

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6143740号
(P6143740)

(45) 発行日 平成29年6月7日 (2017.6.7)

(24) 登録日 平成29年5月19日 (2017.5.19)

(51) Int. Cl.	F I
C 0 7 K 14/47 (2006.01)	C 0 7 K 14/47 Z N A
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
A 6 1 P 9/12 (2006.01)	A 6 1 P 9/12

請求項の数 8 (全 19 頁)

(21) 出願番号	特願2014-503985 (P2014-503985)	(73) 特許権者	503115205
(86) (22) 出願日	平成24年4月5日 (2012.4.5)		ザ ボード オブ トラスティーズ オブ
(65) 公表番号	特表2014-511862 (P2014-511862A)		ザ レランド スタンフォード ジュニ
(43) 公表日	平成26年5月19日 (2014.5.19)		ア ユニバーシティー
(86) 国際出願番号	PCT/US2012/032333		アメリカ合衆国 カリフォルニア 943
(87) 国際公開番号	W02012/138867		06、パロ アルト、エル カミーノ レ
(87) 国際公開日	平成24年10月11日 (2012.10.11)		アル 3000
審査請求日	平成27年2月25日 (2015.2.25)	(74) 代理人	100114557
(31) 優先権主張番号	61/473,054		弁理士 河野 英仁
(32) 優先日	平成23年4月7日 (2011.4.7)	(74) 代理人	100078868
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 河野 登夫
(31) 優先権主張番号	61/474,177	(72) 発明者	シュ, シャウ ユー
(32) 優先日	平成23年4月11日 (2011.4.11)		アメリカ合衆国 94025 カリフォル
(33) 優先権主張国	米国 (US)		ニア州, メンロ パーク, サンタ クルー
			ズ アヴェニュー 2038
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 持続性ペプチド類似体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

1. 5時間を超える血清半減期を有し、

配列番号 6 又は配列番号 7 に記載のアミノ酸配列を含み、

以下の構造 1 を有していることを特徴とする生物学的に活性なインテルメジンペプチド
又はアドレノメデュリンペプチド。

【化 1】



構造 1

ここで、 R_1 は、線状又は分岐状の $C_3 - C_{100}$ アルキルであり、任意にはハロ、ヒドロキシ、アルコキシ、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、硫酸塩又はリン酸塩で置換された $C_4 - C_{30}$ アルキルであることが好ましく、飽和、一不飽和又は二不飽和であってもよいアルキルである

【請求項 2】

 R_1 は、パルミチン酸塩、ステアリン酸塩、アラキジン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸

、ミリストレイン酸、パルミトオレイン酸、サピエン酸、オレイン酸、リノール酸、 α -リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、エルカ酸及びドコサヘキサエン酸から選択されていることを特徴とする請求項1に記載のペプチド。

【請求項3】

前記ペプチドは、配列番号7に記載のアミノ酸配列を含み、 R_1 は、パルミチン酸塩であることを特徴とする請求項1に記載のペプチド。

【請求項4】

前記ペプチドは、配列番号6に記載のアミノ酸配列を含み、 R_1 は、パルミチン酸塩であることを特徴とする請求項1に記載のペプチド。

【請求項5】

治療有効量の請求項1～4のいずれか1つに記載のペプチドと、薬学的に許容可能な誘導体とを含んでいることを特徴とする医薬組成物。

【請求項6】

CLR/RAMP受容体の活性のために宿主動物に長時間導入する持続性作用薬を製造する方法であって、

前記持続性作用薬に、請求項5に記載の医薬組成物が含まれていることを特徴とする方法。

【請求項7】

個体の心拍出量を増加させながら、末梢血圧を下げるための薬剤であって、4時間毎に1回を超える時間間隔で導入される前記薬剤を製造する方法であって、

前記薬剤に、請求項5に記載の医薬組成物が含まれていることを特徴とする方法。

【請求項8】

前記薬剤は、12時間毎に1回を超える時間間隔で導入されるものであることを特徴とする請求項7に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

空腹、ストレス反応及び生殖を含む生理機能の多くの態様は、それらの制御をホルモンバランスに依存している。このホルモンバランスは、内部刺激及び外部刺激の両方に反応し得る。例えば、脳下垂体前葉によるホルモンの分泌は主に、脳下垂体前葉の真上にある脳の領域である視床下部によって制御されている。視床下部の神経細胞は、脳下垂体内で特定のホルモンを生成する1組の特異的な細胞により前記ホルモンの分泌を刺激するか又は抑制するペプチド因子を作り、放出することが知られている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0002】

【特許文献1】米国特許第4728578号明細書

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

多様な視床下部放出ペプチドは、GH、ACTH、TSH、LH及びFSHのような異なる脳下垂体前葉ホルモンの分泌の調節において重要である。しかし、脳下垂体前葉によるプロラクチン放出の調節は、より複雑であり、視床下部及び中葉の両方を起源とする刺激因子を伴う（ロードン（Laudon）等著、「Endocrinology」, 1990年, 第126刊, p. 3185-3192、ベン・ジョナサン（Ben-Jonathan）及びナスコ（Hnasko）著、「Endocrine Reviews（Endocr. Rev.）」, 2001年, 第22刊, p. 724-763参照）。プロラクチン分泌の調節における中葉の役割は文献での裏付けがあり、中葉及び後葉は、プロラクチン放出における哺乳及びエストラジオールに伴う上昇に必要であるが、中葉からのプロ

10

20

30

40

50

ラクチン放出因子の同定は、未だ明らかにされていない（アレン（Allen）等著，「Endocrinology」，1995年，第136刊，p. 3093-3099）。

【0004】

脳内のCGRP部位の結合により、重なり合うカルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）の発現パターンの欠乏がある（クルーガー（Kruger）著，「Brain Research（Brain Res.）」，1988年，463：223-244）ものの、脳下垂体カルシトニン受容体様受容体（CRLR）は、プロラクチン放出と関係がある（ミーラン（Meeran）等著，「The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism（J. Clin. Endocrinol. Metab.）」，1997年，第82刊，p. 95-100）。カルシウムバランスに必須のポリペプチドホルモンとして最初に単離されたカルシトニンは、 α CGRP、 β CGRP、アドレノメデュリン（ADM）及びアミリンを含むペプチドホルモンのグループに属する（エト（Eto）著，2001年，「Peptides」，第22刊，p. 1693-1711）。これらの組織特異的ペプチドは、脈管系及び呼吸系にて恒常性を維持するために重要な内分泌及び神経分泌のインテグレートである。

【0005】

これらのペプチドの生物学的作用には、2種類の密接に関連するII型Gタンパク質共役受容体（GPCR）、カルシトニン受容体及びCRLRへの結合が介在する（クリストポロス（Christopoulos）等著，「Molecular Pharmacology（Mol. Pharmacol.）」，1999年，第56刊，p. 235-242、及びポイナー（Poyner）等著，「Pharmacological Reviews（Pharmacol. Rev.）」，2002年，第54刊，p. 233-246）。カルシトニン受容体は、カルシトニン作用の主な媒介物質であるが、アミリンを更に結合する。最近のクローニング研究及び機能的な研究では、CGRP、ADM及びこれらほどではないがアミリンが、CRLRと3種類の受容体活性調節タンパク質（RAMP）との異なる組み合わせと相互作用することが示されている。マクラッチィ（McLatchie）等著，「Nature」，1998年，第393刊，p. 333-339参照。

【0006】

多くの細胞は複数のRAMPを発現する。カルシトニン受容体様受容体（CRLR）及び受容体活性調節タンパク質（RAMP）の同時発現には、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）及びアドレノメデュリン（ADM）のための機能的受容体の生成を必要とする。RAMPとCRLRとのヘテロ二量体の形成は、CGRP及びADM受容体の両方の適切な細胞表面標的化及び薬理学的特徴に必須である。RAMP群は3種類の要素（RAMP1、RAMP2及びRAMP3）を含み、これらは、30%未満の配列同一性しか共有しないが、共通の位相組織を共有する。これらは、大きな細胞外N末端（約100個のアミノ酸）を有する小さな膜内在性タンパク質（推定サイズ： M_r 14,000-17,000）、単一の膜貫通ドメイン、及び非常に短い細胞内ドメイン（10個のアミノ酸）である。RAMP1及びCRLRの同時発現によりCGRP受容体が形成される一方、RAMP2及びRAMP3は、ADM受容体の発現を促進する。カルシトニン受容体がRAMP1と同時発現すれば、カルシトニン受容体はCGRP/アミリン受容体を与え、カルシトニン受容体がRAMP3と同時発現すれば、カルシトニン受容体はアミリン受容体を与える。

【0007】

α CGRP、ADM又はアミリン欠損突然変異体マウスを使用した研究では、CRLRが、心臓血管形態形成、感覚性神経伝達、炎症反応、侵害作用及びグルコース恒常性に重要であり得ることが様々な系で示されている。従って、この群におけるペプチドの生理機能は、個々のリガンドの受容体結合特異性及び組織発現プロファイルによって決定される。

【0008】

高血圧症の処置及び心血管恒常性の維持を含む臨床用途及び治療の開発において、ペプチドホルモンに大きな関心が持たれている。これらの効果に加えて、プロラクチン放出因子の同定にも関心が持たれている。プロラクチンは、哺乳類の妊娠及び授乳において重要であり、乳腺の発達及び乳合成の促進に関与するが、特異的プロラクチン放出ホルモンはこれまで知られていなかった。

【0009】

関連する刊行物

ヘイ (Hay) 及びスミス (Smith) 著, 「Trends in Pharmacological Sciences (Trends Pharmacol. Sci.)」, 2001年, 第22刊, p. 57-59、及びシンドウ (Shindo) 等著, 「Circulation」, 2001年, 第104刊, 1964-197は、脈管構造におけるアドレノメデュリンの重要性を検討している。CGRPの役割は、ツァン (Zhang) 等著, 2001年, 「Pain」, 第89刊, p. 265-273、サーモン (Salmon) 等著, 「Neuroreport」, 1999年, 第10巻, p. 849-854、及びサーモン (Salmon) 等著, 「Nature Neuroscience (Nat. Neurosci.)」, 2001年, 第4刊, p. 357-358に検討されている。アミリンの役割は、マルダー (Mulder) 等著, 「American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism (Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.)」, 2000年, 第278刊, E684-691に検討されている。

10

20

【0010】

ジェンバンク (GenBank) エントリー AF529213

【課題を解決するための手段】

【0011】

本明細書では、持続性ペプチド類似体が提供されており、該持続性ペプチド類似体は、インテルメジン又はアドレノメデュリンの、カルシトニン受容体様受容体のリガントとしての作用を含む生物活性を有するが、天然のポリペプチドと比較すると、インビボでの実質的により長い半減期を有する。本発明の類似体は、持続時間が天然のペプチドより少なくとも2倍、場合によっては5倍、10倍、20倍又はそれ以上長く持続するインビボでの有効性を有する。インビボでの活性の増加は、ポリペプチドの安定性、生理的効果の長さなどを決定することにより、インビボ又はインビトロで測定されてもよい。

30

【0012】

本発明のある実施形態では、前記類似体は、N末端が修飾されている生物学的に活性なインテルメジンポリペプチド又はアドレノメデュリンポリペプチドを含む。対象のN末端修飾として、不飽和であっても飽和であってもよい脂肪酸、通常C4~C30の脂肪酸への共役が挙げられる。対象の脂肪酸として、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、パルミトオレイン酸、サピエン酸、オレイン酸、リノール酸、 α -リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、エルカ酸、ドコサヘキサエン酸などが挙げられるが、これらに限定されない。他の実施形態では、生理学的半減期を延ばすために、ポリペプチドは、ペグ化、グルコシル化、アルブミンのような巨大タンパク質への共役、又は例えばD-アミノ酸若しくは β -アミノ酸を使用するアミノ酸修飾と組み合わせたポリマーとの共役によって修飾されている。

40

【0013】

本発明の類似体は、CLR/RAMP受容体のための持続性作用薬の類似体を提供する。該類似体は、血圧には効果を大いにもたらしつつ、心拍数には僅かな影響しか与えない。血清中の持続性ペプチドの隔離により、所定の時点で細胞刺激作用薬の有効部分を効果的に減少させ、それによって、注入されたペプチドのピーク及びトラフ効果を緩和し、望ましくない副作用を取り除く。

【図面の簡単な説明】

【0014】

50

【図1A】30ナノモル/kg BWの持続性インテルメジンペプチド（パルミチン酸修飾IMD, IMD-PA）で処置した後のSHRラットにおける血圧測定結果の例を示す図表である。

【図1B】100ナノモル/kg BWの持続性インテルメジンペプチド（パルミチン酸修飾IMD, IMD-PA）で処置した後のSHRラットにおける血圧測定結果の例を示す図表である。

【図1C】100ナノモル/kg BWの持続性インテルメジンペプチド（パルミチン酸修飾IMD, IMD-PA）で処置した後のSHRラットにおける血圧測定結果の例を示す図表である。

【図2A】野生型インテルメジンペプチド（IMD、100ナノモル/kg BW）を注入した後のSHRラットにおける血圧測定結果の例を示す図表である。IMD-PAペプチドの血圧降下作用はインビボで5時間以上持続する一方、未修飾IMDペプチドの効果は1時間未満しか持続しなかった。

10

【図2B】野生型インテルメジンペプチド（IMD、100ナノモル/kg BW）を注入した後のSHRラットにおける血圧測定結果の例を示す図表である。IMD-PAペプチドの血圧降下作用はインビボで5時間以上持続する一方、未修飾IMDペプチドの効果は1時間未満しか持続しなかった。

【図3A】対照動物におけるPBS注入後のBP測定結果を示す図表である。

【図3B】対照動物におけるPBS注入後のBP測定結果を示す図表である。

【図4】3種類の受容体（CLR/RAMP1、CLR/RAMP2及びCLR/RAMP3）を発現する293T細胞におけるIMD及びIMD-PAの刺激効果を示す図表である。

20

【図5A】持続性アドレノメデュリンペプチド（パルミチン酸共役ADM, ADM-PA, 100ナノモル/kg BW）の注入後のSHRラットの収縮期血圧測定結果の例を示す図表である。このペプチドの血圧降下作用はインビボで5時間以上持続した。対照的に、未修飾ADMペプチドの血圧降下作用は、通常1.5時間未満しか持続しない。

【図5B】持続性アドレノメデュリンペプチド（パルミチン酸共役ADM, ADM-PA, 100ナノモル/kg BW）の注入後のSHRラットの収縮期血圧測定結果の例を示す図表である。このペプチドの血圧降下作用はインビボで5時間以上持続した。対照的に、未修飾ADMペプチドの血圧降下作用は、通常1.5時間未満しか持続しない。

30

【図5C】持続性アドレノメデュリンペプチド（パルミチン酸共役ADM, ADM-PA, 100ナノモル/kg BW）の注入後のSHRラットの収縮期血圧測定結果の例を示す図表である。このペプチドの血圧降下作用はインビボで5時間以上持続した。対照的に、未修飾ADMペプチドの血圧降下作用は、通常1.5時間未満しか持続しない。

【図6A】対照用生理食塩水の注入後のSHRラットの収縮期血圧測定結果の例を示す図表である。

【図6B】対照用生理食塩水の注入後のSHRラットの収縮期血圧測定結果の例を示す図表である。

【図7】組換えアドレノメデュリン受容体1（CLR/RAMP2）及び組換えアドレノメデュリン受容体2（CLR/RAMP3）を発現する293T細胞におけるADM及びADM-PAの刺激効果を示す図表である。ADM-PAペプチドの刺激効果は、インビトロで野生型ADMの刺激効果より低い、ADM-PAペプチドの実効寿命は、インビボで野生型ADMの実効寿命より著しく長い。

40

【図8】腹腔内注入から12時間後に、ADMペプチドと比較して著しく高い濃度の免疫活性ADM-PAがインビボで維持されていることを示す図表である。

【発明を実施するための形態】

【0015】

本発明は、カルシトニンペプチドホルモン群の要素である、インテルメジン又はアドレノメデュリンの新規なポリペプチド類似体を提供する。

【0016】

50

インテルメジンは、カルシトニン受容体様受容体のリガンドである。ヒトインテルメジン遺伝子は、N末端に分泌のための24アミノ酸シグナルペプチドを有する148アミノ酸オープンリーディングフレームと、成熟アミド化ペプチドとをコードする（配列番号1及び配列番号2に示されている）。成熟ヒトインテルメジンペプチドとして、成熟タンパク質の残基8-47に対応して配列番号3に記載されている40アミノ酸ペプチド（短いインテルメジン又はIMDS）、及び配列番号4に記載されている47アミノ酸成熟ペプチド（長いインテルメジン又はIMDL）が挙げられるが、これらに限定されない。インテルメジンペプチドは、修飾を簡便にするために末端のリジン残基で置換されてもよい。対象のインテルメジンペプチドは、例えば、配列番号7に記載されているようにK(mod)GCVLGTCQVQNLSHRLWQLMGPAQRQDSAPVDPSSSPHSYであり、末端のリジンは、例えば、脂質又は他の基の結合により修飾されている。

10

【0017】

アドレノメデュリンは、カルシトニン受容体様受容体のリガンドである。ADM遺伝子はプレプロホルモンをコードし、プレプロホルモンは翻訳後に修飾され、2種類の生物学的に活性なペプチドであるアドレノメデュリン及びプロアドレノメデュリンN末端20ペプチド(PAMP)が生成される。アドレノメデュリンは、52個のアミノ酸から構成されており、1個の分子内ジスルフィド結合を有し、カルシトニン遺伝子関連ペプチドと僅かな相同性を示す。プレプロアドレノメデュリンと呼ばれる前駆体は、185アミノ酸長である。ジェンバンク・参照番号NM_001124を参照。これは参照によって本明細書に具体的に組み込まれる。前記前駆体のポリペプチド（配列番号5）は、アミノ酸配列：MKLVSV ALMYLGSLAFLGADTARLDVASEFRKKWNKWA LSRGKREL RMSSSYPTGLADV KAGPAQTLIRPQDMKGASRS PEDSSPDAA RIRVKRYRQSMNNFQGLRSFGCRFGTCTVQKL AHQIYQFTDKDKDNVAPRSKISPQGYGRRRRRRSLPEAGP GRTLVS SKPQAHGAPAPPSGSAPHFLを有する。

20

【0018】

本発明の目的のために、用語「アドレノメデュリンペプチド」は、特に示されていない限り、アドレノメデュリン前駆体ペプチドから誘導されるあらゆる活性ペプチドを言及する。特に対象となるアドレノメデュリンペプチドは、降圧ペプチドである。活性ペプチドとして、アミノ酸配列（配列番号6）K(mod)GCRFGTCTVQKL AHQIYQFTDKDKDNVAPRSKISPQGYを有し、残基1のリジンが、例えば脂質又は他の基で修飾されているアドレノメデュリンペプチドが挙げられるが、これに限定されない。

30

【0019】

本発明のある実施形態では、インテルメジン及びアドレノメデュリンの一又は複数が本発明の方法によって修飾され、長寿命類似体が提供される。

【0020】

本発明のある実施形態では、類似体は、以下の構造1に示すように、N末端が修飾されている生物学的に活性なポリペプチドを含む。他の実施形態では、生理学的半減期を延ばすために、ポリペプチドは、ペグ化、グルコシル化、アルブミンのような巨大タンパク質への共役、又は例えばD-アミノ酸若しくはβ-アミノ酸を使用するアミノ酸修飾と組み合わせたポリマーとの共役によって修飾されてもよい。

40

【0021】

【化 1】



構造 1

【0022】

10

ここで、 R_1 は、線状又は分岐状の $C_3 - C_{100}$ アルキルであり、任意にはハロ、ヒドロキシ、アルコキシ、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、硫酸塩又はリン酸塩で置換された $C_4 - C_{30}$ アルキルであることが好ましく、飽和、一不飽和又は二不飽和であってもよいアルキルであり、例えば、18:0、24:0 及び 24:1 である。対象の脂肪酸として、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキジン酸、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、パルミトオレイン酸、サピエン酸、オレイン酸、リノール酸、 α -リノレン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、エルカ酸、ドコサヘキサエン酸などが挙げられるが、これらに限定されない。

【0023】

20

本発明の類似体は、持続時間が天然のペプチドより少なくとも 2 倍、場合によっては 5 倍、10 倍、20 倍又はそれ以上長く持続するインビボでの有効性を有する。インビボでの活性の増加は、ポリペプチドの安定性、生理的効果の長さなどを決定することにより、インビボ又はインビトロで測定されてもよい。血圧降下作用が特に対象であり、収縮期圧の少なくとも約 10% の減少に効果的な類似体ペプチドの単回用量は、少なくとも約 1 時間、少なくとも約 2 時間、少なくとも約 3 時間、少なくとも約 4 時間又はそれ以上の間、血圧の減少を維持するのに効果的である。

【0024】

30

インテルメジン及びアドレノメデュリンは、CLR/RAMP 受容体のリガンドであり、結合の際に受容体を活性化する。インテルメジンによる活性化により、プロラクチンが放出され、成長ホルモンの放出が調節され、脈管系では血圧の低下及び血管拡張を含む効果がある。従って、インテルメジンは、CRLR を介してシグナルを送り、末梢血管拡張関連プロセスを調節する。アドレノメデュリンによる活性化は、血圧の低下及び血管拡張を含む脈管系の効果を引き起こす。従って、アドレノメデュリンは、CRLR を介してシグナルを送り、末梢血管拡張関連プロセスを調節する。

【0025】

40

本方法による修飾のために、天然のインテルメジン、アドレノメデュリン又はこれらの変異体を使用してもよい。対象のペプチドとして、連続した少なくとも約 12 個のアミノ酸、より一般的には連続した少なくとも約 20 個のアミノ酸のフラグメントが挙げられ、30 個、35 個、40 個又はそれ以上のアミノ酸、完全なペプチドを含んでもよく、更に延びて前駆体タンパク質中に存在する他の配列を含んでもよい。欠失部分が、ペプチドの残基 1 から 10 まで延びてもよく、更に残基 10 ~ 15 又はそれ以上でアミノ酸を追加で欠失させてもよい。1 ~ 5 個のアミノ酸のより小さな欠失は、N 末端で行われてもよい。治療目的のための対象のペプチドは、与えられたペプチドの全て若しくは与えられたペプチドの略全てを含んでもよく、又はインテルメジンの生物活性を保持する前記ペプチドのフラグメントを含んでもよい。

【0026】

50

ポリペプチドの配列は、目標とする変化を配列にもたらすために、当該分野で公知の種々の方法によって変更されてもよい。ポリペプチドは通常、本明細書で提示された配列と略同様であり、すなわち、少なくとも 1 個のアミノ酸が異なり、少なくとも 2 個から約 10 個以下のアミノ酸が異なってもよい。配列の変化は、置換、挿入又は欠失であってもよ

い。アラニン又は他の残基を体系的に導入する走査突然変異を使用して、重要なアミノ酸を決定してもよい。保存アミノ酸置換として、通常、以下の群（グリシン、アラニン）、（バリン、イソロイシン、ロイシン）、（アスパラギン酸、グルタミン酸）、（アスパラギン、グルタミン）、（セリン、スレオニン）、（リジン、アルギニン）、又は（フェニルアラニン、チロシン）内での置換が挙げられる。

【0027】

一次配列を変更しない対象の修飾として、ポリペプチドの化学誘導体化、例えばアセチル化又はカルボキシル化が挙げられる。更に、グルコシル化による修飾が挙げられ、例えば、ポリペプチドのグルコシル化パターンを合成中に修飾して処理するか、又は更なる処理ステップによって、例えば、哺乳類グルコシル化又は脱グルコシル化酵素のようなグルコシル化に影響を及ぼす酵素にポリペプチドを晒すことによってなされる。また、ホスホチロシン、ホスホセリン又はホスホスレオニンのようなリン酸化アミノ酸残基を有する配列が更に包含される。

10

【0028】

本発明には、タンパク質分解に対する耐性を改善するように、溶解性を最適化するように、又は治療薬としてポリペプチドを更に最適化するように、通常の分子生物学的技術及び合成化学を使用して修飾されたポリペプチドが更に含まれる。例えば、ペプチドのバックボーンを環化して安定性を高めてもよい（フリードラー（Friedler）等著、「Journal of Biological Chemistry (J. Biol. Chem.)」, 2000年, 第275刊, 23783-23789参照）。このようなポリペプチドの類似体として、天然起源のL-アミノ酸、例えばD-アミノ酸又は非天然起源の合成アミノ酸以外の残基を含有する類似体が挙げられる。

20

【0029】

本ペプチドは、当該分野で公知の従来の方法を使用して、インビトロ合成によって調製されてもよい。様々な市販の合成装置が利用可能であり、例えばカリフォルニア州、フォスターシティ、ベックマンにあるアプライドバイオシステムズ（Applied Biosystems, Inc.）社製の自動合成器などがある。合成器を使用して天然起源のアミノ酸を非天然アミノ酸によって置換してもよい。特定の配列及び調製方法は、利便性、経済性、所要の純度などによって決められる。

【0030】

必要に応じて、種々の基を合成中又は発現中にペプチドに導入してもよく、このため、他の分子又は表面への結合が可能になる。従って、システインは、チオエーテル、金属イオン錯体に結合するためのヒスチジン、アミド類又はエステル類を形成するためのカルボキシル基、アミド類を形成するためのアミノ基などを作るために使用され得る。

30

【0031】

ポリペプチドは、従来の組換え合成方法に従って単離され精製されてもよい。発現宿主から溶解物を調製し、該溶解物は、HPLC、排除クロマトグラフィ、ゲル電気泳動、親和クロマトグラフィ又は他の精製技術を使用して精製されてもよい。生成物の調製方法及びその精製に関連する汚染物質の関係で、使用される組成物の大部分は、少なくとも20重量%、より一般的には少なくとも75重量%、好ましくは少なくとも約95重量%の目的生成物を含み、治療目的のためには通常少なくとも約99.5重量%の目的生成物を含む。通常、パーセンテージは総タンパク質に基づいている。

40

【0032】

インテルメジン／アドレノメデュリンの用途

インテルメジン及びアドレノメデュリンの薬理学的活性の観点から、多くの臨床上的適応が明らかであり、高血圧症、例えば妊婦高血圧症、肺動脈高血圧症、糖尿病に伴う高血圧症など、気管支肺異形成症、創傷治癒などが挙げられるが、これらに限定されない。例えば、インテルメジンペプチド、アドレノメデュリンペプチド又はこれらの変異体が使用される臨床上的適応は、特には高血圧症の処置である。本発明の類似体は、血圧を降下させ、例えば、心拍数に悪影響を及ぼすことなく収縮期圧を少なくとも約5%、少なくとも

50

約 10 %、少なくとも約 15 %、少なくとも約 20 %又はそれ以上降下させる。

【0033】

高血圧症は、処置をしなければ、アテローム動脈硬化性心血管疾患に非常に罹り易くなる疾患である。アメリカ人の成人の 4 人に 1 人が高血圧症を患っていると推定されている。糖尿病患者には、高血圧症が糖尿病でない人の約 2 倍多く見られる。高血圧症の有病率は、年齢と共に増加する。

【0034】

高血圧症は、単一の測定結果に基づいて診断されるべきではない。初期の高い測定値は、高血圧症であるという診断に必要な平均拡張期血圧が 90 mmHg 以上、又は収縮期血圧が 140 mmHg 以上で、1 週間以上に亘る少なくとも 2 回の連続した来診で確認されるべきである。血圧が大きく変わり易く、孤立性収縮期高血圧症である可能性が非常に高いため、糖尿病患者の高血圧症の診断には特に注意が必要である。糖尿病患者には、130 / 85 mmHg 未満の血圧を目標とすることが推奨される。

10

【0035】

高い血圧を制御するために、食事を変えることに加えて、薬理的な処置が必要である場合がある。本ペプチドを、動脈血圧を下げるために投与してもよい。更に、高血圧症を減らす二次効果は、浮腫及び炎症性滲出液の量を減らすことである。

【0036】

インテルメジン又はアドレノメデュリンの類似体を含む医薬組成物は、例えば、虚血障害又は心筋虚血による心筋梗塞サイズを改善するための心臓保護薬として有用である。急性心筋虚血後の心筋障害の程度、すなわち心筋梗塞の程度を制限し得る新たな治療薬の開発は、現代の心臓学の主たる関心事である。後ろ向き疫学的研究で、梗塞後の最初の数年間の死亡率が最初の梗塞サイズに関連しているようであることが示されているため、血栓溶解療法と組み合わせる又は単独で投与することができる追加の心筋保護を与え得る治療薬の開発にも関心が持たれている。

20

【0037】

心筋虚血は、心筋の酸素の需給の不均衡の結果であり、労作性及び血管萎縮性の心筋機能障害を含む。労作性虚血は、一般的に、心内膜下血流の減少を引き起こす大冠状動脈に関連する重症アテローム動脈硬化性狭窄の存在に起因する。欠陥萎縮性虚血は、病巣種の攣縮と関連しており、その発症は労作又はストレスとは関連しない。攣縮は、血管緊張の急激な増加として更に定義される。

30

【0038】

本発明の化合物は、通常、心臓保護治療が必要である患者の処置で経口的に又は非経口的に投与され得る。投与計画は、改善が得られまで最大の治療反応を保障し、その後緩和する最小の効果的なレベルを保障する計画である。従って、一般的に投薬量は、心臓保護作用をもたらすために治療的に有効な量であり、すなわち、虚血障害又は心筋虚血による心筋梗塞サイズを改善するために治療的に有効な量である。ペプチドは、緊急の場合に心筋虚血などを患う患者に投与されてもよい注射可能な投与形態として有用であることが更に予測される。

【0039】

インテルメジンペプチド又はアドレノメデュリンペプチド、及びこれらの誘導体は更に、浮腫の減少に使用され、例えば、リウマチ関節炎、脳腫瘍又は癌の放射線治療に続発する浮腫、脳卒中に起因する浮腫、頭部外傷又は脊髄損傷、術後浮腫、ぜんそく及びその他の呼吸疾患、及び眼の嚢胞様黄斑浮腫の減少に使用される。

40

【0040】

処方

本発明の組成物は、治療投与のための種々の処方に組み込まれ得る。特に、インテルメジン若しくはアドレノメデュリンの活性を調整する薬剤、又はインテルメジンポリペプチド若しくはアドレノメデュリンポリペプチド及びそれらの類似体は、これらの活性が不必要に高いか又は低いインテルメジン又はアドレノメデュリンの機能障害を処置すべく患者

50

に投与するために処方され得る。更に具体的には、本発明の化合物は、適切な薬学的に許容可能な担体又は希釈剤と組み合わせることによって医薬組成物に処方されることができ、錠剤、カプセル剤、粉末剤、顆粒剤、軟膏剤、液剤、坐剤、注入剤、吸入剤、ゲル剤、微粒子剤及び噴霧剤のような固形、半固形、液体又はガスの形態の製剤に処方されてもよい。このように、本化合物の投与は、種々の方法で行われることができ、例えば、経口投与、舌下投与、直腸投与、非経口投与、腹腔内投与、皮内投与、経皮投与、気管内投与などが挙げられる。活性剤は、投与後全身に作用してもよく、又は移植部位で活性量を保持するように作用する移植片を使用して局在化されてもよい。

【0041】

医薬品剤の形態において、化合物は、薬学的に許容可能な塩の形態で投与されてもよく、又は、単独で若しくは適切に関連付けて他の薬学的に活性な化合物と組み合わせて使用されてもよい。以下の方法及び賦形剤は、単なる例示であって、限定するものではない。

【0042】

経口剤のために、化合物は、単独で、又は錠剤、粉末剤、顆粒剤又はカプセル剤を作るために適切な添加剤と組み合わせて使用されることができ、例えば、ラクトース、マンニトール、トウモロコシデンプン又はジャガイモデンプンのような従来の添加剤と、結晶性セルロース、セルロース誘導体、アカシア、トウモロコシデンプン又はゼラチンのような結合剤と、トウモロコシデンプン、ジャガイモデンプン又はナトリウムカルボキシメチルセルロースのような崩壊剤と、タルク又はマグネシウムステアリン酸塩のような潤滑剤と、必要に応じて希釈剤、緩衝剤、湿潤剤、保存剤及び香味剤と組み合わせて使用されることができ。

【0043】

化合物を水性溶媒又は非水性溶媒に溶解するか、懸濁するか又は乳化することによって、化合物が注入剤に処方されることができ、非水性溶媒として、植物油又は他の同様の油類、合成脂肪酸グリセリド、高級脂肪酸又はプロピレングリコールのエステル類が挙げられ、必要に応じて、可溶化剤、等張剤、懸濁剤、乳化剤、安定剤及び保存剤のような従来の添加剤が共に使用される。

【0044】

化合物は、吸入により投与されるエアロゾル処方で使用され得る。本発明の化合物は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素のような許容可能な加圧噴霧剤に処方され得る。

【0045】

更に、化合物は、乳化基剤又は水溶性基剤のような種々の基剤と混合することにより、坐剤に調製され得る。本発明の化合物は、坐剤によって直腸に投与され得る。坐剤は、ココアバター、カーボワックス及びポリエチレングリコールのような、体温で溶融するが室温では固化するビヒクルを含み得る。

【0046】

シロップ、エリキシル剤及び懸濁液のような経口投与又は直腸投与のための単位用量形態は、各用量単位、例えば小さじ一杯、大さじ一杯、タブレット又は坐剤が、1種以上の本発明の化合物を含有する組成物を所定量含むように提供されてもよい。同様に、注入による投与又は静脈内投与のための単位用量形態は、滅菌水、通常生理食塩水又は別の薬学的に許容可能な担体中の組成物内に本発明の化合物を溶液として含んでもよい。

【0047】

徐放性剤用の移植片は、当該分野で周知である。移植片は、生分解性又は非生分解性のポリマーで小球体、平板などとして調製される。例えば、乳酸及び／又はグリコール酸のポリマーは、宿主が十分耐え得る腐食性ポリマーを形成する。移植片は、感染部位の近くに置かれ、そのため、活性剤の局所濃度が身体他の部位より高い。

【0048】

本明細書で使用されている用語「単位用量形態」は、ヒト及び動物の対象のための単一の投与量として適した物理的に別個の単位を言うものであり、各単位は、薬学的に許容可

10

20

30

40

50

能な希釈剤、担体又はビヒクルと関連して所望の効果をもたらすのに十分な量で計算された所定量の本発明の化合物を含む。本発明の新規な単位用量形態のための仕様は、使用される特定の化合物、達成されるべき効果、及び宿主中の各化合物に関連した薬力学に応じて決まる。

【0049】

ビヒクル、アジュバント、担体又は希釈剤のような薬学的に許容可能な賦形剤は、一般に容易に利用可能である。更に、pH調整剤及び緩衝剤、等張化剤、安定剤、湿潤剤のような薬学的に許容可能な補助剤も、一般に容易に利用可能である。

【0050】

全身投与の通常の用量は、1回の投与につき対象の重量1kg当たり0.1μg～100ミリグラムの範囲内である。通常の用量は、1錠を1日2～6回であるか、又は比例的により高い含有量の活性成分を含む徐放性カプセル又は錠剤1錠を1日1回である。徐放性効果は、異なるpH値で溶解するカプセル材料、浸透圧によって徐々に放出するカプセル、又は他の公知の制御放出方法によって得られてもよい。

【0051】

当業者であれば、服用レベルが、特定の化合物の機能、症状の重症度、及び対象の副作用に対する感受性によって変化し得ることを容易に理解する。特定化合物の中には、他のものより効能が高いものもある。所与の化合物の好ましい用量は、当業者によって種々の方法で容易に決定され得る。好ましい方法は、所与の化合物の生理的効能を測定することである。

【0052】

インビボ及びインビトロでタンパク質を導入するために、リポソームを使用してもよい。本発明で使用されるリポソームは、種々の従来のリポソーム調製技術の内の1つを使用して調製され得る。当業者に容易に明らかであるように、このような従来の技術として、超音波処理、キレート透析、均質化、押出しと組み合わせた溶媒の注入、凍結－融解押出し、ミクロ乳化、及びその他の技術が挙げられる。これらの技術及びその他の技術は、例えば、米国特許第4728578号明細書、英国特許出願公開第2193095号明細書、米国特許第4728575号明細書、米国特許第4737323号明細書、国際出願第PCT/US85/01161号明細書、メイヤー（Mayer）等著、「Biochimica et Biophysica Acta」, 1986年, 第858刊, p. 161-168、ホープ（Hope）等著、「Biochimica et Biophysica Acta」, 1985年, 第812刊, p. 55-65、米国特許第4533254号明細書、マヒュー（Mahew）等著、「Methods In Enzymology」, 1987年, 第149刊, p. 64-77、マヒュー（Mahew）等著、「Biochimica et Biophysica Acta」, 1984年, 第75刊, p. 169-174、及びチェン（Cheng）等著、「Investigative Radiology」, 1987年, 第22刊, p. 47-55に検討されている。国際出願第PCT/US85/01161号明細書に記載されているシステムと同様の無溶媒システムが、リポソーム構造を調製する際に使用されてもよい。

【0053】

リポソームの調製に使用される材料として、リポソーム構造に適するとして当業者に公知の材料又はそれらの化合物が挙げられる。使用される脂質は、天然由来であっても合成であってもよい。このような材料として、例えばコレステロール、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジン酸、ホスファチジルイノシトール、リソ脂質、脂肪酸、スフィンゴミエリン、グリコスフィンゴリ脂質、グルコリピド、糖脂質、スルファチド、アミド、エーテル及びエーテル結合脂肪酸を有する脂質、重合性脂質、並びにこれらの化合物などの脂質が挙げられるが、これらに限定されない。当業者であれば、リポソームが、取り込まれたグリコリピド、複合糖質、タンパク質又は合成ポリマーの有無に関わらず従来の手順を使用して合成され得ることを認識する。リポソームの表面が更に、当業者に容易に明らか

である手順を使用して、ポリマー、例えばポリエチレングリコール（PEG）で修飾されてもよい。脂質又は脂質の化合物及び脂質マトリックス内に取り込まれた関連材料が、生理的関連条件下で二重層の相を形成するという単一の条件で、あらゆる種類の脂質を使用してもよい。当業者が認識するように、リポソームの組成物は、得られたリポソームの生体内分布及びクリアランス性を調節するために変えられてもよい。

【0054】

これらの構造の膜二重層は一般的に、水性成分を包含し、包含された水性成分と外側の溶液との間に透過性障壁を形成する。水溶液に分散した脂質は、内側を向く炭化水素尾部と、水と相互作用すべく外側を向く極性頭部との二重層を自然に形成する。混合物の簡単な攪拌により通常、多重膜小胞（MLV）、直径が $1 \sim 10 \mu\text{m}$ （ $1000 \sim 10,000 \text{ nm}$ ）のタマネギのような形状に多くの二重層を有する構造が生成される。これらの構造体の音波処理、又は当該分野で公知の他の方法により、平均直径が約 $30 \sim 300 \text{ nm}$ の単層膜小胞（UV）が形成される。しかし、例えばインビボでの最大循環時間の観点から、 $50 \sim 200 \text{ nm}$ の範囲が最適であると考えられる。実際の相当直径は主に、使用されるリン脂質の性質及びコレステロールのような他の脂質の取込み程度により決定される。リポソームを形成するための標準的方法は当該分野で公知であり、例えば、リポソームを商業的に生産する方法が、米国特許第4753788号明細書及び米国特許第4935171号明細書に記載されている。

【0055】

重合リポソームは、脂質分子の自己組織化された集合体であり、米国特許第5512294号明細書、米国特許第6132764号明細書、及び米国特許出願公開第2002/0071843号明細書に記載されている。重合性脂質の疎水性尾部の基が、ジアセチレン基のような重合性基で誘導体化され、これは、紫外線又は他のラジカル種、アニオン種又はカチオン種の開始種に晒されると、リポソームの表面で官能基の分布を維持しながら、不可逆的に架橋するか又は重合する。得られた重合リポソームの粒子は、細胞膜又は他のリポソームとの融合に対して安定化され、酵素分解のために安定化される。重合リポソームの寸法は、押出し又は当業者に公知の他の方法によって制御され得る。重合リポソームは、重合性脂質から構成されてもよいが、飽和非アルキン脂質、不飽和脂質を更に含んでもよい。重合リポソームは、脂質の混合物であってもよく、異なる官能基を親水性が露出する表面に与える。例えば、親水性頭部の基の中には、表面官能基を有し得るものもあり、例えば、ビオチン、アミン、シアノ、カルボン酸、イソチオシアネート、チオール、ジスルフィド、 α -ハロカルボニル化合物、 α 、 β -不飽和カルボニル化合物及びアルキルヒドラジン等を有し得るものもある。これらの基は、核酸配列の結合に使用され得る。

【0056】

上述した処方で使用するために、インテルメジン、アドレノメデュリン又はそれらの誘導体は、使用直前に薬学的に許容可能な液体に再構築される固体状の凍結乾燥粉末として合成され保存されてもよい。凍結乾燥製剤は一般的に、時間が経過してもその液体相当物より医薬活性を良好に維持すると当業者に認識されているので、このような処方は通常好ましい。

【0057】

更に、インテルメジン又はアドレノメデュリン及びこれらの類似体は、皮膚に局所的に塗布されてもよく、噴霧スプレーとして投与されてもよい。

【0058】

或いは、ペプチドは、例えば、pHを維持するように機能する約 $1 \text{ mM} \sim 50 \text{ mM}$ の濃度で緩衝液を含む液体として処方されてもよく、前記緩衝液のアニオンは、酢酸塩、リン酸塩、炭酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、フマル酸塩及び乳酸塩からなる群から選択されてもよく、アルコールは、マンニトール、ソルビトール、リボトール、アラビトール、キシリトール、イノシトール、ガラクトース、メタノール、エタノール及びグリセロールからなる群から選択されてもよい。他の添加剤として、メチオニン、アルギニン、リジン、グルタミン酸、システイン、グルタチオンなどのアミノ酸が挙げられ、該

アミノ酸は一般的に、約1 mM～約100 mMの範囲内の濃度で存在する。任意には、製剤に種々の糖類が含まれてもよく、例えばグルコース、サッカロース、ラクトース、フルコース、トレハロース、マンノースなどが挙げられる。添加される糖類は一般的に、約1%～約10%の範囲内の濃度で存在する。

【0059】

実験例

以下の実施例は、本発明を構成して使用する方法的完全な開示及び記載を当業者に提供するために提示されており、本発明者が本発明とみなすものの範囲を限定するものではなく、以下の実験例は行われた全ての実験例又は行われた唯一の実験例であることを示すものでもない。使用される数値（例えば、量、温度など）に関して正確さを確保するように努力しているが、多少の実験誤差及び偏差も存在する。特に示されていない限り、部は重量部であり、分子量は重量平均分子量であり、温度は摂氏温度であり、圧力は、大気圧又は大気圧に近い圧力である。

【0060】

実施例1

インテルメジンの修飾

標準的な固相Fmocペプチド化学（フィールズ ジービー（Fields GB）及びノーブル アールエル（Noble RL）著、「Solid phase peptide synthesis utilizing 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acids」,「International Journal of Peptide and Protein Research（Int J Pept Protein Res）」,1990年,第35刊,p.161-214）を用いて、スタンフォード大学（Stanford University）のPan Facilityによって、アプライドバイオシステムズ（Applied Biosystems）社製の自動ペプチド合成装置を用いてペプチドを合成した。ペプチドの合成中に、共役されているリジン残基をFmoc-保護[C16]パルミチン酸塩脂肪酸（Lys（PAL））に取り込むことによって修飾ペプチドを合成した。純度を、逆相HPLCによって測定し、その後エレクトロスプレーイオン化質量分析を使用して特徴付けた。

【0061】

修飾インテルメジン及び天然インテルメジンのインビボでの生物活性は、図1～4に示されている通りである。インテルメジンペプチドを、10～20%のDMSOを含む生理食塩水に10マイクロモル/リットルで溶解した。注入の前に、ペプチドのアリコート（tail-coat）をPBSに溶解し、注入液の最終容積を100μlとした。血圧測定を、測定手順に前適応させた覚醒SHRラット（9～16週齢）で行った。間接的収縮期血圧を、テイルカフ（tail-cuff）法（ケントサイエンティフィック社（Kent Scientific Corporation））を用いてプログラム可能な非侵襲性血圧システムによって測定した。圧力変換器を取り付けた後、ラットを10分間そのままにしておき、その後15～20分の間隔を置いてベースラインの測定を行った。ベースラインの測定後、様々な用量のペプチド、又は10%のDMSOを含む生理食塩水をラットの腹腔内に注入した。血圧及び心拍数を、30秒間隔で20～40分モニターした。血圧の変化を、所与の時間間隔内で行われた測定結果の平均として計算した。対照動物の基礎血圧は、インテルメジンペプチドで処置した動物の血圧と比較可能である。

【0062】

図1A～1Cに示されているように、ラットに修飾インテルメジン（IMD-パルミチン酸修飾IMD）を注入し、血圧を経時測定すると、収縮期血圧が著しく長く継続して降下している。このペプチドの血圧降下作用は、インビボで5時間持続する一方、未修飾IMDペプチドの血圧降下作用は、1時間未満しか持続しなかった。PBSを注入した対照動物から得た結果を図3A及び3Bに示し、未修飾ペプチドから得た結果を図2A及び2Bに示す。

【0063】

実施例2

アドレノメデュリンの修飾

標準的な固相Fmocペプチド化学（フィールズ ジービー（Fields GB）及びノーブル アールエル（Noble RL）著，「Solid phase peptide synthesis utilizing 9-fluorenylmethoxycarbonyl amino acids」，「International Journal of Peptide and Protein Research（Int J Pept Protein Res）」，1990年，第35刊，p. 161-214）を用いて、スタンフォード大学（Stanford University）のPan Facilityによって、アプライドバイオシステムズ（Applied Biosystems）社製の自動ペプチド合成装置を用いてペプチドを合成した。ペプチドの合成中に、共役されているリジン残基をFmoc-保護[C16] パルミチン酸塩脂肪酸（Lys（PAL））に取り込むことによって修飾ペプチドを合成した。純度を、逆相HPLCによって測定し、その後エレクトロスプレーイオン化質量分析を使用して特徴付けた。

10

【0064】

アドレノメデュリンのインビトロでの生物活性

ADM及びADM-PAの刺激効果の一般的な実例を図7に示す。

【0065】

20

アドレノメデュリン類似体のインビボでの生物活性

アドレノメデュリンペプチドを、10～20%のDMSOを含む生理食塩水に10マイクロモル／リットルで溶解した。注入の前に、ペプチドのアリコートがPBSに溶解し、注入液の最終容積を200μlとした。血圧測定を、測定手順に前適応させた覚醒SHRラット（9～16週齢）で行った。間接的収縮期圧を、テイルカフ（tail-cuff）法（ケント サイエントフィック社（Kent Scientific Corporation））を用いてプログラム可能な非侵襲性血圧システムによって測定した。圧力変換器を取り付けた後、ラットを10分間そのままにしておき、その後10～15分の間隔を置いてベースラインの測定を行った。ベースラインの測定後、様々な用量のペプチド、又は10% DMSOを含む生理食塩水をラットの腹腔内に注入した。血圧及び心拍数を、20秒間隔で20～40分モニターした。血圧の変化を、所与の時間間隔内で行われた測定結果の平均として計算した。

30

【0066】

データは、ADM-PAペプチド又は生理食塩水の注入後のSHRラットの収縮期圧プロファイルを示す（ロー（Roh）等著，「Molecular Endocrinology（Mol Endocrinol.）」，2005年11月，19（11），2824-38参照）。

【0067】

図5A～5Cに示されているように、100ナノモル／kg BWの修飾アドレノメデュリン（ADM-パルミチン酸修飾ADM）をラットに注入し、血圧を経時測定すると、収縮期圧が、著しく長く継続して降下している。ELISAを使用した免疫活性ADMの測定結果（図8）に基づくと、ADM-PAペプチドはADMと比較して長い半減期を有する。

40

【0068】

本明細書に挙げた全ての公報及び特許出願は、個々の公報又は特許出願が具体的に且つ個々に参照により組み込まれているように、参照により本明細書に組み込まれる。

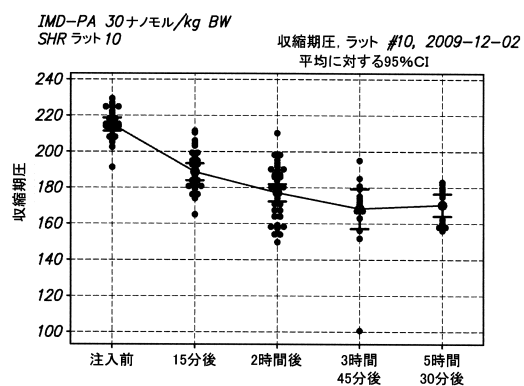
【0069】

本発明を実施するために好ましいモードを含むように、本発明者によって見出され提示された特定の実施形態の点から本発明を記載した。本開示の観点から、本発明の意図する範囲を逸脱せずに、例示された特定の実施形態に関して多くの修正及び変更がなされ得る

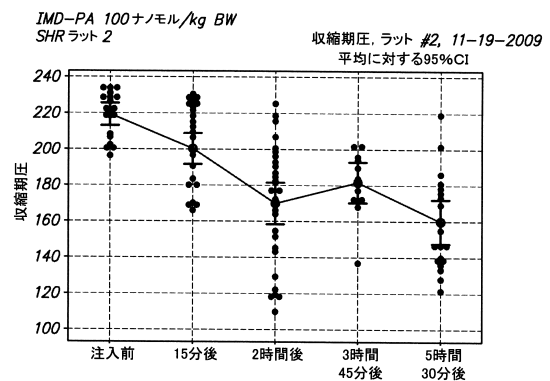
50

ことを当業者は理解する。更に、生物学的な機能的等価物を考慮して、生物学的作用の種類又は量に影響を及ぼさずにタンパク質構造の変更がなされ得る。このような修正は全て、添付の特許請求の範囲内に包含されるものである。

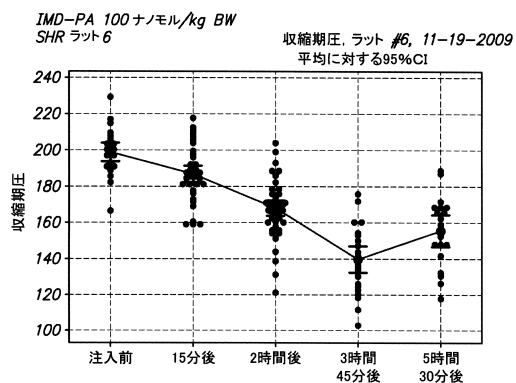
【図 1 A】



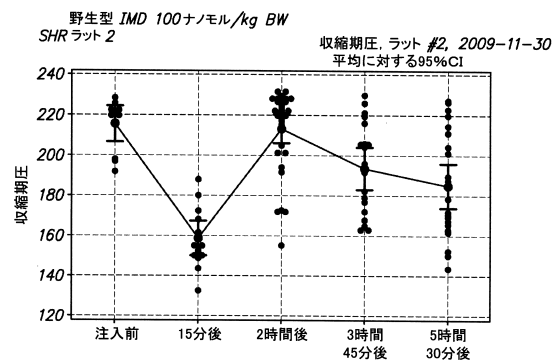
【図 1 C】



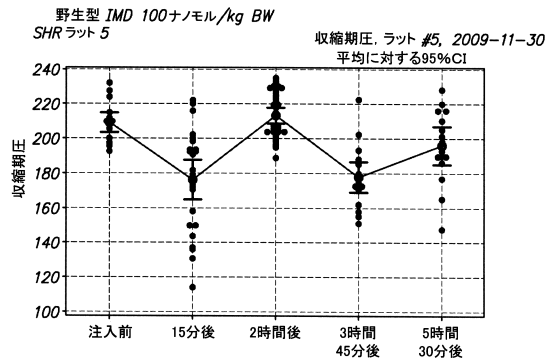
【図 1 B】



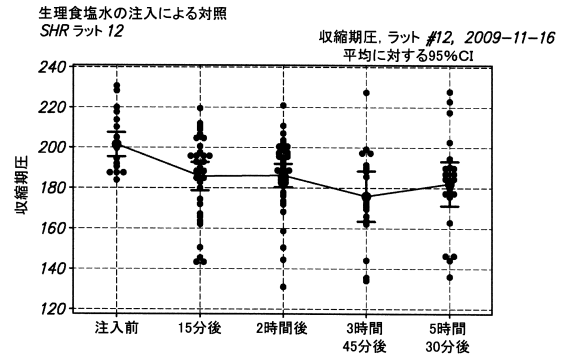
【図 2 A】



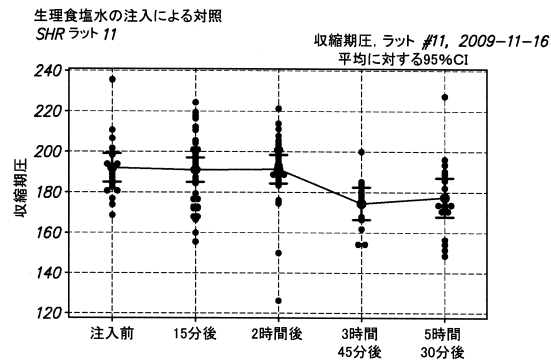
【図 2 B】



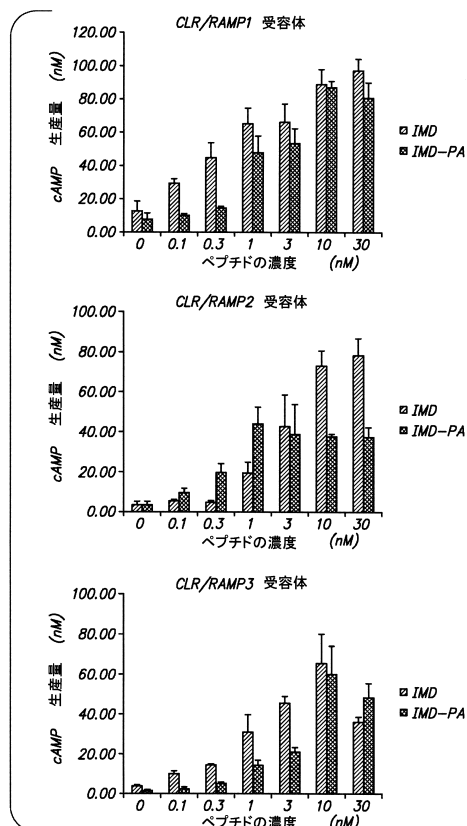
【図 3 B】



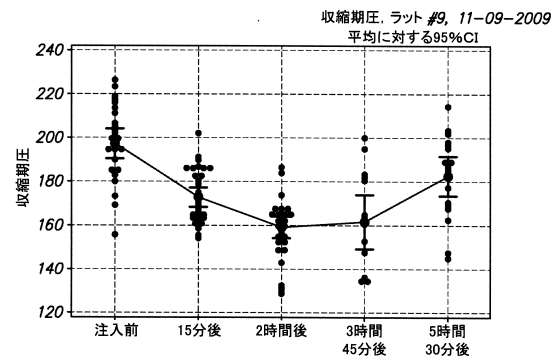
【図 3 A】



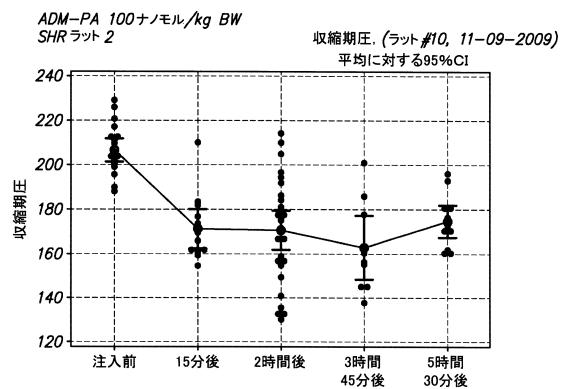
【図 4】



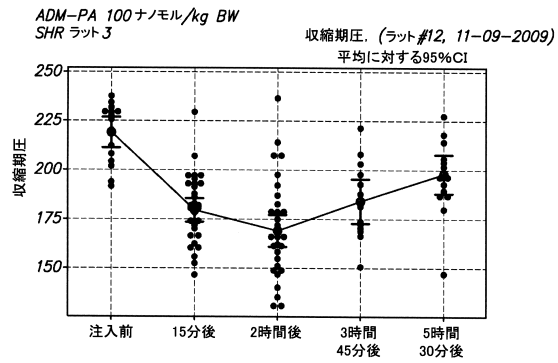
【図 5 A】



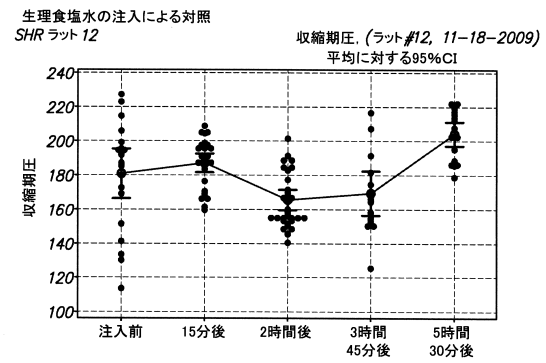
【図 5 B】



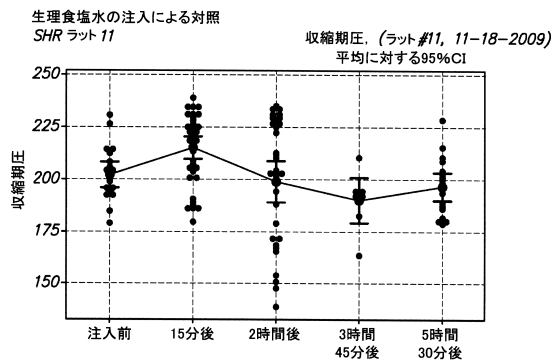
【図 5 C】



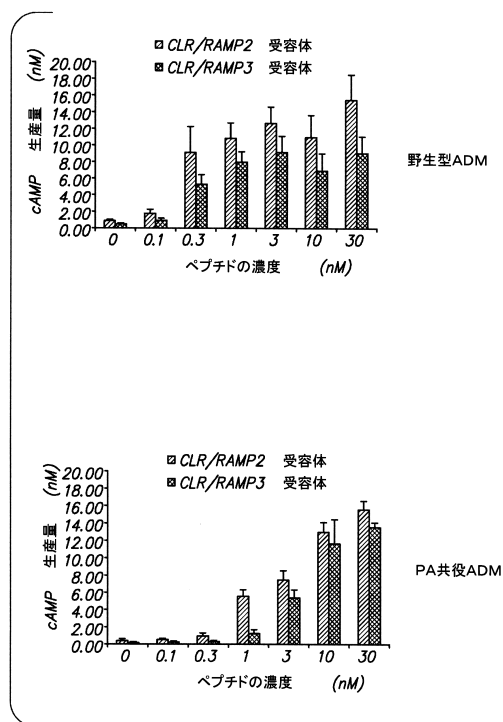
【図 6 B】



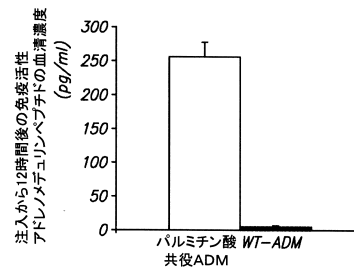
【図 6 A】



【図 7】



【図 8】



【配列表】

0006143740000001.app

フロントページの続き

(31)優先権主張番号 61/474,182

(32)優先日 平成23年4月11日(2011.4.11)

(33)優先権主張国 米国(US)

前置審査

(72)発明者 チョウ, チャ リン

アメリカ合衆国 94306 カリフォルニア州, パロ アルト, スイート 245, アルマ ス
トリート 3353

審査官 星 浩臣

(56)参考文献 特表2008-515443 (JP, A)

特表2002-540216 (JP, A)

特表2008-507280 (JP, A)

特表平11-502204 (JP, A)

Biochem. J., 2002, Vol.367(Pt 3), pp.913-920

J. Med. Chem., 2000, Vol.43, No.9, pp.1664-1669

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07K 1/00-19/00

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/BIOSIS/WPIDS (STN)

GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq

UniProt/GeneSeq