

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4229992号
(P4229992)

(45) 発行日 平成21年2月25日(2009.2.25)

(24) 登録日 平成20年12月12日(2008.12.12)

(51) Int.Cl.		F I
C07K 14/635 (2006.01)		C O 7 K 14/635
C07K 7/08 (2006.01)		C O 7 K 7/08 Z N A
C07K 7/06 (2006.01)		C O 7 K 7/06
C07K 1/06 (2006.01)		C O 7 K 1/06
A61K 38/22 (2006.01)		A 6 1 K 37/24

請求項の数 9 (全 84 頁)

(21) 出願番号	特願平9-198072	(73) 特許権者	591003013
(22) 出願日	平成9年7月24日(1997.7.24)		エフ. ホフマン-ラ ロシュ アーゲー
(65) 公開番号	特開平10-77295		F. HOFFMANN-LA ROCH
(43) 公開日	平成10年3月24日(1998.3.24)		E AKTIENGESELLSCHAFT
審査請求日	平成16年7月9日(2004.7.9)		T
(31) 優先権主張番号	60/023322		スイス・シーエイチ-4070バーゼル・
(32) 優先日	平成8年7月30日(1996.7.30)		グレンツアーヘルストラツセ124
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100078662
			弁理士 津国 肇
		(74) 代理人	100072279
			弁理士 渡邊 睦雄
		(74) 代理人	100075225
			弁理士 篠田 文雄
		(74) 代理人	100108590
			弁理士 佐伯 とも子

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 副甲状腺ホルモンおよび副甲状腺ホルモン関連ペプチドのアナログの合成方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下式：

Xaa¹ Xaa² Xaa³ Xaa⁴ Xaa⁵ Xaa⁶ Xaa⁷ Leu His Asp Xaa¹¹ Gly Xaa¹³ Ser Ile Gln Asp L eu Xaa¹⁹ Xaa²⁰ Xaa²¹ Xaa²²⁻³¹ Xaa³² Xaa³³ Xaa³⁴ Xaa³⁵ Xaa³⁶ Xaa³⁷ Xaa³⁸ Term

(ここで、

Xaa¹は存在しないか、またはAla であり；

Xaa²は存在しないか、またはVal であり；

Xaa³は存在しないか、またはSer であり；

Xaa⁴は存在しないか、またはGlu もしくはGlu(OCH₃) であり；

Xaa⁵は存在しないか、またはHis もしくはAla であり；

Xaa⁶は存在しないか、またはGln であり；

Xaa⁷は存在しないか、またはLeu であり；

Xaa¹¹ はLys、Arg、またはLeu であり；

Xaa¹³ はLys、Arg、Tyr、Cys、Leu、Cys(CH₂CONH(CH₂)₂NH(ピオチニル))、Lys(7-ジメチルアミノ-2-オキソ-2H-1-ベンゾピラン-4-アセチル)、またはLys(ジヒドロシンナモイル)であり；

Xaa²⁰ はArg またはLeu であり；

Xaa¹⁹ およびXaa²¹ は独立してLys、Ala、またはArg であり；

Xaa²²⁻³¹ は配列番号 86、26、27、または 29 から選択され；

Xaa³² はHis、Pro、またはLysであり；
 Xaa³³ は存在しないか、またはPro、Thr、Glu、もしくはAlaであり；
 Xaa³⁴ は存在しないか、またはPro、Arg、Met、Ala、hSer、hSerlactone、Tyr、
 もしくはLeuであり；
 Xaa³⁵ は存在しないか、またはPro、Glu、Ser、Ala、もしくはGlyであり；
 Xaa³⁶ は存在しないか、またはAla、Arg、もしくはIleであり；
 Xaa³⁷ は存在しないか、またはArg、Trp、もしくは3-(2-ナフチル)-L-アラ
 ニンであり；

Xaa³⁸ は存在しないか、またはAlaもしくはhSerであり；
 およびTermはORまたはNR₂であって、各Rは独立してH、(C₁-C₄)アルキルも
 しくはフェニル(C₁-C₄)アルキルである)の副甲状腺ホルモン(PTH)もしくは
 副甲状腺ホルモン関連ペプチド(PTHrP)の合成ポリペプチドアナログまたはその薬
 学的に受容可能な塩の合成方法であって、ここで、配列番号86、26、27、および2
 9から選択されるアミノ酸残基(22-31)が両親媒性ヘリックスを形成し、

a) 固体樹脂支持体上で該ポリペプチドの3つの前駆体ペプチドフラグメント：N-末端
 フラグメント、中間部フラグメント、およびC-末端フラグメント(ここで、N-末端フ
 ラグメントはそのC-末端としてGlyを有し、中間部フラグメントはそのC-末端として
 Leuを有し、そしてC-末端フラグメントはそのN-末端としてLeuを有する)を、独立
 して合成する工程；

b) 該所望のポリペプチドの意図した最後のC-末端以外のすべての前駆体ペプチドフラ
 グメントをそれらの各々の樹脂支持体から解離させる工程；

c) 該解離させた前駆体ペプチドフラグメントを樹脂結合C-末端ペプチドフラグメント
 と連続的に縮合させて所望のポリペプチド産物を形成させる工程；

d) 側鎖保護基を除去する工程；および

e) 該ポリペプチド産物を該樹脂支持体から解離させる工程、
 を包含する方法。

【請求項2】

下式：

Xaa¹ Val Ser Glu Ile Gln Xaa⁷ Xaa⁸ His Asn Xaa¹¹ Gly Lys His Leu Xaa¹⁶ Ser Xaa¹⁸
 Xaa¹⁹ Arg Xaa²¹ Xaa²²⁻³¹ His Asn Xaa³⁴ Term

(ここで、

Xaa¹はSer またはAla であり；

Xaa⁷はLeu またはPhe であり；

Xaa⁸はLeu、Met、またはNle であり；

Xaa¹¹はLeu またはLys であり；

Xaa¹⁶はAsn またはSer であり；

Xaa¹⁸はLeu、Met、またはNle であり；

Xaa¹⁹はGlu、Thr、またはArg であり；

Xaa²¹はVal、Ser、またはArg であり；

Xaa²²⁻³¹は配列番号26、27、または29から選択され；

Xaa³⁴はPhe、hSer、またはTyr であり；

TermはORまたはNR₂であり、ここでRはHまたは(C₁-C₄)アルキルである)の
 副甲状腺ホルモン(PTH)もしくは副甲状腺ホルモン関連ペプチド(PTHrP)の合
 成ポリペプチドアナログまたはその薬学的に受容可能な塩の合成方法であって、ここで、
 配列番号26、27、および29から選択されるアミノ酸残基(22-31)が両親媒性
 ヘリックスを形成し、

a) 固体樹脂支持体上で該ポリペプチドの3つの前駆体ペプチドフラグメント：N-末端
 フラグメント、中間部フラグメント、およびC-末端フラグメント(ここで、N-末端フ
 ラグメントはそのC-末端としてGlyを有し、中間部フラグメントはそのC-末端として
 Leuを有し、そしてC-末端フラグメントはそのN-末端としてLeuを有する)を、独立

10

20

30

40

50

して合成する工程；

b) 該所望のポリペプチドの意図した最後のC - 末端以外のすべての前駆体ペプチドフラグメントをそれらの各々の樹脂支持体から解離させる工程；

c) 該解離させた前駆体ペプチドフラグメントを樹脂結合C - 末端ペプチドフラグメントと連続的に縮合させて所望のポリペプチド産物を形成させる工程；

d) 側鎖保護基を除去する工程；および

e) 該ポリペプチド産物を該樹脂支持体から解離させる工程、
を包含する方法。

【請求項3】

以下

【表 1】

AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLLEKLHTA-NH ₂	(配列番号 7)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLLEKLHTA-OH	(配列番号 6)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLERLLERLHTA-OH	(配列番号 15)	
AVSEHQLLHDRGRSIQDLRRRELLERLLERLHTA-OH	(配列番号 16)	
AVSEHQLLHDRGRSIQDLRRRELLERLLKRLHTA-OH	(配列番号 17)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLRKLHTA-OH	(配列番号 5)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLLEKLHTAGRR-OH	(配列番号 10)	10
AVSEAQLLHDLGKSIQDLRRRELLEKLLLEKLHAL-OH	(配列番号 14)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLLELLKEL-NH ₂	(配列番号 11)	
AVSEIQFXHNLGKHLSSXERVELLEKLLLEKLHNY-NH ₂	(X=Nle, 配列番号 23)	
AVSEIQFXHNLGKHLSSXRRRELLEKLLLEKLHNY-NH ₂	(X=Nle, 配列番号 24)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLARRELLEKLLLEKLHTA-NH ₂	(配列番号 12)	20
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRAELLEKLLLEKLHTA-NH ₂	(配列番号 13)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRSLSSLLSSLHTA-NH ₂	(配列番号 21)	
AVSEIQFLHN LGKHLSSLRR RELLEKLLLEK LHNY-NH ₂	(配列番号 35)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLKL KELLEKLLLEK LHTA-NH ₂	(配列番号 38)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLER LHTA-NH ₂	(配列番号 39)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLER LHTAP-OH	(配列番号 40)	30
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLER LHTAGRR-OH	(配列番号 41)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTY-NH ₂	(配列番号 43)	
AVSEHQLLHD KGYSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTA-NH ₂	(配列番号 44)	
AVSEHQLLHD KGCSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTA-NH ₂	(配列番号 45)	
AVSEHQLLHD KGXSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTA-NH ₂	(配列番号 46)	
(X = Cys(CH ₂ CONH(CH ₂) ₂ NH(ビオチニル)))		40
AVSEHQLLHD KGXSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTA-NH ₂	(配列番号 47)	
(X = Lys(7-ジメチルアミノ-2-オキソ-2H-1-ベンゾピラン-4-アセチル))		

【表 2】

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAG-OH (配列番号48)	
AVSX ₁ HQLLHX ₂ KGKSIQX ₂ LRR RX ₁ LLX ₁ KLLX ₁ K LHA-OH (配列番号49) (X ₁ = Glu(OCH ₃); X ₂ = Asp(OCH ₃))	
AVSX ₁ HQLLHX ₂ KGKSIQX ₂ LRR RX ₁ LLX ₁ KLLX ₁ K LHA-OCH ₃ (配列番号50) (X ₁ = Glu(OCH ₃); X ₂ = Asp(OCH ₃))	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAP-OH (配列番号52)	10
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTP-OH (配列番号53)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTP-NH ₂ (配列番号54)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHP-NH ₂ (配列番号55)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LP-NH ₂ (配列番号56)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTRSAW-OH (配列番号57)	
AVSEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLEKLLER LHTAGRRTSAW-OH (配列番号58)	20
AVSEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLEKLLER LHTAGRRTSAW-NH ₂ (配列番号59)	
AVSEHQLLHD RGKSIQDLRR RELLEKLLER LHTAGRRTSAW-OH (配列番号60) (X = Lys(ジヒドロシナモイル))	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTMA-NH ₂ (配列番号62)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RFFLEKLLEK LHTA-NH ₂ (配列番号64)	30
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLER LHTA-NH ₂ (配列番号65)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEHLLEK LHTA-NH ₂ (配列番号66)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLIK LHTA-NH ₂ (配列番号67)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEE IHNTA-NH ₂ (配列番号68)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTRSAW-NH ₂ (配列番号72)	40
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTRSAX-OH (配列番号73) (X = NaI(2) = 3-(2-ナフチル) - L-アラニン)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTASAW-OH (配列番号74)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHAEIRA-OH (配列番号75)	

【表 3】

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAEIR-OH (配列番号76)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAEI-OH (配列番号77)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAE-OH (配列番号78)	
SEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH ₂ (配列番号80)	
LLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH ₂ (配列番号81)	10
LHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH ₂ (配列番号82)	
SEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLERLLER LHAGRRTSAW-OH (配列番号83)	
LLHD RGRSIQDLRR RELLERLLER LHAGRRTSAW-OH (配列番号84)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLEKLHTX (X=hSerlac, 配列番号9)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLEKLHTX-NH ₂ (X=hSer, 配列番号8)	
AVSEIQFLHN LGKHLSSLRR RELLEKLLEK LHNX-NH ₂ (配列番号36)	20
(X = ホモセリン)	
AVSEIQFLHN KGKHLSSLRR RELLEKLLEK LHNX-NH ₂ (配列番号37)	
(X = ホモセリン)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLERLLER LHTAGRXX-NH ₂ (配列番号42)	
(X = ホモセリン)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTX-NHCH ₂ CH ₃ (配列番号69)	
(X = ホモセリン)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTX-NHCH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅	30
(配列番号70) (X = ホモセリン)、および	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTX-OH (配列番号51)	
(X = ホモセリン)。	

からなる群から選択される、副甲状腺ホルモン (PTH) もしくは副甲状腺ホルモン関連ペプチド (PTHrP) の合成ポリペプチドアナログまたはその薬学的に受容可能な塩の合成方法であって、ここで、配列番号 86、26、27、および 29 から選択されるアミノ酸残基 (22-31) が両親媒性 ヘリックスを形成し、

- a) 固体樹脂支持体上で該ポリペプチドの3つの前駆体ペプチドフラグメント：N-末端フラグメント、中間部フラグメント、およびC-末端フラグメント (ここで、N-末端フラグメントはそのC-末端としてGlyを有し、中間部フラグメントはそのC-末端としてLeuを有し、そしてC-末端フラグメントはそのN-末端としてLeuを有する) を、独立して合成する工程；
- b) 該所望のポリペプチドの意図した最後のC-末端以外のすべての前駆体ペプチドフラグメントをそれらの各々の樹脂支持体から解離させる工程；
- c) 該解離させた前駆体ペプチドフラグメントを樹脂結合C-末端ペプチドフラグメントと連続的に縮合させて所望のポリペプチド産物を形成させる工程；
- d) 側鎖保護基を除去する工程；および
- e) 該ポリペプチド産物を該樹脂支持体から解離させる工程、

を包含する方法。

【請求項4】

配列番号7のポリペプチド：AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELEKLEKLLHTA-NH₂またはその薬学的に受容可能な塩の合成方法であって、ここで、アミノ酸残基(22-31)が両親媒性ヘリックスを形成し、

a) 固体樹脂支持体上で該ポリペプチドの3つの前駆体ペプチドフラグメント：N-末端フラグメント、中間部フラグメント、およびC-末端フラグメント(ここで、N-末端フラグメントはそのC-末端としてGlyを有し、中間部フラグメントはそのC-末端としてLeuを有し、そしてC-末端フラグメントはそのN-末端としてLeuを有する)を、独立して合成する工程；

b) 該所望のポリペプチドの意図した最後のC-末端以外のすべての前駆体ペプチドフラグメントをそれらの各々の樹脂支持体から解離させる工程；

c) 該解離させた前駆体ペプチドフラグメントを樹脂結合C-末端ペプチドフラグメントと連続的に縮合させて所望のポリペプチド産物を形成させる工程；

d) 側鎖保護基を除去する工程；および

e) 該ポリペプチド産物を該樹脂支持体から解離させる工程、

を包含する方法。

【請求項5】

前記N-末端フラグメントがAVSEHQLLHDKGを含み、前記中間部フラグメントがKSIQDLRRRELを含み、そして前記C-末端フラグメントがLEKLLLEKLLHTAを含む、請求項4記載の方法。

【請求項6】

前記C-末端フラグメントが、LEKL、LEKL、およびHTAの縮合によって形成される、請求項5記載の方法。

【請求項7】

配列AVSEHQLLHDKGである合成ペプチド。

【請求項8】

配列KSIQDLRRRELである合成ペプチド。

【請求項9】

配列LEKLLLEKLLHTAである合成ペプチド。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

この発明は、骨粗鬆症の処置に有用な、ある新規な副甲状腺ホルモンおよび副甲状腺ホルモン関連ペプチドのアナログの合成方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

骨粗鬆症は代謝的骨疾患 (metabolic bone disease) の最も一般的な形態であり、その徴候は骨喪失の骨折段階 (骨減少症: osteopenia) であると考えられ得る。骨粗鬆症は多くの潜在的な疾患に対して二次的に起こり得るのであるが、全症例の90%が特発性であるようである。閉経後の女性は、特に特発性骨粗鬆症の危険性が高い (閉経後骨粗鬆症もしくはI型骨粗鬆症)。特発性骨粗鬆症の危険性が高いもう一つの群は、両性の初老者である (老人性骨粗鬆症もしくはII型骨粗鬆症)。骨粗鬆症はまた、コルチコステロイドの使用、寝たきりもしくは長い病床生活、アルコール漬け、糖尿病、性腺傷害性化学療法 (gonadotoxic chemotherapy)、過プロラクチン血症、神経性食欲不振、原発性もしくは続発性無月経および卵巣摘出にも関連している。

【0003】

種々の形態の骨粗鬆症において、骨折 (bone fracture) は、機械的な破損点に達した骨喪失の結果であり、頻繁に起こるものである。閉経後骨粗鬆症は、手首および脊椎骨 (spine) の骨折によって特徴づけられるが、一方、大腿骨頸 (femoral neck) 骨折は、老人性骨

10

20

30

40

50

粗鬆症の顕著な特徴であるようである。

【 0 0 0 4 】

それにより骨粗鬆症において骨が失われる機作は、それにより骨格がそれ自体を再生する過程における不均衡が関与すると考えられている。この過程は、骨再造型 (bone remodeling) と名付けられている。それは、活動の一連の不連続なポケットにおいて生じる。これらのポケットは、骨吸収部位としての所定の骨表面上で骨基質内において同時に現れる。破骨細胞 (骨溶解もしくは骨再吸収細胞) は、骨の一般的に一定の寸法 (constant dimension) の部分の再吸収を司っている。この再吸収過程に、破骨細胞によって残された空洞を次に新しい骨で再充填する骨芽細胞 (骨形成細胞) の出現が続く。

【 0 0 0 5 】

健康な成人被験者では、破骨細胞および骨芽細胞が形成される比率は、骨形成と骨再吸収の均衡がとれるようなものである。しかし、骨粗鬆症では、骨が作られるより速い速度で骨が失われることになる骨再造型過程における不均衡が進む。この不均衡はほとんどの個体において彼らが年をとるにつれてある程度起きるのであるが、閉経後骨粗鬆症もしくは卵巣摘出後においては、より重篤であり、より若年齢で起こる。

【 0 0 0 6 】

Adachi et al は、Seminars in Arthritis and Rheumatism 22:6, 375-84 (June 1993) において、コルチコステロイド誘導骨粗鬆症の病態生理学に関する矛盾する多くのデータにも関わらず、骨形成の相対的な減少と骨再吸収の相対的な増加があることが一般的に認められるということを報告している。結果として骨折および骨壊死を伴う骨喪失は、コルチコステロイド治療の結果よく起こる。骨喪失がコルチコステロイド治療の最初の 6 ~ 12 ヶ月以内に急速に起こるという証拠がある；また、骨喪失とコルチコステロイド用量との間には緊密な関係があるようである。男性もコルチコステロイドの効果に対して同等に感受性である。骨折と骨壊死の推定発生率は、30 ~ 50% の範囲である。

【 0 0 0 7 】

さらなる骨喪失を遅らせるか、より望ましくは骨重量の正味の増加を生じさせるという目的を持って骨粗鬆症を処置しようとする多くの試みがあった。エストロゲンおよびビスホスホネートのようなある物質は、骨粗鬆症におけるさらなる骨喪失を遅らせるようである。骨喪失を遅らせる物質は、骨再吸収と骨形成の期間の差違のため、骨重量を増加させ得るようである (3 ~ 7% 程度)。しかし、この明らかな増加は、時間に限界があり、連続的でなく、「再造型空間」の減少によるものである。さらに、再吸収と形成の間に密接な関連があるため、骨再吸収を妨げる治療は最終的に骨形成をも妨げるのである。

【 0 0 0 8 】

副甲状腺ホルモン (PTH) による処置が骨の代謝回転の増加と正の (positive) カルシウム均衡の両方を導くということが示唆されてきた。しかし、ヒトの臨床試験は、小柱骨 (trabecular bone) のいかなる増加も皮質骨の減少によって相殺され、その結果、骨総量における正味の増加はないことを示した。

【 0 0 0 9 】

Hefti et al は、Clinical Science 62, 389-396 (1982) において、bPTH (1 - 84) もしくはhPTH (1 - 34) のいずれかを毎日皮下に投与することにより、全体内カルシウムと個々の骨の灰分が正常な成体雌ラットでも骨粗鬆症の成体雌ラットでも増加したということを報告した。

【 0 0 1 0 】

Liu et al は、J. Bone. Miner. Res. 6, 10, 1071-1080 (1991) において、成体雌ラットの卵巣摘出が、骨芽細胞数および小柱骨破骨細胞数の有意な増加を伴って、近位の脛骨幹端 (proximal tibial metaphysis) における小柱骨のパーセンテージの 47% の喪失を誘導したということに注目した。hPTH (1 - 34) を毎日皮下注射することにより、小柱骨の喪失は完全に逆転し、偽薬 (sham) が作用していた対照のそれを上回る小柱骨の量を生じた。骨芽細胞数は増加し、破骨細胞数は減少した。

【 0 0 1 1 】

これらの各々の樹脂支持体から解離させる工程； c) そのフラグメントを連続的に縮合させて所望のポリペプチド産物を形成する工程； および d) アミノ酸保護基を除去する工程、を包含するような改良された方法を提供する。

【 0 0 2 2 】

好ましい実施態様においては、ポリペプチドの C - 末端以外のすべてのフラグメントをこれらのそれぞれの樹脂支持体から解離させ、 c) そのフラグメントを樹脂結合 C - 末端フラグメントと連続的に縮合させて所望のポリペプチド産物を形成させ； d) アミノ酸保護基を除き、そしてポリペプチド産物を樹脂支持体から解離させる。

【 0 0 2 3 】

より具体的には、 a) 固体樹脂支持体上で所望のポリペプチドの前駆体ペプチドフラグメントを独立して合成する工程； b) 該所望のポリペプチドの意図した最後の C - 末端以外のすべての前駆体ペプチドフラグメントをこれらの各々の樹脂支持体から解離させる工程； c) 該解離させた前駆体ペプチドフラグメントを樹脂結合 C - 末端ペプチドフラグメントと連続的に縮合させて所望のポリペプチド産物を形成する工程； d) 該側鎖保護基を除去する工程； および e) 該ポリペプチド産物を該樹脂支持体から解離させる工程、を包含する。

【 0 0 2 4 】

好ましい実施態様においては、これらの方法は 3 つの前駆体ペプチドフラグメント： N - 末端フラグメント、中間部フラグメント、および C - 末端フラグメントを用いて実施される。より好ましい実施態様においては、これらのフラグメントは、所望の最終ポリペプチドの配列と一致する場合、グルタミン酸、グリシン、もしくはロイシン残基をその C - 末端に有する。最も好ましい実施態様においては、このポリペプチド産物は、 3 つの前駆体ペプチドフラグメント、 N - 末端、中間部、および C - 末端から調製され、ここで、 N - 末端フラグメントはその C - 末端として Gly を有し、中間部フラグメントはその C - 末端として Leu を有し、そして C - 末端フラグメントはその N - 末端として Leu を有する。別の実施態様においては、中間部ペプチドフラグメントは C - 末端 Glu を有し、そして C - 末端フラグメントは N - 末端 Leu を有する。

【 0 0 2 5 】

好ましい実施態様においては、本発明の方法は、上記最終ポリペプチド産物は、下式：
Xaa¹ Xaa² Xaa³ Xaa⁴ Xaa⁵ Xaa⁶ Xaa⁷ Leu His Asp Xaa¹¹ Gly Xaa¹³ Ser Ile Gln Asp Leu Xaa¹⁹ Xaa²⁰ Xaa²¹ Xaa²²⁻³¹ Xaa³² Xaa³³ Xaa³⁴ Xaa³⁵ Xaa³⁶ Xaa³⁷ Xaa³⁸ Term、ここで：

Xaa¹ は存在しないか、または Ala であり；

Xaa² は存在しないか、または Val であり；

Xaa³ は存在しないか、または Ser であり；

Xaa⁴ は存在しないか、または Glu もしくは Glu(OCH₃) であり；

Xaa⁵ は存在しないか、または His もしくは Ala であり；

Xaa⁶ は存在しないか、または Gln であり；

Xaa⁷ は存在しないか、または Leu であり；

Xaa¹¹ は Lys、Arg、または Leu であり；

Xaa¹³ は Lys、Arg、Tyr、Cys、Leu、Cys(CH₂CONH(CH₂)₂NH(ピオチニル))、Lys(7-ジメチルアミノ-2-オキソ-2H-1-ベンゾピラン-4-アセチル)、または Lys(ジヒドロシンナモイル) であり；

Xaa²⁰ は Arg または Leu であり；

Xaa¹⁹ および Xaa²¹ は独立して Lys、Ala、または Arg であり；

Xaa²²⁻³¹ は配列番号 85、86、26、27、28、29、または 30 から選択され；

Xaa³² は His、Pro、または Lys であり；

Xaa³³ は存在しないか、または Pro、Thr、Glu、もしくは Ala であり；

Xaa³⁴ は存在しないか、または Pro、Arg、Met、Ala、hSer、hSerlactone、Tyr、もしくは Leu であり；

10

20

30

40

50

Xaa³⁵ は存在しないか、またはPro、Glu、Ser、Ala、もしくはGlyであり；
 Xaa³⁶ は存在しないか、またはAla、Arg、もしくはIleであり；
 Xaa³⁷ は存在しないか、またはArg、Trp、もしくは3-(2-ナフチル)-L-アラニンであり；
 Xaa³⁸ は存在しないか、またはAlaもしくはhSerであるか、あるいはXaa³⁸⁻⁴²はThr Arg Ser Ala Trp であり；
 およびTermはORまたはNR₂であって、各Rは独立してH、(C₁-C₄)アルキルもしくはフェニル(C₁-C₄)アルキルである；
 のPTHもしくはPTHrPアナログ、ならびにそれらの薬学的に受容可能な塩を含む。
 【0026】

10

好ましい実施態様においては、本発明の方法は、上記PTHもしくはPTHrPのポリペプチドアナログが、下式：

Xaa¹ Val Ser Glu Ile Gln Xaa⁷ Xaa⁸ His Asn Xaa¹¹ Gly Lys His Leu Xaa¹⁶ Ser Xaa¹⁸
 Xaa¹⁹ Arg Xaa²¹ Xaa²²⁻³¹ His Asn Xaa³⁴ Term、ここで：

Xaa¹はSer またはAla であり；

Xaa⁷はLeu またはPhe であり；

Xaa⁸はLeu、met、またはNie であり；

Xaa¹¹はLeu またはLys であり；

Xaa¹⁶はAsn またはSer であり；

Xaa¹⁸はLeu、Met、またはNie であり；

20

Xaa¹⁹はGlu、Thr、またはArg であり；

Xaa²¹はVal、Ser、またはArg であり；

Xaa²²⁻³¹は配列番号26、27、28、29、または30から選択され；

Xaa³⁴はPhe、hSer、またはTyr であり；

TermはORまたはNR₂であり、ここでRはHまたは(C₁-C₄)アルキルである；
 ならびに、それらの薬学的に受容可能な塩を含む。

【0027】

好ましい実施態様においては、本発明の方法は、上記PTHもしくはPTHrPアナログが、以下：

【0028】

30

【表1】

AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLEKLHTA-NH ₂	(配列番号7)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLEKLHTA-OH	(配列番号6)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLERLLERLHTA-OH	(配列番号15)	
AVSEHQLLHDRGRSIQDLRRRELLERLLERLHTA-OH	(配列番号16)	
AVSEHQLLHDRGRSIQDLRRRELLERLLKRLHTA-OH	(配列番号17)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLRKLHTA-OH	(配列番号5)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLEKLHTAGR-OH	(配列番号10)	
AVSEAQLLHDLGKSIQDLRRRELLEKLEKLHAL-OH	(配列番号14)	10
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLELLKEL-NH ₂	(配列番号11)	
AVSEIQFXHNLGKHLSSXERVELLEKLEKLHNY-NH ₂	(X=Nle, 配列番号23)	
AVSEIQFXHNLGKHLSSXRRELLEKLEKLHNY-NH ₂	(X=Nle, 配列番号24)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRALAEALAEALHTA-NH ₂	(配列番号20)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLARRELLEKLEKLHTA-NH ₂	(配列番号12)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRAELLEKLEKLHTA-NH ₂	(配列番号13)	20
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRSLSSLLSSLHTA-NH ₂	(配列番号21)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRAFYDKVAEKLHTA-NH ₂	(配列番号22)	
AVSEIQFLHN LGKHLSSLRR RELLEKLEK LHNY-NH ₂	(配列番号35)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLKL KELLEKLEK LHTA-NH ₂	(配列番号38)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLERLLER LHTA-NH ₂	(配列番号39)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLERLLER LHTAP-OH	(配列番号40)	30
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLERLLER LHTAGR-OH	(配列番号41)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTY-NH ₂	(配列番号43)	
AVSEHQLLHD KGYSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH ₂	(配列番号44)	
AVSEHQLLHD KGCSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH ₂	(配列番号45)	
AVSEHQLLHD KGXSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH ₂	(配列番号46)	
(X = Cys(CH ₂ CONH(CH ₂) ₂ NH(ビオチニル)))		40
AVSEHQLLHD KGXSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH ₂	(配列番号47)	
(X = Lys(7-ジメチルアミノ-2-オキソ-2H-1-ベンゾピラン-4-アセチル))		

【0029】

【表2】

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAG-OH (配列番号48)	
AVSX ₁ HQLLHX ₂ KGKSIQX ₂ LRR RX ₁ LLX ₁ KLLX ₁ K LHA-OH (配列番号49) (X ₁ = Glu(OCH ₃); X ₂ = Asp(OCH ₃))	
AVSX ₁ HQLLHX ₂ KGKSIQX ₂ LRR RX ₁ LLX ₁ KLLX ₁ K LHA-OCH ₃ (配列番号50) (X ₁ = Glu(OCH ₃); X ₂ = Asp(OCH ₃))	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAP-OH (配列番号52)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTP-OH (配列番号53)	10
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTP-NH ₂ (配列番号54)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHP-NH ₂ (配列番号55)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LP-NH ₂ (配列番号56)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTRSAW-OH (配列番号57)	
AVSEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLEKLEK LHTAGRRTSAW-OH (配列番号58)	20
AVSEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLEKLEK LHTAGRRTSAW-NH ₂ (配列番号59)	
AVSEHQLLHD RGXSIQDLRR RELLEKLEK LHTAGRRTSAW-OH (配列番号60) (X = Lys(ジヒドロシンナモイル))	
AVSEIQFXHN LGKHLSSXTR SAWLRKKLQD VHNY-NH ₂ (配列番号61) (X = ノルロイシン)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTMA-NH ₂ (配列番号62)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RFFLEKLEK LHTA-NH ₂ (配列番号64)	30
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH ₂ (配列番号65)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH ₂ (配列番号66)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH ₂ (配列番号67)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH ₂ (配列番号68)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTRSAW-NH ₂ (配列番号72)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTRSAW-OH (配列番号73) (X = NaI(2) = 3-(2-ナフチル)-L-アラニン)	40
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTASAW-OH (配列番号74)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAEIRA-OH (配列番号75)	

【 0 0 3 0 】

【 表 3 】

- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAEIR-OH (配列番号76)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAEI-OH (配列番号77)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAE-OH (配列番号78)
- SEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH₂ (配列番号80)
- LLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH₂ (配列番号81)
- LHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTA-NH₂ (配列番号82) 10
- SEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLEKLEK LHAGRRTSAW-OH (配列番号83)
- LLHD RGRSIQDLRR RELLEKLEK LHAGRRTSAW-OH (配列番号84)
- AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLEKLHTX (X=hSerlac, 配列番号9)
- AVSEIQFX₁HN KGKHLSSX₁ER VEWLRKKLQD VHNX₂ (配列番号79)
(X₁ = L-ノルロイシン ; X₂ = ホモセリンラクトン)
- AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLEKLHTX-NH₂ (X=hSer, 配列番号8) 20
- AVSEIQFLHN LGKHLSSLRR RELLEKLEK LHNX-NH₂ (配列番号36)
(X = ホモセリン)
- AVSEIQFLHN KGKHLSSLRR RELLEKLEK LHNX-NH₂ (配列番号37)
(X = ホモセリン)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTAGRRX-NH₂ (配列番号42)
(X = ホモセリン)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTX-NHCH₂CH₃ (配列番号69) 30
(X = ホモセリン)
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTX-NHCH₂CH₂C₆H₅
(配列番号70) (X = ホモセリン)、および
- AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHTX-OH (配列番号51)
(X = ホモセリン)。

【0031】

からなる群から選択される。

【0032】

好ましい実施態様においては、本発明の方法は、上記PTHもしくはPTHrPアナログ 40
が、配列番号7のポリペプチド：

【0033】

【表4】



【0034】

である。

【0035】

好ましい実施態様においては、上記第1の(N-末端)フラグメントがAVSEHQLL 50

H D K Gを含み、前記第2の(中間部)フラグメントがK S I Q D L R R R E Lを含み、そして前記第3の(C-末端)フラグメントがL E K L L E K L H T Aを含む。

【0036】

好ましい実施態様においては、前記第3の(C-末端)フラグメントが、L E K L、L E K L、およびH T Aの縮合によって形成される。

【0037】

好ましい実施態様においては、上記第1の(N-末端)フラグメントがA V S E H Q L L H D K Gを含み、前記第2の(中間部)フラグメントがK S I Q D L R R R E Lを含み、そして前記第3の(C-末端)フラグメントがL L E K L L E K L H T Aを含む。

【0038】

好ましい実施態様においては、前記第3の(C-末端)フラグメントが、L L E K、L L E K、およびL H T Aの縮合によって形成される。

【0039】

さらに、P T HもしくはP T H r Pアナログの調製のための上記の方法を行って、得られたP T HもしくはP T H r Pアナログを、1以上の薬学的に受容可能な添加剤と混合することを特徴とする医薬組成物の調製方法、特に、骨粗鬆症、特に骨折治癒の処置のための医薬組成物の調製のための方法を提供することが本発明の目的である。

【0040】

【発明の実施の形態】

種々の一般的なヌクレオチドおよびアミノ酸に関する1文字および3文字表記は、Pure Appl. Chem. 31, 639-645 (1972) and 40, 277-290 (1974)およびIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにおいて推奨されたようであり、37 CFR §1.822 (55 FR 182 45, 1990年5月1日)に従う。1文字および3文字表記は以下のとおりである：

アミノ酸	3文字記号	1文字記号
アラニン	Ala	A
アルギニン	Arg	R
アスパラギン	Asn	N
アスパラギン酸	Asp	D
アスパラギン + アスパラギン酸	Asx	B
システイン	Cys	C
グルタミン	Gln	Q
グルタミン酸	Glu	E
グルタミン + グルタミン酸	Glx	Z
グリシン	Gly	G
ヒスチジン	His	H
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
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
他のアミノ酸	Xaa	X

表記は、D-もしくはD, L-の指定がない限り、L-アミノ酸を示す。あるアミノ酸は天然のものも非天然のものもアキラルであり、例えば、グリシンがそうである。すべてのペプチド配列はN-末端を左側にそしてC-末端を右側にして示される。

10

20

30

40

50

【 0 0 4 1 】

本明細書中で用いられる他のアミノ酸および化合物についてのさらなる表記は：

hSer ホモセリン
hSerlac ホモセリンラクトン
Nle ノルロイシン

である。

【 0 0 4 2 】

「PTHもしくはPTHrpの生理学的に活性な短縮されたアナログ」とは、PTHもしくはPTHrpにみられるアミノ酸の完全な相補物には欠けるが、同様の生理学的応答を誘導するものを含む配列を有するポリペプチドをいう。短縮されたPTHもしくはPTHrpは、同様の生理学的応答を誘導するためにPTHもしくはPTHrpと完全に相同である必要はない。PTH(1-34)およびPTHrp(1-34)が好ましいが、限定的ではなく、これらの群の代表である。

10

【 0 0 4 3 】

「両親媒性 α -ヘリックス」とは、特定のポリペプチドによって示される二次構造をいい、そこでは、アミノ酸が、ヘリックスの長軸方向を指向する向かい合わせの極性および非極性表面を有する α -ヘリックス様立体配置をとっている。目的のポリペプチド中の α -ヘリックス構造の可能性は、「Schiffer-Edmundson wheel」[M. Schiffer and A. B. Edmundson, Biophys. J. 7, 121 (1967)]の構造により、適当なピッチの構造により、そしてヘリックスが外接しているシリンダーの向かい合った面上の親水性残基および親油性残基の分離に注意することによりある程度探索し得る。あるいは、観察によって立証できる証拠、例えば、円二色性データもしくはX線回折データが利用可能であり得、それらは所定のポリペプチドにおける α -ヘリックス様領域の存在を指示する。理想的な α -ヘリックスは1回転あたり3.6アミノ酸残基を有し、隣接した側鎖は100°の弧によって分離されている。Eisenberg et al は、Nature 299, 371-374 (1982)およびProc. Natl. Acad. Sci. USA 81, 140-144 (1984)において、疎水性スケールをヘリックスホイールと組み合わせて両親媒性ヘリックスの概念を定量した。疎水性モーメントの平均は、ヘリックスを構成している成分アミノ酸の疎水性のベクトル合計として定義された。以下のアミノ酸についての疎水性は、Eisenberg (1984)により「コンセンサス」スケールとして報告されたものである。

20

30

【 0 0 4 4 】

【表5】

Ile 0.73; Phe 0.61; Val 0.54; Leu 0.53; Trp 0.37;
Met 0.26 Ala 0.25; Gly 0.16; Cys 0.04; Tyr 0.02;
Pro -0.07; Thr -0.18; Ser -0.26; His -0.40; Glu -0.62;
Asn -0.64; Gln -0.69; Asp -0.72; Lys -1.10; Arg -1.76.

【 0 0 4 5 】

1回転あたり3.6アミノ酸残基を有する(もしくは側鎖間が100° (= 360° / 3.6)の弧)理想的な α -ヘリックスの疎水性モーメント、 μ_H 、は、以下から計算し得る：

40

【 0 0 4 6 】

【数1】

$$\mu_H = [(\sum H_N \sin \theta (N-1))^2 + (\sum H_N \cos \theta (N-1))^2]^{1/2},$$

【 0 0 4 7 】

式中、 H_N は N^{th} アミノ酸の疎水性値であり、周期数 = 100°の配列におけるNアミノ酸から合計をとる。疎水性モーメントは、 $\langle \mu_H \rangle$ を得るために μ_H をNで割ることに

50

より残基あたりの平均疎水性モーメントとして表現され得る。100° ± 20°における約0.20以上の $\langle \mu_H \rangle$ の値は、両親媒性ヘリックス形成を暗示する。h P T H r p (22 - 31) および h P T H (22 - 31) の100°での $\langle \mu_H \rangle$ の値は、それぞれ0.19および0.37である。

【0048】

Cornett, et al. は、J. Mol. Biol., 195, 659-685 (1987)において、両親媒性の予測物としての「両親媒性指数 (amphipathic index)」の導入により両親媒性 - ヘリックスの研究をさらに拡大した。彼等は、公知のすべての - ヘリックスのほぼ半数が両親媒性であり、主な頻度は100°ではなくむしろ97.5°であり、1回転あたりの残基数は3.6より3.7に近いと結論付けた。そのような細かい点は科学的には興味あるところだが、所定の配列を両親媒性と分類するには、特に両親媒性 - ヘリックスを形成する配列を最初から設計しているような場合には、Eisenberg, et al. の基本的なアプローチで十分である。

10

【0049】

代替の両親媒性 - ヘリックスアミノ酸配列は、天然に生じるポリペプチドの所定のセグメントの配列との相同性を欠くかもしれないが、類似した二次構造、すなわち、向かい合わせの極性および非極性表面を有する - ヘリックスを生理学的環境において導く。天然に生じるアミノ酸配列を代替の配列で置き換えることは、変更された親ポリペプチドの生理学的活性、安定性もしくはその他の特性に有益な影響を及ぼし得る。そのような配列の設計および選択についての手引きは、J. L. Krstenansky, et al., FEBS Letters 242, 2, 409-413 (1989)およびJ. P. Segrest, et al., Proteins: Structure, Function, and Genetics 8, 103-117 (1990)等に提供されている。

20

【0050】

ある配列が、この発明の配列であるために十分に両親媒性であるかを決定する簡便な方法は、上で定義した平均疎水性モーメントを計算することである。100° ± 20°における残基あたりのピーク平均モーメントが約0.20を越えているなら、その時にはその配列は両親媒性ヘリックスを形成し、この発明の配列である。

【0051】

例えば、(配列番号26)、Xaa=Glu についての100°での残基あたりの平均疎水性モーメントは以下のように計算される：

30

【0052】

【表6】

A.A.	H_N	$\theta (N-1)$	$H \sin \theta(N-1)$	$H \cos \theta(N-1)$
E	-.62	0	0	-.62
L	.53	100	.52	-.17
L	.53	200	-.18	-.50
E	-.62	300	.34	-.31
K	-1.1	400	-.70	-.85
L	.53	500	.34	-.41
L	.53	600	-.46	-.27
E	-.62	700	.21	-.58
K	-1.1	800	-1.08	-.19
L	.53	900	0	-.53
			$\Sigma=0.81$	$\Sigma=-4.43$

40

$$\mu_H = \left[(0.81)^2 + (-4.43)^2 \right]^{1/2} = 4.50$$

$$\langle \mu_H \rangle = 4.50/10 = 0.45$$

【0053】

この配列では、平均ピーク疎水性モーメントは、92°で生じ、その値は0.48である

50

。

【 0 0 5 4 】

一つの局面において、この発明は、PTH、PTHrP、ならびにPTHおよびPTHrPの生理学的に活性なアナログもしくはそれらの塩の合成方法を提供する。ここで、アミノ酸残基(22-31)は、両親媒性の α -ヘリックスを形成し、その残基(22-31)の配列は、以下から選択される：

- a) Xaa¹ Xaa² Leu Xaa⁴ Xaa⁵ Leu Xaa⁷ Xaa⁸ Xaa⁹ Xaa¹⁰、ここで：
 Xaa¹およびXaa⁴は独立してGlu、Glu(OCH₃)、His、またはPheであり；
 Xaa²はLeuまたはPheであり；
 Xaa⁵はLysまたはHisであり；
 Xaa⁷およびXaa¹⁰は独立してLeuまたはIleであり；
 Xaa⁸はAla、Arg、またはGluであり；そして
 Xaa⁹はLysまたはGlu(配列番号85)であり；
 好ましくはGlu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Xaa Lys Leuであり、ここで
 XaaはGluまたはArg(配列番号26)であり；
- b) Xaa¹ Xaa² Leu Xaa⁴ Arg Leu Leu Xaa⁸ Arg Leu、ここで：
 Xaa¹およびXaa⁴は独立してGlu、Glu(OCH₃)、His、またはPheであり；
 Xaa²はLeuまたはPheであり；
 Xaa⁸はGluまたはLys(配列番号86)であり；
 好ましくはGlu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Xaa Arg Leuであり、ここで
 XaaはGluまたはLys(配列番号27)である；
- c) Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu(配列番号28)
 d) Ser Leu Leu Ser Ser Leu Leu Ser Ser Leu(配列番号29)
 e) Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys Leu(配列番号30)。

10

20

【 0 0 5 5 】

別の局面において、この発明は、下式：

Xaa¹ Xaa² Xaa³ Xaa⁴ Xaa⁵ Xaa⁶ Xaa⁷ Leu His Asp Xaa¹¹ Gly Xaa¹³ Ser Ile Gln Asp Leu Xaa¹⁹ Xaa²⁰ Xaa²¹ Xaa²²⁻³¹ Xaa³² Xaa³³ Xaa³⁴ Xaa³⁵ Xaa³⁶ Xaa³⁷ Xaa³⁸ Term、ここで：

- Xaa¹は存在しないか、またはAlaであり；
 Xaa²は存在しないか、またはValであり；
 Xaa³は存在しないか、またはSerであり；
 Xaa⁴は存在しないか、またはGluもしくはGlu(OCH₃)であり；
 Xaa⁵は存在しないか、またはHisもしくはAlaであり；
 Xaa⁶は存在しないか、またはGlnであり；
 Xaa⁷は存在しないか、またはLeuであり；
 Xaa¹¹はLys、Arg、またはLeuであり；
 Xaa¹³はLys、Arg、Tyr、Cys、Leu、Cys(CH₂CONH(CH₂)₂NH(ピオチニル))、Lys(7-ジメチルアミノ-2-オキソ-2H-1-ベンゾピラン-4-アセチル)、またはLys(ジヒドロシンナモイル)であり；
 Xaa²⁰はArgまたはLeuであり；
 Xaa¹⁹およびXaa²¹は独立してLys、Ala、またはArgであり；
 Xaa²²⁻³¹は配列番号26、27、28、29、または30から選択され；
 Xaa³²はHis、ProまたはLysであり；
 Xaa³³は存在しないか、またはPro、Thr、Glu、もしくはAlaであり；
 Xaa³⁴は存在しないか、またはPro、Arg、Met、Ala、hSer、hSerlactone、Tyr、もしくはLeuであり；
 Xaa³⁵は存在しないか、またはPro、Glu、Ser、Ala、もしくはGlyであり；
 Xaa³⁶は存在しないか、またはAla、Arg、もしくはIleであり；
 Xaa³⁷は存在しないか、またはArg、Trp、もしくは3-(2-ナフチル)-L-アラニ

30

40

50

ンであり；

Xaa³⁸ は存在しないか、またはAla もしくはhSerであるか、あるいはXaa³⁸⁻⁴²はThr Arg Ser Ala Trp であり；

およびTermはORまたはNR₂ であって、各Rは独立してH、(C₁ - C₄)アルキルもしくはフェニル(C₁ - C₄)アルキルである；ならびに、それらの薬学的に受容可能な塩、のPTH、PTHrP、ならびにPTHおよびPTHrPの生理学的に活性なアナログもしくはそれらの塩の合成方法を提供する。

【0056】

さらに別の局面において、この発明は、下式(I)：

Ala Val Ser Glu Xaa⁵ Gln Leu Leu His Asp Xaa¹¹ Gly Xaa¹³ Ser Ile Gln Asp Leu Xaa¹⁹ Arg Xaa²¹ Xaa²²⁻³¹ Xaa³² Xaa³³ Xaa³⁴ Term、ここで： 10

Xaa⁵ はHis またはAla であり；

Xaa¹¹ およびXaa¹³ は独立してLys、Arg、またはLeu であり；

Xaa¹⁹ およびXaa²¹ は独立してAla またはArg であり；

Xaa²²⁻³¹ は以下のa) ~ e) から選択され：

a) Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Xaa Lys Leu、ここで

Xaa はGlu またはArg (配列番号26) であり；

b) Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Xaa Arg Leu、ここで

Xaa はGlu またはLys (配列番号27) であり；

c) Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu (配列番号28)； 20

d) Ser Leu Leu Ser Ser Leu Leu Ser Ser Leu (配列番号29)；

e) Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys Leu (配列番号30)；

Xaa³² はHis またはLys であり；

Xaa³³ はThr、Glu、またはAla であり；

Xaa³⁴ はAla、hSer、Tyr、またはLeu であり；

およびTermはGly Arg Arg、lactone、OHまたはNR₂ であり、ここで各RはHまたは(C₁ - C₄)アルキルであり；ならびに、それらの薬学的に受容可能な塩(式(I))、に示す、生理学的に活性な短縮されたホモログhPTHrP(1-34)のポリペプチドアナログの合成方法を含む。 30

【0057】

本発明のより特定の局面は、式(I)のポリペプチドの合成を包含し、ここで、Xaa²²⁻³¹ は(配列番号26) であり、それについての100°での<μ_H>は0.45を越えている。本発明のさらに特定の局面は、Xaa²²⁻³¹が(配列番号26) であり、Xaa¹¹ およびXaa¹³ がどちらもLys であり；そしてXaa¹⁹ およびXaa²¹ がどちらもArg である、式(I)のポリペプチドを包含する。本明細書中で開示される方法によって調製される代表的なポリペプチドは、以下を含むがそれらに限定されない： 30

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Arg Lys
Leu His Thr Ala OH (配列番号5)；

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile 40
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys
Leu His Thr Ala OH (配列番号6)；

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys
Leu His Thr Ala NH₂ (配列番号7)；

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys
Leu His Thr hSer NH₂ (配列番号8)；

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys 50

Leu His Thr hSerIac (配列番号9) ;
 Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile
 Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys
 Leu His Thr Ala Gly Arg Arg OH (配列番号10) ; および
 Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile
 Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys
 Leu Lys Glu Leu NH₂ (配列番号11) 。

【0058】

この発明の別の局面は、Xaa²²⁻³¹が(配列番号26)であり、Xaa¹¹ およびXaa¹³ がどちらもLys であり ; そしてXaa¹⁹ およびXaa²¹ のうち的一方がArg であり他方がAla である式(I)のポリペプチドの合成を包含する。本明細書中で開示される方法によって調製され得るこの亜種(subgenus)の代表的なポリペプチドは、以下を含むがそれらに限定されない :

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile
 Gln Asp Leu Ala Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys
 Leu His Thr Ala NH₂ (配列番号12) および

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile
 Gln Asp Leu Arg Arg Ala Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys
 Leu His Thr Ala NH₂ (配列番号13) 。

【0059】

別の局面において、この発明は、Xaa²²⁻³¹が(配列番号26)であり ; Xaa¹¹ およびXaa¹³ のうち一方がLeu であって他方がLys であり ; そしてXaa¹⁹ およびXaa²¹ がいずれもArg である式(I)のポリペプチドの合成を包含する。本発明の方法によって調製され得るこの亜種の代表的なポリペプチドは、以下を含むがそれに限定されない :

Ala Val Ser Glu Ala Gln Leu Leu His Asp Leu Gly Lys Ser Ile
 Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys
 Leu His Ala Leu OH (配列番号14) 。

【0060】

別の局面において、この発明は、式(I)のポリペプチドの合成を包含し、ここで、Xaa²²⁻³¹は(配列番号27)であり、それについての100°での $\langle \mu_H \rangle$ は0.50を越えている。この発明のさらなる局面は、Xaa²²⁻³¹が(配列番号27)であり、Xaa¹¹ およびXaa¹³ がどちらもLys もしくはどちらもArg であり ; そしてXaa¹⁹ およびXaa²¹ がどちらもArg である、式(I)のポリペプチドの合成を包含する。この発明の方法によって調製され得るこの亜種の代表的なポリペプチドは、以下を含むがそれらに限定されない :

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile
 Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg
 Leu His Thr Ala OH (配列番号15) ;

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile
 Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg
 Leu His Thr Ala OH (配列番号16) ;

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile
 Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Lys Arg
 Leu His Thr Ala OH (配列番号17) ;

【0061】

別の局面において、この発明は、式(I)のポリペプチドの合成を包含し、ここで、Xaa²²⁻³¹は(配列番号28)であり、それについての100°での $\langle \mu_H \rangle$ は約0.25である。この発明の方法によって調製され得るこの亜種の代表的なポリペプチドは、以下を含むがそれに限定されない :

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile
 Gln Asp Leu Arg Arg Arg Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala

10

20

30

40

50

Leu His Thr Ala NH₂ (配列番号 20)。

【0062】

別の局面において、この発明は、式(I)のポリペプチドの合成を包含し、ここで、Xaa²⁻³¹は(配列番号29)であり、それについての100°での<μ_H>は約0.28である。この発明の方法によって調製され得るこの亜種の代表的なポリペプチドは、以下を含むがそれらに限定されない：

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Ser Leu Leu Ser Ser Leu Leu Ser Ser
Leu His Thr Ala NH₂ (配列番号 21)。

【0063】

別の局面において、この発明は、式(I)のポリペプチドの合成を包含し、ここで、Xaa²⁻³¹は(配列番号30)であり、それについての100°での<μ_H>は約0.29である。この発明の方法によって調製され得るこの亜種の代表的なポリペプチドは、以下を含むがそれらに限定されない：

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile
Gln Asp Leu Arg Arg Arg Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys
Leu His Thr Ala NH₂ (配列番号 22)。

【0064】

この発明のさらに別の局面は、以下の式(II)：

Xaa¹ Val Ser Glu Ile Gln Xaa⁷ Xaa⁸ His Asn Leu Gly Lys His Leu Xaa¹⁶ Ser Xaa¹⁸ Xaa¹⁹ Arg Xaa²¹ Xaa²²⁻³¹ His Asn Xaa³⁴ Term、ここで： 20

Xaa¹はSer またはAla であり；

Xaa⁷はLeu またはPhe であり；

Xaa⁸はmet またはNle であり；

Xaa¹⁶はAsn またはSer であり；

Xaa¹⁸はLeu、Met またはNle であり；

Xaa¹⁹はGlu またはArg であり；

Xaa²¹はVal またはArg であり；

Xaa²²⁻³¹は配列番号26、27、28、29、および30から選択され；

Xaa³⁴はPhe またはTyr であり； 30

TermはOHまたはNR₂であり、ここで各RはHまたは(C₁-C₄)アルキルであり；ならびに薬学的に受容可能なそれらの塩、に示すbPTH(1-34)の生理学的に活性なホモログのポリペプチドアナログの合成を包含する。

【0065】

この発明の方法によって合成され得る代表的なポリペプチドは、以下を含むがそれらに限定されない：

Ala Val Ser Glu Ile Gln Phe Nle His Asn Leu Gly Lys His Leu
Ser Ser Nle Glu Arg Val Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys
Leu His Asn Tyr NH₂ (配列番号 23) および 40

Ala Val Ser Glu Ile Gln Phe Nle His Asn Leu Gly Lys His Leu
Ser Ser Nle Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys
Leu His Asn Tyr NH₂ (配列番号 24)。

【0066】

この発明のさらに別の局面において、34個未満のアミノ酸を有するPTHおよびPTHrPのアナログの合成方法が提供される。これらの化合物は以下の一般式で表される：

Ala Val Ser Glu Xaa⁵ Gln Leu Leu His Asp Xaa¹¹ Gly Xaa¹³ Ser Ile Gln Asp Leu Xaa¹⁹ Arg Xaa²¹ Xaa²²⁻³¹ Xaa³² Xaa³³ Xaa³⁴ Term、

【0067】

この発明の方法によって調製され得る代表的なポリペプチドは、以下を含むがそれらに限 50

定されない：

化合物 4 1 : AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LHP-NH₂

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile

1 5 10 15

Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys

20 25 30

Leu His Pro NH₂ (配列番号 5 5)。

10

化合物 4 2 : AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEK LP-NH₂

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile

1 5 10 15

Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys

20 25 30

Leu Pro NH₂ (配列番号 5 6)。

【 0 0 6 8 】

20

当業者は、ポリペプチドアナログの多くの置換物 (permutation) が合成され、それらは、100° ± 20° での残基あたりの平均疎水性モーメントが約 0.20 より大きいアミノ酸配列が (22 - 31) 位に挿入される限り、本明細書中に記載されたものの所望の特性を有するというを理解するであろう。

【 0 0 6 9 】

本発明のポリペプチドフラグメントは、以下に記載されたような方法により合成されてもよい：固相合成に関しては、G. Barany, R. B. Merrifield, *The Peptides*, E. Gross and J. Meienhofer eds., Academic Press, New York (1979), Vol.2, pp.1-284; J. M. Stewart and J. D. Young, *Solid Phase Peptide Synthesis*, 2nd ed., Pierce Chemical Co., Rockford, Illinois (1984) および J. Meienhofer, *Hormonal Proteins and Peptides*, Vol.2, Academic Press, New York, (1973)、および液相合成に関しては、E. Schroder and K. Lubke, *The Peptides*, Vol.1, Academic Press, New York, (1965)。一般に、これらの方法は、保護アミノ酸の伸長しつつあるペプチド鎖への連続的な添加を含む。通常、最初のアミノ酸のアミノ基もしくはカルボキシル基のいずれかと任意の反応性側鎖基が保護される。次いで、この保護アミノ酸を、不活性な固体支持体に付着させるか、もしくは液体で用いて、配列中の次のアミノ酸であって、やはり適切に保護されているものを、アミド結合の形成に反応し得る条件下で添加する。すべての所望のアミノ酸が適切な配列に連結されたのち、保護基および任意の固体支持体は取り除かれて、粗ポリペプチドが産生される。このポリペプチドを、好ましくはクロマトグラフィーにより、脱塩および精製し、最終産物を得る。

30

40

【 0 0 7 0 】

この発明の実施においては、前駆体ペプチドフラグメントを液相技術もしくは固相技術のいずれかあるいはそれらの任意の組合せにより調製することができる。例えば、いくつかのフラグメントを溶液中で調製し、次いで、樹脂結合 C - 末端フラグメントと縮合させるか、あるいは各フラグメントを固相技術によって調製し、樹脂から解離させ、溶液中で縮合させてもよいし、あるいは液相および固相合成を混合したプロトコールを用いてもよい。

【 0 0 7 1 】

約 40 アミノ酸未満を有するこの発明の PTH および PTHrP アナログを調製する好ましい方法は、固相フラグメント縮合ペプチド合成を包含する。この方法では、最終生成物

50

は、いくつかのペプチド前駆体フラグメントの縮合の結果得られる。当業者の好みによりいかなるフラグメントの組合せを用いてもよい。例えば、34アミノ酸産物は、2つの17アミノ酸ペプチド前駆体フラグメントから調製してもよいし、異なる長さの、3つのペプチド前駆体フラグメント、4つの前駆体フラグメントなどから調製してもよい。実際の考察については、Tetrahedron, 49, 11065-11133 (1993)におけるP. LLoyd-Williams et al., "Convergent Solid Phase Peptide Synthesis" を参照されたい。

【0072】

一般に、 α -アミノ(N)官能基および任意の反応性側鎖は、酸感受性基もしくは塩基感受性基によって保護される。保護基はペプチド結合形成の条件に対して安定であるべきであり、一方、伸長したポリペプチド鎖に影響を及ぼさずに容易に除去され得るべきである。適切な α -アミノ保護基は、 t -ブトキシカルボニル(Boc)、ベンジルオキシカルボニル(Cbz)、*o*-クロロベンジルオキシカルボニル、ビフェニルイソプロピルオキシカルボニル、 t -アミロキシカルボニル(Amoc)、イソボルニルオキシカルボニル、 α -ジメチル-3,5-ジメトキシベンジルオキシカルボニル、*o*-ニトロフェニルスルフェニル、2-シアノ- t -ブトキシカルボニル、好ましくは9-フルオレニルメトキシカルボニル(Fmoc)を含むがこれらに限定されない。適切な側鎖保護基は：アセチル、ベンジル(Bzl)、ベンジルオキシメチル(Bom)、 t -ブチル、シクロヘキシル、*o*-プロモベンジルオキシカルボニル、 t -ブチルジメチルシリル、2-クロロベンジル(Cl-z)、2,6-ジクロロベンジル、2,4-ジニトロフェニル、シクロペンチル、イソプロピル、ピバリル、テトラヒドロピラン-2-イル、トシル(Tos)、トリメチルシリル、メチルトリチル、メシチレンスルホニル(Mts)、4-メトキシ-2,3,6-トリメチルベンゼンスルホニル(Mtr)、2,2,4,6,7-ペンタメチルジヒドロベンゾフラン-5-スルホニル(Pbf)、2,2,5,7,8-ペンタメチルクロマン-6-スルホニル(Pmc)、およびトリチル(Trt)を含むがこれらに限定されない。

【0073】

固相合成では、C-末端アミノ酸が適切な樹脂支持体に最初に付着する。適切な樹脂支持体は、ステップワイス縮合の試薬および反応条件ならびに脱保護反応に対して不活性であり、同時に、用いる溶媒中で不溶性の物質である。市販の樹脂の例は、反応性の基で修飾されたスチレン/ジビニルベンゼン樹脂、例えば、塩化メチル化されたコ-ポリ(スチレン-ジビニルベンゼン)、ヒドロキシメチル化されたコ-ポリ(スチレン-ジビニルベンゼン)、およびベンジル化され、ヒドロキシメチル化されたフェニルアセトアミドメチル(PAM)樹脂を含む。酸末端ペプチドを調製するために、Wang樹脂を用いてもよい。好ましい樹脂は、*p*-メチルベンズヒドリルアミノ-コ-ポリ(スチレン-ジビニルベンゼン)樹脂(MBHA)である。

【0074】

好ましい実施態様においては、C-末端フラグメント以外のすべてのフラグメントは酸感受性樹脂、例えば、Sasrin(2-メトキシ-4-アルコキシベンジルアルコール)もしくは4-ヒドロキシメチル-3-メトキシフェノキシ酪酸4-メチルベンズヒドリルアミン(HMPB-MBHA)上で調製される。HMPA-MBHA、HMPB-BHA、およびHMPA-BHA樹脂もまた、カルボキシ末端ペプチドにとって適切である。このC-末端フラグメントは、Knorr ハンドル-MBHA樹脂を用いて調製される。Sieberアミド樹脂、Rinkリンカー-MBHAもしくはBHA樹脂、およびRamageリンカー-MBHAもしくはBHA樹脂はすべてアミド末端ペプチドにとって適切である。これらの樹脂は、最初のアミノ酸が既に結合している形で市販されており、あるいは最初のアミノ酸はリンカーに付着させられていてもよい。HMPB-MBHAおよびKnorr ハンドル樹脂はMBHA樹脂から以下の実施例1、2および3に記載されているようにして調製され得る。残りの保護アミノ酸の連続的なカップリングは、当該分野で周知の方法により行うことができる。各保護アミノ酸は、好ましくは約1.5~2.5モル過剰で導入され、カップリングは不活性で、非水性の極性溶媒、例えば、N-メチルピロリジノン(NMP)、ジクロロ

10

20

30

40

50

メタン、ジメチルホルムアミド (DMF)、ジメチルスルホキシド (DMSO)、もしくはそれらの混合物中で、好ましくは室温で行われる。代表的なカップリング剤は、N,N-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC)、N,N-ジイソプロピルカルボジイミド (DIC) もしくは他のカルボジイミドであり、単独でもしくは1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBt)、O-アセチル尿素、ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシトリス (ピロリジノ) ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート (PyBop)、N-ヒドロキシスクシンイミド、他のN-ヒドロキシイミドもしくはオキシムの存在下である。あるいは、保護アミノ酸活性エステル (例えば、p-ニトロフェニル、ペンタフルオロフェニルなど) もしくは対称無水物 (symmetrical anhydride) を用いてもよい。Fmoc-保護アミノ酸の連続的なカップリングは、Fmoc基を取り除くため、2級アミン、例えば、ピリジンの溶液を用いて行われる。ペプチド樹脂は、各カップリング工程後にKaiser試験によりカップリングが完了したことを検査してもよい。

10

【0075】

固相合成の最後に、完全に保護されたペプチドを、側鎖の保護基の成熟前脱保護を誘導しない条件を用いて樹脂から除く。このペプチドは、鹸化 (saponification) もしくはエステル交換反応または穏やかな酸性脱保護レジメンにより、例えば、1%トリフルオロ酢酸 (TFA) を用いて解離され得る。保護ペプチドはシリカゲルクロマトグラフィーにより精製することができる。

【0076】

溶液は脱塩し (例えば、BioRadAG-3 (登録商標) 陰イオン交換樹脂を用いて)、ペプチドは、以下のタイプの任意のもしくはすべてを用いる一連のクロマトグラフィー工程により精製することができる: 誘導体化されていないコ-ポリ (スチレン-ジビニルベンゼン)、例えば、Amberlite (登録商標) XAD による疎水性吸着クロマトグラフィー; シリカゲル吸着クロマトグラフィー; カルボキシメチルセルロースによる陽イオン交換クロマトグラフィー; 例えばSephadex (登録商標) G-25による分配クロマトグラフィー; 向流分配; もしくは逆相高速液体クロマトグラフィー (HPLC)、特に、オクチル-もしくはオクタデシルシリルシリカ (ODS) 結合相カラムパッキングによる陽イオン交換および逆相HPLC。

20

【0077】

多重フラグメント合成の1つの実施態様においては、中間部およびN-末端フラグメントを単離し、連続的にC-末端フラグメントに縮合させる。ポリペプチド産物は脱保護し、樹脂から解離させ、さらに精製する。精製順序は一般に、クロマトグラフィー分離の総合的な連続である。HPLC分析は、精製の順序および選択を決定する。典型的な順序は、陽イオン交換、逆相HPLC、そして逆相濃縮カラムである。最終溶液を凍結乾燥させ、薬剤生成物を琥珀色ビンに保存する。保護アミノ酸は、Genzyme (Cambridge, MA, USA)、Propeptide (Princeton, NJ, USA)、またはSynthetec (Albany, OR, USA) から入手した。

30

【0078】

【実施例】

配列番号7のポリペプチドは、34アミノ酸ペプチド、AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLLEKLLLEKLLHTA-NH₂であり、3つのフラグメントを縮合させる手法を用いて調製した。N-末端フラグメントは、アミノ酸1~12、中間部フラグメントは、アミノ酸13~23、そしてC-末端フラグメントは、アミノ酸24~34からなっていた。各フラグメントを、Vega 296 Automated Peptide Synthesizerで固相法により調製した。N-保護基の解離とカップリング後の洗浄には自動化されたモードを用いた。カップリング試薬および溶媒を、カップリング工程中に反応容器に手で加えた。中間部およびN-末端フラグメントをHPLCにより精製し、連続的にC-末端フラグメントに縮合させた。最終ポリペプチドを脱保護し、樹脂から解離させ、そして精製した。

40

【0079】

実施例1. N-末端フラグメントの調製

50

アミノ酸 1 - 12、AVSEHQLLHDKGからなるN - 末端フラグメントを、酸感受性樹脂、4 - ヒドロキシメチル - 3 - メトキシフェノキシ酪酸 4 - メチルベンズヒドリルアミン (HMPB - MBHA) 上で250ミリモルの規模にて調製した。この樹脂を、MBHA樹脂 (Novabiochem) から以下のとおりに調製した：

【0080】

【表7】

工程	作業	時間 (分)	反復回数	
1.	CH ₂ Cl ₂ /DMF (1/1) 洗浄	60	1	10
2.	10% Et ₃ N in CH ₂ Cl ₂	5	2	
3.	CH ₂ Cl ₂ /DMF (1/1)	5	3	
4.	HMPB リンカー (1.15 eqs) / PyBOP/DIPEA in CH ₂ Cl ₂ /DMF (1/1)	300 @40°C 500 @ 室温	1	
5.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	2	
6.	DMF 洗浄	1.5	2	
7.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	1	
8.	i-PrOH 洗浄	1.5	2	
9.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	3	

20

【0081】

少なくとも1回のDMF / CH₂Cl₂の洗浄後、第1のアミノ酸 (¹²Gly) のカップリングを、下記のプロトコールを使用し、DMF / CH₂Cl₂ (1 / 1) 中でFmoc - GlyOH (1.5 ~ 2.2当量)、DIC (1.5 ~ 2.2当量) およびDMAP (0.05当量) を用い、室温にて約15時間行った：

【0082】

【表8】

工程	作業	時間 (分)	反復回数	
1.	DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/1)	60	1	30
2.	Fmoc-X-OH (2 eq.) / DIC-DMAP (0.05eq.) in CH ₂ Cl ₂ /DMF (1/1)	900	1	
3.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	2	
4.	DMF 洗浄	1.5	2	
5.	i-PrOH 洗浄	1.5	2	
6.	DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/1)	1.5	2	
7.	i-PrOH	1.5	2	
8.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	3	

40

【0083】

次いでこの樹脂を、工程3 ~ 8を反復することにより洗浄し、下記のプロトコールを用いてキャッピングした：

【0084】

【表9】

工程	作業	時間 (分)	反復回数	
9.	DMF	15	1	
10.	PhCOCl (0.18M) / ピリジン (0.36M) in DMF/CH ₂ Cl ₂	30-180	1	
11.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	2	
12.	DMF 洗浄	1.5	2	
13.	i-PrOH 洗浄	1.5	2	
14.	DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/1) 洗浄	1.5	1	10
15.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	3	

【 0 0 8 5 】

残るアミノ酸を、下記の保護アミノ酸を使用し、逆の順序で引き続くカップリングサイクルにて樹脂に結合させた：

aa11	N	- Fmoc - N - t - ブチルオキシカルボニル - L - リジン	
aa10	N	- Fmoc - L - アスパラギン酸 - - t - ブチルエステル	
aa9	N	- Fmoc - N ^{im} - トリチル - L - ヒスチジン	
aa8	N	- Fmoc - L - ロイシン	
aa7	N	- Fmoc - L - ロイシン	20
aa6	N	- Fmoc - N ^g - トリチル - L - グルタミン	
aa5	N	- Fmoc - N ^{im} - トリチル - L - ヒスチジン	
aa4	N	- Fmoc - L - グルタミン酸 - - t - ブチルエステル	
aa3	N	- Fmoc - O - t - ブチル - L - セリン	
aa2	N	- Fmoc - L - バリン	
aa1	N	- t - ブチルオキシカルボニル - L - アラニン	

【 0 0 8 6 】

カップリングはNMP中において1.5 ~ 2.2当量のアミノ酸(0.1 ~ 0.25M)、HOBtおよびDICを使用して室温にて行った。1.5 ~ 3時間後、DMSOを添加し、1.5 ~ 3時間、カップリングを継続した。各カップリングは次の工程を含んでいた：

【 0 0 8 7 】

【表10】

工程	作業	時間 (分)	反復回数	
1.	DMF 洗浄	2.5- 30	1	
2.	20% ピペリジン in NMP	3	1	
3.	20% ピペリジン in NMP	14	1	
4.	DMF 洗浄	1.5	2	
5.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	2	
6.	i-PrOH 洗浄	1.5- 2.5	2- 5	40
7.	DMF/CH ₂ Cl ₂ (1/1) 洗浄	1.5	2- 3	
8.	カップリング	240	1	
9.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	2	
10.	DMF 洗浄	1.5	2	
11.	i-PrOH 洗浄	1.5	2	
12.	DMF/CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	2	
13.	i-PrOH	1.5	1	
14.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	3	

【 0 0 8 8 】

カップリングの完全性を、Kaiser試験により確認し；試験が正である場合には、場合によ

りPyBOPをカップリング試薬として使用して工程8～14を反復した。

【0089】

保護ペプチドを樹脂から解離させるために、この樹脂の懸濁物をCH₂Cl₂中1%TFA中で(4mL/gmレジン)0または室温にて最長15分間攪拌した。この溶液を濾過し、5%NaHCO₃にて抽出した。樹脂のTFA処理を3回反復した。有機部分を合わせ、水、5%NaHSO₄、および再度水にて洗浄した。有機相を硫酸ナトリウムにて乾燥させ、蒸発させた。残渣を下記のとおりHP LCにて精製した：

カラム：Zorbax Pro-10/150 C8, 6 × 40 cm

カラム温度：室温

流速：2.2～3.0 mL/分cm²

検出器波長：250 nm

移動相：トリエチルアミン、CH₃CNを含む0.1%HOAc、pH6～6.2。

【0090】

保護ペプチドを、65～70%CH₃CN中でカラムに負荷した。勾配を、CH₃CNの割合が85%まで増加するように操作した。画分を合わせ、濃縮し、生成物をCH₂Cl₂抽出により単離した。有機相を、重炭酸ナトリウムの希釈溶液または水にて洗浄し、硫酸ナトリウムにて乾燥させ、濾過し、そして蒸発させた。

【0091】

実施例2. 中間部フラグメントの調製

アミノ酸13-23、KSIQDLRRRELからなる中間部フラグメントを、酸感受性樹脂、4-ヒドロキシメチル-3-メトキシフェノキシ酪酸 4-メチルベンズヒドрилアミン(HMPB-MBHA)上で230ミリモルの規模にて調製した。この樹脂を、MBHA樹脂から上の実施例1に記述されるように調製した。第1のアミノ酸(aa24)を、Fmoc-L-ロイシンを使用して、示したようにして取り込んだ。残るアミノ酸を、実施例1の手法を使用し、引き続くカップリングサイクルにて樹脂に結合させた：

aa23 N - Fmoc - L - グルタミン酸 - - t - ブチルエステル

aa22 N - Fmoc - N⁹ - 4 - メトキシ - 2, 3, 6 - トリメチルベンジルスルホニル - L - アルギニン

aa21 N - Fmoc - N⁹ - 4 - メトキシ - 2, 3, 6 - トリメチルベンジルスルホニル - L - アルギニン

aa20 N - Fmoc - N⁹ - 4 - メトキシ - 2, 3, 6 - トリメチルベンジルスルホニル - L - アルギニン

aa19 N - Fmoc - L - ロイシン

aa18 N - Fmoc - L - アスパラギン酸 - - t - ブチルエステル

aa17 N - Fmoc - N⁹ - トリチル - L - グルタミン

aa16 N - Fmoc - L - イソロイシン

aa15 N - Fmoc - O - t - ブチル - L - セリン

aa14 N - Fmoc - N - t - ブチルオキシカルボニル - L - リジン

【0092】

実施例1に教示したようにしてペプチドを遊離酸として樹脂から解離させ、有機部分を抽出し、乾燥させ、そして蒸発させた。残渣をジクロロメタン中に溶解し、t-ブチルメチルエーテル(t-BuOMe)に添加することによって沈殿させてもよい。濾過後、t-BuOMeにて洗浄し、真空乾燥させた後に、生成物を前述のZorbaxカラム上で、75%CH₃CNを用いてイソクラティックに検出器波長267nmにてHP LCにより精製した。

【0093】

実施例3. C-末端フラグメントの調製

アミノ酸24-34、LEKLEKLEKHTAからなるC-末端フラグメントを、Fmoc-2,4-ジメトキシ-4-(カルボキシメトキシ)-ベンズヒドрилアミン・リンカーを使用し、MBHA樹脂上で130ミリモル規模にて下記のように調製した：

【 0 0 9 4 】

【表 1 1】

工程	作業	時間 (分)	反復回数	
1.	CH ₂ Cl ₂ 洗淨	60	1	
2.	10% DIPEA in CH ₂ Cl ₂	5	2	
3.	CH ₂ Cl ₂	5	3	
4.	DMF	5	3	
5.	リンカー/HOBt/DIC (1.5 eq) in CH ₂ Cl ₂ /DMF (1/1)	300- 420	1	10
6.	CH ₂ Cl ₂	1.5	2	
7.	DMF	1.5	2	
8.	iPrOH	2.5	2	
9.	CH ₂ Cl ₂ /DMF	1.5	2	
10.	iPrOH	2.5	2	
11.	CH ₂ Cl ₂	1.5	3	
12.	DMF in DMF/CH ₂ Cl ₂	10	1	
13.	Ac ₂ O, DIPEA in DMF/CH ₂ Cl ₂	30- 35	1	20
14.	CH ₂ Cl ₂ 洗淨	1.5	2	
15.	DMF 洗淨	1.5	2	
16.	i-PrOH 洗淨	1.5	2	
17.	DMF / CH ₂ Cl ₂ 洗淨	1.5	1	
18.	CH ₂ Cl ₂ 洗淨	1.5	3	

【 0 0 9 5 】

残るアミノ酸を、下記の保護アミノ酸を使用し、逆の順序で引き続くカップリングサイクルにて樹脂に結合した：

a a 3 4	N - F m o c - L - アラニン	
a a 3 3	N - F m o c - O - t - ブチル - L - スレオニン	30
a a 3 2	N - F m o c - N ^{im} - トリチル - L - ヒスチジン	
a a 3 1	N - F m o c - L - ロイシン	
a a 3 0	N - F m o c - N - t - ブチルオキシカルボニル - L - リジン	
a a 2 9	N - F m o c - L - グルタミン酸 - t - ブチルエステル	
a a 2 8	N - F m o c - L - ロイシン	
a a 2 7	N - F m o c - L - ロイシン	
a a 2 6	N - F m o c - N - t - ブチルオキシカルボニル - L - リジン	
a a 2 5	N - F m o c - L - グルタミン酸 - t - ブチルエステル	
a a 2 4	N - F m o c - L - ロイシン	

【 0 0 9 6 】

カップリングはアミノ酸 3 4 から 2 6 までについて、NMP 中において 1 . 5 ~ 2 . 2 当量のアミノ酸、H O B t および D I C を使用して室温にて 1 . 5 ~ 3 時間行われた。アミノ酸 2 4 および 2 5 については、3 当量のアミノ酸、H O B t および D I C を使用した。1 . 5 ~ 3 時間後、2 0 % D M S O を添加し、1 . 5 ~ 3 時間、カップリングを継続した。各カップリングは F m o c 解離およびカップリング後の洗淨を含み、次の工程を含んでいた：

【 0 0 9 7 】

【表 1 2】

40

工程	作業	時間 (分)	反復回数	
1.	DMF 洗浄	2.5- 30	1	
2.	20% ピペリジン in NMP	3	1	
3.	20% ピペリジン in NMP	14	1	
4.	DMF 洗浄	1.5	3	
5.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	2	
6.	i-PrOH 洗浄	1.5- 2.5	2- 6	
7.	DMF/CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	3	
8.	カップリング	240	1	
9.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	2	10
10.	DMF 洗浄	1.5	2	
11.	i-PrOH 洗浄	1.5- 2.5	2	
12.	DMF/CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	2	
13.	iPrOH 洗浄	2.5	2	
14.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	3	
Kaiser 試験				
15.	DMF	2.5- 15	1	
16.	Ac ₂ O/DIPEA/ CH ₂ Cl ₂ /DMF	30- 35	1	
17.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	2	
18.	DMF 洗浄	1.5	2	20
19.	i-PrOH 洗浄	1.5	2	
20.	DMF/CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	1	
21.	CH ₂ Cl ₂ 洗浄	1.5	3	

【0098】

カップリングの完全性は、各カップリング工程に後にKaiser試験により確認した。試験が正である場合 (> 1.5%が未カップリング)には、工程8~14を反復し；試験が負の場合には、この樹脂をアセチル化した。

【0099】

実施例4. 3つのフラグメントの縮合

上記の実施例1、2および3に記述されるようにして、3つのフラグメントを調製した。C-末端フラグメントの残留するN-Fmoc基を、実施例3のプロトコールの最後に記述した工程1~7を使用して除去した。

【0100】

中間部フラグメントB (172g、61.8ミリモル)、HOBT (59.2ミリモル)、HOAt (3.7ミリモル)およびDIPEA (61.9ミリモル)を、NMP (900mL)およびCH₂Cl₂中のC-末端フラグメント樹脂 (190g、41ミリモル)に添加した。この混合物を、室温にて22時間攪拌した。DIPEA (7mL)を添加し、攪拌をさらに1日継続した。この樹脂を、実施例1 (工程9~13)に記述したように洗浄した。Kaiser試験は、2%未満の未結合の残留物を示した。この樹脂をアセチル化し (実施例3、工程14~20)、Fmoc基を除去した (実施例3、工程1~7)。

【0101】

Na塩としてのN-末端フラグメントA (153g、62.4ミリモル)、HOBT (59.2ミリモル)、HOAt (3.7ミリモル)、PyBOP (62.5ミリモル)およびDIPEA (125.15ミリモル)を、NMP (900mL)およびCH₂Cl₂中の樹脂に添加した。この混合物を室温にて24時間攪拌し、濾過し、洗浄した (実施例3、工程9~13)。Kaiser試験は、1%未満の未結合残留物の存在を示した。この樹脂をアセチル化し、反応器から取り出し、減圧下で乾燥させた。

【0102】

チオアニソール (152.6mL)およびTFA (1L)中のフェノール (60.3g)の

10

20

30

40

50

溶液を、 N_2 下でペプチド - 樹脂 (64 g) に添加した。この混合物を、 -10 に冷却し、TMSBr を徐々に添加した。この混合物を閉鎖系内で -10 にて 0.5 時間、室温にて 1 ~ 2 時間攪拌した。この混合物を減圧下、 50 にて半分の容量まで濃縮し、樹脂を濾過し、TFA (250 mL) および氷酢酸 (250 mL) で 2 回洗浄した。濾液を、*t*-ブチルメチルエーテル : ヘキサンの 3 : 1 混合物 (6.5 L) に添加することにより沈殿させた。粗ペプチドを濾過し、*t*-ブチルメチルエーテル、トルエン、および *t*-ブチルメチルエーテル (各 2×250 mL) にて洗浄し、メタノール (500 mL) への溶解および *t*-ブチルメチルエーテル (7 L) への添加により沈殿生成させた。この粗精製物を濾過し、*t*-ブチルメチルエーテルにて洗浄し、減圧下で乾燥させて 33 g のペプチドを得た。

10

【 0 1 0 3 】

同様の方法で、酸末端ペプチドのかわりに適当な樹脂を用いて、以下の P T H r P アナログを調製し得る：

【 0 1 0 4 】**【 表 1 3 】**

AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLLEKLHTA-OH (配列番号6)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLERLLERLHTA-OH (配列番号15)	
AVSEHQLLHDRGRSIQDLRRRELLERLLERLHTA-OH (配列番号16)	
AVSEHQLLHDRGRSIQDLRRRELLERLLKRLHTA-OH (配列番号17)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLRKLHTA-OH (配列番号5)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLLEKLHTAGR-OH (配列番号10)	
AVSEAQLLHDLGKSIQDLRRRELLEKLLLEKLHAL-OH (配列番号14)	10
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLLELLKEL-NH ₂ (配列番号11)	
AVSEIQFXHNLGKHLSSXERVELLEKLLLEKLHNY-NH ₂ (X=Nle, 配列番号23)	
AVSEIQFXHNLGKHLSSXRRRELLEKLLLEKLHNY-NH ₂ (X=Nle, 配列番号24)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRALAEALAEALHTA-NH ₂ (配列番号20)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLARRELLEKLLLEKLHTA-NH ₂ (配列番号12)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRAELLEKLLLEKLHTA-NH ₂ (配列番号13)	20
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRSLLSLLSSLHTA-NH ₂ (配列番号21)	
AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRAFYDKVAEKLHTA-NH ₂ (配列番号22)	
AVSEIQFLHN LGKHLSSLRR RELLEKLLLEK LHNY-NH ₂ (配列番号35)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLKL KELLEKLLLEK LHTA-NH ₂ (配列番号38)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLERLLER LHTA-NH ₂ (配列番号39)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLERLLER LHTAP-OH (配列番号40)	
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLERLLER LHTAGR-OH (配列番号41)	30
AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTY-NH ₂ (配列番号43)	
AVSEHQLLHD KGYSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTA-NH ₂ (配列番号44)	
AVSEHQLLHD KGCSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTA-NH ₂ (配列番号45)	
AVSEHQLLHD KGXSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTA-NH ₂ (配列番号46)	
(X = Cys(CH ₂ CONH(CH ₂) ₂ NH(ビオチニル)))	
AVSEHQLLHD KGXSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTA-NH ₂ (配列番号47)	40
(X = Lys(7-ジメチルアミノ-2-オキソ-2H-1-ベンゾピラン-4-アセチル))	

【 0 1 0 5 】

【 表 1 4 】

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAG-OH (配列番号48)

AVSX₁HQLLHX₂ KGKSIQX₂LRR RX₁LLX₁KLLX₁K LHA-OH (配列番号49)
(X₁ = Glu(OCH₃); X₂ = Asp(OCH₃))

AVSX₁HQLLHX₂ KGKSIQX₂LRR RX₁LLX₁KLLX₁K LHA-OCH₃
(配列番号50)
(X₁ = Glu(OCH₃); X₂ = Asp(OCH₃))

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAP-OH (配列番号52)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTP-OH (配列番号53)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTP-NH₂ (配列番号54)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHP-NH₂ (配列番号55)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LP-NH₂ (配列番号56)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTRSAW-OH (配列番号57)

AVSEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLEKLLER LHTAGRRTSAW-OH
(配列番号58)

AVSEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLEKLLER LHTAGRRTSAW-NH₂
(配列番号59)

AVSEHQLLHD RGXSIQDLRR RELLEKLLER LHTAGRRTSAW-OH
(配列番号60) (X = Lys (ジヒドロシナモイル))

AVSEIQFXHN LGKHLSSXTR SAWLRKKLQD VHNY-NH₂ (配列番号61)
(X = ノルロイシン)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTMA-NH₂ (配列番号62)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RFFLEKLLEK LHTA-NH₂ (配列番号64)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLER LHTA-NH₂ (配列番号65)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEHLLEK LHTA-NH₂ (配列番号66)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLIK LHTA-NH₂ (配列番号67)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLEE LHTA-NH₂ (配列番号68)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTRSAW-NH₂ (配列番号72)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTRSAX-OH (配列番号73)
(X = NaI(2) = 3-(2-ナフチル)-L-アラニン)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTASAW-OH (配列番号74)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAEIRA-OH (配列番号75)

【 0 1 0 6 】

【 表 1 5 】

10

20

30

40

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAEIR-OH (配列番号76)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAEI-OH (配列番号77)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTAE-OH (配列番号78)

SEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH₂ (配列番号80)

LLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH₂ (配列番号81)

LHD KGKSIQDLRR RELLEKLLEK LHTA-NH₂ (配列番号82)

10

SEHQLLHD RGRSIQDLRR RELLERLLER LHAGRRTSAW-OH (配列番号83)

LLHD RGRSIQDLRR RELLERLLER LHAGRRTSAW-OH (配列番号84)

【0107】

〔Met³⁴, Ala³⁵〕 (配列番号25)、AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLEK LHTMA-NH₂ (配列番号25)は、上述の方法に従って、調製および精製し得る。このポリペプチドは、以下のようにホモセリンラクトンに変換され得る。精製ペプチドを44%ギ酸に溶解する。この溶液を、44%ギ酸中のシアノゲンプロマイド(700mg)およびフェノール(1.6mg)の混合溶液と0にて合わせる。この溶液を0にて2時間、室温にて2時間攪拌する。生成物の形成は、HPLC(Vydac(登録商標) C-18、300オングストローム、4.6×250mm、流速1.2mL/分、10分間で0.1%TFA中の25~45%アセトニトリルの勾配)により監視し得る。試料を濃縮し、調製用RP-HPLC(Vydac(登録商標) C-18、0.1%TFA中の25~45%アセトニトリルの勾配)により精製して配列番号9を得る。

20

【0108】

【表16】

AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLEKLHTX (X=hSerlac, 配列番号9)

30

【0109】

同様に、この方法に従って、配列番号79が調製され得る。

【0110】

【表17】

AVSEIQFX₁HN KGKHLSSX₁ER VEWLRKKLQD VHNX₂ (配列番号79)

(X₁ = L-ノルロイシン ; X₂ = ホモセリンラクトン)

【0111】

ホモセリンアミドを調製するために、粗製ホモセリンラクトンアナログ、化合物4を濃縮し、メタノール中の飽和NH₃、25mLにより処理した。この溶液を0にて2時間、室温にて16時間攪拌した。反応は、HPLC(Vydac(登録商標) C-18、300オングストローム、4.6×250mm、流速1.2mL/分、0.1%TFA中の25-45%アセトニトリルの勾配)により監視し得る。この溶液を濃縮し、調製用RP-HPLC(Vydac(登録商標) C-18、0.1%TFA中の25-45%アセトニトリルの勾配)により精製する。ホモセリンアミドペプチドの分画を集め、凍結乾燥して配列番号8を得る。

40

【0112】

【表18】

AVSEHQLLHDKGKSIQDLRRRELLEKLLLEKLHTX-NH₂ (X=hSer, 配列番号8)

【0113】

同様に、C - 末端としてメチオニンを使用し、この方法に従って化合物22、23および28を調製し得る。

【0114】

【表19】

AVSEIQFLHN LGKHLSSLRR RELLEKLLLEK LHNX-NH₂ (配列番号36)
(X = ホモセリン)

AVSEIQFLHN KGKHLSSLRR RELLEKLLLEK LHNX-NH₂ (配列番号37)
(X = ホモセリン)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLER LHTAGRRX-NH₂ (配列番号42)
(X = ホモセリン)

【0115】

ホモセリンアルキルアミドは、ホモセリンラク톤を対応するアルキルアミンの過剰量を含むDMF中に溶解することによりホモセリンラク톤から同様に調製し得る。室温にて数日攪拌後(反応は分析用HPLCにて監視し得る)、この混合物を蒸発乾固し、ペプチドを調製用HPLCにて精製する。ホモセリンアルキルアミドの代表例は、化合物55および56である。

【0116】

【表20】

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTX-NHCH₂CH₃ (配列番号69)
(X = ホモセリン)

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTX-NHCH₂CH₂C₆H₅
(配列番号70)(X = ホモセリン)

【0117】

上記ホモセリンラクトンアナログの水溶液は、ブタ肝臓エステラーゼ(Sigma Chemical Company, St. Louis, MO)で処理し得る。ラク톤のC - 末端ホモセリンへの加水分解は、分析用HPLCにて監視し得る。加水分解が完了したものと判断される場合には、この物質は上述のように調製用HPLCにて精製され得る。

【0118】

【表21】

AVSEHQLLHD KGKSIQDLRR RELLEKLLLEK LHTX-OH (配列番号51)
(X = ホモセリン)

【0119】

この発明は、3個のフラグメントからの34アミノ酸ポリペプチドの合成の開示により例示されてきたが、異なるフラグメントからの異なる長さの別のPTHおよびPTHrPアナログについても同様に適用し得る。一般的に、グルタミン酸、グリシン、ロイシンおよびプロリンは、好ましいフラグメントのC - 末端である。前述の実施例において、フラグメント2および3の間のロイシン - ロイシンカップリングは、予期せぬ高収率を与えた。

10

20

30

40

50

【 0 1 2 2 】

配列番号 3

配列の長さ : 34 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列

Ser Val Ser Glu Ile Gln Leu Met His Asn Leu Gly Lys His Leu Ser

1 5 10 15

Ser Leu Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His

20 25 30

Asn Phe

20

【 0 1 2 3 】

配列番号 4

配列の長さ : 34 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Phe Phe Leu His His Leu Ile Ala Glu Ile His

20 25 30

Thr Ala

40

【 0 1 2 4 】

配列番号 5

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Arg Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 2 5 】

20

配列番号 6

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 2 6 】

40

配列番号7

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 2 7 】

20

配列番号8

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列の特徴

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：34

他の情報：Xaa34 = hSer

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Xaa

【 0 1 2 8 】

40

配列番号 9

配列の長さ : 34 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 34

他の情報 : Xaa34 = hSerlac

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

20

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Xaa

【 0 1 2 9 】

配列番号 10

配列の長さ : 37 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

30

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

ハイポセティカル : NO

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

40

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala Gly Arg Arg

35

【 0 1 3 0 】

配列番号 1 1

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu Lys

20 25 30

Glu Leu

【 0 1 3 1 】

20

配列番号 1 2

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Ala Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 3 2 】

40

配列番号 1 3

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Ala Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 3 3 】

20

配列番号 1 4

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu Ala Gln Leu Leu His Asp Leu Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Ala Leu

【 0 1 3 4 】

40

配列番号 15

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 3 5 】

20

配列番号 16

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 3 6 】

40

配列番号 17

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Lys Arg Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 3 7 】

20

配列番号 18

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列の特徴

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：29

他の情報：Xaa29 = Lys-(OCCH₂(OCH₂CH₂)₂OCH₃)

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Xaa Arg Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 3 8 】

40

配列番号 19

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：29

他の情報：Xaa29 = Lys-(OCCH₂(OCH₂CH₂))₁₁₀OCH₃

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile Gln

1 5 10 15

20

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Xaa Arg Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 3 9 】

配列番号 20

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

30

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

40

Asp Leu Arg Arg Arg Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 4 0 】

配列番号 2 1

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Ser Leu Leu Ser Ser Leu Leu Ser Ser Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 4 1 】

20

配列番号 2 2

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 4 2 】

40

配列番号 2 4

配列の長さ : 34 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 8

他の情報 : Xaa8 = Nle

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 18

他の情報 : Xaa18 = Nle

20

配列

Ala Val Ser Glu Ile Gln Phe Xaa His Asn Leu Gly Lys His Leu Ser

1 5 10 15

Ser Xaa Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Asn Tyr

【 0 1 4 4 】

30

配列番号 2 5

配列の長さ : 35 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Met Ala

35

20

【 0 1 4 5 】

配列番号 2 6

配列の長さ : 10 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : 中間部

30

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 8

他の情報 : Xaa8 = GluまたはArg

特徴を表す記号 : Region

存在位置 : 1..10

40

他の情報 : 配列番号 2 6 は配列番号 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12,
13 および 14 の 22 ~ 31 位にはめ込まれる**配列**

Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Xaa Lys Leu

1 5 10

【 0 1 4 6 】

50

配列番号 27

配列の長さ : 10 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : 中間部

10

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 8

他の情報 : Xaa8 = Glu, Lys または Lys-(OCCH₂PEGX)

特徴を表す記号 : Region

存在位置 : 1..10

他の情報 : 配列番号 27 は配列番号 15, 16, 17, 18, および 19 の
22~31位にはめ込まれる

20

配列

Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Xaa Arg Leu

1 5 10

【 0 1 4 7 】

配列番号 28

30

配列の長さ : 10 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : 中間部

配列の特徴

40

特徴を表す記号 : ペプチド

存在位置 : 1..10

他の情報 : 配列番号 28 は配列番号 20 の 22~31位にはめ込まれる

配列

Ala Leu Ala Glu Ala Leu Ala Glu Ala Leu

1 5 10

【 0 1 4 8 】

50

配列番号 29

配列の長さ：10 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：中間部

10

配列の特徴

特徴を表す記号：ペプチド

存在位置：1..10

他の情報：配列番号29は配列番号21の22～31位にはめ込まれる

配列

Ser Leu Leu Ser Ser Leu Leu Ser Ser Leu

1 5 10

20

【0149】

配列番号 30

配列の長さ：10 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：中間部

30

配列の特徴

特徴を表す記号：ペプチド

存在位置：1..10

他の情報：配列番号30は配列番号22の22～31位にはめ込まれる

配列

Ala Phe Tyr Asp Lys Val Ala Glu Lys Leu

1 5 10

40

【0150】

配列番号 3 1

配列の長さ：88 塩基対

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

ハイボセティカル：NO

アンチセンス：NO

10

配列

CCTCTAGATC TCCGCGGCGC TAGCATGGCT GTTTCTGAAC ATCAGCTGCT TCATGACAAA 60

GGTAAATCGA TTCAAGATCT GAGACGTC 88

【 0 1 5 1 】

配列番号 3 2

配列の長さ：90 塩基対

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

ハイボセティカル：NO

アンチセンス：YES

20

配列

CCTCGAAGCT TATGCATCAT TATCTAGACA TAGTATGCAG CTTTTCAAGC AGTTTCTCCA 60

GCAGCTCGCG ACGTCTCAGA TCTTGAATCG 90

【 0 1 5 2 】

30

配列番号 3 3

配列の長さ：23 塩基対

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

ハイボセティカル：NO

アンチセンス：NO

40

配列

CCTCTAGATC TCCGCGCGCT AGC 23

【 0 1 5 3 】

50

配列番号 3 4

配列の長さ : 24 塩基対

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 一本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA

ハイボセティカル : NO

10

アンチセンス : YES

配列

CCTCGAAGCT TATGCATCAT TATC

24

【 0 1 5 4 】

配列番号 3 5

配列の長さ : 34 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

20

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイボセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

配列

Ala Val Ser Glu Ile Gln Phe Leu His Asn Leu Gly Lys His Leu Ser

1

5

10

15

30

Ser Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20

25

30

Asn Tyr

【 0 1 5 5 】

配列番号 36

配列の長さ : 34 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 34

他の情報 : Xaa = hSer

配列

Ala Val Ser Glu Ile Gln Phe Leu His Asn Leu Gly Lys His Leu Ser

1 5 10 15

20

Ser Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Asn Xaa

【 0 1 5 6 】

配列番号 37

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：34

他の情報：Xaa = hSer

配列

Ala	Val	Ser	Glu	Ile	Gln	Phe	Leu	His	Asn	Lys	Gly	Lys	His	Leu	Ser
1			5					10						15	
Ser	Leu	Arg	Arg	Arg	Glu	Leu	Leu	Glu	Lys	Leu	Leu	Glu	Lys	Leu	His
			20					25						30	

20

Asn Xaa

【 0 1 5 7 】

配列番号 38

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala	Val	Ser	Glu	His	Gln	Leu	Leu	His	Asp	Lys	Gly	Lys	Ser	Ile	Gln
1			5					10						15	
Asp	Leu	Lys	Leu	Lys	Glu	Leu	Leu	Glu	Lys	Leu	Leu	Glu	Lys	Leu	His
			20					25						30	

40

Thr Ala

【 0 1 5 8 】

配列番号 39

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 5 9 】

20

配列番号 40

配列の長さ：35 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His

20 25 30

Thr Ala Pro

35

40

【 0 1 6 0 】

配列番号 4 1

配列の長さ : 37 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His

20 25 30

Thr Ala Gly Arg Arg

35

20

【 0 1 6 1 】

配列番号 4 2

配列の長さ : 38 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

30

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 38

他の情報 : Xaa = hSer

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His

20 25 30

Thr Ala Gly Arg Arg Xaa

35

40

【 0 1 6 2 】

50

配列番号 4 3

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Tyr

【 0 1 6 3 】

20

配列番号 4 4

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Tyr Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 6 4 】

40

配列番号 4 5

配列の長さ : 34 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Cys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 6 5 】

20

配列番号 4 6

配列の長さ : 34 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

30

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 13

他の情報 : Xaa = Cys(CH₂CONH(CH₂)₂NH(ビオチニル))

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Xaa Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 6 6 】

40

配列番号 47

配列の長さ : 34 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 13

他の情報 : Xaa = Lys(7-ジメチルアミノ-2-オキソ-2H-1-ベンゾピラン-4-アセチル)

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Xaa Ser Ile Gln

20

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 6 7 】

配列番号 48

30

配列の長さ : 35 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

配列

40

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala Gly

35

【 0 1 6 8 】

50

配列番号 49

配列の長さ：33 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：4

他の情報：Xaa4 = Glu(OCH₃)

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：10

他の情報：Xaa10 = Asp(OCH₃)

20

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：17

他の情報：Xaa17 = Asp(OCH₃)

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：22

他の情報：Xaa22 = Glu(OCH₃)

特徴を表す記号：Modified-site

30

存在位置：25

他の情報：Xaa25 = Glu(OCH₃)

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：29

他の情報：Xaa29 = Glu(OCH₃)

配列

Ala Val Ser Xaa His Gln Leu Leu His Xaa Lys Gly Lys Ser Ile Gln

40

1

5

10

15

Xaa Leu Arg Arg Arg Xaa Leu Leu Xaa Lys Leu Leu Xaa Lys Leu His

20

25

30

Ala

【 0 1 6 9 】

配列番号 5 0

配列の長さ : 33 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 4

他の情報 : Xaa4 = Glu(OCH₃)

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 10

他の情報 : Xaa10 = Asp(OCH₃)

20

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 17

他の情報 : Xaa17 = Asp(OCH₃)

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 22

他の情報 : Xaa22 = Glu(OCH₃)

特徴を表す記号 : Modified-site

30

存在位置 : 25

他の情報 : Xaa25 = Glu(OCH₃)

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 29

他の情報 : Xaa29 = Glu(OCH₃)

配列

Ala Val Ser Xaa His Gln Leu Leu His Xaa Lys Gly Lys Ser Ile Gln

40

1

5

10

15

Xaa Leu Arg Arg Arg Xaa Leu Leu Xaa Lys Leu Leu Xaa Lys Leu His

20

25

30

Ala

【 0 1 7 0 】

配列番号 5 1

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：34

他の情報：Xaa = hSer

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

20

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Xaa

【 0 1 7 1 】

配列番号 5 2

配列の長さ：35 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

30

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

40

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala Pro

35

【 0 1 7 2 】

配列番号 5 3

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Pro

【 0 1 7 3 】

20

配列番号 5 4

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Pro

【 0 1 7 4 】

40

配列番号 5 5

配列の長さ：33 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Pro

【 0 1 7 5 】

20

配列番号 5 6

配列の長さ：32 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu Pro

20 25 30

【 0 1 7 6 】

配列番号 57

配列の長さ：37 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Arg Ser Ala Trp

35

20

【 0 1 7 7 】

配列番号 58

配列の長さ：42 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His

20 25 30

Thr Ala Gly Arg Arg Thr Arg Ser Ala Trp

35

40

40

【 0 1 7 8 】

配列番号 59

配列の長さ：42 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His

20 25 30

Thr Arg Gly Arg Arg Thr Arg Ser Ala Trp

35 40

20

【 0 1 7 9 】

配列番号 60

配列の長さ：42 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列の特徴

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：13

他の情報：Xaa13 = Lys(ジヒドロシナモイル)

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Xaa Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His

20 25 30

Thr Arg Gly Arg Arg Thr Arg Ser Ala Trp

35 40

40

【 0 1 8 0 】

50

配列番号 6 1

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：8

他の情報：Leu8 = Nle

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：18

他の情報：Leu18 = Nle

20

配列

Ala Val Ser Glu Ile Gln Phe Leu His Asn Leu Gly Lys His Leu Ser

1 5 10 15

Ser Leu Thr Arg Ser Ala Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His

20 25 30

Asn Tyr

【 0 1 8 1 】

30

配列番号 6 2

配列の長さ：35 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

40

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Met Ala

【 0 1 8 2 】

50

配列番号 6 3

配列の長さ : 33 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 33

他の情報 : Xaa = Thr 1,4- ジアミノプチリルラクタム

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

20

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Xaa

【 0 1 8 3 】

配列番号 6 4

配列の長さ : 34 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

30

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

40

Asp Leu Arg Arg Arg Phe Phe Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 8 4 】

配列番号 6 5

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu His Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 8 5 】

20

配列番号 6 6

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu His Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 8 6 】

40

配列番号 67

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Ile Ala Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 8 7 】

20

配列番号 68

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Glu Ile His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 8 8 】

40

配列番号 69

配列の長さ : 34 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 34

他の情報 : Xaa = hSer

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

20

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Xaa

【 0 1 8 9 】

配列番号 7 0

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：34

他の情報：Xaa = hSer

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

20

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Xaa

【 0 1 9 0 】

配列番号 7 1

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

30

トポロジー：両形態

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

40

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala

【 0 1 9 1 】

配列番号 7 2

配列の長さ : 37 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Arg Ser Ala Trp

35

20

【 0 1 9 2 】

配列番号 7 3

配列の長さ : 36 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

30

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 36

他の情報 : Xaa = Ala 3-(2-ナフチル)-L-アラニン

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Arg Ser Xaa

35

40

【 0 1 9 3 】

50

配列番号 7 4

配列の長さ : 37 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala Ser Ala Trp

35

20

【 0 1 9 4 】

配列番号 7 5

配列の長さ : 38 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala Glu Ile Arg Ala

35

40

【 0 1 9 5 】

配列番号76

配列の長さ：37 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala Glu Ile Arg

35

20

【0196】

配列番号77

配列の長さ：36 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：タンパク質

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

30

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala Glu Ile

35

40

【0197】

配列番号 7 8

配列の長さ : 35 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : N-末端

10

配列

Ala Val Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln

1 5 10 15

Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His

20 25 30

Thr Ala Glu

35

20

【 0 1 9 8 】

配列番号 79

配列の長さ：34 アミノ酸

配列の型：アミノ酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：ペプチド

ハイポセティカル：NO

フラグメント型：N-末端

10

配列の特徴

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：8

他の情報：Leu8 = Nle

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：18

他の情報：Leu18 = Nle

20

特徴を表す記号：Modified-site

存在位置：34

他の情報：Xaa = hSerlac

配列

Ala Val Ser Glu Ile Gln Phe Leu His Asn Lys Gly Lys His Leu Ser

1 5 10 15

Ser Leu Glu Arg Val Glu Trp Leu Arg Lys Lys Leu Gln Asp Val His

30

20 25 30

Asn Xaa

【 0 1 9 9 】

配列番号 8 0

配列の長さ : 32 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : 中間部

10

配列

Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln Asp Leu

1 5 10 15

Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His Thr Ala

20 25 30

【 0 2 0 0 】

配列番号 8 1

20

配列の長さ : 28 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : 中間部

30

配列

Leu Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu

1 5 10 15

Leu Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His Thr Ala

20 25

【 0 2 0 1 】

配列番号 8 2

配列の長さ : 27 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : 中間部

10

配列

Leu His Asp Lys Gly Lys Ser Ile Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu Leu

1 5 10 15

Leu Glu Lys Leu Leu Glu Lys Leu His Thr Ala

20 25

【 0 2 0 2 】

配列番号 8 3

20

配列の長さ : 41 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : 中間部

30

配列

Ser Glu His Gln Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile Gln Asp Leu

1 5 10 15

Arg Arg Arg Glu Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His Leu His

20 25 30

Arg Gly Arg Arg Thr Arg Ser Ala Trp

35 40

【 0 2 0 3 】

40

配列番号 8 4

配列の長さ : 35 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : タンパク質

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : 中間部

10

配列

Leu Leu His Asp Arg Gly Arg Ser Ile Gln Asp Leu Arg Arg Arg Glu

1

5

10

15

Leu Leu Glu Arg Leu Leu Glu Arg Leu His Ala Gly Arg Arg Thr Arg

20

25

30

Ser Ala Trp

35

20

【 0 2 0 4 】

配列番号 8 5

配列の長さ : 10 アミノ酸

配列の型 : アミノ酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : ペプチド

ハイポセティカル : NO

フラグメント型 : 中間部

10

配列の特徴

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 1 および 4

他の情報 : Xaa1およびXaa4 = Glu, Glu(OCH₃), His, またはPhe

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 2

他の情報 : Xaa2 = LeuまたはPhe

20

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 5

他の情報 : Xaa5 = LysまたはHis

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 7 および 10

他の情報 : Xaa7およびXaa10 = Leu またはIle

特徴を表す記号 : Modified-site

30

存在位置 : 8

他の情報 : Xaa8 = Ala, Arg, またはGlu

特徴を表す記号 : Modified-site

存在位置 : 9

他の情報 : Xaa9 = LysまたはGlu

配列

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

10

40

【 0 2 0 5 】

配列番号 86**配列の長さ** : 10 アミノ酸**配列の型** : アミノ酸**トポロジー** : 直鎖状**配列の種類** : ペプチド**ハイポセティカル** : NO**フラグメント型** : 中間部

10

配列の特徴**特徴を表す記号** : Modified-site**存在位置** : 1 および 4**他の情報** : Xaa1およびXaa4 = Glu, Glu(OCH₃), His, またはPhe**特徴を表す記号** : Modified-site**存在位置** : 2**他の情報** : Xaa2 = LeuまたはPhe

20

特徴を表す記号 : Modified-site**存在位置** : 8**他の情報** : Xaa8 = Glu, Lys またはLys(COCH₂PEGX)**配列**

Xaa Xaa Leu Xaa Arg Leu Leu Xaa Arg Leu

1

5

10

フロントページの続き

(72)発明者 ウンベルト・アルセーノ

アメリカ合衆国、カリフォルニア 9 5 0 1 4 - 5 2 5 2、クーペルティーノ、ノルマンディ・ウ
エイ 7 6 6 5

審査官 中村 正展

(56)参考文献 国際公開第95/002610(WO, A1)

特表平07-509228(JP, A)

特開昭60-034996(JP, A)

米国特許第03886132(US, A)

Takai M et al, A solution synthesis of a biologically active fragment (1-34) of human parathyroid hormone according to the sequence proposed by Niall., Peptide Chemistry 1979, 日本, Protein Research Foundation, 1980年, 187-192

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07K 14/635

C07K 1/06

C07K 7/06

C07K 7/08

A61K 38/22

PubMed

MEDLINE/EMBASE/WPIDS(STN)

BIOSIS/CA/REGISTRY(STN)

JSTPlus(JDreamII)

JMEDPlus(JDreamII)

UniProt/GeneSeq