

【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】平成17年9月15日(2005.9.15)

【公表番号】特表2004-531547(P2004-531547A)

【公表日】平成16年10月14日(2004.10.14)

【年通号数】公開・登録公報2004-040

【出願番号】特願2002-588973(P2002-588973)

【国際特許分類第7版】

A 6 1 K 47/42

A 6 1 K 31/282

A 6 1 K 33/24

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00

C 0 7 K 14/78

【F I】

A 6 1 K 47/42

A 6 1 K 31/282

A 6 1 K 33/24

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 43/00 1 0 5

C 0 7 K 14/78

【手続補正書】

【提出日】平成16年2月3日(2004.2.3)

【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】

酸化されたコラーゲンであって、コラーゲンの1もしくは数個のメチオニン残基のチオメチル基が、メチルスルホキシ及び／もしくはメチルスルホニル基によって置換されている酸化されたコラーゲン。

【請求項2】

(a) コラーゲンの1もしくは数個のメチオニン残基のチオメチル基が、メチルスルホキシ及び／もしくはメチルスルホニル基によって置換されている酸化されたコラーゲン；及び

(b) 医薬物、

を含んで成る医薬組成物。

【請求項3】

20%以上のチオメチル基が、メチルスルホキシ及び／又はメチルスルホニル基によって置換されている、請求項2に記載の医薬組成物。

【請求項4】

40%以上のチオメチル基が、メチルスルホキシ及び／又はメチルスルホニル基によって置換されている、請求項3に記載の医薬組成物。

【請求項5】

60%以上のチオメチル基が、メチルスルホキシ及び／又はメチルスルホニル基によって置換されている、請求項4に記載の医薬組成物。

【請求項 6】

前記医薬物が酸化されていないコラーゲンと適合性である、請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

前記医薬物が酸化されていないコラーゲンと非適合性である、請求項 2 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

(a) コラーゲン、コラーゲンの 1 もしくは数個のメチオニン残基のチオメチル基がメチルスルホキシ及び / もしくはメチルスルホニル基によって置換されている酸化されたコラーゲン、又はこれらの混合物；並びに

(b) 医薬物、

を含んで成り、pHが約 4 . 5 未満である医薬組成物。

【請求項 9】

前記コラーゲンの pH が約 2 . 5 ~ 4 . 5 である、請求項 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 10】

前記組成物中のコラーゲンの濃度が約 3 % (w/w) 以下である、請求項 2 又は 8 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

前記組成物中のコラーゲンの濃度が、約 1 % (w/w) ~ 約 3 % (w/w) である、請求項 10 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

コラーゲンと非適合性の薬物を適合させるための方法であって、当該コラーゲンの 1 もしくは数個のメチオニンのチオメチル基をメチルスルホキシ及び / もしくはメチルスルホニル基で置換することを含んで成る方法。

【請求項 13】

前記置換が、コラーゲン組成物と酸化剤とを、コラーゲンの 1 もしくは数個のメチオニンのチオメチル基がメチルスルホキシ及び / もしくはメチルスルホニル基へ転換される条件下で接触させることによって達成されている、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記酸化剤が、過酸化水素及びメタクロロ過安息香酸からなる群から選択されている、請求項 13 に記載の方法。

【請求項 15】

前記置換がタンパク質化学によって達成されている、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 16】

コラーゲンと非適合性の薬物を適合させるための方法であって、コラーゲン組成物の pH を約 4 . 5 以下に下げるることを含んで成る方法。

【請求項 17】

前記コラーゲンの pH を約 2 . 5 ~ 約 4 . 5 に下げることを更に含んで成る請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

腫瘍性病変又は周辺組織を治療するための方法であって、人を除く哺乳動物の病巣の部位又は当該病巣を囲む組織に：

(a) 酸化されたコラーゲン、約 2 . 5 ~ 約 4 . 5 の pH に酸性化されたコラーゲン、及び約 2 . 5 ~ 約 4 . 5 の pH に酸性化された酸化されたコラーゲンから成る群から選択されたコラーゲン組成物；及び

(b) 医薬的に許容できる細胞傷害性薬物、

を含んで成る医薬組成物を導入することを含んで成る方法。

【請求項 19】

前記細胞傷害性薬物が白金酸塩である、請求項 18 に記載の方法。

【請求項 20】

前記白金酸塩が、シスプラチニン、カルボプラチニン、オキサリプラチニン、オルマプラチニン、イプロプラチニン、エンロプラチニン、ネダプラチニン、シス-アミンジクロロ(2-メチルピリジン)-プラチナ(II)、及びBBR3464から成る群から選択されている請求項19に記載の方法。

【請求項21】

コラーゲンと非適合性の薬物を適合させるための方法であつて、当該コラーゲンの1もしくは数個のメチオニンのチオメチル基をメチルスルホキシ及び/もしくはメチルスルホニル基で置換し且つコラーゲン組成物のpHを約4.5以下に下げるることを含んで成る方法。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0007

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0007】

物理的且つ化学的に安定なコラーゲンベース製剤を形成する能力への影響において、かかる反応は、非適合性医薬の治療作用を損い且つ製剤のレオロジー特性を変化させてしまい、物質の効果を多彩にし、そして投与を難しくなる。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

この非適合性の故に、シスプラチニンとコラーゲン組成物とを投与直前に混合すること、及び混合後数時間以内で投与を完了することが必要である。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0009

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0009】

ある実施態様において、本発明は、コラーゲン中の1又は数個のメチオニン残基のチオメチル基を酸化して対応するメチルスルホキシもしくはメチルスルホニル基へすることにより、生成されるコラーゲン組成物は、本来非適合性の薬物と一層適合性になるという発見に関する。これについて、一般に、コラーゲンは、3本のポリペプチド鎖に由来する、ホモ又はヘテロ三量体のいずれかとして形成された、三重らせんからなる長い棒状分子として存在する。その一次構造は、グリシン-X-Yリピート(ここで、Xの有意な構成員はプロリンもしくはヒドロキシプロリンであり、そしてYは他のアミノ酸残基、例えばメチオニン及びヒスチジン残基などを含んで成る)を特徴とする。生理pHで、各コラーゲン分子は自己集合して微視的もしくは巨視的な微小纖維もしくは網になり、それがコラーゲンによって呈示される典型的な細胞外マトリックスの足場を担う。コラーゲンがドラッグデリバリー用途において用いられる場合、纖維性コラーゲンは水性系における増粘剤として作用し、粘性ゲル様物質を供する。コラーゲンは徐放植込錠において用いるために乾燥させてペレット様形態にもできる。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0011

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0011】**発明の概要**

本発明は酸化されたコラーゲン組成物に関する。ここにおいて、コラーゲンの1もししくは数個のメチオニン残基のチオメチル基は、メチルスルホキシ及びノもしくはメチルスルホニル基によって置換されている。上に述べたように、かかる組成物は、シスプラチンなどの細胞傷害性薬物（これら薬物は本来、コラーゲンとの接触が長くなることにより非適合性である）との適合性が向上している。

【手続補正6】**【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0017**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0017】**

これらの組成物中で用いられる医薬物は、酸化されていないコラーゲンと適合性又は非適合性のどちらであっても良い。しかし、酸化されたコラーゲンの利点は、薬物が本来、酸化されていないコラーゲンとは非適合性である場合に最も明らかになる。好適に、前記医薬物は細胞傷害性の薬物であり、そして一層好適には、白金酸塩である。

【手続補正7】**【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0018**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0018】**

本発明は、前記製剤が酸性化されている場合、即ち、当該製剤のpHが約4.5未満（例えば、pH3.7へ）下げられている場合、そして更に好適には約2.5～4.5の場合には、コラーゲンと非適合性医薬物との間での不都合な反応が減少しているという発見にも関する。コラーゲン製剤の酸性化は、コラーゲン中のヒスチジン残基をプロトン化し、ヒスチジン残基と非適合性薬物との間での反応を逆戻りさせる、減少させる又は妨げると考えられている。酸性化の利点は、コラーゲン製剤の酸性化を非適合性薬物添加の前又は後のいづれかにすることによって、達成できうるということが発見されている。

【手続補正8】**【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0026**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0026】**

非適合性医薬物と共に用いられた場合、本明細書中に記載のコラーゲン製剤及び方法により、非適合性医薬物、特に細胞傷害性薬物のドラッグデリバリー、投与、臨床上の有効性及びノ又は治療効果が向上する。加えて、本明細書中に記載のコラーゲン組成物は、適合性医薬剤と共に用いられて良い。本発明を更に詳細に記載する前に、先ず以下の用語を規定する。

【手続補正9】**【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0028**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0028】**

これらの不都合な反応により、非適合性薬物、特に長時間（例えば24時間を超えて）に渡り保存されたものの、ドラッグデリバリー、投与、臨床上の有効性及びノ又は治療上の使用が損われる。非適合性薬物とコラーゲンとの架橋は、コラーゲングルを針から一定

の送出速度で押出すのに要する力を測定することによって定量できうる。架橋の程度が大きければ、コラーゲン製剤を押出すのがより困難であろう。非適合性医薬物の例には、周知の、シスプラチンなど白金酸塩のファミリーの薬物がある。

【手続補正10】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0029

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0029】

用語「適合性医薬物」又は「適合性薬物」とは、それらが、改変されていないコラーゲンと反応しても、コラーゲン製剤（改変されていないコラーゲンとの組み合わせにおいてかかる薬物を含んで成る）の使用を損わない又は複数の医薬物を意味する。適合性医薬物の例には、フルオロウラシル、メトトレキセートなどが挙げられる。

【手続補正11】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0030

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0030】

用語「白金酸塩」とは、中心原子として白金を含む細胞傷害性薬物を意味する。白金酸塩の例には、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、オルマプラチン、イブロプラチン、エンロプラチン、ネダプラチン、ZD0473（シス-アミンジクロロ（2-メチルピリジン）-プラチナ（II））、BBR3464などが挙げられる。

【手続補正12】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0034

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0034】

用語「酸性化」とは、コラーゲン製剤のpHを、非適合性医薬物と組み合わせる前あるいは後のいずれかにて下げる全ての方法を意味する。好適に、酸性化には、医薬的に許容できる酸を用い、pHを下げる。適切な医薬的に許容できる酸は当業者に周知であり、例によつて、塩酸、リン酸、酢酸、クエン酸、乳酸などが挙げられる。

【手続補正13】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0046

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0046】

ある実施態様において、十分な量の酸化されたコラーゲンが水性組成物中で用いられており、約5～約100mg/mL、及び好適には約5～約75mgL/mLの酸化されたコラーゲン濃度が供されている。用いられた酸化されたコラーゲンの一定量は、酸化されたコラーゲン組成物が適度な加圧下では流れるが、患者の特定の部位に位置した後は有意に移動することがないように、当該組成物の所望の粘度に関連して選択されている。好適には、十分に酸化されたコラーゲンは、前記組成物が20、せん断速度15.8sec⁻¹で約5,000～約20,000cpの粘度を有するように用いられている。

【手続補正14】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0048

【補正方法】変更

【補正の内容】**【0048】**

他の実施態様において、酸性化された水性コラーゲン組成物は、医薬物との組み合わせにおいて用いられている。この実施態様において、酸性化されたコラーゲン組成物は、医薬物、及びコラーゲン、酸化されたコラーゲン又は上に列挙した濃度でのこれらの混合物のどれかを用いる。加えて、十分な量の医薬的に許容できる酸が前記組成物に対して添加され、pHが約2.5～4.5に調整される。医薬的に許容できる酸の添加は、典型的に室温で行われ、そして組成物中で用いられるコラーゲン及び／又は酸化されたコラーゲンの濃度は、酸を添加することにより、所望の濃度が得られるように調整されている。

【手続補正15】**【補正対象書類名】明細書****【補正対象項目名】0055****【補正方法】変更****【補正の内容】****【0055】**

好適な実施態様において、コラーゲン（酸化されたコラーゲン、酸性化されたコラーゲン、又は酸化及び酸性化されたコラーゲンなど）、医薬物及び所定の任意の添加剤が、例えば、塩類溶液、リン酸緩衝塩類溶液、蒸留水などの生理的に許容できる水性媒体中で均一に分散され、コラーゲン組成物が形成される。水性媒体は、穏和な加圧下で流れることができ非晶質分散体を提供するのに十分であろう。流動性を有する混合物を提供するためには、通常、前記液体水性媒体は組成物全体の90重量%以上、通常、更には95重量%以上であって良く、通常は約99.5重量%を超えない。この量は、医薬物の性質、他の物質の存在などにより変わるだろう。

【手続補正16】**【補正対象書類名】明細書****【補正対象項目名】0056****【補正方法】変更****【補正の内容】****【0056】**

任意の添加物も様々な目的のために組成物中に含まれて良い。これらの添加物の大部分は、組成物の安定性を保護し、pHを調節するなどの特性を与えるためのものであろう。実例となる薬剤には、リン酸バッファー及び酢酸バッファー、メチル又はプロピルパラベン、ポリエチレングリコールなどが挙げられる。これらの薬剤は、一般に、組成物全体の約2重量%未満、通常約1重量%未満で存在しており、そして各個別に0～約1重量%で変化しうる。

【手続補正17】**【補正対象書類名】明細書****【補正対象項目名】0057****【補正方法】変更****【補正の内容】****【0057】**

本明細書中に記載の組成物は、コラーゲン、医薬物及び生理的に許容できる水性媒体を無菌環境下で組み合わせることによって調製できうる。この時に、任意の添加物も含まれても良いが、血管収縮薬又は交感神経興奮薬などの所定の添加物は、安定性の問題故に、組成物中へは使用直前に組み込まれるのが好ましい。コラーゲンは、都合の良い形態において、通常は用いられる全水性媒体の1部以上と混合されて供されるだろう。混合し、均一な分散体が得られうことにより、組成物は十分に有効になるだろう。医薬物は、動搖しながらコラーゲン分散体に添加されることで、当該薬物の均一な分散が確実になりうる。必要に応じて、任意の物質が同時に、又は順次加えられて良い。通常、無菌性は無菌状態を用いることで維持されるだろう。

【手続補正 18】**【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0060**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0060】**

目的の組成物は腫瘍に対して投与され腫瘍部位に細胞を傷害する量の細胞傷害薬物を供給するだろう。腫瘍部位に対して投与される細胞傷害薬物の量は、薬物の性質、腫瘍のサイズ及び他の検討材料に依存して好適に約0.01~100mg/kg宿主、一層通常は、約0.5~300mg/kg宿主の範囲である。血管収縮剤は、用いられる場合、一般に、細胞傷害薬物の約1~約50重量%で存在するだろう。各腫瘍において、各薬物について用いられる細胞傷害性薬の一定量とは、治療される腫瘍、用いられる細胞傷害薬物の型及び/又は性質、細胞傷害性薬物の相対的な流動性などに依存するだろう。かかる因子は当業者には良く知られている。

【手続補正 19】**【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0069**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0069】**

B. 酸化されたコラーゲン及び酸化されていないコラーゲンのCNBrによる解裂の比較
酸化されたコラーゲン製剤における酸化の程度を、臭化シアン解裂アッセイによって決定した。臭化シアンはポリペプチド鎖をメチオニン残基で解裂するが、チオメチル基が酸化されメチルスルホキシ又はメチルスルホニルになっているメチオニン残基での解裂はない。

【手続補正 20】**【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0077**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0077】**

この原纖維形成アッセイにおいて、9体積の、酸化されたコラーゲンの溶液又は酸化されていないコラーゲンの溶液(10mMのHCl中0.5mg/mL)いずれかをキュベットに置き、そして1体積の0.2Mリン酸ナトリウム、pH10.7を添加することで中性化した。纖維が形成されるにつれ、溶液は濁り、そしてこの濁度を分光光度計を用いて313nmの波長で観測した。図1に示すように、酸化されたコラーゲンの溶液の原纖維形成特性は、酸化されていないコントロールのものと類似していた。

【手続補正 21】**【補正対象書類名】**明細書**【補正対象項目名】**0086**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【0086】**

先に述べたように、非適合性医薬とコラーゲンとの間での不都合ないくつかの反応は、非適合性薬物、例えはCDDPとコラーゲンのヒスチジン残基との間での反応によるものであると考えられている。出願人は、酸性条件下でこの反応を容易に逆転させることができることを発見した。pH6.5及びそれより上では、ヒスチジンのイミダゾール窒素がシスプラチニンと反応できる弱い求核試薬である。pK(pH6.5)未満でイミダゾール環をプロトン化することにより、イミダゾール環の求核反応性がかなり下がり、それによつてそれの、CDDPとの反応性が低くなる。加えて、CDDP損失は、コラーゲン濃

度に依存するので、製剤の更なる改良は、混合ゲル中のコラーゲン含量を下げるこよ
つて行われている。