

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2020-533992
(P2020-533992A)

(43) 公表日 令和2年11月26日(2020.11.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C12N 15/54 (2006.01)	C12N 15/54	4B065
C07K 7/08 (2006.01)	C07K 7/08 ZNA	4C076
C07K 7/06 (2006.01)	C07K 7/06	4C084
C07K 14/00 (2006.01)	C07K 14/00	4C086
C12N 15/63 (2006.01)	C12N 15/63 Z	4H045
	審査請求 未請求 予備審査請求 未請求	(全 37 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2020-515859 (P2020-515859)
 (86) (22) 出願日 平成30年8月31日 (2018. 8. 31)
 (85) 翻訳文提出日 令和2年5月15日 (2020. 5. 15)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2018/049155
 (87) 国際公開番号 WO2019/055236
 (87) 国際公開日 平成31年3月21日 (2019. 3. 21)
 (31) 優先権主張番号 62/559, 824
 (32) 優先日 平成29年9月18日 (2017. 9. 18)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関 米国 (US)

(71) 出願人 596060697
 マサチューセッツ インスティテュート
 オブ テクノロジー
 アメリカ合衆国マサチューセッツ州021
 39ケンブリッジ, マサチューセッツ・ア
 ヴェニュー・77
 (74) 代理人 100102842
 弁理士 葛和 清司
 (72) 発明者 ツァイ, リーフエイ
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O
 2138、ケンブリッジ、フレッシュ ポ
 ンド パークウェイ 26

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 サイクリン依存性キナーゼ5 (CDK5) 阻害性ペプチド

(57) 【要約】

本発明は、認知機能を促進するおよび/または認知機能障害および不全を処置する方法および組成物に関する。とりわけ方法は、対象に特異的なCDKペプチドインヒビターおよび薬学的に許容し得る担体を投与することにより達成される。

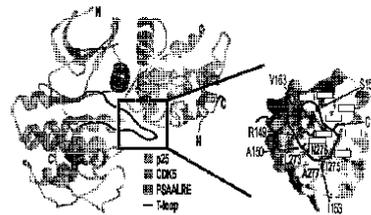


Fig. 1A

The sequence of CDK5 inhibitor (CDK5) peptide

	56	160	168
CDK5_Human	NYLAKRKHCHTNTNAGSYVLRGSGYGLGGKSTP		
CDK5_Yeast	NYLAKRKHCHTNTNAGSYVLRGSGYGLGGKSTP		
CDK5_Celegans	NYLAKRKHCHTNTNAGSYVLRGSGYGLGGKSTP		
CDK5_Drosophila	NYLAKRKHCHTNTNAGSYVLRGSGYGLGGKSTP		
CDK5_Human	NYLAKRKHCHTNTNAGSYVLRGSGYGLGGKSTP		

Fig. 1B

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の構造：A R A F G X₁ P V R C X₂ S* (X₁ = I または V および X₂ = Y または F) を有する配列番号 1 のアミノ酸配列と比べてその長さにわたって少なくとも 50% のアミノ酸配列同一性を有する、5 ~ 50 アミノ酸長のペプチドおよび薬学的に許容し得る担体を含む、医薬組成物。

【請求項 2】

ペプチドが、配列番号 2 を含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

ペプチドが、配列番号 1 の配列内に 1 以上の保存的置換を含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。 10

【請求項 4】

薬学的に許容し得る担体が、ポリマーを含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 5】

ポリマーが、親水性ブロックおよびエンドソーム溶解性ブロックを含む、請求項 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

親水性ブロックがポリエチレングリコールメタクリラートを含み、および、エンドソーム溶解性ブロックがジエチルアミノエチルメタクリラート-ブチルメタクリラートコポリマーを含む、請求項 5 に記載の医薬組成物。 20

【請求項 7】

ポリマーが、pH、温度、UV 可視光、光照射、電場への暴露、イオン強度、およびある化学物質の濃度からなる群から選択される 1 以上の刺激に、特性の変化を提示することによって応答する刺激応答性ポリマーである、請求項 4 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

ペプチドが、配列番号 1 の 1 ~ 2 個のアミノ酸の欠失を有する、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

ペプチドが、配列番号 1 の N 末端において 1 以上の追加のアミノ酸を含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。 30

【請求項 10】

ペプチドが、配列番号 1 の C 末端において 1 以上の追加のアミノ酸を含む、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

ペプチドが、リンカーを介して非ペプチド分子に連結される、請求項 1 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

非ペプチド分子が、PEG または TEG である、請求項 11 に記載の医薬組成物。

【請求項 13】

ペプチドが、強化または安定化された二次構造を有する、請求項 1 に記載の医薬組成物。 40

【請求項 14】

ペプチドが、機能的ドメインに連結される、請求項 1 ~ 13 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

機能的ドメインが、トランス活性化ドメイン、標的ドメインまたは安定化ドメインである、請求項 14 に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

トランス活性化ドメインが、転写のトランス活性化因子 (TAT) のペプチドである、請求項 15 に記載の医薬組成物。 50

【請求項 17】

トランス活性化ドメインが、YGRKKRRQRRR（配列番号 4）のペプチド配列である、請求項 15 に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

以下の構造：A R A F G X₁ P V R C X₂ S*（X₁ = I または V および X₂ = Y または F）を有する配列番号 1 のアミノ酸配列と比べてその長さにわたって少なくとも 50% のアミノ酸配列同一性を有する、5 ~ 25 アミノ酸長から本質的になる、ペプチド。

【請求項 19】

1 以上の保存的置換を含む、請求項 18 に記載のペプチド。

【請求項 20】

配列番号 1 のアミノ酸配列と比べてその長さにわたって少なくとも 60%、70%、80%、90% または 95% のアミノ酸配列同一性を有する、請求項 18 に記載のペプチド。

【請求項 21】

配列番号 1 の配列内の 1 以上の保存的置換を含む、請求項 18 に記載のペプチド。

【請求項 22】

配列番号 1 の 1 ~ 2 個のアミノ酸の欠失を有する、請求項 18 に記載のペプチド。

【請求項 23】

配列番号 1 の N 末端において 1 以上の追加のアミノ酸を含む、請求項 18 に記載のペプチド。

【請求項 24】

配列番号 1 の C 末端において 1 以上の追加のアミノ酸を含む、請求項 18 に記載のペプチド。

【請求項 25】

リンカーを介して非ペプチド分子に連結される、請求項 18 に記載のペプチド。

【請求項 26】

非ペプチド分子が、PEG または TEG である、請求項 25 に記載のペプチド。

【請求項 27】

強化または安定化された二次構造を有する、請求項 18 に記載のペプチド。

【請求項 28】

12 ~ 50 アミノ酸長であり、以下の構造：A R A F G X₁ P V R C X₂ S*（X₁ = I または V および X₂ = Y または F）を有する配列番号 1 のアミノ酸配列を含む、ペプチド。

【請求項 29】

請求項 18 ~ 24 および 28 のいずれか一項に記載のペプチドをコードする、組み換え核酸。

【請求項 30】

プロモーターに作動的に連結される請求項 29 に記載の核酸を含む、組み換え発現ベクター。

【請求項 31】

請求項 30 に記載の組み換え発現ベクターを含む、組み換え宿主細胞。

【請求項 32】

特異的な CDK5 ペプチドインヒビター、または CDK5 の定常活性を妨害することまたは CDK1 もしくは CDK2 と相互作用することなしに CDK5 - p25 / p35 相互作用を妨害するペプチドインヒビターをコードする核酸を、対象へ投与することを含む、対象において神経変性状態を処置するための方法。

【請求項 33】

対象がまた、障害を処置する追加の治療を受ける、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 34】

特異的な CDK5 ペプチドインヒビターが、経口で、経皮で、静脈内に、皮膚に、皮下

10

20

30

40

50

に、経鼻で、筋肉内に、腹腔内に、頭蓋内に、または脳室内に投与される、請求項 3 2 または 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 5】

神経変性状態が、アルツハイマー病、ハンチントン病、前頭側頭型認知症、発作誘導性記憶喪失、統合失調症、ルビンシュタイン・テイビ症候群、レット症候群、脆弱性 X、レビー小体認知症、血管性認知症、ADHD、失読症、双極性障害および自閉症に関連する社会、認知および学習障害、外傷性頭傷害、または注意欠陥障害である、請求項 3 2 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 3 6】

認知機能障害 / 不全が、不安症、条件付けされた恐怖反応、パニック障害、強迫性障害、外傷後ストレス障害、恐怖症、社交不安症、または物質依存性回復に関連する、請求項 3 2 ~ 3 4 のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 3 7】

対象を、認知行動療法 (CBT)、精神療法、行動曝露治療、仮想現実曝露 (VRE) または認知矯正治療に曝すことをさらに含む、請求項 3 3 に記載の方法。

【請求項 3 8】

CDK5 ペプチドインヒビターが、1日に1回、2日毎、3日毎、4日毎、5日毎、6日毎、または7日毎に投与される、請求項 3 2 に記載の方法。

【請求項 3 9】

ペプチドが、以下の構造： $ARAFGX_1PVRCX_2S^*$ ($X_1 = I$ または V および $X_2 = Y$ または F) を有する配列番号 1 のアミノ酸配列と比べてその長さにわたって少なくとも 50% のアミノ酸配列同一性を有する 5 ~ 50 アミノ酸長を含む、請求項 3 2 ~ 3 8 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 4 0】

ペプチドが、1以上の保存的置換を含む、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 1】

ペプチドが、その長さにわたって配列番号 1 のアミノ酸配列と比べて少なくとも 60%、70%、80%、90% または 95% のアミノ酸配列同一性を有する、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 2】

ペプチドが、配列番号 1 の配列内に 1 以上の保存的置換を含む、請求項 3 9 に記載の方法。

30

【請求項 4 3】

ペプチドが、配列番号 1 の 1 ~ 2 個のアミノ酸の欠失を有する、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 4】

ペプチドが、配列番号 1 の N 末端において 1 以上の追加のアミノ酸を含む、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 5】

ペプチドが、配列番号 1 の C 末端において 1 以上の追加のアミノ酸を含む、請求項 3 9 に記載の方法。

40

【請求項 4 6】

ペプチドが、リンカーを通じて非ペプチド分子に連結される、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 7】

非ペプチド分子が、PEG または TEG である、請求項 4 6 に記載の方法。

【請求項 4 8】

ペプチドが、強化または安定化された二次構造を有する、請求項 3 9 に記載の方法。

【請求項 4 9】

ペプチドが、8 ~ 25 個のアミノ酸の長さを有する、請求項 3 5 に記載の方法。

50

【請求項 50】

ペプチドが、8～20個のアミノ酸の長さを有する、請求項35に記載の方法。

【請求項 51】

ペプチドが、10～15個のアミノ酸の長さを有する、請求項35に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、35 U.S.C. § 119(e)の下で、2017年9月18日に出願された米国仮出願番号第62/559,824号の出願日の利益を主張し、その内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

【背景技術】

【0002】

本発明の背景

脳萎縮は、正常な加齢の間に起こり、および不全な認知機能および記憶喪失と関連付けられる神経疾患のほぼ特色である。アルツハイマー病、ハンチントン病、前頭側頭型認知症および他の関連する認知症は、認知機能における著しい損失を引き起こし、しばしば苦しめられた人を病弱な状態へ弱める。アルツハイマー病および関する認知症のための治療は、知られず、およびそれらの疾患の原因は、十分に理解されていない。その上、前臨床研究は、実質的な神経細胞喪失が起こった後、失われた記憶を回復するためのストラテジーを、いまだに模索していない。

20

サイクリン依存性キナーゼ5 (CDK5)、タウキナーゼおよびCDKファミリーのメンバーは、脳の発達において複数の役割を果たし、および数多の神経疾患に関係づけられる。具体的に言うと、CDK5、プロリン特異的セリン/トレオニンキナーゼは、p25タンパク質によって活性化される。これは、カルシウムの細胞内レベルが上昇時に起こり、疼痛を活性化し、そして次いでp35をp25へ切断し、および次いでp25はCDK5と結合する。p35と似ず、p25は直ちに分解されず、およびそのCDKに対する結合は定常的にCDK5を活性化し、タウの超リン酸化を導く。CDK5活性の調節解除が、神経細胞の死、上昇したアミロイド (A β) 蓄積、シナプスの可塑性の減少、細胞骨格の妨害、形態変性、アポトーシス、および学習障害という結果になると示されてきた。

30

【発明の概要】

【0003】

本発明の概要

本発明は、一側面において、認知機能を促進するため、およびよって記憶喪失および認知機能障害/不全の処置のための方法および組成物の発見に関する。結果的に、本発明の一側面は、認知機能障害またはこれを必要とする対象において認知機能障害または不全を処置する方法に参与する。方法は、サイクリン依存性キナーゼ5阻害性 (CDK5i) ペプチドおよび薬学的に許容し得る担体を対象に投与することを含む。

【0004】

本発明の一側面においては、医薬組成物は以下の構造：

40

$ARAFGX_1PVRCS^*(X_1 = I \text{ または } V \text{ および } X_2 = Y \text{ または } F)$ を有する配列番号1のアミノ酸配列と比べてその長さにわたって少なくとも50%のアミノ酸配列同一性を有する、5～50アミノ酸長のペプチドおよび薬学的に許容し得る担体を含む。いくつかの態様において、ペプチドは、配列番号2を含む。一態様において、ペプチドは、配列番号の配列内の1以上の保存的置換を含む。

【0005】

いくつかの態様において、薬学的に許容し得る担体は、ポリマーを含む。一態様において、ポリマーは、親水性ブロックおよびエンドソーム溶解性 (endosomolytic) ブロックを含む。別の態様において、親水性ブロックは、ポリエチレングリコールメタクリラートを含み、およびここでエンドソーム溶解性ブロックは、ジエチルアミノエチルメタクリラ

50

ート - ブチルメタクリレートコポリマーを含む。いくつかの態様において、ポリマーは、以下：pH、温度、UV可視光、光照射、電場への暴露、イオン強度、およびある化学物質の濃度からなる群から選択される1以上の刺激に、特性の変化を提示することによって応答する刺激応答性ポリマーである。

【0006】

いくつかの態様において、ペプチドは、配列番号1の1～2個のアミノ酸の欠失を有する。一態様において、ペプチドは、配列番号1のN末端において1以上の追加のアミノ酸を含む。別の態様において、ペプチドは、配列番号1のC末端において1以上の追加のアミノ酸を含む。いくつかの態様において、ペプチドは、リンカーを通して非ペプチド分子に連結される。一態様において、非ペプチド分子は、PEGまたはTEGである。

10

いくつかの態様において、ペプチドは、強化または安定化された二次構造を有する。

【0007】

本発明は、別の側面において、以下の構造： $ARA FG X_1 PVRC X_2 S^*$ ($X_1 = I$ または V および $X_2 = Y$ または F)を有する配列番号1のアミノ酸配列と比べて、その長さにわたって少なくとも50%のアミノ酸配列同一性を有する5～25アミノ酸長から本質的になるペプチドである。

【0008】

いくつかの態様において、ペプチドは、1以上の保存的置換を含む。一態様において、ペプチドは、配列番号1のアミノ酸配列と比べてその長さにわたって少なくとも60%、70%、80%、90%または95%のアミノ酸配列同一性を有する。別の態様において、ペプチドは、配列番号1の配列内に1以上の保存的置換を含む。いくつかの態様において、ペプチドは、配列番号1の1～2個のアミノ酸の欠失を有する。一態様において、ペプチドは、配列番号1のN末端において1以上の追加のアミノ酸を含む。別の態様において、ペプチドは、配列番号1のC末端において1以上の追加のアミノ酸を含む。

20

【0009】

いくつかの態様において、ペプチドは、リンカーを通して非ペプチド分子に連結される。一態様において、非ペプチド分子は、PEGまたはTEGである。別の態様において、ペプチドは、強化または安定化された二次構造を有する。本発明は、別の側面において、12～50アミノ酸長であり、以下の構造： $ARA FG X_1 PVRC X_2 S^*$ ($X_1 = I$ または V および $X_2 = Y$ または F)を有する配列番号1のアミノ酸配列を含むペプチドである。

30

【0010】

本開示は、別の側面において、上に記載のペプチドのいずれか1つをコードする組み換え核酸を提供する。本開示の別の側面は、プロモーターに機能的に連結される、上に記載の核酸を含む、組み換え発現ベクターを包含する。本開示のさらなる側面は、上に記載の組み換え発現ベクターを含む、組み換え宿主細胞を提供する。

【0011】

本発明は、別の側面において、特異的なCDK5ペプチドインヒビター、またはCDK5の定常活性を妨害することまたはCDK1もしくはCDK2と相互作用することなしにCDK5-p25/p35相互作用を妨害するペプチドインヒビターをコードする核酸を、対象へ投与することを含む、対象において神経変性状態を処置するための方法を提供する。

40

【0012】

いくつかの態様において、対象はまた、障害を処置する追加の治療をも受ける。別の態様において、特異的なCDK5ペプチドインヒビターは、経口で、経皮で、静脈内に、皮膚に、皮下に、経鼻で、筋肉内に、腹腔内に、頭蓋内に、または脳室内に投与される。

【0013】

いくつかの態様において、神経変性状態は、アルツハイマー病、ハンチントン病、前頭側頭型認知症、発作誘導性記憶喪失、統合失調症、ルビンシュタイン・テイビ症候群、レット症候群、脆弱性X、レビー小体認知症、血管性認知症、ADHD、失読症、双極性障

50

害および自閉症に関連する社会、認知および学習障害、外傷性頭傷害、または注意欠陥障害である。他の態様において、認知機能障害/不全は、不安症、条件付けされた恐怖反応、パニック障害、強迫性障害、外傷後ストレス障害、恐怖症、社交不安症、または物質依存性回復に関連する。

【0014】

いくつかの態様において、方法は、対象を認知行動療法(CBT)、精神療法、行動曝露治療、仮想現実曝露(VRE)または認知矯正治療に曝すことをさらに含む。一態様において、CDK5ペプチドインヒビターが、1日に1回、2日毎、3日毎、4日毎、5日毎、6日毎、または7日毎に投与される。

【0015】

いくつかの態様において、ペプチドは、以下の構造： $ARAFGX_1PVR CX_2S$
* ($X_1 = I$ または V および $X_2 = Y$ または F)を有する配列番号1のアミノ酸配列と比べてその長さにわたって少なくとも50%のアミノ酸配列同一性を有する5~50アミノ酸長を含む。

【0016】

いくつかの態様において、ペプチドは、1以上の保存的置換を含む。他の態様においてペプチドは、配列番号1のアミノ酸配列と比べてその長さにわたって少なくとも60%、70%、80%、90%または95%のアミノ酸配列同一性を有する。別の態様において、ペプチドは、配列番号1の配列内の少なくとも保存的置換を含む。いくつかの態様において、ペプチドは、配列番号1の1~2個のアミノ酸の欠失を有する。別の態様において、ペプチドは、配列番号1のN末端において1以上の追加のアミノ酸を含む。他の態様において、ペプチドは、配列番号1のC末端において1以上の追加のアミノ酸を含む

【0017】

いくつかの態様において、ペプチドは、リンカーを介して非ペプチド分子に連結する。一態様において、非ペプチド分子は、PEGまたはTEGである。別の態様において、ペプチドは、強化または安定化された二次構造を有する。

いくつかの態様において、ペプチドは、8~25個のアミノ酸の長さを有する。別の態様において、ペプチドは、8~20個のアミノ酸の長さを有する。他の態様において、ペプチドは、10~15個のアミノ酸の長さを有する。

【0018】

本発明の限定の各々は、本発明の様々な態様を網羅し得る。したがって、いかなる1つの要素または要素の組み合わせを関与する本発明の限界のそれぞれが本発明の各側面中に包含され得ることが、期待される。本発明は、その適用において構成の詳細に、および以下の記載において表記または図面において例示される、構成要素の配置に限定されない。本発明は、他の態様、および様々な手法で実践されること、または様々な手法で実施されることが可能である。また、本明細書に使用される言い回しおよび専門用語は、記載の目的のためであり、そして限定するものとして、考えられるべきではない。「包含する」、「含む」、または「有する」、「含有する」、「関与する」および本明細書におけるそれらのバリエーションは、その後リストされる項目およびその均等物ならびに追加の項目を網羅することを意味する。

【図面の簡単な説明】

【0019】

図の簡単な説明

図は、例証であるにすぎず、本明細書に開示の本発明の実施のために要求されない。

【図1A-1B】図1A~1Bは、p25/CDK5複合体およびCDK5阻害性ペプチドの詳細を示す。図1Aは、p24/CDK5複合体の構造を示す。図1Bは、例示のCDK5阻害性ペプチドの配列を示す。配列は、上から下へ、配列番号5~13に対応する。CDK5阻害性ペプチド(第1段に囲まれる)の配列は、配列番号2である。

【0020】

【図2】図2は、CDK5(左)およびp25(右)とCDK5iペプチドの可能性のあ

10

20

30

40

50

る相互作用を予想する、コンピューター処理モデルを示す。

【図3】図3は、CDK5 i ペプチドによるCDK5活性の減少を示す。

【図4】図4は、CDK5 i ペプチドがCDK5およびp25と相互作用するが、しかしCDK1またはCDK2とは相互作用しないことを示す。

【図5A】図5A - 5Bは、図5AにおけるCDK5 i ペプチドの効果のいくつかを示し、CDK5 i ペプチドは、基底CDK5活性に影響しないことが示され、一方で図5Bは、CDK5 i ペプチドが、P301Sマウスから脳におけるCDK5活性を有意に減少させることを示す。

【図5B】図5A - 5Bは、図5AにおけるCDK5 i ペプチドの効果のいくつかを示し、CDK5 i ペプチドは、基底CDK5活性に影響しないことが示され、一方で図5Bは、CDK5 i ペプチドが、P301Sマウスから脳におけるCDK5活性を有意に減少させることを示す。

10

【0021】

【図6A - 6B】図6A ~ 6Bは、fAD i PSCからの神経前駆細胞(NPC)を示し、HDAC2の上方制御およびH2AXシグナルの増大を実証し、健康な神経iPSC(複数)からの細胞(図6B)と比較したDNA損傷(図6A)を指し示す。

【図7】図7は、CDK5 i ペプチドまたはそのスクランブルペプチドで処置された神経前駆細胞(NPC)を示す。CDK5 i は、HDAC2およびH2AXシグナル(DNA損傷を指し示す)のレベルを有意に減少させた一方で、スクランブルタンパク質は、効果を全く示さなかった。

20

【0022】

【図8】図8は、CDK5 i ペプチドを使用する、可能性のあるCDK5阻害性化合物を同定することに使用された蛍光偏光ハイスループットスクリーニングの概略図を提示する。

【図9A - 9B】図9Aは、画像化研究のために、リンカー(アミノヘキサ酸; Ahx)をもつフルオレッseinイソチオシアネート(FITC)へ、N末端において連結される配列番号3を示す。図9Bは、FITC - Ahx - Cdk5 i - Tat (1 μM) (配列番号3)によって2時間処置され、およびイメージングを受けたヒトiPSC由来神経前駆細胞の結果を示す。

30

【0023】

詳細な記載

本発明は、一側面において、神経変性障害の処置のための方法および組成物の発見に関する。実例として、本発明の化合物は、認知機能を促進するために、およびよって記憶喪失および認知機能障害/不全の処置のために有用である。結果的に、本発明の一側面は、有効量のCDK5ペプチドインヒビターをこれを必要とする対象に投与することによって、認知機能障害/不全を処置する方法を関与する。

【0024】

驚くべきことに、本発明に従うと、CDK5ペプチドインヒビターが、基底CDK5活性またはCDK5に高い相同性を有する他のCDKと相互作用することなしに、選択的にCDK5とp25/p35の相互作用を選択的にブロックすることが発見されている。これは、それらが乏しい特異性を示しており、および他のCDKの活性に影響を与えることから、CDK5の超活性を阻害することに使用されてきている薬物に全くの正反対である。その結果として、先行技術のCDK5インヒビターは、正常な状態の下で基底CDK5活性を阻害し、正常ではない神経細胞の機能をおそらく引き起こし、深刻な副作用に導く。本発明のCDK5ペプチドインヒビターは、高い特異性を実証し、よって、基底CDK5活性を妨害することに関連する深刻な副作用を避ける。加えて、該ペプチドは、血液脳関門を横切ることが可能であることが実証された。

40

【0025】

下の例に示されるように、特異的な領域において、それらのタンパク質の1以上と相互作用することによって、CDK5およびp25/p35の結合を妨害するペプチドは、有

50

意な治療的特性を有する。該妨害は、複合体形成を予防し、よって神経細胞死、アミロイドの蓄積の上昇、シナプス可塑性の減少、細胞骨格の妨害、形態変性、アポトーシス、および学習障害などのCDK5/p25の顆粒の効果を避ける。特異的な複合体形成を妨害する一方で、本発明に記載のペプチドインヒビターは、構造的に類似する分子への非特異的な結合に関連する副作用を避ける。実例として、本明細書に提供される例において、ペプチドが、具体的に言うと、p25/p35へのCDK5の結合を阻害するようにデザインされ得る。配列番号2のCDK5阻害性(CDK5i)ペプチドなどのCDK5ペプチドインヒビターが、CDK5およびp25の両方と相互作用するだろうから、p25/CDK5複合体の形成(CDK5i)を中断するであろうことが決定された。In vitro試験は、CDK5ペプチドインヒビターが、スクランブルペプチド対照と比べると、CDK5キナーゼ活性を有意に減少させることを示した。神経変性脳のマウスモデルを使用し、CDK5ペプチドインヒビターがCDK5およびp35と相互作用する一方で、それが、CDK5に高度に相同であるCDK1またはCDK2に結合しなかったことが見出された。さらに、驚くべきことに、CDK5ペプチドインヒビターが対照マウスにおいて基底CDK5活性に影響を与えなかったこと、しかしアルツハイマー病(AD)の脳におけるCDK5のキナーゼ活性を有意に減少させたこと、および前頭側頭型認知症(FTD)マウスモデル(P301Sマウス)の脳における基底CDK5活性を有意に減少させたことが見出された。それらの知見は、本発明のペプチドインヒビターが価値のある治療的な効果を提供することを実証した。

10

20

【0026】

さらに、家族性(familiar)AD(fAD)患者の線維芽細胞から創造された人工多能性幹細胞(iPSCs)を使用する、ヒトAD関連病的状態モデルシステムが採用された。fAD iPSCから由来する神経前駆細胞(NPC)は、ヒストンアデアセチラーゼ2(学習および記憶に関連する遺伝子の転写をネガティブに制御する、HDAC2)の上方制御を包含する数多の病的な表現型を示した；しかしながら、CDK5ペプチドインヒビターによって処置されたNPCは、スクランブルペプチドに比べると、HDAC2およびH2AXシグナリングのレベル(DNA損傷を指し示す)の有意な減少を示した。よって、本発明のいくつかの方法は、本明細書に記載のCDK5ペプチドインヒビターをこれを必要とする対象に投与することを含む。

30

【0027】

本発明の組成物は、神経変性傷害を処置することに使用されてもよい、サイクリン依存性キナーゼ5(CDK5)ペプチドインヒビターを包含する。

【0028】

サイクリン依存性キナーゼ5(CDK5)は、神経変性傷害における非常に多くの病的な表現型に関係づけられてきた。CDK5の薬理的な阻害または標的化されたノックダウンは、アルツハイマー病、パーキンソン病、脊髄性筋萎縮症、および前頭側頭型認知症を包含する、選択された神経性障害において、神経毒性およびタウ病的状態を治すと示されてきた(Qu et al., 2007; Piedrahita et al., 2010; Zhang et al., 2013; Miller et al., 2015)。病態下の異常なCDK5活性は、p25、p25のタンパク質分解のフラグメント、によって媒介され、それは、神経変性脳における、神経・脳内炎症、タウの高リン酸化、および神経細胞死などの、様々な病的な表現型を誘発することが示されてきた。P25/CDK5複合体の阻害は、疾患のある状態において有益であると示されてきており；例えば、5x FADマウス(アルツハイマー病マウスモデル)において、p25の遮断は、アミロイドプラークおよびA β 誘発シナプス性うつ病、グリア細胞の活性化、神経・脳内炎症、および神経細胞死を減弱化する(Amini et al., 2013; Rao et al., 2014; Seo et al., 2014)。p25の遮断はまた、シナプス可塑性およびADマウスの認知パフォーマンスを回復するとも示された。

40

【0029】

本発明のCDK5ペプチドインヒビターは、CDK5およびp25の結合領域と相互作用し、そしてCDK5/p25複合体の形成を中断するペプチドである。CDK5ペプチ

50

ドインヒビターの結合は、ペプチドが関する基底CDK5活性またはCDK1もしくはCDK2などのエフェクターまたは経路に有意な影響を与えないということにおいて特異的である。ペプチドは、CDK5ペプチドインヒビター暴露前および後で基底CDK5活性が実質的に類似する場合、基底CDK5活性に有意に影響を与えないと考えられる。基底CDK5活性のレベルは、*in vitro*または*in vivo*アッセイによって評価され得る。実質的に類似のままである基底CDK5活性のレベルは、暴露前のレベルの10%、5%、4%、3%、2%、または1%以内であってもよい。

【0030】

ペプチドは、CDK5ペプチドインヒビターへの暴露の後、有意なレベルのペプチドがCDK1および/またはCDK2に結合しない場合、CDK1またはCDK2の結合に、有意に影響を与えないと考えられる。結合のレベルは、下の例のセクションにおいて提示されるアッセイを包含する、当業者に知られる*in vitro*または*in vivo*アッセイによって評価され得る。有意ではないと考えられるCDK1および/またはCDK2へのペプチドインヒビターの結合のレベルは、CDK5ペプチドインヒビターおよびCDK1および/またはCDK2の混合物内の結合複合体の10%、5%、4%、3%、2%、または1%より少ないか、またはそれらに等しくてもよい。

10

【0031】

CDK5ペプチドインヒビターの長さは、変化してもよい。例えば、CDK5ペプチドインヒビターは、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、または50アミノ酸長である。厳選された態様において、ペプチドインヒビターは、8~20、10~20、8~15、10~15、8~12、10~12または12アミノ酸長である。かかる短ペプチド鎖を有するペプチドは、高い構造安定性（例えば、プロテアーゼへの抵抗性）を有し、および優れた取り扱い特性および保存特性を有する。

20

【0032】

いくつかの態様において、CDK5ペプチドインヒビターは、以下の配列：A R A F G X₁ P V R C X₂ S*（（X₁ = IまたはVおよびX₂ = YまたはF）（配列番号1））のアミノ酸配列と比べて、その長さにわたって少なくとも50%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むペプチドである。いくつかの態様において、CDK5ペプチドインヒビターは、配列番号1において表記されるアミノ酸配列に、50~100%（すなわち、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、60~70%、60~80%、60~90%、60~100%、70~80%、70~90%、70~100%、80~90%、80~100%、または90~100%）の配列同一性を有する。例えば、CDK5ペプチドインヒビターは、配列番号1において表記されるアミノ酸配列に80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%より大きい、または100%配列同一性を有していてもよい。

30

【0033】

1つの特定の態様において、CDK5ペプチドインヒビターは、A R A F G I P V R C Y S（配列番号2；図1B）のアミノ酸配列と比べてその長さにわたって少なくとも50%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を含むペプチドである。いくつかの態様において、CDK5ペプチドインヒビターは、配列番号2に表記されるアミノ酸配列に、50~100%（すなわち、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、60~70%、60~80%、60~90%、60~100%、70~80%、70~90%、70~100%、80~90%、80~100%、または90~100%）の配列同一性を有する。例えば、CDK5ペプチドインヒビターは、配列番号2に表記されるアミノ酸配列に、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%より大きいまたは100%配列同一性を有していてもよい。

40

50

【 0 0 3 4 】

本明細書に開示のペプチドは、ペプチドのいずれかの端において1以上の構成要素の追加を通して改変されてもよい。実例として、ペプチドは、アミノヘキササン酸；A h xなどのリンカーの有無にかかわらず、C末端および/またはN末端におけるFITCなどのラベルを追加するように改変されもよい。ペプチドはまた、ペプチドのいずれかのまたは両方の末端における機能的構成要素を包含してもよい。実例として、機能的構成要素は、リンカーの有無にかかわらず、抗体または抗体フラグメントなどの標的ペプチドもしくはドメイン、転写のトランス活性化因子(TAT)のペプチドなどのトランスロケーションペプチドもしくはドメイン、または安定化ペプチドもしくはドメインを包含する。

例示の改変されたペプチドは、HIV TATペプチド(YGRKKRRQRRR)(配列番号4)に直接連結される、Cdk5iペプチド(ARAFGLPVRCYS)(配列番号2)を包含するARAFGLPVRCYSYGRKKRRQRRR(配列番号3)である。

10

【 0 0 3 5 】

一つの特定の態様において、CDK5ペプチドインヒビターは、ARAFGLPVRCYSYGRKKRRQRRR(配列番号3 - 配列番号2 + YGRKKRRQRRR(配列番号4))のアミノ酸配列と比べてその長さにわたって、少なくとも50%のアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸を含むペプチドである。いくつかの態様において、CDK5ペプチドインヒビターは、配列番号3において表記されるアミノ酸配列に、50~100%(すなわち、50~60%、50~70%、50~80%、50~90%、60~70%、60~80%、60~90%、60~100%、70~80%、70~90%、70~100%、80~90%、80~100%、または90~100%)の配列同一性を有する。例えば、CDK5ペプチドインヒビターは、配列番号3において表記されるアミノ酸配列に80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%より大きい、または100%の配列同一性を有していてもよい。

20

【 0 0 3 6 】

「トランスロケーションペプチド」または「トランスロケーションドメイン」は、それが中に存在するペプチドを所望される細胞内の行き先へ方向付ける、アミノ酸のいかなる配列を指す。例えば、ポリアルギニン配列などのトランスロケーションドメインは、例として、リン酸脂質膜、ミトコンドリア膜、または核膜などの生体膜を横切るペプチドの浸透を方向付けまたは円滑にし得る。例えばトランスロケーション配列は、細胞膜を通して、および細胞質内へまたは例として核、リボソーム、ミトコンドリア、ER、リソソーム、またはペルオキシソームなどの細胞内の所望される場所へ、細胞の外側からのペプチドを方向づける。代わりに、または加えて、トランスロケーション配列は、血液脳関門、経粘膜障壁、または血液脳関門(hematoencephalic)、血液網膜の、胃腸のおよび肺の障壁などの生理的な障壁を横切って、ペプチドを方向づけることができる。

30

【 0 0 3 7 】

本明細書に記載のCDK5ペプチドインヒビターは、天然に存在するペプチドではない。1以上のアミノ酸が天然に存在する配列から異なる場合、ほとんどのペプチドは、非天然に存在する配列を有する。いくつかの態様において、CDK5ペプチドインヒビターは、完全なCDK5ポリペプチド内に包含されないアミノ酸の1以上を包含する。ペプチドが天然に存在するポリペプチド(完全なCDK5)の部分形成するアミノ酸配列(配列番号2)を有する場合において、ペプチドそのものは、天然に存在せず、それがペプチド全体よりも少ないからである。完全なCDK5ポリペプチドのすべてが本発明のペプチドインヒビターであるわけではなく、それはそれらがCDK5とp25/p35結合を特異的に妨害しないからである。

40

【 0 0 3 8 】

ペプチドは、8アミノ酸長であってもよく、またはそれは、より長くてもよい。実例として、ペプチドは、Nおよび/またはC末端において追加のアミノ酸を有してもよい。いずれかの末端において、アミノ酸は、1と100アミノ酸の間のいずれかであってもよい

50

。いくつかの態様において、ペプチドは1～50、1～20、1～15、1～10、1～5またはその間のいかなる整数の範囲であってもよい。

ペプチドは、環状または非環状である。いくつかの例における環状ペプチドは、改善された安定性の特性を有する。当業者は、環状ペプチドの生産の仕方を知る。

【0039】

本発明のペプチドは、保存的置換を包含してもよい。本明細書に使用される時、「保存的アミノ酸置換」は、ペプチドまたはポリヌクレオチドの機能またはほかの特徴を変えないまたは実質的に変えないアミノ酸または核酸を意味する。与えられるアミノ酸は、類似の物理化学的特徴を有する残基によって、交換され得、例として、1脂肪酸の残基を別のもの（相互にIle、Val、Leu、またはAlaなど）によって、または1つの極性残基を別のもの（LysとArg；GluとAsp；またはGlnとAsnの間のなど）によってなどである。他のかかる保存的置換、例として、類似の疎水性の特徴を有する領域全体の置換は、周知である。保存的アミノ酸置換を含むペプチドは、所望される活性が保持されることを確認するために、本明細書に記載のいずれか1つのアッセイにおいて試験され得る。

10

【0040】

アミノ酸は、それらの側鎖の特性における類似性：(1)無極性：Ala(A)、Val(V)、Leu(L)、Ile(I)、Pro(P)、Phe(F)、Trp(W)、Met(M)；(2)無電荷極性：Gly(G)、Ser(単数または複数)、Thr(T)、Cys(C)、Tyr(Y)、Asn(N)、Gln(Q)；(3)酸性：Asp(D)、Glu(E)；(4)塩基性：Lys(K)、Arg(R)、His(H)に従って、グループ化され得る。代わりに、天然に存在する残基は、共通の側鎖の特性：(1)疎水性：ノルロイシン、Met、Ala、Val、Leu、Ile；(2)中性親水性：Cys、Ser、Thr、Asn、Gln；(3)酸性：Asp、Glu；(4)塩基性：His、Lys、Arg；(5)鎖の配向に影響を与える残基：Gly、Pro；(6)芳香族：Trp、Tyr、Pheに基づき、グループ内に分けられることができる。非保存的置換は、それらのクラスの1つのメンバーを別のクラスと交換することを伴うだろう。特定の保存的置換は、例えば；AlaをGlyまたはSerに；ArgをLysに；AsnをGlnまたはHisに；AspをGluに；CysをSerに；GlnをAsnに；GluをAspに；GlyをAlaまたはProに；HisをAsnまたはGlnに；IleをLeuまたはValに；LeuをIleまたはValに；LysをArg、GlnまたはGluに；MetをLeu、TyrまたはIleに；PheをMet、LeuまたはTyrに；SerをThrに；ThrをSerに；TrpをTyrに；TyrをTrpに；および/またはPheをVal、IleまたはLeuに、などを包含する。

20

30

【0041】

本出願の至る所に使用されるように、用語「ペプチド」は、サブユニットアミノ酸の配列を指すように、そのもっとも広い意味で使用される。本発明のペプチドは、L-アミノ酸、D-アミノ酸（そしてそれらは、in vivoにおいてL-アミノ酸に特異的なプロテアーゼに耐性がある）、またはD-およびL-アミノ酸の組み合わせを含んでもよい。本明細書に記載のペプチドは、化学的に合成されるか、または組み換えで発現されてもよい。ペプチドは、PEG化(PEGylation)、HES化(HESylation)、PAS化(PASylation)、グリコシル化などにより、in vivoにおいて半減期の増大を促進する他の化合物に連結されてもよく、またはFc融合としてまたは脱免疫化された(deimmunized)バリアントとして生産されてもよい。当業者によって理解されるように、かかるつながり(linkage)は、共有または非共有である。

40

【0042】

ペプチドはまた、他の分子に連結されていてもよい。ペプチドおよび分子は、相互に直接的に（例としてペプチド結合を介して）連結されるか；ペプチドであってもよいまたはペプチドでなくてもよいリンカー分子を介して連結されるか；または実例として、共通の担体分子へのつながりによって、相互に間接的に連結されてもよい。

50

【0043】

よって、リンカー分子（「リンカー」）が、ペプチドを他の分子に連結することに、任意に使用されてもよい。リンカーは、1つから複数のアミノ酸からなるペプチド、または非ペプチド分子であってもよい。本発明において有用なペプチドリリンカー分子の例は、グリシンリッチペプチドリリンカーを包含し、ここで過半数のアミノ酸残基はグリシンである。好ましくは、かかるグリシンリッチペプチドリリンカーは、約20個またはより少ないアミノ酸からなる。

【0044】

いくつかの態様において、リンカーは、グリシンおよびセリンからなる。実例として、リンカーは、Gly-Ser、またはGly-Gly-Serであってもよい。代わりに、片方もしくは両方の末端に1~4Glyおよび/またはいずれかの末端に1~2Serをもつそれらの配列のいずれかであってもよい。それらのアミノ酸のいずれか1つの2~10または2~5の連続して連結されるコピーを含む配列は、ペプチドリリンカーとして採用されてもよい。

10

【0045】

本発明の別の側面において、ペプチドは、尿のクリアランスおよび治療用量における減少のために、および血漿における半減期の増大のために、それらのC末端またはリシン残基によってポリエチレングリコール（PEG）分子、顕著なことに1500もしくは4000MWのPEG、に共有結合される。しかし別の態様において、ペプチドの半減期が、マイクロファイアを形成する薬物送達システムのための生分解性および生物適合性のポリマー素材におけるペプチドを包含することによって、増大される。ポリマーおよびコポリマーは、実例として、ポリ（D,L-ラクチド-コ-グリコリド）（PLGA）であるペプチドは、実例として、PEGまたはTEG分子に連結される。かかる分子は、PEG化またはTEG化されたペプチドと称される。

20

【0046】

ペプチドは、タンパク質分解に対する抵抗を改善するいかなる化学改変によって配列番号1または2に由来してもよく；および実質的に相同のペプチドは、1以上のアミノ酸の置換による配列番号1または2から由来してもよい。「置換される」または「改変される」ことにより、本発明は、天然に存在するアミノ酸から変えられているまたは改変されているアミノ酸を包含する。

30

【0047】

とりわけ、本目最初に記載のペプチドのNおよび/またはC末端は、タンパク質分解に対して任意に保護され得る。実例として、N末端は、アセチル基の形態であってもよく、および/またはC末端は、アミノ基の形態であってもよい。タンパク質分解に耐性のあるペプチドの内部改変はまた、想像される。例として、ここで、少なくとも--CONH--ペプチド結合は、改変され、および(CH₂NH)の減少された結合、レトロインベルソ結合、(CO--CH₂セトメチレン(cetomethylene)結合、(CHOH--CH₂)ヒドロキシエチレン結合、(N--N)結合、E-アルケン(E-alcene)結合または、-CH=CH-結合によって交換される。

40

【0048】

実例として、ペプチドは、アセチル化、アシル化、アミド化、架橋結合、環化、ジスルフィド結合形成、共有架橋結合の形成、システインの形成、ピログルタミン酸の形成、ホルミル化、ガンマカルボキシル化、ヨウ化、メチル化、ミリスチル化、酸化、リン酸化、等によって改変されてもよい。

【0049】

本発明のペプチドは、D立体配置におけるアミノ酸（単数または複数）からなってもよく、それはペプチドをタンパク質分解に耐性があるようにする。それらはまた、いわゆる「ステーブル」技術に従って、例として少なくとも2つのアミノ酸残基をオルフェンの側鎖、好ましくは、C3-C8アルケニル鎖、好ましくはペンテン-2-イル鎖、これに続き鎖の化学架橋結合によって改変することによって、安定化されてもよい。実例として、

50

位置 i および $i + 4$ から $i + 7$ におけるアミノ酸が、反応性のオルフェン残基を非天然アミノ酸を示す非天然アミノ酸によって置換され得る。すべてのそれらのタンパク質分耐性の化学的に改変されたペプチドが、本発明において網羅される。1 以上のアミノ酸残基が、生物学的に類似の残基によって交換された場合または 80% より多くのアミノ酸が同一である、またはは約 90% より多くの、好ましくは約 95% より多くのアミノ酸が類似（機能的に同一）である場合、2つのアミノ酸は、「相同」、「実質的に相同」または「実質的に類似」である。

【0050】

好ましくは、類似のまたは相同の配列は、例えば GCG (Genetics Computer Group, Program Manual for the GCG Package, Version 7, Madison, Wis.) パイルアッププログラム、または当該技術分野において知られているプログラム (BLAST, FASTA, 等々) のいかなるものを使用するアラインメントによって、同定される。本明細書に記載のペプチドは、例えば、当業者に知られる、標準的な合成方法を使用し合成され得る。好ましい態様において、ペプチドは、縮合の間にペプチドにおいて関与するものを除くアミノ酸官能基を保護する一方、適切な順序においてアミノ酸をすでに含有する実行されたフラグメントの縮合、またはこれまでに調製された数個のフラグメントの縮合によってアミノ酸残基の段階的な縮合によって得られる。とりわけ、ペプチドは、Merrifieldによって、元々記載された方法に従って合成され得る。

10

【0051】

いくつかの例において、ペプチドは、自然のアミノ酸のみ包含し得、しかしながら、当該技術分野において知られているように、非天然アミノ酸（すなわち自然に起こらないが、ペプチド鎖に挿入され得る化合物）および/またはアミノ酸類似体が、代わりに採用されてもよい。

20

【0052】

そのうちのいかなるものが本発明のペプチドに包含されてもよい、多くの知られる非天然アミノ酸がある。非天然アミノ酸のいくつかの例は、4-ヒドロキシプロリン、デスモシン、ガンマ-アミノ酪酸、ベータ-シアノアラニン、ノルバリン、4-(E)-ブテニル-4(R)-メチル-N-メチル-L-トレオニン、N-メチル-L-ロイシン、1-アミノ-シクロプロパンカルボン酸、1-アミノ-2-フェニル-シクロプロパンカルボン酸、1-アミノ-シクロブタンカルボン酸、4-アミノ-シクロペンテンカルボン酸、3-アミノ-シクロヘキサンカルボン酸、4-ピペリジル酢酸、4-アミノ-1-メチルピロール-2-カルボン酸、2,4-ジアミノ酪酸、2,3-ジアミノプロピオン酸、2,4-ジアミノ酪酸、2-アミノヘプタン二酸、4-(アミノメチル)安息香酸、4-アミノ安息香酸、オルト-、メタ-および/パラ-置換フェニルアラニン（例として、 $-C(=O)C_6H_5$; $-CF_3$; $-CN$; -H; $-NO_2$; CH_3 によって置換された）、二置換フェニルアラニン、置換チロシン（例として、さらに $-Q=O)C_6H_5$; $-CF_3$; $-CN$; -H; $-NO_2$; CH_3 によって置換された）、およびスタチン (statine) である。ヒドロキシ化された、リン酸化された、スルホン化された、アシル化された、およびグリコシル化されたアミノ酸残基を包含するように、誘導体化され得る。

30

40

【0053】

また、ペプチド (a peptide) またはペプチド (peptide) におけるアミノ酸の 1 以上は、例えば、炭水化物基、ヒドロキシル基、リン酸基、ファルネシル基、イソファルネシル基、脂肪酸基、共有のためのリンカー、官能基化、またはほかの改変、等々の化学的な実体の追加によって、改変されてもよい。ペプチド (a peptide) またはペプチド (peptide) はまた、単一分子またはタンパク質などの、複数分子複合体であってもよい。ペプチド (a peptide) またはペプチド (peptide) は、天然に存在するタンパク質またはペプチドのフラグメントのみであってもよい。ペプチド (a peptide) またはペプチド (peptide) は、天然に存在するか、組み換えか、もしくは合成かまたはそれらのいかなる組み合わせであってもよい。

50

【0054】

いくつかの例において、ペプチドは、配列番号1または2の配列の少なくとも7個の(例として、7、8、9、10、11、12)連続したアミノ酸を包含する(例として、含む、本質的にからなる、またはからなる)ことができる。

【0055】

化学合成技術の例は、固体相の合成および液体相の合成である。固体相の合成として、例えば、合成されるべきペプチドのC末端に対応するアミノ酸は、有機溶媒中に可溶性であるサポートに結合され、および、適切な保護基によって保護されるアミノ基および側鎖官能基をもつ1つのアミノ酸がC末端からN末端へ1つ1つ順番に縮合されるもの、およびペプチドのアミノ基の樹脂または保護基に結合されるアミノ酸が放出されるものの交代する反応の繰り返しによって、ペプチド鎖が、よってこの仕方では延長される。固体相の合成方法は、使用される保護基のタイプに依ってtBoc方法およびFmoc方法に大まかに分類される。典型的に使用される保護基は、アミノ基に対してtBoc(t-ブトキシカルボニル)、Cl-Z(2-クロロベンジルオキシカルボニル)、Br-Z(2-ブロモベンジルオキシカルボニル)、Bzl(ベンジル)、Fmoc(9-フルオレニルメクトキシカルボニル)、Mbh(4,4'-ジメトキシジベンズヒドリル)、Mtr(4-メトキシ-2,3,6-トリメチルベンゼンスルホニル)、Trt(トリチル)、Tos(トシル)、Z(ベンジルオキシカルボニル)およびClz-Bzl(2,6-ジクロロベンジル);グワニジノ基に対してNO₂(ニトロ)およびPmc(2,2,5,7,8-ペンタメチルクロマン-6-スルホニル);およびヒドロキシル基に対してtBu(t-ブチル)を包含する。所望されるペプチドの合成の後、それは脱保護反応を受け、および固体サポートから切り離される。かかるペプチド切り取り反応は、Boc方法について水素フッ化物またはトリ-フルオロメタンスルホン酸によって、およびFmoc方法についてTFAによって担われてもよい。

10

20

【0056】

代わりに、ペプチドは、組み換え技術を使用して合成されてもよい。CDK5ペプチドインヒビターは、ペプチドをコードする単離された核酸として表現されてもよい。単離された核酸配列は、RNAまたはDNAを含む。本明細書に使用される時、「単離された核酸」は、ゲノム中またはDNA配列中のそれらの正常な周囲の核酸配列から、取り除かれているものである。かかる単離された核酸配列は、これらに限定されないが、ポリA配列、改変されたKozak配列、およびエピトープタグをコードする配列、エクスポーシグナル、および分泌シグナル、核移行シグナル、および細胞膜移行シグナルを包含する、コードされるペプチドの発現および/または精製を促進するために有用な追加の配列を含んでもよい。

30

【0057】

よって、別の側面において、本発明は、好適な制御配列に機能的に連結された本発明のいかなる側面の単離された核酸を含む、組み換え発現ベクターを提供する。「組み換え発現ベクター」は、核酸コード領域または遺伝子を、遺伝子産物の発現に影響を与えることが可能であるいかなる制御配列に機能的に連結するベクターを包含する。本発明の核酸配列に機能的に連結される「制御配列」は、核酸分子の発現に効果を与えることが可能である。制御配列は、それらがそれらの発現を方向図けるように機能する限り、核酸配列と連続である必要はない。よって、例えば、非翻訳の、しかし転写された配列に介入することは、プロモーター配列および核酸配列の間に存在し、そしてプロモーター配列が、コード配列に「機能的に連結される」とな考えられ得る。他のかかる制御配列は、これらに限定されないが、ポリアデニル化シグナル、終止シグナル、およびリボソーム結合部位を包含する。

40

かかる発現ベクターは、当該技術分野において知られている、いかなるタイプのものであり得、限定されないが、プラスミドおよびウイルス由来発現ベクターを包含する。哺乳動物のシステムにおいて開示された核酸配列の発現を駆動することに使用される制御配列は、定常性(これらに限定されないが、CMV、SV40、RSV、アクチン、EFを包含

50

する様々なプロモーターのいかなるものによって駆動される)または誘発性(これらに限定されないが、テトラサイクリン、ステロイド反応性を包含する誘発性のプロモーターのいかなるものによって駆動される)である。宿主細胞をトランスフェクトすることにおける使用のための発現ベクターの構成は、当該技術分野において周知であり、およびよって標準的な技術によって達成され得る。

【0058】

ペプチドを生産する方法は、該ペプチドを精製するステップ、および/または該ペプチドを化学的に改変するステップを、任意に含んでもよい。

【0059】

本発明の方法は、正常な対象において認知機能を促進することに使用されるか、または認知機能障害を有する対象を処置することに使用されてもよい。本明細書に使用されるとき、正常な対象は、不全な認知機能に関連する障害をもつと診断されていない対象である。

10

【0060】

「認知機能」は、情報を集めることおよび/または処理すること;理解すること、理由付けすること、および/または情報および/またはアイデアの適用;アイデアおよび/または情報の要約または明細書;創造的な、問題解決の、およびおそらく洞察の行為;および学習、知覚、および/またはアイデアおよび/または情報の自覚に関する、動物またはヒト対象の精神的なプロセスを指す。精神的なプロセスは、それらの信念、所望、等から明瞭に異なる。いくつかの態様において、認知機能は、認知機能についての1以上の試験またはアッセイ評価され、およびよって任意に定義されてもよい。認知機能についてのテストまたはアッセイの非限定例は、CANTABを包含する。(例えば、Fray et al. "CANTAB battery: proposed utility in neurotoxicology." *Neurotoxicol Teratol.* 1996; 18(4):499-504), Stroop Test, Trail Making, Wechsler Digit Span, or the CogState computerized cognitive test (see also Dehaene et al. "Reward-dependent learning in neuronal networks for planning and decision making. *Brain Res.* 2000;126:21729; Iverson et al. "Interpreting change on the WAIS-III/ WMS-III in clinical samples." *Arch Clin Neuropsychol.* 2001;16(2):183-91; および Weaver et al. "Mild memory impairment in healthy older adults is distinct from normal aging." *Cogn.* 2006; 60(2):146-55を参照)。

20

30

【0061】

不全な認知機能は、年齢の見合う正常な対象において観察されるほどロバストではない認知機能を指し、および、認知機能が減少された状態を包含する。いくつかのケースにおいて、認知機能は、年齢の見合う正常な対象において測定された認知機能と比べると、約5%、約10%、約30%、またはより多くで減少される。認知機能は、いかなる検出可能な度合いで促進されてもよいが、しかしヒトにおいて、好ましくは、不全の対象が正常な生活の日常行動を行うことを許容するのに十分なほど促進される。

【0062】

いくつかの態様において、認知機能障害または不全を処置するための方法が、提供される。方法は、CDK5iペプチドの有効量を、これを必要とする対象に投与することを含む。CDK5ペプチドインヒビターは、対象における有効な累積的なCDK5ペプチドインヒビター血清濃度を維持するように、有効に低い投薬量において投与されてもよい。CDK5ペプチドインヒビターは、1日おきに1回投与されてもよい。CDK5ペプチドインヒビターは、1日に1回、2回、3回、4回、または5回、および/または1日おき、3日毎、4日毎、5日毎、6日毎、7日毎、等々に投与されてもよい。CDK5ペプチドインヒビターはまた、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20日間投与されてもよい。

40

【0063】

いくつかの態様において、認知機能障害または不全は、これらに限定されないが、アルツハイマー病、ハンチントン病、前頭側頭型認知症、発作誘導性記憶喪失、統合失調症、

50

ルビンシュタイン・テイビ症候群、レット症候群、脆弱性X、レビー小体認知症、血管性認知症、ADHD、失読症、双極性障害および自閉症に関連する社会、認知および学習障害、外傷性頭傷害、脳卒中誘導性認知および運動不全、外傷的脳損傷、認知不全媒介性神経細胞変性および神経変性喪失または注意欠陥障害に関連する。いくつかの態様において、認知機能障害または不全は、これらに限定されないが不安症、条件付けされた恐怖反応、パニック障害、強迫性障害、外傷後ストレス障害、恐怖症、社交不安症、物質依存性回復またはAge Associated Memory Impairment (AAMI)、およびAge Related Cognitive Decline (ARCD)に関連する。当業者は、本発明の方法が認知機能障害または不全に関連するいかなる状態を処置することに使用されてもよいことを理解するだろう。

【0064】

10

アルツハイマー病は、65歳を超える患者のすべてのケースのおよそ60%を占める、認知および非認知の精神神経の症状に特徴づけられる変性的脳障害である。アルツハイマー病において、記憶を制御する認知のシステムが、損傷されている。しばしば、長期記憶が保持され、一方で、短期記憶は失われ；逆に、記憶は、混乱するようになってよく、精通するはずの人々や場所を認識することにおける間違いという結果になる。精神学的な症状は、アルツハイマー病において共通であり、多くの患者において精神障害（幻聴および妄想）が存在する。アルツハイマー病の精神的な症状が、ドーパミン/コリンのバランスを増大することのあるドーパミンまたはアセチルコリンの濃度におけるシフトを関与する可能性がある。例えば、増大するドーパミン放出が統合失調症の陽性の症状に責任があってもよいことが、提案される。これは、ドーパミン作動性/コリン作動性の妨害という結果になってよい。アルツハイマー病においてコリン作動性のニューロンにおける減少は、アセチルコリンの放出を有効に減少させ、ドーパミン作動性/コリン作動性のバランスの負の妨害という結果になる。確かに、統合失調症の精神障害を治すことに使用される抗精神病剤はまた、アルツハイマー病患者における精神障害を低減することにも有用であり、および本発明の方法における使用のための本明細書に記載の組成物と組み合わせられ得る。

20

【0065】

CDK5ペプチドインヒビターまたは本発明に関する他の化合物を投与することによってアルツハイマー病を有する対象における記憶を再補足するための方法がまた、本発明に従って提供される。かかる方法は、インヒビターを投与すること、および対象がこれまでに失われた記憶の再補足を同定することをモニタリングすることを、任意に関与してもよい。対象は、当該技術分野において知られている日常的な試験によってモニターされてもよい。実例として、いくつかは、上に記載のDSMなどの本において、または医科学文献において記載されている。

30

【0066】

本発明はまた、有効量のCDK5iペプチドを投与することによってハンチントン病を処置するための方法を提供する。ハンチントン病は、死への容赦ない進行に関連する認知機能低下という結果になる神経学的疾患である。ハンチントン病に関連するナル認知症状は、知能のスピード、注意、および短期記憶の喪失、および/または挙動的な症状を包含する。いくつかの態様において、処置の方法は、ANXA1、AXOT、CAPZA1、HIF1A、JJAZ1、P2Y5、PCNP、ROCK (p160ROCK)、SF3B1、SP3、TAF7およびYIPPEEからなる群から選択されるハンチントン病のバイオマーカー遺伝子の発現レベルに基づいて選択されない。いくつかの態様において、診断および処置の方法は、米国特許出願US2007/0015183号において開示されたハンチントン病バイオマーカー遺伝子の発現レベルに基づき選択されない。いくつかの態様において、診断および処置の方法は、病歴、家族歴、またはイメージング試験に基づき選択される。

40

【0067】

本発明は、有効量のCDK5iペプチドを投与することによって、前頭側頭型認知症 (FTD) を処置するための方法をさらに提供する。FTDは、典型的には脳の前頭葉およ

50

び側頭葉における、進行性の神経細胞喪失に関連する認知機能低下という結果になる神経学的疾患である。FTDに関連する認知症状は、社会的および個人的挙動、感情の鈍り、および表現的および受容的言語療法における欠陥である。診断および処置の方法は、病歴、家族歴、神経心理学的試験、または脳イメージング試験に基づき選択されてもよい。

【0068】

本明細書に使用されるとき、状態または患者を処置することは、臨床試験を包含する、有益なまたは所望される結果を得るステップを採ることを指す。有益なまたは所望される臨床結果は、これらに限定されないが、認知の機能障害を関与する障害に関連する1以上の症状の軽減または回復、疾患の程度の縮小、疾患の進行の遅延または減速、回復、病状の緩和または安定化、および認知機能の改善または認知機能減退の速度の減少などの他の有益な結果を包含する。

10

【0069】

いくつかの態様において、対象は、CDK5 i ペプチドに加えて、障害を処置する追加の治療を受けてもよい。組み合わせの治療は、特定の疾患を処置するために適切でないかなるタイプの治療であってもよい。実例として、組み合わせ治療は、行動療法または医薬である。行動療法は、限定されないが、電気痙攣発作療法、運動、集団療法、トークセラピー、または条件付けを含む。別の態様において、行動療法は、認知行動療法である。進行中の方法において使用されてもよい行動療法の例が、記載される。例えば、Cognitive-Behavioral Therapies by K. Dobson, ed., Guilford Publications, Inc., 2002; The New Handbook of Cognitive Therapy Techniques by Rian E. McMullin; Norton, W. W. & Company, Inc., 2000; およびCognitive Therapy: Basics and Beyond by Judith S. S. Beck, Guilford Publications, Inc., 1995, においてなど、その全体が明細書全体に参照として組み込まれる。

20

【0070】

CDK5 i ペプチドインヒビターは、日ごと、週ごと、または月ごと、1以上の用量においてなど、反復的に投与されてもよい。それは、予防的に投与されてもよい; すなわち症状が表れる前に、定期的に(日ごと、週ごと、月ごと、等々)、およびいくつかのケースにおいて、不定期的に、例としていつ症状が始まったとしても、投与されてもよい。

【0071】

特異的なCDK5 ペプチドインヒビターは、経口で、経皮で、静脈内に、皮膚に、皮下に、経鼻で、筋肉内に、腹腔内に、頭蓋内に、または脳室内に投与されてもよい。

30

【0072】

本発明はまた、有効量のCDK5 ペプチドインヒビターを投与することによって正常な対照における認知機能を改善することに関する。認知機能を改善することは、それが年齢に見合う正常な不全のない対象の機能により近く類似するまたはそれを超過するように、対象における認知機能を促進することを包含する。正常な対象は、不全な認知機能に関連するいかなる障害または状態を持つと診断されていない対象である。対象の認知のパフォーマンスは、様々な因子によって影響され、および本発明の方法は、例えば睡眠不足、精神疲労、肉体疲労、または過疲労などのいかなる因子に相反するように実施され得る。

【0073】

対象は、これらに限定されないが、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、七面鳥、ニワトリ、および例としてサル、霊長目の動物を包含するヒトまたは脊椎動物、または哺乳動物を意味するものである。いくつかの態様において、対象は、さもなければCDK5 および/またはp25 インヒビターの必要ないものである。ヒト対象が、好ましい。

40

【0074】

用語、本発明の化合物の有効は、所望される生物学的効果を認知することに十分な必要なまたは十分な量を指す。例えば、本発明の化合物の治療的な有効量は、メモリーへのアクセスを復元することに十分な量である。本明細書に提供される教示と組み合わせられ、様々な活性化化合物、および効能、比較バイオアベイラビリティ、患者の体重、副作用効果の重

50

症度および投与の好ましい方式などの秤量因子の間から選ぶことによって、実質的な毒性を引き起こさないが、およびしかし特定の対象を処置することに全体的に有効な予防的または治療的処置レジメンが、計画され得る。いかなる特定の適用のための有効量は、処置される疾患または状態、投与される特定の治療化合物対象のサイズ、または疾患または状態の重症度などのかかる因子によって変化し得る。当業者は、過度の実験法を必要とせずに、本発明の特定の治療的化合物の有効量を経験的に決定し得る。

【0075】

一つの例において、本開示のCDK5ペプチドインヒビターの有効量は、静脈内に投与される場合、kg体重当たり約100μg~100mgに変動し得る。いくつかの態様において、治療的に有効な量は、約20mg/kg、約30mg/kg、約40mg/kg、約45mg/kg、約50mg/kg、約55mg/kg、約60mg/kg、70mg/kg、約80mg/kgまたは約90mg/kgなどの20~80mg/kg体重、30~70mg/kg体重、または40~60mg/kgを包含する、腹腔内に投与される10~100mg/kg体重である。用量は、単一でまたは分けられた要領で与えられてもよい。投与されるべきCDK5ペプチドインヒビターの量は、そのすべてが当業者に知られる他の因子のあいだで、処置されるべき状態、投与の選択されたルート、対象の年齢、性別および体重、および対象の症状の重症度などの様々な関係のある因子に照らし合わせて決定される。例示の用量は、いかなる形でも本発明の範囲を限定するべきではない。

10

【0076】

本明細書に記載の化合物の送達のための対象用量は、典型的には、連続の日々の一連の期間、1日1回投与されてもよく、適用に依っては、日ごと、週ごと、または月ごとおよびその間のいかなる量の時間で与えられ得るだろう。一態様において、組成物は、少なくとも2連続日の間、1日1回投与される。別の態様において、治療的な化合物(CDK5ペプチドインヒビターおよび薬学的に許容し得る担体)は、1日おき1回、または投与の間に少なくとも2日で1日1回投与される。与えられた用量においてヒトにおけるいくつかの変動があるという理由から、その容量が、いくつかの例において独自のものにされてもよい。かかる操作は、本明細書に見出される教示の観点における当業者の技術内である。

20

【0077】

所望される生物学的効果は、神経変性疾患に関連する1以上の症状の減少または阻害であってもよい。1以上の症状は、所望される生物学的効果を有する目的で、完全に(すなわち、100%)除去されなければならないわけではない。処置なしの症状と比較して、CDK5ペプチドインヒビターの投与は、少なくとも20%、少なくとも30%、少なくとも40%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または少なくとも100%(すなわち、完全に)などの、所望される程度によって症状(単数または複数)を減少させてもよい。代わりに、所望される生物学的効果は、脳におけるCDK5キナーゼの減少または阻害であってもよい。

30

40

【0078】

本発明の製剤は、薬学的に許容し得る濃度の塩、緩衝剤、防腐剤、相溶性のある担体、および任意の他の治療的な成分を日常的に含有してもよい薬学的に許容し得る溶液において投与される。

【0079】

治療における使用のために、本発明の治療的な化合物の有効量が、治療剤または化合物を、例として粘膜の、全身性の、所望される表面に送達するいかなる方式によって対象へ投与され得る。本発明の医薬組成物を投与することは、当業者に知られるいかなる方法によって達成されてもよい。本発明は、本発明のいかなる態様または組み合わせのペプチド、および薬学的に許容し得る担体を含む。医薬組成物は、本発明のペプチドに加えて、(

50

a) リオプロテクタント (lyoprotectant) b) 界面活性剤; (c) 充填剤; (d) 浸透圧調整剤; (e) 安定剤; (f) 防腐剤および/または (g) 緩衝液を含んでもよい。リオプロテクタントは、実例として、実例として、スクロース、ソルビトールまたはトレハロースを包含してもよい。他の態様において、医薬組成物は、例として、ペプチドと組み合わせられたとき、凍結乾燥されたまたは液体の形におけるペプチドの化学的および物理的な不安定性を実質的に予防するまたは減少させる分子などの安定剤を加えて包含する。例示の安定剤は、スクロース、ソルビトール、グリシン、イノシトール、ナトリウム塩化物、メチオニン、アルギニン、およびアルギニン塩酸塩を包含する。

【0080】

経口投与のために、本発明の治療的化合物が、当該技術分野において周知である薬学的に許容し得る担体とともに活性化合物（単数または複数）と組み合わせることによって容易に製剤化され得る。かかる担体は、本発明の化合物を、処置されるべき対象による経口的な摂取のために、錠剤、ピル、ドラジェ、カプセル、液剤、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液、等として製剤化することを可能にする。経口使用のための医薬品が固体賦形剤として得られることができ、および錠剤またはドラジェの芯を得ることが所望される場合、結果として生じる混合物を任意に粉碎し、好適な補助剤を加えた後、顆粒状の混合物を処理され得る。好適な賦形剤は、とりわけ、ラクトース、スクロース、マンニトールまたはソルビトールを包含する糖などの充填剤; 例えば、トウモロコシデンプン、小麦デンプン、米デンプン、ジャガイモデンプン、ゼラチン、トラガントガム、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、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、および/またはポリビニルピロリドン (PVP) などのセルロース製剤である。所望される場合、架橋ポリビニルピロリドン、寒天、またはアルギン酸またはその塩などの崩壊剤が加えられもよい。任意に経口製剤がまた、生理食塩水または緩衝材中に製剤化されてもよく、すなわち、内部の酸性条件を中和するための EDTA またはいかなる担体なしに投与されてもよい。

【0081】

また具体的に言うと、想定されるのは、上の構成要素（単数）または構成要素（複数）の経口剤形である。構成要素（単数）または構成要素（複数）は、誘導体の経口送達が無効的であるように、化学的に改変されてもよい。一般に、想定される化学的改変は、該部分が (a) タンパク質分解の阻害; および (b) 胃または腸からの血流への取り込みを許容する、構成要素分子そのものへの 1 以上の部分の結合 (attachment); および胃または腸からの血流の中への取り込みである。また所望されるのは、体中の構成要素（単数）または構成要素（複数）の全体的な安定性の増大および循環時間の増大である。かかる部分の例は、以下: ポリエチレングリコール、エチレングリコールのコポリマーおよびプロピレングリコール、カルボキシメチルセルロース、デキストラン、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドンおよびポリプロリンを包含する。使用されてもよいだろう他のポリマーは、ポリ-1, 3-ジオキソランおよびポリ-1, 3, 6-チオキソカンおよびポリエチレングリコール部分である。

【0082】

いくつかの態様において、ポリマーは、ブロックポリマーであり、および親水性のブロックおよびエンドソーム溶解性のブロックを含む。いかなる好適な親水性のブロックおよびエンドソーム溶解性ブロックが使用されてもよい。一態様において、親水性のブロックは、ポリエチレングリコールメタクリラートを含む。別の態様において、エンドソーム溶解性ブロックは、ジエチルアミノエチルメタクリラートブチルメタクリラートコポリマーを含む。さらなる態様において、ポリマーは、pH、温度、UV可視光、光照射、電場への暴露、イオン強度、および特性変化を提示することによるある化学物質の濃度からなる群から選択される、1以上の刺激に応答する刺激応答性ポリマーである。本明細書に使用される時、「刺激応答性ポリマー」は、刺激に対する応答における連動性の特性を変化させるポリマーである。刺激応答性ポリマーは、pH、温度、UV可視光、光照射、電場への暴露、イオン強度およびある化学物質の濃度などの外部刺激における変化に、特性の変化

10

20

30

40

50

を提示することによって応答する。化学物質は、カルシウムイオンなどの多価イオン、いずれかの電荷のポリオン、またはグルコースなどの酵素基質であることができるだろう。例えば、温度応答性ポリマーは、水性溶液中の、より低い臨界溶液温度を提示することによって、温度における変化に応答性であってもよい。刺激応答性ポリマーは、2以上の外部刺激における組み合わせられた同時のまたは連続の変化への応答における特性の変化を提示する、複数応答性ポリマーであってもよい。刺激応答性ポリマーは、フォールディング/アンフォールディングの転移、可逆的な沈殿挙動、または温度、光、pH、イオン、または圧力などの刺激への応答における他の原体の変化などの可逆的な原体または物理化学的な変化を提示する合成または自然のポリマーであってもよい。代表的な刺激応答性ポリマーは、温度感受性ポリマー、pH感受性ポリマー、および光感受性ポリマーである。

10

【0083】

胃、小腸（十二指腸、空腸、または回腸）、または大腸であってもよい。当業者は、胃の中で溶解しないだろうが、しかし十二指腸において、または小腸における他の場所において材料を放出するであろう入手可能な製剤を有する。好ましくは、放出は、治療剤の保護によるかまたは腸においてなど胃環境を超える生物学的に活性な材料の放出によるのいずれかで、胃の環境の有害な効果を避けるだろう。

【0084】

完全な胃部の耐性を確実にするために、少なくともpH5.0に不透過なコーティングが重要である。腸溶性のコーティングとして使用される、より一般的な不活性成分の例は、セルロースアセタートリメリト酸（CAT）、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタル酸（HPMCP）、HPMCP50、HPMCP55、ポリ酢酸ビニルフタル酸（PVAP）、Eudragit L30D、Aquateric、セルロースアセタートフタル酸（CAP）、Eudragit L、Eudragit S、およびShellacである。それらのコーティングは、混合フィルムとして使用されてもよい。

20

【0085】

胃に対する保護を目的としない錠剤において、コーティングまたはコーティングの混合物がまた、使用され得る。これは、糖コーティング、または錠剤をよりのみこみやすくするコーティングを包含し得る。カプセルは、乾燥治療薬すなわち粉末の送達のためのハードシェル（ゼラチンなど）からなってもよく；液体形のために、ソフトゼラチンシェルが、使用されてもよい。カプセルのシェル材料は、濃厚なデンプン、または他の可食紙であり得るだろう。ピルのために、トローチ剤、成形錠剤または粉薬錠剤、湿性マッシング技術が、使用され得る。

30

【0086】

治療薬は、約1mmの粒子サイズの顆粒もしくはペレットの細かい複数粒子性の形態として製剤中に包含され得る。カプセル投与のための材料の製剤はまた、粉末、軽く圧縮されたプラグ、または錠剤としてでさえあり得る。治療薬は、圧縮により調製されてもよい。

【0087】

着色料および香味料のすべてが、包含されてもよい。例えば、治療剤が製剤化され（リポソームまたはマイクロスフィアカプセル化によってなど）、および次いで着色料および香味料を含有する冷蔵飲料などの可食製品の中にさらに含有されてもよい。

40

【0088】

不活性な材料によって治療薬の体積を希釈するかまたは増大してもよい。それらの希釈剤は、特にマンニトール、ラクトース、無水ラクトース、セルロース、スクロース、改変デキストランおよびデンプンなどの炭水化物を包含し得るだろう。ある無機塩が、カルシウム三リン酸、炭酸マグネシウムおよびナトリウム塩化物を包含する潤展剤としてもまた使用されてもよい。いくつかの市販の希釈剤は、Fast-Flo、Emdex、STA-Rx 1500、EmcompressおよびAvicellである。

【0089】

崩壊剤は、治療薬を固形剤形へ製剤することに包含されてもよい。崩壊剤として使用さ

50

れる材料は、これらに限定されないが、デンプンに基づく商業的崩壊剤、Explotabを包含するデンプンを包含する。ナトリウムデンプングルコラート、Amberlite、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ウルトラミロオペクチン、アルギン酸ナトリウム、ゼラチン、オレンジピール、酸カルボキシメチルセルロース、天然スポンジ、ベントニットのすべてが使用されてもよい。崩壊剤の別の形は可溶性カチオン交換樹脂である。粉末状のガムは、崩壊剤としておよび結合剤として使用されてもよく、およびそれらは寒天、カラヤまたは糖がカラントなどの粉末状ガムを包含し得る。アルギニン酸およびそのナトリウム塩はまた、崩壊剤としても有用である。治療剤と一緒に保ち硬い錠剤を形成するように使用されてもよい結合剤は、アカシア、トウガカラント、デンプンおよびゼラチンなどの天然の産物からの材料を包含する。他のものは、メチルセルロース(MC)、エチルセルロース(EC)およびカルボキシメチルセルロース(CMC)を包含する。ポリビニルピロリデン(PVP)およびヒドロキシプロピルメチルセルロース(HPMC)が、両方、アルコール溶液中、治療薬を顆粒化することにおいて使用され得るだろう。

10

20

30

40

50

【0090】

抗摩擦剤が、製剤プロセスの間にくっつくことを予防するために治療薬の製剤に包含されてもよい。潤滑剤が、治療薬とダイウォールの間の層として使用されてもよく、およびこれらに限定されないが、それらは；そのマグネシウムおよびカルシウム塩、ポリテトラフルオロエチレン(PTFE)、液体パラフィン、植物油およびステアリン酸ワックスを包含するステアリン酸を包含し得る。可溶性の潤滑剤がまた、使用されてもよく、ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム、様々な分子量のポリエチレングリコール、Carbowax 4000および6000などである。

【0091】

製剤の間の薬物の流れの特性を改善するかもしれない、および圧縮の間の再配置を助ける滑剤が足されるかもしれない。滑剤は、デンプン、タルク、発熱性シリカおよびシリコアルミン酸を包含してもよい。

【0092】

治療薬を水性環境へ溶解することを助けるために、界面活性剤が湿潤剤として加えられてもよい。界面活性剤は、ラウリル硫酸ナトリウム、ジオクチルナトリウムスルフホサクシネートおよびスルホン化ジオクチルナトリウムなどのアニオン性洗剤を包含してもよい。カチオン性洗剤が使用されることもあるかもしれない、および塩化ベンザルコニウムまたは塩化ベンザトニウムを包含することができるだろう。界面活性剤として製剤中に包含され得るだろう可能な非イオン性洗剤のリストは、ラウロマクロゴール400、ステアリン酸40ポリオキシル、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油10、50および60、モノステアリン酸グリセロール、ポリソルベート40、60、65および80、スクロース脂肪酸エステル、メチルセルロースおよびカルボキシメチルセルロースである。それらの界面活性剤は、治療剤の製剤中に単独でまたは異なる比率の混合物としてのいずれかで存在し得るだろう。

【0093】

経口的に使用され得る医薬品は、ゼラチンで作製された押し込み型カプセル、ならびにゼラチンおよびグリセロールまたはソルビトールなどの可塑剤で作製された柔らかく密封されたカプセルを包含する。押し込み型カプセルは、ラクトースなどの充填剤、デンプンなどの結着剤、および/またはタルクまたはステアリン酸マグネシウムなどの潤滑剤および、任意に安定剤を含有し得る。柔らかいカプセルにおいて、活性化化合物は脂肪油、液体パラフィン、または液体ポリエチレングリコールなどの好適な液体中に溶解されるか、または懸濁されてもよい。加えて、安定剤が、追加されてもよい。経口投与のために製剤化されたマイクロスフィアがまた、使用されてもよい。かかるマイクロスフィアは、当該技術分野において、十分に定義されている。経口投与のためのすべての製剤は、かかる投与のために、好適な投与量におけるべきである。

【0094】

口腔投与のために、組成物は、従来のやり方において製剤化された錠剤またはトローチ

剤の形を採ってもよい。

吸入投与のために、本明細書に従う使用のための化合物は、例として、ジクロロフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロメタン、二酸化炭素またはほかの好適なガスなど、好適な噴霧剤の使用によって、圧縮パックまたは噴霧器からエアゾールスプレーの体裁の形で便利に送達されてもよい。圧縮されたエアゾールの場合、投与量単位は、メーター量を送達するバルブを提供することによって決定されてもよい。吸入器または注入器における使用のための例として、ゼラチンのカプセルおよびカートリッジが、化合物およびラクトースまたはデンプンなどの好適な粉末基材の粉末混合を含有するように製剤化されてもよい。

【0095】

本発明の実施における使用のために想定されるのは、それらのすべてが当業者に精通される、噴霧器、定量噴霧式吸入器、および粉末吸入器を包含する治療製品の肺送達のためにデザインされた広範な機械的なデバイスである。

【0096】

本発明の実施のための市販デバイスのいくつかの特異的な例は、Mallinckrodt, Inc., St. Louis, Missouriによって製造されたUltraVent Inhaler; Marquest Medical Products, Englewood, Coloradoによって製造されたAcorn II Inhaler; Glaxo Inc., Research Triangle Park, North Carolinaによって製造された、Ventolin Metered Dose Inhaler; およびFisons Corp., Bedford, Massachusettsによって製造されたSpinhalater Powder inhalerである。

【0097】

すべてのかかるデバイスは、治療剤の分配のために好適な製剤の使用を要求する。典型的には、各製剤は、採用されるデバイスのタイプに特異的であり、および通常の希釈剤および/または治療において有用な担体に加えて、適切な噴霧剤材料の使用に關与してもよい。また、リポソーム、マイクロカプセルもしくはマイクロスフィア、包括複合体、または担体の他のタイプの使用が、想定される。化学的に改変された治療剤はまた、化学改変のタイプまたは採用されるデバイスのタイプに依って異なる製剤中に調製されてもよい。

【0098】

ジェットまたは超音波のいずれかの、噴霧器で使用するために好適な製剤は、水中に溶解する治療債を典型的には含むだろう。製剤はまた、緩衝液および単糖（例として、浸透圧の安定化および調節のため）を包含してもよい。噴霧器製剤はまた、エアゾール形成における溶液の噴霧化によって引き起こされる化合物の表面誘導凝集を減少させるまたは予防するための、界面活性剤をも含有する。定量噴霧式吸入器によって使用するための製剤は、一般に、界面活性剤の補助剤とともに噴霧剤に懸濁された治療剤を含有する、細かく分けられた粉末を一般に含むだろう。噴霧剤は、トリクロロフルオロメタン、ジクロロジフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタノール、および1, 1, 1, 2-テトラフルオロエタンを包含する、クロロフルオロ炭素、ヒドロクロロフルオロ炭素、ヒドロフルオロ炭素、または炭化水素、またはそれらの組み合わせなどこの目的のために採用されるいかなる従来材料であってもよい。好適な界面活性剤は、ソルビタントリオレイン酸および大豆レシチンを包含する。オレイン酸はまた、界面活性剤として有用であってもよい。

【0099】

粉末吸入デバイスから分配するための製剤は、治療剤を含有する細かく分けられた粉末を含むだろう、およびまたデバイスから粉末の分配を円滑にする量、例として製剤の50から90%において、ラクトース、ソルビトール、スクロース、またはマンニトールなどの充填剤をも包含してもよい。治療剤が、10mm（またはミクロン）の平均粒子サイズをもつ粒子の形に、最も有利に調製されるはずであり、最も好ましくは、遠位の肺への最も有効な送達のために、0.5~5mmである。

【0100】

本発明の医薬組成物の経鼻の送達もまた、想定される。経鼻の送達は、肺における製品

10

20

30

40

50

の蓄積の必要なしに、本発明の医薬組成物の治療製品を鼻へ投与した後の血流への直接的な通過を許容する。経鼻の送達のための製剤は、デキストランまたはシクロデキストランをもつものを包含する。

【0101】

経鼻投与のために、有効なデバイスは、定量スプレーが取り付けられた小さく、硬いピンである。一態様において、定量は、チャンパーがチャンパーにおける液体が圧縮されたときスプレーを形成することにより、エアゾール製剤をエアゾール化するような寸法である開口部を有する、定義された体積のチャンパーの中へ本発明の溶液を引き出すことにより送達される。チャンパーは、本発明の医薬組成物を投与するために圧縮される。特異的な態様において、チャンパーは、ピストン配置である。かかるデバイスは、市販である。

10

【0102】

代わりに、圧搾されたときにスプレーを形成することによりエアゾール製剤をエアゾール化するような寸法である開口部または開きをもつプラスチック圧搾ピンが、使用される。開きは、通常ピンの最上部において見出され、および最上部は、エアゾールの効果的な投与のための経鼻通路において部分的にフィットするように一般に先細である。好ましくは、経鼻吸入器は、薬物の測定された用量の投与のための、エアゾール製剤の定量を提供するだろう。

【0103】

化合物は、全身性にそれらを送達することが所望される場合、例として、ボラス静注または継続的注入によって、注射による非経口投与のために製剤化されてもよい。注射のための製剤は、例として、加えられた防腐剤のある、アンプル中または複数用量容器中に、単位用量の形においてあたえられてもよい。組成物は、かかる懸濁液、油性または水性ビヒクル中の溶液もしくはエマルジョンとしてのかかる形を採ってもよく、および懸濁液、安定化のおよび/または分散剤などの製剤化剤を含有してもよい。

20

【0104】

非経口投与のための医薬製剤は、水可溶性の形における活性化合物の水性溶液を包含する。加えて、活性化合物の懸濁液が、適切な油性の注射懸濁液として調製されてもよい。好適な親油性の溶媒またはビヒクルは、ゴマ油、またはオレイン酸エチルまたはトリグリセリド、またはリポソームなどの合成脂肪酸エステル脂肪油を包含する。水性注射懸濁液は、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ソルビトール、またはデキストランなど懸濁液の粘度を増大する物質を含有していてもよい。任意に、懸濁液はまた、好適な安定剤または高度に濃縮された溶液の調製を許容する、化合物の可溶性を増大する剤を包含していてもよい。

30

【0105】

代わりに、活性化合物は、使用の前に、好適なビヒクル、例として、滅菌パイロジェンフリー水による構成のための粉末の形にあってもよい。これまでに記載された製剤に加えて、化合物はまた、デポ剤として製剤化されてもよい。かかる長期作用製剤は、好適なポリマーもしくは疎水性の材料（例えば許容し得る油におけるエマルジョンとして）またはイオン交換樹脂によって、あるいはやや溶けにくい誘導体として、例えばやや溶けにくい塩として製剤化されてもよい。

40

【0106】

医薬組成物はまた、好適な固体もしくはゲル相担体または賦形剤を含んでもよい。かかる担体または賦形剤の例は、これらに限定されないが、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、様々な糖、デンプン、セルロース誘導体、ゼラチン、およびポリエチレングリコールなどのポリマーを包含する。

【0107】

好適な液体または固体医薬品の形は、例えば、吸入のために水性もしくは生理食塩水溶液、マイクロカプセル化された、渦巻き型にされた、顕微の金粒子にコーティングされた、リポソームに含有される、噴霧された、エアゾールの、皮膚への埋め込みペレット、または皮膚の中へスクラッチされるための鋭い物体上に乾燥されたものである。医薬組成物

50

はまた、顆粒、粉末、錠剤、コーティングされた錠剤、(マイクロ)カプセル、座薬、シロップ、エマルジョン、懸濁(液)、クリーム、ドロップまたはその調製において賦形剤および添加剤および/または補助剤、崩壊剤、バインダー、コーティング剤、膨張剤、潤滑剤、香味剤、甘味剤、溶解剤が上に記載のとおり習慣的に使用される、活性化合物の遅延性放出をとまなう調製を包含する。医薬組成物は、様々な薬物送達システムにおける使用に好適である。薬物送達のための方法の簡潔なレビューは、Langer, Science 249:1527-1533, 1990を参照、そしてそれは参照により本明細書に組み込まれる。

【0108】

本発明の治療薬化合物および任意に他の治療薬は、それ自体(ニート)または薬学的に許容し得る塩の形態で投与されてもよい。医薬に使用される場合、塩は、薬学的に許容し得るべきであるが、しかし非薬学的に許容し得る塩がその薬学的に許容し得る塩を調製することに便利に使用されてもよい。かかる塩は、これらに限定されないが、以下の酸:塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸、リンゴ酸、酢酸、サリチル酸、p-トルエンスルホン酸、酒石酸、クエン酸、メタンスルホン酸、ギ酸、マロン酸、コハク酸、ナフタレイン-2-スルホン酸、およびベンゼンスルホン酸から調製されるものを包含する。また、かかる塩が、アルカリメタ1またはそれらのカルボン酸群のナトリウム、カリウムまたはカルシウム塩などのアルカリ土類塩としても調製され得る。

【0109】

好適な緩衝液剤は、酢酸および塩(例として1~2% w/v);クエン酸および塩(例として、1~3% w/v);およびリン酸および塩(例として、0.8~2% w/v)を包含する。好適な防腐剤は、塩化ベンザルコニウム(例として、0.003~0.03% w/v);クロロブタノール(例として、0.3~0.9% w/v);パラベン(例として、0.01~0.25% w/v)およびチメロサル(例として、0.004~0.02% w/v)を包含する。

【0110】

本発明の医薬組成物は、薬学的に許容し得る担体中に、任意に包含される本発明の有効量の治療薬化合物を含有する。用語、薬学的に容認し得る担体は、1以上の相溶性のある固体もしくは液体充填剤、希釈剤、またはヒトもしくは他の脊椎動物への投与に好適であるカプセル化物質を意味する。用語、担体は、活性成分が適用を円滑にするように組み合わせられる、天然もしくは合成の有機または無機成分を意味する。医薬組成物の構成要素がまた、実質的に所望される医薬品の効率を不全にするであろう相互作用がまったくないようなやり方で、本発明の化合物と、および互いに、混合されることが可能である。

【0111】

治療剤が、血液脳関門を横切って治療剤を送達することが可能である製剤を使用して、脳へ送達されてもよい。治療薬を脳に送達することへの1つの障害は、脳の生理および構造である。血液脳関門は、内皮細胞の単一層によって裏打ちされた特殊化した毛細血管からなる。細胞間の領域は、密着結合によって密封され、そのため血液から脳への唯一のアクセスは、内皮細胞をとおしてである。障壁は、親油性分子などのある物質のみを通すことを許容し、および他の有害な化合物および病原体を外に留める。よって、親油性の担体は、非親油性の化合物を脳へ送達することに有用である。実例として、DHA、ヒト脳において天然に存在する脂肪酸は、それに共有的に結合した(attached)薬物を脳へ送達するために有用であることが見出されてきた(米国特許6407137号)。米国特許5,525,727号は、薬物種の脳への特異的および持続的な送達のためのジヒドロピリジンピリジニウム塩担体の酸化還元システムを記載する。米国特許5,618,803号は、ホスホン酸塩誘導体による表雨滴化された薬物送達を記載する。米国特許7119074号は、血液脳関門を横切る化合物を送達するためのPEG-オリゴマー/ポリマーに共役される治療薬化合物の両親媒性のプロドラックを記載する。本明細書に記載の化合物は、親油性の担体への共有結合(covalent attachment)によって改変されてもよく、あるいは親油性の担体とともに製剤されてもよい。他は、当業者に知られる。

【0112】

本発明の治療剤は、記憶修復を高めることまたは他の症状もしくは記憶喪失と関連する障害の原因を処置することのために、他の治療薬とともに送達されてもよい。実例として、環境的な濃縮（EE）が、記憶を高めるために使用されてきた。EEは、対象のまわりに刺激的な環境を創造することに関与する。他の治療薬はまた、根本的障害を処置するか、または記憶想起を亢進するように組み合わせられてもよい。

【0113】

本発明の化合物と単位用量またはキットの形における他の薬物の組み合わせの例は、以下：抗アルツハイマー薬、ベータセクレターゼインヒビター、ガンマセクレターゼインヒビター、HMG-CoA還元酵素インヒビター、イブプロフェンを包含するNSAIDs、メマンチンなどのN-メチル-D-アスパラギン酸（NMDA）受容体アンタゴニスト、ガラントミンなどのコリンエステラーゼインヒビター、リバスチグミン、ドネペジル、およびタクリン、ビタミンE、CB-1受容体アンタゴニストまたはCB-1受容体インバーサゴニスト、ドキシサイクリンおよびリファンピンの抗生物質、抗アミロイド抗体、または有効性、安全性、便利性を増大する、または本発明の化合物の不要な副作用もしくは毒性を減少させるいずれかの、受容体または酵素に影響を与える薬物による組み合わせを包含する。上記の組み合わせのリストは、実証のみであり、いかなる形でも限定を意図しない。

10

【0114】

本発明は、構成要素のいずれか1つまたは集まりを指す物品を包含する。いくつかの態様において、物品は、キットである。物品は、本発明の医薬品または診断グレードの化合物を1以上の容器に包含する。物品は、本発明の化合物の使用を促進または記載する指示またはラベルを包含してもよい。

20

【0115】

本明細書に使用されるとき、「促進される」は、アルツハイマー病などの認知障害の処置と結びつく本発明の組成物に関連する、教育、病院および他の臨床指示の方法、医薬品のセールスを包含する製薬産業活動、および記述、口述および電子のコミュニケーションを包含するいかなる広告または他の促進活動を包含する医薬品の産業活動を包含する、ビジネスをするすべての方法を包含する。

【0116】

「指示」は、促進の構成要素を定義し得、および本発明の組成物の関与する記述の指示または本発明の組成物の梱包に、典型的に関与する。指示はまた、いかなるやり方において提供されるいかなる口述または電子の指示を包含し得る。

30

【0117】

よって、本明細書に記載の剤は、いくつかの態様において、治療的な診断または研究への適用においてそれらの使用を円滑にする、医薬品または診断のまたは研究キットに組み立てられてもよい。キットは、本発明および使用のための指示の構成要素を収納する1以上の容器を包含してもよい。具体的に言うと、かかるキットは、それらの剤の意図する治療的な適用および適切な投与を記載する指示と一緒に本明細書に記載の1以上の剤を包含してもよい。ある態様において、キット中の剤は、医薬製剤においてでありおよび特定の適用のためにおよび剤の投与の方法のために好適な医薬製剤および投薬量においてであってもよい。

40

【0118】

キットは、医師による本発明に記載の方法の使用を円滑にするようにデザインされていてもよく、および多くの形を採り得る。キットの組成物の各々は、当てはまる場合、液体の形（例として、溶液中）において、または固体の形（例として、乾燥粉末）において提供されてもよい。あるケースにおいて、組成物のいくつかは、例えば、キットとともに提供されてもよくまたは提供されなくてもよい好適な溶媒または他の種の追加（例えば、水または細胞培養媒体）によって、構成可能またはさもなければ処理可能（例として、活性の形へ）であってもよい。本明細書に使用されるとき、「指示」は、指示および/または促進の構成要素を定義し得、および記述の指示を典型的に関与するか、または本発明の梱

50

包に関連する。指示はまた、ユーザーが指示がキットに関連するべきであることを明確に認識するであろうように、例えば、視聴覚（例として、ビデオテープ、DVD、等々）の、いかなるやり方において提供されるいかなる口述のまたは電子の指示をも包含し得る。記述の指示は、製造、使用または医薬品もしくは生物学的製品の使用またはセールスを制御する、政府機関によって処方された形においてであってもよく、そして指示はまた、製造、使用またはヒト投与に対する販売の機関による容認をも反映し得る。

【0119】

キットは、1以上の容器中に本明細書に記載の構成要素のいかなる1以上を含有してもよい。例として、一態様において、キットは、キットの1以上の構成要素を混合するおよび/または試料を分離することおよび混合することおよび対象に適用することに対する指示を包含してもよい。キットは、本明細書に記載の剤を収納する容器を包含してもよい。剤は、滅菌で調製され、シリンジ中に梱包されおよび冷蔵で発送されてもよい。代わりに、それが、バイアルまたは保存のための他の容器の中に収納されてもよい。第2の容器は、滅菌で調製されたほかの剤を有してもよい。代わりに、キットは、プレミックスの活性剤を包含し、およびシリンジ、バイアル、チューブ、または他の容器において発送されてもよい。

10

【0120】

キットは、プリスターパウチ、収縮包装パウチ、真空密封可能パウチ、密封可能熱形成トレーまたは類似のパウチ、1以上のチューブ、容器、箱または袋内に付属品がゆるく梱包されるトレー形などの様々な形を採ってもよい。キットは、付属品が追加された後、滅菌されてもよく、それによって容器中の個々の付属品がさもなければ包装を解かれていることを許容する。キットは、放射線滅菌、加熱滅菌、または他の滅菌方法などの当該技術分野において知られているいかなる適切な滅菌技術を使用して滅菌され得る。キットはまた、特異的な適用に依って、例えば、容器、細胞培地、塩、緩衝液、試薬、シリンジ、針、殺菌剤を適用または除去するガーゼなどの布、使い捨ての手袋、投与前の剤のための補助、等々などの他の構成要素をも包含していてもよい。

20

【0121】

キットの組成物は、例えば、液体溶液としてまたは乾燥粉末として、いかなる好適な形として提供されていてもよい。提供される組成物が乾燥粉末である場合、粉末が、好適な溶媒の追加によって、再構成されてもよく、そしてそれが提供されてもまたよい。組成物の液体の形が使用される（sued）場合、液体の形は、濃縮またはすぐ使える状態であってもよい。溶媒は、化合物および使用または投与の方式に依るだろう。薬物組成物のための好適な溶媒が、周知であり、および文献において使用可能に存在する。溶媒は、化合物および使用または投与の方式に依るだろう。

30

【0122】

一連の態様において、キットは、近接する閉じ込めにおいて受け取るように区画されている担体手段、バイアル、チューブ、等、などの1以上の容器手段、容器手段の各々は、方法において使用されるべき別個の要素の1つを含む。例えば、容器の1つは、アッセイのための陽性対照を含んでいてもよい。加えて、キットは、他の構成要素についての容器を包含してもよく、例えばアッセイにおいて有用な緩衝液である。

40

【0123】

本発明はまた、完了され梱包されたおよびラベル付けされた医薬品の製品をも網羅する。製造のこの物品は、密封に封されたガラス製バイアルまたは他の容器などの適切なベッセルまたは容器中に適切な単位用量の形を包含する。非経口投与のために好適な剤形の場合、活性成分は、滅菌され、および粒子フリーの溶液として投与のために好適である。言い換えれば、本発明は、各々が滅菌された、非経口溶液および凍結乾燥粉末の両方を網羅し、および後者は注射前の再構成に好適である。代わりに、単位用量の形は、経口、経皮、局所また粘膜送達のために好適な固体であってもよい。

【0124】

別の態様において、本発明の組成物は、これらに限定されないが、レシチン、タウロコ

50

ール酸、およびコレステロールを包含する、生物適合性の洗浄剤とともに；またはこれらに限定されないが、ガンマグロブリンおよび血清アルブミンを包含する、他のタンパク質とともに、容器中に保存される。より好ましくは、本発明の組成物は、人の使用のためにヒト血清アルブミンとともに保存され、および獣医学的使用のためにウシ血清アルブミンとともに保存される。

【0125】

いかなる医薬品の製品と同様に、梱包材料および容器は、保存および送付の間の製品の安全性を守るようにデザインされる。さらに、本発明の製品は、使用のための指示または問題となる疾患または障害を適切に予防するまたは処置する仕方について、医師、技師、または患者に助言する他の情報的な材料を包含する。言い換えれば、製造の物品は、これらに限定されないが、実際の用量、モニタリング手順および他のモニタリング情報を包含する投薬レジメンを示唆するまたは提案する指示手段を包含する。

10

【0126】

より具体的に言うと、本発明は、箱、瓶、チューブ、バイアル、容器、スプレー、注入器、静脈(i.v.)バック、エンベロープ等などの梱包材料；および該梱包材料内に含有される医薬品の単位剤形の1以上を含む物品を提供する。本発明はまた、箱、瓶、チューブ、バイアル、容器、スプレー、注入器、静脈(i.v.)バック、エンベロープ等などの梱包材料；および該梱包材料内に含有される各医薬品の1以上の単位用量の形を含む梱包材料を含む、製造の物品を提供する。本発明は、さらには、箱、瓶、チューブ、バイアル、容器、スプレー、注入器、静脈(i.v.)バック、エンベロープ等などの梱包材料；および該梱包材料内に含有される各医薬品の1以上の単位用量の形を含む、製造の物品を提供する。本発明は、好ましくは滅菌された形において梱包された製剤の注射のための針またはシリンジ、および/または梱包されたアルコールパッドを含む製造の物品をさらに提供する。

20

【0127】

特異的な態様において、製造の物品は、梱包材料、および該梱包材料内に含有される医薬品および指示を含み、ここで、該医薬品は、CDK5ペプチドインヒビターおよび薬学的に許容し得る担体、および該指示は、アルツハイマー病などの認知障害を持つ対象を予防する、処置する、または管理するための投薬レジメンを指し示す。

【0128】

いくつかの態様において、対象は、治療的にモニターされる。例として、用量、スケジュール、等などの選ばれ得る処置パラメーターの妥当性は、記憶モニタリングのための従来の方法によって、決定される。加えて、患者の臨床状態は、例として、認知機能における増大などの所望される効果についてモニターされ得る。不十分な効果が達成された場合、次いで患者がさらなる処置によってブーストされ得、および本発明の組成および/または他の活性剤の量を増大することによって、または、投与のルートを変動することによってなど、処置および処置パラメーターが改変され得る。

30

【0129】

本発明は、さらに以下の例によって実証され、そしてそれらはいかなる様に限定されるように構成されるべきものではない。本出願の至る所に引用されるすべての参照(参照文献、交付済み特許、公開された特許出願、および同時継続の特許出願を包含する)の全体的内容は、参照によって明細書に明らかに組み込まれる。

40

【実施例】

【0130】

例

例1：CDK5阻害性ペプチドのデザイン

そのp25結合のために不可欠であるCDK5中の領域を、決定した。特異的な領域におけるアミノ酸の配列は、他のCDKと比較してユニークであり、およびそれは、ヒトを包含する多くの種にわたって保存される。したがって、この領域から、12アミノ酸長ペプチド(CDK5i、配列番号2)を、可能性のあるp25/CDK5インヒビター(図

50

1 A ~ 1 B)としてデザインした。コンピューター処理のモデル化は、このCDK5およびp25の両方を有するCDK5阻害性ペプチド(CDK5i)の予想される強力な相互作用を予想した。このペプチドはまた、p25/CDK5複合体の形成を阻害する(図2)ことができるだろうことをも実証した。

【0131】

配列番号2の結合部位および活性の知識は、本発明に従って有用なペプチドのセットのデザインを導いている。図8において示されるように、それらのCDK5ペプチドインヒビターはまた、蛍光ラベル化されたCDK5iを使用し、他のCDK5インヒビターを同定すること(蛍光偏光ハイスループットスクリーン)にも使用されることができる。

【0132】

例2. CDK5iペプチドのIn Vitro スクリーニング

CDK5活性と、ペプチド(配列番号2)の効果を試験した。精製された組み換えp25/CDK5複合体をCDK5iペプチドとともに培養し、および次いでCDK5キナーゼ活性を、放射標識されたATPおよびその基質、HIを使用し測定した。結果は、CDK5iペプチドが有意にスクランブルペプチド処置グループのそれと比べて、CDK5キナーゼ活性を有意に減少させた(図3)。

【0133】

神経変性脳におけるCDK5iペプチドの効果を決定するために、P301Sからの脳組織試料および対象マウスを使用した。P301Sマウスを、アルツハイマー病(AD)および全島即答型認知症(FTD)のモデルとして使用した。図4において示されるように、CDK5iペプチドが脳においてCDK5ならびにp25の前駆体、p35と物理的に相互作用することを見出した。しかしながら、それは、CDK5に高度に相同なファミリーメンバーである、CDK1またはCDK2に結合しない。

【0134】

CDK5の定常活性は、神経発達の間、欠かせないものである。それはまた、さまざまな神経細胞の機能のためにも要求される。病態時に似ず、生理学的な条件下のCDK5活性は、p25ではなく、ほぼp24によって媒介される。CDK5iペプチドが基底CDK5活性に有する効果を試験するために、対象マウスからの脳組織をCDK5iとともに培養し、そしてCDK5の定常活性において変化がないことを見出した(図5A)。しかしながら、CDK5iペプチドが上方制御されたp25によるキナーゼの過剰活性化を通常表す、P301Sマウスの脳におけるCDK5のキナーゼ活性を有意に減少させることが示された(図5B)。

【0135】

ヒトモデルシステムにおけるAD関連の病的状態のCDK5iペプチドの効果を検証するために、家族性AD(fAD)患者の線維芽細胞から創造された人工多能性幹細胞(iPSCs)を使用した。fAD iPSCに由来する神経前駆細胞(NPC)は、学習および記憶に関連する遺伝子の転写をネガティブに制御するヒストンデアセチラーゼ2(HDAC2)の上方制御を包含する、複数の病的な表現型を示す(図6A)。PSEN1 M146I突然変異を運ぶ系統は、最も強い表現型を示し、およびさらなる特徴づけは、健康なiPSCsからのNPCと比較して、それらの細胞においてDNA損傷を増加することを明らかにした(図6B)。

【0136】

NPCを、ついでCDK5iペプチドまたはそのスクランブルペプチドのいずれかによって処置し、その結果得られる病的な表現型を試験した。スクランブルペプチドが効果を示さなかった一方、CDK5iペプチドがPSEN1 M146I NPS中のHDAC2およびH2AX(DNA損傷を示唆する)のレベルを有意に減少させることを見出した(図7)。

【0137】

例3: 機能的ドメインを有する、CDK5iペプチドインヒビター

CDK5阻害性ドメインおよび機能的ドメイン(配列番号3)を有する、例示のペプチ

10

20

30

40

50

ドをデザインした(図9A)。機能的ドメインは、Cdk5iペプチドの細胞の中への送達を亢進する。例において、それは、転写のトランス活性化因子(TAT)のペプチド、転写のトランス活性化因子(TAT)のペプチド、Cdk5iペプチドが細胞膜を横切って移動することを可能にするように、C末端において接合されたHIVのフラグメントである。ペプチドの分布を画像化するために、N末端にて、フルオレッセインイソチオシアネート(FITC)をリンカー(アミノヘキサ酸; Ahx)によって接合した。

【0138】

ヒトiPSC由来神経前駆細胞を、2時間FITC-Ahx-Cdk5i-Tat(1μM)(配列番号3)によって処置し、およびイメージングを受けさせた。結果を、図9Bにおいて示した。結果は、FITCシグナルが細胞内の場所にあることを示し、該ペプチドが細胞膜を通過することができることを実証した。

10

【0139】

例4. Cdk5iは、マウス内の血液脳関門を通過する

野生型マウスを、Cdk5iの単回用量(40mg/kg)で腹腔内注射し、および注射の24時間後、屠殺した。脳を抽出する前に、マウスを血液脳関門を横切らなかった可能性のある、血液中に循環するいかなるCdk5iの排除を確実にするように、40mLの冷たいリン酸緩衝生理食塩水(PBS)によって経心的に灌流した。灌流の後に、脳を2つの半球に解剖しおよび1つの半球を総タンパク質を抽出するように、冷たい溶解緩衝液(RIPA)によって溶解した。総タンパク質を、次いで、大きなタンパク質を分離するように12%アクリルアミドゲルにおいて短時間に泳動し、次いでトリプシン酵素によって消化し、そしてGGGスペーサー/リンカーおよびFITCに連結される配列番号3のCdk5iペプチド配列(Cdk5i配列:FITC-GGG-配列番号3)を使用する、標的化された質量分析を受けさせた。

20

【0140】

接合されたtatタンパク質配列を包含するCdk5i配列の実質的な部分(12のうち11アミノ酸)を、スペクトルの数およびピーク面積に基づき、質量分析を使用し検出した。データを、表1において示す。標的化された質量分析を使用し、Cdk5iによって注射されたマウスからの脳の溶解物は、スペクトルの#およびピーク面積に基づき、Cdk5iに対する濃縮を示した(表1中のデータの2段目)。

30

【表1】

表1

ペプチド	質量	m/z	RT	面積	スキャン	#スペクトル
R.CYSYGRK.K	932.4174	467.215	9.49	6.13E+08	3964	12
R.CYSYGRK.K	804.3224	403.1688	13.22	9.51E+09	5598	27
G.ARAFGIPVR.C	985.5821	493.7981	41.3	3.83E+07	18302	12
R.AFGIPVRCYSYGRKK.R	1800.946	601.3235	44.66	2.24E+06	19806	2
R.AFGIPVRCYSYGRK.K	1672.851	558.6249	53.56	3.75E+07	24210	5
R.AFGIPVRCYSYGR.K	1544.756	515.9263	63.95	8.42E+08	29189	22

40

【0141】

上記の記述された明細書は、当業者が本発明を実施することを可能にすることに十分であると考えられる。例が本発明の一側面、および本発明の範囲内の他の機能的当量物の態様の一側面の単一の例示として意図されるという理由から、本発明は、提供される例による範囲内に限定されない。本明細書に示されるおよび記載されるものに加えて、本発明の様々な改変は、上記の記載から当業者に明らかになり、および付加される請求項の範囲内にあるだろう。本発明の利点は、本発明の各態様によって必ずしも網羅されない。

50

【 図 1 A - 1 B 】

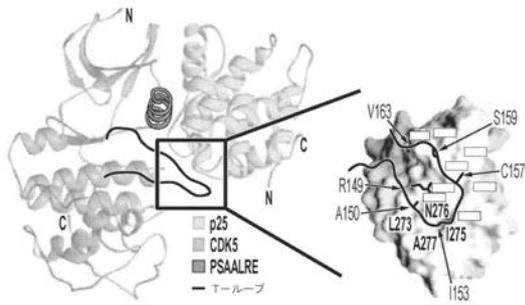


図 1A

Cdk5阻害性 (Cdk5i) ペプチドの配列

	150	160	170	180
CDK5_Human	DFGLR AF FGI PV RCYSAE V TLWYRPPD VL FGAKLYSTS			
CDK5_Xenopus	DFGLR AF FGI PV RCYSAE V TLWYRPPD VL FGAKLYSTS			
CDK5_C.elegans	DFGLR AF FGI PV RCYSAE V TLWYRPPD VL FGAKLYSTS			
CDK5_Drosophila	DFGLR AF FGI PV RCYSAE V TLWYRPPD VL FGAKLYSTS			
CDK2_Human	DFGLR AF FGI PV THEVTLWYRA PE ILLGCKYISTA			
CDK1_Human	DFGLR AF FGI PV TVTHEVTLWYR SE VLLGSARYSTP			
CDK3_Human	DFGLR AF GV PL RTYTHEVTLWYRA PE ILLGSKFYTTA			
CDK4_Human	DFGLR ARI YS Q W- ALT PVVTLWYRA PE VLLQS-TYATP			
CDK6_Human	DFGLR ARI YS Q W- ALT SVVTLWYRA PE VLLQS-SYATP			

図 1B

【 図 2 】

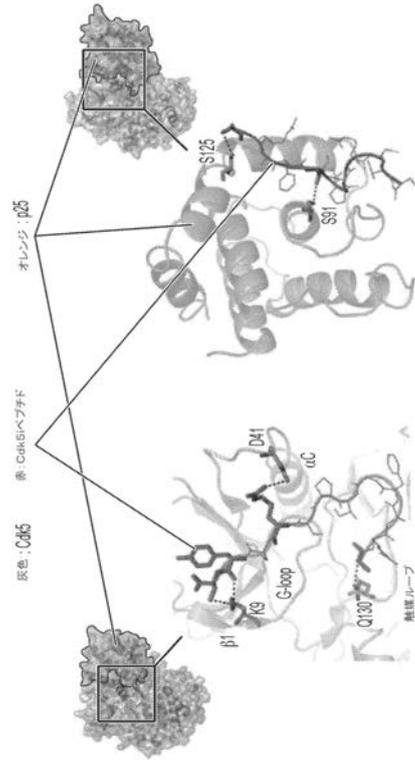


図 2

【 図 3 】

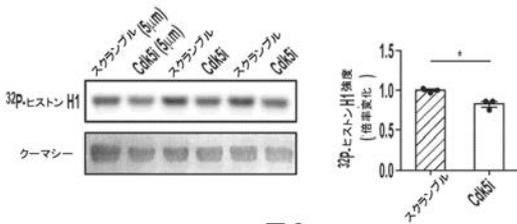


図 3

【 図 5 A 】

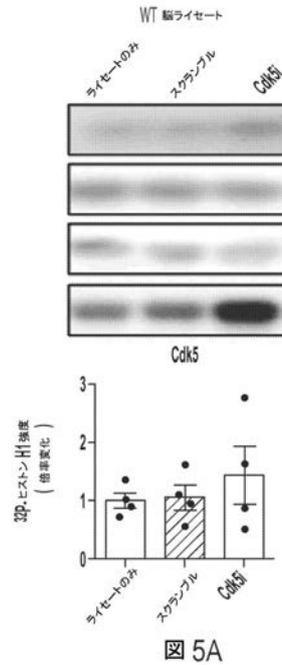


図 5A

【 図 4 】

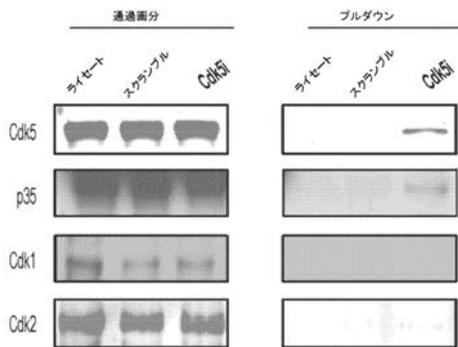


図 4

【 図 9 A - 9 B 】

FITC-Ahx-**ARAFGIPVRCISYGRKKRRQRRR** (SEQ ID
NO.3) Cdk5iペプチド TAT

図 9A

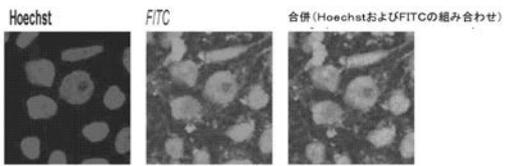


図 9B

【 配列表 】

2020533992000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2018/049155

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K38/45 C12N9/12 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C12N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data, CHEM ABS Data, Sequence Search		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TARRICONE C ET AL: "Structure and Regulation of the CDK5-p25nck5a Complex", MOLECULAR CELL, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 8, no. 3, 1 September 2001 (2001-09-01), pages 657-669, XP003015670, ISSN: 1097-2765, DOI: 10.1016/S1097-2765(01)00343-4 abstract page 660, right-hand column, paragraph 1 page 662, right-hand column, paragraph 2 page 663; figure 4C page 666, left-hand column, paragraph 2 ----- -/--	1-51
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
15 November 2018		28/11/2018
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Grötzingler, Thilo

1

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/US2018/049155

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	W0 2006/078783 A2 (CHAKER ADRA N [US]) 27 July 2006 (2006-07-27)	1-3, 8-10, 18-24, 28-31
A	abstract figure 8b sequence 9	4-7, 11-17, 25-27, 32-51
X	----- ERSHLER M A ET AL: "Novel CDC2-related protein kinases produced in murine hematopoietic stem cells", GENE, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 124, no. 2, 28 February 1993 (1993-02-28), pages 305-306, XP023540068, ISSN: 0378-1119, DOI: 10.1016/0378-1119(93)90411-U [retrieved on 1993-02-28]	1-3, 8-10, 18-24, 28-31
A	abstract page 306; figure 1	4-7, 11-17, 25-27, 32-51
A	----- MARK MOORTHAMER ET AL: "Identification of a Human cDNA Encoding a Kinase-Defective Cdk5 Isoform", BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, vol. 253, no. 2, 1 December 1998 (1998-12-01), pages 305-310, XP055523873, AMSTERDAM, NL ISSN: 0006-291X, DOI: 10.1006/bbrc.1998.9737 abstract page 307; figure 1 page 309 to page 310, bridging paragraph; figure 5	1-51
A	----- US 6 693 166 B1 (WANG JERRY H [HK] ET AL) 17 February 2004 (2004-02-17) abstract column 1, paragraph 3 column 2, paragraph 4 -----	1-51

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2018/049155

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date	
WO 2006078783	A2	27-07-2006	CA 2598607 A1	27-07-2006
			CN 101142229 A	12-03-2008
			EP 1877423 A2	16-01-2008
			US 2008153749 A1	26-06-2008
			US 2011104801 A1	05-05-2011
			WO 2006078783 A2	27-07-2006

US 6693166	B1	17-02-2004	NONE	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
A 6 1 K 38/08 (2019.01)	A 6 1 K 38/08	
A 6 1 K 38/10 (2006.01)	A 6 1 K 38/10	
A 6 1 K 38/16 (2006.01)	A 6 1 K 38/16	
A 6 1 K 47/32 (2006.01)	A 6 1 K 47/32	
A 6 1 K 47/60 (2017.01)	A 6 1 K 47/60	
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 P 25/14 (2006.01)	A 6 1 P 25/14	
A 6 1 P 25/18 (2006.01)	A 6 1 P 25/18	
A 6 1 P 25/22 (2006.01)	A 6 1 P 25/22	
A 6 1 P 25/30 (2006.01)	A 6 1 P 25/30	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 1 1

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

(72)発明者 セオ, ジンスー

大韓民国 4 2 9 8 8 テグ、タルソン - ゴン、テクノ ジュングァン - デロ 3 3 3、ビルディング イー 4 - 5 1 2

Fターム(参考) 4B065 AA01X AA57X AA83X AA86X AA87X AA87Y AB01 AC14 BA01 BA02
CA24 CA44
4C076 BB01 BB13 BB15 BB16 BB21 BB25 BB31 CC01 CC41 EE12
EE13 EE23Q EE59 FF31 FF34 FF63 FF68
4C084 AA02 AA03 AA07 AA13 BA01 BA08 BA16 BA17 BA18 BA19
BA23 BA37 CA53 MA01 MA52 MA55 MA59 MA63 NA03 NA11
NA14 ZA01 ZA05 ZA15 ZA16 ZA18 ZC39 ZC41
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA02 MA04 MA05 MA52 MA55 MA59
MA63 NA03 NA11 NA14 ZA01 ZA05 ZA15 ZA16 ZA18 ZC39
ZC41
4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 BA13 BA14 BA15 BA16 BA17 BA18
CA40 DA89 EA20 EA50 FA10 FA20 FA74