(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2012-532929
(P2012-532929A)
(43)公表日　平成24年12月20日(2012.12.20)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 19/00	(2006.01)	C07K	19/00	ZNA	2G045
G01N 33/50	(2006.01)	G01N	33/50	Z	4B024
G01N 33/15	(2006.01)	G01N	33/15	Z	4C084
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4H045
A61K 38/00	(2006.01)	A61K	37/02		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 112 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2012-520592 (P2012-520592)
(86)(22)出願日　平成22年7月13日 (2010.7.13)
(85)翻訳文提出日　平成24年3月12日 (2012.3.12)
(86)国際出願番号　PCT/US2010/001952
(87)国際公開番号　WO2011/008260
(87)国際公開日　平成23年1月20日 (2011.1.20)
(31)優先権主張番号　61/225,191
(32)優先日　平成21年7月13日 (2009.7.13)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　502072134
プレジデント　アンド　フェロウズ　オブ　ハーバード　カレッジ
Ｐｒｅｓｉｄｅｎｔ　ａｎｄ　Ｆｅｌｌｏｗｓ　ｏｆ　Ｈａｒｖａｒｄ　Ｃｏｌｌｅｇｅ
アメリカ合衆国，マサチューセッツ州　０２１３８，ケンブリッジ，１７　クィンシー　ストリート
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100062409
弁理士　安村　高明
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】二機能性のステープリングされたポリペプチドおよびそれらの使用

(57)【要約】
本発明は、少なくとも２つの細胞性実体（例えばタンパク質）を繋ぎ止める、または極めて接近した状態にするために使用することができる、ターゲティングドメイン、リンカー部分、およびエフェクタードメインを含む、二機能性のステープリングまたはスティッキングされたペプチドに関する。ある特定の態様は、エフェクタードメインを通じてエフェクター生体分子に結合し、ターゲティングドメインを通じて標的生体分子に結合する、二機能性のステープリングまたはスティッキングされたペプチドに関する。

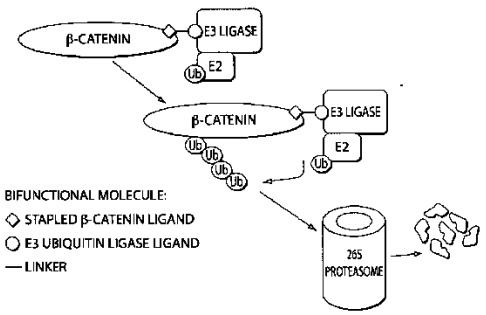
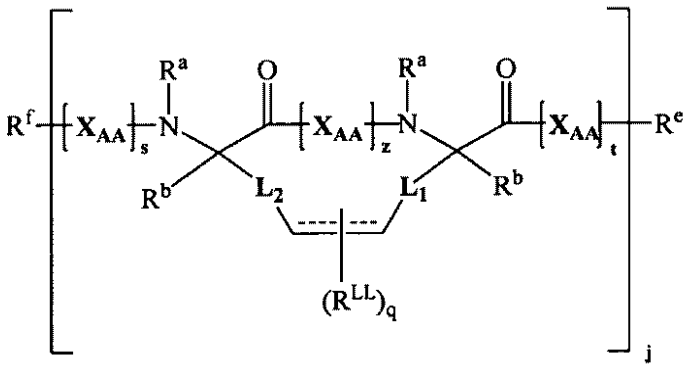


Fig. 3

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ターゲティングドメイン；
リンカー部分；および
エフェクタードメイン
を含む二機能性のステープリングされたペプチドであって、少なくとも一方のドメインがステープリングまたはスティッキング（ｓｔｉｃｈ）されているペプチド。
【請求項２】
両方のドメインがステープリングまたはスティッキングされている、請求項１に記載のペプチド。
【請求項３】
少なくとも一方のドメインがステッチングまたはスティッキングされている、請求項１に記載のペプチド。
【請求項４】
両方のドメインがステッチングまたはスティッキングされている、請求項１に記載のペプチド。
【請求項５】
前記ステープリングまたはスティッキングされたペプチドがαヘリックスを含む、請求項１に記載のペプチド。
【請求項６】
少なくとも一方のドメインが、次式を含む、請求項１に記載のペプチド
【化３６】



［式中、
L_1およびL_2の各例は、独立に、結合；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキニレン；置換もしくは非置換アリーレン；置換もしくは非置換ヘテロアリーレン；または置換もしくは非置換のアシレンであり；
R^aの各例は、独立に、水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；環式もしくは非環式、置換もしくは非置換アシル；または適切なアミノ保護基であり；
R^bの各例は、独立に、適切なアミノ酸側鎖；水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；環式もしくは非環式、置換もしくは非置換アシル；置換もしくは非置換のヒドロキシル；置換もしくは非置換チオール；置換もしくは非置換アミノ；シアノ；イソ

シアノ；ハロ；またはニトロであり；

R^eの各例は、独立に、リンカー部分への結合、－R^E、－OR^E、－$N(R^E)_2$、または－SR^Eであり、R^Eの各例は、独立に、水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；樹脂；適切なヒドロキシル保護基、アミノ保護基、またはチオール保護基であるか；あるいは－$N(R^E)_2$の２つのR^E基が一緒になって置換もしくは非置換の５～６員の複素環式環または芳香族複素環を形成し；

R^fの各例は、独立に、リンカー部分への結合；水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；樹脂；適切なアミノ保護基；テザーによって場合により連結された標識であって、該テザーが環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキニレン；置換もしくは非置換アリーレン；置換もしくは非置換ヘテロアリーレン；または置換もしくは非置換のアシレンから選択される、標識であるか；あるいは末端アミノ酸のR^fおよびR^aが一緒になって置換もしくは非置換の５～６員の複素環式環または芳香族複素環を形成し；

R^{LL}の各例は、独立に、水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；置換もしくは非置換のヒドロキシル；置換もしくは非置換チオール；置換もしくは非置換アミノ；アジド；シアノ；イソシアノ；ハロ；ニトロであり；

または２つの隣接するR^{LL}基が連結されて、置換もしくは非置換の５～８員脂環式環；置換もしくは非置換の５～８員ヘテロ脂環式環；置換もしくは非置換アリール環；または置換もしくは非置換ヘテロアリール環を形成し；

X_{AA}の各例は、独立に、天然アミノ酸または非天然アミノ酸であり；

ｚの各例は、独立に、２から６の間の整数であり；

ｊの各例は、独立に、１から１０の間の整数であり；

ｓおよびｔの各例は、独立に、０から１００の間の整数であり；

ｑの各例は、独立に、０から２の間の整数であり；

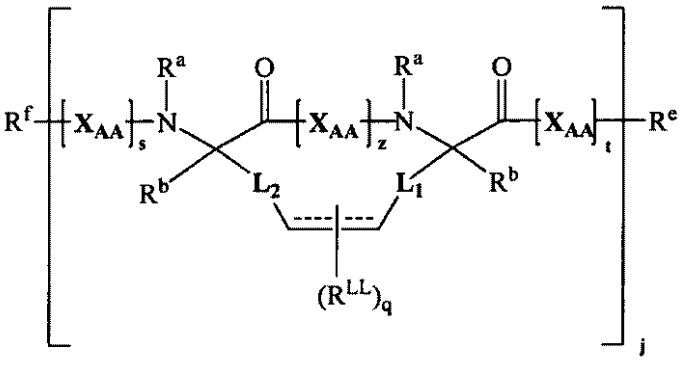
【化３７】

は、単結合または二重結合に対応する］。

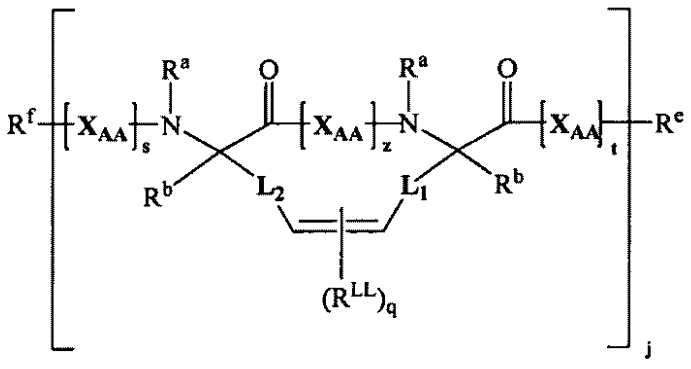
【請求項７】

両方のドメインが次式を含む、請求項６に記載のペプチド。

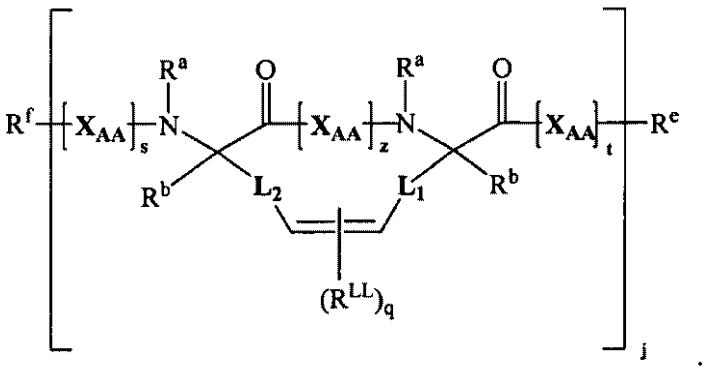
【化３８】



【請求項８】
少なくとも１つのドメインが次式を含む、請求項６に記載のペプチド。
【化３９】

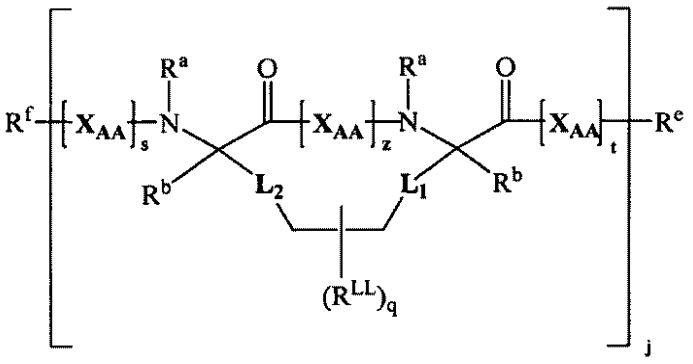


【請求項９】
両方のドメインが次式を含む、請求項８に記載のペプチド。
【化４０】

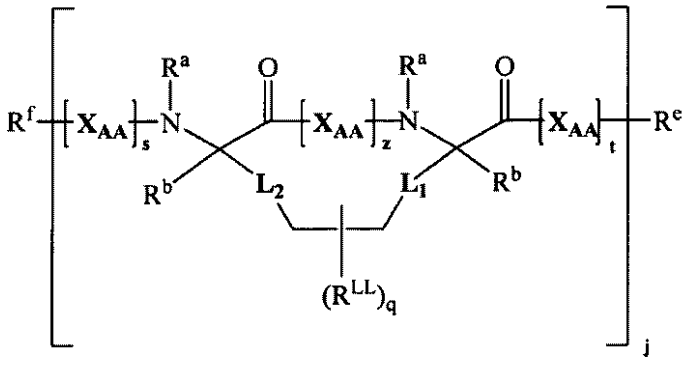


【請求項１０】
少なくとも１つのドメインが次式を含む、請求項６に記載の方法。

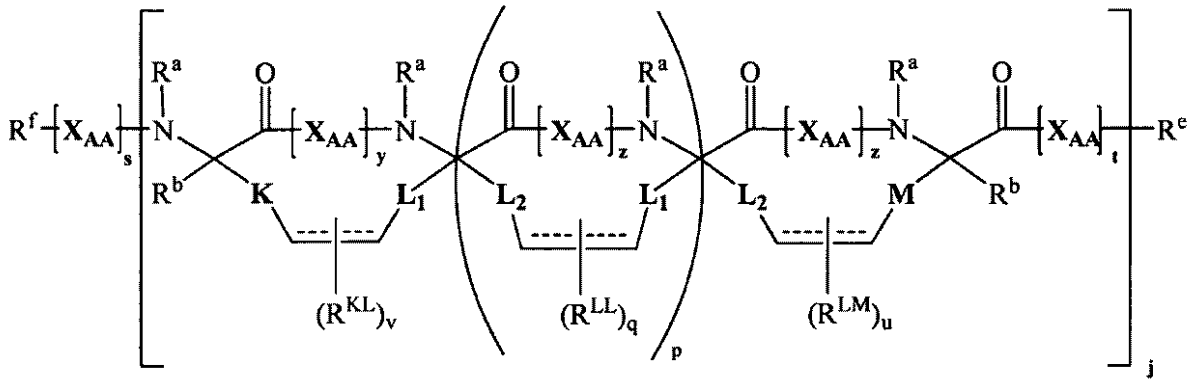
【化４１】



【請求項１１】
両方のドメインが次式を含む、請求項１０に記載の方法。
【化４２】



【請求項１２】
少なくとも１つのドメインが次式を含む、請求項１に記載の方法
【化４３】



［式中、
Ｋ、Ｌ$_1$、Ｌ$_2$およびＭの各例は、独立に、結合；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキニレン；置換もしくは非置換アリーレン；置換もしくは非置換ヘテロアリーレン；または置換もしくは非置換のアシレンであり；
Ｒ^{a}の各例は、独立に、水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしく

は非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；環式もしくは非環式、置換もしくは非置換アシル；または適切なアミノ保護基であり；

R^bの各例は、独立に、適切なアミノ酸側鎖；水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；環式もしくは非環式、置換もしくは非置換アシル；置換もしくは非置換のヒドロキシル；置換もしくは非置換チオール；置換もしくは非置換アミノ；シアノ；イソシアノ；ハロ；またはニトロであり；

R^eの各例は、独立に、リンカー部分への結合、－R^E、－OR^E、－$N(R^E)_2$、または－SR^Eであり、R^Eの各例は、独立に、水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；樹脂；適切なヒドロキシル保護基、アミノ保護基、またはチオール保護基であるか；あるいは－$N(R^E)_2$の２つのR^E基が一緒になって置換もしくは非置換の５～６員の複素環式環または芳香族複素環を形成し；

R^fの各例は、独立に、リンカー部分への結合；水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；樹脂；適切なアミノ保護基；テザーによって場合により連結された標識であって、該テザーは、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキニレン；置換もしくは非置換アリーレン；置換もしくは非置換ヘテロアリーレン；または置換もしくは非置換のアシレンから選択される、標識であるか；あるいはR^fおよびR^aが一緒になって置換もしくは非置換の５～６員の複素環式環または芳香族複素環を形成し；

R^{KL}、R^{LL}およびR^{LM}の各例は、独立に、水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；置換もしくは非置換のヒドロキシル；置換もしくは非置換チオール；置換もしくは非置換アミノ；アジド；シアノ；イソシアノ；ハロ；ニトロであり；

または２つの隣接するR^{KL}基が連結されて、置換もしくは非置換の５～８員脂環式環；置換もしくは非置換の５～８員ヘテロ脂環式環；置換もしくは非置換アリール環；または置換もしくは非置換ヘテロアリール環を形成し；２つの隣接するR^{KL}基が連結されて、置換もしくは非置換の５～８員脂環式環；置換もしくは非置換の５～８員ヘテロ脂環式環；置換もしくは非置換アリール環；または置換もしくは非置換ヘテロアリール環を形成し；または２つの隣接するR^{LM}基が連結されて、置換もしくは非置換の５～８員脂環式環；置換もしくは非置換の５～８員ヘテロ脂環式環；置換もしくは非置換アリール環；または置換もしくは非置換ヘテロアリール環を形成し；

X_{AA}の各例は、独立に、天然アミノ酸または非天然アミノ酸であり；

ｙおよびｚの各例は、独立に、２から６の間の整数であり；

ｊの各例は、独立に、１から１０の間の整数であり；

ｐの各例は、独立に、０から１０の間の整数であり；

ｓおよびｔの各例は、独立に、０から１００の間の整数であり；

ｕ、ｖおよびｑの各例は、独立に、０から２の間の整数であり；

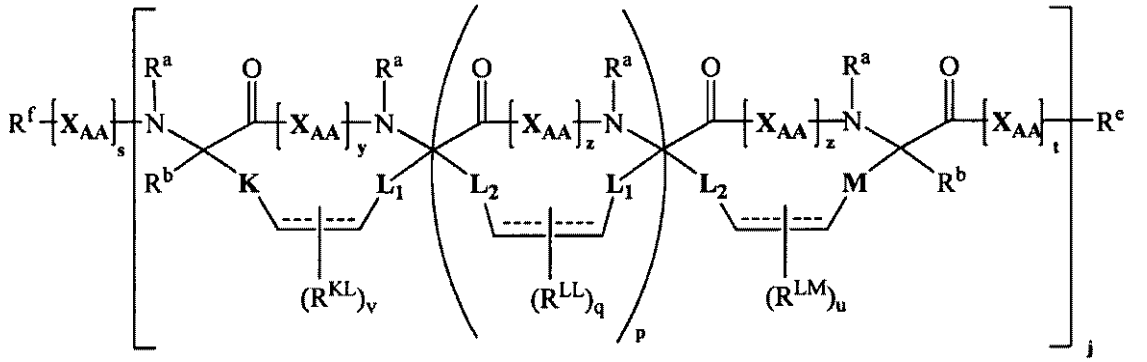
【化４４】

は、単結合または二重結合に対応する］。

【請求項１３】

両方のドメインが次式を含む、請求項１２に記載のペプチド。

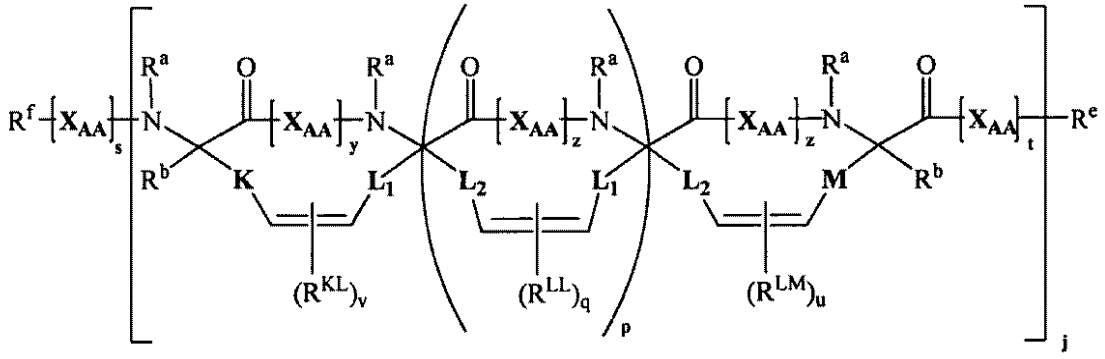
【化４５】



【請求項１４】

少なくとも１つのドメインが次式を含む、請求項１２に記載のペプチド。

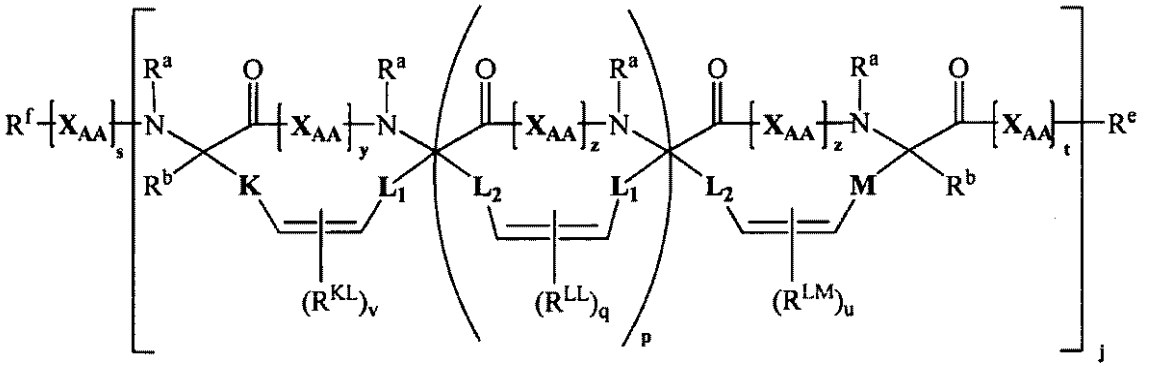
【化４６】



【請求項１５】

両方のドメインが次式を含む、請求項１４に記載のペプチド。

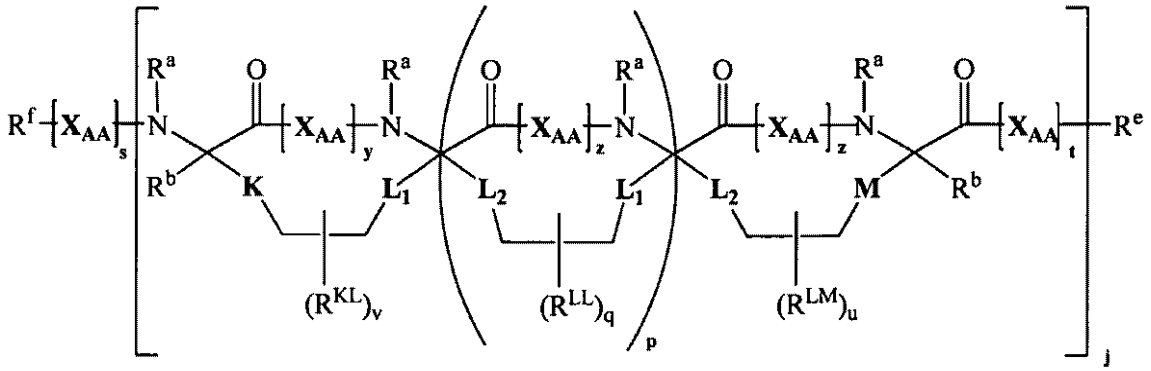
【化４７】



【請求項１６】

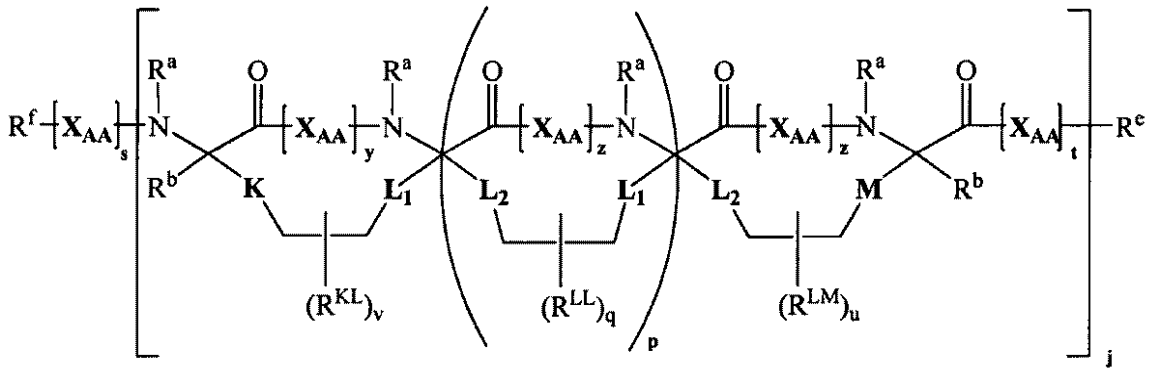
少なくとも１つのドメインが次式を含む、請求項１２に記載のペプチド。

【化４８】



【請求項１７】
両方のドメインが次式を含む、請求項１６に記載のペプチド。

【化４９】



【請求項１８】
前記ターゲティングドメインが、ステープリングまたはスティッキングされたタンパク質である、請求項１に記載のペプチド。

【請求項１９】
前記エフェクタードメインが、ステープリングまたはスティッキングされたタンパク質である、請求項１に記載のペプチド。

【請求項２０】
前記リンカーがタンパク質新生性である、請求項１に記載のペプチド。

【請求項２１】
前記リンカーが非タンパク質新生性である、請求項１に記載のペプチド。

【請求項２２】
前記リンカーがポリマーである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項２３】
前記リンカーがアミノヘキサン酸のモノマーまたはポリマーである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項２４】
前記リンカーが、１～１０単位のアミノヘキサン酸で構成されている、請求項２３に記載のペプチド。

【請求項２５】
前記リンカーがポリエチレングリコールである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項２６】
前記ターゲティングドメインが、タンパク質、核酸、またはリン脂質に結合する、請求項１に記載のペプチド。

【請求項２７】

前記ターゲティングドメインが、β－カテニン、Ｍｙｃ、Ｒａｓ、または低酸素誘導因子に結合する、請求項２６に記載のペプチド。

【請求項２８】

前記ターゲティングドメインが、前記エフェクタードメインを対象の部位に局在化させる、請求項１に記載のペプチド。

【請求項２９】

前記ターゲティングドメインがβ－カテニンに対するリガンドである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項３０】

前記ターゲティングドメインがステープリングされたバージョンのＢｃｌ９である、請求項２９に記載のペプチド。

【請求項３１】

前記ステープリングされたバージョンのＢｃｌ９が切断されている、請求項３０に記載のペプチド。

【請求項３２】

前記ターゲティングドメインがステープリングされたバージョンのＴｃｆ－４である、請求項３０に記載のペプチド。

【請求項３３】

前記ステープリングされたバージョンのＴｃｆ－４が切断されている、請求項３２に記載のペプチド。

【請求項３４】

前記ターゲティングドメインがＭｙｃに対するリガンドである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項３５】

前記ターゲティングドメインがステープリングされたバージョンのＭａｘである、請求項３４に記載のペプチド。

【請求項３６】

前記ステープリングされたバージョンのＭａｘが切断されている、請求項３５に記載のペプチド。

【請求項３７】

前記ターゲティングドメインがステープリングされたバージョンのＭａｄである、請求項３４に記載のペプチド。

【請求項３８】

前記ステープリングされたバージョンのＭａｄが切断されている、請求項３７に記載のペプチド。

【請求項３９】

前記ターゲティングドメインがステープリングされたバージョンのＭｘｉである、請求項３４に記載のペプチド。

【請求項４０】

前記ステープリングされたバージョンのＭｘｉが切断されている、請求項３９に記載のペプチド。

【請求項４１】

前記ターゲティングドメインがＲａｓに対するリガンドである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項４２】

前記ターゲティングドメインが低酸素誘導因子に対するリガンドである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項４３】

前記エフェクタードメインが酵素の活性を調節する、請求項１に記載のペプチド。

【請求項４４】

前記酵素が、ユビキチン化酵素、グリコシル化酵素、ヒストン脱アセチル化酵素、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ、またはリン酸化酵素である、請求項４３に記載のペプチド。

【請求項４５】

前記エフェクタードメインがユビキチン化酵素に対するリガンドである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項４６】

前記エフェクタードメインがＥ３ユビキチンリガーゼに対するリガンドである、請求項４５に記載のペプチド。

【請求項４７】

前記Ｅ３ユビキチンリガーゼがｈＤＭ２である、請求項４６に記載のペプチド。

【請求項４８】

ｈＤＭ２に対する前記リガンドがステープリングされたバージョンのｐ５３である、請求項４７に記載のペプチド。

【請求項４９】

前記ステープリングされたバージョンのｐ５３が切断されている、請求項４８に記載のペプチド。

【請求項５０】

前記Ｅ３ユビキチンリガーゼがｍＤＭ２である、請求項４６に記載のペプチド。

【請求項５１】

前記Ｅ３ユビキチンリガーゼがユビキチンタンパク質リガーゼＥ３Ａである、請求項４６に記載のペプチド。

【請求項５２】

前記Ｅ３ユビキチンリガーゼがＲＩＮＧフィンガードメインである、請求項４６に記載のペプチド。

【請求項５３】

前記Ｅ３ユビキチンリガーゼがＳＣＦ　Ｅ３リガーゼ複合体である、請求項４６に記載のペプチド。

【請求項５４】

前記エフェクタードメインがグリコシル化酵素に対するリガンドである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項５５】

前記エフェクタードメインがヒストン脱アセチル化酵素に対するリガンドである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項５６】

前記エフェクタードメインがヒストンアセチルトランスフェラーゼに対するリガンドである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項５７】

前記エフェクタードメインがキナーゼに対するリガンドである、請求項１に記載のペプチド。

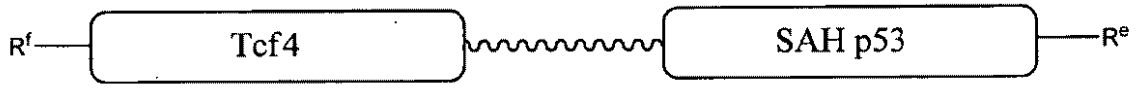
【請求項５８】

前記エフェクタードメインがホスファターゼに対するリガンドである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項５９】

次式を有する、請求項１に記載のペプチド

【化５０】



，

［式中、

【化５１】



はステープリングされたバージョンのＴｃｆ４であり；

【化５２】



はステープリングされたｐ５３のアルファーヘリックスであり；

【化５３】



はリンカーである］。

【請求項６０】

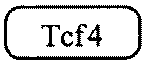
【化５４】



が、ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（配列番号２９）の配列を含む、請求項５９に記載のペプチド。

【請求項６１】

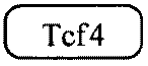
【化５５】



が、ＤＥＬＩＳＦＫＤＥＧＥＱＥ（βＡｌａ）$_2$ＥＲＤＬＳ$_5$ＤＶＫＳ$_5$ＳＬＶＮ（配列番号３０）の配列であって、βＡｌａがβ－アラニンである配列を含む、請求項５９に記載のペプチド。

【請求項６２】

【化５６】



が、ＤＥＬＩＳＦＫＤＥＧＥＱＥ（βＡｌａ）$_2$ＥＲ$_8$ＤＬＡＤＶＫＳ$_5$ＳＬＶＮ（配列番号３１）の配列であって、βＡｌａがβ－アラニンである配列を含む、請求項５９に記載のペプチド。

【請求項６３】

【化５７】



が、２つ、３つ、または４つのアミノヘキサン酸残基で構成されるリンカーである、請求項５９に記載のペプチド。

【請求項６４】

ＤＥＬＩＳＦＫＤＥＧＥＱＥ（βＡｌａ）$_2$ＥＲＤＬＳ$_5$ＤＶＫＳ$_5$ＳＬＶＮ（Ａｈｘ）$_n$ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（配列番号１５）の配列であって、βＡｌａがβ－アラニンであり、Ａｈｘがアミノヘキサン酸であり、ｎが２、３または４である配列を有する、請求項５９に記載のペプチド。

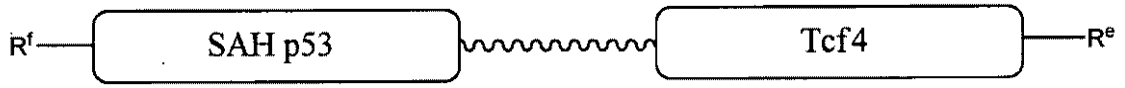
【請求項６５】

ＤＥＬＩＳＦＫＤＥＧＥＱＥ（βＡｌａ）$_2$ＥＲ$_8$ＤＬＡＤＶＫＳ$_5$ＳＬＶＮ（Ａｈｘ）$_n$ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（配列番号１６）の配列であって、βＡｌａがβ－アラニンであり、Ａｈｘがアミノヘキサン酸であり、ｎが２、３または４である配列を有する、請求項５９に記載のペプチド。

【請求項６６】

次式を有する、請求項１に記載のペプチド

【化５８】



，

［式中、

【化５９】

Tcf4

はステープリングされたバージョンのＴｃｆ４であり；

【化６０】

SAH p53

はステープリングされたｐ５３のアルファ－ヘリックスであり；

【化６１】

はリンカーである］。

【請求項６７】

【化６２】

SAH p53

が、ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（配列番号２９）の配列を含む、請求項６６に記載のペプチド。

【請求項６８】

【化６３】

Tcf4

が、ＤＥＬＩＳＦＫＤＥＧＥＱＥ（βＡｌａ）$_2$ＥＲＤＬＳ$_5$ＤＶＫＳ$_5$ＳＬＶＮ（配列番号３０）の配列であって、βＡｌａがβ－アラニンである配列を含む、請求項６６に記載のペプチド。

【請求項６９】

【化６４】

Tcf4

が、ＤＥＬＩＳＦＫＤＥＧＥＱＥ（βＡｌａ）$_2$ＥＲ$_8$ＤＬＡＤＶＫＳ$_5$ＳＬＶＮ（配列番号３１）の配列であって、βＡｌａがβ－アラニンである配列を含む、請求項６６に記載のペプチド。

【請求項７０】

【化６５】

が、２つ、３つ、または４つのアミノヘキサン酸残基で構成されるリンカーである、請求項６６に記載のペプチド。

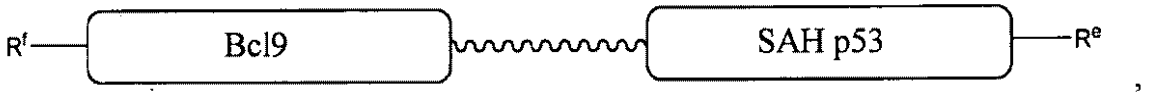
【請求項７１】

ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（Ａｈｘ）$_n$ＤＥＬＩＳＦＫＤＥＧＥＱＥ（βＡｌａ）$_2$ＥＲＤＬＳ$_5$ＤＶＫＳ$_5$ＳＬＶＮ（配列番号１３）の配列であって、βＡｌａがβ－アラニンであり、Ａｈｘがアミノヘキサン酸であり、ｎが２、３または４である配列を有する、請求項６６に記載のペプチド。

【請求項７２】

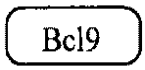
ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（Ａｈｘ）$_n$ＤＥＬＩＳＦＫＤＥＧＥＱＥ（βＡｌａ）$_2$ＥＲ$_8$ＤＬＡＤＶＫＳ$_5$ＳＬＶＮ（配列番号１４）の配列であって、βＡｌａがβ－アラニンであり、Ａｈｘがアミノヘキサン酸であり、ｎが２、３または４である配

列を有する、請求項６６に記載のペプチド。
【請求項７３】
次式を有する、請求項１に記載のペプチド
【化６６】



，

［式中、
【化６７】



はステープリングされたバージョンのＢｃｌ９であり；
【化６８】



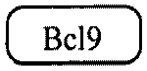
はステープリングされたｐ５３のアルファーヘリックスであり；
【化６９】



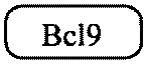
はリンカーである］。
【請求項７４】
【化７０】



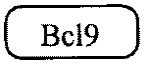
が、ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（配列番号２９）の配列を含む、請求項７３に記載のペプチド。
【請求項７５】
【化７１】



が、ＳＱＥＱＬＲ$_8$ＨＲＥＲＳＬＳ$_5$ＴＬＲＤＩＱＲＭＬＦ（配列番号３２）の配列を含む、請求項７３に記載のペプチド。
【請求項７６】
【化７２】



が、ＳＱＥＱＬＥＨＲＥＲＳＬＳ$_5$ＴＬＲＳ$_5$ＩＱＲＭＬＦ（配列番号３３）の配列を含む、請求項７３に記載のペプチド。
【請求項７７】
【化７３】



が、ＳＱＥＱＬＥＨＲＳ$_5$ＲＳＬＳ$_5$ＴＬＲＤＩＱＲＭＬＦ（配列番号３４）の配列を含む、請求項７３に記載のペプチド。
【請求項７８】
【化７４】



が、２つ、３つ、または４つのアミノヘキサン酸残基で構成されるリンカーである、請求項７３に記載のペプチド。
【請求項７９】
ＳＱＥＱＬＲ$_8$ＨＲＥＲＳＬＳ$_5$ＴＬＲＤＩＱＲＭＬＦ（Ａｈｘ）$_n$ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$

ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（配列番号４）の配列であって、Ａｈｘがアミノヘキサン酸であり、ｎが２、３または４である配列を有する、請求項７３に記載のペプチド。

【請求項８０】

ＳＱＥＱＬＥＨＲＥＲＳＬＳ$_5$ＴＬＲＳ$_5$ＩＱＲＭＬＦ（Ａｈｘ）$_n$ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（配列番号５）の配列であって、Ａｈｘがアミノヘキサン酸であり、ｎが２、３または４である配列を有する、請求項７３に記載のペプチド。

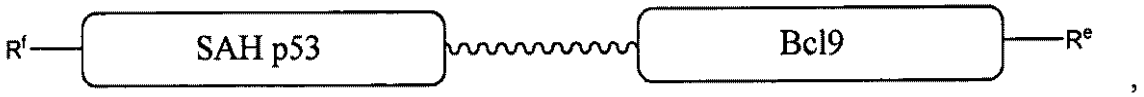
【請求項８１】

ＳＱＥＱＬＥＨＲＳ$_5$ＲＳＬＳ$_5$ＴＬＲＤＩＱＲＭＬＦ（Ａｈｘ）$_n$ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（配列番号６）の配列であって、Ａｈｘがアミノヘキサン酸であり、ｎが２、３または４である配列を有する、請求項７３に記載のペプチド。

【請求項８２】

次式を有する、請求項１に記載のペプチド

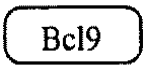
【化７５】



，

［式中、

【化７６】



はステープリングされたバージョンのＢｃｌ９であり；

【化７７】



はステープリングされたｐ５３のアルファーヘリックスであり；

【化７８】



はリンカーである］。

【請求項８３】

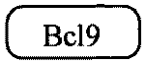
【化７９】



が、ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（配列番号２９）の配列を含む、請求項８２に記載のペプチド。

【請求項８４】

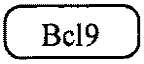
【化８０】



が、ＳＱＥＱＬＲ$_8$ＨＲＥＲＳＬＳ$_5$ＴＬＲＤＩＱＲＭＬＦ（配列番号３２）の配列を含む、請求項８２に記載のペプチド。

【請求項８５】

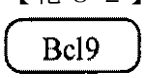
【化８１】

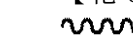


が、ＳＱＥＱＬＥＨＲＥＲＳＬＳ$_5$ＴＬＲＳ$_5$ＩＱＲＭＬＦ（配列番号３３）の配列を含む、請求項８２に記載のペプチド。

【請求項８６】

【化８２】



が、ＳＱＥＱＬＥＨＲＳ$_5$ＲＳＬＳ$_5$ＴＬＲＤＩＱＲＭＬＦ（配列番号３４）の配列を含む、請求項８２に記載のペプチド。
【請求項８７】
【化８３】

が、２つ、３つ、または４つのアミノヘキサン酸残基で構成されるリンカーである、請求項８２に記載のペプチド。
【請求項８８】
ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（Ａｈｘ）$_n$ＳＱＥＱＬＲ$_8$ＨＲＥＲＳＬＳ$_5$ＴＬＲＤＩＱＲＭＬＦ（配列番号１）の配列であって、Ａｈｘがアミノヘキサン酸であり、ｎが２、３または４である配列を有する、請求項８２に記載のペプチド。
【請求項８９】
ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（Ａｈｘ）$_n$ＳＱＥＱＬＥＨＲＥＲＳＬＳ$_5$ＴＬＲＳ$_5$ＩＱＲＭＬＦ（配列番号２）の配列であって、Ａｈｘがアミノヘキサン酸であり、ｎが２、３または４である配列を有する、請求項８２に記載のペプチド。
【請求項９０】
ＱＳＱＱＴＦＲ$_8$ＮＬＷＲＬＬＳ$_5$ＱＮ（Ａｈｘ）$_n$ＳＱＥＱＬＥＨＲＳ$_5$ＲＳＬＳ$_5$ＴＬＲＤＩＱＲＭＬＦ（配列番号３）の配列であって、Ａｈｘがアミノヘキサン酸であり、ｎが２、３または４である配列を有する、請求項８２に記載のペプチド。
【請求項９１】
請求項１に記載のステープリングされたペプチドを含む医薬組成物。
【請求項９２】
被験体における疾患、障害、または状態を治療する方法であって、治療有効量の請求項１に記載のステープリングされたペプチドを、該治療を必要とする被験体に投与するステップを含む方法。
【請求項９３】
前記疾患ががんである、請求項９２に記載の方法。
【請求項９４】
請求項１に記載のペプチドのライブラリーをスクリーニングする方法であって、
請求項１に記載のペプチドのライブラリーを準備するステップと、
標的生体分子とエフェクター生体分子とを極めて接近した状態にする能力を有するペプチドをスクリーニングするステップと
を含む方法。
【請求項９５】
ターゲティングドメインのライブラリーをスクリーニングする方法であって、
ステープリングされたターゲティングドメインのライブラリーを準備するステップと、
標的生体分子に対する活性をスクリーニングするステップと
を含む方法。
【請求項９６】
エフェクタードメインのライブラリーをスクリーニングする方法であって、
ステープリングされたエフェクタードメインのライブラリーを準備するステップと、
エフェクター生体分子に対する活性をスクリーニングするステップと
を含む方法。
【請求項９７】
二機能性のステープリングされたペプチドを合成する方法であって、
ステープリングされた標的ドメインを準備するステップと；
ステープリングされたエフェクタードメインを準備するステップと；
該ステープリングされた標的ドメインと該ステープリングされたエフェクタードメインを架橋結合させるステップと
を含む方法。

【請求項９８】
二機能性のステープリングされたペプチドを合成する方法であって、
ステープリングされていない標的ドメインを準備するステップであって、該標的ドメインは、ステッチングまたはステープリングに適した非天然アミノ酸残基を含む、ステップと；
ステープリングされていないエフェクタードメインを準備するステップであって、該エフェクタードメインは、ステッチングまたはステープリングに適した非天然アミノ酸残基を含む、ステップと；
該ステープリングされていない標的ドメインと該ステープリングされていないエフェクタードメインとを架橋結合させるステップと；
該ペプチドをステープリングするステップと
を含む方法。
【請求項９９】
二機能性のステープリングされたペプチドを合成する方法であって、
ステッチングまたはステープリングされた標的ドメインを準備するステップと；
ステッチングまたはステープリングされたエフェクタードメインを準備するステップと；
該標的ドメインと該エフェクタードメインとをライゲーションするステップと
を含む方法。
【請求項１００】
二機能性のステープリングされたペプチドを合成する方法であって、
ステープリングされていない標的ドメインを準備するステップであって、該標的ドメインは、ステッチングまたはステープリングに適した非天然アミノ酸残基を含む、ステップと；
ステープリングされていないエフェクタードメインを準備するステップであって、該エフェクタードメインは、ステッチングまたはステープリングに適した非天然アミノ酸残基を含む、ステップと；
該標的ドメインと該エフェクタードメインとをライゲーションするステップと；
該ステッチングまたはステープリングされていないペプチドをステッチングまたはステープリングするステップと
を含む方法。
【請求項１０１】
前記ターゲティングドメインがＳｉｎ３に対するリガンドである、請求項１に記載のペプチド。
【請求項１０２】
前記ターゲティングドメインが、ステープリングされたバージョンの、Ｍａｄ１のＳｉｎ３相互作用ドメイン（ＳＩＤ）である、請求項１０１に記載のペプチド。
【請求項１０３】
前記ステープリングされたバージョンのＳＩＤが、
【化８４】

VRMNIQMLLEAADYLERREREAEH (配列番号:85); または

VRMNIQMLLEAADYLERRER (配列番号:86).

の配列を含む、請求項１０２に記載のペプチド。
【請求項１０４】
前記ステープリングされたバージョンのＳＩＤが、
【化８５】

βAla-VRRRI S_5MLLS_5AANYLER (配列番号:88); または

βAla-VRRRIQMLLEAANKS_5ERRS_5R (配列番号:91);

の配列であって、非天然アミノ酸S_5が架橋している配列を含む、請求項１０２に記載のペプチド。

【請求項１０５】

前記エフェクタードメインによって、Ｓｉｎ３で制御される遺伝子の活性が調節される、請求項１０４に記載のペプチド。

【請求項１０６】

前記エフェクタードメインがステープリングされたバージョンのＭＬＬである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項１０７】

前記エフェクタードメインがステープリングされたバージョンのｃＭｙｂである、請求項１に記載のペプチド。

【請求項１０８】

ＭＬＬが切断されている、請求項１０６に記載のペプチド。

【請求項１０９】

ｃＭｙｂが切断されている、請求項１０７に記載のペプチド。

【請求項１１０】

前記エフェクタードメインが、

【化８６】

ILP*DIM*FVLKNT (配列番号:81),

ILP*RIM*FVLKNT (配列番号 :82),

ILPSDIM*FVL*NT (配列番号 :83), または

ILPSRIM*FVL*NT (配列番号 :84),

の配列であって、「＊」が架橋に適した非天然アミノ酸であり、これらのアミノ酸が架橋している配列を含む、請求項１０８に記載のペプチド。

【請求項１１１】

前記エフェクタードメインが、

【化８７】

K*KRI*ELELLLMSTENELKG (配列番号 :73),

K*KRI*RLELLLMSTENELKG (配列番号 :74),

KE*RIK*LELLLMSTENELKG (配列番号 :75),

KR*RIK*LELLLMSTENELKG (配列番号 :76),

KE*RIKELE*LLMSTENELKG (配列番号 :77),

KE*RIKRLE*LLMSTENELKG (配列番号 :78),

KR*RIKELE*LLMSTENELKG (配列番号 :79), または

KEKRIKELELLLMSTE*ELK* (配列番号 :80),

の配列であって、「＊」が架橋に適した非天然アミノ酸であり、これらのアミノ酸が架橋している配列を含む、請求項１０９に記載のペプチド。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

関連出願

本発明は、米国特許法第１１９条（ｅ）項の下、２００９年７月１３日に出願された米国仮特許出願第６１／２２５，１９１号の利益を主張し、この米国仮特許出願の全体の内容は、本明細書中に参考として援用される。

【背景技術】
【０００２】
発明の背景
ペプチドおよびタンパク質が、ホルモン、酵素阻害剤、基質、および神経伝達物質として果たす重要な生物学的役割により、ペプチドおよび／またはペプチド模倣薬が治療剤として使用されるようになってきた。アルファヘリックス、ベータシート、ターンおよび／またはループなどの構造要素を組み合わせたペプチドの生理活性コンフォメーションは、受容体、酵素、および核酸の選択的な生物学認識を可能とし、それにより、細胞間コミュニケーションに影響を与え、かつ／または、代謝、免疫防御、および細胞分裂などの生命維持に必要な細胞機能を調節するので、重要である（Ｂａｂｉｎｅら、Ｃｈｅｍ．　Ｒｅｖ．（１９９７年）９７巻：１３５９頁）。残念ながら、ペプチドの薬物としての有用性は、それらが生理的条件下でプロテアーゼによって急速に分解されること、それらの細胞浸透性が不十分であること、および、コンフォメーションが柔軟であるために結合特異性が欠如していることを含めたいくつかの因子によって非常に制限されている。
【０００３】
アルファヘリックスは、ペプチドの主要な構造的な構成要素の１つである。しかし、アルファヘリックスペプチドは、ほどけてランダムコイルを形成しやすく、ほとんどの場合、生物学的活性が低い、または不活性でさえあり、また、タンパク質分解を非常に受けやすい。
【０００４】
多くの研究グループが、治療薬としてより頑強なペプチドを設計し、合成するための戦略を開発してきた。例えば、１つの戦略では、ペプチドの独特のコンフォメーションおよび二次構造を維持したままで、より頑強な官能基がペプチド鎖に組み入れられている（例えば、Ｇａｎｔｅ、Ａｎｇｅｗ．　Ｃｈｅｍ．　Ｉｎｔ．　Ｅｄ．　Ｅｎｇｌ．（１９９４年）３３巻：１６９９～１７２０頁；Ｌｉｓｋａｍｐ、Ｒｅｃｌ．　Ｔｒａｖ．　Ｃｈｉｍ．　Ｐａｙｓ－Ｂａｓ（１９９４年）１１３巻：１頁；Ｇｉａｎｎｉｓ、Ａｎｇｅｗ．　Ｃｈｅｍ．　Ｉｎｔ．　Ｅｄ．　Ｅｎｇｌ．（１９９３年）３２巻：１２４４頁；Ｂａｉｌｅｙ、Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、Ｗｉｌｅｙ、Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ（１９９０年）１８２頁；およびそこに引用されている参考文献を参照されたい）。別の手法では、共有結合架橋によってペプチドを安定化している（例えば、Ｐｈｅｌａｎら、Ｊ．　Ａｍ．　Ｃｈｅｍ．　Ｓｏｃ．（１９９７年）１１９巻：４５５頁；Ｌｅｕｃら、Ｐｒｏｃ．　Ｎａｔｌ．　Ａｃａｄ．　Ｓｃｉ．　ＵＳＡ（２００３年）１００巻：１１２７３頁；Ｂｒａｃｋｅｎら、Ｊ．　Ａｍ．　Ｃｈｅｍ．　Ｓｏｃ．（１９９４年）１１６巻：６４３２頁；Ｙａｎら、Ｂｉｏｏｒｇ．　Ｍｅｄ．　Ｃｈｅｍ．（２００４年）１４巻：１４０３頁を参照されたい）。しかし、報告された手法の大部分は、極性架橋基および／または不安定な架橋基の使用を伴っていた。
【０００５】
「ペプチドをステープリングすること」とは、ポリペプチド鎖に存在する２つのオレフィン含有側鎖を、オレフィンメタセシス反応を使用して共有結合により連結するために使用される合成法のために造り出された用語である（Ｊ．　Ｏｒｇ．　Ｃｈｅｍ．（２００１年）６６巻（１６頁）；Ｂｌａｃｋｗｅｌｌら、Ａｎｇｅｗ．　Ｃｈｅｍ．　Ｉｎｔ．　Ｅｄ．（１９９４年）３７巻：３２８１頁）。オレフィンメタセシス反応によって創出した炭化水素クロスリンカーを使用してペプチドをステープリングすることは、ペプチドのネイティブなコンフォメーションを、特に生理的条件下で維持するために役立つことが示されている（特許文献１；Ｓｃｈａｆｍｅｉｓｔｅｒら、Ｊ．　Ａｍ．　Ｃｈｅｍ．　Ｓｏｃ．（２０００年）１２２巻：５８９１～５８９２頁；Ｗａｌｅｎｓｋｙら、Ｓｃｉｅｎｃｅ（２００４年）３０５巻：１４６６～１４７０頁；そのそれぞれが参照により本明細書に組み込まれる）。この戦略が、アポトーシス誘導性ＢＩＤ－ＢＨ３アルファヘリックスに適用され、その結果、動物モデルにおける白血病の悪性増殖が、ステープリングされていないペプチドと比較して高度に抑制された（Ｗａｌｅｎｓｋｙら、Ｓｃｉｅｎｃ

ｅ（２００４年）３０５巻：１４６６～１４７０頁；特許文献２；特許文献３；そのそれぞれが参照により本明細書に組み込まれる）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００６】

【特許文献１】米国特許第７，１９２，７１３号明細書

【特許文献２】米国特許出願公開第２００５／０２５０６８９０号明細書

【特許文献３】米国特許出願公開第２００６／０００８８４８号明細書

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【０００７】

発明の要旨

本発明は、ステープリングまたはステッチングされたペプチドの新規使用の認識に端を発する。そのようなペプチドの安定性を考慮すると、それらを、タンパク質または他の生体分子を特定のタンパク質、核酸、他の生体分子、細胞、または細胞小器官に動員する（すなわち、２つの細胞構成成分を繋ぎ合わせる、またはそれらを極めて接近した状態にする）ための作用剤として使用することができる。具体的には、本発明は、そのドメインの一方または両方がステープリングまたはステッチングされていてよい、二機能性ペプチドを提供する。二機能性ペプチドの一方のドメインは、標的に結合するターゲティング部分としての機能を果たし、他方のドメインは、タンパク質またはタンパク質複合体を標的に動員するためのエフェクタードメインとしての機能を果たす。エフェクタードメインは、一般には、標的の活性に作用する、またはそれを修飾する。本質的に、二機能性ペプチドは、２つのタンパク質または他の生体分子を互いに極めて接近した状態にするように働く。ペプチドのコンフォメーションを安定化するために、ターゲティングドメイン、エフェクタードメイン、または両方のドメインがステープリングまたはステッチングされていてよい。２つのドメインは、リンカーによって連結されていて、リンカーの構造は、二機能性分子への単純な共有結合からポリマーリンカーまで幅があってよい。

【０００８】

一態様では、本発明は、ターゲティングドメインおよびエフェクタードメインの一方または両方がステープリングまたはステッチングされている二機能性ペプチドを提供する。本発明の二機能性ペプチドは、エフェクタードメインと結びついたターゲティングドメインを含む。各ペプチドは、標的タンパク質のリガンドとしての機能を果たすために必要な５～１００アミノ酸を含む。ペプチドは、ペプチドのコンフォメーションを安定化するために使用するステープルまたはステッチを形成するために必要に応じてオレフィン側鎖を持つ非天然アミノ酸を含んでよい。ある特定の実施形態では、ステープリングまたはステッチングされたペプチドは、ヘリックスペプチドである。一般には、２つのドメインは、リンカーを通じて互いと共有結合的に結びついている。しかし、非共有結合性の結びつきも使用することができる。ある特定の実施形態では、二機能性ペプチドは、ステープリングされたバージョンのＢｃｌ－９と結びついたステープリングされたバージョンのＳＡＨ　ｐ５３－８である。他の実施形態では、二機能性ペプチドは、Ｔｃｆ４と結びついたステープリングされたバージョンのＳＡＨ　ｐ５３－８である。そのような本発明の二機能性ペプチドは、Ｅ３ユビキチンリガーゼをβ－カテニンに動員することによってβ－カテニンの分解を促進する。次いで、Ｅ３ユビキチンリガーゼによってβ－カテニンのユビキチン化が触媒され、それがプロテアソームによって分解される。

【０００９】

ある特定の実施形態では、ターゲティングドメイン、リンカー、およびエフェクタードメインを含む本発明の二機能性のステープリングまたはステッチングされたペプチドが本発明の焦点である。本発明は、二機能性のステープリングまたはステッチングされたペプチド、およびそれらの調製方法および使用方法を提供する。本発明は、本発明の二機能性のステープリングまたはステッチングされたペプチドおよび薬学的に許容される賦形剤を

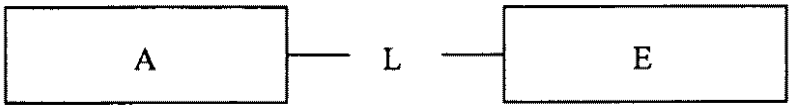
含む医薬組成物も提供する。ある特定の実施形態では、本発明は、二機能性のアルファヘリックス状のステープリングまたはステッチングされたペプチドであって、ペプチドの少なくとも１つがアルファヘリックスであり、ステープリングまたはステッチングすることによって安定化されているペプチドを提供する。ある特定の実施形態では、本発明のアルファヘリックスペプチドは、被験体の体内（例えば、胃腸管内；血流内）などの生理的条件下でそのアルファヘリックス構造を保持する。

【００１０】

ある特定の実施形態では、ターゲティングドメイン、リンカー、およびエフェクタードメインを含むステープリングまたはステッチングされた二機能性ペプチドは、一般に以下の通りに配置される：

【００１１】

【化１】



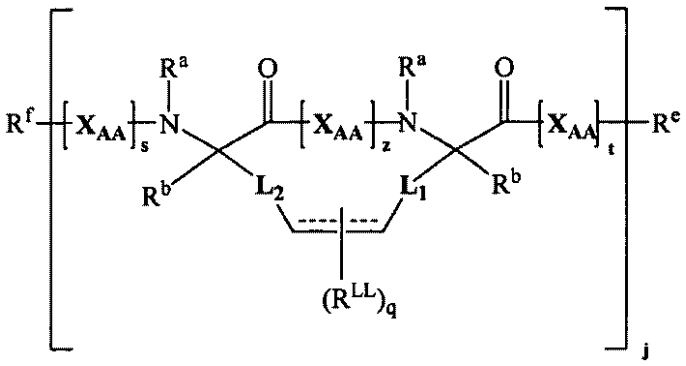
式中、ＡおよびＥはペプチドまたはペプチド様であり；Ａおよび／またはＥはステープリングまたはステッチングされたペプチドであり；Ｌはリンカー（例えば、共有結合；ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）；アミノヘキサン酸に基づくリンカー；ポリグリシンペプチド、単分散ポリマーなど）であり、Ａはターゲティングドメインであり、Ｅはエフェクタードメインである。

【００１２】

一態様では、本発明は、二機能性のステープリングまたはステッチングされたペプチドであって、ドメイン（すなわち、ＡまたはＥ）の一方または両方が次式のものであるペプチドを提供する。

【００１３】

【化２】



式中、L_1、L_2、R^a、R^b、R^e、R^f、R^{LL}、X_{AA}、ｓ、ｔ、ｑ、ｚ、ｊ、および

【００１４】

【化３】

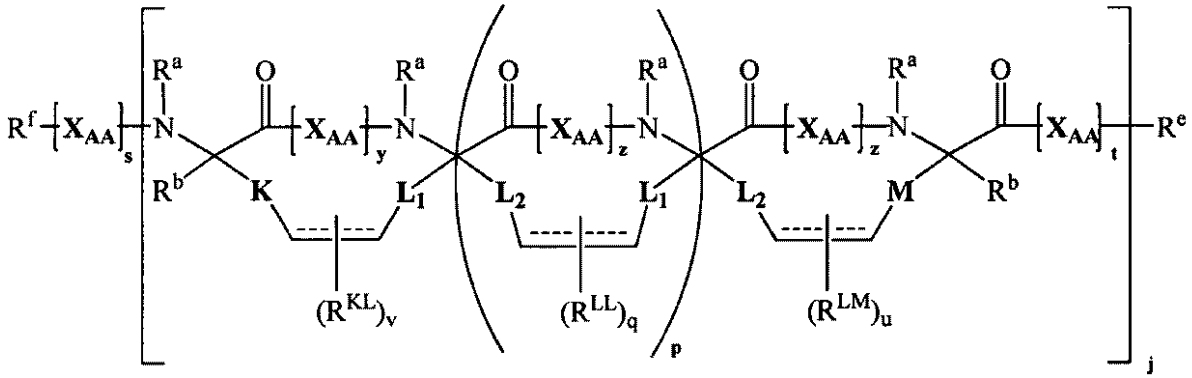
は本明細書に記載の通りである。

【００１５】

別の態様では、本発明は、二機能性のステッチングされたペプチドであって、ドメインの一方または両方が次式のものであるペプチド（すなわち、多数のステープルを持つペプチド）を提供する。

【００１６】

【化４】



式中、Ｋ、Ｌ$_1$、Ｌ$_2$、Ｍ、Ｒ^a、Ｒ^b、Ｒ^e、Ｒ^f、Ｒ^{KL}、Ｒ^{LL}、Ｒ^{LM}、Ｘ$_{AA}$、ｙ、ｚ、ｊ、ｐ、ｓ、ｔ、ｕ、ｖ、ｑ、および

【００１７】

【化５】

は本明細書に記載の通りである。

【００１８】

ドメインの一方または両方のアミノ酸配列は、公知のペプチドと実質的に類似している、または相同であってよい。一部の実施形態では、ターゲティングドメインは、タンパク質、核酸、または他の生体分子に結合する。ある特定の実施形態では、ターゲティングドメインは、β－カテニン、ｃ－Ｍｙｃ、Ｒａｓ、または低酸素誘導因子に結合する。一部の実施形態では、エフェクタードメインは、酵素を標的分子に動員する。ある特定の実施形態では、エフェクタードメインは、ユビキチン化酵素（例えば、Ｅ３ユビキチンリガーゼ）、グリコシル化酵素、ヒストン脱アセチル化酵素、ヒストンアシルトランスフェラーゼ、キナーゼ、プロテアーゼ、ファルネシルトランスフェラーゼ、アセチラーゼ、またはホスファターゼのリガンドである。

【００１９】

リンカーは、タンパク質新生性（ｐｒｏｔｅｉｎｏｇｅｎｉｃ）または非タンパク質新生性であってよい。リンカーは、共有結合（例えば、炭素－炭素結合、ジスルフィド結合、炭素－ヘテロ原子結合など）のように単純であってよい、または、リンカーは、ポリマーリンカー（例えば、ポリエチレン、ポリエチレングリコール、ポリアミド、ポリエステルなど）のように複雑であってよい。ある特定の実施形態では、リンカーは、アミノアルカン酸のモノマー、ダイマー、またはポリマーを含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、アミノアルカン酸（例えば、グリシン、エタン酸、アラニン、ベータアラニン、３－アミノプロパン酸、４－アミノブタン酸、５－ペンタン酸など）を含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、アミノヘキサン酸（Ａｈｘ）のモノマー、ダイマー、またはポリマーを含む。他の実施形態では、リンカーは、ポリエチレングリコール部分（ＰＥＧ）を含む。他の実施形態では、リンカーは、アミノ酸を含む。リンカーは、ペプチド由来の求核試薬（例えば、チオール、アミノ）がリンカーに付着することを容易にするための官能化部分に含まれてよい。ある特定の実施形態では、リンカーは、マレイミド基を含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、ＮＨＳエステルを含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、ＮＨＳエステルおよびマレイミド基の両方を含む。

【００２０】

ステープリングされた二機能性ペプチドが疾患または他の生物学的プロセスの治療または研究において有用であり得るほんの一例を挙げるために、ヒトのがんにおける内在性のβ－カテニン分解の損失を考慮する。β－カテニン分解を回復するために、本発明の二機能性のステープリングされたペプチドを使用する。二機能性ペプチドは、Ｅ３ユビキチン

リガーゼリガンド（ＳＡＨ　ｐ５３－８）と結びついた、ステープリングされたβ－カテニンリガンド（例えば、Ｂｃｌ－９またはＴｃｆ４）を含み、それによって、ユビキチン化機構が分解されるべきβ－カテニンに動員される。β－カテニンは、ユビキチンリガーゼによってユビキチン化され、それによりプロテアソームにおいて破壊される。当業者には理解されるが、この手法を使用して、β－カテニン以外のタンパク質をユビキチン化の標的とすることができる、かつ／または、ユビキチン化機構に加えて、他の細胞機構または酵素を標的に動員することができる。例えば、酵素または酵素複合体、例えばキナーゼ、ホスファターゼ、プロテアーゼ、グリコシラーゼ、リガーゼ、アセチラーゼ、リピダーゼ（ｌｉｐｉｄａｓｅ）などを標的タンパク質に動員することができる。タンパク質の分解を含めたほとんどどんな翻訳後修飾でも、本発明の二機能性ペプチドを使用して促進することができる。そのような本発明の二機能性ペプチドは、被験体（例えばヒト）における疾患を治療するために、医薬組成物に使用することができる。

【００２１】

本発明は、二機能性ペプチドを設計し、調製するためのシステムも提供する。二機能性ペプチドのドメインの一方または両方は、すでに当技術分野で公知であってよい。次に、ペプチドドメインを修飾して標的タンパク質に対するその親和性を増加させることができる。ペプチドは、ペプチドをステープリングまたはステッチングするために必要な非天然アミノ酸を含むように修飾することもできる。ある特定の実施形態では、様々な突然変異を伴うペプチドのライブラリーをスクリーニングして、標的タンパク質に対する親和性が高いペプチドを同定することができる。ライブラリーは、ステープリングされたまたはステープリングされていない、ステッチングされたまたはステッチングされていないペプチドを含んでよい。ある特定の実施形態では、標的タンパク質の構造的な情報または公知のタンパク質間相互作用の構造的な情報を使用して、ペプチドドメインをｉｎ　ｓｉｌｉｃｏで設計することができる。ペプチドドメインの設計では、より良い二機能性ペプチドを得るために、１つまたは複数のステープルを位置付ける場所、および／または一次配列における置換を決定することが必要とされ得る。設計された（１つまたは複数の）ペプチドを、結合親和性、機能性、安定性、薬物動態などを査定するための当技術分野で公知の技法を使用して、所望の活性についてアッセイすることができる。二機能性ペプチドが設計されたら、それを、利用可能なペプチド化学を使用して調製することができる。例えば、ペプチドは、標準の固相ペプチド合成方法体系を使用して合成することができる。必要に応じてまたは所望の通りに、非天然アミノ酸（例えば、S_5、R_5、S_8、R_8）を一次配列に導入することができる。ペプチドが合成されたら他方のペプチドと結びつけるこができる、または二機能性ペプチド全体を一度に創出することができる。ペプチドは、他方のペプチドドメインと結びつける前に、またはその後で、ステープリング、ステッチング、脱保護、またはそうでなければ修飾することができる。

【００２２】

本発明の二機能性ペプチドは、治療法ならびに研究ツールとして使用することができる。ある特定の実施形態では、本発明の二機能性ペプチドを、被験体における疾患（例えば、増殖性疾患、神経変性疾患）の治療において使用する。例えば、本明細書に記載のＴｃｆ４－ＳＡＨ　ｐ５３ペプチドまたはＢｃｌ－９－ＳＡＨ　ｐ５３ペプチド（図８～１１参照；配列番号１－２０）を、被験体におけるがんを治療するために使用することができる。当業者には理解されるが、ほぼどんな疾患、障害、または状態でも、本発明の二機能性ペプチドを使用して治療することができる。二機能性ペプチドのエフェクタードメインおよびターゲティングドメインは、特定の使用のためにあつらえることができる。本発明の二機能性ペプチドは、研究ツールとしても使用することができる。例えば、二機能性ペプチドを使用して、細胞における特定のタンパク質の機能を探査することができる。分解が増加すると、研究者が、タンパク質の欠損が経路または細胞にどのように影響を及ぼすかを理解することが可能になる。リン酸化または他の二次的な修飾を促進することにより、研究者がタンパク質の状態が生物学的な経路または細胞におけるその役割にどのように影響を及ぼすかを理解することが可能になる。

【００２３】
別の態様では、本発明は、本発明の二機能性ペプチドの設計および調製に必要な構成成分を伴うキットを提供する。キットは、本発明の二機能性ペプチドを作製し、かつ／または使用するために必要な容器、酵素、緩衝液、アミノ酸、試薬、触媒、ソフトウェア、指示などを含んでよい。
【００２４】
定義
特定の官能基および化学用語の定義を、以下により詳細に記載する。本発明の目的のために、化学元素は、元素周期表、ＣＡＳ版、Ｈａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｐｈｙｓｉｃｓ、第７５版、内表紙に従って同定され、特定の官能基は一般に、その中に記載の通り定義される。さらに、有機化学ならびに特定の官能基部分および反応性の一般原則は、Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、Ｔｈｏｍａｓ Ｓｏｒｒｅｌｌ、Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｂｏｏｋｓ、Ｓａｕｓａｌｉｔｏ、１９９９年；Ｓｍｉｔｈ ａｎｄ Ｍａｒｃｈ Ｍａｒｃｈ’ｓ Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、第５版、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、２００１年；Ｌａｒｏｃｋ、Ｃｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｔｒａｎｓｆｏｒｍａｔｉｏｎｓ、ＶＣＨ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ、Ｉｎｃ．、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、１９８９年；Ｃａｒｒｕｔｈｅｒｓ、Ｓｏｍｅ Ｍｏｄｅｒｎ Ｍｅｔｈｏｄｓ ｏｆ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ、第３版、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃａｍｂｒｉｄｇｅ、１９８７年に記載されている。
【００２５】
本明細書で使用される「ステープリング」「炭化水素ステープリング」は、ペプチドに、試薬と接触させて少なくとも２つの部分間に少なくとも１種のクロスリンカーを生成することができる、炭素－炭素結合の形成を促進するための反応を受けることができる少なくとも２つの部分を導入することである。ステープリングにより、アルファヘリックス構造などの二次構造に制約がもたらされる。所望の二次構造含量の収率を改善するために、クロスリンカーの長さおよび幾何学的形状を最適化することができる。もたらされる制約により、例えば、二次構造が開くのを防ぐことができる、かつ／または二次構造の形状を強化することができる。開くことが防止された二次構造は、例えば、より安定である。
【００２６】
「ステープリングされた」ペプチドは、選択された数の標準アミノ酸または非標準アミノ酸を含み、炭素－炭素結合の形成を促進するための反応を受けることができる少なくとも２つの部分をさらに含み、それに試薬を接触させて、少なくとも２つの部分間に、例えばペプチドの安定性を調節する少なくとも１種のクロスリンカーを生成したペプチドである。
【００２７】
本明細書で使用される「ステッチングされた」ペプチドは、２種以上の、すなわち多数の（２つの、３つの、４つの、５つの、６つのなど）架橋した部分を含むステープリングされたペプチドである。
【００２８】
本発明の化合物、タンパク質、またはペプチド（例えば、アミノ酸、ならびにステープリングされていないペプチドおよびタンパク質、部分的にステープリングされたペプチドおよびタンパク質、およびステープリングされたペプチドおよびタンパク質、ならびにステッチングされていないペプチドおよびタンパク質、部分的にステッチングされたペプチドおよびタンパク質、およびステッチングされたペプチドおよびタンパク質）は、特定の幾何異性体または立体異性体で存在してよい。本発明では、シス異性体およびトランス異性体、Ｒ鏡像異性体およびＳ鏡像異性体、ジアステレオマー、（Ｄ）－異性体および（Ｌ）－異性体、それらのラセミ混合物、および他のそれらの混合物を含むそのような化合物はすべて、本発明の範囲に含まれるものとする。

【００２９】
異性体／鏡像異性体が好ましい場合、一部の実施形態では、それは対応する鏡像異性体を実質的に含まない状態で提供することができ、「光学的に濃縮された」とも称することができる。本明細書で使用される「光学的に濃縮された」は、その化合物が一方の鏡像異性体が有意に高い割合を占めることを意味する。ある特定の実施形態では、本発明の化合物は、少なくとも約９０重量％の好ましい鏡像異性体で構成されている。他の実施形態では、化合物は、少なくとも約９５重量％、９８重量％、または９９重量％の好ましい鏡像異性体で構成されている。好ましい鏡像異性体は、キラル高圧液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）ならびにキラル塩の形成および結晶化を含めた当業者に公知の任意の方法によってラセミ混合物から単離することができ、または不斉合成によって調製することができる。例えば、Ｊａｃｑｕｅｓら、Ｅｎａｎｔｉｏｍｅｒｓ、ＲａｃｅｍａｔｅｓおよびＲｅｓｏｌｕｔｉｏｎｓ（Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、１９８１年）；Ｗｉｌｅｎら、Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ ３３巻：２７２５頁（１９７７年）；Ｅｌｉｅｌ、Ｓｔｅｒｅｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｃａｒｂｏｎ Ｃｏｍｐｏｕｎｄｓ（ＭｃＧｒａｗ－Ｈｉｌｌ、ＮＹ、１９６２年）；Ｗｉｌｅｎ、Ｔａｂｌｅｓ ｏｆ Ｒｅｓｏｌｖｉｎｇ Ａｇｅｎｔｓ ａｎｄ Ｏｐｔｉｃａｌ Ｒｅｓｏｌｕｔｉｏｎｓ ２６８頁（Ｅ．Ｌ． Ｅｌｉｅｌ、Ｅｄ．、Ｕｎｉｖ． ｏｆ Ｎｏｔｒｅ Ｄａｍｅ Ｐｒｅｓｓ、Ｎｏｔｒｅ Ｄａｍｅ、ＩＮ １９７２年）を参照されたい。

【００３０】
本明細書に記載の本発明の化合物は、任意の数の置換基または官能基部分で置換されていてもよいことが理解されよう。一般に、「場合によって」という用語が先行しようとすまいと、「置換」という用語、および本発明の式に含有される置換基は、特定の置換基のラジカルで所与の構造における水素ラジカルが置き換えられていることを指す。任意の所与の構造の２つ以上の位置が特定の基から選択される２つ以上の置換基で置換されていてもよい場合、その置換基は、位置毎に同じでも異なっていてもよい。本明細書で使用される「置換」という用語は、安定な部分を形成する、有機化合物の許容できるあらゆる置換基、本明細書に記載の置換基のいずれか（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロなど）、およびその任意の組合せ（例えば、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど）での置換を含むものとする。本発明は、安定な置換基／部分に達するための、任意のかつすべてのそのような組合せを企図する。一般に適用可能な置換基のさらなる例は、本明細書に記載の実施例に示されている特定の実施形態によって例示されている。本発明の目的のために、窒素などのヘテロ原子は、ヘテロ原子の原子価を満たし、安定な部分を形成する水素置換基および／または本明細書に記載の任意の適切な置換基を有してよい。

【００３１】
本明細書で使用される、接尾辞「－エン」で終わる置換基の名称は、置換基から２つの水素原子を除去することによって得られるビラジカルを指す。したがって、例えば、アシルはアシレン（ａｃｙｌｅｎｅ）であり；アルキルはアルキレンであり；アルケニル（ａｌｋｅｎｅｙｌ）はアルケニレンであり；アルキニルはアルキニレンであり；ヘテロアルキルはヘテロアルキレンであり、ヘテロアルケニルはヘテロアルケニレンであり、ヘテロアルキニルはヘテロアルキニレンであり、アリールはアリーレンであり、ヘテロアリールはヘテロアリーレンである。

【００３２】
本明細書で使用される「アシル」という用語は、一般式－Ｃ（＝Ｏ）$Ｒ^{Ａ}$、－Ｃ（＝Ｏ

）ＯＲ^{A}、－Ｃ（＝Ｏ）－Ｏ－Ｃ（＝Ｏ）Ｒ^{A}、－Ｃ（＝Ｏ）ＳＲ^{A}、－Ｃ（＝Ｏ）Ｎ（Ｒ^{A}）$_{2}$、－Ｃ（＝Ｓ）Ｒ^{A}、－Ｃ（＝Ｓ）Ｎ（Ｒ^{A}）$_{2}$、および－Ｃ（＝Ｓ）Ｓ（Ｒ^{A}）、－Ｃ（＝ＮＲ^{A}）Ｒ^{A}、－Ｃ（＝ＮＲ^{A}）ＯＲ^{A}、－Ｃ（＝ＮＲ^{A}）ＳＲ^{A}、および－Ｃ（＝ＮＲ^{A}）Ｎ（Ｒ^{A}）$_{2}$を有する基を指し、Ｒ^{A}は水素；ハロゲン；置換もしくは非置換のヒドロキシル；置換もしくは非置換チオール；置換もしくは非置換アミノ；置換もしくは非置換アシル、環式もしくは非環式、置換もしくは非置換、分岐もしくは非分岐の脂肪族；環式もしくは非環式、置換もしくは非置換、分岐もしくは非分岐のヘテロ脂肪族；環式もしくは非環式、置換もしくは非置換、分岐もしくは非分岐のアルキル；環式もしくは非環式、置換もしくは非置換、分岐もしくは非分岐のアルケニル；置換もしくは非置換のアルキニル；置換もしくは非置換アリール、置換もしくは非置換ヘテロアリール、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、モノ脂肪族アミノもしくはジ脂肪族アミノ、モノヘテロ脂肪族アミノもしくはジヘテロ脂肪族アミノ、モノアルキルアミノもしくはジアルキルアミノ、モノヘテロアルキルアミノもしくはジヘテロアルキルアミノ、モノアリールアミノもしくはジアリールアミノ、またはモノヘテロアリールアミノもしくはジヘテロアリールアミノであるか；あるいは２つのＲ^{A}基が一緒になって、５～６員の複素環式環を形成する。例示的なアシル基としては、アルデヒド（－ＣＨＯ）、カルボン酸（－ＣＯ$_{2}$Ｈ）、ケトン、ハロゲン化アシル、エステル、アミド、イミン、炭酸、カルバミン酸、および尿素が挙げられる。アシル置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００３３】

「アシルオキシ」という用語は、式（－ＯＲ^{i}）の「置換ヒドロキシル」を指し、Ｒ^{i}は、本明細書で定義されている、場合によって置換されているアシル基であり、その酸素部分は、親分子に直接付着している。

【００３４】

本明細書で使用される「アシレン」は、一般式：－Ｒ^{0}－（Ｃ＝Ｘ^{1}）－Ｒ^{0}－、－Ｒ^{0}－Ｘ^{2}（Ｃ＝Ｘ^{1}）－Ｒ^{0}－、または－Ｒ^{0}－Ｘ^{2}（Ｃ＝Ｘ^{1}）Ｘ^{3}－Ｒ^{0}－を有するアシル基を指し、Ｘ^{1}、Ｘ^{2}、およびＸ^{3}は、それぞれ独立に、酸素、硫黄、またはＮＲ^{r}であり、Ｒ^{r}は水素または脂肪族であり、Ｒ^{0}は、本明細書で定義されている、場合によって置換されているアルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、ヘテロアルキレン基、ヘテロアルケニレン基、またはヘテロアルキニレン基である。Ｒ^{0}がアルキレンである例示的なアシレン基としては、－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－Ｏ（Ｃ＝Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－；－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－ＮＲ^{r}（Ｃ＝Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－；－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－Ｏ（Ｃ＝ＮＲ^{r}）－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－；－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－ＮＲ^{r}（Ｃ＝ＮＲ^{r}）－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－；－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－（Ｃ＝Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－；－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－（Ｃ＝ＮＲ^{r}）－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－；－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－Ｓ（Ｃ＝Ｓ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－；－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－ＮＲ^{r}（Ｃ＝Ｓ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－；－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－Ｓ（Ｃ＝ＮＲ^{r}）－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－；－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－Ｏ（Ｃ＝Ｓ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－；－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－（Ｃ＝Ｓ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－；または－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－Ｓ（Ｃ＝Ｏ）－（ＣＨ$_{2}$）$_{Ｔ}$－などが挙げられ、これらは１つまたは複数の置換基を担持してよく；ｘｘの各例は、独立に、０から２０の間の整数である

。アシレン基は、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換であってよい。アシレン置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００３５】

本明細書で使用される「脂肪族」という用語は、飽和型および不飽和型の両方の、非芳香族炭化水素、直鎖（すなわち、非分岐）炭化水素、分岐炭化水素、非環式炭化水素、および環式炭化水素（すなわち、炭素環式）炭化水素を包含し、これは、場合によって１つまたは複数の官能基で置換されている。当業者には理解されるように、「脂肪族」は、本明細書では、これらに限定されないが、アルキル部分、アルケニル部分、アルキニル部分、シクロアルキル部分、シクロアルケニル部分、およびシクロアルキニル部分を含むものとする。したがって、本明細書で使用される、「アルキル」という用語は、直鎖アルキル基、分岐アルキル基、および環式アルキル基を包含する。「アルケニル」、「アルキニル」などの他の一般用語には、類似の慣習が適用される。さらに、本明細書で使用される「アルキル」、「アルケニル」、「アルキニル」などの用語は、置換基および非置換基の両方を包含する。ある特定の実施形態では、本明細書で使用される「脂肪族」は、１～２０個の炭素原子を有する脂肪族基（環式、非環式、置換、非置換、分岐もしくは非分岐）を示すために使用される。脂肪族基置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００３６】

本明細書で使用される「アルキル」という用語は、単一の水素原子を除去することによって、１～２０個の炭素原子を含有する炭化水素部分から得られる飽和型の、直鎖または分岐鎖の炭化水素ラジカルを指す。一部の実施形態では、本発明において使用されるアルキル基は、１～２０個の炭素原子を含有する。別の実施形態では、使用されるアルキル基は、１～１５個の炭素原子を含有する。別の実施形態では、使用されるアルキル基は、１～１０個の炭素原子を含有する。別の実施形態では、使用されるアルキル基は、１～８個の炭素原子を含有する。別の実施形態では、使用されるアルキル基は、１～５個の炭素原子を含有する。アルキルラジカルの例としては、これらに限定されないが、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、ｓｅｃ－ペンチル、ｉｓｏ－ペンチル、ｔｅｒｔ－ブチル、ｎ－ペンチル、ネオペンチル、ｎ－ヘキシル、ｓｅｃ－ヘキシル、ｎ－ヘプチル、ｎ－オクチル、ｎ－デシル、ｎ－ウンデシル、ドデシルなどが挙げられ、これらは１つまたは複数の置換基を担持してよい。アルキル基置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、

ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００３７】

本明細書で使用される「アルキレン」という用語は、２つの水素原子を除去することによって、本明細書で定義されているアルキル基から得られるビラジカルを指す。アルキレン基は、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換であってよい。アルキレン基置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００３８】

本明細書で使用される「アルケニル」という用語は、単一の水素原子を除去することによって、少なくとも１つの炭素－炭素二重結合を有する直鎖または分岐鎖の炭化水素部分から得られる一価の基を指す。ある特定の実施形態では、本発明において使用されるアルケニル基は、２～２０個の炭素原子を含有する。一部の実施形態では、本発明において使用されるアルケニル基は、２～１５個の炭素原子を含有する。別の実施形態では、使用されるアルケニル基は、２～１０個の炭素原子を含有する。さらに他の実施形態では、アルケニル基は、２～８個の炭素原子を含有する。さらに他の実施形態では、アルケニル基は、２～５個の炭素を含有する。アルケニル基としては、例えば、エテニル、プロペニル、ブテニル、１－メチル－２－ブテン－１－イルなどが挙げられ、これらは１つまたは複数の置換基を担持してよい。アルケニル基置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００３９】

本明細書で使用される「アルケニレン」という用語は、２つの水素原子を除去することによって、本明細書で定義されているアルケニル基から得られるビラジカルを指す。アルケニレン基は、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換であってよい。アルケニレン基置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ

、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００４０】

本明細書で使用される「アルキニル」という用語は、単一の水素原子を除去することによって、少なくとも１つの炭素－炭素三重結合を有する直鎖または分岐鎖の炭化水素から得られる一価の基を指す。ある特定の実施形態では、本発明において使用されるアルキニル基は、２～２０個の炭素原子を含有する。一部の実施形態では、本発明において使用されるアルキニル基は、２～１５個の炭素原子を含有する。別の実施形態では、使用されるアルキニル基は、２～１０個の炭素原子を含有する。さらに他の実施形態では、アルキニル基は、２～８個の炭素原子を含有する。さらに他の実施形態では、アルキニル基は、２～５個の炭素原子を含有する。代表的なアルキニル基としては、これらに限定されないが、エチニル、２－プロピニル（プロパルギル）、１－プロピニルなどが挙げられ、これらは１つまたは複数の置換基を担持してよい。アルキニル基置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００４１】

本明細書で使用される「アルキニレン」という用語は、２つの水素原子を除去することによって、本明細書で定義されているアルキニレン基から得られるビラジカルを指す。アルキニレン基は、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換であってよい。アルキニレン基置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００４２】

本明細書で使用される「アミノ」という用語は、式（－NH_2）の基を指す。「置換アミノ」は、一置換アミン（－NHR^h）または二置換アミン（－$NR^h{}_2$）のいずれかを指し、R^h置換基は、安定な部分を形成する本明細書に記載の任意の置換基（例えば、適切なアミノ保護基；脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、アミノ、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ

、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）である。ある特定の実施形態では、二置換アミノ基（－ＮＲ$^{h}_{2}$）のＲ^{h}置換基は５～６員の複素環式環を形成する。

【００４３】

「アルコキシ」という用語は、式（－ＯＲ^{i}）の「置換ヒドロキシル」を指し、Ｒ^{i}は、場合によって置換されている、本明細書で定義されているアルキル基であり、その酸素部分は、親分子に直接付着している。

【００４４】

「アルキルチオキシ」という用語は、式（－ＳＲ^{r}）の「置換チオール」を指し、Ｒ^{r}は、場合によって置換されている、本明細書で定義されているアルキル基であり、その硫黄部分は、親分子に直接付着している。

【００４５】

「アルキルアミノ」という用語は、式（－ＮＲ$^{h}_{2}$）の「置換アミノ」を指し、Ｒ^{h}は、それぞれ独立に、水素または場合によって置換されている、本明細書で定義されているアルキル基であり、その窒素部分は、親分子に直接付着している。

【００４６】

本明細書で使用される「アリール」という用語は、３～２０個の環原子を有する安定な芳香族の単環式環系または多環式環系を指し、これは置換であっても非置換であってもよく、その環原子はすべて炭素である。本発明のある特定の実施形態では、「アリール」は、１つの、２つの、または３つの芳香環を有する一環式、二環式または三環式のＣ$_{4}$～Ｃ$_{20}$芳香族環系を指し、これらとしては、これに限定されないが、フェニル、ビフェニル、ナフチルなどが挙げられ、これらは１つまたは複数の置換基を担持してよい。アリール置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００４７】

本明細書で使用される「アリーレン」という用語は、２つの水素原子を除去することによって、本明細書で定義されているアリール基から得られるアリールビラジカルを指す。アリーレン基は、置換であっても非置換であってもよい。アリーレン基置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。さらに、アリーレン基は、本明細書で定義されているアルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、ヘテロアルキレン基、ヘテロア

ルケニレン基、またはヘテロアルキニレン基にリンカー基として組み込むことができる。

【００４８】

本明細書で使用される「アリールアルキル」という用語は、アリール置換アルキル基を指し、「アリール」および「アルキル」という用語は、本明細書で定義されており、アリール基は、アルキル基に付着しており、それは同じように親分子に付着している。例示的なアリールアルキル基としてはベンジルが挙げられる。

【００４９】

「アリールオキシ」という用語は、式（－ＯＲ^{i}）の「置換ヒドロキシル」を指し、Ｒ^{i}は、場合によって置換されている、本明細書で定義されているアリール基であり、その酸素部分は、親分子に直接付着している。

【００５０】

「アリールアミノ」という用語は、式（－ＮＲ$^{h}{}_{2}$）の「置換アミノ」を指し、Ｒ^{h}は、それぞれ独立に、水素または場合によって置換されている、本明細書で定義されているアリール基であり、その窒素部分は、親分子に直接付着している。

【００５１】

「アリールチオキシ」という用語は、式（－ＳＲ^{r}）の「置換チオール」を指し、Ｒ^{r}は、場合によって置換されている、本明細書で定義されているアリール基であり、その硫黄部分は、親分子に直接付着している。

【００５２】

本明細書で使用される「アジド」という用語は、式（－Ｎ$_{3}$）の基を指す。

【００５３】

本明細書で使用される「シアノ」という用語は、式（－ＣＮ）の基を指す。

【００５４】

本明細書で使用される「ハロ」および「ハロゲン」という用語は、フッ素（フルオロ、－Ｆ）、塩素（クロロ、－Ｃｌ）、臭素（ブロモ、－Ｂｒ）、およびヨウ素（ヨード、－Ｉ）から選択される原子を指す。

【００５５】

本明細書で使用される「ヘテロ脂肪族」という用語は、本明細書で定義されている脂肪族部分を指し、飽和型および不飽和型の両方の、非芳香族、直鎖（すなわち、非分岐）、分岐、非環式、環式（すなわち、複素環式）、または多環の炭化水素を包含し、これは場合によって１つまたは複数の官能基で置換されており、例えば炭素原子の代わりに１つまたは複数の酸素原子、硫黄原子、窒素原子、リン原子、またはケイ素原子を含有する。ある特定の実施形態では、ヘテロ脂肪族部分はその水素原子の１つまたは複数を１つまたは複数の置換基で独立に置き換えることによって置換されている。当業者には理解されるように、「ヘテロ脂肪族」は、本明細書では、これらに限定されないが、ヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、ヘテロアルキニル、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルケニル、およびヘテロシクロアルキニル部分を含むものとする。したがって、「ヘテロ脂肪族」という用語は、「ヘテロアルキル」、「ヘテロアルケニル」、「ヘテロアルキニル」などの用語を包含する。さらに、本明細書で使用される、「ヘテロアルキル」、「ヘテロアルケニル」、「ヘテロアルキニル」などの用語は、置換基および非置換基の両方を包含する。ある特定の実施形態では、本明細書で使用される「ヘテロ脂肪族」は、１～２０個の炭素原子を有するヘテロ脂肪族基（環式、非環式、置換、非置換、分岐もしくは非分岐）を示すために使用される。ヘテロ脂肪族基置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、スルフィニル、スルホニル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族

チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００５６】

本明細書で使用される「ヘテロアルキル」という用語は、本明細書で定義されているアルキル部分を指し、これは、例えば炭素原子の代わりに１つまたは複数の酸素原子、硫黄原子、窒素原子、リン原子、またはケイ素原子を含有する。

【００５７】

本明細書で使用される「ヘテロアルキレン」という用語は、２つの水素原子を除去することによって、本明細書で定義されているヘテロアルキル基から得られるビラジカルを指す。ヘテロアルキレン基は、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換であってよい。ヘテロアルキレン基置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００５８】

本明細書で使用される「ヘテロアルケニル」という用語は、本明細書で定義されているアルケニル部分を指し、これは、例えば炭素原子の代わりに１つまたは複数の酸素原子、硫黄原子、窒素原子、リン原子、またはケイ素原子を含有する。

【００５９】

本明細書で使用される「ヘテロアルケニレン」という用語は、２つの水素原子を除去することによって、本明細書で定義されているヘテロアルケニル基から得られるビラジカルを指す。ヘテロアルケニレン基は、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換であってよい。

【００６０】

本明細書で使用される「ヘテロアルキニル」という用語は、本明細書で定義されているアルキニル部分を指し、これは、例えば炭素原子の代わりに１つまたは複数の酸素原子、硫黄原子、窒素原子、リン原子、またはケイ素原子を含有する。

【００６１】

本明細書で使用される「ヘテロアルキニレン」という用語は、２つの水素原子を除去することによって、本明細書で定義されているヘテロアルキニル基から得られるビラジカルを指す。ヘテロアルキニレン基は、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換であってよい。

【００６２】

「ヘテロアルキルアミノ」という用語は、式（－ＮＲ$^{h}_{2}$）の「置換アミノ」を指し、Ｒ^{h}は、それぞれ独立に、水素または場合によって置換されている、本明細書で定義されているヘテロアルキル基であり、その窒素部分は、親分子に直接付着している。

【００６３】

「ヘテロアルキルオキシ」という用語は、式（－ＯＲ^{i}）の「置換ヒドロキシル」を指し、Ｒ^{i}は、場合によって置換されている、本明細書で定義されているヘテロアルキル基であり、その酸素部分は、親分子に直接付着している。

【００６４】

「ヘテロアルキルチオキシ」という用語は、式（－ＳＲ^{r}）の「置換チオール」を指し

、Ｒʳは、場合によって置換されている、本明細書で定義されているヘテロアルキル基であり、その硫黄部分は、親分子に直接付着している。

【００６５】

本明細書で使用される「複素環式」、「複素環」または「ヘテロシクリル」という用語は、環式ヘテロ脂肪族基を指す。複素環式基は、非芳香族の、部分的に不飽和の、または完全に飽和の、３～１０員の環系を指し、これは３～８原子のサイズの単一の環、および非芳香族環に縮合した芳香族の５員または６員のアリール基またはヘテロアリール基を含んでよい二環式環系および三環式環系を含む。これらの複素環式環は、１個～３個のヘテロ原子を有する環を含み、これは、それぞれ独立に、酸素、硫黄、および窒素から選択され、窒素ヘテロ原子および硫黄ヘテロ原子は、場合によって酸化されていてもよく、窒素ヘテロ原子は、場合によって四級化されていてもよい。ある特定の実施形態では、複素環式という用語は、非芳香族の５員、６員または７員の環または多環式基を指し、ここで少なくとも１つの環原子は、Ｏ、Ｓ、およびＮから選択されるヘテロ原子（窒素ヘテロ原子および硫黄ヘテロ原子は、場合によって酸化されていてもよい）であり、残りの環原子は炭素であり、このラジカルは環原子のいずれかを介して分子の残りに連結される。ヘテロシクリル（Ｈｅｔｅｒｏｃｙｃｙｌ）基としては、これらに限定されないが、それぞれ独立に、酸素、硫黄、および窒素から選択される１～３個のヘテロ原子を有する５員、６員、または７員の縮合環を含む二環式基または三環式基が挙げられ、ここで（ｉ）各５員環は０～２個の二重結合を有し、各６員環は０～２個の二重結合を有し、各７員環は０～３個の二重結合を有し、（ｉｉ）窒素ヘテロ原子および硫黄ヘテロ原子は、場合によって酸化されていてもよく、（ｉｉｉ）窒素ヘテロ原子は、場合によって四級化されていてもよく（ｉｖ）上記の複素環式環のいずれかは、アリール環またはヘテロアリール環に縮合していてもよい。例示的な複素環としては、アザシクロプロパニル、アザシクロブタニル、１，３－ジアザチジニル、ピペリジニル、ピペラジニル、アゾカニル、チアラニル、チエタニル、テトラヒドロチオフェニル、ジチオラニル、チアシクロヘキサニル、オキシラニル、オキセタニル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロプラニル、ジオキサニル、オキサチオラニル、モルホリニル、チオキサニル、テトラヒドロナフチルなどが挙げられ、これらは１つまたは複数の置換基を担持してよい。置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、スルフィニル、スルホニル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００６６】

本明細書で使用される「ヘテロアリール」という用語は、３～２０個の環原子を有する安定な芳香族の単環式環系または多環式環系を指し、その１個の環原子は、Ｓ、Ｏ、およびＮから選択され、０個、１個、または２個の環原子は、それぞれ独立にＳ、Ｏ、およびＮから選択される追加的なヘテロ原子であり；残りの環原子は炭素であり、このラジカルは環原子のいずれかを介して分子の残りに連結される。例示的なヘテロアリールとしては、これらに限定されないが、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、ピリジニル、ピリミジニル、ピラジニル、ピリダジニル、トリアジニル、テトラジニル、ピロリジニル、インドリル、キノリニル、イソキノリニル、ベンゾイミダゾリル、インダゾリル、キノリニル、イソキノリニル、キノリジニル、シンノリニル、キナゾリニル、フタラジニル、ナフチリジニル（ｎａｐｈｔｈｒｉｄｉｎｙｌ）、キノキサリニル、チオフェニル、チアナフテニル、フラニル、ベンゾフラニル、ベンゾチアゾリル、チアゾリニル、イソチアゾリル、

チアジアゾリニル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、オキサジアゾリル（ｏｘａｄｉａｚｉｏｌｙｌ）、オキサジアゾリル（ｏｘａｄｉａｚｉｏｌｙｌ）などが挙げられ、これらは１つまたは複数の置換基を担持してよい。ヘテロアリール置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、スルフィニル、スルホニル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００６７】

本明細書で使用される「ヘテロアリーレン」という用語は、２つの水素原子を除去することによって、本明細書で定義されているヘテロアリール基から得られるビラジカルを指す。ヘテロアリーレン基は、置換または非置換であってよい。さらに、ヘテロアリーレン基は、本明細書で定義されているアルキレン基、アルケニレン基、アルキニレン基、ヘテロアルキレン基、ヘテロアルケニレン基、またはヘテロアルキニレン基にリンカー基として組み込むことができる。ヘテロアリーレン基置換基としては、これらに限定されないが、安定な部分を形成する、本明細書に記載の置換基のいずれかが挙げられる（例えば、脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環、アリール、ヘテロアリール、アシル、オキソ、イミノ、チオオキソ、シアノ、イソシアノ、アミノ、アジド、ニトロ、ヒドロキシル、チオール、ハロ、脂肪族アミノ、ヘテロ脂肪族アミノ、アルキルアミノ、ヘテロアルキルアミノ、アリールアミノ、ヘテロアリールアミノ、アルキルアリール、アリールアルキル、脂肪族オキシ、ヘテロ脂肪族オキシ、アルキルオキシ、ヘテロアルキルオキシ、アリールオキシ、ヘテロアリールオキシ、脂肪族チオキシ、ヘテロ脂肪族チオキシ、アルキルチオキシ、ヘテロアルキルチオキシ、アリールチオキシ、ヘテロアリールチオキシ、アシルオキシなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００６８】

「ヘテロアリールアミノ」という用語は、（－ＮＲ$^{h}_{2}$）の「置換アミノ」を指し、Ｒ^{h}は、それぞれ独立に、水素または場合によって置換されている、本明細書で定義されているヘテロアリール基であり、その窒素部分は、親分子に直接付着している。

【００６９】

「ヘテロアリールオキシ」という用語は、式（－ＯＲ^{i}）の「置換ヒドロキシル」を指し、Ｒ^{i}は、場合によって置換されている、本明細書で定義されているヘテロアリール基であり、その酸素部分は、親分子に直接付着している。

【００７０】

「ヘテロアリールチオキシ」という用語は、式（－ＳＲ^{r}）の「置換チオール」を指し、Ｒ^{r}は、場合によって置換されている、本明細書で定義されているヘテロアリール基であり、その硫黄部分は、親分子に直接付着している。

【００７１】

本明細書で使用される「ヒドロキシ」または「ヒドロキシル」という用語は、式（－ＯＨ）の基を指す。「置換ヒドロキシル」は、式（－ＯＲ^{i}）の基を指し、Ｒ^{i}は、安定な部分をもたらす任意の置換基（例えば、適切なヒドロキシル保護基；脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環式、アリール、ヘテロアリール、アシル、ニトロ、アルキルアリール、アリールアルキルなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）であってよい。

【００７２】

本明細書で使用される「イミノ」という用語は、式（＝ＮＲ^{r}）の基を指し、Ｒ^{r}は、安定な部分を形成する水素または本明細書に記載の任意の置換基に対応する（例えば、適切なアミノ保護基；脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環式、アリール、ヘテロアリール、アシル、アミノ、ヒドロキシル、アルキルアリール、アリールアルキルなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）。

【００７３】

本明細書で使用される「イソシアノ」という用語は、式（－ＮＣ）の基を指す。

【００７４】

本明細書で使用される「ニトロ」という用語は、式（－ＮＯ$_{2}$）の基を指す。

【００７５】

本明細書で使用される「オキソ」という用語は、式（＝Ｏ）の基を指す。

【００７６】

本明細書で使用される、「樹脂」という用語は、固相合成するために有用な樹脂を指す。固相合成は、周知の合成法である；一般に、そのそれぞれの内容全体がこれによって参照により本明細書に組み込まれる、Ａｔｈｅｒｔｏｎ、Ｅ．、Ｓｈｅｐｐａｒｄ、Ｒ．Ｃ．　Ｓｏｌｉｄ　Ｐｈａｓｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ：Ａ　Ｐｒａｃｔｉｃａｌ　Ａｐｐｒｏａｃｈ、ＩＲＬ　Ｐｒｅｓｓ、Ｏｘｆｏｒｄ、Ｅｎｇｌａｎｄ、１９８９年、およびＳｔｅｗａｒｔ　Ｊ．Ｍ．、Ｙｏｕｎｇ、Ｊ．Ｄ．　Ｓｏｌｉｄ　Ｐｈａｓｅ　Ｐｅｐｔｉｄｅ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ、第２版、Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ　Ｃｏｍｐａｎｙ、Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、１９８４年を参照されたい。本発明で使用することができる例示的な樹脂としては、これらに限定されないが、以下のものが挙げられる：

（１）アルケニル樹脂（例えば、ＲＥＭ樹脂、ビニルスルホンポリマー結合樹脂、ビニルポリスチレン樹脂）；

（２）アミン官能化樹脂（例えば、アミジン樹脂、ポリマー結合型Ｎ－（４－ベンジルオキシベンジル）ヒドロキシルアミン、ポリマー結合型（アミノメチル）ポリスチレン、（Ｒ）－（＋）－ａ－メチルベンジルアミン、２－クロロトリチルＫｎｏｒｒ樹脂、ポリマー結合型２－Ｎ－Ｆｍｏｃ－アミノ－ジベンゾシクロヘプター１，４－ジエン樹脂、４－［４－（１－Ｆｍｏｃ－アミノエチル）－２－メトキシ－５－ニトロフェニル］ブチラミドメチル－ポリスチレン樹脂、ポリマー結合型４－ベンジルオキシベンジルアミン、ポリマー結合型４－カルボキシベンゼンスルホンアミド、ポリマー結合型ビス（ｔｅｒｔ－ブトキシカルボニル）チオプソイド尿素、ジメチルアミノメチルポリスチレン、ポリマー結合型Ｆｍｏｃ－３－アミノ－３－（２－ニトロフェニル）プロピオン酸、Ｎ－メチルアミノメチル化ポリスチレン、ＰＡＬ樹脂、Ｓｉｅｂｅｒアミド樹脂、ポリマー結合型ｔｅｒｔ－ブチルＮ－（２－メルカプトエチル）カルバミン酸、ポリマー結合型トリフェニルクロロメタン－４－カルボキサミド）；

（３）ベンズヒドリルアミン（ＢＨＡ）樹脂（例えば、ポリマー結合型２－クロロベンズヒドリルクロリド、ポリマー結合型ＨＭＰＢ－ベンズヒドリルアミン、ポリマー結合型４－メチルベンズヒドロール、ポリマー結合型ベンズヒドリルクロリド、ポリマー結合型ベンズヒドリルアミン）；

（４）Ｂｒ－官能化樹脂（例えば、ポリマー結合型４－（ベンジルオキシ）ベンジルブロミド、４－ブロモポリスチレン、臭素化ＰＰＯＡ樹脂、臭素化Ｗａｎｇ樹脂、ポリマー結合型ブロモアセタール、ブロモポリスチレン、ＨｙｐｏＧｅｌ（登録商標）２００Ｂｒ、ペプチド合成用ポリスチレンＡ－Ｂｒ、ポリマー結合型臭化セレン、ＴｅｎｔａＧｅｌ　ＨＬ－Ｂｒ、ＴｅｎｔａＧｅｌ　ＭＢ－Ｂｒ、ＴｅｎｔａＧｅｌ　Ｓ－Ｂｒ、ＴｅｎｔａＧｅｌ　Ｓ－Ｂｒ）；

（５）クロロメチル樹脂（例えば、ポリマー結合型５－［４－（クロロメチル）フェニル］ペンチル］スチレン、ポリマー結合型４－（ベンジルオキシ）ベンジルクロリド、ポリマー結合型４－メトキシベンズヒドリルクロリド）；

（６）ＣＨＯ－官能化樹脂（例えば、（４－ホルミル－３－メトキシフェノキシメチル）

ポリスチレン、（４－ホルミル－３－メトキシフェノキシメチル）ポリスチレン、ポリマー結合型３－ベンジルオキシベンズアルデヒド、ポリマー結合型４－ベンジルオキシ－２，６－ジメトキシベンズアルデヒド、ホルミルポリスチレン、ＨｙｐｏＧｅｌ（登録商標）２００　ＣＨＯ、インドール樹脂、ポリスチレン　Ａ－ＣＨ（ＯＥｔ）$_2$、ＴｅｎｔａＧｅｌ　ＨＬ－ＣＨ（ＯＥｔ）$_2$）；
（７）Ｃｌ－官能化樹脂（例えば、ポリマー結合型塩化ベンゾイル、（クロロメチル）ポリスチレン、メリフィールド樹脂）；
（８）ＣＯ$_2$Ｈ官能化樹脂（例えば、カルボキシエチルポリスチレン、ＨｙｐｏＧｅｌ（登録商標）２００　ＣＯＯＨ、ポリスチレンＡＭ－ＣＯＯＨ、ＴｅｎｔａＧｅｌ　ＨＬ－ＣＯＯＨ、ＴｅｎｔａＧｅｌ　ＭＢ－ＣＯＯＨ、ＴｅｎｔａＧｅｌ　Ｓ－ＣＯＯＨ）；
（９）Ｈｙｐｏ－Ｇｅｌ樹脂（例えば、ＨｙｐｏＧｅｌ（登録商標）２００　ＦＭＰ、ＨｙｐｏＧｅｌ（登録商標）２００　ＰＨＢ、ＨｙｐｏＧｅｌ（登録商標）２００　Ｔｒｔ－ＯＨ、ＨｙｐｏＧｅｌ（登録商標）２００　ＨＭＢ）；
（１０）Ｉ－官能化樹脂（例えば、ポリマー結合型４－ヨードフェノール、ヨードポリスチレン）；Ｊａｎｄａ－Ｊｅｌｓ（商標）（ＪａｎｄａＪｅｌ^a－Ｒｉｎｋアミド、ＪａｎｄａＪｅｌ－ＮＨ$_2$、ＪａｎｄａＪｅｌ－Ｃｌ、ＪａｎｄａＪｅｌ－４－メルカプトフェノール、ＪａｎｄａＪｅｌ－ＯＨ、ＪａｎｄａＪｅｌ－１－（３－ジメチルアミノプロピル）－３－エチルカルボジイミド、ＪａｎｄａＪｅｌ－１，３，４，６，７，８－ヘキサヒドロ－２Ｈ－ピリミド－［１，２－ａ］ピリミジン、ＪａｎｄａＪｅｌ－モルホリン、ＪａｎｄａＪｅｌ－ポリピリジン、ＪａｎｄａＪｅｌ－トリフェニルホスフィン、ＪａｎｄａＪｅｌ－Ｗａｎｇ）；
（１１）ＭＢＨＡ樹脂（３［４‘－（ヒドロキシメチル）フェノキシ］プロピオン酸－４－メチルベンズヒドリルアミン樹脂、４－（ヒドロキシメチル）フェノキシ酢酸のＭＢＨＡ樹脂へのポリマー結合型、ポリマー結合型ＨＭＢＡ－４－メチルベンズヒドリルアミン、ポリマー結合型４－メチルベンズヒドリルアミン塩酸塩Ｃａｐａｃｉｔｙ（アミン））；
（１２）ＮＨ$_2$官能化樹脂（（アミノメチル）ポリスチレン、（アミノメチル）ポリスチレン、ＨｙｐｏＧｅｌ（登録商標）２００　ＮＨ2、ポリスチレンＡＭ－ＮＨ$_2$、２－アミノエチル化ポリスチレンミクロスフェア、２－ブロモエチル化ポリスチロールミクロスフェア、２－ヒドロキシエチル化ポリスチロールミクロスフェア、ＴｅｎｔａＧｅｌ　ＨＬ－ＮＨ$_2$、Ｔｅｎｔａｇｅｌ　Ｍ　Ｂｒ、Ｔｅｎｔａｇｅｌ　Ｍ　ＮＨ$_2$、Ｔｅｎｔａｇｅｌ　Ｍ　ＯＨ、ＴｅｎｔａＧｅｌ　ＭＢ－ＮＨ$_2$、ＴｅｎｔａＧｅｌ　Ｓ－ＮＨ$_2$、ＴｅｎｔａＧｅｌ　Ｓ－ＮＨ$_2$）；
（１３）ＯＨ－官能化樹脂（例えば、ポリマー結合型４－ヒドロキシメチル安息香酸、ヒドロキシメチル樹脂、ＯＨ－官能化Ｗａｎｇ樹脂）；
（１４）オキシム樹脂（例えば、ポリマー結合型４－クロロベンゾフェノンオキシム、ポリマー結合型ベンゾフェノンオキシム、ポリマー結合型４－メトキシベンゾフェノンオキシム）；
（１５）ＰＥＧ樹脂（例えば、ポリマー結合型エチレングリコール）；
（１６）Ｂｏｃ－／Ｂｌｚペプチド合成樹脂（例えば、Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）－Ｌｙｓ［Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）］－Ｃｙｓ（Ａｃｍ）－ｂ－Ａｌａ－Ｏ－ＰＡＭ樹脂、Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）－Ｌｙｓ［Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）］－ｂ－Ａｌａ－Ｏ－Ｐａｍ樹脂、Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）－Ｌｙｓ［Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）］－Ｌｙｓ｛Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）－Ｌｙｓ［Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）］｝－ｂ－Ａｌａ－Ｏ－ＰＡＭ樹脂、Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）－Ｌｙｓ［Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）］－Ｌｙｓ｛Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）－Ｌｙｓ［Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）］｝－ｂ－Ａｌａ－Ｏ－ＰＡＭ樹脂、Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）－Ｌｙｓ［Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）］－Ｌｙｓ｛Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）－Ｌｙｓ［Ｂｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）］｝－Ｃｙｓ（Ａｃｍ）－ｂ－Ａｌａ－Ｏ－ＰＡＭ樹脂、プレロード型ＰＡＭ樹脂）；
（１７）Ｆｍｏｃ－／ｔ－Ｂｕペプチド合成樹脂（例えば、Ｆｍｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ

）－Ｌｙｓ［Ｆｍｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）］－ｂ－Ａｌａ－Ｏ－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）－Ｌｙｓ［Ｆｍｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）］－Ｌｙｓ｛Ｆｍｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）－Ｌｙｓ［Ｆｍｏｃ－Ｌｙｓ（Ｆｍｏｃ）］｝－ｂ－Ａｌａ－Ｏ－Ｗａｎｇ樹脂、プレロード型ＴｅｎｔａＧｅｌ（登録商標）Ｓトリチル樹脂、プレロード型ＴｅｎｔａＧｅｌ（登録商標）樹脂、プレロード型トリチル樹脂、プレロード型Ｗａｎｇ樹脂、アミノアルコールプレロード型トリチル樹脂）；

（１９）チオール－官能化樹脂（例えば、ＨｙｐｏＧｅｌ（登録商標）２００　Ｓ－Ｔｒｔ、Ｐｏｌｙｓｔｙｒｅｎｅ　ＡＭ－Ｓ－Ｔｒｉｔｙｌ、ＴｅｎｔａＧｅｌ　ＨＬ－Ｓ－Ｔｒｉｔｙｌ、ＴｅｎｔａＧｅｌ　ＭＢ－Ｓ－Ｔｒｉｔｙｌ、ＴｅｎｔａＧｅｌ　Ｓ－Ｓ－Ｔｒｉｔｙｌ）；

（２０）Ｗａｎｇ樹脂、（例えば、Ｆｍｏｃ－Ａｌａ－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ａｒｇ（Ｐｂｆ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ａｒｇ（Ｐｍｃ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ａｓｎ（Ｔｒｔ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ａｓｐ（ＯｔＢｕ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｃｙｓ（Ａｃｍ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｃｙｓ（ＳｔＢｕ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｃｙｓ（Ｔｒｔ）Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｇｌｎ（Ｔｒｔ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｇｌｕ（ＯｔＢｕ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｇｌｙ－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｈｉｓ（Ｔｒｔ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｉｌｅ－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｌｅｕ－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｌｙｓ（Ｂｏｃ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｍｅｔ－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｄ－Ｍｅｔ－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｐｈｅ－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｐｒｏ－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｓｅｒ（ｔＢｕ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｓｅｒ（Ｔｒｔ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｔｈｒ（ｔＢｕ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｔｒｐ（Ｂｏｃ）Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｔｒｐ－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｔｙｒ（ｔＢｕ）－Ｗａｎｇ樹脂、Ｆｍｏｃ－Ｖａｌ－Ｗａｎｇ樹脂）。

【００７７】

本明細書で使用される「安定な部分」という用語は、製造を可能にするために十分な安定性を保有し、その完全性が、本明細書に詳述されている目的のために有用になるために十分な期間維持される部分を指すことが好ましい。

【００７８】

本明細書で使用される「適切なアミノ保護基」は、当技術分野で周知であり、それには、その全体が参照により本明細書に組み込まれるＰｒｏｔｅｃｔｉｎｇ　ＧｒｏｕｐｓｉｎＯｒｇａｎｉｃ　Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ、Ｔ．Ｗ．ＧｒｅｅｎｅおよびＰ．Ｇ．Ｍ．Ｗｕｔｓ、第３版、Ｊｏｈｎ　Ｗｉｌｅｙ　＆　Ｓｏｎｓ、１９９９年に詳述されているものが含まれる。適切なアミノ保護基としては、メチルカルバメート、エチルカルバマント、９－フルオレニルメチルカルバメート（Ｆｍｏｃ）、９－（２－スルホ）フルオレニルメチルカルバメート、９－（２，７－ジブロモ）フルオロエニルメチルカルバメート、２，７－ジ－ｔ－ブチル－［９－（１０，１０－ジオキソ－１０，１０，１０，１０－テトラヒドロチオキサンチル）］メチルカルバメート（ＤＢＤ－Ｔｍｏｃ）、４－メトキシフェナシルカルバメート（Ｐｈｅｎｏｃ）、２，２，２－トリクロロエチルカルバメート（Ｔｒｏｃ）、２－トリメチルシリルエチルカルバメート（Ｔｅｏｃ）、２－フェニルエチルカルバメート（ｈＺ）、１－（１－アダマンチル）－１－メチルエチルカルバメート（Ａｄｐｏｃ）、１，１－ジメチル－２－ハロエチルカルバメート、１，１－ジメチル－２，２－ジブロモエチルカルバメート（ＤＢ－ｔ－ＢＯＣ）、１，１－ジメチル－２，２，２－トリクロロエチルカルバメート（ＴＣＢＯＣ）、１－メチル－１－（４－ビフェニリル）エチルカルバメート（Ｂｐｏｃ）、１－（３，５－ジ－ｔ－ブチルフェニル）－１－メチルエチルカルバメート（ｔ－Ｂｕｍｅｏｃ）、２－（２’－および４’－ピリジル）エチルカルバメート（Ｐｙｏｃ）、２－（Ｎ，Ｎ－ジシクロヘキシルカルボキサミド）エチルカルバメート、ｔ－ブチルカルバメート（ＢＯＣ）、１－アダマンチルカルバメート（Ａｄｏｃ）、ビニルカルバメート（Ｖｏｃ）、アリルカルバメート（Ａｌｌｏｃ）、１－イソプロピルアリルカルバメート（Ｉｐａｏｃ）、シンナミルカルバメート（Ｃｏｃ）、４－ニトロシンナミルカルバメート（Ｎｏｃ）、８－キノリルカルバメート

、Ｎ－ヒドロキシピペリジニルカルバメート、アルキルジチオカルバメート、ベンジルカルバメート（Ｃｂｚ）、ｐ－メトキシベンジルカルバメート（Ｍｏｚ）、ｐ－ニトベンジルカルバメート、ｐ－ブロモベンジルカルバメート、ｐ－クロロベンジルカルバメート、２，４－ジクロロベンジルカルバメート、４－メチルスルフィニルベンジルカルバメート（Ｍｓｚ）、９－アントリルメチルカルバメート、ジフェニルメチルカルバメート、２－メチルチオエチルカルバメート、２－メチルスルホニルエチルカルバメート、２－（ｐ－トルエンスルホニル）エチルカルバメート、［２－（１，３－ジチアニル）］メチルカルバメート（Ｄｍｏｃ）、４－メチルチオフェニルカルバメート（Ｍｔｐｃ）、２，４－ジメチルチオフェニルカルバメート（Ｂｍｐｃ）、２－ホスホニオエチルカルバメート（Ｐｅｏｃ）、２－トリフェニルホスホニオイソプロピルカルバメート（Ｐｐｏｃ）、１，１－ジメチル－２－シアノエチルカルバメート、ｍ－クロロ－ｐ－アシルオキシベンジルカルバメート、ｐ－（ジヒドロキシボリル）ベンジルカルバメート、５－ベンゾイソオキサゾリルメチルカルバメート、２－（トリフルオロメチル）－６－クロモニルメチルカルバメート（Ｔｃｒｏｃ）、ｍ－ニトロフェニルカルバメート、３，５－ジメトキシベンジルカルバメート、ｏ－ニトロベンジルカルバメート、３，４－ジメトキシ－６－ニトロベンジルカルバメート、フェニル（ｏ－ニトロフェニル）メチルカルバメート、フェノチアジニル－（１０）－カルボニル誘導体、Ｎ’－ｐ－トルエンスルホニルアミノカルボニル誘導体、Ｎ’－フェニルアミノチオカルボニル誘導体、ｔ－アミルカルバメート、Ｓ－ベンジルチオカルバメート、ｐ－シアノベンジルカルバメート、シクロブチルカルバメート、シクロヘキシルカルバメート、シクロペンチルカルバメート、シクロプロピルメチルカルバメート、ｐ－デシルオキシベンジルカルバメート、２，２－ジメトキシカルボニルビニルカルバメート、ｏ－（Ｎ，Ｎ－ジメチルカルボキサミド）ベンジルカルバメート、１，１－ジメチル－３－（Ｎ，Ｎ－ジメチルカルボキサミド）プロピルカルバメート、１，１－ジメチルプロピニルカルバメート、ジ（２－ピリジル）メチルカルバメート、２－フラニルメチルカルバメート、２－ヨードエチルカルバメート、イソボリンルカルバメート、イソブチルカルバメート、イソニコチニルカルバメート、ｐ－（ｐ’－メトキシフェニルアゾ）ベンジルカルバメート、１－メチルシクロブチルカルバメート、１－メチルシクロヘキシルカルバメート、１－メチル－１－シクロプロピルメチルカルバメート、１－メチル－１－（３，５－ジメトキシフェニル）エチルカルバメート、１－メチル－１－（ｐ－フェニルアゾフェニル）エチルカルバメート、１－メチル－１－フェニルエチルカルバメート、１－メチル－１－（４－ピリジル）エチルカルバメート、フェニルカルバメート、ｐ－（フェニルアゾ）ベンジルカルバメート、２，４，６－トリ－ｔ－ブチルフェニルカルバメート、４－（トリメチルアンモニウム）ベンジルカルバメート、２，４，６－トリメチルベンジルカルバメート、ホルムアミド、アセトアミド、クロロアセトアミド、トリクロロアセトアミド、トリフルオロアセトアミド、フェニルアセトアミド、３－フェニルプロパンアミド、ピコリンアミド、３－ピリジルカルボキサミド、Ｎ－ベンゾイルフェニルアラニル誘導体、ベンズアミド、ｐ－フェニルベンズアミド、ｏ－ニトフェニルアセトアミド、ｏ－ニトロフェノキシアセトアミド、アセトアセトアミド、（Ｎ’－ジチオベンジルオキシカルボニルアミノ）アセトアミド、３－（ｐ－ヒドロキシフェニル）プロパンアミド、３－（ｏ－ニトロフェニル）プロパンアミド、２－メチル－２－（ｏ－ニトロフェノキシ）プロパンアミド、２－メチル－２－（ｏ－フェニルアゾフェノキシ）プロパンアミド、４－クロロブタンアミド、３－メチル－３－ニトロブタンアミド、ｏ－ニトロシンアミド、Ｎ－アセチルメチオニン誘導体、ｏ－ニトロベンズアミド、ｏ－（ベンゾイルオキシメチル）ベンズアミド、４，５－ジフェニル－３－オキサゾリン－２－オン、Ｎ－フタルイミド、Ｎ－ジチアスクシンイミド（Ｄｔｓ）、Ｎ－２，３－ジフェニルマレイミド、Ｎ－２，５－ジメチルピロール、Ｎ－１，１，４，４－テトラメチルジシリルアザシクロペンタン付加物（ＳＴＡＢＡＳＥ）、５－置換１，３－ジメチル－１，３，５－トリアザシクロヘキサン－２－オン、５－置換１，３－ジベンジル－１，３，５－トリアザシクロヘキサン－２－オン、１－置換３，５－ジニトロ－４－ピリドン、Ｎ－メチルアミン、Ｎ－アリルアミン、Ｎ－［２－（トリメチルシリル）エトキシ］メチルアミン（ＳＥＭ

）、Ｎ－３－アセトキシプロピルアミン、Ｎ－（１－イソプロピル－４－ニトロ－２－オキソ－３－ピロオリン－３－イル）アミン、第四級アンモニウム塩、Ｎ－ベンジルアミン、Ｎ－ジ（４－メトキシフェニル）メチルアミン、Ｎ－５－ジベンゾスベリルアミン、Ｎ－トリフェニルメチルアミン（Ｔｒ）、Ｎ－［（４－メトキシフェニル）ジフェニルメチル］アミン（ＭＭＴｒ）、Ｎ－９－フェニルフルオレニルアミン（ＰｈＦ）、Ｎ－２，７－ジクロロ－９－フルオレニルメチルエネアミン、Ｎ－フェロセニルメチルアミノ（Ｆｃｍ）、Ｎ－２－ピコリルアミノＮ’－オキシド、Ｎ－１，１－ジメチルチオメチレンアミン、Ｎ－ベンジリデンアミン、Ｎ－ｐ－メトキシベンジリデンアミン、Ｎ－ジフェニルメチレンアミン、Ｎ－［（２－ピリジル）メシチル］メチレンアミン、Ｎ－（Ｎ’，Ｎ’－ジメチルアミノメチレン）アミン、Ｎ，Ｎ’－イソプロピリデンジアミン、Ｎ－ｐ－ニトロベンジリデンアミン、Ｎ－サリチリデンアミン、Ｎ－５－クロロサリチリデンアミン、Ｎ－（５－クロロ－２－ヒドロキシフェニル）フェニルメチレンアミン、Ｎ－シクロヘキシリデンアミン、Ｎ－（５，５－ジメチル－３－オキソ－１－シクロヘキセニル）アミン、Ｎ－ボラン誘導体、Ｎ－ジフェニルボリン酸誘導体、Ｎ－［フェニル（ペンタカルボニルクロム－またはタングステン）カルボニル］アミン、Ｎ－銅キレート、Ｎ－亜鉛キレート、Ｎ－ニトロアミン、Ｎ－ニトロソアミン、アミンＮ－オキシド、ジフェニルホスフィンアミド（Ｄｐｐ）、ジメチルチオホスフィンアミド（Ｍｐｔ）、ジフェニルチオホスフィンアミド（Ｐｐｔ）、ジアルキルホスホルアミダテス、ジベンジルホスホルアミデート、ジフェニルホスホルアミデート、ベンゼンスルフェンアミド、ｏ－ニトロベンゼンスルフェンアミド（Ｎｐｓ）、２，４－ジニトロベンゼンスルフェンアミド、ペンタクロロベンゼンスルフェンアミド、２－ニトロ－４－メトキシベンゼンスルフェンアミド、トリフェニルメチルスルフェンアミド、３－ニトロピリジンスルフェンアミド（Ｎｐｙｓ）、ｐ－トルエンスルホンアミド（Ｔｓ）、ベンゼンスルホンアミド、２，３，６，－トリメチル－４－メトキシベンゼンスルホンアミド（Ｍｔｒ）、２，４，６－トリメトキシベンゼンスルホンアミド（Ｍｔｂ）、２，６－ジメチル－４－メトキシベンゼンスルホンアミド（Ｐｍｅ）、２，３，５，６－テトラメチル－４－メトキシベンゼンスルホンアミド（Ｍｔｅ）、４－メトキシベンゼンスルホンアミド（Ｍｂｓ）、２，４，６－トリメチルベンゼンスルホンアミド（Ｍｔｓ）、２，６－ジメトキシ－４－メチルベンゼンスルホンアミド（ｉＭｄｓ）、２，２，５，７，８－ペンタメチルクロマン－６－スルホンアミド（Ｐｍｃ）、メタンスルホンアミド（Ｍｓ）、β－トリメチルシリルエタンスルホンアミド（ＳＥＳ）、９－アントラセンスルホンアミド、４－（４’，８’－ジメトキシナフチルメチル）ベンゼンスルホンアミド（ＤＮＭＢＳ）、ベンジルスルホンアミド、トリフルオロメチルスルホンアミド、およびフェナシルスルホンアミドが挙げられる。

【００７９】

本明細書で使用される「適切なカルボン酸保護基」または「保護されたカルボン酸」は、当技術分野で周知であり、それには、Ｇｒｅｅｎｅ（１９９９年）に詳述されているものが含まれる。適切に保護されたカルボン酸の例として、さらに、これらに限定されないが、シリル－、アルキル－、アルケニル－、アリール－、およびアリールアルキル－保護されたカルボン酸が挙げられる。適切なシリル基の例としては、トリメチルシリル、トリエチルシリル、ｔ－ブチルジメチルシリル、ｔ－ブチルジフェニルシリル、トリイソプロピルシリルなどが挙げられる。適切なアルキル基の例としては、メチル、ベンジル、ｐ－メトキシベンジル、３，４－ジメトキシベンジル、トリチル、ｔ－ブチル、テトラヒドロピラン－２－イルが挙げられる。適切なアルケニル基の例としては、アリルが挙げられる。適切なアリール基の例としては、場合によって置換されているフェニル、ビフェニル、またはナフチルが挙げられる。適切なアリールアルキル基の例としては、場合によって置換されているベンジル（例えば、ｐ－メトキシベンジル（ＭＰＭ）、３，４－ジメトキシベンジル、Ｏ－ニトロベンジル、ｐ－ニトロベンジル、ｐ－ハロベンジル、２，６－ジクロロベンジル、ｐ－シアノベンジル）、および２－ピコリルおよび４－ピコリルが挙げられる。

【００８０】

本明細書で使用される「適切なヒドロキシル保護基」は、当技術分野で周知であり、それには、その全体が参照により本明細書に組み込まれるＰｒｏｔｅｃｔｉｎｇ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ、Ｔ．Ｗ．ＧｒｅｅｎｅおよびＰ．Ｇ．Ｍ．Ｗｕｔｓ、第３版、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、１９９９年に詳述されているものが含まれる。適切なヒドロキシル保護基としては、メチル、メトキシルメチル（ＭＯＭ）、メチルチオメチル（ＭＴＭ）、ｔ－ブチルチオメチル、（フェニルジメチルシリル）メトキシメチル（ＳＭＯＭ）、ベンジルオキシメチル（ＢＯＭ）、ｐ－メトキシベンジルオキシメチル（ＰＭＢＭ）、（４－メトキシフェノキシ）メチル（ｐ－ＡＯＭ）、グアイアコールメチル（ＧＵＭ）、ｔ－ブトキシメチル、４－ペンテニルオキシメチル（ＰＯＭ）、シロキシメチル、２－メトキシエトキシメチル（ＭＥＭ）、２，２，２－トリクロロエトキシメチル、ビス（２－クロロエトキシ）メチル、２－（トリメチルシリル）エトキシメチル（ＳＥＭＯＲ）、テトラヒドロピラニル（ＴＨＰ）、３－ブロモテトラヒドロピラニル、テトラヒドロチオピラニル、１－メトキシシクロヘキシル、４－メトキシテトラヒドロピラニル（ＭＴＨＰ）、４－メトキシテトラヒドロチオピラニル、４－メトキシテトラヒドロチオピラニルＳ，Ｓ－ジオキシド、１－［（２－クロロ－４－メチル）フェニル］－４－メトキシピペリジン－４－イル（ＣＴＭＰ）、１，４－ジオキサン－２－イル、テトラヒドロフラニル、テトラヒドロチオフラニル、２，３，３ａ，４，５，６，７，７ａ－オクタヒドロ－７，８，８－トリメチル－４，７－メタノベンゾフラン－２－イル、１－エトキシエチル、１－（２－クロロエトキシ）エチル、１－メチル－１－メトキシエチル、１－メチル－１－ベンジルオキシエチル、１－メチル－１－ベンジルオキシ－２－フルオロエチル、２，２，２－トリクロロエチル、２－トリメチルシリルエチル、２－（フェニルセレニル）エチル、ｔ－ブチル、アリル、ｐ－クロロフェニル、ｐ－メトキシフェニル、２，４－ジニトロフェニル、ベンジル、ｐ－メトキシベンジル、３，４－ジメトキシベンジル、ｏ－ニトロベンジル、ｐ－ニトロベンジル、ｐ－ハロベンジル、２，６－ジクロロベンジル、ｐ－シアノベンジル、ｐ－フェニルベンジル、２－ピコリル、４－ピコリル、３－メチル－２－ピコリルＮ－オキシド、ジフェニルメチル、ｐ，ｐ’－ジニトロベンズヒドリル、５－ジベンゾスベリル、トリフェニルメチル、α－ナフチルジフェニルメチル、ｐ－メトキシフェニルジフェニルメチル、ジ（ｐ－メトキシフェニル）フェニルメチル、トリ（ｐ－メトキシフェニル）メチル、４－（４’－ブロモフェナシルオキシフェニル）ジフェニルメチル、４，４’，４’’－トリス（４，５－ジクロロフタルイミドフェニル）メチル、４，４’，４’’－トリス（レブリノイルオキシフェニル）メチル、４，４’，４’’－トリス（ベンゾイルオキシフェニル）メチル、３－（イミダゾール－１－イル）ビス（４’，４’’－ジメトキシフェニル）メチル、１，１－ビス（４－メトキシフェニル）－１’－ピレニルメチル、９－アントリル、９－（９－フェニル）キサンテニル、９－（９－フェニル－１０－オキソ）アントリル、１，３－ベンゾジチオラン－２－イル、ベンゾイソチアゾリルＳ，Ｓ－ジオキシド、トリメチルシリル（ＴＭＳ）、トリエチルシリル（ＴＥＳ）、トリイソプロピルシリル（ＴＩＰＳ）、ジメチルイソプロピルシリル（ＩＰＤＭＳ）、ジエチルイソプロピルシリル（ＤＥＩＰＳ）、ジメチルテキシルシリル、ｔ－ブチルジメチルシリル（ＴＢＤＭＳ）、ｔ－ブチルジフェニルシリル（ＴＢＤＰＳ）、トリベンジルシリル、トリ－ｐ－キシリルシリル、トリフェニルシリル、ジフェニルメチルシリル（ＤＰＭＳ）、ｔ－ブチルメトキシフェニルシリル（ＴＢＭＰＳ）、ホルメート、ベンゾイルホルメート、アセテート、クロロアセテート、ジクロロアセテート、トリクロロアセテート、トリフルオロアセテート、メトキシアセテート、トリフェニルメトキシアセテート、フェノキシアセテート、ｐ－クロロフェノキシアセテート、３－フェニルプロピオネート、４－オキソペンタノエート（レブリネート）、４，４－（エチレンジチオ）ペンタノエート（レブリノイルジチオアセタール）、ピバロエート、アダマントエート、クロトネート、４－メトキシクロトネート、ベンゾエート、ｐ－フェニルベンゾエート、２，４，６－トリメチルベンゾエート（メシトエート）、アルキルメチルカルボネート、９－フルオレニルメチルカルボネート（Ｆｍｏｃ）、アルキルエチルカルボネート、アルキル２，２，２－トリクロロエチルカルボネート

（Ｔｒｏｃ）、２－（トリメチルシリル）エチルカルボネート（ＴＭＳＥＣ）、２－（フェニルスルホニル）エチルカルボネート（Ｐｓｅｃ）、２－（トリフェニルホスホニオ）エチルカルボネート（Ｐｅｏｃ）、アルキルイソブチルカルボネート、アルキルビニルカルボネートアルキルアリルカルボネート、アルキルｐ－ニトロフェニルカルボネート、アルキルベンジルカルボネート、アルキルｐ－メトキシベンジルカルボネート、アルキル３，４－ジメトキシベンジルカルボネート、アルキルｏ－ニトロベンジルカルボネート、アルキルｐ－ニトロベンジルカルボネート、アルキルＳ－ベンジルチオカルボネート、４－エトキシ－１－ナプッチルカルボネート、メチルジチオカルボネート、２－ヨードベンゾエート、４－アジドブチレート、４－ニトロ－４－メチルペンタノエート、ｏ－（ジブロモメチル）ベンゾエート、２－ホルミルベンゼンスルホネート、２－（メチルチオメトキシ）エチル、４－（メチルチオメトキシ）ブチレート、２－（メチルチオメトキシメチル）ベンゾエート、２，６－ジクロロ－４－メチルフェノキシアセテート、２，６－ジクロロ－４－（１，１，３，３－テトラメチルブチル）フェノキシアセテート、２，４－ビス（１，１－ジメチルプロピル）フェノキシアセテート、クロロジフェニルアセテート、イソブチレート、モノスクシノエート、（Ｅ）－２－メチル－２－ブテノエート、ｏ－（メトキシカルボニル）ベンゾエート、α－ナフトエート、ニトレート、アルキルＮ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルホスホロジアミデート、アルキルＮ－フェニルカルバメート、ボレート、ジメチルホスフィノチオイル、アルキル２，４－ジニトロフェニルスルフェネート、スルフェート、メタンスルホネート（メシレート）、ベンジルスルホネート、およびトシレート（Ｔｓ）が挙げられる。１，２－ジオールまたは１，３－ジオールを保護するための保護基としては、メチレンアセタール、エチリデンアセタール、１－ｔ－ブチルエチリデンケタール、１－フェニルエチリデンケタール、（４－メトキシフェニル）エチリデンアセタール、２，２，２－トリクロロエチリデンアセタール、アセトニド、シクロペンチリデンケタール、シクロヘキシリデンケタール、シクロヘプチリデンケタール、ベンジリデンアセタール、ｐ－メトキシベンジリデンアセタール、２，４－ジメトキシベンジリデンケタール、３，４－ジメトキシベンジリデンアセタール、２－ニトロベンジリデンアセタール、メトキシメチレンアセタール、エトキシエチレンアセタール、ジメトキシメチレンオルトエステル、１－メトキシエチリデンオルトエステル、１－エトキシエチリデンオルトエステル、１，２－ジメトキシエチリデンオルトエステル、α－メトキシベンジリデンオルトエステル、１－（Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノ）エチリデン誘導体、α－（Ｎ，Ｎ’－ジメチルアミノ）ベンジリデン誘導体、２－オキアシクロペンチリデンオルトエステル、ジ－ｔ－ブチルシリレン基（ＤＴＢＳ）、１，３－（１，１，３，３－テトライソプロピルジシロキサニリデン）誘導体（ＴＩＰＤＳ）、テトラ－ｔ－ブトキシジシロキサン－１，３－ジイリデン誘導体（ＴＢＤＳ）、環式カーボネート、環式ボロネート、エチルボロネート、およびフェニルボロネートが挙げられる。

【００８１】

本明細書で使用される「適切なチオール保護基」は、当技術分野で周知であり、それには、その全体が参照により本明細書に組み込まれるＰｒｏｔｅｃｔｉｎｇ Ｇｒｏｕｐｓ ｉｎ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ、Ｔ．Ｗ．ＧｒｅｅｎｅおよびＰ．Ｇ．Ｍ．Ｗｕｔｓ、第３版、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、１９９９年、に詳述されているものが含まれる。適切に保護されたチオール基の例として、さらに、これらに限定されないが、チオエステル、カーボネート、スルホネートアリルチオエーテル、チオエーテル、シリルチオエーテル、アルキルチオエーテル、アリールアルキルチオエーテル、およびアルキルオキシアルキルチオエーテルが挙げられる。適切なエステル基の例としては、ギ酸エステル、酢酸エステル、プロピオン酸エステル、ペンタン酸エステル、クロトン酸エステル、および安息香酸エステルが挙げられる。適切なエステル基の特定の例としては、ギ酸エステル、ベンゾイルギ酸エステル、クロロ酢酸エステル、トリフルオロ酢酸エステル、メトキシ酢酸エステル、トリフェニルメトキシ酢酸エステル、ｐ－クロロフェノキシ酢酸エステル、３－フェニルプロピオン酸エステル、４－オキソペンタン酸エステル、４，４－（エチレンジチオ）ペンタン酸エステル、ピバル酸エステル（トリメ

チル酢酸エステル）、クロトン酸エステル、４－メトキシ－クロトン酸エステル、安息香酸エステル、ｐ－ベンジル安息香酸エステル（ｂｅｎｙｌｂｅｎｚｏａｔｅ）、２，４，６－トリメチル安息香酸エステルが挙げられる。適切なカーボネートの例としては、９－フルオレニルメチル、エチル、２，２，２－トリクロロエチル、２－（トリメチルシリル）エチル、２－（フェニルスルホニル）エチル、ビニル、アリル、およびｐ－ニトロベンジルカーボネートが挙げられる。適切なシリル基の例としては、トリメチルシリル、トリエチルシリル、ｔ－ブチルジメチルシリル、ｔ－ブチルジフェニルシリル、トリイソプロピルシリルエーテル、および他のトリアルキルシリルエーテルが挙げられる。適切なアルキル基の例としては、メチル、ベンジル、ｐ－メトキシベンジル、３，４－ジメトキシベンジル、トリチル、ｔ－ブチル、およびアリルエーテル、またはそれらの誘導体が挙げられる。適切なアリールアルキル基の例としては、ベンジル、ｐ－メトキシベンジル（ＭＰＭ）、３，４－ジメトキシベンジル、Ｏ－ニトロベンジル、ｐ－ニトロベンジル、ｐ－ハロベンジル、２，６－ジクロロベンジル、ｐ－シアノベンジル、２－ピコリルエーテルおよび４－ピコリルエーテルが挙げられる。

【００８２】

本明細書で使用される「チオ」または「チオール」という用語は、式（－ＳＨ）の基を指す。「置換チオール」は、式（－ＳＲ^{r}）の基を指し、Ｒ^{r}は、安定な部分を形成する任意の置換基（例えば、適切なチオール保護基；脂肪族、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヘテロ脂肪族、複素環式、アリール、ヘテロアリール、アシル、スルフィニル、スルホニル、シアノ、ニトロ、アルキルアリール、アリールアルキルなど、そのそれぞれは、さらに置換されていてもされていなくてもよい）であってよい。

【００８３】

本明細書で使用される「チオオキソ」という用語は、式（＝Ｓ）の基を指す。

【００８４】

本明細書で使用される、「それらの薬学的に許容される形態」は、以下および本明細書の中で定義されている本発明の化合物の任意の薬学的に許容される塩、プロドラッグ、互変異性体、鏡像異性体、ジアステレオマー、立体異性体、異性体、および／または多形体を含む。

【００８５】

本明細書で使用される、「薬学的に許容される塩」という用語は、良好な医学的判断の範囲内で、過度の毒性、刺激、アレルギー反応などなしに、ヒトおよび下等動物の組織と接触させて使用するために適し、かつ妥当な損益比に見合う塩を指す。薬学的に許容される塩は当技術分野で周知である。例えば、Ｂｅｒｇｅらは、薬学的に許容される塩について、参照により本明細書に組み込まれるＪ．　Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ　Ｓｃｉｅｎｃｅｓ、１９７７年、６６巻、１～１９頁において詳説している。本発明の化合物の薬学的に許容される塩としては、適切な無機の、および有機の酸および塩基に由来する塩が挙げられる。薬学的に許容される、非毒性の酸付加塩の例は、塩酸、臭化水素酸、リン酸、硫酸および過塩素酸などの無機酸を用いて、または酢酸、シュウ酸、マレイン酸、酒石酸、クエン酸、コハク酸またはマロン酸などの有機酸を用いて、またはイオン交換などの当技術分野で使用されている他の方法を使用することによって形成されるアミノ基の塩である。他の薬学的に許容される塩としては、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、ショウノウ酸塩、カンファースルホン酸、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、ギ酸塩、フマル酸塩、グルコヘプタン酸塩、グリセロリン酸塩、グルコン酸塩、ヘミ硫酸、ヘプタン酸塩、ヘキサン酸塩、ヨウ化水素酸塩、２－ヒドロキシ－エタンスルホン酸塩、ラクトビオン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、２－ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチン酸塩、過硫酸塩、３－フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハ

ク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、ｐ－トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などが挙げられる。適切な塩基に由来する塩としては、アルカリ金属、アルカリ土類金属、アンモニウムおよびＮ$^{+}$（Ｃ$_{1\sim4}$アルキル）$_4$塩が挙げられる。代表的なアルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなどが挙げられる。さらなる薬学的に許容される塩としては、適切な場合、ハロゲン化物、水酸化物、カルボン酸塩、硫酸塩、リン酸塩、硝酸塩、低級アルキルスルホン酸塩およびアリールスルホン酸塩などの対イオンを使用して形成される非毒性のアンモニウム、第４級アンモニウム、およびアミンカチオンが挙げられる。

【００８６】

本明細書で使用される、「プロドラッグ」という用語は、親化合物を放出するために体内での転換を必要とする親化合物の誘導体を指す。ある場合では、プロドラッグは、親化合物に対して物理特性および／または送達特性が改善されている。プロドラッグは、一般には、親化合物に関連する薬剤に基づく性質および／または薬物動態に基づく性質を増強するために設計される。プロドラッグの有利な点は、その物理特性、例えば生理的なｐＨで非経口投与するために、親化合物と比較して水溶性が増強していること、または、プロドラッグにより、消化管からの吸収が増強されること、または、プロドラッグにより、長期間貯蔵するため薬物の安定性が増強されることにあり得る。近年、いくつかの種類の生体内可逆性（ｂｉｏｒｅｖｅｒｓｉｂｌｅ）誘導体が、プロドラッグの設計において利用するために活用されている。カルボキシル官能基またはヒドロキシル官能基を含有する化合物のプロドラッグ型としてエステルを使用することが当技術分野で公知であり、例えば、「Ｔｈｅ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ｏｆ Ｄｒｕｇ Ｄｅｓｉｇｎ ａｎｄ Ｄｒｕｇ Ｉｎｔｅｒａｃｔｉｏｎ」Ｒｉｃｈａｒｄ Ｓｉｌｖｅｒｍａｎ、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓより出版（１９９２年）に記載されている。

【００８７】

本明細書で使用される、「互変異性体」という用語は、少なくとも１つの水素原子の対称な移動および少なくとも１つの結合価の変化（例えば、単結合から二重結合へ、三重結合から二重結合へ、または逆もまた同じ）によって生じる２種以上の相互変換可能な化合物を包含する。互変異性体の正確な比率は、温度、溶媒、およびｐＨを含めたいくつかの因子に左右される。互変異性化（すなわち、互変異性体対がもたらされる反応）は、酸または塩基によって触媒することができる。例示的な互変異性化としては、ケト－エノール互変異性化；アミドーイミド互変異性化；ラクタム－ラクチム互変異性化；エナミン－イミン互変異性化；およびエナミン－（異なる）エナミン互変異性化が挙げられる。

【００８８】

本明細書で使用される、「異性体」という用語は、任意のかつすべての幾何異性体および立体異性体を包含する。例えば、「異性体」は、本発明の範囲に含まれるものとして、シス異性体およびトランス異性体、Ｅ－異性体およびＺ－異性体、Ｒ鏡像異性体およびＳ鏡像異性体、ジアステレオマー、（Ｄ）－異性体、（Ｌ）－異性体、それらのラセミ混合物、および他のそれらの混合物を包含する。例えば、異性体／鏡像異性体は、一部の実施形態では、対応する鏡像異性体を実質的に含まない状態で提供することができ、「光学的に濃縮された」とも称することができる。本明細書で使用される「光学的に濃縮された」は、その化合物が一方の鏡像異性体が有意に高い割合を占めることを意味する。ある特定の実施形態では、本発明の化合物は、少なくとも約９０重量％の好ましい鏡像異性体で構成されている。他の実施形態では、化合物は、少なくとも約９５重量％、９８重量％、または９９重量％の好ましい鏡像異性体で構成されている。好ましい鏡像異性体は、キラル高圧液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）ならびにキラル塩の形成および結晶化を含めた当業者に公知の任意の方法によってラセミ混合物から単離することができ、または不斉合成によって調製することができる。例えば、Ｊａｃｑｕｅｓら、Ｅｎａｎｔｉｏｍｅｒｓ、ＲａｃｅｍａｔｅｓおよびＲｅｓｏｌｕｔｉｏｎｓ（Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、１９８１年）；Ｗｉｌｅｎ、Ｓ．Ｈ．，ら、Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ ３３巻：２７２５頁（１９７７年）；Ｅｌｉｅｌ、Ｅ．Ｌ． Ｓｔｅｒｅｏｃ

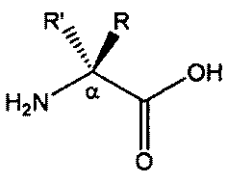
hemistry of Carbon Compounds（McGraw－Hill、NY、１９６２年）；Wilen、S.H. Tables of Resolving AgentsおよびOptical Resolutions ２６８頁（E.L. Eliel、Ed.、Univ. of Notre Dame Press、Notre Dame、IN １９７２年）を参照されたい。

【００８９】

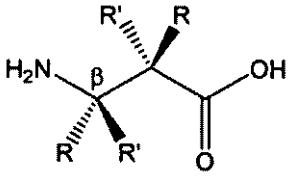
「アミノ酸」という用語は、アミノ基とカルボキシル基の両方を含有する分子を指す。アミノ酸としては、アルファアミノ酸およびベータアミノ酸が挙げられ、以下にその構造が示されている。ある特定の実施形態では、アミノ酸はアルファアミノ酸である。

【００９０】

【化６】



アルファアミノ酸



ベータアミノ酸

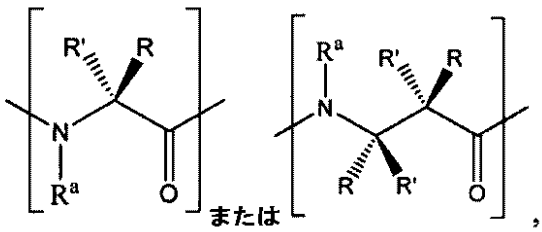
適切なアミノ酸としては、限定することなく、ペプチドおよびタンパク質に見られる２０種の一般的な天然に存在するアルファアミノ酸のＤ－異性体およびＬ－異性体などの天然アルファアミノ酸（例えば、以下の表１に示されているＡ、Ｒ、Ｎ、Ｃ、Ｄ、Ｑ、Ｅ、Ｇ、Ｈ、Ｉ、Ｌ、Ｋ、Ｍ、Ｆ、Ｐ、Ｓ、Ｔ、Ｗ、Ｙ、Ｖ）、非天然アルファアミノ酸（以下の表２および表３に示されている）、天然ベータアミノ酸（例えば、ベータアラニン）、および非天然ベータアミノ酸が挙げられる。

【００９１】

本発明のペプチドの構築に使用するアミノ酸は、有機合成によって調製することができる、または、例えば、天然の供給源を分解すること、もしくは天然の供給源から単離することなどの他の経路によって得ることができる。本発明のある特定の実施形態では、式－［X_{AA}］－は、次式を有する天然アミノ酸および／または非天然アミノ酸に対応する：

【００９２】

【化７】



式中、ＲおよびＲ’は、本明細書で定義されている適切なアミノ酸側鎖に対応し、R^aは本明細書で定義されている。

【００９３】

【表１－１】

表1.	適切なアミノ酸側鎖	
例示的な天然アルファアミノ酸	R	R′
L-アラニン(A)	$-CH_3$	-H
L-アルギニン(R)	$-CH_2CH_2CH_2-NHC(=NH)NH_2$	-H
L-アスパラギン(N)	$-CH_2C(=O)NH_2$	-H
L-アスパラギン酸(D)	$-CH_2CO_2H$	-H
L-システイン(C)	$-CH_2SH$	-H
L-グルタミン酸(E)	$-CH_2CH_2CO_2H$	-H
L-グルタミン(Q)	$-CH_2CH_2C(=O)NH_2$	-H
グリシン(G)	-H	-H
L-ヒスチジン(H)	$-CH_2$-2-(1H-イミダゾール)	-H
L-イソロイシン(I)	-sec-ブチル	-H
L-ロイシン(L)	-iso-ブチル	-H
L-リジン(K)	$-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$	-H
L-メチオニン(M)	$-CH_2CH_2SCH_3$	-H
L-フェニルアラニン(F)	$-CH_2Ph$	-H
L-プロリン(P)	-2-(ピロリジン)	-H
L-セリン(S)	$-CH_2OH$	-H
L-トレオニン(T)	$-CH_2CH(OH)(CH_3)$	-H
L-トリプトファン(W)	$-CH_2$-3-(1H-インドール)	-H
L-チロシン(Y)	$-CH_2$-(p-ヒドロキシフェニル)	-H
L-バリン(V)	-イソプロピル	-H

【００９４】

【表２－１】

表2.	適切なアミノ酸側鎖	
例示的な非天然アルファアミノ酸	R	R′
D-アラニン	-H	$-CH_3$
D-アルギニン	-H	$-CH_2CH_2CH_2-NHC(=NH)NH_2$
D-アスパラギン	-H	$-CH_2C(=O)NH_2$
D-アスパラギン酸	-H	$-CH_2CO_2H$
D-システイン	-H	$-CH_2SH$
D-グルタミン酸	-H	$-CH_2CH_2CO_2H$
D-グルタミン	-H	$-CH_2CH_2C(=O)NH_2$
D-ヒスチジン	-H	$-CH_2$-2-(1H-イミダゾール)
D-イソロイシン	-H	-sec-ブチル
D-ロイシン	-H	-iso-ブチル
D-リジン	-H	$-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$
D-メチオニン	-H	$-CH_2CH_2SCH_3$
D-フェニルアラニン	-H	$-CH_2Ph$
D-プロリン	-H	-2-(ピロリジン)
D-セリン	-H	$-CH_2OH$
D-トレオニン	-H	$-CH_2CH(OH)(CH_3)$
D-トリプトファン	-H	$-CH_2$-3-(1H-インドール)
D-チロシン	-H	$-CH_2$-(p-ヒドロキシフェニル)
D-バリン	-H	-イソプロピル
Di-ビニル	$-CH=CH_2$	$-CH=CH_2$

【００９５】

【表２－２】

表2(続き)		
例示的な非天然アルファアミノ酸	RおよびR'は以下と等しい:	
α-メチルアラニン(Aib)	$-CH_3$	$-CH_3$
α-メチルアルギニン	$-CH_3$	$-CH_2CH_2CH_2-NHC(=NH)NH_2$
α-メチルアスパラギン	$-CH_3$	$-CH_2C(=O)NH_2$
α-メチルアスパラギン酸	$-CH_3$	$-CH_2CO_2H$
α-メチルシステイン	$-CH_3$	$-CH_2SH$
α-メチルグルタミン酸	$-CH_3$	$-CH_2CH_2CO_2H$
α-メチルグルタミン	$-CH_3$	$-CH_2CH_2C(=O)NH_2$
α-メチルヒスチジン	$-CH_3$	$-CH_2$-2-(1H-イミダゾール)
α-メチルイソロイシン	$-CH_3$	-sec-ブチル
α-メチルロイシン	$-CH_3$	-iso-ブチル
α-メチルリジン	$-CH_3$	$-CH_2CH_2CH_2CH_2NH_2$
α-メチルメチオニン	$-CH_3$	$-CH_2CH_2SCH_3$
α-メチルフェニルアラニン	$-CH_3$	$-CH_2Ph$
α-メチルプロリン	$-CH_3$	-2-(ピロリジン)
α-メチルセリン	$-CH_3$	$-CH_2OH$
α-メチルトレオニン	$-CH_3$	$-CH_2CH(OH)(CH_3)$
α-メチルトリプトファン	$-CH_3$	$-CH_2$-3-(1H-インドール)
α-メチルチロシン	$-CH_3$	$-CH_2$-(p-ヒドロキシフェニル)
α-メチルバリン	$-CH_3$	-イソプロピル
Di-ビニル	$-CH=CH_2$	$-CH=CH_2$
ノルロイシン	-H	$-CH_2CH_2CH_2CH_3$

【００９６】

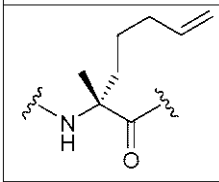
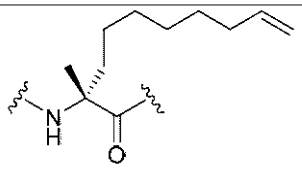
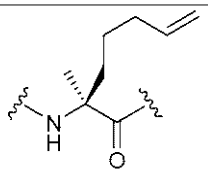
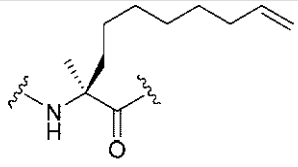
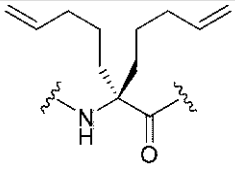
【表３－１】

表3.	適切なアミノ酸側鎖
例示的な非天然アルファアミノ酸	RおよびR'は、水素または$-CH_3$、および以下と等しい:
末端が不飽和なアルファアミノ酸およびビスアルファアミノ酸(例えば、修飾されたシステイン、修飾されたリジン、修飾されたトリプトファン、修飾されたセリン、修飾されたトレオニン、修飾されたプロリン、修飾されたヒスチジン、修飾されたアラニンなど)	$-(CH_2)_g-S-(CH_2)_gCH=CH_2$, $-(CH_2)_g-O-(CH_2)_gCH=CH_2$, $-(CH_2)_g-NH-(CH_2)_gCH=CH_2$, $-(CH_2)_g-(C=O)-S-(CH_2)_gCH=CH_2$, $-(CH_2)_g-(C=O)-O-(CH_2)_gCH=CH_2$, $-(CH_2)_g-(C=O)-NH-(CH_2)_gCH=CH_2$, $-CH_2CH_2CH_2CH_2-NH-(CH_2)_gCH=CH_2$, $-(C_6H_5)-p-O-(CH_2)_gCH=CH_2$, $-CH(CH_3)-O-(CH_2)_gCH=CH_2$, $-CH_2CH(-O-CH=CH_2)(CH_3)$, -ヒスチジン-$N((CH_2)_gCH=CH_2)$, -トリプトファン-$N((CH_2)_gCH=CH_2)$, および $-(CH_2)_{g+1}(CH=CH_2)$, 式中、 gの各例は、それぞれ独立に、0～10である(0および10を含む)

【００９７】

【表３－２】

表3(続き)．例示的な非天然アルファアミノ酸

 R_5	 R_8	 S_5
 S_8	 B_5	

いずれも本発明のペプチドに含めることができる多くの公知の非天然アミノ酸がある。例えば、Ｓ．Ｈｕｎｔ、Ｔｈｅ　Ｎｏｎ－Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ａｍｉｎｏ　Ａｃｉｄｓ：Ｉｎ　Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　ａｎｄ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ａｍｉｎｏ　Ａｃｉｄｓ、Ｇ．Ｃ．Ｂａｒｒｅｔｔ、Ｃｈａｐｍａｎ（編）およびＨａｌｌ、１９８５年を参照されたい。非天然アミノ酸のいくつかの例は、４－ヒドロキシプロリン、デスモシン、ガンマアミノ酪酸、ベーターシアノアラニン、ノルバリン、４－（Ｅ）－ブテニル－４（Ｒ）－メチル－Ｎ－メチル－Ｌ－トレオニン、Ｎ－メチル－Ｌ－ロイシン、１－アミノ－シクロプロパンカルボン酸、１－アミノ－２－フェニル－シクロプロパンカルボン酸、１－アミノ－シクロブタンカルボン酸、４－アミノ－シクロペンテンカルボン酸、３－アミノ－シクロヘキサンカルボン酸、４－ピペリジル酢酸、４－アミノ－１－メチルピロール－２－カルボン酸、２，４－ジアミノ酪酸、２，３－ジアミノプロピオン酸、２，４－ジアミノ酪酸、２－アミノピメリン酸、４－（アミノメチル）安息香酸、４－アミノ安息香酸、オルト置換されたフェニルアラニン、メタ置換されたフェニルアラニンおよびパラ置換されたフェニルアラニン（例えば、－Ｃ（＝Ｏ）C_6H_5；$-CF_3$；－ＣＮ；－ハロ；$-NO_2$；$-CH_3$で置換された）、二置換フェニルアラニン、置換チロシン（例えば、－Ｃ（＝Ｏ）C_6H_5；$-CF_3$；－ＣＮ；－ハロ；$-NO_2$；$-CH_3$でさらに置換された）、およびスタチンである。さらに、本発明において使用するために適したアミノ酸は、２、３挙げると、ヒドロキシル化されたアミノ酸残基、リン酸化されたアミノ酸残基、スルホン化されたアミノ酸残基、アシル化されたアミノ酸残基、脂質付加されたアミノ酸残基、およびグリコシル化されたアミノ酸残基を含むように誘導体化することができる。

【００９８】

「アミノ酸側鎖」という用語は、アミノ酸のアルファ炭素またはベータ炭素に付着している基を指す。「適切なアミノ酸側鎖」としては、これらに限定されないが、上で定義された、および表１～３で提供される任意の適切なアミノ酸側鎖が挙げられる。

【００９９】

例えば、適切なアミノ酸側鎖は、メチル（アラニンのアルファアミノ酸側鎖はメチルであるように）、４－ヒドロキシフェニルメチル（チロシンのアルファアミノ酸側鎖は４－ヒドロキシフェニルメチルであるように）およびチオメチル（システインのアルファアミノ酸側鎖はチオメチルであるように）などを含む。「末端が不飽和なアミノ酸側鎖」は、ポリペプチド鎖の他の末端の不飽和部分との架橋結合反応に関与する、置換または非置換の二重結合（例えば、オレフィン系）または三重結合（例えば、アセチレン系）などの、末端の不飽和部分を担持しているアミノ酸側鎖を指す。ある特定の実施形態では、「末端が不飽和なアミノ酸側鎖」は、末端のオレフィン系アミノ酸側鎖である。ある特定の実施形態では、「末端が不飽和なアミノ酸側鎖」は、末端のアセチレン系アミノ酸側鎖である。ある特定の実施形態では、「末端が不飽和なアミノ酸側鎖」の末端部分は、それ以上置換されない。末端が不飽和なアミノ酸側鎖としては、これらに限定されないが、表３に示

されている側鎖が挙げられる。

【０１００】

「ペプチド」、「タンパク質」、「ポリペプチド」、または「ペプチド性の」は、ペプチド（アミド）結合によって連結されたアミノ酸残基のポリマーを含む。本明細書で使用される、この（１つまたは複数の）用語は、任意のサイズ、構造、または機能のタンパク質、ポリペプチド、およびペプチドを指す。一般には、ペプチドまたはポリペプチドは少なくとも３アミノ酸長になる。ペプチドまたはポリペプチドは、個々のタンパク質またはタンパク質の集団を指す場合もある。本発明のタンパク質は、天然アミノ酸のみを含有することが好ましいが、当技術分野で公知の非天然アミノ酸（すなわち、自然には生じないがポリペプチド鎖に組み込むことができる化合物）および／またはアミノ酸の類似体を代わりに使用することができる。また、ペプチドまたはポリペプチドのアミノ酸の１つまたは複数は、コンジュゲーション、官能化、または他の修飾などのために、例えば、炭水化物基、ヒドロキシル基、リン酸基、ファルネシル基、イソファルネシル基、脂肪酸基、リンカーなどの化学的実体を付加することによって修飾することができる、ペプチドまたはポリペプチドは、単一の分子であってもよい、または多数の分子の複合体であってよい。ペプチドまたはポリペプチドは、天然に存在するタンパク質またはペプチドのただの断片であってよい。ペプチドまたはポリペプチドは、天然に存在するペプチドもしくはポリペプチド、組換え型のペプチドもしくはポリペプチド、または合成のペプチドもしくはポリペプチド、またはその任意の組合せであってよい。

【０１０１】

以下の定義は、本出願全体を通して使用される一般的な用語である：

本明細書で使用される「被験体」という用語は、任意の動物を指す。ある特定の実施形態では、被験体は哺乳動物である。ある特定の実施形態では、本明細書で使用される「被験体」という用語は、いずれかの性別の、任意の発生段階にあるヒト（例えば、男性、女性、または小児）を指す。

【０１０２】

本明細書で使用される「投与する」、「投与すること」、または「投与」という用語は、本発明のポリペプチドまたは化合物を埋め込むこと、適用すること、吸収させること、摂取させること、注射すること、または吸入させることを指す。

【０１０３】

本明細書で使用される「治療する」または「治療すること」という用語は、被験体が罹患している疾患または状態を、部分的に、または完全に緩和すること、阻害すること、寛解させること、および／または軽減することを指す。

【０１０４】

本明細書で使用される「有効量」および「治療有効量」という用語は、現在特許請求されている発明のポリペプチドにコンジュゲートされた生物学的に活性な作用剤の量もしくは濃度、または、被験体に投与されると、被験体が罹患している状態を治療するために少なくとも部分的に有効な本発明のポリペプチドの量もしくは濃度を指す。

【０１０５】

２つの実体が互いに「結びついた」と本明細書で使用される場合、それらは、直接的または間接的な共有結合性または非共有結合性の相互作用によって連結されている。ある特定の実施形態では、結びつきは、共有結合性であり、実体は「コンジュゲートされている」。他の実施形態では、結びつきは非共有結合性である。非共有結合性の相互作用としては、水素結合、ファンデルワールス相互作用、疎水性の相互作用、磁気相互作用、静電気的な相互作用などが挙げられる。間接的な共有結合性の相互作用とは、２つの実体がリンカーを通じて共有結合的に結びついている場合である。

【０１０６】

本明細書で使用される、「標識」は、少なくとも１つの元素、同位元素を有する部分、または、標識が付着している本発明のポリペプチドを検出可能にする部分に組み込まれた官能基部分を指す。標識は、直接付着させることができる（すなわち、結合によって）ま

たはテザー（例えば、テザーを作り上げることができる、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキニレン；置換もしくは非置換アリーレン；置換もしくは非置換ヘテロアリーレン；または置換もしくは非置換のアシレン、またはそれらの任意の組合せなど）によって付着させることができる。標識は、本発明のポリペプチドの任意の位置に付着させることができる、または組み込むことができることが理解されよう。

【０１０７】

一般に、標識は、５つのクラスのいずれか１つ（またはそれ以上）に分類することができる：ａ）これらに限定されないが、^{2}Ｈ、^{3}Ｈ、^{13}Ｃ、^{14}Ｃ、^{15}Ｎ、^{31}Ｐ、^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、^{67}Ｇａ、^{99m}Ｔｃ（Ｔｃ－９９ｍ）、^{111}Ｉｎ、^{123}Ｉ、^{125}Ｉ、^{169}Ｙｂ、および^{186}Ｒｅを含めた、放射性同位元素または重同位元素であってよい同位体部分を含有する標識；ｂ）酵素（例えば西洋ワサビペルオキシダーゼなど）を結合させることができる抗体または抗原であってよい免疫部分を含有する標識；ｃ）有色部分、発光部分、リン光部分、または蛍光部分である標識（例えば、蛍光標識ＦＩＴＣなど）；ｄ）１つまたは複数の光親和性部分を有する標識；およびｅ）１つまたは複数の公知の結合パートナーに対するリガンド部分を有する標識（例えばビオチン－ストレプトアビジン、ＦＫ５０６－ＦＫＢＰなど）。

【０１０８】

ある特定の実施形態では、標識は、放射性同位元素、好ましくはβ粒子などの検出可能な粒子を放射する同位元素を含む。

【０１０９】

ある特定の実施形態では、標識は、蛍光部分を含む。ある特定の実施形態では、標識は、蛍光標識ＦＩＴＣである。ある特定の実施形態では、標識は、１つまたは複数の公知の結合パートナーに対するリガンド部分を含む。ある特定の実施形態では、標識は、ビオチンに対するリガンド部分を含む。

【図面の簡単な説明】

【０１１０】

【図１】図１は、参照により本明細書に組み込まれる、ＢａｒｋｅｒおよびＣｌｅｖｅｒｓ、ＮＲＤＤ、５巻、９９８～１０１４頁（２００６年）から適合させた内在性のβ－カテニン分解経路を示す。

【図２】図２は、ヒトのがんにおける内在性のβ－カテニン分解の損失を示す。

【図３】図３は、二機能性のステープリングされたペプチドを使用した、β－カテニン破壊の回復を示す。

【図４】図４は、ユビキチン化のための推定上の部位であるβ－カテニンのＡｒｍ反復ドメインの表面に露出したリジンを示す。

【図５】図５は、ｈＤＭ２をβ－カテニンに極めて接近した状態にして、ユビキチン化に影響を及ぼすことができる、Ｂｃｌ９およびｐ５３に基づく二機能性のステープリングされたペプチドの例を示す。

【図６】図６は、ｈＤＭ２をβ－カテニンに極めて接近した状態にして、ユビキチン化に影響を及ぼすことができるＴｃｆ４およびｐ５３に基づく二機能性のステープリングされたペプチドの例を示す。

【図７】図７は、配置が異なる二機能性のステープリングされたペプチドであるＴｃｆ４－ＳＡＨ　ｐ５３－８、ＳＡＨ　ｐ５３－８－Ｔｃｆ４、Ｂｃｌ－９－ＳＡＨ　ｐ５３－８、ＳＡＨ　ｐ５３－８－Ｂｃｌ－９の例を示す。

【図８】図８は、Ａｈｘリンカーを持つ二機能性のステープリングされたペプチドの配列の例であるＳＡＨ　ｐ５３－８－Ｂｃｌ－９（配列番号１～３）およびＢｃｌ－９－ＳＡ

Ｈ　ｐ５３－８（配列番号４－６）を示す。
【図９】図９は、ＰＥＧリンカーを持つ二機能性のステープリングされたペプチドの配列の例であるＳＡＨ　ｐ５３－８－Ｂｃｌ－９（配列番号７～９）およびＢｃｌ－９－ＳＡＨ　ｐ５３－８（配列番号１０～１２）を示す。
【図１０】図１０は、Ａｈｘリンカーを持つ二機能性のステープリングされたペプチドの配列の例であるＳＡＨ　ｐ５３－８－Ｔｃｆ４（配列番号１３、１４）およびＴｃｆ４－ＳＡＨ　ｐ５３－８（配列番号１５、１６）を示す。
【図１１】図１１は、ＰＥＧリンカーを持つ二機能性のステープリングされたペプチドの配列の例であるＳＡＨ　ｐ５３－８－Ｔｃｆ４（配列番号１７、１８）およびＴｃｆ４－ＳＡＨ　ｐ５３－８（配列番号１９、２０）を示す。
【図１２】図１２は、２つのペプチドドメイン（ターゲティングドメインおよびエフェクタードメイン）をつなぐためにクロスリンカーを使用する例を示す。
【図１３】図１３は、ＮＨＳとマレイミドとの間の異なる種類のスペーサーの例を示す。
【図１４】図１４は、異なる配置におけるセグメント架橋の例を示す。
【図１５】図１５は、ステープリングされたペプチドの合成ライブラリーの、標的への親和性の高い結合についてのスクリーニング手順の例を示す。
【図１６】図１６は、ステープリングされたペプチドの合成ライブラリーの、標的への親和性の高い結合についてのスクリーニング手順の例を示す。スクリーニング手順は、選択するための基準として第２のタンパク質の修飾を検出することを含む。
【図１７】図１７は、標的ユビキチン化による分解を示す図を示す。
【図１８】図１８は、コリプレッサーを動員することによる、標的遺伝子の抑制を示す図を示す。
【図１９】図１９は、核外移行配列（ＮＥＳ）を含有する二機能性ペプチドを用いた標的核外移行による転写因子の阻害を示す図を示す。
【図２０】図２０は、核局在化配列（ＮＬＳ）を含有する二機能性ペプチドを用いた標的核内移行による転写因子の活性化を示す図を示す。
【図２１】図２１は、コアクチベータータンパク質の動員による合成転写因子の活性化を示す図を示す。
【図２２】図２２は、繋ぎ止められたエフェクタードメインによる一般的な転写因子の翻訳後修飾を示す図を示す。
【図２３】図２３は、二機能性のステープリングされたペプチドおよび付着戦略の設計および合成を示す図を示す。
【図２４】図２４Ａ～Ｂは、（Ａ）Ｓｉｎ３／Ｍａｄ１相互作用（Ｇｅｕｚｅｎｎｅｃら、Ｊ．　Ｂｉｏｌ．　Ｃｈｅｍ．、２００４年、２７９巻、２５８２３～９頁；参照により本明細書に組み込まれる）および（ｂ）ＫＩＸ／ｃ－ＭｙｂおよびＫＩＸ－ＭＬＬ　相互作用（ＫＩＸ：ｃ－Ｍｙｂ：Ｚｏｒら、ＪＭＢ、２００４年、３３７巻、５２１～３４頁、参照により本明細書に組み込まれる；ＫＩＸ：ＭＬＬ：Ｇｕｚｍａｎら、ＪＭＢ、２００５年、３５５巻、１００５～１３頁、参照により本明細書に組み込まれる）についての分子モデルを示す。
【図２５】図２５は、例示的な抑制ドメインの配列および生物活性を含む。（Ａ）ＳＩＤペプチドおよびそのステープリングされた型の配列。アスタリスクは、ペプチドをステープリングするための非天然アミノ酸の組み込みを示す。（Ｂ）ＳＩＤ２およびＳＩＤ５について野生型ＳＩＤと比較した、解離定数（K_D）を決定するために使用した試料の蛍光偏光の実験データである。（Ｃ）ＦＩＴＣ－コンジュゲート型のＳＩＤシリーズのペプチドで処置したＨｅｌａ細胞の共焦点顕微鏡写真である。ＳＩＤ２およびＳＩＤ５が頑強な細胞浸透を示している。
【図２６】図２６Ａ～Ｃは、例示的な活性化ドメインの配列および生物活性を含む。（Ａ）ＭＬＬペプチドおよびｃＭｙｂペプチドおよびそのステープリングされた型の配列である。アスタリスクは、ペプチドをステープリングするための非天然アミノ酸の組み込みを示す。ＮＴ：試験されていない。（Ｂ）解離定数（K_D）を決定するために使用した、Ｍ

ＬＬ１－２についての試料の蛍光偏光の実験データである。（Ｃ）ＦＩＴＣ－コンジュゲート型のＭＬＬシリーズのペプチドで処置したＵ２ＯＳ細胞の共焦点顕微鏡写真である。ＭＬＬ１－２が頑強な細胞浸透を示している。

【図２７】図２７は、二機能性のステープリングされたペプチドおよび付着戦略の設計および合成の例を示す図を示す。

【図２８】図２８は、マレイミド反応性基を含有するステープリングされたペプチドの合成を示す図を示す。

【図２９】図２９は、チオール反応性基を含有するステープリングされたペプチドの合成を示す図を示す。

【図３０】図３０は、チオールを含有するステープリングされたペプチドとマレイミドを含有するステープリングされたペプチドとの反応によって結びつけられたコンジュゲート型の二機能性のステープリングされたペプチドを示す図を示す。

【図３１】図３１は、チオールを含有するステープリングされたペプチド（上部のパネル）、マレイミドを含有するステープリングされたペプチド（中央のパネル）、および生じたコンジュゲート型の二機能性のステープリングされたペプチド（下部のパネル）についての質量スペクトルを示す。

【図３２】図３２は、ＨＰＬＣ精製されたコンジュゲート型の二機能性のステープリングされたペプチドについての質量スペクトルを示す。

【発明を実施するための形態】

【０１１１】

諸言

本発明は、ステープリングまたはステッチングされたペプチドの新規使用の認識に端を発する。そのようなペプチドの安定性を考慮すると、それらを、タンパク質または他の生体分子を特定のタンパク質、核酸、他の生体分子、細胞、または細胞小器官または他の細胞性実体に動員するための作用剤として使用することができる。したがって、本発明は、細胞性実体を繋ぎ止める、または一緒にすることができる二機能性のステープリングまたはステッチングされたペプチドに関する。二機能性ペプチドの一方のドメインは、標的に結合するターゲティング部分としての機能を果たし、他方のドメインは、タンパク質、タンパク質複合体、または他の生体分子を標的に動員するエフェクタードメインとしての機能を果たす。本質的に、二機能性ペプチドは、２つのタンパク質または他の生体分子を互いに接近させるように働く。ペプチドのコンフォメーションを安定化するために、ターゲティングドメイン、エフェクタードメイン、または両方のドメインがステープリングまたはステッチングされていてよい。

【０１１２】

ある特定の実施形態では、本発明の二機能性のステープリングまたはステッチングされたペプチドを、任意の２つの生体分子（ポリペプチドなど）を繋ぎ合わせるために使用することができる。ポリペプチドは、例えば、タンパク質などの単一のポリペプチドであってよい、または、タンパク質複合体などの、互いに結びついた２つ以上のポリペプチドを含む複合体であってよい。

【０１１３】

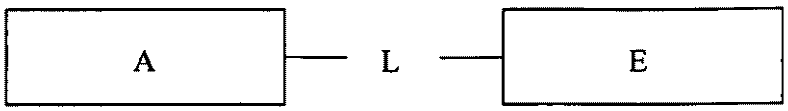
本明細書で使用される、繋ぎ止めることとは、細胞性実体（例えば、タンパク質、核酸、膜、細胞小器官など）を極めて接近した状態にすることを意味する。ある特定の実施形態では、２つのポリペプチドを本発明の二機能性のステープリングされたペプチドによって一緒にすると（または繋ぎ止めると）、その２つのポリペプチドは、一方のポリペプチド（「エフェクター」生体分子）によって他方のポリペプチド（「標的」生体分子）が変化し得る、または修飾され得るような密接な分子接触の状態になる。

【０１１４】

本発明の二機能性ペプチドの構造

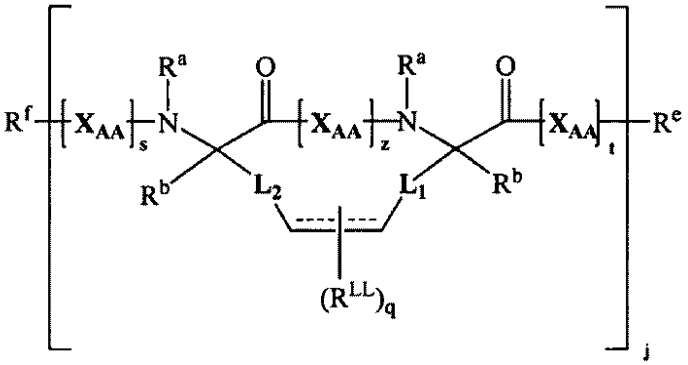
ある特定の実施形態では、ステープリングまたはステッチングされた二機能性ペプチドは、一般に以下の通り配列されている、ターゲティングドメイン（Ａ）、リンカー（Ｌ）

、およびエフェクタードメイン（Ｅ）を含む３つの構成単位：Ａ－Ｌ－Ｅを含む
【０１１５】
【化８】



ＡおよびＥはステープリングまたはステッチングされたペプチドであり、Ｌはリンカーである；Ａはターゲティングドメインであり、Ｅはエフェクタードメインである。ＡおよびＥは、ターゲティングドメインまたはエフェクタードメインであり、特に、標的生体分子またはエフェクター生体分子などのポリペプチドに結びつく、または結合する、ステープリングされていてもよく、またはステープリングされていなくてもよいアミノ酸の配列である。ペプチドＡの任意の部分は、リンカーＬを通じてペプチドＥの任意の部分に連結されていてよい。ある特定の実施形態では、この連結はＮ末端とＮ末端の連結である。ある特定の実施形態では、この連結はＣ末端とＮ末端の連結である。ある特定の実施形態では、この連結はＣ末端とＣ末端の連結である。さらに他の実施形態では、この連結は、ペプチドの一方または両方の内部アミノ酸を通じた連結であり得る。当業者には理解されるように、この連結は、一般にはペプチドの結合活性が妨害されることを回避するように位置付ける。この連結は、ペプチドのステープリングが妨害されることを回避するように位置付けることができる。
【０１１６】
ある特定の実施形態では、Ａがターゲティングドメインであり、標的に特異的に結びつく、または結合する場合、Ｅはエフェクタードメインであり、ターゲティングドメインＡに結合した、または結びついた標的を修飾することができるエフェクター生体分子に特異的に結びつく、または結合する。Ｌは、ＡとＥを共有結合的に連結する化学的リンカーである。リンカーＬは、脂肪族またはヘテロ脂肪族であってよい。ある特定の実施形態では、リンカーＬは、原子１～５０個の長さであり、場合によって置換されていてよい。ある特定の実施形態では、リンカーＬは原子１～２５個の長さであり、場合によって置換されていてよい。
【０１１７】
ＡおよびＥは、任意の長さを有してよい、すなわち、ＡおよびＥは、任意の数のアミノ酸を含んでよい。アミノ酸の数は、４個以上、５個、６個、７個、８個、９個、１０個、１１個、１２個、１３個、１４個、１５個、１６個、１７個、１８個、１９個、２０個、２５個、３０個、３５個、４０個、４５個、５０個、１００個またはそれ以上であってよい、または４から１００の間の任意のアミノ酸数であってよい。ＡおよびＥは、標的生体分子またはエフェクター生体分子のいずれかに特異的に結合する、または結びつくために十分なアミノ酸の最小数であるいくつかのアミノ酸を含んでよい。ドメインの片方または両方のアミノ酸配列は、公知のペプチドと実質的に類似している、または相同であってよい。
【０１１８】
一態様では、本発明は、二機能性のステープリングされたペプチドであって、ドメインの一方または両方が次式を含むペプチドを提供する。
【０１１９】

【化９】



式中、

L_1およびL_2の各例は、独立に、結合；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキニレン；置換もしくは非置換アリーレン；置換もしくは非置換ヘテロアリーレン；または置換もしくは非置換のアシレンであり；

R^aの各例は、独立に、水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；環式もしくは非環式、置換もしくは非置換アシル；または適切なアミノ保護基であり；

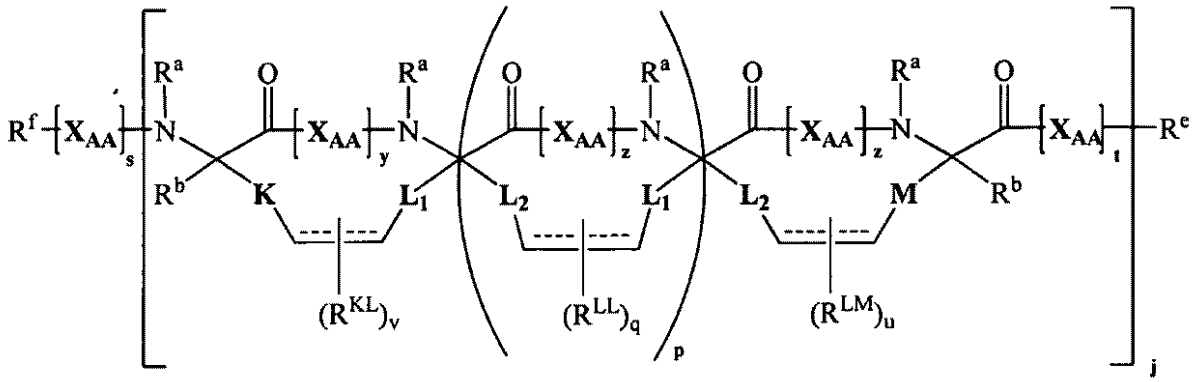
R^bの各例は、独立に、適切なアミノ酸側鎖；水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；環式もしくは非環式、置換もしくは非置換アシル；置換もしくは非置換のヒドロキシル；置換もしくは非置換チオール；置換もしくは非置換アミノ；シアノ；イソシアノ；ハロ；またはニトロであり；

R^eの各例は、独立に、リンカー部分への結合、－R^E、－OR^E、－$N(R^E)_2$、または－SR^Eであり、R^Eの各例は、独立に、水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；樹脂；適切なヒドロキシル保護基、アミノ保護基、またはチオール保護基であるか；あるいは－$N(R^E)_2$の２つのR^E基が一緒になって置換もしくは非置換の５～６員の複素環式環または芳香族複素環を形成し；

R^fの各例は、独立に、リンカー部分への結合；水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；樹脂；適切なアミノ保護基；標識であり、場合によって、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキニレン；置換もしくは非置換アリーレン；置換もしくは非置換ヘテロアリーレン；または置換もしくは非置換のアシレンから選択されるテザーにより連結された標識であるか；あるいは末端アミノ酸のR^fおよびR^aが一緒になって置換もしくは非置換の５～６員の複素環式環または芳

香族複素環を形成し；
R^{LL}の各例は、独立に、水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；置換もしくは非置換のヒドロキシル；置換もしくは非置換チオール；置換もしくは非置換アミノ；アジド；シアノ；イソシアノ；ハロ；ニトロであり；
または２つの隣接するR^{LL}基が連結されて、置換もしくは非置換の５～８員脂環式環；置換もしくは非置換の５～８員ヘテロ脂環式環；置換もしくは非置換アリール環；または置換もしくは非置換ヘテロアリール環を形成し；
X_{AA}の各例は、独立に、天然アミノ酸または非天然アミノ酸であり；
ｚの各例は、独立に、２から６の間の整数であり；
ｊの各例は、独立に、１から１０の間の整数であり；
ｓおよびｔの各例は、独立に、０から１００の間の整数であり；
ｑの各例は、独立に、０から２の間の整数であり；
【０１２０】
【化１０】

は、単結合または二重結合に対応する。
【０１２１】
別の態様では、本発明は、二機能性のステッチングされたペプチドであって、ドメインの一方または両方が次式を含むペプチド（すなわち、多数のステープルを持つペプチド）を提供する。
【０１２２】
【化１１】



式中、
K、L_1、L_2およびMの各例は、独立に、結合；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキニレン；置換もしくは非置換アリーレン；置換もしくは非置換ヘテロアリーレン；または置換もしくは非置換のアシレンであり；
R^aの各例は、独立に、水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；環式もしくは非環式、置換もしくは非置換アシル；または適切なアミノ保護基であり；
R^bの各例は、独立に、適切なアミノ酸側鎖；水素；環式もしくは非環式、分岐もしく

は非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；環式もしくは非環式、置換もしくは非置換アシル；置換もしくは非置換のヒドロキシル；置換もしくは非置換チオール；置換もしくは非置換アミノ；シアノ；イソシアノ；ハロ；またはニトロであり；

R^eの各例は、独立に、リンカー部分への結合、－R^E、－OR^E、－$N(R^E)_2$、または－SR^Eであり、R^Eの各例は、独立に、水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；樹脂；適切なヒドロキシル保護基、アミノ保護基、またはチオール保護基であるか；あるいは－$N(R^E)_2$の２つのR^E基が一緒になって置換もしくは非置換の５～６員の複素環式環または芳香族複素環を形成し；

R^fの各例は、独立に、リンカー部分への結合；水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；樹脂；適切なアミノ保護基；標識であり、場合によって、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のアルキニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルケニレン；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロアルキニレン；置換もしくは非置換アリーレン；置換もしくは非置換ヘテロアリーレン；または置換もしくは非置換のアシレンから選択されるテザーにより連結された標識であるか；あるいはR^fおよびR^aが一緒になって置換もしくは非置換の５～６員の複素環式環または芳香族複素環を形成し；

R^{KL}、R^{LL}およびR^{LM}の各例は、独立に、水素；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；置換もしくは非置換のヒドロキシル；置換もしくは非置換チオール；置換もしくは非置換アミノ；アジド；シアノ；イソシアノ；ハロ；ニトロであり；

または２つの隣接するR^{KL}基が連結されて、置換もしくは非置換の５～８員脂環式環；置換もしくは非置換の５～８員ヘテロ脂環式環；置換もしくは非置換アリール環；または置換もしくは非置換ヘテロアリール環を形成し；２つの隣接するR^{KL}基が連結されて、置換もしくは非置換の５～８員脂環式環；置換もしくは非置換の５～８員ヘテロ脂環式環；置換もしくは非置換アリール環；または置換もしくは非置換ヘテロアリール環を形成し；または２つの隣接するR^{LM}基が連結されて、置換もしくは非置換の５～８員脂環式環；置換もしくは非置換の５～８員ヘテロ脂環式環；置換もしくは非置換アリール環；または置換もしくは非置換ヘテロアリール環を形成し；

X_{AA}の各例は、独立に、天然アミノ酸または非天然アミノ酸であり；

ｙおよびｚの各例は、独立に、２から６の間の整数であり；

ｊの各例は、独立に、１から１０の間の整数であり；

ｐの各例は、独立に、０から１０の間の整数であり；

ｓおよびｔの各例は、独立に、０から１００の間の整数であり；

ｕ、ｖおよびｑの各例は、独立に、０から２の間の整数であり；

【０１２３】

【化１２】

は、単結合または二重結合に対応する。

【０１２４】
ある特定の実施形態では、ペプチドＡおよびＥの一方または両方は、アルファヘリックスのポリペプチドである。ある特定の実施形態では、ペプチドＡは実質的にアルファヘリックスである。ある特定の実施形態では、ペプチドＥは実質的にアルファヘリックスである。本明細書で使用される、「実質的にアルファヘリックス」という句は、平均で、約（－９０°、－１５°）～約（－３５°、－７０°）にわたる主鎖（Φ、ψ）二面角をとっているポリペプチドを指す。あるいは、「実質的にアルファヘリックス」という句は、ある残基のψ二面角と次の残基のΦ二面角を合計すると平均で約－８０°～約－１２５°になるような二面角をとっているポリペプチドを指す。ある特定の実施形態では、ポリペプチドは、ある残基のψ二面角と次の残基のΦ二面角を合計すると平均で約－１００°～約－１１０°になるような二面角をとる。ある特定の実施形態では、ポリペプチドは、ある残基のψ二面角と次の残基のΦ二面角を合計すると平均で約－１０５°になるような二面角をとる。さらに、「実質的にアルファヘリックス」という句は、ポリペプチド鎖において少なくとも５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、または９５％の、アルファヘリックスコンフォメーションで提供されるアミノ酸を有する、または本明細書で規定された二面角を持つポリペプチドも指すことができる。ポリペプチドのアルファヘリックス二次構造の確認については、Ｘ線結晶構造解析、電子結晶構造解析、繊維回析、蛍光偏光測定、円偏光二色性（ＣＤ）、および核磁気共鳴（ＮＭＲ）分光法などの公知の分析的な技法によって突きとめることができる。

【０１２５】
ポリペプチドＡとポリペプチドＥを結びつけるリンカーは、二機能性ポリペプチドを使用する条件下で２つのポリペプチドを結びつけることができる任意の化学的部分であってよい。リンカーは、共有結合のように単純であってよい、または、多数の原子長のポリマーリンカーであってよい。ある特定の実施形態では、リンカーは、ポリペプチド（ｐｏｌｐｅｐｔｉｄｅ）である、またはアミノ酸に基づく。他の実施形態では、リンカーはペプチド様ではない。ある特定の実施形態では、リンカーは、共有結合（例えば、炭素－炭素結合、ジスルフィド結合、炭素－ヘテロ原子結合など）である。ある特定の実施形態では、リンカーは、アミド結合の炭素－窒素結合である。ある特定の実施形態では、リンカーは、環式もしくは非環式、置換もしくは非置換、分岐もしくは非分岐の脂肪族またはヘテロ脂肪族のリンカーである。ある特定の実施形態では、リンカーは、ポリマー（例えば、ポリエチレン、ポリエチレングリコール、ポリアミド、ポリエステルなど）である。ある特定の実施形態では、リンカーは、アミノアルカン酸のモノマー、ダイマー、またはポリマーを含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、アミノアルカン酸（例えば、グリシン、エタン酸、アラニン、ベータアラニン、３－アミノプロパン酸、４－アミノブタン酸、５－ペンタン酸など）を含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、アミノヘキサン酸（Ａｈｘ）のモノマー、ダイマー、またはポリマーを含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、炭素環式部分（例えば、シクロペンタン、シクロヘキサン）に基づく。他の実施形態では、リンカーは、ポリエチレングリコール部分（ＰＥＧ）を含む。他の実施形態では、リンカーは、アミノ酸を含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、ペプチドを含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、アリール部分またはヘテロアリール部分を含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、フェニル環に基づく。ある特定の実施形態では、リンカーは、トリアゾール部分（すなわち、Ｈｕｉｓｇｅｎ環化付加反応の生成物）を含む。リンカーは、ペプチド由来の求核試薬（例えば、チオール、アミノ）がリンカーに付着することを容易にするための官能化された部分を含んでよい。任意の求電子試薬をリンカーの一部分として使用することができる。例示的な求電子試薬としては、これらに限定されないが、活性化エステル、活性化アミド、Ｍｉｃｈａｅｌ受容体、ハロゲン化アルキル、ハロゲン化アリール、ハロゲン化アシル、およびイソチオシアネートが挙げられる。ある特定の実施形態では、リンカーは、マレイミド基を含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、ＮＨＳエステルを含む。ある特定の実施形態では、リンカーは、ＮＨＳエステルおよびマレイミド基の両方を含む。例えば、シクロヘキサン環は、ＮＨＳエ

ステルおよびマレイミド基で置換されていてよい。ポリペプチドＡとポリペプチドＥを結びつけるために様々なリンカーおよび／または官能基を使用する共有結合性のコンジュゲーション戦略および適切な化学的条件の例は図２７～３２に記載されている。ある特定の実施形態では、チオール－マレイミドのコンジュゲートを生成する。他の実施形態では、１，４－トリアゾールまたは１，５－トリアゾールのコンジュゲートを生成する。

【０１２６】

二機能性ペプチドの使用

本発明の二機能性ペプチドを使用して、２つの細胞性実体を繋ぎ合わせることができる。ある特定の実施形態では、２つの細胞性実体を繋ぎ止めることによって、一方の実体が他方の実体によって変化することが望まれる。一方の実体に変化をもたらす他方の実体は、標的である他方の実体を修飾するエフェクター生体分子である。標的生体分子の修飾は、標的のいくつかの特性（例えば、生物活性）である。一部の実施形態では、２つの細胞性実体を繋ぎ止めることによって、２つの実体が本質的に不可逆的に繋ぎ合わされることが望まれる。例えば、ある特定のエフェクター生体分子は、ある特定の刺激または分子シグナルに際して自然に標的に結びつく、または標的から離れる可能性がある。本発明の二機能性ペプチドを使用して、２つの細胞性実体を、そのような刺激または他のシグナルに際してそれらが離れず、結びついたままになるように不可逆的に繋ぎ合わせることができる。エフェクター生体分子は、例えば、標的の細胞阻害剤、または、標的に結びついて、標的のある特定の細胞内局在化、例えば、細胞質ゾルまたは核への局在化を保つ特定の分子複合体であってよい。他の実施形態では、二機能性ペプチドを、ある特定の刺激または分子シグナルに際してのみ自然に結びつく生体分子をそのような刺激がないところで繋ぎ合わせるために使用することができる。他の実施形態では、自然には互いに結びつかない生体分子を繋ぎ合わせることができる。本明細書で使用される「自然に」は、疾患の状態を含めた生理的条件下での細胞の状況を意味する。

【０１２７】

ある特定の実施形態では、二機能性のステープリングされたペプチドを使用して、標的の１つまたは複数の特性を変化させることができる。ある特定の実施形態では、標的の特性は、その変化が細胞の運命および／または細胞挙動に影響を及ぼすように変化する。ある特定の実施形態では、標的の１つまたは複数の特性の変化によって生じる細胞の運命または細胞挙動の変化が、哺乳動物、例えば、ヒトなどの被験体の病態に影響を及ぼす。ある特定の実施形態では、二機能性のステープリングされたペプチドを、疾患を治療するために使用することができる。ある特定の実施形態では、二機能性のステープリングされたペプチドを、研究において生物学的経路を探査または解明するために使用することができる。生物学的経路の探査は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏ、例えば細胞または組織培養物において、またはｉｎ　ｖｉｖｏ、例えば動物、例えば、ヒト、マウス、ラット、ハムスター、魚類、または霊長類においての両方で実施することができる。

【０１２８】

一部の実施形態では、２つの細胞性実体は、タンパク質および関連するタンパク質複合体などのポリペプチドである。ある特定の実施形態では、一方の実体（標的生体分子）の変化または修飾は、他方の実体（エフェクター分子）の酵素活性の結果であってよい。タンパク質に関して、例えば、そのような変化または修飾は、当技術分野で公知の任意の翻訳後修飾を含んでよい。

【０１２９】

翻訳後修飾としては、これらに限定されないが、ユビキチン化、リン酸化、アセチル化、グリコシル化、メチル化、ＳＵＭＯ化、ウルミレーション（ｕｒｍｙｌａｔｉｏｎ）、ネディレーション（ｎｅｄｄｙｌａｔｉｏｎ）、タンパク質分解、脂質付加、アシル化、ファルネシル化、ゲラニルゲラニル化および／またはライゲーションが挙げられる。翻訳後修飾は、本明細書で使用される場合、ポリペプチド実体に付加すること、またはポリペプチド実体から除去することができる任意の化学的な基（例えば、タンパク質、糖、または無機分子、例えばリン酸塩など）である化学的部分の付加ならびにそのような化学的部

分の除去を含んでよいことは当業者には理解される。そのような化学的部分の例は、ユビキチン（Ｕｂ）、およびユビキチン様タンパク質（Ｕｂｌ）のＳＵＭＯ、Ｕｒｍ１、およびＮｅｄｄ８などのタンパク質、グリカンなどの炭水化物、ならびにリン酸塩、アセチル基、アシル基、もしくはメチル基などの小さな有機基または無機基、または脂質である。化学的部分は、核酸も含んでよい。化学的部分は、様々な酵素的に活性なエフェクター生体分子によって、標的生体分子に付着させることができる、または標的生体分子から除去することができる。

【０１３０】

ある特定の実施形態では、二機能性ペプチドのエフェクタードメインにより、ユビキチン化酵素またはユビキチン化機構が標的タンパク質に動員される。標的タンパク質がユビキチン化された結果、一般にはユビキチン化されたタンパク質がプロテアソームによって分解される。ユビキチンは、Ｅ３リガーゼなどのユビキチンリガーゼによってタンパク質に付着する。Ｅ３リガーゼは、ＭＤＭ２またはＥ６ＡＰなどの単一のポリペプチド鎖の酵素、またはＳｋｐ１－カリン－Ｆ－ボックス（Ｓｋｐ１、Ｃｕｌ１／Ｃｄｃ５３、Ｒｏｃ１／Ｈｒｔ／Ｒｂｘ１、ＳＣＦ）、後期促進複合体（ＡＰＣ）、またはＢＲＣＡ１－Ｂａｒｄ１複合体などのタンパク質複合体であってよい。これらの複合体は、天然の基質特異性をもたらす、ＡＰＣに対するｃｄｈ１およびｃｄｃ２０などのアダプタータンパク質、およびＳＣＦに対する様々なＦ－ボックスタンパク質に結びつくことができ、さらにＥ２ユビキチンコンジュゲート酵素（ＵＢＣ）に結びつく。

【０１３１】

一般には、ユビキチンは、一連の触媒ステップによって標的タンパク質に付着する。ユビキチンは、まずユビキチン活性化酵素Ｅ１によって活性化される。Ｅ１酵素は、カルボン酸のＡＴＰ依存性アデニル化と、それに続くＥ１の内部のシステインとのチオカルボン酸の形成の２つの反応を触媒する。この後に、Ｕｂ／Ｕｂｌが Ｅ２酵素の活性なシステインに転移されるトランス－チオ化反応が続く。次いで、Ｅ２によってユビキチン／ユビキチンが標的タンパク質の標的リジンに直接転移され、これは多くの場合Ｅ３リガーゼに補助される。Ｕｂ／Ｕｂｌは、さらなるトランス－チオ化反応によってＨＥＣＴ　Ｅ３リガーゼに転移させ、次いでＵｂ／Ｕｂ１を基質に転移させることができる。多くの場合、特殊化されたＥ３リガーゼによって多数回のユビキチン化が触媒され、ポリＵｂ付加物がもたらされる。

【０１３２】

ユビキチンは、プロテアーゼである脱ユビキチン化酵素（ＤＵＢ）によって除去することができる。システインプロテアーゼＤＵＢの例は：ユビキチン特異的プロセシングプロテアーゼ（ＵＳＰ／ＵＢＰ）スーパーファミリー；ユビキチンＣ末端ヒドロリアーゼ（ＵＣＨ）スーパーファミリー；卵巣腫瘍（ＯＴＵ）スーパーファミリー；およびマシャドジョセフドメイン（ＭＪＤ）スーパーファミリーである。

【０１３３】

ＳＵＭＯ（低分子ユビキチン様修飾因子）は、ＳＵＭＯ化依存性Ｅ３リガーゼであるＲａｎＢＰ２、Ｐｃ２およびＰＩＡＳファミリーのメンバーなどのＳＵＭＯ化依存性ユビキチンリガーゼによって付着させることができる。ヒトおよびマウスでは、ＳＵＭＯファミリーは、ＳＵＭＯ－１、ＳＵＭＯ－２およびＳＵＭＯ－３の３メンバーからなり、これらは別々の遺伝子にコードされる。ＳＵＭＯのコンジュゲーションには、逐次的なＥ１依存性の活性化ステップ、Ｅ２依存性のコンジュゲーションステップ、およびＥ３依存性のライゲーションステップが必要とされる。ヒトＳＵＭＯＥ１酵素は、ＳＡＥ１タンパク質およびＳＡＥ２タンパク質のヘテロダイマーを含み、ＳＵＭＯ－１のグリシン９７とチオエステル結合を形成する。その後に、ＳＵＭＯ－１がエステル交換反応によってＳＵＭＯ特異的なＥ２コンジュゲート酵素、Ｕｂｃ９に転移される。Ｕｂｃ９は、ＳＵＭＯのカルボキシ末端のグリシンを、コンセンサスモチーフｙＫｘＥ／Ｄ内にある標的タンパク質のリジンに直接コンジュゲートすることができ、ここでｙは、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、またはフェニルアラニンを表し；ｘは、任意のアミノ酸を表す。

【０１３４】
ＳＵＭＯは、ＳｕＰｒ１、ＳＥＮＰ１（セントリン／ＳＵＭＯ特異的プロテアーゼ）またはＵＬＰ（ユビキチン様タンパク質特異的プロテアーゼ）などの脱ＳＵＭＯ化タンパク質またはＳＵＭＯプロテアーゼによって除去することができる。
【０１３５】
低分子ユビキチン様修飾因子であるＮｅｄｄ８は、ユビキチン化と類似したネディレーションと称されるプロセスによって付着させることができる。ネディレーションでは、２つのサブユニット、ＡＰＰ－ＢＰ１およびＵＢＡ３で構成されるＥ１活性化酵素複合体、およびＥ２コンジュゲート酵素であるＵＢＣ１２を利用する。公知のネディレーションの基質はカリンファミリーのタンパク質：Ｃｕｌ１、Ｃｕｌ２、Ｃｕｌ３、Ｃｕｌ４Ａ、Ｃｕｌ４Ｂ、およびＣｕｌ５である。ＳＣＦ複合体の一部分である、ある特定のカリン（例えば、カリン－１）のネディレーションは、ＳＣＦへのＥ２－ユビキチン動員を増強する可能性があり、またある特定のＥ３リガーゼの基質のＳＣＦによるユビキチン化に必要とされる場合がある。
【０１３６】
Ｎｅｄｄ８部分を除去するデネディレーション（Ｄｅｎｅｄｄｙｌａｔｉｏｎ）は、ＣＯＰ９／シグナロソーム（ＣＳＮ）およびＣＡＮＤ１のイソペプチダーゼ活性などのイソペプチダーゼ活性によって実現することができる。
【０１３７】
ある特定の実施形態では、エフェクタードメインにより、標的タンパク質のアセチル化を触媒する酵素が動員される。アセチル基は、ヒストンタンパク質および／または非ヒストンタンパク質を修飾することができるアセチラーゼ、例えば、ＰＣＡＦ／ＧＣＮ５、ｐ３００／ＣＢＰ、ＴＡＦ２５０、ＳＲＣ１およびＭＯＺ、ＴＩＰ６０またはＢＲＣＡ２などによって付着させることができる。アセチラーゼは、ＴＩＰ６０、ＳＴＡＧＡ（ＳＰＴ３－ＴＡＦ９－ＧＣＮ５／ＰＣＡＦ）ヒストンアセチラーゼ複合体、ＡＴＡＣ（２つのＡを含有するＡｄａ）ヒストンアセチラーゼ複合体、またはＮｕＡ４ヒストンアセチラーゼ複合体などの高分子量の複合体の一部分であってよい、または、例えば、Ｅ２Ｆ、ＴＡＦ、ｐ５３、およびＭｙｏＤなどの転写因子と関連してよい。
【０１３８】
アセチル基は、ヒストンタンパク質および／または非ヒストンタンパク質を修飾することができる脱アセチル化酵素、例えば、ＨＤＡＣ１、ＨＤＡＣ２、ＨＤＡＣ３、ＨＤＡＣ４、ＨＤＡＣ５、ＨＤＡＣ６、ＨＤＡＣ７、ＨＤＡＣ８、ＨＤＡＣ９、ＨＤＡＣ１０、およびＨＤＡＣ１１などによって除去することができる。ＨＤＡＣは、ＮｕＲＤ複合体、Ｓｉｎ３複合体、ＳＭＲＴ複合体、およびＮ－ＣｏＲ複合体の高分子量の複合体の一部分であってよい、または、例えば、Ｒｂ、ＹＹ１、Ｓｐ１、ＭＥＦ２、ＢＲＣＡ１、ｐ５３、ｃ－Ｓｋｉ、およびＩｋａｒｏｓなどの転写因子と関連してよい。
【０１３９】
他の実施形態では、リン酸化は、一般にはキナーゼによって実現される。キナーゼは、リン酸基をＡＴＰまたは他のヌクレオチドから基質にアミノ酸側鎖を介して転移させる。大部分のキナーゼは、リン酸基を、セリンまたはトレオニンに（例えばＭＡＰキナーゼ、ＥＲＫ、ＪＮＫ、およびｐ３８など）、他のキナーゼはチロシンに、いくつか（二重特異性キナーゼ）は３つのアミノ酸すべてに転移させる。ヒスチジン残基をリン酸化するヒスチジンキナーゼを含めた他のアミノ酸をリン酸化するプロテインキナーゼもある。
【０１４０】
脱リン酸化は、リン酸モノエステルをリン酸イオンと遊離のヒドロキシル基またはアミノ基を持つ分子に加水分解することによって、その基質からリン酸基を除去するホスファターゼによって実現することができる。ホスファターゼとしては、システイン依存性ホスファターゼ（ＣＤＰ）およびメタロホスファターゼが挙げられる。セリン／トレオニン特異的プロテインホスファターゼとしては、例えば、ＰＰ１（α、β、γ１、γ２）、ＰＰ２（以前は２Ａ）、ＰＰ３（以前は２ｂ、カルシニューリンとしても公知である）、ＰＰ

２Ｃ、ＰＰ４、ＰＰ５、およびＰＰ６が挙げられる。チロシン特異的ホスファターゼとしては、例えば、ＰＴＰ１Ｂが挙げられる。二重特異性ホスファターゼとしては、例えば、ＶＨＲ、ＤＵＳＰ１－ＤＵＳＰ２８が挙げられる。ヒスチジンホスファターゼとしては、例えば、ＰＨＰが挙げられる。脂質ホスファターゼとしては、例えば、ＰＴＥＮが挙げられる。

【０１４１】

プロテインメチラーゼＩ、ＩＩ、またはＩＩＩ；およびＰＲＭＴ１およびＰＲＭＴ５（タンパク質アルギニンメチルトランスフェラーゼ１および５）などのプロテインメチラーゼによって基質のアルギニンにメチル基を付加し、それによって、例えば、モノメチルアルギニンまたはジメチルアルギニンを得ることができる。メチラーゼは、例えば、Ｓ－アデノシル－Ｌ－メチオニンをドナーとして使用して、メチル基を転移させることができる。公知のタンパク質メチル化の基質としては、ミエリン塩基性タンパク質（ＭＢＰ）、および異種リボ核タンパク質Ａ１（ｈｎＲＮＰ　Ａ１）が挙げられる。例えば、ＳＵＶ３９Ｈ１、Ｇ９ａ、ＥＨＭＴ１、Ｔｒｉｔｈｏｒａｘ、Ａｓｈ１およびＤｏｔ１などのＨＭＴ（ヒストンメチルトランスフェラーゼ）として公知のメチラーゼ、または他の酵素は、主としてヒストンタンパク質を、特にリジン残基およびアルギニン残基において修飾し、モノメチル化、ジメチル化、トリメチル化された基質をもたらす。

【０１４２】

脱メチル化は、ＬＳＤ１、ＪＭＪＤ、またはＪＨＤＭなどのデメチラーゼによって実現することができる。デメチラーゼの公知の標的は、例えば、ヒストンタンパク質である。

【０１４３】

炭水化物部分を、グリコシルトランスフェラーゼ、例えば、ＧｌｃＮＡｃ－トランスフェラーゼ（ＧｎＴＩ、ＧｎＴＩＩ、ＧｎＴＩＩ、ＧｎＴＩＶ、ＧｎＴＶ）、ガラクトシルトランスフェラーゼ、グルクロニルトランスフェラーゼ、シアリルトランスフェラーゼ、キシロシルトランスフェラーゼ、フコシルトランスフェラーゼ、およびマンノシルトランスフェラーゼなどによってタンパク質または脂質に付加することができる。グリコシルトランスフェラーゼは、単糖単位を活性化糖リン酸から、受容体分子、例えば、チロシン、セリン、またはトレオニンに転移させてＯ結合糖タンパク質をもたらす、またはアスパラギンに転移させてＮ結合型糖タンパク質をもたらす。マンノシル基をトリプトファンに転移させてＣ－マンノシルトリプトファンを生成することができる。グリコシル転移の結果は、単糖配糖体、オリゴ糖、または多糖であってよい。グリコシルトランスフェラーゼに対する一般的な供与体は、例えば、ＵＤＰ－グルコース、ＵＤＰ－ガラクトース、ＵＤＰ－ＧｌｃＮＡｃ、ＵＤＰ－ＧａｌＮＡｃ、ＵＤＰ－キシロース、ＵＤＰ－グルクロン酸、ＧＤＰ－マンノース、ＧＤＰ－フコース、およびＣＭＰ－シアル酸である。脂質がドリコールまたはポリプレノールなどのテルペノイドであることが多い場合、脂質を連結させたグリコシル供与体も使用することができる。

【０１４４】

炭水化物を、糖のグリコシド結合の加水分解を触媒するグリコシダーゼ（グリコシドヒドロラーゼ）によってタンパク質または脂質から除去することができる。

【０１４５】

プレニル化は、一般にはシステイン残基において起こるタンパク質の翻訳後脂質修飾である。プレニルトランスフェラーゼによって認識される特異的な配列は、ファルネシルトランスフェラーゼ（ＦＴアーゼ）およびゲラニルゲラニルトランスフェラーゼ１（ＧＧＴアーゼ１）に対してはＣａａＸボックス、または、ゲラニルゲラニルトランスフェラーゼ２（ＧＧＴアーゼ２）の場合ではＲａｂ　ＧＴＰアーゼのＣ末端システインのいずれかからなる。アンカーは、ファルネシル（３つのイソプレニル単位）またはゲラニルゲラニル（４つのイソプレニル単位）型のものであってよい。この修飾により、プレニル化されたタンパク質の膜の付着または結びつきが可能になる。ファルネシル化は、ファルネシル基をファルネシルピロリン酸（ＦＰＰ）から基質、例えば、Ｒａｓタンパク質に転移させる酵素ファルネシルトランスフェラーゼ（ＦＴアーゼ）を必要とする。関連酵素であるゲラ

ニルゲラニルトランスフェラーゼＩ（ＧＧＴアーゼＩ）は、ゲラニルゲラニル基を基質、例えば、Ｋ－ＲａｓおよびＮ－Ｒａｓに転移させる。

【０１４６】

本明細書に記載の修飾はいずれも、標的生体分子の１つまたは複数の部位（または標的アミノ酸）において起こってよいことが当業者には理解されよう。例えば、標的実体は、１つの部位、２つの部位、３つの部位、４つの部位またはそれ以上の部位の多数の部位においてリン酸化することができる。ユビキチンについては、化学的部分はモノマーまたは多量体として同じ部位に付着させることができ、同じアミノ酸標的部位を、同じ化学的部分、例えば、モノメチル化、ジメチル化、またはトリメチル化などで１回または複数回修飾することができる。

【０１４７】

さらに、化学的部分を付加すること、除去すること、または置き換えることは、標的生体分子に対して異なる効果を有し得ることも理解されるべきである。これらの効果の多くは当技術分野で周知である。修飾のいくつかは付加的、例えば、標的生体分子がある特定の機能を実行することの活性化であってよく、いくつかの修飾は、対立する効果、例えば基質を保護する効果、または基質を分解させる効果を有し得る。

【０１４８】

例えば、ＳＵＭＯ－１とユビキチンは、標的生体分子の同じ部位を競合し対立する効果を有する場合がある。標的生体分子がポリユビキチン化されることにより、２６Ｓプロテアソームによる分解が導かれ得るが、一方ＳＵＭＯ化により、標的生体分子が分解から保護され得る（これは、例えばＩｋａｐｐａＢについて公知である）。腫瘍抑制因子タンパク質Ｒｂの特定の部位における、ＤＮＡ損傷に誘導されるアセチル化により、これらの部位におけるリン酸化が妨げられ（例えば、ＣＤＫによる）、Ｒｂが活性なコンフォメーションに保持され得る。Ｅ２Ｆ１転写因子の特定の部位のリン酸化（例えば、ＡＴＭ／ＡＴＲによる）により、Ｅ２Ｆ１のアセチル化が促進される（例えば、ＣＢＰ／ｐ／ＣＡＦによる）。

【０１４９】

いくつかのグリコシルエピトープの、例えば、Ｎ結合型構造におけるβ６ＧｌｃＮＡｃ分岐；Ｏ結合構造におけるシアリル－Ｔｎ；Ｎ結合型、Ｏ結合型、または脂質連結型構造のいずれかにおけるシアリル－Ｌｅｘ、シアリル－Ｌｅａ、およびＬｅｙ；脂質連結構造におけるＧＭ２、ＧＤ３、およびシアリル－Ｇｂ５などの発現が高いことにより、浸潤および転移が促進される。他のグリコシルエピトープ、例えば、β６ＧｌｃＮＡｃと競合的なβ４ＧｌｃＮＡｃ；シアリル－Ｌｅｘおよびシアリル－Ｌｅａを含めたシアリル化された構造と競合的な組織血液型ＡおよびＢ；シアリル－Ｇｂ５と競合的なＧｂ５などの発現が高いことにより、腫瘍の進行が抑制される。

【０１５０】

例えば、悪性腫瘍に関連づけられる１つの一般的なグリコシル化による変化は、ＧｎＴ－Ｖの活性が増強されることによって引き起こされ、ＧｎＴ－ＩＩＩによって合成されるβ４ＧｌｃＮＡｃ（バイセクティングＧｌｃＮＡｃ）を打ち消すＮ結合型構造のβ６ＧｌｃＮＡｃ側鎖の分岐が増強されることである。どちらのグリコシルエピトープのレベルも、ＧｎＴ－ＶとＧｎＴ－ＩＩＩとの間の平衡によって決定される。ＧｎＴ－ＩＩＩ遺伝子が増強されることにより、転移の抑制を導き得るβ６ＧｌｃＮＡｃ分岐が阻害され得る。転移において、標的の１つは、β４ＧｌｃＮＡｃが増強されることによってβ６ＧｌｃＮＡｃ分岐が減少し、カドヘリン依存性の細胞間接着が増強され、その結果として転移が抑制される、Ｅ－カドヘリンであると思われる。ＧｎＴ－ＩＩＩに特異的に結合するエフェクタードメインおよびＥ－カドヘリンに特異的に結合するターゲティングドメインを含む本発明の二機能性ペプチドを使用して、がん細胞においてＧｎＴＩＩＩをＥ－カドヘリンに繋ぎ止めて、Ｅ－カドヘリンにおけるβ４ＧｌｃＮＡｃ修飾を増加させ、転移を抑制する。

【０１５１】

さらに、ある特定の修飾によって、その後に、他の修飾を付加または除去する追加的な酵素が、修飾された標的生体分子に動員されることが当技術分野で周知である。例えば、ｐ５３の蓄積および活性化はリン酸化、アセチル化およびユビキチン化などの翻訳後修飾によって制御される。Ｓｅｒ１５、Ｔｈｒ１８、Ｓｅｒ２０およびＳｅｒ３７がリン酸化されることにより、ｐ５３とＭＤＭ２との間の相互作用が乱されることによってｐ５３が安定化され、一方、Ｓｅｒ３１５およびＳｅｒ３９２などのｐ５３のＣ末端におけるリン酸化により、ｐ５３のオリゴマー形成の状態および配列特異的なＤＮＡ結合能が制御されることが報告されている。

【０１５２】

ＡＴＭ（血管拡張性失調症変異）およびＡＴＲ（ＡＴＭ関連およびＲａｄ３関連）を含めたＰＩ３Ｋファミリーは、主にｐ５３リン酸化の原因である。ＡＴＭは、照射および化学療法薬に応答して主にＳｅｒ１５残基をリン酸化し、一方ＡＴＲは、ＵＶおよび複製阻害剤に応答して特にＳｅｒ１５残基およびＳｅｒ３７残基の両方をリン酸化する。

【０１５３】

ｐ５３がリン酸化されることにより、その後のアセチル化が導かれる。例えば、ＤＮＡ損傷に応答してＮ末端のセリン、例えばＳｅｒ１５、Ｓｅｒ３３およびＳｅｒ３７などがリン酸化されることにより、ｐ３００／ＣＢＰおよびＰＣＡＦが動員されて、ｐ５３のアセチル化が誘導される。ｐ５３がＳｅｒ２０またはＴｈｒ１８においてリン酸化されることにより、ｐ３００－ｐ５３複合体が安定化され得、このようにしてｐ５３のアセチル化が誘導される。ｐ３００／ＣＢＰはｐ５３をＫ３０５、Ｋ３７２、Ｋ３７３、Ｋ３８１およびＫ３８２においてアセチル化し、一方ＰＣＡＦはｐ５３をＫ３２０においてアセチル化する。Ｔｉｐ６０は、ＤＮＡ損傷に応答してｐ５３をＫ１２０において特異的にアセチル化する。ｐ５３をアセチル化することにより、ｐ５３配列特異的なＤＮＡ結合能を増加させることができる、または、ＭＤＭ２によって媒介されるｐ５３のユビキチン化を阻害することによってその安定化を増強する。

【０１５４】

ＡＴＭまたはＡＴＲに特異的に結合するエフェクタードメインおよびｐ５３に特異的に結合するターゲティングドメインを含む本発明の二機能性ペプチドを使用して、突然変異の結果としてｐ５３が完全に不活性化されていないがん細胞において、ＰＩ３キナーゼをｐ５３に繋ぎ止めてリン酸化およびその後のｐ５３のアセチル化を促進し、ｐ５３の安定化および活性化を導く。

【０１５５】

ｐ３００またはＰＣＡＦに特異的に結合するエフェクタードメインおよびｐ５３に特異的に結合するターゲティングドメインを含む本発明の二機能性ペプチドを使用して、突然変異の結果としてｐ５３が完全に不活性化されていないがん細胞において、アセチラーゼをｐ５３に繋ぎ止めてｐ５３のアセチル化を促進し、ｐ５３の安定化および活性化を導く。

【０１５６】

一部の実施形態では、エフェクター生体分子により、標的生体分子の１つまたは複数のアミノ酸部位の１つまたは複数の化学的部分が付加、除去または交換される。ある特定の実施形態では、修飾により、標的生体分子の、活性化、非活性化などの標的生体分子の運命における所望の変化、細胞内局在化、安定化、不安定化における変化、基質特異性または酵素の忠実度における変化、またはタンパク質の折りたたみにおける変化が導かれる。

【０１５７】

したがって、１つまたは複数の特定の翻訳後修飾を調節することによって、標的生体分子の多くの特性、例えば、標的生体分子の酵素活性、基質特異性、細胞内局在性、分解、半減期、局在性、タンパク質間相互作用、タンパク質－核酸相互作用、および安定性などを調節することができることが理解されるべきである。ある特定の実施形態では、標的生体分子の運命におけるこれらの変化により、標的生体分子を有する細胞の運命における変化が導かれる。

【０１５８】
ある特定の実施形態では、本発明の二機能性のステープリングされたペプチドを使用してエフェクター生体分子と標的生体分子を繋ぎ止めて、標的生体分子の折りたたみの状態を修飾することができる。例えば、ある特定の発生期のポリペプチド鎖は、タンパク質の折りたたみプロセスの間に問題に遭遇する可能性がある。不適切に折りたたまれた、または誤って折りたたまれたタンパク質は、それらの活性の一部または全部を失う可能性がある、異所性の活性を得る可能性がある、細胞内で誤った場所に局在化する可能性がある、または分裂的なタンパク質凝集体を形成する可能性がある。誤って折りたたまれたタンパク質は、多くの疾患、特に神経細胞疾患または脳疾患の発生に関与することが公知である。例えば、誤って折りたたまれたアルファ－シヌクレインは、パーキンソン病と関連づけられる。

【０１５９】
ある特定の実施形態では、本発明の二機能性のステープリングされたペプチドを使用して、シャペロンを、誤って折りたたまれたタンパク質または誤って折りたたまれる危険性があるタンパク質に繋ぎ止めることができる。シャペロンをタンパク質複合体に繋ぎ止めて複合体の形成を補助することもできる。例えば、４０－ｋＤａの熱ショックタンパク質（ＨＳＰ４０；ＤｎａＪ）、６０－ｋＤａの熱ショックタンパク質（ＨＳＰ６０；ＧｒｏＥＬ）、７０－ｋＤａの熱ショックタンパク質（ＨＳＰ７０；ＤｎａＫ）、９０－ｋＤａの熱ショックタンパク質（ＨＳＰ９０；ＨｔｐＧ）、および１００－ｋＤａの熱ショックタンパク質（ＨＳＰ１００；Ｃｌｐ）などのシャペロンのいくつかのファミリーがある。他のシャペロンとしては、ＢｉＰ、ＧＲＰ９４、ＧＲＰ１７０、カルネキシン、カルレティキュリン、ＨＳＰ４７、ＥＲｐ２９、タンパク質ジスルフィド異性化酵素、ペプチジルプロリルシス－トランス異性化酵素、およびＥＲｐ５７が挙げられる。

【０１６０】
本発明は、疾患、障害、または状態を治療する方法であって、疾患、障害、または状態であると診断された、またはそれに対する感受性を有する被験体に、治療有効量の本発明の二機能性ポリペプチド、またはそれらの薬学的に許容される形態を投与するステップを含む方法を提供する。本発明の二機能性ポリペプチドを投与することによって治療することができる例示的な疾患、障害、または状態は、増殖性の、神経性の、免疫性の、内分泌の、心血管系の、血液の、および炎症性の疾患、障害、または状態、ならびに、早すぎる、または望ましくない細胞死を特徴とする状態を含む。

【０１６１】
本明細書で使用される、増殖性の疾患、状態、または障害としては、これらに限定されないが、がん、造血新生物疾患、増殖性乳房疾患、肺の増殖性障害、結腸の増殖性障害、肝臓の増殖性障害、および卵巣の増殖性障害が挙げられる。

【０１６２】
上記の方法によって治療可能ながんの例としては、癌腫、肉腫、または転移性障害、乳がん、卵巣がん、結腸がん、肺がん、線維肉腫、筋肉腫、脂肪肉腫、軟骨肉腫、骨原性肉腫、脊索腫、血管肉腫、内皮肉腫、リンパ管肉腫、リンパ管内皮肉腫、滑膜腫、中皮腫、ユーイング肉腫、平滑筋肉腫、横紋筋肉腫、胃がん、食道がん、直腸がん、膵がん、卵巣がん、前立腺がん、子宮がん、頭頸部がん、皮膚がん、脳がん、扁平上皮癌、脂腺癌、乳頭癌、乳頭状腺癌、嚢胞腺癌、髄様癌、気管支原性癌、腎細胞癌、肝細胞癌、胆管癌、絨毛癌、精上皮腫、胎児性癌、ウィルムス腫瘍、子宮頸がん、睾丸がん、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、膀胱癌、上皮癌、神経膠腫、星状細胞腫、髄芽腫、頭蓋咽頭腫、上衣腫、松果体腫、血管芽細胞腫、聴神経腫、乏枝神経膠腫、髄膜腫、黒色腫、神経芽細胞腫、網膜芽細胞腫、白血病、リンパ腫、またはカポジ肉腫が挙げられる。

【０１６３】
上記の方法によって治療可能な造血新生物疾患の例としては、造血起源の過形成性の／新生物の細胞、例えば、骨髄系列、リンパ系列または赤血球系列から生じる細胞、またはそれらの前駆体細胞を伴う疾患が挙げられる。ある特定の実施形態では、疾患は、低分化

型の急性白血病、例えば、赤芽球性白血病および急性巨核芽球性白血病から生じる。追加的な例示的な骨髄障害としては、これらに限定されないが、急性前骨髄性白血病（ＡＰＭＬ）、急性骨髄性白血病（ＡＭＬ）および慢性骨髄性白血病（ＣＭＬ）が挙げられ（Ｖａｉｃｋｕｓ、Ｌ．（１９９１年）Ｃｒｉｔ　Ｒｅｖ．、Ｏｎｃｏｌ．／Ｈｅｍｏｔｏｌ．１１巻：２６７～９７頁に概説されている）；リンパ系腫瘍としては、これらに限定されないが、Ｂ系列ＡＬＬおよびＴ系列ＡＬＬを含む急性リンパ芽球性白血病（ＡＬＬ）、慢性リンパ球性白血病（ＣＬＬ）、前リンパ球性白血病（ＰＬＬ）、有毛細胞白血病（ＨＬＬ）およびワルデンシュトレームマクログロブリン血症（ＷＭ）が挙げられる。悪性リンパ腫の追加的な形態としては、これらに限定されないが、非ホジキンリンパ腫およびその変異形、末梢性Ｔ細胞リンパ腫、成人Ｔ細胞白血病／リンパ腫（ＡＴＬ）、皮膚のＴ細胞リンパ腫（ＣＴＣＬ）、大顆粒リンパ球性白血病（ＬＧＦ）、ホジキン病およびリードシュテルンベルク病が挙げられる。

【０１６４】

上記の方法によって治療可能な増殖性乳房疾患の例としては、上皮過形成、硬化性腺症、および小管乳頭腫；腫瘍、例えば、線維腺腫、葉状腫瘍および肉腫などの間質腫瘍、ならびに大管乳頭腫などの上皮腫瘍；腺管癌ｉｎ　ｓｉｔｕ（パジェット病を含む）および小葉癌ｉｎ　ｓｉｔｕを含むｉｎ　ｓｉｔｕ（非侵襲性の）細胞腫、ならびに、これらに限定されないが、侵襲性腺管癌、侵襲性小葉癌、髄様癌、膠様（膠様の）細胞腫、管状癌、および侵襲性乳頭癌を含めた侵襲性の（浸潤性の）細胞腫を含めた乳癌、ならびに種々雑多な悪性新生物が挙げられる。男性の乳房における障害としては、これらに限定されないが、女性化乳房および細胞腫が挙げられる。

【０１６５】

上記の方法によって治療可能な肺の増殖性障害の例としては、これらに限定されないが、腫瘍随伴症候群、細気管支肺胞癌、気管支カルチノイドなどの神経内分泌腫瘍、種々雑多な腫瘍、および転移性腫瘍を含めた気管支原性癌；炎症性胸水、非炎症性胸水、気胸、ならびに孤在性線維性腫瘍（胸膜線維腫）および悪性中皮腫を含めた胸膜腫瘍を含めた胸膜の病変が挙げられる。

【０１６６】

上記の方法によって治療可能な結腸の増殖性障害の例としては、これらに限定されないが、非新生物性ポリープ、腺腫、家族性の症候群、結腸直腸癌発生、結腸直腸癌、およびカルチノイド腫瘍が挙げられる。

【０１６７】

上記の方法によって治療可能な肝臓の増殖性障害の例としては、これらに限定されないが、結節性過形成、腺腫、および肝臓の原発癌腫および転移性腫瘍を含めた悪性腫瘍が挙げられる。

【０１６８】

上記の方法によって治療可能な卵巣の増殖性障害の例としては、これらに限定されないが、卵巣腫瘍、例えば、体腔上皮の腫瘍、漿液腫、粘液性腫瘍、子宮内膜性（ｅｎｄｏｍｅｔｅｒｉｏｄ）腫瘍、明細胞腺癌、線維腺腫、ブレンナー腫瘍、表面上皮の腫瘍など；胚細胞性腫瘍、例えば、成熟（良性）奇形腫、単胚葉性奇形腫、未成熟の悪性奇形腫、未分化胚細胞腫、卵黄嚢腫瘍、絨毛癌など；性器索間質腫瘍、例えば、顆粒膜細胞腫瘍、莢膜細胞腫－線維腫、男性ホルモン産生細胞腫、ヒル細胞腫瘍（ｈｉｌｌ　ｃｅｌｌ　ｔｕｍｏｒ）および生殖腺芽細胞腫など；ならびにクルケンベルグ腫瘍などの転移性腫瘍が挙げられる。

【０１６９】

本明細書に記載の二機能性ポリペプチドは、過敏性細胞死または生理的傷害に起因する細胞死を特徴とする状態を治療、予防、または診断するためにも使用することができる。早すぎる、または望ましくない細胞死、あるいは望ましくないまたは過剰な細胞増殖を特徴とする状態のいくつかの例としては、これらに限定されないが、低細胞性／低形成の状態、無細胞／形成不全の状態、または富細胞性／過形成性の状態が挙げられる。いくつか

の例としては、これらに限定されないが、ファンコニー貧血、再生不良性貧血、地中海貧血症（ｔｈａｌａｅｓｓｅｍｉａ）、先天性好中球減少症、脊髄形成異常症を含めた血液障害が挙げられる。アポトーシスを減少させる機能を果たす本発明のポリペプチドを、望ましくないレベルの細胞死に関連する障害を治療するために使用することができる。したがって、本発明の抗アポトーシス性のペプチドは、ウイルス感染症、例えば、ヒト免疫不全ウイルス（ＨＩＶ）への感染に伴う感染症と関連する細胞死を招く障害を治療するために使用することができる。

【０１７０】

多種多様な神経疾患は、特定のニューロンのセットの段階的な損失を特徴とし、これらの障害の治療において抗アポトーシス性のペプチドを使用することができる。そのような障害としては、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症（ＡＬＳ）網膜色素変性症、脊髄性筋萎縮症、および様々な形態の小脳変性が挙げられる。これらの疾患における細胞の損失によって炎症反応は誘導されず、アポトーシスは細胞死の機構であると思われる。さらに、いくつもの血液疾患が血液細胞の産生の減少を伴う。これらの障害としては、慢性疾患、再生不良性貧血、慢性好中球減少症、および骨髄異形成症候群に付随する貧血が挙げられる。血液細胞産生の障害、例えば骨髄異形成症候群およびいくつかの形態の再生不良性貧血は、骨髄内でのアポトーシス性の細胞死の増加を伴う。これらの障害は、アポトーシスを促進する遺伝子の活性化、間質細胞もしくは造血性生存因子における後天性の欠損、または免疫応答の毒素および介在物質の直接的な影響に起因する可能性がある。細胞死を伴う２つの一般的な障害は、心筋梗塞および脳卒中である。どちらの傷害においても、虚血の中心領域内の細胞は、急性の血流損失の事象において産生され、壊死の結果として急速に死ぬと思われる。しかし、中心的な虚血帯域の外側では、細胞はもっと長い期間にわたって死に、形態学的にアポトーシスによって死ぬと思われる。本発明の抗アポトーシス性のペプチドは、望ましくない細胞死を伴うそのような障害すべてを治療するために使用することができる。

【０１７１】

本明細書に記載の二機能性ポリペプチドを用いて治療することができる神経性障害のいくつかの例としては、これらに限定されないが、アルツハイマー病、ダウン症候群、オランダ型遺伝性アミロイド性脳出血、反応性アミロイドーシス、蕁麻疹および聴覚消失を伴う家族性アミロイド腎症、マックルウェルズ症候群、特発性骨髄腫；マクログロブリン血症に関連する骨髄腫、家族性アミロイドポリニューロパチー、家族性アミロイド心筋症、孤立性心臓アミロイド、全身性老人性アミロイドーシス、成人発症型糖尿病、インスリノーマ、孤立性心房性アミロイド、甲状腺の髄様癌、家族性アミロイドーシス、遺伝性アミロイド性脳出血、家族性アミロイド性ポリニューロパチー、スクレイピー、クロイツフェルトヤコブ病、ゲルストマンシュトロイスラーシャインカー症候群、ウシ海綿状脳症、プリオン介在疾患、ハンチントン病、ピック病、筋萎縮性側索硬化症（Ａｍｙｏｔｒｏｐｈｉｃ　Ｌａｔｅｒａｌ　Ｓｃｈｌｅｒｏｓｉｓ）（ＡＬＳ）、パーキンソン病、およびレビー小体病が挙げられる。

【０１７２】

本明細書に記載の二機能性ポリペプチドを用いて治療することができる内分泌障害のいくつかの例としては、これらに限定されないが、糖尿病、甲状腺機能低下症、下垂体機能低下症、副甲状腺機能低下症、性腺機能低下症、受精障害などが挙げられる。

【０１７３】

本明細書に記載のポリペプチドを用いて治療することができる免疫性障害のいくつかの例としては、これらに限定されないが、臓器移植片拒絶、関節炎、狼瘡、ＩＢＤ、クローン病、喘息、多発性硬化症、糖尿病、移植片対宿主病、自己免疫疾患、乾癬、関節リウマチなどが挙げられる。

【０１７４】

本発明のポリペプチドを用いて治療または予防することができる心血管障害の例としては、これらに限定されないが、アテローム性動脈硬化症、心筋梗塞、脳卒中、血栓症、動

脈瘤、心不全、虚血性心疾患、狭心症、心臓突然死、高血圧性心疾患；細動脈硬化症などの無冠状動脈血管の疾患、小血管疾患、腎症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、高脂血症、黄色腫症、喘息、高血圧症、肺気腫および慢性肺疾患；または、血管形成術後、シャント、ステント、合成または天然の切除移植片、留置カテーテル、弁または他の埋込み型デバイスの設置後の再狭窄などの介入手順に関連する心血管系の状態（「処置上の血管外傷」）が挙げられる。

【０１７５】

本発明の二機能性ポリペプチドは、本明細書に記載のように、タンパク質などの細胞性実体を繋ぎ合わせることによって、上記の疾患、障害、または状態を治療するために役立ち得る。

【０１７６】

医薬組成物

本発明は、本発明の二機能性ポリペプチドまたはそれらの薬学的に許容される形態、および薬学的に許容される賦形剤を含む医薬組成物を提供する。そのような医薬組成物は、場合によって、１つまたは複数の追加的な生物学的に活性な物質を含んでよい。一部の実施形態によると、本発明の組成物を含む医薬組成物を、それを必要とする被験体に投与する方法が提供される。一部の実施形態では、本発明の組成物をヒトに投与する。本発明の目的に関して、「活性成分」という句は、一般に、本明細書に記載の本発明の二機能性ポリペプチドを指す。

【０１７７】

本明細書において提供される医薬組成物についての説明は、ヒトに投与するために適した医薬組成物を主に対象としているが、当業者には、そのような組成物は一般に、あらゆる種類の動物に投与するために適していることが理解されよう。ヒトに投与するために適した医薬組成物を、その組成物を様々な動物に投与するために適するようにするために修飾することはよく理解され、通常の技術を有する獣医薬理学者は、そのような修飾を、もしあれば、ただ単に通常の実験で設計し、かつ／または実施することができるであろう。企図されている本発明の医薬組成物を投与する被験体としては、これらに限定されないが、ヒトおよび／もしくは他の霊長類；ウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ネコ、および／もしくはイヌなどの商業的に妥当な哺乳動物を含めた哺乳動物；ならびに／またはニワトリ、アヒル、ガチョウ、および／またはシチメンチョウなどの商業的に妥当な鳥類を含めた鳥類が挙げられる。

【０１７８】

本明細書に記載の医薬組成物の製剤は、薬理学の分野で公知の、または今後開発される任意の方法によって調製することができる。一般に、そのような予備的方法は、活性成分を賦形剤および／または１つまたは複数の他のアクセサリー成分と関連させるステップと、次に、必要であれば、かつ／または望ましければ、生成物を所望の単回単位用量または多回単位用量に形づくること、および／または包装することを含む。

【０１７９】

本発明の医薬組成物は、大量に、単回単位用量として、および／または複数の単回単位用量として調製、包装、および／または販売することができる。本明細書で使用される、「単位用量」は、別個の量の、所定量の活性成分を含む医薬組成物である。活性成分の量は、一般に、被験体に投与されることになる活性成分の投与量および／または、例えばそのような投与量の２分の１、もしくはそのような投与量の３分の１など、そのような投与量の都合のよい一部分と等しい。

【０１８０】

本発明の医薬組成物中の活性成分、薬学的に許容される賦形剤、および／または任意の追加的な成分の相対的な量は、治療される被験体の個性、サイズ、および／または状態に応じて変動し、さらに、組成物を投与する経路に左右される。例として、組成物は、０．１％～１００％（ｗ／ｗ）の活性成分を含んでよい。

【０１８１】

本発明の医薬製剤は、本明細書で使用される薬学的に許容される賦形剤をさらに含んでよく、それらとしては、所望の特定の剤形に適した任意のかつすべての溶媒、分散媒、希釈剤、または他の液体ビヒクル、分散または懸濁の補助剤、表面活性剤、等張化剤、増粘剤または乳化剤（ｅｍｕｌｓｉｆｙｉｎｇ　ａｇｅｎｔ）、保存料、固体の結合剤、潤滑剤などが挙げられる。Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ　Ｔｈｅ　Ｓｃｉｅｎｃｅ　ａｎｄ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ　ｏｆ　Ｐｈａｒｍａｃｙ、第２１版、Ａ．　Ｒ．　Ｇｅｎｎａｒｏ、（Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ、Ｗｉｌｌｉａｍｓ　＆　Ｗｉｌｋｉｎｓ、Ｂａｌｔｉｍｏｒｅ、ＭＤ、２００６年）に、医薬組成物の製剤化に使用される様々な賦形剤およびそれを調製するための公知の技法が開示されている。任意の従来の賦形剤媒体が、任意の望ましくない生物学的効果を生じること、またはそうでなければ医薬組成物の任意の他の（１つまたは複数の）構成要素と有害に相互作用することによってなどで物質またはその誘導体と適合しない場合を除く限りでは、その使用は本発明の範囲内であるものとする。

【０１８２】

一部の実施形態では、薬学的に許容される賦形剤は、少なくとも９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、または１００％純粋である。一部の実施形態では、賦形剤は、ヒトにおける使用および動物への使用について認可されている。一部の実施形態では、賦形剤は、米国食品医薬品局によって認可されている。一部の実施形態では、賦形剤は医薬品グレードである。一部の実施形態では、賦形剤は、米国薬局方（ＵＳＰ）、ヨーロッパ薬局方（ＥＰ）、イギリス薬局方、および／または国際的薬局方の基準を満たす。

【０１８３】

医薬組成物の製造に使用される、薬学的に許容される賦形剤としては、これらに限定されないが、不活性な希釈剤、分散剤および／または造粒剤、表面活性剤および／または乳化剤（ｅｍｕｌｓｉｆｉｅｒ）、崩壊剤、結合剤、保存料、緩衝剤、平滑剤、および／または油が挙げられる。そのような賦形剤を、場合によって本発明の製剤に含めることができる。配合者の判断に従って、カカオバターおよび坐薬ワックス、着色料、コーティング剤、甘味料、調味料、および香料などの賦形剤が組成物中に存在してよい。

【０１８４】

例示的な希釈剤としては、これらに限定されないが、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、リン酸カルシウム、リン酸二カルシウム、硫酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸ナトリウム、ラクトース、ショ糖、セルロース、微結晶セルロース、カオリン、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、塩化ナトリウム、乾燥デンプン、コーンスターチ、粉砂糖など、およびそれらの組合せが挙げられる。

【０１８５】

例示的な造粒剤および／または分散剤としては、これらに限定されないが、ジャガイモデンプン、トウモロコシデンプン、タピオカデンプン、デンプングリコール酸ナトリウム、粘土、アルギン酸塩、グアーガム、柑橘類の果肉、寒天、ベントナイト、セルロースおよび木材産物、天然の海綿、陽イオン交換樹脂、炭酸カルシウム、ケイ酸塩、炭酸ナトリウム、架橋したポリビニルピロリドン）（クロスポビドン）、カルボキシメチルデンプンナトリウム（デンプングリコール酸ナトリウム）、カルボキシメチルセルロース、架橋したカルボキシメチルセルロースナトリウム（クロスカルメロース）、メチルセルロース、アルファ化デンプン（デンプン１５００）、微結晶デンプン、水不溶性デンプン、カルボキシメチルセルロースカルシウム、ケイ酸アルミニウムマグネシウム（Ｖｅｅｇｕｍ）、ラウリル硫酸ナトリウム、四級アンモニウム化合物など、およびそれらの組合せが挙げられる。

【０１８６】

例示的な表面活性剤および／または乳化剤（ｅｍｕｌｓｉｆｉｅｒ）としては、これらに限定されないが、天然の乳化剤（ｅｍｕｌｓｉｆｉｅｒ）｛例えば、アラビアゴム、寒天、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、トラガント、コンドラックス（ｃｈｏｎｄｒｕｘ）、コレステロール、キサンタン、ペクチン、ゼラチン、卵黄、カゼイン、羊毛脂、コレステロール、ワックス、およびレシチン）、コロイド粘土｛例えば、ベントナイト［ケ

イ酸アルミニウム］およびＶｅｅｇｕｍ［ケイ酸アルミニウムマグネシウム］）、長鎖アミノ酸誘導体、高分子量のアルコール｛例えば、ステアリルアルコール、セチルアルコール、オレイルアルコール、モノステアリン酸トリアセチン（ｔｒｉａｃｅｔｉｎ ｍｏｎｏｓｔｅａｒａｔｅ）、ジステアリン酸エチレングリコール、モノステアリン酸グリセリン、およびモノステアリン酸プロピレングリコール、ポリビニルアルコール）、カルボマー｛例えば、カルボキシポリメチレン、ポリアクリル酸、アクリル酸ポリマー、およびカルボキシビニルポリマー）、カラギーナン、セルロース誘導体｛例えば、カルボキシメチルセルロースナトリウム、粉末セルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース）、ソルビタン脂肪酸エステル｛例えば、ポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート［Ｔｗｅｅｎ２０］、ポリオキシエチレンソルビタン［Ｔｗｅｅｎ６０］、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート［Ｔｗｅｅｎ８０］、ソルビタンモノパルミタート［Ｓｐａｎ４０］、ソルビタンモノステアレート［Ｓｐａｎ６０］、ソルビタントリステアレート［Ｓｐａｎ６５］、グリセリルモノオレエート、ソルビタンモノオレエート［Ｓｐａｎ８０］）、ポリオキシエチレンエステル（例えば、ポリオキシエチレンモノステアレート［Ｍｙｒｊ４５］、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油、ポリエトキシル化ヒマシ油、ポリオキシメチレンステアレート、およびＳｏｌｕｔｏｌ）、ショ糖脂肪酸エステル、ポリエチレングリコール脂肪酸エステル（例えば、Ｃｒｅｍｏｐｈｏｒ）、ポリオキシエチレンエーテル、（例えば、ポリオキシエチレンラウリルエーテル［Ｂｒｉｊ３０］）、ポリ（ビニルピロリドン）、モノラウリン酸ジエチレングリコール、オレイン酸トリエタノールアミン、オレイン酸ナトリウム、オレイン酸カリウム、オレイン酸エチル、オレイン酸、ラウリン酸エチル、ラウリル硫酸ナトリウム、Ｐｌｕｒｏｎｉｃ Ｆ６８、Ｐｏｌｏｘａｍｅｒ１８８、臭化セトリモニウム、塩化セチルピリジニウム、塩化ベンザルコニウム、ドキュセートナトリウムなど、および／またはそれらの組合せが挙げられる。

【０１８７】

例示的な結合剤としては、これらに限定されないが、デンプン（例えば、コーンスターチおよびデンプンペースト）；ゼラチン；糖（例えば、ショ糖、グルコース、ブドウ糖、デキストリン、糖蜜、ラクトース、ラクチトール、マンニトール，）；天然ゴムおよび合成ゴム（例えば、アラビアゴム、アルギン酸ナトリウム、アイルランドコケの抽出物、パンワールゴム（ｐａｎｗａｒ ｇｕｍ）、ガティガム、イサポールハスク（ｉｓａｐｏｌ ｈｕｓｋ）の粘液、カルボキシメチルセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、微結晶セルロース、酢酸セルロース、ポリビニルピロリドン）、ケイ酸アルミニウムマグネシウム（Ｖｅｅｇｕｍ）、およびカラマツアラボガラクタン）；アルギン酸塩；ポリエチレンオキシド；ポリエチレングリコール；無機カルシウム塩；ケイ酸；ポリメタクリレート；ワックス；水；アルコール；など；およびそれらの組合せが挙げられる。

【０１８８】

例示的な保存料としては、抗酸化剤、キレート化剤、抗菌性保存料、抗真菌性保存料、アルコール性保存料、酸性保存料、および他の保存料を挙げることができる。例示的な抗酸化剤としては、これらに限定されないが、アルファトコフェロール、アスコルビン酸、パルミチン酸アスコルビル（ａｃｏｒｂｙｌ ｐａｌｍｉｔａｔｅ）、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒドロキシトルエン、モノチオグリセロール、メタ重亜硫酸カリウム、プロピオン酸、没食子酸プロピル、アスコルビン酸ナトリウム、亜硫酸水素ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、および亜硫酸ナトリウムが挙げられる。例示的なキレート化剤としては、エチレンジアミン四酢酸（ＥＤＴＡ）、クエン酸一水和物、エデト酸二ナトリウム、エデト酸二カリウム、エデト酸、フマル酸、リンゴ酸、リン酸、エデト酸ナトリウム、酒石酸、およびエデト酸三ナトリウムが挙げられる。例示的な抗菌性保存料としては、これらに限定されないが、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、ベンジルアルコール、ブロノポール、セトリミド、塩化セチルピリジニウム、クロルヘキシジン

、クロロブタノール、クロロクレゾール、クロロキシレノール、クレゾール、エチルアルコール、グリセリン、ヘキセチジン、イミド尿素、フェノール、フェノキシエタノール、フェニルエチルアルコール、硝酸フェニル水銀、プロピレングリコール、およびチメロサールが挙げられる。例示的な抗真菌性保存料としては、これらに限定されないが、ブチルパラベン、メチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラベン、安息香酸、ヒドロキシ安息香酸、安息香酸カリウム、ソルビン酸カリウム、安息香酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、およびソルビン酸が挙げられる。例示的なアルコール性保存料としては、これらに限定されないが、エタノール、ポリエチレングリコール、フェノール、フェノール化合物、ビスフェノール、クロロブタノール、ヒドロキシベンゾアート、およびフェニルエチルアルコールが挙げられる。例示的な酸性保存料としては、これらに限定されないが、ビタミンＡ、ビタミンＣ、ビタミンＥ、ベータカロテン、クエン酸、酢酸、デヒドロ酢酸、アスコルビン酸、ソルビン酸、およびフィチン酸が挙げられる。他の保存料としては、これらに限定されないが、トコフェロール、酢酸トコフェロール、デテロキシムメシレート（ｄｅｔｅｒｏｘｉｍｅ　ｍｅｓｙｌａｔｅ）、セトリミド、ブチル化ヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、ブチル化ヒドロキシトルエン（ｈｙｄｒｏｘｙｔｏｌｕｅｎｅｄ）（ＢＨＴ）、エチレンジアミン、ラウリル硫酸ナトリウム（ＳＬＳ）、ラウリルエーテル硫酸ナトリウム（ＳＬＥＳ）、亜硫酸水素ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸カリウム、メタ重亜硫酸カリウム、Ｇｌｙｄａｎｔ　Ｐｌｕｓ、Ｐｈｅｎｏｎｉｐ、メチルパラベン、Ｇｅｒｍａｌｌ　１１５、Ｇｅｒｍａｂｅｎ　ＩＩ、Ｎｅｏｌｏｎｅ、Ｋａｔｈｏｎ、およびＥｕｘｙｌが挙げられる。ある特定の実施形態では、保存料は抗酸化剤である。他の実施形態では、保存料はキレート化剤である。

【０１８９】

例示的な緩衝剤としては、これらに限定されないが、クエン酸緩衝溶液、酢酸緩衝溶液、リン酸緩衝溶液、塩化アンモニウム、炭酸カルシウム、塩化カルシウム、クエン酸カルシウム、グルビオン酸カルシウム、グルセプト酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、Ｄ－グルコン酸、グリセロリン酸カルシウム、乳酸カルシウム、プロパン酸、レブリン酸カルシウム、ペンタン酸、第二リン酸カルシウム、リン酸、第三リン酸カルシウム、リン酸水酸化カルシウム、酢酸カリウム、塩化カリウム、グルコン酸カリウム、カリウム混合物、リン酸二カリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸カリウムの混合物、酢酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、第二リン酸ナトリウム、リン酸二水素ナトリウム、リン酸ナトリウムの混合物、トロメタミン、水酸化マグネシウム、水酸化アルミニウム、アルギン酸、発熱物質を含まない水、等張性の生理食塩水、リンゲル液、エチルアルコールなど、およびそれらの組合せが挙げられる。

【０１９０】

例示的な平滑剤としては、これらに限定されないが、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸、シリカ、タルク、麦芽、ベヘン酸グリセリル（ｇｌｙｃｅｒｙｌ　ｂｅｈａｎａｔｅ）、硬化植物油、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、ロイシン、ラウリル硫酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウムなど、およびそれらの組合せが挙げられる。

【０１９１】

例示的な油としては、これらに限定されないが、アーモンド油、キョウニン油、アボカド油、ババスー油、ベルガモット油、クロフサスグリシード油、ボリジ油、カデ油、カモミール油、キャノーラ油、カラウェー油、カルナバ油、ヒマシ油、桂皮油、カカオバター油、ヤシ油、肝油、コーヒー油、トウモロコシ油、綿実油、エミュー油、ユーカリ油、月見草油、魚油、アマニ油、ゲラニオール油、ウリ油、グレープシード油、ヘーゼルナッツ油、ヒソップ油、ミリスチン酸イソプロピル、ホホバ油、ククイナッツ油、ラバンジン油、ラベンダー油、レモン油、アオモジ油、マカダミアナッツ油、ゼニアオイ油、マンゴーシード油、メドウフォームシード油、ミンク油、ニクズク油、オリーブ油、オレンジ油、オレンジラフィー油、パーム油、パーム核油、トウニン油、ピーナッツ油、ケシ油、パン

プキンシード油、ナタネ油、米ぬか油、ローズマリー油、ベニバナ油、ビャクダン油、サスクアナ（ｓａｓｑｕａｎａ）油、セイボリー油、シーバックソーン油、ゴマ油、シアバター油、シリコーン油、ダイズ油、サンフラワー油、チャノキ油、アザミ油、ツバキ油、ベチベル油、クルミ油、およびコムギ胚芽油が挙げられる。例示的な油としては、これらに限定されないが、ステアリン酸ブチル、カプリル酸トリグリセリド、カプリン酸トリグリセリド、シクロメチコン、セバシン酸ジエチル、ジメチコン３６０、ミリスチン酸イソプロピル、鉱油、オクチルドデカノール、オレイルアルコール、シリコーン油、およびそれらの組合せが挙げられる。

【０１９２】

経口投与用および非経口投与用の液体剤形としては、これらに限定されないが、薬学的に許容されるエマルション、マイクロエマルション、液剤、懸濁剤、シロップ剤およびエリキシル剤が挙げられる。活性成分に加えて、液体剤形は、当技術分野で一般に使用される、不活性な希釈剤、例えば水または他の溶媒など、可溶化剤および乳化剤（ｅｍｕｌｓｉｆｉｅｒ）、例えば、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、１，３－ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油（具体的には、綿実油、ラッカセイ油、トウモロコシ油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油、およびゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコールおよびソルビタンの脂肪酸エステルなど、ならびにそれらの混合物を含んでよい。不活性な希釈剤に加えて、経口用組成物は、湿潤剤、乳化剤（ｅｍｕｌｓｉｆｙｉｎｇ　ａｇｅｎｔ）および懸濁化剤、甘味料、調味料、ならびに香料などのアジュバントを含んでよい。非経口投与するためのある特定の実施形態では、本発明のコンジュゲートを、ＣＲＥＭＯＰＨＯＲ、アルコール、油、変性油、グリコール、ポリソルベート、シクロデキストリン、ポリマーなどの可溶化剤、およびそれらの組合せと混合する。

【０１９３】

注射可能な調合剤、例えば、滅菌された注射可能な水性または油性の懸濁剤を、公知の技術に従って、適切な分散剤または湿潤剤または懸濁化剤を使用して製剤化することができる。滅菌注射用調合剤は、例えば、１，３－ブタンジオール中溶液のような、滅菌された注射可能な、非毒性の非経口的に許容できる希釈剤または溶媒中溶液、懸濁剤またはエマルションであってよい。使用することができる、許容できるビヒクルおよび溶媒は、水、リンゲル液、Ｕ．Ｓ．Ｐ．および等張食塩水である。さらに、滅菌不揮発性油が溶媒または懸濁媒として慣習的に使用される。この目的のために、合成モノグリセリドまたは合成ジグリセリドを含めた任意の無刺激性の不揮発性油を使用することができる。さらに、オレイン酸などの脂肪酸を注射剤の調製に使用する。

【０１９４】

注射製剤は、使用する前に、例えば、細菌保持フィルターを通して濾過することによって、または、滅菌水または他の滅菌注射用媒体に溶解または分散させることができる滅菌固体組成物の形で滅菌剤を組み込むことによって、滅菌することができる。

【０１９５】

薬物の効果を長引かせるために、多くの場合、皮下注射または筋肉内注射からの薬物の吸収を遅くすることが望ましい。これは、水溶性が乏しい結晶性材料または非結晶性材料の液体懸濁剤を使用することによって実現することができる。このとき、薬物の吸収速度はその溶解速度に左右され、その溶解速度は同様に、結晶サイズおよび結晶形に左右され得る。あるいは、非経口的に投与した薬物形態の遅延吸収は、油状のビヒクルに薬物を溶解または懸濁させることによって実現される。

【０１９６】

直腸投与または膣内投与するための組成物は、一般には、本発明のコンジュゲートを、適切な非刺激性の賦形剤、例えばカカオバター、ポリエチレングリコールなどと混合することによって調製することができる坐剤、または、外界温度では固体であるが、体温では液体であり、したがって直腸内または膣腔内で融解し、活性成分が放出される坐薬ワック

スである。

【０１９７】

経口投与するための固体剤形としては、カプセル剤、錠剤、丸剤、散剤、および顆粒剤が挙げられる。そのような固体剤形では、活性成分は、少なくとも１つの不活性な、薬学的に許容される賦形剤、例えば、クエン酸ナトリウムまたはリン酸二カルシウムなど、および／またはａ）充填剤または増量剤、例えば、デンプン、ラクトース、ショ糖、グルコース、マンニトール、およびケイ酸など、ｂ）結合剤、例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリジノン、ショ糖、およびアラビアゴムなど、ｃ）保湿剤、例えばグリセロールなど、ｄ）崩壊剤、例えば、寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモデンプンまたはタピオカデンプン、アルギン酸、ある特定のケイ酸塩、および炭酸ナトリウムなど、ｅ）溶解遅延剤、例えば、パラフィンなど、ｆ）吸収促進剤、例えば、四級アンモニウム化合物など、ｇ）湿潤剤、例えば、セチルアルコールおよびグリセロールモノステアレートなど、ｈ）吸収剤、例えば、カオリンおよびベントナイト粘土など、ならびにｉ）潤滑剤、例えば、タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウムなど、ならびにそれらの混合物と混合する。カプセル剤、錠剤および丸剤の場合では、剤形は緩衝剤を含んでよい。

【０１９８】

同種の固体組成物を、例えばラクトースまたは乳糖（ｍｉｌｋ　ｓｕｇａｒ）ならびに高分子量のポリエチレングリコールなどの賦形剤を使用するソフト充填ゼラチンカプセルおよびハード充填ゼラチンカプセル中の増量剤として使用することができる。錠剤、糖衣錠、カプセル剤、丸剤、および顆粒剤である固体剤形は、腸溶性のコーティングおよび製剤の技術分野で周知の他のコーティングなどのコーティングおよびシェルを用いて調製することができる。これらは、場合によって乳白剤を含んでよく、（１つまたは複数の）活性成分が、腸管のある特定の一部分にのみ、またはそこに優先的に、場合によって、遅延して放出される組成物であってよい。使用することができる包埋組成物の例としては、ポリマー物質およびワックスが挙げられる。同種の固体組成物を、例えばラクトースまたは乳糖などの賦形剤ならびに高分子量のポリエチレングリコール（ｐｏｌｅｔｈｙｌｅｎｅ　ｇｌｙｃｏｌ）などを使用するソフト充填ゼラチンカプセルおよびハード充填ゼラチンカプセル中の増量剤として使用することができる。

【０１９９】

活性成分は、上記の１つまたは複数の賦形剤と一緒にマイクロカプセル化した形態であってよい。錠剤、糖衣錠、カプセル剤、丸剤、および顆粒剤である固体剤形は、腸溶コーティング、制御放出コーティングおよび製剤の技術分野で周知の他のコーティングなどのコーティングおよびシェルを用いて調製することができる。そのような固体剤形では、活性成分は、ショ糖、ラクトースまたはデンプンなどの少なくとも１つの不活性な希釈剤と混和することができる。そのような剤形は、通常の慣例の通り、不活性な希釈剤以外の追加的な物質、例えば、ステアリン酸マグネシウムおよび微結晶セルロースなどの錠剤化潤滑剤および他の錠剤化補助剤を含んでよい。カプセル剤、錠剤および丸剤の場合では、剤形は、緩衝剤を含んでよい。これらは、場合によって乳白剤を含んでよく、（１つまたは複数の）活性成分が、腸管のある特定の一部分にのみ、またはそこに優先的に、場合によって、遅延して放出される組成物であってよい。使用することができる包埋組成物の例としては、ポリマー物質およびワックスが挙げられる。

【０２００】

本発明のコンジュゲートの局所投与用および／または経皮投与用の剤形としては、軟膏剤、ペースト剤、クリーム剤、ローション剤、ゲル剤、散剤、液剤、スプレー剤、吸入剤および／またはパッチ剤を挙げることができる。一般に、活性構成成分は、必要に応じて、薬学的に許容される賦形剤および／または任意の必要な保存料および／または緩衝液と滅菌条件下で混和する。さらに、本発明は、多くの場合、体への活性成分の制御送達をもたらすというさらなる有利な点を有する経皮パッチ剤の使用を企図する。そのような剤形

は、例えば、活性成分を妥当な媒体中に溶解および／または分散させることによって調製することができる。その代わりにまたはそれに加えて、速度を、律速膜を準備すること、ならびに／または活性成分をポリマーマトリックス中および／もしくはゲル中に分散させることによって調節することができる。

【０２０１】

本明細書に記載の医薬組成物を皮内送達するための適切なデバイスとしては、米国特許第４，８８６，４９９号；同第５，１９０，５２１号；同第５，３２８，４８３号；同第５，５２７，２８８号；同第４，２７０，５３７号；同第５，０１５，２３５号；同第５，１４１，４９６号；および同第５，４１７，６６２号に記載のものなどの短針デバイスが挙げられる。皮内用組成物は、ＰＣＴ公開ＷＯ９９／３４８５０に記載のものなどの、針の皮膚への有効な貫入長を制限するデバイスおよびそれらの機能的等価物によって投与することができる。液体ワクチンを、液体ジェット式注射器によって、および／または角質層に穴をあけ、真皮に到達するジェットをもたらす針によって真皮に送達するジェット注射デバイスが適切である。ジェット注射デバイスは、例えば、米国特許第５，４８０，３８１号；同第５，５９９，３０２号；同第５，３３４，１４４号；同第５，９９３，４１２号；同第５，６４９，９１２号；同第５，５６９，１８９号；同第５，７０４，９１１号；同第５，３８３，８５１号；同第５，８９３，３９７号；同第５，４６６，２２０号；同第５，３３９，１６３号；同第５，３１２，３３５号；同第５，５０３，６２７号；同第５，０６４，４１３号；同第５，５２０，６３９号；同第４，５９６，５５６号；同第４，７９０，８２４号；同第４，９４１，８８０号；同第４，９４０，４６０号；およびＰＣＴ公開ＷＯ９７／３７７０５およびＷＯ９７／１３５３７に記載されている。圧縮ガスを使用して散剤の形態のワクチンを皮膚の外層を通って真皮まで加速する弾道的な散剤／粒子送達デバイスが適切である。その代わりにまたはそれに加えて、皮内投与の古典的なマントー法において、従来のシリンジを使用することができる。

【０２０２】

局所投与に適した製剤としては、これらに限定されないが、リニメント剤、ローション剤などの液体の調合剤および／もしくは半流動体の調合剤、クリーム剤などの水中油エマルションおよび／もしくは油中水エマルション、軟膏剤および／もしくはペースト剤、ならびに／または液剤および／もしくは懸濁剤が挙げられる。局所的に投与可能な製剤は、例えば、約１％～約１０％（ｗ／ｗ）の活性成分を含んでよいが、活性成分の濃度は、活性成分の溶媒への溶解限度の高さであってよい。局所投与用の製剤は、本明細書に記載の追加的な成分の１つまたは複数をさらに含んでよい。

【０２０３】

本発明の医薬組成物は、頬側口腔を介して肺内投与するために適した製剤として調製、包装、および／または販売することができる。そのような製剤は、活性成分を含む乾性粒子および約０．５～約７ナノメートルにわたる、または約１～約６ナノメートルにわたる直径を有する乾性粒子を含んでよい。そのような組成物は、噴霧剤の流れをそれに向けさせ、散剤を分散させることができる乾燥粉末貯蔵器を含むデバイスを使用して、かつ／または密封容器中の低沸点の噴霧剤に溶解した活性成分および／または懸濁した活性成分を含むデバイスなどの自己推進性の溶媒／散剤分散容器を使用して投与するために好都合に乾燥粉末の形である。そのような散剤は粒子を含み、重量で少なくとも９８％の粒子が０．５ナノメートルを超える直径を有し、かつ数で少なくとも９５％の粒子が７ナノメートル未満の直径を有する。あるいは、重量で少なくとも９５％の粒子が、１ナノメートルを超える直径を有し、かつ数で少なくとも９０％の粒子が６ナノメートル未満の直径を有する。乾燥粉末組成物は、糖などの固体の微細な粉末希釈剤を含んでよく、好都合に単位用量の形態で提供される。

【０２０４】

低沸点の噴霧剤は、一般に、気圧で６５^{0}Ｆを下回る沸点を有する液体噴霧剤を含む。一般に、噴霧剤は、組成物の５０％～９９．９％（ｗ／ｗ）を構成してよく、活性成分は組成物の０．１％～２０％（ｗ／ｗ）を構成してよい。噴霧剤は、液体の非イオン性界面

活性剤および／または固体の陰イオン界面活性剤および／または固体の希釈剤（活性成分を含む粒子と同じ水準の粒子サイズを有してよい）などの追加的な成分をさらに含んでよい。

【０２０５】

肺内送達するために製剤化した本発明の医薬組成物は、液剤および／または懸濁剤の液滴の形で活性成分をもたらすことができる。そのような製剤は、場合によって滅菌された、活性成分を含むアルコール水溶液および／もしくは希アルコール溶液、ならびに／または懸濁水溶液および／もしくは希釈懸濁液として調製、包装、および／または販売することができ、任意の噴霧デバイスおよび／または微粒化デバイスを使用して都合よく投与することができる。そのような製剤は、これらに限定されないが、サッカリンナトリウムなどの調味料、揮発油、緩衝剤、表面活性剤、および／またはオキシ安息香酸メチルなどの保存料を含めた１つまたは複数の追加的な成分をさらに含んでよい。この投与経路によって提供する液滴は、約０．１～約２００ナノメートルにわたる平均直径を有してよい。

【０２０６】

肺内送達するために有用な本明細書に記載の製剤は、本発明の医薬組成物を鼻腔内送達するために有用である。鼻腔内投与に適した別の製剤は、活性成分を含み、約０．２～５００マイクロメートルの平均粒子を有する粗い粉末である。そのような製剤は、嗅剤が摂取されるように、すなわち、鼻孔の近くに保持した散剤の容器から鼻腔を通して急速に吸入することによって投与する。

【０２０７】

経鼻投与するために適した製剤は、例えば最低で０．１％（ｗ／ｗ）から最高で１００％（ｗ／ｗ）までの活性成分を含んでよく、また、本明細書に記載の追加的な成分の１つまたは複数を含んでよい。本発明の医薬組成物は、頬側投与するために適した製剤として調製、包装、および／または販売することができる。そのような製剤は、例えば、従来の方法を使用して製造された錠剤および／またはロゼンジの形であってよく、例えば、０．１％～２０％（ｗ／ｗ）の活性成分であり、残部は経口的に溶ける、かつ／または分解できる組成物、および、場合によって、本明細書に記載の追加的な成分の１つまたは複数であってよい。その代わりに、頬側投与するために適した製剤は、活性成分を含む、粉末の、および／またはエアロゾル化した、および／または微粒化した液剤および／または懸濁剤を含んでよい。そのような粉末化した、エアロゾル化した、および／またはエアロゾル化した製剤は、分散させた場合、約０．１～約２００ナノメートルにわたる平均粒子および／または液滴サイズを有してよく、また、本明細書に記載の追加的な成分の１つまたは複数をさらに含んでよい。

【０２０８】

本発明の医薬組成物は、点眼投与するために適した製剤として調製、包装、および／または販売することができる。そのような製剤は、例えば、水性または油性の液体賦形剤中０．１／１．０％（ｗ／ｗ）の活性成分の液剤および／または懸濁剤を含めた、点眼剤の形であってよい。そのような滴剤は、緩衝剤、塩、および／または１つまたは複数の他の本明細書に記載の追加的な成分をさらに含んでよい。有用な他の点眼的に投与可能な製剤としては、微結晶性の形態でおよび／またはリポソーム調製物中に活性成分を含むものが挙げられる。点耳剤および／または点眼剤は、本発明の範囲内であるものとする。

【０２０９】

医薬品の製剤および／または製造における一般的な考察は、例えば、Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ：Ｔｈｅ Ｓｃｉｅｎｃｅ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｈａｒｍａｃｙ 第２１版、Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ Ｗｉｌｌｉａｍｓ ＆ Ｗｉｌｋｉｎｓ、２００５年において見ることができる。

【０２１０】

投与

一部の実施形態では、治療有効量の本発明の医薬組成物を、疾患、障害、および／または状態の診断の前に、それと同時に、および／またはその後に、患者および／または生物

体に送達する。一部の実施形態では、治療量の本発明の組成物を、疾患、障害、および／または状態の症状が発症する前に、それと同時に、および／またはその後に患者および／または生物体に送達する。一部の実施形態では、本発明のコンジュゲートの量は、疾患、障害、および／または状態の１つまたは複数の症状または兆候を治療する、緩和する、改善する、軽減する、その発症を遅延させる、その進行を阻害する、その重症度を低下させる、かつ／またはその発生率を低下させるために十分である。

【０２１１】

本発明の方法による組成物は、治療に有効な任意の量および任意の投与経路を使用して投与することができる。正確な必要量は、被験体の種、年齢、および全身状態、感染症の重症度、特定の組成物、その投与形態、その活性機序などに応じて被験体間で変動する。本発明の組成物は、一般には、投与を容易にし、かつ投与量を均一にするために単位剤形に製剤化する。しかし、本発明の組成物の１日の総使用量は、主治医によって、良好な医学的判断の範囲内で決定されることが理解されよう。任意の特定の被験体または生物体に対する特定の治療有効量のレベルは、治療されている障害およびその障害の重症度；使用する特定の活性成分の活性；使用する特定の組成物；被験体の年齢、体重、全体的な健康、性別および食事；投与時間、投与経路、および使用する特定の活性成分の排出速度；治療の持続時間；使用する特定の活性成分と組み合わせて、または同時に使用する薬物；同様に医学の分野で周知の因子を含めた種々の因子に左右される。

【０２１２】

本発明の医薬組成物は、任意の経路によって投与することができる。一部の実施形態では、本発明の医薬組成物は、経口的、静脈内、筋肉内、動脈内、髄内、くも膜下腔内、皮下、脳室内、経皮的、皮内（ｉｎｔｅｒｄｅｒｍａｌ）、直腸内、膣内、腹腔内、局所的（粉末、軟膏剤、クリーム剤、および／または滴剤によって）、経粘膜、経鼻、頬側（ｂｕｃａｌ）、経腸、舌下；気管内滴下注入、気管支への滴下注入、および／または吸入によって；および／または経口スプレー剤、経鼻スプレー剤、および／またはエアロゾル剤として、を含めた様々な経路で投与する。特に企図されている経路は、全身性の静脈内注射、血液および／またはリンパ液を供給することによる局部投与、および／または患部への直接投与である。一般に、大部分の適切な投与経路は、作用剤の性質（例えば、胃腸管の環境におけるその安定性）、被験体の状態（例えば、被験体が経口投与に耐えることができるかどうか）などを含めた種々の因子に左右される。現在のところ、経口経路および／または経鼻スプレーによる経路および／またはエアロゾル剤による経路が、治療剤を肺および／または呼吸器系に直接送達するために最も一般的に使用されている。しかし、本発明は、本発明の医薬組成物を、薬物送達の科学において進歩しそうだと考えられている任意の適切な経路によって送達することを包含する。

【０２１３】

ある特定の実施形態では、本発明の二機能性ポリペプチドは、所望の治療効果を得るために、１日に１回または複数回、１日当たり、被験体の体重１ｋｇ当たり約０．００１ｍｇ～約１００ｍｇ、約０．０１ｍｇ～約５０ｍｇ、約０．１ｍｇ～約４０ｍｇ、約０．５ｍｇ～約３０ｍｇ、約０．０１ｍｇ～約１０ｍｇ、約０．１ｍｇ～約１０ｍｇ、または約１ｍｇ～約２５ｍｇを送達するために十分な投薬レベルで投与することができる。所望の投与量は、１日３回、１日２回、１日１回、１日おきに、３日ごとに、１週間ごとに、２週間ごとに、３週間ごとに、または４週間ごとに送達することができる。ある特定の実施形態では、多数回の投与（例えば、２回、３回、４回、５回、６回、７回、８回、９回、１０回、１１回、１２回、１３回、１４回、またはそれ以上の回数の投与）を使用して所望の投与量を送達することができる。

【０２１４】

本発明の二機能性ポリペプチドおよび本発明の医薬組成物は、併用療法において使用することができることが理解されよう。併用レジメンにおいて使用するための療法（治療法または手順）の特定の組合せには、所望の治療法および／または手順の適合性ならびに実現される所望の治療効果を考慮に入れる。使用する療法により、同じ目的に対する所望の

効果を実現することができる（例えば、腫瘍を検出するために有用な本発明のコンジュゲートは、腫瘍を検出するために有用な別の作用剤と同時に投与することができる）、または、異なる効果を実現することができる（例えば、任意の有害作用を調節すること）ことが理解されよう。

【０２１５】

本発明の医薬組成物は、単独で、または１つまたは複数の他の治療剤と組み合わせてのいずれかで投与することができる。「組み合わせて」によって、作用剤を、一時に投与しなければならない、かつ／または一緒に送達するために製剤化しなければならないことを意味するものではないが、これらの送達方法は、本発明の範囲内である。組成物は、１つまたは複数の他の所望の治療法または医学的手順と同時に、その前に、またはその後で投与することができる。一般に、各作用剤は、その作用剤に対して決定された用量および／またはタイムスケジュールで投与する。さらに、本発明は、本発明の医薬組成物を、それらの生物学的利用能を改善する、それらの代謝を低下させる、かつ／もしくは修飾する、それらの排出を阻害する、かつ／または体内のそれらの分布を修飾することができる作用剤と組み合わせて送達することを包含する。

【０２１６】

併用レジメンにおいて使用するための特定の療法（治療法および／または手順）の組合せは、所望の治療法および／もしくは手順の適合性ならびに／または実現される所望の治療効果を考慮に入れる。使用する療法により、同じ障害に対する所望の効果を実現することができる（例えば、本発明のポリペプチドは、同じ障害を治療するために使用される別の生物学的に活性な作用剤と同時に投与することができる）、かつ／または、異なる効果を実現することができる（例えば、任意の有害作用を調節すること）ことが理解されよう。一部の実施形態では、本発明のポリペプチドは、米国食品医薬品局によって認可された第２の生物学的に活性な作用剤と一緒に投与する。

【０２１７】

さらに、この組合せで利用する生物学的に活性な作用剤は、単一の組成物で一緒に投与することができる、または異なる組成物で別々に投与することができることが理解されよう。

【０２１８】

一般に、組合せで利用する生物学的に活性な作用剤は、それらを個々に利用する場合のレベルを超えないレベルで利用されることが予想される。一部の実施形態では、組合せで利用するレベルは、個々に利用するレベルを下回る。

【０２１９】

一部の実施形態では、本発明の医薬組成物は、がんの１つまたは複数の症状または兆候を治療する、緩和する、改善する、軽減する、その発症を遅延させる、その進行を阻害する、その重症度を低下させる、かつ／またはその発生率を低下させるために有用な任意の生物学的に活性な作用剤または治療レジメンと組み合わせて投与することができる。例えば、本発明の組成物は、これらに限定されないが、外科手術、化学療法、放射線療法、ホルモン療法、免疫療法、補完療法または代替療法、およびこれらの療法の任意の組合せを含めた、伝統的ながん療法と組み合わせて投与することができる。

【０２２０】

一部の実施形態では、本発明の組成物は、腫瘍を除去するための外科手術と組み合わせて投与する。患者の体の残りへの傷害を最小にして、または傷害なしに腫瘍を完全に除去することが一般にはがん治療の目的であるので、多くの場合、腫瘍の一部または全部を物理的に除去するために外科手術が実施される。外科手術で腫瘍を完全に除去することができない場合、追加的な療法（例えば、化学療法、放射線療法、ホルモン療法、免疫療法、補完療法または代替療法）を使用することができる。

【０２２１】

一部の実施形態では、本発明の組成物は、放射線療法と組み合わせて投与する。放射線療法（Ｒａｄｉａｔｉｏｎ　ｔｈｅｒａｐｙ）（照射療法（ｒａｄｉｏｔｈｅｒａｐｙ）

、Ｘ線療法、または照射としても公知である）は、がん細胞を殺し、腫瘍を縮小するために電離放射線を使用することである。放射線療法は、脳、乳房、頸部、喉頭、肺、膵臓、前立腺、皮膚、胃、子宮のがん、または軟部肉腫を含めた、ほぼどんな種類の固形腫瘍でも治療するために使用することができる。放射線は白血病およびリンパ腫を治療するために使用することができる。放射線療法は、外照射療法（ＥＢＲＴ）によって外部に、または密封小線源治療によって内部に施すことができる。一般には、放射線療法の効果は、局所的であり、治療している領域に限定されている。放射線療法は、治療している領域（例えば、標的の器官、組織、および／または細胞）の腫瘍細胞を、それらの遺伝物質を傷つけること、腫瘍細胞が増殖および分裂することを妨げることによって傷つける、または破壊する。一般に、放射線療法では、近くの健康な組織に対する害を制限しながらできるだけ多くの腫瘍細胞を損傷しようとする。したがって、多くの場合、多数回の線量で施し、健康な組織が分割間に回復することを可能にする。

【０２２２】

一部の実施形態では、本発明の組成物は、免疫療法と組み合わせて投与する。免疫療法は、乳がん（例えば、トラスツズマブ／Ｈｅｒｃｅｐｔｉｎ（登録商標））、白血病（例えば、ゲムツズマブオゾガマイシン／Ｍｙｌｏｔａｒｇ（登録商標））、および非ホジキンリンパ腫（例えば、リツキシマブ／Ｒｉｔｕｘａｎ（登録商標））などの様々な形態のがんにおいて使用することができる、腫瘍に対する免疫機構を使用することである。一部の実施形態では、免疫療法剤は、問題のがんの細胞に特徴的なタンパク質に対するモノクローナル抗体である。一部の実施形態では、免疫療法剤は、免疫系の応答を調節するサイトカインである。一部の実施形態では、免疫療法剤は、ワクチンであってよい。

【０２２３】

一部の実施形態では、がんの発症を予防する、かつ／または遅延させるために、ワクチンを投与することができる。一部の実施形態では、がんワクチンにより、発癌性の感染病原体への感染を予防することによってがんの発症を予防する、かつ／または遅延させる。一部の実施形態では、がんワクチンにより、がん特異的なエピトープに対する免疫応答を高めることによってがんの発症を予防する、かつ／または遅延させる。がんワクチンの一例を挙げると、ＨＰＶの１６型および１８型に対する実験的なワクチンが、これらの型のＨＰＶへの感染を予防することにおいて１００％成功し、したがって、大部分の子宮頸がんの症例を予防することができることが示された（Ｈａｒｐｅｒら、２００４年、Ｌａｎｃｅｔ、３６４巻：１７５７頁）。

【０２２４】

一部の実施形態では、本発明の組成物は、補完代替医療による治療と組み合わせて投与する。いくつかの例示的な補完的処置としては、これらに限定されないが、植物薬（例えば、固形腫瘍を治療するために、ヤドリギ抽出物を伝統的な化学療法と組み合わせて使用すること）；化学療法に付随する悪心および嘔吐を統御するため、ならびに外科手術に付随する痛みを調節するための刺鍼術；祈祷；痛みの軽減または気分の改善を補助する心理学的な手法（例えば、「イメージング」または瞑想）が挙げられる。いくつかの例示的な代替処置としては、これらに限定されないが、食事および他の生活習慣の変化（例えば、植物に基づく食事、ブドウダイエット、およびキャベツダイエット）が挙げられる。

【０２２５】

一部の実施形態では、本発明の組成物は、不愉快、不快、かつ／または危険な副作用を伴うことも多い本明細書に記載の伝統的ながん治療のいずれかと組み合わせて投与する。例えば、慢性疼痛は、多くの場合、がん自体に起因する、または治療（すなわち、外科手術、放射線、化学療法）に起因する連続した組織傷害から生じる。その代わりにまたはそれに加えて、そのような療法は、多くの場合、脱毛、悪心、嘔吐、下痢、便秘、貧血、栄養不良、免疫系の低下、感染、敗血症、出血、続発性新生物、心毒性、肝毒性、腎毒性、聴器毒性などを伴う。したがって、本明細書に記載の伝統的ながん治療のいずれかと組み合わせて投与する本発明の組成物は、がん治療の１つまたは複数の副作用を治療する、緩和する、改善する、軽減する、その発症を遅延させる、その進行を阻害する、その重症度

を低下させる、かつ／またはその発生率を低下させるために有用な任意の治療剤または治療レジメンと組み合わせて投与することもできる。いくつか例を挙げると、痛みは、オプオイドおよび／または鎮痛薬（例えば、モルヒネ、オキシコドン、制吐薬およびその他）などを用いて治療することができる；悪心および嘔吐は、５－ＨＴ$_3$阻害剤（例えば、ドラセトロン／Ａｎｚｅｍｅｔ（登録商標）、グラニセトロン／Ｋｙｔｒｉｌ（登録商標）、オンダンセトロン／Ｚｏｆｒａｎ（登録商標）、パロノセトロン（ｐａｌｏｎｓｅｔｒｏｎ）／Ａｌｏｘｉ（登録商標））および／またはサブスタンスＰ阻害剤（例えば、アプレピタント／Ｅｍｅｎｄ（登録商標））を用いて治療することができる；免疫抑制は、輸血を用いて治療することができる；感染および／または敗血症は、抗生物質（例えば、ペニシリン、テトラサイクリン、セファロスポリン、スルホンアミド、アミノグリコシドおよびその他）を用いて治療することができる。

【０２２６】

一部の実施形態では、がんの１つまたは複数の症状または兆候を診断する（例えば、腫瘍の存在を検出し、かつ／または腫瘍の位置を特定する）ために有用な任意の治療剤または治療レジメンと組み合わせて、本発明の組成物を投与することができ、かつ／または本発明の診断方法を実施することができる。一部の実施形態では、本発明のコンジュゲートは、１つまたは複数の他の診断薬と組み合わせて使用することができる。一例を挙げると、腫瘍を検出するために使用するコンジュゲートは、腫瘍の検出において有用な他の作用剤と組み合わせて投与することができる。例えば、本発明のコンジュゲートは、伝統的な組織生検、その後の免疫組織化学的染色および血清学的試験（例えば、前立腺血清抗原検査）と組み合わせて投与することができる。その代わりにまたはそれに加えて、本発明のコンジュゲートは、コンピュータ断層撮影（ＣＴ）スキャンおよび／またはＭＲＩ用の造影剤と組み合わせて投与することができる。

【０２２７】

二機能性のステープリングまたはステッチングされたペプチドを調製する方法および合成する方法

ある特定の実施形態では、本発明の二機能性のステープリングまたはステッチングされたペプチドのターゲティングドメインＡおよびエフェクタードメインＥを新規に設計し、合成する。ある特定の実施形態では、ターゲティングドメインＡおよびエフェクタードメインＥは、１つまたは複数の非天然アミノ酸を含む（表１および表２）。ある特定の実施形態では、ターゲティングドメインＡおよびエフェクタードメインＥは、本明細書に記載のように、ＡドメインおよびＥドメインの二次構造を安定化するために、架橋結合部分によってステープリングまたはステッチングすることができる。

【０２２８】

一般に、これらの安定化された二次構造の合成は、（１）選択された数の天然アミノ酸または非天然アミノ酸からペプチドを合成するステップであって、前記ペプチドが、Ｃ－Ｃ結合形成反応を受けることができる反応性部分を少なくとも２つ含むステップと；（２）少なくとも１つのクロスリンカーを生成するため、および特定の二次構造モチーフ（例えば、α－ヘリックス）の安定化に影響を及ぼすために前記ペプチドを試薬と接触させるステップとを含む。

【０２２９】

当業者には理解されるように、選択されたアミノ酸構造（天然または非天然）の数、立体化学、および種類は、調製される二次構造のサイズおよび形状（例えば、α－ヘリックスの長さ）、特定のアミノ酸の、模倣するために望ましい二次的な構造モチーフを生成する能力に左右される。調製される二次構造は、所望の生物活性、つまり、特異的になるため、および２つの生体分子を一緒に追跡するために十分な親和性を伴ってエフェクター生体分子または標的生体分子を標的とする能力に左右される。

【０２３０】

架橋結合部分の数は１つまたは２つに制限されるのではなく、利用する架橋結合部分の数は、ターゲティングドメインおよび／またはエフェクタードメインの長さに伴って、所

望の通り、かつ生成される所望の構造および活性に適合するように変動してよいことが理解されよう。

【０２３１】

本発明の二機能性ポリペプチドの合成は、まず、アミノ酸およびアミノ酸類似体の所望の配列および数を選択することを伴う。当業者には理解されるように、選択されたアミノ酸構造（天然または非天然）の数、立体化学、および種類は、調製されるポリペプチドのサイズ、特定のアミノ酸の、所望の構造モチーフ（例えば、アルファヘリックス）、および、標的生体分子またはエフェクター生体分子に有効に結合するタンパク質ドメインを生成するために模倣することが望ましい任意の特定のモチーフを生成する能力に左右される。

【０２３２】

アミノ酸が選択されたら、本発明のポリペプチド合成を、標準の脱保護反応およびカップリング反応を使用して実現することができる。ペプチド結合の形成およびポリペプチド合成は当業者に周知の技法であり、固相法および液相法の両方を包含する；一般に、そのそれぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれる、ＢｏｄａｎｓｚｋｙおよびＢｏｄａｎｓｚｋｙ、Ｔｈｅ Ｐｒａｃｔｉｃｅ ｏｆ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ、Ｂｅｒｌｉｎ、１９８４年；ＡｔｈｅｒｔｏｎおよびＳｈｅｐｐａｒｄ、Ｓｏｌｉｄ Ｐｈａｓｅ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ、ＩＲＬ Ｐｒｅｓｓ ａｔ Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ Ｏｘｆｏｒｄ、Ｅｎｇｌａｎｄ、１９８９年、およびＳｔｅｗａｒｔおよびＹｏｕｎｇ、Ｓｏｌｉｄ ｐｈａｓｅ Ｐｅｐｔｉｄｅ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ、第２版、Ｐｉｅｒｃｅ Ｃｈｅｍｉｃａｌ Ｃｏｍｐａｎｙ、Ｒｏｃｋｆｏｒｄ、１９８４年を参照されたい。液相法および固相法のどちらにおいても、利用する特定のカップリング技法だけでなく、保護基の選択についても熟考しなければならない。液相反応および固相反応に関するペプチド合成技法の詳細な議論については、そのすべての内容が参照により本明細書に組み込まれるＢｉｏｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ：Ｐｅｐｔｉｄｅｓ ａｎｄ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ、Ｈｅｃｈｔ、Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ：１９９８年を参照されたい。

【０２３３】

ある特定の実施形態では、方法は、本発明の二機能性ポリペプチドの液相合成を含む。液相合成は、上記した通り、ポリペプチドを構築するための周知の技法である。例示的な液相合成は、（１）Ｎ末端を適切なアミノ保護基で保護したアミノ酸を準備するステップと；（２）Ｃ末端を適切なカルボン酸保護基で保護したアミノ酸を準備するステップと；（３）Ｎ－保護したアミノ酸とＣ－保護したアミノ酸をカップリングさせるステップと；（４）カップリング反応の生成物を脱保護するステップと；（５）ステップ（３）および（４）を、所望のポリペプチドが得られるまで繰り返すステップであって、上記のステップのいずれかにおいてカップリングしたアミノ酸の少なくとも２つが、それぞれ、末端が不飽和なアミノ酸側鎖を少なくとも１つ含み、かつ少なくとも１つのα，α－二置換アミノ酸が、末端が不飽和なアミノ酸側鎖を２つ含むステップとを含む。上記の合成の過程中、これらに限定されないが、末端が不飽和な側鎖を持つアミノ酸の位置付け、アミノ酸の立体化学、末端が不飽和な側鎖の長さおよび機能性、および利用するアミノ酸残基を含めた種々のパラメータは変動してよい。

【０２３４】

ある特定の実施形態では、方法は、本発明の二機能性ポリペプチドまたはその部分の固相合成を含む。固相合成は、上記した通り、ポリペプチドを構築するための周知の技法である。例示的な固相合成は、（１）樹脂に結合したアミノ酸を準備するステップと；（２）樹脂に結合したアミノ酸を脱保護するステップと；（３）アミノ酸と、脱保護した、樹脂に結合したアミノ酸をカップリングさせるステップと；（４）所望のペプチドが得られるまでステップ（３）を繰り返すステップであって、上記のステップのいずれかにおいてカップリングしたアミノ酸の少なくとも２つが、それぞれ、末端が不飽和なアミノ酸側鎖

を少なくとも１つ含み、かつ少なくとも１つのα，α－二置換アミノ酸が、末端が不飽和なアミノ酸側鎖を２つ含むステップとを含む。上記の合成の過程中、これらに限定されないが、末端が不飽和な側鎖を持つアミノ酸の位置付け、アミノ酸の立体化学、末端が不飽和な側鎖の長さおよび機能性、および利用するアミノ酸残基を含めた種々のパラメータは変動してよい。

【０２３５】

適切な技法を使用して所望のポリペプチドを合成した後、ポリペプチドを特定の触媒と接触させて、ポリペプチドの「ステープリング」または「ステッチング」を促進する。例えば、樹脂に結合したポリペプチドを触媒と接触させて「ステープリング」または「ステッチング」を促進することができる、または、まず樹脂から切断し、次いで触媒と接触させて「ステッチング」を促進することができる。

【０２３６】

異なるアミノ酸は、異なる二次構造を形成する異なる傾向を有する。例えば、メチオニン（Ｍ）、アラニン（Ａ）、ロイシン（Ｌ）、グルタミン酸（Ｅ）、およびリジン（Ｋ）はすべて、アルファヘリックスを形成する傾向が特に高い。対照的に、プロリン（Ｐ）およびグリシン（Ｇ）は、アルファヘリックスを破壊する。

【０２３７】

ある特定の実施形態では、１つまたは複数の反応ステップは、カップリング試薬の使用をさらに含む。例示的なカップリング試薬としては、これらに限定されないが、ベンゾトリアゾール－１－イルオキシ－トリス（ジメチルアミノ）－ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＢＯＰ）、ベンゾトリアゾール－１－イル－オキシ－トリス－ピロリジノ－ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＢＯＰ）、ブロモ－トリス－ピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート（ＰｙＢｒｏＰ）、１－エチル－３－（３－ジメチルアミノプロピル）カルボジイミド（ＥＤＣ）、Ｎ，Ｎ’－カルボニルジイミダゾール（ＣＤＩ）、３－（ジエトキシホスホリルオキシ）－１，２，３－ベンゾトリアジン－４（３Ｈ）－オン（ＤＥＰＢＴ）、１－ヒドロキシ－７－アザベンゾトリアゾール（ＨＯＡｔ）、１－ヒドロキシ－７－ベンゾトリアゾール（ＨＯＢｔ）、２－（７－アザ－１Ｈ－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ヘキサフルオロホスフェート（ＨＡＴＵ）、２－（６－クロロ－１Ｈ－ベンゾトリアゾール－１－イル）－１，１，３，３－テトラメチルアミニウムヘキサフルオロホスフェート（ＨＣＴＵ）、２－（１Ｈ－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ヘキサフルオロホスフェート（ＨＢＴＵ）、Ｏ－（７－アザベンゾトリアゾール－１－イル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウムテトラフルオロボレート（ＴＡＴＵ）、２－（１Ｈ－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テトラフルオロボレート（ＴＢＴＵ）、Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチル－Ｏ－（３，４－ジヒドロ－４－オキソ－１，２，３－ベンゾトリアジン－３－イル）ウラニウムテトラフルオロボレート（ＴＤＢＴＵ）、およびＯ－（Ｎ－スクシンイミジル）－１，１，３，３－テトラメチルウラニウムテトラフルオロボレート（ＴＳＴＵ））が挙げられる。

【０２３８】

ある特定の実施形態では、上記のステップ（ｉｖ）の反応は、適切な塩基をさらに含む。適切な塩基としては、これらに限定されないが、炭酸カリウム、水酸化カリウム、水酸化ナトリウム、水酸化テトラブチルアンモニウム、水酸化ベンジルトリメチルアンモニウム、水酸化トリエチルベンジルアンモニウム、１，１，３，３－テトラメチルグアニジン、１，８－ジアザビシクロ［５．４．０］ウンデカ－７－エン（ＤＢＵ）、Ｎ－メチルモルホリン、ジイソプロピルエチルアミン（ＤＩＰＥＡ）、テトラメチルエチレンジアミン（ＴＭＥＤＡ）、ピリジン（Ｐｙ）、１，４－ジアザビシクロ［２．２．２］オクタン（ＤＡＢＣＯ）、Ｎ，Ｎ－ジメチルアミノピリジン（ＤＭＡＰ）、またはトリエチルアミン（NEt_3）が挙げられる。

【０２３９】

ある特定の実施形態では、１つまたは複数の反応ステップは、適切な媒体中で行う。適切な媒体は、互いとの間の反応の進行を容易にする、組合せ反応パートナーおよび試薬と組み合わせた溶媒または溶媒混合物である。適切な溶媒により、反応の構成成分の１つまたは複数を可溶化することができる、またはその代わりに、適切な溶媒により、反応の構成成分の１つまたは複数の懸濁を容易にすることができる；一般に、そのそれぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｍａｒｃｈ’ｓ Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ：Ｒｅａｃｔｉｏｎｓ，Ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ，ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、Ｍ．Ｂ．ＳｍｉｔｈおよびＪ．Ｍａｒｃｈ、第５版、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、２００１年、およびＣｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｔｒａｎｓｆｏｒｍａｔｉｏｎｓ、Ｒ．Ｃ．Ｌａｒｏｃｋ、第２版、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、１９９９年を参照されたい。適切な溶媒としては、エーテル、ハロゲン化炭化水素、芳香族溶媒、極性非プロトン溶媒、またはそれらの混合物が挙げられる。他の実施形態では、溶媒は、ジエチルエーテル、ジオキサン、テトラヒドロフラン（ＴＨＦ）、ジクロロメタン（ＤＣＭ）、ジクロロエタン（ＤＣＥ）、アセトニトリル（ＡＣＮ）、クロロホルム、トルエン、ベンゼン、ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）、ジメチルアセトアミド（ＤＭＡ）、ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ）、Ｎ－メチルピロリジノン（ＮＭＰ）、またはそれらの混合物である。

【０２４０】

他の実施形態では、１つまたは複数の反応ステップは、例えば約０℃～約１００℃などの適切な温度で行う。

【０２４１】

ある特定の実施形態では、１つまたは複数の反応ステップは、触媒を必要とする。当業者は、様々な触媒を利用することができることを理解されよう。特定の触媒の選択は、利用する反応条件および特定のペプチドに存在する官能基に伴って変動する。ある特定の実施形態では、触媒は、閉環メタセシス（ＲＣＭ）触媒である。ある特定の実施形態では、ＲＣＭ触媒は、タングステン（Ｗ）触媒、モリブデン（Ｍｏ）触媒、またはルテニウム（Ｒｕ）触媒である。ある特定の実施形態では、ＲＣＭ触媒は、ルテニウム（ｒｕｔｈｅｎｕｉｍ）触媒である。適切なＲＣＭ触媒は、そのそれぞれの内容全体が参照により本明細書に組み込まれる、Ｇｒｕｂｂｓら、Ａｃｃ．Ｃｈｅｍ．Ｒｅｓ．１９９５年、２８巻、４４６～４５２頁；米国特許第５，８１１，５１５号；Ｓｃｈｒｏｃｋら、Ｏｒｇａｎｏｍｅｔａｌｌｉｃｓ（１９８２年）１巻、１６４５頁；Ｇａｌｌｉｖａｎら、Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔｅｒｓ（２００５年）４６巻：２５７７～２５８０頁；Ｆｕｒｓｔｎｅｒら、Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．（１９９９年）１２１巻：９４５３頁；およびＣｈｅｍ．Ｅｕｒ．Ｊ．（２００１年）７巻：５２９９頁に記載されている。

【０２４２】

ある特定の実施形態では、ＲＣＭ触媒は、Ｓｃｈｒｏｃｋ触媒、Ｇｒｕｂｂｓ触媒、Ｇｒｕｂｂｓ－Ｈｏｖｅｙｄａ触媒、Ｂｌｅｃｈａｒｔ触媒；Ｎｅｏｌｙｓｔ（商標）Ｍ１；またはＦｕｒｓｔｎｅｒ触媒である。

【０２４３】

ＲＣＭ触媒に加えて、炭素－炭素結合の形成を促進することができる他の試薬も利用することができることが理解されよう。例えば、利用することができる他の反応としては、これらに限定されないが、パラジウムカップリング反応、遷移金属に触媒されるクロスカップリング反応、ピナコールカップリング（末端アルデヒド）、ヒドロジルコノ化（末端アルキン）、求核付加反応、およびＮＨＫ（Ｎｏｚａｋｉ－Ｈｉｙａｍａ－Ｋｉｓｈｉ）カップリング反応（Ｆｕｒｓｔｎｅｒら、Ｊ．Ａｍ．Ｃｈｅｍ．Ｓｏｃ．１９９６年、１１８巻、１２３４９頁）が挙げられる。したがって、まず適切な反応性部分を所望のアミノ酸または非天然アミノ酸に組み込み、次にペプチドを、「ステープリング」または「ステッチング」に影響を及ぼすため、およびその後の所望の二次構造の安定化ための反応条件に供する。

【０２４４】
別の態様では、本発明は、本発明のポリペプチドを合成する方法であって、（１）（ｉ）それぞれが、末端が不飽和なアミノ酸側鎖を少なくとも１つ含む、少なくとも２つのアミノ酸、および（ｉｉ）末端が不飽和なアミノ酸側鎖を２つ含む、少なくとも１つのα，α－二置換アミノ酸を含む選択された数のアミノ酸を準備するステップと；（２）選択された数のアミノ酸を一緒にカップリングさせて第１のペプチドを生成するステップと；（３）第１のペプチドを適切な触媒で処理してステープリングまたはステッチングされたペプチドを準備するステップとを含む方法を提供する。
【０２４５】
ある特定の実施形態では、「末端が不飽和なアミノ酸側鎖を２つ含むα，α－二置換アミノ酸」としてジビニルアミノ酸を特に排除する。
【０２４６】
ある特定の実施形態では、末端が不飽和なアミノ酸側鎖のそれぞれが、閉環メタセシスに対して反応性である。ある特定の実施形態では、適切な触媒は環メタセシス触媒である。ある特定の実施形態では、閉環メタセシス触媒により、上記の方法によって少なくとも２つの架橋した環を生成することができる。選択されたアミノ酸の性質およびペプチド鎖におけるそれらの特定の場所に応じて、本発明のステッチングされたペプチドは、少なくとも２個、３個、４個、５個、６個、または７個の架橋結合を含んでよく、かつ、１つまたは複数の構造（ｃｏｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ）／構造（ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ）異性体（すなわち、分子量は同じであるが、異なる結合性を有する化合物）を含んでよい。
【０２４７】
ある特定の実施形態では、合成方法により、好ましい生成物として１つのステッチングされた生成物を生成する。本明細書で使用される「好ましい生成物」は、異性体の混合物において主要な構成物として存在する一方の構造異性体（ｃｏｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ　ｉｓｏｍｅｒ）を指す。ある特定の実施形態では、「好ましい生成物」は、異性体混合物の構成成分として、少なくとも約５０％、５５％、６０％、６５％、７０％、７５％、８０％、８５％、９０％、９５％、９８％、または９９％で存在する一方の構造異性体（ｃｏｎｓｔｉｔｕｔｉｏｎａｌ　ｉｓｏｍｅｒ）を指す。
【０２４８】
合成方法は、（１）（ｉ）それぞれが、末端が不飽和なアミノ酸側鎖を少なくとも１つ含む、少なくとも４つのアミノ酸、および（ｉｉ）末端が不飽和なアミノ酸側鎖を２つ含む、少なくとも１つのα，α－二置換アミノ酸を含む、選択された数の天然アミノ酸または非天然アミノ酸を準備するステップと；（２）選択された数のアミノ酸を一緒にカップリングさせて第１のペプチドを生成するステップと；（３）第１のペプチドを適切な触媒で処理するステップとによって、少なくとも３つの架橋ステープルを含むようにさらに改変することができる。
【０２４９】
さらに、合成方法は、（１）（ｉ）それぞれが、末端が不飽和なアミノ酸側鎖を少なくとも１つ含む、少なくとも２つのアミノ酸、および（ｉｉ）それぞれが、末端が不飽和なアミノ酸側鎖を２つ含む、少なくとも２つのα，α－二置換アミノ酸を含む、選択された数の天然アミノ酸または非天然アミノ酸を準備するステップと；（２）選択された数のアミノ酸を一緒にカップリングさせて第１のペプチドを生成するステップと；（３）第１のペプチドを適切な触媒で処理するステップとによって、少なくとも３つの架橋ステープルを含むように改変することができる。
【０２５０】
本発明は、本発明のポリペプチド内に少なくとも２個、３個、４個、５個、６個、または７個の架橋したステープルをもたらすために任意のかつすべての種類の修飾を企図する。
【０２５１】
したがって、末端が不飽和なアミノ酸側鎖を１～２つ含む上記のアミノ酸を、接近した

、末端が不飽和な側鎖をもたらすためにポリペプチド鎖に組み込む。これらの接近した、末端が不飽和な側鎖は、ポリペプチドの任意の所与のコンフォメーションにおいて互いに同じ平面、またはポリペプチド鎖の同じ側面にあってよい。適切な触媒で処理すると、これらの接近した側鎖は、「ステープリング」を介して互いに反応して、ステッチングされた、コンフォメーション的に安定化したポリペプチドをもたらす。ある特定の実施形態では、接近した、末端が不飽和な側鎖を、生じた「ステープル」が、ステッチングされたポリペプチドの生物活性／治療的活性を妨害しないように配列する。

【０２５２】

追加的な合成的修飾

上記の通りポリペプチドを「ステッチング」した後、方法は、追加的な（１つまたは複数の）合成的修飾をさらに含んでよい。任意の化学的修飾または生物学的修飾を行うことができる。ある特定の実施形態では、そのような修飾としては、合成的に修飾されたステッチングされたポリペプチドをもたらすための、還元、酸化、および官能基（例えば、メタセシス反応でもたらされる二重結合）への架橋結合の求核的付加または求電子的付加が挙げられる。他の修飾は、例えば、ステッチングされたポリペプチドのＮ末端において、ステッチングされたポリペプチドのＣ末端においてなど、ステッチングされたポリペプチド足場の任意の場所に、ステッチングされたポリペプチドのアミノ酸側鎖に、または、１つまたは複数の修飾された、または修飾されていないステッチングされた部位に（すなわち、ステープルするために）、ステッチングされたポリペプチドまたは合成的に修飾されたステッチングされたポリペプチドと、生物学的に活性な作用剤、標識または診断薬とのコンジュゲーションを含んでよい。そのような修飾は、ペプチドまたは生物学的に活性な作用剤を細胞、組織、または器官に送達することにおいて有用であり得る。そのような修飾により、特定の種類の細胞または組織のターゲティングを可能にすることができる。

【０２５３】

したがって、ある特定の実施形態では、上記の合成方法は、（ｖｉｉ）合成的に修飾されたステッチングされたポリペプチドをもたらすために適切な条件下でポリペプチドを適切な反応剤で処理するステップをさらに含む。

【０２５４】

当業者は、そのような転換を促進するために、多種多様な反応、条件、および「（１つまたは複数の）適切な反応剤」を使用することができ、したがって、多種多様な反応、条件、および反応剤が構想されることを理解されたい；一般に、そのそれぞれの全体が、ここで参照により本明細書に組み込まれる、Ｍａｒｃｈ’ｓ Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ：Ｒｅａｃｔｉｏｎｓ，Ｍｅｃｈａｎｉｓｍｓ，ａｎｄ Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ、Ｍ．Ｂ．ＳｍｉｔｈおよびＪ．Ｍａｒｃｈ、第５版、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、２００１年；Ａｄｖａｎｃｅｄ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｃｈｅｍｉｓｔｒｙ、Ｐａｒｔ Ｂ：Ｒｅａｃｔｉｏｎｓ ａｎｄ Ｓｙｎｔｈｅｓｉｓ、ＣａｒｅｙおよびＳｕｎｄｂｅｒｇ、第３版、Ｐｌｅｎｕｍ Ｐｒｅｓｓ、Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ、１９９３年；およびＣｏｍｐｒｅｈｅｎｓｉｖｅ Ｏｒｇａｎｉｃ Ｔｒａｎｓｆｏｒｍａｔｉｏｎｓ、Ｒ．Ｃ．Ｌａｒｏｃｋ、第２版、Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ＆ Ｓｏｎｓ、１９９９年を参照されたい。例示的な「適切な反応剤」は、多数の結合（例えば、二重結合または三重結合）と反応する任意の作用剤であってよい。ある特定の実施形態では、適切な反応剤を、二重結合または三重結合と、例えば、水素付加、オスミル化（ｏｓｍｙｌａｔｉｏｎ）、ヒドロキシル化（モノ－またはジ－）、アミノ化、ハロゲン化、環化付加（例えば、シクロプロパン化、アジリジン化、エポキシ化）、オキシ水銀化、および／またはヒドロホウ素化反応を介して反応させて、官能化された単結合または二重結合をもたらすことができる。当業者には明確に理解されるように、これらの上記の転換により、特定の安定化された構造および所望の生物学的相互作用と適合する官能基が導入され；そのような官能基としては、これらに限定されないが、水素、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは

非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；置換もしくは非置換のヒドロキシル；置換もしくは非置換アミノ；置換もしくは非置換チオール、ハロ；シアノ；ニトロ；アジド；イミノ；オキソ；およびチオオキソが挙げられる。

【０２５５】

別の態様では、ある特定の実施形態において、方法は、ポリペプチドを適切な反応剤で処理して、合成的に修飾されたステッチングされたポリペプチドを準備するステップと、修飾されたステッチングされたポリペプチドを、生物学的に活性な作用剤で処理して、生物学的に活性な作用剤とコンジュゲートした、修飾されたステッチングされたポリペプチドを準備するステップとをさらに含む。

【０２５６】

別の態様では、ある特定の実施形態において、上記の方法は、ポリペプチドを適切な試薬で処理して、合成的に修飾されたステッチングされたポリペプチドを準備するステップと、修飾されたステッチングされたポリペプチドを診断薬で処理して、診断薬とコンジュゲートした、修飾されたステッチングされたポリペプチドを準備するステップとをさらに含む。

【０２５７】

作用剤（例えば、標識、診断薬、生物学的に活性な作用剤）を本発明のポリペプチドにコンジュゲートすることは、様々な異なるやり方で実現することができる。作用剤は、直接的に、または間接的に、ステープリング部位でポリペプチドに、または、ポリペプチド鎖のＮ末端もしくはＣ末端に、共有結合的にコンジュゲートすることができる。あるいは、作用剤は、直接的に、または間接的に、ステープリング部位でポリペプチドに、または、ポリペプチド鎖のＮ末端もしくはＣ末端に、非共有結合的にコンジュゲートすることができる。間接的な共有結合性コンジュゲーションは、１つまたは複数の共有結合による。間接的な非共有結合性コンジュゲーションは、１つまたは複数の非共有結合による。コンジュゲーションは、非共有結合性の力／結合および共有結合性の力／結合の組合せを介してもよい。作用剤は、共有結合性連結基または非共有結合性連結基を通じてコンジュゲートすることもできる。

【０２５８】

本発明のポリペプチドに生物学的に活性な作用剤および／または診断薬をコンジュゲートすることにおいて、任意の適切な結合を使用することができる。そのような結合としては、アミド結合、エステル結合、ジスルフィド結合、炭素－炭素結合、カルバミン酸、カーボネート、尿素、ヒドラジドなどが挙げられる。一部の実施形態では、結合は、生理的条件下で切断可能である（例えば、酵素的に切断可能である、高ｐＨまたは低ｐＨで、熱、光、超音波、Ｘ線などで切断可能である）。しかし、一部の実施形態では、結合は、切断することができない。

【０２５９】

新規のステープリングまたはステッチングされたポリペプチドのコンビナトリアル合成

上記の合成方法は、ステープリングまたはステッチングされたポリペプチドをコンビナトリアル合成するためにも適用することができることも、当業者には理解されよう。コンビナトリアル合成技法は、溶液中で適用することができるが、コンビナトリアル技法は、スプリットアンドプール（ｓｐｌｉｔ－ａｎｄ－ｐｏｏｌ）技法を使用して固相において実施することがより典型的である。コンビナトリアル合成の過程中、これらに限定されないが、末端が不飽和な側鎖を持つアミノ酸の位置付け、アミノ酸の立体化学、末端が不飽和な側鎖の長さおよび機能性、および利用するアミノ酸残基を含めた種々のパラメータは変動してよい。

【０２６０】

本発明は、一態様において、上記のステープリングまたはステッチングされたポリペプチドのライブラリーを合成するための方法であって、（１）樹脂に結合したアミノ酸の集団を準備するステップと；（２）前記樹脂に結合したアミノ酸のそれぞれを脱保護するステップと；（３）前記脱保護した、樹脂に結合したアミノ酸の集団を、ｎ個の均等な部分

に分割するステップであって、ｎが、カップリングされる異なる種類のアミノ酸の数を表すステップと；（４）ｎ種類のアミノ酸のそれぞれを、脱保護したアミノ酸とカップリングさせるステップと；（５）ｎ部分のそれぞれを結び合わせるステップと；（６）ステップ（２）－（５）を所望のポリペプチドが得られるまで繰り返すステップであって、上記のステップのいずれかにおいてカップリングしたアミノ酸の少なくとも２つが、それぞれ、末端が不飽和なアミノ酸側鎖を少なくとも１つ含み、かつ少なくとも１つのα，α－二置換アミノ酸が、末端が不飽和なアミノ酸側鎖を２つ含むステップとを含む方法を提供する。所望のポリペプチドを合成した後、樹脂に結合したポリペプチドを触媒と接触させて、「ステッチング」を促進することができる、または、まず、樹脂から切断し、次いで触媒と接触させて「ステッチング」を促進することができる。

【０２６１】

安定化された二次構造を有する化合物のライブラリーは、所望の安定化された構造を形成した後、特定の官能基部分においてさらに多様化させることができることが当業者には理解されよう。例えば、遊離のまたは潜在的なアミノ酸官能基を多様化することができる、または、その代わりにまたはそれに加えて、クロスリンカー上に存在する遊離のまたは潜在的な官能基を多様化することができる。特に好ましい実施形態において、ほんの一例では、ヒドロキシル部分を導入することによって安定化された構造の親水性を増加させることができる。当業者には理解されるように、多様化反応は、特定の安定化された構造および所望の生物学的相互作用と適合する官能基が導入されるように選択し、これらの官能基としては、これらに限定されないが、水素、環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換の脂肪族；環式もしくは非環式、分岐もしくは非分岐、置換もしくは非置換のヘテロ脂肪族；置換もしくは非置換アリール；置換もしくは非置換ヘテロアリール；置換もしくは非置換アシル；置換もしくは非置換のヒドロキシル；置換もしくは非置換アミノ；置換もしくは非置換チオール；ハロ；シアノ；ニトロ；アジド；イミノ；オキソ；およびチオオキソが挙げられる。

【０２６２】

本発明の二機能性のステープリングされたペプチドのターゲティングドメインＡおよびエフェクタードメインＥは、当技術分野で公知の任意の方法によって設計することができる。例えば、ＡおよびＢは、文献から公知の結合性ドメインまたは相互作用ドメインに従って設計することができる。よく特徴づけられたウイルス性癌遺伝子および細胞性癌遺伝子（例えば、ｃ－Ｍｙｃ、Ｒａｓ）、腫瘍抑制因子（例えば、ｐ５３、Ｒｂ）、転写因子（例えば、ＨＩＦ、Ｅ２Ｆ）、修飾酵素（例えば、ユビキチンリガーゼ、アセチラーゼ、ホスホリラーゼ、メチラーゼ）、構造タンパク質、シグナル伝達受容体およびシグナル伝達経路の分子（例えば、ベータカテニン）、増殖因子（例えば、ＥＧＦＲ）の多くの相互作用ドメインが当技術分野で公知である。

【０２６３】

エフェクタードメインは、コリプレッサータンパク質、例えば、Ｇｒｏｕｃｈｏ／ＴＬＥ１、ＳＨＡＲＰ、ＮＣｏＲ、ＮＣｏＲ２、ＳＭＲＴ、ＢＣｏＲまたは他のコリプレッサータンパク質などに結合し、それを動員するために設計することができる。例えば、転写因子に見られ、Ｇｒｏｕｃｈｏ／ＴＬＥ１コリプレッサーを標的プロモーターに動員するために不可欠かつ十分であることが公知であるエングレイルド相同（Ｅｈ１）ドメインは、エフェクタードメインを設計するために役立ち得る。

【０２６４】

別の実施形態では、そのＰＡＨドメインによってＳｉｎ－３抑制複合体に結合し、それを保持するＭａｄ１の両親媒性のアルファヘリックスを使用してエフェクタードメインを設計することができる。別の実施形態では、エフェクタードメイン（Ｅ）は、ＭＤＭ２またはＭＤＭＸに結合し、それを動員することができるＦＸＸＦＦモチーフに従って、またはｐ５３活性化ドメイン１（Ａｃ－ＬＳＱＥＴＦＳＤＬＷＫＬＬＰＥ－ＣＯＮＨ$_2$（配列番号３５））に従って設計する。

【０２６５】

別の実施形態では、エフェクタードメイン（Ｅ）は、エクスポーチン、例えばＣＲＭ１などの核外移行機構に属する分子に結合し、それを動員するために設計する。

【０２６６】

別の実施形態では、エフェクタードメイン（Ｅ）は、核内移行タンパク質に結合するための核局在化配列（ＮＬＳ）、例えばＩｍｐαを標的とし、それに結合することが公知であるＮＬＳ配列を含む、または模倣するシグナルペプチドまたは小分子として設計する。ＮＬＳ配列の例は、

ＳＶ４０Ｔ－抗原：

【０２６７】

【化１３】

Ac-PKKKRKVE-$CONH_2$ (配列番号；４２

ヌクレオプラスミン：Ac-KRPAATKKAGQAKKKKLD-$CONH_2$ (配列番号:43); および

c-Myc: Ac-PAAKRVKLD-$CONH_2$ (配列番号:44)

である（Ｇｏｒｌｉｃｈ ＤおよびＫｕｔａｙ Ｕ. Ａｎｎｕ. Ｒｅｖ. Ｃｅｌｌ Ｄｅｖ. Ｂｉｏｌ. １９９９年、１５巻：６０７～６０頁）。

【０２６８】

別の実施形態では、エフェクタードメイン（Ｅ）は、特異的な転写コアクチベータータンパク質または基礎的な転写装置の構成要素、例えば、ＴＡＦＩＩタンパク質またはＲＮＡポリメラーゼに結合し、それを動員することができるペプチドもしくは小分子、または、転写因子の標的となり、コアクチベータータンパク質を局在化させ、保持する、２つの別個の結合部位を有するＣＢＰ／ｐ３００のＫＩＸドメインに従ったエフェクタードメインとして設計する。これらのドメインは、ｐ５３ ＡＤ１：

【０２６９】

【化１４】

Ac-LSQETFSDLWKLLPE-$CONH_2$ (配列番号:45); p53 AD2: Ac-MLSPDDIEQWFTEDPG-$CONH_2$ (配列番号:46); MLL: Ac-ILPSDIMDFVLKNTP-$CONH_2$ (配列番号:47); c-Jun: Ac-LASPELERLIIQSSN-$CONH_2$ (配列番号:48); HLTV-TAX: Ac-YIDGFVIGSALQFLIPRLP-$CONH_2$ (配列番号:49); c-MYB: Ac-KEKRIKELELLLMSTENELKG-$CONH_2$ (配列番号:50); pKID: Ac-ILSRRPSYRKILNDLSSDAPG-$CONH_2$ (配列番号:51),

を含んでよい、またはｐ－ＫＩＤに由来してよく、ここで任意のセリン残基、特にＳｅｒ１３３は、ネイティブなｐＫＩＤ：ＫＩＸ相互作用において存在するのと同様にリン酸化が見いだされてよい。

【０２７０】

別の実施形態では、エフェクタードメイン（Ｅ）は、キナーゼ、アセチルトランスフェラーゼ、ホスファターゼ、グリコトランスフェラーゼ、脂質トランスフェラーゼおよび転写因子の機能を変化させるための他の酵素を含めた特定の翻訳後修飾酵素または複合体に結合し、それを動員することができるペプチドまたは小分子を含めて設計する。

【０２７１】

別の実施形態では、ターゲティングドメインは、ＳＡＨＭ１などの、Ｎｏｔｃｈ：ＣＳＬ転写因子複合体に結合することができる転写因子ターゲティングリガンドに従って設計する。

【０２７２】

親和性の高いターゲティングドメインおよびエフェクタードメイン（ＡおよびＥ）も、利用可能な結晶学的データまたはファージディスプレイなどの公表された親和性スクリー

ンから得たデータに従って合理的に設計することができる。

【０２７３】

本発明の二機能性のステープリングされたペプチドのターゲティングドメインＡおよびエフェクタードメインＥは、例えば、ハイスループットな親和性スクリーンを使用して、望ましい任意のタンパク質について得ることができる。例えば、ターゲティングドメインは、任意の候補癌遺伝子、候補腫瘍抑制因子、候補転写因子、例えば、転写因子のＮＦ－ｋａｐｐａＢファミリーおよびＡＰ－１ファミリー、ＳＴＡＴファミリーメンバー、ステロイド受容体、Ｅｔｓ因子、ＡＴＦファミリーメンバー、基本的なヘリックス－ループ－ヘリックス転写因子、テロメラーゼ、増殖因子、および増殖因子受容体などと結びつける、または結合させるために設計することができる。これらの因子は、例えば、誤って機能する可能性がある、誤った場所に局在化している可能性がある、制御解除されている可能性がある、異所的に活性な可能性がある、不活性な可能性がある、または誤って折りたたまれる可能性があり、かつ被験体における病態を引き起こす細胞の形質転換、細胞の運命の変化、脱分化、アポトーシス、壊死、異所性の細胞シグナル伝達または他の変化に寄与する可能性がある。本発明の二機能性のステープリングされたペプチドの１つのターゲティングドメインと結びついたこれらの候補タンパク質は、次に、本明細書に記載のように、エフェクター生体分子、例えばユビキチンリガーゼ、ＤＵＢ、アセチラーゼ、脱アセチル化酵素、キナーゼ、ホスファターゼ、メチラーゼ、デメチラーゼ、グリコシルトランスフェラーゼ、グリコシダーゼ、またはシャペロンなどに繋ぎ止めることができる。ターゲティングドメインおよびエフェクタードメインは、ある特定の実施形態では、公知の生理活性ポリペプチド、例えば、標的生体分子またはエフェクター生体分子と結合する、または結びつくことが公知であるポリペプチドと実質的に類似しているまたは相同であってよい。

【０２７４】

ある特定の実施形態では、１つまたは複数の非天然アミノ酸および／または１つまたは複数の架橋部分を含むターゲティングドメインＡおよびエフェクタードメインＥは、活性だけでなく、高い結合親和性および結合特異性についても、ファージディスプレイなどの当技術分野で公知の任意のハイスループットな親和性スクリーンを使用して、または図１５および図１６に記載の通り選択する。

【０２７５】

ある特定の実施形態では、ターゲティングドメインＡおよびエフェクタードメインＥは、リンカーＬによって共有結合的に結びついている。このリンカーは、任意の長さまたは他の特性を有してよく、ターゲティングドメインＡおよびエフェクタードメインＥのポリペプチド鎖と化学的に相互作用することができる（およびそれと共有結合する）２つの反応性末端基を最小限に含む。

【０２７６】

一部の実施形態では、リンカーＬは、天然アミノ酸または非天然アミノ酸を含んでよく、かつ／または、末端反応性基を持つ他の分子を含んでよい。例えば、リンカーは、ＰＥＧ（ポリエチレングリコール）およびＮＨＳまたはマレイミド反応性末端基、例えば、ＳＭ（ＰＥＧ）$_n$スクシンイミジル－（［Ｎ－マレイミドプロピオンアミド］－ｎ－エチレングリコール）を含んでよい。リンカーＬの長さは可変性であり、ターゲティングドメインＡおよびエフェクタードメインＥそれぞれに連結するために必要な所要の柔軟性または剛性に基づいて設計することができることが理解されよう。ポリペプチドＡとポリペプチドＥを結びつけるために様々なリンカーおよび／または官能基を使用する共有結合性のコンジュゲーション戦略および適切な反応条件の例は、図２７～３２に記載されている。ある特定の実施形態では、チオール－マレイミドのコンジュゲートを生成する。他の実施形態では、アジドとアルキンの反応から１，４－トリアゾールまたは１，５－トリアゾールのコンジュゲートを生成する。

【０２７７】

ターゲティングドメインＡとエフェクタードメインＥの距離は、これらに限定されない

が、１）それぞれの、標的生体分子およびエフェクター生体分子の分子サイズ、および／または２）エフェクター生体分子の触媒部位と標的生体分子修飾部位との間の相対的な分子距離、および／または３）ターゲティングドメインＡおよびＥが結合したエフェクター生体分子上の部位と標的生体分子の相対的な距離、および／または４）二機能性のステープリングされたペプチドの細胞浸透性、および／または５）二機能性のステープリングされたペプチドの生物学的利用能、および／または６）二機能性のステープリングされたペプチドの安定性、および／または他の構造的または化学的な考察を含めたいくつかのパラメータに基づいたリンカーＬの長さによって変動してよい。

【実施例】

【０２７８】

（実施例１）

β－カテニンを分解するための二機能性のステープリングされたペプチド

β－カテニンは、Ｗｎｔシグナル伝達経路の不可欠な構成要素である。標準的なＷｎｔ経路は、胚発生、幹細胞の増殖、および腫瘍形成において重大な役割を果たす。Ｗｎｔ経路が刺激されることにより、核内のβ－カテニンとＴｃｆおよびＢＣＬ９とが結びつき、Ｗｎｔ標的遺伝子がトランス活性化される。細胞質ゾル内のβ－カテニンのレベルは、β－カテニン破壊複合体によって制御されている。Ｗｎｔシグナルがない場合、β－カテニンがリン酸化され、ＳＣＦ　Ｅ３ユビキチンリガーゼ複合体によるそのユビキチン化、およびその後の２６Ｓプロテアソームによる分解が導かれる（図１）。Ｗｎｔシグナルの存在下では、破壊複合体が阻害され、β－カテニンの細胞質ゾルレベルが上昇し、β－カテニンが核に移行することが可能になり、そこでβ－カテニンがＴｃｆおよび他の転写因子と相互作用して標的遺伝子を活性化する。この経路の構成要素における遺伝子異常は、様々ながんと関連づけられる［ＢａｒｋｅｒおよびＣｌｅｖｅｒｓ、ＮＲＤＤ、５巻、９９８～１０１４頁（２００６年）］。大部分の結腸がんはβ－カテニンが過剰に蓄積することによって引き起こされるので、Ｗｎｔシグナル伝達経路は、がん治療のためのＷｎｔシグナル伝達阻害剤を開発するためのよい標的になり得る。β－カテニンの分子構造が解明されている［Ｓａｍｐｉｅｔｒｏら、Ｍｏｌ．　Ｃｅｌｌ　２４巻、２９３～３００頁（２００６年）］。β－カテニンと転写コアクチベーターＢｃｌ９およびＤＮＡ結合性トランス活性化因子Ｔｃｆ－４の相互作用部位が同定されており、結晶構造の三者複合体であることが解明されている［Ｓａｍｐｉｅｔｒｏら、Ｍｏｌ．　Ｃｅｌｌ　２４巻、２９３～３００頁（２００６年）］。例えば、ＢＣＬ９　β－カテニン結合ドメイン（ＣＢＤ）は、β－カテニンの最初のアルマジロリピートに結合するαヘリックスを形成する。多くのがんでは、β－カテニンのユビキチン化および分解に関与するタンパク質の突然変異が頻繁に見いだされ、異所性のレベルのβ－カテニンが生じている（図２）。例えば、大部分の結腸直腸がんは、ベータカテニンを安定化し、ベータカテニン標的遺伝子を活性化してがんを導く、大腸腺腫症（ＡＰＣ）遺伝子またはベータカテニン遺伝子の突然変異を有する。

【０２７９】

二機能性のステープリングされたペプチドを使用して、β－カテニン破壊経路において突然変異（例えば突然変異した、または切断された大腸腺腫症、ＡＰＣ）を有するがん細胞における、ポリユビキチン化によるβ－カテニン破壊を回復する。二機能性のステープリングされたペプチドは、ターゲティングドメインおよびエフェクタードメインの２つの部分を有する。ターゲティングドメインは、β－カテニン結合部分であり、エフェクタードメインはＥ３ユビキチンリガーゼ動員部分である。Ｅ３ユビキチンリガーゼ結合部分により、Ｅ３ユビキチンリガーゼがβ－カテニンに接近して動員され、それによってβ－カテニンのポリユビキチン化が容易になる（図３）。β－カテニンのＡｒｍドメイン内に、いくつかの表面に露出したリジン残基がある（図４）。

【０２８０】

適切な二機能性のステープリングされたペプチドを、がん細胞、例えば結腸がん細胞（ＳＷ４８０、ＤＬＤ－１、およびＨＴ２９、ＨＣＴ－１１６）、乳がん細胞（ＭＣＦ７）

、または前立腺がん細胞（ＰＣ３、ＬＮＣＡＰ）にｉｎ　ｖｉｔｒｏでトランスフェクトし、トランスフェクトされた細胞を、可溶性β－カテニンタンパク質および／または膜に結合した（細胞質ゾルのおよび／または核の）β－カテニンタンパク質のレベルまたはポリユビキチン化された形態のβ－カテニンの出現の低下について、ウェスタンブロット分析およびレポーターアッセイ（例えば、ルシフェラーゼ）を使用して同時トランスフェクトされたＬＥＦ／ＴＣＦ標的遺伝子の下方制御を検出することによってスクリーニングする。β－カテニンの細胞分布（核の、細胞質ゾルの）を、β－カテニン特異的な抗体および標準の染色プロトコールを使用して免疫蛍光法によって追跡する。陽性対照として、ＣＥＬＥＣＯＸＩＢを使用する。

【０２８１】

いくつかの二機能性のステープリングされたペプチドを、β－カテニンのポリユビキチン化を回復するそれらの能力について試験する：Ｂｃｌ９－ＳＡＨ　ｐ５３－８およびＴｃｆ４－ＳＡＨ　ｐ５３。ｈＤＭ２は、ユビキチン化によるｐ５３分解を促進する周知のＥ３リガーゼである。ステープリングされたペプチドＳＡＨｐ５３は、以前ｈＤＭ２に結合するドミナントネガティブとして合成された。ｈＤＭ２をβ－カテニンに接近させるためのＥ３リガーゼ動員部分（エフェクタードメイン）としてＳＡＨｐ５３－８を使用する。Ｂｃｌ－９ペプチドおよびＴｃｆ４ペプチドは、ステープリングすることができるα－らせん構造を保有する。Ｂｃｌ－９ペプチドまたはＴｃｆ４ペプチドを、ＳＡＨ　ｐ５３－８と融合する。生じた二機能性ペプチドによりβ－カテニンとｈＤＭ２が橋かけされ、それによってβ－カテニンのユビキチン化が容易になる（図５および６）。

【０２８２】

配置方向が異なる二機能性のステープリングされたペプチドを作製する。二機能性のステープリングされたペプチドの設計において、ＳＡＨ　ｐ５３－８をＮ末端またはＣ末端のいずれかに位置付ける（図７）。次いでペプチドをスクリーニングして最適な配置方向を選択する。以下の二機能性ペプチドを合成する：

第１群：ＳＡＨ　ｐ５３－８－Ｂｃｌ９

【０２８３】

【化１５】

$QSQQTFR_8NLWRLLS_5QN\text{-}(Ahx)_n\text{-}SQEQLR_8HRERSLS_5TLRDIQRMLF$（配列番号：1）

$QSQQTFR_8NLWRLLS_5QN\text{-}(Ahx)_n\text{-}SQEQLEHRERSLS_5TLRS_5IQRMLF$（配列番号：2）

$QSQQTFR_8NLWRLLS_5QN\text{-}(Ahx)_n\text{-}SQEQLEHRS_5RSLS_5TLRDIQRMLF$（配列番号：3）

ｎ＝２～４、Ａｈｘ：アミノヘキサン酸

第２群：Ｂｃｌ９－ＳＡＨ　ｐ５３－８

【０２８４】

【化１６】

$SQEQLR_8HRERSLS_5TLRDIQRMLF\text{-}(Ahx)_n\text{-}QSQQTFR_8NLWRLLS_5QN$（配列番号：4）

$SQEQLEHRERSLS_5TLRS_5IQRMLF\text{-}(Ahx)_n\text{-}QSQQTFR_8NLWRLLS_5QN$（配列番号：5）

$SQEQLEHRS_5RSLS_5TLRDIQRMLF\text{-}(Ahx)_n\text{-}QSQQTFR_8NLWRLLS_5QN$（配列番号：6）

ｎ＝２～４、Ａｈｘ：アミノヘキサン酸

第３群：ＳＡＨ　ｐ５３－８－Ｂｃｌ９

【０２８５】
【化１７】
QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN-(PEG)$_n$-SQEQLR$_8$HRERSLS$_5$TLRDIQRMLF（**配列番号：7**）

QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN-(PEG)$_n$-SQEQLEHRERSLS$_5$TLRS$_5$IQRMLF（**配列番号：8**）

QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN-(PEG)$_n$-SQEQLEHRS$_5$RSLS$_5$TLRDIQRMLF（**配列番号：9**）

ｎ＝２～４、ＰＥＧ：ポリエチレングリコール
第４群：Ｂｃｌ９－ＳＡＨ　ｐ５３－８
【０２８６】
【化１８】
SQEQLR$_8$HRERSLS$_5$TLRDIQRMLF-(PEG)$_n$-QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN（**配列番号：10**）

SQEQLEHRERSLS$_5$TLRS$_5$IQRMLF-(PEG)$_n$-QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN（**配列番号：11**）

SQEQLEHRS$_5$RSLS$_5$TLRDIQRMLF-(PEG)$_n$-QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN（**配列番号：12**）

ｎ＝２～４、ＰＥＧ：ポリエチレングリコール
２～４残基にわたるアミノヘキサン酸（Ａｈｘ）またはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）を、２つのステープリングされたペプチドを接続するためのリンカーとして使用する（図８および９）。最適なＡｈｘリンカーの長さを、生化学的アッセイならびに細胞に基づくアッセイに基づいて経験的に決定する。
第５群：ＳＡＨ　ｐ５３－８－Ｔｃｆ－４
【０２８７】
【化１９】
QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN-(Ahx)$_n$-DELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ERDLS$_5$DVKS$_5$SLVN（**配列番号：13**）

QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN-(Ahx)$_n$-DELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ER$_8$DLADVKS$_5$SLVN（**配列番号：14**）

ｎ＝２～４、Ａｈｘ：アミノヘキサン酸、β－Ａｌａ：β－アラニン
第６群：Ｔｃｆ－４－ＳＡＨ　ｐ５３－８
【０２８８】
【化２０】
DELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ERDLS$_5$DVKS$_5$SLVN-(Ahx)$_n$-QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN（**配列番号：15**）

DELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ER$_8$DLADVKS$_5$SLVN-(Ahx)$_n$-QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN（**配列番号：16**）

ｎ＝２～４、Ａｈｘ：アミノヘキサン酸、β－Ａｌａ：β－アラニン
第７群：ＳＡＨ　ｐ５３－８－Ｔｃｆ－４
【０２８９】

【化２１】

QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN-(PEG)$_n$-DELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ERDLS$_5$DVKS$_5$SLVN

（配列番号：17）

QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN-(PEG)$_n$-DELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ER$_8$DLADVKS$_5$SLVN

（配列番号：18）

第８群：Ｔｃｆ－４－ＳＡＨ　ｐ５３－８

【０２９０】

【化２２】

DELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ERDLS$_5$DVKS$_5$SLVN-(PEG)$_n$-QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN

（配列番号：19）

DELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ER$_8$DLADVKS$_5$SLVN-(PEG)$_n$-QSQQTFR$_8$NLWRLLS$_5$QN

（配列番号：20）

２～４残基にわたるアミノヘキサン酸（Ａｈｘ）またはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）を、２つのステープリングされたペプチドを接続するためのリンカーとして使用する（図１０および１１）。最適なＡｈｘリンカーの長さを、生化学的アッセイならびに細胞に基づくアッセイに基づいて経験的に決定する。

【０２９１】

異種機能性（ｈｅｔｅｒｏｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ）クロスリンカーを使用して２つのペプチドドメインを繋ぎ合わせる。ＮＨＳエステルは、ペプチド１の第一級アミンを攻撃してアミド結合を形成し、マレイミド基がペプチド２のシステインなどの遊離のチオール基と反応する（図１２）。図１３に、ＮＨＳとマレイミドとの間の、２～２４単位にわたる典型的なスペーサーを示す。この種類のクロスリンカーを使用することの有利な点は、システインがペプチド２のどちらの末端に位置付けられていてもよいので（ペプチド１がすでに反応している場合）、架橋結合した生成ペプチドが特定の配置方向にある必要はないことである。図１４に、ＮＨＳ－マレイミドクロスリンカーを用いると、ペプチドのＮ末端またはＣ末端のいずれかにシステインが組み込まれている限りは、二機能性ペプチドをＮからＣへの方向、またはＮからＮへの方向のいずれでもつなぐことができることを示している。これにより、２つの配置方向のセグメント架橋がもたらされる：

配置方向１：

【０２９２】

【化２３】

SAH p53-8 - CDELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ERDLS$_5$DVKS$_5$SLVN（配列番号：21）

SAH p53-8 - CDELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ER$_8$DLADVKS$_5$SLVN（配列番号：22）

配置方向２：

【０２９３】

【化２４】

SAH p53-8 - DELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ERDLS$_5$DVKS$_5$SLVNC（配列番号：23）

SAH p53-8 - DELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ER$_8$DLADVKS$_5$SLVNC（配列番号：24）

（実施例２）
親和性の高いターゲティングドメインおよびエフェクタードメインを得るためのスクリーニング手順
二機能性のステープリングされたペプチドを、親和性の高い結合について、様々な手法を使用してスクリーニングする：
１）ステープリングされたペプチドの合成ライブラリー：そのようなスクリーニングの目的は、特異的なタンパク質に結合することができるステープリングされたペプチド配列を同定することである。スプリットプール（ｓｐｌｉｔ－ｐｏｏｌ）合成によってライブラリーを構築する。ペプチド配列は、ビーズ上で合成し（スプリットアンドプール（ｓｐｌｉｔ　ａｎｄ　ｐｏｏｌ））、それは定常サブユニット（ｐ５３、ＴＣＦ４、またはＡｘｉｎに由来するステープリングされたペプチドなど）および可変性サブユニットで構成される（図１５）。可変性サブユニットは、ｉ，ｉ＋４およびｉ，ｉ＋７アーキテクチャー（Ｘ＝ランダムなアミノ酸）、例えば：
ｉ，ｉ＋４：ＸＸＸ－S_5－ＸＸＳ－S_5－ＸＸ　１
ｉ，ｉ＋７：ＸＸＸ－R_8－ＸＸＳＳＸＸ－S_5　２
に基づいて設計することができる。
【０２９４】
配列２に対するコンビナトリアルライブラリー類似体を組み立てた。Ｘについて、１０アミノ酸の縮小セットを選択した（Ｒ、Ｑ、Ｆ、Ｌ、Ａ、Ｗ、Ｖ、Ｓ、Ｈ、Ｙ）。組み立てられた配列を、エドマン分解によって決定した。色素標識した標的タンパク質を、ビーズと相互作用するそれらの能力についてスクリーニングする（図１５）。ヒットの配列を、エドマン配列決定によって読み取る。別の手法では（図１６）、定常領域を使用して、酵素への結合を媒介する（例えば、ｐ５３－ＭＤＭ２相互作用）。酵素活性のおかげで、可変性配列に結合した第２のタンパク質を修飾することができる。その後のステップにおいて、誘導された修飾を検出し、選択基準として使用する。
【０２９５】
２）ファージディスプレイ：鋳型ヘリックスペプチドであるＡＰＰを、Ｍ１３ファージのｐＩＩＩコートタンパク質上で発現させる。２０種の天然に存在するアミノ酸のすべてをコードするすべてのコドンを使用して、少なくとも１０位を無作為化する。パニングすることによって陽性を同定する。エラープローンＰＣＲによって配列を最適化する。合成ペプチドを使用して親和性の高いヒットを確認する。
【０２９６】
３）酵母細胞表面ディスプレイ：２）に概説した通りに手順を行うが、ＡＰＰを、Ｓａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ　ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅの外側表面上で発現させる。
【０２９７】
（実施例３）
二機能性ペプチドにおいて使用するためのＡｘｉｎ由来のステープリングされたα－ヘリックス
追加的な変異体二機能性ペプチドを合成する：
【０２９８】
【化２５】

SAH p53-8 - DELISFKDEGEQE(β-Ala)$_2$ ERDLS$_5$DVKS$_5$SLVNC(**配列番号：23**)

実施例１と同様、Ｔｃｆ－４はＫｄが約１００ｎＭである。Ａｘｉｎ由来のステープリングされたα－ヘリックスを使用する（ＥＮＰＥＳ　ＩＬＤＥＨＶＱＲＶＭＲ、配列番号２５、Ｋｄ約３μＭ）。
【０２９９】

【化２６】

SAH p53-8 - NPE-S_5-ILD-S_5-HVQRVMR (配列番号 : 26)

SAH p53-8 - NPESILD-S_5-HVQ-S_5-VMR (配列番号 : 27)

SAH p53-8 - NPE-R_8-ILDEHV-R_5-RVMR (配列番号 : 28)

ステープリングされていない野生型配列の配列番号２５（Ｋｄ約３μＭ）と比較して親和性が増加する。さらに、これらの短い、すべてがヘリックスのペプチドは、らせん状のサブユニットと構造化されていないサブユニットとからなるＴＣＦ４由来の配列よりも高い細胞浸透性を示す。

【０３００】

（実施例４）

ｃ－Ｍｙｃを分解するための二機能性のステープリングされたペプチド

ｃ－Ｍｙｃは、細胞増殖、タンパク質の合成および代謝に関与する遺伝子のマスター制御因子であり、重要な正の細胞周期制御因子である。ｃ－Ｍｙｃは、すべてのヒト腫瘍の約３０％において不適切に活性化されており、したがってヒトのがんにおいてＫ－Ｒａｓの次に、２番目に頻繁に活性化される腫瘍性タンパク質であると考えられている［Ｎａｔ．　Ｒｅｖ．　Ｍｏｌ．　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．　９巻、８１０～５頁（２００８年）；Ｎａｔｕｒｅ　４５５巻、６７９～８３頁（２００８年）；Ｎａｔ．　Ｒｅｖ．　Ｍｏｌ．　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．　６巻、６３５～４５頁（２００５年）；Ｎａｔ．　Ｒｅｖ．　Ｍｏｌ．　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．　５巻、８０５～１０頁を参照されたい］。構造的に、ｃ－Ｍｙｃは、基本的なヘリックス－ループ－ヘリックスロイシンジッパー（ｂＨＬＨ－Ｚｉｐ）転写因子ファミリーのメンバーである。Ｃ－Ｍｙｃは、それ自身はモノマータンパク質であるが、遺伝子発現を制御するその能力は、パートナータンパク質であるｂＨＬＨ－Ｚｉｐファミリー、すなわちＭａｄ、Ｍａｘ、およびＭｘｉ－１とのＤＮＡ結合性ヘテロダイマーの形成に依存する。ｃ－Ｍｙｃの構造は公知である［ＮａｉｒおよびＢｕｒｌｅｙ、Ｃｅｌｌ　１１２巻、１９３～２０５頁（２００３年）］。Ｍａｘは特に、ｃ－Ｍｙｃとダイマーを形成し、ｃ－Ｍｙｃ／ＭａｘヘテロダイマーはＥ－ボックスヘキサヌクレオチドモチーフに結合する転写活性化因子として機能する。Ｍａｄ、およびＭｘｉ－１は、ｃ－Ｍｙｃ／ＭａｘヘテロダイマーのＭａｄおよびＭｘｉは、Ｍａｘとヘテロダイマーを形成し、ｃ－Ｍｙｃからパートナーを奪うことができる。Ｍａｘ／ＭａｄパートナーまたはＭａｘ／Ｍｘｉ－１パートナーはいずれも、活性化できない、または転写が活発に抑えられ、増殖阻害、静止状態、および／または細胞分化の状態が導かれる。Ｍａｘタンパク質は代謝的に安定であり、構成的に発現されるが、一方ｃ－Ｍｙｃ、Ｍａｄ、およびＭｘｉ－１は不安定であり、細胞における有糸分裂刺激のレベルに応答する。

【０３０１】

ｃ－Ｍｙｃの活性および安定性は、リン酸化およびユビキチン化によって制御されている。例えば、Ｔｈｒ５８におけるｃ－Ｍｙｃのリン酸化が増加することにより、ユビキチン化－プロテアソーム分解によるｃ－Ｍｙｃの分解が誘導され得る。ｃ－Ｍｙｃの分解の原因であるＥ３リガーゼ複合体は、Ｆ－ボックスタンパク質ＦＢＷ７と関連するＳＣＦ複合体である。Ｆｂｘｗ７（Ｆｂｗ７、Ｓｅｌ－１０、ｈＣｄｃ４、またはｈＡｇｏとしても公知である）により、ｃ－Ｍｙｃ、ｃ－Ｊｕｎ、サイクリンＥ、およびＮｏｔｃｈなどの細胞周期の正の制御因子の分解が誘導される。ＦＢＸＷ７は、多くの場合、ヒトのがんのサブセットにおいて突然変異している。

【０３０２】

例えば、プロテアソームによる分解が低下した結果としてｃ－ｍｙｃのレベルが増加することにより、がんが導かれ得る。しかし、異所的に活性なＳＣＦ（例えばＳｋｐ２の過剰発現による）も、ＳＣＦも$p27^{KIP1}$をプロテアソーム分解の標的とするので、がんに寄与する可能性がある。$p27^{KIP1}$は、サイクリン依存性キナーゼ（例えば、Ｃ

ＤＫ１およびＣＤＫ２）の阻害剤であり、細胞周期の重要な負の制御因子である。ｐ２７ＣＫＩが分解されることにより、いくつかの種類のヒトのがんにおける腫瘍の攻撃性および予後の悪化が増加する。

【０３０３】

本明細書に記載の二機能性ペプチドを使用してＳＣＦまたは別のＥ３リガーゼをｃ－Ｍｙｃに特異的にターゲティングすることの主要な有利な点は、例えば、ｐ２７^{ＫＩＰ１}などの他の因子の分解を同時に誘導することなく、ｃ－Ｍｙｃ分解を特異的に誘導することができることである。

【０３０４】

ｃ－ＭｙｃとＥ３リガーゼを繋ぎ止めてｃ－Ｍｙｃの分解を促進する、ターゲティングドメインおよびエフェクタードメインを含む二機能性ペプチドを合成する。さらに、ｃ－Ｍｙｃと、ｃ－Ｍｙｃのリン酸化、例えば、Ｔｈｒ５８のリン酸化を増加させるキナーゼを繋ぎ止めてｃ－Ｍｙｃの分解を促進する、ターゲティングドメインおよびエフェクタードメインを含む二機能性ペプチドを合成する。さらに、ＭａｘをＭａｄまたはＭｘｉ－１のいずれかと構成的に（これはマイトジェン刺激に非依存性であることを意味する）繋ぎ止めてｃ－Ｍｙｃからその活性化パートナーを奪い、ｃ－Ｍｙｃを不活性化する、ターゲティングドメインおよびエフェクタードメインを含む二機能性ペプチドを合成する。

【０３０５】

（実施例５）

ＨＩＦを分解するための二機能性のステープリングされたペプチド

低酸素誘導因子（ＨＩＦ）は、血管形成、グルコースの利用、および低酸素ストレスに対する耐性に関与する遺伝子を調節する転写制御タンパク質である。ＨＩＦは、１０分の数ミリメートルよりも大きな腫瘍塊が形成されるために必要な前提条件である低酸素症に誘導されるアポトーシスを免れるので、固形腫瘍の増殖のために不可欠であると考えられている。つい最近、ＨＩＦは、エネルギー利用、普通は休止していると思われる細胞状態にある解糖遺伝子の発現を上方制御することにおいても極めて大きな役割を有することが認識された。このことにより、ＨＩＦを阻害することが、固形がんおよび血液由来のがんの両方の治療において有用になるという興味深い可能性が生じる。ＨＩＦは、誘導性サブユニットの１つのユニットであるＨＩＦ－１α、およびＡＲＮＴまたはＨＩＦ－１βとして公知である構成的なサブユニットで構成されるヘテロダイマーである。どちらのサブユニットも、塩基性ヘリックス－ループ－ヘリックス構造ファミリー（ｂＨＬＨ）のメンバーであり、したがってｃＭｙｃに構造的に関連するが、ＨＩＦサブユニットはどちらも、ｃ－Ｍｙｃのロイシンジッパーモチーフを欠いている。

【０３０６】

ＨＩＦα活性は、２つの特異的なプロリル残基および１つの決定的なアスパラギニル残基の、オキソグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼＰＨＤ１－３よる酵素的な酸素依存性ヒドロキシル化およびＨＩＦ阻害因子と称されるタンパク質（ＦＩＨ）によって制御される。プロリルヒドロキシル化により、ＨＩＦαがｖｏｎ　Ｈｉｐｐｅｌ－Ｌｉｎｄａｕ（ＶＨＬ）複合体に媒介されてユビキチン化され、その結果としてプロテアソームによって分解される。同様に、アスパラギニルヒドロキシル化により、ＨＩＦα鎖によるＣＢＰ／ｐ３００活性化補助因子の動員が阻害される（Ｂｒｕｉｃｋ　＆　ＭｃＫｎｉｇｈｔ、２００２年）。ＶＨＬ遺伝子の不活性化（例えば、突然変異による）は、高度に血管新生した腫瘍の発生と関連づけられる。

【０３０７】

ＨＩＦ－１αまたはＨＩＦ－１βとＥ３リガーゼを繋ぎ止めてＨＩＦ－１αまたはＨＩＦ－１βの分解を促進するターゲティングドメインおよびエフェクタードメインを含む二機能性ペプチドを合成する。

【０３０８】

（実施例６）

突然変異型ＲａｓのＧＴＰアーゼ機能を促進するための二機能性ペプチド

Ｒａｓは、遺伝子発現、細胞増殖、および受容体からマイトジェン活性化プロテインキナーゼ（ＭＡＰＫ）までの経路を経由する分化の調節を制御する分子スイッチとして作動する低分子ＧＴＰ結合性タンパク質である。ヒトＲａｓ遺伝子（Ｈ－Ｒａｓ、Ｎ－ＲａｓおよびＫ－Ｒａｓ）における発癌性突然変異はヒトのがんの３０％で観察される。膵臓腫瘍、結腸腫瘍、および肺腫瘍は、ほとんどの場合、Ｒａｓ突然変異と関連する。大部分の突然変異は、Ｋ－Ｒａｓ遺伝子において検出されており、それらは一般にはコードするＧＴＰアーゼのＧＴＰ加水分解の触媒部位を占有する３つのアミノ酸位（１２、１３、または６１）の１つにおけるミスセンス置換を伴う。突然変異した形態のＲａｓは、ＧＴＰに結合したままであり、細胞増殖に対する構成的なシグナルを伝達する。

【０３０９】

Ｒａｓ　ＧＴＰアーゼの内因性の触媒活性は非効率的であり、オフのスイッチとして機能するＧＴＰアーゼ活性化タンパク質（ＧＡＰ）を必要とする。ｐ１２０Ｒａｓ　ＧＡＰ、ニューロフィブロミン（ＮＦ－１）、ＳｙｎＧＡＰおよびＧＡＰ１ファミリーを含めた４種類のＲａｓ特異的ＧＡＰが同定されている。Ｒａｓ突然変異性置換により、内因性のＧＴＰアーゼ活性が減弱し、Ｒａｓ特異的ＧＡＰによるＧＴＰアーゼ刺激に対する耐性が導かれる。

【０３１０】

発癌性ＲａｓにおけるＧＴＰアーゼ欠損は、水分子を求核性の攻撃に対して活性化するＲａｓのグルタミン６１、および内因性のＧＴＰアーゼ活性およびＧＡＰ刺激されたＧＴＰアーゼ活性の両方を無効にする、任意の他のアミノ酸でのグルタミン６１の置換に一部基づく。Ｒａｓ－ＲａｓＧＡＰ複合体の結晶構造により、どちらもグルタミン６１に代わり、ＧＡＰの触媒作用に関する「アルギニンフィンガー」（Ｒ７８９）を立体的に遮る側鎖のグリシン１２位またはグリシン１３位の任意の突然変異により、内因性のＧＴＰアーゼ活性を活性化するＲａｓプロリン１２突然変異体は例外でとして、内因性のＧＴＰアーゼ活性およびＧＡＰ刺激されたＧＴＰアーゼ活性が損失することが明らかになった［Ｓｃｈｅｆｆｚｅｋら、Ｓｃｉｅｎｃｅ、（１９９７年）２７７巻：３３３～３３８頁］。Ｒａｓプロリン１２は、培養細胞を形質転換することができず、これは、発癌性Ｒａｓ突然変異体のＧＴＰアーゼ活性が部分的に回復することにより発癌が予防され得ることを示唆している。

【０３１１】

Ｒａｓを標的とするために設計された小分子に基づく療法は、現在酵素ＦＴアーゼの阻害に基づいている。ＦＴアーゼは、Ｒａｓの機能に不可欠な翻訳後修飾であるＲａｓのＣＯＯＨ末端のファルネシル化を触媒する。しかし、これらの阻害剤は、発癌型のＲａｓを選択的に標的とせず、通常の細胞において必要とされる野生型Ｒａｓの機能を破壊する恐れがある。Ｆｉｓｃｈｂａｃｈら［Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ（２００３年）６３巻、４０８９～４０９４頁］は、ヌクレオシド二リン酸キナーゼ（Ｎｄｋ、ヒトオルソログ　ＮＭ２３）が、ＲａｓＤ１２を含めたヒトのがんにおいて頻繁に見られる発癌型のＲａｓのいくつかを有効に不活性化する転移抑制因子であり、野生型Ｒａｓまたは活性型のＲａｓ関連Ｒｈｏ　ＧＴＰアーゼに検出可能に影響を及ぼさないことを示した。

【０３１２】

本発明の二機能性ペプチドを使用してＧＡＰおよび／またはＮｄｋと突然変異型Ｒａｓを繋ぎ止めてＧＴＰアーゼ機能を促進する。

【０３１３】

（実施例７）

ＳＴＡＴのリン酸化の二機能性ペプチド

Ｒａｓおよび／またはｃ－Ｍｙｃの下流エフェクター、例えば、ＳＴＡＴ３およびＳＴＡＴ５などを直接修飾するための代替の手法を、本発明の二機能性ペプチドを使用して改変することができる。ＳＴＡＴ３およびＳＴＡＴ５は、多くのがんにおいて、例えばＲａｓおよび／またはｃ－Ｍｙｃが形質転換したがんにおいてリン酸化されており、活性である。ある特定のがんにおいて発癌性Ｒａｓまたはｃ－Ｍｙｃを不活性化することにより、

ＳＴＡＴ３およびＳＴＡＴ５が脱リン酸化され、がんが退縮する。本発明の二機能性ペプチドを使用して、特異的なホスファターゼをＳＴＡＴ３および／またはＳＴＡＴ５に繋ぎ止めて、ＳＴＡＴ３および／またはＳＴＡＴ５を脱リン酸化する。

【０３１４】

（実施例８）

標的ユビキチン化による転写因子の分解

エフェクタードメイン（Ｅ）を、ＭＤＭ２またはＦＢＸＷ７などのユビキチン－リガーゼタンパク質に結合し、それを動員することができるシグナルペプチドまたは小分子として設計する。例えばβ－カテニン、Ｎｏｔｃｈ、およびｃ－Ｍｙｃにおいて、例えば、標的タンパク質の野生型ユビキチン化部位が突然変異しており、これらの部位においてユビキチン化がもはや起こらない場合に、エフェクタードメイン（Ｅ）に結合したユビキチン－リガーゼタンパク質とターゲティングドメイン（Ａ）に結合した転写因子（または転写因子複合体）の接近により、ユビキチン化が増強される、またはユビキチン化が回復する。転写因子がユビキチン化されることにより、プロテアソーム分解が導かれる（図１７参照）。例えば、エフェクタードメイン（Ｅ）は、ＭＤＭ２またはＭＤＭＸに結合し、それを動員することができるＦＸＸＦＦモチーフを含有するステープリングされたペプチド；ｐ５３活性化ドメイン１：ステープリングすることができる、かつ／または、非天然アミノ酸を含んでよいＡｃ－ＬＳＱＥＴＦＳＤＬＷＫＬＬＰＥ－ＣＯＮＨ$_2$（配列番号３５）；Ｎｕｔｌｉｎ－３などのＭＤＭ２に結合することができる小分子；またはＦＢＸＷ７Ｅ３－ユビキチンリガーゼに結合することができるペプチドに従って設計する。以下のステープリングされたペプチドがエフェクタードメインとして有用である：

【０３１５】

【化２７】

Ac-LSQETFS*LWK*LPE-CONH$_2$ **（配列番号：36）**

Ac-QSQQTF#NLWRKK*QN-CONH$_2$ **（配列番号：37）**

Ac-QSQQTF*NLW*KKQN-CONH$_2$ **（配列番号：38）**

Ac-LSQNTFS*LWK*LPQ-CONH$_2$ **（配列番号：39）**

「＊」は非天然アミノ酸Ｓ５であり、「＃」は非天然アミノ酸Ｒ８である。いずれの配列においても、これらのアミノ酸は架橋している。

【０３１６】

ターゲティングドメインＡの任意の部分は、リンカーＬを通じてエフェクタードメインＥの任意の部分に連結されていてよい。例えば、この連結は、Ｎ末端とＮ末端の連結である、この連結はＣ末端とＮ末端の連結である、この連結はＣ末端とＣ末端の連結である、またはこの連結は、ペプチドの一方または両方の内部アミノ酸を通じた連結である。この連結は、一般には、ペプチドの結合活性を妨害することを回避し、かつ／またはペプチドのステープリングを妨害することを回避するように位置付ける。リンカーは、タンパク質新生性または非タンパク質新生性であってよい。リンカーは、共有結合（例えば、炭素－炭素結合、ジスルフィド結合、炭素－ヘテロ原子結合）であってよい、または、リンカーはポリマーリンカー（例えば、ポリエチレン、ポリエチレングリコール、ポリアミド、ポリエステル）であってよい。リンカーは、アミノアルカン酸のモノマー、ダイマー、またはポリマーを含んでよい、またはリンカーは、アミノアルカン酸（例えば、グリシン、エタン酸、アラニン、ベータアラニン、３－アミノプロパン酸、４－アミノブタン酸、５－ペンタン酸）を含んでよい。例えば、リンカーは、アミノヘキサン酸（Ａｈｘ）のモノマー、ダイマー、もしくはポリマーまたはポリエチレングリコール部分（ＰＥＧ）を含んでよい。リンカーは、アミノ酸を含んでよい。リンカーは、ペプチド由来の求核試薬（例えば、チオール、アミノ）がリンカーに付着することを容易にするための官能化された部分を含んでよい。リンカーは、マレイミド基またはＮＨＳエステルを含んでよい、またはリンカーは、ＮＨＳエステルおよびマレイミド基の両方を含む。

【０３１７】
（実施例９）
コリプレッサーを動員することによる転写因子の標的遺伝子の抑制
エフェクタードメイン（Ｅ）を、転写因子の標的遺伝子プロモーターにおける有効な抑制および／または後成的な変化を通じた抑制、例えばＨＤＡＣに媒介されるクロマチン凝縮を通じた抑制を課すコリプレッサー、ヒストン脱アセチル化酵素（ＨＤＡＣ）、または他の一般的な転写抑制因子に結合し、それを動員することができるドメインとして設計する（図１８参照）。エフェクタードメイン（Ｅ）を、コリプレッサータンパク質、例えば、Ｇｒｏｕｃｈｏ／ＴＬＥ１、ＳＨＡＲＰ、ＮＣｏＲ、ＮＣｏＲ２、ＳＭＲＴ、ＢＣｏＲ、または他のコリプレッサータンパク質などに結合することができるシグナルペプチドまたは小分子として設計する。
【０３１８】
例えば、転写因子に見られ、Ｇｒｏｕｃｈｏ／ＴＬＥ１コリプレッサーを標的プロモーターに動員するために不可欠かつ十分であることが公知であるエングレイルド相同（Ｅｈ１）ドメインを設計する。このドメインは、相互作用に関して短いペプチド配列に依存する：Ａｃ－ＴＰＦＹＩＥＤＩＬＧ－ＣＯＮＨ$_2$（配列番号４０）。「Ａ」に繋ぎ止められている「Ｅ」ペプチドまたはこのドメインのペプチド模倣体により、標的－遺伝子抑制が実行される。
【０３１９】
別の例では、そのＰＡＨドメインを通じてＳｉｎ－３抑制複合体に結合し、それを保持するＭａｄ１の両親媒性のアルファヘリックスを設計する（図２４Ａ参照）。このペプチド配列の天然の変異体またはステープリングされた変異体は、有効な「Ｅ」ドメインとして役立つ：Ａｃ－ＶＲＭＮＩＱＭＬＬＥＡＡＤＹＬＥＲＲＥＲ－ＣＯＮＨ$_2$（配列番号４１）。
【０３２０】
Ｍａｄ１由来のステープリングされた「Ｅ」ドメインの例：
【０３２１】
【化２８】

Ac-VRMNIQMLLEA*DYL*RRER-CONH$_2$ (配列番号：67)

Ac-VRMNIQM*LEA*DYLERRER-CONH$_2$ (配列番号：68)

Ac-VRMNIQML#EAADYL*RRER-CONH$_2$ (配列番号：69)

Ac-VRM*IQM*LEAADYLERRER-CONH$_2$ (配列番号：70)

「＊」は非天然アミノ酸Ｓ５であり、「＃」は非天然アミノ酸Ｒ８である。いずれの配列においても、これらのアミノ酸は架橋している。
【０３２２】
（実施例１０）
核外移行配列（ＮＥＳ）を含有する二機能性ペプチドを用いた標的核外移行による転写因子の阻害
エフェクタードメイン（Ｅ）を、核外移行機構に結合し、それを動員し、したがって、「Ａ」－転写因子複合体を細胞質ゾルへの核外移行にターゲティングことができるドメインとして設計する。ＣＲＭ１などのエクスポーチンによる能動輸送により、転写因子の機能が空間的に妨げられることによって転写因子－特異的な遺伝子発現プログラムが無効になる（図１９参照）。エフェクタードメイン「Ｅ」を、ＣＲＭ１（エクスポーチン１）などの核外移行タンパク質に結合することができるシグナルペプチドまたは小分子として設計する。ＮＥＳドメインと相互作用する多くのＣＲＭ１が発見されており、それは通常５～６残基の疎水性コアを持つ１０～２０残基のペプチドからなる。例えば、様々な融合タンパク質カーゴを輸送することが見いだされているデングウイルスＮＳ５タンパク質のＨＲ３ドメインが、そのようなドメインである。標的転写因子の核外移行を促進する「Ｅ」

ペプチド融合物：Ａｃ－ＬＬＴＫＰＷＤＩＩＰＭＶＴＱＭＡＭ－ＣＯＮＨ$_2$（配列番号７１）を作出する（Ｒａｗｌｉｎｓｏｎ　ＳＭら、Ｊ．Ｂ．Ｃ．　２００９年、２８４巻、１５５８９～９７頁）。ＣＲＭ１と相互作用する、短い、よく特徴づけられたＮＥＳの別の例は、ＨＩＶ－１　ＲＥＶタンパク質の活性化ドメイン由来のものである。「Ｅ」融合物：Ａｃ－ＣＬＲＲＬＥＲＬＴＬ－ＣＯＮＨ$_2$（配列番号７２）は、融合タンパク質の輸送を促進し、さらに突然変異体（ＬＥからＤＬへ）が不活性であることが示されており、これは特異的な相互作用を示している（Ｆｉｓｃｈｅｒ　Ｕら、Ｃｅｌｌ、１９９５年、８２巻、４７５～８３頁）。

【０３２３】

（実施例１１）

核局在化配列（ＮＬＳ）を含有する二機能性ペプチドを用いた標的核内移行による転写因子の活性化

エフェクタードメイン（Ｅ）を、核内移行タンパク質に結合させるための核局在化配列（ＮＬＳ）を含む、または模倣するシグナルペプチドまたは小分子として設計する（図２０参照）。Ｉｍｐαを標的とし、それに結合することが公知であるＮＬＳ配列を設計する。

例示的なＮＬＳ配列は：

【０３２４】

【化２９】

SV40 T-抗原 ： Ac-PKKKRKVE-$CONH_2$ （配列番号：42）；

ヌクレオプラスミン： Ac-KRPAATKKAGQAKKKKLD-$CONH_2$ （配列番号：43）；

c-Myc: Ac-PAAKRVKLD-$CONH_2$ （配列番号：44）.

（Ｇｏｒｌｉｃｈ　ＤおよびＫｕｔａｙ　Ｕ．Ａｎｎｕ．Ｒｅｖ．Ｃｅｌｌ　Ｄｅｖ．Ｂｉｏｌ．　１９９９年、１５巻：６０７～６０頁）

（実施例１２）

コアクチベータータンパク質の動員による合成的な転写因子の活性化

エフェクタードメイン（Ｅ）を、特異的な転写コアクチベータータンパク質または基礎的な転写装置の構成要素に結合し、それを動員することができるペプチドまたは小分子として設計する。合成的な転写活性化により、特異的な転写因子によって駆動される遺伝子発現を増大させること、または例えば、突然変異によって不適切に抑止されている転写因子を基礎的な遺伝子発現レベルに戻すことが可能になる（図２１参照）。

【０３２５】

コアクチベーター結合ドメインを含む、または模倣するシグナルペプチドまたは小分子を設計する。また、ＴＡＦＩＩタンパク質および／またはＲＮＡポリメラーゼなどの基礎的な転写タンパク質を特異的に認識し、それを動員することができる分子を、野生型として設計する、または非天然アミノ酸およびペプチドをステープリングすることによって合成的に修飾する。特に、ＣＢＰ／ｐ３００のＫＩＸドメインは、転写因子が標的として、コアクチベータータンパク質を局在化させ、それを保持する２つの別個の結合部位を有する（図２４Ｂ参照）。これらの結合部位をターゲティングする適切なアルファヘリックスペプチド「Ｅ」ドメインとしては、

【０３２６】

【化３０】

p53 AD1: Ac-LSQETFSDLWKLLPE-$CONH_2$ (配列番号：45)

p53 AD2: Ac-MLSPDDIEQWFTEDPG-$CONH_2$ (配列番号：46)

MLL: Ac-ILPSDIMDFVLKNTP-$CONH_2$ (配列番号：47)

c-Jun: Ac-LASPELERLIIQSSN-$CONH_2$ (配列番号：48)

HLTV-TAX: Ac-YIDGFVIGSALQFLIPRLP-$CONH_2$ (配列番号：49)

c-MYB: Ac-KEKRIKELELLLMSTENELKG-$CONH_2$ (配列番号：50)

pKID: Ac-ILSRRPSYRKILNDLSSDAPG-$CONH_2$ (配列番号：51)

が挙げられる。

【０３２７】

ｃ－Ｍｙｂに由来するステープリングされた「Ｅ」ペプチドは

【０３２８】

【化３１】

Ac-KEKRIKELEL*LMS*ENELKG-$CONH_2$ (配列番号：52)

Ac-KEKRIK*LEL*LMSTENELKG-$CONH_2$ (配列番号：53)

Ac-KE*RIK*LELLLMSTENELKG-$CONH_2$ (配列番号：54)

Ac-KEKRIK#LELLLM*TENELKG-$CONH_2$ (配列番号：55)

K*KRI*ELELLLMSTENELKG (配列番号：73)

K*KRI*RLELLLMSTENELKG (配列番号：74)

KE*RIK*LELLLMSTENELKG (配列番号：75)

KR*RIK*LELLLMSTENELKG (配列番号：76)

KE*RIKELE*LLMSTENELKG (配列番号：77)

KE*RIKRLE*LLMSTENELKG (配列番号：78)

KR*RIKELE*LLMSTENELKG (配列番号：79)

KEKRIKELELLLMSTE*ELK* (配列番号：80)

である。

【０３２９】

ＭＬＬに由来するステープリングされた「Ｅ」ペプチド：

【０３３０】

【化３２】

Ac-*ILP*DIMDFVLKNTP-$CONH_2$ （配列番号：56）

Ac-ILP*DIM*FVLKNTP-$CONH_2$ （配列番号：57）

Ac-ILPSDIM*FVL*NTP-$CONH_2$ （配列番号：58）

Ac-ILPSDIMDFV*KNT*-$CONH_2$ （配列番号：59）

Ac-#ILPSDI*DFVLKNTP-$CONH_2$ （配列番号：60）

ILP*DIM*FVLKNT （配列番号：81）

ILP*RIM*FVLKNT （配列番号：82）

ILPSDIM*FVL*NT （配列番号：83）

ILPSRIM*FVL*NT （配列番号：84）

ｐ－ＫＩＤに由来するステープリングされた「Ｅ」ペプチド（任意のセリン残基、具体的にはＳｅｒ１３３は、ネイティブなｐＫＩＤ：ＫＩＸ相互作用において存在するのと同様にリン酸化されていてよい）：

【０３３１】

【化３３】

Ac-ILSRRPSY*KIL*DLSSDAPG-$CONH_2$ （配列番号：61）

Ac-ILSRRPSYRKIL*DLS*DAPG-$CONH_2$ （配列番号：62）

Ac-ILSR*PSY*KILNDLSSDAPG-$CONH_2$ （配列番号：63）

Ac-ILSRRPSYR*ILN*LSSDAPG-$CONH_2$ （配列番号：64）

Ac-ILSRRP#YRKILN*LSSDAPG-$CONH_2$ （配列番号：65）

Ac-ILSRRPSYRKILNDLSSDAPG-$CONH_2$ （配列番号：66）

「＊」は非天然アミノ酸Ｓ５であり、「＃」は非天然アミノ酸Ｒ８である。いずれの配列においても、これらのアミノ酸は架橋している。

【０３３２】

（実施例１３）

繋ぎ止められたエフェクタードメインによる一般的な転写因子の翻訳後修飾

エフェクタードメイン（Ｅ）を、キナーゼ、アセチルトランスフェラーゼ、ホスファターゼ、グリコトランスフェラーゼ、脂質トランスフェラーゼ、および転写因子の機能を変化させることが公知の他の酵素を含めた特異的な翻訳後修飾酵素または複合体に結合し、それを動員することができるペプチドまたは小分子を含むように設計する（図２２参照）。

【０３３３】

（実施例１４）

二機能性のステープリングされたペプチドの設計および合成

Ｎｏｔｃｈ：ＣＳＬ転写因子複合体に結合することができる設計されたステープリングされたペプチドであるＳＡＨＭ１などの転写因子ターゲティングリガンドを、ターゲティングドメイン（Ａ）として設計する。例えば、ＳＡＨＭ１：Ａｃ－Ｂａｌａ－ＥＲＬＲＲＩ＊ＬＣＲ＊ＨＨＳＴ－$CONH_2$（配列番号７３）、ここで「＊」は非天然アミノ酸Ｓ５である、を設計し、ここで、ＳＡＨＭ１はＮｏｔｃｈ：ＣＳＬ転写複合体に結合することができる（その全体が参照により本明細書に組み込まれるＷＯ２００８／０６１１９２）。

【０３３４】

細胞機構に結合し、それを対象の転写因子に動員することができる「Ｅ」－エフェクタ

ードメインを設計する。目的は、繋ぎ止められた形態の「Ａ」および「Ｅ」を、それらの標的に結合するために、それらがそれぞれ独立に、機能的に活性であるように合成することである。しかし、繋ぎ止めることを通じて、それらの機能が連結され、それによってエフェクタータンパク質の対象のＴＦに対する影響が実行される。リンカー合成を図２３に概説した通りに行う。

【０３３５】

（実施例１５）

ステープリングされた抑制ドメイン

Ｓｉｎ３と結びついたエフェクタードメインに基づいてステープリングされた抑制ドメインを開発し、分析した（図２４Ａ）。Ｓｉｎ３タンパク質は、ＨＤＡＣ活性に関連する１．２ＭＤａの多タンパク質コリプレッサー複合体の一部分である進化上保存された抑制因子である。Ｓｉｎ３複合体のコアサブユニットとしては、ＨＤＡＣ１、ＨＤＡＣ２、ＲｂＡｐ４６／４８、ＲＢＰ１、ＳＡＰ１３０、ＢＲＭＳ１、ＳＤＳ３、ＳＡＰ３０、およびＳＡＰ１８が挙げられる。Ｓｉｎ３は、対両親媒性ヘリックス（ｐａｉｒｅｄ　ａｍｐｈｉｐａｔｈｉｃ　ｈｅｌｉｘ）（ＰＡＨ）ドメインと称されるタンパク質間相互作用モジュールである４つの保存された１００アミノ酸の不完全な繰返しを含有する。ＰＡＨ１は、Ｏｐｉ１、Ｐｆ１、ＮＲＳＦ、Ｎ－ＣｏＲ、およびＳＭＲＴと相互作用すると考えられている。ＰＡＨ２ドメインは、例えばＭａｄタンパク質ファミリーメンバー、Ｓｐ１様抑制因子タンパク質、ＨＢＰ１、Ｐｆ１、および酵母Ｕｍｅ６と相互作用する。腫瘍抑制因子Ｍａｄの、細胞増殖を阻害する能力および転写を抑制する能力はＳＩＤ（Ｓｉｎ３相互作用ドメイン）と称されるＮ末端Ｎ^{8}ＩＱＭＬＬＥＡＡＤＹＬＥ^{20}ドメインに依存している。核磁気共鳴実験において、Ｍａｄ　ＳＩＤは、両親媒性ヘリックスに折りたたまれており、４ヘリックスバンドルに折りたたまれているＳｉｎ３のＰＡＨ２ドメインと接触している（Ｂｒｕｂａｋｅｒ，　Ｋ．ら、Ｃｅｌｌ　１０３巻、６５５～６６５頁（２０００年））。Ｍａｄファミリーメンバーについてのコンセンサス配列は、以下の変性配列を含むと考えられている：ΦＺＺΦΦＸＡＡＸＸΦｎＸＸｎ、Ｘは任意の非プロリン残基であり、Φはかさのある疎水性残基であり、ｎは負に荷電した残基である（Ｇｕｅｚｅｎｎｅｃら、Ｎｕｃｌ．　Ａｃｉｄ　Ｒｅｓ．　３４巻（１４号）：３９２９～３９３７頁（２００６年））。

【０３３６】

ペプチドＳＩＤ１～ＳＩＤ９を合成した：

【０３３７】

【化３４】

長い SID (5-28):　VRMNIQMLLEAADYLERREREAEH （配列番号：85）

短い SID (5-24):　VRMNIQMLLEAADYLERRER （配列番号：86）

コンセンサス：ＸＸＸΦＺＺΦΦＸＡＡＸＸΦＥＸ

【０３３８】

【化３５】

SID1: βAla-ERLRRRI*MLL*AANYLER （配列番号：87）

SID2: βAla-VRRRI*MLL*AANYLER （配列番号：88）

SID3: βAla-VRRRIQRLL*AAN*LER （配列番号：89）

SID4: βAla-VRMNIQMLLQAANR*ERR*R （配列番号：90）

SID5: βAla-VRRRIQMLLEAANK*ERR*R （配列番号：91）

SID6: βAla-VRMNIQMLLQAANRLERR*REA*H （配列番号：92）

SID7: βAla-VRRRIQMLLEAANKLERR*REA*H （配列番号：93）

SID8: βAla-VRMNIQMLL*AAN*LER （配列番号：94）

SID9: βAla-VRMNI*MLL*AANYLER （配列番号：95），

「＊」は非天然アミノ酸Ｓ５であり、これらのアミノ酸は架橋している。図２５Ｂは、野生型ＳＩＤと比較した、解離定数（K_D）を決定するために使用した、ＳＩＤ２およびＳＩＤ５についての試料の蛍光偏光の実験データを示す。Ｓｉｎ３結合アッセイを、ＦＩＴＣ－ＳＩＤペプチド（１０ｎＭ）を、５０ｍＭのＮａＣｌ、１ｍＭのＤＴＴ、１０ｍＭのトリスの緩衝液中Ｓｉｎ３の段階希釈を用いて、ｐＨ７．４でインキュベートすることによって実施した。希釈およびインキュベーションは、３８４ウェルの黒い平底プレート（Ｃｏｒｎｉｎｇ）において総容積１００μＬにして行い、２時間インキュベートした。偏光を、Ｓｐｅｃｔｒａｍａｘ－Ｍ５マルチラベルプレートリーダーにおいて、λ_{ex}＝４８５ｎｍおよびλ_{em}＝５２５ｎｍで測定した。偏光を、標準の方程式：Ｐ＝（Ｖ－Ｈ）／（Ｖ＋Ｈ）、式中、Ｐ＝偏光、Ｖ＝垂直方向の発光強度およびＨ＝水平方向の発光強度に従って算出した。K_d値を、Ｋａｌｅｉｄａｇｒａｐｈを使用してデータを可変勾配シグモイド結合曲線（ｖａｒｉａｂｌｅ－ｓｌｏｐｅ ｓｉｇｍｏｉｄａｌ ｂｉｎｄｉｎｇ ｃｕｒｖｅ）にあてはめることによって決定した。

【０３３９】

図２５Ｃに、ＦＩＴＣ－コンジュゲート型のＳＩＤシリーズのペプチドで処置したＨｅＬａ細胞の共焦点顕微鏡画像を示す。ＳＩＤ２およびＳＩＤ５が頑強な細胞浸透を示している。ＨｅＬａ細胞をチャンバースライド上で一晩増殖させた。ＤＭＳＯ原液中１０ｍＭのＦＩＴＣ－ＳＩＤペプチドを細胞培地に最終的な濃度１０μＭまで希釈し、１０μＭのＤＭＳＯ対照を伴った。細胞をペプチド／ビヒクル溶液中、３７℃で６時間インキュベートし、次いで培地およびＰＢＳで徹底的に洗浄し、４％パラホルムアルデヒドで固定した。スライドを、ＤＡＰＩを伴うＶｅｃｔａｓｈｉｅｌｄ（商標）Ｈａｒｄｓｅｔで染色した。Ｚｅｉｓｓ７１０共焦点顕微鏡を用いて画像を取得した。

【０３４０】

（実施例１６）

二機能性のステープリングされたペプチドに対する共有結合性のコンジュゲーション戦略

図２７に、２つのステープリングされたペプチドを、化学的リンカーを介して結びつける例示的なコンジュゲーション戦略の概要を提供する（図２７）。例えば、チオール（－ＳＨ）基およびマレイミド基を、チオール－マレイミドのコンジュゲートを生成するための反応性基として使用した。基を４：１のＰＢＳ／CH_3CN溶液中、ｐＨ７．４で反応させた（図３０）。アジド（N_3）基を、有機溶媒または水性溶媒中で$Cu^{I}/^{II}$触媒および還元剤を使用してアルキン基と反応させて１，４－トリアゾール部分または１，５－トリアゾール部分を得た。様々な長さおよび立体配列のアルキン／アジド反応性基を使用することができる。

【０３４１】

ステープリングされたペプチドのＭｍｔ保護したリジン残基を１：４：９５（ｖｏｌ／ｖｏｌ）のトリフルオロ酢酸（ＴＦＡ）：トリイソプロピルシラン（ＴＩＳ）：ジクロロメタン（ＤＣＭ）を含有する溶液と反応させて、樹脂をカップリングさせた、マレイミドを含有するステープリングされたペプチドを生成した。脱保護したアミンを含有するステープリングされたペプチドを、ＤＭＦ／ジイソプロピルエチルアミン中でＮＨＳ－マレイミドとカップリングさせ、生じたマレイミドを含有するステープリングされたペプチドから、２．５：２．５：９５（ｖｏｌ／ｖｏｌ）の水：ＴＩＳ：ＴＦＡを含有する溶液中で標準のペプチド切断および脱保護を使用して樹脂を切断した（図２８）。

【０３４２】

チオールを含有するステープリングされたペプチドを、樹脂をカップリングした、システインを含有する、保護された、ステープリングされたペプチドから生成した。２．５：２．５：９５（ｖｏｌ／ｖｏｌ）の水：ＴＩＳ：ＴＦＡを含有する溶液中で標準のペプチド切断および脱保護を使用して、樹脂からのペプチドの分離を実現した（図２９）。

【０３４３】

図３１に、チオールを含有するステープリングされたペプチド（上部のパネル）、マレイミドを含有するステープリングされたペプチド（中央のパネル）、および反応したコンジュゲート型の二機能性のステープリングされたペプチド（下部のパネル）の質量スペクトルを示す。図３２は、ＨＰＬＣ－精製したコンジュゲート型の二機能性チオール－マレイミドステープリングされたペプチドの質量スペクトルを示す。

【図１】

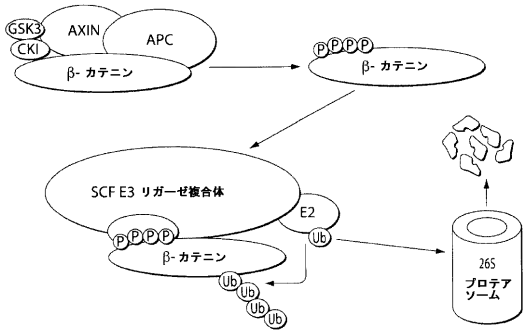


Fig. 1

【図２】

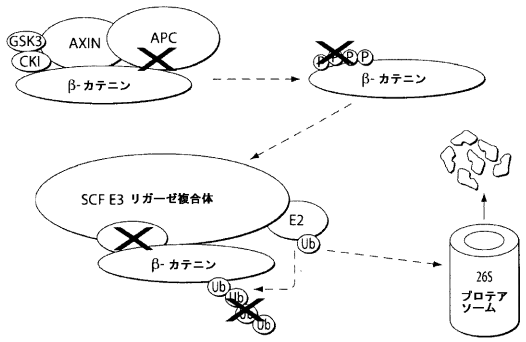


Fig. 2

【図３】

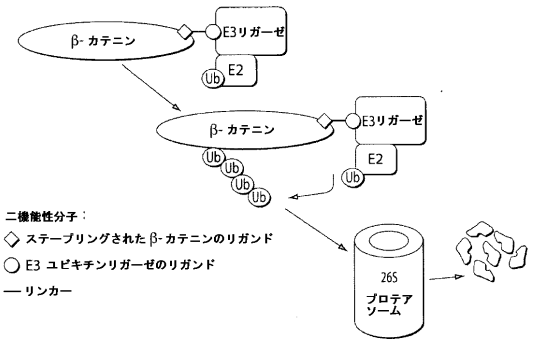


Fig. 3

【図４】

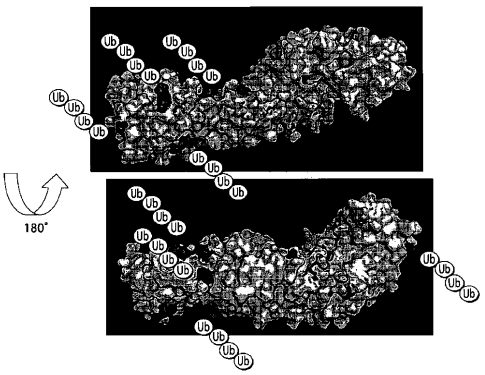


Fig. 4

【図５】

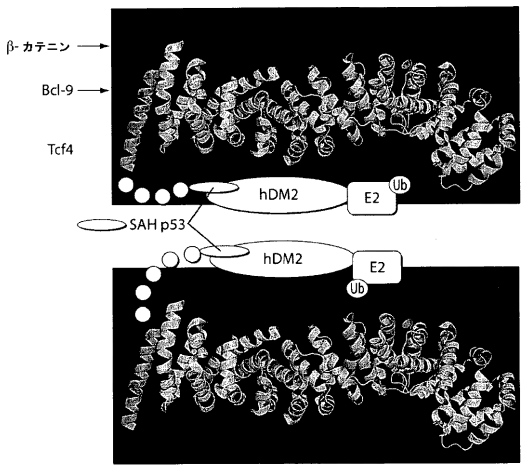


Fig. 5

【図６】

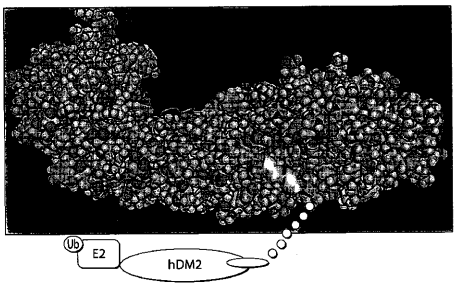


Fig. 6

【図７】

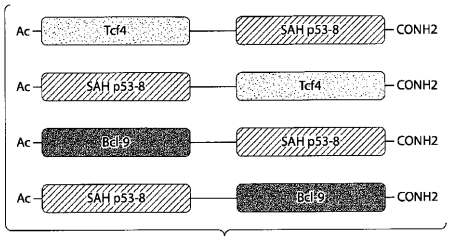


Fig. 7

【図８】

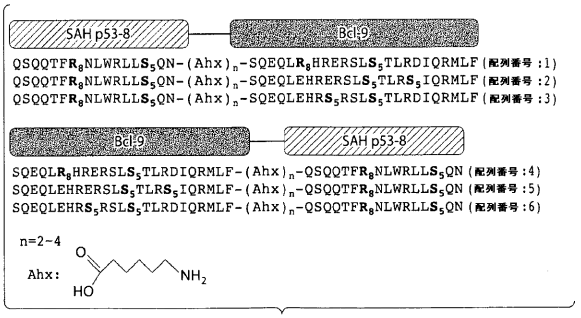


Fig. 8

【図９】

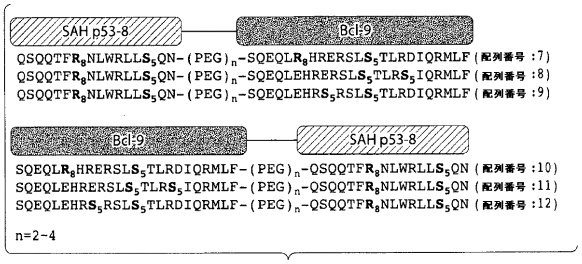


Fig. 9

【図１０】

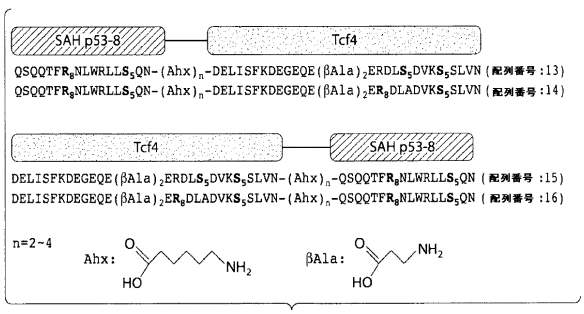


Fig. 10

【図１１】

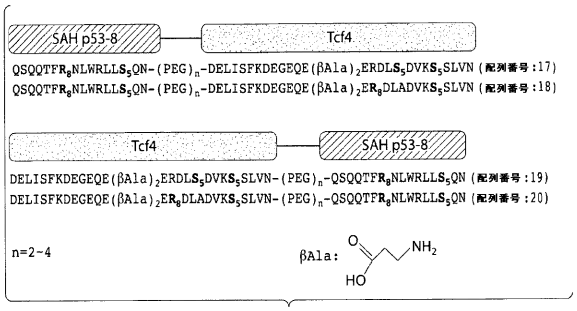


Fig. 11

【図１２】

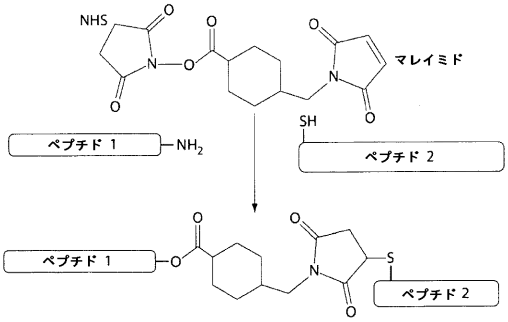


Fig. 12

【図１３】

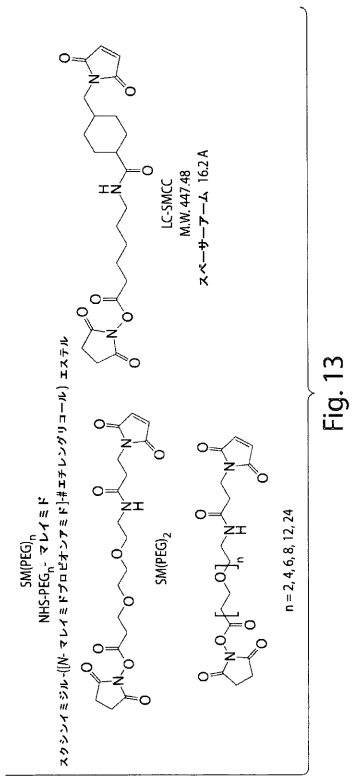


Fig. 13

【図１４】

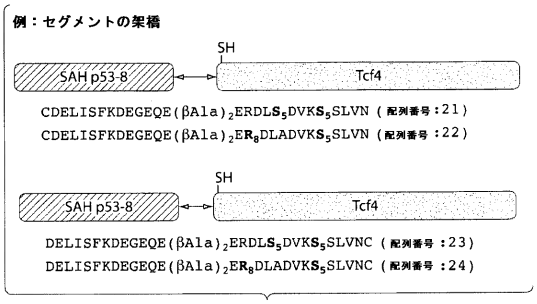


Fig. 14

【図１５】

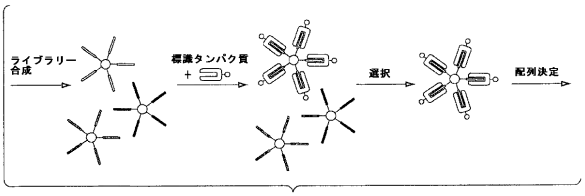


Fig. 15

【図１６】

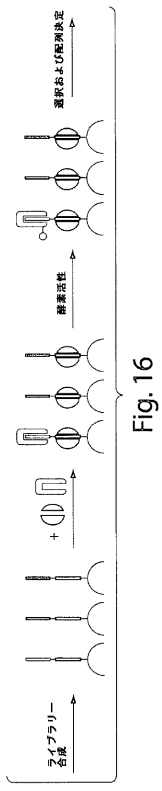


Fig. 16

【図１７】

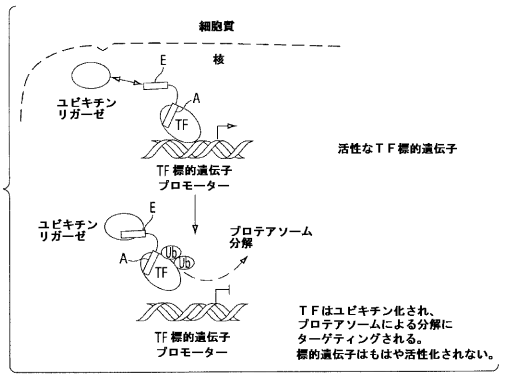


Fig. 17

【図１８】

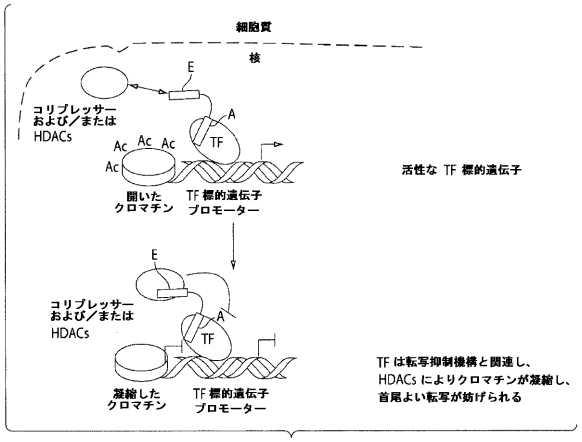


Fig. 18

【図１９】

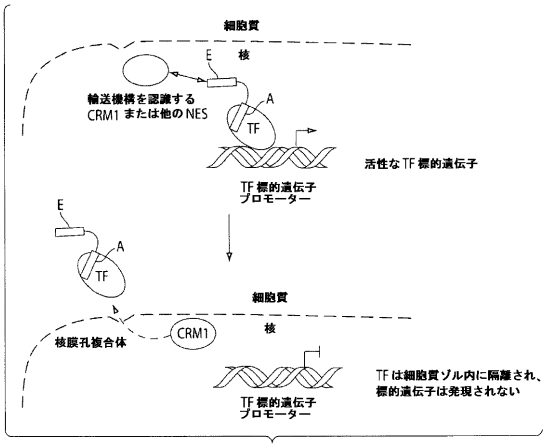


Fig. 19

【図２０】

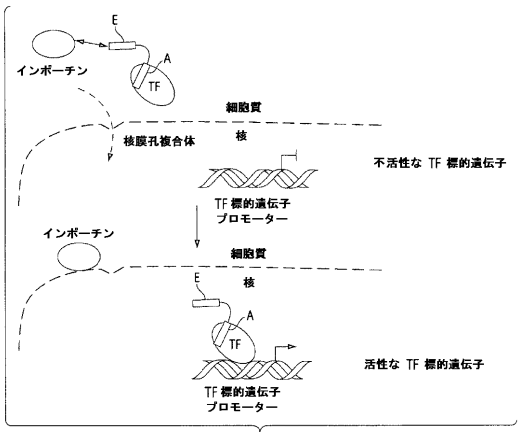


Fig. 20

【図２１】

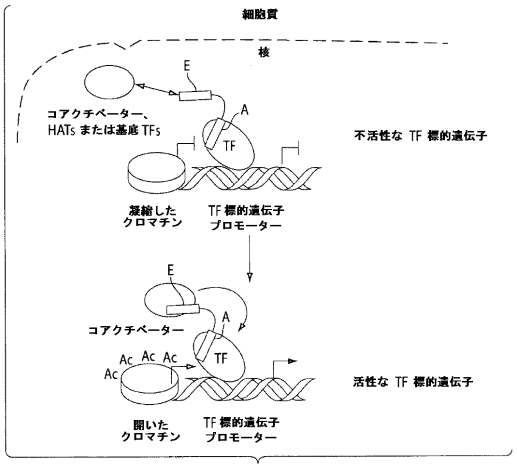


Fig. 21

【図２２】

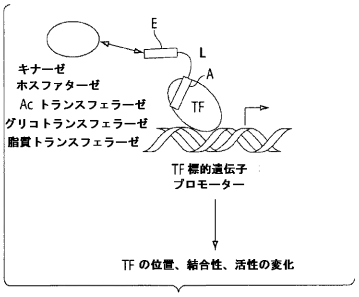


Fig. 22

【図２３】

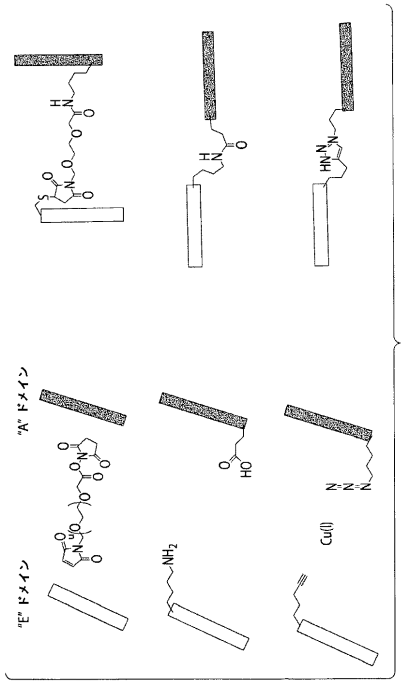


Fig. 23

【図２４Ａ】

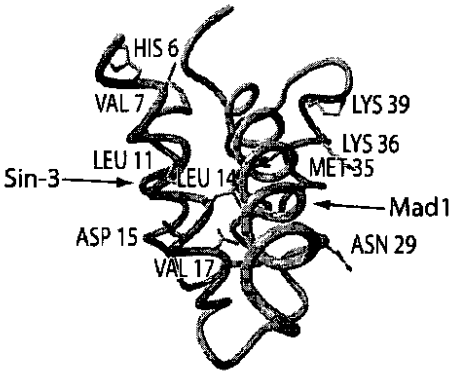


Fig. 24A

【図２４Ｂ】

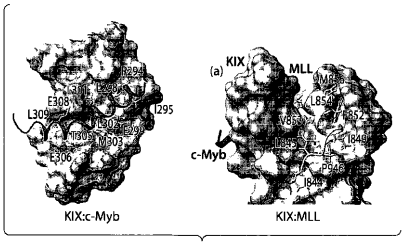


Fig. 24B

【図２５】

ペプチド	配列
長い SID (5-28)	VRNNIQMLLEAADYLERREREAEH (配列番号:85)
短い SID (5-24)	VRNNIQMLLEAADYLERRER (配列番号:86)
consens	XXXΦΩZΘΦΘXAAXXΘEX
SID1	βAla-ERLRRI*MLL*AANYLER (配列番号:87)
SID2	βAla-VRRRI*MLL*AANYLER (配列番号:88)
SID3	βAla-VRRRIQRLL*AAN*LER (配列番号:89)
SID4	βAla-VRNNIQMLLQAANR*ERR*R (配列番号:90)
SID5	βAla-VRRRIQMLLEAANK*ERR*R (配列番号:91)
SID6	βAla-VRNNIQMLLQAANRLERR*REA*H (配列番号:92)
SID7	βAla-VRRRIQMLLEAANKLERR*REA*H (配列番号:93)
SID8	βAla-VRNNIQMLL*AAN*LER (配列番号:94)
SID9	βAla-VRNNI*MLL*AANYLER (配列番号:95)

Fig. 25A

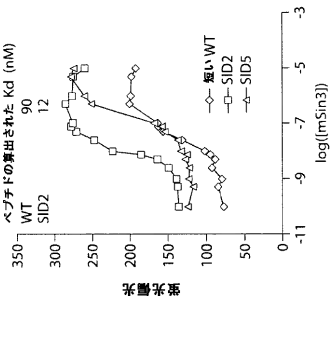


Fig. 25B

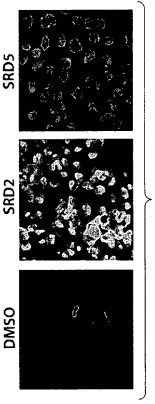


Fig. 25C

【図２６】

化合物	配列	K_D (nM)	細胞透過性	
MLL WT	I L P S D I M D F V L K N T	89	低い	(配列番号:99)
MLL1-1	I L P * D I M * F V L K N T	55	低い	(配列番号:81)
MLL1-2	I L P * R I M * F V L K N T	63	高い	(配列番号:82)
MLL2-1	I L P S D I M * F V L * N T T	NT	低い	(配列番号:83)
MLL2-2	I L P S R I M * F V L * N T T	NT	高い	(配列番号:84)
MLLneg1	I L P * R I M * F V A K N T	NT	NT	(配列番号:96)
MLLneg2	I L P * R I M * F A L K N T	NT	NT	(配列番号:97)
MLLneg3	I A P * R I M * F V L K N T	NT	NT	(配列番号:98)
cMYB WT	K E K R I K E L E L L M S T E N E L K G	NT	低い	(配列番号:50)
cMyb1-1	K * K R I * E L E L L M S T E N E L K G	534	低い	(配列番号:73)
cMyb1-2	K * K R I * R L E L L M S T E N E L K G	474	低い	(配列番号:74)
cMyb2-1	K E * R I K * L E L L M S T E N E L K G	213	低い	(配列番号:75)
cMyb2-2	K R * R I K * L E L L M S T E N E L K G	564	低い	(配列番号:76)
cMyb3-1	K E * R I K E L E * L L M S T E N E L K G	439	低い	(配列番号:77)
cMyb3-2	K E * R I K R L E * L L M S T E N E L K G	332	低い	(配列番号:78)
cMyb3-3	K R * R I K E L E * L L M S T E N E L K G	340	低い	(配列番号:79)
cMyb4-1	K E K R I K E L E L L M S T E * E L K *	370	低い	(配列番号:80)

Fig. 26A

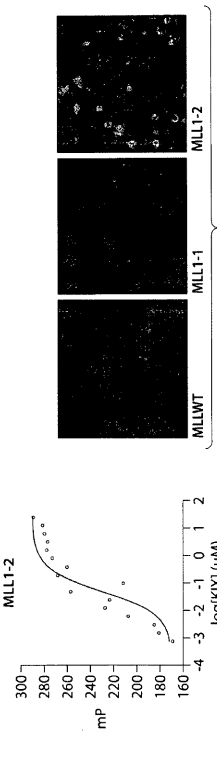


Fig. 26B

Fig. 26C

【図２７】

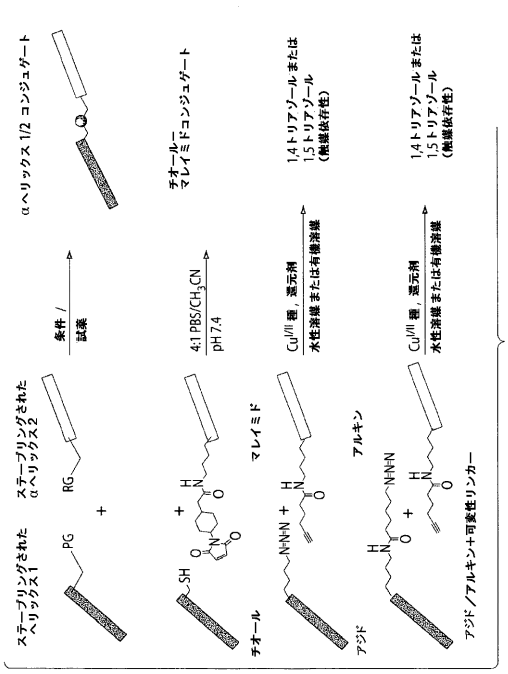


Fig. 27

【図２８】

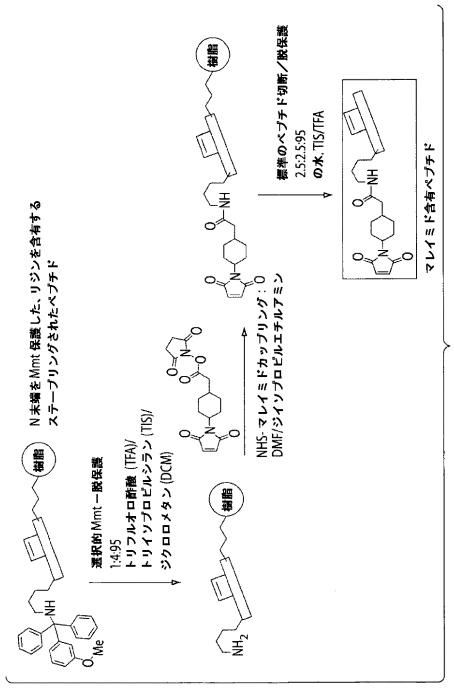


Fig. 28

【図２９】

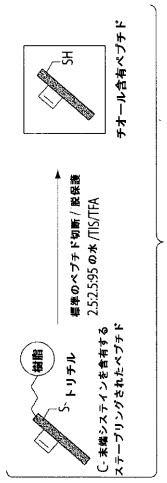


Fig. 29

【図３０】

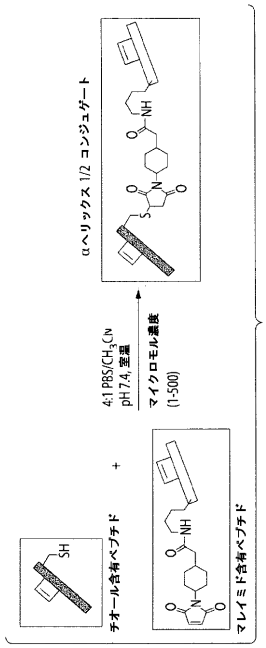


Fig. 30

【図３１】

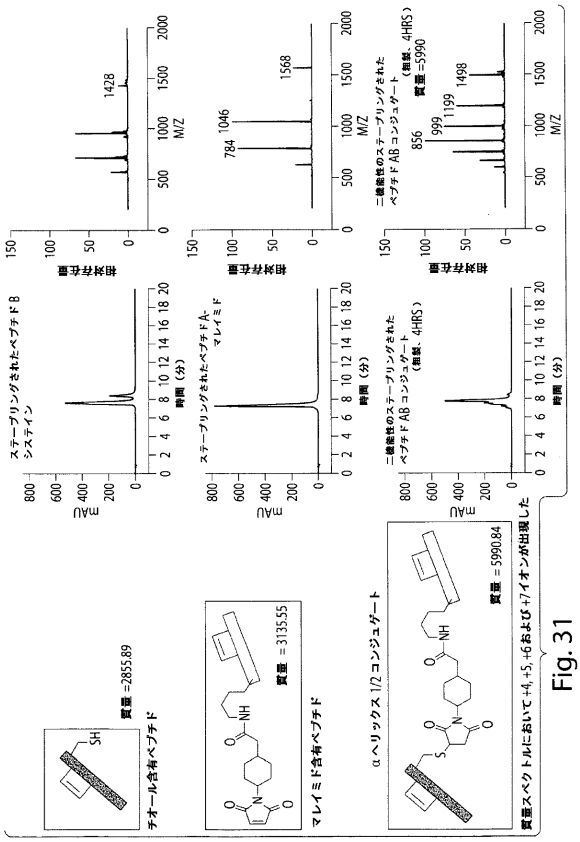


Fig. 31

【図３２】

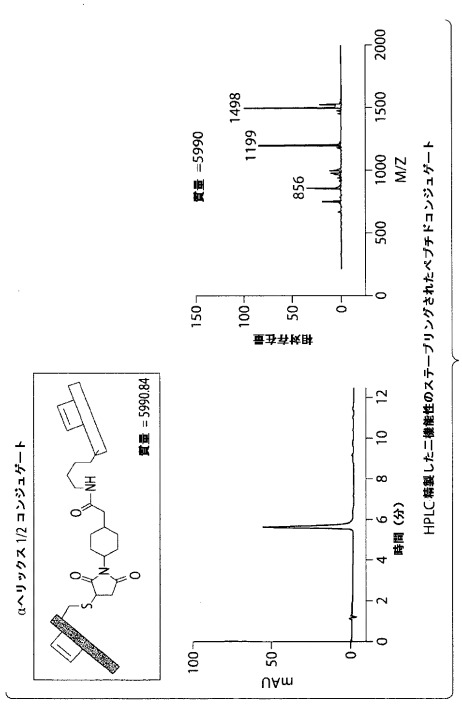


Fig. 32

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 10/01952

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - A61K 38/00 (2010.01)
USPC - 514/9; 530/332
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)
USPC: 514/9; 530/332

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC: 514/9; 530/326 530/333 (keyword limited; terms below)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
PubWEST (USPT, PGPB, EPAB, JPAB), Google Patents/Scholar: stapled, targeting, effector, Bcl9, beta-catenin, p53, hDM2
GenCore 6.3: SEQ ID NO: 15, 29, 30, 32-34

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X ---- Y	WO 2007/141533 A2 (Robson et al.) 13 December 2007 (13.12.2007) pg 19, ln 2-14; pg 20, ln 26-31; pg 39, ln 5-15; pg 42, ln 13-18; pg 46, ln 14-30; pg 42, ln 13-18; pg 87, ln 28 to pg 88, ln 4	1, 18, 20, 26, 28, 91 ---------- 2, 5-6, 8-9, 19, 27, 29-31, 43-53, 73-74, 82-83
Y	WO 2008/095063 A1 (Bernal et al.) 07 August 2008 (07.08.2008) para [0001], [0003], [0005], Fig. 16-1	2, 9, 19, 43-53, 73-74, 82-83
Y	US 2009/0176964 A1 (Walensky et al.) 09 July 2009 (09.07.2009) para [0008], [0051], [0053], [0055]-[0058]	5-6, 8-9
Y	US 2004/0038901 A1 (Basler et al.) 26 February 2004 (26.02.2004) para [0064], [0069], Fig. 7B	27, 29-31, 73-74, 82-83
Y	Myung et al. The ubiquitin-proteasome pathway and proteasome inhibitors. Med Res Rev 2001, 21:245-273; pg 9, para 3, pg 5, para 4, pg 11, para 4	50-53

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* 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
11 January 2011 (11.01.2011)	02 FEB 2011
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 10/01952

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 filed or furnished:

   a. (means)

   ☐ on paper

   ☒ in electronic form

   b. (time)

   ☐ in the international application as filed

   ☒ together with the international application in electronic form

   ☐ subsequently to this Authority for the purposes of search

2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.

3. Additional comments:

GenCore 6.3: SEQ ID NO: 15, 29, 30, 32-34

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 10/01952

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
Group I: claims 1-91, drawn to a bifunctional stapled peptide comprising a targeting domain; a linker moiety; and an effector domain, wherein at least one domain is stapled or stitched. The first invention is restricted to a peptide of claim 8, wherein the linker is a peptide, the targeting domain is a stapled version of of Bcl9, and the effector domain is a stapled version of p53. Should an additional fee(s) be paid, Applicant is invited to elect an additional bifunctional stapled peptide comprising specific targeting and effector domains and linker moiety and/or specific SEQ ID NO(s) to be searched. The exact claims searched will depend on the specifically elected peptide(s).
[NOTE 1: Claims 3-4, 7, 10-17, 21-25, 32-42, 54-72, 78-81, 87-90 were excluded from Group I, because they are drawn to a non-elected subject matter.
NOTE 2: Claim 92 was excluded from group I, due to the re-numbering of the claims as a result of the granted rectification.]

Group II, claims 92-93, drawn to a method of treating a disease, disorder, or condition in a subject, said method comprising administering a therapeutically effective amount of a stapled peptide of claim 1 to a subject in need thereof.

- Please see extra sheet for continuation -

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-2, 5-6, 8-9, 18-20, 26-31, 43-53, 73-77, 82-86, 91, restricted to peptide linker, stapled p53and Bcl9

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 10/01952

********** Supplemental Box **********

Continuation of: Box NO III. Observations where unity of invention is lacking

Group III, claims 94-96, drawn to a method of screening a library of peptides of claim 1, comprising providing a library of peptides of claim 1, and screening for peptides having the ability to bring a target biomolecule and an effector biomolecule into close proximity.

Group IV, claims 97-111, drawn to a method of synthesizing a bifunctional stapled peptide.

The inventions listed as Groups I+ through IV do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

The inventions of Group I+ do not include the inventive concept of a method of treating a disease by administering a bifunctional stapled peptide, or a method of screening a library of peptides, or a method of synthesizing a bifunctional stapled peptide, as required by Groups II-IV, respectively.

The inventions of Group I+ through IV share the technical feature of a bifunctional stapled peptide comprising a targeting domain; a linker moiety; and an effector domain, wherein at least one domain is stapled or stitched. However, this shared technical feature does not represent a contribution over prior art as being anticipated by WO 2007/141533 A2 to Robson et al. (hereinafter 'Robson') that discloses a bifunctional stapled peptide (pg 19, ln 2-14, FKBP-L comprises stapled peptides) comprising:
a targeting domain (pg 39, ln 5-15 and pg 87, ln 28 to pg 88, ln 4; FKBP-L targeting CD44);
a linker moiety (pg 46, ln 14-30, two or more polypeptides are joined through peptide linkers); and
an effector domain (pg 42, ln 13-18), wherein at least one domain is stapled (pg 19, ln 2-14, FKBP-L comprises stapled peptides). As said bifunctional stapled peptide was known at the time of the invention, this cannot be considered a special technical feature that would otherwise unify the groups.

Another special technical feature of the inventions listed as Group I+ is the specific bifunctional stapled peptide comprising domains of the specific structure recited therein. The inventions do not share a special technical feature because no significant novel and non-obvious structural similarities can readily be ascertained among said bifunctional stapled peptides:

US 2009/0176964 A1 to Walensky et al. (hereinafter 'Walensky') (09 July 2009) discloses a stapled peptide of instant claim 6 (para [0051], formula III), wherein
each instance of L1 and L2 is, independently, unbranched, or unsubstituted alkylene (para [0051]);
each instance of Ra is, independently, hydrogen (para [0051]);
each instance of Rb is, independently, hydrogen (para [0053]);
each instance of Re is, independently, -RE, wherein each instance of RE is, independently, hydrogen (para [0051]);
each instance of Rf is, independently, hydrogen (para [0051]);
each instance of XAA is, independently, a natural or unnatural amino acid (para [0058]);
each instance of z is, independently, an integer between 2 to 6 (para [0055]);
each instance of j is, independently, an integer between 1 to 10 (para [0057]);
each instance of s and t is, independently, an integer between 0 and 100 (para [0056]);
each instance of q is, independently, an integer 0; and
---------- corresponds to a single or double bond (para [0051]).

WO 2008/121767 A2 to Verdine et al. (hereinafter 'Verdine') discloses a stapled peptide of the formula of claim 12 (para [0009]), wherein
each instance of K, L1, L2, and M, is, independently, a bond (para [0007];
each instance of Ra is, independently, hydrogen (para [0007]);
each instance of Rb is, independently, a suitable amino acid side chain (para [0007]);
each instance of Re is, independently, -RE, wherein each instance of RE is, independently, hydrogen (para [0007]);
each instance of Rf is, independently, hydrogen (para [0007]);
each instance of RKL, RLL, and RLM, is, independently, hydrogen (para [0009]);
each instance of XAA is, independently, a natural or unnatural amino acid (para [0007]);
each instance of y and z is, independently, an integer between 2 to 6 (para [0007]);
each instance of j is, independently, an integer between 1 to 10 (para [0007]);
each instance of p is, independently, an integer between 0 to 10 (para [0007]);
each instance of s and t is, independently, an integer between 0 and 100 (para [0007]);
each instance of u, v, and q, is, independently, an integer between 0 to 2 (para [0009]); and
---------- corresponds to a single or double bond (para [0009]).

Finally, another special technical feature of the inventions listed as Group I+ is the specific bifunctional stapled peptide comprising specific targeting and effector domains of the specific structure and specific linker. The inventions do not share a special technical feature because 1) no significant novel and non-obvious structural similarities can readily be ascertained among said targeting domains, as well as among said effector domains, and finally among said linkers. Without a shared special technical feature, the inventions lack unity with one another.

Groups I+ through IV therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ 35/00 (2006.01)	Ａ６１Ｐ 35/00	

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

(72)発明者 バーダイン, グレゴリー エル.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２４５８, ニュートン, ハイド アベニュー ５２
(72)発明者 グロスマン, トム エヌ.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１４０, ケンブリッジ, ウォルナット アベニュー ８
(72)発明者 モーラリング, レイモンド イー.
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１３８, ケンブリッジ, トローブリッジ ストリート ９１ ナンバー３
(72)発明者 イェー, ツン－ハン ジョハネス
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１３０, ジャマイカ プレイン, パーキンス スクエア １８ アパートメント ナンバー１２
(72)発明者 リャン, ユエ
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１３８, ケンブリッジ, エバレット ストリート １９ ナンバー４３
(72)発明者 オク, ユビン
アメリカ合衆国 マサチューセッツ ０２１３８, ケンブリッジ, トローブリッジ ストリート ９１, アパートメント ３２

Ｆターム(参考) 2G045 AA26 AA40 BA13 BB24 CB01 CB02 DA36 FB03
4B024 AA01 EA03 FA01 GA11 HA01
4C084 AA01 AA02 AA03 AA07 BA01 BA11 BA25 BA41 BA42 NA14 ZB261
4H045 AA10 BA40 BA41 EA20 FA20 FA74