

(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2017-529386
(P2017-529386A)

(43) 公表日 平成29年10月5日(2017.10.5)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 7/64 (2006.01)	C07K 7/64	2G043
C12N 9/10 (2006.01)	C12N 9/10 ZNA	2G054
C12Q 1/48 (2006.01)	C12Q 1/48 Z	4B050
C12N 9/04 (2006.01)	C12N 9/04 F	4B063
C12Q 1/32 (2006.01)	C12Q 1/32	4C084

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 73 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2017-526762 (P2017-526762)
 (86) (22) 出願日 平成27年8月5日 (2015.8.5)
 (85) 翻訳文提出日 平成29年4月6日 (2017.4.6)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2015/068056
 (87) 国際公開番号 W02016/020437
 (87) 国際公開日 平成28年2月11日 (2016.2.11)
 (31) 優先権主張番号 1413942.2
 (32) 優先日 平成26年8月6日 (2014.8.6)
 (33) 優先権主張国 英国 (GB)

(71) 出願人 517039818
 ワレニウス ヒルマー エム.
 イギリス国 ウィラル シーエイチ60
 4アールエヌ ヘスウォール デラヴァー
 ロード 14
 (74) 代理人 100116872
 弁理士 藤田 和子
 (72) 発明者 ワレニウス ヒルマー エム.
 イギリス国 ウィラル シーエイチ60
 4アールエヌ ヘスウォール デラヴァー
 ロード 14
 Fターム(参考) 2G043 AA01 BA16 CA04 DA02 DA08
 EA01 FA03 MA01 NA11

最終頁に続く

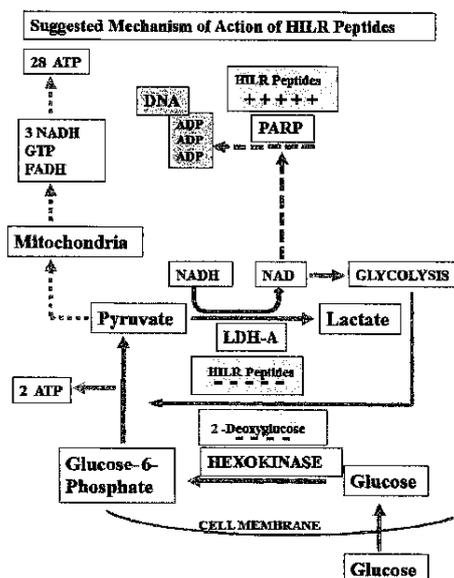
(54) 【発明の名称】 癌治療に有用なペプチド

(57) 【要約】

ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ(PARP)の活性を調節するのに有用である、特に癌の治療に有用である、あるクラスのペプチドを提供する。ペプチドは、活性基と活性基を細胞に送達するためのカセットとを含む。PARPを切断するプロテアーゼの競合的阻害剤として作用すると考えられる陰性基を有するペプチドも提供する。

【選択図】 図 18

Figure 18



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1(PARP-1)の活性を調節可能な環状化合物であって、式1の部分：



(式中、X1は、PARP-1の切断を阻害可能なペプチド部分であり、

X2は存在してもしなくてもよく、X2が存在するときには、X2はVal又はSerから選択され、

X3とX4の一方は、Trp-Trp及びAr1-Ar2から選択され、

X3とX4の他方は、Arg-Arg、Gpa-Gpa、Hca-Hca及びAr3-Ar4から選択され、

ここで、

Hcaは、ホモシステイン酸のアミノ酸残基であり、

Gpaは、グアニジノフェニルアラニンのアミノ酸残基であり、

Ar1、Ar2、Ar3及びAr4はそれぞれ、アリール側鎖を有するアミノ酸残基であり、前記アリール側鎖は、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された1,2-ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された1,2,3,4-テトラヒドロナフチル基から独立に選択され、

Azaは、アジド-ホモアラニンのアミノ酸残基である)

又はその塩、誘導體、プロドラッグ若しくは模倣物を含む、環状化合物。

【請求項 2】

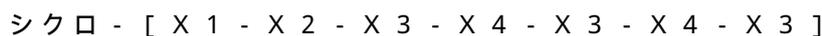
少なくとも1個の標識成分を含む、請求項1に記載の環状化合物。

【請求項 3】

前記少なくとも1個の標識成分が蛍光標識を含む、請求項2に記載の環状化合物。

【請求項 4】

前記化合物が、



からなる化合物である、又はその塩、誘導體、プロドラッグ若しくは模倣物である、請求項1から3のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 5】

X1が、配列番号21(式2)、配列番号22(式3)、配列番号23(式4)及び配列番号24(式5)から選択され、

配列番号21(式2)は-Pro-X5-X6-Pro-X7-Pro-であり、

式中、X5とX7の両方は、酸性側鎖を有するアミノ酸残基であり、又はX5とX7の両方は、塩基性側鎖を有するアミノ酸残基であり、

前記酸性側鎖を有するアミノ酸残基は、Glu、Aza及びHcaから各々独立に選択され、

X6は、Gly、Ala、MeGly及び(CH₂)₃から選択され、

配列番号22(式3)は-Pro-X8-Gly-Pro-X9-Pro-であり、

式中、X8及びX9は、Asp及びGluから各々独立に選択され、

配列番号23(式4)は-Pro-Arg-Lys-Pro-Arg-Pro-であり、

、配列番号24(式5)は-Gly-X11-Glu-Val-X12-X13-であり、

、式中、X11は、Asp及びGluから選択され、

X12は、Asp、N-アルキルアスパラギン酸残基、及びN-アリールアスパラギン酸残基Glu、N-アルキルグルタミン酸残基及びN-アリールグルタミン酸残基から選択され、

X13は、Gly、N-アルキルグリシン残基、及びN-アリールグリシン残基から選択され、

10

20

30

40

50

ただし、X 1 2 が A s p である場合、X 1 3 は、N - アルキルグルタミン酸残基又は N - アリールグルタミン酸残基である、
請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 6】

X 1 が配列番号 2 1 (式 2) である、請求項 5 に記載の環状化合物。

【請求項 7】

X 5 が G l u である、請求項 6 に記載の環状化合物。

【請求項 8】

X 5 が H c a である、請求項 6 に記載の環状化合物。

【請求項 9】

X 7 が G l u 又は H c a である、請求項 6 から 8 のいずれか一項に記載の環状化合物。

10

【請求項 10】

X 1 が、

i . 配列番号 2 - P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - 、

i i . 配列番号 4 - P r o - G l u - G l y - P r o - G l u - P r o - 、

i i i . 配列番号 2 5 - P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - 、

i v . 配列番号 2 6 - P r o - H c a - M e G l y - P r o - H c a - P r o - 、

v . 配列番号 2 7 - P r o - A z a - M e G l y - P r o - A z a - P r o - 、

v i . 配列番号 2 8 - P r o - H c a - G l y - P r o - A z a - P r o - 、

v i i . 配列番号 4 1 - P r o - A z a - G l y - P r o - H c a - P r o - 、及び

v i i i . 配列番号 4 2 - P r o - A z a - G l y - P r o - A z a - P r o

20

から選択される、請求項 6 に記載の環状化合物。

【請求項 11】

X 1 が - P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - (配列番号 2) である、
請求項 10 に記載の環状化合物。

【請求項 12】

X 1 が - P r o - G l u - G l y - P r o - G l u - P r o - (配列番号 4) である、
請求項 10 に記載の環状化合物。

【請求項 13】

X 1 が配列番号 2 2 (式 3) であり、X 8 が A s p であり、X 9 が A s p である、請求
項 5 に記載の環状化合物。

30

【請求項 14】

X 1 が配列番号 2 4 (式 5) である、請求項 5 に記載の環状化合物。

【請求項 15】

X 1 1 が A s p であり、X 1 2 が A s p 又は N - アルキルアスパラギン酸残基である、
請求項 1 4 に記載の環状化合物。

【請求項 16】

X 1 が - G l y - A s p - G l u - V a l - N M e A s p - M e G l y - V a l (配列
番号 2 9) であり、式中の N M e A s p が N - メチルアスパラギン酸残基である、請求項
1 5 に記載の環状化合物。

40

【請求項 17】

X 2 が存在し、X 2 が V a l である、請求項 1 から 1 6 のいずれか一項に記載の環状化
合物。

【請求項 18】

X 3 が T r p - T r p 及び A r 1 - A r 2 から選択され、X 4 が A r g - A r g、G p
a - G p a 及び H c a - H c a から選択される、請求項 1 から 1 7 のいずれか一項に記載
の環状化合物。

【請求項 19】

X 3 が T r p - T r p である、請求項 1 8 に記載の環状化合物。

【請求項 20】

50

X 3 が Ar 1 - Ar 2 である、請求項 1 から 1 8 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 2 1】

Ar 1 及び / 又は Ar 2 が、場合によっては置換されたナフチル基を含む、請求項 2 0 に記載の環状化合物。

【請求項 2 2】

Ar 1 及び / 又は Ar 2 が、グルタミン酸 - ガンマ - [2 - (1 - スルホニル - 5 - ナフチル) - アミノエチルアミド (「 E d a 」) のアミノ酸残基である、請求項 2 1 に記載の環状化合物。

【請求項 2 3】

X 4 が Arg - Arg、Gpa - Gpa 又は Hca - Hca である、請求項 1 8 から 2 2 のいずれか一項に記載の環状化合物。

10

【請求項 2 4】

X 3 が Ar 1 - Ar 2 であり、X 4 が Ar 3 - Ar 4 である、請求項 1 から 1 7 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 2 5】

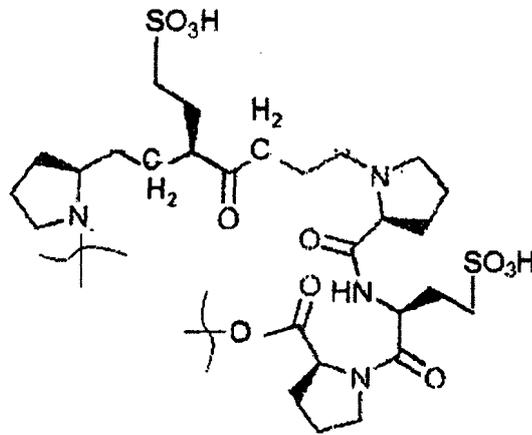
Ar 1 及び Ar 2 が各々 E d a であり、Ar 3 及び Ar 4 が各々 N a p であり、「N a p」が 3 - アミノ - 3 - (- 2 - ナフチル) - プロピオン酸のアミノ酸残基である、請求項 2 4 に記載の環状化合物。

【請求項 2 6】

X 1 が以下の構造：

20

【化 1】



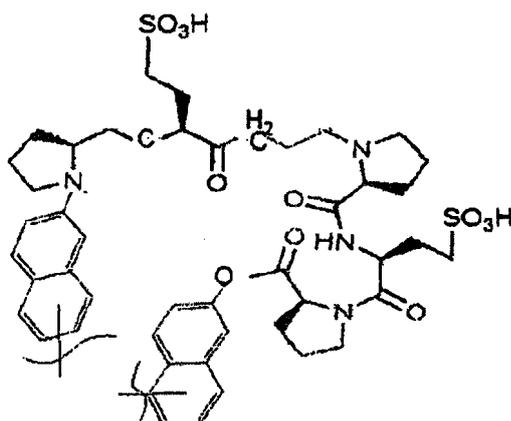
30

を有する、又は該構造の誘導体である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 2 7】

X 1 が以下の構造：

【化 2】



10

を有する、又は該構造の誘導体である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 28】

前記環状化合物が、

i . シクロ - [Pro - Arg - Gly - Pro - Arg - Pro - Val - Trp - Trp - Arg - Arg - Trp - Trp - Arg - Arg - Trp - Trp] (配列番号 15)、

20

ii . シクロ - [Pro - Arg - Gly - Pro - Arg - Pro - Val - Trp - Trp - Gpa - Gpa - Trp - Trp - Gpa - Gpa - Trp - Trp] (配列番号 16)、

iii . シクロ - [Pro - Glu - Gly - Pro - Glu - Pro - Val - Trp - Trp - Arg - Arg - Trp - Trp - Arg - Arg - Trp - Trp] (配列番号 19)、

iv . シクロ - [Pro - Hca - Gly - Pro - Hca - Pro - Val - Trp - Trp - Arg - Arg - Trp - Trp - Arg - Arg - Trp - Trp] (配列番号 20)、

30

v . シクロ - [Pro - Hca - Gly - Pro - Hca - Pro - Val - Trp - Trp - Gpa - Gpa - Trp - Trp - Gpa - Gpa - Trp - Trp] (配列番号 30)、

vi . シクロ - [Pro - Hca - Gly - Pro - Hca - Pro - Ser - Nap - Nap - Arg - Arg - Nap - Nap - Arg - Arg - Nap - Nap] (配列番号 31)、

vii . シクロ - [Pro - Arg - Gly - Pro - Arg - Pro - Val - Eda - Eda - Arg - Arg - Eda - Eda - Arg - Arg - Eda - Eda] (配列番号 32)、

viii . シクロ - [Pro - Hca - Gly - Pro - Aza - Pro - Val - Trp - Trp - Arg - Arg - Trp - Trp - Arg - Arg - Trp - Trp] (配列番号 33)、

40

ix . シクロ - [Pro - Hca - Gly - Pro - Hca - Pro - Val - Nap - Nap - Hca - Hca - Nap - Nap - Hca - Hca - Nap - Nap] (配列番号 34)、

x . シクロ - [Pro - Hca - Gly - Pro - Aza - Pro - Val - Nap - Nap - Hca - Hca - Nap - Nap - Hca - Hca - Nap - Nap] (配列番号 35)、

xi . シクロ - [Pro - Aza - MeGly - Pro - Aza - Pro - Val - Nap - Nap - Hca - Hca - Nap - Nap - Hca - Hca - Nap - Nap] (

50

配列番号 36)、

xii. シクロ - [Gly - Asp - Glu - Val - MeAsp - MeGly - Val - Trp - Trp - Arg - Arg - Trp - Trp - Arg - Arg - Trp - Trp] (配列番号 40)、

xiii. シクロ - [Pro - Hca - Gly - Pro - Hca - Pro - Val - Arg - Arg - Nap - Nap - Arg - Arg - Nap - Nap - Arg - Arg] (配列番号 43)、

xiv. シクロ - [Pro - Aza - Gly - Pro - Aza - Pro - Ser - Arg - Arg - Nap - Nap - Arg - Arg - Nap - Nap - Arg - Arg] (配列番号 44)、

xv. シクロ - [Pro - Aza - Gly - Pro - Aza - Pro - Ser - Gpa - Gpa - Nap - Nap - Gpa - Gpa - Nap - Nap - Gpa - Gpa] (配列番号 45)、

xvi. シクロ - [Pro - Hca - Gly - Pro - Hca - Pro - Ser - Eda - Eda - Nap - Nap - Eda - Eda - Nap - Nap - Eda - Eda] (配列番号 46)、

xvii. シクロ - [Pro - Aza - Gly - Pro - Aza - Pro - Ser - Eda - Eda - Nap - Nap - Eda - Eda - Nap - Nap - Eda - Eda] (配列番号 47)、

xviii. シクロ - [Pro - Arg - Gly - Pro - Arg - Pro - Ser - Eda - Eda - Nap - Nap - Eda - Eda - Nap - Nap - Eda - Eda] (配列番号 48)、及び

xix. それらの誘導體から選択され、

「Nap」が 3 - アミノ - 3 - (- 2 - ナフチル) - プロピオン酸のアミノ酸残基である、

請求項 5 に記載の環状化合物。

【請求項 29】

実質的に上述された環状化合物。

【請求項 30】

ポリ(ADP - リボース)ポリメラーゼ 1 (PARP - 1) の活性の調節に使用するための化合物であって、式 6 の部分：

式 6 : - Pro - X14 - X15 - Pro - X16 - Pro -

(式中、X14 及び X16 は、側鎖を有するアミノ酸残基、置換基を有するナフチル基、置換基である 1, 2 - ジヒドロナフチル基、置換基を有する 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基、及び置換基を有するプロピル基から各々独立に選択され、各側鎖又は置換基は酸性官能基を含み、

X15 は、Gly、Ala、MeGly 及び (CH₂)₃ から選択される) を含む、化合物。

【請求項 31】

X14 及び X16 が各々アミノ酸残基である、請求項 30 に記載の化合物。

【請求項 32】

X14 と X16 の少なくとも一方が Asp である、請求項 31 に記載の化合物。

【請求項 33】

X14 及び / 又は X16 がスルホン酸基を含む、請求項 31 に記載の化合物。

【請求項 34】

前記化合物が、合計 16 ~ 18 単位を含む環状ペプチド化合物であり、各単位は、アミノ酸残基、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された 1, 2 - ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基又は場合によっては置換されたプロピル基である、請求項 30 から 33 のいずれか一項

10

20

30

40

50

に記載の化合物。

【請求項 35】

式 8 の構造：

式 8：シクロ - [X 1 7 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3]

(式中、X 1 7 は前記式 6 の部分であり、

X 2、X 3 及び X 4 は請求項 1 に定義され、場合によっては、X 3 及び X 4 は請求項 1 8 に定義されている)

を含む、請求項 30 から 34 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 36】

標識成分を含む、請求項 30 から 35 のいずれか一項に記載の化合物。

10

【請求項 37】

実質的に上述されたポリ (A D P - リボース) ポリメラーゼ 1 の活性を調節可能なアニオン性部分を含む化合物。

【請求項 38】

請求項 1 から 37 のいずれか一項に定義された化合物、及び薬剤担体、希釈剤又は賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項 39】

更なる治療薬を含む、請求項 38 に記載の医薬組成物。

【請求項 40】

前記更なる治療薬が好氣的解糖阻害剤である、請求項 39 に記載の医薬組成物。

20

【請求項 41】

前記好氣的解糖阻害剤が 2 - デオキシグルコースである、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 42】

医薬品に使用するための、請求項 1 から 37 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 38 から 41 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 43】

前記化合物又は組成物が癌の治療に使用するためである、請求項 42 に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 44】

前記化合物又は組成物が更なる治療薬と一緒に投与される、請求項 43 に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

30

【請求項 45】

前記更なる治療薬が好氣的解糖阻害剤である、請求項 44 に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 46】

前記化合物又は組成物が、放射線療法及び / 又は手術の使用を更に含む治療計画に使用される、請求項 43 から 45 のいずれか一項に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 47】

前記癌が、乳癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膀胱癌、卵巣癌、子宮体癌、子宮頸癌、頭頸部癌、胃癌、膵癌、食道癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、悪性黒色腫、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肉腫又は神経膠腫の 1 つ以上を含む、請求項 43 から 46 のいずれか一項に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

40

【請求項 48】

前記癌が、PARP - 1 が非癌細胞に比べて上方制御される癌細胞を含む、請求項 43 から 47 のいずれか一項に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 49】

癌の治療用医薬品の製造における請求項 1 から 37 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

50

【請求項 5 0】

ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼの活性をインビトロで調節するための、請求項 1 から 3 7 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項 5 1】

癌を治療する方法であって、請求項 1 から 3 7 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 3 8 から 4 1 のいずれか一項に記載の医薬組成物を患者に投与するステップを含む、方法。

【請求項 5 2】

更に好氣的解糖阻害剤を前記患者に投与するステップを含む、請求項 5 1 に記載の方法。

10

【請求項 5 3】

更に化学療法、放射線療法及び手術の 1 つ以上の使用を含む、請求項 5 1 又は請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記化合物が標識成分を含み、前記方法が、前記化合物を検出するステップを含む、請求項 5 1 から 5 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記癌が、乳癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膀胱癌、卵巣癌、子宮体癌、子宮頸癌、頭頸部癌、胃癌、膵癌、食道癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、悪性黒色腫、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肉腫又は神経膠腫の 1 つ以上を含む、請求項 5 1 から 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項 5 6】

前記癌が、PARP-1 が非癌細胞に比べて上方制御される癌細胞を含む、請求項 5 1 から 5 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 7】

i . 細胞を請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の化合物と接触させるステップ、及び

ii . 前記化合物を検出するステップ

を含む分析方法。

30

【請求項 5 8】

前記細胞が少なくとも 1 個の癌細胞を含む、請求項 5 7 に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記方法がウエスタンブロットアッセイを含む、請求項 5 7 又は請求項 5 8 に記載の方法。

【請求項 6 0】

ステップ(i i) が蛍光検出を含む、請求項 5 7 から 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 1】

ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ 1 (PARP-1) 及び/又は乳酸デヒドロゲナーゼ A (LDHA) の活性を調節可能な化合物であって、式 1 の部分：

40

式 1 : [X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3 -]

(式中、X 1 は、PARP-1 の切断を阻害可能なペプチド部分であり、

X 2 は存在してもしなくてもよく、X 2 が存在するときには、X 2 はVal又はSerから選択され、

X 3 と X 4 の一方は、Trp-Trp及びAr1-Ar2から選択され、

X 3 と X 4 の他方は、Arg-Arg、Gpa-Gpa、Hca-Hca及びAr3-Ar4から選択され、

ここで、

Hca は、ホモシステイン酸のアミノ酸残基であり、

Gpa は、グアニジノフェニルアラニンのアミノ酸残基であり、

50

Ar 1、Ar 2、Ar 3 及び Ar 4 はそれぞれ、アリール側鎖を有するアミノ酸残基であり、前記アリール側鎖は、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された 1, 2 - ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基から独立に選択され、

Aza は、アジド - ホモアラニンのアミノ酸残基である)
又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物を含む、化合物。

【請求項 6 2】

少なくとも 1 個の標識成分を含む、請求項 6 1 に記載の化合物。

【請求項 6 3】

X 1 が、配列番号 2 1 (式 2)、配列番号 2 2 (式 3)、配列番号 2 3 (式 4) 及び配列番号 2 4 (式 5) から選択され、

配列番号 2 1 (式 2) は - Pro - X 5 - X 6 - Pro - X 7 - Pro - であり、

式中、X 5 と X 7 の両方は、酸性側鎖を有するアミノ酸残基であり、又は X 5 と X 7 の両方は、塩基性側鎖を有するアミノ酸残基であり、

前記酸性側鎖を有するアミノ酸残基は、Glu、Aza 及び Hca から各々独立に選択され、

X 6 は、Gly、Ala、MeGly 及び (CH₂)₃ から選択され、

配列番号 2 2 (式 3) は - Pro - X 8 - Gly - Pro - X 9 - Pro - であり、

式中、X 8 及び X 9 は、Asp 及び Glu から各々独立に選択され、

配列番号 2 3 (式 4) は - Pro - Arg - Lys - Pro - Arg - Pro - であり

、
配列番号 2 4 (式 5) は - Gly - X 1 1 - Glu - Val - X 1 2 - X 1 3 - であり

、
式中、X 1 1 は、Asp 及び Glu から選択され、

X 1 2 は、Asp、N - アルキルアスパラギン酸残基、及び N - アリールアスパラギン酸残基 Glu、N - アルキルグルタミン酸残基及び N - アリールグルタミン酸残基から選択され、

X 1 3 は、Gly、N - アルキルグリシン残基、及び N - アリールグリシン残基から選択され、

ただし、X 1 2 が Asp である場合、X 1 3 は、N - アルキルグルタミン酸残基又は N - アリールグルタミン酸残基である、
請求項 6 1 又は 6 2 に記載の化合物。

【請求項 6 4】

X 1 が配列番号 2 1 (式 2) である、請求項 6 3 に記載の化合物。

【請求項 6 5】

X 5 が Glu 又は Hca であり、及び / 又は X 7 が Glu 又は Hca である、請求項 6 4 に記載の化合物。

【請求項 6 6】

X 1 が、

i . 配列番号 2 - Pro - Arg - Gly - Pro - Arg - Pro - 、

ii . 配列番号 4 - Pro - Glu - Gly - Pro - Glu - Pro - 、

iii . 配列番号 2 5 - Pro - Hca - Gly - Pro - Hca - Pro - 、

iv . 配列番号 2 6 - Pro - Hca - MeGly - Pro - Hca - Pro - 、

v . 配列番号 2 7 - Pro - Aza - MeGly - Pro - Aza - Pro - 、

vi . 配列番号 2 8 - Pro - Hca - Gly - Pro - Aza - Pro - 、

vii . 配列番号 4 1 - Pro - Aza - Gly - Pro - Hca - Pro - 、及び

viii . 配列番号 4 2 - Pro - Aza - Gly - Pro - Aza - Pro

から選択される、請求項 6 4 に記載の化合物。

【請求項 6 7】

X 1 が配列番号 2 2 (式 3) であり、X 8 が Asp であり、X 9 が Asp である、又は

X 1 が配列番号 2 4 (式 5) である、請求項 6 6 に記載の化合物。

【請求項 6 8】

X 1 が配列番号 2 4 (式 5) であり、X 1 1 が A s p であり、X 1 2 が A s p 又は N - アルキルアスパラギン酸残基である、請求項 6 3 に記載の化合物。

【請求項 6 9】

X 1 が - G l y - A s p - G l u - V a l - N M e A s p - M e G l y - V a l (配列番号 2 9) であり、式中の N M e A s p が N - メチルアスパラギン酸残基である、請求項 6 8 に記載の化合物。

【請求項 7 0】

X 2 が存在し、X 2 が V a l である、請求項 1 から 3 7、4 2 から 4 8 及び 6 1 から 6 9 のいずれか一項に記載の化合物。

10

【請求項 7 1】

X 3 が T r p - T r p 及び A r 1 - A r 2 から選択され、X 4 が A r g - A r g、G p a - G p a 及び H c a - H c a から選択される、請求項 6 1 から 7 0 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 7 2】

A r 1 及び / 又は A r 2 が、場合によっては置換されたナフチル基を含む、請求項 7 1 に記載の化合物。

【請求項 7 3】

A r 1 及び / 又は A r 2 が、グルタミン酸 - ガンマ - [2 - (1 - スルホニル - 5 - ナフチル) - アミノエチルアミド (「E d a」) のアミノ酸残基である、請求項 7 2 に記載の化合物。

20

【請求項 7 4】

X 4 が A r g - A r g、G p a - G p a 又は H c a - H c a である、請求項 7 1 から 7 3 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 7 5】

X 3 が A r 1 - A r 2 であり、X 4 が A r 3 - A r 4 である、請求項 6 1 から 7 0 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 7 6】

A r 1 及び A r 2 が各々 E d a であり、A r 3 及び A r 4 が各々 N a p であり、「N a p」が 3 - アミノ - 3 - (- 2 - ナフチル) - プロピオン酸のアミノ酸残基である、請求項 7 5 に記載の化合物。

30

【請求項 7 7】

ポリ (A D P - リボース) ポリメラーゼ 1 (P A R P - 1) 及び / 又は乳酸デヒドロゲナーゼ A (L D H A) の活性の調節に使用するための化合物であって、式 6 の部分：

式 6 : - P r o - X 1 4 - X 1 5 - P r o - X 1 6 - P r o -

(式中、X 1 4 及び X 1 6 は、側鎖を有するアミノ酸残基、置換基を有するナフチル基、置換基である 1, 2 - ジヒドロナフチル基、置換基を有する 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基、及び置換基を有するプロピル基から各々独立に選択され、各側鎖又は置換基は酸性官能基を含み、

40

X 1 5 は、G l y、A l a、M e G l y 及び (C H₂)₃ から選択される) を含む、化合物。

【請求項 7 8】

X 1 4 及び X 1 6 が各々アミノ酸残基である、請求項 7 7 に記載の化合物。

【請求項 7 9】

X 1 4 と X 1 6 の少なくとも一方が A s p である、請求項 7 8 に記載の化合物。

【請求項 8 0】

X 1 4 及び / 又は X 1 6 がスルホン酸基を含む、請求項 7 9 に記載の化合物。

【請求項 8 1】

前記化合物が、合計 1 6 ~ 1 8 単位を含むペプチド化合物であり、各単位は、アミノ酸

50

残基、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された 1, 2 ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基又は場合によっては置換されたプロピル基である、請求項 77 から 80 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 82】

式 8 の構造：

式 8：[X 1 7 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3]

(式中、X 1 7 は前記式 6 の部分であり、

X 2、X 3 及び X 4 は請求項 61 に定義され、場合によっては、X 3 及び X 4 は請求項 71 に定義されている)

を含む、請求項 77 から 81 のいずれか一項に記載の化合物。

10

【請求項 83】

標識成分を含む、請求項 77 から 82 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 84】

実質的に上述されたポリ(ADP - リボース)ポリメラーゼ 1 (PARP - 1) 及び / 又は乳酸デヒドロゲナーゼ A (LDHA) の活性を調節可能なアニオン性部分を含む化合物。

【請求項 85】

請求項 61 から 84 のいずれか一項に定義された化合物、及び薬剤担体、希釈剤又は賦形剤を含む、医薬組成物。

20

【請求項 86】

更なる治療薬を含む、請求項 85 に記載の医薬組成物。

【請求項 87】

前記更なる治療薬が好氣的解糖阻害剤である、請求項 86 に記載の医薬組成物。

【請求項 88】

前記好氣的解糖阻害剤が 2 - デオキシグルコースである、請求項 87 に記載の医薬組成物。

【請求項 89】

医薬品に使用するための、請求項 61 から 84 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 85 から 88 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

30

【請求項 90】

前記化合物又は組成物が癌の治療に使用するためである、請求項 89 に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 91】

前記化合物又は組成物が更なる治療薬と一緒に投与される、請求項 90 に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 92】

前記更なる治療薬が好氣的解糖阻害剤である、請求項 91 に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 93】

前記化合物又は組成物が、放射線療法及び / 又は手術の使用を更に含む治療計画に使用される、請求項 90 から 92 のいずれか一項に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

40

【請求項 94】

癌の治療用医薬品の製造における請求項 61 から 84 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項 95】

ポリ(ADP - リボース)ポリメラーゼ及び / 又は乳酸デヒドロゲナーゼ A (LDHA) の活性をインビトロで調節するための、請求項 61 から 84 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

50

【請求項 9 6】

癌を治療する方法であって、請求項 6 1 から 6 4 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 8 5 から 8 8 のいずれか一項に記載の医薬組成物を患者に投与するステップを含む、方法。

【請求項 9 7】

更に好氣的解糖阻害剤を前記患者に投与するステップを含む、請求項 9 6 に記載の方法。

【請求項 9 8】

更に化学療法、放射線療法及び手術の 1 つ以上の使用を含む、請求項 9 6 又は請求項 9 7 に記載の方法。

10

【請求項 9 9】

前記化合物が標識成分を含み、前記方法が、前記化合物を検出するステップを含む、請求項 9 6 から 9 8 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 0 0】

i . 細胞を請求項 6 1 から 8 3 のいずれか一項に記載の化合物と接触させるステップ、及び

i i . 前記化合物を検出するステップを含む分析方法。

【請求項 1 0 1】

前記細胞が少なくとも 1 個の癌細胞を含む、請求項 1 0 0 に記載の方法。

20

【請求項 1 0 2】

前記方法がウエスタンブロットアッセイを含む、請求項 1 0 0 又は請求項 1 0 1 に記載の方法。

【請求項 1 0 3】

ステップ (i i) が蛍光検出を含む、請求項 1 0 0 から 1 0 2 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 1 0 4】

ポリ (A D P - リボース) ポリメラーゼ 1 (P A R P - 1) 及び / 又は乳酸デヒドロゲナーゼ A (L D H A) の活性を調節可能な化合物であって、式 1 の部分：

式 1 : [X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3 -]

30

(式中、X 1 は、P A R P - 1 の切断を阻害可能な部分であり、

X 2 は存在してもしなくてもよく、X 2 が存在するときには、X 2 は V a l 又は S e r から選択され、

X 3 と X 4 の一方は、T r p - T r p 及び A r 1 - A r 2 から選択され、

X 3 と X 4 の他方は、A r g - A r g、G p a - G p a、H c a - H c a 及び A r 3 - A r 4 から選択され、

ここで、

H c a は、ホモシステイン酸のアミノ酸残基であり、

G p a は、グアニジノフェニルアラニンのアミノ酸残基であり、

A r 1、A r 2、A r 3 及び A r 4 はそれぞれ、アリアル側鎖を有するアミノ酸残基であり、前記アリアル側鎖は、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された 1, 2 - ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基から独立に選択され、

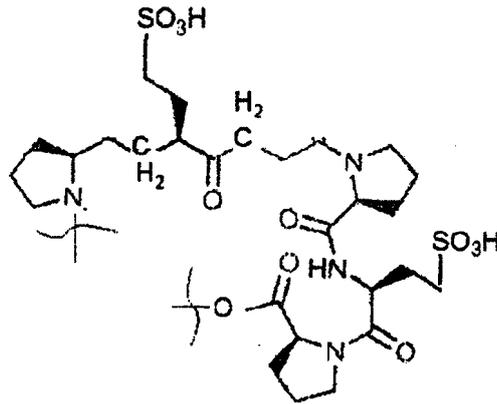
40

A z a は、アジド - ホモアラニンのアミノ酸残基であり、

X 1 は、

【化 3】

a)

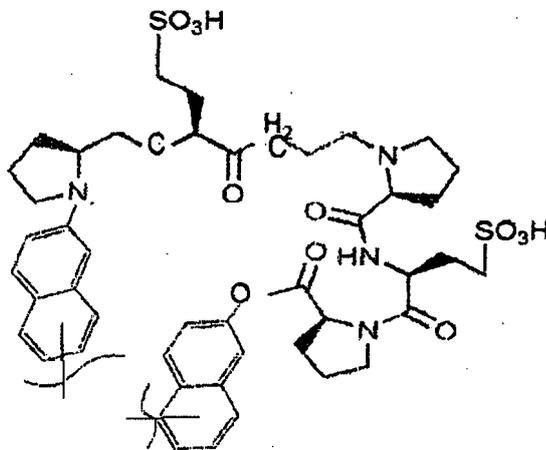


10

若しくは

【化 4】

b)



20

30

の構造を有する、又は該構造の誘導体である)

又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物を含む、化合物。

【請求項 105】

少なくとも 1 個の標識成分を含む、請求項 104 に記載の化合物。

【請求項 106】

前記少なくとも 1 個の標識成分が蛍光標識を含む、請求項 105 に記載の化合物。

【請求項 107】

前記化合物が、

シクロ - [X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3]

からなる化合物である、又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物である、請求項 104 から 106 のいずれか一項に記載の化合物。

40

【請求項 108】

前記化合物が、1 個以上のペプチド結合の NH 基が CH₂ 基で置換された模倣物である、請求項 104 から 107 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 109】

前記化合物が、1 個以上のアミノ酸残基がアリール基で置換された模倣物である、請求項 104 から 108 のいずれか一項に記載の化合物。

50

【請求項 110】

前記アリール基がナフチル基である、請求項 109 に記載の化合物。

【請求項 111】

前記化合物が模倣物であり、前記アミノ酸残基の 1 個以上が、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された 1, 2 - ジヒドロナフチル基、置換基を有する場合によっては置換された 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基、又は場合によっては置換されたプロピル基で置換された、請求項 104 から 110 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 112】

前記化合物が、23種のタンパク質構成アミノ酸のいずれかの側鎖を形成する基から選択された置換基を含む模倣化合物である、請求項 104 から 111 のいずれか一項に記載の化合物。

10

【請求項 113】

前記化合物が、前記アミノ酸残基の 50% 以下が前記基で置換された模倣化合物である、請求項 112 に記載の化合物。

【請求項 114】

更に好氣的解糖阻害剤を含む、請求項 103 から 113 のいずれか一項に記載の化合物

【請求項 115】

前記好氣的解糖阻害剤が 2 - デオキシグルコース (2 - DOG) である、請求項 114 に記載の化合物。

20

【請求項 116】

医薬品に使用するための、請求項 103 から 115 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 117】

前記組成物が癌の治療に使用するためである、請求項 116 に記載の化合物。

【請求項 118】

ポリ (ADP - リボース) ポリメラーゼ 1 (PARP - 1) 作動物質及び乳酸デヒドロゲナーゼ A (LDHA) 阻害剤を含む、癌の治療のための化合物。

【請求項 119】

前記 PARP - 1 作動物質及び LDHA 阻害剤が単一の治療薬である、請求項 118 に記載の化合物。

30

【請求項 120】

前記化合物が、PARP - 1 の DEV D 若しくは GDEV D G 領域に結合することができる、及び / 又は該領域を切断から保護することができる、請求項 118 又は 119 に記載の化合物。

【請求項 121】

前記化合物が、16 ~ 18 個のアミノ酸を有するペプチド、又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物を含む、請求項 118 から 120 のいずれか一項に記載の化合物

【請求項 122】

配列番号 15 又は配列番号 16 のアミノ酸配列を含む、請求項 121 に記載の化合物。

40

【請求項 123】

前記ペプチドが、前記 PARP - 1 の DEV D 又は GDEV D G 領域に結合する 4 ~ 6 アミノ酸配列、及び / 又は PARP 切断を阻害する 4 ~ 6 アミノ酸配列を含む、請求項 121 又は 122 に記載の化合物。

【請求項 124】

前記化合物が、請求項 1 から 36 及び請求項 61 から 83 及び請求項 104 から 113 に記載の化合物である、請求項 118 から 123 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 125】

好氣的解糖阻害剤を含む、又は更に含む、請求項 118 から 124 のいずれか一項に記

50

載の化合物。

【請求項 1 2 6】

前記好氣的解糖阻害剤が 2 - デオキシグルコース (2 - D O G) を含む、請求項 1 2 5 に記載の化合物。

【請求項 1 2 7】

更に薬剤担体、希釈剤又は賦形剤を含む、請求項 1 1 8 から 1 2 6 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 2 8】

前記化合物が、放射線療法及び / 又は手術の使用を更に含む治療計画に使用される、請求項 1 1 8 から 1 2 7 のいずれか一項に記載の化合物。

10

【請求項 1 2 9】

前記癌が、乳癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膀胱癌、卵巣癌、子宮体癌、子宮頸癌、頭頸部癌、胃癌、膵癌、食道癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、悪性黒色腫、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肉腫又は神経膠腫の 1 つ以上を含む、請求項 1 1 8 から 1 2 8 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 3 0】

前記癌が複数の癌又は転移性癌を含む、請求項 1 1 8 から 1 2 9 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 3 1】

癌の治療用医薬品の製造における請求項 1 1 8 から 1 3 0 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

20

【請求項 1 3 2】

ポリ (A D P - リボース) ポリメラーゼ 1 (P A R P - 1) 作動物質及び / 又は乳酸デヒドロゲナーゼ A (L D H A) 阻害剤を含む第 1 の治療薬と、好氣的解糖阻害剤を含む第 2 の治療薬とを含む、癌の治療のための併用療法。

【請求項 1 3 3】

前記第 1 と第 2 の治療薬が同時投与用である、請求項 1 3 2 に記載の併用療法。

【請求項 1 3 4】

前記化合物が、P A R P - 1 の D E V D 若しくは G D E V D G 領域に結合することができる、及び / 又は該領域を切断から保護することができる、請求項 1 3 2 又は 1 3 3 に記載の併用療法。

30

【請求項 1 3 5】

前記化合物が、1 6 ~ 1 8 個のアミノ酸を有するペプチド、又はその塩、誘導體、プロドラッグ若しくは模倣物を含む、請求項 1 3 2 から 1 3 4 のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項 1 3 6】

配列番号 1 6 又は配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 3 5 に記載の併用療法。

【請求項 1 3 7】

前記ペプチドが、前記 P A R P - 1 の D E V D 又は G D E V D G 領域に結合する 4 ~ 6 アミノ酸配列、及び / 又は P A R P 切断を阻害する 4 ~ 6 アミノ酸配列を含む、請求項 1 3 5 又は 1 3 6 に記載の併用療法。

40

【請求項 1 3 8】

前記併用療法が、請求項 1 から 3 6 及び請求項 6 1 から 8 3 及び請求項 1 0 4 から 1 1 3 のいずれか一項に記載の化合物を含む、請求項 1 3 2 から 1 3 7 のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項 1 3 9】

前記好氣的解糖阻害剤が 2 - デオキシグルコース (2 - D O G) を含む、請求項 1 3 2 から 1 3 8 のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項 1 4 0】

50

前記第 1 及び第 2 の治療薬が更に薬剤担体、希釈剤又は賦形剤を含む、請求項 1 3 2 から 1 3 9 のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項 1 4 1】

前記併用療法が、放射線療法及び / 又は手術の使用を更に含む治療計画に使用される、請求項 1 3 2 から 1 4 0 のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項 1 4 2】

前記癌が、乳癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膀胱癌、卵巣癌、子宮体癌、子宮頸癌、頭頸部癌、胃癌、膵癌、食道癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、悪性黒色腫、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肉腫又は神経膠腫の 1 つ以上を含む、請求項 1 3 2 から 1 4 1 のいずれか一項に記載の併用療法。

10

【請求項 1 4 3】

前記癌が複数の癌又は転移性癌を含む、請求項 1 3 2 から 1 4 4 のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項 1 4 4】

癌の治療用医薬品の製造における請求項 1 3 2 から 1 4 3 のいずれか一項に記載の併用療法の使用。

【請求項 1 4 5】

ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ 1 (PARP-1) 作動物質又は PARP-1 プロテアーゼ競合的阻害剤を含む、癌の治療のための化合物であって、前記化合物が、合計 5 又は 6 個のアミノ酸残基の部分、又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物を含み、前記部分が、

20

i . 生理 pH において正電荷を有することができる側鎖を有する任意の塩基性天然又は非天然アミノ酸残基を含む第 2 及び第 5 のアミノ酸残基位置、又は

ii . 生理 pH において負電荷を有することができる側鎖を有する任意の酸性天然又は非天然アミノ酸残基を含む第 2 及び第 5 のアミノ酸残基位置を有する、化合物。

【請求項 1 4 6】

前記 i . の第 2 及び / 又は第 5 のアミノ酸残基位置が Arg を含む、請求項 1 4 5 に記載の化合物。

【請求項 1 4 7】

30

前記 ii . の第 2 及び / 又は第 5 のアミノ酸残基位置が Asp を含む、請求項 1 4 5 又は 1 4 6 に記載の化合物。

【請求項 1 4 8】

前記 ii . の第 2 及び / 又は第 5 のアミノ酸残基位置が Glx 及び / 又は Hca を含む、請求項 1 4 5 又は 1 4 6 に記載の化合物。

【請求項 1 4 9】

前記化合物が、前記 PARP-1 の DEV D 若しくは GDEV D G 領域に結合することができる、及び / 又は該領域を切断から保護することができる、又は前記 PARP-1 の DEV D 若しくは GDEV D G 領域を模倣することができる、請求項 1 4 5 から 1 4 8 のいずれか一項に記載の化合物。

40

【請求項 1 5 0】

前記化合物が、16 ~ 18 個のアミノ酸を有するペプチド、又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物を含む、請求項 1 4 5 から 1 4 9 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 5 1】

前記 PARP-1 プロテアーゼがカスパーゼを含む、請求項 1 4 5 から 1 5 0 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 5 2】

前記カスパーゼがカスパーゼ - 3 である、請求項 1 5 1 に記載の化合物。

【請求項 1 5 3】

50

前記化合物が、請求項 1 から 3 6 及び請求項 6 1 から 8 3 及び請求項 1 0 4 から 1 1 3 のいずれか一項に記載の化合物である、請求項 1 4 5 から 1 5 0 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 5 4】

好氣的解糖阻害剤を含む、又は更に含む、請求項 1 4 5 から 1 5 3 のいずれか一項に記載の化合物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

【0 0 0 1】

本願は、2014年8月6日に出願された英国特許出願第1413942.2号の優先権を主張するものである。この優先権文献の内容を参照によりその全体を本明細書に援用する。

【0 0 0 2】

本発明は、癌の治療に有用なペプチド及びペプチド模倣物、特に、ATP枯渇を伴う癌細胞壊死を選択的に引き起こすペプチド及び模倣化合物に関する。

【背景技術】

【0 0 0 3】

現在、抗癌薬開発における主な推進力は、幾つかの一般的なヒト癌のゲノム研究によって最近更に活発化した、細胞表面受容体並びに正及び負のシグナル伝達因子の知識の急増に由来する[非特許文献1；非特許文献2；非特許文献3；非特許文献4；非特許文献5]。これらの研究は、多数の遺伝子変異を明らかにし、そのうち数百は、自律的な癌細胞増殖の進化の一因になるシグナル伝達経路上の重要なタンパク質を含むドライバー変異であると考えられる。

20

【0 0 0 4】

多数の潜在的薬剤標的がこの手法によって明らかになりつつあり、幾つかの異なる薬物が任意の1つの標的に対して活性を示す可能性があるので、更に多数の治療薬が潜在的に存在する。

【0 0 0 5】

30

現行の抗癌治療の枠組みは、個々に選択された癌に対するそのゲノム変異パターンに基づく個別の仕様に合わせた薬物療法に向けての進歩を想定している。得られた治療法は、素早く診療に導入されている。しかし、これらの新薬は、一般に、単剤の効力が低く、完全な腫瘍反応がほとんどなく、症例の大部分においては、反応期間中央値が1年未満である。

【0 0 0 6】

したがって、より包括的な抗癌治療薬が必要とされている。

【0 0 0 7】

変異に由来するシグナル伝達標的の多様性及び異質性とは対照的に、好氣的解糖、異数性などのある種の一般化された異常が、癌細胞において長年認められている。これらの変化は、治療開発の潜在的包括的な「アキレス腱」のままである。

40

【0 0 0 8】

好氣的解糖は、最初に、Otto Warburg [非特許文献6]によって、癌細胞と正常細胞の全般的相違として記述された。彼は、癌細胞において十分な酸素の存在下でも好氣的解糖に特有である、グルコース取り込みの増加、及び乳酸産生を確認した。この知見は、正常細胞に比べた癌細胞における異常な炭水化物代謝を示唆しており、包括的な抗癌標的を提供することができ、引き続き活発に研究されている[非特許文献7による概説]。

【0 0 0 9】

癌細胞における炭水化物代謝を治療上の標的にすることができる2つの重要な分子部位

50

は、酵素ヘキソキナーゼ2及び乳酸デヒドロゲナーゼである。

【0010】

ヘキソキナーゼ2は、細胞膜を通して取り込まれた後にグルコースをリン酸化し、グルコースを解糖のために細胞内に閉じ込める。潜在的に選択的な全身的癌標的としてのヘキソキナーゼ2(HK2)の重要性が、最近、マウスにおけるHk2欠失実験によって強調された[非特許文献8]。抗癌治療としてのヘキソキナーゼ2阻害が、マウス異種移植モデルにおいて生体内で試みられた[非特許文献9]。2-デオキシグルコースは、それ自体では弱い腫瘍阻害剤であるが、メトホルミンと併用すると広範囲の前臨床癌モデルに対して有効であることが示された[非特許文献10]。ヘキソキナーゼ2の更なる癌治療阻害剤は、3-プロモピルパートであるが[非特許文献11]、これは正常組織毒性の問題がある。

10

【0011】

乳酸デヒドロゲナーゼA(LDHA:Lactate dehydrogenase A)は、長年、腫瘍において増加することが知られており、c-Myc発癌性転写因子の直接標的として同定された[非特許文献12]。LDHAの阻害剤を抗癌治療法として設計する医薬品化学プログラムが現在進行中である[非特許文献13]。

【0012】

無秩序な解糖に加えて、癌細胞におけるエネルギー準位も、ポリADP-リボースポリメラーゼの働きによって影響される。

【0013】

ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ-1[PARP-1]は、ポリ(ADP-リボシル化)触媒活性を有する酵素ファミリーの主要メンバーである(非特許文献14)。それは、3つの保存された主要なドメイン、すなわち3本のジンクフィンガーを含むNH₂末端DNA損傷検出及び結合ドメイン、自己修飾ドメイン、及びC末端触媒ドメインからなる(非特許文献15)。

20

【0014】

PARP-1は、一本鎖と二本鎖の両方のDNA切断部に素早く直接結合する能力を有する、クロマチン結合性の保存された核タンパク質である(非特許文献16)。両タイプのDNA切断は、酵素の触媒能を活性化し、ADP-リボース部分の枝分れ鎖の共有結合によって広範囲な核タンパク質の活性を調節する(非特許文献14)。ポリADP-リボース鎖の主要な機能は、修復酵素にDNA損傷の部位を知らせることである。

30

【0015】

PARP-1がDNA切断部によって活性化されると、それはNAD⁺(ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド)を切断して、ニコチンアミド及びADP-リボースを生成し、ADP-リボースは鎖切断部に隣接するDNAに結合する鎖を形成する(非特許文献15)。ADP-リボース鎖をDNA上に形成するPARPによるNAD⁺の切断は、細胞の必須エネルギー源であるATPの産生に利用可能なNAD⁺を減少させる。したがって、PARP活性は、細胞のATPレベルを低下させ得る。

【0016】

アポトーシスは、エネルギー依存プロセスである活性な「細胞自殺」である。PARP活性の結果としてのATPの枯渇は、アポトーシスに必要なエネルギーを細胞から奪い得る。したがって、アポトーシスプロセスの成功の重要な一構成要素は、PARPを切断してATP枯渇を防止することである。切断は、ポリ(ADP-リボシル化)を不活性化し、幾つかのカスパーゼ、特にカスパーゼ-3によって行われる(非特許文献17)。カスパーゼ-3は、113-kDa PARPタンパク質をAsp214アミノ酸とGly215アミノ酸の間のDEV D部位[Gly-Asp-Glu-Val-Asp₂₁₄-Gly₂₁₅(配列番号1)]で切断して、2個の断片89及び24kDaポリペプチドを生成する。

40

【0017】

PARPの切断断片は、PARP活性の抑制に寄与するよう見える。というのは、p

50

89及びp24は、それぞれ完全なPARPのホモ会合(homo-association)及びDNA結合を阻害するからである(非特許文献18)。

【0018】

高レベルのATPは、細胞がアポトーシスするのを可能にするが、低レベルのATPは、細胞をアポトーシスから壊死に向かわせる(非特許文献19)。PARPは、マウス線維芽細胞においてATP枯渇による壊死性死の媒介物質であることが示された。PARP欠損マウス(PARP-/-)の線維芽細胞は、ATP枯渇及び壊死性死から保護される(非特許文献20)。

【0019】

要約すると、PARPは、修復酵素による認識のためにポリADP-リボース鎖によってDNA切断部に目印を付ける113-kDaタンパク質である。ポリADP-リボースは、アポトーシスに必要なATPの枯渇を招き、壊死による細胞死を潜在的に招き得るNADの分解によって形成される。

10

【0020】

異数性は、癌細胞に特有であり、正常細胞には存在しない別の全体的な変化である[非特許文献21]。異数性は、正常細胞に見られる半数染色体数の倍数から逸脱した異常な染色体数として厳密に定義される[非特許文献22]。

【0021】

多数の研究が、異数性は、正常細胞の悪性転換の原因の固有の構成要素であるのか、又はこの悪性変化に頻繁に付随する遺伝子不安定性の結果であるのかという疑問に向けられている[非特許文献23]。しかし、重要な点は、異数性が、異数性に先行する異常な有糸分裂[非特許文献24]又は異数体染色体の分離異常[非特許文献25]の対応する結果として、癌細胞に見られる著しいDNA損傷の発現であることである。

20

【0022】

癌細胞と正常細胞の明確な相違は、激しい損傷を受けたゲノムを有する癌細胞が、正常細胞よりもはるかに多くのDNA修復を必要とすることである。DNA修復プロセスの主な構成要素は、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ-1[PARP-1]によってDNA損傷に「目印を付けること(flagging)」である。

【0023】

したがって、mRNA発現によって測定されるPARP活性の増加が、正常組織よりも正常組織から生じる多種多様なヒト癌に認められることは驚くことではない[非特許文献26]。

30

【0024】

したがって、癌細胞は、無秩序な炭水化物代謝、並びに繰り返しの細胞倍加及びその多量のDNA損傷の修復に必要な多量のエネルギー需要の結果として、正常細胞に比べてエネルギーが不足した状態で働く。さらに、各繰り返しの癌細胞分裂に必要なエネルギーは、このエネルギー不足の更なる負担になると予想される。

【0025】

癌細胞に存在し、正常細胞には存在しない、上記の全体的なエネルギー不足標的を利用することができる抗癌治療法に対するある役割が、未達成ではあるが存在する。

40

【0026】

PARP活性の増加は、K562細胞[非特許文献27]及びカスパーゼカスケードがzVAD-fmkによって阻害された、シアン化物に被毒したCX細胞[非特許文献28]においてDNA損傷を生じるアスコルビン酸/メナジオン誘導性酸化ストレスに続いて細胞壊死を招くことが示された。しかし、これらの場合、PARP機能を維持することに加えて、DNA損傷又は酸化ストレスも細胞壊死が起こるのに必要である。カスパーゼ阻害剤zVAD-fmk単独では壊死を起こさなかった。同様に、サバイピン[非特許文献29]、DEV D-CHO[非特許文献30]などの別のカスパーゼ阻害剤もそれ自体では壊死を起こさない。さらに、XIAPカスパーゼ阻害剤の小分子拮抗物質は、カスパーゼ活性を刺激するが、壊死ではなくアポトーシスを誘導する[非特許文献31]。

50

【0027】

したがって、カスパーゼ阻害剤などのPARP作動物質は、活性なPARPを維持するのにもかかわらず、それ自体では細胞壊死を誘導しないように見える。さらに、PARPを点変異によってDEVD部位におけるカスパーゼ切断に非感受性にしても、それ自体では壊死を起こさなかった。壊死は、TNF- α を添加したときにのみ生じた[非特許文献32]。

【0028】

要約すると、幾つかのPARP作動物質を記述したが、どれもそれ自体では細胞壊死を起こさないものの、別の薬剤と組み合わせると壊死を起こし得る。ここでは、初めて、ATP枯渇によってそれ自体で第2の薬剤を必要とせずに癌細胞死を起こすことができるPARP作動物質を記述する。

10

【0029】

PARP機能を利用する現在の試みは、治療法上、ポリ(ADP-リボシル化)を防止し、したがってDNA損傷性治療薬の効果を増強し、壊死よりもアポトーシスを招く、PARP阻害剤の開発に集中している(非特許文献14;非特許文献33;非特許文献18)。

【0030】

最初の市販PARP阻害剤の一つは、オラパリブ(AZD2281)(4-[3-(4-シクロプロパンカルボニルピペラジン-1-カルボニル)-4-フルオロベンジル]-2H-フタラジン-1-オン)であった(非特許文献34)。オラパリブは、DNA損傷性薬物テモゾロマイドの潜在的賦活薬として前臨床及び臨床的に研究された(非特許文献35)。

20

【0031】

配列番号2(PRGPRP)を小さいペプチドに含むと、広範囲のヒトインビトロ癌細胞系に対しては選択的に制癌性であるが、正常な二倍体ヒト角化細胞、線維芽細胞又は不死化MRC5-hTERT細胞に対しては選択的制癌性ではないことが示された(非特許文献36及び特許文献1)。

【0032】

これらの環状ペプチドの広範で選択的な抗癌活性は、ヘキサペプチド配列内のアルギニンに大きく依存することが報告された。それは、アミノ酸配列が配列番号3(Pro-Arg-Arg-Pro-Gly-Pro)に変化することによって、どちらかのアルギニンでL-NG-モノメチル-アルギニン又はグルタミン酸を置換するのと同様に、制癌能力を取り除くからである。

30

【0033】

プロテオームにおけるペプチド配列の多重度を考慮すると、配列PRGPRP(配列番号2)又は極めて類似した配列が幾つかのタンパク質のペプチド鎖内に無作為に発生する可能性もある。例えば、D-アミノ酸配列PRKPRP(配列番号5)をJun結合ペプチド(JBP:Jun binding peptide)に見ることができ[特許文献2]、ヘキサペプチドPRGPRP(配列番号2)をbbc3遺伝子の推定アミノ酸配列に見ることもできる[特許文献3;非特許文献37]。

40

【0034】

しかし、タンパク質内のペプチド配列の存在は、ペプチド又はタンパク質内の他のアミノ酸配列と異なって、タンパク質全体の特定の機能活性の原因であるのが特にこの配列であることを意味するものではない。特定のアミノ酸配列の機能性は、想定ではなく証明される必要がある。CDK4においてタンパク質の外部ループ上に位置するヘキサペプチドPRGPRP(配列番号2)の場合、この機能性は、壊死による選択的癌細胞死滅であり、この活性は、配列をPRRPGP(配列番号3)に変化させることなどのPRGPRP(配列番号2)における特定の変化によって、又は一方のアルギニンのグアニジウム領域におけるN-モノ-メチル化によって、取り除かれる。しかし、JBPのPRKPRP(配列番号5)領域もBBC3のPRGPRP(配列番号2)領域も機能性の具体的な実験

50

的証拠はない。さらに、JPB分子全体は、正常な神経細胞を虚血性壊死から保護する。これは、壊死を招くCDK4由来のPRGPRP系環状ペプチドとは逆の活性である。さらに、BBC3はPRGPRP配列(配列番号2)を含むが、タンパク質全体は、BCL抗アポトーシス性タンパク質ファミリーのメンバーの機能を妨げることによって、正常な神経細胞におけるアポトーシスを引き起こす。JBPもBBC3も、PRGPRP(配列番号2)と極めて類似した又は同一の配列を含むが、正常細胞に比べて癌細胞の選択的壊死を引き起こすことはないことが示された。

【0035】

既述の環状ペプチド(特許文献1)は、活性なPRGPRP部位(配列番号2)(「弾頭(warhead)」、及びPRGPRPアミノ酸配列(配列番号2)を含むCDK4における外部化(externalised)ループと寸法が類似した16~18アミノ酸環状ペプチドを形成する「骨格」で構成された。

10

【0036】

PRGPRP(配列番号1)「弾頭」は、それ自体が両親媒性である。環状ペプチドにおいて「骨格」の非両親媒性アミノ酸配列と結合すると、生成した環状ペプチドは不活性であった[非特許文献36]。すなわち、

配列番号6: Cyc - [A A A G G G P R G P R P G G G A A A] 不活性

配列番号7: Cyc - [G G G G G G P R G P R P G G G G G G] 不活性

配列番号8: Cyc - [G G G G G G P R G P R P G G G G G G] 不活性

配列番号9: Cyc - [A A G P G G P R G P R P G G P G A A] 不活性

20

【0037】

それに対して、両親媒性ALKLALKLAL「骨格」(配列番号10)を導入すると、活性PRGPRP環状ペプチドの産生に成功した。

【0038】

しかしながら、両親媒性「骨格」の長さ及び組成のわずかな相違は、生理活性の大きな相違になり得る。すなわち、NCI-H460ヒト非小細胞肺癌細胞の死滅に関して、極めて類似した環状ペプチドが逆の活性を示した。すなわち、

配列番号11: Cyc - [P R G P R P V K L A L K L A L K L A L] (「THR52」) 不活性

配列番号12: Cyc - [P R G P R P V K L A L K L A L K F P] (「THR53」) 活性

30

配列番号13: Cyc - [P R G P R P V A L K L A L K L A L] (「THR54」) 活性

【0039】

理論に拘泥するものではないが、両親媒性「骨格」のらせん構造は、「弾頭」を生理活性に最適な立体構造に制限する可能性がある。さらに、「骨格」と「弾頭」におけるアミノ酸配列の正確な組合せは、ペプチド全体の生理活性に影響を及ぼし得る。したがって、最適な「骨格」/「弾頭」の組合せは、本明細書に記載の請求項に係る化合物が完全な環状ペプチドとして最も有効に働くと予想されるように期待される。

【0040】

環状ペプチドTHR53、その類似体THR54(ここでは、HILR-001とも称する)、及びTHR79(Cyc - [P R G P R P v a l k l a l k a l a l] (配列番号14)[非特許文献36及び特許文献1])は、広範囲のヒト癌細胞系を選択的に死滅させたが、IC₅₀が100~200μMの範囲である低比活性の問題があった。これらの低比活性は、インビトロでは有望な抗癌治療可能性を示すが、必要な全身投与量がマウスにおいて容認されるものよりも高い恐れがあるので、異種移植ヒト癌に対する生体内での試験を不可能にする。

40

【0041】

したがって、THR53及びTHR54の選択的癌細胞死滅能力を保持し、比活性がより高い、新しい環状ペプチドが必要である。更に活性なペプチド部分も必要である。

50

【0042】

特許文献2は、プロテインキナーゼ阻害剤、より具体的にはプロテインキナーゼc-Junアミノ末端キナーゼの阻害剤を開示している。

【0043】

特許文献4は、PARP活性化物質をスクリーニングする方法を開示している。

【0044】

特許文献1は、CDK4ペプチド領域及び細胞貫通領域を含む環状ペプチドを開示している。

【0045】

非特許文献38は、サイクリン依存性キナーゼ4の非キナーゼドメインと相同な配列を有するヘキサペプチドの選択的抗癌活性を開示している。 10

【0046】

非特許文献39は、c-Jun N末端キナーゼ(JNK:c-Jun N-terminal kinase)阻害剤XG-102が成体ラットにおける脳虚血後に高圧酸素の神経保護を強化することを述べている。

【0047】

非特許文献40は、カスパーゼによるポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ切断の失敗によって、壊死が誘導され、アポトーシスが增大することを述べている。

【0048】

特許文献5は、例えば、薬物、他の治療薬又は診断薬などの水不溶性物質をパッケージングする方法を開示している。 20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0049】

【特許文献1】国際公開第2009/112536号

【特許文献2】米国特許出願公開第2007/0060514A1号

【特許文献3】国際公開第00/26228号

【特許文献4】国際公開第2006/078503号

【特許文献5】国際公開第99/18998号

【非特許文献】 30

【0050】

【非特許文献1】Pleasance *ら*、Nature (2009) 463:191~196

【非特許文献2】Sjoeblom *ら*、Science (2006) 314:268~274

【非特許文献3】Greenman *ら*、Nature (2007) 446:153~158

【非特許文献4】Jones *ら*、Science (2008) 321:1801~1806

【非特許文献5】Gerlinger *ら*、(2012) 366:883~892 40

【非特許文献6】Warburg *ら*、J Gen Physiol (1927) 8:519~530

【非特許文献7】Dang *ら*、J mol Med (2011) 89:205~212

【非特許文献8】Ros及びSchulze Cancer Discov; (2013) 3:1105~1107

【非特許文献9】Xu *ら*、Cancer Res; (2005) 65:613~621

【非特許文献10】Cheong *ら*、Mol Cancer Ther (2011) 10:2350~2362

【非特許文献11】Ko *ら*、Cancer Lett (2001) 173:83~91

【非特許文献12】Le *ら*、PNAS (2010) 107:2037~2042 50

- 【非特許文献13】Granchi \bar{b} 、J. Med Chem (2011) 54 : 1599 ~ 1612
- 【非特許文献14】Munoz - Gamez \bar{b} 、Biochem J (2005) ; 386 : 119 ~ 125
- 【非特許文献15】Javle 及び Curtin、Brit J Cancer (2011) : 105 : 114 ~ 122
- 【非特許文献16】Cherney \bar{b} 、Proc. Natl Acad. Sci. USA . 1987 ; 84 : 8370 ~ 8374
- 【非特許文献17】Herceg 及び Wang、Mol Cell Biol (1999) ; 19 : 5124 ~ 5133
- 【非特許文献18】Graziani 及び Szabo 2005、Pharmacol Res . (2005) ; 52 : 109 ~ 118
- 【非特許文献19】Eguchi Y、Shimizu S、Tsujiimoto Y、Cancer Res (1997) ; 57 : 1835 ~ 1840
- 【非特許文献20】Ha 及び Snyder 1999、Proc Natl Acad Sci (1999) : 96 : 13978 ~ 13982
- 【非特許文献21】Duesberg 及び Rasnik . Cell Motility and the Cytoskeleton (2000) 47 : 81 ~ 107
- 【非特許文献22】Holland 及び Cleveland EMBO reports (2012) 13 : 501 ~ 514
- 【非特許文献23】Li PNAS (2000) 97 : 3236 ~ 3241 ; Knaus 及び Klein J Biosci (2012) 37 : 211 ~ 220
- 【非特許文献24】Ganem 及び Pellman J Cell Biol (2012) 199 : 871 ~ 881
- 【非特許文献25】Jenssen \bar{b} 、Science 92011) 333 : 1895 ~ 1898
- 【非特許文献26】Ossovska \bar{b} 、Genes and Cancer (2010) 1 : 812 ~ 821
- 【非特許文献27】Verrax \bar{b} 、Int J Cancer (2007) 120 : 1192 ~ 1197
- 【非特許文献28】Prabhakaran \bar{b} 、Toxicology and Applied Pharmacology (2004) 195 : 194 ~ 202
- 【非特許文献29】Hensley \bar{b} 、Biol Chem (2013) 394 : 831 ~ 843
- 【非特許文献30】Coelho \bar{b} 、Brit J Cancer (2000) 83 : 642 ~ 629
- 【非特許文献31】Schimmer \bar{b} 、Cancer Cell 92004) 5 : 25 ~ 35
- 【非特許文献32】Herceg 及び Wang Molec Cell Biol (1999) 219 : 5124 ~ 5133
- 【非特許文献33】Plummer、Curr. Opin. Pharmacol. (2005) ; 6 : 364 ~ 368
- 【非特許文献34】Meneaz \bar{b} 、Journal of Medicinal Chemistry (2008) ; 51 : 6581 ~ 91
- 【非特許文献35】Khan \bar{b} 、British Journal of Cancer (2011) ; 104 : 750 ~ 755
- 【非特許文献36】Warenius \bar{b} 、Molecular Cancer (2011) ; 10 : 72 ~ 88
- 【非特許文献37】Reimertz \bar{b} 、Journal Cell Biology (2003) 162 : 587 ~ 598

10

20

30

40

50

【非特許文献38】Wareniusら、Molecular Cancer 2011、10～72)

【非特許文献39】Liuら、Neuropathology and Applied Neurobiology (2010)、36、211～224

【非特許文献40】Herceg及びWang (Molecular and Cellular Biology、1999年7月、5124～5133ページ)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0051】

本明細書において提供するのは、ATPレベルの低下を伴う壊死によって癌細胞を死滅させるあるクラスのアニオン性/カチオン性PARP依存性薬剤である。

【課題を解決するための手段】

【0052】

第1の態様においては、本発明は、請求項1に記載の環状化合物を提供する。ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1(PARP-1)の活性を調節可能な環状化合物であって、式1の部分又はその塩、誘導體、プロドラッグ若しくは模倣物を含む環状化合物を提供する。

【0053】

式1: [X1 - X2 - X3 - X4 - X3 - X4 - X3 -]

【0054】

式中、X1は、PARP-1の切断を阻害可能なペプチド部分であり、X2は存在してもしなくてもよく、X2が存在するときには、X2はVal又はSerから選択され、

X3とX4の一方は、Trp - Trp及びAr1 - Ar2から選択され、

X3とX4の他方は、Arg - Arg、Gpa - Gpa、Hca - Hca及びAr3 - Ar4から選択され、

ここで、

Hcaは、ホモシステイン酸のアミノ酸残基であり、

Gpaは、グアニジノフェニルアラニンのアミノ酸残基であり、

Ar1、Ar2、Ar3及びAr4はそれぞれ、アリール側鎖を有するアミノ酸残基であり、アリール側鎖は、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された1,2-ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された1,2,3,4-テトラヒドロナフチル基から独立に選択され、

Azaは、アジド-ホモアラニンのアミノ酸残基である。

【0055】

特に好ましくは、X3はTrp - Trp及びAr1 - Ar2から選択され、X4はArg - Arg、Gpa - Gpa及びHca - Hcaから選択される。

【0056】

第2の態様においては、本発明は、請求項30に記載のポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1の活性を調節可能な化合物を提供する。ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1の活性を調節可能な化合物であって、式6の部分を含む化合物を提供する。

【0057】

式6: -Pro - X14 - X15 - Pro - X16 - Pro -

【0058】

式中、X14及びX16は、側鎖を有するアミノ酸残基、置換基を有するナフチル基、及び置換基を有するプロピル基から各々独立に選択され、各側鎖又は置換基は、酸性官能基を含み、X15は、Gly、Ala、MeGly及び(CH₂)₃から選択される。

【0059】

第3の態様においては、本発明は、本発明の第1及び/又は第2の態様に係る化合物を含む医薬組成物を提供する。

10

20

30

40

50

【0060】

第4の態様においては、本発明は、医薬品に使用するための、本発明の第1から第3の態様のいずれかに記載の化合物及び組成物を提供する。化合物及び組成物は、癌の治療に使用するためのものであり得る。

【0061】

第5の態様においては、本発明は、請求項51に記載の方法を提供する。本発明の第1から第3の態様のいずれかに記載の化合物及び組成物を患者に投与するステップを含む癌治療方法を提供する。

【0062】

第6の態様においては、本発明は、請求項57に記載の方法を提供する。細胞を本発明の第1又は第2の態様の化合物と接触させるステップ、及び化合物を検出するステップを含む分析方法を提供する。

10

【0063】

本発明の更なる適用可能領域は、以下に示す詳細な説明から明らかになるはずである。詳細な説明及び具体例は、本発明の好ましい実施形態を示す。

【0064】

本発明は、詳細な説明及び以下の添付図面から更に理解されるはずである。

【図面の簡単な説明】

【0065】

【図1】自動ペプチド合成によってペプチドに組み込むための保護されたグアニジノフェニルアラニン (Gpa) 及びホモシステイン酸 (Hca) の構造を示す図である。

20

【図2】自動ペプチド合成によって環状ペプチドに組み込むための保護されたアジドホモアラニン及び3-アミノ-3-(2-ナフチル)-プロピオン酸の構造を示す図である。

【図3】HILR-001 (配列番号13)、HILR-025 (配列番号15) 及びHILR-030 (配列番号16) のIC₅₀プロット (対照に対する%対Log [M]) を示す図であり、WWRWWWRWW両親媒性カセット (配列番号17) を含むHILR-025配列 (配列番号15) の活性は、HILR-001よりも高く、Trp-Trp-Gpa-Gpa-Trp-Trp-Gpa-Gpa-Trp-Trp (配列番号18) カセットを有するHILR-030の活性は、HILR-025 (配列番号15) よりも更に高いことを示す。HILR-D-08 (配列番号31) のIC₅₀プロットも示す。

30

【図4】HILR-D-02 (Cyc-[Pro-Glu-Gly-Pro-Glu-Pro-Val-Trp-Trp-Arg-Arg-Trp-Trp-Arg-Arg-Trp-Trp]) (配列番号19) 及びHILR-D-06 (Cyc-[Pro-Hca-Gly-Pro-Hca-Pro-Val-Trp-Trp-Arg-Arg-Trp-Trp-Arg-Arg-Trp-Trp]) (配列番号20) のIC₅₀プロット (対照に対する%対Log [M]) を示す図であり、「弾頭」の陰性基が有効であることを示す。

【図5】PARP標準活性曲線 (光出力対精製PARP酵素の単位のプロット) を示す図である。

40

【図6】PARP活性に対するオラパリブ及び3-アミノベンズアミドの効果を示す図である。

【図7】PARP活性に対する異なる濃度のオラパリブの効果を96時間の時間経過にわたり示す図である。

【図8】オラパリブ及びパクリタキセルのIC₅₀分析を示す図である。

【図9】NC1-NCI-H460細胞に対するPARP阻害剤オラパリブと組み合わせたHILR-001の効果を示す図である。オラパリブは、HILR-001によって誘導されるATPの低下をある程度逆転させ、その結果、癌細胞壊死の程度が低下する。

50

【図10】Ac-DEV D-CHOに対するカスパーゼ-3の用量反応を示す図である。

【図11】カスパーゼ-3活性に対するAc-DEV D-CHO及びHIL R-030の効果を示す図である。

【図12】カスパーゼ-3活性に対するAc-DEV D-CHO及びHIL R-030の効果をもっと示す図である。

【図13】CDK4外部ループのPRGPRP(配列番号2)領域とPARPのDEV D領域の整列、及びGDEV D G相同体(HIL R-D-01)によるNCI-H460細胞の軽度ではあるがかなりの死滅を示す図である。

【図14】示した環状ペプチドのペプチド模倣相同体を示す図である。

【図15】2-デオキシグルコース(2-DOG)を本発明に係る環状化合物と同時投与する効果を示す図である。

【図16】HIL R-025、HIL R-D-07又はDMSO対照で処理されたNCI-H460ヒト非小細胞肺癌細胞の形態変化を示す図である。

【図17】24及び96時間におけるLDH活性に対するHIL R-025及びHIL R-030のIC₅₀用量の阻害効果を示す図である。

【図18】HIL R化合物の作用の推定部位を示す細胞呼吸の簡単な略図である。PARPに対するアゴニスト作用を伴うLDHAの阻害は、細胞ATPレベルを低下させ得る。6デオキシグルコースによるヘキソキナーゼの阻害は、HIL R環状ペプチドのATP低減活性をもっと増強する。

【発明を実施するための形態】

【0066】

配列リストフリーテキスト

配列番号2、21、22、23、24、25、26、27、28、29、37、41及び42は、制癌性基である。

【0067】

配列番号3及び4は、比較用ペプチドである。

【0068】

配列番号5は、Jun結合ペプチドの部分配列である。

【0069】

配列番号6、7、8、9、11、12、13、14、15、16、19、20、30、31、32、33、34、35、36、39及び43~48は、環状ペプチドである。

【0070】

配列番号10、17、18、38及び39はカセットである。

【0071】

添付の配列の一部は、非標準非天然アミノ酸残基を含む。配列リストにおいて確認される非天然アミノ酸残基は、グアニジノフェニルアラニン、ホモシステイン酸、アジドホモアラニン、N-メチルアスパラギン酸、3-アミノ-3-(2-ナフチル)-プロピオン酸の残基、及びグルタミン酸ガンマ-[2-(1-スルホニル-5-ナフチル)-アミノエチルアミド]の残基である。

【0072】

配列番号21を参照すると、位置(2)を記述するフリーテキストは、「ホモシステイン酸、アジドホモアラニン及びグルタミン酸から選択される塩基性残基又は酸性残基」と記述している。位置(3)を記述するフリーテキストは、「Gly、Ala、MeGly及び(CH₂)₃から選択される」と記述している。位置(5)を記述するフリーテキストは、「残基2が酸性である場合、グルタミン酸及びホモシステイン酸から選択される酸性残基。残基2が塩基性である場合、塩基性残基」と記述している。

【0073】

配列番号24を参照すると、位置(2)を記述するフリーテキストは、「Asp及びGluから選択される」と記述している。位置(5)を記述するフリーテキストは、「Asp、N-アルキルAsp、N-アリールAsp、Glu、N-アルキルGlu、N-アリ

10

20

30

40

50

ールG l uから選択される」と記述している。位置(6)を記述するフリーテキストは、「G l y、N - アルキルG l y、N - アリールG l yから選択される」と記述している。

【0074】

配列番号37を参照すると、位置(2)を記述するフリーテキストは、「酸性側鎖を有する任意の天然又は非天然アミノ酸」と記述している。位置(3)を記述するフリーテキストは、「G l y、A l a、M e G l y及び(C H₂)₃から選択される」と記述している。位置(5)を記述するフリーテキストは、「酸性側鎖を有する任意の天然又は非天然アミノ酸」と記述している。

【0075】

詳細な説明

10

本開示は、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1の活性を調節可能な化合物を提供する。該化合物は、所与の細胞内のポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1活性全体を増加させ得る。該化合物は、カスパーゼ、特にカスパーゼ3によるPARP-1の切断を防止し得る。実施例でより詳細に考察するように、本明細書に記載の化合物は、癌細胞における好氣的解糖も阻害すると考えられる。本発明に係る環状化合物は、以前の環状ペプチドよりも比活性が改善される。

【0076】

本開示は、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1(PARP-1)の活性を調節可能な環状化合物であって、式1の部分又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物を含む環状化合物を提供する。

20

【0077】

式1: [X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3 -]

【0078】

式中、X 1は、PARP-1の切断を阻害可能なペプチド部分であり、X 2は存在してもしなくてもよく、X 2が存在するときには、X 2はV a l又はS e rから選択され、

X 3とX 4の一方は、T r p - T r p及びA r 1 - A r 2から選択され、

X 3とX 4の他方は、A r g - A r g、G p a - G p a、H c a - H c a及びA r 3 - A r 4から選択され、

ここで、

H c aは、ホモシステイン酸のアミノ酸残基であり、

G p aは、グアニジノフェニルアラニンのアミノ酸残基であり、

A r 1及びA r 2は、アリール側鎖を有するアミノ酸残基であり、アリール側鎖は、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された1,2-ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された1,2,3,4-テトラヒドロナフチル基から各々独立に選択され、

A z aは、アジド-ホモアラニンのアミノ酸残基である。

30

【0079】

特に好ましくは、X 3はT r p - T r p及びA r 1 - A r 2から選択され、X 4はA r g - A r g、G p a - G p a、H c a - H c a及びA r 3 - A r 4から選択される。

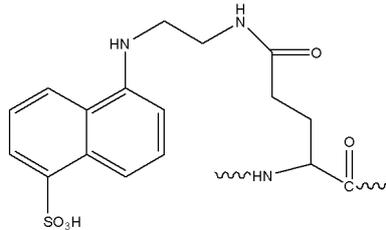
40

【0080】

本開示を通して、略語「H c a」は、ホモシステイン酸のアミノ酸残基を指す。略語「G p a」は、グアニジノフェニルアラニンのアミノ酸残基を指す。「A z a」は、アジドホモアラニンを指す。「N a p」は、3-アミノ-3-(2-ナフチル)-プロピオン酸のアミノ酸残基である。「E d a」は、下記アミノ酸残基であり、

【0081】

【化 1】



【 0 0 8 2 】

10

すなわち、グルタミン酸ガンマ - [2 - (1 - スルホニル - 5 - ナフチル) - アミノエチルアミドの残基である。

【 0 0 8 3 】

H c a、G p a 及び A z a を、N a p、E d a などのアリール側鎖を有するアミノ酸残基と一緒に、本明細書では非天然アミノ酸と称する。本開示の化合物中には少なくとも 1 種の非天然アミノ酸を含むことが好ましい。これは、非天然アミノ酸を含む化合物が、酵素による分解に対して天然アミノ酸のみからなる化合物よりも一般に耐性があるからである。

【 0 0 8 4 】

20

好ましくは、環状化合物は、シクロ - [X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3] 又はその塩、誘導體、プロドラッグ若しくは模倣物からなる。

【 0 0 8 5 】

環状化合物は、標識成分を含むことができる。標識成分は蛍光標識とすることができる。

【 0 0 8 6 】

標識成分は、環状化合物の検出を可能にする。標識成分の例としては、蛍光標識、放射性標識、質量標識及びビオチンが挙げられる。適切な標識成分としては、タンパク質及びペプチド用の従来の標識が挙げられる。当業者は、タンパク質及びペプチド用の標識に精通しているはずである。

【 0 0 8 7 】

30

標識成分は、使用する所望の検出方法に応じて選択することができる。例えば、環状化合物を酵素結合免疫吸着検定法 (E L I S A : e n z y m e - l i n k e d i m m u n o s o r b e n t a s s a y) で検出しようとする場合、標識成分は、適切には、ビオチンを含む。別の設定では、環状化合物をウエスタンブロットアッセイ、ゲル電気泳動アッセイなどで検出しようとする場合、標識成分は、適切には、蛍光標識である。別のクラスの標識及び別のアッセイタイプも本明細書では企図される。

【 0 0 8 8 】

40

環状化合物が A r 1 - A r 2 及び / 又は A r 3 - A r 4 を含む設定では、1 個以上のアリール側鎖が置換基を含むことができ、置換基は、蛍光標識、放射性標識、質量標識及びビオチンから選択される標識である。あるいは、1 個以上のアリール側鎖が、アリール側鎖が蛍光標識として機能するように選択された置換基を含むことができる。この設定では、置換基をスルホン酸基とすることができる。アリール側鎖を含む蛍光非天然アミノ酸の一例は E d a である。

【 0 0 8 9 】

化合物に標識成分を入れると、細胞による化合物の取り込みを分析することができる。標識成分を入れると、化合物の作用機序をより詳細に解明することも可能になる。標識化合物と接触した細胞を分析すると、化合物を含む処方に入れる添加剤、賦形剤、同時活性剤 (c o - a c t i v e s)、用量及び剤形を最適化することもできる。

【 0 0 9 0 】

50

本明細書に開示した環状化合物は、しばしば「弾頭」と称される活性配列、及び弾頭を

細胞に送達するカセットを含む。

【0091】

X1は、PARP-1の切断を阻害可能なペプチド部分である活性配列である。本明細書では、ペプチド部分という用語は、ペプチド及びペプチド模倣部分を指すのに使用される。好ましくは、X1はペプチド部分である。本明細書に定義した活性配列X1は、PARPに結合してその切断を防止するか、又はPARPを切断するプロテアーゼを競合的に阻害すると考えられる。PARPは、DNA修復経路に関与する。PARPの作用機序は、NADを消費して、ATP枯渇を招く。癌細胞は、大規模なDNA損傷を有し、PARP活性の上方制御を必要とする。癌細胞におけるPARPの不活性化を防止すると、細胞のATPが枯渇し、壊死を招く。PARPの不活性化を防止しても、正常細胞はほとんどDNA損傷を受けないので、正常細胞のATPは枯渇しない。理論に拘泥するものではないが、本発明者は、本開示に係る化合物が、したがって、PARPの活性を調節することによって、癌細胞における壊死を選択的に引き起こすことを発見した。化合物は、追加の機序によっても癌細胞にストレスを与え、壊死を更に促進し得ると考えられる。理論に拘泥するものではないが、実施例に示した証拠は、追加の機序が癌細胞における炭水化物代謝経路、特に好氣的解糖経路に関係し得ることを示唆する。

10

【0092】

X1は、適切には、PARPのDEVD領域に結合可能な部分である。この設定においては、X1は、合計5又は6個のアミノ酸残基、好ましくは6個のアミノ酸残基を含むペプチド部分とすることができる。配列中の第2及び第5のアミノ酸残基は、塩基性アミノ酸残基とすることができる。塩基性アミノ酸残基は、生理pHにおいて正電荷を有することができる側鎖を有する任意の天然又は非天然アミノ酸とすることができる。好ましい塩基性アミノ酸はアルギニンである。理論に拘泥するものではないが、配列中の第2及び第5のアミノ酸として正荷電アミノ酸を含むと、図13に示すように、部分がPARP-1のDEVD領域に結合可能になると考えられる。

20

【0093】

適切なX1部分としては、特許文献1においてCDK4ペプチド領域として記述されたものが挙げられる。

【0094】

あるいは、X1をアニオン性活性部分とすることができる。アニオン性活性部分は、合計5～6個のアミノ酸残基、好ましくは合計6個のアミノ酸残基を含むことができる。第2及び第5のアミノ酸残基は酸性とすることができる。アニオン性活性部分は、カスパーゼ-3などのPARPを切断するプロテアーゼの競合的阻害剤として作用すると考えられる。

30

【0095】

X1は、合計6個のアミノ酸残基を含むペプチド部分とすることができ、第2及び第5のアミノ酸残基は、どちらも塩基性かどちらも酸性である。当業者は、活性剤の存在下で酵素活性を決定する従来のアッセイに精通しているはずである。X1部分は、癌細胞の死滅に有効である。したがって、適切な活性を有するX1基を細胞生死判別法によって同定することができる。細胞生存度を測定する方法は、蛍光検出と一緒にalamarBlue（登録商標）細胞生存度試薬（Life Technologies, Inc.）（レザズリン）の使用を含む。典型的な実験手順を下記実施例に詳述する。癌細胞死滅比活性は、各薬剤の半値抑制濃度（IC₅₀）値の比較によって決定される（図3及び4参照）。環状化合物は、IC₅₀が75 μM以下、又は50 μM以下、又は30 μM以下、又は15 μM以下、又は10 μM以下とすることができる。

40

【0096】

好ましくは、X1は、配列番号21（式2）、配列番号22（式3）、配列番号23（式4）及び配列番号24（式5）から選択される。

【0097】

配列番号21（式2）は-Pro-X5-X6-Pro-X7-Pro-であり、

50

式中、X 5 と X 7 の両方は、酸性側鎖を有するアミノ酸残基であり、又は X 5 と X 7 の両方は、塩基性側鎖を有するアミノ酸残基であり、

酸性側鎖を有するアミノ酸残基は、G l u、A z a 及び H c a から各々独立に選択され、

X 6 は、G l y、A l a、M e G l y 及び (C H ₂)₃ から選択され、

配列番号 2 2 (式 3) は - P r o - X 8 - G l y - P r o - X 9 - P r o - であり、

式中、X 8 及び X 9 は、A s p 及び G l u から各々独立に選択され、

配列番号 2 3 (式 4) は - P r o - A r g - L y s - P r o - A r g - P r o - であり

、配列番号 2 4 (式 5) は - G l y - X 1 1 - G l u - V a l - X 1 2 - X 1 3 - であり

10

、式中、X 1 1 は、A s p 及び G l u から選択され、

X 1 2 は、A s p、N - アルキルアスパラギン酸残基、N - アリールアスパラギン酸残基、G l u、N - アルキルグルタミン酸残基及び N - アリールグルタミン酸残基から選択され、

X 1 3 は、G l y、N - アルキルグリシン残基、及び N - アリールグリシン残基から選択され、

ただし、X 1 2 が A s p である場合、X 1 3 は、N - アルキルグルタミン酸残基又は N - アリールグルタミン酸残基である。

【 0 0 9 8 】

20

式 2 の X 1 部分が特に好ましい。

【 0 0 9 9 】

式 2 の部分においては、X 5 及び X 7 は、好ましくは、G l u 及び H c a から各々独立に選択される。一設定においては、X 5 は G l u であり、X 7 は G l u である。別の設定においては、X 5 は G l u であり、X 7 は H c a である。更なる設定においては、X 5 は H c a であり、X 7 は G l u である。別の設定においては、X 5 は H c a 又は A z a であり、X 7 は H c a 又は A z a である。

【 0 1 0 0 】

別の設定においては、X 5 と X 7 はどちらも塩基性側鎖を有するアミノ酸残基である。塩基性アミノ酸の例としては、A r g、L y s 及び H i s が挙げられる。この設定においては、X 5 及び X 7 は、好ましくは A r g である。X 6 は、好ましくは、グリシン残基又はサルコシン (N - メチルグリシン) 残基である。最も好ましくは、X 6 は G l y である。

30

【 0 1 0 1 】

式 2 の具体的な X 1 部分としては、- P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - (配列番号 2)、- P r o - G l u - G l y - P r o - G l u - P r o - (配列番号 4)、- P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - (配列番号 2 5)、- P r o - H c a - M e G l y - P r o - H c a - P r o - (配列番号 2 6)、- P r o - A z a - M e G l y - P r o - A z a - P r o - (配列番号 2 7)、- P r o - H c a - G l y - P r o - A z a - P r o - (配列番号 2 8)、- P r o - A z a - G l y - P r o - H c a - P r o - (配列番号 4 1) 及び - P r o - A z a - G l y - P r o - A z a - P r o (配列番号 4 2) が挙げられる。これらの部分のうち、- P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - (配列番号 2) 及び - P r o - G l u - G l y - P r o - G l u - P r o - (配列番号 4) が好ましく、P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o (配列番号 2 5) が特に好ましい。

40

【 0 1 0 2 】

あるいは、X 1 部分を式 3 (配列番号 2 2) の部分とすることができる。

【 0 1 0 3 】

式 3 は - P r o - X 8 - G l y - P r o - X 9 - P r o - であり、

X 8 及び X 9 は、A s p 及び G l u から独立に選択され、好ましくは A s p である。

50

【0104】

あるいは、X1部分を式5（配列番号25）の部分：



とすることができる。

【0105】

アミノ酸残基X12とX13の少なくとも一方は、カスパーゼ1によるX12 - X13ペプチド結合の切断を防止する、又は減少させる化学修飾を含まなければならない。したがって、X12がAspである場合、X13は、N-アルキル又はN-アリアルグルタミン酸残基である。X12又はX13残基中に存在し得る適切なN-アルキル基としては、C1～C6線状又は分岐アルキル基及びC4～C6シクロアルキル基が挙げられる。好ましくは、N-アルキル基は、C1～C3線状アルキル基、最も好ましくはメチルである。

10

【0106】

好ましくは、X11はAspであり、X12はAsp又はN-メチルAspである。最も好ましくは、式5の部分は-Gly-Asp-Glu-Val-NMeAsp-MeGly-Val-（配列番号29）である。

【0107】

更に別の設定においては、X1は、下記の本開示の第2の態様の考察に記載のように、式6の部分である。

【0108】

式1の部分は、場合によってはX2基を含む。X2基は、リンカーとして機能すると考えられる。X2基は、存在する場合、適切にはVal又はSerから選択される。X2基は、好ましくは存在し、好ましくはValである。式1の部分の誘導体においては、X2は、存在する場合、任意のアミノ酸残基とすることができる。

20

【0109】

式1に記載された配列X3 - X4 - X3 - X4 - X3は、カセットである。カセットは、化合物の細胞取り込みを改善し、及び/又は弾頭を生理活性の最適な確認に制限することができる。適切には、カセットは両親媒性である。カセットは、環状化合物が水に溶解できるように十分に親水性であり、細胞による環状化合物の取り込みを可能にするように十分に親油性であることが望ましい。

【0110】

X3とX4の一方は、Trp - Trp及びAr1 - Ar2から選択される。X3とX4の他方は、Arg - Arg、Gpa - Gpa、Hca - Hca及びAr3 - Ar4から選択される。

30

【0111】

X3とX4の具体的設定については後述するが、記述する設定のすべてを単にX3とX4を交換するだけで変更できることを理解されたい。簡略のため、X3とX4の交換によって得ることができる代替形態については、以下では十分には記述しない。それでも、それらは本開示の一部を形成する。例として、特に好ましい設定においては、X3はTrp - Trp及びAr1 - Ar2から選択され、X4はArg - Arg、Gpa - Gpa及びHca - Hcaから選択される。X4はAr3 - Ar4であることも可能である。これらの設定を補う交換の構成においては、X3は、代わりにArg - Arg、Gpa - Gpa、Hca - Hca及びAr3 - Ar4から選択され、X4は、代わりにTrp - Trp及びAr1 - Ar2から選択される。

40

【0112】

Ar1、Ar2、Ar3及びAr4はそれぞれ、アリアル側鎖を有する非天然アミノ酸残基である。各アリアル側鎖は、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された1,2-ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された1,2,3,4-テトラヒドロナフチル基から独立に選択することができる。好ましいアリアル基は、場合によっては置換されたナフチル基である。1個以上のアリアル側鎖は、場合によっては、標識成分として作用するように構成することができる。

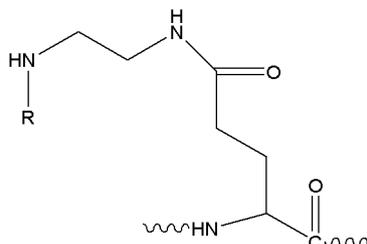
50

【0113】

Ar 1、Ar 2、Ar 3 及び Ar 4 は、3 - アミノ - 3 - アリール - プロピオン酸又は 2 - アミノ - 2 - アリール酢酸のアミノ酸残基から選択することができる。代替のアミノ酸残基としては、以下の構造を有するグルタミン酸誘導体が挙げられる。

【0114】

【化2】



10

【0115】

式中、R は、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された 1, 2 - ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基から選択される。

【0116】

一般に、アリール基が置換基を含む場合、親油性置換基が好ましい。親油性置換基の例としては、アルキル基、アルケン基及びアルキン基が挙げられる。こうした基は、例えば、合計 1 ~ 5 個の炭素原子を含むことができ、線状でも分枝でもよい。極性又は荷電置換基は、許容されるが、細胞による化合物の取り込み速度が低下し得る。一般に、極性又は荷電側鎖は、アリール側鎖が標識成分として作用する設定でのみ含まれる。

20

【0117】

化合物が標識成分を含む設定においては、置換基は、存在する場合、アリール側鎖が標識成分として作用するように構成することができる。この設定においては、アリール側鎖は、好ましくは、蛍光標識を務めるように構成される。例えば、Ar 1 及び / 又は Ar 2 を Eda 残基とすることができる。Eda 残基は蛍光性である。

【0118】

好ましくは、Ar 1 及び Ar 2 は、3 - アミノ - 3 - アリール - プロピオン酸のアミノ酸残基である。最も好ましくは、Ar 1 及び Ar 2 は、3 - アミノ - 3 - (- 2 - ナフチル) - プロピオン酸 (「Nap」) のアミノ酸残基である。ナフチル側鎖を有する市販 Fmoc 保護非天然アミノ酸の構造を図 2 に示す。

30

【0119】

一設定においては、X 3 は Ar 1 - Ar 2 であり、X 4 は Ar 3 - Ar 4 であり、Ar 1 及び Ar 2 はそれぞれ Eda であり、Ar 3 及び Ar 4 はそれぞれ Nap である。

【0120】

一設定においては、X 3 は Trp - Trp であり、X 4 は、Arg - Arg、Gpa - Gpa 及び Hca - Hca から選択される。この設定においては、X 4 は、好ましくは、Arg - Arg 又は Gpa - Gpa である。

40

【0121】

特に好ましい設定においては、X 3 は Nap - Nap であり、X 4 は Arg - Arg である。

【0122】

適切には、式 1 の部分を含む環状化合物は、合計酸 100 以下のアミノ酸残基、好ましくは 50 個以下のアミノ酸残基、より好ましくは 25 個以下のアミノ酸残基を含む。更により好ましくは、環状化合物は、合計 16 ~ 18 個のアミノ酸残基を含む。環状化合物は、シクロ - [X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3] からなることができる。好ましい化合物の例は、以下の通りである。

50

【 0 1 2 3 】

シクロ - [P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - V a l - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p] (配列番号 1 5)、

シクロ - [P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - V a l - T r p - T r p - G p a - G p a - T r p - T r p - G p a - G p a - T r p - T r p] (配列番号 1 6)、

シクロ - [P r o - G l u - G l y - P r o - G l u - P r o - V a l - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p] (配列番号 1 9)、

シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - V a l - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p] (配列番号 2 0)、

シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - V a l - T r p - T r p - G p a - G p a - T r p - T r p - G p a - G p a - T r p - T r p] (配列番号 3 0)、

シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - S e r - N a p - N a p - A r g - A r g - N a p - N a p] (配列番号 3 1)、

シクロ - [P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - V a l - E d a - E d a - A r g - A r g - E d a - E d a] (配列番号 3 2)、

シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - A z a - P r o - V a l - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p] (配列番号 3 3)、

シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - V a l - N a p - N a p - H c a - H c a - N a p - N a p] (配列番号 3 4)、

シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - A z a - P r o - V a l - N a p - N a p - H c a - H c a - N a p - N a p] (配列番号 3 5)、

シクロ - [P r o - A z a - M e G l y - P r o - A z a - P r o - V a l - N a p - N a p - H c a - H c a - N a p - N a p] (配列番号 3 6)、及び

シクロ - [G l y - A s p - G l u - V a l - M e A s p - M e G l y - V a l - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p] (配列番号 4 0)。

【 0 1 2 4 】

好ましい化合物の追加の例は、以下の通りである。

【 0 1 2 5 】

シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - V a l - A r g - A r g - N a p - N a p - A r g - A r g - N a p - N a p - A r g - A r g] (配列番号 4 3)、

シクロ - [P r o - A z a - G l y - P r o - A z a - P r o - S e r - A r g - A r g - N a p - N a p - A r g - A r g - N a p - N a p - A r g - A r g] (配列番号 4 4)、

シクロ - [P r o - A z a - G l y - P r o - A z a - P r o - S e r - G p a - G p a - N a p - N a p - G p a - G p a] (配列番号 4 5)、

シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - S e r - E d a - E d

10

20

30

40

50

a - N a p - N a p - E d a - E d a - N a p - N a p - E d a - E d a] (配列番号 46)、

シクロ - [P r o - A z a - G l y - P r o - A z a - P r o - S e r - E d a - E d a - N a p - N a p - E d a - E d a - N a p - N a p - E d a - E d a] (配列番号 47)、及び

シクロ - [P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - S e r - E d a - E d a - N a p - N a p - E d a - E d a - N a p - N a p - E d a - E d a] (配列番号 48)。

【 0 1 2 6 】

本明細書に定義した環状化合物の塩、誘導体、プロドラッグ又は模倣物である化合物も本明細書では企図される。

10

【 0 1 2 7 】

環状化合物がイオン性官能基を含むときには、化合物を適切な対イオンとの塩の形で提供することができる。対イオンは、好ましくは、薬学的に許容される対イオンである。当業者は、塩の調製に精通しているはずである。

【 0 1 2 8 】

化合物が酸性官能基を含む場合、対イオンは、例えば、アルカリ金属又はアルカリ土類金属イオンとすることができる。酸性化合物の好ましい対イオンはナトリウムである。

【 0 1 2 9 】

環状化合物が塩基性アミノ酸残基を含む場合、強酸又は弱酸と一緒に塩を形成することができる。例えば、化合物を塩酸塩、クエン酸水素塩、トシル酸水素塩 (h y d r o g e n t o s y l a t e s a l t) などとして提供することができる。

20

【 0 1 3 0 】

本明細書に記載の化合物の誘導体も企図される。

【 0 1 3 1 】

誘導体は、本明細書に定義した化合物と実質的に類似した構造及び機能を有する化合物であるが、例えば、1個以上の保護基、及び/又はアミノ酸残基の最高2つの付加、省略又は置換を含むことによって、定義された構造からわずかに逸脱した化合物である。

【 0 1 3 2 】

本明細書では「誘導体」という用語は、化合物中に存在するアミノ酸側鎖が保護アミノ酸側鎖として与えられる化合物を包含する。当業者は、保護基の使用に精通しているはずである。

30

【 0 1 3 3 】

誘導体は、更に、本明細書に定義した化合物と87%、88%、93%、94%又は99%を超える配列相同性を有する化合物を包含する。本明細書に定義した化合物の誘導体を形成するために、1個のアミノ酸残基を省略、置換又は挿入することができる。2個のアミノ酸残基を省略、置換又は挿入することができる。

【 0 1 3 4 】

本明細書に定義した幾つかの化合物は、N - アルキル及び/又はN - アリール基を有するアミノ酸残基を含む。誘導体は、1個以上のN - アルキル又はN - アリール基が改変された化合物を包含する。N - アリール又はN - アルキル基は、(例えば、アルキル - C H₂ - をエーテル酸素で置換することによって)ヘテロ原子、又は(例えば、アルキル - C H₂ - を - C H C l - で置換することによって)ハロゲン、ヒドロキシル基などの置換基を含むように改変することができる。

40

【 0 1 3 5 】

環状化合物のプロドラッグも本明細書では企図される。プロドラッグは、生体内で代謝されて環状化合物を生成する化合物である。当業者は、プロドラッグの調製に精通しているはずである。

【 0 1 3 6 】

ペプチド模倣物も本明細書では企図される。ペプチド模倣物は、本明細書に定義した化

50

合物と類似した形状及び極性を有する有機化合物であって、実質的に類似した機能を有する有機化合物である。模倣物は、1個以上のペプチド結合のNH基がCH₂基で置換された化合物とすることができる。模倣物は、1個以上のアミノ酸残基がナフチル基などのアリール基で置換された化合物とすることができる。一般に、ペプチド模倣物は、アミノ酸残基の1個以上が、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された1, 2-ジヒドロナフチル基、置換基を有する場合によっては置換された1, 2, 3, 4-テトラヒドロナフチル基、又は場合によっては置換されたプロピル基で置換されたペプチドの誘導体と考えることができる。置換基は、存在する場合、一般に、23種のタンパク質構成アミノ酸 (proteinogenic amino acid) のいずれかの側鎖を形成する基から選択される。適切には、アミノ酸残基の50%以下、好ましくは25%以下がこれらの基で置換される。

10

【0137】

X1基の模倣物の例を図13に示す。

【0138】

第2の態様においては、本開示は、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1の活性を調節可能な化合物であって、式6の部分を含む化合物を提供する。

【0139】

式6は -Pro-X14-X15-Pro-X16-Pro- であり、

式中、X14及びX16は、側鎖を有するアミノ酸残基、置換基を有するナフチル基、置換基である1, 2-ジヒドロナフチル基、置換基を有する1, 2, 3, 4-テトラヒドロナフチル基、及び置換基を有するプロピル基から各々独立に選択され、各側鎖又は置換基は酸性官能基を含み、

20

X15は、Gly、Ala、MeGly及び(CH₂)₃から選択される。

【0140】

式6の部分は、アニオン性弾頭部分であり、すなわち、式6の部分は、ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1の活性を調節することができる。理論に拘泥するものではないが、アニオン性弾頭部分は、PARPを切断するプロテアーゼの競合的阻害剤として作用すると考えられる。驚くべきことに、アニオン性弾頭基は、有用な活性を示すことが判明した。

【0141】

好ましくは、X14、X15及びX16はそれぞれアミノ酸残基である。この設定においては、式6は、配列番号37である。X14及びX16は、例えば、Asp、Glu及びHcaから独立に選択することができる。好ましくは、X15がGlyであるときには、X14及びX16の1個以上はGluでない。

30

【0142】

X14及びX16の1個以上は、スルホン酸基を含むことができる。スルホン酸基を含む化合物は、特に有効であることが判明した。スルホン酸基を含むアミノ酸残基の一例はHcaである。

【0143】

あるいは、スルホン酸基は、ナフチル基、1, 2-ジヒドロナフチル基、1, 2, 3, 4-テトラヒドロナフチル基又はプロピル基上の置換基として存在することができる。

40

【0144】

式6の部分が、置換基を有するナフチル基、置換基である1, 2-ジヒドロナフチル基、置換基を有する1, 2, 3, 4-テトラヒドロナフチル基、及び置換基を有するプロピル基の1個以上を主鎖中で構成する設定においては、生成した化合物をペプチド模倣物とみなすことができる。

【0145】

化合物は、合計16~18単位を含む環状化合物とすることができ、各単位は、アミノ酸残基、場合によっては置換されたナフチル、1, 2-ジヒドロナフチル若しくは1, 2, 3, 4-テトラヒドロナフチル基、又は場合によっては置換されたプロピル基である。

50

好ましくは、化合物中の単位の各々はアミノ酸残基である。最も好ましくは、化合物は式 8 のものである。

【0146】

式 8 はシクロ - [X 1 7 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3] であり、
式中、X 1 7 は式 6 の部分であり、X 2、X 3 及び X 4 は上で定義したとおりである。

【0147】

式 6 の部分を含む環状化合物の塩、誘導體、プロドラッグ及び模倣物も提供する。

【0148】

第 3 の態様においては、本開示は、本明細書に定義した化合物を含む医薬組成物を提供する。医薬組成物は、更に薬剤担体、希釈剤又は賦形剤を含む。当業者は、医薬組成物の
10
処方に精通しているはずである。任意の適切な担体、希釈剤又は賦形剤を使用することができる。担体、希釈剤及び賦形剤の組合せを使用することができる。

【0149】

組成物は、任意の所望の投与方法、例えば、経口投与方法又は非経口投与方法のために処方
ることができる。

【0150】

一設定においては、組成物は、米国特許出願公開第 2 0 0 3 / 0 1 6 1 8 8 3 号に定義
された送達成分である賦形剤を含むことができる。

【0151】

場合によっては、医薬組成物は、更なる治療薬を含む。好ましくは、更なる治療薬は、
20
好氣的解糖阻害剤である。本開示の組成物と好氣的解糖阻害剤を同時投与すると、癌の治
療に使用したときに、相加又は相乗効果を生じる。好ましい好氣的解糖阻害剤は 2 - デオ
キシグルコース (2 - D O G) である。2 - デオキシグルコースは、一般に、生体内で忍
容性が良好である。2 - デオキシグルコースを本開示の組成物と組み合わせて投与すると
、本開示の化合物の投与量を削減することができる。

【0152】

好ましくは、本開示の化合物及び医薬組成物は、医薬品用である。好ましくは、化合物
及び組成物は、癌を治療する方法における使用のためであり、該方法は、患者に化合物又
は組成物を投与するステップを含む。該方法は、さらに、放射線療法及び / 又は手術の使
用などの癌の治療のための従来法の使用を含むことができる。本発明の化合物及び組成物
30
は、他の化学療法剤の使用を含む方法の一部としての投与用に処方することができる。

【0153】

以下でより詳細に考察する、本開示の化合物の推定上の作用機序によれば、化合物は、
広範囲な癌の治療に有用である。化合物は、複数の癌又は転移性癌に罹患した患者の治療
に有用であり得るということになる。

【0154】

本開示の化合物は P A R P - 1 の活性を調節するので、本開示の化合物及び組成物は、
P A R P - 1 が非癌細胞に比べて上方制御される癌細胞を含む癌の治療に使用するのに特
に適合している。P A R P - 1 を上方制御し得る癌としては、乳癌、結腸癌、子宮体癌、
食道癌、腎癌、肺癌、卵巣癌、直腸癌、胃癌、甲状腺癌及び精巣癌が挙げられる。
40

【0155】

本開示の化合物及び組成物は、癌に罹患した患者の治療に使用することができ、癌は、
乳癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膀胱癌、卵巣癌、子宮体癌、子宮頸癌、頭頸部癌、胃癌、
膵癌、食道癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、悪性黒色腫、神経芽細胞腫、白血病、リンパ
腫、肉腫又は神経膠腫の 1 つ以上を含む。好ましくは、癌は、乳癌、結腸癌、子宮体癌、
食道癌、腎癌、肺癌、卵巣癌、直腸癌、胃癌、甲状腺癌及び精巣癌から選択される。

【0156】

P A R P - 1 の活性をインビトロで調節する本明細書に定義した化合物の使用も本明細
書で提供される。使用は、例えば、細胞培養物又は組織試料と本明細書に定義した化合物
の接触を含むことができる。細胞培養物又は組織試料は、不死化ヒト細胞、場合によって
50

は癌細胞を含むことができる。組織試料は、例えば、癌に罹患した患者の生検材料とすることができる。

【0157】

更に別の一態様においては、本発明は、細胞を本開示の化合物と接触させるステップ、及び化合物を検出するステップを含む、分析方法を提供する。適切には、化合物は標識成分を含む。

【0158】

細胞を添加剤、賦形剤又は同時活性剤と接触させることができる。これによって、例えば、細胞による化合物の取り込みに対する添加剤、賦形剤及び同時活性剤の効果を調べる

10

【0159】

検出方法は、適宜選択することができる。化合物が標識成分を含むときには、適切な検出方法は、その成分の性質に応じて選択される。言うまでもなく、方法は、追加の中間ステップを含むことができる。分析方法は、例えば、細胞を調べる従来のアッセイで使用されたステップを含むことができる。一設定においては、方法は、ウエスタンブロット分析を含む。

【0160】

化合物を検出する説明的な一方法は、蛍光検出である。この設定においては、化合物は、適切には、蛍光性である標識成分を含む。トリプトファン残基も蛍光能力がある。

【0161】

一般に、分析方法はインピット口で行われる。試料は細胞培養物とすることができる。試料は、患者から得られる生検材料とすることができる、又はこうした生検材料から誘導することができる。細胞が患者から得られる設定においては、分析を診断に応用することができる。

20

【0162】

理論に拘泥するものではないが、本開示の化合物の作用様式を説明する以下の機序が示唆される。

【0163】

正常細胞におけるPRGPRP機能

Cdk4とそのサイクリンDパートナーは、網膜芽細胞腫タンパク質(pRb)及び関連pRbファミリーメンバーをリン酸化することによって細胞分裂を開始し(Harbourら、Cell(1999);98:859~869)、E2F-1及びDNA合成用の関連酵素の誘導に關与する関連タンパク質を放出する(Classson及びHarlow;Nature Reviews Cancer(2002)2:910~917)分子プロセスを惹起する。しかし、細胞増殖の促進に加えて、E2Fはアポトーシスを誘導し得る(Nevinsら、Hum Mol Genet.(2001);10:699~703)。

30

【0164】

正常二倍体細胞においては、Cdk4のキナーゼ領域がRbタンパク質及び関連ファミリーメンバーをリン酸化すると、Cdk4のPRGPRP領域(配列番号2)は、E2F-1によるアポトーシスを防ぐことが提案されている。アポトーシスに対する保護は、PARPのDEVD領域(配列番号1)に結合し、したがってPARPが切断されないようにその部位におけるカスパーゼ-3(及び他の)結合を妨げるPRGPRP(配列番号2)によって行われる。カスパーゼによるPARP-1の切断は、アポトーシスの顕著な特徴であると考えられる[Kaufmann SHら、「ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼの特異的タンパク質切断:化学療法によるアポトーシスの初期マーカー(Specific proteolytic cleavage of poly(ADP-ribose) polymerase: an early marker of chemotherapy-induced apoptosis)」、Cancer Res 1993、53:3976~3985。Tewari Mら、「CED-3の哺乳類ホモロ

40

50

グである Yama / CPP32 ベータは、細胞死基質 (death substrate) ポリ (ADP - リボース) ポリメラーゼを切断する CrmA 阻害プロテアーゼである (Yama / CPP32 beta, a mammalian homolog of CED - 3, is a CrmA inhibitable protease that cleaves the death substrate poly (ADP - ribose) polymerase)、Cell 1995、81:801~809]。したがって、PARP 切断に「ブレーキを掛ける」ことによって、CDK4 の PRGPRP ドメインが過剰なアポトーシスに対して介在する。

【0165】

正常細胞においては、DNA 損傷がほとんどないので、最少のポリ (ADP - リボシル化) しか存在せず、PRGPRP で保護された非切断 PARP は、NAD + を枯渇させず、NAD + は十分な高レベルのままである。

10

【0166】

初期多段階発癌における PRGPRP 機能：

幾つかの報告の示すところによれば、Cdk4 は、Cdk2 又は Cdk6 とは対照的に、その機能的な存在が腫瘍形成の成功に必須である唯一のサイクリン依存性キナーゼであるように見える (非特許文献 36)。

【0167】

要約すると、マウスにおける Cdk4 遺伝子ノックアウトは、正常な皮膚角化細胞増殖に対する作用なしに、Cdk2 及び Cdk6 の継続的な存在にもかかわらず、化学的に誘導される表皮発癌を完全に抑止する (Rodriguez - Puebla ら、2002; Am J Pathol (2002); 161:405~411)。さらに、CDK2 (Macias ら、2007; Cancer Res 2007、67:9713~9720) ではなく CDK4 (Miliani de Marval ら; Mol Cell Biol. (2004); 24:7538~7547) の切除は、myc によって媒介される経口腫瘍形成を阻害する。さらに、サイクリン D1 ではなく Cdk4 の過剰発現は、マウス皮膚発癌を促進し (Rodriguez - Puebla ら、1999; Cell Growth Differ 1999、10:467~472)、高い Cdk2 活性は、角化細胞増殖を誘導するにもかかわらず、腫瘍原性ではない (Macias ら、2008)。

20

【0168】

多段階発癌は、細胞増殖と細胞生存の両方の調節解除の結果として起こる (Evan 及び Vousden 2001; Nature (2001); 411:342~348)。活性化変異は、細胞分裂を促進する遺伝子で起こり、不活性化変異は癌抑制遺伝子で起こる。しかし、E2F 因子の調節解除を招く経路を活性化し、増大した細胞増殖を促進することができる変異は、アポトーシスも促進し得る (Quin ら、1994; Proc. Natl Acad. Sci. USA (1994); 91:10918~10922、Shan ら、1994; Mol. Cell. Biol (1994); 14:8166~8173)。発癌の進行が成功するには、細胞は、アポトーシスを回避しながら増殖を最大にできなければならない (Lowe 及び Lin 2000; Carcinogenesis (2000); 21:485~495)。

30

40

【0169】

上記知見の説明は、発癌中には細胞増殖と同様にアポトーシスの可能性が高いということであろう。DEV D に結合し、PARP 切断を防止することによって、PRGPRP モチーフは、アポトーシスを阻害して、腫瘍の形成を可能にする。PRGPRP の非存在下では、アポトーシスの増加が腫瘍形成を防止する。発癌の初期には DNA 損傷は極めて少なく、細胞分裂は抑制されず、細胞は好氣的解糖下で作動せず、したがって、PARP 切断の防止が壊死を生じるとは考えられない。

【0170】

Cdk4 の存在が発癌の成功に必須であるように見えるという所見は、したがって、Cdk4 のキナーゼ活性の観点ではなく、PRGPRP モチーフを含む外部化ループの活動

50

によって説明され、PRGPRPモチーフは、PARPのDEVD領域に結合し、アポトーシスを最少にし、細胞増殖の増大を進行させる。

【0171】

Cdk4及びそのPRGPRP(配列番号2)部位の非存在下では、発癌プロセスは、細胞不死化ではなく、アポトーシスで終わる可能性がある。

【0172】

十分に発達した癌細胞におけるCDK4のPRGPRP領域の効果：

樹立癌細胞のDNAが著しく損傷を受けていることが過去10年で次第に明らかになった(Warenius; Anticancer Res. (2002); 22: 2651~2656)。この高レベルのDNA損傷は、初期発癌の特徴ではないが、広範囲の臨床癌で観察された(非特許文献2; Greenmanら、2007; 非特許文献4; Gerlingerら、N Engl J Med (2012); 366: 883~892)。Hilros研究に使用された細胞系は、同様の進行癌から誘導され、したがってやはり同様の多量のDNA損傷を示す。

【0173】

著しいDNA損傷は、PARPを刺激して、複数の部位におけるポリ(ADP-リボシル化)を実行して、利用可能なNAD+を使い切ると予想される。PARP-1の上方制御は、乳癌、結腸癌、子宮体癌、食道癌、腎癌、肺癌、卵巣癌、皮膚癌、直腸癌、胃癌、甲状腺癌及び精巣癌を含めて、多数の腫瘍タイプにおいて記述されている(非特許文献26)。細胞も、DEVD部位におけるPARPのカスパーゼ切断を含むアポトーシス経路を活性化し、したがってポリ(ADP-リボシル化)を不活性化し、十分なNAD+がアポトーシスに必要なATPを産生できるようにすることによって、DNA損傷に反応する。したがって、こうした進行癌細胞の生存は、アポトーシス死する傾向と壊死性死する傾向のバランスに左右される。

【0174】

さらに、癌細胞の無制限の分裂は、正常細胞とは対照的に、新しい細胞巨大分子の合成及び有糸分裂の遂行に多くのエネルギーを必要とする。

【0175】

最後に、癌細胞におけるワールブルグ効果によって、それらがミトコンドリアのATP産生よりも好氣的解糖(200倍にも増加し得る)にはるかに依存するようになる。

【0176】

PARP切断を阻害することによって、本開示の化合物は、細胞のエネルギー供給にストレスを加える。しかし、PARP作動物質(及びカスパーゼ阻害剤)は、本開示の化合物に見られる癌細胞壊死を起こさない。壊死が起きるには更なるストレスが必要である。したがって、本開示のペプチドは、癌細胞に特有である好氣的解糖に関する乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH: lactate dehydrogenase)などのPARPに対する追加の標的を有する可能性がある。

【0177】

癌細胞においては、好氣的解糖に切り換えると、そのエネルギー系がLDHの作用によって産生されるNADの供給に大きく依存するようになる[図18参照]。この状況においては、癌細胞は、ポリADP-リボシル化に使用されるNADに対する上方制御された活性なPARPの競合的要求に極めて敏感になる。その作用がHILR環状ペプチドについて本明細書に記述したようなものである化合物は、LDHを阻害し、NADの利用能を低下させると同時に、PARPを刺激し、そのNAD利用を高めて、グルコース-6リン酸からピルビン酸への解糖エムデン・マイヤーホフ経路のためのNADを不足させることによって、癌細胞に対して選択的に毒性になる可能性がある。

【0178】

理論に拘泥するものではないが、本開示のペプチドは、癌細胞の全体的な弱みの2つ、すなわち、多量のDNA損傷を修復する必要性と好氣的解糖への切り換えを攻撃することによって、癌細胞を死滅させ得ることが示唆される。

10

20

30

40

50

【実施例】

【0179】

以下、本発明を以下の説明のための実施例を参照して更に詳細に記述する。

実施例1：改善された比活性

3種の環状ペプチド（HILR-001（配列番号13）、HILR-025（配列番号15）及びHILR-030（配列番号16））を従来の自動ペプチド合成技術によって純度>95%で調製した。HILR-001（配列番号13）は、非特許文献36に従って製造された比較化合物である。HILR-025（配列番号15）及びHILR-030（配列番号16）は、(Trp-Trp-Arg-Arg)又は(Trp-Trp-Gpa-Gpa)繰り返しを含む環状化合物である。化合物の活性を以下のように試験した。

10

【0180】

- 1) 10% FBSを補充したHamのF12培地でNCI-H460細胞を増殖させた。
- 2) 細胞を収集し、96ウェルプレートに500細胞/ウェルで蒔いた。
- 3) 化合物を原液から調製し、200 μ Mから始まる2倍希釈で細胞に直接添加した。最終DMSO濃度は0.2%であった。
- 4) 細胞を化合物と一緒に37 $^{\circ}$ C、5%CO₂で加湿雰囲気中で96時間増殖させた。
- 5) 次に、レザズリン色素組成物（AlamarBlue（登録商標）細胞生存度試験薬（Life Technologies, Inc.））10%（v/v）を添加し、更に4時間インキュベートし、蛍光生成物をBMG FLUOstarプレートリーダーによって検出した。
- 6) GraphPad Prismにおける4パラメータロジスティック方程式によってデータを分析する前に、培地のみバックグラウンドの読みを減算した。結果を図11に示す。HILR-30のIC₅₀を6 μ Mと測定した。

20

【0181】

図3に示すように、新しい「骨格」配列WWRWWWRWW（配列番号17）をPRGRP（配列番号2）と一緒に環状HILR-025に挿入すると、THR54（HILR-001）に比べて比活性が増加し、IC₅₀用量が98 μ Mから15 μ Mに減少した。グアニジノ-フェニルアラニンアルギニンの代わりに用いてHILR-030を生成することによって「骨格」をより親油性にする更なる改変は、比活性を更に改善して、IC₅₀が6.0 μ Mになった。

30

【0182】

アルギニン及びトリプトファンを含むオリゴマー線状配列は、以前に、好結果の細胞内取り込み性を有することが記述された。すなわち、RRWRWWWRWWWR（配列番号38）[Derossiら、Trends in Cell Biol（1998）8：84~87]。パッセンジャーペプチドの細胞取り込みを増強する手段としての環状アルギニン/トリプトファンペプチドも記述されている：[Cyc-（WWRWWWR）（配列番号39）Shirazira、Mol Pharmaceutics（2013）10：2008~2020]。

40

【0183】

しかし、アルギニン及びトリプトファンのどの配列が細胞取り込みの改善に最も有効であるかは文献からは不明であった。単量体又は二量体トリプトファンと交互のアルギニン二量体は、Derossiら（上記）によって線状の細胞内部に取り入れられたペプチドにおいて記述されたが、Shiraziraによって記述された環状（WR）₄ペプチドでは、単一のアルギニンとトリプトファンを交互にした。（WWR）_x配列を「骨格」に有する環状ペプチドが、ALKL配列を有するものよりも活性でなくてはならない演繹的又は明白な実験上の理由はなかった。

【0184】

さらに、PRGRP「弾頭」（配列番号2）とカスパーゼ-1のDEV領域の結合

50

は、図13に示すように、アルギニン残基の位置取りに依存する。当初は、アルギニン残基が骨格に存在すると、PRGPRP弾頭（配列番号2）とその生物学的標的の結合を完成させる、又は妨害すると考えられた。驚くべきことに、それは本当ではない。

【0185】

実施例2：PARP依存細胞毒性

本発明者は、PRGPRP環状ペプチドによるPARP活性の調節が、少なくとも部分的には、ヒト非小細胞肺癌におけるATPの減少とそれに続く壊死の原因であり得ると仮定した。したがって、HILRa環状ペプチドは、PARP依存性であり得る。その場合、これは、オラパリブなどのPARP阻害剤によって逆転されるはずであると想定された。

10

【0186】

この状況においては、オラパリブは、HILRa環状ペプチドによって誘導される細胞死を減少/防止すると考えられる。

【0187】

したがって、試験を実施して、単体の、又はオラパリブと同時インキュベートした、HILR-001 [cyc-(Pro-Arg-Gly-Pro-Arg-Pro-Val-Ala-Lue-Lys-Leu-Ala-Leu-Lys-Leu-Ala-Leu)] (配列番号13) (Polypeptide Laboratories、フランス、SAS、7 Rue de Boulogne、67100、ストラスブル、フランス) にそれぞれ72時間及び96時間さらされたNCI-H460ヒト非小細胞肺癌細胞のATPレベル及び細胞死に対する効果を調べた。

20

【0188】

インビトロPARP検量線を最初に作成した [図5]。

【0189】

手順：

- 1) 10% FBSを補充したHamのF12培地でNCI-H460細胞を増殖させた。
- 2) 細胞を収集し、10cmの皿に 1×10^6 細胞/皿で蒔いた。
- 3) オラパリブを原液から調製し、細胞に直接添加して、グラフに示した最終濃度を得た。DMSO含有量を濃度0.1%で一定に維持した。
- 4) 細胞をオラパリブ又はビヒクル対照と一緒に37、5%CO₂で4時間、24時間、48時間又は96時間インキュベートした。
- 5) 細胞を異なる時点で収集し、時間経過が完了するまで細胞ペレットを-80で貯蔵した。
- 6) 細胞ペレットを解凍し、50µl PARP溶解緩衝剤に溶解させた。
- 7) 試料のタンパク質濃度をBCAアッセイによって定量化した。
- 8) 次いで、Trevigen製ヒストン被覆片ウェル (Histone-Coated Strip Wells) を用いた汎用化学発光PARPアッセイキット (Universal Chemiluminescent PARP Assay Kit) (Cat# 4676-096-K) を用いて、製造者の指示に従って、細胞及び組織抽出物におけるPARP活性について試料40µgを二つ組で評価した。
- 9) 4つの試験濃度のオラパリブ及び2つの濃度の3-アミノベンズアミドを、上記キットを用いたインビトロアッセイにおいて製造者の指示に従って、PARP阻害剤アッセイ手順について二つ組で評価した。
- 10) 発光生成物をBMG FLUOstarプレートリーダーによって検出した。

30

40

【0190】

90%を超えるPARPを阻害するのに必要な最低濃度のオラパリブを3-アミノベンズアミドと比較し [図6]、オラパリブによるPARP阻害の時間経過をプロットした [図7]。

【0191】

50

次いで、NCI-H460ヒト非小細胞癌に対するオラパリブそれ自体のインビトロ細胞毒性を試験した〔図8〕。

【0192】

手順：

- 1) 10% FBSを補充したHamのF12培地でNCI-H460細胞を増殖させた。
- 2) 細胞を収集し、96ウェルプレートに500細胞/ウェルで蒔いた。
- 3) オラパリブを原液から調製し、30 μ Mから始まる片対数希釈で細胞に直接添加した。最終DMSO濃度は0.3%であった。
- 4) 細胞を化合物と一緒に37 $^{\circ}$ C、5%CO₂で加湿雰囲気中で96時間増殖させた。
- 5) 次いで、AlamarBlue（登録商標）細胞生存度試薬（Life Technologies, Inc.）10%（v/v）を添加し、更に4時間インキュベートし、蛍光生成物をBMG FLUOstarプレートリーダーによって検出した。
- 6) GraphPad Prismにおける4パラメータロジスティック方程式によってデータを分析した。

10

【0193】

用量30nMのオラパリブは、NCI-H460細胞に無毒であり、細胞PARP活性の80%超を阻害することが判明した。この用量のオラパリブを96時間のHILR-001アッセイによる同時インキュベーション用を選択した。

【0194】

4つの濃度のオラパリブを試験し、細胞PARP活性の用量依存的減少がすべての時点で認められた。4つの試験濃度のオラパリブ及び2つの濃度の対照化合物3-アミノベンズアミドを精製PARP酵素を用いたインビトロアッセイで試験した。このアッセイは、細胞PARPアッセイと並行して実施され、正の対照として働いた。

20

【0195】

HILR-030によって媒介されるNCI-H460におけるATP枯渇及び壊死に対するオラパリブの効果：

4つの濃度のHILR-001を30nMオラパリブの存在又は非存在下で試験した。各時点において細胞生存度をalamarBlue（登録商標）及びCellTiter-Gloの2つのアッセイ読み取りによって測定した。alamarBlue（登録商標）から蛍光生成物への変換は、細胞の代謝活性の読み取りとして役立ち、CellTiter-Gloは、存在するATPの定量化に基づく。

30

【0196】

手順：

- 1) 10% FBSを補充したHamのF12培地でNCI-H460細胞を増殖させた。
- 2) 細胞を収集し、96ウェルプレートに500細胞/ウェルで蒔いた。
- 3) HILR-001を10mM原液から調製し、200 μ Mから始まる2倍希釈で細胞に直接添加した。オラパリブを10mM原液から調製し、細胞に30nMで直接添加した。合計最終DMSO濃度は0.25%であった。
- 4) 細胞を化合物と一緒に37 $^{\circ}$ C、5%CO₂で加湿雰囲気中で24、48、72又は96時間増殖させた。
- 5) 次いで、AlamarBlue（登録商標）10%（v/v）を添加し、更に4時間インキュベートし、蛍光生成物をBMG FLUOstarプレートリーダーによって検出した。
- 6) 二つ組プレート上で、培地を細胞から除去し、CellTiter-GloをPBSに希釈し（1:10）、100 μ lを細胞に添加した。
- 7) プレートをオービタルシェーカー上で2分間混合し、更に10分間室温でインキュベートした。次いで、発光シグナルをBMG FLUOstarプレートリーダーによって測定した。

40

50

【0197】

HILR-001を単一の薬剤として試験すると、代謝活性(alamarBlue(登録商標))の用量依存的減少が認められた。これは、より遅い時点で特に明らかであり、以前に発表された結果(非特許文献36)と一致した。

【0198】

30nMオラパリブは、ATPレベルをある程度回復させ(Cell Titre Glo)、50μM HILR-001によって媒介される細胞死を逆転させ(alamarBlue(登録商標))[図9]、その活性がこの用量レベルにおいてPARP依存性であることを示した。より高いHILR-001用量(100μM及び200μM)では、オラパリブは、ATPレベルや癌細胞死に影響せず、HILR-001の制癌作用が、PARP機能に対するその効果を含む機序によって一部しか説明されない可能性があることを示した。

10

【0199】

上記実験は、PARP活性が、PRGPRPペプチドが癌細胞壊死を引き起こす機序において重要な役割を果たし、この活性が、特定のPARP阻害剤によって部分的に逆転され得るという驚くべき知見を実証している。したがって、PRGPRPペプチドとPARPの相互作用は、癌細胞壊死の十分な要件ではないが、必要なものである。

【0200】

実施例3: DEV Dの競合阻害

PARP活性は、DEV D部位に切断が存在するか否かによって制御される。切断PARPは、そのポリ(ADP-リボース)リン酸化活性に関して不活性化される。オラパリブなどのポリ(ADP-リボース)リン酸化阻害剤は、切断PARPに対して効果がないと予想される。したがって、PRGPRP(配列番号2)は、完全なDEV D領域を有する完全なPARPに作用する可能性がある。さらに、HILR-001の活性は、PARPのDEV D領域に結合し、したがってこの領域をカスパーゼ結合及びタンパク質切断から保護するPRGPRP(配列番号2)によって説明し得ることが提案される。

20

【0201】

ペプチド内の領域の二次及び三次構造配向全般を考慮せずに、PARPのGDEV D G領域(配列番号1)におけるアスパラギン酸アニオンの線状配列がカチオン性アルギニンとかなり接近して整列し[図13]、これらのアルギニンがPRGPRP(配列番号2)の制癌効果に重要であることが示された(非特許文献36)ことは注目される。

30

【0202】

DEV Dが、PRGPRP(配列番号2)の下流標的である場合、DEV D部位におけるPARP切断を保護し得るPRGPRPと無関係な分子も、NCI-H460細胞毒性の一因になり得る。

【0203】

GDEV D G(配列番号1)との相同性によって、PARPをDEV D部位[Gly-Asp-Glu-Val-Asp₂₁₄-Gly₂₁₅](配列番号1)で切断するカスパーゼ及び関連分子に競合的に結合し得る環状ペプチドが設計された。切断は、Asp₂₁₄とGly₂₁₅アミノ酸の間で起こり、2個の断片89及び24kDaポリペプチドが生成する。

40

【0204】

メチルアミド結合を切断部位に有するGDEV D GヘキサペプチドHILR-D-01(Cyc-[Gly-Asp-Glu-Val-NMeAsp-Sarc-Val-Trp-Trp-Arg-Arg-Trp-Trp-Arg-Arg-Trp-Trp])(配列番号40)がこうして構築され、これを、PRGPRP(配列番号1)の代わりに、PRGPRP比活性を高めることが先に見いだされた(実施例1)改善されたカセットに挿入した。

【0205】

HILR-D-01は、弱い有意義のある用量関連細胞死滅を示し、PARP切断の阻

50

止が癌細胞壊死の誘導に寄与し得ることを示した [図 1 3]。

【 0 2 0 6 】

実施例 4 : カスパーゼ阻害

H I L R ペプチドの P A R P 依存性が、P A R P 切断の阻害によって維持される P A R P 活性によるものであるかどうかを更に試験するために、P r o m e g a 製 A p o - O N E 均一カスパーゼ - 3 / 7 試薬を用いたアッセイを、ある範囲の用量の H I L R - 0 3 0 の存在下で行った。D E V D - C H O を正の対照として使用した。

【 0 2 0 7 】

P r o m e g a キットは、カスパーゼ 3 / 7 酵素活性を支持する緩衝剤、及びカスパーゼ - 3 / 7 基質ロダミン 1 1 0、ビス - (N - C B Z L - アスパルチル - L - グルタミン - L - バリル - L - アスパラギン酸アミド ; Z - D E V D - R 1 1 0) からなる。Z - D E V D - R 1 1 0 は、アッセイ前に蛍光基質前駆体 (p r o - f l u o r e s c e n t s u b s t r a t e) として存在し、カスパーゼ - 3 / 7 活性による D E V D ペプチドの連続した切断及び除去、並びに 4 9 9 n m における励起によって、ロダミン 1 1 0 脱離基が蛍光性になる。発生する蛍光生成物の量は、試料中で起きたカスパーゼ - 3 / 7 切断の量に比例すると報告されている。(試薬供給源は、E n z o L i f e S c i e n c e s C a t N o : B M L - S E 1 6 9 - 5 0 0 0) ; A p o - O N E (登録商標) 均一カスパーゼ - 3 / 7 アッセイ (P r o m e g a C a t N o : G 7 7 9 0) ; 対照化合物 A c - D E V D - C H O S i g m a C a t N o : A 0 8 3 5 であった)。

【 0 2 0 8 】

3 8 4 ウェルプレート形式を用いて、使用したすべてのプレートリーダー利得設定において酵素反応を検出可能であった。1 0 U の酵素が反応において存在すると、利得設定 1 0 0 0 で最大検出可能シグナルを超えた。使用した最高利得設定においては、0 . 0 1 ~ 1 0 単位のカスパーゼ - 3 を反応に使用したときに、蛍光シグナルの経時的増加が観察可能であった。この範囲内で、反応の初速度は、反応において存在する酵素の総量に正比例した。0 . 3 U、0 . 1 U 及び 0 . 0 3 U の酵素をプレートリーダー利得設定 1 0 0 0 による最適化の次の段階に進めた。

【 0 2 0 9 】

最適な組換えヒトカスパーゼ 3 酵素活性を滴定によって求め、酵素用量 0 . 0 3 ~ 0 . 3 0 単位の初期組換え酵素動力学の直線性が示された。この範囲内で、反応の初速度は、反応において存在する酵素の総量に正比例した。D M S O 耐性アッセイも行い、最終アッセイにおける 1 % を超える D M S O 濃度は、反応の初速度を低下させるようにみえたが、速度は 5 0 分間直線的であることが示された。

【 0 2 1 0 】

これらのパラメータ内では、蛍光シグナルの増加は約 5 0 分間直線的であり、初速度を強い相関係数で計算することができ、使用される酵素の量を経済的に維持することができた。

【 0 2 1 1 】

A c - D E V D - C H O は、カスパーゼ - 3 の活性を用量依存的に阻害し、阻害剤の仕様書に従って予想される範囲内の $I C_{50}$ を示した [図 1 0]。0 . 1 又は 0 . 3 U の酵素に対するアッセイでも同様の阻害剤 $I C_{50}$ が得られた。すべての後続の実験においては、0 . 1 U の酵素を使用し、5 分ごとに 2 時間読み取るようにプレートリーダー設定を調節した。

【 0 2 1 2 】

D E V D - C H O 対照又は H I L R - 0 3 0 を基質又はヒト組換えカスパーゼ - 3 と下表の手順に従って 2 時間同時インキュベートした。

【 0 2 1 3 】

10

20

30

40

【表 1】

前処理	t = -2h	t = 0
酵素対照なし	5 μ l 化合物 20 μ l 緩衝剤	25 μ l ApoONE 試薬
2h 化合物のみ	5 μ l 化合物	20 μ l 酵素 25 μ l ApoONE 試薬
2h 化合物 酵素	5 μ l 化合物 20 μ l 酵素	25 μ l ApoONE 試薬
2h 化合物 基質	5 μ l 化合物 25 μ l ApoONE 試薬	20 μ l 酵素

10

【0214】

DEV D - C H O と H I L R - 0 3 0 のどちらも、カスパーゼ - 3 活性を用量依存的に阻害した [図 1 1、1 2]。

20

【0215】

実施例 5 : アニオン性 / カチオン性「弾頭」

H I L R - D - 0 2 (C y c - [P r o - G l u - G l y - P r o - G l u - P r o - V a l - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p]) (配列番号 1 9) を H I L R - 0 2 5 の負の対照として設計し、N C I - H 4 6 0 ヒト非小細胞癌細胞に対してインビトロで試験した。

【0216】

驚くべきことに、H I L R - D - 0 2 は、N C I - H 4 6 0 細胞に対して細胞毒性を示し、I C ₅₀ が 3 8 μ M であった。[図 4 A]。アルギニンの高電荷カチオン性グアニジウム基で陰性基を置換しても一般に制癌分子を生じ得ることを確認するために、H I L R - 0 2 5 のアルギニンをホモシステイン酸残基で置換することによって、グアニジウム基の代わりにスルホン酸基を有する更なる H I L R - 0 2 5 環状ペプチドカチオン性類似体を合成した。この環状ペプチド H I L R - D - 0 6 は、H I L R - D - 0 2 よりも更に効果的に N C I - H 4 6 0 細胞を死滅させ、I C ₅₀ が 2 5 μ M であった [図 4 B]。したがって、本明細書に記載の環状ペプチド内の同じ部位におけるアニオン性基とカチオン性基はどちらもインビトロで癌細胞死滅を引き起こし得ると言えるように見える。

30

【0217】

アニオン性ヘキサペプチド P E G P E P (配列番号 4) は以前に不活性であると報告されたので [非特許文献 3 6]、この結果は驚くべきことである。活性陰性基の活性は、アニオン性ヘキサペプチドと癌細胞の接触時間が不十分であり、使用した P E G P E P (配列番号 4) の濃度も不十分であったので、以前の試験では認められなかったと考えられる。短い線状ペプチドを利用するときには高い投与量が必要であることが多い。本開示の環状ペプチドに含まれるカセット配列は、細胞への活性部分の送達を強化して、より低投与量の使用を可能にすると考えられる。

40

【0218】

理論に拘泥するものではないが、これらの環状ペプチドは、それらの推定上の標的 (単数又は複数) との静電気結合によって相互作用し、競合阻害又は「デコイ」機序の両方によって作用することができ、したがって、アニオン性「弾頭」とカチオン性「弾頭」の両方の類似の効果の説明できることが提案される。

50

【0219】

HILR環状ペプチドは、PARPのDEVD領域と相互作用して、それを切断から保護し、PARP活性を保持する可能性がある。これは、これらの薬剤の癌細胞壊死活性に必要なが、それらの完全な作用機序を説明するには不十分である。これらのHILRペプチドが部分的PARP作動物質であるという提案は、別のPARP作動物質について以前に報告されたものと一致する(上記参照)。したがって、HILR環状ペプチドは、a) PARP及びb)細胞ATPレベルの非PARPエフェクターに対する潜在的二重活性を有するよう見える。理論に拘泥するものではないが、この追加のPARP活性の2つの可能な候補は、アルギニンが活性酵素部位内のアセチルCoAの結合に重要な役割を果たす酵素乳酸デヒドロゲナーゼ、及びヘキソキナーゼ2であり得る。

10

【0220】

実施例6：2-デオキシグルコースと組み合わせた本発明の化合物の効果

本発明に係る化合物は、NAD/ATP枯渇の結果として壊死による細胞死を引き起こすように見えたので、それらの活性は、化合物を解糖阻害剤と一緒に投与することによって増強できると仮定された。したがって、解糖阻害剤2-デオキシグルコース(2-DOG)の存在及び非存在下でのHILR-025(配列番号15)及びHILR-D-07ナトリウム塩(配列番号30)の細胞死滅能力を評価した。

【0221】

HILR-025(配列番号15)はカチオン性PRGPRGP(配列番号2)弾頭を含み、HILR-D-07(配列番号30)はアニオン性弾頭を有する。

20

【0222】

NCI-H460ヒト非小細胞肺癌細胞を単体の、又は3.125mmol 2-DOGと組み合わせた、HILR-025又はHILR-D-07と接触させ、細胞生存をAlamaBlue(登録商標)細胞生存度試薬(Life Technologies, Inc.)を用いて製造者の指示に従って判定した。これらの試験の結果を図15に示す。

【0223】

HILR-025とHILR-D07の両方の細胞死滅能力は、2-DOGとの同時投与によって増強されることが判明した。2-DOGは、生体内で忍容性が良好であり、本明細書に開示した環状ペプチドの活性の増強に使用することができる。HILR-025とHILR-D-07に対して得られた類似の結果は、これらのペプチドが、関連した作用機序を有することを示唆する。

30

【0224】

アニオン性弾頭の作用機序を更に調べるために、NCI H460ヒト非小細胞肺癌の培養物をHILR-025及びHILR-D-07にさらし、光学顕微鏡法によって観察した。比較細胞培養物をDMSOで処理して負の対照とした。細胞培養物の光学顕微鏡写真を図16に示す。

【0225】

本開示に係る環状化合物にさらされた細胞培養物には著しい形態変化が認められた。非特許文献36においてTHR53に起因すると報告されたものに類似した環状形態が観察された。これは、THR53、HILR-025及びHILR-D-07が、関連した作用機序を有することを示唆する。

40

【0226】

実施例7．乳酸デヒドロゲナーゼA[LDHA]の活性に対するTHR環状ペプチドHILR-025及びHILR-030の効果。

LDHAは、ピルビン酸を乳酸に転化し、1分子のNADを生成する(図18参照)。このNADは、ATPが産生されるグリセルアルデヒドリン酸デヒドロゲナーゼステップにおいてエムデン・マイヤーホフ経路に再び入る。NADがない場合、嫌気性解糖経路におけるこのステップが起きず、主にこの経路に依拠する癌細胞から高エネルギーのATP分子が取り除かれる。このため、2種の環状ペプチドHILR-025及びHILR-0

50

30をLDH活性の可能な阻害剤として調べた。

【0227】

LDH活性アッセイを2つの試験化合物(HILR-025及びHILR-030)で処理されたNCI-H460細胞に由来する試料について24時間又は96時間実施した。より高い試験化合物濃度で、特により遅い時点においてかなりの細胞死が認められた。したがって、BCAアッセイを行って、各LDHアッセイ溶解物中に存在するタンパク質の総量を推定し、これを使用して、酵素活性データを規格化した。細胞生存度の指標として、Alamar blueアッセイも両方の時点で実施して、追加の基準点とした。

【0228】

以下の手順を使用した。

1) 10% FBSを補充したHamのF12培地でNCI-H460細胞を増殖させた。

2) 細胞を収集し、96ウェルプレートに500細胞/ウェル(96時間の時点)又は24時間の時点で5000細胞/ウェルで蒔いた。

3) Hilros化合物をDMSO原液から調製し、細胞に濃度40、20、10、5及び2.5 μMで直接添加した。

4) 平行プレートを組み立てた。

・LDHアッセイの場合、1つのアッセイ濃度当たり10組のウェルを使用した。

・Alamar Blueアッセイには3組ウェルを使用した。

・すべてのウェルの最終DMSO濃度は0.2%であった。

5) 細胞を化合物と一緒に37.5% CO₂で加湿雰囲気中で24又は96時間増殖させた。

6) アッセイ(24又は96時間)の最後に、Alamar blue 10%(v/v)を1セットのプレートに添加し、更に4時間インキュベートし、BMG FLUOstarプレートリーダーによって蛍光生成物を検出した。

7) LDHアッセイの場合、細胞を各ウェルからトリプシン処理によって収集し、複数組のウェルからの細胞を貯蔵し、次いで遠心分離によってペレット化した。

8) 細胞ペレットを氷冷PBSでリンスし、(キット中の)150 μL LDHアッセイ緩衝剤に再懸濁させ、液体窒素で急速凍結して、細胞溶解を促進した。

9) 試料を急速解凍し、細胞溶解物を10,000 x gで10分間4℃で遠心分離して清澄にした。

10) 上清(cleared lysate)のLDH活性をLDH活性キット(Abcam, ab102526)によって測定した。

11) LDH活性アッセイ反応物の調製後、製造者の指示に従って、450 nmにおける吸光度を初回に測定して、(A450)初期を求めた。

12) 更なる吸光度を3分間隔で15分まで読み取った。

13) 酵素活性を計算するための最終測定[(A450)最終]を、最も活性な試料が検量線の線形範囲を超えた最後から2番目の時点の読みから得た。

14) 各試料のT初期からT最終までの測定値の変化を計算した： $11A450 = (A450)_{最終} - (A450)_{初期}$ 。

15) NADH検量線を使用して、各試料の11A450を内挿して、T初期とT最終の間でキナーゼアッセイによって産生されたNADH量(B)を求めた。

16) 各試料のLDH活性を以下の式によって求めた。

【0229】

10

20

30

40

【数 1】

$$\text{LDH 活性} = \frac{B \times \text{試料希釈係数}}{(\text{反応時間}) \times V}$$

$B = T_{\text{初期}}$ と $T_{\text{最終}}$ の間で産生された NADH の量 (nmole)

反応時間 = $T_{\text{最終}} - T_{\text{初期}}$ (分)

$V =$ ウェルに添加された試料体積 (mL)

【0230】

10

a. 残留上清のタンパク質含有量を BCA アッセイ (Thermo Scientific) によって測定した。

b. データを Graph Pad Prism によって解析した。

【0231】

上記アッセイの結果を図 17 に示す。データによれば、HILR-025 及び HILR-030 は、LDH の活性を阻害するのに有効であり、HILR-025 の IC_{50} は $16 \mu M$ であり、HILR-030 の IC_{50} は $22 \mu M$ であった。これは、本発明の環状ペプチドが癌細胞の嫌気性解糖経路を更に標的にしていることを示唆する。

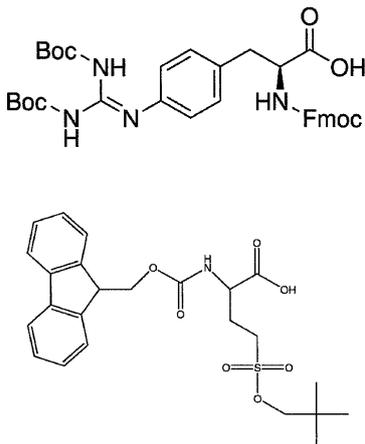
【0232】

20

LDH 活性は、一般に、ミリ単位 / ml で表される。LDH 活性の 1 単位は、乳酸からピルビン酸への転化を触媒して、 $1.0 \mu \text{mol} / \text{分}$ の NADH を 37 で産生する酵素の量と定義され、したがって $1 \text{mU} / \text{ml} = 1 \text{nmole} / \text{min} / \text{ml}$ である。この試験の LDH 活性データは、 mU / ml 形式で示され、さらに、各溶解物の総タンパク質濃度に対して規格化されている (mU / mg)。細胞生存度を Alamar Blue によって並行してモニターした。

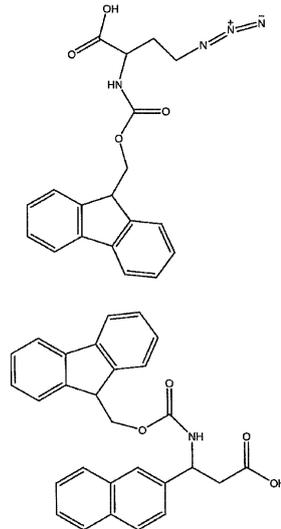
【図 1】

Figure 1

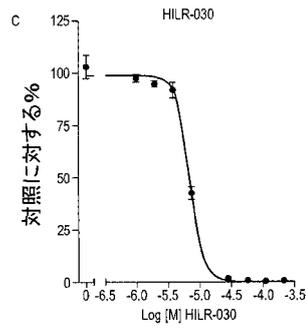
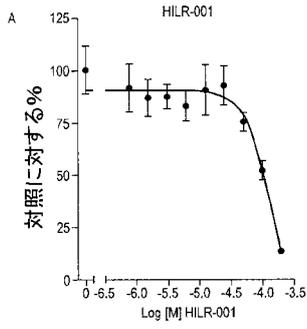


【図 2】

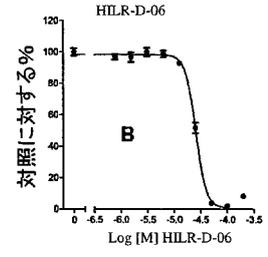
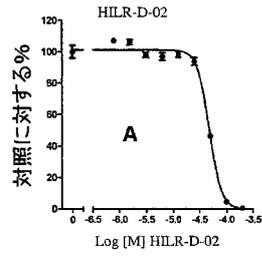
Figure 2



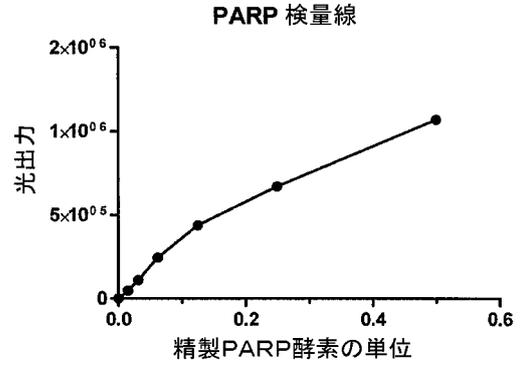
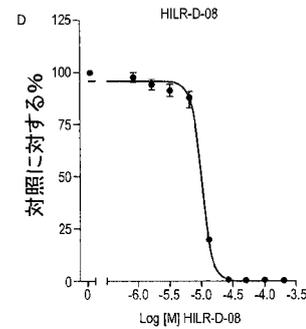
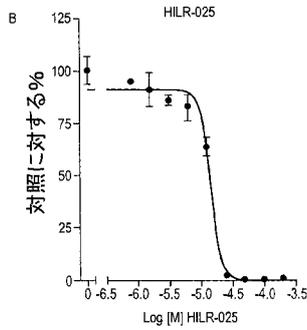
【 図 3 】



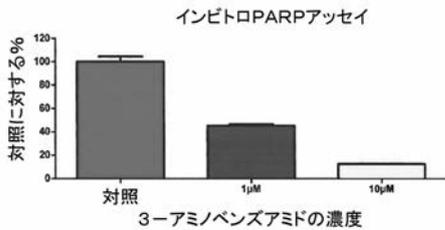
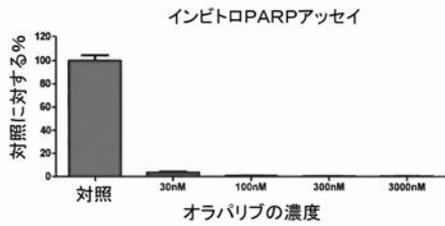
【 図 4 】



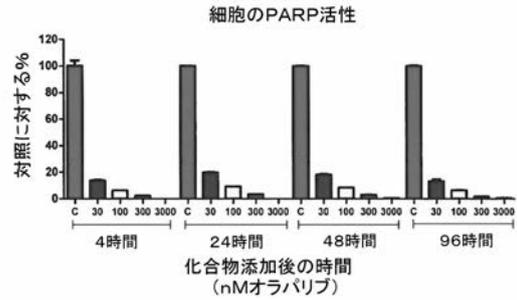
【 図 5 】



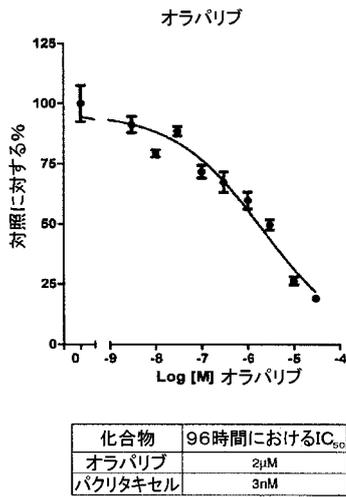
【 図 6 】



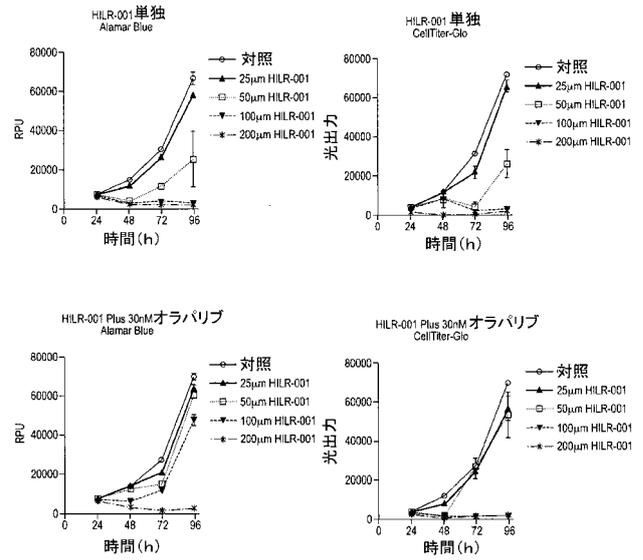
【 図 7 】



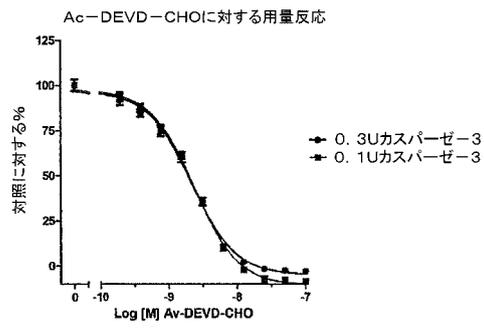
【 図 8 】



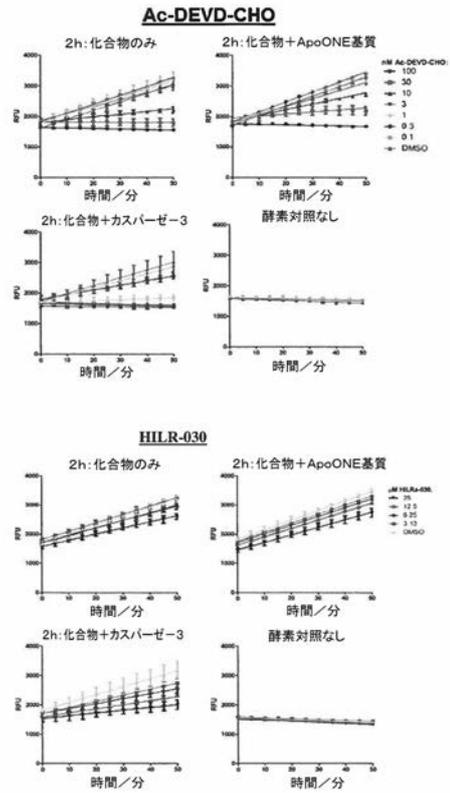
【 図 9 】



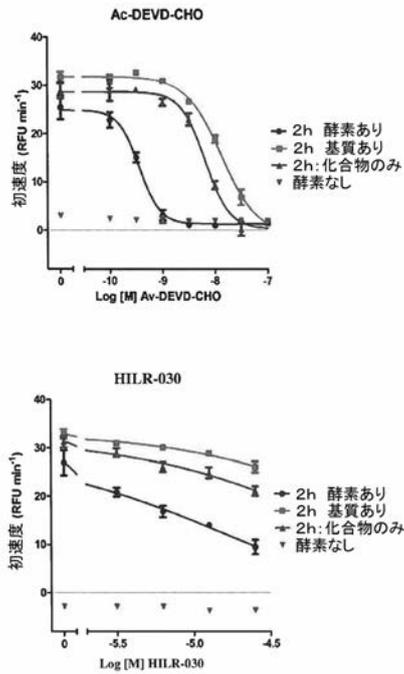
【 図 10 】



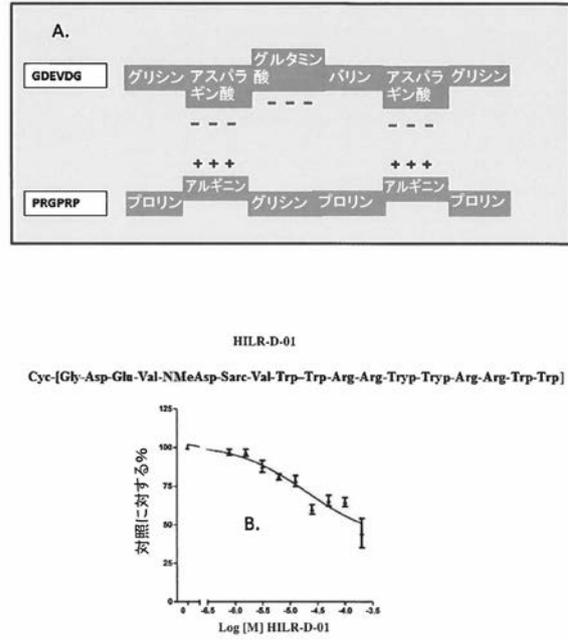
【 図 11 】



【 図 1 2 】

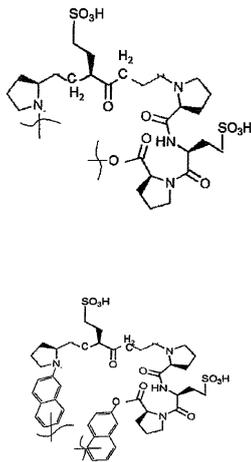


【 図 1 3 】

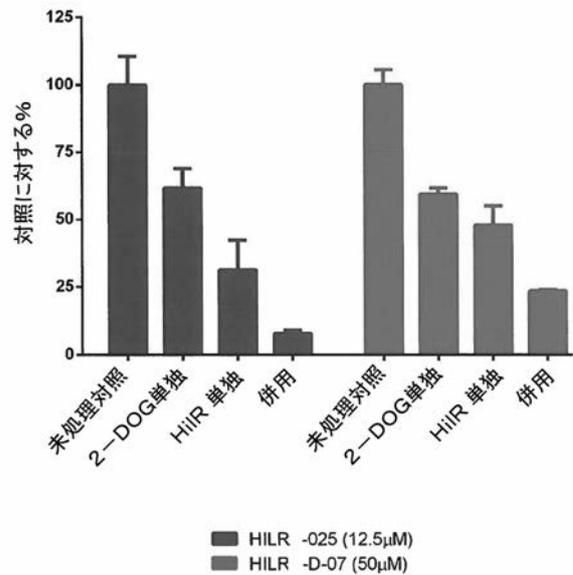


【 図 1 4 】

Figure 14

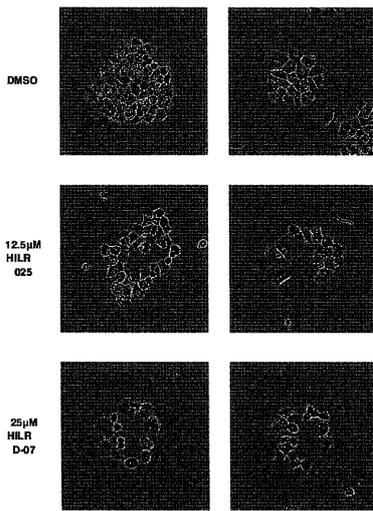


【 図 1 5 】

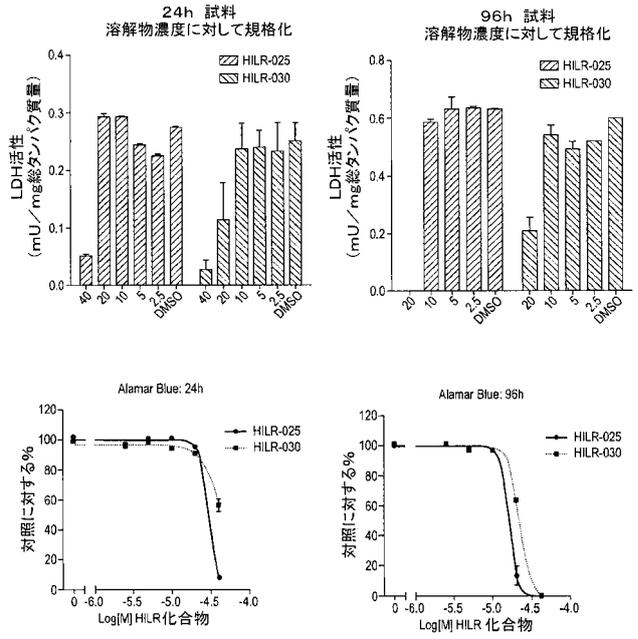


【 図 1 6 】

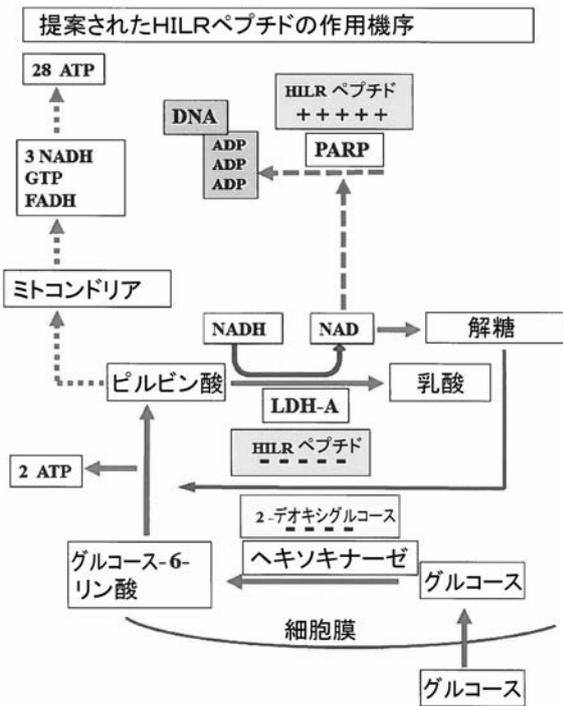
Figure 16



【 図 1 7 】



【 図 1 8 】



【配列表】

2017529386000001.app

【手続補正書】

【提出日】平成29年4月12日(2017.4.12)

【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】

ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1(PARP-1)の活性を調節可能な環状化合物であって、式1の部分：

式1：[X1-X2-X3-X4-X3-X4-X3-]

(式中、X1は、PARP-1の切断を阻害可能なペプチド部分であり、

X2は存在してもしなくてもよく、X2が存在するときには、X2はVal又はSerから選択され、

X3とX4の一方は、Trp-Trp及びAr1-Ar2から選択され、

X3とX4の他方は、Arg-Arg、Gpa-Gpa、Hca-Hca及びAr3-Ar4から選択され、

ここで、

Hcaは、ホモシステイン酸のアミノ酸残基であり、

Gpaは、グアニジノフェニルアラニンのアミノ酸残基であり、

Ar1、Ar2、Ar3及びAr4はそれぞれ、アリール側鎖を有するアミノ酸残基であり、前記アリール側鎖は、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された1,2-ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された1,2,3,4-テトラヒドロナフチル基から独立に選択され、

Azaは、アジド-ホモアラニンのアミノ酸残基である)

又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物を含む、環状化合物。

【請求項2】

少なくとも1個の標識成分を含む、請求項1に記載の環状化合物。

【請求項3】

前記少なくとも1個の標識成分が蛍光標識を含む、請求項2に記載の環状化合物。

【請求項4】

前記化合物が、

シクロ-[X1-X2-X3-X4-X3-X4-X3]

からなる化合物である、又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物である、請求項1から3のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項5】

X1が、配列番号21(式2)、配列番号22(式3)、配列番号23(式4)及び配列番号24(式5)から選択され、

配列番号21(式2)は-Pro-X5-X6-Pro-X7-Pro-であり、

式中、X5とX7の両方は、酸性側鎖を有するアミノ酸残基であり、又はX5とX7の両方は、塩基性側鎖を有するアミノ酸残基であり、

前記酸性側鎖を有するアミノ酸残基は、Glu、Aza及びHcaから各々独立に選択され、

X6は、Gly、Ala、MeGly及び(CH₂)₃から選択され、

配列番号22(式3)は-Pro-X8-Gly-Pro-X9-Pro-であり、

式中、X8及びX9は、Asp及びGluから各々独立に選択され、

配列番号23(式4)は-Pro-Arg-Lys-Pro-Arg-Pro-であり

、
配列番号 24 (式 5) は - G l y - X 1 1 - G l u - V a l - X 1 2 - X 1 3 - であり

、
式中、X 1 1 は、A s p 及び G l u から選択され、

X 1 2 は、A s p、N - アルキルアスパラギン酸残基、及び N - アリールアスパラギン酸残基 G l u、N - アルキルグルタミン酸残基及び N - アリールグルタミン酸残基から選択され、

X 1 3 は、G l y、N - アルキルグリシン残基、及び N - アリールグリシン残基から選択され、

ただし、X 1 2 が A s p である場合、X 1 3 は、N - アルキルグルタミン酸残基又は N - アリールグルタミン酸残基である、

請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 6】

X 1 が配列番号 21 (式 2) である、請求項 5 に記載の環状化合物。

【請求項 7】

X 5 が G l u である、請求項 6 に記載の環状化合物。

【請求項 8】

X 5 が H c a である、請求項 6 に記載の環状化合物。

【請求項 9】

X 7 が G l u 又は H c a である、請求項 6 から 8 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 10】

X 1 が、

i . 配列番号 2 - P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - 、

i i . 配列番号 4 - P r o - G l u - G l y - P r o - G l u - P r o - 、

i i i . 配列番号 25 - P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - 、

i v . 配列番号 26 - P r o - H c a - M e G l y - P r o - H c a - P r o - 、

v . 配列番号 27 - P r o - A z a - M e G l y - P r o - A z a - P r o - 、

v i . 配列番号 28 - P r o - H c a - G l y - P r o - A z a - P r o - 、

v i i . 配列番号 41 - P r o - A z a - G l y - P r o - H c a - P r o - 、及び

v i i i . 配列番号 42 - P r o - A z a - G l y - P r o - A z a - P r o

から選択される、請求項 6 に記載の環状化合物。

【請求項 11】

X 1 が - P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - (配列番号 2) である、請求項 10 に記載の環状化合物。

【請求項 12】

X 1 が - P r o - G l u - G l y - P r o - G l u - P r o - (配列番号 4) である、請求項 10 に記載の環状化合物。

【請求項 13】

X 1 が配列番号 22 (式 3) であり、X 8 が A s p であり、X 9 が A s p である、請求項 5 に記載の環状化合物。

【請求項 14】

X 1 が配列番号 24 (式 5) である、請求項 5 に記載の環状化合物。

【請求項 15】

X 1 1 が A s p であり、X 1 2 が A s p 又は N - アルキルアスパラギン酸残基である、請求項 14 に記載の環状化合物。

【請求項 16】

X 1 が - G l y - A s p - G l u - V a l - N M e A s p - M e G l y - V a l (配列番号 29) であり、式中の N M e A s p が N - メチルアスパラギン酸残基である、請求項 15 に記載の環状化合物。

【請求項 17】

X 2 が存在し、X 2 が Val である、請求項 1 から 1 6 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 1 8】

X 3 が Trp - Trp 及び Ar 1 - Ar 2 から選択され、X 4 が Arg - Arg、Gpa - Gpa 及び Hca - Hca から選択される、請求項 1 から 1 7 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 1 9】

X 3 が Trp - Trp である、請求項 1 8 に記載の環状化合物。

【請求項 2 0】

X 3 が Ar 1 - Ar 2 である、請求項 1 から 1 8 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 2 1】

Ar 1 及び / 又は Ar 2 が、場合によっては置換されたナフチル基を含む、請求項 2 0 に記載の環状化合物。

【請求項 2 2】

Ar 1 及び / 又は Ar 2 が、グルタミン酸 - ガンマ - [2 - (1 - スルホニル - 5 - ナフチル) - アミノエチルアミド (「 E d a 」) のアミノ酸残基である、請求項 2 1 に記載の環状化合物。

【請求項 2 3】

X 4 が Arg - Arg、Gpa - Gpa 又は Hca - Hca である、請求項 1 8 から 2 2 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 2 4】

X 3 が Ar 1 - Ar 2 であり、X 4 が Ar 3 - Ar 4 である、請求項 1 から 1 7 のいずれか一項に記載の環状化合物。

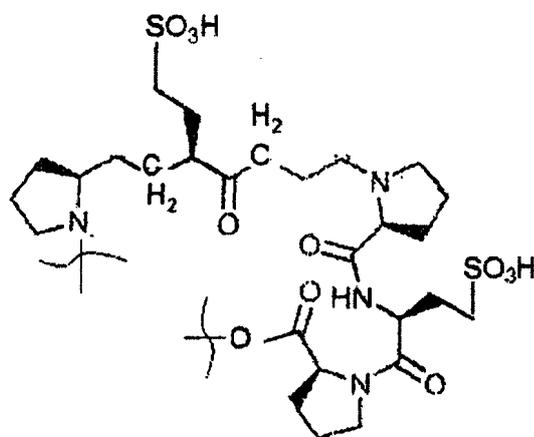
【請求項 2 5】

Ar 1 及び Ar 2 が各々 E d a であり、Ar 3 及び Ar 4 が各々 N a p であり、「 N a p 」が 3 - アミノ - 3 - (- 2 - ナフチル) - プロピオン酸のアミノ酸残基である、請求項 2 4 に記載の環状化合物。

【請求項 2 6】

X 1 が以下の構造：

【化 1】

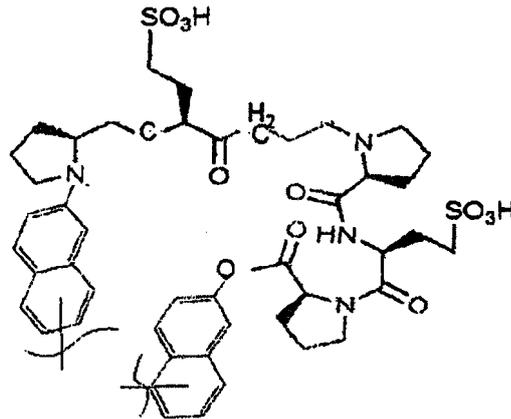


を有する、又は該構造の誘導体である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 2 7】

X 1 が以下の構造：

【化 2】



を有する、又は該構造の誘導体である、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の環状化合物。

【請求項 28】

前記環状化合物が、

i . シクロ - [P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - V a l - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p] (配列番号 15)、

i i . シクロ - [P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - V a l - T r p - T r p - G p a - G p a - T r p - T r p - G p a - G p a - T r p - T r p] (配列番号 16)、

i i i . シクロ - [P r o - G l u - G l y - P r o - G l u - P r o - V a l - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p] (配列番号 19)、

i v . シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - V a l - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p] (配列番号 20)、

v . シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - V a l - T r p - T r p - G p a - G p a - T r p - T r p - G p a - G p a - T r p - T r p] (配列番号 30)、

v i . シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - S e r - N a p - N a p - A r g - A r g - N a p - N a p - A r g - A r g - N a p - N a p] (配列番号 31)、

v i i . シクロ - [P r o - A r g - G l y - P r o - A r g - P r o - V a l - E d a - E d a - A r g - A r g - E d a - E d a - A r g - A r g - E d a - E d a] (配列番号 32)、

v i i i . シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - A z a - P r o - V a l - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p - A r g - A r g - T r p - T r p] (配列番号 33)、

i x . シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - H c a - P r o - V a l - N a p - N a p - H c a - H c a - N a p - N a p - H c a - H c a - N a p - N a p] (配列番号 34)、

x . シクロ - [P r o - H c a - G l y - P r o - A z a - P r o - V a l - N a p - N a p - H c a - H c a - N a p - N a p - H c a - H c a - N a p - N a p] (配列番号 35)、

x i . シクロ - [P r o - A z a - M e G l y - P r o - A z a - P r o - V a l - N a p - N a p - H c a - H c a - N a p - N a p - H c a - H c a - N a p - N a p] (

配列番号 36)、

xii. シクロ - [Gly - Asp - Glu - Val - Me Asp - Me Gly - Val - Trp - Trp - Arg - Arg - Trp - Trp - Arg - Arg - Trp - Trp] (配列番号 40)、

xiii. シクロ - [Pro - Hca - Gly - Pro - Hca - Pro - Val - Arg - Arg - Nap - Nap - Arg - Arg - Nap - Nap - Arg - Arg] (配列番号 43)、

xiv. シクロ - [Pro - Aza - Gly - Pro - Aza - Pro - Ser - Arg - Arg - Nap - Nap - Arg - Arg - Nap - Nap - Arg - Arg] (配列番号 44)、

xv. シクロ - [Pro - Aza - Gly - Pro - Aza - Pro - Ser - Gpa - Gpa - Nap - Nap - Gpa - Gpa - Nap - Nap - Gpa - Gpa] (配列番号 45)、

xvi. シクロ - [Pro - Hca - Gly - Pro - Hca - Pro - Ser - Eda - Eda - Nap - Nap - Eda - Eda - Nap - Nap - Eda - Eda] (配列番号 46)、

xvii. シクロ - [Pro - Aza - Gly - Pro - Aza - Pro - Ser - Eda - Eda - Nap - Nap - Eda - Eda - Nap - Nap - Eda - Eda] (配列番号 47)、

xviii. シクロ - [Pro - Arg - Gly - Pro - Arg - Pro - Ser - Eda - Eda - Nap - Nap - Eda - Eda - Nap - Nap - Eda - Eda] (配列番号 48)、及び

xix. それらの誘導體から選択され、

「Nap」が 3 - アミノ - 3 - (- 2 - ナフチル) - プロピオン酸のアミノ酸残基である、

請求項 5 に記載の環状化合物。

【請求項 29】

実質的に上述された環状化合物。

【請求項 30】

ポリ (ADP - リボース) ポリメラーゼ 1 (PARP - 1) の活性の調節に使用するための化合物であって、式 6 の部分：

式 6 : - Pro - X14 - X15 - Pro - X16 - Pro -

(式中、X14 及び X16 は、側鎖を有するアミノ酸残基、置換基を有するナフチル基、置換基である 1, 2 - ジヒドロナフチル基、置換基を有する 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基、及び置換基を有するプロピル基から各々独立に選択され、各側鎖又は置換基は酸性官能基を含み、

X15 は、Gly、Ala、MeGly 及び (CH₂)₃ から選択される) を含む、化合物。

【請求項 31】

X14 及び X16 が各々アミノ酸残基である、請求項 30 に記載の化合物。

【請求項 32】

X14 と X16 の少なくとも一方が Asp である、請求項 31 に記載の化合物。

【請求項 33】

X14 及び / 又は X16 がスルホン酸基を含む、請求項 31 に記載の化合物。

【請求項 34】

前記化合物が、合計 16 ~ 18 単位を含む環状ペプチド化合物であり、各単位は、アミノ酸残基、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された 1, 2 ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基又は場合によっては置換されたプロピル基である、請求項 30 から 33 のいずれか一項

に記載の化合物。

【請求項 35】

式 8 の構造：

式 8：シクロ - [X 1 7 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3]

(式中、X 1 7 は前記式 6 の部分であり、

X 2、X 3 及び X 4 は請求項 1 に定義され、場合によっては、X 3 及び X 4 は請求項 1 8 に定義されている)

を含む、請求項 30 から 34 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 36】

標識成分を含む、請求項 30 から 35 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 37】

実質的に上述されたポリ (A D P - リボース) ポリメラーゼ 1 の活性を調節可能なアニオン性部分を含む化合物。

【請求項 38】

請求項 1 から 37 のいずれか一項に定義された化合物、及び薬剤担体、希釈剤又は賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項 39】

更なる治療薬を含む、請求項 38 に記載の医薬組成物。

【請求項 40】

前記更なる治療薬が好氣的解糖阻害剤である、請求項 39 に記載の医薬組成物。

【請求項 41】

前記好氣的解糖阻害剤が 2 - デオキシグルコースである、請求項 40 に記載の医薬組成物。

【請求項 42】

医薬品に使用するための、請求項 1 から 37 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 38 から 41 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 43】

前記化合物又は組成物が癌の治療に使用するためである、請求項 42 に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 44】

前記化合物又は組成物が更なる治療薬と一緒に投与される、請求項 43 に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 45】

前記更なる治療薬が好氣的解糖阻害剤である、請求項 44 に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 46】

前記化合物又は組成物が、放射線療法及び / 又は手術の使用を更に含む治療計画に使用される、請求項 43 から 45 のいずれか一項に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 47】

前記癌が、乳癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膀胱癌、卵巣癌、子宮体癌、子宮頸癌、頭頸部癌、胃癌、膵癌、食道癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、悪性黒色腫、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肉腫又は神経膠腫の 1 つ以上を含む、請求項 43 から 46 のいずれか一項に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 48】

前記癌が、P A R P - 1 が非癌細胞に比べて上方制御される癌細胞を含む、請求項 43 から 47 のいずれか一項に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 49】

癌の治療用医薬品の製造における請求項 1 から 37 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項 5 0】

ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼの活性をインビトロで調節するための、請求項 1 から 3 7 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項 5 1】

癌を治療する方法であって、請求項 1 から 3 7 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 3 8 から 4 1 のいずれか一項に記載の医薬組成物を患者に投与するステップを含む、方法。

【請求項 5 2】

更に好氣的解糖阻害剤を前記患者に投与するステップを含む、請求項 5 1 に記載の方法。

【請求項 5 3】

更に化学療法、放射線療法及び手術の 1 つ以上の使用を含む、請求項 5 1 又は請求項 5 2 に記載の方法。

【請求項 5 4】

前記化合物が標識成分を含み、前記方法が、前記化合物を検出するステップを含む、請求項 5 1 から 5 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 5】

前記癌が、乳癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膀胱癌、卵巣癌、子宮体癌、子宮頸癌、頭頸部癌、胃癌、膵癌、食道癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、悪性黒色腫、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肉腫又は神経膠腫の 1 つ以上を含む、請求項 5 1 から 5 4 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 6】

前記癌が、PARP-1 が非癌細胞に比べて上方制御される癌細胞を含む、請求項 5 1 から 5 5 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5 7】

i . 細胞を請求項 1 から 3 6 のいずれか一項に記載の化合物と接触させるステップ、及び

i i . 前記化合物を検出するステップ

を含む分析方法。

【請求項 5 8】

前記細胞が少なくとも 1 個の癌細胞を含む、請求項 5 7 に記載の方法。

【請求項 5 9】

前記方法がウエスタンブロットアッセイを含む、請求項 5 7 又は請求項 5 8 に記載の方法。

【請求項 6 0】

ステップ(i i) が蛍光検出を含む、請求項 5 7 から 5 9 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 6 1】

ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ 1 (PARP-1) 及び/又は乳酸デヒドロゲナーゼ A (LDHA) の活性を調節可能な化合物であって、式 1 の部分：

式 1 : [X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3 -]

(式中、X 1 は、PARP-1 の切断を阻害可能なペプチド部分であり、

X 2 は存在してもしなくてもよく、X 2 が存在するときには、X 2 は Val 又は Ser から選択され、

X 3 と X 4 の一方は、Trp - Trp 及び Ar 1 - Ar 2 から選択され、

X 3 と X 4 の他方は、Arg - Arg、Gpa - Gpa、Hca - Hca 及び Ar 3 - Ar 4 から選択され、

ここで、

Hca は、ホモシステイン酸のアミノ酸残基であり、

Gpa は、グアニジノフェニルアラニンのアミノ酸残基であり、

Ar 1、Ar 2、Ar 3 及び Ar 4 はそれぞれ、アリール側鎖を有するアミノ酸残基であり、前記アリール側鎖は、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された 1, 2 - ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基から独立に選択され、

Aza は、アジド - ホモアラニンのアミノ酸残基である)
又はその塩、誘導體、プロドラッグ若しくは模倣物を含む、化合物。

【請求項 6 2】

少なくとも 1 個の標識成分を含む、請求項 6 1 に記載の化合物。

【請求項 6 3】

X 1 が、配列番号 2 1 (式 2)、配列番号 2 2 (式 3)、配列番号 2 3 (式 4) 及び配列番号 2 4 (式 5) から選択され、

配列番号 2 1 (式 2) は - Pro - X 5 - X 6 - Pro - X 7 - Pro - であり、

式中、X 5 と X 7 の両方は、酸性側鎖を有するアミノ酸残基であり、又は X 5 と X 7 の両方は、塩基性側鎖を有するアミノ酸残基であり、

前記酸性側鎖を有するアミノ酸残基は、Glu、Aza 及び Hca から各々独立に選択され、

X 6 は、Gly、Ala、MeGly 及び (CH₂)₃ から選択され、

配列番号 2 2 (式 3) は - Pro - X 8 - Gly - Pro - X 9 - Pro - であり、

式中、X 8 及び X 9 は、Asp 及び Glu から各々独立に選択され、

配列番号 2 3 (式 4) は - Pro - Arg - Lys - Pro - Arg - Pro - であり、

配列番号 2 4 (式 5) は - Gly - X 1 1 - Glu - Val - X 1 2 - X 1 3 - であり、

式中、X 1 1 は、Asp 及び Glu から選択され、

X 1 2 は、Asp、N - アルキルアスパラギン酸残基、及び N - アリールアスパラギン酸残基 Glu、N - アルキルグルタミン酸残基及び N - アリールグルタミン酸残基から選択され、

X 1 3 は、Gly、N - アルキルグリシン残基、及び N - アリールグリシン残基から選択され、

ただし、X 1 2 が Asp である場合、X 1 3 は、N - アルキルグルタミン酸残基又は N - アリールグルタミン酸残基である、

請求項 6 1 又は 6 2 に記載の化合物。

【請求項 6 4】

X 1 が配列番号 2 1 (式 2) である、請求項 6 3 に記載の化合物。

【請求項 6 5】

X 5 が Glu 又は Hca であり、及び / 又は X 7 が Glu 又は Hca である、請求項 6 4 に記載の化合物。

【請求項 6 6】

X 1 が、

i . 配列番号 2 - Pro - Arg - Gly - Pro - Arg - Pro - 、

ii . 配列番号 4 - Pro - Glu - Gly - Pro - Glu - Pro - 、

iii . 配列番号 2 5 - Pro - Hca - Gly - Pro - Hca - Pro - 、

iv . 配列番号 2 6 - Pro - Hca - MeGly - Pro - Hca - Pro - 、

v . 配列番号 2 7 - Pro - Aza - MeGly - Pro - Aza - Pro - 、

vi . 配列番号 2 8 - Pro - Hca - Gly - Pro - Aza - Pro - 、

vii . 配列番号 4 1 - Pro - Aza - Gly - Pro - Hca - Pro - 、及び

viii . 配列番号 4 2 - Pro - Aza - Gly - Pro - Aza - Pro

から選択される、請求項 6 4 に記載の化合物。

【請求項 6 7】

X 1 が配列番号 2 2 (式 3) であり、X 8 が Asp であり、X 9 が Asp である、又は

X 1 が配列番号 2 4 (式 5) である、請求項 6 6 に記載の化合物。

【請求項 6 8】

X 1 が配列番号 2 4 (式 5) であり、X 1 1 が A s p であり、X 1 2 が A s p 又は N - アルキルアスパラギン酸残基である、請求項 6 3 に記載の化合物。

【請求項 6 9】

X 1 が - G l y - A s p - G l u - V a l - N M e A s p - M e G l y - V a l (配列番号 2 9) であり、式中の N M e A s p が N - メチルアスパラギン酸残基である、請求項 6 8 に記載の化合物。

【請求項 7 0】

X 2 が存在し、X 2 が V a l である、請求項 1 から 3 7、4 2 から 4 8 及び 6 1 から 6 9 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 7 1】

X 3 が T r p - T r p 及び A r 1 - A r 2 から選択され、X 4 が A r g - A r g、G p a - G p a 及び H c a - H c a から選択される、請求項 6 1 から 7 0 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 7 2】

A r 1 及び / 又は A r 2 が、場合によっては置換されたナフチル基を含む、請求項 7 1 に記載の化合物。

【請求項 7 3】

A r 1 及び / 又は A r 2 が、グルタミン酸 - ガンマ - [2 - (1 - スルホニル - 5 - ナフチル) - アミノエチルアミド (「E d a」) のアミノ酸残基である、請求項 7 2 に記載の化合物。

【請求項 7 4】

X 4 が A r g - A r g、G p a - G p a 又は H c a - H c a である、請求項 7 1 から 7 3 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 7 5】

X 3 が A r 1 - A r 2 であり、X 4 が A r 3 - A r 4 である、請求項 6 1 から 7 0 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 7 6】

A r 1 及び A r 2 が各々 E d a であり、A r 3 及び A r 4 が各々 N a p であり、「N a p」が 3 - アミノ - 3 - (- 2 - ナフチル) - プロピオン酸のアミノ酸残基である、請求項 7 5 に記載の化合物。

【請求項 7 7】

ポリ (A D P - リボース) ポリメラーゼ 1 (P A R P - 1) 及び / 又は乳酸デヒドロゲナーゼ A (L D H A) の活性の調節に使用するための化合物であって、式 6 の部分：

式 6 : - P r o - X 1 4 - X 1 5 - P r o - X 1 6 - P r o -

(式中、X 1 4 及び X 1 6 は、側鎖を有するアミノ酸残基、置換基を有するナフチル基、置換基である 1, 2 - ジヒドロナフチル基、置換基を有する 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基、及び置換基を有するプロピル基から各々独立に選択され、各側鎖又は置換基は酸性官能基を含み、

X 1 5 は、G l y、A l a、M e G l y 及び (C H₂)₃ から選択される) を含む、化合物。

【請求項 7 8】

X 1 4 及び X 1 6 が各々アミノ酸残基である、請求項 7 7 に記載の化合物。

【請求項 7 9】

X 1 4 と X 1 6 の少なくとも一方が A s p である、請求項 7 8 に記載の化合物。

【請求項 8 0】

X 1 4 及び / 又は X 1 6 がスルホン酸基を含む、請求項 7 9 に記載の化合物。

【請求項 8 1】

前記化合物が、合計 1 6 ~ 1 8 単位を含むペプチド化合物であり、各単位は、アミノ酸

残基、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された 1, 2 ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基又は場合によっては置換されたプロピル基である、請求項 77 から 80 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 82】

式 8 の構造：

式 8：[X 1 7 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3]

(式中、X 1 7 は前記式 6 の部分であり、

X 2、X 3 及び X 4 は請求項 61 に定義され、場合によっては、X 3 及び X 4 は請求項 71 に定義されている)

を含む、請求項 77 から 81 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 83】

標識成分を含む、請求項 77 から 82 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 84】

実質的に上述されたポリ(ADP - リボース)ポリメラーゼ 1 (PARP - 1) 及び / 又は乳酸デヒドロゲナーゼ A (LDHA) の活性を調節可能なアニオン性部分を含む化合物。

【請求項 85】

請求項 61 から 84 のいずれか一項に定義された化合物、及び薬剤担体、希釈剤又は賦形剤を含む、医薬組成物。

【請求項 86】

更なる治療薬を含む、請求項 85 に記載の医薬組成物。

【請求項 87】

前記更なる治療薬が好氣的解糖阻害剤である、請求項 86 に記載の医薬組成物。

【請求項 88】

前記好氣的解糖阻害剤が 2 - デオキシグルコースである、請求項 87 に記載の医薬組成物。

【請求項 89】

医薬品に使用するための、請求項 61 から 84 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 85 から 88 のいずれか一項に記載の医薬組成物。

【請求項 90】

前記化合物又は組成物が癌の治療に使用するためである、請求項 89 に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 91】

前記化合物又は組成物が更なる治療薬と一緒に投与される、請求項 90 に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 92】

前記更なる治療薬が好氣的解糖阻害剤である、請求項 91 に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 93】

前記化合物又は組成物が、放射線療法及び / 又は手術の使用を更に含む治療計画に使用される、請求項 90 から 92 のいずれか一項に記載の使用するための化合物又は医薬組成物。

【請求項 94】

癌の治療用医薬品の製造における請求項 61 から 84 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項 95】

ポリ(ADP - リボース)ポリメラーゼ及び / 又は乳酸デヒドロゲナーゼ A (LDHA) の活性をインビトロで調節するための、請求項 61 から 84 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項 96】

癌を治療する方法であって、請求項 61 から 64 のいずれか一項に記載の化合物又は請求項 85 から 88 のいずれか一項に記載の医薬組成物を患者に投与するステップを含む、方法。

【請求項 97】

更に好氣的解糖阻害剤を前記患者に投与するステップを含む、請求項 96 に記載の方法。

【請求項 98】

更に化学療法、放射線療法及び手術の 1 つ以上の使用を含む、請求項 96 又は請求項 97 に記載の方法。

【請求項 99】

前記化合物が標識成分を含み、前記方法が、前記化合物を検出するステップを含む、請求項 96 から 98 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 100】

i . 細胞を請求項 61 から 83 のいずれか一項に記載の化合物と接触させるステップ、及び

ii . 前記化合物を検出するステップ

を含む分析方法。

【請求項 101】

前記細胞が少なくとも 1 個の癌細胞を含む、請求項 100 に記載の方法。

【請求項 102】

前記方法がウエスタンブロットアッセイを含む、請求項 100 又は請求項 101 に記載の方法。

【請求項 103】

ステップ (ii) が蛍光検出を含む、請求項 100 から 102 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 104】

ポリ (A D P - リボース) ポリメラーゼ 1 (P A R P - 1) 及び / 又は乳酸デヒドロゲナーゼ A (L D H A) の活性を調節可能な化合物であって、式 1 の部分：

式 1 : [X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3 -]

(式中、X 1 は、P A R P - 1 の切断を阻害可能な部分であり、

X 2 は存在してもしなくてもよく、X 2 が存在するときには、X 2 は V a l 又は S e r から選択され、

X 3 と X 4 の一方は、T r p - T r p 及び A r 1 - A r 2 から選択され、

X 3 と X 4 の他方は、A r g - A r g、G p a - G p a、H c a - H c a 及び A r 3 - A r 4 から選択され、

ここで、

H c a は、ホモシステイン酸のアミノ酸残基であり、

G p a は、グアニジノフェニルアラニンのアミノ酸残基であり、

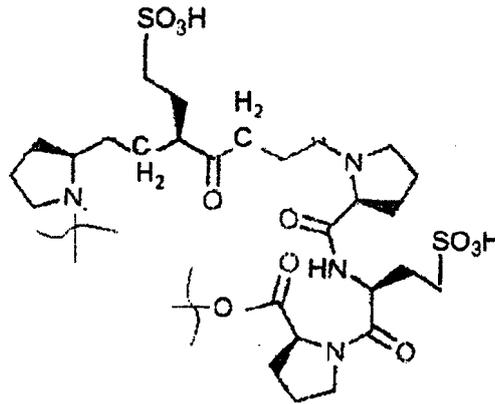
A r 1、A r 2、A r 3 及び A r 4 はそれぞれ、アリアル側鎖を有するアミノ酸残基であり、前記アリアル側鎖は、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された 1, 2 - ジヒドロナフチル基、及び場合によっては置換された 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基から独立に選択され、

A z a は、アジド - ホモアラニンのアミノ酸残基であり、

X 1 は、

【化 3】

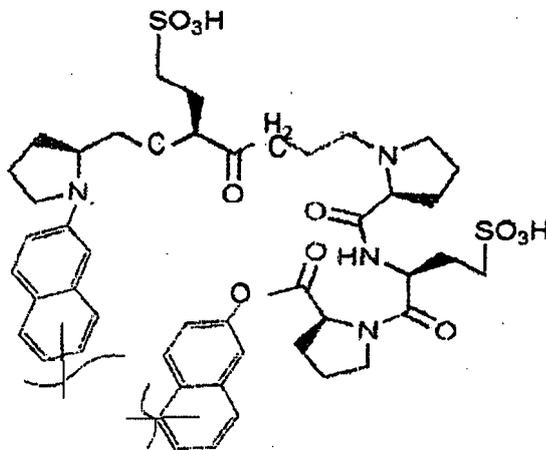
a)



若しくは

【化 4】

b)



の構造を有する、又は該構造の誘導体である)

又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物を含む、化合物。

【請求項 105】

少なくとも 1 個の標識成分を含む、請求項 104 に記載の化合物。

【請求項 106】

前記少なくとも 1 個の標識成分が蛍光標識を含む、請求項 105 に記載の化合物。

【請求項 107】

前記化合物が、

シクロ - [X 1 - X 2 - X 3 - X 4 - X 3 - X 4 - X 3]

からなる化合物である、又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物である、請求項 104 から 106 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 108】

前記化合物が、1 個以上のペプチド結合の NH 基が C H₂ 基で置換された模倣物である、請求項 104 から 107 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 109】

前記化合物が、1 個以上のアミノ酸残基がアリール基で置換された模倣物である、請求項 104 から 108 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 110】

前記アリール基がナフチル基である、請求項 109 に記載の化合物。

【請求項 111】

前記化合物が模倣物であり、前記アミノ酸残基の 1 個以上が、場合によっては置換されたナフチル基、場合によっては置換された 1, 2 - ジヒドロナフチル基、置換基を有する場合によっては置換された 1, 2, 3, 4 - テトラヒドロナフチル基、又は場合によっては置換されたプロピル基で置換された、請求項 104 から 110 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 112】

前記化合物が、23種のタンパク質構成アミノ酸のいずれかの側鎖を形成する基から選択された置換基を含む模倣化合物である、請求項 104 から 111 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 113】

前記化合物が、前記アミノ酸残基の 50% 以下が前記基で置換された模倣化合物である、請求項 112 に記載の化合物。

【請求項 114】

更に好氣的解糖阻害剤を含む、請求項 103 から 113 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 115】

前記好氣的解糖阻害剤が 2 - デオキシグルコース (2 - DOG) である、請求項 114 に記載の化合物。

【請求項 116】

医薬品に使用するための、請求項 103 から 115 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 117】

前記組成物が癌の治療に使用するためである、請求項 116 に記載の化合物。

【請求項 118】

ポリ (ADP - リボース) ポリメラーゼ 1 (PARP - 1) 作動物質及び乳酸デヒドロゲナーゼ A (LDHA) 阻害剤を含む、癌の治療のための化合物。

【請求項 119】

前記 PARP - 1 作動物質及び LDHA 阻害剤が単一の治療薬である、請求項 118 に記載の化合物。

【請求項 120】

前記化合物が、PARP - 1 の DEV D 若しくは GDEV D G 領域に結合することができる、及び / 又は該領域を切断から保護することができる、請求項 118 又は 119 に記載の化合物。

【請求項 121】

前記化合物が、16 ~ 18 個のアミノ酸を有するペプチド、又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物を含む、請求項 118 から 120 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 122】

配列番号 15 又は配列番号 16 のアミノ酸配列を含む、請求項 121 に記載の化合物。

【請求項 123】

前記ペプチドが、前記 PARP - 1 の DEV D 又は GDEV D G 領域に結合する 4 ~ 6 アミノ酸配列、及び / 又は PARP 切断を阻害する 4 ~ 6 アミノ酸配列を含む、請求項 121 又は 122 に記載の化合物。

【請求項 124】

前記化合物が、請求項 1 から 36 及び請求項 61 から 83 及び請求項 104 から 113 に記載の化合物である、請求項 118 から 123 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 125】

好氣的解糖阻害剤を含む、又は更に含む、請求項 118 から 124 のいずれか一項に記

載の化合物。

【請求項 1 2 6】

前記好氣的解糖阻害剤が 2 - デオキシグルコース (2 - D O G) を含む、請求項 1 2 5 に記載の化合物。

【請求項 1 2 7】

更に薬剤担体、希釈剤又は賦形剤を含む、請求項 1 1 8 から 1 2 6 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 2 8】

前記化合物が、放射線療法及び / 又は手術の使用を更に含む治療計画に使用される、請求項 1 1 8 から 1 2 7 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 2 9】

前記癌が、乳癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膀胱癌、卵巣癌、子宮体癌、子宮頸癌、頭頸部癌、胃癌、膵癌、食道癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、悪性黒色腫、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肉腫又は神経膠腫の 1 つ以上を含む、請求項 1 1 8 から 1 2 8 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 3 0】

前記癌が複数の癌又は転移性癌を含む、請求項 1 1 8 から 1 2 9 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 3 1】

癌の治療用医薬品の製造における請求項 1 1 8 から 1 3 0 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【請求項 1 3 2】

ポリ (A D P - リボース) ポリメラーゼ 1 (P A R P - 1) 作用物質及び / 又は乳酸デヒドロゲナーゼ A (L D H A) 阻害剤を含む第 1 の治療薬と、好氣的解糖阻害剤を含む第 2 の治療薬とを含む、癌の治療のための併用療法。

【請求項 1 3 3】

前記第 1 と第 2 の治療薬が同時投与用である、請求項 1 3 2 に記載の併用療法。

【請求項 1 3 4】

前記化合物が、P A R P - 1 の D E V D 若しくは G D E V D G 領域に結合することができる、及び / 又は該領域を切断から保護することができる、請求項 1 3 2 又は 1 3 3 に記載の併用療法。

【請求項 1 3 5】

前記化合物が、1 6 ~ 1 8 個のアミノ酸を有するペプチド、又はその塩、誘導體、プロドラッグ若しくは模倣物を含む、請求項 1 3 2 から 1 3 4 のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項 1 3 6】

配列番号 1 6 又は配列番号 3 0 のアミノ酸配列を含む、請求項 1 3 5 に記載の併用療法。

【請求項 1 3 7】

前記ペプチドが、前記 P A R P - 1 の D E V D 又は G D E V D G 領域に結合する 4 ~ 6 アミノ酸配列、及び / 又は P A R P 切断を阻害する 4 ~ 6 アミノ酸配列を含む、請求項 1 3 5 又は 1 3 6 に記載の併用療法。

【請求項 1 3 8】

前記併用療法が、請求項 1 から 3 6 及び請求項 6 1 から 8 3 及び請求項 1 0 4 から 1 1 3 のいずれか一項に記載の化合物を含む、請求項 1 3 2 から 1 3 7 のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項 1 3 9】

前記好氣的解糖阻害剤が 2 - デオキシグルコース (2 - D O G) を含む、請求項 1 3 2 から 1 3 8 のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項 1 4 0】

前記第1及び第2の治療薬が更に薬剤担体、希釈剤又は賦形剤を含む、請求項132から139のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項141】

前記併用療法が、放射線療法及び/又は手術の使用を更に含む治療計画に使用される、請求項132から140のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項142】

前記癌が、乳癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膀胱癌、卵巣癌、子宮体癌、子宮頸癌、頭頸部癌、胃癌、膵癌、食道癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、悪性黒色腫、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肉腫又は神経膠腫の1つ以上を含む、請求項132から141のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項143】

前記癌が複数の癌又は転移性癌を含む、請求項132から144のいずれか一項に記載の併用療法。

【請求項144】

癌の治療用医薬品の製造における請求項132から143のいずれか一項に記載の併用療法の使用。

【請求項145】

ポリ(ADP-リボース)ポリメラーゼ1(PARP-1)作動物質又はPARP-1プロテアーゼ競合的阻害剤を含む、癌の治療のための化合物であって、前記化合物が、合計5又は6個のアミノ酸残基の部分、又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物を含み、前記部分が、

i. 生理pHにおいて正電荷を有することができる側鎖を有する任意の塩基性天然又は非天然アミノ酸残基を含む第2及び第5のアミノ酸残基位置、又は

ii. 生理pHにおいて負電荷を有することができる側鎖を有する任意の酸性天然又は非天然アミノ酸残基を含む第2及び第5のアミノ酸残基位置を有する、化合物。

【請求項146】

前記i.の第2及び/又は第5のアミノ酸残基位置がArgを含む、請求項145に記載の化合物。

【請求項147】

前記ii.の第2及び/又は第5のアミノ酸残基位置がAspを含む、請求項145又は146に記載の化合物。

【請求項148】

前記ii.の第2及び/又は第5のアミノ酸残基位置がGlx及び/又はHcaを含む、請求項145又は146に記載の化合物。

【請求項149】

前記化合物が、前記PARP-1のDEV D若しくはGDEV D G領域に結合することができる、及び/又は該領域を切断から保護することができる、又は前記PARP-1のDEV D若しくはGDEV D G領域を模倣することができる、請求項145から148のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項150】

前記化合物が、16~18個のアミノ酸を有するペプチド、又はその塩、誘導体、プロドラッグ若しくは模倣物を含む、請求項145から149のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項151】

前記PARP-1プロテアーゼがカスパーゼを含む、請求項145から150のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項152】

前記カスパーゼがカスパーゼ-3である、請求項151に記載の化合物。

【請求項153】

前記化合物が、請求項 1 から 3 6 及び請求項 6 1 から 8 3 及び請求項 1 0 4 から 1 1 3 のいずれか一項に記載の化合物である、請求項 1 4 5 から 1 5 0 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 5 4】

好氣的解糖阻害剤を含む、又は更に含む、請求項 1 4 5 から 1 5 3 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 5 5】

前記好氣的解糖阻害剤が 2 - デオキシグルコース (2 - D O G) を含む、請求項 1 5 4 に記載の化合物。

【請求項 1 5 6】

更に薬剤担体、希釈剤又は賦形剤を含む、請求項 1 4 5 から 1 5 5 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 5 7】

前記化合物が、放射線療法及び / 又は手術の使用を更に含む治療計画に使用される、請求項 1 4 5 から 1 5 6 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 5 8】

前記癌が、乳癌、前立腺癌、結腸直腸癌、膀胱癌、卵巣癌、子宮体癌、子宮頸癌、頭頸部癌、胃癌、膵癌、食道癌、小細胞肺癌、非小細胞肺癌、黒色腫、悪性黒色腫、神経芽細胞腫、白血病、リンパ腫、肉腫又は神経膠腫の 1 つ以上を含む、請求項 1 4 5 から 1 5 6 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 5 9】

前記癌が複数の癌又は転移性癌を含む、請求項 1 4 5 から 1 5 8 のいずれか一項に記載の化合物。

【請求項 1 6 0】

癌の治療用医薬品の製造における請求項 1 4 5 から 1 5 9 のいずれか一項に記載の化合物の使用。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/068056

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12N9/10 C07K7/64 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K C12N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 02/45720 A1 (SLOAN KETTERING INST CANCER [US]; MARTIN DANIEL S [US]; BERTINO JOSEPH) 13 June 2002 (2002-06-13) Abstract; p. 6, l. 3-8; Figures 1-3; claims. ----- -/--	1-60
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
* Special categories of cited documents :		
<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>		<p>"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</p> <p>"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</p> <p>"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</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
Date of the actual completion of the international search 23 September 2015		Date of mailing of the international search report 27/10/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040 Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer López García, F

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/068056

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>KEITH A MENEAR ET AL: "4- not 3-(4-Cyclopropanecarbonylpiperazine-1-carbonyl)-4-fluorobenzyl]-2H-phthalazin-1-on: A Novel Bioavailable Inhibitor of Poly(ADP-ribose) Polymerase-1", JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, US, vol. 51, no. 20, 1 January 2008 (2008-01-01), pages 6581-6591, XP002662305, ISSN: 0022-2623, DOI: 10.1021/JM8001263 [retrieved on 2008-09-19] cited in the application the whole document</p>	1-60
A	<p>WO 2014/055836 A2 (RES DEV FOUNDATION [US]) 10 April 2014 (2014-04-10) Abstract; par. 105, 197; Fig. 7b</p>	1-60
A,P	<p>WARENIUS HILMAR M: "GLOBAL ANTICANCER TARGETS: STILL A POSSIBILITY?", ANTICANCER RESEARCH - INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER RESEARCH AND TREATMENT, INTERNATIONAL INSTITUTE OF ANTICANCER RESEARCH, GR, vol. 34, no. 10, 1 October 2014 (2014-10-01), pages 6241-6242, XP009186051, ISSN: 0250-7005 the whole document</p>	1-60
X	<p>HILMAR M WARENIUS ET AL: "Selective anticancer activity of a hexapeptide with sequence homology to a non-kinase domain of Cyclin Dependent Kinase 4", MOLECULAR CANCER, BIOMED CENTRAL, LONDON, GB, vol. 10, no. 1, 13 June 2011 (2011-06-13), page 72, XP021100616, ISSN: 1476-4598, DOI: 10.1186/1476-4598-10-72 cited in the application</p>	30,31
A	<p>Abstract; Tables 2-4</p>	1-29, 32-60
A	<p>WO 2009/112536 A1 (THERYTE LTD [GB]; WARENIUS HILMAR MEEK [GB]; PRIMROSE WILLIAM URE [GB]) 17 September 2009 (2009-09-17) cited in the application Abstract; table 2; claim 23</p>	1-60
	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2015/068056

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DEROSI D (REPRINT) ET AL: "Trojan peptides: the penetratin system for intracellular delivery", TRENDS IN CELL BIOLOGY, ELSEVIER SCIENCE LTD, XX, vol. 8, no. 2, 1 February 1998 (1998-02-01), pages 84-87, XP002122131, ISSN: 0962-8924, DOI: 10.1016/S0962-8924(97)01214-2 cited in the application Abstract; Fig. 1, peptide W/R. -----	1-60
A	AMIR NASROLAHI SHIRAZI ET AL: "Efficient Delivery of Cell Impermeable Phosphopeptides by a Cyclic Peptide Amphiphile Containing Tryptophan and Arginine", MOLECULAR PHARMACEUTICS, vol. 10, no. 5, 6 May 2013 (2013-05-06), pages 2008-2020, XP055213641, ISSN: 1543-8384, DOI: 10.1021/mp400046u cited in the application Abstract; peptide [WR]4 -----	1-60
X	WO 2014/004935 A2 (SISCAPA ASSAY TECHNOLOGIES INC [US]) 3 January 2014 (2014-01-03)	30-32
A	Abstract; SEQ ID. No.: 45 -----	1-29, 33-60

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/068056

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0245720 A1	13-06-2002	AU 3656902 A	18-06-2002
		CA 2436847 A1	13-06-2002
		EP 1349555 A1	08-10-2003
		WO 0245720 A1	13-06-2002

WO 2014055836 A2	10-04-2014	AU 2013326933 A1	02-04-2015
		CA 2885376 A1	10-04-2014
		EP 2904004 A2	12-08-2015
		US 2014140976 A1	22-05-2014
		US 2014314760 A1	23-10-2014
		US 2015010556 A1	08-01-2015
		WO 2014055836 A2	10-04-2014

WO 2009112536 A1	17-09-2009	EP 2260098 A1	15-12-2010
		US 2011158956 A1	30-06-2011
		WO 2009112536 A1	17-09-2009

WO 2014004935 A2	03-01-2014	AU 2013284452 A1	19-02-2015
		CA 2878094 A1	03-01-2014
		EP 2867662 A2	06-05-2015
		US 2015108344 A1	23-04-2015
		WO 2014004935 A2	03-01-2014

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I		テーマコード(参考)
C 1 2 N 9/99 (2006.01)	C 1 2 N	9/99	4 C 0 8 6
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P 35/04 (2006.01)	A 6 1 P	35/04	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K 38/12 (2006.01)	A 6 1 K	38/12	
A 6 1 K 38/15 (2006.01)	A 6 1 K	38/15	
A 6 1 K 31/7004 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K 41/00 (2006.01)	A 6 1 K	31/7004	
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	A 6 1 K	41/00	
G 0 1 N 21/64 (2006.01)	G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N 21/78 (2006.01)	G 0 1 N	21/64	F
	G 0 1 N	21/78	C

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

Fターム(参考) 2G054 AA08 AB03 BA03 BA04 BB08 BB12 BB13 CA28 CB01 CD03
 CE02 CE08 EA01 EA03 EA06 EB03 FA36 FB07 GA04 GB02
 JA06 JA10
 4B050 DD07 GG06 LL01
 4B063 QA01 QA05 QA18 QQ08 QQ24 QQ28 QQ79 QR04 QR08 QR48
 QR58 QS28 QX01
 4C084 AA02 AA11 AA19 BA01 BA02 BA08 BA18 BA25 BA27 BA28
 CA59 DC01 DC23 DC25 DC29 MA52 MA55 NA05 NA14 ZB261
 ZB262 ZC201 ZC202 ZC751 ZC752
 4C086 AA01 AA02 EA01 MA01 MA02 MA04 MA52 MA55 NA05 NA14
 ZB26 ZC20 ZC75
 4H045 AA10 AA30 BA17 BA30 BA51 DA55 EA28 EA50 FA33