

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5244810号
(P5244810)

(45) 発行日 平成25年7月24日 (2013. 7. 24)

(24) 登録日 平成25年4月12日 (2013. 4. 12)

(51) Int. Cl.	F I
C 0 7 K 7/02 (2006. 01)	C O 7 K 7/02 Z N A
C 0 7 K 5/107 (2006. 01)	C O 7 K 5/107
C 0 7 K 5/103 (2006. 01)	C O 7 K 5/103
A 6 1 K 38/00 (2006. 01)	A 6 1 K 37/02
A 6 1 P 43/00 (2006. 01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
請求項の数 20 (全 89 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2009-536339 (P2009-536339)	(73) 特許権者	506041833
(86) (22) 出願日	平成19年11月12日 (2007. 11. 12)		カラ セラピューティクス インコーポレ イテッド
(65) 公表番号	特表2010-509343 (P2010-509343A)		アメリカ合衆国, コネチカット州 O 6 4 8 4, シェルトン, ワン パロット ドラ イブ
(43) 公表日	平成22年3月25日 (2010. 3. 25)		
(86) 国際出願番号	PCT/US2007/023858	(74) 代理人	100079108
(87) 国際公開番号	W02008/057608		弁理士 稲葉 良幸
(87) 国際公開日	平成20年5月15日 (2008. 5. 15)	(74) 代理人	100109346
審査請求日	平成22年9月24日 (2010. 9. 24)		弁理士 大貫 敏史
(31) 優先権主張番号	60/858, 109	(72) 発明者	シュタインガート, クラウディオ, ディー .
(32) 優先日	平成18年11月10日 (2006. 11. 10)		アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 2 1 2 2, サン ディエゴ, フィスク アベ ニュー 6 9 1 2
(33) 優先権主張国	米国 (US)		最終頁に続く
(31) 優先権主張番号	60/928, 550		
(32) 優先日	平成19年5月10日 (2007. 5. 10)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

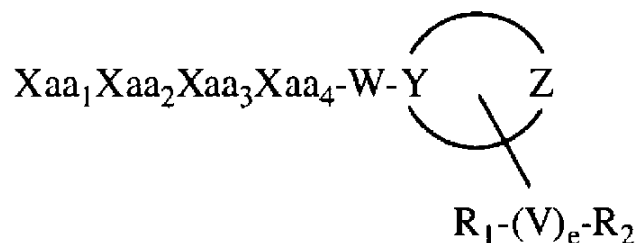
(54) 【発明の名称】 合成ペプチドアミド

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式

【化 1】



(式中、

Xaa₁ は、(A) (A') D-Phe、(A) (A') (α-Me) D-Phe、D-Tyr、D-Tic、D-tert-ロイシン、D-ネオペンチルグリシン、D-フェニルグリシン、D-ホモフェニルアラニンおよびβ-(E) D-Alaからなる群から選択され、各(A) および各(A') は、-H、-F、-Cl、-NO₂、-CH₃、-CF₃、-CNおよび-CONH₂ からなる群から独立に選択されるフェニル環置換基であり、各(E) は、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、ピリジル、チエニル

およびチアゾリルからなる群から独立に選択され、

Xaa_2 は、(A) (A') D-Phe、3, 4-ジクロロ-D-Phe、(A) (A') (α -Me) D-Phe、D-1Nal、D-2Nal、D-Tyr、(E) D-Ala および D-Trp からなる群から選択され、

Xaa_3 は、D-Nle、D-Phe、(E) D-Ala、D-Leu、(α -Me) D-Leu、D-Hle、D-Val および D-Met からなる群から選択され、

Xaa_4 は、(B)₂ D-Arg、(B)₂ D-Nar、(B)₂ D-Har、 ζ -(B) D-Hlys、D-Dap、 ϵ -(B) D-Lys、 ϵ -(B)₂ D-Lys、D-Amf、アミジノ-D-Amf、 γ -(B)₂ D-Dbu、 δ -(B)₂ α -(B') D-Orn、D-2-アミノ-3 (4-ピペリジル) プロピオン酸、D-2-アミノ-3 (2-アミノピロリジル) プロピオン酸、D- α -アミノ- β -アミジノプロピオン酸、 α -アミノ-4-ピペリジン酢酸、cis- α , 4-ジアミノシクロヘキサン酢酸、trans- α , 4-ジアミノシクロヘキサン酢酸、cis- α -アミノ-4-メチルアミノシクロヘキサン酢酸、trans- α -アミノ-4-メチルアミノシクロヘキサン酢酸、 α -アミノ-1-アミジノ-4-ピペリジン酢酸、cis- α -アミノ-4-グアニジノシクロヘキサン酢酸および trans- α -アミノ-4-グアニジノシクロヘキサン酢酸からなる群から選択され、各 (B) は、H および C₁ ~ C₄ アルキルからなる群から独立に選択され、(B') は、H または (α -Me) であり、

W は、

ヌル (ただし、W がヌルである場合、Y は N である)、

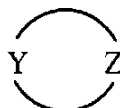
b が 0、1、2、3、4、5 または 6 である -NH-(CH₂)_b-、および

c が 2 または 3 である -NH-(CH₂)_c-O- (ただし、Y は C である)

からなる群から選択され、

部分

【化 2】



は、置換されていてもよい 4 から 8 員環の複素環部分であり、式中、前記環部分の環ヘテロ原子はいずれも N であり、式中、Y および Z は各々独立に、C または N であり、ただし、当該環部分が、6 員環、7 員環または 8 員環である場合、Y と Z とは少なくとも 2 個の環原子で隔てられ、ただし、当該環部分が N である単一の環ヘテロ原子を有する場合、当該環部分は非芳香族であり、

V は C₁ ~ C₆ アルキルであり、e は 0 または 1 であり、式中、e が 0 である場合、V はヌルであり、R₁ および R₂ は、同一または異なる環原子に直接に結合され、

(i) R₁ が、-H、-OH、ハロ、-CF₃、-NH₂、-COOH、C₁ ~ C₆ アルキル、C₁ ~ C₆ アルコキシ、アミジノ、C₁ ~ C₆ アルキル置換アミジノ、アリール、置換されていてもよいヘテロシクリル、Pro-アミド、Pro、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Lys、Arg、Orn、Ser、Thr、-CN、-CONH₂、-COR'、-SO₂R'、-CONR'R''、-NHCOR'、OR' および SO₂NR'R'' からなる群から選択され、前記置換されていてもよいヘテロシクリルは、C₁ ~ C₆ アルキル、C₁ ~ C₆ アルコキシ、オキソ、-OH、-Cl、-F、-NH₂、-NO₂、-CN、-COOH およびアミジノからなる群から独立に選択される置換基で単一置換または二重置換されていてもよく、式中、R' および R'' は各々独立に、-H、C₁ ~ C₈ アルキル、アリールまたはヘテロシクリルであるか、R' と R'' の組み合わせで、4 員環から 8 員環の環を形成し、この環は、C₁ ~ C₆ アルキル、-C₁ ~ C₆ アルコキシ、-OH、-Cl、-F、-NH₂、-NO₂、-CN、-COOH およびアミジノからなる群から独立に選択される置換基で単一置換または二重置換されてい

もよく、 R_2 は、 $-H$ 、アミジノ、単一または二重の $C_1 \sim C_6$ アルキル置換アミジノ、 $-CN$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-NHCOR'$ 、 $-SO_2NR'R''$ および $-COOH$ からなる群から選択されるか、

(i i) R_1 および R_2 が一緒になって、 $Y \cdot Z$ 含有環部分の単一の環原子に結合された、置換されていてもよい 4 員環から 9 員環の複素単環式または二環式の環部分を形成可能であるか、

(i i i) R_1 および R_2 が、 $Y \cdot Z$ 含有環部分の単一の環原子と一緒に、置換されていてもよい 4 員環から 8 員環の複素環部分を形成してスピロ構造を形成可能であるか、

(i v) R_1 および R_2 が、 $Y \cdot Z$ 含有環部分の 2 個またはそれよりも多くの隣接する環原子と一緒に、 $Y \cdot Z$ 含有環部分に融合された、置換されていてもよい 4 員環から 9 員環の複素単環式または二環式の環部分を形成可能であり、

式中、 R_1 および R_2 を含む、前記置換されていてもよい 4 員環、5 員環、6 員環、7 員環、8 員環および 9 員環の複素環部分は各々、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、置換されていてもよいフェニル、オキソ、 $-OH$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-COOH$ およびアミジノからなる群から独立に選択される置換基で単一置換または二重置換されていてもよく、

ただし、 $Y \cdot Z$ 含有環部分が単一の環ヘテロ原子を有する 6 員環または 7 員環であり、かつ、 e が 0 である場合、 R_1 は $-OH$ ではなく、 R_1 および R_2 はともに $-H$ であることはなく、

ただし、 $Y \cdot Z$ 含有環部分が 2 個の環ヘテロ原子を有する 6 員環であり、 Y および Z がともに N であり、 W がヌルである場合、 $-(V)_e R_1 R_2$ は Z 以外の環原子に結合され、 e が 0 であれば、 R_1 および R_2 はともに $-H$ であることはなく、

最後に、ただし、 Xaa_3 が $D-Nle$ である場合、 Xaa_4 は $(B)_2 D-Arg$ ではなく、 Xaa_3 が $D-Leu$ または $(\alpha Me) D-Leu$ である場合、 Xaa_4 は $\delta-(B)_2 \alpha-(B') D-Orn$ ではない)

で表される合成ペプチドアミドあるいは、その立体異性体、立体異性体混合物、薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、酸性塩水和物またはN-オキシド。

【請求項 2】

Xaa_4 が、 $(B)_2 D-Arg$ 、 $D-Lys$ 、 $(B)_2 D-Har$ 、 $\zeta-(B) D-Hlys$ 、 $D-Dap$ 、 $\epsilon-(B) D-Lys$ 、 $\epsilon-(B)_2 D-Lys$ 、 $D-Amf$ 、アミジノ- $D-Amf$ 、 $\gamma-(B)_2 D-Dbu$ および $\delta-(B)_2 \alpha-(B') D-Orn$ からなる群から選択される、請求項 1 に記載の合成ペプチドアミド。

【請求項 3】

Xaa_3 が $D-Nle$ および $D-Leu$ からなる群から選択される、請求項 1 または 2 に記載の合成ペプチドアミド。

【請求項 4】

Xaa_3 が $D-Leu$ であり、 Xaa_4 が、 $D-Arg$ 、 $D-Nar$ 、 $D-Har$ 、 $D-Lys$ 、 $\epsilon-(\text{イソプロピル})-D-Lys$ および $\epsilon-(\text{メチル})-D-Lys$ からなる群から選択される、請求項 3 に記載の合成ペプチドアミド。

【請求項 5】

Xaa_1-Xaa_2 が $D-Phe-D-Phe$ である、請求項 1～4 のいずれか一項に記載の合成ペプチドアミド。

【請求項 6】

W がヌルである、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の合成ペプチドアミド。

【請求項 7】

Y が N であり、 Z が C である、請求項 6 に記載の合成ペプチドアミド。

【請求項 8】

$Y \cdot Z$ 含有環部分が、単一の環ヘテロ原子を含む 6 員環の飽和環である、請求項 7 に記載の合成ペプチドアミド。

10

20

30

40

50

【請求項 9】

Y および Z がともに N であり、Y・Z 含有環部分の唯一の環ヘテロ原子である、請求項 1～6 のいずれか一項に記載の合成ペプチドアミド。

【請求項 10】

e が 0 である、請求項 1～9 のいずれか一項に記載の合成ペプチドアミド。

【請求項 11】

R₁ および R₂ が同一の環原子に結合される、請求項 10 に記載の合成ペプチドアミド。

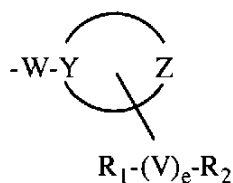
【請求項 12】

R₁ が、-H、-OH、-NH₂、-COOH、C₁～C₃ アルキル、アミノ、C₁～C₃ アルキル置換アミノ、ジヒドロイミダゾール、D-Pro、D-Pro アミドまたは CONH₂ であり、R₂ が、H、-COOH または C₁～C₃ アルキルである、請求項 10 または 11 に記載の合成ペプチドアミド。 10

【請求項 13】

部分

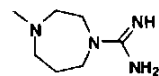
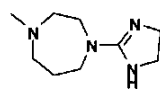
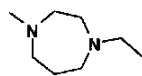
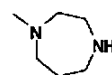
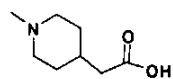
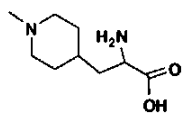
【化 3】



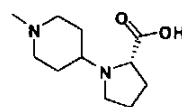
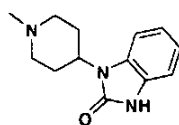
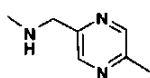
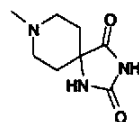
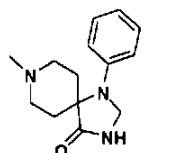
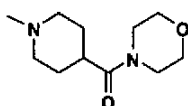
20

が、

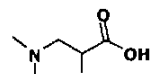
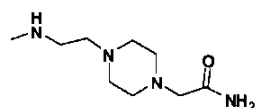
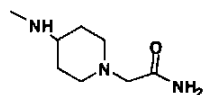
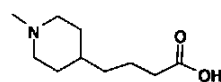
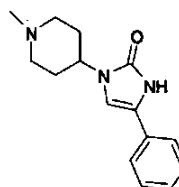
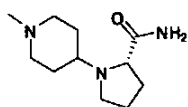
【化 4】



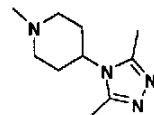
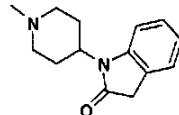
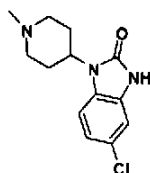
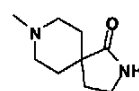
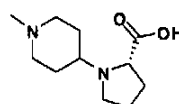
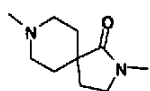
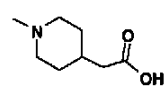
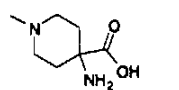
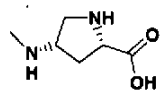
10



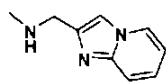
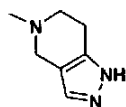
20



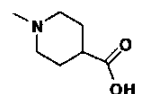
30



40



および

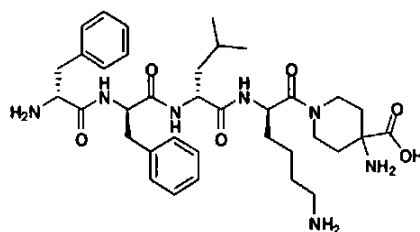


からなる群から選択される、請求項 1 ～ 5 のいずれか一項に記載の合成ペプチドアミド。

【請求項 1 4】

化合物 (2)

【化 5】



D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[ω(4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)]-OH 10

の構造を有する、請求項 1 に記載の合成ペプチドアミド。

【請求項 15】

有効量の請求項 1～14 のいずれか一項に記載の合成ペプチドアミドと、薬学的に許容される賦形剤または担体とを含む、医薬組成物。

【請求項 16】

哺乳類における、κオピオイド受容体関連疾患または症状の治療または予防のための薬剤の製造のための、請求項 1～14 のいずれか一項に記載の合成ペプチドアミドの使用。

【請求項 17】

κオピオイド受容体関連症状が、痛み、炎症、掻痒症、浮腫、低ナトリウム血症、低カリウム血症、腸閉塞、咳および緑内障からなる群から選択される、請求項 16 に記載の使用。 20

【請求項 18】

痛みが、神経因性疼痛、体性痛、内臓痛および皮膚痛からなる群から選択される、請求項 17 に記載の使用。

【請求項 19】

痛みが、関節痛、腎臓結石痛、子宮痙攣、月経困難症、子宮内膜症、消化不良、手術後の痛み、医療処置後の痛み、眼の痛み、耳の痛み、癌の突出痛およびGI機能障害に関連した痛みからなる群から選択される、請求項 17 に記載の使用。

【請求項 20】

手術が、骨盤腹腔鏡手術、卵管結紮、子宮摘出および胆嚢摘出である、請求項 19 に記載の使用。 30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2006年11月10日に出願された米国仮特許出願第60/858,109号ならびに、2007年5月10日に出願された米国仮特許出願第60/928,550号の優先権の利益を主張するものであり、その内容全体を明示的に本明細書に援用する。 40

【0002】

技術分野

本発明は、D-アミノ酸をペプチド鎖に導入した合成ペプチドアミドに関し、特に、κオピオイド受容体アゴニストである合成ペプチドアミドならびに、予防薬および治療薬としてのその使用方法に関する。

【背景技術】

【0003】

背景

κオピオイド受容体アゴニストを投与することで、多種多様な疾患および症状の治療または予防に介入するための標的として、κオピオイド受容体が提案されている。たとえば 50

、齧歯類の糖尿病性神経障害におけるκ受容体アゴニストであるアシマドリンの薬効について説明している、Jolivalt et al., Diabetologia, 49(11):2775-85;Epub Aug. 19, 2006)ならびに、ラットにおける神経因性疼痛の絞扼性神経損傷(CCI)モデルでのκアゴニストU-50,488の薬効と、その作用をオピオイドアンタゴニストであるナロキソンで遮断することについて説明している、Bileviciute-Ljungar et al., Eur. J. Pharm. 494:139-46 (2004)を参照のこと。これらの観察結果は、糖尿病性神経因性疼痛、ウイルスによる神経因性疼痛、化学療法後神経因性疼痛の治療に、κオピオイド受容体アゴニストを用いることを裏付けるものである。月経困難症の生理痛や子宮内膜症などの婦人科領域での症状をはじめとする内臓痛の治療または予防にκ受容体アゴニストを用いることが、概説されている。たとえば、Riviere, Br. J. Pharmacol. 141:1331-4 (2004)を参照のこと。

10

【0004】

κオピオイド受容体アゴニストは、痛覚過敏をはじめとする痛みの治療用としても提案されている。痛覚過敏は、局部組織損傷(擦過傷、火傷)に伴う末梢感覚神経終末環境の変化によって引き起こされ则认为られている。組織損傷や炎症が生じると、多モード侵害受容器(C線維)および高閾値機械受容器の興奮性が大幅に増す場合がある(Handwerker et al. (1991) Proceeding of the VIth World Congress on Pain, Bond et al., eds., Elsevier Science Publishers BV, pp. 59-70; Schaible et al. (1993) Pain 55:5-54)。痛覚過敏の背景には、こうした興奮性増大・感覚鈍麻の過大反応があると考えられており、そこでは刺激に対する過大反応の結果が疼痛反応となる。受傷後の疼痛状態における痛覚過敏状態の重要性が繰り返し示されており、これが受傷後/炎症性疼痛状態の大部分を占めているように見える。たとえば、Woold et al. (1993) Anesthesia and Analgesia 77:362-79; Dubner et al. (1994) In, Textbook of Pain, Melzack et al., eds., Churchill-Livingstone, London, pp. 225-242を参照のこと。

20

【0005】

心血管疾患を予防および治療するための標的として、κオピオイド受容体が提案されている。たとえば、Wu et al. "Cardioprotection of Preconditioning by Metabolic Inhibition in the Rat Ventricular Myocyte - Involvement of kappa Opioid Receptor"(1999) Circulation Res vol. 84: pp. 1388-1395を参照のこと。また、Yu et al. "Anti-Arhythmic Effect of kappa Opioid Receptor Stimulation in the Perfused Rat Heart: Involvement of a cAMP-Dependent Pathway"(1999) J Mol Cell Cardiol. vol. 31(10): pp. 1809-1819を参照のこと。

30

【0006】

κオピオイド受容体アゴニストでの治療によって、こうした神経変性または神経細胞死を伴う疾患や症状の発症または進行を予防するか、あるいは最低でも遅らせることが可能であることが明らかになっている。このように成果が改善されるのは、κオピオイド受容体アゴニストによる神経保護がゆえのことであると考えられる。たとえば、Kaushik et al. "Neuroprotection in Glaucoma"(2003) J. Postgraduate Medicine vol. 49(1): pp. 90-95を参照のこと。

【0007】

免疫細胞にκオピオイド受容体が存在する(Bidlak et al., (2000) Clin. Diag. Lab. Immunol. 7(5):719-723)ことが、κオピオイド受容体アゴニストの阻害作用と関連しており、これがHIV-1の発現を抑制することが明らかになっている。Peterson PK et al., Biochem Pharmacol. 2001, 61(19):1145-51を参照のこと。

40

【0008】

Walker, Adv. Exp. Med. Biol. 521:148-60 (2003)が、変形性関節炎、関節リウマチ、炎症性腸疾患および湿疹を治療するためのκアゴニストの抗炎症特性を評価した。また、κアゴニストU-50,488によって疼痛を抑え、フロインドアジュバント関節炎での変性を減らすことがBileviciute-Ljungar et al., Rheumatology 45:295-302 (2006)によって説明されている。

【0009】

50

尿毒症性掻痒症やアヘンによる掻痒症の治療にκアゴニストであるTRK-820を用いることが、Wikstrom et al., J. Am. Soc. Nephrol. 16:3742-7 (2005)によって説明されており、サルでのモルヒネによる掻痒症におけるU-50, 488の薬効がKo et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 305:173-9 (2003)によって説明されている。

【0010】

κアゴニストを含む末梢オピオイドを胃腸病の治療に適用することについても、幅広く概説されている。過敏性腸症候群（IBS）、腸閉塞、機能性消化不良をはじめとする消化器疾患の治療にオピオイドを使用することについては、たとえば、Lembo, Diges. Dis. 24:91-8 (2006)を参照のこと。

【0011】

眼炎症や緑内障をはじめとする眼科疾患にもκオピオイドで対応できることが明らかになっている。眼内圧を下げる上での強力なκオピオイド受容体アゴニストであるブレマゾシンの役割と、ノルビナルトルフィミン（nor BNI）である原型的(prototypical)κオピオイド受容体アンタゴニストによってこの作用を阻止することについて説明している、Potter et al., J. Pharmacol. Exp. Ther. 309:548-53 (2004)ならびに、Dortch-Carnes et al., CNS Drug Rev. 11(2):195-212 (2005)を参照のこと。Gamacheに付与された米国特許第6, 191, 126号明細書には、眼の痛みの治療にκオピオイドアゴニストを用いることが開示されている。さらに、κオピオイドアゴニストの投与によって耳の痛みも治療可能であることが示されている。同じくGamacheに付与された米国特許第6, 174, 878号明細書を参照のこと。

【0012】

κオピオイドアゴニストは、腎臓による水分排泄を促し、尿中ナトリウムの排泄量を減らす（すなわち、自由水利尿とも呼ばれる選択的水利尿を発生させる）。すべてではないが多くの研究者らが、これを脳下垂体からのバソプレシン分泌が抑制されることによる効果であるとしている。中枢作用性κオピオイドと末梢性選択的κオピオイドらしきもの(purportedly)とを比較する研究では、血液脳関門内のκオピオイド受容体がこの作用の媒介を担っているという結論に至った。他の研究者らは、ノシセプチン受容体で末梢的に作用するノシセプチンペプチドまたは荷電ペプチドコンジュゲートを用いて低ナトリウム血症を治療することを提案している。これは、κオピオイド受容体と関連しているが、κオピオイド受容体とは異なるものである。(D. R. Kapusta, Life Sci., 60:15-21, 1997) (米国特許第5, 840, 696号明細書)。米国特許出願公開第20060052284号明細書。

【発明の概要】

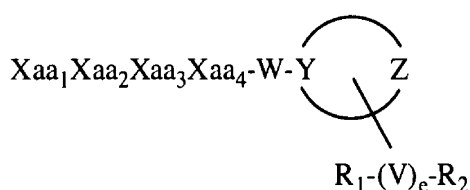
【課題を解決するための手段】

【0013】

発明の概要

本発明は、以下の式Iの式で表される合成ペプチドアミドならびに、式Iの合成ペプチドアミドの立体異性体、立体異性体混合物、プロドラッグ、薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、酸性塩水和物、N-オキシドおよび同形結晶形態を提供するものである。

【化1】



式I

【0014】

式 I では、 Xaa_1 は、 $(A)(A')D-Phe$ 、 $(A)(A')(\alpha-Me)D-Phe$ 、 $D-Tyr$ 、 $D-1, 2, 3, 4$ -テトラヒドロイソキノリン-3カルボン酸、 $D-tert$ -ロイシン、 D -ネオペンチルグリシン、 D -フェニルグリシン、 D -ホモフェニルアラニンまたは $\beta(E)D-Ala$ のいずれであってもよい N 末端アミノ酸を示し、式中、各 (A) および各 (A') は、 $-H$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-NO_2$ 、 $-CH_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-CONH_2$ から独立に選択されるフェニル環置換基であり、式中、各 (E) は、以下の置換基すなわち、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、ピリジル、チエニル、チアゾリルから独立に選択される。

【0015】

Xaa_2 は、 $(A)(A')D-Phe$ 、 $3, 4$ -ジクロロ- $D-Phe$ 、 $(A)(A')(\alpha-Me)D-Phe$ 、 $D-1$ -ナフチルアラニン、 $D-2$ -ナフチルアラニン、 $D-Tyr$ 、 $(E)D-Ala$ または $D-Trp$ のいずれであってもよい第 2 のアミノ酸であり、式中 (A) 、 (A') および (E) は各々独立に、 (A) 、 (A') および (E) の各々について上記にて列挙した置換基から選択される。

【0016】

Xaa_3 は、 D -ノルロイシン、 $D-Phe$ 、 $(E)D-Ala$ 、 $D-Leu$ 、 $(\alpha-Me)D-Leu$ 、 D -ホモロイシン、 $D-Val$ または $D-Met$ のいずれであってもよい第 3 のアミノ酸であり、式中、 (E) は、 (E) について上記にて列挙した置換基から独立に選択される。

【0017】

Xaa_4 は、 $(B)_2D$ -アルギニン、 $(B)_2D$ -ノルアルギニン、 $(B)_2D$ -ホモアルギニン、 $\zeta-(B)D$ -ホモリジン、 $D-2, 3$ -ジアミノプロピオン酸、 $\epsilon-(B)D-Lys$ 、 $\epsilon-(B)_2-D-Lys$ 、 D -アミノメチルフェニルアラニン、アミジノ- D -アミノメチルフェニルアラニン、 $\gamma-(B)_2D-\gamma$ -ジアミノ酪酸、 $\delta-(B)_2\alpha-(B')D-Orn$ 、 $D-2$ -アミノ-3(4-ピペリジル)プロピオン酸、 $D-2$ -アミノ-3(2-アミノピロリジル)プロピオン酸、 $D-\alpha$ -アミノ- β -アミジノプロピオン酸、 α -アミノ-4-ピペリジン酢酸、 $cis-\alpha, 4$ -ジアミノシクロヘキサン酢酸、 $trans-\alpha, 4$ -ジアミノシクロヘキサン酢酸、 $cis-\alpha$ -アミノ-4-メチルアミノシクロヘキサン酢酸、 $trans-\alpha$ -アミノ-4-メチルアミノシクロヘキサン酢酸、 α -アミノ-1-アミジノ-4-ピペリジン酢酸、 $cis-\alpha$ -アミノ-4-グアニジノシクロヘキサン酢酸または $trans-\alpha$ -アミノ-4-グアニジノシクロヘキサン酢酸のいずれであってもよい第 4 のアミノ酸であり、式中、各 (B) は独立に、 $-H$ または $C_1 \sim C_4$ アルキルであり、 (B') は $-H$ または $(\alpha-Me)$ である。

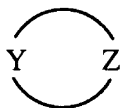
【0018】

リンク部分である W は、以下の 3 つの選択肢のうちいずれであってもよい。(i) 空 (null) (ただし、 W が 空 である場合、 Y は N であり、 Xaa_4 の C 末端に結合されてアミドを形成する)；(ii) b が 0、1、2、3、4、5 または 6 である $-NH-(CH_2)_b-$ ；または (iii) c が 2 または 3 である $-NH-(CH_2)_c-O-$ (ただし、 Y は C である)。上記の選択肢 (ii) および (iii) の各々において、 W の N 原子が Xaa_4 の C 末端に結合されてアミドを形成する。

【0019】

式 I における部分

【化 2】



は、置換されていてもよい 4 から 8 員環の複素環部分であり、式中、環部分の環ヘテロ原

子はいずれもNであり、式中、YおよびZは各々独立に、CまたはNである。しかしながら、この複素環部分が、6員環、7員環または8員環である場合、YとZとは少なくとも2個の環原子で隔てられていなければならない。さらに、この複素環部分がNである単一の環ヘテロ原子を有する場合、環部分は非芳香族である。

【0020】

式Iの部分Vは、 $C_1 \sim C_6$ アルキルである。オペレータであるeは、0または1であり、eが0である場合、Vは空であり、 R_1 および R_2 は、同一または異なる環原子に直接に結合されている。

【0021】

4つの別の実施形態のうちの第1の実施形態では、式Iの部分 R_1 が以下の基すなわち、 $-H$ 、 $-OH$ 、ハロ、 $-CF_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、アミノ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル置換アミノ、アリール、置換されていてもよいヘテロシクリル、Pro-アミド、Pro、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Lys、Arg、Orn、Ser、Thr、CN、 $CONH_2$ 、 COR' 、 SO_2R' 、 $CONR'R'$ 、 $NHCOR'$ 、 OR' 、または $SO_2NR'R'$ のうちのいずれであってもよく、置換されていてもよいヘテロシクリルは、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、オキソ、 $-OH$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-COOH$ 、アミノから独立に選択される置換基で単一置換または二重置換されていてもよい。部分 R' および R'' は各々独立に、 H 、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、アリールまたはヘテロシクリルである。あるいは、 R' と R'' の組み合わせで、4員環から8員環の環を形成することも可能であり、この環は、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $-OH$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-COOH$ 、アミノから独立に選択される置換基で単一置換または二重置換されていてもよい。部分 R_2 は、 $-H$ 、アミノ、単一または二重の $C_1 \sim C_6$ アルキル置換アミノ、 $-CN$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-NHCOR'$ 、 $-SO_2NR'R''$ または $-COOH$ のうちのいずれであってもよい。

【0022】

第2の別の実施形態では、部分 R_1 および R_2 が一緒になって、Y・Z含有環部分の単一の環原子に結合された、置換されていてもよい4員環から9員環の複素単環式または二環式の環部分を形成可能である。

【0023】

第3の別の実施形態では、部分 R_1 および R_2 が、Y・Z含有環部分の単一の環原子と一緒に、置換されていてもよい4員環から8員環の複素環部分を形成してスピロ構造を形成可能である。

【0024】

第4の別の実施形態では、部分 R_1 および R_2 が、Y・Z含有環部分の2個またはそれよりも多くの隣接する環原子と一緒に、Y・Z含有環部分に融合された、置換されていてもよい4員環から9員環の複素単環式または二環式の環部分を形成可能である。

【0025】

式Iでは、 R_1 および R_2 を含む、置換されていてもよい4員環、5員環、6員環、7員環、8員環および9員環の複素環部分は各々、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、置換されていてもよいフェニル、オキソ、 $-OH$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-COOH$ 、アミノから独立に選択される置換基で単一置換または二重置換されていてもよい。さらに、式IのY・Z含有環部分が単一の環ヘテロ原子を有する6員環または7員環であり、かつ、eが0である場合、 R_1 は $-OH$ にはなり得ず、 R_1 および R_2 はともに $-H$ であることはない。

【0026】

式IのY・Z含有環部分が、2個の環ヘテロ原子のある6員環（YおよびZがともにNであり、Wは空である）である場合、部分 $- (V)_e R_1 R_2$ はZ以外の環原子に結合される。さらに、上記の条件下、eが0であれば、 R_1 および R_2 はともに $-H$ にはなり得ない。最後に、Xaa₃がD-Nleである場合、Xaa₄は(B)₂D-Argにはな

10

20

30

40

50

り得ない。X a a₃ が D-L e u または (α M e) D-L e u である場合、X a a₄ は δ - (B)₂ α - (B') D-O r n にはなり得ない。

【0027】

また、本発明は、上述したように本発明の合成ペプチドアミドである選択的 κ オピオイド受容体アゴニスト（本明細書では、κ 受容体アゴニストまたは単に κ アゴニストと同義である）を提供するものである。

【0028】

また、本発明は、本発明の合成ペプチドアミドと、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤または担体とを含む医薬組成物を提供するものである。

【0029】

さらに、哺乳動物において κ オピオイド受容体関連疾患または症状を治療または予防する方法も提供される。この方法は、本発明の合成ペプチドアミドを有効量で含む組成物を哺乳動物に投与することを含む。また、本発明は、本発明の合成ペプチドアミドを用いて、哺乳動物における κ オピオイド受容体関連疾患または症状の治療に役立つ薬剤および医薬組成物を調製するものでもある。

【0030】

本発明はさらに、哺乳動物において κ オピオイド受容体関連疾患または症状を治療または予防する方法であって、関連する副作用（特に呼吸抑制、鎮静、多幸感、抗利尿、悪心、嘔吐、便秘、物理的寛容、依存症、嗜癖）のある、低用量(reduced dose)の μ オピオイドアゴニスト鎮痛化合物と本発明の合成ペプチドアミドとを同時投与して、治療上の鎮痛作用を得る方法を提供するものである。この方法で投与される低用量の μ オピオイドアゴニスト鎮痛化合物には、単独で投与した場合に得られる治療上の鎮痛作用と同じだけの作用を達成するのに必要な用量の μ オピオイドアゴニスト鎮痛化合物での副作用よりも、関連する副作用が少ない。

【0031】

また、本発明は、末梢痛覚過敏を治療または予防する方法であって、外用塗布または局所投与用に処方された溶媒剤に抗痛覚過敏的本発明の合成ペプチドアミドを有効量で含む組成物を、治療が必要な哺乳動物に有効量で外用塗布または局所投与することを含む方法を提供するものである。

【0032】

さらに、本発明は、低ナトリウム血症または低カリウム血症を治療または予防することで、鬱血性心不全、肝硬変、ネフローゼ症候群、高血圧症または浮腫などの低ナトリウム血症または低カリウム血症に関連する疾患または症状を治療または予防する方法を提供するものであり、好ましくは、バソプレシン分泌量の増加が前記疾患または機能障害に関連している場合、上記の方法は、水利尿的有效量の本発明の合成ペプチドアミドを薬学的に許容される希釈剤、賦形剤または担体で哺乳動物に投与することを含む。

【図面の簡単な説明】

【0033】

【図1】化合物(1)、(6)、(7)、(10)および(11)の合成に用いられる一般的なスキームを示す。以下の反応体または条件すなわち、a) ホモピペラジン、DCM ; b) Fm o c - D - D a p (i v D d e) - O H または Fm o c - D - D a b (i v D d e) - O H または Fm o c - D - O r n (A l o c) - O H または Fm o c - D - O r n (C b z) - O H または Fm o c - D - L y s (D d e) - O H または Fm o c - D - A r g (P b f) - O H、D I C、H O B t、DMF ; c) 25%ピペリジン/DMF溶液 ; d) Fm o c - D - L e u - O H または Fm o c - D - N l e - O H、D I C、H O B t、DMF ; e) Fm o c - D - P h e - O H、D I C、H O B t、DMF ; f) C b z - D - P h e - O H、D I C、H O B t、DMF ; g) 4%ヒドラジンのDMF溶液 ; h) P d (P P h₃)₄、CHC l₃/A c O H / N M M ; i) O - N B S - C l、コリジン、N M P ; j) ジメチルスルフェート、D B U、N M R ; k) メルカプトエタノール、D B U、N M P ; l) C b z - O S u、DMF ; m) アセトン、A c O H、N a B H

10

20

30

40

50

(OAc)₃、TMOF；n) 1H-ピラゾール-1-カルボキサミジン、DIEA、DMF；o) 50% TFA/DCM；p) S-メチル-N-メチルイソチオ尿素ヨウ化水素酸塩、DIEA、DMF；q) 2-メチルチオ-2-イミダゾリンヨウ化水素酸塩、DIEA、DMF；r) ヨードエタン、DIEA、DMF；s) TMSOTf/TFA/メクレゾールを用いて、ステップa～sを実施した。

【図2】化合物(2)～(5)、(8)、(9)および(12)～(14)の合成で用いられる一般的なスキーム。以下の反応体または条件すなわち、a) N-(1-Fmoc-ピペリジン-4-イル)-L-プロリン、DIEA、DCM；b) 25%ピペリジン/DMF；c) Fmoc-D-Lys(Dde)-OH、DIC、HOBT、DMF；d) Fmoc-D-Leu-OH、DIC、HOBT、DMF；e) Fmoc-D-Phe-OH、DIC、HOBT、DMF；f) Boc-D-Phe-OH、DIC、HOBT、DMF；g) 4%ヒドラジンのDMF溶液；h) o-NBS-Cl、コリジン、NMP；i) ジメチルスルフェート、DBU、NMP；j) メルカプトエタノール、DBU、NMP；k) TFA/TIS/H₂Oを用いて、ステップa～kを実施した。

10

【図3】化合物(15)～(24)の合成で用いられる一般的なスキーム。以下の反応体または条件すなわち、a) 35%ピペリジン、DMF；b) 1-Boc-4-N-Fmoc-アミノ-ピペリジン-4-カルボン酸、PyBOP、DIEA、DMF；c) (i) 35%ピペリジン、DMF；(ii) O-NBS-Cl、コリジン、NMP；d) 30% TFAのDCM溶液；e) Boc-D-Dap(Fmoc)-OHまたはBoc-D-Dab(Fmoc)-OHまたはBoc-D-Orn(Fmoc)-OH、PyBOP、DIEA、DMF；f) Boc-D-Leu-OH、PyBOP、DIEA、DMF；g) Boc-D-Phe-OH、PyBOP、DIEA、DMF；h) Boc-D-Phe-OH、PyBOP、DIEA、DMF；i) 2%DBU/DMF；j) 1H-ピラゾール-1-カルボキサミジン、DIEA、DMF；k) (i) アセトン、TMOF、(ii) NaBH(OAc)₃、DMF；l) メルカプトエタノール、DBU、NMP；m) Cu(OAc)₂、ピリジン、DBU、DMF/H₂O；n) 95% TFA/H₂Oを用いて、ステップa～nを実施した。

20

【図4】化合物(25)～(37)の合成で用いられる一般的なスキーム。以下の反応体または条件すなわち、a) EDCI、HOBT、DIEA、THF；b) TFA、DCM；c) Boc-D-Phe-OH、EDCI、HOBT、DIEA；d) H₂、Pd/C；e) D-Lys(Boc)-OAlI、TBTU、DIEA、DMF；f) Pd(PPh₃)₄、ピロリジン；g) HNRaR_b、HBTU；h) HCl、ジオキサンを用いて、ステップa～hを実施した。

30

【図5】内頸静脈カテーテルで5分間点滴して化合物(2)を3mg/kg投与後にラットの血漿および脳で検出される濃度。化合物(2)の濃度をng/mlで示す。白い丸：血漿、黒い丸：脳。

【図6】ICRマウスに化合物1mg/kgを単回ボーラス皮下投与後の化合物(6)の血漿濃度。注射の5分後、10分後、15分後、20分後、30分後、60分後、90分後、120分後、180分後に血漿をサンプリングした。

【図7】カニクイザルに化合物0.56mg/kgを単回ボーラス静脈内投与後の化合物(3)の血漿濃度。注射の2分後、5分後、10分後、15分後、30分後、60分後、120分後、240分後に血漿をサンプリングした。

40

【図8】酢酸ライジングアッセイ(黒い丸)および歩行運動アッセイ(黒い四角)でのICRマウスにおける化合物(3)の用量反応曲線。

【図9】静脈内経路で送達した場合のマウスにおける酢酸ライジングの化合物(2)による抑制の用量反応。

【図10】ラットでL5/L6脊髄神経結紮によって誘導した機械的過敏反応に対する化合物(2)の作用。白い丸-溶媒剤単独；黒い丸-化合物(2)を0.1mg/kg；白い四角-化合物(2)を0.3mg/kg；黒い四角-化合物(2)を1.0mg/kg。* *はp<0.01を示す；* * *はp<0.001対溶媒剤を示す(2要因ANOVA、

50

ボンフェローニ)。

【図11】ラットでの膀胱炎による腹部過敏症に対する異なる濃度での化合物(2)の作用。二塩化ジブチルスズまたは溶媒剤単独を静脈内投与し、von Freyフィラメントを用いる腹部圧刺激検査によって30分間隔で過敏症を評価した。過敏症を10回の圧刺激からの逃避数として表す。白い丸—溶媒剤単独；黒い丸—化合物(2)を0.1mg/kg；白い四角—化合物(2)を0.3mg/kg；黒い四角—化合物(2)を1.0mg/kg。*は $p < 0.01$ を示す；**は $p < 0.001$ 対溶媒剤を示す(2要因ANOVA、ボンフェローニ)。

【図12】ラットにおけるnor-BNIおよびナロキソンメチオジドによる、化合物(2)が膀胱炎による腹部過敏症におよぼす作用の遮断。白い棒—溶媒剤単独、黒い棒—図示のようにナロキソンメチオジドまたはnor-BNIと併用した化合物(2)を1mg/kg。***は $p < 0.001$ 対溶媒剤+溶媒剤を示す(2要因ANOVA、ボンフェローニ)。

10

【発明を実施するための形態】

【0034】

詳細な説明

本明細書全体で使用する場合、「合成ペプチドアミド」という用語は、式Iに一致する本発明の化合物あるいは、その立体異性体、立体異性体混合物、プロドラッグ、薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、酸性塩水和物、N-オキシドまたは同形結晶形態を意味する。Xaa₁、Xaa₂、Xaa₃およびXaa₄が本発明の化合物中のDアミノ酸に指定される場合、式Iに一致する本発明の合成ペプチドアミドの立体異性体は、D配置にアミノ酸を有する化合物に限定される(式Iにそのように指定される場合)。本発明の立体異性体は、Xaa₁、Xaa₂、Xaa₃およびXaa₄の4つのアミノ酸のα炭素以外のキラル中心にD配置またはL配置のいずれかを有する化合物を含む。立体異性体混合物とは、このような本発明の立体異性体同士の混合物を示す。本明細書で使用する場合、ラセミ酸塩とは、Xaa₁、Xaa₂、Xaa₃、Xaa₄のα炭素の対掌性が変わることなくXaa₁、Xaa₂、Xaa₃、Xaa₄のα炭素以外の1以上のキラル中心にD配置の化合物とL配置の化合物とを同じ割合で持つ立体異性体同士の混合物のことである。

20

【0035】

本明細書でペプチドを定義するのに用いる命名法は、Schroder & Lubke, The Peptides, Academic Press, 1965に明記されたものであり、従来の表示法どおりN末端が左側、C末端は右側である。アミノ酸残基に異性体形態がある場合、特に明記しないかぎり、アミノ酸のL-異性体形態とD-異性体形態が包含されるものとする。本明細書では、アミノ酸は一般に、標準的な3文字コードで表記される。アミノ酸のD-異性体については、D-フェニルアラニンすなわちフェニルアラニンのD-異性体を「D-Phe」とするといった具合に配置接頭辞「D-」で示す。同様に、L-異性体を「L-Phe」のように配置接頭辞「L-」で示す。ペプチドについては、特に明記しないかぎり本明細書では、アミノ酸配列として左から右すなわちN末端からC末端に、通常の慣用どおりに示す。

30

【0036】

本明細書で使用する場合、D-ArgはD-アルギニンを示し、D-Harは、D-Argよりも1メチレン基分だけ長い側鎖のあるD-ホモアルギニンを示し、D-Narは、D-Argよりも1メチレン基分だけ長い側鎖のあるD-ノルアルギニンを示す。同様に、D-LeuはD-ロイシンを意味し、D-NleはD-ノルロイシン意味し、D-HleはD-ホモロイシンを示す。D-AlaはD-アラニン进行意味し、D-TyrはD-チロシンを意味し、D-TrpはD-トリプトファンを意味し、D-TicはD-1, 2, 3, 4-テトラヒドロイソキノリン-3カルボン酸を意味する。D-ValはD-バリンを意味し、D-MetはD-メチオニン进行意味する。D-ProはD-プロリン进行意味し、Pro-アミドはプロリンアミドのD-またはL-形態进行意味する。D-Proアミドは、アミドがそのカルボキシ部分に形成されたD-プロリン进行示し、この場合のアミド

40

50

窒素は、 $-NR_aR_b$ の場合のようにアルキル置換されていてもよく、式中、 R_a および R_b は各々独立に、 $C_1 \sim C_6$ アルキル基であるか、 R_a および R_b が $-H$ である。 Gly はグリシンを意味し、 $D-Ile$ は D -イソロイシンを意味し、 $D-Ser$ は D -セリンを意味し、 $D-Thr$ は D -トレオニン进行を意味する。 $(E) D-Ala$ は、 β 炭素上の置換基 (E) で置換されたアラニンの D -異性体进行を意味する。このような置換基 (E) 基の例としては、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、ピリジル、チエニル、チアゾイルがあげられる。よって、シクロペンチル- $D-Ala$ は、 β 炭素にてシクロペンチルで置換されたアラニンの D -異性体进行を意味する。同様に、 $D-Ala$ (2-チエニル) と (2-チエニル) $D-Ala$ は同義であり、ともに 2-環位に結合したチエニルによって β 炭素にて置換されたアラニンの D -異性体进行を意味する。

10

【0037】

本明細書で使用する場合、 $D-Nal$ は、 β 炭素にてナフチルで置換されたアラニンの D -異性体进行を意味する。 $D-2Nal$ は、ナフタレンへの結合が環構造の 2 位であるナフチル置換 D -アラニ进行を意味し、 $D-1Nal$ は、ナフタレンへの結合が環構造の 1 位であるナフチル置換 D -アラニ进行を意味する。 $(A) (A') D-Phe$ とは、フェニル環にて、ハロ、ニトロ、メチル、ハロメチル (たとえば、トリフルオロメチルなど)、ペルハロメチル、シアノ、カルボキサミドから独立に選択される 1 個または 2 個の置換基で置換された D -フェニルアラニ进行のことである。 $D-(4-F) Phe$ とは、フェニル環の 4 位でフルオロ置換された D -フェニルアラニ进行のことである。 $D-(2-F) Phe$ とは、フェニル環の 2 位でフルオロ置換された D -フェニルアラニ进行のことである。 $D-(4-Cl) Phe$ とは、4-フェニル環位でクロロ置換された D -フェニルアラニ进行のことである。 $(\alpha-Me) D-Phe$ とは、 α 炭素でメチル置換された D -フェニルアラニ进行のことである。 $(\alpha-Me) D-Leu$ とは、 α 炭素でメチル置換された D -ロイシ进行のことである。

20

【0038】

$(B)_2 D-Arg$ 、 $(B)_2 D-Nar$ 、 $(B)_2 D-Har$ という表記は、それぞれ、側鎖に 2 個の置換基である (B) 基を有する D -アルギニン、 D -ノルアルギニン、 D -ホモアルギニ进行を示す。 $D-Lys$ は D -リジ进行を意味し、 $D-Hlys$ は D -ホモリジ进行を意味する。 $\zeta-(B) D-Hlys$ 、 $\epsilon-(B) D-Lys$ 、 $\epsilon-(B)_2 D-Lys$ は、表示のとおり各々 1 個または 2 個の置換基 (B) 基で置換された側鎖アミノ基を有する D -ホモリジおよび D -リジ进行を示す。 $D-Orn$ は D -オルニチ进行を意味し、 $\delta-(B) \alpha-(B') D-Orn$ は、 α 炭素にて (B') で置換され、側鎖 δ -アミノ基にて (B) で置換された D -オルニチ进行を意味する。

30

【0039】

$D-Dap$ は $D-2, 3$ -ジアミノプロピオン酸进行を意味する。 $D-Dbu$ は、 α 、 γ -ジアミノ酪酸の D -異性体を示し、 $(B)_2 D-Dbu$ は、 γ アミノ基にて 2 個の置換基 (B) 基で置換された α 、 γ -ジアミノ酪酸进行を示す。特に明記しないかぎり、このような二重置換された残基の (B) 基は各々、 H -および $C_1 \sim C_4$ -アルキルから独立に選択される。本明細書で使用する場合、 $D-Amf$ は $D-(NH_2CH_2-)$ Phe すなわち、そのフェニル環にてアミノメチルで置換されたフェニルアラニンの D -異性体进行を意味し、 $D-4Amf$ は、環の 4 位でアミノメチルが結合された特定の $D-Amf$ を示す。 $D-Gmf$ は、フェニル環が $-CH_2NHC(NH)NH_2$ で置換された $D-Phe$ を示す $D-Amf$ (アミジノ) 进行を意味する。 Amd は、アミジノすなわち $-C(NH)NH_2$ を示し、 $(Amd) D-Amf$ および $D-Amf (Amd)$ という表記も $D-Gmf$ と同義に用いられる。 Ily および Ior という表記は、側鎖アミノ基がイソプロピルでアルキル化されたイソプロピル Lys およびイソプロピル Orn 进行を意味するものとして用いられる。

40

【0040】

アルキルとは、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、シクロプロピル、ブチル、 t -ブチル、 sec -ブチル、ペンチル、シクロペンチル、ヘキシル、シクロヘキシル、

50

シクロヘキシルエチルなどであるが、これに限定されるものではない、直鎖アルキル基、分枝鎖アルキル基、環状アルキル基であり得るアルカンラジカルを意味する。 C_1 から C_8 アルキルは、1 から 8 個の炭素原子を有するアルキル基を示す。同様に、 $C_1 \sim C_6$ アルキルは、1 から 6 個の炭素原子を有するアルキル基を示す。同様に、 $C_1 \sim C_4$ アルキルは、1 から 4 個の炭素原子を有するアルキル基を示す。低級アルキルとは、 $C_1 \sim C_6$ アルキルのことである。Me、Et、Pr、Isopropyl、Bu、Pn は、一般的なアルキル基であるメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、ペンチルを示すものと同義に用いられる。アルキル基のリンケージは一般に、アルキル鎖の一端であるが、このリンケージは、エチルプロピルまたは 1-エチルプロプ-1-イルとも呼ばれる 3-ペンチルなど、鎖内のどこにあってもよい。 $C_1 \sim C_6$ アルキル置換アミノなどのアルキル置換は、関連する部分が 1 個または複数のアルキル基で置換されていることを示す。

10

【0041】

指定される部分が空である場合、その部分は欠如しており、当該部分が他の 2 個の部分に結合するとされていたら、その 2 個の他の部分は 1 つの共有結合によって接続される。本明細書において、接続部分を環の任意の位置で環に結合するとして示す場合、また、接続部分が空であれば R_1 および R_2 などの 2 個の他の部分に結合するとして示す場合、 R_1 および R_2 部分は各々、環の任意の位置に独立に結合可能である。

【0042】

「複素環」、「複素環」および「ヘテロシクリル」という用語は、本明細書では同義に用いられ、窒素原子、イオウ原子または酸素原子であってもよいヘテロ原子とも呼ばれる非炭素環原子を少なくとも 1 個有する環または環部分を示す。環が特定の環員を有するとされる場合、その数は、環原子に結合する水素原子または置換基を参照することなく、環原子の数を定義する。複素環、複素環およびヘテロシクリル部分は、窒素原子、イオウ原子または酸素原子から独立に選択される複数のヘテロ原子を環に含み得る。環は、置換が可能な任意の位置で置換されていてもよい。たとえば、6 員環および 7 員環は 4 環位で置換されることが多く、5 員環は一般に 3 位で置換される（この場合、環は 1 環位でペプチドアミド鎖に結合する）が、これに限定されるものではない。

20

【0043】

「飽和」という用語は、二重結合または三重結合がないことを示し、環に関してこの用語を用いるときは、環に二重結合または三重結合がないことを示すが、環に結合する置換基に二重結合または三重結合が存在することを除外するものではない。「非芳香族」という用語は、特定の環に関する文脈で、その環に芳香性がないことを示すが、当該環に縮合した芳香環、の一部である二重結合を含む二重結合が環内に存在することを除外するものではない。また、たとえば環イオウ原子が酸素原子置換基に二重結合するなど、飽和複素環部分の環原子が非環原子に二重結合することも除外されない。本明細書で使用する場合、複素環、複素環およびヘテロシクリル部分はまた、特に明記しないかぎり、飽和構造、部分的に不飽和の複素芳香環構造および縮合二環式環構造を含む。複素環、複素環またはヘテロシクリル部分は、環が複素環または炭素環であってもよい、飽和環、部分的に不飽和の環または芳香環であってもよい第 2 の環に縮合可能である。表記のある場合、2 個の置換基は任意に、一緒になって別の環を形成するものであってもよい。環は、置換が可能な任意の位置で置換されていてもよい。複素環、複素環およびヘテロシクリル部分は、表記のある(indicted)場合、1 つまたは複数の環位置にて、たとえば、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_3 \sim C_8$ シクロアルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、ハロ $C_1 \sim C_6$ アルキル、置換されていてもよいフェニル、アリール、ヘテロシクリル、オキソ、-OH、-Cl、-F、-NH₂、-NO₂、-CN、-COOH、アミノなどの 1 つまたは複数の独立に選択される置換基で置換されていてもよい。フェニル置換基の好適な任意の置換基としては、たとえば、 $C_1 \sim C_3$ アルキル、 $C_1 \sim C_3$ アルコキシ、ハロ $C_1 \sim C_3$ アルキル、オキソ、-OH、-Cl、-F、-NH₂、-NO₂、-CN、-COOH、アミノから選択される 1 つまたは複数の基があげられるが、これに限定されるものではない。

30

40

【0044】

50

D-Phe および置換 D-Phe は、式 I の残基 Xaa₁ に適したアミノ酸の例である。フェニル環は、2 位、3 位および／または 4 位のいずれにおいても置換可能である。可能な置換の具体例としては、たとえば、2 位または 4 位での塩素またはフッ素があげられる。また、α 炭素原子をメチル化してもよい。D-Phe に対する保存された変化を示す他の等価な残基を使用することも可能である。その一例として、D-Ala（シクロペンチル）、D-Ala（チエニル）、D-Tyr、D-Tic があげられる。2 位での残基 Xaa₂ も D-Phe または置換 D-Phe であってもよく、このような置換にはフェニル環の 4 位の炭素または 3 位と 4 位の両方に置換基が含まれる。あるいは、Xaa₂ は、ナフチルで置換された D-Trp、D-Tyr または D-アラニンであってもよい。3 位の残基 Xaa₃ は、どのような非極性アミノ酸残基であってもよく、一例として、たとえば、D-Nle、D-Leu、(α-Me) D-Leu、D-Hle、D-Met または D-Val がある。しかしながら、D-Ala（シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチルまたはシクロヘキシル）あるいは D-Phe も Xaa₃ として使用可能である。4 位の残基 Xaa₄ は、D-Arg および D-Har などの陽に荷電したアミノ酸残基であればいずれであってもよく、これは、1 個または 2 個のエチル基などの低級アルキル基で置換されていてもよい。あるいは、D-Nar ならびに、D-Lys または D-Orn（いずれも、メチル基またはイソプロピル基などによる ω-アミノ基アルキル化可能であり、あるいは、α 炭素基でメチル化可能である）などの他の等価な残基を用いることも可能である。さらに、D-Dbu、D-4-Amf（アミジノで置換されていてもよい）および D-Hlys も、この位置での好適なアミノ酸である。

【0045】

本発明の化合物は、1 つまたは複数のキラル中心を含有し、その各々が、特定の炭素原子周囲の 4 個の置換基からなる、おそらくは 3 次元である 2 つの空間的配置（立体配置）を有する。これらは、立体異性体として知られており、具体的には、鏡像異性体（すべてのキラル中心が反転）またはジアステレオ異性体（2 つ以上のキラル中心、少なくとも 1 つのキラル中心が同一のままである）である。本発明の特定の実施形態では、テトラペプチド骨格を構成するアミノ酸 Xaa₁ Xaa₂ Xaa₃ Xaa₄ が D-アミノ酸であり、哺乳動物で一般に見られるものとは配置が逆になっている。本発明の合成ペプチドアミドの立体異性体は、Xaa₁ ~ Xaa₄ を構成する D-アミノ酸の α 炭素以外のキラル中心に関する。よって、本発明の実施形態である合成ペプチドアミドの立体異性体（Xaa₁ ~ Xaa₄ が各々 D-アミノ酸で指定される）は、これらの位置に L-アミノ酸またはアミノ酸のラセミ混合物を含まない。同様に、ラセミ酸塩とは、本明細書では、Xaa₁ ~ Xaa₄ を構成する D-アミノ酸の α 炭素以外の中心に関するものである。立体異性体が R 配置または S 配置のいずれかを取り得る本発明の合成ペプチドアミドのキラル中心は、Xaa₄ のカルボキシ末端に結合された部分のキラル中心を含み、Xaa₁ ~ Xaa₄ のアミノ酸側鎖置換基のキラル中心も含む。

【0046】

本明細書で説明する本発明の合成ペプチドアミド（合成ペプチドアミド化合物、本発明の化合物、化合物（数字）または単に「化合物」と同義である）を、別の形態で利用または調製することも可能である。たとえば、多くのアミノ含有化合物を酸性塩として利用または調製可能である。このような塩を用いると、化合物の単離性および取り扱い性が改善されることが多い。たとえば、試薬や反応条件などに応じて、本明細書で説明する合成ペプチドアミドなどの化合物を、塩酸塩またはトリル酸塩として利用または調製可能である。同形結晶形態、すべてのキラル形態およびラセミ形態、N-オキシド、水和物、溶媒和物および酸性塩水和物も、本発明の範囲内に包含されるものとする。

【0047】

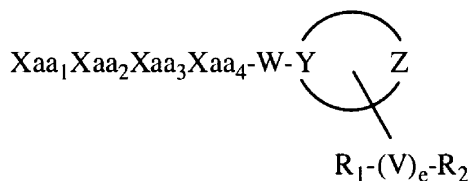
酸性または塩基性である本発明の合成ペプチドアミドの中には、双性イオンとして存在できるものがある。遊離酸、遊離塩基および双性イオンをはじめとして、これらの合成ペプチドアミド化合物のすべての形態が、本発明の範囲内に包含されるものとする。アミノ基とカルボキシル基の両方を含む化合物は、その双性イオン形態と平衡で存在する場合が

多いことも当該技術分野において周知である。よって、たとえばアミノ基とカルボキシル基の両方を含む、本明細書で説明する化合物ではいずれも、対応する双性イオンを含むものと理解されたい。

【0048】

特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドは、式 I に一致する。

【化 3】



式 I

【0049】

このような実施形態では、 $\text{Xaa}_1\text{-Xaa}_2\text{-Xaa}_3\text{-Xaa}_4$ は、テトラペプチド部分であり、式中、 Xaa_1 はアミノ末端のアミノ酸であり、(A) (A') D-Ph e、(A) (A') (α -Me) D-Ph e、D-Tyr、D-Tic、D-tert-ロイシン、D-ネオペンチルグリシン、D-フェニルグリシン、D-ホモフェニルアラニンまたは β -(E) D-Ala が可能であり、式中、各 (A) および各 (A') は、-H、-F、-Cl、-NO₂、-CH₃、-CF₃、-CN、-CONH₂ から独立に選択されるフェニル環置換基であり、(E) は、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、チエニル、ピリジルまたはチアゾリルのうちのいずれかから選択可能である。テトラペプチド鎖の第2のアミノ酸である Xaa_2 は、(A) (A') D-Ph e、3, 4-ジクロロ-D-Ph e、(A) (A') (α -Me) D-Ph e、D-1Na1、D-2Na1、D-Tyr、(E) D-Ala または D-Trp のいずれであってもよい。テトラペプチド鎖の第3のアミノ酸である Xaa_3 は、D-Nle、D-Ph e、(E) D-Ala、D-Leu、(α -Me) D-Leu、D-Hle、D-Val または D-Met が可能である。テトラペプチド鎖の第4のアミノ酸である Xaa_4 は、(B)₂ D-Arg、(B)₂ D-Nar、(B)₂ D-Har、 ζ -(B) D-Hlys、D-Dap、 ϵ -(B) D-Lys、 ϵ -(B)₂-D-Lys、D-Amf、アミジノ-D-Amf、 γ -(B)₂ D-Dbu、 δ -(B)₂ α -(B') D-Orn、D-2-アミノ-3(4-ピペリジル)プロピオン酸、D-2-アミノ-3(2-アミノ-ピロリジル)-プロピオン酸、D- α -アミノ- β -アミジノプロピオン酸、 α -アミノ-4-ピペリジン酢酸、cis- α , 4-ジアミノシクロヘキサン酢酸、trans- α , 4-ジアミノシクロヘキサン酢酸、cis- α -アミノ-4-メチルアミノシクロヘキサン酢酸、trans- α -アミノ-4-メチルアミノシクロヘキサン酢酸、 α -アミノ-1-アミジノ-4-ピペリジン酢酸、cis- α -アミノ-4-グアニジノシクロヘキサン酢酸または trans- α -アミノ-4-グアニジノシクロヘキサン酢酸のうちいずれであってもよく、式中、各 (B) は、-H および C₁~C₄ アルキルから別々に選択され、(B') には、-H または (α -Me) 基が可能である。

【0050】

本発明の特定の実施形態では、任意のリンカー基 W が存在せず (すなわち空である)、ただし、この場合、Y が N である。他の実施形態では、W が -N-(CH₂)_b であり、b が 0、1、2、3、4、5 または 6 である。さらに他の実施形態では、W が -N-(CH₂)_c-O- であり、c が 2 または 3 であり、ただし、このような実施形態では、Y が C である。

【0051】

本発明の特定の実施形態では、式 I の部分

10

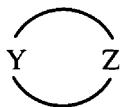
20

30

40

50

【化 4】



が、置換されていてもよい4員環から8員環の複素環部分であり、式中、環部分の環ヘテロ原子はいずれもNであり、YおよびZは各々独立に、CまたはNであり、隣接する環原子ではない。このような実施形態では、この複素環部分が、6員環、7員環または8員環である場合、環原子YおよびZが少なくとも2個の他の環原子で隔てられる。このような実施形態では、この複素環部分がNである単一の環ヘテロ原子を有する場合、環部分が非芳香族である。

10

【0052】

本発明のある特定の実施形態では、接続部分VがYおよびZ含有環に直接に結合される。Vは、基 R_1 および R_2 で置換可能な $C_1 \sim C_6$ アルキルである。置換基 R_1 は、 $-H$ 、 $-OH$ 、ハロ、 $-CF_3$ 、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、アミジノ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル置換アミジノ、アリール、置換されていてもよいヘテロシクリル、Pro-アミド、Pro、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Lys、Arg、Orn、Ser、Thr、 $-CN$ 、 $-CONH_2$ 、 $-COR'$ 、 $-SO_2R'$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-NHCOR'$ 、 OR' または $-SO_2NR'R''$ のいずれであっても構わない。置換されていてもよいヘテロシクリルは、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、オキソ、 $-OH$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-COOH$ 、アミジノから独立に選択される置換基で単一置換または二重置換されていてもよい。部分 R' および R'' は各々独立に、 H 、 $C_1 \sim C_8$ アルキル、アリールまたはヘテロシクリルである。あるいは、 R' と R'' の組み合わせで4員環から8員環の環を形成可能であり、この環は、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $-OH$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-COOH$ 、アミジノから独立に選択される置換基で単一置換または二重置換されていてもよい。置換基 R_2 は、 $-H$ 、アミジノ、単一または二重の $C_1 \sim C_6$ アルキル置換アミジノ、 $-CN$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-NHCOR'$ 、 $-SO_2NR'R''$ または $-COOH$ のいずれであってもよい。

20

30

【0053】

他の特定の実施形態では、Vは存在せず、置換基の基 R_1 および R_2 は、Y・Z含有複素環の同一または異なる環原子に直接に結合されている。

【0054】

特定の実施形態の別の一態様では、部分 R_1 および R_2 が一緒になって、Y・Z含有環部分の単一の環原子に結合された、置換されていてもよい4員環から9員環の複素単環式または二環式の環部分を形成可能である。特定の一実施形態では、部分 R_1 および R_2 が、直接にY・Z含有環部分の単一の環原子に結合された、置換されていてもよい4員環から9員環の複素単環式または二環式の環部分を形成する。

【0055】

40

特定の実施形態の第2の別の態様では、部分 R_1 および R_2 が、Y・Z含有環部分の単一の環原子と一緒に、置換されていてもよい4員環から8員環の複素環部分を形成してスピロ構造を形成可能である。

【0056】

特定の実施形態の第3の別の態様では、部分 R_1 および R_2 が、Y・Z含有環部分の2個またはそれよりも多くの隣接する環原子と一緒に、Y・Z含有環部分に融合された、置換されていてもよい4員環から9員環の複素単環式または二環式の環部分を形成可能である。

【0057】

特定の実施形態では、 R_1 および R_2 を含む、置換されていてもよい4員環、5員環、

50

6員環、7員環、8員環および9員環の複素環部分は各々、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、置換されていてもよいフェニル、オキソ、 $-OH$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-COOH$ 、アミジノから独立に選択される置換基で単一置換または二重置換されていてもよい。

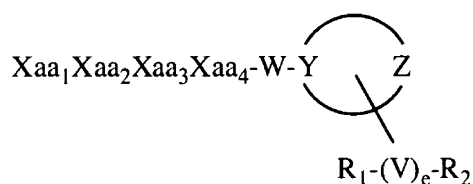
【0058】

ある特定の実施形態では、 $Y \cdot Z$ 含有環部分が単一の環ヘテロ原子を含む6員環または7員環であり、かつ、 Y および Z のうちの一方が C であり、 Y および Z のうちの他方が N であり、かつ、 e が0である場合、 R_1 は $-OH$ にはなり得ず、 R_1 および R_2 がともに $-H$ であることはない。さらに、 $Y \cdot Z$ 含有環部分が2個の環ヘテロ原子を有する6員環であり、 Y および Z がともに N であり、 W が空である場合、部分 $-(V)_e R_1 R_2$ は Z 以外の環原子に結合される。さらに、 e が0であれば、 R_1 および R_2 はともに $-H$ にはなり得ない。最後に、 Xaa_3 が $D-Nle$ である場合、 Xaa_4 は $(B)_2 D-Arg$ にはなり得ず、 Xaa_3 が $D-Leu$ または $(\alpha Me) D-Leu$ である場合、 Xaa_4 は $\delta-(B)_2 \alpha-(B') D-Orn$ にはなり得ない。

【0059】

特定の実施形態では、本発明はまた、式

【化5】



で表される合成ペプチドアミドあるいは、その立体異性体、ラセミ酸塩、プロドラッグ、薬学的に許容される塩、水和物、溶媒和物、酸性塩水和物、 N -オキシドまたは同形結晶形態も提供するものであり、式中、 Xaa_1 は、 $(A)(A') D-Phe$ 、 $(\alpha Me) D-Phe$ 、 $D-Tyr$ 、 $D-Tic$ 、 D -フェニルグリシン、 D -ホモフェニルアラニン、 $\beta-(E) D-Ala$ からなる群から選択され、式中、 (A) および (A') は各々、 $-H$ 、 $-F$ 、 $-Cl$ 、 $-NO_2$ 、 $-CH_3$ 、 $-CF_3$ 、 $-CN$ 、 $-CONH_2$ からなる群から独立に選択されるフェニル環置換基であり、式中、 (E) は、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、ピリジル、チエニル、チアゾリルからなる群から選択され、 Xaa_2 は、 $(A)(A') D-Phe$ 、 $(\alpha Me) D-Phe$ 、 $D-1NaI$ 、 $D-2NaI$ 、 $D-Tyr$ 、 $(E) D-Ala$ 、 $D-Trp$ からなる群から選択され、 Xaa_3 は、 $D-Nle$ 、 $D-Phe$ 、 $(E) D-Ala$ 、 $D-Leu$ 、 $(\alpha Me) D-Leu$ 、 $D-Hle$ 、 $D-Val$ 、 $D-Met$ からなる群から選択され、 Xaa_4 は、 $(B)_2 D-Arg$ 、 $(B)_2 D-nArg$ 、 $(B)_2 D-Har$ 、 $\zeta-(B) D-Hlys$ 、 $D-Dap$ 、 $\epsilon-(B) D-Lys$ 、 $\epsilon-(B)_2 D-D-Lys$ 、 $D-Amf$ 、アミジノ $-D-Amf$ 、 $\gamma-(B)_2 D-Dbu$ 、 $\delta-(B)_2 \alpha-(B') D-Orn$ 、 $D-2$ -アミノ -3 (4 -ピペリジル)プロピオン酸、 $D-2$ -アミノ -3 (2 -アミノピロリジル)プロピオン酸、 D - α -アミノ $-\beta$ -アミジノプロピオン酸、 $(R)-\alpha$ -アミノ -4 -ピペリジン酢酸、 $cis-\alpha$ 、 4 -ジアミノシクロヘキサン酢酸、 $trans-\alpha$ 、 4 -ジアミノシクロヘキサン酢酸、 $cis-\alpha$ -アミノ -4 -メチルアミノシクロヘキサン酢酸、 $trans-\alpha$ -アミノ -4 -メチルアミノシクロヘキサン酢酸、 α -アミノ -1 -アミジノ -4 -ピペリジン酢酸、 $cis-\alpha$ -アミノ -4 -グアニジノシクロヘキサン酢酸、 $trans-\alpha$ -アミノ -4 -グアニジノシクロヘキサン酢酸からなる群から選択され、式中、各 (B) は、 H および $C_1 \sim C_4$ アルキルからなる群から独立に選択され、 (B') は H または (αMe) である。基 W は、

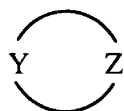
空(ただし、 W が空であり、 Y が N である)と、

b が0、1、2、3、4、5または6である $-N-(CH_2)_b$ と、

c が 2 または 3 である $-N-(CH_2)_c-O-$ (ただし、Y は C である) と、からなる群から選択され、

部分

【化 6】



は、置換されていてもよい 4～8 員環の飽和一窒素または二窒素複素環部分であり、式中、Y および Z 以外の環原子はヘテロ原子ではなく、Y は C または N であり、Z は C または N であり、少なくとも Y および Z のうちの 1 つが N であり、ただし、4 員環または 5 員環の複素環の場合、Y または Z のいずれかが C であり、二窒素複素環の場合、Y および Z は 2 個またはそれよりも多くの環炭素原子で隔てられ、

10

V は、 $C_1 \sim C_6$ アルキルであり、e は 0 または 1 であり、式中、e が 0 である場合、V は空であり、 R_1 および R_2 は、同一または異なる環原子に直接に結合され、

R_1 は、H、OH、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、アミジノ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル置換アミジノ、ジヒドロイミダゾール、Pro-アミド、Pro、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Lys、Arg、Orn、Ser、Thr、 $-CN$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-NHCOR'$ 、 $-OR'$ または $-SO_2NR'R''$ であり、式中、 R' および R'' は各々独立に、H または $C_1 \sim C_8$ アルキルであるか、 R' と R'' の組み合わせで、4 員環から 8 員環の環を形成し、この環は、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ アルコキシ、 $-OH$ 、 $-Cl$ 、 $-F$ 、 $-NH_2$ 、 $-NO_2$ 、 $-CN$ 、 $-COOH$ 、アミジノからなる群から独立に選択される置換基で単一置換または二重置換されていてもよく、 R_2 は、H、アミジノ、単一または二重の $C_1 \sim C_6$ アルキル置換アミジノ、 $-CN$ 、 $-CONH_2$ 、 $-CONR'R''$ 、 $-NHCOR'$ 、 $-SO_2NR'R''$ または $-COOH$ であり、

20

ただし、Y・Z 含有環部分が 6 員環または 7 員環であり、Y および Z のうちの 1 つが C であり、e が 0 である場合、 R_1 は OH ではなく、 R_1 および R_2 がともに H であることはなく、ただし、Y・Z 含有環部分が 6 員環である場合、Y および Z がともに N であり、W が空である場合、 $(V)_e R_1 R_2$ が Z 以外の環原子に結合され、e が 0 であれば、 R_1 および R_2 はともに $-H$ であることはなく、最後に、ただし、Xaa₃ が D-Nle の場合、Xaa₄ は $(B)_2 D-Arg$ にはなり得ず、Xaa₃ が D-Leu または $(\alpha Me) D-Leu$ の場合、Xaa₄ は $\delta-(B)_2 \alpha-(B') D-Orn$ にはなり得ない。

30

【0060】

一実施形態では、本発明は、式 I の合成ペプチドアミドを提供するものであり、式中、Xaa₁Xaa₂ は、D-Phe-D-Phe であり、Xaa₃ は、D-Leu または D-Nle であり、Xaa₄ は、 $(B)_2 D-Arg$ 、 $D-Lys$ 、 $(B)_2 D-Har$ 、 $\zeta-(B) D-Hlys$ 、 $D-Dap$ 、 $\epsilon-(B) D-Lys$ 、 $\epsilon-(B)_2 D-Lys$ 、 $D-Amf$ 、アミジノ-D-Amf、 $\gamma-(B)_2 D-Dbu$ 、 $\delta-(B)_2 \alpha-(B') D-Orn$ から選択される。上述の実施形態の特定の態様では、Xaa₄ は、 $D-Lys$ 、 $(B)_2 D-Har$ 、 $\epsilon-(B) D-Lys$ 、 $\epsilon-(B)_2 D-Lys$ から選択される。

40

【0061】

別の実施形態では、本発明は、式 I の合成ペプチドアミドを提供するものであり、式中、W は空であり、Y は N であり、Z は C である。上述の実施形態の特定の態様では、Y・Z 含有環部分は、単一の環ヘテロ原子を有する 6 員環の飽和環である。

【0062】

別の実施形態では、本発明は、式 I の合成ペプチドアミドを提供するものであり、式中

50

、YおよびZはともにNであり、Y・Z含有環部分における唯一の環ヘテロ原子である。

【0063】

別の実施形態では、Y・Z含有環部分が2個の環ヘテロ原子を有する飽和6員環であり、Wが空である場合、Zは炭素原子である。

【0064】

さらに別の実施形態では、本発明は、式Iの合成ペプチドアミドを提供するものであり、式中、 R_1 および R_2 が、Y・Z含有環部分の0個、1個または2個の環原子と一緒にあって、単環式または二環式の4～9員環の複素環部分を構成する。上述の実施形態の特定の態様では、 R_1 および R_2 が、Y・Z含有環部分の1個の環原子と一緒にあって、4員環から8員環の複素環部分を構成し、これによってY・Z含有環部分がスピロ構造を形成し、Wは空である。

10

【0065】

さらに別の実施形態では、本発明は、式Iの合成ペプチドアミドを提供するものであり、式中、eは0であり、 R_1 および R_2 は直接に同一の環炭素原子に結合される。

【0066】

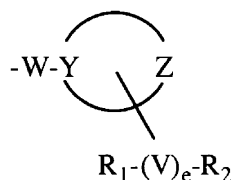
さらに他の実施形態では、本発明は、式Iの合成ペプチドアミドを提供するものであり、式中、 R_1 は、H、OH、 $-NH_2$ 、 $-COOH$ 、 $-CH_2COOH$ 、 $C_1 \sim C_3$ アルキル、アミノ、 $C_1 \sim C_3$ アルキル置換アミノ、ジヒドロイミダゾール、D-Pro、D-Proアミドまたは $-CONH_2$ であり、式中、 R_2 は、H、 $-COOH$ または $C_1 \sim C_3$ アルキルである。

20

【0067】

別の実施形態では、本発明は、式Iの合成ペプチドアミドを提供するものであり、式中、部分

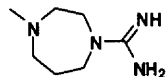
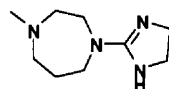
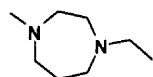
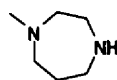
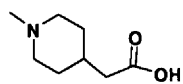
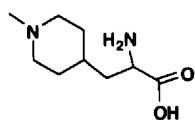
【化7】



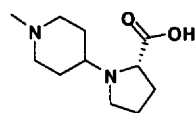
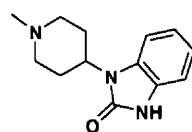
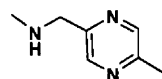
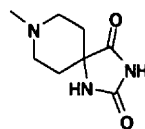
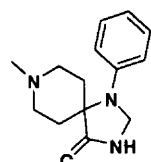
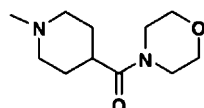
30

は、

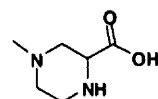
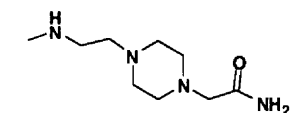
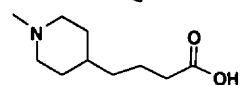
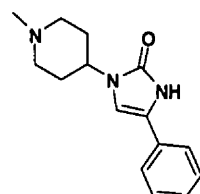
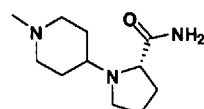
【化 8】



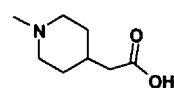
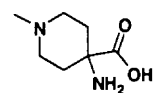
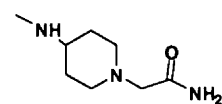
10



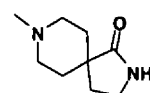
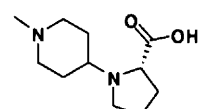
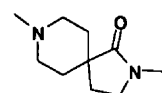
20



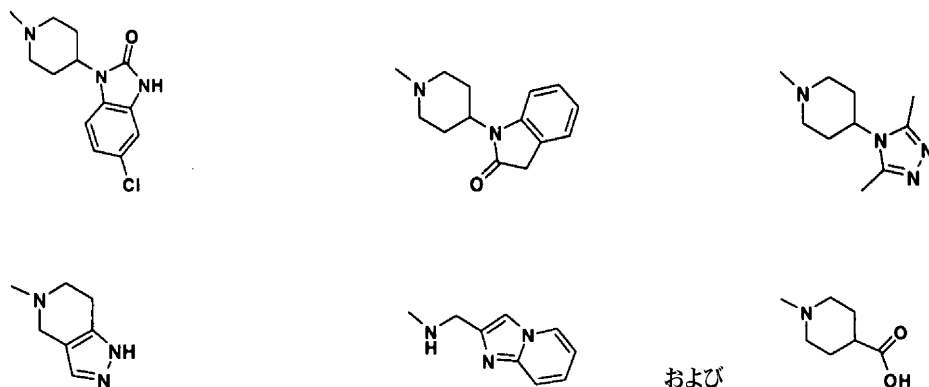
30



40



【化 9】



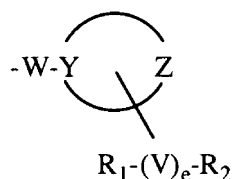
10

からなる群から選択される。

【0068】

さらに別の実施形態では、本発明は、式 I の合成ペプチドアミドを提供するものであり、式中、部分

【化 10】



20

は、プロリン部分でも置換プロリン部分でもなく、プロリン部分でもなく、式中、 R_1 または R_2 は、アミド部分を含む。

【0069】

さらに別の実施形態では、本発明は、式 I の合成ペプチドアミドを提供するものであり、この場合、Wが空であり、Y・Z含有環部分が単一の環ヘテロ原子のみを有する5員環の飽和環であり、eが0であり、 R_1 または R_2 のいずれかがYに隣接する環炭素と結合した場合、 R_1 は、 $-H$ 、 $-OH$ 、ハロ、 $-CF_3$ 、 $-NH_2$ 、 $C_1 \sim C_6$ アルキル、アミジノ、 $C_1 \sim C_6$ アルキル置換アミジノ、アリール、Pro、Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Lys、Arg、Orn、Ser、Thr、CN、 $-SO_2R'$ 、 $-NHCOR'$ 、 $-OR'$ 、 $-SO_2NR'R''$ からなる群から選択され、 R_2 は、 $-H$ 、アミジノ、単一または二重の $C_1 \sim C_6$ アルキル置換アミジノ、 $-CN$ 、 $-NHCOR'$ 、 $-SO_2NR'R''$ からなる群から選択される。

30

【0070】

さらに別の実施形態では、本発明は、 κ オピオイド受容体での EC_{50} が約 500 nM 未満の式 I の合成ペプチドアミドを提供するものである。特定の態様では、合成ペプチドアミドは、 κ オピオイド受容体での EC_{50} が約 100 nM 未満となり得る。さらに特定の態様では、合成ペプチドアミドは、 κ オピオイド受容体での EC_{50} が約 20 nM 未満となり得る。最も特定の態様では、合成ペプチドアミドは、 κ オピオイド受容体での EC_{50} が約 1 nM 未満となり得る。上記実施形態の化合物は、 EC_{50} が μ および δ オピオイド受容体で κ オピオイド受容体よりも少なくとも 10 倍大きくなり得、好ましくは少なくとも 100 倍大きく、最も好ましくは少なくとも 1000 倍大きくなり得る (EC_{50} が κ オピオイド受容体で約 1 nM 未満、 EC_{50} 値が μ オピオイド受容体および δ オピオイド受容体で約 1000 nM を超えるなど)。

40

【0071】

さらに別の実施形態では、本発明は、ヒト肝臓ミクロソームと一緒に 60 分間のインキ

50

ュベーション後に、合成ペプチドアミドの濃度10 μ Mで、P₄₅₀ CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19またはCYP2D6のいずれに対しても有効濃度で約50%阻害するにすぎない式Iの合成ペプチドアミドを提供するものである。

【0072】

さらに別の実施形態では、本発明は、式Iの合成ペプチドアミドを提供するものであり、ラットにおいて約3 mg/kgの用量で、脳でのピーク濃度の少なくとも約5倍高い合成ペプチドアミドのピーク血漿濃度に達する。上述の実施形態の特定の一態様では、合成ペプチドアミドは、マウスの歩行運動低下アッセイで鎮静作用でのED₅₀が、マウスのライジングアッセイでの鎮痛作用での合成ペプチドアミドのED₅₀の少なくとも約10倍である。

10

【0073】

さらに別の実施形態では、本発明は、ラットで合成ペプチドアミドを約3 mg/kgの用量で投与した後、約3時間で最大薬効の少なくとも約50%に達する式Iの合成ペプチドアミドを提供するものである。

【0074】

一実施形態では、本発明は、式Iの合成ペプチドアミドと薬学的に許容される賦形剤または担体とを含む医薬組成物を提供するものである。

【0075】

別の実施形態では、本発明は、哺乳動物において κ オピオイド受容体関連疾患または症状を治療または予防する方法であって、 κ オピオイド受容体関連疾患または症状を治療または予防するのに十分な、式Iの合成ペプチドアミドを有効量で含む組成物を哺乳動物に投与することを含む方法を提供するものである。

20

【0076】

さまざまなアッセイを利用して、本発明の合成ペプチドアミドが、 κ オピオイド受容体への高い親和性と選択性、*in vivo*での長期間にわたる生物活性を呈するか否か、また、CNS副作用がないかどうかを試験することができる。受容体アッセイは当該技術分野において周知であり、 μ オピオイド受容体および δ オピオイド受容体同様に、いくつかの種に由来する κ オピオイド受容体がクローニングされている。従来からの7種類の膜貫通Gタンパク質-結合受容体に、 κ オピオイド受容体ならびに μ オピオイド受容体および δ オピオイド受容体がある。これらのクローニングした受容体は、ペプチドまたはペプチド誘導体などの特定の候補化合物のスクリーニングを容易に可能にするものであるが、当該技術分野において周知のように、天然の哺乳類オピオイド受容体源もスクリーニングに有用である(Dooley CT et al. Selective ligands for the mu, delta, and kappa opioid receptors identified from a single mixture based tetrapeptide positional scanning combinatorial library. J. Biol. Chem. 273:18848-56, 1998)。よって、 μ オピオイド受容体よりも κ オピオイド受容体に対する本発明の合成ペプチドアミドの選択性を判断するには、組換えであるか天然由来であるかを問わず、 κ オピオイド受容体と μ オピオイド受容体の両方に対するスクリーニングを実施することができる。

30

【0077】

特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドが選択的 κ オピオイド受容体アゴニストである。特定の受容体に対するアゴニストとしての本発明の合成ペプチドアミドの力価を、最大限の効果の半分が達成される濃度(ED₅₀値で表される)として測定することが可能である。本発明の合成ペプチドアミドの κ オピオイドアゴニストとしての力価(最大作用率で表される)については、当該技術分野において周知の多種多様な方法で判断することができる。たとえば、Endoh T et al., 1999, Potent Antinociceptive Effects of TRK-820, a Novel κ -Opioid Receptor Agonist, Life Sci. 65(16) 1685-94; およびKumar V et al., Synthesis and Evaluation of Novel peripherally Restricted κ -Opioid Receptor Agonists, 2005 Bioorg Med Chem Letts 15:1091-1095を参照のこと。

40

【0078】

このようなED₅₀値を求めるアッセイ技法の例を以下にあげておく。オピオイド配位

50

子の特徴付けるための多くの標準アッセイ法が、当業者間で周知である。たとえば、Wald hoer et al., (2004) Ann. Rev. Biochem. 73:953-990およびSato & Minami (1995) Pharmac. Ther. 68(3):343-364ならびに、本明細書に引用する文献を参照のこと。

【0079】

ある特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドが、 EC_{50} が約 500 nM 未満の κ オピオイド受容体アゴニストである。他の実施形態では、合成ペプチドアミドは、 κ オピオイド受容体アゴニストとして EC_{50} が約 100 nM である。さらに他の実施形態では、合成ペプチドアミドは κ オピオイド受容体アゴニストとして EC_{50} が約 10 nM である。特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドが、 κ オピオイド受容体アゴニストとして、 EC_{50} が約 1.0 nM 未満、約 0.1 nM 未満または約 0.1 nM 未満であるか、あるいは約 0.01 nM 未満ですらある。

10

【0080】

特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドが、 μ オピオイド受容体よりも κ に対して高度に選択的である。特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドの μ オピオイド受容体に対する EC_{50} 値が、 κ オピオイド受容体での対応する EC_{50} 値に比して少なくとも約 100 倍である。特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドの μ オピオイド受容体に対する EC_{50} 値が、 κ オピオイド受容体での対応する EC_{50} 値に比して少なくとも約 1000 倍である。あるいは、本発明の合成ペプチドアミドの選択性が、 κ オピオイド受容体の場合よりも μ オピオイド受容体のほうが高い EC_{50} で表されることもある。よって、特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドの EC_{50} 値が、 μ オピオイド受容体の場合に約 10 μ M を超え、 κ オピオイド受容体の場合の EC_{50} 値が約 10 nM 未満であり、他の実施形態では、約 1.0 nM 未満、あるいは約 0.01 nM 未満である。別の実施形態では、特定の合成ペプチドアミドの EC_{50} が、 κ オピオイド受容体の場合で約 1 nM 未満であり、 EC_{50} が μ オピオイド受容体または δ オピオイド受容体の場合で約 1000 nM を超える。

20

【0081】

本発明の合成ペプチドアミドの別の特性として、シトクロム P_{450} アイソザイムをあまり阻害しないという特徴的な特性がある。シトクロム P_{450} アイソザイムは、多くの治療用化合物および他の生物活性化合物の代謝酸素不活性化を担うヘム-チオレートタンパク質の大きなサブファミリーを構成する。通常、それは多成分電子伝達鎖における末端酸化酵素として作用し、シトクロム P_{450} -含有モノオキシゲナーゼ系とも呼ばれるものである。

30

【0082】

すでに 50 種類を超えるシトクロム P_{450} アイソザイムが同定されており、核酸配列相同性で評価した遺伝的な関連性に基づいてファミリーに分類されている。シトクロム P_{450} アイソザイムの中でもヒト細胞にもっとも豊富にみられるのが、1A2 および 3A4 アイソザイムであるが、アイソザイム 2B6、2C9、2C19、2D6 および 2E1 も投与された治療薬の酸素不活性化に大幅に寄与している。本発明の合成ペプチドアミドの有効濃度が保たれる *in vivo* 投与後の時間を長くするには、シトクロム P_{450} アイソザイムの阻害が有用であるが、こうした阻害によってシトクロム P_{450} による酸化対象となる同時投与した治療用化合物の持続時間も長くなる。このように持続時間が長くなることで、同時投与される治療薬が、治療に最適な期間を超えて持続することもあるし、*in vivo* 濃度が所望のレベルまたは安全耐量を超えてしまうこともある。こうした持続時間の延長および／または濃度の上昇を正確に定量するのは困難であり、回避できればそのほうが好ましい。シトクロム P_{450} アイソザイムの活性に対する阻害がほとんどないかまったくない治療薬には、こうした潜在的な問題がないため、同時投与した治療用化合物がシトクロム P_{450} アイソザイムによって不活性化される率に影響する危険を伴わずに、他の治療薬と安全に動じ投与することが可能である。

40

【0083】

本発明の合成ペプチドアミドの特定の実施形態は、合成ペプチドアミドの治療濃度でシ

50

トクロム P₄₅₀ アイソザイムをほとんど阻害せず、他の実施形態は、その治療濃度でシトクロム P₄₅₀ アイソザイムを実質的にまったく阻害しない。実施形態によっては、濃度 10 μM の合成ペプチドアミドが、シトクロム P₄₅₀ アイソザイム CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19 または CYP2D6 に対して約 50 % 未満しか阻害しない。特定の実施形態では、濃度 10 μM の合成ペプチドアミドが、これらのシトクロム P₄₅₀ アイソザイムのいずれに対しても約 20 % 未満しか阻害しない。極めて特定の実施形態では、濃度 10 μM の合成ペプチドアミドがこれらのシトクロム P₄₅₀ アイソザイムの約 10 % 未満しか阻害しない。

【0084】

別の実施形態では、有効濃度での本発明の合成ペプチドアミドが、ヒト肝臓ミクロソームと一緒に 60 分間のインキュベーション後に、合成ペプチドアミドの濃度 10 μM で、P₄₅₀ CYP1A2、CYP2C9、CYP2C19 または CYP2D6 のいずれに対しても約 50 % 阻害するにすぎない。

【0085】

哺乳動物またはヒトの患者に治療有効濃度で投与した場合、本発明の合成ペプチドアミドは、血液脳関門をほとんど通過しないか実質的にまったく通過しない。κ オピオイド受容体（以下、κ 受容体と同義に用いる）は、ヒトや他の哺乳動物の皮膚や体細胞組織をはじめとする末梢組織ならびに内臓に分布する。κ 受容体は、脳にも見いだされる。末梢組織で κ 受容体が活性化すると、痛みや炎症反応が抑制されるが、脳で κ 受容体が活性化されると鎮静作用が生じ、重篤な不快感や幻覚につながることもある。特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドを治療有効濃度で投与しても、実質的に血液脳関門を通過しないため、血液脳関門をいくらか通過する他の多くの κ アゴニストにおける鎮静作用や幻覚発現作用が最小限になるか、完全に回避される。

【0086】

本発明の合成ペプチドアミドが血液脳関門を通過する度合いを測定する上で役立つ手段の 1 つに、ピーク血漿濃度と脳組織内での濃度の比がある。特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドを約 3 mg / kg の用量で投与すると、ピーク血漿濃度に達した時点で血漿中と比較して脳内では合成ペプチドアミドが少なくとも約 5 分の 1 の濃度になる。

【0087】

本発明の合成ペプチドアミドが血液脳関門を通過する度合いを測定する上で役立つ別の有用な手段として、鎮静作用を達成するのに必要な用量と鎮痛作用を達成するのに必要な用量との比がある。κ 受容体アゴニストによる κ 受容体刺激の鎮痛作用および鎮静作用については、当業者間で周知の標準的なアッセイで測定可能である。

【0088】

特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドは、鎮静作用での ED₅₀ が鎮痛作用での ED₅₀ の少なくとも約 10 倍のものである。特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドは、鎮静作用での ED₅₀ が鎮痛作用での ED₅₀ の少なくとも約 30 倍である。さらに他の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドは、鎮静作用での ED₅₀ が鎮痛作用での ED₅₀ の少なくとも約 50 倍である。

【0089】

別の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドは、マウスの活動量減少 (locomotion-reduction) アッセイにおける鎮静作用での ED₅₀ が、マウスのライジングアッセイにおける合成ペプチドアミドの鎮痛作用での ED₅₀ の少なくとも約 10 倍である。

【0090】

本発明の合成ペプチドアミドが血液脳関門を通過するであろう度合いを予測する、別の有用な判断材料として、治療関連濃度で送達したときのヒトの細胞または他の哺乳類の細胞への合成ペプチドアミドの膜透過値によるものがある。特定の実施形態では、治療関連濃度での本発明の合成ペプチドアミドは、適宜培養したヒトまたは他の哺乳類の細胞の単層膜をほとんど貫通しないか、実質的にまったく貫通することができない。この透過パ

10

20

30

40

50

ラメータは、見かけの透過性すなわち、該当する化合物に対する特定の細胞単層膜の透過性を示す P_{app} として表すことが可能なものである。適宜培養できる哺乳類の細胞単層膜であれば、どのようなものを利用して該当する特定化合物に対する透過性を求めてもよいが、この目的では特定の細胞系が用いられることが多い。たとえば、本発明の化合物での膜の透過性を調べるための単層膜培養試験系として使用可能なヒト結腸腺癌に、Caco-2細胞系がある。特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドの P_{app} が約 10^{-6} cm/秒未満である。他の特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドの P_{app} が約 10^{-7} cm/秒未満である。

【0091】

一実施形態では、ラットにおいて本発明の合成ペプチドアミドの用量を約 3 mg/kg とすると合成ペプチドアミドがピーク血漿濃度に達し、脳での濃度がそのようなピーク血漿濃度よりも少なくとも約 5 分の 1 になる。

【0092】

別の実施形態では、ラットで合成ペプチドアミドを約 3 mg/kg の用量で投与した後、約 3 時間で本発明の合成ペプチドアミドが最大薬効の少なくとも約 50% に達する。

【0093】

一実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドは、ヒトなどの哺乳動物で、長時間継続する持続作用を示す。一態様では、合成ペプチドアミドの持続作用が、0.1 mg/kg の合成ペプチドアミドの投与後 3 時間の時点で最大薬効の少なくとも約 50% である。別の態様では、合成ペプチドアミドの持続作用は、0.1 mg/kg の合成ペプチドアミドの投与後 3 時間の時点で最大薬効の少なくとも約 75%。特定の態様では、合成ペプチドアミドの持続作用は、0.1 mg/kg の合成ペプチドアミドの投与後 3 時間の時点で最大薬効の少なくとも約 90% である。具体的な態様では、合成ペプチドアミドの持続作用は、0.1 mg/kg の合成ペプチドアミド投与後 3 時間の時点で、最大薬効の少なくとも約 95% である。

【0094】

別の実施形態では、本発明は、上述の実施形態のいずれかに基づく合成ペプチドアミドと、薬学的に許容される賦形剤または担体とを含む医薬組成物を提供するものである。本発明は、 κ オピオイド受容体に対して選択的である本発明の合成ペプチドアミドを用いるおよび/または含む方法、組成物または剤形を提供するものである。特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドは、 κ オピオイド受容体に対して強い親和性を呈し、 κ オピオイド受容体アゴニストとしての力価が高い。

【0095】

本発明の合成ペプチドアミドなどの化合物のプロドラッグは、投与時に代謝または他のプロセスで、その化合物の生物学的に活性な形態に変換可能な薬学的に許容される誘導体を含む。プロドラッグは、バイオアベイラビリティ、安定性または特定の製剤への適合性の点で、活性化化合物よりもプロドラッグのほうが望ましい特性を持つような場合に特に適している。

【0096】

本明細書で使用する場合、 κ オピオイド受容体関連疾患、症状または機能障害とは、 κ オピオイド受容体の活性化によって予防可能または治療可能なあらゆる疾患、症状または機能障害のことである。一態様では、本発明の合成ペプチドアミドは、 κ オピオイド受容体を活性化する κ オピオイド受容体アゴニストである。いくつかの実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドの特定の用量および投与経路を医師が選択して、その疾患、症状または機能障害を完全に予防または治療することが可能である。他の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドの特定の用量および投与経路を医師が選択して、1 つまたは複数の疾患兆候、症状または機能障害を寛解または低減することができる。

【0097】

本明細書で使用する場合、本発明の合成ペプチドアミドの「有効量」または「十分な量」とは、特定の疾患、機能障害、症状または副作用の兆候を阻害、予防または治療する上

10

20

30

40

50

で治療的に有効となり得る、本明細書で説明するような化合物の量を示す。本明細書で使用する場合、 μ オピオイドアゴニスト鎮痛化合物の「低用量」とは、本発明の合成ペプチドアミドなどの κ オピオイドアゴニストと併用した場合に、特定の患者に、その化合物の1つまたは複数の副作用を抑える目的で通常与えられる量よりも少ない用量を示す。この用量をどのくらい減らすかについては、 μ オピオイドアゴニスト鎮痛の鎮痛または他の治療効果が、本発明の合成ペプチドアミドの鎮痛または他の治療効果によって少なくとも部分的にそして最も好ましくは完全に相殺される、副作用の低減に鑑みたときに、化合物の鎮痛または他の治療効果の低下が許容範囲内であるような形で選択することが可能である。 μ オピオイドアゴニスト鎮痛化合物と、 κ オピオイドアゴニストとして作用する本発明の合成ペプチドアミドとを同時投与すると、低用量の合成ペプチドアミドおよび／または

10

【0098】

本明細書で使用する場合、「薬学的に許容される」とは、妥当な医学的判断の範囲内で、重篤な毒性、刺激、アレルギー反応または他の合併症を伴わずに、人間および動物の組織と接触させるのに適した、治療対象となる病状の合理的な損益比に見合う化合物、素材、組成物および／または剤形を示す。

【0099】

本明細書で使用する場合、「薬用単位」とは、治療対象となる特定の個人または症状に合わせた単位薬用量として適した、物理的に別個の単位を示す。それぞれの単位は、任意に医薬担体との併用で所望の治療効果を生成するよう算出された、所定量の活性合成ペプチドアミド化合物を含むものであってもよい。単位剤形の具体的な内容については、(a) 活性化合物の独特の特徴と、達成すべき特定の治療効果ならびに、(b) このような活性化合物の配合技術分野に固有の制約化合物によって決定すればよい。薬用単位は、単位重量あたりの化合物重量で表されることが多く、たとえば被検体または患者の体重1キログラムあたりの化合物量 (mg/kg) をミリグラム単位で示す。あるいは、特定の投与計画の単位時間ごとに単位重量あたりの化合物量 ($\text{mg}/\text{kg}/\text{日}$) として薬用量を表すことも可能である。さらに別の例では、体の単位表面積あたりの化合物量 (mg/m^2) あるいは、単位時間ごとの体の単位表面積あたりの化合物量 ($\text{mg}/\text{m}^2/\text{日}$) として薬用量を表すことも可能である。外用製剤では、2分の1インチの軟膏を目に塗布し、製剤中の化合物濃度を製剤に対する割合で表すなど、その製剤で従来から用いられている方法で薬用量を表すことができる。

20

30

【0100】

本明細書で使用する場合、「薬学的に許容される塩」とは、親化合物の酸塩または塩基塩を形成することで、親化合物を変化させた化合物の誘導体を示す。薬学的に許容される塩の例としては、アミンなどの塩基性残基の有機酸塩または鉱物塩；カルボン酸などの酸性残基のアルカリ塩または有機塩などがあげられるが、これに限定されるものではない。薬学的に許容される塩としては、たとえば無毒の無機酸または有機酸から形成される、親化合物の従来の無毒の塩または第4級アンモニウム塩があげられる。たとえば、このような従来の無毒の塩としては、塩酸、臭化水素酸、硫酸、スルファミン酸、リン酸、硝酸などの無機酸由来のもの；酢酸、プロピオン酸、コハク酸、グリコール酸、ステアリン酸、乳酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アスコルビン酸、パモ酸、マレイン酸、ヒドロキシマレイン酸、フェニル酢酸、グルタミン酸、安息香酸、サリチル酸、スルファニル酸、2-アセトキシ安息香酸、フマル酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、シュウ酸、イセチオン酸などの有機酸から調製される塩などがあげられる。これらの生理学的に許容可能な塩は、過剰な酸を用いて水性アルコールに遊離アミン塩基を溶解したり、ヒドロキシドなどのアルカリ金属塩基あるいはアミンで遊離カルボン酸を中和したりするなど、当該技術分野において周知の方法で調製される。よって、合成ペプチドアミドの薬学的に許容される塩は、酸性、塩基性のいずれかまたは両方の官能基を有す

40

50

るペプチドアミドから形成可能である。たとえば、カルボン酸基を有するペプチドアミドは、薬学的に好適な塩基の共存下で、ナトリウムカチオンまたはカリウムカチオンなどのカチオンと対になるカルボン酸アニオンを形成できる。同様に、アミン官能基を有するペプチドアミドであれば、HClなどの薬学的に好適な酸の共存下、塩を形成できる。

【0101】

合成ペプチドアミドの薬学的に許容される溶媒和物の一例に、ペプチドアミドと溶媒分子との組み合わせがある。これは、ペプチドアミドに対する当該溶媒分子の錯体を生成する。化合物の特に好適な水和物は、同等の活性を有する水和物または投与後に活性化化合物に戻る水和物である。アミンを含有する合成ペプチドアミドの薬学的に許容されるN-オキシドは、アミンの窒素原子が酸素原子と結合した化合物である。

10

【0102】

本発明の合成ペプチドアミドの薬学的に許容される結晶形態、同形結晶形態または非晶質形態は、本発明による合成ペプチドアミドの、薬学的に許容される、酸性、塩基性、双性イオン性、塩、水和物または他の適宜安定した、生理学的に相溶な形のような結晶形態または非結晶形態であってもよい。

【0103】

本発明の合成ペプチドアミドを医薬組成物に入れることが可能である。この組成物は、薬学的に許容される希釈剤、賦形剤または担体に有効量の合成ペプチドアミドを含み得る。医薬組成物に用いられる従来の賦形剤、担体および／または希釈剤は通常、不活性で調製物の大部分を構成する。

20

【0104】

特定の実施形態では、合成ペプチドアミドが、 κ オピオイド受容体アゴニストである。別の実施形態では、合成ペプチドアミドが、選択的 κ オピオイド受容体アゴニストである。標的部位は、このような治療または予防が必要な患者または被検体における κ 受容体であってもよい。本発明の特定の合成ペプチドアミド κ オピオイド受容体アゴニストは末梢に作用し、治療有効用量でCNS作用がほとんどないかまったくない。

【0105】

薬学的な賦形剤または担体は、本発明の合成ペプチドアミドの送達用の溶媒剤として適した、相溶性で無毒の物質であればどのようなものであってもよい。好適な賦形剤または担体としては、滅菌水（好ましくは発熱物質を含まない）、生理食塩水、リン酸緩衝液生理食塩水（PBS）、水／エタノール、水／グリセリン、水／ソルビトール、水／ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、セチルステアリルアルコール、カルボキシメチルセルロース、コーンスターチ、ラクトース、グルコース、微結晶セルロース、ステアリン酸マグネシウム、ポリビニルピロリドン（PVP）、クエン酸、酒石酸、油、脂肪性物質、ワックスあるいは、上述したものを任意に組み合わせた好適な混合物があげられるが、これに限定されるものではない。

30

【0106】

本発明による医薬組成物は、液体、半固体または固体の剤形として処方可能なものである。たとえば、医薬組成物は、注射用溶液、ドロップ、シロップ、スプレー、懸濁液、錠剤、パッチ、カプセル、包帯剤、坐薬、軟膏、クリーム、ローション、ゲル、エマルジョン、エアロゾルの形であってもよいし、ペレットまたは顆粒などの微粒子の形であってもよく、任意に、錠剤またはトロッチ剤として圧縮したものや、カプセルに封入したものまたは液体に懸濁させたものであってもよい。錠剤は、バインダー、潤滑剤、希釈剤、着色剤、香味剤、湿潤剤を含むものであってもよく、腸溶コーティングをほどこして、胃の酸性環境では守られて腸管腔における胃よりもアルカリ性の条件で溶解されるようにしてもよい。あるいは、錠剤が糖衣錠であってもよいし、水溶性フィルムで被覆したものであってもよい。薬学的に許容されるアジュバント、緩衝剤、分散助剤などを、医薬組成物に含ませるようにしてもよい。

40

【0107】

バインダーとしては、たとえば、スターチ、粘物質、ゼラチンおよびスクロースがあげ

50

られる。潤滑剤としては、タルク、リコポディウム、マグネシウムおよびステアリン酸カルシウム／ステアリン酸があげられる。希釈剤としては、ラクトース、スクロース、マンニトール、塩、スターチおよびカオリンがあげられる。湿潤剤としては、プロピレングリコールおよびモノステアリン酸ソルビタンがあげられる。

【0108】

本明細書で使用する場合、局所適用または投与とは、本発明による医薬組成物を、有痛性および／または炎症症状を呈する炎症関節などの部位に投与することを示す。このような局所適用には、注射による関節内(intra-articular)適用などの関節内(intrajoint)適用、カテーテルによる適用または生体適合性装置の一部としての送達を含む。よって、局所適用は、たとえば、関節、軟組織部分(筋肉、腱、靱帯、眼内のまたは他の体内肉質部分など)または他の体内部分などの体内の不連続の部分への適用を示す。特に、本明細書で使用する場合、局所適用とは、組成物の存在下で活性剤を実質的に全身送達および／または全身投与をしない適用を示す。また、本明細書で使用する場合、局所適用とは、体の不連続の部分すなわち、さまざまな大きな体腔(たとえば、腹腔および／または胸膜腔など)以外の部分への適用を示すものである。

10

【0109】

本明細書で使用する場合、外用塗布とは、表皮、他の真皮または他の体組織を含むがこれに限定されるものではない、体の任意の部分内または任意の部分上であればよい皮膚、眼、粘膜および唇などへの体の表面への塗布を示す。外用投与または塗布とは、本発明による医薬組成物を、皮膚または膜、特に角膜または口腔粘膜、膈粘膜または肛門粘膜などの組織に直接接触させることを意味する。よって、本明細の目的では、外用塗布とは、たとえば、皮膚(外皮または表皮)および粘膜(粘液産生、分泌および／または接触面)などの到達可能な体の表面の組織への適用を示す。特に、外用塗布とは、本組成物の存在下で活性化化合物をほとんどまたは実質的にまったく全身送達しない適用を示す。一例としての粘膜表面として、眼、口(唇、舌、歯肉、頬、舌下腺および口蓋など)、喉頭、食道、気管支、気管、鼻孔、膈および直腸／肛門の粘膜表面があげられる。

20

【0110】

経口投与の場合、カプセル、錠剤、粉末などの固体剤形で活性成分を投与してもよいし、エリキシル剤、シロップ、懸濁液などの液体剤形で投与してもよい。活性成分を、グルコース、ラクトース、スクロース、マンニトール、スターチ、セルロースまたはセルロース誘導体、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、ナトリウムサッカリン、滑石、炭酸マグネシウムなどの粉末状担体および不活性成分と一緒に、ゼラチンカプセルに封入することも可能である。添加して所望の色、味、安定性、緩衝能、分散性または他の周知の所望の特徴を提供できる別の不活性成分の例として、ベンガラ、シリカゲル、ラウリル硫酸ナトリウム、二酸化チタン、食用白色インクなどがあげられる。同様の希釈剤を利用して圧縮錠を製造することも可能である。錠剤とカプセルのどちらも、徐放製品として製造して、薬物を数時間にわたって連続放出することが可能である。圧縮錠を糖衣錠またはフィルムコーティングしたものとして、不快な味を隠したり錠剤を周囲から保護したりすることが可能であり、あるいは、腸溶コーティングをほどこして消化管で選択的に崩壊させることも可能である。経口投与用の液体剤形には、患者に受け入れてもらいやすくするために着色剤および香味剤を含有させてもよい。薬剤の安定性と吸収を容易にするために、胃の過酷なタンパク質分解環境を通り過ぎてから本発明のペプチドをカプセルから放出することも可能である。経口投与後にペプチドの安定性と吸収を高めるための方法については、当該技術分野において周知である(Mahato RI. Emerging trends in oral delivery of peptide and protein drugs. Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems. 20:153-214, 2003など)。

30

40

【0111】

トローチ剤、咀嚼錠およびチューインガムなどの剤形を利用すると、有意な頬側吸収性を持つ本発明の合成ペプチドアミド化合物の経口剤形と比較して、一層短時間で治療作用が得られる。チューインガム製剤は、ベースが主にガムを構成している固体状の一用量調

50

製剤であり、咀嚼を想定してはいるが嚥下は前提になく、咀嚼によって放出され、口内の痛みや炎症の局所治療あるいは頬側粘膜からの吸収後の全身送達に用いられることを想定した1つまたは複数の本発明の化合物を含有する。たとえば、AthanikarおよびGublerに付与された、発明の名称「Process for manufacturing a pharmaceutical chewing gum」の米国特許第6,322,828号を参照のこと。

【0112】

経鼻投与の場合、末梢選択的κオピオイド受容体アゴニストをエアロゾルとして処方することが可能である。「エアロゾル」という用語には、細気管支または鼻孔への吸入が可能な本発明の化合物の気体による懸濁相を含む。具体的には、エアロゾルは、定量吸入器またはネブライザあるいはミスト噴霧器で生成できるような、本発明の化合物の液滴の気体による懸濁物を含む。また、エアロゾルは、空気または他のキャリアガスに懸濁された本発明の化合物の乾燥粉末組成物も含み、これは吸入装置などからのガス注入によって送達できるものである。Ganderton & Jones, Drug Delivery to the Respiratory Tract, Ellis Horwood (1987); Gonda (1990) Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems 6:273-313; および Raeburn et al. (1992) J. Pharmacol. Toxicol. Methods 27:143-159を参照のこと。

10

【0113】

本発明の医薬組成物は、たとえば、静脈内、皮下、筋肉内、腹腔内、鼻腔内、経皮、腔内、直腸内、肺内または経口送達などの全身送達に適した製剤で調製可能なものである。あるいは、本発明の医薬組成物を、たとえば、外用またはイオン泳動送達用などの局所送達用あるいは、製剤をコーティング、拡散または含浸させたパッチによる経皮送達用、関節内注射などによる関節への局所適用に適宜処方してもよい。

20

【0114】

非経口投与用調製物としては、すぐに注射できる状態の滅菌溶液、使用直前に溶媒と混合できる状態の乾燥滅菌可溶性生成物（皮下錠剤を含む）、すぐに注射できる状態の滅菌懸濁液、使用直前に溶媒剤と混合できる状態の乾燥滅菌不溶性生成物、滅菌エマルジョンがあげられる。溶液は、水性であっても非水性であってもよく、注射、点滴による送達あるいは、移植可能なポンプを用いた送達向けに処方される。静脈内投与、皮下投与、筋肉内の投与の場合、本発明の有用な製剤としては、徐放特性のあるマイクロカプセル調製物(R. Pwar et al. Protein and peptide parenteral controlled delivery. Expert Opin Biol Ther. 4(8):1203-12, 2004)あるいは、脈管構造での循環時間が長くなることが当該技術分野において周知であって、一例としての形態がポリエチレンコートリポソームである、リポソームへの封入(Koppal, T. "Drug delivery technologies are right on target", Drug Discov. Dev. 6, 49-50, 2003など)がある。

30

【0115】

眼投与の場合、本発明は、治療を必要とする患者の眼に、治療有効量の本発明の合成ペプチドアミドを投与することを含む、緑内障または眼痛および炎症を治療する方法を提供するものである。合成ペプチドアミドは、合成ペプチドアミドの徐放用のポリマーを含有するものであってもよいコンタクトレンズまたは眼内インプラントを用いて、眼に適合する医薬担体で外用投与または非全身投与可能である。このような眼に適合する医薬担体としては、アジュバント、抗菌保存剤、界面活性剤、ビスコライザ(viscolyzer)などがあげられる。多くの化合物が、濃度が高いと眼にとっては刺激になり、濃度が低いほど刺激が少ないことが当該技術分野において周知である。よって、製剤は、最低有効濃度の活性化化合物、保存剤、界面活性、および／またはビスコライザを含むように設計されることが多く、前記ビスコライザは、眼への刺激を減らすよう表面張力が大きく、かつ、眼表面で眼溶液の保持量を増すものであると好ましい。このような本発明の合成ペプチドアミドの徐放は、インプラントであれば6か月間から1年間、コンタクトレンズであればこれよりも短い期間（3～14日間）継続可能である。このようなインプラントには、浸透ポンプ、生分解性物質または眼内徐放装置を用いることが可能である。このような外用組成物は、リポソームを併用するか併用しない緩衝生理食塩水溶液を含むものであってもよい。

40

50

【0116】

水性ポリマー溶液、水性懸濁液、軟膏およびゲルを、眼に適用する目的で本発明の合成ペプチドアミドの外用製剤に利用することが可能である。水性製剤は、合成ペプチドアミドのリザーバを作製するリポソームを含むものであってもよい。これらの外用製剤の中には、軟膏塗布に伴う視覚上の不都合や障害を伴わずに、前角膜での保持性を高めるゲルもある。眼に適合する医薬担体はまた、生分解性合成ポリマーを含むものであってもよい。人間での使用が認可された生分解性ミクロスフェア組成物には、ポリラクチド：ポリ（乳酸）、ポリ（グリコール酸）、ポリ（乳酸－コ－グリコール）酸がある。別の生分解性製剤としては、ポリ（無水物－コ－イミド）、ポリ（乳酸－グリコール酸）、ポリエチルー２－シアノアクリレート、ポリカプロラクトン、ポリヒドロキシブチレートバレレート、ポリオルトエステル、ポリエチレン－オキシド／ポリブチレンテレフタレートがあげられるが、これに限定されるものではない。本発明の合成ペプチドアミドを含む徐放組成物を眼内移植または眼に注射すると、眼内圧を長期制御（数か月から数年の範囲）することが可能であるため、外用調製物の必要性が回避または低減される。眼薬物を処方・分注するための有用な方法が、Schwartz et alに付与された米国特許第7, 122, 579号明細書ならびに、Morizono et al.に付与された米国特許第7, 105, 512号明細書に開示されている。コンタクトレンズでの眼薬物の処方法は、Gulsen and Chauhan, Ophthalmic drug delivery through contact lenses. Investigative Ophthalmology and Visual Science, (2004) 45:2342-2347に開示されている。

10

【0117】

経皮送達用調製物は、前記送達に適した装置に取り込まれ、前記装置は、たとえば、イオン泳動(Kalia YN et al. Iontophoretic Drug Delivery. Adv Drug Deliv Rev. 56:619-58, 2004)または真皮透過表面(Prausnitz MR. Microneedles for Transdermal Drug Delivery. Adv Drug Deliv Rev. 56:581-7, 2004)を利用したものであり、一例として、薬剤の経皮送達を改善する上で有用であることが当該技術分野において周知のものがあげられる。電気輸送装置とその操作方法が、米国特許第6, 718, 201号明細書に開示されている。イオン泳動を用いてペプチドの経皮送達を促進する方法が、米国特許第6, 313, 092号明細書および同第6, 743, 432号明細書に開示されている。

20

【0118】

本明細書で使用する場合、「電気輸送」、「イオン泳動」、「イオン泳動の」という用語は、作用剤の入ったリザーバに起電力を印加して、1つまたは複数の薬学的に活性な化合物を体表面（皮膚または粘膜など）経由で送達することを示す。化合物については、エレクトロマイグレーション、電気穿孔、電気浸透またはこれらの任意の組み合わせで送達できる。電気浸透は、電氣流体力学的流動、電氣対流、電氣誘導浸透とも呼ばれている。通常、化合物が組織に電気浸透するのは、たとえば、他のイオン性種のエレクトロマイグレーションによる溶媒流など、治療種の入ったリザーバに起電力を印可してその化合物が含まれる溶媒が移動した結果である。電気輸送プロセスの間、「電気穿孔」とも呼ばれる一過的に存在する皮膚孔の形成など、皮膚に特定の変化や変動が生じることがある。体表面への変化または変動に助けられた電気による種の輸送（皮膚孔の形成など）も、本明細書で使用する場合は「電気輸送」という用語に含まれる。よって、本明細書で使用する場合、本発明の化合物に適用して、「電気輸送」、「イオン泳動」、「イオン泳動の」という用語は、（1）荷電した作用剤のエレクトロマイグレーションによる送達、（2）荷電していない作用剤の電気浸透プロセスによる送達、（3）荷電した作用剤または荷電していない作用剤の電気穿孔による送達、（4）荷電した作用剤のエレクトロマイグレーションと電気浸透とを組み合わせたプロセスによる送達および／または（5）荷電した作用剤と荷電していない作用剤との混合物の、エレクトロマイグレーションと電気浸透とを組み合わせたプロセスでの送達を示す。電気輸送装置には通常、2個の電極が用いられ、いずれも体の皮膚のどこかと電氣的に密着するよう配置される。一方の電極は活性電極またはドナー電極と呼ばれ、治療薬を体へ送達する電極である。他方の電極は、対(counter)電極または対(return)電極と呼ばれ、体を経由する電氣回路を閉じる役目を果たす。患者の

30

40

50

皮膚と併せて、電池などの電気エネルギー源ならびに、通常は装置を流れる電流を制御できる回路と電極が接続されて、回路が完成する。

【0119】

経皮送達対象となる化合物の電荷に応じて、負極またはカソードが、活性電極またはドナー電極であればよい。よって、本明細書では実施例1に例示する化合物など、輸送対象となる化合物が正に荷電している場合、正極（負極）を活性電極とし、負極（カソード）が回路を完成させる対電極としての役目を果たす。逆に、送達対象となる化合物が負に荷電している場合、カソード電極が活性電極になり、アノード電極が対電極になる。さらに、電気輸送装置には、体に送達される治療薬のリザーバまたはソースが必要である。このような薬剤リザーバは、電気輸送装置の負極またはカソードに接続され、1種以上の所望の種または作用剤を供給する固定源または可動式供給源となる。各電極アセンブリは、使用時に患者の皮膚に接触されるイオン伝導性の液体リザーバとイオン透過関係にある、導電性の電極で構成される。液体の入った容器よりも水和したゲルのほうが取り扱いと製造が容易であるため、Webster（米国特許第4,383,529号明細書）に説明されているようなゲルリザーバが、リザーバの1つの形態である。本発明のペプチド化合物の塩が水溶性であることと、皮膚に対する刺激がないためヒドロゲルリザーバと皮膚とを長時間にわたって接触させられることから、こうしたリザーバで使用可能な液体溶媒の1つに水がある。電気輸送の場合、本発明の合成ペプチドは、イオン系界面活性剤または水以外の共溶媒（たとえば、それぞれ米国特許第4,722,726号明細書および欧州特許出願第278,473号明細書を参照のこと）などのフラックスエンハンサーを用いて処方可能なものである。あるいは、たとえば、米国特許第5,250,023号明細書に記載されているように、電気輸送送達の前に皮膚の外層（すなわち角質層）を機械的に破壊することもできる。

【0120】

電気輸送に非常に適した末梢合成ペプチドアミドについては、体表面（皮膚または粘膜など）を介したその電气流束を、甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン(R. Burnette et al. J. Pharm. Sci. (1986) 75:738)またはバソプレシン(Nair et al. Pharmacol Res. 48:175-82, 2003)などのたとえば電气流束特性が周知の標準試験ペプチドと対比させるなどの方法で測定して選択可能である。経皮的な電气流束については、*in vivo*または*in vitro*で実施される当該技術分野において周知の多数の方法で求めることができる。*in vitro*で実施される方法としては、適切な哺乳動物の皮膚（人間の死体皮膚など）片を、皮膚片の角質層側がドナー区画に対向するような状態で電气流束セルのドナー区画と受容体区画との間に固定することがあげられる。送達対象となる薬剤を含有する液体溶液またはゲルを、角質層と接触して配置し、区画ごとに電極を1つずつとして電極に電流を印加する。受容体区画における薬剤の量をサンプリングして、経皮フラックスを計算する。経皮電気輸送薬剤送達を最適化するのに用いられている2つの功を奏するモデルが、ブタ単離皮膚フラップモデル(Heit MC et al. Transdermal iontophoretic peptide delivery: in vitro and in vivo studies with luteinizing hormone releasing hormone. J. Pharm. Sci. 82:240-243, 1993)と、無毛齧歯類またはモルモットから得た単離無毛皮膚の使用であり、たとえば、Hadzija BW et al. Effect of freezing on iontophoretic transport through hairless rat skin. J. Pharm. Pharmacol. 44, 387-390, 1992を参照のこと。経皮的なイオン泳動送達用の本発明の化合物は、その送達を容易にする目的で1個あるいは一般に2個の荷電した窒素を有する。

【0121】

他の有用な経皮送達装置では、加圧下での高速送達によって針を使わずに皮膚浸透を達成している。当該技術分野において周知のように、当該技術分野では「透過エンハンサー」とも呼ばれる場合がある化学エンハンサーすなわち、角質層の透過性を高め、皮膚を介した薬剤の浸透をよくする薬剤と一緒に投与される（あるいは、場合によっては薬剤投与前に皮膚の前処理に用いられる）化合物を用いることで、経皮送達を改善可能である。化学的な透過エンハンサーは、無害であって、角質層を介しての薬剤の拡散（受動的拡散で

あるか電気輸送などのエネルギー駆動プロセスであるかを問わない)を容易にするだけの働きを持つ化合物である。たとえば、Meidan VM et al. Enhanced iontophoretic delivery of buspirone hydrochloride across human skin using chemical enhancers. Int. J. Pharm. 264:73-83, 2003を参照のこと。

【0122】

直腸投与用の製剤剤形としては、全身作用向けの直腸坐薬、カプセル、錠剤があげられる。直腸坐薬とは、本明細書で使用する場合、体温で溶解または軟化して、1種または複数種の薬学的に活性な成分または治療的に活性な成分を放出する、直腸に挿入するための固体の物体を意味する。直腸坐薬に用いられる、薬学的に許容される物質としては、ベースまたは溶媒剤ならびに、坐薬の融点を上げる作用剤があげられる。ベースの例としては、カカオバター（カカオ油）、グリセリン-ゼラチン、カルボワックス、（ポリオキシエチレングリコール）ならびに、脂肪酸のモノグリセリド、ジグリセリド、トリグリセリドの適切な混合物があげられる。さまざまなベースの組み合わせを利用することも可能である。坐薬の融点を上げる作用剤としては、鯨ロウおよびワックスがあげられる。直腸坐薬は、圧縮方法で調製されたものでもよいし、成形で調製されたものでもよい。直腸坐薬は一般に、重量が約2グラムから約3グラムである。直腸投与用の錠剤およびカプセルは、経口投与用製剤の場合と同一の薬学的に許容される物質を用いて、同一の方法で製造される。

10

【0123】

非経口調製物に用いられる薬学的に許容される担体としては、水性溶媒剤、非水性溶媒剤、抗菌剤、等張剤、緩衝液、酸化防止剤、局所麻酔薬、懸濁剤および分散助剤、乳化剤、金属イオン封鎖剤またはキレート剤および他の薬学的に許容される物質があげられる。

20

【0124】

水性溶媒剤の例としては、注射用塩化ナトリウム、注射用リンゲル溶液、注射用等張デキストロース、注射用滅菌水、注射用デキストロースおよび乳酸リンゲル溶液があげられる。非水性非経口溶媒剤としては、野菜由来の不揮発性油、ワタ種子油、とうもろこし油、ゴマ油および落花生油があげられる。複数回投与用の容器に封入される非経口調製物には、フェノールまたはクレゾール、水銀、ベンジルアルコール、クロロブタノール、メチルおよびプロピル p-ヒドロキシ安息香酸エステル、チメロサル、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウムをはじめとする静菌濃度または静真菌濃度の抗菌剤を添加しておく必要がある。等張剤としては、塩化ナトリウムおよびデキストロースがあげられる。緩衝液としては、リン酸塩およびクエン酸塩があげられる。酸化防止剤としては、亜硫酸水素ナトリウムがあげられる。局所麻酔薬としては、塩酸プロカインがあげられる。懸濁剤および分散助剤としては、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースおよびポリビニルピロリドンがあげられる。乳化剤としては、ポリソルベート 80 (Tween 80) があげられる。EDTAなどの金属イオン封鎖剤または金属イオンのキレート剤を混合してもよい。医薬担体としては、水混和性溶媒剤の場合でエチルアルコール、ポリエチレングリコールおよびプロピレングリコールもあげられ、水酸化ナトリウム、塩酸、クエン酸または乳酸を加えることで、pHを生理学的に適合されるpHに調節することができる。

30

40

【0125】

活性成分については、一度に投与してもよいし、間隔をあけて投与されるか、あるいは徐放製剤である少量ずつに分けてもよい。「徐放製剤」という用語は、被検体に対して、たとえば数日間から数週間の時間をかけて本発明の合成ペプチドアミドを連続送達できる製剤を包含する。このような製剤は、皮下投与してもよいし筋肉内投与してもよいものであり、被検体内で時間をかけてあらかじめ定められた量の化合物の連続的に一定して放出できる。合成ペプチドアミドの徐放製剤は、たとえば、本明細書に援用する米国特許第4,677,191号明細書および同第4,728,721号明細書に記載されているものなどの薬剤含有ポリマーマイクロカプセルからなる製剤であってもよい。投与によって、所望の効果が得られる有効量が提供されるように、薬学的に活性な化合物の濃度を調節

50

する。厳密な用量は、当該技術分野において周知のように、患者または動物の年齢、体重、症状に左右される。特定の被検体について、個々の必要性と製剤を投与する人物または投与を監督する人物の専門判断により、具体的な投与計画を経時的に調節することが可能である。よって、本明細書に記載の濃度範囲は一例にすぎず、特許請求の範囲に記載の発明の範囲または実用性を限定するものではない。

【0126】

単位用量の非経口調製物としては、アンプルでのパッケージングまたは送達用の針のある注射器または針のない注射器への封入がある。非経口投与用の調製物はいずれも、当該技術分野で実施されているように一般に滅菌されている。一例として、活性化化合物を含有する滅菌水性緩衝溶液の静脈点滴が、効果的な投与モードの1つである。別の実施形態では、活性剤を含む滅菌水性または油性溶液または懸濁液を必要に応じて注射して、所望の薬理学的効果を得ることが可能である。

10

【0127】

本発明の医薬組成物は、静脈内、経皮、経粘膜、鼻腔内、皮下、筋肉内、経口または外用（たとえば眼になど）送達または投与可能なものである。組成物は、疾患または機能障害に罹患しているか、あるいはその危険性のある個体の予防治療のために投与可能なものである。治療目的での適用では、医薬組成物は一般に、疾患または機能障害のある被検体に対して、その疾患または機能障害を阻害、予防または寛解するのに十分な量で投与される。これを達成するのに適した量を、「治療有効用量」と定義する。

【0128】

本発明の医薬組成物は、上述したいずれの製剤および送達モードでも、予防目的または治療目的で哺乳動物に投与可能である。哺乳動物は、どのような哺乳動物であってもよく、たとえば、家畜または野生の哺乳動物または野獣の哺乳動物であってもよい。哺乳動物は、どのような霊長目、有蹄動物、犬類または猫類であってもよい。たとえば、限定することなく、哺乳動物としては、イヌまたはネコなどのペットまたはコンパニオンアニマル；サラブレッドのウマまたはショー用動物などの高価な哺乳動物；ウシ、ヤギ、ヒツジまたはブタなどの家畜；または類人猿、ゴリラ、オランウータン、キツネザル、サルまたはチンパンジーなどの霊長目があげられる。本発明の医薬組成物を用いる予防法または治療に適した哺乳動物はヒトである。

20

【0129】

本発明の医薬組成物は、 κ オピオイド受容体の活性化によって治療可能な疾患または症状のある哺乳動物に投与可能なものである。あるいは、この医薬組成物は、 κ オピオイド受容体の活性化によって予防可能な疾患または症状に罹患またはこれを発症する危険性のある哺乳動物に予防薬として投与可能なものである。本発明の医薬組成物を投与することで治療または予防可能な疾患または症状としては、限定することなく、痛み、炎症、掻痒症、低ナトリウム血症、低カリウム血症、鬱血性心不全、肝硬変、ネフローゼ症候群、高血圧症、浮腫、腸閉塞、咳、緑内障などの症状をはじめとして、 κ オピオイド受容体の活性化によって寛解可能な症状があげられる。

30

【0130】

特定の実施形態では、本発明の医薬組成物が、他のオピオイド、カンナビノイド、抗鬱剤、抗痙攣剤、神経遮断薬、抗ヒスタミン薬、アセトアミノフェン、副腎皮質ステロイド、イオンチャネル遮断剤、非ステロイド抗炎症剤（NSAID）、利尿薬（その多くが本発明の合成ペプチドアミドと相乗効果をなす）を含むが、これに限定されるものではない、1つまたは複数の他の治療用化合物またはアジュバントと同時投与可能あるいは、これを含むことが可能なものである。

40

【0131】

好適なオピオイドとしては、限定することなく、アルフェンタニル、アルファプロジン、アニレリジン、ブレマゾシン、ブプレノルフィン、ブトルファノール、コデイン、コノルホン、デキストロモラミド、デキストロプロボキシフェン、デゾシン、ジアモルヒネ、ジヒドロコデイン、ジヒドロモルヒネ、ジフェノキシラート、ジピパノン、ドクスピコミ

50

ン、エトヘプタジン、エチルケタゾシン、エチルモルヒネ、エトルフィン、フェンタニール、ヒドロコドン、ヒドロモルホン、ケトベミドン、レボメタジル、レボルファノール、ロフェンタニル、ロペラミド、メペリジン（ペチジン）、メプタジノール、メタドン、モルヒネ、モルヒネー６－グルクロニド、ナルブフィン、ナロルフィン、ニコモルヒネ、オキシコドン、オキシモルフォン、ペンタゾシン、フェナゾシン、フェノペリジン、ピリトラミド、プロピラム、プロボキシフェン、レミフェンタニル、スフェンタニル、チリダート(tilidate)、トナゾシン、トラマドールがあげられる。

【0132】

本発明の一実施形態は、モルヒネ、フェンタニール、ヒドロモルホンまたはオキシコドンなどの μ オピオイド受容体で実質的なアゴニスト活性を持つオピオイドと、本発明の合成ペプチドアミドとを、 μ オピオイド用量節約効果を得る目的で同時処方および／または同時投与することであり、この場合、 μ オピオイドの用量が、特にオピオイドの影響を受けやすい患者で μ オピオイドに一般的な副作用を最小限にするところまで抑えられる。このような副作用としては、便秘、悪心、嘔吐、鎮静、呼吸抑制、掻痒症（痒み）、精神錯乱、見当識障害および認知障害、尿閉、胆道痙攣、譫妄、ミオクローヌス発作、発作があげられる。 μ オピオイドの用量をどの程度まで減らすかについては専門家の判断が必要であり、さまざまな μ オピオイドに特有の特徴ならびに、痛みの強さ、患者の年齢、併発している疾患、現時点での薬剤投与計画、潜在的な薬剤相互作用、過去の治療成果、患者の好みといった患者の特徴にも左右される(McCaffery, M. and Pasero, C., Pain Clinical Manual, Second Edition, Mosby, 1999)。

【0133】

本発明の医薬組成物との併用投与またはこれに取り入れての投与に適したカンナビノイドとして、たとえば、テトラヒドロカンナビノール（THC）またはTHC誘導体などのあらゆる天然カンナビノイドあるいは、たとえば、レボナントラドール、マリノール、ナビロン、リモナパンまたはサビテックス(savitex)などの合成カンナビノイドがあげられる。

【0134】

本発明の医薬組成物との同時投与またはこれに取り入れての投与が可能な好適な抗鬱剤としては、たとえば、イミプラミン、デシプラミン、トリミプラミン、プロトリプチリン、ノルトリプチリン、アミトリプチリン、ドキセピン、クロミプラミンなどの三環系抗鬱剤；アモキサピン、マプロチリン、トラゾドン、ブプロピオン、ベンラファキシンなどの非定型抗鬱剤；フルオキセチン、セルトラリン、パロキセチン、シタロプラム、フルボキサミンなどの選択的セロトニン再取り込み阻害剤；レボキセチンなどの選択的ノルエピネフリン再取り込み阻害剤；またはネファゾドンおよびミルタザピンなどの二重作用抗鬱剤があげられる。

【0135】

本発明の医薬組成物との同時投与またはこれに取り入れての投与が可能な好適な神経遮断薬としては、たとえば、ドンペリドン、メトクロプラミド、レボスルピリド、スルピリド、チエチルペラジン、ジブラシドン、ゾテピン、クロザピン、クロルプロマジン、アセトフェナジン、カルフェナジン、クロルプロチキセン、フルフェナジン、ロキサピン、メソリダジン、モリンドン、ペルフェナジン、ピモジド、ピペラセタジン、パークロルペラジン(perchlorperazine)、チオリダジン、チオチキセン、トリフロペラジン、トリフルプロマジン、ピパンペロン、アンペロジド、クエチアピン、メルペロン、レモキシプリド、ハロペリドール、リスペリドン、オランザピン、セルチンドール、ジブラシドン、アミスルプリド、プロクロルペラジン、チオチキセンなどのD2ドパミン受容体アンタゴニスト活性のある化合物といった神経遮断薬があげられる。

【0136】

フェノバルビタール、フェニトイン、プリミドン、カルバマゼピン、エトスクシミド、ラモトリギン、バルプロ酸、ピガバトリン、フェルバマート、ガバペンチン、レベチラセタム、オクスカルバゼピン、レマセミド、チアガビン、トピラマートなどの抗痙攣剤も、

本発明の医薬組成物に有用に取り入れることが可能なものである。

【0137】

メトカルバモール、オルフェナドリン、カリソプロドール、メプロバメート、カルバミン酸クロルフェネシン、ジアゼパム、クロルジアゼポキシド、クロルゾキサゾンなどの筋肉弛緩薬；スミトリプタンなどの抗偏頭痛薬、カフェイン、メチルフェニデート、アンフェタミン、モダフィニルなどの滋養強壮薬；クロルフェニラミン、シプロヘプタジン、プロメタジン、ピリラミンなどの抗ヒスタミン薬ならびに、メチルプレドニゾロン、ベタメタゾン、ヒドロコルチゾン、プレドニゾロン、コルチゾン、デキサメサゾン、プレドニゾン、アルクロメタゾン、クロベタゾール、クロコルトロン、デソニド、デソキシメタゾン、ジフロラゾン、フルオシノロン、フルオシノニド、フルランドレノリド、フルチカゾン、フロロメタロン、ハルシノニド、ハロベタゾール、ロテプレドノール、モメタゾン、プレドニカルベート、トリウムシノロンなどの副腎皮質ステロイドも、本発明の医薬組成物に取り入れることが可能なものである。

10

【0138】

たとえば、ナトリウムイオンチャネルブロッカー、カルバマゼピン（一般に、耳鳴症、不整脈、脳梗塞および癲癇の治療に用いられているようなもの）などのイオンチャネル遮断剤も、本発明の医薬組成物との同時投与またはこれに取り入れての投与が可能である。上記以外あるいは上記に加えて、ケタミンなどのNMDA受容体に関連するイオンチャネルのアンタゴニストの場合と同様にジコノチドなどのカルシウムイオンチャネルブロッカーを用いることも可能である。これらのイオンチャネルブロッカーのうちの少なくともいくつかは、 κ アゴニストの鎮痛作用を増強でき、よって情動性(affective)除痛に必要な容量を減らすことができるという証拠がある。たとえば、Wang et al., 2000, Pain 84: 271-81を参照のこと。

20

【0139】

本発明の医薬組成物との同時投与またはこれに取り入れての投与が可能である、抗炎症活性および／または鎮痛活性のある好適なNSAIDまたは他の非オピオイド化合物として、以下の物質すなわち、エトフェナマート、メクロフェナム酸、メフェナム酸、ニフルム酸などのアミノアリールカルボン酸誘導体；アセメタシン、アンフェナク、シンメタシン、クロピラク、ジクロフェナク、フェンクロフェナク、フェンクロラク、フェンクロズ酸、フェンチアザク、グルカメタシン、イソキセパク、ロナゾラク、メチアジン酸、ナプロキシン(naproxin)、オキサメタシン、プログルメタシン、スリンダク、チアラミド、トルメチンなどのアリール酢酸誘導体；ブチブフェン、フェンブフェンなどのアリール酪酸誘導体；クリダナク、ケトロラック、チノリジンなどのアリールカルボン酸、ブクロクス酸、カルプロフェン、フェノプロフェン、フルノキサプロフェン、イブプロフェン、イブプロキサム、オキサプロジンなどのアリールプロピオン酸誘導体、フルルビプロフェン、ピケトプロフェン、ピルプロフェン、プラノプロフェン、プロチジン酸、チアプロフェン酸などのフェニールアルカン酸誘導体；エトドラクなどのピラノカルボン酸；メピリゾールなどのピラゾール；クロフェゾン、フェブラゾン、モフェブタゾン、オキシフェンブタゾン、フェニルブタゾン、フェニルピラゾリジニノン、スキシブゾン、チアゾリノブタゾンなどのピラズロン；アスピリン、プロモサリゲニン、ジフルシナル、フェンドサール、サリチル酸グリコール、メサラミン、サリチル酸1-ナフチル、サリチル酸マグネシウム、オルサラジンおよびサリチルアミド、サルサラート、スルファサラジンなどのサリチル酸誘導体；ドロキシカム、イソキシカム、ピロキシカムなどのチアジンカルボキサミド、その他、 ϵ -アセトアミドカプロン酸、アセトアミノフェン、 s -アデノシルメチオニン、3-アミノ-4-ヒドロキシ酪酸、アミキセトリン、ベンダザック、ブコローム、カルバゾン、クロモリン、ジフェンピラミド、ジタゾール、ヒドロキシクロロキン、インドメタシン、ケトプロフェンおよびその活性代謝物である6-メトキシ-2-ナフチル酢酸；グアイアズレン、ミコフェノール酸のヘテロ環アミノアルキルエステルおよび誘導体、ナブメトン、ニメスリド、オルゴテイン、オキサセプロール、オキサゾール誘導体、パラニリン、ピホキシム、2-置換-4,6-ジ-tert-ブチル-s-ヒドロキシ-1,3-

30

40

50

ピリミジン、プロクァゾンおよびテニダブならびに、セレコキシブまたはロフェコキシブなどの $\text{cox}-2$ (シクロオキシゲナーゼ II) インヒビターのうちの1つまたは複数があげられるが、これに限定されるものではない。

【0140】

本発明の医薬品との同時投与またはこれに取り入れての投与が可能である好適な利尿薬としては、たとえば、アセタゾールアミド、ジクロフェナミド、メタゾラミドなどの炭素脱水酵素の阻害剤；グリセリン、イソソルビド、マンニトール、尿素などの浸透圧利尿薬；フロセミド、ブメタニド、エタクリン酸、トルセミド、アゾセミド、ピレタニド、トリパミドなどの $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ 共輸送阻害剤（ループ利尿薬または高限界利尿薬）；ベンドロフルメチアジド、クロロチアジド、ヒドロクロロチアジド、ヒドロフルメチアジド、メチクロチアジド、ポリチアジド、トリクロルメチアジド、クロルタリドン、インダパミド、メトラゾン、キネタゾンなどの Na^+-Cl^- 共輸送阻害剤（チアジドおよびチアジド様利尿薬）；また、アミロライドおよびトリウムテレンなどの腎上皮 Na^+ チャネルの阻害剤ならびに、スピロノラクトン、カンレノン、カンレノ酸カリウム、エプレレノンなどのミネラルコルチコイド受容体のアンタゴニスト（アンドステロンアンタゴニスト）（まとめて K^+ 保持性利尿薬にも分類される）があげられる。一実施形態として、ループ利尿薬またはチアジド利尿薬の用量節約効果を目的としたループ利尿薬またはチアジド利尿薬と本発明の合成ペプチドアミドとの同時処方および／または同時投与があり、この場合、特に鬱血性心不全ならびに、体液保持量の減少とナトリウムバランスの正常化が、これを必要とする患者にとって有益となり得る他の病状の場合に、望ましくない水分保持量を最小限に抑え、低ナトリウム血症を予防または低減する目的で、ループ利尿薬またはチアジド利尿薬の用量が低減される。R M Reynolds et al. Disorders of sodium balance Brit. Med. J. 2006;332:702-705を参照のこと。

【0141】

κ オピオイド受容体関連低ナトリウム血症は、低ナトリウム血症（低ナトリウム症状）が存在するどのような疾患または症状であってもよく、人間の場合、血漿ナトリウム濃度が 135 mmol/L 未満に下がると、単独で、あるいはより多くの場合、他の病状の合併症として、あるいは、ナトリウム枯渇を引き起こす薬物を使った結果として、発生し得る異常などである。

【0142】

別の実施形態に、カリウム保持性利尿薬の用量を減らすことを目的としたスピロノラクトンまたはエプレレノンなどのミネラルコルチコイド受容体アンタゴニストといったカリウム保持性利尿薬と、本発明の合成ペプチドアミドとの同時処方および／または同時投与があり、この場合、肝硬変患者などの高カリウム血症または代謝性アシドーシスを最小限にするために、前記利尿薬の用量が低減される。

【0143】

特定の実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドは、治療関連用量で *in vivo* にて投与すると長時間継続する持続作用を示すものである。たとえば、実施形態によっては、合成ペプチドアミドの量が 3 mg/kg になる用量で本発明の合成ペプチドアミドを哺乳動物に投与すると、 κ オピオイド受容体依存性アッセイにて投与後3時間の時点で最大薬効の少なくとも約50%が維持される。他の特定の実施形態では、合成ペプチドアミドの量が 0.1 mg/kg になる用量で本発明の合成ペプチドアミドを哺乳動物に投与すると、 κ オピオイド受容体依存性アッセイにて投与後3時間の時点で最大薬効の少なくとも約50%が維持される。最大薬効は、特定の κ オピオイド受容体依存性アッセイで、すべての被験アゴニストで測定された薬効の最高レベルとして、作業時に規定される。

【0144】

特定の実施形態では、 0.1 mg/kg の用量で本発明の合成ペプチドアミドを哺乳動物に投与すると、投与後3時間の時点で最大薬効の少なくとも約75%が維持される。さらに他の実施形態では、 0.1 mg/kg の用量で本発明の合成ペプチドアミドを哺乳動物に投与すると、投与後3時間の時点で最大薬効の少なくとも約90%が維持される。

他の特定の実施形態では、 0.1 mg/kg の用量で本発明の合成ペプチドアミドを哺乳動物に投与すると、投与後3時間の時点で最大薬効の少なくとも約95%が維持される。

【0145】

本発明はさらに、哺乳動物において κ オピオイド受容体関連疾患または症状を治療または予防する方法を提供するものであり、この方法は、本発明の合成ペプチドアミドを有効量で含有する組成物を哺乳動物に投与することを含む。哺乳動物は、たとえば、家畜または野生の哺乳動物または野獣の哺乳動物など、どのような哺乳動物であってもよい。あるいは、哺乳動物は、霊長目、有蹄動物、犬類または猫類であってもよい。たとえば、限定することなく、哺乳動物としては、サラブレッドまたはショー用動物などの高価な哺乳動物といったペットまたはコンパニオンアニマル；ウシ、ヤギ、ヒツジまたはブタなどの家畜；または類人猿またはサルなどの霊長目があげられる。特定の一態様では、哺乳動物はヒトである。

10

【0146】

有効量は、当業者が常法で判断可能なものである。たとえば、哺乳動物で κ 受容体関連疾患または症状を予防または治療するのに十分な薬用単位として、有効量を求めることができる。あるいは、たとえば、体液が関節リウマチ患者の炎症関節の滑液などの標的組織に対して直接的に並置される場合など、哺乳動物における治療関連体液の EC_{50} 濃度を近似するのに十分な量あるいは、 EC_{50} 濃度の2倍または3倍または最大約5倍または約10倍を近似するのに十分な量として有効量を求めてもよい。

20

【0147】

一実施形態では、本発明の合成ペプチドアミドが、有効量の本発明の合成ペプチドアミドと薬学的に許容される賦形剤または担体とを含む医薬組成物である。一態様では、医薬組成物は、ヒトなどの哺乳動物で κ オピオイド受容体関連症状を治療または予防するのに有効な量の本発明の合成ペプチドアミドを含む。別の態様では、 κ オピオイド受容体関連症状は、痛み、炎症、掻痒症、浮腫、腸閉塞、咳または緑内障である。

【0148】

一実施形態では、本発明の医薬組成物はさらに、以下の化合物すなわち、オピオイド、カンナビノイド、抗鬱剤、抗痙攣剤、神経遮断薬、副腎皮質ステロイド、イオンチャネル遮断剤または非ステロイド抗炎症剤（NSAID）のうちの1つまたは複数を含む。

30

【0149】

本発明の合成ペプチドアミドおよび薬学的に許容される溶媒剤または担体を含む医薬組成物を利用して、1つまたは複数の多種多様な κ オピオイド受容体関連疾患、機能障害または症状を治療または予防することが可能である。

【0150】

本発明の合成ペプチドアミドで予防可能または治療可能な κ オピオイド受容体関連疾患、機能障害または症状は、急性疼痛または慢性疼痛、炎症、掻痒症、低ナトリウム血症、浮腫、腸閉塞、咳、緑内障を含むがこれに限定されるものではない、どのような κ オピオイド受容体関連症状であってもよい。たとえば、 κ オピオイド受容体関連疼痛は、神経因性疼痛、体性痛、内臓痛または皮膚痛などであり得る。疾患、機能障害または症状によっては、2以上の痛みの形態と関連しているものもある。たとえば、術後の痛みは、利用した外科手術のタイプと程度次第で、神経因性疼痛、体性痛、内臓痛および皮膚痛のいずれかまたはすべての成分を含むことがある。

40

【0151】

κ オピオイド受容体関連炎症は、副鼻腔炎、関節リウマチ腱鞘炎、滑液包炎、腱炎、外側上顆炎、癒着性関節包炎、骨髄炎、骨関節炎、炎症性腸疾患（IBD）、過敏性腸症候群（IBS）、眼炎症、耳炎症または自己免疫炎症を含むがこれに限定されるものではない、どのような炎症性疾患または症状であってもよい。

【0152】

κ オピオイド受容体関連掻痒症は、たとえば、結膜炎に関連するものなどの眼の掻痒症

50

、耳の掻痒症、末期腎不全に関連する掻痒症（この場合、多くの患者が腎臓透析を受けている）、他の形態の胆汁鬱滞（原発性胆汁性肝硬変、妊娠時肝内胆汁鬱滞、慢性胆汁鬱滞性肝疾患、尿毒素、悪性胆汁鬱滞、黄疸を含む）ならびに、湿疹（皮膚炎）などの皮膚科学的な症状（アトピー性皮膚炎または接触性皮膚炎、乾癬、真性多血症、扁平苔癬、慢性単純性苔癬、シラミ症（シラミ）、甲状腺中毒症、足部白癬、蕁麻疹、疥癬、膣炎、痔に関連する肛門掻痒症を含む）ならびに、昆虫に噛まれた掻痒症、 μ オピオイド誘導掻痒症などの薬剤誘導掻痒症をはじめとする、どのような掻痒疾患または症状であってもよい。

【0153】

κ オピオイド受容体関連浮腫は、たとえば、鬱血性心疾患または抗利尿ホルモン（ADH）不適合分泌症候群による浮腫など、どのような浮腫疾患または症状であってもよい。

10

【0154】

κ オピオイド受容体関連腸閉塞は、術後腸閉塞またはオピオイド誘導腸管機能不全を含むがこれに限定されるものではない、どのような腸閉塞疾患または症状であってもよい。

【0155】

κ オピオイド受容体関連神経因性疼痛は、たとえば、三叉神経痛、糖尿病性疼痛、帯状疱疹関連痛などのウイルスによる痛み、化学療法に伴う痛み、神経侵害転移癌疼痛、外傷性傷害および外科手術に関連する神経因性疼痛ならびに、偏頭痛などの神経障害性成分を持つと考えられている頭痛類など、どのような神経因性疼痛であってもよい。

【0156】

κ オピオイド関連痛には、レーザー角膜切除術（PRK）後、眼挫創、眼窩底骨折、化学火傷、角膜擦過傷または刺激あるいは、結膜炎関連、角膜潰瘍、強膜炎、上強膜炎、強角膜炎、眼部带状疱疹、角膜実質炎、急性虹彩炎、乾性角結膜炎、眼窩蜂巣炎、眼窩偽腫瘍、天疱瘡、トラコーマまたはブドウ膜炎などの目の痛みも含まれる。

20

【0157】

κ オピオイド関連痛には、咽頭痛、特に炎症症状に関連したもの、アレルギー性鼻炎、急性気管支炎、感冒、接触潰瘍、単純ヘルペスウイルス病変、感染性単核球症、インフルエンザ、喉頭癌、急性咽頭炎、急性壊死性潰瘍性歯肉炎、扁桃周囲膿瘍、咽頭火傷、咽頭炎、逆流性咽喉頭炎、急性副鼻腔炎および扁桃炎なども含まれる。

【0158】

また、 κ オピオイド受容体関連痛は、関節痛、腎臓結石痛、尿路結石痛、胆石痛および胆管結石痛、子宮痙攣、月経困難症、子宮内膜症、乳腺炎、消化不良、術後の痛み（たとえば、虫垂切除、結腸直腸開腹手術、ヘルニア修復、前立腺切除、大腸切除、胃切除、脾臓摘出、結腸切除、人工肛門造設、骨盤腹腔鏡手術、卵管結紮、子宮摘出、精管切除または胆嚢摘出によるものなど）、医療処置後の痛み（たとえば、大腸内視鏡検査、膀胱鏡検査、子宮鏡検査または子宮頸部生検または子宮内膜生検後の痛みなど）、耳の痛み、癌の突出痛ならびに、IBDまたはIBSまたは他の炎症症状といったGI機能障害に関連した痛み、特に内臓の痛み（胃食道逆流性疾患、脾炎、急性多発性腎炎(polynephritis)、潰瘍性大腸炎、急性腎盂腎炎、胆嚢炎、硬変、肝腫瘍、肝炎、十二指腸潰瘍または胃潰瘍、食道炎、胃炎、胃腸炎、大腸炎、憩室炎、腸管閉塞、卵巣嚢胞、骨盤内炎症性疾患、穿孔性潰瘍、腹膜炎、前立腺炎、間質性膀胱炎）あるいは、昆虫毒またはサリチル酸塩またはNSAIDといった薬剤などの有毒な作用剤への曝露であってもよい。

30

40

【0159】

本発明は、ヒトなどの哺乳動物において κ オピオイド受容体関連疾患または症状を治療または予防する方法を提供するものであり、この方法は、本発明の合成ペプチドアミドを有効量で含む組成物を哺乳動物に投与することを含む。別の実施形態では、 κ オピオイド受容体関連症状が、痛み、炎症（リウマチ性関節炎の炎症、骨関節炎、IBDの炎症、IBSの炎症、眼炎症、耳炎症または自己免疫炎症など）、掻痒症（アトピー性皮膚炎、腎臓透析関連掻痒症、眼の掻痒症、耳の掻痒症、昆虫に噛まれた掻痒症またはオピオイド誘導掻痒症など）、浮腫、腸閉塞、咳または緑内障である。一態様では、痛みが、神経因性疼痛（三叉神経痛、偏頭痛、糖尿病性疼痛、ウイルスによる痛み、化学療法に伴う痛みま

50

たは転移癌疼痛など）、体性痛、内臓痛または皮膚痛である。別の態様では、痛みが、関節痛、腎臓結石痛、子宮痙攣、月経困難症、子宮内膜症、消化不良、術後の痛み、医療処置後の痛み、眼の痛み、耳の痛み、癌の突出痛あるいは、I B DまたはI B SなどのG I機能障害に関連した痛みである。別の態様では、痛みが、手術に関連した痛みであり、ここでいう手術は、骨盤腹腔鏡手術、卵管結紮、子宮摘出および胆嚢摘出である。あるいは、痛みは、たとえば、大腸内視鏡検査、膀胱鏡検査、子宮鏡検査または子宮内膜生検などの医療処置に関連した痛みであってもよい。具体的な態様では、アトピー性皮膚炎は、乾癬、湿疹または接触性皮膚炎であってもよい。別の具体的な態様では、腸閉塞が、術後腸閉塞またはオピオイド誘導腸管機能不全である。

【0160】

κオピオイド受容体関連痛は、局部組織損傷に伴う末梢感覚神経終末環境の変化によって引き起こされると考えられている痛覚過敏を含む。組織損傷（擦過傷、火傷など）や炎症が生じると、多モード侵害受容器（C線維）および高閾値機械受容器の興奮性が大幅に増す場合がある(Handwerker et al. (1991) Proceeding of the VIth World Congress on Pain, Bond et al., eds., Elsevier Science Publishers BV, pp. 59-70; Schaible et al. (1993) Pain 55:5-54)。痛覚過敏の背景には、こうした興奮性増大・感覚鈍麻の過大反応があると考えられており、そこでは刺激に対する過大反応の結果が疼痛反応となる。受傷後の疼痛状態における痛覚過敏状態の重要性が繰り返し示されており、これが受傷後／炎症性疼痛状態の大部分を占めているように見える。たとえば、Woold et al. (1993) Anesthesia and Analgesia 77:362-79; Dubner et al. (1994) In, Textbook of Pain, Melzack et al., eds., Churchill-Livingstone, London, pp. 225-242を参照のこと。

【0161】

別の実施形態では、κオピオイド受容体関連症状が、痛み、炎症（リウマチ性関節炎の炎症、骨関節炎、I B Dの炎症、I B Sの炎症、眼炎症、耳炎症または自己免疫炎症など）、掻痒症（アトピー性皮膚炎、腎臓透析関連掻痒症、眼の掻痒症、耳の掻痒症、昆虫に噛まれた掻痒症またはオピオイド誘導掻痒症など）、浮腫、腸閉塞、咳または緑内障である。一態様では、痛みが、神経因性疼痛（三叉神経痛、偏頭痛、糖尿病性疼痛、ウイルスによる痛み、化学療法に伴う痛みまたは転移癌疼痛など）、体性痛、内臓痛または皮膚痛である。別の態様では、痛みが、関節痛、腎臓結石痛、子宮痙攣、月経困難症、子宮内膜症、消化不良、術後の痛み、医療処置後の痛み、眼の痛み、耳の痛み、癌の突出痛あるいは、I B DまたはI B SなどのG I機能障害に関連した痛みである。別の態様では、痛みが、手術に関連した痛みであり、ここでいう手術は、骨盤腹腔鏡手術、卵管結紮、子宮摘出および胆嚢摘出である。あるいは、痛みは、たとえば、大腸内視鏡検査、膀胱鏡検査、子宮鏡検査または子宮内膜生検などの医療処置に関連した痛みであってもよい。具体的な態様では、アトピー性皮膚炎は、乾癬、湿疹または接触性皮膚炎であってもよい。別の具体的な態様では、腸閉塞が、術後腸閉塞またはオピオイド誘導腸管機能不全である。

【0162】

別の実施形態では、κオピオイド受容体関連症状が、自由水利尿としても知られるナトリウム保持性利尿およびカリウム保持性利尿によって予防可能または治療可能なκオピオイド受容体関連症状である。本発明の合成ペプチドアミドを投与することで予防可能または治療可能な上述のようなκオピオイド受容体関連症状の一例として、浮腫があげられる。浮腫は、鬱血性心疾患またはA D H不適合分泌症候群による浮腫など、多種多様な疾患または症状であってもよい。

【0163】

別の実施形態では、κオピオイド受容体関連症状が、低ナトリウム血症または他の浮腫性の疾患である。κオピオイド受容体関連低ナトリウム血症または浮腫は、たとえば、鬱血性心不全または抗利尿ホルモン（A D H）不適合分泌症候群による低ナトリウム血症および浮腫あるいは、チアジド利尿薬および／またはループ利尿薬を用いる集中利尿薬療法に関連した低ナトリウム血症など、どのような低ナトリウム血症または浮腫性の疾患または症状であってもよい。本発明の合成ペプチドアミドは、有意なナトリウム保持性水利尿

効果およびカリウム保持性水利尿効果を呈するが、これは、低ナトリウム血症および／または低カリウム血症に関連した浮腫形成病理症状の治療に有用である。よって、本発明の合成ペプチドアミドには、低ナトリウム血症関連症状を治療または予防する方法における用途もある。その一例については後述する。低ナトリウム血症関連症状は、水分の状態に応じて、循環血液量増加性、循環血液量正常または循環血液量減少性に分類できる。

【0164】

循環血液量増加性低ナトリウム血症は通常、鬱血性心不全、ネフローゼ症候群および肝硬変の症例で見られるように、体内の水分量全体が増えることで引き起こされる。

【0165】

循環血液量正常低ナトリウム血症は、抗利尿ホルモン（ADH）不適合分泌症候群に見られることが多く、肺炎、小細胞肺癌、多飲、頭部外傷症例、有機的な原因（ハロペリドールなどの特定の薬剤の使用など）または心因性の原因と関連していることもある。

【0166】

循環血液量減少性低ナトリウム血症は、体内の総ナトリウム濃度が相対的に低下することによるものであり、利尿薬の使用、間質性腎炎または発汗過多と関連していることもある。

【0167】

低ナトリウム血症のこれらの形態はさらに、尿中ナトリウム濃度（すなわち、濃度が1リットルあたり30ミリモルよりも高いか低いかに応じて分類できる。R M Reynolds et al. Disorders of sodium balance, Brit. Med. J. 2006; 332:702-705を参照のこと。

【0168】

κオピオイド受容体関連低ナトリウム血症は、低ナトリウム血症（低ナトリウム症状）が存在するどのような疾患または症状であってもよく、人間の場合、血漿ナトリウム濃度が135mmol/L未満に下がると、単独で、あるいはより多くの場合、他の病状の合併症として、あるいは、ナトリウム枯渇を引き起こす薬物を使った結果として、発生し得る異常などである。

【0169】

これらの症状以外に、限定することなく、肺、十二指腸、膵臓、卵巣、膀胱および尿管の癌腫、胸腺腫、中皮腫、気管支腺腫、カルチノイド、神経節細胞腫およびユーイング肉腫をはじめとする、ADH分泌過剰症の新生物疾患；肺炎（細菌性またはウイルス性）、膿瘍（肺または脳）、空洞化（アスペルギルス症）、結核（肺または脳）、髄膜炎（細菌性またはウイルス性）、脳炎およびAIDSなどの感染症；脳血管閉塞または出血および海綿静脈洞血栓症などの脈管疾患；ギランバレー症候群、多発性硬化症、振戦譫妄、筋萎縮性側索硬化症、水頭症、精神病、末梢神経障害、頭部外傷（閉鎖性および穿通性）、CNS腫瘍または感染および視床下部浸透圧受容器に影響するCNS傷害要因などの神経性疾患；脳梁欠損症、口唇裂／口蓋および他の正中線欠損をはじめとする先天性奇形；急性間欠性ポルフィリン症、喘息、肺虚脱および陽圧呼吸などの代謝性疾患；チアジド利尿薬、アセトアミノフェン、バルビツレート、コリン系薬物、エストロゲン、経口血糖降下薬、バソプレシンまたはデスマプレシン、高用量オキシトシン、クロルプロパミド、ピンクリスチン、カルバマゼピン、ニコチン、フェノチアジン、シクロホスファミド、三環系抗鬱剤、モノアミンオキシダーゼ阻害剤およびセロトニン再取り込み阻害剤などの薬剤；入院時、外科手術時または競技の間や後（すなわち、運動関連低ナトリウム血症）などの過剰な低張液の投与ならびに、高齢者における低ナトリウム栄養補助食品の使用をはじめとする他の多数の症状が、低ナトリウム血症と関連している。たとえば、Harrison's Principles of Internal Medicine, 16th Ed. (2005), p. 2102を参照のこと。

【0170】

低ナトリウム血症に関連する他の状態としては、腎不全、ネフローゼ症候群（膜性腎症および微小変化群）、悪液質、栄養不良、横紋筋融解症、外科手術、待機的な心臓血管カテーテル法、失血ならびに、高カルシウム血症、低カリウム血症、浸透圧利尿につながる糖尿を伴う高血糖があげられる。

【0171】

また、本発明は、ヒトなどの哺乳動物における神経変性疾患または症状を治療または予防する方法を提供するものであって、この方法は、上述したような有効量の合成ペプチドアミドを含む組成物を哺乳動物に投与することを含む。神経変性疾患または症状は、たとえば、虚血、無酸素症、脳卒中、脳傷害、脊髄損傷または再灌流障害などのどのような神経変性疾患または症状であってもよい。あるいは、神経変性疾患または症状は、眼の神経変性疾患であってもよい。本発明の方法で治療可能または予防可能な眼の特定の神経変性疾患としては、緑内障、黄斑変性症、レチナール虚血性疾患および糖尿病性神経障害があげられる。

【0172】

特定の実施形態では、本発明は、神経変性成分を有する疾患および症状などの特定のニューロン疾患および症状の予防方法または治療方法を提供するものである。未処理細胞の神経変性および／または神経細胞死につながり得る病理または傷害による作用から神経細胞を保護するのに有効な量で、本発明の合成ペプチドアミドを投与することが可能である。たとえば、有効量の本発明の合成ペプチドアミドを投与することで、神経変性成分を有する眼のいくつかの疾患または症状を予防または治療することが可能である。このような眼の疾患および症状としては、緑内障、黄斑変性症、レチナール虚血性疾患および糖尿病性神経障害があげられる。これらの疾患および症状の進行には、たとえば、介入しなければ細胞死につながる経路に神経細胞が至るプログラム細胞死（アポトーシス）などによる神経変性または神経細胞死が関与すると考えられている。κオピオイド受容体アゴニストを用いる治療によって、これらの疾患および症状の発症または進行を予防あるいは、少なくとも遅らせることができることが見いだされた。このように成果が改善されるのは、κオピオイド受容体アゴニストによる神経保護が原因であると考えられる。たとえば、Kaus hik et al. "Neuroprotection in Glaucoma"(2003) J. Postgraduate Medicine vol. 49(1): pp. 90-95を参照のこと。

【0173】

緑内障の場合、κオピオイド受容体アゴニストを投与することによる予防および治療が、κオピオイド受容体の活性化で誘導される少なくとも2つの別個の作用すなわち、神経保護と眼内圧（IOP）の低下によって生じると考えられている。特定の理論に拘泥されることなく、神経保護は、少なくともある程度、酸化障害や他の傷害要因に対する保護につながる、眼での心房性ナトリウム利尿ペプチド（ANP）の誘導によるものと考えられる。

【0174】

異常に高い眼内圧も、緑内障の発症につながる要因であると考えられる。眼内圧の上昇も、κオピオイド受容体アゴニストを投与して、この受容体が活性化することで開始される3とおりの作用すなわち、房水分泌量の低下、房水流出、自由水利尿（水の喪失につながる、ナトリウム保持性利尿およびカリウム保持性利尿）によって予防または治療可能である。

【0175】

また、本発明は、高眼内圧（IOP）などの哺乳動物の眼のκ-受容体関連疾患または症状を治療または予防する方法を提供するものである。この方法は、上述したような有効量の合成ペプチドアミドを含む組成物を哺乳動物に投与することを含む。本発明の一態様では、合成ペプチドアミドを外用投与する。別の態様では、合成ペプチドアミドをインプラントとして投与する。

【0176】

他の実施形態では、本発明は、細胞変性成分を有する特定の心血管疾患および症状を予防または治療する方法を提供するものである。本発明の合成ペプチドアミドは、未処理細胞の神経変性および／または神経細胞死につながり得る病理または傷害による作用から心筋細胞を保護するのに有効な量で投与可能なものである。たとえば、有効量の本発明の合成ペプチドアミドを投与することで、いくつかの心血管疾患または症状を予防または治

療することが可能である。このような心血管疾患および症状としては、限定することなく、冠状動脈性心疾患、虚血、心筋梗塞、再灌流障害および不整脈があげられる。たとえば、Wu et al. "Cardioprotection of Preconditioning by Metabolic Inhibition in the Rat Ventricular Myocyte - Involvement of kappa Opioid Receptor"(1999) Circulation Res vol. 84: pp. 1388-1395を参照のこと。また、Yu et al. "Anti-Arrhythmic Effect of kappa Opioid Receptor Stimulation in the Perfused Rat Heart: Involvement of a cAMP-Dependent Pathway"(1999) J Mol Cell Cardiol. vol. 31(10): pp. 1809-1819も参照のこと。

【0177】

有効量の本発明の合成ペプチドアミドを投与することで予防または治療可能な他の組織および臓器の疾患および症状としては、虚血、無酸素症、脳卒中、脳または脊髄損傷および再灌流障害があげられるが、これに限定されるものではない。

【0178】

本発明の合成ペプチドアミドで治療可能または予防可能なκオピオイド受容体関連痛の別の形態が痛覚過敏である。一実施形態では、この方法は、痛覚過敏に罹患しているか、あるいは痛覚過敏を発症する危険性のある哺乳動物に有効量の本発明の合成ペプチドアミドを投与して、痛覚過敏を予防、寛解または完全に軽減する。

【0179】

本発明の合成ペプチドアミドは、アレルギー性皮膚炎、接触性皮膚炎、皮膚潰瘍、炎症、発疹、真菌による刺激に関連する痛覚過敏症状、感染因子、火傷、擦過傷、打撲、挫傷、凍傷、発疹、ざ瘡、虫さされ／昆虫咬傷、皮膚潰瘍、粘膜炎、歯肉炎、気管支炎、咽頭炎、咽頭痛、带状疱疹、真菌による刺激、単純疱疹、おでき、足底疣贅、外科手術または腔病変に関連する痛覚過敏症状などであるが、これに限定されるものではない、痛覚過敏症状を治療または予防するための本明細書に開示の方法で投与可能なものである。たとえば、本発明の合成ペプチドアミドを、口、食道または喉頭または気管支あるいは鼻孔などの粘膜表面に外用投与可能である。あるいは、本発明の合成ペプチドアミドを、腔または直腸／肛門に外用投与可能である。

【0180】

さらに、本発明の合成ペプチドアミドは、火傷、擦過傷、打撲、擦過傷（角膜擦過傷など）、挫傷、凍傷、発疹、ざ瘡、虫さされ／昆虫咬傷、皮膚潰瘍（たとえば、糖尿病性潰瘍または褥瘡性潰瘍）、粘膜炎、炎症、歯肉炎、気管支炎、咽頭炎、咽頭痛、带状疱疹、真菌による刺激（足白癬または頑癬など）、単純疱疹、おでき、足底疣贅または腔病変（真菌症または性行為感染疾患に関連する腔病変など）に関連した痛覚過敏症状を治療または予防するための本明細書に開示の方法で投与可能なものである。痛覚過敏の治療または予防を目的とした本発明の合成ペプチドアミドの投与向けに企図される方法としては、眼、口、喉頭、食道、気管支、鼻孔、腔または直腸／肛門の表面に化合物を外用塗布するものがあげられる。

【0181】

術後回復に関連する痛覚過敏症状も、本発明の合成ペプチドアミドの投与対象とすることが可能である。術後回復に関連する痛覚過敏症状は、たとえば、放射状角膜切開手術、拔牙、乳腺腫瘍摘出、会陰切開、腹腔鏡検査および関節鏡検査など、どのような術後回復に関連する痛覚過敏症状であってもよい。

【0182】

炎症に関連する痛覚過敏症状も、本発明の合成ペプチドアミドの投与対象となる。歯周組織炎、歯科矯正による炎症、炎症性結膜炎、痔および性器の炎症を、本発明の合成ペプチドアミドを外用または局所投与して治療または予防することが可能である。

【0183】

また、本発明は、利尿の誘導を必要とする哺乳動物において利尿を誘導する方法を提供するものである。この方法は、上述したような本発明の合成ペプチドアミドを有効量で含む組成物を哺乳動物に投与することを含む。

10

20

30

40

50

【0184】

さらに、本発明は、哺乳動物においてプロラクチン分泌を誘導する方法を提供するものである。この方法は、上述したような本発明の合成ペプチドアミドを有効量で含む組成物を哺乳動物に投与することを含む。プロラクチン分泌を誘導する方法は、乳汁分泌不全、不適切な乳汁分泌、乳汁分泌不足、精子運動能低下、年齢による機能障害、I型糖尿病、不眠症または不適切なレム睡眠に罹患したヒトなどの哺乳動物の治療に適している。特定の態様では、この方法は、合成ペプチドアミドと、低用量の μ オピオイドアゴニスト鎮痛化合物（関連する副作用を有する）とを同時投与して、治療上の鎮痛作用を提供することを含み、この低用量の化合物では、単独投与した場合に治療上の鎮痛作用を達成するのに必要な μ オピオイドアゴニスト鎮痛化合物の用量に関連する副作用よりも、関連の副作用が少なくてもよい。

10

【0185】

また、本発明は、哺乳動物において κ オピオイド受容体を結合する方法を提供するものであって、この方法は、本発明の合成ペプチドアミドを有効量で含有する組成物を哺乳動物に投与するステップを含む。有効量は、当業者が常法で判断可能なものである。たとえば、哺乳動物において κ オピオイド受容体を結合し、抗侵害受容作用、抗炎症作用、水利尿作用または血清プロラクチン濃度の上昇または他の任意の κ オピオイド受容体応答作用を得るのに十分な薬用単位として、有効量を求めることができる。あるいは、哺乳動物の体液における EC_{50} を近似するのに十分な量あるいは、哺乳動物の治療関連体液の EC_{50} の2倍または3倍または最大約5倍または約10倍を近似するのに十分な量として有効量を求めてもよい。

20

【0186】

本発明のペプチドアミドの合成

本明細書で使用する場合、化学表示「テトラペプチドー[ω (4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)]」は、4-アミノピペリジン-4-カルボン酸由来の本発明の合成ペプチドアミドのアミノアシル部分を示す目的で用いられ、この場合、特に明記しないかぎり、ピペリジン環の窒素原子がテトラペプチドフラグメントのC末端カルボニル炭素に結合される。

【0187】

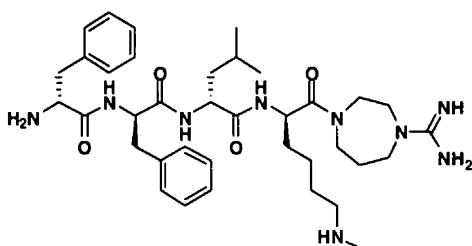
化合物(1)(6)、(7)、(10)、(11)の調製に用いられる一般的な合成スキームを図1に示す。化合物(2)から(5)、(8)、(9)、(12)~(14)の調製に用いられる一般的な合成スキームを図2に示す。合成ペプチドアミド(15)~(24)の調製に用いられる一般的な合成スキームを図3に示す。合成ペプチドアミド(25)~(37)の調製に用いられるスキームを図4に示す。

30

【0188】

化合物(1)：D-Phe-D-Phe-D-Leu-(ϵ -Me)-D-Lys-[4-アミノホモピペラジンアミド]（配列番号1）：

【化11】

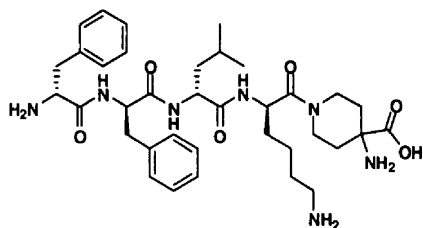


40

【0189】

化合物(2)：D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[ω (4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)]-OH（配列番号2）：

【化 1 2】

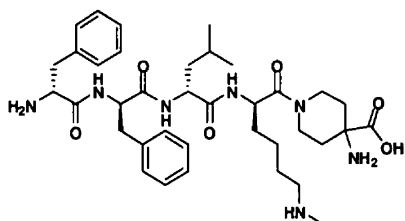


【0 1 9 0】

10

化合物（３）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-(ε-Me)D-Lys-[ω(4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)]-OH（配列番号１）：

【化 1 3】

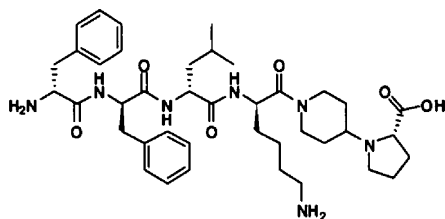


20

【0 1 9 1】

化合物（４）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[N-(4-ピペリジニル)-L-プロリン]-OH（配列番号２）：

【化 1 4】

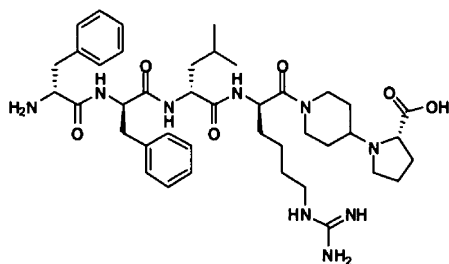


30

【0 1 9 2】

化合物（５）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Har-[N-(4-ピペリジニル)-L-プロリン]-OH（配列番号３）：

【化 1 5】

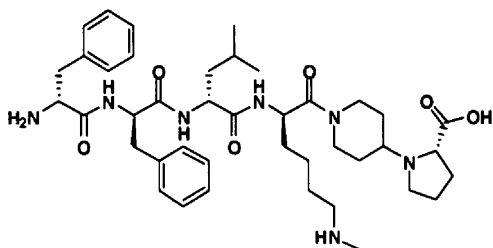


40

【0 1 9 3】

化合物（６）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-(ε-Me)D-Lys-[N-(4-ピペリジニル)-L-プロリン]-OH（配列番号１）：

【化 1 6】

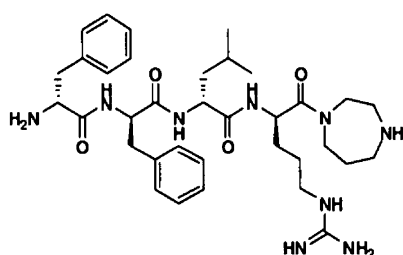


10

【 0 1 9 4】

化合物（7）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[ホモピペラジンアミド]（配列番号4）：

【化 1 7】

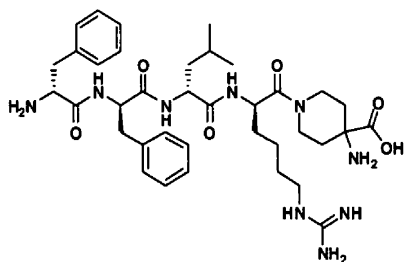


20

【 0 1 9 5】

化合物（8）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-His-[ω(4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)]-OH（配列番号3）：

【化 1 8】

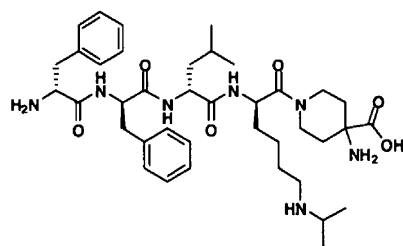


30

【 0 1 9 6】

化合物（9）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-(ε-iPr)-D-Lys-[ω(4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)]-OH（配列番号5）：

【化 1 9】



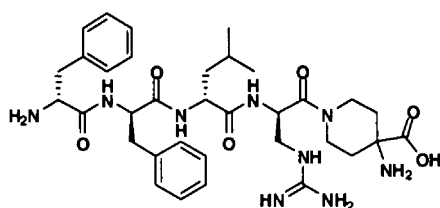
40

【 0 1 9 7】

化合物（10）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-(β-アミジノ)-D-Dap-

50

[ω (4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)] -OH (配列番号6) :
【化20】

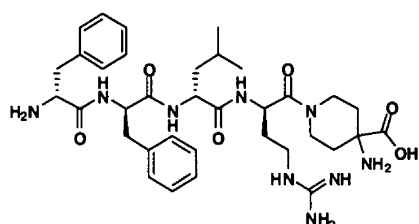


【0198】

10

化合物(11) : D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Nar-[ω (4-アミノ
ピペリジン-4-カルボン酸)] -OH (配列番号7) :

【化21】

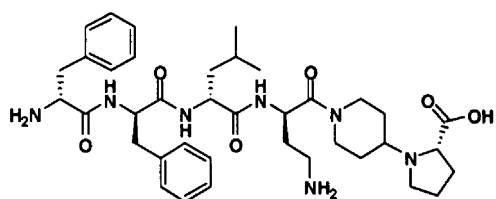


20

【0199】

化合物(12) : D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dbu-[N-(4-ピペ
リジニル)-L-プロリン] -OH (配列番号8) :

【化22】

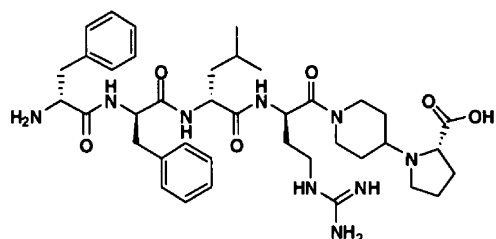


30

【0200】

化合物(13) : D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Nar-[N-(4-ピペ
リジニル)-L-プロリン] -OH (配列番号7) :

【化23】

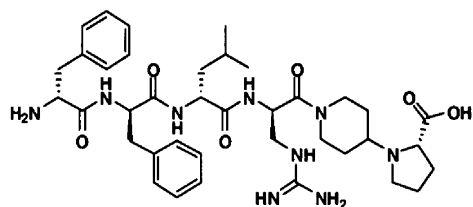


40

【0201】

化合物(14) : D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dap (アミジノ) - [N
-(4-ピペリジニル)-L-プロリン] -OH (配列番号6) :

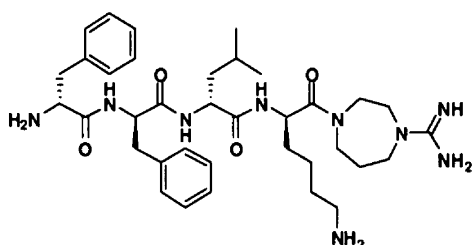
【化 2 4】



【 0 2 0 2】

化合物（15）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[4-アミノホモピペラジンアミド]（配列番号2）： 10

【化 2 5】

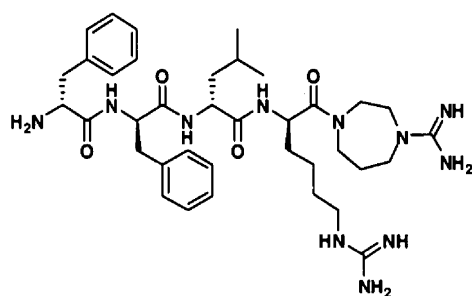


20

【 0 2 0 3】

化合物（16）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Har-[4-アミノホモピペラジンアミド]（配列番号3）：

【化 2 6】

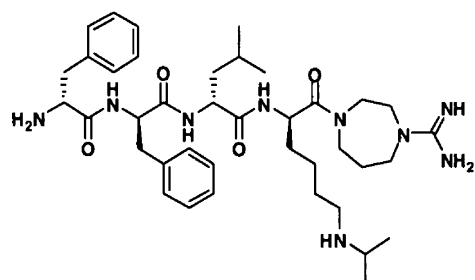


30

【 0 2 0 4】

化合物（17）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-(ϵ -iPr)-D-Lys-[4-アミノホモピペラジンアミド]（配列番号5）：

【化 2 7】

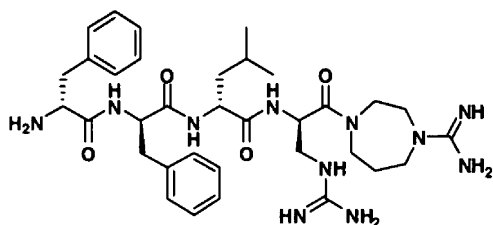


40

【 0 2 0 5】

化合物（18）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-(β -アミノ)D-Dap-[4-アミノホモピペラジンアミド]（配列番号6）：

【化 2 8】

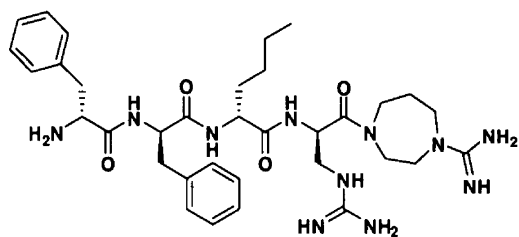


【 0 2 0 6】

10

化合物（19）：D-Phe-D-Phe-D-Nle-（β-アミジノ）D-Dap-
[4-アミジノホモピペラジニアミド]（配列番号6）：

【化 2 9】

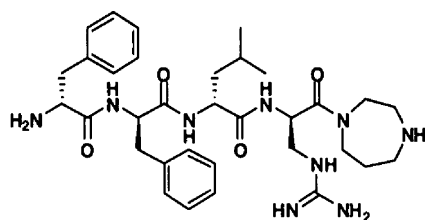


20

【 0 2 0 7】

化合物（20）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-（β-アミジノ）D-Dap-
[ホモピペラジニアミド]（配列番号6）：

【化 3 0】

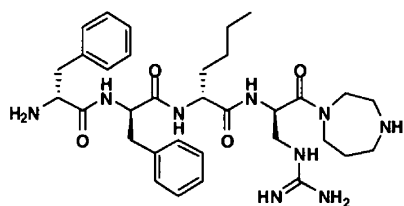


30

【 0 2 0 8】

化合物（21）：D-Phe-D-Phe-D-Nle-（β-アミジノ）D-Dap-
[ホモピペラジニアミド]（配列番号6）：

【化 3 1】

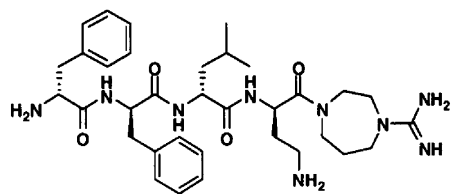


40

【 0 2 0 9】

化合物（22）：D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dbu-[4-アミジノホ
モピペラジニアミド]（配列番号8）：

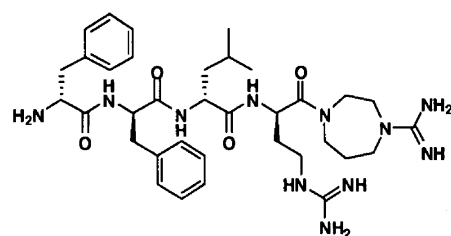
【化 3 2】



【0 2 1 0】

化合物 (2 3) : D - P h e - D - P h e - D - L e u - D - N a r - [4 - ア ミ ジ ノ ホモピペラジンアミド] (配列番号 7) : 10

【化 3 3】

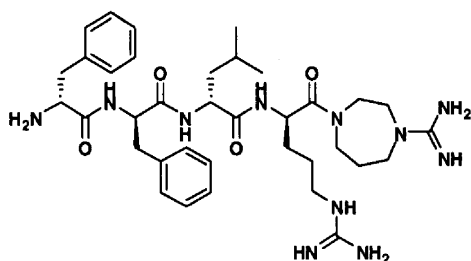


20

【0 2 1 1】

化合物 (2 4) : D - P h e - D - P h e - D - L e u - D - A r g - [4 - ア ミ ジ ノ ホモピペラジンアミド] (配列番号 4) :

【化 3 4】

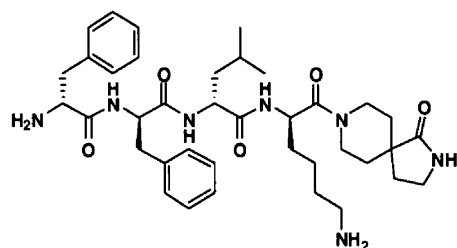


30

【0 2 1 2】

化合物 (2 5) : D - P h e - D - P h e - D - L e u - D - L y s - [2 , 8 - ジ ア ザスピロ [4 , 5] デカン - 1 - オンアミド] (配列番号 2) :

【化 3 5】

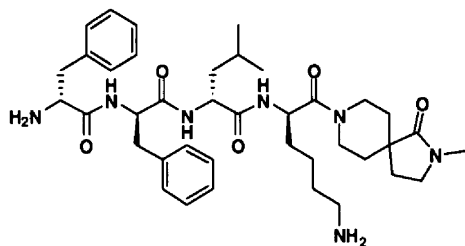


40

【0 2 1 3】

化合物 (2 6) : D - P h e - D - P h e - D - L e u - D - L y s - [2 - メ チ ル - 2 , 8 - ジ ア ザスピロ [4 , 5] デカン - 1 - オンアミド] (配列番号 2) :

【化 3 6】

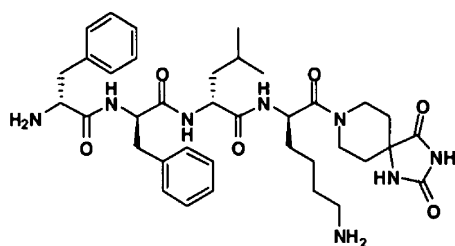


【0 2 1 4】

10

化合物 (27) : D-P h e - D - P h e - D - L e u - D - L y s - [1, 3, 8 - トリアザスピロ [4, 5] デカン - 2, 4 - ジオンアミド] (配列番号 2) :

【化 3 7】

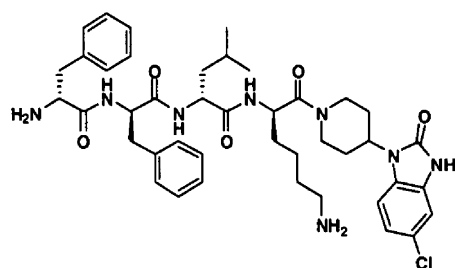


20

【0 2 1 5】

化合物 (28) : D-P h e - D - P h e - D - L e u - D - L y s - [5 - クロロ - 1 - (ピペリジン - 4 - イル) - 1 H - ベンゾ [d] イミダゾール - 2 (3) H - オンアミド] (配列番号 2) :

【化 3 8】



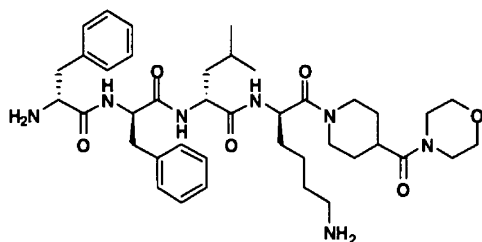
30

【0 2 1 6】

化合物 (29) : D-P h e - D - P h e - D - L e u - D - L y s - [モルホリノ (ピペリジン - 4 - イル) メタノンアミド] (配列番号 2) :

【化 3 9】

40



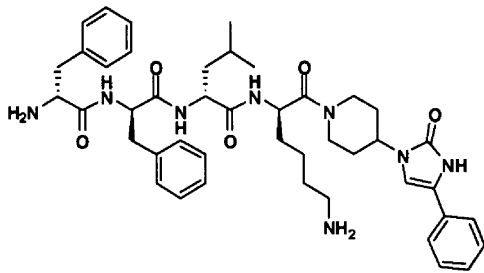
【0 2 1 7】

化合物 (30) : D-P h e - D - P h e - D - L e u - D - L y s - [4 - フェニル - 1 - (ピペリジン - イル - 1 H - イミダゾール - 2 (3 H) - オンアミド] (配列番号 2

50

) :

【化 4 0】

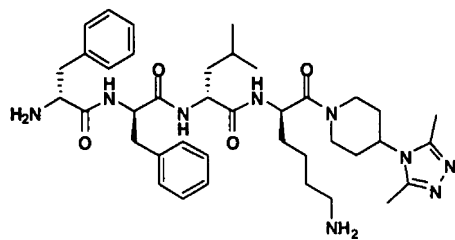


10

【 0 2 1 8】

化合物 (3 1) : D - P h e - D - P h e - D - L e u - D - L y s - [4 - (3 , 5 - ジメチル - 4 H - 1 , 2 , 4 - トリアゾール - 4 - イル) ピペリジンアミド] (配列番号 2) :

【化 4 1】

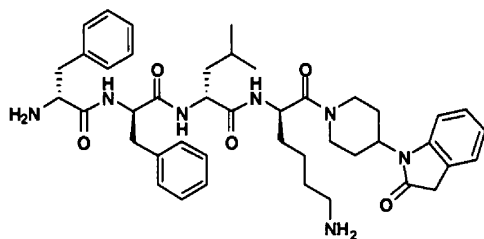


20

【 0 2 1 9】

化合物 (3 2) : D - P h e - D - P h e - D - L e u - D - L y s - [1 - (ピペリジン - 4 - イル) インドリン - 2 - オンアミド] (配列番号 2) :

【化 4 2】

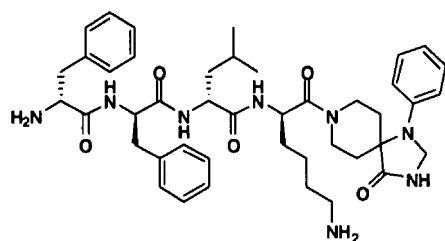


30

【 0 2 2 0】

化合物 (3 3) : D - P h e - D - P h e - D - L e u - D - L y s - [1 - フェニル - 1 , 3 , 8 - トリアザスピロ [4 . 5] デカン - 4 - オンアミド] (配列番号 2) :

【化 4 3】



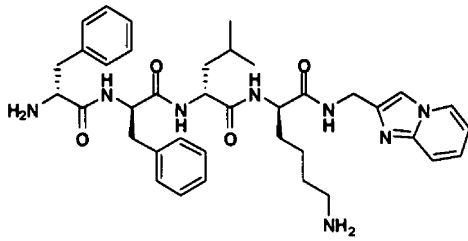
40

【 0 2 2 1】

化合物 (3 4) : D - P h e - D - P h e - D - L e u - D - L y s - [イミダゾ [1 ,

50

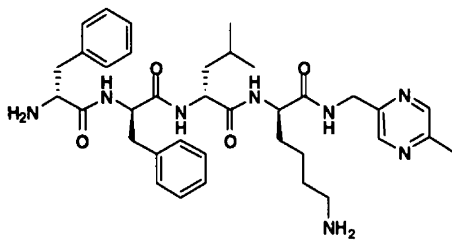
2-a] ピリジン-2-イルメチルアミド] (配列番号2) :
【化44】



10

【0222】

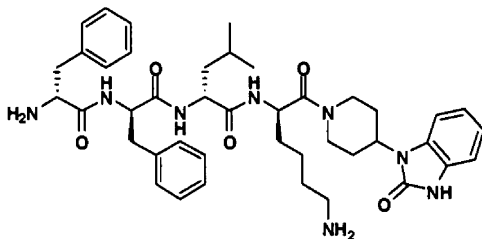
化合物(35) D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[(5-メチルピラジン-2-イル)メチルアミド] (配列番号2) :
【化45】



20

【0223】

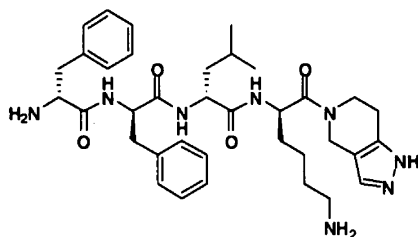
化合物(36) : D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(ピペリジン-4-イル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2(3H)-オンアミド] (配列番号2) :
【化46】



30

【0224】

化合物(37) : D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[4,5,6,7-テトラヒドロ-1H-ピラゾロ[4,3-c]ピリジンアミド] (配列番号2) :
【化47】



40

【実施例】

【0225】

一般的な実験合成方法 :

50

アミノ酸誘導体とレジンとを事業者 (Novabiochem, Bachem, Peptide International および PepTech Corporation) から購入した。他の化学薬品と溶媒は、Sigma-Aldrich, Fisher Scientific および VWR から購入した。本明細書の化合物については、Fmoc 法と Boc 法の両方を利用して、固相ペプチド化学分野の標準的な方法で合成した。特に明記しないかぎり、反応はいずれも室温にて実施した。

【0226】

以下にあげる標準的な参考資料に、一般的な実験セットアップと必要な開始材料および試薬の入手方法についての手引きが記載されている。Kates, S. A., Albericio, F., Eds., Solid Phase Synthesis, A Practical Guide, Marcel Dekker, New York, Basel, (2000); Bodanszky, M., Bodanszky, A., Eds., The Practice of Peptide Synthesis, Second Edition, Springer-Verlag, (1994); Atherton, E., Sheppard, R. C., Eds., Solid Phase Peptide Synthesis, A Practical Approach, IRL Press at Oxford University Press, (1989); Stewart, J. M., Young, J. D., Solid Phase Synthesis, Pierce Chemical Company, (1984); Bisello, et al., J. Biol. Chem. 273, 22498-22505 (1998); and Merrifield, R. B., J. Am. Chem. Soc. 85, 2149-2154 (1963)。

【0227】

本明細書では、さらに以下の略号を使用する。

ACN: アセトニトリル

Alloc: アリルオキシカルボニル

Boc: tert-ブトキシカルボニル

BOP: ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシートリス (ジメチルアミノ) -ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート

Cbz: ベンジルオキシカルボニル。

Cbz-OSu: Nα- (ベンジルオキシカルボニルオキシ) スクシンイミド

DBU: 1, 8-ジアザビシクロ [5. 4. 0] ウンデセン-7

DCM: ジクロロメタン

Dde: 1- (4, 4-ジメチル-2, 6-ジオキソシクロヘキサ-1-イリデン) エチル

DIC: N, N'-ジイソプロピルカルボジイミド

DEA: N, N-ジイソプロピルエチルアミン

DMF: N, N-ジメチルホルムアミド

Fmoc: 9-フルオレニルメトキシカルボニル

HATU: 2- (1H-9-アザベンゾトリアゾール-1-イル) -1, 1, 3, 3-テトラメチルアミニウムヘキサフルオロホスフェート

HBTU: 2- (1H-ベンゾトリアゾール-1-イル) -1, 1, 3, 3-テトラメチルアミニウムヘキサフルオロホスフェート

HOBt: 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール

HPLC: 高速液体クロマトグラフィ

i: イソ

ivDde: 1- (4, 4-ジメチル-2, 6-ジオキソシクロヘキサ-1-イリデン) -3-メチルブチル

NMM: 4-メチルモルホリン

NMP: N-メチルピロリジノン

AlI: アリル

o-NBS-Cl: o-ニトロベンゼンスルホニルクロリド

Pbf: 2, 2, 4, 6, 7-ペンタメチルジヒドロ-ベンゾフラン-5-スルホニル

PyBOP: ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシートリス-ピロリジノ-ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート

RP: 逆相

TBTU: 2- (1H-ベンゾトリアゾール-1-イル) -1, 1, 3, 3-テトラメチル

10

20

30

40

50

ルウロニウムテトラフルオロボレート

T E A P : リン酸トリエチルアンモニウム

T F A : トリフルオロ酢酸

T I S : トリイソプロピルシラン

T M O F : オルトギ酸トリメチル

T M S O T f : トリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル

T r t : トリチル

【0228】

F m o c 法で合成したペプチドを、T F A / T I S / H₂O (v / v / v = 95 : 2.5 : 2.5) の混合物で切断した。この切断ステップは、H F / アニソール (v / v = 9 : 1) の混合物または T M S O T f / T F A / m-クレゾール (v / v / v = 2 : 7 : 1) の混合物のいずれかを用いて、B o c 法で行った。

10

【0229】

ペプチド鎖伸長のカップリング反応を手作業またはペプチド合成器のいずれかで実施した。これには、アミノ酸誘導体 2 ~ 4 倍過剰のカップリング試薬を用いた。さまざまな本発明の化合物の合成で使用したカップリング試薬については、以下の組み合わせすなわち、D I C / H O B t、H A T U / D I E A、H B T U / D I E A、T B T U / D I E A、P y B O P / D I E A、B O P / D I E A から選択した。

【0230】

レジン結合ペプチドの位置番号 4 でのアミノ酸側鎖の脱保護（最終合成ペプチドアミド生成物で X a a₄ と表記）を以下のようにして実現した。ペプチドを X a a₄ から開始してアセンブルし、X a a₃、続いて X a a₂ という具合に順次加えていき、最後に X a a₁ を加えた。X a a₄ に導入したジアミノ酸の側鎖保護基を、以下のようにして選択的に除去した。(i) N-D d e 基または N-i v D d e 基を 2 ~ 4 % ヒドラジン / D M F 溶液で除去した。Chabra, S. R., et al., Tetrahedron Lett. 39:1603-1606 (1998) および Rohwedder, B., et al., Tetrahedron Lett., 39:1175 (1998) を参照のこと。(ii) N-A l o c : C H C l₃ / A c O H / N M M (v / v / v = 37 : 2 : 1) 中、3 当量の (P h₃P)₄P d で除去した。Kates, S. A., et al. in "Peptides Chemistry, Structure and Biology, Proc. 13th American Peptide Symposium", Hodges, R. S. and Smith, J. A. (Eds), ESCOM, Leiden, 113-115 (1994) を参照のこと。

20

30

【0231】

ペプチドを B o c 保護法でアセンブルすると、X a a₄ に導入されるジアミノ酸の側鎖保護基が N-F m o c であり、これを 20 ~ 30 % ピペリジン / D M F 溶液で除去した。

【0232】

レジン結合ペプチドの X a a₄ におけるアミノ酸側鎖の末端窒素のイソプロピル化を以下のようにして実施した。脱保護後、X a a₄ に遊離 ω-アミノ官能基を有するレジン結合ペプチドを、T M O F 中にてアセトンと N a B H (O A c)₃ との混合物と反応させ、レジン結合 N ω-イソプロピルペプチドを生成した。

【0233】

レジン結合ペプチドの X a a₄ におけるアミノ酸側鎖の末端窒素のモノメチル化：レジン結合 N ω-メチルペプチドを合成するために、遊離 ω-アミノ官能基をまず、o-ニトロベンゼンスルホニルクロリド (o-N B S-C l ; Biron, E. ; Chatterjee, J. ; Kessler, H. Optimized selective N-methylation of peptides on solid support. J. Pep. Sci. 12:213-219 (2006) で誘導体化した。次に、得られたスルホンアミドを、N M P 中にてジメチルスルフェートと 1, 8-ジアザビシクロ [5. 4. 0] ウンデカ-7-エンとの混合物でメチル化した。続いて、N M P 中にてメルカプトエタノールと 1, 8-ジアザビシクロ [5. 4. 0] ウンデセン-7 との混合物で o-N B S 保護基を除去した。

40

【0234】

レジン結合ペプチドの X a a₄ におけるアミノ酸側鎖の末端窒素のグアニル化：脱保護後、位置番号 4 に遊離 ω-アミノ官能基を有するレジン結合ペプチドを、1 H-ピラゾ-

50

ルー 1 -カルボキサミジン塩酸塩(Bernatowicz, M. S., et al., J. Org. Chem. 57, 2497-2502 (1992)およびD I E AのDMF混合溶液と反応させ、レジン結合N ω -グアニジノペプチドを生成した。

【0235】

リン酸トリエチルアンモニウム (TEAP) またはトリフルオロ酢酸 (TFA) 緩衝液中での分取HPLCでペプチドを精製した。必要に応じて、従来のHPLC法を用いて化合物を最後にトリフルオロアセテートまたは酢酸塩に変換した。純度が97%を超える画分をプールし、凍結乾燥した。合成ペプチドの純度を分析用RP-HPLCで判断した。

【0236】

Waters 486調節式紫外吸光度検出器およびWaters 746データモジュールを用いたWaters 600マルチソルベント送液システムで、分析用RP-HPLCを実施した。ペプチドのHPLC分析については、Vydac C₁₈カラム (0.46×25 cm、粒度5 μ m、細孔径300 Å) を流量2.0 ml/分で用いて実施した。溶媒AおよびBにはそれぞれ、0.1% TFA/H₂O溶液と0.1% TFA/80% ACN/20% H₂O溶液を使用した。保持時間 (t_R) は分単位とする。Waters 486調節式紫外吸光度検出器とServogor 120帯状チャート記録計を用いたWaters Prep LC 2000分取クロマトグラフシステムで、Vydac C₁₈分取カートリッジ (5×30 cm、粒度15~20 μ m、細孔径300 Å) を流量100 ml/分で使用して、分取RP-HPLCを実施した。緩衝液AおよびBにはそれぞれ、0.1% TFA/H₂O溶液と0.1% TFA/60% ACN/40% H₂O溶液とを使用した。Phenomenex Synergi MAX-RP C₁₂カラム (2.0×150 mm、粒度4 μ m、細孔径80 Å) を流量0.3 ml/分で用いて、Hewlett Packard 1090 Liquid Chromatographにて40℃で最終化合物のHPLC分析を実施した。緩衝液AおよびBにはそれぞれ、0.01% TFA/H₂O溶液と0.01% TFA/70% ACN/30% H₂O溶液とを使用した。エレクトロスプレー質量分析で合成ペプチドアミドの同一性を確認した。Finnigan LCQ質量分析計でESI源を用いて質量スペクトルを記録した。

【0237】

実施例1 化合物(1)の合成：D-Phe-D-Phe-D-Leu-(δ -Me)-D-Lys-[4-アミジノホモピペラジンアミド] (配列番号1)。

図1に示すスキームを参照のこと。アミノ酸誘導体には、Bcz-D-Phe-OH、Fmoc-D-Phe-OH、Fmoc-D-Leu-OH、Fmoc-D-Lys (Dde)-OHを使用した。p-ニトロフェニルカーボネートWangレジン (5.0 g、4.4 mmol; Novabiochem) から開始して、完全保護レジン結合ペプチドを手作業で合成した。これをホモピペラジン (8.7 g、87 mmol; Acros Organics) のDCM (1000 ml) 溶液と室温にて一晩混合することで、ホモピペラジンをレジンに結合した。レジンをDMFおよびDCMで洗浄し、in vacuoにて乾燥させた。得られたホモピペラジンカルバメートWangレジン (5.1 g; ホモピペラジン-[カルバメートWangレジン]) をいくつかに分け、このうち1.5 g (1.3 mmol) を用いてペプチド合成を継続した。3倍過剰のアミノ酸誘導体を用いて、DIC/HOBtによるシングルカップリングを実施した。25% ピペリジン/DMF溶液でFmoc基を除去した。ペプチド鎖伸長の完了時、4% ヒドラジン/DMF溶液で3×3分間レジン进行处理し、Ddeを除去した。レジンをDMFおよびDCMで洗浄し、in vacuoにて乾燥させた。得られたペプチドレジン (2.4 g; Bcz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-ホモピペラジン-[カルバメートWangレジン]) を再度分けて、0.6 g (0.3 mmol) を以後の誘導体化 (N-メチル化) に利用した。

【0238】

Xaa₄におけるD-Lysの ω -アミノ官能基のメチル化を以下の3段階で実施した。(i) [o-NBS保護] : まず、レジン結合ペプチド (0.3 mmol) をo-NBS-Cl (0.4 g、2 mmol) およびコリジン (0.7 ml、5 mmol) のNMP (7 ml) 溶液で室温にて30分間処理した。次に、レジンをNMPで洗浄した。(ii) [N-メチル化] : レジン結合o-NBS保護ペプチドを、1,8-ジアザビシクロ [

10

20

30

40

50

5. 4. 0] ウンデセナー 7 (0. 5 ml、3 mmol) およびジメチルスルフェート (1. 0 ml、10 mmol; Aldrich) の NMP (7 ml) 溶液と、室温にて 5 分間反応させた。次に、レジン を NMP で洗浄し、洗浄プロセスを 1 回繰り返した。(iii) [o-NBS 脱保護]: ペプチドレジン を、メルカプトエタノール (0. 7 ml、10 mmol) および 1, 8-ジアザビシクロ [5. 4. 0] ウンデセナー 7 (0. 8 ml、5 mmol) の NMP (7 ml) 溶液で室温にて 5 分間処理した。次に、レジン を NMP で洗浄し、洗浄プロセスを 1 回繰り返した。

【0239】

このようにして得られた D-Lys の N-メチル第 2 級アミンを Xaa₄ で保護するために、レジン結合メチル化ペプチドを Bcz-OSu (6 mmol) の DMF (7 ml) 溶液と反応させた。レジン を DMF および DCM で洗浄し、in vacuo にて乾燥させた。次に、TFA/DCM (15 ml、v/v = 1:1) 溶液で室温にて 2 時間処理して、ペプチドをレジンから切断した。さらに、レジン を濾過し、TFA で洗浄した。濾液を in vacuo にて蒸発させ、粗ペプチド (0. 3 mmol; Bcz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys (Me, Bcz) - [ホモピペラジンアミド]) をジエチルエーテルで沈殿させた。

【0240】

C 末端でのホモピペラジンのグアニル化のために、上述のペプチド (0. 3 mmol) を、1H-ピラゾール-1-カルボキサミジン塩酸塩 (0. 4 g、3. 0 mmol) および DIEA (0. 5 ml、6 mmol) の DMF (3 ml) 溶液で室温にて一晩処理した。酢酸と H₂O を加えて反応を停止させ、この溶液を冷凍し、凍結乾燥機で乾燥させて、所望の保護ペプチドである Bcz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys (Me, Z) - [4-アミジノホモピペラジンアミド] (0. 6 g) を得た。

【0241】

最後の脱保護/加水分解のために、上述のペプチド (0. 6 g) を、TMSOTf/TFA/m-クレゾール混合物 (10 ml、v/v/v = 2:7:1) で室温にて 2 時間処理した。混合物を蒸発させ、粗ペプチド (0. 6 g) をジエチルエーテルで沈殿させた。

【0242】

精製のために、上記にて誘導した粗ペプチド (0. 6 g) を 0. 1% TFA/H₂O 溶液 (50 ml) に溶解させ、この溶液を HPLC カラムに注入し、TFA 緩衝系 (緩衝液 A = 0. 1% TFA/H₂O 溶液 および B = 0. 1% TFA/60% ACN/40% H₂O 溶液) を用いて精製した。化合物を緩衝液 B の直線濃度勾配により、30 分かけて 25% B から 75% B まで、t_R = 37% B で溶出した。純度が 97% を超える画分をプールし、冷凍し、凍結乾燥機で乾燥させて、精製ペプチドを白色の非晶質粉末 (153 mg) として得た。HPLC 分析: t_R = 14. 41 分間、純度 99. 8%、20 分かけて 5% B から 25% B までの勾配; MS (M+H⁺): 予測分子イオン質量 692. 5、実測値 692. 5。

【0243】

実施例 2: 化合物 (2) の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys - [ω (4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)] - OH (配列番号 2):

図 2 のスキームおよび Biron et al., Optimized selective N-methylation of peptides on solid support. J. Peptide Science 12:213-219 (2006) を参照のこと。アミノ酸誘導体には、Boc-D-Phe-OH、Fmoc-D-Phe-OH、Fmoc-D-Leu-OH、Fmoc-D-Lys (Dde)-OH、N-Boc-アミノ-(4-N-Fmoc-ピペリジニル) カルボン酸を使用した。上述した化合物 (1) の合成で説明したようにして HPLC および MS 分析を実施した。

【0244】

2-クロロトリチルクロライドレジン (1. 8 g、0. 9 mmol; Peptide International) から開始して、完全保護レジン結合ペプチドを手作業で合成した。N-Boc-

10

20

30

40

50

アミノ- (4-N-Fmoc-ピペリジニル) カルボン酸の結合後、ペプチド鎖の伸長と Xaa₄ での D-Lys (Dde) の Dde の脱保護を化合物 (1) の合成で説明した手法で実施した。上記参照。得られたペプチドレジン (0.9 mmol; Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys- (N-Boc-アミノ-4-ピペリジニルカルボン酸) - [2-Cl-Trt レジン]) を分け、0.3 mmol を以後の切断に利用した。次に、ペプチドレジン (0.3 mmol) を TFA/TIS/H₂O (15 ml、v/v/v = 95:2.5:2.5) 混合物で室温にて 90 分間処理した。さらに、レジンを濾過し、TFA で洗浄した。濾液を *in vacuo* にて蒸発させ、粗ペプチド (0.3 mmol; D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys- [ω (4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)] -OH) をジエチルエーテルで沈殿させた。

10

【0245】

精製のために、粗ペプチド (0.3 mmol) を 2% 酢酸/H₂O (50 ml) 溶液に溶解させ、この溶液を HPLC カラムに注入し、TEAP 緩衝系を pH 5.2 で用いて (緩衝液 A = TEAP 5.2 および B = 20% TEAP 5.2 / 80% ACN 溶液) 精製した。化合物を緩衝液 B の直線濃度勾配により、60 分かけて 7% B から 37% B まで溶出した。純度が 95% を超える画分をプールし、得られた溶液を 2 容量の水で希釈した。次に、この希釈溶液を HPLC カラムに注入して塩交換を行い、TFA 緩衝系 (緩衝液 A = 0.1% TFA/H₂O 溶液 および B = 0.1% TFA の 80% ACN / 20% H₂O 溶液) を用いて、緩衝液 B の直線濃度勾配により、25 分かけて 2% B から 75% B までさらに精製した。純度が 97% を超える画分をプールし、冷凍し、凍結乾燥機で乾燥させて、精製ペプチドを白色の非晶質粉末 (93 mg) として得た。HPLC 分析: t_R = 16.43 分間、純度 99.2%、20 分かけて 5% B から 25% B までの勾配; MS (M+H⁺): 予測分子イオン質量 680.4、実測値 680.3。

20

【0246】

以下のアミノ酸誘導体すなわち、Fmoc-D-Phe-OH、Fmoc-D-Leu-OH、Fmoc-D-Lys (Boc)-OH、Boc-4-アミノ-1-Fmoc- (ピペリジン) -4-カルボン酸で、図 2 に示したものと同様の反応スキームも利用して、化合物 (2) を調製した。

【0247】

2-クロロトリチルクロライドレジン (PS 1% DVB、500 g、1 meq/g) から開始して、完全保護レジン結合ペプチドを手作業で合成した。DMF、DCM、DIEA (各 260 mL) の混合物を加え、レジンを Boc-4-アミノ-1-Fmoc-4- (ピペリジン) -4-カルボン酸 (280 g、600 mmol) で処理した。この混合物を 4 時間攪拌した後、MeOH (258 mL) および DIEA (258 mL) を加えてレジンを 1 時間キャップした。このレジンを単離し、DMF (3×3 L) で洗浄した。第 1 のアミノ酸を含有するレジンをピペリジン/DMF 溶液で処理 (35% を 3×3 L) し、DMF で洗浄 (9×3 L) し、HOBt (153 g) および DIEA (516 mL) の共存下、DCM/DMF (500 mL / 500 mL) 中にて、攪拌しながら 2.25 時間かけて、PyBOP (519 g) を用いて Fmoc-D-Lys (Boc)-OH (472 g) をカップリングした。ジペプチド含有レジンを単離し、DMF で洗浄 (3×3.6 L) した。ピペリジン/DMF 溶液で処理 (35% を 3×3.6 L) して Fmoc 基を除去し、レジンを DMF で洗浄 (9×3.6 L) し、DCM/DMF (500 mL / 500 mL) 中にて、攪拌しながら 1 時間、Fmoc-D-Leu-OH (354 g)、DIC (157 mL) および HOBt (154 g) で処理した。続いて、DMF で洗浄 (3×4.1 L) した後、ピペリジン/DMF 溶液 (35% を 3×4.2 L) で Fmoc 基を切断し、さらにレジンを DMF で洗浄 (9×4.2 L) して、レジン結合トリペプチドを得た。この物質を、DCM/DMF (500 mL / 500 mL) 中にて、攪拌しながら Fmoc-D-Phe-OH (387 g)、DIC (157 mL) および HOBt (153 g) で一晩処理した。レジンを単離し、DMF で洗浄 (3×4.7 L) した後、ピペリジン/DMF 溶液で処理 (35% を 3×4.7 L) して、Fmoc 基を切断し、続いて再度 DMF

30

40

50

で洗浄（ 9×4.7 L）した。テトラペプチド含有レジン（DCM/DMF（ 500 mL/ 500 mL））にて、攪拌しながら 2.25 時間、Fmoc-D-Phe-OH（ 389 g）、DIC（ 157 mL）およびHOBt（ 154 g）で処理した。レジン（ 35% ）を単離し、DMFで洗浄（ 3×5.2 L）した後、DMF中ピペリジン処理（ 35% を 3×5.2 L）した。レジン（ 9×5.2 L）、DCM（ 5×5.2 L）で順次洗浄した。これを乾燥させて、レジンに結合した保護ペプチドの収率 90.4% を達成した。TFA/水（ 4.5 L、 $95/5$ ）を用いてペプチドをレジンから切断したが、これはBoc保護基も除去する役目を果たした。混合物を濾過し、濃縮（ $1/3$ ）した後、MTBE（ 42 L）を加えて沈殿させた。固体を濾過により回収し、減圧下で蒸発させて粗ペプチドを得た。

10

【0248】

精製のために、粗ペプチドを 0.1% TFA/ H_2O 溶液に溶解させ、移動相として 0.1% TFA/水-ACN勾配を用いて分取逆相HPLC（C18）で精製した。純度が 95% を超える画分をプールし、濃縮し、凍結乾燥して、純粋なペプチド（ $>95.5\%$ 純粋）を得た。Dowexイオン交換樹脂を用いて、水で溶出してイオン交換を実施した。水性相を濾過し（ $0.22 \mu m$ フィルタカプセル）、フリーズドライしてペプチドの酢酸塩を得た（全収率、 71.3% 、 $>99\%$ 純粋）。

【0249】

実施例3：化合物（3）の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-（ ϵ -Me）D-Lys- $[\omega$ （4-アミノピペリジン-4-カルボン酸）]-OH（配列番号1）：

20

後述するように、化合物（2）の合成時に調製したペプチドレジン：Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-（N-Boc-アミノ-4-ピペリジニルカルボン酸）- $[2$ -Cl-Trtレジン] 0.3 mmolを用いて合成を開始した。上記化合物（2）の合成で説明したようにして、HPLCおよびMS分析も実施した。

【0250】

D-Lysの ω -アミノ官能基をXaa₄でメチル化するために、化合物（1）の合成で説明したような3段階からなる手法を利用した。上記の説明を参照のこと。続いて、レジン結合メチル化ペプチド（Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-（ ϵ -Me）D-Lys-（N-Boc-アミノ-4-ピペリジニルカルボン酸）- $[2$ -Cl-Trtレジン]）をTFA/TIS/ H_2O （ 15 mL、 $v/v/v=95:2.5:2.5$ ）混合物で室温にて 90 分間処理した。次に、レジン（ 30% ）を濾過し、TFAで洗浄した。濾液をin vacuoにて蒸発させ、粗ペプチド（ 0.3 mmol；D-Phe-D-Phe-D-Leu-（ ϵ -Me）D-Lys- $[\omega$ （4-アミノ-4-ピペリジン-4-カルボン酸）]-OH）をジエチルエーテルで沈殿させた。

30

【0251】

化合物（2）の合成で説明したプロトコルを用いて、粗ペプチド（ 0.3 mmol）を分取HPLCで精製した。上記参照。純度が 97% を超える画分をプールし、冷凍し、凍結乾燥機で乾燥させて、精製ペプチドを白色の非晶質粉末（ 185 mg）として得た。HPLC分析： $t_R=16.93$ 分間、純度 99.2% 、 20 分かけて 5% Bから 25% Bまでの勾配；MS（ $M+H^+$ ）：予測分子イオン質量 694.4 、実測値 694.4 。

40

【0252】

実施例4：化合物（4）の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys- $[N$ -（4-ピペリジニル）-L-プロリン]-OH（配列番号2）：

アミノ酸誘導体には、Boc-D-Phe-OH、Fmoc-D-Phe-OH、Fmoc-D-Leu-OH、Fmoc-D-Lys（Dde）-OH、N-（1-Fmoc-ピペリジン-4-イル）-L-プロリンを使用した。化合物（1）の合成で説明したようにして、HPLCおよびMS分析を実施した。上記の詳細な説明を参照のこと。DICではなくHATU/DIEAでカップリングを行ったこと以外、実質的に図2に示すよう

50

なスキームを利用した。

【0253】

2-クロロトリチルクロライドレジン (3.2 g、2.4 mmol; NeoMPS) から開始して、完全保護レジン結合ペプチドを手作業で合成した。N-(1-Fmoc-ピペリジン-4-イル)-L-プロリン (2.0 g、4.8 mmol) および DIEA (3.3 ml、19.2 mmol) を DCM (40 ml) および DMF (10 ml) に入れた混合溶液で室温にて4時間処理して、第1のアミノ酸をレジンに結合した。レジンを3×DCM/MeOH/DIEA (v/v/v=17:2:1)、さらに3×DCMで洗浄し、in vacuoにて乾燥させた。得られたレジン (3.7 g; N-(4-ピペリジニル)-L-プロリン-[2-Cl-Trtレジン]) いくつかに分け、1.9 g (1.2 mmol) を使ってペプチド合成を継続した。3倍過剰のアミノ酸誘導体を用いる HATU/DIEA でのシングルカップリングを実施した。25%ピペリジン/DMF 溶液で Fmoc 基を除去した。ペプチド鎖伸長の完了時、レジンを4%ヒドラジン/DMF 溶液で3分間ずつ3回処理し、Dde を除去した。このレジンを DMF および DCM で洗浄し、in vacuoにて乾燥させた。得られたペプチドレジン (2.1 g; Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-N-(4-ピペリジニル)-L-プロリン-[2-Cl-Trtレジン]) を再び分け、0.7 g (0.4 mmol) を以後の切断に利用した。ペプチドレジンを TFA/TIS/H₂O (15 ml、v/v/v=95:2.5:2.5) 混合物で室温にて90分間処理した。レジンを濾過し、TFAで洗浄した。濾液を in vacuoにて蒸発させ、粗ペプチド (220 mg、D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[N-(4-ピペリジニル)-L-プロリン]-OH) をジエチルエーテルで沈殿させた。

【0254】

精製のために、上述の粗ペプチド (220 mg) を 0.1% TFA/H₂O 溶液 (50 ml) に溶解させ、この溶液を HPLC カラムに注入し、TFA 緩衝系 (緩衝液 A = 0.1% TFA/H₂O 溶液 および B = 0.1% TFA/60% ACN/40% H₂O 溶液) で精製した。化合物を緩衝液 B の直線濃度勾配により、25分かけて25%Bから75%Bまで、t_R = 4.3%Bで溶出した。純度が97%を超える画分をプールし、冷凍し、凍結乾燥機で乾燥させて、精製ペプチドを白色の非晶質粉末 (89 mg) として得た。HPLC 分析: t_R = 18.22 分間、純度 99.5%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配; MS (M+H⁺): 予測分子イオン質量 734.5、実測値 734.4。

【0255】

実施例5: 化合物 (5) の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Har-[N-(4-ピペリジニル)-L-プロリン]-OH (配列番号3):

上述の化合物 (4) の合成時に調製した、ペプチドレジン: Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-N-(4-ピペリジニル)-L-プロリン-[2-Cl-Trtレジン] を開始材料として用いた。上記化合物 (1) の合成で説明したようにして、HPLC および MS 分析を実施した。

【0256】

D-Lys の ω-アミノ官能基を Xaa₄ でグアニル化するために、1H-ピラゾール-1-カルボキサミジン塩酸塩 (0.6 g、4.0 mmol) および DIEA (0.7 ml、4.0 mmol) の DMF (15 ml) 混合溶液で室温にて一晩、ペプチドレジン (0.7 g、0.4 mmol) を処理した。レジンを DMF および DCM で洗浄し、in vacuoにて乾燥させた。次に、TFA/TIS/H₂O (15 ml、v/v/v=95:2.5:2.5) 混合物で室温にて90分間処理して、ペプチドをレジンから切断した。さらに、レジンを濾過し、TFAで洗浄した。濾液を in vacuoにて蒸発させ、粗ペプチド (170 mg; D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Har-[N-(4-ピペリジニル)-L-プロリン]-OH) をジエチルエーテルで沈殿させた。

【0257】

精製のために、上述の粗ペプチド（170mg）を0.1% TFA/H₂O溶液（50ml）に溶解させ、この溶液をHPLCカラムに注入し、TFA緩衝系（緩衝液A=0.1% TFA/H₂O溶液およびB=0.1% TFA/60% ACN/40% H₂O溶液）を用いて精製した。化合物を緩衝液Bの直線濃度勾配により、25分かけて25%Bから75%Bまで、 t_R = 46%Bで溶出した。純度が97%を超える画分をプールし、冷凍し、凍結乾燥させて、精製ペプチドを白色の非晶質粉末（81mg）として得た。HPLC分析： t_R = 19.42分間、純度100%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS（M+H⁺）：予測分子イオン質量776.5、実測値776.5。

【0258】

実施例6：化合物（6）の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-（ε-Me）D-Lys-[N-（4-ピペリジニル）-L-プロリン]-OH（配列番号1）：

上述したようにして化合物（4）の合成時に調製した、ペプチドレジンすなわちBoc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-N-（4-ピペリジニル）-L-プロリン-[2-Cl-Trtレジン] 0.7g（0.4mmol）を用いて、合成を開始した。上記化合物（1）の合成で説明したようにして、HPLCおよびMS分析を実施した。この場合、図2に示すペプチドの段階的なアセンブリとの対比で、Xaa₁-Xaa₄ペプチドを事前合成してカップリングした。

【0259】

D-Lysのω-アミノ官能基をXaa₄でメチル化するために、上記化合物（1）の合成で説明したような3段階からなる手法を利用した。続いて、レジン結合メチル化ペプチド（Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-（ε-Me）D-Lys-N-（4-ピペリジニル）-L-プロリン-[2-Cl-Trtレジン]）をTFA/TIS/H₂O（15ml、v/v/v=95:2.5:2.5）混合物で室温にて90分間処理した。レジンを濾過し、TFAで洗浄した。濾液をin vacuoにて蒸発させ、粗ペプチド（200mg；D-Phe-D-Phe-D-Leu-（ε-Me）D-Lys-[N-（4-ピペリジニル）-L-プロリン]-OH）をジエチルエーテルで沈殿させた。

【0260】

精製のために、上述の粗ペプチド（200mg）を0.1% TFA/H₂O溶液（50ml）に溶解させ、この溶液をHPLCカラムに注入し、TFA緩衝系（緩衝液A=0.1% TFA/H₂O溶液およびB=0.1% TFA/60% ACN/40% H₂O溶液）を用いて精製した。化合物を25%から75%緩衝液Bの直線濃度勾配により30分間かけて t_R = 42%Bで溶出した。純度が97%を超える画分をプールし、冷凍し、凍結乾燥機で乾燥させて、精製ペプチドを白色の非晶質粉末（41mg）として得た。HPLC分析： t_R = 18.66分間、純度98.1%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS（M+H⁺）：予測分子イオン質量748.5、実測値748.5。

【0261】

実施例7：化合物（7）の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[ホモペラジンアミド]（配列番号4）：

アミノ酸誘導体には、Boc-D-Phe-OH、Fmoc-D-Phe-OH、Fmoc-D-Leu-OHおよびFmoc-D-Arg（Pbf）-OHを利用した。上述の化合物（1）の合成で説明したようにして、HPLCおよびMS分析を実施した。SYMPHONY Multiple Synthesizer (Protein Technology Inc.)で、化合物（1）の合成時に調製したホモペラジンカルバメートWangレジン（0.35mmol；ホモペラジン-[カルバメートWangレジン]）から開始して、完全保護レジン結合ペプチドを合成した。4倍過剰のアミノ酸誘導体を用いるHBTU/DIEAでのシングルカップリングを実施した。25%ピペリジン/DMF溶液でFmoc基を除去した。自動合成の終了時、ペプチドレジン（Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg（Pbf）-[ホ

10

20

30

40

50

モピペラジンアミド]) を手作業でのペプチド合成容器に移し、TFA/H₂O (15 ml、v/v/v = 95 : 2.5 : 2.5) 混合物で室温にて90分間処理した。レジンを通し、TFAで洗浄した。濾液を *in vacuo* にて蒸発させ、粗ペプチド (380 mg; D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[ホモピペラジンアミド]) をジエチルエーテルで沈殿させた。

【0262】

精製のために、上述の粗ペプチド (380 mg) を0.1% TFA/H₂O 溶液 (50 ml) に溶解させ、この溶液をHPLCカラムに注入し、TFA緩衝系 (緩衝液A = 0.1% TFA/H₂O 溶液およびB = 0.1% TFA/60% ACN/40% H₂O 溶液) を用いて精製した。化合物を緩衝液Bの直線濃度勾配により、25分かけて25%Bから75%Bまで、 t_R = 36%Bで溶出した。純度が97%を超える画分をプールし、冷凍し、凍結乾燥させて、精製ペプチドを白色の非晶質粉末 (222 mg) として得た。HPLC分析: t_R = 16.75分間、純度100%、20分かけて2%Bから22%Bまでの勾配; MS (M+H⁺) : 予測分子イオン質量664.4、実測値664.5。

【0263】

実施例8: 化合物 (8) の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Har-[ω(4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)]-OH (配列番号3):

2-Cl-Trtレジンへの結合時に、N-(1-Fmoc-ピペリジン-4-イル)-L-プロリンに代えてN-Boc-アミノ-(4-N-Fmoc-ピペリジニル) カルボン酸を用いたこと以外、基本的には化合物 (5) の合成で上述した手法を用いて、この化合物を調製した。最終精製ペプチド: 非晶質粉末、合成スケール1 mmolで収率85 mg。HPLC分析: t_R = 17.87分間、純度100%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配; MS (M+H⁺) : 予測分子イオン質量722.4、実測値722.5。

【0264】

実施例9: 化合物 (9) の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-(ε-iPr)-D-Lys-[ω(4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)]-OH (配列番号5):

上記化合物 (2) の合成時に調製したペプチドレジンであるBoc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-(N-Boc-アミノ-4-ピペリジニルカルボン酸)-[2-Cl-Trtレジン]) 0.15 mmolから合成を開始した。D-Lysのω-アミノ官能基をXaa₄でイソプロピル化するために、ナトリウムトリアセトキシボロヒドリド (3 mmol) およびアセトン (6 mmol) のTMOF (10 mL) 混合溶液で、ペプチドレジン室温にて4時間処理した。続く切断および精製ステップを、化合物 (2) の合成で説明した手法を用いて実施した。最終精製ペプチド: 非晶質粉末、収率67 mg。HPLC分析: t_R = 19.29分間、純度98.4%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配; MS (M+H⁺) : 予測分子イオン質量722.5、実測値722.5。

【0265】

実施例10: 化合物 (10) の合成:

D-Phe-D-Phe-D-Leu-(β-アミノ) D-Dap-[ω(4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)]-OH (配列番号6):

図3のスキームを参照のこと。アミノ酸誘導体には、Boc-D-Phe-OH、Boc-D-Phe-OH、Boc-D-Leu-OH、Boc-D-Dap(Fmoc)-OH、N-Fmoc-アミノ-(4-N-Boc-ピペリジニル) カルボン酸を使用した。化合物 (1) の合成で説明したようにしてHPLCおよびMS分析を実施した。4-Fmoc-ヒドラジノベンゾイルAM NovaGelレジン (3 mmol; Novabiochem) から開始して、完全保護レジン結合ペプチドを手作業で合成した。開始レジンのFmoc保護基をまず25%ピペリジン/DMF溶液で除去し、続いてN-Fmoc-アミノ-(4-N-

Boc-ピペリジニル)カルボン酸 (7.5 mmol)、PyBOP (7.5 mmol) および DIEA (15 mmol) の DMF 混合溶液で室温にて一晩、レジン进行处理した。以下の2段階で、結合アミノ酸の Fmoc 基を o-NBS と入れ替えた: (i) Fmoc を 25% ピペリジン/DMF 溶液で除去。(ii) 化合物 (1) の合成で説明した手法による o-NBS 保護。得られたペプチドレジン、N-o-NBS-アミノ- (4-N-Boc-ピペリジニル)カルボン酸- [ヒドラジノベンゾイル AM NovaGel レジン] をいくつかに分け、1 mmol を使ってペプチド合成を継続した。3倍過剰のアミノ酸誘導体を用いる PyBOP/DIEA でのシングルカップリングを実施した。30% TFA/DCM 溶液で Boc 基を除去した。ペプチド鎖伸長の完了時、レジンに 2% DBU/DMF 溶液で 2×8 分間処理して Fmoc を除去した後、上記化合物 (5) の合成で説明した手法で D-Dap の ω-アミノ官能基を Xaa₄ でグアニル化した。化合物 (1) の合成で説明した手法で、最終的な o-NBS 脱保護を実施した。

10

【0266】

酸化的な切断のために、Cu(OAc)₂ (1 mmol)、ピリジン (4 mmol)、DBU (2 mmol) を 5% H₂O に入れた混合物の DMF 溶液と乾燥ペプチドレジンとを混合し、室温にて6時間、レジンに気泡が出るがままにしておいた。レジンに濾過し、DMF で洗浄し、濾液物を in vacuo で蒸発させた。残渣である Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu- (β-アミノ) D-Dap- [ω (4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)]-OH を 95% TFA/H₂O 溶液で処理し、Boc を除去した。溶液を in vacuo にて蒸発させ、粗ペプチド (1 mmol; D-Phe-D-Phe-D-Leu- (β-アミノ) D-Dap- [ω (4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)]-OH) をジエチルエーテルで沈殿させた。

20

【0267】

化合物 (2) の合成で説明したプロトコルを用いて、上述の粗ペプチドを精製した。精製ペプチドは、非晶質粉末 (16 mg) であった。HPLC 分析: t_R = 16.97 分間、純度 99.9%、20 分かけて 5% B から 25% B までの勾配; MS (M+H⁺): 予測分子イオン質量 680.4、実測値 680.4。

【0268】

実施例 11: 化合物 (11) の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Nar- [ω (4-アミノピペリジン-4-カルボン酸)]-OH (配列番号 7):

30

Xaa₄ でのアミノ酸誘導体のカップリングで Boc-D-Dap (Fmoc)-OH に代えて Boc-D-Dbu (Fmoc)-OH を用いたこと以外、化合物 (10) の合成で説明した手法を用いて、この化合物を調製した。最終精製ペプチド: 非晶質粉末、合成スケール 1 mmol で収率 23 mg。HPLC 分析: t_R = 17.12 分間、純度 99.2%、20 分かけて 5% B から 25% B までの勾配; MS (M+H⁺): 予測分子イオン質量 694.4、実測値 694.5。

【0269】

実施例 12: 化合物 (12) の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dbu- [N- (4-ピペリジニル)-L-プロリン]-OH (配列番号 8):

40

上述したような化合物 (4) の合成で説明した手法を用いて、この化合物を調製した。違いは、Xaa₄ でのアミノ酸誘導体のカップリングで Fmoc-D-Dbu (ivdde)-OH を Fmoc-D-Lys (dde)-OH に代えて用いたことである。最終精製ペプチド: 非晶質粉末、合成スケール 0.4 mmol で収率 7 mg。HPLC 分析: t_R = 18.15 分間、純度 98.9%、20 分かけて 5% B から 25% B までの勾配; MS (M+H⁺): 予測分子イオン質量 706.4、実測値 706.4。

【0270】

実施例 13: 化合物 (13) の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Nar- [N- (4-ピペリジニル)-L-

50

プロリン] -OH (配列番号7) :

化合物(12)の合成時に調製したペプチドレジン、Boc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dbu-N-(4-ピペリジニル)-L-プロリン-[2-Cl-Trtレジン] 0.4 mmol から合成を開始した。上記化合物(5)の合成で説明した手法でD-Dbuのω-アミノ官能基をXaa₄でグアニル化した。続く切断および精製ステップを、化合物(1)の合成で説明した手法を用いて実施した。最終精製ペプチド：非晶質粉末、収率7 mg。HPLC分析：t_R = 18.68分間、純度97.3%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS (M+H⁺)：予測分子イオン質量748.5、実測値748.5。

【0271】

10

実施例14：化合物(14)の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dap (アミジノ)-[N-(4-ピペリジニル)-L-プロリン]-OH (配列番号6) :

Xaa₄でのアミノ酸誘導体のカップリングでFmoc-D-Dap (ivdde)-OHをFmoc-D-Dbu (ivdde)-OHに代えて用いたこと以外、化合物(13)の合成で説明した手法で、化合物を調製した。最終精製ペプチド：非晶質粉末、合成スケール0.4 mmolで収率12 mg。HPLC分析：t_R = 18.55分間、純度98.0%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS (M+H⁺)：予測分子イオン質量734.4、実測値734.4。

【0272】

20

実施例15：化合物(15)の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[4-アミジノホモピペラジニアミド] (配列番号2) :

Xaa₄でのD-Lysのω-アミノ官能基のメチル化をなくしたこと以外、化合物(1)の合成で説明した手法で、化合物を調製した。最終精製ペプチド：非晶質粉末、合成スケール0.3 mmolで収率140 mg。HPLC分析：t_R = 14.02分間、純度99.3%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS (M+H⁺)：予測分子イオン質量678.4、実測値678.5。

【0273】

実施例16：化合物(16)の合成

30

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Har-[4-アミジノホモピペラジニアミド] (配列番号3) :

グアニル化ステップをXaa₄でのD-Lysのω-アミノ官能基のメチル化に代えて用いたこと以外、化合物(1)の合成で説明した手法で、化合物を調製した。グアニル化については、上記化合物(5)の合成で説明した手法で実施した。最終精製ペプチド：非晶質粉末、合成スケール0.3 mmolで収率173 mg。HPLC分析：t_R = 15.05分間、純度98.6%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS (M+H⁺)：予測分子イオン質量720.5、実測値720.5。

【0274】

実施例17：化合物(17)の合成

40

D-Phe-D-Phe-D-Leu-(ε-IPr)-D-Lys-[4-アミジノホモピペラジニアミド] (配列番号5) :

イソプロピル化ステップをXaa₄でのD-Lysのω-アミノ官能基のメチル化に代えて用いたこと以外、化合物(1)の合成で説明した手法で、化合物を調製した。イソプロピル化については、化合物(9)の合成で説明した手法で実施した。最終精製ペプチド：非晶質粉末、合成スケール0.3 mmolで収率233 mg。HPLC分析：t_R = 16.16分間、純度94.5%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS (M+H⁺)：予測分子イオン質量720.5、実測値720.5。

【0275】

実施例18：化合物(18)の合成

50

D-Phe-D-Phe-D-Leu- (β -アミジノ) D-Dap- [4-アミジノホモピペラジンアミド] (配列番号6) :

Xaa₄でのアミノ酸誘導体のカップリングでFmoc-D-Dap (ivDde)-OHをFmoc-D-Lys (Dde)-OHに代えて用いたこと以外、化合物(16)の合成で説明した手法で、化合物を調製した。最終精製ペプチド：非晶質粉末、合成スケール0.3mmolで収率155mg。HPLC分析： t_R = 14.44分間、純度99.1%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS (M+H⁺)：予測分子イオン質量678.4、実測値678.5。

【0276】

実施例19：化合物(19)の合成

10

D-Phe-D-Phe-D-Nle- (β -アミジノ) D-Dap- [4-アミジノホモピペラジンアミド] (配列番号6) :

Xaa₃でのアミノ酸誘導体のカップリングでFmoc-D-Nle-OHをFmoc-D-Leu-OHに代えて用いたこと以外、上記化合物(18)の合成で説明した手法で、化合物を調製した。最終精製ペプチド：非晶質粉末、合成スケール0.3mmolで収率190mg。HPLC分析： t_R = 14.69分間、純度98.9%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS (M+H⁺)：予測分子イオン質量678.2、実測値678.5。

【0277】

実施例20：化合物(20)の合成

20

D-Phe-D-Phe-D-Leu- (β -アミジノ) D-Dap- [ホモピペラジンアミド] (配列番号6) :

C末端でのホモピペラジンのグアニル化をなくしたこと以外、上記化合物(18)の合成で説明した手法で、化合物を調製した。最終精製ペプチド：非晶質粉末、合成スケール0.3mmolで収率172mg。HPLC分析： t_R = 13.84分間、純度99.1%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS (M+H⁺)：予測分子イオン質量636.4、実測値636.5。

【0278】

実施例21：化合物(21)の合成

30

D-Phe-D-Phe-D-Nle- (β -アミジノ) D-Dap- [ホモピペラジンアミド] (配列番号6) :

C末端でのホモピペラジンのグアニル化をなくしたこと以外、化合物(19)の合成で説明した手法で、化合物を調製した。最終精製ペプチド：非晶質粉末、合成スケール0.3mmolで収率149mg。HPLC分析： t_R = 14.06分間、純度98.5%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS (M+H⁺)：予測分子イオン質量636.4、実測値636.5。

【0279】

実施例22：化合物(22)の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Dbu- [4-アミジノホモピペラジンアミド] (配列番号8) :

40

Xaa₄でのアミノ酸誘導体のカップリングでFmoc-D-Dbu (ivDde)-OHをFmoc-D-Lys (Dde)-OHに代えて用いたこと以外、化合物(15)の合成で説明した手法で、化合物を調製した。最終精製ペプチド：非晶質粉末、合成スケール0.3mmolで収率152mg。HPLC分析： t_R = 14.03分間、純度98.1%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS (M+H⁺)：予測分子イオン質量650.4、実測値650.5。

【0280】

実施例23：化合物(23)の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Nar- [4-アミジノホモピペラジンアミド] (配列番号7) :

50

Xaa₄でのアミノ酸誘導体のカップリングでFmoc-D-Dbu (iv Dde) -OHをFmoc-D-Lys (Dde) -OHに代えて用いたこと以外、化合物(16)の合成で説明した手法で、化合物を調製した。最終精製ペプチド：非晶質粉末、合成スケール0.3 mmolで収率227 mg。HPLC分析：t_R = 14.37分間、純度99.3%、20分かけて5%Bから25%Bまでの勾配；MS (M+H⁺)：予測分子イオン質量664.4、実測値664.5。

【0281】

実施例24：化合物(24)の合成

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[4-アミジノホモピペラジンアミド] (配列番号4)：

10

上述の化合物(7)の合成で説明した手法で合成したBcz-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Arg-[ホモピペラジンアミド]のC末端で、ホモピペラジンをグアニル化して、化合物を調製した。続く切断および精製を、上記化合物(1)の合成で説明した手法で実施した。最終精製ペプチド：非晶質粉末、合成スケール0.3 mmolで収率102 mg。HPLC分析：t_R = 17.34分間、純度98.4%、20分かけて2%Bから22%Bまでの勾配；MS (M+H⁺)：予測分子イオン質量706.5、実測値706.5。

【0282】

実施例25：化合物(25)の合成：

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2,8-ジアザスピロ[4,5]デカン-1-オンアミド] (配列番号2)：

20

これらの合成については、図4に示すスキームを用いて実施した。後述する中間体が、図4に示す中間体に相当する。Boc-D-Phe-OH中間体I-1 (7.96 g、30.0 mmol)、D-Leu-OBn-p-TsOH中間体I-2 (11.80 g、30.0 mmol)、HOBt-水和物 (4.46 g、33.0 mmol) およびDIEA (8.53 g、66.0 mmol)の無水THF (250 mL)懸濁液を氷水浴で冷却した中に、EDCI (6.33 g、33.0 mmol)を4回に分けて5分間隔で20分かけて添加した。この懸濁液を開始温度である0℃から室温まで一晩攪拌した。THFを蒸発させた後、残渣を酢酸エチルに溶解させ、10%クエン酸、飽和NaHCO₃、水で順次洗浄した。有機相を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、減圧下にて蒸発させた。残渣をDCMに溶解させ、シリカゲルプラグに通し、20%酢酸エチル/ヘキサンで溶出した。溶離液を蒸発させ、純粋な生成物であるBoc-D-Phe-D-Leu-OBnすなわち中間体I-3 (12.40 g、88%)を、透明な油として得た。LC-MS：m/z = 469 (M+H)。

30

【0283】

中間体I-3 (12.40 g、26.5 mmol)をDCM (50 mL)に溶解させた。TFA (25 mL)を加え、溶液を室温にて2時間攪拌した。DCMおよびTFAを蒸発させた後、残渣をトルエンと一緒に2回共沸し、D-Phe-Leu-OBnのTFA塩すなわち中間体I-4を得た。この粗ジペプチドをTHFに懸濁させ、これに、Boc-D-Phe-OH (6.36 g、24 mmol)、HOBt-水和物 (4.04 g、26.4 mmol) およびDIEA (8.7 mL、50.0 mmol)を0℃で加えた。EDCI (6.33 g、6.4 mmol)を4回に分けて5分間隔で20分かけて添加した。この懸濁液を0℃から室温まで一晩攪拌した。THFを蒸発させた後、残渣を酢酸エチルに溶解させ、10%クエン酸、飽和NaHCO₃、水で順次洗浄した。有機相を硫酸ナトリウム上で乾燥させ、減圧下にて蒸発させた。残渣を400 mLアセトン/ヘキサン (1:3)から再結晶化させ、純粋な生成物9.1 gを得た。母液を蒸発させ、再度アセトン/ヘキサン (1:3)から再結晶化させて、生成物2.0 gを得た。総収率は11.1 g (2ステップで68%)であった。LC-MS：m/z = 616 (M+H)。

40

【0284】

窒素フラッシュしたフラスコに、パラジウム炭素湿体 (1.8 g) およびBoc-D-

50

Phe-D-Phe-D-Leu-OBnすなわち中間体I-5 (11.1g、18.05mmol)のメタノール(50mL)溶液を加えた。この混合物を水素バルーン下にて一晩攪拌した。セライトでの濾過後、メタノールを減圧下で蒸発させた。残渣をアセトン(20mL)に溶解させ、1NのHClを25mL含む水500mLに、強く攪拌しながらゆっくりと加えた。濾過により、純粋な生成物であるBoc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-OHすなわち中間体I-6を9.4g(99%)得た。LC-MS:m/z=526(M+H)。

【0285】

中間体I-6(2.06g、3.90mmol)、D-Lys(Boc)-OAl1塩酸塩(1.26g、3.90mmol)およびDIEA(1.7mL、9.8mmol)のDMF溶液に、TBTU(1.56g、4.88mmol)を0℃で3回に分けて15分間かけて加えた。開始温度である0℃から室温まで一晩攪拌した後、DMFを高真空中にて蒸発させた。粗反応混合物は400mL氷水中の沈殿物であり、これを濾過して沈殿物であるBoc-D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys(Boc)-OAl1中間体I-7(2.60g)を回収し、それ以上精製することなく次のステップで利用した。

【0286】

中間体I-7(2.60g、3.3mmol)のMeCN(75mL)溶液に、ピロリジン(1.1mL、13.3mmol)およびパラジウムテトラキス(トリフェニルホスフィン)(400mg、0.35mmol)を0℃で添加した。反応混合物を室温にて3時間攪拌し、蒸発乾固させた。残渣を30%MeCN/水対90%MeCN/水の逆相カラムクロマトグラフィで精製し、アセトニトリル/水の蒸発後に純粋な酸である中間体I-8(2.0g、80%)を得た。LC-MS:m/z=754(M+H)。

【0287】

上記の酸、中間体I-8(150mg、0.20mmol)、アミンHNR_aR_b、2,8-ジアザスピロ[4,5]デカン-1-オン(57mg、0.30mmol)、DIEA(175μL、1.0mmol)のDMF(5mL)溶液に、HBTU(113mg、3.0mmol)を0℃で加えた。開始温度である0℃から室温まで一晩攪拌した後、DMFを減圧下で蒸発させた。残渣を、4NのHClと一緒に1,4-ジオキサン(2.0mL)中で室温にて1時間攪拌した。ジオキサンを除去した後、残渣を水に溶解させ、30分かけて10%MeCN/水から60%MeCN/水までの勾配で、逆相カラムクロマトグラフィを用いて精製し、溶媒の蒸発後に純粋な生成物である化合物(25)(108mg、2ステップで収率78%)を得た。LC-MS:m/z=690(M+H)。

【0288】

実施例26:化合物(26)の合成:

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[2-メチル-2,8-ジアザスピロ[4,5]デカン-1-オンアミド](配列番号2):

最終的なアミドカップリングステップで用いるアミン(図4のスキームでのHNR_aR_b)を2,8-ジアザスピロ[4,5]デカン-1-オンではなく2-メチル-2,8-ジアザスピロ[4,5]デカン-1-オンとしたこと以外、基本的には上記化合物25で説明したようにして、化合物(26)を調製した。LC-MS:m/z=704(M+H)。

【0289】

実施例27:化合物(27)の合成:

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1,3,8-トリアザスピロ[4,5]デカン-2,4-ジオンアミド](配列番号2):

最終ステップでアミン1,3,8-トリアザスピロ[4,5]デカン-2,4-ジオンを用いたこと以外、基本的には上記化合物25で説明したようにして、化合物(27)を調製した。LC-MS:m/z=705(M+H)。

【0290】

実施例 28：化合物（28）の合成：

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[5-クロロ-1-(ピペリジン-4-イル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2(3)H-オンアミド]（配列番号2）：

アミン5-クロロ-1-(ピペリジン-4-イル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2(3)H-オンを用いたこと以外、基本的には上記化合物25で説明したようにして、化合物（28）を調製した。LC-MS： $m/z = 394$ 。

【0291】

実施例 29：化合物（29）の合成：

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[モルホリノ(ピペリジン-4-イル)メタノンアミド]（配列番号2）：

アミンモルホリノ(ピペリジン-4-イル)メタノンを用いたこと以外、基本的には上記化合物25で説明したようにして、化合物（29）を調製した。LC-MS： $m/z = 366$ 。

【0292】

実施例 30：化合物（30）の合成：

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[4-フェニル-1-(ピペリジン-イル)-1H-イミダゾール-2(3H)-オンアミド]（配列番号2）：

アミン4-フェニル-1-(ピペリジン-イル)-1H-イミダゾール-2(3H)-オンを用いたこと以外、基本的には上記化合物25で説明したようにして、化合物（30）を調製した。LC-MS： $m/z = 779$ (M+H)。

【0293】

実施例 31：化合物（31）の合成：

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[4-(3,5-ジメチル-4H-1,2,4-トリアゾール-4-イル)ピペリジンアミド]（配列番号2）：

アミン4-(3,5-ジメチル-4H-1,2,4-トリアゾール-4-イル)ピペリジンを用いたこと以外、基本的には上記化合物25で説明したようにして、化合物（31）を調製した。LC-MS： $m/z = 716$ (M+H)。

【0294】

実施例 32：化合物（32）の合成：

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(ピペリジン-4-イル)インドリン-2-オンアミド]（配列番号2）：

アミン1-(ピペリジン-4-イル)インドリン-2-オンを用いたこと以外、基本的には上記化合物25で説明したようにして、化合物（32）を調製した。LC-MS： $m/z = 752$ (M+H)。

【0295】

実施例 33：化合物（33）の合成：

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-フェニル-1,3,8-トリアザスピロ[4.5]デカン-4-オンアミド]（配列番号2）：

アミン1-フェニル-1,3,8-トリアザスピロ[4.5]デカン-4-オンを用いたこと以外、基本的には上記化合物25で説明したようにして、化合物（33）を調製した。LC-MS： $m/z = 767$ (M+H)。

【0296】

実施例 34：化合物（34）の合成：

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[イミダゾ[1,2-a]ピリジン-2-イルメタナミンアミド]（配列番号2）：

アミンイミダゾ[1,2-a]ピリジン-2-イルメタナミンを用いたこと以外、基本的には上記化合物25で説明したようにして、化合物（34）を調製した。LC-MS： $m/z = 683$ (M+H)。

【0297】

10

20

30

40

50

実施例 35：化合物 (35) の合成：

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[(5-メチルピラジン-2-イル)メチルアミンアミド] (配列番号 2)：

最終ステップでアミン (5-メチルピラジン-2-イル) メタナミンを用いたこと以外、基本的には上記化合物 25 で説明したようにして、化合物 (35) を調製した。LC-MS： $m/z = 659$ (M+H)。

【0298】

実施例 36：化合物 (36) の合成：

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[1-(ピペリジン-4-イル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2(3H)-オンアミド] (配列番号 2)：

アミン 1-(ピペリジン-4-イル)-1H-ベンゾ[d]イミダゾール-2(3H)-オンを用いたこと以外、基本的には上記化合物 25 で説明したようにして、化合物 (36) を調製した。LC-MS： $m/z = 753$ (M+H)。

【0299】

実施例 37：化合物 (37) の合成：

D-Phe-D-Phe-D-Leu-D-Lys-[4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-1H-ピラゾロ[4, 3-c]ピリジンアミド] (配列番号 2)：

アミン 4, 5, 6, 7-テトラヒドロ-1H-ピラゾロ[4, 3-c]ピリジンを用いたこと以外、基本的には上記化合物 25 で説明したようにして、化合物 (37) を調製した。LC-MS： $m/z = 659$ (M+H)。

【0300】

実施例 38：合成ペプチドアミド 1～24 の構造の確認

表 I に、各化合物の分子イオンの計算で求めた分子量 MH^+ と、質量分析で測定した実際の分子量を示す。また、各化合物の合成で用いた合成相のタイプ (固相または混合) と、合成で用いたレジンのタイプ (2-クロロトリチル「2-Cl-Trt」レジン、ヒドラジノベンゾイル「ヒドラジン」レジンまたは p-ニトロフェニル-カーボネート (Wang)「カーボネート」レジンのいずれか) も示す。各化合物を合成するための関連の合成スキームを示す図の番号を一番右の欄に示す。

【0301】

10

20

【表 1】

表 I 化合物(1)~(24)の合成と構造確認

化合物	計算 MW	実測 MW	合成相	レジン	図
1	692.5	692.5	混合	カーボネート	1
2	680.4	680.3	固相	2-Cl-Trt	2
3	694.4	694.4	固相	2-Cl-Trt	2
4	734.5	734.4	固相	2-Cl-Trt	2
5	776.5	776.5	固相	2-Cl-Trt	2
6	748.5	748.5	固相	2-Cl-Trt	2
7	664.4	664.5	固相	カーボネート	1
8	722.4	722.5	固相	2-Cl-Trt	2
9	722.5	722.5	固相	2-Cl-Trt	2
10	680.4	680.4	固相	ヒドラジン	3
11	694.4	694.5	固相	ヒドラジン	3
12	706.4	706.4	固相	2-Cl-Trt	2
13	748.5	748.5	固相	2-Cl-Trt	2
14	734.4	734.4	固相	2-Cl-Trt	2
15	678.4	678.5	混合	カーボネート	1
16	720.5	720.5	混合	カーボネート	1
17	720.5	720.5	混合	カーボネート	1
18	678.4	678.5	混合	カーボネート	1
19	678.4	678.5	混合	カーボネート	1
20	636.4	636.5	固相	カーボネート	1
21	636.4	636.5	固相	カーボネート	1
22	650.4	650.5	混合	カーボネート	1
23	692.4	692.5	混合	カーボネート	1
24	706.5	706.5	混合	カーボネート	1

【0302】

実施例 39: R₁. G1 細胞における内在性マウス κ-オピオイド受容体の刺激による cAMP 生成の阻害

ホルスコリン刺激アデニル酸シクラーゼ活性の阻害を測定し、合成ペプチドアミドの κ-オピオイド受容体アゴニストとしての力価を求めた。R₁. G1 細胞 (κ-オピオイド受容体のみを発現し、他のオピオイド受容体サブタイプは発現しないマウス胸腺腫細胞系) をまず、ホルスコリン (cAMP 誘導用) プラス合成ペプチドアミドに試験濃度で曝露した。インキュベーション後、曝露 R₁. G1 細胞の cAMP 濃度を時間分解蛍光共鳴エネルギー移動 (TR-FRET) ベースの cAMP イムノアッセイ (LANCE (商標)、Perkin Elmer) で求めた。詳しい方法は、下記のとおりである。

【0303】

マウス R₁. G1 細胞 (ATCC, Manassas, VA) を、10% ウマ血清および 2% glutamax (Invitrogen, Carlsbad, CA) を含有する高グルコース-DMEM (ダルベッコ変法イーグル培地、Cellgro, Herndon, VA) にて、抗生物質を加えずに懸濁液で増殖した。実験の日、細胞を室温にて 1,000 rpm で 5 分間スピンの後、HBSS (HEPES 緩衝生

10

20

30

40

50

理食塩溶液、Invitrogen, Carlsbad, CA) で1回洗浄した。次に、細胞を再度スピンし、刺激緩衝液 (0.05% FAF-BSA (脂肪酸不含ウシ血清アルブミン、Roche Applied Science, Indianapolis, IN) 加HBSS、5mM HEPES) に再懸濁させて1mlあたり細胞が2百万個になるようにした。続いて、LANCE (商標) cAMPイムノアッセイキットに同梱されていた抗体を製造業者の指示に従って細胞に加えた後、ホルスコリンの入ったウェルにウェル1つあたり12,000個の細胞を加えて、あらかじめ定められた一定の最終濃度 (一般に約2.5 μ M) および試験対象の合成ペプチドアミドの事前に求めておいた量になるようにした。力価を求めるための濃度範囲で合成ペプチドアミドを試験した。合成ペプチドアミドプラスホルスコリンを用いて、室温にて約20分間細胞を培養した。インキュベーション後、LANCE (商標) キットに同梱されていた検出ミックス12 μ lを加えて細胞を溶解した後、室温にて1時間インキュベーションした。330~380nmの励起フィルタ、665nmの放出フィルタ、ダイクロイックミラー380およびZ=1mmを用いて、時間分解蛍光を読み取った。このアッセイでのcAMP濃度の標準曲線から、各ウェルに存在するcAMPの量を求めることができた。被験細胞のcAMP濃度に対する合成ペプチドアミド濃度をプロットして曲線を生成し、4パラメータ曲線フィッティングアルゴリズムを用いて非線形回帰に適用し、EC₅₀すなわち、合成ペプチドアミドによるcAMP生成の最大抑制の50%を達成するのに必要な合成ペプチドアミドの濃度を計算した。合成ペプチドアミド化合物 (1) ~ (36) についてこのアッセイで得られたEC₅₀値を表IIに示す。

【0304】

【表2】

表II κ オピオイドアゴニスト活性および薬効

化合物番号	<u>mKOR</u>		<u>hKOR</u>	
	<u>EC₅₀(nM)</u>	<u>薬効(%)</u>	<u>EC₅₀(nM)</u>	<u>薬効(%)</u>
(1)	0.043	103	0.15	97
(2)	0.048	96	0.16	99
(3)	0.052	96	0.16	100
(4)	0.075	94	0.15	92
(5)	0.034	89	0.17	98
(6)	0.036	89	0.13	100
(7)	0.012	98	0.11	100
(8)	0.043	90	0.12	96
(9)	0.078	96	0.17	100
(10)	0.826	90	0.30	86
(11)	0.052	92	0.15	82
(12)	0.055	89	0.17	100
(13)	0.032	88	0.13	90
(14)	0.349	86	0.21	81
(15)	0.028	92	0.11	92
(16)	0.021	105	0.11	96

【0305】

【表 3】

表 II κ オピオイドアゴニスト活性および薬効(続き)

化合物番号	<u>mKOR</u>		<u>hKOR</u>	
	<u>EC₅₀(nM)</u>	<u>薬効(%)</u>	<u>EC₅₀(nM)</u>	<u>薬効(%)</u>
(17)	0.039	103	0.10	102
(18)	1.02	103	1.15	93
(19)	2.152	99	nd	nd
(20)	0.491	102	0.39	84
(21)	0.732	103	1.06	99
(22)	0.095	103	0.18	86
(23)	0.091	104	0.17	84
(24)	0.036	97	0.09	93
(25)	0.0314	82	0.0027	101
(26)	0.0194	86	0.0083	99
(27)	0.0056	87	<0.001	88
(28)	0.0582	83	0.0083	100
(29)	0.0464	86	0.0145	100
(30)	0.1293	88	0.0116	95
(31)	0.0216	86	0.0042	95
(32)	0.0485	92	0.005	102
(33)	0.0767	86	0.0165	101
(34)	0.3539	90	0.0208	101
(35)	0.0359	86	0.0064	99
(36)	0.0234	87	0.0052	100

nd - 判断せず ; mKOR およびhKOR - マウスおよびヒト κ オピオイド受容体

【0306】

実施例40：ヒト κ オピオイド受容体に対する合成ペプチドアミドの力価

Fugene6 (Roche Molecular Biochemicals) トランスフェクション試薬とDNAコンストラクトとを3.3対1の比で用いて、100mmのシャーレに入れたヒト胎児由来腎臓細胞 (HEK-293細胞、ATCC, Manassas, VA) をトランスフェクトした。トランスフェクションには、以下のDNAコンストラクトを使用した。(i) ヒト κ オピオイド受容体用の発現ベクター、(ii) ヒトキメラG-タンパク質用の発現ベクター、(iii) カルシウム感受性転写因子NFATによってルシフェラーゼ発現が誘導されるルシフェラーゼレポーターコンストラクト。

【0307】

ヒト κ オピオイド受容体を含む発現ベクターを以下のようにして構築した。ヒトOPRK1遺伝子をヒト後根神経節全RNAからPCRでクローニングし、遺伝子を発現ベクターp cDNA3 (Invitrogen, Carlsbad, CA) に挿入してヒトOPRK1哺乳類発現ベクターp cDNA3-hOPRK1を構築した。

【0308】

ヒトキメラG-タンパク質発現ベクターを構築するために、最初にPCRでヒトG α qの最後の5アミノ酸をG α iの最後の5アミノ酸の配列で置き換えて、キメラG-タンパ

ク質Gαq i 5を構築した。このヒトGαq i 5遺伝子にアミノ酸位置66で第2の変異を導入し、部位特異的変異誘発によってグリシン(G)をアスパラギン酸(D)に置換した。続いて、この遺伝子を哺乳類発現ベクターp c D N A 5 / F R T (Invitrogen)にサブクローニングし、ヒトキメラG-タンパク質発現ベクターp c D N A 5 / F R T - h G N A q - G 6 6 D - i 5を得た。

【0309】

ルシフェラーゼレポーター遺伝子コンストラクトを調製するために、T R E (12-O-テトラデカノイルホルモール-13-アセテート-応答配列)の3つのコピーとN F A T (活性化T細胞核内因子)の3つのコピーとを含む合成応答エレメントをc-f o s ミニマルプロモーターの上流に取り込んだ。この応答エレメント・プロモーターカセットをルシフェラーゼレポーター遺伝子ベクターp G L 3 -ベーシック(Promega)に挿入し、ルシフェラーゼレポーター遺伝子プラスミドコンストラクトp G L 3 b - 3 T R E - 3 N F A T - c f o s - L u cを構築した。

【0310】

各プレートの細胞のトランスフェクション混合物には、6マイクログラムのp c D N A 3 - h O P R K 1と、6マイクログラムのp c D N A 5 / F R T - h G N A q - G 6 6 D - i 5と、0.6マイクログラムのp G L 3 b - 3 T R E - 3 N F A T - c f o s - L u cとが含まれていた。5% C O ₂を含有する湿った雰囲気にて細胞を37℃で1日培養した後、トランスフェクションして、不透明な96ウェルのプレートに1ウェルあたり培地100マイクロリットルで45,000個の細胞を蒔いた。翌日、被験化合物と基準化合物とを個々のウェルの細胞に加えた。ある濃度範囲の被験化合物を一組のウェルに加え、同様の濃度範囲の基準化合物を対照ウェルの組に加えた。次に、細胞を37℃で5時間培養した。インキュベーション終了時、ルシフェラーゼ基質(AMP(22ug/ml)、ATP(1.1mg/ml)、ジチオスレイトール(3.85mg/ml)、HEPES(50mM最終濃度)、EDTA(0.2mg/ml)、トリトンN-101(4ul/ml)、フェニル酢酸(45ug/ml)、シュウ酸(8.5ug/ml)、ルシフェリン(28ug/ml)、pH7.8)を含有する検出ミックス100マイクロリットルを加えて細胞を溶解した。プレートを封止し、30分以内に蛍光を読み取った。各化合物の濃度を1秒あたりの蛍光カウント(cps)に対してプロットし、得られた応答曲線を、4パラメータ曲線フィッティングアルゴリズムを用いて非線形回帰に適用し、E C ₅₀ (ルシフェラーゼ活性の最大増加の50%を達成するのに必要な化合物濃度)と薬効(アシマドリン(EMD-61753: Joshi et al., 2000, J. Neurosci. 20(15): 5874-9を参照のこと)またはU-69593 (Heidbreder et al., 1999, Brain Res. 616(1-2): 335-8を参照のこと)などの周知のいずれかのκオピオイド受容体アゴニストによる完全誘導と比較した最大活性化の割合)を計算した。

【0311】

表I Iに、本発明に従って合成し、マウスκオピオイド受容体(mKOR)で試験した一例としての化合物を用いてcAMP阻害アッセイで得られたE C ₅₀値を、上述した方法によるヒトκオピオイド受容体(hKOR)での結果の確認内容(confirmatory replication)と一緒に示す。

【0312】

本発明の合成ペプチドアミドのヒトμオピオイド受容体に対する力価を同様のアッセイで試験した。試験した各化合物、ヒトμオピオイド受容体でのE C ₅₀が1uM以上であった。

【0313】

実施例41: 合成ペプチドアミドの膜透過性

培養内で分化するヒト結腸腺癌細胞系に、C a c o - 2細胞系があり、ヒト小腸の上皮層のモデル化に用いられている。標準アッセイでC a c o - 2のT C 7サブクローンを用いる膜透過アッセイで本発明の化合物を試験した(Cerep, Seattle, WA)。簡単に説明すると、96ウェルのポリカーボネート膜フィルタで培養した細胞単層膜で頂側膜側から側底

10

20

30

40

50

膜側へ（A－B）の方向で、見かけの透過係数（ P_{app} ）を求めた。

【0314】

濃度10 μ M、pH6.5、1%DMSO中にて、レシピエント側をpH7.4に保って化合物を試験した。アッセイプレートを、静かに振盪しながら37℃で60分間培養した。時刻0の時点ではドナー側から、インキュベーション時間の終了時にはドナー側とレシピエント側の両方から試料を採取した。試料をHPLC-MS/MSで分析した。次に、レシピエント側の化合物の出現速度に基づいて P_{app} 値（10⁻⁶cm/秒で表される）を計算した。 P_{app} の計算には、以下の式を用いた。

【数1】

$$P_{app} = \frac{1}{S \cdot C_0} \left(\frac{dQ}{dt} \right)$$

10

式中、 P_{app} は見かけの透過性であり；Sは膜表面積、 C_0 は時刻0のドナー濃度、 dQ/dt は時間あたりの薬剤輸送量である。4種類の基準化合物（ラベタロール、プロプラノロール、ラニチジン、ビンブラスチン）を同時に試験し、アッセイの有効性を保証するとともに、末梢に作用する κ オピオイドであることを意味するアシマドリンも試験した。結果を表IIIにあげておく。

【0315】

【表4】

20

表 III 膜透過性

化合物	平均透過性 (cm ⁶ /秒)
(1)	< 0.10
(3)	< 0.02
(6)	< 0.02
アシマドリン	37.5
ラベタロール	9.9
プロプラノロール	53.8
ラニチジン	0.5
ビンブラスチン	< 0.2

30

【0316】

このタイプのアッセイで透過性の低い化合物は、*in vivo*で血液脳関門を通過する可能性が低いと考えられる。受動的透過性の高さがCNS作用薬剤の重要な特徴のひとつであるように思われるためである(Mahar Doan et al. Passive permeability and P-glycoprotein-mediated efflux differentiate central nervous system (CNS) and non-CNS marketed drugs. J Pharmacol Exp Ther. 2002;303:1029-37)。

40

【0317】

実施例42：シトクロムP₄₅₀オキシダーゼの阻害

本発明の合成ペプチドアミド化合物による、シトクロムP₄₅₀オキシダーゼアイソザイムCYP1A、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6およびCYP3A4の阻害を、Cerep (Seattle, WA)によって実施される以下の方法で判断した。

【0318】

50

シトクロム P₄₅₀ CYP1A アッセイでは、10 uM の被験化合物、1 uM のエトキシレゾルフィン、1.3 mM の NADP、3.3 mM のグルコース-6-ホスフェート、0.4 U/ml のグルコース-6-ホスフェート脱水素酵素を用いて、ヒト肝臓ミクロソーム (0.2 mg/ml タンパク質) を 37℃ で 15 分間培養した。被験化合物が存在しないと、基質として添加したエトキシレゾルフィンがレゾルフィンに酸化され、CYP アイソザイムのインヒビターの共存下、生成されるレゾルフィンの量が減少する。基準インヒビターにはフラフィリンを利用した。

【0319】

10 uM の被験化合物、10 uM のトルブタミド、1.3 mM の NADP、3.3 mM のグルコース-6-ホスフェート、0.4 U/ml のグルコース-6-ホスフェート脱水素酵素を用いて、ヒト肝臓ミクロソーム (0.2 mg/ml タンパク質) を含有するシトクロム P₄₅₀ CYP2C9 アッセイ反応混合物を 37℃ で 15 分間培養した。被験化合物が存在しないと、トルブタミドが 4-ヒドロキシトルブタミドに酸化され、CYP アイソザイムのインヒビターの共存下、生成される 4-ヒドロキシトルブタミドの量が減少する。基準インヒビターにはスルファフェナゾール (IC₅₀ : 0.35 uM) を用いた。

【0320】

シトクロム P₄₅₀ CYP2C19 アッセイでは、10 uM の被験化合物、10 uM のオメプラゾール、1.3 mM の NADP、3.3 mM のグルコース-6-ホスフェート、0.4 U/ml のグルコース-6-ホスフェート脱水素酵素を用いて、ヒト肝臓ミクロソーム (0.2 mg/ml タンパク質) を 37℃ で 15 分間培養した。被験化合物が存在しないと、オメプラゾールが 5-ヒドロキシオメプラゾールに酸化され、CYP アイソザイムのインヒビターの共存下、生成される 5-ヒドロキシオメプラゾールの量が減少する。基準インヒビターにはオキシブチニン (IC₅₀ : 7.1 uM) を用いた。

【0321】

10 uM の被験化合物、5 uM のデキストロメトルファン、1.3 mM の NADP、3.3 mM のグルコース-6-ホスフェート、0.4 U/ml のグルコース-6-ホスフェート脱水素酵素を用いて、ヒト肝臓ミクロソーム (0.2 mg/ml タンパク質) を含有するシトクロム P₄₅₀ CYP2D6 アッセイ反応物を 37℃ で 15 分間培養した。被験化合物が存在しないと、デキストロメトルファンが酸化され、CYP アイソザイムのインヒビターの共存下、酸化生成物の量が減少する。基準インヒビターにはキニジン (IC₅₀ : 0.093 uM) を用いた。

【0322】

シトクロム P₄₅₀ CYP2C19 アッセイのために、10 uM の被験化合物、5 uM のミダゾラム、1.3 mM の NADP、3.3 mM のグルコース-6-ホスフェート、0.4 U/ml のグルコース-6-ホスフェート脱水素酵素を用いて、ヒト肝臓ミクロソーム (0.2 mg/ml) を 37℃ で 20 分間培養した。被験化合物が存在しないと、ミダゾラムが酸化され、組換えアイソザイムのインヒビターの共存下、酸化生成物の量が減少する。酸化生成物は、HPLC-MS/MS 分離後の曲線下の面積から求める。基準インヒビターにはケトコナゾール (IC₅₀ : 0.55 uM) を用いた。

【0323】

各アッセイでは、(1-被験化合物の共存下での試料中の生成物量) を、未処理アイソザイムを含む試料中の生成物の量で割った比を 100 倍して、シトクロム P₄₅₀ CYP P₄₅₀ アイソザイムの阻害率を求めた。二重アッセイの結果 (残っている CYP 活性の割合で表示) を表 I V にあげておく。

【0324】

10

20

30

40

【表 5】

表 IV シトクロム P₄₅₀CYP アイソザイムの活性の割合

化合物	(1)	(3)	(6)
P ₄₅₀ アイソザイム			
CYP1A	89.8	93.1	89.5
CYP2C9	93.2	97.4	92.1
CYP2C19	98.5	103.2	97.2
CYP2D6	96.0	99.5	93.9
CYP3A4	92.5	94.3	93.6

10

【0325】

実施例 43：ヒト肝臓ミクロソームに対する化合物（2）の安定性

ヒト肝臓由来のミクロソーム（最終濃度 0.3 mg/mL タンパク質）の 0.1 M リン酸緩衝液（pH 7.4）溶液と NADPH 再生系（1 mM の NADP、5 mM のグルコース-6-ホスフェート、1 単位/mL のグルコース-6-ホスフェート脱水素酵素）とを 37℃ でプレインキュベートした上で、基質、化合物（2）を加えて最終基質濃度 1 μM、最終メタノール濃度 0.6% になるようにした。0 分と 60 分の時点でアリコートを取り出した。同容量の 50/50 アセトニトリル/メタノールを加え、試料を遠心処理し、0 分と 60 分の時点の試料から生成したピーク面積を比較するタンデム質量分析を併用した HPLC で、上清に残っている化合物量を測定した。二重試料によって、ヒト肝臓ミクロソームを用いる 60 分のインキュベーション後に、96% および 118% の化合物（2）が残っていることが明らかになった。

20

【0326】

実施例 44：ラットでの化合物（2）の薬物動態

化合物（2）の脳と血漿での濃度比を求めるために、内頸静脈カテーテルを挿入した意識のあるラット 6 匹に、3 mg/kg のペプチドを内頸静脈カテーテルに 5 分間点滴して投与した。点滴開始の 30 分後、60 分後、180 分後に、各時点でラット 2 匹ずつから末端心穿刺によって血液試料を採取し、全脳をすみやかに取り出した。血漿を遠心処理して単離した。タンデム液体クロマトグラフィ質量分析（LC-MS/MS）を用いて、ラットの血漿および脳における薬剤濃度を定量化した。結果を図 5 に示す。

30

【0327】

実施例 45：マウスおよびカニクイザルでの化合物（6）の薬物動態

合成ペプチドアミド化合物を皮下注射により ICR マウス（n=6、オス、体重 23～37 g、Charles River, Wilmington, MA）に単回ボラス投与し、注射の 5 分後、10 分後、15 分後、20 分後、30 分後、60 分後、90 分後、120 分後、180 分後に血漿試料を採取した。1 mg/kg 用量の化合物（6）を ICR マウスに皮下注射後に得られた結果を図 6 に示す。最大血漿濃度に達した後に血漿濃度が 50% 落ちるまでに必要な時間として、この研究での「半減期」を求めた。最も遅い消失フェーズの消失速度定数に基づく、コンピュータで求めた消失半減期は、さらに長くなるものと思われる。以下の表 V を参照のこと。

40

【0328】

実施例 46：サルでの合成ペプチドアミド化合物の薬物動態

3～7 歳で体重 3～5 キログラムのオスのサルすなわち、Macaca fascicularis (SNBL

50

USA, Ltd., Everett, WA、系統発生学的小および生理学的の両方で人間の近縁種である、研究目的で繁殖したカニクイザル）に試料を投与した。試料の投与は、腕または脚の表在静脈（上腕または伏在静脈など）に対して、0.9%注射用生理食塩水USP (Baxter Healthcare, Deerfield, Ill.)にて以下のようにして実施した。試験対象となる本発明の化合物（6）4mgを含有する試料を2mlの0.9%注射用生理食塩水で調製した。用量2mlを被験動物に静脈内ボラス投与し、個々の動物の体重に応じて用量約0.4～0.65mg/kgになるようにした。注射の2分後、5分後、10分後、15分後、30分後、さらには1時間後、2時間後、4時間後に、末梢静脈からの静脈穿刺により血液試料0.6mlを採取した。リチウムヘパリンを入れて事前に冷却しておいたガラス製試験管に試料を入れ、すみやかに氷冷した。2～8℃にて2,000gで15分間の遠心処理後に血漿を回収した。各試料の血漿層をポリプロピレン管に移し、アッセイを行うまで－60℃以下で冷凍保存した。

【0329】

解凍血漿のアリコート100マイクロリットルを、適切な内部標準（この場合、周知の標準合成ペプチドアミド化合物）を0.1%TFAに入れた400ng/mlの溶液5マイクロリットルでスパイクし、100マイクロリットルの0.1%TFA/アセトニトリル溶液でタンパク質を沈殿させた。試料を1000×gで5分間遠心処理し、上清をLC-MSで分析した。このLC-MS分析については、Surveyor HPLCシステム(Thermo Electron Corporation, Waltham, Massachusetts, USA)にインタフェースしたFinnigan LCQ Deca質量分析計で実施した。HPLC分析については、2.1×150mmのC18逆相カラムで、0.01%TFA/水溶液での0.01%TFA/アセトニトリル溶液の勾配を用いて実施した。質量検出については、選択反応検出モード（SRM）で実施した。

【0330】

同一の内部標準を用いて、ブランクのカニクイザル血漿分析物の校正曲線に対して定量化を行った。データ解析と薬物動態学的パラメータの抽出は、PK Solution 2.0プログラム(Summit Research Services, Ashland, Ohio, USA)を使って行った。以下の表Vに、化合物（6）をICRマウスに皮下注射した場合の半減期と、この化合物をカニクイザルに静脈内ボラス投与した場合の半減期を示す。

【0331】

【表6】

表V 合成ペプチドアミド化合物(6)のin vivo 半減期*

	ICR マウス	カニクイザル
投与経路	皮下	静脈内
半減期(分)	22.0	58.6

*化合物(6)はD-Phe-D-Phe-D-Leu-(ε-Me)D-Lys-[N-(4-ピペリジニル)-L-プロリン]-OH (配列番号1)である

【0332】

0.56mg/kgの静脈内ボラス投与後のカニクイザル血漿中での化合物（3）の持続性を図7に示す。

【0333】

実施例47：マウスでの酢酸ライジングアッセイ

この試験では、内臓痛またはpH感受性侵害受容器の活性化に関連する痛みに対して鎮痛活性を呈する化合物を特定する[Barber and Gottschlich (1986) Med. Res. Rev. 12: 525-562; Ramabadran and Bansinath (1986) Pharm. Res. 3: 263-270を参照のこと]。希酢酸溶液を腹腔内投与すると、マウスにライジング挙動が生じる。ライジングとは、前

肢の伸びと体の伸びを伴う腹筋の収縮として定義される。被験化合物が存在する場合と存在しない場合とで観察されたライジング数をカウントし、化合物の鎮痛活性を求める。

【0334】

ライジングアッセイを実施する日ごとに、（被験化合物を注射用量から除外したこと以外は）被験群と同様に処理した溶媒剤対照群のマウス（ $n = 6 \sim 8$ ）を常を含むようにして、この群における平均総ライジング数を、同じ日に被験化合物を投与した他のすべてのマウスに対する痛みの受容の減少率0%の絶対基準点として利用した。具体的には、被験化合物を投与した各マウスの総ライジング数を、以下の式により痛みの受容の減少率（%）に換算した。

【数2】

10

$$\text{痛みの受容の減少率 (\%)} = \frac{(W_v - W_c)}{W_v} \times 100$$

式中、 W_v は溶媒剤処理した群での平均ライジング数であり、 W_c は化合物処理したマウスでのライジング数である。2パラメータでのヒルの方程式（別名E m a xモデル）を用いてデータを分析した。ここで、E m a xを100%抗痛覚（すなわち、酢酸投与後15分間ライジングが生じない）と仮定する。

【0335】

体重23～37グラムのオスのICRマウスの体重を計測し、SANI-CHIPS齧歯類用床敷を底に薄く敷いた個別の観察チャンバ（通常は4000ml容のガラスビーカー）に入れた。被験化合物の活性および力価を求めるため、酢酸溶液投与の15分前または180分前に、用量の異なる化合物溶液または溶媒剤を頸背部に皮下注射した。化合物または溶媒剤対照の投与後、マウスを個々の観察チャンバに戻し、酢酸溶液の腹腔内投与に備えた。15分後または3時間後、化合物の送達と酢酸注射との間に各実験で規定した時間間隔に従って、0.6%（v/v）酢酸溶液10ml/kgに相当する用量を右下腹部に注射した。注射直後、マウスをその観察チャンバに戻し、ライジング数の記録をすみやかに開始した。酢酸注射の時点から開始して15分間にわたってライジング数をカウントし、5分間ずつ3回にわたって（0～5分、5～10分、10～15分）データを集めた。

20

【0336】

データをED₅₀とヒル係数で示した。ED₅₀については、平均（sem）の平均±標準誤差（ED₅₀ + / - sem）またはtスコアを用いる95%信頼区間（95%CI）での幾何平均のいずれかで表す。ヒル係数は、マウスから得た値から算出した算術平均±semとして表したものである。化合物（2）の結果を図8（黒い丸）に示す。

30

【0337】

用量応答分析を行うために、式： $\%MPE = ((\text{試験スコア} - \text{溶媒剤} - \text{処理スコア}) / (0 - \text{溶媒剤} - \text{処理スコア})) \times 100$ を用いて生データを%最大可能性効果（%MPE）に換算した。1要因ANOVAと、これに続くダネットの事後検定によって、生データを分析した。線形回帰分析によって、過敏症の50%減弱（ED₅₀）を引き起こす用量を求めた。化合物については静脈経路で投与した。これらの実験の結果を表VIにまとめておく。

40

【0338】

【表 7】

表 VI. 化合物(2)および(5)がマウスでの酢酸ライジングにおよぼす影響

化合物	ED ₅₀ (mg/kg, 静注、 15 分後用量)	% MPE (180 分 後 ED ₉₀)	% MPE (240 分後 ED ₉₀)	% MPE (300 分後 ED ₉₀)
(2)	0.07(0.06-0.1)	77 ± 5%	81 ± 4%	84 ± 4%
(5)	0.01(0.01~0.02)	54 ± 10%	NT	NT

10

NT - 判断せず

【0339】

上述したように0.01、0.03、0.1、0.3 mg/kgを静脈内投与して、マウスの酢酸ライジングモデルでの化合物(2)の用量応答を生成した。上述の方法を用いて、図9に示すように、0.01 mg/kgから0.3 mg/kgの用量範囲について、化合物(2)の線形用量応答関係を求めた。

【0340】

実施例48：皮下注射後の化合物による鎮静を測定するためのマウスにおける歩行運動の阻害（歩行運動低下アッセイ）

20

鎮静活性を呈する化合物は、試験チャンバ内のマウスの自然な歩行運動を阻害する。被験化合物の潜在的な鎮静作用を求めるには、被験化合物または溶媒対照の投与後の歩行運動低下の度合いを判断し、この目的で設計された特別な装置(Opto-Varimex Activity Meter)と比較すればよい。各実験の開始時、各々のマウスの体重を計測し、検査をして健康状態が良好であると判断した。被験化合物の活性および力価を求めるため、データ収集を開始する15分前または180分前に、用量の異なる化合物溶液または溶媒剤を皮下注射した。皮下注射はマウスの頸背部に対して行い、注射針が正しく入るように「テント」形につまんだ。注射後、Opto-Varimex Activity Meter装置内のPlexiglasボックス(43 cm×43 cm)にマウスを個々に入れた。マウスを装置に入れる前に、SANI-CHIPS齧歯類用床敷をPlexiglasボックスの底に薄く敷き、快適な環境を用意しておいた。続いて、各Opto-Varimex Activity Meter装置の電源を入れ、ATM3 Auto-Track Systemによるデータの取得を開始した。データを処理し、実施例47のライジングアッセイのデータについて説明したものと同様に結果を表した。

30

【0341】

実施例49：合成ペプチドアミド(3)の鎮痛作用対鎮静作用

化合物による酢酸ライジングの阻害は、鎮痛作用（抗侵害受容作用とも呼ばれる）を示す1つの指標である。同様に、化合物を投与することで生じる歩行運動の減少を、その一般的な鎮静作用を示す尺度として利用することができる。

【0342】

実施例34にて説明し、図8（黒い丸）に示したように、IRCマウスでの酢酸ライジングアッセイで求めたED₅₀は、合成ペプチドアミド(3)を皮下送達した場合で52 ug/kgであった。実施例35で説明したような歩行運動アッセイの阻害時に求めたED₅₀値は、同一の合成ペプチドアミドを皮下投与した場合で2685 ug/kgであった。図8（黒い四角）を参照のこと。鎮静作用に対する鎮痛作用の治療可能比は、鎮静作用を得るのに必要なED₅₀のほうが鎮痛作用を得るのに必要なED₅₀よりも何倍も高い。よって、化合物(3)は、割合が(2685/52)すなわち、51.6倍になる。よって、化合物(3)の治療可能比は約52倍である。

40

【0343】

実施例50：脊髄神経結紮(SNL)モデル

SNLモデル(Kim and Chung 1992)を利用して、慢性神経因性疼痛を誘導した。ラット

50

をイソフルランで麻酔し、左L5横突起を取り出し、L5とL6の脊髄神経を6-0号の絹縫合糸でしっかりと結紮した。体の中は縫合、外側はステープルで創を閉じた。曲げ剛性の異なる(0.4、0.7、1.2、2.0、3.6、5.5、8.5、15g)8本のSemmes-Weinsteinフィラメント(Stoelting, Wood Dale, IL, USA)を用いて、アップダウン法(Chaplan et al. 1994)で、非侵害性機械的感受性について、SNL、ベースライン、受傷後および治療後14日の値を評価した。孔をあけた金属製のプラットフォームにラットを載せ、最低でも試験前に30分間かけて周囲の環境に馴化させた。各治療群での各前肢の平均と平均の標準誤差(SEM)を求めた。この刺激は通常、有痛性であるとはみなされないため、この試験で傷害によって応答性に有意な増加が認められた場合は、これを機械的異痛の尺度とする。線形回帰分析によって、機械的過敏反応の50%減弱(ED₅₀)を引き起こす用量を求めた。化合物(2)については静脈経路で投与した。これらの実験の結果を図10にまとめておく。このモデルで化合物(2)のED₅₀を計算で求めたところ、0.38mg/kgであった(0.31~0.45; 95%信頼区間)。

10

【0344】

実施例51：化合物(2)、(3)および(4)で誘導する眼の痛覚消失

眼の痛覚消失を、5容量の被験化合物を試験濃度で50マイクロリットルずつ生理食塩水に入れたものを、20分以内に未処理のNew Zealand系アルビノウサギの右眼に点眼することにより評価した。被験化合物を最後に点眼してから15分後、各ウサギの処理眼に10mg/ml カプサイシン(33mM) 30マイクロリットルを単回点眼投与した。カプサイシンは、角膜痛を誘導することが知られている。透明定規を利用して、処理眼と未処理眼についてミリメートル単位で測定される眼裂を測定することで、角膜痛を評価した。この動物モデルでは、カプサイシン点眼後の眼裂の大きさの減少が、眼の痛みの度合いを示す指標となる。よって、被験化合物での処理後に眼裂の大きさの回復(増大)が観察された場合は、これをカプサイシンによる眼の痛みが軽減されている尺度とする。

20

【0345】

これらの評価については、被験化合物での処理前(試験前)、カプサイシンの点眼直前、カプサイシンの点眼1分後、5分後、10分後、15分後、20分後、25分後、30分後、40分後、50分後、60分後に実施した。本発明のκオピオイドアゴニストを事前に点眼したウサギへのカプサイシン点眼後ならびに、局所麻酔作用下で標準濃度のジルチアゼムすなわちベンゾジアゼピン系カルシウムチャネルブロッカーを事前点眼した後、10~30分の時間について平均した(制御率(percent of control)として表される未処理の眼に対する)眼裂測定値の平均を表VIIに示す。Gonzalez et al., (1993) Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 34: 3329-3335を参照のこと。

30

【0346】

【表 8】

表 VII. 眼の痛みを軽減する上での化合物(2)、(3)および(4)の作用

化合物	時間 (カプサイシン後)	平均 (% 対照)	SEM (% 対照)
なし(生理食塩水)	10～30 分	61.2	6.5
ジルチアゼム 10mM	10～30 分	74.6	5.5
(2)を 10mg/ml	10～30 分	82.7	5.3
(3)を 10mg/ml	10～30 分	76.0	5.2
(4)を 10mg/ml	10～30 分	56.7	8.4

平均は動物 5 匹の値である;SEM:平均の標準誤差

【0347】

実施例 52: カプサイシンで誘導する眼の痛みにおける化合物(2)の用量反応

未処理のNew Zealand系アルビノウサギの右眼に何通りかの濃度で点眼した化合物(2)で誘導した眼の痛覚消失を、上述したようにして評価した。全身活性対照としてのモルヒネ(非選択的オピオイドアゴニスト) 10 mg/ml で誘導した痛覚消失ならびに、同一実験にて同一条件下での外用活性対照としての 10 mM のジルチアゼムと、結果を比較した。以下の表 V I I I に累積結果を示す。

【0348】

【表 9】

表 VIII カプサイシンで誘導する眼の痛みにおける化合物(2)の用量反応

化合物	時間 (カプサイシン後)	平均 (% 対照)	SEM (% 対照)
モルヒネ 10mg/ml	10～30 分	74.8	11.1
ジルチアゼム 10mM	10～30 分	77.6	7.4
(2)を 1mg/ml	10～30 分	60.5	9.9
(2)を 10mg/ml	10～30 分	56.6	9.3
(2)を 25mg/ml	10～30 分	75.5	7.1
(2)を 50mg/ml	10～30 分	87.5	4.8

平均は動物 10 匹の値である;SEM:平均の標準誤差

【0349】

実施例 53: ラット膝炎モデルにおける化合物(2)の作用

100%エタノールに溶解させた二塩化ジブチルスズ(DBTC, Aldrich Milwaukee, WI)を用量 8 mg/kg でイソフルランを麻酔下(2～3リットル/分、麻酔されるまでは4%/vol、続いて最後まで2.5%/vol)にてラットに静脈内投与して、慢性の膝臓炎症を誘導した。対照動物には、同一容量の溶媒剤(100%エタノール)を単独で投与

した。校正したvon Freyフィラメント（4 g）を用いて、ラット腹部への圧刺激に対する腹部の感受性を判断して、腓臓の痛みを評価した。吊した金網のケージにラットを入れ、試験前に30分間馴化させた。腹部の激しい逃避、腹部の部分を舐める、あるいは、全身の逃避で応答を示した。1回の試験でvon Freyフィラメントでの刺激を10秒ごとに10回行い、動物が反応をやめて比較的静止した位置に戻るようにする。各試験での逃避反応が生じる頻度の平均を10回の印加の反応数で表す。腓臓に炎症のないラットは一般に、von Freyフィラメントでの圧刺激に対する逃避頻度が0～1である。DBTC投与後、薬理学的操作の前に動物を6日間かけて回復させた。十分な腹部過敏症を示していない動物（すなわち、可能性のある10匹のうち正の応答が5未満であったラット）を研究から除外した。

10

【0350】

（可能性のある10匹のうち）腹部圧刺激後の正の応答数を各時点で記録した。データについては、対応するそれぞれの時点での各投与群の平均逃避数（ $\pm$ SEM）として提示する。用量反応分析を行うために、式： $\%MPE = ((\text{試験スコア} - \text{DBTC後スコア}) / (\text{DBTC前スコア} - \text{DBTC後スコア})) \times 100$ を用いて生データを%最大可能性効果（%MPE）に換算した。繰り返し測定する2要因ANOVAで続いて、ボンフェローニ事後検定で生データを分析した。線形回帰分析によって、過敏症の50%減弱（ED₅₀）を引き起こす用量を求めた。化合物については腹腔内経路で投与した。これらの実験の結果を図11にまとめておく。このモデルで化合物（2）のED₅₀を計算で求めたところ、0.03 mg/kgであった（0.006～0.14；95%信頼区間）。

20

【0351】

化合物（2）（1 mg/kg）の薬効が末梢κオピオイド受容体の活性化によるものであるか否かを判断するために、化合物（2）での処置前に、選択的κオピオイド受容体アンタゴニストであるnor-BNI（1 mg/kg）または、血液脳関門を通過しない非選択的オピオイド受容体アンタゴニストであるナロキソンメチオジド（10 mg/kg）のいずれかで、8匹のラットからなる群を前処理した。これらの研究の結果を図12にまとめておく。

【0352】

実施例54：マウスにおける搔痒モデル

10匹（1つの例では11匹）のオスのSwiss Websterマウス（25～30 g）を用いた。各マウスの体重を計測し、矩形の観察箱に別々に入れて少なくとも1時間かけて馴化させた。マウスの尾を温水に30秒間浸して尾静脈を拡張させ、続いて溶媒剤（生理食塩水）または化合物（2）（遊離塩基0.01 mg、0.03 mg、0.10 mg、0.30 mg/kg）を静脈注射した。15分後、各マウスにGNTIジヒドロクロライド（Tocris）（0.30 mg/kg；0.25 ml/25 g）または化合物48/80（Sigma）（0.10 mlの生理食塩水中、50 μg）を首の後ろに皮下投与した。マウスをペアで（場合によっては3匹で）観察し、首を後肢で引っ掻く動きの回数を30分間数えた。化合物（2）によって生じる引っ掻きの平均阻害率をプロットし、線形回帰分析によって50%阻害に関連する用量を得た（PharmProTools）。これらの実験の結果を表IXにまとめておく。

30

40

【0353】

【表 10】

表 IX. -マウスで化合物 48/80 または GNTI のいずれかで誘導した掻痒に
化合物(2) がおよぼす作用

化合物番号	化合物 48/80 モデル ED ₅₀ (mg/kg、静注、 15 分後用量)	GNTI モデル ED ₅₀ (mg/kg、静注、 15 分後用量)
(2)	0.08 (0.04~0.2)	0.05 (0.02~0.1)

10

【0354】

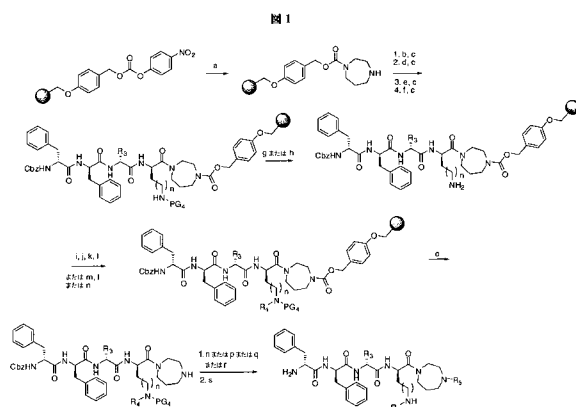
本明細書に引用した各米国特許および特許出願公開公報の明細書ならびに、参考文献の本文について、その全体を本明細書に援用する。これらの参考文献のうち、1つまたは複数に記載された定義または説明が、本明細書における対応の定義または説明と矛盾する場合は、本明細書に開示の定義または説明が想定される。

【0355】

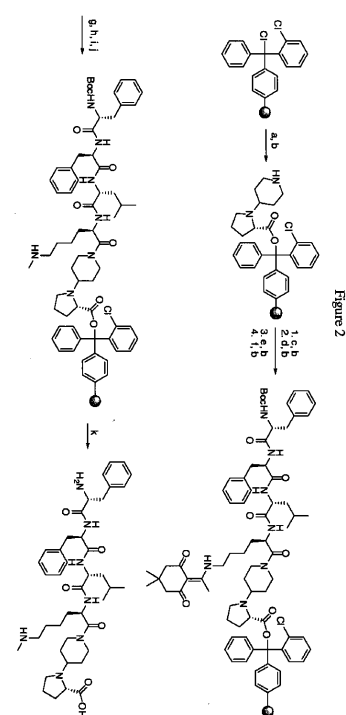
本明細書に記載の例は例示目的のものにすぎず、本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。本発明の完全な範囲については、当業者であれば自明であろう。

20

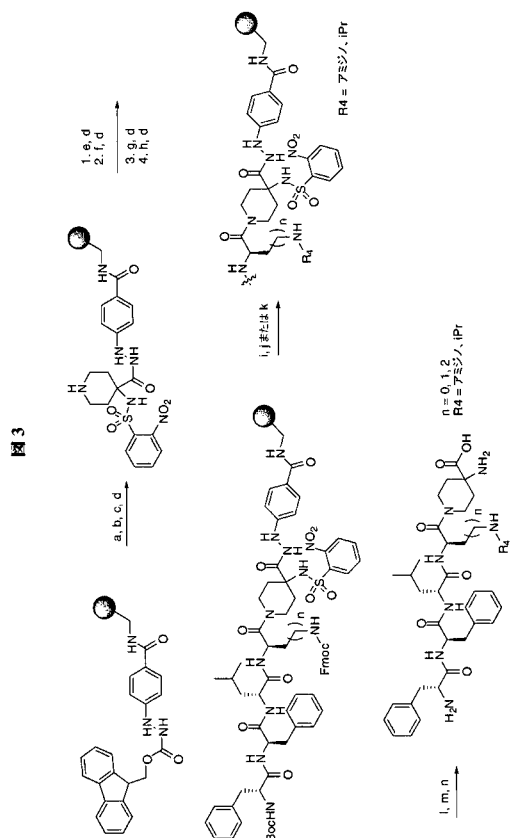
【図 1】



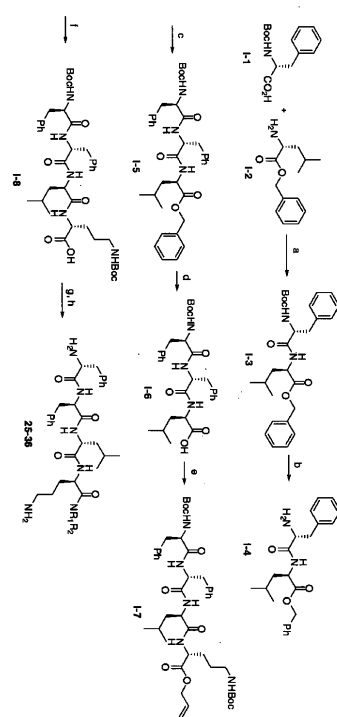
【図 2】



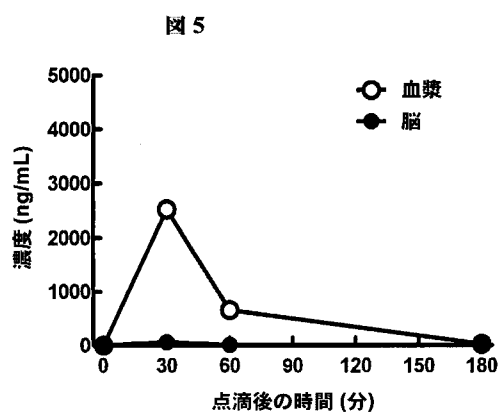
【図 3】



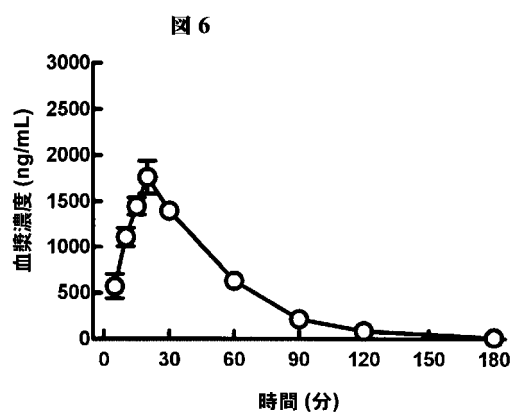
【図 4】



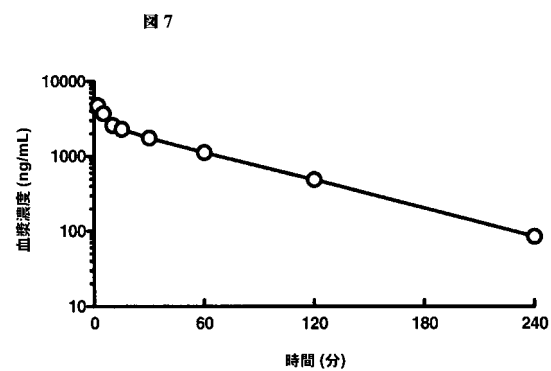
【図 5】



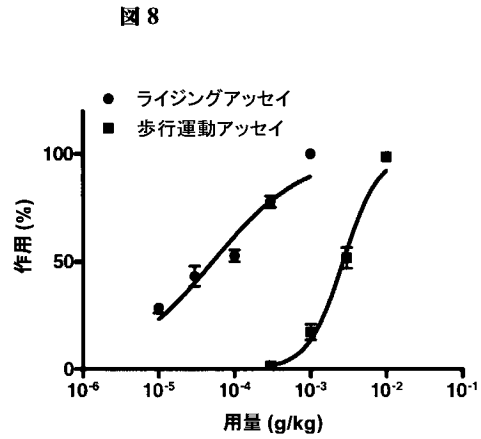
【图 6】



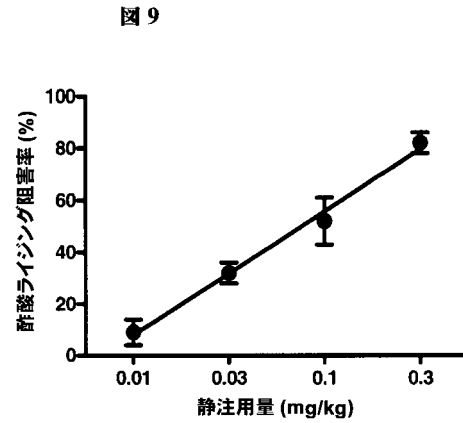
【图 7】



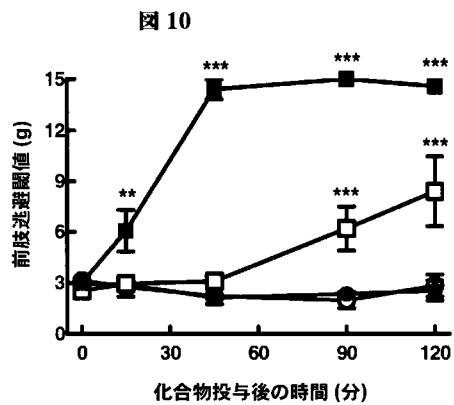
【図 8】



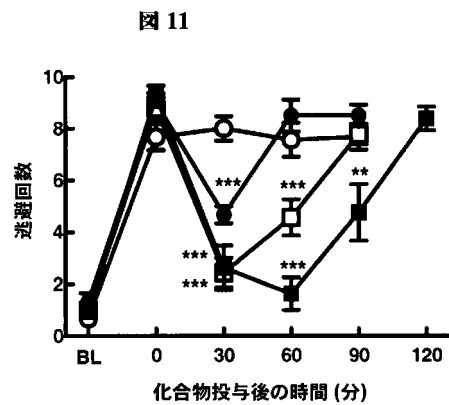
【図 9】



【図 10】

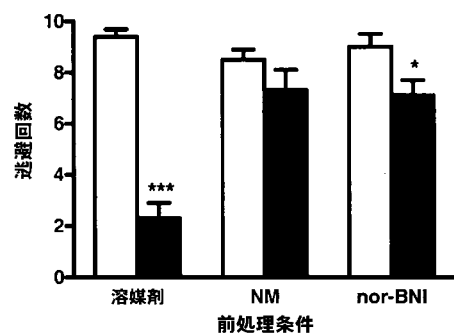


【図 11】



【図 1 2】

図 12



【配列表】

0005244810000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.

F I

A 6 1 P	25/04	(2006.01)	A 6 1 P	25/04	
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	17/04	(2006.01)	A 6 1 P	17/04	
A 6 1 P	7/10	(2006.01)	A 6 1 P	7/10	
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	11/14	(2006.01)	A 6 1 P	11/14	
A 6 1 P	27/06	(2006.01)	A 6 1 P	27/06	
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 P	3/12	(2006.01)	A 6 1 P	3/12	
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	13/12	(2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	15/00	(2006.01)	A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P	1/14	(2006.01)	A 6 1 P	1/14	
A 6 1 P	27/02	(2006.01)	A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	27/16	(2006.01)	A 6 1 P	27/16	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	25/06	(2006.01)	A 6 1 P	25/06	
A 6 1 P	37/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P	37/00	
A 6 1 P	17/06	(2006.01)	A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P	9/04	(2006.01)	A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	15/14	(2006.01)	A 6 1 P	9/04	
A 6 1 P	15/08	(2006.01)	A 6 1 P	15/14	
A 6 1 P	15/10	(2006.01)	A 6 1 P	15/08	
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	15/10	
A 6 1 P	25/20	(2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/20	
A 6 1 P	13/02	(2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	1/16	(2006.01)	A 6 1 P	13/02	
A 6 1 P	9/12	(2006.01)	A 6 1 P	1/16	
			A 6 1 P	9/12	
			A 6 1 P	43/00	1 2 1

(72)発明者 メンザギ, フレデリック

アメリカ合衆国, ニューヨーク州 1 0 5 8 0, ライ, メドウ プレイス 5 5

(72)発明者 ジアング, グアンチェン

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 2 1 3 0, サン ディエゴ, キッピングズ ロード 1 3 3 0

(72)発明者 アレキサンダー, ロベルタ, ヴェッザ

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 2 1 3 0, サン ディエゴ, カミニト ミラ デル マル 1 2 5 7 8

(72)発明者 スエイラスーディアス, ハビエル

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 9 2 0 3 7, ラ・ホーヤ, アパート ナンバー1 3 8, ヴィラ ラ・ホーヤ ドライブ 8 5 2 6

(72)発明者 スペンサー, ロバート, エイチ.

アメリカ合衆国, ペンシルベニア州 1 8 9 3 8, ニュー ホープ, アッパー ヨーク ロード 6 9 0 8

- (72)発明者 シャルマース, デレク, ティー.
アメリカ合衆国, コネティカット州 06878, リバーサイド, スプルース ストリート 34
- (72)発明者 ルオ, チョン
アメリカ合衆国, ニューヨーク州 10956, ニュー シティー, ハーバーミル ロード 79

審査官 清水 晋治

- (56)参考文献 特表2001-526295 (JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07K 5/00-5/12
PubMed
REGISTRY/CAPLUS (STN)