

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成23年3月24日 (2011.3.24)

【公表番号】特表2010-518017(P2010-518017A)

【公表日】平成22年5月27日 (2010.5.27)

【年通号数】公開・登録公報2010-021

【出願番号】特願2009-548441(P2009-548441)

【国際特許分類】

C 0 7 K 14/47 (2006.01)

C 0 7 K 7/56 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/02 (2006.01)

A 6 1 P 35/04 (2006.01)

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 K 14/47

C 0 7 K 7/56 Z N A

C 0 7 K 19/00

C 0 7 K 16/18

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 35/02

A 6 1 P 35/04

A 6 1 K 37/02

【手続補正書】

【提出日】平成23年1月31日 (2011.1.31)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

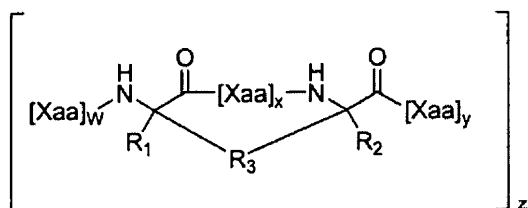
【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下記式 (I) の修飾されたポリペプチド、またはその薬学的に許容される塩：



式 (I)

式中、

各  $\text{R}_1$  および  $\text{R}_2$  は独立して、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリールアルキル、またはヘテロシクリルアルキルであり；

各  $\text{R}_3$  は独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル； $[\text{R}_4 - \text{K} - \text{R}_4']_n$  であり；その各々は 0 ~ 6 個の  $\text{R}_5$  で置換され；

$R_4$  および  $R_4'$  は独立して、アルキレン、アルケニレン、またはアルキニレンであり；

各  $R_5$  は独立して、ハロ、アルキル、 $OR_6$ 、 $N(R_6)_2$ 、 $SR_6$ 、 $SOR_6$ 、 $SO_2R_6$ 、 $CO_2R_6$ 、 $R_6$ 、蛍光部分、または放射性同位元素であり；

各  $K$  は独立して、O、S、SO、 $SO_2$ 、CO、 $CO_2$ 、 $CONR_6$ 、または



であり；

各  $R_6$  は独立して、H、アルキル、または治療剤であり；

$n$  は、1～4の整数であり；

$x$  は、2、3、4、または6であり；

$y$  および  $w$  は独立して、0～100の整数であり；

$z$  は、1～10の整数であり；かつ

各  $Xaa$  は独立して、アミノ酸であり；

該修飾されたポリペプチドはヒトp53と少なくとも60%同一のアミノ酸配列を含み、

(a) 該修飾されたペプチドの8個の連続したアミノ酸配列内に、3、4、または6アミノ酸で隔てられた少なくとも1対のアミノ酸の側鎖が、式Iに示すアミノ酸対の炭素に接続している連結基 $R_3$ で置き換えられていること；および

(b) アミノ酸対の第一のアミノ酸の炭素が式Iに示す $R_1$ で置換されており、かつアミノ酸対の第二のアミノ酸の炭素が式Iに示す $R_2$ で置換されていることを除いて、ヒトp53もしくはこのバリエーション、またはヒトp53もしくはこのバリエーションのホモログの少なくとも8個の連続したアミノ酸を含み；

さらに、該修飾されたペプチドは、無傷細胞を透過することができる。

#### 【請求項2】

ヒトp53ポリペプチドが、SEQ ID NO:1を含む、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

#### 【請求項3】

ヒトp53の少なくとも8個の連続したアミノ酸が、

(a)  $Xaa_1$ 、 $Xaa_4$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_{11}$ 、 $Xaa_{14}$ 、 $Xaa_{15}$ のそれぞれが任意のアミノ酸である、

$Xaa_1Ser_2Gln_3Xaa_4Thr_5Phe_6Xaa_7Xaa_8Leu_9Trp_{10}Xaa_{11}Leu_{12}Leu_{13}Xaa_{14}Xaa_{15}Asn_{16}$

(SEQ ID NO:3)

、または

(b)  $Phe_6$ 、 $Trp_{10}$ 、および、 $Leu_{13}$ 以外の0または最大6アミノ酸は、独立して他の任意のアミノ酸により置換されている

$Gln_1Ser_2Gln_3Gln_4Thr_5Phe_6Ser_7Asn_8Leu_9Trp_{10}Arg_{11}Leu_{12}$

$Leu_{13}Pro_{14}Gln_{15}Asn_{16}$  (SEQ ID NO:6)

の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含む、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

#### 【請求項4】

修飾されたポリペプチドがHDM2に結合する、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

#### 【請求項5】

$x$  が2である、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

#### 【請求項6】

$x$  が3である、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

#### 【請求項7】

$x$  が6である、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

#### 【請求項8】

$x$  が2、3、または6であり、 $R_3$  が単一の二重結合を含むアルケニルであり、かつ $R_1$  および  $R_2$  が両方ともHである、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 9】

各yが独立して、3～15の間の整数である、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 10】

ヒトp53の少なくとも8個の連続したアミノ酸が、Leu<sub>1</sub>とLys<sub>11</sub>の両方が独立して、他の任意のアミノ酸と置換されている、

Gln<sub>1</sub> Ser<sub>2</sub> Gln<sub>3</sub> Gln<sub>4</sub> Thr<sub>5</sub> Phe<sub>6</sub> Ser<sub>7</sub> Asn<sub>8</sub> Leu<sub>9</sub> Trp<sub>10</sub> Arg<sub>11</sub> Leu<sub>12</sub>

Leu<sub>13</sub> Pro<sub>14</sub> Gln<sub>15</sub> Asn<sub>16</sub> (SEQ ID NO:6)

の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含む、請求項3記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 11】

Glu<sub>4</sub>がAsp以外の任意のアミノ酸と置換されている、請求項10記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 12】

Asp<sub>8</sub>がGlu以外の任意のアミノ酸と置換されている、請求項10記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 13】

ポリペプチドがpH 7で正味の負電荷を有しない、請求項10記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 14】

ポリペプチドが、pH 7で正電荷を有する少なくとも1個のアミノ酸を含み、(a)アミノ末端がLeu<sub>1</sub>であるか、もしくはLeu<sub>1</sub>と置換されたアミノ酸、または(b)カルボキシ末端がAsn<sub>16</sub>であるか、もしくはAsn<sub>16</sub>と置換されたアミノ酸のいずれかである、請求項13記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 15】

R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>が各々独立して、HまたはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルである、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 16】

R<sub>3</sub>がC<sub>8</sub>アルキルである、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 17】

xが6である、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 18】

R<sub>3</sub>がC<sub>11</sub>アルキルである、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 19】

R<sub>3</sub>がアルケニルである、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 20】

xが3である、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 21】

R<sub>3</sub>がC<sub>8</sub>アルケニルである、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 22】

xが6である、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 23】

R<sub>3</sub>がC<sub>11</sub>アルケニルである、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 24】

R<sub>3</sub>が直鎖アルキル、アルケニル、またはアルキニルである、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 25】

乳酸とグリコール酸のコポリマーをさらに含む、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 26】

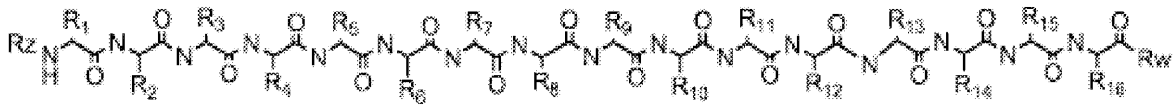
アミノ末端の脂肪酸をさらに含む、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 27】

ビオチン部分をさらに含む、請求項1記載の修飾されたポリペプチド。

## 【請求項 28】

下記式を有する化合物：



式中、

$R_1$  は、Gln以外の任意のアミノ酸の側鎖であり；

$R_2$  は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ [S]であり；

$R_3$  は、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ [Q]であり；

$R_4$  は、GluまたはAsp以外の任意のアミノ酸の側鎖であり；

$R_5$  は、 $-\text{C}(\text{OH})\text{CH}_3$ [T]であり；

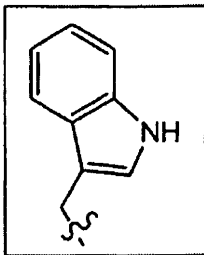
$R_6$  は、ベンジル[F]であり；

$R_7$ および $R_{14}$ は合わせて $R_x$ であり；

$R_8$  は、GluまたはAsp以外の任意のアミノ酸の側鎖であり；

$R_9$  は、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ [L]であり；

$R_{10}$  は、



であり；

$R_{11}$  は、Lys以外の任意のアミノ酸の側鎖であり；

$R_{12}$ および $R_{13}$ は、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ [L]であり；

$R_{15}$  は、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ [Q]であり；かつ

$R_{16}$  は、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ [N]であり；

$R_x$  は、アルキル、アルケニル、アルキニル；または $[\text{R}_{x1}-\text{K}-\text{R}_{x1}']_n$ であり；その各々は、0～6個の $R_{x2}$ で置換され；

$R_{x1}$ および $R_{x1}'$ は独立して、アルキル、アルケニル、またはアルキニルであり；

$R_{x2}$  は、ハロ、アルキル、 $\text{OR}_{x3}$ 、 $\text{N}(\text{R}_{x3})_2$ 、 $\text{SR}_6$ 、 $\text{SOR}_{x3}$ 、 $\text{SO}_2\text{R}_{x3}$ 、 $\text{CO}_2\text{R}_{x3}$ 、 $\text{R}_{x3}$ 、蛍光部分、または放射性同位元素であり；

Kは、O、S、SO、 $\text{SO}_2$ 、CO、 $\text{CO}_2$ 、 $\text{CONR}_{x3}$ 、または



であり；

$R_{x3}$  は、H、アルキル、または治療剤であり；かつ

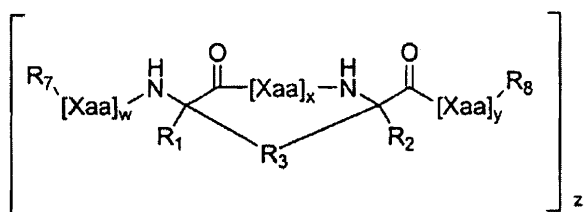
$R_z$ および $R_w$ は独立して、H、ヒドロキシル、アミド( $\text{NH}_2$ )、アミノ酸、ペプチド結合によって連結された2～10アミノ酸；tat；またはPEGである。

## 【請求項 29】

細胞膜を通して輸送される、請求項1記載のポリペプチド。

## 【請求項 30】

下記式(II)の修飾されたポリペプチド、またはその薬学的に許容される塩：



式中、

R<sub>3</sub>は、アルキレン、アルケニレン、もしくはアルキニレン、または[R<sub>4</sub>'-K-R<sub>4</sub>]<sub>n</sub>であり；その各々は0～6個のR<sub>5</sub>で置換され；

R<sub>5</sub>は、ハロ、アルキル、OR<sub>6</sub>、N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、SR<sub>6</sub>、SOR<sub>6</sub>、SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、R<sub>6</sub>、蛍光部分、または放射性同位元素であり；

R<sub>6</sub>は、H、アルキル、または治療剤であり；

xは、2～10の整数であり；

$z$ は、1～10の整数(例えば1、2、3、4、5、6、7、8、9、10)であり；かつ

R<sub>7</sub>は、例えばチオカルバミン酸塩またはカルバミン酸結合を介して連結された、PEG、t  
atタンパク質、アフィニティー標識、標的化部分、脂肪酸由来のアシル基、ビオチン部分  
、または蛍光プローブ(例えばフルオレセインもしくはローダミン)であり；

該ポリペプチドは、ヒトp53と少なくとも60%同一のアミノ酸配列を含み、(a)該修飾されたペプチドの8個の連続したアミノ酸配列内に、3、4、または6アミノ酸で隔てられた少なくとも1対のアミノ酸の側鎖が、式Iに示すアミノ酸対の炭素に接続している連結基R<sub>3</sub>で置き換えられていること；および(b)アミノ酸対の第一の炭素が、式IIに示すR<sub>1</sub>で置換されており、かつアミノ酸対の第二の炭素が式IIに示すR<sub>2</sub>で置換されている。

【請求項 3 1】

**【請求項 3 2】**

【手續補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 0 4 3

【補正方法】変更

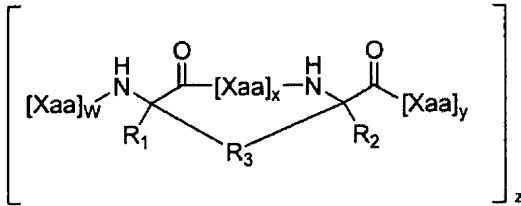
【補正の内容】

## 【 0 0 4 3 】

本発明の1種または複数の態様の詳細は、添付図面および以下の説明に記されている。  
本発明の他の特徴、目的、および利点は、説明および図面、ならびに「特許請求の範囲」  
から明らかであると思われる。

## [請求項1001]

下記式(I)の修飾されたポリペプチド、またはその薬学的に許容される塩：



式 (I)

式中、

各 $R_1$ および $R_2$ は独立して、H、アルキル、アルケニル、アルキニル、アリールアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリールアルキル、またはヘテロシクリルアルキルであり；

各 $R_3$ は独立して、アルキル、アルケニル、アルキニル； $[R_4-K-R_4']_n$ であり；その各々は0～6個の $R_5$ で置換され；

$R_4$ および $R_4'$ は独立して、アルキレン、アルケニレン、またはアルキニレンであり；

各 $R_5$ は独立して、ハロ、アルキル、 $OR_6$ 、 $N(R_6)_2$ 、 $SR_6$ 、 $SOR_6$ 、 $SO_2R_6$ 、 $CO_2R_6$ 、 $R_6$ 、蛍光部分、または放射性同位元素であり；

各Kは独立して、O、S、SO、 $SO_2$ 、CO、 $CO_2$ 、 $CONR_6$ 、または



であり；

各 $R_6$ は独立して、H、アルキル、または治療剤であり；

nは、1～4の整数であり；

xは、2、3、4、または6であり；

yおよびwは独立して、0～100の整数であり；

zは、1～10の整数であり；かつ

各Xaaは独立して、アミノ酸であり；

該修飾されたポリペプチドは、

(a)8個の連続したアミノ酸内に、3、4、または6アミノ酸で隔てられた少なくとも1対のアミノ酸の側鎖が、式Iに示すアミノ酸対の炭素に接続している連結基 $R_3$ で置き換えられていること；および

(b)アミノ酸対の第一のアミノ酸の炭素が式Iに示す $R_1$ で置換されており、かつアミノ酸対の第二のアミノ酸の炭素が式Iに示す $R_2$ で置換されていること  
を除いて、ヒトp53もしくはこのバリエーション、またはヒトp53もしくはこのバリエーションのホモログの少なくとも8個の連続したアミノ酸を含む。

## [請求項1002]

ヒトp53ポリペプチドが、SEQ ID NO:1を含む、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

## [請求項1003]

ヒトp53の少なくとも8個の連続したアミノ酸が、SEQ ID NO:2の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含む、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

## [請求項1004]

ヒトp53の少なくとも8個の連続したアミノ酸が、 $Xaa_1$ 、 $Xaa_4$ 、 $Xaa_7$ 、 $Xaa_8$ 、 $Xaa_{11}$ 、 $Xaa_{14}$ 、 $Xaa_{15}$ のそれぞれがSEQ ID NO:3の任意のアミノ酸である、

Xaa<sub>1</sub>Ser<sub>2</sub>Gln<sub>3</sub>Xaa<sub>4</sub>Thr<sub>5</sub>Phe<sub>6</sub>Xaa<sub>7</sub>Xaa<sub>8</sub>Leu<sub>9</sub>Trp<sub>10</sub>Xaa<sub>11</sub>Leu<sub>12</sub>Leu<sub>13</sub>Xaa<sub>14</sub>Xaa<sub>15</sub>Asn<sub>16</sub>

(SEQ ID NO:3)

の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含む、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1005]

修飾されたポリペプチドがHDM2に結合する、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1006]

xが2である、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1007]

xが3である、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1008]

xが6である、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1009]

xが2、3、または6であり、R<sub>3</sub>が単一の二重結合を含むアルケニルであり、かつR<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>が両方ともHである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1010]

各yが独立して、3～15の間の整数である、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1011]

ポリペプチドが、SEQ ID NO:2の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含む、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1012]

Ser<sub>7</sub>およびPro<sub>14</sub>の側鎖が、アミノ酸対の炭素に連結している式Iに示す連結基R<sub>3</sub>と置換されており、かつアミノ酸対の第一のアミノ酸の炭素が式Iに示すR<sub>1</sub>で置換されており、かつアミノ酸対の第二のアミノ酸の炭素が式Iに示すR<sub>2</sub>で置換されており、かつPhe<sub>6</sub>、Trp<sub>10</sub>、およびLeu<sub>13</sub>以外の0個または最大6個のアミノ酸が独立して、他の任意のアミノ酸と置換されている、

Leu<sub>1</sub> Ser<sub>2</sub> Gln<sub>3</sub> Glu<sub>4</sub> Thr<sub>5</sub> Phe<sub>6</sub> Ser<sub>7</sub> Asp<sub>8</sub> Leu<sub>9</sub> Trp<sub>10</sub> Lys<sub>11</sub> Leu<sub>12</sub>

Leu<sub>13</sub> Pro<sub>14</sub> Glu<sub>15</sub> Asn<sub>16</sub> (SEQ ID NO:3)

の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含む、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1013]

Ser<sub>7</sub>およびPro<sub>14</sub>の側鎖が、アミノ酸対の炭素に接続している式Iに示す連結基R<sub>3</sub>と置換されており、かつアミノ酸対の第一のアミノ酸の炭素が式Iに示すR<sub>1</sub>で置換されており、かつアミノ酸対の第二のアミノ酸の炭素が式Iに示すR<sub>2</sub>で置換されており、かつPhe<sub>6</sub>、Trp<sub>10</sub>、およびLeu<sub>13</sub>以外の0個または最大6個のアミノ酸が独立して、他の任意のアミノ酸と置換されている、

Gln<sub>1</sub> Ser<sub>2</sub> Gln<sub>3</sub> Gln<sub>4</sub> Thr<sub>5</sub> Phe<sub>6</sub> Ser<sub>7</sub> Asn<sub>8</sub> Leu<sub>9</sub> Trp<sub>10</sub> Arg<sub>11</sub> Leu<sub>12</sub>

Leu<sub>13</sub> Pro<sub>14</sub> Gln<sub>15</sub> Asn<sub>16</sub> (SEQ ID NO:6)

の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含む、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1014]

Leu<sub>1</sub>およびLys<sub>11</sub>がいずれも独立して、他の任意のアミノ酸と置換されている、請求項1013記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1015]

Glu<sub>4</sub>がAsp以外の任意のアミノ酸と置換されている、請求項1013記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1016]

Asp8がGlu以外の任意のアミノ酸と置換されている、請求項1013記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1017]

ポリペプチドがpH 7で正味の負電荷を有しない、請求項1013記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1018]

ポリペプチドが、pH 7で正電荷を有する少なくとも1個のアミノ酸を含み、(a)アミノ末端がLeu<sub>1</sub>であるか、もしくはLeu<sub>1</sub>と置換されたアミノ酸、または(b)カルボキシ末端がAsn<sub>16</sub>であるか、もしくはAsn<sub>16</sub>と置換されたアミノ酸のいずれかである、請求項1017記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1019]

ポリペプチドがPEGと共有結合されている、請求項1017b記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1020]

R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>が各々独立して、HまたはC<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>アルキルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1021]

R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>が各々独立して、C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>アルキルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1022]

R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>がメチルである、請求項1012記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1023]

R<sub>3</sub>がアルキルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1024]

xが3である、請求項1022記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1025]

R<sub>3</sub>がC<sub>8</sub>アルキルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1026]

xが6である、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1027]

R<sub>3</sub>がC<sub>11</sub>アルキルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1028]

R<sub>3</sub>がアルケニルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1029]

xが3である、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1030]

R<sub>3</sub>がC<sub>8</sub>アルケニルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1031]

xが6である、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1032]

R<sub>3</sub>がC<sub>11</sub>アルケニルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1033]

R<sub>3</sub>が直鎖アルキル、アルケニル、またはアルキニルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1034]

R<sub>3</sub>が[R<sub>4</sub>-K-R<sub>4</sub>]であり；かつR<sub>4</sub>が直鎖アルキル、アルケニル、またはアルキニルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1035]

R<sub>1</sub>またはR<sub>2</sub>の少なくとも一方がアルキルである、請求項1001記載の修飾されたポリペ



チド。

[請求項1036]

$R_1$ および $R_2$ が各々独立して、Hまたは $C_1$ - $C_3$ アルキルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1037]

$R_1$ および $R_2$ がメチルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1038]

$x$ が3または6であり、かつ $z$ が1である、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1039]

$R_3$ が、 $C_8$ または $C_{11}$ のアルキルもしくはアルケニルである、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1040]

乳酸とグリコール酸のコポリマーをさらに含む、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1041]

アミノ末端の脂肪酸をさらに含む、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1042]

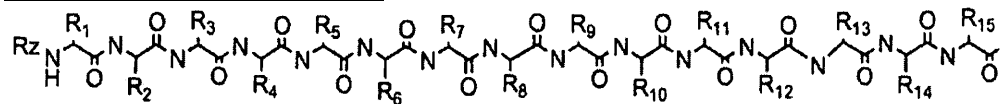
HDM2を発現する細胞にペプチドを標的輸送する抗体をさらに含む、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1043]

ビオチン部分をさらに含む、請求項1001記載の修飾されたポリペプチド。

[請求項1044]

下記式を有する化合物：



式中、

$R_1$ は、Gln以外の任意のアミノ酸の側鎖であり；

$R_2$ は、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ [S]であり；

$R_3$ は、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ [Q]であり；

$R_4$ は、GluまたはAsp以外の任意のアミノ酸の側鎖であり；

$R_5$ は、 $-\text{C}(\text{OH})\text{CH}_3$ [T]であり；

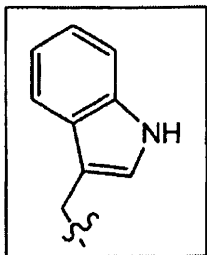
$R_6$ は、ベンジル[F]であり；

$R_7$ および $R_{14}$ は合わせて $R_x$ であり；

$R_8$ は、 $R_4$ は、GluまたはAsp以外の任意のアミノ酸の側鎖であり；

$R_9$ は、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ [L]であり；

$R_{10}$ は、



であり；

$R_{11}$ は、Lys以外の任意のアミノ酸の側鎖であり；

$R_{12}$ および $R_{13}$ は、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ [L]であり；

$R_{15}$ は、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ [Q]であり；かつ

$R_{16}$ は、 $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$ [N]であり；

$R_x$ は、アルキル、アルケニル、アルキニル； $[\text{R}_{x1}-\text{K}-\text{R}_{x1}]_n$ であり；その各々は、0～6個

の $R_{x2}$ で置換され；

$R_{x1}$ および $R_{x1}'$ は独立して、アルキル、アルケニル、またはアルキニルであり；

$R_{x2}$ は、ハロ、アルキル、 $OR_{x3}$ 、 $N(R_{x3})_2$ 、 $SR_{x3}$ 、 $SOR_{x3}$ 、 $SO_2R_{x3}$ 、 $CO_2R_{x3}$ 、 $R_{x3}$ 、蛍光部分、または放射性同位元素であり；

Kは、O、S、SO、 $SO_2$ 、CO、 $CO_2$ 、 $CONR_{x3}$ 、または



であり；

$R_{x3}$ は、H、アルキル、または治療剤であり；かつ

$R_z$ および $R_w$ は独立して、H、ヒドロキシル、アミド( $NH_2$ )、アミノ酸、ペプチド結合によって連結された2~10アミノ酸；tat；およびPEGである。

[請求項1045]

各yが独立して、3~15の間の整数である、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1046]

$R_1$ および $R_2$ が各々独立して、Hまたは $C_1$ - $C_6$ アルキルである、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1047]

$R_1$ および $R_2$ が各々独立して、 $C_1$ - $C_3$ アルキルである、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1048]

$R_1$ および $R_2$ の少なくとも一方がメチルである、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1049]

$R_1$ および $R_2$ がメチルである、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1050]

$R_3$ がアルキルである、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1051]

$R_3$ が $C_8$ アルキルである、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1052]

$R_3$ が $C_{11}$ アルキルである、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1053]

$R_3$ がアルケニルである、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1054]

$R_3$ が $C_8$ アルケニルである、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1055]

$R_3$ が $C_{11}$ アルケニルである、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1056]

$R_3$ が、直鎖アルキル、アルケニル、またはアルキニルである、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1057]

$R_3$ が $[R_4-K-R_4]$ であり、かつ $R_4$ が直鎖アルキル、アルケニル、またはアルキニルである、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1058]

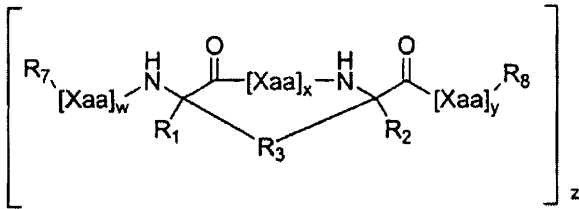
xが3であり、かつzが1である、請求項1044記載のポリペプチド。

[請求項1059]

細胞膜を通して輸送される、請求項1047記載のポリペプチド。

[請求項1060]

下記式(II)の修飾されたポリペプチド、またはその薬学的に許容される塩：



式 (II)

式中、

各R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>は独立して、HまたはC<sub>1</sub>~C<sub>10</sub>アルキル、アルケニル、アルキニル、アリー  
ルアルキル、シクロアルキルアルキル、ヘテロアリールアルキル、またはヘテロシクリル  
アルキルであり；

R<sub>3</sub>は、アルキレン、アルケニレン、もしくはアルキニレン、または[R<sub>4</sub>'-K-R<sub>4</sub>]<sub>n</sub>であり  
; その各々は0~6個のR<sub>5</sub>で置換され;

R<sub>4</sub>およびR<sub>4</sub>'は独立して、アルキレン、アルケニレン、またはアルキニレン(例えば各々独立して、C1、C2、C3、C4、C5、C6、C7、C8、C9、またはC10のアルキレン、アルケニレン、もしくはアルキニレン)であり；

R<sub>5</sub>は、ハロ、アルキル、OR<sub>6</sub>、N(R<sub>6</sub>)<sub>2</sub>、SR<sub>6</sub>、SOR<sub>6</sub>、SO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、CO<sub>2</sub>R<sub>6</sub>、R<sub>6</sub>、蛍光部分、または放射性同位元素であり；

Kは、O、S、SO、SO<sub>2</sub>、CO、CO<sub>2</sub>、CONR<sub>6</sub>、または



、アジリジン、エピスルフィド、ジオール、アミノアルコールであり；

R<sub>6</sub> は、H、アルキル、または治療剤であり；

$n$ は、2、3、4、または6であり；

xは、2～10の整数であり；

wおよびyは独立して、0～100の整数であり；

$z$ は、1～10の整数(例えば1、2、3、4、5、6、7、8、9、10)であり；かつ

各Xaaは独立して、アミノ酸(例えば、20種の天然のアミノ酸の1つ、または任意の天然の、非天然のアミノ酸)であり；

R<sub>7</sub>は、例えばチオカルバミン酸塩またはカルバミン酸結合を介して連結された、PEG、t atタンパク質、アフィニティー標識、標的化部分、脂肪酸由来のアシル基、ビオチン部分、蛍光プローブ(例えばフルオレセインもしくはローダミン)であり；

$R_8$  は、 $H$ 、 $OH$ 、 $NH_2$ 、 $NHR_{8a}$ 、 $NR_{8a}R_{8b}$  であり；

該ポリペプチドは、(a)SEQ ID NO:1の8個の連続したアミノ酸内に、3、4、または6アミノ酸で隔てられた少なくとも1対のアミノ酸の側鎖が、式Iに示すアミノ酸対の炭素に接続している連結基 $R_3$ で置き換えられていること；および(b)アミノ酸対の第一の炭素が、式IIに示す $R_1$ で置換されており、かつアミノ酸対の第二の炭素が式IIに示す $R_2$ で置換されていること

を除いて、SEQ ID NO:1(ヒトp53)もしくはこのバリエーション、SEQ ID NO:2もしくはこのバリエーション、または本明細書に記載された別のポリペプチド配列の少なくとも8個の連続したアミノ酸を含む。

【手續補正3】

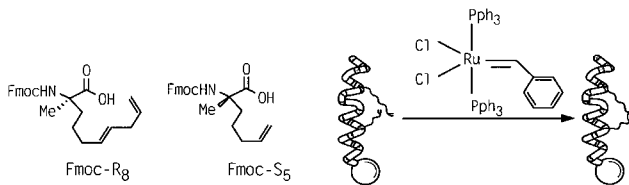
【補正対象書類名】図面

【補正対象項目名】全図

【補正方法】変更

【補正の内容】

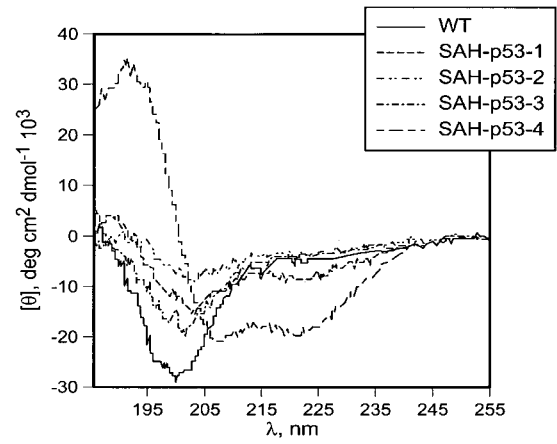
【図 1 A】



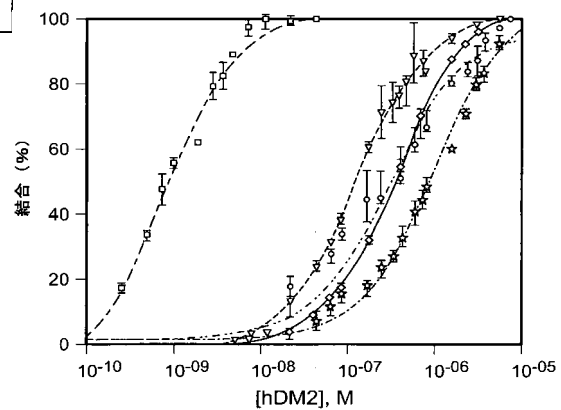
【図 1 B】

化合物	配列 * = R <sub>8</sub> * = S <sub>5</sub>	pH 7.4 時の電荷	αヘリックス率	K <sub>d</sub> (nM)	細胞透過性	細胞の生存
WT	Ac-LSQETFSDLWKLLPEN-NH <sub>2</sub>	-2	11%	410±19	なし	-
SAH-p53-1	Ac-LSQETFSQ*WKLLPE*-NH <sub>2</sub>	-2	25%	100±8	なし	-
SAH-p53-2	Ac-LSQE*FSDLWK*LPEN-NH <sub>2</sub>	-2	10%	400±50	なし	-
SAH-p53-3	Ac-LSQ*TFSDLW*LLPEN-NH <sub>2</sub>	-2	12%	1200±89	なし	-
SAH-p53-4	Ac-LSQET*DLWKLL*EN-NH <sub>2</sub>	-2	59%	0.92±0.11	なし	-
SAH-p53-5	Ac-LSQETF*NLWKLL*QN-NH <sub>2</sub>	0	20%	0.80±0.05	あり	-
SAH-p53-6	Ac-LSQQT*NLWRLL*QN-NH <sub>2</sub>	+1	14%	56±11	あり	-
SAH-p53-7	Ac-QSQQT*NLWKLL*QN-NH <sub>2</sub>	+1	36%	50±10	あり	-
SAH-p53-8	Ac-QSQQT*NLWRLL*QN-NH <sub>2</sub>	+1	85%	55±11	あり	+
SAH-p53-8 <sub>F19A</sub>	Ac-QSQQT*NLWRLL*QN-NH <sub>2</sub>	+1	39%	>4000	あり	-
UAH-p53-8	Ac-QSQQT*NLWRKK*QN-NH <sub>2</sub>	+1	36%	100±10	あり	-

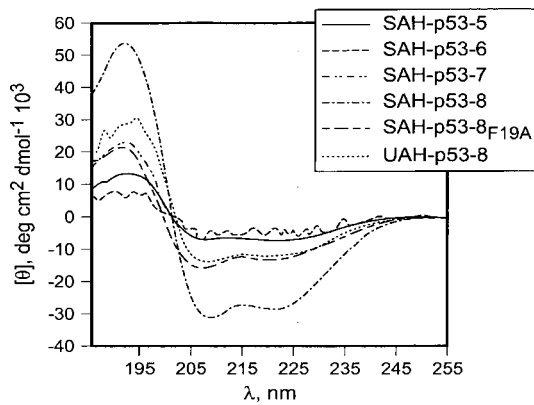
【図 1 C】



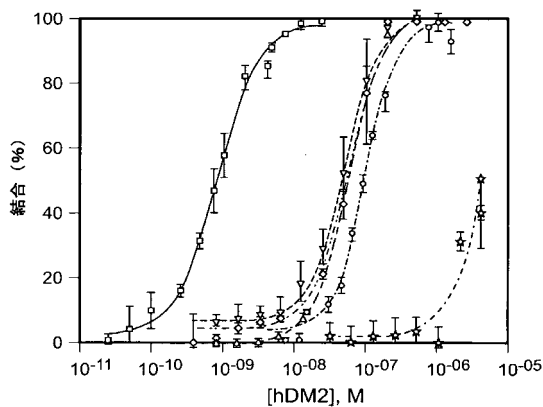
【図 1 D】



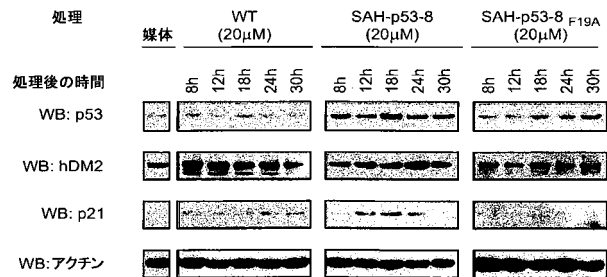
【図 1 E】



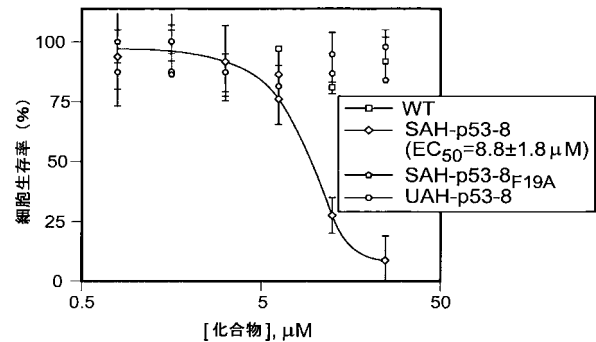
【図 1 F】



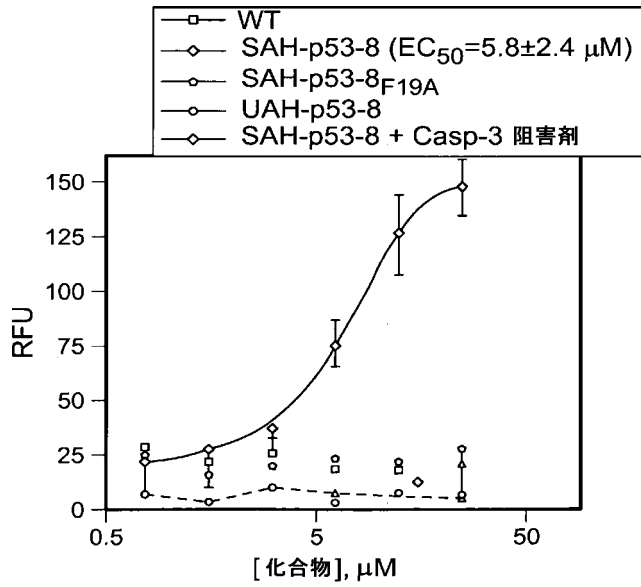
【図 2】



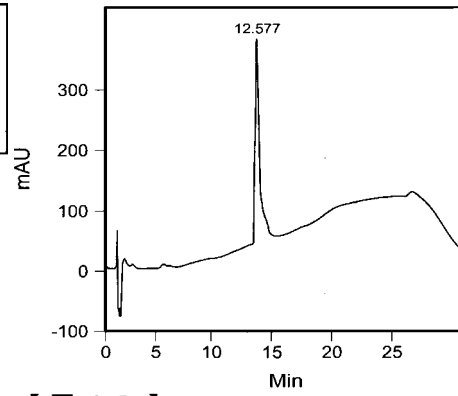
【図 3 A】



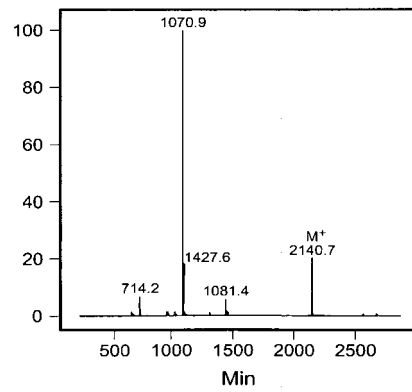
【図 3 B】



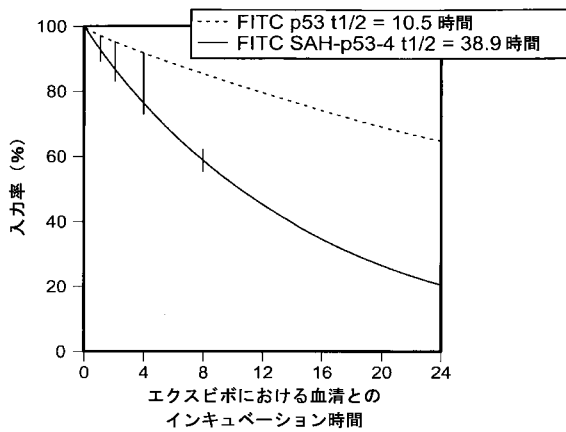
【図 4 A】



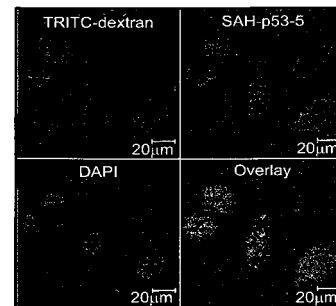
【図 4 B】



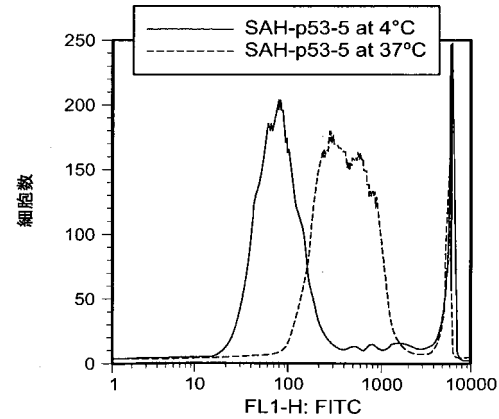
【図 5】



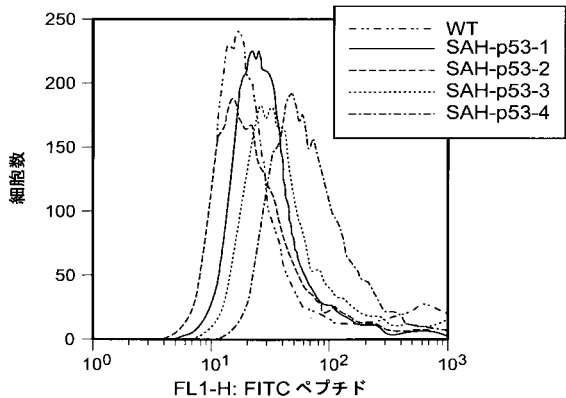
【図 7 A】



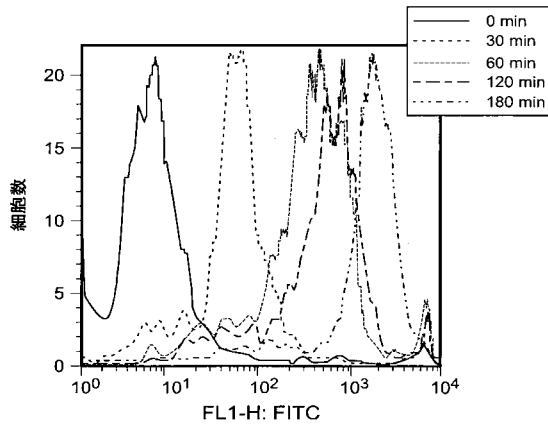
【図 7 B】



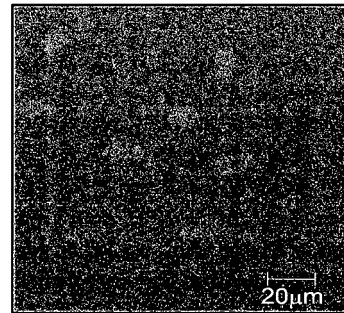
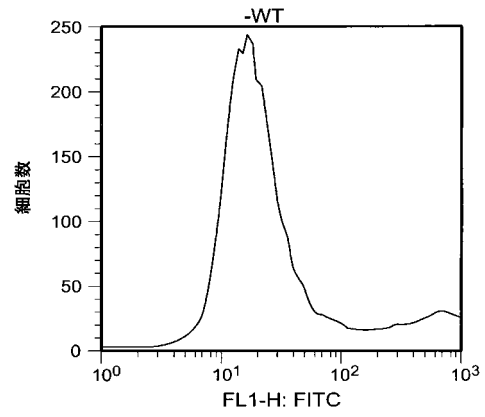
【図 6】



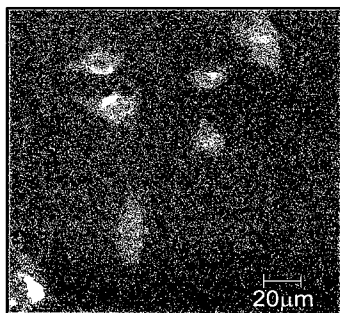
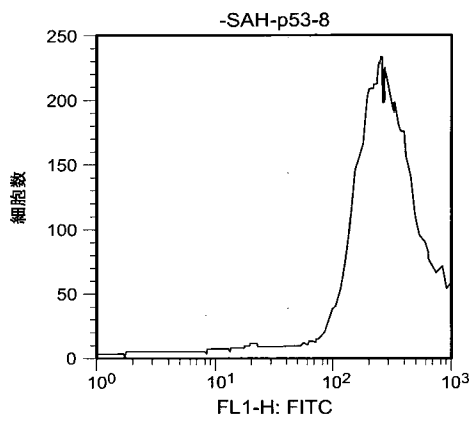
【図 7 C】



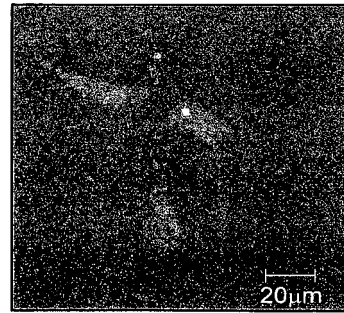
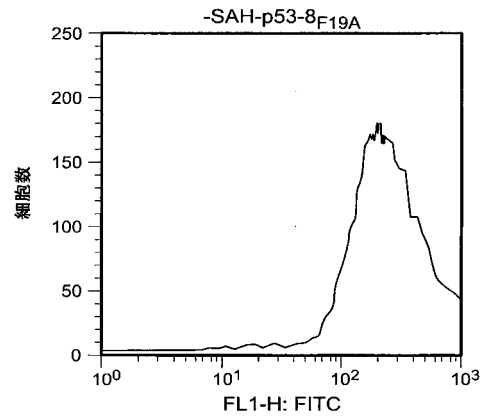
【図 7 D - 1】



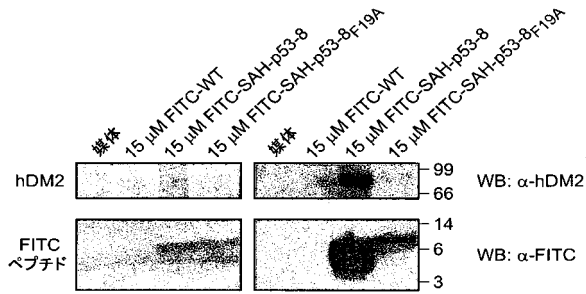
【図 7 D - 2】



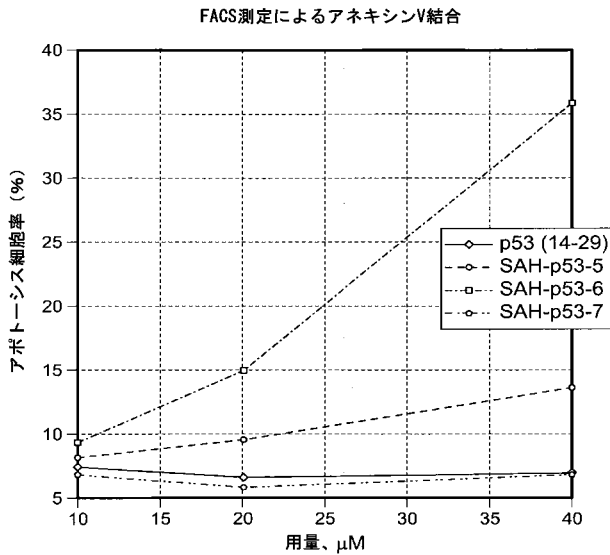
【図 7 D - 3】



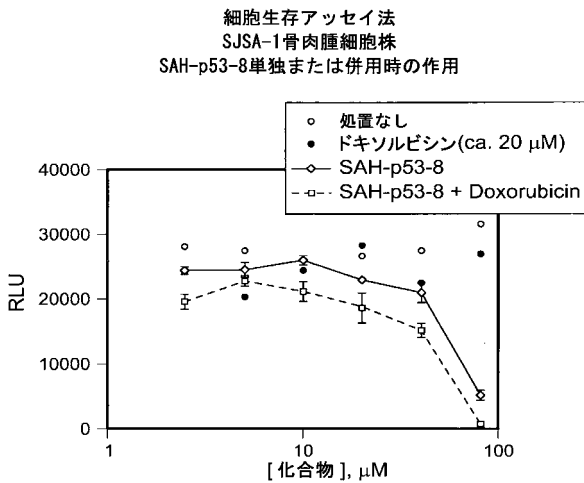
【図 8】



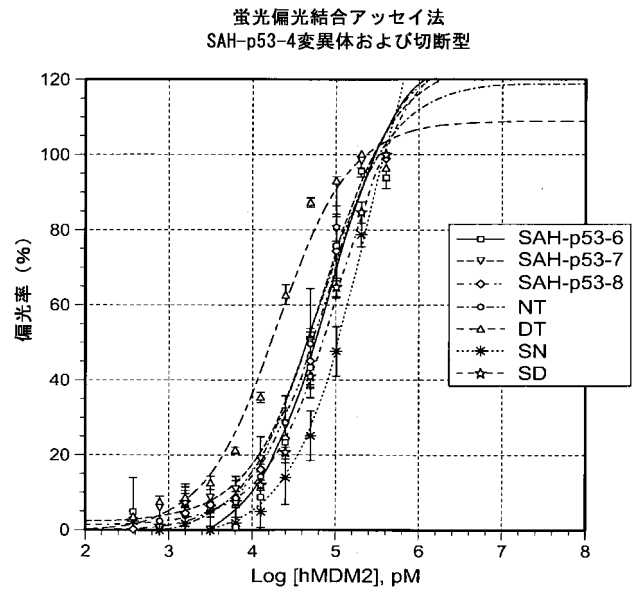
【図 9】



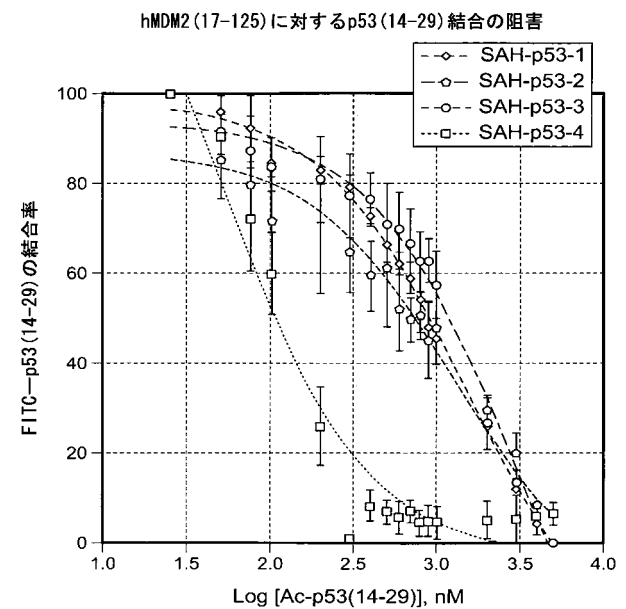
【図 11】



【図 10】

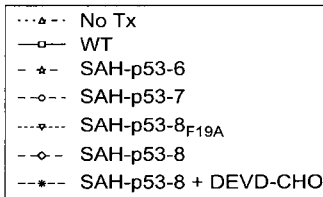
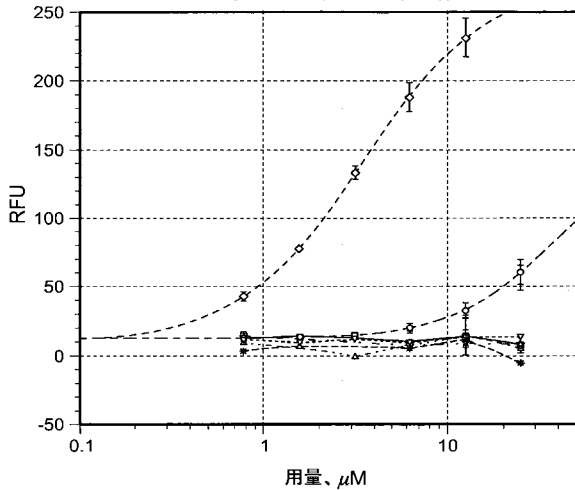


【図 12】

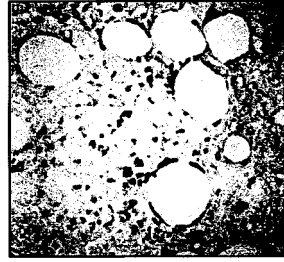


【 図 1 3 】

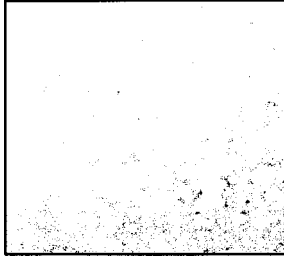
カスパーゼ-3蛍光定量アッセイ法  
24時間の処理、SJSA-1細胞株



【 図 1 4 】



A



B

【 図 1 5 】

```

1  meepqsdpsv  eplsqetfs  dlwkllpenn  vlsplpsqam  ddmlspddi  eqwftedpgp
61  deaprmpeaa  prvapapaap  tpaapapaps  wplsssvsq  ktyqgsygr  lgflhsgtak
121 svctctspal  nkmfcqlakt  cpvqlwdst  ppgtrvrar  aiykqshmt  evvrrcphhe
181 rcsdsglap  pqhlirvegn  lrveylldrn  tfrhsvvpy  epvegsdct  tihynymcns
241 scmgmnrp  iltiitieds  sgnlgrnsf  evrvacpgr  drtteenlr  kkgaphelp
301 pgstkralpn  ntssspqpk  kpldgyftl  qirgrnfem  frelnealel  kdaqagkepg
361 gsrhshhik  skkgqstsrh  kklmfktegp  dsd

```

【 図 1 6 - 1 】

1. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-S-D-\*W-K-L-L-P-E-N-NH<sub>2</sub>
  2. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-S-D-L-W-\*L-L-P-E-N-NH<sub>2</sub>
  3. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-S-D-L-W-K-\*L-L-P-E-N-NH<sub>2</sub>
  4. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-S-D-L-W-K-L-\*P-E-N-NH<sub>2</sub>
  5. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-S-D-L-W-K-L-L-\*E-N-NH<sub>2</sub> (SAH-p53-4)
  6. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-S-D-L-W-K-L-L-P-\*N-NH<sub>2</sub>
  7. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-S-D-\*W-K-L-L-P-E-\*N-NH<sub>2</sub>
- 「Cap」はAc(アセチル)またはFITC(フルオレセインチオカルバモイル)を意味し;「Linker」は、β-アラニンまたはリンカーなしを意味し;「\*」は、非架橋型(ステアブルされておらず、メタセシスされていない)か、または架橋型(ステアブルされており、メタセシスされている)のいずれかにおける、アミノ酸対R<sub>8</sub>-S<sub>8</sub>もしくはR<sub>8</sub>-S<sub>8</sub>を意味する。
8. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-\*D-L-W-K-L-L-\*E-N-NH<sub>2</sub>
  9. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-\*D-L-W-K-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub>
  10. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-\*D-L-W-K-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub>
  11. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-\*N-L-W-K-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub>
  12. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-\*N-L-W-K-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub>
  13. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-\*N-L-W-R-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub>
  14. Cap-Linker-Q-S-Q-Q-T-F-\*N-L-W-K-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub>
  15. Cap-Linker-Q-S-Q-Q-T-F-\*N-L-W-R-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub> (SAH-p53-8)
  16. Cap-Linker-Q-S-Q-Q-T-A-\*N-L-W-R-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub> (SAH-p53-8<sub>F19A</sub>)
- 「Cap」はAc(アセチル)、FITC(フルオレセインチオカルバモイル)、DOTA(放射性 Inをキレート可能なクリプタンド)、ラウロイル、ヘプタノイル、およびミリスチルを意味し;「Linker」は、β-アラニンまたはリンカーなしを意味し;「\*」は、非架橋型(ステアブルされておらず、メタセシスされていない)か、または架橋型(ステアブルされており、メタセシスされている)のいずれかにおける、アミノ酸対R<sub>8</sub>-S<sub>8</sub>もしくはR<sub>8</sub>-S<sub>8</sub>を意味する。
17. Cap-Linker-Q-Q-Q-T-F-\*D-L-W-R-L-L-\*E-N-NH<sub>2</sub>
  18. Cap-Linker-Q-Q-Q-T-F-\*D-L-W-R-L-L-\*NH<sub>2</sub>
  19. Cap-Linker-L-S-Q-Q-T-F-\*D-L-W-\*L-L-NH<sub>2</sub>
  20. Cap-Linker-Q-Q-Q-T-F-\*D-L-W-\*L-L-NH
  21. Cap-Linker-Q-Q-T-A-\*D-L-W-R-L-L-\*E-N-NH<sub>2</sub>
- 「Cap」はAc(アセチル)、FITC(フルオレセインチオカルバモイル)、ラウロイル、ヘプタノイル、およびミリスチルを意味し;「Linker」は、β-アラニンまたはリンカーなしを意味し;「\*」は、非架橋型(ステアブルされておらず、メタセシスされていない)か、または架橋型(ステアブルされており、メタセシスされている)のいずれかにおける、R<sub>8</sub>-S<sub>8</sub> (ペプチド、17、18および21)、またはS<sub>8</sub>-S<sub>8</sub> (ペプチド19および20)を意味する。
22. Cap-K(Myrr)-Linker-Q-S-Q-Q-T-F-\*N-L-W-R-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub>
  23. Cap-K(Biotin)-Linker-Q-S-Q-Q-T-F-\*N-L-W-R-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub>
  24. Cap-K(PEG3)-Linker-Q-S-Q-Q-T-F-\*N-L-W-R-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub>
  25. Cap-Linker-Q-S-Q-Q-T-F-\*N-L-W-R-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub> diol
  26. Cap-Linker-Q-S-Q-Q-T-A-\*N-L-W-R-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub> diol
- 「Cap」はAc(アセチル)、FITC(フルオレセインチオカルバモイル)を意味し;「Linker」は、β-アラニンまたはリンカーなしを意味し;「\*」は、非架橋型(ステアブルされておらず、メタセシスされていない)か、または架橋型(ステアブルされており、メタセシスされている)のいずれかにおける、R<sub>8</sub>-S<sub>8</sub>を意味し;「diol」は、ジヒドロキシル化された架橋オレフィンを意味する。

【 図 1 6 - 2 】

27. Cap-Linker-Q-S-Q-Q-T-F-\*D-J-W-R-L-L-\*Q-N-NH<sub>2</sub> (SAH-p53-10)
28. Cap-Linker-Q-Q-Q-T-F-\*N-L-W-R-L-L-\*NH<sub>2</sub> (SAH-p53-11)
29. Cap-Linker-Q-S-Q-Q-T-F-\*N-L-W-\*L-L-P-Q-N-NH<sub>2</sub> (SAH-p53-8<sub>SA</sub>)
30. Cap-Linker-Q-S-Q-Q-T-F-\*N-L-W-R-L-L-P-Q-N-NH<sub>2</sub> (SAH-p53-8<sub>SB</sub>)
31. Cap-Linker-\*T-F-S-\*L-W-K-L-L-NH<sub>2</sub> (SAH-p53-12)
32. Cap-Linker-E-T-F-\*D-L-W-\*L-L-NH<sub>2</sub> (SAH-p53-13)
33. Cap-Linker-Q-Q-T-F-\*N-L-W-\*L-L-NH<sub>2</sub> (SAH-p53-14)
34. Cap-Linker-\*S-Q-E-\*F-S-N-L-W-K-L-L-NH<sub>2</sub> (SAH-p53-15)