

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7183164号

(P7183164)

(45)発行日 令和4年12月5日(2022.12.5)

(24)登録日 令和4年11月25日(2022.11.25)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 38/22 (2006.01)

A 6 1 K 38/22

Z N A

A 6 1 K 47/64 (2017.01)

A 6 1 K 47/64

A 6 1 K 47/62 (2017.01)

A 6 1 K 47/62

A 6 1 K 47/65 (2017.01)

A 6 1 K 47/65

A 6 1 K 47/56 (2017.01)

A 6 1 K 47/56

請求項の数 28 (全67頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-537254(P2019-537254)

(86)(22)出願日 平成30年1月4日(2018.1.4)

(65)公表番号 特表2020-503367(P2020-503367
A)

(43)公表日 令和2年1月30日(2020.1.30)

(86)国際出願番号 PCT/US2018/012405

(87)国際公開番号 WO2018/129200

(87)国際公開日 平成30年7月12日(2018.7.12)

審査請求日 令和3年1月4日(2021.1.4)

(31)優先権主張番号 62/442,906

(32)優先日 平成29年1月5日(2017.1.5)

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(73)特許権者 506115514

ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシテ
ィ オブ カリフォルニアThe Regents of the U
niversity of Califo
rniaアメリカ合衆国、カリフォルニア州 9
4 6 0 7 - 5 2 0 0, オークランド, フ
ランクリン ストリート 1 1 1 1, 1 2
番 フロア

(73)特許権者 519244485

ザ・ユナイテッド・ステイツ・ガバメン
ト・リプレゼンテッド・バイ・ザ・デバ
ートメント・オブ・ベテランズ・アフェ
アーズ

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 P A C 1 受容体作動薬 (M A X C A P) 及びその用途

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

P A C 1 受容体作動薬であって、

前記作動薬においては、P A C 1 受容体に結合する標的指向性配列が、直接、またはアミノ酸を介して、またはペプチドリンカーを介して、P A C 1 シグナル伝達を活性化させるペプチドに結合しており、前記標的指向性配列のアミノ酸配列が、配列 P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 4) からなり、P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドが、P A C 1 シグナル伝達を活性化させるのに有効な P A C A P₁₋₃₈ またはその断片のアミノ酸配列からなり、前記 P A C A P₁₋₃₈ またはその断片が、アミノ酸配列 H S D G I F (配列番号 1 3 0) を含み、かつ、場合によって、前記 P A C A P₁₋₃₈ の残基 1 1 と残基 1 2 との間のアミノ酸挿入であって、セリンもしくはスレオニンであるアミノ酸挿入、または前記 P A C A P₁₋₃₈ の残基 1 2 に R から A への突然変異、または前記 P A C A P₁₋₃₈ の残基 1 2 に R から K への突然変異、または前記 P A C A P₁₋₃₈ の残基 1 5 に K から A への突然変異を含む、前記作動薬。

【請求項 2】

P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドがアミノ酸配列 H S D G I F T を含

む、請求項 1 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【請求項 3】

P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドがアミノ酸配列 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L を含む、請求項 2 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【請求項 4】

P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドがアミノ酸配列 H S D G I F T D S Y S S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L を含む、請求項 1 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【請求項 5】

P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドのアミノ酸配列が、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K Q R V K N K (配列番号 9 5) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K Q R V K N (配列番号 9 6) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K Q R V K (配列番号 9 7) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K Q R V (配列番号 9 8) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K Q R (配列番号 9 9) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K Q (配列番号 1 0 0) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K (配列番号 1 0 1) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y (配列番号 1 0 2) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R (配列番号 1 0 3) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K (配列番号 1 0 4) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G (配列番号 1 0 5) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L (配列番号 1 0 6) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V (配列番号 1 0 7) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A (配列番号 1 0 8) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A (配列番号 1 0 9) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L (配列番号 1 1 0) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y (配列番号 1 1 1) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K (配列番号 1 1 2) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K (配列番号 1 1 3) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V (配列番号 1 1 4) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A (配列番号 1 1 5) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M (配列番号 1 1 6) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q (配列番号 1 1 7) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R K (配列番号 1 1 8) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R A (配列番号 1 1 9) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y R (配列番号 1 2 0) 、
 H S D G I F T D S Y S R Y (配列番号 1 2 1) 、
 H S D G I F T D S Y S R (配列番号 1 2 2) 、
 H S D G I F T D S Y S A (配列番号 1 2 3) 、
 H S D G I F T D S Y S K (配列番号 1 2 4) 、
 H S D G I F T D S Y S (配列番号 1 2 5) 、
 H S D G I F T D S Y (配列番号 1 2 6) 、

10

20

30

40

50

HSDGIFTDS (配列番号127)、
 HSDGIFTD (配列番号128)、
 HSDGIFT (配列番号129)、及び
 HSDGIF (配列番号130)
 からなる群から選択されるアミノ酸配列からなり、または
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQRVKNK
 (配列番号131)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQRVKNK
 (配列番号132)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQRVKN (配列番号133)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQRVK (配列番号134)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQRV (配列番号135)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQR (配列番号136)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQ (配列番号137)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYK (配列番号138)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRY (配列番号139)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL GK R (配列番号140)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL GK (配列番号141)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL G (配列番号142)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL (配列番号143)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AV (配列番号144)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA A (配列番号145)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYL A (配列番号146)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYL (配列番号147)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKY (配列番号148)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKK (配列番号149)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVK (配列番号150)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAV (配列番号151)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMA (配列番号152)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQM (配列番号153)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQ (配列番号154)、
 HSDGIFTDSYSSRYRK (配列番号155)、
 HSDGIFTDSYSSRYR (配列番号156)、
 HSDGIFTDSYSSRY (配列番号157)、
 HSDGIFTDSYSSR (配列番号158)、及び
 HSDGIFTDSYSS (配列番号159)

からなる群から選択される、
 請求項1に記載のPAC1受容体作動薬。

【請求項6】

前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列

HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL PGNSVFKECMKQ
 KKKEFKAGK (配列番号5)

を含む、またはそれからなる、請求項 1 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【請求項 7】

前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列

H S D G I F A P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 6)

を含む、またはそれからなる、請求項 1 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【請求項 8】

前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列

H S D G I F T S M D T S Q L P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 7)

を含む、またはそれからなる、請求項 1 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

10

【請求項 9】

前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列

H S D G I F T P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 8)

を含む、またはそれからなる、請求項 1 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【請求項 10】

前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列

H S D G I F T D S Y S A P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 9)

を含む、またはそれからなる、請求項 1 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【請求項 11】

前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列

H S D G I F T D S Y S K P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 10)

を含む、またはそれからなる、請求項 1 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

20

【請求項 12】

前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列

H S D G I F T D S Y S R Y R A P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 11)

を含む、またはそれからなる、請求項 1 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【請求項 13】

前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列

H S D G I F T D S Y S R Y R K P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 12)

を含む、またはそれからなる、請求項 1 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

30

【請求項 14】

前記作動薬は D P P - I V プロテアーゼ分解に対する耐性が天然の P A C A P₁₋₂₇ 及び／または P A C A P₁₋₃₈ よりも大きい、請求項 1 ～ 13 のいずれか 1 項に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【請求項 15】

前記 P A C 1 受容体作動薬が 1 つ以上の保護基を保有する、請求項 1 ～ 14 のいずれか 1 項に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【請求項 16】

40

前記 1 つ以上の保護基が独立してアセチル、アミド、3 ～ 20 炭素アルキル基、F m o c、T b o c、9-フルオレンアセチル基、1-フルオレンカルボキシリック基、9-フルオレンカルボキシリック基、9-フルオレノン-1-カルボキシリック基、ベンジルオキシカルボニル、キサントイル (X a n)、トリチル (T r t)、4-メチルトリチル (M t t)、4-メトキシトリチル (M m t)、4-メトキシ-2, 3, 6-トリメチル-ベンゼンスルホニル (M t r)、メシチレン-2-スルホニル (M t s)、4, 4-ジメトキシベンズヒドリル (M b h)、トシル (T o s)、2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチルクロマン-6-スルホニル (P m c)、4-メチルベンジル (M e B z l)、4-メトキシベンジル (M e O B z l)、ベンジルオキシ (B z l O)、ベンジル (B z l)、ベンゾイル (B z)、3-ニトロ-2-ピリジンスルフェニル (N p y s)、1-(4, 4-

50

ジメチル-2, 6-ジオキソシクロヘキシリデン) エチル (Dde)、2, 6-ジクロロベンジル (2, 6-DiCl-Bzl)、2-クロロベンジルオキシカルボニル (2-Cl-Z)、2-ブロモベンジルオキシカルボニル (2-Br-Z)、ベンジルオキシメチル (Bom)、t-ブトキシカルボニル (Boc)、シクロヘキシルオキシ (cHxO)、t-ブトキシメチル (Bum)、t-ブトキシ (tBuO)、t-ブチル (tBu)、及びトリフルオロアセチル (TFA) からなる群から選択される、請求項15に記載のPAC1受容体作動薬。

【請求項17】

構築物がカルボキシル及び／またはアミノ末端に保護基を含む、請求項15に記載のPAC1受容体作動薬。

【請求項18】

カルボキシル末端がアミド化されている、請求項17に記載のPAC1受容体作動薬。

【請求項19】

アミノ末端がアセチル化されている、請求項17～18のいずれか1項に記載のPAC1受容体作動薬。

【請求項20】

前記PAC1受容体作動薬が血中半減期を延長すべくポリマーで官能化されている、請求項1～19のいずれか1項に記載のPAC1受容体作動薬。

【請求項21】

前記ポリマーがポリエチレングリコール及び／またはセルロースもしくは変性セルロースを含む、請求項20に記載のPAC1受容体作動薬。

【請求項22】

前記標的指向性配列、及び／またはPAC1シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドが、組換え発現される、請求項1～21のいずれか1項に記載のPAC1受容体作動薬。

【請求項23】

前記標的指向性配列、及び／またはPAC1シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドが、グリコシル化されている、請求項1～22のいずれか1項に記載のPAC1受容体作動薬。

【請求項24】

前記PAC1受容体作動薬が、哺乳動物に投与される場合に、
食欲を下方制御すること及び／または、肥満及び／または体重を低減すること；及び／または、脂肪生成及び／または脂肪蓄積を抑制すること；及び／または
2型糖尿病の1つ以上の症候を改善する、もしくはその進行を遅延させる、もしくはそれを予防すること；及び／または、アテローム性動脈硬化の1つ以上の症候を改善すること；及び／または

非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させること；及び／または、肝臓脂肪症 (脂肪肝) の1つ以上の症候を改善する、及び／またはそれを遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

メタボリックシンドロームの1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／またはインスリン抵抗性の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

前糖尿病性症候群の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること
に有効である、請求項1～23のいずれか1項に記載のPAC1受容体作動薬。

【請求項25】

薬学的に許容できる担体中で、請求項1～24のいずれかに記載のPAC1受容体作動薬を含む、医薬組成物。

【請求項26】

前記組成物が単位投薬量製剤として製剤化されている、請求項 25 に記載の組成物。

【請求項 27】

前記組成物が、腹腔内投与、局所投与、経口投与、吸入投与、経皮投与、皮下蓄積投与及び直腸投与からなる群から選択される様式による投与用に製剤化されている、請求項 25～26 のいずれか 1 項に記載の組成物。

【請求項 28】

哺乳動物において以下：

食欲を下方制御すること及び／または、肥満を軽減すること、及び／または体重を低減すること；及び／または

脂肪生成及び／または体脂肪蓄積を抑制すること；及び／または

糖恒常性を低減及び／または調節すること；及び／または

真性糖尿病症候を好転もしくは治癒させること；及び／または

炎症性腸疾患を軽減する、もしくは治癒させること；及び／または

慢性炎症性疾患を軽減する、もしくは治癒させること；及び／または

全身性及び臓器特異的自己免疫疾患の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること；及び／または

ドライアイ症候群を軽減する、もしくは治癒させること；及び／または

臓器、組織及び／または幹細胞移植拒絶反応を、予防もしくは軽減すること；及び／または

体外受精のために子宮における胚着床を好転させること；及び／または

精子形成及び／または雄性不妊症を改善すること；及び／または

雌の排卵及び／または雌受胎能を改善すること；及び／または

結合組織炎の 1 つ以上の症候を改善すること；及び／または

骨関節炎及び／または関節リウマチ及び／または乾癬性関節炎の進行を遅延させること；及び／または

全身性高血圧を予防する、もしくは逆転させること；及び／または

アテローム性動脈硬化の 1 つ以上の症候を改善すること；及び／または

非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）及び／または NASH の進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させること；及び／または

肝臓脂肪症（脂肪肝）の 1 つ以上の症候を改善する、及び／またはそれを遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

メタボリックシンドロームの 1 つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；

及び／または、インスリン抵抗性の 1 つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

前糖尿病性症候群の 1 つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

腎性高血圧及び／または慢性腎疾患の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

PAC1 受容体を発現している腫瘍の成長の進行を遅延させる、及び／またはそれを抑制する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

マスト細胞及び／または好塩基球の脱顆粒及びアレルギーメディエーターの放出の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

嚢胞性線維症の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること；及び／または

セリアック病の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること；及び／または

統合失調症及び偏執症の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

アルツハイマー病の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそ

10

20

30

40

50

れを逆転させること；及び／または

神経筋ジストロフィーの進行を遅延させる、及び／またはその症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

神経麻痺の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

神経損傷麻痺の進行を遅延させる、及び／またはその症候を改善すること；及び／または

外傷性脳損傷の進行を遅延させる、及び／またはその症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

心的外傷後ストレス障害の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

神経障害の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

喘息症候群の症候を改善する、及び／またはそれを遅延もしくは逆転させること；及び／または

慢性閉塞性肺疾患の症候を改善する、及び／またはそれを遅延もしくは逆転させること；及び／または

リンパ増殖性障害及び／または骨髄増殖性障害の症候を改善する、及び／またはそれを遅延もしくは逆転させること；及び／または

血小板減少症の症候を改善する、及び／またはそれを遅延もしくは逆転させること；及び／または

多発性骨髄腫の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること；及び／または

急性もしくは慢性腎症の症候を改善する、及び／またはそれを遅延もしくは逆転させること；及び／または

一過性動脈狭窄及び／または出血性ショックを治療すること；及び／または

抗生物質誘発性神経毒性を治療すること；及び／または

多発性嚢胞腎の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること；及び／または

眼圧亢進及び／または緑内障及び／または色素性網膜炎の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

組織及び／または臓器の虚血／再灌流の症候を改善する、及び／またはそれを予防すること；及び／または

慢性肺線維化プロセスの症候を改善する、及び／またはそれを予防すること；及び／または

がん及び転移の症候を改善する、及び／またはその進行を逆転もしくは遅延させることのうちの1つ以上の用途に用いるための、

請求項1～24のいずれか1項に記載のPAC1受容体作動薬を含む組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、2017年1月5日に出願されたUS N 62/442,906に基づく利益及び優先権を主張するものであり、参照によりその全体をあらゆる目的のために本明細書に援用する。

【0002】

政府支援の記載

この研究は米国退役軍人省によって援助を受けたものであり、連邦政府は本発明に一定の権利を有する。

【背景技術】

【0003】

下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ポリペプチド(PACAP)は27または38アミノ酸ペプチドである。PACAPの一次配列は、その最も近いホルモン近縁群であるVIPと68%同一である。PACAP及びVIPは同じ親和性でVPAC1及びVPAC2

10

20

30

40

50

受容体に結合するが、PACAPだけは、1000倍高い親和性でPAC1受容体に結合する。PACAPとPAC1との免疫反応性は、腸管筋神経節と、胃腸管の筋層内に局在する神経線維とにおいて類似する分布パターンを示す。ヒトPACAP遺伝子(ADCYAP1)は染色体18p11.32に局在する。PACAPの高親和性受容体PAC1Rは、ヒトの染色体7p14に局在する。

【0004】

PACAPは脳及び末梢臓器、とりわけ膵臓内分泌腺、性腺、呼吸器及び尿生殖路に広範に分布している。PACAP受容体の分子クローニングは3つの別個の受容体サブタイプの存在を示した：いくつかの伝達系とのつながりがあるPACAP特異的PAC1-Rならびに、主としてアデニルシクラーゼとのつながりがありPACAP/VIPに偏りがないVPAC1-R及びVPAC2-R。PAC1-Rが特に脳、下垂体及び副腎に豊富に存在するのに対し、VPAC受容体は主に肺、肝臓及び精巣に発現する。PACAP及びその受容体の広範な分布と一致して、当該ペプチドは今日、広い一連の薬理作用及び生物学的機能を働かせることが示されている。

【0005】

PACAP(9-27)またはPACAP(9-38)までの、N末端を切り詰めたいくつかのPACAP₂₇またはPACAP₃₈ペプチドはPAC1受容体拮抗薬として作用することが認められたが、驚くべきことに、より短い断片は、効力が低いながらも作動薬である(Vandermeers et al. (1992) Eur. J. Biochem. 208:815-819)。他の知見は、PACAP₂₇とPACAP₃₈とが、PAC1受容体との最大限の相互作用のためのそれらの位置4、5、9、11及び13におけるアミノ酸要件の点で異なっていることを示した(Schafer et al. (1999) Regul. Pept. 79:83-92)。C末端を切り詰めたPACAP₂₆~PACAP₂₃は、VPAC1に対して最も高い親和性を有し、PAC1に対して中程度の親和性を有し、VPAC2に対して最も低い親和性を有する、PACAP受容体の3つのサブタイプを識別する低効力の完全作動薬である(Gourlet et al. (1996) Regul. Pept. 62:125-130)。マキサジランは強力かつ選択的なPAC1受容体作動薬である61アミノ酸ペプチドであり、その25~41配列の欠失は、M65と呼ばれる強力な(Ki=3.9nMの)PAC1受容体拮抗薬をもたらす(Uchida et al. (1998) Ann. N. Y. Acad. Sci. 865:253-258)。また、マキサジランの位置24と42との間の19アミノ酸の欠失が、PAC1受容体に対して結合性を有するが機能的活性を有しないペプチドをもたらす、ということも示された(Moro et al. (1999) J. Biol. Chem. 274:23103-23110)。[d.24-42]-GS-マキサジランと呼ばれるこのペプチドは、強力なPAC1受容体拮抗薬であり、Ki~nM(Id.)である。VPAC1及びVPAC2受容体と相互作用するPACAP₆₋₃₈とは違って、[d.24-42]-GS-マキサジランは、PAC1受容体(Id.)に対して高度に特異的であるようである。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【文献】Vandermeers et al. (1992) Eur. J. Biochem. 208:815-819

Schafer et al. (1999) Regul. Pept. 79:83-92

Gourlet et al. (1996) Regul. Pept. 62:125-130

Uchida et al. (1998) Ann. N. Y. Acad. Sci. 865:253-258

Moro et al. (1999) J. Biol. Chem. 274:23103-23110

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0007】

PACAP、VIPならびにそれらのPAC1、VPAC1及びVPAC2受容体が食欲／飽満感調節、メタボリックシンドローム、グルコース代謝、インスリン抵抗性、前糖尿病性症候群、2型糖尿病(T2D)、慢性炎症、炎症性腸疾患、肥満及び肝臓脂肪症に及ぼす影響に関する本発明者らの研究の過程で、本発明者らは、PAC1受容体に特異的に結合しかつそれを活性化させる化合物が、飽満感及び除脂肪体重を著しく向上させると同時に、食欲、体脂肪量及び肝脂肪蓄積、血糖レベル、慢性炎症を抑え、肝臓脂肪症、非アルコール性脂肪性肝炎(NASH)、非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)及び結腸炎を好転させる、ということを発見した。

10

【課題を解決するための手段】

【0008】

本発明者らは、全身吸収されてPAC1受容体を活性化させることができる新規な特異的PAC1受容体作動薬MAXCAP(複数可)を開発した。これらの新規作動薬は、PACAP₁₋₂₇、PACAP₁₋₃₈の天然配列の肝要なアミノ酸残基の同定及びマキサジランペプチド由来のアミノ酸配列の組込みによって作製した。マキサジラン及びPACAPは構造的相同性を有していない。特定の実施形態では、これらのPAC1受容体作動薬は、PAC1受容体に特異的かつ排他的に結合するためにマキサジランペプチドまたはその断片(例えば、マキサジランN末端断片(またはその変異型))を利用し、PAC1シグナル伝達を活性化させるためにPACAPのC末端の断片を利用する。特定の理論に拘泥するものではないが、これらのPAC1作動薬はDPP-IVプロテアーゼ分解に対する耐性が天然のPACAP₁₋₂₇及びPACAP₁₋₃₈よりも大きい、したがってより長い半減期を有する、と考えられる。

20

【0009】

したがって、本明細書において企図される様々な実施形態は、限定される必要はないが、以下のうちの1つ以上を含み得る。

【0010】

実施形態1:PAC1受容体作動薬であって、

【0011】

PAC1シグナル伝達を活性化させるペプチドに結び付けられた、PAC1受容体に結合する標的指向性配列を含み、

30

【0012】

前記標的指向性配列が、PAC1受容体に結合するのに有効なマキサジランペプチドまたはその断片を含み、

【0013】

PAC1シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドが、PAC1シグナル伝達を活性化させるのに有効なPACAP₁₋₃₈またはその断片を含み、前記PACAP₁₋₃₈またはその断片が場合によってアミノ酸欠失、挿入または置換を含む、前記作動薬。

【0014】

実施形態2:前記PACAP₁₋₃₈がアミノ酸挿入を前記PACAP₁₋₃₈の残基11と残基12との間に含む、実施形態1に記載のPAC1受容体作動薬。

40

【0015】

実施形態3:前記PAC1受容体作動薬がVPAC2受容体またはPAC2受容体を実質的に活性化させない、実施形態1~2のいずれか1つに記載のPAC1受容体作動薬。

【0016】

実施形態4:前記PAC1受容体作動薬がVPAC2受容体またはPAC2受容体を活性化させない、実施形態1~2のいずれか1つに記載のPAC1受容体作動薬。

【0017】

実施形態5:PAC1シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドがアミノ酸挿入を前記

50

P A C P₁₋₃₈ ペプチドの残基 11 と残基 12 との間に含む、実施形態 1 ～ 4 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0018】

実施形態 6：前記挿入がセリンまたはスレオニンである、実施形態 5 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0019】

実施形態 7：P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドがアミノ酸挿入を前記 P A C P ペプチドの残基 11 と残基 12 との間に含まない、実施形態 1 ～ 4 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0020】

実施形態 8：P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドが前記 P A C P ペプチドの残基 12 に R から A への突然変異を含む、実施形態 1 ～ 7 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0021】

実施形態 9：P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドが前記 P A C P ペプチドの残基 12 に R から K への突然変異を含む、実施形態 1 ～ 7 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0022】

実施形態 10：P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドが前記 P A C P ペプチドの残基 15 に K から A への突然変異を含む、実施形態 1 ～ 7 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0023】

実施形態 11：P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドがアミノ酸配列 H S D G I F を含む、実施形態 1 ～ 4 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0024】

実施形態 12：P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドがアミノ酸配列 H S D G I F T を含む、実施形態 11 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0025】

実施形態 13：P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドがアミノ酸配列 H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L を含む、実施形態 12 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0026】

実施形態 14：P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドがアミノ酸配列 H S D G I F T D S Y S S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L を含む、実施形態 1 ～ 4 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0027】

実施形態 15：P A C 1 シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドのアミノ酸配列が、H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K Q R V K N K（配列番号 95）、

H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K Q R V K N（配列番号 96）、

H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K Q R V K（配列番号 97）、

H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K Q R V（配列番号 98）、

H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K Q R（配列番号 99）、

H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K Q（配列番号 100）、

H S D G I F T D S Y S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L G K R Y K（配列番号 101）

10

20

30

40

50

)、

HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRY (配列番号102)、
 HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVLGKR (配列番号103)、
 HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVLGK (配列番号104)、
 HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVLG (配列番号105)、
 HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAVL (配列番号106)、
 HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAAV (配列番号107)、
 HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYLAA (配列番号108)、
 HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYL (配列番号109)、
 HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYL (配列番号110)、
 HSDGIFTDSYSRYRKQMAVKKYL (配列番号111)、HSDGIFTD
 SYSRYRKQMAVKK (配列番号112)、HSDGIFTDSYSRYRKQM
 AVK (配列番号113)、HSDGIFTDSYSRYRKQMAV (配列番号114
)、HSDGIFTDSYSRYRKQMA (配列番号115)、HSDGIFTDSY
 SRYRKQM (配列番号116)、HSDGIFTDSYSRYRKQ (配列番号11
 7)、HSDGIFTDSYSRYRK (配列番号118)、HSDGIFTDSYSR
 YRA (配列番号119)、HSDGIFTDSYSRYR (配列番号120)、HSD
 GIFTDSYSRY (配列番号121)、HSDGIFTDSYSR (配列番号122
)、HSDGIFTDSYSA (配列番号123)、HSDGIFTDSYSK (配列番
 号124)、HSDGIFTDSYS (配列番号125)、HSDGIFTDSY (配列
 番号126)、HSDGIFTDS (配列番号127)、HSDGIFTD (配列番号1
 28)、HSDGIFT (配列番号129)、及びHSDGIF (配列番号130)

からなる群から選択されるアミノ酸配列からなる、実施形態7に記載のPAC1受容体作
 動薬。

【0028】

実施形態16：PAC1シグナル伝達を活性化させる前記ペプチドのアミノ酸配列が、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQRVKNK (配列番号131)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQRVKNK (配列番号132)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQRVKN (配列番号133)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQRVK (配列番号134)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQRV (配列番号135)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQR (配列番号136)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQ (配列番号137)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYK (配列番号138)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRY (配列番号139)、
)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKR (配列番号140)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGK (配列番号141)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLG (配列番号142)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVL (配列番号143)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAV (配列番号144)、
 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAA (配列番号145)、

HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA (配列番号146)、
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYL (配列番号147)、
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKY (配列番号148)、
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKK (配列番号149)、HSDGIFTD
SYSSRYRKQMAVK (配列番号150)、HSDGIFTDSYSSRYRKQ
MAV (配列番号151)、
HSDGIFTDSYSSRYRKQMA (配列番号152)、HSDGIFTDSYSS
RYRKQM (配列番号153)、HSDGIFTDSYSSRYRKQ (配列番号1
54)、HSDGIFTDSYSSRYRK (配列番号155)、HSDGIFTDSY
SSRYR (配列番号156)、HSDGIFTDSYSSRY (配列番号157)、H
SDGIFTDSYSSR (配列番号158)、及びHSDGIFTDSYSS (配列番
号159)

10

からなる群から選択されるアミノ酸配列からなる、実施形態5に記載のPAC1受容体作動薬。

【0029】

実施形態17：前記標的指向性配列がアミノ酸配列PGNSVFKECMKQKKKEFKAGK (配列番号4) を、場合によってその中に1つ、2つまたは3つのアミノ酸置換を伴いつつ含む、実施形態1～16のいずれか1つに記載のPAC1受容体作動薬。

【0030】

実施形態18：前記標的指向性配列がアミノ酸配列PGNSVFKECMKQKKKEFKAGK (配列番号4) を含む、実施形態1～16のいずれか1つに記載のPAC1受容体作動薬。

20

【0031】

実施形態19：前記標的指向性配列がアミノ酸配列PGNSVFKECMKQKKKEFKAGK (配列番号4) からなる、実施形態1～16のいずれか1つに記載のPAC1受容体作動薬。

【0032】

実施形態20：前記標的指向性配列のアミノ酸配列が、
MKQILLISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQ
AHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKK
EFSSGK (配列番号26)、
KQILLISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAH
HSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKE
FSSGK (配列番号27)、
QILLISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAH
HSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEF
SSGK (配列番号28)、
ILLISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAH
SNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEF
SSGK (配列番号29)、
LLISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAH
SNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEF
SSGK (配列番号30)、
LISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAH
SNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEF
SSGK (配列番号31)、
ISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAH
SNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEF
SSGK (配列番号32)、
SLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAH
HSNVL

30

40

50

50

FRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNS
VFKECMKQKKKEFSSGK (配列番号55)、
RKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSV
FKECMKQKKKEFSSGK (配列番号56)、
KAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVF
KECMKQKKKEFSSGK (配列番号57)、
AIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFK
ECMKQKKKEFSSGK (配列番号58)、
IDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKE
CMKQKKKEFSSGK (配列番号59)、
DDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKEC
MKQKKKEFSSGK (配列番号60)、
DCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECM
KQKKKEFSSGK (配列番号61)、
CQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMK
QKKKEFSSGK (配列番号62)、
QKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQ
KKKEFSSGK (配列番号63)、KQAHHSNVLQTSVQTTATFTSM
DTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK (配列番号64)、
QAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKK
KEFSSGK (配列番号65)、AHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQ
LPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK (配列番号66)、HHSNVLQTS
VQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK (配列番
号67)、HSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQ
KKKEFSSGK (配列番号68)、SNVLQTSVQTTATFTSMDTSQL
PGNSVFKECMKQKKKEFSSGK (配列番号69)、NVLQTSVQTT
ATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK (配列番号70)
、VLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSS
GK (配列番号71)、LQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECM
KQKKKEFSSGK (配列番号72)、QTSVQTTATFTSMDTSQLPG
NSVFKECMKQKKKEFSSGK (配列番号73)、TSVQTTATFTSM
DTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK (配列番号74)、
SVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK (配列
番号75)、
VQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK (配列番
号76)、
QTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK (配列番号
77)、
TTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK (配列番号7
8)、
GNSVFKECMKQKKKEFSSGK (配列番号79)、NSVFKECMKQK
KKKEFSSGK (配列番号80)、SVFKECMKQKKKEFSSGK (配列番号
81)、VFKECMKQKKKEFSSGK (配列番号82)、FKECMKQKKK
EFSSGK (配列番号83)、KECMKQKKKEFSSGK (配列番号84)、E
CMKQKKKEFSSGK (配列番号85)、CMKQKKKEFSSGK (配列番号
86)、MKQKKKEFSSGK (配列番号87)、KQKKKEFSSGK (配列番
号88)、QKKKEFSSGK (配列番号89)、KKKEFSSGK (配列番号90
)、KKEFSSGK (配列番号91)、KEFSSGK (配列番号92)、EFSSG
K (配列番号93)、及びFSSGK (配列番号94)

からなる群から選択されるアミノ酸配列からなる、実施形態1～16のいずれか1つに記

10

20

30

40

50

載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 3 3 】

実施形態 2 1 : 前記標的指向性配列のアミノ酸配列が、完全長マキサジランペプチドの N 4 5、K 4 9、P 4 3、D 3 8、E 5 0、K 5 3 及び／または K 5 5 のうちの 1 つ以上に対応する 1 つ以上の位置に突然変異を含む、実施形態 1 ～ 1 6 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 3 4 】

実施形態 2 2 : 前記標的指向性配列が、N 4 5 A、K 4 9 A、P 4 3 A、D 3 8 A、E 5 0 A、K 5 3 A 及び K 5 5 A からなる群から選択される 1 つ以上の突然変異を含む、実施形態 2 1 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 3 5 】

実施形態 2 3 : 前記マキサジランアミノ酸配列の前記断片が前記標的指向性配列に化学結合している、実施形態 1 ～ 2 2 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 3 6 】

実施形態 2 4 : 前記マキサジランアミノ酸配列の前記断片が前記標的指向性配列のアミノ末端に化学結合している、実施形態 2 3 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 3 7 】

実施形態 2 5 : 前記マキサジランアミノ酸配列の前記断片が前記標的指向性配列のカルボキシ末端に化学結合している、実施形態 2 3 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 3 8 】

実施形態 2 6 : 前記マキサジランアミノ酸配列の前記断片がポリエチレングリコール (P E G) を含むリンカーを介して前記標的指向性配列に化学結合している、実施形態 2 3 ～ 2 5 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 3 9 】

実施形態 2 7 : 前記マキサジランアミノ酸配列の前記断片がヒト血清アルブミン (H S A) を含むリンカーを介して前記標的指向性配列に化学結合している、実施形態 2 3 ～ 2 5 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 4 0 】

実施形態 2 8 : 前記マキサジランアミノ酸配列の前記断片が、表 6 にみられる非ペプチドリンカーを介して前記標的指向性配列に化学結合している、実施形態 2 3 ～ 2 5 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 4 1 】

実施形態 2 9 : 前記マキサジランアミノ酸配列の前記断片が、直接、またはアミノ酸を介して、またはペプチドリンカーを介して前記標的指向性配列に結び付けられており、前記 P A C 1 受容体作動薬が融合ペプチドである、実施形態 1 ～ 2 2 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 4 2 】

実施形態 3 0 : 前記マキサジランアミノ酸配列の前記断片が前記標的指向性配列に直接結び付けられている、実施形態 2 9 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 4 3 】

実施形態 3 1 : 前記マキサジランアミノ酸配列の前記断片がアミノ酸を介して前記標的指向性配列に結び付けられている、実施形態 2 9 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 4 4 】

実施形態 3 2 : 前記アミノ酸が、アラニン (A)、グリシン (G) 及びプロリン (P) からなる群から選択される、実施形態 3 1 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 4 5 】

実施形態 3 3 : 前記アミノ酸がアラニンである、実施形態 3 2 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【 0 0 4 6 】

実施形態 3 4 : 前記マキサジランアミノ酸配列の前記断片がペプチドリンカーを介して

10

20

30

40

50

前記標的指向性配列に結び付けられている、実施形態 29 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0047】

実施形態 35：前記リンカーのアミノ酸配列が、G G、P P、G G G、P P P、G G G G、G G G G S 及び S M D T S Q L からなる群から選択される配列を含む、実施形態 34 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0048】

実施形態 36：前記ペプチドリンカーのアミノ酸配列が配列 S M D T S Q L を含む、またはそれからなる、実施形態 35 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0049】

実施形態 37：前記マキサジランアミノ酸配列の前記断片が直接、またはアミノ酸を介して、またはペプチドリンカーを介して前記標的指向性配列のアミノ末端に結び付けられている、実施形態 29～36 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

10

【0050】

実施形態 38：前記マキサジランアミノ酸配列の前記断片が直接、またはアミノ酸を介して、またはペプチドリンカーを介して前記標的指向性配列のカルボキシル末端に結び付けられている、実施形態 29～36 のいずれか 1 つに記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0051】

実施形態 39：前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列
H S D G I F T D S Y S S R Y R K Q M A V K K Y L A A V L P G N S V F K E C M K Q
K K K E F K A G K (配列番号 5)

20

を含む、またはそれからなる、実施形態 29 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0052】

実施形態 40：前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列
H S D G I F A P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 6)
を含む、またはそれからなる、実施形態 29 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0053】

実施形態 41：前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列
H S D G I F T S M D T S Q L P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 7)

を含む、またはそれからなる、実施形態 29 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

30

【0054】

実施形態 42：前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列
H S D G I F T P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 8)
を含む、またはそれからなる、実施形態 29 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0055】

実施形態 43：前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列
H S D G I F T D S Y S A P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 9)
を含む、またはそれからなる、実施形態 29 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0056】

実施形態 44：前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列
H S D G I F T D S Y S K P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 10)
を含む、またはそれからなる、実施形態 29 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

40

【0057】

実施形態 45：前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列
H S D G I F T D S Y S R Y R A P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 11)

を含む、またはそれからなる、実施形態 29 に記載の P A C 1 受容体作動薬。

【0058】

実施形態 46：前記作動薬のアミノ酸配列がアミノ酸配列
H S D G I F T D S Y S R Y R K P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K (配列番号 12)

50

号12)

を含む、またはそれからなる、実施形態29に記載のPAC1受容体作動薬。

【0059】

実施形態47：前記作動薬はDPP-IVプロテアーゼ分解に対する耐性が天然のPACAP₁₋₂₇及び／またはPACAP₁₋₃₈よりも大きい、実施形態1～46のいずれか1つに記載のPAC1受容体作動薬。

【0060】

実施形態48：前記PAC1受容体作動薬が1つ以上の保護基を保有する、実施形態1～47に記載のPAC1受容体作動薬。

【0061】

実施形態49：前記1つ以上の保護基が独立してアセチル、アミド、3～20炭素アルキル基、Fmoc、Tboc、9-フルオレンアセチル基、1-フルオレンカルボキシリッ
ック基、9-フルオレンカルボキシリッック基、9-フルオレノン-1-カルボキシリッ
基、ベンジルオキシカルボニル、キサントール(Xan)、トリチル(Trt)、4-メチ
ルトリチル(Mtt)、4-メトキシトリチル(Mmt)、4-メトキシ-2,3,6-
トリメチル-ベンゼンスルホニル(Mtr)、メシチレン-2-スルホニル(Mts)、
4,4-ジメトキシベンズヒドリル(Mbh)、トシル(Tos)、2,2,5,7,8-
ペンタメチルクロマン-6-スルホニル(Pmc)、4-メチルベンジル(MeBzl)
)、4-メトキシベンジル(MeOBzl)、ベンジルオキシ(BzlO)、ベンジル(Bzl)、
ベンゾイル(Bz)、3-ニトロ-2-ピリジンスルフェニル(Npys)、
1-(4,4-ジメチル-2,6-ジオキソシクロヘキシリデン)エチル(Dde)、2,
6-ジクロロベンジル(2,6-DiCl-Bzl)、2-クロロベンジルオキシカル
ボニル(2-Cl-Z)、2-ブromoベンジルオキシカルボニル(2-Br-Z)、ベン
ジルオキシメチル(Bom)、t-ブトキシカルボニル(Boc)、シクロヘキシルオキ
シ(cHxO)、t-ブトキシメチル(Bum)、t-ブトキシ(tBuO)、t-ブチ
ル(tBu)、及びトリフルオロアセチル(TFA)からなる群から選択される、実施形
態48に記載のPAC1受容体作動薬。

【0062】

実施形態50：前記構築物がカルボキシル及び／またはアミノ末端に保護基を含む、実
施形態48に記載のPAC1受容体作動薬。

【0063】

実施形態51：カルボキシル末端がアミド化されている、実施形態50に記載のPAC
1受容体作動薬。

【0064】

実施形態52：アミノ末端がアセチル化されている、実施形態50～51のいずれか1
つに記載のPAC1受容体作動薬。

【0065】

実施形態53：前記PAC1受容体作動薬が血中半減期を延長すべくポリマーで官能化
されている、実施形態1～52のいずれか1つに記載のPAC1受容体作動薬。

【0066】

実施形態54：前記ポリマーがポリエチレングリコール及び／またはセルロースもしく
は変性セルロースを含む、実施形態53に記載のPAC1受容体作動薬。

【0067】

実施形態55：前記標的指向性配列、及び／またはPAC1シグナル伝達を活性化させ
る前記ペプチドが、組換え発現される、実施形態1～54のいずれか1つに記載のPAC
1受容体作動薬。

【0068】

実施形態56：前記標的指向性配列、及び／またはPAC1シグナル伝達を活性化させ
る前記ペプチドが、グリコシル化されている、実施形態1～55のいずれか1つに記載の
PAC1受容体作動薬。

10

20

30

40

50

【0069】

実施形態57：前記PAC1受容体作動薬が、哺乳動物に投与される場合に、

【0070】

食欲を下方制御すること及び／または、肥満及び／または体重を低減すること；及び／または

【0071】

脂肪生成及び／または脂肪蓄積を抑制すること；及び／または

【0072】

2型糖尿病の1つ以上の症候を改善する、もしくはその進行を遅延させる、もしくはそれを予防すること；及び／または

【0073】

アテローム性動脈硬化の1つ以上の症候を改善すること；及び／または非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）の進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させること；及び／または

【0074】

肝臓脂肪症（脂肪肝）の1つ以上の症候を改善する、及び／またはそれを遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0075】

メタボリックシンドロームの1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0076】

インスリン抵抗性の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0077】

前糖尿病性症候群の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること

に有効である、実施形態1～56のいずれか1つに記載のPAC1受容体作動薬。

【0078】

実施形態58：薬学的に許容できる担体の中に、実施形態1～57のいずれかに記載のPAC1受容体作動薬を含む、医薬組成物。

【0079】

実施形態59：前記組成物が単位投薬量製剤として製剤化される、実施形態58に記載の組成物。

【0080】

実施形態60：前記組成物が、腹腔内投与、局所投与、経口投与、吸入投与、経皮投与、皮下蓄積投与及び直腸投与からなる群から選択される様式による投与のために製剤化される、実施形態58～59のいずれか1つに記載の組成物。

【0081】

実施形態61：哺乳動物において以下：

【0082】

食欲を下方制御すること及び／または、肥満を軽減すること、及び／または体重を低減すること；及び／または

【0083】

脂肪生成及び／または体脂肪蓄積を抑制すること；及び／または

【0084】

糖恒常性を低減及び／または調節すること；及び／または

【0085】

真性糖尿病症候を好転もしくは治癒させること；及び／または

【0086】

10

20

30

40

50

- 炎症性腸疾患を軽減する、もしくは治癒させること；及び／または
- 【0087】
- 慢性炎症性疾患を軽減する、もしくは治癒させること；及び／または
- 【0088】
- 全身性及び臓器特異的自己免疫疾患の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること；及び／または
- 【0089】
- ドライアイ症候群を軽減する、もしくは治癒させること；及び／または
- 【0090】
- 臓器、組織及び／または幹細胞移植拒絶反応を、予防もしくは軽減すること；及び／または
- 【0091】
- 体外受精のために子宮における胚着床を好転させること；及び／または
- 【0092】
- 精子形成及び／または雄性不妊症を改善すること；及び／または
- 【0093】
- 雌の排卵及び／または雌受胎能を改善すること；及び／または
- 【0094】
- 結合組織炎の1つ以上の症候を改善すること；及び／または
- 【0095】
- 骨関節炎及び／または関節リウマチ及び／または乾癬性関節炎の進行を遅延させること；及び／または
- 【0096】
- 全身性高血圧を予防する、もしくは逆転させること；及び／または
- 【0097】
- アテローム性動脈硬化の1つ以上の症候を改善すること；及び／または
- 【0098】
- 非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）及び／またはNASHの進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させること；及び／または
- 【0099】
- 肝臓脂肪症（脂肪肝）の1つ以上の症候を改善する、及び／またはそれを遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または
- 【0100】
- メタボリックシンドロームの1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；
- 【0101】
- 及び／または、インスリン抵抗性の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または
- 【0102】
- 前糖尿病性症候群の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または
- 【0103】
- 腎性高血圧及び／または慢性腎疾患の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または
- 【0104】
- PAC1受容体を発現している腫瘍の成長の進行を遅延させる、及び／またはそれを抑制する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または
- 【0105】
- マスト細胞及び／または好塩基球の脱顆粒及びアレルギーメディエーターの放出の進

10

20

30

40

50

行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0106】

嚢胞性線維症の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること；及び／または

【0107】

セリアック病の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること；及び／または

【0108】

統合失調症及び偏執症の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0109】

アルツハイマー病の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0110】

神経筋ジストロフィーの進行を遅延させる、及び／またはその症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0111】

神経麻痺の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0112】

神経損傷麻痺の進行を遅延させる、及び／またはその症候を改善すること；及び／または

【0113】

外傷性脳損傷の進行を遅延させる、及び／またはその症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0114】

心的外傷後ストレス障害の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0115】

神経障害の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0116】

喘息症候群の症候を改善する、及び／またはそれを遅延もしくは逆転させること；及び／または

【0117】

慢性閉塞性肺疾患の症候を改善する、及び／またはそれを遅延もしくは逆転させること；及び／または

【0118】

リンパ増殖性障害及び／または骨髄増殖性障害の症候を改善する、及び／またはそれを遅延もしくは逆転させること；及び／または

【0119】

血小板減少症の症候を改善する、及び／またはそれを遅延もしくは逆転させること；及び／または

【0120】

多発性骨髄腫の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること；及び／または

【0121】

急性もしくは慢性腎症の症候を改善する、及び／またはそれを遅延もしくは逆転させること；及び／または

【0122】

一過性動脈狭窄及び／または出血性ショックを治療すること；及び／または

【0123】

抗生物質誘発性神経毒性を治療すること；及び／または

10

20

30

40

50

【0124】

多発性嚢胞腎の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること；及び／または

【0125】

眼圧亢進及び／または緑内障及び／または色素性網膜炎の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0126】

組織及び／または臓器の虚血／再灌流の症候を改善する、及び／またはそれを予防すること；及び／または

【0127】

慢性肺線維化プロセスの症候を改善する、及び／またはそれを予防すること；及び／または

10

【0128】

がん及び転移の症候を改善する、及び／またはその進行を逆転もしくは遅延させること
のうちの1つ以上を実施する方法であって、

【0129】

実施形態1～57のいずれか1つに記載の1つ以上のPAC1受容体作動薬及び／または
実施形態58～60のいずれか1つに記載の医薬製剤を前記哺乳動物に有効量投与する
ことを含む、前記方法。

【0130】

実施形態62：前記哺乳動物がヒトである、実施形態61に記載の方法。

20

【0131】

実施形態63：前記哺乳動物が非ヒト哺乳動物である、実施形態61に記載の方法。

【0132】

実施形態64：前記哺乳動物が臨床的に肥満と診断されている、実施形態61～63の
いずれか1つに記載の方法。

【0133】

実施形態65：前記哺乳動物が臨床的に肥満と診断されている、実施形態61～63の
いずれか1つに記載の方法。

【0134】

実施形態66：前記哺乳動物が2型糖尿病を有すると診断されている、実施形態61～
63のいずれか1つに記載の方法。

30

【0135】

実施形態67：前記哺乳動物がアテローム性動脈硬化を有すると診断されている、実施
形態61～63のいずれか1つに記載の方法。

【0136】

実施形態68：前記哺乳動物が脂肪性肝疾患（NAFLD）を有すると診断されている
、実施形態61～63のいずれか1つに記載の方法。

【0137】

実施形態69：前記哺乳動物がNASHを有すると診断されている、実施形態61～6
3のいずれか1つに記載の方法。

40

【0138】

実施形態70：前記哺乳動物が肝臓脂肪症（脂肪肝）を有すると診断されている、実施
形態61～63のいずれか1つに記載の方法。

【0139】

実施形態71：前記哺乳動物がメタボリックシンドロームを有すると診断されている、
実施形態61～63のいずれか1つに記載の方法。

【0140】

実施形態72：前記哺乳動物がインスリン抵抗性を有すると診断されている、実施形態
61～63のいずれか1つに記載の方法。

【0141】

50

実施形態 73：前記哺乳動物が前糖尿病性症候群を有すると診断されている、実施形態 61～63 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0142】

実施形態 74：前記哺乳動物が肝臓脂肪症を有すると診断されている、実施形態 61～63 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0143】

実施形態 75：前記 P A C 1 受容体作動薬及び／または医薬製剤が 1 つ以上のジペプチジルペプチダーゼー I V (D P P - I V) 阻害薬と併せて投与される、実施形態 61～74 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0144】

実施形態 76：前記ジペプチジルペプチダーゼー I V 阻害薬が、アミノメチルピリジン、N V P D P P 728、P S N 9301、イソロイシンチアゾリジド、デナグリブチン、シタグリブチン、ピダグリブチン、サクサグリブチン、アログリブチン、N N - 7201、及び A L S 2 - 0426 からなる群から選択される、実施形態 75 に記載の方法。

【0145】

実施形態 77：前記ジペプチジルペプチダーゼー I V 阻害薬がシタグリブチンを含む、実施形態 75 に記載の方法。

【0146】

定義

「ポリペプチド」、「ペプチド」及び「タンパク質」という用語は、アミノ酸残基のポリマーを指すために本明細書中で交換可能に使用される。当該用語は、天然に存在するアミノ酸ポリマーだけでなく、1 つ以上のアミノ酸残基が対応する天然に存在するアミノ酸の人工化学類縁体であるアミノ酸ポリマーにも適用される。特定の実施形態では、本明細書に記載の (P A C 1 受容体に結合する) 標的指向性配列は長さが約 60 a a まで、または約 50 a a まで、または約 40 a a まで、または約 38 a a まで、または約 30 a a まで、または約 27 a a まで、または約 25 a a まで、または約 20 a a まで、または約 15 a a まで、または約 10 a a までに及ぶ。特定の実施形態では、本明細書に記載の (P A C 1 受容体に結合する) マキサジラン配列またはマキサジラン配列を含む配列は長さが 61 a a まで、または 60 a a まで、または約 55 a a まで、または約 50 a a まで、または約 40 a a まで、または約 30 a a まで、または約 21 a a まで、または約 15 a a までに及ぶ。特定の実施形態では、P A C 1 受容体を活性化させるアミノ酸配列に結び付けられており P A C 1 受容体に結合する配列を含む本明細書に記載の融合タンパク質 (例えば M A X C A P 化合物) は、長さが約 120 a a まで、または約 110 a a まで、または約 100 a a まで、または約 99 a a まで、または約 90 a a まで、または約 80 a a まで、または約 70 a a まで、または約 60 a a まで、または約 50 a a までに及ぶ。特定の実施形態では、P A C 1 受容体作動薬を含むアミノ酸残基は「L 体」アミノ酸残基であるが、様々な実施形態において「D」アミノ酸を組み込むことができることは認識される。ペプチドにはまた、天然に存在するアミノ酸ポリマーだけでなく、1 つ以上のアミノ酸残基が対応する天然に存在するアミノ酸の人工化学類縁体であるアミノ酸ポリマーも含まれる。さらに、当該用語は、ペプチド結合またはその他の「改変結合」(例えば、ペプチド結合が α -エステル、 β -エステル、チオアミド、ホスホンアミド、カルバメート (carbomate)、ヒドロキシル化物などで置き換わったもの (例えば、S p a t o l a, (1983) Chem. Biochem. Amino Acids and Proteins 7:267-357 を参照のこと)、アミドが飽和アミンで置き換わったもの (例えば、参照により本明細書に援用される Skiles et al., 米国特許第 4,496,542 号、及び Kaltenbronn et al., (1990) Pp. 969-970 in Proc. 11th American Peptide Symposium, ESCOM Science Publishers, The Netherlands など を参照のこと)) によって結び合わされたアミノ酸に適用される。

【0147】

10

20

30

40

50

本明細書中で使用する「残基」という用語は、天然型、合成型または改変型アミノ酸を指す。様々なアミノ酸類縁体には、限定されないが、2-アミノアジピン酸、3-アミノアジピン酸、ベーターアラニン（ベーターアミノプロピオン酸）、2-アミノ酪酸、4-アミノ酪酸、ピペリジン酸、6-アミノカプリン酸、2-アミノヘプタン酸、2-アミノイソ酪酸、3-アミノイソ酪酸、2-アミノピメリン酸、2,4-ジアミノ酪酸、デスモシン、2,2'-ジアミノピメリン酸、2,3-ジアミノプロピオン酸、n-エチルグリシン、n-エチルアスパラギン、ヒドロキシリジン、アローヒドロキシリジン、3-ヒドロキシプロリン、4-ヒドロキシプロリン、イソデスモシン、アローイソロイシン、n-メチルグリシン、サルコシン、n-メチルイソロイシン、6-n-メチルリジン、n-メチルバリン、ノルバリン、ノルロイシン、オルニチンなどが含まれる。これらの改変型アミノ酸は例示的なものであり、限定を意図するものではない。

10

【0148】

「融合タンパク質」または「融合ペプチド」という用語（複数可）は、天然には別個に存在することが典型的である2つ以上のタンパク質／ペプチド（またはその断片、またはそれとのかかなりの配列同一性（例えば、80%超または約90%超または約95%超または約98%超または約99%超）を有する配列）が直接、またはアミノ酸を介して、またはペプチドリンカーを介して繋ぎ合わされて1本の連続したペプチド／タンパク質を形成している、タンパク質／ペプチド構築物を指す。様々な実施形態において、融合タンパク質は化学合成または組換え発現されることができる。

【0149】

「β-ペプチド」は「βアミノ酸」を含んでいるが、これはアミノ基が20種の基準生物学的アミノ酸の場合のようにα-炭素に結合するのではなくβ炭素に結合したものである。一般的に天然に存在する唯一のβアミノ酸は、β-アラニンである。

20

【0150】

ペプトイド、またはN-置換グリシンは、ペプチド模倣体の特定のサブクラスである。それらは、それらの天然のペプチド対応物の近縁であるものの、それらの側鎖がα-炭素に（天然アミノ酸での場合のように）ではなく分子の主鎖に沿って窒素原子に付けられているという点で化学的に異なっている。

【0151】

本明細書中でペプチドに適用される「通常の」及び「天然の」という用語は、天然に存在するアミノ酸：Ala、Cys、Asp、Glu、Glu、Phe、Gly、His、Ile、Lys、Leu、Met、Asn、Pro、Gln、Arg、Ser、Thr、Val、Trp及びTyrのみから構築されたペプチドを指す。本発明の化合物は、それが天然に存在するペプチドの生物学的活性及び／または特異性に関連する生物学的活性（例えば抗微生物活性）を導き出すのであれば、天然ペプチドに「対応している」。導き出された活性は、天然ペプチドと同じであってもよいし、それより大きくてもよいし、またはそれより小さくてもよい。大抵、そのようなペプトイドは、N-置換グリシン誘導体の親水性、疎水性、極性などが元々のアミノ酸に類似する場合において天然アミノ酸がN-置換グリシン誘導体で置き換わった、本質的に対応しているモノマー配列を有するであろう。以下はN-置換グリシンによる置き換えの非限定的な例示である：イソロイシン（Ile）を置換したN-（1-メチルプロパー-1-イル）グリシン、バリン（Val）を置換したN-（プロパー-2-イル）グリシン、フェニルアラニン（Phe）を置換したN-ベンジルグリシン、セリン（Ser）を置換したN-（2-ヒドロキシエチル）グリシンなど。特定の実施形態では、置換が「厳密」である必要はない。よって、例えば、特定の実施形態では、N-（2-ヒドロキシエチル）グリシンでSer、Thr、Cys及び／またはMetを置換してもよいし；N-（2-メチルプロパー-1-イル）グリシンでVal、Leu及び／またはIleを置換してもよい。特定の実施形態では、N-（2-ヒドロキシエチル）グリシンの側鎖がSerのそれよりもメチレン基1つ分だけ長く、ヒドロキシ置換の部位がThrとは異なる、という構造的差異にもかかわらず、N-（2-ヒドロキシエチル）グリシンを使用してThr及びSerを置換することができる。大抵は、

30

40

50

N-ヒドロキシアシル置換グリシンを使用して任意の極性アミノ酸を置換してもよく、N-ベンジル-またはN-アラルキル置換グリシンを使用して任意の芳香族アミノ酸（例えば、Phe、Trpなど）を置換してもよく、N-ブチルグリシンなどのN-アラルキル置換グリシンを使用して任意の無極性アミノ酸（例えば、Leu、Val、Ileなど）を置換してもよく、N-（アミノアラルキル）グリシン誘導体を使用して任意の塩基性極性アミノ酸（例えばLys及びArg）を置換してもよい。

【0152】

本明細書中でアミノ酸配列が示される場合、配列のL-、D-またはベータアミノ酸形態、ならびにレトロ、反転及びレトロ反転アイソフォームも企図される。さらに、（例えば、PAC1受容体に結合する標的指向性配列、及び／またはPAC1受容体を活性化させるマキサジラン配列、及び／または両方の配列を含む融合タンパク質における）保存的置換が企図される。非タンパク質主鎖、例えば、PEG、アルカン、エチレン架橋体、エステル主鎖及びその他の主鎖も企図される。長さの範囲が約5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24または25アミノ酸から、ペプチドの完全長より1アミノ酸差し引いたものまでである断片であって、完全長ペプチドの活性（例えば、結合特異性及び／またはアビディティ、抗微生物活性など）を少なくとも50%、好ましくは少なくとも60%、70%または80%、より好ましくは少なくとも90%、95%、98%、99%または少なくとも100%保持している断片も、企図される。

【0153】

特定の実施形態では、本明細書に記載のいずれかの配列を構成するアミノ酸の保存的置換が企図される。様々な実施形態では、1つ、2つ、3つ、4つまたは5つの異なる残基が置換される。「保存的置換」という用語は、分子の活性（例えば、抗微生物活性及び／または特異性）を実質的に変化させないアミノ酸置換を反映して使用される。典型的には、保存的アミノ酸置換は、あるアミノ酸で、同様の化学特性（例えば電荷または疎水性）を有する別のアミノ酸を置換することを伴う。特定の保存的置換は、基準アミノ酸を親残基との差異が最小限である非基準（例えば、希少型、合成型など）アミノ酸で置き換える「類縁体置換」を含む。アミノ酸類縁体は、親の構造に十分な変更を伴わずに基準アミノ酸から合成的に誘導されると考えられるか、同位体であるか、または代謝産物前駆体である。そのような「類縁体置換」の例としては、限定されないが、1) Lys-Orn、2) Leu-ノルロイシン、3) Lys-Lys [TFA]、4) Phe-Phe [Gly]、及び5) δ-アミノブチルグリシン-ε-アミノヘキシルグリシンが挙げられ、ここで、Phe [gly] はフェニルグリシン（R基にCH₃ではなくHの構成要素を有するPhe誘導体）を指し、Lys [TFA] は負に帯電したイオン（例えばTFA）がアミンR基に結び付けられているLysを指す。他の保存的置換には、2つの残基の一般化学が類似しており、かつ天然ペプチドの機能を模倣するかまたは部分的に回復させるのに十分であり得る、「機能的置換」が含まれる。強い機能的置換には、限定されないが、1) Gly/Ala、2) Arg/Lys、3) Ser/Tyr/Thr、4) Leu/Ile/Val、5) Asp/Glu、6) Gln/Asn、及び7) Phe/Trp/Tyrが含まれる一方、他の機能的置換には、限定されないが、8) Gly/Ala/Pro、9) Tyr/His、10) Arg/Lys/His、11) Ser/Thr/Cys、12) Leu/Ile/Val/Met、及び13) Met/Lys（疎水性条件下での特別な場合）が含まれる。様々な「広い保存的置換」には、アミノ酸で同じ生物化学的または生物物理学的分類由来の他のアミノ酸を置き換える置換が含まれる。これは基礎レベルでの類似性であり、元々の20種の天然アミノ酸を分類する試みから生じる。そのような置換には、1) 非極性側鎖：Gly/Ala/Val/Leu/Ile/Met/Pro/Phe/Trp、及び／または2) 非荷電極性側鎖Ser/Thr/Asn/Gln/Tyr/Cysが含まれる。特定の実施形態では、広レベルでの置換も置換対として起こることがある。例えば、任意の親水性中性対 [Ser、Thr、Gln、Asn、Tyr、Cys] + [Ser、Thr、Gln、Asn、Tyr、Cys] が、中性電荷を

帯びた対 [A r g、L y s、H i s] + [A s p、G l u] で置き換えられてもよい。以下の6つの群は各々、特定の実施形態において互いに典型的な保存的置換となるアミノ酸を含有している：1) アラニン (A)、セリン (S)、スレオニン (T)；2) アスパラギン酸 (D)、グルタミン酸 (E)；3) アスパラギン (N)、グルタミン (Q)；4) アルギニン (R)、リジン (K)、ヒスチジン (H)；5) イソロイシン (I)、ロイシン (L)、メチオニン (M)、バリン (V)；及び6) フェニルアラニン (F)、チロシン (Y)、トリプトファン (W)。本明細書中でアミノ酸配列が開示されている場合、上に特定した保存的置換のうちの1つ以上を含むアミノ酸配列も企図される。

【0154】

特定の実施形態では、本明細書に記載のいずれかの配列との配列同一性が少なくとも80%、または少なくとも85%もしくは90%、または少なくとも95%もしくは98%となった、PAC1受容体に結合する標的指向性配列、及び／またはPAC1受容体を活性化させる配列、及び／または両方の配列を含む融合タンパク質も、企図される。「同一性」またはパーセント「同一性」という用語は、下記の配列比較アルゴリズムの1つを使用して、または目視検査によって測定したときに、一致を最大とすべく比較及びアラインメントして同一となる、または同一なアミノ酸残基を指定百分率で有する、2つ以上の配列を指す。本発明のペプチドに関して、配列同一性は、ペプチドの完全長にわたって決定される。配列比較のためには、典型的には1つの配列が基準配列としての役割を果たし、それと試験配列とを比較する。配列比較アルゴリズムを使用する場合には、試験及び基準配列をコンピュータに入力し、必要に応じて部分列座標を指定し、配列アルゴリズムプログラムパラメータを指定する。その後、配列比較アルゴリズムは、指定プログラムパラメータに基づいて基準配列に対する試験配列（複数可）の配列同一性パーセントを計算する。比較のための配列の最適なアラインメントは、例えば、Smith & Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2:482による局所的相同性アルゴリズム、Needleman & Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:443の相同性アラインメントアルゴリズム、Pearson & Lipman (1988) Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 85:2444の類似性検索法、これらのアルゴリズム (GAP, BESTFIT, FASTA, and TFASTA in the Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI) のコンピュータ化された実施、または目視検査によって実行することができる。

【0155】

「マキサジラン配列」または「マキサジランペプチド」は、完全長マキサジラン前駆体ペプチドもしくはその断片、または成熟 (61aa) マキサジランペプチドもしくはその断片を指し、その様々な（例えば、1つ、2つ、3つまたは4つのアミノ酸欠失、挿入または置換を含む）突然変異体を含む。

【0156】

「PACAP配列」または「PACAPペプチド」は、完全長下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド (PACAP) 配列、またはPAC1受容体を活性化させることができるその断片を指す。特定の実施形態では、PACAP配列はPACAP₁₋₃₈またはその断片（例えばPACAP₁₋₂₇）を含み、その様々な（例えば、1つ、2つ、3つまたは4つのアミノ酸欠失、挿入または置換を含む）突然変異体を含む。

【0157】

本明細書中で使用する、症状についての「治療すること」または「治療」とは、症状を予防すること、症状の発症の開始または速度を遅延させること、症状を発症するリスクを低減すること、症状に関連する症候の発症を予防する、もしくは遅延させること、症状に関連する症候を軽減する、もしくは終結させること、症状の完全もしくは部分的な退行を生じさせること、またはそれらのいくつかの組み合わせを指し得る。

【0158】

「有効量」または「治療有効量」または「予防的有效量」または「診断的有效量」という用語は、所望の／意図する結果及び／または生物学的活性を生むのに有効な本明細書に記載の活性薬剤（例えば、PAC1受容体作動薬（例えばMAXCAP））の量を指す。よって、例えば、様々な実施形態において、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬の有効量は、食欲を下方制御すること及び／または、肥満を軽減すること、及び／または体重を低減すること、及び／または脂肪生成及び／または体脂肪蓄積を抑制すること、及び／または糖恒常性を低減及び／または調節すること、及び／または真性糖尿病症候を好転もしくは治癒させること、及び／または炎症性腸疾患を軽減する、もしくは治癒させること、及び／または慢性炎症性疾患を軽減する、もしくは治癒させること；及び／または全身性及び臓器特異的自己免疫疾患の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること、及び／またはドライアイ症候群を軽減する、もしくは治癒させること、及び／または臓器、組織及び幹細胞移植拒絶反応を、予防もしくは軽減すること、及び／または体外受精のために子宮における胚着床を好転させること、及び／または結合組織炎の1つ以上の症候を改善すること、及び／または骨関節炎及び／または関節リウマチ及び／または乾癬性関節炎の進行を遅延させること、及び／または全身性高血圧を予防する、もしくは逆転させること、及び／またはアテローム性動脈硬化の1つ以上の症候を改善すること、及び／または非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）及び／またはNASHの進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させること、及び／または肝臓脂肪症（脂肪肝）の1つ以上の症候を改善する、及び／またはそれを遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／またはメタボリックシンドロームの1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または、インスリン抵抗性の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または前糖尿病性症候群の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または腎性高血圧及び／または慢性腎疾患の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／またはPAC1受容体を発現している腫瘍の成長の進行を遅延させる、及び／またはそれを抑制する、及び／またはそれを逆転させること、及び／またはマスト細胞及び／または好塩基球の脱顆粒及びアレルギーメディエーターの放出の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または囊胞性線維症の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること、及び／またはセリアック病の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること、及び／または統合失調症及び偏執症の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／またはアルツハイマー病の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または神経筋ジストロフィーの進行を遅延させる、及び／またはその症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または神経麻痺の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または神経損傷麻痺の進行を遅延させる、及び／またはその症候を改善すること、及び／または外傷性脳損傷の進行を遅延させる、及び／またはその症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または心的外傷後ストレス障害の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または神経障害の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または喘息症候群の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または精子形成及び／または雄性不妊症を改善すること；及び／または雌の排卵及び／または雌受胎能を改善すること；及び／または慢性閉塞性肺疾患の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／またはリンパ増殖性障害及び／または骨髄増殖性障害の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または血小板減少症の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または多発性骨髄腫の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること、及び／または急性もしくは慢性腎症及び／または一過性動脈狭窄及び／または出血性シ

10

20

30

40

50

ヨック及び／または抗生物質誘発性神経毒性の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または多発性嚢胞腎の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること、及び／または眼圧亢進及び／または緑内障及び／または色素性網膜炎（retinitis pigmentosa）の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または組織及び／または臓器の虚血／再灌流（riperfusion）の症候を改善する、及び／またはそれを予防すること、及び／または慢性肺線維化プロセスの症候を改善する、及び／またはそれを予防すること、及び／またはがん及び転移の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させる、及び／または放射線核種もしくは蛍光追跡子と結合させてその場所を突き止める、及び／またはそれを診断する、及び／またはそれを治療することに有効な量である。

10

【0159】

「診断的有効量」とは、本明細書に記載の薬剤（複数可）を検出可能な標識（例えば、放射線不透過性標識、MRI標識、NMR標識、放射性核種及び蛍光追跡子）と結合させた場合に疾患状態の場所を突き止める及び／またはそれを診断するのに有効な量を指す。

【0160】

本明細書に記載のPAC1受容体作動薬を含む組成物に関して使用する「から本質的になる」という用語は、PAC1受容体を活性化させる組成物の活性が、主としてまたは専らPAC1受容体作動薬によって提供されるのであって、組成物中に存在する他の薬剤によって提供されるのではない、ということを示す。特定の実施形態では、PAC1受容体作動薬は組成物中の唯一の活性薬剤である。

20

【0161】

「単離される」「精製される」または「生物学的に純粋な」という用語は、天然状態でみられるような通常付随する成分が実質的または本質的に含まれていない材料を指す。ペプチドの場合、単離された（天然に存在する）ペプチドは、典型的には、細胞、組織または生物においてそれと会合している成分を実質的に含んでいない。単離されたという用語はまた、ペプチドがファージディスプレイ、酵母ディスプレイまたはその他のペプチドライブラリーの中に存在していないことも示している。

【0162】

様々な実施形態において、表1に示すアミノ酸略号を本明細書中で使用する。

30

40

50

【表 1】

表 1. アミノ酸略号

名称	略号	
	3 文字	1 文字
アラニン	Ala	A
β アラニン ($\text{NH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$)	β Ala	
アルギニン	Arg	R
アスパラギン	Asn	N
アスパラギン酸	Asp	D
システイン	Cys	C
グルタミン酸	Glu	E
グルタミン	Gln	Q
グリシン	Gly	G
ヒスチジン	His	H
ホモセリン	Hse	-
イソロイシン	Ile	I
ロイシン	Leu	L
リジン	Lys	K
メチオニン	Met	M
メチオニンスルホキシド	Met (O)	-
メチオニンメチルスルホニウム	Met (S-Me)	-
ノルロイシン	Nle	-
フェニルアラニン	Phe	F
プロリン	Pro	P
セリン	Ser	S
スレオニン	Thr	T
トリプトファン	Trp	W
チロシン	Tyr	Y
バリン	Val	V
イプシロン-アミノカプロン酸 ($\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_5\text{-COOH}$)	Ahx	J
4-アミノブタン酸 ($\text{NH}_2\text{-(CH}_2\text{)}_3\text{-COOH}$)	gAbu	
テトラヒドロイソキノリン -3-カルボン酸		O
Lys(N (イプシロン) -トリフルオロアセチル)		K[TFA]
α -アミノイソ酪酸	Aib	B

【0163】

「と併せて」または「と組み合わせて」という語句は、本明細書に記載の PAC1 受容体作動薬 (MAXCAP) と本明細書に記載のその他の 1 つ以上の薬剤 (例えば、1 つ以上のジペプチジルペプチダーゼ IV 阻害薬、Exendin-4、GLP-1 作動薬、CGRP、アドレノメデュリン、セロトニン、アミリン、VIP 及び VPAC1 拮抗薬、VPAC2 作動薬など) との併用に関して使用される場合、PAC1 受容体作動薬 (複数可) とジペプチジルペプチダーゼ IV 阻害薬 (またはその他の薬物) とが、生物に対するこれらの生理学的活性に少なくともいくつかの時系列重複があるように投与されることを示す。

【0164】

したがって、様々な実施形態において、PAC1受容体作動薬及びジペプチジルペプチダーゼⅠⅤ阻害薬は同時及び／または逐次的に投与され得る。逐次的投与では、2番目に投与される薬剤が生物において投与されるかまたは活性となる時には1番目に投与された薬物／薬剤が生物にいくらかの生理学的変化を及ぼしているという限りにおいて、2番目の部分の投与の前にいくらかの実質的遅延（例えば、数分、さらには数時間または数日）があってもよい。

【図面の簡単な説明】

【0165】

【図1】MAXCAP1及びMAXCAP4によるcAMPの刺激を、PACAP₁₋₃₈と比較して示す。

10

【図2】MAXCAP1及びMAXCAP4が食物摂取及び胃のグレリン放出に及ぼす影響を示す。

【図3-1】MAXCAP1及びMAXCAP4がRQ、VO₂、VCO₂ならびに合計エネルギー消費量（TEE）、粗活動指数及び平均運動速度に及ぼす影響を示す。

【図3-2】図3-1の続きである。

【図3-3】図3-2の続きである。

【図4】MAXCAP1が体重、体脂肪及び除脂肪体組成に及ぼす影響を示す。

【図5】MAXCAP1が肝硬変及びNASH／NAFLDに及ぼす影響を示す。

【図6】MAXCAP1が肝細胞及び脂肪細胞における脂肪生成に及ぼす影響を示す。

20

【発明を実施するための形態】

【0166】

PACAP及びVIPは、消化管内でそれらのそれぞれの受容体PAC1及びVPACに高い親和性で結合して消化プロセスを生理学的に調節する消化器系神経ペプチドである。予備的証拠は、PACAPが食欲の中心的調節において役割を果たしていることを示した。しかしながら、食欲及び身体代謝の調節におけるPACAP及びその受容体の周辺的作用については研究されたことがなく、臨床診療での治療化合物におけるその潜在的な用途について十分に探索されたこともない。

【0167】

様々な実施形態において、PAC1受容体に特異的に結合すること及びそれを活性化させることができる新規PAC1受容体作動薬（MAXCAP（複数可）としても知られる）を本明細書に提供する。食欲、食物摂取量、摂食挙動、体脂肪及び除脂肪組成、血糖ならびに肝臓脂肪症の調節における様々なMAXCAP（複数可）の役割を調べた。外からのPAC1受容体作動薬（MAXCAP（複数可））の投与は食欲を抑制し、血糖を下げ、体重及び脂肪量を減少させ、肥満障害を有する患者及び2型糖尿病においてどれも一般的に起こり得る症状である肥満、肝臓脂肪症、NASH及びNAFLDを好転させることが実証された。

30

【0168】

したがって、様々な実施形態において、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）（及び／またはその医薬製剤）は以下のうちの1つ以上に使用するために企図される：

40

【0169】

i) 食欲を下方制御すること及び／または、肥満を軽減すること；及び／または

【0170】

ii) 脂肪生成及び／または脂肪蓄積を抑制すること；及び／または

【0171】

iii) 2型糖尿病の1つ以上の症候を改善する、もしくはその進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させること；及び／または

【0172】

iv) アテローム性動脈硬化；及び／または高血圧の1つ以上の症候を改善すること

50

【0173】

v) 非アルコール性脂肪性肝疾患 (NAFLD) の進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させること；及び／または

【0174】

v i) 肝臓脂肪症 (脂肪肝) の1つ以上の症候を改善する、及び／またはそれを遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0175】

v i i) メタボリックシンドロームの1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0176】

v i i i) インスリン抵抗性の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0177】

i x) 前糖尿病性症候群の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または

【0178】

x) 肝臓脂肪症を改善すること；及び／または

【0179】

x i) NASH及び／またはNAFLDを改善する、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること。

【0180】

様々な実施形態において、PAC1受容体作動薬 (MAXCAP) 自体はPAC1受容体作動薬を含む医薬製剤として提供される。

【0181】

PAC1受容体作動薬 (MAXCAP)

様々な実施形態において、全身吸収されてPAC1受容体を活性化させることができる特異的PAC1受容体作動薬MAXCAP (複数可) を提供する。例示的だが非限定的な特定の実施形態において、これらのPAC1受容体作動薬は、PACAP₁₋₂₇の天然配列の肝要なアミノ酸残基を同定すること、及びマキサジランペプチドのアミノ酸配列を含むことによって合成された。マキサジラン及びPACAPは構造的相同性を有しないと考えられる。

【0182】

特定の実施形態では、PAC1受容体作動薬は、マキサジランペプチドまたはその断片を、PAC1受容体に特異的に結合する「標的指向性配列」として利用する。標的指向性配列は、PAC1シグナル伝達を活性化させるように機能する下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド (PACAP) またはその断片 (例えば、PACAPのN末端の一部) に結び付けられる。特定の実施形態では、PACAP断片は、1つ以上の突然変異または置換が場合によって組み込まれた、PACAP₁₋₃₈ペプチドまたはPACAP₁₋₂₇ペプチドまたはその断片からなる、またはそれを含む。参考として、完全長 (61aa) マキサジランペプチドならびにPACAP₁₋₂₇及びPACAP₁₋₃₈ペプチド分野を表2に示す。

10

20

30

40

50

【表 2】

表 2. マキサジランペプチド、PACAP₁₋₃₈及びPACAP₁₋₂₇のアミノ酸配列。
マキサジラン配列にある矢印は、突然変異を許容するかまたは突然変異によって活性が増大する部位を示す。PACAP配列にある矢印は、PACAPの残基 11 と残基 12 との間の場所を示す。

ペプチド	アミノ酸配列	配列番号
マキサジラン	↓ ↓ ↓ ↓ ↓ CDATCQFRKA IDDCQKQAAH SNVLQTSVQT TATFTSMDTS QLPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	1
PACAP ₁₋₃₈	↓ HSDGIFTDSY S RYRKQMAVK KYLAAVLGKR YKQRVKKNK	2
PACAP ₁₋₂₇	↓ HSDGIFTDSY S RYRKQMAVK KYLAAVL	3

【0183】

特定の実施形態ではPACAP配列をマキサジラン配列に化学結合させることができる一方、他の実施形態では2つの配列を、直接繋ぎ合わせ、アミノ酸によって繋ぎ合わせ、またはペプチドリinkerによって繋ぎ合わせて、1本の連続した融合タンパク質を提供することができる。

【0184】

本明細書に記載の構築物は、DPP-IVプロテアーゼ分解に対する耐性が天然のPACAP₁₋₂₇及びPACAP₁₋₃₈よりも大きく、したがってより長い半減期を有する。

【0185】

特定の実施形態では、標的指向性配列（例えば、マキサジランペプチドまたはその断片及び／またはその突然変異体）は、PAC1シグナル伝達を活性化させるペプチド（例えば、PACAP₁₋₃₈、PACAP₁₋₂₇及びそれらの変異型などのPACAPまたはその断片）に化学結合している。特定の実施形態では、標的指向性配列は、PAC1シグナル伝達を活性化させるペプチドに直接繋がられているか、またはアミノ酸を介して繋がられているか、またはペプチドリinkerを介して繋がられている。これらの事例において、ペプチドは、化学合成すること、または融合タンパク質として組換え発現させることができる。

【0186】

融合タンパク質として調製され広範な試験分野に供された例示的なPAC1受容体作動薬を表3に示す。

10

20

30

40

50

【表 3】

表 3. 本明細書において企図される、例示的だが非限定的な P A C 1 受容体作動薬 (M A X C A P) の例。太字は、P A C A P₁₋₂₇に由来するアミノ酸配列を示す。一重下線は、マキサジラン (例えば、P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K、配列番号 4) に由来するアミノ酸配列を示す。二重下線はアミノ酸リンカーまたはペプチドリンカーを示す。

名称	アミノ酸配列
MAXCAP 1	HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL <u>P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K</u> (配列番号 5)
MAXCAP 4	HSDGIF <u>A</u> <u>P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K</u> (配列番号 6)
MAXCAP A	HSDGIFT <u>S M D T S Q L</u> <u>P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K</u> (配列番号 7)
MAXCAP B	HSDGIFT <u>P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K</u> (配列番号 8)
	HSDGIFTDSYS <u>A</u> <u>P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K</u> (配列番号 9)
	HSDGIFTDSYS <u>K</u> <u>P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K</u> (配列番号 10)
	HSDGIFTDSYSRYR <u>A</u> <u>P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K</u> (配列番号 11)
	HSDGIFTDSYSRYRK <u>P G N S V F K E C M K Q K K K E F K A G K</u> (配列番号 12)

【0187】

表 3 に示す P A C 1 受容体作動薬 (M A X C A P)、とりわけ M A X C A P 1 及び M A X C A P 4 は、例示的かつ非限定的なものである。これらの例示的な融合タンパク質に鑑みて、多くの P A C 1 受容体作動薬 (例えば、以下に示すもの) が当業者にとって利用可能となるであろう。

【0188】

例えば、上に記したとおり、P A C 1 受容体作動薬は融合タンパク質として提供される必要はない。代わりに、例えばホモ-またはヘテロ-二官能性リンカーを使用して、標的指向性配列 (例えばマキサジランまたはその断片) と P A C A P 配列とを化学結合させることができる。

【0189】

特定の実施形態では標的指向性配列 (例えばマキサジランまたはその断片) を P A C A P 配列のアミノ末端に結び付けることができる一方、他の実施形態では標的指向性配列を P A C A P 配列のカルボキシル末端に結び付けることができる。特定の実施形態では、複数 (例えば、2 つ、3 つ、4 つ、5 つまたはそれ以上) の標的指向性配列を 1 つの P A C A P 配列に結び付けることができる。特定の実施形態では、複数 (例えば、2 つ、3 つ、4 つ、5 つまたはそれ以上) の P A C A P 配列を 1 つの標的指向性配列 (例えばマキサジランまたはその断片) に結び付けることができる。特定の実施形態では、複数 (例えば、2 つ、3 つ、4 つ、5 つまたはそれ以上) の標的指向性配列を複数 (例えば、2 つ、3 つ、4 つ、5 つまたはそれ以上) の P A C A P 配列に結び付けることができる。特定の実施形態では、マキサジラン及び／または P A C A P 配列はデンドリマー状構築物の構成要素である。

【0190】

特定の実施形態では、PAC1受容体作動薬(MAXCAP)は、PAC1シグナル伝達を活性化させるペプチドに結び付けられた、PAC1受容体に結合する標的指向性配列を含み、標的指向性配列は、PAC1受容体に結合するのに有効なマキサジランペプチドまたはその断片を含み、PAC1シグナル伝達を活性化させるペプチドは、PAC1シグナル伝達を活性化させるのに有効な(PACAP)またはその断片またはPACAP₁₋₃₈またはその断片を含み、上記PACAPまたはその断片またはPACAP₁₋₃₈またはその断片は場合によってアミノ酸挿入を上記PACP₁₋₃₈の残基11と残基12との間を含む。

【0191】

標的指向性配列(複数可)

様々な実施形態において、本明細書において企図されるPAC1受容体作動薬は、PAC1受容体に結合する(例えば特異的に結合する)アミノ酸配列を含む(またはそれからなる)標的指向性ペプチドを含む。様々な実施形態において、標的指向性配列は、PAC1受容体に結合するマキサジランペプチドまたはその断片及び／またはその類縁体もしくはは相同体を含む(またはそれからなる)。特定の実施形態では、マキサジラン配列は、完全長マキサジラン配列(前駆体配列)またはその断片を含む、またはそれからなる。特定の実施形態では、マキサジラン配列は、PAC1受容体に結合するのに有効な成熟マキサジラン(61aaペプチド)配列またはその断片を含む、またはそれからなる。特定の実施形態では、マキサジラン配列はマキサジラン断片である。例示的なマキサジラン配列を表4に示す。

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表 4. マキサジラン配列の例示的だが非限定的な例。矢印は、突然変異を許容することが知られている部位を示す（例えば、Reddy et al. (2006) J. Biol. Chem., 281 (24): 16197-16201 を参照のこと）。

アミノ酸配列	配列番号
↓ ↓ ↓ ↓ ↓	
TATFTSMDTS QLPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	13
ATFTSMDTS QLPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	14
TFTSMDTS QLPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	15
FTSMDTS QLPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	16
TSMDTS QLPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	17
SMDTS QLPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	18
MDTS QLPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	19
DTS QLPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	20
TS QLPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	21
S QLPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	22
QLPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	23
LPGNSVFKE CMKQKKKEFK A	24
PGNSVFKE CMKQKKKEFK A	25
MKQILLISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQ TTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	26
KQILLISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQT TATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	27
QILLISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTT ATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	28
ILLISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTA TFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	29
LLISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTAT FTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	30
LISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATF	31

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

TSMDSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	
ISLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFT	32
SMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	
SLVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTS	33
MDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	
LVVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSM	34
DTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	
VVVVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMD	35
TSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	
VVLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDT	36
SQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	
VLAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTS	37
QLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	
LAVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQ	38
LPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	
AVFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQL	39
PGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	
VFAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLP	40
GNSVFKECMKQKKKEFSSGK	
FAFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPG	41
NSVFKECMKQKKKEFSSGK	
AFNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGN	42
SVFKECMKQKKKEFSSGK	
FNVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNS	43
VFKECMKQKKKEFSSGK	
NVAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSV	44
FKECMKQKKKEFSSGK	
VAEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVF	45
KECMKQKKKEFSSGK	
AEGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFK	46
ECMKQKKKEFSSGK	
EGCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKE	47
CMKQKKKEFSSGK	
GCDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKEC	48
MKQKKKEFSSGK	
CDATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECM	49
KQKKKEFSSGK	
DATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMK	50
QKKKEFSSGK	
ATCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQ	51
KKKEFSSGK	
TCQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQK	52
KKEFSSGK	
CQFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKK	53
KEFSSGK	
QFRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKK	54
EFSSGK	
FRKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKE	55
FSSGK	
RKAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEF	56

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

SSGK	
KAIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFS	57
SGK	
AIDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSS	58
GK	
IDDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSG	59
K	
DDCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	60
DCQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	61
CQKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	62
QKQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	63
KQAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	64
QAHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	65
AHHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	66
HHSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	67
HSNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	68
SNVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	69
NVLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	70
VLQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	71
LQTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	72
QTSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	73
TSVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	74
SVQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	75
VQTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	76
QTTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	77
TTATFTSMDTSQLPGNSVFKECMKQKKKEFSSGK	78
GNSVFKECMKQKKKEFSSGK	79
NSVFKECMKQKKKEFSSGK	80
SVFKECMKQKKKEFSSGK	81
VFKECMKQKKKEFSSGK	82
FKECMKQKKKEFSSGK	83
KECMKQKKKEFSSGK	84
ECMKQKKKEFSSGK	85
CMKQKKKEFSSGK	86
MKQKKKEFSSGK	87
KQKKKEFSSGK	88
QKKKEFSSGK	89
KKKEFSSGK	90
KKEFSSGK	91
KEFSSGK	92
EFSSGK	93
FSSGK	94

【0192】

特定の実施形態では、マキサジラン断片は、完全長マキサジランペプチドのN45及び／またはK49、及び／またはP43、及び／またはD38、及び／またはE50、及び／またはK53、及び／またはK55に対応する突然変異（例えば表4中の矢印を参照のこと）を有する、表4に示す断片を含む。特定の実施形態では、突然変異は、アラニンまたはセリンまたはスチレンまたはスレオニンへの突然変異である。特定の実施形態では、突然変異（複数可）はN45A突然変異を含む。特定の実施形態では、突然変異（複数可）はK49A突然変異を含む。特定の実施形態では、突然変異（複数可）はP43A突然変異を含む。特定の実施形態では、突然変異（複数可）はE50A突然変異を含む。特

定の実施形態では、突然変異（複数可）はK 5 3 A突然変異を含む。

【0193】

特定の実施形態では、マキサジラン配列は、上記マキサジラン配列の任意の1つ以上との少なくとも85%または少なくとも90%または少なくとも95%または少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を示す、PAC1受容体に結合する（例えば特異的に結合する）ペプチドを含む、またはそれからなる。特定の実施形態では、マキサジラン配列は、VPAC1受容体及び／またはVPAC2受容体に実質的に結合せず、上記マキサジラン配列の任意の1つ以上との少なくとも85%または少なくとも90%または少なくとも95%または少なくとも98%または少なくとも99%の配列同一性を示す、PAC1受容体に結合するペプチドを含む、またはそれからなる。

10

【0194】

特定の実施形態では、マキサジラン配列は、全て「L」であるアミノ酸を含む。特定の実施形態では、マキサジラン配列は、マキサジラン配列がPAC1受容体を活性化させる能力を保持するように選択された、1つ以上の「D」アミノ酸を含む。

【0195】

特定の実施形態では、マキサジラン配列はベータペプチド及び／またはペプチド模倣体を含む。

【0196】

特定の実施形態では、マキサジランペプチドでない、PAC1受容体に結合する部分が企図される。例えば、米国特許公開第2016/0039939号には、PAC1受容体シグナル伝達に結合する抗PAC1抗体及び抗体断片が記載されている。

20

【0197】

上記標的指向性配列が例示的なものであり、本明細書において提供される教示内容を用いて他の多くのPAC1結合配列が当業者にとって利用可能となるであろうことは認識されよう。

【0198】

PAC1活性化ペプチド（PACAP及びその断片）

様々な実施形態では、本明細書において企図されるPAC1受容体作動薬（複数可）を含む標的指向性配列（複数可）は、PAC1アクチベータ（例えば、PAC1受容体を活性化させるアミノ酸配列（例えばPACAPまたはその断片））を含む。例示的だが非限定的なPAC1活性化配列は、下垂体アデニル酸シクラーゼ活性化ペプチド（PACAP）またはその断片（例えば、PACAP₁₋₃₈またはその断片及び／またはPACAP₁₋₂₇またはその断片）を含む。特定の実施形態では、PAC1アクチベータ配列は、PACAPまたはPACAP断片の、1つ以上（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つまたはそれ以上）のアミノ酸挿入及び／または1つ以上（例えば、1つ、2つ、3つ、4つ、5つ、6つまたはそれ以上）の保存的アミノ酸置換を含む。PAC1活性化配列の例示的だが非限定的な例を表5に示す。

30

40

50

【表 5 - 1】

表 5. P A C A P の断片を含む例示的な P A C 1 活性化配列の例。挿入としてセリンが示されている場合には残基をスレオニンまたはその他の保存的置換で置き換えることができることは認識されるであろう。特定の実施形態では、位置 1 2 の R を A または K で置換することができ、または、P A C 1 活性化配列を配列 H S D G I F T D S Y S (配列番号 1 2 5) で構成することができ、R もしくは K をリンカーとして使用する。特定の実施形態では、位置 1 5 の K を A で置換することができ、または、P A C 1 活性化配列を配列 H S D G I F T D S Y S R Y R (配列番号 1 2 0) で構成することができ、A をリンカーとして使用することができる。

アミノ酸配列	配列番号
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQ RVKNK	95
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQ RVKN	96
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQ RVK	97
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQ RV	98
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQ R	99
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYKQ	100
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRYK	101
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL GKRY	102
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL GK R	103
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL GK	104
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL G	105
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AVL	106
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA AV	107
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA A	108
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYLA	109
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKYL	110
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKKY	111
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVKK	112
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAVK	113
<u>HSDGI</u> FTDSYSRYRKQMAV	114

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

HSDGIFTDSYSRYRKQMA	115
HSDGIFTDSYSRYRKQM	116
HSDGIFTDSYSRYRKQ	117
HSDGIFTDSYSRYRK	118
HSDGIFTDSYSRYRA	119
HSDGIFTDSYSRYR	120
HSDGIFTDSYSRY	121
HSDGIFTDSYSR	122
HSDGIFTDSYSA	123
HSDGIFTDSYSK	124
HSDGIFTDSYS	125
HSDGIFTDSY	126
HSDGIFTDS	127
HSDGIFTD	128
HSDGIFT	129
HSDGIF	130
アミノ酸挿入を有する配列：	
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQRVKNK	131
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQRVKNK	132
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQRVKN	133
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQRVK	134
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQRV	135
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQR	136
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYKQ	137
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRYK	138
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKRY	139
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGKR	140
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLGK	141
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVLG	142
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAVL	143
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAAV	144
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLAA	145
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA	146
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYL	147
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKY	148
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKK	149
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVK	150
HSDGIFTDSYSSRYRKQMAV	151

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

HSDGIFTDSYSSRYRKQMA	152
HSDGIFTDSYSSRYRKQM	153
HSDGIFTDSYSSRYRKQ	154
HSDGIFTDSYSSRYRK	155
HSDGIFTDSYSSRYR	156
HSDGIFTDSYSSRY	157
HSDGIFTDSYSSR	158
HSDGIFTDSYSS	159

10

【0199】

特定の実施形態では、PAC1 活性化配列は、アミノ酸配列 HSDGIF（配列番号 130）を含む、またはそれからなる。特定の実施形態では、PAC1 活性化配列は、アミノ酸配列 HSDGIFT（配列番号 129）を含む、またはそれからなる。特定の実施形態では、PAC1 活性化配列は、アミノ酸配列 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL（配列番号 106）を含む、またはそれからなる。特定の実施形態では、PAC1 活性化配列は、アミノ酸配列 HSDGIFTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVL（配列番号 143）を含む、またはそれからなる。

20

【0200】

特定の実施形態では、PAC1 活性化配列は、上記 PAC1 受容体活性化配列の任意の 1 つ以上との少なくとも 85% または少なくとも 90% または少なくとも 95% または少なくとも 98% または少なくとも 99% の配列同一性を示す、PAC1 受容体を活性化させるペプチドを含む、またはそれからなる。

【0201】

特定の実施形態では、PAC1 活性化配列は、全て「L」であるアミノ酸を含む。特定の実施形態では、標的指向性配列は、標的指向性配列が PAC1 受容体に結合する能力を保持するように選択された、1 つ以上の「D」アミノ酸を含む。

30

【0202】

特定の実施形態では、PAC1 活性化配列はベータペプチド及び／またはペプチド模倣体を含む。

【0203】

上記 PAC1 活性化配列が例示的なものであり、本明細書において提供される教示内容を用いて他の多くの PAC1 活性化配列が当業者にとって利用可能となるであろうことは認識されよう。

【0204】

PAC1 受容体作動薬（MAXCAP）の調製。
本明細書に記載の標的指向性配列（例えば、マキサジランペプチドまたはその断片）及び／または、PAC1 受容体を活性化させる配列（例えば PACAP 配列またはその断片）、または融合タンパク質を、標準的な化学的ペプチド合成技術を用いて化学合成することができ、または、とりわけペプチドが「D」アミノ酸残基を含んでいない場合にはペプチドを組換え発現させることができる。「D」ポリペプチドを組換え発現させる場合には、宿主生物（例えば、細菌、植物、真菌細胞など）を、アミノ酸の 1 つ以上が専ら D 体を生物に提供される環境で培養することができる。かくして、そのようなシステムで組換え発現されるペプチドは D アミノ酸を組み込む。

40

【0205】

50

特定の実施形態では、Dアミノ酸を認識する改変アミノアシル-tRNA合成法を用いて、組換え発現されるペプチドにDアミノ酸を組み込むことができる。

【0206】

特定の実施形態では、ペプチドは、当業者に知られている多くの液相または固相ペプチド合成技術のうちのいずれかによって化学合成される。配列のC末端アミノ酸を不溶性担体に結び付けてその後に配列の残りのアミノ酸を逐次的に加える固相合成は、本発明のポリペプチドの化学合成にとって好ましい方法である。固相合成の技術は当業者によく知られており、例えば、Barany and Merrifield (1963) Solid-Phase Peptide Synthesis; pp. 3-284 in The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology. Vol. 2: Special Methods in Peptide Synthesis, Part A., Merrifield et al. (1963) J. Am. Chem. Soc., 85:2149-2156、及びStewart et al. (1984) Solid Phase Peptide Synthesis, 2nd ed. Pierce Chem. Co., Rockford, Illによって記載されている。

10

【0207】

一実施形態では、ペプチドは、固体担体としてベンズヒドリルアミン (benzhydrylamine) 樹脂 (Beckman Bioproducts, 0.59mmolのNH₂/樹脂のg) を使用して固相ペプチド合成手順によって合成することができる。COOH末端アミノ酸 (例えば、t-ブチルカルボニル-Phe) は、4-(オキシメチル) フェナセチル基を介して固体担体に結び付けられる。これは従来のベンジルエステル結合よりも安定な結合であるにもかかわらず、なおも完成ペプチドを水素化によって切り離すことができる。この目的のために、水素ドナーとしてギ酸を使用する水素移動を用いることができる。

20

【0208】

ペプチド、特にDアミノ酸を含んでいるペプチドの化学合成においては、合成が大抵、所望の完全長生成物以外に、切り縮められたペプチドを多く生成する、ということが認められる。このため、ペプチドを例えばHPLCを用いて精製するのが典型的である。

【0209】

D-アミノ酸、ベータアミノ酸、非天然型アミノ酸などは、単純に化学合成で適切に誘導体化されたアミノ酸残基を使用することによってペプチド内の1つ以上の位置に組み込むことができる。固相ペプチド合成のために改変された残基は多くの供給業者から市販されている (例えば、Advanced Chem Tech, Louisville, Nova Biochem, San Diego, Sigma, St Louis, Bachem California Inc., Torranceなどを参照のこと)。D体アミノ酸及び/またはその以外の改変がなされたアミノ酸は、所望により、ペプチド内の任意の位置で完全に省かれるかまたは組み込まれることができる。したがって、例えば、特定の実施形態ではペプチドが単一の改変された酸を含むことができる一方、他の実施形態ではペプチドは、少なくとも2つ、一般的には少なくとも3つ、より一般的には少なくとも4つ、最も一般的には少なくとも5つ、好ましくは少なくとも6つ、より好ましくは少なくとも7つ、さらに言えば全部の、改変型アミノ酸を含む。特定の実施形態では、本質的に全てのアミノ酸がD体アミノ酸である。

30

40

【0210】

上に示したとおり、本明細書に記載の、PAC1受容体作動薬を含むペプチド及び/またはPAC1受容体作動薬融合タンパク質を組換え発現させることもできる。したがって、特定の実施形態では、本明細書に記載の標的指向性配列及び/またはマキサジラン配列及び/または融合ペプチドは、組換え発現システムを使用して合成される。概してこれは、所望のペプチドまたは融合タンパク質をコードするDNA配列を作り出すこと、DNAを発現カセット内で特定のプロモーターの制御下に配置すること、宿主においてペプチドまたは融合タンパク質を発現させること、発現したペプチドまたは融合タンパク質を単離

50

すること、及び必要に応じてペプチドまたは融合タンパク質を還元することを伴う。

【0211】

本明細書に記載のペプチド（複数可）または融合タンパク質（複数可）をコードするDNAは、ふさわしい配列のクローニング及び制限、または直接的な化学合成を含めた、上記のような任意の好適な方法によって調製することができる。

【0212】

この核酸は、ふさわしい発現制御配列（例えば、プロモーター、エンハンサーなど）を含有する、及び場合によっては1つ以上の選択マーカー（例えば抗生物質耐性遺伝子）を含有するふさわしいベクターの中へと、簡単にライゲートされることができる。

【0213】

本明細書に記載のペプチドまたは融合タンパク質をコードする核酸配列は、限定されないが、大腸菌、その他の細菌性宿主、酵母、真菌ならびに様々な高等真核細胞、例えば昆虫細胞（例えばSF3）、COS、CHO及びHeLa細胞株及び骨髓腫細胞株を含めた様々な宿主細胞内で発現させることができる。組換えタンパク質遺伝子は、典型的には、各宿主にとってふさわしい発現制御配列に機能可能に繋がれることになる。大腸菌の場合、これには、プロモーター、例えば、T7、trpまたはラムダプロモーター、リボソーム結合部位、及び好ましくは転写停止シグナルが含まれ得る。真核細胞の場合、制御配列には、プロモーター、及び時としてエンハンサー（例えば、免疫グロブリン遺伝子、SV40、サイトメガロウイルスなどに由来するエンハンサー）、及びポリアデニル化配列が含まれ得、また、スプライスドナー及びアクセプター配列が含まれることもある。

【0214】

プラスミドは、よく知られている方法、例えば、大腸菌のための塩化カルシウム形質転換、及び哺乳動物細胞のためのリン酸カルシウム処理または電気穿孔によって、選択された宿主細胞の中に移入させることができる。プラスミドによって形質転換された細胞は、プラスミドが含有する遺伝子、例えばamp、gpt、neo及びhyg遺伝子などによって付与される抗生物質への抵抗性によって、選択することができる。

【0215】

発現され次第、組換えペプチド（複数可）または融合タンパク質（複数可）を硫酸アンモニウム沈降、親和性カラム、カラムクロマトグラフィー、ゲル電気泳動などを含めた当技術分野の標準的手順に従って精製することができる（概略的には、R. Scopes, (1982) Protein Purification, Springer-Verlag, N. Y., Deutscher (1990) Methods in Enzymology Vol. 182: Guide to Protein Purification, Academic Press, Inc. N. Y. を参照のこと）。均一性が少なくとも約90～95%である実質的に純粋な組成物が好ましく、98～99%以上の均一性が最も好ましい。

【0216】

当業者であれば、化学合成、生物学的発現または精製の後にペプチド（複数可）または融合タンパク質（複数可）が所望の天然配座とはかなり異なった配座を有する場合があることを認識するであろう。この場合には、ペプチドまたは融合タンパク質を変性させ還元し、その後、好ましい配座への分子の再折りたたみを生じさせることが必要となり得る。タンパク質を還元する、及び変性させる、また再折りたたみを誘起する方法は、当業者によく知られている（例えば、Debinski et al. (1993) J. Biol. Chem., 268: 14065-14070、Kreitman and Pastan (1993) Bioconj. Chem., 4: 581-585、及びBuchner, et al., (1992) Anal. Biochem., 205: 263-270を参照のこと）。例えば、Debinski et al. は、グアニジン-DTE中の内包タンパク質の変性及び還元について記載している。その後、タンパク質は、酸化グルタチオン及びL-アルギニンを含有するレッドックス緩衝液中で再折りたたみされる。

【0217】

10

20

30

40

50

当業者であれば、ペプチド（複数可）及び／または融合タンパク質（複数可）を、それらの生物学的活性を減弱することなく改変することができる、ということを認識するであろう。クローニング、発現、または融合タンパク質中への標的指向性配列及び／またはマキサジラン配列の組み込みを容易にするためにいくつかの改変がなされ得る。そのような改変は当業者によく知られており、例えば、開始部位を提供するためにアミノ末端に付加されるメチオニン、または簡便に配置される制限部位もしくは停止コドンもしくは精製配列を作り出すためにどちらかの末端に配置される追加アミノ酸（例えばポリHis）を含む。

【0218】

PAC1受容体指向性配列とPAC1受容体活性化配列との連結。

化学結合。

特定の実施形態では、PAC1受容体に結合する標的指向性配列（例えばマキサジラン配列）を、PAC1を活性化させるのに有効な配列（例えばPACAP配列）に化学結合させる。特定の実施形態では、そのような化学結合は、天然に存在する反応基を介して標的指向性配列を直接マキサジランペプチドに結合させることによって調製され、または、標的指向性配列及び／またはマキサジランペプチド（複数可）を官能基化してそのような反応基を形成することができる。

【0219】

特定の実施形態では、PAC1受容体に結合する標的指向性配列を、1つ以上の連結剤を介して、PAC1を活性化させるのに有効な配列に化学結合させる。したがって、様々な実施形態において、PAC1受容体に結合する標的指向性配列と、PAC1アクチベータ配列とを、単一の連結剤または多数の連結剤を介して結合させることができる。例えば、標的指向性配列とPAC1アクチベータ配列とを、単一の多（例えば、二、三または四）官能性連結剤または1対の相補的連結剤を介して結合させることができる。別の実施形態では、標的指向性配列とPAC1アクチベータ配列とを、2つ、3つまたはそれ以上の連結剤を介して結合させる。好適な連結剤としては、限定されないが例えば、官能基、親和剤、安定化基、及びそれらの組み合わせが挙げられる。

【0220】

特定の実施形態では、連結剤は官能基である、またはそれを含む。官能基には、反応基を含む単官能性リンカー及び、2つ以上の異なる官能性標的と結合を形成することができる2つ以上の反応基を含む多官能性架橋剤が含まれる。いくつかの実施形態では、多官能性架橋剤は、2つ以上の異なる反応基を含むヘテロ二官能性架橋剤である。

【0221】

好適な反応基としては、限定されないが例えば、チオール（-SH）、カルボン酸（COOH）、カルボキシル（-COOH）、カルボニル、アミン（NH₂）、ヒドロキシル（-OH）、アルデヒド（-CHO）、アルコール（ROH）、ケトン（R₂CO）、活性水素、エステル、スルフヒドリル（SH）、リン酸（-PO₃）または光反応性部分が挙げられる。アミン反応基としては、限定されないが例えば、イソチオシアネート、イソシアネート、アシルアジド、NHSEステル、塩化スルホニル、アルデヒド及びグリオキサル、エポキシド及びオキシラン、カルボネート、アリール化剤、イミドエステル、カルボジイミド、ならびに無水物が挙げられる。チオール反応基としては、限定されないが例えば、ハロアセチル及びアルキルハライド誘導体、マレイミド、アジリジン、アクリロイル誘導体、アリール化剤、ならびにチオールジスルフィド交換試薬が挙げられる。カルボン酸反応基としては、限定されないが例えば、ジアゾアルカン及びジアゾアセチル化合物、例えば、カルボニルジイミダゾール及びカルボジイミドが挙げられる。ヒドロキシル反応基としては、限定されないが例えば、エポキシド及びオキシラン、カルボニルジイミダゾール、過ヨウ素酸塩による酸化、炭酸N,N'-ジスクシンイミジルまたはクロロギ酸N-ヒドロキスクシンイミジル、酵素的酸化、アルキルハロゲン、ならびにイソシアネートが挙げられる。アルデヒド及びケトン反応基としては、限定されないが例えば、シッフ塩基形成または還元的アミノ化のためのヒドラジン誘導体が挙げられる。活性水素反応基としては、限定されないが例えば、マンニッヒ縮合及びヨウ素化反応のためのジアゾ

10

20

30

40

50

ニウム誘導体が挙げられる。光反応性基としては、限定されないが例えば、アリアルアジド及びハロゲン化アリアルアジド、ベンゾフェノン、ジアゾ化合物、ならびにジアジリン誘導体が挙げられる。

【0222】

キメラ部分を形成するのに有用な他の好適な反応基及び反応の部類には、生体分子複合体化学の技術分野でよく知られているものが含まれる。反応性キレートと共に利用することができる現在好まれている部類の反応は、比較的穏やかな条件の下で進行するものである。これらには、限定されないが、求核置換（例えば、アミン及びアルコールと、アシルハライド、活性エステルとの反応）、求電子置換（例えば、エナミン反応）ならびに、炭素-炭素及び炭素-ヘテロ原子多重結合への付加（例えば、Michael反応、Dieckmann-Alder反応）が含まれる。これら及び他の有用な反応は例えば、March (1985) *Advanced Organic Chemistry*, 3rd Ed., John Wiley & Sons, New York, Hermanson (1996) *Bioconjugate Techniques*, Academic Press, San Diego、及びFeeney et al. (1982) *Modification of Proteins; Advances in Chemistry Series*, Vol. 198, American Chemical Society, Washington, D. C. に記述されている。

10

【0223】

本明細書中で使用する「リンカー」または「連結剤」は、2つ以上の分子を繋ぎ合わせるために使用される分子である。特定の実施形態では、リンカーは典型的には、両方の分子（複数可）（例えば、標的指向性配列とマキサジラン配列）に共有結合を形成することができる。好適なリンカーは当業者によく知られており、限定されないが、直鎖もしくは分岐炭素リンカー、複素環式炭素リンカー、またはペプチドリンカーを含む。特定の実施形態では、リンカーを構成アミノ酸にその側鎖を介して（例えば、システインに対するジスルフィド結合を介して）繋ぐことができる。しかしながら、特定の実施形態では、リンカーは末端アミノ酸のアルファ炭素アミノ及びカルボキシル基に繋がられるであろう。

20

【0224】

一分子（例えば標的指向性ペプチド）上の基との反応性を有する1つの官能基と、他の分子（例えばマキサジランペプチド）との反応性を有する別の基とを有する二官能性リンカーを使用して、所望の複合体を形成することができる。あるいは、誘導体化を実施して官能基を形成することができる。このように、例えば、ペプチドにおける遊離スルフヒドリル基の生成のための手順も既知である（米国特許第4,659,839号を参照のこと）。

30

【0225】

特定の実施形態では、連結剤は、ペプチドと相互作用することができる複素環を形成する2つ以上の異なる反応基を含むヘテロ二官能性架橋剤である。例えば、システインなどのヘテロ二官能性架橋剤は、アミン反応基を含み得、チオール反応基は誘導体化ペプチド上のアルデヒドと相互作用することができる。二官能性架橋剤に適するさらなる反応基の組み合わせとしては、例えば、アミン-及びスルフヒドリル反応基；カルボニル及びスルフヒドリル反応基；アミン及び光反応性基；スルフヒドリル及び光反応性基；カルボニル及び光反応性基；カルボン酸及び光反応性基；ならびにアルギニン及び光反応性基が挙げられる。一実施形態では、ヘテロ二官能性架橋剤はSMCCである。

40

【0226】

様々な分子をペプチドに結び付けるための多くの手順及びリンカー分子が知られている（例えば、欧州特許出願第188,256号、米国特許第4,671,958号、第4,659,839号、第4,414,148号、第4,699,784号、第4,680,338号、第4,569,789号及び第4,589,071号、ならびにBorlinghaus et al. (1987) *Cancer Res.* 47:4071-4075を参照のこと）。例示的な結合手順は本明細書の実施例2及び実施例3に示されている。

50

【0227】

融合タンパク質。

特定の実施形態では、PAC1受容体（PAC1r）標的指向性配列（例えばマキサジランペプチド）と、PAC1を活性化させる配列（例えばPACAPペプチドなど）とを直接、またはアミノ酸を介して、またはリンカーを介して繋ぎ合わせて1本鎖融合タンパク質ペプチド／タンパク質を形成する。特定の実施形態では、そのような融合タンパク質／ペプチドは容易に融合タンパク質（すなわちキメラ融合タンパク質）として化学合成する、または組換え発現させることができる。

【0228】

特定の実施形態では、キメラ融合タンパク質は、組換えDNA方法論を用いて合成される。これは大抵、融合タンパク質をコードするDNA配列を作り出すこと、DNAを発現カセット内の特定プロモーターの制御下に配置すること、宿主内でタンパク質を発現させること、発現したタンパク質を単離すること、及び必要に応じてタンパク質を例えば上記のように復元することを伴う。

【0229】

標的指向性配列とエフェクター（複数可）（PAC1アクチベータ（複数可））とを直接繋ぎ合わせることはできるが、当業者であれば、それらを1つ以上のアミノ酸からなるペプチドスペーサー／リンカーによって隔てることを理解するであろう。一般に、スペーサーは、タンパク質同士を繋ぐこと、またはそれらの間でいくらかの最小限の距離もしくはその他の空間的関係性を保つこと他には特異的な生物学的活性を有しないものとされる。しかしながら、スペーサーの構成アミノ酸を、折りたたみ、正味の電荷、または疎水性などの分子のいくつかの特性に影響を与えるように選択してもよい。

【0230】

特定の実施形態では、標的指向性配列とPAC1アクチベータとをA、C、PまたはGなどの単一アミノ酸によって繋ぎ合わせる。特定の実施形態では、標的指向性配列とマキサジラン配列とを単一のアラニンによって繋ぎ合わせる。

【0231】

特定の実施形態では、ペプチドリリンカーを使用して標的指向性配列とPAC1アクチベータ配列とを繋ぎ合わせる。様々な実施形態において、ペプチドリリンカーは比較的短く、例えば、約15アミノ酸未満または約13アミノ酸未満または約10アミノ酸未満または約8アミノ酸未満または約5アミノ酸未満または約3アミノ酸以下である。好適な例示的リンカーとしては、限定されないが、配列SMDTSQL（配列番号171）、PSGSP（配列番号160）、ASASA（配列番号161）またはGGG（配列番号162）を含む、またはそれからなる、リンカーが挙げられる。特定の実施形態では、より長いリンカー、例えば、（GGGGS）₃（配列番号163）を使用することができる。特定の実施形態では、リンカーは、配列SMDTSQL（配列番号171）を含む、またはそれからなる。様々な例示的ペプチドアミノ酸リンカー、ペプチドリリンカー、及びその他のリンカーを表6に示す。

【表6-1】

表6．例示的アミノ酸リンカー、ペプチドリリンカー、及び非ペプチドリリンカー。

リンカー	配列番号:
A	
G	
P	
AA	
GG	

【表 6 - 2】

PP	
AAA	
GGG	
GGGG	164
SGG	
GGSGGS	165
SAT	
PYP	
PSPSP	166
ASA	
ASASA	167
PSPSP	168
KKKK	169
RRRR	170
SMDTSQL	171
GGGGS	172
GGGGS GGGGS	173
GGGGS GGGGS GGGGS	174
GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS	175
GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS	176
GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS	177
2-ニトロベンゼンまたはO-ニトロベンジル	
ニトロピリジルジスルフィド	
ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン (DOPE)	
S-アセチルメルカプトコハク酸	
1,4,7,10-テトラアザシクロデカン-1,4,7,10-四酢酸 (DOTA)	
β -グルクロニド及び β -グルクロニド変異型	
ポリ (アルキルアクリル酸)	
ベンゼン系リンカー (例えば、2,5-ビス (ヘキシルオキシ) -1,4-ビス [2,5-ビス (ヘキシルオキシ) -4-ホルミルフェニレンビニレン] ベンゼン) 及び類似分子	
ジスルフィド結合	
1分子内で複数の標的を繋げてペプチドをなくさせる、ポリ (アミドアミン) または類似デンドリマー	
カーボンナノチューブ	
ヒドラゾン及びヒドラゾン変異型リンカー	
任意の鎖長のPEG	
スクシナート、ホルメート、アセテート、ブチラート、その他の類似する有機酸	
アルドール、アルコールまたはエノール	
過酸化物	

10

20

30

40

50

【表 6 - 3】

任意の鎖長のアルカンまたはアルケン基	
遊離アミド及びカルボン酸基を含有する1つ以上のポリフィリンまたは色素分子	
ポリアミン及びポリカルボキシルを含有する変異型を含めた1つ以上のDNAまたはRNAヌクレオチド	
イヌリン、スクロース、グルコースまたはその他の単糖、二糖もしくは多糖	
リノレン酸またはその他の多価不飽和脂肪酸	
ハロゲンまたはチオール基を含有する上記リンカーのいずれかの変異型	

(全てのアミノ酸系リンカーはL体、D体、L体とD体との組み合わせ、β体などであり得る)

【0232】

保護基。

本明細書に記載の様々なペプチド（例えば、PAC1受容体に結合する標的指向性配列（例えばマキサジランまたはその断片）、及び／またはPAC1を活性化させるのに有効な配列（例えばPACAPまたはその断片）、及び／または両方を含む融合タンパク質）は、保護基なしで示され得る。しかしながら、特定の実施形態では、それらは1つ、2つ、3つ、4つまたはそれ以上の保護基を保有することができる。様々な実施形態において、保護基はペプチド（複数可）のC-及び／またはN-末端、及び／またはペプチド（複数可）を構成している1つ以上の内部残基に連結されることができる（例えば、構成アミノ酸上の1つ以上のR基をブロックすることができる）。このように、例えば、特定の実施形態では、本明細書の記載のいずれかのペプチドは例えば、アミノ末端を保護しているアセチル基、及び／またはカルボキシル末端を保護しているアミド基を保有することができる。例示となるそのような保護されたペプチドの例としては、限定されないが、

HSDGI FTDSYSSRYRKQMAVKKYLA AVLPGNSV FKECMKQKKKEFKAGK*

(配列番号178)；

HSDGI FAPGNSV FKECMKQKKKEFKAGK*

(配列番号179)；

HSDGI FT SMDTSQLPGNSV FKECMKQKKKEFKAGK*

(配列番号180)；及び

HSDGI FT PGNSV FKECMKQKKKEFKAGK*

(配列番号181)

が挙げられ、ここで、星印はアミド化されたカルボキシル末端を表す。当然のことながら、この保護基を除去すること及び／または本明細書に記載の別の保護基で置換することができる。

【0233】

特定の理論に拘泥するものではないが、とりわけカルボキシルに、また特定の実施形態ではアミノ末端に、保護基を追加することは、ペプチドの安定性及び有効性を向上させることができると考えられる。

【0234】

多数の保護基がこの目的に適う。そのような基としては、限定されないが、アセチル、アミド及びアルキル基が挙げられ、N末端保護にはアセチル及びアルキル基が特に適しており、カルボニル末端保護にはアミド基が特に適している。特定の実施形態では、保護基として、限定されないが、脂肪酸におけるようなアルキル鎖、プロピオニル、ホルミルなどが挙げられる。特定の好適なカルボキシル保護基には、アミド、エステル、及びエーテ

ルを形成する保護基が含まれる。一実施形態では、アセチル基を使用してアミノ末端を保護し、アミド基を使用してカルボキシル末端を保護する。特定の実施形態では、ブロッキング基として様々な長さのアルキル基、例えば、式： $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{CO}-$ を有する基が挙げられ、式中、 n は約1～約20、または約1～約16もしくは18、または約3～約13、または約3～約10の範囲である。

【0235】

特定の実施形態では、C末端上の酸基をアルコール、アルデヒドもしくはケトン基でブロッキングすることができ、及び／またはN末端残基は、天然アミド基を有することができるかまたはアシル、カルボン酸、アルコール、アルデヒドもしくはケトン基でブロッキングされることができる。

【0236】

他の保護基としては、限定されないが、Fmoc、*t*-ブトキシカルボニル (*t*-BOC)、9-フルオレンアセチル基、1-フルオレンカルボキシリック基、9-フルオレンカルボキシリック基、9-フルオレノン-1-カルボキシリック基、ベンジルオキシカルボニル、キサントイル (Xan)、トリチル (Trit)、4-メチルトリチル (Mtt)、4-メトキシトリチル (Mmt)、4-メトキシ-2, 3, 6-トリメチル-ベンゼンスルホニル (Mtr)、メシチレン-2-スルホニル (Mts)、4, 4-ジメトキシベンズヒドリル (Mbh)、トシル (Tos)、2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチルクロマン-6-スルホニル (Pmc)、4-メチルベンジル (MeBzl)、4-メトキシベンジル (MeOBzl)、ベンジルオキシ (BzLO)、ベンジル (Bzl)、ベンゾイル (Bz)、3-ニトロ-2-ピリジンスルフェニル (Npys)、1-(4, 4-ジメチル-2, 6-ジオキソシクロヘキシリデン) エチル (Dde)、2, 6-ジクロロベンジル (2, 6-Diclor-Bzl)、2-クロロベンジルオキシカルボニル (2-CL-Z)、2-ブロモベンジルオキシカルボニル (2-Br-Z)、ベンジルオキシメチル (Bom)、シクロヘキシルオキシ (CHxO)、*t*-ブトキシメチル (Bum)、*t*-ブトキシ (tBuO)、*t*-ブチル (tBu)、アセチル (Ac) 及びトリフルオロアセチル (TFA) が挙げられる。

【0237】

保護／ブロッキング基は、そのような基と本発明のペプチドを構成するふさわしい残基（複数可）とを連結する方法と同様に、当業者によく知られている（例えば、Green et al., (1991) *Protective Groups in Organic Synthesis*, 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc. Somerset, N. J. を参照のこと）。例示的实施形態では、例えば、ペプチドが樹脂上にある場合、合成中に無水酢酸を使用してアセチル化が成し遂げられる。アミド保護は、合成に適する樹脂を選択することによって成し遂げられ得る。例えば、rinkアミド樹脂を使用することができる。合成が完結した後、Asp及びGluなどの酸性二官能性アミノ酸ならびに塩基性アミノ酸Lys、Tyrのヒドロキシルに付いている半永久的保護基は、全て同時に除去される。酸性処理を用いてそのような樹脂から遊離させたペプチドは、n末端がアセチルとして保護されており、カルボキシルがNH₂として保護されており、同時に他の保護基が全て除去されている。

【0238】

本明細書においてアミノ酸配列を開示する場合、1つ以上の保護基、例えば上記のもの（または、例えばbocまたはfmocペプチド合成に使用するアミノ酸のための他の任意の市販の保護基）を有するアミノ酸配列も企図される。

【0239】

活性PAC1受容体作動薬の同定／検証

活性PAC1受容体作動薬 (MAXCAP) は、例えば本明細書において提供される実施例の中で例示されるような、試験管内及び／または生体内でのスクリーニングアッセイを用いて、同定及び／または検証することができる。例えば、PAC1受容体作動薬 (MAXCAP) を、PAC1受容体における放射性リガンド結合阻害について、ならびに天

然PACAP₁₋₃₈またはPACAP₁₋₂₇に類似して用量依存的なcAMP刺激、細胞内基質リン酸化及びCa²⁺放出の刺激についてスクリーニングすることができる。特定の実施形態では、PAC1受容体作動薬(MAXCAP)を、それらが食欲及び食物摂取を抑制する及び／または飽満感を誘起する及び／または胃のグレリン放出を抑制する能力についてスクリーニングすることができる。特定の実施形態では、RQ、VO₂、VCO₂、総エネルギー消費量を減らすことによってエネルギー消費を抑制する能力についてPAC1受容体作動薬(MAXCAP)を生体内で評価して好ましい臨床候補を同定することができる。PAC1受容体作動薬(MAXCAP)を、それらが脂肪生成、脂肪肝、NAFLD及び／またはNASHに及ぼす影響についてスクリーニングすることもできる。
【0240】

10

PAC1受容体作動薬(MAXCAP)の用途

上に示したように、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬(MAXCAP)を使用して、食欲を下方制御すること及び／または、肥満を軽減すること；及び／または脂肪生成及び／または脂肪蓄積を抑制すること；及び／または2型糖尿病の1つ以上の症候を改善する、もしくはその進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させること；及び／または、アテローム性動脈硬化の1つ以上の症候を改善すること；及び／または非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)の進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させること；及び／または、肝臓脂肪症(脂肪肝)の1つ以上の症候を改善する、及び／またはそれを遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／またはメタボリックシンドロームの1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／またはインスリン抵抗性の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または前糖尿病性症候群の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または肝臓脂肪症を改善すること；及び／またはNASH及び／またはNALDを改善する及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、食欲を下方制御すること、及び／または肥満を軽減すること、及び／または体重を低減すること；及び／または脂肪生成及び／または脂肪蓄積を抑制すること、及び／または糖恒常性を低減及び／または調節すること、及び／または真性糖尿病症候を好転もしくは治癒させること、及び／または炎症性腸疾患を軽減する、もしくは治癒させること、及び／または慢性炎症性疾患を軽減する、もしくは治癒させること；及び／または全身性及び臓器特異的自己免疫疾患の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること、及び／またはドライアイ症候群を軽減する、もしくは治癒させること、及び／または臓器、組織及び幹細胞移植拒絶反応を、予防もしくは軽減すること、及び／または体外受精のために子宮における胚着床を好転させること、及び／または結合組織炎の1つ以上の症候を改善すること、及び／または骨関節炎及び／または関節リウマチ及び／または乾癬性関節炎の進行を遅延させること、及び／または全身性高血圧を予防する、もしくは逆転させること；及び／またはアテローム性動脈硬化の1つ以上の症候を改善すること；及び／または非アルコール性脂肪性肝疾患(NAFLD)及び／またはNASHの進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させること；及び／または肝臓脂肪症(脂肪肝)の1つ以上の症候を改善する、及び／またはそれを遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／またはメタボリックシンドロームの1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／またはインスリン抵抗性の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または前糖尿病性症候群の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること；及び／または腎性高血圧及び／または慢性腎疾患の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及

20

30

40

50

び／またはPAC1受容体を発現している腫瘍の成長の進行を遅延させる、及び／またはそれを抑制する、及び／またはそれを逆転させること、及び／またはマスト細胞及び／または好塩基球の脱顆粒及びアレルギーメディエーターの放出の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または嚢胞性線維症の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること、及び／またはセリアック病の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること、及び／または統合失調症及び偏執症の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／またはアルツハイマー病の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または神経筋ジストロフィーの進行を遅延させる、及び／またはその症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または神経麻痺の進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または神経損傷麻痺の進行を遅延させる、及び／またはその症候を改善すること、及び／または外傷性脳損傷の進行を遅延させる、及び／またはその症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または心的外傷後ストレス障害の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または神経障害の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または喘息症候群の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または慢性閉塞性肺疾患の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／またはリンパ増殖性障害及び／または骨髄増殖性障害の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または血小板減少症の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または多発性骨髄腫の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること、及び／または急性もしくは慢性腎症及び／または一過性動脈狭窄及び／または出血性ショック及び／または抗生物質誘発性神経毒性の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または多発性嚢胞腎の症候を改善する、及び／またはそれを治療すること、及び／または眼圧亢進及び／または緑内障及び／または色素性網膜炎（retinitis pigmentosa）の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させること、及び／または組織及び／または臓器の虚血／再灌流（reperfusion）の症候を改善する、及び／またはそれを予防すること、及び／または慢性肺線維化プロセスの症候を改善する、及び／またはそれを予防すること、及び／またはがん及び転移の症候を改善する、及び／またはそれを逆転させる、及び／または放射線核種もしくは蛍光追跡子と結合させてその場所を突き止める、及び／またはそれを診断する、及び／またはそれを治療することができる。

【0241】

本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）は、食欲／飽満感を管理する新しい経路を標的とする第1化合物であり、現在のいかなる薬理学的標的より強力で長期の作用を有するものと考えられる。しかも、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）に先立って食欲、脂肪生成、2型糖尿病、アテローム性動脈硬化、肥満を抑制し脂肪蓄積を抑制する臨床的に有効な薬理学的標的は、今日まで市場になかった。本明細書に記載のMAXCAPは食物誘発性肥満マウスモデルにおいて食欲、体脂肪蓄積の顕著な低減及び体重減少を誘導した。加えて、MAXCAPの特に注目すべき効果は、マウスモデルにおいて肝臓脂肪症、NAFLD及びNASHを治療することである。現在のところ、これらの障害を治療する効果的な方法または薬理学的標的は存在しない。

【0242】

典型的には、上に記したとおり、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）は、それを必要とする対象（例えば、メタボリックシンドローム、2型糖尿病、肥満、NASH／NLDなどと診断された対象）に投与される。

【0243】

特定の実施形態では、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）は、1つ以上のジペプチジルペプチダーゼIV阻害薬と併せて投与される。そのような投与は、とりわけ、PAC1受容体作動薬の有効半減期を延ばすこと及び／または（上記）所望の効果に関して相乗作用をもたらすことができると考えられる。

【0244】

ジペプチジルペプチダーゼⅣ阻害薬は当業者によく知られている。そのような阻害薬としては、限定されないが、アミノメチルピリジン（R1438、Roche）、NVP DPP728（Novartis）、PSN9301（Prosidion）、イソロイシンチアゾリジド（P32/92、Probiodrugs）、デナグリブチン（GSK823093C、Glaxo Smithkline）、シタグリブチン（Januvia、MK-0431、Merck）、ビダグリブチン（Galvus、LAF237、Novartis）、サクサグリブチン（BMS-477118、Bristol-Meyers、Squibb）、アログリブチン（SYR-322、Takeda）、NN-7201（NovoNordisk）、及びALS 2-0426（Alantoss）が挙げられる。

10

【0245】

特定の実施形態では、本明細書に記載のMAXCAPをExendin-4、GLP-1作動薬、CGRP、アドレノメデュリン、セロトニン、アミリン、VIP及びVPAC1拮抗薬、及び／またはVPAC2作動薬と併せて投与する。

【0246】

Ⅳ．投与及び製剤化。

A）医薬製剤。

特定の実施形態では、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）を、それを必要とする哺乳動物に投与する。様々な実施形態において、組成物は、食欲を下方制御するため、及び／または肥満を軽減するため；及び／または、脂肪生成及び／または脂肪蓄積を抑制するため；及び／または2型糖尿病の1つ以上の症候を改善する、もしくはその進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させるため；及び／またはアテローム性動脈硬化の1つ以上の症候を改善するため；及び／または非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）の進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させるため；及び／または、肝臓脂肪症（脂肪肝）の1つ以上の症候を改善する、及び／またはそれを遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／またはメタボリックシンドロームの1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／またはインスリン抵抗性の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／または前糖尿病性症候群の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／または肝臓脂肪症を改善するため；及び／またはNASH及び／またはNAFLDを改善する及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるために、投与され得る。

20

30

【0247】

これらのPAC1受容体作動薬（MAXCAP）は「天然」形態で、または所望により塩、エステル、アミド、プロドラッグ、誘導体などの形態で投与することができ、但し、当該塩、エステル、アミド、プロドラッグまたは誘導体が薬理的に適すること、つまり本発明の方法（複数可）において有効であることを条件とする。活性薬剤の塩、エステル、アミド、プロドラッグ及びその他の誘導体は、合成有機化学の分野で技量を有する者に知られている、例えばMarch（1992）Advanced Organic Chemistry；Reactions，Mechanisms and Structure，4th Ed. N. Y. Wiley-Interscienceに記載されている標準的手順を用いて調製することができる。

40

【0248】

そのような誘導体を製剤化する方法は当業者に知られている。例えば、多くの送達薬剤のジスルフィド塩については、参照により本明細書に援用するPCT公開第WO2000/059863号に記載がある。同様に、治療用ペプチド、ペプトイド（またはその他の

50

模倣体)などの酸塩は、好適な酸との反応を伴うことが典型的である従来の方法論を用いて遊離塩基から調製することができる。概略を述べると、薬物の塩基形態をメタノールまたはエタノールなどの極性有機溶媒に溶かし、それに酸を添加する。結果として得られた塩は、析出するか、あるいはより極性が低い溶媒の添加によって溶液から取り出すことができる。酸付加塩を調製するのに適する酸としては、限定されないが、有機酸、例えば、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、ピルビン酸、シュウ酸、リンゴ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、ケイ皮酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸、サリチル酸などのみならず、無機酸、例えば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸なども挙げられる。酸付加塩は、好適な塩基による処理によって遊離塩基に再変換することができる。本明細書に記載のPAC1受容体作動薬(MAXCAP)の特定のとりわけ好ましい酸付加塩には、塩酸または臭化水素酸を使用して調製され得るようなハライド塩が含まれる。反対に、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬(MAXCAP)の塩基性塩の調製は、薬学的に許容できる塩基、例えば、水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化アンモニウム、水酸化カルシウム、トリメチルアミンなどを使用して同様にして調製される。特定の実施形態では、塩基性塩として例えば、ナトリウム塩などのアルカリ金属塩、及び銅塩が挙げられる。

【0249】

塩基性薬物の塩形態の調製のためには対イオンの pK_a は薬物の pH_a よりも少なくとも約2 pH低いことが好ましい。同様に、酸性薬物の塩形態の調製のためには対イオンの pK_a は薬物の pH_a よりも少なくとも約2 pH高いことが好ましい。これは、対イオンが溶液のpHを、塩の溶解度が遊離酸もしくは遊離塩基の溶解度を凌駕するところである塩平坦域に達する pH_{max} よりも低いレベルにすることを可能にする。医薬品原料(API)中及び酸または塩基の中のイオン化可能な基の pK_a 単位の違いに関する一般化された法則は、プロトン移動をエネルギー的に有利にすることを意味する。APIと対イオンとで pK_a が著しく異なっていない場合、水性環境中では固体錯体が形成し得るが速やかに不均衡化し得る(つまり、薬物及び対イオンの個々の実体へと分解し得る)。

【0250】

好ましくは、対イオンは、薬学的に許容できる対イオンである。好適なアニオン性塩形態としては、限定されないが、アセテート、ベンゾエート、ベンジラート、ピタルトレート、臭化物、カーボネート、塩化物、シトラート、エデテート、エジシラート、エストレート、フマレート、グルセプテート、グルコナート、臭化水素、塩化水素、ヨウ化物、ラクテート、ラクトビオナート、マレート、マレエート、マンデラート、メシラート、臭化メチル、メチルスルフェート、ムケート、ナプシラート、ニトラート、パモエート(エンボナート)、ホスホナート及びジホスホナート、サリチラート及びジサリチラート、ステアラート、スクシナート、スルフェート、タルトレート、トシラート、トリエチオジド、バレラートなどが挙げられ、他方、好適なカチオン性塩形態としては、限定されないが、アルミニウム、ベンザチン、カルシウム、エチレンジアミン、リジン、マグネシウム、メグルミン、カリウム、プロカイン、ナトリウム、トロメタミン、亜鉛などが挙げられる。

【0251】

様々な実施形態において、エステルの調製には、活性薬剤の分子構造内に存在するヒドロキシル及び／またはカルボキシル基の官能化を伴うことが典型的である。特定の実施形態では、エステルは典型的には、遊離アルコール基のアシル置換誘導体、すなわち式 $RCOOH$ のカルボン酸に由来する部分であり、式中のRはアルキル、好ましくは低級アルキルである。所望により、従来の水素化分解または加水分解手順を用いることによってエステルを遊離酸に再変換することができる。

【0252】

アミドも、当業者に知られているかまたは該当文献に記載されている技術を用いて調製することができる。例えば、好適なアミン反応物質を使用してエステルからアミドを調製してもよいし、またはアンモニアもしくは低級アルキルアミンとの反応によって無水物もしくは酸塩化物からアミドを調製してもよい。

【0253】

様々な実施形態において、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬(MAXCAP)は、本明細書において記載されるエアゾール剤または経皮的な予防及び／または治療の処置によって行われるような、非経口、局所、経口、経鼻（あるいは吸入）、直腸または局所投与のために有用である。組成物は、投与方法に応じて様々な単位剤形で投与されることができる。好適な単位剤形としては、限定されないが、散在、錠剤、丸剤、カプセル剤、口内錠、坐剤、パッチ剤、スプレー式点鼻薬、注射剤、埋込型徐放性製剤、脂質複合体などが挙げられる。

【0254】

本明細書に記載のPAC1受容体作動薬(MAXCAP)はまた、薬学的に許容できる担体（賦形剤）と合わせて薬理組成物を形成することができる。特定の実施形態では、薬学的に許容できる担体には、連邦政府もしくは州政府の規制当局によって承認されたもの、または動物における／動物に対する、より詳しくはヒトにおける／ヒトに対する使用のための米国薬局方もしくはその他の一般に認知されている薬局方に列挙されているものが含まれる。「担体」は、例えば、本発明の活性薬剤と共に投与される希釈剤、佐薬、賦形剤、助剤またはビヒクルを指す。

【0255】

薬学的に許容できる担体は、例えば組成物を安定化させるかまたは活性薬剤（複数可）の吸収を増加もしくは減少させるように作用する、1つ以上の生理学的に許容できる化合物（複数可）を含有し得る。生理学的に許容できる化合物には、例えば、炭化水素、例えば、グルコース、スクロースもしくはデキストラン、酸化防止剤、例えばアスコルビン酸もしくはグルタチオン、キレート剤、低分子量タンパク質、保護及び取込強化剤、例えば脂質、活性薬剤のクリアランスもしくは加水分解を低減する組成物または、賦形剤もしくはその他の安定化剤及び／または緩衝剤が含まれ得る。

【0256】

他の、とりわけ錠剤、カプセル剤、ゲルカプセル剤などを調製する際に役立つ、生理学的に許容できる化合物としては、限定されないが、結合剤、希釈剤／フィラー、崩壊剤、潤滑剤、懸濁化剤などが挙げられる。

【0257】

特定の実施形態では、経口用剤形（例えば錠剤）を製造するために、例えば、賦形剤（例えば、ラクトース、スクロース、デンプン、マンニトールなど）、任意選択の崩壊剤（例えば、炭酸カルシウム、カルボキシメチルセルロースカルシウム、デンプングリコール酸ナトリウム、クロスポビドンなど）、結合剤（例えば、アルファードデンプン、アラビアガム、微結晶セルロース、カルボキシメチルセルロース、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース、シクロデキストリンなど）、及び任意選択の滑沢剤（例えば、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール6000など）を1つ以上の活性成分（例えば活性ペプチド）に添加し、結果として得られる組成物を圧縮する。必要とされる場合には、圧縮した製品を、例えば風味をマスキングするためまたは腸溶性もしくは徐放性のために既知の方法でコーティングする。好適なコーティング材料としては、限定されないが、エチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ポリオキシエチレングリコール、酢酸フタル酸セルロース、フタル酸ヒドロキシプロピルメチルセルロース、及びEudragit(Rohm & Haas, Germany; メタクリル-アクリルコポリマー)が挙げられる。

【0258】

他の生理学的に許容できる化合物には、微生物の成長または活動を防止するのに特に有用となる湿潤剤、乳化剤、分散剤または保存料が含まれる。様々な保存料がよく知られており、例えばフェノール及びアスコルビン酸が挙げられる。当業者であれば、生理学的に許容できる化合物を含めて薬学的に許容できる担体（複数可）の選択が例えば活性薬剤（複数可）の投与経路及び活性薬剤（複数可）の特定の生理化学的特性に依存するというこ

10

20

30

40

50

【0259】

特定の実施形態では、賦形剤は無菌であり、不要物質を概して含まない。これらの組成物を従来によく知られた滅菌技術によって滅菌することができる。錠剤及びカプセルなどの様々な経口用剤形賦形剤には無菌状態は要求されない。通常はUSP/NF基準で十分である。

【0260】

特定の治療用途では、食欲を下方制御するため、及び／または肥満を軽減するため；及び／または、脂肪生成及び／または脂肪蓄積を抑制するため；及び／または2型糖尿病の1つ以上の症候を改善する、もしくはその進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させるため；及び／またはアテローム性動脈硬化の1つ以上の症候を改善するため；及び／または非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）の進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させるため；及び／または、肝臓脂肪症（脂肪肝）の1つ以上の症候を改善する、及び／またはそれを遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／またはメタボリックシンドロームの1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／またはインスリン抵抗性の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／または前糖尿病性症候群の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／または肝臓脂肪症を改善するため；及び／またはNAASH及び／またはNALDを改善する及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるために、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）を投与する、例えば、局所投与する、またはそれを必要とする患者に投与する。この用途に有効な量は、疾患の重症度及び患者の全体的健康状態に依存するであろう。患者が必要とする及び忍容する投薬量及び頻度に応じて組成物の単回または多回投与が投与され得る。いかなる事例においても、患者を効果的に治療する（例えば患者の1つ以上の症候を改善する）ためには組成物は十分な量の本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）を提供するものでなければならない。

【0261】

PAC1受容体作動薬（MAXCAP）の濃度は大いに様々であり得、選択される特定の投与形態及び患者の要望に応じて主として有効成分（複数可）の活性、体重などに基づいて選択されることになる。それにもかかわらず、濃度は典型的には約0.1もしくは1mg/kg/日～約50mg/kg/日の範囲、時にはそれ以上の投薬量を提供するように選択されることになる。典型的な投薬量は約3mg/kg/日～約3.5mg/kg/日、または約3.5mg/kg/日～約7.2mg/kg/日、または約7.2mg/kg/日～約11.0mg/kg/日、または約11.0mg/kg/日～約15.0mg/kg/日の範囲である。特定の実施形態では、投薬量は約10mg/kg/日～約50mg/kg/日の範囲である。特定の実施形態では、投薬量は、経口的に1日に1回、2回、3回または4回与える約20mg/kg/日～約50mg/kg/日の範囲である。特定の対象または対象群において治療計画及び／または予防計画を最適化するためにそのような投薬量を変化させてもよいことは理解されるであろう。

【0262】

特定の実施形態では、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）を口腔に投与する。これは、口内錠、エアゾールスプレー剤、洗口剤、被覆スワブなどの使用によって容易に成し遂げられる。

【0263】

特定の実施形態では、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）を、当業者によく知られている標準的方法に従って全身に（例えば、経口的に、または注射剤として）投与する。他の好ましい実施形態では、従来の経皮薬物送達システム、すなわち皮膚に貼付される薬物送達装置としての役割を果たす積層構造体中に活性薬剤（複数可）が

含まれていることが典型的である経皮「パッチ剤」を使用して、皮膚を介して薬剤を送達することもできる。そのような構造体において薬物組成物は、典型的には、上側の裏張層の下にある層または「貯留部」の中に含まれている。この文脈において「貯留部」という用語が、最終的に皮膚表面への送達のために利用可能である「有効成分（複数可）」の量を指していることは理解されよう。したがって、例えば、「貯留部」は、パッチ剤の裏張層上の接着剤の中、または当業者に知られている多種多様なマトリックス調製物のうちのいずれかの中に、有効成分（複数可）を含み得る。パッチ剤は単一の貯留部を含有していてもよいし、または多数の貯留部を含有していてもよい。

【0264】

一実施形態では、貯留部は、薬物送達の間、システムを皮膚に貼り付けておく役割を果たす薬学的に許容できる接触接着剤材料のポリマーマトリックスを含む。好適な皮膚接触接着剤材料の例としては、限定されないが、ポリエチレン、ポリシロキサン、ポリイソブチレン、ポリアクリレート、ポリウレタンなどが挙げられる。あるいは、薬物含有貯留部及び皮膚接触接着剤は、分離された別個の層として存在し、接着剤が貯留部の下にあり、この場合、貯留部は上記のようなポリマーマトリックスであってもよいし、または液体もしくはヒドロゲル貯留部であってもよいし、または何らかの他の形態をとっていてもよい。これらの積層体において裏張層は、装置の上面としての役割を果たすものであるが、好ましくは「パッチ剤」の主要構造要素として機能し、その柔軟性の多くを装置に提供する。裏張層のために選択される材料は、活性薬剤（複数可）及び存在するその他の任意の材料に対して実質的に不透過性であることが好ましい。

【0265】

上に記したように、様々な頬側用及び舌下用製剤も企図される。

【0266】

特定の実施形態では、本明細書に記載の1つ以上のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）を「濃縮物」として例えば、希釈に備えて保存容器に入れて（例えば予め計量された体積で）、または一定体積の水、アルコール、過酸化水素もしくはその他の希釈剤への添加に備えて可溶性カプセルに入れて、提供することができる。

【0267】

本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）の用途をヒトにおける用途に関して記載するが、それは動物、例えば獣医学用途にも適している。よって、特定の好ましい生物には、限定されないが、ヒト、非ヒト霊長類、イヌ、ウマ、ネコ、ブタ、有蹄動物、ウサギ類などが含まれる。

【0268】

B) ナノエマルジョン製剤

特定の実施形態では、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）はナノエマルジョンに製剤化される。ナノエマルジョンには、限定されないが、水中油（O/W）ナノエマルジョン及び油中水（W/O）ナノエマルジョンが含まれる。ナノエマルジョンは、約20～約1000nmの範囲の平均滴径を有するエマルジョンと定義することができる。通常、平均滴径は約20nmまたは50nmから約500nmまでである。サブミクロンエマルジョン（SME）及びミニエマルジョンという用語は同義語として使用される。

【0269】

例示的な水中油（O/W）ナノエマルジョンとしては、限定されないが以下が挙げられる：

【0270】

界面活性剤ミセル—小分子の界面活性剤すなわち洗剤からなる、主に疎水性ペプチドに適するミセル（例えば、SDS/PBS/2-プロパノール）。

【0271】

ポリマーミセル—主に疎水性ペプチドに適する、ポリマー、コポリマーまたはブロックコポリマー界面活性剤からなるミセル（例えば、プルロニックL64/PBS/2-プ

10

20

30

40

50

ロパノール) ;

【0272】

ブレンドミセル：1つより多い界面活性剤成分が存在しているかまたは液相（大抵はアルコールまたは脂肪酸化合物）の1つがミセルの形成に関与している、主に疎水性ペプチドに適するミセル（例えば、オクタン酸／PBS／EtOH）；

【0273】

統合ペプチドミセル－ペプチドが補助界面活性剤として働きミセルの必須部分を形成している、両親媒性ペプチドに適するブレンドミセル（例えば、両親媒性ペプチド／PBS／鉱油）；及び

【0274】

ピッカリング（固相）エマルション－ペプチドが固体ナノ粒子の外側と会合している、両親媒性ペプチドに適するエマルション（例えば、ポリスチレンナノ粒子／PBS／油不含有相）。

【0275】

例示的な油中水（W/O）ナノエマルションとしては、限定されないが以下が挙げられる：

【0276】

界面活性剤ミセル－小分子の界面活性剤すなわち洗剤からなる、主に親水性ペプチドに適するミセル（例えば、スルホコハク酸ジオクチル／PBS／2-プロパノール、イソプロピルミリスレート／PBS／2-プロパノールなど）；

【0277】

ポリマーミセル－ポリマー、コポリマーまたはブロックコポリマー界面活性剤からなる、主に親水性ペプチドに適するミセル（例えば、プルロニック（登録商標）L121／PBS／2-プロパノール）；

【0278】

ブレンドミセル－1つより多い界面活性剤成分が存在しているかまたは液相（大抵はアルコールまたは脂肪酸化合物）の1つがミセルの形成に関与している、主に親水性ペプチドに適するミセル（例えば、カプリン／カプリル酸ジグリセリド／PBS／EtOH）；

【0279】

統合ペプチドミセル－ペプチドが補助界面活性剤として働きミセルの必須部分を形成している、両親媒性ペプチドに適するブレンドミセル（例えば、両親媒性ペプチド／PBS／ポリプロピレングリコール）；及び

【0280】

ピッカリング（固相）エマルション－ペプチドが固体ナノ粒子の外側と会合している、両親媒性ペプチドに適するエマルション（例えば、キトサンナノ粒子／非水相／鉱油）。

【0281】

上に示したとおり、特定の実施形態では、ナノエマルションは1つ以上の界面活性剤すなわち洗剤を含む。いくつかの実施形態では、界面活性剤は非アニオン性洗剤（例えば、ポリソルベート界面活性剤、ポリオキシエチレンエーテルなど）である。本発明における用途を有する界面活性剤としては、限定されないが、TWEEN（登録商標）、TRITON（登録商標）及びTYLOXAPOL（登録商標）ファミリーの化合物などの界面活性剤が挙げられる。

【0282】

特定の実施形態では、エマルションはさらに、限定されないが塩化セチルピリジニウムを含めたカチオン性ハロゲン含有化合物を1つ以上含む。さらなる他の実施形態では、組成物はさらに、組成物と微生物との相互作用を増加させる1つ以上の化合物（「相互作用強化剤」）（例えば、緩衝液中のエチレンジアミン四酢酸またはエチレンビス（オキシエチレンニトリロ）四酢酸などのキレート剤）を含む。

【0283】

いくつかの実施形態では、ナノエマルションはさらに、エマルションの形成に役立つ乳

10

20

30

40

50

化剤を含む。乳化剤は、油／水界面に凝集して２つの隣り合う液滴同士の直接接触を防止する一種の連続膜を形成する化合物を含む。本発明の特定の実施形態は、抗病原体特性を低下させることなく容易に水で所望の濃度に希釈され得る水中油エマルション組成物を特徴とする。

【０２８４】

水相中に分散した不連続な油滴の他にも特定の水中油エマルションは他の脂質構造体、例えば小さい脂質小胞（例えば、水相の層によって互いに隔てられたいくつかの実質的に同中心の脂質二重層からなることが多い、脂質球）、ミセル（例えば、極性頭部基が水相に向かって外側に面しかつ無極性尾部が水相から離れて内側に隔離されるように５０～２００個の分子が並んだ小クラスターになっている、両親媒性分子）、またはラメラ相（各粒子が、水の薄膜によって隔離した平行な両親媒性二重層からなる、脂質分散体）も含有し得る。

10

【０２８５】

これらの脂質構造体は、無極性残基（例えば長い炭化水素鎖）を水から遠ざける疎水力の結果として形成される。上記脂質調製物は一般に界面活性剤脂質調製物（ＳＬＰ）と表記され得る。ＳＬＰは、粘膜に対する毒性が最小限であり、小腸内で代謝されると考えられる（例えば、Hamouda et al., (1998) J. Infect. Disease 180: 1939を参照のこと）。

【０２８６】

特定の実施形態では、エマルションは、水相中に分配した不連続な油相と、アルコール及び／またはグリセロールを含む第１成分と、界面活性剤またはハロゲン含有化合物を含む第２成分とを含む。水相は、限定されないが水（例えば、脱イオン水、蒸留水、水道水）及び溶液（例えばリン酸緩衝生理食塩水またはその他の緩衝液系）を含めた任意の種類の水相を含み得る。油相は、限定されないが植物油（例えば、大豆油、アボカド油、亜麻仁油、ココナッツ油、綿実油、スクアレン油、オリーブ油、キャノーラ油、コーン油、菜種油、紅花油及びヒマワリ油）、動物油（例えば魚油）、香味油、非水溶性ビタミン、鉱油及び潤滑油を含めた任意の種類の油を含み得る。特定の実施形態では、油相は水中油エマルションの３０～９０体積％を構成し（つまり、最終エマルションの全体積の３０～９０％を構成し）、好ましくは５０～８０％を構成する。

20

【０２８７】

特定の実施形態では、アルコールは、存在する場合には、エタノールである。

30

【０２８８】

本発明は界面活性剤の性質によって限定されはしないが、いくつかの好ましい実施形態では、界面活性剤はポリソルベート界面活性剤（例えば、ＴＷＥＥＮ２０（登録商標）、ＴＷＥＥＮ４０（登録商標）、ＴＷＥＥＮ６０（登録商標）及びＴＷＥＥＮ８０（登録商標））、フェノキシポリエトキシエタノール（例えば、ＴＲＩＴＯＮ（登録商標）Ｘ－１００、Ｘ－３０１、Ｘ－１６５、Ｘ－１０２及びＸ－２００ならびにＴＹＬＯＸＡＰＯＬ（登録商標））またはドデシル硫酸ナトリウムなどである。

【０２８９】

特定の実施形態では、ハロゲン含有成分が存在する。ハロゲン含有化合物の性質は、いくつかの好ましい実施形態においてハロゲン含有化合物は、塩化物塩（例えば、ＮａＣｌ、ＫＣｌなど）、セチルピリジニウムハライド、セチルトリメチルアンモニウムハライド、セチルジメチルエチルアンモニウムハライド、セチルジメチルベンジルアンモニウムハライド、セチルトリブチルホスホニウムハライド、ドデシルトリメチルアンモニウムハライド、テトラデシルトリメチルアンモニウムハライド、塩化セチルピリジニウム、塩化セチルトリメチルアンモニウム、塩化セチルベンジルジメチルアンモニウム、臭化セチルピリジニウム、臭化セチルトリメチルアンモニウム、臭化セチルジメチルエチルアンモニウム、臭化セチルトリブチルホスホニウム、臭化ドデシルトリメチルアンモニウム、臭化テトラデシルトリメチルアンモニウムなどを含む。

40

【０２９０】

50

特定の実施形態では、エマルションは、第4級アンモニウム化合物を含む。第4級アンモニウム化合物としては、限定されないが、N-アルキルジメチルベンジルアンモニウムサッカリナート、1, 3, 5-トリアジン-1, 3, 5 (2H, 4H, 6H)-トリエタノール; 1-デカンアミニウム, N-デシル-N, N-ジメチル-, クロリド (すなわち) ジデシルジメチルアンモニウムクロリド; 2- (2- (p- (ジイソブチル) クレゾキシ (cresoxy) エトキシ) エチルジメチルベンジルアンモニウムクロリド; 2- (2- (p- (ジイソブチル) フェノキシ) エトキシ) エチルジメチルベンジルアンモニウムクロリド; アルキル1または3ベンジル-1- (2-ヒドロキシエチル)-2-イミダゾリニウムクロリド; アルキルビス (2-ヒドロキシエチル) ベンジルアンモニウムクロリド; アルキルジメチル (dime thyl) ベンジルアンモニウムクロリド; アルキルジメチル3, 4-ジクロロベンジルベンジルアンモニウムクロリド (100%がC12); アルキルジメチル3, 4-ジクロロベンジルアンモニウムクロリド (50%がC14、40%がC12、10%がC16); アルキルジメチル3, 4-ジクロロベンジルアンモニウムクロリド (55%がC14、23%がC12、20%がC16); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド; アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (100%がC14); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (100%がC16); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (41%がC14、28%がC12); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (47%がC12、18%がC14); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (55%がC16、20%がC14); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (58%がC14、28%がC16); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (60%がC14、25%がC12); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (61%がC11、23%がC14); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (61%がC12、23%がC14); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (65%がC12、25%がC14); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (67%がC12、24%がC14); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (67%がC12、25%がC14); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (90%がC14、5%がC12); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (93%がC14、4%がC12); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (95%がC16、5%がC18); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (及び) ジデシルジメチルアンモニウムクロリド; (脂肪酸においてみられるような) アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド; アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (C12-C16); アルキルジメチルベンジルアンモニウムクロリド (C12-C18); アルキルジメチルベンジル及びジアルキルジメチルアンモニウムクロリド; アルキルジメチルジメチルベンジルアンモニウムクロリド; アルキルジメチルエチルアンモニウムブロミド (90%がC14、5%がC16、5%がC12); アルキルジメチルエチルアンモニウムブロミド (大豆油の脂肪酸においてみられるようなアルキル基とアルケニル基との混合); アルキルジメチルエチルベンジルアンモニウムクロリド; アルキルジメチルエチルベンジルアンモニウムクロリド (60%がC14); アルキルジメチルイソプロピルベンジルアンモニウムクロリド (50%がC12、30%がC14、17%がC16、3%がC18); アルキルトリメチルアンモニウムクロリド (58%がC18、40%がC16、1%がC14、1%がC12); アルキルトリメチルアンモニウムクロリド (90%がC18、10%がC16); アルキルジメチル (エチルベンジル) アンモニウムクロリド (C12-18); ジ- (C8-10)-アルキルジメチルアンモニウムクロリド; ジアルキルジメチルアンモニウムクロリド; ジアルキルジメチルアンモニウムクロリド; ジアルキルメチルベンジルアンモニウムクロリド; ジデシルジメチルアンモニウムクロリド; ジイソデシルジメチルアンモニウムクロリド; ジオクチルジメチルアンモニウムクロリド; ドデシルビス (2-ヒドロキシエチル) オクチル水素アンモニウムクロリド; ドデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド; ドデシルカルバモイルメチルジメチルベンジルアンモニウムクロリド; ヘプタデシルヒドロキシエチルイミダゾニ

10

20

30

40

50

ウムクロリド；ヘキサヒドロ－１，３，５－トリス（２－ヒドロキシエチル）－ｓ－トリ
アジン；塩化ミリスタルコニウム（及び）クオタニウム１４；Ｎ，Ｎ－ジメチル－２－ヒ
ドロキシプロピルアンモニウムクロリドポリマー；ｎ－アルキルジメチルベンジルアンモ
ニウムクロリド；ｎ－アルキルジメチルエチルベンジルアンモニウムクロリド；ｎ－テト
ラデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド－水和物；オクチルデシルジメチルアン
モニウムクロリド；オクチルドデシルジメチルアンモニウムクロリド；オクチフェノキシ
エトキシエチルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；オキシジエチレンビス（アルキ
ルジメチルアンモニウムクロリド）；第４級アンモニウム化合物、ジココアルキルジメチ
ルクロリド；トリメトキシシリルプロピルジメチルオクタデシルアンモニウムクロリド；
トリメトキシシリルｑｕａｔ、トリメチルドデシルベンジルアンモニウムクロリド；ｎ－
ドデシルジメチルエチルベンジルアンモニウムクロリド；ｎ－ヘキサデシルジメチルベン
ジルアンモニウムクロリド；ｎ－テトラデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；
ｎ－テトラデシルジメチルエチルベンジルアンモニウムクロリド；ならびにｎ－オクタデ
シルジメチルベンジルアンモニウムクロリドが挙げられる。

【０２９１】

ナノエマルジョン製剤及びそのようなものを作る方法は当業者によく知られており、例
えば、米国特許第７，４７６，３９３号、第７，４６８，４０２号、第７，３１４，６２
４号、第６，９９８，４２６号、第６，９０２，７３７号、第６，６８９，３７１号、第
６，５４１，０１８号、第６，４６４，９９０号、第６，４６１，６２５号、第６，４１
９，９４６号、第６，４１３，５２７号、第６，３７５，９６０号、第６，３３５，０２
２号、第６，２７４，１５０号、第６，１２０，７７８号、第６，０３９，９３６号、第
５，９２５，３４１号、第５，７５３，２４１号、第５，６９８，２１９号及び第５，１
５２，９２３号ならびに Fanun et al. (2009) Microemulsions: Properties and Applications (Surfactant
Science), CRC Press, Boca Ratan FL に記載されている。

【０２９２】

ⅤⅠ．キット。

別の実施形態では、本発明は、食欲を下方制御するため、及び／または肥満を軽減する
ため；及び／または、脂肪生成及び／または脂肪蓄積を抑制するため；及び／または２型
糖尿病の１つ以上の症候を改善する、もしくはその進行を遅延させる、もしくはそれを予
防する、もしくはそれを逆転させるため；及び／またはアテローム性動脈硬化の１つ以上
の症候を改善するため；及び／または非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）の進行
を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させるため；及び／または
、肝臓脂肪症（脂肪肝）の１つ以上の症候を改善する、及び／またはそれを遅延させる、
及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／またはメタボ
リックシンドロームの１つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、
及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／またはインス
リン抵抗性の１つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／ま
たはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／または前糖尿病性症候
群の１つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれ
を予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／または肝臓脂肪症を改善するた
め；及び／またはNAASH及び／またはNAFLDを改善する及び／またはそれを予防す
る、及び／またはそれを逆転させるための、キットを提供する。

【０２９３】

キットは典型的には、本明細書に記載のPAC1受容体作動薬（MAXCAP）の１つ
以上を収容している容器を含む。特定の実施形態では、PAC1受容体作動薬は、単位投
薬量製剤（例えば、坐剤、錠剤、カプレット剤、パッチ剤など）で提供することができ、
及び／または場合によっては１つ以上の薬学的に許容できる賦形剤と合わせてもよい。

【０２９４】

さらに、キットは場合によって、本明細書に記載の方法または「治療薬」もしくは「予

防薬」の用途の実践のための説明（すなわちプロトコール）を提供するラベル及び／または教材を含む。ある特定の教材には、治療的または予防的に、食欲を下方制御するため、及び／または肥満を軽減するため；及び／または、脂肪生成及び／または脂肪蓄積を抑制するため；及び／または2型糖尿病の1つ以上の症候を改善する、もしくはその進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させるため；及び／またはアテローム性動脈硬化の1つ以上の症候を改善するため；及び／または非アルコール性脂肪性肝疾患（NAFLD）の進行を遅延させる、もしくはそれを予防する、もしくはそれを逆転させるため；及び／または、肝臓脂肪症（脂肪肝）の1つ以上の症候を改善する、及び／またはそれを遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／またはメタボリックシンドロームの1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／またはインスリン抵抗性の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／または前糖尿病性症候群の1つ以上の症候を改善する、及び／またはその進行を遅延させる、及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるため；及び／または肝臓脂肪症を改善するため；及び／またはNASH及び／またはNAFLDを改善する及び／またはそれを予防する、及び／またはそれを逆転させるための、本発明の1つ以上の活性薬剤（複数可）の用途を記載する。教材はさらに、場合によって、好ましい投薬／治療計画、禁忌などを教示してもよい。

【0295】

教材は典型的には書物または印刷物を含むが、それらに限定されない。そのような教示内容を保存しそれをエンドユーザーに伝えることができるいかなる媒体も本発明によって企図される。そのような媒体としては、限定されないが、電氣的記憶媒体（例えば、磁気ディスク、テープ、カートリッジ、チップ）、光媒体（例えばCD-ROM）などが挙げられる。そのような媒体は、そのような教材を提供するインターネットサイトのアドレスを含んでいてもよい。

【実施例】

【0296】

以下の実施例は、特許請求される本発明を限定するためではなく例示するために提示される。

【0297】

実施例1

PAC1受容体作動薬の調製及び評価

本発明者らは、NH3T3細胞株にPAC1受容体を安定的にトランスフェクトした。ヒトPAC1インサートを含有するpCDL-SRd/Neoプラスミドを、アンピシリン耐性遺伝子中のそのAatII制限部位のところで線状化し、475Vに設定した電気穿孔装置を使用して20μgのベクターとWt cDNAと500μg/mlのサケ精子とを含有する0.25ml中の 2×10^7 細胞を4パルスに供する1msecによって、NIH/3T3線維芽細胞内に安定的にトランスフェクトした。ジェネテシンを使用してクローンを選択した。10種のクローンを放射性リガンド結合に供した。アデニル酸シクラーゼ及び放射性リガンド結合阻害について最も高い効率を発揮したクローンをさらなる試験のために選択した。

【0298】

MAXCAP1（配列番号5）及びMAXCAP4（配列番号6）はどちらも、天然のPACAP₁₋₃₈及びPACAP₁₋₂₇に類似してCAMPを用量依存的に刺激した（例えば図1及び表7を参照のこと）。

10

20

30

40

50

【表 7】

表 7. PACAP と比較したときの maxcap1 及び maxcap4 による環状 AMP 刺激

	MAXCAP 4 cAMP (fmol)	PACAP 平均 (fmol)
細胞のみ	520.7485	520.7485
1 nM	3614/611	3310/137
10 nM	4064.583	3614.611
100 nM	6400	4247.405
1 μM	6400	7201.421
10 μM	5779.348	6891.447
	MAXCAP 1 cAMP (fmol)	PACAP 平均 (fmol)
細胞のみ	520.7485	520.7485
1 nM	3167.656	3310.137
10 nM	6219.068	3614.611
100 nM	4706.616	4247.405

【0299】

本発明者らは、これらの新しく考案された PAC1 特異的作動薬である「MAXCAP」化合物が胃のグレリン放出の抑制によって食欲及び食物摂取を抑制し飽満感を誘起することを示した（図 2 参照）。本発明者らは、Promethion 代謝ケージシステムを利用して 24 時間の総食物摂取量を 12 時間期間（暗／明サイクル）で測定した。

【0300】

本発明者らは、PAC1 特異的作動薬であるこれらの新規 MAXCAP 化合物が RQ、VO₂、VCO₂ 及び総エネルギー消費量、総活動指数、粗活動指数、細活動指数及び平均運動速度を減らすことによってエネルギー消費を抑制することを示した（図 3 参照）。RQ 指数は注射後の暗期の大部分において 0.6 の区域にあり、脂肪塊を燃焼しているケトosis 状態にある。本発明者らは、Promethion 代謝ケージシステムを利用して本発明者らの結果を収集した。

【0301】

本発明者らは、PAC1 特異的作動薬であるこれらの新規 MAXCAP 化合物が潜在的な抗肥満標的であることを示した（例えば図 4 を参照のこと）。本発明者らは、これらの MAXCAP 化合物を DIO WT マウスに注射して体重を測定し、体脂肪及び除脂肪組成を分析した。

【0302】

本発明者らは、PAC1 特異的作動薬であるこれらの新規 MAXCAP 化合物が潜在的に非アルコール脂肪性肝炎（NASH）、非アルコール性脂肪性肝炎（NAFLD）及び肝線維症を治療し得ることを示した。本発明者らは、これらの MAXCAP 化合物を DIO WT マウスに注射して肝臓中の肝脂肪を測定した（例えば図 5 を参照のこと）。ビヒクル処置 DIO マウスは、ヘマトキシリン及びエオジン（H&E）染色で分析したところ、NASH／NAFLD 診断の原因となる顕著な肝硬変及び肝脂肪組成を有していたが、PACAP による処置は肝硬変及び NASH／NAFLD の顕著な軽減をもたらした。

【0303】

本発明者らは、P A C 1 特異的作動薬であるこれらの新規 M A X C A P 化合物が肝細胞及び脂肪細胞における脂肪生成の阻害剤であることを示した（例えば図 6 を参照のこと）。N I H 3 T 3 - L 1 前駆脂肪細胞を 2 週間、4 . 5 m g / m L のグルコース、5 0 m M のデキサメタゾン、4 0 . 5 m M の I B M X 及び 1 5 0 m g / m L のインスリン分化媒体の中で分化させた。分化している細胞に P A C A P ₁₋₂₇ を毎日、用量依存的な様式で付加した。脂質蓄積は O i l R e d O 染色によって可視化した。定量は I m a g e J 画像処理ソフトウェアによって行った。スケールバーは 2 0 0 μ m である。倍率 2 0 倍の下で画像を観察した。1 群あたり N = 3 ~ 4 である。a . u . は任意単位である。陽性対照と比較して * P < 0 . 0 5 、 ** P < 0 . 0 1 、 *** P < 0 . 0 0 1 である。

【 0 3 0 4 】

本明細書に記載の実施例及び実施形態が単に例示目的のためのものであるにすぎず、それらに照らして様々な改変または変更が、当業者に示唆されるであろうし、本願の趣旨及び範囲ならびに別記の特許請求の範囲に含まれる、ということは理解される。本明細書中で引用される全ての刊行物、特許及び特許出願はこれをもって参照によりそれらの全体があらゆる目的のために援用される。

10

20

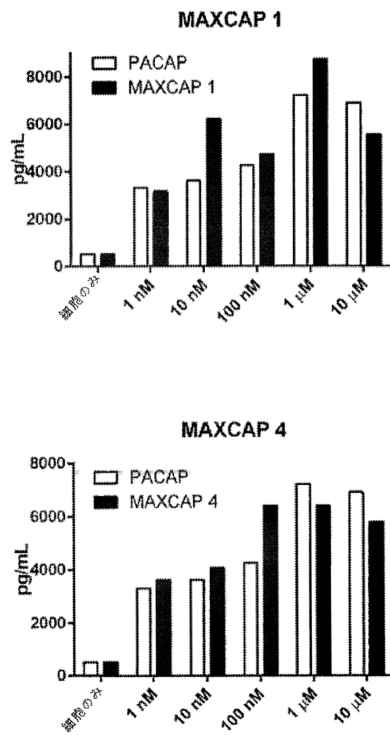
30

40

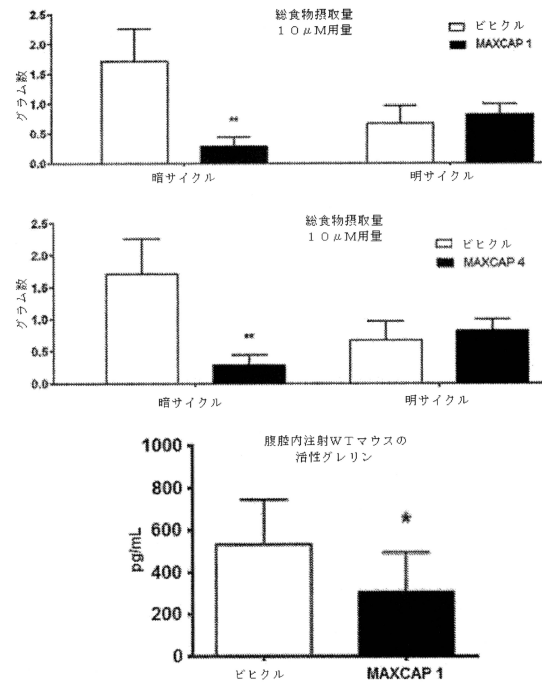
50

【図面】

【図 1】



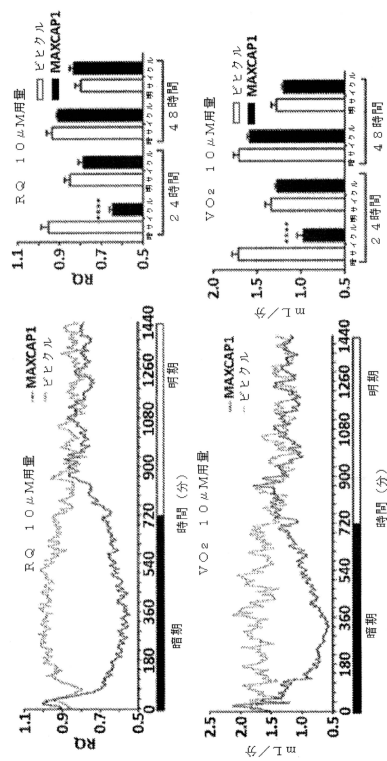
【図 2】



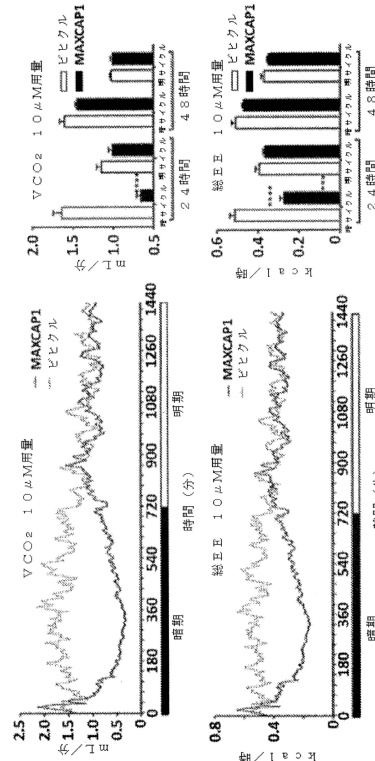
10

20

【図 3 - 1】



【図 3 - 2】

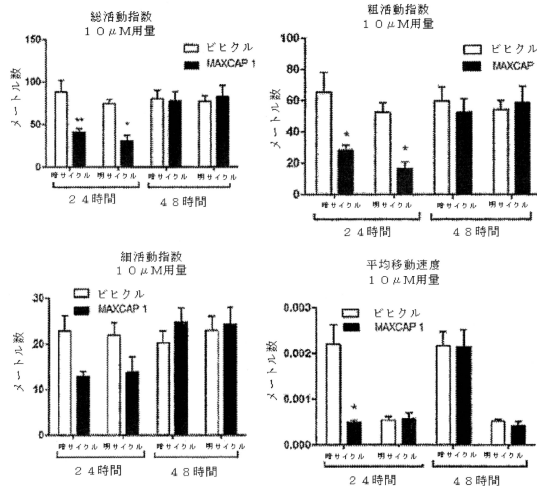


30

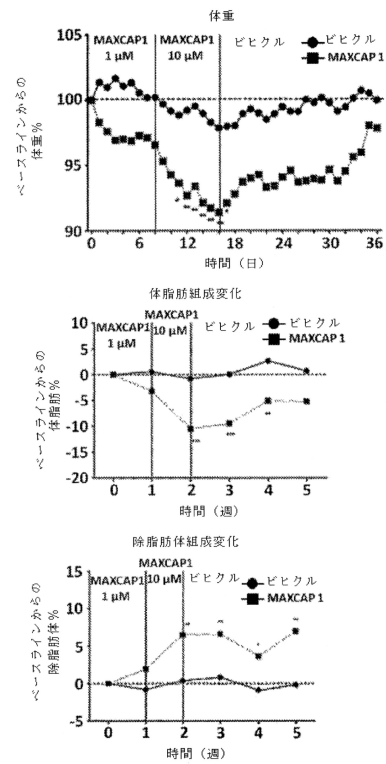
40

50

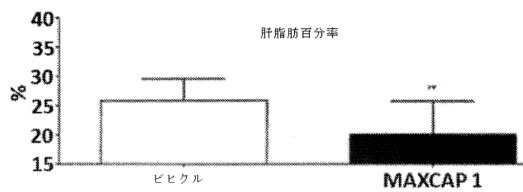
【図 3 - 3】



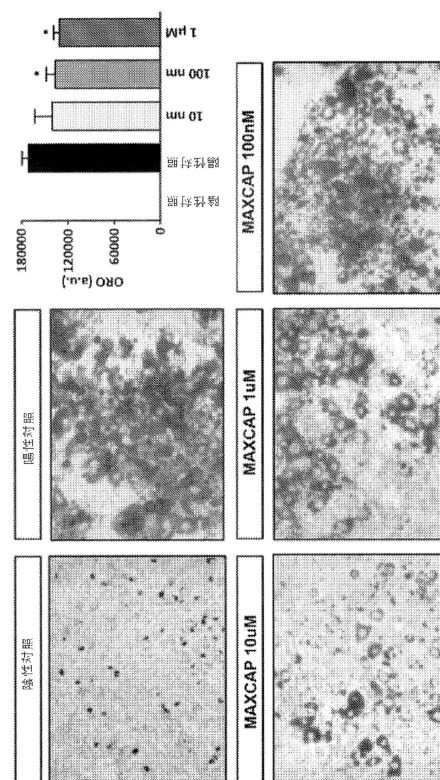
【図 4】



【図 5】



【図 6】



10

20

30

40

50

【配列表】
0007183164000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	3/04 (2006.01)	A 6 1 P	3/04	
A 6 1 P	3/10 (2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 1
A 6 1 P	1/16 (2006.01)	A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	3/00 (2006.01)	A 6 1 P	3/00	
A 6 1 P	5/50 (2006.01)	A 6 1 P	5/50	
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	27/02 (2006.01)	A 6 1 P	27/02	
A 6 1 P	37/06 (2006.01)	A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	15/08 (2006.01)	A 6 1 P	15/08	
A 6 1 P	19/04 (2006.01)	A 6 1 P	19/04	
A 6 1 P	19/08 (2006.01)	A 6 1 P	19/08	
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	9/12 (2006.01)	A 6 1 P	13/12	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	9/12	
A 6 1 P	37/08 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	25/18 (2006.01)	A 6 1 P	37/08	
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/18	
A 6 1 P	21/04 (2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	25/02 (2006.01)	A 6 1 P	21/04	
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	25/02	1 0 1
A 6 1 P	11/06 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	7/04 (2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	39/02 (2006.01)	A 6 1 P	7/04	
A 6 1 P	27/06 (2006.01)	A 6 1 P	39/02	
A 6 1 P	35/04 (2006.01)	A 6 1 P	27/06	
C 0 7 K	14/575 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	
C 0 7 K	14/435 (2006.01)	A 6 1 P	35/04	
C 0 7 K	19/00 (2006.01)	C 0 7 K	14/575	
		C 0 7 K	14/435	
		C 0 7 K	19/00	

アメリカ合衆国・２０４２０・ワシントン・ディストリクト・オブ・コロンビア・オフィス・オブ・ジェネラル・カウンセル

(74)代理人 100108453

弁理士 村山 靖彦

(74)代理人 100110364

弁理士 実広 信哉

(74)代理人 100133400

弁理士 阿部 達彦

(72)発明者 ジョセフ・アール・ピセグナ

アメリカ合衆国・カリフォルニア・９０４０３・サンタ・モニカ・トゥエンティーシックス・ストリート・８３４

(72)発明者 パトリツィア・エム・ゲルマノ

アメリカ合衆国・カリフォルニア・９０４０３・サンタ・モニカ・トゥエンティーシックス・ストリート・８３４

(72)発明者 ジョン・ピー・ヴ

アメリカ合衆国・カリフォルニア・９００２５・ロサンゼルス・サウス・ウェストゲート・アヴェニュー・１４３７・＃４

審査官 春田 由香

(56)参考文献

Vu, J. P. et al., PACAP intraperitoneal treatment suppresses appetite and food intake via PAC1 receptor in mice by inhibiting ghrelin and increasing GLP-1 and leptin, *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2015年, Vol.309, No.10, p.G816-G825, doi:10.1152/ajpgi.00190.2015

Moro, O. et al., Functional characterization of structural alterations in the sequence of the vasodilatory peptide maxadilan yields a pituitary adenylate cyclase-activating peptide type 1 receptor-specific antagonist, *The Journal of Biological Chemistry*, 1999年, Vol.274, No.33, p.23103-23110, doi:10.1074/jbc.274.33.23103

Reddy, V. B. et al., Functional analysis of recombinant mutants of maxadilan with a PAC1 receptor-expressing melanophore cell line, *The Journal of Biological Chemistry*, 2006年, Vol.281, No.24, p.16197-16201, doi:10.1074/jbc.M509429200

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B名)

A 6 1 K 3 8 / 0 0 - 3 8 / 5 8
 A 6 1 K 4 5 / 0 0 - 4 5 / 0 8
 A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 1 / 8 0
 A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2
 A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9
 C 0 7 K 1 4 / 0 0 - 1 4 / 8 2 5
 C 0 7 K 1 9 / 0 0
 P u b M e d
 C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)