

【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12月9日(2021.12.9)

【公表番号】特表2019-523782(P2019-523782A)

【公表日】令和1年8月29日(2019.8.29)

【年通号数】公開・登録公報2019-035

【出願番号】特願2019-514855(P2019-514855)

【国際特許分類】

C 0 7 K	7/06	(2006.01)
A 6 1 K	38/08	(2019.01)
A 6 1 K	47/64	(2017.01)
A 6 1 K	47/68	(2017.01)
A 6 1 K	47/59	(2017.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/06	(2006.01)
A 6 1 P	25/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)
A 6 1 P	31/04	(2006.01)
A 6 1 P	3/00	(2006.01)

【F I】

C 0 7 K	7/06	Z N A
A 6 1 K	38/08	
A 6 1 K	47/64	
A 6 1 K	47/68	
A 6 1 K	47/59	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	31/12	
A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	3/00	

【誤訳訂正書】

【提出日】令和3年11月1日(2021.11.1)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

少なくとも1つのエフェクター部分と、
 少なくとも1つのバインダー部分と、を含み、
 前記エフェクター部分は、直接、及び/又は、リンカーを介して、前記バインダー部分
 に接続され、
 前記エフェクター部分は、更に、イソロイシン残基を含むN-ホルミルメチオニンペプチ
 ドを含む、合成化合物。

【請求項2】

請求項1に記載の合成化合物であって、前記N-ホルミルメチオニンペプチドは、N末端

に位置しているN-ホルミルメチオニン残基を含む。

【請求項3】

請求項1または2に記載の合成化合物であって、

前記N-ホルミルメチオニンペプチドは、前記少なくとも1つのイソロイシン残基に加え、ロイシン、フェニルアラニン、バリン、及び/又は、トレオニンからなる群から選択される少なくとも1つの残基を含む。

【請求項4】

請求項1～3のいずれかに記載の合成化合物であって、

前記N-ホルミルメチオニンペプチドは、少なくとも1つのイソロイシン残基に加え、

・少なくとも1つのフェニルアラニン残基、及び、少なくとも1つのロイシン残基、又は、

・少なくとも1つのフェニルアラニン残基、少なくとも1つのロイシン残基、並びに、トレオニン残基及び/又はバリン残基から選択される少なくとも1つの残基、を含む。

【請求項5】

請求項1～4のいずれかに記載の合成化合物であって、

前記N-ホルミルメチオニン残基は、N->C方向において、

・1つ又は2つのイソロイシン残基を含む第1ブロック、及び、

・フェニルアラニン残基及びロイシンを互いに任意の順序で含む第2のブロック、が続

き、前記第2ブロックは、互いに任意の順序で位置決めすることができ、直接又は最大2つのアミノ酸残基を含むペプチド配列を介して結合することができる。

【請求項6】

請求項1～5のいずれかに記載の合成化合物であって、

前記エフェクター部分は、前記N-ホルミルメチオニン残基に加え、

・IFL

・LFII

・IVTLF

・LFIIK、及び/又は、

・IFTLFからなる群から選択される少なくとも1つの配列モチーフを含む。

【請求項7】

請求項1～6のいずれかに記載の合成化合物であって、

前記エフェクター部分は、fMIFL（配列番号3）、fMLFII（配列番号4）、及び/又は、fMIVTLF（配列番号5）、fMLFIIK（配列番号6）、及び、fMIFTLF（配列番号7）からなる群から選択される少なくとも1つのペプチド配列を含む。

【請求項8】

請求項1～7のいずれかに記載の合成化合物であって、

前記バインダー部分は、

・ペプチド又はペプチド模倣物、

・抗体、又は、そのフラグメント若しくは誘導體、

・受容体分子、又は、そのフラグメント若しくは誘導體、

・抗体模倣物、又は、そのフラグメント若しくは誘導體、及び/又は、

・アダプター、から成る群から選択される少なくとも1つである。

【請求項9】

請求項1～8のいずれかに記載の合成化合物であって、

前記バインダー部分は、3インテグリン若しくはv6インテグリン、又は、そのサブドメイン若しくはエピトープを標的とする。

【請求項10】

請求項1～9のいずれかに記載の合成化合物であって、

前記バインダーペプチド又はペプチド模倣物は、配列番号1又は配列番号2に記載の残

基シーケンスを備える。

【請求項 1 1】

請求項 1 ~ 1 0 のいずれかに記載の合成化合物であって、
前記リンカーは、ポリエチレングリコールを含む。

【請求項 1 2】

請求項 6 に記載の合成化合物であって、
前記リンカーは、長さが 4 0 及び 1 5 モノマーの間の 1 つ以上のポリエチレングリ
コール分子を含む。

【請求項 1 3】

請求項 6 又は 7 に記載の合成化合物であって、
前記ポリエチレングリコールリンカーは、1 つ以上アミノ酸側鎖群により、前記エフェ
クター部分に結合している。

【請求項 1 4】

請求項 1 ~ 1 3 のいずれかに記載の合成化合物であって、
エフェクター部分、バインダー部分、アゴニストから選択される少なくとも 2 つの部分
は、クリックケミストリーにより互いに結合している。

【請求項 1 5】

請求項 1 ~ 1 4 のいずれかの合成化合物と、生理学的に許容される賦形剤と、を含む医
薬製剤。

【請求項 1 6】

ヒト又は動物の治療のために、請求項 1 ~ 1 5 のいずれかに記載の合成化合物又は請求
項 1 5 に記載の製剤の使用。

【請求項 1 7】

請求項 1 3 に記載の使用であって、

前記使用は、

- ・腫瘍性疾患
- ・自己免疫疾患
- ・神経病理学的疾患
- ・代謝性疾患、及び/又は、
- ・感染性疾患、からなる群から選択される少なくとも 1 つの疾患の治療に関連する。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 1 4

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 1 4】

本発明の 1 つの面によると、合成化合物が提供される。合成化合物は、少なくとも 1 つ
のエフェクター部分と、少なくとも 1 つのバインダー部分とを含む。エフェクター部分は
、バインダー部分に接続され、イソロイシン残基を含む N-ホルミルメチオニンペプチドを
含む。

【誤訳訂正 3】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0 0 1 5

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0 0 1 5】

前記 N-ホルミルメチオニンペプチドは、前記ペプチドにおいて N 末端に位置することが
好ましい N-ホルミルメチオニン残基を含む。

【誤訳訂正 4】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】 0 0 1 7

【訂正方法】 変更

【訂正の内容】

【 0 0 1 7 】

これらの効果は、イソロイシン残基を欠く従来技術の分子と比べ、エフェクター部分の効能及びこのようなエフェクター部分を含む合成化合物の効能を高めることである。

【誤訳訂正 5】

【訂正対象書類名】 明細書

【訂正対象項目名】 0 0 2 2

【訂正方法】 変更

【訂正の内容】

【 0 0 2 2 】

N-ホルミルメチオニンペプチドは、ロイシン、フェニルアラニン、バリン、及び/又は、スレオニンから成る群から選択される少なくとも1つの残基を更に含むことが好ましい。

【誤訳訂正 6】

【訂正対象書類名】 明細書

【訂正対象項目名】 0 0 3 1

【訂正方法】 変更

【訂正の内容】

【 0 0 3 1 】

ここでの「ペプチド模倣物」という用語は、ペプチドの化学構造（例えば、自然発生アミノ酸残基）が、置換構造のコンフォメーションを模倣する他の化学構造と置換した化合物を示す。ペプチド模倣物の例として、ペプチド化合物が挙げられる。ペプチド化合物は、ペプチド骨格が1つ以上のベンゾジアゼピン分子（例えば、James他（1993）参照）及び「レトロインベルソ」ペプチド（Sisto、米国特許4,522,752号参照）により置換したものである。また、「ペプチド模倣物」という用語は、非自然発生アミノ酸（例えば、Dアミノ酸又は修飾されたアミノ酸）を含む分子を示す。非自然発生アミノ酸は、例えば、FPRL-1アゴニスト（N-ホルミルメチオニンペプチド受容体様1アゴニスト）のようなペプチドの機能にかなりの程度の悪影響を及ぼすことなく、コンフォメーション的及び機能的にペプチド含有化合物における特定のアミノ酸の代替物の役割を果たす。

【誤訳訂正 7】

【訂正対象書類名】 明細書

【訂正対象項目名】 0 0 3 4

【訂正方法】 変更

【訂正の内容】

【 0 0 3 4 】

別の好ましい実施例では、N-ホルミルメチオニンペプチドは、少なくとも1つのイソロイシン残基に加え、ロイシン、フェニルアラニン、バリン、及び/又は、スレオニンからなる群から選択される少なくとも1つの残基を含む。

【誤訳訂正 8】

【訂正対象書類名】 明細書

【訂正対象項目名】 0 0 3 5

【訂正方法】 変更

【訂正の内容】

【 0 0 3 5 】

N-ホルミルメチオニンペプチドは、少なくとも1つのイソロイシン残基に加え、
・ 少なくとも1つのフェニルアラニン残基と、少なくとも1つのロイシン残基と、又は
・ 少なくとも1つのフェニルアラニン残基と、少なくとも1つのロイシン残基と、スレオニン残基及び/又はバリン残基から選択される少なくとも1つと、を

含むことが好ましい。

【誤訳訂正 9】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0036

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0036】

特に好ましい実施例では、N-ホルミルメチオニン残基は、N->C方向において、

- ・ 1つ又は2つのイソロイシン残基を含む第1ブロックと、
- ・ 互いに任意の順番でフェニルアラニン残基及びロイシンを含む第2ブロックと、が続く。

ここで、2つのブロックを、互いに任意の順番で位置決めすることができ、2つのブロックは、直接、又は、最大2つのアミノ酸残基を含むペプチド配列により結合する。

【誤訳訂正 10】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0037

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0037】

ここでの「方向N->C」という用語は、第1及び第2ブロックがN-ホルミルメチオニン残基に対してC末端に位置することを意図する。

【誤訳訂正 11】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0038

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0038】

特に好ましい実施例では、エフェクター部分は、N-ホルミルメチオニン残基に加え、以下から成る群から選択される少なくとも1つの配列モチーフを含む。

- ・ IFL
- ・ LFII
- ・ IVTLF
- ・ LFIIK、及び/又は、
- ・ IFTLF

【誤訳訂正 12】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0055

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0055】

このようなフルサイズのIgG抗体は、約150Kdの分子量と、約1330アミノ酸残基の蓄積鎖長(2x重鎖+2x軽鎖)とを有する。これに対し、開示された実施可能な例のペプチド又はペプチド模倣物バインダーは、10未満のアミノ酸残基を有し、非自然発生アミノ酸を含む。従って、これらはIgGのサイズの1%未満を有する。

【誤訳訂正 13】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0056

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0056】

このため、イソロイシン残基を含むホルミルメチオニンペプチドをバインダー部分に結合する概念は、バインダー部分が（非常に小さい）ペプチド又はペプチド模倣物である場合だけでなく、バインダー部分が（非常に大きい）IgGである場合にも機能的である。

【誤訳訂正 14】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0057

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0057】

他の種類のバインダー部分（受容体分子、又は、そのフラグメント若しくは誘導体、又は、抗体模倣物、又は、そのフラグメント若しくは受容体、又は、アダプター）のサイズは、10AAペプチドと完全なIgGとの間のサイズ範囲にあることから、イソロイシン残基を含むホルミルメチオニンペプチドを結合する概念もこれらの実施例では機能的である。

【誤訳訂正 15】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0068

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0068】

ポリエチレングリコールが結合する適切な官能基の選択は、PEGに結合するアミノ酸残基に利用可能な反応基の種類に基づいている。タンパク質の場合、典型的な反応性アミノ酸は、リシン、システイン、ヒスチジン、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、セリン、スレオニン、チロシンを含む。

【誤訳訂正 16】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0069

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0069】

ポリエチレングリコールリンカーは、1つ以上のアミノ酸側鎖基によりエフェクター部分に結合することが好ましい。アミノ酸側鎖基はアミノ基であることが好ましい。側鎖を有するアミノ酸残基は、リジン残基であることが好ましい。側鎖を有するアミノ酸残基は、エフェクター部分においてC末端に位置している。2つ以上のリンカーが使用されている場合、側鎖を有する2つ以上のアミノ酸残基は、互いに隣接して、例えば、C末端に位置している。

【誤訳訂正 17】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0070

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0070】

エフェクター部分は、アミド結合により、例えば、リジン残基のエプシロンアミノ基を介して、ポリエチレングリコールリンカーの末端カルボキシ基に共有結合していることが好ましい。

【誤訳訂正 18】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】0106

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【0106】

【図1a】図1aは、銅触媒 [3+2] アジド アルキン環状付加の反応スキームを示す。バインダーペプチド模倣物配列番号1 (表1参照) を含有するアジド(i)は、エフェクター骨格fMIFL (表1参照) 及びPEGリンカーを含有するアルキン(ii)ときちんと反応し、室温で30分後、1, 4 トリアゾール(iii)が得られる。

【図1b】図1bは、スキーム1に示された精製化合物の分析データ：A) 逆相HPLCデータ：B) 同じ化合物の電ロスプレーイオン化学量分析データを示す。

【図2】図2は、本発明に係る化合物の異なる構成を示す。Aでは、本発明の化合物は、免疫グロブリンGの構造に類似している。エフェクター部分は、免疫グロブリンGのFc部分と同様に、Y形状構造の基部に位置する。2つのリンカーは、エフェクター部分に付着し、2つの同一のバインダー部分は、免疫グロブリンGのCDRs又は可変ドメインと同様に、リンカーの末端に付着している。Bでは、2つのリンカーは、例えば、異なる標的に特異性を有する2つの異なるバインダー部分を有する。従って、化合物は三官能性である。Cでは、1つのリンカーはエフェクター部分に付着し、リンカーは途中で2つのアームに分岐しており、各リンカーは、末端に2つのバインダーを有し、この例では、2つのバインダーは互いに異なっている。従って、化合物はYと同様の形を有する。

【図3】図3は、本発明に係る合成化合物の異なる構成を示す。Aでは、3つのリンカーはエフェクター部分に付着していることから、化合物は、1つのエフェクター部分と、3つの同一のバインダー部分とを備える花束と同様の形を有する。Bでは、2つのリンカーは、2つのエフェクター部分に付着し、各リンカーの末端にバインダーを有し、リンカーは互いに途中で結合している。従って、化合物はXと同様の形を有する。図示しないが同様に好ましくは、1つのみのリンカーがエフェクター部分に付着していることから、化合物は、1つのみのエフェクター部分と1つのみのバインダー部分とを備えるI形状を有する。別の変形例も可能である。図2のCの実施例は、例えば、2つの同一バインダーを有することが可能である。図3のAの実施例は、例えば、異なる標的に特異性を有する異なるバインダー部分を有することが可能である。図3のBの実施例は、途中で結合した3つ以上のリンカーを有することから、星型に類似している。図3のAの実施例は、それぞれがバインダー部分(異なるものと同じ)を有する4つ以上のリンカーを有することが可能である。エフェクター及びバインダー部分の選択に応じて、化合物を、二官能性(1つのエフェクター部分官能基及び同じ特異性を備える1つ以上のバインダー部分)、又は、三官能性若しくは多官能性(1つのエフェクター部分官能基及び異なる特異性を備える2つ以上のバインダー部分)とすることができ、又は、化合物は別の官能性を有することが可能である(c5受容体アゴニストが提供される場合)。バインダー部分を、ペプチド若しくはペプチド模倣物、抗体、又は、そのフラグメント若しくは誘導體、受容体分子、又は、そのフラグメント若しくは誘導體、抗体模倣物、又は、そのフラグメント若しくは誘導體、及び/又は、アダプターとすることができる。

【図4】図4は、走化性アッセイ(A)と、DHR123酸化アッセイ(B)とを示し、ヒト白血球において生体外で(Ile残基を欠く)と、fMIFL共役とを比較する。fMIFLは、著しく良好な走化性効果及び酸化パーストのより良好な活性化を実証する。

【図5】図5は、DHR123酸化アッセイを示し、マウス白血球において生体外でfMLF(Ile残基を欠く)と、fMFLとを比較する。fMIFLは、酸化パーストのより良好な活性化を実証する。

【図6】図6は、ヒト顆粒球による走化性アッセイ(A)と、ヒト単球による走化性アッセイ(B)と、ヒト白血球によるDHR123酸化アッセイ(C)とを示し、各アッセイでは、ヒト白血球において生体外でfMIFLと、fMLFIIと、fMIVTLFとを比較する。

【図7】図7は、DHR123酸化アッセイを示し、マウス白血球において生体外でfMIFLと、fMLFIIと、fMIVTLFとを比較する。

【図8】図8は、3インテグリン(実線)を標的とする200nMビオチン化ペプチド模倣物バインダー配列番号1と、又は、前記バインダーのスクランブル変異体(点線)と共に培養したヒト腫瘍細胞株を示す。ストレプトアビジン-PerCP-Cy5.5による染色。前記スクランブル変異体では、オリジナルのペプチド配列はランダムに置換されている。バインダー

は、 $\alpha 3$ インテグリン表面抗原を全て発現する細胞株A431、PC3、及び、U87-MGを結合するが、前記抗体を発現しないK562細胞株を結合しないことがわかる。以下の細胞株を使用した。表面抗原 $\alpha 3$ インテグリン及び $\alpha v \beta 6$ インテグリンの存在又は不存在は、対応する抗体テストにより確認されている。

【図9】図9は、 $\alpha v \beta 6$ インテグリン（実線）を標的とする10nMのビオチン化ペプチドバインダー配列番号2又は、前記バインダーのスクランブル変異体（点線）と共に培養したヒト腫瘍細胞株を示す。ストレプトアビジン-PerCP-Cy5.5による染色。前記スクランブル変異体では、オリジナルのペプチド配列は、ランダムに置換されている。バインダーは、 $\alpha v \beta 6$ インテグリン表面抗原を発現する細胞株A431及びHT-29に結合するが、前記抗原を発現しない細胞株PC-3及びU87-MGには結合しないことがわかる。

【図10】図10は、1 μ Mの合成化合物I型（実線）と共に又は合成化合物（点線）なしで培養したヒト腫瘍細胞株を示す。ストレプトアビジン PerCp-Cy5.5による染色。合成化合物I型は、(i)配列番号1を有するペプチド模倣物を含み、 $\alpha 3$ インテグリンを標的とするバインダー部分と、(ii)配列番号3を有するペプチド模倣物を含むエフェクター部分及びPEGリンカー（fMIFL）と、からなる合成化合物である。 $\alpha 3$ インテグリンに対する合成化合物I型の結合能は、単なるバインダー部分のそれと同様であることは明らかである（図8参照）。これは、エフェクターと、リンカーとの結合がバインダーの結合能力に影響しないことを意味する。

【図11】図11は、マウス白血球における生体外での合成化合物I型と、非共役化fMIFLとを比較するDHR123酸化アッセイを示す。合成化合物I型は、(i)配列番号1を有し、 $\alpha 3$ インテグリンを標的とするペプチド模倣物（表1参照）を含むバインダー部分と、(ii)配列番号3を有するペプチド模倣物（fMIFL、表1参照）を含むエフェクター部分及びPEGリンカーと、からなる合成化合物である。fMIFの酸化パーストの活性化は、PEG-リンカー及びそれぞれのバインダーペプチド模倣物への共役によって影響を受けないことは明らかである。

【図12】図12は、本発明に係る合成化合物の別の構造を示す。合成化合物は、フル機能リンカーを有していない。エフェクター部分は、免疫グロブリンGのFc部分と同様に、Y形状構造の基部に位置するが、2つの異なるバインダー部分は、免疫グロブリンGの可変ドメイン又はCDRsと同様に、エフェクター部分に直接接続する。このような直接接続を、直接共役、例えば、共有結合により達成することができる。適切な架橋剤を用いることができる。適切な架橋剤を、例えばEDC又はDCCのようなカルボジイミドとすることができる。バインダー部分をペプチド若しくはペプチド模倣物、抗体、又は、そのフラグメント若しくは誘導體、受容体分子、又は、そのフラグメント若しくは誘導體、抗体模倣体、そのフラグメント若しくは誘導體、及び/又は、アダプターとすることができる。図2、3に記載した通り、この概念の異なる変形例が可能である。変形例は、例えば、2つの同一バインダー部分、3つ以上のバインダー部分、2つ以上のエフェクター部分等である。

【図13】図13は、異なるN-ホルミルメチオニンペプチドへの暴露時のマウス白血球のDHRアッセイを示す。ローダミン陽性細胞の割合は、それぞれの分子のエフェクター効果の尺度である。イソロイシンを含む4つのN-ホルミルメチオニンエフェクターペプチドは、イソロイシンを含まない対照より2～3桁高い効力を示す。

【図14】図14は、異なるN-ホルミルメチオニンペプチドへの暴露時のヒト白血球のDHR酸化アッセイを示す。ローダミン陽性細胞の割合は、それぞれの分子のエフェクター効果の尺度である。イソロイシンを含む3つのN-ホルミルメチオニンエフェクターペプチドは、イソロイシンを含まない対照より2～3桁高い効力を示す。図13及び図14は、イソロイシン残基を含むN-ホルミルメチオニンペプチドが、イソロイシン残基を欠くN-ホルミルメチオニンペプチドよりもはるかに良好な免疫刺激効果を有することを印象的に示している。

【表 1】

配列番号	配列	3文字コード	標的
バインダーペプチド/ペプチド模倣物			
1	cdGY(3-NO2)GHypNc	Xa1Xa2GlyXa3GlyXa4AsnXa1	Xa1 = D-システイン酸; Xa2 = D-アスパラギン酸; Xa3 = ニトロチロシン; Xa4 = 4-ヒドロキシプロリン
2	RGDLATLRQL	ArgGlyAspLeuAlaThrLeuArgGlnLeu	α, β 6インテグリン (β -Kette)
エフェクターペプチド/ペプチド模倣物			
3	fMIFL	fMetIlePheLeu	fMet= ホルミル化メチオニン
4	fMLFII	fMetLeuPheIleIle	fMet= ホルミル化メチオニン
5	fMIVTLF	fMetIleValThrLeuPhe	fMet= ホルミル化メチオニン
6	fMLFIK	fMetLeuPheIleIleLys	fMet= ホルミル化メチオニン
7	fMIFTLF	fMetIlePheThrLeuPhe	fMet= ホルミル化メチオニン

表 1 は、ここで説明されているバインダーペプチド/ペプチド模倣物及びエフェクターペプチド/ペプチド模倣物の概要を示す。N末端n-ホルミル-メチオニンが以下の構造を有することを理解することが重要である。

【化 1】

