(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)公表番号
特表2024-533273
(P2024-533273A)
(43)公表日　令和6年9月12日(2024.9.12)

(51)国際特許分類		FI		テーマコード（参考）
C07K	*14/165 (2006.01)*	C07K	14/165	ZNA　4C076
A61K	*39/215 (2006.01)*	A61K	39/215	4C085
A61K	*47/60 (2017.01)*	A61K	47/60	4H045
A61K	*47/69 (2017.01)*	A61K	47/69	
A61P	*31/14 (2006.01)*	A61P	31/14	

審査請求　未請求　予備審査請求　未請求　（全150頁）

(21)出願番号　特願2024-514660(P2024-514660)
(86)(22)出願日　令和4年9月8日(2022.9.8)
(85)翻訳文提出日　令和6年4月26日(2024.4.26)
(86)国際出願番号　PCT/US2022/076114
(87)国際公開番号　WO2023/039474
(87)国際公開日　令和5年3月16日(2023.3.16)
(31)優先権主張番号　63/241,722
(32)優先日　令和3年9月8日(2021.9.8)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(81)指定国・地域　AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,
最終頁に続く

(71)出願人　399052796
デイナ ファーバー キャンサー インスティチュート，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２２１５， ボストン，ブルックライン アベニュー ４５０
(74)代理人　100078282
弁理士　山本 秀策
(74)代理人　100113413
弁理士　森下 夏樹
(74)代理人　100181674
弁理士　飯田 貴敏
(74)代理人　100181641
弁理士　石川 大輔
(74)代理人　230113332
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　抗ウイルス性の構造的にステープル化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ペプチド－コレステロールコンジュゲートおよびその使用

(57)【要約】
コロナウイルス感染（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による感染）に干渉し、それを阻害または予防するのに有用な、単独でのまたはＰＥＧ（ｎ）－コレステロール（もしくはチオコレステロール）部分にコンジュゲートされた架橋ペプチドが、本明細書で開示される。コロナウイルス感染症（例えば、ＣＯＶＩＤ－１９を処置および／または予防する方法も開示される。Ｗｕｈａｎ ｎＣｏＶ（２０１９－ｎＣｏＶまたはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２としても公知）に起因するＣＯＶＩＤ－１９などの、新型コロナウイルス（ｎＣｏＶ）大流行による感染を予防、処置、または完全に処置するための抗ウイルス治療薬は、今のところ存在しない。

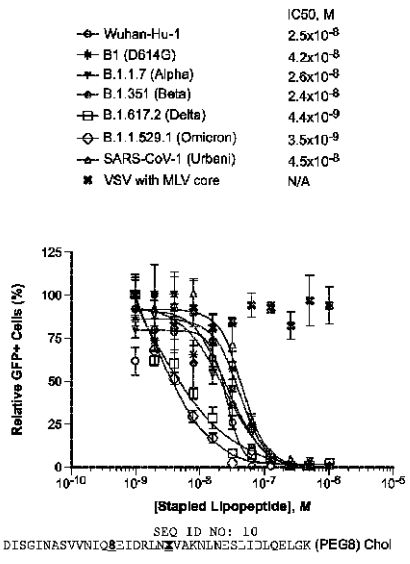


FIG. 34

【特許請求の範囲】
【請求項１】
配列番号６（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮＥＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示される配列と少なくとも５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％または９４％同一であるアミノ酸配列を含む構造的に安定化されたポリペプチドであって、配列番号６の
（ｉ）１４および２１位、
（ｉｉ）１７および２４位、
（ｉｉｉ）２１および２８位、または
（ｉｖ）２４および３１位
から選択される位置（配列番号６の１位はＮ末端アスパラギン酸であり、３８位はＣ末端リシンである）におけるアミノ酸が、オレフィン側鎖を有するα，α－二置換非天然アミノ酸に置き換えられており；
前記構造的に安定化されたペプチドが、長さ３８～６０アミノ酸、必要に応じて、長さ３８～５０アミノ酸であり；
前記構造的に安定化されたペプチドが、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または前記構造的に安定化されたペプチドが、前記シュードウイルスおよび／または前記生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する、構造的に安定化されたポリペプチド。
【請求項２】
前記アミノ酸配列が、配列番号６で示される配列と少なくとも７０％同一である、請求項１に記載の構造的に安定化されたポリペプチド。
【請求項３】
前記アミノ酸配列が、配列番号６で示される配列と少なくとも８０％同一である、請求項１に記載の構造的に安定化されたポリペプチド。
【請求項４】
前記アミノ酸配列が、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり、ここで８が、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基であり、Ｘが、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基である、請求項１から３のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたポリペプチド。
【請求項５】
８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示される配列と、少なくとも９４％同一であるアミノ酸配列を含み、前記構造的に安定化されたペプチドが、配列番号７８）を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の組換え５ヘリックスバンドル（５－ＨＢ）に結合し、置換が、８およびＸの位置において導入されていない、請求項１に記載の構造的に安定化されたポリペプチド。
【請求項６】
８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、Ｘが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列、または１つのアミノ酸置換があるそのバリアントを含む、請求項１に記載の構造的に安定化されたポリペプチド。
【請求項７】
前記アミノ酸配列が、８が、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基であり、Ｘが、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）

アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基である、配列番号１３（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩ８ＲＬＮＥＶＡＸＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項１から３のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたポリペプチド。

【請求項８】

前記アミノ酸配列が、８が、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基であり、Ｘが、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基である、配列番号１７（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮ８ＶＡＫＮＬＮＸＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる、請求項１から３のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたポリペプチド。

【請求項９】

８が、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、Ｘが、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、請求項４、７または８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたポリペプチド。

【請求項１０】

長さ３８～４５アミノ酸である、請求項１から９のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたポリペプチド。

【請求項１１】

長さ３８～４０アミノ酸である、請求項１から１０のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたポリペプチド。

【請求項１２】

配列番号６の３７および／または３８位が置換されていない、請求項１から１１のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたポリペプチド。

【請求項１３】

配列番号１０で示されるアミノ酸配列の少なくとも１９個の連続するアミノ酸を含み、配列番号１０の３、４、６、９、１１、１３、１５、１８、２０、２２、２５、２７、２９、３２、３４、３５、３７または３８位のアミノ酸の少なくとも１～１８個が、任意の他の天然または非天然アミノ酸によって置換されており、配列番号６の１４および２１位の非天然アミノ酸が置換されていない、構造的に安定化されたペプチドであって、長さ１９～４５アミノ酸であり、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／またはシュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防するものであり、必要に応じて、前記１９個の連続するアミノ酸が、ＨＲ２の１１７９～１１９７位に対応するが、ただし、１１８１および１１８８位が、オレフィン側鎖を有する非天然アミノ酸によって置換されている、構造的に安定化されたペプチド。

【請求項１４】

シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または前記シュードウイルスおよび／または前記生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する、請求項１３に記載の構造的に安定化されたペプチド。

【請求項１５】

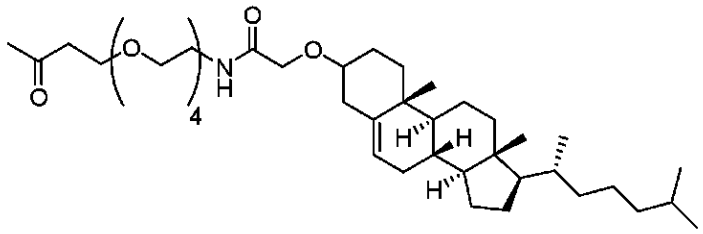
請求項１から１４のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたポリペプチドとポリエチレングリコール（ＰＥＧ）および／またはコレステロールとを含むコンジュゲートであって、前記ＰＥＧおよび／またはコレステロールが、前記構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端に連結されている、コンジュゲート。

【請求項１６】

ＰＥＧおよびコレステロールを含む、請求項１５に記載のコンジュゲート。

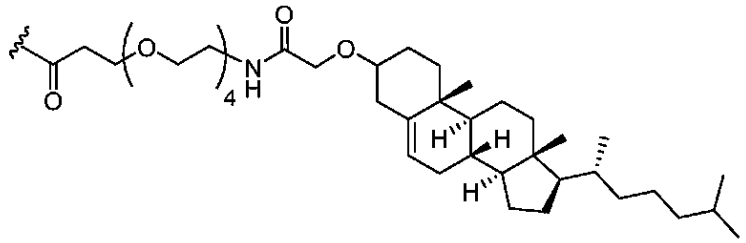
【請求項１７】

前記コレステロールが、チオコレステロールである、請求項１５または１６に記載のコンジュゲート。
【請求項１８】
ＰＥＧ（ｎ）－コレステロールを含み、ここで、ｎは、１～３６であり、必要に応じて、ｎは、４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である、請求項１５または１６に記載のコンジュゲート。
【請求項１９】
ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを含み、ここで、ｎは、２～３６であり、必要に応じて、ｎは、４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である、請求項１５から１７のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項２０】
８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）と少なくとも９４％同一であるアミノ酸配列を有する、構造的に安定化されたペプチドであって、配列番号７８）を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の組換え５ヘリックスバンドル（５－ＨＢ）に結合し、置換が、８およびＸの位置において導入されていない、構造的に安定化されたポリペプチドと；
前記構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（４）－コレステロール部分と
を含むコンジュゲート。
【請求項２１】
８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）の構造的に安定化されたポリペプチドと；
前記構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（４）－コレステロール部分と
を含むコンジュゲート。
【請求項２２】
前記ＰＥＧ（４）－コレステロール部分が、式：
【化１２２】



を含む、請求項２０または２１に記載のコンジュゲート。
【請求項２３】
前記ＰＥＧ（４）－コレステロール部分が、式：

【化１２３】



を有する、請求項２０または２１に記載のコンジュゲート。

【請求項２４】

８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）と少なくとも９４％同一であるアミノ酸配列を有する、構造的に安定化されたペプチドであって、配列番号７８）を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の組換え５ヘリックスバンドル（５－ＨＢ）に結合し、置換が、８およびＸの位置において導入されていない、構造的に安定化されたポリペプチドと；

前記構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分と

を含むコンジュゲート。

【請求項２５】

８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）の構造的に安定化されたポリペプチドと；

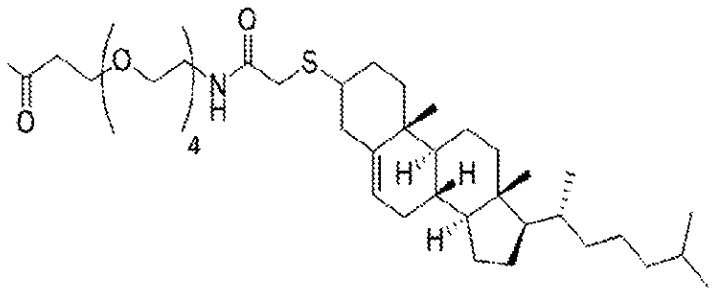
前記構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分と

を含むコンジュゲート。

【請求項２６】

前記ＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分が、式：

【化１２４】

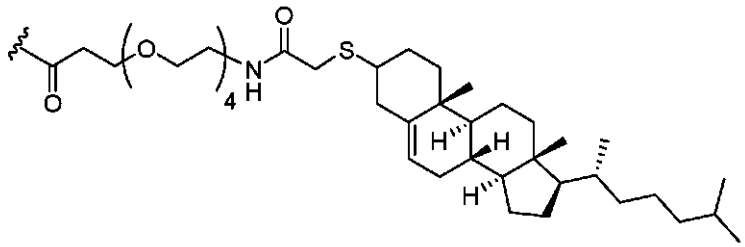


を含む、請求項２４または２５に記載のコンジュゲート。

【請求項２７】

前記ＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分が、式：

【化１２５】



を有する、請求項２４または２５に記載のコンジュゲート。

【請求項２８】

８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）と少なくとも９４％同一であるアミノ酸配列を有する、構造的に安定化されたポリペプチドと；

前記構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（８）－コレステロール部分と

を含むコンジュゲート。

【請求項２９】

８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）の構造的に安定化されたポリペプチドと；

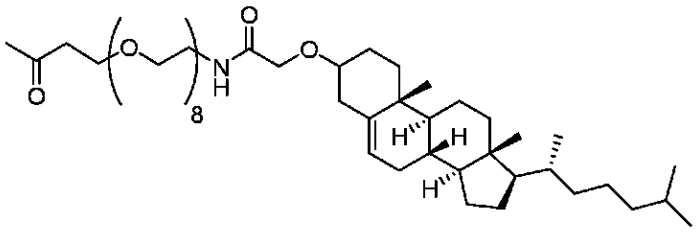
前記構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（８）－コレステロール部分と

を含むコンジュゲート。

【請求項３０】

前記ＰＥＧ（８）－コレステロール部分が、式：

【化１２６】

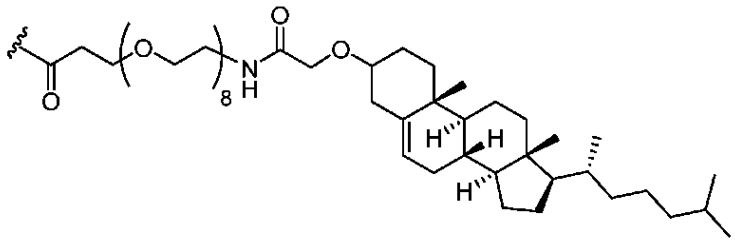


を含む、請求項２８または２９に記載のコンジュゲート。

【請求項３１】

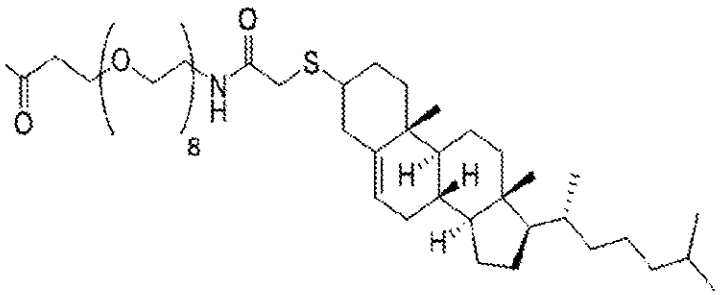
前記ＰＥＧ（８）－コレステロール部分が、式：

【化１２７】

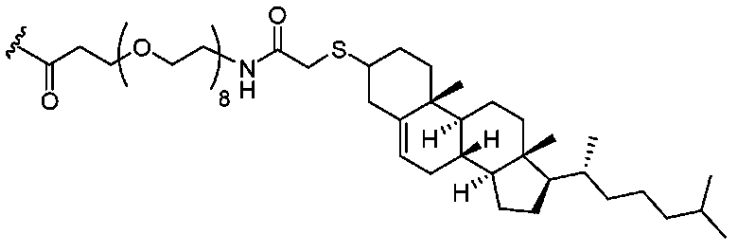


を有する、請求項２８または２９に記載のコンジュゲート。

【請求項３２】
８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）と少なくとも９４％同一であるアミノ酸配列を有する、構造的に安定化されたペプチドであって、配列番号７８）を含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の組換え５ヘリックスバンドル（５－ＨＢ）に結合し、置換が、８およびＸの位置において導入されていない、構造的に安定化されたポリペプチドと；
前記構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分と
を含むコンジュゲート。
【請求項３３】
８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）の構造的に安定化されたポリペプチドと；
前記構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分と
を含むコンジュゲート。
【請求項３４】
前記ＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分が、式：
【化１２８】

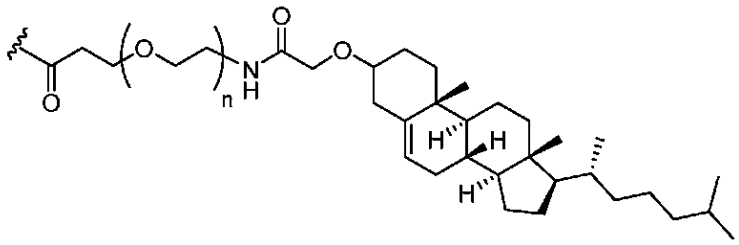


を含む、請求項３２または３３に記載のコンジュゲート。
【請求項３５】
前記ＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分が、式：
【化１２９】

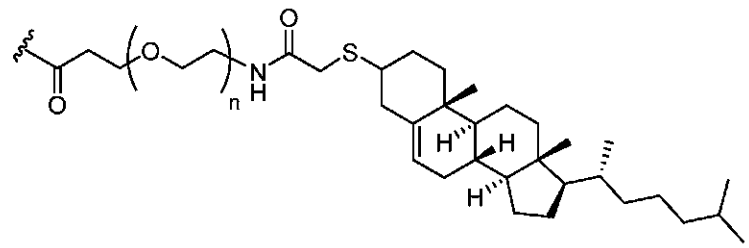


を有する、請求項３２または３３に記載のコンジュゲート。
【請求項３６】
８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）の構造的に安定化されたポリペプチドと；
前記構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（ｎ）

－コレステロール部分であって、ここで（ｎ）＝４、５、６、７または８であり、必要に応じて、（ｎ）＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である、ＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分と
を含むコンジュゲート。
【請求項３７】
前記ＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分が、式：
【化１３０】

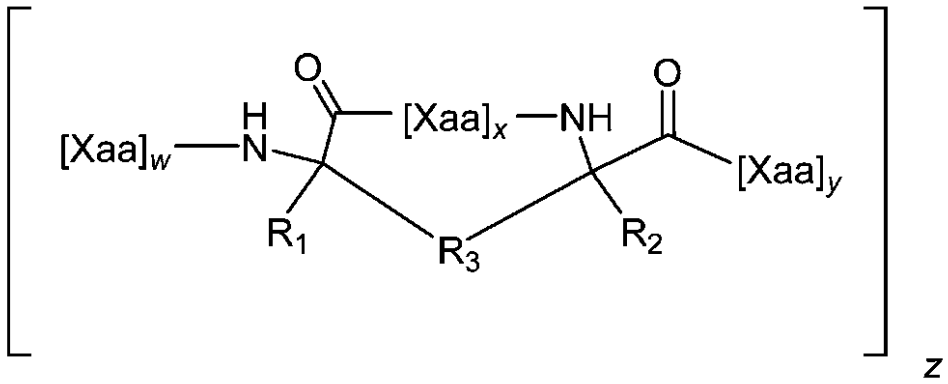


を有し、式中、ｎ＝４、５、６、７、または８である、請求項３６に記載のコンジュゲート。
【請求項３８】
８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）の構造的に安定化されたポリペプチドと；
前記構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分であって、ここで（ｎ）＝４、５、６、７または８であり、必要に応じて、（ｎ）＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である、ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分と
を含むコンジュゲート。
【請求項３９】
前記ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分が、式：
【化１３１】



を有し、式中、ｎ＝４、５、６、７または８であり、必要に応じて、（ｎ）＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である、請求項３８に記載のコンジュゲート。
【請求項４０】
８が、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、Ｘが、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、請求項３６から３９のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項４１】
式：

【化１３２】



式 (I)

を含む構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩であって、式中、

各R_1およびR_2は、ＨまたはＣ１～Ｃ１０アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリールアルキル、またはヘテロシクリルアルキルであり、これらのいずれかは、置換されているか、または非置換であり；

各R_3は、独立して、アルカン　アルキレン、アルケニレン、またはアルキニレンであり、これらのいずれかは、置換されているか、または非置換であり；

ｚは、１、２、３、４，５、６、７、８、９または１０であり；

各［Ｘａａ］$_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり、各［Ｘａａ］$_x$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり、各［Ｘａａ］$_y$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり、

前記構造的に安定化されたペプチドが、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または前記シュードウイルスおよび／または前記生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する、

構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。

【請求項４２】

R_1が、アルキルである、請求項４１に記載の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。

【請求項４３】

R_1が、メチル基である、請求項４１に記載の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。

【請求項４４】

R_2が、アルキルである、請求項４１から４３のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。

【請求項４５】

R_2が、メチル基である、請求項４１から４３のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。

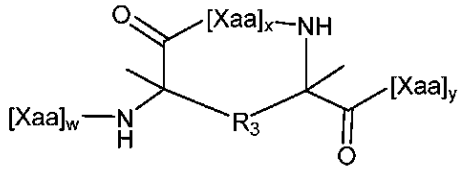
【請求項４６】

R_3が、アルケニルである、請求項４１から４３のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。

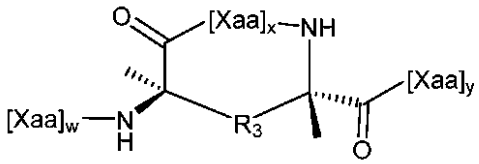
【請求項４７】

前記薬学的に許容される塩が、塩酸塩、ナトリウム、硫酸塩、酢酸塩、リン酸塩または二リン酸塩、塩化物、カリウム、マレイン酸塩、カルシウム、クエン酸塩、メシル酸塩、硝酸塩、酒石酸塩、アルミニウム、グルコン酸塩、およびこれらの任意の組合せを含む、請求項４１から４６のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。

【請求項４８】
最大で長さ５０アミノ酸、必要に応じて、最大で長さ４５アミノ酸である、請求項４１から４７のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。
【請求項４９】
長さ３８アミノ酸である、請求項４１から４７のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。
【請求項５０】
式Ｉ－Ａを含む構造的に安定化されたペプチドであって、式Ｉ－Ａが、
【化１３３】

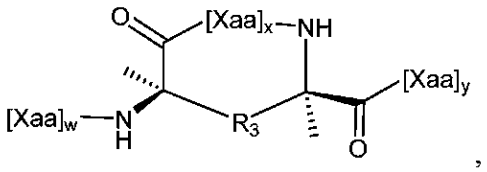


またはその薬学的に許容される塩により定義され；
R_3が、アルケニレンであり；
$[Xaa]_w$が、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
$[Xaa]_x$が、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；および
$[Xaa]_y$が、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；
必要に応じて、$[Xaa]_w$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基が、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（$Ｃ_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、必要に応じて、$[Xaa]_y$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基が、－Ｃ（Ｏ）$ＮＨ_2$に置き換えられている、
構造的に安定化されたペプチド。
【請求項５１】
式Ｉ－Ａからなる、請求項５０に記載の構造的に安定化されたペプチド。
【請求項５２】
必要に応じて、$[Xaa]_w$における前記Ｎ末端アスパラギン酸の前記アミノ基が－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（$Ｃ_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、$[Xaa]_y$における前記Ｃ末端リシンの前記カルボン酸基が－Ｃ（Ｏ）$ＮＨ_2$に置き換えられている、
【化１３４】

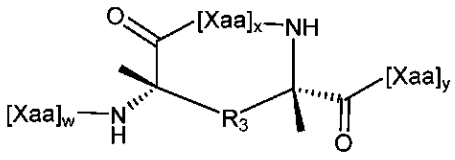


またはその薬学的に許容される塩
により定義される式Ｉａを含む、請求項５０に記載の構造的に安定化されたペプチド。
【請求項５３】
式Ｉａからなる、請求項５２に記載の構造的に安定化されたペプチド。
【請求項５４】
必要に応じて、$[Xaa]_w$における前記Ｎ末端アスパラギン酸の前記アミノ基が－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（$Ｃ_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、$[Xaa]_y$における前記Ｃ末端リシンの前記カルボン酸基が－Ｃ（Ｏ）$ＮＨ_2$に置き換えられている、

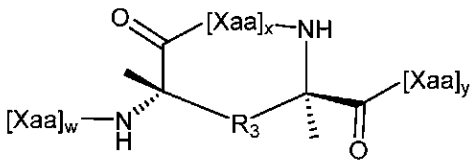
【化１３５】



,



, もしくは

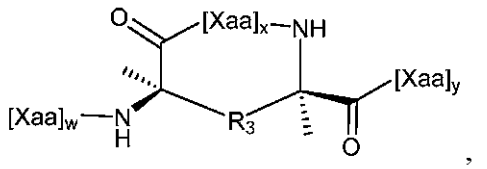


またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項５０に記載の構造的に安定化されたペプチド。

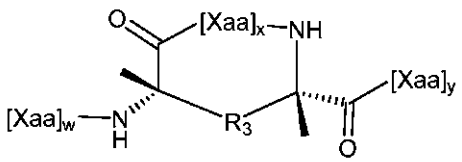
【請求項５５】

必要に応じて、［Ｘａａ］$_{w}$における前記Ｎ末端アスパラギン酸の前記アミノ基が－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］$_{y}$における前記Ｃ末端リシンの前記カルボン酸基が－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられている、

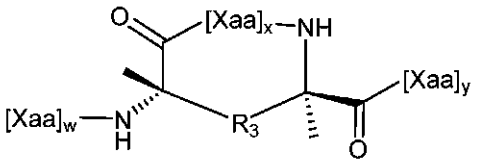
【化１３６】



,



,



またはその薬学的に許容される塩からなる、請求項５０に記載の構造的に安定化されたペプチド。

【請求項５６】

Ｒ$_{3}$が、Ｃ$_{7～15}$アルケニレンである、請求項５０から５５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド。

【請求項５７】

Ｒ$_{3}$が、Ｃ$_{9～13}$アルケニレンである、請求項５０から５５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド。

【請求項５８】

Ｒ$_{3}$が、Ｃ$_{11}$アルケニレンである、請求項５０から５５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド。

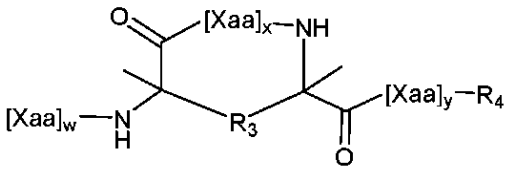
【請求項５９】

Ｒ$_{3}$が、－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～7}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～7}$－である、請求項５０から５５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド。

【請求項６０】

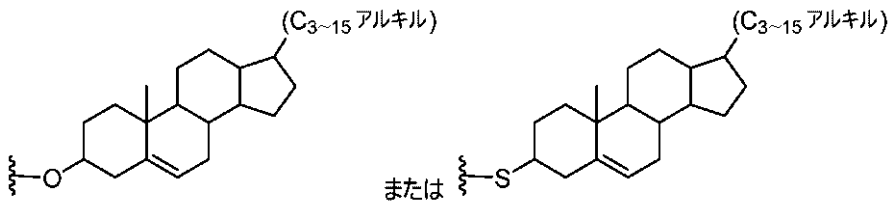
Ｒ$_{3}$が、－（ＣＨ$_{2}$）$_{5～7}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～4}$－である、請求項５０から

５５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド。
【請求項６１】
R_3が、－（CH_2）$_6$－CH＝CH－（CH_2）$_3$－である、請求項５０から５５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド。
【請求項６２】
［Ｘａａ］$_w$における前記Ｎ末端アスパラギン酸の前記アミノ基が、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim4}$アルキル）に置き換えられている、請求項５０から６１のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド。
【請求項６３】
［Ｘａａ］$_w$における前記Ｎ末端アスパラギン酸の前記アミノ基が、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）CH_3に置き換えられている、請求項５０から６１のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド。
【請求項６４】
［Ｘａａ］$_y$における前記Ｃ末端リシンの前記カルボン酸基が、－Ｃ（Ｏ）NH_2に置き換えられている、請求項５０から６３のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド。
【請求項６５】
請求項４１から６４のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩とＰＥＧおよび／またはコレステロールとを含むコンジュゲート。
【請求項６６】
ＰＥＧおよびコレステロールを含む、請求項６５に記載のコンジュゲート。
【請求項６７】
前記コレステロールが、チオコレステロールである、請求項６５または６６に記載のコンジュゲート。
【請求項６８】
ＰＥＧ（ｎ）－コレステロールを含み、ｎが、１～３６であり、必要に応じて、ｎが、４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である、請求項６５または６６に記載のコンジュゲート。
【請求項６９】
ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを含み、ｎが、１～３６であり、必要に応じて、ｎが、４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である、請求項６５から６８のいずれか一項に記載のコンジュゲート。
【請求項７０】
式ＩＩを含む構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式ＩＩが、
【化１３７】



またはその薬学的に許容される塩により定義され、式中、
R_3は、アルケニレンであり；
R_4は、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（$C_{2\sim6}$アルキレン）－［Ｏ－CH_2CH_2］$_m$－Ｎ（R_5）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim6}$アルキレン）－R_6であり、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点であり；
R_5は、水素または$C_{1\sim4}$アルキルであり；
R_6は、下記の一方：

【化１３８】



であり、これらの各々は、R_7のｔ個の存在により置換されており；

R_7は、各々の存在について独立して、$C_{1\sim3}$アルキル、ヒドロキシルまたは$C_{1\sim3}$アルコキシルを表し；

$[Xaa]_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；

$[Xaa]_x$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；

$[Xaa]_y$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；

ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６であり；および

ｔは、０、１、２、または３であり；

必要に応じて、$[Xaa]_w$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基が、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、$[Xaa]_y$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基が、－Ｃ（Ｏ）NH_2に置き換えられている、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項７１】

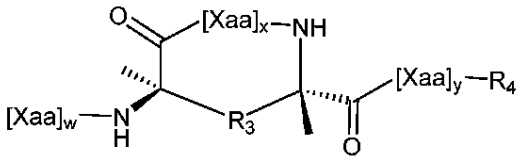
前記構造的に安定化されたペプチドが、式ＩＩからなる、請求項７０に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項７２】

前記構造的に安定化されたペプチドが、

必要に応じて、$[Xaa]_w$における前記Ｎ末端アスパラギン酸の前記アミノ基が－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、$[Xaa]_y$における前記Ｃ末端リシンの前記カルボン酸基が－Ｃ（Ｏ）NH_2に置き換えられている、

【化１３９】



またはその薬学的に許容される塩

により定義される式ＩＩａを含む、請求項７０に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項７３】

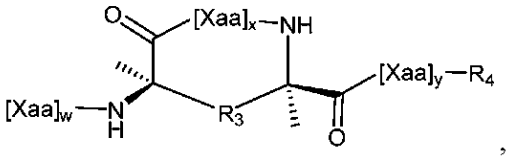
前記構造的に安定化されたペプチドが、式ＩＩａからなる、請求項７２に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

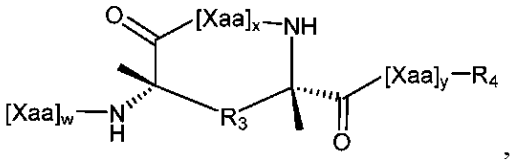
【請求項７４】

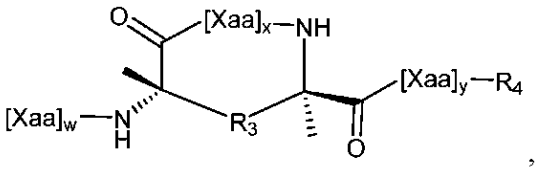
前記構造的に安定化されたペプチドが、

必要に応じて、$[Xaa]_w$における前記Ｎ末端アスパラギン酸の前記アミノ基が－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、$[Xaa]_y$における前記Ｃ末端リシンの前記カルボン酸基が－Ｃ（Ｏ）NH_2に置き換えられている、

【化１４０】


,


,


,

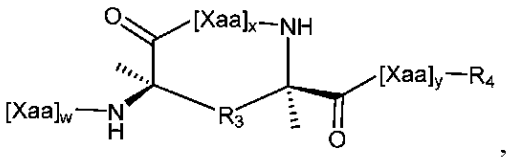
またはその薬学的に許容される塩を含む、請求項７０に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

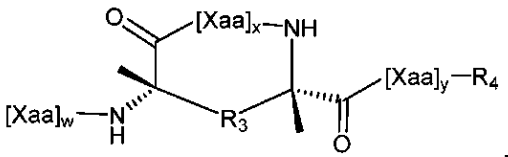
【請求項７５】

前記構造的に安定化されたペプチドが、

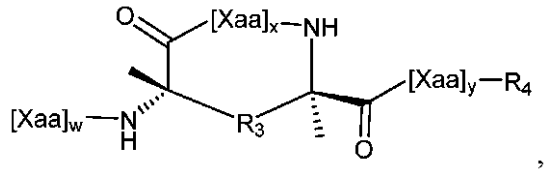
必要に応じて、［Ｘａａ］$_{w}$における前記Ｎ末端アスパラギン酸の前記アミノ基が－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］$_{y}$における前記Ｃ末端リシンの前記カルボン酸基が－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられている、

【化１４１－１】


,


,

【化１４１－２】


,

またはその薬学的に許容される塩からなる、請求項７０に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

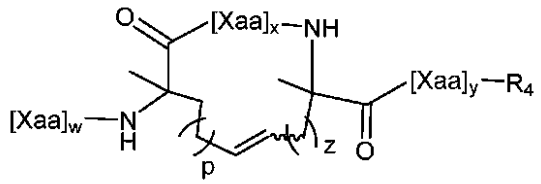
【請求項７６】

Ｒ$_{3}$が、Ｃ$_{7～15}$アルケニレンである、請求項７０から７５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

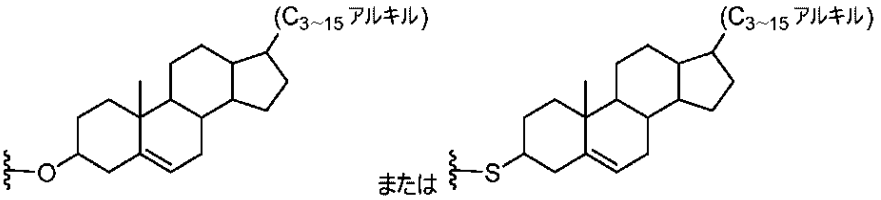
【請求項７７】

Ｒ$_{3}$が、Ｃ$_{9～13}$アルケニレンである、請求項７０から７５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項７８】
Ｒ３が、Ｃ１１アルケニレンである、請求項７０から７５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項７９】
Ｒ３が、－（ＣＨ２）３～７－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ２）３～７－である、請求項７０から７５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項８０】
Ｒ３が、－（ＣＨ２）５～７－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ２）３～４－である、請求項７０から７５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項８１】
Ｒ３が、－（ＣＨ２）６－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ２）３－である、請求項７０から７５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項８２】
式ＩＩＩを含む構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式ＩＩＩが、
【化１４２】

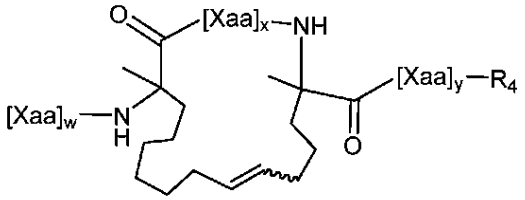


またはその薬学的に許容される塩により定義され、式中、
Ｒ４は、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ２～６アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ２ＣＨ２］ｍ－Ｎ（Ｒ５）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～６アルキレン）－Ｒ６であり、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］ｙにおけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点であり；
Ｒ５は、水素またはＣ１～４アルキルであり；
Ｒ６は、下記の一方：
【化１４３】



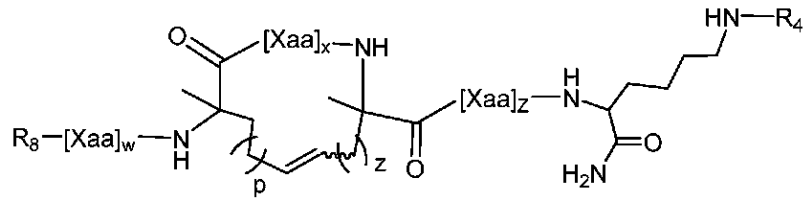
であり、これらの各々は、Ｒ７のｔ個の存在により置換されており；
Ｒ７は、各々の存在について独立して、Ｃ１～３アルキル、ヒドロキシルまたはＣ１～３アルコキシルを表し；
［Ｘａａ］ｗは、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
［Ｘａａ］ｘは、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；
［Ｘａａ］ｙは、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；
ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６であり；
ｐは、２、３、４、５、６、７、または８であり；
ｚは、２、３、４、５、または６であり；および
ｔは、０、１、２、または３であり；
必要に応じて、［Ｘａａ］ｗにおけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～４アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］ｙにおける前記Ｃ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ２に置き換えられてい

る、
構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項８３】
前記構造的に安定化されたペプチドが、式ＩＩＩからなる、請求項８２に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項８４】
前記構造的に安定化されたペプチドが、
必要に応じて、［Ｘａａ］$_{w}$における前記Ｎ末端アスパラギン酸の前記アミノ基が－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］$_{y}$における前記Ｃ末端リシンの前記カルボン酸基が－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられている、
【化１４４】



またはその薬学的に許容される塩
により定義される式ＩＩＩａを含む、請求項８２に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項８５】
Ｒ$_{4}$が、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{2～3}$アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$］$_{m}$－Ｎ（Ｒ$_{5}$）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～2}$アルキレン）－Ｒ$_{6}$であり、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_{y}$における前記Ｃ末端リシンの前記側鎖内の前記アミノ基への結合点である、請求項７０から８４のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項８６】
Ｒ$_{4}$が、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$）－［Ｏ－ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$］$_{m}$－Ｎ（Ｒ$_{5}$）Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）－Ｒ$_{6}$であり、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_{y}$における前記Ｃ末端リシンの前記側鎖内の前記アミノ基への結合点である、請求項７０から８４のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項８７】
［Ｘａａ］$_{w}$における前記Ｎ末端アスパラギン酸の前記アミノ基が、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている、請求項７０から８６のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項８８】
［Ｘａａ］$_{w}$における前記Ｎ末端アスパラギン酸の前記アミノ基が、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_{3}$に置き換えられている、請求項７０から８６のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項８９】
［Ｘａａ］$_{y}$における前記Ｃ末端リシンの前記カルボン酸基が、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられている、請求項７０から８８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項９０】
式ＩＶ：

【化１４５】



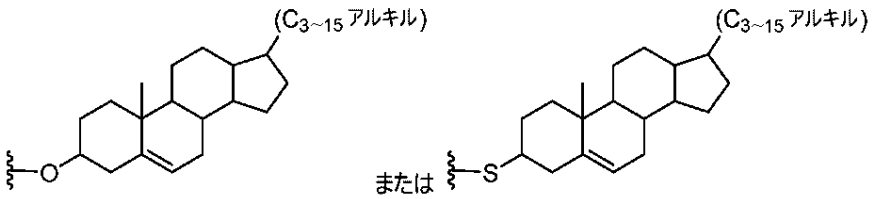
またはその薬学的に許容される塩により表される、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式中、

Ｒ４は、－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ２～６アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ２ＣＨ２］ｍ－Ｎ（Ｒ５）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～６アルキレン）－Ｒ６であり；

Ｒ５は、水素またはＣ１～４アルキルであり；

Ｒ６は、下記の一方：

【化１４６】



であり、これらの各々は、Ｒ７のｔ個の存在により置換されており；

Ｒ７は、各々の存在について独立して、Ｃ１～３アルキル、ヒドロキシルまたはＣ１～３アルコキシルを表し；

Ｒ８は、－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～４アルキル）であり；

［Ｘａａ］ｗは、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；

［Ｘａａ］ｘは、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；

［Ｘａａ］ｚは、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧ（配列番号７７）であり；

ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６であり；

ｐは、２、３、４、５、６、７、または８であり；

ｚは、２、３、４、５、または６であり；および

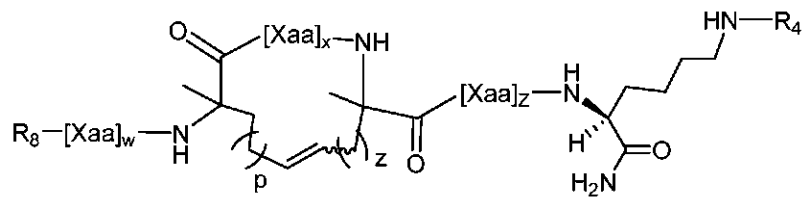
ｔは、０、１、２、または３である、

構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項９１】

構造的に安定化されたペプチドが、式ＩＶａまたはその薬学的に許容される塩により表され、式ＩＶａが、

【化１４７】

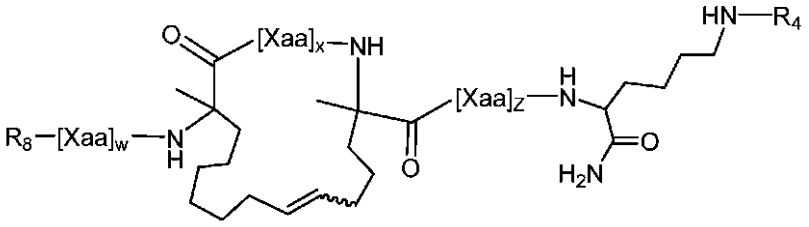


により定義される、請求項９０に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項９２】

構造的に安定化されたペプチドが、式ＩＶｂまたはその薬学的に許容される塩により表され、式ＩＶｂが、

【化１４８】

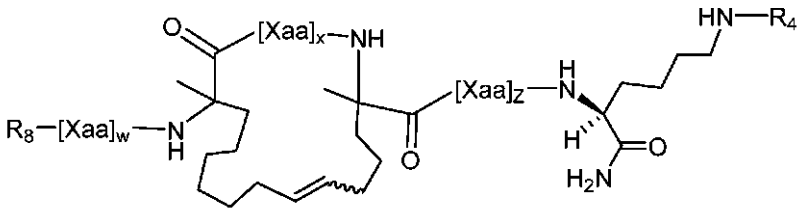


により定義される、請求項９０に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項９３】

構造的に安定化されたペプチドが、式ＩＶｃまたはその薬学的に許容される塩により表され、式ＩＶｃが、

【化１４９】

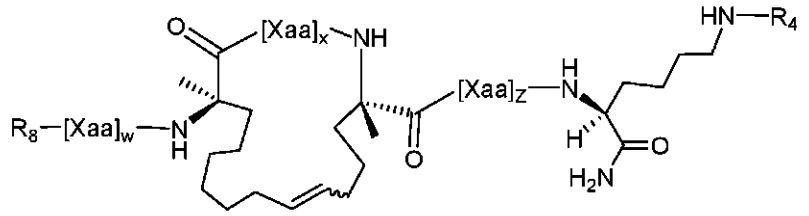


により定義される、請求項９０に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項９４】

式Ｖまたはその薬学的に許容される塩により表される構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式Ｖが、

【化１５０】



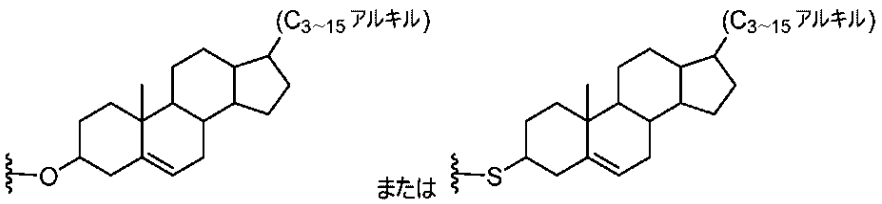
により定義され、式中、

R_4は、－Ｃ（Ｏ）－（$C_{2\sim6}$アルキレン）－［Ｏ－CH_2CH_2］$_m$－Ｎ（R_5）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim6}$アルキレン）－R_6であり；

R_5は、水素または$C_{1\sim4}$アルキルであり；

R^6は、下記の一方：

【化１５１】

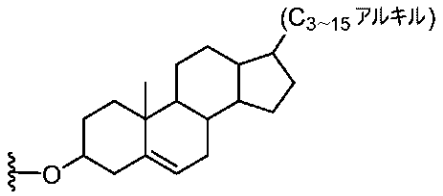


であり、これらの各々は、R_7のｔ個の存在により置換されており；

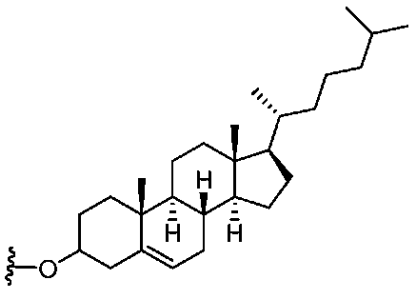
R_7は、各々の存在について独立して、$C_{1\sim3}$アルキル、ヒドロキシルまたは$C_{1\sim3}$アルコキシルを表し；

R_8は、－Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim4}$アルキル）であり；

［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
［Ｘａａ］$_{x}$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；
［Ｘａａ］$_{z}$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧ（配列番号７７）であり；
ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６であり；および
ｔは、０、１、２、または３である、
構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項９５】
Ｒ$_{8}$が、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_{3}$である、請求項９０から９４のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項９６】
Ｒ$_{4}$が、－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{2～3}$アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$］$_{m}$－Ｎ（Ｒ$_{5}$）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～2}$アルキレン）－Ｒ$_{6}$である、請求項７０から９５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項９７】
Ｒ$_{4}$が、－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$）－［Ｏ－ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$］$_{m}$－Ｎ（Ｒ$_{5}$）Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）－Ｒ$_{6}$である、請求項７０から９５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項９８】
Ｒ$_{5}$が、水素である、請求項７０から９７のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項９９】
Ｒ$_{6}$が、Ｒ$_{7}$のｔ個の存在により置換されている
【化１５２】

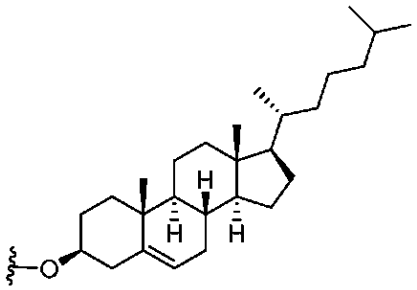


である、請求項７０から９８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項１００】
Ｒ$_{6}$が、Ｒ$_{7}$のｔ個の存在により置換されている
【化１５３】



である、請求項７０から９８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。
【請求項１０１】
Ｒ$_{6}$が、Ｒ$_{7}$のｔ個の存在により置換されている

【化１５４】

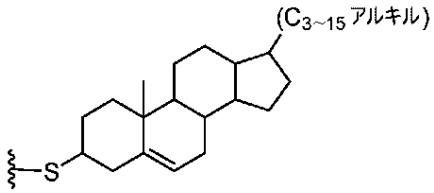


である、請求項７０から９８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項１０２】

Ｒ$_6$が、Ｒ$_7$のｔ個の存在により置換されている

【化１５５】

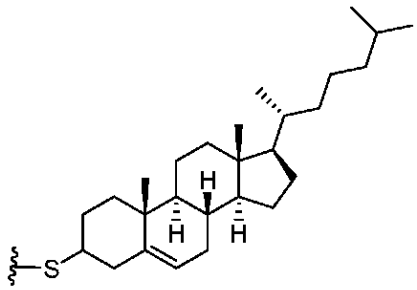


である、請求項７０から９８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項１０３】

Ｒ$_6$が、Ｒ$_7$のｔ個の存在により置換されている

【化１５６】

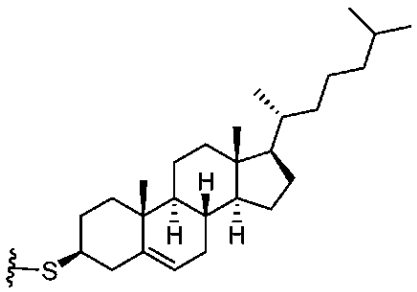


である、請求項７０から９８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項１０４】

Ｒ$_6$が、Ｒ$_7$のｔ個の存在により置換されている

【化１５７】



である、請求項７０から９８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項１０５】

ｔが、０である、請求項７０から１０４のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項１０６】

ｍが、４である、請求項７０から１０５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

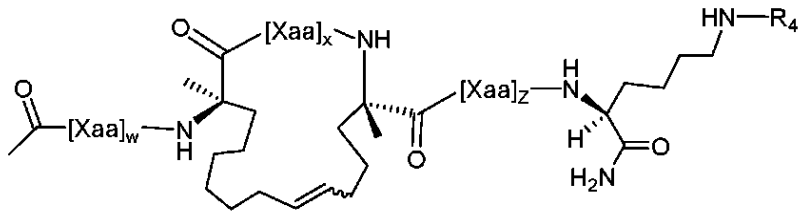
【請求項１０７】

ｍが、８である、請求項７０から１０５のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項１０８】

式ＶＩまたはその薬学的に許容される塩により表される構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式ＶＩが、

【化１５８】

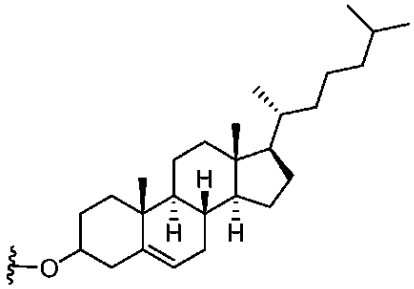


により定義され、式中、

R_4は、－Ｃ（Ｏ）－（CH_2CH_2）－［Ｏ－CH_2CH_2］$_8$－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（CH_2）－R_6であり；

R_6は、

【化１５９】



であり；

［Ｘａａ］$_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；

［Ｘａａ］$_x$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；および

［Ｘａａ］$_z$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧ（配列番号７７）である、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート。

【請求項１０９】

請求項１から１０７のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートと、薬学的に許容される担体とを含む医薬化合物。

【請求項１１０】

請求項１０８に記載の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩と、薬学的に許容される担体とを含む医薬化合物。

【請求項１１１】

コロナウイルス感染症の処置を必要とするヒト対象においてコロナウイルス感染症を処

置する方法であって、請求項１から１０８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートの治療有効量を前記ヒト対象に投与するステップを含む方法。
【請求項１１２】
コロナウイルス感染症の処置を必要とするヒト対象においてコロナウイルス感染症を処置する方法であって、配列番号１０を含む、構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートの治療有効量を前記ヒト対象に投与するステップを含む方法。
【請求項１１３】
コロナウイルス感染症の予防を必要とするヒト対象においてコロナウイルス感染症を予防する方法であって、請求項１から１０８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートの治療有効量を前記ヒト対象に投与するステップを含む方法。
【請求項１１４】
コロナウイルス感染症の予防を必要とするヒト対象においてコロナウイルス感染症を予防する方法であって、配列番号１０を含む、構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートの治療有効量を前記ヒト対象に投与するステップを含む方法。
【請求項１１５】
コロナウイルス感染症の処置を必要とする対象においてコロナウイルス感染症を処置する方法であって、請求項１から１０８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートの治療有効量を前記対象に投与するステップを含み、前記対象が、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラット、マウス、またはコウモリから選択される、方法。
【請求項１１６】
コロナウイルス感染症の予防を必要とする対象においてコロナウイルス感染症を予防する方法であって、請求項１から１０８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートの治療有効量を前記対象に投与するステップを含み、前記対象が、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラット、マウス、またはコウモリから選択される、方法。
【請求項１１７】
前記コロナウイルス感染症が、ベータコロナウイルスによるものである、請求項１１１から１１６のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１８】
前記コロナウイルス感染症が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による感染に起因する、請求項１１１から１１７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１１９】
前記コロナウイルス感染症が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のバリアントによる感染に起因する、請求項１１１から１１８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１２０】
前記バリアントが、Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１、Ｂ．１．４２７／Ｂ．１．４２９、Ｂ．１．６１７．２、Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１、ブラジルバリアントＰ．１、Ｂ．１．１．７、Ｂ．１．３５１、Ｂ．１．５２５、Ｂ．１．５２６、Ｂ．１．６１７．１、Ｂ．１．６１７．３、Ｐ．２、Ｂ．１．６２１、Ｂ．１．６２１．１、Ｂ．１．１．５２９、ＢＡ．１、ＢＡ．１．１、ＢＡ．２、ＢＡ．３、ＢＡ．４またはＢＡ．５から選択される、請求項１１９に記載の方法。
【請求項１２１】
前記バリアントが、Ｂ．１．３５１、クラスター５、系統Ｂ．１．１．２０７、系統Ｂ．１．１．７、懸念されるバリアント２０２１０２／０２、系統Ｂ．１．１．３１７、系統Ｂ．１．１．３１８、系統Ｂ．１．３５１、系統Ｂ．１．４２９、系統Ｂ．１．５２５

、系統Ｐ．１（系統Ｂ．１．１．２８としても公知）、系統Ｂ．１．１．５２９、系統ＢＡ．１、系統ＢＡ．１．１、系統ＢＡ．２、系統ＢＡ．３、系統ＢＡ．４　系統ＢＡ．５、Ｄ６１４Ｇ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｓ４７７Ｇ／Ｎ、またはＰ６８１Ｈから選択される、請求項１１９に記載の方法。

【請求項１２２】

構造的に安定化されたペプチドを作製する方法であって、（ａ）配列番号６で示される配列を有するペプチドまたはそのバリアントを提供するステップ、および（ｂ）前記ペプチドを架橋させるステップ、および必要に応じて、前記構造的に安定化されたペプチドを精製するステップを含み、必要に応じて前記ペプチドを架橋させるステップがルテニウム触媒メタセシス反応によるものである、方法。

【請求項１２３】

前記構造的に安定化されたペプチドを無菌医薬組成物として製剤化するステップをさらに含む、請求項１２１または１２２に記載の方法。

【請求項１２４】

請求項１から１４または４１から６４のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたポリペプチドを含むコンジュゲートを合成する方法であって、（ａ）前記構造的に安定化されたポリペプチドを提供するステップ；および（ｂ）前記構造的に安定化されたポリペプチドの樹脂結合アミンを樹脂上でカルボン酸を含有するＰＥＧおよび／またはコレステロールによって誘導体化するステップを含む方法。

【請求項１２５】

ヘプタッドリピートドメイン２（ＨＲ２）ポリペプチドを含むコンジュゲートを合成する方法であって、（ａ）前記ＨＲ２ポリペプチドを提供するステップ；および（ｂ）前記ＨＲ２ポリペプチドの樹脂結合アミンを樹脂上でカルボン酸を含有するＰＥＧおよび／またはコレステロールによって誘導体化するステップを含む方法。

【請求項１２６】

請求項１から１４または４１から６４のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたポリペプチドを含むコンジュゲートを合成する方法であって、（ａ）前記構造的に安定化されたポリペプチドを提供するステップ；および（ｂ）前記構造的に安定化されたポリペプチドの樹脂結合アミンを樹脂上でカルボン酸を含有するＰＥＧおよび／またはチオコレステロールによって誘導体化するステップを含む方法。

【請求項１２７】

ＨＲ２ポリペプチドを含むコンジュゲートを合成する方法であって、（ａ）前記ＨＲ２ポリペプチドを提供するステップ；および（ｂ）前記ＨＲ２ポリペプチドの樹脂結合アミンを樹脂上でカルボン酸を含有するＰＥＧおよび／またはチオコレステロールによって誘導体化するステップを含む方法。

【請求項１２８】

前記誘導体化するステップが、

カルボキシチオコレステロールまたはカルボキシコレステロールをジクロロメタン（ＤＣＭ）に溶解することによって溶液を生成するステップ；および

塩基、ブロモ酢酸のｔ－ブチルエステル、およびトリフルオロ酢酸を順番に前記溶液に添加するステップ

による固相合成により前記カルボキシチオコレステロールまたはカルボキシコレステロールを組み込むことを含む、請求項１２４から１２７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１２９】

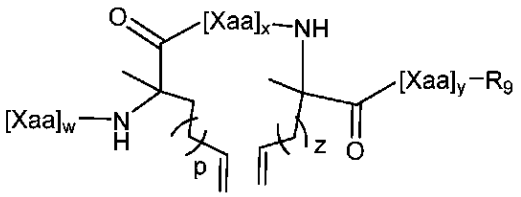
前記誘導体化するステップが、

前記樹脂に結合された前記構造的に安定化されたポリペプチドを、ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）を含む溶液中のピペリジンで処理すること；

前記構造的に安定化されたポリペプチドのＮ末端を無水酢酸でキャップすること；

前記構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端をＤＭＦ中のヒドラジンで脱保護すること；

前記構造的に安定化されたポリペプチドをＦｍｏｃ保護ＰＥＧ（ｎ）アミノ酸でアシル化すること；
前記構造的に安定化されたポリペプチドを架橋させること；および
前記構造的に安定化されたポリペプチドを前記樹脂から単離すること
をさらに含む、請求項１２４から１２７のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３０】
ｎ＝１～３６であり、必要に応じて、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である、請求項１２９に記載の方法。
【請求項１３１】
配列番号６のＣ末端リシンが、樹脂結合アミンで置換され、必要に応じて、配列番号６のＣ末端リシンが、樹脂結合カルボン酸またはチオールでさらに置換される、請求項１２３から１３０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３２】
前記コレステロールが、チオコレステロールである、請求項１２３から１３１のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３３】
前記コンジュゲートが、ＰＥＧ（ｎ）－コレステロールを含み、ｎが、１～３６であり、必要に応じて、ｎが、４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である、請求項１２３から１２８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３４】
前記コンジュゲートが、ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを含み、ｎが、１～３６であり、必要に応じて、ｎが、４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である、請求項１２３から１２８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３５】
前記ペプチドを架橋させることが、ルテニウム触媒メタセシス反応による、請求項１２３から１３４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１３６】
安定化ペプチドを合成するための方法であって、式ＶＩＩを含むペプチドを閉環メタセシス条件に供して安定化ペプチドを得るステップを含み、式ＶＩＩが、
【化１６０】

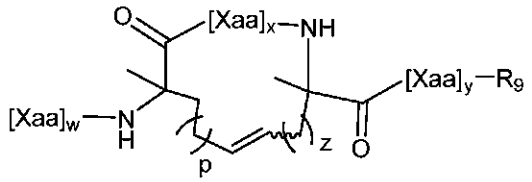


またはその薬学的に許容される塩により定義され、式中、
［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
［Ｘａａ］$_{x}$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；
［Ｘａａ］$_{y}$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；
Ｒ$_{9}$は、－ＯＨまたは
【化１６１】



であり；
ｐは、２、３、４、５、６、７、または８であり；および

ｚは、２、３、４、５、または６であり；
必要に応じて、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている、
方法。
【請求項１３７】
前記閉環メタセシス条件が、式ＩＶを含む前記ペプチドをＧｒｕｂｂｓ閉環メタセシスルテニウム触媒に曝露することを含む、請求項１３６に記載の方法。
【請求項１３８】
前記安定化ペプチドが、
【化１６２】

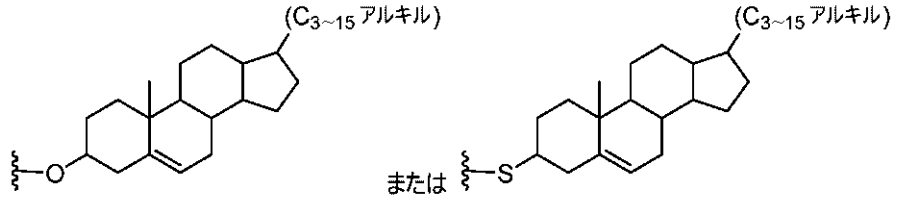


またはその薬学的に許容される塩により定義される式ＩＩＩを含み、式中、
［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
［Ｘａａ］$_{x}$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；
［Ｘａａ］$_{y}$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；
Ｒ$_{9}$は、－ＯＨまたは
【化１６３】

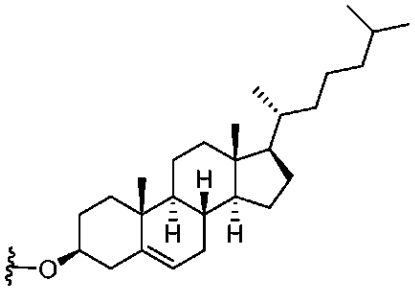


であり；
ｐは、２、３、４、５、６、７、または８であり；および
ｚは、２、３、４、５、または６であり；
必要に応じて、［Ｘａａ］$_{w}$における前記Ｎ末端アスパラギン酸の前記アミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている、
請求項１３６または１３７に記載の方法。
【請求項１３９】
ｐが、５である、請求項１３６から１３８のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４０】
ｚが、３である、請求項１３６から１３９のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４１】
前記安定化ペプチドのＣ末端を、ポリエチレングリコール部分とコレステロールまたはチオコレステロール部分とを含む部分によって誘導体化するステップをさらに含む、請求項１３６から１４０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４２】
前記安定化ペプチドのＣ末端を誘導体化して、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{2～6}$アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$］$_{m}$－Ｎ（Ｒ$_{5}$）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～6}$アルキレン）－Ｒ$_{6}$基を組み入れるステップをさらに含み、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点であり；
Ｒ$_{5}$は、水素またはＣ$_{1～4}$アルキルであり；
Ｒ$_{6}$は、下記の一方：

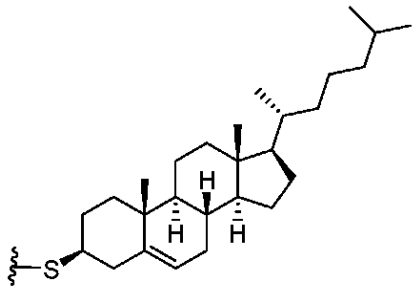
【化１６４】



であり、これらの各々は、Ｒ７のｔ個の存在により置換されており；
　Ｒ７は、各々の存在について独立して、Ｃ１～３アルキル、ヒドロキシルまたはＣ１～３アルコキシルを表し；
　ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６であり；および
　ｔは、０、１、２、または３である、
請求項１３６から１４０のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４３】
　Ｒ６が、Ｒ７のｔ個の存在により置換されている
【化１６５】



である、請求項１４２に記載の方法。
【請求項１４４】
　Ｒ６が、Ｒ７のｔ個の存在により置換されている
【化１６６】



である、請求項１４２に記載の方法。
【請求項１４５】
　ｔが、０である、請求項１４２から１４４のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４６】
　ｍが、４である、請求項１４２から１４５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４７】
　ｍが、８である、請求項１４２から１４５のいずれか一項に記載の方法。
【請求項１４８】
　Ｒ９が、

【化１６７】



である、請求項１４２から１４７のいずれか一項に記載の方法。

【請求項１４９】

請求項１から１０８のいずれか一項に記載の構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートを含むナノ粒子組成物であって、必要に応じて、前記ナノ粒子組成物は、ＰＬＧＡナノ粒子であり、さらに必要に応じて、２：９８～１００：０の範囲の前記ＰＬＧＡナノ粒子の乳酸：グリコール酸比を含む、ナノ粒子組成物。

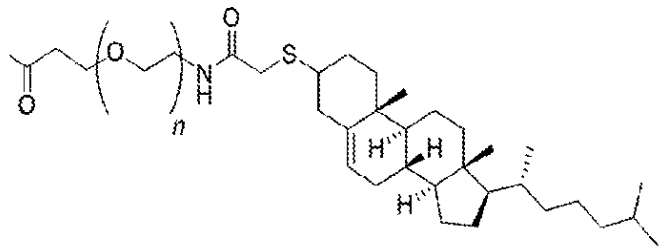
【請求項１５０】

キトサン、デキストリン、またはそれらの両方をさらに含む、請求項１４９に記載のナノ粒子組成物。

【請求項１５１】

式

【化１６８】

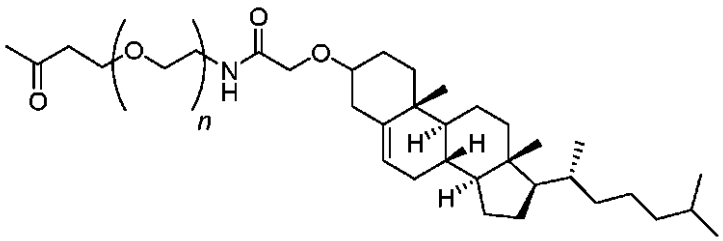


を含むＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを含むリンカーであって、式中、ｎは、１～３６である、リンカー。

【請求項１５２】

式

【化１６９】



を含むＰＥＧ（ｎ）－コレステロールを含むリンカーであって、式中、ｎは、１～３６である、リンカー。

【請求項１５３】

ｎが、４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である、請求項１５１または１５２に記載のリンカー。

【請求項１５４】

前記ＰＥＧに取り付けられたリシンをさらに含む、請求項１５１から１５３のいずれか一項に記載のリンカー。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願の相互参照

本願は、２０２１年９月８日に出願した米国仮特許出願第６３／２４１，７２２号の優先権の利益を主張するものであり、前記仮出願は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０００２】

配列表

本願は、ファイル名００５３０－０４１４ＷＯ１＿ＳＬ＿ＳＴ２６．ｘｍｌのＸＭＬファイルとして電子的に提出した配列表を含む。２０２２年９月６日に作成したこのＸＭＬファイルは、サイズ７４，４４２バイトである。ＸＭＬファイル内の資料は、これによりその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０００３】

技術分野

本開示は、単独での、または活性をさらに最適化するために生じさせたＰＥＧ（ｎ）－コレステロールもしくはＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール誘導体化を伴うコンジュゲート型の、構造的に安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗ウイルスペプチド、そのようなステープル化ペプチドコレステロールコンジュゲートを作製するための方法ならびにコロナウイルス感染症の予防および処置においてそれを使用するための方法に関する。

【背景技術】

【０００４】

背景

Ｗｕｈａｎ　ｎＣｏＶ（２０１９－ｎＣｏＶまたはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２としても公知）に起因するＣＯＶＩＤ－１９などの、新型コロナウイルス（ｎＣｏＶ）大流行による感染を予防、処置、または完全に処置するための抗ウイルス治療薬は、今のところ存在しない。ＣＯＶＩＤ－１９は、世界保健機関（ＷＨＯ）によって高リスクの世界的な健康に関わる緊急事態と宣言され、２０２２年９月の時点で、世界中で呼吸器疾患６０３，７１１，７６０件および死亡６，４８４，１３６件を引き起こしている。後続のバリアントは、ワクチン、抗体および分子治療薬の有効性を阻むことを含む、継続的な公衆衛生上の難題を突き付けている。

【０００５】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２は、宿主細胞への係合時にコンフォメーション変化を来たす表面タンパク質を含有し、このコンフォメーション変化の結果として、宿主膜とウイルス膜を一体化する６ヘリックスバンドルが形成されることになる。ウイルス融合プロセスのペプチドに基づく阻害は、機序的に実行可能であり、臨床的に有効であるが（例えば、２００３年にＦＤＡにより承認されたフゼオン（すなわち、エンフビルチド（ｅｎｆｕｒｖｉｒｔｉｄｅ））、ｉｎ　ｖｉｖｏでの生物活性形の喪失および急速なタンパク質分解（例えば、１日２回、自己注射される１００ｍｇ）をはじめとするペプチドの生物物理学的および薬理学的傾向が、この検証されたアプローチのより幅広い適用を制限している。それ故、ＣＯＶＩＤ－１９感染の予防および／または処置のための新たな戦略が、大流行を有効に緩和するために、緊急に必要とされている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００６】

概要

本願は、コロナウイルス（例えば、ベータコロナウイルス、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）感染症の予防および／または処置のための、最適化および標的化された予防および治療剤を生成するためにＰＥＧ（ｎ）－コレステロールまたはチオコレステロール誘導体化方法と組み合わせられた、生物活性ヘリックス構造を再現および強化するペプチド安定化技術（例えば、ステープル化）を開示する、組成物および方法に関する。「ステープル」（例えば、全炭水化物ステープル）を天然ペプチドに挿入することにより、生物活性ヘリックス構造を回復させることができ、ヘリックス構造のコアのそうしなければ不安定な

アミド結合を埋もれさせること、および／またはアミド結合を身体のプロテアーゼによるそれらの認識およびタンパク質分解を妨げる様式で拘束することにより、優れたプロテアーゼ耐性を付与することができる。ここでは、コロナウイルス（例えば、ベータコロナウイルス、例えばＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）の炭水化物ステープル化されたおよびＰＥＧ（ｎ）－コレステロールまたはチオコレステロール誘導体化されたペプチド阻害剤が開示される。これらの構造的に安定化されたペプチド阻害剤は、ＣＯＶＩＤ－１９などのコロナウイルス（例えば、ベータコロナウイルス、例えばＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）感染症を予防および／または処置するために使用される。

【０００７】

本開示は、新規ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ステープル化ペプチドを特徴とする。一部の例では、ＨＲ２ステープル化ペプチドは、配列番号６のアミノ酸配列と少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、または少なくとも９５％同一である。一部の例では、ＨＲ２ステープル化ペプチドは、１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０カ所のアミノ酸位置で配列番号１０と異なる。ある特定の場合には、配列番号６は、ステープル構築物Ｄ、Ｇ、ＫまたはＮ（図１２を参照されたい）のいずれか１つにおけるステープルを含むように修飾される。一部の例では、これらのＨＲ２ステープル化ペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の組換え５－ＨＢに結合する。１つの例では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の５－ＨＢは、配列番号７８の配列を含む、またはそれからなる。ある特定の例では、配列番号６に対する置換は、ヘリックスの非相互作用面の残基の１つもしくは複数に対して（図９を参照されたい）または図２４Ａの非結合残基の１つもしくは複数に対して行われる。一部の例では、ＨＲ２ステープル化ペプチドは、配列番号１０、１３、１７または２０のアミノ酸配列と少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、または少なくとも９５％同一である。一部の例では、ＨＲ２ステープル化ペプチドは、１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０カ所のアミノ酸位置で配列番号１０、１３、１７または２０と異なるが、ただし、配列番号１０、１３、１７または２０における分子間ステープルを形成する２個の非天然アミノ酸は置換されない。一部の例では、これらのＨＲ２ステープル化ペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の組換え５－ＨＢに結合する。１つの例では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の５－ＨＢは、配列番号７８の配列を含む、またはそれからなる。一部の場合には、置換される１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０カ所のアミノ酸位置は、非相互作用面にあるか、またはアルファヘリックスの相互作用面と非相互作用面との境界にある（図９を参照されたい）。ある特定の例では、置換は、図２４Ａの非結合残基の１つまたは複数に対して行われる。ある特定の例では、配列番号１０、１３、１７または２０のＮおよび／またはＣ末端における１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０個のアミノ酸が欠失され得る。一部の例では、ステープル化ペプチドは、長さ１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９または５０アミノ酸である。一部の場合には、配列番号１０の第１のステープル化するアミノ酸の上流のＮ末端アミノ酸（すなわち、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）の１個または複数（１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２または１３個）が欠失され得る。一部の場合には、配列番号１０の第２のステープル化するアミノ酸の下流のＣ末端アミノ酸（すなわち、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧ（配列番号７６）の１個または複数（１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５または１６個）が欠失され得る。一部の場合には、ステープル化ペプチドは、配列番号４のアミノ酸配列と少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９１％、少なくとも９２％、少なくとも９３％、少なくとも９４％、または少なくとも９５％同一であり、配列番号１０、１３、１７または２０に見られる分子間ステープルを形成する２個の非天然アミノ酸を有する。一部の場合には、置換される配列番号４における１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０カ

所のアミノ酸位置は、アルファヘリックスの相互作用面にある。一部の場合には、置換される配列番号４における１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０カ所のアミノ酸位置は、アルファヘリックスの非相互作用面にもしくは相互作用面と非相互作用面との境界に（図９を参照されたい）あるか、または図２４Ａの非結合残基の１つもしくは複数である。一部の例では、これらのＨＲ２ステープル化ペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の組換え５－ＨＢに結合する。１つの例では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の５－ＨＢは、配列番号７８の配列を含む、またはそれからなる。

【０００８】

一部の場合には、アミノ酸配列は、８が、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基であり、Ｘが、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる。一部の場合には、構造的に安定化されたポリペプチドは、８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示される配列と、少なくとも９４％同一であるアミノ酸配列を含む。一部の場合には、構造的に安定化されたポリペプチドは、８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、Ｘが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列、または１つのアミノ酸置換があるそのバリアントを含む。一部の場合には、アミノ酸配列は、配列番号１３（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩ８ＲＬＮＥＶＡＸＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり、８が、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基であり、Ｘが、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基である。一部の場合には、アミノ酸配列は、８が、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基であり、Ｘが、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基である、配列番号１７（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮ８ＶＡＫＮＬＮＸＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる。一部の場合には、８は、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、Ｘは、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である。一部の場合には、アミノ酸配列は、配列番号１７で示されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなり、８が、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基であり、Ｘが、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基である。一部の場合には、８は、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、Ｘは、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である。一部の場合には、アミノ酸配列は、８が、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基であり、Ｘが、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基である、配列番号２０で示されるアミノ酸配列を含むか、またはそれからなる。一部の場合には、８は、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、Ｘは、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である。

【０００９】

一部の場合には、上記ステープル化ペプチドの各々は、ステープル化ペプチドのＣ末端にＧＫまたはＫのどちらかを有する。これらのステープル化ペプチドの各々は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２またはそのバリアントによる細胞（例えば、肺上皮細胞）の感染を阻害および／または予防することができる。一部の場合には、ステープル化ペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する。一部の場合には、ステープル化ペプチドは、シュ

ードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。一部の場合には、これらのステープル化ペプチドは、コレステロールまたはチオコレステロールとコンジュゲートされている。コンジュゲーションは、ポリエチレングリコールなどのリンカーを介したものであり得る。一部の場合には、リンカーは、ＰＥＧ（ｎ）（ここで、ｎ＝１～３６）である。一部の場合には、ｎ＝３～１０、１２、１６、２０、２４または３６である。一部の場合には、ｎ＝４または８である。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。一部の場合には、リンカーは、ペプチドリンカーである。一部の場合には、リンカーは、$(PEG)_4$または$(PEG)_8$と同じまたはほぼ同じ長さを有する。一部の場合には、リンカー／コレステロールは、図１２に「＊」と示されている構造を有する。これらのステープル化ペプチドおよびステープル化ペプチドコンジュゲートを使用して、それを必要とする対象におけるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症を処置または予防することができる。一部の場合には、対象は、ヒト対象である。

【００１０】

本開示は、ＰＥＧ（ｎ）－コレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール（ここで、ｎ＝３～３６）を含むリンカーも特徴とする。一部の場合には、ｎ＝３～１０、１２、１６、２０、２４または３６である。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７または８である。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

【００１１】

本開示は、コレステロールまたはチオコレステロールとリンカー（例えば、ＰＥＧ）を介してコンジュゲートされているステープル化ＨＲ２　ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ペプチドも特徴とする。一部の場合には、ＰＥＧの３～３６リピートが存在する。ステープル化ＨＲ２ペプチドは、長さ１８～６０アミノ酸（例えば、長さ１９～５０、または３８～５０アミノ酸）であり得る。一部の場合には、ペプチドは、配列番号３と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％または９５％同一である配列を含む。一部の場合では、ペプチドは、配列番号４と少なくとも６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％または９５％同一である配列を含む。一部の場合には、置換される１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０カ所のアミノ酸位置は、アルファヘリックスの相互作用面にある。一部の場合には、置換される１、２、３、４、５、６、７、８、９または１０カ所のアミノ酸位置は、非相互作用面にあるか、またはアルファヘリックスの相互作用面と非相互作用面との境界にある（図９を参照されたい）。一部の場合には、ステープルは、配列番号１０の場合と同じ位置に挿入される。一部の場合には、ステープルは、配列番号１３の場合と同じ位置に挿入される。一部の場合には、ステープルは、配列番号１７の場合と同じ位置に挿入される。一部の場合には、ステープルは、配列番号２０の場合と同じ位置に挿入される。一部の場合には、ステープル化ペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する。一部の場合には、ステープル化ペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。一部の場合には、ステープル化ペプチドは、配列番号７８のアミノ酸配列を含むまたはそれからなるポリペプチドに結合する。

【００１２】

第１の態様では、本開示は、配列番号６（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮＥＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示される配列と少なくとも５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％または９４％同一であるアミノ酸配列を含む構造的に安定化されたポリペプチドを提供する。一部の例では、配列番号６の（ｉ）１４および２１位、（ｉｉ）１７および２４位、（ｉｉｉ）２０および２７位；（ｉｖ）２１および２８位；または（ｖ）２４および３１位から選択される位置（配列番号６の１位はＮ末端アスパラギン酸であり、３８位はＣ末端リシンである）におけるアミノ酸は

、オレフィン側鎖を有するα，α－二置換非天然アミノ酸に置き換えられている。１つの例では、１４および２１位は、オレフィン側鎖を有するα，α－二置換非天然アミノ酸に置き換えられている。１つの例では、１７および２４位は、オレフィン側鎖を有するα，α－二置換非天然アミノ酸に置き換えられている。１つの例では、２１および２８位は、オレフィン側鎖を有するα，α－二置換非天然アミノ酸に置き換えられている。１つの例では、２４および３１位は、オレフィン側鎖を有するα，α－二置換非天然アミノ酸に置き換えられている。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ３６～６０アミノ酸、必要に応じて長さ３８～５０アミノ酸（例えば、長さ３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９または６０アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ３８アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、配列番号７８のアミノ酸配列を含むまたはそれからなるポリペプチドに結合する。

【００１３】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドのアミノ酸配列は、配列番号６で示される配列と少なくとも７０％同一（例えば、少なくとも７０％、７５％、８０％、８５％、９０％または９４％同一）である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドのアミノ酸配列は、配列番号６で示される配列と少なくとも８０％同一（例えば、少なくとも８０％、８５％、９０％または９４％同一）である。

【００１４】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドのアミノ酸配列は、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドのアミノ酸配列は、配列番号１３（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩ８ＲＬＮＥＶＡＸＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドのアミノ酸配列は、配列番号１７で示されるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドのアミノ酸配列は、配列番号２０で示されるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる。

【００１５】

一部の例では、構造的に安定化されたポリペプチドは、長さ３８～４５（３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４または４５）アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたポリペプチドは、長さ３８～４０（３８、３９または４０）アミノ酸である。

【００１６】

一部の例では、配列番号６の３７および／または３８位は、置換されていない。

【００１７】

第２の態様では、本開示は、配列番号１０、１３、１７または２０で示されるアミノ酸配列を含み、配列番号１０の３、４、６、９、１１、１３、１５、１８、２０、２２、２５、２７、２９、３２、３４、３５、３７または３８位のアミノ酸の少なくとも１～１８個が、任意の他の天然または非天然アミノ酸によって置換されており、配列番号６の１４および２１、１７および２４、２１および２８、または２４および３１位それぞれの非天然アミノ酸が置換されていない、構造的に安定化されたペプチドであって、長さ４５アミノ酸以下であり、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害し、および／またはシュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する、構造的に安定化されたペプチドに関する。一部の

例では、構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、配列番号７８の配列を含むまたはそれからなるポリペプチドに結合する。

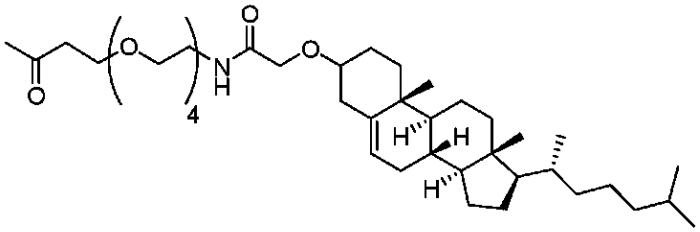
【００１８】

第３の態様では、本開示は、前述の構造的に安定化されたポリペプチドのいずれか１つを有する（例えば、配列番号７～２１のいずれか１つを有する）コンジュゲートを特徴とする。一部の例では、コンジュゲートは、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）および／またはコレステロール部分（例えば、コレステロール；チオコレステロール）も含む。一部の例では、ＰＥＧおよび／またはコレステロールは、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端に連結されている。一部の例では、コンジュゲートは、ＰＥＧおよびコレステロールを含む。一部の例では、コンジュゲートは、ＰＥＧ（ｎ）－コレステロールを含み、ここで、ｎは、１～３６であり（ｎ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５または３６）、必要に応じて、ｎは、４、５、６、７または８である。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。一部の例では、コンジュゲートは、ＰＥＧおよびチオコレステロールを含む。一部の例では、コンジュゲートは、ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを含み、ここで、ｎは、１～３６であり（ｎ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５または３６）、必要に応じて、ｎは、４、５、６、７または８である。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

【００１９】

配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）のまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドと、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（４）－コレステロール部分とを含むコンジュゲートも、本明細書で特徴付けられる。一部の例では、ＰＥＧ（４）－コレステロール部分は、式：

【化１】

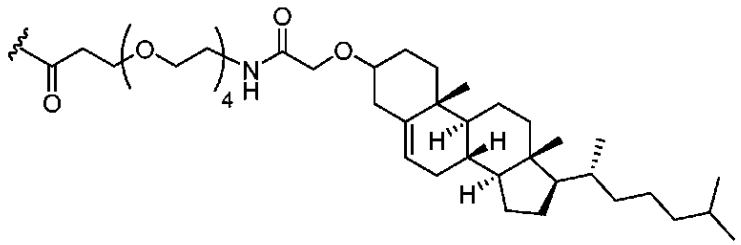


を含む。

【００２０】

一部の例では、ＰＥＧ（４）－コレステロール部分は、式：

【化２】

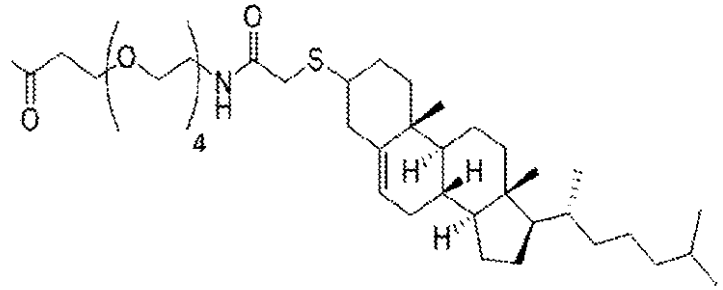


を有する。

【００２１】

加えて、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）のまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドと、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分とを含むコンジュゲートが、本明細書で特徴付けられる。一部の例では、ＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分は、式：

【化３】

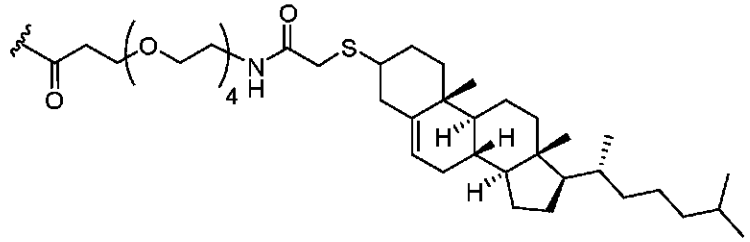


を含む。

【００２２】

一部の例では、ＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分は、式：

【化４】

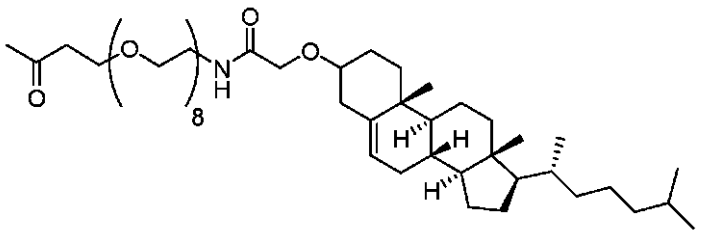


を有する。

【００２３】

配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）のまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドと、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（８）－コレステロール部分とを含むコンジュゲートが、本明細書でさらに特徴付けられる。一部の例では、ＰＥＧ（８）－コレステロール部分は、式：

【化５】

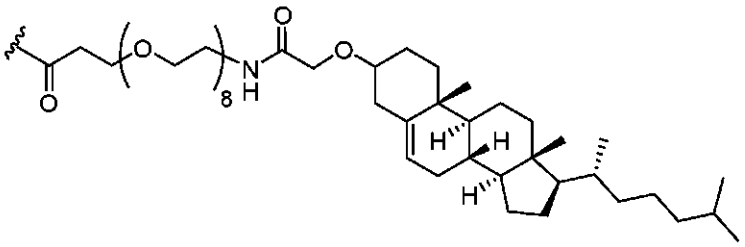


を含む。

【００２４】

一部の例では、ＰＥＧ（８）－コレステロール部分は、式：

【化６】

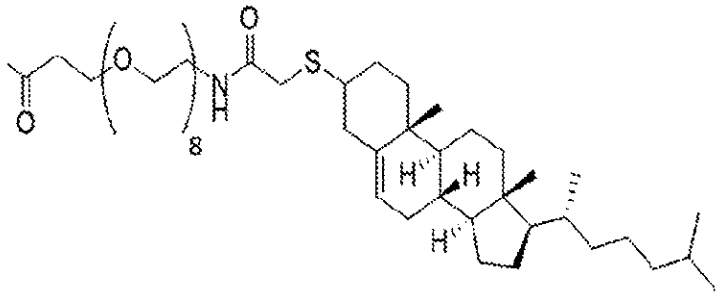


を有する。

【００２５】

配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）のまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドと、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分とを含むコンジュゲートも、本明細書で特徴付けられる。一部の例では、ＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分は、式：

【化７】

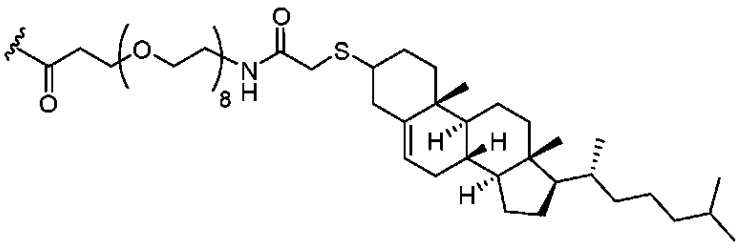


を含む。

【００２６】

一部の例では、ＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分は、式：

【化８】

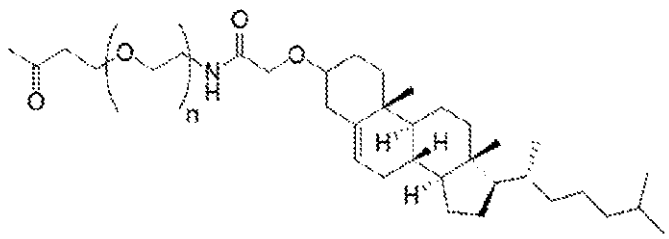


を有する。

【００２７】

加えて、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）のまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドと、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分（ここで、（ｎ）＝４、５、６、７または８）とを含むコンジュゲートが、本明細書で特徴付けられる。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。一部の例では、ＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分は、式：

【化９】



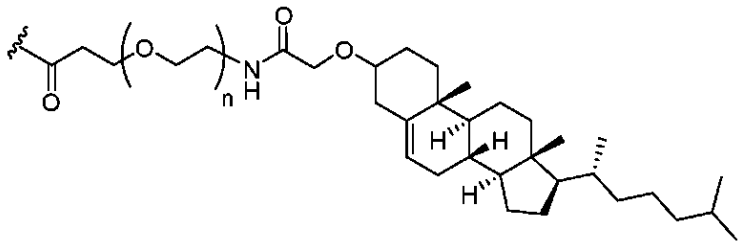
（式中、ｎ＝４、５、６、７、または８）

を含む。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

【００２８】

一部の例では、ＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分は、式：

【化１０】



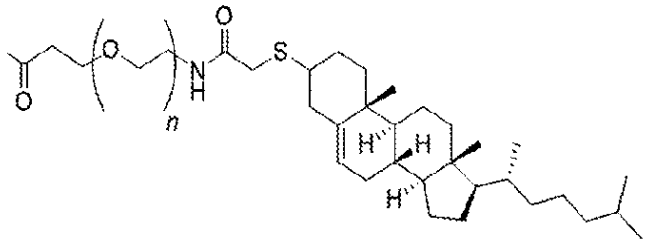
（式中、ｎ＝４、５、６、７、または８）

を有する。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

【００２９】

最後に、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）のまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドと、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分（ここで、（ｎ）＝４、５、６、７または８）とを含むコンジュゲートも、本明細書で特徴付けられる。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。一部の例では、ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分は、式：

【化１１】

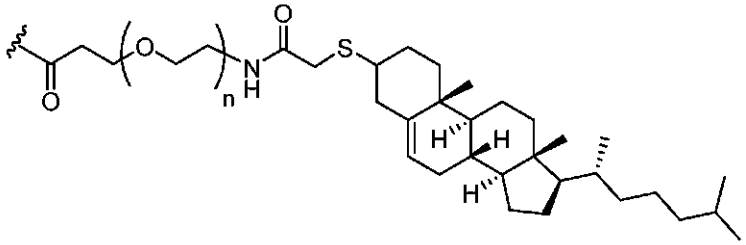


（式中、ｎ＝４、５、６、７、または８）
を含む。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

【００３０】

一部の例では、ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分は、式：

【化１２】



（式中、ｎ＝４、５、６、７、または８）
を有する。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

【００３１】

８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）とまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つと少なくとも９４％同一であるアミノ酸配列を有する構造的に安定化されたポリペプチドと、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（４）－コレステロール部分とを含むコンジュゲートも、本明細書で特徴付けられる。

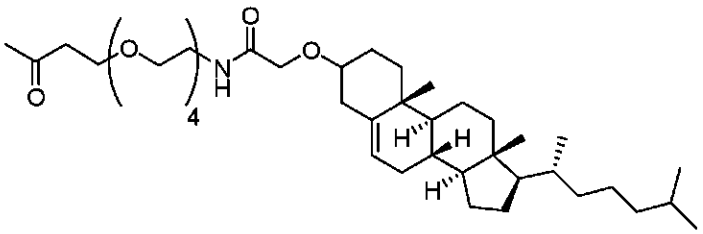
【００３２】

一部の例では、コンジュゲートは、８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）のまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドと；構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（４）－コレステロール部分とを含む。

【００３３】

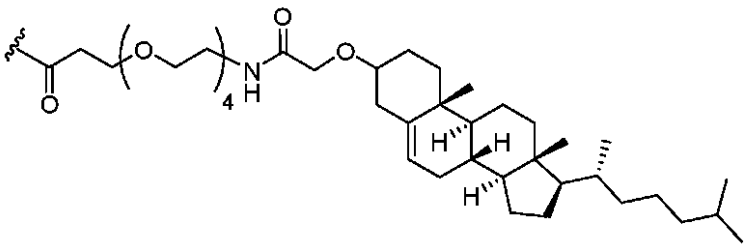
一部の例では、ＰＥＧ（４）－コレステロール部分は、式：

【化１３】



を含む。一部の例では、ＰＥＧ（４）－コレステロール部分は、式：

【化１４】



を有する。

【００３４】

８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）とまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つと少なくとも９４％同一であるアミノ酸配列を有する構造的に安定化されたポリペプチドと、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分とを含むコンジュゲートも、本明細書で特徴付けられる。

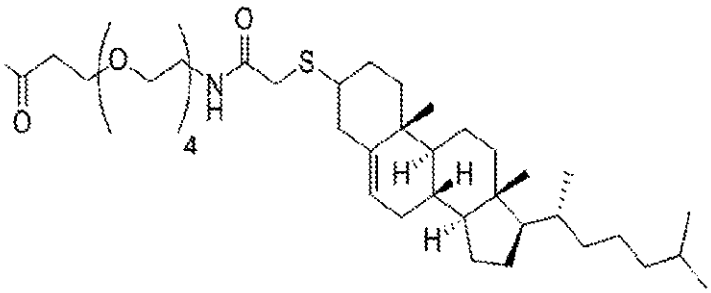
【００３５】

一部の例では、コンジュゲートは、８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）のまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドと；構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分とを含む。

【００３６】

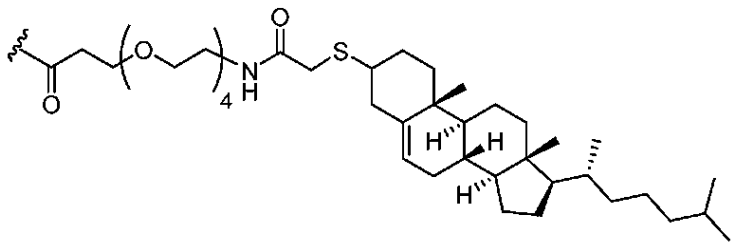
一部の例では、ＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分は、式：

【化１５】



を含む。一部の例では、ＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分は、式：

【化１６】



を有する。

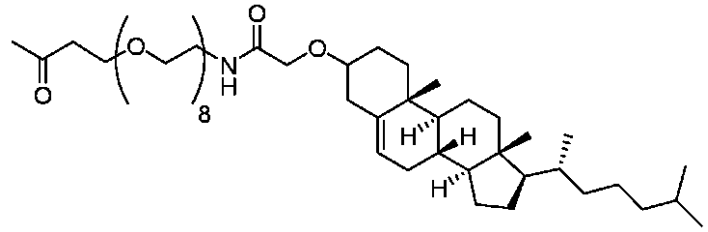
【００３７】

８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）とまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つと少なくとも９４％同一であるアミノ酸配列を有する構造的に安定化されたポリペプチドと、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（８）－コレステロール部分とを含むコンジュゲートも、本明細書で特徴付けられる。

【００３８】

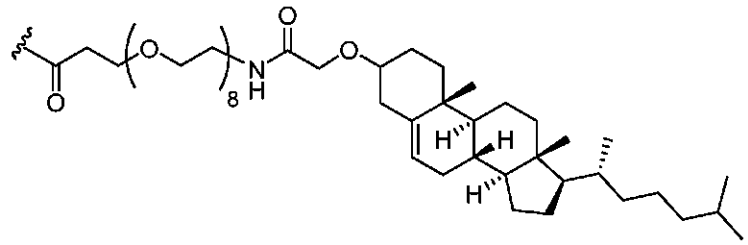
一部の例では、コンジュゲートは、８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）のまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドと；構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（８）－コレステロール部分とを含む。一部の例では、ＰＥＧ（８）－コレステロール部分は、式：

【化１７】



を含む。一部の例では、ＰＥＧ（８）－コレステロール部分は、式：

【化１８】



を有する。

【００３９】

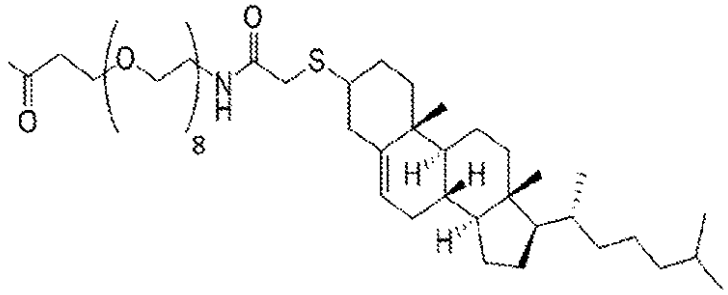
８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）とまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つと少なくとも９４％同一であるアミノ酸配列を有する構造的に安定

化されたポリペプチドと、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分とを含むコンジュゲートも、本明細書で特徴付けられる。一部の例では、コンジュゲートは、８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）のまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドと；構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分とを含む。

【００４０】

一部の例では、ＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分は、式：

【化１９】

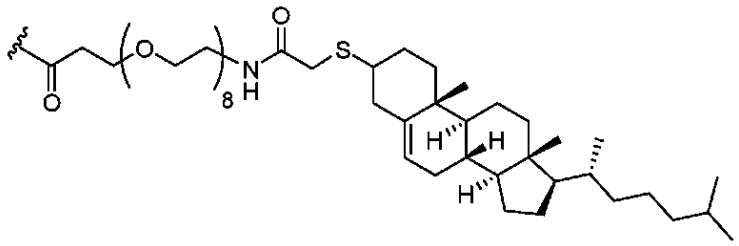


を含む。

【００４１】

一部の例では、ＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分は、式：

【化２０】

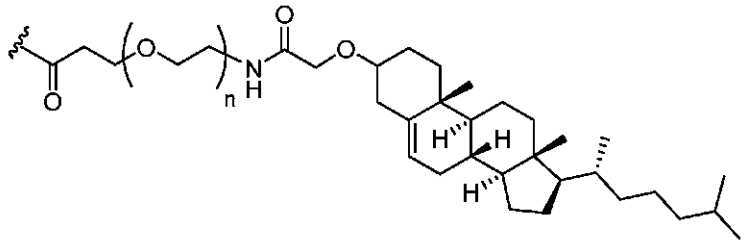


を有する。

【００４２】

８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）のまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドと、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分（ここで、（ｎ）＝４、５、６、７または８）とを含むコンジュゲートも、本明細書で特徴付けられる。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。一部の例では、ＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分は、式：

【化２１】

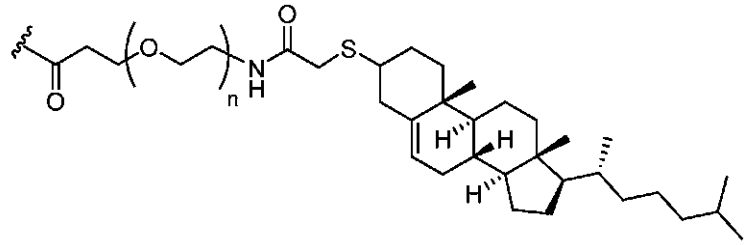


（式中、ｎ＝４、５、６、７、または８）
を有する。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

【００４３】

８が（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基であり、およびＸが（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基である、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）のまたは配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドと、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分（ここで、（ｎ）＝４、５、６、７または８）とを含むコンジュゲートも、本明細書で特徴付けられる。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。一部の例では、ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分は、式：

【化２２】



（式中、ｎ＝４、５、６、７、または８）
を有する。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

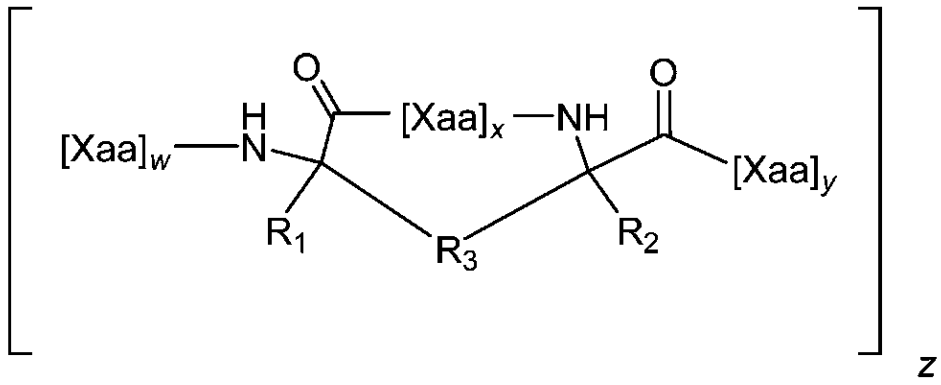
【００４４】

一部の例では、８は、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン基であり、Ｘは、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン基である。

【００４５】

次に、式：

【化２３】



式(I)

を含む構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩（式中、各R_1およびR_2は、ＨまたはC_1～C_{10}アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリールアルキル、またはヘテロシクリルアルキルであり、これらのいずれかは、置換されているか、または非置換であり；各R_3は、独立して、アルカン　アルキレン、アルケニレン、またはアルキニレンであり、これらのいずれかは、置換されているか、または非置換であり；ｚは、１、２、３、４，５、６、７、８、９または１０であり；各［Ｘａａ］$_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり、各［Ｘａａ］$_x$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり、各［Ｘａａ］$_y$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）である）であって、構造的に安定化されたペプチドが、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／またはシュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する、構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩が、本明細書で特徴付けられる。

【００４６】

一部の例では、R_1は、アルキルである。一部の例では、R_1は、メチル基である。一部の例では、R_3は、アルキルである。一部の例では、R_3は、メチル基である。一部の例では、R_2は、アルケニルである。一部の例では、R_2は、アルキルである。一部の例では、R_2は、メチル基である。一部の例では、R_3は、アルケニルである。一部の例では、薬学的に許容される塩は、塩酸塩、ナトリウム、硫酸塩、酢酸塩、リン酸塩または二リン酸塩、塩化物、カリウム、マレイン酸塩、カルシウム、クエン酸塩、メシル酸塩、硝酸塩、酒石酸塩、アルミニウム、グルコン酸塩、およびこれらの任意の組合せを含む。

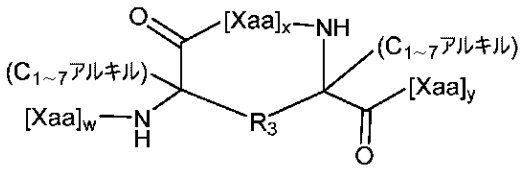
【００４７】

一部の例では、本明細書に記載の構造的に安定化されたペプチドまたは薬学的に許容される塩は、最大で長さ５０（例えば、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、または５０）アミノ酸、必要に応じて、長さ最大で４５（例えば、４５、４６、４７、４８、４９、または５０）アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩は、長さ３８アミノ酸である。

【００４８】

式Ｉ－１を含む構造的に安定化されたペプチドであって、式Ｉ－１が、

【化２４】

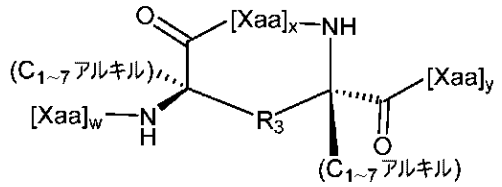


またはその薬学的に許容される塩により定義され；
Ｒ３が、アルケニレンであり；
［Ｘａａ］ｗが、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
［Ｘａａ］ｘが、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；および
［Ｘａａ］ｙが、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；
必要に応じて、［Ｘａａ］ｗにおけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基が、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～４アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］ｙにおけるＣ末端リシンのカルボン酸基が、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ２に置き換えられている、構造的に安定化されたペプチドも本明細書で特徴付けられる。

【００４９】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、式Ｉ－１ａからなる。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、

【化２５】

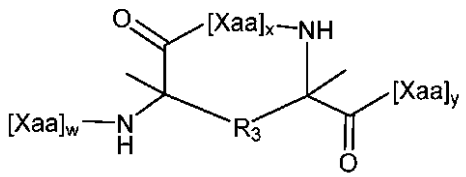


またはその薬学的に許容される塩（式中、必要に応じて、［Ｘａａ］ｗにおけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～４アルキル）に置き換えられており、必要に応じて、［Ｘａａ］ｙにおけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ２に置き換えられており、ここでの変数は、式Ｉ－Ａについて示されるとおりである）
により定義される式Ｉ－１ａを含む。

【００５０】

式Ｉ－Ａを含む構造的に安定化されたペプチドであって、式Ｉ－Ａが、

【化２６】



またはその薬学的に許容される塩により定義され；
Ｒ３が、アルケニレンであり；
［Ｘａａ］ｗが、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
［Ｘａａ］ｘが、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；および
［Ｘａａ］ｙが、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；
必要に応じて、［Ｘａａ］ｗにおけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基が、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～４アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ

]$_y$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基が、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$に置き換えられている、構造的に安定化されたペプチドも、本明細書で特徴付けられる。

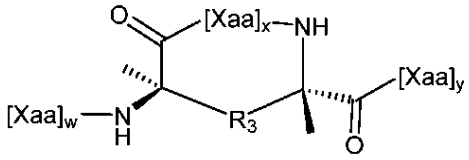
【００５１】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、式Ｉ－Ａからなる。

【００５２】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、

【化２７】



またはその薬学的に許容される塩（式中、必要に応じて、［Ｘａａ］$_w$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$に置き換えられており、ここでの変数は、式Ｉ－Ａについて示されたとおりである）

により定義される式Ｉａを含む。

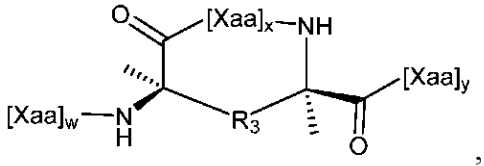
【００５３】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、式Ｉａからなる。

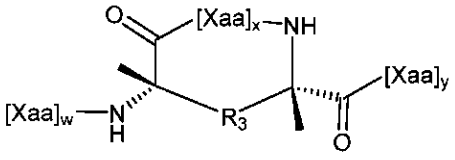
【００５４】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、

【化２８－１】

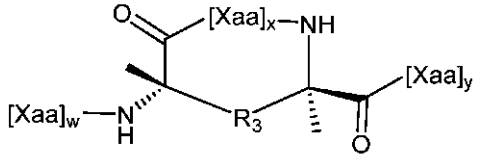


,



,もしくは

【化２８－２】

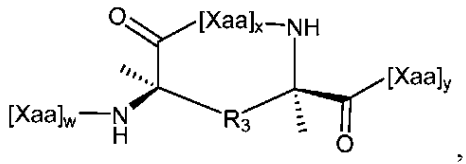
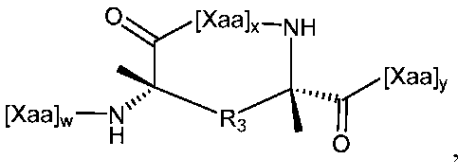
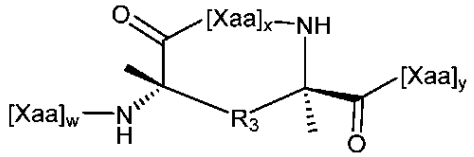


またはその薬学的に許容される塩を含み、これらの式中、必要に応じて、［Ｘａａ］$_w$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$に置き換えられており、ここでの変数は、式Ｉ－Ａについて示されたとおりである。

【００５５】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、

【化２９】


,

,もしくは


またはその薬学的に許容される塩からなり、これらの式中、必要に応じて、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられており、ここでの変数は、式Ｉ－Ａについて示されたとおりである。

【００５６】

一部の例では、Ｒ$_{3}$は、Ｃ$_{7～15}$アルケニレンである。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、Ｃ$_{9～13}$アルケニレンである。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、Ｃ$_{11}$アルケニレンである。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～7}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～7}$－である。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{5～7}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～4}$－である。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{6}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3}$－である。一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている。一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_{3}$に置き換えられている。一部の例では、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられている。

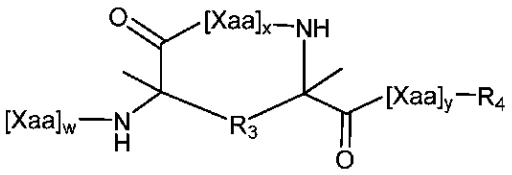
【００５７】

本開示の別の特徴は、式（Ｉ）を有する構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩とＰＥＧおよび／またはコレステロールとを含むコンジュゲートである。一部の例では、コンジュゲートは、ＰＥＧおよびコレステロールを含む。一部の例では、コレステロールは、チオコレステロールである。一部の例では、コンジュゲートは、ＰＥＧ（ｎ）－コレステロールを含むコンジュゲートを含み、必要に応じて、ここでのｎは、１～３６であり（ｎ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５または３６）、必要に応じて、ここでのｎは、４、５、６、７または８である。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。一部の例では、コンジュゲートは、ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを含むコンジュゲートを含み、ここでのｎは、１～３６であり（ｎ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５または３６）、必要に応じて、ここでのｎは、４、５、６、７または８である。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

【００５８】

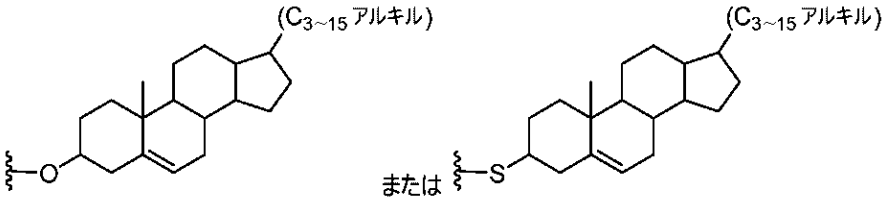
式ＩＩを含む構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式ＩＩが、

【化３０】



またはその薬学的に許容される塩（式中、
Ｒ３は、アルケニレンであり；
Ｒ４は、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ２～６アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ２ＣＨ２］ｍ－Ｎ（Ｒ５）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～６アルキレン）－Ｒ６であり、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］ｙにおけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点であり；
Ｒ５は、水素またはＣ１～４アルキルであり；
Ｒ６は、下記の一方：

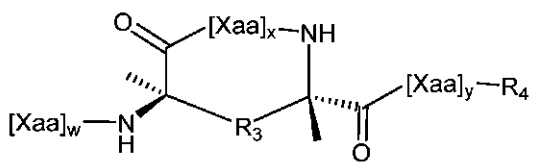
【化３１】



であり、必要に応じて、これらの各々は、Ｒ７のｔ個の存在により置換されており；
Ｒ７は、各々の存在について独立して、Ｃ１～３アルキル、ヒドロキシルまたはＣ１～３アルコキシルを表し；
［Ｘａａ］ｗは、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
［Ｘａａ］ｘは、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；
［Ｘａａ］ｙは、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；
ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６であり；および
ｔは、０、１、２、または３であり；
必要に応じて、［Ｘａａ］ｗにおけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～４アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］ｙにおけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ２に置き換えられている）により定義される、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートも本明細書で特徴付けられる。

【００５９】
一部の実施形態では、構造的に安定化されたペプチドは、式ＩＩからなる。一部の実施形態では、構造的に安定化されたペプチドは、

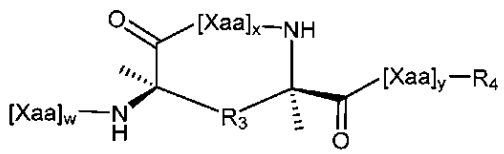
【化３２】

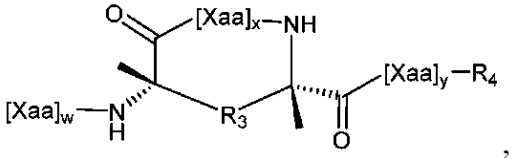


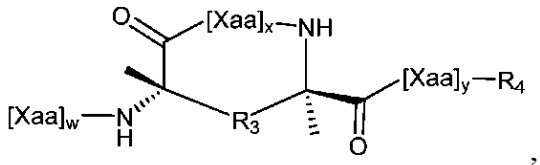
またはその薬学的に許容される塩（式中、必要に応じて、［Ｘａａ］ｗにおけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～４アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］ｙにおけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ２に置き換えられており、ここでの変数は、式ＩＩについて示されたとおり

である）により定義される式ＩＩａを含む。一部の実施形態では、構造的に安定化されたペプチドは、式ＩＩａからなる。一部の実施形態では、構造的に安定化されたペプチドは、

【化３３】



,


,


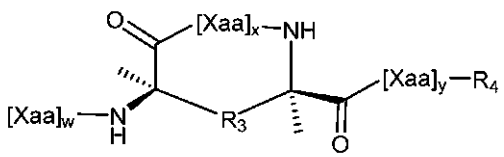
,

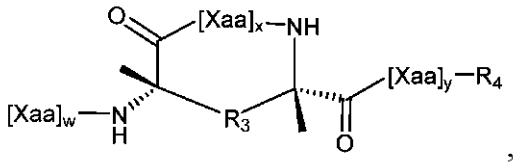
またはその薬学的に許容される塩を含み、これらの式中、必要に応じて、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられており、ここでの変数は、式ＩＩについて示されたとおりである。

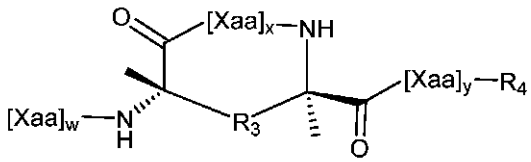
【００６０】

一部の実施形態では、構造的に安定化されたペプチドは、

【化３４】



,


,


,

またはその薬学的に許容される塩からなり、これらの式中、必要に応じて、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられており、ここでの変数は、式ＩＩについて示されたとおりである。

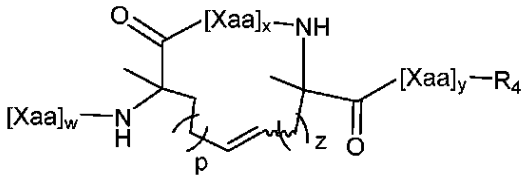
【００６１】

一部の実施形態では、Ｒ$_{3}$は、Ｃ$_{7～15}$アルケニレンである。一部の実施形態では、Ｒ$_{3}$は、Ｃ$_{9～13}$アルケニレンである。一部の実施形態では、Ｒ$_{3}$は、Ｃ$_{11}$アルケニレンである。一部の実施形態では、Ｒ$_{3}$は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～7}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～7}$－である。一部の実施形態では、Ｒ$_{3}$は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{5～7}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～4}$－である。一部の実施形態では、Ｒ$_{3}$は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{6}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3}$－である。

【００６２】

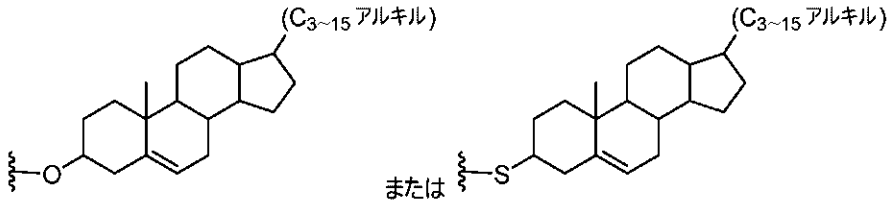
式ＩＩＩを含む構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式ＩＩＩが、

【化３５】



またはその薬学的に許容される塩（式中、
　R_4は、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（$C_{2\sim6}$アルキレン）－［Ｏ－CH_2CH_2］$_m$－Ｎ（R_5）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim6}$アルキレン）－R_6であり、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点であり；
　R_5は、水素または$C_{1\sim4}$アルキルであり；
　R_6は、下記の一方：

【化３６】

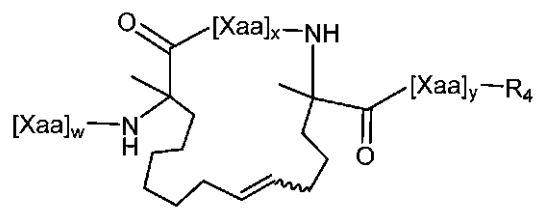


であり、必要に応じて、これらの各々は、R_7のｔ個の存在により置換されており；
　R_7は、各々の存在について独立して、$C_{1\sim3}$アルキル、ヒドロキシルまたは$C_{1\sim3}$アルコキシルを表し；
　［Ｘａａ］$_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
　［Ｘａａ］$_x$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；
　［Ｘａａ］$_y$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；
　ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６であり；
　ｐは、２、３、４、５、６、７、または８であり；
　ｚは、２、３、４、５、または６であり；および
ｔは、０、１、２、または３であり；
　必要に応じて、［Ｘａａ］$_w$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）NH_2に置き換えられている）により定義される、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートも、本明細書で特徴付けられる。

【００６３】
　一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、式ＩＩＩからなる。

【００６４】
　一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、

【化３７】



またはその薬学的に許容される塩（式中、必要に応じて、［Ｘａａ］$_w$におけるＮ末端ア

スパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、および必要に応じて、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられており、ここでの変数は、式ＩＩＩについて示されたとおりである）により定義される式ＩＩＩａを含む。

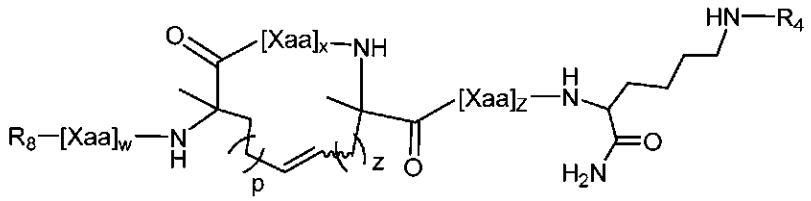
【００６５】

一部の例では、Ｒ$_{4}$は、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{2～3}$アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$］$_{m}$－Ｎ（Ｒ$_{5}$）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～2}$アルキレン）－Ｒ$_{6}$であり、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点である。一部の例では、Ｒ$_{4}$は、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$）－［Ｏ－ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$］$_{m}$－Ｎ（Ｒ$_{5}$）Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）－Ｒ$_{6}$であり、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点である。一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている。一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_{3}$に置き換えられている。一部の例では、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられている。

【００６６】

式ＩＶ：

【化３８】



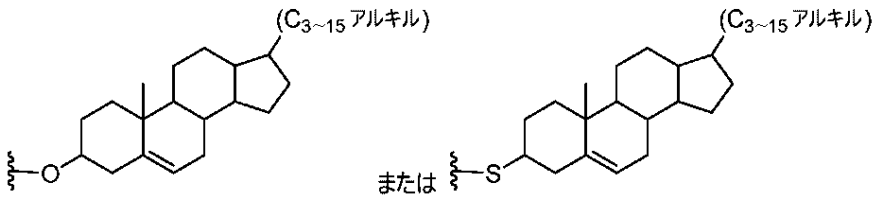
またはその薬学的に許容される塩（式中、

Ｒ$_{4}$は、－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{2～6}$アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$］$_{m}$－Ｎ（Ｒ$_{5}$）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～6}$アルキレン）－Ｒ$_{6}$であり；

Ｒ$_{5}$は、水素またはＣ$_{1～4}$アルキルであり；

Ｒ^{6}は、下記の一方：

【化３９】



であり、必要に応じて、これらの各々は、Ｒ$_{7}$のｔ個の存在により置換されており；

Ｒ$_{7}$は、各々の存在について独立して、Ｃ$_{1～3}$アルキル、ヒドロキシルまたはＣ$_{1～3}$アルコキシルを表し；

Ｒ$_{8}$は、－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）であり；

［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；

［Ｘａａ］$_{x}$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；

［Ｘａａ］$_{z}$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧ（配列番号７７）であり；

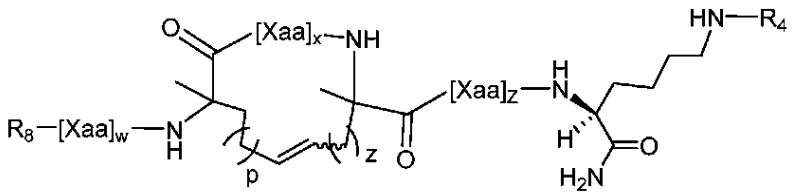
ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６であり；

ｐは、２、３、４、５、６、７、または８であり；

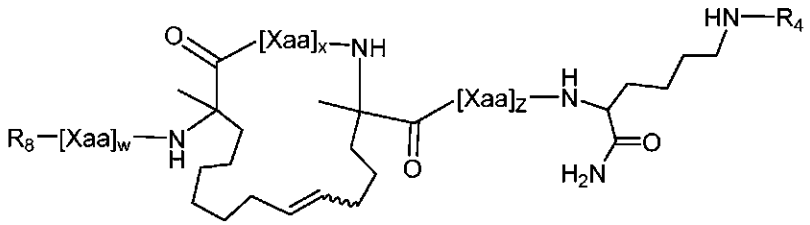
ｚは、２、３、４、５、または６であり；およびｔは、０、１、２、または３である）

により表される、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートも本明細書で特徴付けら

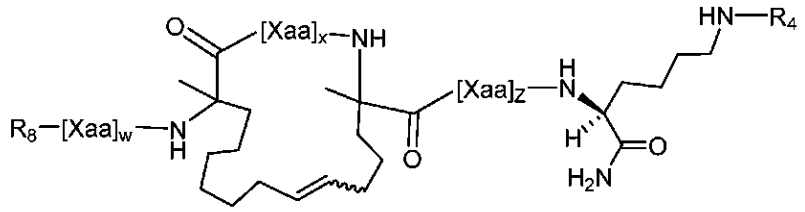
れる。
【００６７】
一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、式ＩＶａまたはその薬学的に許容される塩により表され、式ＩＶａは、
【化４０】



（式中の変数は、式ＩＶについて示されたとおりである）
により定義される。
【００６８】
一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、式ＩＶｂまたはその薬学的に許容される塩により表され、式ＩＶｂは、
【化４１】

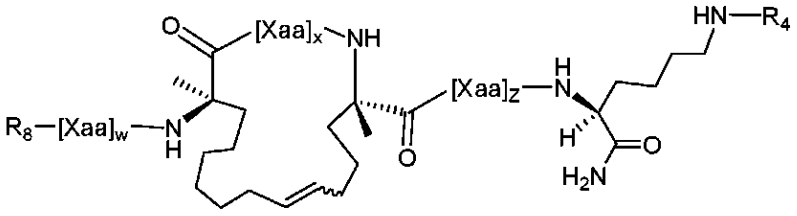


（式中の変数は、式ＩＶについて示されたとおりである）
により定義される。
【００６９】
一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、式ＩＶｃまたはその薬学的に許容される塩により表され、式ＩＶｃは、
【化４２】

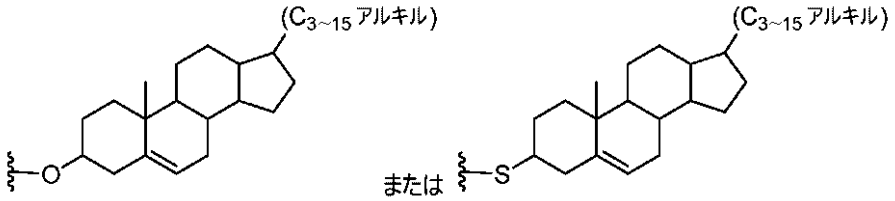


（式中の変数は、式ＩＶについて示されたとおりである）
により定義される。
【００７０】
式Ｖまたはその薬学的に許容される塩により表される構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式Ｖが、

【化４３】



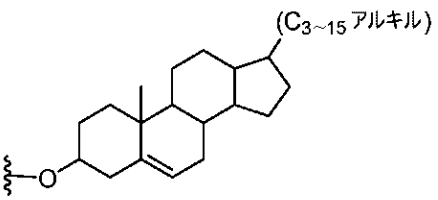
（式中、
Ｒ４は、－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ２～６アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ２ＣＨ２］ｍ－Ｎ（Ｒ５）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～６アルキレン）－Ｒ６であり；
Ｒ５は、水素またはＣ１～４アルキルであり；
Ｒ６は、下記の一方：
【化４４】



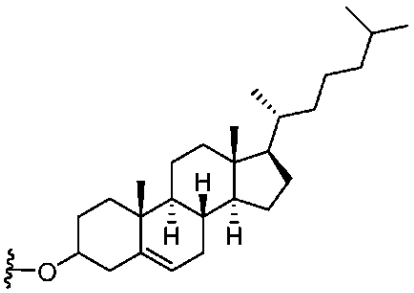
であり、必要に応じて、これらの各々は、Ｒ７のｔ個の存在により置換されており；
Ｒ７は、各々の存在について独立して、Ｃ１～３アルキル、ヒドロキシルまたはＣ１～３アルコキシルを表し；
Ｒ８は、－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～４アルキル）であり；
［Ｘａａ］ｗは、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
［Ｘａａ］ｘは、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；
［Ｘａａ］ｚは、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧ（配列番号７７）であり；
ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６であり；
ｔは、０、１、２、または３である）
により定義される、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートも、本明細書で特徴付けられる。

【００７１】
一部の例では、Ｒ８は、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ３である。一部の例では、Ｒ４は、－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ２～３アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ２ＣＨ２］ｍ－Ｎ（Ｒ５）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～２アルキレン）－Ｒ６である。一部の例では、Ｒ４は、－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ２ＣＨ２）－［Ｏ－ＣＨ２ＣＨ２］ｍ－Ｎ（Ｒ５）Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ２）－Ｒ６である。一部の例では、Ｒ５は、水素である。

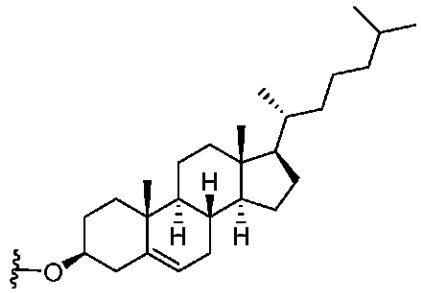
【００７２】
一部の例では、Ｒ６は、Ｒ７のｔ個の存在により置換されている
【化４５】



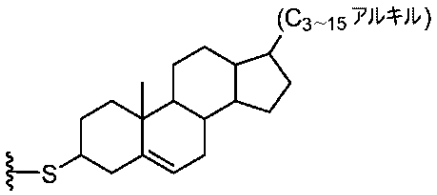
である。
【００７３】
一部の例では、R_6は、R_7のｔ個の存在により置換されている
【化４６】



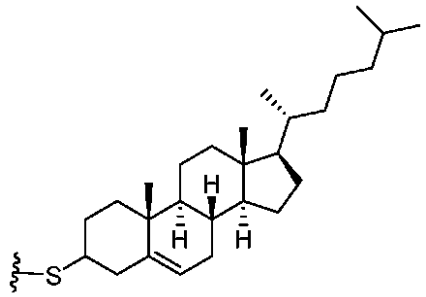
である。
【００７４】
一部の例では、R_6は、R_7のｔ個の存在により置換されている
【化４７】



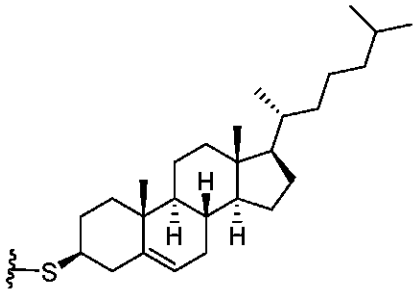
である。
【００７５】
一部の例では、R_6は、R_7のｔ個の存在により置換されている
【化４８】



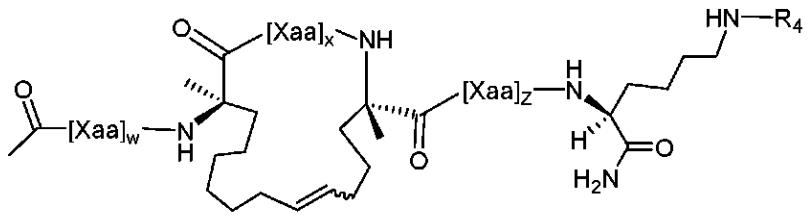
である。
【００７６】
一部の例では、R_6は、R_7のｔ個の存在により置換されている
【化４９】



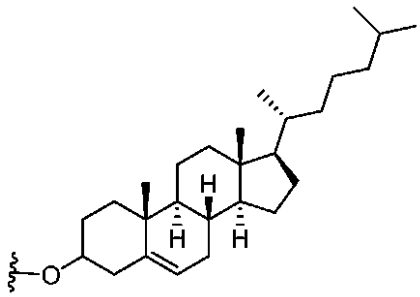
である。
【００７７】
一部の例では、R_6は、R_7のｔ個の存在により置換されている
【化５０】



である。
【００７８】
一部の例では、ｔは、０である。一部の例では、ｍは、４である。一部の例では、ｍは、８である。
【００７９】
式ＶＩまたはその薬学的に許容される塩により表される構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式ＶＩが、
【化５１】



（式中、
R_4は、－Ｃ（Ｏ）－（CH_2CH_2）－［Ｏ－CH_2CH_2］$_8$－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（CH_2）－R_6であり；
R_6は、
【化５２】



であり；
［Ｘａａ］$_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
［Ｘａａ］$_x$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；および
［Ｘａａ］$_z$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧ（配列番号７７）である）
により定義される、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートも、本明細書で特徴付けられる。
【００８０】

上述の構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートのいずれか１つと、薬学的に許容される担体とを含む医薬化合物も、本明細書で特徴付けられる。

【００８１】

さらに、構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートのいずれか１つを作製および使用する方法が、本明細書で提供される。一部の例では、コロナウイルス感染症の処置を必要とするヒト対象においてコロナウイルス感染症を処置する方法であって、上述の（例えば、配列番号７～２１を含む、例えば、配列番号１０または配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つを含む）構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートのいずれか１つの治療有効量をヒト対象に投与するステップを含む方法が、本明細書で提供される。コロナウイルス感染症の予防を必要とするヒト対象においてコロナウイルス感染症を予防する方法であって、上述の（例えば、配列番号７～２１を含む、例えば、配列番号１０または配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つを含む）構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートのいずれか１つの治療有効量をヒト対象に投与するステップを含む方法も、本明細書で提供される。

【００８２】

コロナウイルス感染症の処置を必要とする対象においてコロナウイルス感染症を処置する方法であって、上述の（例えば、配列番号７～２１を含む、例えば、配列番号１０または配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つを含む）構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートのいずれか１つの治療有効量を対象に投与するステップを含む方法が、本明細書でさらに特徴付けられる。コロナウイルス感染症の予防を必要とする対象においてコロナウイルス感染症を予防する方法であって、上述の（例えば、配列番号７～２１を含む、例えば、配列番号１０または配列番号１３、１７もしくは２０のいずれか１つを含む）構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートのいずれか１つの治療有効量を対象に投与するステップを含む方法も、本明細書で開示される。一部の例では、対象は、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラット、マウス、またはコウモリから選択される。

【００８３】

一部の例では、コロナウイルス感染症は、ベータコロナウイルスによるものである。一部の例では、コロナウイルス感染症は、アルファコロナウイルスによるものである。

【００８４】

一部の例では、コロナウイルス感染症は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による感染に起因する。一部の例では、コロナウイルス感染症は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のバリアントによる感染に起因する。一部の例では、バリアントは、Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１、Ｂ．１．４２７／Ｂ．１．４２９、Ｂ．１．６１７．２、Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１、またはブラジルバリアントＰ．１から選択される。一部の例では、バリアントは、オミクロンバリアントである。一部の例では、バリアントは、Ｂ．１．３５１、クラスター５、系統Ｂ．１．１．２０７、系統Ｂ．１．１．７、懸念されるバリアント２０２１０２／０２、系統Ｂ．１．１．３１７、系統Ｂ．１．１．３１８、系統Ｂ．１．３５１、系統Ｂ．１．４２９、系統Ｂ．１．５２５、系統Ｐ．１（系統Ｂ．１．１．２８としても公知）、系統Ｂ．１．１．５２９、系統ＢＡ．１、系統ＢＡ．１．１、系統ＢＡ．２、系統ＢＡ．３、系統ＢＡ．４　系統ＢＡ．５、Ｄ６１４Ｇ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｓ４７７Ｇ／Ｎ、またはＰ６８１Ｈから選択される。一部の例では、バリアントは、Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１、Ｂ．１．４２７／Ｂ．１．４２９、Ｂ．１．６１７．２、Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１、ブラジルバリアントＰ．１、Ｂ．１．１．７、Ｂ．１．３５１、Ｂ．１．５２５、Ｂ．１．５２６、Ｂ．１．６１７．１、Ｂ．１．６１７．３、Ｐ．２、Ｂ．１．６２１、Ｂ．１．６２１．１、Ｂ．１．１．５２９、ＢＡ．１、ＢＡ．１．１、ＢＡ．２、ＢＡ．３、ＢＡ．４またはＢＡ．５のうちの１つを含む。

【００８５】

本明細書で開示される方法は、構造的に安定化されたペプチドの１つを作製する方法も含む。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドを作製する方法は、（ａ）配列番号６で示される配列を有するペプチドまたはそのバリアント（例えば、配列番号６における３、４、６、９、１１、１３、１５、１８、２０、２２、２５、２７、２９、３２、３４、３５、３７もしくは３８位のアミノ酸の少なくとも１個～１８個が置換されている）を提供するステップ、および（ｂ）ペプチドを架橋させるステップ、および必要に応じて、構造的に安定化されたペプチドを精製するステップを含む。一部の例では、ペプチドを架橋させるステップは、ルテニウム触媒メタセシス反応による。一部の例では、方法は、構造的に安定化されたペプチドを無菌医薬組成物として製剤化するステップをさらに含む。

【００８６】

本明細書で提供されるコンジュゲートの１つを合成する方法も、本明細書で提供される。一部の例では、本明細書で提供されるコンジュゲートの１つを合成する方法は、（ａ）構造的に安定化されたポリペプチドを提供するステップ；および（ｂ）構造的に安定化されたポリペプチドの樹脂結合アミンを樹脂上でカルボン酸を含有するＰＥＧおよび／またはコレステロールによって誘導体化するステップを含む。一部の例では、本明細書で提供されるコンジュゲートの１つを合成する方法は、（ａ）構造的に安定化されたポリペプチドを提供するステップ；および（ｂ）構造的に安定化されたポリペプチドの樹脂結合アミンを樹脂上でカルボン酸を含有するＰＥＧおよび／またはチオコレステロールによって誘導体化するステップを含む。

【００８７】

ヘプタッドリピート（ｈｅｐｔａｄ　ｒｅｐｅａｔ）ドメイン２（ＨＲ２）ポリペプチドを合成する方法も、本明細書で提供される。一部の例では、方法は、（ａ）ＨＲ２ポリペプチドを提供するステップ；および（ｂ）ＨＲ２ポリペプチドの樹脂結合アミンを樹脂上でカルボン酸を含有するＰＥＧおよび／またはコレステロールによって誘導体化するステップを含む。一部の例では、方法は、（ａ）ＨＲ２ポリペプチドを提供するステップ；および（ｂ）ＨＲ２ポリペプチドの樹脂結合アミンを樹脂上でカルボン酸を含有するＰＥＧおよび／またはチオコレステロールによって誘導体化するステップを含む。

【００８８】

一部の例では、誘導体化するステップは、チオコレステロールをジクロロメタン（ＤＣＭ）にまたはコレステロールをテトラヒドロフラン（ＴＨＦ）に溶解することによって溶液を生成するステップ；および塩基、ブロモ酢酸のｔ－ブチルエステル、およびトリフルオロ酢酸を順番に溶液に添加するステップによる固相合成によりカルボキシチオコレステロールまたはカルボキシコレステロールを組み込むことを含む。一部の例では、誘導体化するステップは、樹脂に結合された構造的に安定化されたポリペプチドを、ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）を含む溶液中のピペリジンで処理すること；構造的に安定化されたポリペプチドのＮ末端を無水酢酸でキャップすること；構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端をＤＭＦ中のヒドラジンで脱保護すること；構造的に安定化されたポリペプチドをＦｍｏｃ保護ＰＥＧ（ｎ）アミノ酸でアシル化すること；構造的に安定化されたポリペプチドを架橋させること；および構造的に安定化されたポリペプチドを樹脂から単離することをさらに含む。

【００８９】

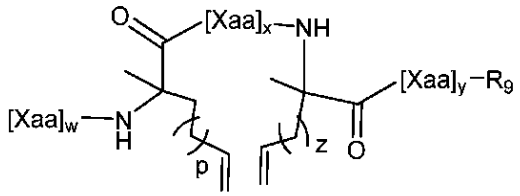
一部の例では、ｎ＝１～３６（ｎ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５または３６）。一部の例では、ｎ＝４、５、６、７または８である。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。一部の例では、配列番号６のＣ末端リシンが樹脂結合アミンで置換され、必要に応じて、配列番号６のＣ末端リシンが樹脂結合カルボン酸またはチオールでさらに置換される。一部の例では、コレステロールは、チオコレステロールである。一部の例では、コンジュゲートは、ＰＥＧ（ｎ）－コレステロールを含み、ここで、ｎは、

１～３６であり、必要に応じて、ｎは、４、５、６、７、または８である。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。一部の例では、コンジュゲートは、ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを含み、ここで、ｎは、１～３６であり、必要に応じて、ｎは、４、５、６、７、または８である。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。一部の例では、ペプチドを架橋させることは、ルテニウム触媒メタセシス反応による。

【００９０】

安定化ペプチドを合成するための方法であって、式ＶＩＩを含むペプチドを閉環メタセシス条件に供して安定化ペプチドを得るステップを含み、式ＶＩＩが、

【化５３】



またはその薬学的に許容される塩（式中、

［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；

［Ｘａａ］$_{x}$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；

［Ｘａａ］$_{y}$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；

Ｒ$_{9}$は、－ＯＨまたは

【化５４】



であり；

ｐは、２、３、４、５、６、７、または８であり；および

ｚは、２、３、４、５、または６であり；

必要に応じて、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている）

により定義される、方法も本明細書で特徴付けられる。

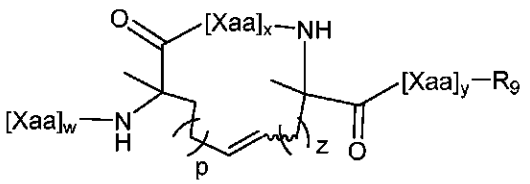
【００９１】

一部の例では、閉環メタセシス条件は、式ＩＶを含む前記ペプチドをＧｒｕｂｂｓ閉環メタセシスルテニウム触媒に曝露することを含む。

【００９２】

一部の例では、安定化ペプチドは、

【化５５】



またはその薬学的に許容される塩（式中、

［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；

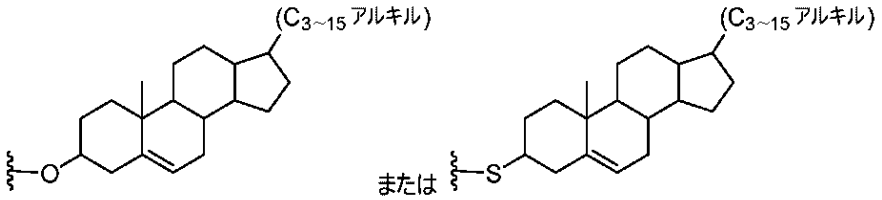
［Ｘａａ］$_{x}$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；

［Ｘａａ］$_{y}$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；

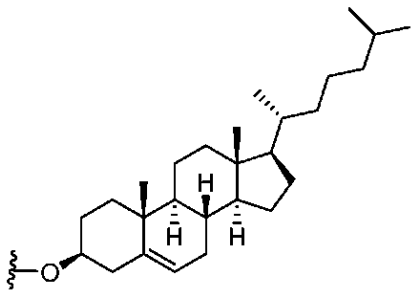
Ｒ$_9$は、－ＯＨまたは
【化５６】



であり；
ｐは、２、３、４、５、６、７、または８であり；および
ｚは、２、３、４、５、または６であり；
必要に応じて、［Ｘａａ］$_w$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている）により定義される、式ＩＩＩを含む。
【００９３】
一部の例では、ｐは、５である。一部の例では、ｚは、３である。一部の例では、方法は、安定化ペプチドのＣ末端を、ポリエチレングリコール部分とコレステロールまたはチオコレステロール部分とを含む部分によって誘導体化するステップをさらに含む。一部の例では、方法は、安定化ペプチドのＣ末端を誘導体化して、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{2～6}$アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$］$_m$－Ｎ（Ｒ$_5$）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～6}$アルキレン）－Ｒ$_6$基を組み入れるステップをさらに含み、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点であり；Ｒ$_5$は、水素またはＣ$_{1～4}$アルキルであり；Ｒ$_6$は、下記の一方：
【化５７】

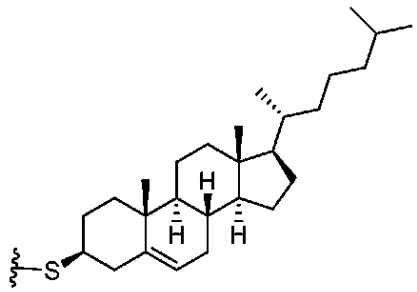


であり、必要に応じて、これらの各々は、Ｒ$_7$のｔ個の存在により置換されており；
Ｒ$_7$は、各々の存在について独立して、Ｃ$_{1～3}$アルキル、ヒドロキシルまたはＣ$_{1～3}$アルコキシルを表し；
ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６であり；
ｔは、０、１、２、または３である。
【００９４】
一部の例では、Ｒ$_6$は、Ｒ$_7$のｔ個の存在により置換されている
【化５８】



である。
【００９５】
一部の例では、Ｒ$_6$は、Ｒ$_7$のｔ個の存在により置換されている

【化５９】



である。

【００９６】

一部の例では、ｔは、０である。一部の例では、ｍは、４である。一部の例では、ｍは、８である。一部の例では、R_9は、

【化６０】



である。一部の例では、方法は、固体支持体を切断除去するステップをさらに含む。

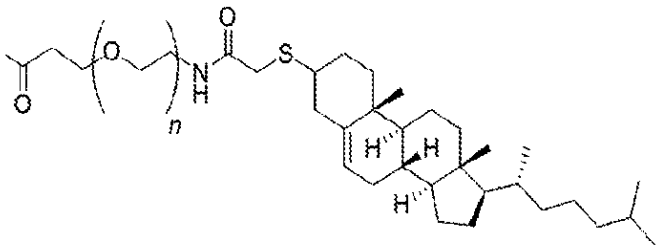
【００９７】

ナノ粒子組成物も、本明細書で特徴付けられる。一部の例では、ナノ粒子組成物は、本明細書で提供される構造的に安定化されたペプチド（例えば、配列番号１０、１３、１７、２０）、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートのいずれかを含む。一部の例では、ナノ粒子組成物は、ＰＬＧＡナノ粒子である。一部の例では、ナノ粒子組成物は、２：９８～１００：０の範囲のＰＬＧＡナノ粒子の乳酸：グリコール酸比を含む。一部の例では、ナノ粒子組成物はまた、キトサン、デキストリン、またはそれらの両方を含む。

【００９８】

式：

【化６１】



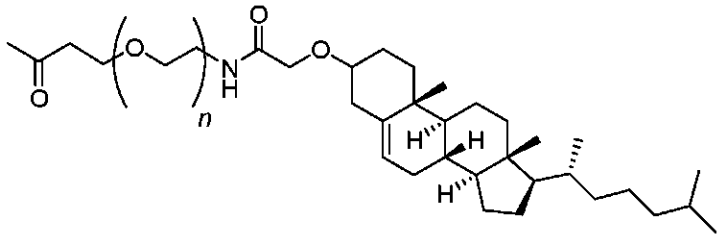
（式中、ｎは、１～３６である）

を有するＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを含むペプチドリンカーも、本明細書で特徴付けられる。

【００９９】

次に、式：

【化６２】



（式中、ｎは、１～３６である）
を含むＰＥＧ（ｎ）－コレステロールを含むペプチドリンカーが、本明細書で特徴付けられる。

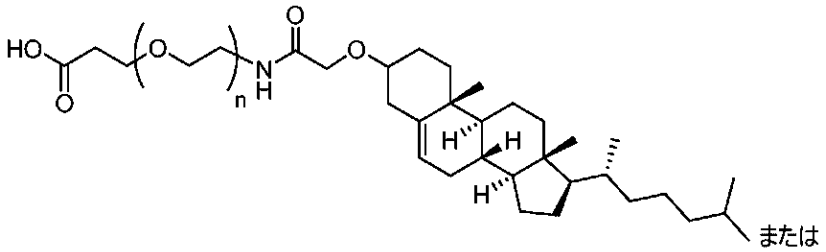
【０１００】

一部の例では、ペプチドリンカーのｎは、４、５、６、７または８である。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。一部の例では、ペプチドリンカーは、ＰＥＧに取り付けられたリシンを含む。

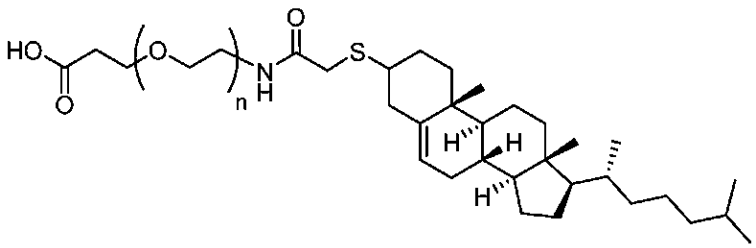
【０１０１】

下記の式の一方：

【化６３】



または



（式中、ｎは、１～３６である）
を有する化合物も、本明細書で特徴付けられる。一部の例では、ｎは、４、５、６、７または８である。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

【０１０２】

一部の例では、本明細書に記載の構造的に安定化されたペプチドまたはコンジュゲートのいずれかについて、８＝（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン；およびＸ＝（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン。一部の例では、８＝（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン；およびＸ＝（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン。

【０１０３】

別段の定義がない限り、本明細書で使用される全ての専門および科学用語は、本開示が属する技術分野の当業者により一般に理解されているのと同じ意味を有する。本明細書に記載のものと同様または同等の方法および材料を本開示の実施または試験の際に使用することができるが、模範的な方法および材料が下で説明される。本明細書で言及される全て

の刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は、それら全体が参照により組み込まれる。矛盾がある場合、定義を含めて本願が優先するものとする。材料、方法および例は、説明に役立つものに過ぎず、限定することを意図したものではない。

【０１０４】

本開示の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明からおよび特許請求の範囲から明らかになる。

【図面の簡単な説明】

【０１０５】

【図１】図１は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ融合阻害剤ペプチドの作用機序を描示する。

【図２】図２は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＳタンパク質のアミノ酸配列（配列番号１）を提供する。

【図３】図３は、ヘプタッドリピートドメイン１（ＨＲ１）（配列番号２）とヘプタッドリピートドメイン２（ＨＲ２）（配列番号３）の融合ドメインの配列組成を含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２スパイク（Ｓ）タンパク質の概要図である。

【図４】図４は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１のＨＲ２領域間に顕著な配列同一性がある、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１（「ＳＡＲＳ、Ｃ．２００４」）ウイルスのＨＲ１およびＨＲ２領域のアラインメントを、配列相同性を強調して示す。

【図５】図５は、ｉ、ｉ＋３；ｉ、ｉ＋４；およびｉ、ｉ＋７位にわたるステープルを有する炭化水素ステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓペプチドを生成するために使用することができるオレフィンテザーを含有する様々な非天然アミノ酸を示す。単一ステープルスキャニングを使用して、ＰＥＧ－チオコレステロールまたはＰＥＧ－コレステロール部分とのコンジュゲーションのための単一ステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－１９　ＨＲ２ペプチドのライブラリーを生成する。

【図６】図６は、ＰＥＧ－チオコレステロールまたはＰＥＧ－コレステロール部分とのコンジュゲーションのための多重ステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドのライブラリーを生成するための、多重ステープル化ペプチドにおける様々なステープル組成、およびステープルスキャニングを示す。

【図７】図７は、ＰＥＧ－チオコレステロールまたはＰＥＧ－コレステロール部分とのコンジュゲーションのためのステッチ化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドのライブラリーを生成するためのタンデムステッチ化ペプチドにおける様々なステープル組成を示す。

【図８】図８は、ＰＥＧ－チオコレステロールまたはＰＥＧ－コレステロール部分とのコンジュゲーションのための、Ａｌａスキャン、ステープルスキャン、ならびに可変Ｎ末端およびＣ末端欠失、付加および誘導体化ライブラリーの生成を含む、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２融合機構を標的とする最適なステープル化ペプチド構築物を設計、合成および同定するための例示的なアプローチの説明図である。アラニンおよびステープルおよびステッチスキャンを含む、単一および二重ステープル化およびステッチ化構築物は、ＰＥＧ－チオコレステロールまたはＰＥＧ－コレステロール部分とのコンジュゲーションならびにｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏ解析における適用に最適なステープル化ペプチドを同定するために使用される。

【図９】図９は、両親媒性アルファヘリックス（配列番号４）として構造化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ドメインの一部分のヘリカルホイール描画であり、主として疎水性の結合境界面を示すものであり、結合境界面の周囲におよび非相互作用面に隣接荷電または極性残基がある。矢印は、疎水性モーメントを指す。

【図１０】図１０は、コレステロール含有部分によるステープル化ペプチドの容易なオンレジン誘導体化（ｏｎ－ｒｅｓｉｎ　ｄｅｒｉｖａｔｉｚａｔｉｏｎ）のためにチオコレステロールまたはコレステロールをカルボン酸に変換するための合成スキームを示す。ＤＣＭ：ジクロロメタン；ＴＦＡ：トリフルオロ酢酸。

【図１１Ａ】図１１Ａ～１１Ｂは、ＰＥＧ連結チオコレステロール部分によるステープル

化ペプチド配列（配列番号７４）のオンレジン誘導体化のためのステップの合成スキーム（図１１Ａ）、およびＰＥＧ連結コレステロール部分によるステープル化ペプチド配列（配列番号７４）のオンレジン誘導体化のためのステップの合成スキーム（図１１Ｂ）を示す。

【図１１Ｂ】図１１Ａ～１１Ｂは、ＰＥＧ連結チオコレステロール部分によるステープル化ペプチド配列（配列番号７４）のオンレジン誘導体化のためのステップの合成スキーム（図１１Ａ）、およびＰＥＧ連結コレステロール部分によるステープル化ペプチド配列（配列番号７４）のオンレジン誘導体化のためのステップの合成スキーム（図１１Ｂ）を示す。

【図１２】図１２は、Ｎ末端およびＣ末端配列伸長部（例えば、アミノ酸１１６８～１２０５）と様々なＰＥＧリンカー長のＰＥＧ－チオコレステロールまたはＰＥＧ－コレステロール部分によるＣ末端誘導体化とを有するコア鋳型配列（アミノ酸１１７８～１１９９）の、例示的な非ステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチド配列（配列番号５および６）、および単一ｉ，ｉ＋７ステープルスキャニングにより生成された構造的に安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチド配列（配列番号７～２１）を示す。８＝（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン；およびＸ＝（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン。

【図１３】図１３は、配列番号５の非ステープル化ＨＲ２配列が、ＩＸＭ顕微鏡法により測定して、ＧｅｎＢａｎｋ　ＱＨＤ４３４１６．１に対応するＷｕｈａｎ－Ｈｕ－１蛍光シュードウイルスに対して抗ウイルス活性を提示しないことを示す。その一方で、配列番号６のペプチドを生成するためのＰＥＧ４－チオコレステロール部分による配列番号５のＣ末端誘導体化は、用量応答性抗ウイルス活性を生じさせる（シュードウイルス：Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；ペプチド：５μＭで出発する２倍段階希釈；読み出し：７２時間）。

【図１４】図１４は、樹脂上で付加されたＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有するステープル化ＨＲ２ペプチド（ステープルＤ、配列番号１０）が、一連のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２シュードウイルスバリアントにわたるウイルス接種の前に細胞をペプチド（１μＭ）で処置したか後に処置したかを問わず、シュードウイルスアッセイにおいて一貫したかつ強力な抗ウイルス活性を提示することを示す。その一方で、対応する非ステープル化ペプチド（配列番号６）は、ウイルス接種後に適用したとき効果がなく、一連のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２シュードウイルスバリアントによるウイルス接種の前に適用したときでもステープル化配列と比較して低い抗ウイルス活性を提示する（シュードウイルス：Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１、Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１、Ｂ．１．５２６、Ｂ．１．４２７／Ｂ．１．４２９、Ｂ．１．１．７；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；７２時間で読み出しを行った）。

【図１５】図１５は、樹脂上で付加されたＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する非ステープル化およびステープル化ＨＲ２ペプチドの差次的な抗ウイルス活性を示し、配列番号１０のペプチド（ステープルＤ）が最も強力な用量応答性の抗ウイルス活性を示し、これに配列番号６の非ステープル化ペプチドが続く。このシュードウイルスアッセイ（シュードウイルス：Ｂ．１．５２６；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；１μＭで出発する２倍段階希釈；読み出し：７２時間）において、配列番号１７のステープル化ペプチド（ステープルＫ）は、最も活性が低かった。

【図１６】図１６は、樹脂上で付加されたＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの差次的な抗ウイルス活性を示す。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２シュードウイルスアッセイ（シュードウイルス：Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；１００、３００、１０００ｎＭのペプチド用量；４８時間で読み出し）において、配列番号１１、１４および１５のペプチド（それぞれ、ステープルＥ、Ｈ、Ｉ）は、活性をほとんどまたは全く示さず、配列番号１３および１６のペプチド（それぞれ、ステープルＧおよびＪ）は、中程度の活性を提示するのに対して、配列番号１０のペプチド（ステープルＤ）は、様々なステープル化ＨＲ２ペプチド間で比類なく強力な活性を有するものとして目を引く。

【図１７】図１７は、樹脂上で付加されたＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの差次的な抗ウイルス活性を示す。このＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２生ウイルスアッセイ（生ウイルス：ＵＳＡ－ＷＡ１／２０２０；細胞：ＶｅｒｏＢ６；ペプチド用量範囲４～１０００ｎＭ（すなわち、バーの各群は、下から上へ、ペプチドの２分の１に濃度が低下する希釈、すなわち、１０００ｎＭ、５００ｎＭ、２５０ｎＭ、１２５ｎＭ、６２．５ｎＭ、３１．２５ｎＭ、１５．６２５ｎＭ、７．８１２５ｎＭ、３．９０６２５ｎＭを表す）において、配列番号１１、１４および１５のペプチド（それぞれ、ステープルＥ、Ｈ、Ｉ）は、活性をほとんどまたは全く示さず（Ｘ軸上のμＭでのウイルスの濃度により測定して）、配列番号１３および１６のペプチド（ステープルＧおよびＪ）は、中程度の活性を提示するのに対して、配列番号１０のペプチド（ステープルＤ）は、図１５に示されているシュードウイルスアッセイ結果と一致して、様々なステープル化ＨＲ２ペプチド間で比類なく強力な活性を有するものとして目を引く。

【図１８Ａ】図１８Ａ～１８Ｂは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する、Ｃ末端ＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する示されているＨＲ２ペプチド配列（配列番号７～２１）のｉ，ｉ＋７ステープルスキャンの差次的な抗ウイルス活性（ウイルス：生ベータ株；細胞：ＶｅｒｏＢ６；ペプチド用量４μＭ）を示し、最も活性の高いペプチド配列がアスタリスクによって指摘されている（図１８Ａ）。ＨＲ２配列のヘリックス部分のヘリカルホイール描画によって要約されるように、ステープル位置の別個のサブセットが強力な抗ウイルス活性をもたらす（配列番号１０、１３、１７、２０）（図１８Ｂ）。

【図１８Ｂ】図１８Ａ～１８Ｂは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に対する、Ｃ末端ＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する示されているＨＲ２ペプチド配列（配列番号７～２１）のｉ，ｉ＋７ステープルスキャンの差次的な抗ウイルス活性（ウイルス：生ベータ株；細胞：ＶｅｒｏＢ６；ペプチド用量４μＭ）を示し、最も活性の高いペプチド配列がアスタリスクによって指摘されている（図１８Ａ）。ＨＲ２配列のヘリックス部分のヘリカルホイール描画によって要約されるように、ステープル位置の別個のサブセットが強力な抗ウイルス活性をもたらす（配列番号１０、１３、１７、２０）（図１８Ｂ）。

【図１９】図１９は、ＧＦＰ発現ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２オミクロンバリアントＢ．１．１．５２９．１（ＢＡ１）シュードウイルスに対する、ＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する配列番号１０のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの抗ウイルス活性を示す（細胞；２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞；２０００ｎＭからのペプチド２倍段階希釈；４８時間読み出し）。

【図２０】図２０は、生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ベータおよびデルタ株に対する、ＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する配列番号１０のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの抗ウイルス活性を示す（細胞：ＶｅｒｏＢ６；ペプチド用量範囲１５～４０００ｎＭ（すなわち、バーの各群は、下から上へ、２分の１に濃度が低下していくペプチド希釈、すなわち、４０００ｎＭ、２０００ｎＭ、１０００ｎＭ、５００ｎＭ、２５０ｎＭ、１２５ｎＭ、６２．５ｎＭ、３１．２５ｎＭ、１５．６２５ｎＭを表す）。

【図２１】図２１は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｗｕｈａｎ－ｈｕ－１、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２オミクロンＢＡ１．１．５２９．１（ＢＡ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２オミクロンＢＡ１．１．５２９．２（ＢＡ２）、およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１（ウルバニ）を含む、ＧＦＰ発現ＳＡＲＳ－ＣｏＶシュードウイルスに対して測定された、ＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する配列番号１３のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの抗ウイルス活性を示す（細胞；２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞；１０μＭからのペプチド２倍段階希釈；４８時間読み出し）。

【図２２】図２２は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｗｕｈａｎ－ｈｕ－１、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２オミクロンＢＡ１．１．５２９．１（ＢＡ１）、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２オミクロンＢＡ１．１．５２９．２（ＢＡ２）、およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１（ウルバニ）を含む、ＧＦＰ発現ＳＡＲＳ－ＣｏＶシュードウイルスに対して測定された、ＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する配列番号２０のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの抗ウイルス活性を示す（細胞；２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞；１０μＭからのペプチド２倍段階希釈；

４８時間読み出し）。
【図２３】図２３は、生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ベータ株ウイルスに対して測定された、ＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する配列番号１３および配列番号２０のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの抗ウイルス活性を示す（細胞：ＶｅｒｏＢ６；４μＭ投薬）。
【図２４Ａ】図２４Ａ～２４Ｂは、配列番号１０（Ｋ１１８１およびＥ１１８８位にわたるステープルＤ）のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの配列マップを、二者択一的にＨＲ１コアと接触しているかまたは非結合である（溶媒に露出している）アミノ酸位置を強調して示す（図２４Ａ）。変異誘発研究により、シュードウイルスアッセイ（細胞；２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞；１．２５μＭからのペプチド４倍段階希釈；４８時間読み出し）においてＧＦＰ発現ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１（ウルバニ）に対してＣ末端ＰＥＧ４チオコレステロール部分を有する配列番号１０に関して評価して、ネイティブ残基のアラニンでの置換による影響を比較的受けない一連の例示的な位置が明らかになった（図２４Ｂ）。
【図２４Ｂ】図２４Ａ～２４Ｂは、配列番号１０（Ｋ１１８１およびＥ１１８８位にわたるステープルＤ）のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの配列マップを、二者択一的にＨＲ１コアと接触しているかまたは非結合である（溶媒に露出している）アミノ酸位置を強調して示す（図２４Ａ）。変異誘発研究により、シュードウイルスアッセイ（細胞；２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞；１．２５μＭからのペプチド４倍段階希釈；４８時間読み出し）においてＧＦＰ発現ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１（ウルバニ）に対してＣ末端ＰＥＧ４チオコレステロール部分を有する配列番号１０に関して評価して、ネイティブ残基のアラニンでの置換による影響を比較的受けない一連の例示的な位置が明らかになった（図２４Ｂ）。
【図２５Ａ－Ｂ】図２５Ａ～２５Ｅは、可変ＰＥＧ長（ｎ＝３～８）のＰＥＧ－チオコレステロール部分を有する一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの差次的な抗ウイルス活性を示す。このシュードウイルスアッセイにおいて、ＰＥＧ８リンカー部分を有する配列番号１０のペプチド（ステープルＤ）は、一連の５つのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントにわたって（Ｘ軸に示されている緑色細胞の数またはＧＦＰ陽性パーセントにより測定して）最も強力な用量反応性の活性を提示し、ＰＥＧ３は、可変ＰＥＧリンカー長の構築物の中で比較的低い活性を有する（シュードウイルス／バリアント：Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１（図２５Ａ）、Ｂ．１．４２７／Ｂ．１．４２９（図２５Ｂ）、Ｂ．１．６１７．２（図２５Ｃ）、Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１（図２５Ｄ）、ブラジルバリアントＰ．１（図２５Ｅ）；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；１μＭで出発する２倍段階希釈（すなわち、バーの各クラスターについて下から上へ：１μＭ、５００ｎＭ、２５０ｎＭ、１２５ｎＭ、６２．５ｎＭ、３１．２５ｎＭ、１５．６２５ｎＭ、７．８１２５ｎＭ）；読み出し：４８時間）。
【図２５Ｃ－Ｄ】図２５Ａ～２５Ｅは、可変ＰＥＧ長（ｎ＝３～８）のＰＥＧ－チオコレステロール部分を有する一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの差次的な抗ウイルス活性を示す。このシュードウイルスアッセイにおいて、ＰＥＧ８リンカー部分を有する配列番号１０のペプチド（ステープルＤ）は、一連の５つのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントにわたって（Ｘ軸に示されている緑色細胞の数またはＧＦＰ陽性パーセントにより測定して）最も強力な用量反応性の活性を提示し、ＰＥＧ３は、可変ＰＥＧリンカー長の構築物の中で比較的低い活性を有する（シュードウイルス／バリアント：Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１（図２５Ａ）、Ｂ．１．４２７／Ｂ．１．４２９（図２５Ｂ）、Ｂ．１．６１７．２（図２５Ｃ）、Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１（図２５Ｄ）、ブラジルバリアントＰ．１（図２５Ｅ）；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；１μＭで出発する２倍段階希釈（すなわち、バーの各クラスターについて下から上へ：１μＭ、５００ｎＭ、２５０ｎＭ、１２５ｎＭ、６２．５ｎＭ、３１．２５ｎＭ、１５．６２５ｎＭ、７．８１２５ｎＭ）；読み出し：４８時間）。
【図２５Ｅ】図２５Ａ～２５Ｅは、可変ＰＥＧ長（ｎ＝３～８）のＰＥＧ－チオコレステロール部分を有する一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの差次的な抗ウイルス活性を示す。このシュードウイルスアッセイにおいて、ＰＥＧ８リンカー部分を有する配

列番号１０のペプチド（ステープルＤ）は、一連の５つのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントにわたって（Ｘ軸に示されている緑色細胞の数またはＧＦＰ陽性パーセントにより測定して）最も強力な用量反応性の活性を提示し、ＰＥＧ３は、可変ＰＥＧリンカー長の構築物の中で比較的低い活性を有する（シュードウイルス／バリアント：Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１（図２５Ａ）、Ｂ．１．４２７／Ｂ．１．４２９（図２５Ｂ）、Ｂ．１．６１７．２（図２５Ｃ）、Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１（図２５Ｄ）、ブラジルバリアントＰ．１（図２５Ｅ）；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；１μＭで出発する２倍段階希釈（すなわち、バーの各クラスターについて下から上へ：１μＭ、５００ｎＭ、２５０ｎＭ、１２５ｎＭ、６２．５ｎＭ、３１．２５ｎＭ、１５．６２５ｎＭ、７．８１２５ｎＭ）；読み出し：４８時間）。

【図２６】図２６は、可変ＰＥＧ長（ｎ＝３～８）のＰＥＧ－チオコレステロール部分を有する一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチド（ステープルＤ、配列番号１０）の差次的な抗ウイルス活性を示す。このＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２生ウイルスアッセイにおいて、ＰＥＧ８リンカー部分を有する配列番号１０のペプチド（ステープルＤ）は、最も強力な用量反応性の活性を提示し、ＰＥＧ３は、可変ＰＥＧリンカー長の構築物の中で比較的低い活性を有する（生ウイルス：南アフリカＢ．１．３５１：細胞：ＶｅｒｏＢ６：ペプチド用量範囲４～１０００ｎＭ；すなわち、２倍段階希釈、バーの各クラスターについて下から上へ：１０００ｎＭ、５００ｎＭ、２５０ｎＭ、１２５ｎＭ、６２．５ｎＭ、３１．２５ｎＭ、１５．６２５ｎＭ、７．８１２５ｎＭ、３．９０６２５ｎＭ）。

【図２７】図２７は、ＧＦＰ発現ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２オミクロンバリアントＢ．１．１．５２９．１（ＢＡ１）に対して測定された、可変ＰＥＧ長（ｎ＝０、３～２０）のＰＥＧ－チオコレステロール部分を有する配列番号１０の一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの差次的な抗ウイルス活性を示す（細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；バーの各クラスターについての下から上への３．３μＭで出発する３倍段階希釈：３．３μＭ、１．１μＭ、３６７ｎＭ、１２２ｎＭ、４１ｎＭ、１３ｎＭ、４．５ｎＭ、１．５ｎＭ；読み出し：４８時間）。

【図２８】図２８は、ＧＦＰ発現ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１（ウルバニ）に対して測定された、可変ＰＥＧ長（ｎ＝０、３～２０）のＰＥＧ－チオコレステロール部分を有する配列番号１０の一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの差次的な抗ウイルス活性を示す（細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；バーの各クラスターについての下から上への２μＭで出発する２倍段階希釈：２μＭ、１μＭ、５００ｎＭ、２５０ｎＭ、１２５ｎＭ、６２．５ｎＭ、３１．２ｎＭ、１５．６ｎＭ；読み出し：４８時間）。

【図２９】図２９は、生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ベータ株ウイルスに対して測定された、可変ＰＥＧ長（ｎ＝０、３～２０）のＰＥＧ－チオコレステロール部分を有する配列番号１０の一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの差次的な抗ウイルス活性を示す（細胞：ＶｅｒｏＢ６：ペプチド用量範囲７．８～１０００ｎＭ；すなわち、２倍段階希釈、バーの各クラスターについて下から上へ：４０００ｎＭ、２０００ｎＭ、１０００ｎＭ、５００ｎＭ、２５０ｎＭ、１２５ｎＭ、６２．５ｎＭ、３１．２ｎＭ、１５．６ｎＭ、７．８ｎＭ）。

【図３０】図３０は、可変ＰＥＧ長（ｎ＝３～８）のＰＥＧ－チオコレステロール部分を有する一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチド（ステープルＤ、配列番号１０）が、マウス白血病ウイルス（ＭＬＶ）コアを有する水疱性口内炎ウイルス（ＶＳＶ）シュードウイルスに対して非特異的抗ウイルス活性を提示しないのに対して、対応する非ステープル化ペプチド（配列番号６）が、ある程度の非特異的抗ウイルス活性を呈することを示す（シュードウイルス：ＶＳＶ；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；ペプチド、２．５μＭ；読み出し：４８時間）。

【図３１】図３１は、樹脂上でＰＥＧ４－チオコレステロールによって誘導体化された非ステープル化ペプチド（配列番号６）が、ＧＳＧＳＧＣ－ＰＥＧ４－コレステロール部分を有する溶液中で誘導体化された非ステープル化ペプチド（配列番号７１で示される）と比較して、このＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２生ウイルスアッセイ（生ウイルス：南アフリカＢ．１．３５１；細胞：ＶｅｒｏＢ６；ペプチド用量範囲　２倍希釈で４～１０００ｎＭ）に

おいて多少改善された抗ウイルス活性を提示することを示す。
【図３２】図３２は、シュードウイルスアッセイにおいて２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞に適用されたとき、樹脂上でＰＥＧ４－チオコレステロールによって誘導体化された非ステープル化ＨＲ２ペプチド（配列番号６）およびステープル化ＨＲ２ペプチド（配列番号１０）が、非特異的細胞傷害を示さないのに対して、ＧＳＧＳＧＣ－ＰＥＧ４－コレステロール部分を有する溶液中で誘導体化された対応する非ステープル化ＨＲ２ペプチドが、投薬範囲内で細胞を死滅させることを示す（シュードウイルス：Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；２５００ｎＭで出発する２倍段階希釈（下から上へ、２５００ｎＭ、１２５０ｎＭ、６３０ｎＭ、３１５ｎＭ、１５８ｎＭ、７８ｎＭ）；読み出し：４８時間）。
【図３３】図３３は、３番目のＨＲ２基を欠いている組換え５ヘリックスバンドル（５ＨＢ）の段階希釈と組み合わせた、ＰＥＧ８－ＣｈｏｌによってＣ末端が誘導体化され、アセチルの代わりにＦＩＴＣ－β－ＡｌａでＮ末端が誘導体化された、配列番号１０の直接蛍光偏光結合曲線を示す。ＦＩＴＣ－ＨＲ２ペプチドの付加によって融合性６ヘリックスバンドルが完成する。（ペプチド：５ｎＭ；１０００ｎＭからの５－ＨＢタンパク質段階希釈）。
【図３４】図３４は、ＧＦＰ発現ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントシュードウイルスの一群に対する、ＰＥＧ８－ＣｈｏｌによってＣ末端が誘導体化された配列番号１０の差次的な抗ウイルス活性を示す（２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞；１０００ｎＭからのペプチド段階希釈；４８時間読み出し）。
【図３５】図３５は、ＧＦＰ発現ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２オミクロンバリアントシュードウイルスに対する、ＰＥＧ８－ＣｈｏｌによってＣ末端が誘導体化された配列番号１０の差次的な抗ウイルス活性を示す（２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞；２５０ｎＭからのペプチド段階希釈；４８時間読み出し）。
【図３６】図３６は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ベータおよびデルタ生ウイルスに対する、ＰＥＧ８－ＣｈｏｌによってＣ末端が誘導体化された配列番号１０の差次的な抗ウイルス活性を示す（細胞：Ｖｅｒｏ；１００ｎＭからのペプチド段階希釈　１００ｎＭで出発するペプチドの段階希釈；４８時間読み出し）。
【図３７】図３７は、ＧＦＰ発現アルファコロナウイルスＮＬ６３シュードウイルスに対する、ＰＥＧ８－ＣｈｏｌによってＣ末端が誘導体化された配列番号１０の抗ウイルス活性を示す（２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞；１０μＭからのペプチド３倍段階希釈；４８時間読み出し）。
【発明を実施するための形態】
【０１０６】
詳細な説明
本開示は、安定化（例えば、ステープル化）ペプチドを、１または複数種のコロナウイルス（例えば、ベータコロナウイルス、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）に選択的に結合するように設計することができるという発見に、とりわけ基づく。したがって、本開示は、１または複数種のコロナウイルス（例えば、ベータコロナウイルス、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）による感染症を処置するための、その感染症の処置を進展させるための、およびその感染症を予防するための、新規方法（例えば、コレステロール／チオコレステロールをオンレジン誘導体化のためにカルボン酸に変換するアプローチ）および組成物（例えば、ペプチド、安定化ペプチド、ペプチドの組合せ；安定化ペプチドの組合せ；ペプチドと安定化ペプチドの組合せ；およびそれらのコレステロールコンジュゲート）を提供する。したがって、本明細書で開示されるペプチドおよび組成物を使用して、ＣＯＶＩＤ－１９を予防および／または処置することができる。
【０１０７】
コロナウイルスペプチド
例示的なコロナウイルス表面糖タンパク質のアミノ酸配列は、図２で提供される。（ＧｅｎＢａｎｋ受託番号：ＱＨＤ４３４１６．１も参照されたい）。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２

Ｓにおけるヘプタッドリピートドメイン１（ＨＲ１）の例示的なアミノ酸配列は、図３に配列番号２として示されている。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓにおけるヘプタッドリピートドメイン２（ＨＲ２）の例示的なアミノ酸配列はまた、図３に配列番号３として示されている。

【０１０８】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＳにおけるＨＲ２の他の例示的なアミノ酸配列は、表１で配列番号５および６として提供される。

【０１０９】

ある特定の例では、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ１またはＨＲ２ペプチド（例えば、配列番号５および６）は、１つまたは複数（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７または１８）のアミノ酸置換（配列番号５および６のいずれか一方で示されるアミノ酸配列と比べて）、例えば、１つまたは複数（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７または１８）の保存的および／または非保存的アミノ酸置換も、含有し得る。加えて、一部の例では、配列番号５および６の少なくとも２個（例えば、２、３、４、５または６個）のアミノ酸が、オレフィン側鎖を有するα，α－二置換非天然アミノ酸によって置換され得る。行われる置換のタイプは、例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２という２つのＳＡＲＳ配列のＨＲ２様領域のアラインメント（図４）によって導くことができる。変更され得るアミノ酸に関して下記の構造的に安定化されたペプチドのセクションで提供されるガイダンスは、本明細書に記載のペプチドに同様に関連する。上記のアラインメントにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１とＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２間で変更されない残基は、未修飾であるか、非天然アミノ酸または保存的アミノ酸で置換されている。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＨＲ２様領域内の保存的置換により置き換えられることが分かっているアラインメントにおける残基（例えば、ロイシンまたはメチオニンに置き換えられるＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２におけるイソロイシン）は、置き換えられないか、保存的アミノ酸置換により置き換えられる。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＨＲ２様領域間で保存されない残基は、任意のアミノ酸に置き換えられ得る。一部の例では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のＨＲ２様領域間で保存されるがＨＲ２ヘリックスの非相互作用面に位置する残基は、任意のアミノ酸に置き換えられ得る（例えば、図９、２４Ａおよび２４Ｂを参照されたい。一部の例では、配列番号６における変異は、配列番号６の１４および２１位において導入されていない。一部の例では、配列番号６における変異は、配列番号６の１７および２４位において導入されていない。一部の例では、配列番号６における変異は、配列番号６の２０および２７位において導入されていない。一部の例では、配列番号６における変異は、配列番号６の２１および２８位において導入されていない。一部の例では、配列番号６における変異は、配列番号６の２４および３１位において導入されていない。

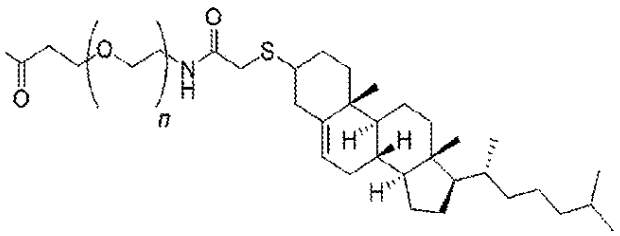
【０１１０】

「保存的アミノ酸置換」は、置換によって、あるアミノ酸残基が、類似の側鎖を有する別のアミノ酸残基に置き換えられることを意味する。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としては、塩基性側鎖を有するアミノ酸（例えば、リシン、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）、非荷電性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）、ベータ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）、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）および酸性側鎖を有するアミノ酸、ならびにそれらのアミド（例えば、アスパラギン酸、グルタミン酸、アスパラギン、グルタミン）が挙げられる。

【０１１１】
一部の例では、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチド（例えば、配列番号５または６）は、ペプチドのＮ末端に付加された少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、または少なくとも５個のアミノ酸も含有し得る。一部の例では、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチド（例えば、配列番号５または６）は、ペプチドのＣ末端に付加された少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、または少なくとも５個のアミノ酸も含有し得る。一部の例では、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチド（例えば、配列番号５または６）は、ペプチドのＮ末端において欠失される少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、または少なくとも５個のアミノ酸も含有し得る。一部の例では、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチド（例えば、配列番号５または６）は、ペプチドのＣ末端において欠失される少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、または少なくとも５個のアミノ酸も含有し得る。

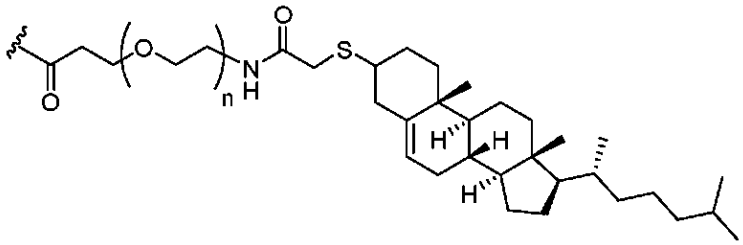
【０１１２】
一部の場合には、ペプチドは、脂質付加される。一部の場合には、ペプチドは、ポリエチレングリコールおよび／またはコレステロールを含むように修飾される。一部の場合には、ペプチド（例えば、配列番号５または６）は、ペプチドのＣ末端に取り付けられた下記の式：

【化６４】



を含む。一部の場合には、前述の式は、ペプチドのＣ末端に修飾可能な炭素原子によって取り付けられている。一部の場合には、ペプチド（例えば、配列番号５または６）は、ペプチドのＣ末端に取り付けられた下記の式：

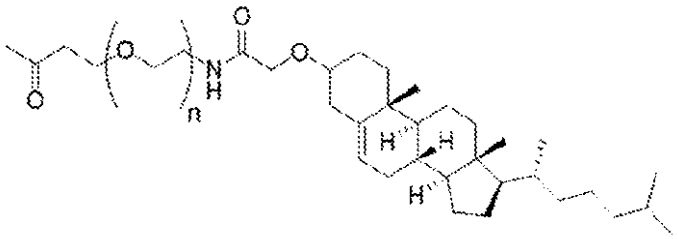
【化６５】



を含む。

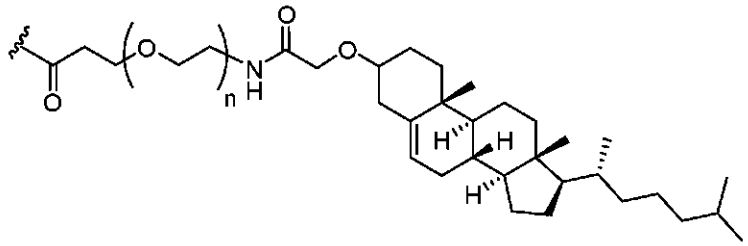
【０１１３】
一部の場合には、ペプチド（例えば、配列番号５または６）は、ペプチドのＣ末端に取り付けられた下記の式：

【化６６】



を含む。一部の場合には、前述の式は、ペプチドのＣ末端に修飾可能な炭素原子によって取り付けられている。一部の場合には、ペプチド（例えば、配列番号５または６）は、ペプチドのＣ末端に取り付けられた下記の式：

【化６７】



を含む。

【０１１４】

一部の例では、上記の式中のｎは、ｎ＝１～３６（ｎ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５または３６）である。一部の例では、ｎ＝４である。一部の例では、ｎ＝８である。一部の例では、式中の硫黄原子は、酸素原子に置き換えられる。

【０１１５】

一部の例では、本明細書に記載のペプチドは、配列番号６（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮＥＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示される配列と少なくとも５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％または９４％同一であるアミノ酸配列を含む。一部の例では、上記のペプチドは、（ｉ）アルファヘリックスである；（ｉｉ）プロテアーゼ耐性である；（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と宿主細胞の融合を阻害する；および／または（ｉｖ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する。一部の例では、ペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。

【０１１６】

一部の例では、ペプチドは、配列番号６と比べて２～１８、２～１７、２～１６、２～１５、２～１４、２～１３、２～１２、２～１１、２～１０、２～９、２～８、２～７、２～６、２～５、２～４、２～３、または２つの置換、挿入および／または欠失を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、ペプチドは、配列番号６と比べて１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７または１８の置換、挿入および／または欠失を含む。一部の例では、上記の配列番号６と比べて置換、挿入および／または欠失を有するペプチドは、（ｉ）アルファヘリックスである；（ｉｉ）プロテアーゼ耐性である；（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と宿主細胞の融合を阻害する；および／または（ｉｖ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する。一部の例

では、ペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。

【０１１７】

一部の例では、ペプチドは、長さ３６～５０（例えば、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９または５０）アミノ酸である。ペプチドがポリエチレングリコールおよび／またはコレステロールを含むように修飾されている例では、ペプチドは、長さ１９～５０（例えば、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９または５０）アミノ酸である。一部の例では、ペプチドは、長さ１９～１００、３８～１００、１９～６０、３８～６０、１９～５０、３８～５０、１９～４５、３８～４５、１９～４０および３８～４０アミノ酸に及ぶ。

【０１１８】

一部の例では、上記のペプチドは、（ｉ）アルファヘリックスである；（ｉｉ）プロテアーゼ耐性である；（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と宿主細胞の融合を阻害する；および／または（ｉｖ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する。一部の例では、ペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。

【０１１９】

構造的に安定化されたペプチド

ＨＲ２領域の一部分に基づくステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ペプチドが、本明細書で開示される。一部の例では、ステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２（１１６８～１２０５）（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮＥＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号６））から誘導される。一部の例では、配列番号９から誘導されるステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ペプチドは、下の表１で示されるようなＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ａ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｂ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｃ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｄ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｅ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｆ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｇ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｈ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｉ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｊ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｋ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｌ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｍ；ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｎ；またはＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－Ｏ（例えば、配列番号７～２１）を含む。

【表１－１】

表1:ステープル化 SARS-CoV-2 HR2 ペプチド。

名称	配列（Xおよび/または8は、オレフィン側鎖を有し、その側鎖が架橋されて内部架橋ペプチドを形成する、α，α-二置換非天然アミノ酸を指す）	配列番号
SARS-CoV-2 HR2(1168-1203)	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQEL	5
SARS-CoV-2 HR2(1168-1203)	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQEL*	22
SARS-CoV-2 HR2(1168-1204)	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELG	23
SARS-CoV-2 HR2(1168-1204)	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELG*	24
SARS-CoV-2 HR2(1168-1205)	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK	6
SARS-CoV-2	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK*	25

【表１－２】

HR2(1168-1205)		
SAH-SARS-CoV-2-A	DISGINASVV**8IQKEIDX**LNEVAKNLNESLIDLQELGK	7
SAH-SARS-CoV-2-B	DISGINASVVN**8QKEIDRX**NEVAKNLNESLIDLQELGK	8
SAH-SARS-CoV-2-C	DISGINASVVNI**8KEIDRLX**EVAKNLNESLIDLQELGK	9
SAH-SARS-CoV-2-D	DISGINASVVNIQ**8EIDRLNX**VAKNLNESLIDLQELGK	10
SAH-SARS-CoV-2-E	DISGINASVVNIQK**8IDRLNEX**AKNLNESLIDLQELGK	11
SAH-SARS-CoV-2-F	DISGINASVVNIQKE**8DRLNEVX**KNLNESLIDLQELGK	12
SAH-SARS-CoV-2-G	DISGINASVVNIQKEI**8RLNEVAX**NLNESLIDLQELGK	13

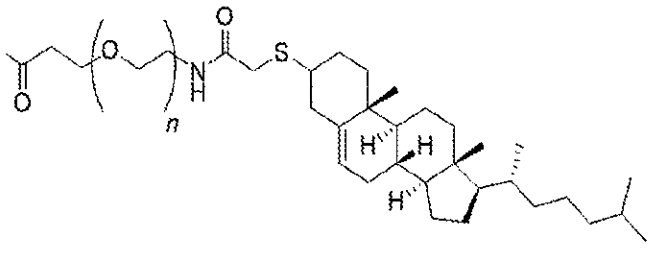
【表１－３】

SAH-SARS-CoV-2 -H	DISGINASVVNIQKEID**8LNEVAKX**LNESLIDLQELGK	14
SAH-SARS-CoV-2 -I	DISGINASVVNIQKEIDR**8NEVAKNX**NESLIDLQELGK	15
SAH-SARS-CoV-2 -J	DISGINASVVNIQKEIDRL**8EVAKNLX**ESLIDLQELGK	16
SAH-SARS-CoV-2 -K	DISGINASVVNIQKEIDRLN**8VAKNLNX**SLIDLQELGK	17
SAH-SARS-CoV-2 -L	DISGINASVVNIQKEIDRLNE**8AKNLNEX**LIDLQELGK	18
SAH-SARS-CoV-2 -M	DISGINASVVNIQKEIDRLNEV**8KNLNESX**IDLQELGK	19
SAH-SARS-CoV-2 -N	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVA**8NLNESLX**DLQELGK	20
SAH-SARS-CoV-2 -O	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAK**8LNESLIX**LQELGK	21

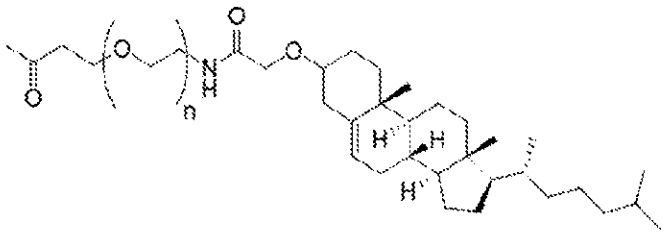
【０１２０】

表１中、「８」＝（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン；「Ｘ」＝（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン；および＊＝ＰＥＧ－チオコレステロールまたはＰＥＧ－コレステロール部分。一部の例では、＊＝下に示される２つの式の一方（式中、ｎ＝１～３６（ｎ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５または３６））。一部の例では、ｎ＝４である。一部の例では、ｎ＝８である。「＊」により示される２つの式は、

【化６８】



, または

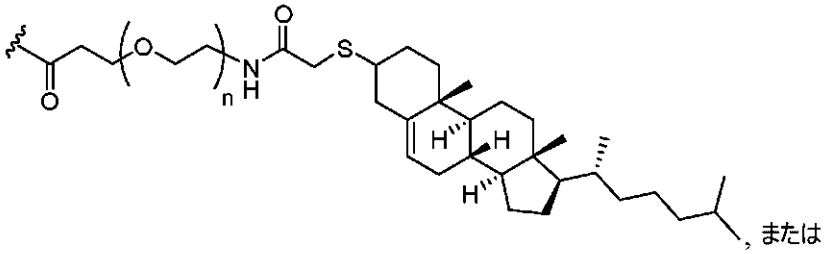


を含む。

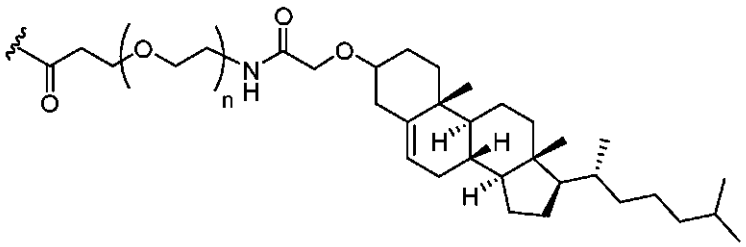
【０１２１】

一部の場合には、「＊」により示される２つの式は、

【化６９】



, または



を含む。

【０１２２】

上記ペプチドを、Ｎおよび／もしくはＣ末端に追加のアミノ酸（例えば、付加された１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個のアミノ酸）を含むようにならびに／またはＮおよび／もしくはＣ末端の欠失を有する（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０個のアミノ酸が欠失される）ように修飾することができることを、理解されたい。一部の例では、ステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ペプチドは、配列番号４から誘導される。

【０１２３】

本明細書で（例えば、表１において）使用される太字および下線付き配列によって、Ｎ末端およびＣ末端においてステープル化するアミノ酸、ならびに開示されるペプチド各々についてのステープル間の介在配列が特定されることに、留意されたい。一部の例（例えば、配列番号７～２１）では、構造的に安定化されたペプチドは、単一ステープル化ペプチドである。

【０１２４】
一部の例では、配列番号６は、１つまたは複数のバリアントを含む。例えば、配列番号６の２５または２９位が置換されている場合、それらは、オレフィン側鎖を有するα，α－二置換非天然アミノ酸により置換されており、または任意のアミノ酸により置換されている。一部の例では、配列番号６の１、２、５、７、８、１０、１２、１６、１７、１９、２３、２４、２６、２８、３０、３１、３３および３６位のうちの１または複数カ所が置換されている場合、それらは、保存的アミノ酸置換により置換されている。一部の例では、配列番号６の３、４、６、９、１１、１３、１５、１８、２０、２２、２７、３２、３４、３５、３７または３８位のうちの１または複数カ所が置換されている場合、それらは、任意のアミノ酸により置換されている。

【０１２５】
本開示は、表１に収載されている各々のおよびあらゆるペプチドおよび構造的に安定化されたペプチドはもちろん、そのバリアントも包含する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ１９～５０（例えば、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９または５０）アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ１９～６０（例えば、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９または６０）アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ１９～１００、３８～１００、１９～６０、３８～６０、１９～５０、３８～５０、１９～４５、３８～４５、１９～４０および３８～４０アミノ酸に及ぶ。一部の例では、上記の構造的に安定化されたペプチドは、下に列挙される特性のうちの１つまたは複数（１、２、３、４、５、６）を有する：（ｉ）アルファヘリックスである；（ｉｉ）プロテアーゼ耐性である；（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と宿主細胞の融合を阻害する；および／または（ｉｖ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。

【０１２６】
一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、配列番号６、配列番号１０、配列番号１３、配列番号１７または配列番号２０と比べて２～１８、２～１７、２～１６、２～１５、２～１４、２～１３、２～１２、２～１１、２～１０、２～９、２～８、２～７、２～６、２～５、２～４、２～３、または２つの置換、挿入および／または欠失を有するアミノ酸配列を含む。一部の例では、上記の配列番号６、配列番号１０、配列番号１３、配列番号１７または配列番号２０と比べて置換、挿入および／または欠失を有する構造的に安定化されたペプチドは、（ｉ）アルファヘリックスである；（ｉｉ）プロテアーゼ耐性である；（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と宿主細胞の融合を阻害する；および／または（ｉｖ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、配列番号７８の配列を含むまたはそれからなるポリペプチドに結合する。

【０１２７】
一部の例では、表１における単一ステープル化ペプチド（例えば、配列番号７～２１）

のうちの１つと比較して０～１０（０、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０）のアミノ酸置換を含むペプチドが、本明細書で開示される。一部の例では、表１における単一ステープル化ペプチド（例えば、配列番号７～２１）のうちの１つと少なくとも７５％（例えば、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９４％、少なくとも９５％）同一であるペプチドが、本明細書で開示される。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ１９～５０（例えば、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９または５０）アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ１９～６０（例えば、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９、６０）アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ１９～１００、３８～１００、１９～６０、３８～６０、１９～５０、３８～５０、１９～４５、３８～４５、１９～４０および３８～４０アミノ酸に及ぶ。一部の例では、上記の構造的に安定化されたペプチドは、下に列挙される特性のうちの１つまたは複数（１、２、３、４、５、６）を有する：（ｉ）アルファヘリックスである；（ｉｉ）プロテアーゼ耐性である；（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と宿主細胞の融合を阻害する；および／または（ｉｖ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、配列番号７８の配列を含むまたはそれからなるポリペプチドに結合する。

【０１２８】

一部の例では、ステープル化ペプチドは、配列番号５または６のアミノ酸配列のいずれか一方を含むまたはそれからなるペプチドであるが、ただし、配列番号５または６の少なくとも２個（例えば、２、３、４、５、６個）のアミノ酸が、ステープルを形成することができる非天然アミノ酸に置き換えられている。一部の例では、非天然アミノ酸は、オレフィン側鎖を有するα，α－二置換非天然アミノ酸である。一部の例では、ステープル化ペプチドは、配列番号５または６のアミノ酸配列のいずれか一方を含むまたはそれからなるペプチドであるが、ただし、配列番号５または６の少なくとも２個（例えば、２、３、４、５、６個）のアミノ酸が、ステープルを形成することができる非天然アミノ酸に置き換えられている。一部の例では、非天然アミノ酸は、オレフィン側鎖を有するα，α－二置換非天然アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ１９～５０（例えば、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９または５０）アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ１９～６０（例えば、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９または６０）アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ１９～１００、３８～１００、１９～６０、３８～６０、１９～５０、３８～５０、１９～４５、３８～４５、１９～４０および３８～４０アミノ酸に及ぶ。一部の例では、上記の構造的に安定化されたペプチドは、下に列挙される特性のうちの１つまたは複数（１、２、３、４、５、６）を有する：（ｉ）アルファヘリックスである；（ｉｉ）プロテアーゼ耐性である；（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と宿主細胞の融合を阻害する；および／または（ｉｖ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／ま

たは生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、配列番号７８の配列を含むまたはそれからなるポリペプチドに結合する。

【０１２９】

一部の例では、表１における未修飾ペプチド（例えば、配列番号５または６）のうちの１つと比較して０～１０（０、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０）のアミノ酸置換を含むペプチドが、本明細書で開示される。一部の例では、表１における未修飾ペプチド（例えば、配列番号５または６）のうちの１つと少なくとも７５％（例えば、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％）同一であるペプチドが、本明細書で開示される。一部の例では、本明細書に記載の置換は、保存的置換である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ１９～５０（例えば、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９または５０）アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ１９～６０（例えば、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６、５７、５８、５９または６０）アミノ酸である。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、長さ１９～１００、３８～１００、１９～６０、３８～６０、１９～５０、３８～５０、１９～４５、３８～４５、１９～４０および３８～４０アミノ酸に及ぶ。一部の例では、上記の構造的に安定化されたペプチドは、下に列挙される特性のうちの１つまたは複数（１、２、３、４、５、６）を有する：（ｉ）アルファヘリックスである；（ｉｉ）プロテアーゼ耐性である；（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と宿主細胞の融合を阻害する；および／または（ｉｖ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、配列番号７８の配列を含むまたはそれからなるポリペプチドに結合する。

【０１３０】

一部の例では、本明細書に記載の任意の置換は、保存的置換であり得る。一部の例では、本明細書に記載の任意の置換は、非保存的置換である。

【０１３１】

一部の例では、ステープル化するアミノ酸として使用され得る非天然アミノ酸は、（Ｒ）－２－（２’－プロペニル）アラニン；（Ｒ）－２－（４’－ペンテニル）アラニン；（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン；（Ｓ）－α－（２’－プロペニル）アラニン；（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン；（Ｓ）－２－（７’－オクテニル）アラニン；α，α－ビス（４’－プロペニル）グリシン；およびα，α－ビス（７’－オクテニル）グリシンである。

【０１３２】

一部の実施形態では、内部ステープルは、２アミノ酸の側鎖に置き換わる、すなわち、各ステープルは、例えば６個のアミノ酸で隔てられている２個のアミノ酸の間にある。一部の実施形態では、ステープルを形成するアミノ酸は、ステープルのｉ位およびｉ＋７位の各々にある。例えば、ペプチドが、配列．．．Ｘ１、Ｘ２、Ｘ３、Ｘ４、Ｘ５、Ｘ６、Ｘ７、Ｘ８、Ｘ９．．．を有する場合、Ｘ１とＸ８（ｉとｉ＋７）の間の架橋は、そのペプチドの有用な炭化水素ステープル化形態である。ｉおよびｉ＋４ステープル、複数の架橋（例えば、２、３、４、もしくはそれより多くの）、またはタンデムステッチの使用も、企図される。炭水化物ステープル化ペプチドの作製および使用に関する追加の説明は、例えば、米国特許出願公開第２０１２／０１７２２８５号、同第２０１０／０２８６０５７号および同第２００５／０２５０６８０号において見つけることができ、これらの全てについての内容は、それら全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【０１３３】
「ペプチドステープル化」は、ペプチド鎖に存在する２つのオレフィン含有側鎖（例えば、架橋可能な側鎖）を、閉環メタセシス（ＲＣＭ）反応を使用して共有結合で結合させて（例えば、「一緒にステープル化され」）架橋環を形成する合成方法論から作られた用語である（例えば、Blackwell et al., J. Org. Chem., 66：5291-5302, 2001；Angew et al., Chem. Int. Ed. 37:3281, 1994を参照されたい）。構造安定化は、例えば、ペプチドをステープル化することにより得る（例えば、Walensky, J. Med. Chem., 57:6275-6288 (2014)を参照されたく、この内容は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）。一部の場合には、ステープルは、炭水化物ステープルである。

【０１３４】
一部の例では、本明細書で使用されるステープルは、ラクタムステープル；ＵＶ付加環化ステープル；オキシムステープル；チオエーテルステープル；ダブルクリックステープル；ビスラクタムステープル；ビスアリール化ステープル；またはこれらのいずれか２つまたはそれより多くのものの組合せである。本明細書に記載の安定化ペプチドは、ステープル化ペプチドはもちろん、複数のステープルを含有するペプチド、または構造強化のための任意の他の化学的戦略（例えば、Balaram P. Cur. Opin. Struct. Biol. 1992;2:845；Kemp DS, et al., J. Am. Chem. Soc. 1996;118:4240；Orner BP, et al., J. Am. Chem. Soc. 2001;123:5382；Chin JW, et al., Int. Ed. 2001;40:3806；Chapman RN, et al., J. Am. Chem. Soc. 2004;126:12252；Horne WS, et al., Chem., Int. Ed. 2008;47:2853；Madden et al., Chem Commun (Camb). 2009 Oct 7；(37)：5588-5590；Lau et al., Chem. Soc. Rev., 2015,44:91-102；およびGunnoo et al., Org. Biomol. Chem., 2016,14:8002-8013を参照されたく、これらの各々は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる）を含む。

【０１３５】
ペプチドは、それがそのネイティブ二次構造を維持するという点で「構造的に安定化される」。例えば、ステープル化は、αヘリックス二次構造を有する傾向があるペプチドが、そのネイティブαヘリックスコンフォメーションを維持することを可能にする。この二次構造は、タンパク質分解的切断および熱に対するペプチドの耐性を増大させ、ならびに標的結合親和性、疎水性、原形質膜結合、および／または細胞透過性を増大させ得る。したがって、本明細書に記載のステープル化（架橋）ペプチドは、対応するステープル化されていない（非架橋）ペプチドと比べて改善された生物活性および薬理を有する。

【０１３６】
ある特定の例では、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドに構造安定化（例えば、内部架橋、例えば、ステープル化）を導入するための修飾は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の組換え５ヘリックスバンドルとも、対応するネイティブ融合機構とも相互作用しないＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ヘリックス面に位置し得る。あるいは、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドに安定化（例えば、内部架橋、例えばステープル化）を導入するための修飾は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の５ヘリックスバンドルと相互作用するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ヘリックス面に位置し得る。一部の場合には、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２タンパク質の相互作用ヘリックス面と非相互作用ヘリックス面の境界面にステープル（例えば、炭水化物ステープル）を導入することにより安定化される。一部の場合には、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドは、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２タンパク質の疎水性相互作用表面と非相互作用面との境界部にステープル（例えば、炭水化物ステープル）（単数または複数）を導入することにより安定化される。

【０１３７】
一部の例では、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドに構造安定化（例えば、内部架橋、例えば、ステープル化）を導入するための修飾は、残基：

（ｉ）配列番号６の１１および１８；
（ｉｉ）配列番号６の１２および１９；
（ｉｉｉ）配列番号６の１３および２０；
（ｉｖ）配列番号６の１４および２１；
（ｖ）配列番号６の１５および２２；
（ｖｉ）配列番号６の１６および２３；
（ｖｉｉ）配列番号６の１７および２４；
（ｖｉｉｉ）配列番号６の１８、および２５；
（ｉｘ）配列番号６の１９および２６；
（ｘ）配列番号６の２０および２７；
（ｘｉ）配列番号６の２１および２８；
（ｘｉｉ）配列番号６の２２および２９；
（ｘｉｉｉ）配列番号６の２３および３０；
（ｘｉｖ）配列番号６の２４および３１；または
（ｘｖ）配列番号６の２５および３２
に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置に位置する。

【０１３８】

ある特定の例では、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチド（例えば、配列番号５または６）は、１つまたは複数（例えば、１、２、３、４または５）のアミノ酸置換（配列番号５または６のいずれか１つで示されるアミノ酸配列と比べて）、例えば、１つまたは複数（例えば、１、２、３、４または５）の保存的および／または非保存的アミノ酸置換も、含有し得る。一部の例では、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ＨＲ２ペプチド（例えば、配列番号５または６）は、ペプチドのＮ末端に付加された少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、または少なくとも５個のアミノ酸も含有し得る。一部の例では、本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチド（例えば、配列番号５または６）は、ペプチドのＣ末端に付加された少なくとも１個、少なくとも２個、少なくとも３個、少なくとも４個、または少なくとも５個のアミノ酸も含有し得る。

【０１３９】

一部の例では、本明細書で開示されるペプチドのいずれか１つにおけるＮ末端アスパラギン酸は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～４アルキル）に置き換えられる。一部の例では、本明細書で開示されるペプチドのいずれか１つにおけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、Ｃ（Ｏ）NH_2に置き換えられる。一部の例では、配列番号６、配列番号１０または配列番号２０におけるＮ末端アスパラギン酸は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～４アルキル）に置き換えられる。一部の例では、配列番号６、配列番号１０、配列番号１３、配列番号１７または配列番号２０におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、Ｃ（Ｏ）NH_2に置き換えられる。

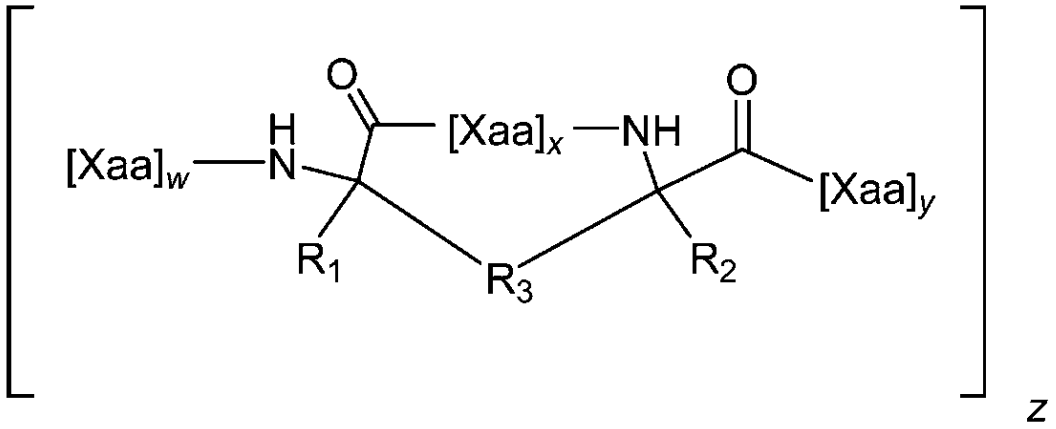
【０１４０】

一部の例では、本明細書で開示されるペプチドのいずれかについてのＣ末端リシンは、オルニチン（例えば、Ｌ－オルニチン）、Ｌ－２，３－ジアミノプロピオン酸、Ｌ－２，７－ジアミノヘプタン酸、ジアミノ酪酸（例えば、Ｌ－２，４－ジアミノ酪酸、アルファ炭素アミンを有するアミノ酸、またはジアミンに置き換えられる。

【０１４１】

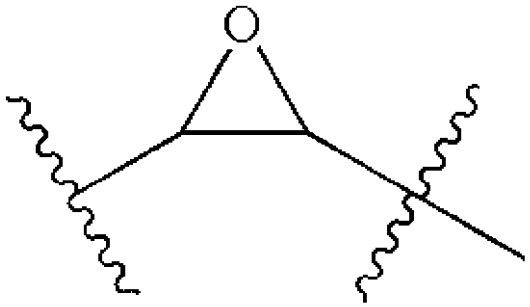
一態様では、構造的に安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ ＨＲ２ペプチドは、式（Ｉ）

【化７０】



式 (I)

またはその薬学的に許容される塩（式中、
各R_1およびR_2は、独立して、Ｈ、またはC_1～C_{10}アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリールアルキル、またはヘテロシクリルアルキルであり；
R_3は、アルキル、アルケニル、アルキニル；$[R_4-K-R_4]_n$であり；これらの各々が、０～６つのR_5で置換されており；R_4は、アルキル、アルケニル、またはアルキニルであり；
R_5は、ハロ、アルキル、OR_6、$N(R_6)_2$、SR_6、SOR_6、SO_2R_6、CO_2R_6、R_6、蛍光部分、または放射性同位体であり；
Ｋは、Ｏ、Ｓ、ＳＯ、SO_2、ＣＯ、CO_2、$CONR_6$、または
【化７１】



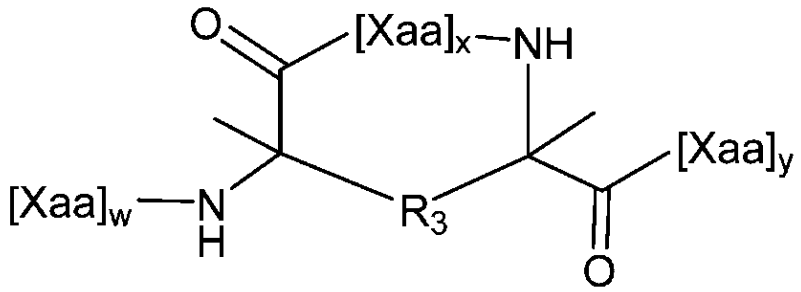
であり；
R_6は、Ｈ、アルキル、または治療剤であり；
ｎは、１～４の整数であり；
ｘは、２～１０の整数であり；
各ｙは、独立して、０～１００の整数であり；
ｚは、１～１０の整数（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０）であり；
および各Ｘａａは、独立して、アミノ酸である）
を含み；ならびに
ペプチドが（ｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と宿主細胞の融合を阻害する；および／または（ｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、構造的に安定化されたペプチド
を含む。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルス

および／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、配列番号７８の配列を含むまたはそれからなるポリペプチドに結合する。

【０１４２】

別の態様では、構造的に安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドは、式（Ｉ－Ａ）を含む。式（Ｉ－Ａ）は、

【化７２】



またはその薬学的に許容される塩により定義される。一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、式（Ｉ－Ａ）からなる。

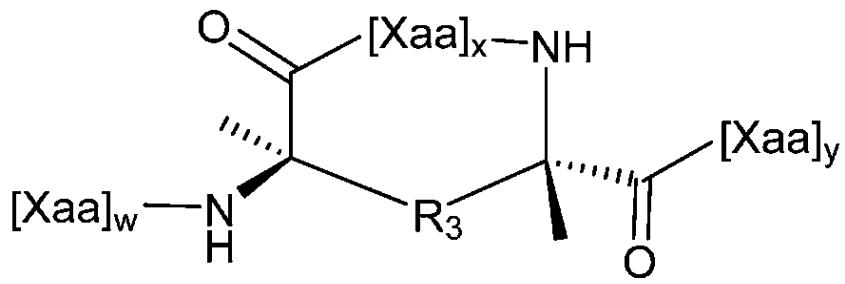
【０１４３】

一部の例では、式（Ｉ－Ａ）のR_3は、アルケニレンである。一部の例では、［Ｘａａ］$_w$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ１～４アルキル）に置き換えられており、必要に応じて、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）NH_2に置き換えられている。

【０１４４】

別の態様では、構造的に安定化されたペプチドは、

【化７３】

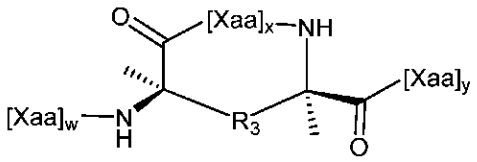


またはその薬学的に許容される塩により定義される式Ｉａを含む。一態様では、構造的に安定化されたペプチドは、式（Ｉａ）からなる。一部の例では、式（Ｉａ）の［Ｘａａ］$_w$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、必要に応じて、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）NH_2に置き換えられている。

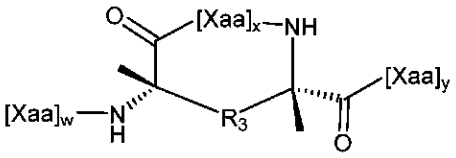
【０１４５】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、

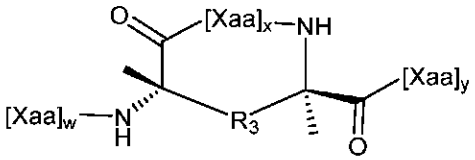
【化７４】



式 (Ib),



式 (Ic),



(式 Id),

またはその薬学的に許容される塩を含む、またはそれからなる。

【０１４６】

一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、必要に応じて、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられている。

【０１４７】

一部の例では、式（Ｉ）～（Ｉｄ）（すなわち、Ｉ、Ｉａ、Ｉｂ、Ｉｃ、Ｉｄ）のいずれか１つについてのＲ$_{3}$は、Ｃ$_{7～15}$アルケニレンである。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、Ｃ$_{9～13}$アルケニレンである。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、Ｃ$_{11}$アルケニレンである。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～7}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～7}$－である。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{5～7}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～4}$－である。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{6}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3}$－である。

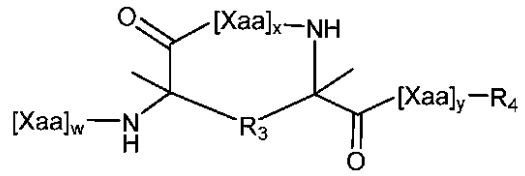
【０１４８】

一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている。一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_{3}$に置き換えられている。一部の例では、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられている。

【０１４９】

別の態様では、式ＩＩを含むまたはそれからなる構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式ＩＩが、

【化７５】



式 (II)

またはその薬学的に許容される塩により定義される、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートが、本明細書で開示される。

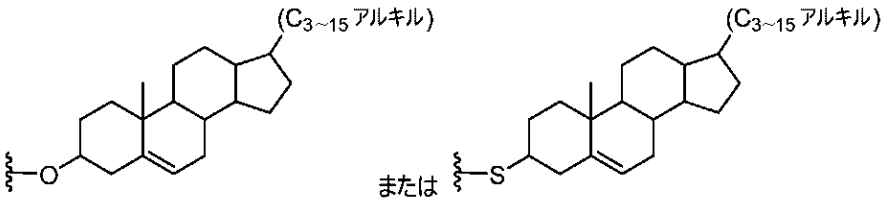
【０１５０】

一部の例では、式ＩＩのＲ$_3$は、アルケニレンである。一部の例では、Ｒ$_4$は、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{2～6}$アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$］$_m$－Ｎ（Ｒ$_5$）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～6}$アルキレン）－Ｒ$_6$であり、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点である。一部の例では、Ｒ$_5$は、水素またはＣ$_{1～4}$アルキルである。

【０１５１】

一部の例では、Ｒ$_6$は、下記の一方：

【化７６】



であり、必要に応じて、これらの各々は、Ｒ$_7$のｔ個の存在により置換されている。

【０１５２】

一部の例では、Ｒ$_7$は、各々の存在について独立して、Ｃ$_{1～3}$アルキル、ヒドロキシルまたはＣ$_{1～3}$アルコキシルを表す。一部の例では、ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６である。一部の例では、ｔは、０、１、２または３である。

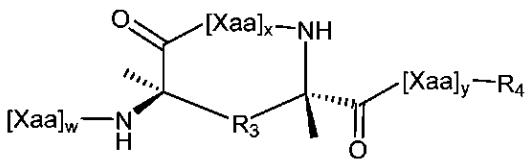
【０１５３】

一部の例では、［Ｘａａ］$_w$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、必要に応じて、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$に置き換えられている。

【０１５４】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、

【化７７】



(式 IIa)

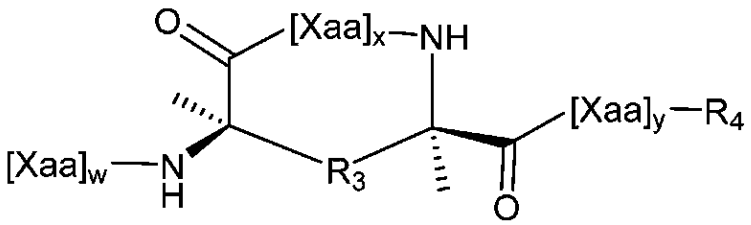
またはその薬学的に許容される塩（式中、必要に応じて、［Ｘａａ］$_w$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている）により定義される式ＩＩａを含む、またはそれからなる。一部の例では、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_2$に置き換えられている

。

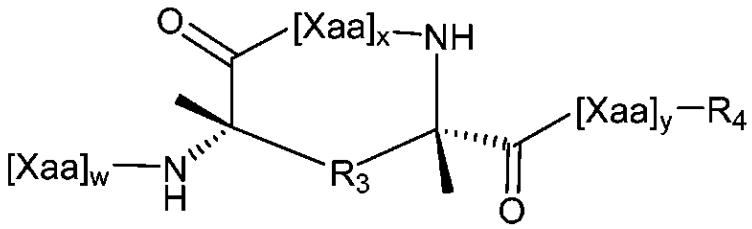
【０１５５】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、

【化７８－１】

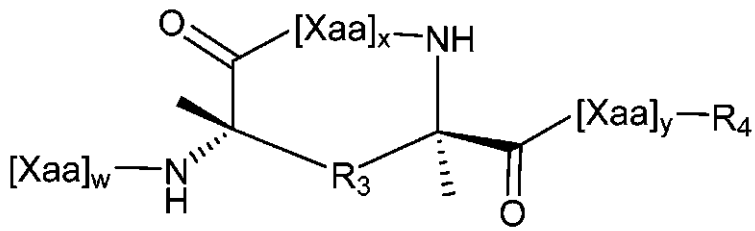


式 (IIb),



式 (IIc),

【化７８－２】



式 (IId),

またはその薬学的に許容される塩を含む、またはそれからなる。一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている。一部の例では、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられている。

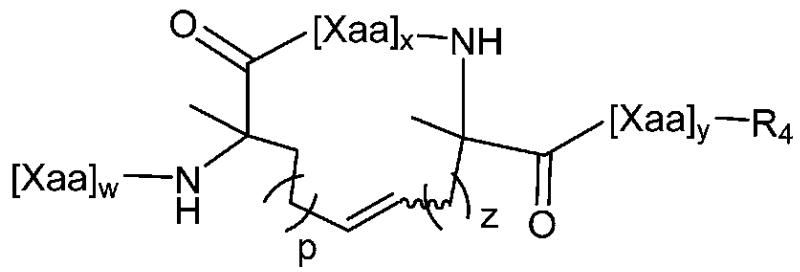
【０１５６】

一部の例では、式（ＩＩ）、（ＩＩａ）、（ＩＩｂ）、（ＩＩｃ）、または（ＩＩｄ）のＲ$_{3}$は、Ｃ$_{7～15}$アルケニレンである。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、Ｃ$_{9～13}$アルケニレンである。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、Ｃ$_{11}$アルケニレンである。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～7}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～7}$－である。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{5～7}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3～4}$－である。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、－（ＣＨ$_{2}$）$_{6}$－ＣＨ＝ＣＨ－（ＣＨ$_{2}$）$_{3}$－である。

【０１５７】

一部の例では、式ＩＩＩを含むまたはそれからなる構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式ＩＩＩが、

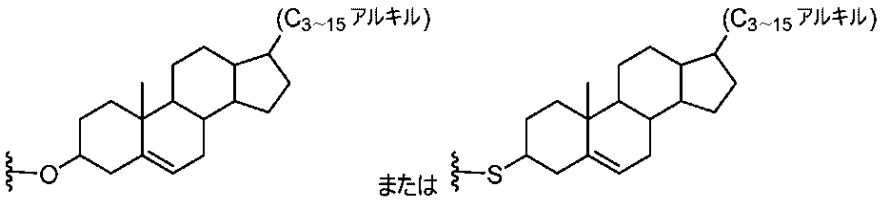
【化７９】



式 (III)

またはその薬学的に許容される塩により定義される、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートが、本明細書で開示される。一部の例では、R_4は、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（$C_{2\sim6}$アルキレン）－［Ｏ－CH_2CH_2］$_m$－Ｎ（R_5）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim6}$アルキレン）－R_6であり、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点である。一部の例では、R_5は、水素または$C_{1\sim4}$アルキルである。一部の例では、R_6は、下記の一方：

【化８０】



であり、必要に応じて、これらの各々は、R_7のｔ個の存在により置換されている。

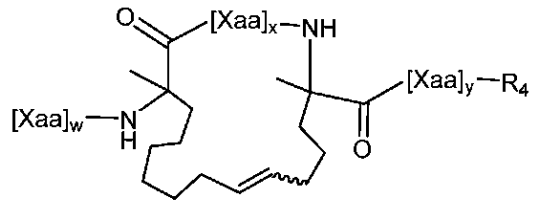
【０１５８】

一部の例では、R_7は、各々の存在について独立して、$C_{1\sim3}$アルキル、ヒドロキシルまたは$C_{1\sim3}$アルコキシルを表す。一部の例では、ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６である。一部の例では、ｐは、２、３、４、５、６、７または８である。一部の例では、ｚは、２、３、４、５または６である。一部の例では、ｔは、０、１、２または３である。一部の例では、［Ｘａａ］$_w$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim4}$アルキル）に置き換えられている。一部の例では、［Ｘａａ］$_y$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）NH_2に置き換えられている。

【０１５９】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、

【化８１】



式 (IIIa)

またはその薬学的に許容される塩により定義される式（ＩＩＩａ）を含む、またはそれからなる。

【０１６０】

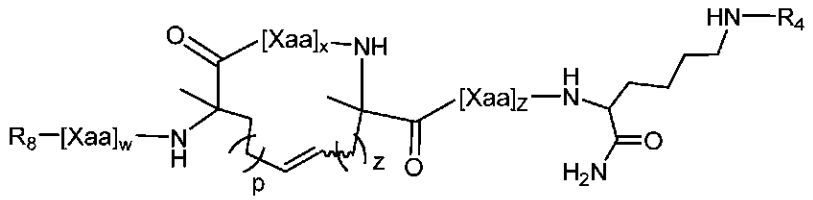
一部の例では、［Ｘａａ］$_w$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）

Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられており、必要に応じて、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられている。一部の例では、Ｒ$_{4}$は、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{2～3}$アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$］$_{m}$－Ｎ（Ｒ$_{5}$）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～2}$アルキレン）－Ｒ$_{6}$であり、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点である。一部の例では、Ｒ$_{4}$は、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$）－［Ｏ－ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$］$_{m}$－Ｎ（Ｒ$_{5}$）Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）－Ｒ$_{6}$であり、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点である。一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている。一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_{3}$に置き換えられている。一部の例では、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンのカルボン酸基は、－Ｃ（Ｏ）ＮＨ$_{2}$に置き換えられている。

【０１６１】

別の態様では、式（ＩＶ）：

【化８２】



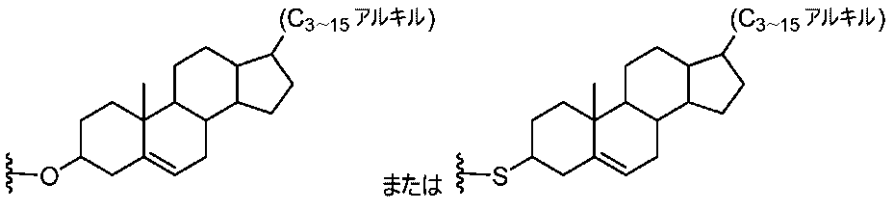
式 (IV)

またはその薬学的に許容される塩により表される、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートが、本明細書で開示される。

【０１６２】

一部の例では、Ｒ$_{4}$は、－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{2～6}$アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$］$_{m}$－Ｎ（Ｒ$_{5}$）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～6}$アルキレン）－Ｒ$_{6}$である。一部の例では、Ｒ$_{5}$は、水素またはＣ$_{1～4}$アルキルである。一部の例では、Ｒ^{6}は、下記の一方：

【化８３】



であり、必要に応じて、これらの各々は、Ｒ$_{7}$のｔ個の存在により置換されている。

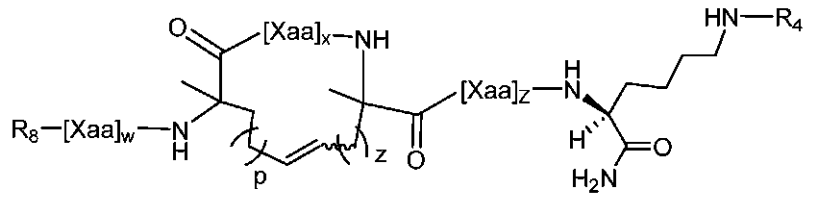
【０１６３】

一部の例では、Ｒ$_{7}$は、各々の存在について独立して、Ｃ$_{1～3}$アルキル、ヒドロキシルまたはＣ$_{1～3}$アルコキシルを表す。一部の例では、Ｒ$_{8}$は、－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）である。一部の例では、ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６である。一部の例では、ｐは、２、３、４、５、６、７または８である。一部の例では、ｚは、２、３、４、５または６である。一部の例では、ｔは、０、１、２または３である。

【０１６４】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、式ＩＶａまたはその薬学的に許容される塩により表され、式ＩＶａは、

【化８４】



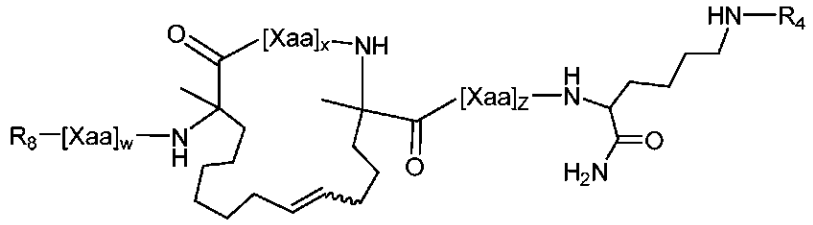
式 (IVa)

により定義される。

【０１６５】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、式ＩＶｂまたはその薬学的に許容される塩により表され、式ＩＶｂは、

【化８５】



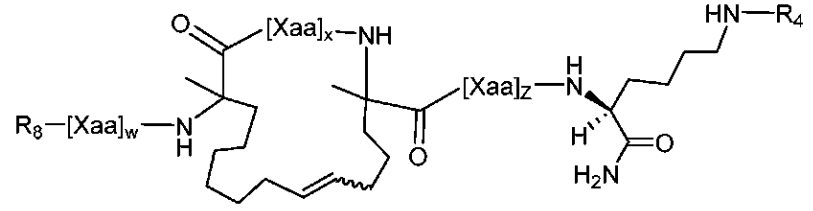
式 (IVb)

により定義される。

【０１６６】

一部の例では、構造的に安定化されたペプチドは、式ＩＶｃまたはその薬学的に許容される塩により表され、式ＩＶｃは、

【化８６】



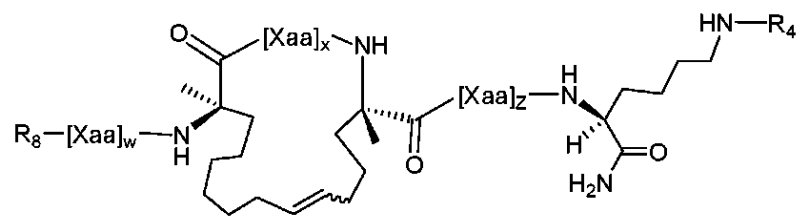
式 (IVc)

により定義される。

【０１６７】

一部の例では、式Ｖまたはその薬学的に許容される塩により表される構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式Ｖが、

【化８７】



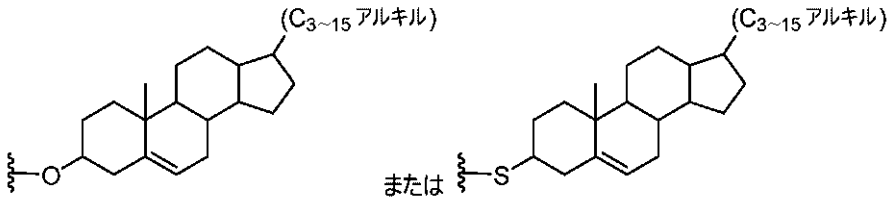
式 (V)

により定義される、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートが、本明細書で開示される。

【０１６８】

一部の例では、R_4は、－Ｃ（Ｏ）－（$C_{2\sim6}$アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$］$_m$－Ｎ（R_5）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim6}$アルキレン）－R_6である。一部の例では、R_5は、水素または$C_{1\sim4}$アルキルである。一部の例では、R^6は、下記の一方：

【化８８】



であり、必要に応じて、これらの各々は、R_7のｔ個の存在により置換されている。

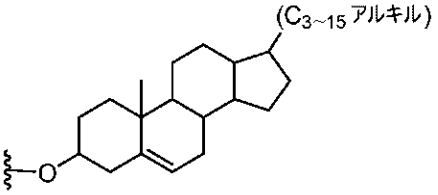
【０１６９】

一部の例では、R_7は、各々の存在について独立して、$C_{1\sim3}$アルキル、ヒドロキシルまたは$C_{1\sim3}$アルコキシルを表す。一部の例では、R_8は、－Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim4}$アルキル）である。一部の例では、［Ｘａａ］$_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり、［Ｘａａ］$_x$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり、［Ｘａａ］$_z$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧ（配列番号７７）である。一部の例では、ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６である。一部の例では、ｔは、０、１、２または３である。

【０１７０】

一部の例では、R_8は、－Ｃ（Ｏ）ＣＨ$_3$である。一部の例では、R_4は、－Ｃ（Ｏ）－（$C_{2\sim3}$アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$］$_m$－Ｎ（R_5）Ｃ（Ｏ）－（$C_{1\sim2}$アルキレン）－R_6である。一部の例では、R_4は、－Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$）－［Ｏ－ＣＨ$_2$ＣＨ$_2$］$_m$－Ｎ（R_5）Ｃ（Ｏ）－（ＣＨ$_2$）－R_6である。一部の例では、R_5は、水素である。一部の例では、R_6は、R_7のｔ個の存在により置換されている

【化８９】

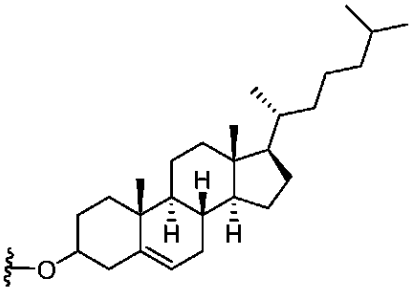


である。

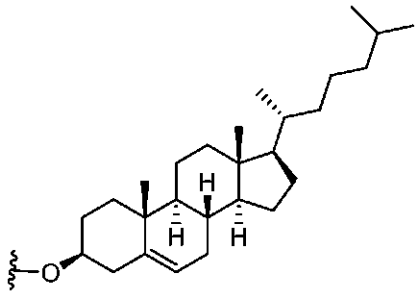
【０１７１】

一部の例では、R_6は、R_7のｔ個の存在により置換されている

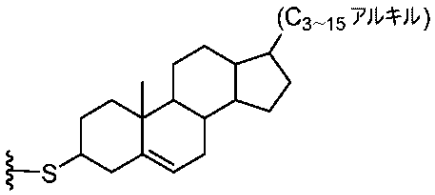
【化９０】



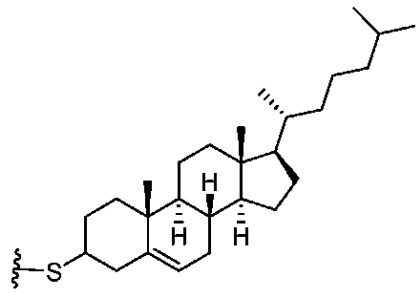
である。
【０１７２】
一部の例では、R_6は、R_7のｔ個の存在により置換されている
【化９１】



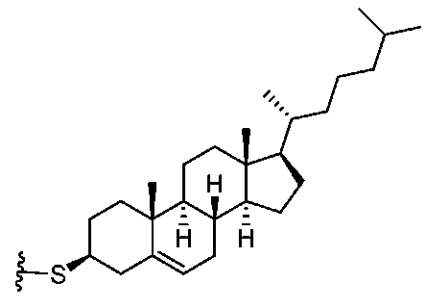
である。
【０１７３】
一部の例では、R_6は、R_7のｔ個の存在により置換されている
【化９２】



である。
【０１７４】
一部の例では、R_6は、R_7のｔ個の存在により置換されている
【化９３】

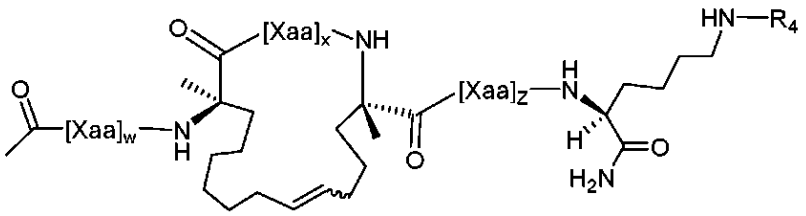


である。
【０１７５】
一部の例では、R_6は、R_7のｔ個の存在により置換されている
【化９４】



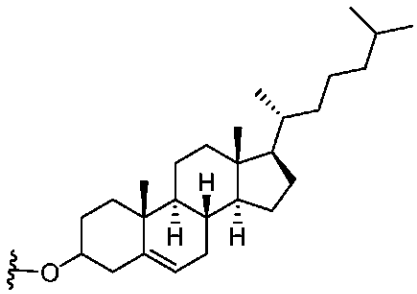
である。

【０１７６】
一部の例では、ｔは、０である。一部の例では、ｍは、４である。一部の例では、ｍは、８である。
【０１７７】
別の態様では、式ＶＩまたはその薬学的に許容される塩により表される構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートであって、式ＶＩが、
【化９５】



式 (VI)

により定義される、構造的に安定化されたペプチドコンジュゲートが、本明細書で開示される。
【０１７８】
一部の例では、R_4は、－Ｃ（Ｏ）－（CH_2CH_2）－［Ｏ－CH_2CH_2］$_8$－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（CH_2）－R_6である。一部の例では、R_6は、
【化９６】



である。
【０１７９】
一部の例では、［Ｘａａ］$_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり、［Ｘａａ］$_x$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり、［Ｘａａ］$_z$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧ（配列番号７７）である。
【０１８０】
一部の実施形態では、式（Ｉ）の［Ｘａａ］$_w$、式（Ｉ）の［Ｘａａ］$_x$、および式（Ｉ）、（Ｉａ）、（ＩＩ）、（ＩＩａ）の［Ｘａａ］$_y$の各々は、表２の構築物１～１５のいずれか１つについて記載されるとおりである。例えば、表２の構築物１の［Ｘａａ］$_w$、［Ｘａａ］$_x$、および［Ｘａａ］$_y$を含む安定化ペプチドについて、［Ｘａａ］$_w$、［Ｘａａ］$_x$、および［Ｘａａ］$_y$は、それぞれ、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶ（配列番号２６）、ＩＱＫＥＩＤ（配列番号２７）、およびＬＮＥＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号２８）である。別の例では、表２の構築物２の［Ｘａａ］$_w$、［Ｘａａ］$_x$、および［Ｘａａ］$_y$を含む安定化ペプチドについて、［Ｘａａ］$_w$、［Ｘａａ］$_x$、および［Ｘａａ］$_y$は、それぞれ、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮ（配列番号２９）、ＱＫＥＩＤＲ（配列番号３０）、およびＮＥＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３１）である。

【表２－１】

表2.式(I)構築物1～15についての$[Xaa]_w$, $[Xaa]_x$, および $[Xaa]_y$の配列。

構築物	$[Xaa]_w$	$[Xaa]_x$	$[Xaa]_y$
1	DISGINASVV (配列番号26)	IQKEID (配列番号27)	LNEVAKNLNESLIDLQELGK (配列番号28)
2	DISGINASVVN (配列番号29)	QKEIDR (配列番号30)	NEVAKNLNESLIDLQELGK (配列番号31)

【表２－２】

構築物	$[Xaa]_w$	$[Xaa]_x$	$[Xaa]_y$
3	DISGINASVVNI (配列番号32)	KEIDRL (配列番号33)	EVAKNLNESLIDLQELGK (配列番号34)
4	DISGINASVVNIQ (配列番号35)	EIDRLN (配列番号36)	VAKNLNESLIDLQELGK (配列番号37)
5	DISGINASVVNIQK (配列番号38)	IDRLNE (配列番号39)	AKNLNESLIDLQELGK (配列番号40)
6	DISGINASVVNIQKE (配列番号41)	DRLNEV (配列番号42)	KNLNESLIDLQELGK (配列番号43)
7	DISGINASVVNIQKEI (配列番号44)	RLNEVA (配列番号45)	NLNESLIDLQELGK (配列番号46)
8	DISGINASVVNIQKEID (配列番号47)	LNEVAK (配列番号48)	LNESLIDLQELGK (配列番号49)
9	DISGINASVVNIQKEIDR (配列番号50)	NEVAKN (配列番号51)	NESLIDLQELGK (配列番号52)
10	DISGINASVVNIQKEIDRL (配列番号53)	EVAKNL (配列番号54)	ESLIDLQELGK (配列番号55)
11	DISGINASVVNIQKEIDRLN (配列番号56)	VAKNLN (配列番号57)	SLIDLQELGK (配列番号58)
12	DISGINASVVNIQKEIDRLNE (配列番号59)	AKNLNE (配列番号60)	LIDLQELGK (配列番号61)
13	DISGINASVVNIQKEIDRLNEV (配列番号62)	KNLNES (配列番号63)	IDLQELGK (配列番号64)
14	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVA (配列番号65)	NLNESL (配列番号66)	DLQELGK (配列番号67)
15	DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAK (配列番号68)	LNESLI (配列番号69)	LQELGK (配列番号70)

【０１８１】

ある特定の例では、上記の表２に示されている配列は、少なくとも１つ（例えば、１、２、３、４、５または６つ）のアミノ酸置換または欠失を有し得る。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドは、本明細書に記載の任意のアミノ酸配列を含み得る。

【０１８２】

一部の例では、上記の表２に示されている配列を含む式（Ｉ）は、下に列挙される特性の１つまたは複数を有し得る：（ｉ）組換えＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルＳタンパク質および／または対応するネイティブ融合機構に結合する；（ｉｉ）アルファヘリックスである；（ｉｉｉ）プロテアーゼ耐性である；（ｉｖ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－

２と宿主細胞の融合を阻害する；および／または（ｖ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する。一部の例では、化合物は、配列番号７８の配列を含むまたはそれからなるポリペプチドに結合する。

【０１８３】

式（Ｉ）のテザーは、アルキル、アルケニルまたはアルキニル部分（例えば、C_5、C_8、C_{11}もしくはC_{12}アルキル、C_5、C_8もしくはC_{11}アルケニル、またはC_5、C_8、C_{11}もしくはC_{12}アルキニル）を含み得る。繋留されているアミノ酸は、アルファ二置換されていることがある（例えば、C_1～C_3またはメチル）。

【０１８４】

式（Ｉ）の一部の例では、ｘは、２、３または６である。式（Ｉ）の一部の例では、各ｙは、独立して、０～１５または３～１５の間の整数である。式（Ｉ）の一部の例では、R_1およびR_2は、各々独立して、ＨまたはC_1～C_6アルキルである。式（Ｉ）の一部の例では、R_1およびR_2は、各々独立して、C_1～C_3アルキルである。式（Ｉ）の一部の例では、R_1およびR_2の少なくとも一方は、メチルである。例えば、R_1およびR_2は、両方ともメチルであり得る。式（Ｉ）の一部の例では、R_3は、アルキル（例えば、C_8アルキル）であり、ｘは、３である。式（Ｉ）の一部の例では、R_3は、C_{11}アルキルであり、ｘは、６である。式（Ｉ）の一部の例では、R_3は、アルケニル（例えば、C_8アルケニル）であり、ｘは、３である。式（Ｉ）の一部の例では、ｘは、６であり、R_3は、C_{11}アルケニルである。一部の例では、R_3は、直鎖アルキル、アルケニルまたはアルキニルである。一部の例では、R_3は、$-CH_2-CH_2-CH_2-CH=CH-CH_2-CH_2-CH_2-$である。

【０１８５】

一態様では、構造的に安定化されたＣＯＶＩＤ－１９　ＨＲ２ペプチドは、式（Ｉ）、またはその薬学的に許容される塩を含み、式中、

各R_1およびR_2は、ＨまたはC_1～C_{10}アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリールアルキル、またはヘテロシクリルアルキルであり、これらのいずれかは、置換されているか、または非置換であり；

各R_3は、独立して、アルキレン、アルケニレン、またはアルキニレンであり、これらのいずれかは、置換されているか、または非置換であり；

ｚは、１、２、３、４，５、６、７、８、９または１０であり；ならびに

（ａ）各$[Xaa]_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶ（配列番号２６）であり、各$[Xaa]_x$は、ＩＱＫＥＩＤ（配列番号２７）であり、各$[Xaa]_y$は、ＬＮＥＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号２８）であり；

（ｂ）各$[Xaa]_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮ（配列番号２９）であり、各$[Xaa]_x$は、ＱＫＥＩＤＲ（配列番号３０）であり、各$[Xaa]_y$は、ＮＥＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３１）であり；

（ｃ）各$[Xaa]_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩ（配列番号３２）であり、各$[Xaa]_x$は、ＫＥＩＤＲＬ（配列番号３３）であり、各$[Xaa]_y$は、ＥＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３４）であり；

（ｄ）各$[Xaa]_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり、各$[Xaa]_x$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり、各$[Xaa]_y$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；

（ｅ）各$[Xaa]_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫ（配列番号３８）であり、各$[Xaa]_x$は、ＩＤＲＬＮＥ（配列番号３９）であり、各$[Xaa]_y$は、ＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号４０）であり；

（ｆ）各$[Xaa]_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥ（配列番号４１）であり、各$[Xaa]_x$は、ＤＲＬＮＥＶ（配列番号４２）であり、各$[Xaa]_y$は、ＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号４３）であり；

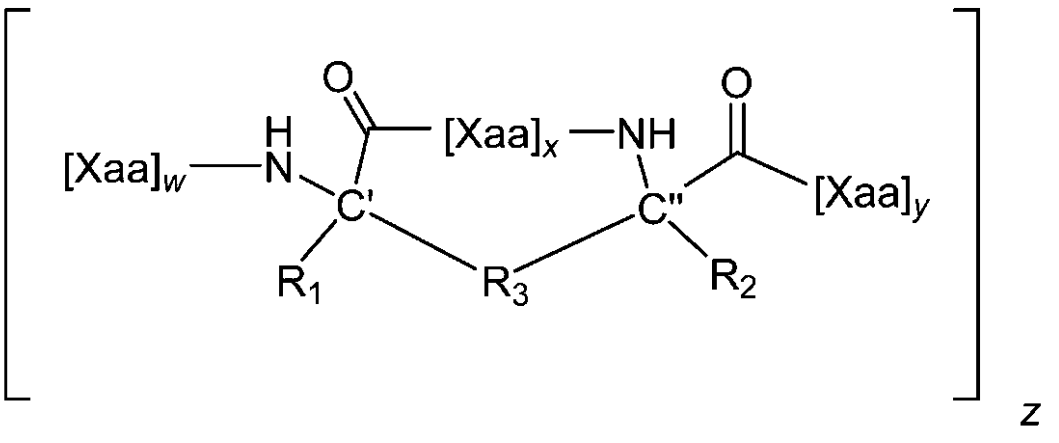
（ｇ）各$[Xaa]_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩ（配列番号４４）であり、各$[Xaa]_x$は、ＲＬＮＥＶＡ（配列番号４５）であり、各$[Xaa]_y$は、ＮＬＮ

ＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号４６）であり；
（ｈ）各［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤ（配列番号４７）であり、各［Ｘａａ］$_{x}$は、ＬＮＥＶＡＫ（配列番号４８）であり、各［Ｘａａ］$_{y}$は、ＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号４９）であり；
（ｉ）各［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲ（配列番号５０）であり、各［Ｘａａ］$_{x}$は、ＮＥＶＡＫＮ（配列番号５１）であり、各［Ｘａａ］$_{y}$は、ＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号５２）であり；
（ｊ）各［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬ（配列番号５３）であり、各［Ｘａａ］$_{x}$は、ＥＶＡＫＮＬ（配列番号５４）であり、各［Ｘａａ］$_{y}$は、ＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号５５）であり；
（ｋ）各［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮ（配列番号５６）であり、各［Ｘａａ］$_{x}$は、ＶＡＫＮＬＮ（配列番号５７）であり、各［Ｘａａ］$_{y}$は、ＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号５８）であり；
（ｌ）各［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮＥ（配列番号５９）であり、各［Ｘａａ］$_{x}$は、ＡＫＮＬＮＥ（配列番号６０）であり、各［Ｘａａ］$_{y}$は、ＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号６１）であり；
（ｍ）各［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮＥＶ（配列番号６２）であり、各［Ｘａａ］$_{x}$は、ＫＮＬＮＥＳ（配列番号６３）であり、各［Ｘａａ］$_{y}$は、ＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号６４）であり；
（ｎ）各［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮＥＶＡ（配列番号６５）であり、各［Ｘａａ］$_{x}$は、ＮＬＮＥＳＬ（配列番号６６）であり、各［Ｘａａ］$_{y}$は、ＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号６７）であり；
（ｏ）各［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮＥＶＡＫ（配列番号６８）であり、各［Ｘａａ］$_{x}$は、ＬＮＥＳＬＩ（配列番号６９）であり、各［Ｘａａ］$_{y}$は、ＬＱＥＬＧＫ（配列番号７０）であり；
構造的に安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドは、組換えＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルＳタンパク質および／または対応するネイティブ融合機構に結合する。一部の例では、Ｒ$_{1}$は、アルキルである。一部の例では、Ｒ$_{1}$は、メチル基である。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、アルキルである。一部の例では、Ｒ$_{3}$は、メチル基である。一部の例では、Ｒ$_{2}$は、アルケニルである。一部の例では、ｚは、１である。

【０１８６】

式（Ｉ）の別の態様では、２つのアルファ、アルファ二置換立体中心は、両方とも、Ｒ配置もしくはＳ配置である（例えば、ｉ，ｉ＋４架橋）、または一方の立体中心がＲであり、他方がＳである（例えば、ｉ，ｉ＋７架橋）。したがって、この場合の式（Ｉ）は、

【化９７】



と描示される。

【０１８７】

Ｃ’およびＣ”二置換立体中心は、両方ともＲ配置で存在することがあり、またはそれらは、両方ともＳ配置で存在することがある。式（Ｉ）中のｘが６である場合、Ｃ’二置換立体中心は、Ｒ配置で存在し、Ｃ”二置換立体中心は、Ｓ配置で存在する。式（Ｉ）のR_3二重結合は、ＥまたはＺ立体化学配置で存在することがある。

【０１８８】

式（Ｉ）の一部の例では、R_3は、$[R_4-K-R_4]_n$であり、R_4は、直鎖アルキル、アルケニルまたはアルキニルである。

【０１８９】

本明細書で使用される場合、単独でまたは他の用語と組み合わせて用いられる用語「アルキル」は、直鎖であってもよく、または分岐していてもよい、飽和炭化水素基を指す。一部の実施形態では、アルキル基は、１～７個、１～６個、１～４個、または１～３個の炭素原子を含有する。アルキル部分の例としては、化学基、例えば、メチル、エチル、ｎ－プロピル、イソプロピル、ｎ－ブチル、イソブチル、ｓｅｃ－ブチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ｎ－ペンチル、２－メチル－１－ブチル、３－ペンチル、ｎ－ヘキシル、１，２，２－トリメチルプロピル、ｎ－ヘプチルなどが挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、アルキル基は、メチル、エチル、またはプロピルである。用語「アルキレン」は、連結アルキル基を指す。

【０１９０】

本明細書で使用される場合、単独でまたは他の用語と組み合わせて用いられる「アルケニル」は、１つまたは複数の炭素－炭素二重結合を有するアルキル基を指す。一部の実施形態では、アルケニル部分は、２～６個または２～４個の炭素原子を含有する。例示的なアルケニル基としては、エテニル、ｎ－プロペニル、イソプロペニル、ｎ－ブテニル、ｓｅｃ－ブテニルなどが挙げられるが、これらに限定されない。用語「アルケニレン」は、連結アルケニル基（例えば、－ＣＨ＝ＣＨ－または$-CH_2CH_2CH=CHCH_2CH_2-$基）を指す。

【０１９１】

本明細書で使用される場合、単独でまたは他の用語と組み合わせて用いられる「アルキニル」は、１つまたは複数の炭素－炭素三重結合を有するアルキル基を指す。例示的なアルキニル基としては、エチニル、プロピン－１－イル、プロピン－２－イルなどが挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、アルキニル部分は、２～６個または２～４個の炭素原子を含有する。

【０１９２】

本明細書で使用される場合、単独でまたは他の用語と組み合わせて用いられる「アルキニル」は、１つまたは複数の炭素－炭素三重結合を有するアルキル基を指す。例示的なアルキニル基としては、エチニル、プロピン－１－イル、プロピン－２－イルなどが挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、アルキニル部分は、２～６個または２～４個の炭素原子を含有する。

【０１９３】

本明細書で使用される場合、単独でまたは他の用語と組み合わせて用いられる用語「シクロアルキルアルキル」は、式シクロアルキル－アルキル－の基を指す。一部の実施形態では、アルキル部分は、１～４個、１～３個、１～２個、または１個の炭素原子を有する。一部の実施形態では、アルキル部分は、メチレンである。一部の実施形態では、シクロアルキル部分は、３～１０個の環員または３～７個の環員を有する。一部の実施形態では、シクロアルキル基は、単環式または二環式である。一部の実施形態では、シクロアルキル部分は、単環式である。一部の実施形態では、シクロアルキル部分は、$C_{3\sim7}$単環式シクロアルキル基である。

【０１９４】

本明細書で使用される場合、単独でまたは他の用語と組み合わせて用いられる用語「ヘテロアリールアルキル」は、式ヘテロアリール－アルキル－の基を指す。一部の実施形態では、アルキル部分は、１～４個、１～３個、１～２個、または１個の炭素原子を有する

。一部の実施形態では、アルキル部分は、メチレンである。一部の実施形態では、ヘテロアリール部分は、窒素、硫黄および酸素から独立して選択される１、２、３または４個のヘテロ原子を有する単環式または二環式基である。一部の実施形態では、ヘテロアリール部分は、５～１０個の炭素原子を有する。

【０１９５】

本明細書で使用される場合、用語「置換されている」は、水素原子が水素ではない基に置き換えられていることを意味する。所与の原子における置換が原子価により制限されることは理解されるはずである。

【０１９６】

本明細書で使用される場合、単独でまたは他の用語と組み合わせて用いられる「ハロ」または「ハロゲン」は、フルオロ、クロロ、ブロモおよびヨードを含む。一部の実施形態では、ハロは、ＦまたはＣｌである。

【０１９７】

一部の実施形態では、本開示は、配列番号５または６のいずれか１つのアミノ酸配列（またはその修飾バージョン）を含む、構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチドであって、６個のアミノ酸で隔てられている２個のアミノ酸の側鎖が内部ステープルに置き換えられている、ペプチドを特徴とする。

【０１９８】

ステープル化ペプチドは、長さ１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５５、６０、６５、７０、７５、８０、８５、９０、９５または１００アミノ酸であり得る。特定の実施形態では、ステープル化ペプチドは、長さ１９～４５アミノ酸（すなわち、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４、４５）である。特定の実施形態では、ステープル化ペプチドは、長さ３６～４５アミノ酸（すなわち、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４または４５）である。特定の実施形態では、ステープル化ペプチドは、長さ３８～４５アミノ酸（すなわち、３８、３９、４０、４１、４２、４３、４４または４５）である。特定の実施形態では、ステープル化ペプチドは、長さ３６～４２アミノ酸（すなわち、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２）アミノ酸である。特定の実施形態では、ステープル化ペプチドは、長さ３８～４２アミノ酸（すなわち、３８、３９、４０、４１、４２）アミノ酸である。特定の実施形態では、ステープル化ペプチドは、長さ３６アミノ酸である。別の特定の実施形態では、ステープル化ペプチドは、長さ３８アミノ酸である。例示的なＣＯＶＩＤ－１９　ＨＲ２ステープル化ペプチドは、表１および２に示され、式（Ｉ）で記載される。一実施形態では、ＣＯＶＩＤ－１９　ＨＲ２ステープル化ペプチドは、配列番号７～２１のいずれか１つのアミノ酸配列のステープル化バージョン（例えば、配列番号７～２１のいずれか１つのアミノ酸配列をそれぞれ含むペプチドに対して行われた閉環メタセシス反応の生成物）を含む、またはそれからなる。一実施形態では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ステープル化ペプチドは、配列番号５のアミノ酸配列のステープル化バージョン（例えば、配列番号５のアミノ酸配列を含むペプチドに対して行われた閉環メタセシス反応の生成物）を含む、またはそれからなる。一実施形態では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ステープル化ペプチドは、配列番号６のアミノ酸配列のステープル化バージョン（例えば、配列番号６のアミノ酸配列を含むペプチドに対して行われた閉環メタセシス反応の生成物）を含む、またはそれからなる。

【０１９９】

ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の１１および１８位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の１２および１９位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ

２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の１３および２０位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の１４および２１位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の１５および２２位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の１６および２３位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の１７および２４位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の１８および２５位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の１９および２６位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の２０および２７位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の２１および２８位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の２２および２９位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の２３および３０位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の２４および３１位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。ある特定の実施形態では、６個のアミノ酸で各々隔てられている２個のアミノ酸は、配列番号６の２５および３２位に対応するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおけるアミノ酸位置にある。

【０２００】

炭化水素テザーが本明細書では提供されるが、他のテザーも、本明細書に記載の構造的に安定化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドにおいて用いることができる。例えば、テザーは、エーテル、チオエーテル、エステル、アミン、もしくはアミド、またはトリアゾール部分のうちの１つまたは複数を含み得る。一部の場合には、天然に存在するアミノ酸側鎖をテザーに組み込むことができる。例えば、テザーを、官能基、例えば、セリンにおけるヒドロキシル、システインにおけるチオール、リシンにおける第一級アミン、アスパルテートもしくはグルタメートにおける酸、またはアスパラギンもしくはグルタミンにおけるアミドと、カップリングすることができる。したがって、２個の天然に存在しないアミノ酸をカップリングすることにより作製されるテザーを使用するのではなく、天然に存在するアミノ酸を使用してテザーを作出することが可能である。単一の天然に存在しないアミノ酸を天然に存在するアミノ酸とともに使用することも可能である。トリアゾール含有（例えば、１，４トリアゾールまたは１，５トリアゾール）架橋を使用することができる（例えば、Kawamoto et al. 2012 Journal of Medicinal Chemistry 55:1137；ＷＯ２０１０／０６０１１２を参照されたい）。加えて、異なるタイプのステープル化を行う他の方法が当技術分野において周知であり、それを本明細書に記載のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドとともに用いることができる（例えば、Lactam stapling: Shepherd et al., J. Am. Chem. Soc., 127:2974-2983 (2005)；UV-cycloaddition stapling: Madden et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 21:1472-1475 (2011)；Disulfide stapling: Jackson et

al., Am. Chem. Soc.,113:9391-9392 (1991)；Oxime stapling: Haney et al., Chem. Commun., 47:10915-10917 (2011)；Thioether stapling: Brunel and Dawson, Chem. Commun., 552-2554 (2005)；Photoswitchable stapling: J. R. Kumita et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 97:3803-3808 (2000)；Double-click stapling: Lau et al., Chem. Sci., 5:1804-1809 (2014)；Bis-lactam stapling: J. C. Phelan et al.,, J. Am. Chem. Soc., 119:455-460 (1997)；およびBis-arylation stapling: A. M. Spokoyny et al., J. Am. Chem. Soc., 135:5946-5949 (2013)を参照されたい）。

【０２０１】

テザーの長さを変えることができることがさらに想定される。例えば、二次アルファヘリックス構造に比較的高度な制約を与えることが望ましい場合、より短い長さのテザーを使用することができるが、一部の例では、二次アルファヘリックス構造にさほど制約を与えないことが望ましく、それ故、より長いテザーが望ましいことがある。

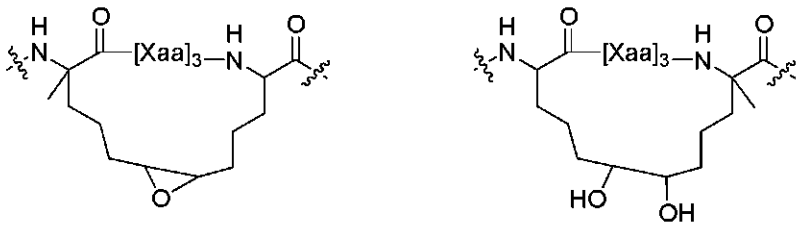
【０２０２】

加えて、アルファヘリックスの単一の面に主として存在するテザーを提供するためにアミノ酸ｉからｉ＋７にわたるテザーが本明細書で提供されるが、テザーを、アミノ酸数の任意の組合せにわたるように合成することができ、複数のテザーを組み入れるために組み合わせて使用することもできる。

【０２０３】

一部の例では、本明細書に記載の炭化水素テザー（すなわち、架橋）をさらに操作することができる。１つの例では、炭化水素アルケニルテザー（例えば、ルテニウム触媒閉環メタセシス（ＲＣＭ）を使用して合成されるような）の二重結合を（例えば、エポキシ化、アミノヒドロキシル化またはジヒドロキシル化によって）酸化して、下記の化合物の一方を得ることができる。

【化９８】



【０２０４】

エポキシド部分、または遊離ヒドロキシル部分の１つ、のいずれかを、さらに官能化することができる。例えば、エポキシドを求核試薬で処理することができ、それによって、例えば治療剤を結合させるために、使用することができる追加の官能基が得られる。あるいは、そのような誘導体化を、ペプチドのアミノもしくはカルボキシ末端の合成操作により、またはアミノ酸側鎖を介して、達成することができる。他の薬剤、例えば、細胞へのペプチドの侵入を容易にする薬剤を、官能化テザーに結合させることができる。

【０２０５】

一部の例では、アルファ二置換アミノ酸は、ペプチドにおいて、アルファヘリックス二次構造の安定性を改善するために使用される。しかし、アルファ二置換アミノ酸は必要とされず、モノアルファ置換基を（例えば、繋留アミノ酸において）使用する例も想定される。

【０２０６】

構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチドは、薬物、毒素、ポリエチレングリコールの誘導体、第２のペプチド、炭水化物などを含み得る。ポリマーまたは他の薬剤が、構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチドに連結さ

れている場合、組成物が実質的に均一であることが望ましいことがある。

【０２０７】

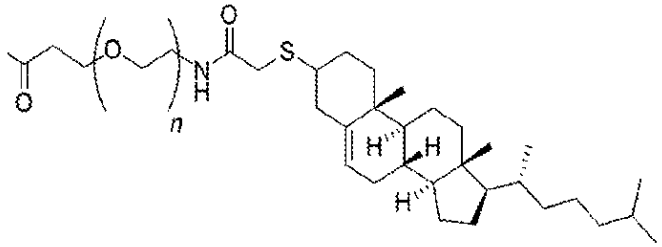
ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）分子の付加は、ペプチドの薬物動態および薬力学特性を改善することができる。例えば、ＰＥＧ化は、腎クリアランスを低下させることができ、より安定した血漿濃度をもたらすことができる。ＰＥＧは、水溶性ポリマーであり、式：

ＸＯ－－（CH_2CH_2O）$_n$－－CH_2CH_2－－Ｙのようにペプチドに連結された形で表されることがあり、この式中、ｎは、２～１０，０００であり、Ｘは、Ｈまたは末端修飾、例えば、$C_{1\sim4}$アルキルであり；Ｙは、ペプチドのアミン基（リシンのイプシロンアミン、またはＮ末端を含むがこれらに限定されない）へのアミド、カルバメートまたは尿素連結である。Ｙは、チオール基（システインのチオール基を含むが、これに限定されない）へのマレイミド連結であることもある。ＰＥＧをペプチドに直接または間接的に連結させるための他の方法は、当業者に公知である。ＰＥＧは、線状であることもあり、または分枝していることもある。様々な官能化誘導体を含む様々な形態のＰＥＧが、市販されている。

【０２０８】

ＰＥＧは、本明細書で使用される場合、一部の例では、ペプチドの１つ（例えば、ステープル化ペプチド；例えば、配列番号７～２１）とコレステロールまたはチオコレステロール部分の間のリンカーまたはスペーサーとして機能する。一部の例では、ＰＥＧ分子は、下記の式（式中、ｎ＝１～３６（ｎ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５または３６）を含む：

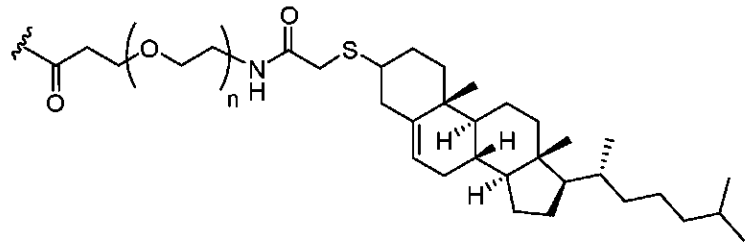
【化９９】



【０２０９】

一部の例では、ＰＥＧ分子は、下記の式（式中、ｎ＝１～３６（ｎ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５または３６）を含む：

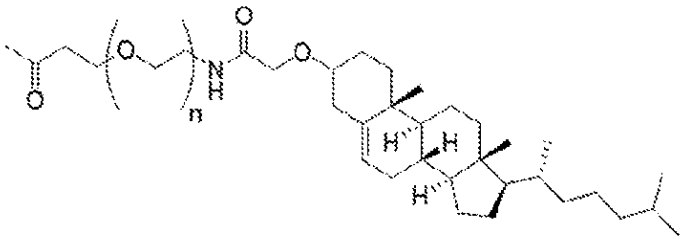
【化１００】



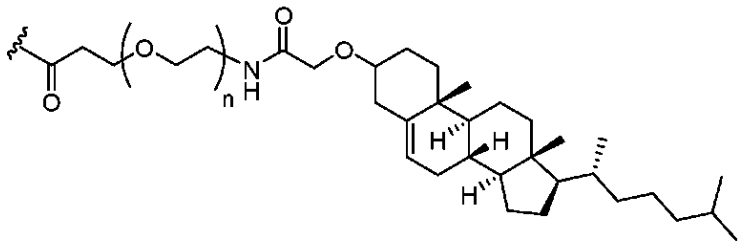
【０２１０】

一部の例では、ＰＥＧ分子は、下記の式（式中、ｎ＝１～３６（ｎ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３

３、３４、３５または３６）を含む：
【化１０１】



【０２１１】
一部の例では、ＰＥＧ分子は、下記の式（式中、ｎ＝１～３６（ｎ＝１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５または３６）を含む：
【化１０２】



【０２１２】
上記の式の各々についての一部の例では、ｎ＝４である。上記の式の各々についての一部の例では、ｎ＝５である。上記の式の各々についての一部の例では、ｎ＝６である。上記の式の各々についての一部の例では、ｎ＝７である。上記の式の各々についての一部の例では、ｎ＝８である。
【０２１３】
一部の例では、ＰＥＧ分子は、コレステロール部分を含む。一部の例では、コレステロール部分は、チオコレステロールである。一部の例では、チオコレステロールのチオエーテル部分の硫黄は、コレステロール誘導体化においてエーテル部分を生成するために酸素原子に置き換えられる。
【０２１４】
主鎖に分解性連結を有するＰＥＧを使用することができる。例えば、加水分解を受けるエステル連結を有するＰＥＧを調製することができる。分解性ＰＥＧ連結を有するコンジュゲートは、ＷＯ９９／３４８３３；ＷＯ９９／１４２５９、および米国特許第６，３４８，５５８号に記載されている。
【０２１５】
ある特定の実施形態では、高分子ポリマー（例えば、ＰＥＧ）が、本明細書に記載の構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチドに、中間リンカーを介して結合される。ある特定の実施形態では、リンカーは、ペプチド結合により連結された１～２０個のアミノ酸で構成されており、これらのアミノ酸は、２０の天然に存在するアミノ酸から選択される。これらのアミノ酸の一部は、当業者によく理解されているようにグリコシル化され得る。他の実施形態では、１～２０個のアミノ酸は、グリシン、アラニン、プロリン、アスパラギン、グルタミン、およびリシンから選択される。他の実施形態では、リンカーは、立体障害のないアミノ酸の大多数、例えばグリシンおよびアラニン、で構成されている。非ペプチドリンカーも可能である。例えば、－ＮＨ（ＣＨ$_2$）$_n$Ｃ（Ｏ）－（式中、ｎ＝２～２０）などのアルキルリンカーを使用することができる。これらのア

ルキルリンカーは、任意の非立体障害基、例えば、低級アルキル（例えば、C_1～C_6）低級アシル、ハロゲン（例えば、Ｃｌ、Ｂｒ）、ＣＮ、NH_2、フェニルなどによって、さらに置換されていることがある。米国特許第５，４４６，０９０号には、二官能性ＰＥＧリンカー、およびＰＥＧリンカー末端の各々にペプチドを有するコンジュゲートを形成する際のその使用が記載されている。

【０２１６】

構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチドを、例えば、一部の実施形態では、粘膜付着、膜結合をさらに助長するように、またはｉｎ　ｖｉｖｏ安定性を増大させるように、修飾することもできる。例えば、構造的に安定化されたペプチドのアシル化またはＰＥＧ化は、バイオアベイラビリティを増加させる、血液循環を促進する、薬物動態を変更する、免疫原性を変更する、および／または必要な投与頻度を低下させる。

【０２１７】

一部の実施形態では、本明細書で開示される構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチドは、細胞膜に結合する能力または細胞膜を透過する能力の向上（例えば、安定化されていないペプチドと比べて）を有する。例えば、その全体が参照により本明細書に組み入れられる国際公開番号ＷＯ２０１７／１４７２８３を参照されたい。

【０２１８】

処置方法

本開示は、コロナウイルス（例えば、ベータコロナウイルス、例えばＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）感染症またはコロナウイルス疾患（例えば、ＣＯＶＩＤ－１９）の予防および／または処置のために、本明細書に記載の構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲート（または前記構造的に安定化されたペプチド－コレステロールコンジュゲートを含む医薬組成物）のいずれかを使用する方法を特徴とする。用語「処置する」または「処置すること」は、本明細書で使用される場合、対象（例えば、ヒト）または他の種（例えば、ペット；家畜；飼育動物）が罹患している疾患または感染症を緩和すること、阻害することまたは好転させる（ａｍｅｌｉｏｒａｔｅ）ことを指す。一部の例では、対象は、動物である。一部の実施形態では、対象は、哺乳動物、例えば、非霊長類（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラットなど）または霊長類（例えば、サルもしくはヒト）である。一部の例では、対象は、飼い慣らされた動物（例えば、イヌまたはネコ）である。一部の例では、対象は、コウモリ、またはコロナウイルスを伝播する他の種である。一部の例では、対象は、ヒトである。ある特定の実施形態では、当該用語は、非ヒト動物（例えば、ブタ、ウマ、ウシ、ネコまたはイヌなどの、非ヒト動物）を指す。一部の実施形態では、当該用語は、ペットまたは家畜を指す。一部の実施形態では、当該用語は、ヒトを指す。

【０２１９】

本明細書に記載の構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲート（またはペプチドを含む組成物）は、コロナウイルス（例えば、ベータコロナウイルス）感染症を有する対象（例えば、ヒト対象または上記の種）の処置に有用であり得る。本明細書に記載の構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲート（またはペプチド－コレステロールコンジュゲートを含む組成物）は、コロナウイルス疾患に罹患しているヒト対象または本明細書で提供される別の種の処置にも有用であり得る。本明細書に記載の構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲート（またはペプチド－コレステロールコンジュゲートを含む組成物）は、コロナウイルス疾患に罹患している対象であって、哺乳動物、例えば、非霊長類（例えば、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラットなど）または霊長類（例えば、サルもしくはヒト）である対象の処置にも有用であり得る。

【０２２０】

ある特定の実施形態では、コロナウイルス感染症は、２２９Ｅ（アルファコロナウイル

ス）；ＮＬ６３（アルファコロナウイルス）；ＯＣ４３（ベータコロナウイルス）；ＨＫＵ１（ベータコロナウイルス）；中東呼吸器症候群（ＭＥＲＳ）；ＳＡＲＳ－ＣｏＶ；またはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のうちの１つの感染症である。ある特定の実施形態では、コロナウイルス感染症は、Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１（ＲＶＰ－７０２）、Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１　ＱＨＤ４３４１６．１（ＲＶＰ－７０１）、ニューヨークバリアントＢ．１．５２６（ＲＶＰ－７２６）イオタ、カリフォルニアバリアントＢ．１．５２６（ＲＶＰ－７１３）、またはＥ４８４Ｋを有するＵＫバリアントＢ．１．１．７（ＲＶＰ－７１７）の１つから選択される、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントの感染症である。ある特定の実施形態では、コロナウイルス疾患は、ＣＯＶＩＤ－１９感染に起因する。

【０２２１】

ある特定の実施形態では、コロナウイルス感染症は、Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１、Ｂ．１．４２７／Ｂ．１．４２９、Ｂ．１．６１７．２、Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１、ブラジルバリアントＰ．１、Ｂ．１．１．７、Ｂ．１．３５１、Ｂ．１．５２５、Ｂ．１．５２６、Ｂ．１．６１７．１、Ｂ．１．６１７．３、Ｐ．２、Ｂ．１．６２１、Ｂ．１．６２１．１、Ｂ．１．１．５２９、ＢＡ．１、ＢＡ．１．１、ＢＡ．２、ＢＡ．３、ＢＡ．４またはＢＡ．５のうちの１つの感染症である。ある特定の実施形態では、コロナウイルス感染症は、Ｂ．１．３５１、クラスター５、系統Ｂ．１．１．２０７、系統Ｂ．１．１．７、懸念されるバリアント２０２１０２／０２、系統Ｂ．１．１．３１７、系統Ｂ．１．１．３１８、系統Ｂ．１．３５１、系統Ｂ．１．４２９、系統Ｂ．１．５２５、系統Ｐ．１（系統Ｂ．１．１．２８としても公知）、系統Ｂ．１．１．５２９、系統ＢＡ．１、系統ＢＡ．１．１、系統ＢＡ．２、系統ＢＡ．３、系統ＢＡ．４　系統ＢＡ．５、Ｄ６１４Ｇ、Ｅ４８４Ｋ、Ｎ５０１Ｙ、Ｓ４７７Ｇ／Ｎ、またはＰ６８１Ｈのうちの１つの感染症である。

【０２２２】

本明細書に記載の構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲート（またはペプチド－コレステロールコンジュゲートを含む組成物）は、ヒト対象または本明細書で提供される別の種からの対象におけるコロナウイルス（例えば、ベータコロナウイルス）感染症の予防に有用であり得る。本明細書に記載のペプチド－コレステロールコンジュゲート（またはペプチド－コレステロールコンジュゲートを含む組成物）は、対象（例えば、ヒト対象）または本明細書で提供される別の種からの対象におけるコロナウイルス疾患の予防にも有用であり得る。ある特定の実施形態では、コロナウイルス感染症は、２２９Ｅ（アルファコロナウイルス）；ＮＬ６３（アルファコロナウイルス）；ＯＣ４３（ベータコロナウイルス）；ＨＫＵ１（ベータコロナウイルス）；中東呼吸器症候群（ＭＥＲＳ）；ＳＡＲＳ－ＣｏＶ；またはＳＡＲＳ－ＣＯＶＩＤ－１９のうちの１つの感染症である。ある特定の実施形態では、コロナウイルス疾患は、ＣＯＶＩＤ－１９感染に起因する。

【０２２３】

ある特定の実施形態では、それを必要とするヒト対象または本明細書で提供される別の種からの対象に、表１もしくは２に記載のペプチドまたはそのバリアントが投与される。ある特定の実施形態では、それを必要とするヒト対象または本明細書で提供される別の種からの対象に、配列番号６を含むもしくはそれからなるステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチド－コレステロールコンジュゲートまたはその修飾バージョンが投与される。ある特定の実施形態では、それを必要とするヒト対象に、配列番号５を含むもしくはそれからなるステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチド－コレステロールコンジュゲートまたはその修飾バージョンが投与される。

【０２２４】

ある特定の実施形態では、それを必要とするヒト対象または本明細書で提供される別の種からの対象に、表１に記載の配列番号７～２１またはそのバリアント（本明細書に記載されるような）を有するペプチド－コレステロールコンジュゲートのいずれか１つが投与される。これらのペプチド－コレステロールコンジュゲートの可能性のあるバリエーションは、構造的に安定化されたペプチドのセクションで説明される。これらの配列のバリア

ントは、これらの特性の少なくとも１つ（例えば、１つ、２つ、３つ、４つ、５つ）を有する：（ｉ）アルファヘリックスである；（ｉｉ）プロテアーゼ耐性である；（ｉｉｉ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と宿主細胞の融合を阻害する；および／または（ｉｖ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する。一部の例では、バリアントを有する構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドは、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する。ある特定の実施形態では、処置は、ヒト対象間の伝染を阻止するために行われる。一部の例では、処置は、ヒト対象の集団における感染の伝播を制御する。

【０２２５】

ある特定の実施形態では、それを必要とするヒト対象または本明細書で提供される別の種からの対象に、配列番号７～２１を有するペプチド－コレステロールコンジュゲートのいずれか１つに対して、少なくとも５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９２％、９４％、９５％の同一性を有するペプチドが投与される。ある特定の実施形態では、それを必要とするヒト対象または本明細書で提供される別の種からの対象に、配列番号７～２１を有するが１～１０（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０）のアミノ酸置換、挿入および／または欠失を有するペプチド－コレステロールコンジュゲートのいずれか１つが投与される。ある特定の実施形態では、それを必要とするヒト対象または本明細書で提供される別の種からの対象に、配列番号１０、１３、１７または２０のいずれか１つを含むアミノ酸配列を有するが１～１０（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０）のアミノ酸置換、挿入および／または欠失を有するペプチド－コレステロールコンジュゲートのいずれか１つが投与される。

【０２２６】

一部の実施形態では、ヒト対象または本明細書で提供される別の種からの対象は、コロナウイルス（例えば、ベータコロナウイルス）に感染している。一部の実施形態では、ヒト対象または本明細書で提供される別の種からの対象は、コロナウイルス（例えば、ベータコロナウイルス）に感染するリスクがある。一部の実施形態では、ヒト対象または本明細書で提供される別の種からの対象は、コロナウイルス疾患（例えば、ベータコロナウイルス）を発症するリスクがある。一部の例では、ヒト対象または本明細書で提供される別の種からの対象は、彼または彼女または本明細書で提供される別の種からの対象が、活発なコロナウイルス大流行にさらされている地域（例えば、少なくとも１名、少なくとも２名、少なくとも３名、少なくとも４名、少なくとも５名、少なくとも６名、少なくとも７名、少なくとも８名、少なくとも９名、少なくとも１０名、少なくとも２０名、少なくとも３０名、少なくとも４０名、またはそれより多くの人々がコロナウイルスに感染していると診断された地域）（例えば、都市、州、国）に住んでいる場合、コロナウイルスに感染するリスクがある、またはコロナウイルス疾患を発症するリスクがある。一部の例では、ヒト対象または本明細書で提供される別の種からの対象は、彼または彼女または本明細書で提供される別の種からの対象が、活発なコロナウイルス大流行にさらされている第２の地域（例えば、都市、州、国）の付近の地域（例えば、少なくとも１名、少なくとも２名、少なくとも３名、少なくとも４名、少なくとも５名、少なくとも６名、少なくとも７名、少なくとも８名、少なくとも９名、少なくとも１０名、少なくとも２０名、少なくとも３０名、少なくとも４０名、またはそれより多くの人々がコロナウイルスに感染していると診断された第２地域の付近の（例えば、それに隣接する）地域）（例えば、隣接都市、州、国）に住んでいる場合、コロナウイルスに感染するリスクまたはコロナウイルス疾患を発症するリスクがある。ある特定の実施形態では、コロナウイルス疾患は、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染に起因する。ある特定の実施形態では、対象または本明細書で提供される別の種からの対象は、ＣＯＶＩＤ－１９に罹患している、またはそれを発症するリスクがある。

【０２２７】

一般に、方法は、対象または本明細書で提供される別の種からの対象を選択するステップ、および対象または本明細書で提供される別の種からの対象に、本明細書における構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチドの１つまたは複数の有効量を、例えば、医薬組成物中でまたは医薬組成物として、投与するステップ、および必要に応じて、コロナウイルス感染症またはコロナウイルス疾患の予防または処置のための投与であって、皮膚、鼻、洞、眼、中咽頭、呼吸樹（ｒｅｓｐｉｒａｔｏｒｙ　ｔｒｅｅ）および肺投与をはじめとする、経口、鼻腔内、静脈内、皮内、皮下、筋肉内または局所投与され得る投与を、必要に応じて反復するステップを含む。一部の例では、投与は、鼻粘膜への、洞粘膜への、中咽頭粘膜への、または肺を含む呼吸樹への適用を含む、局所的な呼吸器への適用による。一部の例では、局所的適用は、皮膚または眼への適用を含む。対象は、例えば、対象がコロナウイルス（例えば、ベータコロナウイルス、例えばＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２）感染を獲得するリスクがあるまたはそれを有すると決定することに基づいて、処置に選択され得る。本開示のペプチド－コレステロールコンジュゲートを使用して、対象がコロナウイルスに感染しているかどうかを決定することができる。一部の例では、本明細書に記載のペプチド－コレステロールコンジュゲートは、バイオアベイラビリティを増加させる、血液循環を促進する、薬物動態を変更する、免疫原性を低下させる、および／または必要な投与頻度を低下させる。

【０２２８】

任意の特定の患者または対象のための具体的な投薬量および処置レジメンは、利用される具体的な化合物の活性、年齢、体重、全般的な健康状態、性別、食事、投与回数、排泄率、薬物の組み合わせ、疾患、状態または症状の重症度および経過、疾患、状態または症状に対する患者のまたは対象の傾向、ならびに処置をする医師または獣医の判断をはじめとする、様々な因子に依存することになる。

【０２２９】

有効量を１回または複数回の投与、適用または投薬で施すことができる。治療化合物の治療有効量（すなわち、有効投薬量）は、選択される治療化合物に依存する。組成物を、１日おきに１回を含めて、１日１回または複数回から週１回または複数回まで、投与することができる。疾患もしくは障害を獲得するリスクまたは疾患もしくは障害の重症度、以前の処置、対象の全般的な健康および／または年齢、ならびに存在する他の疾患を含むがこれらに限定されない、ある特定の因子が、対象を有効に処置するために必要とされる投薬量およびタイミングに影響を及ぼし得ることは、当業者には理解されるであろう。さらに、本明細書に記載の治療化合物の治療有効量での対象の処置は、単回処置または一連の処置を含み得る。例えば、有効量を少なくとも１回投与することができる。

【０２３０】

医薬組成物

本明細書に記載の構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲートのいずれかの１つまたは複数を、医薬組成物としてのまたは医薬組成物中での使用のために製剤化することができる。医薬組成物を本明細書に記載の処置または予防方法（上記参照）において使用することができる。ある特定の実施形態では、医薬組成物は、１～１０、１～９、１～８、１～７、１～６、１～５、１～４、１～３、１～２、または１つのアミノ酸置換、挿入または欠失を除けば表１に示されているアミノ酸配列と同一であるアミノ酸配列を含むまたはそれからなる構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲートを含む。アミノ酸配列へのこれらの変化を、これらのペプチドの非相互作用性アルファヘリックス面に（すなわち、コロナウイルス６ヘリックスバンドル融合機構と相互作用しないアミノ酸に）および／または相互作用性アルファヘリックス面に（すなわち、コロナウイルス６ヘリックスバンドル融合機構と相互作用するアミノ酸に）行うことができる。そのような組成物を、任意の経路、例えば、米国食品医薬品局（ＦＤＡ）により承認された任意の経路、による対象への投与のために製剤化することまたは投与に適応させることができる。例示的な方法は、FDA's CDER Data Standards Manual, version number 004

（これは、fda.give/cder/dsm/DRG/drg00301.htmで入手可能）に記載されている。例えば、組成物を、吸入（例えば、経口および／もしくは鼻腔吸入（例えば、ネブライザーもしくはスプレーによる））、注射（例えば、静脈内に、動脈内に、皮下に、腹腔内に、筋肉内に、および／もしくは皮下に）による投与のために；ならびに／または経口投与、経粘膜投与および／もしくは局所的投与（局所用（例えば、鼻腔用）スプレー、点眼剤、および／もしくは溶液を含む）のために製剤化することまたはそのような投与に適応させることができる。

【０２３１】

一部の例では、医薬組成物は、１つまたは複数の構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲートの有効量を含み得る。用語「有効量」および「処置するために有効な」は、本明細書で使用される場合、意図された効果または生理的転帰を生じさせるためのその投与（例えば、感染症の処置）の状況の中で有効である期間（急性または慢性投与および断続的または継続的投与を含む）に利用される本明細書に記載の１つまたは複数の構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲートまたは医薬組成物の量または濃度を指す。

【０２３２】

本発明の医薬組成物は、本明細書に記載の１つまたは複数の構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲートと任意の薬学的に許容される担体および／またはビヒクルとを含み得る。一部の例では、医薬品は、疾患または疾患症状のモジュレーションを達成するのに有効な量で１つまたは複数の追加の治療剤をさらに含み得る。

【０２３３】

用語「薬学的に許容される担体またはアジュバント」は、患者または本明細書で提供される別の種からの対象に本発明の化合物と一緒に投与され得る担体またはアジュバントであって、化合物の治療量を送達するのに十分な用量で投与されたときにその薬理学的活性を破壊せず、非毒性である、担体またはアジュバントを指す。

【０２３４】

一部の例では、本開示の医薬組成物は、酢酸塩、クエン酸塩および／またはマレイン酸塩のうちの１つまたは複数を含む。一部の例では、医薬組成物は、水またはリン酸緩衝食塩水（ＰＢＳ）を含み得る。一部の例では、医薬組成物は、キトサンを含み得る。

【０２３５】

本明細書で開示される医薬組成物は、１つまたは複数の薬学的に許容される塩を含み得る。一部の例では、薬学的に許容される塩は、塩酸塩、ナトリウム、硫酸塩、酢酸塩、リン酸塩またはニリン酸塩、塩化物、カリウム、マレイン酸塩、カルシウム、クエン酸塩、メシル酸塩、硝酸塩、酒石酸塩、アルミニウム、グルコン酸塩、およびこれらの任意の組合せを含む、塩を含む。

【０２３６】

本発明の医薬組成物は、任意の従来の非毒性の薬学的に許容される担体、アジュバントまたはビヒクルを含有し得る。一部の場合には、製剤のｐＨを、薬学的に許容される酸、塩基または緩衝液で調整して、製剤化された化合物またはその送達形態の安定性を増強することができる。本明細書で使用される場合の非経口という用語は、皮下、皮内、静脈内、筋肉内、関節内、動脈内、滑液包内、胸骨内、髄腔内、病巣内および頭蓋内注射または注入技術を含む。

【０２３７】

一部の例では、本明細書で開示される１つまたは複数の構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲートを、例えば担体タンパク質と、さらにコンジュゲートすることができる。そのようなコンジュゲート型組成物は、一価または多価であり得る。例えば、コンジュゲート型組成物は、担体タンパク質とコンジュゲートされた本明細書で開示される１つの構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲートを含み得る。あるいは、コンジ

ュゲート型組成物は、担体とさらにコンジュゲートされた本明細書で開示される２つまたはそれより多くの構造的に安定化された（例えば、ステープル化された）ペプチド－コレステロールコンジュゲートを含み得る。

【０２３８】

本明細書で使用される場合、２つの実体が互いに「コンジュゲート」されている場合、それらは、直接または間接的な共有結合性または非共有結合性相互作用により連結されている。ある特定の実施形態では、会合は、共有結合性である。他の実施形態では、会合は、非共有結合性である。非共有結合性相互作用は、水素結合、ファンデルワールス相互作用、疎水性相互作用、磁気相互作用、静電相互作用などを含む。間接的な共有結合性相互作用は、２つの実体が、必要に応じてリンカー基を介して、共有結合で接続される場合に起こる。

【０２３９】

担体タンパク質は、対象における安定性、半減期、組織曝露、および／または免疫原性を増加または増強する、任意のタンパク質を含み得る。例示的な担体タンパク質は、当技術分野において説明されている（例えば、Fattom et al., Infect. Immun., 58:2309-2312, 1990；Devi et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7175-7179, 1991；Li et al., Infect. Immun. 57:3823-3827, 1989；Szu et al., Infect. Immun. 59:4555-4561, 1991；Szu et al., J. Exp. Med. 166:1510-1524, 1987；およびSzu et al., Infect. Immun. 62:4440-4444, 1994を参照されたい）。ポリマー担体は、１つまたは複数の第一級および／もしくは第二級アミノ基、アジド基、またはカルボキシル基を含有する天然または合成材料であり得る。担体は、水溶性であり得る。

【０２４０】

ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分によって誘導体化されたステープル化またはステッチ化ペプチドを作製する方法

一態様では、本開示は、ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分によって誘導体化された構造的に安定化されたペプチドを作製する方法を特徴とする。完全オンレジン合成法は、（ａ）オレフィン側鎖を有する少なくとも２個の非天然アミノ酸を含むペプチド（例えば、配列番号７～２１）を提供するステップ、（ｂ）ペプチドを、一部の例ではルテニウム触媒メタセシス反応により、架橋させるステップ、および（ｃ）チオコレステロールまたはコレステロール部分に接続された可変長のＰＥＧリンカーによってＣ末端を樹脂上で誘導体化するステップを含む。

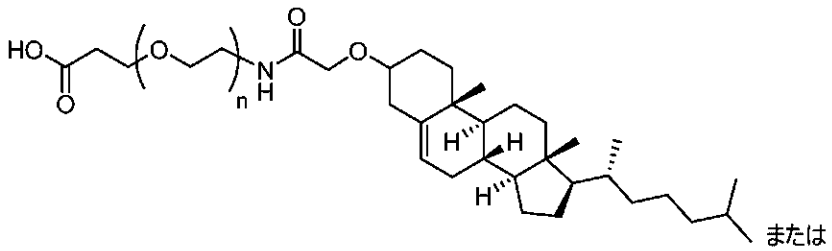
【０２４１】

一部の例では、方法は、構造的に安定化されたペプチドを樹脂から切断するステップを含む。構造的に安定化された樹脂の切断は、当技術分野において公知である。一部の例では、切断するステップは、チオコレステロールまたはコレステロール部分に接続された可変長のＰＥＧリンカーによってＣ末端を樹脂上で誘導体化するステップの前に行われる。例えば、de Vries et al., Science, 2021 Mar 26;371(6536):1379-138、およびFigueira et al., J. Virol. 91, e01554-16 (2016)を参照されたく、これらの各々は、その全体が参照により組み込まれる。他の態様では、切断するステップは、チオコレステロールまたはコレステロール部分に接続された可変長のＰＥＧリンカーによってＣ末端を樹脂上で誘導体化するステップの後に行われる。

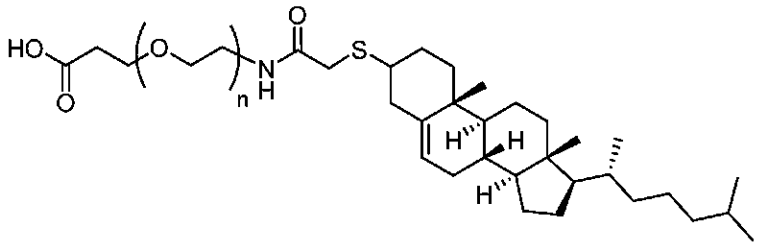
【０２４２】

切断するステップが、誘導体化するステップの前に行われる例では、方法は、下記の式の一方を有する化合物の使用を含む：

【化１０３】



または

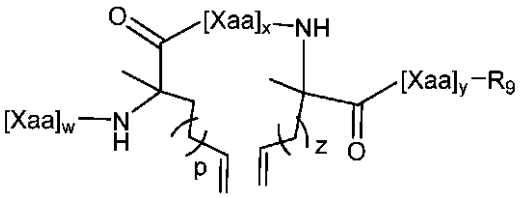


（式中、ｎは、１～３６である）。一部の例では、ｎは、４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。したがって、上記の式の一方を有する化合物も、本明細書で開示される。

【０２４３】

一部の態様では、安定化ペプチド（すなわち、本明細書で開示されるペプチドのいずれか；例えば、配列番号１０）を合成するための方法であって、式ＶＩＩを含むペプチドを閉環メタセシス条件に供して安定化ペプチドを得るステップを含み、式ＶＩＩが、

【化１０４】



またはその薬学的に許容される塩により定義される、方法も、本明細書で開示される。一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；［Ｘａａ］$_{x}$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；［Ｘａａ］$_{y}$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）である。一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$、［Ｘａａ］$_{x}$、および［Ｘａａ］$_{y}$は、表２で開示される。一部の例では、Ｒ$_{9}$は、－ＯＨまたは

【化１０５】

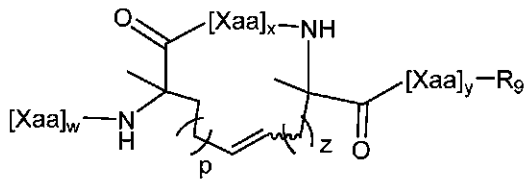


である。一部の例では、ｐは、２、３、４、５、６、７または８である。一部の例では、ｚは、２、３、４、５または６である。一部の例では、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている。一部の例では、閉環メタセシス条件は、式ＩＶを含む前記ペプチドをＧｒｕｂｂｓ閉環メタセシスルテニウム触媒に曝露することを含む。

【０２４４】

一部の例では、安定化ペプチドは、

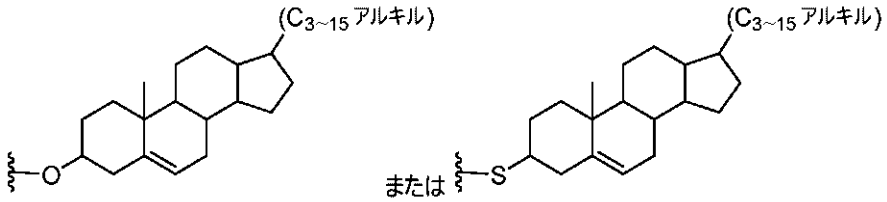
【化１０６】



またはその薬学的に許容される塩（式中、
［Ｘａａ］$_{w}$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
［Ｘａａ］$_{x}$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；
［Ｘａａ］$_{y}$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３７）であり；
Ｒ$_{9}$は、－ＯＨまたは
【化１０７】



であり；
ｐは、２、３、４、５、６、７、または８であり；および
ｚは、２，３、４、５または６であり；必要に応じて、［Ｘａａ］$_{w}$におけるＮ末端アスパラギン酸のアミノ基は、－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～4}$アルキル）に置き換えられている）
により定義される、式ＩＩＩを含む。一部の例では、ｐは、４である。一部の例では、ｐは、５である。一部の例では、ｐは、６である。一部の例では、ｚは、３である。一部の例では、方法は、安定化ペプチドのＣ末端を、ポリエチレングリコール部分とコレステロールまたはチオコレステロール部分とを含む部分によって誘導体化するステップを含む。一部の例では、方法は、安定化ペプチドのＣ末端を誘導体化して、＊＊－Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{2～6}$アルキレン）－［Ｏ－ＣＨ$_{2}$ＣＨ$_{2}$］$_{m}$－Ｎ（Ｒ$_{5}$）Ｃ（Ｏ）－（Ｃ$_{1～6}$アルキレン）－Ｒ$_{6}$基を組み入れるステップをさらに含み、ここで、＊＊は、［Ｘａａ］$_{y}$におけるＣ末端リシンの側鎖内のアミノ基への結合点である。一部の例では、Ｒ$_{5}$は、水素またはＣ$_{1～4}$アルキルである。一部の例では、Ｒ$_{6}$は、下記の一方：
【化１０８】



であり、
ｍは、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、または１６であり；および
ｔは、０、１、２、または３である。一部の例では、ｍは、４である。一部の例では、ｍは、８である。一部の例では、Ｒ$_{9}$は、
【化１０９】



である。一部の例では、ペプチドは、切断される。
【０２４５】
一部の例では、上記の方法は、安定化ペプチドまたはその塩を無菌医薬組成物へ製剤化

するステップをさらに含む。

【０２４６】

ステープル化ペプチド合成：全炭化水素ステープル化ペプチドを生成するための本発明者らが報告した方法（Bird et al., Curr. Protocol. Chem, Biol., 3(3):99-117 (2011；Bird et al., Methods Enzymol., 446:369-86(2008)に従って、Ｆｍｏｃに基づく固相ペプチド合成を使用して、ステープル化ペプチド融合阻害剤を合成した。様々なステープル長を得るために、α－メチル，α－アルケニルアミノ酸を、例えば、１個のＳ－ペンテニルアラニン残基（Ｓ５）および１個のＲ－オクテニルアラニン残基（Ｒ８）の使用を位置決めするｉ，ｉ＋７位に、で別個の位置に特異的な対合で組み入れた。ステープル化反応のために、ジクロロエタンに溶解したＧｒｕｂｂｓ第１世代ルテニウム触媒を樹脂結合ペプチドに添加した。最大の変換を確実にするために、３～５ラウンドのステープル化を行った。次いで、ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分（下記参照）を付加した後に、ペプチドを、トリフルオロ酢酸を使用して樹脂から切断除去し、ヘキサン：エーテル（１：１）混合物を使用して沈殿させ、空気乾燥させ、ＬＣ－ＭＳにより精製した。全てのペプチドをアミノ酸解析により定量化した。

【０２４７】

ステッチ化ペプチド合成：本明細書に記載のステッチ化ペプチドを合成する方法は、当技術分野において公知である。それでもやはり、下記の例示的方法を使用することができる。本明細書に記載の化合物の合成に有用な合成化学変換および保護基方法論（保護および脱保護）は、当技術分野において公知であり、例えば、Bird et al., ACS Chem Biol. (2020) 15(6):1340-1348；Hilinski et al., J Am Chem Soc. (2014) 136(35):12314-22；R. Larock, Comprehensive Organic Transformations, VCH Publishers (1989)；T.W. Greene and P.G.M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3d. Ed., John Wiley and Sons (1999)；L. Fieser and M. Fieser, Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1994)；およびL. Paquette, ed., Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, John Wiley and Sons (1995)、ならびにこれらの後続版に記載されているものなどを含む。

【０２４８】

オンレジン合成アプローチを使用するＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－コレステロールによるステープル化またはステッチ化ペプチドのＣ末端誘導体化：固相合成によるペプチド誘導体化のためのカルボキシチオコレステロールまたはカルボキシコレステロール試薬を生成するために、０．１Ｍで、チオコレステロールをジクロロメタン（ＤＣＭ）に溶解し、またはコレステロールをテトラヒドロフラン（ＴＨＦ）に０．１Ｍで溶解し、丸底フラスコに添加した。３当量の塩基（チオコレステロールにはジイソプロピルエチルアミン、またはコレステロールには水素化ナトリウムもしくはカリウムｔ－ブトキシド）を、撹拌しながら添加した。次に、５当量の、ブロモ酢酸のｔ－ブチルエステルを添加し、反応物を２時間、室温で撹拌し、続いて３０分間、４０℃で撹拌した。（溶媒に対して）２容積のトリフルオロ酢酸を添加し、反応物を室温で３０分間撹拌した。反応進行を、$KMnO_4$染色を用いてＴＬＣ（チオコレステロールについては１９：１　Ｈｅｘ：ＥｔＯＡｃ、およびコレステロールについては３：１　Ｈｅｘ：ＥｔＯＡｃ）によりモニターした。例えば、（チオ）コレステロールは、溶媒先端とともに移動し、（チオ）エーテルは、移動を約２０％減速され、ＴＦＡ加水分解によりスポットがベースラインに至った。反応混合物を５容積の水に添加し、１容積のＤＣＭを添加した。溶媒層を０．１Ｍ　ＨＣｌ、ブラインで洗浄し、硫酸ナトリウムで乾燥させた。Ｒｏｔｏｖａｐによる溶媒の除去により橙色の重油を得、それをさらに精製せずに使用した。収量は、ほぼ定量的であった。純度は、新しいCH_2一重線に対するオレフィンプロトンのＮＭＲにより、９０％より高いと決定された。チオコレステロールまたはコレステロールによるペ

プチド誘導体化のために、完成した樹脂結合ペプチド配列を２０％ピペリジン／ＤＭＦで処理し、続いて、無水酢酸でキャップしてＮ末端アミンをブロックし、その後、Ｃ末端側鎖リシンアミンを、ＤＭＦ中の２％ヒドラジンでの５回の、それぞれ１０分間の処理により明らかにした。アミンをＦｍｏｃ保護ＰＥＧ（ｎ）アミノ酸（例えば、ｎ＝１～３６（例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５または３６））でアシル化し、この点で、オレフィンを、Ｇｒｕｂｂｓ（Ｉ）触媒で３回、それぞれ２時間、処理することにより架橋させた。完了したら、ＦｍｏｃをＰＥＧ試薬のＣ末端ＮＨから除去し、アミンを、カルボキシ－チオコレステロール（またはカルボキシ－コレステロール）で、３０分間、アシル化した。ＴＦＡ切断により、優れた純度の粗生成物を得、それを、半分取ＨＰＬＣを使用してさらに精製した。

【０２４９】

本発明のペプチド配列は、当業者に周知である化学合成法により作製することができる。例えば、Fields et al., Chapter 3 in Synthetic Peptides: A User's Guide, ed. Grant, W. H. Freeman & Co., New York, N.Y., 1992, p. 77を参照されたい。それ故、側鎖保護アミノ酸を使用する、ｔ－Ｂｏｃ化学またはＦｍｏｃ化学のどちらかにより保護されたα－ＮＨ２を用いる自動化メリフィールド固相合成技術を使用して、例えば、Ａｐｐｌｉｅｄ Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｚｅｒ Ｍｏｄｅｌ ４３０Ａまたは４３１で、ペプチドを合成することができる。

【０２５０】

本明細書に記載のペプチドの１つの作製様式は、固相ペプチド合成（ＳＰＰＳ）を使用するものである。Ｃ末端アミノ酸は、リンカー分子を用いて酸不安定性結合によって、架橋ポリスチレン樹脂に結合される。この樹脂は、合成に使用される溶媒に不溶性であり、それによって、過剰な試薬および副生成物の洗い流しが比較的簡単かつ迅速になる。Ｎ末端は、Ｆｍｏｃ基で保護され、この基は、酸の中では安定しているが、塩基によって除去可能である。任意の側鎖官能基が、塩基に安定かつ酸に不安定な基で保護される。

【０２５１】

ネイティブケミカルライゲーションを使用して個々の合成ペプチドを結合することにより、より長いペプチドを作製することができよう。連結アミノ酸の挿入は、例えば、Young and Schultz, J Biol Chem. 2010 Apr 9; 285(15): 11039-11044に記載されているように行うことができる。あるいは、より長い合成ペプチドを周知の組換えＤＮＡ技術により合成することができる。そのような技術は、周知の標準マニュアルに詳細なプロトコールとともに提供されている。本発明のペプチドをコードする遺伝子を構築するために、アミノ酸配列を逆翻訳して、アミノ酸配列をコードする核酸配列、好ましくは、遺伝子が発現されることになる生物用にコドンが最適化されている核酸配列を得る。次に、合成遺伝子を、典型的には、ペプチドと必要に応じて任意の調節エレメントとをコードするオリゴヌクレオチドを合成することにより、作製する。合成遺伝子を好適なクローニングベクターに挿入し、宿主細胞にトランスフェクトする。次いで、ペプチドを、選択された発現系および宿主に適している好適な条件下で発現させる。ペプチドを、標準的な方法により、精製し、特徴付ける。

【０２５２】

ペプチドを、例えばハイスループットマルチチャネルコンビナトリアル合成装置を使用して、ハイスループット、コンビナトリアル形式で作製することができ、そのような合成装置は、例えばＡｄｖａｎｃｅｄ ＣｈｅｍｔｅｃｈまたはＧｙｒｏｓ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓから、入手可能である。ペプチド結合を、例えば、ペプチドの生理的安定性を増大させるために、ｒｅｔｒｏ－ｉｎｖｅｒｓｏ結合（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）；オキソメチレン結合（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）（ここで、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）（ここで、Ｒは、ＨまたはＦまたはＣＨ３である）に置き換えることができる。

【０２５３】

ペプチドを、アセチル化、アミド化、ビオチン化、シンナモイル化、ファルネシル化、フルオレセイン化、ホルミル化、ミリストイル化、パルミトイル化、および特に、本明細書で開示されるオンレジン法を使用するチオコレステロールまたはコレステロール修飾を含む、他の脂質化、リン酸化（Ｓｅｒ、ＴｙｒまたはＴｈｒ）、ステアロイル化、スクシニル化、ならびにスルフリル化によって、さらに修飾することができる。前述のとおり、ペプチドは、可変長のリンカー原子もしくは部分、例えば、可変長のポリエチレングリコール（ＰＥＧ）部分；アルキル基（例えば、Ｃ１～Ｃ２０直鎖または分岐アルキル基）；脂肪酸ラジカル；およびこれらの組合せとコンジュゲートされ得、またはそれ（ら）を含有し得る。様々な長さのオレフィン側鎖を含有するα，α－二置換非天然アミノ酸を公知の方法（Williams et al. J. Am. Chem. Soc., 113:9276, 1991；Schafmeister et al., J. Am. Chem Soc., 122:5891, 2000；およびBird et al., Methods Enzymol., 446:369, 2008；Bird et al, Current Protocols in Chemical Biology, 2011）により合成することができる。一部の例では、ステッチ化ペプチドは、ｉ，ｉ＋４間、およびｉ＋４とｉ＋８の間の連結を含む。そのようなステッチ化ペプチドを配列番号４または配列番号６に関して作製することができる。一部の例では、ステープルまたはステッチを形成するアミノ酸は、ステッチのそれぞれｉ、ｉ＋４およびｉ＋８位における、（Ｒ）－２－（４’－ペンテニル）アラニン、２，２－ビス（４－ペンテニル）グリシン、および（Ｓ）－２－（４’－ペンテニル）アラニンである。ｉがｉ＋７に連結され、ｉ＋７がｉ＋１４に連結されるステッチが使用されるペプチド（安定化されたヘリックスの４つのターン）についての一部の例では：１つのＲ－オクテニルアラニン（例えば、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン）、１つの１つのビス－ペンテニルグリシン（例えば、α，α－ビス（４’－ペンテニル）グリシン）、および１つのＲ－オクテニルアラニン（例えば、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン）が使用される。ｉがｉ＋７に連結され、ｉ＋７がｉ＋１４に連結されるステッチが使用されるペプチド（安定化されたヘリックスの４つのターン）についての一部の例では：１つのＳ－オクテニルアラニン（例えば、（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン）、１つの　１つのビス－ペンテニルグリシン（例えば、α，α－ビス（４’－ペンテニル）グリシン）、および１つのＲ－オクテニルアラニン（例えば、（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン）が使用される。ｉがｉ＋７に連結され、ｉ＋７がｉ＋１４に連結されるステッチが使用されるペプチド（安定化されたヘリックスの４つのターン）についての一部の例では：１つのＳ－オクテニルアラニン（例えば、（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン）、１つのビス－ペンテニルグリシン（例えば、α，α－ビス（４’－ペンテニル）グリシン）、および１つのＳ－オクテニルアラニン（例えば、（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン）が使用される。ｉがｉ＋７に連結され、ｉ＋７がｉ＋１４に連結されるステッチが使用されるペプチド（安定化されたヘリックスの４つのターン）についての一部の例では：１つのＲ－ペンテニルアラニン（例えば、（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン）、１つのビス－オクテニルグリシン（例えば、α，α－ビス（７’－オクテニル）グリシン）、および１つのＳ－ペンテニルアラニン（例えば、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン）が使用される。ｉがｉ＋７に連結され、ｉ＋７がｉ＋１４に連結されるステッチが使用されるペプチド（安定化されたヘリックスの４つのターン）についての一部の例では：１つのＲ－ペンテニルアラニン（例えば、（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン）、１つのビス－オクテニルグリシン（例えば、α，α－ビス（７’－オクテニル）グリシン）、および１つのＲ－ペンテニルアラニン（例えば、（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン）が使用される。ｉがｉ＋７に連結

され、ｉ＋７がｉ＋１４に連結されるステッチが使用されるペプチド（安定化されたヘリックスの４つのターン）についての一部の例では：１つのＳ－ペンテニルアラニン（例えば、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン）、１つのビス－オクテニルグリシン（例えば、α，α－ビス（７’－オクテニル）グリシン）、および１つのＲ－ペンテニルアラニン（例えば、（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン）が使用される。ｉがｉ＋７に連結され、ｉ＋７がｉ＋１４に連結されるステッチが使用されるペプチド（安定化されたヘリックスの４つのターン）についての一部の例では：１つのＳ－ペンテニルアラニン（例えば、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン）、１つのビス－オクテニルグリシン（例えば、α，α－ビス（７’－オクテニル）グリシン）、および１つのＳ－ペンテニルアラニン（例えば、（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン）が使用される。Ｒ－オクテニルアラニンは、出発キラル助剤がＲ－アルキル立体異性体をもたらすことを除いて、同じ経路を使用して合成される。また、８－ヨードオクテンが５－ヨードペンテンの代わりに使用される。阻害剤は、ＭＢＨＡ樹脂またはＲｉｎｋ　Ａｍｉｄｅ　ＡＭ樹脂上での固相ペプチド合成（ＳＰＰＳ）を使用して固体支持体上で合成される（例えば、ＷＯ２０１０／１４８３３５を参照されたい）。

【０２５４】

Ｆｍｏｃ保護α－アミノ酸（オレフィン系アミノ酸Ｎ－Ｆｍｏｃ－α，α－Ｂｉｓ（４’－ペンテニル）グリシン、（Ｓ）－Ｎ－Ｆｍｏｃ－α－（４’－ペンテニル）アラニン、（Ｒ）－Ｎ－Ｆｍｏｃ－α－（７’－オクテニル）アラニン、（Ｒ）－Ｎ－Ｆｍｏｃ－α－（７’－オクテニル）アラニン、および（Ｒ）－Ｎ－Ｆｍｏｃ－α－（４’－ペンテニル）アラニン以外）、２－（６－クロロ－１－Ｈ－ベンゾトリアゾール－１－イル）－１，１，３，３－テトラメチルウロニウム（tetramethylaminium）ヘキサフルオロホスフェート（ＨＣＴＵ）、およびＲｉｎｋ　Ａｍｉｄｅ　ＭＢＨＡは、例えば、Ｎｏｖａｂｉｏｃｈｅｍ（Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ）から市販されている。ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）、Ｎ－メチル－２－ピロリジノン（ＮＭＰ）、Ｎ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＥＡ）、トリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）、１，２－ジクロロエタン（ＤＣＥ）、フルオレセインイソチオシアネート（ＦＩＴＣ）、およびピペリジンは、例えば、Ｓｉｇｍａ－Ａｌｄｒｉｃｈから市販されている。オレフィン系アミノ酸合成は、当技術分野において報告されている（Williams et al., Org. Synth., 80:31, 2003）。

【０２５５】

再度、本明細書で開示されるペプチドを得る（例えば、合成する）、ステッチ化する、および精製するのに好適な方法も、当技術分野において公知である（例えば、Bird et. al., Methods in Enzymol., 446:369-386 (2008)；Bird et al, Current Protocols in Chemical Biology, 2011；Walensky et al., Science, 305:1466-1470 (2004)；Schafmeister et al., J. Am. Chem. Soc., 122:5891-5892 (2000)；２０１０年３月１８日に出願された米国特許出願第１２／５２５，１２３号；および２０１０年５月２５日に発行された米国特許第７，７２３，４６８号を参照されたく、これらの各々は、これによりそれらの全体が参照により本明細書に組み込まれる）。

【０２５６】

一部の例では、ペプチドは、ステッチ化されていないまたはステープル化されていないペプチド夾雑物が実質的にないか、またはペプチドは、単離されている。ペプチドを精製するための方法は、例えば、固相支持体上でペプチドを合成するステップを含む。環化後の、ペプチドおよびステープル化ペプチドの単離および精製のための複数の代替溶媒および精製スキームは、当技術分野で公知であり、ＤＭＳＯ、ＤＭＳＯ／ジクロロメタン混合物、ＤＭＳＯ／ＮＭＰ混合物、またはＤＭＳＯを含まない混合物／溶液を含むがこれらに限定されない、溶媒を使用することがある。ＤＭＳＯ／ジクロロメタンまたはＤＭＳＯ／ＮＭＰ混合物は、約３０％、４０％、５０％または６０％ＤＭＳＯを含み得る。具体的な例では、５０％／５０％　ＤＭＳＯ／ＮＭＰ溶液が使用される。溶液は、１、６、１２または２４時間インキュベートされ得、その後、樹脂が、例えばジクロロメタンまたはＮＭ

Ｐで、洗浄され得る。１つの例では、樹脂は、ＮＭＰで洗浄される。振盪、および溶液への不活性ガスの通気が行われ得る。

【０２５７】

本開示のＣ末端ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－コレステロールによって誘導体化されたステッチ化またはステープル化ペプチドの特性を、例えば、下記の方法および実施例に記載の方法を使用して、アッセイすることができる。

【０２５８】

ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分によって誘導体化されたステープル化ＨＲ２ペプチドの特徴および抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２活性を決定するためのアッセイ

α－らせん度を決定するためのアッセイ：化合物を水溶液（例えば、２５～５０μＭの濃度にするための、ｐＨ７の５μＭリン酸カリウム溶液、または蒸留H_2O）に溶解する。円偏光二色性（ＣＤ）スペクトルを、標準的な測定パラメーター（例えば、温度、２０℃；波長、１９０～２６０ｎｍ；ステップ分解能、０．５ｎｍ；速度、２０ｎｍ／秒；累積、１０；応答、１秒；バンド幅、１ｎｍ；路長、０．１ｃｍ）を使用して分光偏光計（例えば、Ｊａｓｃｏ　Ｊ－７１０、Ａｖｉｖ）で得る。各ペプチドのα－ヘリックス含有量を、モデルヘリックスデカペプチドについて報告された値（Ｙａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｍｅｔｈｏｄｓ　Ｅｎｚｙｍｏｌ．，　１９８６）で平均残基楕円率を割ることにより算出する。

【０２５９】

融解温度（Ｔｍ）を決定するためのアッセイ：架橋または未修飾鋳型ペプチドを蒸留H_2Oまたは他の緩衝液もしくは溶媒に（例えば、５０μＭの最終濃度で）溶解し、標準的なパラメーター（例えば、波長２２２ｎｍ；ステップ分解能、０．５ｎｍ；速度、２０ｎｍ／秒；累積、１０；応答、１秒；バンド幅、１ｎｍ；温度上昇速度：１℃／分；路長、０．１ｃｍ）を使用して分光偏光計（例えば、Ｊａｓｃｏ　Ｊ－７１０、Ａｖｉｖ）で、ある温度範囲（例えば、４～９５℃）にわたって楕円率の変化を測定することによりＴｍを決定する。

【０２６０】

ｉｎ　ｖｉｔｒｏプロテアーゼ耐性アッセイ：ペプチド主鎖のアミド結合は、プロテアーゼによる加水分解を受けやすく、それによって、ペプチド化合物は、ｉｎ　ｖｉｖｏで急速な分解に対して脆弱にされる。しかし、ペプチドヘリックス形成は、典型的に、アミド主鎖を埋もれさせる、および／またはねじる、および／または遮蔽するため、タンパク質分解的切断を防止し得るかまたは実質的に遅延し得る。本発明のペプチドミメティック大環状分子をｉｎ　ｖｉｔｒｏ酵素タンパク質分解（例えば、トリプシン、キモトリプシン、ペプシン）に供して、分解速度の任意の変化について、対応する未架橋のまたは代替的にステープル化されたポリペプチドと比較して評価することができる。例えば、ペプチドミメティック大環状分子および対応する未架橋ポリペプチドをトリプシンアガロースとともにインキュベートし、反応を様々な時点で遠心分離およびその後のＨＰＬＣ注入によりクエンチして、２８０ｎｍでの紫外線吸収により残留基質を定量化する。手短に述べると、ペプチドミメティック大環状分子およびペプチドミメティック前駆体（５ｍｃｇ）をトリプシンアガロース（Ｐｉｅｒｃｅ）（Ｓ／Ｅ　約１２５）とともに０、１０、２０、９０および１８０分間インキュベートする。反応を高速の卓上遠心分離によりクエンチし；単離された上清中の残存基質を、２８０ｎｍでのＨＰＬＣに基づくピーク検出により定量化する。タンパク質分解反応は、一次動態を示し、速度定数、ｋを時間に対するｌｎ［Ｓ］プロットから決定する。

【０２６１】

ペプチドミメティック大環状分子および／または対応する未架橋ポリペプチドを、各々、新鮮マウス、ラットおよび／またはヒト血清（例えば、１～２ｍＬ）とともに３７℃で、例えば、０、１、２、４、８および２４時間インキュベートすることができる。異なる大環状分子濃度の試料を血清での段階希釈により調製することができる。インタクトな化合物のレベルを決定するために、以下の手順を使用することができる：例えば、１００μ

Ｌの血清を２ｍｌ遠心分離管に移し、続いて、１０μＬの５０％ギ酸および５００μＬのアセトニトリルを添加し、１４，０００ＲＰＭで１０分間、４＋／－２℃で遠心分離することにより、試料を抽出する。次いで、上清を未使用の２ｍｌ管に移し、$Ｎ_2$＜１０ｐｓｉ、３７℃のもとでＴｕｒｂｏｖａｐによって蒸発させる。試料を１００μＬの５０：５０　アセトニトリル：水で再構成し、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ解析に供す。ｅｘ　ｖｉｖｏ安定性を試験するための同等または同様の手順は公知であり、それらを使用して血清中の大環状分子の安定性を決定してもよい。

【０２６２】

血漿安定性アッセイ：ステープル化ペプチドの安定性を、リチウムヘパリン管に収集した新鮮に採血したマウス血漿において試験することができる。１０μＭの個々のペプチドを添加した５００μｌの血漿を用いた三連インキュベーションを設定する。試料をオービタルシェーカーにおいて３７℃で穏やかに振盪し、２５μｌアリコートを０、５、１５、３０、６０、２４０、３６０および４８０分で取り出し、１０％メタノール：１０％水：８０％アセトニトリルを含有する１００μｌの混合物に添加してペプチドのさらなる分解を停止させる。アッセイ期間中、試料を氷上に置いておき、それからＭｕｌｔｉＳｃｒｅｅｎ　Ｓｏｌｖｉｎｅｒｔ　０．４５μｍ低結合性疎水性ＰＴＦＥプレート（Ｍｉｌｌｉｐｏｒｅ）に移す。濾液をＬＣ－ＭＳ／ＭＳにより直接解析する。Ｓｃｉｅｘ　５５００質量分析計を使用して、ペプチドを二荷電または三荷電イオンとして検出する。残存ペプチドのパーセンテージをクロマトグラフピーク面積の減少により決定し、ｌｏｇ変換して半減期を算出する。

【０２６３】

ｉｎ　ｖｉｖｏプロテアーゼ耐性アッセイ：ペプチドステープル化の肝要な利点は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏプロテアーゼ耐性がｉｎ　ｖｉｖｏでの顕著に改善された薬物動態につながることである。液体クロマトグラフィー／質量分析に基づく分析アッセイを使用して血漿中のステープル化ペプチドレベルを検出し、定量化する。薬物動態解析のために、ペプチドを滅菌５％デキストロース水溶液に溶解し（１ｍｇ／ｍＬ）、Ｃ５７ＢＬ／６マウス（Ｊａｃｋｓｏｎ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）にボーラス尾静脈または腹腔内注射（例えば、５、１０、２５、５０ｍｇ／ｋｇ）により投与する。５匹の動物への投薬の５、３０、６０、１２０および２４０分後、各時点で、後眼窩穿刺により採血する。遠心分離（２，５００×ｇ、５分、４℃）後に血漿を回収し、アッセイするまで－７０℃で保管する。血漿中のペプチド濃度を逆相高速液体クロマトグラフィーとエレクトロスプレーイオン化質量分析検出により決定する（Aristoteli et al., Journal of Proteome Res., 2007；Walden et al., Analytical and Bioanalytical Chem., 2004）。研究試料を、１．０～５０．０μｇ／ｍＬの範囲の濃度の血漿中のペプチドの一連の７つの較正標準；内部標準を添加してまたは添加せずにアッセイされる薬物不含血漿；および３つの品質管理対照試料（例えば、３．７５、１５．０、および４５．０μｇ／ｍＬ）とともにアッセイする。検体／内部標準クロマトグラフピーク面積比を各較正標準における既知薬物濃度に対してプロットすることにより、標準曲線を作図する。較正標準の数に正規化した検体濃度の逆数に比例して重み付けして、線形最小二乗回帰を行う。最良適合線の傾きおよびｙ切片の値を使用して研究試料中の薬物濃度を算出する。ＷｉｎＮｏｎｌｉｎ　Ｐｒｏｆｅｓｓｉｏｎａｌ　５．０ソフトウェア（Ｐｈａｒｓｉｇｈｔ　Ｃｏｒｐ．、Ｃａｒｙ、ＮＣ）を使用して標準ノンコンパートメント法により血漿濃度－時間曲線を解析し、それによって薬物動態パラメーター、例えば、初期および末期血漿半減期、ピーク血漿レベル、総血漿クリアランス、ならびに見かけの分布容積を得る。

【０２６４】

ウイルス融合および播種の感染前および後の遮断の状況において、局所的投与（すなわち、点鼻薬）後の鼻粘膜におけるおよび鼻腔内適用または噴霧後の呼吸器粘膜における本発明のステープル化ペプチドの持続を調べる。マウスを、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による鼻腔内感染に先行して一連の間隔での点鼻薬またはネブライザーによる単回処置に曝露し、粘膜感染からの保護の持続時間（上記のように組織学的にまたは下記のようにＰＣＲによ

り評価される）を使用して、本明細書に記載のＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－コレステロールによって誘導体化されたステープル化ペプチド構築物の相対的な粘膜安定性および予防有効性を測定する。

【０２６５】

ｉｎ　ｖｉｔｒｏ結合アッセイ：ペプチドミメティック大環状分子およびペプチドミメティック前駆体のアクセプタータンパク質への結合および親和性を評価するために、例えば、蛍光偏光アッセイ（ＦＰＡ）を使用することができる。ＦＰＡ技術は、偏光および蛍光トレーサーを使用して分子の配向および移動度を測定する。偏光によって励起されると、分子またはペプチドに結合され、次いで、高い見かけの分子量のタンパク質に結合された、蛍光トレーサー（例えば、ＦＩＴＣ）（例えば、大型タンパクに結合されたＦＩＴＣ標識ペプチド）は、より小さい分子またはペプチドだけに結合された蛍光トレーサー（例えば、溶液中で遊離しているＦＩＴＣ標識ペプチド）と比較して、タンパク質結合時のそれらのより遅い回転速度に起因してより高レベルの偏光蛍光を放射する。

【０２６６】

ペプチド－タンパク質相互作用のアンタゴニストを特徴付けるためのｉｎ　ｖｉｔｒｏ置き換えアッセイ：ペプチドとアクセプタータンパク質との相互作用に拮抗する化合物の結合および親和性を評価するために、例えば、鋳型ペプチド配列に由来するフルオレセイン化ペプチドまたはペプチドミメティック大環状分子を使用する蛍光偏光アッセイ（ＦＰＡ）が使用される。ＦＰＡ技術は、偏光および蛍光トレーサーを使用して分子の配向および移動度を測定する。偏光によって励起されると、分子に結合され、次いで、その分子が、高い見かけの分子量のタンパク質に結合された、蛍光トレーサー（例えば、ＦＩＴＣ）（例えば、大型タンパク質に結合されたＦＩＴＣ標識ペプチド）は、単独でのＦＩＴＣ誘導体化分子（例えば、溶液中で遊離しているＦＩＴＣ標識ペプチド）と比較して、それらのより遅い回転速度に起因してより高レベルの偏光蛍光を放射する。フルオレセイン化ペプチドとアクセプタータンパク質との相互作用に拮抗する化合物、例えば、非標識ステープル化ペプチドおよびそれらのコンジュゲートは、競合結合ＦＰＡ実験で検出されることになり、相互作用を妨害することにおける化合物の差次的な効力を定量化することができ、比較することができる。

【０２６７】

５ヘリックスバンドルタンパク質産生および蛍光偏光アッセイ：Ｃ末端６Ｈｉｓタグ付き組換え５ヘリックスバンドル（５ＨＢ）タンパク質を設計し、これは、ｇｐ４１　５－ＨＢの設計に従って短いペプチドリンカーによって接続された、ヘアピンのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　Ｓ三量体のコアを含む６つのヘリックスのうちの５つを含有する（Root et al. Science, 291(5505):884-8 (2001)；Bird et al., J Clin Invest. 2014 May;124(5):2113-24）。プラスミドをＥｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ　ｃｏｌｉ　ＢＬ２１（ＤＥ３）に形質転換し、Ｌｕｒｉａブロスで培養し、０．１Ｍイソプロピルβ－Ｄ－チオガラクトシドで一晩、３７℃で誘導する。細胞を２０分間の５，０００ｇでの遠心分離により回収し、緩衝液Ａ（１００ｍＭ　ＮａＨ２ＰＯ４、２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ、８Ｍ尿素；ｐＨ７．４）に再懸濁させ、４℃で一晩の撹拌により溶解する。混合物を遠心分離（３０分間、３５，０００ｇ）により清澄化した後、室温でニトリロ三酢酸ニッケル（Ｎｉ－ＮＴＡ）アガロース（Ｑｉａｇｅｎ）カラムに結合させる。結合した５－ＨＢを緩衝液Ａ（ｐＨ６．３）で洗浄し、緩衝液Ａ（ｐＨ４．５）で溶離し、ＰＢＳ（５０ｍＭリン酸ナトリウム、１００ｍＭ　ＮａＣｌ；ｐＨ７．５）での希釈（１：２）により再生させ、１０ｋＤａ　Ａｍｉｃｏｎ　ｃｅｎｔｒｉｃｏｎで濃縮し（希釈および再濃縮、７回）、おおよそ１ｍｇ／ｍｌのタンパク質溶液を得る。タンパク質の純度をＳＤＳ－ＰＡＧＥにより評価し、＞９０％であると決定する。本発明のペプチドのフルオレセイン化誘導体（２５ｎＭ）を、５－ＨＢタンパク質とともに、室温の結合緩衝液（５０ｍＭリン酸ナトリウム、１００ｍＭ　ＮａＣｌ；ｐＨ７．５）中、示されている濃度でインキュベートする。平衡状態での直接結合活性を（例えば、１０分）、ＳｐｅｃｔｒａＭａｘ　Ｍ５マイクロプレートリーダー（ＢＭＧ　Ｌａｂｔｅｃｈ）を使用して蛍光偏光により測定す

る。次いで、競合結合アッセイのために、直接結合のＥＣ９０を反映する固定濃度のＦＩＴＣ－ペプチドおよび５－ＨＢタンパク質をアセチル化ＳＡＨ－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ペプチドの段階希釈物とともにインキュベートして、比較分析用の競合曲線を生成する。結合アッセイを三連で実行し、Ｐｒｉｓｍソフトウェア（ＧｒａｐｈＰａｄ）を使用して競合結合等温線の非線形回帰分析によりＫｉを算出する。

【０２６８】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルへの結合活性についてスクリーニングするためのアッセイ：一部の例では、本明細書で開示される方法は、直接および競合スクリーニングアッセイを含む。例えば、方法は、薬剤が、本明細書で開示されるペプチドおよびそのコンジュゲートのうちの１つまたは複数の、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２への（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルへの）結合を変更する（例えば、低減させる）かどうかを決定するステップを含み得る。一部の例では、方法は、（ｉ）本明細書で開示されるペプチドおよびそのコンジュゲートのうちの１つまたは複数とＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２との（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルへの）結合レベルを（例えば、薬剤の非存在下で）決定するステップ；および（ｉｉ）１つまたは複数のペプチド（例えば、（ｉ）の１つまたは複数のペプチド）とＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２との（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルへの）結合レベルを薬剤の存在下で検出するステップであって、１つまたは複数のペプチドとＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２との（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルへの）結合レベルの変化（例えば、低下）が、薬剤が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２に結合する候補薬剤であることを示す、ステップ；および（ｉｉｉ）候補薬剤を選択するステップを含む。一部の例では、ステップ（ｉ）は、１つまたは複数のペプチドをＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルに）接触させること、およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２との（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルへの）１つまたは複数のペプチド間の結合レベルを検出することを含む。一部の例では、ステップ（ｉｉ）は、１つまたは複数のペプチドおよび薬剤をＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルに）接触させること、およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２との（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルへの）１つまたは複数のペプチド間の結合レベルを検出することを含む。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルへ）を１つまたは複数のペプチドおよび薬剤と同時にまたは異なるときに接触させることができる（例えば、１つまたは複数のペプチドを、薬剤の前または後にＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２と（例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５ヘリックスバンドルに）接触させることができる）。一部の実施形態では、候補薬剤を好適な動物モデル（例えば、ＣＯＶＩＤ－１９の動物モデル）に投与して、薬剤が動物におけるＣＯＶＩＤ－１９感染レベルを低下させるかどうかを決定する。

【０２６９】

一部の例では、ペプチドとＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ヘリックスバンドルの一方または両方は、ペプチドおよび／またはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ヘリックスバンドルの検出を可能にする標識を含み得る。一部の例では、ペプチドは、標識を含む。一部の例では、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ヘリックスバンドルは、標識を含む。一部の例では、ペプチドとＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ヘリックスバンドルの両方が、標識を含む。標識は、蛍光標識、放射性同位体標識、または酵素標識を含むがこれらに限定されない、当技術分野において公知の任意の標識であり得る。一部の例では、標識は、それ自体が直接検出可能である（例えば、放射性同位体標識または蛍光標識）。一部の例では、（例えば、酵素標識の場合には）、標識は、例えば、直接検出可能である化学的基質化合物または組成物の化学的変質を触媒することにより、間接的に検出可能である。

【０２７０】

ＥＬＩＳＡによる競合ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５－ＨＢ結合アッセイ：マイクロウェルを、ニュートラアビジン（４μｇ／ｍｌ）を含有する５０μｌのＰＢＳで、一晩、４℃でコーティングする。０．０５％Ｔｗｅｅｎ（登録商標）　２０を含有するＰＢＳ（ＰＢＳ

－Ｔ）でウェルを２回洗浄し、ＰＢＳ－Ｔ中の４％ＢＳＡで４５分間、３７℃でブロックする。次に、５０μｌの２５０ｎＭビオチン化ＰＥＧ$_2$－ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２（配列番号６）を、１％ＢＳＡを含有するＰＢＳ－Ｔに添加し、１時間、振盪しながらインキュベートし、続いて、３００μｌのＰＢＳ－Ｔで４回洗浄する。次いで、１％ＢＳＡを含有する５０μＬのＰＢＳ－Ｔ中の、５０ｎＭの組換え５－ＨＢを含有する、１０μＭで出発する本発明のステープル化ペプチドの１：２段階希釈物をプレートに添加し、室温で２時間、振盪し、続いて、３００μｌのＰＢＳ－Ｔで４回洗浄する。最後に、６×　Ｈｉｓタグ－ＨＲＰとコンジュゲートされたヤギポリクローナル抗体の５０μＬの１：５０００希釈物を添加する。ＲＴで４０分間のインキュベーションの後、ウェルを５回洗浄し、５０μｌのテトラメチルベンジジン（ＴＭＢ）溶液の添加により発色させる。２０分後、ＴＭＢ溶液が入っているウェルを、５０μｌのＨ$_2$ＳＯ$_4$（２Ｍ）を添加することにより停止させ、４５０ｎｍでの吸光度をマイクロプレートリーダー（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｄｅｖｉｃｅｓ）で読み取る。最大半量シグナル（ＩＣ５０）に対応する競合物質ペプチドの濃度を、Ｐｒｉｓｍソフトウェア（Ｇｒａｐｈｐａｄ）を使用して得られた結合曲線の内挿により決定する。各ペプチド競合物質を少なくとも２つの別々の実験において三連で試験する。

【０２７１】

細胞局在アッセイ：細胞上または細胞内のペプチドまたは架橋ポリペプチドの局在を測定するために、インタクトな細胞を、ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－コレステロールで誘導体化されたフルオレセイン化架橋ポリペプチド（５μＭ）とともに、４時間、無血清培地中で、またはヒト血清を追加補充した培地中で、３７℃でインキュベートし、培地で２回洗浄し、トリプシン（０．２５％）とともに１０分間、３７℃でインキュベートする。細胞を再び洗浄し、ＰＢＳに再懸濁させる。細胞蛍光を、例えば、ＦＡＣＳＣａｌｉｂｕｒフローサイトメーターまたはＣｅｌｌｏｍｉｃｓのＫｉｎｅｔｉｃＳｃａｎ（登録商標）ＨＣＳ　Ｒｅａｄｅｒのどちらかを使用することにより、解析する。

【０２７２】

抗ウイルス有効性アッセイ：生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス感染を予防および処置することにおける本発明のペプチド－コレステロールコンジュゲートの効率を、単層細胞培養物で評価する。ウイルス検出プラットフォームは、エボラウイルスに対する以前のスクリーニングに基づいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２用に開発されたものである（Anantpadma M. et al., Antimicrob Agents Chemother. 2016;60(8):4471-81. Epub 2016/05/11. doi: 10.1128/AAC.00543-16. PubMed PMID: 27161622; PMCID: PMC4958205を参照されたい）。３８４ウェル形式で蒔いたＶｅｒｏ　Ｅ６細胞を、ステープル化ペプチドの段階希釈物（例えば、１～５μＭの出発用量）で１時間処理し、これを三連で行い、その後、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２（例えば、ＵＳＡ－ＷＡ１／２０２０［野生型］、南アフリカＢ．１．３５１［ベータ株］）またはインドＢ．１．６１７．２［デルタ株］での４時間のチャレンジを行って、１０～２５％の細胞（アッセイにおける試験化合物のダイナミックレンジを評価するための所定の最適感染力）の対照感染を達成する。次いで、感染細胞を洗浄し、４％パラホルムアルデヒドで固定し、ＰＢＳで再洗浄し、抗ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ヌクレオカプシドモノクローナル抗体、続いて、抗Ｉｇ二次抗体（Ａｌｅｘａ　Ｆｌｕｏｒ　４８８；Ｌｉｆｅ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）で免疫染色し、ＨＣＳ　ＣｅｌｌＭａｓｋ　ｂｌｕｅで細胞体を対比染色する。細胞を、Ｎｉｋｏｎ　Ｔｉ　Ｅｃｌｉｐｓｅ自動顕微鏡でｚ面にわたってイメージングし、ＣｅｌｌＰｒｏｆｉｌｅｒソフトウェアにより解析し、感染細胞を全細胞で割ることにより感染効率を算出する。対照細胞傷害アッセイは、Ｃｅｌｌ－Ｔｉｔｅｒ　Ｇｌｏ（Ｐｒｏｍｅｇａ）およびＬＤＨ放出（Ｒｏｃｈｅ）アッセイを使用して行う。

【０２７３】

代替アプローチでは、ｑＰＣＲに基づくウイルス検出を、ＡＣＥ２を発現する元々感受性のヒト由来Ｈｕｈ７７０およびＣａｌｕ－３７１細胞において、ならびにまたＳＡＲＳ

－ＣｏＶ－２ウイルス（例えば、ＵＳＡ－ＷＡ１／２０２０；Ｈｏｎｇｋｏｎ ＶＭ２０００１０６１）に感染したＭａｔＴｅｋ Ｌｉｆｅ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ初代肺上皮および肺胞細胞モデルにおいて、使用する。培養細胞を、本発明のステープル化ペプチド－コレステロールコンジュゲートの段階希釈物で１時間、処置し、その後、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスによるチャレンジを行う。培養上清の試料を採取し、ＲＮＡｓｅ阻害剤の存在下でウイルスを溶解し、ＲＴおよびｑＰＣＲを記載されているように行う。Suzuki et al. J Vis Exp. 2018(141). Epub 2018/11/20. doi: 10.3791/58407を参照されたい。ＣＤＣにより検証されたＢＨＱにより消光される色素対プライマーを、ＩＤＴから購入し、ゲノム当量をＣｔ値から算出する。

【０２７４】

さらに別のアプローチでは、本発明のステープル化ペプチド－コレステロールコンジュゲートの抗ウイルス活性を、シュードタイプウイルスを使用して評価する。２９３Ｔ－ｈｓＡＣＥ２安定細胞系（Ｃａｔ＃ Ｃ－ＨＡ１０１）およびシュードタイプＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルス［ＲＶＰ－７０１Ｇ（Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１） ＲＶＰ－７０２Ｇ（Ｄ６１４Ｇ Ｂ．１、２０Ａ） ＲＶＰ－７０６Ｇ（ＵＫバリアント Ｂ．１．１．７、２０Ｉ／５０１Ｙ．Ｖ１） ＲＶＰ－７２４Ｇ（南アフリカ、バリアントΔ３ Ｂ．１．３５１、２０Ｈ／５０１Ｙ．Ｖ２） ＲＶＰ－７６３Ｇ（インドバリアント、Ｂ．１．６１７．２） ＲＶＰ－７６８Ｇ（ＢＡ．１） ＲＶＰ－７７０Ｇ（ＢＡ．２） ＲＶＰ－８０１Ｇ（ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１ ウルバニ） ＲＶＰ－１００２Ｇ（ＭＬＶコアを有するＶＳＶ）受容体を使用する（Ｉｎｔｅｇｒａｌ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ）。中和アッセイを、製造業者のプロトコールに従って行う。ＭＬＶコアとＧＦＰレポーターとを有するシュードタイプＶＳＶウイルスを、ウイルス特異性対照としてこれらのアッセイに使用する。手短に述べると、ペプチドの２倍段階希釈物（出発用量５００または１０００ｎＭ）を５μＬのシュードタイプＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２－ＧＦＰとともに１時間、３７℃で３８４ウェル黒色透明底プレートにおいてインキュベートし、その後、１０％ＦＢＳ ＤＭＥＭ、フェノールレッド不含培地中の３０μＬの１，０００個の２９３Ｔ－ｈｓＡＣＥ２細胞を添加し、加湿インキュベーターに４８または７２時間、入れる。Ｈｏｅｃｈｓｔ ３３３４２（細胞透過性核染色剤）およびＤＲＡＱ７（細胞不透過性核染色剤）を添加し、プレートをＭｏｌｅｃｕｌａｒ Ｄｅｖｉｃｅｓ ＩｍａｇｅＸｐｒｅｓｓ Ｍｉｃｒｏ Ｃｏｎｆｏｃａｌ Ｌａｓｅｒによって倍率１０倍でイメージングする。ＧＦＰ（＋）細胞を計数し、Ｐｒｉｓｍソフトウェア（Ｇｒａｐｈｐａｄ）を使用して、総ＧＦＰ（＋）細胞、またはＧＦＰ（＋）細胞パーセントをプロットする。細胞傷害を、ＤＲＡＱ７（＋）Ｈｏｅｃｈｓｔ ３３３４２（＋）細胞のＤＲＡＱ７（－）Ｈｏｅｃｈｓｔ ３３３４２（＋）細胞に対する比により決定する。

【０２７５】

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染を予防するリードのステープル化ペプチド－コレステロールコンジュゲートの能力を評価するために、Ｋ１８－ｈＡＣＥ２（Ｊａｃｋｓｏｎ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ）マウス（１アーム当たりｎ＝１０；雄５匹、雌５匹）を、ステープル化ペプチド－コレステロールコンジュゲートまたはビヒクルで静脈内処置し、または中咽頭経路で処置し、４～２４時間後、10^4ＰＦＵのウイルス投薬量を鼻腔内接種する。マウスを、４日後（ウイルス血症のピーク）に、剖検による、およびｔｉｓｓｕｅｌｙｚｅｒ（Ｑｉａｇｅｎ）を使用して記載されたように調製した肺ホモジネートの上清試料からｑＰＣＲにより定量化されるウイルス負荷量による、評価のために安楽死させる。Bao L et al. Nature. 2020. Epub 2020/05/08; doi: 10.1038/s41586-020-2312-yを参照されたい。確立されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症を処置または緩和するリードのステープル化ペプチドの能力を評価するために、Ｋ１８－ｈＡＣＥ２マウス（１アーム当たりｎ＝１０；雄５匹、雌５匹）に10^4ＰＦＵのウイルス投薬量を１日目に鼻腔内接種し、その後１０日間（２～１２日目）毎日、ステープル化ペプチドまたはビヒクルでの中咽頭または腹腔内処置を行う。代替計画では、投薬を接種の３～５日後まで遅らせて、症状または陽性検査に駆動される治療開始をシミュレートする。マウスを継続的に

モニターして、体重および臨床徴候を記録し、疾患進行を、＞１０％体重減少、努力性呼吸、および／または成長障害としてスコア化する。次いで、最も有効な化合物および経路についての用量を予防研究と処置研究の両方において精緻化して、マウスを保護するための最小用量を決定する。同じ実験計画を使用するが、ただし、４つの処置群（ｎ＝１０；雄５匹、雌５匹）には元の用量を施し、次いで、４分の１ずつ漸減する３用量を施す。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症の代替動物モデル（例えば、ハムスター、フェレット）も用いられる。

【０２７６】

臨床試験：ヒトの処置のための本発明のＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－コレステロールで誘導体化されたステープル化ペプチドの適合性を決定するために、臨床試験を行うことができる。例えば、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染にさらされているまたはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症と診断された患者を選択し、処置群と１つまたは複数の対照群に分け、処置群には本発明のペプチドを投与し、その一方で対照群にはプラセボまたは公知の抗ウイルス薬を施す。本発明のペプチド－コレステロールコンジュゲートの処置安全性および有効性を、かくして、症状の予防、症状消散までの時間、および／または全体的な感染重症度などの因子に関して患者群の比較を行うことにより評価することができる。別の例では、未感染患者を同定し、架橋ポリペプチドまたはプラセボのどちらかを与える。処置を施した後、患者を追跡する。両方の例において、本発明のステープル化ペプチド－コレステロールコンジュゲートで処置されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２曝露患者群は、感染症の発症を回避するだろう、またはＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２感染症に罹患している患者群は、プラセボで処置された患者対照群と比較して症状もしくはその重症度の消散もしくは軽減を示すだろう。

【０２７７】

実施形態の列挙：本開示は、以下の例示的な実施形態の列挙を提供する。

【０２７８】

実施形態１．配列番号６（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮＥＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示される配列と少なくとも５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％または９４％同一であるアミノ酸配列を含む構造的に安定化されたポリペプチドであって、配列番号６の

（ｉ）１４および２１位、
（ｉｉ）１７および２４位、
（ｉｉｉ）２０および２７位；
（ｉｖ）２１および２８位；または
（ｖ）２４および３１位

から選択される位置（配列番号６の１位はＮ末端アスパラギン酸であり、３８位はＣ末端リシンである）におけるアミノ酸が、オレフィン側鎖を有するα，α－二置換非天然アミノ酸に置き換えられており；

構造的に安定化されたペプチドが、長さ３８～６０アミノ酸、必要に応じて、長さ３８～５０アミノ酸であり；

構造的に安定化されたペプチドが、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／または構造的に安定化されたペプチドが、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する、構造的に安定化されたポリペプチド。

【０２７９】

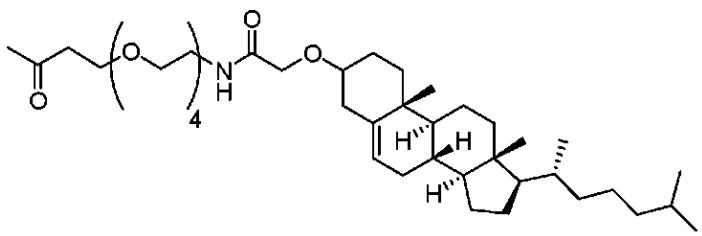
実施形態２．アミノ酸配列が、配列番号６で示される配列と少なくとも７０％同一である、実施形態１の構造的に安定化されたポリペプチド。

【０２８０】

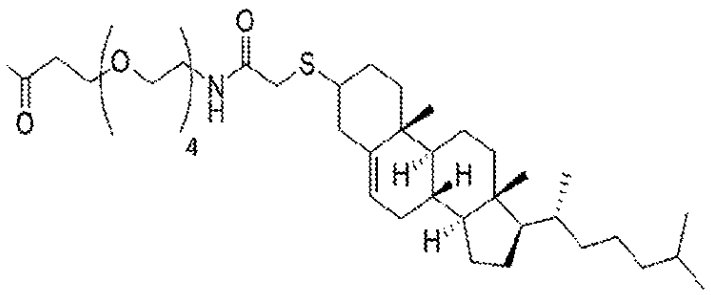
実施形態３．アミノ酸配列が、配列番号６で示される配列と少なくとも８０％同一である、実施形態１の構造的に安定化されたポリペプチド。

【０２８１】
実施形態４．アミノ酸配列が、配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、実施形態１～３のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチド。
【０２８２】
実施形態５．アミノ酸配列が、配列番号１３（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩ８ＲＬＮＥＶＡＸＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、実施形態１～３のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチド。
【０２８３】
実施形態６．アミノ酸配列が、配列番号１７（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱＫＥＩＤＲＬＮ８ＶＡＫＮＬＮＸＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）で示されるアミノ酸配列を含む、またはそれからなる、実施形態１～３のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチド。
【０２８４】
実施形態７．長さ３８～４５アミノ酸である、実施形態１～６のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチド。
【０２８５】
実施形態８．長さ３８～４０アミノ酸である、実施形態１～７のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチド。
【０２８６】
実施形態９．配列番号６の３７および／または３８位が置換されていない、実施形態１～８のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチド。
【０２８７】
実施形態１０．配列番号１０で示されるアミノ酸配列の少なくとも１９個の連続するアミノ酸を含み、配列番号１０の３、４、６、９、１１、１３、１５、１８、２０、２２、２５、２７、２９、３２、３４、３５、３７または３８位のアミノ酸の少なくとも１～１８個が、任意の他の天然または非天然アミノ酸によって置換されており、配列番号６の１４および２１位の非天然アミノ酸が置換されていない、構造的に安定化されたペプチドであって、長さ１９～４５アミノ酸であり、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／またはシュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防するものであり、必要に応じて、１９個の連続するアミノ酸が、ＨＲ２の１１７９～１１９７位に対応するが、ただし、１１８１および１１８８位が、オレフィン側鎖を有する非天然アミノ酸によって置換されている、構造的に安定化されたペプチド。
【０２８８】
実施形態１１．シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／またはシュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する、実施形態１０の構造的に安定化されたペプチド。
【０２８９】
実施形態１２．実施形態１～１１のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドとポリエチレングリコール（ＰＥＧ）および／またはコレステロールとを含むコンジュゲートであって、ＰＥＧおよび／またはコレステロールが、構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端に連結されている、コンジュゲート。
【０２９０】
実施形態１３．ＰＥＧおよびコレステロールを含む、実施形態１２のコンジュゲート。
【０２９１】
実施形態１４．コレステロールが、チオコレステロールである、実施形態１２または１３のコンジュゲート。

【０２９２】
実施形態１５．ＰＥＧ（ｎ）－コレステロールを含み、ここで、ｎは、１～３６であり、必要に応じて、ｎは、４、５、６、７、または８である、実施形態１２または１３のコンジュゲート。
【０２９３】
実施形態１６．ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを含み、ここで、ｎは、２～３６であり、必要に応じて、ｎは、４、５、６、７、または８である、実施形態１２～１４のいずれか１つのコンジュゲート。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。
【０２９４】
実施形態１７．配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）の構造的に安定化されたポリペプチドと、
構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（４）－コレステロール部分と
を含むコンジュゲート。
【０２９５】
実施形態１８．ＰＥＧ（４）－コレステロール部分が、式：
【化１１０】

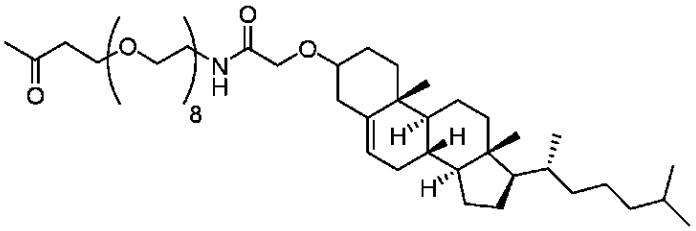


を含む、実施形態１７のコンジュゲート。
【０２９６】
実施形態１９．配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）の構造的に安定化されたポリペプチドと、
構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分と
を含むコンジュゲート。
【０２９７】
実施形態２０．ＰＥＧ（４）－チオコレステロール部分が、式：
【化１１１】

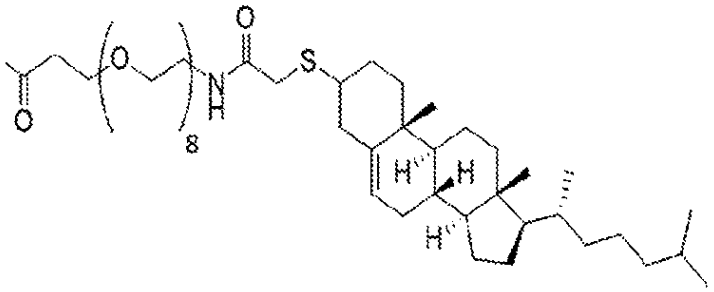


を含む、実施形態１９のコンジュゲート。
【０２９８】
実施形態２１．配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）の構造的に安定化されたポリペプチドと、

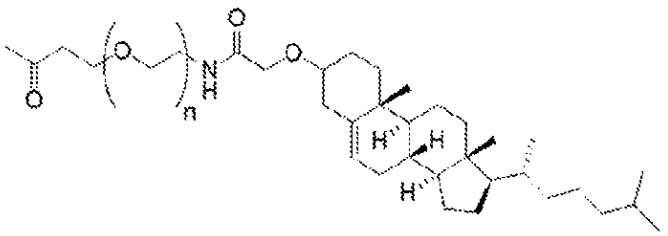
構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（８）－コレステロール部分と
を含むコンジュゲート。
【０２９９】
実施形態２２．ＰＥＧ（８）－コレステロール部分が、式：
【化１１２】



を含む、実施形態２１のコンジュゲート。
【０３００】
実施形態２３．配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）の構造的に安定化されたポリペプチドと、
構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分と
を含むコンジュゲート。
【０３０１】
実施形態２４．ＰＥＧ（８）－チオコレステロール部分が、式：
【化１１３】



を含む、実施形態２３のコンジュゲート。
【０３０２】
実施形態２５．配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）の構造的に安定化されたポリペプチドと、
構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分（ここで、（ｎ）＝４、５、６、７または８）と
を含むコンジュゲート。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。
【０３０３】
実施形態２６．ＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分が、式：
【化１１４】



（式中、ｎ＝４、５、６、７、または８）
を含む、実施形態２５のコンジュゲート。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

【０３０４】

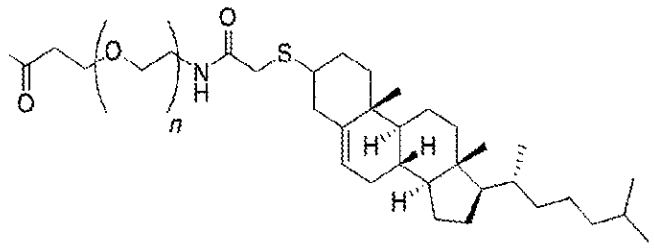
実施形態２７．配列番号１０（ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ８ＥＩＤＲＬＮＸＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ）の構造的に安定化されたポリペプチドと、

構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端リシンに連結されているＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分（ここで、（ｎ）＝４、５、６、７または８）と
を含むコンジュゲート。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

【０３０５】

実施形態２８．ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分が、式：

【化１１５】

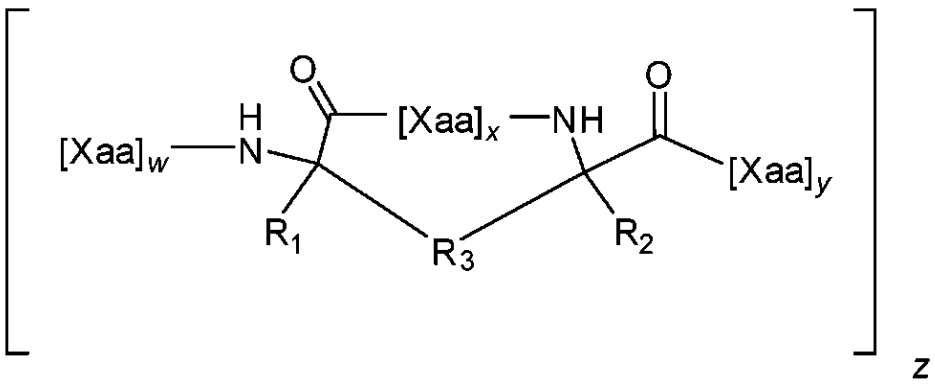


（式中、ｎ＝４、５、６、７、または８）
を含む、実施形態２７のコンジュゲート。一部の場合には、ｎ＝４、５、６、７、８、１０、１２、１４、１６、１８、２０、２２、２４、２６、２８、３０、３２、３４、または３６である。

【０３０６】

実施形態２９．式：

【化１１６】



式 (I)

を含む構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩（式中、

各R_1およびR_2は、ＨまたはＣ１～Ｃ１０アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリールアルキル、またはヘテロシクリルアルキルであり、これらのいずれかは、置換されているか、または非置換であり；

各R_3は、独立して、アルカン　アルキレン、アルケニレン、またはアルキニレンであり、これらのいずれかは、置換されているか、または非置換であり；

ｚは、１、２、３、４，５、６、７、８、９または１０であり；

各［Ｘａａ］$_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３４）であり、各［Ｘａａ

］$_x$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３５）であり、各［Ｘａａ］$_y$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧＫ（配列番号３６）である）
であって、
構造的に安定化されたペプチドが、シュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を阻害する、および／またはシュードウイルスおよび／または生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスアッセイにおいてＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による細胞の感染を予防する、
構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。
【０３０７】
実施形態３０．Ｒ$_1$が、アルキルである、実施形態２９の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。
【０３０８】
実施形態３１．Ｒ$_1$が、メチル基である、実施形態２９の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。
【０３０９】
実施形態３２．Ｒ$_3$が、アルキルである、実施形態２９の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。
【０３１０】
実施形態３３．Ｒ$_3$が、メチル基である、実施形態２９の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。
【０３１１】
実施形態３４．Ｒ$_2$が、アルケニルである、実施形態２９の構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。
【０３１２】
実施形態３５．薬学的に許容される塩が、塩酸塩、ナトリウム、硫酸塩、酢酸塩、リン酸塩または二リン酸塩、塩化物、カリウム、マレイン酸塩、カルシウム、クエン酸塩、メシル酸塩、硝酸塩、酒石酸塩、アルミニウム、グルコン酸塩、およびこれらの任意の組合せを含む、実施形態２９～３４のいずれか１つの構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。
【０３１３】
実施形態３６．最大で長さ５０アミノ酸、必要に応じて、最大で長さ４５アミノ酸である、実施形態２９～３５のいずれか１つの構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。
【０３１４】
実施形態３７．長さ３８アミノ酸である、実施形態２９～３６のいずれか１つの構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩。
【０３１５】
実施形態３８．実施形態２９～３７のいずれか１つの構造的に安定化されたペプチドまたはその薬学的に許容される塩とＰＥＧおよび／またはコレステロールとを含むコンジュゲート。
【０３１６】
実施形態３９．ＰＥＧおよびコレステロールを含む、実施形態３８のコンジュゲート。
【０３１７】
実施形態４０．コレステロールが、チオコレステロールである、実施形態３８または３９のコンジュゲート。
【０３１８】
実施形態４１．ＰＥＧ（ｎ）－コレステロールを含み、必要に応じて、ここでのｎは、１～３６であり、必要に応じて、ここでのｎは、４、５、６、７、または８である、実施形態３８または３９のコンジュゲート。
【０３１９】

実施形態４２．ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを含み、ここで、ｎは、１～３６であり、必要に応じて、ｎは、４、５、６、７、または８である、実施形態３８～４０のいずれか１つのコンジュゲート。

【０３２０】

実施形態４３．実施形態１～４２のいずれか１つの構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートと、薬学的に許容される担体とを含む医薬化合物。

【０３２１】

実施形態４４．コロナウイルス感染症の処置を必要とするヒト対象においてコロナウイルス感染症を処置する方法であって、実施形態１～４３のいずれか１つの構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートの治療有効量をヒト対象に投与するステップを含む方法。

【０３２２】

実施形態４５．コロナウイルス感染症の予防を必要とするヒト対象においてコロナウイルス感染症を予防する方法であって、実施形態１～４３のいずれか１つの構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートの治療有効量をヒト対象に投与するステップを含む方法。

【０３２３】

実施形態４６．コロナウイルス感染症の処置を必要とする対象においてコロナウイルス感染症を処置する方法であって、実施形態１～４３のいずれか１つの構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートの治療有効量を対象に投与するステップを含み、対象が、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラット、マウス、またはコウモリから選択される、方法。

【０３２４】

実施形態４７．コロナウイルス感染症の予防を必要とする対象においてコロナウイルス感染症を予防する方法であって、実施形態１～４３のいずれか１つの構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートの治療有効量を対象に投与するステップを含み、対象が、ウシ、ブタ、ウマ、ネコ、イヌ、ラット、マウス、またはコウモリから選択される、方法。

【０３２５】

実施形態４８．コロナウイルス感染症が、ベータコロナウイルスによるものである、実施形態４６または４７の方法。

【０３２６】

実施形態４９．コロナウイルス感染症が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２による感染に起因する、実施形態４６～４８のいずれか１つの方法。

【０３２７】

実施形態５０．コロナウイルス感染症が、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２のバリアントによる感染に起因する、実施形態４６～４９のいずれか１つの方法。

【０３２８】

実施形態５１．バリアントが、Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１、Ｂ．１．４２７／Ｂ．１．４２９、Ｂ．１．６１７．２、Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１、またはブラジルバリアントＰ．１から選択される、実施形態５０の方法。

【０３２９】

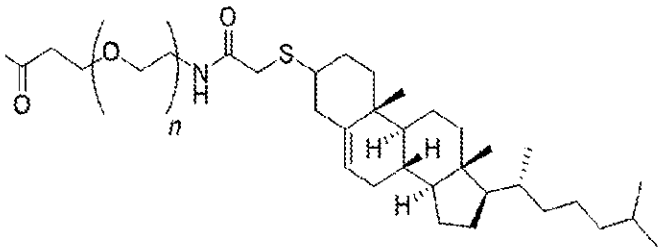
実施形態５２．構造的に安定化されたペプチドを作製する方法であって、（ａ）配列番号６で示される配列を有するペプチドまたはそのバリアントを提供するステップ、および（ｂ）ペプチドを架橋させるステップ、および必要に応じて、構造的に安定化されたペプチドを精製するステップを含む、方法。

【０３３０】

実施形態５３．ペプチドを架橋させるステップが、ルテニウム触媒メタセシス反応による、実施形態５２の方法。

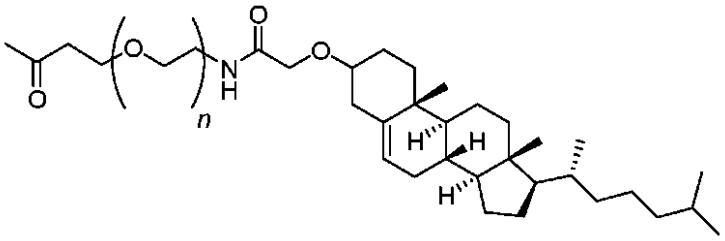
【０３３１】
実施形態５４．構造的に安定化されたペプチドを無菌医薬組成物として製剤化するステップをさらに含む、実施形態５２または５３の方法。
【０３３２】
実施形態５５．実施形態１～１１または２９～３７のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドを含むコンジュゲートを合成する方法であって、（ａ）構造的に安定化されたポリペプチドを提供するステップ；および（ｂ）構造的に安定化されたポリペプチドの樹脂結合アミンを樹脂上でカルボン酸を含有するＰＥＧおよび／またはコレステロールによって誘導体化するステップを含む方法。
【０３３３】
実施形態５６．ヘプタッドリピートドメイン２（ＨＲ２）ポリペプチドを含むコンジュゲートを合成する方法であって、（ａ）ＨＲ２ポリペプチドを提供するステップ；および（ｂ）ＨＲ２ポリペプチドの樹脂結合アミンを樹脂上でカルボン酸を含有するＰＥＧおよび／またはコレステロールによって誘導体化するステップを含む方法。
【０３３４】
実施形態５７．実施形態１～１１または２９～３７のいずれか１つの構造的に安定化されたポリペプチドを含むコンジュゲートを合成する方法であって、（ａ）構造的に安定化されたポリペプチドを提供するステップ；および（ｂ）構造的に安定化されたポリペプチドの樹脂結合アミンを樹脂上でカルボン酸を含有するＰＥＧおよび／またはチオコレステロールによって誘導体化するステップを含む方法。
【０３３５】
実施形態５８．ＨＲ２ポリペプチドを含むコンジュゲートを合成する方法であって、（ａ）ＨＲ２ポリペプチドを提供するステップ；および（ｂ）ＨＲ２ポリペプチドの樹脂結合アミンを樹脂上でカルボン酸を含有するＰＥＧおよび／またはチオコレステロールによって誘導体化するステップを含む方法。
【０３３６】
実施形態５９．誘導体化するステップが、
チオコレステロールをジクロロメタン（ＤＣＭ）にまたはコレステロールをテトラヒドロフラン（ＴＨＦ）に溶解することによって溶液を生成するステップ；および
塩基、ブロモ酢酸のｔ－ブチルエステル、およびトリフルオロ酢酸を順番に溶液に添加するステップ
による固相合成によりカルボキシチオコレステロールまたはカルボキシコレステロールを組み込むことを含む；または
代替的に、組み合わせられたステップが、ワークアップもしくはカラムクロマトグラフィー後に逐次的に行われ得る、
実施形態５５～５８のいずれか１つの方法。
【０３３７】
実施形態６０．誘導体化するステップが、
樹脂に結合された構造的に安定化されたポリペプチドを、ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）を含む溶液中のピペリジンで処理すること；
構造的に安定化されたポリペプチドのＮ末端を無水酢酸でキャップすること；
構造的に安定化されたポリペプチドのＣ末端をＤＭＦ中のヒドラジンで脱保護すること；
構造的に安定化されたポリペプチドをＦｍｏｃ保護ＰＥＧ（ｎ）アミノ酸でアシル化すること；
構造的に安定化されたポリペプチドを架橋させること；および
構造的に安定化されたポリペプチドを樹脂から単離すること
をさらに含む、実施形態５５～５９のいずれか１つの方法。
【０３３８】
実施形態６１．ｎ＝１～３６である、実施形態６０の方法。

【０３３９】
実施形態６２．ｎ＝４、５、６、７、または８である、実施形態６０または６１の方法。
【０３４０】
実施形態６３．配列番号６のＣ末端リシンが、樹脂結合アミンで置換され、必要に応じて、配列番号６のＣ末端リシンが、樹脂結合カルボン酸またはチオールでさらに置換される、実施形態５５～６２のいずれか１つの方法。
【０３４１】
実施形態６４．コレステロールが、チオコレステロールである、実施形態５５～６３のいずれか１つの方法。
【０３４２】
実施形態６５．コンジュゲートが、ＰＥＧ（ｎ）－コレステロールを含み、ここで、ｎは、１～３６であり、必要に応じて、ｎは、４、５、６、７、または８である、実施形態５５～６３のいずれか１つの方法。
【０３４３】
実施形態６６．コンジュゲートが、ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを含み、ここで、ｎは、１～３６であり、必要に応じて、ｎは、４、５、６、７、または８である、実施形態５５～６４のいずれか１つの方法。
【０３４４】
実施形態６７．ペプチドを架橋させることが、ルテニウム触媒メタセシス反応による、実施形態５５～６６のいずれか１つの方法。
【０３４５】
実施形態６８．実施形態１～４３のいずれか１つの構造的に安定化されたペプチド、その薬学的に許容される塩、またはコンジュゲートを含むナノ粒子組成物であって、必要に応じて、ＰＬＧＡナノ粒子であり、さらに必要に応じて、２：９８～１００：０の範囲のＰＬＧＡナノ粒子の乳酸：グリコール酸比を含むナノ粒子組成物。
【０３４６】
実施形態６９．キトサン、デキストリン、またはそれらの両方をさらに含む、実施形態６８のナノ粒子組成物。
【０３４７】
実施形態７０．式
【化１１７】



（式中、ｎは、１～３６である）
を含むＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを含むリンカー。
【０３４８】
実施形態７１．式

【化１１８】



（式中、ｎは、１～３６である）
を含むＰＥＧ（ｎ）－コレステロールを含むリンカー。

【０３４９】

実施形態７２．ｎが、４、５、６、７、または８である、実施形態７０または７１のリンカー。

【０３５０】

実施形態７３．ＰＥＧに取り付けられたリシンをさらに含む、実施形態７０～７２のいずれか１つのリンカー。

【０３５１】

実施形態７４．それぞれ、

８＝（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニンまたは（Ｒ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン；および

Ｘ＝（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニンまたは（Ｓ）－α－（７’－オクテニル）アラニン

である、実施形態１～１１のいずれか１つの構造的に安定化されたペプチドまたは実施形態１２～２８のいずれか１つのコンジュゲート。

実施形態７５．

８＝（Ｒ）－α－（７’－オクテニル）アラニン；および

Ｘ＝（Ｓ）－α－（４’－ペンテニル）アラニン

である、実施形態１～１１のいずれか１つの構造的に安定化されたペプチドまたは実施形態１２～２８のいずれか１つのコンジュゲート。

【実施例】

【０３５２】

以下の実施例は、請求項に関わる発明をよりよく例証するために提供するものであり、本発明の範囲の限定と解釈すべきではない。具体的な材料に言及する場合には、それは、単に例証を目的としたものであり、本発明を限定することを意図したものではない。当業者は、発明の能力を行使することなく、および本発明の範囲から逸脱することなく、同等の手段または反応物を考え出すことができる。

【０３５３】

（実施例１）

Ｃ末端ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分によって誘導体化されたステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ペプチドの設計および合成

コロナウイルスと宿主細胞の融合を阻止することができるペプチド（図１）を設計するために、差次的に局在する化学的ステープルを有するステープル化ペプチドであって、Ｃ末端がＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分によって誘導体化された一連のステープル化ペプチドを、設計し、次いで、固相合成により樹脂上で合成した。差次的に局在する化学的ステープルを、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス２の表面（Ｓ）糖タンパク質の配列のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ドメイン（すなわち、アミノ酸１１６８～１２０５）（図２～４を参照されたい）内、好ましくは、アルファヘリックス領域（すなわち、アミノ酸１１７９～１１９７；図９を参照されたい）内に、ネイティブ残基を二重ステープルまたはステッチの形態のα，α二置換非天然

オレフィン残基（例えば、選ばれたｉ、ｉ＋７位においてＳ－ペンテニルアラニンが「Ｘ」におよびＲ－オクテニルアラニンが「８」に組み入れられた、または選ばれたｉ、ｉ＋４位の各々においてＳ－ペンテニルアラニンが「Ｘ」に組み入れられた）およびこれらの組合せに置き換えること、続いて、ルテニウム触媒オレフィンメタセシスを行うことにより、位置付けた（図５～７を参照されたい）。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２融合機構を標的とする最適なステープル化ペプチド構築物を設計、合成および同定するための本発明者らのアプローチは、ＰＥＧ－チオコレステロールまたはＰＥＧ－コレステロール部分とのコンジュゲーションのために、Ａｌａスキャン（例えば、変異体）、ステープルスキャン、ならびに可変Ｎ末端およびＣ末端欠失、付加および誘導体化ライブラリーの生成を含む（図８を参照されたい）。一部の好ましい設計は、ステープルを、コアＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ＨＲ２ヘリックス（例えば、配列番号４）の非相互作用性両親媒性面に、または疎水性相互作用面とヘリックスの両親媒性面の境界部の位置に、組み込む（図９を参照されたい）。

【０３５４】

ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールまたはＰＥＧ（ｎ）－コレステロール部分によるＣ末端誘導体化を有するステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２構築物は、２つのαヘリックスターンにわたるステープルを生成するようにｉ、ｉ＋７位（すなわち、隣接７アミノ酸）における２個の天然に存在するアミノ酸を非天然（Ｒ）－２－（（（９Ｈ－フルオレン－９－イル）メトキシ）カルボニルアミノ）－２－メチル－デカ－９－エン酸（Ｒ８）およびＳ－２－（４’－ペンテニル）アラニン（Ｓ５）アミノ酸に置き換えることにより、または１つのαヘリックスターンにわたるステープルを生成するようにｉ、ｉ＋４位における２個の天然に存在するアミノ酸を２個のＳ５非天然アミノ酸に置き換えることにより、設計した。α，α－二置換アミノ酸の非対称合成は、以前に詳細に記載されているように行った（Schafmeister et al., J. Am. Chem.Soc., 2000; Walensky et al., Science, 2004；Bird et al. Current Protocols in Chemical Biology, 2011、これらの各々は、その全体が参照により組み込まれる）。

【０３５５】

「ステープルスキャニング」を行って、最適化された構築物および陰性対照変異体の設計を決定づける相互作用に極めて重要な残基および結合表面をそれぞれ同定した。ペプチドＮ末端を、実験的適用に応じてアセチルまたはフルオロフォア（例えば、ＦＩＴＣ、ローダミン）でキャップした。

【０３５６】

二重ステープル化ペプチドを、２つのＳ５－Ｓ５、２つのＲ８－Ｓ５、または架橋非天然アミノ酸の他の組合せを組み入れることにより生成した。多重ステープル化またはステッチ化ペプチドは、同様な原理を使用して生成される。

【０３５７】

樹脂上でのチオコレステロールまたはコレステロールによるペプチド誘導体化を可能にするために、カルボキシ－チオコレステロールまたはカルボキシ－コレステロールを、上記の手順（方法および図１０を参照されたい）に従って合成した。完成した樹脂結合ペプチドをアセチル基で（無水酢酸の使用により）キャップし、続いて、２％ヒドラジンでの処理によりＣ末端側鎖リシンアミンの脱保護を行った。アミンをＦｍｏｃ保護ＰＥＧ（ｎ）アミノ酸（例えば、ｎ＝１～３６、例えば、１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５または３６）でアシル化し、この点で、オレフィンを、Ｇｒｕｂｂｓ（Ｉ）触媒で処理することにより架橋させた。ＦｍｏｃをＰＥＧ（ｎ）アミノ酸のＣ末端ＮＨから除去し、アミンをカルボキシ－チオコレステロールまたはカルボキシ－コレステロールでアシル化した。ペプチド脱保護および切断、ならびに逆相高速液体クロマトグラフィー／質量分析（ＬＣ／ＭＳ）による精製後に、最終ペプチド生成物を得た。図１１Ａ～１１Ｂにおける完全な合成スキームを参照されたい。合成スキームの使用により生成された、ＰＥＧ（ｎ）－チオコ

レステロールおよびＰＥＧ（ｎ）－コレステロールによって誘導体化された例示的なｉ，ｉ＋７ステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドを、図１２（配列番号７～２１）に収載する。

【０３５８】

（実施例２）

シュードタイプおよび生ウイルスアッセイにおける、抗ウイルス活性を達成するための、Ｃ末端ＰＥＧ４－チオコレステロールを有する最適にステープル化されたＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドの同定

本発明者らは、本発明者らの化学的スキームを適用して、ＰＥＧ４－チオコレステロール部分を配列番号５（Ｃ末端アミドを有する非ステープル化ペプチド）のＣ末端に付加させて配列番号６（Ｃ末端ＰＥＧ４－チオコレステロールを有する非ステープル化ペプチド）を生成することによって、不活性ＨＲ２ペプチドが活性構築物に変換されることを初めて実証し、この活性構築物は、Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１シュードウイルス、２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞、および５００ｎＭで出発するペプチド２倍段階希釈を使用するシュードウイルスアッセイ（方法を参照されたい）において、用量応答性抗ウイルス活性を呈した（図１３を参照されたい）。次いで、本発明者らは、樹脂上で付加されたＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有するステープル化ＨＲ２ペプチド（ステープルＤ、配列番号１０）が、Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１、Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１、Ｂ．１．５２６、Ｂ．１．４２７、Ｂ．１．７をはじめとする一連のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２シュードウイルスバリアントにわたるウイルス接種の前に細胞をペプチド（１μＭ）で処置したか後に処置したかを問わず、シュードウイルスアッセイにおいて一貫したかつ強力な抗ウイルス活性を提示することを実証した（図１４を参照されたい）。その一方で、ＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する対応する非ステープル化ペプチド（配列番号６）は、ウイルス接種後に適用したとき効果がなく、同じ一連のＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２シュードウイルスバリアントによるウイルス接種の前に適用したときでもステープル化配列と比較して低い抗ウイルス活性を提示した（図１４を参照されたい）。

【０３５９】

本発明者らは、シュードウイルスアッセイ（シュードウイルス：Ｂ．１．５２６；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；１ｍＭで出発する段階希釈）において非ステープル化構築物（配列番号６）とＨＲ２ヘリックスの非相互作用性疎水性面上にｉ，ｉ＋７ステープルを有する２つのステープル化構築物（配列番号１０および１７）とを比較した。配列番号１０のステープル化ＨＲ２ペプチド（ステープルＤ）は、最も強力な、用量応答性抗ウイルス活性を示し、これに、配列番号６の非ステープル化ペプチドが続いた；注目すべきことに、配列番号１７のステープル化ペプチド（ステープルＫ）は、そのステープルが、ＨＲ２ヘリックスの非相互作用面にも局在するにもかかわらず、シュードウイルスアッセイにおいて最小の活性であった（図１５を参照されたい）。これらのデータは、最適なステープル位置を特定することが予測不可能であることを明確に示しており、この（これらの）位置を実験に基づいて決定しなければならない。

【０３６０】

この解析を拡大するために、本発明者らは、次に、樹脂上で付加させたＣ末端ＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの差次的な抗ウイルス活性を評価した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２シュードウイルスアッセイ（シュードウイルス：Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；１００、３００、１０００ｎＭのペプチド用量）において、配列番号１１、１４および１５のペプチド（それぞれ、ステープルＥ、Ｈ、Ｉ）は、活性をほとんどまたは全く示さず、配列番号１３および１６のペプチド（それぞれ、ステープルＧおよびＪ）は、中程度の活性を提示したのに対して、配列番号１０のペプチド（ステープルＤ）は、様々なステープル化ＨＲ２ペプチド間で比類なく強力な活性を有するものとして目を引いた（図１６を参照されたい）。次に、本発明者らは、生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２アッセイにおいてペプチド活性のこの階層を実証しようとした。本発明者らは、Ｃ末端ＰＥＧ４－チオコレステロール部分を有する同じ

一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの差次的な抗ウイルス活性を試験した。このＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２生ウイルスアッセイ（生ウイルス：ＵＳＡ－ＷＡ１／２０２０；細胞：ＶｅｒｏＢ６；ペプチド用量範囲８～１０００ｎＭ）において、配列番号１１、１４、１５のペプチド（ステープルＥ、Ｈ、Ｉ）は、活性をほとんどまたは全く示さず、配列番号１３、１６のペプチド（ステープルＧ、Ｊ）は、中程度の活性を提示したのに対して、配列番号１０のペプチド（ステープルＤ）は、図１６に示されているシュードウイルスアッセイ結果と一致して、様々なステープル化ＨＲ２ペプチド間で比類なく強力な活性を有するものとして目を引いた（図１７を参照されたい）。ＨＲ２配列のアルファヘリックス部分の完全ｉ，ｉ＋７ステープルスキャンの実施、次いで、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ベータ株を使用する生ウイルスアッセイでの得られた構築物の試験において、本発明者らは、再度、配列番号１０（ステープルＤ）が、３つの追加のステープル位置（ステープル位置Ｇ、ＫおよびＮをそれぞれ有する配列番号１３、１７および２０）とともに、最も強力な抗ウイルス活性の１つを呈することを見出した（図１８Ａ）。強力な抗ウイルス活性をもたらす選ばれた少数の構築物（配列番号１０、１３、１７、２０）は、ヘリカルホイール描画（図１８Ｂ）により実証されるように、ＨＲ２アルファヘリックス表面の局所的領域に分散して共局在する。シュードウイルスアッセイにおいて試験したＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントの中で、Ｃ末端ＰＥＧ４チオコレステロール部分を有する配列番号１０（ステープルＤ）に対応するステープル化リポペプチドは、オミクロンバリアントに対して最も活性が高く（図１９）、ベータおよびデルタを含むＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２生ウイルス株に対しても強力な抗ウイルス活性を呈した（図２０）。Ｃ末端ＰＥＧ４チオコレステロール部分を有する配列番号１３および２０に対応する追加の構築物も、多様なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントおよびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１シュードウイルスならびに生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ベータ株ウイルスに対して一貫した抗ウイルス活性を呈した（図２１～２３）。二者択一的にＨＲ１コアと接触するかまたは溶媒に露出される（図２４Ａ）ＨＲ２配列内の変異誘発が許容されることが、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１シュードウイルスアッセイにおける抗ウイルス効力の保持によって明示されるように、Ｃ末端ＰＥＧ４チオコレステロール部分を有する配列番号１０における例示的なアラニン置換について実証された（図２４Ｂ）。

【０３６１】

まとめると、これらのデータは、（１）オンレジン方法論を使用してＨＲ２ペプチドのＣ末端にＰＥＧ４－チオコレステロール部分を付加することによって、強力な、用量応答性の抗ウイルス活性を付与することができること；（２）ステープル化によって、非ステープル化アナログと比較してペプチド活性を増強することができるばかりでなく、培養下でウイルス接種の前に投与されるか後に投与されるかを問わず抗ウイルス活性を達成することもできること；および（３）裏付けとなるシュードウイルスおよび生ウイルスアッセイによって、活性がより小さいまたは活性がない差次的にｉ，ｉ＋７ステープル化されたペプチドの完全パネルの中から、選ばれた少数の比類無く強力なステープル化ＨＲ２ペプチド（配列番号１０、１３、１７および２０）が有効に同定され、このことは、強力な抗ウイルス活性を達成するための最適なステープル位置の識別は予測不可能であり、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗ウイルスアッセイにおいて実験的に決定しなければならないことを強調すること、を示す。

【０３６２】

（実施例３）

シュードタイプおよび生ウイルスアッセイにおける、抗ウイルス活性を達成するための、Ｃ末端ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを有するステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ＨＲ２ペプチド内の最適なＰＥＧリンカー長の決定

チオコレステロールまたはコレステロール部分にステープル化ＨＲ２ペプチドを連結させるための最適なＰＥＧ鎖長を決定するために、ｎが３、４、５、６、７および８である、一連のＰＥＧ（ｎ）アナログを上記の合成方法に従って生成した。可変長ＰＥＧリンカーによって間隔をあけられた配列番号１０（ステープルＤ）とチオコレステロールとを有

するこの一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドの抗ウイルス活性を、一連の５つのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントにわたってシュードウイルスアッセイにおいて調べた（シュードウイルス：Ｗｕｈａｎ－Ｈｕ－１、Ｂ．１．４２７／Ｂ．１．４２９、Ｂ．１．６１７．２、Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１、ブラジルバリアントＰ．１；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２：１μＭで出発する段階希釈）。ＰＥＧ８リンカーを有する配列番号１０（ステープルＤ）のペプチドは、このシュードウイルスアッセイにおいて最も強力な用量応答性の活性を提示した（図２５Ａ～２５Ｅを参照されたい）。

【０３６３】

次に、本発明者らは、生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２アッセイにおいてＰＥＧ（ｎ）リンカー長に基づくペプチド活性の階層を実証しようとした。本発明者らは、樹脂上で構築した、ｎ＝３、４、５、６、７または８個のＰＥＧ部分のＰＥＧ（ｎ）リンカーと付加されたＣ末端チオコレステロールとを有する配列番号１０の同じ一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチド（ステープルＤ）の、差次的な抗ウイルス活性を、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２生ウイルスアッセイ（生ウイルス：南アフリカＢ．１．３５１；細胞：ＶｅｒｏＢ６；ペプチド２倍段階希釈用量範囲１０００～４ｎＭ）において試験した。シュードウイルスアッセイに関して、ＰＥＧ８リンカー部分を有する構築物は、このＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２生ウイルスアッセイにおいて最も強力な用量応答性の活性を提示した（図２６を参照されたい）。

【０３６４】

次に、本発明者らは、ｎ＝１０、１２、１４、１６および２０に対応するよりいっそう長いＰＥＧ（ｎ）リンカーを有する配列番号１０（ステープルＤ）の一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチドを生成した。ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２オミクロン（図２７）およびＳＡＲＳ－ＣｏＶ－１（図２８）シュードウイルスアッセイ、ならびに生ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ベータ株（図２９）ウイルスアッセイにわたって、より長いリンカー長は、ＰＥＧ８リンカー長と同様に有効であり、一部の場合にはそれよりさらにいっそう有効であった。まとめると、本発明者らは、ステープル化ＨＲ２ペプチドとチオコレステロール誘導体化の間のＰＥＧリンカーの長さを、抗ウイルス活性を最大にするように最適化することができることを見出し、シュードウイルスおよび生ウイルスアッセイにわたって証明されるように、ＰＥＧ８およびより長いＰＥＧ長が最高の活性を有し、一連の他の構築物と比較して、ＰＥＧ０およびＰＥＧ３が最も効力の低い活性を示す。ＰＥＧ８およびより長いリンカーが優れていること、ならびにＰＥＧ４～８およびより長い種と比較してＰＥＧ３が劣っていることは、予測できなかったことであり、ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗ウイルスアッセイにおける実験上の決定を必要とした。

【０３６５】

（実施例４）

Ｃ末端ＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを有するステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ＨＲ２ペプチドの抗ウイルス作用機序の特異性

ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ウイルスに対する本発明のペプチドの特異性を調べるために、可変ＰＥＧ長（ｎ＝３～８）のＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分を有する一連のｉ，ｉ＋７ステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチド（ステープルＤ、配列番号１０）を、ＭＬＶコアを有するＶＳＶのシュードウイルスアッセイにおいて試験した。対応する非ステープル化ペプチドは、ある程度の非特異的抗ウイルス活性（２．５μＭ投薬、４８時間）を呈したが、ｎ＝３、４、５、６、７または８のＰＥＧリンカーを伴うＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロールを有するステープル化ＨＲ２構築物はいずれも、抗ＶＳＶシュードウイルス活性を一切示さなかった（図３０を参照されたい）。

【０３６６】

次に、本発明者らは、樹脂上で合成により生成したＰＥＧ（ｎ）－チオコレステロール部分を有する本発明の非ステープル化またはステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドが、抗ウイルス用量有効範囲内で何らかの細胞傷害を提示するかどうかを調べた。本発明の配列番号６のペプチドを、ＧＳＧＳＧＣリンカーと溶液中でＣ末端に付加され

たＰＥＧ４－コレステロールとを有する代替的に合成された非ステープル化ＨＲ２構築物（DeVries et al, Science, 2021）と比較すると、本発明者らの上記のオンレジン法に従って生成した配列番号６の非ステープル化ＨＲ２ペプチドは、生ウイルスアッセイ（生ウイルス：南アフリカＢ．１．３５１；細胞：ＶｅｒｏＢ６：ペプチド用量範囲４～１０００ｎＭ）において比較的増強された抗ウイルス活性を示したことが分かる（図３１を参照されたい）。さらに、配列番号６の非ステープル化ＨＲ２ペプチド、および配列番号１０の対応するｉ，ｉ＋７ステープル化ＨＲ２ペプチド（ステープルＤ、ＰＥＧ４－チオコレステロール（thicholesterol））は、ＤＲＡＱ７およびＨｏｅｃｈｓｔ　３３３４２染色により測定して、抗ウイルス用量有効範囲にわたって細胞傷害活性を示さなかったのに対して、ＧＳＧＳＧＣリンカーとＣ末端に付加されたＰＥＧ４－コレステロールとを有する非ステープル化ＨＲ２ペプチド（DeVries et al, Science, 2021）は、投薬範囲内で細胞を死滅させた（シュードウイルス：Ｄ６１４Ｇ　Ｂ．１；細胞：２９３Ｔ－ＡＣＥ２；１μＭで出発する２倍段階希釈；読み出し：４８時間）（図３２を参照されたい）。

【０３６７】

（実施例５）

Ｃ末端ＰＥＧ８－Ｃｈｏｌを有するステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　ＨＲ２ペプチドのバリアントにわたってのＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２　５－ＨＢ結合活性および広いＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２抗ウイルス活性

直接蛍光偏光結合アッセイは、Ｃ末端がＰＥＧ８－Ｃｈｏｌによって誘導体化され、Ｎ末端がアセチルの代わりにＦＩＴＣ－β－Ａｌａによって誘導体化された、配列番号１０に対応する組成のステープル化リポペプチドの、ＦＩＴＣステープル化リポペプチドの付加によって融合性６ヘリックスバンドルが完成するＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２の組換え５ヘリックスバンドル（５－ＨＢ）への、低いナノモル濃度の結合親和性を明らかにした（ペプチド：５ｎＭ；配列

【化１１９】

MQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSGGS
GGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGSSGGQKLIANQFNSAI
GKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSGGSGGDISGINASVVN
IQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGSSGGQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASA
LGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSSSGGHHHHHH (配列番号78)

の５－ＨＢタンパク質　１０００ｎＭからの段階希釈）（図３３）。ＰＥＧ８－ＣｈｏｌによってＣ末端が誘導体化された配列番号１０のステープル化リポペプチドは、（ａ）多種多様なＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２バリアントシュードウイルス（２９３－ＡＣＥ２細胞、ＧＦＰ発現シュードウイルス、ペプチド（１０００ｎＭからの段階希釈）、４８時間の読み出し）（図３４）；（ｂ）オミクロンバリアント（２９３Ｔ－ＡＣＥ２細胞、ＧＦＰ発現シュードウイルス、ペプチド（２５０ｎＭからの段階希釈）、４８時間の読み出し）（図３５）；（ｃ）ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ベータおよびデルタ生ウイルス（Ｖｅｒｏ細胞、ペプチド（１００ｎＭからの段階希釈）、４８時間の読み出し）（図３６）；および（ｄ）一般的なヒトコロナウイルス、例えば、アルファコロナウイルスＮＬ６３（図３７）に対して、強力な抗ウイルス活性を呈した。

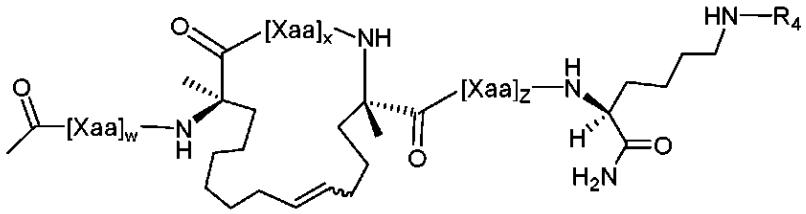
【０３６８】

（実施例６）

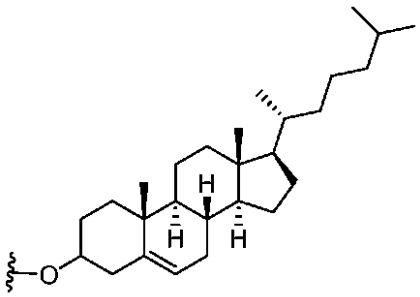
Ｃ末端ＰＥＧ（８）－コレステロール部分によって誘導体化されたステープル化ＳＡＲＳ－ＣｏＶ－２ペプチドの調製

上記の実施例１で説明した手順に基づいて次の化合物を調製した：下記の式により表される構造的に安定化されたペプチドコンジュゲート：

【化１２０】



（式中、
　R_4は、－Ｃ（Ｏ）－（CH_2CH_2）－［Ｏ－CH_2CH_2］$_8$－Ｎ（Ｈ）Ｃ（Ｏ）－（CH_2）－R_6であり；
　R_6は、
【化１２１】



であり；
　［Ｘａａ］$_w$は、ＤＩＳＧＩＮＡＳＶＶＮＩＱ（配列番号３５）であり；
　［Ｘａａ］$_x$は、ＥＩＤＲＬＮ（配列番号３６）であり；および
　［Ｘａａ］$_z$は、ＶＡＫＮＬＮＥＳＬＩＤＬＱＥＬＧ（配列番号７７）である）。
【０３６９】
　他の実施形態
　本発明をその詳細な説明と併せて説明したが、上述の説明は、本発明を例証することを意図したものであり、本発明の範囲を限定することを意図したものではなく、本発明の範囲は、添付の請求項の範囲により定義される。他の態様、利点および修飾形態は、下記の特許請求の範囲内である。

【図面】

【図１】

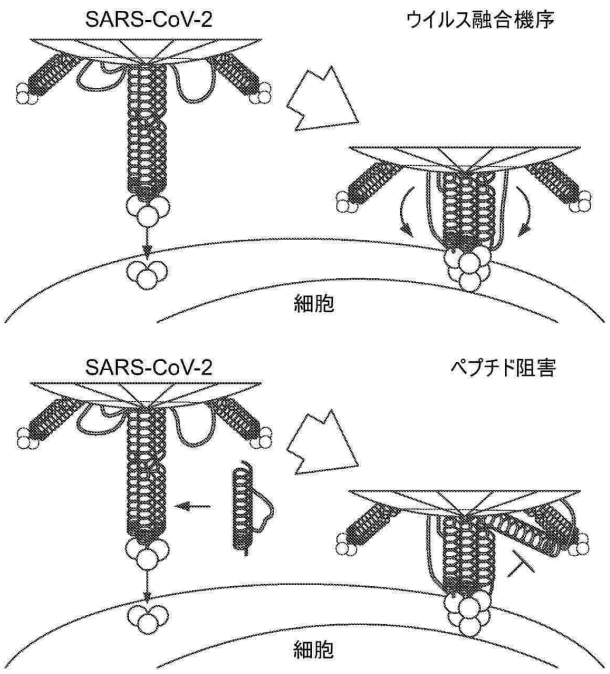


FIG. 1

【図２】

>QHD43416 (L=1273)

MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHS
TQDLFLPFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNI
IRGWIFGTTLDSKTQSLLIVNNATNVVIKVCEFQFCNDPFLGVYYHKNNK
SWMESEFRVYSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGY
FKIYSKHTPINLVRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLLALHRSYLT
PGDSSSGWTAGAAAYYVGYLQPRTFLLKYNENGTITDAVDCALDPLSETK
CTLKSFTVEKGIYQTSNFRVQPTESIVRFPNITNLCPFGEVFNATRFASV
YAWNRKRISNCVADYSVLYNSASFSTFKCYGVSPTKLNDLCFTNVYADSF
VIRGDEVRQIAPGQTGKIADYNYKLPDDFTGCVIAWNSNNLDSKVGGNYN
YLYRLFRKSNLKPFERDISTEIYQAGSTPCNGVEGFNCYFPLQSYGFQPT
NGVGYQPYRVVVLSFELLHAPATVCGPKKSTNLVKNKCVNFNFNGLTGTG
VLTESNKKFLPFQQFGRDIADTTDAVRDPQTLEILDITPCSFGGVSVITP
GTNTSNQVAVLYQDVNCTEVPVAIHADQLTPTWRVYSTGSNVFQTRAGCL
IGAEHVNNSYECDIPIGAGICASYQTQTNSPRRARSVASQSIIAYTMSLG
AENSVAYSNNSIAIPTNFTISVTTEILPVSMTKTSVDCTMYICGDSTECS
NLLLQYGSFCTQLNRALTGIAVEQDKNTQEVFAQVKQIYKTPPIKDFGGF
NFSQILPDPSKPSKRSFIEDLLFNKVTLADAGFIKQYGDCLGDIAARDLI
CAQKFNGLTVLPPLLTDEMIAQYTSALLAGTITSGWTFGAGAALQIPFAM
QMAYRFNGIGVTQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQD
VVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRLDKVEAEVQIDRLITGR
LQSLQTYVTQQLIRAAEIRASANLAATKMSECVLGQSKRVDFCGKGYHLM
SFPQSAPHGVVFLHVTYVPAQEKNFTTAPAICHDGKAHFPREGVFVSNGT
HWFVTQRNFYEPQIITTDNTFVSGNCDVVIGIVNNTVYDPLQPELDSFKE
ELDKYFKNHTSPDVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDL
QELGKYEQYIKWPWYIWLGFIAGLIAIVMVTIMLCCMTSCCSCLKGCCSC
GSCCKFDEDDSEPVLKGVKLHYT

(配列番号1)

FIG. 2

【図３】

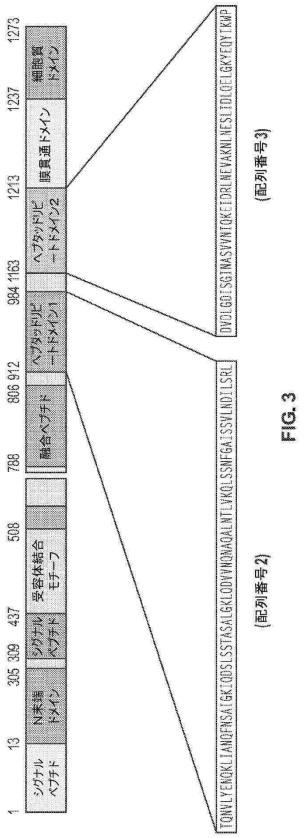


FIG. 3

【図４】

HR1

配列番号2

912-TQNVLYENQKLIANQFNSAIGKIQDSLSSTASALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRL-984 (SARS-CoV-2)
TQNVLYENQK IANQFN AI IQ+SL T ALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRL 相同性
894-TQNVLYENQKQIANQFNKAISQIQESLTTTSTALGKLQDVVNQNAQALNTLVKQLSSNFGAISSVLNDILSRL-966 (SARS, c.2004)

配列番号72

HR2

配列番号3

1163-DVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWP-1213 (SARS-CoV-2)
DVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWP 相同性
1145-DVDLGDISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGKYEQYIKWP-1195 (SARS, c.2004)

配列番号73

FIG. 4

【図５】

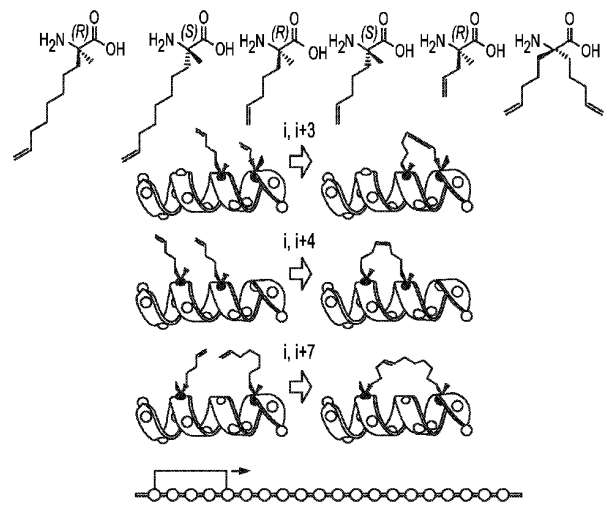


FIG. 5

【図６】

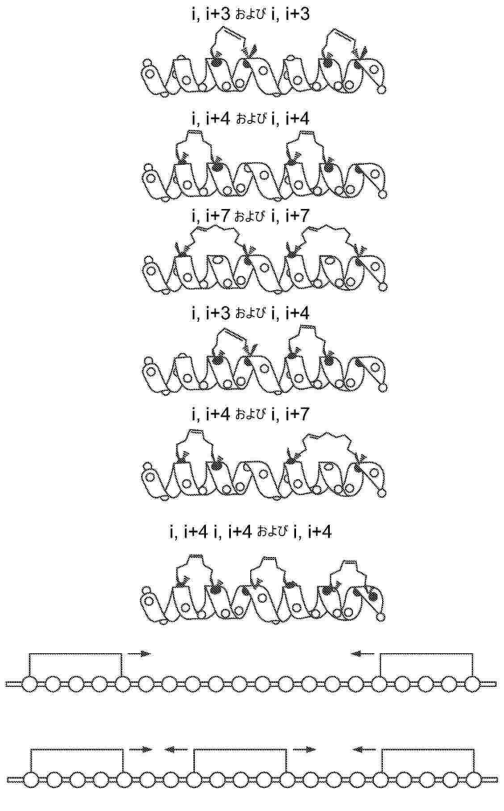


FIG. 6

【図７】

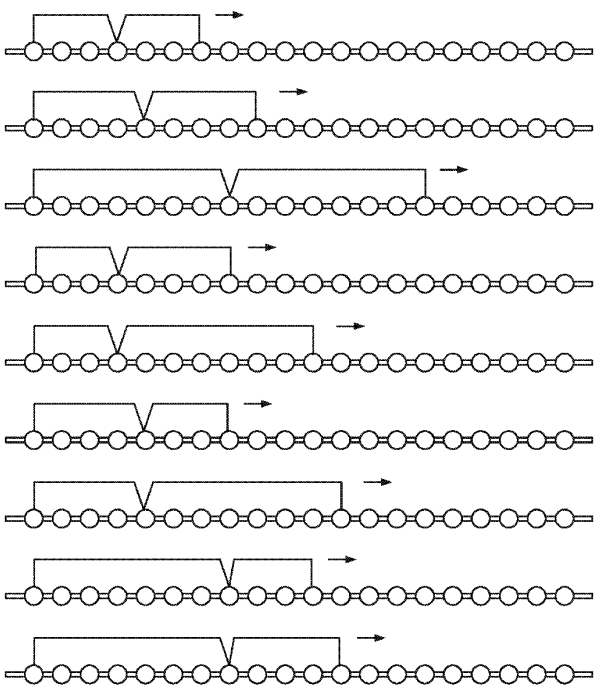


FIG. 7

【図８】

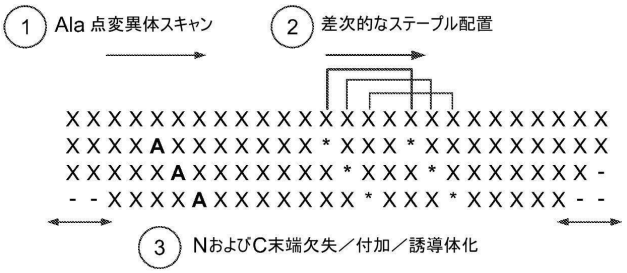
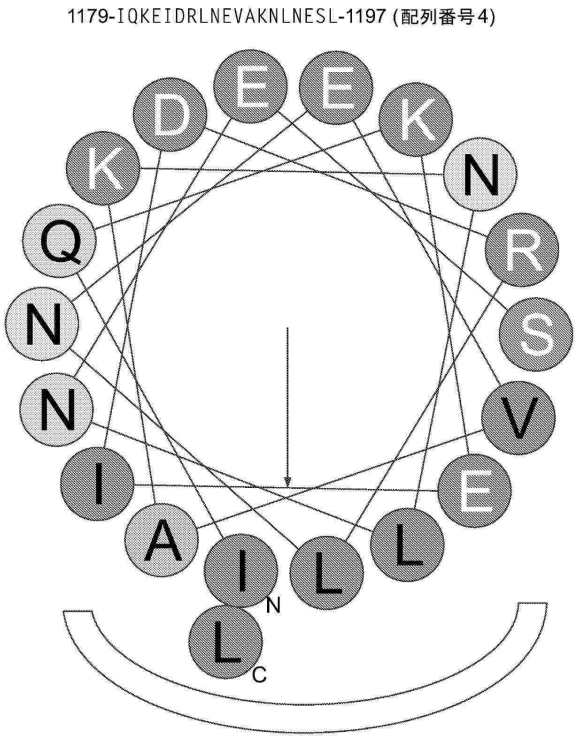


FIG. 8

【図９】



相互作用表面

FIG. 9

【図１０】

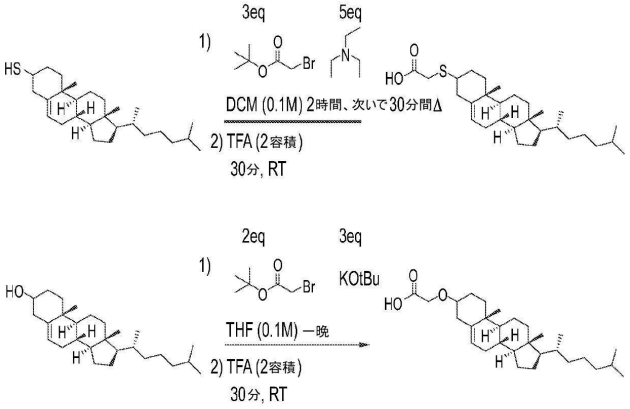


FIG. 10

【図１１Ａ】

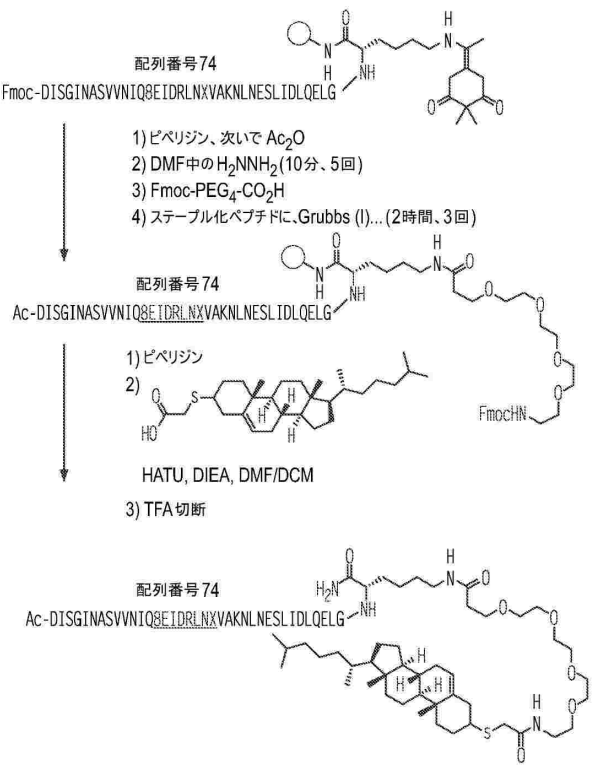


FIG. 11A

【図１１Ｂ】

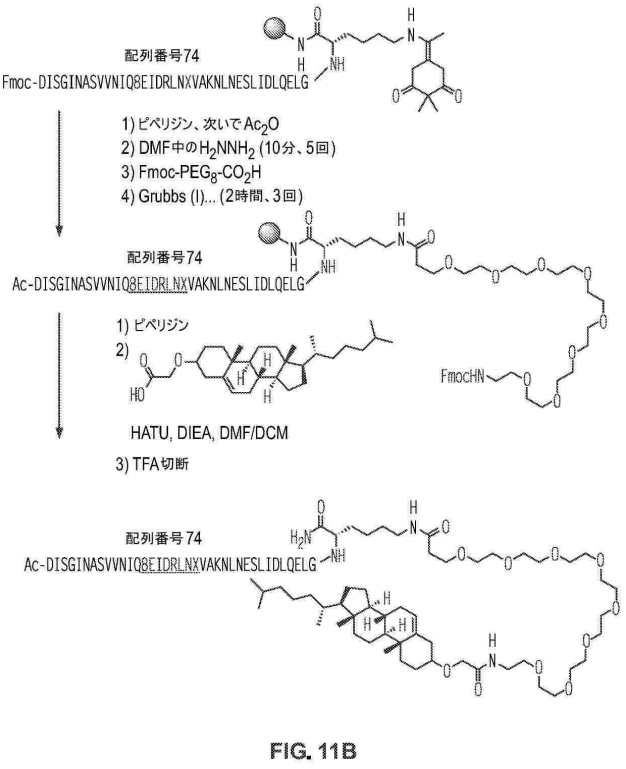


FIG. 11B

【図１２】

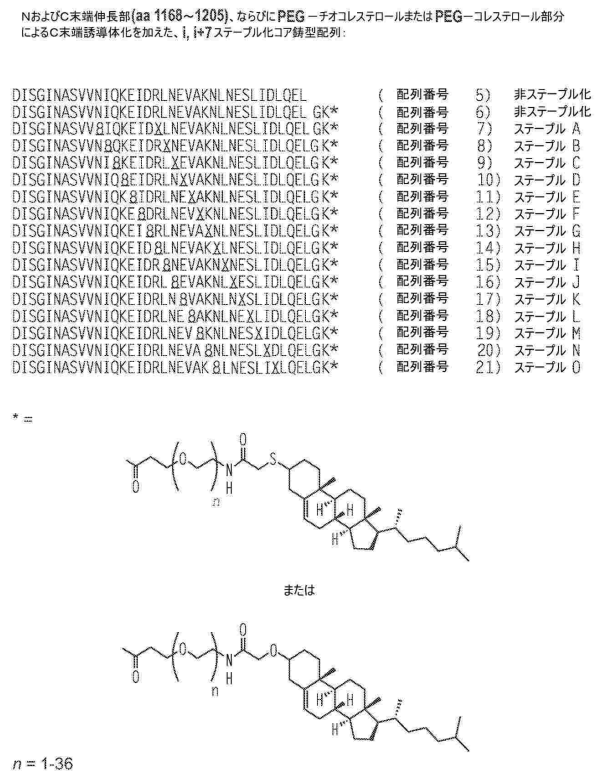
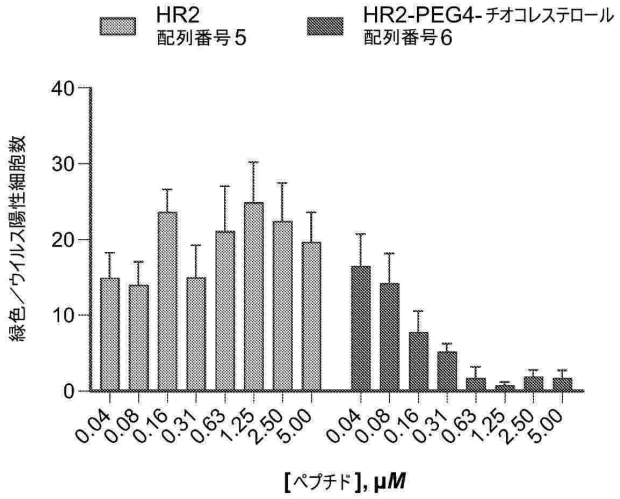


FIG. 12

【図１３】



シュードウイルス：Wuhan-Hu-1
細胞：293T-ACE2
時間：72時間

FIG. 13

【図１４】

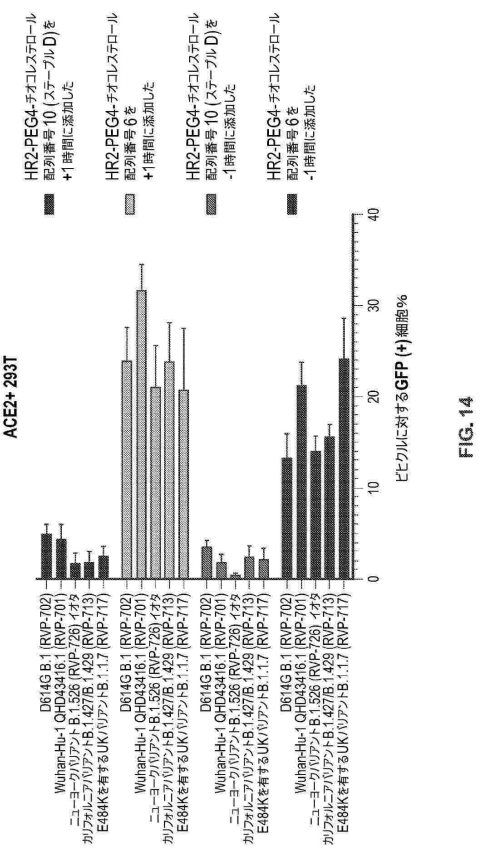


FIG. 14

【図１５】

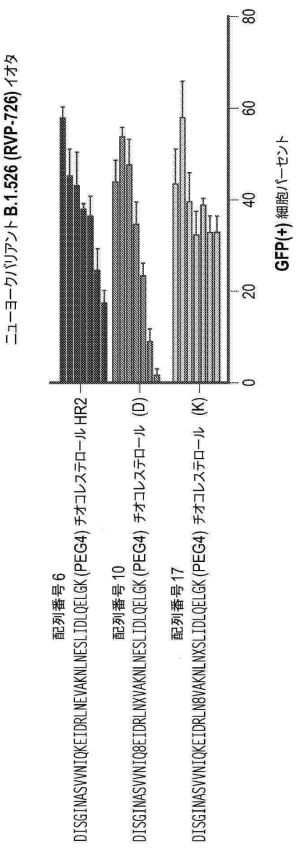


FIG. 15

【図１６】

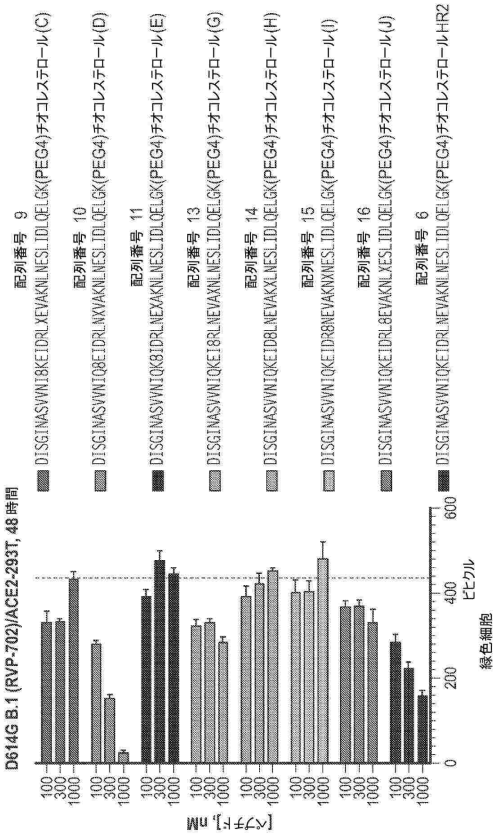


FIG. 16

【図１７】

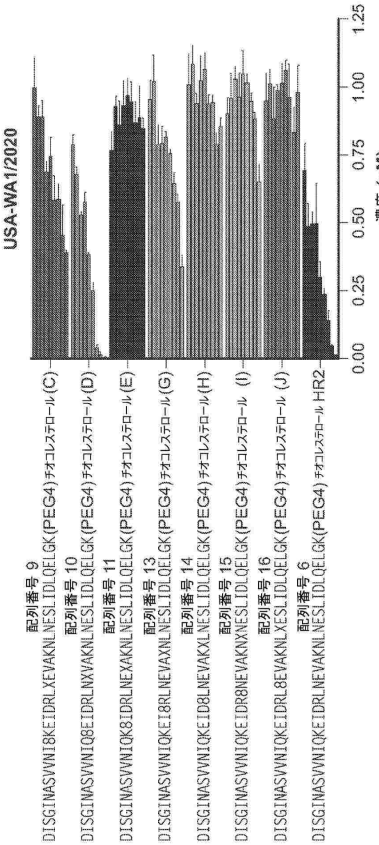


FIG. 17

【図１８Ａ】

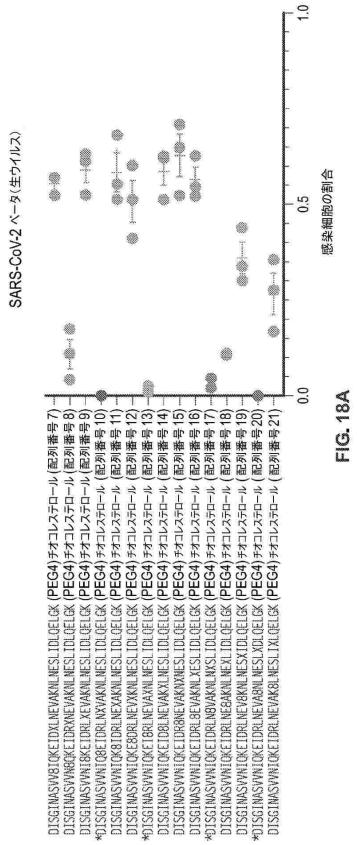


FIG. 18A

【図１８Ｂ】

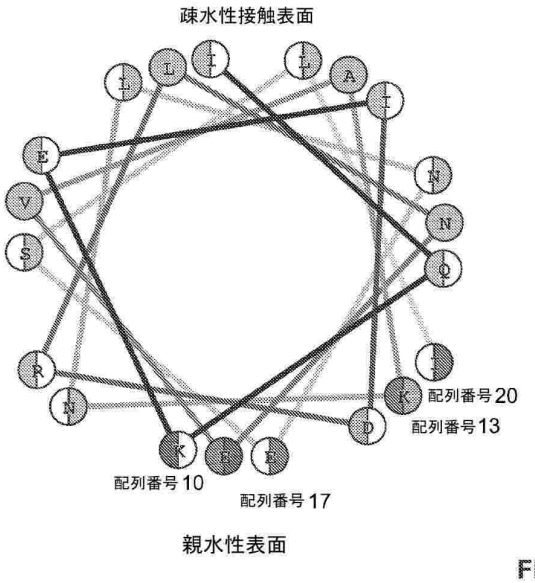
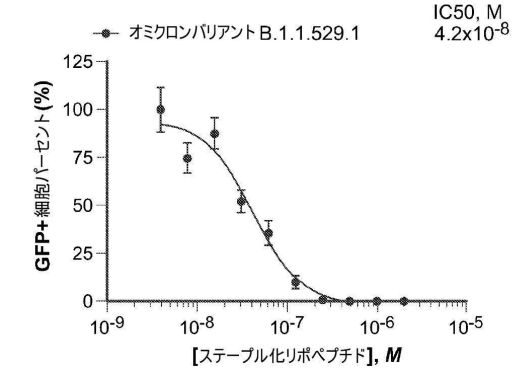


FIG. 18B

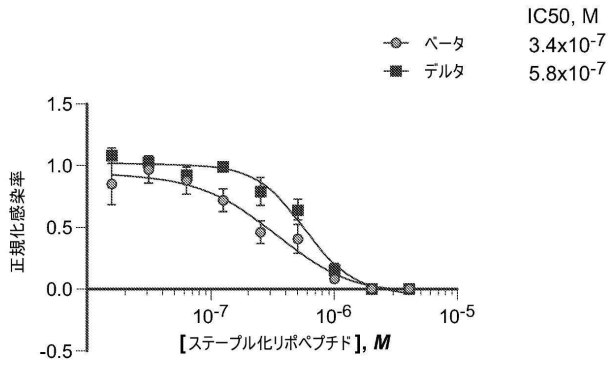
【図１９】



配列番号10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4)チオコレステロール

FIG. 19

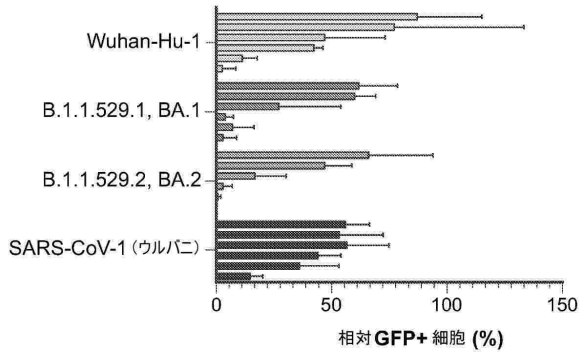
【図２０】



配列番号10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG4)チオコレステロール

FIG. 20

【図２１】

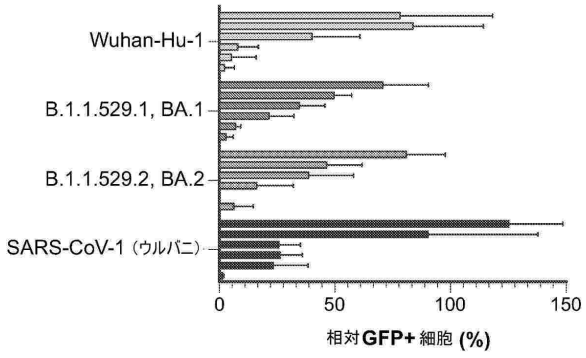


配列番号13

DISGINASVVNIQKEI8RLNEVAXNLNESLIDLQELGK (PEG4) チオコレステロール

FIG. 21

【図２２】



配列番号20

DISGINASVVNIQKEIDRLNEVA8NLNESLXDLQELGK (PEG4) チオコレステロール

FIG. 22

【図２３】

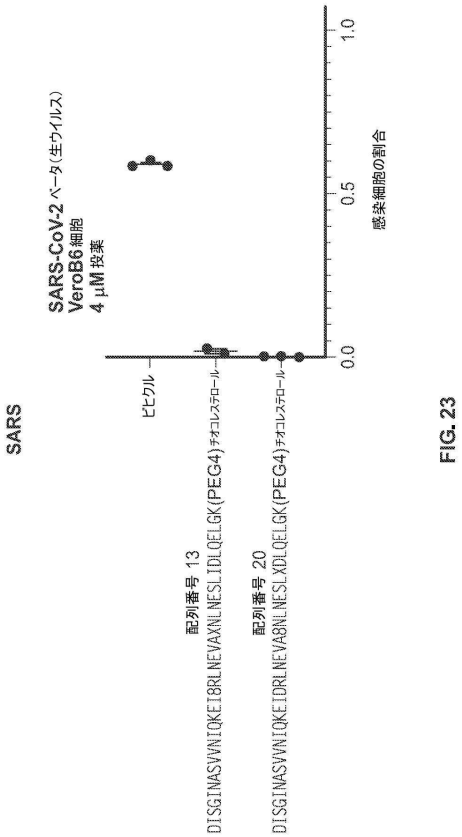


FIG. 23

【図２４Ａ】

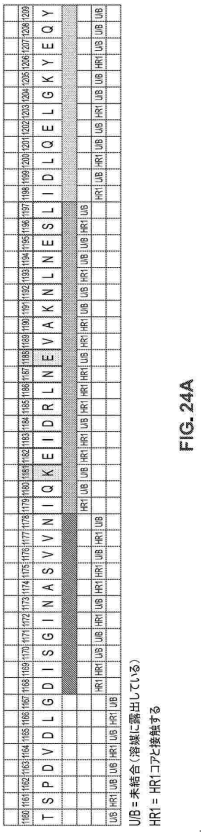


FIG. 24A

【図２４Ｂ】

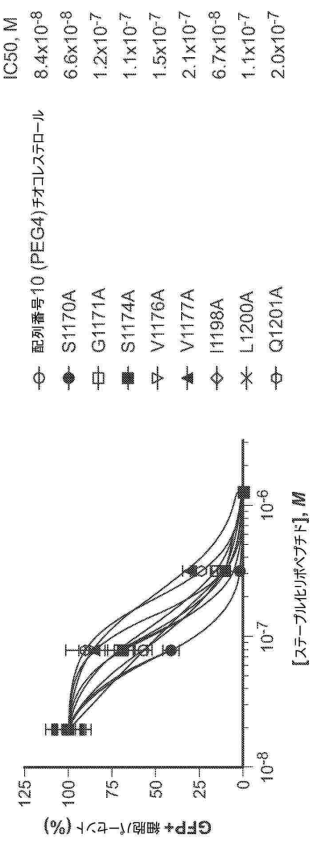


FIG. 24B

【図２５Ａ－Ｂ】

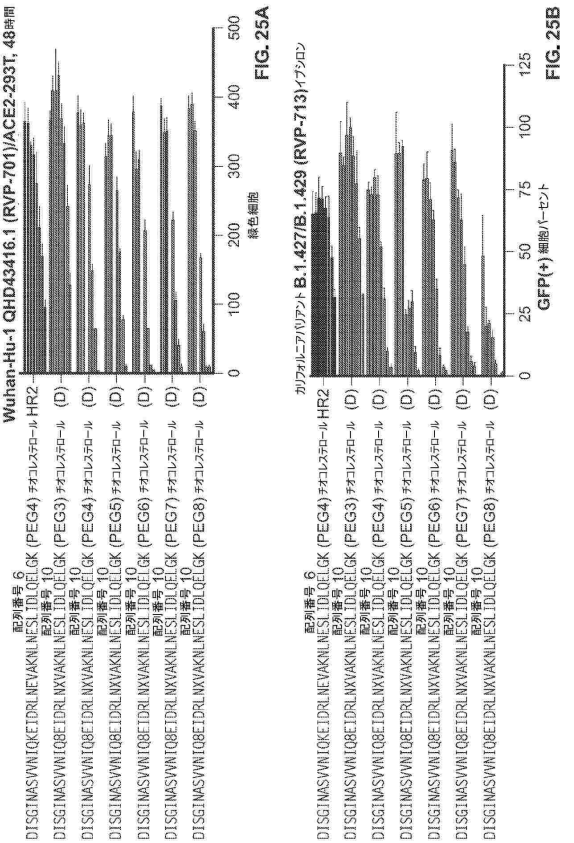


FIG. 25A

FIG. 25B

【図２５Ｃ－Ｄ】

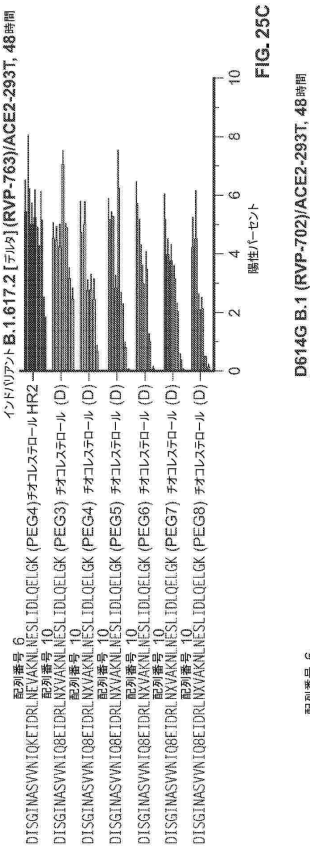


FIG. 25C

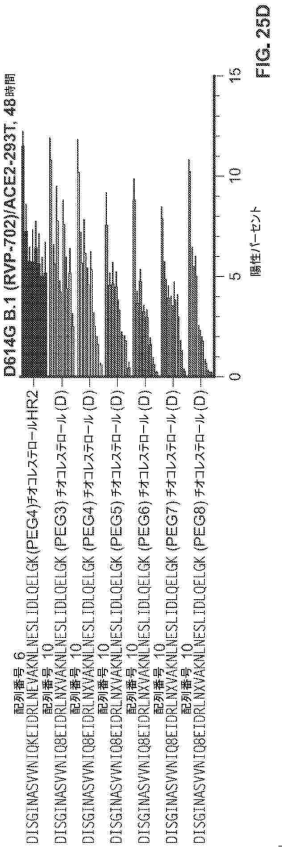


FIG. 25D

【図２５Ｅ】

FIG. 25E

【図２６】

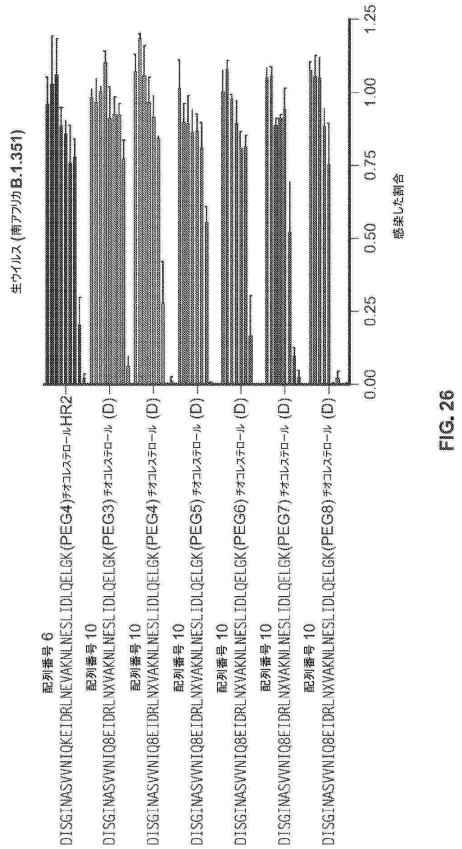


FIG. 26

【図２７】

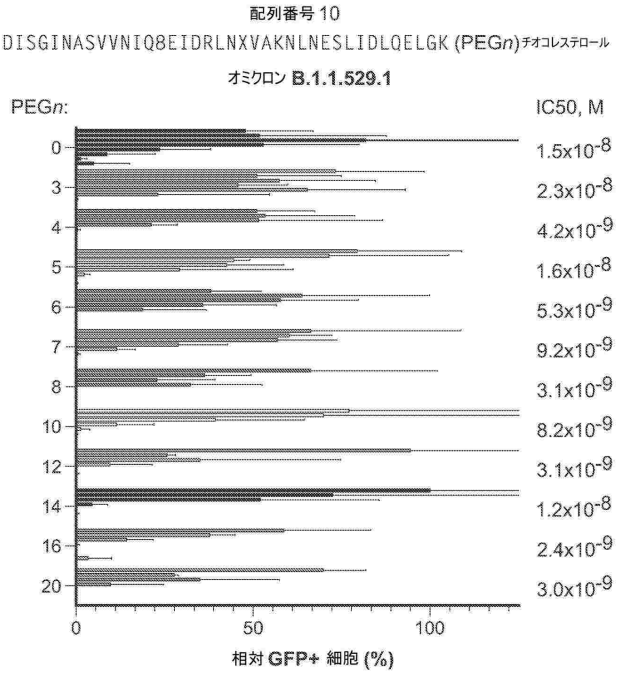


FIG. 27

【図２８】

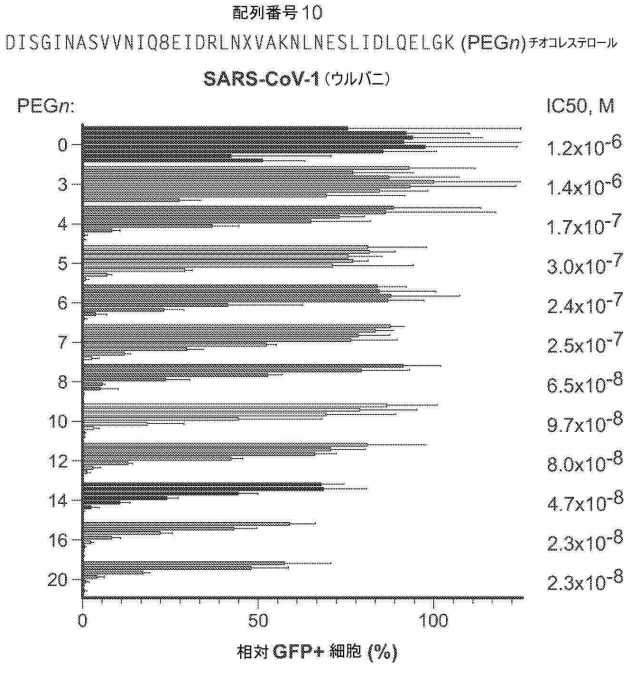


FIG. 28

【図２９】

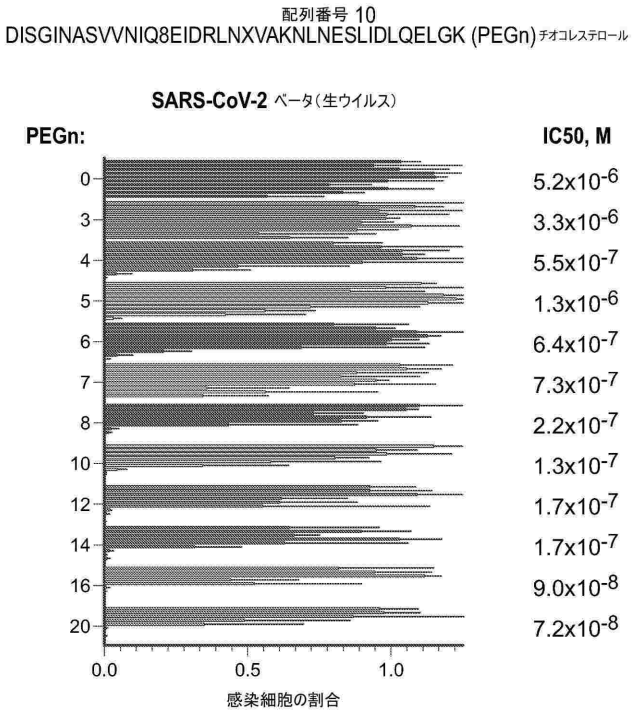


FIG. 29

【図３０】

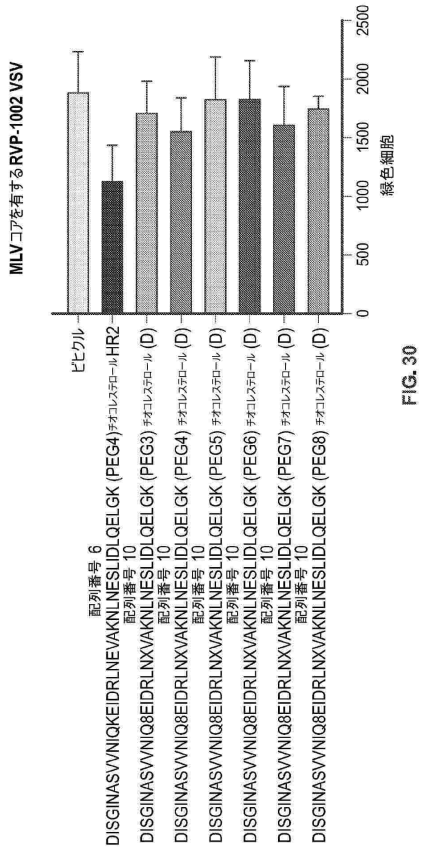
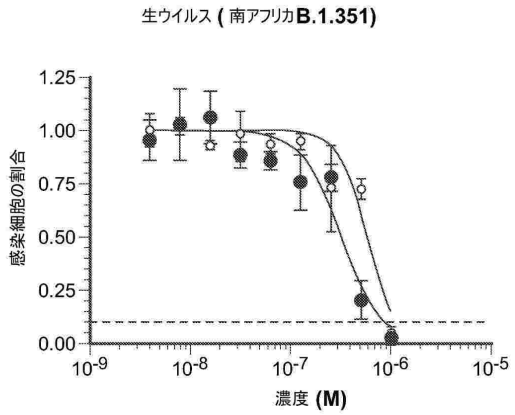


FIG. 30

【図３１】



配列番号 10
● DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGK(PEG4)チオコレステロールHR2

配列番号 71
○ DISGINASVVNIQKEIDRLNEVAKNLNESLIDLQELGSGSG (PEG4)コレステロールHR2

FIG. 31

【図３２】

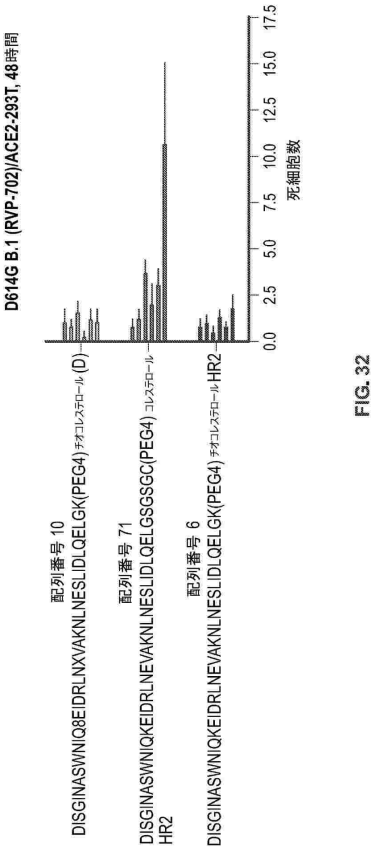
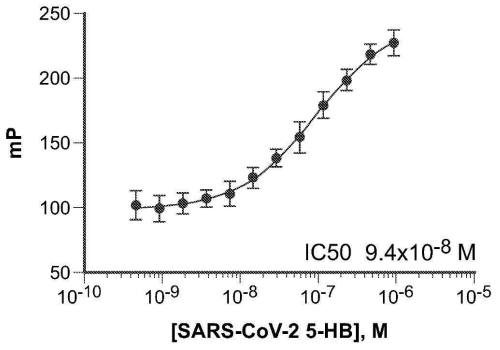


FIG. 32

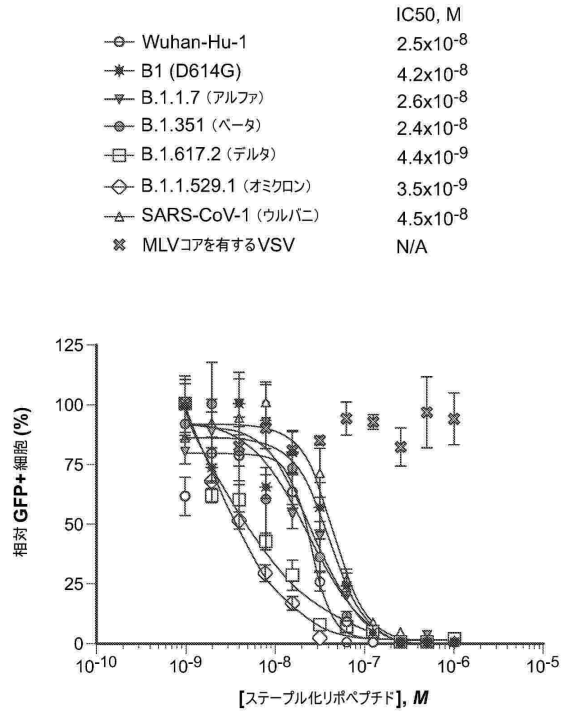
【図３３】



配列番号 10
DISGINASVVNIQ8EIDRLNXVAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) Chol

FIG. 33

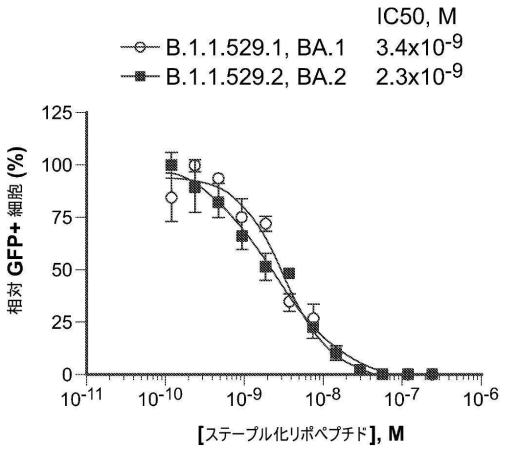
【図３４】



配列番号 10
DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) Chol

FIG. 34

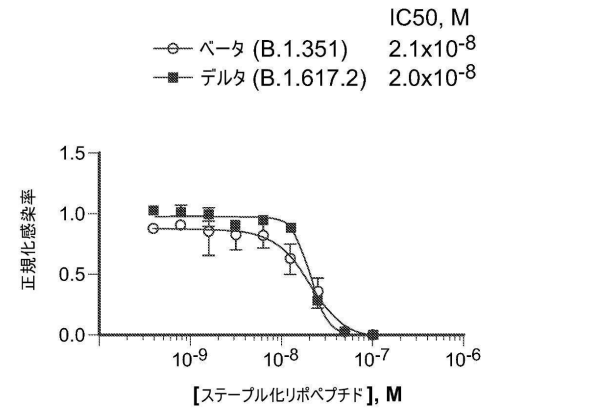
【図３５】



配列番号 10
DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) Chol

FIG. 35

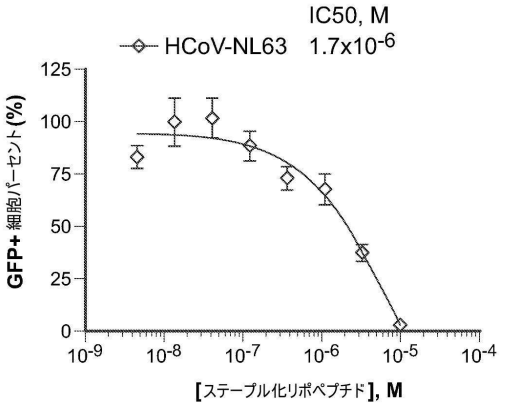
【図３６】



配列番号 10
DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) Chol

FIG. 36

【図３７】



配列番号 10
DISGINASVVNIQ**8**EIDRLN**X**VAKNLNESLIDLQELGK (PEG8) Chol

FIG. 37

【配列表】

2024533273000001.xml

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/076114

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/005 A61K39/12 A61K47/10 A61K47/28 A61P31/14
A61K47/60
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K A61K C12N A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, Sequence Search

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Curreli Francesca ET AL: "Stapled Peptides Based on Human Angiotensin-Converting Enzyme 2 (ACE2) Potently Inhibit SARS-CoV-2 Infection In Vitro", mBio, 11 December 2020 (2020-12-11), XP055826713, United States DOI: 10.1128/mBio.02451-20 Retrieved from the Internet: URL:https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.02451-20 [retrieved on 2021-07-22] abstract; figure 2 ----- -/--	1-150

[x] Further documents are listed in the continuation of Box C.
[x] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance;; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
17 January 2023	26/01/2023

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Mossier, Birgit

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/076114

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	MORGAN DANIELLE C. ET AL: "Stapled ACE2 peptidomimetics designed to target the SARS-CoV-2 spike protein do not prevent virus internalization", PEPTIDE SCIENCE, vol. e24217., 8 January 2021 (2021-01-08), pages 1-8, XP55821578, ISSN: 2475-8817, DOI: 10.1002/pep2.24217 Retrieved from the Internet: URL:https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full-xml/10.1002/pep2.24217> abstract; table 1 -----	1-150
Y	GAILLARD VANESSA ET AL: "A Short Double-Stapled Peptide Inhibits Respiratory Syncytial Virus Entry and Spreading", ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY, vol. 61, no. 4, 1 April 2017 (2017-04-01), XP093014311, US ISSN: 0066-4804, DOI: 10.1128/AAC.02241-16 Retrieved from the Internet: URL:https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5365662/pdf/e02241-16.pdf> abstract page 15, paragraph 3 - page 16, paragraph 2; figures 6,9; tables 1,3 -----	1-150
Y	LOREN D. WALENSKY ET AL: "Hydrocarbon-Stapled Peptides: Principles, Practice, and Progress : Miniperspective", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 57, no. 15, 6 March 2014 (2014-03-06), pages 6275-6288, XP55537971, US ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/jm4011675 abstract; figure 1; tables 1-10 -----	1-150
Y	DATABASE Geneseq [Online] 24 March 2005 (2005-03-24), "SARS coronavirus spike protein heptad repeat HR2 protein.", XP002808450, retrieved from EBI accession no. GSP:ADW47537 Database accession no. ADW47537 abstract; sequence 2 & CN 1 488 641 A (MICROORGANISM INST CHINESE ACA [CN]) 14 April 2004 (2004-04-14) ----- -/--	1-150

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2022/076114

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	XIA SHUAI ET AL: "Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion", CELL RESEARCH, SPRINGER SINGAPORE, SINGAPORE, vol. 30, no. 4, 30 March 2020 (2020-03-30), pages 343-355, XP037082964, ISSN: 1001-0602, DOI: 10.1038/S41422-020-0305-X [retrieved on 2020-03-30]	151-154
Y	abstract; figures 2a,4	1-150
X	WO 2017/120549 A1 (NAVIGEN INC [US]; UNIV UTAH RES FOUND [US]) 13 July 2017 (2017-07-13)	151-154
Y	abstract page 2, line 13 - line 16 page 3, line 8 - line 11 page 25, line 3 - page 26, line 26; claims 1,6; figure 6	1-150
Y,P	ZHENG MENGJUN ET AL: "Stapled Peptides Targeting SARS-CoV-2 Spike Protein HR1 Inhibit the Fusion of Virus to Its Cell Receptor", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 64, no. 23, 24 November 2021 (2021-11-24), pages 17486-17495, XP093013038, US ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/acs.jmedchem.1c01681 abstract; figures 1-6; table 1	1-154
Y,P	WO 2022/140591 A1 (UNIV CHICAGO [US]) 30 June 2022 (2022-06-30) abstract; claims 1-62	1-154

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2022/076114

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:

   a. [X] forming part of the international application as filed.

   b. [ ] furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search (Rule 13*ter*.1(a)).

      [ ] accompanied by a statement to the effect that the sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed.

2. [ ] With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, this report has been established to the extent that a meaningful search could be carried out without a WIPO Standard ST.26 compliant sequence listing.

3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2022/076114

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2017120549 A1	13-07-2017	BR 112018013872 A2	18-12-2018
		CA 3010713 A1	13-07-2017
		CN 109069577 A	21-12-2018
		EP 3399994 A1	14-11-2018
		US 2019023748 A1	24-01-2019
		WO 2017120549 A1	13-07-2017
WO 2022140591 A1	30-06-2022	NONE	

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

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

弁護士　山本 健策

(72)発明者　ワレンスキー， ローレン ディー.

アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２４５９， ニュートン， コモンウェルス アベニュー ８１１

(72)発明者　バード， グレゴリー エイチ.

アメリカ合衆国 ニューハンプシャー ０３０７６， ペラム， シニック ビュー ドライブ １５

Ｆターム（参考）　4C076　AA65 AA95 CC35 CC41 DD37 DD70 EE23 EE24 EE37 EE38
EE41 EE59 FF63
4C085　AA32 BA71 CC32 EE01
4H045　AA10 AA30 BA19 BA55 BA57 CA01 EA20 FA10