

【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28年4月28日(2016.4.28)

【公表番号】特表2015-514718(P2015-514718A)

【公表日】平成27年5月21日(2015.5.21)

【年通号数】公開・登録公報2015-034

【出願番号】特願2015-504603(P2015-504603)

【国際特許分類】

C 0 7 D 207/46 (2006.01)
C 0 7 D 401/12 (2006.01)
A 6 1 K 38/00 (2006.01)
A 6 1 K 38/16 (2006.01)
A 6 1 K 9/08 (2006.01)
A 6 1 K 47/02 (2006.01)
A 6 1 K 47/12 (2006.01)
A 6 1 K 47/26 (2006.01)
A 6 1 K 47/34 (2006.01)
A 6 1 K 47/32 (2006.01)
A 6 1 K 47/22 (2006.01)
A 6 1 K 47/42 (2006.01)
A 6 1 K 47/20 (2006.01)
A 6 1 K 47/48 (2006.01)
A 6 1 P 7/00 (2006.01)
A 6 1 P 1/16 (2006.01)
A 6 1 P 7/06 (2006.01)
A 6 1 P 17/02 (2006.01)
A 6 1 P 9/10 (2006.01)
A 6 1 P 39/02 (2006.01)
A 6 1 P 11/00 (2006.01)
A 6 1 P 9/04 (2006.01)
A 6 1 P 33/06 (2006.01)
A 6 1 P 9/14 (2006.01)
A 6 1 P 15/00 (2006.01)
A 6 1 P 31/04 (2006.01)
A 6 1 P 27/02 (2006.01)
A 6 1 P 25/00 (2006.01)
A 6 1 P 9/00 (2006.01)
A 6 1 P 1/04 (2006.01)
A 6 1 P 1/00 (2006.01)
A 6 1 P 35/00 (2006.01)
A 6 1 P 41/00 (2006.01)
A 6 1 P 7/08 (2006.01)
A 6 1 P 7/04 (2006.01)
A 6 1 P 43/00 (2006.01)
A 6 1 K 47/36 (2006.01)
A 6 1 K 47/10 (2006.01)
C 0 7 K 14/76 (2006.01)
C 0 7 K 14/765 (2006.01)
C 0 7 K 14/805 (2006.01)

C 0 7 K 17/04 (2006.01)
 C 0 7 B 61/00 (2006.01)
 C 0 7 D 211/94 (2006.01)

【 F I 】

| | |
|----------------|-------|
| C 0 7 D 207/46 | C S P |
| C 0 7 D 401/12 | |
| A 6 1 K 37/02 | |
| A 6 1 K 37/14 | |
| A 6 1 K 9/08 | |
| A 6 1 K 47/02 | |
| A 6 1 K 47/12 | |
| A 6 1 K 47/26 | |
| A 6 1 K 47/34 | |
| A 6 1 K 47/32 | |
| A 6 1 K 47/22 | |
| A 6 1 K 47/42 | |
| A 6 1 K 47/20 | |
| A 6 1 K 47/48 | |
| A 6 1 P 7/00 | |
| A 6 1 P 1/16 | |
| A 6 1 P 7/06 | |
| A 6 1 P 17/02 | |
| A 6 1 P 9/10 | |
| A 6 1 P 39/02 | |
| A 6 1 P 11/00 | |
| A 6 1 P 9/04 | |
| A 6 1 P 33/06 | |
| A 6 1 P 9/14 | |
| A 6 1 P 15/00 | |
| A 6 1 P 31/04 | |
| A 6 1 P 27/02 | |
| A 6 1 P 25/00 | |
| A 6 1 P 9/00 | |
| A 6 1 P 1/04 | |
| A 6 1 P 1/00 | |
| A 6 1 P 9/10 | 1 0 3 |
| A 6 1 P 35/00 | |
| A 6 1 P 41/00 | |
| A 6 1 P 7/08 | |
| A 6 1 P 7/04 | |
| A 6 1 P 43/00 | 1 7 1 |
| A 6 1 K 47/36 | |
| A 6 1 K 47/10 | |
| C 0 7 K 14/76 | |
| C 0 7 K 14/765 | |
| C 0 7 K 14/805 | |
| C 0 7 K 17/04 | |
| C 0 7 B 61/00 | 3 0 0 |
| C 0 7 D 211/94 | |

【手続補正書】

【提出日】平成28年3月9日(2016.3.9)

【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

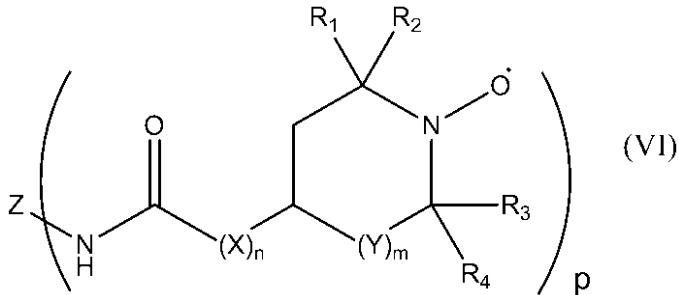
【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

構造(VI)を有するニトロキシ化されたタンパク質：

【化1】



[式中、

Zは、タンパク質を表し；

R₁、R₂、R₃およびR₄のそれぞれは、独立してC₁～C₄アルキルであり；

Xは、酸素、硫黄、窒素、リンまたはケイ素であり；

Yは、CH₂であり；

mは、0または1であり；

nは、0または1であり；

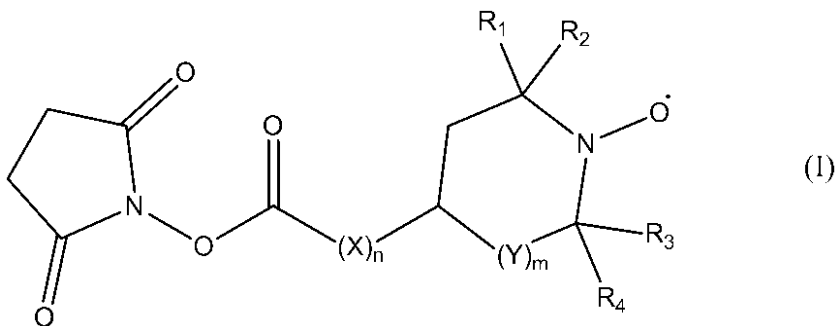
pは、タンパク質に抱合されたニトロキシ基の平均数であり；および

Nは、タンパク質の窒素である]。

【請求項2】

ニトロキシ化されたタンパク質を製造するための方法であって、式(I)のニトロキシ化薬とタンパク質を反応することを含む方法：

【化2】



[式中、

R₁、R₂、R₃およびR₄のそれぞれは、独立してC₁～C₄アルキルであり；

Xは、酸素、硫黄、窒素、リン、またはケイ素であり；

Yは、CH₂であり；

nは、0または1であり；および、

mは、0または1である]。

【請求項3】

R₁、R₂、R₃およびR₄のそれぞれは、-CH₃であり；

nは、1であり；

Xは、酸素または硫黄であり；および/または

mは、1である、

請求項1または2に記載のニトロキシル化されたタンパク質または方法。

【請求項4】

前記タンパク質のN末端アミノ基はニトロキシル化されているか、または、少なくとも1つのリジン残基のイプシロン() - アミノ基はニトロキシル化されており；および/または

pは、約1～約25である、

請求項1または3に記載のニトロキシル化されたタンパク質。

【請求項5】

前記タンパク質は、ヘモグロビン(Hb) - サブユニット、ヘモグロビン - サブユニット、ヘモグロビン四量体、ミオグロビンまたはアルブミンを含み、所望により；

前記アルブミンは血清アルブミン(所望によりヒト血清アルブミン(HSA))を含み；

前記ヘモグロビン - サブユニットはヒトヘモグロビン - サブユニットを含むか、前記ヘモグロビン - サブユニットはヒトヘモグロビン - サブユニットを含むか、または前記ヘモグロビン四量体はヒトヘモグロビン - サブユニットおよび - サブユニットを含み；

前記ヘモグロビン四量体は、架橋された二量体または架橋された二量体を含み；および/または

前記ヘモグロビン四量体は、約17のニトロキシル化されたアミノ基を含む、

請求項1、3、および4のいずれか1項に記載のニトロキシル化されたタンパク質。

【請求項6】

前記ヘモグロビン四量体は、架橋された二量体または架橋された二量体を含み；

前記ヘモグロビン四量体はヒトヘモグロビン - サブユニットを含み、前記ヒトヘモグロビン - サブユニットは、N末端バリン残基の - アミノ基にて、および/またはリジン - 7、リジン - 11、リジン - 16、リジン - 40、リジン - 56、リジン - 60、リジン - 61、リジン - 90、リジン - 99、リジン - 127、リジン - 139およびこれらの組み合わせからなる群より選択されるリジン残基の - アミノ基にてニトロキシル化され；および

前記ヘモグロビン四量体は、所望により、ヒトヘモグロビン - サブユニットをさらに含み、前記ヒトヘモグロビン - サブユニットは、前記N末端バリン残基の前記 - アミノ基にて、および/またはリジン - 8、リジン - 17、リジン - 59、リジン - 61、リジン - 65、リジン - 66、リジン - 82、リジン - 95、リジン - 120、リジン - 132、リジン - 144およびこれらの組み合わせからなる群より選択されるリジン残基の前記 - アミノ基にてニトロキシル化される、

請求項5に記載のニトロキシル化されたタンパク質。

【請求項7】

前記ニトロキシル化されたタンパク質は、ポリアルキレンオキシド(PAO)に抱合されており、前記PAOは、所望により、ポリエチレングリコール(PEG)であり；

前記PEGは、所望により、約2,000～約20,000ダルトンの平均分子量を有し；

前記PEGは、所望により、マレイミド - PEGであり、前記マレイミドは、所望により、アルキレンまたはフェニレンリンカーを介してPEGに連結され、前記アルキレンリンカーは、所望により、エチレンリンカーであり；および/または

前記PEGは、所望により、スクシンイミジルバレラートPEG(SVA - PEG)である、

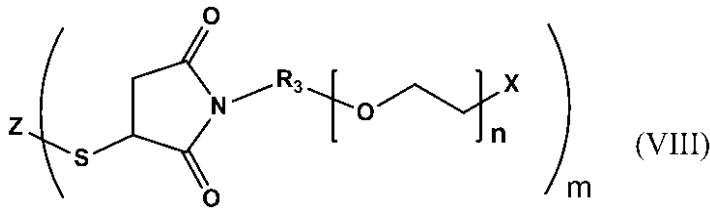
請求項1、2、および4～6のいずれか1項に記載のニトロキシル化されたタンパク質。

【請求項8】

請求項7に記載のニトロキシル化されたタンパク質であって、前記マレイミド - PEG

は、前記タンパク質のシステイン残基の固有のチオール部分、前記タンパク質のチオール化されたリジン残基のチオール部分およびこれらの組み合わせからなる群より選択されるタンパク質のチオール部分に抱合されており、前記マレイミド - PEGは、所望により、構造(VIII)を有する、ニトロキシル化されたタンパク質：

【化3】



[式中、

Zは、前記タンパク質を表し、

Sは、前記タンパク質のチオールであり、

R₃は、アルキレンまたはフェニレン基であり、

Xは、末端基であり、

mは、前記タンパク質に抱合された活性化されたPEG重合体の平均数であり、および

nは、約2,000～約20,000ダルトンの平均分子量を有するPEGのオキシエチレンユニットの平均数を表す]。

【請求項9】

R₃は、エチレンであり；

mは、約6～約10であり；

Xは、メトキシ(-OCH₃)またはカルボキシレート(-COOH)であり；

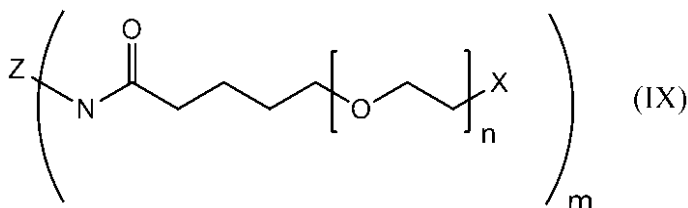
前記マレイミド - PEGは、ヘモグロビン - サブユニットのシステイン - 93残基のチオール部分に抱合されており；および/または

前記マレイミド - PEGは、ヘモグロビン - サブユニットまたは - サブユニットのチオール化されたリジン残基のチオール部分に抱合され、前記チオール化されたリジン残基は、所望により、リジン - 7、リジン - 11、リジン - 16、リジン - 40、リジン - 56、リジン - 60、リジン - 61、リジン - 90、リジン - 99、リジン - 127、リジン - 139およびこれらの組み合わせからなる群より選択されるヒトヘモグロビン - サブユニットのチオール化されたリジン残基、またはリジン - 8、リジン - 17、リジン - 59、リジン - 61、リジン - 65、リジン - 66、リジン - 82、リジン - 95、リジン - 120、リジン - 132、リジン - 144およびこれらの組み合わせからなる群より選択されるヒトヘモグロビン - サブユニットのチオール化されたリジン残基である、請求項8に記載のニトロキシル化されたタンパク質。

【請求項10】

前記PEGは、スクシンイミジルバレートPEG(SVA-PEG)であり、前記SVA-PEGは、前記タンパク質のリジン残基の - アミノ部分、前記タンパク質の末端バリン残基の - アミノ部分またはこれらの組み合わせから選択されるタンパク質のアミノ部分に抱合されており、前記SVA-PEGは、所望により、構造(IX)を有する、請求項7に記載のニトロキシル化されたタンパク質；

【化4】



[式中、

Zは、前記タンパク質であり、

Nは、前記タンパク質のアミノ基であり、
Xは、末端基であり、
mは、タンパク質に抱合された活性化されたPEG重合体の数であり、および
nは、約2,000～約20,000ダルトンの平均分子量を有するPEGのオキシエチレンユニットの平均数である]。

【請求項11】

Xは、メトキシ(-OCH₃)またはカルボキシレート(-COOH)であり、
ニトロキシル化されたタンパク質は、ヘモグロビン四量体を含み、mは、平均で四量体あたり約6～約10PAO分子であり、
前記SVA-PEGは、ヘモグロビン - サブユニットまたは - サブユニットのリジン残基の - アミノ部分に抱合され、前記リジン残基は、所望により、リジン - 7、リジン - 11、リジン - 16、リジン - 40、リジン - 56、リジン - 60、リジン - 61、リジン - 90、リジン - 99、リジン - 127、リジン - 139およびこれらの組み合わせからなる群より選択されるヒトヘモグロビン - サブユニットのリジン残基、またはリジン - 8、リジン - 17、リジン - 59、リジン - 61、リジン - 65、リジン - 66、リジン - 82、リジン - 95、リジン - 120、リジン - 132、リジン - 144およびこれらの組み合わせからなる群より選択されるヒトヘモグロビン - サブユニットのリジン残基であり、および/または
前記SVA-PEGは、ヘモグロビン - サブユニットまたは - サブユニットの末端バリン残基の - アミノ部分に抱合されている、
請求項10に記載のニトロキシル化されたタンパク質。

【請求項12】

請求項5～11の少なくとも1つの - サブユニットおよび/または請求項5～11の少なくとも1つの - サブユニットを含むヘモグロビン四量体であって、
前記ヘモグロビンは、所望により、平均で四量体あたり5～10PAO分子に抱合されており、および/または
前記ヘモグロビンは、酸素化される、脱酸素化される、またはCO、NOまたはCOおよびNOの混合物とリガンド結合している、
ヘモグロビン四量体。

【請求項13】

請求項1および3～11のいずれか1項に記載のニトロキシル化されたタンパク質または請求項12に記載のヘモグロビン四量体および薬学的に許容される担体を含む医薬組成物であって、
前記組成物は、血液で正常腫脹性であるか、または血液と比較して過剰腫脹性であり、
前記薬学的に許容される担体は、水性希釈剤を含み、
前記薬学的に許容される担体は、生理食塩水、生理食塩水 - グルコース混合物、Ringier液、乳酸Ringier液、Locke-Ringier液、Krebs-Ringier液、Hartmannの平衡生理食塩水、ヘパリン処置したクエン酸ナトリウム - クエン酸 - デキストロス溶液、アセテート溶液、複数の電解質溶液、ラクトビオナート溶液および重合体の代用血漿またはこれらの組み合わせを含み、および/または
前記薬学的に許容される担体は、充填剤、塩、生理緩衝液、炭水化物、アルコール、ポリアルコール、抗酸化剤、抗バクテリア薬剤、コロイド浸透圧薬剤、還元薬剤またはこれらの組み合わせを含む、
医薬組成物。

【請求項14】

前記水性希釈剤は、コロイドの水性溶液または非酸素運搬成分の水性溶液を含み、
前記水性希釈剤は、水性無細胞溶液(所望によりアルブミンの水性無細胞溶液)を含み、
前記水性希釈剤は、タンパク質の水性溶液、糖タンパク質の水性溶液、多糖の水性溶液またはこれらの組み合わせを含み、
前記重合体の代用血漿は、ポリエチレンオキシド、ポリビニルピロリドン、ポリビニルア

ルコール、エチレンオキシド - プロピレングリコール凝縮物またはこれらの組み合わせを
含み；および/または

前記還元剤は、アスコルビン酸、グルタチオン、N - アセチルシステインまたはこれらの
組み合わせを含む、

請求項 1 3 に記載の医薬組成物。

【請求項 1 5】

急性肝不全、ベータ地中海貧血症、火傷、慢性重篤な肢虚血、二酸化炭素またはシアン
化物中毒、慢性閉塞性肺疾患（COPD）、鬱血性心不全、低酸素症、マラリア、器官虚
血（所望により急性腸虚血（捻転）、急性腸虚血（塞栓症）、心臓性ショック、急性血管
器官虚血、脳卒中、心筋梗塞または重篤な心虚血を含む）、末梢血管疾患、ポルフィリン
症、妊娠における子癩前症、敗血症、鎌状赤血球症、網膜疾患、内部眼球条件、睾丸捻転
、外傷、ショック、外傷脳損傷、潰瘍、血管攣縮またはこれらの組み合わせの治療におけ
る使用のための；

非外傷性出血ショック、入院前の環境の外傷、外傷性出血ショック、急性肺傷害、急性呼
吸不全症候群、外傷性脳損傷、脳卒中、固形腫瘍癌、器官分解（エキソピボで）、器官分
解（レシピエントにおいて）、重篤な敗血症、敗血症性ショック、心筋梗塞、心虚血、心
臓性ショック、急性心不全、肺動脈塞栓症またはこれらの組み合わせの治療における使用
のための；

血管形成術に対する補助として、形成手術のための補助剤として、または補助人工心臓を
植設する際の補助剤として；代用血液、心臓保護剤、凍結保存剤、血液透析補助剤、腫瘍
学的薬剤、器官保存剤、性能増強剤、外科手術補助剤または創傷治癒薬剤として；イメー
ジングにおいて；肺機能を改善するため；またはこれらの組み合わせとしての使用のため
の；または

傷害、溶血性貧血、感染性貧血、細菌感染、第Ⅴ因子断片化、過剰脾臓化および巨脾、
家禽における出血症候群、形成不全性貧血、無形成性貧血、特発性免疫溶血性状態、鉄欠
損症、イソ免疫性溶血性貧血、細血管障害性溶血性貧血、寄生または外科的麻酔で誘導さ
れる脳外傷による血液の喪失の獣医学的治療における使用のための、

請求項 1 3 または 1 4 に記載の医薬組成物。