的活性(副作用および毒性を含む)を評価するための様々なアッセイが当該技術分野において利用できる。

【0178】

B. 他のペプチドホルモンの作用

別の実施の形態において、本試薬を用いて、他のポリペプチドホルモンの活性を作動(例えば、擬態するまたは増強する)させることができる。

【0179】

例証すると、本発明はGLP-2の作用を増強する方法を提供する。GLP-2は刺激薬として機能して、胃腸組織の増殖を促進させることが決定された。GLP-2の作用は、特に、小腸の増大した増殖により特徴付けられ、したがって、ここでは、「腸刺激」作用と称される。

【0180】

さらに他の実施の形態において、本発明の方法は、グリセンチン(glicetin)、オキシントモジュリン(oxyntomodulin)、グリセンチン関連膵臓ポリペプチド(GRPP)、および/または介在ペプチド-2(IP-2)のような他のプログルカゴン由来ペプチドの半減期を増大させるのに使用することができる。例えば、グリセンチンは、腸粘膜を増殖させ、腸の蠕動を阻害することが示され、したがって消化管の病気にとって治療薬として有用であることが明示され、このように、本発明に導かれた。

【0181】

したがって、ある態様において、本発明は、消化管組織、特に小腸組織の成長および増殖を促進させるための、DPIV阻害因子の治療用途並びに関連用途に関する。例えば、本発明の方法は、例えば、腸粘膜上皮の向上した増殖および修復が望ましい場合、腸組織の損傷、炎症または切除を治療する養生法の一部として使用することができる。

【0182】

小腸組織に関して、そのような増殖は、治療していない対照に対しての、小腸の質量および長さにおける増大として都合よく測定することができる。本阻害因子の小腸への効果は、陰かに絨毛を足した軸の高さの増大として表される。そのような活性は、ここでは「腸刺激」活性として称される。本発明の方法の効率、陰か細胞の増殖の増大および/または小腸上皮細胞自滅の減少として検出できるであろう。これらの細胞効果は、遠位空腸および特に近位空腸を含む空腸に関して、また遠位回腸において最も著しく示されるであろう。ある化合物は、ある試験用動物が、その化合物により治療された(またはその化合物をそれ自体で発現するように遺伝子操作された)ときに、著しく増加した小腸の重量、陰かに絨毛を足した軸の増大した高さ、または増大した陰か細胞の増殖もしくは減少した小腸上皮細胞自滅を示す場合に、「腸刺激作用」を有すると考えられる。そのような消化管増殖を測定するために適したモデルが、米国特許第5,834,428号に記載されている。

【0183】

一般的に、増大した小腸質量およびその結果増大した小腸粘膜機能から恩恵を受ける患者は、本発明の方法による治療の候補者である。治療されるであろう特定の状態としては、小麦からなる - グリアジンに対する中毒性反応から生じ、腸の絨毛(villae)の多大な損失により特徴付けられる腹腔スプルー; 感染から生じ、絨毛が部分的に平らになることにより特徴付けられる熱帯性スプルー; よくおこる分類不能型免疫不全または低ガンマグロブリン血症の患者に一般的に観察され、絨毛の高さの著しい減少により特徴付けられる低ガンマグロブリン血症スプルーを含むスプルーの様々な形態が挙げられる。この治療の治療効力は、絨毛形態学を調査する腸の生体組織検査により、栄養素の吸収の生化学評価により、患者の体重の増加により、またはこれらの状態に関連する症状の改善によりモ

10

20

30

40

50

ニタしてもよい。本発明の方法により治療されるであろう他の状態、または本発明の方法が予防的に有用であろう他の状態としては、放射線腸炎、感染性または感染後腸炎、限局性腸炎（クローン病）、中毒性または他の化学療法剤による小腸の損傷、および短腸症状の患者が挙げられる。

【0184】

より一般的に、本発明は、消化管疾患を治療する治療法を提供する。ここで用いられる「消化管」という用語は、胃および腸を含む、食物がその中を通過する管を意味する。ここで用いられる「消化管疾患」という用語は、消化管粘膜内の定性的または定量的異常を伴う疾患であって、例えば、潰瘍性または炎症性疾患；吸収不良の症状を含む先天性または後天性の消化および吸収障害；消化管の粘膜バリア機能の損失により生じる疾患；およびタンパク喪失性胃腸疾患を含む疾患を意味する。潰瘍性疾患の例としては、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、小腸潰瘍、結腸潰瘍および直腸潰瘍が挙げられる。炎症性疾患の例としては、食道炎、胃炎、十二指腸炎、腸炎、結腸炎、クローン病、直腸炎、胃腸ペーチェット病、放射線腸炎、放射線結腸炎、放射線直腸炎、腸炎および薬物起因のもの(medicamentosa)が挙げられる。吸収不良症状としては、二糖類分解酵素欠乏症、グルコース - ガラクトース吸収不良、フルクトース(fructose)吸収不良のような本質的な吸収不良症状；二次消化不良症状、例えば、静脈すなわち非経口栄養素または基本的食事による消化管内の粘膜萎縮により生じる障害、短消化管症状のような小腸の切除および短絡により生じる疾患、盲管症状；並びに胃の切除により生じる疾患のような消化吸収不良、例えば、ダンピング症候群；が挙げられる。

10

20

【0185】

ここで用いられる「消化管疾患治療薬」という用語は、消化管疾患予防および治療のための治療薬であって、例えば、消化管腫瘍の治療薬、炎症性消化管疾患の治療薬、消化管内の粘膜萎縮の治療薬、消化管創傷の治療薬、粘膜バリア機能を回復させるための回復薬を含む消化管の機能のための回復薬および消化吸収機能のための回復薬を含む治療薬を意味する。腫瘍としては、消化腫瘍および侵食、急性腫瘍、すなわち、急性粘膜損傷が挙げられる。

【0186】

本発明の方法は、腸粘膜の増殖が促進されるために、消化および吸収の不全の病的状態の治療および予防、すなわち、粘膜萎縮の治療および予防、または消化管組織の形成不全および外科的除去によるこれらの組織の減少の治療並びに消化および吸収の改善に使用することができる。さらに、本発明の方法は、腸炎、クローン病、および潰瘍性結腸炎のような炎症性疾患による病的粘膜状態の治療、および例えば、ダンピング症候群における、手術後の消化管の機能の減少の治療並びに胃の蠕動の阻害および胃から空腸までの食物の急激な移動に関連する十二指腸潰瘍の治療に使用することができる。さらに、グリセンチンを、外科的侵入の治療の促進並びに消化管の機能の改善に効果的に使用することができる。したがって、本発明は、活性成分としてグリセンチンを含む、消化管粘膜の萎縮のための治療薬、消化管内の損傷のための治療薬および消化管の機能を改善するための薬物を提供する。

30

【0187】

同様に、本発明のDPIV阻害因子は、セクレチン、VIP、PHI、PACAP、GIPおよび/またはヘロデルミンの血漿半減期を変更するのに用いることができる。さらに、本発明の方法は、両者とも膵ポリペプチド系統群の一員である、ペプチドYYおよび神経ペプチドYの薬物速度論を変更するのに使用することができる。なぜならば、DPIVが、受容体の選択性を変更する様式でそれらのペプチドのプロセッシングに関係するからである。

40

【0188】

神経ペプチドY(NPY)は、血管平滑筋の正常状態の調節、並びに血圧の調節に機能すると考えられている。NPYはまた、心収縮性を減少させる。NPYはまた、既知の最も強力な食欲刺激薬でもある(Wilding等,(1992) J Endocrinology 132:299-302)。中

50

枢で引き起こされる食物摂取（食欲刺激）作用は、N P Y Y 1 受容体により主に媒介され、体脂肪の貯蔵の増大および肥満を生じる（Stanley 等, (1989) Physiology and Behavior 46:173-177）。

【0189】

本発明によれば、拒食症を治療する方法は、宿主の被験者に、食欲を刺激し、それによって拒食症の症候群を実質的に緩和させる体脂肪の貯蔵を増大させるのに効果的な量の D P I V 阻害因子を投与する工程を含む。

【0190】

D P I V は、成長ホルモン放出因子（G H R F）の代謝および不活化に関係してきた。G H R F は、グルカゴン、セクレチン、血管作用性小腸ペプチド（V I P）、ペプチドヒスチジンイソロイシン（P H I）、下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド（P A C A P）、消化管抑制ペプチド（G I P）およびヘロデルミンを含む同種ペプチドの系統群の一員である。Kubiak 等 (1994) Peptide Res 7:153。G H R F は、視床下部により分泌され、下垂体前葉からの成長ホルモン（G H）の放出を刺激する。したがって、本発明の方法は、ある成長ホルモン欠乏児童の臨床治療の改善、および栄養作用を改善するため、および体組成（筋肉対脂肪）を変更する成人の臨床治療に使用することができる。本発明の方法はまた、家畜の用途に、例えば、牛乳の生産収率を高くし、より身の締まった家畜の収率を高くするために使用することができる。

【0191】

C. ペプチジル D P I V 阻害因子の例

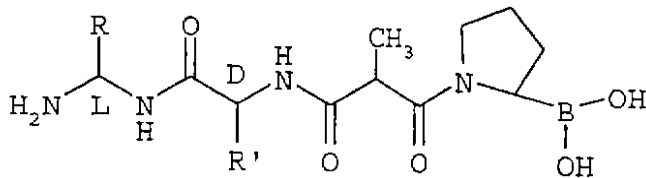
D P I V 阻害因子の場合、阻害因子の好ましい系統群は、ジペプチド P r o - P r o または A l a - P r o に基づくペプチジル化合物である。ペプチジル阻害因子の別の好ましい系統群は、ジペプチド（D）- A l a - （L）- A l a に基づく化合物である。多くの実施の形態において、例えば、生物学的利用率を増大させるためおよび/または等価なペプチドに対する血清半減期を増大させるために、ペプチド擬態物としてペプチジル部分を提供することが望ましい。例えば、様々なペプチド主鎖類似体が、当該技術分野において入手でき、本発明の方法に使用するために容易に適合できる。

【0192】

ある実施の形態において、そのペプチド擬態物は、ペプチドのレトロ - インバーソ (retro-inverso) 類似体として誘導することができる。例証するために、本ペプチドのあるものを、レトロ - インバーソ類似体（非保護状態で示されている）として生成しても差し支えない：

【0193】

【化35】



【0194】

そのようなレトロ - インバーソ類似体は、Sisto 等の米国特許第4,522,752号に記載されている方法のような、当該技術分野において知られている方法に従って生成することができる。例えば、例示されたレトロ - インバーソ類似体は以下のように生成することができる。N 末端アミノ酸類似体に対応する 1 対のジアミンが、Radhakrishna 等 (1979) J. Org. Chem. 44:1746 に記載されたように、アミドを生成する H O B T - D C C 結合条件下で N - B o c 保護アミノ酸（側鎖 R を有する）をアンモニアで処理し、I, I - ビス - （トリフルオロアセトキシ）ヨードベンゼン（T I B）によりホフマン型再配列を行うことにより合成される。次いで、生成物のアミン塩を、偽性ジペプチドを生成する標準条件下で第 2 アミノ酸残基（例えば、側鎖 R' を有する）の側鎖保護された（例えば、ベンジルエステルとして）N - F m o c D - 鏡像体に結合させた。F m o c（フルオレニルメトキ

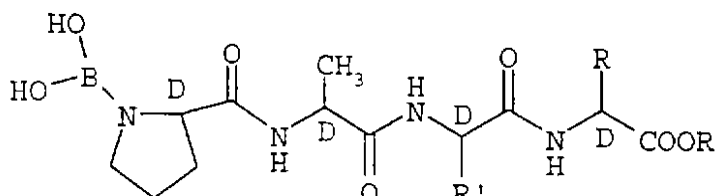
シカルボニル)基がジメチルホルムアミド中のピペリジンにより除去され、得られたアミンを、Pinori 等への米国特許第5,061,811号に記載されたように、メルドラム(Meldrum's)酸の適切にアルキル化され、側鎖保護された誘導体との縮合の前に、ビストリメチルシリルアセトアミド(BAS)によりトリメチルシリル化して、レトロ-インバーソトリペプチド類似体を生成する。次いで、偽性トリペプチドを、保護テトラペプチド類似体を与える標準条件下で(保護)ボロ-プロリンと結合させる。これらの保護基が除去されて、HPLCにより精製される最終生成物を放出する。

【0195】

別の実施の形態において、ペプチド擬態物は、ペプチドのレトロ-エナンチオ(enantio)類似体として誘導することができる。

【0196】

【化36】



【0197】

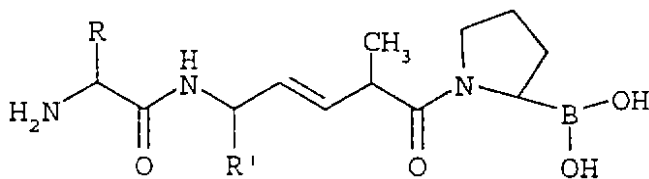
このようなレトロ-エナンチオ類似体は、市販のD-アミノ酸または他のアミノ酸類似体のD-鏡像体および標準的な固相または液相ペプチド合成技術を使用して合成することができる。

【0198】

さらに別の実施の形態において、トランスオレフィン誘導体を、本ボロノフェニルアラニン(boronophenylalanine)類似体により生成できる。例えば、オレフィン類似体の例として以下のものが挙げられる：

【0199】

【化37】



【0200】

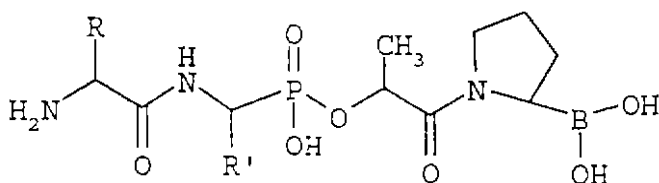
このトランスオレフィン類似体は、Y.K.Shue 等 (1987) Tetrahedron Letters 28:3225の方法にしたがって合成できる。

【0201】

ペプチド擬態ボロノフェニルアラニン誘導体のさらに別の系統群としては、

【0202】

【化38】



【0203】

のようなホスホネート誘導体が挙げられる。そのようなホスホネート誘導体の合成は既知の合成方法から適合できる。例えば、Loots 等 in Peptides: Chemistry and Biology, (Escom Science Publishers, Leiden, 1988, p.118); Petriool 等 in Peptides: Structu

10

20

30

40

50

re and Function (Proceeding of the 9th American Peptide Symposium, Pierce Chemical Co. Rockland, IL, 1985)を参照のこと。

【0204】

D. 非ペプチジルDPIV阻害因子

製薬産業では、酵素に対する阻害活性に基づく潜在的な最も重要な化合物として年に数百万の化合物を評価するための、様々な異なる戦略が開発されてきた。本発明の方法により標的とされたDPIVおよび他のタンパク質分解酵素は、適切な阻害因子に関する多数の列の化合物および天然抽出物をサンプリングするために必要とされる高処理量のスクリーニングの種類に基づいて分析できる。

【0205】

ある実施例として、試験試薬のDPIVを阻害する能力は、Ala-Pro-パラニトロアニリドのような比色または蛍光基質を用いて評価することができる。米国特許第5,462,928号を参照のこと。さらに、DPIVは、精製することができ、したがって、マルチウェルプレートのような高処理量形式に使用しやすい。

【0206】

手短に言えば、DPIVは、ブタの腎臓皮質(Barth等(1974)Acta Biol Med Germ 32:157; Wolf等(1972)Acta Bio Mes Germ 37:409)またはヒト胎盤(Puschel等(1982)Eur J Biochem 126:359)から精製される。例としての反応混合物は、全容積で1.0mLの、50μMのナトリウムHepes(pH7.8)、10μMのAla-Pro-パラニトロアニリド、6ミリ単位のDPIV、および2%(v/v)のジメチルホルムアミドを含む。反応は酵素の添加により開始され、試験化合物が存在する場合としない場合での反応生成物(パラニトロアニリド)の形成を、例えば、410nmで測光により検出することができる。

【0207】

DPIV(または他の適切な酵素)に対する活性に関してスクリーニングできる化合物の例としては、ペプチド、核酸、炭水化物、小有機分子、および動物、植物、菌類および/または微生物から単離されたような、天然生成物の抽出ライブラリーが挙げられる。

【0208】

E. インスリン刺激活性のアッセイ

本発明の方法に使用するのに適切な化合物を選択する際に、ある化合物のインスリン刺激特性は、その化合物を動物細胞に与え、またはその化合物を動物に注射し、それぞれ、培地または動物の循環系中への免疫反応性インスリン(IRI)の放出をモニタすることにより決定してもよい。IRIの存在は、インスリンを特異的に検出できる放射免疫測定により検出できる。

【0209】

db/dbマウスは、遺伝的に肥満で糖尿病のマウスの株である。db/dbマウスは、肥満の発症と同時に、高血糖症および高インスリン血症を引き起こし、したがって、肥満2型糖尿病(NIDDM)のモデルとなる。db/dbマウスは、例えば、ジャクソンラボラトリーズ(メイン州、バーハーバー)から購入できる。ある実施の形態において、DPIV阻害因子または対照を含む摂生によるマウスの治療のために、各々の動物に投与前および後のある時間(例えば、60分後)に眼窩下洞血液試料を採取する。血糖測定は、グルコース測定器を使用するような、いくつかの従来技術の内のいずれを用いても差し支えない。対照およびDPIVを投与した動物の血糖レベルを比較する。

【0210】

外因性GLP-1の代謝結末を、非糖尿病被験者および2型糖尿病被験者の両方において追跡することができ、候補となるDPIV阻害因子の効果を決定できる。例えば、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、特異的放射免疫測定(RIA)、および酵素結合免疫吸着検定法(ELISA)の組合せを用いることができ、それによって、無傷な生物学的に活性なGLP-1およびその代謝産物を検出することができる。例えば、Deason等(1995)Diabetes 44:1126-1131を参照のこと。例証するために、GLP-1の投与後

10

20

30

40

50

、NH<sub>2</sub>-末端定方向RIAまたはELISAを用いて無傷のペプチドを測定することができ、一方で、これらのアッセイおよびCOOH-末端特異的RIAの間の濃度の差により、NH<sub>2</sub>-末端切形代謝産物を測定することができる。阻害因子のない場合には、皮下GLP-1は時間依存様式で急激に分解され、HPLC上でGLP-I(9-36)アミドと共に溶出し、同一の免疫反応性分布を有する代謝産物を形成する。例えば、糖尿病患者(n=8)への皮下GLP-1の投与から30分後に、代謝産物は、COOH-末端RIAにより決定された血漿免疫反応性における88.5+1.9%の増加を示し、これは、健康な被験者において測定されたレベル(78.4+3.2%; n=8; P<0.05)よりも高かった。前出のDeacon等を参照のこと。静脈注入したGLP-1もまた大きく分解された。

#### 【0211】

##### F. 薬剤配合物

前記阻害因子は、当該技術分野においてよく知られているように、治療すべき病気、患者の年齢、体調および体重に応じて、様々な形態で投与することができる。例えば、前記化合物を経口投与すべき場合には、それらは、タブレット、カプセル、顆粒、粉末またはシロップとして配合してもよく、または、非経口投与の場合には、注射(静脈、筋肉内または皮下)、滴下注入調製物または座薬として配合してもよい。目の粘膜経路による施用のためには、それら化合物は、点眼剤または眼軟膏として配合してもよい。これらの配合物は従来の手段により調製することができ、所望であれば、この活性成分は、賦形剤、結合剤、崩壊剤、潤滑剤、矯正剤、可溶化剤、懸濁助剤、乳化剤または被覆剤のような任意の従来の添加剤と混合してもよい。供与量は、患者の症状、年齢および体重、治療すべきまたは予防すべき病気の性質および厳しさ、薬物の投与経路および形態に依存して異なるが、一般的に、成人の患者には、1日で0.01から2000mgの化合物の供与量が推奨され、これは、1回の供与量でも、分割された供与量で投与してもよい。

#### 【0212】

治療(供与量および/または時間の間隔)の効力を評価するために、グルコース代謝および/または2型糖尿病に関する1つ以上の適切な指標:例えば、糖負荷、糖レベル、インスリンレベル、インスリン感度、グリコシル化ヘモグロビンを使用できるDPIV阻害因子の「間隔のおかれた」投与にしたがって、グルコース代謝を変更し、2型糖尿病に関連する症状を減少または除去することができる。

#### 【0213】

DPIV阻害因子を投与する効果的な時間を同定する必要がある。これは、1つ以上の動物の群(好ましくは、各群に少なくとも5匹の動物)を用いて、以下に記載するような日常的な実験により行うことができる。

#### 【0214】

動物において、DPIV阻害因子治療によるインスリン刺激活性は、1日の特定の時間にこの阻害因子を投与し、グルコース代謝に関連する1つ以上の指標を測定し、これらの指標の治療後の値を同一の指標の治療前の値と比較することによりその投与の効果(もしあれば)を測定することによって、評価することができる。

#### 【0215】

所定の患者における治療の効力に関して最も効果的な結果を生じるDPIV阻害因子の投与の正確な時間および/または量は、特定の化合物の活性、薬物速度論、および生物学的利用率、患者の生理的状态(年齢、性別、病気の種類および段階、一般的な物理的体調、薬物の所定の供与量および種類に対する応答性を含む)、投与の経路等に依存する。しかしながら、上述した指針は、被験者をモニタし、供与量および/または時間の間隔を調節する各工程からなる日常的な実験方法だけしか必要としない、治療の微調整、例えば、投与の最適時間および/または量の決定のための基準として使用することができる。

#### 【0216】

被験者が治療されている間に、24時間の期間に亘り所定の時間で1つ以上の適切な指標を測定することにより、グルコース代謝をモニタする。治療(薬物の量、投与の時間および種類)は、そのようなモニタリングの結果にしたがって調節(最適化)されるであろう

10

20

30

40

50

。患者は、同一のパラメータを測定することにより、改善の程度を決定するために周期的に再評価される。そのような再評価の1回目は、治療を開始してから4週間が経過した後に典型的に行われ、その後の再評価は、治療中に4から8週間毎と、その後の3ヶ月毎に行われる。治療は、数ヶ月から数年に亘り行われるかもしれないが、ヒトに関しては、6ヶ月が典型的な治療期間である。

【0217】

投与される薬物の量そしておそらく投与の時間に対する調節は、これらの再評価に基づいて行ってもよい。例えば、治療を始めてから4週間後に、代謝指標の内の1つが改善されなかったが、少なくとも1つの他の指標が改善された場合には、投与の時間を変更せずに、供与量を1/3だけ増加させても差し支えない。

10

【0218】

治療は、前記化合物の最適供与量未満の少ない供与量で開始しても差し支えない。その後、供与量は、その環境下での最適の効果に到達するまで、少しずつ増加させるべきである。便宜上、1日の全供与量は、所望であれば、分割し、その日のうちに分けて投与してもよい。

【0219】

ここで用いられる「治療的に効果的な量」という語句は、例えば、任意の医療に適用できるほどよい利益/リスク比でペプチドホルモンのタンパク質分解を阻害することによりある程度の所望の治療効果を上げるのに効果的な、例えば、DPIV阻害因子の量を意味する。

20

【0220】

「薬剂的に許容される」という語句は、健全な医療判断の範囲内で、ほどよい利益/リスク比と釣り合っており、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、もしくは他の問題または合併症なく、ヒトおよび動物の組織と接触する使用に適したそれらDPIV阻害因子、材料、組成物、および/または供与形態を称するためにここに用いられる。

【0221】

ここに用いられる「薬剂的に許容されるキャリア」という語句は、ある器官、または体の部分から、別の器官、または体の部分へ本化学物質を運ぶすなわち運搬するのに携わる、液体または固体の充填剤、希釈剤、賦形剤、溶剤または被包剤のような、薬剂的に許容される材料、組成物またはビヒクルを意味する。各々のキャリアは、配合物の他の成分と適合性のある、患者に対して害を与えないという意味で「許容され」なければならない。薬剂的に許容されるキャリアとして機能できる材料の例としては、(1)ラクトース、グルコースおよびスクロースのような糖質；(2)トウモロコシデンプンおよびジャガイモデンプンのようなデンプン；(3)ナトリウムカルボキシメチルセルロース、エチルセルロースおよび酢酸セルロースのようなセルロースおよびその誘導体；(4)粉末トラガカント；(5)麦芽；(6)ゼラチン；(7)タルク；(8)ココアバターおよび座薬ワックスのような賦形剤；(9)落花生油、綿実油、紅花油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油および大豆油のような油；(10)プロピレングリコールのようなグリコール；(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のようなポリオール；(12)オレイン酸エチルおよびラウリン酸エチルのようなエステル；(13)寒天；(14)水酸化マグネシウムおよび水酸化アルミニウムのような緩衝剤；(15)アルギン酸；(16)発熱物質を含まない水；(17)等張生理食塩水；(18)リンガー液；(19)エチルアルコール；(20)リン酸緩衝液；および(21)製剤配合物に用いられる他の非毒性の適合性物質が挙げられる。

30

40

【0222】

「薬剂的に許容される塩」という用語は、DPIV阻害因子の比較的非毒性の無機および有機酸添加塩を称する。これらの塩は、DPIV阻害因子の最終的な単離および精製中にその場で調製しても、または遊離塩基形態にある精製されたDPIV阻害因子を適切な有機または無機の酸と別々に反応させ、そのようにして形成された塩を単離することにより調製しても差し支えない。代表的な塩としては、臭酸塩、塩酸塩、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

50

、ラウリン酸塩、安息香酸塩、乳酸塩、リン酸塩、p - トルエンスルホン酸塩、クエン酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、スクシン酸塩、酒石酸塩、ナフチレート(naphthylate)、メシレート(mesylate)、グルコヘプトネート(glucoheptonate)、ラクトビオン酸塩、およびラウリルスルホネート等が挙げられる(例えば、Berge等(1977)"Pharmaceutical Salts", J.Pharm.Sci 66:1-19を参照のこと)。

#### 【0223】

他の場合において、本発明の方法において有用なDPIV阻害因子は、1つ以上の酸性官能基を含んでもよく、したがって、薬剂的に許容される塩基と薬剂的に許容される塩を形成することができる。これらの例における「薬剂的に許容される塩」という用語は、DPIV阻害因子の比較的非毒性の無機および有機塩基添加塩を称する。これらの塩は同様に、DPIV阻害因子の最終的な単離および精製中にその場で調製しても、または遊離酸形態にある精製されたDPIV阻害因子を、薬剂的に許容される金属陽イオンの水酸化物、炭酸塩または重炭酸塩のような適切な塩基と、アンモニアと、または薬剂的に許容される有機の第1、第2または第3アミンと別々に反応させることにより調製してもよい。代表的なアルカリ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、およびアンモニウムの塩等が挙げられる。塩基添加塩の形成に有用な代表的な有機アミンとしては、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、ピペラジン等が挙げられる(例えば、前出のBerge等を参照のこと)。

10

#### 【0224】

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のような湿潤剤、乳化剤および潤滑剤、並びに着色剤、剥離剤、被覆剤、甘味料、着色剤、芳香剤、防腐剤および酸化防止剤が、前記組成物中に存在していても差し支えない。

20

#### 【0225】

薬剂的に許容される酸化防止剤の例としては、(1)アスコルビン酸、塩酸システイン、重硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム等のような水溶性酸化防止剤；(2)パルミチン酸アスコルビル、ブチル化ヒドロキシアニソール(BHA)、ブチル化ヒドロキシトルエン(BHT)、レシチン、没食子酸プロピル、 $\alpha$ -トコフェロール等のような油溶性酸化防止剤；および(3)クエン酸、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、ソルビトール、酒石酸、リン酸等のような金属キレート化剤が挙げられる。

30

#### 【0226】

本発明の方法に有用な配合物としては、経口、鼻、局所(頬および舌下を含む)、直腸、膣、エアロゾルおよび/または非経口投与に適したものが挙げられる。それらの配合物は、単位供与量で都合よく提示されても、薬学の分野でよく知られた任意の方法により調製されてもよい。1回の供与量形態を製造するためにキャリア材料と組み合わせられる活性成分の量は、治療される宿主、特定の投与の様式に応じて異なる。1回の供与量形態を製造するためにキャリア材料と組み合わせられる活性成分の量は、一般的に、治療効果を生じる化合物の量である。一般的に、100パーセントのうち、この量は、活性成分の約1パーセントから約99パーセントまで、好ましくは、約5パーセントから約70パーセントまで、最も好ましくは、約10パーセントから約30パーセントまでに亘る。

40

#### 【0227】

これらの配合物または組成物を調製する方法は、DPIV阻害因子をキャリアおよび必要に応じての1つ以上の補助成分と関連付ける工程を含む。一般に、これら配合物は、DPIV阻害因子を、液体キャリア、または微粉碎された固体キャリアと、もしくはそれら両方と緊密に関連付け、次いで、必要であれば、製品を成形することにより調製される。

#### 【0228】

経口投与に適した配合物は、カプセル、カシェ剤、ピル、タブレット、トローチ剤(味の付けられた主成分、通常は、スクロースおよびアカシアまたはトラガカントを用いた)、粉末、顆粒剤の形態であってもよく、もしくは溶液として、または水溶液または非水溶液中の懸濁液、または水中油型または油中水型乳剤として、またはエリキシルまたはシロ

50

ップとして、もしくは香錠（ゼラチンおよびグリセリン、またはスクロースおよびアカシアのような不活性主薬を用いた）として、および/またはうがい薬等としてのものであってもよく、各々は活性成分として所定の量のDPIV阻害因子を含有する。化合物は、巨丸剤、舐剤またはペーストとして投与してもよい。

#### 【0229】

経口投与のための固体供与形態（カプセル、タブレット、ピル、糖衣錠、粉末、顆粒剤等）において、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のような1つ以上の薬剤的に許容されるキャリア、および/または以下のもののいずれのものと混合される：(1)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/またはケイ酸のような充填剤または増量剤；(2)例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギネート、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロースおよび/またはアカシアのような結合剤；(3)グリセロールのような湿潤薬；(4)寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモまたはタピオカデンプン、アルギン酸、あるケイ酸塩、および炭酸ナトリウムのような崩壊剤；(5)パラフィンのような溶解遅延剤；(6)第四アンモニア化合物のような吸収促進剤；(7)例えば、アセチルアルコールおよびモノステアリン酸グリセロールのような湿潤剤；(8)カオリンおよびベントナイト粘土のような吸収剤；(9)タルク、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のような潤滑剤；並びに(10)着色剤。カプセル、タブレットおよびピルの場合には、薬剤組成物は、緩衝剤を含んでもよい。類似の種類の実体組成物は、ラクトースすなわち乳糖のような賦形剤、並びに高分子量ポリエチレングリコール等を用いることにより、軟質および硬質充填ゼラチンカプセル中の充填剤として用いてもよい。

10

20

#### 【0230】

タブレットは、必要に応じて、1つ以上の補助成分とともに、圧縮または成形により製造してもよい。圧縮タブレットは、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、デンプングリコール酸ナトリウムまたは架橋ナトリウムカルボキシメチルセルロース）、界面活性剤または分散剤を用いて調製してもよい。成形タブレットは、適切な機械中で、不活性液体希釈剤により湿らされた粉末ペプチドまたはペプチド擬態物の混合物を形成することにより製造してもよい。

30

#### 【0231】

タブレット、および糖衣錠、カプセル、ピルおよび顆粒剤のような他の固体供与形態は、必要に応じて、刻み目をつけたり、または腸被覆および薬剤配合分野においてよく知られている他の被覆のような被覆および殻を有するように調製してもよい。それらは、例えば、所望の放出分布を提供するために異なる比率のヒドロキシプロピルメチルセルロース、他の高分子マトリクス、リポソームおよび/またはマイクロスフェアを用いて、その中の活性成分の放出を遅くしたり、調節するように配合してもよい。それら化合物は、例えば、細菌保持フィルタを通す濾過により、または滅菌水中に溶解できる滅菌実体組成物の形態にある滅菌剤、または使用の直前に注射可能なある他の滅菌媒質を含むことにより滅菌してもよい。これらの組成物は、必要に応じて、乳白剤を含んでもよく、必要に応じて、遅延様式で、胃腸間のある部分においてのみ、またはそこで優先的に、活性成分を放出するような組成物であってもよい。使用できる埋込み組成物の例としては、高分子物質およびワックスが挙げられる。活性成分は、適していれば、上述した賦形剤により、微小被包形態にあっても差し支えない。

40

#### 【0232】

経口投与のための液体供与形態としては、薬剤的に許容される乳濁液、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が挙げられる。活性成分以外に、この液体供与形態は、例えば、水または他の溶剤のような当該技術分野において通常用いられる不活性希釈剤、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリ

50

コール、油（特に、綿実油、アメリカホドイモ油、トウモロコシ油、胚油、オリーブ油、ヒマシ油およびゴマ油）、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、並びにそれらの混合物のような可溶化剤および乳化剤を含んでもよい。

【0233】

不活性希釈剤以外に、前記経口組成物は、湿潤剤、乳化および懸濁剤、甘味料、香味料、着色剤、香料および防腐剤のような補助剤を含んでもよい。

【0234】

懸濁液は、活性DPIV阻害因子に加えて、例えば、エトキシ化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、メタ水酸化アルミニウム、ベントナイト、寒天およびトラガカント、並びにそれらの混合物のような懸濁剤を含んでもよい。

10

【0235】

直腸投与または膣投与のための配合物は座薬として提供してもよく、これは、1つ以上のDPIV阻害因子を、例えば、ココアバター、ポリエチレングリコール、座薬ワックスまたはサリチレートを含む1つ以上の適切な非刺激性賦形剤またはキャリアと混合することにより調製してもよく、室温で固体であるが、体温では液体であり、したがって、直腸腔または膣腔中で溶融し、活性剤を放出する。

【0236】

膣投与に適した配合物は、適切であると当該技術分野において知られているようなキャリアを含有する、ペッサリー、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、フォームまたはスプレー配合物も含む。

20

【0237】

DPIV阻害因子の局所的または経皮的な投与のための供与形態としては、粉末、スプレー、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、溶液、パッチおよび吸入薬が挙げられる。活性成分は、無菌条件下で、薬剤的に許容されるキャリア、および必要とされるかもしれない任意の防腐剤、緩衝剤、または噴射剤と混合してもよい。

【0238】

軟膏、ペースト、クリームおよびゲルは、DPIV阻害因子に加えて、動物性および植物性脂質、油、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、シリコーン、ベントナイト、ケイ酸、タルクおよび酸化亜鉛、またはそれらの混合物のような賦形剤を含有してもよい。

30

【0239】

粉末およびスプレーは、DPIV阻害因子に加えて、ラクトース、タルク、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ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のような賦形剤を含有しても差し支えない。スプレーはさらに、クロロフルオロ炭化水素並びにブタンおよびプロパンのような揮発性非置換炭化水素等の慣習的な噴射剤を含んでも差し支えない。

【0240】

あるいは、DPIV阻害因子はエアロゾルにより投与しても差し支えない。これは、前記化合物を含有する水性エアロゾル、リポソーム調製物または固体粒子を調製することにより行われる。非水性（例えば、フルオロカーボン噴射剤）懸濁液を用いても差し支えない。音波ネブライザが、前記化合物を分解し得る、前記薬剤を剪断にさらすのを最小にするために好ましい。

40

【0241】

通常は、水性エアロゾルは、従来の薬剤的に許容されるキャリアおよび安定剤と共に前記薬剤の水溶液または懸濁液を配合することにより調製される。このキャリアおよび安定剤は、特定の化合物の必要条件により異なるが、典型的には、非イオン性界面活性剤（ツイーン、プルロニック、またはポリエチレングリコール）、血清アルブミンのような無害なタンパク質、ソルビタンエステル、オレイン酸、レシチン、グリシンのようなアミノ酸

50

、緩衝液、塩、糖質または糖アルコールを含む。エアロゾルは一般的に、アイソトニック溶液から調製される。

【0242】

経皮パッチには、DPIV阻害因子を体に調節しながら供給するという追加の利点がある。そのような供与形態は、前記薬剤を適切な媒質中に溶解または分散させることにより調製することができる。吸収増強剤を用いて、皮膚を横切るペプチド擬態物の流れを増大させても差し支えない。そのような流れの速度は、速度調節膜を提供するか、もしくは高分子マトリクスまたはゲル中にペプチド擬態物を分散させることのいずれかにより調節することができる。

【0243】

眼用配合物、眼用軟膏、粉末、溶液等もまた、本発明の範囲内にあると考えられる。

【0244】

非経口投与に適した本発明の薬剤組成物は、酸化防止剤、緩衝液、静菌薬、配合物を意図する受容体の血液または懸濁剤または増粘剤と等張性にする溶質を含んでいてもよい、1つ以上の薬剤的に許容される無菌な等張水性または非水性溶液、分散液、懸濁液または乳濁液、もしくは使用前に無菌注射可能溶液または懸濁液中に再構成してもよい無菌粉末と組み合わせて、1つ以上のDPIV阻害因子を含む。

【0245】

本発明の薬剤組成物中に用いてもよい適切な水性および非水性キャリアの例としては、水、エタノール、ポリオール（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等のような）、およびそれらの適切な混合物、オリーブ油のような植物油、オレイン酸エチルのような注射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、レシチンのような被覆材料の使用により、分散の場合には、必要な粒径の維持、および界面活性剤の使用により、維持することができる。

【0246】

これらの組成物は、防腐剤、湿潤剤、乳化剤および分散剤のような補助剤を含んでもよい。微生物の作用を防ぐのは、様々な抗菌性物質および抗真菌性物質、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(phenol sorbic acid)等を含めることにより確実にしてもよい。糖質、塩化ナトリウム等のような等張剤を組成物中に含めることも望ましいであろう。さらに、注射可能な形態の長期間に亘る吸収を、モノリン酸アルミニウムおよびゼラチンのような吸収を遅延させる薬剤を含めることにより行ってもよい。

【0247】

ある場合には、薬物の効果を延長させるために、皮下注射または筋肉内注射により薬物の吸収を遅くすることが望ましい。これは、水溶性が乏しい結晶質または非晶質材料の懸濁液を使用することにより行ってもよい。そこで、薬物の吸収速度は、結晶サイズおよび結晶質形態に依存するであろう溶解の速度に依存する。あるいは、非経口投与された薬物形態の遅延吸収は、その薬物を油ビヒクル中に溶解または懸濁させることにより行われる。

【0248】

注射可能なデポー剤形態は、ポリラクチド-ポリグリコリドのような生分解性高分子中でDPIV阻害因子の微小被包マトリクスを形成することにより調製される。薬物対高分子の比率、および用いられる特定の高分子の性質に依存して、薬物放出速度を調節することができる。他の生分解性高分子の例としては、ポリ（オルトエステル）およびポリ（無水物）が挙げられる。デポー剤の注射可能な配合物は、体組織と適合性のあるマイクロエマルジョンまたはリポソーム中に薬物を捕捉することにより調製される。

【0249】

本発明のDPIV阻害因子をヒトおよび動物に製薬として投与する場合には、それらを、それら自体で与えても、または、例えば、0.1から99.5%（より好ましくは、0.5から90%）の活性成分を薬剤的に許容されるキャリアと組み合わせて含有する薬剤組成物として与えても差し支えない。

10

20

30

40

50

## 【0250】

薬剤の調製物は、経口で、非経口で、局所的に、または直腸に与えてもよい。もちろん、それら調製物は、各々の投与経路に適切な形態で与えられる。例えば、それら調製物は、タブレットまたはカプセル形態で、注射、吸入、目のローション剤、軟膏、座薬等により、注射、注入または吸入による投与；ローション剤または軟膏により局所に；および座薬により直腸に投与される。経口投与が好ましい。

## 【0251】

ここで用いられる「非経口投与」および「非経口的に投与された」という語句は、通常は注射による、腸内投与および局所投与以外の様式の投与を意味し、制限するものではなく、静脈内、筋肉内、動脈内、鞘内、包内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管内、皮下、表皮下、関節内、被膜下、くも膜下、脊髄内および胸内の注射および注入が挙げられる。

10

## 【0252】

ここで用いられる「全身投与」、「全身に投与された」、「周辺投与」および「周辺に投与された」という語句は、患者の系に進入し、したがって、代謝が施されるように、中枢神経系中への直接的以外の、D P I V 阻害因子、薬物または他の物質の投与、並びに他の同様の過程、例えば、皮下投与を意味する。

## 【0253】

これらのD P I V 阻害因子は、例えば、スプレーによるような、経口、鼻、並びに粉末、軟膏またはドロップによるような、直腸、腔内、非経口、槽内および局所、頬および舌下を含む任意の適切な投与経路により、治療のためにヒトおよび他の動物に投与してもよい。

20

## 【0254】

選択した投与経路にかかわらず、適切な水和形態で用いてもよいD P I V 阻害因子、および/または本発明の製剤組成物は、当業者に知られた従来の方法により薬剤的に許容された供与形態に配合される。

## 【0255】

本発明の薬剤組成物中の活性成分の実際の供与レベルは、患者にとって毒性ではない限り、特定の患者、組成物および投与様式に関する所望の治療反応を達成するのに効果的な活性成分の量を得るように異なってもよい。

30

## 【0256】

## G. 共同投与

本発明の別の態様は、1つ以上の他の治療薬がプロテアーゼ阻害因子と共に投与される共同投与を提供する。そのような共同治療は、治療の個々の成分の同時の、連続したまたは別々の供与により行ってもよい。

## 【0257】

ある実施の形態において、D P I V 阻害因子は、G L P - 1 または G L P - 1 の異所発現を生じる遺伝子治療ベクターのような、インスリンまたは他のインスリン刺激剤と共に共同投与される。

## 【0258】

別の実施の形態において、本阻害因子は、M 1 受容体拮抗物質と共に投与することができる。コリン作動薬は、ムスカリン様受容体を介して作用するインスリン放出の潜在的な修飾物質である。さらに、そのような作動薬を使用すると、H D L レベルを増加させながら、コレステロールレベルを減少させるという追加の利点を得られる。適切なムスカリン様受容体拮抗物質としては、ムスカリン様コリン作動性レセプターの滑動を直接的または間接的に遮断する物質が挙げられる。好ましくは、そのような物質はM 1 受容体に関して選択的である（またはそのような選択性を促進させる量で用いられる）。非限定的例としては、第四アミン（メタンテリン、イプラトロピウム、およびプロバンテリンのような）、第三アミン（例えば、ジシクロミン、スコポラミン）および三環アミン（例えば、テレンゼピン）が挙げられる。ピレンゼピンおよびメチルスコポラミンが好ましい。他の適切

40

50

なムスカリン様受容体作動薬としては、ベンズトピン(メルク社からCOGENTINとして市販されている)、ヘキサヒドロ-シラ-ジフェニドール塩酸塩(HHSID Lambrecht等(1989) Trends in Pharmacol.Sci. 10(suppl):60に開示された塩酸塩)、(+/-)-3-キヌクリジニルキサンテン-9-カルボキシレートヘミオキサレート(QNX-hemioxalate; Birdsall等, Trends in Pharmacol.Sci. 4:459, 1983)、テレンゼビンジヒドロクロライド(Coruzzi等(1989) Arch.Int.Pharmacodyn.Ther. 302:232; and Kawashima等(1990) Gen.Pharmacol. 21:17)およびアトロピンが挙げられる。そのようなムスカリン様受容体作動薬の供与には、一般的に、上述のごとく概説した最適化が施される。脂質代謝障害の場合には、供与の最適化は、投与が脂質代謝反応性窓に関して間隔が開けられるか否かにかかわらずに必要であろう。

10

## 【0259】

インスリンおよび脂質代謝を調節し、前述した障害を減少させるという点から、本DP IV阻害因子はまた、d2ドーパミン作用物質(例えば、プロモクリプチン)のようなプロラクチン阻害因子と相乗作用を示すであろう。したがって、本方法は、プロラクチン阻害エルゴアルカロイドおよびプロラクチン阻害ドーパミン作用物質のようなプロラクチン阻害因子の共同投与を含むことができる。適切な化合物の例としては、2-プロモ-アルファ-エルゴクリプチン、6-メチル-8ベータ-カルボベンジルオキシアミノエチル-10-アルファ-エルゴリン、8-アシルアミノエルゴリン、6-メチル-8-アルファ-(N-アシル)アミノ-9-エルゴリン、6-メチル-8-アルファ-(N-フェニルアセチル)アミノ-9-エルゴリン、エルゴコルニン、9,10-ジヒドロエルゴコルニン、D-2-ハロ-6-アルキル-8-置換エルゴリン、D-2-プロモ-6-メチル-8-シアノメチルエルゴリン、カルビドパ、ベンセルアジド(benserazide)、および他のドパデカルボキシラーゼ阻害因子、L-ドパ、ドーパミンおよびそれらの非毒性塩が挙げられる。

20

## 【0260】

本発明にしたがって用いられるDP IV阻害因子は、グリベンクラמיד(glibenclamide)、グリピジド(glipizide)、グリクルアジド(gliclazide)およびAG-EE623ZWのような、細胞のATP-依存性カリウムチャンネルに作用する薬剤と一緒に用いても差し支えない。DP IV阻害因子はまた、メトホルミン(metformin)および関連化合物または例えば、アカルボース(acarbose)としてのグルコシダーゼ阻害因子のような他の経口製剤と組み合わせて都合よく施用してもよい。

30

## 【実施例】

## 【0261】

本発明を一般的に説明してきたが、単に本発明のある態様および実施の形態の説明を目的として含まれ、本発明を限定することを意図していない以下の実施し例を参照することにより、本発明はより容易に理解されるであろう。

## 【0262】

## 実施例1. ボロプロリンの合成

図1を参照すると、ピナンジオールエステルがピナコールエステルにより置換されていることを除いて、出発化合物Iが、Matteson等(Organometallics 3:1284, 1984)の方法により実質的に調製されている。ハウピペコリン酸(boropipecolic acid)および2-アゼトジンボロニック酸(2-azetodine boronic acid)のような類似の化合物は、出発材料を適切に選択して、化合物Iのペンチルおよびプロピル類似体を生成することにより調製することができる。さらに、その化学式中のBrは、Clと置換することができ、該化学式中のピナコール、例えば、2,3-ブタンジオールおよびアルファピナンジオールは、他のジオール保護基により置換することができる。

40

## 【0263】

化合物IIは、化合物Iを $[(CH_3)_3O_3Si]_2N-Li^+$ と反応させることにより調製される。この反応において、ヘキサメチルジシラザンをテトラヒドロフラン中に溶解させ、当量のn-ブチルリチウムを-78で加える。室温(20)まで暖め、-78まで冷却

50

した後、テトラヒドロフラン中に当量の化合物Iを加える。この混合物をゆっくりと室温まで到達させ、一晩攪拌する。溶剤を蒸発させ、無水条件下でヘキサンを加えることにより、アルファ - ビス [トリメチルシラン] - 保護アミンを単離する。不溶性残留物を窒素ブランケットの元の濾過により除去し、化合物IIのヘキサン溶液を生成する。

【0264】

ポロプロリンのN - トリメチルシリル保護形態である化合物IIIは、化合物IIが100-150まで加熱され、0.06-0.10mm圧力において66-62で沸騰する蒸留物が採集される蒸留工程中の化合物IIの熱サイクルにより得られる。

【0265】

ポロプロリン - ピナコール塩化水素である化合物IVは、化合物IIIのHCl : ジオキサンによる処理により得られる。過剰なHClおよび副生成物は、エーテルによる倍散(trituration)によって除去される。最終生成物は、酢酸エチルからの再結晶化により高純度で得られる。

10

【0266】

ポロプロリンエステルは、塩として1 - アミノ - 4 - プロモブチルボロネートピナコールを生成する、化合物IIの調製において得られた反応混合物の無水散との処理により得ることもできる。結晶化は、その塩を塩基で中和させ、その反応を加熱した後に生じる。

【0267】

実施例2 : ポロプロリン - ピナコールの調製

中間体の4 - プロモ - 1 - クロロブチルボロネートピナコールを、大規模調製のために条件が変更され、ピナジオール保護基がピナコールに置換されたことを除いて、Matteson等 (Organometallics 3:1284, 1984) の方法により調製された。

20

【0268】

3 - プロモプロピルボロネートピナコールを、臭化アリル (173ml、2.00モル) のカテコールボラン (240ml、2.00モル) による水素臭素化 (hydrogenboronation) により調製した。カテコールボランを臭化アリルに加え、この反応系を窒素雰囲気下で4時間に亘り100で加熱した。生成物である3 - プロモプロピルボロネートカテコール (沸点95-102、0.25mm) を蒸留により49%の収率で単離した。50mlのTHF中で成分を混合し、それらを0.5時間に亘り0で、0.5時間に亘り室温で攪拌することにより、カテコールエステル (124g、0.52モル) をピナコール (61.5g、0.52モル) によりエステル交換した。溶剤を蒸発により除去し、250mlのヘキサンを加えた。カテコールを結晶質固体として除去した。500mlまでおよび1000mlまで連続的にヘキサンにより希釈し、各々の希釈での結晶を除去することにより、定量除去を行った。ヘキサンを蒸発させて、生成物を蒸留して、177g (沸点60-64、0.35mm) を得た。

30

【0269】

対応するプロピルボロネートの同族体化により、4 - プロモ - 1 - クロロブチルボロネートピナコールを調製した。塩化メチレン (50.54ml、0.713モル) を500mlのTHF中に溶解させ、ヘキサン中1.54Nのn - ブチルリチウム (480ml、0.780モル) を-100でゆっくりと加えた。3 - プロモプロピルボロネートピナコール (178g、0.713モル) を500mlのTHG中に溶解させ、その溶液の凝固点まで冷却し、前記反応混合物に加えた。塩化亜鉛 (54.4g、0.392モル) を250mlのTHG中に溶解させ、0まで冷却し、いくつかの部分に分けて前記反応混合物に加えた。この反応系をゆっくりと室温まで暖めて、一晩攪拌した。溶剤を蒸発させ、残留物をヘキサン (1リットル) 中に溶解させ、水 (1リットル) で洗浄した。不溶性物質を捨てた。無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、濾過した後、溶剤を蒸発させた。生成物を蒸留して、147g (沸点110-112、0.200mm) を得た。

40

【0270】

30mlのTHF中にヘキサメチルジシラザン (20.0g、80.0モル) を溶解させ、この溶液を-78まで冷却し、ヘキサン中1.62Nのn - ブチルリチウム (49.4ml、80.0モル) を加えることにより、N - トリメチルシリル - ポロプロリンピナコールを最初に調製し

50

た。この溶液をゆっくりと室温まで暖めた。この溶液を $-78$  まで再度冷却し、 $20\text{m l}$  の $\text{THF}$ 中に4 - ブロモ - 1 - クロロブチルポロネートピナコール ( $23.9\text{g}$ 、 $80.0\text{mモル}$ ) を加えた。この混合物をゆっくりと室温まで暖め、一晚攪拌した。蒸発により溶剤を除去し、乾燥ヘキサン ( $400\text{m l}$ ) を加えて、沈殿物を生成し、これを窒素雰囲気下の濾過により除去した。濾液を蒸発させ、残留物を蒸留して、 $19.4\text{g}$  の所望の生成物 (沸点 $60-62$ 、 $0.1-0.06\text{mm}$ ) を生成した。

#### 【0271】

N - トリメチルシリル - ポロプロリンピナコール ( $16.0\text{g}$ 、 $61.7\text{mモル}$ ) を $-78$  まで冷却し、 $4\text{N}$ の $\text{HCl}$  : ジオキサン ( $46\text{m l}$ 、 $185\text{mモル}$ ) を加えることにより、H - ポロプロリン - ピナコール・ $\text{HCl}$  (ポロプロリン - ピナコール・ $\text{HCl}$ ) を調製した。この混合物を $-78$  で30分間、室温で1時間に亘り攪拌した。溶剤を蒸発させ、残留物をエーテルで倍散させて、固体を生成した。粗生成物をクロロホルム中に溶解させ、不溶性物質を濾過により除去した。この溶液を蒸発させ、生成物を酢酸エチルから結晶化させて、 $11.1\text{g}$  の所望の生成物 (融点 $156.5-157$  ) を生成した。

#### 【0272】

##### 実施例3 : ポロプロリンペプチドの合成

N - 保護ペプチドおよび適切な側鎖保護基を有するアミノ酸をH - ポロプロリン - ピナコールに結合させる一般的な方法が適用できる。必要であれば、側鎖保護基およびN - 末端保護基を、無水 $\text{HCl}$ 、 $\text{HBr}$ 、トリフルオロ酢酸により処理により、または接触水素添加により除去しても差し支えない。これらの方法は、ペプチド合成の当業者に知られている。

#### 【0273】

Anderson等 (*J. Am. Chem. Soc.* 89:5012, 1984) の混合無水物方法がペプチド結合にとって好ましい。再度図1を参照すると、N - 保護アミノ酸またはペプチドの混合無水物が、該ペプチドをテトラヒドロフラン中に溶解させ、1当量のN - メチルモルホリンを加えることにより調製される。この溶液を $-20$  まで冷却し、当量のクロル蟻酸イソブチルを加えた。5分後に、この混合物および1当量のトリエチルアミン (または立体障害作用を持つ塩基) を、冷たいクロロホルムまたはテトラヒドロフランのいずれかに溶解されたH - ポロプロ - ピナコールの溶液に加えた。

#### 【0274】

この反応混合物を1時間に亘り $-20$  で、1から2時間に亘り室温 ( $20$  ) で通常のように攪拌する。蒸発により溶剤を除去し、残留物を酢酸エチル中に溶解させる。有機溶液を $0.20\text{N}$ の塩酸、5%の重炭酸ナトリウム水溶液、および飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄する。有機相を無水硫酸ナトリウム上で乾燥させ、濾過し、蒸発させる。生成物をシリカゲルクロマトグラフィーまたはセファデックス $\text{TM L H - 20}$ および溶剤としてのメタノールを用いたゲル浸透クロマトグラフィーのいずれかにより精製する。

#### 【0275】

以前の研究は、ピナコール保護基が、生物学的実験を行う前にリン酸緩衝液中でのプレインキュベーションによりインサイチュで除去できることを示していた (Kettner 等, *J. Biol. Chem.* 259:15106, 1984) 。ポロプロリンを含むペプチドからピナコール基を除去し、最終生成物を特徴付けるために、いくつかの他の方法もまた適用できる。最初に、そのペプチドをジエタノールアミンで処理して、対応するジエタノールアミンポロニック酸エステルを生成することができ、このエステルは、Kettner 等 (前出) に記載されたように、水性酸またはスルホン酸置換ポリスチレン樹脂により処理によって容易に加水分解できる。ピナコールおよびピナジオール保護基の両方は、Kinder 等 (*J. Med. Chem.* 28:1917) により記載されたように、塩化メチレン中の $\text{BC13}$ による処理によって除去できる。最後に、遊離ポロニック酸は、Kinder 等 (前出) により記載されたように、水性 $\text{HF}$ による処理によってジフルオロボロン誘導体 ( $-\text{BF}_2$ ) に転化することができる。

#### 【0276】

同様に、不活性溶剤中で遊離ポロニック酸を様々なジヒドロキシ化合物 (例えば、 $\text{S}$ ま

10

20

30

40

50

たはNのようなヘテロ原子を含有するもの)と反応させることにより、異なるエステル基を導入することができる。

【0277】

実施例4：H-Ala-boroProの調製

上述したように調製したH-boroProおよびN-Boc-保護アラニンの混合無水物結合によりBoc-Ala-boroProを調製した。3.5モル過剰の4NのHCl-ジオキサン中において0 でBoc保護基を除去することにより、H-Ala-boroPro (Ala-boroPro)を調製した。結合反応および脱遮断反応を標準的な化学反応により行った。Ala-boroProは、DP-IVに関して、ナノモル範囲のKiを有する。Boc-遮断Ala-boroProはDP-IVに関して親和性がない。

10

【0278】

Ala-boroPro-ピナコールの2つのジアステレオマーである、L-Ala-D-boroPro-ピナコールおよびL-Ala-L-boroPro-ピナコールは、溶出液としての酢酸エチル中の20%メタノールによるシリカゲルクロマトグラフィーにより部分的に分離できる。初期の分画は、NMR分析により、一方の異性体が95%豊富であるように見える。この分画は、後期の分画よりも(等しい濃度で)大きい程度でDP-IVを阻害するので、この分画には、おそらくL-boroPro (L-Ala-L-boroPro-ピナコール)異性体が豊富である。

20

【0279】

実施例5：ブドウ糖負荷試験

実験は、マウス中の経口ブドウ糖抗原投与からの結果に基づいて、Pro-boro-proが明らかに血糖を低下させることを示している。最初の2つの実験は、マウスに1回分の投与量のPro-boro-proを注射した「急性」実験である。この最初の組の実験において、マウスに150 $\mu$ gのPro-boro-pro (PBP-1)を注射し、次いで、1時間以内に経口ブドウ糖負荷試験を行った。また、8 $\mu$ gのGLP-1も、ブドウ糖の投与の5分前にこれらのマウスに投与した。図2を参照のこと。第2の組の実験において、経口ブドウ糖抗原投与試験の1時間前に、マウスにPro-boro-pro (PBP-2)を注射した。図3は、これらの実験結果を示している。各々の組の実験は、対照として生理食塩水を用いて行った。

30

【0280】

第3の組の実験は、マウスに、4日間に亘り毎日二回Pro-boro-proを注射し、その後、経口ブドウ糖抗原投与試験を行った「慢性」実験であった。これらの結果が図4に示されている。

【0281】

実施例6：ブドウ糖負荷試験、正常なマウスおよびGLP-1受容体-/-マウスの比較

GLP-1受容体遺伝子「ノックアウト」により、遺伝子導入マウスにおいてブドウ糖不耐性が生じる。Gallwitz B; Schmidt WE Z Gastroenterol (1997) 35:655-8。図5および6は、正常なマウスおよびGLP-1受容体-/-遺伝子導入マウスにおけるPro-boro-proの血漿グルコースレベルを低下させる能力を比較している。

40

【0282】

上述した文献および出版物の全てをここに引用する。

【0283】

他の実施態様

1. 動物においてグルカゴン様ペプチド1 (GLP-1)の代謝を変更するための組成物であって、GLP-1を不活化させるジペプチジルペプチダーゼの阻害因子を含み、該阻害因子がGLP-1のジペプチジルペプチダーゼのタンパク質分解を阻害するのに十分な量で投与されることを特徴とする組成物。

2. 動物のグルコース代謝を変更するための組成物であって、1nM以下のKiでジペブ

50

チジルペプチダーゼ I V ( D P I V ) 媒介タンパク質分解を阻害するプロテアーゼ阻害因子を含むことを特徴とする組成物。

3 . 動物のグルコース代謝を変更するための組成物であって、グルカゴン様ペプチド 1 ( G L P - 1 ) のタンパク質分解を阻害しそれによって G L P - 1 の血漿半減期を増大させるプロテアーゼ阻害因子を含むことを特徴とする組成物。

4 . II 型糖尿病を治療するための組成物であって、ジペプチジルペプチダーゼ I V ( D P I V ) の阻害因子を含むことを特徴とする組成物。

5 . 前記ジペプチジルペプチダーゼが D P I V であることを特徴とする実施態様 1 記載の組成物。

6 . 前記プロテアーゼ阻害因子が D P I V の阻害因子であることを特徴とする実施態様 3 記載の組成物。

7 . 前記阻害因子を投与することにより、インスリン抵抗性、グルコース不耐性、高血糖症、インスリン過剰血症、肥満症、高脂血症、高リポタンパク血症の内の 1 つ以上が低減されることを特徴とする実施態様 2 または 3 記載の組成物。

8 . 前記阻害因子が、免疫抑制に関する E C 5 0 よりも少なくとも一桁小さいグルコース代謝の変更に関する E C 5 0 を有することを特徴とする実施態様 1 から 4 いずれか 1 項記載の組成物。

9 . 前記阻害因子が、n M レベルまたはそれ以下のブドウ糖負荷の阻害に関する E C 5 0 を有することを特徴とする実施態様 1 から 4 いずれか 1 項記載の組成物。

1 0 . 前記阻害因子が、 $\mu$  M レベルまたはそれ以上の免疫抑制に関する E C 5 0 を有することを特徴とする実施態様 1 から 4 いずれか 1 項記載の組成物。

1 1 . 前記阻害因子が、1.0 n M 以下の D P I V 阻害に関する  $K_i$  を有することを特徴とする実施態様 4、5 または 6 記載の組成物。

1 2 . 前記阻害因子が、 $\mu$  M レベルまたはそれ以上の免疫抑制に関する E C 5 0 を有することを特徴とする実施態様 1 から 4 いずれか 1 項記載の組成物。

1 3 . 前記阻害因子が経口活性であることを特徴とする実施態様 1 から 4 いずれか 1 項記載の組成物。

#### 【 0 2 8 4 】

##### 等価物

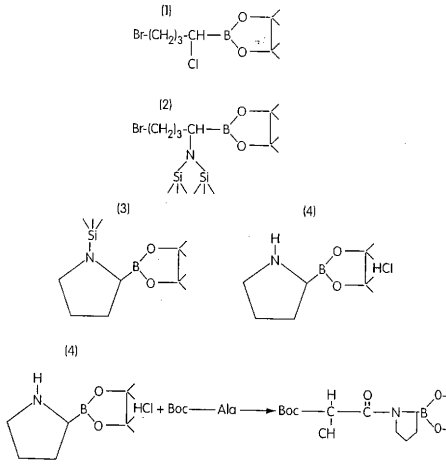
当業者は、ここに記載した本発明の特定の実施の形態に対する多くの等価物を認識する、または日常的な実験を用いて、確認することができる。そのような等価物は、特許請求の範囲により包含されることを意図している。

10

20

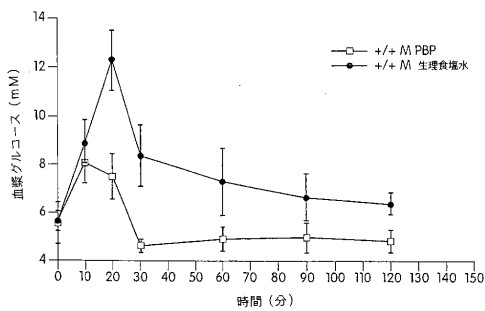
30

【 図 1 】



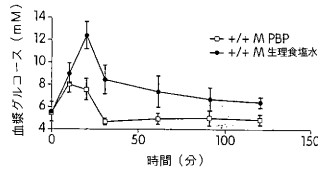
【 図 2 】

PBP-1  
+/+が経口グルコース投与の1時間前に生理食塩水または150μgのPro(boro)proを受容し、グルコース投与の5分前に8μgのGLP-1を受容する。(1997年9月9日現在 生後6週間)

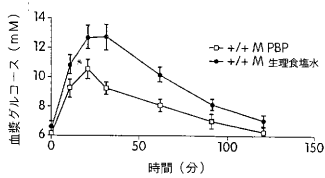


【 図 5 】

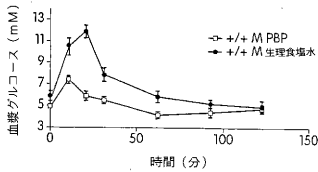
8 μg の GLP-1 および Pro(boro)pro または生理食塩水を注射した +/+ オス



Pro(boro)pro または生理食塩水を注射した +/+ オス

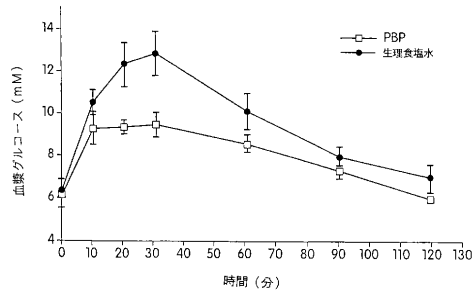


Pro(boro)pro または生理食塩水を注射した -/- オス



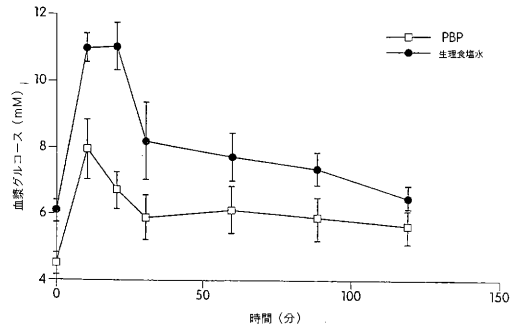
【 図 3 】

PBP-2 反復  
オスのマウス (1997年9月9日現在 生後6週間) に、OQTTの1時間前に150μgのPro(boro)pro または生理食塩水を注射した。

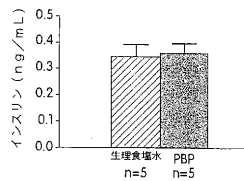
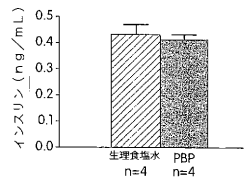
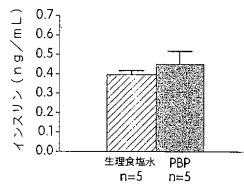


【 図 4 】

PBP-3 1/10/97  
+/+オスに、1997年9月27日現在毎日2回150μgのPro(boro)pro または生理食塩水を注射した。(9 I P 注射) 1997年6月16日現在 生後7-8週間



【 図 6 】



## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 31/445	(2006.01)	A 6 1 K 31/445	
A 6 1 K 31/66	(2006.01)	A 6 1 K 31/66	

(71)出願人 505174301  
 1 1 4 9 3 3 6 オンタリオ インコーポレイテッド  
 カナダ国 エム6ピー 3ジー3 オンタリオ州 トロント ファーンウッド ロード 19

(74)代理人 100073184  
 弁理士 柳田 征史

(74)代理人 100090468  
 弁理士 佐久間 剛

(72)発明者 ウィリアム ダブリュ バコフチン  
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 7 6 メルローズ ウォーウィック ストリート  
 7

(72)発明者 アンドリュー ジー プロート  
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 4 2 1 レキシントン ピーコック ファーム ロー  
 ド 2 2

(72)発明者 ダニエル ジェイ ドラッカー  
 カナダ国 エム6ピー 3ジー3 オンタリオ州 トロント ファーンウッド ロード 19

Fターム(参考) 4C084 AA17 MA35 MA52 NA14 ZC201 ZC351  
 4C086 AA01 AA02 BC07 BC21 DA38 DA43 MA01 MA04 MA35 MA52  
 NA14 ZC20 ZC35  
 4C206 AA01 HA31 NA05 ZC35