

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6839490号
(P6839490)

(45) 発行日 令和3年3月10日(2021.3.10)

(24) 登録日 令和3年2月17日(2021.2.17)

(51) Int.Cl.	F 1
A 6 1 K 38/07	(2006.01)
A 6 1 P 1/04	(2006.01)
A 6 1 P 21/00	(2006.01)
A 6 1 P 25/00	(2006.01)
A 6 1 P 25/08	(2006.01)
	A 6 1 K 38/07
	A 6 1 P 1/04
	A 6 1 P 21/00
	A 6 1 P 25/00
	A 6 1 P 25/08

請求項の数 3 (全 43 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2015-560380 (P2015-560380)
(86) (22) 出願日	平成26年2月28日(2014.2.28)
(65) 公表番号	特表2016-511260 (P2016-511260A)
(43) 公表日	平成28年4月14日(2016.4.14)
(86) 國際出願番号	PCT/US2014/019645
(87) 國際公開番号	W02014/134562
(87) 國際公開日	平成26年9月4日(2014.9.4)
審査請求日	平成29年2月27日(2017.2.27)
審判番号	不服2019-9635 (P2019-9635/J1)
審判請求日	令和1年7月19日(2019.7.19)
(31) 優先権主張番号	61/771,534
(32) 優先日	平成25年3月1日(2013.3.1)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)

(73) 特許権者	515238828 ステルス バイオセラピューティックス コーブ モナコ エムシー98000 モナコ ア ヴェニュ デ シトロニエ 3-5 ル プランス ドゥ ガル セカンド フロア
(74) 代理人	100094569 弁理士 田中 伸一郎
(74) 代理人	100103610 弁理士 ▲吉▼田 和彦
(74) 代理人	100109070 弁理士 須田 洋之
(74) 代理人	100119013 弁理士 山崎 一夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】ミトコンドリア疾患の治療のための方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

リー症候群を治療するのに使用するための、治療有効量のペプチド D - A r g - 2' , 6' - D m t - L y s - P h e - N H₂ またはその薬学的に許容される塩を含む組成物であって、前記ペプチドが、前記リー症候群の少なくとも 1 つの症状を軽減または改善し、前記リー症候群が、S U R F 1 遺伝子変異に関連していることを特徴とする、組成物。

【請求項 2】

前記治療が、成長不良、筋協調の喪失、筋力低下、神経障害、てんかん発作、心疾患、胃腸障害、発育障害、呼吸器問題、乳酸アシドーシス、嚥下困難からなる群から選択される 1 つ以上の症状を軽減または改善する、請求項 1 に記載の組成物。

10

【請求項 3】

前記ペプチドが、経口投与、局所投与、全身投与、静脈内投与、皮下投与、腹腔内投与、または筋肉内投与のために製剤化されている、請求項 1 に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

(関連出願の相互参照)

本出願は、2013年3月1日出願の米国仮特許出願第 6 1 / 7 7 1 , 5 3 4 号及び 2013年3月1日出願の同第 6 1 / 7 7 1 , 6 4 2 号の優先権を主張するものであり、これらはいずれも、参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる。

20

【0002】

(技術分野)

本技術は、概して、ミトコンドリア機能の破壊及び／またはミトコンドリア機能の破壊の症状を予防、改善、または治療するための組成物及び方法に関する。具体的には、本発明の技術の実施形態は、過剰遺伝子座タンパク質1（S U R F 1）遺伝子またはD N Aポリメラーゼガンマ（P O L G）遺伝子の変異に関連するミトコンドリア疾患または障害を患っている対象、またはそれにかかりやすい対象に見られる細胞中のミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊またはその症状を予防、治療、または改善するのに有効な量で芳香族カチオン性ペプチドを投与することに関する。

【背景技術】

10

【0003】

次の説明は、読者の理解の助けとなるように提供される。提供される情報または引用される参考文献のいずれも、先行技術とは認められない。

【0004】

ミトコンドリア（M i t o c h o n d r i a）（ミトコンドリア（mitochondrion）の複数形）は、とりわけ、ミトコンドリアが生命を維持し成長を支援するために体が必要とするエネルギーの90%超の作成に関与するため、細胞の「パワープラント」といわれることもある。ミトコンドリアは、体内のほぼ全ての細胞において見られる小器官であり、細胞エネルギーの90%超の作成に関与する。それらは、生命を維持し成長を支援するために体内に必要である。エネルギーを作り出すことに加えて、ミトコンドリアは、ステロイドホルモンを作り出すこと及びD N Aの基本単位を製造すること等の様々な他の活動にも深く関与している。ミトコンドリア不全は、細胞死をもたらす細胞損傷を引き起こす。

20

【0005】

ミトコンドリア疾患は、小児癌とほぼ同程度に一般的である。毎年米国で生まれる小児の約4000人に1人が、10歳になるまでにミトコンドリア障害を発症する。成人では、老化現象の多くの疾患がミトコンドリア機能の欠損を有することがわかっている。これらは、2型糖尿病、パーキンソン病、アテローム動脈硬化性心疾患、脳卒中、アルツハイマー病、及び癌を含むが、これらに限定されない。加えて、薬物選択がミトコンドリアを損傷し得る。

30

【0006】

複数の形態のミトコンドリア疾患が存在する。ミトコンドリア疾患は、細胞のミトコンドリアが細胞または器官機能に十分なエネルギーを生成することができなかった場合に起こる慢性の遺伝的障害として現れ得る。実際に、多くの患者にとっては、ミトコンドリア疾患は、家族内（遺伝子）で発症する遺伝性疾患である。ミトコンドリア疾患は、例えば、常染色体遺伝、ミトコンドリアD N A（m t D N A）遺伝、及びその組み合わせの多数の異なる方法で遺伝する。例えば、S U R F 1及び／またはP O L G遺伝子の変異は、ヒトにおけるミトコンドリア疾患の一因となり得る。加えて、幾人かの患者は、ミトコンドリア毒素を含む他の要因が原因でミトコンドリア機能障害または疾患に感染する。

【0007】

40

ミトコンドリア疾患は、個体から個体に大きく異なって症状が見つかる。ミトコンドリア系疾患のための治療法は存在しない。治療は、概して、疾患症状を改善するための対症療法的なものである。治療は、しばしば、ビタミン療法及びエネルギー温存を含む。治療は、特別な食事療法及び／またはビタミンと、体内の任意のストレスを軽減することとの組み合わせを含み得る。

【発明の概要】**【0008】**

本技術は、有効治療量のD - A r g - 2' , 6' - D m t - L y s - P h e - N H₂等の芳香族カチオン性ペプチド、または酢酸塩またはトリフルオロ酢酸塩等のその薬学的に許容される塩の、それを必要とする対象への投与を通じて、例えば、哺乳類または哺乳類

50

細胞の S U R F 1 遺伝子または P O L G 遺伝子における変異に関する状態等の、ミトコンドリア疾患及びその症状の予防、治療、または改善に関する。いくつかの態様では、本技術は、S U R F 1 遺伝子または P O L G 遺伝子の変異に関するミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊の予防、治療、または改善を必要とする対象、またはそれを必要とする哺乳類細胞において、本明細書に開示される芳香族カチオン性ペプチドを投与することによって、予防、治療、または改善することに関する。いくつかの実施形態では、哺乳類対象は、ミトコンドリア遺伝子変異に関するミトコンドリア機能障害を特徴とする疾患または状態の危険性があるか、またはそれを患っているか、またはその危険性が高い。いくつかの実施形態では、対象は、ミトコンドリア機能に影響する遺伝子変異を特徴とする疾患または状態を患っているか、またはその危険性が高い。いくつかの実施形態では、ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊は、少なくとも 1 つの遺伝子変異に関する。いくつかの実施形態では、対象は、S U R F 1 の変異を特徴とする疾患または状態を患っているか、またはそれが高い。いくつかの実施形態では、対象は、P O L G の変異を特徴とする疾患または状態を患っているか、またはそれが高い。

【 0 0 0 9 】

いくつかの実施形態では、哺乳類細胞は、インサイチュ (i n s i t u) またはエキソビオ (e x v i v o) のいずれかである。いくつかの実施形態では、ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊は、複合体 I 、複合体 I I 、複合体 I I I 、複合体 I V 、及び複合体 V 及びその組み合わせ等の少なくとも 1 つのミトコンドリアポリペプチドの完全会合体の機能障害に起因する。いくつかの実施形態では、ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊は、ミトコンドリア超複合体会合体の機能障害に起因する。

【 0 0 1 0 】

ミトコンドリア疾患または障害の治療または改善を必要とする対象におけるミトコンドリア疾患または障害の治療または改善するための方法が更に本明細書に開示され、この方法は、ペプチド D - A r g - 2 ' , 6 ' - D m t - L y s - P h e - N H₂ またはその薬学的に許容される塩の治療有効量を投与し、それによりミトコンドリア疾患または状態の少なくとも 1 つの症状を治療または改善することを含む。

【 0 0 1 1 】

いくつかの実施形態では、ミトコンドリア疾患の症状は、予防、治療、または改善される。本開示の方法のいくつかの実施形態では、ミトコンドリア疾患、状態、または障害の症状は、成長不良、筋協調の喪失、筋力低下、神経障害、てんかん発作、自閉症、自閉症スペクトラム障害、自閉症的特徴、学習障害、心疾患、肝疾患、腎疾患、胃腸障害、重度の便秘症、糖尿病、感染リスクの増加、甲状腺機能障害、副腎機能障害、自律神経障害、錯乱、失見当識、記憶喪失、成長不良、発育障害、協調不良、感覚（視覚、聴覚）問題、精神機能の低下、臓器疾患、認知症、呼吸器問題、低血糖症、無呼吸、乳酸アシドーシス、てんかん発作、嚥下困難、発達遅延、運動障害（ジストニア、筋痙攣、振戦、舞蹈病）、脳卒中、及び脳萎縮症のうちのいずれか 1 つ以上を含み得る。

【 0 0 1 2 】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、ミトコンドリア疾患または状態は、リー症候群、アルパース病、運動失調ニューロパシー障害、及び進行性外眼筋麻痺のうちの 1 つ以上を含み得る。

【 0 0 1 3 】

本開示の方法のいくつかの実施形態では、ミトコンドリア疾患または状態は、少なくとも 1 つの遺伝子変異に関する。本開示の方法のいくつかの実施形態では、遺伝子変異は、S U R F 1 または P O L G 遺伝子のうちの 1 つ以上に位置する。

【 0 0 1 4 】

いくつかの態様では、哺乳類細胞の脱共役比を増加させるための方法が提供される。いくつかの実施形態では、その方法は、細胞を、ペプチド D - A r g - 2 ' , 6 ' - D m t - L y s - P h e - N H₂ またはその薬学的に許容される塩の治療有効量と接触させ、それにより細胞の脱共役比を増加させることを含む。いくつかの実施形態では、細胞は、ヒ

10

20

30

40

50

ト細胞である。いくつかの実施形態では、細胞は、ヒト対象である。

【0015】

いくつかの態様では、本開示は、ミトコンドリア疾患または状態またはその症状を予防、治療、または改善するための方法を提供し、治療有効量の芳香族カチオン性ペプチドまたはその薬学的に許容される塩、例えば、D - A r g - 2' , 6' - D m t - L y s - P h e - N H₂、または酢酸塩またはトリフルオロ酢酸塩等のその薬学的に許容される塩を、それを必要とする対象に投与することを含む。いくつかの実施形態では、本方法は、1つ以上の更なる治療剤の投与を更に含む。いくつかの実施形態では、芳香族カチオン性ペプチドは、

少なくとも1つの正味正電荷、

10

最低でも4つのアミノ酸、

最大で約20のアミノ酸、

正味正電荷(p_m)の最小数と、 $3 p_m$ が $r + 1$ 以下である最大数であるアミノ酸残基(r)の合計数との間の関係性；及び、 a が1であり、 p_t がまた1であり得ることを除いて、芳香族基(a)の最小数と、 $2 a$ が $p_t + 1$ 以下である最大数である正味正電荷(p_t)の合計数との間の関係性を有するペプチドである。特定の実施形態では、対象は、ヒトである。

【0016】

いくつかの実施形態では、 $2 p_m$ は、 $r + 1$ 以下である最も大きい数であり、 p_t に等しくてもよい。芳香族カチオン性ペプチドは、最低でも2つまたは最低でも3つの正電荷を有する水溶性ペプチドであり得る。いくつかの実施形態では、ペプチドは、例えば、1つ以上のD-アミノ酸等の1つ以上の天然に存在するアミノ酸を含む。いくつかの実施形態では、C-末端のアミノ酸のC-末端カルボキシル基は、アミド化される。ある実施形態では、ペプチドは、最低でも4つのアミノ酸を有する。ペプチドは、最大で約6、最大で約9、または最大で約12のアミノ酸を有し得る。

20

【0017】

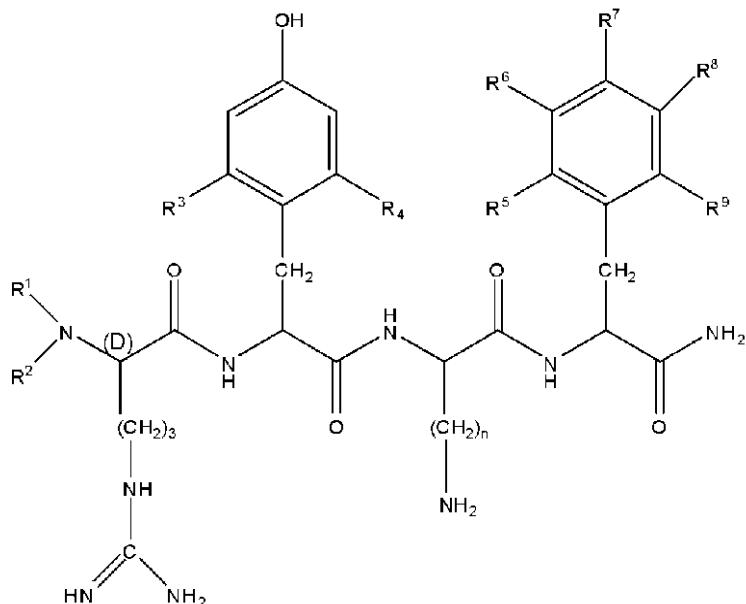
いくつかの実施形態では、ペプチドは、チロシンか、またはN-末端の2' , 6' -ジメチルチロシン(Dmt)残基を含む。例えば、ペプチドは、式T y r - D - A r g - P h e - L y s - N H₂または2' , 6' - D m t - D - A r g - P h e - L y s - N H₂を有し得る。別の実施形態では、ペプチドは、フェニルアラニンまたはN-末端の2' , 6' -ジメチルフェニルアラニン残基を含む。例えば、ペプチドは、式P h e - D - A r g - P h e - L y s - N H₂または2' , 6' - D m p - D - A r g - P h e - L y s - N H₂を有し得る。特定の実施形態では、芳香族カチオン性ペプチドは、式D - A r g - 2' , 6' - D m t - L y s - P h e - N H₂または酢酸塩またはトリフルオロ酢酸塩等のその薬学的に許容される塩を有する。

30

【0018】

一実施形態では、ペプチドは、式I：

【化1】



10

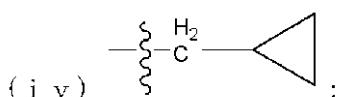
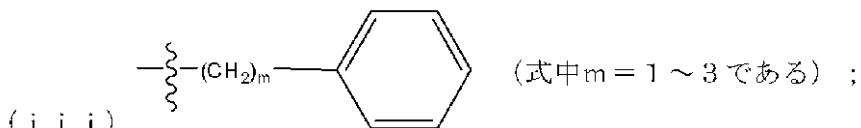
【0019】

によって定義され、式中 R¹及び R²は、それぞれ独立して、

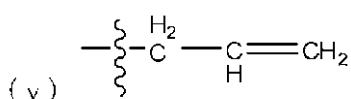
20

- (i) 水素；
 (i i) 直鎖または分岐鎖 C₁ ~ C₆ アルキル；

【化2】



30



から選択され；

R³及び R⁴は、それぞれ独立して、

- (i) 水素；
 (i i) 直鎖または分岐鎖 C₁ ~ C₆ アルキル；

40

- (i i i) C₁ ~ C₆ アルコキシ；

- (i v) アミノ；

- (v) C₁ ~ C₄ アルキルアミノ；

- (v i) C₁ ~ C₄ ジアルキルアミノ；

- (v i i) ニトロ；

- (v i i i) ヒドロキシル；

(i x) ハロゲン（「ハロゲン」は、クロロ、フルオロ、ブロモ、及びヨードを包含する）から選択され；

R⁵、R⁶、R⁷、R⁸及び R⁹は、それぞれ独立して、

- (i) 水素；

- (i i) 直鎖または分岐鎖 C₁ ~ C₆ アルキル；

50

(i i i) C₁ ~ C₆ アルコキシ ;
 (i v) アミノ ;
 (v) C₁ ~ C₄ アルキルアミノ ;
 (v i) C₁ ~ C₄ ジアルキルアミノ ;
 (v i i) ニトロ ;
 (v i i i) ヒドロキシル ;
 (i x) ハロゲン (「ハロゲン」は、クロロ、フルオロ、ブロモ、及びヨードを包含する) から選択される ;
 n は、1 ~ 5 の整数である。

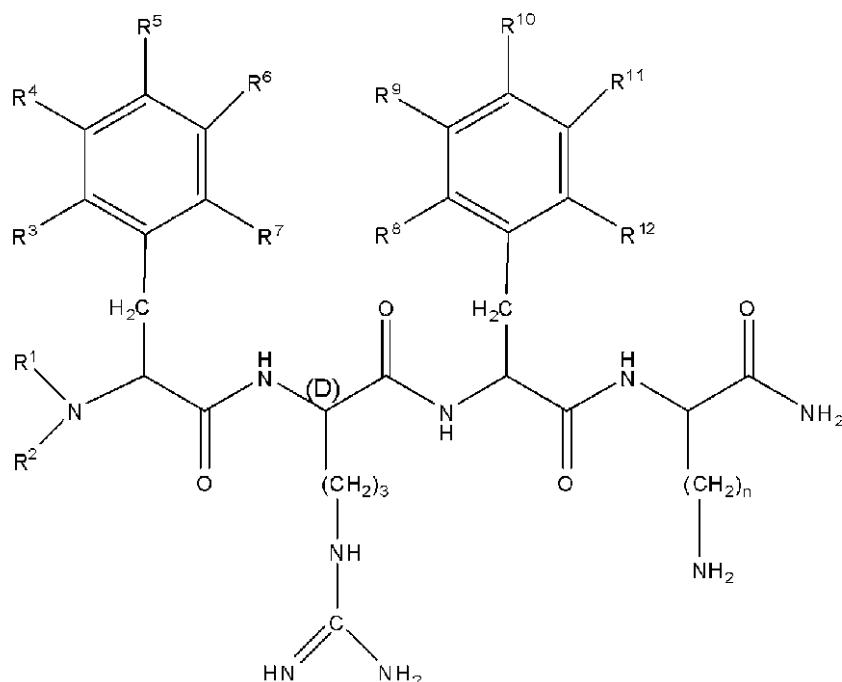
【0020】

特定の実施形態では、R¹ 及び R² は、水素であり；R³ 及び R⁴ は、メチルであり；R⁵、R⁶、R⁷、R⁸、及び R⁹ は、全て水素であり；n は、4 である。

【0021】

一実施形態では、ペプチドは、式 I I :

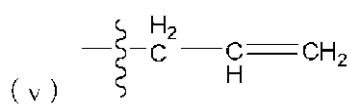
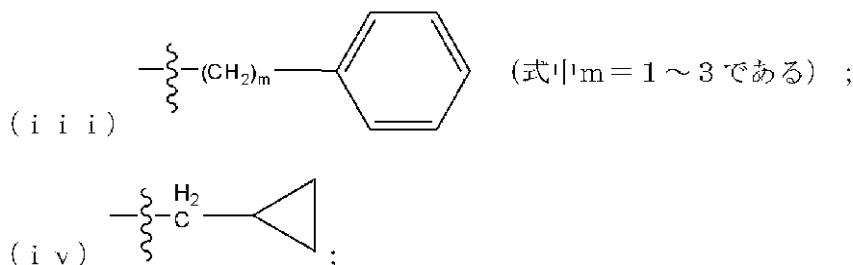
【化3】



によって定義され、R¹ 及び R² は、

- (i) 水素 ;
- (i i) 直鎖または分岐鎖 C₁ ~ C₆ アルキル ;

【化4】



10

20

30

40

50

から選択され；

R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、及び R^{12} は、それぞれ独立して、

(i) 水素；

(i i) 直鎖または分岐鎖 $C_1 \sim C_6$ アルキル；

(i i i) $C_1 \sim C_6$ アルコキシ；

(i v) アミノ；

(v) $C_1 \sim C_4$ アルキルアミノ；

(v i) $C_1 \sim C_4$ ジアルキルアミノ；

(v i i) ニトロ；

(v i i i) ヒドロキシル；

(i x) ハロゲン（「ハロゲン」は、クロロ、フルオロ、ブロモ、及びヨードを包含する）から選択され；

nは、1～5の整数である。

【0022】

特定の実施形態では、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、 R^{10} 、 R^{11} 、及び R^{12} は、全て水素であり、nは、4である。別の実施形態では、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 、 R^6 、 R^7 、 R^8 、 R^9 、及び R^{11} は、全て水素であり、 R^8 及び R^{12} は、メチルであり、 R^{10} は、ヒドロキシルであり、nは、4である。

【0023】

芳香族カチオン性ペプチドは、様々な方法で投与され得る。いくつかの実施形態では、ペプチドは、経口的に、局所的に、鼻腔内に、腹腔内に、静脈内に、皮下に、または経皮的に（例えばイオントフォレシスによって）投与され得る。いくつかの実施形態では、芳香族カチオン性ペプチドは、冠内経路または動脈内経路によって投与される。

【0024】

一実施形態では、本技術は、本明細書に開示される芳香族カチオン性ペプチドを投与することによって、ミトコンドリア疾患または状態またはその症状の予防、治療、または改善を必要とする哺乳類対象におけるミトコンドリア疾患または状態またはその症状の予防、治療、または改善するための方法、及び／またはミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊の治療、予防、または改善を必要とする対象におけるミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊を治療、予防、または改善するための方法を提供し、本方法は、ペプチド D - Arg - 2' , 6' - Dmt - Lys - Phe - NH₂または酢酸塩またはトリフルオロ酢酸塩等のその薬学的に許容される塩の治療有効量を投与し、それによりミトコンドリア疾患、欠損、または状態、及び／またはその徵候または症状を改善または治療することを含む。一実施形態では、本方法は、1つ以上の更なる治療剤を対象に投与するステップを更に含む。一実施形態では、哺乳類対象は、ミトコンドリア機能障害を特徴とする疾患または状態の危険性があるか、またはそれを患っているか、またはその危険性が高い。いくつかの実施形態では、対象は、ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊を患っているか、またはその危険性が高い。いくつかの実施形態では、対象は、ミトコンドリア機能に影響する遺伝子変異を特徴とする疾患または状態を患っているか、またはそれが高い。いくつかの実施形態では、対象は、SURF1の変異を特徴とする疾患または状態を患っているか、またはそれが高い。いくつかの実施形態では、対象は、POLGの変異を特徴とする疾患または状態を患っているか、またはそれが高い。いくつかの実施形態では、対象は、本明細書に開示される芳香族カチオン性ペプチドを投与することによって治療される。

【0025】

別の態様では、本技術は、リー症候群の治療を必要とする対象におけるリー症候群を治療するための方法に関し、本方法は、治療有効量のペプチド D - Arg - 2' , 6' - Dmt - Lys - Phe - NH₂またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む。

【0026】

別の態様では、本技術は、アルバース病の治療を必要とする対象におけるアルバース病を治療するための方法に関し、本方法は、治療有効量のペプチド D - Arg - 2' , 6'

10

20

30

40

50

- D m t - L y s - P h e - N H 2 またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む。

【 0 0 2 7 】

別の態様では、本技術は、運動失調ニューロパチー障害の治療を必要とする対象における運動失調ニューロパチー障害を治療するための方法に関し、本方法は、治療有効量のペプチド D - A r g - 2 ' , 6 ' - D m t - L y s - P h e - N H 2 またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む。

【 0 0 2 8 】

別の態様では、本技術は、進行性外眼筋麻痺を必要とする対象における進行性外眼筋麻痺を治療するための方法に関し、本方法は、治療有効量のペプチド D - A r g - 2 ' , 6 ' - D m t - L y s - P h e - N H 2 またはその薬学的に許容される塩を投与することを含む。

10

【 0 0 2 9 】

いくつかの実施形態では、上述の治療方法のうちのいずれか1つが、成長不良、筋協調の喪失、筋力低下、神経障害、てんかん発作、自閉症、自閉症スペクトラム障害、自閉症的特徴、学習障害、心疾患、肝疾患、腎疾患、胃腸障害、重度の便秘症、糖尿病、感染リスクの増加、甲状腺機能障害、副腎機能障害、自律神経障害、錯乱、失見当識、記憶喪失、成長不良、発育障害、協調不良、感覚（視覚、聴覚）問題、精神機能の低下、臓器疾患、認知症、呼吸器問題、低血糖症、無呼吸、乳酸アシドーシス、てんかん発作、嚥下困難、発達遅延、運動障害（ジストニア、筋痙攣、振戦、舞蹈病）、脳卒中、及び脳萎縮症からなる群から選択される1つ以上の症状を軽減または改善する。

20

【 0 0 3 0 】

いくつかの実施形態では、上述の治療方法のうちのいずれか1つのペプチドが、経口的に、局所的に、系統的に、静脈内に、皮下に、腹腔内に、または筋肉内に投与される。

【 0 0 3 1 】

いくつかの実施形態では、リー症候群は、S U R F 1 遺伝子変異に関連する。いくつかの実施形態では、S U R F 1 変異は、複合体 I 、複合体 I I 、複合体 I I I 、複合体 I V 、及び複合体 V からなる群から選択される少なくとも1つのミトコンドリア複合体の完全会合体の機能障害に起因するミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊をもたらす。

30

【 0 0 3 2 】

いくつかの実施形態では、アルパース病、運動失調ニューロパチー障害、または進行性外眼筋麻痺の対象は、ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊をもたらすP O L G 変異を有する。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 3 3 】

【図1】S U R F 1 変異の対象における複合体 I V 単量体O X P H O S 酵素会合体を示す電気泳動ゲルである。

【図2A-G】変異S U R F 1 またはP O L G を発現する形質転換線維芽細胞におけるO X P H O S 能力へのS S - 3 1 の効果を示すチャートである。図中の「ステルス2」は、S U R F 1 変異体を担持する線維芽細胞株の名称であり、図中の「ステルス4」は、P O L G 変異体を担持する線維芽細胞株の名称である。

40

【図3A-G】変異P O L G (細胞株「ステルス4」)を発現する形質転換線維芽細胞におけるO X P H O S 能力へのS S - 3 1 の効果を示すチャートである。

【図4】例示的なP O L G 変異のリストを提供する。

【図5】P O L G の構造モデルを提供する。

【図6】S U R F 1 変異を有する対象における複合体 I V 単量体O X P H O S 酵素会合体を示す電気泳動ゲルである。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 3 4 】

本発明の特定の態様、様式、実施形態、多様性、及び特徴が、本発明の実質的理解を提

50

供するために様々なレベルの詳細で以下に説明されることを理解されたい。本明細書に使用されるときの特定の用語の定義が、以下に提供される。別段に定義されない限り、本明細書に使用される全ての専門用語及び科学用語は、概して、本発明が属する当業者によって通常理解されている意味と同一の意味を有する。

【0035】

本発明を実践する際に、分子生物学、タンパク質生化学、細胞生物学、免疫学、微生物学、及び組換えDNAにおける多数の従来技術が使用される。これらの技術は、周知であり、例えは、それぞれ、Current Protocols in Molecular Biology, Vols. I - III, Ausubel, Ed. (1997); Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Ed. (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989); DNA Cloning: A Practical Approach, Vols. I and II, Glover, Ed. (1985); Oligonucleotide Synthesis, Gait, Ed. (1984); Nucleic Acid Hybridization, Hames & Higgins, Eds. (1985); Transcription and Translation, Hames & Higgins, Eds. (1984); Animal Cell Culture, Freshney, Ed. (1986); Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press, 1986); Perbal, A Practical Guide to Molecular Cloning; シリーズ、Meth. Enzymol., (Academic Press, Inc., 1984); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells, Miller & Calos, Eds. (Cold Spring Harbor Laboratory, NY, 1987); 及びMeth. Enzymol., Vols. 154 and 155, Wu & Grossman, and Wu, Eds., に説明されている。
10

【0036】

本明細書及び添付特許請求の範囲において使用されるとき、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、及び「前記(the)」は、別途明示的に示されない限り、複数の指示対象を含む。例えは、「1つの細胞(a cell)」への言及は、2つ以上の細胞の組み合わせ等を含む。
30

【0037】

本明細書で使用されるとき、対象への薬剤、薬物、またはペプチドの「投与」は、対象に化合物を導入または送達してその意図する機能を実施する、任意の経路を含む。投与は、経口的、鼻腔内、非経口的（静脈内、筋肉内、腹腔内、または皮下）、または局所的を含む任意の好適な経路によって実行することができる。いくつかの実施形態では、芳香族カチオン性ペプチドは、冠内経路または動脈内経路によって投与される。投与は、自己投与及び別のものによる投与を含む。

【0038】

本明細書で使用されるとき、「アミノ酸」という用語は、天然に存在するアミノ酸及び合成アミノ酸、ならびに天然に存在するアミノ酸と同様の様式で機能するアミノ酸類似体及びアミノ酸ミメティックを含む。天然に存在するアミノ酸は、遺伝暗号によってコードされるもの、ならびに例えは、ヒドロキシプロリン、-カルボキシグルタミン酸、及びO-ホスホセリン等、後に修飾されるこれらのアミノ酸である。アミノ酸類似体は、天然に存在するアミノ酸、すなわち、水素、カルボキシル基、アミノ基、及びR基（例えは、ホモセリン、ノルロイシン、メチオニンスルホキシド、メチオニンメチルスルホニウム）と結合する-炭素と同様の塩基性化学構造を有する化合物を指す。そのような類似体は、修飾R基（例えは、ノルロイシン）または修飾ペプチド主鎖を有するが、天然に存在するアミノ酸のような同じ塩基性化学構造を保持する。アミノ酸ミメティックは、アミノ酸の一般的な化学構造と異なるが、天然に存在するアミノ酸と同様の様式で機能する構造を
40
50

有する化学化合物を指す。アミノ酸は、それらの公知の3文字記号のいずれかによって、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionによって推奨されている1文字の記号によって、本明細書に参照され得る。

【0039】

本明細書で使用されるとき、「有効量」という用語は、所望の治療効果または予防的效果、例えば、SURF1遺伝子またはPOLG遺伝子の変異に関連するミトコンドリア疾患または障害またはその症状、またはSURF1遺伝子またはPOLG遺伝子に関連するミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊に関連する1つ以上の症状の予防または改善をもたらす量、を達成するのに十分な量を指す。治療的用途の状況では、対象に投与される組成物の量は、疾患の種類及び重症度、及び健康全般、年齢、性別、体重及び薬物耐性等の個々の特性に依存するであろう。それはまた、疾患の程度、重症度、及び種類に依存するであろう。当業者であれば、これら及び他の要素に応じて適切な投与量を決定することができる。組成物はまた、1つ以上の更なる治療化合物との組み合わせで投与することができる。本明細書に記載される方法では、芳香族カチオン性ペプチドは、ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊の1つ以上の徴候または症状を有する対象に投与され得る。例えば、芳香族カチオン性ペプチドの「治療有効量」は、ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊の生理的效果が最低限で改善される、手段レベルである。

【0040】

本明細書で使用されるとき、「治療する」または「治療」または「軽減」という用語は、治療用及び予防用の治療及び処置を指し、その目的は、標的とする病理的状態または疾患を、予防または改善、または遅らせる（緩和させる）ことである。例えば、対象が、本明細書に記載の方法に従って芳香族カチオン性ペプチドの治療量を受け取った後に、ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊において観察可能な及び／または可測低下を示す場合に、その対象のSURF1遺伝子またはPOLG遺伝子の変異に関連するミトコンドリア疾患または障害の治療が功を奏している。説明される医療状態及び／またはその症状の治療または予防の種々の様式が、「実質的な」ものであることを意味するように意図され、それは、総合的な治療だけではなく総合的な治療未満のものも含み、いくつかの生物学的または医学的に関連した結果が達成されることもまた理解されたい。

【0041】

本明細書で使用されるとき、障害または状態の「予防」またはそれを「予防する」ことは、統計試料において、未処理の対照試料と比較して処理された試料における障害または状態の症状の発生を低下させる、または未処理の対照試料と比較して障害または状態の1つ以上の症状のオンセットを遅延させるかまたは重症度を軽減させる、化合物を指す。本明細書に使用されるとき、SURF1遺伝子またはPOLG遺伝子の変異に関連するミトコンドリア疾患または障害を予防することは、酸化的損傷を予防することまたはミトコンドリア膜透過性遷移を予防することを含み、それによりミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊の悪影響を予防または改善することを含む。

【0042】

「単離した」または「精製した」ポリペプチドまたはペプチドは、細胞材料または薬剤が由来する細胞または組織供給源からの他の混入ポリペプチドを実質的に含まない、または化学前駆体または化学的に合成された場合他の化学物質を実質的に含まない。例えば、単離芳香族カチオン性ペプチドは、薬剤の診断用または治療用使用と干渉するであろう材料を含まないであろう。そのような干渉材料としては、酵素、ホルモン及び他のタンパク質性及び非タンパク質性溶質が挙げられ得る。

【0043】

本明細書で使用されるとき、「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、本明細書に互換的に使用されて、ペプチド結合または修飾ペプチド結合、すなわち、ペプチドイソスターによって互いに結合する2つ以上のアミノ酸を含むポリマーを意味する。ポリペプチドは、ペプチド、グリコペプチド、またはオリゴマーとして通常

10

20

30

40

50

言及される短鎖、及びタンパク質として一般に言及されるより長い鎖の両方を指す。ポリペプチドは、20の遺伝子コードしたアミノ酸よりもアミノ酸を含有し得る。ポリペプチドは、翻訳後プロセス等の自然プロセスによって、または当該技術分野において周知である化学修飾技術によって、のいずれかで修飾されるアミノ酸配列を含有する。

【0044】

本明細書で使用されるとき、「同時」の治療用の使用という用語は、同じ経路による同時または実質的に同時に少なくとも2つの活性成分の投与を指す。

【0045】

本明細書で使用されるとき、「別個」の治療用の使用という用語は、同時または実質的に同時に異なる経路による少なくとも2つの活性成分の投与を指す。

10

【0046】

本明細書で使用されるとき、「連続」の治療用の使用という用語は、同一または異なる投与経路での、異なる時期での少なくとも2つの活性成分の投与を指す。より具体的には、連続使用とは、他のものの投与または他のものが開始する前の活性成分のうちの1つのものの全投与を指す。したがって、他の活性成分または複数の活性成分を投与する前に、数分、数時間、または数日にわたって活性成分のうちの1つを投与することが、可能である。この場合には、同時治療は、存在しない。

【0047】

ミトコンドリア疾患に関連する変異

SURF1

20

酸化的リン酸化(OXPHOS)は、大部分の細胞型におけるエネルギーのための一次供給源(ATP)としての、細胞レドックスのための対照点、及びピリミジンの合成からアポトーシスの調節までの範囲に及ぶ不可欠な代謝及びシグナル伝達経路のための対照点としての細胞機能に関与している。最適なOXPHOS機能は、電子の効率的かつ迅速な輸送を可能にする、個々のOXPHOS酵素の超複合体への集合を必要とする。超複合体は、次いでATPを合成するために複合体Vによって使用される複合体I、III、及びIVによって生成される電気化学的(プロトン)勾配の効率的な形成を可能にする。ミトコンドリア疾患の多くの場合には、単量体酵素(複合体I～V)及び超複合体会合体の機能障害が、生じる。機能性超複合体は、単一の複合体I酵素、2つの複合体III酵素、及び変動する数の複合体IV酵素(複合体I+III2+IV)、更に可動電子担体CoQ10及びチトクロムcを含有する。複合体IIはまた、複合体I+III2+IV構造にも関連し得る。超複合体の単離中、超複合体の他のクラスが観察される：(1)複合体I+III2+V、(2)複合体I+III2+IV、(3)複合体III+IV。これらの他の超複合体クラスの役割は、具体的には、複合体IVを欠くものは、知られていないが、それらは、機能性超複合体会合体に関与する中間体構造であり得る。

30

【0048】

SURF1は、300のアミノ酸、複合体IVに対して会合因子として機能する9つのエキソン核遺伝子(チトクロムcオキシダーゼ)である。SURF1遺伝子の病原性変異は、典型的に、最重度複合体IV欠損をもたらす。SURF1遺伝子において最も頻繁に遭遇する変異は、リー症候群の共通原因である。SURF1変異に起因するOXPHOS疾患は、常染色体劣性遺伝方式で伝染すると考えられる。

40

【0049】

超複合体形成の複合体IV(チトクロムcオキシダーゼ)を含む遺伝子変異の効果は、SURF1、COX10、及びSCO1変異を内部に持ついくつかの場合に研究されている(Williams et al., J. Biol. Chem., 279(9):7462-69(2004); Diaz et al., Mol. Cell. Biol., 26(13):4872-81(2006); Acin-Perez et al., Mol. Cell., 32(4):529-39(2008)を参照されたい)。SURF1、COX10及びSCO1、複合体IV会合因子の変異は、組織化学的、免疫蛍光法、酵素学、及びタンパク質化学手法によって観察される複合体IV活性の拡散減少によって認識

50

され得る。今までに、これらの遺伝子の変異を有する全ての患者は、超複合体の障害性会合体を示している。

【0050】

SURF1変異の患者の評価は、OXPHOS機能の多様な効果を示す。変異SURF1のOXPHOS超複合体分析及び単量体酵素分析は、次の特徴を示す：

1) (A) 複合体I + III I2、(B) 複合体I + III I2 + IV 1、及び(C) 複合体I + III I2 + IV n (n = 2以上) の減少超複合体形成

2) 単量体複合体IVは、減少会合体を示す高異常性、ならびに高及び低分子量複合体IV構造の異常性である。これらの異常性複合体IV構造は、異常に会合した機能障害性複合体IVを表わす可能性が高い。10

3) 重度の場合には、複合体Vに発症するように思われる。全体的複合体V(ATPシンターゼ)酵素が透明な未変性ゲル内酵素学的分析のために単離される場合、患者は、障害性ATPアーゼ活性を示し得る。この発見は、複合体Vが、SURF1変異の幾人かの患者において二次的に影響され得、したがって、これらの患者間に観察される表現型多様性に寄与することを提唱する。

【0051】

POLG

DNAポリメラーゼガンマ遺伝子、POLGは、ミトコンドリアDNAの複製及び修復に必要とされるDNAポリメラーゼガンマの触媒サブユニットをコードする。POLGにおける変異は、及び文献に何度も報告されており、ホモ接合性変異としてまたは別の変異を伴う化合物ヘテロ接合性変異の両方として、例えば進行性外眼筋麻痺(PEO)、アルパース病、及び構音障害及び眼麻痺を伴う感覚性運動失調ニューロパチー(SANDO)等の多数の疾患及び状態と相關している(Nature Genetics, 28(3): 211-2(2001); Hum. Mol. Genet., 17, 2496-2506(2009); J. Med. Genet., 46, 209-14(2009); J. Inher. Metab. Dis., 32, 143-158(2009); Muscle Nerve, 41(2); 265-9(2010); Neurology, 73(11): 898-9003(2009); J. Med. Genet., 46(11): 776-85(2009)を参照のこと)。POLGタンパク質の欠損の最も重度の徴候は、POLGの「スペーサー」領域の変異に関連している。この変異は、サブユニット相互作用及びより低いDNA結合及びポリメラーゼの触媒効率を破壊すると報告されている。2030

【0052】

ミトコンドリア疾患または障害

リー症候群

40を超える異なるSURF1遺伝子変異が、通常、乳児期または早期小児期に発症する進行性脳障害であるリー症候群の患者において確認されている。

【0053】

リー症候群の人の約10~15パーセントが、SURF1遺伝子に変異を有する。大部分のSURF1遺伝子変異は、異常に短いSURF1タンパク質をもたらす。他の変異は、SURF1タンパク質中の単一のアミノ酸を置換する。変異タンパク質は、細胞中に分解されて、それは、SURF1タンパク質の欠損症をもたらす。上述の通り、SURF1遺伝子中の変異は、低下したOXPHOS機能に関連する。40

【0054】

アルパース病

アルパース病は、進行性の神経発達ミトコンドリアDNA(mtDNA)欠乏症候群である。アルパース病は、ミトコンドリアDNAポリメラーゼPOLGに関して、遺伝子中の変異によって生じる常染色体劣性遺伝疾患である。本疾患は、約100,000人に1人に発生する。アルパース病を有する大部分の個体は、出生時には症状を示さず、症状のオンセット前に通常、数週間から数年にわたって現れる。診断は、POLG遺伝子用の試験によって確立される。症状は、典型的に、組織試料がミトコンドリアDNA欠乏を示す50

前に数か月発生する。アルパース病を有する個人の約 80 パーセントが、出生後 2 年以内に症状を発症し、20 パーセントが 2 歳～25 歳の間に症状を発症する。

【 0055 】

進行性外眼筋麻痺

進行性外眼筋麻痺 (P E O) は、ミトコンドリア中の欠損によって引き起こされる状態である。発生した個体は、しばしば、筋肉組織中のミトコンドリア D N A (m t D N A) からの遺伝子材料の巨大な遺伝子欠失を有する。P E O は、いくつかの異なる遺伝子中の変異から起こり得る。いくつかの場合には、核 D N A における変異は、P E O、具体的には P O L G 遺伝子中の変異の原因となる。これらの遺伝子は、m t D N A 維持に重要である。メカニズムは不透明であるが、これらの 3 つの遺伝子のうちの任意のものにおける変異は、2,000～10,000 ヌクレオチドの範囲に及ぶ m t D N A の巨大な欠失をもたらす。

【 0056 】

P O E は、典型的に、18 歳～40 歳の間の成人期に発症する。進行性外眼筋麻痺の徵候及び症状としては、片方または両方の眼瞼に影響し得る眼瞼の垂れ下がり（眼瞼下垂）、眼を移動させる筋肉の衰弱または麻痺（眼筋麻痺）、骨格筋の全身の衰弱（ミオパシー）、特に、頸部、腕部、または下肢、及び嚥下困難（嚥下障害）が挙げられるが、これらに限定されない。

【 0057 】

運動失調ニューロパチースペクトル

運動失調ニューロパチースペクトルは、P O L G 関連障害と呼ばれる状態の群の一部である。この群の状態は、筋肉、神経、及び脳関連機能を含む同様の徵候及び症状の範囲を特徴とする。運動失調ニューロパチースペクトルは、ミトコンドリア劣性遺伝運動失調症候群 (M I R A S) 及び感覚性運動失調ニューロパチー構音障害及び眼筋麻痺 (S A N D O) と呼ばれる状態を含む。

【 0058 】

P O L G 遺伝子中の変異は、しばしば、m t D N A のより少ない転写 (m t D N A 欠乏) または m t D N A の巨大領域の欠失 (m t D N A 欠失) をもたらす。M t D N A 欠乏及び / または m t D N A 欠失は、O X P H O S の減少をもたらし得る。

【 0059 】

運動失調ニューロパチースペクトルの患者は、概して、神経機能における協調及びバランス（運動失調）及び障害（ニューロパチー）に関して問題を有する。ニューロパチーは、感覚、運動機能、またはその 2 つの組み合わせとして分類され得る。感覚性ニューロパチーは、四肢における無感覚、刺痛、または疼痛を引き起こし、運動機能ニューロパチーは、筋肉移動に使用される神経の障害を指す。

【 0060 】

芳香族カチオン性ペプチド

本技術は、本明細書に開示される D - A r g - 2' , 6' - D m t - L y s - P h e - N H₂ 等の芳香族カチオン性ペプチド、または酢酸塩またはトリフルオロ酢酸塩等のその薬学的に許容される塩を投与することによって、S U R F 1 遺伝子または P O L G 遺伝子における変異に関連するミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊の予防、治療、または改善を必要とする対象における S U R F 1 遺伝子または P O L G 遺伝子における変異に関連するミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊の予防、治療、または改善に関連する。本技術は、本明細書に開示される有効治療量の D - A r g - 2' , 6' - D m t - L y s - P h e - N H₂ 等の芳香族カチオン性ペプチド、または酢酸塩またはトリフルオロ酢酸塩等のその薬学的に許容される塩の投与を通じて哺乳類におけるミトコンドリア疾患または状態またはその症状の予防、治療、または改善に関連する。

【 0061 】

芳香族カチオン性ペプチドは、水溶性及び高度に極性である。これらの特性にもかかわらず、ペプチドは、細胞膜に容易に浸透できる。芳香族カチオン性ペプチドは、典型的に

10

20

30

40

50

、ペプチド結合によって共有結合的に結合される最低3つのアミノ酸または最低4つのアミノ酸を含む。芳香族カチオン性ペプチドに存在するアミノ酸の最大数は、ペプチド結合によって共有結合的に結合される約20のアミノ酸である。好適には、アミノ酸の最大数は、約12、より好ましくは約9、及び最も好ましくは約6である。

【0062】

芳香族カチオン性ペプチドのアミノ酸は、任意のアミノ酸であり得る。本明細書で使用されるとき、「アミノ酸」という用語は、少なくとも1つのアミノ基及び少なくとも1つのカルボキシル基を含有する任意の有機分子を指すように使用される。典型的には、少なくとも1つのアミノ基は、カルボキシル基に対する位置である。アミノ酸は、天然に存在するものであり得る。天然に存在するアミノ酸は、例えば、哺乳類のタンパク質中に通常見られる20の最も一般的な左旋性(L)アミノ酸、すなわち、アラニン(Ala)、アルギニン(Arg)、アスパラギン(Asn)、アスパラギン酸(Asp)、システイン(Cys)、グルタミン(Gln)、グルタミン酸(Glu)、グリシン(Gly)、ヒスチジン(His)、イソロイシン(Ile)、ロイシン(Leu)、リジン(Lys)、メチオニン(Met)、フェニルアラニン(Phe)、プロリン(Pro)、セリン(Ser)、スレオニン(Thr)、トリプトファン(Trp)、チロシン(Tyr)、及びバリン(Val)を含む。他の天然に存在するアミノ酸は、例えば、タンパク質合成と関連付けられない代謝プロセスにおいて合成されるアミノ酸を含む。例えば、アミノ酸オルニチン及びシトルリンは、尿素の生成中、哺乳類の代謝において合成される。天然に存在するアミノ酸の別の例は、ヒドロキシプロリン(Hyp)を含む。

10

20

【0063】

ペプチドは、任意に、1つ以上の天然に存在しないアミノ酸を含有する。最適には、ペプチドは、天然に存在するアミノ酸を有しない。天然に存在しないアミノ酸は、左旋性(L-)、右旋性(D-)、またはこれらの混合物であってもよい。天然に存在しないアミノ酸は、生物の正常な代謝プロセスにおいて典型的に合成されないそれらのアミノ酸であり、タンパク質中で自然発生しない。加えて、天然に存在しないアミノ酸はまた、好適に、共通プロテアーゼによって認識されない。天然に存在しないアミノ酸は、ペプチド中の任意の位置に存在できる。例えば、天然に存在しないアミノ酸は、N-末端、C-末端に、またはN-末端とC-末端との間の任意の位置に存在できる。

30

【0064】

非天然アミノ酸は、例えば、天然アミノ酸中に見られないアルキル基、アリール基、またはアルキルアリール基を含み得る。非天然アルキルアミノ酸のいくつかの例としては、-アミノ酪酸、-アミノ酪酸、-アミノ酪酸、-アミノ吉草酸、及び-アミノカプロン酸が挙げられる。非天然アリールアミノ酸のいくつかの例としては、オルト-、メタ、及びパラ-アミノ安息香酸が挙げられる。非天然アルキルアリールアミノ酸のいくつかの例としては、オルト-、メタ-、及びパラ-アミノフェニル酢酸、及び-フェニル-アミノ酪酸が挙げられる。天然に存在しないアミノ酸は、天然に存在するアミノ酸の誘導体を含む。天然に存在するアミノ酸の誘導体は、例えば、天然に存在するアミノ酸への1つ以上の化学基の添加を含み得る。

40

【0065】

例えば、1つ以上の化学基は、フェニルアラニンまたはチロシン残基の芳香族環の2'、3'、4'、5'、または6'位置、またはトリプトファン残基のベンゾ環の4'、5'、6'、または7'のうちの1つ以上に添加され得る。本基は、芳香族環に添加され得る任意の化学基であり得る。そのような基のいくつかの例としては、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、またはt-ブチル、C₁~C₄アルキルオキシ(すなわち、アルコキシ)、アミノ、C₁~C₄アルキルアミノ及びC₁~C₄ジアルキルアミノ(例えば、メチルアミノ、ジメチルアミノ)、ニトロ、ヒドロキシル、ハロ(すなわち、フルオロ、クロロ、ブロモ、またはヨード)等の分岐鎖または非分岐鎖C₁~C₄アルキルが挙げられる。天然に存在するアミノ酸の天然に存在しない誘導体いくつかの具体的な例としては、ノルバリン(Nva)及びノルロイシン(Nle)が挙げられる

50

。

【0066】

ペプチド中のアミノ酸の修飾の別の例は、アスパラギン酸のカルボキシル基またはペプチドのグルタミン酸残基の誘導体化である。誘導体化の1つの例は、アンモニアを伴うまたはメチルアミン、エチルアミン、ジメチルアミン、またはジエチルアミン等の1級または2級アミンを伴うアミド化である。誘導体化の別の例としては、例えば、メチル、またはエチルアルコールを伴うエステル化が挙げられる。別のそのような修飾としては、リジン、アルギニン、またはヒスチジン残基のアミノ基の誘導体化が挙げられる。例えば、そのようなアミノ基は、アシル化され得る。いくつかの好適なアシル基としては、例えば、ベンゾイル基またはアセチルまたはプロピオニル基等の上述のC₁～C₄アルキル基のうちの任意のものを含むアルカノイル基が挙げられる。10

【0067】

天然に存在しないアミノ酸は、好適に、共通プロテアーゼに対して耐性であるかまたは非感受性である。プロテアーゼに対して耐性であるかまたは非感受性である天然に存在しないアミノ酸の例としては、上述の天然に存在するL-アミノ酸、ならびにL-及びD-またはD-天然に存在しないアミノ酸のうちの任意のものの右旋性(D-)形態が挙げられる。D-アミノ酸は、通常、タンパク質中に存在しないが、それらは、細胞の正常なリボソームタンパク質合成機構以外の方法によって合成される特定のペプチド抗生物質に見られる。本明細書で使用されるとき、D-アミノ酸は、天然に存在しないアミノ酸であると考慮される。20

【0068】

アミノ酸が天然に存在するかまたは天然に存在しないかに関係なく、プロテアーゼ感受性を最小限に抑えるために、ペプチドは、5未満、好ましくは4未満、より好ましくは3未満、及び最も好ましくは2未満の共通プロテアーゼによって認識される近接するL-アミノ酸を有すべきである。最適には、ペプチドは、D-アミノ酸、及び非L-アミノ酸のみを有する。ペプチドがアミノ酸のプロテアーゼ感受性配列を含む場合、アミノ酸のうちの少なくとも1つは、好ましくは、天然に存在しないD-アミノ酸であり、よって、プロテアーゼ耐性を与える。プロテアーゼ感受性配列の例としては、エンドペプチダーゼ及びトリプシン等の共通プロテアーゼによって容易に開裂される2つ以上の近接する塩基性アミノ酸が挙げられる。塩基性アミノ酸の例としては、アルギニン、リジン、及びヒスチジンが挙げられる。30

【0069】

芳香族カチオン性ペプチドは、ペプチド中のアミノ酸残基の合計数と比較して生理的pHの最小数の正味正電荷を有するべきである。生理的pHの最小数の正味正電荷は、以下(p_m)として参照されるであろう。ペプチド中のアミノ酸残基の合計数は、以下(r)として参照されるであろう。以下に考察される最小数の正味正電荷は、全て、生理的pHである。本明細書で使用されるとき、「生理的pH」という用語は、哺乳類の身体の組織及び器官の細胞における正常pHを指す。例えば、ヒトの生理的pHは、通常、約7.4であるが、哺乳類の正常な生理的pHは、約7.0～約7.8の任意のpHであり得る。40

【0070】

本明細書で使用されるとき、「正味電荷」は、ペプチド中に存在するアミノ酸によって担持される正電荷の数及び負電荷の数のバランスを指す。本出願では、正味電荷は、生理的pHで測定されることが理解される。生理的pHで正荷電された天然に存在するアミノ酸としては、L-リジン、L-アルギニン、及びL-ヒスチジンが挙げられる。生理的pHで負電荷された天然に存在するアミノ酸としては、L-アスパラギン酸及びL-グルタミン酸が挙げられる。

【0071】

典型的には、ペプチドは、正荷電されたN-末端アミノ基及び負電荷されたC-末端カルボキシル基を有する。電荷は、生理的pHで互いに相殺する。正味電荷を計算する例としては、ペプチド Tyr - Arg - Phe - Lys - Glu - His - Trp - D - Ar50

g は、1つの負電荷されたアミノ酸（すなわち、G l u）及び4つの正荷電されたアミノ酸（すなわち、2つのA r g 残基、1つのL y s、及び1つのH i s）を有する。よって、上のペプチドは、3つの正味正電荷を有する。

【0072】

一実施形態では、芳香族カチオン性ペプチドは、生理的pHの正味正電荷の最小数（ p_m ）と $3p_m$ が $r+1$ 以下である最大数であるアミノ酸残基の合計数（r）との間に関係性を有する。この実施形態では、正味正電荷の最小数（ p_m ）とアミノ酸残基の合計数（r）との間の関係性は次の通りである：

【表1】

表1. アミノ酸数及び正味正電荷($3p_m \leq p+1$)																		
(r)	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(p_m)	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5	6	6	6	7

【0073】

別の実施形態では、芳香族カチオン性ペプチドは、正味正電荷の最小数（ p_m ）と $2p_m$ が $r+1$ 以下である最大数であるアミノ酸残基の合計数（r）との間に関係性を有する。この実施形態では、正味正電荷の最小数（ p_m ）とアミノ酸残基の合計数（r）との間の関係性は次の通りである：

【表2】

表2. アミノ酸数及び正味正電荷($2p_m \leq p+1$)																		
(r)	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(p_m)	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10

【0074】

一実施形態では、正味正電荷の最小数（ p_m ）及びアミノ酸残基の合計数（r）は、等しい。別の実施形態では、ペプチドは、3つまたは4つのアミノ酸残基、及び最低1つの正味正電荷、好適には、最低2つの正味正電荷、及び最も好ましくは最低3つの正味正電荷を有する。

【0075】

芳香族カチオン性ペプチドが、正味正電荷の合計数（ p_t ）と比較して最小数の芳香族基を有することもまた重要である。最小数の芳香族基は、以下（a）として参照されるであろう。芳香族基を有する天然に存在するアミノ酸としては、アミノ酸ヒスチジン、トリプトファン、チロシン、及びフェニルアラニンが挙げられる。例えば、ヘキサペプチドL y s - G l n - T y r - D - A r g - P h e - T r p は、2つの正味正電荷（リジン及びアルギニン残基によって寄与される）及び3つの芳香族基（チロシン、フェニルアラニン、及びトリプトファン残基によって寄与される）を有する。

【0076】

芳香族カチオン性ペプチドは、 p_t が1であり、aがまた1であり得ることを除いて、芳香族基の最小数（a）と、 $3a$ が p_t+1 以下である生理的pH（ p_t ）の正味正電荷の合計数との間にもまた関係性を有するべきである。この実施形態では、芳香族基（a）の最小数と正味正電荷の合計数（ p_t ）との間の関係性は、次の通りである：

10

20

30

40

【表3】

表3. 芳香族基及び正味正電荷($3a \leq p_t + 1$ または $a = p_t = 1$)																				
(p_t)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(a)	1	1	1	1	2	2	2	3	3	3	4	4	4	5	5	5	6	6	7	

【0077】

別の実施形態では、芳香族カチオン性ペプチドは、芳香族基の最小数（a）と、 $2a$ が $p_t + 1$ 以下である生理的pH (p_t)の正味正電荷の合計数との間に関係性を有するべきである。この実施形態では、芳香族アミノ酸残基の最小数（a）と正味正電荷の合計数（ p_t ）との間の関係性は、次の通りである：

【表4】

表4. 芳香族基及び正味正電荷($2a \leq p_t + 1$ または $a = p_t = 1$)																				
(p_t)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
(a)	1	1	2	2	3	3	4	4	5	5	6	6	7	7	8	8	9	9	10	10

【0078】

別の実施形態では、芳香族基の数（a）及び正味正電荷の合計数（ p_t ）は、等しい。

【0079】

カルボキシル基、特に、C-末端アミノ酸の末端カルボキシル基は、好適に、C-末端アミドを形成するために、例えば、アンモニアと一緒にアミド化される。あるいは、C-末端アミノ酸の末端カルボキシル基は、任意の1級または2級アミンと一緒にアミド化され得る。1級または2級アミンは、例えば、アルキル、特に、分岐鎖または非分岐鎖C₁～C₄アルキル、またはアリールアミンであり得る。したがって、ペプチドのC-末端のアミノ酸は、アミド、N-メチルアミド、N-エチルアミド、N,N-ジメチルアミド、N,N-ジエチルアミド、N-メチル-N-エチルアミド、N-フェニルアミド、またはN-フェニル-N-エチルアミド基に変換され得る。芳香族カチオン性ペプチドのC-末端に存在しないアスパラギン、グルタミン、アスパラギン酸、及びグルタミン酸残基の遊離カルボキシレート基はまた、それらがペプチド内に存在する場合はいつでも、アミド化され得る。これらの内部位置でのアミド化は、アンモニアかまたは上述の1級または2級アミンのうちの任意のものと一緒にあり得る。

【0080】

一実施形態では、芳香族カチオン性ペプチドは、2つの正味正電荷及び少なくとも1つの芳香族アミノ酸を有するトリペプチドである。1つの具体的な実施形態では、芳香族カチオン性ペプチドは、2つの正味正電荷及び2つの芳香族アミノ酸を有するトリペプチドである。

【0081】

芳香族カチオン性ペプチドとしては、次のペプチド例が挙げられるが、これらに限定されない：

【表5】

表5:例示的なペプチド	
2',6'-Dmp-D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-NH ₂	
2',6'-Dmp-D-Arg-Phe-Lys-NH ₂	
2',6'-Dmt-D-Arg-PheOrn-NH ₂	
2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Ahp(2-アミノヘプタン酸)-NH ₂	
2',6'-Dmt-D-Arg-Phe-Lys-NH ₂	
2',6'-Dmt-D-Cit-PheLys-NH ₂	
Ala-D-Phe-D-Arg-Tyr-Lys-D-Trp-His-D-Tyr-Gly-Phe	
Arg-D-Leu-D-Tyr-Phe-Lys-Glu-D-Lys-Arg-D-Trp-Lys-D-Phe-Tyr-D-Arg-Gly	10
Asp-Arg-D-Phe-Cys-Phe-D-Arg-D-Lys-Tyr-Arg-D-Tyr-Trp-D-His-Tyr-D-Phe-Lys-Phe	
Asp-D-Trp-Lys-Tyr-D-His-Phe-Arg-D-Gly-Lys-NH ₂	
D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-Phe-NH ₂	
D-Glu-Asp-Lys-D-Arg-D-His-Phe-Phe-D-Val-Tyr-Arg-Tyr-D-Tyr-Arg-His-Phe-NH ₂	
D-His-Glu-Lys-Tyr-D-Phe-Arg	
D-His-Lys-Tyr-D-Phe-Glu-D-Asp-D-Asp-D-His-D-Lys-Arg-Trp-NH ₂	
D-Tyr-Trp-Lys-NH ₂	
Glu-Arg-D-Lys-Tyr-D-Val-Phe-D-His-Trp-Arg-D-Gly-Tyr-Arg-D-Met-NH ₂	
Gly-Ala-Lys-Phe-D-Lys-Glu-Arg-Tyr-His-D-Arg-D-Arg-Asp-Tyr-Trp-D-His-Trp-His-D-Lys-Asp.	
Gly-D-Phe-Lys-His-D-Arg-Tyr-NH ₂	20
His-Tyr-D-Arg-Trp-Lys-Phe-D-Asp-Ala-Arg-Cys-D-Tyr-His-Phe-D-Lys-Tyr-His-Ser-NH ₂	
Lys-D-Arg-Tyr-NH ₂	
Lys-D-Gln-Tyr-Arg-D-Phe-Trp-NH ₂	
Lys-Trp-D-Tyr-Arg-Asn-Phe-Tyr-D-His-NH ₂	
Met-Tyr-D-Arg-Phe-Arg-NH ₂	
Met-Tyr-D-Lys-Phe-Arg	
Phe-Arg-D-His-Asp	
Phe-D-Arg-2',6'-Dmt-Lys-NH ₂	
Phe-D-Arg-His	
Phe-D-Arg-Lys-Trp-Tyr-D-Arg-His	
Phe-D-Arg-Phe-Lys-NH ₂	30
Phe-Phe-D-Tyr-Arg-Glu-Asp-D-Lys-Arg-D-Arg-His-Phe-NH ₂	
Phe-Tyr-Lys-D-Arg-Trp-His-D-Lys-D-Lys-Glu-Arg-D-Tyr-Thr	
Thr-Gly-Tyr-Arg-D-His-Phe-Trp-D-His-Lys	
Thr-Tyr-Arg-D-Lys-Trp-Tyr-Glu-Asp-D-Lys-D-Arg-His-Phe-D-Tyr-Gly-Val-Ile-D-His-Arg-Tyr-Lys-NH ₂	
Trp-D-Lys-Tyr-Arg-NH ₂	
Trp-Lys-Phe-D-Asp-Arg-Tyr-D-His-Lys	
Tyr-Asp-D-Lys-Tyr-Phe-D-Lys-D-Arg-Phe-Pro-D-Tyr-His-Lys	
Tyr-D-Arg-Phe-Lys-Glu-NH ₂	
Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH ₂	
Tyr-D-His-Phe-D-Arg-Asp-Lys-D-Arg-His-Trp-D-His-Phe	40
Tyr-His-D-Gly-Met	
Val-D-Lys-His-Tyr-D-Phe-Ser-Tyr-Arg-NH ₂	

【0082】

一実施形態では、ペプチドは、ミューラー・オピオイド受容体アゴニスト活性を有する（すなわち、それらは、ミューラー・オピオイド受容体を活性化させる）。ミューラー・オピオイド受容体アゴニスト活性を有するペプチドは、典型的に、N-末端（すなわち、第1のアミノ酸位置）でチロシン残基またはチロシン誘導体を有する、それらのペプチドである。チロシンの好適な誘導体としては、2'-メチルチロシン（Mmt）；2',6'-ジメチルチロシン（2',6'-Dmt）；3',5'-ジメチルチロシン（3',5'-Dmt）；N,2',6'-トリメチルチロシン（Tmt）；及び2'-ヒドロキシ-6'-メチルチ

ロシン (Hmt) が挙げられる。

【0083】

一実施形態では、ミュー - オピオイド受容体アゴニスト活性を有するペプチドは、式 Tyr - D - Arg - Phe - Lys - NH₂を有する。Tyr - D - Arg - Phe - Lys - NH₂は、アミノ酸チロシン、アルギニン、及びリジンによって寄与される3つの正味正電荷を有し、アミノ酸フェニルアラニン及びチロシンによって寄与される2つの芳香族基を有する。Tyr - D - Arg - Phe - Lys - NH₂のチロシンは、式 2', 6' - Dmt - D - Arg - Phe - Lys - NH₂を有する化合物を生成するために 2', 6' - ジメチルチロシン等のチロシンの修飾誘導体であり得る。2', 6' - Dmt - D - Arg - Phe - Lys - NH₂は、640の分子量を有し、生理的pHの正味の3つの正電荷を担持する。2', 6' - Dmt - D - Arg - Phe - Lys - NH₂は、エネルギー独立様式でいくつかの哺乳類の細胞型の形質膜に容易に浸透する (Zhao, et al., J. Pharmacol. Exp. Ther., 304: 425 - 432, 2003)。
10

【0084】

あるいは、他の事例では、芳香族カチオン性ペプチドは、ミュー - オピオイド受容体アゴニスト活性を有しない。例えば、慢性疾患状況または状態等の長期治療中には、ミュー - オピオイド受容体を活性化させる芳香族カチオン性ペプチドの使用は、禁忌であり得る。これらの事例では、芳香族カチオン性ペプチドの潜在的に有害かまたは依存性効果は、ヒト患者または他の哺乳類の治療計画においてミュー - オピオイド受容体を活性化させる芳香族カチオン性ペプチドの使用を妨げ得る。潜在的に有害な効果は、鎮静作用、便秘症、及び呼吸抑制作用を含み得る。そのような事例では、ミュー - オピオイド受容体を活性化しない芳香族カチオン性ペプチドは、適切な治療であり得る。ミュー - オピオイド受容体アゴニスト活性を有しないペプチドは、一般に、N - 末端 (すなわち、アミノ酸位置1) でチロシン残基またはチロシンの誘導体を有しない。N - 末端のアミノ酸は、チロシン以外の任意の天然に存在するかまたは天然に存在しないアミノ酸であり得る。一実施形態では、N - 末端のアミノ酸は、フェニルアラニンまたはその誘導体である。フェニルアラニンの例示的な誘導体は、2' - メチルフェニルアラニン (Mmp)、2', 6' - ジメチルフェニルアラニン (2', 6' - Dmp)、N, 2', 6' - トリメチルフェニルアラニン (Tmmp)、及び2' - ヒドロキシ - 6' - メチルフェニルアラニン (Hmp) を含む。
20

【0085】

ミュー - オピオイド受容体アゴニスト活性を有しない芳香族カチオン性ペプチドの例は、式 Phe - D - Arg - Phe - Lys - NH₂を有する。あるいは、N - 末端フェニルアラニンは、2', 6' - ジメチルフェニルアラニン (2', 6' - Dmp) 等のフェニルアラニンの誘導体であり得る。一実施形態では、2', 6' - Dmt - D - Arg - Phe - Lys - NH₂のアミノ酸配列は、DmtがN - 末端のところではないように、再配列される。ミュー - オピオイド受容体アゴニスト活性を有しない芳香族カチオン性ペプチドの例は、式 D - Arg - 2', 6' - Dmt - Lys - Phe - NH₂を有する。
30

【0086】

本明細書に列挙されるペプチドの好適な置換変異体は、保存的アミノ酸置換を含む。アミノ酸は、それらの物理化学的特性に従って次の通りにグループ化される。

(a) 非極性アミノ酸: Ala (A) Ser (S) Thr (T) Pro (P)
Gly (G) Cys (C) ;

(b) 酸性アミノ酸: Asn (N) Asp (D) Glu (E) Gln (Q) ;

(c) 塩基性アミノ酸: His (H) Arg (R) Lys (K) ;

(d) 潜水性アミノ酸: Met (M) Leu (L) Ile (I) Val (V) ;
及び

(e) 芳香族アミノ酸: Phe (F) Tyr (Y) Trp (W) His (H)。

【0087】

50

同じ基中の別のアミノ酸によるペプチド中のアミノ酸の置換は、保存的置換として参照され、元のペプチドの物理化学的特性を保存し得る。対照的に、異なる基中の別のアミノ酸によるペプチド中のアミノ酸の置換は、一般に、元のペプチドの特性を変化させる可能性がより高い。

【0088】

ミューオピオイド受容体を活性化させるペプチドの例としては、表6に示される芳香族カチオン性ペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。

【表6-1】

表6. ミューオピオイド活性を有するペプチド類似体				
アミノ酸位置1	アミノ酸位置2	アミノ酸位置3	アミノ酸位置4	C-末端修飾
Tyr	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Tyr	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Tyr	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Tyr	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Lys-NH(CH ₂) ₂ -NH-dns	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Lys-NH(CH ₂) ₂ -NH-atn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	dnsLys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Cit	Phe	Lys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Cit	Phe	Ahp	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Ahp(2-アミノヘプタン酸)	NH ₂
Bio-2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Lys	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Orn	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Dab	NH ₂
Tyr	D-Arg	Tyr	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Tyr	Lys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Tyr	Orn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Tyr	Dab	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Tyr	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	2' 6' Dmt	Lys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	2' 6' Dmt	Orn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	2' 6' Dmt	Dab	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	2' 6' Dmt	Dap	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	3' 5' Dmt	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	3' 5' Dmt	Lys	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	3' 5' Dmt	Orn	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	3' 5' Dmt	Dab	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

表6. ミューーオピオイド活性を有するペプチド類似体				
アミノ酸 位置1	アミノ酸 位置2	アミノ酸 位置3	アミノ酸 位置4	C-末端 修飾
2' 6' Dmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Lys	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Orn	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Dab	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Tyr	Lys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Tyr	Orn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Tyr	Dab	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Tyr	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	2' 6' Dmt	Lys	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	2' 6' Dmt	Orn	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	2' 6' Dmt	Dab	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	2' 6' Dmt	Dap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	dnsDap	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	atnDap	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	3' 5' Dmt	Lys	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	3' 5' Dmt	Orn	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	3' 5' Dmt	Dab	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	3' 5' Dmt	Dap	NH ₂
Tyr	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Tyr	D-Lys	Tyr	Arg	NH ₂
Tyr	D-Orn	Tyr	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dab	Tyr	Arg	NH ₂
Tyr	D-Dap	Tyr	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Arg	2' 6' Dmt	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Lys	2' 6' Dmt	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Orn	2' 6' Dmt	Arg	NH ₂
2' 6' Dmt	D-Dab	2' 6' Dmt	Arg	NH ₂

10

20

30

40

【表 6 - 3】

表6. ミューオピオイド活性を有するペプチド類似体				
アミノ酸 位置1	アミノ酸 位置2	アミノ酸 位置3	アミノ酸 位置4	C-末端 修飾
3' 5' Dmt	D-Dap	3' 5' Dmt	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Arg	3' 5' Dmt	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Lys	3' 5' Dmt	Arg	NH ₂
3' 5' Dmt	D-Orn	3' 5' Dmt	Arg	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Orn	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Dab	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Dap	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Lys	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Orn	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Dab	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Dap	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
Mmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
Tmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Lys	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Orn	Phe	Arg	NH ₂

10

20

30

40

【表 6 - 4】

表6. ミュー-オピオイド活性を有するペプチド類似体				
アミノ酸 位置1	アミノ酸 位置2	アミノ酸 位置3	アミノ酸 位置4	C-末端 修飾
Hmt	D-Dab	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Dap	Phe	Arg	NH ₂
Hmt	D-Arg	Phe	Arg	NH ₂

D a b = ジアミノ酪

D a p = ジアミノプロピオニ酸

D m t = ジメチルチロシン

Mm t = 2'-メチルチロシン

T m t = N, 2', 6' - トリメチルチロシン

Hm t = 2' - ヒドロキシ, 6' - メチルチロシン

d n s D a p = β -ダヌル- L- α , β -ジアミノプロピオニ酸a t n D a p = β -アントラニロイル- L- α , β -ジアミノプロピオニ酸

B i o = ピオチン

【0089】

ミュー-オピオイド受容体を活性化させないペプチドの例としては、表7に示される芳香族カチオン性ペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。

10

20

【表7】

表7. ミューオピオイド活性を欠くペプチド類似体				
アミノ酸位置1	アミノ酸位置2	アミノ酸位置3	アミノ酸位置4	C-末端修飾
D-Arg	Dmt	Lys	Phe	NH ₂
D-Arg	Dmt	Phe	Lys	NH ₂
D-Arg	Phe	Lys	Dmt	NH ₂
D-Arg	Phe	Dmt	Lys	NH ₂
D-Arg	Lys	Dmt	Phe	NH ₂
D-Arg	Lys	Phe	Dmt	NH ₂
Phe	Lys	Dmt	D-Arg	NH ₂
Phe	Lys	D-Arg	Dmt	NH ₂
Phe	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Phe	D-Arg	Dmt	Lys	NH ₂
Phe	D-Arg	Lys	Dmt	NH ₂
Phe	Dmt	D-Arg	Lys	NH ₂
Phe	Dmt	Lys	D-Arg	NH ₂
Lys	Phe	D-Arg	Dmt	NH ₂
Lys	Phe	Dmt	D-Arg	NH ₂
Lys	Dmt	D-Arg	Phe	NH ₂
Lys	Dmt	Phe	D-Arg	NH ₂
Lys	D-Arg	Phe	Dmt	NH ₂
Lys	D-Arg	Dmt	Phe	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Phe	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Dmt	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Tyr	NH ₂
D-Arg	Dmt	D-Arg	Trp	NH ₂
Trp	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Trp	D-Arg	Tyr	Lys	NH ₂
Trp	D-Arg	Trp	Lys	NH ₂
Trp	D-Arg	Dmt	Lys	NH ₂
D-Arg	Trp	Lys	Phe	NH ₂
D-Arg	Trp	Phe	Lys	NH ₂
D-Arg	Trp	Lys	Dmt	NH ₂
D-Arg	Trp	Dmt	Lys	NH ₂
D-Arg	Lys	Trp	Phe	NH ₂
D-Arg	Lys	Trp	Dmt	NH ₂
Cha	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂
Ala	D-Arg	Phe	Lys	NH ₂

Ch a =シクロヘキシリラニン

10

20

30

40

【0090】

表に示されるペプチドのアミノ酸は、L-またはD-構成のいずれかであり得る。

【0091】

ペプチドは、当該技術分野において周知の方法のうちの任意のものによって合成され得る。タンパク質を化学的に合成するための好適な方法としては、例えば、Stuart及びYoungによってSolid Phase Peptide Synthesis, Second Edition, Pierce Chemical Company (1984) 及びMethods Enzymol., 289, Academic Press, Inc., New York (1997) に説明されるものが挙げられる。

50

【0092】

芳香族カチオン性ペプチドの治療使用。

概説。D - Arg - 2', 6' - Dmt - Lys - Phe - NH₂等の本明細書に説明される芳香族カチオン性ペプチド、または酢酸塩またはトリフルオロ酢酸塩等のその薬学的に許容される塩は、SURF1遺伝子またはPOLG遺伝子の変異またはその症状に関連するミトコンドリア疾患を予防または治療するのに有用である。具体的には、本開示は、SURF1遺伝子またはPOLG遺伝子における変異に関連するミトコンドリア疾患、状態、または障害を有する、または有する疑いのある対象を治療する予防的及び治療方法の両方を提供する。例えば、いくつかの実施形態では、本開示は、SURF1またはPOLGにおける遺伝子変異によって引き起こされる酸化的リン酸化の破壊を有する対象を治療する予防的及び治療方法の両方を提供する。したがって、本発明の方法は、有効量の芳香族カチオン性ペプチドを、それを必要とする対象に投与してその対象の酸化的リン酸化の破壊を軽減することによる、対象におけるSURF1遺伝子またはPOLG遺伝子の変異に関連するミトコンドリア疾患または障害またはその症状の治療または予防を提供する。本技術は、本明細書に開示される有効治療量のD - Arg - 2', 6' - Dmt - Lys - Phe - NH₂等の芳香族カチオン性ペプチド、または酢酸塩またはトリフルオロ酢酸塩等のその薬学的に許容される塩の投与を通じた、哺乳類におけるSURF1遺伝子またはPOLG遺伝子の変異に関連するミトコンドリア疾患または状態またはミトコンドリア機能障害またはその症状の予防、治療、または改善に関連する。

【0093】

いくつかの実施形態では、酸化的リン酸化の破壊は、当該分野では周知のアッセイによって決定される。例としては、限定するものではないが、酸化的リン酸化の破壊は、補酵素Q₁₀(COQ10)の濃度を測定するアッセイによって決定される。いくつかの実施形態では、酸化的リン酸化の破壊は、脱共役比によってOXPHOS能力を測定するアッセイによって決定される。いくつかの実施形態では、酸化的リン酸化の破壊は、正味ルーチン流動対照比を測定するアッセイによって決定される。いくつかの実施形態では、酸化的リン酸化の破壊は、リーク流動対照比を測定するアッセイによって決定される。いくつかの実施形態では、酸化的リン酸化の破壊は、リン酸化呼吸器対照比を測定するアッセイによって決定される。

【0094】

脱共役比(UCR)は、呼吸予備能力の言い回しであり、細胞のOXPHOS能力を示す。いくつかの実施形態では、UCRは、Cr_u/Crと定義される。Cr_uは、ミトコンドリアが、FCCP(カルボニルシアニド4-(トリフルオロメトキシ)フェニルヒドラゾン)を用いて化学的に脱共役されるときに生成される酸素利用率(酸素流動)の最大速度である。FCCP滴定は、最大酸素利用率を生成するために必要なFCCPの濃度が異なる細胞株間で変化するため、実施されなければならない。最大酸素利用率に到達すると、FCCPの更なる増加が酸化的リン酸化による酸素利用率を阻害する。いくつかの実施形態では、Crは、過剰基質を伴う正常な細胞呼吸中の細胞による酸素利用率を表わす。

【0095】

いくつかの実施形態では、正味ルーチン流動対照比(Cr/Cr_u)は、UCRの逆である。いくつかの実施形態では、この値は、酸化的リン酸化の呼吸能力に対して近接するルーチン呼吸がどのように動作するかを評価する。

【0096】

いくつかの実施形態では、呼吸対照比(RCR)は、Cr_u/Cr_oと定義される。Cr_uは、上に定義される。Cr_o=オリゴマイシンによる複合体V(ATPシンターゼ)の阻害後の呼吸。いくつかの実施形態では、この比は、脱共役及びOXPHOS機能障害の評価を可能にする。

【0097】

いくつかの実施形態では、リーク流動対照比は、Cr_o/Cr_uによって決定される。いくつかの実施形態では、このパラメータは、RCRの逆であり、オリゴマイシンによるA

10

20

30

40

50

D P リン酸化の阻害を伴うプロトトリーキを表わす。

【 0 0 9 8 】

いくつかの実施形態では、リン酸化呼吸対照比 (R C R p) は、(C r - C r_o) / C r_u (または 1 / U C R - 1 / R C R) と定義される。いくつかの実施形態では、R C R p は、呼吸能力の機能 (C r_u) としてリン酸化関連呼吸 (C r - C r_o) を表わす指標である。いくつかの実施形態では、R C R p は、部分的脱共役が増加したルーチン呼吸速度によって完全に代償され、酸化的リン酸化の一定速度が維持された場合、一定の状態で留まる。いくつかの実施形態では、呼吸能力は、酸化的リン酸化の速度における効果を伴わず減少し、いくつかの実施形態では、R C R p は、増加するが、それは、最大能力のより高い割合が A T P 合成を進めるように活性化されることを示す。いくつかの実施形態では、R C R p は、完全脱共役細胞または完全な代謝抑止下の細胞のいずれかで、0まで低下する。

10

【 0 0 9 9 】

したがって、いくつかの実施形態では、D - A r g - 2' , 6' D m t - L y s - P h e - N H₂ (S S - 31) 等の本明細書に説明される芳香族カチオン性ペプチド、または酢酸塩またはトリフルオロ酢酸塩等のその薬学的に許容される塩による、S U R F 1 遺伝子またはP O L G 遺伝子の変異に関連するミトコンドリア障害または疾患の症状の治療予防及び / またはそれを有する対象の治療は、酸化的リン酸化の破壊を減少させ、それにより、S U R F 1 遺伝子またはP O L G 遺伝子の変異に関連するミトコンドリア疾患及び障害の症状を改善または予防するであろう。S U R F 1 遺伝子またはP O L G 遺伝子の変異に関連するミトコンドリア疾患または障害の症状としては、成長不良、筋協調の喪失、筋力低下、神経障害、てんかん発作、自閉症、自閉症スペクトラム障害、自閉症的特徴、学習障害、心疾患、肝疾患、腎疾患、胃腸障害、重度の便秘症、糖尿病、感染リスクの増加、甲状腺機能障害、副腎機能障害、自律神経障害、錯乱、失見当識、記憶喪失、成長不良、発育障害、協調不良、感覚（視覚、聴覚）問題、精神機能の低下、臓器疾患、認知症、呼吸器問題、低血糖症、無呼吸、乳酸アシドーシス、てんかん発作、嚥下困難、発達遅延、運動障害（ジストニア、筋痙攣、振戦、舞蹈病）、脳卒中、及び脳萎縮症が挙げられるが、これらに限定されない。

20

【 0 1 0 0 】

芳香族カチオン性ペプチドベースの治療の生物学的効果の決定。種々の実施形態では、好適なインビトロまたはインビボアッセイは、固有の芳香族カチオン性ペプチドベースの治療の効果及びその投与が治療の必要を示すかどうかを決定するように、実施される。種々の実施形態では、インビトロアッセイは、所与の芳香族カチオン性ペプチドベースの治療がO X P H O S の破壊等のミトコンドリア機能の破壊を軽減する際に所望の効果を発揮するかどうかを決定するために、代表的な動物モデルを使って実施することができる。治療において使用するための化合物は、ヒト対象において試験する前に、これらに限定されないがラット、マウス、ニワトリ、ウシ、サル、及びウサギ等を含む好適な動物モデル系において試験することができる。同様に、インビボ試験については、当該技術分野において知られている動物モデル系のうちの任意のものが、ヒト対象への投与の前に使用できる。

30

【 0 1 0 1 】

投与の様式及び有効投与量

細胞、器官、または組織を、ペプチドと接触させるために当業者には知られている任意の方法が、用いられてもよい。好適な方法としては、インビトロ、エキソビボ、またはインビボ方法が挙げられる。インビボ方法は、典型的に、上述のもののような芳香族カチオン性ペプチドの、哺乳類、好適に、ヒトへの投与を含む。治療のためにインビボで使用された場合、芳香族カチオン性ペプチドは、有効量（すなわち、所望の治療効果を有する量）で対象に投与される。用量及び投与計画は、対象における感染症の程度、等の使用される特定の芳香族カチオン性ペプチドの特性（例えば、その治療指標）、対象、及び対象の病歴に依存するであろう。

40

50

【0102】

有効量は、内科医及び臨床医によく知られている方法によって前臨床治験及び臨床治験中に決定され得る。方法において有用なペプチドの有効量を、薬学的化合物を投与するための多数の周知の方法のうちの任意のものによって、有効量を必要とする哺乳類に投与することができる。ペプチドは、全身的にまたは局所的に投与され得る。

【0103】

ペプチドは、薬学的に許容される塩として配合されてもよい。「薬学的に許容される塩」という用語は、哺乳類等の患者に投与するために許容される塩基または酸から調製される塩（例えば、所与の投与計画に対して許容される哺乳類の安全性を有する塩）を意味する。しかしながら、塩が、患者への投与を意図しない中間体の化合物の塩等の薬学的に許容される塩である必要がないことが理解される。薬学的に許容される塩は、薬学的に許容される無機または有機塩基に由来し得るかまたは薬学的に許容される無機または有機酸に由来し得る。加えて、ペプチドがアミン、ピリジン、またはイミダゾール等の塩基性部分及びカルボン酸またはテトラゾール等の酸性部分の両方を含有する場合、双性イオンは、形成され、本明細書で使用されるとき、「塩」という用語内に含まれる。薬学的に許容される無機塩基由来の塩としては、アンモニウム、カルシウム、銅、三価鉄、二価鉄、リチウム、マグネシウム、マンガン(manganic)、マンガン(manganous)、カリウム、ナトリウム、及び亜鉛の塩等が挙げられる。薬学的に許容される有機塩基由来の塩としては、アルギニン、ベタイン、カフェイン、コリン、N,N'-ジベンジルエチレンジアミン、ジエチルアミン、2-ジエチルアミノエタノール、2-ジメチルアミノエタノール、エタノールアミン、エチレンジアミン、N-メチルモルホリン、N-エチルピペリジン、グルカミン、グルコサミン、ヒスチジン、ヒドラバミン、イソプロピルアミン、リジン、メチルグルカミン、モルホリン、ピペラジン、ピペラジン(piperazine)、ポリアミン樹脂、プロカイン、ブリン、テオブロミン、トリエチルアミン、トリメチルアミン、トリプロピルアミン、及びトロメタミン等の置換アミン、環式アミン、及び天然に存在するアミン等を含む1級、2級、及び3級アミンの塩が挙げられる。薬学的に許容される無機酸由来の塩としては、ホウ酸、炭酸、ハロゲン化水素酸(臭化水素酸、塩酸、フッ化水素酸、またはヨウ化水素酸)、硝酸、リン酸、スルファミン酸、及び硫酸の塩を含む。薬学的に許容される有機酸由来の塩としては、脂肪族ヒドロキシル酸(例えば、クエン酸、グルコン酸、グリコール酸、乳酸、ラクトビオン酸、リンゴ酸、及び酒石酸)、脂肪族モノカルボン酸(例えば、酢酸、酪酸、ギ酸、プロピオン酸、及びトリフルオロ酢酸)、アミノ酸(例えば、アスパラギン酸及びグルタミン酸)、芳香族カルボン酸(例えば、安息香酸、p-クロロ安息香酸、ジフェニル酢酸、ゲンチジン酸、馬尿酸、及びトリフェニル酢酸)、芳香族ヒドロキシル酸(例えば、o-ヒドロキシ安息香酸、p-ヒドロキシ安息香酸、1-ヒドロキシナフタレン-2-カルボン酸、及び3-ヒドロキシナフタレン-2-カルボン酸)、アスコルビン酸、ジカルボン酸(例えば、フマル酸、マレイン酸、シュウ酸、及びコハク酸)、グルクロン酸、マンデル酸、粘液酸、ニコチン酸、オロト酸、パモ酸(pamoic)、パントテン酸、スルホン酸(例えば、ベンゼンスルホン酸、カンホスルホン酸(camphosulfonic)、エジシル酸(edisiolic)、エタンスルホン酸、イセチオン酸、メタンスルホン酸、ナフタレンスルホン酸、ナフタレン-1,5-ジスルホン酸、ナフタレン-2,6-ジスルホン酸、及びp-トルエンスルホン酸)、及びキシナホイ(xinaholic)酸等の塩が挙げられる。いくつかの実施形態では、塩は、酢酸塩またはトリフルオロ酢酸塩である。

【0104】

本明細書に説明される芳香族カチオン性ペプチドは、本明細書に説明される障害またはその付随する症状の治療または予防のために対象に、単独で、または組み合わせて、投与するための薬学的組成物中に組み込まれ得る。そのような組成物は、典型的に、活性剤及び薬学的に許容される担体を含む。本明細書で使用されるとき、「薬学的に許容される担体」という用語は、薬学的投与と対応している、生理食塩水、溶媒、分散媒、コーティング、抗菌及び抗真菌剤、及び等張及び吸収遅延剤等を含む。補充性活性化合物もまた、組

10

20

30

40

50

成物中に組み込まれ得る。

【0105】

薬学的組成物は、典型的に、その投与の意図する経路と対応するように配合される。投与の経路の例としては、非経口（例えば、静脈内、皮内、腹腔内、または皮下）、経口、吸入、経皮（局所）、眼内、イオン注入での、及び経粘膜投与が挙げられる。非経口、皮内、または皮下適用のために使用される溶液または懸濁液は、次の成分を含むことができる：注射のための水、生理食塩水溶液、固定油、ポリエチレンジリコール、グリセリン（glycerine）、プロピレンジリコールまたは他の合成溶媒等の無菌の希釈剤；ベンジルアルコールまたはメチルパラベン等の抗菌剤；アスコルビン酸または重亜硫酸ナトリウム等の酸化防止剤；エチレンジアミン3酢酸等のキレート剤；酢酸、クエン酸、またはリン酸等の緩衝剤、及び塩化ナトリウムまたはブドウ糖等の等張の調整のための薬剤。
pHは、塩酸または水酸化ナトリウム等の酸または塩基で調整することができる。非経口調製は、アンプル、使い捨てシリンジ、またはガラスまたはプラスチックで作製された複数の用量バイアルに包含され得る。患者または治療する内科医の便宜のため、投与配合物は、治療コース（例えば、7日間の治療）のための全ての必要な装備（例えば、薬物のバイアル、希釈剤のバイアル、シリンジ及びニードル）を含有するキットに提供され得る。

【0106】

注射用使用に好適な薬学的組成物は、無菌注射用溶液または分散液の即座の調製のための無菌水溶液（水溶性である）または分散液及び無菌粉末を含むことができる。静脈内投与については、好適な担体としては、生理食塩水、静菌水、Cremophor EL（商標）（BASF、Parsippany、N.J.）、またはリン酸緩衝生理食塩水（PBS）が挙げられる。全ての場合において、非経口投与のための組成物は、無菌でなければならず、容易なシリンジとしての性能が存在する程度にまで流動性であるべきである。これは、製造及び貯蔵の状態下で安定しているべきであり、細菌及び真菌等の微生物の混入作用に備えて保存されなければならない。

【0107】

芳香族カチオン性ペプチド組成物は、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレンジリコール、及び液体ポリエチレンジリコール等）、及びその好適な混合物を含有する溶媒または分散媒であり得る、担体を含むことができる。適切な流動度は、例えば、レシチン等のコーティングの使用によって、分散液の場合には必要とされる粒径の維持によって、及び界面活性剤の使用によって、維持できる。微生物の作用の予防は、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、及びチオメラソール（thiomerasol）等の種々の抗菌及び抗真菌剤によって達成することができる。グルタチオン及び他の酸化防止剤を、酸化を防ぐように含むことができる。多くの場合、組成物中に例えば、糖、マンニトール等のポリアルコール、ソルビトール、または塩化ナトリウム等の等張剤を含むことが好ましいであろう。注射用組成物の遷延性吸収は、例えば、モノステアリン酸アルミニウムまたはゼラチン等の吸収を遅延させる薬剤を組成物中に含むことによってもたらされ得る。

【0108】

無菌注射用溶液は、上に列挙された成分のうちの1つまたは組み合わせを伴う適切な溶媒中に組み込み、必要に応じて濾過滅菌法が後に続くことによって調製され得る。一般的に、分散液は、塩基分散媒及び上に列挙されたもの由来の必要とされる他の成分を含有する無菌ビヒクル中に組み込むことによって調製され得る。無菌注射用溶液の調製のための無菌粉末の場合には、調製の典型的な方法は、真空乾燥及び凍結乾燥を含み、これらは、活性成分、更には任意の追加の所望の成分の粉末を、前に無菌濾過されたその溶液から產生できる。

【0109】

経口組成物は、一般に、不活性希釈剤または可食性担体を含む。経口治療投与の目的のため、活性化合物は、賦形剤と一緒に組み込むことができ、錠剤、トローチ剤、またはカプセル剤、例えば、ゼラチンカプセル剤、の形態で使用することができる。経口組成物は

また、口腔洗浄薬として使用するために流体担体を用いても調製することができる。薬学的に適合する結合剤、及び／またはアジュバント材料は、組成物の一部として含むことができる。錠剤、ピル、カプセル剤、及びトローチ剤等は、次の成分のうちのいずれか、または似た性質のものの化合物を含むことができる：結晶セルロース、ガムトラガント、またはゼラチン等の結合剤；スタークまたはラクトース等の賦形剤、アルギン酸、プリモゲル（Primogel）、またはコーンスターク等の分解剤；ステアリン酸マグネシウムまたはステロテス（Sterotes）等の潤滑剤；コロイド状二酸化ケイ素等の流動促進剤（gildant）；ショ糖またはサッカリン等の甘味剤；またはペパーミント、サリチル酸メチル、またはオレンジ香味等の香味料。

【0110】

10

吸入による投与については、化合物は、好適な噴霧剤、例えば二酸化炭素等のガス、を含有する圧縮容器またはディスペンサ、または噴霧器からエアロゾルスプレーの形態で送達することができる。そのような方法は、米国特許第6,468,798号に説明されるものを含む。

【0111】

20

本明細書に説明されるとき治療化合物の全身的投与は、経粘膜または経皮手段によるものであり得る。経粘膜または経皮投与については、バリアを透過させるのに適切な浸透性を、配合物において使用する。そのような浸透性は、当該技術分野において一般に知られており、経粘膜投与については、例えば、洗浄剤、胆汁酸塩、及びフシジン酸誘導体を含む。経粘膜投与は、経鼻スプレーの使用を介して達成することができる。経皮投与については、活性化合物は、当該技術分野において一般に知られているように、軟膏、膏薬、ゲル、またはクリームに配合される。一実施形態では、経皮投与はイオントフォレシスによって実施され得る。

【0112】

治療タンパク質またはペプチドは、担体系において配合できる。担体は、コロイド系であり得る。コロイド系は、リポソーム、リン脂質二重層ビヒクルであり得る。一実施形態では、治療ペプチドは、ペプチド完全性を維持しつつリポソーム中にカプセル化される。当業者であれば、リポソームを調製するための様々な方法が存在することを理解するであろう。（Lichtenberg et al., Methods Biochem. Anal., 33:337-462 (1988); Anselem et al., Liposome Technology, CRC Press (1993)を参照されたい）。リポソームの配合物は、排除を遅らせて細胞性取り込みを増加させることができる（Reddy, Ann. Pharmacother., 34(7-8):915-923 (2000)を参照されたい）。活性剤を、これらに限定されないが、可溶性、不溶性、透過性、不透過性、生分解性または胃保持性ポリマーまたはリポソームを含む薬学的に許容される成分から調製される粒子中に充填することもできる。そのような粒子としては、ナノ粒子、生分解性ナノ粒子、マイクロ粒子、生分解性マイクロ粒子、ナノ球体、生分解性ナノ球体、マイクロ球体、生分解性マイクロ球体、カプセル剤、エマルション、リポソーム、ミセル、及びウイルスペクター系が挙げられるが、これらに限定されない。

【0113】

30

担体はまた、ポリマー、例えば、生分解性、生体適合性ポリマー基質であり得る。一実施形態では、治療ペプチドを、タンパク質完全性を維持しつつ、ポリマー基質中に包埋することができる。ポリマーは、ポリペプチド、タンパク質、または多糖体等の天然か、またはポリ-ヒドロキシ酸等の合成であってもよい。例としては、例えば、コラーゲン、フィブロネクチン、エラスチン、酢酸セルロース、硝酸セルロース、多糖体、フィブリン、ゼラチン、及びこれらの組み合わせから作製させる担体が挙げられる。一実施形態では、ポリマーは、ポリ-乳酸（PLA）またはコポリ乳酸／グリコール酸（PGA）である。ポリマー基質は、マイクロ球体及びナノ球体を含む様々な形態及び大きさで調製及び単離することができる。ポリマー配合物は、治療効果の遷延性持続期間をもたらすことができる。（Reddy, Ann. Pharmacother., 34(7-8):9

40

50

15-923(2000)を参照されたい)。ヒト成長ホルモン(hGH)のためのポリマー配合物は、臨床治験において使用されている。(Kozarich and Rich, *Chemical Biology*, 2:548-552(1998)を参照されたい)。

【0114】

ポリマーマイクロ球体徐放配合物の例は、PCT公開国際公開第99/15154号(Tracy, et al.)、米国特許第5,674,534号及び同第5,716,644号(共にZale et al.に属する)、PCT公開国際公開第96/40073号(Zale et al.)、及びPCT公開国際公開第00/38651号(Shah et al.)に記載されている。米国特許第5,674,534号及び同第5,716,644号、及びPCT公開国際公開第96/40073号は、塩との集合に対して安定化されたエリスロポエチンのポリマー基質を説明する。10

【0115】

いくつかの実施形態では、治療化合物を、移植片及びマイクロカプセル化された送達系を含む制御された遊離配合物等の本体からの急速な脱離に対して治療化合物を保護するであろう担体を使って調製する。エチレン酢酸ビニル、ポリ酸無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、及びポリ乳酸等の生分解性、生体適合性ポリマーを使用することができます。そのような配合物は、既知の技術を用いて調製できる。材料はまた、例えば、Alza Corporation及びNova Pharmaceutical als, Inc.から商業的に得ることもできる。リポソームの懸濁液(細胞固有の抗原に対する単クローナ抗体を有する固有の細胞を標的とするリポソームを含む)は、薬学的に許容される担体としても使用することができます。これらのものは、例えば、米国特許第4,522,811号に説明されるように、当業者には既知の方法に従って調整することができる。20

【0116】

治療化合物はまた、細胞内送達を向上させるために配合することができる。例えば、リポソームの送達系は、当該技術分野において知られており、例えば、Chonn and Cullis、「Recent Advances in Liposome Drug Delivery Systems」、Current Opinion in Biotechnology 6:698-708(1995); Weiner、「Liposomes for Protein Delivery: Selecting Manufacture and Development Processes」、Immuno methods, 4(3):201-9(1994); 及びGregoriadis、「Engineering Liposomes for Drug Delivery: Progress and Problems」、Trends Biotechnol., 13(12):527-37(1995)を参照されたい。Mizguchi, et al., Cancer Lett., 100:63-69(1996)には、インビボ及びインビトロ両方の細胞にタンパク質を送達するための融合性リポソームの使用が説明されている。30

【0117】

治療剤の投与量、毒性、及び治療有効性は、例えば、LD50(集団の50%致死量)及びED50(集団の50%治療有効量)を決定するために、細胞培養または実験用動物における標準薬学的手順によって決定することができる。毒性と治療効果との間の用量比は、治療指標であり、LD50/ED50比として表すことができる。高治療指標を呈する化合物が、好ましい。毒性の副作用を呈する化合物を使用できるが、非感染性細胞への潜在的損傷を最小限に抑え、それにより副作用を軽減するために、発症した組織の部位に対してそのような化合物を標的とする送達系を設計するケアが行われるべきである。40

【0118】

細胞培養アッセイ及び動物実験から得られたデータを使用して、ヒトにおいて使用するための投与量の範囲を配合することができる。そのような化合物の投与量は、好ましくは50

、少しの毒性または毒性を持たない E D 5 0 を含む循環濃度の範囲内に属する。投与量は、この範囲内で、用いられる剤形及び利用される投与の経路に応じて変化し得る。本方法において使用される任意の化合物については、治療有効量は、細胞培養アッセイから初期に推定することができる。用量は、細胞培養において決定されるように、 I C 5 0 (すなわち、最大半量の症状の阻害を達成する試験化合物の濃度)を含む循環形質濃度範囲を達成するように、動物モデルにおいて配合することができる。そのような情報を使用して、ヒトにおいて有用な用量をより正確に決定することができる。形質におけるレベルは、例えば、高速液体クロマトグラフィーによって測定することができる。

【 0 1 1 9 】

典型的には、治療または予防効果を達成するのに十分な芳香族カチオン性ペプチドの有効量は、1日当たり約 0 . 0 0 0 0 0 1 m g / キログラム体重 ~ 1 日当たり約 1 0 , 0 0 0 m g / キログラム体重の範囲である。好適には、投与量範囲は、1日当たり約 0 . 0 0 0 1 m g / キログラム体重 ~ 1 日当たり約 1 0 0 m g / キログラム体重の範囲である。例えば、投与量は、1 m g / k g 体重または毎日、隔日ごと、または3日ごとに 1 0 m g / k g 体重、または毎週、隔週ごと、または3週間ごとに 1 ~ 1 0 m g / k g の範囲内、であり得る。一実施形態では、ペプチドの单一投与量は、0 . 0 0 1 ~ 1 0 , 0 0 0 マイクログラム / キログラム体重の範囲である。一実施形態では、担体中の芳香族カチオン性ペプチド濃度は、送達されたミリリットル当たり 0 . 2 ~ 2 0 0 0 マイクログラムの範囲である。例示的な治療計画は、1日当たり1回または1週間に1回の投与を必要とする。治療用途では、比較的短い間隔での比較的高い投与量は、時折、疾患の進行が低下するかまたは終了するまで、好ましくは、対象が疾患の症状の部分的または完全な改善を示すまで必要とされる。したがって、患者は、予防計画を投与することができる。

10

【 0 1 2 0 】

いくつかの実施形態では、芳香族カチオン性ペプチドの治療有効量は、 $1 0^{-12} \sim 1 0^{-6}$ モル、例えば、約 $1 0^{-7}$ モルの標的とする組織でペプチドの濃度として定義され得る。この濃度は、0 . 0 0 1 ~ 1 0 0 m g / k g の全身的用量か、または体表面積による等量用量によって送達することができる。用量のスケジュールは、最も好ましくは、単一の毎日または毎週の投与によって標的とする組織で治療濃度を維持するように最適化されるであろうが、連続的投与（例えば、非経口注入または経皮適用）も含むであろう。

20

【 0 1 2 1 】

30

当業者であれば、これらに限定されないが、疾患または障害の重症度、以前の治療、対象の健康全般及び／または年齢、ならびに存在する他の疾患を含むある特定の要素が、対象を効率的に治療するために必要とされる投与量及びタイミングに影響し得ることを理解するであろう。更には、本明細書に説明される治療組成物の治療有効量を用いる対象の治療は、単一の治療または一連の治療を含むことができる。

【 0 1 2 2 】

本発明の方法に従って治療される哺乳類は、例えば、ヒツジ、ブタ、ウシ、及びウマ等の家畜；イヌ及びネコ等のペット用動物；ラット、マウス、及びウサギなどの実験用動物を含む任意の哺乳類であり得る。好ましい実施形態では、哺乳類は、ヒトである。

40

【 0 1 2 3 】

芳香族カチオン性ペプチド及び他の治療剤を用いる組み合わせ治療

いくつかの実施形態では、芳香族カチオン性ペプチドは、S U R F 1 遺伝子または P O L G 遺伝子の変異に関連するミトコンドリア疾患または障害の治療のための1つ以上の更新なる治療剤と組み合わせてもよい。ミトコンドリア疾患または障害のための治療は、典型的に、ビタミン及び補助因子を摂取することを含む。加えて、非限定的な例としては、抗生物質、ホルモン物質、抗悪性腫瘍薬、免疫調節物質、皮膚科学的薬剤、抗血栓剤、抗貧血剤、及び心血管系薬剤もまた、投与されてもよい。

【 0 1 2 4 】

一実施形態では、芳香族カチオン性ペプチドは、1つ以上の補助因子またはビタミンと組み合わされる。非限定的な例としては、そのような化合物として、C o Q 1 0 、レボカ

50

ルニチン、リボフラビン、アセチル - 1 - カルニチン、チアミン、ニコチンアミド、ビタミン E、ビタミン C、リポ酸、セレン、b - カロチン、ビオチン、葉酸、カルシウム、マグネシウム、亜リン酸、コハク酸、クレアチン、ウリジン、シトラテズム (citrat e s m) ブレドニゾン、及びビタミン K のうちの 1 つ以上を上げることができる。

【0125】

一実施形態では、相乗治療効果が生成されるように、追加の治療剤を、芳香族カチオン性ペプチドと組み合わせて対象に投与する。「相乗治療効果」は、2つの治療剤の組み合わせによって生成される相加治療効果よりも大きいものを指し、それは、いずれの治療剤単独の個別の投与から別途もたらされるであろうものを上回る。よって、治療剤のうちの 1 つのまたは両方のより低い用量は、心不全を治療する際に使用することができ、増加した治療有効性及び減少した副作用をもたらす。10

【0126】

いずれの場合にも、複数の治療剤は、任意の順序または更に同時に投与されてもよい。同時の場合、複数の治療剤は、単一、統一形態、または複数の形態で（例としてのみであるが、1つの単一のピルとしてまたは2つの別個のピルとしてのいずれか）提供されてもよい。治療剤のうちの1つが、複数用量で所与され得るか、またはいずれもが、複数用量として所与され得る。同時でない場合は、複数用量の間のタイミングは、ゼロ週を超えて4週未満と変化し得る。加えて、組成物及び配合物の組み合わせ方法は、2つの薬剤のみの使用に限定されない。20

【実施例】

【0127】

本発明は、以下の実施例によって更に示されるが、いかなる方法によっても限定されるように解釈されない。20

【0128】

実施例 1 : S U R F 1 変異体対象の確認

S U R F 1 の変異は、典型的に、最重度複合体 I V 欠損をもたらす。単量体複合体 I V は、減少会合体を示す高異常性、ならびに高及び低分子量複合体 I V 構造の異常性である（図 1、図 6）。図 1 は、リー疾患の小児患者及び成人患者からの単量体複合体 I V を示す。小児患者は、複合体 I V の異常性分子量を持つ減少した単量体複合体 I V 会合体を示す。これらの異常性複合体 I V 構造は、異常に会合した機能障害性複合体 I V を表わす可能性が高い。図 6 は、リー疾患の2人の小児対象の複合体 I V 会合体を示す。したがって、リー疾患を患っている対象は、本明細書に開示される芳香族カチオン性ペプチドで治療できた。30

【0129】

実施例 2 : D - A r g - 2' , 6' - D m t - L y s - P h e - N H₂ (SS - 31) は、S U R F 1 変異の O X P H O S を増加させる。

S U R F 1 を2つの領域で変位させた：1) エキソン 4 : 344 - 353 d e l 10 , i n s A T (欠失配列 = T C T G C C A G C C) (ヘテロ接合性) 及び 2) エキソン 9 : 875 - 876 d e l C T (ヘテロ接合性)。線維芽細胞を、変異 S U R F 1 で形質転換した。40

【0130】

変異 S U R F 1 形質転換細胞を、次いで、D M E M において培養し、3つのグループに分けた。グループ 1 生理食塩水のグループを、D M E M + 生理食塩水で治療した。グループ 2 慢性治療のグループを、D M E M + 10 nM の S S - 31 で 5 日間治療した。グループ 3 急性治療のグループを、D M E M + 10 nM の S S - 31 で 1 日間 (16 ~ 24 時間) 治療した。非形質転換線維芽細胞を対照として使用して、上に列挙される通り 3 つの治療グループに分けた。

【0131】

非形質転換線維芽細胞及び対照線維芽細胞も、解糖阻害状態で培養した。解糖阻害では、線維芽細胞を、乳酸及びピルビン酸を捕捉した解糖阻害培地で培養した。解糖阻害50

状態は、酸化的リン酸化の細胞の依存を増加させ、変化をより明らかにさせた。

【0132】

脱共役比（UCR）は、呼吸予備能力の言い回しであり、細胞のOXPHOS能力を示す。UCRは、 C_{ru}/Cr と定義される。 C_{ru} は、ミトコンドリアが、FCCP（カルボニルシアニド4-（トリフルオロメトキシ）フェニルヒドラゾン）を用いて化学的に脱共役されるときに生成される酸素利用率（酸素流動）の最大速度である。FCCP滴定は、最大酸素利用率を生成するために必要なFCCPの濃度が異なる細胞株間で変化するため、実施されなければならない。最大酸素利用率に到達すると、FCCPの更なる增加が酸化的リン酸化による酸素利用率を阻害する。 Cr は、過剰基質を伴う正常な細胞呼吸中の細胞による酸素利用率を表わす。次の更なるアッセイを実施し、次の定義を使用する： 10

1) 脱共役比（UCR）：UCRは C_{ru}/Cr と定義される。UCRは、呼吸予備能力の言い回しである。 C_{ru} は、ミトコンドリアが、FCCP（カルボニルシアニド4-（トリフルオロメトキシ）フェニルヒドラゾン）を用いて化学的に脱共役されるときに生成される酸素利用率（酸素流動）の最大速度である。FCCP滴定は、最大酸素利用率を生成するために必要なFCCPの濃度が異なる細胞株間で変化するため、実施されなければならない。最大酸素利用率に到達すると、FCCPの更なる增加が酸化的リン酸化（OXPHOS）による酸素利用率を阻害する。 Cr は、過剰基質を伴う正常な細胞呼吸中の細胞による酸素利用率を表わす。

2) 正味ルーチン流動対照比（ Cr/C_{ru} ）。この値は、UCRの逆である。この値は、酸化的リン酸化の呼吸能力に対して近接するルーチン呼吸がどのように動作するかを評価する。 20

3) 呼吸対照比（RCR）：RCRは、 C_{ru}/Cr_{ro} として定義される。 C_{ru} は、上に定義される。 Cr_{ro} =オリゴマイシンによる複合体V（ATPシンターゼ）の阻害後の呼吸この比は、脱共役及びOXPHOS機能障害の評価を可能にする。

4) リーク流動対照比： Cr_{ro}/C_{ru} 。このパラメータは、RCRの逆であり、オリゴマイシンによるADPリン酸化の阻害を伴うプロトントリークを表わす。

5) リン酸化呼吸対照比：RCRpは、 $(Cr - Cr_{ro})/C_{ru}$ （または $1/UCR - 1/RCR$ ）と定義される。RCRpは、呼吸能力（ C_{ru} ）の機能としてリン酸化関連呼吸（ $Cr - Cr_{ro}$ ）を表わす指標である。RCRpは、部分的脱共役が増加したルーチン呼吸速度によって完全に代償され、酸化的リン酸化の一定速度が維持された場合、一定の状態で留まる。呼吸能力は、酸化的リン酸化の速度における効果を伴わず減少するが、RCRpは、増加するが、それは、最大能力のより高い割合がATP合成を進めるように活性化されることを示す。RCRpは、完全脱共役細胞または完全な代謝抑止下の細胞のいずれかで、0まで低下する。 30

【0133】

結果を、図2A～Gに示す。図中の「ステルス2」は、SURF1変異体を担持する線維芽細胞株の名称であり；図中の「ステルス4」は、POLG変異体を担持する線維芽細胞株の名称である。図に示されるように、本開示の芳香族カチオン性ペプチドは、例えはリー症候群等のSURF1変異によって発症するもの等のミトコンドリア障害を治療する、及びOXPHOSの調節解除に関連する疾患または状態を治療するのに有用である。 40

【0134】

実施例3：D-Arg-2', 6'-Dmt-Lys-Phe-NH₂は、POLG変異のOXPHOSを増加させる。

線維芽細胞を、エキソン7の変異、POLG変異遺伝子で形質転換し、c.13399G>A、p.Ala467Thr（ホモ接合性）であった。POLGは、ミトコンドリアDNAの複製及び修復に必要とされるDNAポリメラーゼガンマの触媒サブユニットをコードする。POLGの変異は、進行性外眼筋麻痺（PEO）、アルパース病、及び構音障害及び眼麻痺を伴う感覚性運動失調ニューロパシー（SANDO）を発症させている。

【0135】

10

20

30

40

50

変異 P O L G 線維芽細胞を培養し、3つのグループに分けた。グループ1 生理食塩水のグループを、D M E M 及び生理食塩水で治療した。グループ2 慢性治療のグループを、D M E M + 10 nM の D - A r g - 2' , 6' - D m t - L y s - P h e - N H₂ で5日間治療した。グループ3 急性治療のグループを、D M E M + 10 nM の D - A r g - 2' , 6' - D m t - L y s - P h e - N H₂ で1日間(16~24時間)治療した。非形質転換線維芽細胞を対照として使用して、上に列挙される通り3つの治療グループに分けた。

【 0 1 3 6 】

非形質転換線維芽細胞及び対照線維芽細胞も、解糖阻害状態で培養した。解糖阻害状態では、線維芽細胞を、乳酸及びピルビン酸を捕捉した解糖阻害培地で培養した。解糖阻害状態は、酸化的リン酸化の細胞の依存を増加させ、変化をより明らかにさせた。次の定義を使用する：

【 0 1 3 7 】

D - A r g - 2' , 6' - D m t - L y s - P h e - N H₂ 治療の効果を、U C R によって測定した。脱共役比(U C R)は、呼吸予備能力の言い回しであり、細胞のO X P H O S 能力を示す。U C R は、C r u / C r と定義される。C r u は、ミトコンドリアが、F C C P (カルボニルシアニド4-(トリフルオロメトキシ)フェニルヒドラゾン)を用いて化学的に脱共役されるときに生成される酸素利用率(酸素流動)の最大速度である。F C C P 滴定は、最大酸素利用率を生成するために必要なF C C P の濃度が異なる細胞株間で変化するため、実施されなければならない。最大酸素利用率に到達すると、F C C P の更なる增加が酸化的リン酸化による酸素利用率を阻害する。C r は、過剰基質を伴う正常な細胞呼吸中の細胞による酸素利用率を表わす。次の更なるアッセイを実施し、次の定義を使用する：

1) 脱共役比(U C R)：U C R はC r u / C r と定義される。U C R は、呼吸予備能力の言い回しである。C r u は、ミトコンドリアが、F C C P (カルボニルシアニド4-(トリフルオロメトキシ)フェニルヒドラゾン)を用いて化学的に脱共役されるときに生成される酸素利用率(酸素流動)の最大速度である。F C C P 滴定は、最大酸素利用率を生成するために必要なF C C P の濃度が異なる細胞株間で変化するため、実施されなければならない。最大酸素利用率に到達すると、F C C P の更なる增加が酸化的リン酸化(O X P H O S)による酸素利用率を阻害する。C r は、過剰基質を伴う正常な細胞呼吸中の細胞による酸素利用率を表わす。

2) 正味ルーチン流動対照比(C r / C r u)。この値は、U C R の逆である。この値は、酸化的リン酸化の呼吸能力に対して近接するルーチン呼吸がどのように動作するかを評価する。

3) 呼吸対照比(R C R)：R C R は、C r u / C r o として定義される。C r u は、上に定義される。C r o = オリゴマイシンによる複合体V(A T Pシンターゼ)の阻害後の呼吸この比は、脱共役及びO X P H O S 機能障害の評価を可能にする。

4) リーク流動対照比：C r o / C r u。このパラメータは、R C R の逆であり、オリゴマイシンによるA D P リン酸化の阻害を伴うプロトンリークを表わす。

5) リン酸化呼吸対照比：R C R p は、(C r - C r o) / C r u (または1/U C R - 1/R C R) と定義される。R C R p は、呼吸能力(C r u)の機能としてリン酸化関連呼吸(C r - C r o)を表わす指標である。R C R p は、部分的脱共役が増加したルーチン呼吸速度によって完全に代償され、酸化的リン酸化の一定速度が維持された場合、一定の状態で留まる。呼吸能力は、酸化的リン酸化の速度における効果を伴わず減少するが、R C R p は、増加するが、それは、最大能力のより高い割合がA T P合成を進めるように活性化されることを示す。R C R p は、完全脱共役細胞または完全な代謝抑止下の細胞のいずれかで、0まで低下する。

【 0 1 3 8 】

結果を、図3 A ~ G に示す。図中の「ステルス4」は、P O L G 変異体を担持する線維芽細胞株の名称である。図に示されるように、D - A r g - 2' , 6' - D m t - L y s - P h e - N H₂ 等の本開示の芳香族カチオン性ペプチド、またはその薬学的に許容され

10

20

30

40

50

る塩は、例えば、アルパース病、進行性外眼筋麻痺（P E O）、及び構音障害及び麻痺を伴う感覚性運動失調ニューロパシー（S A N D O）等のP O L G変異によって発症するものの等のミトコンドリア障害を治療する、及びO X P H O Sの調節解除に関連する疾患または状態を治療するのに有用である。

【0139】

均等論

本発明は、本出願に説明される特定の実施形態に関して限定されるわけではなく、本発明の個々の態様の単一の例示であることが意図される。当業者には明らかであるように、本発明の多くの修正及び変形が、本発明の趣旨及び範囲から逸脱することなく行われ得る。本明細書に列挙されるものに加えて、本明細書の範囲内の機能的に均等な方法及び装置は、前述の説明から当業者には明らかとなる。そのような修正及び変形が、添付の特許請求の範囲内に属することを意図する。本発明は、添付の特許請求の範囲の用語のみによって、そのような特許請求の範囲が有している均等論の全ての範囲と共に限定される。本発明は、当然ながら変化し得る特定の方法、試薬、化合物組成物、または生命システムに限定されないことが理解される。本明細書で使用される用語法は、特定の実施形態を説明する目的のみのためであり、限定することを意図しないこともまた理解される。

10

【0140】

加えて、本開示の特徴または態様がマーカッシュグループに関して説明される場合、当業者であれば、本開示が、マーカッシュグループの任意の個々のメンバーまたはメンバーのサブグループに関してもそれによって説明されることを理解するであろう。

20

【0141】

当業者によって理解されるように、いかなる目的及び全ての目的に対しても、具体的には、書面による説明を提供することに関して、本明細書に開示される全ての範囲は、ありとあらゆる可能な部分範囲及びその部分範囲の組み合わせも包含する。任意の列挙された範囲は、少なくとも同等の2分の1、3分の1、4分の1、5分の1、10分の1等に分解されている同様の範囲を十分に説明し実施可能にすると容易に認識され得る。非限定的な実施例として、本明細書で考察される各範囲は、下位3分の1、中位3分の1、上位3分の1、等に容易に分解され得る。当業者によってまた理解されるように、「最大」、「少なくとも」、「～を超える」、「未満」等の全ての言語は、引用する数字を含み、上述の通りその後に部分範囲に分解され得る範囲を指す。最後に、当業者によって理解されるように、範囲は、各個々の構成員を含む。したがって、例えば、1～3の細胞を有する基は、1、2、または3の細胞を有する基を指す。同様に、1～5の細胞を有する基は、1、2、3、4、または5の細胞等を有する基を指す。

30

【0142】

本明細書に言及されるまたは引用される全ての特許、特許出願、仮特許出願、及び公開は、本明細書の明示的な教示と矛盾しない程度で、その全体が、全ての図面及び表を含んで参照により本明細書に組み込まれる。

【0143】

本発明のまた別の態様は、以下のとおりであってもよい。

[1] ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊を有する哺乳類細胞を治療するための方法であって、前記ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊が、少なくとも1つの遺伝子変異に関連しており、前記方法が、前記細胞を、治療有効量のペプチドD-A r g - 2', 6' - D m t - L y s - P h e - N H₂またはその薬学的に許容される塩と接触させ、それにより前記細胞における前記酸化的リン酸化の破壊を治療または改善する工程を含むことを特徴とする、方法。

40

[2] 前記哺乳類細胞が、インサイチュ（i n s i t u）またはエキソビボ（e x v i v o）かのいずれかである、前記[1]に記載の方法。

[3] 前記ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊が、複合体I、複合体II、複合体III、複合体IV、及び複合体Vからなる群から選択される少なくとも1つのミトコンドリア複合体の会合体の機能障害に起因する、前記[1]に記載の方法。

50

[4] 前記ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊が、ミトコンドリア超複合体会合体の機能障害に起因する、前記〔 1 〕に記載の方法。

[5] 前記遺伝子変異が、S U R F 1 遺伝子変異、またはD N A ポリメラーゼガンマ(P O L G)遺伝子変異である、前記〔 1 〕に記載の方法。

[6] 少なくとも 1 つの遺伝子変異に関連するミトコンドリア疾患または障害の治療を必要とする対象における少なくとも 1 つの遺伝子変異に関連するミトコンドリア疾患または障害を治療するための方法であって、治療有効量のペプチド D - A r g - 2 ' , 6 ' - D m t - L y s - P h e - N H₂ またはその薬学的に許容される塩を投与し、それにより前記ミトコンドリア疾患または状態の少なくとも 1 つの症状を治療または改善する工程を含むことを特徴とする、方法。
10

[7] 前記症状が、成長不良、筋協調の喪失、筋力低下、神経障害、てんかん発作、自閉症、自閉症スペクトラム障害、自閉症的特徴、学習障害、心疾患、肝疾患、腎疾患、胃腸障害、重度の便秘症、糖尿病、感染リスクの増加、甲状腺機能障害、副腎機能障害、自律神経障害、錯乱、失見当識、記憶喪失、成長不良、発育障害、協調不良、感覚(視覚、聴覚)問題、精神機能の低下、臓器疾患、認知症、呼吸器問題、低血糖症、無呼吸、乳酸アシドーシス、てんかん発作、嚥下困難、発達遅延、運動障害(ジストニア、筋痙攣、振戦、舞蹈病)、脳卒中、及び脳萎縮症からなる群から選択される、前記〔 6 〕に記載の方法。
。

[8] 前記ミトコンドリア疾患または状態が、リー症候群、アルパース病、運動失調ニューロパチー障害(ataxia - neuropathy disorders)、及び進行性外眼筋麻痺からなる群から選択される、前記〔 6 〕に記載の方法。
20

[9] 前記変異が、S U R F 1 遺伝子変異、またはD N A ポリメラーゼガンマ(P O L G)遺伝子変異である、前記〔 6 〕に記載の方法。

[10] 前記ペプチドが、経口的に、局所的に、全身的に、静脈内に、皮下に、腹腔内に、または筋肉内に投与される、前記〔 6 〕に記載の方法。

[11] 哺乳類細胞の脱共役比を増加させるための方法であって、前記細胞を、治療有効量のペプチド D - A r g - 2 ' , 6 ' - D m t - L y s - P h e - N H₂ またはその薬学的に許容される塩と接触させる工程を含むことを特徴とする、方法。

[12] リー症候群の治療を必要とする対象におけるリー症候群を治療するための方法であって、治療有効量のペプチド D - A r g - 2 ' , 6 ' - D m t - L y s - P h e - N H₂ またはその薬学的に許容される塩を投与する工程を含むことを特徴とする、方法。
30

[13] アルパース病の治療を必要とする対象におけるアルパース病を治療するための方法であって、治療有効量のペプチド D - A r g - 2 ' , 6 ' - D m t - L y s - P h e - N H₂ またはその薬学的に許容される塩を投与する工程を含むことを特徴とする、方法。

[14] 運動失調ニューロパチー障害の治療を必要とする対象における運動失調ニューロパチー障害を治療するための方法であって、治療有効量のペプチド D - A r g - 2 ' , 6 ' - D m t - L y s - P h e - N H₂ またはその薬学的に許容される塩を投与する工程を含むことを特徴とする、方法。

[15] 進行性外眼筋麻痺の治療を必要とする対象における進行性外眼筋麻痺を治療するための方法であって、治療有効量のペプチド D - A r g - 2 ' , 6 ' - D m t - L y s - P h e - N H₂ またはその薬学的に許容される塩を投与する工程を含むことを特徴とする、方法。
40

[16] 前記治療が、成長不良、筋協調の喪失、筋力低下、神経障害、てんかん発作、自閉症、自閉症スペクトラム障害、自閉症的特徴、学習障害、心疾患、肝疾患、腎疾患、胃腸障害、重度の便秘症、糖尿病、感染リスクの増加、甲状腺機能障害、副腎機能障害、自律神経障害、錯乱、失見当識、記憶喪失、成長不良、発育障害、協調不良、感覚(視覚、聴覚)問題、精神機能の低下、臓器疾患、認知症、呼吸器問題、低血糖症、無呼吸、乳酸アシドーシス、てんかん発作、嚥下困難、発達遅延、運動障害(ジストニア、筋痙攣、振戦、舞蹈病)、脳卒中、及び脳萎縮症からなる群から選択される 1 つ以上の症状を軽減または改善する、前記〔 12 〕～〔 15 〕のいずれか一項に記載の方法。
50

〔17〕前記ペプチドが、経口的に、局所的に、系統的に、静脈内に、皮下に、腹腔内に、または筋肉内に投与される、前記〔12〕～〔15〕のいずれか一項に記載の方法。

〔18〕前記リー症候群が、SURF1遺伝子変異に関連する、前記〔12〕に記載の方法。

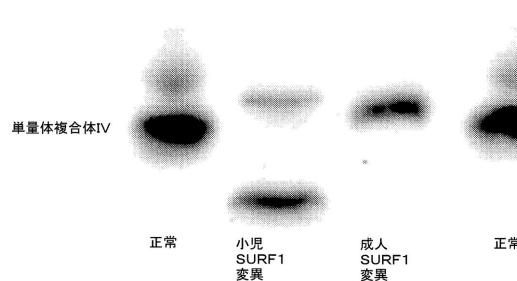
〔19〕前記SURF1変異が、複合体I、複合体II、複合体III、複合体IV、及び複合体Vからなる群から選択される少なくとも1つのミトコンドリア複合体の完全会合体の機能障害に起因するミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊をもたらす、前記〔12〕に記載の方法。

〔20〕前記対象が、ミトコンドリア酸化的リン酸化の破壊をもたらすPOLG変異を有する、前記〔13〕～〔15〕のいずれか一項に記載の方法。

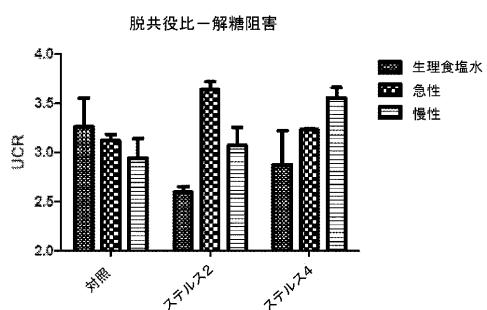
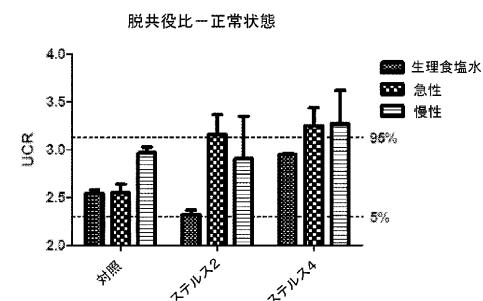
他の実施形態は、以下の特許請求の範囲内に説明される。

10

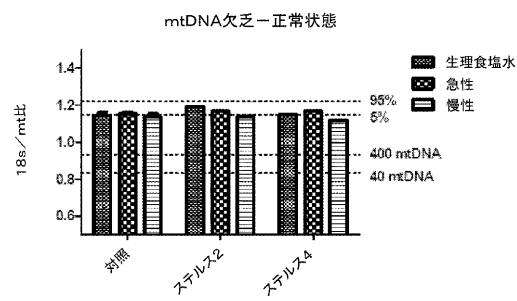
【図1】



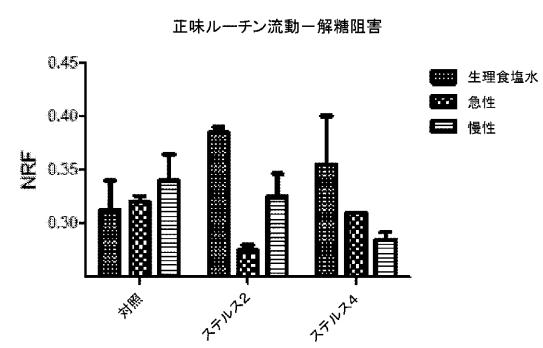
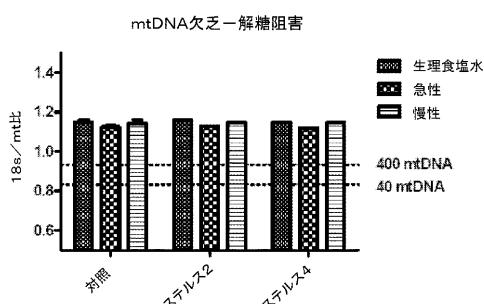
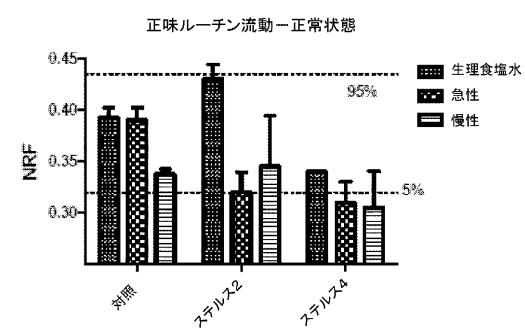
【図2A】



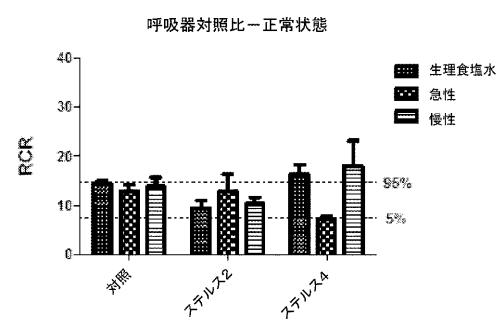
【図2B】



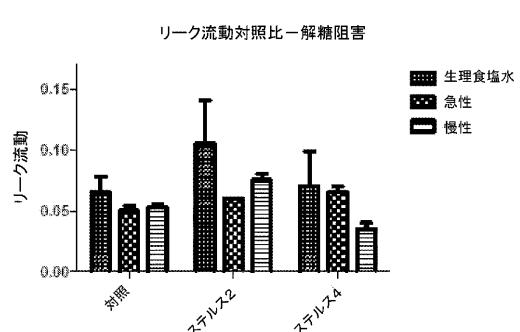
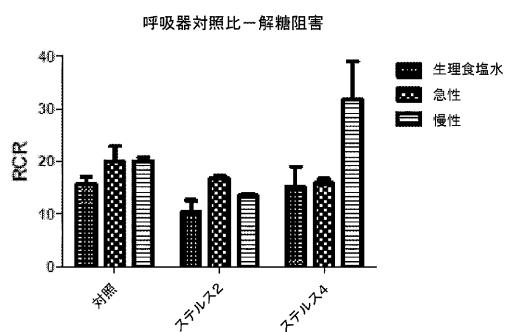
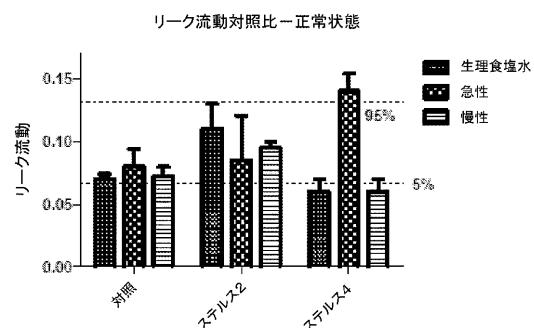
【図2C】



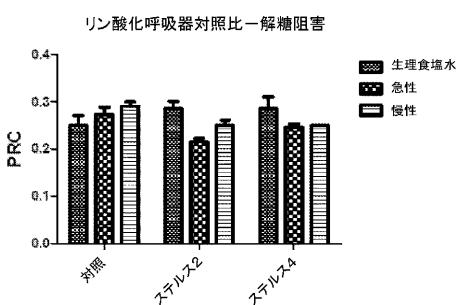
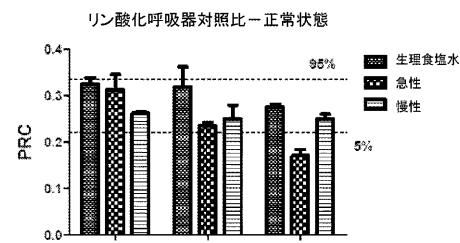
【図2D】



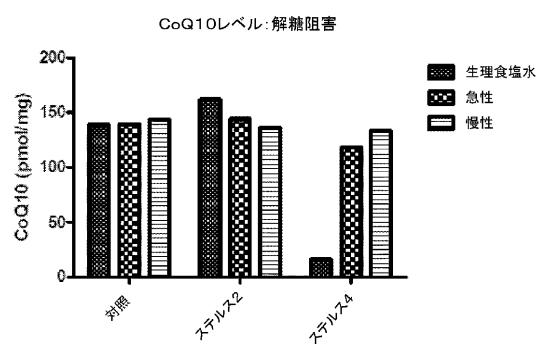
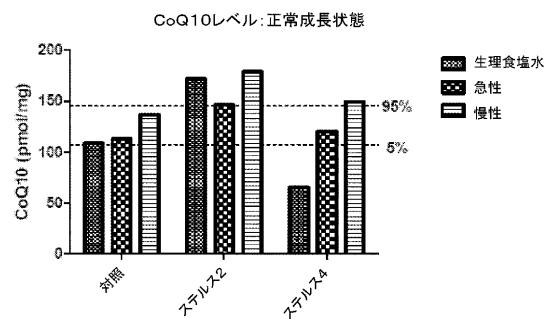
【図2E】



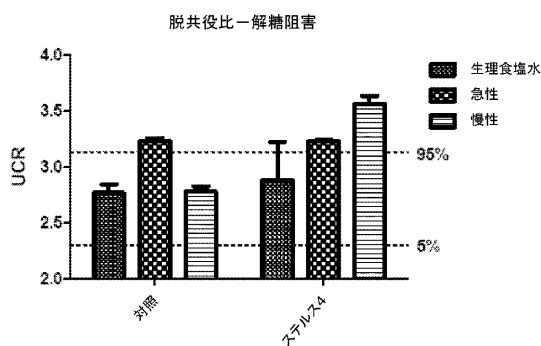
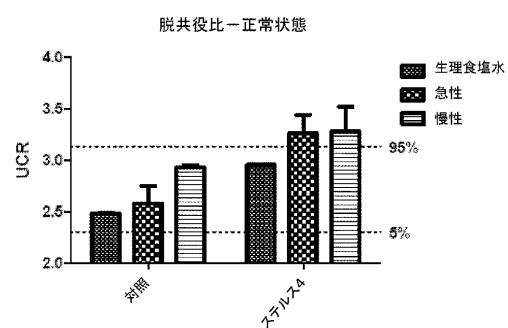
【図2F】



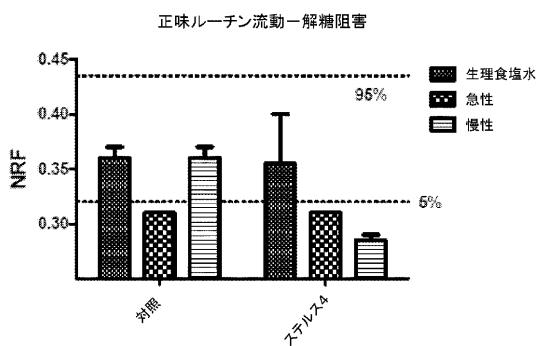
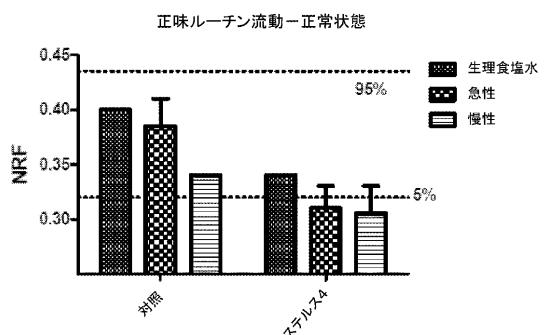
【図2G】



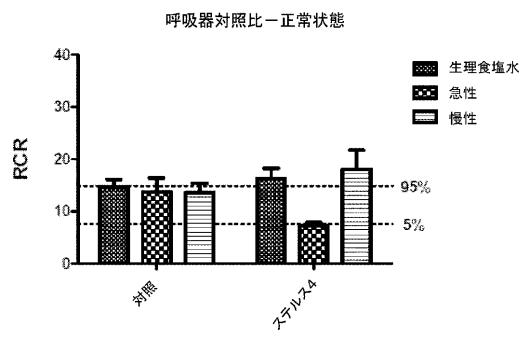
【図3A】



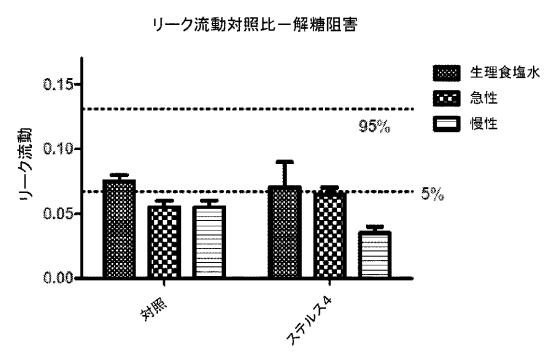
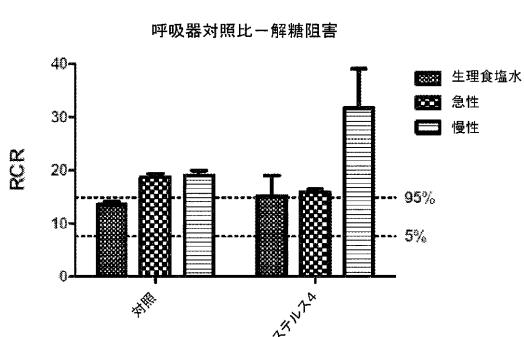
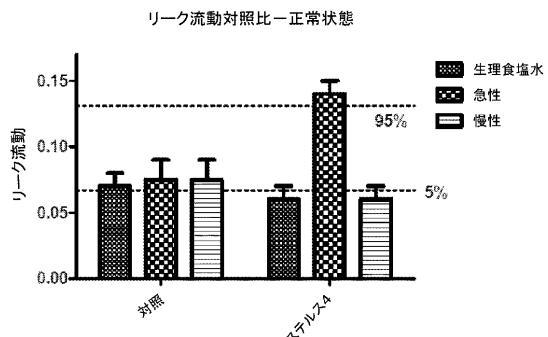
【図3B】



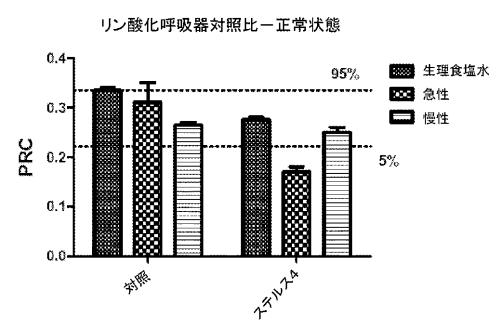
【図3C】



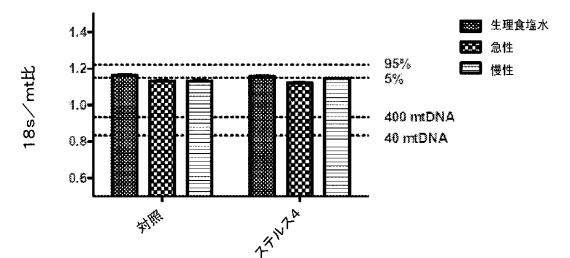
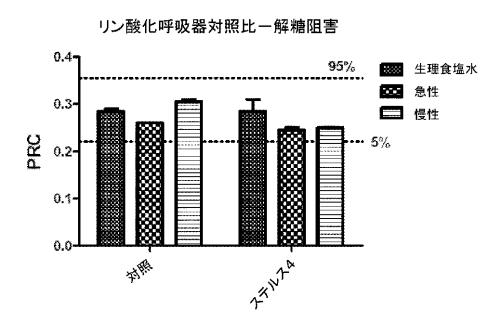
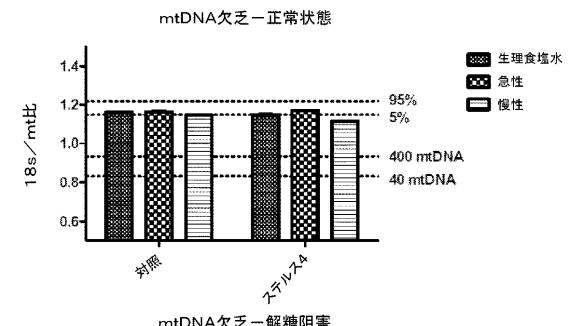
【図3D】



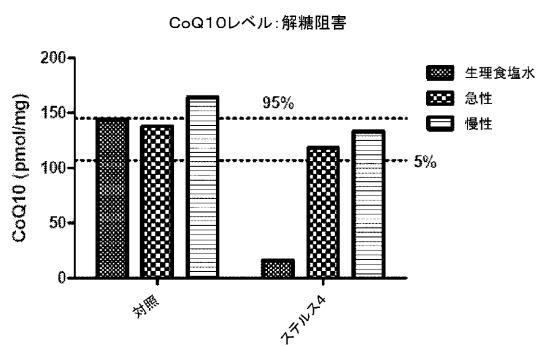
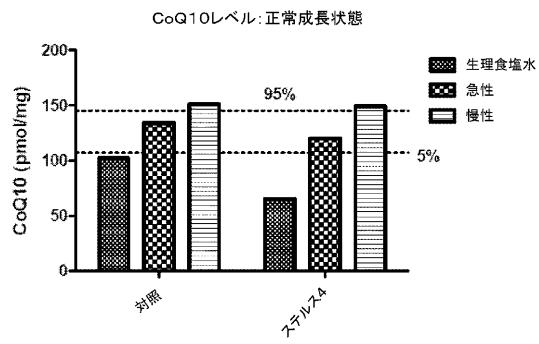
【図3E】



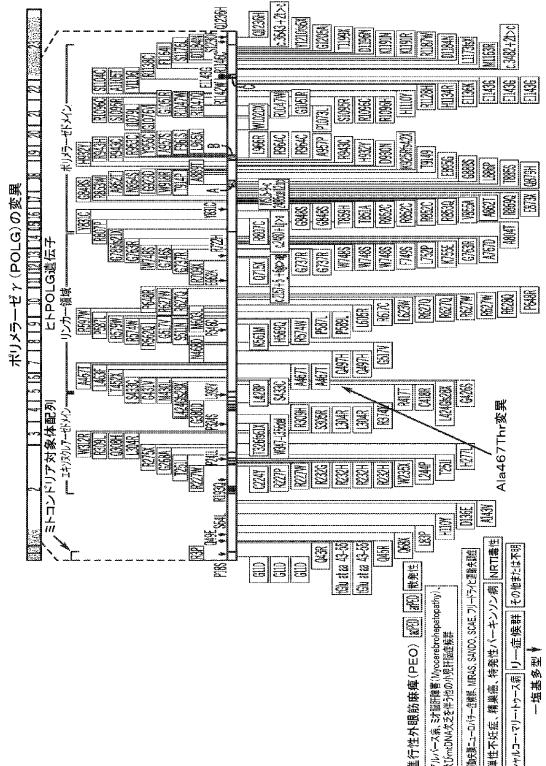
【図3F】



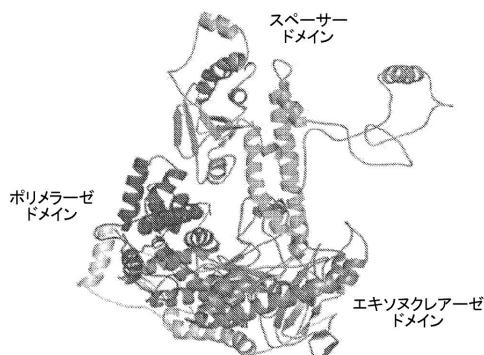
【図3G】



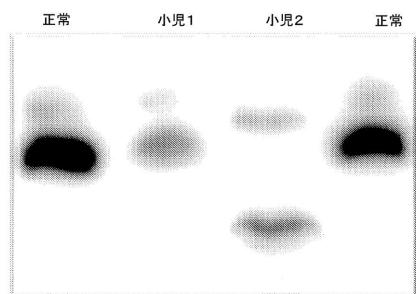
【図4】



【図5】



【図6】



【配列表】

0006839490000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
C 0 7 K 5/11 (2006.01) C 0 7 K 5/11 Z N A

(31)優先権主張番号 61/771,642
(32)優先日 平成25年3月1日(2013.3.1)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(74)代理人 100123777
弁理士 市川 さつき
(74)代理人 100111796
弁理士 服部 博信
(74)代理人 100196405
弁理士 小松 邦光
(72)発明者 ウィルソン ディー トラヴィス
アメリカ合衆国 マサチュ - セッツ州 02461 ニュートン ブルースター ロード 22

合議体

審判長 原田 隆興
審判官 富永 みどり
審判官 大久保 元浩

(56)参考文献 國際公開第2012 / 129427 (WO , A1)
The FASEB Journal , 2011年 , Vol . 25 , No . 1 , Suppl
ement 735.1
The FASEB Journal , 2012年 , Vol . 26 , No . 1 , Supple
ment 1144.10
ミトコンドリア異常症概説 [オンライン] , 2007年 , [retrieved on 20
17-10-30] , Retrieved from the Internet <http : // grj . umin . jp / grj / mt - overview . htm >

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)
A61K38/00-38/58
CAPLUS / MEDLINE / BIOSIS / EMBASE (STN)