

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2020-37570

(P2020-37570A)

(43) 公開日 令和2年3月12日 (2020.3.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 38/10 (2006.01)	A 6 1 K 38/10 Z N A	4 C 0 7 6
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 4
A 6 1 K 31/192 (2006.01)	A 6 1 K 31/192	4 C 0 8 6
A 6 1 K 31/519 (2006.01)	A 6 1 K 31/519	4 C 2 0 6
A 6 1 K 31/501 (2006.01)	A 6 1 K 31/501	4 H 0 4 5
審査請求 有 請求項の数 15 O L (全 66 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2019-202043 (P2019-202043)	(71) 出願人	509333575
(22) 出願日	令和1年11月7日 (2019.11.7)		シナジー ファーマシューティカルズ インコーポレイテッド
(62) 分割の表示	特願2016-521789 (P2016-521789) の分割		アメリカ合衆国 ニューヨーク州 10170 ニューヨーク レキシントン アベニュー 420 スイート 2012
原出願日	平成26年10月10日 (2014.10.10)	(74) 代理人	100102978
(31) 優先権主張番号	61/889,308		弁理士 清水 初志
(32) 優先日	平成25年10月10日 (2013.10.10)	(74) 代理人	100102118
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国 (US)		弁理士 春名 雅夫
		(74) 代理人	100160923
			弁理士 山口 裕孝
		(74) 代理人	100119507
			弁理士 刑部 俊
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 オピオイド誘発性機能障害の治療に有用なグアニル酸シクラーゼのアゴニスト

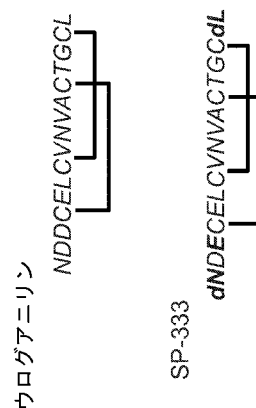
(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 オピオイド誘発性機能障害を予防、制御、および／または治療する方法を提供する。

【解決手段】 グアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト (G C R A) ペプチドを、それを必要とする患者に投与する工程を含む、グアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト (G C R A) ペプチドを含む組成物、作製方法、および治療方法を開示する。さらに、同じ組成物に製剤化されたグアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト (G C R A) ペプチドおよびオピオイドを開示する。

【選択図】 図 1

ウログリアニンおよびSP-333の一次構造



アミノ酸の文字略号が示されている。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

表2～8のいずれか1つにおけるアミノ酸配列から本質的になるグアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト（GCRA）ペプチドを含む治療有効量の組成物を、それを必要とする対象に投与する工程を含む、オピオイド誘発性機能障害の状態を予防するため、治療するため、またはその症状を緩和するための方法。

【請求項 2】

有効用量のcGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤を投与する工程をさらに含む、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記cGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤が、スリンダクスルホン、ザプリナスト、モタピゾン、バルデナフィル、およびシルデナフィルからなる群より選択される、請求項2に記載の方法。

【請求項 4】

前記cGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤が、前記GCRAペプチドまたはその薬学的組成物と同時または順次のいずれかで投与される、請求項2に記載の方法。

【請求項 5】

前記GCRAペプチドが、SEQ ID NO: 1（SP-304）、SEQ ID NO: 9（SP-333）、SP373（SEQ ID NO: 104）、SP364（SEQ ID NO: 100）、SP366（SEQ ID NO: 102）、またはSEQ ID NO: 250である、請求項1に記載の方法。

【請求項 6】

表2～8のいずれか1つにおけるアミノ酸配列から本質的になるグアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト（GCRA）ペプチドを含む、組成物。

【請求項 7】

有効用量のcGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤をさらに含む、請求項6に記載の組成物。

【請求項 8】

オピオイドと、表2～8のいずれか1つにおける配列から本質的になるグアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト（GCRA）ペプチドとを含む、組成物。

【請求項 9】

前記オピオイドおよびグアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト（GCRA）ペプチドが、1つの錠剤またはカプセル剤で投与される、請求項8に記載の組成物。

【請求項 10】

pH依存性ポリマー、膨潤性ポリマー、および分解性組成物からなる群より選択される1種または複数種のターゲティング材料をさらに含む、請求項6～8のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 11】

薬学的担体、賦形剤、または希釈剤をさらに含む、請求項6～8のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 12】

製剤が、十二指腸、空腸、回腸、回腸終末部、または上行結腸への送達のために最適化されている、請求項10に記載の組成物。

【請求項 13】

製剤が、結腸全体にわたる放出のために最適化されている、請求項10に記載の組成物。

【請求項 14】

製剤が、4.5～5.5のpH範囲、5.5～6.5のpH範囲、または6.5～7.5のpH範囲で分解される1種または複数種のpH依存性ポリマーを含む、請求項10に記載の組成物。

【請求項 15】

前記組成物の放出が、時間依存性である、請求項10に記載の組成物。

【請求項 16】

10

20

30

40

50

前記オピオイドが、モルフィン、コデイン、オキシコドン、ヒドロコドン、ジヒドロコデイン、プロボキシフェン、フェンタニル、トラマドール、ロペラミド、ブトルファノール、またはそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項8に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2013年10月10日に提出された米国特許仮出願第61/889,308号の恩典を主張し、それはすべての目的でその全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0002】

発明の分野

本発明は、オピオイド誘発性腸機能障害、オピオイド誘発性食道機能障害、およびオピオイド誘発性呼吸抑制などの、オピオイド誘発性機能障害の治療のための、グアニル酸シクラーゼC (GC-C) アゴニストの治療的使用に関する。アゴニストは、1つまたは複数のオピオイド誘発性機能障害を予防、治療、または緩和するために、単独で、または追加的な活性剤と同時にしくは順次のいずれかで、使用され得る。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

オピオイドは、がん患者および非がん患者において疼痛管理のために有効であり、かつ広く使用されている薬剤である。しかし、オピオイドの使用は、多くの場合に、呼吸抑制、食道機能障害、内分泌かく乱、およびオピオイド誘発性腸機能障害 (OIBD) (オピオイド誘発性便秘、口渇、吐き気、嘔吐、胃内容うっ滞、膨満、および腹痛を含む) を含むオピオイド誘発性機能障害などの、衰弱させる有害作用を有する。

【0004】

オピオイドの副作用を治療および予防する組成物および方法に、必要性がある。

【発明の概要】

【0005】

本発明は、グアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト (GCRA) ペプチドを含む治療有効量の組成物を、必要とする対象に投与する工程による、オピオイド誘発性機能障害の状態を予防するため、治療するため、またはその症状を緩和するための方法を提供する。組成物は、オピオイドおよび/またはcGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤をさらに含む得る。一態様では、組成物は、グアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト (GCRA) ペプチドおよびオピオイドを含む。さらなる態様では、グアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト (GCRA) ペプチドおよびオピオイドは、同じカプセル剤または錠剤に製剤化されている。さらなる態様では、オピオイドは、モルフィン、コデイン、オキシコドン、ヒドロコドン、ジヒドロコデイン、プロボキシフェン、フェンタニル、トラマドール、ロペラミド、ブトルファノール、またはそれらの組み合わせからなる群より選択される。

【0006】

本発明の組成物は、薬学的担体、賦形剤、または希釈剤をさらに含む得る。一態様では、組成物は、pH依存性ポリマー、膨潤性ポリマー、および分解性組成物からなる群より選択される1種または複数種のターゲットティング材料を含む。さらなる態様では、組成物製剤は、十二指腸、空腸、回腸、回腸終末部、または上行結腸への送達のために最適化されている。別のさらなる態様では、組成物製剤は、結腸全体にわたる放出のために最適化されている。別の態様では、組成物は、4.5~5.5のpH範囲、5.5~6.5のpH範囲、または6.5~7.5のpH範囲で分解される、1種または複数種のpH依存性ポリマーを含む。またさらなる態様では、組成物は、時間依存様式で放出するように製剤化される。

【0007】

本明細書に記載されている方法は、有効用量のcGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤を対象に投与する工程をさらに含む得る。例えば、cGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害

10

20

30

40

50

剤は、スリンダクスルホン、ザプリナスト、モタピゾン、バルデナフィル、またはシルデナフィルである。cGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤は、GCRAペプチドまたはその薬学的組成物と同時または順次のいずれかで、投与することができる。

【0008】

本発明はまた、オピオイドおよびGCRAペプチドを含む組成物も提供する。組成物は、薬学的担体、賦形剤、または希釈剤をさらに含み得る。

【0009】

本発明の任意の方法または任意の組成物において使用され得るGCRAペプチドは、表2~8のいずれか1つのアミノ酸配列を有する。例えば、GCRAペプチドは、SEQ ID NO: 1 (SP-304)、SEQ ID NO: 9 (SP-333)、SP373 (SEQ ID NO: 104)、SP364 (SEQ ID NO: 100)、S P366 (SEQ ID NO: 102)、またはSEQ ID NO: 250である。 10

【図面の簡単な説明】

【0010】

【図1】ウログアニリンおよびSP-333の一次構造を示す概略図である。アミノ酸の一字略号が示されている。SP-333は、UGのN末端から位置3のアスパラギン酸 (D) のグルタミン酸 (E) での置換を除いて、UGに類似している。加えて、両方の末端のアミノ酸は、そのそれぞれのD-立体異性体で置き換えられている。ウログアニリンおよびSP-333は、2つの分子間ジスルフィド結合の形成を可能にする4個のシステイン (C) 残基を有する。SP-333において置換されているアミノ酸を、太字体で示す。 20

【図2】環状CMPおよび環状AMPがオピオイド誘発性腸機能障害 (OBD) を軽減する作用のメカニズムを示す略図である。

【図3】図3A~Bは、SP-333での頂端処置が、T-84細胞単層およびラット空腸にわたるIscを刺激したことを示す、一連のグラフである。T84細胞 (A) およびラット空腸組織 (B) をSP-333で処置した後に検出された、クロライド電流の濃度依存性の増大 (Iscの増大として測定される)。Cl⁻電流の最大半量の増大 (EC₅₀) を誘導したSP-333の濃度は、細胞と組織との間で匹敵している；それぞれ、 1.69×10^{-7} Mおよび 2.99×10^{-7} M。値を平均±S.E.M.として表し、n=4。ウッシングチャンバー上に載せたT84細胞および未処置ラット由来の空腸を、頂端チャンバー上で変動する濃度のSP-333に供し、最大Isc刺激を記録してプロットした。

【図4】図4A~Bは、SP-333での頂端処置が、PKG-IIおよびCFTRの活性化を通してIscを刺激することを示す、一連のグラフである。T84細胞 (A) ラット空腸 (B) におけるSP-333 (1 μM) 刺激性の頂端Iscの、示された阻害剤での処置に応答した変調。実施例1に記載されているように、T84細胞およびラット空腸を、頂端側および側底側をそれぞれの緩衝液に浸したウッシングチャンバー上に載せた。PKAおよびPKG-IIが果たす役割を評定するため、ならびにアゴニスト媒介性のCl⁻イオンの放出に対するCFTRおよびCIC-2の相対的寄与を特定するために、キナーゼおよびCl⁻チャンネル阻害剤の存在下および非存在下で、実験を行った。使用した阻害剤は、CdCl₂ (CIC-2阻害剤；Sigma-Aldrich；St Louis, MO)、CFTR_{inh}172 (CFTR阻害剤；Santa Cruz Biotech；Dallas, Texas)、KT5823 (PKG阻害剤；R&D Systems, Minneapolis, MN)、mPKI (PKA阻害剤；EMD Millipore；Billerica, MA) であった。T84細胞 (n=4 transwell/条件) およびラット空腸組織 (n=4~6調製物/条件) の頂端面を、1 μM SP-333の添加の前に、示された濃度の各阻害剤で5分間前処置した。SP-333の添加後に到達したIscのピーク値を記録して、パーセント相対活性±SEMとして計算した。 30 40

【図5A】図5A~Bは、SP-333刺激性Iscが、モルフィンによって有害な影響を受けなかったことを示す、一連のグラフである。T84細胞 (A) およびラット空腸 (B) を、5 μMのモルフィンで5分間、頂端側を前処置した。その後、1 μM SP-333を頂端チャンバーに添加して、Iscの刺激を記録した。オピオイドの非存在下で記録された電流を、100%と考えた。相対Iscをプロットした。値を平均±S.E.M.として表し、T84細胞についてはn=3、ラット空腸についてはn=5~13。

【図5B】図5Aの説明を参照のこと。 50

【図 6 A】図6A～Bは、SP-333刺激性Iscが、メタドンによって有害な影響を受けなかったことを示す、一連のグラフである。T84細胞（A）およびラット空腸（B）を、5 μ Mのメタドンで5分間、頂端側を前処置した。その後、1 μ M SP-333を頂端チャンバーに添加して、Iscの刺激を記録した。オピオイドの非存在下で記録された電流を、100%と考えた。相対Iscをプロットした。値を平均 $\pm$ S.E.M.として表し、各オピオイドに対して、T84細胞についてはn=3、ラット空腸についてはn=5～13。

【図 6 B】図6Aの説明を参照のこと。

【図 7】図7A～Bは、SP-333での経口処置がラットにおけるGI通過を増大させることを示す、一連のグラフである。左のパネルは、SP-333の投与略図を示す。パネルAは、SP-333が、オピオイド未処置動物において、それぞれ0.05、0.5、および5 mg/kgで5.6%、13%、および23%、GI通過を増大させることを示す、棒グラフである。パネルBは、個々の動物のデータを示す、分布グラフである。

【図 8】図8A～Bは、SP-333での経口処置がモルフィン処置後のGI通過を改善したことを示す、一連のグラフである。実施例1に記載されているように、示された用量のモルフィンを、IP注射を介して雌のSprague-Dawleyラットに投与し、GI通過を評定した。モルフィンは、ラットにおいてGI通過を有意に低減した（A）。ビヒクル対照と比較して、モルフィン単回投薬後のGI通過は、それぞれ0.25、1.0、および2.5 mg/kgのオピオイドで52%、56%、および56%遅くなった。実施例1に記載されているように、IP注射による2.5 mg/kgのモルフィンの投与後に、経口強制栄養により示された量のSP-333を投与し、GI通過を評定することによって、GI通過におけるモルフィン誘発性のGI通過遅延を軽減するSP-333の能力を検討した。モルフィンは、GI通過を有意に低減した（処置したビヒクルにおける53%に対して23%； $p < 0.0001$ ）（B）。GI通過の用量依存性の増大が、SP-333処置後に観察された：それぞれ、0.5、2.5、5、および50 mg/kgで27%、37%、46%、および48%（モルフィン単独投与群と比較した際に、0.5 mg/kgを除くすべての用量で $P \leq 0.002$ ）。平均GI通過 $\pm$ SEMを、AおよびBに示す。

【図 9】図9A～Bは、SP-333での経口処置がメタドン処置後のGI通過を改善したことを示す、一連のグラフである。GI通過の統計学的に有意な低減が、0.25、2.5、および5 mg/kgのメタドンを投与したラットにおいて観察された（A）。2.5 mg/kgのメタドンで観察されたGI通過遅延は、同じ用量のモルフィンで観察されたものに匹敵していた（それぞれ、メタドンおよびモルフィンについての対応するビヒクル対照に対して49%および56%）。SP-333投与により、メタドン処置ラットにおける消化管通過の用量依存性の改善が生じた：それぞれ0.5、2.5、5、および50 mg/kgで40%、39%、44%、および52%（すべての用量で $P \leq 0.01$ ）。平均GI通過 $\pm$ SEMを、AおよびBに示す。

【図 10】図10A～Bは、SP-333での1日あたり1回の処置が、GI通過を正常化し、かつ、メタドン処置後の糞排泄を回復したことを示す、一連のグラフである。2.5、5、および7.5 mg/kgの1日量のメタドンを7日間投与することにより、ラットにおいて便秘が誘発された。明期中の投薬後4時間にわたる平均糞排泄を、記録した。統計学的に有意な糞排泄の低減が、すべての用量のメタドンで観察された。メタドン誘発性便秘を軽減するSP-333の能力を評定するために、ラットに、5 mg/kgのメタドンを1日あたり1回、7日間投薬した。メタドン投薬の10分後にSP-333を投薬して、糞排泄を上記のようにモニターした。メタドン処置動物に2.5 mg/kgで投与されたSP-333は、メタドン誘発性便秘を有意に軽減した（B）。処置群あたりの糞粒の平均数 $\pm$ SEMを、AおよびBに示した。

【図 11】SP-333の経口連日投薬が、メタドン反復投薬により引き起こされるGI通過遅延を軽減することを示すグラフである。GI通過に対するメタドン反復投与の効果を、ラットに1日あたり1回、5 mg/kgのメタドンを7日間投薬し、その後2.5 mg/kgをさらに1週間投薬した後に、モニターした。試験の日に、ラットに、2.5 mg/kgのメタドンを投薬し、その後、2.5、および5 mg/kgのSP-333の経口強制栄養を投薬した。GI通過を、実施例1に記載されているように計算し、平均GI通過 $\pm$ SEMとしてプロットした。メタドン処置は、GI通過の有意な低減を結果としてもたらした。しかし、GI通過遅延の統計学的に有意な改善が、SP-333投薬動物において観察された。

10

20

30

40

50

【図12】GI通過のオピオイド誘発性遅延の、SP-333媒介性低減についてのメカニズムを提示する概略図である。モルフィンおよびメタドンは、末梢に発現しているオピオイド受容体を活性化して、下流のシグナル伝達を起動し、神経伝達物質の放出に影響を及ぼすアデニルシクラーゼの阻害によってcAMPレベルの減少を結果としてもたらす。その結果、GIの推進力、運動性、および液体分泌が損なわれ、腸内腔からの液体および電解質の吸収の増大と組み合わさって、OIBDの症状発現を結果としてもたらす。SP-333は、腸細胞上のGC-C受容体に結合することによって、細胞内cGMPの合成および蓄積を促進し、これが次に、PKG-IIに結合して、直接的にまたはホスホジエステラーゼ3の阻害を介して間接的に活性化する。PKG-IIは、CFTRチャネルをリン酸化して活性化し、腸内腔へのCl⁻イオンの流出、その後のNa⁺および水の受動流出を促進し、それにより排便を亢進することができる。メタドンはCIC-2を阻害し得るが、T84細胞およびラット空腸組織からのCl⁻のSP-333媒介性分泌は、PKG-IIおよびCFTRを介している。

10

【発明を実施するための形態】

【0011】

詳細な説明

「a」、「an」、および「the」などの単数形が、便宜上、本出願全体にわたって使用されるが、文脈または明確な陳述が別のように示している箇所を除いて、単数形は、複数を含むように意図されることが、理解されるべきである。さらに、本明細書において言及されるあらゆる学術誌の論文、特許、特許出願、刊行物などは、その全体がすべての目的で参照により本明細書に組み入れられる。すべての数値範囲は、数値範囲内の各々のかつあらゆる数値点を含むと理解されるべきであり、各々のかつあらゆる数値点を個々に列挙すると解釈されるべきである。同じ構成成分または特性に向けられているすべての範囲の終点は、包括的であり、独立して組み合わせ可能であるように意図される。

20

【0012】

「約」は、参照値と実質的に同じ効果を有するか、または実質的に同じ結果を提供するすべての値を含む。したがって、「約」という用語によって包含される範囲は、その中で用語が使用される文脈、例えば、参照値に関連するパラメータに応じて変動するであろう。したがって、文脈に依存して、「約」は、例えば、±15%、±10%、±5%、±4%、±3%、±2%、±1%、または±1%未満を意味することができる。重要なことに、「約」という用語が先行する参照値の列挙のすべては、参照値単独の列挙でもあるように意図される。

30

【0013】

本発明は、グアニル酸シクラーゼ-C (GC-C) のアゴニストの開発に基づく。アゴニストは、ウログアニリン、グアニリン、リンホグアニリン、および大腸菌 (E. coli) STペプチドのアナログである。

【0014】

オピオイドは、慢性疼痛の治療のために広く使用されるが、それらの消費は、多くの場合に様々な副作用を伴う。オピオイド誘発性機能障害には、呼吸抑制、内分泌かく乱、食道機能障害、およびオピオイド誘発性腸機能障害が含まれる。オピオイド誘発性機能障害は、胃腸管に影響を及ぼし、標準的な下剤があまり有効ではないヒトにおいては重症の便秘がしばしば観察される。この副作用は、胃腸 (GI) 運動性および排便 (BM) に影響を及ぼす、液体分泌の低減によるものである。表1は、オピオイドの有害作用およびその臨床効果の、いくつかの非限定的な例を列挙する。本発明は、部分的に、オピオイド誘発性機能障害の治療のためにGC-Cアゴニストを利用するという発見に基づく。ウログアニリンのアナログは、グアニル酸シクラーゼ-C/cGMP (GC-C/cGMP) シグナル伝達を活性化して、GI運動性およびBMを正常化するために消化管内腔における液体分泌を増強し、オピオイド誘発性便秘 (OIC) の治療に有用である。この治療は、モルフィンまたはメタドンによって引き起こされるGI通過の遅延を、完全に回復する。

40

【0015】

(表1) 胃腸管に対するオピオイドの作用

50

作用部位	薬理作用	臨床効果	
胃	胃運動性の減少	食欲不振	
	幽門緊張の減少	吐き気および嘔吐	
小腸	膵臓および胆管分泌の減少	消化の遅延	
	推進力の低減	薬剤吸収の遅延	
	液体吸収の増大	硬い乾いた便	
大腸	推進力の減少	力み、不完全な排泄、鼓脹、腹部膨満、便秘	10
	非推進性収縮の増大	攣縮、腹部けいれん、疼痛	
	液体吸収の増大	硬い乾いた便	
	肛門括約筋緊張の増大	不完全な排泄	

【0016】

したがって、本発明はまた、治療有効量のGC-Cアゴニストを、必要とする対象に投与する工程による、オピオイド誘発性機能障害の症状を予防、治療、または緩和するための方法も提供する。

20

【0017】

本発明によるGC-Cアゴニストには、式I～XXによって表されるアミノ酸配列、および下記の表2～8に要約されるアミノ酸配列が含まれる。本発明によるGC-Cアゴニストは、本明細書において「GCRAペプチド」と総称される。いくつかの態様では、GC-Cアゴニストは、SEQ ID NO: 1 (SP-304)、SEQ ID NO: 9 (SP-333)、SP373 (SEQ ID NO: 104)、SP364 (SEQ ID NO: 100)、SP366 (SEQ ID NO: 102)、またはSEQ ID NO: 250の配列を有する。

【0018】

「オピオイド」は、アルフェentanil、アニレリジン、アシマドリル、ブレマゾシン、ブプレノルフィン、ブトルファノール、コデイン、デゾシン、ジアセチルモルフィン（ヘロイン）、ジヒドロコデイン、ジフェノキシラート、エチルモルフィン、フェルトジン、フェンタニル、フナルトレキサミン、ヒドロコドン、ヒドロモルホン、レバロルファン、レボメタジルアセタート、レボルファノール、ロペラミド、メペリジン（ペチジン）、メタドン、モルフィン、モルフィン-6-グルクロニド、ナルブフィン、ナロルフィン、ニコモルフィン、オピウム、オキシコドン、オキシモルホン、パパベレツルン（papavereturn）、ペンタゾシン、プロピラム、プロポキシフェン、レミフェンタニル、スフェンタニル、チリジン、トリメブチン、およびトラマドールを含むが、これらに限定されないように意味する。

30

【0019】

本明細書で使用される場合、「オピオイド誘発性機能障害」および「オピオイド使用の副作用」は、互換的に使用され、例えば、胃腸機能障害（例えば、腸運動性の阻害、便秘、GI括約筋収縮、吐き気、催吐（嘔吐））、胆管攣縮、オピオイド腸機能障害、疝痛、不快気分、心因性掻痒、尿貯留、呼吸抑制、乳頭収縮、心血管効果、胸壁硬直および咳抑制、ストレス応答の抑制、および麻薬性鎮痛の使用に伴う免疫抑制、またはそれらの組み合わせなどを含む。本発明の方法は、したがって、オピオイドの使用を経験している対象にとって生活の質の観点から、ならびに、痔、食欲抑制、粘膜損傷、敗血症、結腸がんのリスク、および心筋梗塞などの慢性便秘から生じる合併症を低減させるために有益であり得る。

40

【0020】

いくつかの態様では、提供されるGC-Cアゴニストは、急性のオピオイド使用を経験している対象への投与に有用である。いくつかの態様では、提供される製剤は、手術後の胃腸

50

機能障害、腸機能障害、または呼吸抑制を患う患者への投与に有用である。

【0021】

特定の態様では、提供される製剤はまた、慢性のオピオイド使用を経験している対象（例えば、AIDS患者、がん患者、心血管患者などのオピオイド療法を受けている末期患者；疼痛管理のために慢性オピオイド療法を受けている対象；オピオイド離脱の維持のためにオピオイド療法を経験している対象）への投与にも有用である。いくつかの態様では、対象は、慢性疼痛管理のためにオピオイド療法を用いている対象である。特定の態様では、疼痛は、非悪性疼痛（例えば、背部痛、神経障害性疼痛、線維筋痛、変形性関節炎と関連する疼痛）である。いくつかの態様では、対象は末期患者である。他の態様では、対象は、オピオイド離脱維持療法を経験している人である。

10

【0022】

特定の態様では、本明細書において提供される製剤は、メタドンまたはメチルナルトレキソンでの治療のために選択されている対象に投与される。具体的な態様では、対象は、上記に示される状態の1つまたは複数を発症するリスクが増大している対象に基づいて選択される。別の態様では、対象は、疼痛管理のためのオピオイド療法の使用に基づいて、または本明細書において示される状態の1つまたは複数を有することに基づいて選択される。特定の態様では、対象は、オピオイド療法のために便秘しているか、または便秘の病歴を有している。一態様では、便秘している対象は、前の3日間に排便をしていない。一態様では、便秘している対象は、前の週に3回未満の排便をしている。特定の態様では、便秘している対象は、過去の連続した4週間にわたって、平均で1週あたり3回未満の救助のない排便をし、かつ以下の1つまたは複数を有する：（a）硬いもしくは塊の多い便、（b）排便中の力み、および／または（c）排便後の不完全な排泄の感覚。対象は、断続的にまたは定期的に、オピオイドを使用しているてもよい。

20

【0023】

一態様では、選択される対象は、必要に応じてオピオイドを服用している。一態様では、選択される対象は、1週間未満、オピオイドを服用している。一態様では、選択される対象は、少なくとも1週間のクールにわたってオピオイドを服用している。別の態様では、選択される対象は、少なくとも2週間のクールにわたってオピオイドを服用している。別の態様では、選択される対象は、少なくとも3週間のクールにわたってオピオイドを服用している。別の態様では、選択される対象は、少なくとも4週間のクールにわたってオピオイドを服用している。別の態様では、選択される対象は、少なくとも3か月のクールにわたってオピオイドを服用している。別の態様では、選択される対象は、少なくとも6か月のクールにわたってオピオイドを服用している。別の態様では、選択される対象は、少なくとも12か月のクールにわたってオピオイドを服用している。別の態様では、選択される対象は、1年より長いクールにわたってオピオイドを服用している。別の態様では、選択される対象は、少なくとも2週間のクールにわたって少なくとも1日おきにオピオイドを服用している。一態様では、選択される対象は、少なくとも14日にわたって、少なくとも7用量の >25 mgの経口モルフィン等価物を受けている。一態様では、選択される対象は、少なくとも14日間、 >50 mgの1日量の経口モルフィン等価物を受けている。一態様では、選択される対象は、オピオイド療法のために便秘しており、少なくとも14日間、 >50 mgの1日量の経口モルフィン等価物を受けている。特定の態様では、対象は、少なくとも14日間、 >50 mgの1日量の経口モルフィン等価物を受けており；かつ、以下の1つまたは複数：（a）救助のない排便の少なくとも25%についてブリストール便形スケールタイプ1もしくは2、（b）救助のない排便の少なくとも25%中の力み；および／または（c）救助のない排便の少なくとも25%後の不完全な排泄の感覚を伴って、少なくとも連続した4週間にわたって平均で1週あたり3回未満の救助のない排便をしている。救助のない排便とは、排便の24時間前以内に下剤の使用、および／または（c）排便後の不完全な排泄の感覚を伴わない排便を表す。

30

40

【0024】

特定の態様では、提供される製剤は、過敏性腸症候群、オピオイド誘発性腸機能障害、

50

結腸炎、手術後または分娩後の腸閉塞、吐き気および／または嘔吐、胃の運動性および内容排出の減少、胃、ならびに小腸および／または大腸の推進力の阻害、非推進性分節性収縮の増幅の増大、オッディ括約筋の収縮、肛門括約筋緊張の増大、直腸膨張を伴う反射弛緩の減衰、胃、胆管、膵臓、または腸の分泌物の減少、腸内容物からの水の吸収の増大、胃食道逆流、胃不全麻痺、けいれん、鼓脹、腹部および上腹部の疼痛および不快感、便秘、突発性便秘、腹部手術（例えば、結腸切除術（例えば、右半結腸切除術、左半結腸切除術、横行結腸切除術、結腸切除テイクダウン（colectomy takedown）、低位前方切除術）、子宮摘出術）後の、手術後胃腸機能障害、ならびに、経口投与薬剤または栄養物質の吸収の遅延を含むがこれらに限定されない、胃腸機能障害を予防、阻害、低減、遅延、減少、または治療するための方法において使用され得る。

10

【0025】

GCRAペプチド

本発明のGCRAペプチドは、ウログアニリン、グアニリン、リンホグアニリン、およびSTペプチドのアナログである。「ペプチド」という用語は特定の長さを意味しない。いくつかの態様では、GCRAペプチドは、25アミノ酸長未満、例えば、20、15、14、13、12、11、10、または5アミノ酸長以下である。

【0026】

GCRAペプチドは、L-アミノ酸、D-アミノ酸、または両方の組み合わせのポリマーであることができる。例えば、様々な態様では、当該ペプチドは、D-レトロ-インベルソペプチドである。「レトロ-インベルソ異性体」という用語は、配列の向きが逆で、各アミノ酸残基のキラリティーが逆転している線状ペプチドの異性体を表す。例えば、Jameson et al., Nature, 368, 744-746 (1994); Brady et al., Nature, 368, 692-693 (1994)を参照されたい。D-鏡像異性体と逆合成との組み合わせの最終結果は、各アミド結合におけるカルボニル基の位置とアミノ基の位置が入れ替わっており、一方で各 α 炭素における側鎖基の位置は維持されていることである。特に具体的に述べない限り、本発明の任意の所与のL-アミノ酸配列は、対応するネイティブなL-アミノ酸配列についての配列の逆を合成することによってD-レトロ-インベルソペプチドを生成し得ることが推定される。例えば、GCRAペプチドには、式I～XXによって定義される配列および表2～8に列挙された配列が含まれる。

20

【0027】

cGMP産生の誘導は、GCRAペプチドが細胞内cGMPの産生を誘導することを意味する。細胞内cGMPは、当技術分野において公知の方法によって測定される。例えば、本発明のGCRAペプチドは、天然型GC-Cアゴニストと比較して、5%、10%、20%、30%、40%、50%、75%、90%、またはそれより強く、細胞内cGMPを刺激する。さらなる態様では、GCRAペプチドは、アポトーシス（例えば、プログラムされた細胞死）を刺激するか、または囊胞性線維症膜コンダクタンス制御因子（CFTR）を活性化する。

30

【0028】

本明細書で使用される場合、PEG3、3PEGは、アミノエチルオキシ-エチルオキシ-酢酸（AeeA）などのポリエチレングリコールを示すことを意図している。

【0029】

本明細書で使用される場合、「アミド」という用語は、末端カルボン酸がアミド基によって置換されている、すなわち末端COOHがCONH₂で置換されていることを示すことを意図している。

40

【0030】

本明細書で使用される場合、「pyGlu」という用語は、ピログルタミン酸を示す。

【0031】

本明細書で（例えば、式I～XXにおいて）使用される場合、X_{aa}は、任意の天然、非天然のアミノ酸またはアミノ酸アナログであり；M_{aa}は、システイン（Cys）、ペニシラミン（Pen）、ホモシステイン、または3-メルカプトプロリンである。Xaa_{n1}は、1、2、または3残基長の任意の天然、非天然のアミノ酸またはアミノ酸アナログのアミノ酸配列を意味す

50

ることを意図しており； Xaa_{n2} は、0または1残基長の任意の天然、非天然のアミノ酸またはアミノ酸アナログのアミノ酸配列を意味することを意図しており； Xaa_{n3} は、0、1、2、3、4、5、または6残基長の任意の天然、非天然のアミノ酸またはアミノ酸アナログのアミノ酸配列を意味することを意図している。さらに、 Xaa によって表される任意のアミノ酸は、L-アミノ酸、D-アミノ酸、メチル化アミノ酸、フッ化アミノ酸、またはそれらの任意の組み合わせであってもよい。好ましくは、N末端、C末端、または両末端のアミノ酸はD-アミノ酸である。任意で、式I～XXによって表される任意のGCRAペプチドは、N末端、C末端、または両末端に1つまたは複数のポリエチレングリコール残基を含有してもよい。例示的なポリエチレングリコールには、アミノエチルオキシ-エチルオキシ-酢酸およびそのポリマーが含まれる。

10

【0032】

本発明の方法および製剤に使用できるGCCアゴニストの具体例には、表2～8より選択されるペプチドが含まれる。

【0033】

いくつかの態様では、GCCアゴニストペプチドには、式Iのアミノ酸配列を有するペプチドが含まれ、式Iの少なくとも1つのアミノ酸は、D-アミノ酸もしくはメチル化アミノ酸であり、かつ／または位置16のアミノ酸はセリンである。好ましくは、式Iの位置16のアミノ酸は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。例えば、式Iの位置16のアミノ酸は、d-ロイシンまたはd-セリンである。任意で、式Iの位置1～3のアミノ酸の1つまたは複数は、D-アミノ酸もしくはメチル化アミノ酸、またはD-アミノ酸もしくはメチル化アミノ酸の組み合わせである。例えば、式Iの Asn^1 、 Asp^2 、または Glu^3 （またはそれらの組み合わせ）は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。好ましくは、式Iの位置 Xaa^6 のアミノ酸は、ロイシン、セリン、またはチロシンである。

20

【0034】

代替態様では、GCCアゴニストペプチドには、式IIのアミノ酸配列を有するペプチドが含まれ、式IIの少なくとも1つのアミノ酸は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。好ましくは、式IIの Xaa_{n2} で示されるアミノ酸は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。いくつかの態様では、式IIの Xaa_{n2} で示されるアミノ酸は、ロイシン、d-ロイシン、セリン、またはd-セリンである。好ましくは、式IIの Xaa_{n1} で示される1つまたは複数のアミノ酸は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。好ましくは、式IIの位置 Xaa^6 のアミノ酸は、ロイシン、セリン、またはチロシンである。

30

【0035】

いくつかの態様では、GCCアゴニストペプチドには、式IIIのアミノ酸配列を有するペプチドが含まれ、式IIIの少なくとも1つのアミノ酸は、D-アミノ酸もしくはメチル化アミノ酸であり、かつ／または Maa はシステインではない。好ましくは、式IIIの Xaa_{n2} で示されるアミノ酸は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。いくつかの態様では、式IIIの Xaa_{n2} で示されるアミノ酸は、ロイシン、d-ロイシン、セリン、またはd-セリンである。好ましくは、式IIIの Xaa_{n1} で示される1つまたは複数のアミノ酸は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。好ましくは、式IIIの位置 Xaa^6 のアミノ酸は、ロイシン、セリン、またはチロシンである。

40

【0036】

他の態様では、GCCアゴニストペプチドには、式IVのアミノ酸配列を有するペプチドが含まれ、式IVの少なくとも1つのアミノ酸は、D-アミノ酸もしくはメチル化アミノ酸であり、かつ／または Maa はシステインではない。好ましくは、式IVの Xaa_{n2} は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。いくつかの態様では、式IVの Xaa_{n2} で示されるアミノ酸は、ロイシン、d-ロイシン、セリン、またはd-セリンである。好ましくは、式IVの Xaa_{n1} で示されるアミノ酸の1つまたは複数は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。好ましくは、式IVの Xaa^6 で示されるアミノ酸は、ロイシン、セリン、またはチロシンである。

【0037】

さらなる態様では、GCCアゴニストペプチドには、式Vのアミノ酸配列を有するペプチド

50

が含まれ、式Vの少なくとも1つのアミノ酸は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。好ましくは、式Vの位置16のアミノ酸は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。例えば、式Vの位置16のアミノ酸（すなわちXaa¹⁶）は、d-ロイシンまたはd-セリンである。任意で、式Vの位置1～3のアミノ酸の1つまたは複数は、D-アミノ酸もしくはメチル化アミノ酸、またはD-アミノ酸もしくはメチル化アミノ酸の組み合わせである。例えば、式VのAsn¹、Asp²、またはGlu³（またはその組み合わせ）は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。好ましくは、式VのXaa⁶に示されたアミノ酸は、ロイシン、セリン、またはチロシンである。

【0038】

追加的な態様では、GCRAペプチドには、式VI、VII-a、VII-b、VIII、またはIXのアミノ酸配列を有するペプチドが含まれる。好ましくは、式VI、VII-a、VII-b、VIII、またはIXの位置6のアミノ酸は、ロイシン、セリン、またはチロシンである。いくつかの局面では、式VI、VII-a、VII-b、VIII、またはIXの位置16のアミノ酸は、ロイシンまたはセリンである。好ましくは、式VI、VII-a、VII-b、VIIIまたはIXの位置16のアミノ酸は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。

【0039】

追加的な態様では、GCRAペプチドには、式X、XI、XII、XIII、XIV、XV、XVI、またはXVIIのアミノ酸配列を有するペプチドが含まれる。任意で、式X、XI、XII、XIII、XIV、XV、XVI、またはXVIIの1つまたは複数のアミノ酸は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。好ましくは、式X、XI、XII、XIII、XIV、XV、XVI、またはXVIIによるペプチドのカルボキシル末端のアミノ酸は、D-アミノ酸またはメチル化アミノ酸である。例えば、式X、XI、XII、XIII、XIV、XV、XVI、またはXVIIによるペプチドのカルボキシル末端のアミノ酸はD-チロシンである。

【0040】

好ましくは、式XIVのXaa⁶で示されるアミノ酸は、チロシン、フェニルアラニン、またはセリンである。最も好ましくは、式XIVのXaa⁶によって示されるアミノ酸は、フェニルアラニンまたはセリンである。好ましくは、式XV、XVI、またはXVIIのXaa⁴で示されるアミノ酸は、チロシン、フェニルアラニン、またはセリンである。最も好ましくは、式XV、XVI、またはXVIIの位置Xaa⁴のアミノ酸は、フェニルアラニンまたはセリンである。

【0041】

いくつかの態様では、GCRAペプチドには、式XVIIIのアミノ酸配列を含有するペプチドが含まれる。好ましくは、式XVIIIの位置1のアミノ酸は、グルタミン酸、アスパラギン酸、グルタミンまたはリジンである。好ましくは、式XVIIIの位置2および3のアミノ酸は、グルタミン酸またはアスパラギン酸である。好ましくは、位置5のアミノ酸はグルタミン酸である。好ましくは、式XVIIIの位置6のアミノ酸は、イソロイシン、バリン、セリン、トレオニン、またはチロシンである。好ましくは、式XVIIIの位置8のアミノ酸は、バリンまたはイソロイシンである。好ましくは、式XVIIIの位置9のアミノ酸はアスパラギンである。好ましくは、式XVIIIの位置10のアミノ酸は、バリンまたはメチオニンである。好ましくは、式XVIIIの位置11のアミノ酸はアラニンである。好ましくは、式XVIIIの位置13のアミノ酸はトレオニンである。好ましくは、式XVIIIの位置14のアミノ酸はグリシンである。好ましくは、式XVIIIの位置16のアミノ酸は、ロイシン、セリン、またはトレオニンである。

【0042】

代替態様では、GCRAペプチドには、式XIXのアミノ酸配列を含有するペプチドが含まれる。好ましくは、式XIXの位置1のアミノ酸は、セリンまたはアスパラギンである。好ましくは、式XIXの位置2のアミノ酸は、ヒスチジンまたはアスパラギン酸である。好ましくは、式XIXの位置3のアミノ酸は、トレオニンまたはグルタミン酸である。好ましくは、式XIXの位置5のアミノ酸はグルタミン酸である。好ましくは、式XIXの位置6のアミノ酸は、イソロイシン、ロイシン、バリン、またはチロシンである。好ましくは、式XIXの位置8、10、11、または13のアミノ酸はアラニンである。好ましくは、式XIXの位置9のアミノ酸はア

スパラギンまたはフェニルアラニンである。好ましくは、式XIXの位置14のアミノ酸はグリシンである。

【0043】

さらなる態様では、GCRAペプチドには、式XXのアミノ酸配列を含有するペプチドが含まれる。好ましくは、式XXの位置1のアミノ酸はグルタミンである。好ましくは、式XXの位置2または3のアミノ酸はグルタミン酸またはアスパラギン酸である。好ましくは、式XXの位置5のアミノ酸はグルタミン酸である。好ましくは、式XXの位置6のアミノ酸は、トレオニン、グルタミン、チロシン、イソロイシン、またはロイシンである。好ましくは、式XXの位置8のアミノ酸はイソロイシンまたはバリンである。好ましくは、式XXの位置9のアミノ酸はアスパラギンである。好ましくは、式XXの位置10のアミノ酸はメチオニンまたはバリンである。好ましくは、式XXの位置11のアミノ酸はアラニンである。好ましくは、式XXの位置13のアミノ酸はトレオニンである。好ましくは、式XXの位置1のアミノ酸はグリシンである。好ましくは、式XXの位置15のアミノ酸はチロシンである。任意で、式XXの位置15のアミノ酸は、2アミノ酸長であり、システイン (Cys)、ペニシラミン (Pen)、ホモシステイン、または3-メルカプトプロリンと、セリン、ロイシン、またはトレオニンとである。

【0044】

特定の態様では、GCRAペプチドの1つまたは複数のアミノ酸は、非天然アミノ酸または天然もしくは非天然アミノ酸アナログに置き換えられることができる。標準的な20種 (Ala、Arg、Asn、Asp、Cys、Gln、Glu、Gly、His、Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Pro、Ser、Thr、Trp、Tyr、およびVal) 以外に多くのアミノ酸がある。天然型もあれば、天然型でないものもある。(例えば、Hunt, The Non-Protein Amino Acids: In Chemistry and Biochemistry of the Amino Acids, Barrett, Chapman and Hall, 1985を参照)。例えば、芳香族アミノ酸は、3,4-ジヒドロキシ-L-フェニルアラニン、3-ヨード-L-チロシン、トリヨードチロシン、L-チロキシ、フェニルグリシン (Phg)、またはノル-チロシン (norTyr) に置き換えられることができる。PhgおよびnorTyrならびにPheおよびTyrを含む他のアミノ酸は、例えば、ハロゲン、-CH₃、-OH、-CH₂NH₃、-C(O)H、-CH₂CH₃、-CN、-CH₂CH₂CH₃、-SH、または別の基に置換され得る。任意のアミノ酸は、D型アミノ酸に置換され得る。

【0045】

非天然アミノ酸または天然および非天然アミノ酸アナログに関して、本明細書に記載されているポリペプチドおよびアゴニストに、単独または組み合わせでいくつかの置換がある可能性がある。

【0046】

例えば、グルタミン残基は、 γ -ヒドロキシ-Gluまたは γ -カルボキシ-Gluで置換され得る。チロシン残基は、L- α -メチルフェニルアラニンなどの α 置換アミノ酸で置換され得、または3-アミノ-Tyr; Tyr (CH₃); Tyr (PO₃(CH₃)₂); Tyr (SO₃H); β -シクロヘキシル-Ala; β -(1-シクロペンテニル)-Ala; β -シクロペンチル-Ala; β -シクロプロピル-Ala; β -キノリル-Ala; β -(2-チアゾリル)-Ala; β -(トリアゾール-1-イル)-Ala; β -(2-ピリジル)-Ala; β -(3-ピリジル)-Ala; アミノ-Phe; フルオロ-Phe; シクロヘキシル-Gly; tBu-Gly; β -(3-ベンゾチエニル)-Ala; β -(2-チエニル)-Ala; 5-メチル-Trp; および α -メチル-Trpなどのアナログに置換され得る。プロリン残基は、ホモプロ(L-ピペコリン酸); ヒドロキシ-Pro; 3,4-デヒドロ-Pro; 4-フルオロ-Pro; もしくは α -メチル-Pro; または構造: n=0、1、2、3を有するN(α)-C(α)環化アミノ酸アナログで置換され得る。アラニン残基は、 α -アミノイソ酪酸(aib)、L/D- α -エチルアラニン(L/D-イソバリン)、L/D-メチルバリン、もしくはL/D- α -メチルロイシンなどの α -置換アミノ酸もしくはN-メチル化アミノ酸、または β -フルオロ-Alaなどの非天然アミノ酸で置換され得る。アラニンは、また、n=0、1、2、3で置換され得る。グリシン残基は、 α -アミノイソ酪酸(aib)またはL/D- α -エチルアラニン(L/D-イソバリン)で置換され得る。

【0047】

非天然アミノ酸のさらなる例には、アラニンの非天然型アナログ(例えば、L-1-Nalま

たはL-2-Nal) ; チロシンの非天然型アナログ ; グルタミンの非天然型アナログ ; フェニルアラニンの非天然型アナログ ; セリンの非天然型アナログ ; トレオニンの非天然型アナログ ; アルキル、アリール、アシル、アジド、シアノ、ハロ、ヒドラジン、ヒドラジド、ヒドロキシル、アルケニル、アルキニル、エーテル、チオール、スルホニル、セレノ、エステル、チオ酸、ボラート、ボロナート、ホスホ、ホスホノ、ホスフィン、複素環式、エノン、イミン、アルデヒド、ヒドロキシルアミン、ケト、もしくはアミノ置換アミノ酸、またはそれらの任意の組み合わせ ; 光で活性化され得る架橋剤を有するアミノ酸 ; スピンラベルされたアミノ酸 ; 蛍光アミノ酸 ; 新規な官能基を有するアミノ酸 ; 別の分子と共有結合的または非共有結合的に相互作用するアミノ酸 ; 金属結合性アミノ酸 ; 自然にはアミド化されていない部位でアミド化されているアミノ酸、金属含有アミノ酸 ; 放射性アミノ酸 ; 光ケージ化 (photocaged) および / または光異性化アミノ酸 ; ビオチンまたはビオチンアナログ含有アミノ酸 ; グリコシル化されたまたは糖質で改変されたアミノ酸 ; ケト含有アミノ酸 ; ポリエチレングリコールまたはポリエーテルを含むアミノ酸 ; 重原子置換アミノ酸 (例えば、重水素、トリチウム、 ^{13}C 、 ^{15}N 、または ^{18}O を含有するアミノ酸) ; 化学切断可能または光切断可能なアミノ酸 ; 伸長した側鎖を有するアミノ酸 ; 毒性基を含有するアミノ酸 ; 糖置換アミノ酸 (例えば、糖置換セリンなど) ; 炭素結合糖含有アミノ酸 ; 酸化還元活性のあるアミノ酸 ; α -ヒドロキシ含有酸 ; アミノチオ酸含有アミノ酸 ; α 、 α -二置換アミノ酸 ; β -アミノ酸 ; プロリン以外の環状アミノ酸 ; 0-メチル-L-チロシン ; L-3-(2-ナフチル) アラニン ; 3-メチル-フェニルアラニン ; p-アセチル-L-フェニルアラニン ; 0-4-アリル-L-チロシン ; 4-プロピル-L-チロシン ; トリ-0-アセチル-GlcNAc β -セリン ; L-ドーパ ; フッ化フェニルアラニン ; イソプロピル-L-フェニルアラニン ; p-アジド-L-フェニルアラニン ; p-アシル-L-フェニルアラニン ; p-ベンゾイル-L-フェニルアラニン ; L-ホスホセリン ; ホスホノセリン ; ホスホノチロシン ; p-ヨードフェニルアラニン ; 4-フルオロフェニルグリシン ; p-プロモフェニルアラニン ; p-アミノ-L-フェニルアラニン ; イソプロピル-L-フェニルアラニン ; L-3-(2-ナフチル) アラニン ; D-3-(2-ナフチル) アラニン (dNal) ; アミノ-、イソプロピル-、または0-アリル含有フェニルアラニンアナログ ; ドーパ、0-メチル-L-チロシン ; グリコシル化アミノ酸 ; p-(プロパルギルオキシ) フェニルアラニン ; ジメチル-リジン ; ヒドロキシ-プロリン ; メルカプトプロピオン酸 ; メチル-リジン ; 3-ニトロ-チロシン ; ノルロイシン ; ピログルタミン酸 ; Z (カルボベンゾキシル) ; ϵ -アセチル-リジン ; β -アラニン ; β -アスパラギン酸 ; β -シクロヘキシルアラニン ; アミノベンゾイル誘導体 ; アミノ酪酸 (Abu) ; シトルリン ; アミノヘキサ酸 (Ahx) ; アミノイソ酪酸 (AIB) ; シクロヘキシルアラニン ; d-シクロヘキシルアラニン ; シクロヘキシルグリシン ; ヒドロキシプロリン ; ニトロ-アルギニン ; ニトロ-フェニルアラニン ; ニトロ-チロシン ; ノルバリン ; オクタヒドロインドールカルボキシレート ; オルニチン (Orn) ; ペニシラミン (PEN) ; テトラヒドロイソキノリン ; ジアミノ酪酸 ; ジアミノピメリン酸 ; ピログルタミン酸 ; ホモシステイン ; ホモセリン ; N- ϵ -ジニトロフェニルリジン ; N- ϵ -メチルリジン ; N- ϵ -ジメチルリジン ; N,N,N- ϵ -トリメチルリジン ; アセトアミドメチル保護アミノ酸、およびPEG化アミノ酸が含まれる。非天然アミノ酸およびアミノ酸アナログのさらなる例は、US20030108885、US20030082575、US20060019347 (段落410~418)、およびその中で引用された参考文献から見出すことができる。本発明のポリペプチドは、US20060019347、段落589に記載されている改変を含むさらなる改変を含むことができる。

【0048】

本明細書で使用される「Nal」は、L-1-ナフチルアラニン (L-1-Nal) およびL-2-ナフチルアラニン (L-2-Nal) の両方を表す。

【0049】

いくつかの態様では、アミノ酸は、天然の非必須アミノ酸、例えば、タウリンに置換され得る。

【0050】

あるいは、GCRAペプチドは環状ペプチドである。GCRA環状ペプチドは、当技術分野にお

10

20

30

40

50

いて公知の方法によって調製される。例えば、大環状化は、多くの場合に、ペプチドのN末端とC末端との間、側鎖とN末端もしくはC末端との間[例えば、pH8.5で $K_3Fe(CN)_6$ を用いる](Samson et al., Endocrinology, 137: 5182-5185 (1996))、または2個のアミノ酸側鎖(例えば、システイン)の間でアミド結合を形成させることによって達成される。例えば、DeGrado, Adv Protein Chem, 39: 51-124 (1988)を参照されたい。いくつかの態様では、本発明のGCRAペプチドは二環性ペプチドである。様々な局面で、GCRAペプチドは[4,12;7,15]二環である。

【0051】

いくつかのGCRAペプチドにおいて、通常はジスルフィド結合を形成するCys残基の1対または両方の対の1方または両方のメンバーは、ホモシステイン、ペニシラミン、3-メルカプトプロリン(Kolodziej et al. 1996 Int J Pept Protein Res 48:274); β , β -ジメチルシステイン(Hunt et al. 1993 Int J Pept Protein Res 42:249)またはジアミノプロピオン酸(Smith et al. 1978 J Med Chem 21:117)に置換されて、通常はジスルフィド結合の位置に代替的な内部架橋を形成させることができる。

【0052】

加えて、1つまたは複数のジスルフィド結合は、代替的な共有架橋結合、例えば、アミド結合(-CH₂CH(O)NHCH₂-もしくは-CH₂NHCH(O)CH₂-)、エステル結合、チオエステル結合、ラクタム架橋、カルバモイル結合、尿素結合、チオ尿素結合、ホスホン酸エステル結合、アルキル結合(-CH₂CH₂CH₂CH₂-)、アルケニル結合(-CH₂CH=CHCH₂-)、エーテル結合(-CH₂CH₂OCH₂-もしくは-CH₂OCH₂CH₂-)、チオエーテル結合(-CH₂CH₂SCH₂-もしくは-CH₂SCH₂CH₂-)、アミン結合(-CH₂CH₂NHCH₂-もしくは-CH₂NHCH₂CH₂-)、またはチオアミド結合(-CH₂CH(S)HNHCH₂-もしくは-CH₂NHCH(S)CH₂-)に置換され得る。例えば、Leduら(Proc Nat'l Acad. Sci. 100:11263-78, 2003)は、ラクタム架橋およびアミド架橋を調製するための方法を記載している。ラクタム架橋を含む例示的なGCRAペプチドには、例えば、SP-370が含まれる。

【0053】

GCRAペプチドは、1つまたは複数の従来型のポリペプチド結合が代替結合に置換されていてもよい。そのような置換は、ポリペプチドの安定性を増大させることができる。例えば、アミノ末端残基と芳香族残基(例えば、Tyr、Phe、Trp)との間のポリペプチド結合を代替結合に置換することで、カルボキシペプチダーゼによる切断を減少させることができ、かつ消化管内での半減期を延長し得る。ポリペプチド結合と置換され得る結合には、レトロ-インベルソ結合(NH-C(O)の代わりにC(O)-NH);還元アミド結合(NH-CH₂);チオメチレン結合(S-CH₂またはCH₂-S);オキシメチレン結合(O-CH₂またはCH₂-O);エチレン結合(CH₂-CH₂);チオアミド結合(C(S)-NH);trans-オレフィン結合(CH=CH);フルオロ置換trans-オレフィン結合(CF=CH);ケトメチレン結合(C(O)-CHRまたはCHR-C(O)) [式中、RはHまたはCH₃である];およびフルオロ-ケトメチレン結合(C(O)-CFRまたはCFR-C(O)) [式中、RはHまたはFまたはCH₃である]が含まれる。

【0054】

GCRAペプチドは、標準的な改変を用いて改変することができる。改変は、アミノ(N-)末端、カルボキシ(C-)末端、内部、または前記のいずれかの組み合わせで起こり得る。本明細書に記載されている一局面では、ポリペプチド上に1種を超える改変があり得る。改変には、非限定的に、アセチル化、アミド化、ビオチニル化、シンナモイル化、フェルネシル化、ホルミル化、ミリスチル化、パルミトイル化、リン酸化(Ser、Tyr、またはThr)、ステアロイル化、スクシニル化、スルフルイル化、および環化(ジスルフィド架橋またはアミド環化を介する)、ならびにCys3またはCys5による改変が含まれる。本明細書に記載されているGCRAペプチドは、2,4-ジニトロフェニル(DNP)、DNP-リジン、7-アミノ-4-メチル-クマリン(AMC)による改変、フルオレセイン、NBD(7-ニトロベンゾ-2-オキサ-1,3-ジアゾール)、p-ニトロ-アニリド、ローダミンB、EDANS(5-(2-アミノエチル)アミノ)ナフタレン-1-スルホン酸)、ダブシル(dabcyl)、ダブシル(dabsyl)、ダンシル、テキサスレッド、Fmoc、およびTamra(テトラメチルローダミン)によっても

改変され得る。本明細書に記載されているGCRAペプチドは、また、例えば、ポリエチレングリコール（PEG）；アルキル基（例えば、C1～C20直鎖または分岐アルキル基）；脂肪酸基；PEG、アルキル基、および脂肪酸基の組み合わせ（米国特許第6,309,633号；Soltero et al., 2001 Innovations in Pharmaceutical Technology 106-110を参照）；BSAおよびKLH（キーホールリンペットヘモシアニン）にコンジュゲーションされ得る。本発明のポリペプチドを改変するために使用できるPEGおよび他のポリマーの付加は、US2006019347の第IX節に記載されている。

【0055】

一局面では、本発明は、例えば、その全体がすべての目的で参照により本明細書に組み入れられるWO20140151206において教示されているようなAad-GCRAペプチドを提供する。WO20140151206の表1には、GCRAペプチドの様々な α -アミノアジピン酸誘導体の例が開示されている。Aad-GCRAペプチドは、ウログアニリン、グアニリン、リンホグアニリン、およびSTペプチドのアナログである。特に、これらのアナログは、好ましくは、各ペプチドのN末端から3番目の位置に、または最初のシステイン（「Cys」）残基に隣接するN末端側の位置に、 α -アミノアジピン酸（Ad）を含有する。例えば、Aad-GCRAペプチドには、 α -アミノアジピン酸を含むことができる、式I、II、III、IV、V、VI、VII、VIII、IX、XVIII、またはXXIによって定義される配列が含まれる。

【0056】

いくつかの態様では、Aad-GCRAペプチドは、
 $\text{Asn}^1\text{-Asp}^2\text{-Aad}^3\text{-Cys}^4\text{-Glu}^5\text{-Leu}^6\text{-Cys}^7\text{-}$
 $\text{Val}^8\text{-Asn}^9\text{-Val}^{10}\text{-Ala}^{11}\text{-Cys}^{12}\text{-Thr}^{13}\text{-Gly}^{14}\text{-Cys}^{15}\text{-Leu}^{16}$ (SEQ ID NO: 251; SP-304-Aad), $\text{dAsn}^1\text{-Asp}^2\text{-Aad}^3\text{-Cys}^4\text{-Glu}^5\text{-Leu}^6\text{-Cys}^7\text{-Val}^8\text{-Asn}^9\text{-Val}^{10}\text{-Ala}^{11}\text{-Cys}^{12}\text{-Thr}^{13}\text{-Gly}^{14}\text{-Cys}^{15}\text{-dLeu}^{16}$ (SEQ ID NO: 253; SP-333-Aad); $\text{Pyglu}^1\text{-Asp}^2\text{-Aad}^3\text{-Cys}^4\text{-Glu}^5\text{-Leu}^6\text{-Cys}^7\text{-Val}^8\text{-Asn}^9\text{-Val}^{10}\text{-Ala}^{11}\text{-Cys}^{12}\text{-Thr}^{13}\text{-Gly}^{14}\text{-Cys}^{15}\text{-dLeu-AMIDE}^{16}$ (SEQ ID NO: 254; SP-373-Aad), $\text{dAsn}^1\text{-Asp}^2\text{-Aad}^3\text{-Cys}^4\text{-Glu}^5\text{-Leu}^6\text{-Cys}^7\text{-Val}^8\text{-Asn}^9\text{-Val}^{10}\text{-Ala}^{11}\text{-Cys}^{12}\text{-Thr}^{13}\text{-Gly}^{14}\text{-Cys}^{15}\text{-dSer}^{16}$ (SEQ ID NO: 255; SP-364-Aad); $\text{dAsn}^1\text{-Asp}^2\text{-Aad}^3\text{-Cys}^4\text{-Glu}^5\text{-Leu}^6\text{-Cys}^7\text{-Val}^8\text{-Asn}^9\text{-Val}^{10}\text{-Ala}^{11}\text{-Cys}^{12}\text{-Thr}^{13}\text{-Gly}^{14}\text{-Cys}^{15}\text{-dTyr}^{16}$ (SEQ ID NO: 256; SP-366-Aad); または $\text{Xaa}_{n1}\text{-Cys}^4\text{-Xaa}^5\text{-Xaa}^6\text{-Xaa}^7\text{-Xaa}^8\text{-Xaa}^9\text{-Xaa}^{10}\text{-Xaa}^{11}\text{-Cys}^{12}\text{-Xaa}^{13}\text{-Xaa}^{14}\text{-Xaa}^{15}\text{-Xaa}_{n2}^{16}$ (SEQ ID NO: 257)
 である。

【0057】

本明細書に記載されているペプチドと生物学的または機能的に等価のペプチドも、本発明に含まれる。「生物学的に等価」または「機能的に等価」という用語は、本発明の組成物がcGMP産生調節効果の一部または全てを呈し得ることを示すことを意図している。

【0058】

GCRAペプチドには、特定のアミノ酸が欠失または置換されているGCRAペプチドのハイブリッド形態および改変形態、ならびに1つまたは複数のアミノ酸が改変アミノ酸または異常アミノ酸に変更された改変、ならびにグリコシル化などの改変を含む（当該改変形態がGCRAペプチドの生物学的活性を保持する限り）ことを意図している、GCRAペプチド誘導体も含まれ得る。生物学的活性を保持するとは、必ずしも天然型GCRAペプチドの場合と同じレベルでは特定されないものの、GCRAペプチドによってcGMPおよび／またはアポトーシスが誘導されることを意味する。

【0059】

好ましい変異体は、1つまたは複数の予測される非必須アミノ酸残基で行われた保存的アミノ酸置換を有する変異体である。「保存的アミノ酸置換」は、アミノ酸残基が類似の側鎖を有するアミノ酸残基と置換された置換である。類似の側鎖を有するアミノ酸残基のファミリーは、当技術分野において定義されている。これらのファミリーには、塩基性側

鎖を有するアミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン）、酸性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸）、非荷電極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、グリシン、アスパラギン、グルタミン、セリン、トレオニン、チロシン、システイン）、非極性側鎖を有するアミノ酸（例えば、アラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、プロリン、フェニルアラニン、メチオニン、トリプトファン）、 β -分岐側鎖を有するアミノ酸（例えば、トレオニン、バリン、イソロイシン）、および芳香族側鎖を有するアミノ酸（例えば、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、ヒスチジン）が含まれる。したがって、GCRAポリペプチド中の予測される非必須アミノ酸残基は、同じ側鎖ファミリーからの別のアミノ酸残基で置換される。あるいは、別の態様では、変異は、GCRAコード配列の全部または一部に沿ってランダムに、例えば、飽和変異誘発によって導入することができ、結果として生じた変異体をスクリーニングして活性を保持する変異体を特定することができる。

【0060】

（表2）GCRAペプチド（SP-304および誘導体）

名称	ジスルフィド 結合の位置	構造	SEQ ID NO
SP-304	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	1
SP-326	C3:C11, C6:C14	Asp ¹ -Glu ² -Cys ³ -Glu ⁴ -Leu ⁵ -Cys ⁶ -Val ⁷ -Asn ⁸ -Val ⁹ -Ala ¹⁰ -Cys ¹¹ -Thr ¹² -Gly ¹³ -Cys ¹⁴ -Leu ¹⁵	2
SP-327	C3:C11, C6:C14	Asp ¹ -Glu ² -Cys ³ -Glu ⁴ -Leu ⁵ -Cys ⁶ -Val ⁷ -Asn ⁸ -Val ⁹ -Ala ¹⁰ -Cys ¹¹ -Thr ¹² -Gly ¹³ -Cys ¹⁴	3
SP-328	C2:C10, C5:C13	Glu ¹ -Cys ² -Glu ³ -Leu ⁴ -Cys ⁵ -Val ⁶ -Asn ⁷ -Val ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Leu ¹⁴	4
SP-329	C2:C10, C5:C13	Glu ¹ -Cys ² -Glu ³ -Leu ⁴ -Cys ⁵ -Val ⁶ -Asn ⁷ -Val ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	5
SP-330	C1:C9, C4:C12	Cys ¹ -Glu ² -Leu ³ -Cys ⁴ -Val ⁵ -Asn ⁶ -Val ⁷ -Ala ⁸ -Cys ⁹ -Thr ¹⁰ -Gly ¹¹ -Cys ¹² -Leu ¹³	6
SP-331	C1:C9, C4:C12	Cys ¹ -Glu ² -Leu ³ -Cys ⁴ -Val ⁵ -Asn ⁶ -Val ⁷ -Ala ⁸ -Cys ⁹ -Thr ¹⁰ -Gly ¹¹ -Cys ¹²	7
SP-332	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	8
SP-333	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	9
SP-334	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	10
SP-335	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	11
SP-336	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	12
SP-337	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -dLeu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	13
SP-338	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	14
SP-342	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	15
SP-343	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	16
SP-344	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -dAsp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	17
SP-347	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	18
SP-348	C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	19

SP-350	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	20
SP-352	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	21
SP-358	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -dAsp ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	22
SP-359	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -dAsp ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	23
SP-360	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	24
SP-361	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	25
SP-362	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -dAsp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	26
SP-368	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dNal ¹⁶	27
SP-369	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -AIB ⁸ -Asn ⁹ -AIB ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	28
SP-370	C4:C12, 7:15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Asp[Lactam] ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Orn ¹⁵ -dLeu ¹⁶	29
SP-371	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	30
SP-372	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	31
N1	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	32
N2	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	33
N3	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	34
N4	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	35
N5	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶	36
N6	C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu ¹⁶ -PEG3	37
N7	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	38
N8	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶ -PEG3	39
N9	C4:C12, C7:C15	PEG3-dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	40
N10	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶ -PEG3	41

N11	C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer ¹⁶ -PEG3	42
N12	C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer ¹⁶	43
N13	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer ¹⁶ -PEG3	44
式 I	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	45
式 II	C4:C12,C7:C15	Xaa _{n1} -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa _{n2} ¹⁶	46
式 III	4:12,7:15	Xaa _{n1} -Maa ⁴ -Glu ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Maa ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Maa ¹⁵ -Xaa _{n2} ¹⁶	47
式 IV	4:12,7:15	Xaa _{n1} -Maa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Maa ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Maa ¹⁵ -Xaa _{n2} ¹⁶	48
式 V	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Asn ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	49
式 VI	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -X3 ⁸ -Asn ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	50
式 VII-a	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -dGlu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Asn ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	51
式 VII-b	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Asn ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	52
式 VIII	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -dAsp ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Tyr ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	53
式 IX	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -dGlu ² -dGlu ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Cys ⁷ -Xaa ⁸ -Tyr ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -d-Xaa ¹⁶	54
式 XXI	C4:C12,C7:C15	Xaa _{n1} -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Xaa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Xaa ¹⁵ -Xaa _{n2} ¹⁶	250

【 0 0 6 1 】

(表 3) リナクロチドおよび誘導体

10

20

30

40

名称	ジスルフィド結合の位置	構造	SEQIDNO:
SP-339(リナクロチド)	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴	55
SP-340	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	56
SP-349	C1:C6, C2:C10, C5:C13	PEG3-Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴ -PEG3	57
SP-353	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	58
SP-354	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	59
SP-355	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -dTyr ¹⁴	60
SP-357	C1:C6, C2:C10, C5:C13	PEG3-Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴	61
SP-374	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	62
SP-375	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	63
SP-376	C3:C8, C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	64
SP-377	C3:C8, C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	65
SP-378	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	66
SP-379	C3:C8, C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	67
SP-380	C3:C8, C4:C12, C7:C15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	68

SP-381	C3:C8, C4:C12, C7:I5	dTyr ¹⁶ Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ - dTyr ¹⁶	69
SP-382	C3:C8, C4:C12, C7:I5	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ - Tyr ¹⁶	70
SP-383	C3:C8, C4:C12, C7:I5	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ - dTyr ¹⁶	71
SP384	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴ -PEG3	72
N14	C1:C6, C2:C10, C5:C13	PEG3-Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -PEG3	73
N15	C1:C6, C2:C10, C5:C13	PEG3-Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	74
N16	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu ³ -Tyr ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -PEG3	75
N17	C3:C8, C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ - Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	76
N18	C3:C8, C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ - Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	77
N19	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ser ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ - Tyr ¹⁶ -PEG3	78
N20	C3:C8, C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ - Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	79
N21	C3:C8, C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ - Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	80
N22	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ - Tyr ¹⁶ -PEG3	81

N23	C3:C8, C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	82
N24	C3:C8, C4:C12, C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	83
N25	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	84
N26	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu3-Ser ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴	85
N27	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu3-Phe ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -Tyr ¹⁴	86
N28	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu3-Ser ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³ -	87
N29	C1:C6, C2:C10, C5:C13	Cys ¹ -Cys ² -Glu3-Phe ⁴ -Cys ⁵ -Cys ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Cys ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Cys ¹³	88
N30	1:6, 2:10, 5:13	Pen ¹ -Pen ² -Glu3-Tyr ⁴ -Pen ⁵ -Pen ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Pen ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Pen ¹³ -Tyr ¹⁴	89
N31	1:6, 2:10, 5:13	Pen ¹ -Pen ² -Glu3-Tyr ⁴ -Pen ⁵ -Pen ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Pen ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Pen ¹³	90
式 X	C9:C14, C10:C18, C13:C21	Xaa ¹ -Xaa ² -Xaa ³ -Xaa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Asn ⁷ -Tyr ⁸ -Cys ⁹ -Cys ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Tyr ¹² -Cys ¹³ -Cys ¹⁴ -Xaa ¹⁵ -Xaa ¹⁶ -Xaa ¹⁷ -Cys ¹⁸ -Xaa ¹⁹ -Xaa ²⁰ -Cys ²¹ -Xaa ²²	91
式 XI	C9:C14, C10:C18, C13:C21	Xaa ¹ -Xaa ² -Xaa ³ -Xaa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Asn ⁷ -Phe ⁸ -Cys ⁹ -Cys ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Phe ¹² -Cys ¹³ -Cys ¹⁴ -Xaa ¹⁵ -Xaa ¹⁶ -Xaa ¹⁷ -Cys ¹⁸ -Xaa ¹⁹ -Xaa ²⁰ -Cys ²¹ -Xaa ²²	92
式 XII	C3:C8, C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	93
式 XIII	3:8, 4:12, 7:15	Asn ¹ -Phe ² -Pen ³ -Cys ⁴ -Xaa ⁵ -Phe ⁶ -Cys ⁷ -Pen ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Cys ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Xaa ¹⁶	94
式 XIV	3:8, 4:12, 7:15	Asn ¹ -Phe ² -Maa ³ -Maa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Maa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Maa ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Maa ¹⁵ -Xaa ¹⁶	95
式 XV	1:6, 2:10, 5:13	Maa ¹ -Maa ² -Glu3-Xaa ⁴ -Maa ⁵ -Maa ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Maa ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Maa ¹³ -Tyr ¹⁴	96

式 XVI	1:6, 2:10, 5:13	Maa ¹ -Maa ² -Glu3-Xaa ⁴ -Maa ⁵ -Maa ⁶ -Asn ⁷ -Pro ⁸ -Ala ⁹ -Maa ¹⁰ -Thr ¹¹ -Gly ¹² -Maa ¹³	97
式 XVII	1:6, 2:10, 5:13	Xaa ₁₃ -Maa ¹ -Maa ² -Xaa ³ -Xaa ⁴ -Maa ⁵ -Maa ⁶ -Xaa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Maa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Xaa ¹² -Maa ¹³ - Xaa ₁₂	98

【 0 0 6 2 】
（表 4）GCRAペプチド

10

20

30

40

名称	ジスルフィド 結合の位置	構造	SEQIDNO:
SP-363	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu-AMIDE ¹⁶	99
SP-364	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer ¹⁶	100
SP-365	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dSer-AMIDE ¹⁶	101
SP-366	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	102
SP-367	C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr-AMIDE ¹⁶	103
SP-373	C4:C12,C7:C15	Pyglu ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dLeu-AMIDE ¹⁶	104
/	C4:C12,C7:C15	Pyglu ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	251
SP-304N-304diPEG	C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶ -PEG3	105
SP-304N-PEG	C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	106
SP-304C-PEG	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶ -PEG3	107

【 0 0 6 3 】

(表5) SP-304アナログ、ウログアニリン、およびウログアニリンアナログ

10

20

30

40

名称	ジスルフィド結合の位置	構造	SEQID NO
式 XVIII	C4:C12, C7:C15	Xaa ¹ -Xaa ² -Xaa ³ -Maa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Maa ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Maa ¹⁵ -Xaa ¹⁶	108

10

20

30

40

ウログリアニン	C4:C12, C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	109
N32	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	110
N33	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	111
N34	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	112
N35	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	113
N36	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	114
N37	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	115
N38	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	116
N39	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	117
N40	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	118
N41	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	119
N42	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	120
N43	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	121
N44	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	122
N45	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	123
N46	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	124
N47	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	125
N48	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	126
N49	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	127
N50	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	128

N51	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	129
N52	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	130
N53	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	131
N54	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	132
N55	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	133
N56	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	134
N57	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	135
N58	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	136
N59	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	137
N60	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	138
N61	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	139
N62	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	140
N63	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Val ⁸ -Asn ⁹ -Val ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	141
N65	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	142
N66	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	143
N67	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	144
N68	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	145
N69	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	146
N70	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	147
N71	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	148
N72	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	149

N73	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	150
N74	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	151
N75	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	152
N76	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	153
N77	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	154
N78	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	155
N79	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	156
N80	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Leu ¹⁶	157
N81	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	158
N82	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	159
N83	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	160
N84	C4:C12,C7:C15	Glu ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	161
N85	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	162
N86	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	163
N87	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	164
N88	C4:C12,C7:C15	Asp ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	165
N89	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	166
N90	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	167
N91	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	168
N92	C4:C12,C7:C15	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	169
N93	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	170

N94	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	171
N95	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	172
N96	C4:C12,C7:C15	Lys ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	173

10

20

30

40

【 0 0 6 4 】

(表6) ウログアニリンおよびアナログ

名称	ジスルフィド 結合の位置	構造	SEQIDNO
式 XIX	4:12,7:15	Xaa ¹ -Xaa ² -Xaa ³ -Maa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Maa ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Maa ¹⁵	174
デアニン	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Phe ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	175
ヒト デアニン	C4:C12, C7:C15	Pro ¹ -Gly ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Tyr ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	252
N97	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	176
N98	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	177
N99	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	178
N100	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	179
N101	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	180
N102	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	181
N103	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	182
N104	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	183
N105	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	184
N106	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	185
N107	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	186
N108	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	187
N109	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	188
N110	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	189
N111	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	190
N112	C4:C12,C7:C15	Ser ¹ -His ² -Thr ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	191
N113	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	192
N114	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	193

10

20

30

40

N115	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	194
N116	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	195
N117	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	196
N118	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	197
N119	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	198
N120	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	199
N121	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	200
N122	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	201
N123	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	202
N124	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	203
N125	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	204
N126	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	205
N127	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Val ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	206
N128	C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ala ⁸ -Asn ⁹ -Ala ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Ala ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵	207

【 0 0 6 5 】

(表7) リンホグアニリンおよびアナログ

10

20

30

40

名称	ジスルフィド 結合の位置	構造	SEQID NO
式 XX	4:12	Xaa ¹ -Xaa ² -Xaa ³ -Maa ⁴ -Xaa ⁵ -Xaa ⁶ -Maa ⁷ -Xaa ⁸ -Xaa ⁹ -Xaa ¹⁰ -Xaa ¹¹ -Maa ¹² -Xaa ¹³ -Xaa ¹⁴ -Xaa ¹⁵	208
リンホグアエリン	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Leu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	209
N129	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	210
N130	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	211
N131	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	212
N132	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	213
N133	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	214

10

20

30

40

N134	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	215
N135	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	216
N136	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	217
N137	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	218
N138	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	219
N139	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	220
N140	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	221
N141	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	222
N142	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	223
N143	C4:C12	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	224
N144	C4:C12	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Tyr ¹⁵	225
N145	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	226
N146	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	227
N147	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	228
N148	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	229
N149	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	230
N150	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	231
N151	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	232
N152	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Glu ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	233
N153	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	234
N154	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	235
N155	C4:C12,C7	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	236

	:C15		
N156	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	237
N157	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Glu ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	238
N158	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Asp ² -Glu ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	239
N159	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Asp ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	240
N160	C4:C12,C7 :C15	Gln ¹ -Glu ² -Asp ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Ile ⁶ -Cys ⁷ -Ile ⁸ -Asn ⁹ -Met ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Ser ¹⁶	241

10

20

30

40

【 0 0 6 6 】

(表8) STペプチドおよびアナログ

名称	ジスルフィド結合の位置	構造	SEQIDNO
STペプチド	C9:C14,C10:C18,C13:C21	Asn ¹ -Ser ² -Ser ³ -Asn ⁴ -Ser ⁵ -Ser ⁶ -Asn ⁷ -Tyr ⁸ -Cys ⁹ -Cys ¹⁰ -Glu ¹¹ -Lys ¹² -Cys ¹³ -Cys ¹⁴ -Asn ¹⁵ -Pro ¹⁶ -Ala ¹⁷ -Cys ¹⁸ -Thr ¹⁹ -Gly ²⁰ -Cys ²¹ -Tyr ²²	242
N161	C3:C8,C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	243
N162	C3:C8,C4:C12,C7:C15	PEG3-Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	244
N163	C3:C8,C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Thr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶ -PEG3	245
N164	C3:C8,C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -Tyr ¹⁶	246
N165	C3:C8,C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	247
N166	C3:C8,C4:C12,C7:C15	Asn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	248
N167	C3:C8,C4:C12,C7:C15	dAsn ¹ -Phe ² -Cys ³ -Cys ⁴ -Glu ⁵ -Tyr ⁶ -Cys ⁷ -Cys ⁸ -Asn ⁹ -Pro ¹⁰ -Ala ¹¹ -Cys ¹² -Thr ¹³ -Gly ¹⁴ -Cys ¹⁵ -dTyr ¹⁶	249

【0067】

「から本質的になる」という用語には、列挙されている配列（表2～表8由来のいずれか1つ）と同一であるペプチド、および、構造または機能のいずれかに関して実質的に異なる他の配列が含まれる。本出願の目的で、ペプチドは、その構造が、表2～表8由来の

10

20

30

40

50

いずれか1つのペプチドから3アミノ酸より多く変動している場合、またはその細胞cGMP産生の活性化が、50%より多く低減または増強されている場合は、実質的に異なっている。好ましくは、実質的に類似しているペプチドでは、異なるのはせいぜい2アミノ酸であるべきであり、cGMP産生の活性化について異なるのは約25%以内であるべきである。

【0068】

GCRAペプチドに対する抗体との交叉反応性のおかげで単離され得る任意のGCRAペプチドも、「実質的に相同な」の意味の中に含まれる。

【0069】

GCRAペプチドの調製

GCRAペプチドは、最新のクローニング技術を用いて容易に調製されるか、または固相法もしくは部位特異的変異誘発によって合成し得る。GCRAペプチドには、ドミナントネガティブ型ポリペプチドが含まれ得る。

【0070】

化学合成は、一般に、水分子の脱離を伴う、1個のアミノ酸のアミノ基と別のアミノ酸のカルボキシル基との直接縮合によりペプチド結合が生じる、標準的な液相または固相ペプチド合成技術を用いて実施し得る。上記のように説明された直接縮合によるペプチド結合の合成は、第1アミノ酸のアミノ基および第2アミノ酸のカルボキシル基の反応性を抑制することを必要とする。マスキング置換基は、不安定なペプチド分子の分解を誘導することなく、即座に除去可能でなければならない。

【0071】

液相合成では、多種多様なカップリング法および保護基を使用し得る (Gross and Meienhofer, eds., "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology," Vol. 1-4 (Academic Press, 1979); Bodansky and Bodansky, "The Practice of Peptide Synthesis," 2d ed. (Springer Verlag, 1994)を参照)。加えて、中間精製および線形のスケールアップが可能である。当業者は、溶液合成には、主鎖保護基および側鎖保護基の配慮ならびに活性化法が必要であることを理解するであろう。加えて、セグメント縮合中のラセミ化を最小限にするために、慎重なセグメント選択が必要である。溶解性の考慮も一要因である。固相ペプチド合成は、有機合成中の支持体用に不溶性ポリマーを使用する。ポリマーに支持されたペプチド鎖は、中間段階での手の掛かる精製の代わりに、簡単な洗浄段階および濾過段階を用いることを可能とする。固相ペプチド合成は、概して、保護されたアミノ酸を使用して樹脂支持体上での線状ペプチド鎖の構築を含む、Merrifield et al., J. Am. Chem. Soc., 1963, 85:2149の方法により実施し得る。固相ペプチド合成は、典型的には、当技術分野において周知のBoc法またはFmoc法のいずれかを利用する。

【0072】

当業者は、固相合成において脱保護反応およびカップリング反応が完結しなければならず、側鎖ブロッキング基が合成を通して安定でなければならないと認識している。加えて、ペプチドを小規模に作ろうとする場合、固相合成が一般に最も適切である。

【0073】

N末端のアセチル化は、最終的なペプチドを無水酢酸と反応させ、その後樹脂から切断することによって果たすことができる。C-アミド化は、メチルベンズヒドリルアミン樹脂などの適切な樹脂を使用してBoc法を用いて達成される。

【0074】

あるいは、GCRAペプチドは、最新のクローニング技術によって産生される。例えば、GCRAペプチドは、非限定的に大腸菌を含む細菌またはポリペプチドもしくはタンパク質産生のための他の既存のシステム (例えば、枯草菌 (*Bacillus subtilis*)、ショウジョウバエ (*Drosophila*) Sf9細胞を使用するバキュロウイルス発現システム、酵母もしくは糸状菌発現システム、哺乳動物細胞発現システム) のいずれかで産生され、またはそれらのペプチドは、化学合成することができる。GCRAペプチドまたは変異型ペプチドを細菌、例えば、大腸菌において産生させようとするならば、ポリペプチドをコードする核酸分子は、細胞からの成熟ポリペプチドの分泌を可能にするリーダー配列もコードし得る。したがっ

て、ポリペプチドをコードする配列は、例えば、天然型細菌STポリペプチドのプレ配列およびプロ配列を含み得る。分泌された成熟ポリペプチドは、培地から精製することができる。

【0075】

本明細書に記載されているGCRAペプチドをコードする配列は、細菌細胞中に核酸分子を送達および維持することができるベクター内に挿入することができる。DNA分子は、自律複製ベクター内に挿入され得る（適切なベクターには、例えば、pGEM3ZおよびpcDNA3、ならびにそれらの誘導体が含まれる）。ベクター核酸は、細菌性DNAまたはバクテリオファージDNA（例えば、バクテリオファージλもしくはM13、およびそれらの誘導体）であってもよい。本明細書に記載されている核酸を含有するベクターの構築に続いて、細菌などの宿主細胞の形質転換を行うことができる。適切な細菌宿主には、非限定的に、大腸菌、枯草菌、シュドモナス（*Pseudomonas*）、サルモネラ（*Salmonella*）が含まれる。遺伝子構築物は、コード核酸分子に加えて、プロモーターおよび調節配列などの発現を可能にするエレメントも含む。発現ベクターは、転写開始を制御する、プロモーター、エンハンサー、オペレーター、およびリプレッサー配列などの転写制御配列を含有してもよい。

【0076】

多様な転写制御配列が当業者に周知である。発現ベクターは、翻訳調節配列も含むことができる（例えば、非翻訳5'配列、非翻訳3'配列、または配列内リボソーム進入部位）。ベクターは、自律複製能力をもつことができ、またはベクターは、ポリペプチド産生中の安定性を確保するために宿主DNA内に組み込むことができる。

【0077】

本明細書に記載されているGCRAペプチドを含むタンパク質をコードする配列は、精製を促進するために、ポリペプチドアフィニティータグ、例えば、グルタチオンS-トランスフェラーゼ（GST）、マルトースE結合タンパク質、プロテインA、FLAGタグ、ヘキサヒスチジン、mycタグ、またはインフルエンザHAタグをコードする核酸と融合させることもできる。アフィニティータグまたはレポーター融合体は、関心対象のポリペプチドのリーディングフレームを、アフィニティータグをコードする遺伝子のリーディングフレームに連結することにより、翻訳融合体が生成される。融合遺伝子の発現は、関心対象のポリペプチドおよびアフィニティータグの両方を含む単一のポリペプチドの翻訳を招く。アフィニティータグが利用されるいくつかの場合で、プロテアーゼ認識部位をコードするDNA配列が、アフィニティータグについてのリーディングフレームと関心対象のポリペプチドについてのリーディングフレームとの間に融合される。

【0078】

細菌以外のタンパク質発現システムにおける本明細書に記載されている未熟および成熟型のGCRAペプチドおよび変異体の産生に適切で当業者に周知の遺伝子構築物および方法も、生物学的システムでポリペプチドを産生させるために使用することができる。

【0079】

本明細書開示のペプチドは、体内での半減期の延長などの、ペプチドに所望の特性を付与する第2の分子を結合させることによって、例えば、PEG化によって、改変し得る。そのような改変も、本明細書で使用される場合、「変異体」という用語の範囲内に入る。

【0080】

「阻害する」または「阻害」または「低減する」は、GCRAペプチドが、タンパク質の活性および／または産生を、GCRAペプチドを伴わないタンパク質の活性および／または産生と比べて、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%、またはそれより多く減少させることを意味する。

【0081】

「誘導する」は、GCRAペプチドが、タンパク質の活性および／または産生を、GCRAペプ

チドを伴わないタンパク質の活性および／または産生と比べて、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、または少なくとも100%、またはそれより多く増大させることを意味する。

【0082】

「治療」または「治療する」という用語は、対象において症状を低減もしくは緩和すること、症状の悪化もしくは進行を予防すること、および／または疾患を有していない対象においてその疾患を予防することを表す。所与の対象について、症状の改善、悪化、後退、または進行は、任意の客観的または主観的な尺度によって判定され得る。治療の有効性は、罹患率または死亡率の改善（例えば、選択された集団についての生存曲線の延長）として測定され得る。したがって、有効な治療には、既存の疾患の治療、その進行を減速もしくは停止させることによる疾患の制御、疾患発生の予防、症状の数もしくは重症度の低減、またはそれらの組み合わせが含まれる。その効果は、1つまたは複数の統計学的に有意な基準を用いて、対照研究において示され得る。

【0083】

所与の疾患または障害に関する「予防」という用語は、何も起きていない場合に疾患発症の開始を予防すること、障害もしくは疾患に罹患しやすい可能性があるが、障害もしくは疾患を有するとまだ診断されていない対象において疾患もしくは障害の発生を予防すること、および／または、既に存在する場合にさらなる疾患／障害の発症を予防することを意味する。

【0084】

細胞内cGMPは、曝露すること、例えば、組織（例えば、胃腸組織；肺組織、食道組織）または細胞をGCRAアゴニストに接触させることによって産生される。誘導するは、GCRAペプチドまたは変異体と接触されていない組織または細胞と比較したcGMP産生の増加を意味する。組織または細胞は、GCRAペプチドまたは変異体と直接接触される。あるいは、GCRAペプチドまたは変異体は、全身投与される。GCRAペプチドまたは変異体は、細胞内cGMP濃度を増大させるのに十分な量で投与される。cGMP産生は、当技術分野において公知の細胞ベースのアッセイによって測定される（25）。

【0085】

障害は、治療的有效用量のGCRAペプチドを、対象、例えば、必要とするヒトなどの哺乳動物に投与することによって、治療、予防、または緩和される。GCRAペプチドは、1種または複数種の薬学的に許容される賦形剤と一緒に、薬学的組成物の単位剤形中に入れられ得る。「単位剤形」という用語は、単一の薬物送達実体、例えば、錠剤、カプセル剤、液剤、または吸入製剤を表す。存在するペプチドの量は、患者に投与された際に、プラスの治療効果を有するのに十分であるべきである（典型的には、10 µg~3gの間）。「プラスの治療効果」を構成するものは、治療される特定の状態に依存し、当業者に容易に認識される状態における任意の有意な改善を含むことになる。

【0086】

GCRAペプチドは、単独で、またはオピオイドとの組み合わせで投与することができる。鎮痛に有用なオピオイドは、当技術分野において公知である。例えば、オピオイド化合物には、アルフェンタニル、アニレリジン、アシマドリン、ブレマゾシン、ブプレノルフィン、ブトルファノール、コデイン、デゾシン、ジアセチルモルフィン（ヘロイン）、ジヒドロコデイン、ジフェノキシラート、エチルモルフィン、フェドトジン、フェンタニル、フナルトレキサミン、ヒドロコドン、ヒドロモルホン、レバロルフアン、レボメタジルアセタート、レボルファノール、ロペラミド、メペリジン（ペチジン）、メタドン、モルフィン、モルフィン-6-グルクロニド、ナルブフィン、ナロルフィン、ニコモルフィン、オピウム、オキシコドン、オキシモルホン、パパベレツルン、ペンタゾシン、プロピラム、プロボキシフェン、レミフェンタニル、スフェンタニル、チリジン、トリメブチン、およ

10

20

30

40

50

びトラマドールが含まれるが、これらに限定されない。いくつかの態様では、オピオイドは、アルフェンタニル、ブプレノルフィン、ブトルファノール、コデイン、デゾシン、ジヒドロコデイン、フェンタニル、ヒドロコドン、ヒドロモルホン、レボルファノール、メペリジン（ペチジン）、メタドン、モルフィン、ナルブフィン、ニコモルフィン、オキシコドン、オキシモルホン、パパベレツルン、ペンタゾシン、プロピラム、プロボキシフェン、スフェンタニル、および／またはトラマドールから選択される少なくとも1種のオピオイドである。本発明の特定の態様では、オピオイドは、モルフィン、コデイン、オキシコドン、ヒドロコドン、ジヒドロコデイン、プロボキシフェン、フェンタニル、トラマドール、およびそれらの混合物から選択される。特定の態様では、オピオイドはロペラミドである。他の態様では、オピオイドは、ブトルファノールなどの混合アゴニストである。いくつかの態様では、対象は、複数種のオピオイド、例えば、モルフィンおよびヘロイン、またはメタドンおよびヘロインを投与される。

10

【0087】

GCRAペプチドは、単独で、または別の治療剤、例えば、オピオイド誘発性機能障害の症状を治療、予防、または改善するものとの組み合わせで投与することができる。例示的な治療剤には、経口下剤（例えば、軟化剤またはぜん動誘導剤）、坐剤、浣腸剤、オピオイドアンタゴニスト（例えば、ナロキソン、ナルメフェン、メチルナルトレキソン）、ポリエチレングリコール、末梢μオピオイド受容体を選択的に標的とする薬物（例えば、メチルナルトレキソン、アルビモバン）、2型クロライドチャネルアクチベーター（例えば、ルビプロストン）、ドーパミン受容体アンタゴニスト（例えば、メトクロプラミド）、非オピオイド、5-ヒドロキシトリプタミン（セロトニン、5HT）受容体リガンド、アンパカイン、N-メチル-D-アスパラギン酸受容体阻害剤、AMPA受容体モジュレーター、タペンタドール、NKTR-118、TD-1211、および／またはミクログリア阻害剤（例えば、ミノサイクリン）が含まれるが、これらに限定されない。

20

【0088】

「併用療法」という用語は、2種以上の活性剤を同時にまたは順次に投与することを意味する。同時投与は、2種以上の活性剤が混合されている製剤によって、または個別に製剤化された2種以上の活性剤の同時投与によって達成され得る。2種以上の活性剤の順次投与は、個別に製剤化された2種以上の活性剤が、ある薬剤が最初に投与された後に、第1の薬剤から数秒、数分、数時間または数日後に第2の薬剤が投与されるよう順次投与されることによって達成され得る。

30

【0089】

併用療法は、2種以上の薬剤、例えば、本明細書に記載されているGCRAペプチドまたは本明細書に記載されている組成物および別の化合物を投与することによって（それぞれ別々に製剤化および投与される）、または2種以上の薬剤を単一の製剤として投与することによって達成することができる。他の組み合わせも併用療法に包含される。例えば、2種の薬剤と一緒に製剤化し、第3の薬剤を含有する別の製剤と共に投与することができる。併用療法で2種以上の薬剤を同時に投与することができるものの、必ずしもそうである必要はない。例えば、第1の薬剤（または薬剤の組み合わせ）の投与を、第2の薬剤（または薬剤の組み合わせ）の投与の数分、数時間、数日、または数週間前に実施することができる。したがって、2種以上の薬剤は、互いに数分以内、または互いに1、2、3、6、9、12、15、18、もしくは24時間以内、または互いに1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14日以内、または互いに2、3、4、5、6、7、8、9、もしくは10週間以内に投与されることができる。場合によっては、より長い間隔でさえ可能である。多くの場合に、併用療法に使用される2種以上の薬剤が、患者の体内に同時に存在することが望ましいものの、これは必ずしもその必要はない。

40

【0090】

標的組織または器官におけるcGMPのレベルをさらに増大させるために、本明細書に記載されているGCRAペプチドは、ホスホジエステラーゼ阻害剤、例えば、スルホン化スリンダク、ザプリナスト、シルденаフィル、バルденаフィルまたはタダラフィルと組み合わせられ

50

得る。

【0091】

併用療法は、組み合わせて使用される1種または複数種の薬剤の2回以上の投与も含み得る。例えば、薬剤Xおよび薬剤Yを組み合わせて使用する場合、それらを任意の組み合わせで順次に1回または複数回、例えば、X-Y-X、X-X-Y、Y-X-Y、Y-Y-X、X-X-Y-Yなどの順序で投与することもできる。

【0092】

併用療法は、異なる経路または部位を介して2種以上の薬剤を投与することを含むこともできる。例えば、(a) 1種の薬剤が経口投与され、別の薬剤は静脈内投与され、または (b) 1種の薬剤が経口投与され、別の薬剤は局所投与される。それぞれの場合に、薬剤は、同時または順次のいずれかであることができる。本明細書に記載されている併用療法薬剤のいくつかについてのおおよその投与量は、W001/76632の11～17頁にある表の「BNF推奨用量 (BNF Recommended Dose)」の列に見出され (表中のデータは、2000年3月のイギリス国民医薬品集 (British National Formulary) に属する)、他の標準的な処方集および他の薬物処方指導書にも見出すことができる。いくつかの薬物については、ある適応に対する慣例的な処方用量は、国によっていくらか異なる。

【0093】

GCRAペプチドは、単独または組み合わせて任意の薬学的に許容される担体または媒体と組み合わせることができる。したがって、それらは、患者に投与されたときに、有害反応、アレルギー反応、または別の望まれない反応を生じない物質と組み合わせることができる。使用される担体または媒体は、溶媒、分散剤、コーティング剤、吸収促進剤、制御放出剤、および1種または複数種の不活性な賦形剤 (これらには、デンプン、ポリオール、造粒剤、微結晶セルロース (例えば、Celphere、Celphereビーズ (登録商標))、希釈剤、滑沢剤、結合剤、崩壊剤などが含まれる) などを含むことができる。所望であれば、開示された組成物の錠剤の投与量は、標準的な水性技術または非水技術によってコーティングすることができる。

【0094】

本発明の薬学的組成物は、目的の投与経路と適合性であるように製剤化される。投与経路の例には、非経口、例えば、静脈内、皮内、皮下、経口 (例えば、吸入)、経皮的 (局所的)、経粘膜的、および直腸投与が含まれる。非経口、皮内、または皮下適用のために使用される溶液または懸濁液は、以下の構成成分を含むことができる: 滅菌された希釈剤 (例えば、注射用水、食塩水溶液、固定油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、または他の合成溶媒); 抗菌剤 (例えば、ベンジルアルコールまたはメチルパラベン); 酸化防止剤 (例えば、アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウム); キレート剤 (例えば、エチレンジアミン四酢酸); 緩衝剤 (例えば、酢酸塩、クエン酸塩、またはリン酸塩); および張度調整剤 (例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロース)。pHは、塩酸または水酸化ナトリウムなどの酸または塩基を用いて調整することができる。非経口製剤は、ガラスまたはプラスチックで作られたアンプル、使い捨てシリンジ、または複数回用バイアルの中に封入することができる。

【0095】

注射可能な用途に適した薬学的組成物には、無菌水溶液 (水溶性の場合) または無菌注射用溶液または分散液を即時調製するための分散液および無菌粉末が含まれる。静脈内投与に適した担体には、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL (商標) (BASF, Parsippany, N.J.)、またはリン酸緩衝食塩水 (PBS) が含まれる。全ての場合において、本組成物は無菌でなければならないし、シリンジ通過が容易な程度に流動性であるべきである。本組成物は、製造および貯蔵の条件下で安定でなければならないし、細菌および真菌などの微生物の汚染作用から保護されなければならない。担体は、例えば、水、エタノール、ポリオール (例えば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコールなど)、およびそれらの適当な混合物を含有する溶媒または分散媒であることができる。適正な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングを使用することによって、分

10

20

30

40

50

散液の場合は必要な粒径を維持することによって、および界面活性剤を使用することによって、維持することができる。微生物の作用を防止することは、様々な抗細菌剤および抗真菌剤、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどによって達成することができる。多くの場合において、本組成物中に、等張剤、例えば、糖、多価アルコール（例えば、マンニトール、ソルビトール）、塩化ナトリウムを含めることが好ましい。注射用組成物の吸収延長は、本組成物中に、吸収を遅らせる薬剤、例えば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを含めることによってもたすことができる。

【0096】

無菌注射液は、必要な量の活性化合物（例えば、GCRAアゴニスト）を、必要に応じて、上に列挙した成分の1種または組み合わせと共に適切な溶媒中で混合した後、濾過滅菌することによって調製することができる。一般に、分散物は、基本分散媒および上に列挙した成分のうちの必要な他の成分を含有する無菌ビヒクル中に活性化合物を混合することによって調製される。無菌注射液調製用の無菌粉末の場合、調製方法は真空乾燥および凍結乾燥であり、それによって、活性成分および任意の追加の所望の成分の粉末が、それらの予め濾過滅菌された溶液から得られる。

【0097】

経口組成物は、一般に、不活性希釈剤または食用担体を含む。例えば、マンニトール、フラクトオリゴ糖、ポリエチレングリコール、および他の賦形剤。それらは、ゼラチンカプセル内に封入することができ、または錠剤に圧縮することができる。経口治療投与のために、活性化合物を、賦形剤と混合し、錠剤、トローチ剤、またはカプセルの形態で使用する。経口組成物は、うがい薬として使用するために液体担体を用いて調製することもでき、該液体担体中の化合物を経口適用し、口をすすぎ、喀出または嚥下する。薬学的に適合性の結合剤および／または佐剤材料は、組成物の一部として含まれることができる。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチ剤などは、以下の成分のいずれかまたは類似の性質の化合物を含有することができる：結合剤（例えば、微結晶セルロース、トラガカントゴム、またはゼラチン）；賦形剤（例えば、デンプンまたはラクトース）、崩壊剤（例えば、アルギン酸、Primogel、またはトウモロコシデンプン）；滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウムまたはSterotes）；流動促進剤（例えば、コロイド状二酸化ケイ素）；甘味剤（例えば、スクロースまたはサッカリン）；または香料（例えば、ペパーミント、サリチル酸メチル、またはオレンジ香料）。

【0098】

吸入による投与の場合、化合物は、エアロゾルスプレーの形態で、適切な高圧ガス（例えば、二酸化炭素またはネプライザーなどのガス）を含有する加圧された容器（コンテナ）またはディスペンサーから送達される。

【0099】

全身投与もまた、経粘膜的または経皮的な手段によることができる。経粘膜的投与または経皮的投与の場合、透過されるべき障壁に適した浸透剤を製剤中に用いる。そのような浸透剤は、通常、当該分野で公知であり、それらには、例えば、経粘膜投与のために、界面活性剤、胆汁酸塩、およびフシジン酸誘導体が含まれる。経粘膜投与は、スプレー式点鼻薬または坐剤を使用することによって達成され得る。経皮投与の場合、活性化合物は、一般に当該技術分野で公知のような軟膏、膏薬、ゲル、またはクリームに製剤化される。

【0100】

化合物は、直腸送達のために坐剤（例えば、カカオ脂および他のグリセリドなどの従来の坐剤基剤を用いて）または停留浣腸の形態でも調製することができる。

【0101】

一態様では、活性化合物は、身体の急速な排出から化合物を保護する、インプラントおよびマイクロカプセル化送達系を含む放出制御製剤などの担体を用いて調製される。エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸などの、生分解性で生体適合性のポリマーを使用することができる。そのよ

10

20

30

40

50

うな製剤を調製するための方法は、当業者に明らかであろう。これらの材料は、Alza CorporationおよびNova Pharmaceuticals, Inc.からも商業的に入手することもできる。リポソーム懸濁物（ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体を用いて感染細胞にターゲティングされたりリポソームを含む）もまた、薬学的に許容される担体として使用することができる。これらは、例えば、参照により完全に本明細書に組み入れられる米国特許第4,522,811号に記載されているような、当業者に公知の方法により調製することができる。

【0102】

投与を簡便にするため、および投与量を均一にするために、経口組成物または非経口組成物を単位剤形で製剤化することが、特に有利である。本明細書で使用される場合、単位剤形は、処置されるべき対象に対する単位投与量として適した、物理的に別個の単位を表し、各単位は、必要な薬学的担体と関連して所望の治療効果をもたらすと計算された所定量の活性化合物を含有する。本発明の単位剤形に関する詳細は、活性化合物の固有の特徴および達成されるべき特定の治療効果によって決定づけられ、それらに直接依存する。

【0103】

薬学的組成物は、投与のための説明書と共に、容器、パック、またはディスペンサー内に包含されることができる。

【0104】

本発明の組成物は、任意で、他の治療成分、固結防止剤、保存剤、甘味剤、着色剤、香料、乾燥剤、可塑剤、色素、流動促進剤、付着防止剤、帯電防止剤、界面活性剤（湿潤剤）、酸化防止剤、フィルムコーティング剤なども含み得る。いかなるそのような任意の成分も、製剤の安定性を保証するために本明細書に記載されている化合物と適合性でなければならない。

【0105】

組成物は、必要に応じて、例えば、ラクトース、グルコース、フルクトース、ガラクトース、トレハロース、スクロース、マルトース、ラフィノース、マルチトール、メレジトース、スタキオース、ラクチトール、バラチニット、デンプン、キシリトール、マンニトール、ミオイノシトールなど、およびそれらの水和物、ならびにアミノ酸（例えば、アラニン、グリシン、およびベタイン）、ならびにポリペプチドおよびタンパク質（例えば、アルブミン）を含む、他の添加物を含有してもよい。

【0106】

薬学的に許容される担体および薬学的に許容される不活性担体および上記のさらなる成分として用いるための賦形剤の例には、非限定的に、結合剤、充填剤、崩壊剤、滑沢剤、抗菌剤、およびコーティング剤が含まれ、例えば、以下が含まれる：結合剤：トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、他のデンプン、ゼラチン、天然および合成ガム、例えば、アカシア、キサントラン、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸、他のアルギネート、粉末トラガカント、グアーガム、セルロースおよびその誘導体（例えば、エチルセルロース、酢酸セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム）、ポリビニルピロリドン（例えば、ポビドン、クロスポビドン、コポビドンなど）、メチルセルロース、Methocel、アルファ化デンプン（例えば、Colorcon, Ltd 販売の STARCH 1500（登録商標）および STARCH 1500LM（登録商標））、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、微結晶セルロース（FMC Corporation, Marcus Hook, PA, USA）、またはそれらの混合物；充填剤：タルク、炭酸カルシウム（例えば、顆粒または粉末）、リン酸水素カルシウム、第三リン酸カルシウム、硫酸カルシウム（例えば、顆粒または粉末）、微結晶セルロース、粉末セルロース、デキストレート、カオリン、マンニトール、ケイ酸、ソルビトール、デンプン、アルファ化デンプン、デキストロース、フルクトース、ハチミツ、無水ラクトース、ラクトース一水和物、ラクトースおよびアスパルテーム、ラクトースおよびセルロース、ラクトースおよび微結晶セルロース、マルトデキストリン、マルトース、マンニトール、微結晶セルロースおよびグアーガム、糖蜜、スクロース、またはそれらの混合物；崩壊剤：寒天、アルギン酸、炭酸カルシウム、微結晶セルロース、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン、ポラクリリンカリウム、デンプング

リコール酸ナトリウム、バレイショもしくはタピオカデンプン、他のデンプン、アルファ化デンプン、粘土、他のアルギン、他のセルロース、ガム（ジェランのような）、低置換ヒドロキシプロピルセルロース、またはそれらの混合物；滑沢剤：ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、鉱油、軽油、グリセリン、ソルビトール、マンニトール、ポリエチレングリコール、他のグリコール、ステアリン酸、ラウリル硫酸ナトリウム、フマル酸ステアリルナトリウム、植物系脂肪酸滑沢剤、タルク、水素添加植物油（例えば、ラッカセイ油、綿実油、サンフラワー油、ゴマ油、オリーブ油、トウモロコシ油およびダイズ油）、ステアリン酸亜鉛、オレイン酸エチル、ラウリン酸エチル、寒天、Syloidシリカゲル（AEROSIL 200, W.R. Grace Co., Baltimore, MD USA）、合成シリカの凝固性エアロゾル（Deaussa Co., Piano, TX USA）、発熱性二酸化ケイ素（CAB-O-SIL, Cabot Co., Boston, MA USA）、またはそれらの混合物；固結防止剤：ケイ酸カルシウム、ケイ酸マグネシウム、二酸化ケイ素、コロイド状二酸化ケイ素、タルク、またはそれらの混合物；抗菌剤：ベンザルコニウム塩化物、ベンゼトニウム塩化物、安息香酸、ベンジルアルコール、ブチルパラベン、塩化セチルピリジニウム、クレゾール、クロロブタノール、デヒドロ酢酸、エチルパラベン、メチルパラベン、フェノール、フェニルエチルアルコール、フェノキシエタノール、酢酸フェニル水銀、硝酸フェニル水銀、ソルビン酸カリウム、プロピルパラベン、安息香酸ナトリウム、デヒドロ酢酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、ソルビン酸、チメロサル、チモ（thymo）、またはそれらの混合物；ならびにコーティング剤：カルボキシメチルセルロースナトリウム、セルロースアセテートフタレート、エチルセルロース、ゼラチン、医薬用グレーズ、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース（ヒプロメロース）、ヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、メチルセルロース、ポリエチレングリコール、ポリビニルアセテートフタレート、シェラック、スクロース、二酸化チタン、カルナウバロウ、マイクロクリスタリンワックス、ジェランガム、マルトデキストリン、メタクリレート、微結晶セルロースおよびカラギーナン、またはそれらの混合物。

【0107】

製剤には、また、非限定的に、L-ヒスチジン、Pluronic（登録商標）、ポロキサマー（例えば、Lutrol（登録商標）およびポロキサマー188）、アスコルビン酸、グルタチオン、透過性亢進剤（例えば、脂質、コール酸ナトリウム、アシルカルニチン、サリチラート、胆汁酸塩混合系、脂肪酸ミセル、キレート剤、脂肪酸、サーファクタント、中鎖グリセリド）、プロテアーゼ阻害剤（例えば、ダイズトリプシン阻害剤、有機酸）、pH低下剤、ならびにバイオアベイラビリティの促進に有効な吸収促進剤（US6086918 およびUS5912014に記載されているものを非限定的に含む）、クリームおよびローション（マルトデキストリンおよびカラギーナンのような）；咀嚼錠用の材料（デキストロース、フルクトース、ラクトース一水和物、ラクトースおよびアスパルテム、ラクトースおよびセルロース、マルトデキストリン、マルトース、マンニトール、微結晶セルロースおよびグアーガム、ソルビトール結晶のような）；非経口剤（マンニトールおよびポビドンのような）；可塑剤（セバシン酸ジブチル、コーティング用可塑剤、ポリビニルアセテートフタレートのような）；粉末滑沢剤（ベヘン酸グリセリンのような）；ゼラチン軟カプセル（ソルビトール特殊溶液のような）；コーティング用球状物（白糖球状顆粒のような）；球形化剤（ベヘン酸グリセリンおよび微結晶セルロースのような）；懸濁化/ゲル化剤（カラギーナン、ジェランガム、マンニトール、微結晶セルロース、ポビドン、デンプングリコール酸ナトリウム、キサンタンガムのような）；甘味剤（アスパルテム、アスパルテムおよびラクトース、デキストロース、フルクトース、ハチミツ、マルトデキストリン、マルトース、マンニトール、糖蜜、ソルビトール結晶、ソルビトール特殊溶液、スクロースのような）；湿式造粒剤（炭酸カルシウム、無水ラクトース、ラクトース一水和物、マルトデキストリン、マンニトール、微結晶セルロース、ポビドン、デンプンのような）、カラメル、カルボキシメチルセルロースナトリウム、チェリークリーム香料およびチェリー香料、無水クエン酸、クエン酸、製菓用砂糖、D&CレッドNo.33、D&CイエローNo.10アルミニウムレーキ、エデト酸二ナトリウム、エチルアルコール15%、FD&CイエローNo.6アルミニウ

10

20

30

40

50

ムレーキ、FD&CブルーNo.1アルミニウムレーキ、FD&CブルーNo.1、FD&Cブルーno.2アルミニウムレーキ、FD&CグリーンNo.3、FD&CレッドNo.40、FD&CイエローNo.6アルミニウムレーキ、FD&CイエローNo.6、FD&CイエローNo.10、パルミトステアリン酸グリセロール、モノステアリン酸グリセリン、インジゴカルミン、レシチン、マンニトール、メチルパラベンおよびプロピルパラベン、グリチルリチン酸モノアンモニウム、天然および人工オレンジ香料、医薬用グレーズ、ポロキサマー188、ポリデキストロース、ポリソルベート20、ポリソルベート80、ポリビドン、アルファ化トウモロコシデンブン、アルファ化デンブン、赤色酸化鉄、サッカリンナトリウム、カルボキシメチルエーテルナトリウム、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、リン酸ナトリウム、イチゴ香料、合成黒色酸化鉄、合成赤色酸化鉄、二酸化チタン、および白ロウを含む他の賦形剤およびその部類を含むことができる。

10

【0108】

固形経口剤は、任意で、コーティングシステム（例えば、Opadry（登録商標）fxフィルムコーティングシステム、例えば、Opadry（登録商標）青色（OY-LS-20921）、Opadry（登録商標）白色（YS-2-7063）、Opadry（登録商標）白色（YS-1-7040）、および黒色インキ（S-1-8106））で処理してもよい。

【0109】

これらの薬剤は、遊離形態または塩としてのいずれかで、ポリ乳酸-グリコール酸（PLGA）、ポリ-（I）-乳酸-グリコール酸-酒石酸（P(I)LGT）（W001/12233）、ポリグリコール酸（US3,773,919）、ポリ乳酸（US4,767,628）、ポリ-ε-カプロラクトン、およびポリアルキレンオキシド（US20030068384）などのポリマーと組み合わせて徐放製剤を作ることができる。このような製剤は、ポリマー、ポリマーの粒子サイズ、およびインプラントのサイズに依存して数日間、数週間、または数ヶ月にわたってポリペプチドまたは別の作用物質を放出するインプラントに使用することができる（例えば、U.S. 6,620,422を参照）。使用するための他の徐放製剤およびポリマーは、EP0467389A2、W093/24150、US5,612,052、W097/40085、W003/075887、W001/01964A2、US5,922,356、W094/155587、W002/074247A2、W098/25642、US5,968,895、US6,180,608、US20030171296、US20020176841、US5,672,659、US5,893,985、US5,134,122、US5,192,741、US5,192,741、US4,668,506、US4,713,244、US5,445,832 US4,931,279、US5,980,945、W002/058672、W097/26015、W097/04744、およびUS20020019446に記載されている。そのような徐放製剤では、ポリペプチドのミクロパーティクル（Delie and Blanco-Prieto 2005 Molecule 10:65-80）が、ポリマーのミクロパーティクルと組み合わされる。1つまたは複数の徐放性インプラントは、大腸、小腸、またはその両方に置くことができる。US6,011,010およびW094/06452は、ポリエチレングリコール（すなわちPEG300およびPEG400）またはトリアセチンのいずれかを提供し、徐放製剤を記載している。W003/053401は、バイオアベイラビリティを高めるのみならず、GI管内での薬剤の制御放出を提供し得る製剤を記載している。追加的な制御放出製剤は、W002/38129、EP326151、US5,236,704、W002/30398、W098/13029；US20030064105、US20030138488A1、US20030216307A1、US6,667,060、W001/49249、W001/49311、W001/49249、W001/49311、およびUS5,877,224に記載されている。W004041195に記載されたものを含み得る材料（本明細書に記載されているシールおよび腸溶コーティングを含む）ならびにUS4,910,021およびW09001329に記載されたものを含む、結腸中への送達を達成するpH感受性コーティング。US4910021は、カプセルをコーティングするためにpH感受性材料を使用することを記載している。W09001329は、酸含有ビーズ上にpH感受性コーティングを用いることを記載しており、その際、ビーズコア中の酸がpH感受性コーティングの溶解を延長する。米国特許第5,175,003号は、薬物送達システムで使用するためのpH感受性腸溶材料および腸溶材料に透過性を付与できるフィルム形成性可塑剤から構成された二重メカニズムポリマー混合物；薬物透過性で、時には薬学的に中性の核を覆う二重メカニズムポリマー混合物から構成されるマトリックスペレット；同じまたは異なる組成の二重メカニズムポリマー混合物のエンベロープでコーティングされたマトリックスペレットを含む、膜でコーティングされたペレット；ならびにマトリックスペレットを含有する薬学的剤形を開

20

30

40

50

示している。マトリックスペレットは、酸性pHでの拡散により、および名目上は約5.0以上のpHレベルでの崩壊により、酸可溶性薬物を放出する。

【0110】

いくつかの態様では、本明細書に記載されている組成物は、pH依存性放出形態で製剤化される。あるいは、そのような組成物は、当該ペプチドを胃腸（GI）管（例えば、十二指腸、空腸、回腸、回腸終末部、または上行結腸）の特定領域で放出する形態に製剤化される。当該製剤は、組成物でコーティングされた不活性担体と、当該ペプチドを特定pH（例えば、pH5またはpH7）で放出する腸溶コーティングとを含有し得る。十二指腸または空腸での放出のために好ましいpHは、pH4.5～5.5またはpH5.5～6.5である。回腸、回腸終末部、または上行結腸での放出のために好ましいpHは、pH5.5～6.5またはpH6.5～7.5である。好ましくは、不活性担体は、マンニトール、ラクトース、微結晶セルロース、またはデンプンより選択される。

10

【0111】

本明細書に記載されているGCRAペプチドは、W004052339に記載された、pHによってトリガーされる標的化制御放出システムに製剤化され得る。本明細書に記載されている薬剤は、W003105812（水和可能押出ポリマー）；W00243767（酵素切断可能な膜トランスロケーター）；W003007913およびW003086297（粘膜付着性システム）；W002072075（pH低下剤および吸収促進剤を含む二層積層製剤）；W004064769（アミド化ポリペプチド）；W005063156（融解時にシュードトロピー（pseudotropic）および／またはチキソトロピー（thixotropic）特性を有する固形脂質懸濁物）；W003035029およびW003035041（侵食性の胃内滞留性剤形）；US5007790およびUS5972389（徐放剤形）；W004112711（経口延長放出組成物）；W005027878、W002072033、およびW002072034（天然または合成ガムを有する遅延放出組成物）；W005030182（放出速度が漸増する制御放出製剤）；W005048998（マイクロカプセル化システム）；米国特許第5,952,314号（バイオポリマー）；US5,108,758（ガラス状アミロースマトリックスの送達）；US5,840,860（加工デンプンベースの送達）；JP10324642（キトサンおよびコムギグリアジンまたはゼインなどの胃耐性材料を含む送達システム）；US5,866,619およびUS6,368,629（糖類含有ポリマー）；US6,531,152（水溶性コア（ペクチン酸Caまたは他の水不溶性ポリマー）および破裂する外側コート（例えば、疎水性ポリマーであるオイドラギット）を含有する薬物送達システムを記載している）；US6,234,464；US6,403,130（カゼインおよび高メトキシペクチンを含有するポリマーを用いたコーティング）；W00174175（メイラード反応生成物）；W005063206（溶解性増強製剤）；W004019872（トランスフェリン融合タンパク質）のいずれかに記載された方法論により製剤化され得る。

20

30

【0112】

制御放出製剤

一態様では、GCCアゴニスト製剤は、GCCアゴニストの制御（時間依存性）放出を提供するターゲティング材料を含む。これに関連する制御放出には、遅延徐放、遅延制御放出、遅延低速放出、遅延持続放出、遅延長時間放出、および突発的放出すなわち「バースト」が含まれる。

【0113】

好ましくは、制御放出製剤は、ターゲティング材料に囲まれたGCCアゴニストを含む、低速崩壊性コアを含む。ターゲティング材料は、好ましくは、少なくとも1種の膨潤性ポリマーを含む。本発明の制御放出製剤中に使用するための膨潤性ポリマーの非限定的な例には、アクリルコポリマー、例えば、EUDRAGIT RL、EUDRAGIT RS、またはEUDRAGIT NE；ポリ酢酸ビニル、例えば、KOLLICOAT SR 30D；ならびにセルロース誘導体、例えば、エチルセルロースまたは酢酸セルロース、例えば、SURELEASEおよびAQUACOAT ECDが含まれる。好ましい一態様では、ターゲティング材料は、pH非依存性膨潤によるGCCアゴニストの制御時間放出を提供するために、EUDRAGIT RL、EUDRAGIT RS、またはEUDRAGIT NEのうちの1種または複数種を含む。特定の一態様では、ターゲティング材料は、EUDRAGIT RL：RS（2：8）を含み、外側コーティングは、EUDRAGIT FSを含む。

40

50

【0114】

本発明の徐放製剤中に使用することができる膨潤性ポリマーのさらなる非限定的な例には、分子量30,000~5,000,000を有するポリ（ヒドロキシアルキルメタクリレート）；κ-カラギーナン；分子量10,000~360,000を有するポリビニルピロリドン；陰イオン性および陽イオン性ヒドロゲル；高分子電解質複合体；少量のアセテートを有し、グリオキサール、ホルムアルデヒド、またはグルタルアルデヒドで架橋され、かつ200~30,000の重合度を有するポリビニルアルコール；メチルセルロース、架橋寒天およびカルボキシメチルセルロースを含む混合物；スチレン、エチレン、プロピレン、ブチレン、またはイソブチレンと共に微粉化無水マレイン酸の分散物を形成することによって産生される水不溶性水膨潤性コポリマー；N-ビニルラクタムの水膨潤性ポリマー；多糖、水膨潤性ガム、高粘度ヒドロキシルイソプロピルメチルセルロース、および／またはそれらの混合物が含まれる。特定の態様では、膨潤性ポリマーは、ペクチン酸カルシウム、架橋多糖、水不溶性デンプン、微結晶セルロース、水不溶性架橋ペプチド、水不溶性架橋タンパク質、水不溶性架橋ゼラチン、水不溶性架橋加水分解ゼラチン、水不溶性架橋コラーゲン、変性セルロース、および架橋ポリアクリル酸からなる群より選択される。架橋多糖の非限定的な例には、アルギネート、ペクチン、キサンタンガム、グアーガム、トラガカントガム、およびローカストビーンガムの不溶性金属塩または架橋誘導体、カラギーナン、その金属塩、およびその共有結合性架橋誘導体が含まれる。変性セルロースの非限定的な例には、ヒドロキシプロピルセルロースの架橋誘導体、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、およびカルボキシメチルセルロースの金属塩が含まれる。

【0115】

特定の態様では、膨潤性コアは、また、二酸化ケイ素などのウィックキング剤を含む。ウィックキング剤は、水取り込み速度を高めるために微結晶セルロースなどの崩壊剤より選択されることもできる。他の適切なウィックキング剤には、非限定的に、カオリン、二酸化チタン、ヒュームド二酸化ケイ素、アルミナ、ナイアシンアミド、ラウリル硫酸ナトリウム、低分子量ポリビニルピロリドン、m-ピロール、ベントナイト、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、ポリエステル、ポリエチレン、およびそれらの混合物が含まれる。

【0116】

特定の態様では、コアの一部を構成しかつ／またはコアをコーティングしている1つまたは複数の層を形成し得るターゲティング材料は、任意でさらに、滑沢剤、流動促進剤、可塑剤、固着防止剤、界面活性剤、湿潤剤、懸濁化剤、および分散剤のうちの少なくとも1つを含む。

【0117】

特定の態様では、ターゲティング材料は、水不溶性ポリマーおよび細孔形成剤を含む。細孔形成剤の非限定的な例には、サッカロース、塩化ナトリウム、塩化カリウム、ポリビニルピロリドン、および／またはポリエチレングリコール、水溶性有機酸、糖、および糖アルコールが含まれる。特定の態様では、細孔形成剤は、外層またはコーティングの一部を形成する。他の態様では、細孔形成剤は、水不溶性ポリマー全体に亘り均一に分布する。

【0118】

一態様では、ターゲティング材料は、圧縮コーティングを含む。圧縮コーティングとして使用されることができる材料の非限定的な例には、キサンタンガム、ローカストビーンガム、ガラクトン、マンナン、アルギネート、カラヤガム、ペクチン、寒天、トラガカント、アカシア（accacia）、カラギーナン、トラガカント、キトサン、寒天、アルギン酸、親水コロイド性アセンヤクノキ（acacia catechu）、サライグッガル（salai guggal）、インディアンボデラム（indian bodellum）、コバイバガム（copaiba gum）、アギ（asafetida）、カンビガム（cambi gum）、グアナカステ（Enterolobium cyclocarpum）、マスチックガム、ベンゾインガム、サンダラック、がんビールガム、ハナモツヤクノキ（bu tea frondosa）（フレイムオブフォレスト（Flame of Forest）ガム）、ミルラ、コンニ

ャクマンナン、グアーガム、ウェランガム、ジェランガム、タラガム、ローカストビーン
 ガム、カラギーナンガム、グルコマンナン、ガラクトンガム、アルギン酸ナトリウム、ト
 ラガカント、キトサン、キサンタンガム、脱アセチル化キサンタンガム、ペクチン、ポリ
 ペクチン酸ナトリウム、グルテン、カラヤガム、タマリンドガム、ガティガム、アッカロ
 イド/ヤッカ/レッド (Accaroid/Yacca/Red) ガム、ダンマルガム、ジュニパーガム、エス
 テルガム、ギンネム種子ガム、タルハガム (gum talha) (アカシアセヤル (acacia seya
 l))、ならびに以下の属：アカシア属、マタタビ属 (actinidia)、アプテニア属 (apte
 nia)、カルボプロツス属 (carbobrotus)、チコリウム属 (chickorium)、キュウリ属 (cucumis)、
 ダイズ属 (glycine)、フヨウ属 (hibiscus)、オオムギ属 (hordeum)、ア
 キノノゲシ属 (letuca)、トマト属 (lycopersicon)、リンゴ属 (malus)、ウマゴヤシ
 属 (medicago)、メセンブリアンテマム属 (mesembryanthemum)、イネ属 (oryza)、キ
 ビ属 (panicum)、クサヨシ属 (phalaris)、アワガエリ属 (phleum)、ゲッカコウ属 (p
 oliathus)、ポリカルボフィル属 (polycarbophil)、シダ属 (sida)、ナス属 (solanum)
)、シャジクソウ属 (trifolium)、トリゴネラ属 (trigonella) の植物のガムを含む培
 養植物細胞ガム、アフゼリア・アフリカナ (Afzelia africana) 種子ガム、トレクリア・
 アフリカナ (Treculia africana) ガム、デタリウム属 (detarium) ガム、カワラケツメ
 イ属 (cassia) ガム、カロブガム、プロソピス・アフリカナ (Prosopis africana) ガム
 、コロカシア・エスレンタ (Colocassia esulenta) ガム、ハケア・ギボサ (Hakea gibbo
 sa) ガム、カヤ (khaya) ガム、スクレログルカン、およびトウモロコシ属、ならびに前
 述の任意の混合物からなる群より選択されるガムが含まれる。

10

20

【0119】

いくつかの態様では、ターゲティング材料は、さらに、可塑剤、硬化剤、湿潤剤、懸濁
 化剤、もしくは分散剤、またはそれらの組み合わせを含む。可塑剤の非限定的な例には、
 セバシン酸ジブチル、ポリエチレングリコール、およびポリプロピレングリコール、フタ
 ル酸ジブチル、フタル酸ジエチル、クエン酸トリエチル、クエン酸トリブチル、アセチル
 化モノグリセリド、クエン酸トリブチルアセチル、トリアセチン、フタル酸ジメチル、安
 息香酸ベンジル、脂肪酸のブチルエステル、および／もしくはグリコールエステル、精製
 鉱油、オレイン酸、ヒマシ油、トウモロコシ油、樟脳、グリセロール、ならびにソルビト
 ール、またはそれらの組み合わせが含まれる。一態様では、硬化剤にはセチルアルコール
 が含まれる。湿潤剤の非限定的な例には、ポロキサマー、ポリオキシエチレンエーテル、
 ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ステアリン酸ポリオキシメチレン、ラウ
 リル硫酸ナトリウム、ソルビタン脂肪酸エステル、ベンザルコニウム塩化物、ポリエトキ
 シ化ヒマシ油、およびドクサートナトリウムが含まれる。懸濁化剤の非限定的な例には、
 アルギン酸、ベントナイト、カルボマー、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチ
 ルセルロースカルシウム、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース
 、微結晶セルロース、コロイド状二酸化ケイ素、デキストリン、ゼラチン、グアーガム、
 キサンタンガム、カオリン、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、マルチトール、中鎖トリ
 グリセリド、メチルセルロース、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、ポリビ
 ニルピロリジノン、アルギン酸プロピレングリコール、アルギン酸ナトリウム、ソルビタ
 ン脂肪酸エステル、およびトラガカントが含まれる。分散剤の非限定的な例には、ポロキ
 サマー、ポリオキシエチレンソルビタン脂肪酸エステル、およびソルビタン脂肪酸エステ
 ルが含まれる。

30

40

【0120】

特定の態様では、標的化放出製剤は、標的化放出材料を覆う腸溶コーティングをさらに
 含む。好ましくは、外側腸溶コーティングは、セルロースアセテートフタレート、ヒドロ
 キシプロピルメチルセルロースアセテートスクシネート、EUDRAGIT L100、およびEUDRAGI
 T L30D-55からなる群より選択される。

【0121】

バースト製剤

一態様では、GCCアゴニスト製剤は、結腸または小腸内において高速バーストでGCCアゴ

50

ニストを放出するように設計された時間遅延製剤（「バースト製剤」）である。この製剤は、コアおよび外層を含む。コアは、少なくとも1種のGCCアゴニストおよび少なくとも1種のバースト制御剤を含む。特定の態様では、コアは、さらに、クロスカルメロースナトリウム、クロスポビドン（架橋PVP）、カルボキシメチルスターチナトリウム（ナトリウムスターチグリコレート）、架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム（クロスカルメロース）、アルファ化デンプン（starch 1500）、微結晶デンプン、水不溶性デンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウム、およびケイ酸マグネシウムアルミニウム、またはそれらの組み合わせからなる群より選択される少なくとも1種の崩壊剤を含む。他の態様では、コアは、さらに、吸収促進剤、結合剤、硬度増強剤、緩衝剤、充填剤、流動調節剤、滑沢剤、相乗作用剤、キレート剤、抗酸化剤、安定剤、および保存剤のうちの少なくとも1種を含む。任意で、コアは、1種または複数種の他の賦形剤も含む。

10

【0122】

コア内のバースト制御剤は、好ましくは、コア内への水の浸透速度を制御し、かつコア内部の内圧（浸透圧）を上昇させるための水不溶性ポリマーを含む。そのようなバースト制御剤は、好ましくは、液体と接触すると膨潤することができる。適切な水不溶性ポリマーの非限定的な例には、架橋多糖、水不溶性デンプン、微結晶セルロース、水不溶性架橋ペプチド、水不溶性架橋タンパク質、水不溶性架橋ゼラチン、水不溶性架橋加水分解ゼラチン、水不溶性架橋コラーゲン、変性セルロース、および架橋ポリアクリル酸が含まれる。一態様では、水不溶性ポリマーは、アルギネート、ペクチン、キサンタンガム、グアーガム、トラガカントガム、およびローカストビーンガムの不溶性金属塩または架橋誘導体、カラギーナン、その金属塩、およびその共有結合性架橋誘導体からなる群より選択される、架橋多糖である。一態様では、水不溶性ポリマーは、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースの架橋誘導体、およびカルボキシメチルセルロースの金属塩からなる群より選択される変性セルロースである。別の態様では、水不溶性ポリマーは、ペクチン酸カルシウム、微結晶セルロース、またはそれらの組み合わせより選択される。

20

【0123】

外層は、水不溶性疎水性担体と、水不溶性親水性特定物質からなる細孔形成剤とを含む。細孔形成剤は、コア内への液体の進入を可能にする透水性物質である。任意で、外層は、湿潤剤、懸濁化剤、分散剤、硬化剤、および可塑剤のうちの少なくとも1種をさらに含む。

30

【0124】

特定の態様では、水不溶性疎水性担体は、以下からなる群より選択される：ジメチルアミノエチルアクリレート／エチルメタクリレートのコポリマーであって、低含量の4級アンモニウム基を有するアクリル酸エステルおよびメタクリル酸エステルをベースとし、アンモニウム基と残りの中性アクリル酸（メタクリル酸）エステルとのモル比が約1：20であり、USP/NF「アンモニオメタクリレートコポリマータイプA」に対応する、コポリマー；エチルメタクリレート／クロロトリメチルアンモニウムエチルメタクリレートのコポリマーであって、低含量の4級アンモニウム基を有するアクリル酸エステルおよびメタクリル酸エステルをベースとし、アンモニウム基と残りの中性アクリル酸（メタクリル酸）エステルとのモル比が1：40であり、USP/NF「アンモニオメタクリレートコポリマータイプB」に対応する、コポリマー；ジメチルアミノエチルメタクリレート／メチルメタクリレートおよびブチルメタクリレートのコポリマーであって、中性メタクリル酸エステルおよびジメチルアミノエチルメタクリレートエステルをベースとし、酸の存在下で陽イオン性である、コポリマー；エチルアクリレートおよびメチルアクリレート／エチルメタクリレートおよびメチルメタクリレートのコポリマーであって、中性メタクリル酸エステルおよびアクリル酸エステル、エチルセルロース、シェラック、ゼイン、ならびにワックスをベースとする中性コポリマーである、コポリマー。

40

【0125】

50

特定の態様では、水不溶性粒子状物質は、好ましくは、水不溶性架橋多糖、水不溶性架橋タンパク質、水不溶性架橋ペプチド、水不溶性架橋ゼラチン、水不溶性架橋加水分解ゼラチン、水不溶性架橋コラーゲン、水不溶性架橋ポリアクリル酸、水不溶性架橋セルロース誘導体、水不溶性架橋ポリビニルピロリドン、微結晶セルロース、不溶性デンプン、微結晶デンプン、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、親水性であるが水不溶性のポリマーである。最も好ましくは、水不溶性粒子状物質は微結晶性セルロースである。

【0126】

特定の態様では、バースト製剤は、さらに、外層上に腸溶コーティングを含む。腸溶コーティングは、好ましくは酢酸フタル酸セルロース、酢酸・コハク酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース、およびEUDRAGIT L100またはEUDRAGIT L30D-55のようなEUDRAGITポリマーからなる群より選択される。

10

【0127】

生分解性製剤

一態様では、GCCアゴニスト製剤は、少なくとも1つの結腸細菌酵素による分解に感受性の天然または合成ポリマーを含む。好ましくは、GCCアゴニストは、ポリマーマトリックス中に埋め込まれている。そのようなポリマーの非限定的な例には、アミラーゼ、キトサン、コンドロイチン硫酸、シクロデキストリン、デキストラン、グアーガム、ペクチン、およびキシランのような多糖のポリマーが含まれる。好ましくは、天然または合成ポリマーは、ゲル化しているか、または亜鉛陽イオン、例えば、硫酸亜鉛、塩化亜鉛、もしくは酢酸亜鉛に由来する亜鉛陽イオンのような陽イオンと架橋している。製剤は、好ましくは、後で腸溶コーティングでコーティングされるイオン架橋ビーズの形態である。腸溶コーティングは、フタル酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリビニルアセテートフタレート、酢酸フタル酸セルロース、酢酸・コハク酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸、およびアルギン酸ナトリウム、またはEUDRAGITポリマーのような任意の適切な腸溶コーティング材料を含むことができる。

20

【0128】

別の態様では、GCCアゴニスト製剤は、GCCアゴニストと担体との間の共有結合が胃および小腸中では安定であるが、下部胃腸管、特に結腸中では不安定であるように、担体分子に共有結合されたGCCアゴニストを含む。担体に共有結合されたGCCアゴニストは、「GCCプロドラッグ」と呼ばれる。特定の態様では、GCCプロドラッグは、アゾ結合またはグリコシド結合を介して担体分子に共有結合されたGCCアゴニストを含む。他の態様では、GCCプロドラッグは、グルクロニド、シクロデキストリン、デキストランエステル、または極性アミノ酸を含む。特定の態様では、GCCプロドラッグは、ポリマー性プロドラッグである。一態様では、ポリマー性プロドラッグは、アゾ基を含有するポリアミドを含む。

30

【0129】

投薬量

本明細書に記載されているGCRAペプチドは、胃腸滞留システム技術（GIRES； Merrion Pharmaceuticals）を用いて製剤化され得る。GIRESは、経口投与用の薬物カプセル内に配置された可膨張性ポーチ内部に制御放出剤形を含み、カプセルが溶解すると、ガス発生システムにより胃内でポーチが膨張し、そこでこれは16～24時間滞留し、その間中、本明細書に記載されている薬剤を放出する。

40

【0130】

本明細書に記載されているGCRAペプチドは、US4,503,030、US5,609,590、およびUS5,358,502に開示されたものを含む浸透圧性デバイスに製剤化することができる。US4,503,030は、胃腸管のあるpH領域に薬物を分配するための浸透圧性デバイスを開示している。より詳細には、本発明は、薬物を含有する区画を取り囲む、半透過性pH感受性組成物から形成された壁を備える浸透圧性デバイスであって、該壁を通る通路が該デバイスの外部を該区画と接続している、浸透圧性デバイスに関する。このデバイスは、pH3.5未満の胃腸管の領域内で制御された速度で薬物を送達し、このデバイスは、pHが3.5より大きい胃腸管の

50

領域内で自己破壊してその薬物全てを放出することによって、薬物吸収への完全な利用性を提供する。米国特許第5,609,590号および同第5,358,502号は、水性環境に有益な薬剤を分配するための浸透破裂デバイスを開示している。このデバイスは、半透膜によって少なくとも部分的に囲まれた有益な薬剤およびオスマジェント (osmagent) を含む。有益な薬剤は、オスマジェントとしても機能し得る。半透膜は、水に対して透過性であり、有益な薬剤およびオスマジェントに対して実質的に非透過性である。トリガー手段は、半透膜に取り付けられる（例えば、半カプセル2個をつなぎ合わせる）。トリガー手段は、pH3~9によって活性化され、有益な薬剤の最終的であるが突然の送達をトリガーする。これらのデバイスは、浸透圧で破裂することによってボラスとして、pHによってトリガーされる有益な薬剤コアの放出を可能にする。

10

【0131】

対象において、特に、炎症または疾患領域の部位内および部位周囲において、化合物の一過性または持続性の濃度を達成するために、ならびに所望の反応をもたらすために、薬学的組成物中の活性成分の投薬量レベルも変動し得る。所望の効果を達成するために必要な用量よりも低いレベルで化合物の用量を開始し、所望の効果が達成されるまで投薬量を徐々に上げていくことは、十分に当技術分野の技術の範囲内である。任意の特定の対象に対する特定の用量レベルは、体重、全般的な健康状態、食事、疾患の自然歴、投与経路および投与計画、1種または複数種の他の薬物との組み合わせ、ならびに疾患の重症度を含む多様な要因に依存することが理解されるであろう。

【0132】

組成物の有効な投薬量は、典型的には、約1 μ g~約10mg/kg体重の間、好ましくは、約10 μ g~5mgの化合物/kg体重の間である。投薬量の調整は、当技術分野において日常的な方法を用いて行われ、使用される特定の組成物および臨床上の考慮に基づく。

20

【0133】

上記方法において使用されるグアニル酸シクラーゼ受容体アゴニストは、経口的、全身的または局所的に投与され得る。剤形には、吸入用または注射用の調製物、溶液、懸濁液、エマルジョン、錠剤、カプセル、局所的軟膏およびローション、経皮的組成物、他の公知のペプチド製剤ならびにペグ化ペプチド類似体が含まれる。アゴニストは、唯一の活性な薬剤として、または他の薬物、例えば、cGMP依存性ホスホジエステラーゼの阻害剤および抗炎症剤と組み合わせてのいずれかで投与され得る。すべての場合において、追加的な薬物は、既存の技術を指針として用いて、治療的に有効な投薬量で投与されるべきである。薬物は、単一の組成物として、または順次に投与され得る。

30

【0134】

本発明の方法に使用するためのGCRアゴニストの投薬量レベルは、典型的には、1日あたり約0.001mg~約10,000mg、好ましくは、1日あたり約0.005mg~約1,000mgである。例えば、本発明の方法に使用するためのGCRAペプチドの有効投薬量は、1日あたりまたは任意で1日2回、約0.1、約0.2、約0.3、約0.4、約0.5、約0.6、約0.7、約0.8、約0.9、約1.0、約1.5、約2.0、約2.5、約3.0、約3.5、約4.0、約4.5、約5.0、約5.5、約6.0、約6.5、約7.0、約7.5、約8.0、約8.5、約9.0、約9.5、約10、約11、約12、約13、約14、約15、約16、約17、約18、約19、または約20mgである。好ましくは、GCRAペプチドは、食後（すなわち30分）に与えられる。いくつかの態様では、脂質代謝障害、胆道系障害、心血管疾患、肥満、または内分泌障害の治療に有用な第2の薬剤が投与される。適切な第2の薬剤が、本明細書において記載されている。GCRAペプチドは、第2の薬剤と相乗的に作用するので、いくつかの局面では、第2の薬剤は、特定の障害を治療するための標準用量未満で投与される。例えば、約2.5、約5、約7.5または約10mgのリピトール (Lipitor) が1日2回食後（すなわち30分）に与えられる。1回または分割用量のいずれかで与えられる1日量 (mg/kg) に基づいて、投薬量は、典型的には約0.001/75mg/kg~約10,000/75mg/kg、好ましくは約0.005/75mg/kg~約1,000/75mg/kgの範囲である。

40

【0135】

各阻害剤の合計1日量は、単回用量、または複数の分割用量で患者に投与することがで

50

きる。典型的には、分割用量は、1日2～6回、好ましくは1日2～4回、なおより好ましくは1日2～3回投与することができる。用量は、医学的状态に対して所望の制御を得るために十分に有効な即時放出形態または徐放形態であることができる。

【0136】

本発明の組み合わせおよび組成物を用いて、医学的状态もしくは障害を予防、治療、緩和、もしくは改善する、または別の方法で医学的状态から保護する、もしくはそれを治療する投与計画が、様々な要因に従って選択される。これらの要因には、非限定的に、対象のタイプ、年齢、体重、性別、食事、および医学的状态、疾患の重症度、投与経路、薬理学的な考慮事項、例えば、採用される特定の阻害剤の活性、有効性、薬物動態および毒性プロファイル、薬物送達システムが利用されるかどうか、ならびに阻害剤が他の活性成分と共に投与されるかどうかが含まれる。したがって、実際に採用される投与計画は、広く変化し得、したがって上記に示した好ましい投与計画から逸脱し得る。

【実施例】

【0137】

実施例1：ウログアニリンのアナログであるSP-333での経口処置は、ラットにおいてグアニル酸シクラーゼ-Cおよび囊胞性線維症膜貫通型コンダクタンス制御因子の活性化を通して、モルフィンおよびメタドン誘発性便秘を軽減する

オピオイドは、慢性疼痛の治療のために広く使用されているが、それらの消費は、多くの場合、標準的な下剤があまり有効ではないヒトにおいて重症の便秘を伴う。この副作用は、胃腸（GI）運動性および排便（BM）に影響を及ぼす、液体分泌の低減によると考えられている。オピオイド誘発性腸機能障害が起こるメカニズムを、図2に示す。したがって、広範な種類のオピオイドによって誘発される便秘を軽減することができる、安全で経口投与可能な薬理作用を有する剤について必要性がある。

【0138】

ウログアニリンのアナログであるSP-333は、GC-Cを活性化して環状GMPの産生を刺激し、これが次に、胃腸（GI）管の内側を覆う腸細胞からのクロライドイオンの流出を担う頂端クロライドチャネルである囊胞性線維症膜貫通型コンダクタンス制御因子（CFTR）を活性化して、排便およびGI運動性を促進するための腸内腔への水の正味の流出を結果としてもたらす（Shailubhai, 2002；Forte, 2004；Basu et al., 2010；Steinbrecher, 2014）。

【0139】

この研究により、オピオイド誘発性便秘（OIC）の治療用の経口薬物治療薬としてのSP-333の可能性が実証される。SP-333での処置は、モルフィンまたはメタドンの存在下でさえも、T84細胞単層およびラット空腸組織にわたる短絡電流（Isc）の濃度依存性の増大を惹起した。このIscの増大は、タンパク質キナーゼG-IIおよび囊胞性線維症膜貫通型コンダクタンス制御因子を活性化するGC-C/cGMPメカニズムによって媒介されるように見られる。ラットの研究では、7日間のメタドンの連日腹腔内投与により、GI通過の有意な遅延が生じ、1日あたりの糞排泄の激減を結果としてもたらした。経口投与されたSP-333は、モルフィンまたはメタドンによって引き起こされるGI通過の遅延を完全に回復した。SP-333（2.5および5 mg/kg/日）での経口処置は、GI通過を正常化しただけではなく、糞排泄も部分的に回復した。

【0140】

材料および方法

細胞培養：ヒト癌腫細胞株T84は、American Type Culture Collection（ATCC）（Manassas, VA, USA）から購入した。細胞は、記載されているように（Shailubhai et al., 2000）、10%胎児ウシ血清（Atlanta Biologicals, Flowery Branch, GA）、1% penstrep（Invitrogen, Carlsbad, CA）、および1% glutamax（Invitrogen, Carlsbad, CA）を含有するDMEM/F-12培地（Fisher Scientific, Pittsburgh, PA）中で培養した。ウッシングチャンパー実験のために、細胞を、約150,000細胞／インサートの播種密度で12 mm透過性ポリエステル膜（孔サイズ0.4 μm）Snapwellインサート上で増殖させ（CLS 3801, Sigma, S

10

20

30

40

50

aint Louis, MO)、5% CO₂の加湿された大気において37℃でインキュベーションした。

【0141】

動物：すべての研究手順は、MB Research Labs (Spinnerstown, PA) またはLampire Biological Laboratories (Pipersville, PA) のInstitutional Animal Care and Use Committeeによって承認された研究概要の下で実施した。約180~210グラムの体重の、7~8週齢の雌のSprague-Dawleyラット[CrI:CD(SD)]を、Charles River Laboratoriesから取得し、1週間順化させた。動物は、12時間の明暗サイクルで維持した。腸組織収集およびGI通過の評定のために、ラットを、実験前に少なくとも18時間、水には自由にアクセスさせて、絶食させた。

【0142】

ラット組織の採取：ラットを、CO₂吸入によって安楽死させた。正中腹部切開を行った。トライツ靱帯の1-cm遠位の近位空腸5-cm領域を特定し、切開して、インドメタシン (10 μM) を含有する氷冷RPMI培地に移した。10分後、組織を、インドメタシンを含まない新鮮な氷冷RPMI培地に移した。組織を、解剖パッド上にピンで留め、腸間膜縁に沿って切り、頂端側を上に向けて、下記のようなウッシングチャンバースライダー上に載せた。

【0143】

短絡電流の測定：I_{SC}測定を、VCCMC8マルチチャネル電流-電圧 (I-V) クランプ (Physiologic Instruments, San Diego, CA) を有するEasyMountウッシングチャンバースystem (4チャンバー) で行った。透過膜上に培養した細胞単層にわたる経上皮抵抗 (TER) を、EVOM上皮ボルトオーム計 (EMD Millipore, MA) を用いて定期的にモニターした。TER が100 0 Ω・cm²より大きいコンフルエントのT84細胞を使用した。細胞および組織を、Physiologic Instrumentsによって提供される特殊なスライダー (細胞については1.12 cm²スリット面積、および組織については0.5 cm²) 上に載せ、ウッシングチャンバー上に載せた。チャンバーを、クレブスリンガー緩衝溶液に継続的に浸した。側底バス溶液は、(mMで) 115 NaCl、25 NaHCO₃、3.3 KH₂PO₄、0.8 K₂HPO₄、1.12 MgCl₂、1.2 CaCl₂、および10 Hepesを含有した (Cuppoletti et al., 2004)。頂端膜上のクロライドチャンネルに対するSP-333または特異的阻害剤の効果を検討するために、頂端膜と接触する緩衝液中のNaClを等濃度のグルコン酸ナトリウムで置換することによって、側底から頂端へのクロライド勾配を課した。グルコン酸は、Ca²⁺イオンをキレートするため、CaCl₂濃度を4mMに増大させた。

(Bijvelds et al., 2009)。緩衝溶液には、カルボゲン (carbogen) (95% O₂と5% CO₂の混合物) を継続的にガス供給し、温度は、加熱ブロックで37℃に一定に保った。4個のチャンバーすべてからの自動データ収集のために、クランプを、Acquire & Analyzeソフトウェア (Physiologic Instruments) に接続した。経上皮電圧および通過電流を測定するために、Ag/AgCl参照電極を用いた。

【0144】

T84細胞単層 (n=4 transwell/濃度) およびラット空腸組織 (n=4調製物/濃度) にわたるSP-333 I_{SC}を評定するために、ベースラインの安定化後に、示された量のアゴニストを頂端緩衝溶液に添加し、ピーク活性を記録してI_{SC} (μA/cm²) ±SEMとしてプロットした。SP-333刺激性I_{SC}に対するモルフィンまたはメタドンの効果を、細胞 (n=3 transwell/オピオイド濃度) およびラット空腸 (n=4~15調製物/オピオイド濃度) の頂端側をオピオイドで5分間前処置することによって、判定した (Cuppoletti et al., 2013)。その後、1 μM SP-333を頂端側の緩衝液に添加し、刺激された電流のピーク活性を測定して、(ビヒクル対照に対する) クロライド電流 (I_{SC}) ±SEMとして表した。PKAおよびPKG-IIが果たす役割を評定するため、ならびにアゴニスト媒介性のCl⁻イオンの放出に対するCFTRおよびCIC-2の相対的寄与を特定するために、キナーゼおよびCl⁻チャンネル阻害剤の存在下および非存在下で、実験を行った。使用した阻害剤は、CdCl₂ (CIC-2阻害剤; Sigma-Aldrich; St Louis, MO)、CFTR_{inh}172 (CFTR阻害剤; Santa Cruz Biotech; Dallas, Texas)、KT5823 (PKG阻害剤; R&D Systems, Minneapolis, MN)、mPKI (PKA阻害剤; EMD Millipore; Billerica, MA) であった。T84細胞 (n=4 transwell/条件) および空腸組織 (n=4~6調製物/条件) を、1 mM SP-333の添加の前に、示された濃度の各阻害剤で5分

10

20

30

40

50

間前処置した。SP-333の添加後に到達したピーク電流を記録して、パーセント相対活性土SEMとして計算した。

【0145】

ラットにおけるオピオイド誘発性のGI通過遅延に対するSP-333の効果：ラットにおけるGI通過を遅延させるオピオイドの能力を、IP注射によって0（ビヒクル）、0.25、1、および2.5 mg/kgのモルフィンまたは0（ビヒクル）、0.25、2.5、および5 mg/kgのメタドン（1.5 ml/kg用量体積）のいずれかを投与することによって試験した。水が、ビヒクル対照の働きをした。10分後に、水中の10%活性炭（Sigma-Aldrich, St. Louis, MO）および10%アラビアゴム（Sigma-Aldrich, St. Louis, MO）からなる2 mLの炭の食餌を、経口強制栄養を介して投与した。炭の食餌の10分後に、150 mg/kgのBeuthanasia-D溶液（ペントバルビタールナトリウム、390 mg/mL）のIP注射によって、ラットを安楽死させた。小腸を取り出して、幽門括約筋から回盲部までの全長、および炭の前縁により移動した距離を記録した。腸通過は、幽門括約筋と回盲部との間の距離に対する、幽門括約筋と炭の前縁との間の距離の比（百分率で表される）を計算することによって判定した。

【0146】

モルフィン誘発性のGI通過遅延を逆転させるSP-333の能力を評価するために、動物に、IP注射によって2.5 mg/kgのモルフィンを投与し、その後直ちに、0（ビヒクル）、0.5、2.5、5、および50 mg/kgのSP-333（1.5 ml/kg用量体積）を経口強制栄養により投与した。水が、ビヒクル対照の働きをした。炭の食餌を10分後に投与して、炭の食餌の10分後に動物を安楽死させ、腸通過を上記のように計算した。

【0147】

メタドン誘発性のGI通過遅延を逆転させるSP-333の能力を評価するために、動物に、IP注射によって2.5 mg/kgのメタドンを投与した。10分後に、経口強制栄養の0（ビヒクル）、0.1、0.5、2.5、5、および50 mg/kgのSP-333（1.5 ml/kg用量体積）を投与し、その後直ちに、2 mLの経口強制栄養の炭の食餌を投与した。炭の食餌の10分後に、動物を安楽死させ、腸通過を上記のように計算した。

【0148】

メタドン反復投与によって誘発されるGI通過遅延を緩和するSP-333の能力もまた、類似した様式で評価した。7～8週齢の雌のSprague-Dawley CDラット（n=7/群）が、IP注射を介して16用量のメタドンを受けた（1日あたり1回；7用量@5 mg/kgおよび9用量@2.5 mg/kg）。各メタドン投与の10分後に、各群は、ビヒクル、2.5、および5 mg/kgのSP-333の経口強制栄養を受けた。投与計画の終わりに、動物を一晩絶食させ、GI通過を上記のように評価した。

【0149】

ラットにおけるメタドン誘発性便秘に対するSP-333の効果：ラットにおいて便秘を誘発するメタドン用量を特定するために、7～8週齢の雌のSprague-Dawley CDラット（n=6/群）に、IP注射を介して1日に1回、5日間、0（ビヒクル）、2.5、5、および7.5 mg/kgのメタドン（1.5ml/kg用量体積）を投与した。メタドンの1日量投与後の研究のクールの間、明サイクル中に4時間間隔で糞粒を収集し、糞の平均数を各群について記録した。

【0150】

メタドン誘発性便秘を軽減するSP-333の能力を評価するために、7～8週齢の雌のSprague-Dawley CDラット（n=7/群）に、IP注射を介して7日間、各日に5 mg/kgのメタドン（またはビヒクル）を投与して、便秘を誘発した。各日のIP投与の10分後に、2.5、および5 mg/kgのSP-333またはビヒクル（緩衝液）の経口強制栄養を投与した。ビヒクル、メタドン、またはメタドンおよびSP-333の組み合わせの連日投与後の研究のクールの間、明サイクル中に4時間間隔で糞粒を収集し、糞の平均数を各群について記録した。

【0151】

統計解析：GraphPad Prism（バージョン6.01）を用いて、要約統計および推測検定を計算した。データを平均±SEMとして表し、対照群と処置群との間の差を、両側スチューデントt検定により有意性について評価した。

10

20

30

40

50

【0152】

結果

T84細胞およびラット空腸における、SP-333によるCl⁻電流のPKG-IIおよびCFTRチャネル依存性の刺激：SP-333は、T84細胞およびラット空腸においてCl⁻電流を刺激する（I_{sc}の増大として表される）。結果を、図3に示す。T84細胞（図3A）またはラット空腸（図3B）の粘膜表面と接触する緩衝溶液中にSP-333（0.01～10 μM）が含まれることにより、両方の例において10 μMで飽和に到達する、I_{sc}の濃度依存性の増大が結果として生じる。空腸組織由来の全般的なI_{sc}は、T84細胞について観察されたものよりもずっと高かった。しかし、T84細胞単層（EC₅₀ = 1.69 × 10⁻⁷ M）または空腸組織（EC₅₀ = 2.99 × 10⁻⁷ M）にわたるI_{sc}において50%の増大を誘導したSP-333濃度は、匹敵していた。

10

【0153】

T84細胞において、1 μM SP-333単独で観察されたものと比較して、SP-333刺激性I_{sc}の80%抑制が、10 μM CFTR_{inh}172の存在下で観察された（図4A）。PKG-II阻害剤（4 μM）の存在下での相対I_{sc}もまた、およそ35%抑制された（図4A）。刺激性I_{sc}の測定可能な減少は、CIC-2阻害剤であるCdCl₂（300 μM）、および3.2 μMタンパク質キナーゼA（mPKI-）阻害剤の存在下では観察されなかった（図4A）。類似したパターンが、ラット空腸で観察されたが、等量のCFTR_{inh}172での阻害の規模は、T84細胞において検出されたものと比較して小さかった（図4B）。まとめると、結果により、モデル細胞システムおよびラット組織において、活性化されたPKG-IIおよびCFTRチャネルが、I_{sc}のSP-333媒介性増大に必要とされることが示唆される。

20

【0154】

SP-333刺激性Cl⁻電流に対するモルフィンおよびメタドンの効果：SP-333刺激性I_{sc}に対する選択濃度のモルフィンおよびメタドンの効果を、T84細胞およびラット空腸において評価した。結果を、図5（モルフィン）および図6（メタドン）に示す。

【0155】

5 μMのモルフィンでの頂端膜の前処置は、T84細胞およびラット空腸組織由来の1 μM SP-333刺激性I_{sc}に対して無視可能な効果を有していた（図5）。同様に、5 μMメタドンで前処置したT84細胞およびラット空腸は、SP-333媒介性電流に対して効果を有さなかった（図6Aおよび図6B）。

【0156】

ラットGI通過のモルフィン誘発性遅延に対するSP-333の経口投与の効果：小腸通過の用量依存性増大が、ビヒクル対照と比較して、SP-333の単回経口強制栄養投薬後に観察され（それぞれ、0.05 mg/kg、0.5 mg/kg、および5 mg/kgで5.6%、13%、23%、図7を参照されたい）、オピオイド未処置動物において、SP-333処置が単独でGI通過の増大を引き起こすことを示唆する（Joshi et al., 2014）。モルフィンの腹腔内（IP）投与は、ラットにおいてGI通過を有意に低減した（図8A）。ビヒクル対照と比較して、モルフィン単回投薬後のGI通過は、それぞれ、0.25、1.0、および2.5 mg/kgのオピオイドで52%、56%、および56%遅くなった。

30

【0157】

モルフィン誘発性のGI通過遅延を軽減するSP-333の能力を評価するために、動物に、IP注射によって2.5 mg/kgのモルフィンを投与し、その後直ちに、0（ビヒクル）、0.5、2.5、5、および50 mg/kgのSP-333の経口強制栄養を投与した。10分後に動物を安楽死させ、材料および方法に記載されているようにGI通過を計算した。モルフィンは、GI通過を有意に低減した（処置したビヒクルにおける53%に対して23%；p<0.0001）（図8B）。SP-333は、モルフィン処置ラットにおいて消化管通過の用量依存性の改善を生じた：それぞれ、0.5、2.5、5、および50 mg/kgで27%、37%、46%、および48%（モルフィン単独と比較した際に、0.5 mg/kgを除くすべての用量でP≤0.0001）。結果により、5 mg/kgのSP-333用量が、GI通過に対するモルフィンの効果を軽減するのに十分であることが示唆される。平均GI通過±SEMを、図8Bに示す。

40

【0158】

50

ラットGI通過のメタドン誘発性遅延に対するSP-333の経口投与の効果：メタドンの腹腔内投与は、ラットにおけるGI通過を有意に低減した。2.5 mg/kgのメタドン用量が、GI通過を有意に低減するのに十分であった。加えて、結果は、2.5 mg/kgで、モルフィンで観察されたものに匹敵していた（それぞれ、メタドンおよびモルフィンについての対応するビヒクル対照に対して49%および56%）。平均GI通過±SEMを、図9Aに示す。

【0159】

メタドン誘発性のGI通過遅延を軽減するSP-333の能力を評定するために、動物に、IP注射によって2.5 mg/kgのメタドンを投与した。10分後に、0（ビヒクル）、0.5、2.5、5、および50 mg/kgのSP-333の経口強制栄養を投与した。10分後に動物を安楽死させ、材料および方法に記載されているようにGI通過を計算した。メタドンは、GI通過を有意に低減した（処置したビヒクルにおける55%に対して28%； $p<0.0001$ ）。図9Bに示されるように、SP-333投与は、メタドン処置ラットにおいて消化管通過の用量依存性の改善を生じた：それぞれ、0.5、2.5、5、および50 mg/kgで40%、39%、44%、および52%（すべての用量で $P<0.01$ ）。これらのデータにより、5 mg/kgのSP-333用量が、GI通過に対するメタドンの効果を軽減するのに十分であることが示唆される。平均GI通過±SEMを、図9Bに示す。

10

【0160】

メタドン反復投与によりラットにおいて誘発された便秘に対するSP-333の経口投与の効果：5日の期間にわたる2.5、5、および7.5 mg/kgのメタドンの1日あたり1回のIP投与により、ラットにおいて便秘が誘導された。明サイクル中の4時間の期間にわたって収集した糞粒の平均数は、ビヒクル群と比較してメタドン投与動物群において有意に低かった；それぞれ、2.5、5、および7.5 mg/kgで29%、77%、および54%低かった（すべての用量で $P<0.01$ ）（図10A）。糞排泄に対するメタドンの最も顕著な効果は、5 mg/kg用量で観察された。メタドン誘発性便秘を軽減するSP-333の能力を評定するために、動物に、7日の期間にわたって1日あたり1回のIP投与により5.0 mg/kgのメタドンを投与した。オピオイド投与の10分後に、0（ビヒクル）、2.5、および5 mg/kgのSP-333の経口強制栄養を各日に投与し、明サイクル中に4時間の時間枠にわたって糞排泄をモニターした。図10Bに示されるように、糞粒の平均数の有意な減少が、メタドン単独を投与した動物において観察された（ビヒクル対照に対して82%少ない）。すべての用量のSP-333での糞粒の平均数は、メタドン投与群と比較して高かった。いずれのSP-333も受けなかったメタドン投与群について観察されたものと比較して3倍の糞粒数の増大が、2.5 mg/kgのSP-333で観察され、SP-333は、メタドン反復投与後のラットにおける便秘を軽減することを実証する。さらに、SP-333の投与は、メタドン反復投与によって引き起こされるGI通過遅延を軽減した（図11）。

20

30

【0161】

考察

T84細胞およびラット空腸で行ったウッシングチャンバー実験により、短絡電流のSP-333媒介性刺激は、機能的なPKG-IIおよびCFTRチャンネルに依存することが示唆される。インビボ動物モデル研究により、さらに、経口投与されたSP-333が、オピオイドの単回投与または反復投与によって誘発されるラットにおけるGI通過遅延を緩和でき、およびメタドン反復投与によって誘発される便秘を軽減できることが実証される。

40

【0162】

GC-Cアゴニストが、オピオイド誘発性のGI通過遅延および便秘を軽減するメカニズムを、図12に提示する。末梢に発現しているオピオイド受容体のモルフィンおよびメタドンによる活性化によって、下流のシグナル伝達が起動し、cAMP合成酵素、アデニリルシクラーゼ、ならびにアセチルコリン、サブスタンスP、および血管作用性腸管ペプチドなどの神経伝達物質の放出の阻害を結果としてもたらす（Sobczak et al., 2013）。その結果、胃内容排出が阻害され、GI通過およびぜん動が損なわれ、腸内腔からの液体および電解質の吸収の随伴性の増大とともに分泌が低減し、OIBDの症状発現を結果としてもたらす（Holzer, 2009；Muller-Lissner, 2010；Sobczak et al., 2013）。頂端に発現している腸上皮細胞GC-C受容体のSP-333による係合により、細胞内cGMPの合成および蓄積が促進される（

50

Zhang et al., 2012)。この二次メッセンジャーは、細胞内の複数のエフェクターに影響を及ぼす可能性を有し；PKG-IIに結合して活性化し、直接的にまたはホスホジエステラーゼ3の阻害を介して間接的にのいずれかでタンパク質キナーゼA（PKA）を活性化することができ、これがcAMPを加水分解してAMPにする。PKG-IIおよびPKAは、CFTRチャネルをリン酸化して活性化し、腸内腔へのCl⁻イオンの流出、その後のNa⁺および水の受動流出を促進し、それにより排便を亢進することができる。電気生理学的データにより、T84細胞単層およびラット空腸組織にわたるIscのSP-333媒介性増大は、PKG-IIおよびCFTRを介することが示唆される。PKA阻害剤（mPKI）およびCIC-2阻害剤（CdCl₂）の存在は、細胞および組織由来のSP-333刺激性Iscに対して最小の効果を有していた。

【0163】

10

当業者は、本明細書に記載されている具体的態様に対する多くの等価物を認識するか、または、日常的な実験法しか用いずに確認することができる。そのような等価物は、本明細書において提供される請求項によって包含されることが意図される。

【0164】

参照による組み入れ

本出願は、本明細書において開示されるすべての刊行物または参考文献を、すべての目的でその全体を参照により組み入れる。

【0165】

参考文献

Barrett KE and Keely SJ (2000) Chloride secretion by the intestinal epithelium: molecular basis and regulatory aspects. *Annu Rev Physiol* **62**:535-572.

20

Basu N, Arshad N and Visweswariah SS (2010) Receptor guanylyl cyclase C (GC-C): regulation and signal transduction. *Mol Cell Biochem* **334**:67-80.

Bell TJ, Panchal SJ, Miaskowski C, Bolge SC, Milanova T and Williamson R (2009) The prevalence, severity, and impact of opioid-induced bowel dysfunction: results of a US and European Patient Survey (PROBE 1). *Pain medicine* **10**:35-42.

Bianchi G, Fiocchi R, Peracchia F, Petrillo P, Tavani A and Manara L (1984) The peripheral narcotic antagonist N-allyl levallorphan-bromide (CM 32191) selectively prevents morphine antipropulsive action and buprenorphine in-vivo binding in the rat intestine. *J Pharm Pharmacol* **36**:326-330.

30

Bijvelds MJC, Bot AGM, Escher JC and de Jonge HR (2009) Activation of Intestinal Cl⁻ Secretion by Lubiprostone Requires the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator. *Gastroenterology* **137**:976-985.

Camilleri M (2011) Opioid-induced constipation: challenges and therapeutic opportunities. *Am J Gastroenterol* **106**:835-842; quiz 843.

Clarke LL (2009) A guide to Ussing chamber studies of mouse intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **296**:G1151-1166.

Cook SF, Lanza L, Zhou X, Sweeney CT, Goss D, Hollis K, Mangel AW and Fehnel SE (2008) Gastrointestinal side effects in chronic opioid users: results from a population-based survey. *Aliment Pharmacol Ther* **27**:1224-1232.

40

Cryer BL, Katz S, Vallejo R, Scott CB, Joswick TR, Dolecek G and Ueno R (2010) 906 A Phase 3, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial of Lubiprostone for the Treatment

of Opioid-Induced Bowel Dysfunction in Patients With Chronic, Non-Cancer Pain. *Gastroenterology* **138**:S-129.

Cuppoletti J, Chakrabarti J, Tewari K and Malinowska DH (2013) Methadone but not morphine inhibits lubiprostone-stimulated Cl⁻ currents in T84 intestinal cells and recombinant human ClC-2, but not CFTR Cl⁻ currents. *Cell Biochem Biophys* **66**:53-63.

Cuppoletti J, Chakrabarti J, Tewari KP and Malinowska DH (2014) Differentiation between Human ClC-2 and CFTR Cl⁻ Channels with Pharmacological Agents. *Am J Physiol Cell Physiol*.

Cuppoletti J, Malinowska DH, Tewari KP, Li QJ, Sherry AM, Patchen ML and Ueno R (2004) SPI-0211 activates T84 cell chloride transport and recombinant human ClC-2 chloride currents. *Am J Physiol Cell Physiol* **287**:C1173-1183.

10

Fiocchi R, Bianchi G, Petrillo P, Tavani A and Manara L (1982) Morphine inhibits gastrointestinal transit in the rat primarily by impairing propulsive activity of the small intestine. *Life Sci* **31**:2221-2223.

Forte LR, Jr. (2004) Uroguanylin and guanylin peptides: pharmacology and experimental therapeutics. *Pharmacol Ther* **104**:137-162.

Furlan AD, Sandoval JA, Mailis-Gagnon A and Tunks E (2006) Opioids for chronic noncancer pain: a meta-analysis of effectiveness and side effects. *CMAJ* **174**:1589-1594.

Golin-Bisello F, Bradbury N and Ameen N (2005) STa and cGMP stimulate CFTR translocation to the surface of villus enterocytes in rat jejunum and is regulated by protein kinase G. *Am J Physiol Cell Physiol* **289**:C708-716.

20

Holzer P (2009) Opioid receptors in the gastrointestinal tract. *Regul Pept* **155**:11-17.

Joshi A, Patwa V, Thadi A, Vemalapally L, Foss J, Feng R, Comiskey S, Ricci A, Palejwala V, Brancale A and Shailubhai K (2014) Plecanatide and SP-333, Novel Homologs of Uroguanylin, Activate Guanylate Cyclase C to Promote Gastrointestinal Motility and Bowel Movement in Rats and Monkeys. *Dig Dis Sci*:Communicated.

Ketwaroo GA, Cheng V and Lembo A (2013) Opioid-induced bowel dysfunction. *Curr Gastroenterol Rep* **15**:344.

Kumar L, Barker C and Emmanuel A (2014) Opioid-induced constipation: pathophysiology, clinical consequences, and management. *Gastroenterology research and practice* **2014**:141737.

30

Kurz A and Sessler DI (2003) Opioid-induced bowel dysfunction: pathophysiology and potential new therapies. *Drugs* **63**:649-671.

Lipecka J, Bali M, Thomas A, Fanen P, Edelman A and Fritsch J (2002) Distribution of ClC-2 chloride channel in rat and human epithelial tissues. *Am J Physiol Cell Physiol* **282**:C805-816.

Love BL, Johnson A and Smith LS (2014) Linaclotide: A novel agent for chronic constipation and irritable bowel syndrome. *Am J Health Syst Pharm* **71**:1081-1091.

Manara L, Bianchi G, Ferretti P and Tavani A (1986) Inhibition of gastrointestinal transit by morphine in rats results primarily from direct drug action on gut opioid sites. *J Pharmacol Exp Ther* **237**:945-949.

Manara L, Bianchi G, Fiocchi R, Notarnicola A, Peracchia F and Tavani A (1982) Inhibition of gastrointestinal transit by morphine and FK 33-824 in the rat and comparative narcotic antagonist properties of naloxone and its N-methyl quaternary analog. *Life Sci* **31**:1271-1274.

40

- Miner PB, Surowitz R, Fogel R, Koltun W, Drossman DA, Camilleri M, Mangel A, Barrow L, Jacob G and Shailubhai K (2013) Plecanatide, a novel guanylate cyclase-C (GC-C) receptor agonist, is efficacious and safe in patients with chronic idiopathic constipation (CIC): results from a 951 patient, 12 week, multi-center trial. . *Gastroenterology* **144**:S-263 (Abstract 925g).
- Müller-Lissner S (2010) Opioid-induced Constipation–Mechanisms, Relevance and Management. *Eur Gastroenterol Hepatol Rev* **6**:54-57.
- Nighot PK, Moeser AJ, Ryan KA, Ghashghaei T and Blikslager AT (2009) CIC-2 is required for rapid restoration of epithelial tight junctions in ischemic-injured murine jejunum. *Exp Cell Res* **315**:110-118.
- Pappagallo M (2001) Incidence, prevalence, and management of opioid bowel dysfunction. *Am J Surg* **182**:11S-18S. 10
- Pena-Munzenmayer G, Catalan M, Cornejo I, Figueroa CD, Melvin JE, Niemeyer MI, Cid LP and Sepulveda FV (2005) Basolateral localization of native CIC-2 chloride channels in absorptive intestinal epithelial cells and basolateral sorting encoded by a CBS-2 domain di-leucine motif. *J Cell Sci* **118**:4243-4252.
- Penning-van Beest FJ, van den Haak P, Klok RM, Prevoo YF, van der Peet DL and Herings RM (2010) Quality of life in relation to constipation among opioid users. *Journal of medical economics* **13**:129-135.
- Quigley C (2005) The role of opioids in cancer pain. *BMJ* **331**:825-829. 20
- Rauck RL (2013) Treatment of Opioid-Induced Constipation: Focus on the Peripheral mu-Opioid Receptor Antagonist Methylnaltrexone. *Drugs* **73**:1297-1306.
- Shailubhai K (2002) Therapeutic applications of guanylate cyclase-C receptor agonists. *Curr Opin Drug Discov Devel* **5**:261-268.
- Shailubhai K, Comiskey S, Foss JA, Feng R, Barrow L, Comer GM and Jacob GS (2013) Plecanatide, an oral guanylate cyclase C agonist acting locally in the gastrointestinal tract, is safe and well-tolerated in single doses. *Dig Dis Sci* **58**:2580-2586.
- Shailubhai K, Yu HH, Karunanandaa K, Wang JY, Eber SL, Wang Y, Joo NS, Kim HD, Miedema BW, Abbas SZ, Boddupalli SS, Currie MG and Forte LR (2000) Uroguanylin treatment suppresses polyp formation in the Apc(Min/+) mouse and induces apoptosis in human colon adenocarcinoma cells via cyclic GMP. *Cancer Res* **60**:5151-5157. 30
- Sobczak M, Salaga M, Storr MA and Fichna J (2013) Physiology, signaling, and pharmacology of opioid receptors and their ligands in the gastrointestinal tract: current concepts and future perspectives. *J Gastroenterol*.
- Steinbrecher KA (2014) The multiple roles of guanylate cyclase C, a heat stable enterotoxin receptor. *Current opinion in gastroenterology* **30**:1-6.
- Steinbrecher KA and Cohen MB (2011) Transmembrane guanylate cyclase in intestinal pathophysiology. *Current opinion in gastroenterology* **27**:139-145.
- Sun X, Wang X, Wang GD, Xia Y, Liu S, Qu M, Needleman BJ, Mikami DJ, Melvin WS, Bohn LM, Ueno R and Wood JD (2011) Lubiprostone reverses the inhibitory action of morphine on mucosal secretion in human small intestine. *Dig Dis Sci* **56**:330-338. 40

Sykes NP (1998) The relationship between opioid use and laxative use in terminally ill cancer patients. *Palliat Med* **12**:375-382.

Thiagarajah JR, Broadbent T, Hsieh E and Verkman AS (2004) Prevention of toxin-induced intestinal ion and fluid secretion by a small-molecule CFTR inhibitor. *Gastroenterology* **126**:511-519.

Wang G-D, Wang X, Qu M-H, Xia Y and Wood JD (2014) 414 Reversal of Opioid-Induced Constipation by Lubiprostone (Amitiza®) in Guinea Pig Ileum. *Gastroenterology* **146**:S-89.

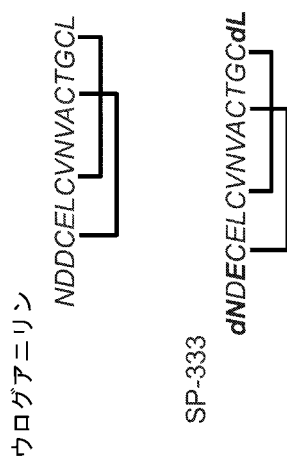
Wong BS and Camilleri M (2011) Lubiprostone for the treatment of opioid-induced bowel dysfunction. *Expert Opin Pharmacother* **12**:983-990.

Zhang G, Arjunan KP, Foss J, Comiskey S and Shailubhai K (2012) SP-333, a Proteolysis-resistant Agonist of Guanylate Cyclase-C, Inhibits Activation of NF-kappa B and Suppresses Production of Inflammatory Cytokines to Ameliorate DSS-induced Colitis in Mice. *Am J Gastroenterol* **107**:S626-S626.

10

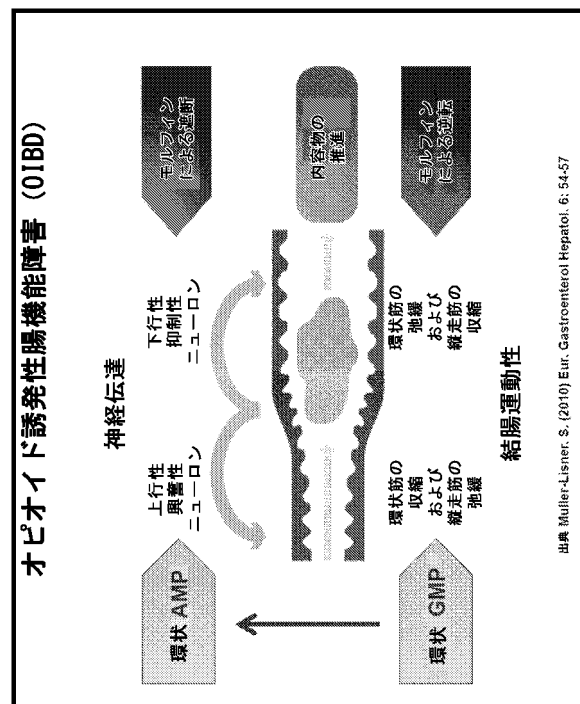
【図 1】

ウログアニリンおよびSP-333の一次構造

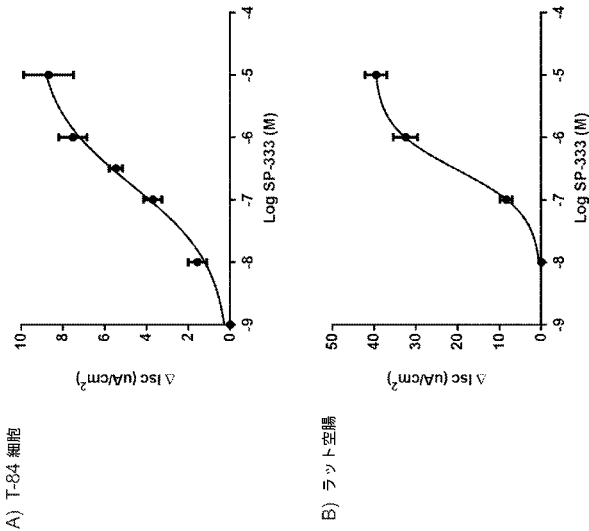


アミノ酸の一次構造が示されている。

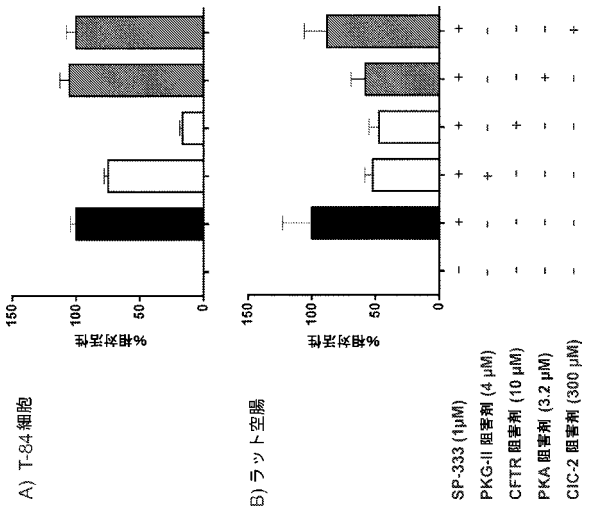
【図 2】



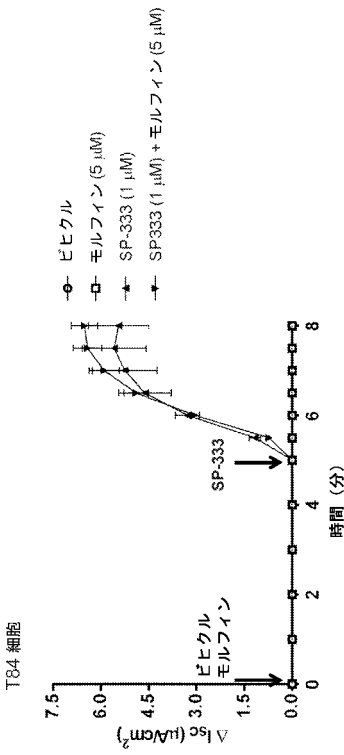
【図 3】



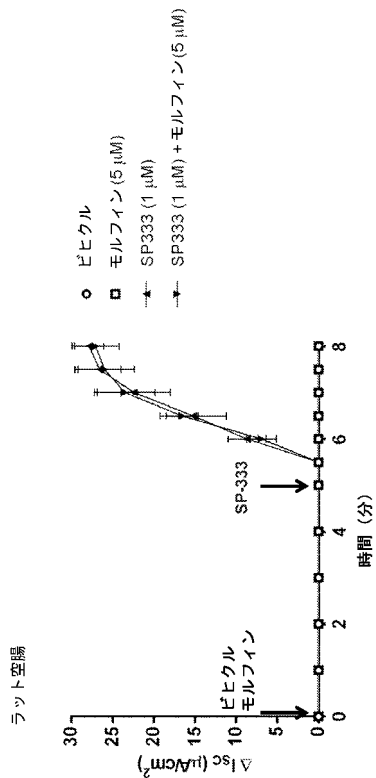
【図 4】



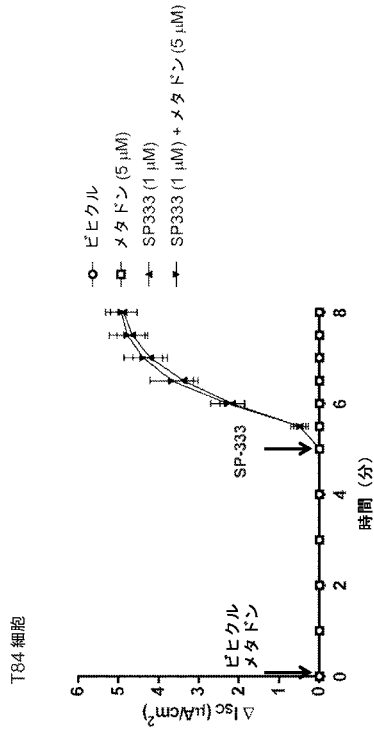
【図 5 A】



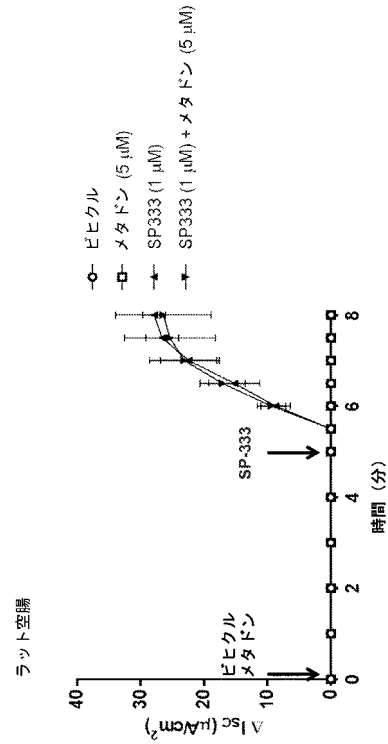
【図 5 B】



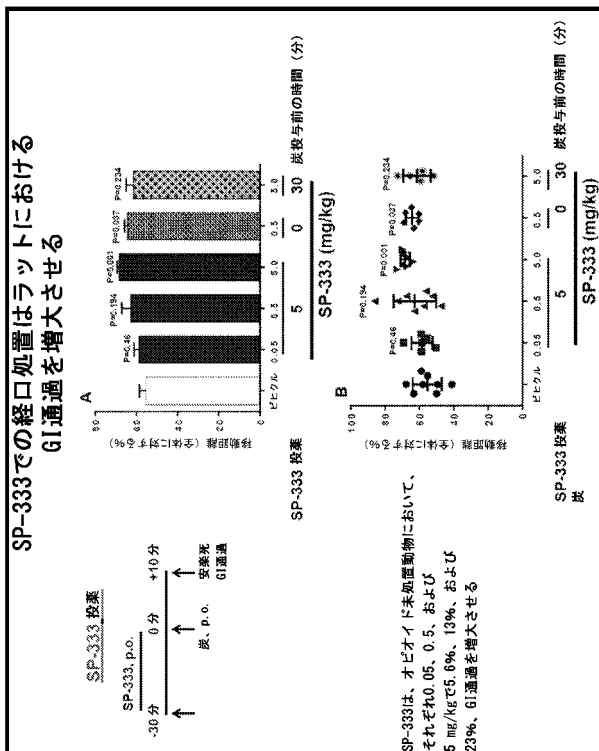
【図 6 A】



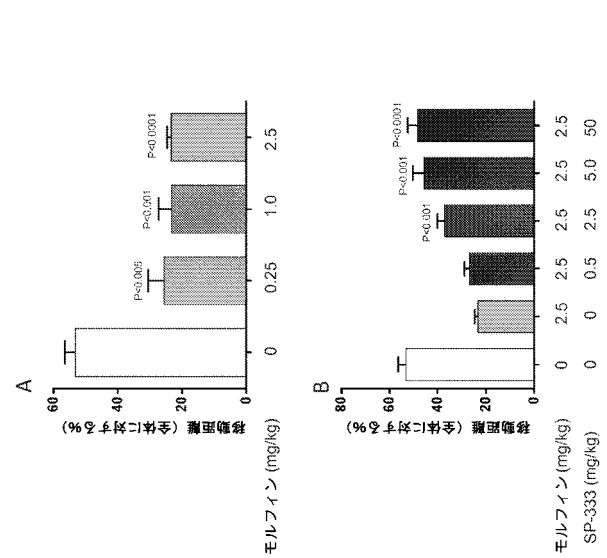
【図 6 B】



【図 7】



【図 8】



Aに示される移動距離は、ビヒクル対照群 (0 mg/kgモルフィン) とは比較されるものであり、Bに示される移動距離は、2.5 mg/kgモルフィン単独を投与した群と比較している

【配列表】

2020037570000001.app

【手続補正書】

【提出日】 令和1年12月4日 (2019.12.4)

【手続補正1】

【補正対象書類名】 特許請求の範囲

【補正対象項目名】 全文

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

オピオイド療法を経験している対象においてオピオイド誘発性機能障害の状態を治療するため、またはその症状を緩和するための、SEQ ID NO: 1～54および56～249のいずれか一つのアミノ酸配列からなる治療有効量のグアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト (GCRA) ペプチドを含む薬学的組成物であって、前記オピオイド療法を経験している対象が、慢性オピオイド使用を経験している末期の対象、慢性疼痛管理のためにオピオイド療法を経験している対象、オピオイド離脱維持療法を経験している対象、少なくとも3か月間、オピオイドを服用している対象、少なくとも14日にわたって、少なくとも25 mgの少なくとも7用量の経口モルフィン等価物を受容している対象、

少なくとも14日にわたって、少なくとも50 mgの1日量の経口モルフィン等価物を受容している対象、および、

慢性または急性のオピオイド使用を経験している対象
からなる群から選択される、薬学的組成物。

【請求項2】

治療有効量のcGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤をさらに含む、請求項1に記載の薬学的組成物。

【請求項3】

前記cGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤が、スリンダクスルホン、ザブリナスト、モタピゾン、バルデナフィル、およびシルデナフィルからなる群より選択される、請求項2に記載の薬学的組成物。

【請求項4】

前記cGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤が、前記GCRAペプチドと同時または順次のいずれかで投与可能なように処方されている、請求項2～3のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項5】

前記GCRAペプチドが、SEQ ID NO: 1 (SP-304)、SEQ ID NO: 9 (SP-333)、SEQ ID NO: 104 (SP373)、SEQ ID NO: 100 (SP364)、SEQ ID NO: 102 (SP366)、およびSEQ ID NO: 250からなる群から選択される、請求項1～4のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項6】

前記GCRAペプチドが、SEQ ID NO: 1 (SP-304)、およびSEQ ID NO: 9 (SP-333) からなる群から選択される、請求項1～5のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項7】

治療有効量のオピオイドをさらに含む、請求項1～6のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項8】

前記オピオイドおよび前記GCRAペプチドが、1つの錠剤またはカプセル剤で投与可能なように処方されている、請求項7に記載の薬学的組成物。

【請求項9】

前記オピオイドが、モルフィン、コデイン、オキシコドン、ヒドロコドン、ジヒドロコデイン、プロボキシフェン、フェンタニル、トラマドール、ロペラミド、ブトルファノール、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項7または8に記載の薬学的組成物。

【請求項10】

pH依存性ポリマー、膨潤性ポリマー、および分解性組成物からなる群より選択される1種または複数種のターゲティング材料をさらに含む、請求項1～9のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項11】

薬学的担体、賦形剤、または希釈剤をさらに含む、請求項1～10のいずれか一項記載の薬学的組成物。

【請求項12】

前記組成物が、十二指腸、空腸、回腸、回腸終末部、または上行結腸への送達のために最適化されている、請求項1～11のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項13】

前記組成物が、結腸全体にわたる放出のために最適化されている、請求項1～12のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項14】

前記組成物が、4.5～5.5のpH範囲、5.5～6.5のpH範囲、または6.5～7.5のpH範囲で分解される1種または複数種のpH依存性ポリマーを含む、請求項1～13のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【請求項15】

前記組成物が、時間依存で前記GCRAペプチドを放出するように処方されている、請求項1～14のいずれか一項に記載の薬学的組成物。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0009】

本発明の任意の方法または任意の組成物において使用され得るGCRAペプチドは、表2～8のいずれか1つのアミノ酸配列を有する。例えば、GCRAペプチドは、SEQ ID NO: 1 (SP-304)、SEQ ID NO: 9 (SP-333)、SP373 (SEQ ID NO: 104)、SP364 (SEQ ID NO: 100)、SP366 (SEQ ID NO: 102)、またはSEQ ID NO: 250である。

以下に、本発明の基本的な諸特徴および種々の態様を列挙する。

[1]

表2～8のいずれか1つにおけるアミノ酸配列から本質的になるグアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト (GCRA) ペプチドを含む治療有効量の組成物を、それを必要とする対象に投与する工程を含む、オピオイド誘発性機能障害の状態を予防するため、治療するため、またはその症状を緩和するための方法。

[2]

有効用量のcGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤を投与する工程をさらに含む、[1]の方法。

[3]

前記cGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤が、スリンダクスルホン、ザブリナスト、モタピゾン、バルデナフィル、およびシルデナフィルからなる群より選択される、[2]の方法。

[4]

前記cGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤が、前記GCRAペプチドまたはその薬学的組成物と同時にまたは順次のいずれかで投与される、[2]の方法。

[5]

前記GCRAペプチドが、SEQ ID NO: 1 (SP-304)、SEQ ID NO: 9 (SP-333)、SP373 (SEQ ID NO: 104)、SP364 (SEQ ID NO: 100)、SP366 (SEQ ID NO: 102)、またはSEQ ID NO: 250である、[1]の方法。

[6]

表2～8のいずれか1つにおけるアミノ酸配列から本質的になるグアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト (GCRA) ペプチドを含む、組成物。

[7]

有効用量のcGMP依存性ホスホジエステラーゼ阻害剤をさらに含む、[6]の組成物。

[8]

オピオイドと、表2～8のいずれか1つにおける配列から本質的になるグアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト (GCRA) ペプチドとを含む、組成物。

[9]

前記オピオイドおよびグアニル酸シクラーゼ受容体アゴニスト (GCRA) ペプチドが、1つの錠剤またはカプセル剤で投与される、[8]の組成物。

[1 0]

pH依存性ポリマー、膨潤性ポリマー、および分解性組成物からなる群より選択される1種または複数種のターゲティング材料をさらに含む、[6]～[8]のいずれかの組成物。

[1 1]

薬学的担体、賦形剤、または希釈剤をさらに含む、[6]～[8]のいずれかの組成物。

[1 2]

製剤が、十二指腸、空腸、回腸、回腸終末部、または上行結腸への送達のために最適化されている、[10]の組成物。

[1 3]

製剤が、結腸全体にわたる放出のために最適化されている、[10]の組成物。

[1 4]

製剤が、4.5～5.5のpH範囲、5.5～6.5のpH範囲、または6.5～7.5のpH範囲で分解される1種または複数種のpH依存性ポリマーを含む、[10]の組成物。

[1 5]

前記組成物の放出が、時間依存性である、[10]の組成物。

[1 6]

前記オピオイドが、モルフィン、コデイン、オキシコドン、ヒドロコドン、ジヒドロコデイン、プロボキシフェン、フェンタニル、トラマドール、ロペラミド、ブトルファノール、またはそれらの組み合わせからなる群より選択される、[8]の組成物。

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 31/53 (2006.01)	A 6 1 K 31/53	
A 6 1 K 31/485 (2006.01)	A 6 1 K 31/485	
A 6 1 K 31/4468 (2006.01)	A 6 1 K 31/4468	
A 6 1 K 31/135 (2006.01)	A 6 1 K 31/135	
A 6 1 K 31/451 (2006.01)	A 6 1 K 31/451	
A 6 1 K 9/20 (2006.01)	A 6 1 K 9/20	
A 6 1 K 9/48 (2006.01)	A 6 1 K 9/48	
A 6 1 K 47/30 (2006.01)	A 6 1 K 47/30	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 1
A 6 1 P 1/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/00	
A 6 1 P 1/04 (2006.01)	A 6 1 P 1/04	
A 6 1 P 11/00 (2006.01)	A 6 1 P 11/00	
C 1 2 N 9/99 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 2 1
C 0 7 K 14/705 (2006.01)	C 1 2 N 9/99	
C 0 7 K 7/08 (2006.01)	C 0 7 K 14/705	
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 0 7 K 7/08	
	C 1 2 N 15/12	

(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥

(72)発明者 シャイルバイ クンワル
アメリカ合衆国 ペンシルベニア州 オーデュボン ボールドイーグル サークル 2 7 0 7

(72)発明者 ベルジュワラ バシーム
アメリカ合衆国 ニュージャージー州 スコッチ プレインズ チャーチ アベニュー 2 0 2 9

F ターム(参考) 4C076 AA36 AA53 AA94 AA95 BB01 CC15 CC16 EE01 FF31
4C084 AA01 AA02 AA19 BA01 BA18 BA23 MA35 MA37 MA52 NA05
NA12 NA13 NA14 ZA591 ZA661 ZC202 ZC411 ZC752
4C086 AA01 AA02 BC21 BC27 BC41 CB05 CB06 CB08 CB23 GA04
GA07 MA35 MA37 MA52 NA05 ZA08 ZC20 ZC75
4C206 AA01 AA02 FA02 FA14 JA19 MA55 MA57 MA72 NA05 ZA08
ZC20 ZC75
4H045 AA10 AA30 BA10 BA16 BA17 BA32 CA40 DA50 DA89 EA20
EA50 FA10 FA33 FA74