

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4079775号
(P4079775)

(45) 発行日 平成20年4月23日(2008.4.23)

(24) 登録日 平成20年2月15日(2008.2.15)

(51) Int. Cl.		F I	
C07K	14/47	(2006.01)	C O 7 K 14/47
A61K	38/00	(2006.01)	A 6 1 K 37/02
A61K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K 39/395 D
A61P	25/28	(2006.01)	A 6 1 K 39/395 N
C07K	16/18	(2006.01)	A 6 1 P 25/28

請求項の数 16 (全 21 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-556620 (P2002-556620)	(73) 特許権者	500242786
(86) (22) 出願日	平成13年12月21日(2001.12.21)		フラウンホファー ゲセルシャフトツール
(65) 公表番号	特表2004-526693 (P2004-526693A)		フェールデルンク ダー アンゲヴァン
(43) 公表日	平成16年9月2日(2004.9.2)		テン フォルシュンク エー. ファオ.
(86) 国際出願番号	PCT/EP2001/015181		ドイツ連邦共和国 80686 ミュンヘン,
(87) 国際公開番号	W02002/055552		ン, ハンザシュトラッセ 27ツェー
(87) 国際公開日	平成14年7月18日(2002.7.18)	(74) 代理人	100091096
審査請求日	平成16年11月4日(2004.11.4)		弁理士 平木 祐輔
(31) 優先権主張番号	101 01 430.9	(74) 代理人	100118773
(32) 優先日	平成13年1月13日(2001.1.13)		弁理士 藤田 節
(33) 優先権主張国	ドイツ(DE)	(74) 代理人	100096183
			弁理士 石井 貞次
		(72) 発明者	カブルニオツ, アフロディーティ
			ドイツ連邦共和国 アーヘン 52066
			, ローンハイデル ヴェーク 60
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 β-アミロイドペプチドの可溶性環状類似体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

アミロイド形成のインヒビターの生物活性を有するペプチドであって、該ペプチドは -アミロイドペプチド(-AP)であり、アミノ酸の側鎖間の共有結合により分子内架橋が形成されることを特徴とする、以下の(a)から(r)のいずれかのペプチド:

(a) 配列番号2に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Lys¹⁷, Asp²¹] -AP(1-28)

;

(b) 配列番号3に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Lys¹⁷, Asp²¹] -AP(1-40)

;

(c) 配列番号4に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Lys¹⁷, Asp²¹] -AP(1-42)

;

(d) 配列番号5に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Asp¹⁷, Lys²¹] -AP(1-28)

;

(e) 配列番号6に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Asp¹⁷, Lys²¹] -AP(1-40)

;

(f) 配列番号7に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Asp¹⁷, Lys²¹] -AP(1-42)

;

(g) 配列番号8に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Asp¹⁷, Orn²¹] -AP(1-28)

;

(h) 配列番号9に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Asp¹⁷, Orn²¹] -AP(1-40)

10

20

i;

(i) 配列番号 10 に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Asp¹⁷, Orn²¹] - A P (1-42)
);

(j) 配列番号 11 に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Asp¹⁷, Dab²¹] - A P (1-28)
);

(k) 配列番号 12 に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Asp¹⁷, Dab²¹] - A P (1-40)
);

(l) 配列番号 13 に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Asp¹⁷, Dab²¹] - A P (1-42)
);

(m) 配列番号 14 に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Orn¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28) 10
);

(n) 配列番号 15 に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Orn¹⁷, Asp²¹] - A P (1-40)
);

(o) 配列番号 16 に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Orn¹⁷, Asp²¹] - A P (1-42)
);

(p) 配列番号 17 に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Dab¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28)
);

(q) 配列番号 18 に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Dab¹⁷, Asp²¹] - A P (1-40)
);および

(r) 配列番号 19 に示すアミノ酸配列からなるシクロ^{17,21}[Dab¹⁷, Asp²¹] - A P (1-42) 20
);。

【請求項 2】

架橋形成しているアミノ酸の側鎖が直接的にまたはアミノカルボキシ、ジアミノおよびジカルボキシ化合物からなる群から選択されるスペーサーを介して共有結合されている、請求項1に記載のペプチド。

【請求項 3】

前記ペプチドが担体上に固定化されている、請求項1または2に記載のペプチド。

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか1項に記載のペプチドを特異的に認識する抗体。

【請求項 5】 30

モノクローナルまたはポリクローナル抗体である、請求項 4 に記載の抗体。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 3 のいずれか1項に記載のペプチドおよび製薬上許容される担体を含有する医薬組成物。

【請求項 7】

検出マーカーをもつ請求項 1 ~ 3 のいずれか1項に記載のペプチドまたは請求項 4 もしくは 5 に記載の抗体を含有するアミロイド形成を特徴とする疾患の診断用組成物。

【請求項 8】

請求項 7 に記載のアミロイド形成を特徴とする疾患の診断用組成物であって、検出マーカーが放射性標識、蛍光標識、酵素標識、発光標識またはスピン標識である、請求項 7 に記載の診断用組成物。 40

【請求項 9】

アミロイド形成を特徴とする疾患がアルツハイマー病である請求項 7 または 8 に記載の診断用組成物。

【請求項 10】

検出マーカーをもつ請求項 1 ~ 3 のいずれか1項に記載のペプチドまたは検出マーカーをもつ請求項 4 もしくは 5 に記載の抗体を、プローブとして、検査すべきサンプルに *in vitro* で接触させ、該ペプチドと、場合により存在するアミロイド形成性 - A P ペプチドまたはその凝集体と、の結合を検出することを特徴とする、アミロイド形成性 - A P またはその凝集体の定性的および/または定量的検出方法。 50

【請求項 1 1】

請求項 1 ~ 3 のいずれか1項に記載のペプチドを *in vitro* で液体と接触させて、インキュベートすることを特徴とする、該液体中に含まれるアミロイド形成性 -A P からの凝集体形成を阻止する方法。

【請求項 1 2】

請求項 1 ~ 3 のいずれか1項に記載のペプチドの、アミロイド形成を特徴とする疾患の予防および/または治療のための医薬の製造への使用。

【請求項 1 3】

アミロイド形成を特徴とする疾患がアルツハイマー病である請求項 1 2 に記載の使用。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか1項に記載のペプチドの、診断用、治療用および研究用の抗体を生産するための改良された取り扱い特性を有する免疫原であって非ヒト動物に投与される免疫原としての使用。

10

【請求項 1 5】

液体からアミロイドを調製的に枯渇させるための、請求項 1 4 に記載の方法。

【請求項 1 6】

液体が体液である、請求項 1 5 に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、アミロイド形成のモジュレーター**の**生物活性を有するペプチド、アミロイド形成性ペプチドまたはその凝集体を探索するための方法、アミロイド形成を伴う疾患の予防および治療のための医薬組成物、ならびにかかる疾患を検出するための診断用組成物に関する。

20

【背景技術】

【0002】

アミロイド疾患すなわちアミロイドーシスは、特定の身体組織中におけるアミロイド産生、アミロイド形成またはアミロイドタンパク質の凝集を伴う疾患で、これはしばしば細胞毒性作用と結びついている。例えば、アルツハイマー病は -アミロイドペプチド(-A P)のアミロイド形成を伴う。

30

【0003】

各種ペプチドのアミロイド沈着物の形成はアミロイド性疾患の発生および病的合併症の原因であるとされている(Lorenzoら, Nature 368 (1994), 756-760; Lorenzoら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91 (1994), 12243-12247; Lansburyら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96 (1999), 3342-3344; Kooら, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96 (1999), 9989-9990; Sipeら, Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences 31(4), (1994), 325-354)。さらに、アミロイド形成のインヒビターはアミロイド性疾患の予防および治療に好適な医薬であると考えられている。

【0004】

DE-A1 197 25 619には、アミロイド形成のアゴニストおよび/またはインヒビターとして作用しうる3~15個のアミノ酸からなる直鎖状ペプチドが記載されている。こうしたペプチドは、それらが活性配列として少なくともアミノ酸GAを含有することにより特徴づけられる。

40

【0005】

米国特許第5,854,204号からは、-アミロイド凝集をモジュレートするペプチドが知られている。特に -アミロイド前駆体タンパク質770から誘導された種々の長さの直鎖状に構築されたペプチドが重要である。

【0006】

国際公開WO 96/39834には、異常なペプチド凝集を伴う疾患を治療しうる他の直鎖状ペプチドが記載されている。そこに記載されるペプチドは、3~15アミノ酸、3アミノ酸の

50

疎水性セグメント、およびこの疎水性セグメント中の プリーツシート構造をブロックする少なくとも1個のアミノ酸を有する。

【0007】

国際公開WO 96/07425には、直鎖構造を有する阻害性の合成ペプチドによるアミロイドタンパク質の神経毒作用が記載されている。アミリン (Amylin) およびその誘導体を用いてII型真性糖尿病を診断および治療することがEP 0 289 287およびEP 0 309 100 A2に記載されている。

【0008】

アミロイド性疾患を早期診断するための検査方法は、まだ利用できないか、あるいは発症段階でのみ利用可能である。その理由は、アミロイド形成により引き起こされるタンパク質化学および技術的分析の問題がこれまで何らアミロイド形成の分析を可能にしなかったからである。そのため、アミロイド形成のメカニズムは本質的に未解明のままである。さらなる結果として、アミロイド形成のモジュレーター (特にインヒビター) に基づくアミロイド性疾患の治療のための医薬製剤が現在何も存在しない。同様に、アミロイド発生の分析に基づいて構築された診断方法、例えばアミロイド構造の形成を速度論的、定量的および定性的に評価するための *in vitro* 検査はほとんど存在しない。例えばアルツハイマー病に関しては、診断はまだ徴候的に行わねばならない。

【0009】

存在しうる疾患間のアミロイド形成性ペプチドの濃度の異常な上昇を確認するために、アミロイド形成性ペプチドを検出できる好適なプローブに対する需要が存在している。かかるプローブを作製する際の問題点は、プローブそれ自体が凝集を起こしてはならず、しかもアミロイド形成性ペプチドと特異的に相互作用する (すなわち結合する) 必要があるという点である。アミロイド形成のインヒビターの必要条件は同様であろう。かかる物質はまた、もちろん凝集を促進すべきでなく、また、それ自体凝集すべきでなく、そしてさらなる凝集を阻止するためにアミロイド形成性ペプチドと特異的に結合できなければならない。上記した基準を満たす何らかの物質を医療上の診断または治療に利用することは、いまのところ可能でない。それゆえ、アミロイド形成を伴う疾患の診断 (特に早期診断) のためのプローブとしてだけでなく、その予防を含めた治療のためのプローブとして役立つ物質を調製することが大いに必要とされている。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0010】

かくして、本発明は、アミロイド形成を伴う疾患 (特にアルツハイマー病) を診断するための、また、そのような疾患を治療するためのプローブとして役立つ物質を調製するという技術的課題に基づくものである。

【課題を解決するための手段】

【0011】

本発明は、アミロイド形成のモジュレーター、特にアミロイド形成のインヒビター、の生物活性を有するペプチドを調製することにより上記技術的課題を解決するものである。上記ペプチドは、 β -AP またはその誘導体であり、そして少なくとも1個の分子内架橋、特に該ペプチド中に存在する少なくとも2個のアミノ酸の側鎖間に少なくとも1個の架橋を有する。本発明の特に好ましい実施形態においては、少なくとも1個の架橋が、ペプチドを形成しているアミノ酸またはペプチドに導入されたアミノ酸 (置換分として、または配列中の追加分として) のうち少なくとも2個のアミノ酸側鎖間の共有結合により形成される。その際、架橋は側鎖の官能基 (例えばアミノ基およびカルボキシル基) 間の直接結合により行われることが意図される。しかしまた、架橋形成に参与するペプチドのアミノ酸の側鎖が、スパーサーまたはリンカー (すなわちアミノカルボキシ、ジアミノまたはジカルボキシ化合物) を介して相互に共有結合されることも意図されうる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0012】

10

20

30

40

50

疾病の原因となる凝集およびアミロイド形成は、アミロイド形成性ペプチド配列間の分子間 プリーツシートの形成により行われ、この構造は特定のアミノ酸残基の側鎖間の分子間水素結合および疎水性相互作用の形成に必要となる。この プリーツシート構造が初めは2つの、それ以後は2つ以上のアミロイド形成性ペプチド鎖（つまり -A P 分子）間の非共有結合をもたらし、続いて不溶性の凝集体またはアミロイド構造体を形成する。

【 0 0 1 3 】

本発明はいかなる理論によっても拘束されないが、本発明に従って提供されるアミロイド形成のモジュレーターは生物活性を有する -A P の分子内架橋は、無秩序な ラせんコンフォメーションまたは非アミロイド形成性状態が、凝集したまたは凝集可能な プリーツシート構造へと移行するのを阻止すると考えられる。本発明によれば、分子内架橋の導入により、コンフォメーション拘束、すなわち、ある種の非アミロイド形成性状態の安定化（例えば ターンまたは ヘリックス）が生じる。こうして、本発明による環状ペプチドは、その一次構造が野生型分子である野生型 -A P と同一であるか、または非常に類似しているが、その二次構造に関してはこれらのペプチドと天然ペプチドとの間に大きな差異が存在する。本発明により得られた凝集不能なコンフォメーションの -A P のコンフォメーション拘束により、凝集インヒビターまたはアミロイド形成インヒビターとして働く非アミロイド形成性分子が提供される。それらはその後、アミロイドペプチドのまたはそのための可溶性アゴニストおよびプローブとして作用しうる。本発明による環状ペプチドは、一方では、その構造の基となっているアミロイドペプチドの天然型すなわち野生型と特異的に非共有結合するか、またはそれらと会合することができ、しかもそれらを検出することができることにより特徴づけられる。その上本発明によるペプチドは、それ自体はアミロイド形成性がなく、同時に天然型のペプチドへの結合に際して他の天然のペプチドとのその会合を阻害することにより特徴づけられる。特に、本発明による環状ペプチドは、まだ凝集していない天然ペプチドの可溶性形態またはモノマーおよびオリゴマーに結合する。

【 0 0 1 4 】

本発明による環状ペプチドはまた、アミロイド形成のアゴニスト、プローブおよびインヒビターとして作用し、これらはアミロイド形成を伴う疾患の診断および治療に使用することができる。その上、これらはアミロイド産生の分析および研究のための、ならびにアルツハイマー病の診断薬および治療薬の研究、開発および製造のための、ならびにアルツハイマー病の予防のための分子ツールとして使用することができ、また、接種剤としても使用しうる。本発明により達成される病因ペプチドのアミロイド形成の阻害は、同時に組織細胞に及ぼすアミロイド凝集体の細胞毒作用を阻害し、また、他の重要な病原体を排除する。本発明による環状ペプチドは、現行の固相ペプチド合成法に従う化学合成により高純度で製造することができる。これらは高い生物学的安定性、特にタンパク質加水分解に対する安定性を有し、こうした安定性は例えば非天然アミノ酸や環構造を導入することによりさらに高めることが可能である。本発明による環状ペプチドは取り扱いが簡単であるが、このことは、とりわけ、その高い溶解性に起因している。これは天然分子である天然 -A P の取り扱いが厄介であるのと対照的である。本発明による環状ペプチドはさらに、治療薬として使用したとき、あるにしても、ほんのわずかばかりの副作用および抗原性しか示さない。というのは、本発明のアミロイド形成インヒビターは、その一次構造が体内に存在する天然のペプチドと非常に類似しているからである。

【 0 0 1 5 】

本発明に関連してペプチドとは、アミド結合を介して相互に結合した少なくとも2個のアミノ酸を有する分子、例えばオリゴペプチド、ポリペプチドまたはタンパク質であると理解される。このペプチドは、天然に存在するペプチド、化学的に修飾されたその変異体または新規（de novo）合成されたペプチドでありうる。このペプチドには、例えばグリコシル化または他の誘導体化（例えばアルキル化、ヒドロキシル化、アミノ化等）のような修飾が施されていてもよい。このペプチドは天然に存在する形態、すなわち天然型、から改変されていてもよく、しかも例えばペプチド類似体またはペプチド擬似体のような構

10

20

30

40

50

造的および/または機能的同等物であってもよい。こうした改変はアミノ酸の挿入、アミノ酸の置換、アミノ酸の転移、アミノ酸の付加および/またはアミノ酸の欠失とすることができる。このペプチドはまた通常でないおよび/または非天然のアミノ酸を含んでいてもよい。同様にペプチドのアミノ酸はD-またはL-配置で存在することができる。

【0016】

本発明に関連して、アミロイド形成のモジュレーター-の生物活性を有するペプチドとは、アミロイドまたはアミロイド様構造を形成するペプチドに影響を及ぼすか、アミロイドへと凝集する能力に関して、特にアミロイド形成を促進するか、開始させるか、または阻害する(例えば抑制または阻止すること)のできるペプチドと理解される。凝集する能力の促進は、研究のために、または組織(ここではアミロイドが有害でない)における計画的な組織特異的アミロイド局在化のために望ましいことがある。アミロイド形成のモジュレーター-の生物活性を有するペプチドは、それらの凝集する能力が改変されるように、特に、凝集速度や形成された凝集体の大きさまたは量に関して抑制されるように、アミロイド形成性ペプチドと相互作用しうることにより特徴づけられる。この凝集能力の改変は、好ましくはアミロイド形成性ペプチドの可溶性またはアミロイド形成性ペプチドの可溶性オリゴマーに、好ましくは非共有結合を介して、会合または付着させることにより行われる。本発明の特に好ましい実施形態においては、阻害効果は、凝集の遅滞期が天然に存在するアミロイド形成性ペプチドのみの遅滞期と比較して、少なくとも1.5、1.8、2、2.5、3、4、5、8、10、20、40、50または100倍延長される効果である。本発明のさらなる実施形態において、天然に存在するアミロイド形成性ペプチドまたはそれから形成された凝集体のみの凝集度に比較して、凝集度が10、20、30、40、50、60、70、80、90または100%低下する場合は、阻害効果が存在する。

【0017】

本発明に関連して、-APなる概念は、1つの分子内架橋および野生型配列と同一のまたは異なる一次構造(すなわちアミノ酸配列)を有する、アミロイド形成のモジュレーター-の生物活性を有するペプチドと理解される。アミロイド形成、凝集率、凝集度(凝集総量)および凝集速度または凝集能力のモジュレーションを測定するには、例えば米国特許第5,854,204号に記載されるような公知の試験方法を使用することができる。この特許は、そこに記載される試験方法と合わせて、本教示の開示内容に含めるものとする。

【0018】

本発明に関連して、「架橋形成に関与しているアミノ酸」なる概念は、アミノ酸側鎖が、相互に直接または間接的に結合して分子内架橋をもたらし官能基を有する、そのようなペプチドのアミノ酸と理解される。かくして、架橋形成に関与するアミノ酸は官能基をもつ側鎖を有している。その官能基は、ペプチドの異なるアミノ酸の異なる側鎖の他の官能基と直接に結合するか、または官能基が少なくとも1個のスペーサー分子と結合し、そのスペーサー分子が続いて架橋形成に関与するペプチドの別のアミノ酸の側鎖の官能基と結合する。かかる官能基は例えばヒドロキシ、アミノ、カルボキシおよび/またはチオール基であってよい。架橋形成に関与するアミノ酸はもともと天然配列中のその位置に存在するアミノ酸とすることができる。本発明によれば、天然に存在するアミノ酸の適切な置換によって、天然ではその部位に存在しない置換用アミノ酸を導入したり、非天然のもしくは一般的でないアミノ酸を導入したりすることも可能である。それらはその後架橋形成に使用されるか、架橋形成に関与する。もちろん、本発明によれば、架橋形成に関与するアミノ酸を、天然に存在するアミノ酸を欠失させることなく、-APのアミノ酸配列中に付加的に導入することも可能である。天然ではその位置に存在しないアミノ酸を導入することは、架橋形成を可能にするかまたは容易にする特別な官能基をその位置に故意に導入できるという利点を有しう。本発明の好ましい実施形態においては、架橋形成に関与するアミノ酸としてDab(2,4-ジアミノ酪酸)、Dap(2,3-ジアミノプロピオン酸)、Ser、Asp、Glu、Cys、Lysおよび/またはOrnを、例えば置換または付加により、アミノ酸配列中に導入することが意図される。

【0019】

本発明の好ましい実施形態においては、架橋形成に關与するペプチドのアミノ酸、好ましくは架橋形成に關与するペプチドの2個のアミノ酸が $i + 3$ 、 $i + 4$ 、 $i + 5$ 、 $i + 6$ または $i + 7$ の相対間隔でペプチド中に配置されることが意図される。

【0020】

本発明の好ましい実施形態においては、架橋形成に關与するペプチドのアミノ酸の側鎖がスペーサーを介して相互に結合することが意図され、ここでスペーサーは、 $X-(CH_2)_n-Y$ (ここで $n = 1 \sim 6$ であり、 X/Y は $NH_2/COOH$ または $COOH/NH_2$ または NH_2/NH_2 または $COOH/COOH$ または OH/OH または SH/SH であるか、または X が NH_2 または $COOH$ または OH または SH からの1つであり、 Y が $COOH$ または NH_2 または SH または OH の1つである) からなる群より選択される。他のスペーサーを使用することももちろん可能である。本発明によれば、 X および Y の性質(つまり、スペーサーまたはリンカーの末端官能基の性質)を、結合すべき側鎖の官能基に適合させて、例えばアミノ基とカルボキシル基との結合、またはカルボキシル基とヒドロキシル基との結合、または2個のヒドロキシル基の結合、または2個のSH基の結合により、それらが化学的共有結合に入ることができるようにすることが大切である。

10

【0021】

他の好ましい実施形態において、本発明の環状ペプチドは架橋形成には関係しないが、例えば担体への固定化、他の分子との相互作用、検出等に役立つ他の官能基をもっているもよい。かかる基は官能化されたアルキル基、芳香族基、糖基、脂質基、環式基、複素環式基、または多環式基、ピオチン含有基、アビジン含有基、ストレプトアビジン含有基等でありうる。もちろん、本発明のペプチドを他のペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質もしくはその断片(例えば野生型 $-AP$ またはその誘導体もしくは断片)と融合させることも意図される。

20

【0022】

本発明によるペプチドはマーカー基、例えば酵素、補欠分子団、蛍光物質、放射性物質または発光物質を有することができる。

【0023】

使用できる酵素の例としては、セイヨウワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、ガラクトシダーゼまたはアセチルコリンエステラーゼがある。補欠分子団の例としては、ストレプトアビジン/ピオチン、アビジン/ピオチンがある。使用できる蛍光物質の例としては、ウンベリフェロン、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、ジクロロトリアジニルアミノフルオレセイン、ダンシルクロライドまたはフィコエリトリンがある。放射性物質としては、例えば ^{14}C 、 ^{123}I 、 ^{124}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{99m}Tc 、 ^{35}S または 3H を使用することができる。

30

【0024】

本教示中で用いるアミノ酸の番号付けおよび位置は、Hilbichら(J. Mol. Biol. 228 (1992), 460-473)の表1に記載されるような、天然の野生型 $-AP$ の配列に基づくものである。この刊行物の開示内容は、 $-AP$ のアミノ酸の配列ならびにその調製に関して、本教示の開示内容中に完全に含めるものとし、本発明の状況下ではその保護が求められることを言明する。本教示によるアミノ酸の番号付けは、常にN末端からC末端の方向になされる。

40

【0025】

元のペプチド(すなわち、幹ペプチド)が $-AP$ である本発明の別の特に好ましい実施形態においては、架橋形成に關与するアミノ酸が $-AP$ の15~24位の範囲に存在する。 $-AP$ 幹ペプチドに關係するこの実施形態の別の好ましい態様によれば、 $-AP$ は1-28($-AP$ 1-28または $-AP$ 128)、1-40($-AP$ 1-40または $-AP$ 140)、1-42($-AP$ 1-42または $-AP$ 142)または1-43($-AP$ 1-43または $-AP$ 143)アミノ酸を有する。本発明の他の好ましい実施形態においては、架橋形成に關与する $-AP$ のアミノ酸は、天然でそこに存在するアミノ酸であるか、または、例えば置換により導入されたアミノ酸(例えばリジンおよびアスパラギン酸)としてそこに(例えば17および21位に)存在するアミノ酸である。

50

【0026】

本発明の特に好ましい実施形態においては、本発明はシクロ^{17,21} [Lys¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28) (c - A P 128またはc - A P (1-28)と略記する) 環状ペプチドに関するものである。そのアミノ酸配列を配列番号2に示す。

【0027】

他の好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Lys¹⁷, Asp²¹] - A P (1-40) (c - A P 140と略記する)である。そのアミノ酸配列を配列番号3に示す。

【0028】

他の好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Lys¹⁷, Asp²¹] - A P (1-42) (c - A P 142と略記する)である。そのアミノ酸配列を配列番号4に示す。

10

【0029】

本発明の特に好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Asp¹⁷, Lys²¹] - A P (1-28)である。そのアミノ酸配列を配列番号5に示す。

【0030】

他の好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Asp¹⁷, Lys²¹] - A P (1-40)である。そのアミノ酸配列を配列番号6に示す。

【0031】

他の好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Asp¹⁷, Lys²¹] - A P (1-42)である。そのアミノ酸配列を配列番号7に示す。

【0032】

本発明の別の特に好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Asp¹⁷, Orn²¹] - A P (1-28) (Orn:オルニチン)である。そのアミノ酸配列を配列番号8に示す。

20

【0033】

他の好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Asp¹⁷, Orn²¹] - A P (1-40)である。そのアミノ酸配列を配列番号9に示す。

【0034】

他の好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Asp¹⁷, Orn²¹] - A P (1-42)である。そのアミノ酸配列を配列番号10に示す。

【0035】

本発明の特に好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Asp¹⁷, Dab²¹] - A P (1-28) (Dab: 2,4-ジアミノ酪酸)である。そのアミノ酸配列を配列番号11に示す。

30

【0036】

他の好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Asp¹⁷, Dab²¹] - A P (1-40)である。そのアミノ酸配列を配列番号12に示す。

【0037】

他の好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Asp¹⁷, Dab²¹] - A P (1-42)である。そのアミノ酸配列を配列番号13に示す。

【0038】

本発明の特に好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Orn¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28)である。そのアミノ酸配列を配列番号14に示す。

40

【0039】

他の好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Orn¹⁷, Asp²¹] - A P (1-40)である。そのアミノ酸配列を配列番号15に示す。

【0040】

他の好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Orn¹⁷, Asp²¹] - A P (1-42)である。そのアミノ酸配列を配列番号16に示す。

【0041】

本発明の特に好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Dab¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28)である。そのアミノ酸配列を配列番号17に示す。

50

¹] -A P (1-28) である。そのアミノ酸配列を配列番号17に示す。

【0042】

他の好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Dab¹⁷, Asp²¹] -A P (1-40) である。そのアミノ酸配列を配列番号18に示す。

【0043】

他の好ましい実施形態においては、環状ペプチドはシクロ^{17,21} [Dab¹⁷, Asp²¹] -A P (1-42) である。そのアミノ酸配列を配列番号19に示す。

【0044】

本発明はまた、抗体に関し、特に本発明の環状ペプチドを特異的に認識しかつそれに結合できるモノクローナルまたはポリクローナル抗体に関する。これら抗体は慣用の方法で修飾することができ、例えば標識することができる。これらはまた、担体上に固定化された形態で存在してもよく、例えばビーズに固定させることができる。

【0045】

本発明はまた、本発明によるペプチドを、ヒトまたは動物を免疫するための抗原として使用し、生成された抗体を取得する方法を提供する。本発明はまた、本発明によるペプチドを抗原として使用し、特にヒトまたは動物に投与し、免疫後に生成された抗体を取得するか、または抗体産生細胞（例えば脾細胞）をモノクローナル抗体産生ハイブリドーマ細胞の調製のために取得する、モノクローナルおよびポリクローナル抗体の取得方法にも関する。したがって、本発明はまた、それ自体知られた方法を用いてモノクローナルまたはポリクローナル抗体を取得するための本発明によるペプチドの使用に関する。これはまた、組換え法、例えば大腸菌での抗体の生産を含みうる。取得された抗体（ヒト抗体またはヒト化抗体でありうる）は研究目的に例えば研究用ツールとして、あるいは治療または診断目的に、特にアルツハイマー病の診断および治療に使用することができる。本発明によるポリクローナルまたはモノクローナル抗体は、例えば本発明のペプチドで治療された患者の疾病経過を分析するため、または他の治療上有効なペプチドを単離および同定するために用いることができる。本発明によるペプチドは、天然に存在する難溶性の類似体と比較して、取り扱い性が相当に改善されているので、診断および治療用の抗体を生産するため免疫原としてのその使用に関して特に有利であることが判明した。このようにして生産された抗体は、1つの実施形態において、本発明によるペプチドを特異的に検出し、また他の実施形態において、天然に存在する野生型 -A P (場合により凝集形態) も検出でき、そのため本発明による抗体は例えばアルツハイマー病の診断に使用できる。本発明はまた、本発明によるペプチドをヒトまたは動物に適用し、 -A P またはその誘導体に対する免疫感作を達成することによる、ヒトまたは動物の免疫方法にも関する。

【0046】

本発明によるペプチドは慣用の方法で化学的に合成し、かつ/または修飾することができる。それらはまた、組換えDNA技術により生産したり、または天然源から単離して、修飾することもできる。

【0047】

本発明はまた、医薬上有効な量の上記環状ペプチドおよび製薬上許容される担体を含有する医薬組成物にも関する。本発明のある実施形態においては、医薬組成物は本発明の環状ペプチドの少なくとも1種を、天然アミロイドペプチドの凝集、特に凝集速度および/または形成される凝集体の量、を改変する（特に抑制する）のに十分な、予防または治療上有効な量で含有する。本発明の他の実施形態においては、本発明の医薬組成物は天然に存在するアミロイド性ペプチドまたはその凝集体の神経毒作用を改変する（特に抑制する）のに十分な、予防または治療上有効な量で本発明の環状ペプチドを少なくとも1種含有する。医薬上有効な量は、疾患の状態、患者の身長、患者の体重、内在するアミロイドペプチドの量といった様々な要因に依存する。

【0048】

製薬上許容される担体の例としては、溶媒、分散媒、コーティング剤、充填剤、抗菌剤および抗真菌剤、等張剤等が挙げられる。場合により着色剤または風味剤、乳化剤、結合

10

20

30

40

50

剤、分離剤のような他の添加剤を加えてもよい。

【0049】

本発明の他の実施形態においては、医薬組成物を静脈内、経口、腹腔内、脊髄内、脳内または筋肉内に投与することが意図される。本組成物を無菌の水溶液または分散液の形態で、あるいは粉剤の形態で投与することも意図される。

【0050】

医薬組成物中に本発明の環状ペプチドと一緒に他の医薬上有効な物質を使用することも場合により意図される。例えば標的生物への（例えば血液 脳関門を通る）輸送に役立つ他の物質を医薬組成物中に加えることも意図される。

【0051】

本発明の他の好ましい実施形態において、本発明は、好ましくは検出マーカースをもつ、本発明の環状ペプチド少なくとも1種を含有する診断用組成物に関する。かかる検出マーカースは例えば放射性ヨウ素またはテクネチウムのような放射性標識でありうる。しかし、検出マーカースは蛍光標識、発光標識、酵素標識またはスピン標識であってもよい。

【0052】

他の好ましい実施形態において、本発明は、生物学的サンプルまたは動物もしくはヒトに存在するアミロイド形成性ペプチド（特に、 β -APまたはその誘導体）、アミロイド形成性ペプチドのオリゴマーまたはアミロイド形成性ペプチドの凝集体、あるいは前記物質に対する抗体を検出（特に、スクリーニング、スクヤニング）する方法に関する。この方法では、少なくとも1種の本発明の環状ペプチド（好ましくは検出マーカースをもつもの）または検出マーカースをもつ本発明の抗体をプローブとして、好ましくは液体中で、検査すべきサンプルと接触させ、該ペプチドと、アミロイド形成性ペプチド、そのオリゴマー、その凝集体、またはそれに対する抗体と、の会合を定性的および/または定量的に検出する。本発明のある実施形態においては、この方法をin vitroで実施することができ、他の実施形態ではin vivoで実施することができる。それゆえ、「接触させる」なる概念は、環状ペプチドとサンプルとのin vitroインキュベーション、または、ある部位（例えば、天然アミロイドペプチドもしくはその凝集体が存在する部位）への環状ペプチドのin vivo導入を包含する。この方法は、例えば天然 β -AP、他のペプチド変異体、可能な薬剤、可能な診断薬またはマーカース物質などの少なくとも1種の他の試験物質の存在下に、例えば競合的試験方法の形式で実施することも意図され、その場合、これら他の試験物質が天然の β -APおよび/または本発明によるペプチドの凝集挙動に及ぼす効果を検出できるようにする。

【0053】

本発明によれば、環状ペプチドを固定化された形態で使用することが意図される。したがって、好ましい様式では、環状ペプチドに、固体担体への固定化を可能にする他の官能基を提供することが意図される。この固定化は、例えば、本発明によるペプチドを、抗体に基づく試験、スクリーニングおよび分析方法において使用して、例えば β -APまたは β -AP誘導体に対して特異的な抗体を同定するために行われる。この固定化はまた、各種の液体からのアミロイドの結合、単離および枯渇のためのアフィニティマトリックスなど、研究および治療における調製的方法のために用いられる。

【0054】

本発明はまた、アミロイド形成を特徴とする疾患、すなわちアミロイドーシス、特に原発性、続発性、遺伝性および/または孤立性アミロイドーシス（例えばアルツハイマー病、特に散発的または家族性アルツハイマー病）を治療するための医薬の製造への本発明の環状ペプチド少なくとも1種の使用にも関する。

【0055】

かくして本発明はまた、本発明の環状ペプチドの少なくとも1種を、ヒトもしくは動物または摘出されたその構成部分に医薬上または診断上有効な量で投与し、診断上の使用の場合は、アミロイド構造への結合を検出する、ことを含んでなる、アミロイドーシスの診断および/または治療（例えば予防）のための方法にも関する。

10

20

30

40

50

【 0 0 5 6 】

本発明はまた、本発明のペプチドをin vivoまたはin vitroでアミロイド形成性ペプチド、そのオリゴマーまたは凝集体と接触させ、そのアミロイド形成性ペプチド、そのオリゴマーまたは凝集体の凝集挙動を改変させる（特に凝集を抑制または阻害する）ことによる、アミロイド形成性ペプチド、そのオリゴマーまたは凝集体の凝集を改変させるための、またはアミロイド形成性ペプチド、そのオリゴマーまたは凝集体の細胞毒性を阻害するための方法にも関する。本発明において、アミロイドーシスとは特にアルツハイマー病のことである。

【 0 0 5 7 】

特に本発明は、本発明のペプチドを液体と接触させてインキュベートすることによる、液体中に含有されるアミロイド - A Pからの凝集体の形成を改変する（好ましくは阻止する）ための方法に関する。この方法はまた、液体（例えば体液）からアミロイドを枯渇または除去するためにも役立つ。

10

【 0 0 5 8 】

本発明はまた、本発明による環状ペプチドおよび/またはそれに対するモノクローナルもしくはポリクローナル抗体を包含するキットにも関し、その場合、これらの試薬は標識されていてもよい。

【 0 0 5 9 】

本発明の他の好ましい実施形態は請求項から明らかである。

【 0 0 6 0 】

本発明を実施例、配列表および添付図面に基づきより詳細に説明する。

20

【 0 0 6 1 】

図1および2は、c - A P 128 (1A)、 - A P (1-28) (1B)、[Lys¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28) (直鎖状対照ペプチド) (1C)ならびに - A P (1-28) (2A)、および - A P (1-28)とc - A P 128との1:1混合物(2B)のフィブリル形成挙動の電子顕微鏡写真を示す。

【 0 0 6 2 】

図3は、本発明による分子内架橋を示すペプチドならびに直鎖状対照ペプチドの構造を模式的に示す。

【 0 0 6 3 】

本教示の一部である配列表は以下のものを示す：

配列番号1： - A P (1-43)の野生型アミノ酸配列、

配列番号2～19： 本発明によるアミノ酸配列（それぞれの場合に、分子内架橋形成がアミノ酸17と21の側鎖間に存在する）。

30

【 実施例 1 】

【 0 0 6 4 】

c - A P 128と対照 - A P (1-28)の調製、精製および特徴づけ

ペプチドは、PAM樹脂でBoc/Bzl合成ストラテジーを用いて現行の固相ペプチド合成法により調製した(Barany, G., Kneib-Cordonier, N. & Mullen, D. G. (1987) J. Pept. Res. 30, 705-739)。HF/アニソール(10:1)を用いて樹脂からペプチドを切り離し、そしてC18カラム上での調製用HPLCにより精製した(Kapurniotu & Taylor, (1995) J. Med. Chem. 38, 836-847)。c - A P 128を合成するには、Lys¹⁷とAsp²¹の側鎖をFmocまたはフルオレニル-メチルエステル(OFm)保護基で保護し、これらの保護基はその後ラクタム橋の形成に先立って20%ピペリジン/DMFを用いて選択的に除去した(Kapurniotu & Taylor, J. Med. Chem. 38, 836-847 (1995))。側鎖-側鎖環化は、ベンゾトリアゾール-1-イルオキシ-トリス(ジメチルアミノ)ホスホニウム-ヘキサフルオロホスフェート(BOP)を用いて行った。反応の完了についてカイザー試験(Kapurniotu & Taylor (1995) J. Med. Chem. 38, 836-847)により調べた。完全な環化反応を達成するために、環化反応をDMF、NMPおよびDMSOの混合物中で4回実施した(1回の環化時間は約20時間とした)。HPLCで精製した生成物の塊をMALDI-MSにより測定し、その純度を分析用HPLCにより証明した。

40

【 実施例 2 】

50

【 0 0 6 5 】

c - A P 128 : 凝集 ; フィブリル形成の試験 ; - A P (1-28) の凝集に及ぼす阻害作用の試験

c - A P 128の物理化学的性質およびフィブリル形成の試験

c - A P の物理化学的性質は、FT-IR (フーリエ変換赤外線分光器) およびCD (円偏光二色性分光偏光計) により調べた。c - A P 128のフィブリルの性質を検査するために、EM (電子顕微鏡) およびAFM (原子力顕微鏡) を使用した。EM研究には、初めに10mM リン酸緩衝液、150mM NaClおよび30%アセトニトリル、pH 5.5中のc - A P 128または - A P (1-28)または[Lys¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28) の450 μM溶液を数日間インキュベートし、フィブリル形成について調べた。この研究では、c - A P 128の高濃度溶液は多くの日数 (30日以上) にわたり全くフィブリンを形成しないことが示された (図 1 A) 。これは対照ペプチド - A P (1-28) (天然に存在する配列) および[Lys¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28) (直鎖状対照ペプチド) と対照的であり、これらは3日間のインキュベーション後に完全にフィブリル化した (図1B、1C) 。

【 0 0 6 6 】

上記溶液 / 懸濁液のFT-IRは、c - A P 128に導入された架橋形成が プリーツシート配置 (天然の - A P および対照ペプチド[Lys¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28) がエージング後にとる配置である) を妨げ、それにより凝集およびフィブリル形成を阻害することを示した。

【 0 0 6 7 】

図3Aは、 - A P 断片 - A P (1-28)の天然のアミノ酸配列を示す。会合およびフィブリル形成におけるその重要な役割を示すために17~20位を強調してある。図3Bの上方部分に、本発明による - A P (1-28)誘導体であるシクロ^{17,21} [Lys¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28) の構造が模式的に示されており、これはシクロ- - A P (1-28)と略記されるか、またはc - A P 128と呼ばれる。このペプチドは、Lys¹⁷とAsp²¹の側鎖間、特にLysの - アミノ基とAspの - カルボキシル基との間に分子内架橋を有する。したがって、この例は、17および21位のアミノ酸の側鎖が、中間のリンカーまたはスペーサーなしに、ラクタム結合により共有結合されている分子内架橋を有する。図3Bの下方部分には、対照ペプチドである対照- - A P (1-28)、すなわち[Lys¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28) が示されている。この図面は、17位のロイシンをリジンで置換し、21位のアラニンをアスパラギン酸で置換すると、天然の - A P (1-28) ペプチドとは相違する類似体を得られ、これら置換分の側鎖の (- アミノ基と - カルボキシル基の間に導入されたラクタム橋を介した) 共有結合により本発明の構造が得られることを明示している。

【 実施例 3 】

【 0 0 6 8 】

c - A P 128による - A P (1-28) または[Lys¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28) の凝集およびフィブリル形成の阻害

c - A P 128が - A P (1-28)の凝集およびフィブリル形成に及ぼす効果をCDおよびEMで試験した。10mM リン酸緩衝液、150mM NaClおよび30%アセトニトリル、pH 5.5中の450 μM の - A P (1-28)およびc - A P 128の溶液を数日間インキュベートし、フィブリル形成についてEMで試験した (図 2 A および 2 B) 。 - A P 単独または[Lys¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28) 単独は10時間以内に プリーツシート構造を形成して、その後不溶性アミロイドとして沈殿したにもかかわらず、CDはこの混合物の1ヶ月以上にわたるCDスペクトルに何の変化も示さなかった。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 6 9 】

【 図 1 】 図 1 A は、c - A P 128のフィブリル形成挙動を示す電子顕微鏡写真である。図 1 B は、 - A P (1-28)のフィブリル形成挙動を示す電子顕微鏡写真である。図 1 C は、 [Lys¹⁷, Asp²¹] - A P (1-28) (直鎖状の対照ペプチド) のフィブリル形成挙動を示す電子顕微鏡写真である。

【図2】図2Aは、-AP(1-28)のフィブリル形成挙動を示す電子顕微鏡写真である。図2Bは、-AP(1-28)とc-AP128との1:1混合物のフィブリル形成挙動を示す電子顕微鏡写真である。

【図3】図3Aは、-AP(1-28)の天然のアミノ酸配列を示し、図3Bの上方部分には本発明の環状ペプチドであるシクロ--AP(1-28)の構造を模式的に示し、図3Bの下方部分には直鎖状対照ペプチドである対照--AP(1-28)の構造を模式的に示す。

【配列表】

SEQUENZPROTOKOLL

```

<110> Fraunhofer Ges. zur Förd. der angewandten...
<120> Lösliche cyclische Analoga... 10
<130> 16069
<140>
<141>
<160> 19
<170> PatentIn Ver. 2.1
<210> 1
<211> 43
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<400> 1
Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys 20
 1           5           10           15
Leu Val Phe Phe Ala Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
          20           25           30
Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala Thr
          35           40

<210> 2
<211> 28
<212> PRT
<213> Homo sapiens
<220>
<221> PEPTIDE 30
<222> (17)..(21)
<223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
      17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
      miteinander verbunden.
<400> 2
Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1           5           10           15
Lys Val Phe Phe Asp Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys
          20           25

<210> 3
<211> 40
<212> PRT 40
<213> Homo sapiens
<220>
<221> PEPTIDE
<222> (17)..(21)
<223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
      17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
      miteinander verbunden.

```

<400> 3
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Lys Val Phe Phe Asp Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
 20 25 30
 Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val
 35 40

<210> 4
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

<400> 4
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Lys Val Phe Phe Asp Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
 20 25 30
 Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala
 35 40

<210> 5
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

<400> 5
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Asp Val Phe Phe Lys Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys
 20 25

<210> 6
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

10

20

30

40

<400> 6
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Asp Val Phe Phe Lys Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
 20 25 30
 Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val
 35 40

<210> 7
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

<400> 7
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Asp Val Phe Phe Lys Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
 20 25 30
 Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala
 35 40

<210> 8
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (21)
 <223> Xaa=Orn

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

<400> 8
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Asp Val Phe Phe Xaa Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys
 20 25

<210> 9
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

10

20

30

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (21)
 <223> Xaa=Orn

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden..

<400> 9
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Asp Val Phe Phe Xaa Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
 20 25 30
 Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val
 35 40

10

<210> 10
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (21)
 <223> Xaa=Orn

20

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

<400> 10
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Asp Val Phe Phe Xaa Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
 20 25 30
 Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala
 35 40

30

<210> 11
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (21)
 <223> Xaa=Dab

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke

40

miteinander verbunden.

<400> 11
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Asp Val Phe Phe Xaa Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys
 20 25

<210> 12
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (21)
 <223> Xaa=Dab

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

<400> 12
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Asp Val Phe Phe Xaa Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
 20 25 30
 Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val
 35 40

<210> 13
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (21)
 <223> Xaa=Dab

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

<400> 13
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Asp Val Phe Phe Xaa Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
 20 25 30
 Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala
 35 40

10

20

30

<210> 14
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)
 <223> Xaa=Orn

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

10

<400> 14
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15

Xaa Val Phe Phe Asp Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys
 20 25

<210> 15
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)
 <223> Xaa=Orn

20

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

<400> 15
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15

Xaa Val Phe Phe Asp Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
 20 25 30

Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val
 35 40

30

<210> 16
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)
 <223> Xaa=Orn

<220>
 <221> PEPTIDE

<222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

<400> 16
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Xaa Val Phe Phe Asp Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
 20 25 30
 Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala
 35 40

<210> 17
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)
 <223> Xaa=Dab

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

<400> 17
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Xaa Val Phe Phe Asp Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys
 20 25

<210> 18
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)
 <223> Xaa=Dab

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen
 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke
 miteinander verbunden.

<400> 18
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Xaa Val Phe Phe Asp Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
 20 25 30
 Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val
 35 40

10

20

30

40

<210> 19
 <211> 42
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

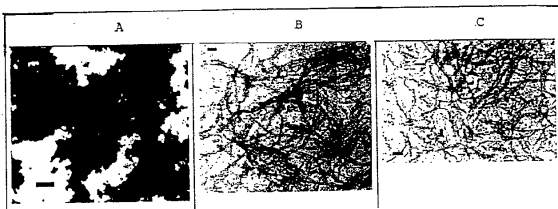
<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)
 <223> Xaa=Dab

<220>
 <221> PEPTIDE
 <222> (17)..(21)
 <223> Die Seitenketten der Aminosäuren an den Positionen 17 und 21 sind über eine intramolekulare Brücke miteinander verbunden.

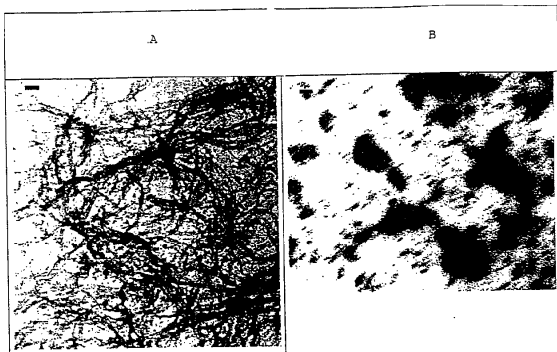
<400> 19
 Asp Ala Glu Phe Arg His Asp Ser Gly Tyr Glu Val His His Gln Lys
 1 5 10 15
 Xaa Val Phe Phe Asp Glu Asp Val Gly Ser Asn Lys Gly Ala Ile Ile
 20 25 30
 Gly Leu Met Val Gly Gly Val Val Ile Ala
 35 40

10

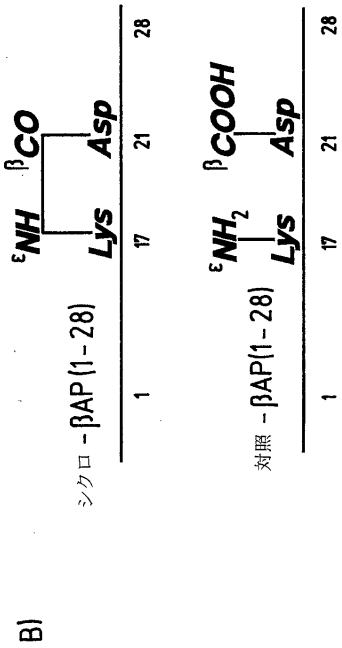
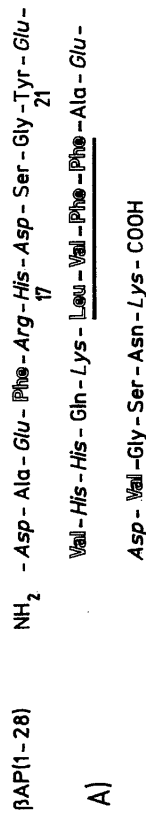
【 図 1 】



【 図 2 】



【 図 3 】



フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I	
G 0 1 N 33/53	(2006.01)	C 0 7 K 16/18	
C 1 2 P 21/08	(2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/15	(2006.01)	C 1 2 P 21/08	
G 0 1 N 33/50	(2006.01)	G 0 1 N 33/15	Z
		G 0 1 N 33/50	Z

(72)発明者 バーンハーゲン, ユールゲン
ドイツ連邦共和国 アーヘン 5 2 0 6 6 , ローンハイデル ヴェーク 6 0

(72)発明者 ブルネール, ヘルヴィッヒ
ドイツ連邦共和国 シュトゥットガルト 7 0 5 6 9 , アン デル ベーテライヒ 6

審査官 六笠 紀子

(56)参考文献 特表2001-500852(JP,A)
特表2004-513873(JP,A)
FEBS Lett,1993,Vol.326,No.1-3,p.109-111
Biochimica et Biophysica Acta,1998,Vol.1382,p.257-265

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12N 15/00-15/90

C07K 1/00-19/00

BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)

CA(STN)

JCHEM(JDream2)

JMEDPlus(JDream2)

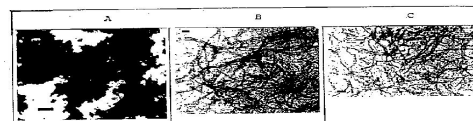
JST7580(JDream2)

专利名称(译)	β-淀粉样肽的可溶性环状类似物		
公开(公告)号	JP4079775B2	公开(公告)日	2008-04-23
申请号	JP2002556620	申请日	2001-12-21
[标]申请(专利权)人(译)	弗劳恩霍夫应用研究促进协会		
申请(专利权)人(译)	弗劳恩霍夫Geseruh轴工具无法删除链接泽德Angevanten Forushunku呃粮农组织.		
当前申请(专利权)人(译)	弗劳恩霍夫Geseruh轴工具无法删除链接泽德Angevanten Forushunku呃粮农组织.		
[标]发明人	カプルニオツアフロディーティ バーンハーゲンユールゲン ブルネールヘルヴィツヒ		
发明人	カプルニオツ,アフロディーティ バーンハーゲン,ユールゲン ブルネール,ヘルヴィツヒ		
IPC分类号	C07K14/47 A61K38/00 A61K39/395 A61P25/28 C07K16/18 G01N33/53 C12P21/08 G01N33/15 G01N33/50		
CPC分类号	A61K38/00 A61P25/28 C07K14/4711		
FI分类号	C07K14/47 A61K37/02 A61K39/395.D A61K39/395.N A61P25/28 C07K16/18 G01N33/53.D C12P21/08 G01N33/15.Z G01N33/50.Z		
优先权	10101430 2001-01-13 DE		
其他公开文献	JP2004526693A		
外部链接	Espacenet		

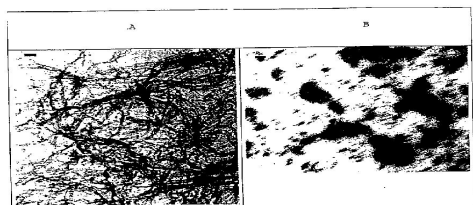
摘要(译)

本发明涉及具有淀粉样蛋白形成抑制剂的生物活性的肽及其诊断和医学用途。

【 图 1 】



【 图 2 】



【 图 3 】

