

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2015-506370

(P2015-506370A)

(43) 公表日 平成27年3月2日(2015.3.2)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 7/00 (2006.01)	C07K 7/00 ZNA	4C084
C07K 7/08 (2006.01)	C07K 7/08	4H045
C07K 7/50 (2006.01)	C07K 7/50	
A61K 38/22 (2006.01)	A61K 37/24	
A61P 9/04 (2006.01)	A61P 9/04	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 123 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-553847 (P2014-553847)
 (86) (22) 出願日 平成25年1月25日 (2013.1.25)
 (85) 翻訳文提出日 平成26年9月29日 (2014.9.29)
 (86) 国際出願番号 PCT/IB2013/050666
 (87) 国際公開番号 W02013/111110
 (87) 国際公開日 平成25年8月1日 (2013.8.1)
 (31) 優先権主張番号 61/591,557
 (32) 優先日 平成24年1月27日 (2012.1.27)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/717,760
 (32) 優先日 平成24年10月24日 (2012.10.24)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 61/731,697
 (32) 優先日 平成24年11月30日 (2012.11.30)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 504389991
 ノバルティス アーゲー
 スイス国 バーゼル リヒトシュトラーセ
 35
 (74) 代理人 100092783
 弁理士 小林 浩
 (74) 代理人 100120134
 弁理士 大森 規雄
 (74) 代理人 100104282
 弁理士 鈴木 康仁

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 心不全治療用の合成アペリン模倣物

(57) 【要約】

本発明は、X1、X2、X3、X4、X5、X6、X7、X8、X9、X10、X11、X12、およびX13が本明細書で規定される、式I'の合成ポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩を提供する。ポリペプチドは、APJ受容体のアゴニストである。本発明はまた、本発明のポリペプチドの製造方法、ならびに、急性代償不全心不全(ADHF)、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、Brugada症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病(妊娠糖尿病を含める)、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷(日焼けを含める)、および子癇前症の治療または予防などの、その治療的使用に関する。本発明はさらに、薬理活性薬剤の組合せおよび医薬組成物を提供する。

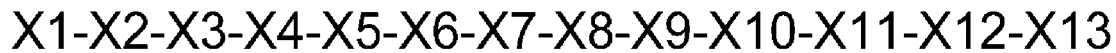
X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13
 I'

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次式 I' :

【化 39】



[式中、

10

X 1 は、ポリペプチドの N 末端であり、存在しないか、または p E、R、l s n、Q、A、K、および 5 - アミノ - 吉草酸から選択され、

X 2 は、R、A、r、N - M e - R、K、H、h F、h K、F、E、または O r n であり、

X 3 は、P、A、a、p、4 - P h P、K、D、ピペコリン酸、またはシステイン [システインの側鎖は、X 7 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、

X 4 は、R、A、r、N - M e - R、F、E、またはシステイン [システインの側鎖は、X 7 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、

X 5 は、L、C h a、A、D - L、N - M e - L、K、D、4 - P h F、または F であり、

20

X 6 および X 1 2 は、独立して、C、c、h C、D - h C、K、D、O r n、D a b、または E から選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X 6 と X 1 2 の側鎖は、共有結合によって互いに連結して、モノスルフィド (- S -)、ジスルフィド (- S - S -)、もしくはアミド結合 (- N H C (O) - もしくは - C (O) - N H -)、または式 - S - C H ₂ - C (= Z) - C H ₂ - S - の連結部のいずれかを形成しており、Z は、O、N - O - C H ₂ C (O) - L ¹ - R ¹、または N - N H - C H ₂ C (O) - L ¹ - R ¹ であり、R ¹ は、脂肪酸誘導体であり、L ¹ は、1 つまたは複数のアミノ酸および / または 1 つまたは複数の - N H - C ₂ - ₆ - アルキレン - N H - 単位を含んだリンカーであり、または代わりに、X 6 は K であり、X 1 3 は存在せず、X 1 2 は F または f であり、X 1 2 の C 末端は、X 6 のアミノ側鎖とアミド結合を形成しており、

30

X 7 は、H、h、A、N - M e - A、a、A i b、K、N a l、F、P、D a p、N、E、またはシステイン [システインの側鎖は、X 3 位のシステインの側鎖または X 4 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、

X 8 は、K、k、F、f、A、h F、N - M e - R、E、または 4 - アミノ - l s n であり、

X 9 は、G、N - M e - G、A、D、L、R、または A i b であり、

X 1 0 は、P、A、p、4 - P h P、またはピペコリン酸であり、

X 1 1 は、M、D - N l e、N l e、N - M e - N l e、M (O)、A、F、Y、L、K、3 - P y A、または C h a であり、

40

X 1 3 は、C 末端であり、存在しないか、または F、f、N - M e - F、N a l、D - N a l、3 - B r - F、(S) - - 3 - F、I、A、a、K、D a p、H、および E から選択され、

N l e は、L - ノルロイシンであり、

D - h C は、D - ホモシステインであり、

h C は、L - ホモシステインであり、

h F は、L - ホモフェニルアラニンであり、

h K は、L - リシンであり、

N a l は、L - ナファタリンであり、

O r n は、オルニチンであり、

50

A i b は、 - アミノイソ酪酸であり、
 D a b は、(S) - ジアミノ酪酸であり、
 D a p は、(S) - 2 , 3 - ジアミノプロピオン酸であり、
 M (O) は、メチオニンスルホンであり、
 C h a は、(S) - - シクロヘキシルアラニンであり、
 4 - アミノ - l s n は、4 - アミノピペリジン - 4 - カルボン酸であり、
 l s n は、イソニペコチノイルであり、
 p E は、L - ピログルタミン酸であり、
 3 - P y A は、3 - (3 - ピリジル) - L - アラニンであり、
 4 - P h F は、4 - フェニル - L - フェニルアラニンであり、
 N 末端および C 末端は、場合により、1、2、3 または 4 個のグリシンアミノ酸と一緒に
 なって環を形成しており、
 K、O r n、D a b、D a p、h K、または 4 - アミノ - I s n の側鎖中のアミノ基は、
 場合により、親油性基にアミド結合によって連結している]
 を有するポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこ
 れらと実質的に同等なポリペプチド。

10

【請求項 2】

次式：

【化 4 0】

20

X1-R-P-R-X5-X6-X7-X8-X9-P-X11-X12-X13

||

を有し、

X 1 が、不存在、p E、R、Q、または I s n であり、

X 5 が、L または C h a であり、

X 7 が、H、A i b、F、K (ラウロイル)、または K (パルミトイル) であり、

X 8 が、K、F、または 4 - アミノ - l s n であり、

X 9 が、G または A i b であり、

X 1 1 が、N l e または C h a であり、

X 1 3 が、存在しないか、または F、f、K (ラウロイル)、K (パルミトイル) であり

30

、
 X 6 および X 1 2 が、独立して、C、c、h C、D - h C、K、D、O r n、D a b、ま
 たは E から選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X 6 と X 1 2 の側鎖が、共
 有結合によって互いに連結して、ジスルフィド結合またはアミド結合を形成しており、N
 末端および C 末端が、場合により、1、2、3 または 4 個のグリシンアミノ酸と一緒に
 なって環を形成している、

ポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこれらと実
 質的に同等なポリペプチド。

40

【請求項 3】

X 6 および X 1 2 が、K、O r n、D a b、E、および D から独立して選択され、X 6
 と X 1 2 の側鎖が、一緒になってアミド結合を形成している、請求項 1 または 2 に記載の
 ポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 4】

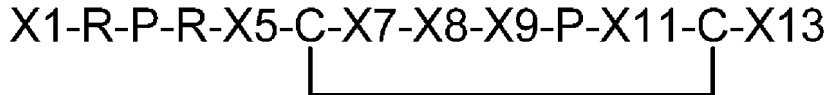
X 6 および X 1 2 が、独立して C であり、X 6 と X 1 2 の側鎖が、一緒になってジスル
 フィド結合を形成している、請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドまたはポリペプチド
 のアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 5】

式 I I I：

50

【化 4 1】



III;

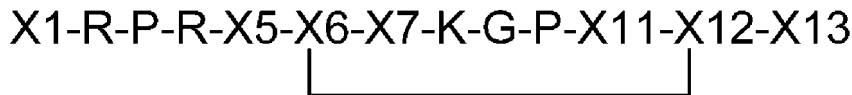
を有する請求項 1、2 または 4 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 6】

10

式 IV :

【化 4 2】



IV;

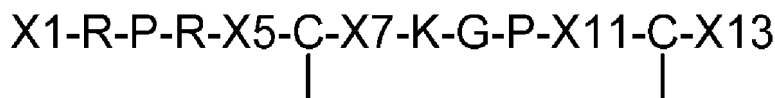
を有する、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

20

【請求項 7】

式 V :

【化 4 3】



V;

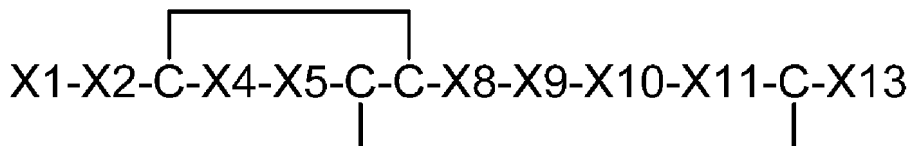
を有する、請求項 1、2、および 4 から 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

30

【請求項 8】

式 VI :

【化 4 4】



VI

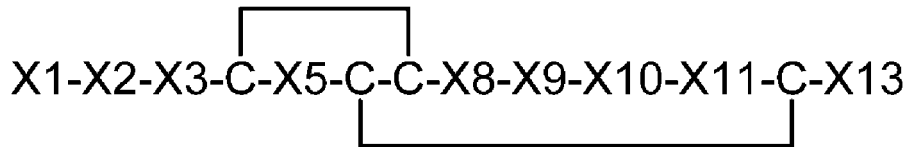
40

を有する、請求項 1 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 9】

式 VII :

【化 4 5】



VII

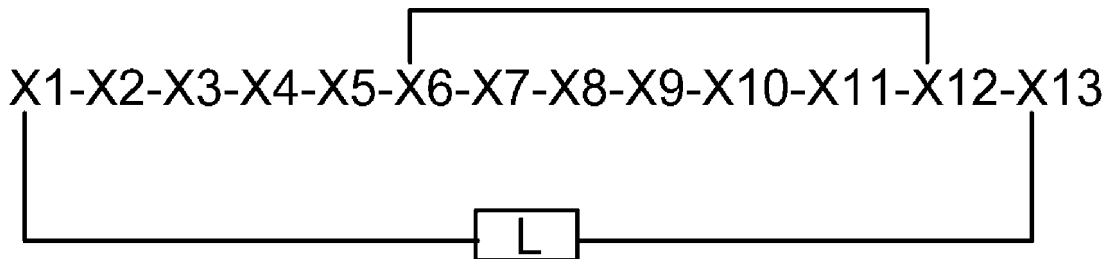
を有する、請求項 1 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 10】

10

式 VII I :

【化 4 6】



VIII

20

[式中、X 1 の N 末端および X 1 3 の C 末端が、リンカー L と一緒になって環を形成しており、

L が (G) r であり、G がグリシンであり、r が 1、2、3 または 4 である]

を有する、請求項 1、2、5、6 または 7 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 11】

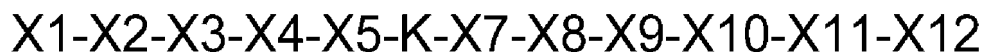
X 1 が Q であり、X 1 3 が F であり、r が 2 である、請求項 10 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 12】

X 6 が K であり、X 1 3 が存在せず、X 1 2 が F または f であり、X 1 2 の C 末端が、X 6 のアミノ側鎖とアミド結合を形成しており、式 IX :

30

【化 4 7】



IX,

を有する、請求項 1 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのエステル、アミド、もしくは塩。

【請求項 13】

40

X 1 が p E である、請求項 1 から 9 および 1 2 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 14】

X 1 が存在しない、請求項 1 から 9 および 1 2 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 15】

N 末端がアミドである、請求項 14 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 16】

N 末端が、式 - NHR のアミドであり、R が、アセチル、ベンゾイル、フェナシル、スクシニル、オクタノイル、4 - フェニルブタノイル、4 - Cl - Ph - (CH₂)₃ C (

50

O) -、または $\text{Ph} - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O}) -$ である、請求項 15 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 17】

N 末端が、式 NHR_1 のアミドであり、 R_1 が、 $\text{CH}_3\text{C}(\text{O}) -$ 、 $\text{CH}_3 - (\text{O} - \text{C}(\text{H}_2\text{CH}_2)_m - \text{C}(\text{O}) -$ 、パルミトイル $(\text{O}_2\text{Oc})_p$ 、ミリストイル $(\text{O}_2\text{Oc})_p$ 、ラウロイル $(\text{O}_2\text{Oc})_p$ 、または $\text{Ph} - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O}) -$ であり、 p は、1 ~ 4 の整数であり、

m は、1 ~ 12 の整数であり、

ラウロイル (O_2Oc) は、 $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{C}(\text{O})\text{NH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(\text{O}) -$ であり、

ミリストイル (O_2Oc) は、 $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{C}(\text{O})\text{NH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(\text{O}) -$ であり、

パルミトイル (O_2Oc) は、 $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{C}(\text{O})\text{NH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(\text{O}) -$ である、請求項 1 から 9 および 12 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 18】

X_{13} が F である、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 19】

X_{13} が存在しない、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 20】

C 末端がアミドである、請求項 19 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 21】

C 末端が、式 $- \text{C}(\text{O}) - \text{R}_2$ のアミドであり、 R_2 が、 $- \text{NH}_2$ 、 $- \text{NH} - \text{Me}$ 、 $- \text{NH} - \text{NH} \text{Bn}$ 、または $- \text{NH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{Ph}$ である、請求項 20 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 22】

X_5 が L である、請求項 1 から 21 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 23】

X_7 が H である、請求項 1 から 7 および 10 から 22 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 24】

X_8 が K である、請求項 1 から 5 および 8 から 23 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 25】

X_9 が G である、請求項 1 から 5 および 8 から 24 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 26】

X_{11} が N1e である、請求項 1 から 25 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 27】

$p\text{E} - \text{R} - \text{P} - \text{R} - \text{L} - \text{K}^* - \text{H} - \text{F} - \text{G} - \text{P} - \text{N1e} - \text{D}^* -$ フェネチルアミン、

$p\text{E} - \text{R} - \text{P} - \text{R} - \text{L} - \text{K}^* - \text{H} - \text{F} - \text{G} - \text{P} - \text{N1e} - \text{E}^* -$ フェネチルアミン、

$p\text{E} - \text{R} - \text{P} - \text{R} - \text{L} - \text{Orn}^* - \text{H} - \text{F} - \text{G} - \text{P} - \text{N1e} - \text{D}^* -$ フェネチルアミン、

$p\text{E} - \text{R} - \text{P} - \text{R} - \text{L} - \text{Dab}^* - \text{H} - \text{F} - \text{G} - \text{P} - \text{N1e} - \text{D}^* -$ フェネチルアミン、

$p\text{E} - \text{R} - \text{P} - \text{R} - \text{L} - \text{K}^* - \text{F} - \text{K} - \text{G} - \text{P} - \text{N1e} - \text{F}^*$ 、

$p\text{E} - \text{R} - \text{P} - \text{R} - \text{L} - \text{K}^* - \text{F} - \text{K} - \text{G} - \text{P} - \text{N1e} - \text{f}^*$ 、

$**\text{Q} - \text{R} - \text{P} - \text{R} - \text{L} - \text{C}^* - \text{F} - \text{K} - \text{G} - \text{P} - \text{N1e} - \text{C}^* - \text{F} - \text{G} - \text{G}^{**}$ 、

10

20

30

40

50

pE - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ,
 pE - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - F - O H ,
 pE - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - f - O H ,
 H - I s n - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - f - O H ,
 pE - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - フエネチルアミン ,
 pE - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - f - O H ,
 pE - R - P - R - C h a - C * - H - K - G - P - C h a - C * - F - O H ,
 pE - R - P - R - L - C * - F - K - G - P - N l e - C * - F - O H ,
 H - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ,
 H - R - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H , 10
 H - I s n - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ,
 pE - R - P - R - L - C * - H - F - G - P - N l e - C * - フエネチルアミン ,
 pE - R - P - R - L - C * - H - K - A i b - P - N l e - C * - F - O H ,
 pE - R - P - R - L - C * - H - (4 - N H - I s n) - G - P - N l e - C * - F -
 O H ,
 pE - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - K (パルミトイル) - O
 H ,
 pE - R - P - R - L - C * - K (パルミトイル) - K - G - P - N l e - C * - F - O
 H ,
 パルミトイル - O 2 O c - Q - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - 20
 F - O H ,
 ラウロイル - O 2 O c - Q - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F
 - O H ,
 pE - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - K (ラウロイル) - O H
 ,
 pE - R - P - R - L - C * - K (ラウロイル) - K - G - P - N l e - C * - F - O H
 ,
 pE - R - P - C * * - L - C * - C * * - K - G - P - N l e - C * - F - O H、
 pE - R - C * * - R - L - C * - C * * - K - G - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - r - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ; 30
 pE - F - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - E - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - p - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - K - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - D - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - P - F - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - P - R - K - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - P - R - L - C * - H - E - G - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - P - R - L - C * - H - K - D - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - P - E - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ; 40
 pE - R - P - R - (4 - P h F) - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - P - R - D - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - P - R - L - C * - E - K - G - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - P - R - L - C * - H - K - L - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - P - R - L - C * - H - K - R - P - N l e - C * - F - O H ;
 pE - R - P - R - L - C * - H - K - G - (ピペコリン酸) - N l e - C * - F - O H
 ;
 pE - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - (3 - P y A) - C - F - O H ;
 pE - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - H - O H ;
 pE - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - E - O H ; 50

$pE - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - C^* - NH_2$;
 $pE - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - C^* - F - NH_2$;
 $pE - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - C^* - OH$;
 $pE - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - hC^* - F - OH$;
 $pE - R - P - R - L - hC^* - H - K - G - P - Nle - hC^* - F - OH$;
 $pE - R - P - R - L - c^* - H - K - G - P - Nle - C^* - F - OH$;
 $pE - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - (D - hC)^* - F - OH$;
 $pE - R - P - R - L - (D - hC)^* - H - K - G - P - Nle - (D - hC)^* - F - OH$;

ミリストイル $O_2O_cO_2O_cQ - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - C^* - f - OH$; 10

ミリストイル $O_2O_cO_2O_cO_2O_cQ - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - C^* - f - OH$;

ミリストイル $O_2O_cO_2O_cO_2O_cO_2O_cQ - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - C - f - OH$;

$pE - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - c^* - F - OH$;

$pE - R - P - R - L - c^* - H - K - G - P - Nle - c^* - F - OH$; および

$pE - R - P - R - L - C^* - H - K (Myr) - G - P - Nle - C^* - F - OH$ 。

$pE - R - P - R - L - C^* * * - H - K - G - P - Nle - C^* * * - F - OH$

から選択され、「*」の付いた2つのアミノ酸は、それぞれその側鎖または末端を介して、ジスルフィド結合またはアミド結合を形成しているアミノ酸を表し、「***」の付いた2つのアミノ酸は、その側鎖を介したジスルフィド結合またはその末端を介したアミド結合を形成しているアミノ酸を表し、「***」の付いた2つのアミノ酸は、その側鎖を介してモノスルフィド結合または $-S - CH_2 - C(O) - CH_2 - S -$ 連結部を形成しているアミノ酸を表す、請求項1に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。 20

【請求項28】

$pE - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - C^* - F - OH$,

$pE - R - P - R - L - C^* - Aib - K - G - P - Nle - C^* - F - OH$,

$pE - R - P - R - L - C^* - Aib - K - G - P - Nle - C^* - f - OH$, 30

$H - Isn - R - P - R - L - C^* - Aib - K - G - P - Nle - C^* - f - OH$,

$pE - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - C^* - フェネチルアミン$,

$pE - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - C^* - f - OH$,

$pE - R - P - R - Cha - C^* - H - K - G - P - Cha - C^* - F - OH$,

$pE - R - P - R - L - C^* - F - K - G - P - Nle - C^* - F - OH$,

$H - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - C^* - F - OH$,

$H - R - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - C^* - F - OH$,

$H - Isn - R - P - R - L - C^* - H - K - G - P - Nle - C^* - F - OH$, および

$pE - R - P - R - L - C^* - H - F - G - P - Nle - C^* - フェネチルアミン$;

から選択され、2つのシステインアミノ酸 C^* の側鎖は、一緒になって、ジスルフィド結合を形成している、請求項27に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。 40

【請求項29】

その必要のある対象において、APJ受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または障害を治療または予防する方法であって、治療有効量の請求項1から28のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩を対象に投与することを含む方法。

【請求項30】

疾患または障害が、急性代償不全心不全 (ADHF)、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、Brugada症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚

血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病（妊娠糖尿病を含める）、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷（日焼けを含める）、および子癇前症から選択される、請求項 29 に記載の方法。

【請求項 31】

医薬として使用するための、請求項 1 から 28 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 32】

APJ 受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または障害の治療または予防において使用するための、請求項 1 から 28 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、塩のエステル。

10

【請求項 33】

急性代償不全心不全（ADHF）、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、Brugada 症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病（妊娠糖尿病を含める）、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷（日焼けを含める）、または子癇前症の治療において使用するための、請求項 1 から 28 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、塩のエステル。

【請求項 34】

治療有効量の請求項 1 から 28 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩と、治療活性のある 1 種または複数の共薬剤（co-agent）とを含む組合せ。

20

【請求項 35】

共薬剤が、イノトロープ、アドレナリン受容体遮断薬、HMG-CoA 還元酵素阻害薬、アンジオテンシン II 受容体アンタゴニスト、アンジオテンシン変換酵素（ACE）阻害薬、カルシウムチャネル遮断薬（CCB）、エンドセリンアンタゴニスト、レニン阻害薬、利尿薬、ApoA-I 模倣薬、抗糖尿病薬、抗肥満薬、アルドステロン受容体遮断薬、エンドセリン受容体遮断薬、アルドステロンシンターゼ阻害薬（ASI）、CETP 阻害薬、抗凝血薬、リラキシン、BNP（ネシリチド）、および NEP 阻害薬から選択される、請求項 34 に記載の組合せ。

30

【請求項 36】

治療有効量の請求項 1 から 28 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩と、1 種または複数の薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、投与を受ける対象において心血管疾患が治療されるように設計され、その野生型の対応物より高い耐分解性、およびそれと同等以上の生物活性を示す、修飾ペプチドおよびポリペプチド配列を含む新規組成物に関する。本発明はまた、前記組成物の製造方法、および前記組成物を心血管疾患治療のために薬学的活性剤として使用する方法に関する。

40

【背景技術】

【0002】

西欧諸国における心不全の発生率は、65 才を過ぎた成人のおよそ 100 人に 1 人である。最も一般的な病態は、心収縮性、したがって、心拍出量、すなわち、どちらかの心室によって排出される有効血液量が徐々に慢性的に不足することである。慢性心不全の患者は、代償不全、すなわち、心臓が十分な血液循環を維持できないという急性エピソードを伴う場合があり、その場合、心収縮性はさらに低下する。米国だけで、「急性代償不全心不全」（ADHF）での入院は、毎年約 50 万件である。

50

【 0 0 0 3 】

A D H F の現行の療法としては、利尿薬、血管拡張薬、およびイノトローブが挙げられ、これらは、心収縮性を直接増大させる。現用の静脈内イノトローブ（ドブタミン、ドーパミン、ミルリノン、レボシメンダン）は、不整脈などの有害事象および長期死亡率の増大と関連付けられているにもかかわらず、急性の状況で使用される。こうした傾向があることは、これらを慢性心不全に適用する妨げとなっている。ジゴキシンは、経口イノトローブ（oral inotrope）であるが、狭い治療指数、潜在的な催不整脈性の増大、および腎不全における禁忌による制約がある。

【 0 0 0 4 】

催不整脈性または死亡の傾向なしに心収縮性を増大させる心不全の療法は、A D H F 用に差し迫って求められてはいるが、慢性心不全における未対応の膨大な医学的要求にも対処できるはずである。

10

【 0 0 0 5 】

アペリンは、アペリン受容体、アンジオテンシン様 1 受容体、アンジオテンシン I I 様 1 受容体などとも呼ばれる、以前はオーファンであった G タンパク質共役型受容体（G P C R）A P J の、内因性リガンドである。アペリン/A P J 経路は、心血管系において広く発現され、アペリンは、前臨床モデルにおいて、有益な主要な心血管効果を示している。ヒトにおける急性アペリン投与は、末梢および冠動脈の血管拡張を引き起こし、心拍出量を増加させる（Circulation, 2010; 121:1818-1827）。結果として、A P J アゴニズムは、心不全患者にとっての重要な治療ターゲットとして浮上している。アペリン受容体 A P J の活性化は、現行の療法の傾向を伴わずに、心収縮性を増大させ、心臓保護になると考えられている。しかし、自然のアペリンは、i n v i v o での半減期および作用持続期間が非常に短い。

20

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 6 】

したがって、アペリンの機能を模倣するが、半減期が延長されており、自然に存在するアペリンと同等またはそれ以上の生物活性を示す、ペプチドおよびポリペプチドを特定することが望ましい。さらに、立体配座の拘束、すなわち、ペプチドおよびポリペプチドが、追加のフォールディングまたは再配置（repositioning）の必要なしに、その受容体および/または他の経路ターゲットと相互作用し得るような活性立体配座状態を実現および維持する能力の増大を示す、アペリン類似体ペプチドおよびポリペプチドを特定することが望ましい。そのようなペプチドおよびポリペプチド類似体、前記類似体を含む組成物の使用、ならびに心血管疾患などの疾患を治療するために前記組成物を薬学的活性剤として製造し、使用方法が求められている。

30

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 7 】

本発明の目的は、A P J アゴニストとして有用であり、また、野生型アペリンおよび他の既知のアペリン類似体に優る次の改良点、すなわち、半減期の延長、投与後および/または可溶化後の分解に対するより強い免疫性、ならびに立体配座拘束の増強のうちの少なくとも 1 つを、すべて、野生型アペリンと同等またはそれ以上の生物学的活性を示しながら保持する、新規のペプチドおよびポリペプチドを提供することである。したがって、本発明のペプチドおよびポリペプチドは、心不全などの心血管疾患、心不全と関連する障害および状態、ならびに A P J 受容体活性の活性化に反応を示す障害および状態の治療または予防に特に有用である。

40

【 0 0 0 8 】

一実施形態では、本発明のペプチドおよびポリペプチドは、心不全と関連する障害もしくは状態、または A P J 受容体活性の活性化（もしくはアゴニズム）に反応を示す障害の治療または予防に特に有用である。別の実施形態では、本発明のペプチドおよびポリペプチドは、急性代償不全心不全（A D H F）、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、B r u g

50

a d a 症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病（妊娠糖尿病を含める）、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷（日焼けを含める）、および子癩前症の治療において特に有用である。

【0009】

本発明は、本明細書に記載するとおりの、ペプチドおよびポリペプチド、医薬組成物、ならびにその製造および使用の方法に関する。本発明のペプチドおよびポリペプチドの例としては、式 I ~ IX のいずれか 1 つに従うペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩、ならびに、限定はしないが実験実施例を始めとする、本明細書において詳細に列挙するいずれかのペプチドまたはポリペプチドが挙げられる。

10

【0010】

したがって、本発明は、ペプチドまたはポリペプチド式 (I') :

【0011】

【化1】

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13



[式中、

X1は、ポリペプチドのN末端であり、存在しないか、または pE、R、I s n、Q、A、K、および 5 - アミノ - 吉草酸から選択され、

20

X2は、R、A、r、N - Me - R、K、H、hF、hK、F、E、または Or n であり、

X3は、P、A、a、p、4 - PhP、K、D、ピペコリン酸、またはシステイン [システインの側鎖は、X7位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、

X4は、R、A、r、N - Me - R、F、E、またはシステイン [システインの側鎖は、X7位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、

X5は、L、Cha、A、D - L、N - Me - L、K、D、4 - PhF、または F であり、

30

X6およびX12は、独立して、C、c、hC、D - hC、K、D、Or n、D a b、または E から選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X6とX12の側鎖は、共有結合によって互いに連結して、モノスルフィド (- S -)、ジスルフィド (- S - S -)、もしくはアミド結合 (- NH C (O) - もしくは - C (O) - NH -)、または式 - S - CH₂ - C (= Z) - CH₂ - S - の連結部のいずれかを形成しており、Zは、O、N - O - CH₂ C (O) - L¹ - R¹、または N - NH - CH₂ C (O) - L¹ - R¹ であり、R¹は、脂肪酸誘導体であり、L¹は、1つまたは複数のアミノ酸および/または1つまたは複数の - NH - C_{2 - 6} - アルキレン - NH - 単位を含んだリンカーであり、または代わりに、X6はKであり、X13は存在せず、X12はFまたはfであり、X12のC末端は、X6のアミノ側鎖とアミド結合を形成しており、

40

X7は、H、h、A、N - Me - A、a、A i b、K、N a l、F、P、D a p、N、E、またはシステイン [システインの側鎖は、X3位のシステインの側鎖またはX4位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、

X8は、K、k、F、f、A、hF、N - Me - R、E、または 4 - アミノ - I s n であり、

X9は、G、N - Me - G、A、D、L、R、または A i b であり、

X10は、P、A、p、4 - PhP、またはピペコリン酸であり、

X11は、M、D - N l e、N l e、N - Me - N l e、M (O)、A、F、Y、L、K、3 - P y A、または Cha であり、

X13は、C末端であり、存在しないか、または F、f、N - Me - F、N a l、D - N

50

a l、3 - B r - F、(S) - - 3 - F、I、A、a、K、D a p、H、および E から
選択され、

N l e は、L - ノルロイシンであり、

D - h C は、D - ホモシステインであり、

h C は、L - ホモシステインであり、

h F は、L - ホモフェニルアラニンであり、

h K は、L - リシンであり、

N a l は、L - ナファタリン (L-naphathaline) であり、

O r n は、オルニチンであり、

A i b は、 - アミノイソ酪酸であり、

D a b は、(S) - ジアミノ酪酸であり、

D a p は、(S) - 2 , 3 - ジアミノプロピオン酸であり、

M (O) は、メチオニンスルホンであり、

C h a は、(S) - - シクロヘキシルアラニンであり、

4 - アミノ - l s n は、4 - アミノピペリジン - 4 - カルボン酸であり、

l s n は、イソニペコチノイルであり、

p E は、L - ピログルタミン酸であり、

3 - P y A は、3 - (3 - ピリジル) - L - アラニンであり、

4 - P h F は、4 - フェニル - L - フェニルアラニンであり、

N 末端および C 末端は、場合により、1、2、3 または 4 個のグリシンアミノ酸と一緒に
なって環を形成しており、

K、O r n、D a b、D a p、h K、または 4 - アミノ - I s n の側鎖中のアミノ基は、
場合により、親油性基にアミド結合によって連結している]

またはこのポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこれらと実質的に同等
なポリペプチドを提供する。

【 0 0 1 2 】

本明細書においてさらに説明するとおり、本発明のペプチドおよびポリペプチドを構成
するアミノ酸残基を表すのには、当業界で受け入れられている 3 文字または 1 文字略語を
使用する。「D」が前に付く場合を除き、アミノ酸は、L - アミノ酸である。1 文字略語
が大文字であるとき、略語は L - アミノ酸を指す。1 文字略語が小文字であるとき、略語
は D - アミノ酸を指す。

【 0 0 1 3 】

上で挙げた式 I ' のアミノ酸残基のいずれか、または本明細書に記載のその関連式、た
とえば、式 I、I I ~ I X は、本発明のペプチドまたはポリペプチドが、機能活性および
構造特性（たとえば、半減期の延長、分解からの保護、立体配座拘束）を依然として保持
するという前提で、保存的に置換されていてもよい。許容される保存的なアミノ酸置換の
原理および例は、本明細書でさらに説明する。

【 0 0 1 4 】

本発明のポリペプチドは、A P J 受容体を活性化することにより、急性代償不全心不全
(A D H F)、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、B r u g a d a 症候群、心室性頻拍、
アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、筋症、心臓線維症、不
整脈、水分貯留、糖尿病（妊娠糖尿病を含める）、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一
過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷（日焼けを含める）、および
子癇前症の治療において有用である。

【 0 0 1 5 】

好ましい実施形態では、本発明のポリペプチドは、急性代償不全心不全 (A D H F) の
治療において有用である。

【 0 0 1 6 】

別の実施形態では、本発明は、そのような治療の必要のある対象において、A P J 受容
体の活性化に反応を示す障害または疾患を治療する方法であって、対象における A P J 受

10

20

30

40

50

容体の活性化に反応を示す障害または疾患が治療されるような有効量の式 I ~ I X のいずれか 1 つに従うポリペプチドまたはそのアミド、塩のエステルを対象に投与することを含む方法に関する。

【0017】

さらに別の実施形態では、本発明は、式 I ~ I X のいずれか 1 つに従うポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩と、1 種または複数の薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物に関する。

【0018】

さらに別の実施形態では、本発明は、式 I ~ I X のいずれか 1 つに従うポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩と、1 種または複数の治療活性薬剤の医薬合剤とを含む組合せに関する。

10

【0019】

別の実施形態では、本発明は、その必要のある対象において A P J 受容体を活性化させる方法であって、治療有効量の式 I ~ I X のいずれか 1 つに従うポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩を対象に投与することを含む方法に関する。

【発明を実施するための形態】

【0020】

本出願を説明する目的のために、別段指定しない限り、また相応しい場合は常に、以下の定義が適用され、単数形で使用する用語は、複数形の語も包含し、逆の場合も同様である。

20

【0021】

本明細書で使用する時、「A P J 受容体の変調に反応を示す障害または疾患」、「A P J の変調に反応を示す障害および状態」、「A P J 受容体活性の変調に反応を示す障害および状態」、「A P J 受容体活性の活性化（またはアゴニズム）に反応を示す障害」および同様の用語は、急性代償不全心不全（A D H F）、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、B r u g a d a 症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病（妊娠糖尿病を含める）、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷（日焼けを含める）、および子癇前症を包含する。

【0022】

本明細書で使用する時、「A P J 受容体活性の活性化」または「A P J 受容体の活性化」とは、A P J 受容体活性の増大を指す。A P J 受容体活性の活性化は、たとえば、本発明のペプチドおよびポリペプチドの投与による、A P J 受容体の「アゴニズム」とも呼ぶ。

30

【0023】

本明細書で使用する時、用語「ポリペプチド」および「ペプチド」は、互いに連結した 2 個以上のアミノ酸を指すのに、互換的に使用する。以下で表 1 に示す、珍しいまたは自然でないアミノ酸の略語を除き、当業界で受け入れられている 3 文字または 1 文字略語を使用して、本発明のペプチドおよびポリペプチドを構成するアミノ酸残基を表す。「D」が前に付く場合を除き、アミノ酸は、L - アミノ酸である。1 文字略語が大文字であるとき、略語は、D - アミノ酸を指す。1 文字略語が小文字であるとき、略語は、L - アミノ酸を指す。集まりまたは連なりまたはアミノ酸略語を使用して、ペプチドを表す。ペプチドは、N 末端を左側にして示し、配列は、N 末端から C 末端に向かって記す。

40

【0024】

本発明のペプチドは、非天然アミノ酸（すなわち、自然界では発生しない化合物）を含んでおり、当業界で知られているような他のアミノ酸類似体をその代わりとして用いてもよい。

【0025】

ある特定の非天然アミノ酸は、Deiters et al., J Am Chem Soc 125:11782-11783, 2003、Wang and Schultz, Science 301:964-967, 2003、Wang et al., Science 292:498-500

50

、2001、Zhang et al., Science 303:371-373, 2004、または米国特許第7,083,970号に記載の技術によって導入することができる。簡潔に述べると、こうした発現系の一部には、部位特異的突然変異誘発が関与して、本発明のポリペプチドをコードするオープンリーディングフレームに、アンバーTAGなどのナンセンスコドンが導入される。次いで、このような発現ベクターは、導入されたナンセンスコドンに特異的なtRNAを利用することのできる宿主に導入され、選択された非天然アミノ酸を積み込んでいる。本発明のポリペプチドに諸部分をコンジュゲートさせる目的で有益な特定の非天然アミノ酸として、アセチレン側鎖およびアジド側鎖を有するものが挙げられる。

【0026】

本発明のペプチド中の天然または天然でないアミノ酸の1つまたは複数は、コンジュゲーション、機能付与、または他の修飾などのために、たとえば、炭水化物基、ホスフェート基、ファルネシル基、イソファルネシル基、脂肪酸基($C_qH_{q+1}C(O)_2H$ [q は、3~20である])、リンカーなどの化学的エンティティを付加して修飾してもよい。前記修飾は、部位特異的に行っても、または部位特異的でなく行ってもよい。好ましい実施形態では、ペプチドの修飾により、より安定したペプチド(たとえば、より長い*in vivo*半減期を示すもの)が得られる。こうした修飾として、追加のD-アミノ酸の組み込みなどを挙げることができる。いかなる修飾も、ペプチドの所望の生物学的活性の実質的妨げとなるべきでなく、このような修飾により、ペプチドに対して、望ましい特性、たとえば、生物学的活性の増強を付与することができる。

【0027】

前記修飾は、本発明のタンパク質の生物学的特性を、野生型タンパク質に比べて強化するだけでなく、場合によっては、たとえば、標識およびタンパク質半減期延長剤用に、また前記変異体を固体支持体の表面に固定する目的で、付着点として役立つ。

【0028】

ある特定の実施形態では、たとえば、半減期を延長し、または前記ポリペプチドおよび/またはペプチドの生物学的特性を別な形で改善する目的で、このような修飾、たとえば、部位特異的な修飾を使用して、本発明のポリペプチドおよび/またはペプチドに、コンジュゲート、たとえば、PEG基を付着させる。前記技術については、本明細書でさらに記載する。

【0029】

他の実施形態では、このような修飾、たとえば、部位特異的修飾を使用して、本発明のポリペプチドの半減期を延長する他のポリマー、小分子、および組換え型タンパク質配列を付着させる。このような一実施形態として、ポリペプチドおよび/またはペプチドに、脂肪酸または特定のアルブミン結合化合物を付着させるものが挙げられる。他の実施形態では、修飾は、特定のアミノ酸タイプにおいてなされ、ポリペプチド上の1つまたは複数の部位において付着させることができる。

【0030】

他の実施形態では、このような修飾、たとえば、部位特異的修飾を、野生型および/または変異体の多量体、たとえば、二量体(ホモ二量体またはヘテロ二量体)、三量体、または四量体を生成するための付着手段として使用する。こうした多量体タンパク質分子は、アミノ末端またはカルボキシ末端のいずれかにおいて、Fc、ヒト血清アルブミン(HSA)などの他のタンパク質に付着または縮合した、PEG、糖、および/またはPEG-コレステロールコンジュゲートなどの基をさらに有する場合もある。

【0031】

他の実施形態では、このような部位特異的修飾を使用して、部位特異的に組み込まれたピロリシンもしくはピロリシン類似体または自然に存在しないアミノ酸(*para*-アセチル-*Ph*e、*para*-アジド-*Ph*e)の位置により、配向の制御および固体支持体表面へのそのようなタンパク質、ポリペプチドおよび/またはペプチドの付着、またはPEG、糖、および/もしくはPEG-コレステロールコンジュゲートなどの基を付着させることが可能になる、タンパク質、ポリペプチド、および/またはペプチドを生成する。

10

20

30

40

50

【0032】

他の実施形態では、このような部位特異的修飾を使用して、タンパク質、ポリペプチド、および/またはペプチドを部位特異的に架橋し、それによって、限定はしないが、ヘテロ二量体およびヘテロ三量体を始めとするヘテロオリゴマーを生成する。他の実施形態では、このような部位特異的修飾を使用して、タンパク質、ポリペプチド、および/またはペプチドを部位特異的に架橋し、それによって、タンパク質-タンパク質コンジュゲート、タンパク質-ポリペプチドコンジュゲート、タンパク質-ペプチドコンジュゲート、ポリペプチド-ポリペプチドコンジュゲート、ポリペプチド-ペプチドコンジュゲート、またはペプチド-ペプチドコンジュゲートを生成する。他の実施形態では、部位特異的な修飾として、1種類を越えるタイプの分子が、タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドの単一部位において付着するのを可能にする分岐点を挙げることができる。

10

【0033】

他の実施形態では、本明細書で列挙する修飾は、部位特異的でなく行われ、本発明のタンパク質-タンパク質コンジュゲート、タンパク質-ポリペプチドコンジュゲート、タンパク質-ペプチドコンジュゲート、ポリペプチド-ポリペプチドコンジュゲート、ポリペプチド-ペプチドコンジュゲート、またはペプチド-ペプチドコンジュゲートを得ることができる。

【0034】

一部の実施形態では、本発明は、本明細書で開示するペプチドまたはポリペプチドを特異的に結合する抗体などの抗体に結合した、式I~IXのいずれか1つの少なくとも1種のペプチドまたはポリペプチドを含む複合体を提供する。

20

【0035】

当業者なら、本明細書に記載のポリペプチドのいずれかの配列において、その活性を必然的に低下させることなく、種々のアミノ酸置換、たとえば、保存的アミノ酸置換がなされてもよいことは理解されよう。本明細書で使用するときに、「その置換基として一般に使用されるアミノ酸」は、保存的置換(すなわち、化学的特徴が同等であるアミノ酸での置換)を包含する。保存的置換の目的で、非極性(疎水性)アミノ酸としては、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、グリシン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、およびメチオニンが挙げられる。極性(親水性)天然アミノ酸としては、セリン、トレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、およびグルタミンが挙げられる。正電荷を有する(塩基性)アミノ酸としては、アルギニン、リシン、およびヒスチジンが挙げられる。負電荷を有する(酸性)アミノ酸としては、アスパラギン酸およびグルタミン酸が挙げられる。アミノ酸置換の例としては、その対応するD-アミノ酸の代わりにL-アミノ酸を用いるもの、ホモシステインもしくは含チオール側鎖を有する他の非天然アミノ酸の代わりにシステインを用いるもの、ホモリシン、ジアミノ酪酸、ジアミノプロピオン酸、オルニチン、もしくは含アミノ側鎖を有する他の非天然アミノ酸の代わりにリシンを用いるもの、またはノルバリンの代わりにアラニンを用いるものなどが挙げられる。

30

【0036】

本明細書で使用する用語「アミノ酸」とは、その構造でそうした立体異性体型が可能である場合、すべて、そのDおよびL立体異性体の、自然に存在するアミノ酸、天然でないアミノ酸、アミノ酸類似体、および、自然に存在するアミノ酸と同様に機能するアミノ酸模倣物を指す。アミノ酸は、本明細書では、その名称、一般に知られているその3文字記号、またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionが推奨する1文字記号のいずれかで呼ぶ。

40

【0037】

用語「自然に存在する」とは、自然界で見出され、人の手で操作されていない材料を指す。同様に、「自然に存在しない」や「天然でない」などは、本明細書で使用するときに、自然界で見出されない、または人の手で構造が改変されもしくは合成されている材料を指す。アミノ酸に関連して使用するときに、用語「自然に存在する」とは、20種の通常のアミノ酸(すなわち、アラニン(AまたはAla)、システイン(CまたはCys)、アス

50

パラギン酸 (D または Asp)、グルタミン酸 (E または Glu)、フェニルアラニン (F または Phe)、グリシン (G または Gly)、ヒスチジン (H または His)、イソロイシン (I または Ile)、リシン (K または Lys)、ロイシン (L または Leu)、メチオニン (M または Met)、アスパラギン (N または Asn)、プロリン (P または Pro)、グルタミン (Q または Gln)、アルギニン (R または Arg)、セリン (S または Ser)、トレオニン (T または Thr)、バリン (V または Val)、トリプトファン (W または Trp)、およびチロシン (Y または Tyr) を指す。

【0038】

本明細書で使用する用語「非天然アミノ酸」および「天然でないアミノ酸」は、同じであろうと異なっていようと、任意の生物中で、任意の生物からの未改変または改変遺伝子を使用して、生合成によって生成することのできないアミノ酸構造を、互換的に表すものである。これら用語は、自然に存在する(野生型)アペリンタンパク質配列または本発明の配列中に存在しないアミノ酸残基を指す。これらの用語は、限定はしないが、20種の自然に存在するアミノ酸の1つ、セレノシステイン、ピロリシン(Py1)、またはピロリン-カルボキシ-リシン(Pc1、たとえば、PCT特許公開WO2010/48582に記載のとおり)でない、改変アミノ酸および/またはアミノ酸類似体を包含する。このような非天然アミノ酸残基は、自然に存在するアミノ酸の置換によって、および/または自然に存在する(野生型)アペリンタンパク質配列もしくは本発明の配列への非天然アミノ酸の挿入によって導入することができる。非天然アミノ酸残基は、アペリン分子に所望の機能性、たとえば、機能性部分(たとえば、PEG)を連結する能力が付与されるように組み込むこともできる。アミノ酸に関連して使用するとき、記号「U」は、本明細書で使用される「非天然アミノ酸」および「天然でないアミノ酸」を意味するものとする。

10

20

【0039】

加えて、このような「天然でないアミノ酸」をタンパク質に組み込むのに、改変tRNAおよび改変tRNAシンセターゼ(RS)が必要であることも理解される。こうした「選択された」tRNA/RN直交対は、Schultzらが開発した選定方法によって、またはランダムもしくは標的突然変異によって生み出される。例として、ピロリン-カルボキシ-リシンは、ある生物から宿主細胞に移された遺伝子によって生合成で生成され、また天然のtRNAおよびtRNAシンセターゼ遺伝子を使用してタンパク質に組み込まれるので、「天然アミノ酸」であるが、p-アミノフェニルアラニン(Generation of a bacterium with a 21 amino acid genetic code, Mehl RA, Anderson JC, Santoro SW, Wang L, Martin AB, King DS, Horn DM, Schultz PG. J Am Chem Soc. 2003 Jan 29;125(4):935-9を参照されたい)は、生合成で生成されるとはいえ、「選択された」tRNA/tRNAシンセターゼ直交対によってタンパク質に組み込まれるので、「天然でないアミノ酸」である。

30

【0040】

改変コードアミノ酸としては、限定はしないが、ヒドロキシプロリン、 α -カルボキシグルタメート、O-ホスホセリン、アゼチジンカルボン酸、2-アミノアジピン酸、3-アミノアジピン酸、beta-アラニン、アミノプロピオン酸、2-アミノ酪酸、4-アミノ酪酸、6-アミノカプロン酸、2-アミノヘプタン酸、2-アミノイソ酪酸、3-アミノイソ酪酸、2-アミノピメリン酸、第三級-ブチルグリシン、2,4-ジアミノイソ酪酸、デスモシン、2,2'-ジアミノピメリン酸、2,3-ジアミノプロプリオン酸、N-エチルグリシン、N-メチルグリシン、N-エチルアスパラギン、ホモプロリン、ヒドロキシリシン、allo-ヒドロキシリシン、3-ヒドロキシプロリン、4-ヒドロキシプロリン、イソデスモシン、allo-イソロイシン、N-メチルアラニン、N-メチルグリシン、N-メチルイソロイシン、N-メチルペンチルグリシン、N-メチルバリン、ナフトアラニン、ノルバリン、ノルロイシン、オルニチン、ペンチルグリシン、ピペコリン酸およびチオプロリンが挙げられる。用語「アミノ酸」は、ある特定の生物における代謝産物であるが、タンパク質への組み込みについては遺伝暗号によってコードされていない、自然に存在するアミノ酸も包含する。このようなアミノ酸として、限定はしないが

40

50

、オルニチン、D - オルニチン、および D - アルギニンが挙げられる。

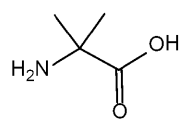
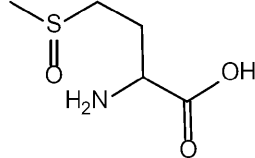
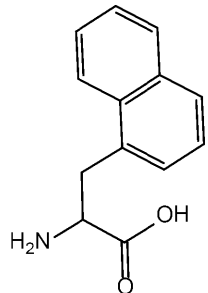
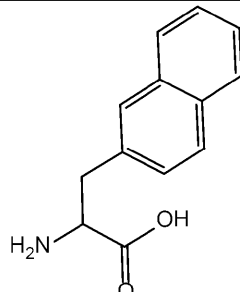
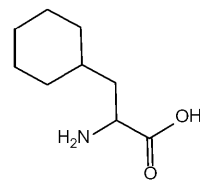
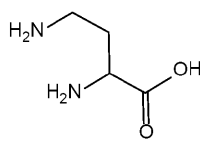
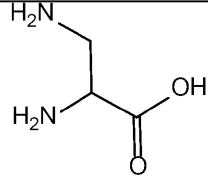
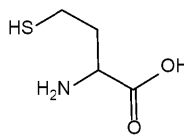
【 0 0 4 1 】

本明細書で使用する用語「アミノ酸類似体」とは、自然に存在するアミノ酸と同じ基礎化学構造、すなわち、単なる例として、水素、カルボキシ基、アミノ基、および R 基に結合した α - 炭素を有する化合物を指す。アミノ酸類似体には、可逆的もしくは不可逆的に化学的ブロックがなされ、またはその C 末端カルボキシ基、その N 末端アミノ基、および / もしくはその側鎖官能基が化学的に修飾されている、天然および天然でないアミノ酸が含まれる。そのような類似体として、限定はしないが、メチオニンスルホキシド、メチオニンスルホン、S - (カルボキシメチル) - システイン、S - (カルボキシメチル) - システインスルホキシド、S - (カルボキシメチル) - システインスルホン、アスパラギン酸 - (γ - メチルエステル)、N - エチルグリシン、アラニンカルボキサミド、ホモセリン、ノルロイシン、およびメチオニンメチルスルホニウムが挙げられる。

【 0 0 4 2 】

【表 1 A】

表1:本発明において述べる天然でないまたは非天然アミノ酸

記号	名称	構造
Aib	α -アミノイソ酪酸	
M(O)	メチオニンスルホン	
1-Nal	1-ナフトアラニン	
2-Nal	2-ナフトアラニン	
Cha	β -シクロヘキシルアラニン	
Dab	ジアミノ酪酸	
Dap	2,3-ジアミノプロピオン酸	
hC	ホモシステイン	

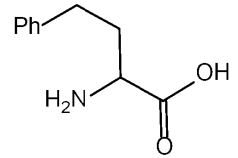
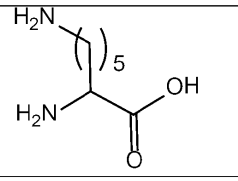
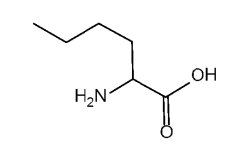
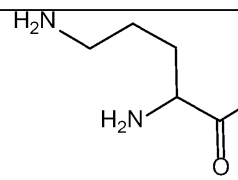
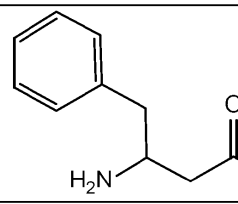
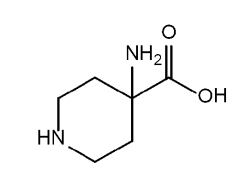
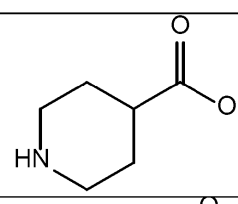
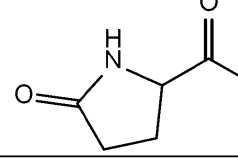
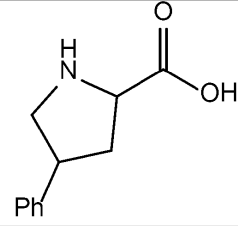
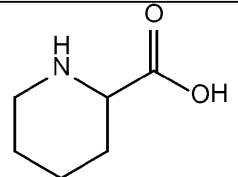
10

20

30

40

【表 1 B】

hF	ホモフェニルアラニン		
hK	ホモリシン		
Nle	ノルロイシン		
Orn	オルニチン		
β -3-F	β -3-フェニルアラニン		
4-アミノ-lsn	4-アミノピペリジン-4-カルボン酸(4アミノ基はペプチド結合を形成する)		
lsn	イソニペコチン酸		
pE	ピログルタミン酸		
4-PhP	4-フェニルプロリン		
	ピペコリン酸		

10

20

30

40

【表 1 C】

	5-アミノ吉草酸	
O2Oc	8-アミノ-3,6-ジオキサオクタン酸	
3-PyA	3-(3-ピリジル)-アラニン	
4-PhF	4-フェニル-フェニルアラニン	

10

20

Na1は、1-ナフトアラニンと2-ナフトアラニンの両方、好ましくは2-ナフトアラニンを指す。

4-フェニルプロリンは、cisとtrans両方の4-フェニルプロリン、好ましくはtrans-4-フェニルプロリンを指す。

【0043】

本明細書で使用するとき、用語「アミド」とは、C末端におけるカルボン酸基のアミド誘導体（たとえば、 $-C(O)NH_2$ 、 $-C(O)NH-C_{1-6}$ アルキル、 $-C(O)NH-C_{1-2}$ アルキルフェニル、 $-C(O)NH-NHBn$ 、または $-C(O)N(C_{1-6}$ アルキル) $_2$ ）を指す。

30

【0044】

用語「アミド」は、N末端におけるアミノ基の誘導体（たとえば、 $-NHC(O)C_{1-16}$ アルキル、 $-NHC(O)(CH_2)_nPh$ （ n は、1~6の整数である）、 $-NHC(O)(CH_2)_2CO_2H$ 、4-Cl-Ph- $(CH_2)_3C(O)NH-$ 、 $C_{1-1}H_{2-3}C(O)NH-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-CH_2-C(O)-NH-$ 、 $C_{1-3}H_{2-7}C(O)NH-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-CH_2-C(O)-NH-$ 、 $C_{1-5}H_{2-7}C(O)NH-(CH_2)_2-O-(CH_2)_2-O-CH_2-C(O)NH-$ 、Ph- $CH_2CH_2NHC(O)-NH-$ 、または $CH_3(OCH_2CH_2)_mC(O)NH-$ （ m は、1~12の整数である）も指す。

40

【0045】

本明細書で使用するとき、用語「エステル」とは、C末端におけるカルボン酸基のエステル誘導体（たとえば、 $-COOR$ ）形態を指し、エステルのRは、メチル、エチル、 n -プロピル、イソプロピル、 n -ブチルなどの C_{1-6} アルキル基、シクロペンチルやシクロヘキシルなどの C_{3-8} シクロアルキル基、フェニルや-nナフチルなどの C_{6-10} アリール基、 C_{6-10} アリール- C_{1-6} アルキル基、たとえば、ベンジル、フェネチル、ベンズヒドリルなどのフェニル- C_{1-2} アルキル基、および-nナフチルメチルなどの-nナフチル- C_{1-2} アルキル基などを指す。経口投与用のエステルとして一般に使用されるピバロイルオキシメチルエステルなども挙げることができる。本発明のポリペプチドが、C末端以外の位置に追加のカルボキシル基またはカルボキシレート基を有す

50

るとき、こうした基がアミド化またはエステル化されているポリペプチドも、本発明のポリペプチドの範疇に入る。そうした場合において、エステルは、たとえば、上述のC末端エステルと同じ種類のエステルでよい。

【0046】

用語「APJ」（「アペリン受容体」、「アンジオテンシン様1受容体」、「アンジオテンシンII様1受容体」などとも呼ばれる）とは、380残基、7回膜貫通ドメインのGi共役型受容体を指し、その遺伝子は、ヒトの11番染色体の長腕上に位置する（NCBI参照配列：NP_005152.1、NCBI参照配列：NM_005161によってコードされる）。APJは、1993年に、変性オリゴヌクレオチドプライマーを使用して、ヒトゲノムDNAから初めてクローン化され（O'Dowd et al. Gene, 136:355-60、1993）、1型アンジオテンシンII受容体と有意に相通的である。しかし、この相同性にもかかわらず、アンジオテンシンIIは、APJを結合しない。この内因性リガンドは、長年の間オーファンであったが、単離され、アペリンと命名された（Tatemoto et al., Biochem Biophys Res Commun 251, 471-6 (1998)）。

10

【0047】

用語「アペリン」は、77残基のプレタンパク質（NCBI参照配列：NP_0059109.3、NCBI参照配列：NM_017413.3によってコードされる）を指し、これがプロセッシングを受けて、生物学的活性型のアペリンペプチド、たとえば、アペリン-36、アペリン-17、アペリン-16、アペリン-13、アペリン-12になる。「アペリン-36」と呼ばれる全長成熟ペプチドは、36アミノ酸を含むが、最も強力なアイソフォームは、「Pyr-1-アペリン-13またはPyr¹-アペリン-13」と呼ばれる、ピログルタミン酸化型のアペリン13量体（アペリン-13）である。種々のアペリン型は、たとえば、米国特許6,492,324B1に記載されている。

20

【0048】

本発明のポリペプチド：

本発明の種々の実施形態を本明細書に記載する。各実施形態において明記する特色を、明記された他の特色と組み合わせて、別の実施形態としてもよいことは、認識されるであろう。

【0049】

したがって、実施形態1において、本発明は、ペプチドまたはポリペプチド式（I'）

30

【0050】

【化2】

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13



[式中、

X1は、ポリペプチドのN末端であり、存在しないか、またはpE、R、I s n、Q、A、K、および5-アミノ-吉草酸から選択され、

40

X2は、R、A、r、N-Me-R、K、H、hF、hK、F、E、またはOrnであり、

X3は、P、A、a、p、4-PhP、K、D、ピペコリン酸、またはシステイン[システインの側鎖は、X7位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している]であり、

X4は、R、A、r、N-Me-R、F、E、またはシステイン[システインの側鎖は、X7位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している]であり、

X5は、L、Cha、A、D-L、N-Me-L、K、D、4-PhF、またはFであり、

X6およびX12は、独立して、C、c、hC、D-hC、K、D、Orn、Dab、ま

50

たはEから選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X6とX12の側鎖は、共有結合によって互いに連結して、ジスルフィド結合またはアミド結合のいずれかを形成しており、

または代わりに、X6はKであり、X13は存在せず、X12はFまたはfであり、X12のC末端は、X6のアミノ側鎖とアミド結合を形成しており、

X7は、H、h、A、N-Me-A、a、Aib、K、Na1、F、P、Dap、N、E、またはシステイン〔システインの側鎖は、X3位のシステインの側鎖またはX4位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している〕であり、

X8は、K、k、F、f、A、hF、N-Me-R、E、または4-アミノ-lsnであり、

X9は、G、N-Me-G、A、D、L、R、またはAibであり、

X10は、P、A、p、4-PhP、またはピペコリン酸であり、

X11は、M、D-Nle、Nle、N-Me-Nle、M(O)、A、F、Y、L、K、3-PyA、またはChaであり、

X13は、C末端であり、存在しないか、またはF、f、N-Me-F、Na1、D-Na1、3-Br-F、(S)-3-F、I、A、a、K、Dap、H、およびEから選択され、

Nleは、L-ノルロイシンであり、

D-hCは、D-ホモシステインであり、

hCは、L-ホモシステインであり、

hFは、L-ホモフェニルアラニンであり、

hKは、L-リシンであり、

Na1は、L-ナファタリンであり、

Ornは、オルニチンであり、

Aibは、 α -アミノイソ酪酸であり、

Dabは、(S)-ジアミノ酪酸であり、

Dapは、(S)-2,3-ジアミノプロピオン酸であり、

M(O)は、メチオニンスルホンであり、

Chaは、(S)- ϵ -シクロヘキシルアラニンであり、

4-アミノ-lsnは、4-アミノピペリジン-4-カルボン酸であり、

lsnは、イソニペコチノイルであり、

pEは、L-ピログルタミン酸であり、

3-PyAは、3-(3-ピリジル)-L-アラニンであり、

4-PhFは、4-フェニル-L-フェニルアラニンであり、

N末端およびC末端は、場合により、1、2、3または4個のグリシンアミノ酸と一緒になって環を形成しており、

K、Orn、Dab、Dap、hK、または4-アミノ-lsnの側鎖中のアミノ基は、場合により、親油性基にアミド結合によって連結している]

またはこのポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこれらと実質的に同等なポリペプチドを提供する。

【0051】

したがって、実施形態2において、本発明は、ペプチドまたはポリペプチド式(I)：

【0052】

【化3】

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13



[式中、

X1は、ポリペプチドのN末端であり、存在しないか、またはpE、R、Q、A、K、5

10

20

30

40

50

- アミノ - 吉草酸、および l s n から選択され、
 X_2 は、R、A、r、N - Me - R、K、H、h F、h K、または Or n であり、
 X_3 は、P、A、a、p、4 - Ph P、ピペコリン酸、またはシステイン [システインの側鎖は、 X_7 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、
 X_4 は、R、A、r、N - Me - R、またはシステイン [システインの側鎖は、 X_7 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、
 X_5 は、L、Ch a、A、D - L、N - Me - L、または F であり、
 X_6 および X_{12} は、独立して、C、c、h C、D - h C、K、D、Or n、D a b、または E から選択される天然または天然でないアミノ酸であり、 X_6 と X_{12} の側鎖は、共有結合によって互いに連結しており、
 または代わりに、 X_6 は K であり、 X_{13} は存在せず、 X_{12} は F または f であり、 X_{12} の C 末端は、 X_6 のアミノ側鎖とアミド結合を形成しており、
 X_7 は、H、h、A、N - Me - A、a、A i b、K、N a l、F、P、D a p、N、またはシステイン [システインの側鎖は、 X_3 位のシステインの側鎖または X_4 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成しており、
 X_8 は、K、k、F、f、A、h F、N - Me - R、または 4 - アミノ - l s n であり、
 X_9 は、G、N - Me - G、A、または A i b であり、
 X_{10} は、P、A、p、4 - Ph P、またはピペコリン酸であり、
 X_{11} は、M、D - N l e、N l e、N - Me - N l e、M (O)、A、F、Y、L、K、または Ch a であり、
 X_{13} は、C 末端であり、存在しないかか、または F、f、N - Me - F、N a l、D - N a l、3 - Br - F、(S) - 3 - F、I、A、a、K、D a p から選択され、
 N l e は、L - ノルロイシンであり、
 D - h C は、D - ホモシステインであり、
 h C は、L - ホモシステインであり、
 h F は、L - ホモフェニルアラニンであり、
 h K は、L - リシンであり、
 N a l は、L - ナファタリンであり、
 Or n は、オルニチンであり、
 A i b は、 α - アミノイソ酪酸であり、
 D a b は、(S) - ジアミノ酪酸であり、
 D a p は、(S) - 2, 3 - ジアミノプロピオン酸であり、
 M (O) は、メチオニンスルホンであり、
 Ch a は、(S) - シクロヘキシルアラニンであり、
 4 - アミノ - l s n は、4 - アミノピペリジン - 4 - カルボン酸であり、
 l s n は、イソニペコチノイルであり、
 p E は、L - ピログルタミン酸であり、
 N 末端および C 末端は、場合により、1、2、3 または 4 個のグリシンアミノ酸と一緒になって環を形成しており、
 K、Or n、D a b、D a p、h K、または 4 - アミノ - l s n の側鎖中のアミノ基は、場合により、親油性基にアミド結合によって連結している]
 またはこのポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこれらと実質的に同等なポリペプチドを提供する。

10

20

30

40

50

【0053】

実施形態 1 または 2 の一態様において、本発明は、K、Or n、D a b、D a p、h K、または 4 - アミノ - l s n の側鎖中のアミノ基が、場合により、アミド結合によって脂肪酸に連結している、式 I または I' のペプチドまたはポリペプチドに関する。この実施形態の別の態様では、脂肪酸は、ラウロイル、ミリストイル、またはパルミトイルから選択され、ラウロイルは、 $C_{11}H_{23}C(O)-$ であり、ミリストイルは、 $C_{13}H_{27}C(O)-$ であり、パルミトイルは、 $C_{15}H_{31}C(O)-$ である。代わりに、脂肪酸

(ラウロイル、ミリストイル、パルミトイルなど)の末端 CH_3 部分が、その対応するカルボン酸に酸化されていてもよい。

【0054】

実施形態1または2の一態様において、本発明は、K、Orn、Dab、Dap、hK、または4-アミノ-lsnの側鎖中のアミノ基が、場合により、アミド結合によって親油性基に連結しており、親油性基は、上述のとおり脂肪酸、ならびにラウロイル(O2Oc)、ミリストイル(O2Oc)、およびパルミトイル(O2Oc)から選択され、ラウロイル(O2Oc)は、 $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ であり、ミリストイル(O2Oc)は、 $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ であり、パルミトイル(O2Oc)は、 $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{C}(\text{O})\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})-$ である、式IまたはI'のペプチドまたはポリペプチドに関する。代わりに、脂肪酸(ラウロイル、ミリストイル、パルミトイルなど)の末端 CH_3 部分が、その対応するカルボン酸に酸化されていてもよい。

10

【0055】

実施形態3において、本発明は、式IまたはI'のペプチドまたはポリペプチド

【0056】

【化4】

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13

20



[式中、

X1は、ポリペプチドのN末端であり、存在しないか、またはpE、R、Q、A、K(パルミトイル)、K(ミリストイル)、K(ラウロイル)、5-アミノ-吉草酸、およびlsnから選択され、

X2は、R、A、r、N-Me-R、K、H、hF、hK、またはOrnであり、

X3は、P、A、a、p、4-PhP、ピペコリン酸、またはシステイン[システインの側鎖は、X7位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している]であり、

X4は、R、A、r、N-Me-R、またはシステイン[システインの側鎖は、X7位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している]であり、

X5は、L、Cha、A、D-L、N-Me-L、またはFであり、

X6およびX12は、独立して、C、c、hC、D-hC、K、D、Orn、Dab、またはEから選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X6とX12の側鎖は、共有結合によって互いに連結しており、

または代わりに、X6はKであり、X13は存在せず、X12はFまたはfであり、X12のC末端は、X6のアミノ側鎖とアミド結合を形成しており、

X7は、H、h、A、N-Me-A、a、Aib、K(ラウロイル)、K(パルミトイル)、Na1、F、P、Dap、N、またはシステイン[システインの側鎖は、X3位のシステインの側鎖またはX4位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している]であり、

30

40

X8は、K、k、F、f、A、hF、N-Me-R、または4-アミノ-lsnであり、

X9は、G、N-Me-G、A、またはAibであり、

X10は、P、A、p、4-PhP、またはピペコリン酸であり、

X11は、M、D-Nle、Nle、N-Me-Nle、M(O)、A、F、Y、L、K(パルミトイル)、またはChaであり、

X13は、C末端であり、存在しないか、またはF、f、N-Me-F、Na1、D-Na1、3-Br-F、(S)-3-F、I、A、a、K(ラウロイル)、K(ミリストイル)、K(パルミトイル)、K(O2Oc-パルミトイル)、Dap(パルミトイル)から選択され、

50

K (ラウロイル) は、N - - ラウロイル - L - リシンであり、
 K (パルミトイル) は、N - - パルミトイル - L - リシンであり、
 K (ミリストイル) は、N - - ミリストイル - L - リシンであり、
 K (O2Oc - パルミトイル) は、N - - (O2Oc - パルミトイル) - L - リシンで
 あり、パルミトイル (O2Oc) は、 $C_{15}H_{31}C(O)NH - (CH_2)_2 - O - (CH_2)_2 - O - CH_2 - C(O) -$ であり、
 N1e は、L - ノルロイシンであり、
 D - hC は、D - ホモシステインであり、
 hC は、L - ホモシステインであり、
 hF は、L - ホモフェニルアラニンであり、
 hK は、L - リシンであり、
 Na1 は、L - ナファタリンであり、
 Orn は、オルニチンであり、
 Aib は、 - アミノイソ酪酸であり、
 Dab は、(S) - ジアミノ酪酸であり、
 Dap は、(S) - 2, 3 - ジアミノプロピオン酸であり、
 M(O) は、メチオニンスルホンであり、
 Cha は、(S) - - シクロヘキシルアラニンであり、
 4 - アミノ - lsn は、4 - アミノピペリジン - 4 - カルボン酸であり、
 lsn は、イソニペコチノイルであり、
 pE は、L - ピログルタミン酸であり、
 N末端およびC末端は、場合により、1、2、3または4個のグリシンアミノ酸と一緒に
 なって環を形成している]
 またはこのポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩に関する。

10

20

【0057】

実施形態4において、本発明は、式II:

【0058】

【化5】

X1-R-P-R-X5-X6-X7-X8-X9-P-X11-X12-X13

30

II

[X1 は、不存在、pE、R、Q、またはIsnであり、
 X5 は、LまたはChaであり、
 X7 は、H、Aib、F、K (ラウロイル)、またはK (パルミトイル) であり、
 X8 は、K、F、または4 - アミノ - lsnであり、
 X9 は、GまたはAibであり、
 X11 は、N1eまたはChaであり、
 X13 は、存在しないか、またはF、f、K (ラウロイル)、K (パルミトイル) であり
 、
 X6 および X12 は、独立して、C、c、hC、D - hC、K、D、Orn、Dab、ま
 たはEから選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X6とX12の側鎖は、共
 有結合によって互いに連結しており、または代わりに、X6はKであり、X13は存在せ
 ず、X12はFまたはfであり、X12のC末端は、X6のアミノ側鎖とアミド結合を形
 成しており、
 N末端およびC末端は、場合により、1、2、3または4個のグリシンアミノ酸と一緒に
 なって環を形成している]
 を有する、実施形態1、2または3に従うペプチドもしくはポリペプチド、またはポリペ
 プチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこれらと実質的に同等なポリペプチドに

40

50

関する。

【0059】

実施形態5において、本発明は、

X1が、不存在、pE、R、Q、またはIsnであり、

X5が、LまたはChaであり、

X7が、H、Aib、F、K（ラウロイル）、またはK（パルミトイル）であり、

X8が、K、F、または4-アミノ-lsnであり、

X9が、GまたはAibであり、

X11が、NleまたはChaであり、

X13が、存在しないか、またはF、f、K（ラウロイル）、K（パルミトイル）であり

10

、
X6およびX12が、独立して、C、K、D、Orn、Dab、またはEから選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X6とX12の側鎖が、共有結合によって互いに連結しており、または代わりに、X6がKであり、X13が存在せず、X12がFまたはfであり、X12のC末端は、X6のアミノ側鎖とアミド結合を形成しており、N末端およびC末端が、場合により、1、2、3または4個のグリシンアミノ酸と一緒に環を形成している、実施形態4に従うペプチドもしくはポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこれらと実質的に同等なポリペプチドに関する。

【0060】

20

実施形態4の別の態様である実施形態6において、本発明は、

X1が、不存在、pE、R、Q、またはIsnであり、

X5が、LまたはChaであり、

X7が、H、Aib、F、K（ラウロイル）、またはK（パルミトイル）であり、

X8が、K、F、または4-アミノ-lsnであり、

X9が、GまたはAibであり、

X11が、NleまたはChaであり、

X13が、存在しないか、またはF、f、K（ラウロイル）、K（パルミトイル）であり

、
X6およびX12が、独立して、C、c、hC、D-hC、K、D、Orn、Dab、またはEから選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X6とX12の側鎖が、共有結合によって互いに連結しており、N末端およびC末端が、場合により、1、2、3または4個のグリシンアミノ酸と一緒に環を形成している、式IIのペプチドもしくはポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこれらと実質的に同等なポリペプチドに関する。

30

【0061】

先行する実施形態のいずれか一形態、より詳細には実施形態1～6のいずれか一形態のさらに別の態様において、本発明は、X6およびX12が、独立して、C、K、D、Orn、Dab、またはEから選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X6とX12の側鎖が、共有結合によって互いに連結している、式I、I'もしくはIIのペプチドおよびポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこれらと実質的に同等なポリペプチドに関する。

40

【0062】

実施形態7において、本発明は、X6およびX12が、独立して、K、Orn、Dab、E、およびDから選択され、X6とX12の側鎖が、互いにアミド結合を形成している、先行する実施形態のいずれか一形態、より詳細には実施形態1～6のいずれか一形態に従う式I、I'もしくはIIのペプチドもしくはポリペプチド、またはペプチドもしくはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩に関する。この実施形態の別の態様では、X6は、K、Orn、またはDabであり、X12は、EまたはDであり、X6とX12の側鎖は、アミド結合を形成している。この実施形態のさらに別の態様では、X6はKで

50

あり、X 1 2 は E または D である。

【 0 0 6 3 】

実施形態 8 において、本発明は、X 6 および X 1 2 が、独立して、C、c、D - h C、または h C であり、X 6 と X 1 2 の側鎖が、一緒になってジスルフィド結合を形成している、先行する実施形態のいずれか一形態、より詳細には実施形態 1 ~ 6 のいずれか一形態に従う式 I、I' もしくは I I のペプチドもしくはポリペプチド、またはペプチドもしくはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩に関する。この実施形態の別の態様では、X 6 および X 1 2 は、C である。

【 0 0 6 4 】

実施形態 8 A において、本発明は、X 6 および X 1 2 が、独立して、C、c、D - h C、または h C であり、X 6 と X 1 2 の側鎖が、一緒になってモノスルフィド (- S -) 結合を形成している、先行する実施形態のいずれか一形態、より詳細には実施形態 1 ~ 6 のいずれか一形態に従う式 I、I' もしくは I I のペプチドもしくはポリペプチド、またはペプチドもしくはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩に関する。この実施形態の別の態様では、X 6 および X 1 2 は、C である。

【 0 0 6 5 】

実施形態 8 B において、本発明は、X 6 および X 1 2 が、独立して、C、c、D - h C、または h C であり、X 6 と X 1 2 の側鎖が、一緒になって式 - S - CH₂ - C(=Z) - CH₂ - S - [式中、=Z は、=O、=N - O - CH₂ C(O) - L¹ - R¹、または =N - NH - CH₂ C(O) - L¹ - R¹ であり、R¹ は、脂肪酸誘導体であり、L¹ は、1 つまたは複数のアミノ酸および / または 1 つまたは複数の - NH - C₂₋₆ - アルキレン - NH - 単位を含んでいるリンカーである] の連結部分を形成している、先行する実施形態のいずれか一形態、より詳細には実施形態 1 ~ 6 のいずれか一形態に従う式 I、I' もしくは I I のペプチドもしくはポリペプチド、またはペプチドもしくはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩に関する。この実施形態の別の態様では、X 6 および X 1 2 は、C である。

【 0 0 6 6 】

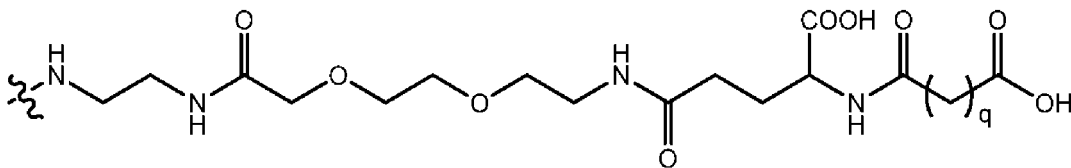
L¹ は、脂肪酸誘導体をエステル結合またはアミド結合によってポリペプチドに接続する適切な有機リンカーである。通常、リンカーは、たとえば (O 2 O c) 単位やグルタミン酸などの 1 つまたは複数のアミノ酸部分または - NH - C₂₋₆ - アルキレン - NH - ジアミノ単位またはこれらの組合せを含んでいる。R¹ は、ポリペプチドの半減期を延長するために加えることのできる、脂肪酸誘導体などの特性変更基である。この実施形態の一態様では、R¹ は、式 C_q H_{q+1} C(O)₂ H [式中、q は 3 ~ 20 である] の脂肪酸である。場合により、末端 CH₃ 単位は、その対応するカルボン酸に酸化されていてもよい。

【 0 0 6 7 】

特定の一実施形態において、- L¹ - R¹ は、次式である。

【 0 0 6 8 】

【 化 6 】



q は、3 ~ 20 の整数である。好ましくは、q は、12 ~ 18 の整数である。

【 0 0 6 9 】

X 6 および X 1 2 が、独立して、C、c、D - h C、または h C であり、X 6 と X 1 2 の側鎖が、一緒になって、式 - S - CH₂ - C(=Z) - CH₂ - S - [式中、=Z は、=O、=N - O - CH₂ C(O) - L¹ - R¹、または =N - NH - CH₂ C(O) - L

10

20

30

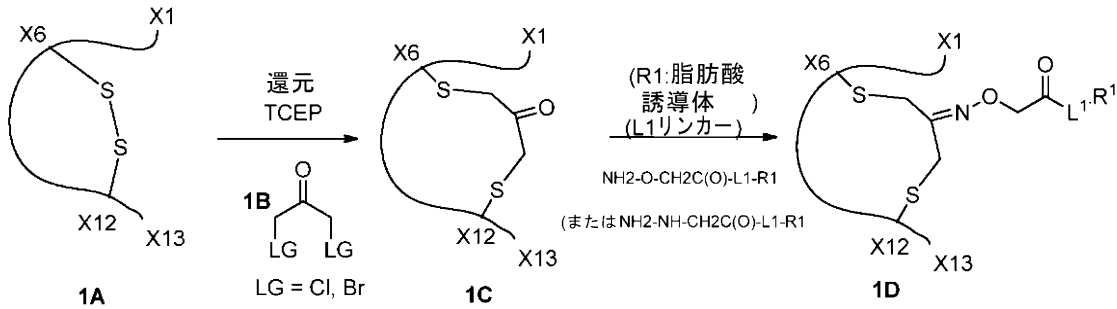
40

50

¹ - R¹である]の連結部分を形成している式 I、I' もしくは I I のペプチドまたはポリペプチドは、スキーム 1 に従って合成することができる。

【0070】

【化7】



10

スキーム1

【0071】

(1A)のポリペプチドジスルフィド結合を還元した後、二求電子性化合物(1B)との求核反応によって、ポリペプチド(1C)を生成する。ポリペプチド(1C)のケトン官能性がオキシアミンまたはヒドラジンと容易に縮合して、ポリペプチド1Dが生じた。

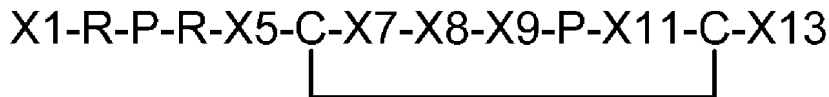
20

【0072】

実施形態9において、本発明のある特定のポリペプチドとして、式 I I I :

【0073】

【化8】



III;

を有する、実施形態1~6および8のいずれか一形態に従うペプチドもしくはポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩が挙げられる。実施形態9Aにおいて、本発明は、6位および12位の2つのシステインが、ジスルフィド結合(-S-S-)、モノスルフィド結合(-S-)、または式-S-CH₂-C(=Z)-CH₂-S-[式中、Zは上で規定したとおりである]の連結部を形成している、式 I I I のペプチドおよびポリペプチドに関する。実施形態9または9Aの別の態様では、本発明は、6位および12位にある2つのシステインが、ジスルフィド結合(-S-S-)を形成している式 I I I のペプチドまたはポリペプチドを包含する。

30

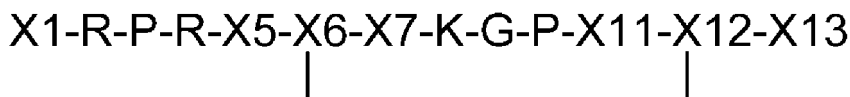
【0074】

実施形態10において、本発明のある特定のペプチドおよびポリペプチドとして、式 I V :

40

【0075】

【化9】



IV;

を有する、実施形態1~9のいずれか一形態に従うペプチドおよびポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩が挙げられる。

50

【 0 0 7 6 】

実施形態 1 1 において、本発明のある特定のポリペプチドとして、式 V :

【 0 0 7 7 】

【 化 1 0 】

X1-R-P-R-X5-C-X7-K-G-P-X11-C-X13



V;

10

を有する、実施形態 1 ~ 6 および 8 ~ 1 0 のいずれか一形態に従うポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩が挙げられる。実施形態 1 1 A において、本発明は、6 位および 1 2 位の 2 つのシステインが、ジスルフィド結合 (- S - S -)、モノスルフィド結合 (- S -)、または式 - S - C H ₂ - C (= Z) - C H ₂ - S - [式中、Z は上で規定したとおりである] の連結部を形成している、式 V のペプチドおよびポリペプチドに関する。実施形態 1 1 または 1 1 A の別の態様では、本発明は、6 位および 1 2 位の 2 つのシステインがジスルフィド結合 (- S - S -) を形成している式 V のペプチドまたはポリペプチドを包含する。

【 0 0 7 8 】

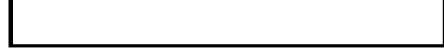
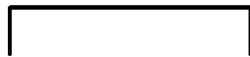
実施形態 1 2 において、本発明は、X 3 がシステインであり、システインの側鎖が、X 7 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している、(実施形態 1、2 または 3 に従う) 式 I または I ' の二環式ペプチドまたはポリペプチドに関する。この実施形態は、式 V I のペプチドおよびポリペプチド

20

【 0 0 7 9 】

【 化 1 1 】

X1-X2-C-X4-X5-C-C-X8-X9-X10-X11-C-X13



VI

30

またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩で表される。

【 0 0 8 0 】

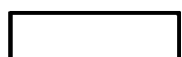
実施形態 1 3 において、本発明は、X 4 がシステインであり、システインの側鎖が、X 7 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している、(実施形態 1、2 または 3 に従う) 式 I または I ' の二環式ペプチドまたはポリペプチドに関する。この実施形態は、式 V I I のペプチドおよびポリペプチド

【 0 0 8 1 】

【 化 1 2 】

40

X1-X2-X3-C-X5-C-C-X8-X9-X10-X11-C-X13



VII

またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩で表される。

【 0 0 8 2 】

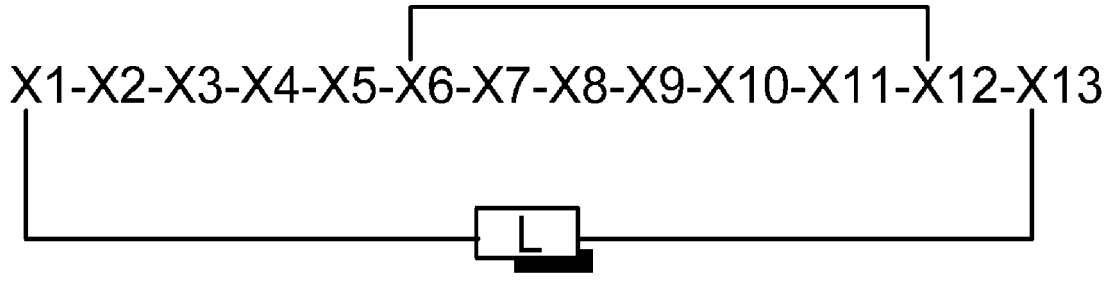
実施形態 1 4 において、本発明は、N 末端および C 末端が、場合により、1、2、3 ま

50

たは4個のグリシンアミノ酸と一緒に環を形成している、実施形態1~11のいずれか一形態に従う式I~Vのいずれか1つのペプチドもしくはポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこれらと実質的に同等なポリペプチドに関する。この実施形態は、式VII I I :

【0083】

【化13】



10

【式中、Lは(G)_rであり、Gはグリシンであり、rは、1、2、3または4である】を有するペプチドもしくはポリペプチドまたはポリペプチドの塩で表される。

【0084】

実施形態14の別の態様である実施形態15において、本発明は、X1がQであり、X13がFであり、rが2である式VII I Iのペプチドもしくはポリペプチド、またはそのエステル、アミド、もしくは塩に関する。

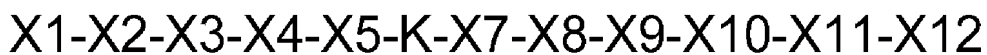
20

【0085】

実施形態16において、本発明は、X6がKであり、X13が存在せず、X12がFまたはfであり、X12のC末端が、X6のアミノ側鎖とアミド結合を形成している、実施形態1、2もしくは3に従う式IまたはI'によるペプチドまたはポリペプチドに関する。この実施形態は、式IXのペプチドもしくはポリペプチド

【0086】

【化14】



30

またはポリペプチドのエステル、アミド、もしくは塩で表される。

【0087】

上または下で列挙する式I'のアミノ酸残基のいずれか、または本明細書に記載するその関連式およびすべての実施形態、たとえば、式I、II~IXは、本発明のペプチドまたはポリペプチドが、機能活性および構造特性(たとえば、半減期の延長、分解からの保護、立体配座拘束)を依然として保持するという前提で、保存的に置換されていてもよい。許容される保存的なアミノ酸置換の原理および例は、本明細書でさらに説明する。

【0088】

40

以下の実施形態は、独立して、まとめて、またはいずれかの組合せもしくは部分的組合せ(sub-combination)にして使用することができる。

【0089】

実施形態17において、本発明は、X1がpEである、式I'、II~VII、およびIXのいずれか1つ、または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラスのいずれかに従う(すなわち、実施形態1~13および16のいずれか一形態に従う)ペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩に関する。

【0090】

実施形態18において、本発明は、X1が存在しない、式II~VIIおよびIXのいずれか1つ、または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラスのいずれかに従う(す

50

なわち、実施形態 1 ~ 13 および 16 のいずれか一形態に従う) ペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩に関する。この実施形態の一態様では、ペプチドの N 末端は、アミドである。実施形態 18 の別の態様である実施形態 19 において、本発明は、X1 が存在せず、N 末端が式 -NHR のアミドであり、R が、 $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})-$ 、 $\text{CH}_3-(\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2)_m-\text{C}(\text{O})-$ 、パルミトイル(O_2Oc)_p、ミリストイル(O_2Oc)_p、ラウロイル(O_2Oc)_p もしくは $\text{Ph}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})-$ 、アセチル、ベンゾイル、フェナシル、スクシニル、オクタノイル、4-フェニルブタノイル、4-Cl-Ph-(CH₂)₃C(O)-、または $\text{Ph}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})-$ であり、

p は、1 ~ 4 の整数であり、

m は、1 ~ 12 の整数であり、

ラウロイル(O_2Oc)_p は、 $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{C}(\text{O})[\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})]_p-$ であり、

ミリストイル(O_2Oc)_p は、 $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{C}(\text{O})[\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})]_p-$ であり、

パルミトイル(O_2Oc)_p は、 $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{C}(\text{O})[\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{O})]_p-$ である、式 I ~ VII および IX のいずれか 1 つ、

または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラスのいずれかに従うペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩に関する。この実施形態の特定の一態様では、R は、アセチル、ベンゾイル、フェナシル、スクシニル、オクタノイル、4-フェニルブタノイル、4-Cl-Ph-(CH₂)₃C(O)-、または $\text{Ph}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})-$ である。

【0091】

実施形態 20 において、本発明は、N 末端が、式 NHR1 のアミドであり、R1 は、 $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})-$ 、 $\text{CH}_3-(\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2)_m-\text{C}(\text{O})-$ 、パルミトイル(O_2Oc)、ミリストイル(O_2Oc)、ラウロイル(O_2Oc)、または $\text{Ph}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O})-$ であり、m、ラウロイル(O_2Oc)、ミリストイル(O_2Oc)、およびパルミトイル(O_2Oc) は、上で規定している、式 I ~ VII および IX のいずれか 1 つ、または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラスに従う(すなわち、実施形態 1 ~ 13 および 16 のいずれか一形態に従う) ペプチドもしくはポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩に関する。

【0092】

実施形態 21 において、本発明は、X13 が F である、式 I ~ VII のいずれか 1 つ、または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラスのいずれかに従う(すなわち、実施形態 1 ~ 13 のいずれか一形態に従う) ペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩に関する。

【0093】

実施形態 22 において、本発明は、X13 が存在しない、式 I ~ VII のいずれか 1 つ、または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラスのいずれかに従う(すなわち、実施形態 1 ~ 13 のいずれか一形態に従う) ペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩に関する。実施形態 22 の一態様である実施形態 23 において、C 末端は、アミドである。実施形態 23 の別の態様である実施形態 24 において、本発明は、C 末端が、式 -C(O)R2 のアミドであり、R2 が、-NH₂、-NH-Me、-NH-NHBn、または -NH-(CH₂)₂-Ph である、式 I ~ VII のいずれか 1 つ、または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラスのいずれかに従うペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩に関する。実施形態 23 の好ましい態様では、本発明は、C 末端が、式 -C(O)R2 のアミドであり、R2 が -NH-(CH₂)₂-Ph である、式 I ~ VII のいずれか 1 つ、または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラ

10

20

30

40

50

スのいずれかに従うペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩に関する。

【0094】

実施形態25において、本発明は、X5がLである、式I~IXのいずれか1つ、または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラスのいずれかに従う(すなわち、実施形態1~25のいずれか一形態に従う)ペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩に関する。

【0095】

実施形態26において、本発明は、X7がHである、式I~V、VIIおよびIXのいずれか1つ、または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラスのいずれかに従う(すなわち、実施形態1~11および14~25のいずれか一形態に従う)ペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩に関する。

10

【0096】

実施形態27において、本発明は、X8が、KまたはFである、式I~IIIおよびVI~IXのいずれか1つ、または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラスのいずれかに従う(すなわち、実施形態1~9および12~26のいずれか一形態に従う)ペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩に関する。この実施形態の別の態様では、X8はKである。

【0097】

実施形態28において、本発明は、X9がGである、式I~IIIおよびVI~IXのいずれか1つ、または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラスのいずれかに従う(すなわち、実施形態1~9および12~27のいずれか一形態に従う)ペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩に関する。

20

【0098】

実施形態29において、本発明は、X11がN1eである、式I~IXのいずれか1つ、または上述した他のいずれかのクラスおよびサブクラスのいずれかに従う(すなわち、実施形態1~28のいずれか一形態に従う)ペプチドおよびポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩に関する。

【0099】

したがって、実施形態30において、本発明は、ペプチドまたはポリペプチド式(I')

30

【0100】

【化15】

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13



[式中、

X1は、ポリペプチドのN末端であり、存在しないか、またはpE、R、l s n、およびQから選択され、

40

X2は、R、r、F、またはEであり、

X3は、P、p、K、D、4-PhF、またはシステイン[システインの側鎖は、X7位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している]であり、

X4は、R、F、E、またはシステイン[システインの側鎖は、X7位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している]であり、

X5は、L、K、D、または4-PhFであり、

X6およびX12は、独立して、C、c、hC、D-hC、K、D、Orn、Dab、またはEから選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X6とX12の側鎖は、共有結合によって互いに連結して、ジスルフィド結合またはアミド結合のいずれかを形成しており、

50

本明細書で使用するとき、語句「相同アミノ酸配列」またはその変形形態は、アミノ酸レベルでの相同性が少なくとも指定されたパーセンテージであることを特徴とする配列を指し、「配列同一性」と互換的に使用する。相同アミノ酸配列には、保存的アミノ酸置換を含んでおり、そのポリペプチドが、同じ結合および/または活性を有する、アミノ酸配列が含まれる。一部の実施形態では、アミノ酸配列は、比較配列との同一性が、99%までの少なくとも60%以上であれば、相同である。一部の実施形態では、アミノ酸配列は、比較配列と、60までの1以上のアミノ酸置換、付加、または欠失が共通していれば、相同である。一部の実施形態では、相同アミノ酸配列は、5以下または3以下の保存的アミノ酸置換を有する。

【0108】

相同性は、ポリペプチドレベルでもよい。本発明のペプチドもしくはポリペプチドまたはその一部分と、異なるアミノ酸配列との同一性の程度またはパーセンテージは、2つの配列の配列比較における正確な一致の数を、「発明配列」または「外来配列」のいずれか短い方の長さで割ったものとして算出される。結果は、同一性パーセントとして示す。

【0109】

詳細な実施例に記載するアミノ酸配列との相同性が約80~99.9%、好ましくは90~99.9%であり、アペリン-13またはpyr-1-アペリン-13を凌ぐ血漿安定性を有するアミノ酸配列を含むポリペプチドは、本発明のポリペプチドの範疇に入る。一実施形態では、血漿安定性の改善は、少なくとも2倍である。一実施形態では、本発明のポリペプチドは、血漿安定性が少なくとも30分である。別の実施形態では、本発明のポリペプチドは、血漿安定性が少なくとも60分、好ましくは少なくとも100分、より好ましくは少なくとも150分である。

【0110】

用語「実質的に同等」とは、受容体結合活性やシグナル伝達活性などの性質が同等であることを意味する。したがって、受容体結合活性の強度やポリペプチドの分子量などの度合いに差が存在しても差し支えない。

【0111】

本明細書に記載のポリペプチド、または1または複数のアミノ酸の置換、欠失、付加、もしくは挿入によるその実質的同等物は、上の意味でのアミノ酸配列実質的同等物（複数可）を含んだポリペプチドとして挙げることができる。本明細書に記載のポリペプチド、または1~5、好ましくは1~3、より好ましくは1もしくは2アミノ酸の天然もしくは天然でないアミノ酸での置換によるその実質的同等物は、上の意味でのアミノ酸配列実質的同等物（複数可）を含んだポリペプチドとして挙げることができる。別の改変および変更として、式I、II、III、IV、V、VI、VII、VIIIまたはIXのペプチドまたはポリペプチドのアペリンアゴニスト活性が維持され、血漿安定性がピログルタミン酸化型のアペリン-13より改善されている限り、L-アミノ酸のD-アミノ酸での置き換え、または、限定はしないが、リン酸化、カルボキシル化、アルキル化などを含めた他の変形形態を挙げることができる。たとえば、D-アミノ酸は、ポリペプチドの活性および安定性に関して、式I、II、III、IV、V、VI、VII、VIIIまたはIXの環状ペプチドおよびポリペプチドの2(X2)位、3(X3)位、5、6、7および8(X5、X6、X7およびX8)位、10(X10)位、ならびに13(X13)位において、良好な認容性を示す。

【0112】

本明細書で使用するとき、用語「薬学的に許容される塩」とは、本発明のポリペプチドの生物学的有効性および特性を保持し、通常は生物学的または別な意味で望ましい塩を指す。多くの場合、本発明のポリペプチドは、アミノ基および/もしくはカルボキシル基またはそれと同様の基が存在するおかげで、酸および/または塩基の塩を形成することができる。

【0113】

薬学的に許容される酸付加塩、たとえば、酢酸塩、アスパラギン酸塩、安息香酸塩、ペ

10

20

30

40

50

シル酸塩、臭化物／臭化水素酸塩、炭酸水素塩／炭酸塩、硫酸水素塩／硫酸塩、カンファースルホン酸塩、塩化物／塩酸塩、クロルテオフィリン酸塩 (chlortheophyllonate)、クエン酸塩、エタンジスルホン酸塩、フマル酸塩、グルセプト酸塩、グルコン酸塩、グルクロン酸塩、馬尿酸塩、ヨウ化水素酸塩／ヨウ化物、イセチオン酸塩、乳酸塩、ラクチオン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、マンデル酸塩、メシル酸塩、メチル硫酸塩、ナフトエ酸塩、ナブシル酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オクタデカン酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、リン酸塩／リン酸水素塩／リン酸二水素塩、ポリガラクトロン酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、スルホサリチル酸塩、酒石酸塩、トシル酸塩、およびトリフルオロ酢酸塩は、無機酸および有機酸に対して生成することができる。

10

【0114】

塩を導くことのできる無機酸としては、たとえば、塩酸、臭化水素酸、硫酸、硝酸、リン酸などが挙げられる。

【0115】

塩を導くことのできる有機酸としては、たとえば、酢酸、プロピオン酸、グリコール酸、シュウ酸、マレイン酸、マロン酸、コハク酸、フマル酸、酒石酸、クエン酸、安息香酸、マンデル酸、メタンスルホン酸、エタンスルホン酸、トルエンスルホン酸、スルホサリチル酸などが挙げられる。薬学的に許容される塩基付加塩は、無機塩基および有機塩基に対して生成することができる。

20

【0116】

塩を導くことのできる無機塩基としては、たとえば、アンモニウム塩、および周期表のⅠ～ⅩⅠⅠ列の金属が挙げられる。ある特定の実施形態では、塩は、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、銀、亜鉛、および銅から導かれ、特に適切な塩として、アンモニウム、カリウム、ナトリウム、カルシウム、およびマグネシウム塩が挙げられる。

【0117】

塩を導くことのできる有機塩基としては、たとえば、第一級、第二級、および第三級アミン、自然に存在する置換アミンを始めとする置換アミン、環状アミン、塩基性イオン交換樹脂などが挙げられる。ある特定の有機アミンとして、イソプロピルアミン、ベンザチン、コリネート (cholinat)、ジエタノールアミン、ジエチルアミン、リシン、メグルミン、ピペラジン、およびトロメタミンが挙げられる。

30

【0118】

本発明の薬学的に許容される塩は、従来の化学的方法によって、親化合物、塩基性または酸性部分から合成することができる。一般に、そのような塩は、遊離酸形態のこうした化合物を化学量論量の相応しい塩基 (Na、Ca、Mg、またはKの水酸化物、炭酸塩、炭酸水素塩など) と反応させる、または遊離塩基形態のこうした化合物を化学量論量の相応しい酸と反応させることにより調製できる。こうした反応は通常、水もしくは有機溶媒中または二者の混合物中で実施される。一般に、実用可能な場合、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、またはアセトニトリルのような非水性媒質の使用が望ましい。追加の適切な塩の一覧は、たとえば、“Remington’s Pharmaceutical Sciences”, 20th ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., (1985)ならびにStahlおよびWermuthによる“Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use” (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002)で見ることができる。

40

【0119】

本明細書で使用するとき、用語「薬学的に許容される担体」は、当業者に知られているであろうが、ありとあらゆる溶媒、分散媒、コーティング剤、界面活性剤、酸化防止剤、保存剤 (たとえば、抗菌剤、抗真菌剤)、等張化剤、吸収遅延剤、塩、保存剤、薬物、薬物安定剤、結合剤、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、甘味剤、着香剤、色素など、およびこれらの組合せを包含する (たとえば、Remington’s Pharmaceutical Sciences, 18th Ed. Mack Printing Company, 1990, pp. 1289- 1329を参照されたい)。従来のいかなる担体も、

50

活性成分と相容れない範囲にあるものを除き、治療組成物または医薬組成物におけるその使用を企図する。

【0120】

本発明のポリペプチドの「治療有効量」という用語は、対象の生物学的または医学的反応、たとえば、症状の寛解、状態の緩和、疾患の進行の緩慢化もしくは遅延、または疾患の予防などを惹起する、本発明のポリペプチドの量を指す。非限定的な一実施形態では、用語「治療有効量」は、対象に投与されたとき、(1)(i)APJ受容体の活性化によって寛解し、(ii)APJ受容体の活性と関連し、または(iii)APJ受容体の異常な活性を特徴とする状態、障害、もしくは疾患、またはその症状の少なくとも部分的な緩和、抑制、予防、および/または寛解をなす、または(2)APJ受容体を活性化するの

10

【0121】

非限定的な別の実施形態では、用語「治療有効量」とは、細胞、組織、細胞でない生物材料、または培地に投与したとき、APJ受容体を少なくとも部分的に活性化するのに有効である、本発明のポリペプチドの量を指す。当業者の認めるところとなり、特定の薬剤の、有効である絶対量は、所望の生物学的終点、送達する薬剤、ターゲット組織などの要因に応じて様々となり得る。当業者には、「治療有効量」を、単一用量にして投与してもよいし、または複数回の用量の投与によって実現してもよいことは理解される。たとえば、心不全治療のための薬剤の場合、有効量は、患者の臨床的改善、たとえば、運動耐性/能力の向上、血圧の上昇、体液停留の減少、および/または心臓機能性、たとえば、駆出率、運動能力(消耗までの時間)などの定量試験に関する結果の改善をもたらすのに十分な量でよい。

20

【0122】

本明細書で使用するとき、用語「対象」とは、動物を指す。通常、動物は哺乳動物である。対象は、たとえば、霊長類(たとえば、ヒト)、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラット、マウス、魚、鳥なども指す。ある特定の実施形態では、対象は霊長類である。さらに他の実施形態では、対象はヒトである。

【0123】

本明細書で使用するとき、用語「抑制する」、「抑制」、「または「抑制すること」とは、所与の状態、症状、障害、もしくは疾患の軽減もしくは抑止、または生物学的活性もしくは過程のベースライン活性の有意な低下をいう。

30

【0124】

本明細書で使用するとき、任意の疾患または障害を「治療する」、「治療すること」、またはその「治療」という用語は、一実施形態では、疾患または障害を寛解させる(すなわち、疾患またはその臨床症状の少なくとも1つの発生を緩慢にし、阻止し、または軽減する)ことをいう。別の実施形態では、「治療する」、「治療すること」、または「治療」は、患者によって識別されない場合があるものを含めて、少なくとも1つの身体的パラメータを緩和し、または寛解させることをいう。さらに別の実施形態では、「治療する」、「治療すること」、または「治療」は、疾患または障害を、身体的に(たとえば、識別可能な症状の安定化)、生理的に(たとえば、身体的パラメータの安定化)、または両方において、変調することをいう。さらに別の実施形態では、「治療する」、「治療すること」、または「治療」は、疾患または障害の発症、発生、または進行を防ぎ、または遅らせることをいう。

40

【0125】

本明細書で使用するとき、用語「予防する」、「予防すること」、および「予防」とは、療法(たとえば、治療薬)の投与または療法の組合せ(たとえば、治療薬の組合せ)の投与の結果として生じる、対象における障害の1つまたは複数の症状の再発、発症、または発生の予防をいう。

【0126】

本明細書で使用するとき、対象が、生物学的に、医学的に、または生活の質において治

50

療の恩恵を受けることになる場合、その対象は、そのような治療の「必要がある」。

【0127】

本明細書で使用する時、本発明の文脈で（特に特許請求の範囲の文脈で）使用する用語「a」、「an」、「the」、および同様の用語は、本明細書で別段指摘しない限り、また文脈と明らかに矛盾しない限り、単数と複数の両方を包含すると解釈される。

【0128】

本明細書に記載の方法はすべて、本明細書で別段指摘しない限り、またはそうでなくとも文脈と明らかに矛盾しない限り、適切などんな順序で実施してもよい。本明細書において提供される、ありとあらゆる例または例示的な言い回し（たとえば、「など」）の使用は、単に本発明をより明解にするためのものであり、別途特許請求する本発明の範囲を限定するものでない。

10

【0129】

本発明のペプチドおよびポリペプチドは、ペプチド合成のための、それ自体が知られている手順によって生成することができる。ペプチド合成の方法は、固相合成および液相合成のいずれかのものでよい。すなわち、問題のペプチドおよびポリペプチドは、タンパク質を構成し得る部分的なペプチドまたはアミノ酸をその残部と縮合させ、生成物が保護基を有するとき、保護基を外し、その後、所望のペプチドを製造することができる。縮合および脱保護の既知の方法としては、以下の文献（1）～（5）に記載の手順が挙げられる。

（1）M. Bodanszky and M. A. Ondetti, Peptide Synthesis, Interscience Publishers, New York, 1966、

20

（2）Schroeder and Luebke, The Peptide, Academic Press, New York, 1965、

（3）Nobuo Izumiya et al. Fundamentals and Experiments in Peptide Synthesis, Maruzen, 1975、

（4）Haruaki Yajima and Shumpei Sakakibara, Biochemical Experiment Series 1, Protein Chemistry IV, 205, 1977、および

（5）Haruaki Yajima (ed.), Development of Drugs-Continued, 14, Peptide Synthesis, Hirokawa Shoten

【0130】

反応後、ペプチドは、溶媒抽出、カラムクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィー、再結晶などの従来の精製技術を組み合わせて、精製および単離することができる。上述のように単離したペプチドが遊離化合物である場合、既知の方法によってペプチドを適切な塩に変換することができる。逆に、単離された生成物が塩である場合、既知の方法によってペプチドを遊離ペプチドに変換することができる。

30

【0131】

ポリペプチドのアミドは、アミド化に適した、ペプチド合成用の樹脂を使用して得ることができる。樹脂としては、クロロメチル樹脂、ヒドロキシメチル樹脂、ベンズヒドリルアミン樹脂、アミノメチル樹脂、4-ベンジルオキシベンジルアルコール樹脂、4-メチルベンズヒドリルアミン樹脂、PAM樹脂、4-ヒドロキシメチルメチルフェニルアセトアミドメチル樹脂、ポリアクリルアミド樹脂、4-(2', 4'-ジメトキシフェニル-ヒドロキシメチル)フェノキシ樹脂、4-(2', 4'-ジメトキシフェニル-Fmoc-アミノメチル)フェノキシ樹脂、塩化2-クロロトリチル樹脂などが挙げられる。このような樹脂を使用して、-アミノ基および側鎖の官能基が適切に保護されているアミノ酸を、目的のペプチドの配列に従い、それ自体が知られている種々の縮合技術によって樹脂上で縮合させる。一連の反応の終盤に、ペプチドまたは保護されたペプチドを樹脂から外し、必要に応じて保護基を除去し、ジスルフィド結合を形成させて、目的のポリペプチドを得る。

40

【0132】

上述の保護されたアミノ酸の縮合には、HATU、HCTU、またはたとえばカルボジイミドなどの、ペプチド合成用の様々な活性化試薬を使用することができる。カルボジイ

50

ミドとしては、DCC、N, N' - ジイソプロピルカルボジイミド、およびN - エチル - N' - (3 - ジメチルアミノプロピル)カルボジイミドが挙げられる。このような試薬を用いた活性化には、ラセミ化防止添加剤、たとえば、HOBTまたはOxyma Pureを使用することができる。保護されたアミノ酸は、活性化試薬およびラセミ化防止剤と共に、樹脂にそのまま加えてもよいし、または対称酸無水物、HOBTエステル、またはHOBTエステルとして予め活性化し、次いで樹脂に加えてもよい。保護されたアミノ酸の活性化または樹脂との縮合のための溶媒は、ペプチド縮合反応に有用であることがわかっている溶媒の中から適正に選択することができる。たとえば、N, N - ジメチルホルムアミド、N - メチルピロリドン、クロロホルム、トリフルオロエタノール、ジメチルスルホキシド、DMF、ピリジン、ジオキサソラン、塩化メチレン、テトラヒドロフラン、アセトニトリル、酢酸エチル、またはこれらの適切な混合物を挙げることができる。

10

【0133】

反応温度は、ペプチド結合形成に有用であることがこれまでにわかっている範囲から選択することができる。普通は、約 - 20 ~ 50 の範囲から選択する。活性化型アミノ酸誘導体は、一般に、1.5 ~ 4 倍過剰の割合で使用する。ニンヒドリン反応を利用した試験によって、縮合が不十分であるとわかったなら、十分な縮合を実現するために、保護基を除去せずに、縮合反応を繰り返すことができる。繰り返した縮合によって、それでも十分な程度の縮合がなされない場合、未反応のアミノ基を、無水酢酸またはアセチルイミダゾールでアセチル化することができる。

20

【0134】

出発材料アミノ酸のアミノ基の保護基としては、Z、Boc、第三級アミルオキシカルボニル、イソボルニルオキシカルボニル、4 - メトキシベンジルオキシカルボニル、CI - Z、Br - Z、アダマンチルオキシカルボニル、トリフルオロアセチル、フタリル、ホルミル、2 - ニトロフェニルスルフェニル、ジフェニルホスフィノチオイル、またはFmocが挙げられる。使用することのできるカルボキシ保護基としては、限定はしないが、上述のC₁ - C₆アルキル、C₃ - C₈シクロアルキル、およびC₆ - C₁₀アリール - C₁ - C₂アルキル、ならびに2 - アダマンチル、4 - ニトロベンジル、4 - メトキシベンジル、4 - クロロベンジル、フェナシル、ベンジルオキシカルボニルヒドラジド、第三級ブトキシカルボニルヒドラジド、およびトリチルヒドラジドが挙げられる。

30

【0135】

セリンおよびトレオニンのヒドロキシ基は、エステル化またはエーテル化によって保護することができる。前記エステル化に適した基としては、炭素から導かれる基、たとえば、低級アルカノイル基、たとえばアセチルなど、アロイル基、たとえばベンゾイルなど、ベンジルオキシカルボニル、およびエトキシカルボニルが挙げられる。前記エーテル化に適した基としては、ベンジル、テトラヒドロピラニル、および第三級ブチルが挙げられる。チロシンのフェノール性ヒドロキシ基の保護基としては、Bzl、Cl₂ - Bzl、2 - ニトロベンジル、Br - Z、および第三級ブチルが挙げられる。

40

【0136】

ヒスチジンのイミダゾールの保護基としては、Tos、4 - メトキシ - 2, 3, 6 - トリエチルベンゼンスルホニル、DNB、ベンジルオキシメチル、Bum、Boc、Trt、およびFmocが挙げられる。

40

【0137】

出発アミノ酸の活性化型カルボキシル基には、対応する酸無水物、アジ化物、および活性エステル、たとえば、ペンタクロロフェノール、2, 4, 5 - トリクロロフェノール、2, 4 - ジニトロフェノール、シアノメチルアルコール、p - ニトロフェノール、HONB、N - ヒドロキシスクシンイミド、N - ヒドロキシフタルイミド、HOBTなどのアルコールとのエステルなどが含まれる。出発アミノ酸の活性化型アミノ基には、対応するホルホルアミドが挙げられる。

【0138】

保護基の脱離方法としては、パラジウムブラックやパラジウム炭素などの触媒の存在下

50

で水素ガスを使用する触媒還元、無水フッ化水素、メタンスルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸、またはこうした酸の混合物での酸処理、ジイソプロピルエチルアミン、トリエチルアミン、ピペリジン、ピペラジンでの塩基処理、液体アンモニア中でのナトリウム金属による還元が挙げられる。上述の酸処理による脱離反応は、一般に、 $-20 \sim 40$ の温度で実施され、アニソール、フェノール、チオアニソール、*m*-クレゾール、*p*-クレゾール、硫化ジメチル、1,4-ブタンジチオール、1,2-エタンジチオールなどのカチオンアクセプターを加えて、有利に行うことができる。ヒスチジンのイミダゾール基の保護に使用した2,4-ジニトロフェニル基は、チオフェノールでの処理によって脱離させることができ、トリプトファンインドール基の保護に使用したホルミル基は、希水酸化ナトリウム溶液または希アンモニア水溶液でのアルカリ処理、ならびに1,2-エタンジチオール、1,4-ブタンジチオール存在下での上述の酸処理によって脱離させることができる。

10

【0139】

出発材料の反応に関与すべきでない官能基の保護方法、使用することのできる保護基、保護基の除去方法、および反応に関与すべき官能基を活性化する方法は、すべて、既知の基および方法の中から公正に選択することができる。

【0140】

アミド型のポリペプチドを得る別の方法は、C末端アミノ酸の α -カルボキシル基を最初にアミド化するステップと、次いでペプチド鎖を所望の鎖長までN側に伸長し、次いで、C末端ペプチドの α -アミノ基、および目的ポリペプチドの残部を形成することになるアミノ酸またはペプチドの α -カルボキシ基を選択的に脱保護するステップと、 α -アミノ基および側鎖官能基が上述の適切な保護基で保護されている2つの断片を、上で挙げたものなどの混合溶媒中で縮合させるステップとを含む。この縮合反応のパラメータは、上述したのと同じものでよい。縮合によって得られた保護ペプチドから、上述の方法によってすべての保護基を除去して、その結果、所望の粗製ペプチドが得られる。この粗製ペプチドを、既知の精製手順によって精製し、主画分を凍結乾燥して、目的のアミド化ポリペプチドを得ることができる。ポリペプチドのエステルを得るには、C末端アミノ酸の α -カルボキシル基を所望のアルコールと縮合させて、アミノ酸エステルを得、次いで、アミド生成について上述した手順に従う。

20

【0141】

本発明のポリペプチドまたはそのアミド、塩のエステルは、皮下、筋肉内、静脈内、腹腔内、吸入などを始めとする様々な手段のいずれかにおいて投与することができる。本発明の特に好ましい実施形態では、本発明のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩の連続的な静脈内投与を用いる。本発明におけるポリペプチドは、ポーラスとして、または一定期間にわたる連続注入として投与することができる。移植可能なポンプを使用してもよい。本発明のある特定の実施形態では、断続的または連続的なポリペプチド投与を、1日~数日間(たとえば、2~3日間以上)またはより長期間、たとえば、数週間、数か月、もしくは数年間継続する。一部の実施形態では、断続的または連続的なポリペプチド投与を少なくとも約3日間施す。別の実施形態では、断続的または連続的なポリペプチド投与を少なくとも約1週間施す。他の実施形態では、断続的または連続的なポリペプチド投与を少なくとも約2週間施す。投与中または複数回の投与の合間に、特定の閾値を上回る平均血漿ポリペプチド濃度を維持することが望ましい場合もある。望ましい濃度は、たとえば、対象の生理的状态、疾患重症度などに基づき決定することができる。そのような望ましい値(複数可)は、標準の臨床試験を実施して割り出すことができる。

30

40

【0142】

別の態様では、本発明は、本発明のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩と、1種または複数の薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物を提供する。医薬組成物は、経口投与、非経口投与、直腸投与などの特定の投与経路用に製剤化することができる。加えて、本発明の医薬組成物は、固体形態(限定はせず、カプセル剤、錠剤、丸剤、顆粒、凍結乾燥物、粉末、または坐剤を含める)、または液体形態(限定はせず、溶

50

液、懸濁液、または乳濁液を含める)に仕立てることができる。医薬組成物は、無菌製造、滅菌などの従来の製薬業務にかけることができ、かつ/または、従来の不活性希釈剤、ゲーク形成剤、張性剤 (tonicity agent)、滑沢剤、または緩衝剤、ならびに保存剤、安定剤、湿潤剤、乳化剤、緩衝液などの佐剤を含有してよい。

【0143】

注射用途に適する医薬組成物は、通常、滅菌注射溶液または分散液を即座に調製するための、滅菌水溶液 (水溶性の場合) または分散液と滅菌粉末を含む。

【0144】

静脈内の投与については、適切な担体として、生理食塩水、静菌水、Cremophor ELTM (BASF、ニュージャージー州 Parsippany)、またはリン酸緩衝食塩水 (PBS) が挙げられる。すべての場合において、組成物は、滅菌とすべきであり、容易な注射適用性 (syringability) が存在する程度に流動的にすべきである。好ましい医薬製剤は、製造および貯蔵の条件下で安定しており、細菌や真菌などの微生物による汚染作用に対抗して保存しなければならない。一般に、妥当な担体は、たとえば、水、エタノール、ポリオール (たとえば、グリセロール、プロピレングリコール、液体ポリエチレングリコールなど)、およびこれらの適切な混合物を含有する溶媒または分散媒でよい。適正な流動度は、たとえば、レシチンなどのコーティング剤の使用、分散液の場合では必要な粒径の維持、および界面活性剤の使用によって維持することができる。微生物による作用の予防は、種々の抗菌剤および抗真菌剤、たとえば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどによって実現することができる。多くの場合、等張化剤、たとえば、糖、マンニトールなどのポリアルコール、アミノ酸、ソルビトール、塩化ナトリウムを組成物に含めることが好ましい。注射用組成物の吸収の延長は、吸収を遅らせる薬剤、たとえば、モノステアリン酸アルミニウムやゼラチンを組成物に含めることにより実現できる。

【0145】

ある特定の注射用組成物は、水性の等張性溶液または懸濁液であり、坐剤は、脂肪質の乳濁液または懸濁液から調製することが有利である。前記組成物は、滅菌され、かつ/または保存剤、安定剤、湿潤剤、乳化剤、溶解促進剤 (solution promoter)、浸透圧調節用の塩、および/または緩衝液などの佐剤を含有するものでよい。加えて、前記組成物は、治療上価値のある他の物質も含有してよい。前記組成物は、従来の混合、造粒、またはコーティング法に従って調製され、それぞれ、約 0.1 ~ 75%、または約 1 ~ 50% の活性成分を含有する。

【0146】

滅菌注射溶液は、必要に応じて、上で列挙した成分の1つまたは組合せを含有する適切な溶媒に、必要な量の活性化化合物を混ぜた後、濾過滅菌することにより調製できる。分散液は、一般に、基礎の分散媒、および上で列挙したものからの他の必要な成分を含有する滅菌ビヒクルに、活性化化合物を混ぜることにより調製される。滅菌注射溶液を調製するための滅菌粉末の場合、好ましい調製方法は、真空乾燥および凍結乾燥であるが、この方法では、活性成分の粉末と、所望の任意の追加成分が、予め滅菌濾過されたその溶液から得られる。

【0147】

経口組成物は、一般に、不活性希釈剤または可食担体を含む。治療的経口投与の目的では、活性化化合物は、賦形剤と混ぜ、錠剤、トローチ剤、またはカプセル剤、たとえばゼラチンカプセル剤の形で使用することができる。経口組成物は、含嗽液として使用するために流動性担体を使用して調製することもできる。薬学的に適合する結合剤、および/または佐剤材料を、組成物の一部として含めることができる。錠剤、丸剤、カプセル剤、トローチ剤などは、次の成分、すなわち、微結晶性セルロース、トラガカントゴム、ゼラチンなどの結合剤、デンプンやラクトースなどの賦形剤、アルギン酸、Primogel、コーンスターチなどの崩壊剤、ステアリン酸マグネシウムやSterotesなどの滑沢剤、コロイド状二酸化ケイ素などの流動促進剤、スクロースやサッカリンなどの甘味剤、ま

10

20

30

40

50

たはハッカ、サリチル酸メチル、オレンジ香料などの着香剤のいずれか、または同様の性質の化合物を含有してよい。経口送達用の製剤は、消化管内での安定性を向上させ、かつ/または吸収を強化するための薬剤が組み込まれていると有利な場合もある。

【0148】

吸入による投与について、発明治療薬は、適切な噴射剤、たとえば、二酸化炭素などの気体を含有する加圧容器もしくは計量分配装置、またはネブライザーから、エアロゾルスプレーの形で送達することが好ましい。治療薬の全身送達のために、肺が広い表面積を備えていることは注目される。

【0149】

薬剤は、たとえば、米国公開20040096403に記載のものなどのポリマー系微小粒子に、または当業界で知られている他の広範な薬物送達ビヒクルのいずれかと共同して、カプセル封入することができる。本発明の他の実施形態では、たとえば、米国公開20040062718に記載されているように、薬剤を荷電脂質と共同して送達する。後者の系は、治療用ポリペプチドであるインスリンの投与に使用されており、ペプチド剤の投与についてこの系の実益を示していることが注目される。

10

【0150】

全身投与は、経粘膜的または経皮的手段によるものでもよい。

【0151】

経皮的適用に適する組成物は、有効量の本発明のポリペプチドを適切な担体と共に含む。経皮送達に適する担体として、ホストの皮膚を介した透過を手助けする薬理的に許容される被吸収性溶媒が挙げられる。経皮的デバイスは、たとえば、裏部材と、化合物を場合により担体と共に含有するレザパーと、場合により、ホストの皮膚の化合物を、長期間にわたって、制御され、予め決められた速度で送達するための速度制御バリアと、デバイスを皮膚に固定するための手段とを備えた絆創膏の形態である。

20

【0152】

たとえば皮膚および眼への局所適用に適する組成物には、水溶液、懸濁液、軟膏、クリーム、ゲル、または、たとえばエアロゾルなどによる送達のためのスプレー製剤が含まれる。このような局所送達系は、特に、皮膚への適用に相応しくなる。すなわち、こうした局所送達系は、当業界でよく知られている美容製剤を含めた局所的使用に特に適する。このような組成物は、可溶化剤、安定剤、張性増強剤 (tonicity enhancing agent)、緩衝剤、および保存剤を含有してもよい。

30

【0153】

本明細書で使用するとき、局所適用は、吸入または鼻腔内適用にも関連することがある。こうした適用は、乾燥粉末吸入器から乾燥粉末 (単独、混合物、たとえばラクトースとの乾燥ブレンドとして、またはたとえばリン脂質との混合型要素粒子としてのいずれか) の形で、または加圧容器、ポンプ、スプレー、アトマイザー、もしくはネブライザーからエアロゾルスプレー体裁の形で、適切な噴射剤を使用しまたは使用せずに、好都合に送達することができる。

【0154】

本発明はさらに、活性成分としての本発明の化合物が分解する速度を減速する1種または複数の薬剤を含む医薬組成物および剤形を提供する。本明細書では「安定剤」と呼ぶ、そのような薬剤として、限定はしないが、アスコルビン酸などの酸化防止剤、pH緩衝液、または塩緩衝液などが挙げられる。

40

【0155】

本発明の方法：

アペリンファミリーのペプチドは、Gタンパク質共役型APJ受容体の、知られている唯一の天然リガンドファミリーである。アペリン遺伝子は、77アミノ酸のポリペプチドをコードし、このポリペプチドがプロセッシングを受けて、生物学的活性型のアペリンペプチド、たとえば、アペリン-36、アペリン-17、アペリン-16、アペリン-13、アペリン-12、およびピログルタミン酸修飾型のアペリン-13 (Py r¹-アペリン

50

- 13)になる。これらアペリンペプチドのいずれでも1種が、APJ受容体に結合すると、GiおよびGqタンパク質を介してシグナルを伝達する。心筋細胞では、GiまたはGqとの共役によって、細胞内pHが変化し、PLCが活性化され、IP3が産生され、それにより筋フィラメントのカルシウム感受性が増強され、最終的に心収縮性が増大する。Gi共役により、活性化型Gs、アデニリルシクラーゼ、およびcAMPの産生が抑制され、pAktレベルが上昇して、心臓保護につながる。血管内皮細胞では、Giを介したAPJ活性化、pAktによって、一酸化窒素(NO)産生が増大し、これにより平滑筋弛緩が増進される結果、全体として血管が拡張する。

【0156】

慢性安定心不全の患者は、心収縮性がさらに低下し、症状が悪化する、不規則の急性代償不全エピソードを伴う。こうした増悪は、急性代償不全心不全(ADHF)と呼ばれる。ADHFの現行の療法としては、利尿薬、血管拡張薬、およびイノトローブが挙げられ、これらは、心収縮性を直接増大させる。現用の静脈内イノトローブ(ドブタミン、ドーパミン、ミルリノン、レボシメンダン)は、不整脈などの有害事象を伴い、長期死亡率を増大させることでよく知られている。本発明の合成アペリンポリペプチド類似体は、催不整脈性または死亡の傾向なしに心収縮性を増大させるADHF療法となり、慢性心不全における未対応の膨大な医学的要求に対処するものである。

10

【0157】

実際に、ヒトにおける急性アペリン治療(5分)の結果、冠血管は拡張し、心拍出量は改善される。しかし、天然のアペリンは、in vivoでの $t_{1/2}$ (秒)および作用持続時間(数分)が非常に短い。本発明の強力な合成アペリンペプチドアゴニストは、天然のアペリンに比べて半減期が長い。

20

【0158】

心筋細胞におけるAPJ受容体の活性化により、a)Gi/Gq、PLC、およびCa²⁺を介した心収縮性が向上し、b)Gi、pAkt活性化を介した心臓保護が講じられるが、(他のイノトローブで見られるような)cAMPの漸増は伴わない。加えて、内皮細胞におけるAPJアゴニズムによって、動脈の血管は拡張され、これが、左心室の仕事量を軽減することにより、さらに心不全のためになる。まとめると、合成アペリンポリペプチド類似体は、全体としての心機能を向上させ、催不整脈を減少させ、生存利益をもたらし得る。

30

【0159】

より最近では、アペリンの糖尿病およびインスリン抵抗性への潜在的な関与に焦点を当てた前臨床研究がいくつか発表されている。アペリンは、1)筋肉、脂肪、および心臓におけるグルコースの取込みを改善することによって血糖レベルを下げ、2)膵臓細胞をERストレスおよび後続のアポトーシスから保護し、3)細胞におけるインスリン分泌を減少させ、4)脂肪組織において、カテコールアミンによって誘発される脂肪分解を調節することが示されている。pAkt経路の活性化は、こうした過程と関連付けられている。

【0160】

式I~IXのいずれか1つに従うポリペプチドまたは薬学的に許容されるその塩は、遊離の形態または薬学的に許容される塩の形態で、たとえば次の部で示すとおり⁴⁰のin vitroおよびin vivo試験において示されるような、価値のある薬理学的特性、たとえば、APJ受容体アゴニズム特性を示し、したがって、療法に必要となる。

【0161】

本発明のポリペプチドまたは薬学的に許容されるその塩は、急性代償不全心不全(ADHF)、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、Brugada症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病(妊娠糖尿病を含める)、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷(日焼けを含める)、および子癇前症から選択される適応症の治療において有用となり得る。

50

【0162】

したがって、別の実施形態として、本発明は、A P J受容体活性と関連する疾患を治療するための、式I ~ IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩の使用を提供する。別の実施形態では、療法は、A P J受容体のアゴニズムに反応を示す疾患から選択される。別の実施形態では、疾患は、前述の一覧から選択され、急性代償不全心不全が適切である。この実施形態のさらに別のサブセットにおいて、本発明は、A P J受容体活性と関連する疾患を治療するための医薬の製造における、式I ~ IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩の使用を提供する。

【0163】

したがって、別の実施形態として、本発明は、式I ~ IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩の、療法における使用を提供する。別の実施形態では、療法は、A P J受容体の活性化（アゴニズム）によって治療することのできる疾患から選択される。

【0164】

別の実施形態では、本発明は、治療上許容される量の式I ~ IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、塩のエステルの投与を含む、A P J受容体のアゴニズムに反応を示す疾患の治療方法を提供する。別の実施形態では、疾患は、上述の一覧から選択され、急性代償不全心不全が適切である。

【0165】

この実施形態のさらに別のサブセットにおいて、本発明は、治療上許容される量の式I ~ IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩の投与を含む、A P J受容体の活性と関連する疾患の治療方法を提供する。

【0166】

治療に用いることになる、本発明の医薬組成物または組合せの有効量は、たとえば、治療の状況および目的に左右される。当業者には、したがって、治療に相応しい投薬量レベルが、幾分、送達される分子、融合タンパク質変異体を使用する適応症、投与経路、ならびに患者の大きさ（体重、体表面、または臓器サイズ）および状態（年齢および全般的健康状態）に応じて様々となることは理解されよう。それに依りて、臨床医は、最適な治療効果を得るために、投薬量を設定し、投与経路を変更することができる。典型的な投薬量は、上述の要因に応じて、約0.1 μg / kgから約100 mg / kgまでの範囲またはそれ以上となり得る。他の実施形態では、投薬量は、0.1 μg / kgから約100 mg / kgまで、または1 μg / kgから約100 mg / kgまでの範囲となり得る。

【0167】

投薬の頻度は、使用する製剤中の二重機能タンパク質の薬動的パラメータに応じて決まる。通常、臨床医は、所望の効果を實現する投薬量に到達するまで組成物を投与する。したがって、組成物は、単一用量として、一定期間にわたる（同量の所望の分子を含有するかどうかは定かでない）2回以上の用量として、または移植デバイスもしくはカテーテルによる連続的な注入として、投与することができる。適切な投薬量のさらなる微調整は、当業者によって型通りになされ、当業者によって型通りに行われる作業領域の範囲内である。適切な投薬量は、適切な用量反応データを使用して突き止めることができる。

【0168】

本発明によるポリペプチドの活性は、以下に記載する次の*in vitro*法によって評価することができる。

【0169】

h A P Jカルシウムフラックスアッセイ：

384 ウェルフォーマットにおいて、25 ul 成長培地に、Chem - 5 A P J安定細胞（Millipore # HTS 068C）を10,000細胞/ウェルで播き、次いで、37 °Cの組織培養インキュベーターにおいて24時間成長させた。アッセイの1時間前に、2.5 mMのプロベネシドを含有する25 ul / ウェルのFLIPR Calc i

10

20

30

40

50

um 4色素 (Molecular Devices R8142) を加え、37 の組織培養インキュベーターにおいて細胞を1時間インキュベートした。ペプチドをHBSS、HEPES、および0.1%BSA緩衝液に可溶化し、三通りに50uMから5pMまで10倍ずつ連続希釈した。FLIPR Tetraを使用して、色素を有する細胞にペプチドを加えた(1:5、10uM~1pMの範囲の最終ペプチド濃度にする)。細胞の内側のFLIPR色素は、カルシウムに結合後に蛍光を発生し、細胞の外側からの蛍光は遮蔽された。FLIPR Tetraにおいて470~495の励起波長および515~575の発光波長を使用して、蛍光を測定した。読取りは、ペプチドを加える10秒前に開始して、合計3分間行った。最大-最小値を算出し、各ペプチド濃度に対してプロットし、GraphPad prismソフトウェアを使用して、ペプチドによるカルシウムフラックス刺激について、曲線変曲点におけるEC₅₀値を算出した。

10

【0170】

血漿安定性アッセイ：

材料：

作業溶液：1mg/mLの試験物をMilli-Q水中に調製する。

抽出溶液：0.1%のギ酸および400ng/mLのグリブドを含有するメタノール：アセトニトリル：水(1:1:1)

血漿：Bioreclamation LLC(ニューヨーク州Liverpool)から購入した雄のSprague-Dawleyラット血漿(ヘパリンナトリウム添加)

全血：Bioreclamation LLC(ニューヨーク州Liverpool)から購入した雄Sprague-Dawley全血(ヘパリンナトリウム添加)

肺ホモジネート：Bioreclamation LLC(ニューヨーク州Liverpool)から雄のSprague-Dawleyラットの肺を購入した。肺は、5倍体積の1倍PBSを加えた後、ポリトロンホモジナイザーを使用してホモジナイズした。ホモジネートを4にて9000rpmで10分間遠心分離した。上清を3000rpmで30分間再び遠心分離して、澄んだ上清を作った。タンパク質濃度は、市販のキット(Pierce, Thermo Scientific)を使用して求めた。

20

【0171】

サンプル調製手順：

試験物は、次の生物学的材料、すなわち、ヘパリン処置ラット血漿、ヘパリン処置ラット全血、または肺ホモジネートのうちの1つにおいて調製した。血漿および全血サンプルは、995uLのラット血漿または全血に1mg/mLの作業溶液5uLを加えることにより、5000ng/mLで調製した。肺ホモジネートサンプルは、肺ホモジネートをリン酸緩衝溶液(PBS)で1mg/mLのタンパク質濃度に希釈した後、5uLの作業溶液を加えて、995uLの希釈された肺ホモジネートとすることにより調製した。サンプルは、水浴インキュベーターにおいて、穏やかに振盪(65~75rpm)しながら37でインキュベートした。0分、5分、15分、30分、60分、120分、および240分の時点で、インキュベートサンプルの25uLのアリコート(96ウェルプレート)に移し、150uLの抽出溶液を使用して、直ちにタンパク質を沈殿させた。インキュベート実験が完了した後、サンプルプレートを4にて4000rpmで10分間遠心分離した。その後、ピペット操作装置(Tecan Temo)を使用して、上清を別のプレートに移し、すべてのサンプルに50uLの水を加えた。プレートは、LC-MS分析の前にボルテックスした。

30

40

【0172】

LC-MS安定性分析のサンプル

HPLC：オートサンプラーを備えたAgilent 1290 HPLC

カラム：MAC-MOD ACE C18、3μm、30mm×内径2.1mm

移動相A：0.1%のギ酸アセトニトリル溶液

移動相B：0.1%のギ酸水溶液

【0173】

50

勾配プログラム：

【0174】

【表2】

時間(分)	流量(mL)	移動相A(%)	移動相B(%)
0	0.4	95	5
0.5	0.4	95	5
1.5	0.4	5	95
4.1	0.4	5	95
4.2	0.4	95	5
5	0.4	95	5

10

【0175】

質量分析計：Agilent Q-TOF6530

データ取得モード：100~1000m/zの質量範囲での完全走査

データ取得および分析ソフトウェア：MassHunter

【0176】

データ分析：

安定性アッセイ：安定性半減期 ($t_{1/2}$) の値は、各時点におけるピーク面積を、初期 ($t=0$) ピーク面積を基準とした残存パーセントに変換することにより求めた。

20

残存パーセント = $100 \times (\text{サンプルピーク面積}) \div (\text{t=0 ピーク面積})$

【0177】

残存パーセント値の自然対数を算出し、サンプル時間に対してプロットした (Microsoft Excel)。この直線の傾き k を、線形回帰によって求めた (Microsoft Excel)。

【0178】

次いで、安定性半減期を、式 $t_{1/2} = 0.693 \div k$ によって算出した。

【0179】

代替活性ベースの血漿安定性アッセイ：

次の変更を加えて、上述のカルシウムフラックスプロトコールに従った。ペプチドは、ここでも5%ラット血漿 (Bioreclamation #RATPLNAHP-M、ヘパリンNa処置したもの) と共にインキュベートした。37℃の組織培養インキュベーターでインキュベートした後、 t_0 および t_{24} 時間の時点で読み取った。分単位のペプチド血漿半減期を、次の計算によって推定した。

30

1) $LN((t_0 \text{ 時点の } EC_{50}) / (t_{24 \text{ 時間 時点の } EC_{50}}))$

2) 上の値の傾きを算出

3) $t_{1/2} = 0.693 / (\text{傾き}^2)$

【0180】

(上述のとおり) の試験アッセイを使用すると、本発明のポリペプチドは、以下に示す表2および表3に従う有効性および安定性を示した。

40

【0181】

【表 3 A】

表2:ポリペプチドの活性および安定性

ペプチド	hAPJ Ca ²⁺ フラックスEC ₅₀ [nM]	代替活性ベースの血漿安定性t1/2[分]
実施例1	90.13	30.7
実施例2	132.58	27.1
実施例3	1008.19	98.0
実施例4	746.74	50.0
実施例5	21.25	126.2
実施例6	21.98	117.2
実施例7	90.85	>1000
実施例8	1.04	407
実施例9	2.16	>1000
実施例10	2.54	>1000
実施例11	3.52	>1000
実施例12	2.07	93.6
実施例13	2.26	283.6
実施例14	8.83	85.2
実施例15	3.53	180.3
実施例16	1.43	13.4
実施例17	3.29	14.1
実施例18	1.62	248.1
実施例19	8.46	28.4
実施例20	173.24	490.4
実施例21	75.81	639.7
実施例22	42.03	799.9
実施例23	52.42	>1000
実施例24	32.65	303.5
実施例25	24.50	>1000
実施例26	29.84	>1000
実施例27	65.55	>1000
実施例28	5.68	440.3
実施例29	4.33	216.6
実施例30	6.05	>1000
実施例31	84.11	>1000
実施例32	518.08	>1000
実施例33	8.10	>1000
実施例34	3.21	505.2
実施例35	11.12	>1000
実施例36	7.36	>1000
実施例37	1.40	164.3
実施例38	181.77	>1000
実施例39	8.20	654.9
実施例40	7.99	>1000
実施例41	6.91	627.1
実施例42	92.77	>1000
実施例43	4.14	>1000
実施例44	5.94	855.8
実施例45	6.55	167.3
実施例46	3.87	502.1

10

20

30

40

【表 3 B】

実施例47	2.41	418.9
実施例48	4.10	546.4
実施例49	34.19	>1000
実施例50	1.92	>1000
実施例51	1.09	655.9
実施例52	53.88	777.8
実施例53	1.07	>1000
実施例54	6.70	>1000
実施例55	8.16	>1000
実施例56	1.12	>1000
実施例57	2.01	>1000
実施例58	13.09	>1000
実施例59	10.00	>1000
実施例60	8.15	>1000
実施例61	89.15	259.9
実施例62	3.32	>1000
実施例63	3.18	703.9
実施例64	6.3	455
実施例65	1.1	596
実施例66	589	596
比較実施例: Pyr1-アペリン-13	1.79	5.0

10

20

30

【 0 1 8 2 】

【表4】

表3:血漿安定性アッセイと代替活性ベースの血漿安定性アッセイとの相関:

ペプチド	血漿安定性t1/2[分]	代替活性ベースの血漿安定性t1/2[分]
実施例8	163	407
実施例12	53.9	96.16
実施例13	183	283.6
実施例14	63	85.2
実施例16	10.2	13.4
実施例17	2.3	14.1
実施例18	220	248.1
Pyr-1-アペリン13	6.6	5.0

10

20

【0183】

本発明のポリペプチドは、アペリン - 13またはpyr - 1 - アペリン - 13と同様のAPJ受容体効力を備え得る。一実施形態では、本発明のポリペプチドは、EC₅₀が100nM未満である。別の実施形態では、本発明のポリペプチドは、EC₅₀が50nM未満、好ましくは25nM未満、より好ましくは15nM未満である。さらに別の実施形態では、本発明のポリペプチドは、EC₅₀が10nM未満である。

【0184】

本発明のポリペプチドは、アペリン - 13またはpyr - 1 - アペリン - 13に優る血漿安定性を有することもある。一実施形態では、血漿安定性の改善は、少なくとも2倍である。一実施形態では、本発明のポリペプチドは、血漿安定性が少なくとも30分である。別の実施形態では、本発明のポリペプチドは、血漿安定性が少なくとも10分、少なくとも40分、より好ましくは少なくとも60分である。

30

【0185】

本発明のポリペプチドは、他の1種または複数の治療薬と同時に投与してもよいし、またはその前もしくは後に投与してもよい。本発明のポリペプチドは、同じもしくは異なる投与経路で別々に投与してもよいし、または他の薬剤と同じ医薬組成物にして一緒に投与してもよい。

【0186】

一実施形態では、本発明は、式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、塩のエステルと、少なくとも1種の他の治療薬とを含む、療法において同時、別個、または順次使用するための一体型調製物としての製品を提供する。一実施形態では、療法は、APJ受容体の活性化に反応を示す疾患または状態の治療である。

40

【0187】

一体型調製物として提供される製品としては、式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、塩のエステルと、他の治療薬(複数可)とを同じ医薬組成物中に一緒に、または式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩と、他の治療薬(複数可)とを別個の形態で、たとえば、キットの形で含む組成物が挙げられる。

【0188】

一実施形態では、本発明は、式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミ

50

ド、エステル、もしくは塩と、別の治療薬（複数可）とを含む医薬組成物を提供する。場合により、医薬組成物は、上述のとおり薬学的に許容される賦形剤を含んでもよい。

【0189】

一実施形態では、本発明は、2種以上の別個の医薬組成物を含み、その少なくとも1種が、式I'およびI~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩を含有する、キットを提供する。一実施形態では、キットは、容器、隔てられたボトル、分包ホイルなどの、前記組成物を別個に保持する手段を含む。このようなキットの一例は、錠剤、カプセル剤などの包装に一般に使用されるようなプリスターパックである。

【0190】

本発明のキットは、たとえば経口と非経口の、異なる剤形を投与する、別個の組成物を異なる投薬間隔で投与する、または別個の組成物を互いに合わせて漸増するのに使用することもできる。服薬遵守を支援するために、本発明のキットは通常、投与の説明書を含む。

【0191】

本発明の併用療法では、本発明の化合物と他の治療薬は、同じまたは異なる製造業者によって製造および/または製剤化されたものでよい。さらに、本発明の化合物と他の治療薬は、(i)（たとえば、本発明の化合物と他の治療薬を含むキットの場合において）組合せ製品が医師に渡る前に、(ii)投与のすぐ前に医師自身によって（または医師の指導のもとで）、(iii)たとえば、本発明のポリペプチドと他の治療薬が順次投与される際、患者自身で、併用療法に一体化されるものでよい。

【0192】

したがって、本発明は、医薬が別の治療薬との投与用に調製される、APJ受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または状態を治療するための、式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩の使用を提供する。本発明はまた、医薬が、式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩と投与される、アペリン受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または状態を治療するための別の治療薬の使用も提供する。

【0193】

本発明はまた、式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩が、別の治療薬との投与用に調製される、APJ受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または状態の治療方法において使用するための、式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたは薬学的に許容されるその塩を提供する。本発明はまた、他の治療薬が、式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩との投与用に調製される、APJ受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または状態の治療方法において使用するための、別の治療薬を提供する。本発明はまた、式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩を別の治療薬と投与する、APJ受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または状態の治療方法において使用するための、式I~IXのいずれか1つのポリペプチド、またはそのアミド、エステル、もしくは塩を提供する。本発明はまた、他の治療薬を式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩と投与する、APJ受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または状態の治療方法において使用するための、別の治療薬を提供する。

【0194】

本発明はまた、患者が、別の治療薬で（たとえば、24時間以内に）予め治療を受けている、APJ受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または状態を治療するための、式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩の使用を提供する。本発明はまた、患者が、式I~IXのいずれか1つのポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩で（たとえば、24時間以内に）予め治療を受けている、APJ受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または状態を治療するための、別の治療薬の使用を提供する。

10

20

30

40

50

【0195】

一実施形態では、他の治療薬は、イノトロープ、 アドレナリン性受容体遮断薬、HMG-CoA還元酵素阻害薬、アンジオテンシンII受容体アンタゴニスト、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬、カルシウムチャネル遮断薬(CCB)、エンドセリン拮抗薬、レニン阻害薬、利尿薬、ApoA-I模倣薬、抗糖尿病薬、抗肥満薬(obesity-reducing agent)、アルドステロン受容体遮断薬、エンドセリン受容体遮断薬、アルドステロンシンターゼ阻害薬(ASI)、CETP阻害薬、抗凝血薬、リラキシン、BNP(ネシリチド)、およびNEP阻害薬から選択される。

【0196】

第2の薬剤または治療と「組み合わせる」という用語は、本発明のポリペプチド(たとえば、式I~IXのいずれか1つに従うポリペプチドまたは本明細書に別な形で記載するポリペプチド)を第2の薬剤または治療と同時投与すること、最初に本発明の化合物を投与した後、第2の薬剤または治療を投与すること、および最初に第2の薬剤または治療を投与した後、本発明の化合物を投与することを包含する。

10

【0197】

用語「第2の薬剤」は、本明細書に記載の疾患または障害、たとえば、APJ受容体の活性化に反応を示す障害または疾患、たとえば、急性代償不全心不全(ADHF)、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、Brugada症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病(妊娠糖尿病を含める)、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷(日焼けを含める)、および子癇前症の症状を治療、予防、または軽減することが当業界で知られている任意の薬剤を包含する。

20

【0198】

第2の薬剤の例としては、イノトロープ、 アドレナリン性受容体遮断薬、HMG-CoA還元酵素阻害薬、アンジオテンシンII受容体拮抗薬、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬、カルシウムチャネル遮断薬(CCB)、エンドセリン拮抗薬、レニン阻害薬、利尿薬、ApoA-I模倣薬、抗糖尿病薬、抗肥満薬、アルドステロン受容体遮断薬、エンドセリン受容体遮断薬、アルドステロンシンターゼ阻害薬(ASI)、CETP阻害薬、抗凝血薬、リラキシン、BNP(ネシリチド)、および/またはNEP阻害薬が挙げられる。

30

【0199】

本明細書で使用するイノトロープとしては、たとえば、ドブタミン、イソプロテレノール、ミルリノン、アミリノン(amirinone)、レボシメンダン、エピネフリン、ノルエピネフリン、イソプロテレノール、およびジゴキシンが挙げられる。

【0200】

本明細書で使用する アドレナリン性受容体遮断薬としては、たとえば、アセプトロール、アテノロール、ベタキソロール、ピソプロロール、カルテオロール、メトプロロール、ナドロール、プロプラノロール、ソタロール、およびチモロールが挙げられる。

【0201】

本明細書で使用する抗凝血薬としては、ダルテパリン、ダナパロイド、エノキサパリン、ヘパリン、チンザパリン、ワルファリンが挙げられる。

40

【0202】

用語「HMG-CoA還元酵素阻害薬」(-ヒドロキシ- -メチルグルタリル-補酵素A還元酵素阻害薬とも呼ばれる)は、血中コレステロールを始めとする脂質レベルを下げるのに使用することのできる活性薬剤を包含する。例としては、アトルバスタチン、セリバスタチン、コンパクチン、ダルバスタチン、ジヒドロコンパクチン、フルインドスタチン(fluidostatin)、フルバスタチン、ロバスタチン、ピタバスタチン、メバスタチン、プラバスタチン、ロスバスタチン、リバスタチン(rivastatin)、シンバスタチン、およびベロスタチン(velostatin)、またはこれらの薬学的に許容される塩が挙げられる。

50

【0203】

用語「ACE阻害薬」(アンジオテンシン変換酵素阻害薬とも呼ばれる)は、アンジオテンシンIをアンジオテンシンIIにする酵素的分解を妨げる分子を包含する。このような化合物は、血圧の調節および心不全の治療に使用することができる。例としては、アラセプリル、ベナゼプリル、ベナゼプリラート、カプトプリル、セロナプリル(ce ronapril)、シラザプリル、デラプリル、エナラプリル、エナプリラート(enaprilat)、ホシノプリル、イミダプリル、リシノプリル、モエキシプリル、モベルトプリル(move ltopril)、ペリンドプリル、キナプリル、ラミプリル、スピラプリル、テモカプリル、およびトランドラプリル、またはこれらの薬学的に許容される塩が挙げられる。

【0204】

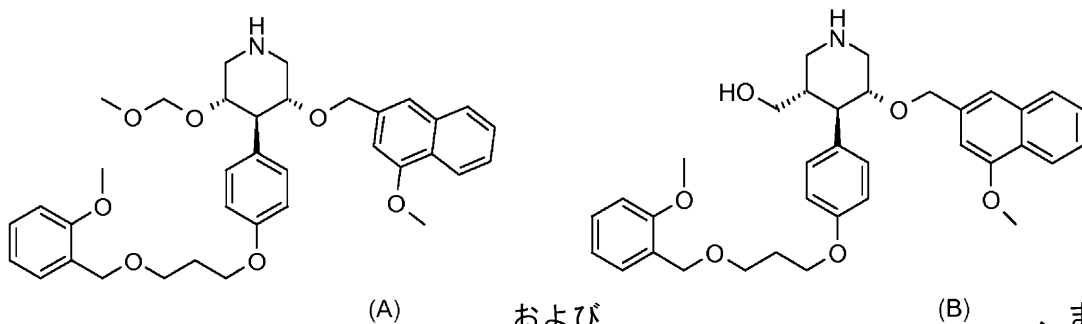
用語「エンドセリン拮抗薬」は、ボセンタン(EP526708Aを参照のこと)、テゾセンタン(WO96/19459を参照のこと)、またはこれらの薬学的に許容される塩を包含する。

【0205】

用語「レニン阻害薬」は、ジテキレン(ditekiren)(化学名:[1S-[1R*,2R*,4R*(1R*,2R*)]]-1-[(1,1-ジメチルエトキシ)カルボニル]-L-プロリル-L-フェニルアラニル-N-[2-ヒドロキシ-5-メチル-1-(2-メチルプロピル)-4-[[[2-メチル-1-[[[(2-ピリジニルメチル)アミノ]カルボニル]ブチル]アミノ]カルボニル]ヘキシル]-N-メチル-L-ヒスチジンアミド);テルラキレン(化学名:[R-(R*,S*)]-N-(4-ホルホルニルカルボニル)-L-フェニルアラニル-N-[1-(シクロヘキシルメチル)-2-ヒドロキシ-3-(1-メチルエトキシ)-3-オキソプロピル]-S-メチル-L-システイネアミド);アリスキレン(化学名:(2S,4S,5S,7S)-5-アミノ-N-(2-カルバモイル-2,2-ジメチルエチル)-4-ヒドロキシ-7-{[4-メトキシ-3-(3-メトキシプロポキシ)フェニル]メチル}-8-メチル-2-(プロパン-2-イル)ノナンアミド)およびザンキレン(化学名:[1S-[1R*[R*(R*)],2S*,3R*]]-N-[1-(シクロヘキシルメチル)-2,3-ジヒドロキシ-5-メチルヘキシル]-[[[2-[[[(4-メチル-1-ピペラジニル)スルホニル]メチル]-1-オキソ-3-フェニルプロピル]-アミノ]-4-チアゾールプロパンアミド)、もしくはこれらの塩酸塩、またはSpeedelが開発したSPP630、SPP635、およびSPP800、または式(A)および(B):

【0206】

【化16】



のRO66-1132およびRO66-1168、またはこれらの薬学的に許容される塩を包含する。

【0207】

用語「アリスキレン」は、詳細に定義しない場合、遊離塩基とその塩の両方、特に薬学的に許容されるその塩、最も好ましくはその半フマル酸塩であると理解される。

【0208】

用語「カルシウムチャネル遮断薬(CCB)」は、ジヒドロピリジン(DHP)および

10

20

30

40

50

非DHP（たとえば、ジルチアゼム型およびベラパミル型CCB）を包含する。例としては、アムロジピン、ベプリジル、ジルチアゼム、フェロジピン、リオシジン（ryosidine）、イスラジピン、ラシジピン、ニカルジピン、ニフェジピン、ニグルジピン、ニルジピン（niludipine）、ニモジピン、ニソルジピン、ニトレンジピン、ベラパミル、およびニバルジピン（nivaldipine）が挙げられ、フルナリジン、プレニラミン、ジルチアゼム、フェンジリン、ガロパミル、ミベフラジル、アニパミル（anipamil）、チアパミル、およびベラパミル、またはこれらの薬学的に許容される塩からなる群から選択される代表的非DHPであることが好ましい。CCBは、降圧薬、抗狭心症薬、または抗不整脈薬として使用することができる。

【0209】

用語「利尿薬」は、チアジド誘導体（たとえば、クロロチアジド、ヒドロクロロチアジド、メチルクロロチアジド（methyldiothiazide）、およびクロロタリドン（chlorothalidon））を包含する。

【0210】

用語「ApoA-I模倣薬」は、D4Fペプチド（たとえば、式D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F）を包含する。

【0211】

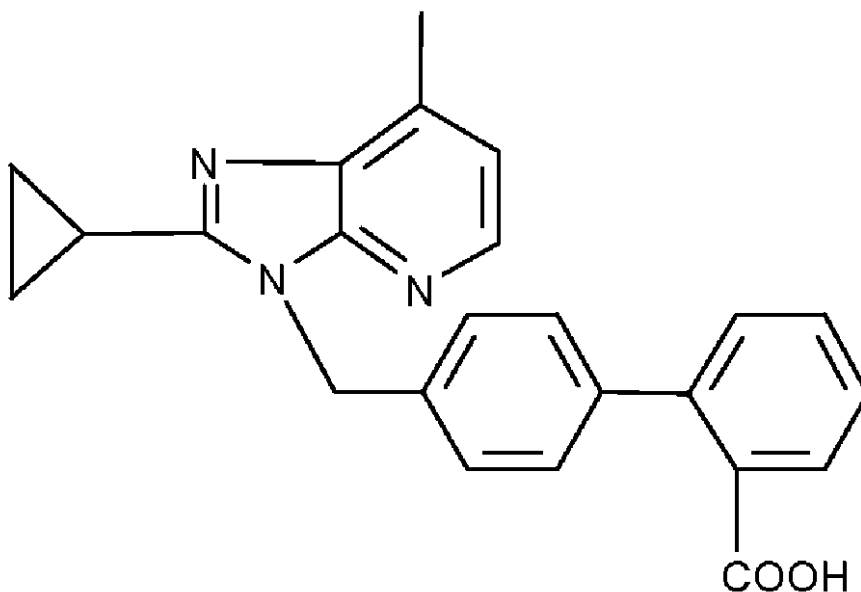
アンジオテンシンII受容体拮抗薬または薬学的に許容されるその塩は、アンジオテンシンII受容体のAT₁受容体サブタイプに結合するが、結果として受容体を活性化しない活性成分であると理解される。AT₁受容体が抑制される結果として、こうした拮抗薬は、たとえば、降圧薬として、またはうっ血性心不全の治療に用いることができる。

【0212】

AT₁受容体拮抗薬のクラスは、構造上の特色が異なっている化合物を含み、実用上好ましいのは、非ペプチド性化合物である。たとえば、バルサルタン、ロサルタン、カンデサルタン、エプロサルタン、イルベサルタン、サプリサルタン（sapisartan）、タソサルタン、テルミサルタン、次式

【0213】

【化17】



のE-1477という呼称の化合物、次式

【0214】

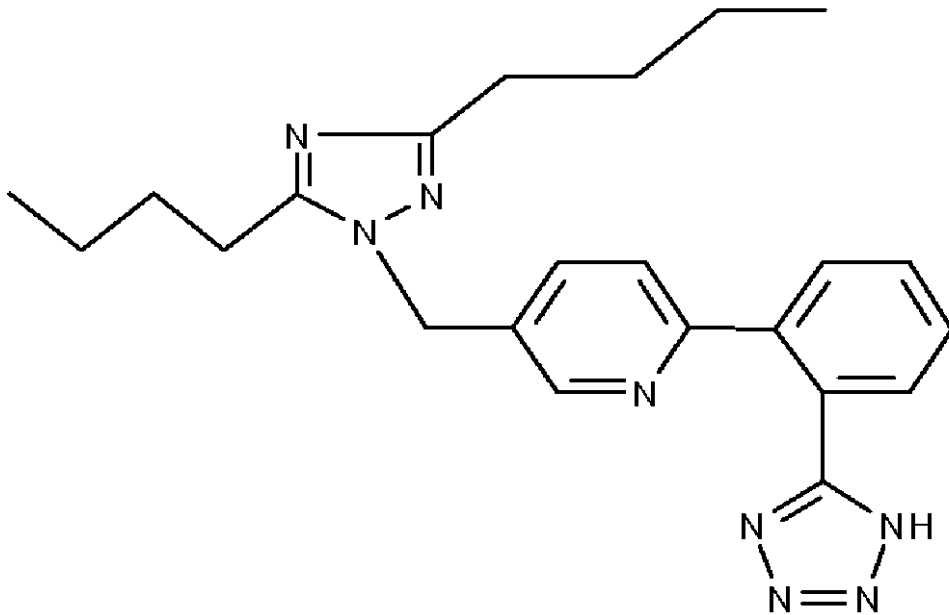
10

20

30

40

【化 18】



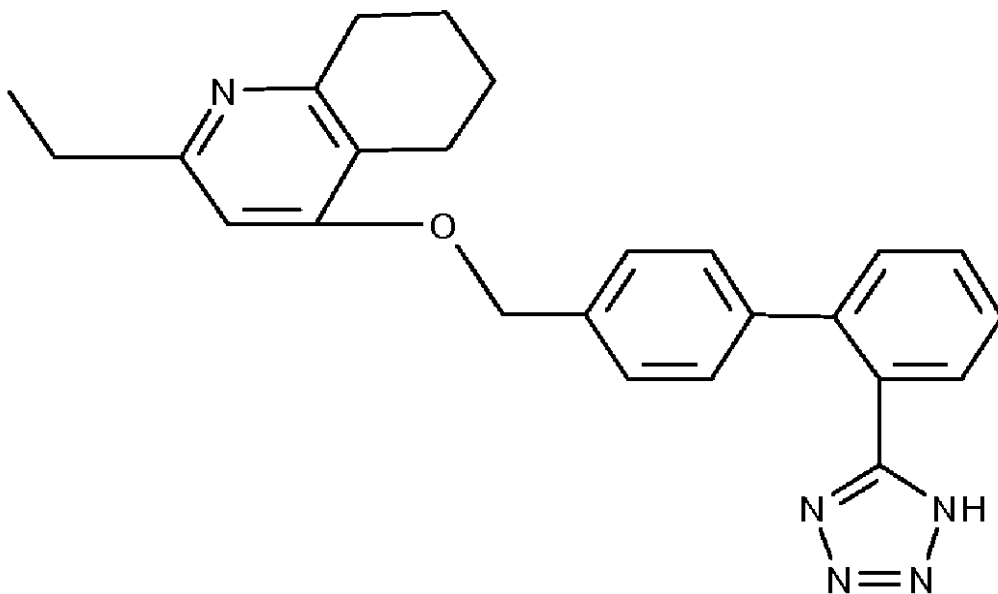
10

20

の SC - 52458 という呼称の化合物、および次式

【0215】

【化 19】



30

40

の ZD - 8731 という呼称の化合物、または、各場合において、薬学的に許容されるその塩からなる群から選択される化合物を挙げることができる。

【0216】

好ましい AT_1 受容体拮抗薬は、カンデサルタン、エプロサルタン、イルベサルタン、ロサルタン、テルミサルタン、バルサルタンである。他にも好ましいのは、市販されている薬剤であり、最も好ましいのは、バルサルタンまたは薬学的に許容されるその塩である。

【0217】

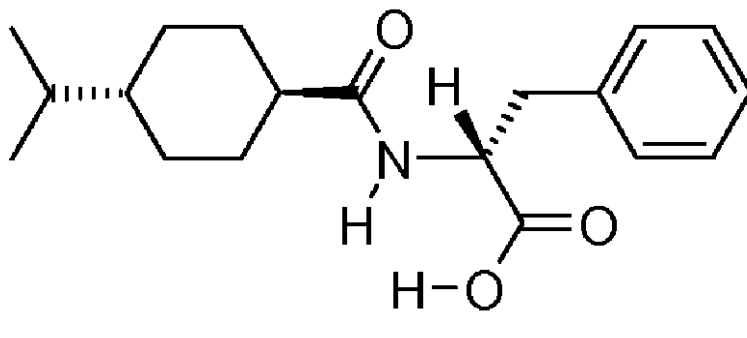
用語「抗糖尿病薬」は、膵臓細胞からのインスリンの分泌を促進するインスリン分泌増強剤を包含する。例としては、ピグアナイド誘導体（たとえば、メトホルミン）、スル

50

ホニル尿素 (SU) (たとえば、トルブタミド、クロルプロバミド、トラザミド、アセトヘキサミド、4-クロロ-N-[(1-ピロリジニルアミノ)カルボニル]-ベンゼンスルホンアミド(グリコピルアミド(glycopyramide))、グリベンクラミド(グリブリド)、グリクラジド、1-ブチル-3-メタニリル尿素、カルブタミド(carbutamide)、グリボヌリド(glibonuride)、グリビジド、グリキドン、グリソキセピド、グリブチアゾール(glybuthiazole)、グリブゾール(glibuzole)、グリヘキサミド(glyhexamide)、グリミジン、グリピンアミド(glypinamide)、フェンブタニド(phenbutanide)、およびトリルシクラミド(tolylcyclamide))、またはこれらの薬学的に許容される塩が挙げられる。別の例としては、フェニルアラニン誘導体(たとえば、式

【0218】

【化20】



のナテグリニド[N-(trans-4-イソプロピルシクロヘキシルカルボニル)-D-フェニルアラニン](EP196222およびEP526171を参照のこと)、レバグリニド[(S)-2-エトキシ-4-{2-[3-メチル-1-[2-(1-ピペリジニル)フェニル]ブチル]アミノ}-2-オキソエチル}安息香酸](EP589874、EP147850A2、詳細には、61頁の実施例11、およびEP207331A1を参照のこと)、カルシウム(2S)-2-ベンジル-3-(cis-ヘキサヒドロ-2-イソインドリンリカルボニル)-プロピオネート二水和物(たとえば、ミチグリニド(EP507534を参照のこと))、およびグリメピリド(EP31058を参照のこと)が挙げられる。

【0219】

本発明のペプチドおよびポリペプチドと組み合わせて使用することのできる第2の薬剤の別の例として、DPP-IV阻害薬、GLP-1およびGLP-1アゴニストが挙げられる。

【0220】

DPP-IVは、GLP-1の不活性化を担う。より詳細には、DPP-IVは、GLP-1受容体アンタゴニストを発生させ、それによってGLP-1に対する生理的反応が短縮される。GLP-1は、膵臓のインスリン分泌の主要な刺激物質であり、グルコース処理に直接有益な影響を及ぼす。

【0221】

DPP-IV(ジペプチジルペプチダーゼIV)阻害薬は、ペプチド性でも、または好ましくは、非ペプチド性でもよい。DPP-IV阻害薬は、各場合につき、たとえば、WO98/19998、DE19616486A1、WO00/34241、およびWO95/15309において、各場合につき、特に、化合物請求項および作業実施例の最終生成物において全般かつ詳細に開示されており、最終生成物、医薬調製物、および特許請求の範囲の主題は、これら刊行物を参照することにより、本明細書に援用される。好ましいのは、それぞれ、WO98/19998の実施例3およびWO00/34241の実施例1において詳細に開示されている化合物である。

【0222】

10

20

30

40

50

GLP-1 (グルカゴン様ペプチド1) は、たとえば、W.E. SchmidtらによるDiabetologia, 28, 1985, 704-707およびUS 5, 705, 483に記載されているインスリン分泌性タンパク質である。

【0223】

用語「GLP-1アゴニスト」は、特にUS 5, 120, 712、US 5, 118666、US 5, 512, 549、WO 91/11457、およびC. OrskovらによるJ. Biol. Chem. 264 (1989) 12826において開示されているGLP-1 (7-36)NH₂の変異体および類似体を包含する。別の例としては、化合物中GLP-1 (7-36)NH₂分子の第37位においてArg³⁶のカルボキシ末端側アミド官能基がGlyで置換されているGLP-1 (7-37)、ならびにGLN⁹-GLP-1 (7-37)、D-GLN⁹-GLP-1 (7-37)、アセチルLYS⁹-GLP-1 (7-37)、LYS¹⁸-GLP-1 (7-37)、特にGLP-1 (7-37)OH、VAL⁸-GLP-1 (7-37)、GLY⁸-GLP-1 (7-37)、THR⁸-GLP-1 (7-37)、MET⁸-GLP-1 (7-37)、および4-イミダゾプロピオニル-GLP-1を含めたその変異体および類似体が挙げられる。GreigらによるDiabetologia 1999, 42, 45-50に記載されているGLPアゴニスト類似体エキセンディン-4も、特に好まれる。

【0224】

定義「抗糖尿病薬」には、損なわれたインスリン受容体機能を回復させて、インスリン抵抗性を減らし、その結果としてインスリン感受性を増強するインスリン感受性増強剤も含まれる。例としては、血糖降下性チアゾリジンジオン誘導体(たとえば、グリタゾン、(S)-(3,4-ジヒドロ-2-(フェニル-メチル)-2H-1-ベンゾピラン-6-イル)メチル-チアゾリジン-2,4-ジオン(エングリタゾン)、5-{[4-(3-(5-メチル-2-フェニル-4-オキサゾリル)-1-オキソプロピル)-フェニル]-メチル}-チアゾリジン-2,4-ジオン(ダルグリタゾン)、5-{[4-(1-メチル-シクロヘキシル)メトキシ]-フェニル}メチル}-チアゾリジン-2,4-ジオン(シグリタゾン)、5-{[4-(2-(1-インドリル)エトキシ)フェニル]メチル}-チアゾリジン-2,4-ジオン(DRF2189)、5-{4-[2-(5-メチル-2-フェニル-4-オキサゾリル)-エトキシ]}ベンジル}-チアゾリジン-2,4-ジオン(BM-13.1246)、5-(2-ナフチルスルホニル)-チアゾリジン-2,4-ジオン(AY-31637)、ビス{4-[(2,4-ジオキソ-5-チアゾリジニル)メチル]フェニル}メタン(YM268)、5-{4-[2-(5-メチル-2-フェニル-4-オキサゾリル)-2-ヒドロキシエトキシ]}ベンジル}-チアゾリジン-2,4-ジオン(AD-5075)、5-[4-(1-フェニル-1-シクロプロパンカルボニルアミノ)-ベンジル]-チアゾリジン-2,4-ジオン(DN-108)5-{[4-(2-(2,3-ジヒドロインドール-1-イル)エトキシ)フェニル]メチル}-チアゾリジン-2,4-ジオン、5-[3-(4-クロロ-フェニル)]-2-プロピニル]-5-フェニルスルホニル)チアゾリジン-2,4-ジオン、5-[3-(4-クロロフェニル)]-2-プロピニル]-5-(4-フルオロフェニル-スルホニル)チアゾリジン-2,4-ジオン、5-{[4-(2-(メチル-2-ピリジニル-アミノ)-エトキシ)フェニル]メチル}-チアゾリジン-2,4-ジオン(ロシグリタゾン)、5-{[4-(2-(5-エチル-2-ピリジニル)エトキシ)フェニル]-メチル}チアゾリジン-2,4-ジオン(ピオグリタゾン)、5-{[4-(3,4-ジヒドロ-6-ヒドロキシ-2,5,7,8-テトラメチル-2H-1-ベンゾピラン-2-イル)メトキシ]-フェニル]-メチル}-チアゾリジン-2,4-ジオン(トログリタゾン)、5-[6-(2-フルオロ-ベンジルオキシ)ナフタレン-2-イルメチル]-チアゾリジン-2,4-ジオン(MCC555)、5-{[2-(2-ナフチル)-ベンゾオキサゾール-5-イル]-メチル}チアゾリジン-2,4-ジオン(T-174)および5-(2,4-ジオキソチアゾリジン-5-イルメチル)-2-メトキシ-N-(4-トリフルオロメチル-ベンジル)ベンズアミド(KRP297))が挙げられる。

【0225】

10

20

30

40

50

これ以外の抗糖尿病薬としては、タンパク質チロシンホスファターゼ（PTPアーゼ）の阻害薬、抗糖尿病性非小分子模倣化合物、グルタミン・フルクトース・6・リン酸アミドトランスフェラーゼ（GFAT）の阻害薬のような、インスリンシグナル伝達経路モジュレーター；グルコース・6・ホスファターゼ（G6Pアーゼ）の阻害薬、フルクトース・1,6・ビスホスファターゼ（F-1,6-Bpアーゼ）の阻害薬、グリコーゲンホスホリラーゼ（GP）の阻害薬、グルカゴン受容体拮抗薬、ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ（PEPCK）の阻害薬のような、肝臓グルコース産生の調節不全に影響を及ぼす化合物；ピルビン酸脱水素酵素キナーゼ（PDHK）阻害薬；胃内容排出の阻害薬；インスリン；GSK-3の阻害薬；レチノイドX受容体（RXR）アゴニスト； α -3ARのアゴニスト；脱共役タンパク質（UCP）のアゴニスト；非グリタゾン型PPARアゴニスト；PPAR α /PPAR β 二重アゴニスト；抗糖尿病性含バナジウム化合物；グルカゴン様ペプチド1（GLP-1）やGLP-1アゴニストのようなインクレチンホルモン；細胞イミダゾリン受容体アンタゴニスト；ミグリトール； β_2 -アドレナリンアンタゴニスト；ならびにこれらの薬学的に許容される塩が挙げられる。

10

20

30

40

【0226】

一実施形態では、本発明は、治療有効量の式I～IXのいずれか1つの定義に従うポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩と、アセプトロール、アテノロール、ベタキソロール、ピソプロロール、メトプロロール、ナドロール、プロプラノロール、ソタロール、チモロールなどの β -アドレナリン受容体遮断薬；AT1遮断薬などのアンジオテンシンII受容体アンタゴニスト；DPP-IV阻害薬（たとえば、ビルダグリプチン）やGLP-1ペプチドアゴニストなどの抗糖尿病薬から選択される1種または複数の治療活性薬剤とを含む組合せ、詳細には医薬合剤を提供する。

【0227】

用語「抗肥満薬」は、リパーゼ阻害薬（たとえば、オーリスタット）および食欲抑制薬（たとえば、シブトラミンおよびフェンテルミン）を包含する。

【0228】

アルドステロンシンターゼ阻害薬または薬学的に許容されるその塩は、アルドステロンの産生を抑制する特性を有する活性成分であると理解される。アルドステロンシンターゼ（CYP11B2）は、副腎皮質におけるアルドステロン産生の最後のステップ、すなわち、11-デオキシコルチコステロンのアルドステロンへの変換を触媒する、ミトコンドリアのシトクロムP450酵素である。いわゆるアルドステロンシンターゼ阻害薬によるアルドステロン産生の抑制は、低カリウム血症、高血圧、うっ血性心不全、心房細動、または腎不全の治療に奏効する変異形態であることが知られている。このようなアルドステロンシンターゼ抑制活性は、当業者によって、標準のアッセイ（たとえば、US2007/0049616）に従い、容易に見極められる。

【0229】

アルドステロンシンターゼ阻害薬のクラスは、ステロイド性および非ステロイド性両方のアルドステロンシンターゼ阻害薬を含み、後者が最も好ましい。

【0230】

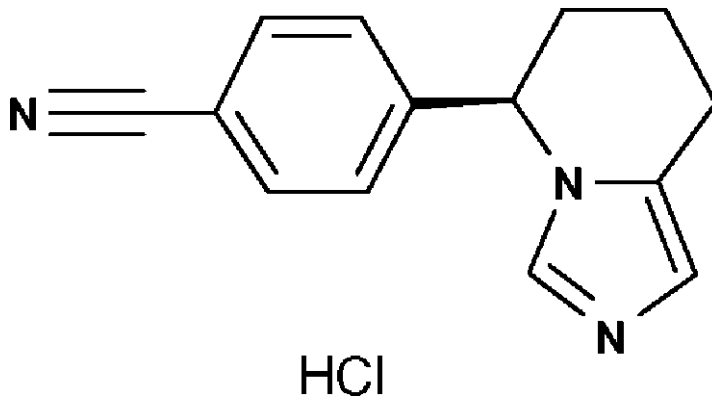
市販品として入手可能なアルドステロンシンターゼ阻害薬または保健当局によって承認されているアルドステロンシンターゼ阻害薬が好ましい。

【0231】

アルドステロンシンターゼ阻害薬のクラスは、構造上の特色が異なっている化合物を含む。非ステロイド性アルドステロンシンターゼ阻害薬の例は、式

【0232】

【化 2 1】



10

のファドロゾールの塩酸塩（米国特許 4 6 1 7 3 0 7 および 4 8 8 9 8 6 1）の（+）鏡像異性体、または適切な場合、薬学的に許容されるその塩である。

【 0 2 3 3】

前記組合せにおいて有用なアルドステロンシンターゼ阻害薬は、たとえば、US 2 0 0 7 / 0 0 4 9 6 1 6 において、特に、化合物請求項および作業実施例の最終生成物において全般かつ詳細に開示されている化合物および類似体であり、最終生成物、医薬調製物、および特許請求の範囲の主題は、この刊行物を参照することにより、本明細書に援用される。本発明における使用に適する好ましいアルドステロンシンターゼ阻害薬としては、限定はせず、4 - (6 , 7 - ジヒドロ - 5 H - ピロロ [1 , 2 - c] イミダゾール - 5 - イル) - 3 - メチルベンゾニトリル ; 5 - (2 - クロロ - 4 - シアノフェニル) - 6 , 7 - ジヒドロ - 5 H - ピロロ [1 , 2 - c] イミダゾール - 5 - カルボン酸 (4 - メトキシベンジル) メチルアミド ; 4 ' - フルオロ - 6 - (6 , 7 , 8 , 9 - テトラヒドロ - 5 H - イミダゾ [1 , 5 - a] アゼピン - 5 - イル) ビフェニル - 3 - カルボニトリル ; 5 - (4 - シアノ - 2 - メトキシフェニル) - 6 , 7 - ジヒドロ - 5 H - ピロロ [1 , 2 - c] イミダゾール - 5 - カルボン酸ブチルエステル ; 4 - (6 , 7 - ジヒドロ - 5 H - ピロロ [1 , 2 - c] イミダゾール - 5 - イル) - 2 - メトキシベンゾニトリル ; 5 - (2 - クロロ - 4 - シアノフェニル) - 6 , 7 - ジヒドロ - 5 H - ピロロ [1 , 2 - c] イミダゾール - 5 - カルボン酸 4 - フルオロベンジルエステル ; 5 - (4 - シアノ - 2 - トリフルオロメトキシフェニル) - 6 , 7 - ジヒドロ - 5 H - ピロロ [1 , 2 - c] イミダゾール - 5 - カルボン酸メチルエステル ; 5 - (4 - シアノ - 2 - メトキシフェニル) - 6 , 7 - ジヒドロ - 5 H - ピロロ [1 , 2 - c] イミダゾール - 5 - カルボン酸 2 - イソプロポキシエチルエステル ; 4 - (6 , 7 - ジヒドロ - 5 H - ピロロ [1 , 2 - c] イミダゾール - 5 - イル) - 2 - メチルベンゾニトリル ; 4 - (6 , 7 - ジヒドロ - 5 H - ピロロ [1 , 2 - c] イミダゾール - 5 - イル) - 3 - フルオロベンゾニトリル ; 4 - (6 , 7 - ジヒドロ - 5 H - ピロロ [1 , 2 - c] イミダゾール - 5 - イル) - 2 - メトキシベンゾニトリル ; 3 - フルオロ - 4 - (7 - メチレン - 6 , 7 - ジヒドロ - 5 H - ピロロ [1 , 2 - c] イミダゾール - 5 - イル) ベンゾニトリル ; cis - 3 - フルオロ - 4 - [7 - (4 - フルオロ - ベンジル) - 5 , 6 , 7 , 8 - テトラヒドロ - イミダゾ [1 , 5 - a] ピリジン - 5 - イル] ベンゾニトリル ; 4 ' - フルオロ - 6 - (9 - メチル - 6 , 7 , 8 , 9 - テトラヒドロ - 5 H - イミダゾ [1 , 5 - a] アゼピン - 5 - イル) ビフェニル - 3 - カルボニトリル ; 4 ' - フルオロ - 6 - (9 - メチル - 6 , 7 , 8 , 9 - テトラヒドロ - 5 H - イミダゾ [1 , 5 - a] アゼピン - 5 - イル) ビフェニル - 3 - カルボニトリル、または各場合において、その (R) もしくは (S) 鏡像異性体、または適切な場合、薬学的に許容されるその塩が挙げられる。

20

30

40

【 0 2 3 4】

用語アルドステロンシンターゼ阻害薬は、WO 2 0 0 8 / 0 7 6 8 6 0、WO 2 0 0 8

50

/ 0 7 6 3 3 6、W O 2 0 0 8 / 0 7 6 8 6 2、W O 2 0 0 8 / 0 2 7 2 8 4、W O 2 0 0 4 / 0 4 6 1 4 5、W O 2 0 0 4 / 0 1 4 9 1 4、W O 2 0 0 1 / 0 7 6 5 7 4 で開示されている化合物および類似体も包含する。

【 0 2 3 5 】

さらに、アルドステロンシンターゼ阻害薬は、米国特許出願 U S 2 0 0 7 / 0 2 2 5 2 3 2、U S 2 0 0 7 / 0 2 0 8 0 3 5、U S 2 0 0 8 / 0 3 1 8 9 7 8、U S 2 0 0 8 / 0 0 7 6 7 9 4、U S 2 0 0 9 / 0 0 1 2 0 6 8、U S 2 0 0 9 0 0 4 8 2 4 1、および P C T 出願 W O 2 0 0 6 / 0 0 5 7 2 6、W O 2 0 0 6 / 1 2 8 8 5 3、W O 2 0 0 6 1 2 8 8 5 1、W O 2 0 0 6 / 1 2 8 8 5 2、W O 2 0 0 7 0 6 5 9 4 2、W O 2 0 0 7 / 1 1 6 0 9 9、W O 2 0 0 7 / 1 1 6 9 0 8、W O 2 0 0 8 / 1 1 9 7 4 4、および欧州特許出願 E P 1 8 8 6 6 9 5 において開示されている化合物および類似体も包含する。本発明における使用に適する好ましいアルドステロンシンターゼ阻害薬として、限定はせず、S p e e d e l が開発した 8 - (4 - フルオロフェニル) - 5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [5 , 1 - c] [1 , 4] オキサジン ; 4 - (5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [5 , 1 - c] [1 , 4] オキサジン - 8 - イル) - 2 - フルオロベンゾニトリル ; 4 - (5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [5 , 1 - c] [1 , 4] オキサジン - 8 - イル) - 2 , 6 - ジフルオロベンゾニトリル ; 4 - (5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [5 , 1 - c] [1 , 4] オキサジン - 8 - イル) - 2 - メトキシベンゾニトリル ; 3 - (5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [5 , 1 - c] [1 , 4] オキサジン - 8 - イル) ベンゾニトリル ; 4 - (5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [5 , 1 - c] [1 , 4] オキサジン - 8 - イル) フタロニトリル ; 4 - (8 - (4 - シアノフェニル) - 5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [5 , 1 - c] [1 , 4] オキサジン - 8 - イル) ベンゾニトリル ; 4 - (5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [5 , 1 - c] [1 , 4] オキサジン - 8 - イル) ベンゾニトリル ; 4 - (5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [5 , 1 - c] [1 , 4] オキサジン - 8 - イル) ナフタレン - 1 - カルボニトリル ; 8 - [4 - (1 H - テトラゾール - 5 - イル) フェニル 1 - 5 , 6 - ジヒドロ - 8 H - イミダゾ [5 , 1 - c] [1 , 4] オキサジン、または各場合において、その (R) もしくは (S) 鏡像異性体、または適切な場合、薬学的に許容されるその塩が挙げられる。

【 0 2 3 6 】

前記組合せにおいて有用なアルドステロンシンターゼ阻害薬は、たとえば、W O 2 0 0 9 / 1 5 6 4 6 2 および W O 2 0 1 0 / 1 3 0 7 9 6 において、特に、化合物請求項および作業実施例の最終生成物において全般かつ詳細に開示されている化合物および類似体、最終生成物、医薬調製物、および特許請求の範囲の主題である。本発明における組合せに適する好ましいアルドステロンシンターゼ阻害薬としては、3 - (6 - フルオロ - 3 - メチル - 2 - ピリジン - 3 - イル - 1 H - インドール - 1 - イルメチル) - ベンゾニトリルヒドロクロリド、1 - (4 - メタンスルホニル - ベンジル) - 3 - メチル - 2 - ピリジン - 3 - イル - 1 H - インドール、2 - (5 - ベンジルオキシ - ピリジン - 3 - イル) - 6 - クロロ - 1 - メチル - 1 H - インドール、5 - (3 - シアノ - 1 - メチル - 1 H - インドール - 2 - イル) - ニコチン酸エチルエステル、N - [5 - (6 - クロロ - 3 - シアノ - 1 - メチル - 1 H - インドール - 2 - イル) - ピリジン - 3 - イルメチル] - エタンスルホンアミド、ピロリジン - 1 - スルホン酸 5 - (6 - クロロ - 3 - シアノ - 1 - メチル - 1 H - インドール - 2 - イル) - ピリジン - 3 - イルエステル、N - メチル - N - [5 - (1 - メチル - 1 H - インドール - 2 - イル) - ピリジン - 3 - イルメチル] - メタンスルホンアミド、6 - クロロ - 1 - メチル - 2 - { 5 - [(2 - ピロリジン - 1 - イル - エチルアミノ) - メチル] - ピリジン - 3 - イル } - 1 H - インドール - 3 - カルボニトリル、6 - クロロ - 2 - [5 - (4 - メタンスルホニル - ピペラジン - 1 - イルメチル) - ピリジン - 3 - イル] - 1 - メチル - 1 H - インドール - 3 - カルボニトリル、6 - クロロ - 1 - メチル - 2 - { 5 - [(1 - メチル - ピペリジン - 4 - イルアミノ) - メチル] - ピリジン - 3 - イル } - 1 H - インドール - 3 - カルボニトリル、モルホリン - 4 - カルボン酸 [5 - (6 - クロロ - 3 - シアノ - 1 - メチル - 1 H - インドール - 2 - イ

10

20

30

40

50

ル) - ピリジン - 3 - イルメチル] - アミド、N - [5 - (6 - クロロ - 1 - メチル - 1 H - インドール - 2 - イル) - ピリジン - 3 - イルメチル] - エタンスルホンアミド、C , C , C - トリフルオロ - N - [5 - (1 - メチル - 1 H - インドール - 2 - イル) - ピリジン - 3 - イルメチル] - メタンスルホンアミド、N - [5 - (3 - クロロ - 4 - シアノ - フェニル) - ピリジン - 3 - イル] - 4 - トリフルオロメチル - ベンゼンスルホンアミド、N - [5 - (3 - クロロ - 4 - シアノ - フェニル) - ピリジン - 3 - イル] - 1 - フェニル - メタンスルホンアミド、N - (5 - (3 - クロロ - 4 - シアノフェニル) ピリジン - 3 - イル) ブタン - 1 - スルホンアミド、N - (1 - (5 - (4 - シアノ - 3 - メトキシフェニル) ピリジン - 3 - イル) エチル) エタンスルホンアミド、N - ((5 - (3 - クロロ - 4 - シアノフェニル) ピリジン - 3 - イル) (シクロプロピル) メチル) エタンスルホンアミド、N - (シクロプロピル (5 - (1 H - インドール - 5 - イル) ピリジン - 3 - イル) メチル) エタンスルホンアミド、N - (シクロプロピル (5 - ナフタレン - 1 - イル - ピリジン - 3 - イル) メチル) エタンスルホンアミド、エタンスルホン酸 [5 - (6 - クロロ - 1 - メチル - 1 H - ピロロ [2 , 3 - b] ピリジン - 2 - イル) - ピリジン - 3 - イルメチル] - アミドおよびエタンスルホン酸 { [5 - (3 - クロロ - 4 - シアノ - フェニル) - ピリジン - 3 - イル] - シクロプロピル - メチル} - エチル - アミドが挙げられる。

【 0 2 3 7 】

用語「エンドセリン受容体遮断薬」は、ボセンタンおよびアンプリセンタンを包含する。

【 0 2 3 8 】

用語「CETP阻害薬」とは、コレステリルエステル転送タンパク質 (CETP) を媒介とする、種々のコレステリルエステルおよびトリグリセリドのHDLからLDLおよびVLDLへの輸送を抑制する化合物を指す。このようなCETP抑制活性は、当業者によって、標準のアッセイ (たとえば、米国特許第6, 140, 343号) に従い、容易に見極められる。例として、米国特許第6, 140, 343号および米国特許第6, 197, 786号で開示されている化合物 (たとえば、[2 R , 4 S] 4 - [(3 , 5 - ビス - トリフルオロメチル - ベンジル) - メトキシカルボニル - アミノ] - 2 - エチル - 6 - トリフルオロメチル - 3 , 4 - ジヒドロ - 2 H - キノリン - 1 - カルボン酸エチルエステル (トルセトラピブ)、米国特許第6, 723, 752号で開示されている化合物 (たとえば、(2 R) - 3 - { [3 - (4 - クロロ - 3 - エチル - フェノキシ) - フェニル] - [[3 - (1 , 1 , 2 , 2 - テトラフルオロ - エトキシ) - フェニル] - メチル] - アミノ} - 1 , 1 , 1 - トリフルオロ - 2 - プロパノール)、米国特許出願第10 / 807, 838号で開示されている化合物、米国特許第5, 512, 548号で開示されているポリペプチド誘導体、それぞれJ. Antibiot., 49(8): 815- 816 (1996)およびBioorg. Med. Chem. Lett.; 6:1951-1954 (1996)で開示されているロセノノラクトン誘導体およびコレステリルエステルの含リン酸類似体が挙げられる。さらに、CETP阻害薬として、WO 2000 / 017165、WO 2005 / 095409、WO 2005 / 097806、WO 2007 / 128568、WO 2008 / 009435、WO 2009 / 059943、およびWO 2009 / 071509で開示されているものも挙げられる。

【 0 2 3 9 】

用語「NEP阻害薬」とは、中性エンドペプチダーゼ (NEP) EC 3 . 4 . 24 . 11を抑制する化合物を指す。例として、カンドキサトリル、カンドキサトリラート、デキセカドトリル (Dexecadotril)、エカドトリル (Ecadotril)、ラセカドトリル、サンパトリラート (Sampatrilat)、ファシドトリル、オマパトリラート、ゲモパトリラート (Gemopatrilat)、ダグルトリル (Daglutril)、SCH - 42495、SCH - 32615、UK - 447841、AVE - 0848、PL - 37、および(2 R , 4 S) - 5 - ビフェニル - 4 - イル - 4 - (3 - カルボキシ - プロピオニルアミノ) - 2 - メチル - ペンタン酸エチルエステル、またはこれらの薬学的に許容される塩が挙げられる。NEP阻害薬には、米国特許第US 5, 155, 100号で開示されているようなホスホノ / ピアリ

ール置換ジペプチド誘導体も含まれる。NEP阻害薬には、PCT出願第WO2003/104200号で開示されているようなN-メルカプトアシルフェニルアラニン誘導体も含まれる。NEP阻害薬には、PCT出願第WO2008/133896、WO2009/035543、またはWO2009/134741で開示されているような二重作用性降圧薬も含まれる。他の例としては、US出願第12/788,794号、第12/788,766号、および第12/947,029号で開示されている化合物が挙げられる。NEP阻害薬として、WO2010/136474、WO2010/136493、WO2011/061271、ならびにUS仮出願第61/414171号および第61/414163号で開示されている化合物も挙げられる。

【0240】

一実施形態では、本発明は、対象においてAPJ受容体を活性化する方法であって、治療有効量の、式I~IXのいずれか1つの定義に従うポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩を対象に投与することを含む方法を提供する。

【0241】

一実施形態では、本発明は、対象において、APJ受容体の活性化に反応を示す障害または疾患を治療する方法であって、治療有効量の、式I~IXのいずれか1つの定義に従うポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩を対象に投与することを含む方法を提供する。

【0242】

一実施形態では、本発明は、対象において、APJ受容体の活性化(アゴニズム)に反応を示す障害または疾患を治療する方法であって、障害または疾患が、急性代償不全心不全(ADHF)、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、Brugada症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病(妊娠糖尿病を含める)、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷(日焼けを含める)、および子癇前症から選択される方法を提供する。

【0243】

一実施形態では、本発明は、医薬として使用するための、式I~IXのいずれか1つの定義に従うポリペプチドを提供する。

【0244】

一実施形態では、本発明は、APJ受容体の活性化に反応を示す障害または疾患を治療するための医薬の製造における、式I~IXのいずれか1つの定義に従うポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩の使用を提供する。別の実施形態では、本発明は、APJ受容体の活性化に反応を示す障害または疾患を治療するための医薬の製造における、式I~IXのいずれか1つの定義に従うポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩の使用であって、前記障害または疾患が、詳細には、急性代償不全心不全(ADHF)、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、Brugada症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病(妊娠糖尿病を含める)、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷(日焼けを含める)、および子癇前症から選択される、使用を提供する。

【実施例】

【0245】

本発明の例示：ペプチドおよびポリペプチド合成

【0246】

10

20

30

40

【表 5 A】

略語	定義
AA	アミノ酸
Ac	アセチル
Acm	アセトアミドメチル
ACN	アセトニトリル
AcOH	酢酸
Ac ₂ O	無水酢酸
AM	アミノメチル
BAL	主鎖アミドリンカー
BSA	ウシ血清アルブミン
Boc	tert-ブチルオキシカルボニル
DCM	ジクロロメタン
DIC	N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド
DIPEA	N,N'-ジイソプロピルエチルアミン
DMA	N,N'-ジメチルアセトアミド
DMF	N,N'-ジメチルホルムアミド
DMSO	ジメチルスルホキシド
DVB	ジビニルベンゼン
EDT	エタンジチオール
FA	脂肪酸
Fmoc	9-フルオレニルメチルオキシカルボニル
HATU	2-(1H-9-アザベンゾトリアゾール-1-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート
HBSS	ハンクス緩衝塩溶液
HCTU	2-(6-クロロ-1H-ベンゾトリアゾール-イル)-1,1,3,3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート
HEPES	4-(2-ヒドロキシエチル)-1-ピペラジンエタンスルホン酸
HFIP	ヘキサフルオロイソプロパノール
HOAt	1-ヒドロキシ-7-アザベンゾトリアゾール
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
ivDde	(4,4-ジメチル-2,6-ジオキソシクロヘキサ-1-イリデン)-3-メチルブチル
LN	Logarithmus naturali(自然対数)
MeOH	メタノール
MS	質量分析
Nal	2-ナフチルアラニン
Nle	ノルロイシン
NMP	N-メチルピロリジン
Oxyrna Pure	エチル2-シアノ-2-(ヒドロキシイミノ)アセテート
Pbf	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
pE	ピログルタミン酸
PG	保護基
Ph	フェニル
PS	ポリスチレン
POL	ポリマー支持体
rt	室温
SPPS	固相ペプチド合成
tBuOH	tert-ブタノール
TFA	トリフルオロ酢酸

10

20

30

40

【表 5 B】

THF	テトラヒドロフラン
TIS	トリイソプロピルシラン
t _R	保持時間
Trt	トリチル
UPLC	超高速液体クロマトグラフィー
UV	紫外線

【0247】

ペプチドは、標準の固相 Fmoc 化学によって合成した。ペプチドは、Prelude (商標) ペプチド合成装置 (Protein Technologies, Inc., 米国トゥーソン) において組み立てた。C 末端上に遊離カルボン酸を有するペプチドは、2-クロロトリチルクロリド-PS 樹脂 (ABCR、ドイツ国カールスルーエ) から合成した。C 末端上に非置換カルボキサミドを有するペプチドは、Fmoc 保護された Rink-Amide-AM-PS 樹脂 (Merck、ドイツ国ダルムシュタット) から合成した。C 末端上に N で置換されているカルボキサミドを有するペプチドは、アミンが導入された BAL-AM-PS 樹脂 (EMC Microcollections、ドイツ国チュービンゲン) から合成した。

10

【0248】

ペプチドは、分取逆相 HPLC によって精製した。次のカラムを使用した。

20

- Waters SunFire Prep C18 OBD カラム、5 μm、30 × 100 mm、部品番号 186002572 (カラム 1 本または連続したカラム 2 本)
- Waters SunFire Prep C18 OBD カラム、5 μm、30 × 150 mm、部品番号 186002797
- Waters Atlantis Prep OBD T3 カラム、5 μm、30 × 150 mm、部品番号 186003703
- Waters XBridge Prep C8 OBD カラム、5 μm、30 × 150 mm、部品番号 186003083
- Machery-Nagel Nucleosil (登録商標) 100-5 C18、5 μm、250 × 40 mm、部品番号 715340.400

30

【0249】

移動相は、溶離液 A (0.1% TFA H₂O 水溶液) と溶離液 B (ACN) からなるものとした。勾配は、分離の問題の特定の要件に基づき設計した。純粋な生成物を ACN/H₂O から凍結乾燥した。

【0250】

生成物は、= 214 nm での UV 検出を使用する分析 HPLC (カラム: Bischoff UHC-640、53 × 4.0 mm、ProntoSil 120-3-C18-H、3 μm、部品番号 0604F185PS030) によって分析した。移動相は、溶離液 A (0.07% TFA H₂O 溶液) と溶離液 B (0.1% TFA ACN 溶液) からなるものとした。生成物の追加の特性決定は、エレクトロスプレーイオン化を使用する UPLC-MS (カラム: Waters Acquity UPLC (登録商標) BEH C18、1.7 μm、2.1 × 50 mm、部品番号 186002350) によって行った。

40

【0251】

表 4 において例示するペプチドは、以下に記載する一般手順を使用して合成した。非置換の N 末端または C 末端は、それぞれ、細いイタリック体の H- または -OH で示す。

【0252】

【表 6 A】

表4:

実施例	配列	環のタイプ
実施例1	pE-R-P-R-L-K-H-F-G-P-Nle-D-フェネチルアミン	ラクタム K ⁶ -D ¹²
実施例2	pE-R-P-R-L-K-H-F-G-P-Nle-E-フェネチルアミン	ラクタム K ⁶ -E ¹²
実施例3	pE-R-P-R-L-Orn-H-F-G-P-Nle-D-フェネチルアミン	ラクタム O ⁶ -D ¹²
実施例4	pE-R-P-R-L-Dab-H-F-G-P-Nle-D-フェネチルアミン	ラクタム Dab ⁶ -D ¹²
実施例5	pE-R-P-R-L-K-F-K-G-P-Nle-F	ラクタム K ⁶ -C末端
実施例6	pE-R-P-R-L-K-F-K-G-P-Nle-f	ラクタム K ⁶ -C末端
実施例7	Q-R-P-R-L-C-F-K-G-P-Nle-C-F-G-G	ラクタム N末端-C末端, ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例8	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例9	pE-R-P-R-L-C-Aib-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例10	pE-R-P-R-L-C-Aib-K-G-P-Nle-C-f-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例11	H-Isn-R-P-R-L-C-Aib-K-G-P-Nle-C-f-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例12	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-フェネチルアミン	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例13	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-f-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例14	pE-R-P-R-Cha-C-H-K-G-P-Cha-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例15	pE-R-P-R-L-C-F-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例16	H-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁵ -C ¹¹
実施例17	H-R-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例18	H-Isn-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例19	pE-R-P-R-L-C-H-F-G-P-Nle-C-フェネチルアミン	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例20	pE-R-P-R-L-C-H-K-Aib-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例21	pE-R-P-R-L-C-H-(4-NH-Isn)-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例22	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-K(パルミトイル)-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例23	pE-R-P-R-L-C-K(パルミトイル)-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例24	パルミトイル-O2Oc-Q-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例25	ラウロイル-O2Oc-Q-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例26	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-K(ラウロイル)-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例27	pE-R-P-R-L-C-K(ラウロイル)-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例28	pE-R-P-C-L-C-C-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹² , C ⁴ -C ⁷
実施例29	pE-R-C-R-L-C-C-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹² , C ³ -C ⁷
実施例30	pE-r-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例31	pE-F-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例32	pE-E-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例33	pE-R-p-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例34	pE-R-K-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例35	pE-R-D-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例36	pE-R-P-F-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例37	pE-R-P-R-K-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例38	pE-R-P-R-L-C-H-E-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例39	pE-R-P-R-L-C-H-K-D-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例40	pE-R-P-E-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例41	pE-R-P-R-(4-PhF)-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²

10

20

30

40

【表 6 B】

実施例42	pE-R-P-R-D-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例43	pE-R-P-R-L-C-E-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例44	pE-R-P-R-L-C-H-K-L-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例45	pE-R-P-R-L-C-H-K-R-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例46	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-(ピペコリン酸)-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例47	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-(3-PyA)-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例48	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-H-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例49	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-E-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例50	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例51	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-hC-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例52	pE-R-P-R-L-hC-H-K-G-P-Nle-hC-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例53	pE-R-P-R-L-c-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例54	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-(D-hC)-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例55	pE-R-P-R-L-(D-hC)-H-K-G-P-Nle-(D-hC)-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例56	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-c-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例57	pE-R-P-R-L-c-H-K-G-P-Nle-c-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例58	ミリストイル-O2Oc-O2Oc-Q-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-f-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例59	ミリストイル-O2Oc-O2Oc-O2Oc-Q-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-f-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例60	ミリストイル-O2Oc-O2Oc-O2Oc-O2Oc-Q-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-f-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例61	pE-R-P-R-L-C-H-K(ミリストイル)-G-P-Nle-C-F-OH	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例62	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-NH ₂	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例63	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-NH ₂	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例64	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	-S-CH ₂ -C(=O)CH ₂ -S- [C ⁶ -C ¹²]
実施例65	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	モノスルフィド C ⁶ -C ¹² ₂
実施例66	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	-S-CH ₂ -C(=Z)-CH ₂ -S- [C ⁶ -C ¹²]

10

20

30

【 0 2 5 3 】

分析方法

1) HPLC - 分析方法 A

- カラム：Prontosil 120-3-C18-H、3 μmを備えたBischoff UHC-640(53×4.0mm)、部品番号：0604F185PS030

- 溶離液 A：0.07% TFA 水溶液 / 溶離液 B：0.1% TFA ACN 溶液
- 流量：1.5 ml / 分
- 温度：40
- 勾配：

40

【 0 2 5 4 】

【表 7】

時間[分]	A [%]	B [%]
0.0	90	10
9.5	0	100
12.0	0	100
12.2	90	10

【0255】

10

2 a) UPLC - MS - 分析方法 B

- Waters Acquity UPLC (登録商標) BEH C18、1.7 μm、2.1 × 50 mm、部品番号：186002350
- 溶離液 A：0.1% FA 水溶液、溶離液 B：0.1% FA ACN 溶液
- 流量：0.7 ml / 分
- 温度：40
- 勾配：

【0256】

【表 8】

20

時間[分]	A [%]	B [%]
0.0	80	20
1.0	75	25
4.2	10	90
4.3	0	100
4.6	80	20

【0257】

30

2 b) UPLC - MS - 分析方法 C

- Waters Acquity UPLC (登録商標) BEH C18、1.7 μm、2.1 × 50 mm、部品番号：186002350
- 溶離液 A：0.1% FA 水溶液、溶離液 B：0.1% FA ACN 溶液
- 流量：0.7 ml / 分
- 温度：40
- 勾配：

【0258】

【表 9】

40

時間[分]	A [%]	B [%]
0.0	99	1
1.0	97	3
3.5	50	50
4.0	10	90
4.3	0	100
4.6	80	20

【0259】

実施例 1 ~ 63 のペプチドの分析データは、表 5 にまとめて示すが、上述の分析方法を

50

使用して生成したものである。

【 0 2 6 0 】

【表 10 A】

表5

ペプチド	HPLC		質量分析				
	t _R [分]	方法	[M+2H] ²⁺ (測定値)	[M+3H] ³⁺ (測定値)	方法	[M+2H] ²⁺ (計算値)	[M+3H] ³⁺ (計算値)
実施例1	4.16	A	766.3	511.2	C	766.4	511.3
実施例2	4.18	A	773.5	515.8	C	773.4	516.0
実施例3	4.14	A		506.6	C	759.4	506.6
実施例4	4.15	A	752.4	501.9	C	752.4	501.9
実施例5	3.70	A		484.5	C	726.4	484.6
実施例6	3.84	A		484.5	C	726.4	484.6
実施例7	3.85	A		553.6	C	829.9	553.6
実施例8	3.43	A	768.1	512.4	C	768.4	512.6
実施例9	3.77	A		495.2	C	742.4	495.3
実施例10	3.74	A	742.5	495.1	C	742.4	495.3
実施例11	3.61	A	742.9	495.2	C	742.4	495.3
実施例12	3.62	A		497.8	C	746.4	497.9
実施例13	3.49	A	768.3	512.5	C	768.4	512.6
実施例14	4.14	A	808.5	539.2	C	808.4	539.3
実施例15	3.99	A	773.4	515.8	C	773.4	515.9
実施例16	3.36	A		475.5	C	712.9	475.6
実施例17	3.28	A		527.5	C	790.9	527.6
実施例18	3.36	A		512.5	C	768.4	512.6
実施例19	4.38	A	756.0	504.2	C	755.9	504.3
実施例20	3.17	A	782.6	522.0	C	782.4	521.9
実施例21	3.45	A		512.0	C	767.4	511.9
実施例22	6.12	A		585.6	B	878.0	585.7
実施例23	6.46	A	883.2	588.9	B	883.0	589.0
実施例24	5.20	A		646.0	B	968.6	646.0
実施例25	5.18	A		627.3	B	940.5	627.3
実施例26	5.11	A		567.0	B	850.0	567.0
実施例27	5.44	A		570.0	B	855.0	570.3
実施例28	4.16	A	723.7		C	723.8	482.9
実施例29	3.85	A	753.0	502.5	C	753.3	502.6
実施例30	3.39	A		512.5	C	768.4	512.6
実施例31	4.08	A	763.8	509.4	C	763.9	509.6
実施例32	3.59	A	754.8	503.6	C	754.9	503.6
実施例33	3.36	A		512.5	C	768.4	512.6
実施例34	3.14	A		522.8	C	783.9	522.9
実施例35	3.36	A		518.5	C	777.4	518.6
実施例36	3.91	A	763.8	509.4	C	763.9	509.6
実施例37	3.05	A		517.5	C	775.9	517.6
実施例38	3.67	A	768.7	512.8	C	768.9	512.9
実施例39	3.47	A		531.7	C	797.4	531.9
実施例40	3.60	A	754.9	503.6	C	754.9	503.6
実施例41	3.91	A		549.1	C	823.4	549.3
実施例42	3.10	A	769.2	513.1	C	769.4	513.2
実施例43	3.58	A	764.2	509.7	C	764.4	509.9
実施例44	3.82	A		531.1	C	796.4	531.3
実施例45	3.16	A		545.5	C	817.9	545.6
実施例46	3.54	A		517.1	C	775.4	517.3

10

20

30

40

【表 10B】

実施例47	2.53	A		524.1	C	785.9	524.3
実施例48	2.49	A		509.2	C	763.4	509.3
実施例49	2.73	A	759.3	506.5	C	759.4	506.6
実施例50	2.72	A	694.5		C	694.8	463.6
実施例51	3.38	A		517.1	C	775.4	517.3
実施例52	3.45	A		521.9	C	782.4	521.9
実施例53	3.52	A	768.4	512.5	C	768.4	512.6
実施例54	3.43	A	775.3	517.1	C	775.4	517.3
実施例55	3.83	A	782.3	521.8	C	782.4	521.9
実施例56	3.42	A	768.1	512.4	C	768.4	512.6
実施例57	3.66	A	768.3	512.4	C	768.4	512.6
実施例58	5.68	A		685.0	B	1027.1	685.0
実施例59	5.58	A		733.4	B	1099.6	733.4
実施例60	5.55	A		781.8	B	1172.1	781.8
実施例61	3.18	D	874.5	582.9	D	873.5	585.7
実施例62	3.22	A		512.3	C	767.9	512.3
実施例63	2.71	A	694.3	463.1	C	694.4	463.2

10

【0261】

20

一般合成手順

1) 最初のアミノ酸の2-クロロトリチルクロリド樹脂への導入およびFmoc除去

2-クロロトリチルクロリド樹脂(1当量、1.0~1.6mmol/g)をDCMで十分に洗浄した。所望のアミノ酸(通常、1.6mmol/gの導入を考えて、樹脂に対して0.5~2当量)を、DCM(樹脂1グラムあたり約10mL)およびDIPEA(1.6mmol/gの導入を考えて、樹脂に対して4当量)に溶解させた。溶液を樹脂に加え、懸濁液を室温で19時間振盪した。樹脂を排出し、次いで、DCM/MeOH/DIPEA(17:2:1)、DCM、DMA、DCMで順次、十分に洗浄した。

【0262】

Fmoc除去および導入量の算定については、樹脂をピペリジン/DMA(1:4)または4-メチルピペリジン/DMA(1:4)(最初の樹脂1グラムあたり12×10mL)と共に繰り返し振盪し、DMA(最初の樹脂1グラムあたり2×10mL)で洗浄した。合わせた溶液をMeOHで希釈して、体積Vを最初の樹脂1グラムあたり250mLとした。この溶液の2mLのアリコート(V_a)をMeOHでさらに希釈して250mL(V_t)とした。UV吸収を、MeOHを基準として299.8nmで測定して、吸収Aを得た。樹脂を、順次DMA、DCM、DMA、DCMで十分に洗浄し、高真空中にて40℃で乾燥させて、mgの樹脂を得た。

30

【0263】

樹脂への導入量は、式：

$$\text{導入量 [mol/g]} = (A \times V_t \times V) / (d \times \epsilon \times V_a \times m)$$

(d:セルの幅、 $\epsilon = 7800 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

に従って算出した。

40

【0264】

2) Prelude(商標)合成装置における固相ペプチド合成

2a) 合成サイクルA

樹脂をDMAで洗浄した。4-メチルピペリジン/DMA(1:4)で繰り返し処理して、Fmocを除去した。樹脂をDMAで洗浄した。Fmoc-アミノ酸(3当量、0.2M NMP溶液)、HCTU(3当量、0.3M NMP溶液)、およびDIPEA(3.3当量、0.66M NMP溶液)を加えた後、懸濁液を、窒素中にて、特定の要件に応じて通常は15分~4時間、室温で混合することにより、カップリングを行った。D

50

MAで洗浄した後、カップリングステップを、特定の要件に応じて通常は1~3回繰り返した。DMAで洗浄した後、Ac₂O/ピリジン/DMA(1:1:8)の混合物を加え、引き続いて懸濁液を室温で混合することにより、カップリングを行った。樹脂をDMAで洗浄した。

【0265】

2b) 合成サイクルB

樹脂をDMAで洗浄した。ピペリジン/DMA(1:4)で繰り返し処理して、Fmocを除去した。樹脂をDMAで洗浄した。Fmoc-アミノ酸(3当量、0.3M NMP溶液)、HCTU(3当量、0.3M NMP溶液)、およびDIPEA(4.5当量、0.9M NMP溶液)を加えた後、懸濁液を、窒素中にて、特定の要件に応じて通常は15分~4時間、室温で混合することにより、カップリングを行った。DMAで洗浄した後、カップリングステップを、特定の要件に応じて通常は1~3回繰り返した。DMAで洗浄した後、Ac₂O/ピリジン/DMA(1:1:8)の混合物を加え、引き続いて懸濁液を室温で混合することにより、カップリングを行った。樹脂をDMAで洗浄した。

10

【0266】

2c) 合成サイクルC

樹脂をDMAで洗浄した。ピペリジン/DMA(1:4)で繰り返し処理して、Fmocを除去した。樹脂をDMAで洗浄した。Fmoc-アミノ酸(3当量、0.3M NMP溶液)、HCTU(3当量、0.3M NMP溶液)、およびDIPEA(6当量、0.9M NMP溶液)を加えた後、懸濁液を、窒素中にて、特定の要件に応じて通常は15分~4時間、室温で混合することにより、カップリングを行った。DMAで洗浄した後、カップリングステップを、特定の要件に応じて通常は1~3回繰り返した。DMAで洗浄した後、Ac₂O/ピリジン/DMA(1:1:8)の混合物を加え、引き続いて懸濁液を室温で混合することにより、カップリングを行った。樹脂をDMAで洗浄した。

20

【0267】

2d) 合成サイクルD

樹脂をDMAで洗浄した。4-メチルピペリジン/DMA(1:4)で繰り返し処理して、Fmocを除去した。樹脂をDMAで洗浄した。Fmoc-アミノ酸とOxyma Pureの混合物(各3当量、両方の0.2M NMP溶液)およびDIC(3当量、0.3M NMP溶液)を加えた後、懸濁液を、窒素中にて、特定の要件に応じて通常は15分~4時間、室温で混合することにより、カップリングを行った。DMAで洗浄した後、カップリングステップを、特定の要件に応じて通常は1~3回繰り返した。DMAで洗浄した後、Ac₂O/ピリジン/DMA(1:1:8)の混合物を加え、引き続いて懸濁液を室温で混合することにより、カップリングを行った。樹脂をDMAで洗浄した。

30

【0268】

3) 保護基の除去を伴うまたは伴わない樹脂からの切断

3a) 切断方法A

樹脂(0.1mmol)を、95%のTFA/EDT/TIS(95:2.5:2.5)水溶液(3mL)と共に室温で2時間振盪した。切断溶液を濾別し、新鮮な溶液を加えた(3mL)。懸濁液を室温で1時間振盪し、次いで切断溶液を濾別した。新鮮な溶液を加え(3mL)、懸濁液を室温で1時間振盪した。切断溶液を濾別した。合わせた切断溶液を冷ヘプタン/ジエチルエーテル(1:1)の混合物(35mL)上にゆっくりと注いで、沈殿を得た。懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。残渣を冷ヘプタン/ジエチルエーテル(1:1)(10mL)で洗浄し、懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。固体を高真空中で乾燥させた。

40

【0269】

3b) 切断方法B

樹脂(0.1mmol)を95%のTFA/EDT(4:1)水溶液(0.75mL)で処理し、懸濁液を室温で1時間振盪した。95%TFA水溶液(2.18mL)とTIS(75μL)の混合物を加え、室温での振盪を1時間再開した。切断溶液を濾別し、次

50

いで、樹脂に95%のTFA/EDT/TIS水溶液(95:2.5:2.5)(3mL)を加え、懸濁液を室温で1時間振盪した。切断溶液を濾別し、収集し、新鮮な溶液を加えた(3mL)。懸濁液を室温で1時間振盪し、次いで切断溶液を濾別した。合わせた切断溶液を冷ヘプタン/ジエチルエーテル(1:1)(35mL)中に注いだ。そうして生成した沈殿を放置して沈降させ、遠心分離し、次いで上清を慎重に廃棄した。沈殿を冷ヘプタン/ジエチルエーテル(1:1)(10mL)で1回洗浄し、懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。残渣を高真空中で乾燥させた。

【0270】

3c) 切断方法C

樹脂(0.1mmol)にHFIP/DCM(30:70)(5mL)を加え、懸濁液を室温で1.5時間攪拌した。切断溶液を濾別し、収集し、新鮮なHFIP/DCM(30:70)(5mL)を加えた。懸濁液を室温で30分間攪拌した。切断溶液を濾別し、収集した。樹脂をDCM(2×5mL)で洗浄し、これも収集した。合わせた切断溶液と洗浄溶液を高真空中で濃縮乾燥した。残渣をtBuOH/H₂O(1:1)から凍結乾燥した。

10

【0271】

4) 環化方法

4a) 環化方法A(ジスルフィド形成)

完全に脱保護された線状前駆体ペプチドをH₂O/DMSO(9:1)または(4:1)に溶解させて、通常は1~15mg/mLの濃度とした。次いで、反応混合物を、要件に応じて通常は40時間、室温で攪拌し、次いで高真空中で濃縮乾燥した。

20

【0272】

4b) 環化方法B(ジスルフィド形成)

完全に脱保護された線状前駆体ペプチド(1当量)をH₂Oに溶解させて、通常は10mg/mLの濃度とした。攪拌した溶液に、50mMのI₂ AcOH溶液(1.2当量)を1回で加え、反応液を室温で10分間攪拌した。0.5Mのアスコルビン酸H₂O溶液(1.5当量)を加えて、過剰のI₂をクエンチさせた。溶液を真空中で濃縮してほぼ乾燥させた。

【0273】

4c) 環化方法C(2つのジスルフィドの選択的な形成)

部分的に保護された線状前駆体ペプチド(1当量)(2つのシステインはAcMで保護され、2つのシステインは保護されていない)をAcOH/H₂O(4:1)に溶解させて、通常は1mg/mLの濃度とした。50mMのI₂ AcOH溶液(2当量)を加え、反応混合物を室温で1時間攪拌した。さらなる50mMのI₂ AcOH溶液(10当量)を4時間かけて少量ずつ加えた。21時間後、反応混合物を真空中で濃縮してほぼ乾燥させ、1Mのアスコルビン酸H₂O溶液を過剰に加えて、未反応のI₂をクエンチさせた。

30

【0274】

4d) 環化方法D(側鎖間のラクタム形成)

完全に脱保護された線状前駆体ペプチド(1当量)およびHATU(1.5当量)をNMPに溶解させた(ペプチド濃度:通常は1mmol/L)。DIPEA(3当量)を加え、溶液を室温で90分間攪拌した。反応混合物を真空中で濃縮乾燥した。

40

【0275】

4e) 環化方法E(側鎖とC末端間のラクタム形成)

ペプチド(1当量)、HATU(1.3当量)、およびHOAt(1.3当量)をDMFに溶かした溶液(ペプチド濃度:2.6mmol/L)を2,6-ルチジン(20当量)で処理し、反応液を室温で2時間攪拌した。反応混合物を真空中で濃縮乾燥した。

【0276】

以下では、代表的な実施例の合成について記載する。

【実施例1】

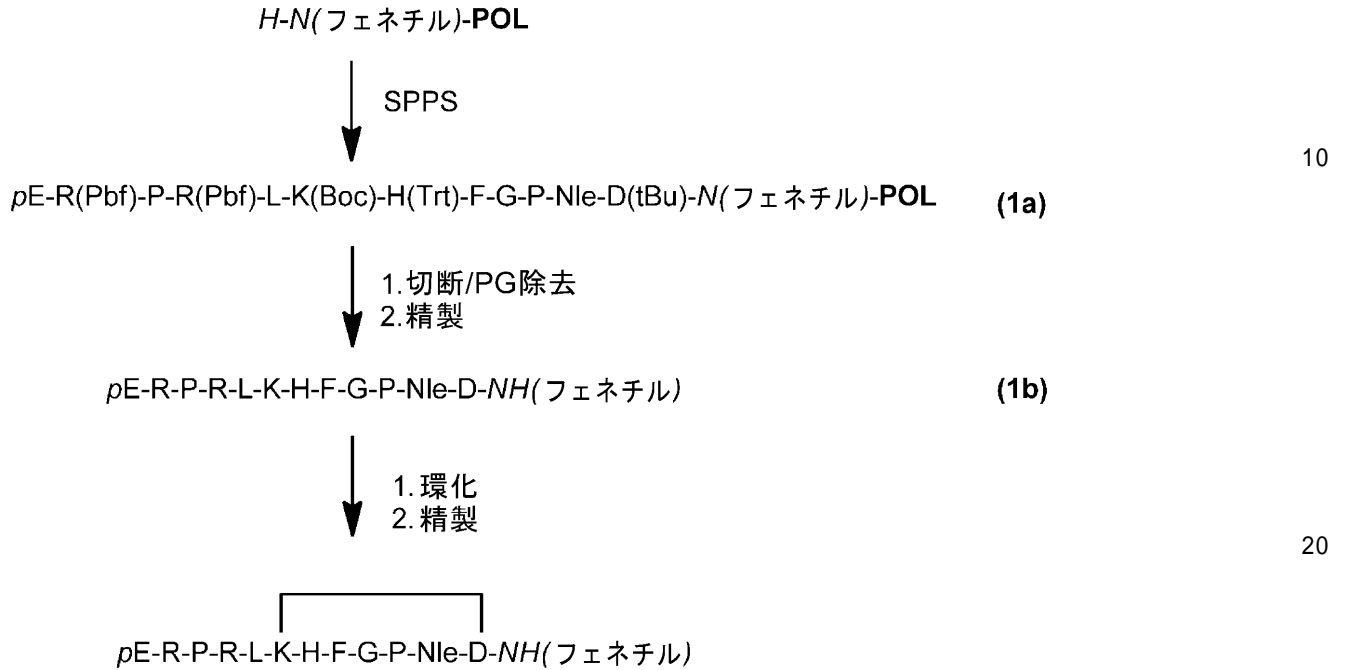
50

【 0 2 7 7 】

pE-R-P-R-L-K-H-F-G-P-Nle-D-フェネチルアミン(ラクタム
K⁶-D¹²)の合成

【 0 2 7 8 】

【 化 2 2 】



実施例1

【 0 2 7 9 】

- 中間体 1 a の調製
(線状ペプチドの組み立て)

フェネチルアミン-BAL-PS樹脂(167mg、0.100mmol)を、Prelude (商標)ペプチド合成装置での固相ペプチド合成にかけた。カップリングを以下のとおりに実施した。 30

【 0 2 8 0 】

【表 1 1】

カップリング	AA	カップリングの数 × 反応時間	合成サイクル
1	D(tBu)	2×4時間	C
2	Nle	1×3時間	C
3	P	2×45分	C
4	G	2×90分	C
5	F	1×3時間	C
6	H(Trt)	2×45分	C
7	K(Boc)	2×4時間	C
8	L	4×1時間	C
9	R(Pbf)	4×1時間	C
10	P	2×90分	C
11	R(Pbf)	4×1時間	C
12	pE	2×90分	C

10

20

【0281】

- 中間体 1 b の調製

(保護基の除去を伴う樹脂からの切断、次いで精製)

中間体 1 a (0.1 mmol) に、95%の TFA / EDT / TIS (95 : 2.5 : 2.5) 水溶液の混合物 (2 mL) を加え、懸濁液を室温で 2.5 時間振盪した。切断溶液を濾別し、新鮮な切断溶液 (2 mL) を加えた。懸濁液を室温で 45 分間振盪し、次いで切断溶液を濾別した、新鮮な溶液 (2 mL) を加え、懸濁液を室温で 45 分間振盪した。切断溶液を濾別し、樹脂を 95% TFA 水溶液 (1 mL) で洗浄した。合わせた切断溶液を、冷ヘプタン / ジエチルエーテル (1 : 1) の混合物 (35 mL) 中に注いで、沈殿を得た。懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した、残渣を冷ヘプタン / ジエチルエーテル (1 : 1) (20 mL) で洗浄し、懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。固体を高真空中で乾燥させた。粗生成物を分取 HPLC によって精製し、ACN / H₂O から凍結乾燥して、中間体 1 b を、品質の異なる 2 回分で、白色の固体として得た。回分 A (35.9 mg (純度 98%)、0.018 mmol) および回分 B (52.9 mg (純度 80%)、0.021 mmol)。

30

【0282】

- 実施例 1 の調製

(環化および精製)

以前のステップからの両方の回分を、同じプロトコールに従って別々に処理した。

回分 A : ペプチド (35.9 mg (純度 98%)、0.018 mmol) および HATU (10.0 mg、0.026 mmol) を NMP (18 mL) および DIPEA (9.2 μL、0.053 mmol) に溶かした溶液を、室温で 2 時間攪拌した。

回分 B : ペプチド (52.9 mg (純度 80%)、0.021 mmol) および HATU (14.5 mg、0.038 mmol) を NMP (26 mL) および DIPEA (13.0 μL、0.076 mmol) に溶かした溶液を、室温で 2 時間攪拌した。

回分それぞれを真空中で濃縮乾燥した。生成物を分取 HPLC によって単離した。両方の精製の純粋な画分を合わせ、ACN / H₂O から凍結乾燥して、実施例 1 を白色の固体 (52.0 mg、0.025 mmol) として得た。

40

【0283】

50

純粋な生成物を、分析 HPLC (分析方法 A : $t_R = 4.16$ 分) および UPLC - MS (分析方法 C、測定値 : $[M + 3]^{3+} = 511.2$ 、計算値 : $[M + 3]^{3+} = 511.3$) によって分析した。

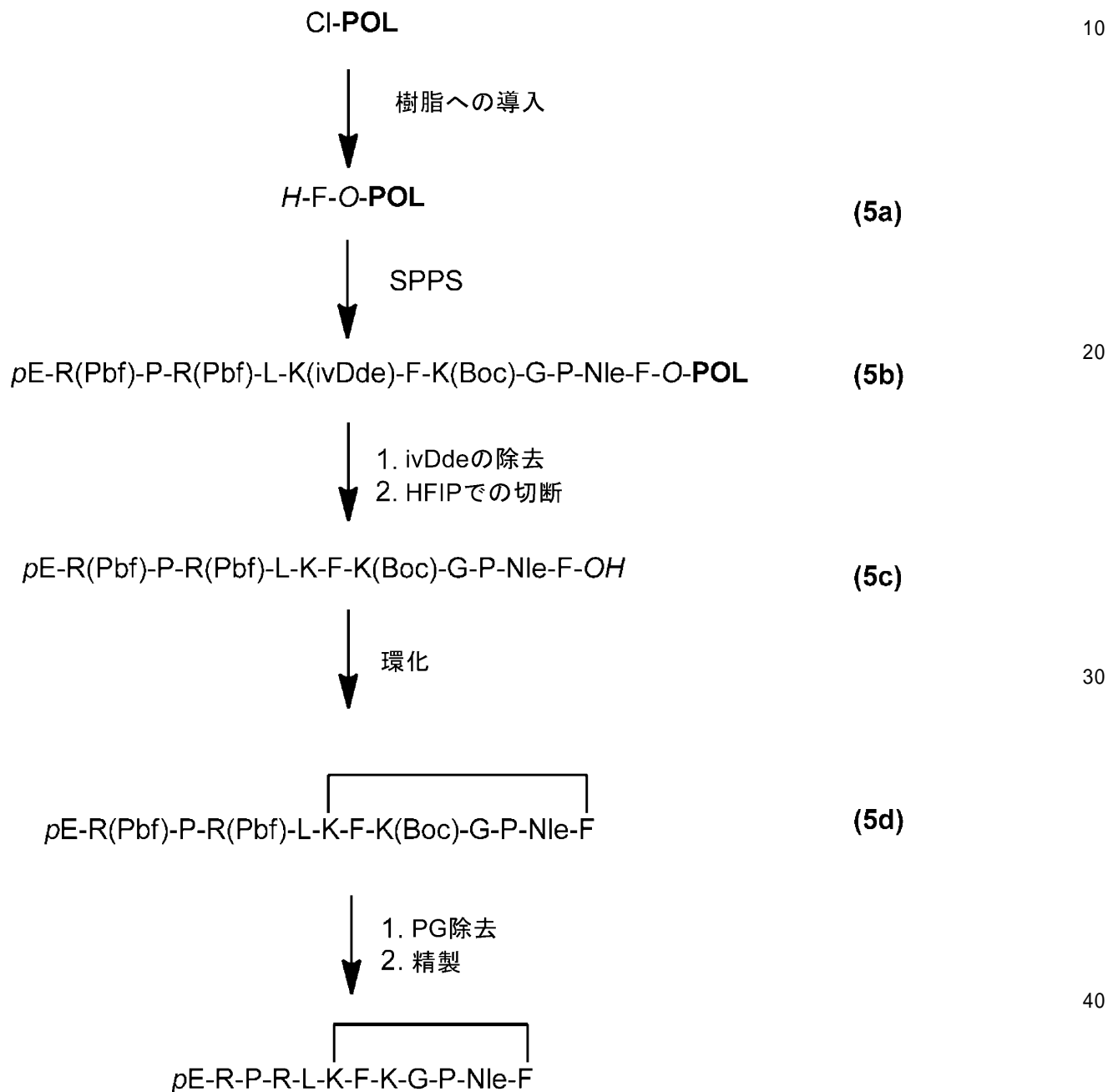
(実施例 5)

【0284】

pE-R-P-R-L-K-F-K-G-P-Nle-F (ラクタム K⁶-C 末端) 合成

【0285】

【化23】



実施例5

【0286】

- 中間体 5 a の調製

(2-クロロトリチルクロリド樹脂への Fmoc-F-OH の導入、Fmoc 除去、樹脂への導入量の算定)

2 - クロロトリチルクロリド樹脂 (10.0 g、16.0 mmol) を、Fmoc-F-OH (6.24 g、32.0 mmol) を DCM (100 mL) および DIPEA (11.2 mL、64.0 mmol) に溶かした溶液と、上述の一般手順と似たようにして反応させて、中間体 5 a (12.8 g、導入量 = 0.79 mmol/g) を得た。

【0287】

- 中間体 5 b の調製

(線状ペプチドの組み立て)

中間体 5 a (0.100 mmol) を、Prelude (商標) ペプチド合成装置での固相ペプチド合成にかけた。カップリングを以下のとおりに実施した。

【0288】

10

【表12】

カップリング	AA	カップリングの数 × 反応時間	合成サイクル
2	Nle	2 × 90分	B
3	P	2 × 30分	B
4	G	2 × 90分	B
5	K(ivDde)	2 × 30分	B
6	F	2 × 30分	B
7	K(Boc)	4 × 1時間	B
8	L	2 × 30分	B
9	R(Pbf)	4 × 1時間	B
10	P	2 × 90分	B
11	R(Pbf)	4 × 1時間	B
12	pE	2 × 90分	B

20

30

【0289】

- 中間体 5 c の調製

(ivDdeの除去および樹脂からの切断)

中間体 5 b (0.100 mmol) を、ヒドラジン-水和物 (0.081 mL、1.67 mmol) の DMA (4 mL) 溶液で 10 分間 6 回処理した。次いで、樹脂をヒドラジン-水和物 (0.081 mL、1.67 mmol) の THF (4 mL) 溶液で 20 分間 3 回処理した。樹脂を DCM (3 回) で洗浄した。樹脂 (0.100 mmol) に HFIP / DCM (30 : 70) (5 mL) を加え、懸濁液を室温で 1.5 時間攪拌した。切断溶液を濾別し、新鮮な HFIP / DCM (30 : 70) (5 mL) を加えた。懸濁液を室温で 30 分間攪拌した。切断溶液を濾別した。樹脂を DCM (2 × 5 mL) で洗浄した。合わせた切断溶液と洗浄溶液を真空中で濃縮乾燥した。残渣を tBuOH / H₂O (1 : 1) から凍結乾燥して、中間体 5 c (187 mg、0.090 mmol) を得た。

40

【0290】

- 実施例 5 の調製

(環化および保護基の除去)

中間体 5 c (187 mg、0.090 mmol)、HATU (44.6 mg、0.117 mmol)、および HOAt (16.0 mg、0.117 mmol) を DMF (35 mL) に溶かした溶液を、2,6-ルチジン (0.210 mL、1.80 mmol) で処理し、反応液を室温で 2 時間攪拌した。反応混合物を真空中で濃縮乾燥した。残渣を 95% の TFA / EDT / TIS (95 : 2.5 : 2.5) 水溶液 (5 mL) に溶解させ、溶液

50

を室温で2.5時間攪拌した。切断溶液を冷ヘプタン/ジエチルエーテル(1:1)(30 mL)中に注いで、沈殿を得た。懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。残渣を冷ヘプタン/ジエチルエーテル(1:1)(10 mL)で洗浄し、懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。洗浄ステップを1回繰り返した。残渣を高真空中で乾燥させた。生成物を分取HPLCによって単離し、ACN/H₂Oから凍結乾燥して、実施例5を白色の固体(41.4 mg、0.023 mmol)として得た。

【0291】

純粋な生成物を、分析HPLC(分析方法A: $t_R = 3.70$ 分)およびUPLC-MS(分析方法C、測定値: $[M+3]^{3+} = 484.5$ 、計算値: $[M+3]^{3+} = 484.6$)によって分析した。

10

(実施例7)

【0292】

Q-R-P-R-L-C-F-K-G-P-Nle-C-F-G-G(ラクタムN末端-C末端)合成

【0293】

- 中間体 7 b の調製

(線状ペプチドの組み立ておよび Fmoc 除去)

中間体 7 a (147 mg、0.100 mmol) を、Prelude (商標) ペプチド合成装置での固相ペプチド合成にかけた。カップリングを以下のとおりに実施した。

【0296】

【表13】

カップリング	AA	カップリングの数 × 反応時間	合成サイクル
1	G	2×30分	B
2	F	2×30分	B
3	C(Trt)	2×30分	B
4	Nle	2×90分	B
5	P	2×30分	B
6	G	2×90分	B
7	K(Boc)	2×30分	B
8	F	2×30分	B
9	C(Trt)	2×30分	B
10	L	2×30分	B
11	R(Pbf)	4×1時間	B
12	P	2×90分	B
13	R(Pbf)	4×1時間	B
14	Q(Trt)	2×90分	B

10

20

【0297】

ペプチドを組み立てた後、ピペリジン/DMA (1:4) で繰り返し処理することにより、Fmoc を除去した。樹脂を DMA で洗浄して、中間体 7 b (0.100 mmol) を得た。

30

【0298】

- 中間体 7 c の調製

(樹脂からの HFIP 切断)

中間体 7 b (0.100 mmol) に HFIP/DCM (30:70) (3 mL) を加え、懸濁液を室温で 1.5 時間振盪した。切断溶液を濾別し、新鮮な HFIP/DCM (30:70) (3 mL) を加えた。懸濁液を室温で 30 分間振盪した。切断溶液を濾別した。樹脂を DCM (2×3 mL) で洗浄した。合わせた切断溶液と洗浄溶液を真空中で濃縮乾燥した。残渣を tBuOH/H₂O (1:1) から凍結乾燥して、中間体 7 c (203 mg、0.067 mmol) を得た。

40

【0299】

- 中間体 7 d の調製

(主鎖環化)

中間体 7 c (203 mg、0.067 mmol)、HATU (33.3 mg、0.088 mmol)、および HOAt (11.9 mg、0.088 mmol) を DMF (40 mL) に溶かした溶液を、2,6-ルチジン (0.157 mL、1.35 mmol) で処理し、反応液を室温で 2 時間攪拌した。反応混合物を真空中で濃縮乾燥して、中間体 7 d (0.067 mmol) を得た。

50

【0300】

- 中間体7eの調製

(保護基の除去、次いで精製)

中間体7d (0.067 mmol) に、95%のTFA/EDT/TIS (95:2.5:2.5) 水溶液の混合物 (3 mL) を加え、懸濁液を室温で2.5時間振盪した。溶液を冷ヘプタン/ジエチルエーテル (1:1) の混合物 (30 mL) 中に注いで、沈殿を得た。懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。残渣を冷ヘプタン/ジエチルエーテル (1:1) (10 mL) で洗浄し、懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。洗浄ステップを1回繰り返した。固体を高真空中で乾燥させた。粗生成物を分取HPLCによって精製し、ACN/H₂Oから凍結乾燥して、中間体7eを白色の固体 (33.6 mg、0.017 mmol) として得た。

10

【0301】

- 実施例7の調製

(環化および精製)

中間体7e (33.6 mg、0.017 mmol) をH₂O/DMSO (9:1) (30 mL) に溶解させた。反応混合物を室温で40時間攪拌し、次いで真空中で濃縮乾燥した。粗生成物を分取HPLCによって精製し、ACN/H₂Oから凍結乾燥して、実施例7を白色の固体 (21.0 mg、0.010 mmol) として得た。

【0302】

純粋な生成物を、分析HPLC (分析方法A: t_R = 3.85分) およびUPLC-MS (分析方法C、測定値: [M+3]³⁺ = 553.6、計算値: [M+3]³⁺ = 553.6) によって分析した。

20

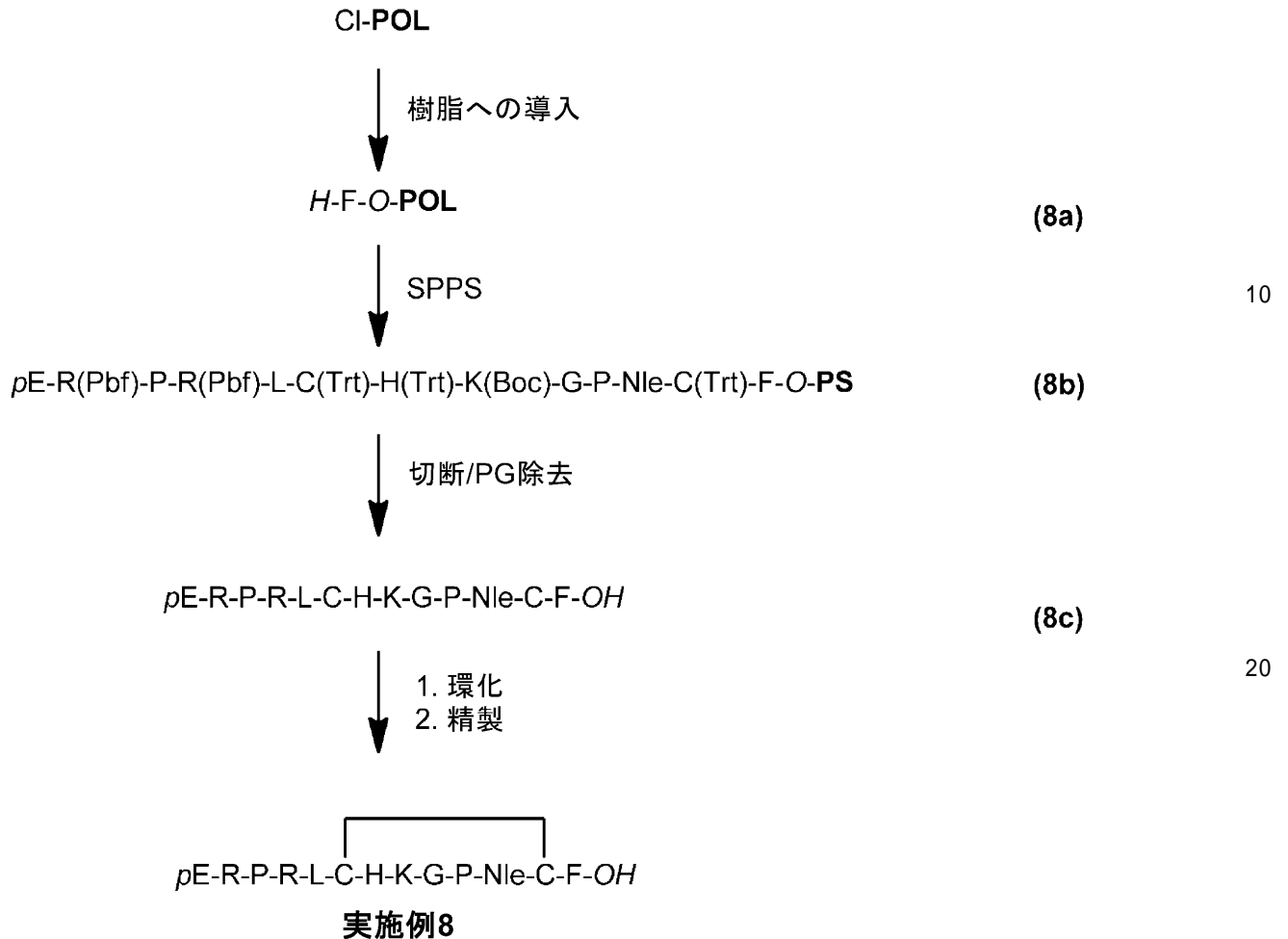
(実施例8)

【0303】

pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH (ジスルフィドC⁶-C^{1,2}) の合成

【0304】

【化 2 5】



【0305】

- 中間体 8 a の調製 30

(2-クロロトリチルクロリド樹脂への Fmoc-F-OH の導入、Fmoc 除去、および樹脂への導入量の算定)

2-クロロトリチルクロリド樹脂 (40.0 g、64.0 mmol) を DCM (3回) で洗浄した。Fmoc-F-OH (24.8 g、64.0 mmol) を DCM (400 mL) および DIPEA (44.7 mL、256 mmol) に溶かした溶液を加え、懸濁液を室温で 22 時間振盪した。樹脂を DCM/MeOH/DIPEA (17:2:1) (3回)、DCM (3回)、DMA (3回)、DCM (3回) で十分に洗浄した。

【0306】

次いで、樹脂をピペリジン/DMA (1:4) の混合物 (400 mL) で 10 分間 4 回処理した後、DMA (2 × 180 mL) で洗浄した。ピペリジン/DMA 溶液および DMA 洗浄溶液を集めて、樹脂への導入量を求めた。合わせた溶液 1 mL を MeOH で 500 mL に希釈し、299.8 nm での UV 吸収を測定して、 $A = 0.368$ となった。これは、46.2 mmol の Fmoc 量に相当する。 40

【0307】

樹脂を、DCM (3回)、DMA (3回)、DCM (3回) で十分に洗浄し、真空乾燥して、中間体 8 a (50.7 g、導入量 = 0.91 mmol/g) を得た。

【0308】

- 中間体 8 b の調製

(線状ペプチドの組み立て)

中間体 8 a (2.64 g、2.40 mmol) を、Prelude (商標) ペプチド合 50

成装置での固相ペプチド合成にかけた。カップリングを以下のとおりに実施した。

【0309】

【表14】

カップリング	AA	カップリングの数 × 反応時間	合成サイクル
1	C(Trt)	2 × 30分	D
2	Nle	2 × 15分	A
3	P	2 × 15分	A
4	G	2 × 30分	A
5	K(Boc)	2 × 15分	A
6	H(Trt)	2 × 15分	A
7	C(Trt)	2 × 60分	D
8	L	2 × 15分	A
9	R(Pbf)	4 × 1時間	A
10	P	2 × 15分	A
11	R(Pbf)	4 × 1時間	A
12	pE	2 × 15分	A

10

20

【0310】

- 中間体8cの調製

(保護基の除去を伴う樹脂からの切断)

中間体8b(2.40mmol)をDCM(4回)で慎重に洗浄した。95%のTFA/EDT/TIS(95:2.5:2.5)水溶液の混合物(50mL)を加え、懸濁液を室温で1時間振盪した。切断溶液を濾別し、新鮮な切断溶液(35mL)を加えた。懸濁液を室温で1時間振盪し、次いで切断溶液を濾別した。新鮮な溶液(35mL)を加え、懸濁液を室温で1時間振盪した。切断溶液を濾別した。合わせた切断溶液を、攪拌した冷ヘプタン/ジエチルエーテル(1:1)の混合物(500mL)上にゆっくりと注いで、沈殿を得た。懸濁液を室温で2時間攪拌し、沈殿を沈降させた。上清をフリットで吸い出した。残渣を冷ヘプタン/ジエチルエーテル(1:1)(2×100mL)で洗浄し、上清をフリットで吸い出した。固体を高真空中で乾燥させて、中間体8cをオフホワイト色の固体(3.75g、1.88mmol)として得た。

30

【0311】

- 実施例8の調製

(環化および精製)

中間体8c(3.75g、1.88mmol)をH₂O(375mL)に溶解させた。攪拌した溶液に、50mMのI₂ AcOH溶液(45.1mL、2.26mmol)を1回に加え、溶液を室温で10分間攪拌した。0.5Mアスコルビン酸H₂O溶液(5.64mL、2.82mmol)を加えて、過剰のI₂をクエンチさせた。溶液を濃縮してほぼ乾燥させた。反応は、0.188mmolスケールと1.69mmolスケールの2部で実施した。粗生成物を精製のために合わせた。粗生成物を分取HPLCによって精製し、ACN/H₂Oから凍結乾燥して、実施例8を白色の固体(1.53g、0.767mmol)として得た。

40

【0312】

純粋な生成物を、分析HPLC(分析方法C:t_R=3.43分)およびUPLC-MS(分析方法B、測定値:[M+3]³⁺=512.4、計算値:[M+3]³⁺=51

50

2.6) によって分析した。

【0313】

代わりに、実施例8の粗製ポリペプチドを水に溶解させ(水500mL/ポリペプチド1mmol)、イオン交換樹脂(すなわち、Amberlite IRA-67(アセテート型)(200g/ポリペプチド1mmol))を活用して酢酸塩に変換し、分取HPLC(DaisogelのC8修飾型逆相シリカゲル、勾配:ACN/H₂O:3%のACNと97%の[0.3%酢酸/水混合物]から12%のACNと88%の[0.3%酢酸/水混合物])によって精製し、凍結乾燥して、実施例8の酢酸塩を白色の固体(収率60~100%)として得た。

【0314】

酢酸含有量(イオンクロマトグラフィー)および水含有量の分析に基づき、塩の化学量論性を評価し、1:3と1:4(ポリペプチド:アセテート)の間の範囲にあることが明らかになった。

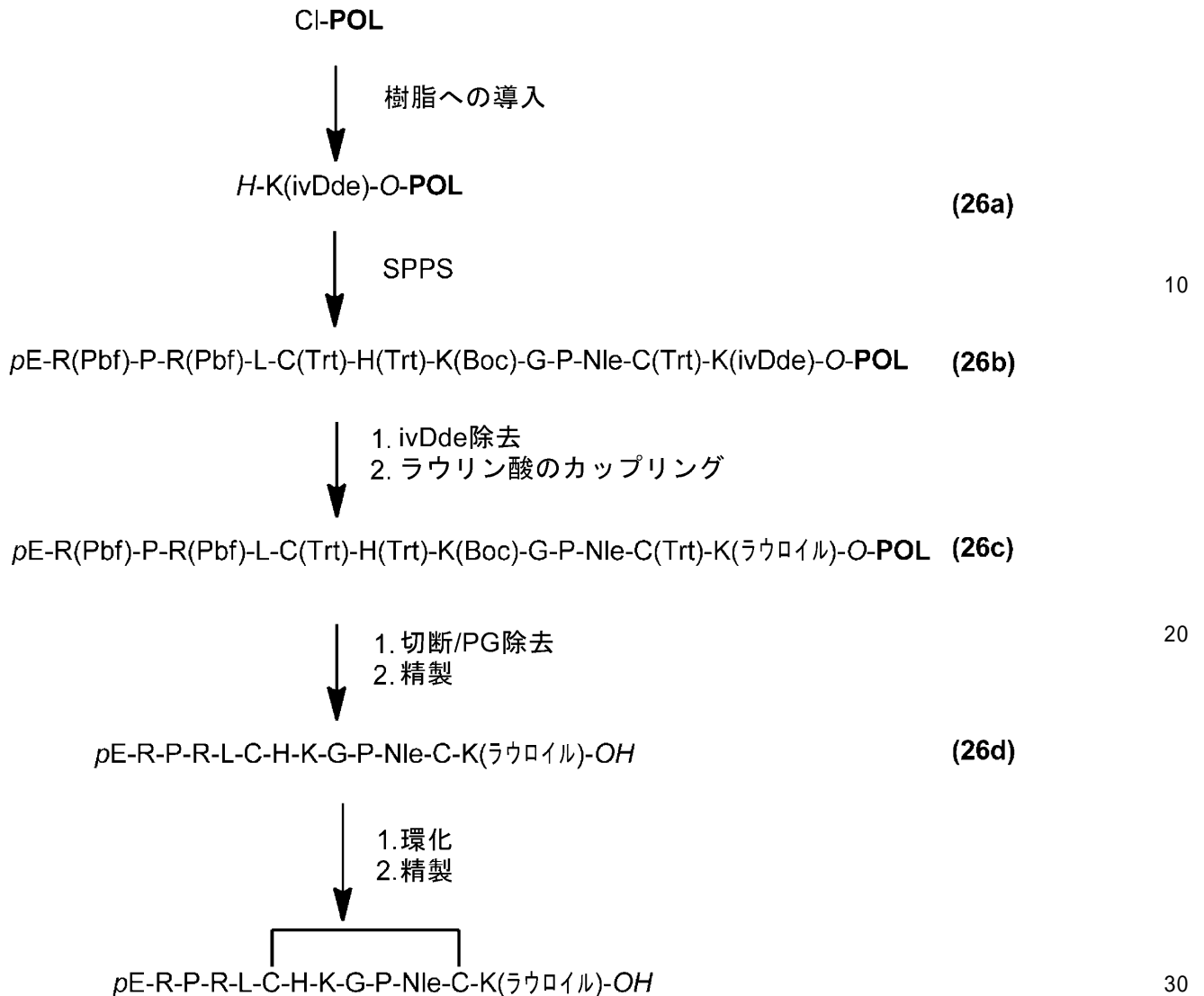
(実施例26)

【0315】

pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-K(ラウロイル)-OH(ジスルフィドC⁶-C¹²)の合成

【0316】

【化 2 6】



実施例26

【0317】

- 中間体 26 a の調製

(2-クロロトリチルクロリド樹脂への Fmoc-K(ivDde)-OH の導入、Fmoc 除去、および樹脂への導入量の算定)

2-クロロトリチルクロリド樹脂 (1.00 g、1.60 mmol) を、Fmoc-K(ivDde)-OH (1.84 g、3.20 mmol) を DCM (10 mL) および DIPEA (1.12 mL、6.40 mmol) に溶かした溶液と、上述の一般手順と似たようにして反応させて、中間体 26 a (1.39 g、導入量 = 0.75 mmol/g) を得た。

【0318】

- 中間体 26 b の調製

(線状ペプチドの組み立て)

中間体 26 a (134 mg、0.100 mmol) を、Prelude (商標) ペプチド合成装置での固相ペプチド合成にかけた。カップリングを以下のとおり実施した。

【0319】

10

20

30

40

【表 15】

カップリング	AA	カップリングの数 × 反応時間	合成サイクル
1	C(Trt)	2×30分	B
2	Nle	2×30分	B
3	P	2×30分	B
4	G	2×90分	B
5	K(Boc)	2×30分	B
6	H(Trt)	2×30分	B
7	C(Trt)	2×30分	B
8	L	2×30分	B
9	R(Pbf)	4×1時間	B
10	P	2×90分	B
11	R(Pbf)	4×1時間	B
12	pE	2×90分	B

10

20

【0320】

- 中間体 26c の調製

(ivDdeの除去およびラウリン酸のカップリング)

中間体 26b (0.100 mmol) を THF (3回) で洗浄した。ヒドラジン-水合物 (0.245 ml、5.00 mmol) の THF (12 mL) 溶液を加え、懸濁液を室温で1時間振盪した。溶液を濾過した。このステップをもう2回行った。樹脂を DMA (3回)、DCM (3回)、DMA (2回)、DCM (5回)、および DMA (3回) で洗浄した。ラウリン酸 (100 mg、0.500 mmol) および HCTU (207 mg、0.500 mmol) を NMP (3 mL) および DIPEA (0.087 ml、0.500 mmol) に溶解させた。5分間活性化させた後、溶液を樹脂に加え、懸濁液を室温で16時間振盪した。反応混合物を濾過し、樹脂を DMA (3回)、DCM (3回)、DMA (3回)、DCM (5回) で洗浄して、中間体 26c を得た。

30

【0321】

- 中間体 26d の調製

(保護基の除去を伴う樹脂からの切断、次いで精製)

中間体 26c (0.100 mmol) に、95%の TFA / EDT / TIS (95 : 2.5 : 2.5) 水溶液の混合物 (3 mL) を加え、懸濁液を室温で2時間振盪した。切断溶液を濾別し、新鮮な切断溶液 (3 mL) を加えた。懸濁液を室温で1時間振盪し、切断溶液を濾別した。新鮮な溶液 (3 mL) を加え、懸濁液を室温で1時間振盪した。切断溶液を濾別した。合わせた切断溶液を冷ヘプタン / ジエチルエーテル (1 : 1) の混合物 (35 mL) 中に注いで、沈殿を得た。懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。残渣を冷ヘプタン / ジエチルエーテル (1 : 1) (10 mL) で洗浄し、懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。固体を高真空中で乾燥させた。粗生成物を分取 HPLC によって精製し、ACN / H₂O から凍結乾燥して、中間体 26d を白色の固体 (74.1 mg、0.034 mmol) として得た。

40

【0322】

- 実施例 26 の調製

(環化および精製)

中間体 2d (74.1 mg、0.034 mmol) を H₂O / DMSO (9 : 1) (7

50

4 mL) に溶解させた。反応混合物を室温で 40 時間攪拌し、次いで真空中で濃縮乾燥した。粗生成物を分取 HPLC によって精製し、ACN/H₂O から凍結乾燥して、実施例 26 を白色の固体 (60.0 mg、0.028 mmol) として得た。

【0323】

純粋な生成物を、分析 HPLC (分析方法 A: t_R = 5.11 分) および UPLC-MS (分析方法 B、測定値: [M+3]³⁺ = 567.0、計算値: [M+3]³⁺ = 567.0) によって分析した。

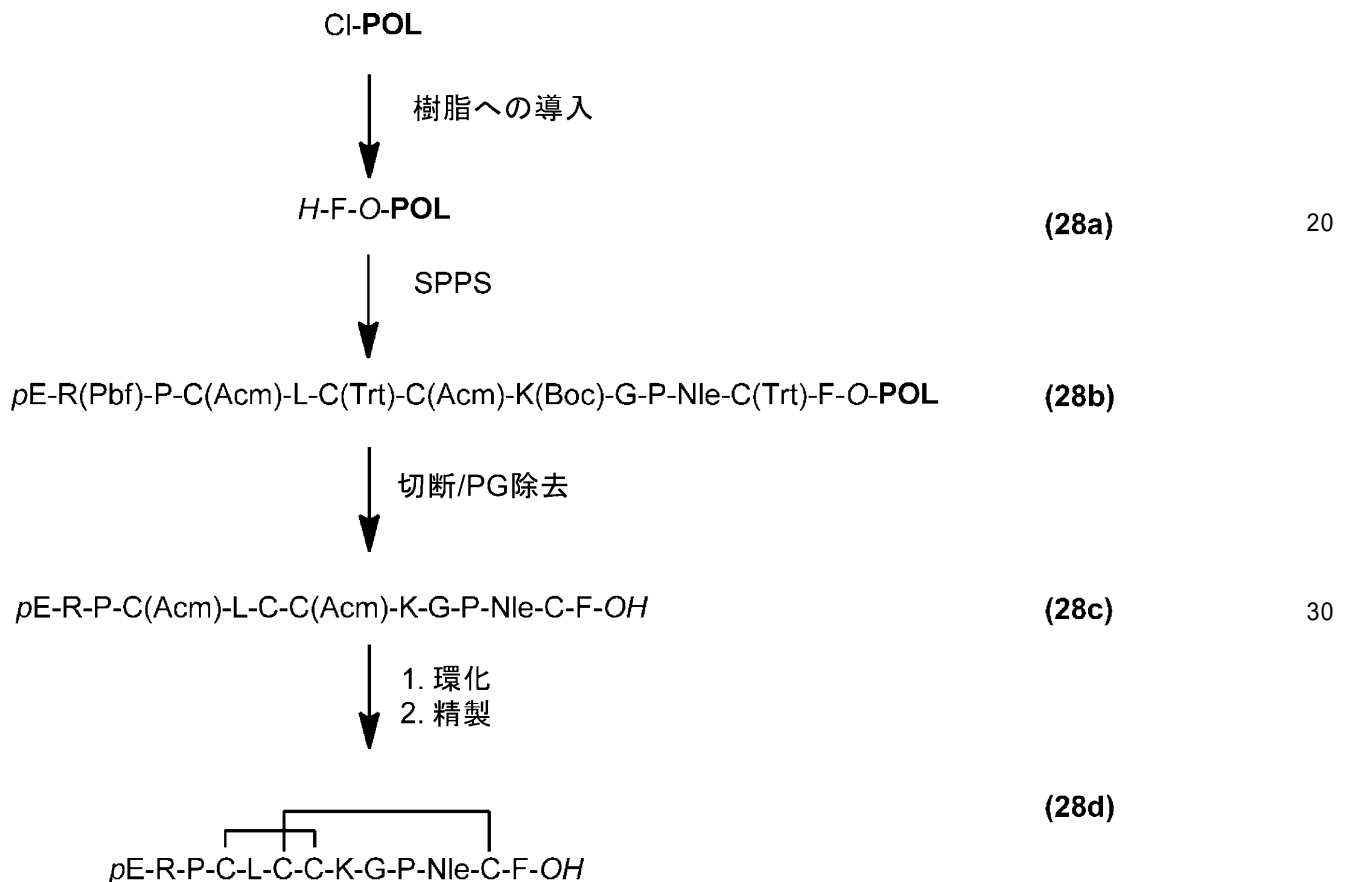
(実施例 28)

【0324】

pE-R-P-C-L-C-C-K-G-P-Nle-C-F-OH (ジスルフィド C⁴-C⁷ および C⁶-C¹²) 合成 10

【0325】

【化 27】



実施例 28

40

【0326】

- 中間体 28a の調製
(2-クロロトリチルクロリド樹脂への Fmoc-F-OH の導入、Fmoc 除去、および樹脂への導入量の算定)

2-クロロトリチルクロリド樹脂 (10.0 g、16.0 mmol) を、Fmoc-F-OH (6.20 g、16.0 mmol) を DCM (100 mL) および DIPEA (11.2 mL、64.0 mmol) に溶かした溶液と、上述の一般手順と似たようにして反応させて、中間体 28a (11.6 g、導入量 = 0.87 mmol/g) を得た。

【0327】

- 中間体 28b の調製

50

(線状ペプチドの組み立て)

中間体 28a (115 mg、0.100 mmol) を、Prelude (商標) ペプチド合成装置での固相ペプチド合成にかけた。カップリングを以下のとおりに実施した。

【0328】

【表16】

カップリング	AA	カップリングの数 × 反応時間	合成サイクル
1	C(Trt)	2×15分	B
2	Nle	2×15分	B
3	P	2×15分	B
4	G	2×90分	B
5	K(Boc)	2×15分	B
6	C(Acm)	2×15分	B
7	C(Trt)	2×15分	B
8	L	2×15分	B
9	C(Acm)	2×15分	B
10	P	2×15分	B
11	R(Pbf)	4×1時間	B
12	pE	2×15分	B

10

20

【0329】

- 中間体 28c の調製

(部分的な保護基の除去を伴う樹脂からの切断)

中間体 28b (0.100 mmol) を DCM (4回) で慎重に洗浄した。95%の TFA / EDT (4:1) 水溶液の混合物 (0.750 mL) を加え、懸濁液を室温で1時間振盪した。懸濁液に、TFA / H₂O (95:5) の混合物 (2.18 mL) および TIS (75 μL) を加え、室温での振盪を1時間続けた。切断溶液を濾別し、樹脂に95%の TFA / EDT / TIS (95:2.5:2.5) 水溶液の混合物 (3 mL) を加えた。懸濁液を室温で1時間振盪し、切断溶液を濾別した。新鮮な溶液を加え (3 mL)、懸濁液を室温で1時間振盪した。切断溶液を濾別した。合わせた切断溶液を冷ヘプタン / ジエチルエーテル (1:1) (3.5 mL) 中に注いで、沈殿を得た。懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。残渣を冷ヘプタン / ジエチルエーテル (1:1) (10 mL) で洗浄し、懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。洗浄ステップを1回繰り返した。残渣を高真空中で乾燥させた。粗生成物を分取 HPLC によって精製し、ACN / H₂O から凍結乾燥して、中間体 28c を白色の固体 (51.1 mg、0.028 mmol) として得た。

30

40

【0330】

- 実施例 28 の調製

(2つのジスルフィドのワンポット形成)

中間体 28c (51.1 mg、0.028 mmol) を AcOH (48 mL) および H₂O (12 mL) に溶解させた。50 mM の I₂ / AcOH 溶液 (1.12 mL、56 μmol) を加え、黄色の溶液を室温で攪拌した。さらなる 50 mM の I₂ / AcOH 溶液 (5.61 mL、0.281 mmol) を4時間かけて少量ずつ加えた。21時間後、反応混合物を真空中で2 mL に濃縮し、1 M アスコルビン酸 H₂O 溶液 (6 mL) を加えて、過剰の I₂ をクエンチさせた。生成物を分取 HPLC によって単離し、ACN / H₂O から凍結乾燥して、実施例 28 を白色の固体 (19.3 mg、0.012 mmol) とし

50

て得た。

【0331】

純粋な生成物を、分析HPLC（分析方法A： $t_R = 4.16$ 分）およびUPLC-MS（分析方法C、測定値： $[M+2]^{2+} = 723.7$ 、計算値： $[M+2]^{2+} = 723.8$ ）によって分析した。

（実施例62）

【0332】

pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-NH₂（ジスルフィドC⁶-C¹²）の合成

【0333】

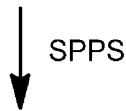
【化28】

10

20

30

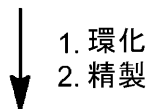
Fmoc-NH-POL



pE-R(Pbf)-P-R(Pbf)-L-C(Trt)-H(Trt)-K(Boc)-G-P-Nle-C(Trt)-F-NH-POL (62a)



pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-NH₂ (62b)



pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-NH₂

実施例62

【0334】

- 中間体62aの調製

（線状ペプチドの組み立て）

Fmoc保護されたRink-Amide-AM-PS樹脂（217mg、0.100mmol）を、Prelude（商標）ペプチド合成装置での固相ペプチド合成にかけた。カップリングを以下のとおりに実施した。

【0335】

【表 17】

カップリング	AA	カップリングの数 × 反応時間	合成サイクル
1	F	2 × 15分	A
2	C(Trt)	2 × 30分	D
3	Nle	2 × 15分	A
4	P	2 × 15分	A
5	G	2 × 30分	A
6	K(Boc)	2 × 15分	A
7	H(Trt)	2 × 15分	A
8	C(Trt)	2 × 1時間	D
9	L	2 × 15分	A
10	R(Pbf)	4 × 1時間	A
11	P	2 × 15分	A
12	R(Pbf)	4 × 1時間	A
13	pE	2 × 15分	A

10

20

【0336】

- 中間体 62b の調製

(保護基の除去を伴う樹脂からの切断)

中間体 62a (0.1 mmol) に、95% の TFA / EDT / TIS (95 : 2.5 : 2.5) 水溶液の混合物 (3 mL) を加え、懸濁液を室温で 1.5 時間振盪した。切断溶液を濾別し、新鮮な切断溶液 (2 mL) を加えた。懸濁液を室温で 45 分間振盪し、次いで切断溶液を濾別した。新鮮な溶液 (2 mL) を加え、懸濁液を室温で 45 分間振盪した。合わせた切断溶液を冷ヘプタン / ジエチルエーテル (1 : 1) の混合物 (35 mL) 中に注いで、沈殿を得た。懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。残渣を冷ヘプタン / ジエチルエーテル (1 : 1) (10 mL) で洗浄し、懸濁液を遠心分離し、上清を廃棄した。固体を高真空中で乾燥させた。粗生成物の中間体 62b を精製せずに次のステップで使用した。

30

【0337】

- 実施例 62 の調製

(環化および精製)

中間体 62b (0.100 mmol) を H₂O (20 mL) に溶解させた。攪拌した溶液に、50 mM の I₂ AcOH 溶液 (2.4 mL、0.120 mmol) を 1 回で加え、溶液を室温で 30 分間攪拌した。0.5 M アスコルビン酸 H₂O 溶液 (0.30 mL、0.300 mmol) を加えて、過剰の I₂ をクエンチさせた。溶液を濃縮してほぼ乾燥させた。粗生成物を分取 HPLC によって精製し、ACN / H₂O から凍結乾燥して、実施例 62 を白色の固体 (50.5 mg、0.025 mmol) として得た。

40

【0338】

純粋な生成物を、分析 HPLC (分析方法 C : t_R = 3.22 分) および UPLC - MS (分析方法 C、測定値 : [M + 3]³⁺ = 512.3、計算値 : [M + 3]³⁺ = 512.3) によって分析した。

【0339】

他の実施例は、似たようにして合成した。

50

- 実施例 2 ~ 4 は、実施例 1 と似たようにして合成した。
- 実施例 6 は、実施例 5 と似たようにして合成した。
- 実施例 9 ~ 25 および 27 は、実施例 26 と似たようにして合成した。
- 実施例 29 は、実施例 28 と似たようにして合成した。
- 実施例 30 ~ 61 は、実施例 8 と似たようにして合成した。
- 実施例 63 は、実施例 62 と似たようにして合成した。

(実施例 64)

【0340】

6 位と 12 位のシステイン間 [C⁶ - C¹²] に - S - CH₂ - C(O)CH₂ - S - 連結部を有する pE - R - P - R - L - C - H - K - G - P - N1e - C - F - OH

10

分析方法

方法 D (HRMS)、

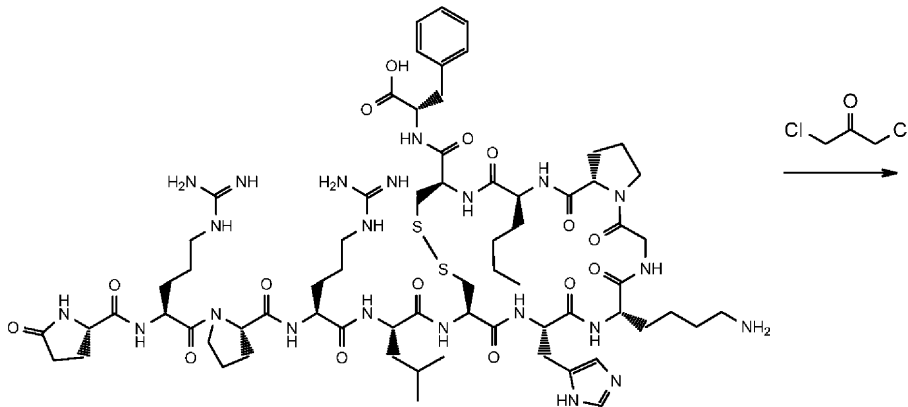
溶離液 A : 水 + 0.05% ギ酸 + 3.75 mM 酢酸アンモニウム、溶離液 B : アセトニトリル + 0.04% ギ酸。

勾配 : 4.4 分で 2% から 98% の B - 流量 1.0 ml / 分。カラム : Acquity CSH 1.7 μm 2.1 * 50 mm 50

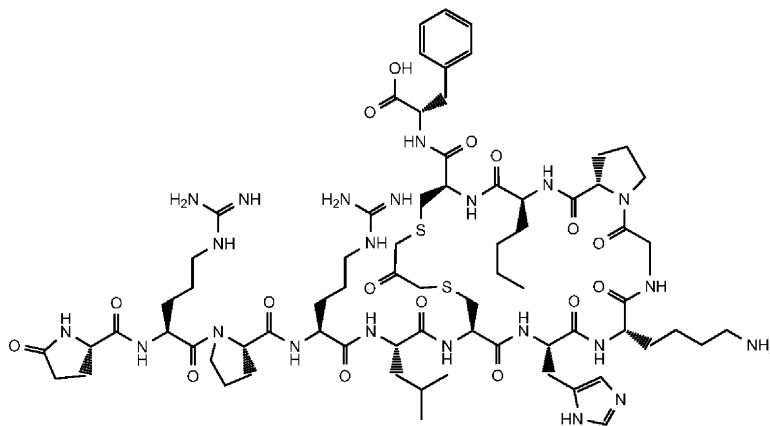
【0341】

【化 29】

20



30



40

実施例 8 の ((S) - 2 - ((3S, 6R, 11R, 14S, 17S, 25aS) - 14 - ((1H - イミダゾール - 5 - イル)メチル) - 17 - (4 - アミノブチル) - 3 - ブチル - 11 - ((S) - 2 - ((S) - 5 - グアニジノ - 2 - ((S) - 1 - ((S) - 5 - グアニジノ - 2 - ((S) - 5 - オキソピロリジン - 2 - カルボキサミド)ペンタノイル)ピロリジン - 2 - カルボキサミド)ペンタンアミド) - 4 - メチルペンタンアミド) - 1, 4, 12, 15, 18, 21 - ヘキサオキソドコサヒドロ - 1H - ピロロ[2, 1-j][1, 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20]ジチアヘキサアザシクロトリコ

50

シン - 6 - カルボキサミド) - 3 - フェニルプロパン酸) (12 mg、6.76 μmol) を 50 mM のリン酸ナトリウム緩衝液 pH 6.5 (1.5 mL) に溶解させ、これに TCEP HCl (トリス(2 - カルボキシエチル)ホスフィン) (2.91 mg、10.13 μmol) を室温で加えた。この反応混合物を室温で 1 時間攪拌した。上記溶液に、1, 3 - ジクロロプロパン - 2 - オン (4.29 mg、0.034 mmol) を室温で加え、これを室温で 30 分間攪拌した。0.1% TFA を含有する 15 ~ 60% の MeCN / 水を溶離液とする RP - HPLC にかけると、実施例 64 の ((S) - 2 - ((3S, 6R, 14R, 17S, 20S, 28aS) - 17 - ((1H - イミダゾール - 5 - イル)メチル) - 20 - (4 - アミノブチル) - 3 - ブチル - 14 - ((S) - 2 - ((S) - 5 - グアニジノ - 2 - ((S) - 1 - ((S) - 5 - グアニジノ - 2 - ((S) - 5 - オキソピロリジン - 2 - カルボキサミド)ペンタノイル)ピロリジン - 2 - カルボキサミド)ペンタンアミド) - 4 - メチルペンタンアミド) - 1, 4, 10, 15, 18, 21, 24 - ヘプタオキソヘキサコサヒドロピロロ[2, 1i][1, 23, 4, 7, 10, 13, 16, 19]ジチアヘキサアザシクロヘキサコシン - 6 - カルボキサミド) - 3 - フェニルプロパン酸) (6 mg、2.93 μmol 、収率 43.4%) が得られた。HRMS (方法 D) [M + 1]: 1590.7911 (実測値)、1590.7912 (予測値)。保持時間: 3.08 分。

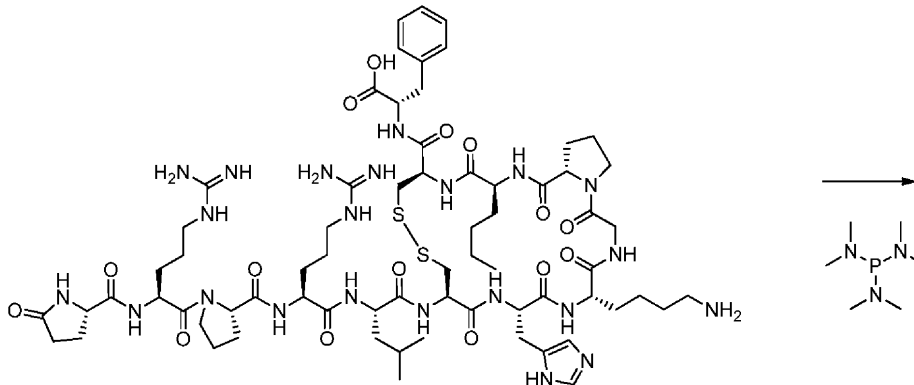
(実施例 65)

【0342】

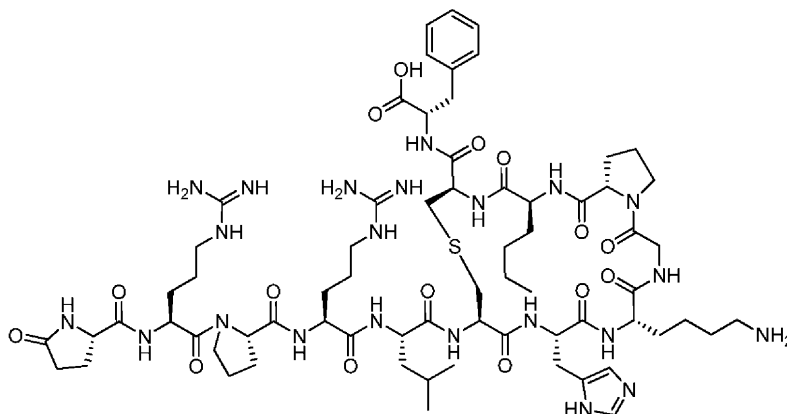
6 位と 12 位の 2 つのシステイン間 [C⁶ - C¹²] にモノスルフィド連結部を有する pE - R - P - R - L - C - H - K - G - P - N] e - C - F - OH

【0343】

【化 30】



30



40

実施例 8 の ((S) - 2 - ((3S, 6R, 11R, 14S, 17S, 25aS) - 14 - ((1H - イミダゾール - 5 - イル)メチル) - 17 - (4 - アミノブチル) - 3 - ブチル - 11 - ((S) - 2 - ((S) - 5 - グアニジノ - 2 - ((S) - 1 - ((S) - 5 - グアニジノ - 2 - ((S) - 5 - オキソピロリジン - 2 - カルボキサミド)ペンタノ

50

イル) ピロリジン - 2 - カルボキサミド) ペンタンアミド) - 4 - メチルペンタンアミド) - 1, 4, 12, 15, 18, 21 - ヘキサオキソドコサヒドロ - 1H - ピロロ[2, 1-j][1, 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20]ジチアヘキサアザシクロトリコシン - 6 - カルボキサミド) - 3 - フェニルプロパン酸 TFA 塩 (30 mg、0.15 mmol) と N, N, N', N', N'', N'' - ヘキサメチルホスフィントリアミン (12.3 mg、0.75 mmol) を PBS pH 9.2 緩衝液 (1 mL) に混ぜた混合物を、室温で 3 日間攪拌した。反応混合物を分取 HPLC (Sunfire C18、0.1% の TFA 水 / MeCN 溶液) によって 2 回精製し、生成物画分を凍結乾燥して、白色の粉末 (実施例 65 : 4 mg、13.4%) を得た。[M + 2H]²⁺ (計算値) = 752.88、[M + 2H]²⁺ (測定値) = 752.40、[M + 3H]³⁺ (計算値) = 502.26、[M + 3H]³⁺ (測定値) = 501.94。HPLC (分析方法 C)、Tr 分 = 6.93。

10

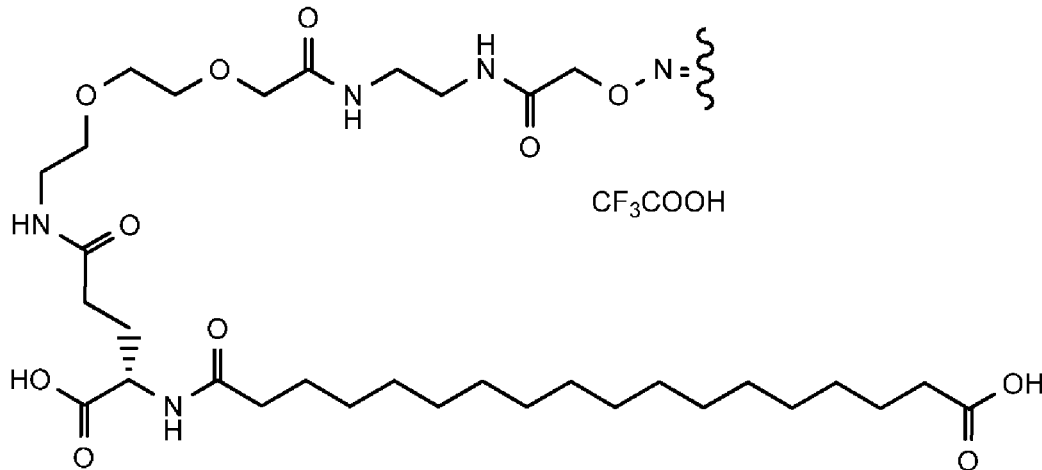
(実施例 66)

【0344】

6 位と 12 位の 2 つのシステイン間 [C⁶ - C¹²] に -S - CH₂ - C(=Z) - CH₂ - S - 連結部を有し、Z が

【0345】

【化31】



20

30

である、pE - R - P - R - L - C - H - K - G - P - N1e - C - F - OH

分析方法

方法 D (HRMS)、

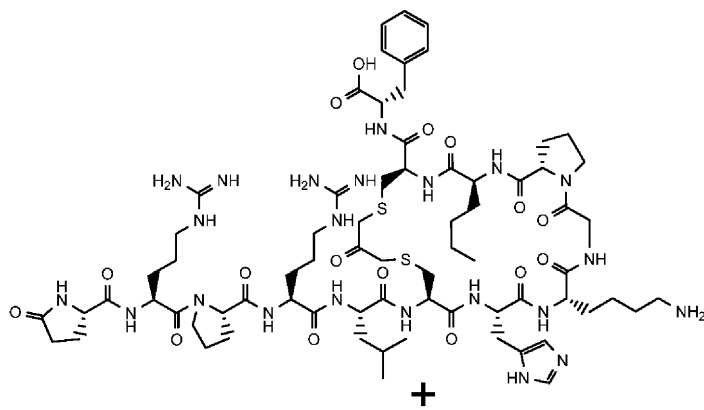
溶離液 A : 水 + 0.05% ギ酸 + 3.75 mM 酢酸アンモニウム、溶離液 B : アセトニトリル + 0.04% ギ酸。

勾配 : 4.4 分で 2% から 98% の B - 流量 1.0 mL / 分。カラム : Acquity CSH 1.7 μm 2.1 * 50 mm 50

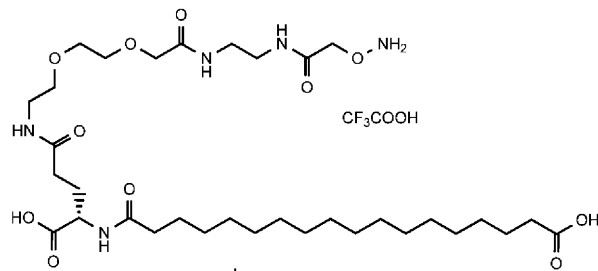
【0346】

40

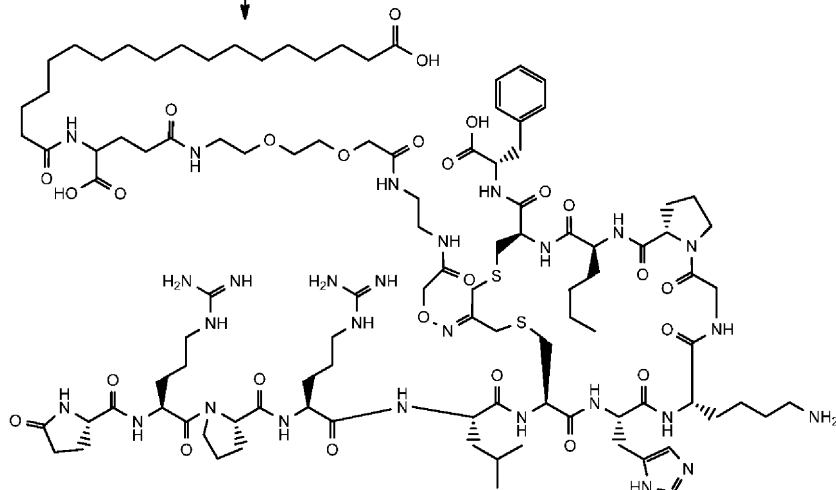
【化 3 2】



10



20



30

実施例 64 の ((S) - 2 - ((3 S , 6 R , 14 R , 17 S , 20 S , 28 a S) - 17 - ((1 H - イミダゾール - 5 - イル) メチル) - 20 - (4 - アミノブチル) - 3 - ブチル - 14 - ((S) - 2 - ((S) - 5 - グアニジノ - 2 - ((S) - 1 - ((S) - 5 - グアニジノ - 2 - ((S) - 5 - オキソピロリジン - 2 - カルボキサミド) ペンタノイル) ピロリジン - 2 - カルボキサミド) ペンタンアミド) - 4 - メチルペンタンアミド) - 1 , 4 , 10 , 15 , 18 , 21 , 24 - ヘプタオキソヘキサコサヒドロピロロ [2 , 1 - i] [1 , 23 , 4 , 7 , 10 , 13 , 16 , 19] ジチアヘキサアザシクロヘキサコシン - 6 - カルボキサミド) - 3 - フェニルプロパン酸) (11.5 mg、5.62 μmol)、および (S) - 1 - (アミノオキシ) - 19 - カルボキシ - 2 , 7 , 16 , 21 - テトラオキソ - 9 , 12 - ジオキサ - 3 , 6 , 15 , 20 - テトラアザオクタトリアコンタン - 38 - 酸化合物と 2 , 2 , 2 - トリフルオロ酢酸 (1 : 1) (9.19 mg、0.011 mmol) を 100 nM のリン酸 Na 緩衝液 pH 6.0 (1 ml) に溶かした溶液に、室温でアニリン (2.051 μl、0.022 mmol) を加えた。DM SO (50 μl) を加えると、均質な溶液が得られた。この反応混合物を室温で 2 時間攪拌した。0.1% TFA を含有する 15 ~ 60% の MeCN / 水を溶離液とする RP - H PLC にかけると、実施例 66 の (1 - ((Z) - ((3 S , 6 R , 14 R , 17 S , 2

40

50

0 S, 28 a S) - 17 - ((1 H - イミダゾール - 5 - イル)メチル) - 20 - (4 - アミノブチル) - 3 - ブチル - 6 - ((S) - 1 - カルボキシ - 2 - フェニルエチルカルバモイル) - 14 - ((S) - 2 - ((S) - 5 - グアニジノ - 2 - ((S) - 1 - ((S) - 5 - グアニジノ - 2 - ((S) - 5 - オキソピロリジン - 2 - カルボキサミド)ペンタノイル)ピロリジン - 2 - カルボキサミド)ペンタンアミド) - 4 - メチルペンタンアミド) - 1, 4, 15, 18, 21, 24 - ヘキサオキソドコサヒドロピロロ[2, 1 - i][1, 23, 4, 7, 10, 13, 16, 19]ジチアヘキサアザシクロヘキサコシン - 10 (1 H, 9 H, 11 H) - イリデン)アミノオキシ) - 19 - カルボキシ - 2, 7, 16, 21 - テトラオキソ - 9, 12 - ジオキサ - 3, 6, 15, 20 - テトラアザオクタトリアコンタン - 38 - 酸) (4.5 mg, 1.646 μmol, 収率 29.3%) が得られた。HRMS (方法 D) [(M + 3) / 3]: 759.7487 (実測値)、759.7462 (予測値)。保持時間: 4.12 分。

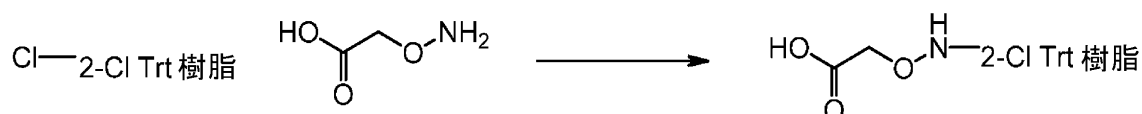
10

【0347】

2, 2, 2 - トリフルオロ酢酸を伴う (S) - 1 - (アミノオキシ) - 19 - カルボキシ - 2, 7, 16, 21 - テトラオキソ - 9, 12 - ジオキサ - 3, 6, 15, 20 - テトラアザオクタトリアコンタン - 38 - 酸化合物 (1 : 1) の合成

【0348】

【化33】



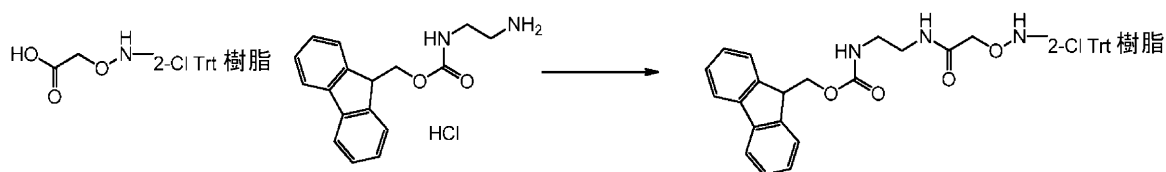
20

100 mL のガラス器具に入った 1 - クロロトリチルクロリド樹脂 (1.55 mmol / g) (0.500 g, 0.775 mmol) を、DCM (20 mL) 中で 30 分間膨張させ、液体を排出した。樹脂に、2 - (アミノオキシ) 酢酸半塩酸塩 (0.338 g, 3.10 mmol) および DIPEA (1.354 mL, 7.75 mmol) を NMP (7 mL) / DCM (4 mL) に懸濁させた懸濁液を加え、これを 5 時間振盪した。溶媒を排出した。樹脂を DCM / MeOH / DIPEA (17 / 2 / 1, 40 mL)、DCM (50 mL)、NMP (50 mL)、DCM (50 mL) でそれぞれすすいだ。得られる樹脂を KOH / NaOH と共に終夜乾燥させた。

30

【0349】

【化34】

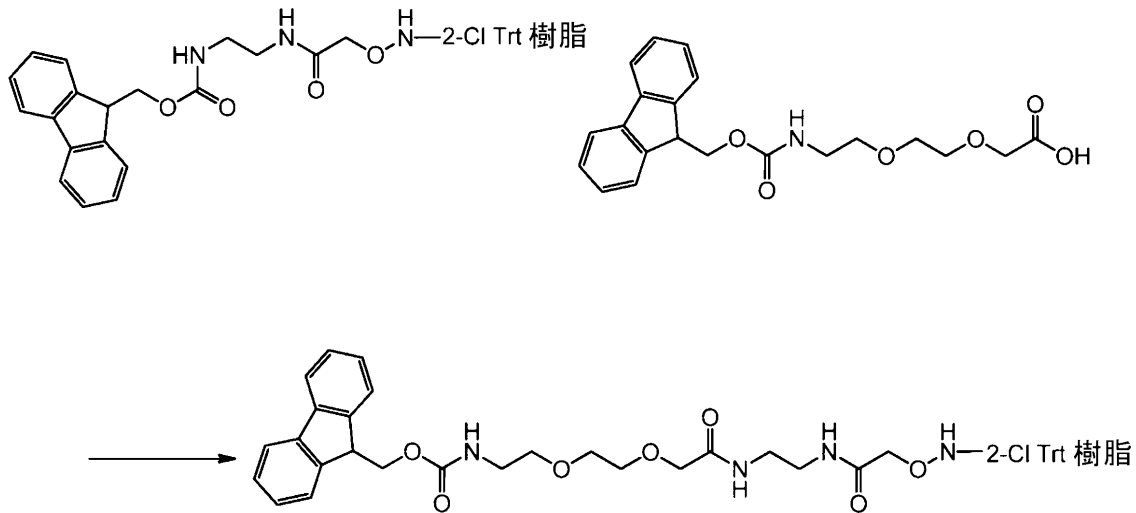


40

100 mL のガラス器具に入った樹脂 (0.775 mmol) を DCM (20 mL) 中で 30 分間膨張させ、液体を排出した。(9 H - フルオレン - 9 - イル)メチル 2 - アミノエチルカルバメート塩酸塩 (0.081 g, 0.775 mmol)、HOAt (0.422 g, 3.10 mmol)、および DIPEA (1.354 mL, 7.75 mmol) を NMP (8 mL) に懸濁させた懸濁液に、HBTU (1.176 g, 3.10 mmol) を含有する NMP (2.5 mL) を加え、これを室温で 2 時間振盪した。溶媒を排出した。樹脂を NMP (10 mL)、DCM (10 mL) でそれぞれすすいだ。得られる樹脂を終夜乾燥させた。

【0350】

【化35】



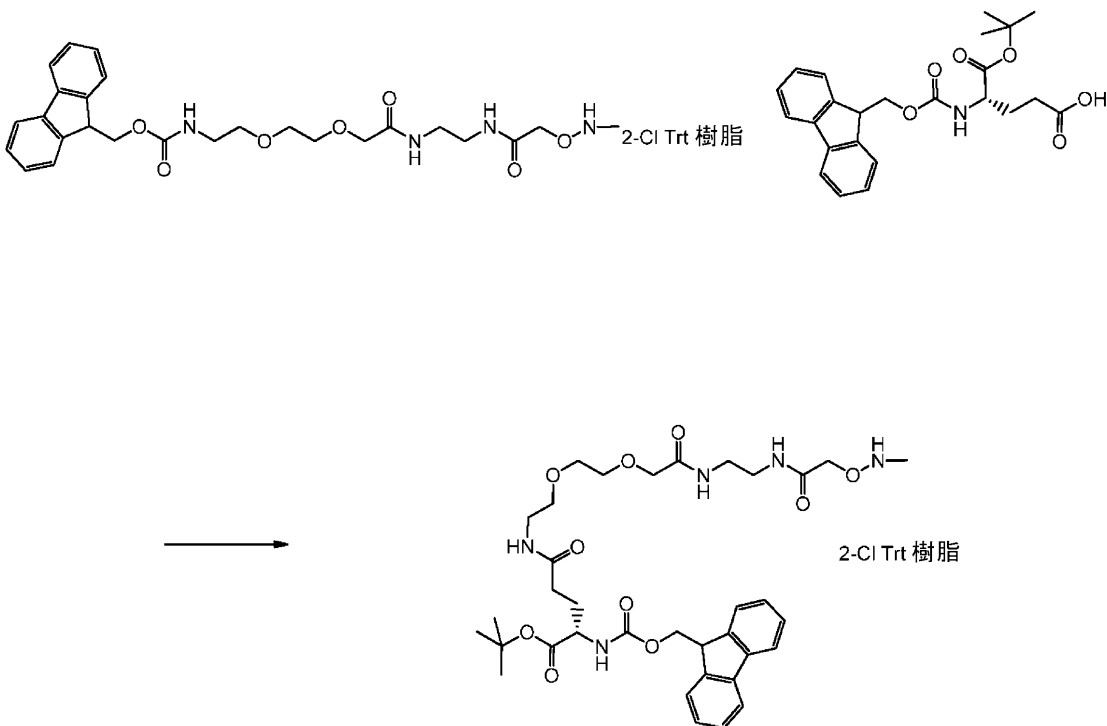
10

反応器に樹脂 (0.775 mmol) を装入した。樹脂に 10 mL の 20% ピペリジン / NMP を加え、その懸濁液を室温で 5 分間攪拌した。溶媒を排出した後、追加の 10 mL の 20% ピペリジン / NMP を加え、室温で 20 分間攪拌した。樹脂に、HOAt (0.316 g、2.325 mmol) および 1-(9H-フルオレン-9-イル)-3-オキソ-2,7,10-トリオキサ-4-アザドデカン-12-酸 (0.896 g、2.325 mmol) を NMP (8 mL) に溶かした溶液を加え、DIC (0.362 mL、2.325 mmol) を含有する NMP (1 mL) を加えた。反応混合物を室温で 2 時間攪拌した。樹脂を濾別し、NMP (10 mL) で 4 回すすいだ。得られる樹脂を終夜乾燥させた。

20

【0351】

【化36】



30

40

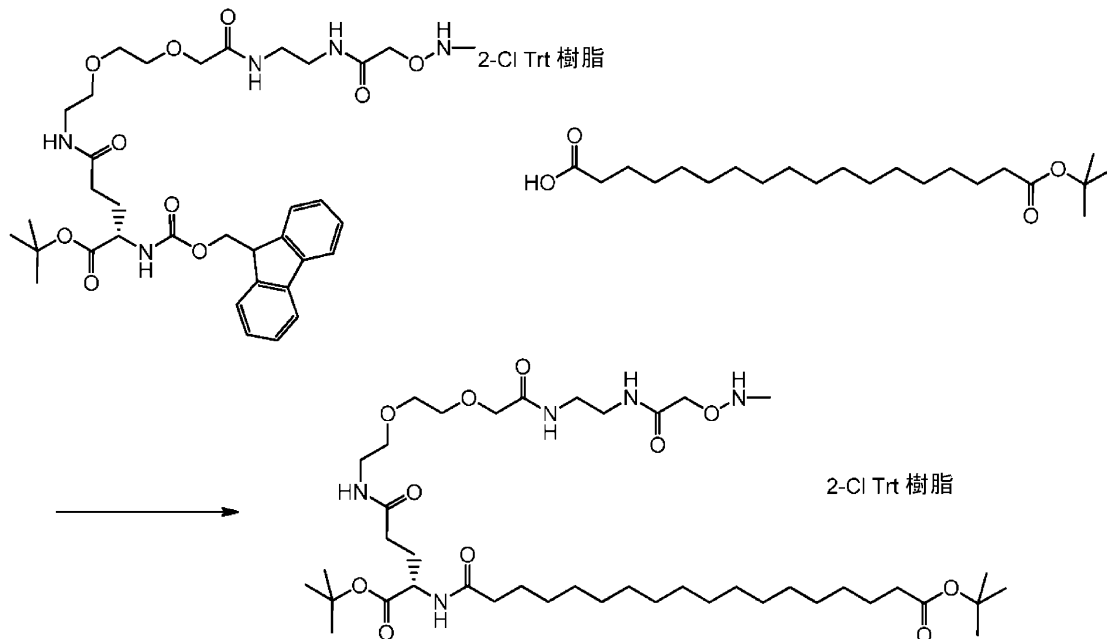
反応器に樹脂 (0.775 mmol) を装入した。樹脂に 10 mL の 20% ピペリジン / NMP を加え、その懸濁液を室温で 5 分間攪拌した。溶媒を排出した後、追加の 10 mL の 20% ピペリジン / NMP を加え、室温で 20 分間攪拌した。樹脂に、HOAt (0

50

. 3 1 6 g、2 . 3 2 5 m m o l) および F m o c - G l u - O t B u (0 . 9 8 9 g、2 . 3 2 5 m m o l) を N M P (8 m l) に溶かした溶液を加え、D I C (0 . 3 6 2 m l、2 . 3 2 5 m m o l) を含有する N M P (2 . 0 0 m l) を加えた。反応混合物を室温で2時間攪拌した。樹脂を濾別し、N M P (1 0 m l) で4回すすいだ。得られる樹脂を終夜乾燥させた。

【 0 3 5 2 】

【 化 3 7 】

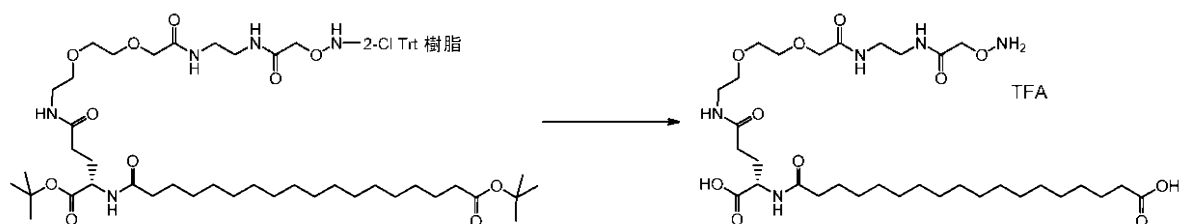


反応器に樹脂 (0 . 7 7 5 m m o l) を装入した。樹脂に 1 0 m L の 2 0 % ピペリジン / N M P (0 . 7 7 5 m m o l) を加え、その懸濁液を室温で5分間攪拌した。溶媒を排出した後、追加の 1 0 m L の 2 0 % ピペリジン / N M P (0 . 7 7 5 m m o l) (0 . 7 7 5 m m o l) を加え、室温で20分間攪拌した。樹脂に、1 8 - t e r t - ブトキシ - 1 8 - オキソオクタデカン酸 (0 . 8 6 2 g、2 . 3 2 5 m m o l) および H O A t (0 . 3 1 6 g、2 . 3 2 5 m m o l) を N M P (8 m l) に溶かした溶液を加え、D I C (0 . 3 6 2 m l、2 . 3 2 5 m m o l) を含有する N M P (2 . 0 0 m l) を加えた。反応混合物を室温で4時間攪拌した。樹脂を濾別し、N M P (1 0 m l) で4回すすいだ。得られる樹脂を終夜乾燥させた。

30

【 0 3 5 3 】

【 化 3 8 】



室温において樹脂 (0 . 7 7 5 m m o l) を 2 0 m L の切断カクテル (T F A / T I P S / 水 = 9 5 / 2 . 5 / 2 . 5) で 1 . 5 時間処理した。樹脂を濾別し、T F A ですすいだ。濾液を真空中で濃縮した。0 . 1 % T F A を含有する 1 5 ~ 5 0 % の M e C N / 水を溶離液とする C 1 8 カラムでの R P - H P L C にかけて、2 , 2 , 2 - トリフルオロ酢酸を伴う (S) - 1 - (アミノオキシ) - 1 9 - カルボキシ - 2 , 7 , 1 6 , 2 1 - テトラオキソ - 9 , 1 2 - ジオキサ - 3 , 6 , 1 5 , 2 0 - テトラアザオクタトリアコンタン

50

- 38 - 酸 (1 : 1) (207 mg、0.294 mmol、収率 37.9%) が得られた。HRMS (方法 D) [M + 1] : 704.4459 (実測値)、704.4486 (予測値)。保持時間 : 2.63 分。

【0354】

実施例 1 ~ 66 のポリペプチドは、上述のとおり、および/または溶媒抽出、カラムクロマトグラフィー、液体クロマトグラフィー、再結晶などの従来の精製技術を組み合わせ、精製および単離することができる。上記実施例において単離されたポリペプチドが遊離化合物である場合、ポリペプチドは、既知の方法によって適切な塩に変換することができる。したがって、実施例 1 ~ 66 のペプチドは、1 : 1 ~ 1 : 4 の範囲のポリペプチド : 塩比率で、その対応する塩 (たとえば、塩酸塩、臭化水素酸塩、硫酸塩、リン酸塩、クエン酸塩、酢酸塩、乳酸塩、または注入に適する別の薬学的塩) に変換することができる。たとえば、実施例 1 ~ 66 のポリペプチドを水に溶解させ、イオン交換樹脂を使用して塩に変換することができる。逆に、単離されたペプチドが塩である場合、ペプチドは、既知の方法によって遊離ペプチドに変換することも、またはイオン交換樹脂を活用して異なる塩に直接変換することもできる。

10

【0355】

以下の実施例のポリペプチドは、APJ 受容体効力について、EC₅₀ 値が約 0.01 nM ~ 約 1100 nM の範囲にあることがわかった。以下の実施例のポリペプチドは、血漿安定性が 2 分より長い、5 分より長い、10 分より長い、20 分より長い、50 分より長い、60 分より長いことがわかった。

20

【0356】

本発明のポリペプチドは、APJ 受容体のアゴニストとして有用であり、したがって、本明細書で開示する疾患などの、APJ 受容体の活性化に反応を示す疾患および状態の治療において有用であるとみなすことができる。

【0357】

こうして本発明の例示的な実施形態について述べてきたが、当業者は、内部の開示が例示的なものに過ぎないこと、ならびに本発明の範囲内で他の種々の代替形態、改造形態、および変更形態を案出してもよいことを留意すべきである。したがって、本発明は、本明細書で例示するような詳細な実施形態に限定されない。

【手続補正書】

【提出日】平成26年10月20日(2014.10.20)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0001

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0001】

本発明は、投与を受ける対象において心血管疾患が治療されるように設計され、その野生型の対応物より高い耐分解性、およびそれと同等以上の生物活性を示す、修飾ペプチドおよびポリペプチド配列を含む新規組成物に関する。本発明はまた、前記組成物の製造方法、および前記組成物を心血管疾患治療のために薬学的活性剤として使用する方法に関する。

配列表

本願はEFS-Webを通じてASCIIフォーマットで提出された配列表を含み、同配列表は参照によりそのすべてが本明細書に取り込まれるものとする。前記ASCIIのコピーは2013年6月28日にPAT054961-WO-PCT_SL.txtという名称で作成され、そのサイズは85,581バイトである。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】 0 0 5 7

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 5 7 】

実施形態 4 において、本発明は、式 I I (配列番号 1) :

【手続補正 3】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 7 2

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 7 2 】

実施形態 9 において、本発明のある特定のポリペプチドとして、式 I I I (配列番号 2) :

【手続補正 4】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 7 4

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 7 4 】

実施形態 1 0 において、本発明のある特定のペプチドおよびポリペプチドとして、式 I V (配列番号 3) :

【手続補正 5】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 7 6

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 7 6 】

実施形態 1 1 において、本発明のある特定のポリペプチドとして、式 V (配列番号 4) :

【手続補正 6】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 7 8

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 7 8 】

実施形態 1 2 において、本発明は、X 3 がシステインであり、システインの側鎖が、X 7 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している、(実施形態 1、2 または 3 に従う) 式 I または I ' の二環式ペプチドまたはポリペプチドに関する。この実施形態は、式 V I (配列番号 5) のペプチドおよびポリペプチド

【手続補正 7】

【補正対象書類名】 明細書

【補正対象項目名】 0 0 8 0

【補正方法】 変更

【補正の内容】

【 0 0 8 0 】

実施形態 13 において、本発明は、X4 がシステインであり、システインの側鎖が、X7 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している、(実施形態 1、2 または 3 に従う) 式 I または I' の二環式ペプチドまたはポリペプチドに関する。この実施形態は、式 V I I (配列番号 6) のペプチドおよびポリペプチド

【手続補正 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0210

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0210】

用語「ApoA-I 模倣薬」は、D4Fペプチド(たとえば、式 D-W-F-K-A-F-Y-D-K-V-A-E-K-F-K-E-A-F) (配列番号 7) を包含する。

【手続補正 9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0252

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0252】

【表 6 A】

表4:

実施例	配列	配列番号	環のタイプ
実施例1	pE-R-P-R-L-K-H-F-G-P-Nle-D-フェネチルアミン	8	ラクタム K ⁶ -D ¹²
実施例2	pE-R-P-R-L-K-H-F-G-P-Nle-E-フェネチルアミン	9	ラクタム K ⁶ -E ¹²
実施例3	pE-R-P-R-L-Orn-H-F-G-P-Nle-D-フェネチルアミン	10	ラクタム O ⁶ -D ¹²
実施例4	pE-R-P-R-L-Dab-H-F-G-P-Nle-D-フェネチルアミン	11	ラクタム Dab ⁶ -D ¹²
実施例5	pE-R-P-R-L-K-F-K-G-P-Nle-F	12	ラクタム K ⁶ -C末端
実施例6	pE-R-P-R-L-K-F-K-G-P-Nle-f	13	ラクタム K ⁶ -C末端
実施例7	Q-R-P-R-L-C-F-K-G-P-Nle-C-F-G-G	14	ラクタム N末端-C末端, ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例8	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	15	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例9	pE-R-P-R-L-C-Aib-K-G-P-Nle-C-F-OH	16	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例10	pE-R-P-R-L-C-Aib-K-G-P-Nle-C-f-OH	17	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例11	H-Isn-R-P-R-L-C-Aib-K-G-P-Nle-C-f-OH	18	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例12	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-フェネチルアミン	19	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例13	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-f-OH	20	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例14	pE-R-P-R-Cha-C-H-K-G-P-Cha-C-F-OH	21	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例15	pE-R-P-R-L-C-F-K-G-P-Nle-C-F-OH	22	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例16	H-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	23	ジスルフィド C ⁵ -C ¹¹
実施例17	H-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	24	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例18	H-Isn-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	25	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例19	pE-R-P-R-L-C-H-F-G-P-Nle-C-フェネチルアミン	26	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例20	pE-R-P-R-L-C-H-K-Aib-P-Nle-C-F-OH	27	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例21	pE-R-P-R-L-C-H-(4-NH-Isn)-G-P-Nle-C-F-OH	28	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例22	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-K(パルミトイル)-OH	29	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例23	pE-R-P-R-L-C-K(パルミトイル)-K-G-P-Nle-C-F-OH	30	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例24	パルミトイル-O2Oc-Q-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	31	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例25	ラウロイル-O2Oc-Q-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	32	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例26	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-K(ラウロイル)-OH	33	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例27	pE-R-P-R-L-C-K(ラウロイル)-K-G-P-Nle-C-F-OH	34	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例28	pE-R-P-C-L-C-C-K-G-P-Nle-C-F-OH	35	ジスルフィド C ⁶ -C ¹² , C ⁴ -C ⁷
実施例29	pE-R-C-R-L-C-C-K-G-P-Nle-C-F-OH	36	ジスルフィド C ⁶ -C ¹² , C ³ -C ⁷
実施例30	pE-r-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	37	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例31	pE-F-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	38	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例32	pE-E-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	39	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例33	pE-R-p-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	40	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例34	pE-R-K-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	41	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例35	pE-R-D-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	42	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例36	pE-R-P-F-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	43	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例37	pE-R-P-R-K-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	44	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例38	pE-R-P-R-L-C-H-E-G-P-Nle-C-F-OH	45	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例39	pE-R-P-R-L-C-H-K-D-P-Nle-C-F-OH	46	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例40	pE-R-P-E-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	47	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例41	pE-R-P-R-(4-PhF)-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	48	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例42	pE-R-P-R-D-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	49	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例43	pE-R-P-R-L-C-E-K-G-P-Nle-C-F-OH	50	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例44	pE-R-P-R-L-C-H-K-L-P-Nle-C-F-OH	51	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例45	pE-R-P-R-L-C-H-K-R-P-Nle-C-F-OH	52	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例46	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-(ピペコリン酸)-Nle-C-F-OH	53	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²

【表 6 B】

実施例47	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-(3-PyA)-C-F-OH	54	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例48	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-H-OH	55	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例49	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-E-OH	56	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例50	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-OH	57	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例51	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-hC-F-OH	58	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例52	pE-R-P-R-L-hC-H-K-G-P-Nle-hC-F-OH	59	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例53	pE-R-P-R-L-c-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	60	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例54	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-(D-hC)-F-OH	61	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例55	pE-R-P-R-L-(D-hC)-H-K-G-P-Nle-(D-hC)-F-OH	62	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例56	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-c-F-OH	63	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例57	pE-R-P-R-L-c-H-K-G-P-Nle-c-F-OH	64	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例58	ミリストイル-O2Oc-O2Oc-Q-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-f-OH	65	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例59	ミリストイル-O2Oc-O2Oc-O2Oc-Q-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-f-OH	66	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例60	ミリストイル-O2Oc-O2Oc-O2Oc-O2Oc-Q-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-f-OH	67	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例61	pE-R-P-R-L-C-H-K(ミリストイル)-G-P-Nle-C-F-OH	68	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例62	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-NH ₂	69	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例63	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-NH ₂	70	ジスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例64	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	71	-S-CH ₂ -C(=O)CH ₂ -S- [C ⁶ -C ¹²]
実施例65	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	72	モノスルフィド C ⁶ -C ¹²
実施例66	pE-R-P-R-L-C-H-K-G-P-Nle-C-F-OH	73	-S-CH ₂ -C(=Z)-CH ₂ -S- [C ⁶ -C ¹²]

【手続補正 10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0277

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0277】

pE-R-P-R-L-K-H-F-G-P-Nle-D-フェネチルアミン(配列番号8)(ラクタムK⁶-D¹²)の合成 以下の実施例1は配列番号8を開示する。

【手続補正 11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0284

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0284】

pE-R-P-R-L-K-F-K-G-P-Nle-F(配列番号12)(ラクタムK⁶-C末端)合成 以下の実施例5は配列番号12を開示する。

【手続補正 12】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0292

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0292】

Q-R-P-R-L-C-F-K-G-P-Nle-C-F-G-G(配列番号14)(

ラクタム N 末端 - C 末端) 合成 以下の実施例 7 は配列番号 1 4 を開示する。

【手続補正 1 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 0 3

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 0 3】

p E - R - P - R - L - C - H - K - G - P - N l e - C - F - O H (配列番号 1 5) (ジスルフィド C⁶ - C^{1 2}) の合成 以下の実施例 8 は配列番号 1 5 を開示する。

【手続補正 1 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 1 5

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 1 5】

p E - R - P - R - L - C - H - K - G - P - N l e - C - K (ラウロイル) - O H (配列番号 3 3) (ジスルフィド C⁶ - C^{1 2}) の合成 以下の実施例 2 6 は配列番号 3 3 を開示する。

【手続補正 1 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 2 4

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 2 4】

p E - R - P - C - L - C - C - K - G - P - N l e - C - F - O H (配列番号 3 5) (ジスルフィド C⁴ - C⁷ および C⁶ - C^{1 2}) 合成 以下の実施例 2 8 は配列番号 3 5 を開示する。

【手続補正 1 6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 3 2

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 3 2】

p E - R - P - R - L - C - H - K - G - P - N l e - C - F - N H 2 (配列番号 6 9) (ジスルフィド C⁶ - C^{1 2}) の合成 以下の実施例 6 2 は配列番号 6 9 を開示する。

【手続補正 1 7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 3 4 0

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 3 4 0】

6 位と 1 2 位のシステイン間 [C⁶ - C^{1 2}] に - S - C H₂ - C (O) C H₂ - S - 連結部を有する p E - R - P - R - L - C - H - K - G - P - N l e - C - F - O H (配列番号 7 1)

【手続補正 18】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0342

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0342】

6位と12位の2つのシステイン間 [C⁶ - C¹²] にモノスルフィド連結部を有する p E - R - P - R - L - C - H - K - G - P - N l e - C - F - O H (配列番号 7 2)

【手続補正 19】

【補正対象書類名】明細書

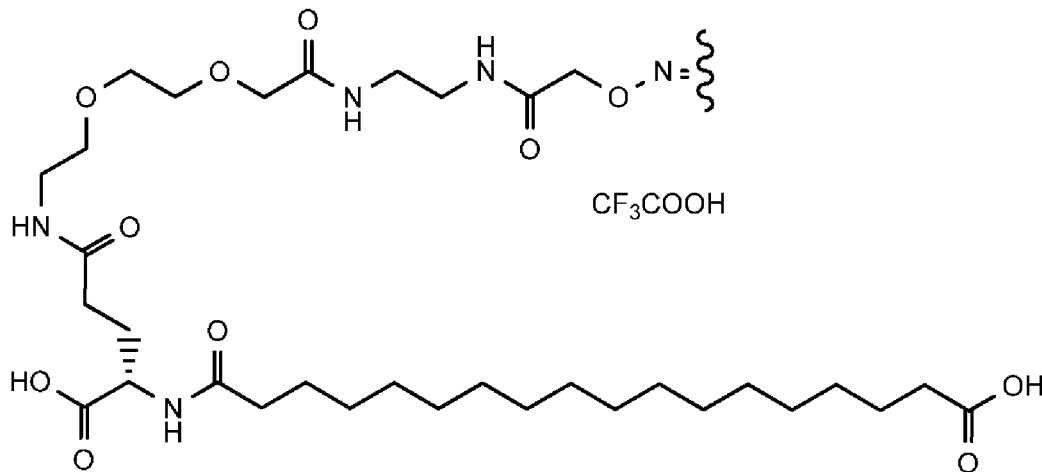
【補正対象項目名】0345

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0345】

【化31】



である、 p E - R - P - R - L - C - H - K - G - P - N l e - C - F - O H (配列番号 7 3)

分析手法

方法 D (H R M S)、

溶離液 A : 水 + 0 . 0 5 % ギ酸 + 3 . 7 5 m M 酢酸アンモニウム、溶離液 B : アセトニトリル + 0 . 0 4 % ギ酸。

勾配 : 4 . 4 分で 2 % から 9 8 % の B - 流量 1 . 0 m l / 分。カラム : A c q u i t y C S H 1 . 7 μ m 2 . 1 * 5 0 m m 5 0

【手続補正 20】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0357

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0357】

こうして本発明の例示的な実施形態について述べてきたが、当業者は、内部の開示が例示的なものに過ぎないこと、ならびに本発明の範囲内で他の種々の代替形態、改造形態、および変更形態を案出してもよいことを留意すべきである。したがって、本発明は、本明細書で例示するような詳細な実施形態に限定されない。

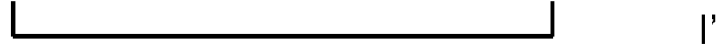
本発明は以下を提供する。

[1]

次式 I' (配列番号 74):

【化 39】

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13



[式中、

X 1 は、ポリペプチドの N 末端であり、存在しないか、または p E、R、l s n、Q、A、K、および 5 - アミノ - 吉草酸から選択され、

X 2 は、R、A、r、N - M e - R、K、H、h F、h K、F、E、または O r n であり、

X 3 は、P、A、a、p、4 - P h P、K、D、ピペコリン酸、またはシステイン [システインの側鎖は、X 7 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、

X 4 は、R、A、r、N - M e - R、F、E、またはシステイン [システインの側鎖は、X 7 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、

X 5 は、L、C h a、A、D - L、N - M e - L、K、D、4 - P h F、または F であり、

X 6 および X 1 2 は、独立して、C、c、h C、D - h C、K、D、O r n、D a b、または E から選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X 6 と X 1 2 の側鎖は、共有結合によって互いに連結して、モノスルフィド (- S -)、ジスルフィド (- S - S -)、もしくはアミド結合 (- N H C (O) - もしくは - C (O) - N H -)、または式 - S - C H ₂ - C (= Z) - C H ₂ - S - の連結部のいずれかを形成しており、Z は、O、N - O - C H ₂ C (O) - L ¹ - R ¹、または N - N H - C H ₂ C (O) - L ¹ - R ¹ であり、R ¹ は、脂肪酸誘導体であり、L ¹ は、1 つまたは複数のアミノ酸および / または 1 つまたは複数の - N H - C ₂ - ₆ - アルキレン - N H - 単位を含んだリンカーであり、または代わりに、X 6 は K であり、X 1 3 は存在せず、X 1 2 は F または f であり、X 1 2 の C 末端は、X 6 のアミノ側鎖とアミド結合を形成しており、

X 7 は、H、h、A、N - M e - A、a、A i b、K、N a l、F、P、D a p、N、E、またはシステイン [システインの側鎖は、X 3 位のシステインの側鎖または X 4 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、

X 8 は、K、k、F、f、A、h F、N - M e - R、E、または 4 - アミノ - l s n であり、

X 9 は、G、N - M e - G、A、D、L、R、または A i b であり、

X 1 0 は、P、A、p、4 - P h P、またはピペコリン酸であり、

X 1 1 は、M、D - N l e、N l e、N - M e - N l e、M (O)、A、F、Y、L、K、3 - P y A、または C h a であり、

X 1 3 は、C 末端であり、存在しないか、または F、f、N - M e - F、N a l、D - N a l、3 - B r - F、(S) - - 3 - F、I、A、a、K、D a p、H、および E から選択され、

N l e は、L - ノルロイシンであり、

D - h C は、D - ホモシステインであり、

h C は、L - ホモシステインであり、

h F は、L - ホモフェニルアラニンであり、

h K は、L - リシンであり、

N a l は、L - ナファタリンであり、

O r n は、オルニチンであり、

A i b は、 - アミノイソ酪酸であり、
 D a b は、(S) - ジアミノ酪酸であり、
 D a p は、(S) - 2 , 3 - ジアミノプロピオン酸であり、
 M (O) は、メチオニンスルホンであり、
 C h a は、(S) - - シクロヘキシルアラニンであり、
 4 - アミノ - l s n は、4 - アミノピペリジン - 4 - カルボン酸であり、
 l s n は、イソニペコチノイルであり、
 p E は、L - ピログルタミン酸であり、
 3 - P y A は、3 - (3 - ピリジル) - L - アラニンであり、
 4 - P h F は、4 - フェニル - L - フェニルアラニンであり、
 N 末端および C 末端は、場合により、1、2、3 または 4 個のグリシンアミノ酸と一緒に
 なって環を形成しており、
 K、O r n、D a b、D a p、h K、または 4 - アミノ - I s n の側鎖中のアミノ基は、
 場合により、親油性基にアミド結合によって連結している]
 を有するポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこ
 れらと実質的に同等なポリペプチド。

[2]

次式 (配列番号 7 5) :

【化 4 0】

X1-R-P-R-X5-X6-X7-X8-X9-P-X11-X12-X13

||

を有し、

X 1 が、不存在、p E、R、Q、または I s n であり、
 X 5 が、L または C h a であり、
 X 7 が、H、A i b、F、K (ラウロイル)、または K (パルミトイル) であり、
 X 8 が、K、F、または 4 - アミノ - l s n であり、
 X 9 が、G または A i b であり、
 X 1 1 が、N l e または C h a であり、
 X 1 3 が、存在しないか、または F、f、K (ラウロイル)、K (パルミトイル) であり

、
 X 6 および X 1 2 が、独立して、C、c、h C、D - h C、K、D、O r n、D a b、ま
 たは E から選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X 6 と X 1 2 の側鎖が、共
 有結合によって互いに連結して、ジスルフィド結合またはアミド結合を形成しており、N
 末端および C 末端が、場合により、1、2、3 または 4 個のグリシンアミノ酸と一緒にな
 って環を形成している、
 ポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこれらと実
 質的に同等なポリペプチド。

[3]

X 6 および X 1 2 が、K、O r n、D a b、E、および D から独立して選択され、X 6
 と X 1 2 の側鎖が、一緒になってアミド結合を形成している (配列番号 7 6)、前記 [1
] または [2] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは
 塩。


[4]

X 6 および X 1 2 が、独立して C であり、X 6 と X 1 2 の側鎖が、一緒になってジスル
 フィド結合を形成している (配列番号 7 7)、前記 [1] または [2] に記載のポリペプ
 チドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[5]

式 I I I (配列番号 7 8) :
【化 4 1】

X1-R-P-R-X5-C-X7-X8-X9-P-X11-C-X13




III;

を有する前記 [1]、[2] または [4] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[6]

式 I V (配列番号 7 9) :
【化 4 2】

X1-R-P-R-X5-X6-X7-K-G-P-X11-X12-X13




IV;

を有する、前記 [1] から [5] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[7]

式 V (配列番号 8 0) :
【化 4 3】

X1-R-P-R-X5-C-X7-K-G-P-X11-C-X13



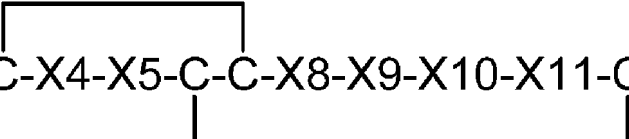
V;

を有する、前記 [1]、[2]、および [4] から [6] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[8]

式 V I (配列番号 8 1) :
【化 4 4】

X1-X2-C-X4-X5-C-C-X8-X9-X10-X11-C-X13



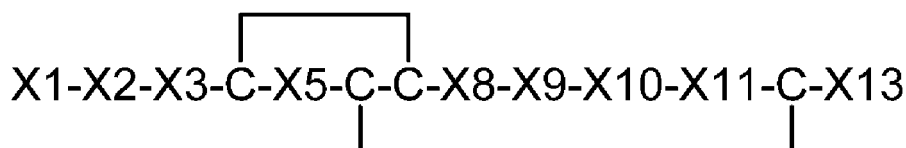
VI

を有する、前記 [1] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[9]

式 V I I (配列番号 8 2) :

【化 4 5】



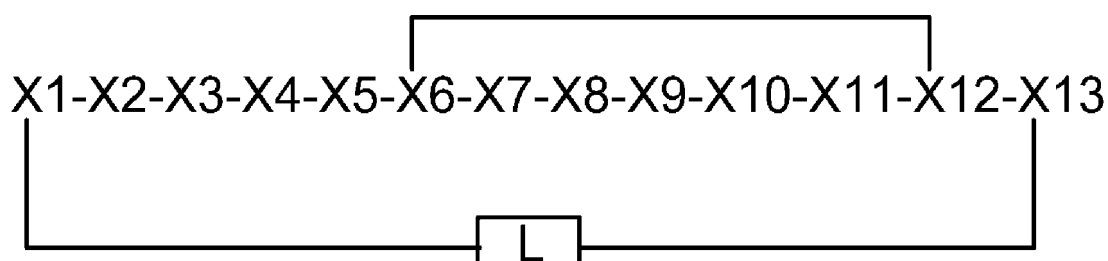
VII

を有する、前記 [1] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[1 0]

式 V I I I (配列番号 8 3) :

【化 4 6】



VIII

[式中、X 1 の N 末端および X 1 3 の C 末端が、リンカー L と一緒になって環を形成しており、

L が (G) r であり、G がグリシンであり、r が 1、2、3 または 4 である]

を有する、前記 [1]、[2]、[5]、[6] または [7] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

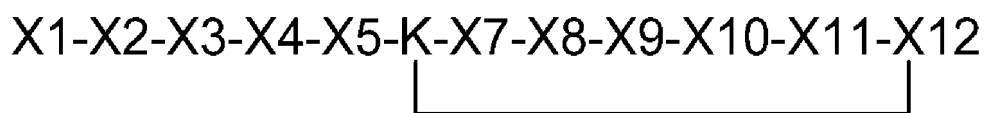
[1 1]

X 1 が Q であり、X 1 3 が F であり、r が 2 である (配列番号 8 4)、前記 [1 0] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

[1 2]

X 6 が K であり、X 1 3 が存在せず、X 1 2 が F または f であり、X 1 2 の C 末端が、X 6 のアミノ側鎖とアミド結合を形成しており、式 I X (配列番号 8 5) :

【化 4 7】



IX,

を有する、前記 [1] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのエステル、アミド、もしくは塩。

[1 3]

X 1 が p E である (配列番号 8 6)、前記 [1] から [9] および [1 2] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[1 4]

X 1 が存在しない (配列番号 8 7)、前記 [1] から [9] および [1 2] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[1 5]

N 末端がアミドである、前記 [1 4] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

[1 6]

N 末端が、式 - NHR のアミドであり、R が、アセチル、ベンゾイル、フェナシル、スクシニル、オクタノイル、4 - フェニルブタノイル、4 - Cl - Ph - (CH₂)₃ C (

O) -、または $\text{Ph} - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O}) -$ である、前記 [15] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

[17]

N末端が、式 NHR_1 のアミドであり、 R_1 が、 $\text{CH}_3\text{C}(\text{O}) -$ 、 $\text{CH}_3 - (\text{O} - \text{C} \text{H}_2\text{CH}_2)_m - \text{C}(\text{O}) -$ 、パルミトイル $(\text{O}2\text{O}c)_p$ 、ミリストイル $(\text{O}2\text{O}c)_p$ 、ラウロイル $(\text{O}2\text{O}c)_p$ 、または $\text{Ph} - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O}) -$ であり、

p は、1 ~ 4 の整数であり、

m は、1 ~ 12 の整数であり、

ラウロイル $(\text{O}2\text{O}c)$ は、 $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{C}(\text{O})\text{NH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(\text{O}) -$ であり、

ミリストイル $(\text{O}2\text{O}c)$ は、 $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{C}(\text{O})\text{NH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(\text{O}) -$ であり、

パルミトイル $(\text{O}2\text{O}c)$ は、 $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{C}(\text{O})\text{NH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(\text{O}) -$ である、前記 [1] から [9] および [12] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

[18]

X_{13} が F である (配列番号 88)、前記 [1] から [9] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[19]

X_{13} が存在しない (配列番号 89)、前記 [1] から [9] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[20]

C末端がアミドである、前記 [19] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

[21]

C末端が、式 $- \text{C}(\text{O}) - \text{R}_2$ のアミドであり、 R_2 が、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NH} - \text{Me}$ 、 $-\text{NH} - \text{NH}B_n$ 、または $-\text{NH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{Ph}$ である、前記 [20] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

[22]

X_5 が L である (配列番号 90)、前記 [1] から [21] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[23]

X_7 が H である (配列番号 91)、前記 [1] から [7] および [10] から [22] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[24]

X_8 が K である (配列番号 92)、前記 [1] から [5] および [8] から [23] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[25]

X_9 が G である (配列番号 93)、前記 [1] から [5] および [8] から [24] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[26]

X_{11} が N1e である (配列番号 94)、前記 [1] から [25] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[27]

$pE - R - P - R - L - K^* - H - F - G - P - N1e - D^* -$ フェネチルアミン (配列番号 8)、

$pE - R - P - R - L - K^* - H - F - G - P - N1e - E^* -$ フェネチルアミン (配列番号 9)、

p E - R - P - R - L - O r n * - H - F - G - P - N l e - D * - フェネチルアミン (配列番号 10) ,
p E - R - P - R - L - D a b * - H - F - G - P - N l e - D * - フェネチルアミン (配列番号 11) ,
p E - R - P - R - L - K * - F - K - G - P - N l e - F * (配列番号 12) ,
p E - R - P - R - L - K * - F - K - G - P - N l e - f * (配列番号 13) ,
* * Q - R - P - R - L - C * - F - K - G - P - N l e - C * - F - G - G * * (配列番号 14) ,
p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 15)) ,
p E - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 16) ,
p E - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 17) ,
H - I s n - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 18) ,
p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - フェネチルアミン (配列番号 19) ,
p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 20)) ,
p E - R - P - R - C h a - C * - H - K - G - P - C h a - C * - F - O H (配列番号 21) ,
p E - R - P - R - L - C * - F - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 22)) ,
H - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 23) ,
H - R - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 24)) ,
H - I s n - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 25)) ,
p E - R - P - R - L - C * - H - F - G - P - N l e - C * - フェネチルアミン (配列番号 26) ,
p E - R - P - R - L - C * - H - K - A i b - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 27) ,
p E - R - P - R - L - C * - H - (4 - N H - I s n) - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 28) ,
p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - K (パルミトイル) - O H (配列番号 29) ,
p E - R - P - R - L - C * - K (パルミトイル) - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 30) ,
パルミトイル - O 2 O c - Q - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 31) ,
ラウロイル - O 2 O c - Q - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 32) ,
p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - K (ラウロイル) - O H (配列番号 33) ,
p E - R - P - R - L - C * - K (ラウロイル) - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 34) ,
p E - R - P - C * * - L - C * - C * * - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 35) 、

$pE - R - C^{* * } - R - L - C^{* } - C^{* * } - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 36) ;
 $pE - r - P - R - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 37)
) ;
 $pE - F - P - R - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 38)
) ;
 $pE - E - P - R - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 39)
) ;
 $pE - R - p - R - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 40)
) ;
 $pE - R - K - R - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 41)
) ;
 $pE - R - D - R - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 42)
) ;
 $pE - R - P - F - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 43)
) ;
 $pE - R - P - R - K - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 44)
) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - H - E - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 45)
) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - H - K - D - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 46)
) ;
 $pE - R - P - E - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 47)
) ;
 $pE - R - P - R - (4 - PhF) - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 48) ;
 $pE - R - P - R - D - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 49)
) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - E - K - G - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 50)
) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - H - K - L - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 51)
) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - H - K - R - P - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 52)
) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - H - K - G - (ピペコリン酸) - N1e - C^{* } - F - OH$ (配列番号 53) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - H - K - G - P - (3 - PyA) - C - F - OH$ (配列番号 54) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - H - OH$ (配列番号 55)
) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - E - OH$ (配列番号 56)
) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - NH_2$ (配列番号 70) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - F - NH_2$ (配列番号 69)
) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - C^{* } - OH$ (配列番号 57) ;
 $pE - R - P - R - L - C^{* } - H - K - G - P - N1e - hC^{* } - F - OH$ (配列番号 58) ;
 $pE - R - P - R - L - hC^{* } - H - K - G - P - N1e - hC^{* } - F - OH$ (配列番号

59) ;
 p E - R - P - R - L - c * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 60) ;
p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - (D - h C) * - F - O H (配列番号 61) ;
p E - R - P - R - L - (D - h C) * - H - K - G - P - N l e - (D - h C) * - F - O H (配列番号 62) ;
 ミリストイル O 2 O c O 2 O c Q - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 65) ;
 ミリストイル O 2 O c O 2 O c O 2 O c Q - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 66) ;
 ミリストイル O 2 O c O 2 O c O 2 O c O 2 O c Q - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C - f - O H (配列番号 67) ;
p E - R - P - R - L - C * H - K - G - P - N l e - c * - F - O H (配列番号 63) ;
 ;
p E - R - P - R - L - c * - H - K - G - P - N l e - c * - F - O H (配列番号 64) ; および
p E - R - P - R - L - C * - H - K (M y r) - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 68) ;
p E - R - P - R - L - C * * * - H - K - G - P - N l e - C * * * - F - O H (配列番号 71) ;
 から選択され、「*」の付いた2つのアミノ酸は、それぞれその側鎖または末端を介して、ジスルフィド結合またはアミド結合を形成しているアミノ酸を表し、「***」の付いた2つのアミノ酸は、その側鎖を介したジスルフィド結合またはその末端を介したアミド結合を形成しているアミノ酸を表し、「****」の付いた2つのアミノ酸は、その側鎖を介してモノスルフィド結合または - S - C H ₂ - C (O) - C H ₂ - S - 連結部を形成しているアミノ酸を表す、前記 [1] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。
 [28]
p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 15) ;
p E - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 16) ;
p E - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 17) ;
H - I s n - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 18) ;
p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - フェネチルアミン (配列番号 19) ;
p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 20) ;
p E - R - P - R - C h a - C * - H - K - G - P - C h a - C * - F - O H (配列番号 21) ;
p E - R - P - R - L - C * - F - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 22) ;
H - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 23) ;
 ,
H - R - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 24) ;
H - I s n - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号

号 25) , および

p E - R - P - R - L - C * - H - F - G - P - N l e - C * - フェネチルアミン (配列番号 26) ;

から選択され、2つのシステインアミノ酸 C * の側鎖は、一緒になって、ジスルフィド結合を形成している、前記 [27] に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

[29]

その必要のある対象において、A P J 受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または障害を治療または予防する方法であって、治療有効量の前記 [1] から [28] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩を対象に投与することを含む方法。

[30]

疾患または障害が、急性代償不全心不全 (A D H F) 、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、B r u g a d a 症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病 (妊娠糖尿病を含める) 、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷 (日焼けを含める) 、および子癇前症から選択される、前記 [29] に記載の方法。

[31]

医薬として使用するための、前記 [1] から [28] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩。

[32]

A P J 受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または障害の治療または予防において使用するための、前記 [1] から [28] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、塩のエステル。

[33]

急性代償不全心不全 (A D H F) 、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、B r u g a d a 症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病 (妊娠糖尿病を含める) 、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷 (日焼けを含める) 、または子癇前症の治療において使用するための、前記 [1] から [28] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、塩のエステル。

[34]

治療有効量の前記 [1] から [28] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩と、治療活性のある1種または複数の共薬剤 (co-agent) とを含む組合せ。

[35]

共薬剤が、イノトロープ、アドレナリン受容体遮断薬、H M G - C o A 還元酵素阻害薬、アンジオテンシン I I 受容体アンタゴニスト、アンジオテンシン変換酵素 (A C E) 阻害薬、カルシウムチャネル遮断薬 (C C B) 、エンドセリンアンタゴニスト、レニン阻害薬、利尿薬、A p o A - I 模倣薬、抗糖尿病薬、抗肥満薬、アルドステロン受容体遮断薬、エンドセリン受容体遮断薬、アルドステロンシンターゼ阻害薬 (A S I) 、C E T P 阻害薬、抗凝血薬、リラキシン、B N P (ネシリチド) 、および N E P 阻害薬から選択される、前記 [34] に記載の組合せ。

[36]

治療有効量の前記 [1] から [28] のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩と、1種または複数の薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

【手続補正 2 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

次式 I' (配列番号 7 4) :

【化 4 8】

X1-X2-X3-X4-X5-X6-X7-X8-X9-X10-X11-X12-X13



[式中、

X 1 は、ポリペプチドの N 末端であり、存在しないか、または p E、R、l s n、Q、A、K、および 5 - アミノ - 吉草酸から選択され、

X 2 は、R、A、r、N - M e - R、K、H、h F、h K、F、E、または O r n であり、

X 3 は、P、A、a、p、4 - P h P、K、D、ピペコリン酸、またはシステイン [システインの側鎖は、X 7 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、

X 4 は、R、A、r、N - M e - R、F、E、またはシステイン [システインの側鎖は、X 7 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、

X 5 は、L、C h a、A、D - L、N - M e - L、K、D、4 - P h F、または F であり、

X 6 および X 1 2 は、独立して、C、c、h C、D - h C、K、D、O r n、D a b、または E から選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X 6 と X 1 2 の側鎖は、共有結合によって互いに連結して、モノスルフィド (- S -)、ジスルフィド (- S - S -)、もしくはアミド結合 (- N H C (O) - もしくは - C (O) - N H -)、または式 - S - C H ₂ - C (= Z) - C H ₂ - S - の連結部のいずれかを形成しており、Z は、O、N - O - C H ₂ C (O) - L ¹ - R ¹、または N - N H - C H ₂ C (O) - L ¹ - R ¹ であり、R ¹ は、脂肪酸誘導体であり、L ¹ は、1 つまたは複数のアミノ酸および / または 1 つまたは複数の - N H - C ₂ - ₆ - アルキレン - N H - 単位を含んだリンカーであり、または代わりに、X 6 は K であり、X 1 3 は存在せず、X 1 2 は F または f であり、X 1 2 の C 末端は、X 6 のアミノ側鎖とアミド結合を形成しており、

X 7 は、H、h、A、N - M e - A、a、A i b、K、N a l、F、P、D a p、N、E、またはシステイン [システインの側鎖は、X 3 位のシステインの側鎖または X 4 位のシステインの側鎖とジスルフィド結合を形成している] であり、

X 8 は、K、k、F、f、A、h F、N - M e - R、E、または 4 - アミノ - l s n であり、

X 9 は、G、N - M e - G、A、D、L、R、または A i b であり、

X 1 0 は、P、A、p、4 - P h P、またはピペコリン酸であり、

X 1 1 は、M、D - N l e、N l e、N - M e - N l e、M (O)、A、F、Y、L、K、3 - P y A、または C h a であり、

X 1 3 は、C 末端であり、存在しないか、または F、f、N - M e - F、N a l、D - N a l、3 - B r - F、(S) - - 3 - F、I、A、a、K、D a p、H、および E から選択され、

N l e は、L - ノルロイシンであり、

D - h C は、D - ホモシステインであり、

h C は、L - ホモシステインであり、
 h F は、L - ホモフェニルアラニンであり、
 h K は、L - リシンであり、
 N a l は、L - ナファタリンであり、
 O r n は、オルニチンであり、
 A i b は、 - アミノイソ酪酸であり、
 D a b は、(S) - ジアミノ酪酸であり、
 D a p は、(S) - 2 , 3 - ジアミノプロピオン酸であり、
 M (O) は、メチオニンスルホンであり、
 C h a は、(S) - - シクロヘキシルアラニンであり、
 4 - アミノ - l s n は、4 - アミノピペリジン - 4 - カルボン酸であり、
 l s n は、イソニペコチノイルであり、
 p E は、L - ピログルタミン酸であり、
 3 - P y A は、3 - (3 - ピリジル) - L - アラニンであり、
 4 - P h F は、4 - フェニル - L - フェニルアラニンであり、
 N 末端および C 末端は、場合により、1、2、3 または 4 個のグリシンアミノ酸と一緒に
 なって環を形成しており、
 K、O r n、D a b、D a p、h K、または 4 - アミノ - I s n の側鎖中のアミノ基は、
 場合により、親油性基にアミド結合によって連結している]
 を有するポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこ
 れらと実質的に同等なポリペプチド。

【請求項 2】

次式 (配列番号 7 5) :

【化 4 9】

X1-R-P-R-X5-X6-X7-X8-X9-P-X11-X12-X13

||

を有し、

X 1 が、不存在、p E、R、Q、または I s n であり、
 X 5 が、L または C h a であり、
 X 7 が、H、A i b、F、K (ラウロイル)、または K (パルミトイル) であり、
 X 8 が、K、F、または 4 - アミノ - l s n であり、
 X 9 が、G または A i b であり、
 X 1 1 が、N l e または C h a であり、
 X 1 3 が、存在しないか、または F、f、K (ラウロイル)、K (パルミトイル) であり、

X 6 および X 1 2 が、独立して、C、c、h C、D - h C、K、D、O r n、D a b、ま
 たは E から選択される天然または天然でないアミノ酸であり、X 6 と X 1 2 の側鎖が、共
 有結合によって互いに連結して、ジスルフィド結合またはアミド結合を形成しており、N
 末端および C 末端が、場合により、1、2、3 または 4 個のグリシンアミノ酸と一緒に
 なって環を形成している、
 ポリペプチド、またはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩、またはこれらと実
 質的に同等なポリペプチド。

【請求項 3】

X 6 および X 1 2 が、K、O r n、D a b、E、および D から独立して選択され、X 6
 と X 1 2 の側鎖が、一緒になってアミド結合を形成している (配列番号 7 6)、請求項 1
 または 2 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

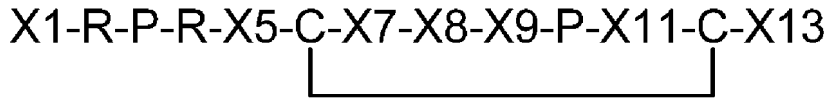
【請求項 4】

X 6 および X 1 2 が、独立して C であり、X 6 と X 1 2 の側鎖が、一緒になってジスルフィド結合を形成している（配列番号 7 7）、請求項 1 または 2 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 5】

式 I I I (配列番号 7 8) :

【化 5 0】



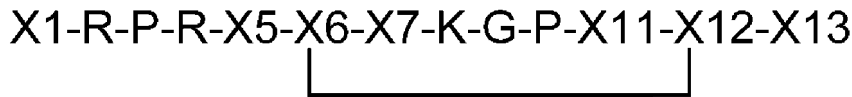
III;

を有する請求項 1、2 または 4 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 6】

式 I V (配列番号 7 9) :

【化 5 1】



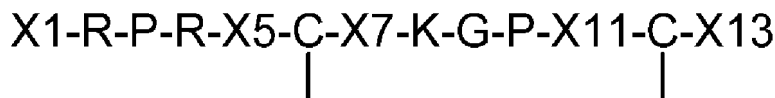
IV;

を有する、請求項 1 から 5 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 7】

式 V (配列番号 8 0) :

【化 5 2】



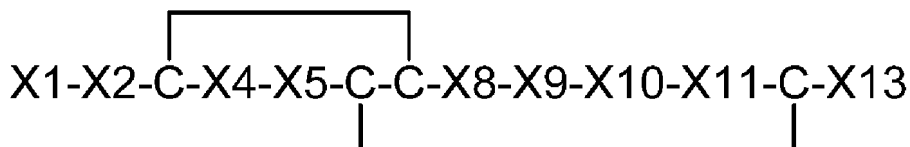
V;

を有する、請求項 1、2、および 4 から 6 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 8】

式 V I (配列番号 8 1) :

【化 5 3】



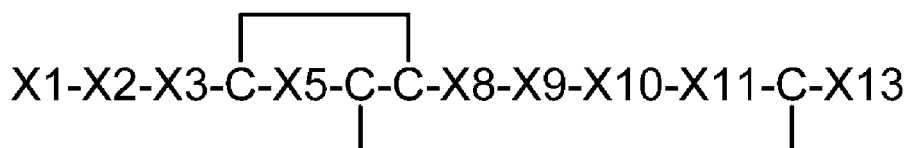
VI

を有する、請求項 1 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 9】

式 V I I (配列番号 8 2) :

【化 5 4】



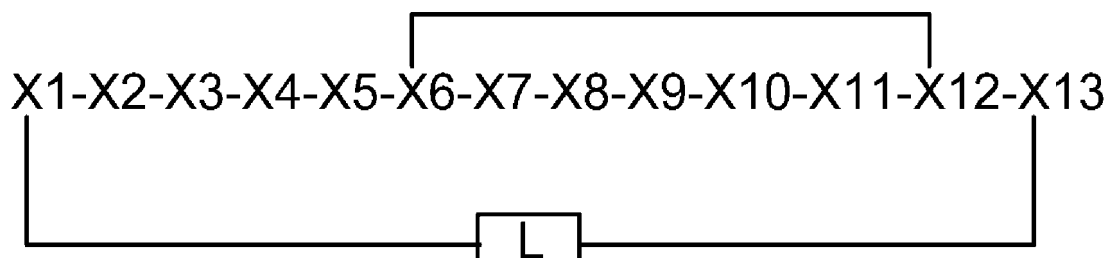
VII

を有する、請求項 1 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 10】

式 V I I I (配列番号 8 3) :

【化 5 5】



VIII

[式中、X 1 の N 末端および X 1 3 の C 末端が、リンカー L と一緒になって環を形成しており、

L が (G) r であり、G がグリシンであり、r が 1、2、3 または 4 である]

を有する、請求項 1、2、5、6 または 7 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

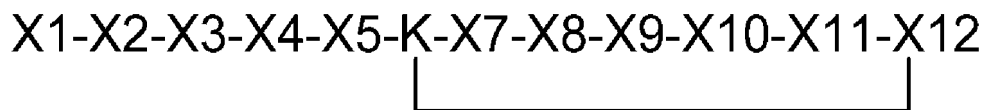
【請求項 11】

X 1 が Q であり、X 1 3 が F であり、r が 2 である (配列番号 8 4)、請求項 10 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 12】

X 6 が K であり、X 1 3 が存在せず、X 1 2 が F または f であり、X 1 2 の C 末端が、X 6 のアミノ側鎖とアミド結合を形成しており、式 I X (配列番号 8 5) :

【化 5 6】



IX,

を有する、請求項 1 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのエステル、アミド、もしくは塩。

【請求項 13】

X 1 が p E である (配列番号 8 6)、請求項 1 から 9 および 1 2 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 14】

X 1 が存在しない (配列番号 8 7)、請求項 1 から 9 および 1 2 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 15】

N 末端がアミドである、請求項 1 4 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 16】

N 末端が、式 - N H R のアミドであり、R が、アセチル、ベンゾイル、フェナシル、スクシニル、オクタノイル、4 - フェニルブタノイル、4 - C l - P h - (C H 2) 3 C (

O) -、または $\text{Ph} - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O}) -$ である、請求項 15 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 17】

N 末端が、式 NHR_1 のアミドであり、 R_1 が、 $\text{CH}_3\text{C}(\text{O}) -$ 、 $\text{CH}_3 - (\text{O} - \text{C}(\text{H}_2\text{CH}_2)_m - \text{C}(\text{O}) -$ 、パルミトイル $(\text{O}_2\text{Oc})_p$ 、ミリストイル $(\text{O}_2\text{Oc})_p$ 、ラウロイル $(\text{O}_2\text{Oc})_p$ 、または $\text{Ph} - \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC}(\text{O}) -$ であり、 p は、1 ~ 4 の整数であり、 m は、1 ~ 12 の整数であり、ラウロイル (O_2Oc) は、 $\text{C}_{11}\text{H}_{23}\text{C}(\text{O})\text{NH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(\text{O}) -$ であり、ミリストイル (O_2Oc) は、 $\text{C}_{13}\text{H}_{27}\text{C}(\text{O})\text{NH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(\text{O}) -$ であり、パルミトイル (O_2Oc) は、 $\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{C}(\text{O})\text{NH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - (\text{CH}_2)_2 - \text{O} - \text{CH}_2 - \text{C}(\text{O}) -$ である、請求項 1 から 9 および 12 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 18】

X_{13} が F である (配列番号 88)、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 19】

X_{13} が存在しない (配列番号 89)、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 20】

C 末端がアミドである、請求項 19 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 21】

C 末端が、式 $- \text{C}(\text{O}) - \text{R}_2$ のアミドであり、 R_2 が、 $- \text{NH}_2$ 、 $- \text{NH} - \text{Me}$ 、 $- \text{NH} - \text{NH} \text{Bn}$ 、または $- \text{NH} - (\text{CH}_2)_2 - \text{Ph}$ である、請求項 20 に記載のポリペプチドまたはポリペプチドの塩。

【請求項 22】

X_5 が L である (配列番号 90)、請求項 1 から 21 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 23】

X_7 が H である (配列番号 91)、請求項 1 から 7 および 10 から 22 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 24】

X_8 が K である (配列番号 92)、請求項 1 から 5 および 8 から 23 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 25】

X_9 が G である (配列番号 93)、請求項 1 から 5 および 8 から 24 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 26】

X_{11} が N1e である (配列番号 94)、請求項 1 から 25 のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項 27】

$p\text{E} - \text{R} - \text{P} - \text{R} - \text{L} - \text{K}^* - \text{H} - \text{F} - \text{G} - \text{P} - \text{N1e} - \text{D}^* - \text{フェネチルアミン}$ (配列番号 8) ,

$p\text{E} - \text{R} - \text{P} - \text{R} - \text{L} - \text{K}^* - \text{H} - \text{F} - \text{G} - \text{P} - \text{N1e} - \text{E}^* - \text{フェネチルアミン}$ (配列番号 9) ,

$p\text{E} - \text{R} - \text{P} - \text{R} - \text{L} - \text{Orn}^* - \text{H} - \text{F} - \text{G} - \text{P} - \text{N1e} - \text{D}^* - \text{フェネチルアミン}$ (配列番号 10) ,

$p\text{E} - \text{R} - \text{P} - \text{R} - \text{L} - \text{Dab}^* - \text{H} - \text{F} - \text{G} - \text{P} - \text{N1e} - \text{D}^* - \text{フェネチルアミン}$ (

配列番号 1 1) ,

p E - R - P - R - L - K * - F - K - G - P - N l e - F * (配列番号 1 2) ,

p E - R - P - R - L - K * - F - K - G - P - N l e - f * (配列番号 1 3) ,

* * Q - R - P - R - L - C * - F - K - G - P - N l e - C * - F - G - G * * (配列番号 1 4) ,

p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 1 5) ,

p E - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 1 6) ,

p E - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 1 7) ,

H - I s n - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 1 8) ,

p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - フェネチルアミン (配列番号 1 9) ,

p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 2 0) ,

p E - R - P - R - C h a - C * - H - K - G - P - C h a - C * - F - O H (配列番号 2 1) ,

p E - R - P - R - L - C * - F - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 2 2) ,

H - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 2 3) ,

H - R - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 2 4) ,

H - I s n - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 2 5) ,

p E - R - P - R - L - C * - H - F - G - P - N l e - C * - フェネチルアミン (配列番号 2 6) ,

p E - R - P - R - L - C * - H - K - A i b - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 2 7) ,

p E - R - P - R - L - C * - H - (4 - N H - I s n) - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 2 8) ,

p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - K (パルミトイル) - O H (配列番号 2 9) ,

p E - R - P - R - L - C * - K (パルミトイル) - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 3 0) ,

パルミトイル - O 2 O c - Q - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 3 1) ,

ラウロイル - O 2 O c - Q - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 3 2) ,

p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - K (ラウロイル) - O H (配列番号 3 3) ,

p E - R - P - R - L - C * - K (ラウロイル) - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 3 4) ,

p E - R - P - C * * - L - C * - C * * - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 3 5) ,

p E - R - C * * - R - L - C * - C * * - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 3 6) ;

p E - r - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 3 7)

) ;
 p E - F - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 3 8) ;
) ;
 p E - E - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 3 9) ;
) ;
 p E - R - p - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 4 0) ;
) ;
 p E - R - K - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 4 1) ;
) ;
 p E - R - D - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 4 2) ;
) ;
 p E - R - P - F - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 4 3) ;
) ;
 p E - R - P - R - K - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 4 4) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - H - E - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 4 5) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - H - K - D - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 4 6) ;
) ;
 p E - R - P - E - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 4 7) ;
) ;
 p E - R - P - R - (4 - P h F) - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 4 8) ;
) ;
 p E - R - P - R - D - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 4 9) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - E - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 5 0) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - H - K - L - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 5 1) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - H - K - R - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 5 2) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - (ピペコリン酸) - N l e - C * - F - O H (配列番号 5 3) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - (3 - P y A) - C - F - O H (配列番号 5 4) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - H - O H (配列番号 5 5) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - E - O H (配列番号 5 6) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - N H ₂ (配列番号 7 0) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - N H ₂ (配列番号 6 9) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - O H (配列番号 5 7) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - h C * - F - O H (配列番号 5 8) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - h C * - H - K - G - P - N l e - h C * - F - O H (配列番号 5 9) ;
) ;
 p E - R - P - R - L - c * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 6 0) ;
) ;

p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - (D - h C) * - F - O H (配列番号 6 1) ;

p E - R - P - R - L - (D - h C) * - H - K - G - P - N l e - (D - h C) * - F - O H (配列番号 6 2) ;

ミリストイル O 2 O c O 2 O c Q - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 6 5) ;

ミリストイル O 2 O c O 2 O c O 2 O c Q - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 6 6) ;

ミリストイル O 2 O c O 2 O c O 2 O c O 2 O c Q - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C - f - O H (配列番号 6 7) ;

p E - R - P - R - L - C * H - K - G - P - N l e - c * - F - O H (配列番号 6 3) ;

p E - R - P - R - L - c * - H - K - G - P - N l e - c * - F - O H (配列番号 6 4) ; および

p E - R - P - R - L - C * - H - K (M y r) - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 6 8)

p E - R - P - R - L - C * * * - H - K - G - P - N l e - C * * * - F - O H (配列番号 7 1)

から選択され、「*」の付いた2つのアミノ酸は、それぞれその側鎖または末端を介して、ジスルフィド結合またはアミド結合を形成しているアミノ酸を表し、「***」の付いた2つのアミノ酸は、その側鎖を介したジスルフィド結合またはその末端を介したアミド結合を形成しているアミノ酸を表し、「****」の付いた2つのアミノ酸は、その側鎖を介してモノスルフィド結合または - S - C H ₂ - C (O) - C H ₂ - S - 連結部を形成しているアミノ酸を表す、請求項1に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項28】

p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 1 5) ;

p E - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 1 6) ;

p E - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 1 7) ;

H - I s n - R - P - R - L - C * - A i b - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 1 8) ;

p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - フエネチルアミン (配列番号 1 9) ;

p E - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - f - O H (配列番号 2 0) ;

p E - R - P - R - C h a - C * - H - K - G - P - C h a - C * - F - O H (配列番号 2 1) ;

p E - R - P - R - L - C * - F - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 2 2) ;

H - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 2 3) ;

H - R - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 2 4) ;

H - I s n - R - P - R - L - C * - H - K - G - P - N l e - C * - F - O H (配列番号 2 5) ; および

p E - R - P - R - L - C * - H - F - G - P - N l e - C * - フエネチルアミン (配列番号 2 6) ;

から選択され、2つのシステインアミノ酸C*の側鎖は、一緒になって、ジスルフィド結合を形成している、請求項27に記載のポリペプチドまたはポリペプチドのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項29】

その必要のある対象において、APJ受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または障害を治療または予防する方法であって、治療有効量の請求項1から28のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩を対象に投与することを含む方法。

【請求項30】

疾患または障害が、急性代償不全心不全(ADHF)、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、Brugada症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病(妊娠糖尿病を含める)、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷(日焼けを含める)、および子癇前症から選択される、請求項29に記載の方法。

【請求項31】

医薬として使用するための、請求項1から28のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩。

【請求項32】

APJ受容体のアゴニズムに反応を示す疾患または障害の治療または予防において使用するための、請求項1から28のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、塩のエステル。

【請求項33】

急性代償不全心不全(ADHF)、慢性心不全、肺高血圧、心房細動、Brugada症候群、心室性頻拍、アテローム性動脈硬化症、高血圧、再狭窄、虚血性心血管疾患、心筋症、心臓線維症、不整脈、水分貯留、糖尿病(妊娠糖尿病を含める)、肥満、末梢動脈疾患、脳血管発作、一過性脳虚血発作、外傷性脳損傷、筋萎縮性側索硬化症、熱傷(日焼けを含める)、または子癇前症の治療において使用するための、請求項1から28のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、塩のエステル。

【請求項34】

治療有効量の請求項1から28のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩と、治療活性のある1種または複数の共薬剤(co-agent)とを含む組合せ。

【請求項35】

共薬剤が、イノトローブ、アドレナリン受容体遮断薬、HMG-CoA還元酵素阻害薬、アンジオテンシンII受容体アンタゴニスト、アンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬、カルシウムチャネル遮断薬(CCB)、エンドセリンアンタゴニスト、レニン阻害薬、利尿薬、ApoA-I模倣薬、抗糖尿病薬、抗肥満薬、アルドステロン受容体遮断薬、エンドセリン受容体遮断薬、アルドステロンシンターゼ阻害薬(ASI)、CETP阻害薬、抗凝血薬、リラキシン、BNP(ネシリチド)、およびNEP阻害薬から選択される、請求項34に記載の組合せ。

【請求項36】

治療有効量の請求項1から28のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそのアミド、エステル、もしくは塩と、1種または複数の薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/IB2013/050665

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K7/56 C07K14/47 A61K38/12 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BEILSTEIN Data, BIOSIS		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JURI HAMADA ET AL: "Evaluation of novel cyclic analogues of apelin.", INTERNATIONAL JOURNAL OF MOLECULAR MEDICINE, vol. 22, no. 4, 1 October 2008 (2008-10-01), pages 547-552, XP055072884, ISSN: 1107-3756 Discussion; figure 1; table 1 ----- -/--	1-36
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier application or patent but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art *&* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 29 July 2013		Date of mailing of the international search report 12/08/2013
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Vogt, Titus

2

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

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/IB2013/050666

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	N. MACALUSO ET AL.: "Exploring the 'RPRL' Motif of Apelin-13 through Molecular Simulation and Biological Evaluation of Cyclic Peptide Analogues", CHEMMEDCHEM, vol. 5, no. 8, 2 August 2010 (2010-08-02), pages 1247-1253, XP055072887, ISSN: 1860-7179, DOI: 10.1002/cmdc.201000061 figure 1; tables 2,3 -----	1-36
Y	N. MACALUSO ET AL.: "Discovery of a Competitive Apelin Receptor (APJ) Antagonist", CHEMMEDCHEM, vol. 6, no. 6, 6 June 2011 (2011-06-06), pages 1017-1023, XP055072896, ISSN: 1860-7179, DOI: 10.1002/cmdc.201100069 figure 2; tables 2,3 -----	1-36
A,P	ALEXANDRE MURZA ET AL.: "Elucidation of the Structure-Activity Relationships of Apelin: Influence of Unnatural Amino Acids on Binding, Signaling, and Plasma Stability", CHEMMEDCHEM, vol. 7, no. 2, 6 February 2012 (2012-02-06), pages 318-325, XP55072892, ISSN: 1860-7179, DOI: 10.1002/cmdc.201100492 abstract; tables -----	1-36
A	SIDOROVA ET AL.: "Synthesis and cardioprotective properties of apelin-12 and its structural analogues", RUSSIAN JOURNAL OF BIOORGANIC CHEMISTRY, vol. 38, no. 1, 1 January 2012 (2012-01-01), pages 40-51, XP002706051, ISSN: 1068-1620, DOI: 10.1134/S1068162012010177 the whole document -----	1-36

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I		テーマコード(参考)
A 6 1 P 9/12 (2006.01)	A 6 1 P	9/12	
A 6 1 P 9/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 1
A 6 1 P 9/00 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P 9/06 (2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P 3/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/06	
A 6 1 P 3/04 (2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	A 6 1 P	3/04	
A 6 1 P 17/02 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P 15/00 (2006.01)	A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P 19/04 (2006.01)	A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P 17/16 (2006.01)	A 6 1 P	19/04	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 P	17/16	
	A 6 1 K	45/00	

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

- (72) 発明者 ゴロソフ, アンドレイ
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, テクノロジー スクエア 1
 0 0, ノバルティス インスティテューツ フォー バイオメディカル リサーチ, インコーポレ
 イテッド
- (72) 発明者 グローシュ, フィリップ
 スイス国 シーエイチ - 4 0 0 2 バーゼル, ポストファッハ, ノバルティス ファーマ アーゲ
 -
- (72) 発明者 フー, チーイン
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, テクノロジー スクエア 1
 0 0, ノバルティス インスティテューツ フォー バイオメディカル リサーチ, インコーポレ
 イテッド
- (72) 発明者 今瀬 英智
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, テクノロジー スクエア 1
 0 0, ノバルティス インスティテューツ フォー バイオメディカル リサーチ, インコーポレ
 イテッド
- (72) 発明者 パーカー, デイビッド, トーマス
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, マサチューセッツ アベニュー
 - 2 5 0, ノバルティス インスティテューツ フォー バイオメディカル リサーチ, インコ
 -ポレイテッド
- (72) 発明者 八十島 佳代
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, テクノロジー スクエア 1
 0 0, ノバルティス インスティテューツ フォー バイオメディカル リサーチ, インコーポレ
 イテッド
- (72) 発明者 ゼクリ, フレデリック
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 0 2 1 3 9, ケンブリッジ, テクノロジー スクエア 1

00, ノバルティス インスティテューツ フォー バイオメディカル リサーチ, インコーポレイテッド

(72)発明者 チャオ, ホンジュアン

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02139, ケンブリッジ, マサチューセッツ アベニュー 250, ノバルティス インスティテューツ フォー バイオメディカル リサーチ, インコーポレイテッド

Fターム(参考) 4C084 AA02 AA07 AA19 BA01 BA08 BA09 BA18 BA26 BA31 BA32
CA59 DB01 NA14 ZA15 ZA36 ZA42 ZA45 ZA70 ZA81 ZA89
ZC20 ZC35 ZC41 ZC42
4H045 AA10 AA30 BA09 BA16 EA20 FA34 FA41