

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】令和 3 年 10 月 7 日 (2021.10.7)

【公表番号】特表 2021-521108 (P2021-521108A)

【公表日】令和 3 年 8 月 26 日 (2021.8.26)

【年通号数】公開・登録公報 2021-039

【出願番号】特願 2020-554521 (P2020-554521)

【国際特許分類】

C 0 7 K 16/18 (2006.01)

C 1 2 P 21/08 (2006.01)

A 6 1 K 38/12 (2006.01)

A 6 1 K 38/10 (2006.01)

A 6 1 P 13/12 (2006.01)

A 6 1 P 27/06 (2006.01)

A 6 1 P 27/02 (2006.01)

A 6 1 P 7/06 (2006.01)

A 6 1 P 7/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 19/02 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/16 (2006.01)

A 6 1 P 25/28 (2006.01)

A 6 1 P 11/06 (2006.01)

A 6 1 P 17/00 (2006.01)

A 6 1 P 1/02 (2006.01)

A 6 1 P 9/10 (2006.01)

A 6 1 K 47/60 (2017.01)

G 0 1 N 33/53 (2006.01)

G 0 1 N 33/543 (2006.01)

G 0 1 N 21/41 (2006.01)

C 0 7 K 7/08 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 K 16/18 Z N A

C 1 2 P 21/08

A 6 1 K 38/12

A 6 1 K 38/10

A 6 1 P 13/12

A 6 1 P 27/06

A 6 1 P 27/02

A 6 1 P 7/06

A 6 1 P 7/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 37/06

A 6 1 P 29/00 1 0 1

A 6 1 P 19/02

A 6 1 P 25/00 1 0 1

A 6 1 P 25/16

A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	11/06	
A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	1/02	
A 6 1 P	9/10	
A 6 1 K	47/60	
G 0 1 N	33/53	R
G 0 1 N	33/543	5 9 5
G 0 1 N	21/41	1 0 1
C 0 7 K	7/08	

【手続補正書】

【提出日】 令和3年7月2日 (2021.7.2)

【手続補正 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】

(a) 配列番号：1、配列番号：2、配列番号：3、配列番号：4、配列番号：5、配列番号：6、または配列番号：7によって表されるアミノ酸配列を有するコンプスタチンまたはコンプスタチンアナログ；および

(b) 同等の条件下で非修飾コンプスタチンペプチドと比較して、(1)ペプチドのC3、iC3b、C3bまたはC3c結合親和性、(2)生理学的pHでのペプチドの溶解度、(3)ペプチドの血漿安定性および/または血漿滞留時間、および/または(4)ペプチドの硝子体安定性および/または硝子体滞留時間、を改善する付加された末端成分を含む末端修飾；

を含む化合物であって、

付加された末端成分が：

(i) 2つ以上の、リシン、アルギニン、オルニチン、またはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される親水性／荷電アミノ酸残基を含むC末端成分であるか、または

(ii) 約3kDa以下の平均分子量を有するポリエチレングリコール(PEG)を含むN末端成分であるか、または

(iii) (i)と(ii)の両方である、化合物。

【請求項 2】

付加された末端成分が、2つ以上の親水性／荷電アミノ酸残基を含むC末端成分である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

2つ以上の親水性／荷電アミノ酸残基が、リシンである、請求項 1 または 2 に記載の化合物。

【請求項 4】

配列番号：7によって表されるアミノ酸配列を有するコンプスタチンアナログを含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか1つに記載の化合物。

【請求項 5】

配列番号：8、配列番号：9、または配列番号：10によって表されるアミノ酸配列を有するコンプスタチンアナログを含む、請求項 1 ～ 4 のいずれか1つに記載の化合物。

【請求項 6】

アミノ酸配列が、配列番号：9によって表される、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 7】

アミノ酸配列が、配列番号：10によって表される、請求項 5 に記載の化合物。

【請求項 8】

付加された末端成分が、PEGを含むN末端成分である、請求項1に記載の化合物。

【請求項 9】

PEGが、約0.5kDa～約3kDaの分子量を有する単分散PEGである、請求項8に記載の化合物。

【請求項 10】

PEGが、約0.5kDa～約3kDaの分子量を有する多分散PEGである、請求項8に記載の化合物。

【請求項 11】

N末端に結合したPEGを有する配列番号：8、配列番号：9または配列番号：10を含む、請求項1に記載の化合物であって、

PEGが、約0.5kDa～約3kDaの分子量を有する単分散PEGであるか、またはEGが、約0.5kDa～約3kDaの分子量を有する多分散PEGである、化合物。

【請求項 12】

請求項1～11のいずれかに記載の化合物および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物。

【請求項 13】

化合物の経口投与、化合物の局所投与、化合物の肺投与、化合物の皮下または筋肉内投与、または、化合物の静脈内投与用に製剤された、請求項12に記載の医薬組成物。

【請求項 14】

化合物の眼内投与用に製剤された、請求項12に記載の医薬組成物。

【請求項 15】

化合物の硝子体内投与用に製剤された、請求項14に記載の医薬組成物。

【請求項 16】

化合物の歯周投与用に製剤された、請求項12に記載の医薬組成物。

【請求項 17】

化合物の歯肉投与または乳頭内浸潤注射用に製剤された、請求項16に記載の医薬組成物。

【請求項 18】

非定型溶血性尿毒症症候群(aHUS)；高密度沈着症(DDD)；C3糸球体腎炎(C3GN)；C3糸球体障害；補体介在性腎症および糸球体炎症性疾患；加齢性黄斑変性症(AMD)；黄斑変性症を特徴とする眼障害、脈絡膜血管新生(CNV)；網膜血管新生(RNV)、増殖性硝子体網膜症、緑内障、ブドウ膜炎、眼の炎症、またはこれらの任意の組み合わせ；発作性夜間ヘモグロビン尿症(PNH)；寒冷凝集素症(CAD)；温式抗体自己免疫性溶血性貧血(wAIHA)；鎌状赤血球症；移植関連血栓性微小血管症；関節リウマチ(RA)、全身性エリテマトーデス(SLE)；自己免疫および自己炎症性腎疾患；自己免疫性心筋炎；多発性硬化症；外傷性脳および脊髄損傷；脳、腸および腎臓の虚血再灌流(IR)傷害；自発的および再発性妊娠損失；抗リン脂質抗体症候群(APS)；パーキンソン病；アルツハイマー病；異常なシナプスリモデリング、過剰なミクログリア活動および認知機能低下に裏打ちされた神経変性炎症状態；喘息；抗核細胞質抗原関連の微量免疫型血管炎(ウェゲナー症候群)；天疱瘡、水疱性類天疱瘡、および表皮水疱症などの非ループス自己免疫性皮膚疾患；外傷後ショック、癌；歯周炎；歯肉炎；およびアテローム性動脈硬化症；からなる群から選択される、補体活性化に関連する病的状態の治療用医薬としての使用のための請求項12～17のいずれか1つに記載の医薬組成物。

【請求項 19】

配列番号：9の配列を有するペプチド。

【請求項 20】

配列番号：10の配列を有するペプチド。

【請求項 21】

配列番号：9からなるペプチド。

【請求項 2 2】

配列番号：10からなるペプチド。

【請求項 2 3】

ペプチドのための薬学的に許容される担体を含む医薬組成物に配置された、請求項 1 9 ～ 2 2 のいずれか1つに記載のペプチド。

【請求項 2 4】

(1) 個体を提供するステップ；

(2) 薬学的に許容される担体および請求項 1 ～ 1 1 のいずれか1つに記載の化合物を含む医薬組成物の治療有効量を個体に投与するステップ；および

(3) 補体活性化の1つ以上のパラメーターを測定するステップ；

を含む、個体における補体活性化を阻害する方法であって、
医薬組成物の投与が補体の活性化の阻害をもたらす方法。

【請求項 2 5】

化合物が、配列番号：9または配列番号：10を含む、請求項 2 4 に記載の方法。

。

【請求項 2 6】

化合物が、約1kDa～約3kDaの分子量を有する単分散PEGをさらに含み、単分散PEGが、コンプスタチンアナログのN末端に共有結合する、請求項 2 4 に記載の方法。

【請求項 2 7】

医薬組成物が、約0.125mg/kg～約10mg/kgの治療有効用量で静脈内または皮下投与される、請求項 2 4 ～ 2 6 のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 2 8】

医薬組成物が、約0.25mg/kg～約50mg/kgの治療有効用量で筋肉内投与される、請求項 2 4 ～ 2 6 のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 2 9】

医薬組成物が、約1 μg～約10mgの治療有効用量で硝子体内投与される、請求項 2 4 ～ 2 6 のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 3 0】

医薬組成物が、約1mg～約20mgの治療有効用量で経口投与される、請求項 2 4 ～ 2 6 のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 3 1】

医薬組成物が、約1 μg～約1,000 μgの治療有効用量で乳頭内浸潤注射を介して投与される、請求項 2 4 ～ 2 6 のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 3 2】

医薬組成物が、単回投与として投与される、請求項 2 4 ～ 3 1 のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 3 3】

医薬組成物が、12時間に1回～3ヶ月に1回の範囲の定期的な間隔で投与される、請求項 2 4 ～ 3 1 のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 3 4】

医薬組成物が、約0.125mg/kg～約10mg/kgの第1の治療有効用量で個体に静脈内または皮下投与され、および医薬組成物が、(i) 約0.25mg/kg～約50mg/kgの第2の治療有効維持用量で個体に筋肉内に；または(ii) 約1mg/kg～約20mg/kgの第2の治療有効維持用量で個体に経口で；さらに投与される、請求項 2 4 ～ 2 6 のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 3 5】

医薬組成物が、約100 μg～約50mgの治療有効用量で眼のインプラントを介して投与される、請求項 2 4 ～ 2 6 のいずれか1つに記載の方法。

【請求項 3 6】

生体サンプル中のコンプスタチンアナログの検出方法であって、

(1) コンプスタチンアナログ分子の少なくとも一部がC3および/またはその画分であるC3

b、iC3b、およびC3cに結合して、複数のC3-結合コンプスタチンアナログ分子を生成する、第1の複数のコンプスタチンアナログ分子を含む生体サンプルを提供するステップ；

(2)コンプスタチン分子が、それらの標的であるC3分子から解離する、生体サンプルを熱不活性化して、熱不活性化サンプルを生成するステップ；

(3)第2の複数のコンプスタチンアナログ分子が共有結合する、CM5センサーチップを提供するステップ；

(4)熱不活性化サンプルを所定量のC3/C3b/iC3b/C3cまたはヒト血漿(C3の供給源として)と混合し、混合物をCM5センサーチップに接触させることによって、生体サンプル中に存在する熱放出コンプスタチンアナログ分子が、固定化されたコンプスタチンアナログ分子とC3への結合を競合するステップ；および

(5)CM5チップ上のコンプスタチンアナログ分子への遊離C3/C3b/iC3b/C3cの結合を検出することによって、結合したC3/C3b/iC3b/C3cの減少が、熱不活性化生体サンプル中のコンプスタチンアナログ分子の存在に比例するステップ；

を含む方法。

【請求項 37】

検出が、表面プラズモン共鳴を含む、請求項 36 に記載の方法。

【請求項 38】

生体サンプルが、ヒトまたは非ヒト霊長類から抽出された硝子体液サンプルまたは血漿サンプルである、請求項 36 または請求項 37 に記載の方法。

【請求項 39】

第1の複数のコンプスタチンアナログ分子、第2の複数のコンプスタチンアナログ分子、または第1の複数のコンプスタチンアナログ分子および第2の複数のコンプスタチンアナログ分子の両方が、配列番号：7、配列番号：9、および配列番号：10からなる群から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドを含み、アミノ酸配列が配列番号：7である場合、コンプスタチンアナログ分子が、コンプスタチンアナログのN末端に共有結合した約1kDa～約3kDaの分子量を有するPEGをさらに含む、請求項 36 ～ 38 のいずれか1つに記載の方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0076

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0076】

例示的な例として、mPEGの結合によるCp40のN末端修飾は、親化合物であるCp40と比較した場合、そのリガンドであるC3との会合定数(k_a)の約3～6分の1への減少をもたらしたが、解離定数(k_d)に有意な変化は見られなかった。Cp40(K_D 、0.5 nM)と比較した場合、特に、より大きなPEG鎖(mPEG(3k)-Cp40、7.9 nM；mPEG(2k)-Cp40、4.4 nM)を有するアナログでは、より低い k_a 値が、より低い親和性値に反映された。しかしながら、明らかなより低い親和性は、アナログの補体阻害活性に有意な影響を与えなかった(実施例の表3を参照)。同様に、Cp40へのLys残基の付加は、上記の生化学的パラメーターのいずれにも有意な影響を与えず、このことは、選択した修飾が、アナログおよびそのリガンドであるC3との間の相互作用に大きな変化を引き起こさなかったことを示す(表3)。解離 K_d が化合物の滞留時間にとって最も重要であることが強調される。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0092

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0092】

本明細書の実施例に記載されるように、本発明による例示的なN末端およびC末端修飾さ

れたアナログは、アナログCp40を修飾することによって作製された。

【表 1】

表1. C末端修飾Cp40系アナログ

アナログ	配列*	配列番号
Cp40**	DTyr-Ile-[Cys-Val-Trp(Me)-Gln- <u>Asp</u> -Trp-Sar-Ala-His-Arg-Cys]-mIle-NH ₂	7
Cp40-K	DTyr-Ile-[Cys-Val-Trp(Me)-Gln- <u>Asp</u> -Trp-Sar-Ala-His-Arg-Cys]-mIle-Lys-NH ₂	8
Cp40-KK	DTyr-Ile-[Cys-Val-Trp(Me)-Gln- <u>Asp</u> -Trp-Sar-Ala-His-Arg-Cys]-mIle-Lys-Lys-NH ₂	9
Cp40-KKK	DTyr-Ile-[Cys-Val-Trp(Me)-Gln- <u>Asp</u> -Trp-Sar-Ala-His-Arg-Cys]-mIle-Lys-Lys-Lys-NH ₂	10

*角括弧は、Cys-Cys結合を示す。

**Cp40は、比較のために示される。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0183

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0183】

Cp40に基づくアナログの設計

Cp40(DTyr-Ile-[Cys-Val-Trp(Me)-Gln-Asp-Trp-Sar-Ala-His-Arg-Cys]-mIle-NH₂)(配列番号：7)、Cp40-Lys-NH₂(Cp40-K；配列番号：8)、Cp40-Lys-Lys-NH₂(Cp40-KK；配列番号：9)、およびCp40-Lys-Lys-Lys-NH₂(Cp40-KKK；配列番号：10)は、Fmoc-固相ペプチド合成を使用して、社内またはGL Biochem(上海、中国)によって合成され、当技術分野で知られている技術に基づく逆相高速液体クロマトグラフィー(RP-HPLC)を使用して精製された(たとえば、Qu、H.ら、2011、Mol Immunol 48：481-489；Qu、H.ら、2013、Immunobiology 218：496-505を参照)。図2に示すように、化合物の純度は、RP-HPLCおよびマイクロマス(登録商標)MALDIマイクロMX(登録商標)で、マトリックス支援レーザー脱離イオン化飛行時間型質量分析(MALDI-TOF MS)(Waters Corporation、Milford、MA)によって検証された。化合物の量に応じて、直径4.6、10、または19mmのXBridgeBEH C₁₈カラム(5-μm 粒径、150-mm長さ、Waters Corporation、Milford、MA)をRP-HPLCに使用し、それぞれ、2、4.5、または16ml/分の流速にて30分以内で、0.1%TFA水溶液中の5~70%アセトニトリルの勾配で溶出を行った。

【手続補正 5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0198

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0198】

血漿サンプルを分析し、血漿半減期を決定するために、標準溶液と血漿サンプルの調製を最初に行った。検量線は、分析対象の血漿サンプルと一緒に調製した：それぞれのペプチド(Cp40、Cp40-KK、Cp40-KKK、またはmPEG(3k)-Cp40)のストック溶液を、未処置のNHP血漿に最終濃度1、2、4、8、および16 μMでスパイクした。ストック溶液の濃度は、Thermo ScientificのNanodropTM2000c分光光度計を使用して280nmにて測定した。さらなる分析の前に、タンパク質沈殿のために、すべての血漿サンプルを次のようにメタノールで処理した：分析対象のNHP血漿50 μlを、0.5mlのLoBindエッペンドルフチューブ内で、内部標準(IS)として機能する0.5 μg/ml同位体標識Cp40(DTyr-Ile-[Cys-Val-Trp(Me)-Gln-Asp-Trp-Sar-Ala-His-[13C6；15N4]Arg-Cys]-mIle-NH₂、Bachem、Torrance、CA)を含む150 μlメタノールと混合した。混合物を~8分間ボルテックスし、室温で10分間静置し、16,873 x gで20分間遠心分離した。注入バイアル(TruView LCMS認定透明ガラス12x32mmスクリュ

ーネックトータルリカバリーバイアル、Waters Corporation、Milford、MA)で、上清を10 mMギ酸アンモニウム水溶液中の20%メタノール溶液(pH3)と1:1で混合した。mPEG(3k)-Cp40サンプルについては、ギ酸アンモニウム溶液の代わりに3%のMeCN水溶液を使用した。

【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0203

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0203】

結果：

各ペプチドを2匹のサルに単回投与(8mg; 2mg/kg)で皮下(sc)注射し、5日間にわたって血液サンプルを採取した(t=注射前、注射後5、30分、1、2、4、6、12、24、48、72、96、120時間、図6A)。図6Bおよび表4に示すように、Cp40の半減期は、2匹のサルで41時間および48時間であった。比較すると、2匹のカニクイザルに単回皮下注射として投与されたmPEG(3k)-Cp40の薬物動態プロファイルは、mPEG(3k)-Cp40が、より高い最大濃度に到達し、半減期が、延長されたことが示された($t_{1/2}$ は、それぞれ65時間および53時間)(図6Cおよび表4)。