

(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2017-513875

(P2017-513875A)

(43) 公表日 平成29年6月1日(2017. 6. 1)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 0 7 K 1/08 (2006.01)	C 0 7 K 1/08 Z N A	4 C 0 8 4
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	4 H 0 4 5
A 6 1 P 29/00 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	
A 6 1 P 37/02 (2006.01)	A 6 1 P 37/02	
A 6 1 P 3/00 (2006.01)	A 6 1 P 3/00	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 66 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2016-563917 (P2016-563917)	(71) 出願人	516314284
(86) (22) 出願日	平成27年4月21日 (2015. 4. 21)		ティーエックスピー ファーマ ゲゼルシ
(85) 翻訳文提出日	平成28年10月19日 (2016. 10. 19)		ャフト ミット ベシュレンクテル ハフ
(86) 国際出願番号	PCT/IB2015/000553		ツング
(87) 国際公開番号	W02015/162485		スイス国, シーエイチ-6370 シュタ
(87) 国際公開日	平成27年10月29日 (2015. 10. 29)		ンス, シュミートガッセ 2
(31) 優先権主張番号	61/982, 709	(74) 代理人	100114775
(32) 優先日	平成26年4月22日 (2014. 4. 22)		弁理士 高岡 亮一
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100121511
			弁理士 小田 直
		(74) 代理人	100202751
			弁理士 岩堀 明代
		(74) 代理人	100191086
			弁理士 高橋 香元
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 分枝状アミノ酸プローブを有するペプチド類似体

(57) 【要約】

本発明は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プローブと、ネイティブのペプチドまたはその変異体と、を含むペプチド類似体に関する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ペプチドと、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープと、を含むペプチド類似体であって、

前記分枝状アミノ酸プロープが、第一のアミノアルキルアミノ酸残基を含み、

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、場合により第二のアミノアルキルアミノ酸残基に、または第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基に共有結合で連結して、2または3個のアミノアルキルアミノ酸残基の直鎖を形成し、

前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸残基の1つまたは複数の側鎖(複数可)がそれぞれ、独立して $AA A_q - AAA; (aa_3)_p - AAA_q; AA A_q - (aa_3)_p; [(aa_3) - AAA]_p$ および $[AAA - (aa_3)]_p$ (ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり; p は、1、2 および 3 から選択される数であり; AAA は、アミノアルキルアミノ酸残基であり、 (aa_3) は、独立して Arg 、 His 、 Gly および Ala から選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を、前記側鎖アミノ基に結合させることにより修飾され;

前記アミノアルキルアミノ酸残基が、場合によりアセチル化されており、

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、前記ペプチドのN末端に共有結合で連結される、前記ペプチドのC末端に共有結合で連結される、および/または前記ペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されるが、

ただし、前記分枝状アミノ酸プロープが、2~9個のアミノ酸残基からなることを条件とする、ペプチド類似体。

10

20

【請求項 2】

前記アミノアルキルアミノ酸残基が、アミノアルキル基($-C_nH_{2n}NH_2$)を含む側鎖を有するアミノ酸アミノ酸である、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 3】

前記アミノアルキルアミノ酸残基が、メチルアミン($-CH_2NH_2$)、エチルアミン($-C_2H_4NH_2$)、プロピルアミン($-C_3H_6NH_2$)、 n -ブチルアミン($-C_4H_8NH_2$)、ペンチルアミン($-C_5H_{10}NH_2$)、 n -ヘキシルアミン($-C_6H_{12}NH_2$)、ヘプチルアミン($-C_7H_{14}NH_2$)、オクチルアミン($-C_8H_{16}NH_2$)、ノニルアミン($-C_9H_{18}NH_2$)、デシルアミン($-C_{10}H_{20}NH_2$)、ウンデシルアミン($-C_{11}H_{22}NH_2$) および ドデシルアミン($-C_{12}H_{24}NH_2$) からなる群から選択される側鎖アミノアルキル基を含む、前記請求項に記載のペプチド類似体。

30

【請求項 4】

前記アミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基が、 β -アミノ基(メチルアミン); γ -アミノ基(エチルアミン); δ -アミノ基(プロピルアミン); ϵ -アミノ基(n -ブチルアミン); ζ -アミノ基(ペンチルアミン); η -アミノ基(n -ヘキシルアミン); θ -アミノ基(ヘプチルアミン); i -アミノ基(オクチルアミン); κ -アミノ基(ノニルアミン); λ -アミノ基(デシルアミン); μ -アミノ基(ウンデシルアミン); および ν -アミノ基(ドデシルアミン) からなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

40

【請求項 5】

前記分枝状アミノ酸プロープが、第一のアミノアルキルアミノ酸残基を含み、前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、場合によりアセチル化されており、

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基が、独立して $AA A_q - AAA; (aa_3)_p - AAA_q; AA A_q - (aa_3)_p; [(aa_3) - AAA]_p$ および $[AAA - (aa_3)]_p$ (ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり; p は、1、2 および 3 から選択される数であり; AAA は、アミノアルキルアミノ酸残基(場合によりアセチル化された)であり、 (aa_3) は、独立して Arg 、 His 、 Gly および Ala から選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を結

50

合させることにより修飾される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 6】

前記分枝状アミノ酸プロープが、第二のアミノアルキルアミノ酸残基に共有結合で連結して 2 個のアミノアルキルアミノ酸残基の直鎖を形成する第一のアミノアルキルアミノ酸残基を含み、

前記第一および / または第二のアミノアルキルアミノ酸残基が、場合によりアセチル化されており、

前記第一および / または第二のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基が、独立して $AA A_q - AAA$; $(aa_3)_p - AAA_q$; $AA A_q - (aa_3)_p$; $[(aa_3) - AAA]_p$ および $[AAA - (aa_3)]_p$ (ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり; p は、1、2 および 3 から選択される数であり; AAA は、アミノアルキルアミノ酸残基 (場合によりアセチル化された) であり、 (aa_3) は、独立して Arg 、 His 、 Gly および Ala から選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を結合させることにより修飾される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

10

【請求項 7】

前記分枝状アミノ酸プロープが、第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基に共有結合で連結して 3 個のアミノアルキルアミノ酸残基の直鎖を形成する第一のアミノアルキルアミノ酸残基を含み、

前記第一、第二および / または第三のアミノアルキルアミノ酸残基が、場合によりアセチル化されており、

前記第一、第二および / または第三のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基が、独立して $AA A_q - AAA$; $(aa_3)_p - AAA_q$; $AA A_q - (aa_3)_p$; $[(aa_3) - AAA]_p$ および $[AAA - (aa_3)]_p$ (ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり; p は、1、2 および 3 から選択される数であり; AAA は、アミノアルキルアミノ酸残基 (場合によりアセチル化された) であり、 (aa_3) は、独立して Arg 、 His 、 Gly および Ala から選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を結合させることにより修飾される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

20

【請求項 8】

i) 前記第一、第二および / もしくは第三のアミノアルキルアミノ酸残基の 1 つ、
ii) 前記第一、第二および / もしくは第三のアミノアルキルアミノ酸残基の 2 つ、または
iii) 前記第一、第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基の 3 つ、の側鎖が、前記側鎖アミノ基に分子を結合させることにより修飾される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

30

【請求項 9】

前記アミノアルキルアミノ酸残基が、個別に L - リジン、 D - リジン、 L - オルニチンおよび D - オルニチンからなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 10】

前記分枝状アミノ酸プロープの前記第一、第二および / または第三のアミノアルキルアミノ酸のそれぞれが、個別に L - リジン、 D - リジン、 L - オルニチンおよび D - オルニチンからなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

40

【請求項 11】

分子 $AA A_q - AAA$; $(aa_3)_p - AAA_q$; $AA A_q - (aa_3)_p$; $[(aa_3) - AAA]_p$ および $[AAA - (aa_3)]_p$ の各 AAA が、個別に L - リジン、 D - リジン、 L - オルニチンおよび D - オルニチンからなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 12】

前記アミノアルキルアミノ酸残基が、個別の L - リジンおよび L - オルニチンからなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

50

【請求項 13】

前記アミノアルキルアミノ酸残基がそれぞれ、同一または異なっている、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 14】

前記側鎖アミノ基が、個別に δ -アミノ基（オルニチン）および ε -アミノ基（リジン）から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 15】

前記側鎖アミノ基（複数可）に結合される前記分子が、独立して $\text{Lys}_q - \text{Lys}; (\text{aa}_3)_p - \text{Lys}_q; \text{Lys}_q - (\text{aa}_3)_p; [(\text{aa}_3) - \text{Lys}]_p; [\text{Lys} - (\text{aa}_3)]_p; \text{Orn}_q - \text{Orn}; (\text{aa}_3)_p - \text{Orn}_q; \text{Orn}_q - (\text{aa}_3)_p; [(\text{aa}_3) - \text{Orn}]_p$ および $[\text{Orn} - (\text{aa}_3)]_p; \text{Orn}_q - \text{Lys}_p; \text{Lys}_p - \text{Orn}_q; [\text{Orn} - \text{Lys}]_p$ および $[\text{Lys} - \text{Orn}]_p$ （ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり； p は、1、2 および 3 から選択される数であり； (aa_3) は、独立して Arg 、 His 、 Gly および Ala から選択されるアミノ酸残基であり、前記 Lys 、 Orn および (aa_3) アミノ酸残基のそれぞれは、場合によりアセチル化されている）からなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

10

【請求項 16】

前記側鎖アミノ基（複数可）に結合される前記分子が、独立して $\text{Lys}_q - \text{Lys}; \text{Orn}_q - \text{Orn}; \text{Orn}_q - \text{Lys}_p; \text{Lys}_p - \text{Orn}_q; [\text{Orn} - \text{Lys}]_p$ および $[\text{Lys} - \text{Orn}]_p$ （ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり； p は、1、2 および 3 から選択される数であり；前記 Lys および Orn アミノ酸残基のそれぞれは、場合によりアセチル化されている）からなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

20

【請求項 17】

前記側鎖アミノ基（複数可）に結合される前記分子が、独立して $\text{Lys}_q - \text{Lys}; (\text{aa}_3)_p - \text{Lys}_q; \text{Lys}_q - (\text{aa}_3)_p; [(\text{aa}_3) - \text{Lys}]_p$ ；および $[\text{Lys} - (\text{aa}_3)]_p$ からなる群から選択され、前記 Lys 残基のそれぞれが、場合によりアセチル化されている、前記請求項に記載のペプチド類似体。

30

【請求項 18】

前記アミノアルキルアミノ酸残基が、個別に L -リジンおよび D -リジンからなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

30

【請求項 19】

前記側鎖アミノ基（複数可）に結合される前記分子が、 $\text{Lys}_q - \text{Lys}$ （ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり、前記 Lys 残基のそれぞれは、場合によりアセチル化されている）である、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 20】

前記側鎖アミノ基（複数可）に結合される前記分子が、独立して $\text{Ac} - \text{AAA}_q - \text{AAA}; \text{Ac} - (\text{aa}_3)_p - \text{AAA}_q; \text{Ac} - \text{AAA}_q - (\text{aa}_3)_p; \text{Ac} - [(\text{aa}_3) - \text{AAA}]_p; \text{Ac} - [\text{AAA} - (\text{aa}_3)]_p; \text{Ac} - \text{Lys}_q - \text{Lys}; \text{Ac} - (\text{aa}_3)_p - \text{Lys}_q; \text{Ac} - \text{Lys}_q - (\text{aa}_3)_p; \text{Ac} - [(\text{aa}_3) - \text{Lys}]_p; \text{Ac} - [\text{Lys} - (\text{aa}_3)]_p; \text{Ac} - \text{Orn}_q - \text{Orn}; \text{Ac} - (\text{aa}_3)_p - \text{Orn}_q; \text{Ac} - \text{Orn}_q - (\text{aa}_3)_p; \text{Ac} - [(\text{aa}_3) - \text{Orn}]_p; \text{Ac} - [\text{Orn} - (\text{aa}_3)]_p; \text{Ac} - \text{Orn}_p - \text{Lys}_p; \text{Ac} - \text{Lys}_p - \text{Orn}_p; \text{Ac} - [\text{Orn} - \text{Lys}]_p$ および $\text{Ac} - [\text{Lys} - \text{Orn}]_p$ （ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり； p は、1、2 および 3 から選択される数であり； (aa_3) は、独立して Arg 、 His 、 Gly および Ala から選択されるアミノ酸残基である）からなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

40

【請求項 21】

前記分枝状アミノ酸プローブが、2～3個のアミノ酸残基、3～4個のアミノ酸残基な

50

ど、例えば 4 ～ 5 個のアミノ酸残基、5 ～ 6 個のアミノ酸残基など、例えば 6 ～ 7 個のアミノ酸残基、7 ～ 8 個のアミノ酸残基など、例えば 8 ～ 9 個のアミノ酸残基からなる、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 2 2】

前記分枝状アミノ酸プロープが、2 個のアミノ酸残基、3 個のアミノ酸残基など、例えば 4 個のアミノ酸残基、5 個のアミノ酸残基など、例えば 6 個のアミノ酸残基、7 個のアミノ酸残基など、例えば 8 個のアミノ酸残基、9 個のアミノ酸残基などからなる、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 2 3】

前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸残基の 1 つまたは複数の側鎖アミノ基（複数可）に結合される前記分子が、A A A、A c - A A A、A A A - A A A、A c - A A A - A A A、A A A - A A A - A A A、A c - A A A - A A A - A A A、A A A - A A A - A A A - A A A、A c - A A A - A A A - A A A - A A A、A A A - G l y - A A A、A c - A A A - G l y - A A A、A A A - A A A - G l y、A c - A A A - A A A - G l y、A A A - G l y、A c - A A A - G l y、A A A - A l a - A A A、A c - A A A - A l a - A A A、A A A - A A A - A l a、A c - A A A - A A A - A l a、A A A - A l a、A c - A A A - A l a、A A A - H i s - A A A、A c - A A A - H i s - A A A、A A A - A A A - H i s、A c - A A A - A A A - H i s、A A A - H i s、A c - A A A - H i s、A A A - A r g - A A A、A c - A A A - A r g - A A A、A A A - A A A - A r g、A c - A A A - A A A - A r g、A A A - A r g および A c - A A A - A r g（ここで A A A は、場合によりアセチル化されたアミノアルキルアミノ酸残基である）からなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

10

20

【請求項 2 4】

前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸残基の 1 つまたは複数の側鎖アミノ基（複数可）に結合される前記分子が、L y s、A c - L y s、L y s - L y s、A c - L y s - L y s、L y s - L y s - L y s、A c - L y s - L y s - L y s、L y s - L y s - L y s - L y s、A c - L y s - L y s - L y s - L y s、L y s - G l y - L y s、A c - L y s - G l y - L y s、L y s - L y s - G l y、A c - L y s - L y s - G l y、L y s - G l y、A c - L y s - G l y、L y s - A l a - L y s、A c - L y s - A l a - L y s、L y s - L y s - A l a、A c - L y s - L y s - A l a、L y s - A l a、A c - L y s - A l a、L y s - H i s - L y s、A c - L y s - H i s - L y s、L y s - L y s - H i s、A c - L y s - L y s - H i s、L y s - H i s、A c - L y s - H i s、L y s - A r g - L y s、A c - L y s - A r g - L y s、L y s - L y s - A r g、A c - L y s - L y s - A r g、L y s - A r g および A c - L y s - A r g からなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

30

【請求項 2 5】

前記分枝状アミノ酸プロープ（複数可）が、A c - (A c - L y s) L y s - L y s -、(A c - L y s) L y s - L y s -、A c - (L y s) L y s - L y s -、(L y s) L y s - L y s -；A c - L y s - (A c - L y s) L y s -、L y s - (A c - L y s) L y s -、A c - L y s - (L y s) L y s -、L y s - (L y s) L y s -；A c - (A c - L y s - L y s) - L y s -、(A c - L y s - L y s) - L y s -、A c - (L y s - L y s) - L y s - および (L y s - L y s) - L y s - からなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

40

【請求項 2 6】

前記分枝状アミノ酸プロープ（複数可）が、A c - (A c - L y s) L y s -、A c - (L y s) L y s - および (L y s) L y s - からなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 2 7】

(a a ₃) が、G l y および A l a から選択されるアミノ酸残基である、前記請求項に記載のペプチド類似体。

50

【請求項 28】

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、前記ペプチド内のリジンまたはオルニチン残基の側鎖アミノ基に結合されている、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 29】

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、前記ペプチド内のオルニチン残基の δ - アミノ基、または前記ペプチド内のリジン残基の ε - アミノ基に結合されている、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 30】

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、前記ペプチド内のリジン残基の ε - アミノ基に結合されている、前記請求項に記載のペプチド類似体。

10

【請求項 31】

1つの分枝状アミノ酸プロープ、2つの分枝状アミノ酸プロープなど、例えば3つの分枝状アミノ酸プロープ、4つの分枝状アミノ酸プロープなど、例えば5つの分枝状アミノ酸プロープ、6つの分枝状アミノ酸プロープなど、例えば7つの分枝状アミノ酸プロープ、8つの分枝状アミノ酸プロープなど、例えば9つの分枝状アミノ酸プロープ、10の分枝状アミノ酸プロープなどを含む、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 32】

1つの分枝状アミノ酸プロープを含む、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 33】

前記ペプチドのN末端に共有結合により連結された1つの分枝状アミノ酸プロープを含む、前記請求項に記載のペプチド類似体。

20

【請求項 34】

前記ペプチドのC末端に共有結合により連結された1つの分枝状アミノ酸プロープを含む、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 35】

前記ペプチド内のオルニチン残基の δ - アミノ基、または前記ペプチド内のリジン残基の ε - アミノ基に結合されているなど、前記ペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合された1つの分枝状アミノ酸プロープを含む、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 36】

2つの分枝状アミノ酸プロープを含む、前記請求項に記載のペプチド類似体。

30

【請求項 37】

2つの分枝状アミノ酸プロープを含み、ここで、

i) 一方の分枝状アミノ酸プロープが、前記ペプチドのN末端に共有結合され、他方の分枝状アミノ酸プロープが、前記ペプチドのC末端に共有結合されているか、

i i) 一方の分枝状アミノ酸プロープが、前記ペプチドのN末端に共有結合され、他方の分枝状アミノ酸プロープが、前記ペプチド配列内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されているか、

i i i) 一方の分枝状アミノ酸プロープが、前記ペプチドのC末端に共有結合され、他方の分枝状アミノ酸プロープが、前記ペプチド配列内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されているか、または

i v) 前記2つの分枝状アミノ酸プロープのそれぞれが、前記ペプチド配列内の別のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている、

前記請求項に記載のペプチド類似体。

40

【請求項 38】

3つの分枝状アミノ酸プロープを含む、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 39】

3つの分枝状アミノ酸プロープを含み、ここで

i) 前記第一の分枝状アミノ酸プロープが、前記ペプチドのN末端に共有結合され、前記第二の分枝状アミノ酸プロープが、前記ペプチドのC末端に共有結合され、前記第三の分

50

枝状アミノ酸プローブが、前記ペプチド配列内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されているか、

i i) 前記第一の分枝状アミノ酸プローブが、前記ペプチドのN末端に共有結合され、前記第二および第三の分枝状アミノ酸プローブがそれぞれ、前記ペプチド配列内の異なるアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されているか、

i i i) 前記第一の分枝状アミノ酸プローブが、前記ペプチドのC末端に共有結合され、前記第二および第三の分枝状アミノ酸プローブがそれぞれ、前記ペプチド配列内の異なるアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されているか、または

i v) 前記第一、第二および第三の分枝状アミノ酸プローブのそれぞれが、前記ペプチド配列内の異なるアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている、

前記請求項に記載のペプチド類似体。

10

【請求項40】

前記ペプチドは、 α -MSH、 β -MSHおよび γ -MSH、ならびにそれらの変異体から選択されるメラノコルチンである、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項41】

前記類似体が、アミノ酸配列：



(ここで、nは、0、1、2、3、4および5から選択される数であり、 (aa_1) は、独立して、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり、

mは、0または1であり、 (aa_2) は、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり

20

Yは、His-Phe-Arg-Trp; His-(D-Phe)-Arg-Trp; His-Phe-(D-Arg)-Trp; His-Phe-Arg-(D-Trp); His-(D-Phe)-Arg-(D-Trp); His-Nal-Arg-TrpおよびHis-(D-Nal)-Arg-Trpからなる群から選択され；

Zは、Lys-Pro-ValおよびLys-Pro-(D-Val)からなる群から選択され、Valまたは(D-Val)は、場合によりバリナムドである)を有する α -MSHペプチドを含む、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項42】

$(aa_1)_n$ が、Ser-Tyr-Ser-Met-Glu、Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu、Ser-Ser-Ile-Ile-Ser、Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu、Ac-Ser-Tyr-Ser-Nle-GluおよびAc-Ser-Ser-Ile-Ile-Serからなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

30

【請求項43】

$(aa_2)_m$ が、Glyである、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項44】

前記類似体が、アミノ酸配列：



(ここで、nは、0、1、2、3、4および5から選択される数であり、 (aa_1) は、独立して、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり、

40

mは、0または1であり、 (aa_2) は、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり、

Yは、His-Phe-Arg-Trp; His-(D-Phe)-Arg-Trp; His-Phe-(D-Arg)-Trp; His-Phe-Arg-(D-Trp); His-(D-Phe)-Arg-(D-Trp); His-Nal-Arg-TrpおよびHis-(D-Nal)-Arg-Trpからなる群から選択され；

Zは、Arg-Phe-Gly、Arg-(D-Phe)-Gly、Arg-PheおよびArg-(D-Phe)からなる群から選択され；Pheもしくは(D-Phe)は、フェニルアラニンアミドであるか、またはGlyは、グリシンアミドである)を有する γ -MSHペプチドを含む、前記請求項に記載のペプチド類似体。

50

【請求項 45】

(aa_1)_n が、Tyr - Val - Met - Gly および Tyr - Val - Nle - Gly からなる群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 46】

(aa_2)_m が、Asp である、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 47】

前記類似体が、

i) α - MSH および / または γ - MSH ペプチド、

ii) α - MSH および / または γ - MSH ペプチドの最も N 末端のアミノ酸に共有結合で連結された分枝状アミノ酸プローブを有する前記 α - MSH および / または γ - MSH ペプチド、

iii) α - MSH および / または γ - MSH ペプチドの最も N 末端のアミノ酸に共有結合で連結されたリジン残基を含む、または前記リジン残基からなる分枝状アミノ酸プローブを有する前記 α - MSH および / または γ - MSH ペプチド、

iv) α - MSH および / または γ - MSH ペプチドの最も N 末端のアミノ酸に共有結合で連結された 1 つの分枝状アミノ酸プローブを有する前記 α - MSH および / または γ - MSH ペプチド、

v) α - MSH および / または γ - MSH ペプチドの最も N 末端のアミノ酸に共有結合で連結されたリジン残基を含む、または前記リジン残基からなる 1 つの分枝状アミノ酸プローブを有する前記 α - MSH および / または γ - MSH ペプチド、

vi) アミノ酸配列: X - (aa_1)_n - Y - (aa_2)_m - Z

(ここで、X は、Lys および D - Lys から選択される第一のリジン残基 (Lys₁) を有する分枝状アミノ酸プローブを含み、前記第一のリジン残基は、(aa_1)_n へのペプチド結合により連結され、

前記第一のリジン残基は、第二のリジン残基 (Lys₂) への、または第二および第三のリジン残基 (Lys₃) へのペプチド結合により場合により連結されて、Lys および D - Lys から選択される合計 2 または 3 個のリジン残基の直鎖を形成し、

前記第一、第二および / または第三のリジン残基のそれぞれの 1 つまたは複数の側鎖 (複数可) が、独立して Lys_q - Lys; (aa_3)_p - Lys_q; Lys_q - (aa_3)_p; [(aa_3) - Lys]_p および [Lys - (aa_3)]_p (ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり; p は、1、2 および 3 から選択される数であり; (aa_3) は、独立して Arg、His、Gly および Ala から選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を、前記リジン残基のそれぞれの 1 つまたは複数の ε - アミノ基に結合させることにより修飾されるが、

ただし、X が、2 ~ 9 個のアミノ酸残基からなることを条件とし、

Y は、His - Phe - Arg - Trp (SEQ ID NO: 16); His - (D - Phe) - Arg - Trp; His - Phe - (D - Arg) - Trp; His - Phe - Arg - (D - Trp); His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp); His - Nal - Arg - Trp および His - (D - Nal) - Arg - Trp からなる群から選択される 4 個の連続するアミノ酸残基からなるアミノ酸配列を含み;

Z は、Lys - Pro - Val; Lys - Pro - (D - Val); Arg - Phe - Gly; Arg - (D - Phe) - Gly; Arg - Phe および Arg - (D - Phe) からなる群から選択される 2 または 3 個の連続するアミノ酸残基からなるアミノ酸配列を含み;

n は、0、1、2、3、4 および 5 から選択される数であり、(aa_1) は、独立して、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり得、

m は、0 または 1 であり、(aa_2) は、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり得る) を含む 8 ~ 22 個のアミノ酸残基からなるペプチド、
を含まない、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 48】

10

20

30

40

50

前記ペプチドが、 α -MSHの環状ラクタム類似体、または金属環化 α -MSH類似体である、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項49】

前記ペプチドが、2～100個のアミノ酸残基、2～3個など、例えば3～4個、4～5個など、例えば5～6個、6～7個など、例えば7～8個、8～9個など、例えば9～10個、10～12個など、例えば12～14個、14～16個など、例えば16～18個、18～20個など、例えば20～25個、25～30個など、例えば30～40個、40～50個など、例えば50～75個、75～100個などのアミノ酸残基を含む、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項50】

前記ペプチドが、50個未満のアミノ酸残基、40個未満など、例えば30個未満のアミノ酸残基を含む、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項51】

前記ペプチドが、ネイティブまたは天然由来である、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項52】

前記ペプチドが、生物学的活性変異体または天然由来ペプチドである、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項53】

前記ペプチドが、大きなポリペプチドまたはタンパク質の断片である、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項54】

前記ペプチドが、i) 抗炎症および/もしくは消炎作用をはじめとする免疫調整作用、ii) 代謝作用、iii) 心臓血管作用、ならびに/またはiv) 臓器保護および/もしくは組織保護作用、を有する、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項55】

前記ペプチドが、VIP(血管作動性腸管ペプチド; PHM27)、PACAP(下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド)、ペプチドPHI27(ペプチドヒスチジンイソロイシン27)、GHRH1～24(成長ホルモン放出ホルモン1～24)、グルカゴン、セクレチン、グリセンチン前駆体、GIP(胃抑制ペプチド)、プレアルブミンもしくはトランスサイレチン(TTR)、ペプチドHI-27および成長ホルモン放出因子(GHRFまたはGHRH)、インクレチン、グルカゴン様ペプチド1(GLP-1)、GLP-1(7-37)、GLP-1(7-33)、グルカゴン様ペプチド2(GLP-2)、エキセジン4、ソマトトロフィン(somatotrophins)(ソマトロピン(somatotropin)または成長ホルモン(GH)など)、サイトロロフィン(甲状腺刺激ホルモン(TSH)など)、コルチコトロピン(アデノコルチコトロピンホルモン(ACTH)、およびベータ-エンドルフィンなど)、ラクトロロフィン(プロラクチン(RPL)など)、ゴナドトロピン(黄体形成ホルモン(LH)および卵胞刺激ホルモン(FSH)など)、抗利尿ホルモン(ADHまたはバソプレッシン)、オキシトシン、成長ホルモン放出ホルモン(GHRH)、ソマトスタチン、サイトロロピン放出ホルモン(TRH)、コルチコトロピン放出ホルモン(CRH)、ゴナドトロピン放出ホルモン(GnRH)、CREB(cAMP応答配列結合タンパク質)、ラクトリペプチド、イソロイシン-プロリン-プロリン(IPP)、バリン-プロリン-プロリン(VPP)、NPY(神経ペプチドY)、PYY(ペプチドYY)、APP(トリ膵臓ポリペプチド)およびPPY/PP(膵臓ポリペプチド)、プロオピオメラノコルチン(POMC)ペプチド(プロオピオメラノコルチンのN末端ペプチド(NPP、またはプロ- γ -MSH)、 γ -MSH、コルチコトロピン(アドレノコルチコトロピンホルモン、またはACTH)、 α -MSH、コルチコトロピン様中間体ペプチド(CLIP)、 β -リボトロピン(β -LPH)、リボトロピンガンマ(γ -LPH)、 β -MSH、 β -エンドルフィンおよび[Met]エンケファリンなど); エンケファリンペンタペプチド(Met-エ

10

20

30

40

50

ンケファリンおよびロイエンケファリン)、プロジノルフィンペプチド、ジノルフィン(ジノルフィンA、ジノルフィンB、 α -ネオエンドルフィン、 β -ネオエンドルフィン、およびビッグジノルフィン)、エンドルフィン(ベータ-エンドルフィン、アルファ-エンドルフィン、ガンマ-エンドルフィン、 α -ネオ-エンドルフィンおよび β -ネオ-エンドルフィン)、アドレノルフィン、アミドルフィン、ロイモルフィン、ノシセプチン、オピオルフィン、シノルフィン、キニン、タキキニン神経ペプチド(サブスタンスP、カシニン、ニューロキニンA(NKA)、ニューロキニンB(NKB)、エレドイシンおよびフィサレミンなど)、ブラジキニ、ニューロメジン/ボンベシン関連ペプチド(ニューロメジンB(NMB)、ニューロメジンN、ニューロメジンSおよびニューロメジンU(NmU)など);アンギオテンシン、ボンベシン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)、 α -CGRP、 β -CGRP、カルノシン、コカインおよびアンフェタミン関連転写因子(CART)、デルタ睡眠誘導ペプチド(DSIP)、FMRFアミド、FMRFアミド関連ペプチド(FARP)、ガラニン、ガラニン様ペプチド(GALP)、ガストリン放出ペプチド(GRP)、神経ペプチドS、神経ペプチドY、ニューロフィジン(ニューロフィジンIおよびニューロフィジンII)、ニューロテンシン、膵臓ポリペプチド、脳下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド(PACAP)、RVD-Hp α 、ヘモプレシン、VGF(VGF神経成長因子誘導性)、VGF由来ペプチド(TLQP-21)、カルシトニン、アミリン(または膵島アミロイドポリペプチド(IAPP))、AGG01、アドレノメジュリン(AM)、アンギオポエチン(Ang)、オートクリン運動因子、骨誘導因子(BMP)(BMP1、BMP2、BMP3、BMP4、BMP5、BMP6、BMP7、BMP8a、BMP8b、BMP10、BMP15)、脳神経栄養因子(BDNF)、上皮成長因子(EGF)、エリスロポエチン(EPO)、線維芽細胞増殖因子(FGF)、グリア細胞株由来神経栄養因子(GDNF)、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、増殖分化因子9(GDF9)、肝細胞増殖因子(HGF)、ヘパトーマ由来増殖因子(HDGF)、インスリン様成長因子(IGF)、IGF-1、IGF-2、遊走刺激因子、ミオスタチン(GDF-8)、ニューロトロフィン、ニューロトロフィン3(NT-3)、ニューロトロフィン4(NT-4)、神経成長因子(NGF)、血小板由来成長因子(PDGF)、トロンボポエチン(TPO)、トランスフォーミング増殖因子アルファ(TGF- α)、トランスフォーミング増殖因子ベータ(TGF- β)、腫瘍壊死因子-アルファ(TNF- α)、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、Wntタンパク質、Wnt1、Wnt2、Wnt2B、Wnt3、Wnt3A、Wnt4、Wnt5A、Wnt5B、Wnt6、Wnt7A、Wnt7B、Wnt8A、Wnt8B、Wnt9A、Wnt9B、Wnt10A、Wnt10B、Wnt11、Wnt16、胎盤成長因子(PGF)、ウシ胎児ソマトトロフィン(FBS)、インスリンおよびインスリン様成長因子、IGF-1、IGF-2、IGF-結合タンパク質、IGFBP1、IGFBP2、IGFBP3、IGFBP4、IGFBP5、IGFBP6、IGFBP7、リラキシンファミリーペプチドホルモン、リラキシン様(RLN)ペプチド、インスリン様(INSL)ペプチド、RLN1(リラキシン1)、RLN2(リラキシン2)、RLN3(リラキシン3)、INSL3(インスリン様ペプチド3、ライディッヒ細胞特異性インスリン様ペプチド)、INSL4(インスリン様ペプチド4、早期胎盤インスリン様ペプチド、ELIP)、INSL5(インスリン様ペプチド5)、INSL6(インスリン様ペプチド6)、ガストリン、ガストリン-34、ガストリン-17、ガストリン-14、ペンタガストリン、甲状腺ホルモン(T4)、サイトロロピン放出ホルモン(TRH)、バソプレッシン、タンパク質ホルモン、糖タンパク質ホルモン、成長ホルモン(GH)、インスリン、LH、FSH、甲状腺刺激ホルモン(サイトロロピン、TSH)、アンギオテンシン(AGT)、アンギオテンシンI、アンギオテンシンII、アンギオテンシンIII、アンギオテンシンIV、心房性ナトリウム利尿ペプチド(ANP)、NT-proBNP、B型利尿ペプチド(BNP)、心房性利尿ペプチド(ANP)、アネキシン、アネキシンA-I(リボコルチンI)およびアネキシンA-II(アネキシンII)、またはそれらの変異体からな

る群から選択される、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 56】

医薬として使用するための、前記請求項に記載のペプチド類似体。

【請求項 57】

虚血状態、炎症状態、および/または代謝状態の処置のためのもので、前記方法が必要とする個体に前記請求項のいずれかに記載のペプチド類似体の有効量を投与することを含む、請求項 56 に記載のペプチド類似体。

【請求項 58】

卒中、傷害、敗血症性ショック、全身性高血圧、心臓発作による心停止、不整脈、血栓を伴うアテローム性疾患、心臓もしくは任意の臓器の血管からの塞栓、血管攣縮、大動脈瘤、または他の臓器の瘤、冠動脈狭窄、心筋梗塞、狭心症、心膜炎、心筋炎、粘液水腫、または心内膜炎、手術に関連する、例えば大手術、心臓胸部手術、腹部手術、大動脈および/または他の大血管の手術に関連する虚血および/または炎症状態、1種または複数の心臓弁の置換、心動脈バイパス術(CABG)、総頸動脈をはじめとする大動脈根または大動脈弓の手術、ならびに心臓の同時手術、例えば弁(複数)の置換とCAGBおよび/または大動脈根手術、一実施形態において臓器移植に関連し得る虚血および/または炎症状態、例えば心臓移植、肺移植、心臓と肺の同時移植、肝臓移植および腎移植をはじめとする固形臓器移植、急性腎傷害(AKI)、腎毒性および/または慢性腎不全(CRF)などの術後腎不全をはじめとする術後全身性炎症反応症候群(SIRS)または術後臓器不全、再灌流傷害、関節症(関節の疾患)、関節リウマチ(RA)、痛風、胃腸系の炎症疾患、および多発性硬化症、糖尿病、グルコース不耐性をはじめとする前糖尿病状態、肥満、過体重、代謝症候群、妊娠糖尿病、または多嚢胞性卵巣症候群に関連する代謝状態を含む群から選択される疾患または状態を処置するのに十分な量の請求項 1 に記載の化合物を、患者に投与することを含む、予防、軽減または治癒であり得る、前記疾患または状態に罹患した前記患者の処置のための、請求項 56 に記載のペプチド類似体。

10

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、ペプチドと、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プローブと、を含むペプチド類似体またはコンジュゲートを生成するために、ネイティブペプチドまたは前記ペプチドの変異体に付加される分枝状アミノ酸プローブに関する。

30

【背景技術】

【0002】

発明の背景

タンパク質およびペプチドは、ネイティブ形態、変異形態、またはそれらの類似体のいずれでも、治療目的で広く用いられている。タンパク質治療薬は、ターゲットに特異性を有する傾向があるため、小分子に比較して、潜在的に副作用が少なく、多くの場合、生物学的利用度が低く、膜透過性が乏しく、代謝に不安定である。タンパク質に基づく薬物は一般に「生物製剤」と称され、インスリン、増殖因子および改変抗体などの分子がある。

40

【0003】

タンパク質性分子は、典型的には注射を必要とするが、それでも生物製剤は、関節炎および様々な癌の処置のための抗体、糖尿病、骨髄抑制および腎性貧血のための可溶性タンパク質に加え、多発性硬化症、癌、子宮内膜症、子宮筋腫、および先端巨大症のための注射可能な短鎖ペプチドをはじめとし、極めて有効な治療薬類とされてきた。

【0004】

ペプチドは、より大きなタンパク質生物製剤の特異性および効能を有するがサイズが小さく、化学法を用いた製造ではより入手し易く安価な分子類であるため、タンパク質の利点の一部を小分子の利点と組み合わせることができる。

【0005】

50

タンパク質およびペプチド化合物は、該化合物の1つもしくは複数の特色を改善するため、または該化合物の1つもしくは複数の潜在的欠点に取り組みために、様々な方法で修飾することができる。例えば安定化するペプチド配列を、薬理学的活性ペプチドのN末端および/またはC末端に付加して、それらをより分解し難くすることができる(WO 99/46283号)。さらに、 α -MSHのN末端に付加されたLysまたはGluから選択される6個のアミノ酸の直鎖状アミノ酸プロープは、ネイティブペプチドに比較して潜在的に有効性が上昇する(WO 07/22774号)。公知のペプチド-薬物コンジュゲートは、細胞脂質二重層を通した輸送を改善するためのポリカチオン性ペプチドCPP(細胞透過性ペプチド)の付加をさらに含む。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

発明の概要

本発明は、ネイティブもしくは天然由来のペプチドもしくはタンパク質、またはそれらの生物活性変異体と、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープ(本明細書ではBAPと略す)と、を含むペプチド類似体を提供する。1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープの付加によるペプチドの修飾は、過去に開示されていない。

【課題を解決するための手段】

【0007】

幾つかの実施形態において、本明細書で提供されるペプチド類似体は、ネイティブペプチドに比較して1つまたは複数の改善された特性を有する。例えば幾つかの実施形態において、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープをペプチドに付加すると、ペプチドの1つまたは複数の特色が潜在的に改善し、例えば

- ペプチドの本来の効果を改善もしくは増大する(例えば、薬理学的活性ペプチドの活性、親和性および/または有効性を上昇させること; 1つまたは複数の関連の受容体の結合および/または活性化を改善することなど);

- ペプチドの本来の効果を改変する(例えば、受容体結合プロファイルの改変など)、または

- ペプチドの外部の効果を改善もしくは改変する(例えば、安定性上昇、分解減少、構造の改変および/または溶解度の改変など)。

【0008】

したがって本発明は、ペプチドと、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープと、を含むペプチド類似体であって、

前記分枝状アミノ酸プロープが、第一のアミノアルキルアミノ酸残基を含み、

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、場合により第二のアミノアルキルアミノ酸残基に、または第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基に共有結合で連結して、2または3個のアミノアルキルアミノ酸残基の直鎖を形成し、

前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸残基の1つまたは複数の側鎖(複数可)がそれぞれ、独立して $AA A_q - AA A$; $(aa_3)_p - AA A_q$; $AA A_q - (aa_3)_p$; $[(aa_3) - AA A]_p$ および $[AA A - (aa_3)]_p$ (ここでqは、0、1、2および3から選択される数であり; pは、1、2および3から選択される数であり; $AA A$ は、アミノアルキルアミノ酸残基であり、 (aa_3) は、独立してArg、His、GlyおよびAlaから選択されるアミノ酸残基である)からなる群から選択される分子を、該側鎖アミノ基に結合させることにより修飾され;

前記アミノアルキルアミノ酸残基が、場合によりアセチル化されており、

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、前記ペプチドのN末端に共有結合で連結される、前記ペプチドのC末端に共有結合で連結される、および/または前記ペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されるが、

ただし、前記分枝状アミノ酸プロープが、2~9個のアミノ酸残基からなることを条件とする、ペプチド類似体に関する。

【 0 0 0 9 】

本発明はまた、本発明のペプチド類似体を含む医薬組成物、および医薬としての使用のための本発明の類似体を包含する。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 0 】

【 図 1 】 第一のアミノアルキルアミノ酸残基が通常のパепチド結合を介してペプチド配列の N 末端に結合したリジン残基 (L y s 1) であることを示し、前記第一のリジンがアセチル化 (C O C H ₃) されており、前記第一のリジンが、前記第一のリジン残基の ε - アミノ基に、一方がアセチル化された (最外側) 2 つのさらなるリジン残基を結合させることにより修飾されている、分枝状アミノ酸プロープ A c - (A c - L y s - L y s) L y s - の略図である。

10

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 1 1 】

詳細な説明

ペプチド類似体

本発明の一態様は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープの付加により修飾されたペプチド類似体を提供することである。該ペプチド類似体は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープ (本明細書では B A P と略す) の付加により修飾されたネイティブもしくは天然由来の任意のペプチド、ポリペプチドもしくはタンパク質、またはそれらの生物活性変異体もしくは断片を含み得る。したがって一実施形態において、該ペプチド類似体は、ペプチド配列と、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープと、を含むコンジュゲートである。

20

【 0 0 1 2 】

用語「ペプチド類似体」および「タンパク質類似体」は、本明細書では互換的に用いられ得る。用語「ペプチド」および「タンパク質」は、本明細書では互換的に用いられ得る。用語「ペプチド」および「ペプチド配列」は、本明細書では互換的に用いられ得る。用語「ペプチド配列」および「アミノ酸配列」は、本明細書では互換的に用いられ得る。

【 0 0 1 3 】

幾つかの実施形態において、本明細書で提供されるペプチド類似体は、例えば1つもしくは複数の受容体の結合親和性および/または活性に関して、特定の改善された特性を有する。さらに、別の実施形態において、本明細書で提供されるペプチド類似体は、プロテアーゼの作用を受け難いなど、より安定している。

30

【 0 0 1 4 】

本発明の一態様は、ペプチドと、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープと、を含むペプチド類似体であって、

前記分枝状アミノ酸プロープが、第一のアミノアルキルアミノ酸残基を含み、

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、場合により第二のアミノアルキルアミノ酸残基に、または第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基に共有結合で連結して、2または3個のアミノアルキルアミノ酸残基の直鎖を形成し、

前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸残基の1つまたは複数の側鎖 (複数可) がそれぞれ、独立して $A A A_q - A A A$; $(a a_3)_p - A A A_q$; $A A A_q - (a a_3)_p$; $[(a a_3) - A A A]_p$ および $[A A A - (a a_3)]_p$ (ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり; p は、1、2 および 3 から選択される数であり; A A A は、アミノアルキルアミノ酸残基であり、(a a ₃) は、独立して A r g、H i s、G l y および A l a から選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を、該側鎖アミノ基に結合させることにより修飾され;

40

前記アミノアルキルアミノ酸残基が、場合によりアセチル化されており、

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、前記ペプチドの N 末端に共有結合で連結される、前記ペプチドの C 末端に共有結合で連結される、および/または前記ペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されるが、

50

ただし、前記分枝状アミノ酸プローブが、2～9個のアミノ酸残基からなることを条件とする、ペプチド類似体を提供することである。

【0015】

本発明によれば、アミノアルキルアミノ酸残基がさらなるアミノアルキルアミノ酸残基および/またはペプチドに共有結合で連結されているというのは、一実施形態においてペプチド結合が存在することを意味する。一実施形態において、「共有結合で連結された」は、ペプチド結合（複数可）により共有結合で連結されていることを意味する。一実施形態において、「共有結合で連結された」は、ペプチド結合（複数可）が存在することを示唆する。

【0016】

ペプチド結合（アミド結合）は、ある分子のカルボキシル基が他の分子のアミノ基と反応して H_2O 分子を放出させた場合の該二分子間に形成された化学的共有結合である。該工程は通常、アミノ酸の間に生じる。

【0017】

本発明によるアミノアルキルアミノ酸残基（またはAAA）は、それぞれ同じ（同一）であっても、または異なっている（非同一であっても）よい。

【0018】

分枝状アミノ酸プローブ

アミノアルキルアミノ酸残基

本発明によれば「アミノアルキルアミノ酸残基（またはAAA）」は、従来のアミン（ $-NH_2$ ）およびカルボン酸（ $-COOH$ ）官能基と、第一の（ α -）炭素原子に結合した側鎖と、を有するアミノ酸であり、該側鎖は、アルキル基（ $-C_nH_{2n+1}$ ）およびアミノ基（ NH_2 ）を含み；一実施形態において、該側鎖は、アミノアルキル基（ $-C_nH_{2n}NH_2$ ）を含む。

【0019】

したがってアミノアルキルアミノ酸残基（またはAAA）は、一実施形態において、側鎖アミノアルキル基を表す、アミノアルキル基（ $-C_nH_{2n}NH_2$ ）を含む、または該アミノアルキル基からなる側鎖を有するアミノ酸である。

【0020】

一実施形態において、該側鎖アルキル基は、メチル（ CH_3- ）、エチル（ C_2H_5- ）、プロピル（ C_3H_7- ）、ブチル（ C_4H_9- ）、ペンチル（ $C_5H_{11}-$ ）、ヘキシル（ $C_6H_{13}-$ ）、ヘプチル（ $C_7H_{15}-$ ）、オクチル（ $C_8H_{17}-$ ）、ノニル（ $C_9H_{19}-$ ）、デシル（ $C_{10}H_{21}-$ ）、ウンデシル（ $C_{11}H_{23}-$ ）およびドデシル（ $C_{12}H_{25}-$ ）からなる群から得られる。

【0021】

一実施形態において、前記アミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基（ NH_2 ）は、メチルアミンのアミン、エチルアミンのアミン、プロピルアミンのアミン、 n -ブチルアミンのアミン、ペンチルアミンのアミン、 n -ヘキシルアミンのアミン、ヘプチルアミンのアミン、オクチルアミンのアミン、ノニルアミンのアミン、デシルアミンのアミン、ウンデシルアミンのアミンまたはドデシルアミンのアミンである。

【0022】

一実施形態において、本発明による側鎖アミノアルキル基は、メチルアミン（ $-CH_2NH_2$ ）、エチルアミン（ $-C_2H_4NH_2$ ）、プロピルアミン（ $-C_3H_6NH_2$ ）、 n -ブチルアミン（ $-C_4H_8NH_2$ ）、ペンチルアミン（ $-C_5H_{10}NH_2$ ）、 n -ヘキシルアミン（ $-C_6H_{12}NH_2$ ）、ヘプチルアミン（ $-C_7H_{14}NH_2$ ）、オクチルアミン（ $-C_8H_{16}NH_2$ ）、ノニルアミン（ $-C_9H_{18}NH_2$ ）、デシルアミン（ $-C_{10}H_{20}NH_2$ ）、ウンデシルアミン（ $-C_{11}H_{22}NH_2$ ）およびドデシルアミン（ $-C_{12}H_{24}NH_2$ ）からなる群から選択される。

【0023】

一実施形態において、前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸残

10

20

30

40

50

基の側鎖アミノ基 (NH_2) はそれぞれ、分子がそれぞれに結合することにより修飾されている。

【0024】

一実施形態において、前記アミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基は、
 β (ベータ) アミノ基 (側鎖内に1つのメチレン; メチルアミン);
 γ (ガンマ) アミノ基 (側鎖内に2つのメチレン; エチルアミン);
 δ (デルタ) アミノ基 (側鎖内に3つのメチレン; プロピルアミン); = オルニチン
 ϵ (イプシロン) アミノ基 (側鎖内に4つのメチレン; n - ブチルアミン); = リジン
 ζ (ジータ) アミノ基 (側鎖内に5つのメチレン; ペンチルアミン);
 η (イータ) アミノ基 (側鎖内に6つのメチレン; n - ヘキシルアミン);
 θ (シータ) アミノ基 (側鎖内に7つのメチレン; ヘプチルアミン);
 ι (イオタ) アミノ基 (側鎖内に8つのメチレン; オクチルアミン);
 κ (カップ) アミノ基 (側鎖内に9つのメチレン; ノニルアミン);
 λ (ラムダ) アミノ基 (側鎖内に10のメチレン; デシルアミン);
 μ (ミュー) アミノ基 (側鎖内に11のメチレン; ウンデシルアミン); および
 ν (ニュー) アミノ基 (側鎖内に12のメチレン; ドデシルアミン);
 からなる群から選択される。

10

【0025】

例えば ϵ - アミノ基は、カルボキシル ($\text{C}=\text{OOH}$) 基に結合した α - 炭素から出発して (これを含み) 5 番目の炭素に結合している。

20

【0026】

側鎖が n - ブチルアミンであり、側鎖アミノ基が ϵ (イプシロン) アミノ基である、アミノアルキルアミノ酸残基は、リジン (Lys、K) である。

【0027】

同様に δ - アミノ基は、 α 炭素から出発して 4 番目の炭素に結合している。

【0028】

側鎖がプロピルアミンであり、側鎖アミノ基が δ (デルタ) アミノ基である、アミノアルキルアミノ酸残基は、オルニチン (Orn) である。

【0029】

オルニチンは、アルギニンの脱グアニジン化 (deguanidation) により細胞内で形成される。オルニチンは、インビボではタンパク質生成に用いられないが、複数の酵素経路の関与物質であり、酵素を用いてグアニジン化されてアルギニンを形成し得るため、インビボで窒素バランスにおいて役割を担うと思われる。

30

【0030】

本発明による任意のアミノ酸は、L - または D - 配置であり得る。明記されていなければ、L - 異性体の対応物が、好ましいことを意味する。

【0031】

一実施形態における本発明のアミノアルキルアミノ酸残基は、個別に L - または D - 配置ということになる。一実施形態において、該アミノアルキルアミノ酸残基は、L - 配置である。

40

【0032】

一実施形態において、本発明のアミノアルキルアミノ酸残基は、個別にリジンおよびオルニチンからなる群から選択される。

【0033】

一実施形態において、本発明のアミノアルキルアミノ酸残基は、個別に L - リジン、D - リジン、L - オルニチンおよび D - オルニチンからなる群から選択される。

【0034】

一実施形態において、本発明のアミノアルキルアミノ酸残基は、L - リジンおよび L - オルニチンからなる群から選択される。

【0035】

50

一実施形態において、本発明のアミノアルキルアミノ酸残基は、L - リジンおよびD - リジンからなる群から選択される。

【0036】

一実施形態において、本発明のアミノアルキルアミノ酸残基は、L - オルニチンおよびD - オルニチンからなる群から選択される。

【0037】

一実施形態において、ペプチドと、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープと、を含むペプチド類似体であって、

前記分枝状アミノ酸プロープが、リジンおよびオルニチンから選択される第一のアミノ酸残基を含み、

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、場合によりリジンおよびオルニチンから選択される第二のアミノ酸残基に、または第二および第三のアミノ酸残基に共有結合で連結して、2または3個のリジンまたはオルニチン残基の直鎖を形成し、

前記第一、第二および/または第三のリジンまたはオルニチン残基の1つまたは複数の側鎖(複数可)が、独立して $Ly s_q - Ly s; (aa_3)_p - Ly s_q; Ly s_q - (aa_3)_p; [(aa_3) - Ly s]_p$ および $[Ly s - (aa_3)]_p; Orn_q - Orn; (aa_3)_p - Orn_q; Orn_q - (aa_3)_p; [(aa_3) - Orn]_p$ および $[Orn - (aa_3)]_p; Orn_q - Ly s_p; Ly s_p - Orn_q; [Orn - Ly s]_p$ および $[Ly s - Orn]_p$ (ここでqは、0、1、2および3から選択される数であり; pは、1、2および3から選択される数であり; (aa_3) は、独立してArg、His、GlyおよびAlaから選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を、該δ - アミノ基(オルニチン)またはε - アミノ基に結合させることにより修飾され;

前記リジンおよびオルニチン残基が、場合によりアセチル化されており、

前記リジンおよびオルニチン残基が、L - またはD - 配置であり、

前記第一のリジンまたはオルニチン残基が、前記ペプチドのN末端に共有結合で連結される、前記ペプチドのC末端に共有結合で連結される、および/または前記ペプチド内のリジン残基のε - アミノ基またはオルニチン残基のδ - アミノ基に結合されるが、ただし、前記分枝状アミノ酸プロープが、2 ~ 9個のアミノ酸残基からなることを条件とする、ペプチド類似体が提供される。

【0038】

一実施形態において、ペプチドと、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープと、を含むペプチド類似体であって、

前記分枝状アミノ酸プロープが、第一のリジン残基を含み、

前記第一のリジン残基が、場合により第二のリジン残基に、または第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基に共有結合で連結して、2または3個のリジン残基の直鎖を形成し、

前記第一、第二および/または第三のリジン残基の1つまたは複数の側鎖(複数可)が、独立して $Ly s_q - Ly s; (aa_3)_p - Ly s_q; Ly s_q - (aa_3)_p; [(aa_3) - Ly s]_p; [Ly s - (aa_3)]_p$ (ここでqは、0、1、2および3から選択される数であり; pは、1、2および3から選択される数であり; (aa_3) は、独立してArg、His、GlyおよびAlaから選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を、ε - アミノ基に結合させることにより修飾され;

前記リジン残基が、場合によりアセチル化されており、

前記リジン残基が、L - またはD - 配置であり、

前記第一のリジン残基が、前記ペプチドのN末端に共有結合で連結される、前記ペプチドのC末端に共有結合で連結される、および/または前記ペプチド内のリジン残基のε - アミノ基に結合されるが、ただし、前記分枝状アミノ酸プロープが、2 ~ 9個のアミノ酸残基からなることを条件とする、ペプチド類似体が提供される。

【 0 0 3 9 】

プローブの分枝化

一実施形態における本発明による分枝状アミノ酸プローブは、2～9個のアミノ酸残基からなる。

【 0 0 4 0 】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブは、2～3個のアミノ酸残基、3～4個のアミノ酸残基など、例えば4～5個のアミノ酸残基、5～6個のアミノ酸残基など、例えば6～7個のアミノ酸残基、7～8個のアミノ酸残基など、例えば8～9個のアミノ酸残基からなる。

【 0 0 4 1 】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブは、2個のアミノ酸残基、3個のアミノ酸残基など、例えば4個のアミノ酸残基、5個のアミノ酸残基など、例えば6個のアミノ酸残基、7個のアミノ酸残基など、例えば8個のアミノ酸残基、9個のアミノ酸残基などからなる。

【 0 0 4 2 】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブは、ペプチドに連結されていて本発明によるペプチド類似体を提供する、第一のアミノアルキルアミノ酸残基（ $AA A_1$ でも表される）を含む。

【 0 0 4 3 】

一実施形態において、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プローブ（複数可）の（それぞれの）第一のアミノアルキルアミノ酸は、前記ペプチドのN末端に共有結合で連結される、前記ペプチドのC末端に共有結合で連結される、および/または前記ペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合する。

【 0 0 4 4 】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブの該第一のアミノアルキルアミノ酸は、アセチル化されている。

【 0 0 4 5 】

一実施形態において、前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基は、第二のアミノアルキルアミノ酸残基に共有結合で連結して、2個のアミノアルキルアミノ酸残基の直鎖を形成している。

【 0 0 4 6 】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブの該第二のアミノアルキルアミノ酸は、アセチル化されている。

【 0 0 4 7 】

一実施形態において、前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基は、第二のアミノアルキルアミノ酸残基（に共有結合で連結し）および第三のアミノアルキルアミノ酸残基に共有結合で連結して、3つのアミノアルキルアミノ酸残基の直鎖を形成している。この設定において、該第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基を有し、その両方がアミン基で結合し得る、もしくは両方がそのカルボン酸基に結合し得るか；またはそれが、アミン基で結合した第二のアミノアルキルアミノ酸残基と、カルボン酸基で結合した第三のアミノアルキルアミノ酸残基と、を有し得ることは、理解されたい。

【 0 0 4 8 】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブの該第三のアミノアルキルアミノ酸は、アセチル化されている。

【 0 0 4 9 】

該第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基は、それぞれ $AA A_2$ および $AA A_3$ で表され得る。

【 0 0 5 0 】

一実施形態において、前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸残

10

20

30

40

50

基のそれぞれは、メチルアミン ($-CH_2NH_2$)、エチルアミン ($-C_2H_4NH_2$)、プロピルアミン ($-C_3H_6NH_2$)、*n*-ブチルアミン ($-C_4H_8NH_2$)、ペンチルアミン ($-C_5H_{10}NH_2$)、*n*-ヘキシルアミン ($-C_6H_{12}NH_2$)、ヘプチルアミン ($-C_7H_{14}NH_2$)、オクチルアミン ($-C_8H_{16}NH_2$)、ノニルアミン ($-C_9H_{18}NH_2$)、デシルアミン ($-C_{10}H_{20}NH_2$)、ウンデシルアミン ($-C_{11}H_{22}NH_2$) およびドデシルアミン ($-C_{12}H_{24}NH_2$) からなる群から選択される側鎖アミノアルキル基を有するアミノ酸である。

【0051】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブの前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸のそれぞれは、個別に *L*-リジン、*D*-リジン、*L*-オルニチンおよび *D*-オルニチンからなる群から選択される。

10

【0052】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブの前記第一、第二および第三のアミノアルキルアミノ酸のそれぞれは、リジン残基 (*L*-リジンおよび *D*-リジンを含む) である。

【0053】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブの前記第一、第二および第三のアミノアルキルアミノ酸のそれぞれは、アセチル化 ($Ac-AA$) ($COCH_3$) されている。

【0054】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブの前記第一の、第一および第二の、ならびに/または第一、第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基は、分枝状アミノ酸プローブのアミノアルキルアミノ酸骨格と称される (AA_1 、 AA_{1-2} 、 AA_{1-3})。

20

【0055】

一実施形態において、該第一、第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基は、リジン残基である。一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブの該第一の、第一および第二の、ならびに/または該第一、第二および第三のリジン残基は、分枝状アミノ酸プローブのリジン骨格と称される (lys_1 、 lys_{1-2} 、 lys_{1-3})。

【0056】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブのリジン骨格の該第一のリジン残基、または該第二のリジン残基、または該第三のリジン残基、または該第一および第二のリジン残基、または該第一および第三のリジン残基、または該第二および第三のリジン残基、または該第一、第二および第三のリジン残基は、アセチル化されている ($Ac-lys$)。

30

【0057】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブの該第一、第二および第三のリジン残基のそれぞれは、アセチル化されている ($Ac-lys$)。

【0058】

一実施形態において、前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸残基のそれぞれの1つまたは複数の側鎖 (複数可) は、独立して AA_q-AA ; $(aa_3)_p-AA_q$; $AA_q-(aa_3)_p$; $[(aa_3)-AA]_p$ および $[AA-(aa_3)]_p$ (ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり; p は、1、2 および 3 から選択される数であり; AA は、アミノアルキルアミノ酸残基であり、 (aa_3) は、独立して *Arg*、*His*、*Gly* および *Ala* から選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を、該側鎖アミノ基に結合させることにより修飾される。

40

【0059】

一実施形態において、前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸残基のそれぞれの1つまたは複数の側鎖 (複数可) は、独立して lys_q-lys ; $(aa$

50

${}_3)_p - \text{Lys}_q$; $\text{Lys}_q - (aa_3)_p$; $[(aa_3) - \text{Lys}]_p$; $[\text{Lys} - (aa_3)]_p$; $\text{Orn}_q - \text{Orn}$; $(aa_3)_p - \text{Orn}_q$; $\text{Orn}_q - (aa_3)_p$; $[(aa_3) - \text{Orn}]_p$ および $[\text{Orn} - (aa_3)]_p$; $\text{Orn}_p - \text{Lys}_p$; $\text{Lys}_p - \text{Orn}_p$; $[\text{Orn} - \text{Lys}]_p$ および $[\text{Lys} - \text{Orn}]_p$ (ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり; p は、1、2 および 3 から選択される数であり; (aa_3) は、独立して Arg 、 His 、 Gly および Ala から選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を、該側鎖アミノ基に結合させることにより修飾される。

【0060】

一実施形態において、前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸残基のそれぞれの1つまたは複数の側鎖(複数可)は、独立して $\text{Lys}_q - \text{Lys}$; $(aa_3)_p - \text{Lys}_q$; $\text{Lys}_q - (aa_3)_p$; $[(aa_3) - \text{Lys}]_p$ および $[\text{Lys} - (aa_3)]_p$ (ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり; p は、1、2 および 3 から選択される数であり; Lys は、 $\text{L} - \text{Lys}$ および $\text{D} - \text{Lys}$ から選択されるリジン残基であり、 (aa_3) は、独立して Arg 、 His 、 Gly および Ala から選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を、前記側鎖アミノ基に結合させることにより修飾される。

10

【0061】

一実施形態において、該リジン骨格の前記第一、第二および/または第三のリジン残基のそれぞれの1つまたは複数の側鎖(複数可)は、独立して $\text{Lys}_q - \text{Lys}$; $(aa_3)_p - \text{Lys}_q$; $\text{Lys}_q - (aa_3)_p$; $[(aa_3) - \text{Lys}]_p$ および $[\text{Lys} - (aa_3)]_p$ (ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり; p は、1、2 および 3 から選択される数であり; Lys は、 $\text{L} - \text{Lys}$ および $\text{D} - \text{Lys}$ から選択されるリジン残基であり、 (aa_3) は、独立して Arg 、 His 、 Gly および Ala から選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を、該側鎖の ϵ -アミノ基に結合させることにより修飾される。

20

【0062】

一実施形態において、該リジン骨格の前記第一、第二および/または第三のリジン残基のそれぞれの1つまたは複数の側鎖(複数可)は、 $\text{Lys}_q - \text{Lys}$ (ここで q は、0、1、2 および 3 から選択される数であり; Lys は、 $\text{L} - \text{Lys}$ および $\text{D} - \text{Lys}$ から選択されるリジン残基である) である分子を、該側鎖の ϵ -アミノ基に結合させることにより修飾される。

30

【0063】

一実施形態において、 i) 前記第一、第二および/もしくは第三のアミノアルキルアミノ酸残基の1つ、 ii) 前記第一、第二および/もしくは第三のアミノアルキルアミノ酸残基の2つ、または iii) 前記第一、第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基の3つ全ての側鎖は、本明細書に定義された分子を、該側鎖アミノ基に結合させることにより修飾される。

【0064】

一実施形態において、 i) 該第一のアミノアルキルアミノ酸残基、 ii) 該第二のアミノアルキルアミノ酸残基、 iii) 該第三のアミノアルキルアミノ酸残基、 iv) 該第一および第二のアミノアルキルアミノ酸残基、 v) 該第一および第三のアミノアルキルアミノ酸残基、 vi) 該第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基、または vii) 該第一、第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖はそれぞれ、本明細書に定義された分子を、該側鎖アミノ基に結合させることにより修飾される。

40

【0065】

一実施形態において、本発明の分枝状アミノ酸プローブのリジン骨格の該第一のリジン残基、または該第二のリジン残基、または該第三のリジン残基、または該第一および第二のリジン残基、または該第一および第三のリジン残基、または該第二および第三のリジン残基、または該第一、第二および第三のリジン残基はそれぞれ、 ϵ -アミノ基に分子を結

50

合させることにより修飾される。

【0066】

一実施形態において、分枝状アミノ酸プロープの該リジン骨格の1つまたは複数のリジン残基の ε -アミノ基(複数可)に結合される分子は、独立して $\text{Lys}_q - \text{Lys}; (\text{aa}_3)_p - \text{Lys}_q; \text{Lys}_q - (\text{aa}_3)_p; [(\text{aa}_3) - \text{Lys}]_p$ および $[\text{Lys} - (\text{aa}_3)]_p$ (ここでqは、0、1、2および3から選択される数であり; pは、1、2および3から選択される数であり; (aa_3) は、独立してArg、His、GlyおよびAlaから選択されるアミノ酸残基である)からなる群から選択される。

【0067】

一実施形態において、分枝状アミノ酸プロープの該第一のリジン残基、または該第二のリジン残基、または該第三のリジン残基、または該第一および第二のリジン残基、または該第一および第三のリジン残基、または該第二および第三のリジン残基、または該第一、第二および第三のリジン残基は、独立して $\text{Lys}_q - \text{Lys}; (\text{aa}_3)_p - \text{Lys}_q; \text{Lys}_q - (\text{aa}_3)_p; [(\text{aa}_3) - \text{Lys}]_p$ および $[\text{Lys} - (\text{aa}_3)]_p$ (ここでqは、0、1、2および3から選択される数であり; pは、1、2および3から選択される数であり; (aa_3) は、独立してArg、His、GlyおよびAlaから選択されるアミノ酸残基である)からなる群から選択される分子を、該 ε -アミノ基(複数可)に結合させることにより修飾される、ということになる。

10

【0068】

特定の実施形態において、 (aa_3) は、独立してGlyおよびAlaから選択されるアミノ酸残基である。さらなる実施形態において、 (aa_3) は、Glyである。

20

【0069】

一実施形態において、該側鎖アミノ基(複数可)に結合される分子は、さらにアセチル化されている。一実施形態において、該分子は、独立して $\text{Ac} - \text{AAA}_q - \text{AAA}; \text{Ac} - (\text{aa}_3)_p - \text{AAA}_q; \text{Ac} - \text{AAA}_q - (\text{aa}_3)_p; \text{Ac} - [(\text{aa}_3) - \text{AAA}]_p$ および $\text{Ac} - [\text{AAA} - (\text{aa}_3)]_p$ 、および/または $\text{AAA}_q - \text{AAAs}; (\text{aa}_3)_p - \text{AAA}_q; \text{AAA}_q - (\text{aa}_3)_p; [(\text{aa}_3) - \text{AAA}]_p$ および $[\text{AAA} - (\text{aa}_3)]_p$ からなる群から選択される。

【0070】

一実施形態において、該分子は、独立して $\text{Ac} - \text{Orn}_q - \text{Orn}; \text{Ac} - (\text{aa}_3)_p - \text{Orn}_q; \text{Ac} - \text{Orn}_q - (\text{aa}_3)_p; \text{Ac} - [(\text{aa}_3) - \text{Orn}]_p; \text{Ac} - [\text{Orn} - (\text{aa}_3)]_p; \text{Ac} - \text{Orn}_p - \text{Lys}_p; \text{Ac} - \text{Lys}_p - \text{Orn}_p; \text{Ac} - [\text{Orn} - \text{Lys}]_p$ および $\text{Ac} - [\text{Lys} - \text{Orn}]_p$ 、および/または $\text{Orn}_q - \text{Orn}; (\text{aa}_3)_p - \text{Orn}_q; \text{Orn}_q - (\text{aa}_3)_p; [(\text{aa}_3) - \text{Orn}]_p$ および $[\text{Orn} - (\text{aa}_3)]_p; \text{Orn}_p - \text{Lys}_p; \text{Lys}_p - \text{Orn}_p; [\text{Orn} - \text{Lys}]_p$ および $[\text{Lys} - \text{Orn}]_p$ からなる群から選択される。

30

【0071】

該分子が、一実施形態において、独立して $\text{Ac} - \text{Lys}_q - \text{Lys}; \text{Ac} - (\text{aa}_3)_p - \text{Lys}_q; \text{Ac} - \text{Lys}_q - (\text{aa}_3)_p; \text{Ac} - [(\text{aa}_3) - \text{Lys}]_p$ および $\text{Ac} - [\text{Lys} - (\text{aa}_3)]_p$ 、および/または $\text{Lys}_q - \text{Lys}; (\text{aa}_3)_p - \text{Lys}_q; \text{Lys}_q - (\text{aa}_3)_p; [(\text{aa}_3) - \text{Lys}]_p$ および $[\text{Lys} - (\text{aa}_3)]_p$ からなる群から選択される、ということになる。

40

【0072】

特定の実施形態において、該側鎖アミノ基(複数可)に結合される分子は、 $\text{AAA}_q - \text{AAA}$ (ここでqは、0、1、2および3から選択される数である)である。

【0073】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープが、2~9個のアミノアルキルアミノ酸残基からなる、ということになる。一実施形態において、前記2~9個のアミノアルキルアミノ酸残基は、独立して、L-リジン、D-リジン、L-オルニチンおよびD-オルニチンからなる群から選択される。

50

10

20

30

40

50

一実施形態において、該第一、第二および／または第三のアミノアルキルアミノ酸残基の1つまたは複数の側鎖アミノ基（複数可）に結合される分子は、AAA、Ac - AAA、AAA - AAA、Ac - AAA - AAA、AAA - AAA - AAA、Ac - AAA - AAA - AAA、AAA - Gly - AAA、Ac - AAA - Gly - AAA、AAA - AAA - Gly、Ac - AAA - AAA - Gly、AAA - Ala - AAA、Ac - AAA - Ala - AAA、AAA - AAA - Ala、Ac - AAA - AAA - Ala、AAA - Ala、Ac - AAA - Ala、AAA - His - AAA、Ac - AAA - His - AAA、AAA - AAA - His、Ac - AAA - AAA - His、AAA - His、Ac - AAA - His、AAA - Arg - AAA、Ac - AAA - Arg - AAA、AAA - AAA - Arg、Ac - AAA - AAA - Arg、AAA - ArgおよびAc - AAA - Arg（ここでAAAは、本明細書に明記されたアミノアルキルアミノ酸残基である（場合により個別にアセチル化されている））からなる群から選択される。先に言及されたAAA、Gly、Ala、HisおよびArgアミノ酸残基は、それぞれL - またはD - 配置であり得る。

一実施形態において、該第一、第二および／または第三のアミノアルキルアミノ酸残基の１つまたは複数の側鎖アミノ基（複数可）に結合される分子は、L y s、A c - L y s、L y s - L y s、A c - L y s - L y s、L y s - L y s - L y s、A c - L y s - L y s - L y s、L y s - L y s - L y s - L y s、A c - L y s - L y s - L y s - L y s、L y s - G l y - L y s、A c - L y s - G l y - L y s、L y s - L y s - G l y、A c - L y s - L y s - G l y、L y s - G l y、A c - L y s - G l y、L y s - A l a - L y s、A c - L y s - A l a - L y s、L y s - L y s - A l a、A c - L y s - L y s - A l a、L y s - A l a、A c - L y s - A l a、L y s - H i s - L y s、A c - L y s - H i s - L y s、L y s - L y s - H i s、A c - L y s - L y s - H i s、L y s - H i s、A c - L y s - H i s、L y s - A r g - L y s、A c - L y s - A r g - L y s、L y s - L y s - A r g、A c - L y s - L y s - A r g、L y s - A r g および A c - L y s - A r g からなる群から選択される。

特定の実施形態において、該第一、第二および／または第三のリジン残基の１つまたは複数のε-アミノ基（複数可）に結合される分子は、Lys、Ac-Lys、Lys-Lys、Ac-Lys-Lys、Lys-Lys-Lys、Ac-Lys-Lys-Lys、Lys-Lys-Lys-Lys、Ac-Lys-Lys-Lys-Lys、Lys-Lys-Lys-Lys-Lys、Ac-Lys-Lys-Lys-Lys-Lys、Lys-Gly-Lys、Ac-Lys-Gly-Lys、Lys-Lys-Gly、Ac-Lys-Lys-Gly、Lys-Gly、Ac-Lys-Gly、Lys-Ala-Lys、Ac-Lys-Ala-Lys、Lys-Lys-Ala、Ac-Lys-Lys-A

l a、L y s - A l a、A c - L y s - A l a、L y s - H i s - L y s、A c - L y s - H i s - L y s、L y s - L y s - H i s、A c - L y s - L y s - H i s、L y s - H i s、A c - L y s - H i s、L y s - A r g - L y s、A c - L y s - A r g - L y s、L y s - L y s - A r g、A c - L y s - L y s - A r g、L y s - A r g および A c - L y s - A r g からなる群から選択される。

【0080】

特定の実施形態において、本発明の分枝状アミノ酸プローブは、L y s および D - L y s から選択される第一のリジン残基を含む、または該第一のリジン残基からなり、前記第一のリジン残基は、場合によりアセチル化されており、前記第一のリジン残基は、L y s、A c - L y s、L y s - L y s、A c - L y s - L y s、L y s - L y s - L y s、A c - L y s - L y s - L y s、L y s - L y s - L y s - L y s、A c - L y s - L y s - L y s - L y s、L y s - G l y - L y s、A c - L y s - G l y - L y s、L y s - L y s - G l y、A c - L y s - L y s - G l y、L y s - G l y、A c - L y s - G l y、L y s - A l a - L y s、A c - L y s - A l a - L y s、L y s - L y s - A l a、A c - L y s - L y s - A l a、L y s - A l a、A c - L y s - A l a、L y s - H i s - L y s、A c - L y s - H i s - L y s、L y s - L y s - H i s、A c - L y s - L y s - H i s、L y s - H i s、A c - L y s - H i s、L y s - A r g - L y s、A c - L y s - A r g - L y s、L y s - L y s - A r g、A c - L y s - L y s - A r g、L y s - A r g および A c - L y s - A r g からなる群から選択される分子を、前記第一のリジン残基の ϵ - アミノ基に結合させることにより修飾される。

10

20

【0081】

特定の実施形態において、本発明の分枝状アミノ酸プローブは、それぞれが L y s および D - L y s から選択される第一および第二のリジン残基を含む、または該第一および第二のリジン残基からなり、前記第一および第二のリジン残基はそれぞれ、場合によりアセチル化されており、前記 i) 第一のリジン残基、i i) 前記第二のリジン残基、または i i i) 前記第一および第二の残基はそれぞれ、L y s、A c - L y s、L y s - L y s、A c - L y s - L y s、L y s - L y s - L y s、A c - L y s - L y s - L y s、L y s - L y s - L y s - L y s、A c - L y s - L y s - L y s - L y s、L y s - G l y - L y s、A c - L y s - G l y - L y s、L y s - L y s - G l y、A c - L y s - L y s - G l y、L y s - G l y、A c - L y s - G l y、L y s - A l a - L y s、A c - L y s - A l a - L y s、L y s - L y s - A l a、A c - L y s - L y s - A l a、L y s - A l a、A c - L y s - A l a、L y s - H i s - L y s、A c - L y s - H i s - L y s、L y s - L y s - H i s、A c - L y s - L y s - H i s、L y s - H i s、A c - L y s - H i s、L y s - A r g - L y s、A c - L y s - A r g - L y s、L y s - L y s - A r g、A c - L y s - L y s - A r g、L y s - A r g および A c - L y s - A r g からなる群から選択される分子を、前記リジン残基の ϵ - アミノ基に結合させることにより修飾される。

30

【0082】

特定の実施形態において、本発明の分枝状アミノ酸プローブは、それぞれが L y s および D - L y s から選択される第一、第二および第三のリジン残基を含む、または該第一、第二および第三のリジン残基からなり、前記第一、第二および第三のリジン残基はそれぞれ、場合によりアセチル化されており、前記 i) 第一のリジン残基、i i) 前記第二のリジン残基、i i i) 前記第三のリジン残基、i v) 前記第一および第二の残基、v) 前記第一および第三のリジン残基、v i) 前記第二および第三のリジン残基、または v i i) 前記第一、第二および第三のリジン残基はそれぞれ、L y s、A c - L y s、L y s - L y s、A c - L y s - L y s、L y s - L y s - L y s、A c - L y s - L y s - L y s、L y s - L y s - L y s - L y s、A c - L y s - L y s - L y s - L y s、L y s - G l y - L y s、A c - L y s - G l y - L y s、L y s - L y s - G l y、A c - L y s - L y s - G l y、L y s - G l y、A c - L y s - G l y、L y s - A l a - L y s、A c - L y s - A l a - L y s、L y s - L y s - A l a、A c - L y s - L y s - A

40

50

l a、L y s - A l a、A c - L y s - A l a、L y s - H i s - L y s、A c - L y s - H i s - L y s、L y s - L y s - H i s、A c - L y s - L y s - H i s、L y s - H i s、A c - L y s - H i s、L y s - A r g - L y s、A c - L y s - A r g - L y s、L y s - L y s - A r g、A c - L y s - L y s - A r g、L y s - A r g および A c - L y s - A r g からなる群から選択される分子を、前記リジン残基の ϵ - アミノ基に結合させることにより修飾される。

【0083】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、式：A c - (A c - L y s - L y s) L y s₁ - (A c - (A c - L y s - L y s) L y s - と同一) (式中 L y s₁ は、第一のリジン残基であり、アセチル化されており、(A c - L y s - L y s) は、前記第一のリジン残基 L y s₁ の ϵ - アミノ基に結合された分子である) を含む、または該式からなる。式 1 は、この式 / 構造を示す。

10

【0084】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、A c - (A c - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - L y s - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - L y s - L y s - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - G l y - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - L y s - G l y) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - G l y) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - A l a - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - L y s - A l a) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - A l a) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - H i s - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - L y s - H i s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - H i s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - A r g - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - L y s - A r g) L y s₁ -、および A c - (A c - L y s - A r g) L y s₁ - からなる群から選択される式を含む、または該式からなる。

20

【0085】

より具体的には、一実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、A c - (A c - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - L y s - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - L y s - L y s - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - G l y - L y s) L y s₁ -、A c - (A c - L y s - L y s - G l y) L y s₁ - および A c - (A c - L y s - G l y) L y s₁ - からなる群から選択される式を含む、または該式からなる。

30

【0086】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、式：A c - (A c - L y s) L y s₂ - L y s₁ - (式中、L y s₁ は、第一のリジン残基であり、アセチル化されており、L y s₂ は、ペプチド結合を介して L y s₁ に結合した第二のリジン残基であり、(A c - L y s) は、前記第一のリジン残基の ϵ - アミノ基に結合した該分子である) を含む、または該式からなる。

【0087】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、式：A c - L y s₂ - (A c - L y s) L y s₁ - (式中、該分子 (A c - L y s) は、前記第二のリジン残基 L y s₂ の ϵ - アミノ基に結合されている) を含む、または該式からなる。

40

【0088】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープ (複数可) は、A c - (A c - L y s) L y s - L y s -、(A c - L y s) L y s - L y s -、A c - (L y s) L y s - L y s -、(L y s) L y s - L y s - ; A c - L y s - (A c - L y s) L y s -、L y s - (A c - L y s) L y s -、A c - L y s - (L y s) L y s -、L y s - (L y s) L y s - ; A c - (A c - L y s - L y s) - L y s -、(A c - L y s - L y s) - L y s -、A c - (L y s - L y s) - L y s - および (L y s - L y s) - L y s - からなる群から選択される。

【0089】

50

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープ（複数可）は、Ac - (Ac - Lys) Lys -、Ac - (Lys) Lys - および (Lys) Lys - からなる群から選択される。

【0090】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、Ac - (Ac - Lys) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Lys) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Gly) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Lys - Lys) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Lys - Lys - Lys) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - Lys₂ - (Ac - Lys) - Lys₁ -、Ac - Lys₂ - (Ac - Lys - Lys) - Lys₁ -、Ac - Lys₂ - (Ac - Lys - Gly) - Lys₁ -、Ac - Lys₂ - (Ac - Lys - Lys - Lys) - Lys₁ -、Ac - Lys₂ - (Ac - Lys - Lys - Lys - Lys) - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys) Lys₂ - (Ac - Lys - Lys) - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys) Lys₂ - (Ac - Lys - Lys - Lys) - Lys₁ -、および Ac - (Ac - Lys - Lys) Lys₂ - (Ac - Lys - Lys - Lys) - Lys₁ - からなる群から選択される。

10

【0091】

より具体的には一実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、Ac - (Ac - Lys) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Lys) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Gly) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - Lys₂ - (Ac - Lys) - Lys₁ -、Ac - Lys₂ - (Ac - Lys - Lys) - Lys₁ -、Ac - Lys₂ - (Ac - Lys - Gly) - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys) Lys₂ - (Ac - Lys - Lys) - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys) Lys₂ - (Ac - Lys - Lys - Lys) - Lys₁ -、および Ac - (Ac - Lys - Lys) Lys₂ - (Ac - Lys - Lys - Lys) - Lys₁ - からなる群から選択される。

20

【0092】

一実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、Ac - Lys₃ - Lys₂ - (Ac - Lys) Lys₁ -、Ac - Lys₃ - (Ac - Lys) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys) Lys₃ - Lys₂ - Lys₁ -、Ac - Lys₃ - (Ac - Lys) Lys₂ - (Ac - Lys) Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys) Lys₃ - (Ac - Lys) Lys₂ - Lys₁ -、および Ac - (Ac - Lys) Lys₃ - Lys₂ - (Ac - Lys) Lys₁ - からなる群から選択される。

30

【0093】

特定の実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、Ac - (Ac - Lys) Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Lys) Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Lys - Lys) Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Gly - Lys) Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Lys - Gly) Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Gly) Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Lys) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Gly) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - Lys₂ - (Ac - Lys) - Lys₁ -、Ac - Lys₂ - (Ac - Lys - Lys) - Lys₁ -、Ac - Lys₂ - (Ac - Lys - Gly) - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys) Lys₂ - (Ac - Lys - Lys) - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys) Lys₂ - (Ac - Lys - Lys - Lys) - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys - Lys) Lys₂ - (Ac - Lys - Lys) - Lys₁ -、Ac - Lys₃ - Lys₂ - (Ac - Lys) Lys₁ -、Ac - Lys₃ - (Ac - Lys) Lys₂ - Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys) Lys₃ - Lys₂ - Lys₁ -、Ac - Lys₃ - (Ac - Lys) Lys₂ - (Ac - Lys) Lys₁ -、Ac - (Ac - Lys) Lys₃ - (Ac - Lys) Lys₂ - Lys₁ -、および Ac - (Ac - Lys) Lys₃ - Lys₂ - (Ac - Lys) Lys₁ - からなる群から選択される。

40

【0094】

50

特定の実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、3個のリジン残基（L - L y s および D - L y s から選択される）からなる。

【0095】

別の実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、2個のリジン残基（L - L y s および D - L y s から選択される）からなる。

【0096】

特定の実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、L y s および D - L y s から選択される第一および第二のリジン残基からなり、該第一および第二のリジン残基の一方または両方は、L y s および D - L y s から選択される1個のリジン残基を、前記第一および/または第二のリジン残基の ϵ -アミノ基に結合することにより修飾され、前記リジン残基のそれぞれは、場合によりアセチル化されている。

10

【0097】

特定の実施形態において、該分枝状アミノ酸プロープは、L y s および D - L y s から選択される第一のリジン残基からなり、前記第一のリジン残基は、L y s および D - L y s から選択される2個のリジン残基を、前記第一リジン残基の ϵ -アミノ基に結合させることにより修飾され、前記リジン残基のそれぞれは、場合によりアセチル化されている。

【0098】

分枝状アミノ酸プロープとペプチドの連結

本発明によれば、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープのそれぞれの第一のアミノアルキルアミノ酸残基は、ペプチドのN末端に共有結合で連結されている、ペプチドのC末端に共有結合で連結されている、そして/または本発明に従って修飾されたペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている。

20

【0099】

ペプチドへの、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープの結合は、ペプチド/プロープコンジュゲートを生成する。

【0100】

ペプチドのN末端に共有結合で結合、または連結されるというのは、本発明の分枝状アミノ酸プロープが、前記ペプチドの最もN末端のアミノ酸と、該分枝状アミノ酸プロープの第一のアミノアルキルアミノ酸残基の間のペプチド結合により連結されていることを意味するものと理解されたい。

30

【0101】

同様に、ペプチドのC末端に共有結合で結合、または連結されるというのは、本発明の分枝状アミノ酸プロープが、前記ペプチドの最もC末端のアミノ酸と、該分枝状アミノ酸プロープの第一のアミノアルキルアミノ酸残基の間のペプチド結合により連結されていることを意味するものと理解されたい。

【0102】

さらに、一実施形態における分枝状アミノ酸プロープが、前記ペプチド配列内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されているものと理解されたい。

【0103】

特定の一実施形態において、前記ペプチド配列内の前記アミノアルキルアミノ酸残基は、オルニチン残基およびリジン残基からなる群から選択される。特定の一実施形態において、前記ペプチド配列内の前記アミノアルキルアミノ酸残基は、リジン残基である。

40

【0104】

一実施形態において、本発明の分枝状アミノ酸プロープの第一のアミノアルキルアミノ酸残基は、前記ペプチド内のオルニチン残基の δ -アミノ基、または前記ペプチド内のリジン残基の ϵ -アミノ基に結合されている。

【0105】

一実施形態において、本発明の分枝状アミノ酸プロープの第一のアミノアルキルアミノ酸残基は、前記ペプチド内のリジン残基の ϵ -アミノ基に結合されている。

【0106】

50

前記ペプチド配列内のアミノアルキルアミノ酸残基というのは、前記アミノアルキルアミノ酸残基のそれ自体が該分枝状アミノ酸プロープの一部を形成しておらず、前記ペプチドの既存のアミノ酸配列内に生じた残基であることを意味するものと理解されたい。前記アミノアルキルアミノ酸残基は、該ペプチドの任意の位置に配列することができ、即ちそれは、該ペプチドの第一のアミノ酸、該ペプチドの第二のアミノ酸、該ペプチドの第三のアミノ酸、該ペプチドの第四のアミノ酸など（該ペプチドの最後のアミノ酸残基まで続く）であってもよい。

【0107】

本発明によれば、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープを含むペプチド類似体とは、一実施形態におけるペプチド類似体が、1つの分枝状アミノ鎖プロープ、2つの分枝状アミノ酸プロープなど、例えば3つの分枝状アミノ酸プロープ、4つの分枝状アミノ酸プロープなど、例えば5つの分枝状アミノ酸プロープ、6つの分枝状アミノ酸プロープなど、例えば7つの分枝状アミノ酸プロープ、8つの分枝状アミノ酸プロープなど、例えば9つの分枝状アミノ酸プロープ、10の分枝状アミノ酸プロープなどを含むことを意味する。

10

【0108】

基本的に、該ペプチド類似体は、任意の数の分枝状アミノ酸プロープを含み得るが、ただし、それらはペプチドに（前記ペプチド配列内のN末端で、C末端で、そして/または1つもしくは複数のアミノアルキルアミノ酸残基に結合し得ることを条件とする。

【0109】

本発明の一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、1つの分枝状アミノ酸プロープを含む。

20

【0110】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、1つの分枝状アミノ酸プロープを含み、該分枝状アミノ酸プロープは、該ペプチドのN末端に共有結合されている。

【0111】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、1つの分枝状アミノ酸プロープを含み、該分枝状アミノ酸プロープは、該ペプチドのC末端に共有結合されている。

【0112】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、1つの分枝状アミノ酸プロープを含み、該分枝状アミノ酸プロープは、前記ペプチド配列内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている。

30

【0113】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、1つよりも多くの（2つ以上の）分枝状アミノ酸プロープ（複数可）を含む。ペプチド類似体が1つよりも多くの分枝状アミノ酸プロープを含む実施形態において、1つよりも多くの分枝状アミノ酸プロープが、個別に同じ（同一）であっても、または異なっている（非同一であっても）よいことは、理解されたい。

【0114】

本発明の一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、2つの分枝状アミノ酸プロープを含む。

40

【0115】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、2つの分枝状アミノ酸プロープを含み、ここで一方の分枝状アミノ酸プロープは、該ペプチドのN末端に共有結合され、他方の分枝状アミノ酸プロープは、該ペプチドのC末端に共有結合されている。

【0116】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、2つの分枝状アミノ酸プロープを含み、ここで一方の分枝状アミノ酸プロープは、該ペプチドのN末端に共有結合され、他方の分枝状アミノ酸プロープは、前記ペプチド配列内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている。

50

【0117】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、2つの分枝状アミノ酸プロープを含み、ここで一方の分枝状アミノ酸プロープは、該ペプチドのC末端に共有結合され、他方の分枝状アミノ酸プロープは、前記ペプチド配列内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている。

【0118】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、2つの分枝状アミノ酸プロープを含み、該2つの分枝状アミノ酸プロープのそれぞれが、前記ペプチド配列内の異なる（または別の）アミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている。

【0119】

本発明の一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、3つの分枝状アミノ酸プロープを含む。

【0120】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、3つの分枝状アミノ酸プロープを含み、ここで第一の分枝状アミノ酸プロープは、該ペプチドのN末端に共有結合され、第二の分枝状アミノ酸プロープは、該ペプチドのC末端に共有結合され、第三の分枝状アミノ酸プロープは、前記ペプチド配列内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている。

【0121】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、3つの分枝状アミノ酸プロープを含み、ここで第一の分枝状アミノ酸プロープは、該ペプチドのN末端に共有結合され、第二および第三の分枝状アミノ酸プロープはそれぞれ、前記ペプチド配列内の異なるアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている。

【0122】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、3つの分枝状アミノ酸プロープを含み、ここで第一の分枝状アミノ酸プロープは、該ペプチドのC末端に共有結合され、第二および第三の分枝状アミノ酸プロープはそれぞれ、前記ペプチド配列内の異なるアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている。

【0123】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、3つの分枝状アミノ酸プロープを含み、ここで第一、第二および第三の分枝状アミノ酸プロープのそれぞれは、前記ペプチド配列内の異なるアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている。

【0124】

類似体のペプチド部分

本発明によるペプチド類似体は、ペプチドと、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープと、を含む。

【0125】

一実施形態において、該ペプチド類似体のペプチドは、任意のペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質であり、一実施形態におけるペプチドは、ネイティブまたは天然由来であり、一実施形態におけるペプチドは、天然由来ペプチドの生物学的活性変異体である。

【0126】

一実施形態において、前記ペプチドは、大きなポリペプチドまたはタンパク質の断片である。

【0127】

一実施形態において、前記ペプチドは、前記タンパク質の最もN末端のアミノ酸を1～50個、例えば前記タンパク質の最もN末端のアミノ酸を1～2、2～3、3～4、4～5、5～6、6～7、7～8、8～9、9～10、10～12、12～14、14～16、16～18、18～20、20～25、25～30、30～35、35～40、40～45、45～50個含むN末端断片である。

【0128】

10

20

30

40

50

一実施形態において、前記ペプチドは、前記タンパク質の最もC末端のアミノ酸を1～50個、例えば前記タンパク質の最もC末端のアミノ酸を1～2、2～3、3～4、4～5、5～6、6～7、7～8、8～9、9～10、10～12、12～14、14～16、16～18、18～20、20～25、25～30、30～35、35～40、40～45、45～50個含むC末端断片である。

【0129】

一実施形態において、前記ペプチドは、前記タンパク質の1～50個の連続するアミノ酸残基、例えば前記タンパク質の1～2、2～3、3～4、4～5、5～6、6～7、7～8、8～9、9～10、10～12、12～14、14～16、16～18、18～20、20～25、25～30、30～35、35～40、40～45、45～50個の連続するアミノ酸残基を含む断片である。

10

【0130】

幾つかの実施形態において、本明細書で提供されるペプチド類似体は、ネイティブペプチドに比較して1つまたは複数の改善された特性を有する。

【0131】

ペプチドは、アミノ酸の縮合から得られた単一の直鎖状ポリマー鎖である。ペプチドは、サイズに基づいてタンパク質と区別することができ、任意の基準として、およそ75（50など）またはそれよりも少ないアミノ酸残基を含むと理解され得る。

【0132】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体のペプチド部分は、2～100個のアミノ酸残基、2～3個など、例えば3～4個、4～5個など、例えば5～6個、6～7個など、例えば7～8個、8～9個など、例えば9～10個、10～12個など、例えば12～14個、14～16個など、例えば16～18個、18～20個など、例えば20～25個、25～30個など、例えば30～40個、40～50個など、例えば50～75個、75～100個などのアミノ酸残基を有する（含む、またはそれらからなる）ペプチドである。

20

【0133】

一実施形態において、本発明のペプチドは、50個未満のアミノ酸残基、40個未満など、例えば30個未満のアミノ酸残基を有するペプチドである。

【0134】

ネイティブペプチド内のアミノ酸残基の配列は、遺伝子コード内でコードされる遺伝子の配列により規定される。一般に遺伝子コードは、ポリペプチド内に自然と組み込まれた20種の標準的アミノ酸（タンパク質を構成するアミノ酸）：Ala、Arg、Asn、Asp、Cys、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Tyr、Thr、Trp、Val、ならびに特有の合成メカニズムによりタンパク質に組み込まれる2種：Sec（セレノシステインまたはU）およびPyl（ピロリジン、O）を特定する。これらは全て、L-立体異性体である。

30

【0135】

22種の標準または天然アミノ酸の他に、多くの他の非天然由来アミノ酸（非タンパク質構成または非標準）が存在する。それらは、タンパク質内では見いだされず、または直接生成されて標準の細胞機構により単離されることもない。非標準的アミノ酸は通常、標準のアミノ酸への修飾、例えば翻訳後修飾を通して形成される。非天然アミノ酸残基の例は、Nle（ノルロイシン）、Orn（オルニチン、脱グアニル化（deguanylated）アルギニン）、Nal（β-2-ナフチル-アラニン）、D-Nal（ベータ-2-ナフチル-D-アラニン）、D-Arg、D-Trp、D-PheおよびD-Valである。

40

【0136】

本発明によるアミノ酸は、L-またはD-配置であり得る。明記されていないならば、L-異性体の対応物が、好ましいことを意味する。

【0137】

50

用語「ペプチド」は、当該技術分野で公知の通り、化学反応または酵素触媒反応により導入された翻訳後修飾も包含する。そのような翻訳後修飾は、所望なら、分配の前に導入され得る。同じく機能的均等物は、ユビキチン化、標識（例えば、放射線核種、様々な酵素などによる）、ペグ化（ポリエチレングリコールでの誘導体化）、またはヒトタンパク質中で自然に生じない、オルニチンなどのアミノ酸の挿入（または化学合成による置換）などの化学修飾を含み得る。

【0138】

N末端アルキル化およびC末端エステル化を有するペプチドもまた、本発明に包含される。機能的均等物はまた、二量体または無関係の化学部分など、同じ分子で形成されたグリコシル化、および共有結合または凝集でのコンジュゲートを含む。そのような機能的均等物は、当該技術分野で公知の手段によりN末端およびC末端のいずれか一方または両方に含まれる断片の中に見出される基への官能基の連結により調製される。

10

【0139】

幾つかの実施形態において、本発明によるペプチドは、N末端アセチル化などのアセチル化により修飾される。幾つかの実施形態において、本発明によるペプチドは、C末端アミド化により修飾される。

【0140】

本発明のペプチドは、生物学的効果を有することが当業者に公知の任意ペプチドであり得る。一実施形態において、該当するペプチドへの分枝状アミノ酸ブロープの付加は、生物学的効果を増大または改善するなど、前記生物学的効果に影響を及ぼす。

20

【0141】

本発明のペプチドの変異体は、一実施形態において、1つもしくは複数のアミノ酸残基の断片化（N末端断片、C末端断片、ペプチド内の断片など）、欠失、挿入、突然変異もしくは置換（保存的アミノ酸置換または非タンパク質構成アミノ酸残基の導入など）、ならびに/またはペプチドのモジュレーション、例えばアセチル化、D-配置のアミノ酸の挿入、および当業者に公知の他の修飾により、ネイティブペプチドから得られるペプチドである。

【0142】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸ブロープと、免疫調整作用を有するペプチド（免疫調整ペプチド）、一実施形態において抗炎症および/または消炎作用を有するペプチドと、を含む。

30

【0143】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸ブロープと、代謝作用を有するペプチドと、を含む。

【0144】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸ブロープと、心臓血管作用を有するペプチドと、を含む。

【0145】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸ブロープと、臓器保護および/または組織保護作用を有するペプチドと、を含む。

40

【0146】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、ペプチドホルモン、神経伝達物質、神経ペプチド、脂質ペプチド、酵素、増殖因子、メタボロゲン（metabologen）、転写因子、受容体アゴニスト、受容体アンタゴニスト、リガンドまたはキャリアタンパク質を含む。

【0147】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、VIP（血管作動性腸管ペプチド；PHM27）、PACAP（下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド）、ペプチドPHI27（ペプチドヒスチジンイソロイシン27）、GHRH1~24（成長ホルモン放出ホルモン1~24）、グルカゴン、セクレチン、グリセンチン前駆体、GIP（胃抑制ペプチ

50

ド)、プレアルブミンもしくはトランスサイレチン(TTR)、ペプチドHI-27および成長ホルモン放出因子(GHRFまたはGHRH)、インクレチン、グルカゴン様ペプチド1(GLP-1)、GLP-1(7-37)、GLP-1(7-33)、グルカゴン様ペプチド2(GLP-2)およびエキセンジン4、またはそれらの変異体からなる群から選択されるペプチドを含む。

【0148】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、ソマトトロフィン(somatotropins)(ソマトトロピン(somatotropin)または成長ホルモン(GH)など)、サイトロトロフィン(甲状腺刺激ホルモン(TSH)など)、コルチコトロピン(アデノコルチコトロピンホルモン(ACTH)、およびベータ-エンドルフィンなど)、ラクトトロフィン(プロラクチン(RPL)など)、ゴナドトロピン(黄体形成ホルモン(LH)および卵胞刺激ホルモン(FSH)など)、抗利尿ホルモン(ADHまたはバソプレッシン)、オキシトシン、成長ホルモン放出ホルモン(GHRH)、ソマトスタチン、サイトロトロピン放出ホルモン(TRH)、コルチコトロピン放出ホルモン(CRH)、ゴナドトロピン放出ホルモン(GnRH)、CREB(cAMP応答配列結合タンパク質)、ラクトトリペプチド、イソロイシン-プロリン-プロリン(IPP)およびバリン-プロリン-プロリン(VPP)、ならびにそれらの変異体からなる群から選択されるペプチドを含む。

【0149】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、NPY(神経ペプチドY)、PPY(ペプチドYY)、APP(トリ膵臓ポリペプチド)およびPPY/PP(膵臓ポリペプチド)、またはそれらの変異体をはじめとする膵臓ポリペプチド関連ペプチドを含む。

【0150】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、プロオピオメラノコルチン(POMC)ペプチド(プロオピオメラノコルチンのN末端ペプチド(NPP、またはプロ-γ-MSH)、γ-MSH、コルチコトロピン(アドレノコルチコトロピンホルモン、またはACTH)、α-メタノトロピン、α-MSH、コルチコトロピン様中間体ペプチド(CLIP)、β-リポトロピン(β-LPH)、リポトロピンガンマ(γ-LPH)、β-MSH、β-エンドルフィンおよび[Met]エンケファリンなど);エンケファリンペプチド(Met-エンケファリンおよびロイエンケファリン)、プロジノルフィンペプチド、ジノルフィン(ジノルフィンA、ジノルフィンB、α-ネオエンドルフィン、β-ネオエンドルフィン、およびビッグジノルフィン)、エンドルフィン(ベータ-エンドルフィン、アルファ-エンドルフィン、ガンマ-エンドルフィン、α-ネオ-エンドルフィンおよびβ-ネオ-エンドルフィン)、アドレノルフィン、アミドルフィン、ロイモルフィン、ノシセプチン、オピオルフィン、およびシノルフィン、またはそれらの変異体をはじめとするオピオイドペプチド(またはオピオイドホルモン/オピオイド神経ペプチド)を含む。

【0151】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、キニン、タキキニン神経ペプチド(サブスタンスP、カシニン、ニューロキニンA(NKA)、ニューロキニンB(NKB)、エレドイシンおよびフィサレミンなど)、ブラジキニ、ニューロメジン/ボンベシン関連ペプチド(ニューロメジンB(NMB)、ニューロメジンN、ニューロメジンSおよびニューロメジンU(NmU)など);アンギオテンシン、ボンベシン、カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)、α-CGRP、β-CGRP、カルノシン、コカインおよびアンフェタミン関連転写因子(CART)、デルタ睡眠誘導ペプチド(DSIP)、FMRFアミド、FMRFアミド関連ペプチド(FARP)、ガラニン、ガラニン様ペプチド(GALP)、ガストリン放出ペプチド(GRP)、神経ペプチドS、神経ペプチドY、ニューロフィジン(ニューロフィジンIおよびニューロフィジンII)、ニューロテンシン、膵臓ポリペプチド、脳下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド(PACAP)、RV D-Hpα、ヘモプレシン、VGF(VGF神経成長因子誘導性)、およびVGF由来ペ

10

20

30

40

50

プチド (T L Q P - 2 1)、またはその変異体をはじめとする神経ペプチドまたは神経伝達物質を含む。

【 0 1 5 2 】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、カルシトニン、アミリン（または膵島アミロイドポリペプチド (I A P P) ）および A G G 0 1、またはその変異体をはじめとするカルシトニンペプチドを含む。

【 0 1 5 3 】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、一実施形態においてアドレノメジュリン (A M)、アングリオポエチン (A n g)、オートクリン運動因子、骨誘導因子 (B M P) (B M P 1、B M P 2、B M P 3、B M P 4、B M P 5、B M P 6、B M P 7、B M P 8 a、B M P 8 b、B M P 1 0、B M P 1 5)、脳神経栄養因子 (B D N F)、上皮成長因子 (E G F)、エリスロポエチン (E P O)、線維芽細胞増殖因子 (F G F)、グリア細胞株由来神経栄養因子 (G D N F)、顆粒球コロニー刺激因子 (G - C S F)、顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (G M - C S F)、増殖分化因子 9 (G D F 9)、肝細胞増殖因子 (H G F)、ヘパトーマ由来増殖因子 (H D G F)、インスリン様成長因子 (I G F)、I G F - 1、I G F - 2、遊走刺激因子、ミオスタチン (G D F - 8)、ニューロトロフィン、ニューロトロフィン 3 (N T - 3)、ニューロトロフィン 4 (N T - 4)、神経成長因子 (N G F)、血小板由来成長因子 (P D G F)、トロンプオエチン (T P O)、トランスフォーミング増殖因子アルファ (T G F - α)、トランスフォーミング増殖因子ベータ (T G F - β)、腫瘍壊死因子 - アルファ (T N F - α)、血管内皮細胞増殖因子 (V E G F)、W n t タンパク質、W n t 1、W n t 2、W n t 2 B、W n t 3、W n t 3 A、W n t 4、W n t 5 A、W n t 5 B、W n t 6、W n t 7 A、W n t 7 B、W n t 8 A、W n t 8 B、W n t 9 A、W n t 9 B、W n t 1 0 A、W n t 1 0 B、W n t 1 1、W n t 1 6、胎盤成長因子 (P G F) およびウシ胎児ソマトトロフィン (F B S)、またはそれらの変異体をはじめとする成長因子を含む。

【 0 1 5 4 】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、一実施形態においてインスリンおよびインスリン様成長因子、I G F - 1、I G F - 2、I G F - 結合タンパク質、I G F B P 1、I G F B P 2、I G F B P 3、I G F B P 4、I G F B P 5、I G F B P 6、I G F B P 7、リラキシンファミリーペプチドホルモン、リラキシン様 (R L N) ペプチド、インスリン様 (I N S L) ペプチド、R L N 1 (リラキシン 1)、R L N 2 (リラキシン 2)、R L N 3 (リラキシン 3)、I N S L 3 (インスリン様ペプチド 3、ライディッヒ細胞特異性インスリン様ペプチド)、I N S L 4 (インスリン様ペプチド 4、早期胎盤インスリン様ペプチド、E L I P)、I N S L 5 (インスリン様ペプチド 5) および I N S L 6 (インスリン様ペプチド 6)、またはそれらの変異体をはじめとするインスリン / I G F / リラキシンファミリーのペプチドを含む。

【 0 1 5 5 】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、一実施形態においてガストリン、ガストリン - 3 4、ガストリン - 1 7、ガストリン - 1 4、ペンタガストリン、甲状腺ホルモン (T 4)、サイロトロピン放出ホルモン (T R H)、バソプレッシン、タンパク質ホルモン、糖タンパク質ホルモン、成長ホルモン (G H)、インスリン、L H、F S H、甲状腺刺激ホルモン (サイロトロピン、T S H)、アングリオテンシン (A G T)、アングリオテンシン I、アングリオテンシン I I、アングリオテンシン I I I、アングリオテンシン I V、心房性ナトリウム利尿ペプチド (A N P)、N T - p r o B N P、B 型利尿ペプチド (B N P) および心房性利尿ペプチド (A N P)、またはそれらの変異体をはじめとするペプチドホルモンを含む。

【 0 1 5 6 】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、一実施形態においてアネキシン A - I (リポコルチン I) およびアネキシン A - I I (アネキシン I I)、またはそれらの変異体 (それらの一部は当該技術分野で公知である) をはじめとするアネキシントタンパク質を含む

。

【 0 1 5 7 】

アゴニスト

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、アゴニストを含む。本明細書の文脈における用語「アゴニスト」は、受容体に結合することが可能である、または幾つかの実施形態において少なくともある程度まで受容体に結合することおよび／もしくは受容体を活性化することが可能である、または幾つかの実施形態において少なくともある程度まで受容体を活性化することが可能である、本明細書に定義された物質またはペプチドを指す。

【 0 1 5 8 】

アゴニストは、複数の異なる型の受容体のアゴニストであってもよく、したがって複数の異なる型の受容体に結合し、そして／またはそれを活性化させることができる。前記アゴニストはまた、1つの型の受容体のみと結合、およびそれを活性化させる選択的アゴニストであり得る。本明細書の文脈における用語「アンタゴニスト」は、受容体アゴニストの作用を阻害することが可能な物質を指す。

10

【 0 1 5 9 】

完全なアゴニストは、受容体に結合して（親和性を有し）それを活性化させ、その受容体で完全な有効性を提示する。本明細書の文脈における「部分アゴニスト」は、所与の受容体に結合してそれを活性化させることが可能なペプチドであるが、完全なアゴニストと比較して、受容体で部分的有効性のみを有する。部分的アゴニストは、受容体の占有について完全なアゴニストと拮抗し、完全なアゴニストのみで観察された作用または活性化と比較して受容体活性化の正味の減少を生じる場合に、アンタゴニストとして作用することができる。

20

【 0 1 6 0 】

本明細書の文脈における「選択的アゴニスト」は、選択的であり、それゆえ主に1つの型の受容体と主に結合してそれを活性化する化合物である。

【 0 1 6 1 】

本発明によるペプチドは、一実施形態において、1つまたは複数の受容体にある程度まで結合してそれを活性化させることが可能なアゴニストであり、異なる受容体で異なる結合親和性および／または異なる受容体活性化効力を有することができ、ここで親和性は、ペプチドリガンドとその受容体の間の分子間力の数およびサイズ、ならびに受容体結合部位でのリガンドの滞留時間を指し、受容体活性化効力は、標的受容体に結合する際の生物学的応答を生じるペプチドリガンドの能力、およびこの応答の量的規模を指す。

30

【 0 1 6 2 】

幾つかの実施形態において、親和性および受容体活性化効力におけるそのような差は、当該技術分野で従来通りの受容体結合／活性化試験により、例えば1つもしくは複数の型の受容体を発現する細胞内で、または異なる型の受容体を発現する組織上で、リガンド結合の刺激に関して EC_{50} および E_{max} 値を作成することにより、決定される。高親和性は、低親和性を有するペプチドに比較して、受容体の50%の結合を得るのに、より低濃度の化合物が必要となることを意味し；高受容体活性化効力は、より低い親和性および／または受容体活性効力（より高い EC_{50} 値）を有するペプチドに比較して、50%受容体活性化応答を得るのに、より低濃度のペプチドが必要となる（低い EC_{50} 値）ことを意味する。

40

【 0 1 6 3 】

メラノコルチン

一実施形態において、本発明のペプチド類似体のペプチドは、メラノコルチンである。

【 0 1 6 4 】

一実施形態において、該メラノコルチンは、 α -MSH、 γ -MSH（ γ 1-MSHおよび γ -MSHを含む）および β -MSH、またはそれらの変異体から選択される。

【 0 1 6 5 】

50

一実施形態において、該メラノコルチンは、 α -MSHおよび γ -MSH、またはそれらの変異体から選択される。

【0166】

一実施形態において、ペプチド変異体は、該ペプチドの生物学的活性変異体、即ち、ネイティブ（非変異体）ペプチドの少なくとも1つの機能を保持する変異体である。

α -MSH Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val

SYSMEHFRWGKPV

P01189[138-150]、プロオピオメラノコルチン、ヒト

アミノ酸修飾：バリンアミド(pos 150)

10

γ 1-MSH Tyr-Val-Met-Gly-His-Phe-Arg-Trp-Asp-Arg-Phe-Gly

YVMGHFRWDRFG

P01189[77-88]、プロオピオメラノコルチン、ヒト

アミノ酸修飾：フェニルアラニンアミド(pos 88)

γ 2-MSH Tyr-Val-Met-Gly-His-Phe-Arg-Trp-Asp-Arg-Phe

YVMGHFRWDRF

P01189[77-87]、プロオピオメラノコルチン、ヒト

アミノ酸修飾：フェニルアラニンアミド(pos 87)

20

【0167】

したがって本発明の一態様は、メラノコルチンペプチドと、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プローブと、を含むメラノコルチン類似体であって、

前記分枝状アミノ酸プローブが、第一のアミノアルキルアミノ酸残基を含み、

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、場合により第二のアミノアルキルアミノ酸残基に、または第二および第三のアミノアルキルアミノ酸残基に共有結合で連結して、2または3個のアミノアルキルアミノ酸残基の直鎖を形成し、

前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸残基の1つまたは複数の側鎖（複数可）がそれぞれ、独立して $AAA_q - AAA; (aa_3)_p - AAA_q; AAA_q - (aa_3)_p; [(aa_3) - AAA]_p$ および $[AAA - (aa_3)]_p$ （ここでqは、0、1、2および3から選択される数であり；pは、1、2および3から選択される数であり；AAAは、アミノアルキルアミノ酸残基であり、 (aa_3) は、独立してArg、His、GlyおよびAlaから選択されるアミノ酸残基である）からなる群から選択される分子を、該側鎖アミノ基に結合させることにより修飾され；

30

前記アミノアルキルアミノ酸残基が、場合によりアセチル化されており、

前記第一のアミノアルキルアミノ酸残基が、前記メラノコルチンペプチドのN末端に共有結合で連結される、前記メラノコルチンペプチドのC末端に共有結合で連結される、および/または前記メラノコルチンペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されるが、

ただし、前記分枝状アミノ酸プローブが、2～9個のアミノ酸残基からなることを条件とする、メラノコルチン類似体を提供することである。

40

【0168】

一実施形態において、該メラノコルチン類似体が1つまたは複数のリジン残基を含む1つの分枝状アミノ酸プローブを含む場合、前記分枝状アミノ酸プローブが前記メラノコルチンのN末端に結合されていないことを条件とする。

【0169】

一実施形態において、該類似体のメラノコルチンペプチドが α -MSHもしくは γ -MSH、またはその変異体である場合、前記分枝状アミノ酸プローブが前記メラノコルチンのN末端に結合されていないことを条件とする。

【0170】

50

一実施形態において、該メラノコルチン類似体が1つまたは複数のリジン残基を含む1つの分枝状アミノ酸プロープを含み、かつ該類似体のメラノコルチンペプチドが α -MSHもしくは γ -MSH、またはその変異体である場合、前記分枝状アミノ酸プロープが前記メラノコルチンのN末端に結合されていないことを条件とする。

【0171】

一実施形態において、該1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープの第一のアミノアルキルアミノ酸残基（複数可）は、前記メラノコルチンペプチドのN末端に共有結合で連結していない。

【0172】

一実施形態において、該1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープの第一のアミノアルキルアミノ酸残基（複数可）は、前記メラノコルチンペプチドのN末端に共有結合で連結しないが、ただし、i) 前記メラノコルチン類似体が、1つの分枝状アミノ酸プロープを含むこと、ii) 前記メラノコルチン類似体が、1つもしくは複数のリジン残基を含むこと、および/またはiii) 前記メラノコルチン類似体が、 α -MSHおよび γ -MSH（ γ 1-MSHおよび γ -MSHを含む）、もしくはそれらの変異体からなる群から選択されるメラノコルチンペプチドを含むこと、を条件とする。

【0173】

一実施形態において、前記メラノコルチン類似体が、1つの分枝状アミノ酸プロープを含み、該プロープは、前記ペプチドのC末端に共有結合で連結しているか、または前記メラノコルチンペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている。

【0174】

一実施形態において、前記メラノコルチンペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基は、リジン残基である。

【0175】

一実施形態において、前記メラノコルチンペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基は、オルニチン残基である。

【0176】

一実施形態において、前記メラノコルチン類似体は、 α -MSH類似体であり、ネイティブ α -MSHペプチド（下線部：A c - S e r - T y r - S e r - M e t - G l u - H i s - P h e - A r g - T r p - G l y - L y s - P r o - V a l）内に含まれるリジン残基（L y s）の ϵ -アミノ基に結合した分枝状アミノ酸プロープを含む。

【0177】

本発明の一実施形態において、該メラノコルチンペプチド類似体は、2つの分枝状アミノ酸プロープを含み、ここで、i) 一方の該分枝状アミノ酸プロープは、該メラノコルチンペプチドのN末端に共有結合され、他方の該分枝状アミノ酸プロープは、C末端に共有結合されているか、ii) 一方の該分枝状アミノ酸プロープは、前記メラノコルチンペプチドのN末端に共有結合され、他方の該分枝状アミノ酸プロープは、前記メラノコルチンペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されているか、iii) 一方の該分枝状アミノ酸プロープは、前記メラノコルチンペプチドのC末端に共有結合され、他方の該分枝状アミノ酸プロープは、前記メラノコルチンペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されているか、またはiv) 2つの分枝状アミノ酸プロープのそれぞれが、前記メラノコルチンペプチド内の異なる（または別の）アミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている。

【0178】

本発明の一実施形態において、本発明の該ペプチド類似体は、3つの分枝状アミノ酸プロープを含み、第一、第二および第三の分枝状アミノ酸プロープのそれぞれは、該ペプチドのN末端に共有結合するか、該ペプチドのC末端に共有結合するか、または前記メラノコルチンペプチド内のアミノアルキルアミノ酸残基の側鎖アミノ基に結合されている。

【0179】

10

20

30

40

50

一実施形態において、本発明のメラノコルチン類似体は、 α -MSHペプチドまたはそれらの変異体を含む。

【0180】

一実施形態において、本発明のメラノコルチン類似体は、 γ -MSHペプチドまたはそれらの変異体を含む。

【0181】

一実施形態において、本発明のメラノコルチン類似体は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プローブと、アミノ酸配列：

$(aa_1)_n - Y - (aa_2)_m - Z$

(ここで、Yは、His-Phe-Arg-Trp; His-(D-Phe)-Arg-Trp; His-Phe-(D-Arg)-Trp; His-Phe-Arg-(D-Trp); His-(D-Phe)-Arg-(D-Trp); His-Nal-Arg-TrpおよびHis-(D-Nal)-Arg-Trpからなる群から選択される4個の連続するアミノ酸残基からなるアミノ酸配列であり；

Zは、Lys-Pro-Val; Lys-Pro-(D-Val); Arg-Phe-Gly; Arg-(D-Phe)-Gly; Arg-PheおよびArg-(D-Phe)からなる群から選択される2または3個の連続するアミノ酸残基からなるアミノ酸配列であり；

nは、0、1、2、3、4および5から選択される数であり、 $(aa_1)_n$ は、独立して、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり得、

mは、0または1であり、 $(aa_2)_m$ は、任意の1個の天然または非天然アミノ酸残基であり得る)を有するメラノコルチンペプチドと、を含む。

【0182】

一実施形態において、前記メラノコルチンペプチドは、 α -MSHもしくは γ -MSHであるか、または α -MSHもしくは γ -MSHに由来する。

【0183】

一実施形態において、 $(aa_1)_n$ は、0~5個のアミノ酸からなる配列である(n=0、1、2、3、4、または5)。特定の実施形態において、 $(aa_1)_n$ は、4または5個の連続するアミノ酸からなる配列である(n=4または5)。

【0184】

一実施形態において、 $(aa_1)_n$ は、Ser-Tyr-Ser-Met-Glu、Ser-Tyr-Ser-Nle-GluおよびSer-Ser-Ile-Ile-Serからなる群から選択され、前記N末端Serは、場合によりアセチル化されている。

【0185】

一実施形態において、 $(aa_1)_n$ は、Ser-Tyr-Ser-Met-Glu、Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu、Ser-Ser-Ile-Ile-Ser、Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu、Ac-Ser-Tyr-Ser-Nle-GluおよびAc-Ser-Ser-Ile-Ile-Serからなる群から選択される。

【0186】

一実施形態において、 $(aa_1)_n$ は、Tyr-Val-Met-GlyおよびTyr-Val-Nle-Glyからなる群から選択される。

【0187】

一実施形態において、 $(aa_2)_m$ は、GlyおよびAspからなる群から選択される。一実施形態において、 $(aa_2)_m$ は、Glyである。別の実施形態において、 $(aa_2)_m$ は、Aspである。

【0188】

一実施形態において、Zは、Lys-Pro-ValまたはLys-Pro-(D-Val)である。別の実施形態において、Zは、Arg-Phe-GlyまたはArg-(D-Phe)-Glyである。さらに別の実施形態において、Zは、Arg-Pheまた

は Arg - (D - Phe) である。

【 0 1 8 9 】

一実施形態において、該メラノコルチンペプチドの最もカルボキシ末端のアミノ酸は、アミド化されている (- NH₂ ; - CONH₂)。したがって一実施形態において、Val または (D - Val) は、バリンアミドである。別の実施形態において、Phe または (D - Phe) は、フェニルアラニンアミドである。さらに別の実施形態において、Gly は、グリシンアミドである。

【 0 1 9 0 】

一実施形態において、本発明のメラノコルチン類似体は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プローブと、アミノ酸配列：



(ここで、n は、0、1、2、3、4 および 5 から選択される数であり、(aa₁) は、独立して、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり、

m は、0 または 1 であり、(aa₂) は、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり

Y は、His - Phe - Arg - Trp ; His - (D - Phe) - Arg - Trp ; His - Phe - (D - Arg) - Trp ; His - Phe - Arg - (D - Trp) ; His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp) ; His - Nal - Arg - Trp および His - (D - Nal) - Arg - Trp からなる群から選択され；

Z は、Lys - Pro - Val および Lys - Pro - (D - Val) からなる群から選択され、Val または (D - Val) は、場合によりバリンアミドである) を有する α - MSH ペプチドと、を含む。

【 0 1 9 1 】

一実施形態において、(aa₁)_n は、Ser - Tyr - Ser - Met - Glu、Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu、Ser - Ser - Ile - Ile - Ser、Ac - Ser - Tyr - Ser - Met - Glu、Ac - Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu および Ac - Ser - Ser - Ile - Ile - Ser からなる群から選択される。一実施形態において、(aa₂)_m は、Gly である。

【 0 1 9 2 】

一実施形態において、該メラノコルチンペプチドは、α - MSH に由来し、(aa₁)_n は、Ser - Tyr - Ser - Met - Glu、Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu または Ser - Ser - Ile - Ile - Ser であり、Y は、His - Phe - Arg - Trp、His - (D - Phe) - Arg - Trp または His - Phe - Arg - (D - Trp) であり、(aa₂)_m は、Gly であり、Z は、Lys - Pro - Val である。

【 0 1 9 3 】

一実施形態において、本発明のメラノコルチン類似体は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プローブと、

Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - Phe - Arg - Trp - Gly - Lys - Pro - Val (SEQ ID NO : 1)、

Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - (D - Phe) - Arg - Trp - Gly - Lys - Pro - Val、

Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - Phe - (D - Arg) - Trp - Gly - Lys - Pro - Val

Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - Phe - Arg - (D - Trp) - Gly - Lys - Pro - Val、

Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp) - Gly - Lys - Pro - Val、

Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - Nal - Arg - Trp - Gly - Lys - Pro - Val、

Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - (D - Nal) - Arg - Trp -

Gly - Lys - Pro - Val、
 Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - Phe - Arg - Trp - Gly -
 Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - (D - Phe) - Arg - Trp -
 Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - Phe - (D - Arg) - Trp -
 Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - Phe - Arg - (D - Trp) -
 Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - (D - Phe) - Arg - (D - T 10
 rp) - Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - Nal - Arg - Trp - Gly -
 Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Met - Glu - His - (D - Nal) - Arg - Trp -
 Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - Phe - Arg - Trp - Gly -
 Lys - Pro - Val (SEQ ID NO: 3)、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - (D - Phe) - Arg - Trp -
 Gly - Lys - Pro - Val、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - Phe - (D - Arg) - Trp - 20
 Gly - Lys - Pro - Val、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - Phe - Arg - (D - Trp) -
 Gly - Lys - Pro - Val、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - (D - Phe) - Arg - (D - T
 rp) - Gly - Lys - Pro - Val、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - Nal - Arg - Trp - Gly -
 Lys - Pro - Val、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - (D - Nal) - Arg - Trp -
 Gly - Lys - Pro - Val、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - Phe - Arg - Trp - Gly - 30
 Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - (D - Phe) - Arg - Trp -
 Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - Phe - (D - Arg) - Trp -
 Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - Phe - Arg - (D - Trp) -
 Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - (D - Phe) - Arg - (D - T
 rp) - Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - Nal - Arg - Trp - Gly - 40
 Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Tyr - Ser - Nle - Glu - His - (D - Nal) - Arg - Trp -
 Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - Phe - Arg - Trp - Gly -
 Lys - Pro - Val (SEQ ID NO: 5)、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - (D - Phe) - Arg - Trp -
 Gly - Lys - Pro - Val、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - Phe - (D - Arg) - Trp -
 Gly - Lys - Pro - Val、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - Phe - Arg - (D - Trp) - 50

Gly - Lys - Pro - Val、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp) - Gly - Lys - Pro - Val、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - Nal - Arg - Trp - Gly - Lys - Pro - Val、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - (D - Nal) - Arg - Trp - Gly - Lys - Pro - Val、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - Phe - Arg - Trp - Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - (D - Phe) - Arg - Trp - Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - Phe - (D - Arg) - Trp - Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - Phe - Arg - (D - Trp) - Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp) - Gly - Lys - Pro - (D - Val)、
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - Nal - Arg - Trp - Gly - Lys - Pro - (D - Val)、および
 Ser - Ser - Ile - Ile - Ser - His - (D - Nal) - Arg - Trp - Gly - Lys - Pro - (D - Val)

からなる群から選択される α - MSHペプチドと、を含み、
 最もカルボキシ末端の Val または (D - Val) は、場合によりバリンアミドである。

【0194】

一実施形態において、本発明のメラノコルチン類似体は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープと、アミノ酸配列：



(ここで、nは、0、1、2、3、4および5から選択される数であり、(aa₁)は、独立して、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり、

mは、0または1であり、(aa₂)は、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり

Yは、His - Phe - Arg - Trp；His - (D - Phe) - Arg - Trp；His - Phe - (D - Arg) - Trp；His - Phe - Arg - (D - Trp)；His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp)；His - Nal - Arg - TrpおよびHis - (D - Nal) - Arg - Trpからなる群から選択され；

Zは、Arg - Phe - Gly、Arg - (D - Phe) - Gly、Arg - PheおよびArg - (D - Phe)からなる群から選択され；Pheもしくは(D - Phe)は、フェニルアラニンアミドであるか、またはGlyは、グリシンアミドである)を有する γ - MSHペプチドと、を含む。

【0195】

一実施形態において、(aa₁)_nは、Tyr - Val - Met - GlyおよびTyr - Val - Nle - Glyからなる群から選択される。一実施形態において、(aa₂)_mは、Aspである。

【0196】

一実施形態において、本発明のメラノコルチン類似体は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プロープと、

Tyr - Val - Met - Gly - His - Phe - Arg - Trp - Asp - Arg - Phe - Gly、

Tyr - Val - Met - Gly - His - (D - Phe) - Arg - Trp - Asp - Arg - Phe - Gly、

Tyr - Val - Met - Gly - His - Phe - (D - Arg) - Trp - Asp -
 Arg - Phe - Gly、
 Tyr - Val - Met - Gly - His - Phe - Arg - (D - Trp) - Asp -
 Arg - Phe - Gly、
 Tyr - Val - Met - Gly - His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp) -
 Asp - Arg - Phe - Gly、
 Tyr - Val - Met - Gly - His - Nal - Arg - Trp - Asp - Arg -
 Phe - Gly、
 Tyr - Val - Met - Gly - His - (D - Nal) - Arg - Trp - Asp -
 Arg - Phe - Gly、 10
 Tyr - Val - Met - Gly - His - Phe - Arg - Trp - Asp - Arg -
 (D - Phe) - Gly、
 Tyr - Val - Met - Gly - His - (D - Phe) - Arg - Trp - Asp -
 Arg - (D - Phe) - Gly、
 Tyr - Val - Met - Gly - His - Phe - (D - Arg) - Trp - Asp -
 Arg - (D - Phe) - Gly、
 Tyr - Val - Met - Gly - His - Phe - Arg - (D - Trp) - Asp -
 Arg - (D - Phe) - Gly、
 Tyr - Val - Met - Gly - His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp) -
 Asp - Arg - (D - Phe) - Gly、 20
 Tyr - Val - Met - Gly - His - Nal - Arg - Trp - Asp - Arg -
 (D - Phe) - Gly、
 Tyr - Val - Met - Gly - His - (D - Nal) - Arg - Trp - Asp -
 Arg - (D - Phe) - Gly、
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - Phe - Arg - Trp - Asp - Arg -
 Phe - Gly、
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - (D - Phe) - Arg - Trp - Asp -
 Arg - Phe - Gly、
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - Phe - (D - Arg) - Trp - Asp -
 Arg - Phe - Gly、 30
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - Phe - Arg - (D - Trp) - Asp -
 Arg - Phe - Gly、
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp) -
 Asp - Arg - Phe - Gly、
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - Nal - Arg - Trp - Asp - Arg -
 Phe - Gly、
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - (D - Nal) - Arg - Trp - Asp -
 Arg - Phe - Gly、
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - Phe - Arg - Trp - Asp - Arg -
 (D - Phe) - Gly、 40
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - (D - Phe) - Arg - Trp - Asp -
 Arg - (D - Phe) - Gly、
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - Phe - (D - Arg) - Trp - Asp -
 Arg - (D - Phe) - Gly、
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - Phe - Arg - (D - Trp) - Asp -
 Arg - (D - Phe) - Gly、
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp) -
 Asp - Arg - (D - Phe) - Gly、
 Tyr - Val - Nle - Gly - His - Nal - Arg - Trp - Asp - Arg -
 (D - Phe) - Gly、 および 50

Tyr - Val - Nle - Gly - His - (D - Nal) - Arg - Trp - Asp -
Arg - (D - Phe) - Gly

からなる群から選択される γ 1 - MSHペプチドと、を含み、
最もカルボキシ末端の Gly は、場合によりグリシンアミドである。

【0197】

一実施形態において、本発明のメラノコルチン類似体は、1つまたは複数の分枝状アミノ酸プローブと、

Tyr - Val - Met - Gly - His - Phe - Arg - Trp - Asp - Arg -
Phe (SEQ ID NO: 11)、

Tyr - Val - Met - Gly - His - (D - Phe) - Arg - Trp - Asp - 10
Arg - Phe、

Tyr - Val - Met - Gly - His - Phe - (D - Arg) - Trp - Asp -
Arg - Phe、

Tyr - Val - Met - Gly - His - Phe - Arg - (D - Trp) - Asp -
Arg - Phe、

Tyr - Val - Met - Gly - His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp) -
Asp - Arg - Phe、

Tyr - Val - Met - Gly - His - Nal - Arg - Trp - Asp - Arg -
Phe、

Tyr - Val - Met - Gly - His - (D - Nal) - Arg - Trp - Asp - 20
Arg - Phe、

Tyr - Val - Met - Gly - His - Phe - Arg - Trp - Asp - Arg -
(D - Phe)、

Tyr - Val - Met - Gly - His - (D - Phe) - Arg - Trp - Asp -
Arg - (D - Phe)、

Tyr - Val - Met - Gly - His - Phe - (D - Arg) - Trp - Asp -
Arg - (D - Phe)、

Tyr - Val - Met - Gly - His - Phe - Arg - (D - Trp) - Asp -
Arg - (D - Phe)、

Tyr - Val - Met - Gly - His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp) - 30
Asp - Arg - (D - Phe)、

Tyr - Val - Met - Gly - His - Nal - Arg - Trp - Asp - Arg -
(D - Phe)、

Tyr - Val - Met - Gly - His - (D - Nal) - Arg - Trp - Asp -
Arg - (D - Phe)、

Tyr - Val - Nle - Gly - His - Phe - Arg - Trp - Asp - Arg -
Phe (SEQ ID NO: 13)、

Tyr - Val - Nle - Gly - His - (D - Phe) - Arg - Trp - Asp -
Arg - Phe、

Tyr - Val - Nle - Gly - His - Phe - (D - Arg) - Trp - Asp - 40
Arg - Phe、

Tyr - Val - Nle - Gly - His - Phe - Arg - (D - Trp) - Asp -
Arg - Phe、

Tyr - Val - Nle - Gly - His - (D - Phe) - Arg - (D - Trp) -
Asp - Arg - Phe、

Tyr - Val - Nle - Gly - His - Nal - Arg - Trp - Asp - Arg -
Phe、

Tyr - Val - Nle - Gly - His - (D - Nal) - Arg - Trp - Asp -
Arg - Phe、

Tyr - Val - Nle - Gly - His - Phe - Arg - Trp - Asp - Arg - 50

(D - P h e)、
 T y r - V a l - N l e - G l y - H i s - (D - P h e) - A r g - T r p - A s p -
 A r g - (D - P h e)、
 T y r - V a l - N l e - G l y - H i s - P h e - (D - A r g) - T r p - A s p -
 A r g - (D - P h e)、
 T y r - V a l - N l e - G l y - H i s - P h e - A r g - (D - T r p) - A s p -
 A r g - (D - P h e)、
 T y r - V a l - N l e - G l y - H i s - (D - P h e) - A r g - (D - T r p) -
 A s p - A r g - (D - P h e)、
 T y r - V a l - N l e - G l y - H i s - N a l - A r g - T r p - A s p - A r g - 10
 (D - P h e)、および
 T y r - V a l - N l e - G l y - H i s - (D - N a l) - A r g - T r p - A s p -
 A r g - (D - P h e)
 からなる群から選択される γ 2 - M S H ペプチドと、を含み、
 最もカルボキシ末端の P h e または (D - P h e) は、場合によりフェニルアラニンアミ
 ドである。

【 0 1 9 8 】

一実施形態において、本発明のメラノコルチン類似体は、1つまたは複数の分枝状アミ
 ノ酸プローブと、 α - M S H の環状ラクタム類似体、一実施形態において α - M S H の側
 鎖環状ラクタム類似体と、を含む。 20

【 0 1 9 9 】

一実施形態において、 α - M S H の環状ラクタム類似体は、A c - N l e - シクロ [A
 s p - H i s - D - P h e - A r g - T r p - L y s] - N H ₂ (M T - I I 、メラノタ
 ン I I (M e l a n o t a n I I)) ; S H U 9 0 0 5 、 S H U 9 1 1 9 、 [D N a l
 (1 ')] - M T I I 、 [N a l (2 ')] - M T I I 、環状 α - M S H (1 - 1 3) ラ
 クタム類似体 ; α - M S H の断片の側鎖環状ラクタム類似体 ; 環状 α - M S H (4 - 1 0
) ラクタム類似体 ; M B X 3 6 ; M B X 3 7 ; A c - N l e 4 - シクロ [A s p 5 , D -
 P h e 7 , L y s 1 0] α - M S H - (4 - 1 0) - N H ₂ ; 環状ジスルフィド α - M S
 H (4 - 1 0) 類似体 ; 環状 α - M S H (4 - 1 1) ラクタム類似体 ; A c - [N l e 4
 , D - O r n 5 , G l u 8] α - M S H 4 - 1 1 - N H ; A c - [N l e 4 , D 30
 - O r n 5 , D - P h e 7 , G l u 8] α - M S H 4 - 1 1 - N H ₂ ; [N - A
 c e t y l - C y s 4 , D - P h e 7 , C y s 1 0] - α - M S H (4 - 1 3) 、環状 ;
 またはそれらの変異体からなる群から選択される。

【 0 2 0 0 】

一実施形態において、本発明のメラノコルチン類似体は、1つまたは複数の分枝状アミ
 ノ酸プローブと、金属環化 α - M S H 類似体、一実施形態において、1 , 4 , 7 , 1 0 -
 テトラアザシクロドデカン - 1 , 4 , 7 , 1 0 - 四酢酸 (D O T A) 結合 R e O 環化 [C
 y s 3 , 4 , 1 0 , - D - P h e 7] - M S H 3 - 1 3 (D O T A - R e C C M S H) と
 、を含む。

【 0 2 0 1 】

一実施形態において、本発明のメラノコルチン類似体は、1つまたは複数の分枝状アミ
 ノ酸プローブと、 α - M S H の環状誘導体を提供するジスルフィド架橋、例えば一実施形
 態において M B J - 0 6 (W O 1 9 9 8 0 2 7 1 1 3 号) と、を含む。 40

【 0 2 0 2 】

権利放棄書

特定の一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、P C T / E P 2 0 1 3 / 0 7
 1 9 3 5 号に開示された通り α - M S H および γ - M S H 類似体を含まない。

【 0 2 0 3 】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、 α - M S H および / もしくは γ - M
 S H ペプチド、またはそれらの変異体を含まない。 50

【0204】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、 α -MSHおよび/もしくは γ -MSH、またはそれらの変異体以外のペプチドを含む。

【0205】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、 α -MSHおよび/または γ -MSHペプチドの最もN末端のアミノ酸に共有結合で連結された（またはペプチド結合で連結された）分枝状アミノ酸プローブを有する前記 α -MSHおよび/または γ -MSHペプチドを含まない。

【0206】

一実施形態において、該ペプチド類似体は、少なくとも1個のリジン残基を含む分枝状アミノ酸プローブを有する α -MSHおよび/または γ -MSHペプチドを含まず、ここで前記分枝状アミノ酸プローブは、前記 α -MSHおよび/または γ -MSHペプチドの最もN末端のアミノ酸に共有結合で連結されている。

10

【0207】

α -MSHの最もN末端のアミノ酸は、Ser（下線部：Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val）である。

【0208】

γ -MSHの最もN末端のアミノ酸は、Tyr（下線部：Tyr-Val-Met-Gly-His-Phe-Arg-Trp-Asp-Arg-Phe（-Gly））である。

20

【0209】

本発明のペプチド類似体が1つの分枝状アミノ酸プローブを含む一実施形態において、該分枝状アミノ酸プローブのアミノアルキルアミノ酸残基の1つまたは複数（または少なくとも1つ）は、リジンであり、該ペプチドは、 α -MSHおよび/もしくは γ -MSH、またはそれらの変異体であり、前記分枝状アミノ酸プローブは、前記ペプチドのN末端に結合されていない。

【0210】

一実施形態において、該1つまたは複数の分枝状アミノ酸プローブの第一のアミノアルキルアミノ酸残基（複数可）は、前記ペプチドのN末端に共有結合で連結されていないが、ただし、i）前記ペプチド類似体が、1つの分枝状アミノ酸プローブを含むこと、ii）前記分枝状アミノ酸プローブが1つもしくは複数のリジン残基を含むこと、ならびに/またはiii）前記ペプチド類似体が、 α -MSHおよび γ -MSH（ γ 1-MSHおよび γ -MSHを含む）からなる群から選択されるメラノコルチンペプチドを含むこと、を条件とする。

30

【0211】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、
アミノ酸配列：



（ここで、Xは、LysおよびD-Lysから選択される第一のリジン残基（Lys₁）を有する分枝状アミノ酸プローブを含み、前記第一のリジン残基は、（aa₁）_nへのペプチド結合により連結され、

40

前記第一のリジン残基は、第二のリジン残基（Lys₂）への、または第二および第三のリジン残基（Lys₃）へのペプチド結合により場合により連結されて、LysおよびD-Lysから選択される合計2または3個のリジン残基の直鎖を形成し、

前記第一、第二および/または第三のリジン残基のそれぞれの1つまたは複数の側鎖（複数可）が、独立してLys_q-Lys；（aa₃）_p-Lys_q；Lys_q-（aa₃）_p；[（aa₃）-Lys]_pおよび[Lys-（aa₃）]_p（ここでqは、0、1、2および3から選択される数であり；pは、1、2および3から選択される数であり；（aa₃）は、独立してArg、His、GlyおよびAlaから選択されるアミノ酸残

50

基である) からなる群から選択される分子を、1つまたは複数の前記リジン残基のそれぞれの ε -アミノ基に結合させることにより修飾されるが、

ただし、Xが、2～9個のアミノ酸残基からなることを条件とし、

Yは、His-Phe-Arg-Trp (SEQ ID NO: 16); His-(D-Phe)-Arg-Trp; His-Phe-(D-Arg)-Trp; His-Phe-Arg-(D-Trp); His-(D-Phe)-Arg-(D-Trp); His-Nal-Arg-Trp および His-(D-Nal)-Arg-Trp からなる群から選択される4個の連続するアミノ酸残基からなるアミノ酸配列を含み;

Zは、Lys-Pro-Val; Lys-Pro-(D-Val); Arg-Phe-Gly; Arg-(D-Phe)-Gly; Arg-Phe および Arg-(D-Phe) からなる群から選択される2または3個の連続するアミノ酸残基からなるアミノ酸配列を含み;

nは、0、1、2、3、4および5から選択される数であり、(aa₁)は、独立して、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり得、

mは、0または1であり、(aa₂)は、任意の天然または非天然アミノ酸残基であり得る)を含む8～22個のアミノ酸残基からなるペプチド、を含まない、またはそれを包含しない。

【0212】

一実施形態において、本発明のペプチド類似体は、

アミノ酸配列:



(ここで、Xは、Lys および D-Lys から選択される第一のリジン残基(Lys₁)を有する分枝状アミノ酸プローブを有し、前記第一のリジン残基は、(aa₁)_nへのペプチド結合により連結され、

前記第一のリジン残基は、第二のリジン残基(Lys₂)への、または第二および第三のリジン残基(Lys₃)へのペプチド結合により場合により連結されて、Lys および D-Lys から選択される合計2または3個のリジン残基の直鎖を形成し、

前記第一、第二および/または第三のアミノアルキルアミノ酸残基の1つまたは複数の側鎖(複数可)が、独立して Lys_q-Lys; (aa₃)_p-Lys_q; Lys_q-(aa₃)_p; [(aa₃)-Lys]_p および [Lys-(aa₃)]_p (ここでqは、0、1、2および3から選択される数であり;pは、1、2および3から選択される数であり;(aa₃)は、独立して Arg、His、Gly および Ala から選択されるアミノ酸残基である) からなる群から選択される分子を、前記1つまたは複数の前記リジン残基それぞれの ε -アミノ基に結合させることにより修飾されるが、

ただし、Xは、2～9個のアミノ酸残基からなり、

Yは、His-Phe-Arg-Trp (SEQ ID NO: 16); His-(D-Phe)-Arg-Trp; His-Phe-(D-Arg)-Trp; His-Phe-Arg-(D-Trp); His-(D-Phe)-Arg-(D-Trp); His-Nal-Arg-Trp および His-(D-Nal)-Arg-Trp からなる群から選択される4個の連続するアミノ酸残基からなるアミノ酸配列であり;

Zは、Lys-Pro-Val; Lys-Pro-(D-Val); Arg-Phe-Gly; Arg-(D-Phe)-Gly; Arg-Phe および Arg-(D-Phe) からなる群から選択される2または3個の連続するアミノ酸残基からなるアミノ酸配列であり;

(aa₁)_nは、Ser-Tyr-Ser-Met-Glu、Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu、Ser-Ser-Ile-Ile-Ser、Tyr-Val-Met-Gly および Tyr-Val-Nle-Gly からなる群から選択され

(aa₂)_mは、Gly および Asp からなる群から選択される)を含む8～22個のアミノ酸残基からなるペプチド、を含まない、またはそれを包含しない。

【0213】

調製方法

本発明によるペプチド類似体は、当該技術分野で公知の任意の適切な方法により調製され得る。したがって幾つかの実施形態において、該ペプチドおよび該分枝状アミノ酸プローブはそれぞれ、標準のペプチド調製技術、例えば液相合成またはメリフィールド型固相合成などの固相ペプチド合成（SPPS）により調製される。

【0214】

本発明のペプチド類似体は、一実施形態において、固相合成により、最初、周知の標準的保護、カップリングおよび脱保護手順を利用して薬理学的活性ペプチド配列を構築し、その後、活性ペプチドの構築と類似の手法で分枝状アミノ酸プローブを活性ペプチド上に逐次カップリングさせ、最後に担体からペプチド類似体全体を切断することにより調製される。この方策は、該分枝状アミノ酸プローブが薬理学的活性ペプチドに該ペプチドのN末端窒素原子で共有結合したペプチドを生成する。

10

【0215】

一実施形態において、活性ペプチド上での分枝状アミノ酸配列のカップリングの前または後に、該分枝状アミノ酸配列内の最後のアミノ酸にある α 窒素は、標準のアシル化技術を利用してアセチルでキャップされる。

【0216】

合成の間、アミノ酸カップリングを容易にするNおよびC末端の反応性部分と、反応性側鎖官能基は、合成およびペプチド伸長の間に遊離末端または他の側鎖基と相互作用して、収率および純度に負の影響を及ぼす可能性がある。特異的アミノ酸官能基に結合して、非特異性反応から官能基を遮断または保護する化学基が、こうして開発される。精製された個々のアミノ酸は、合成前にこれらの保護基と反応し、その後、ペプチド合成の特異的ステップの間に選択的に除去される。N末端保護基の例は、固相ペプチド合成で一般に用いられるt-BocおよびFmocである。C末端保護基は、液相合成で最も多く用いられる。N末端脱保護が、ペプチド合成の間に連続で起こるため、異なるタイプの側鎖保護基（ベンジル；Bzlまたはtert-ブチル；tBu）を最適化された脱保護のためにそれぞれBocまたはFmocのいずれかに適合させる保護スキームが確立された。

20

【0217】

本発明の特定の実施形態において、Ac(Ac-Lys-Lys)Lys-により例示される分枝状アミノ酸プローブを調製する場合、Lysの保護基は、Mttであり、該保護アミノ酸は、市販されている(Fmoc-Lys(Mtt)-OH；N- α -Fmoc-N- ϵ -4-メチルトリチル-L-リジン、CAS# 167393-62-6)。Lys(Mtt)は、Fmocを切断する条件では切断されず、他の側鎖保護基を切断せずに除去され得るため、アセチルでのLysのキャップを可能にする。

30

【0218】

該調製方法は、幾つかの実施形態において、こうして調製された合成ペプチドの収率および/または品質を上昇させ得る、当該技術分野の日常的方法により最適化される。例えばセリン-およびトレオニン-含有ペプチドのFmoc-SPPSにおけるシュードプロリン（オキサゾリジン）ジペプチドの使用は、粗生成物の品質および収率を改善させることができ、誤った配列の不必要な反復合成の回避を支援することができる。これらのジペプチドは使用し易く、つまり単に、セリンまたはトレオニン残基を、適切なシュードプロリンジペプチドを有するペプチド配列内の先行するアミノ酸残基と共に置換する。該ネイティブ配列は、切断および脱保護により再生される。

40

【0219】

一実施形態において、薬理学的活性ペプチドの配列および分枝状アミノ酸プローブ（またはその一部）はそれぞれ、例えば液相合成、固相合成、組換え技術、または酵素合成と、その後の溶液中の、もしくは固相技術を用いた、またはそれらの組み合わせによる、周知のセグメント縮合手順による（少なくとも）2つの配列のカップリングにより、別個に調製される。

50

【0220】

一実施形態において、該ペプチドは、組換えDNA法により調製され、該分枝状アミノ酸プローブは、固相または液相合成により調製される。該ペプチドと該分枝状アミノ酸プローブのコンジュゲーションは、一実施形態において、化学的ライゲーションを利用することにより実施される。この技術は、高特異性の手法で全体として保護されていないペプチドセグメントの組立てを可能にする。別の実施形態において、該コンジュゲーションは、ペプチド結合を介して全体として保護されていないペプチドセグメントをまとめる高特異性技術を提供するプロテアーゼ触媒ペプチド結合形成により実施される。

【0221】

一実施形態において、分枝状アミノ酸プローブのC末端アミノ酸または該ペプチドのC末端アミノ酸が、2, 4 - ジメトキシ - 4' - ヒドロキシ - ベンゾフェノン、4 - (4 - ヒドロキシ - メチル - 3 - メトキシフェノキシ) - 酪酸、4 - ヒドロキシ - メチル安息香酸、4 - ヒドロキシメチル - フェノキシ酢酸、3 - (4 - ヒドロキシメチルフェノキシ) プロピオン酸、または $p - \{ (R, S) - \alpha - [1 - (9H - フルオレン - 9 - イル) - メトキシホルムアミド] - 2, 4 - ジメトキシベンジル \} - フェノキシ酢酸$ (リンクアミドのリンカー) などの共通のリンカーを用いて固体担体材料に結合する。

【0222】

適切な固体担体材料 (SSM) の例は、例えばポリスチレン、ポリアクリルアミド、ポリジメチルアクリルアミド、ポリエチレングリコール、セルロース、ポリエチレン、ポリスチレン上にグラフトされたポリオエチレングリコール、ラテックス、D y n a b e a d s などの官能化樹脂である。

【0223】

生成された本発明のペプチド類似体は、幾つかの実施形態において、場合により1種のフェノール、チオアニソールなどと組み合わせて、トリフルオロ酢酸、トリフルオロメタンスルホン酸、臭化水素、塩化水素、フッ化水素などの酸により固体担体材料から切断するか、または本発明のペプチドコンジュゲートは、他の実施形態において、アンモニアなどの塩基、ヒドラジン、ナトリウムエトキシドなどのアルコキシド、水酸化ナトリウムなどの水酸化物などにより固体担体から切断される。

【0224】

別の実施形態において、本発明のペプチド類似体は、組換え技術により調製または生成され得る。したがって本発明の一態様において、該ペプチドは、宿主細胞内での発現を指揮することが可能な第二の核酸と操作可能に関連された (operably - associated) 該ペプチドまたはペプチド類似体をコードする第一の核酸配列を含む前記宿主細胞により産生される。幾つかの実施形態において、該第二の核酸配列は、前記細胞内の該当するタンパク質の発現を指揮することになるプロモータを含む、または該プロモータからなる。当業者は、所与の宿主細胞内で使用される有用な第二の核酸配列 (例えば、ベクターおよびプラスミド) を同定することが即座に可能であろう。

【0225】

一般に組換えペプチドを生成する工程は、宿主細胞を準備するステップ、宿主細胞内の該当する前記タンパク質の発現を指揮することが可能な第二の核酸に操作可能に連結されたペプチドをコードする第一の核酸を含む遺伝子発現構築物を調製するステップ、宿主細胞を該構築物で形質転換するステップ、および該宿主細胞を培養し、それにより該ペプチドの発現を得るステップを含む。本発明の一実施形態において、組換え生成されたペプチドは、宿主細胞により排出される。宿主細胞としては、原核細胞、酵母細胞、昆虫細胞および哺乳動物細胞をはじめとする当業者に公知の任意の適切な宿主細胞が挙げられる。

【0226】

一実施形態において、こうして生成された組換えペプチドは、任意の従来法により単離されるが、従来のペプチド結合形成化学を介して任意の適宜保護された分枝状アミノペプチド部分に連結させることができる。当業者は、該ペプチドを精製するための適切なタンパク質単離ステップを同定することができよう。

10

20

30

40

50

【0227】

処置方法

一態様は、医薬として使用するための、本発明により定義されるペプチド類似体を提供することである。

【0228】

別の態様において、本発明は、医療状態を処置、予防または軽減するための方法を提供する。一実施形態において、本発明によるそのような方法は、本発明によるペプチド類似体、または1種もしくは複数のそのようなペプチドを含む医薬組成物の有効量を、必要とする個体に投与または放出する1つまたは複数のステップを含む。一実施形態において、本発明による投与または放出のそのようなステップは、同時、連続、または別個である。

10

【0229】

本明細書で称される「必要とする個体」は、一実施形態において、本発明によるペプチドまたは医薬組成物の投与により利益を受ける個体である。一実施形態におけるそのような個体は、疾患もしくは状態に罹患しているか、またはそれらに罹患するリスクがある。該個体は、一実施形態において男性または女性、幼児、中年または高齢の任意のヒトである。一実施形態における個体内で処置または予防される障害は、個体の年齢、個体の一般的健康状態、個体を処置するために用いられる医薬、および個体が個体内の状態を誘導し得る、または誘導した疾患または障害の過去の病歴を有するか否かに関係する。

【0230】

本明細書で用いられる用語「処置」および「処置すること」は、状態、疾患または障害と戦う目的での患者の管理およびケアを指す。該用語は、症状もしくは合併症を軽減もしくは緩和する目的；状態の進行を遅延させる目的；臨床症状発現、疾患もしくは障害を部分的に停止させる目的；状態、疾患もしくは障害を治癒もしくは排除する目的；および/または状態、疾患もしくは障害を獲得するリスクを予防もしくは低減する目的でのペプチド類似体の投与など、患者が罹患している所与の状態のための処置の全範囲を包含するものとし、ここで「予防すること」または「予防」は、状態、疾患または障害の発症を遅らせる目的での患者の管理およびケアを指すと理解しなければならず、症状または合併症の発病のリスクを予防または低減する活性化化合物の投与を包含する。処置される患者は、好ましくは哺乳動物、特にヒトである。しかしマウス、ラット、イヌ、ネコ、ウシ、ウマ、ヒツジおよびブタなどの動物の処置もまた、本発明の範囲内である。本発明により処置される患者は、様々な年齢、例えば成人、小児、16歳未満の小児、6～16歳の小児、2～16歳の小児、2ヶ月～6歳の小児、または2ヶ月～5歳の小児であり得る。

20

30

【0231】

本発明は、一実施形態において、虚血状態、炎症状態、および/または代謝状態の処置において使用するための本発明によるペプチド類似体を対象とする。

【0232】

本発明は、一実施形態において、虚血状態、炎症状態、および/または代謝状態の処置の方法であって、必要とする個体に本発明によるペプチド類似体の有効量を投与することを含む、方法を対象とする。

【0233】

さらなる有効成分

幾つかの実施形態において、本発明のペプチド類似体は、他の治療化合物またはその医薬的に許容し得る誘導体として理解される1種または複数のさらなる有効成分と組み合わせられる、またはそれを含む。

【0234】

したがって本発明による処置の方法は、一実施形態において、1種または複数のさらなる有効成分を任意の適切な比率で、同時にまたは連続して投与する1つまたは複数のステップをさらに含む。

【0235】

一実施形態における本発明による処置の方法は、本明細書に定義された医薬組成物また

50

はペプチド類似体が1種または複数のさらなる有効成分と同時に、連続して、または別個に投与されるステップを含む。

【0236】

投与および投与量

本発明によれば、本明細書に定義されたペプチド類似体を含む組成物は、一実施形態において、医薬的有效用量または治療有効量で、必要とする個体に投与される。

【0237】

本発明によるペプチドの治療有効量は、一実施形態において、所与の疾患または障害とその合併症を治癒、予防、またはそれらのリスクを低減、それらの臨床症状発現を軽減または部分的に停止させるのに十分な量である。特定の治療目的に有効な量は、障害の重症度および種類、ならびに対象の体重および一般的状態に依存するであろう。これを遂行するのに十分な量は、「治療有効量」として定義される。

10

【0238】

本発明の一実施形態において、該組成物は、 $1\mu\text{g}/\text{日} \sim 100\text{mg}/\text{日}$ 、例えば $1\mu\text{g}/\text{日} \sim 10\mu\text{g}/\text{日}$ 、 $10\mu\text{g}/\text{日} \sim 100\mu\text{g}/\text{日}$ 、 $100\mu\text{g}/\text{日} \sim 250\mu\text{g}/\text{日}$ 、 $250\mu\text{g}/\text{日} \sim 500\mu\text{g}/\text{日}$ 、 $500\mu\text{g}/\text{日} \sim 750\mu\text{g}/\text{日}$ 、 $750\mu\text{g}/\text{日} \sim 1\text{mg}/\text{日}$ 、 $1\text{mg}/\text{日} \sim 2\text{mg}/\text{日}$ 、 $2\text{mg}/\text{日} \sim 5\text{mg}/\text{日}$ 、 $5\text{mg}/\text{日} \sim 10\text{mg}/\text{日}$ 、 $10\text{mg}/\text{日} \sim 20\text{mg}/\text{日}$ 、 $20\text{mg}/\text{日} \sim 30\text{mg}/\text{日}$ 、 $30\text{mg}/\text{日} \sim 40\text{mg}/\text{日}$ 、 $40\text{mg}/\text{日} \sim 50\text{mg}/\text{日}$ 、 $50\text{mg}/\text{日} \sim 75\text{mg}/\text{日}$ 、または $75\text{mg}/\text{日} \sim 100\text{mg}/\text{日}$ の用量で投与される。

20

【0239】

本発明の一実施形態において、該組成物の単回用量が投与され、それは、 $1\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重 $\sim 100\text{mg}/\text{kg}$ 体重、例えば $1 \sim 10\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、 $10 \sim 100\mu\text{g}/\text{日}$ 、 $100 \sim 250\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、 $250 \sim 500\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、 $500 \sim 750\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重、 $750\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重 $\sim 1\text{mg}/\text{kg}$ 体重、 $1\text{mg}/\text{kg}$ 体重 $\sim 2\text{mg}/\text{kg}$ 体重、 $2 \sim 5\text{mg}/\text{kg}$ 体重、 $5 \sim 10\text{mg}/\text{kg}$ 体重、 $10 \sim 20\text{mg}/\text{kg}$ 体重、 $20 \sim 30\text{mg}/\text{kg}$ 体重、 $30 \sim 40\text{mg}/\text{kg}$ 体重、 $40 \sim 50\text{mg}/\text{kg}$ 体重、 $50 \sim 75\text{mg}/\text{kg}$ 体重、または $75 \sim 100\text{mg}/\text{kg}$ 体重で構成され得る。

【0240】

一実施形態において、本発明による用量は、 $1 \sim$ 数回/日、例えば $1 \sim 6$ 回/日、 $1 \sim 5$ 回/日、 $1 \sim 4$ 回/日、 $1 \sim 3$ 回/日、 $1 \sim 2$ 回/日、 $2 \sim 4$ 回/日、 $2 \sim 3$ 回/日、投与される。

30

【0241】

投与経路

好ましい投与経路が、処置される対象の一般的状態および年齢、処置される状態の性質、体内で処置される組織の位置、および選択された有効成分に依存することは、認識されよう。

【0242】

全身処置

一実施形態において、投与経路は、該ペプチド類似体を血流に導入して、最終的に所望の作用部位を標的とすることが可能である。

40

【0243】

一実施形態において、投与経路は、任意の適切な経路、例えば経腸経路（経口、経直腸、経鼻、肺内、口腔、舌下、経皮、大槽内および腹腔内投与など）、および/または非経口経路（皮下、筋肉内、髄腔内、静脈内、および皮内投与など）である。

【0244】

そのような投与の適切な投与剤形は、従来技術により調製され得る。

【0245】

非経口投与

非経口投与は、薬剤が肝臓内の初回通過効果を回避する、経口/経腸経路でない任意の

50

投与経路である。したがって非経口投与としては、任意の注射および輸液、例えばボラス注射または連続輸液、例えば静脈内投与、筋肉内投与または皮下投与が挙げられる。さらに非経口投与としては、吸入および外用投与が挙げられる。

【0246】

したがって該ペプチド類似体または組成物は、一実施形態において、動物の任意の粘膜を通して外用として投与され、該物質またはペプチドが、例えば鼻内、腔内、眼内、口内、生殖管内、肺内、胃腸管内、または直腸内、例えば鼻または口の粘液に与えられなければならない、したがって非経口投与は、口腔、舌下、鼻内、直腸、腔および腹腔内投与に加え、吸入および導入による肺および気管支投与も包含し得る。幾つかの実施形態において、該ペプチド類似体は、外用として投与されて皮膚を通して投与される。

10

【0247】

一実施形態において、非経口投与の静脈内、皮下および筋肉内形態が用いられる。

【0248】

局所処置

一実施形態において、本発明によるペプチド類似体または組成物は、局所処置として用いられ、即ち、作用部位（複数可）に直接導入される。したがって該ペプチドは、皮膚もしくは粘膜に直接適用することができ、または該ペプチドは、作用部位に、例えば罹患した組織もしくは罹患した組織に直接つながる末端動脈に注入することができる。

【0249】

医薬配合剤

一実施形態において、該ペプチド類似体またはその医薬的に許容し得る誘導体が、単独で、または医薬的に許容し得る担体または賦形剤と共に、単回または反復投与のいずれかとして投与される。本発明による医薬組成物または化合物は、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 2000などに開示されたものなど、従来の技術に従って医薬的に許容し得る担体または希釈剤、および任意の他の公知アジュバントおよび賦形剤と共に配合され得る。

20

【0250】

本明細書の文脈における用語「医薬的に許容し得る誘導体」は、患者に有害でない塩を示す医薬的に許容し得る塩を包含する。そのような塩としては、医薬的に許容し得る塩基または酸付加塩、および医薬的に許容し得る金属塩、アンモニウム塩およびアルキル化アンモニウム塩が挙げられる。医薬的に許容し得る誘導体は、活性化合物または結晶形態の化合物に生物学的に代謝され得る化合物の医薬的に許容し得るエステル、プロドラッグ、または他の前駆体をさらに包含する。

30

【0251】

該医薬組成物または医薬的に許容し得る組成物は、任意の適切な経路、例えば経腸経路、経口、経直腸、経鼻、肺内、口腔、舌下、経皮、大槽内、腹腔内、および非経口（皮下、筋肉内、髄腔内、静脈内、および皮内など）経路による投与に向けて専用に配合され得る。

40

【0252】

本発明の一実施形態において、本発明の医薬組成物またはペプチドは、血液脳関門を通過するように配合される。

【0253】

経口投与用の医薬組成物としては、固体投与剤形、例えば硬または軟カプセル、錠剤、トローチ、糖剤、丸薬、ロゼンジ、粉末および顆粒が挙げられる。それらは、適宜、腸溶性コーティングなどのコーティングと共に調製することができ、またはそれらは、当該技術分野で周知の方法により、有効成分の制御放出、例えば持続放出もしくは長期放出を提供するように配合することができる。同じ固体投与剤形において、一方の有効成分の制御放出と、他方の有効成分の即時放出を提供するように、2種の有効成分を組み合わせるこ

50

とができる。

【0254】

経口投与用の液体投与剤形としては、溶液、エマルジョン、水性または油性懸濁液、シロップ、およびエリキシルが挙げられる。

【0255】

非経口投与用の医薬組成物としては、滅菌水性および非水性注射溶液、分散液、懸濁液、またはエマルジョンに加え、使用前に滅菌注射溶液または分散液で再構成される滅菌粉末が挙げられる。デポー注射配合剤もまた、本発明の範囲内と見なされる。

【0256】

他の適切な投与剤形としては、坐剤、スプレー、軟膏、クリーム/ローション、ゲル、吸入剤、皮膚パッチ、インプラントなどが挙げられる。

【0257】

一実施形態において、本発明による使用のための化合物またはペプチドは一般に、遊離物質として、またはその医薬的に許容し得るエステルもしくは塩などの医薬的誘導体として使用される。後者の例は、遊離塩基の官能性を有する化合物の酸付加塩、および遊離酸の官能性を有する化合物の塩基付加塩である。用語「医薬的に許容し得る塩」は、本発明による使用のための化合物の非毒性塩を指し、該塩は、一般に遊離塩基を適切な有機もしくは無機酸と反応させることにより、または酸を適切な有機もしくは無機塩基と反応させることにより調製される。本発明による使用のための化合物が、遊離塩基官能性を含む場合、そのような塩は、従来の手法で、該化合物の溶液または懸濁液を医薬的に許容し得る酸の化学的均等物で処理することにより調製される。本発明による使用のための化合物が、遊離酸官能性を含む場合、そのような塩は、従来の手法で、該化合物の溶液または懸濁液を医薬的に許容し得る塩基の化学的均等物で処理することにより調製される。ヒドロキシ基を有する化合物の生理学的に許容し得る塩としては、適切なカチオン、例えばナトリウムまたはアンモニウムイオンと組み合わせた該化合物のアニオン形態が挙げられる。医薬的に許容し得ない他の塩が、本発明の化合物の調製において有用になる場合があり、これらの形態は、本発明のさらなる態様を形成する。医薬的に許容し得る酸付加塩としては、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩、硝酸塩、硫酸塩、重硫酸塩、リン酸塩、リン酸、イソニコチン酸塩、酢酸塩、トリフルオロ酢酸塩、トリクロロ酢酸塩、乳酸塩、サリチル酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、パントテン酸塩、酒石酸水素塩、アスコルビン酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、ゲンチシン酸塩 (gentisinate)、フマル酸塩、グルコン酸塩、グルカロン酸塩 (glucuronate)、糖酸塩、ギ酸塩、安息香酸塩、グルタミン酸塩、メタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩およびパモ酸塩 (即ち、1,1'-メチレン-ビス-(2-ヒドロキシ-3-ナフトアート)) が挙げられるが、これらに限定されない。

【0258】

本発明の一実施形態において、本発明のペプチドは、結晶形態、例えば共結晶化形態または結晶形態の水和物である。

【0259】

用語「プロドラッグ」は、例えば血中での加水分解により、または細胞、例えば基底核の細胞内での代謝により、上記式の親化合物を生成するためにインビボで急速に形質転換されたペプチドを指す。徹底した議論が、T. Higuchi and V. Stella, "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," Vol. 14 of the A.C.S. Symposium Series, および Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward b. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987 に示されているが、それらは両者とも参照により本明細書に組み入れられる。プロドラッグの例としては、本発明の化合物の医薬的に許容し得る非毒性エステルが挙げられる。本発明の化合物のエステルは、従来の方法 "March's Advanced

10

20

30

40

50

Organic Chemistry, 5th Edition". M. b. Smith & J. March, John Wiley & Sons, 2001 に従って調製され得る。

【0260】

一実施形態において、非経口投与の場合、滅菌水溶液、水性プロピレングリコールまたはゴマもしくはピーナッツ油での本発明によるペプチドの溶液が用いられる。水溶液は、適宜、適切に緩衝されなければならない。液体希釈剤は、例えば十分な生理食塩水またはグルコースで、等張にされなければならない。水溶液は、静脈内、筋肉内、皮下および腹腔内投与に特に適する。用いられる滅菌水性媒体は全て、当業者に公知の標準技術により即座に利用可能である。

10

【0261】

適切な医薬担体としては、不活性固形希釈剤または充填剤、滅菌水性溶液および様々な有機溶媒が挙げられる。固形担体の例は、ラクトース、白土、スクロース、シクロデキストリン、タルク、ゼラチン、寒天、ペクチン、アラビアゴム、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸およびセルロースの低級アルキルエーテルである。液状担体の例は、シロップ、ピーナッツ油、オリーブ油、リン脂質、脂肪酸、脂肪酸アミン、ポリオキシエチレンおよび水である。さらに、担体または希釈剤として、当該技術分野で公知の任意の持続放出材料、例えば単独またはワックスと混合された、モノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリルを挙げることができる。本発明による化合物と医薬的に許容し得る担体とを組み合わせることにより形成された医薬組成物は、その後、開示された投与経路に適した様々な投与剤形で即座に投与される。該配合剤は、従来通り、薬局業界で公知の方法により単位投与剤形で提示され得る。

20

【0262】

経口投与に適した本発明の配合剤は、それぞれが所定の量の有効成分を含有し、適切な賦形剤を含み得る、カプセル剤または錠剤などの不連続な単位として提示することができる。

【0263】

さらに経口使用できる配合剤は、粉末もしくは顆粒の形態、水性もしくは非水性液体中の溶液もしくは懸濁液、または水中油型もしくは油中水型のエマルジョンであり得る。

【0264】

経口使用が予定される組成物は、任意の公知方法で調製することができ、そのような組成物は、医薬的に簡潔で味の良い調製剤を提供するために、甘味剤、香味剤、着色剤および防腐剤からなる群から選択される1種または複数の薬剤を含有し得る。錠剤は、錠剤の製造に適した非毒性の医薬的に許容し得る賦形剤と混和された有効成分（複数可）を含有し得る。これらの賦形剤は、例えば炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、ラクトース、リン酸カルシウムまたはリン酸ナトリウムなどの不活性希釈剤；造粒および崩壊剤、例えばコーンスターチまたはアルギン酸；結合剤、例えばデンプン、ゼラチン、アラビアゴム；ならびに滑沢剤、例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸またはタルクであり得る。該錠剤は、コーティングされていなくてもよく、またはそれらは、公知の技術によりコーティングさせて、胃腸管内での崩壊および吸収を遅延させ、それによりより長期間にわたり持続的作用を提供してもよい。例えばモノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリルなどの時間遅延材料が、用いられ得る。それらはまた、内容が参照により本明細書に組み入れられる米国特許第4,356,108号；同第4,166,452号；および同第4,265,874号に記載された技術によりコーティングして、制御放出用の浸透性治療錠剤を形成させることができる。

30

40

【0265】

経口使用される配合剤はまた、有効成分が不活性固体希釈剤、例えば炭酸カルシウム、リン酸カルシウムもしくはカオリンと混合された硬ゼラチンカプセル、または有効成分が水もしくは油性媒体、例えばピーナッツ油、液状パラフィン、もしくはオリーブ油と混合された軟ゼラチンカプセルとして提示することができる。水性懸濁液は、水性懸濁液の製

50

造に適した賦形剤と混和された、本発明による使用のための化合物を含有し得る。そのような賦形剤は、懸濁剤、例えばカルボキシメチルセリロースナトリウム、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、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガカントゴム、およびアラビアゴムであり；分散もしくは湿潤剤は、レシチンなどの天然由来ホスファチド、またはアルキレンオキシドと脂肪酸との縮合生成物、例えばステアリン酸ポリオキシエチレン、またはエチレンオキシドと長鎖脂肪族アルコールとの縮合生成物、ヘプタデカエチレンオキシセタノール、またはエチレンオキシドと脂肪酸およびヘキシトール由来の部分エステルとの縮合生成物、例えばポリオキシエチレンソルビトールモノオレアート、またはエチレンオキシドと脂肪酸および無水ヘキシトール由来の部分エステルとの縮合生成物、例えばポリエチレンソルビタンモノオレアートであり得る。水性懸濁液はまた、1種または複数の着色剤、1種または複数の香味剤、および1種または複数の甘味剤、例えばスクロースまたはサッカリンを含有し得る。

10

【0266】

油性懸濁液は、有効成分を植物油、例えば落花生油、オリーブ油、ゴマ油もしくはココナッツオイルに、または鉱物油、例えば液状パラフィンに懸濁させることにより配合され得る。油性懸濁液は、増粘剤、例えばビーズワックス、硬パラフィン、またはセチルアルコールを含有し得る。先に示されたものなどの甘味剤、および香味剤を添加して、味の良い経口調製物を提供することができる。これらの組成物は、アスコルビン酸などの抗酸化剤の添加により保存され得る。

【0267】

水の添加による水性懸濁液の調製に適した分散性粉末および顆粒は、分散または湿潤剤、懸濁剤および1種または複数の防腐剤と混和された活性化化合物を提供する。適切な分散または湿潤剤および懸濁剤は、既に先に言及されたものなどにより具体化される。さらなる賦形剤、例えば甘味剤、香味剤、および着色剤もまた、存在し得る。

20

【0268】

本発明による使用のためのペプチドを含む医薬組成物はまた、水中油エマルジョンの形態であり得る。該油相は、植物油、例えばオリーブ油もしくは落花生油、または鉱物油、例えば液状パラフィン、またはそれらの混合物であり得る。適切な乳化剤は、天然由来のゴム、例えばアラビアゴム、またはトラガカントゴム、天然由来ホスファチド、例えば大豆、レシチン、ならびに脂肪酸および無水ヘキシトール由来のエステルまたは部分エステル、例えばモノオレイン酸ソルビタン、前記部分エステルとエチレンオキシドとの縮合生成物、例えばポリエチレンソルビタンモノオレアートであり得る。該エマルジョンもまた、甘味剤および香味剤を含有し得る。

30

【0269】

シロップおよびエリキシルが、甘味剤、例えばグリセロール、ポリエチレングリコール、ソルビトールまたはスクロースと共に配合され得る。そのような配合剤はまた、粘滑剤、防腐および香味剤、ならびに着色剤を含有し得る。該医薬組成物は、滅菌注射水性または油性懸濁液の形態であり得る。この懸濁液は、適切な分散または湿潤剤および上記の懸濁剤を用いて、公知の方法に従って配合され得る。滅菌注射調製物はまた、非毒性の非経口投与が許容される希釈剤または溶媒中の滅菌注射溶液または懸濁液、例えば1,3-ブタンジオール中の溶液であり得る。中でも、用いることが可能な許容され得るビヒクルおよび溶媒は、水、リンガー液および等張塩化ナトリウム溶液である。加えて、滅菌不揮発油は、従来通り溶媒または懸濁媒体として用いられる。この目的で、任意の無刺激性不揮発油を、合成モノ-またはジ-グリセリドを用いて使用され得る。加えて、オレイン酸などの脂肪酸は、注射液の調製において用途を見出している。

40

【0270】

該組成物はまた、本発明の化合物の経直腸投与用の坐剤の形態であり得る。これらの組成物は、該化合物は、常温では固体であるが直腸温では液体になる適切な非刺激性賦形剤と混合することにより調製することができ、こうして直腸で融解されて薬物を放出する。そのような材料としては、例えばココア脂およびポリエチレングリコールが挙げられる。

50

【 0 2 7 1 】

本発明のペプチドはまた、リボソーム送達系、例えば小さな単一ラメラ小胞、大きなユニラメラ小胞、およびマルチラメラ小胞の形態で投与され得る。リボソームは、非限定的にコレステロール、ステアリルアミンまたはホスファチジルコリンをはじめとする様々なリン脂質から形成され得る。

【 0 2 7 2 】

加えて、本発明の幾つかのペプチドは、水または一般的な有機溶媒と共に溶媒和物を形成し得る。そのような溶媒和物もまた、本発明の範囲に包含される。

【 0 2 7 3 】

したがってさらなる実施形態は、本発明による使用のためのペプチド、またはその医薬的に許容し得る塩、溶媒和物、もしくはプロドラッグと、1種または複数の医薬的に許容し得る担体、賦形剤または希釈剤と、を含む医薬組成物を提供する。

10

【 0 2 7 4 】

本発明はまた、 α -MSH、 γ -MSH類似体、GLP-1類似体、GLP-2類似体、および本発明のアネキシンA1のN末端の類似体を含む医薬組成物に加え、医薬として使用するための、 α -MSHおよび γ -MSH類似体、GLP-1類似体、GLP-2類似体、または本発明のアネキシンA1のN末端の類似体を包含する。

【 0 2 7 5 】

具体的には、 α -MSHおよび γ -MSH類似体 α -MSH、 γ -MSH類似体、GLP-1類似体、GLP-2類似体、ならびに本発明のアネキシンA1のN末端の類似体は、哺乳動物の1種または複数の臓器の組織内の虚血および/または炎症状態の処置における使用に潜在的に適するが、ここで前記処置は、予防、軽減または治癒であり得る。

20

【 0 2 7 6 】

関係する前記虚血状態は、一実施形態において、卒中、傷害、敗血症性ショック、全身性高血圧、心臓発作による心停止、不整脈、血栓を伴うアテローム性疾患、心臓もしくは任意の臓器の血管からの塞栓、血管攣縮、大動脈瘤、または他の臓器の瘤、冠動脈狭窄、心筋梗塞、狭心症、心膜炎、心筋炎、粘液水腫、または心内膜炎などの潜在的状態を原因とし得る、またはそれにより誘発され得る。

【 0 2 7 7 】

さらに、前記虚血および/または炎症状態は、一実施形態において、心臓胸部手術、腹部手術、大動脈および/または他の大血管の手術、1種または複数の心臓弁の置換、心動脈バイパス術(CABG)、総頸動脈をはじめとする大動脈根または大動脈弓の手術、ならびに心臓の同時手術、例えば弁(複数)の置換とCABGおよび/または大動脈根手術をはじめとする大手術などの手術を伴う場合がある。

30

【 0 2 7 8 】

さらに、前記虚血および/または炎症状態は、一実施形態において、臓器移植、例えば心臓移植、肺移植、心臓と肺の同時移植、肝臓移植および腎移植をはじめとする固形臓器移植を伴う場合がある。

【 0 2 7 9 】

一実施形態において、前記虚血および/または炎症状態は、急性腎傷害(AKI)、腎毒性および/または慢性腎不全(CRF)などの術後腎不全をはじめとする術後全身性炎症反応症候群(SIRS)または術後臓器不全である。

40

【 0 2 8 0 】

一実施形態において、前記虚血および/または炎症状態は、再灌流傷害である。

【 0 2 8 1 】

同じく、前記虚血および/または炎症状態は、非限定的に関節症(関節の疾患)、関節リウマチ(RA)、痛風、胃腸系の炎症疾患、および多発性硬化症をはじめとする炎症性疾患であり得る。

【 0 2 8 2 】

該虚血および/または炎症状態に加えて、 α -MSHおよび γ -MSH類似体 α -MS

50

H、 γ -MSH類似体、GLP-1類似体、GLP-2類似体、ならびに本発明のアネキシンA1のN末端の類似体は、1型もしくは2型糖尿病、グルコース不耐性をはじめとする前糖尿病状態、肥満、過体重、代謝症候群、妊娠糖尿病、または多嚢胞性卵巣症候群に関連する代謝状態の処置における使用に潜在的に適するが、ここで前記処置は、予防、軽減または治癒であり得る。

【0283】

本発明による修飾ペプチドを用いて、親ペプチドが必要とされたものと同じ疾患および状態を処置することができる。

【0284】

実施例

実施例1 - BAP修飾 α -MSHペプチド類似体の合成

α -MSH類似体1:

Ac-(Ac-Lys-Lys-)Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH₂

γ -MSH類似体1

Ac-(Ac-Lys-Lys-)Lys-Tyr-Val-Met-Gly-His-Phe-Arg-(D-Trp)-Asp-Arg-Phe-Gly-NH₂。

【0285】

該ペプチドを、Fmoc(9-フルオレニルメチルオキシカルボニル)の化学作用を利用して製造する。ペプチドを、ポリスチレン樹脂を用いて作製し、適切なリンカーで官能化し、その後、Intavis Peptide Synthesizerを用いて該ペプチドを用いて製造する。樹脂に対して4倍過剰のアミノ酸を添加して、HATU(O-(7-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-N,N,N',N'-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスファート)またはHCTU(2-(6-クロロ-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ァート)のいずれかを3.95倍過剰で用いて、活性エステルを作製した。塩基としての8倍過剰のDIPEA(N,N-ジイソプロピルエチルアミン)と共に、これらの試薬が、次のアミノ酸の付加を触媒する。アミノ酸がカップリングされたら(十分なカップリングを確保するために各サイクルが二重のカップリングサイクルを含む)、樹脂を20%無水酢酸に暴露して、次のアミノ酸を付加していない任意のペプチド鎖を終結(「完了」)させる。

【0286】

該アミノ酸を、洗浄のためにNMP(N-メチル-2-ピロリドン)またはDMF(ジメチルホルムアミド)に溶解する。ピペリジンを用いて、次のアミノ酸を付加させる各カップリングサイクルの終了時に、Fmoc基を除去する。

【0287】

α -MSH類似体1を、末端のLys(Mtt)と共に作製し;該ペプチドをアセチル化してMttを除去し、Lysを付加して、再度、Lysの付加およびその後のアセチル化を行った。

【0288】

γ -MSH類似体1の場合、セリン-および/またはトレオニン-含有ペプチドの合成の際に1つまたは複数のシュードプロリン(オキサゾリジン)ジペプチドを添加することにより、ペプチド品質が改善され、全長の粗ペプチドの収率が上昇した。この場合、該ペプチドは、MEHFを構成し、シュードプロリンジペプチド(Fmoc-YS)が付加され、次のアミノ酸「Ser」が3回カップリングされて、確実に完了に向かい、手動でLys(Mtt)を添加してアセチル化し、その後上記の通り終了することによりペプチドを終了させた。

【0289】

各例において、該ペプチドを、MeOH(3X)、DCM(3X)を用いて乾燥させ、92%TFA、2%水、2%トリイソプロピルシラン、2%チオアニソールおよび2%エタ

10

20

30

40

50

ンジチオールを用いて室温で3～4時間切断した。ペプチドを低温ジエチルエーテルに沈殿させて、遠心分離し(2,000RPM)、ペレットを低温エーテルで2回洗浄した。乾燥後、該ペプチドを、0.1%TFA含有水(緩衝液A)に可溶化して、C18カラムを用いてRP-HPLCに供した(緩衝液B=95%アセトニトリル/0.1%TFA)。

【0290】

分析HPLCにより純度を測定し、理論的モノアイソトピック質量をMSにより確認した。配列の完全性を、CIDタンデムMS/MS配列決定により検証した。

【0291】

実施例2：BAP修飾α-MSH類似体の薬理学的特徴づけ

10

方法：

MC1rを発現するネズミB16-F1細胞を、MC1rへの結合親和性およびMC1rに対するアゴニスト活性の測定に用いる。MC3r、MC4rまたはMC5rを発現するヒト組換えCHO細胞を、それぞれMC3r、MC4rまたはMC5rへの親和性およびMC3r、MC4rまたはMC5rに対するアゴニスト活性の測定に用いる。結合親和性は、フランスのCerep社による放射性リガンド結合試験カタログNo.0644(MC1r)；No.0447(MC3r)；No.0420(MC3r)およびNo.0448(MC5r)の手順に記載された通り実施される実験で測定する。全ての実験において、Ki値は、¹²⁵I-NDP-αMSHと置き換える試験化合物の能力に基づいて計算される。試験物質を、 10^{-13} ～ 10^{-5} Mの濃度範囲でテストする。

20

【0292】

MC1rに対するアゴニスト活性については、以下の手順を実施する：細胞を、 10^{-13} ～ 10^{-5} Mの濃度の試験物質と共にインキュベートする。全てのアッセイにおいて、cAMP蓄積をインキュベーション後に測定し、NDP-α-MSHを陽性対照として用いる場合には、所与の濃度での応答を、最大対照特異的アゴニスト応答(測定された特異的応答/対照特異的アゴニスト応答)×100)に対するパーセント率として表す。EC50値(最大特異的応答の半量を生じる濃度)は、ヒルの式によるカーブフィッティング($Y = D + [(A - D) / (1 + (C / C_{50})^{nH})]$)、ここでY=特異的応答、D=最小特異的応答、A=最大特異的応答、C=化合物濃度、 $C_{50} = EC_{50}$ 、nH=スロープ係数)を用いて反復測定値の平均で作成された濃度-応答曲線の非線形回帰分析により決定する。さらなる詳細については、Cerep社の試験プロトコルNo.2147(MC1r)；No.0959(MC3r)、No.0699(MC4r)およびNo.1869(MC5r)の専用プロトコルを参照されたい。

30

【0293】

テストペプチド類似体：

類似体1：Ac-(Ac-Lys-Lys)Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH₂

類似体2：Ac-(Ac-Lys-Lys)Lys-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-(D-Val)-NH₂

40

類似体3：Ac-(Ac-Lys-Lys)Lys-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-DPhe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH₂

類似体4：Ac-(Ac-Lys-Lys)Lys-Ser-Ser-Ile-Ile-Ser-His-DPhe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH₂

対照ペプチド：

対照ペプチド1(αMSH)：Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH₂

対照ペプチド2(NDP-αMSH)：Ac-Ser-Tyr-Ser-Nle-Glu-His-DPhe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH₂

【0294】

50

結果

【表 1】

K_i 値 (nM) :

	MC 1 r	MC 3 r	MC 4 r	MC 5 r
対照ペプチド 1	4. 6	1 1 4	1 2 8	4 0 4
対照ペプチド 2	1. 5	8. 8	7. 1	1 4
類似体 1	1. 2	2 4	2 6	1 9 3

【表 2】

対照ペプチド 1 に対する MC r 結合

	MC 1 r	MC 3 r	MC 4 r	MC 5 r
類似体 1	4 x	5 x	5 x	2 x
類似体 2		3. 3 x	8. 5 x	
類似体 3		4 1 x	4 7 x	
類似体 4	9. 4 x	4 2 x	5 3 x	

【表 3】

E C 5 0 値 (nM)

	MC 1 r	MC 3 r	MC 4 r	MC 5 r
対照ペプチド 1	1 3	6 2	2 8	1 1 0 4
対照ペプチド 2	1 5	2 4	1 0	4 0
類似体 1	8. 9	5 3	1 8	6 2 5

【 0 2 9 5 】

実施例 3 : B A P 修飾 γ - M S H 類似体の薬理学的特徴づけ

テストペプチド類似体 :

類似体 1 : A c - (A c - L y s - L y s) L y s - T y r - V a l - M e t - G l y - H i s - P h e - A r g - D T r p - A s p - A r g - P h e - G l y - N H ₂類似体 2 : A c - (A c - L y s - L y s) L y s - T y r - V a l - M e t - G l y - H i s - P h e - A r g - T r p - A s p - A r g - P h e - G l y - N H ₂類似体 3 : A c - (A c - L y s - L y s) L y s - T y r - V a l - M e t - G l y - H i s - D P h e - A r g - D T r p - A s p - A r g - P h e - G l y - N H ₂類似体 4 : A c - (A c - L y s - L y s) L y s - T y r - V a l - M e t - G l y - H i s - P h e - A r g - D T r p - A s p - A r g - D P h e - G l y - N H ₂類似体 5 : A c - (A c - L y s - L y s) L y s - T y r - V a l - N l e - G l y - H i s - P h e - A r g - D T r p - A s p - A r g - P h e - G l y - N H ₂類似体 6 : A c - (A c - L y s - L y s) L y s - T y r - V a l - N l e - G l y - H i s - P h e - A r g - T r p - A s p - A r g - P h e - G l y - N H ₂類似体 7 : A c - (A c - L y s - L y s) L y s - T y r - V a l - N l e - G l y - H i s - D P h e - A r g - T r p - A s p - A r g - P h e - G l y - N H ₂類似体 8 : A c - (A c - L y s - L y s) L y s - T y r - V a l - N l e - G l y - H i s - D P h e - A r g - D T r p - A s p - A r g - P h e - G l y - N H ₂

対照ペプチド :

対照ペプチド 1 (γ 2 - M S H) : A c - T y r - V a l - M e t - G l y - H i s - P h e - A r g - T r p - A s p - A r g - P h e - G l y - N H ₂対照ペプチド 2 (D T r p - γ 2 - M S H) : A c - T y r - V a l - M e t - G l y - H i s - P h e - A r g - D T r p - A s p - A r g - P h e - G l y - N H ₂

【 0 2 9 6 】

結果

10

20

30

40

50

【表 4】

K_i 値 (nM)

	MC 1 r	MC 3 r	MC 4 r	MC 5 r
y 2 MSH	1 0 4	3 7	3 2 8	1 0 2 2
D T r p - y 2 MSH	2 8	3 4	1 7 3	3 6 9
類似体 1	3, 8	1 5	1 5 0	2 1 5

【表 5】

対照ペプチド 1 に対する MC r 結合親和性

	MC 1 r	MC 3 r	MC 4 r	MC 5 r
類似体 1	2 7 x	5 x	2 x	5 x

10

【表 6】

対照ペプチド 2 に対する MC r 結合親和性

	MC 1 r	MC 3 r	MC 4 r	MC 5 r
類似体 1	4 x	2 x	2 x	3 x

【表 7】

αMSH (Ac-Ser-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-Lys-Pro-Val-NH₂) に対する MC r 結合親和性

	MC 1 r	MC 3 r	MC 4 r	MC 5 r
対照ペプチド 1	0. 0 4 x	1. 5 x	0. 1 x	0. 4 x
対照ペプチド 2	0. 1 6 x	0. 3 6 x	0. 7 4 x	1. 1 x
類似体 1	1. 2 x	7. 6 x	0. 9 x	2 x
類似体 2	0. 5 x	1 1. 6 x	1. 2 x	
類似体 3		2 0 x	8. 5 x	
類似体 4	7. 7 x	4. 8 x	1. 3 x	
類似体 5	1. 9 x	3 8 x	2. 8 x	
類似体 6		4. 6 x	2. 9 x	
類似体 7		4 6 x	3 7 x	
類似体 8	7. 3 x	3 7 x	1 0. 7 x	

20

30

【表 8】

EC₅₀ 値 (nM)

	MC 1 r	MC 3 r	MC 4 r	MC 5 r
対照ペプチド 1	1 4 1	4 6	2 7 9	1 7 8 7
対照ペプチド 2	1 6 7	1 7 0	5 6	5 0 5
類似体 1	6 8	2. 0	2 5 2	5 5 5

40

【0 2 9 7】

実施例 4 : BAP 修飾ペプチドの合成

同様に、BAP 修飾 α-MSH ペプチド類似体 (実施例 1) ペプチドの合成を、カップリング試薬としての 1-[ビス(ジメチルアミノ)メチレン]-1H-1,2,3-トリアゾロ[4,5-b]ピリジニウム 3-オキシドヘキサフルオロホスファート (HATU) または 2-(6-クロロ-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ァート (HCTU) をヒューニツヒ塩基 (N,N-ジイソプロピルエチルアミン、DIPEA) と共に用い、標準的な Fmoc 化学を利用して合成した。以下により詳細に記載されるリジン分枝化の場合、Fmoc-Lys (MTT)-OH、Fmoc-Lys (ivDde)-OH、および Fmoc-Ly

50

s (B o c) - O H など、直交保護されたリジンの組み合わせを用いた。

【 0 2 9 8 】

ペプチドを、トリフルオロ酢酸、トリイソプロピルシラン、および水を含む標準の切断カクテルで切断し、氷冷エーテルで沈殿させた。全ての粗ペプチドを、C - 18 官能性を有するカラムでの、ランニングバッファーとしてアセトニトリル、脱イオン水、およびトリフルオロ酢酸の勾配を利用した逆相クロマトグラフィーにより精製した。純度を、高速液体クロマトグラフィーにより決定し、質量 (M S) および配列 (タンデム M S) 情報を、ナノスプレー質量分析計を用いて得た。

【 0 2 9 9 】

配列の C 末端に結合した B A P

10

C 末端リジンでの分枝化 (方法 1) ; N - α - F m o c - ϵ - 4 - メチルトリチル - L - リジンを、ピペリジン脱保護の後、リンクアミド樹脂に付加した。標的ペプチドの残りの配列を付加して、全長配列を無水酢酸でアセチル化した。その後、メチルトリチル基を、ジクロロメタン中の 1 % トリフルオロ酢酸を用いて除去した。その後、さらなる N α - F m o c - N ϵ - B o c - L - リジンを側鎖に付加して、所望ならアセチル化した。

【 0 3 0 0 】

C 末端リジン以外での分枝化 : N 末端と C 末端の間の配列内のリジンへの B A P 結合と類似させて (方法 2)

【 0 3 0 1 】

N 末端と C 末端の間の配列内のリジンに結合した B A P

20

方法 2 : N - α - F m o c - ϵ - 4 - メチルトリチル - L - リジンを、該ペプチド配列に付加し、該配列を終了させ、場合により N 末端をアセチル化した後、メチルトリチルを除去した。F m o c - L y s (M T T) - O H、F m o c - L y s (i v D d e) - O H および F m o c - L y s (B o c) - O H などの適切なリジン類似体を連続で付加し、アセチル化の前に選択的に脱保護して、適切な側鎖およびアセチル付加を確実にを行った。

【 0 3 0 2 】

配列の N 末端において付加された B A P

N 末端リジンでの分枝化 (方法 3) : N - α - F m o c - ϵ - 4 - メチルトリチル - L - リジンを該配列の N 末端に付加し、F m o c を除去して、配該配列を N 末端でアセチル化し、メチルトリチル基を除去した。その後、さらなる N α - F m o c - N ϵ - B o c - L - リジンを側鎖に付加して、所望ならアセチル化した。

30

【 0 3 0 3 】

N 末端リジン以外での分枝化 : N 末端と C 末端の間の配列内のリジンへの B A P 結合と類似させて (方法 2)

【 0 3 0 4 】

ペプチド

類似体 1 (方法 1 による) :

A c - H i s - A l a - G l u - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - V a l - S e r - S e r - T y r - L e u - G l u - G l y - G l n - A l a - A l a - L y s - G l u - P h e - I l e - A l a - T r p - L e u - V a l - L y s - G l y - A r g - G l y - (L y s - L y s - A c) L y s - N H 2

40

純度 : 99.1 %

M S : 546.9, 637.8, 765.2

類似体 2 (方法 1 による) :

A c - H i s - G l y - G l u - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - V a l - S e r - S e r - T y r - L e u - G l u - G l y - G l n - A l a - A l a - L y s - G l u - P h e - I l e - A l a - T r p - L e u - V a l - L y s - G l y - A r g - G l y - (L y s - L y s - A c) L y s - N H 2

純度 : 99.3 %

M S : 635.5, 762.4, 952.7

50

類似体 3 (方法 1 による) :

Ac - His - Ala - Asp - Gly - Ser - Phe - Ser - Asp - Glu - Met - Asn - Thr - Ile - Leu - Asp - Asn - Leu - Ala - Ala - Arg - Asp - Phe - Ile - Asn - Trp - Leu - Ile - Gln - Thr - Lys - Ile - Thr - Asp - (Lys - Lys - Ac) Lys - NH₂

純度 : 96.2%

MS : 605.5, 706.2, 847.2, 1058.8

類似体 4 (方法 1 による) :

Ac - His - Gly - Asp - Gly - Ser - Phe - Ser - Asp - Glu - Met - Asn - Thr - Ile - Leu - Asp - Asn - Leu - Ala - Ala - Arg - Asp - Phe - Ile - Asn - Trp - Leu - Ile - Gln - Thr - Lys - Ile - Thr - Asp - (Lys - Lys - Ac) Lys - NH₂

純度 : 95.1%

MS : 603.5, 703.9, 844.4, 1055.3

類似体 5 (方法 1 による) :

Ac - His - (D - Ala) - Asp - Gly - Ser - Phe - Ser - Asp - Glu - Met - Asn - Thr - Ile - Leu - Asp - Asn - Leu - Ala - Ala - Arg - Asp - Phe - Ile - Asn - Trp - Leu - Ile - Gln - Thr - Lys - Ile - Thr - Asp - (Lys - Lys - Ac) Lys - NH₂

純度 : 96.9%

MS : 706.2, 847.2, 1058.8

類似体 6 (方法 1 による) :

Ac - Ala - Met - Val - Ser - Glu - Phe - Leu - Lys - Gln - (D - Ala) - Trp - Phe - Ile - Glu - Asn - Glu - Glu - Gln - Glu - Tyr - Val - Gln - Thr - Val - Lys - Lys - (Lys - Ac) Lys - NH₂

純度 : 96.0

MS : 879.2

類似体 7 (方法 2 による) :

Ac - Ala - Met - Val - Ser - Glu - Phe - Leu - (Ac - (Lys - Ac) Lys - Lys) Lys - Gln - Ala - Trp - NH₂

純度 : 97.3

MS : 442.2, 662.9

【0305】

実施例 5 : BAP 修飾 GLP - 1 類似体の薬理学的特徴づけ

方法 :

抗生物質不含培地中で生育させた、ヒト GLP - 1 受容体を発現する CHO - K1 細胞を、PBS - EDTA (5 mM EDTA) で穏やかに洗い流すことにより剥離させ、遠心分離により回収して、アッセイ緩衝液 (KRH : 5 mM KCl、1.25 mM MgSO₄、124 mM NaCl、25 mM HEPES、13.3 mM グルコース、1.25 mM KH₂PO₄、1.45 mM CaCl₂、0.5 g/l BSA) に再懸濁させた。

【0306】

細胞 12 μl を、96 ウェルプレート内の濃度を上昇させたテスト化合物 (PBS / 0.5% BSA に可溶化して、最後に 1 mM 原液から希釈) 12 μl と混合し、その後、室温で 30 分間インキュベートした。cAMP 生成を、溶解緩衝液の添加および 1 時間のインキュベーションの後に、クリプテート標識抗 cAMP および d2 標識 cAMP (Cis Bio の HTRF キット) を用いた拮抗免疫アッセイの利用により測定し、ΔF% 値を製造業者の仕様書に従って計算した。用量応答曲線を、テスト化合物および参照化合物で並行して実施した。

10

20

30

40

50

【 0 3 0 7 】

H T R F 技術は、M c r の活性化後の標識 c A M P (外因性) と細胞産生 c A M P との拮抗に基づいた力価アッセイである。該アッセイの力学的範囲は、3 ~ 4 倍であり、これは直線範囲 (生データを c A M P の n M に変換させる) がその範囲内にあることを意味している。曲線の最上部から最下部までの枠はより高く (およそ 1 0 0) 、c A M P の n M に変換すると、c A M P のアッセイ枠が 1 n M (基底) からおよそ 3 0 n M (E m a x) になることを意味している。実験は全て、非選択的ホスホジエステラーゼ阻害剤 I B M X (最終濃度 1 m M) の存在下で実施した。

【 0 3 0 8 】

テスト化合物は、 $10^{-14} \sim 10^{-7}$ M の濃度範囲でテストした。

10

【 0 3 0 9 】

データは、平均値で表されている。E C 5 0 (即ち、最大応答の 5 0 % を誘導する濃度) およびヒル勾配は、G r a p h P a d ソフトウェア (バージョン 6) を用いた対数変換の後のベストフィット解析により決定した。

【 0 3 1 0 】

対照ペプチド :

G L P - 1 (7 - 3 6) :

H - H i s - A l a - G l u - G l y - T h r - P h e - T h r - S e r - A s p - V a l - S e r - S e r - T y r - L e u - G l u - G l y - G l n - A l a - A l a - L y s - G l u - P h e - I l e - A l a - T r p - L e u - V a l - L y s - G l y - A r g - G l y - O H

20

【 0 3 1 1 】

結果 :

【 表 9 】

	G L P - 1 (7 - 3 6)	類似体 1	類似体 2
対照ペプチドに対する最大効力 %		1 0 1 . 3	1 0 2 . 4
E C 5 0 (n M)	0 . 0 1 6	0 . 0 1 6	0 . 0 4 0
ヒル勾配	1 . 2 8	0 . 7 3	0 . 8 0

30

【 0 3 1 2 】

類似体 1 および 2 は両者とも、対照ペプチド G L P - 1 (7 - 3 6) に比較して完全なアゴニスト活性で、対照ペプチド G L P - 1 (7 - 3 7) に匹敵するナノモル以下の E C 5 0 値を有することを示した。より低いヒル勾配から、アゴニスト活性が対照ペプチドで認められた濃度よりも低い濃度で得ることができることが示される。

【 0 3 1 3 】

実施例 6 : B A P 修飾 G L P - 2 類似体の薬理学的特徴づけ

方法

抗生物質不含培地中で生育させた、ヒト G L P - 2 受容体を発現する C H O - K 1 細胞を、P B S - E D T A (5 m M E D T A) で穏やかに洗い流すことにより剥離させ、遠心分離により回収して、アッセイ緩衝液 (K R H : 5 m M K C l 、1 . 2 5 m M M g S O 4 、1 2 4 m M N a C l 、2 5 m M H E P E S 、1 3 . 3 m M グルコース、1 . 2 5 m M K H 2 P O 4 、1 . 4 5 m M C a C l 2 、0 . 5 g / l B S A) に再懸濁させた。

40

【 0 3 1 4 】

細胞 $12 \mu l$ を、9 6 ウェルプレート内の濃度を上昇させたテスト化合物 (P B S / 0 . 5 % B S A に可溶化して、最後に 1 m M 原液から希釈) $12 \mu l$ と混合し、その後、室温で 3 0 分間インキュベートした。c A M P 生成を、溶解緩衝液の添加および 1 時間のインキュベーションの後に、クリプテート標識抗 c A M P および d 2 標識 c A M P (C i s B i o の H T R F キット) を用いた拮抗免疫アッセイの利用により測定し、 $\Delta F \%$ 値を製

50

造業者の仕様書に従って計算した。用量応答曲線を、テスト化合物および参照化合物で並行して実施した。

【0315】

HTRF技術は、Mcrの活性化後の標識cAMP（外因性）と細胞産生cAMPとの拮抗に基づいた力価アッセイである。該アッセイの力学的範囲は、3～4倍であり、これは直線範囲（生データをcAMPのnMに変換させる）がその範囲内にあることを意味している。曲線の最上部から最下部までの枠はより高く（およそ100）、cAMPのnMに変換すると、cAMPのアッセイ枠が1nM（基底）からおよそ30nM（Emax）になることを意味している。実験は全て、非選択的ホスホジエステラーゼ阻害剤IBMX（最終濃度1mM）の存在下で実施した。

10

【0316】

テスト化合物は、 $10^{-14} \sim 10^{-7}$ Mの濃度範囲でテストした。

【0317】

データは、平均値で表されている。EC50（即ち、最大応答の50%を誘導する濃度）およびヒル勾配は、GraphPadソフトウェア（バージョン6.0）を用いた対数変換の後のベストフィット解析により決定した。

【0318】

対照ペプチド：

GLP-2（1-34）：

H-His-Ala-Asp-Gly-Ser-Phe-Ser-Asp-Glu-Met-Asn-Thr-Ile-Leu-Asp-Asn-Leu-Ala-Ala-Arg-Asp-Phe-Ile-Asn-Trp-Leu-Ile-Gln-Thr-Lys-Ile-Thr-Asp-Arg-OH

20

【0319】

結果：

【表10】

	GLP-2（1-34）	類似体3	類似体4	類似体5
対照ペプチドに対する最大効力%		101.3	101.5	95.1
EC50（nM）	0.36	3.4	5.9	8.9
ヒル勾配	0.78	0.97	0.96	1.03

30

【0320】

3種の類似体全てが、対照ペプチドGLP-2（1-34）に比較して完全なアゴニスト活性で、nM範囲内のEC50値を有することを示した。結論として、BAP修飾GLP-2類似体のこの実施例は、ヒトGLP-2受容体に対して完全で強力なアゴニストである。

【0321】

40

実施例7：BAP修飾AnxA1 N末端断片の薬理学的特徴づけ

方法：

ミトコンドリアアポエクオリン（apoaequirin）と組換えヒト2型ホルミルペプチド受容体（FPR2）を共発現する組換え細胞を、抗生物質不含培地でのテストの前に18時間生育させて、PBS-EDTA（5mM EDTA）で穏やかに洗い流すことにより剥離させ、遠心分離により回収して、アッセイ緩衝液（HEPESおよび0.1%プロテアーゼ不含BSAを有するDMEM/HAM'F12）に再懸濁させた。その後、細胞をセレントラジンh（Molecular Probe製）と共に室温で少なくとも4時間インキュベートした後、DR試験を実施した。

【0322】

50

細胞懸濁液 $50 \mu\text{l}$ を、 96 ウェルプレート内の濃度を上昇させたテスト化合物または対照化合物 ($\text{PBS} / 0.5\% \text{BSA}$ で可溶化し、最後に 1 mM 原液から希釈) $50 \mu\text{l}$ に注入し、その後、室温で 30 分間インキュベートした。得られた発光を、浜松創薬スクリーニングシステム 6000 ($\text{FD} 6000$) を用いて記録した。記録されたプレート透過光の発光および実験間の発光を標準化するために、 $100 \mu\text{M}$ ジギトニンまたは $20 \mu\text{M}$ ATP を、ウェルの幾つかに添加した。

【0323】

アゴニスト活性は、内部対照化合物 $\text{Trp} - \text{Lys} - \text{Tyr} - \text{Met} - \text{Val} - \text{Met}$ で得られた最大活性に対する割合%として表した。

【0324】

テスト化合物は、 $10^{-11} \sim 10^{-5} \text{ M}$ の濃度範囲内でテストした。

10

【0325】

データは、平均値として表されている。可能ならば、 $\text{EC} 50$ (即ち、最大応答の 50% を誘導する濃度) を、 GraphPad ソフトウェア (バージョン 6.0) を用いた対数変換の後のベストフィット解析により決定した。

【0326】

対照ペプチド 1 :

$\text{AnxA1} (2-26) :$

$\text{Ac} - \text{Ala} - \text{Met} - \text{Val} - \text{Ser} - \text{Glu} - \text{Phe} - \text{Leu} - \text{Lys} - \text{Gln} - \text{Ala} - \text{Trp} - \text{Phe} - \text{Ile} - \text{Glu} - \text{Asn} - \text{Glu} - \text{Glu} - \text{Gln} - \text{Glu} - \text{Tyr} - \text{Val} - \text{Gln} - \text{Thr} - \text{Val} - \text{Lys} - \text{OH}$

20

対照ペプチド 2 :

$\text{AnxA1} (2-12) :$

$\text{Ac} - \text{Ala} - \text{Met} - \text{Val} - \text{Ser} - \text{Glu} - \text{Phe} - \text{Leu} - \text{Lys} - \text{Gln} - \text{Ala} - \text{Trp} - \text{NH}_2$

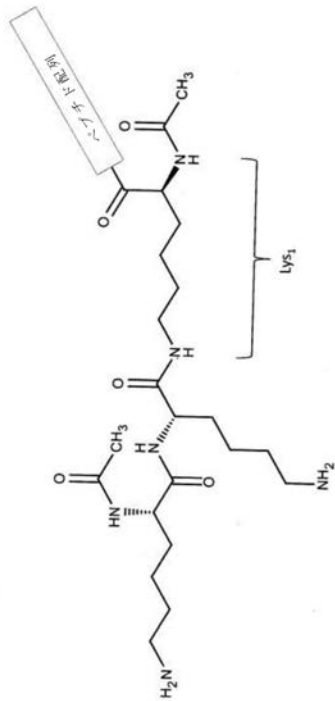
【0327】

結果

文献には、 AnxA1 タンパク質の $\text{AnxA1} (2-12)$ および $\text{AnxA1} (2-26)$ の両 N 末端断片を、 $\text{FPR} 2$ 受容体へのアゴニストとして記載されているが、それらのどちらも有意に強力でなく、その設定では、対照ペプチド 1 または 2 のいずれにおいて、適用された濃度範囲でアゴニスト活性を誘導することができなかった。これに対して、類似体 6 および類似体 7 は両者とも、アゴニスト活性を示した。類似体 6 では、アゴニスト活性は、内部対照化合物 $\text{Trp} - \text{Lys} - \text{Tyr} - \text{Met} - \text{Val} - \text{Met}$ で認められた最大応答の 33% に達した。対照化合物 1 の対応する最大活性は、 1% 未満であった。類似体 7 では、 $\text{EC} 50$ は、 $1.56 \mu\text{M}$ と測定された。最大テスト用量で得られた最大アゴニスト応答は、 $\text{Trp} - \text{Lys} - \text{Tyr} - \text{Met} - \text{Val} - \text{Met}$ ヘキサペプチドで得られた最大応答の 85% であったが、対照ペプチドの最大活性は、 1% 未満であった。

30

【図 1】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2015/000553

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K38/03 A61K38/22 C07K14/68 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 C07K		
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		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	WO 2014/060606 A1 (TXP PHARMA GMBH [CH]) 24 April 2014 (2014-04-24) the whole document	1-46, 48-58
A	WO 96/39161 A1 (UNIV LOUISIANA STATE MED [US]; CHILDRENS HOSPITAL INC [US]; UNIV TULAN) 12 December 1996 (1996-12-12) Whole doc, in particular p.7, 1.4-24; p.17, 1.4 - p.18, 1.17; Table 2 (p.40); p.47, 1.4-20	1-58
A	WO 2007/022774 A1 (ACTION PHARMA AS [DK]; JONASSEN THOMAS ENGELBRECHT NO [DK]; NIELSEN SO) 1 March 2007 (2007-03-01) p.3, 1.19-29; p.5-11; Examples	1-58
	----- -/--	
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ 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 22 September 2015		Date of mailing of the international search report 08/10/2015
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 Roscoe, Richard

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2015/000553

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	BRACCI LUISA ET AL: "Synthetic peptides in the form of dendrimers become resistant to protease activity", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, AMERICAN SOCIETY FOR BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY, US, vol. 278, no. 47, 21 November 2003 (2003-11-21), pages 46590-46595, XP002461778, ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M308615200 Abstract, Results -----	1-58

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2015/000553

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2014060606	A1	24-04-2014	AU 2013333765 A1 28-05-2015
		CA 2888277 A1 24-04-2014	
		CN 104822702 A 05-08-2015	
		DK 2722340 T3 08-06-2015	
		EP 2722340 A1 23-04-2014	
		ES 2538702 T3 23-06-2015	
		US 2014155328 A1 05-06-2014	
		WO 2014060606 A1 24-04-2014	

WO 9639161	A1	12-12-1996	AT 187075 T 15-12-1999
		AU 709506 B2 02-09-1999	
		AU 6031796 A 24-12-1996	
		CA 2222962 A1 12-12-1996	
		CZ 9703862 A3 15-07-1998	
		DE 69605419 D1 05-01-2000	
		DE 69605419 T2 08-06-2000	
		DK 0833646 T3 08-05-2000	
		EP 0833646 A1 08-04-1998	
		ES 2140858 T3 01-03-2000	
		GR 3032437 T3 31-05-2000	
		JP H11507622 A 06-07-1999	
		NZ 310006 A 23-12-1998	
		PT 833646 E 28-04-2000	
		US 5597894 A 28-01-1997	
		WO 9639161 A1 12-12-1996	

WO 2007022774	A1	01-03-2007	AU 2005335905 A1 01-03-2007
		CA 2620228 A1 01-03-2007	
		CN 101273059 A 24-09-2008	
		DK 1919947 T3 18-03-2013	
		EP 1919947 A1 14-05-2008	
		EP 2272866 A2 12-01-2011	
		ES 2407107 T3 11-06-2013	
		HR P20130384 T1 30-06-2013	
		JP 5307542 B2 02-10-2013	
		JP 2009505994 A 12-02-2009	
		NZ 566489 A 31-10-2008	
		NZ 568421 A 29-01-2010	
		PT 1919947 E 22-05-2013	
		RS 52747 B 30-08-2013	
		SI 1919947 T1 28-06-2013	
		US 2009069242 A1 12-03-2009	
		US 2013217628 A1 22-08-2013	
		US 2013252891 A1 26-09-2013	
		WO 2007022774 A1 01-03-2007	

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード (参考)
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/00	
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P	9/12 (2006.01)	A 6 1 P 9/12	
A 6 1 P	9/06 (2006.01)	A 6 1 P 9/06	
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P 9/10	1 0 3
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P	19/06 (2006.01)	A 6 1 P 19/02	
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P 19/06	
A 6 1 P	3/10 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P	3/04 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 K	38/22 (2006.01)	A 6 1 P 3/10	
A 6 1 K	38/26 (2006.01)	A 6 1 P 3/04	
		A 6 1 K 37/32	
		A 6 1 K 37/24	
		A 6 1 K 37/28	

(81)指定国 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,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,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,TZ,UA,UG,US

(72)発明者 ボーゼン , トマス

デンマーク国 , ディーケー - 2 1 0 0 コペンハーゲン , 2 . ティーヴィー . , リプケスゲーゼ
2 5

F ターム(参考) 4C084 AA02 AA07 BA01 BA02 BA08 BA18 BA19 BA23 BA41 CA59
DA19 DA25 DB01 DB02 DB06 DB07 DB11 DB14 DB22 DB23
DB24 DB25 DB26 DB27 DB29 DB34 DB35 DB51 DB52 DB54
DB55 DB56 DB58 DB59 DB77 NA14 ZA362 ZA382 ZA402 ZA422
ZA452 ZA702 ZA812 ZA962 ZB072 ZB082 ZB112 ZB152 ZB352 ZC032
ZC042 ZC172 ZC192 ZC212 ZC312 ZC352
4H045 AA10 AA30 BA50 EA20 FA33