

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4790179号
(P4790179)

(45) 発行日 平成23年10月12日(2011.10.12)

(24) 登録日 平成23年7月29日(2011.7.29)

(51) Int.Cl.		F I
A 6 1 K 38/00	(2006.01)	A 6 1 K 37/02
A 6 1 P 1/02	(2006.01)	A 6 1 P 1/02
A 6 1 P 19/00	(2006.01)	A 6 1 P 19/00
A 6 1 P 19/02	(2006.01)	A 6 1 P 19/02
A 6 1 P 19/10	(2006.01)	A 6 1 P 19/10

請求項の数 3 (全 51 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2001-513407 (P2001-513407)	(73) 特許権者	599117196
(86) (22) 出願日	平成12年7月28日 (2000.7.28)		ザ トラスティーズ オブ ザ ユニバー シティ オブ ペンシルベニア
(65) 公表番号	特表2003-505503 (P2003-505503A)		アメリカ合衆国 19104-3147
(43) 公表日	平成15年2月12日 (2003.2.12)		ペンシルベニア州 フィラデルフィア マ ーケット ストリート 3700 スイー ト 300
(86) 国際出願番号	PCT/US2000/020502	(74) 代理人	100064908
(87) 国際公開番号	W02001/008677		弁理士 志賀 正武
(87) 国際公開日	平成13年2月8日 (2001.2.8)	(74) 代理人	100108578
審査請求日	平成19年7月19日 (2007.7.19)		弁理士 高橋 詔男
(31) 優先権主張番号	60/146,094	(74) 代理人	100089037
(32) 優先日	平成11年7月28日 (1999.7.28)		弁理士 渡邊 隆
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100101465
			弁理士 青山 正和

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 破骨細胞活性を阻害する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

破骨細胞生成及び/又は破骨細胞機能の阻害に有効な量の TRANCE / RANK イン
ヒビターを含む、骨損失に特徴付けられる疾患の治療剤であって、前記インヒビターが、
式： $R_1-R_2-R_3-R_4-R_5$ を有するペプチドであって、

R_1 は 1 乃至 5 のアミノ酸残基であり；

R_2 は結合アミノ酸残基であり；

R_3 は、DRGWA (配列番号 1)；DGDLAT (配列番号 2)；SDFATE (配列
番号 3)；VTKTSIKIPSSH (配列番号 4)；TKTTSIKIPSSH (配列番
号 5)；KTSIKIPSSH (配列番号 6)；YWSNSEF (配列番号 7)；YWN
SE (配列番号 8)；PDQDAP (配列番号 9)；PDSWH (配列番号 10)；SK
EL (配列番号 11)；EIEF (配列番号 12)；SRSGHS (配列番号 13)；R
FQEEIKENTKNDKQ (配列番号 14)；TSPD (配列番号 15)；または
KENTK (配列番号 16) のアミノ酸配列を有するペプチド、あるいはこれらの保存的
に置換された誘導体であり；

R_4 は結合アミノ酸残基であり；

R_5 は 1 乃至 5 のアミノ酸残基であり；及び

ここで、 R_2 及び R_4 は互いに結合し、これによって R_2 、 R_3 、及び R_4 を含む環状部分を
形成しており、 R_1 及び R_5 は環外部分を形成し、さらに、 R_1 及び R_5 の一つまたは両方が
少なくとも一のアミノ酸残基またはフェニルアラニンを含む；

治療剤。

【請求項 2】

ペプチドであるインヒビターが、配列番号 20 乃至 34 のいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドである、請求項 1 に記載の治療剤。

【請求項 3】

ペプチドであるインヒビターが、アミド化 C 末端を有する配列番号 20 乃至 30 のいずれか： [H]-YC DRGWA CY-[NH₂]、 [H]-YC DGD LAT CY-[NH₂]、 [H]-YC SDFATE CY-[NH₂]、 [H]-YC VTKTSIKIPSSH CY-[NH₂]、 [H]-YC KTSIKIPSSH CY-[NH₂]、 [H]-YC YWSN SEF CY-[NH₂]、 [H]-C YWNSE CY-[NH₂]、 [H]-YC PDQDAP CY-[NH₂]、 [H]-YC PDSWH CYDE-[NH₂]、 [H]-YC SKEL CYVKQE-[NH₂]、 [H]-YC EIEF CYKHR-[NH₂]、または配列番号 31 乃至 34： TR-LSS YC SRS GHS CY、 TR-LRQ YC RFQEEIKE NTKNDKQ CY、 TR-LTI YC TSY PD CI、 TR-LED RYQEE C KENTK CDKQ のいずれかのアミノ酸配列を有するペプチドである、請求項 2 に記載の治療剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、合衆国国立衛生研究所からの認可、Grant EY09332の下に成された。政府は、本発明に対し、所定の権利を有して良い。

本発明は、破骨細胞生成活性を下流調節し、それによって骨基質の侵食を阻害し、かくして骨損失を防止して骨疾患を治療する方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

破骨細胞は、骨基質を侵食するように機能する大型の多核細胞である。それらは、マクロファージ及び単核細胞から発達する他の細胞に関係する。マクロファージと同様に、破骨細胞は、造血始原細胞から由来する。

【0003】

骨基質の侵食は、骨基質の形成に伴って生ずる正常なプロセスであり、このプロセスには破骨細胞が関与する。本質的に、破骨細胞は骨基質を侵食して骨にトンネルを形成し、一方では骨芽細胞がこれに続き、トンネル壁を裏打ちして新たな骨基質を形成する。典型的に、正常な成人において、毎年約 5 - 10 % の骨がこれらのプロセスによって置換される。

【0004】

骨粗鬆症とパジェット病のような骨の疾患は、骨損失によって特徴付けられる。同様に、転移性骨疾患、リウマチ様関節炎、及び歯周性骨疾患もまた、骨の損失によって特徴付けられる。多くの場合、骨損失は、患者に骨折を導く。痛みと苦痛に加えて、患者は肉体的に損なわれ、それにより患者の健康と生活の質に負の結果を有する新たな問題をしばしば導く。さらに、これらの疾患に係る経済的な費用は甚大である。

【0005】

腫瘍壊死因子ファミリーのレセプター及びリガンドは、破骨細胞の分化と活性に非常に重大な役割を果たすことが最近示されている。一方で腫瘍壊死因子- (TNF-) は、破骨細胞生成を促進することが周知である。他方、ここで「NF- B リガンドのレセプターアクチベーター」(RANKL)、「破骨細胞分化因子」(ODF)、「オステオプロテグリンリガンド」(OPGL)、及び「TNF関連活性化誘導サイトカイン」(TRANCE)と呼称され、本分野で互換的に呼称される、破骨細胞及び間質細胞に存在し及び/またはそれらから分泌される TNF 様分子は、ここで「NF- B リガンドのレセプターアクチベーター」(RANK)と呼称され、本分野で呼称される TNF- レセプター様分子と相互作用し、上記 RANK は、破骨細胞前駆体及び成熟破骨細胞の膜に存在し、破骨細胞生成と成熟破骨細胞の再吸収活性を調節する。しか

しながら、大きな分子に対する免疫性と、身体のいくつかの特別な区画に侵入することが制限されるため、治療目的のための、モノクローナル抗体のようなTNF-アンタゴニストの利用は困難であると解されている。Suda等 (Endocrine Reviews 20(3); 345-357, 1999)は、参考としてここに取り込まれるが、破骨細胞分化と機能を記載する。Filvaroff, E及びR. Derynck (Curr. Biol. 8: R679-R682, 1998)は、参考としてここに取り込まれるが、骨の再造型と、破骨細胞調節のためのシグナリングシステムについて言及する。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】

かくして、破骨細胞生成と、成熟破骨細胞の再吸収活性を調節するための方法について必要性が存在する。さらに、骨損失を予防し、骨の疾患を治療するための方法についても必要性が存在する。

10

【0007】

【課題を解決するための手段】

本発明は、破骨細胞生成と、成熟破骨細胞の再吸収活性を阻害する方法に関する。本発明によれば、破骨細胞の骨侵食活性を阻害するために有効な量のTRANCE/RANKインヒビターが、患者に投与される。

【0008】

本発明は、骨損失によって特徴付けられる疾患を患う患者を治療するための方法に関する。本発明によれば、破骨細胞生成を阻害するために有効な量のTRANCE/RANKインヒビターが、患者に投与される。

20

【0009】

本発明は、破骨細胞生成を阻害するための有効量で、TRANCE/RANKインヒビターを含む製薬組成物に関する。

【0010】

本発明は、樹状細胞成熟、T細胞増殖、及び/またはCD40レセプターシステムを調節するために有効な量のTRNCE/RANKインヒビターを個体に投与する工程を含む、個体における樹状細胞成熟、T細胞増殖、及び/またはCD40レセプターシステムを調節する方法に関する。

【0011】

本発明は、破骨細胞生成を阻害するペプチドに関し、これは樹状細胞成熟、T細胞増殖、及び/またはCD40レセプターシステムを調節するものである。

30

【0012】

【発明の実施の形態】

ここで使用される用語、「TRANCE/RANKインヒビター」は、破骨細胞生成及び/または破骨細胞機能を阻害する化合物を意味し、これらは参照のためにここに取り込むこととするPCT出願、1999年7月1日に出願され、「CAVITY INDUCED ALLOSTERIC MODIFICATION OF INTERMOLECULAR INTERACTIONS AND METHODS OF IDENTIFYING COMPOUNDS THAT EFFECT THE SAME」と題されるPCT/US99/15062号に記載されている。TRANCE/RANKインヒビターは、TRANCE/RANKを阻害することによって、細胞レセプター-RANKのアンタゴニストとして機能することができる。以下の実施例は、破骨細胞生成及び/または破骨細胞機能を阻害するペプチドを同定するために実行可能な、アッセイについて記載する。

40

【0013】

ここで使用される用語、「骨損失によって特徴付けられる疾患」は、症状または病理として骨重量または骨密度の減少を有する疾患、状態、障害及び病状を指すことを意味する。骨損失によって特徴付けられる疾患の例として、骨粗鬆症、パジェット病、転移性骨疾患、リウマチ様関節炎、及び歯周性骨疾患が制限されることなく含まれる。

【0014】

ここで使用される用語、「治療上の有効量」は、化合物の治療上の有効量が、骨損失によって特徴付けられる疾患に感受性の個体または上記疾患に罹患している個体に投与される場合に、患者における骨損失の速度の減少として観察される医学的効果を生ずる化合物の

50

量を指すことを意味する。治療上の有効量とは、典型的には、活性成分を含まない組成物を同様な状況にある個体に投与される場合に観察される効果と比較して、それらの有する効果によって決定される。

【0015】

本発明は、骨損失によって特徴付けされる疾患を患う個体を治療する方法を提供する。TRANCE/RANKインヒビターは、破骨細胞生成及び/または破骨細胞機能を阻害し、それによって骨損失を減少させる有効量、即ち治療上の有効量で該個体に投与される。

【0016】

本発明はまた、骨損失によって特徴付けられる疾患を治療するための、新規な治療用製薬組成物を提供する。上記製薬組成物は、治療上の有効量のTRANCE/RANKインヒビターと、製薬学的に許容可能な担体若しくは希釈剤とを含む。好ましい実施態様として、上記製薬組成物は、注射可能な製薬組成物であって、即ちそれらは無菌性であり、発熱物質を含まず、特定の物質を含まず、本質的に等張性であって、さらに人への注射のために安定である。

10

【0017】

出願人は、以下に記載されたペプチドが、破骨細胞生成及び/または破骨細胞機能を阻害するのに有用であることを発見した。破骨細胞生成及び/または破骨細胞機能を阻害することによって、骨侵食が回避可能であり、骨損失が低減可能である。骨損失によって特徴付けられる疾患に罹患している患者は、破骨細胞生成及び/または破骨細胞機能を阻害するために有効な量の化合物を投与することによって治療可能である。さらに、骨損失によって特徴付けられる疾患に感受性であると認定された患者は、破骨細胞生成及び/または破骨細胞機能を阻害するために有効な量の化合物を投与することによって、予防的に処置可能である。

20

【0018】

骨損失によって特徴付けられる疾患を患う個体は、周知の診断手段及び評価により、当業者によって認定可能である。骨損失によって特徴付けられる疾患に感受性である個体は、血族の医学的歴史、及び/または骨損失によって特徴付けられる疾患と関連する遺伝学的マーカーまたは遺伝子の存在に基づき、当業者によって認定可能である。

【0019】

本発明の幾つかの実施態様によれば、本発明において有用なTRANCE/RANKインヒビターは、式と題したセクション以下に詳説される式Iを有する化合物である。式Iの化合物においては、 R_1 及び R_2 は、個別に、-H、-OCH₃、-CH₂CH₃、-t-ブチル、3-カルボキシ-4-クロロフェニルアミノ、-N-(CH₂CH₂OH)₂、及び-O(O)C-Phからなる群より選択される。 R_3 は、-H、-エチル、-OCH₃、-Cl、Br、F、3-カルボキシ-4-クロロフェニルアミノ、-N-(CH₂CH₂OH)₂、-t-ブチル、及び-OC(O)-Phから選択され、その結合するフェニル環上において、いかなる所定位置での結合にも限定されない。好ましくは、 R_3 は、フェニル環の1位と4位とのいずれかにて結合している。 R_4 は、-Br、-Cl、及び-Fからなる群より選択される。

30

【0020】

式Iの好ましい化合物においては、

R_1 、 R_2 、及び R_3 は-OCH₃であり、 R_3 は4位にて結合し、 R_4 は-Clである；

R_1 及び R_2 はメチルであり、 R_3 はエチルであって4位にて結合し、 R_4 は-Clである；

R_1 及び R_2 は-OCH₃であり、 R_3 は-Clであって2位にて結合し、 R_4 は-Clである；

R_1 及び R_2 は-OCH₃であり、 R_3 はHであり、 R_4 は-Clである；

R_1 はHであり、 R_2 及び R_3 は3-カルボキシ-4-クロロフェニルアミノであり、 R_3 は4位にて結合し、 R_4 は-Clである；

R_1 及び R_2 は-N-(CH₂CH₂OH)₂であり、 R_3 は-Clであって4位にて結合し、 R_4 が-Clである；

R_1 、 R_2 、及び R_3 はt-ブチルであり、 R_3 は4位にて結合し、 R_4 は-Clである；

R_1 は-OCH₃であり、 R_2 及び R_3 はHであり、 R_4 が-Clである；または

40

50

R_1 、 R_2 、及び R_3 はベンゾエートであり、 R_3 は4位にて結合し、 R_4 は-Brである。

【0021】

式Iの好ましい化合物には、式と題したセクション以下に詳説される構造、I-A、I-B、I-C、I-D、I-E、I-F、I-G、I-H、及びI-Iを有するものがある。

これらの化合物は、以下の供給者より入手可能である。

化合物	カタログ番号	供給者	
I-A	F 3 6 , 7 0 0 - 1	Aldrich, Milwaukee, WI	
I-B	S 1 1 , 2 4 5 - 3	Aldrich, Milwaukee, WI	
I-C	0 0 5 6 9	Ryan Scientific, Isle of Palms, S. C.	
I-D	F 1 0 , 0 0 1 - 3	Aldrich, Milwaukee, WI	10
I-E	0 0 1 2 9	George UHE, Paramus, NJ	
I-F	F 3 7 , 1 6 6 - 1	Aldrich, Milwaukee, WI	
I-G	S - 1 1 , 2 3 9 - 9	Aldrich, Milwaukee, WI	
I-H	F 2 7 , 7 2 1 - 5	Aldrich, Milwaukee, WI	
I-I	F 1 2 , 9 2 0 - 8	Aldrich, Milwaukee, WI	

【0022】

幾つかの実施態様において、TRNCE/RANKインヒビターは、式と題したセクション以下に詳説される式IIを有する化合物である。式IIを有する化合物においては、 R_2 は、-ジフェニルクロロメチル、-ジ(4-クロロフェニル)クロロメチル、及び4-(ジフェニルクロロメチル)フェニルからなる群より選択され；さらに R_1 、 R_3 、 R_4 は、個別に、水素、-Br、-Cl、及び-Fからなる群より選択され、好ましくは-Clである。

【0023】

式IIの好ましい化合物は、式と題したセクション以下に詳説される構造、II-A、II-B、II-C、及びII-Dを有する。これらの化合物は、以下の供給者より入手可能である。

化合物	カタログ番号	供給者	
II-A	S 5 , 4 7 9 - 9	Aldrich, Milwaukee, WI	
II-B	S 5 , 7 5 5 - 0	Aldrich, Milwaukee, WI	
II-C	S 5 , 7 4 0 - 2	Aldrich, Milwaukee, WI	
II-D	S 5 , 7 5 1 - 8	Aldrich, Milwaukee, WI	30

【0024】

本発明の幾つかの実施態様によれば、本発明において有用なTRNCE/RANKインヒビターは、式と題したセクション以下に詳説される式IIIを有する化合物である。式IIIの化合物においては、Rは下記のいずれであっても良い。

$R_1 = (\text{NO}_2)$ 、 $\text{O}(\text{CO})\text{CH}_3$ 、 OH 、 $\text{O}(\text{CO})\text{CH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CO})(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ 、 $\text{O}(\text{CO})\text{CH}_2\text{Br}$ 、 $\text{O}(\text{CO})\text{CH}_2\text{Cl}$ 、 $\text{O}(\text{CO})\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$ 、又は $\text{OC}_5\text{H}_9\text{O}$ ；

$R_2 = \text{CH}_2\text{O}(\text{NO}_2)$ 、 CHO 、 $\text{CH}_2\text{O}(\text{NO}_2)$ 、 CN 、 CH_3 、 COOH 、 CHNOH 、 $\text{CH}_2\text{O}(\text{CO})(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ 、 $\text{CHN}(\text{NH})\text{CONH}_2$ 、 $\text{CHN}(\text{NH})\text{C}_6\text{H}_5$ 、 $\text{CHN}(\text{CH}_2)\text{C}_6\text{H}_5$ 、 $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ 、 $\text{CH}_2\text{NC}_6\text{H}_5$ 、または $\text{CH}_2\text{N}(\text{NH})\text{CSNH}_2$ ；

$R_3 = \text{OH}$ 、または H ；

$R_4 = \text{CH}_3$ ；

$R_5 = \text{OH}$ ；

$R_6 = \text{C}_4\text{H}_3\text{O}_2$ 、 $\text{N}(\text{NHCO})\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}$ 、 $\text{N}(\text{NHCO})\text{C}_6\text{H}_4\text{F}$ 、 COOH 、 O 、 COCH_3 、 $\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ 、 $\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_2\text{COOCH}_3$ 、 $\text{O}(\text{CO})\text{C}_6\text{H}_5$ 、または OH ；

$R_7 = \text{O}(\text{CO})\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_3$ 、または $\text{O}(\text{CO})\text{CH}_3$ ；

$R_8 = \text{OH}$ ；

$R_9 = O$ 、または OH ；及び $R_{10} = O$ 。

【 0 0 2 5 】

式IIIの好ましい化合物には、式と題されるセクション以下に詳説される構造、III-1乃至III-31を有するものがあり、これらは、ChemDiv, Inc., San Diego, CAによるカタログ番号を含む下記の表に示される。

【 0 0 2 6 】

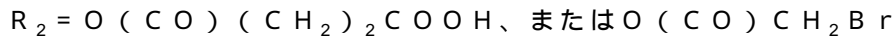
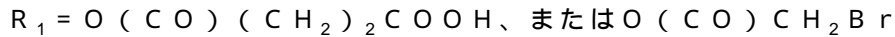
【 数 1 】

数	カタログ#	式	
III-1	0449-0070	$R1=O(NO_2); R2=CH_2O(NO_2); R3=R5=OH; R4=CH_3; R6=C_4H_3O_2$	10
III-2	0449-0037	$R1=R3=R5=R8=OH; R2=CHO; R4=CH_3; R6=C_4H_3O_2$	
III-3	0449-0071	$R1=R3=R5=OH; R2=CH_2O(NO_2); R6=C_4H_3O_2$	
III-4	0449-0077	$R1=O(CO)CH_3; R2=CN; R3=R5=OH; R4=CH_3; R6=C_4H_3O_2$	
III-5	0449-0095	$R1=R3=R5=OH; R2=R4=CH_3; R6=C_4H_3O_2$	
III-6	0449-0101	$R1=R3=R5=OH; R2=COOH; R4=CH_3; R6=C_4H_3O_2$	20
III-7	0449-0112	$R1=O(CO)CH_3; R2=CHO; R3=R5=OH; R4=CH_3; R6=C_4H_3O_2$	
III-8	0449-0113	$R1=O(CO)CH_3; R2=R4=CH_3; R3=H; R5=OH; R6=C_4H_3O_2$	
III-9	0449-0115	$R1=O(CO)(CH_2)_2COOH; R2=CHO; R3=R5=OH; R4=CH_3; R6=C_4H_3O_2$	

III-10	0449-0116	R1=R3=R5=OH;R2=CHNOH; R4=CH ₃ ; R6=C ₄ H ₃ O ₂	
III-11	0449-0119	R1=O(CO)(CH ₂) ₂ COOH; R2=CH ₂ O(CO)(CH ₂) ₂ COOH; R3=R5=OH; R4=CH ₃ ; R6=C ₄ H ₃ O ₂	
III-12	0449-0120	R1=O(CO)CH ₂ Br; R2=CH ₃ ; R3=H;R4=CH ₃ ; R5=OH; R6=C ₄ H ₃ O ₂	
III-13	0449-0160	R1=O(CO)CH ₂ Cl; R2=CHO;R3=R5=OH;R4=CH ₃ ; R6=C ₄ H ₃ O ₂	10
III-14	0449-0719	R1=OH;R2=R4=CH ₃ ; R6=N(NHCO)C ₆ H ₄ Cl	
III-15	0449-0720	R1=OH;R2=R4=CH ₃ ; R6=N(NHCO)C ₆ H ₄ F	
III-16	N001-0005	R1=R5=OH; R2=CHO; R3=H;R4=CH ₃ ; R6=C ₄ H ₃ O ₂	
III-17	N008-0012	R1=O(CO)CH ₂ N(CH ₃) ₃ ; R2=R4=CH ₃ ;R5=OH;R6=C ₄ H ₃ O ₂ ; R7=O(CO)CH ₂ N(CH ₃) ₃	
III-18	N023-0001	R1=OH;R2=R4=CH ₃ ; R3=R5=OH;R6=C ₄ H ₃ O ₂ ; R7=O(CO)CH ₃	20
III-19	N023-0004	R1=OH;R2=CHN(NH)CONH ₂ ; R3=R5=OH;R4=CH ₃ ; R6=C ₄ H ₃ O ₂	
III-20	N023-0005	R1=R3=R5=OH;R2=CHN(NH)C ₆ H ₅ ;R4=CH ₃ ;R6=C ₄ H ₃ O ₂	
III-21	N023-0006	R1=R3=R5=OH;R2=CHN(CH ₂)C ₆ H ₅ ;R4=CH ₃ ;R6=C ₄ H ₃ O ₂	
III-22	N023-0007	R1=OH;R2=CH ₂ N(CH ₂) ₂ OH; R4=CH ₃ ;R3=R5=OH; R6= C ₄ H ₃ O ₂	30
III-23	N023-0008	R1=OH;R2=CH ₂ NC ₆ H ₅ ; R3=R5=OH; R4=CH ₃ ; R6= C ₄ H ₃ O ₂	
III-24	N023-0025	R1=OH;R2=CH ₂ N(NH)CSNH ₂ ;R3=R5=OH;R4=CH ₃ ;R6= C ₄ H ₃ O ₂	
III-25	N039-0025	R1=OH; R2=R4=CH ₃ ; R3=H; R6=COCH ₃	
III-26	S003-0002	R1=OH; R2=R4=CH ₃ ; R3=H; R6=COOH	
III-27	S003-0006	R1=OH; R2=R4=CH ₃ ; R3=H; R6=CH(CH ₃)(CH ₂) ₂ COOH; R9=O	40
III-28	S003-0007	R1=OH; R2=R4=CH ₃ ; R3=H; R6=CH(CH ₃)(CH ₂) ₂ COOCH ₃ ; R9=OH; R10=O	
III-29	S003-0009	R2=R4=CH ₃ ;R3=H; R6=O	
III-30	S003-0014	R1=OH; R2=R4=CH ₃ ;R3=H;R6=O(CO)C ₆ H ₅	
III-31	S003-0012	R1=O(C ₄ H ₉ O); R2=R4=CH ₃ ;R3=H;R6=OH	

【0027】

本発明の幾つかの実施態様によれば、本発明において有用なTRANCE/RANKインヒビターは、式と題したセクション以下に詳説される式IVを有する化合物である。式IVを有する化合物においては、Rは下記のいずれであっても良い。



【0028】

式IVの好ましい化合物には、式と題されるセクション以下に詳説される構造、IV-1乃至IV-2を有するものがあり、これらは、ChemDiv, Inc., San Diego, CAによるカタログ番号を含む下記の表に示される。

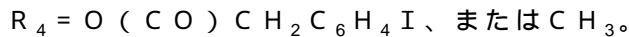
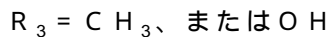
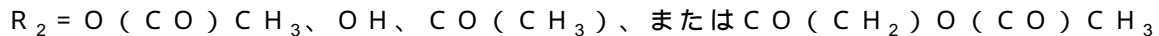
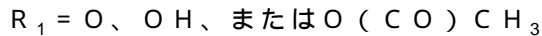
【0029】

【数2】

数	カタログ#	式
IV-1	0521-0013	$R_1=R_2=O(CO)(CH_2)_2COOH$
IV-2	0521-0014	$R_1=R_2=O(CO)CH_2Br$

【0030】

本発明の幾つかの実施態様によれば、本発明において有用なTRANCE/RANKインヒビターは、式と題したセクション以下に詳説される式Vを有する化合物である。式Vを有する化合物においては、Rは下記のいずれであっても良い。



【0031】

式Vの好ましい化合物には、式と題されるセクション以下に詳説される構造、V-1乃至V-5を有するものがあり、これらは、ChemDiv, Inc., San Diego, CAによるカタログ番号を含む下記の表に示される。

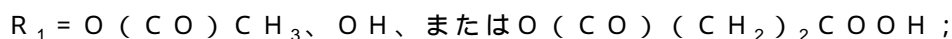
【0032】

【数3】

数	カタログ#	式
V-1	N017-0002	$R_1=O; R_2=O(CO)CH_3; R_3=CH_3$
V-2	N017-0003	$R_1=OH; R_2=OH; R_3=CH_3$
V-3	N017-0005	$R_1=O(CO)CH_3; R_2=CO(CH_3); R_3=OH;$ $R_4=O(CO)CH_2C_6H_4I$
V-4	N017-0006	$R_1=O; R_2=CO(CH_2)O(CO)CH_3; R_3=OH$
V-5	N017-0012	$R_1=OH; R_2=CO(CH_3); R_3=OH; R_4=CH_3$

【0033】

本発明の幾つかの実施態様によれば、本発明において有用なTRANCE/RANKインヒビターは、式と題したセクション以下に詳説される式VIを有する化合物である。式VIを有する化合物においては、Rは下記のいずれであっても良い。



10

20

30

40

50

$R_3 = O$ 、または OH ;

$R_4 = CH_3$;

$R_5 = C_9H_{13}COCH_3$ 、 $C_9H_{13}(CH_2CH_3)(CH_2OH)$ 、 $C_9H_{13}(CH_2CH_3)(CH_2OCOCH_3)$ 、 $C_9H_{13}(CH_2CH_3)(CH_2OCO(CH_2)_2COOH)$ 、 $C_9H_{13}(CH_2CH_3)(COOH)$ 、または $C_8H_7O(CH_3)(C_4H_9OCH_3)$;

$R_6 = CH_3$;

$R_7 = O$ 、または H ;

$R_8 = CH_3$;

$R_9 = (CH_3)_2$; 及び

$R_{10} = Br$.

【 0 0 3 4 】

式VIの好ましい化合物には、式と題されるセクション以下に詳説される構造、VI-1乃至VI-11を有するものがあり、これらは、ChemDiv, Inc., San Diego, CAによるカタログ番号を含む下記の表に示される。

【 0 0 3 5 】

【 数 4 】

数	カタログ#	式	
VI-1	N017-0018	$R1=O(CO)CH_3$; $R2=CH_3$; $R3=O$; $R7=H$; $R4=CH_3$; $R5=C_9H_{13}COCH_3$	20
VI-2	N017-0019	$R1=OH$; $R2=R4=CH_3$; $R3=OH$; $R5=C_9H_{13}COCH_3$	
VI-3	N032-0001	$R1=OH$; $R9=(CH_3)_2$; $R2=R6=R8=CH_3$; $R5=C_9H_{13}(CH_2CH_3)(CH_2OH)$	
VI-4	N032-0002	$R1=O(CO)CH_3$; $R9=(CH_3)_2$; $R2=R6=R8=CH_3$; $R5=C_9H_{13}(CH_2CH_3)(CH_2OH)$	
VI-5	N032-0003	$R1=OH$; $R9=(CH_3)_2$; $R2=R6=R8=CH_3$; $R5=C_9H_{13}(CH_2CH_3)(CH_2O(CO)CH_3)$	30
VI-6	N032-0004	$R1=O(CO)(CH_2)_2COOH$; $R9=(CH_3)_2$; $R2=R6=R8=CH_3$; $R5=C_9H_{13}(CH_2CH_3)CH_2O(CO)(CH_2)_2COOH$	
VI-7	N032-0006	$R1=O$; $R2=R6=R8=CH_3$; $R5=C_9H_{13}(CH_2CH_3)(COOH)$; $R9=(CH_3)_2$	
VI-8	N039-0023	$R1=O(CO)CH_3$; $R2=R4=CH_3$; $R5=C_8H_7O(CH_3)C_4H_9OCH_3$	
VI-9	N039-0029	$R1=OCOCH_3$; $R2=R4=CH_3$; $R3=OH$; $R7=O$; $R10=Br$; $R5=C_8H_7O(CH_3)C_4H_9OCH_3$	40
VI-10	N039-0031	$R1=OH$; $R2=R4=CH_3$; $R3=OH$; $R7=O$; $R5=C_8H_7O(CH_3)C_4H_9OCH_3$	
VI-11	N039-0032	$R1=OH$; $R2=R4=CH_3$; $R7=OH$; $R5=C_8H_7O(CH_3)C_4H_9OCH_3$	

【 0 0 3 6 】

本発明の幾つかの実施態様によれば、本発明において有用な TRANCE / RANK インヒビターは、式と題したセクション以下に詳説される式VII乃至XIIの構造を有する化合物

である。式VIII乃至XIIの化合物は、ChemDiv, Inc., San Diego, CAによるカタログ番号を含む下記の表に示される。

【0037】

【数5】

数	カタログ#
VII	0836-0110
VIII	N002-0041
IX	N039-0046
X	S003-0004
XI	S003-0018
XII	N001-0001

10

【0038】

本発明によれば、骨損失によって特徴付けられる疾患の治療のため、本発明において有用なTRANCE/RANKインヒビターは、下記のように投与される。本発明の化合物は、それ自体でまたは製薬組成物の形態で被験者に投与されても良い。本発明の化合物を含む製薬組成物は、従来の混合、溶解、顆粒化、ドラジェ形成、糊状化、乳化、カプセル化、封入、または凍結乾燥法によって製造されても良い。製薬組成物は、製薬学的に使用可能な調製物への活性化ペプチドまたはペプチド類似体の加工を容易にする、一つ以上の生理学的に許容可能な担体、希釈剤、賦形剤、または補助剤を使用して、従来法において製剤化されても良い。適切な処方は、選択される投与経路に依存する。

20

【0039】

局所的投与のために、本発明の化合物は、当該技術分野において周知の、溶液、ゲル、軟膏、クリーム、懸濁液等として製剤化されても良い。

【0040】

全身性の製剤は、例えば皮下、静脈内、筋内、くも膜下、または腹腔内の注射といった注射による投与のためにデザインされるもの、並びに経皮的、経粘膜的、経口、または肺からの投与についてデザインされるものを含む。

30

【0041】

注射のためには、本発明の化合物は、水溶液、好ましくはハックス溶液、リンゲル溶液、または生理食塩水バッファーのような生理学的に適合可能なバッファー中に製剤化されても良い。上記溶液は、懸濁剤、安定化剤、及び/または分散剤のような処方剤を含んでも良い。

【0042】

別法として、上記化合物は、例えば滅菌した発熱物質を含まない水といった適切なビヒクルを使用前に伴う構成のための粉体形態であっても良い。

【0043】

経粘膜的投与のため、浸透させようとするバリアに対して適切な浸透剤を、製剤中に使用する。こうした浸透剤は、当該技術分野で一般的に周知である。

40

【0044】

経口投与のためには、上記化合物は、当該技術分野で周知の製薬学的に許容可能な担体と上記活性ペプチドまたはペプチド類似体を組み合わせることによって容易に製剤化できる。こうした担体により、治療しようとする患者による経口的摂取のため、製剤化しようとする本発明の化合物を、錠剤、丸薬、ドラジェ、カプセル、液体ゲル、シロップ、スラリー、懸濁物等とすることができる。例えば、パウダー、カプセル、及び錠剤のような経口固体製剤のための、適切な賦形剤には、ラクトース、スクロース、マンニトール、及びソルビトールのような糖；トウモロコシデンプン、コムギデンプン、コメデンプン、ジャガ

50

イモデンブ、ゼラチン、トラガカントゴム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、及び/またはポリビニルピロリドン(PVP)のようなセルロース調製物；顆粒化剤；並びに結合剤といったフィラーを含む。所望であれば、架橋ポリビニルピロリドン、アガー、またはアルギン酸若しくはアルギン酸ナトリウムのようなその塩等の崩壊剤を加えても良い。

【 0 0 4 5 】

所望であれば、固体投与形態を、標準法を使用して糖衣または腸溶性としても良い。

【 0 0 4 6 】

例えば、懸濁液、エリキシル、及び溶液のような経口液体調製物のためには、適切な担体、賦形剤、または希釈剤は、水、グリコール、オイル、アルコール等を含む。

10

【 0 0 4 7 】

類内投与のために、上記化合物は、従来法において製剤化された錠剤、ロゼンジ等の形態を取っても良い。

【 0 0 4 8 】

吸入による投与のために、本発明による使用のための化合物は、例えばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロメタン、二酸化炭素、または他の好適な気体等の好適な噴射剤の使用を伴って、加圧パックまたは噴霧器からエアロゾルスプレーの形態で簡便に輸送される。加圧エアロゾルの場合、投与単位は、一定量を輸送するためのバルブを備えることによって決定されても良い。吸引器または吸入器における使用のために、上記化合物とラクトースまたはデンプンのような適切な粉体ベースの粉体混合物とを含む、例えばゼラチン等のカプセル及びカートリッジが製剤化されても良い。

20

【 0 0 4 9 】

上記化合物は、例えばココアバターまたは他のグリセリドのような従来の座薬ベースを含む、座薬または持続性浣腸のような直腸または膣組成物に製剤化されても良い。

【 0 0 5 0 】

上述の製剤に加えて、上記組成物はまた、蓄積調製物として製剤化されても良い。こうした長期的に作用する製剤は、移植（例えば皮下または筋内へ）または筋内注射によって投与されても良い。かくして例えば、上記化合物は、適切なポリマー性若しくは疎水性物質（例えば許容可能なオイル中のエマルジョンとして）またはイオン交換樹脂と共に、若しくは僅かに可溶性の誘導体、例えば僅かに可溶性の塩として製剤化されても良い。

30

【 0 0 5 1 】

別法として、他の製薬輸送システムを使用しても良い。リポソーム及びエマルジョンは、本発明のペプチド及びペプチド類似体を輸送するために使用されても良い周知の輸送ビヒクルの例である。ジメチルスルホキシドのような所定の有機溶媒もまた使用できるが、通常高い毒性の危険性を有する。さらに上記化合物は、治療薬を含む固体ポリマーの半透過性マトリックスのような持続放出システムを使用して輸送されても良い。各種の持続放出物質が確立されており、当業者に周知である。持続放出カプセルは、その化学的性質によって、数週間から100日に亘り上記化合物を放出しうる。治療薬の化学的性質及び生物学的安定性によって、タンパク質安定化のためのさらなるストラテジーが使用されても良い。

40

【 0 0 5 2 】

本発明の化合物は、荷電した側鎖または末端を含んでも良いため、遊離酸または塩基として、または製薬学的に許容可能な塩として、上述の製剤のいずれに含まれても良い。製薬学的に許容可能な塩は、遊離塩基の抗菌活性を実質的に維持し、無機酸との反応によって調製される塩である。製薬学的に塩は、対応する遊離塩基形態よりも、水性溶媒または他のプロトン性溶媒に溶解性が高い傾向を有する。

【 0 0 5 3 】

本発明の化合物は、企図される目的を達成するための有効量で一般的に使用されるであろう。TNF関連疾患の治療または予防のための使用としては、本発明の化合物またはその

50

製薬組成物は、治療上の有効量で投与または適用される。治療上の有効量とは、症状を緩和または予防し、あるいは治療しようとする患者の生存を延長するために有効な量を意味する。治療上の有効量の決定は、特にここに提供される詳細な開示に照らして、十分に当業者の能力の範囲内である。

【0054】

全身性投与のために、治療上の有効量は、まず *in vitro* アッセイから見積もることができる。例えば、動物モデルにおいて、細胞培養物において測定された IC_{50} (即ち、TRANCE/RANK 結合相互作用の 50% を阻害する試験化合物の濃度) を含む循環濃度範囲を達成する投与量を処方することができる。こうした情報は、ヒトにおける有用な投与量をより正確に決定するために使用できる。

10

【0055】

当初投与量もまた、当該技術分野で周知の方法を使用して、例えば動物モデルでの *in vivo* データから見積もることができる。当業者は、動物でのデータに基づいてヒトに対する投与を容易に最適化できるであろう。

【0056】

投与量及び投与間隔は、個別に調整して、治療効果の維持に十分な化合物の血漿レベルを提供しても良い。注射による投与のための通常の実験患者投与量は、約 0.1 乃至 5 mg/kg/日、好ましくは約 0.5 乃至 1 mg/kg/日の範囲である。治療上の有効な血清レベルは、毎日複数の投与量を投与することによって達成されても良い。好ましい投与量には、1 nM 乃至 500 mM の範囲がある。好ましい投与量には、1 mM 乃至 500 mM の範囲がある。好ましい投与量には、1 mg 乃至 500 mg の範囲がある。好ましい投与量には、1000 mg 乃至 3000 mg の範囲がある。好ましい投与量には、1500 mg 乃至 2500 mg の範囲がある。本発明によれば、TRANCE/RANK インヒビターは、一日に 1 乃至 4 回投与される。

20

【0057】

局所投与または選択的取り込みの場合、上記化合物の有効な局所的濃度は、血漿濃度と関連しなくても良い。当業者は、過度の実験の必要なく、治療上有効な局所的投与量を最適化できるであろう。

投与される化合物の量は、もちろん治療しようとする被験者、被験者の体重、罹患の深刻さ、投与の方式、及び処方する臨床医の判断に基づくであろう。

治療は、症状が検出可能な間またはこれらが検出されない場合でさえも、断続的に繰り返されるとよい。該治療は、単独で、または他の薬剤との組み合わせにおいて提供されても良い。

30

好ましくは、ここに記載した化合物の治療上の有効量は、本質的な毒性を引き起こすことなく治療上の恩恵を与えるであろう。

【0058】

ここに記載される化合物の毒性は、例えば LD_{50} (母集団の 50% に対して致死的な投与量) または LD_{100} (集団の 100% に対して致死的な投与量) を測定することにより、細胞培養物または実験動物において標準的な製薬学的方法により測定可能である。毒性と治療効果との間の投与量割合は、治療インデックスである。高い治療インデックスを示す化合物が好ましい。これらの細胞培養物アッセイと動物実験から得られたデータを、ヒトにおける使用について毒性ではない投与量範囲での製剤化に使用できる。ここに記載される化合物の投与量は、好ましくは、ほとんどまたは全く毒性を有さない有効量を含む循環濃度の範囲内に存する。投与量は、使用される投与形態及び使用される投与経路によって、この範囲内で変化しても良い。正確な処方、投与経路、及び投与量は、患者の状態に鑑みて個々の臨床医によって選択可能である (例えば Fingl 等, In: The Pharmacological Basis of Therapeutics, Ch.1, p.1, 1975 参照)。好ましい投与量は、1 nM 乃至 500 mM の範囲である。

40

【0059】

本発明による製薬組成物は、上述の通り処方される TRANCE/RANK インヒビターを治療上の有効量で含む。幾つかの実施態様においては、該製薬組成物は無菌性で発熱物

50

質を含まない。

【0060】

本発明の別の態様には、介在性シグナリングが細胞発達及び/または活性に関与する、他の細胞タイプに関与する方法における、TRANCE/RANKTRANCE/RANKインヒビターの使用が含まれる。こうした細胞タイプには、樹状細胞及びリンパ細胞のような抗原提示細胞が含まれる。Anderson等 (Nature 390: 175-179, 1997)は、T細胞及び樹状細胞におけるRANK/RANKLに言及する。同様に、Kong等 (Immunol. and Cell Biology 77: 188-193, 1999)は、破骨細胞生成、リンパ節形成、及びリンパ球の発達のための共通のリンクとしてオステオプロテゲリンリガンドに言及する。さらに、Wong等 (J. Leukocyte Biology 65: 715-724, 1999)は、樹状細胞と破骨細胞の機能を調節するTRANCEに言及する。上述のように有効量で処方されたTRANCE/RANKインヒビターは、樹状細胞成熟及び機能、T細胞増殖、及びCD40レセプターシステムを調節するために使用できる。

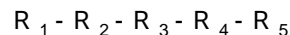
10

【0061】

本発明の幾つかの態様によれば、本発明は新規なペプチド及びこうした新規なペプチドを使用する方法に関する。

【0062】

本発明の芳香族的に変性されたペプチドには、27のアミノ酸残基からなり、下式を有するアミノ酸配列が含まれる。



式中、 R_1 は1乃至5のアミノ酸残基であり；

20

R_2 は結合アミノ酸残基であり、

R_3 は、DRGWA (配列番号1)；DGDLAT (配列番号2)；SDFATE (配列番号3)；VTKTSIKIPSSH (配列番号4)；TKTSIKIPSSH (配列番号5)；KTSIKIPSSH (配列番号6)；YWSNSEF (配列番号7)；YWNSE (配列番号8)；PDQDAP (配列番号9)；PDSWH (配列番号10)；SKEL (配列番号11)；EIEF (配列番号12)；SRSGHS (配列番号13)；RFQEEIKENTKNDKQ (配列番号14)；TSPD (配列番号15)；KENTK (配列番号16)；及びこれらの保存的に置換された誘導体であり；

R_4 は結合アミノ酸残基であり；

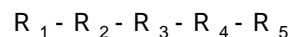
R_5 は1乃至5のアミノ酸残基であり；さらに

30

ここで、 R_2 及び R_4 は互いに結合し、これによって R_2 、 R_3 、及び R_4 を含む環状部分を形成しており、 R_1 及び R_5 は環外部分を形成し、さらに、 R_1 及び R_5 の一つまたは両方が少なくとも一のアミノ酸残基またはフェニルアラニンを含む。

【0063】

本発明の芳香族的に変性されたペプチドには、27のアミノ酸残基からなり、下式を有するアミノ酸配列が含まれる。



式中、 R_1 は、少なくとも一のアミノ酸残基またはフェニルアラニンを含む1乃至5のアミノ酸残基であり；

R_2 はシステインであり、

40

R_3 は、DRGWA (配列番号1)；DGDLAT (配列番号2)；SDFATE (配列番号3)；VTKTSIKIPSSH (配列番号4)；TKTSIKIPSSH (配列番号5)；KTSIKIPSSH (配列番号6)；YWSNSEF (配列番号7)；YWNSE (配列番号8)；PDQDAP (配列番号9)；PDSWH (配列番号10)；SKEL (配列番号11)；EIEF (配列番号12)；SRSGHS (配列番号13)；RFQEEIKENTKNDKQ (配列番号14)；TSPD (配列番号15)；KENTK (配列番号16)；及びこれらの保存的に置換された誘導体であり；

R_4 はシステインであり；

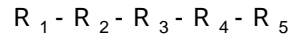
R_5 は少なくとも一のアミノ酸残基またはフェニルアラニンを含む1乃至5のアミノ酸残基であり；さらに

50

ここで、 R_2 及び R_4 は互いに結合し、これによって R_2 、 R_3 、及び R_4 を含む環状部分を形成しており、 R_1 及び R_5 は環外部分を形成している。

【0064】

本発明の芳香族的に変性されたペプチドには、27のアミノ酸残基からなり、下式を有するアミノ酸配列が含まれる。



式中、 R_1 は、不在、Y；RYQEE（配列番号17）；及びこれらの保存的に置換された誘導体からなる群より選択され；

R_2 はシステインであり、

R_3 は、DRGWA（配列番号1）；DGDLAT（配列番号2）；SDFATE（配列番号3）；VTKTSIKIPSSH（配列番号4）；TKTTSIKIPSSH（配列番号5）；KTSIKIPSSH（配列番号6）；YWSNSEF（配列番号7）；YWNSE（配列番号8）；PDQDAP（配列番号9）；PDSWH（配列番号10）；SKEL（配列番号11）；EIEF（配列番号12）；SRSGHS（配列番号13）；RFQEEIKENTKNDKQ（配列番号14）；TSYPD（配列番号15）；KENTK（配列番号16）；及びこれらの保存的に置換された誘導体であり；

R_4 はシステインであり；

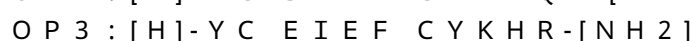
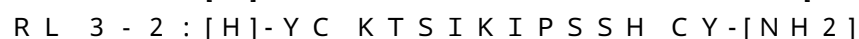
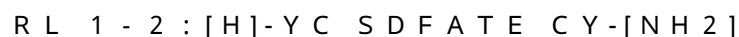
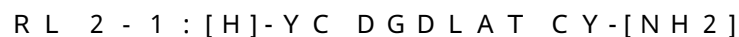
R_5 は、Y；Y-[NH₂]；YDE；YDE-[NH₂]；YVKQE（配列番号18）；YVKQE-[NH₂]（配列番号19）；YKHR-[NH₂]；I；I-[NH₂]；DKQ及びCDKQ-[NH₂]及びこれらの保存的に置換された誘導体からなる群より選択され；ここで、 R_2 及び R_4 は互いに結合し、これによって R_2 、 R_3 、及び R_4 を含む環状部分を形成しており、 R_1 及び R_5 は環外部分を形成し、 R_1 及び R_5 の一つまたは両方が少なくとも一のアミノ酸残基またはフェニルアラニンを含む。

【0065】

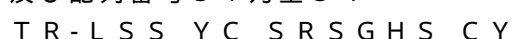
好ましい実施態様においては、該ペプチドは、YCDRGWACY（配列番号20）；YCDGDLATCY（配列番号21）；YCSDFATECY（配列番号22）；YCVTKTTSIKIPSSHICY（配列番号23）；YCKTTSIKIPSSHICY（配列番号24）；YCYWSNSEFCY（配列番号25）；CYWNSECY（配列番号26）；YCPDQDAPCY（配列番号27）；YCPDSWHICYDE（配列番号28）；YCSKELCYVKQE（配列番号29）；YCEIEFCYKHR（配列番号30）；YCSRSGHSCY（配列番号31）；YCRFQEEIKENTKNDKQCY（配列番号32）；YCTSYPDICI（配列番号33）；RYQEECKENTKCDKQ（配列番号34）；及びこれらの保存的に置換された誘導体からなる群より選択される。

【0066】

本発明により好ましいペプチドは、配列番号20乃至30であって、下記の通りアミド化C末端を有するもの



及び配列番号31乃至34



TR-LRQ YC RFQEEIKENTKNDKQ CY
 TR-LTI YC TSYPD CI
 TR-LED RYQEEC KENTK CDKQ

である。

【0067】

一般的に、本発明の化合物は、環状ペプチドまたはその末端にて疎水性部分によって変性されたペプチド類似体である。所定の実施態様においては、該ペプチド内の一以上のアミノ酸残基が他のアミノ酸残基で置換されている。典型的には、こうしたアミノ酸置換は保存的であり、すなわち、アミノ酸残基は、類似の物理及び/または化学特性を有する他のアミノ酸残基で置換される。該化合物がペプチド類似体である実施態様においては、該類似体は、ペプチド内の少なくとも一のアミノ酸結合を置換アミドまたはアミドの同配体で置き換えることによって得られる。

10

【0068】

「芳香族部分」は、共役した(4n=2) 電子系を有する不飽和環状炭化水素基を有する部分を指す。典型的な芳香族部分には、これらに限定されるものではないが、ベンゼン、ナフタレン、アントラセン、アズレン、インダセン等が含まれる。好ましい実施態様として、上記芳香族部分は、環系中に5 - 20の炭素を含み、5 - 10の炭素原子が特に好ましい。

【0069】

「置換芳香族部分」は、一つ以上の水素原子がそれぞれ独立して他の置換基で置換されている芳香族部分を指す。

20

「複素芳香族部分」は、一つ以上の環の炭素原子がN、OまたはSのような別の原子で置換されている芳香族部分を指す。典型的な複素芳香族部分には、これらに限定されるものではないが、ピラン、ピラゾール、ピリジン、ピロール、ピラジン、ピリダジン、ピリミジン、ピロリジン、キナゾリン、キノリン、キノリジン、キノキサリン、セレノフェン、チオフェン、テルロフェン、キサントレン等が含まれる。

「置換複素芳香族部分」は、一つ以上の水素原子がそれぞれ独立して他の置換基で置換されている複素芳香族部分を指す。

【0070】

一般的に、本発明の化合物は、環状ペプチドまたはペプチド類似体である。該ペプチドまたはペプチド類似体は、その末端にて、疎水性部分によって変性されている。所定の実施態様においては、該ペプチド内の一以上のアミノ酸残基が他のアミノ酸残基で置換されている。典型的には、こうしたアミノ酸置換は保存的であり、すなわち、アミノ酸残基は、置き換えようとする残基と類似の物理及び/または化学特性を有する他のアミノ酸残基で置換される。好ましくは、保存性アミノ酸置換とは、アミノ酸が、同一にデザインされたクラスに含まれる他のアミノ酸で置換されるものであり、以下により完全に説明することとする。該化合物がペプチド類似体である実施態様においては、該類似体は、ペプチド中の少なくとも一のアミノ酸結合を置換アミドまたはアミドの同配体で置き換えることによって得られる。

30

【0071】

該アミノ酸残基は、遺伝学的にコードされるL-アミノ酸、天然に存在する遺伝学的にコードされないL-アミノ酸、合成L-アミノ酸、または上記の全てのD-鏡像異性体であっても良い。20の遺伝学的にコードされるL-アミノ酸及び一般的なコードされないアミノ酸についてここで使用されるアミノ酸記号は、一般的なものであり、以下の通りである。

40

【0072】

【表1】

アミノ酸	一文字記号	一般的略称
アラニン	A	Ala
アルギニン	R	Arg
アスパラギン	N	Asn
アスパラギン酸	D	Asp
システイン	C	Cys
グルタミン	Q	Gln
グルタミン酸	E	Glu
グリシン	G	Gly
ヒスチジン	H	His
イソロイシン	I	Ile
ロイシン	L	Leu
リジン	K	Lys
メチオニン	M	Met
フェニルアラニン	F	Phe
プロリン	P	Pro
セリン	S	Ser
トレオニン	T	Thr
トリプトファン	W	Trp
チロシン	Y	Tyr
バリン	V	Val
β -アラニン		bAla
2,3-ジアミノプロピオン酸		Dpr
$-\alpha$ -アミノイソ酪酸		Aib
N-メチルグリシン (サルコシン)		MeGly
オルニチン		Orn
シトルリン		Cit
t-ブチルアラニン		t-Bua
t-ブチルグリシン		t-Bug
N-メチルイソロイシン		Melle
フェニルグリシン		Phg
シクロヘキシルアラニン		Cha
ノルロイシン		Nle
ナフチルアラニン		Nal
ピリジルアラニン		
3-ベンゾチエニルアラニン		
4-クロロフェニルアラニン		Phe(4-Cl)
2-フルオロフェニルアラニン		Phe(2-F)
3-フルオロフェニルアラニン		Phe(3-F)

10

20

30

40

表続き

4-フルオロフェニルアラニン		9
ペニシルアミン		Pen
1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸		Tic
β -チエニルアラニン		Thi
メチオニンスルホキシド		MSO
ホモアルギニン		hArg
N-アセチルリジン		AcLya
2,4-ジアミノ酪酸		Dbu
p-アミノフェニルアラニン		Phe(pNH ₂)
N-メチルバリン		MeVal
ホモシステイン		hCys
ホモセリン		hSer
ϵ -アミノヘキサ酸		Aha

10

【0073】

本発明の範疇に含まれる化合物は、示されたクラスのアミノ酸残基について部分的に定義される。上記アミノ酸は一般的に、主にアミノ酸側鎖の特徴に依存して、親水性アミノ酸、疎水性アミノ酸、及びシステイン様アミノ酸の、3種の主なクラスに分類されるであろう。これらのアミノクラスは、さらにサブクラスに分割してもよい。親水性アミノ酸は、酸性、塩基性または極性側鎖を有するアミノ酸を含み、疎水性アミノ酸は、芳香族または無極性側鎖を有するアミノ酸を含む。無極性アミノ酸はさらに、他のものに加えて脂肪族アミノ酸を含むように分割されるであろう。ここで使用されるアミノ酸のクラスの定義は、以下の通りである。

20

【0074】

疎水性アミノ酸とは、生理学的pHで荷電しておらず、水溶液によってはじかれる側鎖を有するアミノ酸を指す。遺伝学的にコードされる疎水性アミノ酸の例として、Ile、Leu及びValが含まれる。遺伝学的にコードされない疎水性アミノ酸の例には、t-BuAが含まれる。

30

【0075】

芳香族アミノ酸とは、共役した電子系（芳香族基）を有する少なくとも一つの環を含む側鎖を有する疎水性アミノ酸を指す。該芳香族基は、アルキル、アルケニル、アルキニル、ヒドロキシル、スルファニル、ニトロ、及びアミノ基、並びに他のもののような置換基でさらに置換されても良い。遺伝学的にコードされる芳香族アミノ酸の例として、フェニルアラニン、チロシン及びトリプトファンが含まれる。一般に遭遇する遺伝学的にコードされない芳香族アミノ酸は、フェニルグリシン、2-ナフチルアラニン、 β -チエニルアラニン、1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸、4-クロロ-フェニルアラニン、2-フルオロフェニルアラニン、3-フルオロフェニルアラニン、及び4-フルオロフェニルアラニンを含む。

40

【0076】

「無極性アミノ酸」は、生理学的pHで一般的に荷電されておらず、極性ではない側鎖を有する疎水性アミノ酸を指す。遺伝学的にコードされる無極性アミノ酸の例として、グリシン、プロリン、及びメチオニンが含まれる。コードされない無極性アミノ酸の例として、Chaが含まれる。

【0077】

「脂肪族アミノ酸」は、飽和または不飽和の、直鎖状、分枝状または環状の鎖の炭化水素側鎖を有する無極性アミノ酸を指す。遺伝学的にコードされる脂肪族アミノ酸の例として、Ala、Leu、Val及びIleが含まれる。コードされない脂肪族アミノ酸の例には、Nieが含まれる。

50

【0078】

「親水性アミノ酸」は、水溶液が付着する側鎖を有するアミノ酸を指す。遺伝学的にコードされる親水性アミノ酸の例として、Ser及びLysが含まれる。コードされない親水性アミノ酸の例として、Cit及びhCysが含まれる。

【0079】

「酸性アミノ酸」は、7未満の側鎖pK値を有する親水性アミノ酸を指す。酸性アミノ酸は、典型的に、水素イオンの損失のため、生理学的pHにて負に荷電した側鎖を有する。遺伝学的にコードされた酸性アミノ酸の例として、アスパラギン酸（アスパルテート）及びグルタミン酸（グルタメート）が含まれる。

【0080】

「塩基性アミノ酸」は、7より大きい側鎖pK値を有する親水性アミノ酸を指す。塩基性アミノ酸は典型的に、ヒドロニウムイオンの会合のため、生理学的pHで正に荷電した側鎖を有する。遺伝学的にコードされる塩基性アミノ酸の例には、アルギニン、リジン、及びヒスチジンが含まれる。遺伝学的にコードされない塩基性アミノ酸の例には、非環式アミノ酸オルニチン、2,3-ジアミノプロピオン酸、2,4-ジアミノ酪酸及びホモアルギニンが含まれる。

【0081】

「極性アミノ酸」は、生理学的pHで荷電していないが、二つの原子によって共有される電子対が、一方の原子によってより近接に保持されているような結合を有する側鎖を備えた親水性アミノ酸を指す。遺伝学的にコードされる極性アミノ酸の例として、アスパラギン及びグルタミンが含まれる。遺伝学的にコードされない極性アミノ酸の例には、シトルリン、N-アセチルリジン及びメチオニンスルホキシドが含まれる。

【0082】

「システイン様アミノ酸」は、ジスルフィド結合のような、別のアミノ酸残基の側鎖と共有結合を形成可能な側鎖を有するアミノ酸を指す。典型的には、システイン様アミノ酸は、一般的に、少なくとも一つのチオール(SH)基を含む側鎖を有する。遺伝学的にコードされるシステイン様アミノ酸の例として、システインが含まれる。遺伝学的にコードされないシステイン様アミノ酸の例には、ホモシステイン及びペニシルアミンが含まれる。

【0083】

当業者によって予測されるであろうが、上述の分類は絶対的なものではない - いくつかのアミノ酸は、一つ以上の特徴的特性を示し、それ故一以上のカテゴリーに含まれ得る。例えばチロシンは、芳香族環と極性ヒドロキシル基の両者を有する。かくしてチロシンは二重の特徴を有し、芳香族と極性カテゴリーの両者に含まれ得る。同様に、ジスルフィド結合を形成可能であることに加えて、システインは、さらに無極性の特徴を有する。かくして、疎水性アミノ酸または無極性アミノ酸として厳密に分類されない一方で、多くの点においてシステインはペプチドに疎水性を与えるために使用できる。

【0084】

本発明のペプチド及びペプチド類似体を構成可能であって、遺伝学的にコードされない一般に存在する所定のアミノ酸には、これらに限定されるものではないが、以下のものが含まれる： -アラニン(B-Ala)、及び3-アミノプロピオン酸(Dap)、2,3-ジアミノプロピオン酸(Dpr)、4-アミノ酪酸等のような他のオメガアミノ酸； -アミノイソ酪酸(Aib)； -アミノヘキサ酸(Aha)； -アミノ吉草酸(Ava)；N-メチルグリシンまたはサルコシン(Me Gly)；オルニチン(Orn)；シトルリン(Cit)；t-ブチルアラニン(t-BuA)；t-ブチルグリシン(t-BuG)；N-メチルイソロイシン(MeIle)；フェニルグリシン(phg)；シクロヘキシルアラニン(Cha)；ノルロイシン(NIle)；2-ナフチルアラニン(2-Nal)；4-クロロフェニルアラニン(Phe(4-Cl))；2-フルオロフェニルアラニン(Phe(2-F))；3-フルオロフェニルアラニン(Phe(3-F))；4-フルオロフェニルアラニン(Phe(4-F))；ペニシルアミン(Pen)；1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン-3-カルボン酸(Tic)； -2-チエニルアラニン(Thi)；メチオニンスルホキシド(MOS)；ホモアルギニン(hArg)；N-アセチルリジン(AcLys)；2,3-ジアミノ酪酸(Dab)；2,4-ジアミノ酪酸(Dbu)；p-アミノフェニルアラニン(Phe(pNH₂))；N-メチ

10

20

30

40

50

ルバリン(MeVal)；ホモシステイン(hCys)、及びホモセリン(hSer)。これらのアミノ酸もまた、上述のカテゴリーに便宜的に属している。

【0085】

上述の遺伝学的にコードされる及びコードされないアミノ酸の分類を、以下の表2に要約する。表2は説明の目的のみを有し、ここで記載されるペプチド及びペプチド類似体を含んでも良いアミノ酸残基の完全なリストを意味するものではない。ここで記載されるペプチド及びペプチド類似体について有用である他のアミノ酸残基も、例えばFasman, 1989 CRC Practical Handbook of Biochemistry and Molecular Biology, CRC Press, Inc.,において見出すことができ、この文献はここで引用される。特にここで言及されないアミノ酸は、特異に同定されるアミノ酸と比較して、周知の挙動及び/または特徴的な化学的及び/または物理的特性に基づいて、上述のカテゴリーに便宜的に分類できる。

【0086】

【表2】

分類	遺伝学的にコードされる	遺伝学的にコードされない
疎水性		
芳香族	F, Y, W	Phg, Nal, Thi, Tic, Phe(4-Cl), Phe(2-F), Phe(3-F), Phe-(4-F), ピリジル Ala, ベンゾチエニル Ala
無極性	M, G, P	T-BuA, T-BuG, Melle, Nle
脂肪族	A, V, L, I Aib	MeVal, Cha, bAla, MeGly
親水性		
酸性	D, E	Dpr, Om, hArg, Phe(p-NH ₂)
塩基性	H, K, R	DBU, A2BU
極性	Q, N, S, T, Y	Cit, AcLys, MSO, hSer
システイン様	C	Pen, hCys, β -メチル Cys

【0087】

結合アミノ酸残基は、他と共有結合を形成するものであり、これによりペプチドの環化が行われる。互いに共有結合を形成可能なアミノ酸残基の例には、Cys、hCys、 β -メチルCys、及びPenのようなシステイン様アミノ酸が含まれ、これらは互いにジスルフィド結合を形成可能である。好ましいシステイン様アミノ酸残基には、Cys及びPenが含まれる。

【0088】

ペプチドを環化するために使用されるアミノ酸は、システイン様アミノ酸である必要はない。互いに共有結合を形成可能な側鎖官能基を有する、アミノ酸のペアもまた使用できる。こうした官能基のペアは当業者に周知であり、本質的に-COOHと-OH、-COOHと-NH₂、及び-COOHと-SHを含む。かくして、ペプチドを環化するために使用できるアミノ酸のペアは、本質的に、AspとLys；GluとLys；AspとArg；GluとArg；AspとSer；GluとSer；AspとThr；GluとThr；AspとCys；並びにGlu8とCysを含む。ペプチドを環化するために使用できる他のアミノ酸のペアも、当業者に明らかであろう。

【0089】

結合アミノ酸の等価物は、ペプチドの環化に使用される基を含み、例えばペプチドの末端と共有結合を形成可能な一つの官能基、別の基の第二の官能基と共有結合を形成可能な第二の官能基、及び疎水性部分と共有結合を形成可能な第三の官能基-の三つの官能基を有

10

20

30

40

50

するあらゆる分子などがある。適切な官能基を有する分子は、当業者に明らかであろう。ペプチドのアミノ末端と共有結合を形成可能な官能基の例には、カルボン酸及びエステルが含まれる。ペプチドのカルボキシル末端と共有結合を形成可能な官能基の例には、 $-OH$ 、 $-SH$ 、 $-NH_2$ 、及び $-NHR$ （式中、 R は (C_1-C_6) アルキル、 (C_1-C_6) アルケニル、及び (C_1-C_6) アルキニルである）が含まれる。

【0090】

ペプチドを環化するために有用な各種の内部結合が、こうした内部結合を形成するのに適した二つの官能基の間の反応、並びにこうした内部結合を形成するのに適した反応条件によって生成できることは、当業者には明らかであろう。好ましくは、ペプチドを環化するために使用される反応条件は、ペプチドを分解しない、または損傷しないように十分に穏やかである。必要とされる各種の官能性を保護するために適切な基は、当該技術分野で周知であり（例えばGreen & Wuts, 1991, 第2版, John Wiley & Sons NY参照）、このように保護された分子を調製するための各種の反応スキームも周知である。

10

【0091】

ペプチドの環外部分は、疎水性部分を表す。いかなる特定の理論にも束縛されることを意図しない一方で、水溶液中に配置された場合、これらの疎水性部分は、相互作用して該ペプチドに構造的安定性を与えると解される。構造的安定性を与えるための顕著な疎水性相互作用は、芳香族環のスタッキングと考えられている。かくして、好ましい実施態様においては、 R_1 及び R_5 は、1乃至5のアミノ酸を示し、その少なくとも一つは、芳香族アミノ酸または芳香族若しくは複素芳香族部分である。より好ましくは、各 R_1 及び R_5 には、芳香族アミノ酸または複素芳香族部分が含まれる。好適な芳香族アミノ酸には、Tyr及びPheが好ましく含まれる。好適な芳香族または複素芳香族部分には、フェニル、ナフチル、プリン、ピリミジン等が含まれる。

20

【0092】

式 $R_1-R_2-R_3-R_4-R_5$ を有するペプチドにおいて、アミノ酸残基の間の記号「-」は一般的に、骨格内部結合を表す。かくして記号「-」は通常、アミノ結合 $(-C(O)-NH)$ を表す。しかしながら、ここで特別の実施態様において記載されるペプチドの全てにおいて、一つ以上のアミノ結合が、アミド以外の結合、好ましくは置換アミドまたはアミド結合の同配体で任意に置換されても良いと解される。かくして、各種のR基が一般的にアミノ酸について記載されているところ、当業者であれば、非アミノ結合を有する実施態様において、用語「酸性アミノ酸」がアミノ酸の側鎖と類似する側鎖基を有する別の二官能性部分を意味することを認識するであろう。例えば、非アミド結合を有する実施態様において、用語「酸性アミノ酸」は、所望の骨格内部結合を形成可能で、酸性アミノ酸の側鎖と類似する側鎖基を有する二官能性分子を指す。置換されたアミドは一般的に、式 $-C(O)-NR$ （式中、 R は (C_1-C_6) アルキル、 (C_1-C_6) アルケニル、 (C_1-C_6) アルキニル、置換された (C_1-C_6) アルキル、置換された (C_1-C_6) アルケニル、または置換された (C_1-C_6) アルキニルである）の基を含む。アミドの同配体は一般的に、これらに限定されるものではないが、 $-CH_2NH-$ 、 $-CH_2S-$ 、 $-CH_2CH_2-$ 、 $-CH=CH-$ （cis及びtrans）、 $-C(O)CH_2-$ 、及び $-CH_2S-$ を含む。

30

【0093】

こうした結合を有する化合物、並びにこうした化合物を調製する方法は、当該技術分野で周知である（例えば一般的なレビューとしてSpatola, Vega Data 1(3); 1983参照）; Spatola, "Peptide Backbone Modifications" In: Chemistry and Biochemistry of Amino Acids Peptides and Proteins (Weinstein編), Marcel Dekker, New York, p.267（一般的レビュー）1983; Morley, Trends Pharma. Sci. 1: 463468, 1980; Hudson等, Int. J. Prot. Res. 14: 177-185 ($-CH_2NH-$ 、 $-CH_2CH_2-$), 1979; Spatola等, Life Sci. 38: 1243-1249 ($-CH_2-S$), 1986; Hann, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1:307-314 ($-CH=CH-$ 、cis及びtrans), 1982; Jennings-White等, Tetraferdon. Lett. 23: 1392-1398 ($-COCH_2-$); 欧州特許出願EP 45665 (1982) CA:97:39405 ($-CH(OH)CH_2-$); Holladay等, Tetrahedron Lett. 24: 4401-4404, 1983, ($-C(OH)CH_2-$); 並びにHruby, Life Sci. 31: 189-199, 1982 (CH_2-S-)。)

40

50

【 0 0 9 4 】

本発明の上述の実施態様の全てにおいて、用語「アミノ酸」はまた、上述のようなアミノ酸様側鎖を有する二官能性部分を指すと解される。

【 0 0 9 5 】

一般的には、本発明の活性ペプチドまたはペプチド類似体は、実施例に記載されるTrapアッセイにおいて少なくとも約15%の阻害を示すものである。好ましくは、本発明の活性なペプチドまたはその類似体は、少なくとも約20%乃至50%、さらには80%以上の阻害を示すであろう。

【 0 0 9 6 】

本発明のペプチドまたはその類似体は、ペプチド及びペプチド類似体の調製のための、実質的にあらゆる周知技術を使用して調製されても良い。例えば、上記ペプチドは、従来の溶液または固相ペプチド合成を使用して直鎖状または非環式形態に、及び標準的な化学法を使用して環式形態に調製されても良い。好ましくは、上記ペプチドを環化するために使用される化学法は、十分に穏やかであって、上記ペプチドの分解を実質的に回避できるであろう。ここに記載されるペプチドを合成するための適切な方法、並びに上記ペプチドを環化するための適切な化学法は、当該技術分野において周知である。

【 0 0 9 7 】

所望であれば、ジスルフィド結合の形成は一般的に、穏やかな酸化剤の存在下で実施される。化学的、酵素学的、または光分解性酸化剤が使用されても良い。例えば、Tam, J.P. 等, Synthesis 955-957, 1979; Stewart等, Solid Phase Peptide Synthesis. 第2版, Pierce Chemical Company Rockford, IL, 1984; Ahmed等, J. Biol. Chem. 250: 8477-8482, 1975; 並びにPennington等, Peptides 1990 164-166, Giralto及びAndreu編, ESCOM, 1991; Leiden, The Netherlandsに記載されているものを含む、各種の方法が当該技術分野で周知である。さらなる代替法は、Kamber等, Helv Chim Acta, 63: 899-915, 1980によって記載されている。固体の支持体で実施される方法は、Albericio, Int. J. Peptide Protein Res., 26: 92-97, 1985によって記載されている。本発明のペプチド中にジスルフィド結合を形成するために、これらの方法のいずれを使用しても良い。ここに記載されるペプチドにジスルフィド架橋形成をもたらす好ましい方法は、ここに記載され、実施例に提供される。

【 0 0 9 8 】

もし上記ペプチドが、完全に遺伝子にコードされるアミノ酸より成るのであれば、またはその一部がそのように成るのであれば、上記ペプチドまたは関連部分はまた、従来の組換え遺伝学的操作方法を使用して合成されても良い。単離されたペプチド、またはその断片は次いで縮合され、上述のように酸化され、環式ペプチドが生産される。

【 0 0 9 9 】

組換え生産のため、上記ペプチドの直鎖状形態をコードするポリヌクレオチド配列が、適切な発現ビヒクル内に挿入されるが、これはすなわち、挿入されたコード配列の転写と翻訳のために必要なエレメントを含むベクター、またはRNAウイルスベクターの場合には、複製と翻訳のために必要なエレメントを含むベクター内に挿入されるのである。次いで発現ビヒクルを、上記環式ペプチドの直鎖状形態を発現するであろう適切な標的細胞内に遺伝子導入する。使用される発現システムによって、次いで発現されたペプチドは、当該技術分野で既に確立された方法によって単離される。組換えタンパク質及びペプチドの生産のための方法は、当該技術分野で周知である(例えば、Maniatis等, Molecular Cloning A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y., 1989; 及びAusubel等, Current Protocols in Molecular Biology, Greene Publishing Associates and Wiley Interscience, N.Y., 1989参照)。

【 0 1 0 0 】

各種の宿主発現ベクターシステムが、ここに記載されるペプチドを発現するために利用されても良い。これらには、以下に限定されるものではないが、適切なコード配列を含む組換えバクテリオファージDNAまたはプラスミドDNA発現ベクターで形質転換された細菌のよ

10

20

30

40

50

うな微生物；適切なコード配列を含む組換え酵母または真菌発現ベクターで形質転換された酵母または繊維状真菌；適切なコード配列を含む組換えウイルス発現ベクター（例えばバキュロウイルス）に感染された昆虫細胞システム；適切なコード配列を含む組換えウイルス発現ベクター（例えばカリフォルニアモザイクウイルスまたはタバコモザイクウイルス）に感染された、または組換えプラスミド発現ベクター（例えばTiプラスミド）で形質転換された植物細胞システム；または動物細胞システムが含まれる。

【0101】

発現システムの発現エレメントは、その強度及び特異性において多様である。利用される宿主/ベクターシステムによって、構成的及び誘導可能なプロモーターを含む、数多くの適切な転写及び翻訳エレメントのうち、いずれかを発現ベクターにおいて使用しても良い。例えば、細菌システムにおけるクローニングの場合、バクテリオファージのpL、plac、ptrp、ptac(ptrp-lacハイブリッドプロモーター)等のような誘導可能なプロモーターが使用されても良い；昆虫細胞システムにおけるクローニングの場合、バキュロウイルスポリヘドロンプロモーターのようなプロモーターが使用されても良い；植物細胞システムにおけるクローニングの場合、植物細胞のゲノム由来のプロモーター（例えば熱ショックプロモーター；RUBISCOの小サブユニットについてのプロモーター；クロロフィルa/b結合タンパク質についてのプロモーター）、または植物ウイルス由来のプロモーター（例えばCaMVの35S RNAプロモーター；TMVのコートタンパク質プロモーター）が使用されても良い；哺乳動物細胞システムにおけるクローニングの場合、哺乳動物細胞のゲノム由来のプロモーター（例えば、メタロチオネインプロモーター）、または哺乳動物ウイルス由来のプロモーター（例えばアデノウイルス後期プロモーター；種痘ウイルス7.5Kプロモーター）が使用されても良い；複数のコピーの発現産物を含む細胞系を生産する場合、SV40、BPV及びEBVベースのベクターが、適切な選択マーカーと共に使用されても良い。

【0102】

植物発現ベクターを使用する場合、本発明のペプチドをコードする配列の発現は、数多くのプロモーターのいずれによって発揮されても良い。例えばCaMVの35S RNA及び19S RNAプロモーター(Brisson等, Nature 310: 511-514, 1984)、またはTMVのコートタンパク質プロモーター(Takamatsu等, EMBO J., 6: 307-311, 1987)のようなウイルスプロモーターが使用されても良い；別法として、RUBISCOの小サブユニット(Coruzzi等, EMBO J. 3: 1671-1680, 1984；Broglie等, Science 224: 838-843, 1984)、または熱ショックプロモーター、例えばダイズhsp 17.5-E若しくはhsp 17.3-B (Gurley等, Mol. Cell Biol. 6: 599-565, 1986)のような植物プロモーターが使用されても良い。これらの構築物は、Tiプラスミド、Riプラスミド、植物ウイルスベクター、直接的DNA形質転換、微量注入、電気穿孔法等を使用して、植物細胞内に導入できる。上記方法のレビューとして、例えばWeissbach & Weissbach, Methods for Plant Molecular Biology, Academic Press, NY, Section VIII, pp.421-463, 1988；及びGrierson & Corey, Plant Molecular Biology, 第2版, Blackie, London, Ch. 7-9, 1988を参照のこと。

【0103】

本発明のペプチドを生産するために使用しても良い一つの昆虫発現システムにおいて、Autographa californica多核形成ウイルス(AcNPV)が、外来遺伝子を発現するためのベクターとして使用される。このウイルスは、Spodoptera frugiperda細胞において生育する。コード配列を、上記ウイルスの非必須領域（例えばポリヘロン遺伝子）内にクローン化し、AcNPVプロモーター（例えばポリヘドロンプロモーター）のコントロールの下に配置しても良い。コード配列の有効な挿入は、ポリヘロン遺伝子の不活性化と、非閉塞性組換えウイルス（即ちポリヘロン遺伝子をコードするタンパク質性コードを欠いたウイルス）の生産を引き起こすであろう。次いでこれらの組換えウイルスを、Spodoptera frugiperda細胞に感染させるために使用し、そこで挿入された遺伝子が発現する（例えばSmith等, J. Virol., 46: 584, 1983；Smith, 米国特許第4,215,051号参照）。この発現システムのさらなる例は、Current Protocols in Molecular Biology, Vol.2, Ausubel等編, Greene Publish. Assoc. & Wiley Interscienceに見出されるであろう。

10

20

30

40

50

【0104】

哺乳動物宿主細胞において、数多くのウイルスベースの発現システムを利用して良い。アデノウイルスを発現ベクターとして使用する場合、コード配列を、アデノウイルス転写/翻訳コントロール複合体、例えば後期プロモーター及び三重リーダー配列にライゲートしても良い。次いでこのキメラ遺伝子を、*in vitro*または*in vivo*組換えによってアデノウイルスゲノムに挿入しても良い。ウイルスゲノムの非必須領域(例えばE1またはE3領域)への挿入は、生存可能で感染された宿主においてペプチドを発現可能な組換えウイルスを生じるであろう(例えばLogan & Shenk, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81: 3655-3659, 1984参照)。別法として、種痘7.5Kプロモーターを使用しても良い(例えばMackett等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79: 7415-7419, 1982; Mackett等, J. Virol., 49: 857-864, 1984; Panicali等, Proc. Natl. Acad. Sci. 79: 4927-4931, 1982参照)。

10

【0105】

本発明の環式ペプチドの直鎖状または非環式形態を生産するための他の発現システムは、当業者には明らかであろう。

【0106】

本発明のペプチド及びペプチド類似体は、高速液体クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、ゲル電気泳動、アフィニティークロマトグラフィー等のような当該技術分野で周知の方法によって精製できる。特定のペプチドまたは類似体を精製するために使用される実際の条件は、正味の電荷、疎水性度、親水性度等の因子に一部依存し、当業者には明らかであろう。

20

【0107】

アフィニティークロマトグラフィー精製については、上記ペプチドまたはペプチド類似体に特異的に結合するあらゆる抗体を使用しても良い。抗体の生産のために、以下に限定されるものではないが、ウサギ、マウス、ラット等を含む各種の宿主動物が、直鎖状または環式ペプチドを注射することによって免疫化されて良い。上記ペプチドは、側鎖官能基または側鎖官能基に結合したリンカーによって、BSAのような適切な担体に結合されても良い。以下に限定されるものではないが、フロイント(完全及び不完全)、水酸化アルミニウムのような鉱物ゲル、リソレシチン、プルロニックポリオール、ポリアニオン、ペプチド、オイルエマルジョン、キーホールリンペットヘモシアニン、ジニトロフェノール、及びBCG(パチルスCalmette-Duerin)のような潜在的に有用なヒトアジュバント、並びに*Cornebacterium parvum*を含む、宿主種によって、免疫応答を増大するための各種のアジュバントを使用しても良い。

30

【0108】

ペプチドに対するモノクローナル抗体は、培養物における継続的な細胞系によって抗体分子の生産を提供するあらゆる方法を使用して調製されても良い。これらは、Koehler及びMilstein, Nature, 256: 495-497, 1975によって初めて記載されたハイブリドーマ法; ヒトB細胞ハイブリドーマ法、以下に限定されるものではないが、Kosbor等, Immunology Today, 4: 72, 1983; Cote等, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 80: 2026-2030, 1983; 及びEBVハイブリドーマ法(Cole等, Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc., pp. 77-96 (1985))を含む。さらに、適切な抗原特異性のマウス抗体分子から得た遺伝子を、適切な生物学的活性のヒト抗体分子から得た遺伝子と共にスプライシングすることによる、「キメラ抗体」の生産のために開発された方法(Morrison等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81: 6851-6855, 1984; Neuberger等, Nature, 312: 604-608, 1984; Takada等, Nature, 314: 452-454, 1985)も使用できる。別法として、一本鎖抗体の生産について記載する方法(米国特許第4,946,778号)も、環式ペプチド特異的一本鎖抗体を生産するために採用できる。

40

【0109】

特異的な結合部位の欠失を含む抗体断片を、周知の方法によって生産しても良い。例えば上記断片には、以下に限定されるものではないが、抗体分子のペプシン切断によって生産可能なF(ab')₂断片、F(ab')₂断片のジスルフィド架橋を還元することによって生産可能な

50

Fab断片を含む。別法として、Fab発現ライブラリーを構築して、興味ある環式ペプチドに対する所望の特異性を有するモノクローナルFab断片の迅速で容易な同定を可能にしても良い(Huse等, Science 246: 1275-1281, 1989)。

【0110】

所望の環式ペプチドに対して特異的な抗体または抗体断片は、例えばアガロースに結合でき、抗体-アガロース複合体は、本発明の環式ペプチドを精製するためのイムノクロマトグラフィーにおいて使用される。Scopes, Protein Purification: Principles and Practice, Springer-Verlag New York, Inc., NY, 1984; Livingstone, Methods Enzymology: Immunoaffinity Chromatography of Proteins 34: 723-731, 1974参照。

【0111】

本発明の化合物は、それ自体でまたは製薬組成物の形態で患者に投与されても良い。本発明の化合物を含む製薬組成物は、従来の混合、溶解、顆粒化、ドラジェ形成、糊状化、乳化、カプセル化、封入、または凍結乾燥法によって製造されても良い。製薬組成物は、製薬学的に使用できる調製物への活性なペプチドまたはペプチド類似体の加工を容易にする、一つ以上の生理学的に許容可能な担体、希釈剤、賦形剤、または補助剤を使用して、従来法で製剤化しても良い。正確な処方は、選択された投与経路に依存する。

【0112】

局所的投与のために、本発明の化合物は、当該技術分野で周知のような、溶液、ゲル、軟膏、クリーム、懸濁液等として製剤化されても良い。

【0113】

全身性の製剤は、例えば皮下、静脈内、筋内、くも膜下、または腹腔内の注射といった注射による投与のためにデザインされるもの、並びに経皮的、経粘膜的、経口、または肺への投与についてデザインされるものを含む。

【0114】

注射のために、本発明の化合物は、水溶液、好ましくはハンクス溶液、リンゲル溶液、または生理食塩水バッファーのような生理学的に適合可能なバッファー中に製剤化されても良い。上記溶液は、懸濁剤、安定化剤、及び/または分散剤のような処方剤を含んでも良い。

【0115】

別法として、上記化合物は、例えば滅菌した発熱物質を含まない水といった適切なビヒクルと共に使用前に構成するための粉体形態であっても良い。

【0116】

経粘膜的投与のため、浸透させようとするバリアに対して適切な浸透剤を、製剤中に使用する。上記浸透剤は、当該技術分野で一般的に周知である。

【0117】

経口投与のために、上記化合物は、当該技術分野で周知の製薬学的に許容可能な担体と上記活性ペプチドまたはペプチド類似体を組み合わせることによって容易に製剤化できる。上記担体により、治療しようとする患者による経口的摂取のため、製剤化しようとする本発明の化合物は、錠剤、丸薬、ドラジェ、カプセル、液体ゲル、シロップ、スラリー、懸濁物等とすることができる。例えば、パウダー、カプセル、及び錠剤のような経口固体製剤のための、適切な賦形剤には、ラクトース、スクロース、マンニトール、及びソルビトールのような糖; トウモロコシデンプン、コムギデンプン、コメデンプン、ジャガイモデンプン、ゼラチン、トラガカントゴム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ナトリウム、カルボキシメチルセルロース、及び/またはポリビニルピロリドン(PVP)のようなセルロース調製物; 顆粒化剤; 並びに結合剤といったフィラーを含む。所望であれば、架橋ポリビニルピロリドン、アトガー(atgar)、またはアルギン酸若しくはアルギン酸ナトリウムのようなその塩のような崩壊剤を加えても良い。

【0118】

所望であれば、固体投与形態は、標準法を使用して糖衣または腸溶性としても良い。

【0119】

10

20

30

40

50

例えば、懸濁液、エリキシル、及び溶液のような経口調製物のために、適切な担体、賦形剤、または希釈液は、水、グリコール、オイル、アルコール等を含む。更に、風味剤、保存料、着色剤等を添加してもよい。

【0120】

類内投与のために、上記化合物は、従来法において製剤化された錠剤、ロゼンジ等の形態を取っても良い。

【0121】

吸入による投与のために、本発明による使用のための化合物は、例えばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロメタン、二酸化炭素、または他の適切な気体等の適切な噴射剤の使用を伴って、加圧パックまたは噴射器からエアロゾルスプレーの形態で簡便に輸送される。加圧エアロゾルの場合、投与単位は、一定量を輸送するためのバルブを備えることによって決定されても良い。吸引器または吸入器における使用のために、上記化合物とラクトースまたはデンプンのような適切な粉体ベースの粉体混合物とを含む、例えばゼラチン等のカプセル及びカートリッジが製剤化されても良い。

10

【0122】

上記化合物は、例えばココアバターまたは他のグリセリドのような従来の座薬ベースを含む、座薬または持続性浣腸のような直腸または腔組成物に製剤化されても良い。

【0123】

上述の製剤に加えて、上記組成物はまた、蓄積調製物として製剤化されても良い。上記長期的に作用する製剤は、移植（例えば皮下または筋内へ）または筋肉注射によって投与されても良い。かくして例えば、上記化合物は、適切なポリマー状若しくは疎水性物質（例えば許容可能なオイル中のエマルジョンとして）またはイオン交換樹脂と共に、若しくは僅かに可溶性の誘導体、例えば僅かに可溶性の塩と共に製剤化されても良い。

20

【0124】

別法として、他の製薬輸送システムを使用しても良い。リポソーム及びエマルジョンは、本発明のペプチド及びペプチド類似体を輸送するために使用されても良い周知の輸送ビヒクルの例である。ジメチルスルホキシドのような特定の有機溶媒もまた使用できるが、通常高い毒性の危険性を有する。さらに上記化合物は、治療薬を含む固体のポリマーの半透過性マトリックスのような持続放出システムを使用して輸送されても良い。各種の持続放出物質が確立されており、当業者に周知である。持続放出力プセルは、その化学的性質によって、数週間から100日に亘り上記化合物を放出しうる。治療薬の化学的性質及び生物学的安定性に依存して、タンパク質安定化のためのさらなるストラテジーが使用されても良い。

30

【0125】

本発明の化合物は、荷電した側鎖または末端を含んでも良いため、遊離酸または塩基として、または製薬学的に許容可能な塩として、上述の製剤のいずれに含まれても良い。製薬学的に許容可能な塩は、遊離塩基の抗菌活性を実質的に維持し、無機酸との反応によって調製される塩である。製薬学的に塩は、対応する遊離塩基形態よりも、水性溶媒または他のプロトン性溶媒に溶解性が高い傾向を有する。

40

【0126】

本発明の化合物は、企図される目的を達成するための有効量で一般的に使用されるであろう。破骨細胞生成及び/または破骨細胞活性を予防するための使用について、本発明の化合物またはその製薬組成物は、治療上の有効量で投与または適用される。治療上の有効量とは、症状を緩和しまたは予防し、あるいは治療しようとする患者の生存を延長するために有効な量を意味する。治療上の有効量の決定は、特にここで提供される詳細な開示に照らして、当業者の能力の範囲内にある。

【0127】

全身性投与のために、治療上の有効量は、まずin vitroアッセイから見積もることができる。例えば、動物モデルにおいて、細胞培養物において測定されたIC50を含む循環濃度範

50

困を達成する投与量を処方することができる。こうした情報は、ヒトにおける有用な投与量をより正確に決定するために使用できる。

【0128】

当初投与量もまた、当該技術分野で周知の方法を使用して、例えば動物モデルでの *in vivo* データから見積もることもできる。当業者は、動物でのデータに基づいてヒトに対する投与を迅速に最適化できるであろう。

【0129】

投与量及び投与間隔は、個別に調整して、治療効果の維持に十分な化合物の血漿レベルを提供しても良い。注射による投与のための通常の患者投与量は、約 0.1 から 5 mg/kg/日、好ましくは約 0.5 から 1 mg/kg/日の範囲である。治療上の有効な血清レベルは、毎日複数の投与量を投与することによって達成されても良い。

10

【0130】

局所投与または選択的取り込みの場合、上記化合物の有効な局所的濃度は、血漿濃度と関連しなくても良い。当業者は、過度の実験の必要なく、治療上の有効局所的投与量を最適化できるであろう。

【0131】

投与される化合物の量は、もちろん治療しようとする被験者、被験者の体重、罹患の深刻さ、投与の方式、及び処方する臨床医の判断に基づくであろう。

治療は、症状が検出可能な間またはこれらが検出されない場合でさえも、断続的に繰り返されるとよい。該治療は、単独で、または他の薬剤との組み合わせにおいて提供されても良い。

20

【0132】

好ましくは、ここに記載される化合物の治療上の有効量は、実質的に毒性を引き起こさずに治療上の利益を提供するであろう。

【0133】

ここに記載される化合物の毒性は、例えば LD_{50} (母集団の 50% に対して致死的な投与量) または LD_{100} (集団の 100% に対して致死的な投与量) を測定することによって、細胞培養物または実験動物における標準的な製薬学的方法により測定できる。毒性と治療効果との間の投与割合は、治療インデックスである。高い治療のインデックスを示す化合物が好ましい。これらの細胞培養物アッセイと動物実験から得られたデータを、ヒトにおける使用について毒性ではない投与量範囲での製剤化に使用できる。ここに記載される化合物の投与量は、好ましくはほとんどまたは全く毒性を有さない有効量を含む循環濃度の範囲内に存する。投与量は、使用される投与形態及び使用される投与経路によって、この範囲内で変化しても良い。正確な処方、投与経路、及び投与量は、患者の状態に鑑みて個々の臨床医によって選択可能である(例えば Fingl 等, *In: The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Ch.1, p.1, 1975 参照)。

30

【0134】

本発明を説明するために、以下の実施例が詳説のために与えられるが、これらは限定的なものではない。

【0135】

40

【実施例】

(実施例 1)

近年、TNF/TNFレセプター(1)相互作用を妨げる治療上のペプチド模倣体が、TNF- α と TNF β /TNFレセプター(1)複合体の結晶構造から推定された原子構造に基づいて開発されている(Takasaki等, *Nature Biotechnology*, 15: 1266-1270, 1997)。最も重要なTNF-認識部位は、TNFレセプター(1)の第三ドメインの第一ループに局在した(残基107-114)。この認識部位を模倣するように設計されたペプチド模倣体(WP9QY)は、L929リンパ細胞におけるTNF- α レセプター(1)へのTNF結合の効果を効率的に拮抗する。

【0136】

このペプチド(5乃至500 μ M)を、1,250H2D3及びPGE2によって誘導される共培養システム

50

を使用して、破骨細胞生成に対する効果について試験した。破骨細胞生成は、該ペプチドによって量及び時間依存的に阻害された($IC_{50}=250\mu M$)が、この IC_{50} は、TNF/TNFレセプター(1)相互作用に必要とされる($5\mu M$)より50倍高かった。この差異は、該ペプチドが、TNF/TNFレセプター(1)相互作用を妨害しないが、TRNCE/RANKのような別の関連リガンド-レセプターペアを妨害することによって、破骨細胞生成を阻害することを示唆する。これは、WP9QYがTRANCE誘導性骨髄培養物を阻害することを示すことによって確認された。WP9QYとTRANCEとは相互的量依存性が存在した。かくして、WP9QYは、TNF/TNFレセプター(1)相互作用だけでなく、RNAKリガンド/RANK相互作用をも阻害可能であり、それによってこのサイトカインの破骨細胞生成能力を低減できる。

【0137】

本発明のTRANCE/RANKインヒビターは、その破骨細胞生成及び破骨機能を阻害する性能について、ここに記載したアッセイを使用して評価してもよい。

【0138】

(実施例2)

*in vitro*で形成された破骨細胞の同定

TRAPとは、破骨細胞様細胞を同定する酒石酸耐性酸性ホスファターゼを指す。オステオプロテグリン(OPG)は、TNFレセプターファミリーのメンバーに対するホモロジーを有する天然に存在する分泌タンパク質である。*in vivo*でのOPGの投与は、破骨細胞生成及び関連する骨吸収を阻害し、ヒトにおける骨減少性疾患を模倣する動物モデルに見られる、破骨細胞の数と活性の病的増大をブロックする。OPGは、TRAPアッセイにおけるポジティブコントロールとして使用できる。

【0139】

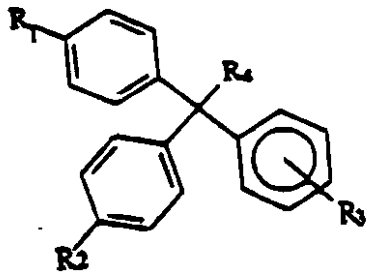
TRAPの細胞化学的染色は、*in vivo*及び*in vitro*で破骨細胞を同定するために広く使用される。ナフトールAS-MXホスフェート(5mg, Sigma, St. Louis, MO)を、0.5mlのN,N-ジメチルホルムアミド(Wako)に溶解する。30mgのfast red violet LB塩(Sigma)と、50mMの酒石酸ナトリウムを含む0.1M酢酸ナトリウムバッファー(pH5.0)を、上記混合物に加える(TRAP染色溶液)。細胞を、10分間 Ca^{2+} -及び Mg^{2+} -遊離のリン酸緩衝生理食塩水[PBS(-)]中の3.7%(v/v)ホルムアルデヒドで固定化し、1分間エタノール-アセトン(50:50,v/v)で再び固定化し、室温で10分間TRAP染色溶液でインキュベートする。TRAPポジティブ破骨細胞は、赤色の細胞として見出される。10分より長いインキュベーション期間は、破骨細胞以外の細胞が時間と共に弱いポジティブとなるため避けるべきである。染色後、細胞を蒸留水で洗浄し、3つ以上の核を有するTRAPポジティブの多核細胞を、顕微鏡下で破骨細胞として計数する(G.C. Nicholson, J.M. Mosely, P.M. Sexton, F.A.O. Mendelsohn, 及びT.J. Martin, J. Clin. Invest. 78, 355, 1986、この文献は参考としてここに取り込まれる)。

【化1】

10

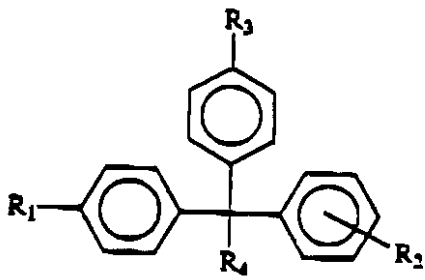
20

30



FORMULA I

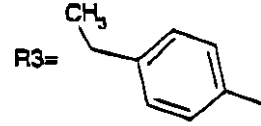
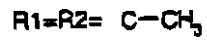
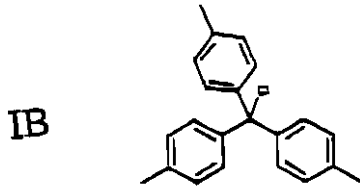
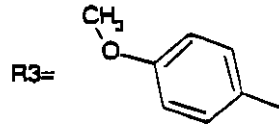
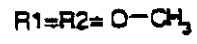
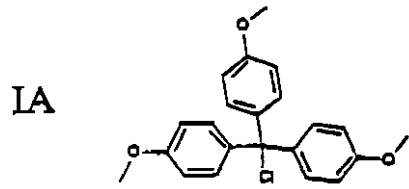
10



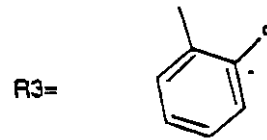
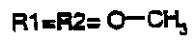
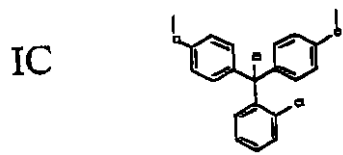
FORMULA II

20

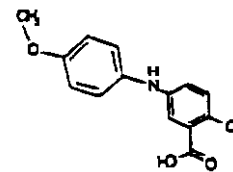
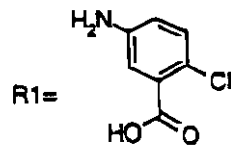
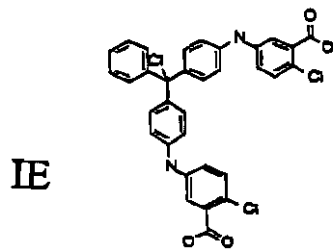
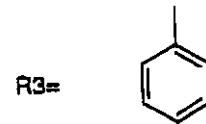
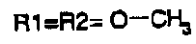
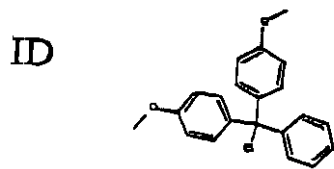
30



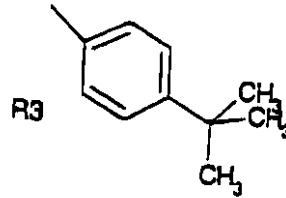
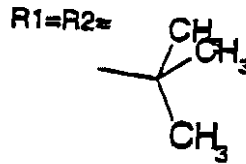
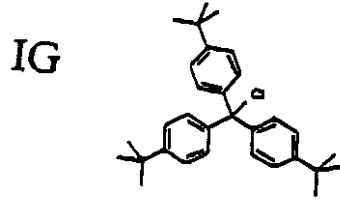
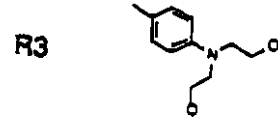
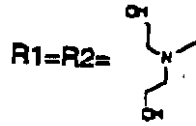
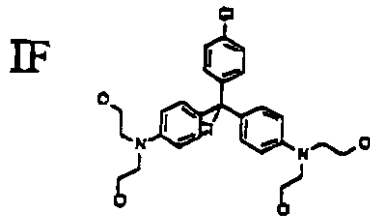
10



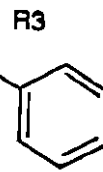
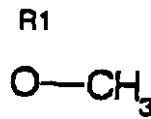
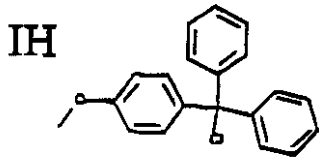
20



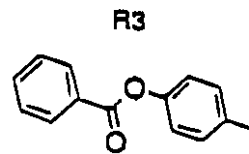
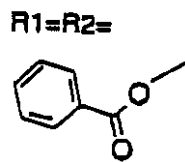
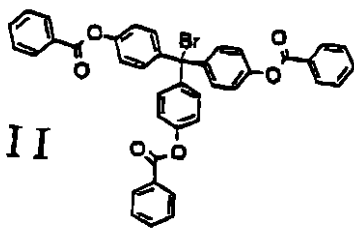
30



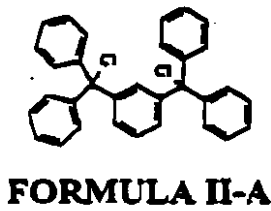
10



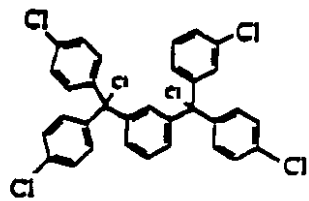
20



30

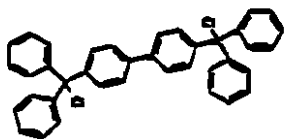


FORMULA II-A

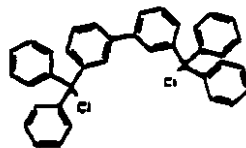


FORMULA II-B

40

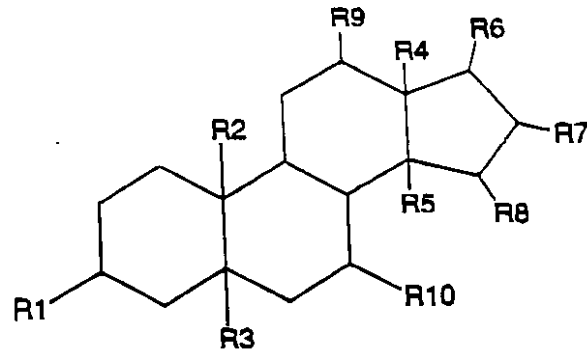


FORMULA II-C



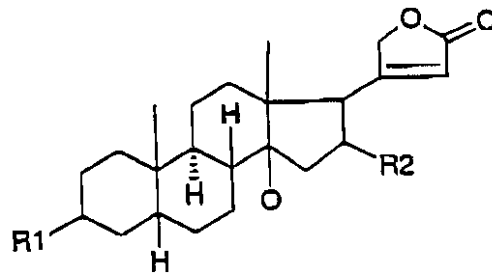
FORMULA II-D

FORMULA III



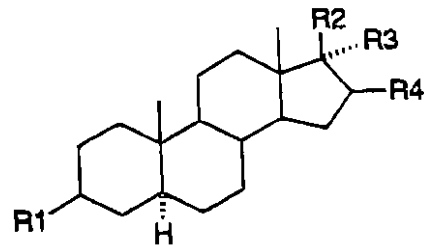
10

FORMULA IV



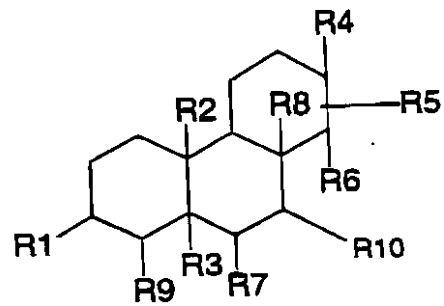
20

FORMULA V



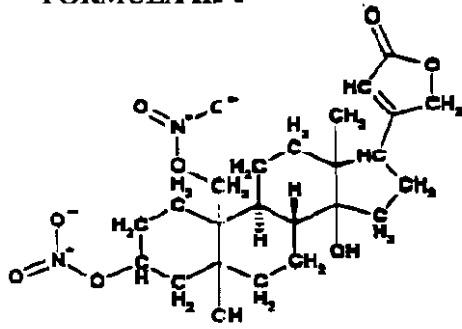
30

FORMULA VI

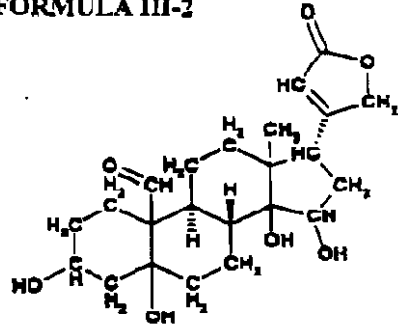


40

FORMULA III-1

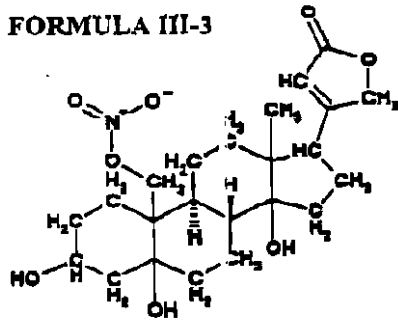


FORMULA III-2

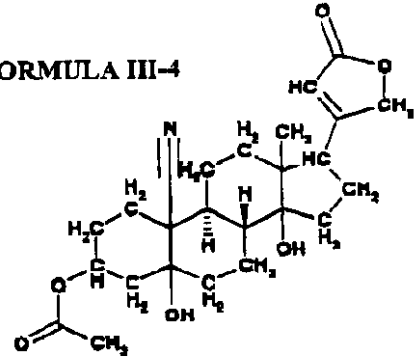


10

FORMULA III-3

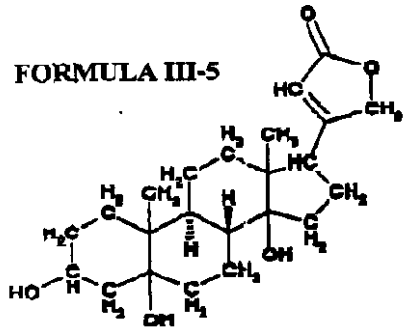


FORMULA III-4

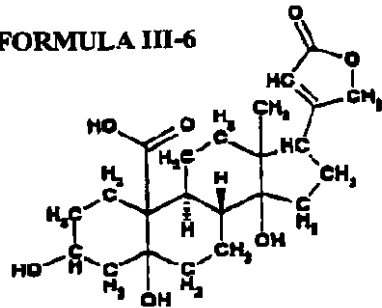


20

FORMULA III-5

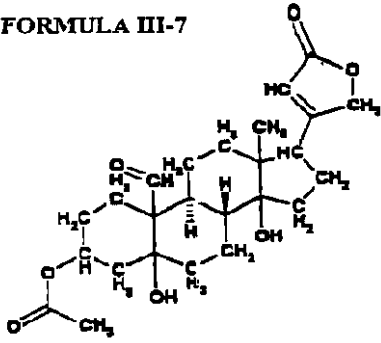


FORMULA III-6

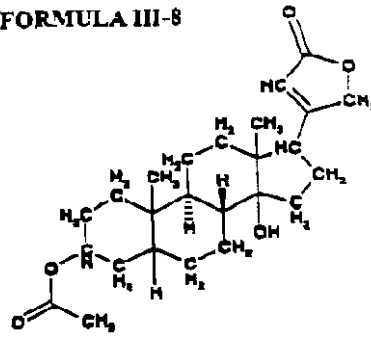


30

FORMULA III-7

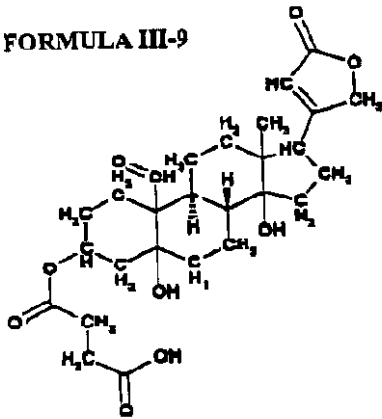


FORMULA III-8

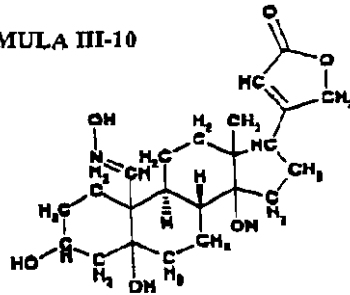


10

FORMULA III-9

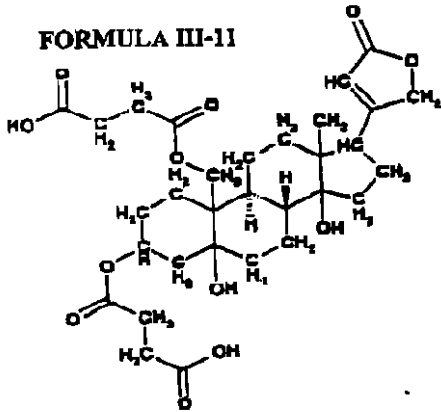


FORMULA III-10

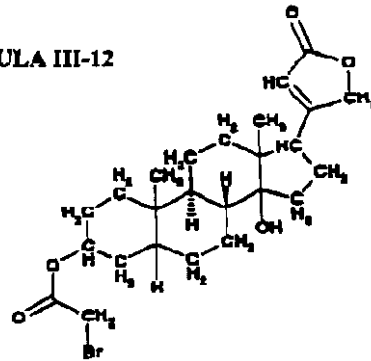


20

FORMULA III-11

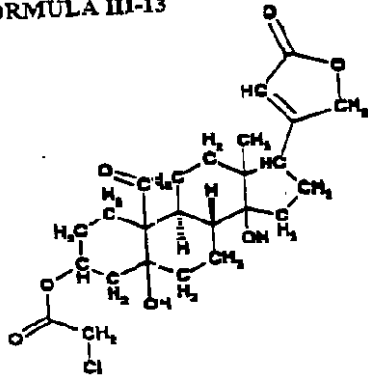


FORMULA III-12

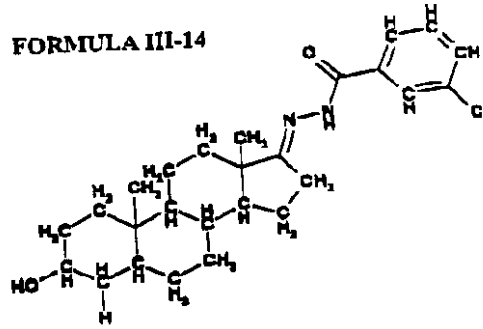


30

FORMULA III-13

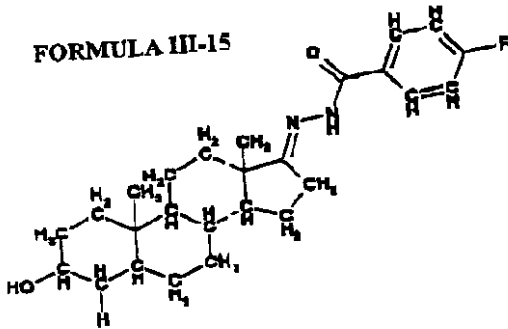


FORMULA III-14



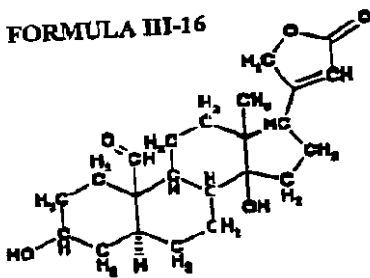
10

FORMULA III-15

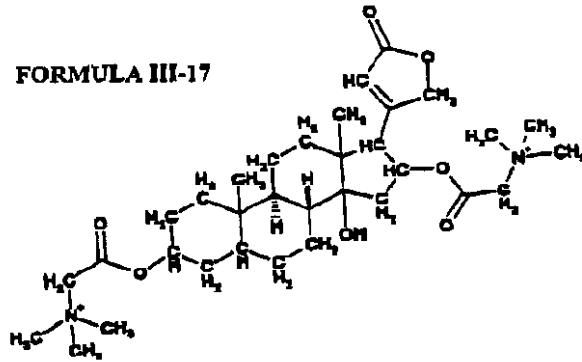


20

FORMULA III-16

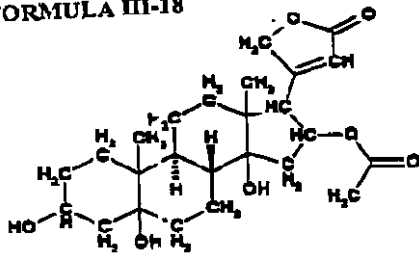


FORMULA III-17

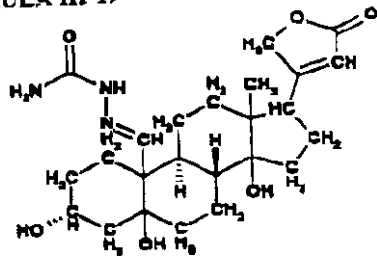


30

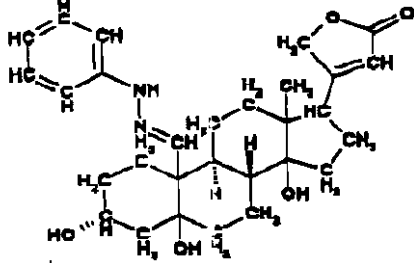
FORMULA III-18



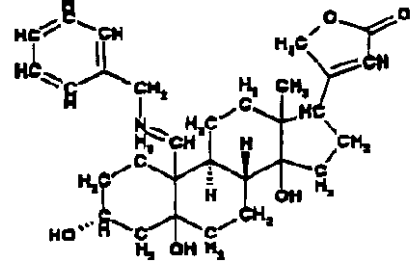
FORMULA III-19



FORMULA III-20

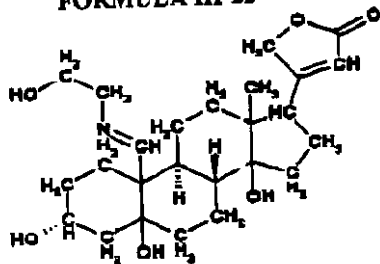


FORMULA III-21

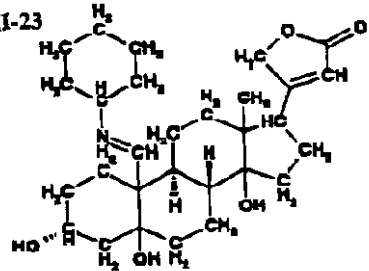


10

FORMULA III-22

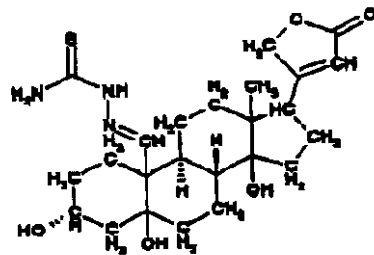


FORMULA III-23



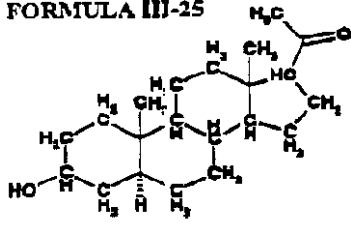
20

FORMULA III-24

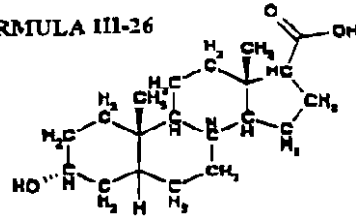


30

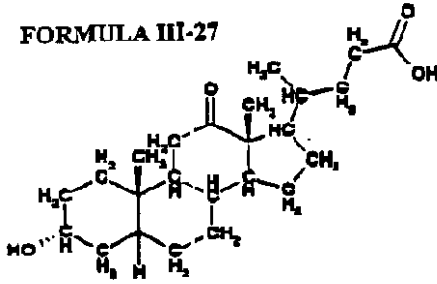
FORMULA III-25



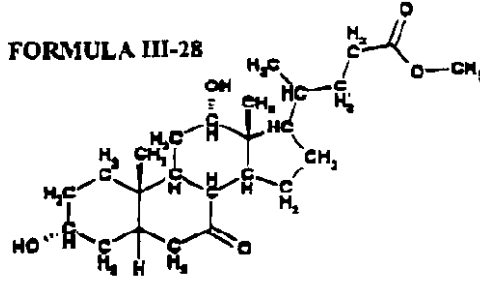
FORMULA III-26



FORMULA III-27

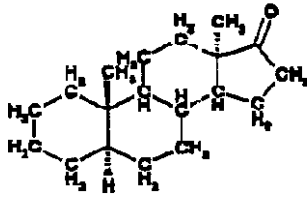


FORMULA III-28

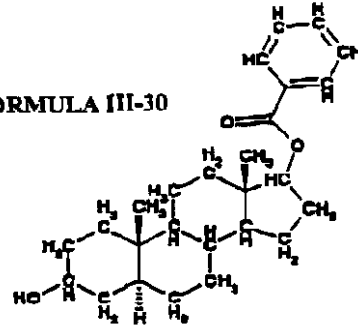


10

FORMULA III-29

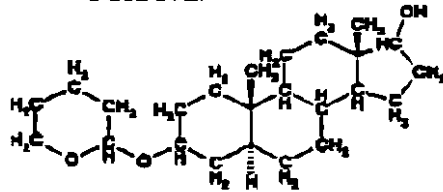


FORMULA III-30



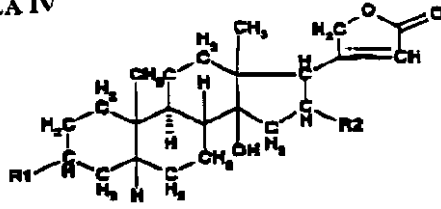
20

FORMULA III-31



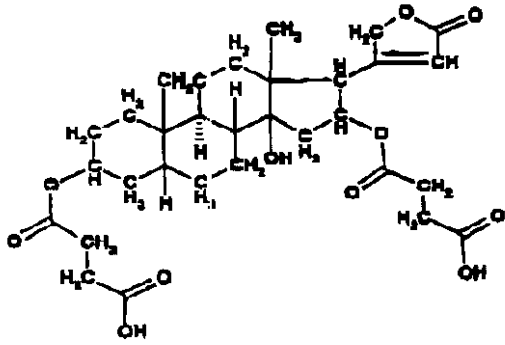
30

FORMULA IV

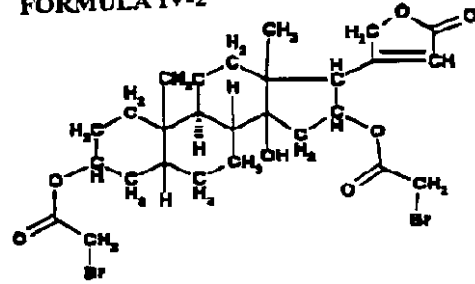


10

FORMULA IV-1

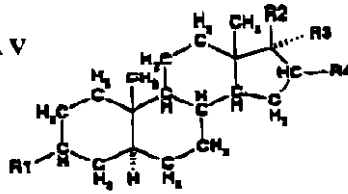


FORMULA IV-2

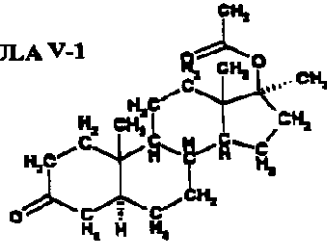


20

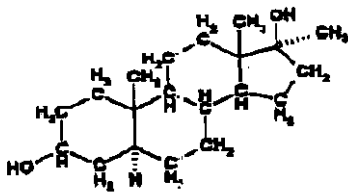
FORMULA V



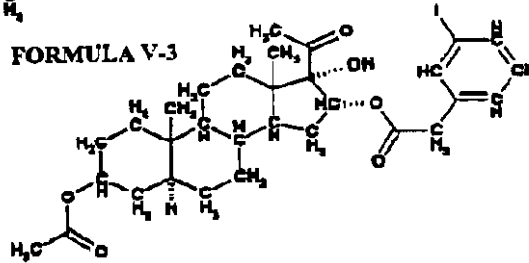
FORMULA V-1



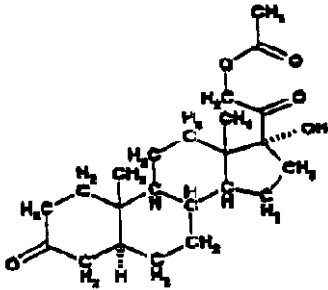
FORMULA V-2



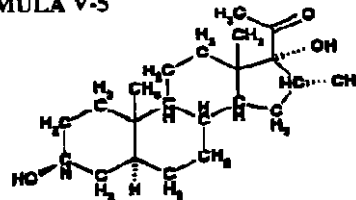
FORMULA V-3



FORMULA V-4



FORMULA V-5

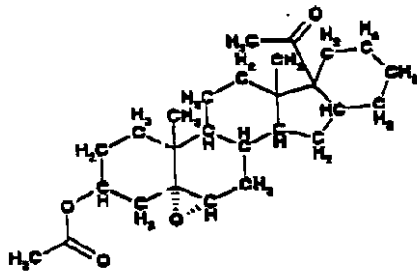


10

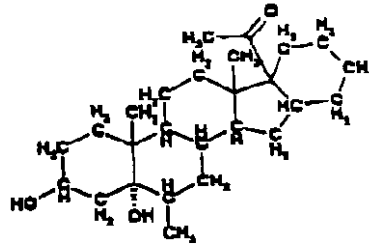
20

30

FORMULA VI-1

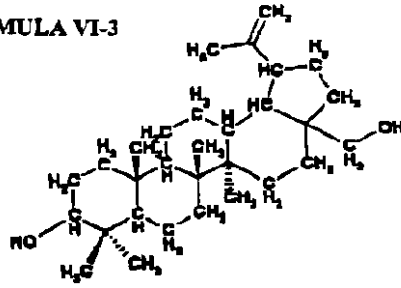


FORMULA VI-2



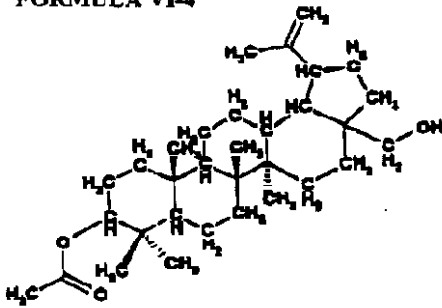
10

FORMULA VI-3

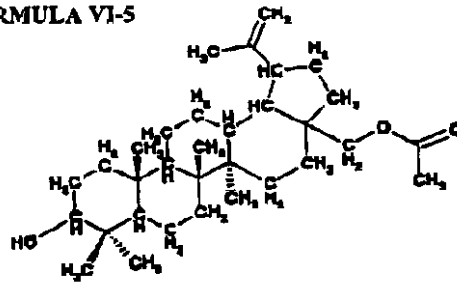


20

FORMULA VI-4

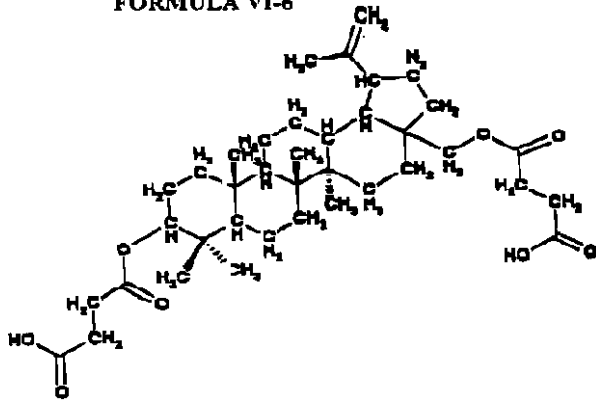


FORMULA VI-5

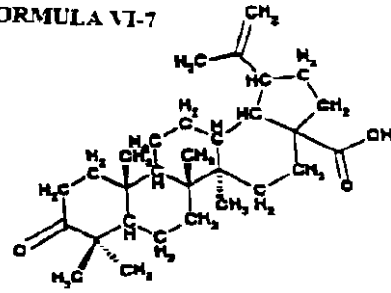


30

FORMULA VI-6

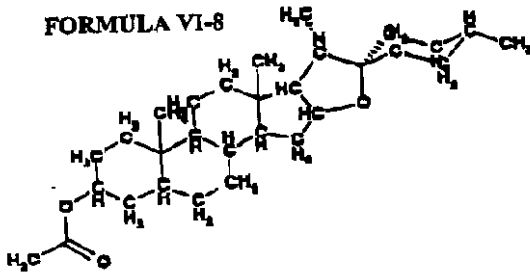


FORMULA VI-7

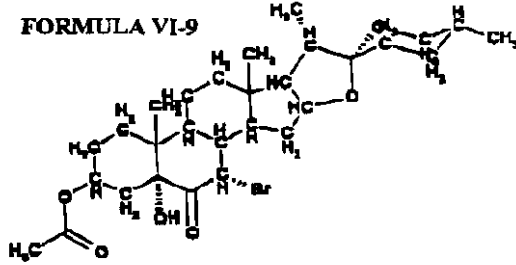


10

FORMULA VI-8

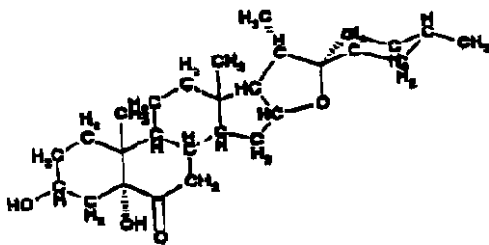


FORMULA VI-9

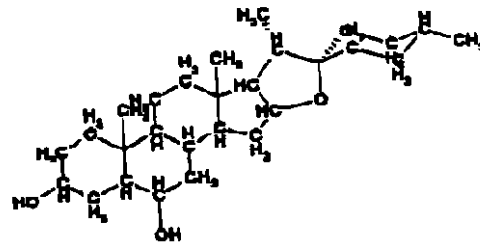


20

FORMULA VI-10

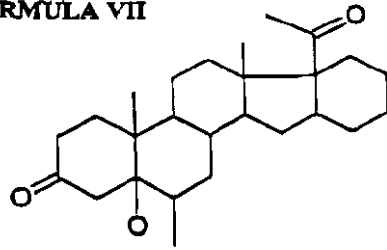


FORMULA VI-11



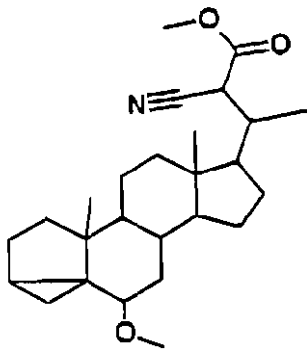
30

FORMULA VII

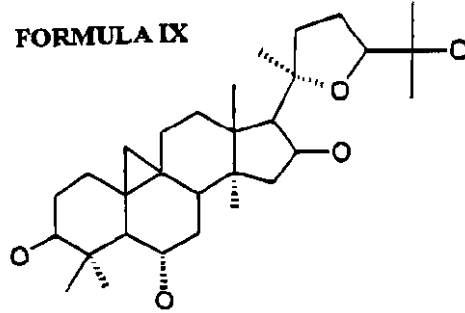


10

FORMULA VIII

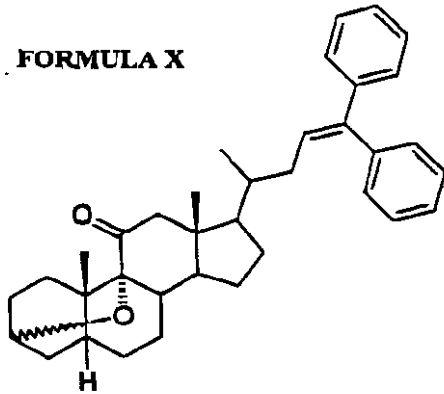


FORMULA IX

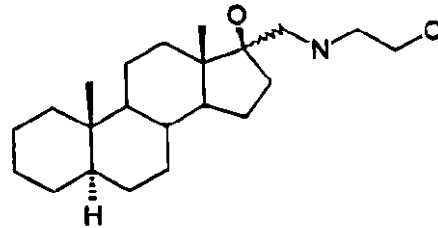


20

FORMULA X

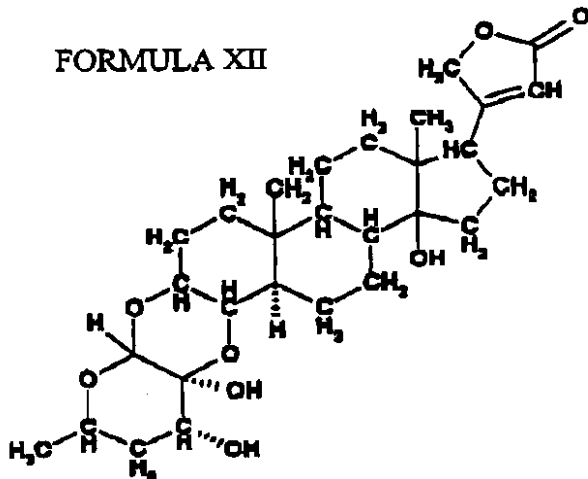


FORMULA XI



30

FORMULA XII



40

SEQUENCE LISTING

<110> Greene, Mark I.
 Murali, Ramachandran
 Kinoshita, Masahiko
 The Trustees of the University of Pennsylvania

<120> Methods of Inhibiting Osteoclast Activity

<130> UPN3856

<140>
 <141>

<150> 60/146,094
 <151> 1999-07-28

<160> 34

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 1
 Asp Arg Gly Trp Ala
 1 5

<210> 2
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 2
 Asp Gly Asp Leu Ala Thr
 1 5

<210> 3
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>

10

20

30

<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 3
Ser Asp Phe Ala Thr Glu
1 5

<210> 4
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

10

<400> 4
Val Thr Lys Thr Ser Ile Lys Ile Pro Ser Ser His
1 5 10

<210> 5
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

20

<400> 5
Thr Lys Thr Ser Ile Lys Ile Pro Ser Ser His
1 5 10

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 6
Lys Thr Ser Ile Lys Ile Pro Ser Ser His
1 5 10 .

30

<210> 7
<211> 7
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 7

Tyr Trp Ser Asn Ser Glu Phe
1 5

<210> 8

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 8

Tyr Trp Asn Ser Glu
1 5

10

<210> 9

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 9

Pro Asp Gln Asp Ala Pro
1 5

20

<210> 10

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 10

Pro Asp Ser Trp His
1 5

30

<210> 11

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 11

Ser Lys Glu Leu

1

<210> 12

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 12

Glu Ile Glu Phe

1

10

<210> 13

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 13

Ser Arg Ser Gly His Ser

1

5

20

<210> 14

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 14

Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Asp Ly

1

5

10

15

30

<210> 15

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 15

Thr Ser Tyr Pro Asp

1 5

<210> 16
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 16
Lys Glu Asn Thr Lys
1 5

10

<210> 17
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 17
Arg Tyr Gln Glu Glu
1 5

20

<210> 18
<211> 5
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 18
Tyr Val Lys Gln Glu
1 5

<210> 19
<211> 4
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

30

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 19
Tyr Lys His Arg
1

<210> 20
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 20
Tyr Cys Asp Arg Gly Trp Ala Cys Tyr
1 5

<210> 21
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

10

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 21
Tyr Cys Asp Gly Asp Leu Ala Thr Cys Tyr
1 5 10

<210> 22
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

20

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 22
Tyr Cys Ser Asp Phe Ala Thr Glu Cys Tyr
1 5 10

<210> 23
<211> 16
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

30

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 23
Tyr Cys Val Thr Lys Thr Ser Ile Lys Ile Pro Ser Ser His Cys Tyr
1 5 10 15

<210> 24
 <211> 14
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 24
 Tyr Cys Lys Thr Ser Ile Lys Ile Pro Ser Ser His Cys Tyr
 1 5 10

<210> 25
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 25
 Tyr Cys Tyr Trp Ser Asn Ser Glu Phe Cys Tyr
 1 5 10

<210> 26
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

20

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 26
 Cys Tyr Trp Asn Ser Glu Cys Tyr
 1 5

<210> 27
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

30

<220>
 <223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 27
 Tyr Cys Pro Asp Gln Asp Ala Pro Cys Tyr
 1 5 10

<210> 28

<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 28
Tyr Cys Pro Asp Ser Trp His Cys Tyr Asp Glu
1 5 10

<210> 29
<211> 12
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

10

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 29
Tyr Cys Ser Lys Glu Leu Cys Tyr Val Lys Gln Glu
1 5 10

<210> 30
<211> 11
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

20

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 30
Tyr Cys Glu Ile Glu Phe Cys Tyr Lys His Arg
1 5 10

<210> 31
<211> 10
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

30

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 31
Tyr Cys Ser Arg Ser Gly His Ser Cys Tyr
1 5 10

<210> 32
<211> 19

<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 32
Tyr Cys Arg Phe Gln Glu Glu Ile Lys Glu Asn Thr Lys Asn Asp Lys
1 5 10 15

Gln Cys Tyr

10

<210> 33
<211> 9
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 33
Tyr Cys Thr Ser Tyr Pro Asp Cys Ile
1 5

20

<210> 34
<211> 15
<212> PRT
<213> Artificial Sequence

<220>
<223> Description of Artificial Sequence: Novel Sequence

<400> 34
Arg Tyr Gln Glu Glu Cys Lys Glu Asn Thr Lys Cys Asp Lys Gln
1 5 10 15

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 P 29/00	(2006.01)	A 6 1 P 29/00	1 0 1
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 0 5
C 0 7 K 7/00	(2006.01)	C 0 7 K 7/00	Z N A

(74)代理人 100094400

弁理士 鈴木 三義

(74)代理人 100107836

弁理士 西 和哉

(74)代理人 100108453

弁理士 村山 靖彦

(74)代理人 100110364

弁理士 実広 信哉

(72)発明者 ラマチャンドラン・ムラリ

アメリカ合衆国・ペンシルベニア・19026・ドレクセル・ヒル・リヴィアー・ロード・41-6

(72)発明者 マーク・アイ・グリーン

アメリカ合衆国・ペンシルベニア・19072・ペン・ヴァレー・ライターズ・ミル・ロード・300

(72)発明者 木野崎 雅彦

日本国栃木県329-0528河内郡上三川町ゆうきが丘53-8

審査官 横井 宏理

(56)参考文献 国際公開第98/028426(WO, A1)

SIMONET, W.S., et al., Osteoprotegerin: A Novel Secreted Protein Involved in the Regulation of Bone Density, Cell, 1997年 4月18日, Vol.89, p.309-319

FULLER, K., et al., TRANCE Is Necessary and Sufficient for Osteoblast-mediated Activation of Bone Resorption in Osteoclasts, J. Exp. Med., 1998年 9月 7日, Vol.188, No.5, p.997-1001

NAKAGAWA, N., et al., RANK Is the Essential Signaling Receptor for Osteoclast Differentiation Factor in Osteoclastogenesis, BBRC, 1998年, Vol.253, p.395-400

TAKASAKI, W., et al., Structure-based design and characterization of exocyclic peptidomimetics that inhibit TNF binding to its receptor, NATURE BIOTECHNOLOGY, 1997年 11月, Vol.15, No.12, p.1266-1270

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K 38/00

A61P 1/00-02

A61P 19/00-10

A61P 29/00

A61P 43/00

C07K 7/00

CA/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)