

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5367377号
(P5367377)

(45) 発行日 平成25年12月11日 (2013.12.11)

(24) 登録日 平成25年9月20日 (2013.9.20)

(51) Int.Cl.

F I

C O 7 D 279/12	(2006.01)	C O 7 D 279/12	C S P
A 6 1 K 31/54	(2006.01)	A 6 1 K 31/54	
A 6 1 P 31/04	(2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 21/00	(2006.01)	A 6 1 P 21/00	

請求項の数 12 (全 59 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2008-549685 (P2008-549685)
(86) (22) 出願日	平成19年1月9日 (2007.1.9)
(65) 公表番号	特表2009-522377 (P2009-522377A)
(43) 公表日	平成21年6月11日 (2009.6.11)
(86) 国際出願番号	PCT/US2007/060277
(87) 国際公開番号	W02007/082208
(87) 国際公開日	平成19年7月19日 (2007.7.19)
審査請求日	平成22年1月8日 (2010.1.8)
(31) 優先権主張番号	60/757, 252
(32) 優先日	平成18年1月9日 (2006.1.9)
(33) 優先権主張国	米国 (US)
(31) 優先権主張番号	60/781, 794
(32) 優先日	平成18年3月13日 (2006.3.13)
(33) 優先権主張国	米国 (US)

(73) 特許権者	508034244
	オクラホマ メディカル リサーチ ファ ウンデーション
	アメリカ合衆国 オクラホマ州 オクラホ マ シティ リサーチ パークウェイ 8 〇〇 スイート 310
(74) 代理人	100102978
	弁理士 清水 初志
(74) 代理人	100119507
	弁理士 刑部 俊
(74) 代理人	100128048
	弁理士 新見 浩一
(74) 代理人	100129506
	弁理士 小林 智彦

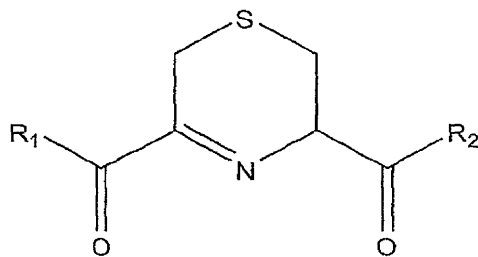
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 炎症性疾患治療のためのランチオニン関連化合物

(57) 【特許請求の範囲】

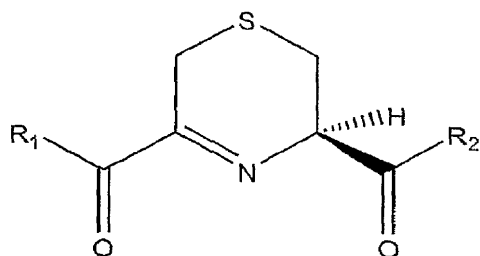
【請求項 1】

下記の構造を有する化合物、それらの薬学的に許容される塩、または光学異性体：

式中、R₁は、-OHであり；R₂は、C₂-C₁₀アルコキシである。

【請求項 2】

他の光学異性体を実質的に含まない下記式の化合物：

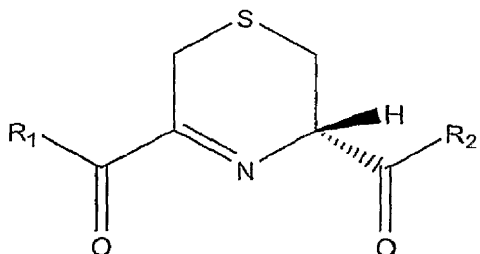


またはそれらの薬学的に許容される塩として更に規定される、請求項1記載の化合物。

【請求項3】

他の光学異性体を実質的に含まない下記式の化合物：

10

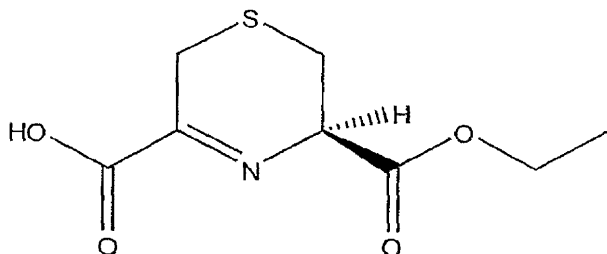


またはそれらの薬学的に許容される塩として更に規定される、請求項1記載の化合物。

【請求項4】

他の光学異性体を実質的に含まない下記式の化合物：

20

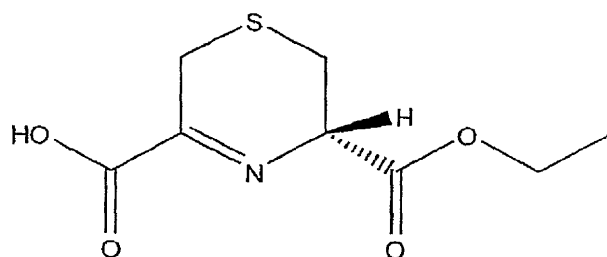


またはそれらの薬学的に許容される塩として更に規定される、請求項2記載の化合物。

【請求項5】

他の光学異性体を実質的に含まない下記式の化合物：

30



またはそれらの薬学的に許容される塩として更に規定される、請求項3記載の化合物。

【請求項6】

請求項1記載の化合物、それらの薬学的に許容される塩または光学異性体の薬理的に有効な量を含む、対象における疾患を治療するための薬剤であって、疾患が敗血症、パーキンソン病、ハンチントン病、多発性硬化症、黄斑変性、アテローム硬化症、関節リウマチ、炎症性腸疾患(IBD)、高血圧、注意力欠如障害、大うつ病、不安障害、脳卒中、脳癌、肺癌、肝臓癌、脾臓癌、腎臓癌、リンパ節癌、小腸癌、膵臓癌、結腸癌、胃癌、前立腺癌、精巣癌、卵巣癌、または食道癌である、薬剤。

40

【請求項7】

対象が哺乳類である、請求項6記載の薬剤。

【請求項8】

対象がヒトである、請求項6記載の薬剤。

【請求項9】

50

疾患が敗血症である、請求項 6 記載の薬剤。

【請求項 10】

疾患が、パーキンソン病、ハンチントン病、多発性硬化症、黄斑変性、アテローム硬化症、関節リウマチ、または炎症性腸疾患(IBD)である、請求項 6 記載の薬剤。

【請求項 11】

前記対象が脳卒中を有する、請求項 6 記載の薬剤。

【請求項 12】

前記疾患が、脳癌、肺癌、肝臓癌、脾臓癌、腎臓癌、リンパ節癌、小腸癌、膵臓癌、結腸癌、胃癌、前立腺癌、精巣癌、卵巣癌、または食道癌である、請求項 6 記載の薬剤。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本出願は、2006年1月9日に出願された米国特許仮出願第60/757,252号；2006年3月13日に出願された米国特許仮出願第60/781,794号；および、2006年6月7日に出願された米国特許仮出願第60/804,149号の優先権の恩典を主張するものであり、これらの各出願の全内容は本明細書に参照として組入れられている。

【0002】

米国政府は、米国立衛生研究所の助成金番号AG20783、NS044154、ならびに全米科学技術振興協会(Advancement of Science and Technology)オクラホマセンターの助成金番号HR02-149RSに準じ、本発明において一定の権利を有する。

20

【0003】

I. 発明の分野

本発明は、新規ランチオニンケチミン化合物、そのような化合物の調製法、およびそれらの使用に関する。本発明は、中枢神経系を冒す疾患を含む疾患の治療および/または予防において、ランチオニン、ビルベート、ランチオニンケチミン、ランチオニンケチミン誘導体およびこれらの化合物の組合せを使用する方法にも関する。

【背景技術】

【0004】

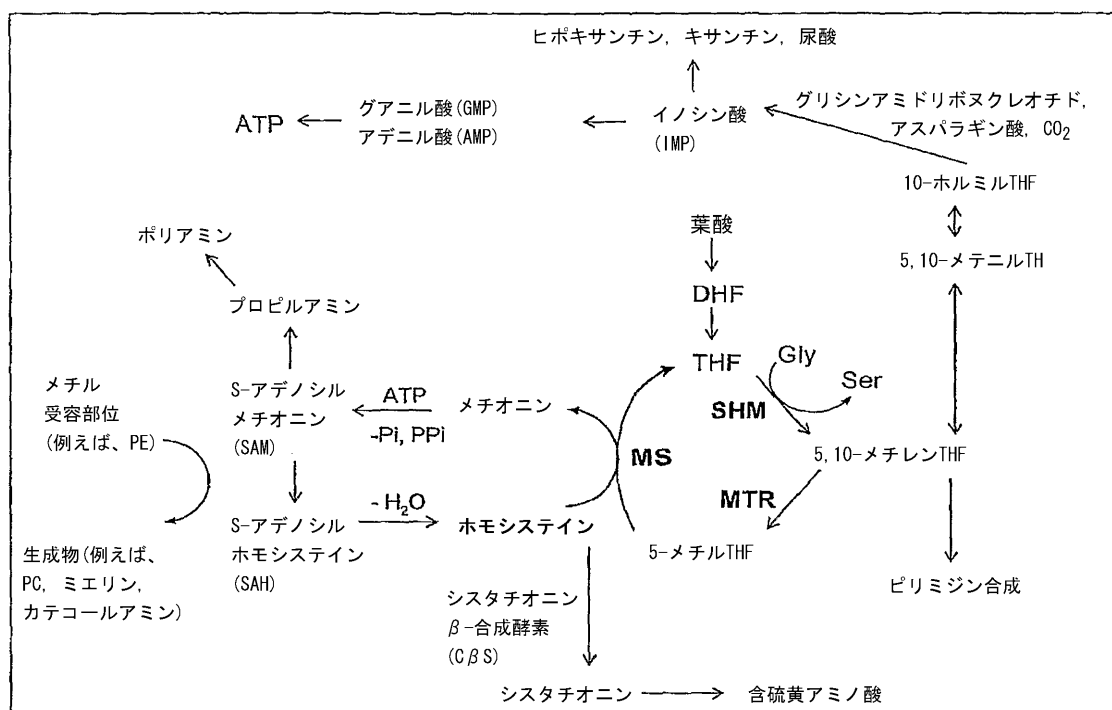
II. 関連技術の説明

哺乳類の脳は、還元硫黄の利用およびサルベージに関して倨約性である(parsimonious)(Stryer, 1995)。従って、生化学的アルキル化反応の含硫黄副産物の再使用のための効率的代謝経路が存在する(Stryer, 1995; Cooper, 2004)。これらの中で主たるものは、硫酸転移経路(スキーム1)およびメチオニンサルベージ経路である(Stryer, 1995; Cooper, 2004; Giuliodoriら, 1984)。スキーム1は、古典的葉酸サイクルおよび硫酸転移経路を示している。硫酸転移経路は、ホモシステイン、シスタチオニン、および下流の生成物から構成される。MS = メチオニンシンテターゼ; SHM = セリンヒドロキシメチル転移酵素; MTR = メチレン-THF還元酵素; C S = シスタチオニン - 合成酵素; C L = シスタチオニン - 脱離酵素; GSH = 還元型グルタチオン; DHF = ジヒドロ葉酸; THF = テトラヒドロ葉酸; PC = ホスファチジルコリン。

30

スキーム1

40



【 0 0 0 5 】

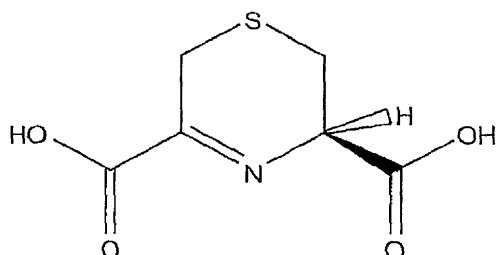
硫酸転移経路は、葉酸サイクルからのホモシステイン(hCys)廃棄物を、中間体シスタチオニンへ転換し、最終的にシスタチオニン-合成酵素(C₁S)およびシスタチオニン-脱離酵素(C₁L)の直列作用により、システインを再生する(スキーム1)。メチオニンサルベージ経路(スキーム1には示さず)は、S-アデノシルメチオニン(SAM)からのS-アデノシルチオプロピルアミンを分解し、ポリアミン経路に流す(flux)(Cooper, 2004; Giulidoriら, 1984)。

【 0 0 0 6 】

哺乳類の脳は、硫黄漏出を防ぐために費やされる代謝の努力にもかかわらず、ランチオニンおよびその誘導体ランチオニンケチミン(LK)のような、標準でない(canonical)含硫黄アミノ酸を比較的高濃度含む(Cavalliniら, 1983; Cavalliniら, 1985; Fontanaら, 1997; Cavalliniら, 1991; Fontanaら, 1990)。1980年代および1990年代に、イタリアの研究者Doriano Cavalliniと同僚により、シスタチオニン由来のランチオニン、LK、TMDCおよびアナログ化合物が発見され、かつ哺乳類の脳内で測定された(Fontanaら, 1997; Cavalliniら, 1985; Cavalliniら, 1983; Cavalliniら, 1991; Fontanaら, 1990; Cooper, 2004)。Cavalliniは、LKは、特にシナプトソーム膜に50nMの親和性で結合することができることを明らかにした(Fontanaら, 1997); しかし、彼はこの一般的でない含硫黄代謝産物に固有の個別の生体活性を明らかにすることはできなかった。

【 0 0 0 7 】

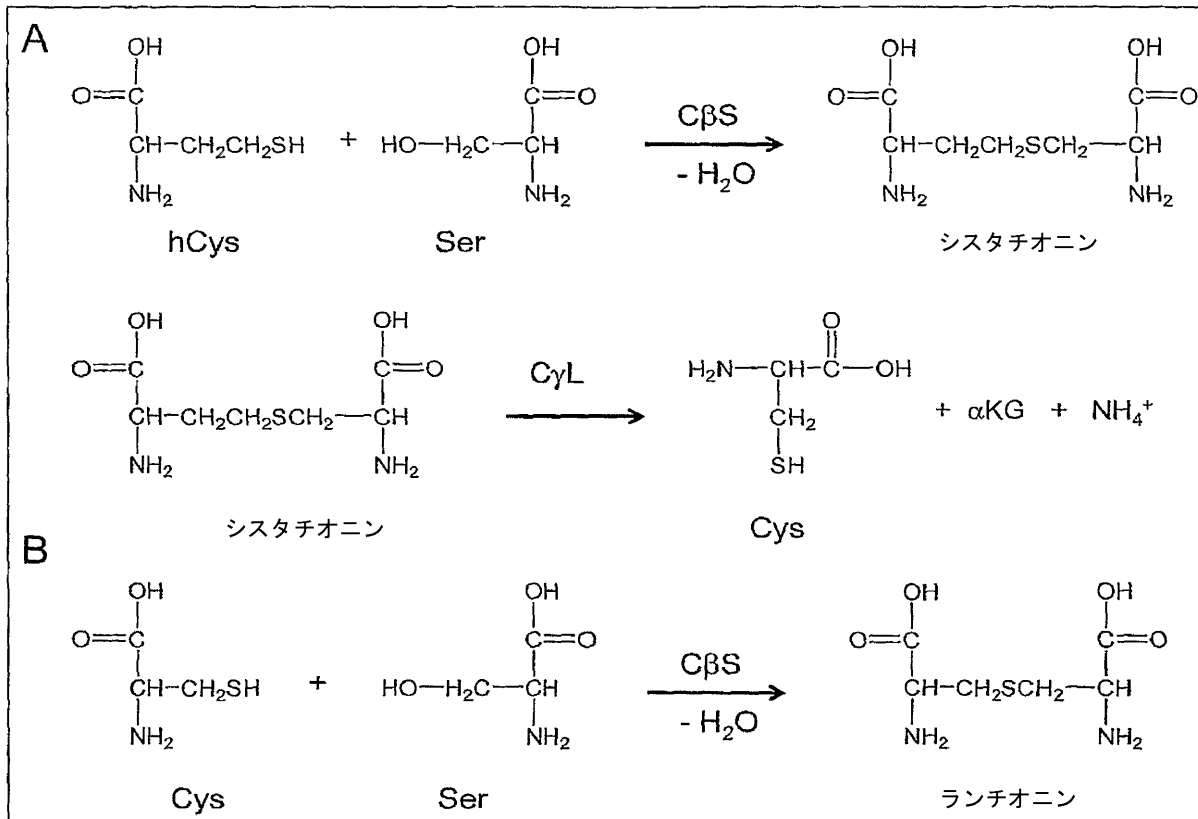
LKは、環状含硫黄チオエーテルであり；(R)-LKの構造を、以下に示す：



この化合物は、既知の生理学的目的には利用されず、硫黄転移経路またはメチオニンサルベージ経路の廃棄生成物と一般には考えられている。例えばその前駆体であるランチオニンは、C Sの「誤反応(misreaction)」時に形成すると考えられる(Cooper, 2004)。C Sは通常、hCysとセリンを縮合する(スキーム1および2)が、代わりにシステインとセリンを

共役する(conjugate)ことができる。この場合の生成物は、シスタチオニンよりもむしろランチオニンである(Giulidoriら, 1984; Cavalliniら, 1983)。スキーム2Aは、シスタチオニン - 合成酵素(C β S)により触媒された硫酸転移経路の古典的第一工程を示す。スキーム2Bは、C β Sが、すなわちセリン(Ser)のシステイン(Cys)との共役も触媒し、ランチオニンを生じる別の反応を示す(KGは、アルファケトグルタル酸を意味し; C γ Lは、シスタチオニン - 脱離酵素を意味する)。

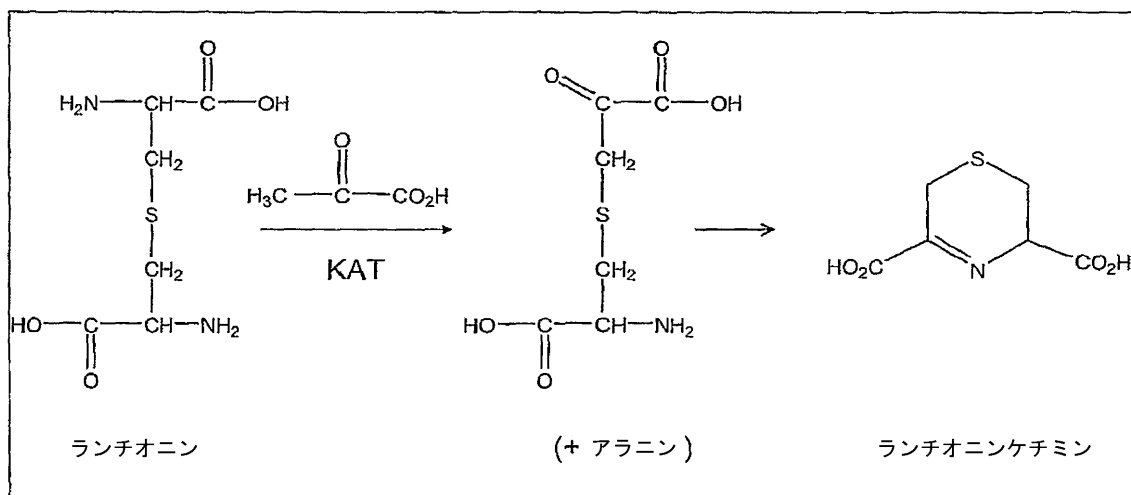
スキーム2



【0008】

対照的に、ランチオニンは、C γ Lの基質として作用しないが、代わりにピルビン酸との酵素-触媒した反応を受け、LKを生じ、このプロセスは、スキーム3に示されるように、キヌレニンアミノ転移酵素(KAT; グルタミンアミノ基転移酵素K(GTK)またはシステイン共役-脱離酵素(CC γ L)としても公知)により媒介される(Giulidoriら, 1984; Cavalliniら, 1983)。

スキーム3



10

20

30

40

50

【 0 0 0 9 】

得られる中間体は、迅速に環化し、ランチオニンケチミンを形成し(スキーム3)、これは対応する第二級アミン、チオモルホリンジカルボン酸(TMDC)へ還元され得る(Giulidori ら, 1984 ; Cavallini ら, 1983)。

【 0 0 1 0 】

ランチオニンケチミン(LK)は、本発明以前には、その治療的活性がほとんどまたは全く規定されていない化合物である。内因性LKの生物学的機能は確定されていないので、様々なランチオニンケチミンの生物学的有効性の決定は、当該技術分野において不明であった。従って先行する発明者らは、様々なLK-ベースの薬物およびプロドラッグの相対有効性を試験する実践的定量的バイオアッセイをデザインすることができなかった。

10

【発明の開示】

【 0 0 1 1 】

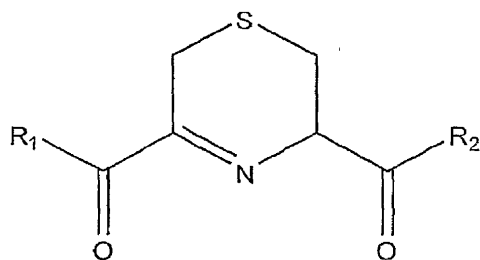
発明の概要

本発明は、新規ランチオニンケチミン誘導体およびチオモルホリンジカルボン酸(TMDCA)誘導体、そのような化合物の調製法、ならびにそれらの使用を提供することにより、先行技術の制限を克服するものである。より詳細に述べると、これは、筋萎縮性側索硬化症のような中枢神経系を冒す疾患を含む、疾患の治療および/または予防のために、ランチオニン、ランチオニンケチミン、ランチオニンケチミン誘導体、TMDCA、TMDCA誘導体およびこれらの化合物のピルベートのような他の化合物との組合せを使用する方法に関する。本発明は、抗酸化活性、抗神経炎症活性および神経保護活性を有する化合物および方法を提供し、更に本発明は、抗増殖作用を示し、従って癌の治療に有用であることができる化合物を提供する。具体的態様において、本発明は、エステル化および/またはアミド化によりLKおよび/またはTMDCAの患者への優れた送達を提供する、ランチオニンケチミン誘導体およびTMDCA誘導体を提供することにより、先行技術の制限を克服するものである。本発明の局面は、血液-脳関門を通過する能力を有する、LK誘導体またはTMDCA誘導体を提供することである。

20

【 0 0 1 2 】

本発明の局面は、下記の構造を有する化合物、ならびにそれらの薬学的に許容される塩、水和物、および光学異性体に関する：



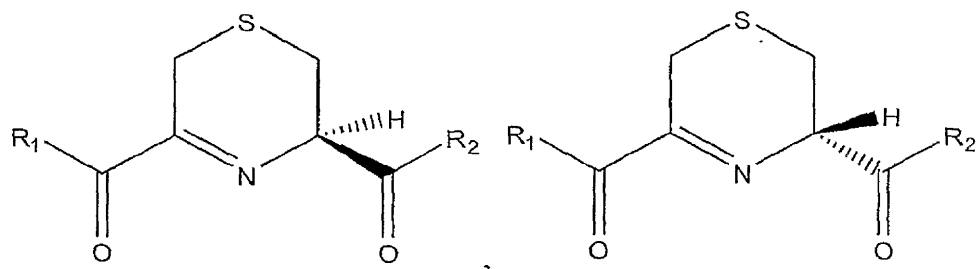
30

式中、 R_1 および R_2 は、各々独立して、-OH、-NH₂、またはC₁-C₁₀-アルコキシ、C₂-C₁₀-アルケニルオキシ、C₂-C₁₀-アルキニルオキシ、C₁-C₁₀-アリールオキシ、C₂-C₁₀-アラルコキシ、C₁-C₁₀-アシルオキシ、C₁-C₁₀-アルキルアミノ、C₂-C₁₀-アルケニルアミノ、C₂-C₁₀-アルキニルアミノ、C₁-C₁₀-アリールアミノ、C₂-C₁₀-アラルキルアミノ、もしくはC₁-C₁₀-アミドのヘテロ原子置換型もしくは非置換型であり；但し、 R_1 および R_2 は、両方とも-OHではないことを条件とし； R_2 が-OCH₃でありおよび R_1 が-OHであるならば、この化合物は大部分が1つのエナンチオマーであることを更に条件とする。例えば R_1 および/または R_2 は、アスコルビル、デヒドロアスコルベート、グリシニル、およびセリニルからなる群より選択することができる。

40

【 0 0 1 3 】

本発明の化合物は、下記のキラル構造を有していてもよい：

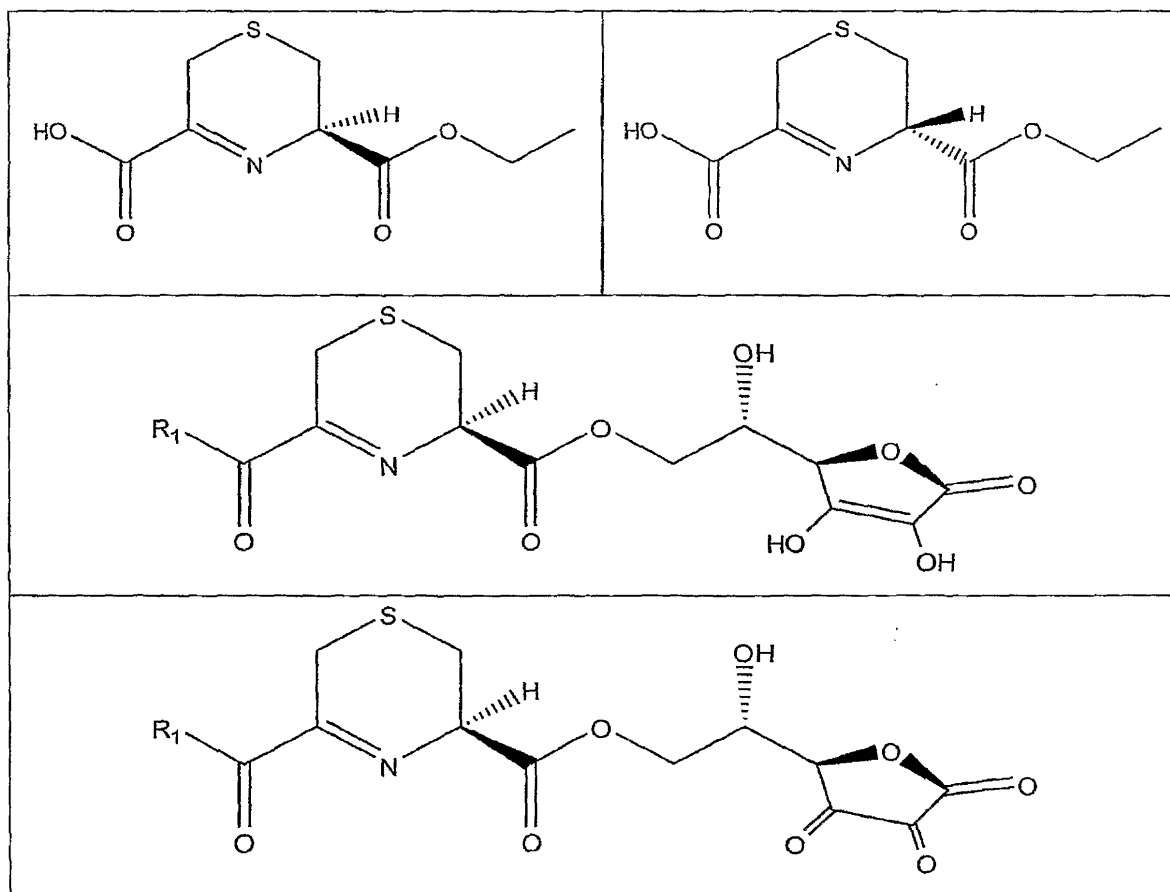


一部のこれらの態様において、この化合物は、他の光学異性体、ならびにそれらの薬学的に許容される塩および水和物を実質的に含まない。別の態様において、化合物は、前記両構造の混合物である。ある態様において、化合物はラセミ混合物である。

10

【0014】

下記の構造式は、本発明により提供される化合物のさらなる例を提供する：



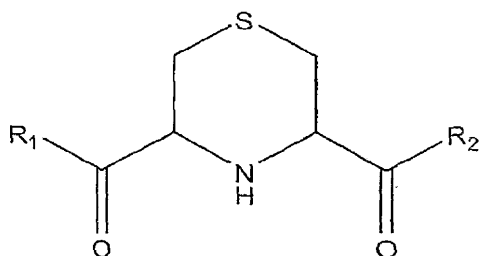
20

30

【0015】

他の態様において、本発明は、下記の構造を有する化合物、ならびにそれらの薬学的に許容される塩、水和物、および光学異性体を提供する：

40



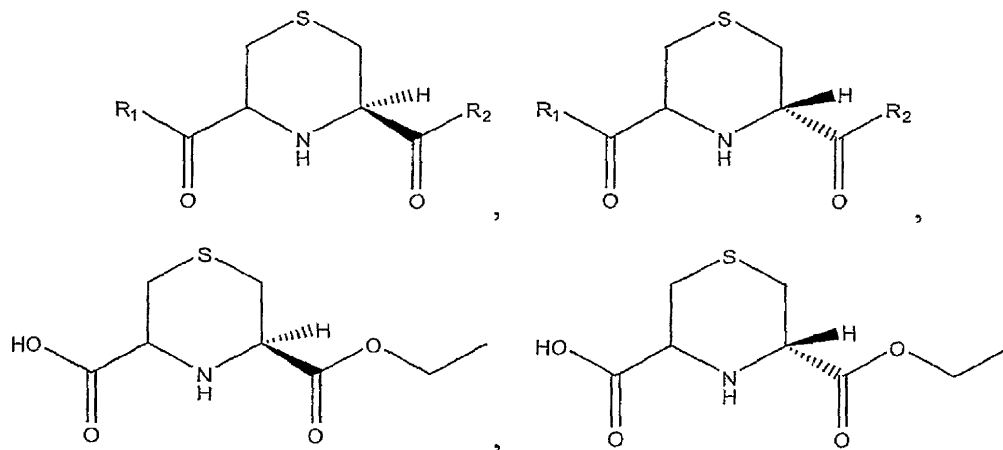
式中、 R_1 および R_2 は、各々独立して、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、または C_1 - C_{10} -アルコキシ、 C_2 - C_{10} -アルケニルオキシ、 C_2 - C_{10} -アルキニルオキシ、 C_1 - C_{10} -アリールオキシ、 C_2 - C_{10} -アラルコキシ、 C_1 - C_{10} -アシルオキシ、 C_1 - C_{10} -アルキルアミノ、 C_2 - C_{10} -アルケニルアミノ、 C_2 - C_{10} -

50

0 -アルキニルアミノ、 C_1 - C_{10} -アリールアミノ、 C_2 - C_{10} -アラルキルアミノ、もしくは C_1 - C_{10} -アミドのヘテロ原子置換型もしくは非置換型であり；但し、 R_1 および R_2 は、両方とも-OHではないことを条件とし； R_2 が-OCH₃でありおよび R_1 が-OHであるならば、この化合物は大部分が1つのエナンチオマーであることを更に条件とする。ある態様において、 R_1 および/または R_2 は、アスコルビル、デヒドロアスコルベート、グリシニル、およびセリニルからなる群より選択される。

【0016】

下記の構造は、本発明により提供される化合物のさらなる例を提供する：



【0017】

本発明の別の局面は、薬理的に有効なランチオニン、ランチオニンケチミン(LK)、LK誘導体、チオモルホリンジカルボン酸(TMDCA)、またはTMDCA誘導体を、対象へ投与することを含む、疾患を治療する方法に関する。対象は、哺乳類(例えばヒト)であってもよい。この方法は、クレブス回路の α -ケト酸のような第二の抗炎症化合物を対象へ投与することを更に含んでよい。クレブス回路の α -ケト酸は、ピルビン酸または α -ケトグルタル酸であってもよい。ランチオニンが対象へ投与されるある態様において、本方法は、ピルビン酸(例えば約25~約75mg/日)および/または α -ケトグルタル酸を対象へ投与することを更に含んでよい。

【0018】

前述の疾患は、敗血症および/または炎症性疾患であってもよい。炎症性疾患は、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、変性運動ニューロン疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、多発性硬化症、黄斑変性、心臓血管疾患、アテローム硬化症、関節リウマチまたは炎症性腸疾患(IBD)であってもよい。この疾患は、対象におけるKAT/GTK/CC L活性の欠損により特徴付けられる。この疾患は、高血圧、ハンチントン病、注意力欠如障害、うつ病(例えば、大うつ病)または全般性不安障害であってもよい。ある態様において、疾患は、対象における、過剰な酸化窒素生成、過剰なグルタミン酸興奮毒性、または過剰なプロスタグランジンE2(PGE2)により特徴付けられる。この疾患は、対象における、活性化されたマクロファージ細胞および/または活性化されたミクログリアにより特徴付けられる。

【0019】

別の本発明の局面は、炎症性疾患の治療に関するLK誘導体の有効性を評価する方法に関し、この方法は、LK誘導体を、マクロファージ細胞と接触させる工程、および炎症刺激に対するマクロファージ細胞の反応を測定する工程を含む。マクロファージ細胞は、ミクログリアであってもよい。炎症刺激は、TNF またはIFN のようなプロ炎症性サイトカインであってもよい。マクロファージ細胞からの酸化窒素生成が、評価されてもよい。この評価は、マクロファージ細胞からの亜硝酸塩の生成を測定することを含む。

【0020】

本発明の別の局面は、興奮毒性またはフリーラジカル毒性から生じる細胞の損傷を軽減する方法に関し、ここで本発明の化合物を細胞と接触させ、ここで細胞は、ニューロン、

10

20

30

40

50

マクロファージまたはグリア細胞であり、ここでグリア細胞は、グリオーマ細胞ではない。グリア細胞は、アストログリアまたはミクログリアであってもよい。ニューロンは、運動ニューロンであってもよい。

【0021】

ある態様において、本発明は、酸化ストレスから生じる細胞の損傷を減少させる方法を提供し、ここで本発明が請求する化合物を細胞と接触させ、ここで細胞は、ニューロン、マクロファージまたはグリア細胞であり、ここでグリア細胞は、グリオーマ細胞ではない。更なる態様において、本発明は、興奮性アミノ酸毒性から生じる細胞の損傷を減少させる方法を提供し、ここで本発明の化合物を細胞と接触させ、ここで細胞は、ニューロン、マクロファージまたはグリア細胞であり、ここでグリア細胞は、グリオーマ細胞ではない。これらの態様の一部において、酸化ストレスは、興奮性アミノ酸毒性を伴わない。別の態様において、興奮性アミノ酸毒性は、酸化ストレスを伴わない。一部の態様において、酸化ストレスには、フリーラジカルは関与しない。例えば、次亜塩素酸および過酸化水素は両方とも、非ラジカル機構により、基質を酸化することができる。ある態様において、興奮性アミノ酸毒性とは、グルタミン酸が誘導した興奮毒性である。

【0022】

ある態様において、この方法は、細胞を第二の抗炎症化合物と接触させることを更に含む。第二の抗炎症化合物は、クレブス回路の α -ケト酸、例えばピルビン酸または α -ケトグルタル酸であってもよい。フリーラジカル毒性は、酸化窒素から生じてよい。この細胞は、対象(例えばヒト患者)中に存在してもよい。

【0023】

本発明は、先にまたは本明細書を通じ説明されたもののような、本発明の化合物の治療的有効量を投与することを含む、炎症性疾患を有する患者を治療する方法も開示している。一部の態様において、炎症性疾患は、関節リウマチまたは炎症性腸疾患である。一部の態様において、この化合物は、光学的に純粋である。例えば一部の態様において、化合物は、大部分は(+)エナンチオマーである。別の態様において、化合物は、大部分は(-)エナンチオマーである。別の態様において、化合物は、ラセミ混合物である。ある態様において、化合物は、水溶液と共に投与される。一部の態様において、治療的有効量は、0.1~1000mg/kgである。更なる態様において、追加物質が、該患者へ投与される。

【0024】

本発明は、先にまたは本明細書を通じ説明されたもののような、本発明の化合物の治療的有効量を投与することを含む、神経変性疾患を有する患者を治療する方法も開示している。一部の態様において、神経変性疾患は、アルツハイマー病、パーキンソン病、多発性硬化症または筋萎縮性側索硬化症である。一部の態様において、この化合物は、光学的に純粋である。例えば一部の態様において、化合物は、大部分は(+)エナンチオマーである。別の態様において、化合物は、大部分は(-)エナンチオマーである。別の態様において、化合物は、ラセミ混合物である。ある態様において、化合物は、水溶液と共に投与される。一部の態様において、治療的有効量は、0.1~1000mg/kgである。更なる態様において、追加物質が、該患者へ投与される。

【0025】

本発明は、先にまたは本明細書を通じ説明されたもののような、本発明の化合物の治療的有効量を投与することを含む、酸化窒素またはプロスタグランジンの過剰生成が関与する病因を有する患者を治療する方法も開示している。一部の態様において、この化合物は、光学的に純粋である。例えば一部の態様において、化合物は、大部分は(+)エナンチオマーである。別の態様において、化合物は、大部分は(-)エナンチオマーである。別の態様において、化合物は、ラセミ混合物である。ある態様において、化合物は、水溶液と共に投与される。一部の態様において、治療的有効量は、0.1~1000mg/kgである。更なる態様において、追加物質が、該患者へ投与される。ある態様において、プロスタグランジンは、炎症性プロスタグランジンである。

【0026】

本発明は、先にまたは本明細書を通じ説明されたもののような、本発明の化合物の治療的有効量を投与することを含む、iNOSまたはCOX-2遺伝子の過剰発現により特徴付けられる障害を有する患者を治療する方法も開示している。一部の態様において、この化合物は、光学的に純粋である。例えば一部の態様において、化合物は、大部分は(+)エナンチオマーである。別の態様において、化合物は、大部分は(-)エナンチオマーである。別の態様において、化合物は、ラセミ混合物である。ある態様において、化合物は、水溶液と共に投与される。一部の態様において、治療的有効量は、0.1~1000mg/kgである。更なる態様において、追加物質が、該患者へ投与される。

【0027】

本発明は、先にまたは本明細書を通じ説明されたもののような、本発明の化合物の治療的有効量を投与することを含む、患者においてiNOSまたはCOX-2遺伝子の転写または翻訳を変調する方法も開示している。一部の態様において、この化合物は、光学的に純粋である。例えば一部の態様において、化合物は、大部分は(+)エナンチオマーである。別の態様において、化合物は、大部分は(-)エナンチオマーである。別の態様において、化合物は、ラセミ混合物である。ある態様において、化合物は、水溶液と共に投与される。一部の態様において、治療的有効量は、0.1~1000mg/kgである。更なる態様において、追加物質が、該患者へ投与される。

【0028】

本発明は、先にまたは本明細書を通じ説明されたもののような、本発明の化合物の治療的有効量を投与することを含む、患者において過剰な酸化窒素またはプロスタグランジン形成を変調する方法も開示している。一部の態様において、この化合物は、光学的に純粋である。例えば一部の態様において、化合物は、大部分は(+)エナンチオマーである。別の態様において、化合物は、大部分は(-)エナンチオマーである。別の態様において、化合物は、ラセミ混合物である。ある態様において、化合物は、水溶液と共に投与される。一部の態様において、治療的有効量は、0.1~1000mg/kgである。更なる態様において、追加物質が、該患者へ投与される。ある態様において、炎症性プロスタグランジンの形成は、変調されてよい。

【0029】

本発明は、ランチオニン、ランチオニンケチミン(LK)、LK誘導体、チオモルホリンジカルボン酸(TMDCA)、またはTMDCA誘導体の薬理学的に有効な量を、対象へ投与することを含む、脳卒中を有するリスクのある対象を治療する方法も提供する。ある態様において、対象はヒト患者である。

【0030】

本発明は、ランチオニン、ランチオニンケチミン(LK)、LK誘導体、チオモルホリンジカルボン酸(TMDCA)、またはTMDCA誘導体の薬理学的に有効な量を、対象へ投与することを含む、脳卒中の対象を治療する方法も提供する。ある態様において、対象はヒト患者である。ある態様において、本発明は、脳卒中、および脳卒中事象または他の脳への血流の停止(例えば心不全症例)後の脳卒中-関連の合併症の治療を提供する。

【0031】

本発明は、ランチオニン、ランチオニンケチミン(LK)、LK誘導体、チオモルホリンジカルボン酸(TMDCA)、またはTMDCA誘導体の治療的に有効な量を投与することを含む、癌を有する患者を治療する方法も提供する。ある態様において、癌は、脳、肺、肝臓、脾臓、腎臓、リンパ節、小腸、膵臓、血液細胞、骨、結腸、胃、乳房(breast)、子宮内膜、前立腺、精巣、卵巣、中枢神経系、皮膚、頭頸部、食道、または骨髄の癌である。

【0032】

用語「阻害する」、「軽減する」もしくは「予防する」またはこれらの用語の任意の変形は、特許請求の範囲および/または本明細書において使用される場合、所望の結果を実現するための、何らかの測定可能な減少または完全な阻害を含む。

【0033】

本明細書および/または特許請求の範囲において使用される用語「有効」とは、所望の

10

20

30

40

50

結果、予想された結果または意図された結果を達成するために適切であることを意味する。

【0034】

語句「ある(a, an)」の使用は、特許請求の範囲および/または本明細書において用語「含む(comprising)」と組合せて使用される場合、「1つ」を意味するが、これは「1つまたは複数」、「少なくとも1つ」および「1つまたは複数」の意味とも一致する。

【0035】

本明細書において考察された任意の態様は、本発明のいずれかの方法または組成物に関して実行することができること、またはその逆も当てはまることが企図されている。更に本発明の組成物は、本発明の方法を実現するために使用することができる。

10

【0036】

本明細書を通じ、用語「約」とは、その値が、その値を決定するために使用される装置、方法に関する誤差の固有の変動、または試験対象間に存在する変動を含むことを示すように使用される。

【0037】

特許請求の範囲における用語「または」の使用は、代替のみを意味するか、または代替が互いに排他的であることを特に明確に記さない限りは、「および/または」を意味するように使用されるが、この説明は、代替および「および/または」のみを意味する定義を裏付けている。

【0038】

20

本明細書および/または特許請求の範囲において使用される用語「含んでいる(comprising)」(ならびに「を含む」および「らを含む」などの含んでいるの任意の形)、「有している(having)」(ならびに「らを有する」および「を有する」などの有しているの任意の形)、「含有している(including)」(ならびに「を含有する」および「らを含有する」などの含有しているの任意の形)、または「包含している(containing)」(ならびに「を包含する」および「らを包含する」などの含有しているの任意の形)は、内包的または非制限的であり、追加の引用されない要素または方法工程を排除するものではない。

【0039】

本発明のその他の目的、特徴および利点は、以下の詳細な説明から明らかになるであろう。しかし詳細な説明および具体的実施例は、本発明の具体的態様を示しているが、本発明の精神および範囲内での様々な変更および修飾はこの詳細な説明から当業者には明らかになるので、これらは単なる例証として示されていることは、理解されるべきである。

30

【0040】

例証的態様の説明

I. 本発明

本発明は、新規ランチオニンケチミン誘導体、更にはそのような化合物の調製法を提供することにより、先行技術の制限を克服するものである。本発明は同じく、筋萎縮性側索硬化症のような中枢神経系を冒す疾患を含む、疾患の治療および/または予防のために、ランチオニン、ランチオニンケチミン(LK)、LK誘導体、チオモルホリンジカルボン酸(TMDCA)、TMDCA誘導体、および/またはこれらの化合物のビルベートのような他の化合物との組合せを使用する方法に関する。例えば本発明は、抗酸化活性、抗神経炎症活性、および神経保護活性を有する化合物および方法を提供する。血液-脳関門(BBB)のような細胞膜を通過するかおよび/またはこれを通り輸送される能力を有する化合物も提供する。更に本発明は、抗増殖作用を示し、従って癌の治療に有用である化合物を提供する。

40

【0041】

本発明の実践は、特に記さない限りは、当該技術分野の技術内である、細胞生物学、細胞培養、分子生物学、微生物学、組換えDNA、医薬、薬学および免疫学の通常の技術を使用する。そのような技術は、文献に十分に説明されている。例えば、Sambrookら、1989；Ausubelら、1994；Glover、1985；Gait、1984；米国特許第4,683,195号；HamesおよびHiggins、1985；MayerおよびWalker、1988；WeirおよびBlackwell、1986を参照のこと。

50

【 0 0 4 2 】

II. 定義

用語「阻害する」、「軽減する」もしくは「予防」またはこれらの用語の任意の変形は、特許請求の範囲および/または本明細書において使用される場合、所望の結果を実現するための、何らかの測定可能な減少または完全な阻害を含む。

【 0 0 4 3 】

本明細書および/または特許請求の範囲において使用される用語「有効」とは、所望の結果、予想された結果または意図された結果を達成するために適切であることを意味する。

【 0 0 4 4 】

語句「ある(a, an)」の使用は、特許請求の範囲および/または本明細書において用語「含む(comprising)」と組合せて使用される場合、「1つ」を意味するが、これは「1つまたは複数」、「少なくとも1つ」および「1つまたは複数」の意味とも一致する。

【 0 0 4 5 】

本明細書において考察された任意の態様は、本発明のいずれかの方法または組成物に関して実行することができること、またはその逆も当てはまることが企図されている。更に本発明の組成物は、本発明の方法を実現するために使用することができる。

【 0 0 4 6 】

本明細書を通じ、用語「約」は、その値が、その値を決定するために使用される装置、方法に関する誤差の固有の変動、または試験対象間に存在する変動を含むことを示すように使用される。

【 0 0 4 7 】

特許請求の範囲における用語「または」の使用は、代替のみを意味するか、または代替が互いに排他的であることを特に明確に記さない限りは、「および/または」を意味するように使用されるが、この説明は、代替および「および/または」のみを意味する定義を裏付けている。

【 0 0 4 8 】

本明細書および/または特許請求の範囲において使用される用語「含んでいる(comprising)」(ならびに「を含む」および「らを含む」などの含んでいるの任意の形)、「有している(having)」(ならびに「らを有する」および「を有する」などの有しているの任意の形)、「含有している(including)」(ならびに「を含有する」および「らを含有する」などの含有しているの任意の形)、または「包含している(containing)」(ならびに「を包含する」および「らを包含する」などの含有しているの任意の形)は、内包的または非制限的であり、追加の引用されない要素または方法工程を排除するものではない。

【 0 0 4 9 】

本明細書において使用される用語「アミノ」は、 -NH_2 を意味し；用語「ニトロ」は、 -NO_2 を意味し；用語「ハロ」は、 -F 、 -Cl 、 -Br または -I を意味し；用語「メルカプト」は、 -SH を意味し；用語「シアノ」は、 -CN を意味し；用語「シリル」は、 -SiH_3 を意味し、および用語「ヒドロキシ」は、 -OH を意味する。

【 0 0 5 0 】

用語「ヘテロ原子-置換の」は、有機ラジカル種(例えばアルキル、アリール、アシルなど)を修飾するために使用される場合、1つまたは複数のそのラジカルの水素原子が、ヘテロ原子、またはヘテロ原子含有基により置換されていることを意味する。ヘテロ原子およびヘテロ原子含有基の例は、ヒドロキシ、シアノ、アルコキシ、 $=\text{O}$ 、 $=\text{S}$ 、 -NO_2 、 $\text{-N}(\text{CH}_3)_2$ 、アミノ、または -SH を含む。具体的なヘテロ原子-置換の有機ラジカルは、以下により完全に定義される。

【 0 0 5 1 】

用語「ヘテロ原子-非置換の」は、有機ラジカル種(例えばアルキル、アリール、アシルなど)を修飾するために使用される場合、そのラジカルの水素原子が、ヘテロ原子、またはヘテロ原子含有基により置換されないことを意味する。水素原子の炭素原子、または炭

10

20

30

40

50

素および水素原子のみを含む基による置換は、ヘテロ原子-置換の基を作製するには不十分である。例えば基- $C_6H_4C-CH_3$ は、ヘテロ原子-非置換のアリール基の例であるのに対し、 $-C_6H_4F$ は、ヘテロ原子-置換のアリール基の例である。具体的なヘテロ原子-非置換の有機ラジカルは、以下により完全に定義されている。

【 0 0 5 2 】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アルキル」は、線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、更に炭素-炭素二重結合または三重結合は有さず、更に全部でその全てが非芳香族である n 個の炭素原子、3個以上の水素原子を有し、およびヘテロ原子を有さない、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-非置換の C_1 - C_{10} -アルキルは、1～10個の炭素原子を有する。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、アルキルヘテロ原子-置換のシクロアルキル基、およびシクロアルキルヘテロ原子-置換のアルキル基を含む。基- CH_3 、 $-CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH(CH_3)_2$ 、 $-CH(CH_2)_2$ 、 $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-C(CH_3)_3$ 、 $-CH_2C(CH_3)_3$ 、シクロペンチルおよびシクロヘキシルは全て、ヘテロ原子-非置換のアルキル基の例である。

【 0 0 5 3 】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アルキル」は、結合点として単独の飽和された炭素原子を有し、炭素-炭素二重結合または三重結合は有さず、線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、更にその全てが非芳香族である全部で n 個の炭素原子、0、1個またはそれよりも多い水素原子、少なくとも1個のヘテロ原子を有し、ここで各ヘテロ原子は、N、O、F、Cl、Br、I、Si、P、およびSからなる群より独立して選択される、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-置換の C_1 - C_{10} -アルキルは、1～10個の炭素原子を有する。下記の基は全て、ヘテロ原子-置換のアルキル基の例である：トリフルオロメチル

$-CH_2F$,

$-CH_2Cl$, $-CH_2Br$, $-CH_2OH$, $-CH_2OCH_3$, $-CH_2OCH_2CH_3$, $-CH_2OCH_2CH_2CH_3$,

$-CH_2OCH(CH_3)_2$, $-CH_2OCH(CH_2)_2$, $-CH_2OCH_2CF_3$, $-CH_2OCOCH_3$, $-CH_2NH_2$,

$-CH_2NHCH_3$, $-CH_2N(CH_3)_2$, $-CH_2NHCH_2CH_3$, $-CH_2N(CH_3)CH_2CH_3$,

$-CH_2NHCH_2CH_2CH_3$, $-CH_2NHCH(CH_3)_2$, $-CH_2NHCH(CH_2)_2$, $-CH_2N(CH_2CH_3)_2$,

$-CH_2CH_2F$, $-CH_2CH_2Cl$, $-CH_2CH_2Br$, $-CH_2CH_2I$, $-CH_2CH_2OH$, $-CH_2CH_2OCOCH_3$,

$-CH_2CH_2NH_2$, $-CH_2CH_2N(CH_3)_2$, $-CH_2CH_2NHCH_2CH_3$, $-CH_2CH_2N(CH_3)CH_2CH_3$,

$-CH_2CH_2NHCH_2CH_2CH_3$, $-CH_2CH_2NHCH(CH_3)_2$, $-CH_2CH_2NHCH(CH_2)_2$,

$-CH_2CH_2N(CH_2CH_3)_2$, $-CH_2CH_2NHCO_2C(CH_3)_3$, および $-CH_2Si(CH_3)_3$ 。

【 0 0 5 4 】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アルケニル」は、線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、更に少なくとも1個の非芳香族炭素-炭素二重結合を有するが、炭素-炭素三重結合は有さない、全部で n 個の炭素原子、3個またはそれよりも多い水素原子を有し、およびヘテロ原子を有さない、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-非置換の C_2 - C_{10} -アルケニルは、2～10個の炭素原子を有する。ヘテロ原子-非置換のアルケニル基は、以下を含む： $-CH=CH_2$ 、 $-CH=CHCH_3$ 、 $-CH=CHCH_2CH_3$ 、 $-CH=CHCH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $-CH=CHCH(CH_2)_2$ 、 $-CH_2CH=CH_2$ 、 $-CH_2CH=CHCH_3$ 、 $-CH_2CH=CHCH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH=CHCH_2CH_2CH_3$ 、 $-CH_2CH=CHCH(CH_3)_2$ 、 $-CH_2CH=CHCH(CH_2)_2$ 、および $-CH=CH-C_6H_5$ 。

【 0 0 5 5 】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アルケニル」は、結合点として単独の非芳香族炭素原子、および少なくとも1個の非芳香族炭素-炭素二重結合を有するが、炭素-炭素三重結合は有さず、更に線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、更に全部で n 個の炭素原子、0、1または1個よりも多い水素原子、および少なくとも1個のヘテロ原子を有し、ここで各ヘテロ原子は、N、O、F、Cl、Br、I、Si、P、およびSからなる群より独立して選択さ

れる、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-置換の C_2-C_{10} -アルケニルは、2～10個の炭素原子を有する。基- $CH=CHF$ 、 $-CH=CHCl$ および $-CH=CHBr$ は、ヘテロ原子-置換のアルケニル基の例である。

【0056】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アルキニル」は、線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、更に少なくとも1個の炭素-炭素三重結合、全部で n 個の炭素原子、少なくとも1個の水素原子を有し、およびヘテロ原子を有さない、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-非置換の C_2-C_{10} -アルキニルは、2～10個の炭素原子を有する。基- $C \equiv CH$ 、 $-C \equiv CCH_3$ 、および $-C \equiv CC_6H_5$ は、ヘテロ原子-非置換のアルキニル基の例である。

【0057】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アルキニル」は、結合点に単独の非芳香族炭素原子および少なくとも1個の炭素-炭素三重結合を有し、更に線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、および全部で n 個の炭素原子、0、1またはそれより多い水素原子、および少なくとも1個のヘテロ原子を有し、ここで各ヘテロ原子は、N、O、F、Cl、Br、I、Si、P、およびSからなる群より独立して選択される、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-置換の C_2-C_{10} -アルキニルは、2～10個の炭素原子を有する。基- $C \equiv CSi(CH_3)_3$ は、ヘテロ原子-置換のアルキニル基の例である。

【0058】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アリール」は、結合点に単独の炭素原子を有し、ここで炭素原子は、炭素原子のみを含む芳香環構造の一部であり、更に全部で n 個の炭素原子、5個またはそれよりも多い水素原子を有し、かつヘテロ原子を有さない、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-非置換の C_6-C_{10} -アリールは、6～10個の炭素原子を有する。ヘテロ原子-非置換のアリール基の例は、フェニル、メチルフェニル、(ジメチル)フェニル、 $-C_6H_4CH_2CH_3$ 、 $-C_6H_4CH_2CH_2CH_3$ 、 $-C_6H_4CH(CH_3)_2$ 、 $-C_6H_4CH(CH_2)_2$ 、 $-C_6H_3(CH_3)CH_2CH_3$ 、 $-C_6H_4CH=CH_2$ 、 $-C_6H_4CH=CHCH_3$ 、 $-C_6H_4C \equiv CH$ 、 $-C_6H_4C \equiv CCH_3$ 、ナフチル、キノリル、インドリル、およびビフェニル由来のラジカルである。用語「ヘテロ原子-非置換のアリール」は、炭素環式アリール基、ピアリール基、および縮合多環炭化水素(PAH)由来のラジカルを含む。

【0059】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アリール」は、結合点に単独の芳香族炭素原子または単独の芳香族ヘテロ原子のいずれかを有し、更に全部で n 個の炭素原子、少なくとも1個の水素原子、および少なくとも1個のヘテロ原子を有し、更にここで各ヘテロ原子は、N、O、F、Cl、Br、I、Si、P、およびSからなる群より独立して選択される、ラジカルを意味する。例えば、ヘテロ原子-非置換の C_1-C_{10} -ヘテロアリール基は、1～10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-置換のアリール」は、ヘテロアリールおよび複素環式アリール基を含む。これは、以下の化合物に由来したような基も含む：ピロール、フラン、チオフェン、イミダゾール、オキサゾール、イソキサゾール、チアゾール、イソチアゾール、トリアゾール、ピラゾール、ピリジン、ピラジン、ピリダジン、ピリミジンなど。ヘテロ原子-置換のアリール基の更なる例は、以下の基を含む：

$-C_6H_4F$ 、 $-C_6H_4Cl$ 、 $-C_6H_4Br$ 、

$-C_6H_4I$ 、 $-C_6H_4OH$ 、 $-C_6H_4OCH_3$ 、 $-C_6H_4OCH_2CH_3$ 、 $-C_6H_4OCOCH_3$ 、 $-C_6H_4OC_6H_5$ 、

$-C_6H_4NH_2$ 、 $-C_6H_4NHCH_3$ 、 $-C_6H_4NHCH_2CH_3$ 、 $-C_6H_4CH_2Cl$ 、 $-C_6H_4CH_2Br$ 、

$-C_6H_4CH_2OH$ 、 $-C_6H_4CH_2OCOCH_3$ 、 $-C_6H_4CH_2NH_2$ 、 $-C_6H_4N(CH_3)_2$ 、

$-C_6H_4CH_2CH_2Cl$ 、 $-C_6H_4CH_2CH_2OH$ 、 $-C_6H_4CH_2CH_2OCOCH_3$ 、 $-C_6H_4CH_2CH_2NH_2$ 、

$-C_6H_4CH_2CH=CH_2$ 、 $-C_6H_4CF_3$ 、 $-C_6H_4CN$ 、 $-C_6H_4C \equiv CSi(CH_3)_3$ 、 $-C_6H_4COH$ 、

$-C_6H_4COCH_3$ 、 $-C_6H_4COCH_2CH_3$ 、 $-C_6H_4COCH_2CF_3$ 、 $-C_6H_4COC_6H_5$ 、 $-C_6H_4CO_2H$ 、

$-C_6H_4CO_2CH_3$ 、 $-C_6H_4CONH_2$ 、 $-C_6H_4CONHCH_3$ 、 $-C_6H_4CON(CH_3)_2$ 、

10

20

30

40

50

フラニル、チエニル、ピリジル、ピロリル、ピリミジル、ピラジニル、およびイミダゾイル。

【0060】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アラルキル」は、結合点に単独の飽和された炭素原子を有し、更に炭素原子の少なくとも6個は炭素原子のみを含む芳香環構造を形成する、全部で n 個の炭素原子、7個またはそれよりも多い水素原子を有し、ヘテロ原子は有さない、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-非置換の C_7 - C_{10} -アラルキルは、7～10個の炭素原子を有する。「アラルキル」は、アリール基でヘテロ原子-置換のアラルキルを含む。ヘテロ原子-非置換のアラルキルの例は、フェニルメチル(ベンジル)およびフェニルエチルを含む。

10

【0061】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アラルキル」は、結合点に単独の飽和された炭素原子を有し、全部で n 個の炭素原子、0、1または1個よりも多い水素原子、および少なくとも1個のヘテロ原子を有し、ここで炭素原子の少なくとも1個は、芳香環構造に組み込まれ、更にここで各ヘテロ原子は、N、O、F、Cl、Br、I、Si、P、およびSからなる群より独立して選択される、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-置換の C_2 - C_{10} -ヘテロアラルキルは、2～10個の炭素原子を有する。

【0062】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アシル」は、結合点にカルボニル基の単独の炭素原子を有し、更に線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、更に全部で n 個の炭素原子、1個またはそれよりも多い水素原子、全部で1個の酸素原子を有し、追加のヘテロ原子を有さない、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-非置換の C_1 - C_{10} -アシルは、1～10個の炭素原子を有する。基- COH 、 $-COCH_3$ 、 $-COCH_2CH_3$ 、 $-COCH_2CH_2CH_3$ 、 $-COCH(CH_3)_2$ 、 $-COC(H)(CH_2)_2$ 、 $-COC_6H_5$ 、 $-COC_6H_4CH_3$ 、 $-COC_6H_4CH_2CH_3$ 、 $-COC_6H_4CH_2CH_2CH_3$ 、 $-COC_6H_4CH(CH_3)_2$ 、 $-COC_6H_4CH(CH_2)_2$ 、および $-COC_6H_3(CH_3)_2$ は、ヘテロ原子-非置換のアシル基の例である。

20

【0063】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アシル」は、結合点として単独の炭素原子を有し、炭素原子がカルボニル基の一部であり、更に線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、更に全部で n 個の炭素原子、0、1または1個よりも多い水素原子、カルボニル基の酸素に加え少なくとも1個の追加のヘテロ原子を有し、ここで各追加のヘテロ原子は、N、O、F、Cl、Br、I、Si、P、およびSからなる群より独立して選択される、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-置換の C_1 - C_{10} -アシルは、1～10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-置換のアシル」は、カルバモイル、チオカルボキシラート、チオカルボン酸基を含む。基- $COCH_2CF_3$ 、 $-CO_2H$ 、 $-CO_2CH_3$ 、 $-CO_2CH_2CH_3$ 、 $-CO_2CH_2CH_2CH_3$ 、 $-CO_2CH(CH_3)_2$ 、 $-CO_2CH(CH_2)_2$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONHCH_3$ 、 $-CONHCH_2CH_3$ 、 $-CONHCH_2CH_2CH_3$ 、 $-CONHCH(CH_3)_2$ 、 $-CONHCH(CH_2)_2$ 、 $-CON(CH_3)_2$ 、 $-CON(CH_2CH_3)CH_3$ 、 $-CON(CH_2CH_3)_2$ および $-CONHCH_2CF_3$ は、ヘテロ原子-置換のアシル基の例である。

30

【0064】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アルコキシ」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換の C_n -アルキルである、構造-ORを有する基を意味する。ヘテロ原子-非置換のアルコキシ基は、 $-OCH_3$ 、 $-OCH_2CH_3$ 、 $-OCH_2CH_2CH_3$ 、 $-OCH(CH_3)_2$ 、および $-OC(H)(CH_2)_2$ を含む。

40

【0065】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アルコキシ」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-置換の C_n -アルキルである、構造-ORを有する基を意味する。例えば、 $-OC(H)_2CF_3$ は、ヘテロ原子-置換のアルコキシ基である。

【0066】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アルケニルオキシ」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換の C_n -アルケニルである、構造-ORを有する基を意味する。

50

【 0 0 6 7 】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アルケニルオキシ」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-置換の C_n -アルケニルである、構造-ORを有する基を意味する。

【 0 0 6 8 】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アルキニルオキシ」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換の C_n -アルキニルである、構造-ORを有する基を意味する。

【 0 0 6 9 】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アルキニルオキシ」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-置換の C_n -アルキニルである、構造-ORを有する基を意味する。

10

【 0 0 7 0 】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アリールオキシ」は、Arが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換の C_n -アリールである、構造-OArを有する基を意味する。ヘテロ原子-非置換のアリールオキシ基の例は、 $-OC_6H_5$ である。

【 0 0 7 1 】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アリールオキシ」は、Arが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-置換の C_n -アリールである、構造-OArを有する基を意味する。

【 0 0 7 2 】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アラルキルオキシ」は、Arが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換の C_n -アラルキルである、構造-OArを有する基を意味する。

20

【 0 0 7 3 】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アラルキルオキシ」は、Arが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-置換の C_n -アラルキルである、構造-OArを有する基を意味する。

【 0 0 7 4 】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アシルオキシ」は、Acが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換の C_n -アシルである、構造-OAcを有する基を意味する。ヘテロ原子-非置換のアシルオキシ基は、アルキルカルボニルオキシ基およびアリールカルボニルオキシ基を含む。例えば $-OCOCH_3$ は、ヘテロ原子-非置換のアシルオキシ基の例である。

【 0 0 7 5 】

30

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アシルオキシ」は、Acが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-置換の C_n -アシルである、構造-OAcを有する基を意味する。ヘテロ原子-置換のアシルオキシ基は、アルコキシカルボニルオキシ基、アリールオキシカルボニルオキシ基、カルボキシラート基、アルキルカルボニル基、アルコキシカルボニル基、アミノカルボニル基、およびアルキルチオカルボニル基を含む。

【 0 0 7 6 】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アルキルアミノ」は、結合点として単独の窒素原子を有し、更にこの窒素原子に結合した1または2個の飽和された炭素原子を有し、更に線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、その全ては非芳香族である全部でn個の炭素原子、4個またはそれよりも多い水素原子、全部で1個の窒素原子を含み、および追加のヘテロ原子は含まない、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-非置換の C_1 - C_{10} -アルキルアミノは、1~10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アルキルアミノ」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換の C_n -アルキルである、構造-NHRを有する基を含む。ヘテロ原子-非置換のアルキルアミノ基は、 $-NHCH_3$ 、 $-NHCH_2CH_2CH_3$ 、 $-NHCH(CH_3)_2$ 、 $-NHCH(CH_2)_2$ 、 $-NHCH_2CH_2CH_2CH_3$ 、 $-NHCH(CH_3)CH_2CH_3$ 、 $-NHCH_2CH(CH_3)_2$ 、 $-NHC(CH_3)_3$ 、 $-N(CH_3)_2$ 、 $-N(CH_3)CH_2CH_3$ 、 $-N(CH_2CH_3)_2$ 、N-ピロリジニル、およびN-ピペリジニルを含む。

40

【 0 0 7 7 】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アルキルアミノ」は、結合点として単独の窒素原子を有し、更にこの窒素原子に結合された1または2個の飽和された炭素原子を有し、炭素-炭素二

50

重結合または三重結合を有さず、更に線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、更にその全ては非芳香族である、全部で n 個の炭素原子、0、1または1個よりも多い水素原子、および追加の、すなわち結合点での窒素原子に加え、少なくとも1個のヘテロ原子を含み、ここで各追加のヘテロ原子は、N、O、F、Cl、Br、I、Si、P、およびSからなる群より独立して選択される、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-置換の C_1-C_{10} -アルキルアミノは、1~10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アルキルアミノ」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-置換の C_n -アルキルである、構造-NHRを有する基を含む。

【0078】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アルケニルアミノ」は、結合点として単独の窒素原子を有し、更にこの窒素原子に結合した1または2個の炭素原子を有し、更に線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、少なくとも1個の非芳香族炭素-炭素二重結合、全部で n 個の炭素原子、4個またはそれよりも多い水素原子、全部で1個の窒素原子を含み、追加のヘテロ原子を含まない、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-非置換の C_2-C_{10} -アルケニルアミノは、2~10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アルケニルアミノ」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換の C_n -アルケニルである、構造-NHRを有する、基を含む。ヘテロ原子-非置換の C_n -アルケニルアミノ基の例は、ジアルケニルアミノ基およびアルキル(アルケニル)アミノ基も含む。

【0079】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アルケニルアミノ」は、結合点として単独の窒素原子および少なくとも1個の非芳香族炭素-炭素二重結合を有するが、炭素-炭素三重結合は有さず、更にこの窒素原子に結合した1または2個の炭素原子を有し、更に線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、更に全部で n 個の炭素原子、0、1または1個よりも多い水素原子、および追加の、すなわち結合点での窒素原子に加え、少なくとも1個のヘテロ原子を含み、ここで各追加のヘテロ原子は、N、O、F、Cl、Br、I、Si、P、およびSからなる群より独立して選択される、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-置換の C_2-C_{10} -アルケニルアミノは、2~10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アルケニルアミノ」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-置換の C_n -アルケニルである、構造-NHRを有する基を含む。

【0080】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アルキニルアミノ」は、結合点として単独の窒素原子を有し、更にこの窒素原子に結合した1または2個の炭素原子を有し、更に線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、少なくとも1個の炭素-炭素三重結合、全部で n 個の炭素原子、少なくとも1個の水素原子、全部で1個の窒素原子を含み、および追加のヘテロ原子は含まない、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-非置換の C_2-C_{10} -アルキニルアミノは、2~10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アルキニルアミノ」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換の C_n -アルキニルである、構造-NHRを有する基を含む。アルキニルアミノ基は、ジアルキニルアミノ基およびアルキル(アルキニル)アミノ基を含む。

【0081】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アルキニルアミノ」は、結合点として単独の窒素原子を有し、更にこの窒素原子に結合した1または2個の炭素原子を有し、更に少なくとも1個の非芳香族炭素-炭素三重結合を有し、更に線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、ならびに更に全部で n 個の炭素原子、0、1または1個よりも多い水素原子、および追加の、すなわち結合点の窒素原子に加え少なくとも1個のヘテロ原子を有し、ここで各追加のヘテロ原子は、N、O、F、Cl、Br、I、Si、P、およびSからなる群より独立して選択される、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-置換の C_2-C_{10} -アルキニルアミノは、2~10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アルキニルアミノ」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-置換の C_n -アルキニルである、構造-NHRを有する基を含む。

【0082】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アリールアミノ」は、結合点として単独の窒素原子を有し、更にこの窒素原子に結合した少なくとも1個の芳香環構造を有し、ここで芳香環構造は、炭素原子のみを含み、更に全部で n 個の炭素原子、6個またはそれよりも多い水素原子、全部で1個の窒素原子を含み、追加のヘテロ原子を含まない、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-非置換の C_6 - C_{10} -アリールアミノは、6～10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アリールアミノ」は、 R が、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換の C_n -アリールである、構造-NHRを有する基を含む。ヘテロ原子-非置換のアリールアミノ基は、ジアリールアミノ基およびアルキル(アリール)アミノ基を含む。

10

【0083】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アリールアミノ」は、結合点として単独の窒素原子を有し、更に全部で n 個の炭素原子、少なくとも1個の水素原子、追加の、すなわち結合点の窒素原子に加え少なくとも1個のヘテロ原子を含み、ここで少なくとも1個の炭素原子は、1個または複数の芳香環構造に組み込まれ、更に各追加のヘテロ原子は、N、O、F、Cl、Br、I、Si、P、およびSからなる群より独立して選択される、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-置換の C_6 - C_{10} -アリールアミノは、6～10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アリールアミノ」は、 R が、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-置換の C_n -アリールである、構造-NHRを有する基を含む。ヘテロ原子-置換のアリールアミノ基は、ヘテロアリールアミノ基を含む。

20

【0084】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アラルキルアミノ」は、結合点として単独の窒素原子を有し、更にこの窒素原子に結合した1または2個の飽和された炭素原子を有し、更に炭素原子の少なくとも6個は炭素原子のみを含む芳香環構造を形成する全部で n 個の炭素原子、8個またはそれよりも多い水素原子、全部で1個の窒素原子を有し、追加のヘテロ原子を有さない、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-非置換の C_7 - C_{10} -アラルキルアミノは、7～10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アラルキルアミノ」は、 R が、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換の C_n -アラルキルである、構造-NHRを有する基を含む。アラルキルアミノ基は、ジアラルキルアミノ基を含む。

【0085】

用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アラルキルアミノ」は、結合点として単独の窒素原子を有し、更に窒素原子に結合した少なくとも1または2個の飽和された炭素原子を有し、更に全部で n 個の炭素原子、0、1、または1個よりも多い水素原子、追加の、すなわち結合点の窒素原子に加え少なくとも1個のヘテロ原子を含み、ここで炭素原子の少なくとも1個は、芳香環に組み込まれ、更にここで各ヘテロ原子は、N、O、F、Cl、Br、I、Si、P、およびSからなる群より独立して選択される、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-置換の C_7 - C_{10} -アラルキルアミノは、7～10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-置換の C_n -アラルキルアミノ」は、 R が、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-置換の C_n -アラルキルである、構造-NHRを有する基を含む。用語「ヘテロ原子-置換のアラルキルアミノ」は、用語「ヘテロアラルキルアミノ」を含む。

30

40

【0086】

用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アミド」は、結合点として単独の窒素原子を有し、更に窒素原子へその炭素原子を介して結合したカルボニル基を有し、更に線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、更に全部で n 個の炭素原子、1個またはそれよりも多い水素原子、全部で1個の酸素原子、全部で1個の窒素原子を有し、追加のヘテロ原子を有さない、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-非置換の C_1 - C_{10} -アミドは、1～10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-非置換の C_n -アミド」は、 R が、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換の C_n -アシルである、構造-NHRを有する基を含む。用語「アミド」は、N-アルキル-アミド基、N-アリール-アミド基、N-アラルキル-アミド基、アシルアミノ基、アルキルカルボニルアミノ基、アリールカルボニルアミノ基、およびウ

50

レイド基を含む。基-NHCOCH₃は、ヘテロ原子-非置換のアミド基の例である。

【0087】

用語「ヘテロ原子-置換のC_n-アミド」は、結合点として単独の窒素原子を有し、更に窒素原子へその炭素原子を介して結合したカルボニル基を有し、更に線状または分枝した、環式または非環式構造を有し、更に全部でn個の芳香族もしくは非芳香族炭素原子、0、1個または1個よりも多い水素原子、カルボニル基の酸素に加え少なくとも1個の追加のヘテロ原子を含み、ここで各追加のヘテロ原子は、N、O、F、Cl、Br、I、Si、P、およびSからなる群より独立して選択される、ラジカルを意味する。例えばヘテロ原子-置換のC₁-C₁₀-アミドは、1~10個の炭素原子を有する。用語「ヘテロ原子-置換のC_n-アミド」は、Rが、その用語は先に定義されているようなヘテロ原子-非置換のC_n-アシルである、構造-NHRを有する基を含む。基-NHCO₂CH₃は、ヘテロ原子-置換のアミド基の例である。

10

【0088】

本明細書において使用される用語「薬学的に許容される塩」は、生存生物に対し実質的に無毒である、本発明の化合物の塩を意味する。典型的な薬学的に許容される塩は、本発明の化合物上に存在する置換基に応じて、無機酸もしくは有機酸、または有機塩基と、本発明の化合物との反応により調製されたような塩を含む。

【0089】

薬学的に許容される塩を調製するために使用することができる無機酸の例は、塩酸、リン酸、硫酸、臭化水素酸、ヨウ化水素酸、ホスホン酸などを含む。薬学的に許容される塩を調製するために使用することができる有機酸の例は、脂肪族モノ-およびジカルボン酸、例えばシュウ酸、炭酸、クエン酸、コハク酸、フェニル-ヘテロ原子-置換されたアルカン酸、脂肪族および芳香族硫酸などを含む。従って無機酸または有機酸の薬学的に許容される塩は、塩酸塩、臭化水素酸塩、硝酸塩、硫酸塩、ピロ硫酸塩、硫酸水素塩、亜硫酸塩、硫酸水素塩、リン酸塩、一水素リン酸塩、二水素リン酸塩、メタリン酸塩、ピロリン酸塩、ヨウ化水素酸塩、フッ化水素酸塩、酢酸塩、プロピオン酸塩、ギ酸塩、シュウ酸塩、クエン酸塩、乳酸塩、p-トルエンスルホン酸塩、メタンスルホン酸塩、マレイン酸塩などを含む。他の好適な塩は、当業者に公知である。

20

【0090】

好適な薬学的に許容される塩は、本発明の物質の、メチルアミン、エチルアミン、エタノールアミン、リシン、オルニチンなどの有機塩基との反応によっても形成されてよい。他の好適な塩は、当業者に公知である。

30

【0091】

薬学的に許容される塩は、本発明の化合物の一部において認められるカルボキシレート基またはスルホネート基と、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、もしくはカルシウムなどの無機陽イオン、またはイソプロピルアンモニウム、トリメチルアンモニウム、テトラメチルアンモニウム、およびイミダゾリウムなどの有機陽イオンの間で形成された塩を含む。

【0092】

本発明の任意の塩の一部を形成する特定の陰イオンまたは陽イオンは、その塩が総じて薬理学的に許容できる限りは、およびその陰イオンまたは陽イオンが望ましくない品質または作用に寄与しない限りは、重要ではないことは認められなければならない。更に追加の薬学的に許容される塩は、当業者に公知であり、本発明の範囲内で使用されてよい。薬学的に許容される塩ならびにそれらの調製法および使用法の追加の例は、「Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use-A Handbook」、C. G. WermuthおよびP. H. Stahl, Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002に提示されており、これは本明細書に参照として組入れられている。

40

【0093】

本明細書において使用される用語「患者」は、本明細書に説明されたある種の状態が生じ得るような生存生物を含むことが意図されている。例として、ヒト、サル、ウシ、ヒツジ、ヤギ、イヌ、ネコ、マウス、ラットおよびそれらのトランスジェニック種を含む。好

50

ましい態様において、患者は霊長類である。更により好ましい態様において、霊長類はヒトである。対象のその他の例は、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ヤギ、ヒツジ、ブタおよびウシなどの実験動物を含む。実験動物は、障害の動物モデル、例えばアルツハイマー型の神経病理を有するトランスジェニックマウスであることができる。患者は、アルツハイマー病、またはパーキンソン病などの神経変性疾患に罹患しているヒトであることができる。

【0094】

本明細書において使用される用語「 IC_{50} 」は、得られる最大反応の50%である阻害用量を意味する。

【0095】

本明細書において使用される用語「水溶性」は、化合物が水中に、少なくとも0.010モル/リットルの程度溶解するか、または前記文献に従い可溶性と分類されることを意味する。

【0096】

本明細書において使用される「大部分は1つのエナンチオマー」とは、化合物が、1つのエナンチオマーを少なくとも95%、またはより好ましくは1つのエナンチオマーを少なくとも98%、または最も好ましくは1つのエナンチオマーを少なくとも99%含むことを意味する。同様に、語句「他の光学異性体を実質的に含まない」は、組成物が、別のエナンチオマーまたはジアステレオマーを多くとも5%、より好ましくは別のエナンチオマーまたはジアステレオマーを2%、および最も好ましくは別のエナンチオマーまたはジアステレオマーを1%含むことを意味する。

【0097】

本明細書において使用される「ある(a,an)」は、1または複数を意味してよい。特許請求の範囲において本明細書で使用されるように、単語「ある」は、単語「含んでいる」または「有している」と組合せて使用される場合、1つまたは複数を意味することができる。本明細書において使用される「別の」は、少なくとも第二のまたはそれ以上を意味することができる。

【0098】

本明細書において使用される他の略号は、以下である：DMSO、ジメチルスルホキシド；iNOS、誘導型酸化窒素合成酵素；COX-2、シクロオキシゲナーゼ-2；NGF、神経増殖因子；IBMX、イソブチルメチルキサンチン；FBS、ウシ胎仔血清；GPDH、グリセロール3-リン酸デヒドロゲナーゼ；RXR、レチノイドX受容体；TGF- α 、トランスフォーミング増殖因子- α ；IFN- γ 、インターフェロン- γ ；LPS、細菌内毒素リポ多糖；TNF- α 、腫瘍壊死因子- α ；IL-1 β 、インターロイキン-1 β ；GAPDH、グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ；MTT、3-[4,5-ジメチルチアゾール-2-イル]-2,5-ジフェニル臭化テトラゾリウム；TCA、トリクロロ酢酸；HO-1、誘導型ヘムオキシゲナーゼ。

【0099】

III. 合成法

A. ランチオニン

ランチオニンは、最初に、羊毛の炭酸ナトリウムによる処理から単離され(Hornら, 1941)、システインとL-クロロアラニンから最初に合成された(Brownら, 1941)。ランチオニンは、天然に同定されており、ランチオニンは、ヒト毛髪、ラクトアルブミン、および羽毛から単離されている。ランチオニンは、細菌の細胞壁中に認められ、およびランチビオティックと称される遺伝子コードされたペプチド抗生物質の群の構成要素であり、これはナイシン(食品保存剤)、サブチリン、エピデルミン(抗ブドウ球菌および連鎖球菌剤)、およびアンコベニン(酵素阻害剤)を含む(Paulら, 2005；Shaoら, 1995)。

【0100】

本明細書において使用される「ランチオニン」は、分子または塩の立体化学とは無関係に、構造 $HOOC-CH(NH_2)-CH_2-S-CH_2-CH(NH_2)-COOH$ を有する化合物ならびにそれらの塩および水和物を意味する。

【0101】

ランチオニンは、いくつかの異なる方法により合成されてよい。例えばランチオニンは、シスチンからの硫黄駆逐(extrusion)(Harppら, 1971)、セリン-ラク톤の開環(Shaoら, 1995)、およびシステインのデヒドロアラニンへのミカエル(Michael)付加(Probertら, 1996)を介し合成されてよい。ランチオニンの特定の光学異性体、例えばd,d-ランチオニン(d-ランチオニン)、d,l-ランチオニン(meso-ランチオニン)、またはl,l-ランチオニン(l-ランチオニン)は、当該技術分野において周知である生化学合成手段のいずれかの化学により調製されてよい。

【0102】

B. ランチオニンケチミンおよびランチオニンケチミン誘導体

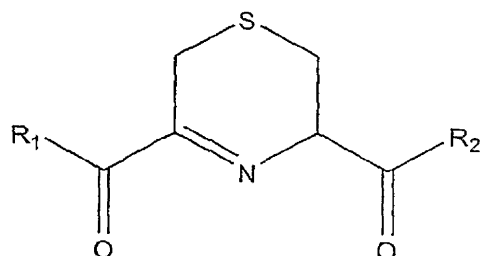
10

前駆体ランチオニンおよび α -ケト酸のピルビン酸からのランチオニンケチミン(LK)の生化学的合成経路は、先のスキーム3に示されている。L-アミノ酸酸化酵素は、線状ランチオニンの環状生成物への同様の転換を促進することができる；しかし脳において、KAT(GTK, CC L)は、主要経路を提供すると考えられる(Fontanaら, 1997; Cavalliniら, 1985; Cavalliniら, 1983; Cavalliniら, 1991; Fontanaら, 1990)。ランチオニンケチミンは、Cavalliniとその同僚により報告されたように、水中での3-プロモピルビン酸のシステインとの自発的反応により、合成することもできる(Cavalliniら, 1983)。

【0103】

本明細書において使用される「LK誘導体」は、下記の構造を有する化合物、ならびにそれらの薬学的に許容される塩、水和物、および光学異性体として定義される：

20



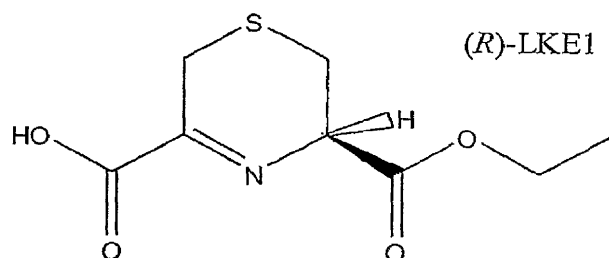
式中、 R_1 および R_2 は、各々独立して、-OH、-NH₂、またはC₁-C₁₅-アルコキシ、C₂-C₁₅-アルケニルアミノ、C₂-C₁₅-アルキニルアミノ、C₁-C₁₅-アリールオキシ、C₂-C₁₅-アラルコキシ、C₁-C₁₅-アシルオキシ、C₁-C₁₅-アルキルアミノ、C₂-C₁₅-アルケニルアミノ、C₂-C₁₅-アルキニルアミノ、C₁-C₁₅-アリールアミノ、C₂-C₁₅-アラルキルアミノ、もしくはC₁-C₁₅-アミドのヘテロ原子置換型もしくは非置換型である。

30

【0104】

下記一般的合成は、LKおよびLK誘導体を生成するために使用されてよい。鏡像異性的に純粋なL-システイン、L-システイン-エステル、またはL-システイン-アミド(または各塩酸塩)の濃縮された水溶液(典型的には>100mM)は、3-プロモ-ピルビン酸または類似の α -ケト酸、エステルもしくはアミドの等モル溶液(好ましくは水性)と混合される。ランチオニン中間体が形成され、自発的に環化し、立体化学が保持されているLKまたはLK誘導体を生じる。LKまたはLK誘導体は、合成有機化学の技術分野の業者に周知の結晶化、抽出、蒸留および関連技術により回収することができる。以下に示されたエチルエステル(R)-LKE1の場合、乳白色の結晶質沈殿が、10分以内に形成される。この沈殿は、濾過により回収され、メタノールから再結晶される。

40



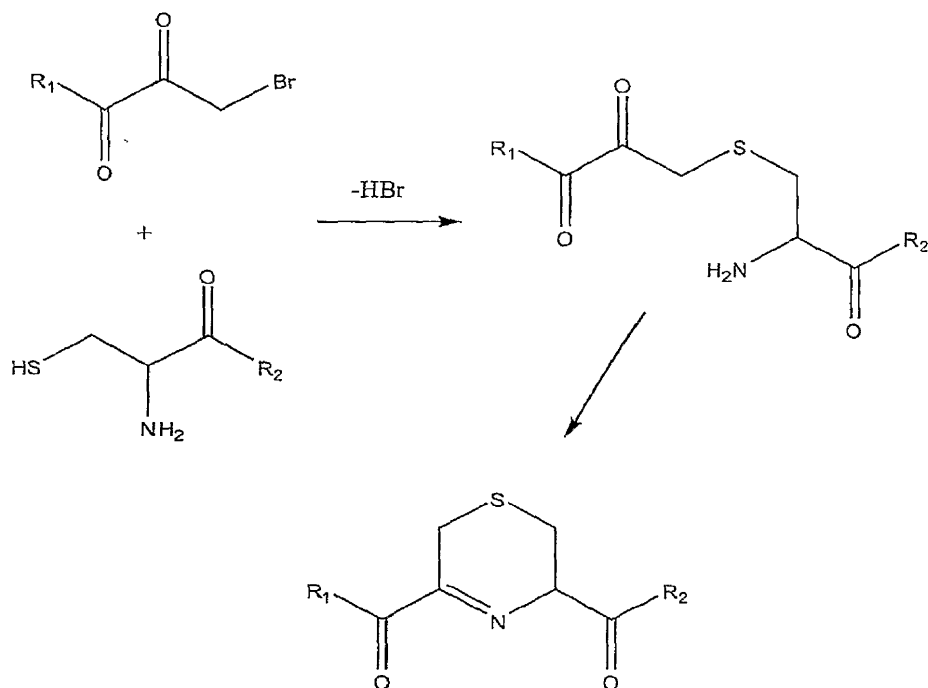
【0105】

50

同様に(S)-LKE1は、D-システイン(生物学的には普通のL-システインよりもむしろ)から出発して生成された。一般にエナンチオ選択合成は、ラセミ体の生成に使用されるものに類似しており：システイン(cysteine)-エステルのラセミ混合物で出発する代わりに、他方のエナンチオマーを実質的に含まない、キラルシステイン(DまたはLのいずれか)で出発する。

【0106】

ある種のLK誘導体のインビトロ合成の一般的方法を、下記スキーム4に示す。
スキーム4



【0107】

当業者は、 R_1 および R_2 のアイデンティティを変更することにより、本発明の他のLK誘導体を合成することができることを理解するであろう。例えば R_1 および R_2 は、各々独立して、アルコキシ、アルケニルアミノ、アルキニルアミノ、アリールオキシ、アラルコキシ、アシルオキシ、アルキルアミノ、アルケニルアミノ、アルキニルアミノ、アリールアミノ、アラルキルアミノ、またはアミド基を含む群から選択されてよい。

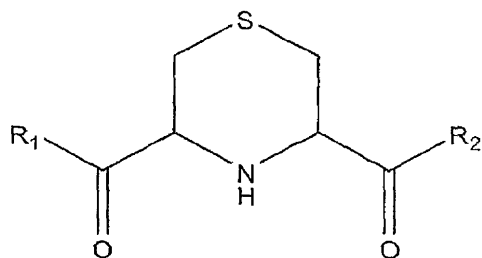
【0108】

C. TMDCAおよびTMDCA誘導体

LKは、更に $N=C$ 結合の還元を受け、以下に示したチオモルホリンジカルボン酸(TMDCA)を生じ(Giulidoriら, 1984; Cavalliniら, 1983); 両参考文献は本明細書に参照として組入れられている。同様に、ひとつはLKのまたはLK誘導体の $C=N$ 結合を、シアノホウ化水素を使用することにより、化学的に還元し、各々TMDCAおよびTMDCA誘導体を形成する。

【0109】

本明細書において使用される「TMDCA誘導体」は、下記の構造を有する化合物、ならびにそれらの薬学的に許容される塩、水和物、および光学異性体として規定される：



式中、 R_1 および R_2 は、各々独立して、 $-OH$ 、 $-NH_2$ 、または C_1 - C_{15} -アルコキシ、 C_2 - C_{15} -ア

ルケニルアミノ、 C_2-C_{15} -アルキニルアミノ、 C_1-C_{15} -アリールオキシ、 C_2-C_{15} -アラルコキシ、 C_1-C_{15} -アシルオキシ、 C_1-C_{15} -アルキルアミノ、 C_2-C_{15} -アルケニルアミノ、 C_2-C_{15} -アルキニルアミノ、 C_1-C_{15} -アリールアミノ、 C_2-C_{15} -アラルキルアミノ、もしくは C_1-C_{15} -アミドのヘテロ原子置換型もしくは非置換型である。

【0110】

TMDCA誘導体は、LK/LK-誘導体として合成され、次にシアノホウ化水素塩、ホウ化水素塩、または他の化学還元剤を用いて還元され、イミン結合をアミンへ転換するであろう。

【0111】

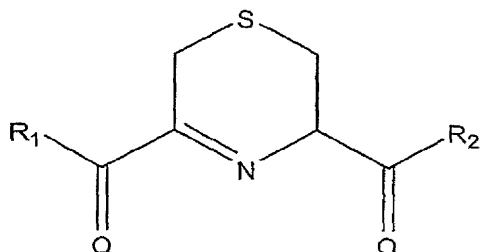
LKアミド誘導体(LKA)は、いくつかの可能性のある方式で合成することができる。例えば、プロモピルビン酸と第1級アミンから、アミドを生成することができる。ある態様において、カルボジイミド触媒を使用し、このカップリング反応を補助する。その後、このアミドを精製し(ある程度の量の副産物が予想されるであろう)；その後、一般的(R)-LKE1合成について説明されたように、このアミド生成物を、L-システインまたはシステイン-エステル誘導体、例えばシステイン-エチル-エステルと反応させるであろう。あるいは、LKまたはLKEを最初に生成し、その後カルボジイミドまたは同様のカップリング触媒を用い、遊離カルボン酸塩を、第1級アミンと反応させる。

【0112】

プロモピルビン酸スキームによる唯一の制限は、システインまたはシステイン誘導体は、-Br基を置換するために、遊離の-SH基を有さなければならないこと、およびこれらはシステイン上に置換されない遊離の-NH₂を保持しなければならないことである。このことは、この中間体が、システイン-NH₂基の、ピルベート由来のケトン基との反応を通じて、環化するために、必要である。従って当業者は、システインのアミド基をカップリング反応前に誘導体化することは非常に困難であるが；これは、カップリング前にシステインのカルボキシル基を誘導体化することよりも易しいことを認めるであろう。例えばある態様において、システインのカルボン酸基は、アミドへ転換される。当業者は、カルボジイミドカップリング前に、システインまたはシステイン誘導体のN-末端-NH₂基を保護することが最初に必要であり、その後カルボジイミドカップリングを行い、次にN-末端基を脱保護し、次に得られるシステインのアミド誘導体を後処理および/または精製することを理解するであろう。

【0113】

本発明の1つの局面は、LKおよび/またはLK誘導体の標的細胞への改善された送達である。改善された送達は、細胞膜を通る改善された送達および/または血液脳関門(BBB)を通る改善された透過性を含む。本発明は、LKエステル(LKE)およびLKアミド(LKA)を形成するためのLKの誘導体化による、改善された送達を達成する。本発明は、下記の構造：



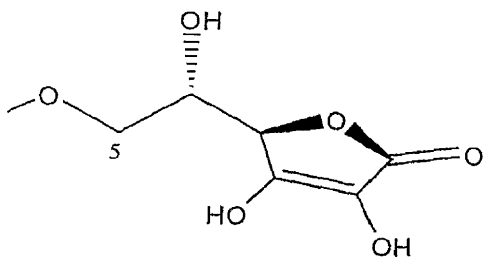
のR₁およびR₂基が、得られた分子のBBBを通る輸送を促進する1種または複数の官能基により置換されることができていることを企図している。これらの態様の一部において、官能基は、BBB-特異的輸送機構と相互作用する。例えば、LKのアスコルビル誘導体は、BBBアスコルビル輸送体を利用すると予想される。同じくLKのある種のアミノ酸エステルまたはアミド誘導体は、BBB輸送酵素により、BBBを超えて容易に輸送されると予想される。ある態様において、R₁および/またはR₂は、セリニル基である。カルボン酸を含む薬物のアスコルビル、ジヒドロアスコルビル、およびアミノ酸エステルを作製する方法は、当該技術分野において周知である。

【0114】

LK誘導体へのアスコルビル、ジヒドロアスコルビル、セリニル、またはグリシニルの共役は、当該技術分野において公知の技法を用い実行されてよい。例えばManfrediniら、2001、およびHuangら、2001を参照することとし；これらの参考文献は両方とも本明細書に参照として組入れられている。

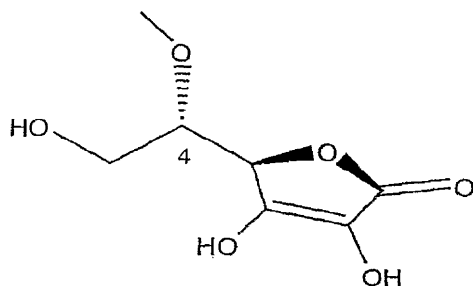
【0115】

ある態様において、本発明は、 R_1 および/または R_2 が、5と表示された炭素原子でのヒドロキシル基を介し結合した、以下に示した、アスコルビル基であることを企図している：



10

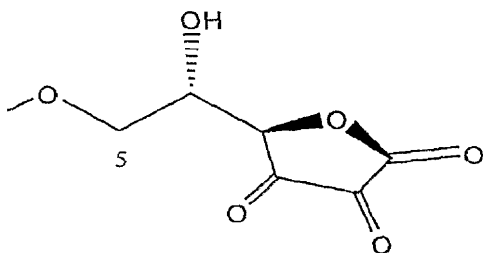
本発明は同じく、 R_1 および/または R_2 が、4と表示された炭素原子でのヒドロキシル基を介し結合した、以下に示した、アスコルビル基であることを企図している：



20

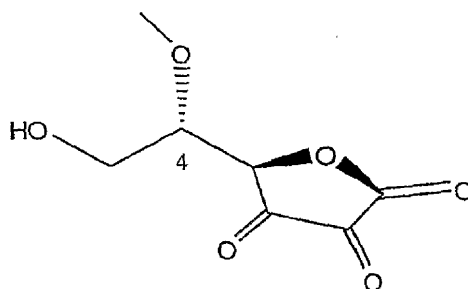
【0116】

ある態様において、本発明は、 R_1 および/または R_2 が、5と表示された炭素原子でのヒドロキシル基を介し結合した、以下に示した、デヒドロアスコルビル基であることを企図している：



30

本発明は、 R_1 および/または R_2 が、4と表示された炭素原子でのヒドロキシル基を介し結合した、以下に示した、デヒドロアスコルビル基であることを企図している：



40

【0117】

IV. 薬学的調製物

本発明の薬学的組成物は、薬学的に許容される担体中に溶解したもしくは分散した、ランチオニン、ランチオニンケチミン(LK)、LK誘導体、チオモルホリンジカルボン酸(TMDCA)、TMDCA誘導体を有効量、および/または追加物質を含有する。語句「薬学的」または「

50

薬理学的に許容できる」は、例えばヒトのような動物へ投与した場合に、有害反応、アレルギー反応または他の望ましくない反応を生じない、分子実体および組成物を意味する。少なくとも1種のランチオニン、LKもしくはLK誘導体または追加の活性成分を含有する薬学的組成物の調製は、本開示を考慮し、本明細書に参照として組入れられている「Remington's Pharmaceutical Sciences」2003に例示されているように、当業者には公知であろう。更に、動物(例えばヒト)投与に関して、調製物は、FDA生物学的製剤基準部門(Office of Biological Standards)により必要とされる無菌性、発熱性、全般的安全性および純度基準に合致しなければならないことは理解されるであろう。

【0118】

本明細書において使用される「薬学的に許容される担体」は、当業者に公知であるように、溶媒、分散媒、コーティング、界面活性剤、抗酸化剤、保存剤(例えば抗菌剤、抗真菌剤)、等張化剤、吸収遅延剤、塩、保存剤、薬物、薬物安定化剤、ゲル、結合剤、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、甘味剤、香味剤、色素、そのような物質およびそれらの組合せのいずれかまたは全てを含む(例えば、「Remington's Pharmaceutical Sciences」995, pp.1289-1329を参照し、これは本明細書に参照として組入れられている。)。常用の担体が活性成分と不適合である場合を除き、薬学的組成物中でのその使用が企図されている。

【0119】

ランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、TMDCA誘導体、および/または追加物質は、それが、固形、液体またはエアロゾル型で投与されるかどうか、およびそれが注射のような投与経路のために滅菌されることが必要であるかどうかに応じて、様々な種類の担体を含有してよい。本発明は、当業者に公知であるように、静脈内、皮内、経皮、髄腔内、動脈内、腹腔内、鼻腔内、腔内、直腸内、外用、筋肉内、皮下、経粘膜、経口、外用、局所的、吸入(例えばエアロゾル吸入)、注射、輸液、連続点滴、局所灌流、標的細胞の直接浸漬、カテーテルを介し、洗浄液を介し、クリーム剤内、脂質組成物(例えばリポソーム)内、または他の方法もしくは前述の任意の組合せにより投与され得る(例えば、「Remington's Pharmaceutical Sciences」2003を参照することとし、これは本明細書に参照として組入れられている。)。

【0120】

ランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、TMDCA誘導体、および/または追加物質は、遊離塩基、中性型または塩型で、組成物へ製剤されてよい。薬学的に許容される塩は、酸付加塩、例えば、タンパク質性組成物の遊離アミノ基により形成されたもの、または例えば塩酸もしくはリン酸などの無機酸または酢酸、シュウ酸、酒石酸もしくはマンデル酸のような有機酸により形成されたものを含む。遊離カルボキシル基により形成された塩は、例えば水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウムもしくは水酸化第二鉄のような無機塩基；または、イソプロピルアミン、トリメチルアミン、ヒスチジンもしくはプロカインのような有機塩基に由来することができる。製剤時に、溶液は、剤形および治療的に有効であるような量と適合性のある様式で投与される。これらの製剤は、注射用液剤、または肺への送達のためのエアロゾルのような非経口投与のために製剤されたようなものか、または薬物放出カプセル剤などのような消化器系(alimentary)投与のために製剤されたもののような様々な剤形で容易に投与されてよい。

【0121】

更に本発明に従い、投与に適している本発明の組成物は、不活性希釈剤を伴うまたは伴わない、薬学的に許容される担体中で提供される。この担体は、同化可能であり、かつ液体担体、半固形担体、すなわちパスタ剤、または固形担体を含む。通常の媒体、物質、希釈剤または担体が、レシピエントに対しまたはそれが含まれた組成物の治療的有効性に対し有害である場合を除き、本発明の方法の実践において使用するために投与可能である組成物におけるその使用は、適している。担体または希釈剤の例は、脂肪、油分、水、生理食塩水、脂質、リポソーム、樹脂、結合剤、充填剤など、またはそれらの組合せを含む。この組成物は、1種または複数の成分の酸化を遅延するために、様々な抗酸化剤も含有してよい。加えて、微生物の作用の防止は、パラベン(例えばメチルパラベン、プロピルパ

10

20

30

40

50

ラベン)、クロロブタノール、フェノール、ソルビン酸、チメロサルまたはそれらの組合せを含むが、これらに限定されるものではない、様々な抗菌剤および抗真菌剤のような保存剤によりもたらすことができる。

【0122】

本発明に従い、この組成物は、いずれか簡便かつ実践的方法で、すなわち、溶液、懸濁、乳化、混合、カプセル封入、吸収などにより、担体と組合せられる。このような手順は、当業者には慣習的である。

【0123】

本発明の具体的態様において、組成物は、半固形または固形の担体と完全に一緒にされるかまたは混合される。この混合は、粉碎のような簡便な様式で実行することができる。安定化剤も、治療の活性の喪失、すなわち胃内での変性から組成物を保護するために、この混合プロセスで添加することができる。本組成物において使用するための安定化剤の例は、緩衝液、グリシンおよびリシンなどのアミノ酸、デキストロース、マンノース、ガラクトース、果糖、乳糖、ショ糖、マルトース、ソルビトール、マンニトールなどの炭水化物を含む。

【0124】

更なる態様において、薬学的組成物は、少量の薬理的に許容できるキレート剤または共-抗酸化剤を含有してもよい。キレート剤の例は、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)およびエチレングリコール-ビス(-アミノエチルエーテル)-N,N,N',N'-四酢酸(EGTA)を含む。抗酸化剤の例は、没食子酸エステル、アスコルビン酸エステル、ビタミンE(または他のトコフェロール)、ブチル化されたヒドロキシトルエン、および/または安息香酸を含む。これらのキレート剤および/または共-抗酸化剤は、ランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、TMDCA誘導体、および/または追加物質を安定化するために使用されてよい。ある態様において、これらのキレート剤および/または抗酸化剤は、ランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、TMDCA誘導体、および/または追加物質を、自動酸化による分解から安定化することができる。

【0125】

更なる態様において、本発明は、ランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、TMDCA誘導体、および/または追加物質、1種または複数の脂質、ならびに水性溶媒を含有する、薬学的脂質賦形剤組成物の使用に関係することができる。本明細書において使用される用語「脂質」は、水中に特徴的に不溶性であり、かつ有機溶媒により抽出可能である広範な物質のいずれかを含むと規定されるであろう。この広範な化合物のクラスは、当業者には周知であり、かつ用語「脂質」が本明細書において使用される場合、いずれか特定の構造に限定されるものではない。例として、長鎖脂肪族炭化水素およびそれらの誘導体を含む化合物である。脂質は、天然または合成(すなわち、ヒトによりデザインまたは生成された)であることができる。しかし脂質は、通常生物学的物質である。生物学的脂質は、当該技術分野において周知であり、かつ例えば中性脂肪、リン脂質、ホスホグリセリド、ステロイド、テルペン、リゾ脂質、グリコスフィンゴリピド、糖脂質、スルファチド、エーテルおよびエステル-連結した脂肪酸を伴う脂質および重合可能な脂質、ならびにそれらの組合せを含む。脂質も、本発明の組成物および方法により包含されるので、当然、これらの具体的に本明細書に説明されたもの以外の化合物が、当業者に理解される。

【0126】

当業者は、組成物を脂質賦形剤内に分散するために使用することができる一連の技術を熟知しているであろう。例えば、ランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、TMDCA誘導体、および/または追加物質は、脂質を含有する溶液中に分散、脂質で溶解、脂質で乳化、脂質と混合、脂質と組合せ、脂質に共有結合、脂質中の懸濁液として含まれるか、またはミセルもしくはリポソームと共に含まれるかもしくは複合化されるか、またはそうではなければ当業者に公知のいずれかの手段により脂質もしくは脂質構造と会合されてよい。この分散液は、リポソームを形成してもしなくてもよい。

【0127】

患畜へ投与される本発明の組成物の実際の用量は、体重、状態の重症度、治療される疾患の種類、過去もしくはその時点の治療的介入、患者の特発性疾患、ならびに投与経路などの生理的および生理学的要因により決定され得る。用量および投与経路に応じて、好ましい用量および/または有効量の投与回数は、対象の反応に従い変動してよい。投与に責任を持つ開業医は、いずれにしても、組成物中の活性成分の濃度および個々の対象に関する適当な投与量を決定するであろう。

【0128】

ある態様において、薬学的組成物は、例えば、活性化合物を少なくとも約0.1%含有してよい。別の態様において、活性化合物は、そのユニットの約2%～約75重量%の間、または約25%～約60重量%の間、例えば、それらから誘導可能な任意の範囲を含んでよい。当然ながら、各治療的に有用な組成物中の活性化合物は、化合物の所定の単位投与量で好適な用量が得られるような方法で調製されてよい。溶解度、生体利用性、生物学的半減期、投与経路、製品の貯蔵寿命、更には他の薬学的検討事項のような要因は、そのような薬学的製剤を調製する当業者により企図され、従って様々な用量および治療様式が望ましい。

10

【0129】

他の非限定的例において、投与量は、1回の投与につき、約1 μ g/kg/体重、約5 μ g/kg/体重、約10 μ g/kg/体重、約50 μ g/kg/体重、約100 μ g/kg/体重、約200 μ g/kg/体重、約350 μ g/kg/体重、約500 μ g/kg/体重、約1mg/kg/体重、約5mg/kg/体重、約10mg/kg/体重、約50mg/kg/体重、約100mg/kg/体重、約200mg/kg/体重、約350mg/kg/体重、約500mg/kg/体重から約1000mg/kg/体重またはそれよりも多く、およびそれらから誘導可能な任意の範囲を含んでよい。本明細書に列記された数値から誘導可能な範囲の非限定的例において、約5mg/kg/体重～約100mg/kg/体重、約5 μ g/kg/体重～約500mg/kg/体重などの範囲を、先に説明された数値を基に、投与することができる。

20

【0130】

A. 消化器系組成物および製剤

本発明のある態様において、ランチオニン、ランチオニンケチミン(LK)、LK誘導体、チオモルホリンジカルボン酸(TMDCA)、TMDCA誘導体、および/または追加物質は、消化器経路を介して投与されるように、製剤される。消化器経路は、組成物が直接消化管と接触する可能性のある投与経路全てを含む。具体的には、本明細書に開示された薬学的組成物は、経口、口腔内、経直腸、または舌下で投与されてよい。従ってこれらの組成物は、不活性希釈剤と共に、もしくは同化可能な可食担体と共に製剤されるか、またはこれらは硬-もしくは軟-シェルゼラチンカプセル剤中に封入されてもよく、またはこれらは錠剤に圧縮されてもよく、またはこれらは食事の食物と直接混入されてもよい。

30

【0131】

ある態様において、活性化合物は、賦形剤と共に混入され、かつ錠剤、バッカル錠、トローチ剤、カプセル剤、エリキシル剤、懸濁剤、シロップ剤、ウェファなど経口摂取可能な形で使用される(Mathiowitzら, 1997; Hwangら, 1998; 米国特許第5,641,515号; 第5,80,579号および第5,792,451号、各々具体的に全体が本明細書に参照として組入れられている。)。錠剤、トローチ剤、丸剤、カプセル剤などは、以下も含有してよい: 例えばトラガcantゴム、アカシアゴム、トウモロコシデンプン、ゼラチンまたはそれらの組合せなどの、結合剤; 例えばリンサンジカルシウム、マンニトール、乳糖、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムまたはそれらの組合せなどの、賦形剤; 例えばトウモロコシデンプン、ジャガイモデンプン、アルギン酸またはそれらの組合せなどの、崩壊剤; 例えばステアリン酸マグネシウムなどの、滑沢剤; 例えばショ糖、乳糖、サッカリンまたはそれらの組合せなどの、甘味剤; 例えばペパーミント、冬緑樹油、チェリー香料、オレンジ香料などの、矯味矯臭剤など。単位剤形がカプセル剤である場合、これは前述の種類の物質に加え、液体担体を含有してよい。様々な他の物質も、コーティングとして、またはそうでなければ単位剤形の物理的形を修飾するために、存在してよい。例えば、錠剤、丸剤、またはカプセル剤は、セラック、糖類

40

50

、または両方でコーティングされてよい。剤形がカプセル剤である場合、これは前述の種類の物質に加え、液体担体のような担体を含有してよい。ゼラチンカプセル剤、錠剤、または丸剤は、腸溶性にコーティングされてよい。腸溶性コーティングは、pHが酸性である胃または上位腸管における組成物の変性を防ぐ。例えば米国特許第5,629,001号を参照のこと。小腸に到達する時点で、その塩基性pHは、コーティングを溶解し、この組成物が放出され、かつ例えば上皮腸細胞およびパイエル板M細胞のような特定の細胞により吸収されることを可能にする。エリキシル剤のシロップは、活性化合物、甘味剤としてショ糖、保存剤としてメチルおよびプロピルパラベン、チェリーまたはオレンジ香料のような色素および矯味矯臭剤を含有してよい。当然単位剤形の調製に使用される任意の物質は、薬学的に純粋であり、かつ使用される量で実質的に無毒でなければならない。加えて活性化化合物は、徐放性調製物および製剤へ混入されてよい。

10

【0132】

経口投与に関して、本発明の組成物は代わりに、含嗽剤、歯磨剤、バッカル錠、経口スプレー、または舌下経口投与製剤の形において、1種または複数の賦形剤と混入されてよい。例えば含嗽剤は、活性成分を必要量、ホウ酸ナトリウム溶液(Dobell液)などの適当な溶媒中に混入することにより、調製されてよい。あるいは、活性成分は、ホウ酸ナトリウム、グリセリンおよび炭酸水素カリウムを含有するもののような経口溶液へ混入されるか、または歯磨剤中に分散されるか、または治療的有效量で、水、結合剤、研磨剤、矯味矯臭剤、発泡剤および保湿剤を含んでよい組成物中に添加されてよい。あるいはこれらの組成物は、舌下に配置されるかそうでなければ口中で溶解される錠剤または液剤の形に造形されてよい。

20

【0133】

消化器系投与のその他の様式に適している追加の製剤は、坐剤を含む。坐剤は、通常直腸へ挿入される薬の入った様々な重量および形状の固形剤形である。挿入後、坐剤は、体腔液中で、軟化、融解、または溶解する。一般に、坐剤に関する伝統的担体は、例えばポリアルキレングリコール、トリグリセリドまたはそれらの組合せを含んでよい。ある態様において、坐剤は、例えば活性成分を約0.5%～約10%、好ましくは約1%～約2%の範囲で含有する混合物から形成されてよい。

【0134】

B. 非経口組成物および製剤

30

更なる態様において、ランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、TMDCA誘導体、および/または追加物質は、非経口経路を介して投与されてよい。本明細書において使用される用語「非経口」は、消化管を迂回する経路を含む。具体的には、本明細書に開示された薬学的組成物は、例えば、静脈内、皮内、筋肉内、動脈内、髄腔内、皮下、または腹腔内により投与されるが、これらに限定されるものではない。米国特許第6,753,514号、第6,613,308号、第5,466,468号、第5,543,158号；第5,641,515号；および、第5,399,363号(各々明確にその全体が本明細書に参照として組入れられている。)。

【0135】

遊離塩基または薬理学的に許容できる塩としての活性化合物の溶液は、ヒドロキシプロピルセルロースのような界面活性剤と適宜混合された水中に調製されてよい。分散液も、グリセロール、液体ポリエチレングリコール、およびそれらの混合物、ならびに油分中に調製されてよい。通常の貯蔵および使用条件下で、これらの調製物は、微生物の増殖を防止するために、保存剤を含有する。注射使用に好適な薬学的形は、無菌の水溶液または分散液、および無菌注射液もしくは分散液の即時調製のための無菌の散剤を含む(米国特許第5,466,468号、その全体は明確に本明細書に参照として組入れられている。)。全ての場合において、その形は、無菌でなければならず、かつ容易に注射できる程度に流動性でなければならない。これは、製造および貯蔵の条件下では安定していなければならない、かつ細菌および真菌のような微生物の夾雑作用に対し保存されなければならない。この担体は、例えば水、エタノール、ポリオール(すなわちグリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど)、それらの好適な混合物、および/または植物油

40

50

を含む溶媒または分散媒であることができる。適切な流動性は、例えばレシチンのようなコーティングの使用により、分散剤の場合必要な粒子サイズの維持により、および界面活性剤の使用により、維持されてよい。微生物の作用の防止は、様々な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、フェノール、ソルビン酸、チメロサルなどによりもたらされ得る。多くの場合、等張化剤、例えば糖類または塩化ナトリウムを含むことが好ましいであろう。注射用組成物の持続吸収は、組成物中の、吸収を遅延する物質、例えばモノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンの使用によりもたらされ得る。

【0136】

水溶液中の非経口投与に関して、例えば溶液は、必要ならば好適に緩衝されなければならない、かつ液体希釈剤は最初に、十分な生理食塩水またはグルコースにより等張とされる。これらの特定の水溶液は、静脈内、筋肉内、皮下および腹腔内投与に特に適している。これに関して、使用することができる無菌の水性媒体は、本開示を考慮し、当業者には公知であろう。例えば1回用量は、等張NaCl溶液1mlに溶解され、皮下注射液1000mlへ添加されるか、または輸液の提唱された部位で注入されるかのいずれかである(例えば「Remington's Pharmaceutical Sciences」15版, 1035-1038および1570-1580頁参照)。治療される対象の状態に応じて、用量の若干の変動が必要となるであろう。投与責任者は、いずれにしても、個々の対象に好適な用量を決定する。更にヒト投与に関して、調製物は、FDA生物学的製剤基準部門により必要とされる、無菌性、発熱性、全般的安全性および純度基準に合致しなければならない。

【0137】

無菌注射溶液は、活性化合物を、必要量の適当な溶媒中に、必要に応じ先に記した他の成分と共に混入し、その後濾過滅菌することにより調製される。一般に、分散液は、様々な滅菌した活性成分を、基本の分散媒および先に列記した必要な他の成分を含有する無菌の賦形剤へ混入することにより調製される。無菌注射溶液を調製するための無菌散剤の場合、好ましい調製法は、活性成分と追加の所望の成分を合わせた散剤を、予め濾過滅菌したそれらの溶液から生じる、真空乾燥および凍結乾燥技術である。粉末化された組成物は、滅菌剤を伴うまたは伴わずに、例えば水または生理食塩水などの液体担体と一緒にされる。

【0138】

C. 多岐にわたる薬学的組成物および製剤

その他の本発明の好ましい態様において、活性化合物ランチオニン、LK、LK誘導体、TM DCA、TMDCA誘導体、および/または追加物質は、例えば外用(すなわち経皮)投与、経粘膜投与(鼻腔内、腔内など)および/または吸入など、様々な多岐にわたる経路で投与するために製剤されてよい。

【0139】

外用投与のための薬学的組成物は、軟膏剤、パスタ剤、クリーム剤、または散剤などの医薬品適用のために製剤された活性化合物を含むことができる。軟膏剤は、外用適用のための全て油脂性で吸着性で乳液および水溶性をベースにした組成物を含むのに対し、クリーム剤およびローション剤は、乳液基剤のみを含有するそのような組成物である。外用投与された医薬品は、活性成分の皮膚を通る吸着を促進するために、浸透増強剤を含有してよい。好適な浸透増強剤は、グリセリン、アルコール、アルキルメチルスルホキシド、ピロリドンおよびラウロカプラムである。外用適用のための組成物について可能性がある基剤は、ポリエチレングリコール、ラノリン、コールドクリームおよびワセリン、更には他の好適な吸収性、乳液または水溶性軟膏基剤である。外用調製物は、活性成分を保存し、かつ均質な混合物を提供するために、必要に応じて、乳化剤、ゲル化剤、および抗微生物保存剤も含有してよい。本発明の経皮投与は、「貼付剤」の使用も含むことができる。例えば貼付剤は、予め決定された速度かつ一定期間にわたり連続した様式で、1種または複数の活性物質を供給することができる。

【0140】

ある態様において、薬学的組成物は、点眼剤、鼻腔内スプレー、吸入、および/または

他のエアロゾル送達賦形剤により送達されてよい。鼻腔用エアロゾルスプレーにより組成物を直接肺へ送達する方法は、例えば米国特許第5,756,353号および第5,804,212号に開示されている(各々明確にその全体が本明細書に参照として組入れられている。)。同様に、鼻腔内微粒子樹脂(Takenagaら, 1998)およびリゾホスファチジル-グリセロール化合物(米国特許第5,725,871号、これは明確にその全体が本明細書に参照として組入れられている。))を使用する薬物の送達も、薬学の技術分野において周知である。同様に、ポリテトラフルオロエチレン支持体マトリックスの形での経粘膜的な薬物送達も、米国特許第5,780,045号(これは明確にその全体が本明細書に参照として組入れられている。))に開示されている。

【0141】

用語エアロゾルは、液化されたまたは加圧された気体噴射剤中に分散された液体粒子の微粉化された固形物のコロイド状システムを意味する。吸入のための本発明の典型的エアロゾルは、液体噴射剤または液体噴射剤と好適な溶媒の混合物中の活性成分の懸濁液からなるであろう。好適な噴射剤は、炭化水素および炭化水素エーテルを含む。好適な容器は、噴射剤の圧力の必要要件に従い変動するであろう。エアロゾルの投与は、対象の年齢、体重、ならびに症状の重症度および反応に応じて変動するであろう。

【0142】

V. 単剤療法

本発明の方法および化合物は、癌、炎症および/もしくは酸化ストレスに関連する疾患、ならびに/または脳卒中を含む中枢神経系(CNS)の障害の予防および治療に使用されてよい。ある態様において、本発明は、少なくとも1種の本発明の化合物を疾患の治療および/または予防に有効な量個体に投与することを含む、個体における前述のものまたは本明細書を通じて説明されたもののような中枢神経系の疾患または障害を治療および/またはは予防する方法を提供する。

【0143】

LKおよび合成細胞-透過性エチルエステルである(R)-LKE1は、抗酸化作用、抗神経炎症作用、神経保護作用、および抗増殖特性を有することがわかった。これらの知見は、LKのような環状含硫黄チオエーテルは、哺乳類の中枢神経系(CNS)において、生化学的に重要かつ目的がある分子であることを確立している。

【0144】

例えば、本発明の方法および化合物は、個体におけるパーキンソン病の治療に有用であると期待される。例えば図15は、(R)-LKE1は、SHSY5Y細胞を、ミトコンドリア機能障害に関連したパーキンソン病の形である、ロテノン毒性から保護することを示している。この実験において、SHSY5Y培養物は、ロテノンの添加前に(R)-LKE1で30分間処理し、その後様々な時点で生存度についてアッセイした。

【0145】

キヌレニンアミノ転移酵素(KAT)は、トリプトファン代謝産物の分解の中心酵素として認められている(Moroni, 1999; Fosterら, 1992; UrenjakおよびObrenovitch, 2000; Heyes, 1996; StoneおよびDarlington, 2002)(下記スキーム4参照のこと)。この役割において、KATは、キヌレニン(トリプトファンの酸化的代謝産物)とピルビン酸を、キヌレン酸(KYNA)へ転換し、これはイオンチャンネル型グルタミン酸受容体の全ての亜型の、唯一の公知の内因性のスペクトルの広い、アンタゴニストである(Moroni, 1999; Fosterら, 1992; UrenjakおよびObrenovitch, 2000; Heyes, 1996; StoneおよびDarlington, 2002)。より鋭敏な(subtle)レベルにおいて、KATは、トリプトファン酸化生成物の流れを、興奮毒性キノリン酸(QUIN)およびレドックス-サイクル、酸化促進剤3-ヒドロキシアントラニル酸(HAA)につながる経路であるキヌレニン水酸化酵素(KH)からそらす(StoneおよびDarlington, 2002; Bealら, 1986; Magnusonら, 1987; Chiarugiら, 2001; Blightら, 1997)。理解が不十分なKATにより媒介された反応は、ランチオニンとピルベートの、ランチオニンケチミンへの類似した転換である(Cooper, 2004)。このKATの後者の機能は、環状チオエーテルの報告された機能が欠けているために、神経化学の研究において比較的無視されて

10

20

30

40

50

いて、QUINは上昇していることを示唆している。本発明は、上昇したQUINおよびHAAの神経毒ストレスを部分的に平衡化するために、LKのようなKAT生成物、更にはLK誘導体、および/または他の本発明の化合物は、上昇したKYNに比例して合成され得ることを企図している。更にLKおよびその細胞-透過性エステルについて認められるミクログリア-抑制作用は、負のフィードバックループを促進し、局所的神経炎症反応を阻害する。

【0147】

A. ランチオニンが関連する方法

本発明は、ランチオニンを、個体へ、疾患を治療するのに有効なランチオニン量で投与することを含む、個体における疾患(例えば炎症性疾患)を治療する方法を提供する。ある態様において、ランチオニンの特定の光学異性体が使用される。例えば、d,d-ランチオニン(d-ランチオニン)、d,l-ランチオニン(meso-ランチオニン)、またはl,l-ランチオニン(lanthione)(l-ランチオニン)が使用されてよい。任意に、LKの内因性生成を刺激するために、ランチオニンは、グルコース、ピルビン酸、またはピルビン酸のエステルもしくはアミド誘導体のような他の化合物と組合せて投与されてよい。

【0148】

ランチオニンケチミン(LK)は、ランチオニンおよび/またはピルベートを患者へ投与することにより、患者において生成することもできる。ある態様において、LKは、ランチオニンおよびピルビン酸のエステルまたはアミド誘導体を患者へ投与することにより、患者において生成することができる。ある局面において、本発明は、ランチオニンおよびピルビン酸、またはピルビン酸のエステルもしくはアミド誘導体が、患者において一緒に反応し、ランチオニンケチミンを生成することを企図している。別の態様において、ピルビン酸、またはピルビン酸のエステルもしくはアミド誘導体は、ランチオニンと一緒に投与されず、代わりにランチオニンが、内因性ピルベートと反応し、ランチオニンケチミンを生成する。例えば、ピルビン酸の給源は、食事性であってもよい。ピルビン酸は、果実、野菜、ビールおよび赤ワインを含む、ある種の食品および飲料中に認められる。あるいは、ピルビン酸の給源は、治療を受ける患者の異化作用プロセスから生成されてもよい。例えばピルビン酸は、グルコースの解糖作用の生成物である。グルコース輸送体は、ほとんどの哺乳類細胞において認められる。グルコースは、グルコース輸送体GLUT1により、血液-脳関門を容易に通過することがわかっている。従って本発明は、ランチオニンを個体の脳においてランチオニンケチミンを生成するのに有効な量個体へ投与することにより、個体の脳においてランチオニンケチミンが生成され得ることを企図している。

【0149】

別の態様において、ランチオニンは、ランチオニンおよびピルビン酸、またはピルビン酸のエステルもしくはアミド誘導体の治療により、患者において生成され得る。それでもなおピルビン酸補充は、利点であることがある。例えば、神経疾患の齧歯類モデルへのピルビン酸の投与は、時には進行を遅らせることが示されており、このことはインビボ補充戦略が実際に有用であるという仮説を裏付けている。例えばRyuらの論文(2003)を参照し、これは本明細書に参照として組入れられている。更に研究が、ハンチントン病のキノリン酸ラットモデルにおける、ピルビン酸の神経保護作用を明らかにしている。例えばRyuらの論文(2003)において、キノリン酸ラットモデルにおいて、ピルビン酸1000mg/kgの腹腔内投与は、神経疾患を部分的に緩和することが示されている。ある態様において、本発明は、ピルビン酸エステルの投与は、ピルビン酸が、クレブス回路により「代謝されない」腸管を通過し残存することができることを企図している。

【0150】

同じくこのような併用治療は、標準の生化学的異化作用により十分なピルベートを生成することができない患者の脳において、ピルベートの十分なレベルを実現するために必要である。例えば、GLUT-1欠損症候群としても公知であるDe Vivo病に罹患した患者は、それらの脳内により低いレベルのグルコースを有すると予想されるであろう。ピルベートはグルコースの解糖の生成物である(1分子のグルコースは、2分子のピルビン酸に分解すること)を考慮し、De Vivo病に罹患したヒトは、それらの脳内のピルベートレベルが抑制さ

10

20

30

40

50

れることが予想される。これらの患者のランチオニンとピルベートの併用による治療は、ランチオニン単独の治療よりも、より高いレベルのLKを生じると期待される。従って本発明は、少なくとも1種の本発明の化合物を、De Vivo病を治療および/または予防するのに有効な量患者へ投与することを含む、De Vivo病に罹患した患者の治療法を提供することができる。

【0151】

ランチオニン(および任意にピルビン酸またはピルビン酸のエステルもしくはアミド誘導体)の患者への投与により、患者におけるランチオニンケチミンの形成を引き起こすおよび/または促進することができる。インピボにおいて、ランチオニンケチミンは、ランチオニン+ピルビン酸に対するキヌレニンアミノ転移酵素(KAT)の作用により形成され；この反応は、LKを形成する。従って、LKまたはエステル(もしくは他の誘導体)を直接投与するよりもむしろ、前駆体ランチオニンの濃度を上昇することにより、LKの生理的濃度を増加することができる。ランチオニンに加え、補充物としてのピルビン酸またはピルビン酸のエステルもしくはアミド誘導体の患者への投与は、恐らく対象におけるLKの形成を相乗するであろう。

【0152】

B. LKが関連する方法

ランチオニンケチミン(LK)は、1980年代後半および1990年代初期に、ウシ脳において本化合物を最初に検出したDoriano Cavalliniとその同僚らにより説明された(Fontanaら, 1997; Cavalliniら, 1985; Cavalliniら, 1983; Cavalliniら, 1991; Fontanaら, 1990; Cooper, 2004)。LKは、「非天然」のアミノ酸ランチオニン(2個のシステイン分子またはシステインとセリンのチオエーテル縮合体)から合成されるように見える。ランチオニンは、硫黄転移酵素シスタチオニン-合成酵素(C₂S)の作用により形成することができる。本発明者による発見は、内因性の哺乳類酵素による、ランチオニンC-様タンパク質1(LanCL1)合成の天然の経路を示唆している。ランチオニンは、ピリドキサルリン酸-依存型キヌレニン(kynurinine)アミノ転移酵素(KAT)/グルタミンアミノ基転移酵素K(GTK)/システイン縮合-脱離酵素(CC₂L)の容易に手に入る基質である(Cavalliniら, 1983; Cooper, 2004)。KAT活性は、ドナーのケト-カルボン酸(典型的にはピルビン酸)を、標的アミノ酸のアミノアシル基と交換する。この触媒反応の生成物は、新規のケト中間体であり、これは自発的かつ迅速に環化し、LKを形成する(下記合成を参照のこと)。このイミンは、酵素的還元を経験し、環状アミノ酸アナログ1,4-チオモルホリン-3,5-ジカルボン酸(TMDA)を形成することができる。LKの脳レベルは、マイクロモル濃度に達する(Fontanaら, 1997; Cavalliniら, 1995)。

【0153】

本発明以前には、LKまたはTMDAに関して、個別の神経化学活性は報告されていないが、LKは、シナプトソーム膜に50nM親和性で選択的に結合することが報告された(Cavalliniら, 1991)。3-プロモピルビン酸とシステインからのLKの合成は、先行技術において公知である(Cavalliniら, 1983)。LKは、双極性障害および気分障害の様々な治療を開示している、米国特許出願第2003/0185754号においても言及されている。

【0154】

C. LK誘導体が関連した方法

本発明の1つの局面は、LKの標的細胞への改善された送達である。この改善された送達は、細胞膜を通る改善された送達および/または血液脳障壁(BBB)を通る改善された透過性を含む。本発明は、LKエステル(LKE)およびLKアミド(LKA)を形成するためのLKの誘導体化による改善された送達も実現している。この誘導体化は、先行技術においては考察されていない。

【0155】

LK誘導体、例えば(R)-LKE1は、これらの化合物が、細胞膜を透過し、作用の細胞内標的に到達することがより可能であるように、疎水性/親水性特性の最適な平衡を提供しなければならない。例えばエステルの低下した親水性は、化合物が細胞膜を透過し、作用の細

胞内標的に到達することをより可能にするという理論を基に、エステル(R)-LKE1が合成された。エステル誘導体(R)-LKE1は、非エステル化ランチオニンケチミンよりも、エフェクター細胞のサイトカイン活性化の抑制が統計学的に有意により強力であることを証明した(図1A参照のこと)。

【0156】

一部の態様において、LK誘導体は、血液-脳障壁を通過する改善された能力を有し、これはほとんどのCNS障害の治療に必要である。これらの態様の一部において、LK誘導体は、 R_1 および/または R_2 位置にBBB-特異的輸送機構と相互作用する官能基を有する。例えば、LKのアスコルビル誘導体は、BBBアスコルビル輸送体を利用すると予想される。同じくある種のLKのアミノ酸エステルまたはアミド誘導体は、BBB輸送酵素により、BBBを超えて容易に輸送されると予想される。例えばある態様において、 R_1 および/または R_2 は、セリニル基である。

【0157】

これらの態様の一部において、インターナリゼーションされたLKエステル、例えば(R)-LKE1は、固有のエステラーゼ活性により、容易に加水分解を受け、活性ランチオニンケチミン生成物を生じると予測される。あるいは、LKエステル誘導体は、標的分子をアシル化および失活するために、標的酵素(例えばシクロオキシゲナーゼ)により化学反応を受けるであろう。本発明者は、LKエステル誘導体の例である(R)-LKE1は、非エステル化ランチオニンケチミンよりも統計学的に有意により強力にエフェクター細胞のサイトカイン活性化を抑制することが証明された(図1A参照)ことを明らかにしている。引き続きの試験は、(R)-LKE1の原型的な炎症誘引物質(inflamogen)である細菌リポ多糖(LPS)によるアストログリア活性化の阻害剤としての有効性を証明した。

【0158】

D. TMDCAおよびTMDCA誘導体が関連した方法

TMDCAとLKの間の構造類似性、加えてTMDCA誘導体とLK誘導体の間の構造類似性を考慮し、本発明者は、TMDCA、TMDCA誘導体、および/または追加物質を、疾患を治療および/または予防するのに有効な量個体へ投与することを含む、個々に前述のまたは本明細書を通じて説明されたいずれかの疾患を有する対象の治療のための、TMDCAまたはTMDCA誘導体の使用を企図している。TMDCAおよびTMDCA誘導体は、各々、LKおよびLK誘導体と比べ、還元された状態である。従ってTMDCAまたはTMDCA誘導体は、1種または複数の組織における酸化的ストレスレベルの上昇により引き起こされた状態を有する対象の治療に有用であることができる。

【0159】

例えば、還元されたランチオニンケチミン(すなわちTMDCA)も、EOC-20スクリーニングにおけるTNF- α 刺激した亜硝酸塩の生成に対し試験された。100 μ M TMDCA(LKのシアノホウ化水素還元から形成された)は、ミクログリア活性化を最大の67.5 \pm 3.8% (SD)に抑制するか、またはサイトカイン作用を約32.5%阻害した。

【0160】

E. 炎症の阻害

炎症、酸化、または免疫の機構は、アルツハイマー病(AD)、パーキンソン病(PD)、筋萎縮性側索硬化症(ALS)およびMSの病理発生に関連しているであろう(Bagasraら, 1995; McGeerおよびMcGeer, 1995; SimonianおよびCoyle, 1996; Kaltschmidtら, 1997)。反応性アストログリアおよび活性化されたミクログリアは両方とも、神経変性疾患(NDD)および神経炎症性疾患(NID)の原因に関連しており; ミクログリアは、各々酵素iNOSおよびCOX-2の生成物としての、NOおよびプロスタグランジンの両方を合成する細胞として特に強調されている。これらの酵素の新規(De novo)形成は、インターフェロン- γ またはインターロイキン-1のような炎症性サイトカインにより駆動される。次に過剰なNO生成は、神経系のニューロンおよび乏突起グリア細胞を含む多くの臓器の細胞および組織における炎症カスケードおよび/または酸化的損傷につながり得、結果的にADおよびMSを症状発現し、かつPDおよびALSを症状発現する可能性がある(CoyleおよびPuttfarcken, 1993; Beal, 1996; Me

rrillおよびBenvenist, 1996 ; SimonianおよびCoyle, 1996 ; Vodovotzら, 1996)。疫学的データは、プロスタグランジンのアラキドン酸塩からの合成を阻害するNSAIDの長期使用は、AD発症のリスクを顕著に低下することを指摘している(McGeerら, 1996 ; Stewartら, 1997)。従ってNOおよびプロスタグランジンの形成を遮断する物質は、NDDを予防および治療するアプローチにおいて使用することができる。本発明者らは、亜硝酸イオン濃度により測定される酸化窒素の形成を遮断することが示されている本発明の化合物(図1B、2、3および9A&B参照)は、先におよび以下に説明された神経疾患の治療において有用であると予測されることを企図している。

【0161】

ミクログリアは、中枢神経系(CNS)の免疫細胞として作用し、貪食細胞として機能し、CNSデブリを清掃する。ミクログリアは、神経系の保護において多くの重要な役割を果たす、高度に移動性の細胞であると考えられている。これらは、損傷および/またはストレスに対する炎症反応の作出にも寄与する。ミクログリアは、反応性フリーラジカルを生成し、宿主防御に関連したパラクリン物質も生成する。マクロファージ(ミクログリア)の過剰な活性化は、ニューロンおよび他の周辺細胞に対する付帯損傷を生じることができ。慢性のミクログリアの活性化が、アルツハイマー型認知症、パーキンソン病、ALS、脳卒中および他の炎症性脳疾患を含む、多くの神経学的状態において大きな役割を果たすことのかんがりの証拠が存在する。活性化されたミクログリアからのサイトカインおよび興奮毒のような毒性要素の放出は、神経変性を生じることがわかっている。末梢の免疫刺激は、中枢神経系のミクログリアを活性化し、過剰である場合は、神経変性および認知欠損につながり得ることが示されている。マクロファージ-またはミクログリア-由来の毒性の大部分は、酸化窒素および他のフリーラジカルの過剰生成から；ならびに、疼痛を生じかつ炎症を増悪する脂質生成物であるプロスタグランジンE₂(PGE₂)を含むエイコサノイドの過剰生成から生じる。従って(a)マクロファージ/ミクログリア活性化を抑制するか；(b)酸化窒素のミクログリア/マクロファージ生成を抑制するか；または、(c)PGE₂のマクロファージ/ミクログリア生成を抑制するか：のいずれかである、安全かつ生体利用可能な化合物は、慢性炎症性疾患の治療において有用であろう。

【0162】

本発明の化合物は、酸化窒素合成酵素(iNOS)および(NO)生成を誘導することが公知である、炎症性サイトカイン腫瘍壊死因子- (TNF)に反応してEOC-20ミクログリアの活性化を阻害することも示された。

【0163】

末梢血(PB)単球は、細菌細胞壁成分に反応してTNF を含む炎症性サイトカインを生成する。TNF は、多くの炎症状態に加え細菌感染症において役割を有する、主要な炎症性サイトカインである。TNF の阻害は、炎症の軽減のための治療的アプローチを提供することができる。以下に示されたように、(R)-LKE1は、2種の細胞壁成分である黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)由来のリポ多糖(UltraPure LPS)(Invivogen)および炭疽菌(*Bacillus anthracis*)由来のペプチドグリカン(PG)(List Biological Laboratories)に反応して、ヒトPB単球によるTNF 生成を阻害する。

【0164】

本発明は、マクロファージ/ミクログリア活性化を抑制するか、および/または酸化窒素のミクログリア/マクロファージ生成を抑制するか、および/またはPGE₂のマクロファージ/ミクログリア生成を抑制するかにより、慢性炎症性疾患を治療するのに有用である本発明の方法および化合物を企図している。

【0165】

より一般的には、本発明は、酸化窒素を含む炎症物質の弱められた生成により証明されるような、サイトカインで刺激されたミクログリア活性化を抑制する本発明の化合物の能力を明らかにしている。例えば、図1Bおよび2に示されたように、(R)-LKおよび(R)-LKE1は、刺激されたミクログリアにおける酸化窒素生成の活性化を阻害する(亜硝酸イオン濃度のレベルを、NO生成のプロキシレベルとして使用する)。LKおよび(R)-LKE1の両方とも

、腫瘍壊死因子 (TNF)-刺激されたEOC-20ミクログリアによる亜硝酸塩の生成を阻害した。一部の態様において、本発明の化合物は、酸化窒素の生成を阻害するようにのみ、選択的に作用する。例えば本発明者は、TNF + IFN により刺激されたEOC-20ミクログリアにおいて、(R)-LKE1は、プロスタグランジンE2(PGE₂)生成を抑制しないことを明らかにしている。

【 0 1 6 6 】

図7および8に示されたように、本発明者は、原型的な炎症誘引物質の細菌リポ多糖(LPS)によるアストログリア活性化の阻害剤としての(R)-LKE1の有効性も明らかにしている。アストログリアは、脳内グリア細胞の一種である。

【 0 1 6 7 】

一部の態様において、本発明の化合物の機能は、細胞型特異的様式、刺激特異的様式、または状態特異的様式である。例えば本発明者は、(R)-LKE1は、TNF + IFN により刺激されたC6グリオーマ細胞において亜硝酸塩の生成を抑制しないことを発見した。同様に、(R)-LKE1は、TNF + LPSにより刺激されたC6グリオーマ細胞において亜硝酸塩の生成を抑制しないことがわかった。対照的に、EOC-20細胞またはRAW264.7のマクロファージが、細菌リポ多糖(LPS; 大腸菌抗原型0127:B8)により24~48時間刺激される場合の、亜硝酸イオンおよび細胞生存度が評価された。LKEは、サイトカイン誘導した亜硝酸イオン蓄積を、両方の細胞型において同様の有効性で阻害した(図9Aおよび9B参照)。細胞毒性は、いずれの処置群においても認められなかった。

【 0 1 6 8 】

本発明者は、(R)-LKおよび(R)-LKE1は、ミクログリアの活性化を阻害することを示し(例えば実施例2参照)、慢性のミクログリアの活性化により引き起こされる状態を有する対象の治療のために、本発明の化合物の使用を企図している。ある態様において、本発明の化合物は、アルツハイマー型認知症、パーキンソン病、ALS、脳卒中および他の炎症性脳疾患を含む、多くのCNS状態の治療に有用な化合物として働くことができる。更に本発明の化合物は、急性または慢性のいずれかのミクログリアの活性化により特徴付けられる神経状態の予防または治療に有用であることができる。

【 0 1 6 9 】

前述の病理の治療は、前述のまたは本明細書を通じて説明されたもののような、本発明の化合物を治療の有効量、対象へ投与することを含んでよい。治療は、過剰なミクログリア活性化の予測可能な状態(例えば脳卒中の予知)に先立ち、予防的に投与されてよい、または慢性の過剰なミクログリア活性化および炎症が関係する状況において、治療的に投与されてよい。

【 0 1 7 0 】

ある好ましい態様において、ランチオニン(任意にピルベートと組合せて)、LKまたはLK誘導体は、対象において、炎症性疾患を治療および/または炎症を抑制するために、対象(例えばヒト患者)へ投与されてよい。ある態様においては、第二の治療的化合物(例えば第二の抗炎症化合物)が、対象において炎症性疾患を治療および/または炎症を抑制するために、対象へ投与されてよい。

【 0 1 7 1 】

本発明の化合物により治療され得る炎症性疾患は、筋萎縮性側索硬化症(ALS)または類似した変性運動ニューロン疾患、アルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、多発性硬化症、黄斑変性、心臓血管疾患、アテローム硬化症、関節リウマチ、敗血性ショックまたは炎症性腸疾患(IBD)を含む。

【 0 1 7 2 】

本発明の化合物は、ある種の炎症性疾患に関連しているある種の細胞事象を変更するために、使用されてよい。例えばある態様において、本発明の化合物は、ある種の炎症性疾患(例えばアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、ALS、アテローム硬化症、関節リウマチ)に関連し得る、過剰な酸化窒素生成を阻害または減少するために使用されてよい。

10

20

30

40

50

【0173】

ある態様において、本発明の化合物は、ある種の炎症性疾患(例えばアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、ALS、アテローム硬化症、関節リウマチ、IBD)に関連し得る、過剰なプロスタグランジンE₂(PGE₂)を阻害または減少(or reduce inhibit)するために、使用されてよい。

【0174】

ある態様において、本発明の化合物は、過剰なグルタミン酸の興奮毒性に関連した神経変性を減少するために使用されてよい。従って過剰なグルタミン酸の興奮毒性に関連した疾患(例えばアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、ALS)は、本発明の化合物により治療されてよい。

10

【0175】

ある態様において、本発明の化合物は、活性化されたマクロファージ細胞および/または活性化されたミクログリアに関係する疾患を治療するために使用されてよい。これらの疾患は、多くの炎症性疾患、例えばアルツハイマー病、パーキンソン病、ハンチントン病、ALS、アテローム硬化症、関節リウマチ、IBDを含む。ある態様において、この疾患は、活性化されたミユラー細胞(すなわち、網膜のマクロファージ細胞の一種)に関連することがある。

【0176】

更にある態様において、(R)-LKE1は、家族性筋萎縮性側索硬化症(ALS)のマウスモデルである、TNF 経路の活性化がサイレント(salient)現象であるSOD1^{G93A}変異体マウスにおいて、運動ニューロン疾患の進行を遅延する。例えば、Hensley ら, 2002 ; Hensleyら, 2003 ; Westら, 2004 ; Hensleyら, 2006を参照し、これらは全て本明細書に参照として組入れられている。

20

【0177】

F. 酸化的ストレスおよび細胞毒性からの細胞の保護

LK誘導体を含む本発明の化合物は、酸化的ストレスの病的成分により一部または全体が構成されるいずれかの疾患の治療に使用されてよい。LKおよびLK誘導体は、抗酸化物作用の複数の様式を有する。例えば、硫黄は、過酸化物と反応し、スルホキシドを生じる。カルボン酸基を有するか、またはインピボにおいて加水分解されカルボン酸基を生じるLKおよびLK誘導体は、酸化的脱炭酸反応を介して過酸化物との反応を受け、その結果この分子の抗酸化物能を倍加することができる。

30

【0178】

ある態様において、本発明は、細胞を、酸化的ストレスおよび/または細胞毒性から保護するために使用することができる化合物および方法を提供する。酸化的ストレスおよび/または細胞毒性は、神経炎症性疾患の病理生物学に恐らく関連する傷害(insult)型から恐らく生じるであろう。

【0179】

例えば、研究された1つのパラダイムにおいて、本発明者は、(R)-LKE1は、H₂O₂-誘導した細胞死から、およびサイトカインで刺激されたEOC-20ミクログリア馴化培地への曝露に関連した毒性から、NSC-34運動ニューロン-様細胞を保護することを示した。具体的には、本発明者は、(R)-LKおよび合成LKエチルエステル誘導体である(R)-LKE1は、NSC-34運動-ニューロン様細胞を、酸化的ストレスのモデルである過酸化水素の毒性から保護することを明らかにした。NSC-34細胞は、H₂O₂により24時間直接チャレンジし、生存度をテトラゾリウム還元アッセイにより評価した。この実験において、(R)-LKE1は、NSC-34細胞を、直接の酸化的ストレス-誘導した細胞死から用量依存式に保護した(図4)。

40

【0180】

第二の細胞毒性パラダイムにおいて、本発明者は、本発明の化合物および方法は、ミクログリア-馴化培地のNSC-34細胞に対する毒性を減少したことも示した。NSC-34細胞は、50U/mL IFN + 40ng/mL TNF で24時間刺激したEOC-20細胞から採取した馴化培地により処理した。このサイトカインで馴化したEOC-20培地は、NSC-34細胞に対して毒性があるのに

50

対し、NSC-34細胞へ直接添加された同じサイトカイン混合物は、毒性がない(データは示さず)。同様に未刺激のEOC-20細胞からの培地は、無毒である(データは示さず)。サイトカインで刺激されたEOC-20細胞馴化培地における毒性因子は、同定されなかった。この培地は、運動-ニューロン様細胞の(R)-LKE1による同時処理により大きくしかし完全ではなく緩和されたNSC-34細胞に対し著しい毒性を生じた(図7)。この場合に最大保護有効性の半値を達成するために必要な(R)-LKE1の濃度は、1 μ M未満であった(図3)。

【0181】

更に本発明は、細胞保護が、化合物LKを直接添加するよりもむしろ、LKへの代謝前駆体を提供することにより、実現されることを企図している。例えば本発明者は、NSC-34細胞を、 H_2O_2 によるチャレンジ前に、ランチオニンの存在または非存在下でピルビン酸エチルで6時間処理し、これらの細胞の生存度を24時間後にアッセイし、NSC-34細胞の作用を試験した(図10)。先の研究において報告されたように、ピルビン酸エチル単独は、過酸化物質誘導した細胞死に対し保護的であり(Desagherら, 1997; Nakamichiら, 2005)、ピルビン酸エチル濃度 > 1mM(周囲の細胞培養培地のピルビン酸濃度よりも約2倍高い; データは示さず)で完全に保護した。ピルビン酸エチル0.5mMの添加は、 H_2O_2 に対する有意だが部分的保護をもたらしたのに対し、ランチオニン単独は、保護的作用を有さなかった(図8)。ピルビン酸エチルとランチオニンの組合せは、相乗的かつ完全な神経保護を生じた(図10)。このデータは、ランチオニン+ピルビン酸は代謝され、LKを形成する(スキーム3参照)というモデルと一致した。

【0182】

LKとグルタミン酸の両方の化合物は、3個の結合長により隔てられたカルボキシレート部分を含む点で、LKはグルタミン酸塩との構造類似性を有する。キヌレニン経路は、唯一現在公知の内因性抗興奮毒であるキヌレン酸(KYNA)を生じることがわかっている(Moroni, 1999; Fosterら, 1992; UrenjakおよびObrenovitch, 2000; Heyes, 1996; StoneおよびDarlington, 2002)、LKを含む他のキヌレニン生成物は、グルタミン酸塩の毒性の緩和に類似したように作用すると考えることはもっともらしく思える。この仮説を検証するために、HT4細胞(Senら, 2004; Tiroshら, 2000)を、LKまたは(R)-LKE1の非存在または存在下で、グルタミン酸塩で処理した。死滅した細胞から培養培地への乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)の放出を測定することにより、毒性を評価した。LKおよび(R)-LKE1は両方とも、この細胞システムにおいて、グルタミン酸塩毒性を著しく縮小した(図13および14)。

【0183】

G. 癌の治療および予防

特に本発明は、乳房、前立腺、肺(SCLCおよびNSCLC)、脳、頭頸部、食道、気管、胃、結腸、直腸、子宮、頸部、前立腺、肝臓、脾臓、皮膚、血液およびリンパ系、精巣および卵巣などの癌の治療に適用することができる。本発明の化合物は、癌の治療のために、単剤として適用されるか、またはこれらは、他の物質または治療法と組合せて、癌を治療するために適用されてよい。例えば図16は、(R)-LKE1は、C6グリオーマ細胞における腫瘍細胞増殖を阻害することを示している。

【0184】

本発明は、腫瘍細胞においてアポトーシスを誘導し、分化を誘導し、癌細胞増殖を阻害し、炎症反応を阻害し、および/または化学防御能において機能するために、本発明の化合物は、前述のおよび本明細書を通じて説明された機構の1種または複数を介して機能することを企図している。

【0185】

H. その他の疾患

本発明の化合物(例えば、ランチオニン、またはランチオニンおよびピルベート、LKもしくはLK誘導体を含む組成物)は、KAT/GTK/CC L活性を欠損している疾患の治療にも使用することができる。従って高血圧、ハンチントン病、注意力欠如障害、うつ病(例えば大うつ病)または全身化された全般性不安障害を含む疾患は、LKまたはLK誘導体により治療されてよい。

【0186】

ある態様において、LKまたはLK誘導体は、横紋筋融解症を治療するために使用されてよい。横紋筋融解症は、筋肉細胞の内容物(ミオグロビンおよびカリウム)の血流への放出により達成される骨格筋組織の破壊または変性(外傷、過剰な労作、または脳卒中によるような)により特徴付けられ、これは循環血液量減少、高カリウム血症、時には急性腎不全を生じる。横紋筋融解症は、米国における腎不全の主因であり、この障害は、腎円柱内の筋肉のフェロキシル-ミオグロビンの蓄積により引き起こされる。LKまたはLK誘導体は、これらのケチミン中の硫黄の容易なレドックス化学のために、横紋筋融解症の治療において、特に有用であることができる。

【0187】

本発明は、本発明の化合物は、敗血症または敗血症-関連疾患の治療に有用であり得ることを企図している。本発明者は、(R)-LKE1で同時治療したマウスは、LPSモデル状態で生存するチャンスがより高いことを示している(実施例6参照)。同じく本発明者は、「エクスビボ」アッセイにおいて(実施例7参照)、(R)-LKE1は、リポ多糖または細菌ペプチドグリカンのいずれかにより引き金を引かれる、ヒト血中の末梢血単球TNF 生成を阻害することを示している。

【0188】

本発明は、本発明の化合物は、脳卒中の治療および/または予防に有用であり得ることも企図している。本発明の化合物(例えばLK、(R)-LKE1など)が、脳卒中の予防を補助すると予想される1つの理由は、本発明の化合物は、抗酸化剤として機能し、かつ多くの抗酸化剤は、様々な脳卒中モデルにおいて脳卒中を保護、予防することが示されているからである。

【0189】

本発明の化合物(例えばLK、(R)-LKE1など)が、脳卒中の予防を補助すると予想される別の理由は、本発明の化合物は、グルタミン酸塩および/または興奮毒アンタゴニストとして機能し、かつグルタミン酸塩および/または興奮毒アンタゴニストとして機能することが示されている多くの化合物は、脳卒中の予防を助けることが示されているからである。例えばLKおよび(R)-LKE1は、本発明者らにより、HT4ニューロンをグルタミン酸塩毒性に対し保護することが示されている(図13および14)。

【0190】

VI. 併用療法

ランチオニン、ランチオニンケチミン(LK)、本発明のLK誘導体、チオモルホリンジカルボン酸(TMDCA)、および本発明のTMDCA誘導体は、単剤療法として使用されることに加え、併用療法における使用も認められるであろう。このような併用療法は、一般に抗炎症薬、またはCOX-2および/もしくはiNOSの阻害剤の使用を含むことができる。あるいは、この併用は、以下に詳細に考察されるように、第二の抗癌療法を含んでもよい。

【0191】

「抗癌」剤は、例えば癌細胞を殺傷し、癌細胞のアポトーシスを誘導し、癌細胞の増殖率を減少し、転移の発生率もしくは数を減少し、腫瘍サイズを縮小し、腫瘍増殖を阻害し、腫瘍細胞または癌細胞への血液供給を減少し、癌細胞もしくは腫瘍に対する免疫反応を促進し、癌の進行を予防もしくは阻害し、または癌の対象の寿命を延長することにより、患者の癌に負に影響を及ぼすことが可能である。より一般的には、これらのその他の組成物は、細胞の殺傷または増殖の阻害に有効な組合せた量で提供されるであろう。このプロセスは、細胞の、ランチオニン、LK、本発明のLK誘導体、TMDCA、および/または本発明のTMDCA誘導体、ならびにその他の物質との同時接触が関与することができる。これは、細胞を、両方の物質を含有する単独の組成物または薬学的製剤と接触することによるか、または細胞を、一方の組成物はランチオニン、LK、本発明のLK誘導体、TMDCA、および/または本発明のTMDCA誘導体を含有し、他方は第二の物質を含有するような、ふたつの個別の組成物または製剤と、同時に接触することにより実現することができる。

【0192】

あるいは、ランチオニン、LK、本発明のLK誘導体、TMDCA、および/または本発明のTMDCA誘導体を使用する療法は、数分から数週間の範囲の間隔をあけて、他方の物質の治療に先行または続行することができる。他方の物質および発現構築体が細胞へ個別に適用されるような態様において、有意な期間は、各送達の間に満了することではなく、その結果この物質ならびにランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、および/またはTMDCA誘導体は、依然細胞に有利な組合せ作用を発揮することができることが一般に確実にされる。このような場合、細胞を、両方のモダリティに互いに約12~24時間以内に、より好ましくは互いに約6~12時間以内に接触させることができることが企図される。一部の状況において、治療の期間は有意に延長されることがあるが、しかしここで各投与の間に数日(2、3、4、5、6または7日)から数週間(1、2、3、4、5、6、7または8週)が経過することが望ましい。

10

【0193】

ランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、および/またはTMDCA誘導体療法は、「A」であり、ならびに放射療法もしくは化学療法のような第二の物質は、「B」である、様々な組合せが使用されてよい：

A/B/A B/A/B B/B/A A/A/B A/B/B B/A/A A/B/B/B B/A/B/B

B/B/B/A B/B/A/B A/A/B/B A/B/A/B A/B/B/A B/B/A/A

B/A/B/A B/A/A/B A/A/A/B B/A/A/A A/B/A/A A/A/B/A

【0194】

本発明のランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、および/またはTMDCA誘導体化合物の患者への投与は、もしあればその薬物の毒性を考慮し、一般的化学療法薬の投与プロトコルに従う。必要に応じ治療サイクルは反復されることが予想される。様々な標準療法に加え、外科的介入が、説明された過剰増殖細胞療法(hyperproliferative cell therapies)と組合せて適用されてよいことも企図される。

20

【0195】

化学療法物質および放射線療法物質に対する腫瘍細胞の耐性は、臨床腫瘍学における大きな問題点である。現在の癌研究の1つの目標は、化学療法および放射線療法を遺伝子療法と組合せることにより、それらの有効性を改善する方法を見つけることである。例えば、単純ヘルペス-チミジンキナーゼ(HS-tk)遺伝子が、レトロウイルスベクターシステムにより脳腫瘍へ送達される場合、これは抗ウイルス薬ガンシクロビルに対する感受性をうまく誘導した(Culverら, 1992)。本発明の状況において、ランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、および/またはTMDCA誘導体療法は、以下に考察するように、プロアポトーシス物質および細胞周期調節物質に加え、化学療法的、放射線療法的、または免疫療法的介入と共に、同様に使用することができることが企図されている。

30

【0196】

A. クレブス回路 -ケト酸

先に一部考察したように、あるクレブス回路 -ケト酸は、抗酸化物特性を有し、かつ本発明と組合せて使用することができることがわかった。ピルビン酸および -ケトグルタル酸は、抗酸化物特性を有することが下記実施例のセクションで示されるクレブス回路 -ケト酸である。

40

【0197】

ピルビン酸は、解糖系およびピルビン酸デヒドロゲナーゼ経路における重要な中間体であり、これは生物学的エネルギー生成に関与している。ピルビン酸は、生存生物において広範に認められる。ピルビン酸は、典型的には食事において摂取される。この物質の平均一日摂取量は、典型的には約100mg~1から2gの範囲である。ある種の果実および野菜には、ピルビン酸が豊富である。例えば、赤リンゴは典型的には、ピルビン酸約450mgを含有する。黒ビールおよび赤ワインも、ピルビン酸の豊富な供給源である。

【0198】

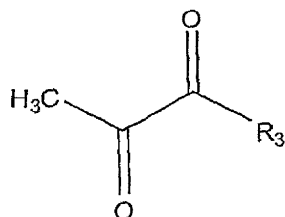
本明細書において使用される「ピルベート」または「ピルビン酸」は、構造 $\text{CH}_3\text{-C(=O)-COOH}$ を有する化合物およびそれらの塩を意味する。ピルビン酸は、2-オキソプロパン酸、

50

-ケトプロピオン酸、アセチルギ酸および焦性ブドウ酸(pyroracemate)としても公知である。本明細書において使用される「ピルベート」は、ピルピン酸およびピルピン酸陰イオンを含む。

【0199】

「ピルピン酸のエステル誘導体」とは、下記の構造を有する化合物、ならびにそれらの薬学的に許容される塩、水和物、および光学異性体を意味する：

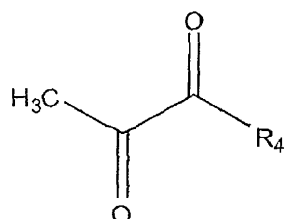


10

式中、R₃は、C₁-C₁₀-アルコキシ、C₂-C₁₀-アルケニルアミノ、C₂-C₁₀-アルキニルアミノ、C₁-C₁₀-アリールオキシ、またはC₂-C₁₀-アラルコキシのヘテロ原子置換型または非置換型である。

【0200】

「ピルピン酸のアミド誘導体」とは、下記の構造を有する化合物、ならびにそれらの薬学的に許容される塩、水和物、および光学異性体を意味する：



20

式中、R₄は、C₁-C₁₀-アルキルアミノ、C₂-C₁₀-アルケニルアミノ、C₂-C₁₀-アルキニルアミノ、C₁-C₁₀-アリールアミノ、またはC₂-C₁₀-アラルキルアミノのヘテロ原子置換型または非置換型である。

【0201】

ある態様において、ランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、TMDCA誘導体、および/または追加物質は、対象(例えばヒト患者)へ、第二の抗炎症化合物(例えば抗酸化剤、ピルベート、-ケトグルタル酸)と組合せて投与されてよい。ピルベートとランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、TMDCA誘導体、および/または追加物質を組合せた両方の対象への投与は、対象におけるランチオニンケチミンの生成を促進することができる。ピルベートおよびランチオニンからのランチオニンケチミンのインビボ合成は、先に説明されている。

30

【0202】

対象へ投与することができるピルベートの投与量は、変動することができ；例えば、ある態様において、約0.5g/日~200g/日、より好ましくは約1g/日~約100g/日、より好ましくは約1g/日~約75g/日が、対象へ投与されるであろう。ある態様において、約1~10g/日が、対象へ投与される。ある態様において、ピルベートは、栄養補助食品として経口投与される。

40

【0203】

B. 化学療法

癌療法は、化学物質および放射線ベースの両治療との様々な併用療法も含む。併用化学療法は、例えば、シスプラチン(CDDP)、カルボプラチン、プロカルバジン、メクロレタミン、シクロホスファミド、カンプトテシン、イホスファミド、メルファラン、クロラムブシル、ブスルファン、ニトロ尿素、ダクチノマイシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、ブレオマイシン、プリコマイシン、マイトマイシン、エトポシド(VP16)、タモキシフェン、ラロキシフェン、エストロゲン受容体結合物質、タキソール、ゲムシタビン、ナベルピン、ファルネシル-タンパク質転移酵素阻害剤、トランスプラチナ、5-フルオロウラシル、ビンクリスチン、ビンブラスチンおよびメトトレキセート、または前述のものの任意

50

のアナログもしくは誘導体変種を含む。

【0204】

C. 放射線療法

DNA損傷を引き起こしかつ専ら使用されているその他の因子は、 γ -線、X-線として一般に公知のもの、および/または放射性同位元素の腫瘍細胞へ方向付けられた送達を含む。DNA損傷因子の他の形の、電磁波およびUV-照射なども企図される。恐らくこれらの因子は全て、DNA、DNA前駆体、DNAの複製および修復へ、ならびに染色体の集成および維持に対する損傷の広い範囲で作用するであろう。X-線の線量範囲は、長期間にわたる(3~4週間)1日線量50~200レントゲン単位から、単回線量2000~6000レントゲン単位までの範囲である。放射性同位元素の用量範囲は、広範に変動し、同位元素の半減期、放出される放射線の強度および種類、ならびに新生物細胞による取り込みによって決まる。

10

【0205】

用語「接触された」および「曝露された」は、細胞に適用される場合に、治療的構築体および化学療法もしくは放射線療法物質が、標的細胞へ送達されるか、または標的細胞の隣接部位に直接配置されるようなプロセスを説明するために、本明細書において使用される。細胞殺傷または静止を実現するために、両物質は、細胞を殺傷するかまたはその分裂を防止するのに有効な併用量で細胞へ送達される。

【0206】

D. 免疫療法

免疫療法は、概して、標的への免疫エフェクター細胞および分子の使用に頼り、かつ癌細胞を破壊するものである。免疫エフェクターは、例えば、腫瘍細胞表面の一部のマーカに特異的な抗体であることができる。この抗体単独で、療法のエフェクターとして働くか、またはこれは他の細胞を動員し、細胞殺傷に実際に作用することができる。この抗体は同じく、薬物または毒素(化学療法剤、放射性核種、リシンA鎖、コレラ毒素、百日咳毒素など)に複合されてもよく、かつ標的物質としてのみ働いてもよい。あるいは、このエフェクターは、腫瘍細胞標的と直接または間接のいずれかで作用する表面分子を運搬するリンパ球であることができる。様々なエフェクター細胞は、細胞毒性T細胞およびNK細胞を含む。

20

【0207】

従って免疫療法は、ランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、および/またはTMDCA誘導体療法と共に、併用療法の一部として使用することができる。一般に腫瘍細胞は、標的化され易い、すなわち他の細胞の大部分には存在しないマーカをいくつか有さなければならない。多くの腫瘍マーカが存在し、かつこれらのいくつかは、本発明の状況における標的化に適している。一般的腫瘍マーカは、癌胎児抗原、前立腺特異抗原、泌尿器腫瘍関連抗原、胎児性抗原、チロシナーゼ(p97)、gp68、TAG-72、HMFG、シアリルルイス抗原、MucA、MucB、PLAP、エストロゲン受容体、ラミニン受容体、erbBおよびp155を含む。

30

【0208】

E. 遺伝子治療

更に別の態様において、第二の治療は、治療的ポリヌクレオチドが、ランチオニン、LK、LK誘導体、TMDCA、および/またはTMDCA誘導体の前、後または同時に投与される、第二の遺伝子治療である。治療的遺伝子は、細胞増殖のインデューサー(癌遺伝子と称されることがある)、細胞増殖のインヒビター(腫瘍抑制因子と称されることがある)、またはプログラムされた細胞死のインデューサー(プロアポトーシス遺伝子と称されることがある)のアンチセンス型を含んでよい。

40

【0209】

F. 手術

癌患者の約60%は、予防的、診断的または病期確定的、治療的および姑息的手術を含む、いくつかの型の手術を受けるであろう。治療的手術は、本発明の治療、化学療法、放射線療法、ホルモン療法、遺伝子治療、免疫療法および/または代替療法のような他の療法と共に使用することができる癌治療である。

50

【0210】

治療的手術は、癌性組織の全てまたは一部を物理的に除去するか、摘出するかおよび/または破壊する切除を含む。腫瘍切除は、腫瘍の少なくとも一部の物理的除去を意味する。腫瘍切除に加えて、手術による治療は、レーザー手術、凍結手術、電気手術、および顕微鏡下手術(モース氏手術)を含む。更に本発明は、表在癌、前癌状態、または偶発量の正常組織の除去と共に使用されてよいことが企図される。

【0211】

癌性の細胞、組織、または腫瘍全体の一部の摘出時に、体内に窩が形成される。治療は、追加の抗癌療法による、この領域の灌流、直接注射または局所適用により実現することができる。このような治療は、例えば1、2、3、4、5、6もしくは7日毎に、または1、2、3、4および5週間毎に、または1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11もしくは12ヶ月毎に繰り返されてよい。これらの治療は、用量を変動してもよい。

【0212】

G. その他の物質

治療の治療有効性を改善するために、その他の物質を、本発明と組合せて使用することが企図される。これらの追加物質は、免疫調節薬、細胞表面受容体およびGAPジャンクションのアップレギュレーションに影響する物質、静細胞剤および細胞分化剤、細胞接着阻害剤、またはアポトーシスインデューサーに対する過剰増殖細胞の増感剤を含む。免疫調節薬は、腫瘍壊死因子；インターフェロン、および；IL-2および他のサイトカイン類；F42Kおよび他のサイトカインアナログ；または、MIP-1、MIP-1、MCP-1、RANTES、および他のケモカインを含む。本発明の化合物は、アポトーシスシグナル伝達に関連した細胞表面受容体(例えばDR4およびDR5)の発現をアップレギュレートすることができ、その結果これらの受容体のリガンド(例えばTRAIL；Hyerら、2005を参照し、これは本明細書に参照として組入れられている。)と組合せて相加作用または相乗作用を有することが更に企図される。細胞表面受容体またはFas/Fasリガンド、DR4もしくはDR5/TRAILなどのこれらのリガンドのアップレギュレーションは、過剰増殖細胞に対するオートクリンまたはパラクリン作用を確立することにより、本発明のアポトーシスを誘導する能力を増強する。GAPジャンクション数の上昇による細胞内シグナル伝達の増加は、隣接する過剰増殖細胞集団に対する抗過剰増殖作用を増大するであろう。別の態様において、これらの治療の抗過剰増殖の有効性を改善するために、静細胞剤または分化剤を、本発明と組合せて使用することができる。細胞接着阻害剤は、本発明の有効性を改善することが企図されている。細胞接着阻害剤の例は、フォーカルアドヒージョンキナーゼ(FAK)阻害剤およびロバスタチンである。抗体c225のようなアポトーシスに対する過剰増殖細胞の感受性を増大する他の物質を、治療有効性を改善するために、本発明と組合せて使用することも更に企図されている。

【0213】

ホルモン療法も、本発明と共にまたは前述のその他の癌療法と組合せて使用することができる。ホルモンの使用は、テストステロンまたはエストロゲンなどのある種のホルモンのレベルを低下するかまたは作用を遮断するために、乳房、前立腺、卵巣、または子宮頸部の癌などのある種の癌の治療において使用することができる。この治療は、治療選択肢としてまたは転移のリスクを低下するために、少なくとも1種の他の癌療法と組合せて使用されることが多い。

【0214】

H. 抗炎症薬

その他の抗炎症薬が、ランチオニン、LK、本発明のLK誘導体、TMDCA、および/または本発明のTMDCA誘導体と共に使用されることが企図されている。他のCOX阻害剤も使用することができ、これはアリールカルボン酸(サリチル酸、アセチルサリチル酸、ジフルニサル、コリンマグネシウムトリサリチル酸、サリチル酸、ベノリレート、フルフェナム酸、メフェナム酸、メクロフェナム酸およびトリフルム酸(triflumic acid))、アリールアルカン酸(ジクロフェナク、フェンクロフェナク、アルクロフェナク、フェンチアザク、イブ

プロフェン、フルルビプロフェン、ケトプロフェン、ナプロキセン、フェノプロフェン、フェンブフェン、スプロフェン、インドプロフェン、チアプロフェン酸、ベノキサプロフェン、ピルプロフェン、トルメチン、ゾメピラク、クロピナック(clopinac)、インドメタシンおよびスリンダク)、ならびにエノール酸(フェニルブタゾン、オキシフェンブタゾン、アザプロバゾン、フェブラゾン、ピロキシカム、およびイソキシカム)を含む(米国特許第6,025,395号)。

【0215】

シメチジン、ラニチジン、ファモチジンおよびニザチジンを含むヒスタミンH₂受容体遮断薬も、本発明の化合物と共に使用することができる。

【0216】

I. 抗コリンエステラーゼ阻害剤

ランチオニン、LK、本発明のLK誘導体、TMDCA、および/または本発明のTMDCA誘導体と共に、アルツハイマー病および他の疾患の治療のためのタクリン、ドネピジル、メトリフォネートおよびリバスチグミンなどのアセチルコリンエステラーゼ阻害剤による治療が企図されている。開発され、一旦承認され使用することができる他のアセチルコリンエステラーゼ阻害剤は、リバスチグミンおよびメトリフォネートを含む。アセチルコリンエステラーゼ阻害剤は、酵素コリンエステラーゼによる神経伝達物質アセチルコリンの破壊を減少することにより、神経末端でのアセチルコリンの量を増加する。

【0217】

J. エストロゲン代替療法

エストロゲン代替療法(ERT)は、アルツハイマー病および他の疾患の治療のために、ランチオニン、LK、本発明のLK誘導体、TMDCA、および/または本発明のTMDCA誘導体と共に使用することができる。エストロゲンは、優れた神経保護物質であり、酸化窒素(NO)またはプロスタグランジンのいずれかの過剰な生成にも関連している疾患の病理発生に関連している複数の経路に作用する。

【0218】

K. MAO-B阻害剤

セレギリン(EldeprylまたはDeprenyl)のようなMAO-B阻害剤は、ランチオニン、LK、本発明のLK誘導体、TMDCA、および/または本発明のTMDCA誘導体と共に使用することができる。セレギリンは、パーキンソン病に使用され、モノアミンオキシダーゼB型(MAO-B)を不可逆的に阻害する。モノアミンオキシダーゼは、モノアミン神経伝達物質であるノルエピネフリン、セロトニンおよびドパミンを失活する酵素である。

【0219】

L. MSの薬学的物質

トリテルペノイド誘導体と併用することができる多発性硬化症(MS)の一般的薬物は、アザチオプリン(Imuran)、クラドリピン(Leustatin)、およびシクロホスファミド(Cytosan)のような免疫抑制薬を含む。

【0220】

M. 栄養補助食品

パーキンソン病、アルツハイマー病、多発性硬化症、筋萎縮側索硬化症、関節リウマチ、炎症性腸疾患、およびその病理発生が酸化窒素(NO)またはプロスタグランジンのいずれかの過剰な生成に関連していると考えられる他の疾患全ての治療または予防に関する恩恵が報告されている食事および栄養補助食品、例えばアセチル-L-カルニチン、オクタコサノール、月見草オイル、ビタミンB₆、チロシン、フェニルアラニン、ビタミンC、L-ドーパ、またはいくつかの抗酸化剤の組合せを、ランチオニン、LK、本発明のLK誘導体、TMDCA、および/または本発明のTMDCA誘導体と共に使用することができる。

【0221】

VII. 実施例

下記実施例は、本発明の具体的な態様を明らかにするために含まれる。当業者により、以下に示された実施例に開示された技術は、本発明の実践においてよく機能することが本

10

20

30

40

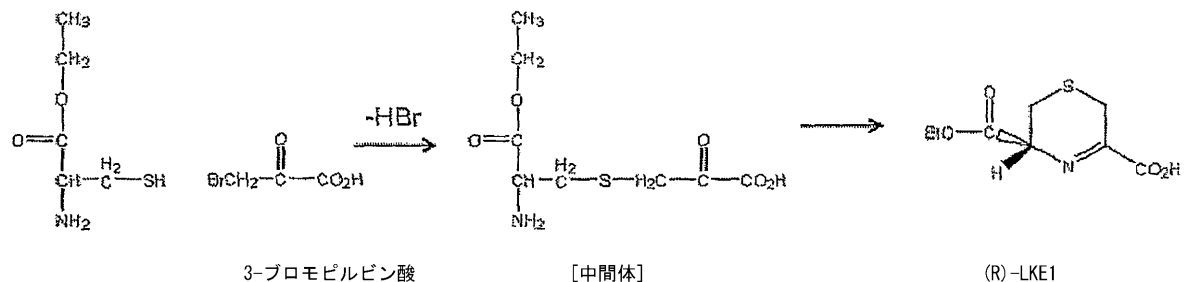
50

発明者により発見された技術を表すことは理解されなければならない。しかし当業者は、本開示を鑑み、開示された具体的態様において、多くの変更を行うことができ、かつ本発明の精神および範囲から逸脱することなく依然同様または類似の結果を得ることは理解しなければならない。

【0222】

実施例1 - (R)-LKおよび(R)-LKE1の合成

(R)-LKE1は、下記スキームに従い合成した：



10

等量の5%L-システイン塩酸塩水溶液と、5%3-ブロモピルビン酸水溶液を、周囲温度で混合した。得られたパールがかった白色の沈殿を濾過し、脱イオン水で完全に洗浄し、温10%メタノールで再結晶した。純度を、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)、¹H-NMRおよび質量分析により評価した。生成物を、N₂(g)下で乾燥し、DMSOまたは0.1N生理食塩水のいずれかに溶解した。生理食塩水の場合、2N NaOHをpH7.4になるまで滴下することにより、溶液を作成した。LKおよびLKEの生理食塩水溶液を、N₂(g)で掃流し(sparge)、そのまま使用する時まで、アリコートで-80 で貯蔵した。

20

【0223】

実施例2 - ミクログリアにおける炎症反応の阻害

マウスEOC-20ミクログリア(アメリカンティッシュタイプコレクション、Gaithersville MD USA)(Hensleyら、2003; Walkerら、1995)を、DMEM含有する20% L929線維芽細胞-補充した培地において増殖した。サイトカインで刺激されたミクログリアによる亜硝酸塩の生成を、先に報告されたGriessジアゾ化反応(Hensleyら、2003; Westら、2004)を用い、細胞培養培地において測定した。

【0224】

(R)-LKE1および(R)-LKのプロ-炎症性サイトカインに反応したミクログリア活性化の阻害剤としての有効性を、図1Aおよび1Bに示した。EOC-20マウスミクログリアを、DMSO中に溶解しおよび細胞培養培地に1:200希釈した被験化合物(例えば(R)-LKまたは(R)-LKE1)で；または、DMSO賦形剤のみで、30分間前処理した。その後細胞を、サイトカインでチャレンジし、細胞培養インキュベーター内で振盪せずに(undisturbed)24時間インキュベーションし、その後Griessアッセイを行った、この場合ランチオニンケチミンエステルは、(R)-LKE1として先に示された構造である。薬物処理後、次に細胞を、40ng/mL組換えマウス腫瘍壊死因子 (TNF) + 50U/mLインターフェロン (IFN) により刺激した。酸化窒素生成の指標として、24時間後細胞培養培地において亜硝酸イオン(NO₂⁻)を測定した。次に細胞生存度を、同じ培養物において、市販のテトラゾリウム還元アッセイ(Promega OneStep (商標); Promega, Gaithersburg MD)を用いアッセイした。細胞培養法は、本発明者により発表されたものである(Hensleyら、2003; Westら、2004)。

30

40

【0225】

活性化されたEOC-20ミクログリアによるTNF (20ng/mL)+IFN (50U/mL)-刺激された亜硝酸塩の生成の(R)-LKE1阻害に関する用量反応相関を、図2に示す。細胞は、指定された濃度の(R)-LKE1で30分間前処理し、その後サイトカインチャレンジした。24時間後、細胞培養培地内で、亜硝酸イオンを測定した。

【0226】

活性化されたEOC-20ミクログリアによるTNF (20ng/mL)+IFN (50U/mL)-刺激された亜硝酸塩の生成の(R)-LKE1阻害に関する用量反応相関を、図1Bに示す。細胞は、指定された

50

濃度の(R)-LKE1で20時間前処理し、その後サイトカインチャレンジした。24時間後、細胞培養培地内で、亜硝酸イオンを測定した。スチューデントt-検定により、 $^*P < 0.05$; $^{**}P < 0.01$ 。これらの結果は、LK誘導体による炎症反応の阻害に関する効能レベルおよび有効性が有望であることを明らかにしている。

【0227】

(R)-LKE1は、NSC-34運動ニューロンハイブリドーマ細胞を、ミクログリア-由来の神経毒生成物から保護する(図3)。EOC-20ミクログリアは、50U/mL IFN + 20ng/mL TNF で24時間刺激し、サイトカイン馴化培地(CM)を収集した。NSC-34細胞(継代後2日目)を、指定された濃度の(R)-LKE1で2.5時間処理し、その後培地の50%を、CMと交換した。対照細胞は、「ナイーブ」非馴化EOC-20培地(NM)を受け取った。一部培地交換時に除去したものを交換するのに十分な(R)-LKE1を、添加した。48時間後、NSC-34培養物の生存度を、市販のキット(Promega Aqueous OneStep(登録商標))を使用する、テトラゾリウム還元アッセイにより評価した。データは、平均 \pm SDで示し、各実験の細胞ウェルはN=4であった。

10

【0228】

(R)-LKE1は、NSC-34運動ニューロン \times 神経芽細胞腫ハイブリッド細胞を、過酸化水素毒性から保護する(図4)。細胞を、指定された濃度の(R)-LKE1で処理した。30分後、細胞を指定された濃度の過酸化水素でチャレンジした。24時間後、細胞生存度を、市販のキット(Promega)を使用する、テトラゾリウム還元アッセイにより評価した。

【0229】

(R)-LKE1は、グルタミン酸塩および/または Ca^{2+} に曝露されたNSC-34運動ニューロン \times 神経芽細胞腫ハイブリッド細胞の生存度を増強する(図5)。NSC-34運動ニューロン \times 神経芽細胞腫細胞は、1mM L-グルタミン酸塩、1mM $CaCl_2$ 、または両方で、4日間処理した。(R)-LKE1は、 $t=0$ および $t=48$ 時間に、指定された濃度で添加した。4日目の最後($t=96$ 時間)に、細胞生存度を、市販のキット(Promega)を使用する、テトラゾリウム還元アッセイにより評価した。

20

【0230】

EOC-20ミクログリアアッセイにおいて、細胞は、100 μ M (R)-または(S)-LKの存在または非存在下で、TNF で刺激し、24時間後に亜硝酸イオンを測定し、亜硝酸イオンの正味の抑制は、(S)-LKにより13%および(R)-LKにより15%であった。これらの結果は、(R)-LKで先に認められた結果に類似しており、両方の異性体が有効性を持つことを明らかにしている。

30

【0231】

還元されたランチオニンケチミン(すなわちTMDCA)も、EOC-20スクリーニングにおいて、TNF -刺激された亜硝酸塩の生成に対して試験した。100 μ M TMDCA(LKのシアノホウ化水素還元により生成)は、ミクログリア活性化を、最大の $67.5 \pm 3.8\%$ (SD)に抑制するか、またはサイトカイン作用を約32.5%阻害した。

【0232】

実施例3 - (R)-LKE1はアストログリアおよびマクロファージの炎症反応を阻害する

初代アストログリアを、ハンチントン病の標準マウスモデルである新生仔のR6/2トランスジェニックマウス子(「Htt+」)(Jackson Labsから市販されている動物)または非トランスジェニック同腹子から培養した。RAW細胞試験のために、RAW264.7マクロファージを、アメリカンタイプカルチャーコレクションから商業的に入手した。RAW264.7マクロファージを、DMEM + 10% FBSおよび1% Pen/Strepにおいて増殖した。細胞を、公表された方法に従い、培養物において維持した。細胞は、 $\pm 1 \mu$ g/mL細菌リポ多糖抗原型0127:B8(Sigma Chemical) \pm 可変濃度の(R)-LKE1で、24~48時間処理した。(R)-LKE1は、LPSチャレンジの30分前に添加した。亜硝酸イオンを、細胞培養培地において、Griessジアゾ化アッセイを用いて測定した。細胞を溶解し、タンパク質発現に関してウェスタンブロットを行うか、またはリボヌクレアーゼ保護アッセイのために別の実験を行った。

40

【0233】

ウェスタンブロットおよび NO_2^- 蓄積の測定により確認されるように(図6)、Htt+アスト

50

ログリアは、細菌リポ多糖抗原型0127:B8(LPS)に反応してiNOSを過剰誘導することがわかった。(R)-LKE1は、LPSに反応したHtt+アストログリアにより生成された NO_2^- の量を減少することがわかった(図7)。対照的に、 40U/mL IFN γ + TNF α (0~1000 $\mu\text{g/mL}$)の刺激の結果としての、Htt+および対照アストログリアの NO_2^- 生成は類似しており； NO_2^- 生成は、IFN γ + TNF α による刺激後48時間に測定した(図8)。IFN γ およびTNF α による刺激の結果として、Htt+および対照アストログリアにおいて、ウェスタンブロットにより測定されたiNOSの同様の増加が認められた。これらの結果は、(R)-LKE1は、Htt+アストログリアにおいて、LPS-誘導した NO_2^- 生成を阻害することができることを明らかにしている。

【0234】

その後実験を、RAW264.7マクロファージにおいて行った。(R)-LKE1は、LPS-刺激した酸化窒素生成を阻害した。図9Aおよび9Bに示されるように、(R)-LKE1は、RAW264.7マクロファージおよびEOC-20ミクログリアにおいて、様々な濃度にわたり、LPS刺激された酸化窒素生成を阻害した。対照的に(R)-LKE1は、C6グリオーマ細胞(LPSまたはIFN γ を用い刺激された)において酸化窒素生成を抑制することは認められず、ならびに(R)-LKE1は、(TNF α + IFN γ)刺激されたEOC-20細胞においても、PGE2を抑制することは認められなかった。これらの実験および前記実験は、(R)-LKE1は、選択的かつ細胞型特異的様式で作用することを明らかにしている。

【0235】

実施例4 - NSC-34細胞はランチオニンおよびピルビン酸エチルによりフリーラジカル損傷から保護される

神経芽細胞腫細胞株の胚性マウス運動ニューロンとの融合に由来したNSC-34運動ニューロン-様細胞(Cashmanら, 1992)を、5%ウシ胎仔血清(FBS)および1%ペニシリンおよび1%ストレプトマイシン(Pen/Strep)を添加したダルベッコ改変必須培地(DMEM)において増殖した。組換えTNF α およびインターフェロン γ (IFN γ)を、BD Biosciences(Pasadena CA USA)から購入した。ランチオニンは、Sequoia Research Products Ltd.(Pangbourne, UK)から購入した。他の試薬は全て、入手可能な市販の最高純度のものであった。

【0236】

NSC-34細胞を、ピルビン酸エチルおよび/またはランチオニン(LK)を伴うまたは伴わずに、 1mM H_2O_2 に曝露した。図10に示したように、 0.5mM ランチオニンは、 0.5mM ピルビン酸エチルの、NSC-34細胞を、 1mM H_2O_2 への曝露の結果としての死滅から保護する能力を増強した。これらの結果は、LKおよびピルベートと細胞の接触による、ニューロンに対するフリーラジカル損傷の阻害の利用性を示している。

【0237】

実施例5 - (R)-LKE1はALSマウスモデルにおいてALS症状を緩和する

トランスジェニックマウス。高コピー数のヒト突然変異体G93A-SOD1を発現しているマウス(SOD1^{G93A}マウス)を、Jackson Laboratories[Bar Harbor ME USA；系統名B6SJL-TgN-(SOD1 G93A)-1-Gur]から得た(Hensleyら, 2002；Hensleyら, 2003；Westら, 2004；Hensleyら, 2006)。トランスジェニックマウスを、SOD1^{G93A}雄をB6SJL-TGN雌と交配することにより、ヘミ接合状態で継代した。動物は、Oklahoma Medical Research Foundation Laboratory Animal Resource Centerにおいて飼育した。

【0238】

マウスは、80日齢で、ロータロッド作業を訓練した。この作業においては、マウスを、静止から10rpmの加速で回転する水平棒上に配置した(Hensleyら, 2002；Hensleyら, 2003；Westら, 2004)。各マウスがロータロッドから落下した時間を記録し、この試験は、各試験日に4回繰り返した。最も近い3回の行動時間を、各マウスについて、各日に平均した。実験薬物処理のために、マウスに、LKEを100mg/kg/日腹腔内注射した。月曜から金曜まで90日齢で開始した。対照動物は、生理食塩水賦形剤を受け取った。ロータロッド行動および体重を、死亡するまで、10日間隔で記録した。動物は、それらの側に10秒間まっすぐ位置することができない時点、またはロータロッド作業を行うことができない時点で、安楽死させた。

【0239】

R6/2子または非トランスジェニック子は成熟させ、70～80日齢で、OMRFでのDr. Rheal TownerおよびDr. Yasvir Tesiramとの共同研究において、画像誘導磁気共鳴スペクトル(IG-MRS)により神経化学的完全性を評価した。進行中の実験において、R6/2マウスには、35日齢から初めて、生理食塩水中の(R)-LKE1 100mg/kgを5日間/週で投与した。70日齢以降の神経化学の完全性モニタリングするために、IG-MRSを使用する。

【0240】

図11に示されたように、G93A-SODマウスにおけるロータロッド行動は、(R)-LKE1投与の結果として改善された。加えて、図12に示されたように、(R)-LKE1は、G93A-SODマウスの体重減少を阻害した。生理食塩水中の(R)-LKE1の腹腔内投与は、90日齢から開始した。これらの結果は、(R)-LKE1投与の結果として、有益なインビボ作用が認められたことを明らかにしている。

10

【0241】

実施例6 - マウスモデルにおける敗血症の治療

6匹のマウスを、40mg/kg大腸菌LPS 0127:B8で処理し、かつ100mg/kgの(R)-LKE1の毎日の腹腔内投与で同時処理した。生存度を、LPSのみを受け取る対照群と比較した。結果を、下記表1に示す。

【0242】

【表1】

時間	生存/死亡	生存/死亡
(h)	賦形剤群	LKE群
0	0 / 6	0 / 6
18 h	1 / 5	2 / 4
36 h	4 / 2	3 / 3
48 h	6 / 0	4 / 2
72 h	6 / 0	4 / 2

20

【0243】

実施例7 - 細菌細胞壁成分に反応したヒト単球によるTNF 生成は、(R)-LKE1により阻害される

30

(R)-LKE1は、2種の細胞壁成分、黄色ブドウ球菌由来のリポ多糖(UltraPure LPS)(Invivogen)および炭疽菌由来のペプチドグリカン(PG)(List Biological Laboratories)に反応して、ヒトPB単球によるTNF 生成を阻害する。

【0244】

フローサイトメトリーによる末梢血中のTNF 陽性単球の同定：LPSまたはPGに反応してTNFを発現しているPB単球は同定することができ、かつTNF を染色するために蛍光抗体によるフローサイトメトリーを用いカウントすることができる。TNF を発現している単球の割合を同定するために、PBを、LPSまたはPGで刺激し、単球を他の白血球から識別するために表面マーカーで染色し、TNF を発現している単球を同定するために、細胞内TNFについて染色した。TNF 陽性の単球の割合は、(R)-LKE1による前処理を伴うまたは伴わない、LPS、PGで刺激された試料および非刺激試料の間で比較した。

40

【0245】

単球表面マーカーを同定するために使用した蛍光抗体は、各マーカーの染色強度を基に、抗ヒトCD14-フィコエリトリン(PE)および抗(anti)CD16b-フルオレセインイソチオシアネート(FITC)であった。単球は、CD14について陽性、およびCD16bについて陰性である。単球を好中球から分離する方法は、CD14/CD16b強度を基に細胞を選別し、スライドを調製し、May-Grunwald Giemsaにより染色し、かつ形態を確認することにより確認した。

【0246】

50

CD14陽性、CD16b陰性細胞の分析のために、本発明者らは、ドットプロットを使用した。本発明者らは最初に、それらの前方散乱光(FSC)および側方散乱光(SSC)特性により、この分析からリンパ球を排除し、単球/好中球ゲートを通し、リンパ球を排除した(示さず)。次に本発明者らは、非染色試料との比較により、CD14+(y-軸)、CD16b-(x-軸)細胞を同定した。

【0247】

第三の色素PE-Cy7を、TNF の細胞内サイトカイン染色に使用した。TNF 陽性単球は、単球のみについてTNF PE-Cy7に対する、SSCの第二のドットプロットにおいて同定した。細胞は、PE-Cy7の強度が非刺激対照よりも大きい場合に、TNF 発現陽性としてカウントした。TNF 陽性単球の割合を、陽性数/単球の合計数を用いて計算した。

10

【0248】

ヘパリン処理したPBを、DMEMで1:3希釈した。希釈した血液を、非組織培養プレートのウェルへ1.0 mlアリコートで配置した。PBを、LKE(1mM)または希釈剤DMSO(10 µl)と共に、37 °Cで1時間予めインキュベーションした。PG(10ug/ml)または超純度LPS(1 µg/ml)を、(R)-LKE1を含むかまたは含まずにプレインキュベーションしたウェルに添加した。プレフェルジンA 1000X(BFA)1 µlを、ウェル内の溶液へ添加し、混合した。

【0249】

プレートを37 °Cで2時間インキュベーションした。血液を、遠心管に取り出した。ウェルを、300 µl 1XPBS/BFA、0.02% EDTAで洗浄し、底上の細胞を除去し、溶液および細胞を、遠心管に添加した。

20

【0250】

これらの試料を、500rcfで5分間遠心し、100 µl SWB(1XPBS、2% FBS、0.1% NaN₃)/BFAで洗浄し、100 µl SWB/BFA中に再懸濁した。ヒトIgG(0.1mg/ml)を添加した。これらの試料を、激しく攪拌し、氷上に10分間配置した。抗ヒトCD16b-FITC(20 µl)(Accurate chemical)および抗ヒトCD14-PE(20 µl)(eBioscience)を添加した。これらの試料を激しく攪拌し、氷上に20分間放置した。

【0251】

試料を遠心し、上清を取り除いた。赤血球細胞を、1ml ACK溶解緩衝液で5分間溶解し、1X PBS/BFA 500 µlで2回洗浄した。細胞を、100 µl 1X PBS/BFA中に再懸濁し、1X PBS、2%ホルムアルデヒド100 µlにより室温で20分間固定した。

30

【0252】

試料を、4 °Cで暗所で氷0/N上に配置し、1X PBSで洗浄し、透過性向上緩衝液(SWB, 0.5% サポニン)100 µl中に再懸濁し、RTで10分間インキュベーションした。100 µlの透過性向上緩衝液を添加し、1 µl 抗ヒトTNF -PE Cy7(eBioscience)を添加した。試料を激しく攪拌し、氷上に50分間配置した。SWB 1mlを添加し、細胞を遠心し、フローサイトメトリ分析のためにSWB 500 µl中に再懸濁した。データは、10,000個白血球/試料について収集した。

【0253】

単球を、CD14について細胞染色陽性、およびCD16bについて陰性として同定した。TNF についての単球染色陽性の割合および10,000個細胞の試料あたりの単球の総数は、以下のようであった(図17): 非-刺激0.13% (777); PG, 11.5% (601); PGとのLKEプレ-インキュベーション、0.76% (527); 超純度LPS、63.8% (738); 超純度LPSとの(R)-LKE1プレ-インキュベーション、25.9% (471); DMSOプレ-インキュベーション + PG、11.62% (456); DMSOプレ-インキュベーション + 超純度LPS、75.71% (280); LKE、0.96% (727); DMSO、1.0% (580)。

40

【0254】

実施例8 - 脳卒中の予防および治療におけるLKおよびLK-誘導体の使用(机上の実施例)

本発明の化合物の脳卒中を予防および/または治療する可能性を、哺乳類モデルを使用し明らかにする。例えば、アレチネズミ頸動脈閉塞モデルを使用する下記実験を設定することができる。成体モンゴリアンアレチネズミを麻酔し、頸動脈を露出した。

50

【0255】

手術用縫合糸を、頸動脈の回りに配置し、耳の後部に出るように作成した二重管カテーテルを通して突き出し；この縫合糸は、動脈の回りでは結紮せず、むしろ外部張力により、後で結紮されるループ状とした。手術野を閉鎖し、動物を2日間の麻酔から回復させた。その時点で、またはその時点以前に、治療群においては、LK、LK-誘導体および/もしくは本発明の化合物が動物へ投与されるのに対し、対照群では、賦形剤(例えば生理食塩水)が動物へ投与された。例えば、LKまたは(R)-LKE1の場合、投与量は、50mg/kg～1g/kgで腹腔内、飲料水内または食品内で投与された。

【0256】

この時点で、1本の外側の手術用縫合糸に張力を加え、これにより頸動脈を通る血流を5～15分間閉塞した。張力を開放し、0分～72時間再灌流させた。虚血/再灌流障害は、磁気共鳴画像診断(MRI)の容積評価によるか、または脳の組織学的試験により、測定することができる。行動試験も、動物において行うことができる(例えば、G93 A-SOD1動物において行ったようなロータロッド試験)。生化学試験は、皮質組織上で行うことができる。頸動脈虚血/再灌流が施された脳半球に対する定量的損傷を評価し、これらの変化を対側(対照半球)と比較するであろう。データは更に、LK/LKEを受け取った動物群と、生理食塩水賦形剤を受け取った動物群の間で比較した。

【0257】

当業者は、脳卒中(脳虚血/再灌流)の他の哺乳類モデルも使用することができることを認めるであろう。

【0258】

本明細書において開示されかつ請求された組成物および方法の全ては、本開示を考慮し、過度の実験を行うことなく、作成および実行することができる。本発明の組成物および方法は、好ましい態様に関して説明されているが、本発明の概念、精神および範囲から逸脱することなく、本明細書に説明された組成物および方法、ならびに方法の工程もしくは工程の順序に変更を適用することができることは、当業者には明らかであろう。より詳細には、化学的および生理学的の両面で関連のある物質は、本明細書に説明された物質と置換されたとしても、同じまたは同様の結果が達成されることは明らかであろう。そのような類似性のある置換および修飾は全て、当業者に明らかであり、かつ添付された特許請求の範囲により規定されるような、本発明の精神、範囲および概念の内側であると考えられる。

【0259】

参考文献

下記参考文献は、それらが本明細書に説明されたものを補う例証的手法またはその他の詳細を提供する程度に、明確に本明細書に参照として組入れられている。

米国特許第4,683,195号
米国特許第5,399,363号
米国特許第5,466,468号
米国特許第5,543,158号
米国特許第5,580,579号
米国特許第5,629,001号
米国特許第5,641,515号
米国特許第5,725,871号
米国特許第5,756,353号
米国特許第5,780,045号
米国特許第5,804,212号
米国特許第6,613,308号
米国特許第6,753,514号
米国特許第5,792,451号
米国特許第6,025,395号

10

20

30

40

50

米国特許第5,804,212号

米国特許出願公開第2003/0185754号

Ausubel *et al.*, In: *Current Protocols in Molecular Biology*, John, Wiley & Sons, Inc, NY, 1994.

Bagasra *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:12041–12045, 1995.

Beal *et al.*, *Nature*, 321:168-171, 1986.

Beal, *Curr. Opin. Neurobiol.*, 6:661–666, 1996.

Bensimon *et al.*, *J. Neurol.*, 249:609-615, 2002.

10

Blight *et al.*, *J. Neurotraum.*, 14:89-98; 1997.

Brown *et al.*, *Journal of Biological Chemistry* 140:767-771, 1941.

Cashman *et al.*, *Dev. Dyn.*, 194:209-221, 1992.

Cavallini *et al.*, *Eur. J. Biochem.*, 202:217-223; 1991.

Cavallini *et al.*, *FEBS Lett.*, 3122:247-250; 1985.

Cavallini *et al.*, In: *Sulfur Amino Acids: Biochemical and Clinical Aspects*, Alan R. Liss Inc., 355-364, 1983.

20

- Chiarugi *et al.*, *Neurosci.*, 102:687-695; 2001.
- Cooper, *Neurochem. Int.*, 44:557-577; 2004.
- Coyle and Puttfarcken, *Science*, 262:689-695, 1993.
- Culver *et al.*, *Science*, 256(5063):1550-1552, 1992.
- Desagher *et al.*, *J. Neurosci.*, 17:9060-9067, 1997.
- Fontana *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 171:480-486; 1990.
- Fontana *et al.*, *Neurochem. Res.*, 22:821-844; 1997.
- Foster *et al.*, *Mol. Pharmacol.*, 41:910-922, 1992. 10
- Gait, In: *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach*, IRL Press Oxford, United Kingdom, 1984.
- Giulidori *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 259:4205-4211, 1984.
- Glover, In: *DNA Cloning*, Volumes I and II, 1985.
- Guidetti *et al.*, *Neurobiol. Dis.*, 17:455-461; 2004.
- Guillemin *et al.*, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 527:167-176; 2003.
- Guillemin *et al.*, *Neurodegener. Dis.*, 2:166-176, 2005. 20
- Guillemin *et al.*, *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, 31:395-404; 2005.
- Gurney *et al.*, *Ann. Neurol.*, 39:147-157, 1996.
- Hames and Higgins, In: *Nucleic acid hybridisation: a practical approach*, IRL, Oxford, UK, 1985.
- Harpp *et al.*, *Journal of Organic Chemistry* 36:73-80, 1971.
- Hensley *et al.*, *J. Neurochem.*, 82:365-374, 2002.
- Hensley *et al.*, *J. Neuroinflammation*, 3:2; 2006.
- Hensley *et al.*, *Neurobio. Dis.* 14: 74-80; 2003 30
- Hermann, *Chemische Berichte*, 94:442-445, 1961.
- Heyes, *Adv. Exp. Med. Biol.*, 398:125-129, 1996.
- Horn *et al.*, *Journal of Biological Chemistry* 138: 141-149, 1941.
- Huang *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 98(20):11720-4, 2001.
- Hwang *et al.*, *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.*, 15(3):243-284, 1998.
- Jauch *et al.*, *J. Neurol. Sci.*, 130:39-47, 1995.
- Kaltschmidt *et al.* *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94:2642-2647, 1997. 40
- Magnuson *et al.*, *Can. J. Physiol. Pharm.*, 65:2483-2487, 1987.
- Manfredini *et al.*, *Bioorg Med Chem.* 8(12):2791-801, 2000.
- Mathiowitz *et al.*, *Nature*, 386(6623):410-414, 1997.

Mayer and Walker, In: *Immunochemical Methods in Cell and Molecular Biology*, Academic Press, 1988.

McGeer and McGeer, *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 21:195–218, 1995.

McGeer *et al.*, *Neurology*, 19:331–338, 1996.

Merrill and Benvenist, *Trends Neurosci.*, 19:331–338, 1996.

Moroni, *Eur. J. Pharmacol.*, 375:87-100, 1999.

Nakamichi *et al.*, *J. Neurochem.*, 93:84-93, 2005.

10

Paul *et al.*, *Mini-Reviews in Organic Chemistry* 2:23-37, 2005.

Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use—A Handbook, by C. G. Wermuth and P. H. Stahl, Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002.

Probert *et al.*, *Tetrahedron Letters* 37:1101-1104, 1996.

Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th ed., pages 1035-1038 and 1570-1580, Mack Publishing Company, Easton, PA, 1980.

Remington's Pharmaceutical Sciences, 19th Ed. Mack Printing Company, 1995.

Remington's Pharmaceutical Sciences, 20th Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2003.

20

Sambrook *et al.*, In: *Molecular cloning: a laboratory manual*, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989.

Schiefer *et al.*, *Mov. Disord.*, 17:748-757, 2002.

Sen *et al.*, *Ann. NY Acad. Sci.*, 1031:127-142, 2004.

Shao *et al.*, *Journal of Organic Chemistry* 60:2956-2957, 1995.

Simonian and Coyle, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 36:83–106, 1996

Stewart *et al.*, *Neurology*, 48:626–632, 1997.

30

Stone and Darlington, *Nat. Drug Disc.*, 1:609-620, 2002.

Stoy *et al.*, *J. Neurochem.*, 93:611-623; 1995.

Stryer, In: *Biochemistry*, 4th Ed.; W.H. Freeman, 1995.

Takenaga *et al.*, *J. Control Release*, 52(1-2):81-87, 1998.

Tirosh *et al.*, *Neurosci.*, 97:531-541, 2000.

Urenjak, *NeuroReport*, 11:1341-1344, 2000.

Vodovotz *et al.*, In; *Handbook of Experimental Immunology*, Volumes I–IV, 1996.

Walker *et al.*, *J. Neuroimmunol.*, 63:163-174, 1995.

40

Weir and Blackwell, In: *Handbook Of Experimental Immunology*, Volumes I–IV, 1986.

West *et al.*, *J. Neurochem.*, 91:133-143, 2004.

Widner *et al.*, *J. Neural. Transm.*, 107:343-353; 2000.

【図面の簡単な説明】

【 0 2 6 0 】

下記図面は、本明細書の一部を形成し、かつ本発明のある局面を更に明らかにするために含まれる。本発明は、先に示した具体的態様の詳細な説明と組合せて、1つまたは複数

50

のこれらの図面を参照することにより、より良く理解されるであろう。

【図 1】図 1A および 1B. LK および (R)-LKE1 は、TNF α -刺激されたミクログリア活性化を阻害する。 図 1A: EOC-20 細胞は、LK または (R)-LKE1 のいずれかにより、30 分間前処理し、その後 TNF α でチャレンジした。NO $_2^-$ および生存度を、本文に説明したように、24 時間後に測定した。バーは、各実験における、N=4, 2cm 2 細胞培養ウェルでの、平均 \pm SD を示す。 * 陽性対照に対し $P < 0.05$; † LK-処理群に対し $P < 0.05$ 。図 1B: (R)-LKE1 によるミクログリア活性化の用量-反応阻害。エラーバーは、代表的実験からの、N=4 ウェルの平均 \pm SD を示す。両側 t -検定により、 $^*p < 0.05$; $^{**}p < 0.01$ 。「LKE」は、(R)-LKE1 を意味する。

【図 2】(R)-LKE1 は、TNF α + IFN γ -刺激されたミクログリア活性化を阻害する。 活性化された EOC-20 ミクログリアによる TNF α (20ng/mL) + IFN γ (50U/mL)-刺激された亜硝酸塩の生成の (R)-LKE1 阻害の用量反応関係。「LK-エステル」は、(R)-LKE1 を意味する。

10

【図 3】(R)-LKE1 は、サイトカイン馴化した EOC-20 ミクログリア培養培地に固有の細胞毒性に対し NSC-34 細胞を保護する。 EOC-20 培地は、ミクログリアを TNF α + IFN γ で 48 時間刺激することにより、馴化した。NSC-34 細胞は、(R)-LKE1 により 0.5 時間処理し、その後培地を交換し、次に (R)-LKE1 (または生理食塩水賦形剤対照) + 馴化培地により、24 時間同時処理し、その後テトラゾリウム還元法により、生存度アッセイした。「LKE」は (R)-LKE1 を意味する。

【図 4】(R)-LKE1 は、酸化ストレスチャレンジに対し NSC-34 運動ニューロン-様細胞を保護する。 細胞は、指示された濃度の (R)-LKE1 により 0.5 時間前処理し、その後 H $_2$ O $_2$ により指定された用量で 24 時間チャレンジした。生存度を、テトラゾリウム還元アッセイにより評価した。データは、平均 \pm SD, N=4 ウェル/ポイントで示す。「LKE」は、(R)-LKE1 を意味する。

20

【図 5】(R)-LKE1 は、興奮毒性に対し NSC-34 細胞を保護する。 (R)-LKE1 の用量反応を、グルタミン酸および/または Ca $^{2+}$ に曝露された細胞の生存度の変化の関数として測定した。「LKE」は、(R)-LKE1 を意味する。

【図 6】Htt+アストログリアは、LPS に反応して iNOS を超-誘導する。 Htt+アストログリアは、LPS への曝露後 48 時間での NO $_2^-$ 蓄積の測定により、細菌リポ多糖抗原型 0127:B8 (LPS) に反応して iNOS を超-誘導することがわかった。

【図 7】(R)-LKE1 は、Htt+アストログリアの LPS 感受性を減弱する。 (R)-LKE1 は、細菌リポ多糖抗原型 0127:B8 (LPS) に反応して Htt+アストログリアにより生成された NO $_2^-$ の量を低下することがわかった。 * は、 $p < 0.05$ を意味し、 ** は、 $p < 0.01$ を意味する。「LKE」は、(R)-LKE1 を意味する。

30

【図 8】40U/mL IFN γ および TNF α による刺激の結果としての、Htt+および対照アストログリアの類似した NO $_2^-$ 生成。 NO $_2^-$ 生成は、一定濃度の IFN γ + 変動濃度の TNF α による刺激後 48 時間に測定した。

【図 9】図 9A および 9B. (R)-LKE1 は、LPS-刺激された亜硝酸生成を抑制する。 エラーバーは、代表的実験の N=4 ウェルの平均 \pm SD を示す。両側 t -検定により、 $^*p < 0.05$; $^{**}p < 0.01$ 。「LKE」は、(R)-LKE1 を意味する。図 9A: LKE は、EOC-20 ミクログリアの LPS-刺激された活性化を阻害する。EOC-20 細胞は、LK または (R)-LKE1 のいずれかにより、30 分間前処理し、その後 TNF α でチャレンジした。NO $_2^-$ および生存度を、その後 24 時間に測定した。図 9B: R 40

【図 10】ピルビン酸エチルおよびランチオニンは相乗作用し、NSC-34 運動ニューロン-様細胞を、過酸化水素に対し保護する。 NSC-34 細胞は、ピルビン酸エチルおよび/またはランチオニンを伴うまたは伴わずに、1mM H $_2$ O $_2$ に曝した。0.5mM ランチオニンは、0.5mM ピルビン酸エステルの、NSC-34 細胞を 1mM H $_2$ O $_2$ への曝露の結果としての死滅から保護する能力を増強した。細胞は、2 種の化合物により 6 時間前処理し、その後 H $_2$ O $_2$ でチャレンジした。生存度は、24 時間後に測定した。 * 細胞毒性作用について、未処理の対照と比べ、 $p < 0.05$; † 細胞保護作用について、過酸化水素のみで処理した細胞と比べ、 $p < 0.05$; ‡ ランチオニン + ピルビン酸エチルの組合せ作用、対、ピルビン酸エチルのみについて、 $p < 0.05$

50

。

【図 1 1】(R)-LKE1は、G93A-SOD1マウスにおいて運動ニューロン疾患の進行を遅延する。マウスには、90日目から、生理食塩水中のLKE 100mg/kgまたは生理食塩水賦形剤のみを、腹腔内に5日/週投与した。これらのグラフは、ロータロッド作業アッセイにより測定した、運動作業の衰退パターンを示している。ここには、ふたつの対照曲線が存在する；G93A-SOD1の(ALS)マウスの賦形剤-注射したセット、および基本的飼料を食餌させたが注射または処置は行わない同じマウス群。両方の曲線は、飼料-食餌した動物に関する非常に大きい「N」と、完全に重複した。LKE-注射した動物は、右側-シフトしたロータロッド曲線を明らかに示す。反復測定ANOVAにより、 $P < 0.05$ ；*示された日齢時点での、事後(post-hoc)t-検定により $P < 0.05$ 。ロータロッド作業は、(R)-LKE1投与の結果として改善された。「LKE」は、(R)-LKE1を意味する。

10

【図 1 2】(R)-LKE1は、G93A-SOD1マウスにおける体重減少を阻害した。マウスには、(R)-LKE1 100mg/kgを5日/週投与した。(対照群は、生理食塩水注射を投与した。) 「LKE」は、(R)-LKE1を意味する。

【図 1 3】(R)-LKは、興奮毒性に対し、HT4細胞を保護する。細胞生存度の決定：HT4細胞を、6ウェルプレートに播種した(1×10^7 個細胞/ウェル)。24時間後、細胞培地を交換し、(R)-LK(DMSO中)を、1時間使用し、その後グルタミン酸チャレンジした。粉末化した(R)-LKは、使用直前に、DMSO中に溶解した。培養物中の細胞の生存度を、Sigma Chemical Co.(セントルイス, MO, USA)から入手したインビトロ毒性アッセイキットを使用し、グルタミン酸処理後の、細胞から培地への乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)の漏出を18~24時間測定することにより評価した。LDH漏出は、下記式を用いて決定した：漏出した総LDHの割合(%) = (細胞培養培地中のLDH活性 / 総LDH活性)、ここで総LDH活性 = 細胞単層中のLDH活性 + 剥離した細胞中のLDH活性 + 細胞培養培地中のLDH活性。

20

【図 1 4】(R)-LKE1は、興奮毒性に対しHT4細胞を保護する。細胞生存度の決定。HT4細胞を、6ウェルプレートに播種した(1×10^7 個細胞/ウェル)。24時間後、細胞培地を交換し、(R)-LKE1(DMSO中)を、5分間使用し、その後グルタミン酸チャレンジした。粉末化した(R)-LKE1を、使用直前に、DMSO中に溶解した。培養物中の細胞の生存度を、Sigma Chemical Co.(セントルイス, MO, USA)から入手したインビトロ毒性アッセイキットを使用し、グルタミン酸処理後の、細胞から培地への乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)の漏出を18~24時間測定することにより評価した。LDH漏出は、下記式を用いて決定した：漏出した総LDHの割合(%) = (細胞培養培地中のLDH活性 / 総LDH活性)、ここで総LDH活性 = 細胞単層中のLDH活性 + 剥離した細胞中のLDH活性 + 細胞培養培地中のLDH活性。「LKE」は、(R)-LKE1を意味し；「con」は、対照を意味し、および「G」は、グルタミン酸対照を意味する。

30

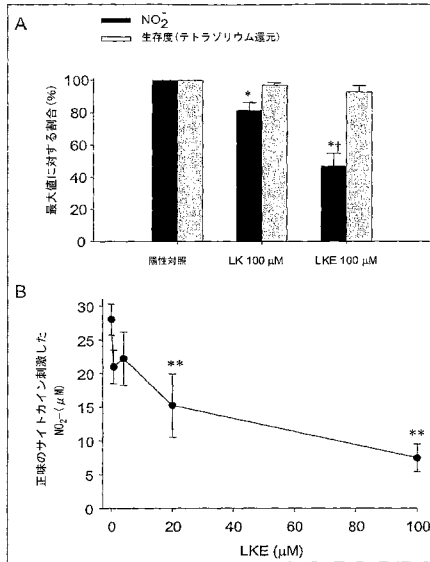
【図 1 5】(R)-LKE1は、SHSY5Yドパミン作用性神経芽細胞腫細胞をロテノン毒性に対し保護する。この実験において、SHSY5Y培養物は、(R)-LKE1で30分間処理し、その後ロテノンを添加し、次に生存度をその後の様々な時点でアッセイした。24時間の細胞生存度の変化の割合(%)を、異なるロテノン濃度で、(R)-LKE1の存在下および非存在下で測定した。「LKE」は、(R)-LKE1を意味する。

【図 1 6】(R)-LKE1は、腫瘍細胞増殖を阻害する。100,000個のC6グリオーマ細胞を、成体雄のSprague-Dawleyラットの真皮内に移植した。試験群には、生理食塩水中の(R)-LKE1を、移植日から始め、100mg/日、7日/週毎日投与した。対照群は、(R)-LKE1処置を受け取らなかった。

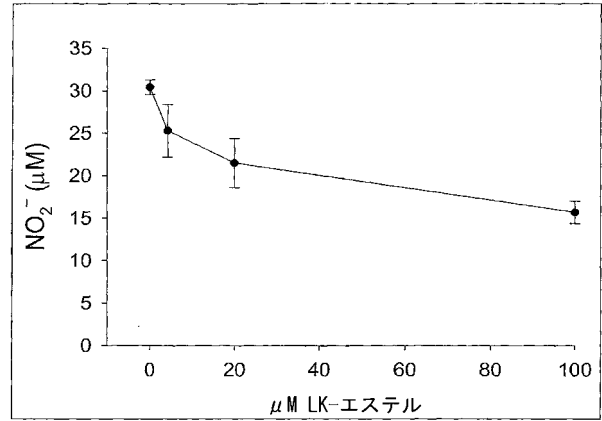
40

【図 1 7】LKEは、PGNおよびUPLPSで刺激されたヒトPB単球において生成されたTNF を阻害する。PBは、1mM (R)-LKE1または希釈剤1%DMSOとブレインキュベーションし、引き続きPGNまたはUPLPSで刺激した。細胞内TNF について陽性であるCD14+ 単球の数を、細胞内染色およびフローサイトメトリーにより測定した。データ = 平均 ± 標準誤差, N=2 生物学的複製物。「LKE」は、(R)-LKE1を意味する。

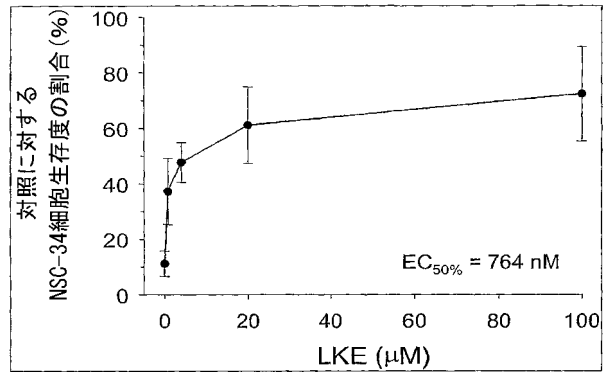
【図 1】



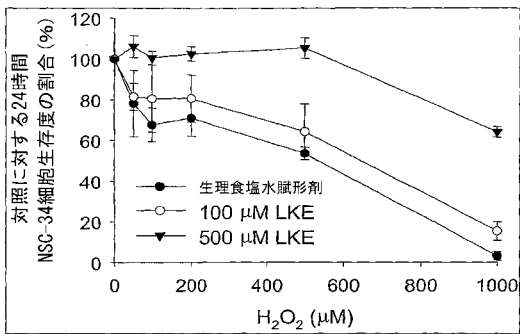
【図 2】



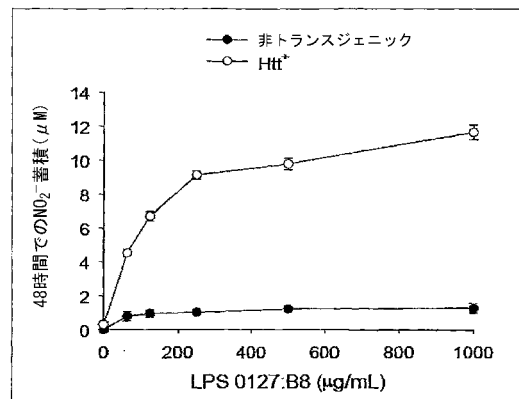
【図 3】



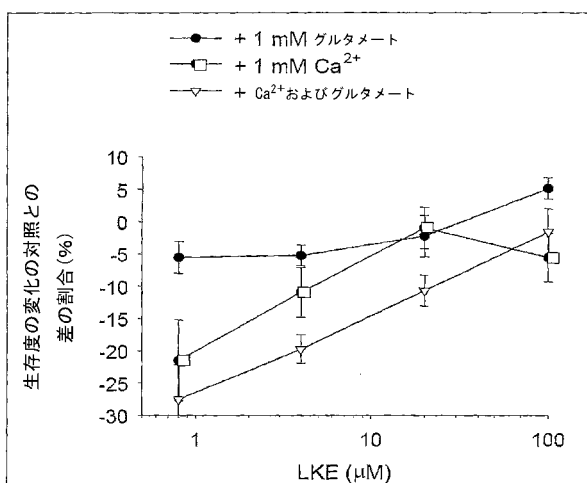
【図 4】



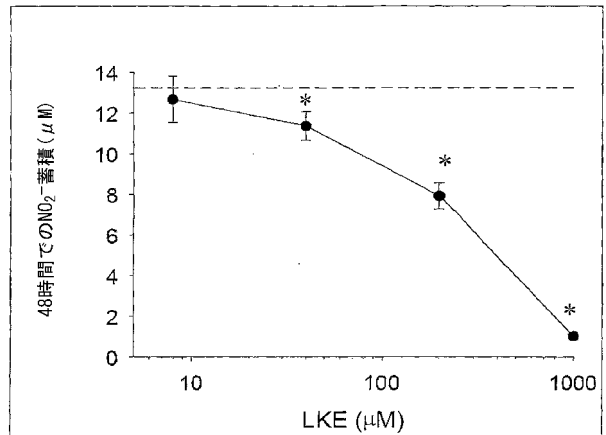
【図 6】



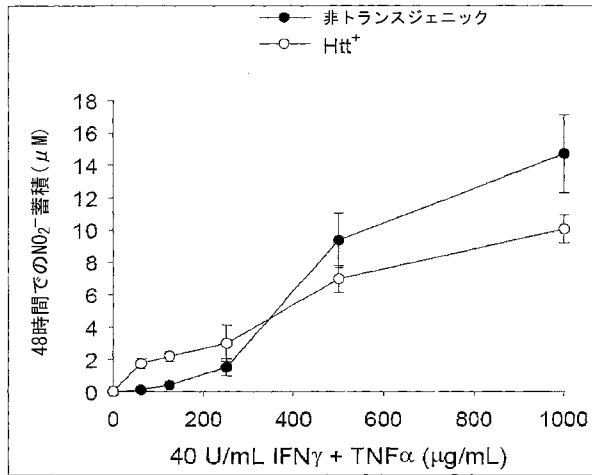
【図 5】



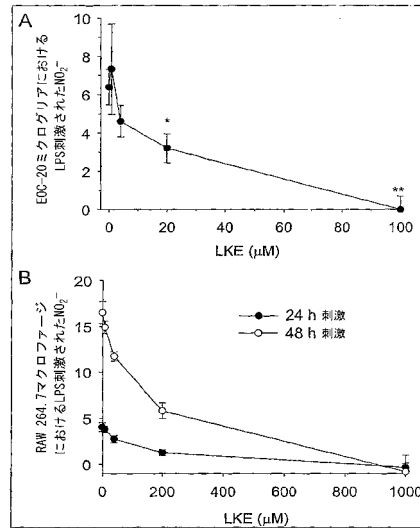
【図 7】



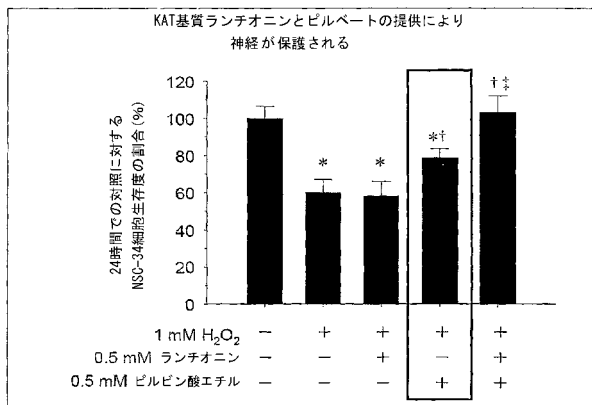
【図 8】



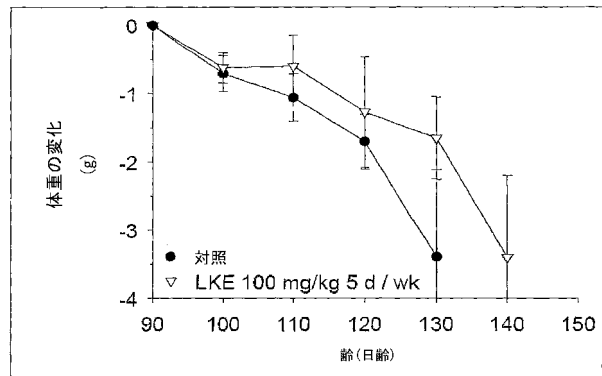
【図 9】



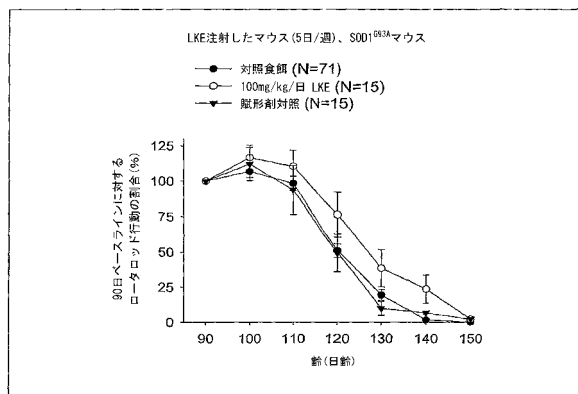
【図 10】



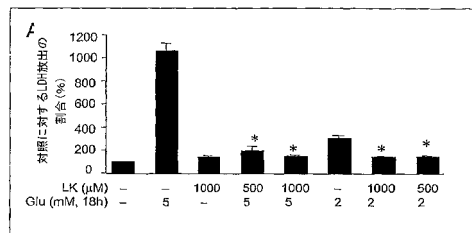
【図 12】



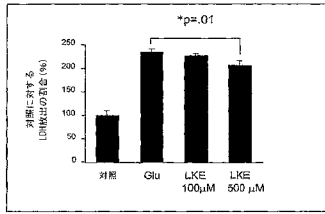
【図 11】



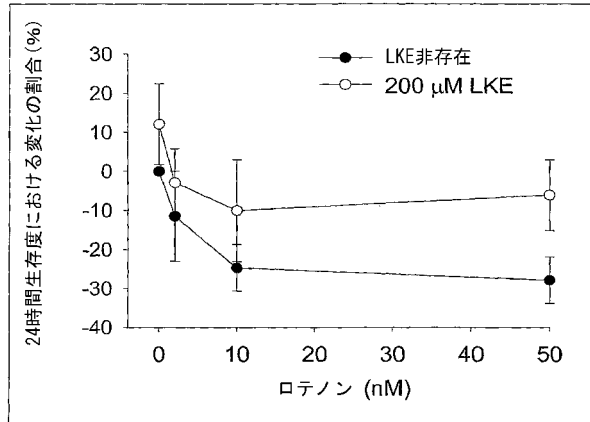
【図 13】



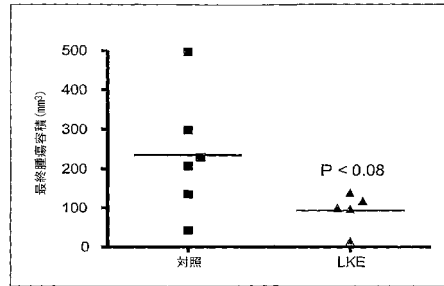
【図 14】



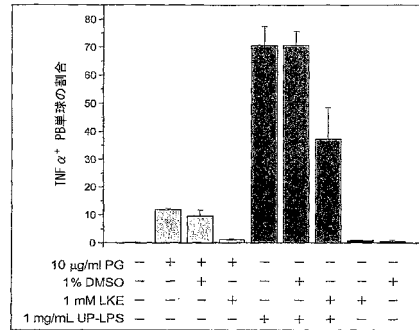
【図 15】



【図 16】



【図 17】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P 25/00	(2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/28	(2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/16	(2006.01)	A 6 1 P 25/16	
A 6 1 P 25/14	(2006.01)	A 6 1 P 25/14	
A 6 1 P 9/00	(2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P 9/10	(2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P 19/02	(2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P 1/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 9/12	(2006.01)	A 6 1 P 1/00	
A 6 1 P 25/24	(2006.01)	A 6 1 P 9/12	
A 6 1 P 25/22	(2006.01)	A 6 1 P 25/24	
A 6 1 P 27/02	(2006.01)	A 6 1 P 25/22	
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 27/02	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
A 6 1 P 35/02	(2006.01)	A 6 1 P 35/00	
C 0 7 D 417/12	(2006.01)	A 6 1 P 35/02	
		C 0 7 D 417/12	

(31)優先権主張番号 60/804,149

(32)優先日 平成18年6月7日(2006.6.7)

(33)優先権主張国 米国(US)

(74)代理人 100130845

弁理士 渡邊 伸一

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(72)発明者 ヘンズリー ケネス

アメリカ合衆国 オクラホマ州 オクラホマ シティ ノースウエスト 第51 ストリート 6
1 2

審査官 鳥居 福代

(56)参考文献 米国特許第02283186(US,A)

特表2004-537275(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl.,DB名)

C 0 7 D 2 7 9 / 1 2

C 0 7 D 4 1 7 / 1 2

A 6 1 K 3 1 / 5 4

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)