

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-549126

(P2023-549126A)

(43)公表日 令和5年11月22日(2023.11.22)

(51)国際特許分類		F I		テーマコード (参考)	
A 6 1 K	38/10 (2006.01)	A 6 1 K	38/10	4 C 0 7 6	
A 6 1 P	37/08 (2006.01)	A 6 1 P	37/08	4 C 0 8 4	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	4 H 0 4 5	
A 6 1 K	9/10 (2006.01)	A 6 1 K	9/10		
A 6 1 K	9/107(2006.01)	A 6 1 K	9/107		
		審査請求	未請求	予備審査請求	未請求 (全40頁) 最終頁に続く
(21)出願番号	特願2023-527357(P2023-527357)	(71)出願人	523117373		
(86)(22)出願日	令和3年11月3日(2021.11.3)		リアルタ ライフ サイエンシズ インコ		
(85)翻訳文提出日	令和5年6月8日(2023.6.8)		ーポレイテッド		
(86)国際出願番号	PCT/US2021/057802		アメリカ合衆国 2 3 5 0 2 バージニア		
(87)国際公開番号	WO2022/098682		州 ノーフォーク ローリー ロード 5 6		
(87)国際公開日	令和4年5月12日(2022.5.12)		6 5 # 1 0 0		
(31)優先権主張番号	63/111,367	(74)代理人	100102978		
(32)優先日	令和2年11月9日(2020.11.9)		弁理士 清水 初志		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100205707		
			弁理士 小寺 秀紀		
(81)指定国・地域	AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA	(74)代理人	100160923		
	,RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(		弁理士 山口 裕孝		
	AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,A	(74)代理人	100119507		
	T,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR		弁理士 刑部 俊		
	,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,	(74)代理人	100142929		
	最終頁に続く				最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ペプチド製剤および使用方法

(57)【要約】

本発明は合成ペプチドを提供する。本発明は、ヒトアストロウイルスタンパク質に由来するスクランブルペプチドである極性アソータント (Assortant) (PA) ペプチドからの15アミノ酸の合成ペプチドの修飾に関する。いくつかの態様では、本発明は、脂質ベースの製剤および静脈内投与に適した製剤を含む、ペプチドの薬学的製剤に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

SEQ ID NO:3の治療的に有効な量および脂質ベースの担体を含む、組成物。

【請求項 2】

前記脂質ベースの担体が脂質ミセルを含む、請求項1記載の組成物。

【請求項 3】

前記脂質ベースの担体が脂質乳剤を含む、請求項1または2記載の組成物。

【請求項 4】

前記脂質ベースの担体が約10% w/v～約20% w/vの量で存在する、請求項3記載の組成物。

10

【請求項 5】

SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3の治療的に有効な量および少なくとも1つの賦形剤を含む、組成物。

【請求項 6】

前記少なくとも1つの賦形剤が静脈内投与に適している、請求項5記載の組成物。

【請求項 7】

前記少なくとも1つの賦形剤が、クエン酸、アスコルビン酸、アミノ酸、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、請求項5または6記載の組成物。

【請求項 8】

前記クエン酸がクエン酸ナトリウムを含む、請求項7記載の組成物。

20

【請求項 9】

前記クエン酸が約1% w/v～約5% w/vの量で存在する、請求項8記載の組成物。

【請求項 10】

前記アスコルビン酸がアスコルビン酸ナトリウムを含む、請求項7記載の組成物。

【請求項 11】

前記アスコルビン酸が約1% w/v～約5% w/vの量で存在する、請求項10記載の組成物。

【請求項 12】

前記アミノ酸がL-メチオニンを含む、請求項7記載の組成物。

【請求項 13】

前記アミノ酸が約0.01% w/v～約5% w/vの量で存在する、請求項12記載の組成物。

30

【請求項 14】

SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3が、体重キログラムあたり約0.001～約200ミリグラム (mg/kg) の量で存在する、請求項1～13のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 15】

SEQ ID NO:2および／またはSEQ ID NO:3が、約5～約160 mg/kgの量で存在する、請求項1～14のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 16】

SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3が、約1 mg/ml～約100 mg/mlの量で存在する、請求項1～13のいずれか一項記載の組成物。

40

【請求項 17】

SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3が、約10 mg/ml～約80 mg/mlの量で存在する、請求項1～13のいずれか一項記載の組成物。

【請求項 18】

請求項1～17のいずれか一項記載の組成物を、その必要がある対象に投与する段階を含む、サイトカイン発現を変化させる方法。

【請求項 19】

前記投与が非経口投与を含む、請求項18記載の方法。

【請求項 20】

前記投与が静脈内投与を含む、請求項18または19記載の方法。

50

【請求項 21】

請求項1～17のいずれか一項記載の組成物を、その必要がある対象に投与する段階を含む、疾患または状態を処置または防止する方法。

【請求項 22】

前記投与が非経口投与を含む、請求項21記載の方法。

【請求項 23】

前記投与が静脈内投与を含む、請求項21または22記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

10

関連出願の相互参照

本出願は、2020年11月9日に出版された米国仮出願第63/111,367号に対して優先権を主張し、この開示は、参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

【0002】

配列表

本出願は、ASCIIフォーマットで電子的に提出され、その全体が参照により本明細書に組み入れられる配列表を含む。該ASCIIコピーは2021年10月25日に作成され、251110_000157_SL.txtと名付けられ、1,169バイトのサイズである。

【0003】

1. 発明の分野

20

本発明の態様は、一般に、療法および診断のための合成ペプチドおよびその使用に関し、より具体的には、脂質ベース製剤および静脈内投与に適する製剤を含む該ペプチドの薬学的製剤に関する。

【背景技術】

【0004】

2. 背景

補体系

自然免疫系の必須の成分である補体系は、侵入する病原体に対する防御機構として重要な役割を果たし、適応免疫応答を刺激し、免疫複合体およびアポトーシス細胞を除去するのを助ける。以下の3つの異なる経路が補体系を含む：古典的経路、レクチン経路、および代替経路。C1qおよびマンノース結合レクチン（MBL）は、それぞれ、古典的経路およびレクチン経路の構造的に関連した認識分子である。IgMまたはクラスター化IgGはC1qに対する主なリガンドとして働くが、MBLはマンナンなどの多糖を認識する。C1qおよびMBLによるリガンド結合はC4およびC2の連続的活性化をもたらして、それぞれ、古典的経路およびレクチン経路のC3コンバーターを形成する。これに対して、代替経路の活性化は認識分子を必要としないが、古典的経路またはレクチン経路によって惹起されるC3活性化を増幅することができる。これらの3つの経路のいずれかの活性化は、炎症性メディエーター（C3aおよびC5a）ならびに細胞溶解を引き起こす膜攻撃複合体（MAC）の形成をもたらす。

30

【0005】

40

補体系は多くの保護的免疫機能で重要な役割を果たす一方で、補体活性化は、幅広い自己免疫性疾患および炎症性疾患のプロセスにおいて、組織損傷の重要なメディエーターである（Ricklin and Lambris, 「Complement-targeted therapeutics.」 Nat Biotechnol 2007; 25(11):1265-75（非特許文献1））。

【0006】

天然に存在するペプチドは、神経伝達物質、ホルモン、増殖因子、および抗菌剤の形態で、ヒト生物学において重要な生理的役割を果たす、必須のシグナル伝達分子である[1]。これらの固有の特異性および効率的な特性を考慮すれば、このクラスの分子は、様々な疾患徴候のためのヒト治療剤としてかなりの注目を受けており、2018年3月の時点で、米国、ヨーロッパ、および／または日本において60種より多くが治療的使用のために

50

承認されており、現在155種が臨床開発中である[2]。ペプチドの有利な特性によって、しばしば毒性およびオフターゲット効果に悩まされる小分子（＜500Da）と比べて、かなりの利点が提供される。さらに、ヒト化モノクローナル抗体などの大きなタンパク質ベースの分子と比較して、ペプチドは、典型的には、低費用の製造を享受し、多くの場合で、化学的に合成することができ、したがって、費用がかかり、複雑な生成および精製を回避することができる。しばしば、天然に存在するペプチドは、化学的および物理的安定性が最適以下であること、ならびに薬物動態（半減期）が不十分であることが理由で、治療的使用に直接移すことができない。したがって、ヒト投与に適した、より新薬の開発につながるような分子にペプチドを合理的に設計するためのいくつかの技術的アプローチが頻繁に用いられる。

10

【0007】

補体調節因子が必要とされている。一方では、補体系は病原性生物に対するきわめて重要な宿主防御である。他方では、その抑制されていない活性化は壊滅的な宿主細胞損傷を引き起こし得る。現在、全身性エリテマトーデス、重症筋無力症、および多発性硬化症などの自己免疫疾患を含めた多くの疾患プロセスにおける補体調節不全と関連する公知の罹患率および死亡率にもかかわらず、ヒトにおける使用について以下の2つの抗補体療法しか最近承認されていない：発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）および非典型溶血性尿毒症症候群（aHUS）の処置で使用されているC5に対する2つのヒト化長時間作用型モノクローナル抗体である、（1）エクリズマブ（Soliris（商標））および（2）ユルトミリス（Ravulizumab（商標））。PNHおよびaHUSは、非常に少数の人だけが苦しんでいる奇病である。現在、調節不全になった補体活性化が中心的役割を果たすより一般的な疾患プロセスについて承認されている補体調節因子はない。調節不全になった補体活性化は、慢性疾患徴候と急性疾患徴候の両方で役割を果たし得る。

20

【0008】

補体系の古典的経路、レクチン経路、および代替経路を阻害するためのペプチドの開発が必要とされ、なぜならば、これらの3つの経路のそれぞれが、多数の自己免疫性疾患および炎症性疾患のプロセスに寄与することが示されているからである。古典的経路およびレクチン経路の特異的な遮断が特に必要とされ、なぜならば、これらの経路の両方が多くの動物モデルにおける他の疾患の中でも虚血再灌流誘導性傷害に関与しているからである。代替経路欠損を有するヒトは、重症の細菌感染症を患う。したがって、機能的代替経路が、侵入する病原体に対する免疫監視に必須である。

30

【0009】

本発明者らは、PIC1（EPICCCペプチドとも称される）として公知であるペプチドの新規なファミリーを特定した。PIC1ペプチドは、補体の古典的経路の阻害、ミエロペルオキシダーゼ（MPO）阻害、好中球細胞外トラップ（NET）阻害、ならびに固有の抗酸化活性および抗菌活性を含めて、複数の抗炎症特性を持つ[3～8]。PIC1ペプチドの前駆体は、ヒト乳児において胃腸炎を引き起こす風土病の病原体である無エンベロープ正20面体RNAウイルス[9]であるヒトアストロウイルスタイプ1の787アミノ酸のカプシドタンパク質配列が、補体の古典的経路の活性化を阻害することができるという発見に最初に基づいていた[10]。

40

【0010】

PIC1/EPICCC分子ファミリーは、補体の古典的経路の阻害、ミエロペルオキシダーゼ阻害、好中球細胞外トラップ阻害、および抗酸化活性を含めたいくつかの抗炎症性機能特性を有する、合理的に設計されたペプチドのコレクションを含む。元のPIC1ペプチドは、スクランブル化されたアストロウイルスコートタンパク質に由来する、15アミノ酸ペプチド配列

IALILEPICCQERAA (SEQ ID NO: 1)

である。元のPIC1ペプチドは、C末端の単分散24merペグ化部分で修飾されており、(IALILEPICCQERAA-dPEG24; PA-dPEG24; SEQ ID NO: 2)

50

、これはその水溶解度を高める。SEQ ID NO:2のサルコシン置換スキャンによって、8位のイソロイシンのサルコシンとの置き換えが、ペグ化なしで水溶性であるペプチド IALILEP(Sar)CCQERAA (PA-I8Sar; SEQ ID NO: 3)

をもたらすことが明らかになった（米国特許第10,005,818号（特許文献1）に記載されている通り）。溶解度の研究によって、PA-I8Sarペプチドは両親媒性であることが示された。脂質ベースの製剤および静脈内投与に適した製剤を含めて、PA-I8Sarペプチドの様々な製剤が開発された。静脈内投与に適した製剤を含めて、PA-dPEG24の様々な製剤も開発された。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0011】

【特許文献1】米国特許第10,005,818号

【非特許文献】

【0012】

【非特許文献1】Ricklin and Lambris, 「Complement-targeted therapeutics .」 Nat Biotechnol 2007; 25(11):1265-75

【発明の概要】

【0013】

発明の簡単な概要

背景セクションで明記したように、補体系の異なる経路のペプチドベースの阻害剤のための技術を特定すること、および新規な治療用ペプチドを開発するためにこの知識を使用することが、当技術分野において大いに必要である。本発明は、この必要性および他の必要性を満たす。本発明の態様は、一般に合成ペプチド、より具体的には、例えば、限定ではなく、合成ペプチド、特に、脂質ミセル中に存在するかまたは脂質ミセルと会合しているペプチドの脂質ベースの製剤、および静脈内投与に適している製剤を含めて、合成ペプチドの薬学的に有用な製剤に関する。

【0014】

一局面では、本発明は、SEQ ID NO:3の治療的に有効な量および脂質ベースの担体を含む組成物を提供する。いくつかの態様では、脂質ベースの担体は脂質ミセルを含む。いくつかの態様では、脂質ベースの担体は脂質乳剤、例えば、Intralipid（登録商標）担体を含む。いくつかの態様では、Intralipid（登録商標）担体は約10% w/v～約20% w/vの量で存在する。

【0015】

関連した局面では、本発明は、SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3の治療的に有効な量および少なくとも1つの賦形剤を含む組成物を提供する。いくつかの態様では、少なくとも1つの賦形剤は静脈内投与に適している。いくつかの態様では、少なくとも1つの賦形剤は、クエン酸、アスコルビン酸、アミノ酸、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される。いくつかの態様では、クエン酸はクエン酸ナトリウムを含む。いくつかの態様では、クエン酸は約1% w/v～約5% w/vの量で存在する。いくつかの態様では、アスコルビン酸はアスコルビン酸ナトリウムを含む。いくつかの態様では、アスコルビン酸は約1% w/v～約5% w/vの量で存在する。いくつかの態様では、アミノ酸はL-メチオニンを含む。いくつかの態様では、アミノ酸は約0.01% w/v～約5% w/vの量で存在する。

【0016】

本明細書において記載される組成物のいずれかのいくつかの態様では、SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3は体重キログラムあたり約0.001～約200ミリグラム（mg/kg）の量で存在する。本明細書において記載される組成物のいずれかのいくつかの態様では、SEQ ID NO:2および／またはSEQ ID NO:3は約5～約160mg/kgの量で存在する。本明細書において記載される組成物のいずれかのいくつかの態様では、SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3は約1mg/ml～約100mg/mlの量で存在する。本明細書において記載

10

20

30

40

50

される組成物のいずれかのいくつかの態様では、SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3は約10mg/ml～約80mg/mlの量で存在する。

【0017】

関連した局面では、本発明は、本明細書において記載される組成物のいずれかを、その必要がある対象に投与する段階を含む、サイトカイン発現を変化させる方法を提供する。いくつかの態様では、投与は非経口投与を含む。いくつかの態様では、投与は静脈内投与を含む。

【0018】

関連した局面では、本発明は、本明細書において記載される組成物のいずれかを、その必要がある対象に投与する段階を含む、疾患または状態を処置または防止する方法を提供する。いくつかの態様では、投与は非経口投与を含む。いくつかの態様では、投与は静脈内投与を含む。

10

【0019】

本発明のこれらのおよび他の目的、特徴および利点は、添付の説明、特許請求の範囲、および図面とともに以下の明細書を読めばより明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0020】

本明細書に組み込まれ、本明細書の一部を構成する添付の図は、以下に記載のいくつかの局面を図示する。

【図1】図1は、Intralipid（登録商標）中で製剤化されたPA-I8Sar（本明細書において、RLS-0088とも称される）（該製剤化されたPA-I8Sarは、本明細書において、lipo-RLS-0088とも称される）が、ヒスチジン緩衝液中で製剤化されたRLS-0088と同程度まで補体活性化を阻害したことを示す。値は、GVBS⁺⁺緩衝液中のヒトO血清およびA B赤血球からなる陽性対照のパーセントとして表す。示されるデータは、n=4の平均値±平均値の標準誤差である。

20

【図2】図2A～2Bは、lipo-RLS-0088の静脈内（IV）投与が、RLS-0088と比較して、経時的に、より高い機能性で補体活性化を阻害したことを示す。留置頸静脈カテーテルを有する雄のウィスターラットにIntralipid（登録商標）中の200mg/kgのRLS-0088または200mg/kgの化合物でのヒスチジン緩衝液のRLS-0088を単回ボラスIV注入として投与した。注入後の様々な時点（0.5、2、5、60、120、および240分）で、血液の一定分量を採り、血漿を単離し、解析まで-70℃で凍結した。次いで、C1q結合アッセイを行った。図2Aは、Y軸の最大値が6mg/ml RLS-0088である、C1q結合アッセイの結果を示し、一方で、図2Bは、Y軸の最大値が0.8mg/ml RLS-0088である、同じ結果を示す。

30

【図3】図3A～3Bは、ABO不適合性CH50タイプアッセイにおけるRLS-0071（3A）およびRLS-0088（3B）の溶血活性の阻害に対する異なる賦形剤の効果を示す。データは、n=3の独立の実験の平均値+SEMである。

【図4】図4は様々なRLS-0088製剤の外観を示し、Fは凍結融解した製剤を示し、Lは凍結乾燥した製剤を示す。

【図5】図5は、様々なRLS-0071製剤の外観を示し、Fは凍結融解した製剤を示し、Lは凍結乾燥した製剤を示す。

40

【発明を実施するための形態】

【0021】

発明の詳細な説明

背景セクションで明記したように、補体系の異なる経路のペプチドベースの阻害剤のための技術を特定すること、および新規な治療用ペプチドを開発するためにこの知識を使用することが、当技術分野において大いに必要である。本発明は、この必要性および他の必要性を満たす。本発明の態様は、一般に合成ペプチド、より具体的には、例えば、限定ではなく、合成ペプチド、特に、脂質ミセル中に存在するペプチドの脂質ベースの製剤、および静脈内投与に適している製剤を含めて、合成ペプチドの薬学的に有用な製剤に関する

50

。

【0022】

本発明の様々な態様の原理および特色を理解しやすくするために、様々な例示となる態様を以下で説明する。本発明の例示的な態様を詳細に説明するが、他の態様が企図されることを理解されたい。したがって、本発明が以下の説明または例で記載される成分の構成および配置の詳細にその範囲が限定されることは意図されない。本発明は、他の態様が可能であり、様々な方法で実施または実行することができる。さらに、例示的な態様の説明において、明確さのために特定の術語を用いる。

【0023】

本明細書および添付の特許請求の範囲で使用する場合、単数形「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」は、文脈において別段明記しない限り、複数形の言及を含むことにも留意しなければならない。例えば、1つの成分への言及は、複数の成分の組成物を含むことも意図される。「1つの(a)」構成成分を含む組成物への言及は、指定されたものに加えて、他の構成成分を含むことが意図される。換言すれば、用語「1つの(a)」、「1つの(an)」、および「その(the)」は、分量の限定を表すのではなく、言及された項目の「少なくとも1つ」の存在を表す。

【0024】

本明細書において使用する場合、用語「および／または」は、「および」を意味することができ、「または」を意味することができ、「排他的なまたは」を意味することができ、「1つ」を意味することができ、「すべてではないがいくつか」を意味することができ、「どちらも～でない」意味することができ、かつ／またはこれは「両方」を意味することができる。用語「または」は、包括的「または」を意味することが意図される。

【0025】

さらに、例示的な態様の説明において、明確さのために術語を用いる。各用語は、当業者によって理解されるその最も広い意味を企図し、同様の目的を達成するために同様な方法で作動するすべての技術的均等物を含むことが意図される。開示される技術の態様は、これらの具体的な詳細なしで実施することができることを理解されたい。他の場合では、この説明の理解を不明瞭にしないために、周知の方法、構造、および技法は詳細に示されていない。「一態様(one embodiment)」、「ある態様」、「実例態様」、「いくつかの態様」、「ある特定の態様」、「様々な態様」などへの言及は、そのように記載された開示される技術の態様が、特定の特色、構造、または特徴を含むことができるが、すべての態様が特定の特色、構造、または特徴を必ずしも含むとは限らないことを示す。さらに、フレーズ「一態様では」の反復使用は、必ずしも同じ態様を指すとは限らないが、その可能性もある。

【0026】

本明細書において使用する場合、用語「約」は、任意の範囲の終点として指定された数の両方を指すと解釈されるべきである。範囲へのいかなる言及も範囲内の任意のサブセットを支持するとして考慮されるべきである。範囲は、本明細書において、「約」もしくは「およそ」もしくは「実質的に」ある特定の値から、および／または「約」もしくは「およそ」もしくは「実質的に」別の特定の値までとして表すことができる。そのような範囲が表される場合、他の例示的な態様は、ある特定の値から、および／または他の特定の値までを含む。さらに、用語「約」は、当業者によって決定された特定の値に対して許容誤差範囲内であることを意味し、これは、どのように値が測定または決定されるか、すなわち、測定システムの制限に部分的に依存すると考えられる。例えば、「約」は、当技術分野における慣例に従って、許容される標準偏差以内を意味し得る。あるいは、「約」は、所与の値の±20%まで、好ましくは±10%まで、より好ましくは±5%まで、より好ましくはさらに±1%までの範囲を意味し得る。あるいは、特に生物学的システムまたはプロセスについて、本用語は、値の1桁以内、好ましくは2倍以内を意味し得る。本出願および特許請求の範囲で特定の値が記載されている場合、別段の記載がない限り、用語「約」は暗黙的であり、この文脈において、特定の値に対して許容誤差範囲内であることを意味

する。

【0027】

本開示の全体を通して、本発明の様々な局面が範囲型式で提示され得る。範囲型式での説明は単に便宜および簡潔さのためであり、本発明の範囲に対する柔軟性のない限定として解釈されるべきでないことを理解されたい。したがって、範囲の説明は、範囲内のすべての可能性のある部分範囲および個々の数値を具体的に開示したと考慮されるべきである。例えば、1～6のような範囲の説明は、1～3、1～4、1～5、2～4、2～6、3～6などのような部分範囲、ならびに範囲内の個々の数、例えば、1、2、2.7、3、4、5、5.3、および6を具体的に開示したと考慮されるべきである。これは、範囲の幅にかかわらず適用される。

10

【0028】

同様に、本明細書において使用する場合、何かが「実質的にない」または「実質的に純粋である」などの特徴づけは、何かが「少なくとも実質的にない」または「少なくとも実質的に純粋である」ことと何かが「完全にない」または「完全に純粋である」ことの両方を含むことができる。

【0029】

「含む (comprising)」または「含む (containing)」または「含む (including)」は、少なくとも指定された化合物、要素、粒子、または方法工程が組成物または物品または方法中に存在することを意味し、他の化合物、材料、粒子、方法工程の存在を除外せず、これは、他のそのような化合物、材料、粒子、方法工程が指定されたものと同じ機能を有する場合でさえもである。

20

【0030】

本説明の全体を通して、特定の値またはパラメーターを有する様々な成分が特定され得るが、これらの項目は例示的な態様として提供される。実際に、例示的な態様は、多くの匹敵するパラメーター、サイズ、範囲、および／または値が実施され得るので、本発明の様々な局面および概念を限定しない。用語「第1の」、「第2の」など、「一次の」、「二次の」などは任意の順序、分量、または重要性を表すのではなく、むしろ、ある要素を別の要素と区別するために使用される。

【0031】

「特に」、「好ましくは」、「典型的には」、「一般に」、および「しばしば」のような用語は、主張される発明の範囲を限定するためには、またはある特定の特色が、主張される発明の構造または機能にとって決定的である、必須である、またはさらに重要であることを暗示するためには、本明細書において利用されないことに留意されたい。むしろ、これらの用語は、本発明の特定の態様で利用することができるかまたはできない代替のまたはさらなる特色を単に強調することが意図される。「実質的に」および「約」のような用語は、任意の定量的比較、値、測定、または他の表現に起因し得る不確実性の固有の程度を示すために本明細書において利用されることにも留意されたい。

30

【0032】

本明細書において開示される寸法および値は、列挙される正確な数値に厳密に限定されると理解されるべきでない。代わりに、別段の指定がない限り、そのような各寸法は、列挙される値とその値の周囲の機能的に同等な範囲の両方を意味することが意図される。例えば、「50 mm」と開示される寸法は、「約50 mm」を意味することが意図される。

40

【0033】

1つまたは複数の方法工程の言及は、明白に特定されるそれらの工程の間のさらなる方法工程または介在する方法工程の存在を妨げないことも理解されたい。同様に、組成物中の1つまたは複数の成分の言及は、明白に特定されるもの以外のさらなる成分の存在を妨げないことも理解されたい。

【0034】

本発明の様々な要素を構成するものとして以下に記載される材料は、例示的であり、限定的でないことが意図される。本明細書に記載される材料と同じまたは同様の機能を果た

50

すであろう多くの適切な材料は、本発明の範囲内に包含されることが意図される。本明細書に記載されていないそのような他の材料としては、限定されないが、例えば、本発明の開発時後に開発された材料を挙げることができる。様々な図面に列挙されるいかなる寸法も例示目的のためのみであり、限定を意図したものではない。他の寸法および比率が企図され、本発明の範囲内に含まれることが意図される。

【0035】

本明細書において使用する場合、用語「対象」または「患者」は、哺乳動物を指し、非限定的に、ヒトおよび家畜（veterinary）動物を含む。好ましい態様では、対象はヒトである。

【0036】

本明細書において使用する場合、主張される発明による合成ペプチドと少なくとも1つの第2の薬学的活性成分の「組み合わせ」という用語は、化合物の少なくとも2つの、しかし任意の望ましい組み合わせが、同時にまたは連続して（例えば、24時間以内に）送達されることを意味する。様々な疾患を処置するために使用される場合に、本発明の組成物および方法は、同じまたは同様の疾患に適した他の治療的方法／剤とともに利用可能であることが企図される。そのような他の治療的方法／剤は、相加的または相乗的效果を引き起こすために、（同時にまたは連続して）共投与することができる。相加作用または相乗作用の理由から、各剤についての適切な治療的に有効な投薬量を下げることができる。

【0037】

「疾患」は、対象が恒常性を維持することができず、疾患が改善しない場合、対象の健康が悪化し続ける、対象の健康状況である。これに対して、対象の「障害」は、対象が恒常性を維持することができるが、対象の健康状況が障害がない場合よりも好ましくない健康状況である。未処置のままでも、障害は、対象の健康状況のさらなる低下を引き起こすとは限らない。

【0038】

状況、障害、もしくは状態を「処置する」または状況、障害、もしくは状態の「処置」という用語は、以下を含む：(1)状況、障害、もしくは状態に罹患しているか、またはそれらに罹りやすい可能性があるが、状況、障害、または状態の臨床的または準臨床的症状をまだ経験しておらず、呈してもいない対象で発生している状況、障害、または状態の少なくとも1つの臨床的または準臨床的症状の出現を防止するかまたは遅延させること；あるいは(2)状況、障害、または状態を阻害すること、すなわち、疾患の発生もしくはその再発（維持処置の場合）またはその少なくとも1つの臨床的もしくは準臨床的症状を停止させる、低減させる、または遅延させること；あるいは(3)疾患を軽減すること、すなわち、状況、障害、もしくは状態、またはその臨床的もしくは準臨床的症状の少なくとも1つの退行を引き起こすこと。処置される対象への恩恵は、統計学的に有意であるか、または患者もしくは医師に少なくとも認知されるかのいずれかである。

【0039】

本明細書において使用する場合、用語「治療的」は、処置および／または予防を意味する。治療効果は、疾患状況の抑制、縮小、寛解、または根絶によって得られる。

【0040】

本明細書において使用する場合、用量または量に適用される用語「治療的に有効な」は、状況、障害、または状態を処置する（例えば、防止するまたは改善する）ために対象に投与される場合に、そのような処置をもたらすのに十分である、化合物または薬学的組成物の分量を指す。「治療的に有効な量」は、投与される化合物または細菌または類似体、ならびに疾患およびその重症度ならびに治療される哺乳動物の年齢、体重、体調、および応答性に応じて変動すると考えられる。

【0041】

本発明の組成物に関連して使用する場合、フレーズ「薬学的に許容される」は、生理的に忍容可能であり、典型的には、哺乳動物（例えばヒト）に投与される場合に有害な反応をもたらさない、そのような組成物の分子実体および他の成分を指す。好ましくは、本明

10

20

30

40

50

細書において使用する場合、用語「薬学的に許容される」は、哺乳動物、より詳細にはヒトでの使用について、連邦もしくは州政府の規制当局に承認されていること、または米国薬局方もしくは他の一般に認められる薬局方に収載されていることを意味する。

【0042】

用語「薬学的担体」または「薬学的に許容される担体」は、化合物と一緒に投与される希釈剤、補助剤、賦形剤、またはビヒクルを指す。そのような薬学的担体は、無菌の液体、例えば、水および油、例えば、石油、動物、野菜、または合成起源のもの、例えば、ピーナッツ油、ダイズ油、鉱物油、ゴマ油などであってもよい。水または水溶液食塩水および水性デキストロスおよびグリセロール溶液が、特に注射用溶液のために、担体として好ましくは用いられる。あるいは、薬学的担体は、限定されないが、結合剤（圧縮丸剤用）、流動促進剤、カプセル化剤、風味剤、および着色剤の1つまたは複数を含めた、固形剤形の担体であってもよい。適切な薬学的担体は、E.W. Martinによる「Remington's Pharmaceutical Sciences」に記載されている。

【0043】

用語「類似体」または「機能的類似体」は、該類似体がインビボおよび／またはインビトロで非修飾形態と実質的に同じ生物活性を保持するように少なくとも1つのアミノ酸置換、欠失、または付加が行われた、ポリペプチドの関連した修飾形態を指す。

【0044】

用語「配列同一性」と「同一性パーセント」は、本明細書において互換的に使用される。本発明において、2つのアミノ酸配列または2つの核酸配列の同一性パーセントを決定するために、最適な比較目的のために配列を整列させる（例えば、第2のアミノ酸配列または核酸配列との最適な整列化のために、第1のアミノ酸または核酸の配列中にギャップを導入することができる）ことが本明細書において定義される。対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置のアミノ酸残基またはヌクレオチド残基を次いで比較する。第1の配列中のある位置が、第2の配列中の対応する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチド残基で占められる場合、分子はその位置で同一である。2つの配列の間の同一性パーセントは、これらの配列に共通である同一の位置の数の関数（すなわち、同一性% = 同一の位置の数 / 位置の総数（すなわち、重複する位置）× 100）である。好ましくは、2つの配列は同じ長さである。

【0045】

2つの配列の間の同一性を決定するために、いくつかの異なるコンピュータプログラムが利用可能である。例えば、2つの配列の間の配列の比較および同一性パーセントの決定は、数学的アルゴリズムを使用して達成することができる。好ましい態様では、2つのアミノ酸配列または核酸配列の間の同一性パーセントは、Accelrys GCGソフトウェアパッケージ（www.accelrys.com/products/gcgで入手可能）のGAPプログラムに組み込まれているNeedleman and Wunsch (J. Mol. Biol. (48): 444-453 (1970)) のアルゴリズムを使用して、Blosum 62行列またはPAM250行列のいずれか、ならびに16、14、12、10、8、6、または4のギャップの重み（gap weight）、および1、2、3、4、5、または6の長さの重み（length weight）を使用して、決定される。これらの異なるパラメータは、わずかに異なる結果をもたらすと考えられるが、異なるアルゴリズムを使用した場合に2つの配列の全体の同一性パーセンテージが大きく変わるわけではない。

【0046】

配列比較は、比較される2つの配列の全長にわたって、または2つの配列の断片にわたって行うことができる。典型的には、比較は、比較される2つの配列の完全長にわたって行われると考えられる。しかし、配列同一性は、例えば、20個、50個、100個、またはそれ以上の連続したアミノ酸残基の領域にわたって行うことができる。

【0047】

当技術分野において公知である「配列同一性」は、2つ以上のポリペプチド配列または2つ以上のポリヌクレオチド配列、すなわち、参照配列と、参照配列と比較される所与の

配列との間の関係性を指す。配列同一性は、そのような配列のストリング間のマッチによって決定される場合に最高度の配列類似性をもたらすように配列を最適に整列させた後に、所与の配列を参照配列と比較することによって決定される。そのような整列化の際に、配列同一性は位置ごとに確認され、例えば、配列は、ある特定の位置でヌクレオチドまたはアミノ酸残基が同一である場合、その位置で「同一」である。次いで、そのような位置が同一であるものの総数を参照配列中のヌクレオチドまたは残基の総数で割ることによって、配列同一性%が得られる。配列同一性は、限定されないが、その教示が参照により本明細書に組み入れられる、Computational Molecular Biology, Lesk, A. N., ed., Oxford University Press, New York (1988), Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York (1993); Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A. M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey (1994); Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinge, G., Academic Press (1987); Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York (1991);およびCarillo, H., and Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 1073 (1988)に記載されているものを含めて、公知の方法によって、容易に計算することができる。配列同一性を決定するための好ましい方法は、試験される配列間で最大のマッチを得るように設計される。配列同一性を決定する方法は、所与の配列間の配列同一性を決定する公的に利用可能なコンピュータプログラム中に体系化されている。そのようなプログラムの例としては、限定されないが、GCGプログラムパッケージ (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research, 12(1):387 (1984))、BLASTP、BLASTN、およびFASTA (Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990)) が挙げられる。BLASTXプログラムは、NCBIおよび他の供給源から公的に利用可能である (その教示が参照により本明細書に組み入れられる、BLAST Manual, Altschul, S. et al., NCVI NLM NIH Bethesda, Md. 20894, Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990))。これらのプログラムは、所与の配列と参照配列との間で最高レベルの配列同一性をもたらすために、デフォルトのギャップの重みを使用して配列を最適に整列させる。1つの例示として、参照ヌクレオチド配列に対して少なくとも、例えば95%、例えば、少なくとも96%、97%、98%、99%、または100%の「配列同一性」を有するヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドによって、所与のポリヌクレオチドのヌクレオチド配列は、所与のポリヌクレオチド配列が、参照ヌクレオチド配列の各100ヌクレオチドあたり5個まで、4個まで、3個まで、2個まで、1個まで、または0個までの点変異を含むことができることを除いて、参照配列と同一であることが意図される。換言すれば、参照ヌクレオチド配列に対して少なくとも95%、例えば、少なくとも96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドにおいて、参照配列のヌクレオチドの5%まで、4%まで、3%まで、2%まで、1%まで、もしくは0%までを欠失させることができ、別のヌクレオチドで置換することができ、あるいは参照配列の全ヌクレオチドの5%まで、4%まで、3%まで、2%まで、1%まで、もしくは0%までの数のヌクレオチドを参照配列中に挿入することができる。参照配列のこれらの突然変異は、参照ヌクレオチド配列の5'または3'末端の位置で、あるいは参照配列中のヌクレオチドの間に個々にかまたは参照配列内の1つもしくは複数の連続した群でかのかのいずれかで分散して、これらの末端位置の間の任意の場所で生じ得る。類似して、参照アミノ酸配列に対して少なくとも、例えば、95%、例えば、少なくとも96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する所与のアミノ酸配列を有するポリペプチドによって、ポリペプチドの所与のアミノ酸配列は、所与のポリペプチド配列が、参照アミノ酸配列の各100アミノ酸あたり5個まで、4個まで、3個まで、2個まで、1個まで、または0個までのアミノ酸の変化を含むことができることを除いて、参照配列と同一であることが意図される。換言すれば、参照アミノ酸配列と少なくとも95%、例えば、少なくとも96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有する所与のポリペプチド配列を得るために、参

10

20

30

40

50

照配列のアミノ酸残基の5%まで、4%まで、3%まで、2%まで、1%まで、もしくは0%までを欠失させることができ、または別のアミノ酸で置換することができ、あるいは参照配列のアミノ酸残基の総数の5%まで、4%まで、3%まで、2%まで、1%まで、または0%までの数のアミノ酸を参照配列中に挿入することができる。参照配列のこれらの変化は、参照アミノ酸配列のアミノまたはカルボキシ末端の位置で、あるいは参照配列中の残基の間に個々にかまたは参照配列内の1つもしくは複数の連続した群でかのいずれかで分散して、これらの末端位置の間の任意の場所で生じ得る。好ましくは、同一でない残基の位置は、保存的アミノ酸置換によって異なる。しかし、配列同一性を決定する場合、保存的置換はマッチとしては含まれない。

【0048】

本明細書において使用する場合、用語「免疫応答」は、自然免疫応答、T細胞媒介性免疫応答、および／またはB細胞媒介性免疫応答を含む。例示的な免疫応答としては、T細胞応答、例えば、サイトカイン産生および細胞傷害性、ならびにB細胞応答、例えば、抗体産生が挙げられる。さらに、用語「免疫応答」は、T細胞活性化の影響を間接的に受ける免疫応答、例えば、抗体産生（体液性応答）およびサイトカイン応答性細胞、例えば、マクロファージの活性化を含む。免疫応答に関与する免疫細胞としては、リンパ球、例えばB細胞およびT細胞（CD4+、CD8+、Th1およびTh2細胞）；抗原提示細胞（例えば、プロフェッショナル抗原提示細胞、例えば、樹状細胞、マクロファージ、Bリンパ球、ランゲルハンス細胞、およびノンプロフェッショナル抗原提示細胞、例えば、ケラチノサイト、内皮細胞、星状細胞、線維芽細胞、乏突起膠細胞）；ナチュラルキラー細胞；骨髓系細胞、例えば、マクロファージ、好酸球、肥満細胞、好塩基球、および顆粒球（例えば、好中球）が挙げられる。

【0049】

免疫原性組成物の「非経口」投与としては、例えば、皮下（s.c.）、静脈内（i.v.）、筋肉内（i.m.）、または皮内（i.d.）注射または注入技法が挙げられる。

【0050】

医学の分野では、用語「防止する」は、疾患による死亡率または罹患率の負荷を低減させる任意の活性を包含する。防止は、一次、二次、および三次防止レベルで生じ得る。一次防止は疾患の発生を回避するが、二次および三次レベルの防止は、疾患の進行および症状の出現を防止すること、ならびに機能を取り戻すことおよび疾患関連合併症を低減させることによって、既に確立された疾患の負の影響を低減させることを目的とした活性を包含する。

【0051】

本発明によるポリペプチドの「変異体」は、(i)アミノ酸残基の1つまたは複数が保存的または非保存的アミノ酸残基（好ましくは、保存的アミノ酸残基）で置換されており、そのような置換アミノ酸残基が遺伝暗号にコードされているものでもよいし、またはコードされていないものでもよいもの、(ii)1つまたは複数の修飾アミノ酸残基、例えば、置換基の付着によって修飾されている残基が存在するもの、(iii)ポリペプチドが本発明のポリペプチドの選択的スプライシング変異体であるもの、(iv)ポリペプチドの断片、および／あるいは(v)ポリペプチドが別のポリペプチド、例えば、リーダー配列もしくは分泌配列、または精製のために用いられる配列（例えば、Hisタグ）もしくは検出のために用いられる配列（例えば、sv5エピトープタグ）と融合しているものであってもよい。断片は、元の配列のタンパク質分解性切断（多部位タンパク質分解を含める）を介して生成されたポリペプチドを含む。変異体は、翻訳後または化学的に修飾されていてもよい。そのような変異体は、本明細書における教示から、当業者の範囲内であるとみなされる。

【0052】

本発明の意味の範囲内で、用語「共投与」は、本発明による組成物と別の治療剤を1つの組成物中で同時に、または異なる組成物中で同時に、または連続して（好ましくは、24時間以内に）投与することを指すために使用される。

【0053】

10

20

30

40

50

本発明によれば、当技術分野の範囲内の従来の分子生物学、微生物学、および組換えDNA技法を用いることができる。そのような技法は、文献で十分に説明されている。数ある中でも、例えば、Sambrook, Fritsch & Maniatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (本明細書では「Sambrook et al., 1989」) ; DNA Cloning: A Practical Approach, Volumes I and II (D.N. Glover ed. 1985); Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait ed. 1984); Nucleic Acid Hybridization (B.D. Hames & S.J. Higgins eds.(1985); Transcription and Translation (B.D. Hames & S.J. Higgins, eds. (1984); Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed. (1986); Immobilized Cells and Enzymes (IRL Press, (1986); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); F. M. Ausubel et al. (eds.), Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc. (1994)を参照されたい。

10

【0054】

本発明のペプチド組成物

CP1のアミノ酸構造の修飾は、C1q活性などの補体活性化を調節することができるさらなるペプチドの発見につながった。古典的補体経路の活性化／阻害、ミエロペルオキシダーゼ(MPO)阻害、抗酸化活性およびNET活性の阻害のインビトロアッセイにおいて、親分子

20

(IALILEPICCQERAA; SEQ ID NO: 1)

と比較して、ペグ化などの修飾が、ペプチドの溶解度および生物活性の強力な阻害を増強することが以前に示された。C末端の単分散24merペグ化部分を有するペプチドは、非常に可溶性であり、かつ補体系の強い阻害を有することが見出された

(IALILEPICCQERAA-dPEG24; SEQ ID NO: 2; PA-dPEG24)

。非ペグ化ペプチドのサルコシン置換は、ペグ化ペプチドと同様の溶解度を有することが見出された

(IALILEP(Sar)CCQERAA; SEQ ID NO: 3; PA-I8Sar)

30

。脂質ベースの製剤、ならびにクエン酸（例えば、クエン酸三ナトリウム二水和物）、アスコルビン酸（例えば、アスコルビン酸ナトリウム）、および／またはアミノ酸（例えば、L-メチオニン）を含む賦形剤を有する製剤を含めて、静脈内投与に適した製剤を開発するために、PA-I8Sarの様々な製剤を探究した。クエン酸（例えば、クエン酸三ナトリウム二水和物）、アスコルビン酸（例えば、アスコルビン酸ナトリウム）、および／またはアミノ酸（例えば、L-メチオニン）を含む賦形剤を有するPA-dPEG24の製剤も開発した。

【0055】

本明細書において使用する場合、用語「ペプチド」は、天然に存在し得るアミノ酸配列、またはペプチド模倣物、ペプチド類似体、および／もしくはSEQ ID NO:2に基づく約15アミノ酸の合成誘導体（例えば、限定されないが、ペグ化ペプチドが挙げられる）を指す。さらに、ペプチドは、約15アミノ酸残基未満、例えば、約10～約15アミノ酸残基であってもよく、例えば、約5～約10アミノ酸残基のペプチドであってもよい。例えば、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、および15アミノ酸のペプチド残基は、同様に本発明の文脈内のペプチドである可能性がある。ペプチドはまた、15アミノ酸を超えてもよく、例えば、16、17、18、19、および20、またはそれ以上のアミノ酸などであってもよい。

40

【0056】

開示されるペプチドは、脂質ベースの担体中で、または静脈内投与に適した賦形剤とともに、製剤化することができる。脂質ベースの担体はIntralipid（登録商標）であって

50

もよい。Intralipid（登録商標）は、静脈内でカロリー摂取を高めるために、ヒトにおける非経口栄養補給のために使用することができ、脂質ミセルの乳剤から構成される。本ペプチドは脂質ミセルと会合することができ、例えば、脂質ミセルの層に組み込むことができる。静脈内投与に適した賦形剤は、クエン酸（例えば、クエン酸ナトリウムまたはクエン酸ナトリウム二水和物）、アスコルビン酸（例えば、アスコルビン酸ナトリウム）、またはアミノ酸（例えば、L-メチオニン）を含むことができる。

【0057】

ペプチド配列内のアミノ酸に対する置換物は、そのアミノ酸が属するクラスの他のメンバーより選択することができる。例えば、非極性（疎水性）アミノ酸としては、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、およびメチオニンが挙げられる。芳香環構造を含むアミノ酸としては、フェニルアラニン、トリプトファン、およびチロシンが挙げられる。極性の中性アミノ酸としては、グリシン、セリン、スレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン、およびグルタミンが挙げられる。正に荷電した（塩基性）アミノ酸としては、アルギニンおよびリジンが挙げられる。負に荷電した（酸性）アミノ酸としては、アスパラギン酸およびグルタミン酸が挙げられる。例えば、配列内の1つまたは複数のアミノ酸残基を機能的同等物として作用する同様の極性の別のアミノ酸で置換することができ、これにより、サイレントな変化がもたらされる。

【0058】

保存的变化は、一般に、得られたタンパク質の構造および機能の変化にあまりつながらない。非保存的な変化は、得られたタンパク質の構造、活性、または機能を変化させる可能性が高い。例えば、本開示のペプチドは、以下の保存的アミノ酸置換の1つまたは複数を含む：脂肪族アミノ酸、例えば、アラニン、バリン、ロイシン、およびイソロイシンの別の脂肪族アミノ酸との置き換え；セリンのスレオニンとの置き換え；スレオニンのセリンとの置き換え；酸性残基、例えば、アスパラギン酸およびグルタミン酸の別の酸性残基との置き換え；アミド基を有する残基、例えば、アスパラギンおよびグルタミンのアミド基を有する別の残基との置き換え；塩基性残基、例えば、リジンおよびアルギニンの別の塩基性残基との交換；ならびに芳香族残基、例えば、フェニルアラニンおよびチロシンの別の芳香族残基との置き換え。

【0059】

特に好ましいアミノ酸置換としては以下が挙げられる：

- (a) 負電荷が低減し得るような、Gluに対するAlaまたはその逆；
- (b) 正電荷が維持され得るような、Argに対するLysまたはその逆；
- (c) 正電荷が低減し得るような、Argに対するAlaまたはその逆；
- (d) 負電荷が維持され得るような、Aspに対するGluまたはその逆；
- (e) 遊離-OHが維持することができるような、Thrに対するSerまたはその逆；
- (f) 遊離NH₂が維持することができるような、Asnに対するGlnまたはその逆；
- (g) おおよそ同等の疎水性アミノ酸としての、LeuもしくはValに対するIleまたはその逆；
- (h) おおよそ同等の芳香族アミノ酸としての、Tyrに対するPheまたはその逆；および
- (i) ジスルフィド結合が影響を受けるような、Cysに対するAlaまたはその逆。

【0060】

ペプチド配列内のアミノ酸に対する置換物は、限定されないが、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リジン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、ピロリジン（pyrolysine）、セレノシステイン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシン、バリン、N-ホルミル-L-メチオニン、サルコシン、または他のN-メチル化アミノ酸を含めた任意のアミノ酸より選択することができる。いくつかの態様では、サルコシンがペプチド配列内のアミノ酸と置換される。

【0061】

一局面では、本発明は、補体系を調節する合成ペプチドの脂質ベースの製剤およびこれらのペプチドの使用方法を提供する。特に、いくつかの態様では、合成ペプチドの脂質ベースの製剤は、C1およびMBLに結合し、C1およびMBLを調節し、C1およびMBLを不活性化することができ、したがって、代替経路をインタクトなままにしながら、古典的経路およびレクチン経路の活性化をその最も初期の時点で効率的に阻害することができる。ペプチドのこれらの脂質ベースの製剤は、代替経路に影響を及ぼすことなく、C1およびMBLの活性化を選択的に調節および阻害するために治療的価値があり、古典的経路およびレクチン経路の調節不全になった活性化によって媒介される疾患を処置するために使用することができる。他の態様では、ペプチドの脂質ベースの製剤は古典的経路の活性化は調節するが、レクチン経路の活性化は調節しない。ペプチドの脂質ベースの製剤は、例えば、限定ではなく、脳および脾臓などの脂質含量が高い器官の疾患（例えば、低酸素性虚血性脳症（HIE）、卒中、外傷性脳損傷、肺炎）を含めて、様々な治療的適応症に有用である。本発明の脂質ベースの製剤は、慢性炎症状態、例えば、限定ではなく、狼瘡、抗好中球細胞質抗体関連血管炎（ANCA血管炎）、ベーチェット病、自己免疫性腎炎、および腎障害などに対する皮下デポ投与に使用することもできる。

10

【0062】

一局面では、本発明は、補体系を調節する合成ペプチドの静脈内製剤およびこれらのペプチドの使用方法を提供する。特に、いくつかの態様では、合成ペプチドの静脈内製剤は、C1およびMBLに結合し、C1およびMBLを調節し、C1およびMBLを不活性化することができ、したがって、代替経路をインタクトなままにしながら、古典的経路およびレクチン経路の活性化をその最も初期の時点で効率的に阻害することができる。ペプチドのこれらの静脈内製剤は、代替経路に影響を及ぼすことなく、C1およびMBLの活性化を選択的に調節および阻害するために治療的価値があり、古典的経路およびレクチン経路の調節不全になった活性化によって媒介される疾患を処置するために使用することができる。他の態様では、ペプチドの静脈内製剤は、古典的経路の活性化は調節するが、レクチン経路の活性化は調節しない。ペプチドの静脈内製剤は、様々な治療的適応症に有用である。

20

【0063】

一態様では、本発明は、ヒトアストロウイルスコートタンパク質に由来する合成ペプチドを提供し、該ペプチドは、例えば、限定ではなく、SEQ ID NO:2のサルコシン置換などのSEQ ID NO:2のアミノ酸配列および修飾を含む。一態様では、本発明は、例えば、限定されないが、SEQ ID NO:3を含む本明細書において論じられるペプチドのいずれかの脂質ベースの製剤を提供する。いくつかの態様では、脂質ベースの製剤は脂質ミセルを含む。いくつかの態様では、脂質ベースの製剤はIntralipid（登録商標）を含む。

30

【0064】

一態様では、本発明は、静脈内投与に適している、例えば、限定されないが、SEQ ID NO:3を含む本明細書において論じられるペプチドのいずれかの製剤を提供する。一態様では、本発明は、例えば、限定ではなく、クエン酸（例えば、クエン酸三ナトリウム二水和物）、アスコルビン酸（例えば、アスコルビン酸ナトリウム）、および／またはアミノ酸（例えば、L-メチオニン）などの静脈内投与に適したさらなる賦形剤をさらに含む、例えば、限定されないが、SEQ ID NO:2および／またはSEQ ID NO:3を含む本明細書において論じられるペプチドのいずれかの静脈内薬学的製剤を提供する。

40

【0065】

（表1）本発明のペプチドのリスト

50

SEQ ID NO.	配列	説明
1	IALILEPICCQERAA	PA (PIC1)
2	IALILEPICCQERAA-PEG24	PA-dPEG24
3	IALILEP(Sar)CCQERAA	PA-I8Sar

10

【0066】

他の態様では、合成ペプチドはサイトカイン発現を変化させることができる。いくつかの態様では、本発明は、SEQ ID NO:3を含む合成ペプチドの脂質ベースの製剤の治療的に有効な量を含む組成物を、その必要がある対象に投与する段階を含む、サイトカイン発現を変化させる方法を提供する。いくつかの態様では、脂質ベースの製剤は脂質ミセルを含む。いくつかの態様では、SEQ ID NO:3は脂質ミセル内に存在する。いくつかの態様では、脂質ベースの製剤はIntralipid（登録商標）およびSEQ ID NO:3を含む。

【0067】

いくつかの態様では、本発明は、SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3を含む合成ペプチドの治療的に有効な量を含む薬学的製剤を、その必要がある対象に静脈内投与する段階を含む、サイトカイン発現を変化させる方法を提供する。いくつかの態様では、薬学的製剤は、静脈内投与に適した賦形剤、担体、および他の成分を含むことができる。いくつかの態様では、薬学的製剤は、SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3の治療的に有効な量およびクエン酸（例えば、限定ではなく、クエン酸ナトリウムまたはクエン酸ナトリウム二水和物など）を含む。一態様では、賦形剤は、成人対象での使用に適している抗酸化剤（例えば、クエン酸、クエン酸三ナトリウム、クエン酸三ナトリウム三水和物）である。一態様では、賦形剤は、小児または乳児対象での使用に適している抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸ナトリウムなどのアスコルビン酸、および／またはL-メチオニンなどのアミノ酸）である。いくつかの態様では、クエン酸は、約1%w/v～約2.5%w/vを含めて、約1%w/v～約5%w/vの量で存在し得る。いくつかの態様では、薬学的製剤は、SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3の治療的に有効な量およびアスコルビン酸（例えば、限定ではなく、アスコルビン酸ナトリウムなど）を含む。いくつかの態様では、アスコルビン酸は、約2.5%w/v～約4.5%w/vを含めて、約1%w/v～約5%w/vの量で存在し得る。いくつかの態様では、薬学的製剤は、SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3の治療的に有効な量およびアミノ酸（例えば、限定ではなく、L-メチオニンなど）を含む。いくつかの態様では、アミノ酸は、約0.1%w/v～約1%w/vを含めて、0.01%w/v～約5%w/vの量で存在し得る。

20

30

【0068】

開示されるペプチドは、代替経路活性に影響を及ぼすことなく、C1qおよびMBLの活性化を選択的に調節することができ、したがって、古典的経路およびレクチン経路の調節不全になった活性化によって媒介される疾患の防止および処置に理想的である。古典的経路およびレクチン経路の特異的な遮断は、多くの動物モデルにおいてこれらの経路の両方が虚血再灌流誘導性傷害に関与しているので、特に必要とされる [Castellano et al., “Therapeutic targeting of classical and lectin pathways of complement protects from ischemia-reperfusion-induced renal damage.” Am J Pathol. 2010; 176(4):1648-59; Lee et al., “Early complement factors in the local tissue immunocomplex generated during intestinal ischemia/reperfusion injury.” Mol. Immunol. 2010 February; 47(5):972-81; Tjernberg, et

40

50

al., "Acute antibody-mediated complement activation mediates lysis of pancreatic islets cells and may cause tissue loss in clinical islet transplantation." Transplantation. 2008 Apr. 27; 85(8):1193-9; Zhang et al. "The role of natural IgM in myocardial ischemia-reperfusion injury." J Mol Cell Cardiol. 2006 July; 41(1):62-7)。代替経路は侵入する病原体に対する免疫監視に必須であり、代替経路が欠損したヒトは重症の細菌感染症を患う。C1qおよびMBLに結合し、これらを不活性化することによって、本ペプチドは、代替経路をインタクトなままにしながら、古典的経路およびレクチン経路の活性化を効率的に調節することができる。

【0069】

本明細書において使用する場合、用語「調節する」は、(i) 酵素、タンパク質、ペプチド、因子、副生成物、もしくはそれらの誘導体の生物学的機能を個々にかもしくは複合体かのいずれかで、制御する、低減させる、阻害する、もしくは調節すること；(ii) インビボもしくはインビトロのいずれかで、生物学的タンパク質、ペプチド、もしくはそれらの誘導体の分量を低減させること；または(iii) 関連した一連の生物学的反応もしくは化学反応を含むことが公知である事象、カスケード、もしくは経路の生物学的連鎖を遮断することを指す。したがって、用語「調節する」は、例えば、対照試料と比較して補体カスケードの単一成分の分量を低減させ、成分もしくは成分の複合体の形成の速度もしくは総量を低減させ、または複雑なプロセスもしくは一連の生物学的反応の全体的な活性を低減させ、細胞溶解、コンバーゼ酵素の形成、補体由来の膜攻撃複合体の形成、炎症、または炎症性疾患などの結果につながることを説明するために使用することができる。インビトロアッセイでは、用語「調節する」は、ある種の生物学的または化学的事象の測定可能な変化または低減を指すことができるが、当業者は、測定可能な変化または低減が、「調節性」であるために絶対的である必要はないことを認識するであろう。

【0070】

いくつかの態様では、本発明は、補体系を調節する効果を有する治療的に活性なペプチドに関する。

【0071】

本発明の薬学的組成物

本開示は、上述したような少なくとも1つのペプチド、および少なくとも1つの薬学的に許容される担体、希釈剤、安定化剤、または賦形剤を含む、補体系を調節することができる薬学的組成物を提供する。薬学的に許容される担体、賦形剤、または安定化剤は、用いられる投薬量および濃度で受容者に対して毒性を持たないものである。これらは、固体、半固体、または液体であってもよい。本発明の薬学的組成物は、錠剤、丸剤、粉末剤、ロゼンジ剤、サッシェ剤、カシェ剤、エリキシル剤、懸濁液、乳剤、溶液、またはシロップの形態であってもよい。

【0072】

本発明の薬学的組成物は、適切な純度を有する本ペプチドを薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤と混合することによって調製される。製剤およびそのような製剤を調製するための方法の例は、当技術分野において周知である。本発明の薬学的組成物は、上記のような様々な障害および疾患のための予防剤および治療剤として有用である。一態様では、組成物は、治療的に有効な量の本ペプチドを含む。別の態様では、組成物は、補体系を調節するのに有効な少なくとも1つの他の活性成分を含む。別の態様では、組成物は、補体系と関連する少なくとも1つの疾患を処置するのに有効な少なくとも1つの他の活性成分を含む。別の態様では、組成物は、補体系と関連しない少なくとも1つの疾患を処置するのに有効な少なくとも1つの他の活性成分を含む。本明細書において使用する場合、用語「治療的に有効な量」は、対象への利益を示すのに十分である、各活性成分の総量を指す。

【0073】

ペプチドの治療的に有効な量は、いくつかの因子、例えば、処置される状態、状態の重

10

20

30

40

50

症度、投与時間、投与経路、用いられるペプチドの排出速度、治療期間、関与する併用療法、ならびに対象の年齢、性別、体重および状態などに応じて変動する。当業者は、治療的に有効な量を決定することができる。したがって、当業者は、最大の治療効果を得るために、投薬量をタイトレーションし、投与経路を修正する必要がある可能性がある。

【0074】

有効な1日量は、一般に、約5～約160mg/kg、約10～約160mg/kg、約40mg/kg～約160mg/kg、および約40mg/kg～約100mg/kgを含めて、体重キログラムあたり約0.001～約200ミリグラム（mg/kg）の範囲内である。この用量は、毎日1～6回の投与レジメンによって達成することができる。有効投薬量は、一般に、約10mg/ml～約80mg/mlを含めて、約1mg/ml～約100mg/mlの範囲内である。有効投薬量は、薬学的組成物に含まれるさらなる成分に依存し得る。あるいは、最適な処置は、より低頻度の投与レジメンを用いた持続性放出製剤によって達成することができる。有効投薬量は対象の年齢に依存し得る。例えば、限定ではなく、小児または乳児対象は、成人対象と比較して、薬学的組成物のより少ない投薬量を必要とする可能性がある。小児または乳児対象に対する有効投薬量は約10mg/mlであり得る。成人対象に対する有効投薬量は約80mg/mlであり得る。

10

【0075】

別の局面では、本発明は、SEQ ID NO:3の脂質ベースの製剤の治療的に有効な量および少なくとも1つの薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤を含む薬学的組成物を提供する。

20

【0076】

別の局面では、本発明は、SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3の治療的に有効な量および静脈内投与に適している少なくとも1つの薬学的に許容される担体、希釈剤、または賦形剤を含む静脈内薬学的製剤を提供する。一態様では、賦形剤は、クエン酸（例えば、クエン酸三ナトリウム二水和物）、アスコルビン酸（例えば、アスコルビン酸ナトリウム）、および／またはアミノ酸（例えば、L-メチオニン）を含むことができる。一態様では、賦形剤は、成人対象での使用に適している抗酸化剤（例えば、クエン酸、クエン酸三ナトリウム、クエン酸三ナトリウム三水和物）である。一態様では、賦形剤は、小児または乳児対象での使用に適している抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸ナトリウムなどのアスコルビン酸、および／またはL-メチオニンなどのアミノ酸）である。

30

【0077】

本発明の組成物は、担体および／または賦形剤を含むことができる。本発明の化合物を療法のためにそのまま使用することは可能であるが、薬学的製剤中で、例えば、意図された投与経路および標準的な薬学的慣習に関して選択された適切な薬学的賦形剤および／または担体との混合物中でこれを投与することが好ましいこともあり得る。賦形剤および／または担体は、製剤の他の成分と適合性であり、それらの受容者に有害でないという意味で「許容され」なければならない。治療的使用のための許容される賦形剤および担体は薬学分野で周知であり、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins (A.R. Gennaro edit. 2005)に記載されている。薬学的賦形剤および担体の選択肢は、意図された投与経路および標準的な薬学的慣習に関して選択され得る。経口製剤は、さらなる混合物に容易に対応する。経口投与用の固形剤形を使用することもでき、経口投与用の固形剤形としては、例えば、カプセル剤、錠剤、カプレット、丸剤、トローチ剤、ロゼンジ剤、粉末剤、および顆粒剤を挙げることができる。適切な賦形剤の非限定例としては、例えば、希釈剤、緩衝化剤（例えば、炭酸水素ナトリウム）、防腐剤、安定化剤、結合剤、圧縮剤、潤滑剤、分散促進剤、崩壊剤、抗酸化剤、着色剤、甘味剤、および着色剤が挙げられる。当業者は、適切な溶液を十分に調製することができる。

40

【0078】

本発明の組成物のいずれかの一態様では、組成物は、例えば、経口、局所、直腸、粘膜、舌下、経鼻、経鼻／経口（naso/oro）胃強制栄養、非経口、腹腔内、皮内、経皮、髄

50

腔内、経鼻、および気管内投与などの経路による送達のために製剤化される。本発明の組成物のいずれかの一態様では、組成物は、液体、フォーム、クリーム、スプレー、粉末、またはゲルの形態である。本発明の組成物のいずれかの一態様では、組成物は、緩衝化剤（例えば、炭酸水素ナトリウム）を含む。

【0079】

本発明の方法における化合物および組成物の投与は、当技術分野において公知の任意の方法によって達成することができる。送達の有効な経路の非限定例としては、経口、直腸、糞便（浣腸による）、および経鼻／経口胃強制栄養、ならびに非経口、腹腔内、皮内、経皮、髄腔内、経鼻、および気管内投与が挙げられる。活性剤は投与後に全身性でもよく、または領域性投与、壁内投与の使用、もしくは埋め込みの部位で活性用量を保持するように作用するインプラントの使用によって局在化されてもよい。

10

【0080】

本発明の化合物および製剤の有用な投薬量は、疾患の性質、患者の病歴、投薬頻度、投与様式、宿主からの作用物質の排除などに応じて広く変動し得る。初回用量を多くし、その後の維持量を少なくすることができる。用量は、有効投薬量レベルを維持するために、毎週または隔週のような低頻度で投与することができるか、またはより小さな用量に分割し、毎日、半週ごとなどに投与することができる。治療効果を達成するために様々な用量が有効であり得ることが考えられる。本発明の化合物を療法のためにそのまま使用することは可能であるが、薬学的製剤で、例えば、意図された投与経路および標準的な薬学的慣習に関して選択された適切な薬学的賦形剤、希釈剤、または担体との混合物中でこれを投与するが好ましいこともあり得る。賦形剤、希釈剤、および／または担体は、製剤の他の成分と適合性であり、それらの受容者に有害でないという意味で「許容され」なければならない。治療的使用のための許容される賦形剤、希釈剤、および担体は、薬学分野で周知であり、例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott Williams & Wilkins (A.R. Gennaro edit. 2005) に記載されている。薬学的賦形剤、希釈剤、および担体の選択肢は、意図された投与経路および標準的な薬学的慣習に関して選択され得る。本発明の製剤の送達に物理的な限定はないが、その容易さおよび利便性のため、ならびに経口製剤が、例えば、牛乳、ヨーグルト、および乳児用調製粉乳などのさらなる混合物に容易に対応するため、消化管への送達には経口送達が好ましい。

20

30

【0081】

非経口投与に適した製剤としては、抗酸化剤、緩衝液、静菌薬、および製剤を意図された受容者の血液と等張にする溶質を含むことができる水性および非水性の等張無菌注射液、ならびに懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定化剤、および防腐剤を含むことができる水性および非水性の懸濁液が挙げられる。

【0082】

溶液または懸濁液は、以下の成分のいずれかを任意の組み合わせで含むことができる：無菌の希釈剤、例えば、例として非限定的に、注射用水、食塩溶液、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、または他の合成溶媒；抗菌剤、例えば、ベンジルアルコールおよびメチルパラベン；抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸および亜硫酸水素ナトリウム；キレート剤、例えばエチレンジアミン四酢酸（EDTA）；緩衝液、例えば、酢酸、クエン酸、およびリン酸；ならびに張性の調整のための剤、例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロース。

40

【0083】

剤が不十分な溶解度を示す場合、剤を可溶化するための方法を使用することができる。そのような方法は当業者に公知であり、限定されないが、共溶媒、例えば、ジメチルスルホキシド（DMSO）などの使用、界面活性剤、例えば、TWEEN（登録商標）80の使用、または炭酸水素ナトリウム水溶液中への溶解が挙げられる。有効な薬学的組成物の製剤化において、剤の薬学的に許容される誘導体を使用することもできる。

【0084】

50

組成物は、活性剤とともに、例えば、非限定的に以下を含むことができる：希釈剤、例えば、ラクトース、ショ糖、リン酸二カルシウム、またはカルボキシメチルセルロース；潤滑剤、例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、およびタルク；ならびに結合剤、例えば、デンプン、天然ゴム、例えば、アカシアゴムゼラチン、グルコース、糖蜜、ポリビニルピロリドン、セルロース、およびそれらの誘導体、ポビドン、クロスポビドン、ならびに当業者に公知の他のそのような結合剤。液体の薬学的に投与可能な組成物は、例えば、担体、例えば、例として、非限定的に、水、食塩水、水性デキストロース、グリセロール、グリコール、エタノールなどに上記で定義された活性剤と任意の薬学的補助剤を溶解する、分散させる、または混合して、それによって、溶液または懸濁液を形成することによって、調製することができる。所望ならば、投与される薬学的組成物は、少量の無毒の補助物質、例えば、湿潤剤、乳化剤、または可溶化剤、pH緩衝化剤など、例えば、例として、非限定的に、酢酸、クエン酸ナトリウム、シクロデキストリン誘導体、ソルビタンモノラウレート、トリエタノールアミン酢酸ナトリウム、オレイン酸トリエタノールアミン、および他のそのような剤を含むこともできる。そのような剤形を調製する実際の方法は公知であるか、または当業者に明らかであろう（例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 15th Edition, 1975）。投与される組成物または製剤は、いずれにしても、処置される対象の症状を軽くするのに十分な量の活性剤の分量を含む。

10

【0085】

活性剤または薬学的に許容される誘導体は、徐放製剤またはコーティング剤など、体からの急速な排出から剤を保護する担体を用いて調製することができる。組成物は、特性の望ましい組み合わせを得るために、他の活性剤を含むことができる。

20

【0086】

非経口投与は、一般に、皮下、筋肉内、または静脈内のいずれかの注射を特徴とし、本明細書においても企図される。注射液は、液体の溶液もしくは懸濁液、注射前の液状の溶液もしくは懸濁液に適した固体形態としてか、または乳剤としてかのいずれかで、従来の形態で調製することができる。適切な賦形剤としては、例として、非限定的に、水、食塩水、デキストロース、グリセロール、またはエタノールが挙げられる。さらに、所望ならば、投与される薬学的組成物は、少量の無毒の補助物質、例えば、湿潤または乳化剤、pH緩衝化剤、安定化剤、溶解度促進剤、および他のそのような剤、例えば、酢酸ナトリウム、ソルビタンモノラウレート、オレイン酸トリエタノールアミン、およびシクロデキストリンなどを含むこともできる。

30

【0087】

凍結乾燥粉末は、溶液、乳剤、および他の混合物の投与のために再構成することができるか、または固体またはゲルとして製剤化することができる。無菌の凍結乾燥粉末は、本明細書において提供される剤または薬学的に許容されるそれらの誘導体を適切な溶媒に溶解することによって調製される。溶媒は、安定性を向上させる賦形剤、または粉末もしくは粉末から調製される再構成溶液の他の薬理学的成分を含むことができる。使用することができる賦形剤としては、限定されないが、デキストロース、ソルビトール (sorbital)、フルクトース、コーンシロップ、キシリトール、グリセリン、グルコース、ショ糖、または他の適切な剤が挙げられる。溶媒は、緩衝液、例えば、クエン酸、ナトリウム、もしくはリン酸カリウム、または当業者に公知の他のそのような緩衝液を典型的にはほぼ中性pHで含むこともできる。続いて溶液の無菌濾過、その後の当業者に公知の標準的な条件下での凍結乾燥によって、望ましい製剤が提供される。一般に、得られた溶液は、凍結乾燥のためにバイアル中に配分することができる。各バイアルは、例として、非限定的に、単回投薬量（10～1000mg、例えば、100～500mg）または複数回投薬量の剤を含むことができる。凍結乾燥粉末は、適切な条件下で、例えば、約4℃～室温で保存することができる。注射用水を用いたこの凍結乾燥粉末の再構成によって、非経口投与で使用するための製剤が提供される。

40

【0088】

50

併用療法

本発明のさらなる態様は、本発明の薬学的製剤を対象に投与する段階を含む、補体系を調節する方法を提供する。本発明の薬学的製剤は、唯一の活性な薬学的剤として投与することができるが、これらは、補体系の調節に有効な1種または複数種の治療剤または予防剤と組み合わせて使用することもできる。この局面では、本発明の方法は、補体系の調節で有効な1種もしくは複数種のさらなる治療剤もしくは予防剤の前に、該剤と同時に、および／または該剤の後に、本発明の薬学的製剤を投与する段階を含む。

【0089】

本発明の薬学的製剤は、併用療法でさらなる剤とともに、一緒にかもしくは別々かのいずれかで、または薬学的製剤とさらなる剤を1つの組成物中で組み合わせることによって、投与することができる。投薬量は、補体系の最大の調節を達成するように、投与および調整される。例えば、薬学的製剤とさらなる剤の両方は、通常、単独療法レジメンで通常投与される投薬量の約10%～約150%の間、より好ましくは約10%から約80%の間の投薬量レベルで存在する。

【実施例】

【0090】

本発明はまた、以下の実施例を通して説明され、示される。しかし、本明細書の任意の場所でのこれらおよび他の実施例の使用は例示に過ぎず、本発明または任意の例示された用語の範囲および意味を決して限定するものではない。同様に、本発明は、本明細書で説明されるいかなる特定の好ましい態様にも限定されない。実際に、本明細書を読めば、本発明の多くの修正および変形が当業者に明らかになる可能性があり、そのような変形は、趣旨または範囲において本発明を逸脱することなく行うことができる。したがって、本発明は、添付の特許請求の範囲が権利を有する均等物の全範囲とともに、添付の特許請求の範囲の用語によってのみ限定されるべきである。

【0091】

実施例1：PA-I8Sarの脂質ベースの製剤
PA (IALILEPICCQERAA; SEQ ID NO: 1)

を20% Intralipid（登録商標）中に可溶化し、均一な溶液を得た。遠心分離の際に、PAは脂質層と水性層に分離した。興味深いことに、2mg/mlの濃度で、PAの60%が脂質層と会合したが、PAの40%しか水性相に残らなかった。この混合物を4℃で48時間放置した場合、混合物はペースト状になり、局所的に適用することができるほどの十分な粘性があった。

【0092】

PA-dPEG24 (RLS-0071; SEQ ID NO:2) またはPA-I8Sar (RLS-0088; SEQ ID NO:3) を20% Intralipid（登録商標）中に可溶化した場合、またはこれらを可溶性形態で20% Intralipid（登録商標）と1:1で混合した（結果として、10% Intralipid（登録商標）が生じる）場合、これらは両方とも、遠心分離の際によく分離しない均一な溶液をもたらした。lipo-RLS-0088が補体活性化を阻害する能力をインビトロアッセイで試験し、驚いたことに、補体活性化を阻害する能力が維持されており、該能力が溶液中のRLS-0088と同様であることが見出された（図1）。lipo-RLS-0088において、活性な薬理学的作用物質がミセルと会合しているにもかかわらず、溶液中で親水性補体成分と相互作用し、親水性補体成分の活性化を阻害することができたことを考慮すれば、これは予想外であった。インビトロ活性が保存されていたことを考慮して、成体ラットへのIV注射によって、lipo-RLS-0088の阻害効果をインビボで試験した。対照は、異なるセットの成体ラットに注射した、溶液中の同一用量のRLS-0088であった。薬力学によって、IV lipo-RLS-0088を受けたラットについて、同用量のIV RLS-0088を受けたものと比較して、経時的に、機能性の4倍の増大（C1q結合アッセイによって測定した）が示された（図2A～2B）。

【0093】

方法

ABO溶血アッセイ

溶血補体アッセイのために、AB型ドナー由来のヒト赤血球（RBC）を精製し、洗浄し、 1.0×10^9 細胞/mlに標準化した。10%終濃度のO型ドナー由来のヒト血清を1.0mMのペプチドと混ぜ合わせ、GVBS⁺⁺および 5.0×10^7 個のRBCで0.250mlまで体積を上げた。試料を37℃で1時間インキュベートし、次いで、3,000rpmで5分間スピンし、上清を収集し、412nmで読み取った。

【0094】

インビボ試験

留置頸静脈カテーテルを有する雄のウィスターラットにIntralipid（登録商標）中の200mg/kgのRLS-0088または200mg/kgの化合物でのヒスチジン緩衝液のRLS-0088を単回ボラスIV注入として投与した。注入後の様々な時点（0.5、2、5、60、120、および240分）で、血液の一定分量を採り、血漿を単離し、解析まで-70℃で凍結した。終わりの採血後に動物を殺し、肉眼的な剖検を行った。次いで、C1q結合アッセイを行った。

【0095】

C1q結合アッセイ

Immunlon-2 HB ELISAプレートで炭酸水素緩衝液中の1μg/mlのC1qで、4℃で一晩コーティングした。プレートをPBS-T（リン酸緩衝食塩水+0.1%Tween）で洗浄し、次いで、1%ゼラチン／PBSで室温で2時間ブロッキングした。洗浄後、プレートを1%ゼラチン／PBS中で希釈した血漿試料とともに室温で1時間インキュベートし、その後洗浄した。次いで、プレートを、ペグ化を欠く（PA）ペプチドIALILEPICCQERAA（SEQ ID NO: 1）

に対して産生させたウサギ抗体を用いて、1:1000で、1%ゼラチン／PBS中で室温で1時間プローブし、その後に、ヤギ抗ウサギHRP（Sigma Aldrich, St Louis, MO）を用いて、1:1,000で、1%ゼラチン／PBS中で室温で1時間プローブし、間に洗浄段階を設けた。TMB基質溶液をウェルに添加した後、1N H₂SO₄を使用して反応を止め、Bio Tek Synergy HTプレートリーダーによって450nmでプレートを読み取った。

【0096】

実施例2：PA-I8Sarの静脈内製剤

PA-dPEG24（RLS-0071）およびPA-I8Sar（RLS-0088）を、ヒスチジン緩衝液を含む液体中で首尾よく製剤化した。小児および成人患者への静脈内投与に利用可能な、これらの2つの分子の製剤を開発するために、以下の賦形剤を利用して、PA-dPEG24およびPA-I8Sarを製剤化した：

成人製剤のための2.5%w/vのクエン酸（クエン酸三ナトリウム二水和物）

乳児製剤のための2.88%w/vのアスコルビン酸（アスコルビン酸ナトリウム）

乳児製剤のための0.16%w/vのL-メチオニン緩衝液。

【0097】

クエン酸緩衝液条件について、PA-dPEG24およびPA-I8Sarを、pH6.8で80mg/mlの濃度で製剤化した。PA-dPEG24について、氷上に保たないと調製物がゲル化し始めるであろうことが認められた。このゲル化挙動はPA-I8Sarについては観察されなかった。

【0098】

アスコルビン酸およびL-メチオニン条件について、PA-dPEG24およびPA-I8Sarを、pH6.8で10mg/mlの濃度で製剤化した。

【0099】

これらの様々な賦形剤がPA-dPEG24およびPA-I8Sarの機能活性に対して任意の効果を有しているかどうかを確認するために、製剤化したペプチドを溶血アッセイで試験して、これらの分子が補体活性を阻害する能力を決定した。溶血補体アッセイのために、前述

10

20

30

40

50

のように、AB型ドナー由来のヒト赤血球（RBC）を精製し、洗浄し、 1×10^9 細胞/mlに標準化した。20%終濃度のO型ドナー由来のヒト血清を漸増濃度の製剤化したペプチドと混ぜ合わせ、GVBS++緩衝液および0.5ml RBCで0.15mlまで体積を上げた。試料を3,000rpmで5分間スピンス、上清を収集し、412nmで読み取った。値は、ペプチド添加なしのGVBS++緩衝液中のヒトO血清およびAB赤血球からなる陽性対照のパーセントとして表す。クエン酸、アスコルビン酸、およびメチオニン賦形剤中で製剤化したPA-dPEG24およびPA-I8Sarは、元のヒスチジン製剤化分子と比較して、溶血アッセイにおいて補体活性化の用量依存的阻害を維持することができた（図3A～3B）。これらの実験条件下で、アスコルビン酸、クエン酸、またはヒスチジン中で製剤化されたPA-dPEG24は、メチオニン中で製剤化されたペプチドと比較して、補体阻害活性がわずかに増大した（図3A）。PA-I8Sarの場合は、4種の賦形剤のそれぞれを含む製剤は同様のレベルの活性を示した（図3B）。これらの発見によって、PA-dPEG24およびPA-I8Sarは、これらのペプチドの機能活性を維持する4種の異なる賦形剤中で効率的に可溶化され得ることが示される。

10

【0100】

実施例4：RLS-0088についての安定な液体製剤の調製

材料

（表2）組成表

成分	製剤 ID (%、wt)
	F32
RLS-0088	4.0
メチオニン	0.48
トレハロース	5.0
ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン(HP-β-CD)	10.0
EDTA, Na2	0.05
DI 水*	80.47
pH	3.0

20

30

*RLS-0088の純度および水分含有量によって量を補正する必要がある。

（表3）配合表

40

50

成分	製剤 ID (g)
	F32
RLS-0088*	0.216
メチオニン	0.024
トレハロース	0.250
ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン(HP-β-CD)	0.500
EDTA・Na2	0.0025
DI 水*	4.008
10N NaOHまたは1N HClでpHを調整する	3.0
バッチサイズ (g)	5.0

10

20

*RLS-0088の量=純粋なRLS-0088/(純度%)/(100%-水分含有量%)=0.2g/(95.5%)/(100%-2.9%)=0.216g。

【0101】

プロトコール

製剤のためのビヒクル (F32V) の調製

以下の表4に従って、50mLファルコンチューブ中でF32Vビヒクルを調製した。チューブをボルテックスして、すべての固体を溶解させた。

【0102】

(表4) F32Vビヒクル

成分	F32V
メチオニン	0.096
トレハロース	1.000
ヒドロキシプロピル-β-シクロデキストリン(HP-β-CD)	2.000
EDTA・Na2	0.010
DI 水*	16.031

30

40

【0103】

製剤 (F32) の調製

RLS-0088を秤量し、F32用の15mLファルコンチューブに移した。対応するビヒクルを使用したバッチサイズに対するQSを以下の表5に従って調製した。

【0104】

(表5)

50

試料 ID	F32
RLS-0088 (g)	0.216
F32V (g)	4.784
調整後のpH	3.02
バッチサイズ (g)	5.000

10

【0105】

各チューブをボルテックスして、固体を溶解させた。NaOHまたはHCl溶液を使用して、各試料を目標pH値に調整した。0.2 μmのナイロンフィルターでこの溶液を濾過した。濾液を2本のHPLCバイアルに移し、1本を25℃のチャンバー中に保ち、もう1本を2～8℃のチャンバー中に保った。T0および24時間目で濾液をアッセイした。24時間目に、Accusizerによって濾液の粒径を確認した。残りの製剤については、0.8 mL/バイアルの製剤を4本の2 mLの脂質分解ガラスバイアルに移した。バイアルを-20℃で凍結した。凍結後、これらのバイアルの2本を凍結乾燥した。凍結および凍結乾燥したバイアルを融解させ、再構成し、2～8℃または25℃で保った。表6に従って試料を試験した。

20

【0106】

(表6) 試験プロトコール

処理		-20℃で凍結したF32		凍結乾燥したF32	
融解または再構成後の 保存温度		2-8℃	25℃	2-8℃	25℃
試験	T0	アッセイ	アッセイ	アッセイ	アッセイ
	24h	-	アッセイ、 微粒子状物質*、 pH	-	アッセイ、 微粒子状物質*、 pH
	48h	アッセイ、 微粒子状物質*、 pH	-	アッセイ、 微粒子状物質*、 pH	-

30

*Accusizerによって試験した

【0107】

100 mgの各試料を10 mLメスフラスコに移すことによって、HPLC試料を調製した。希釈剤によって5 mLにQSする。

【0108】

結果

図4は、異なる保存条件下でのRLS-0088を含む製剤のバイアルを示す。以下の表7はAccusizerの結果を示す。

(表7) Accusizerの結果

40

50

試料ID	粒径 (μm)	粒子数 / mL	粒子数 / 35mL*
F32_25°C_24h	10	137	4785
	25	17	598
F32_2-8°C_48h	10	171	5981
	25	34	1196
F32_L_25°C_24h	10	68	2392
	25	17	598
F32_L_2-8°C_48h	10	68	2392
	25	0	0
F32_F_25°C_24h	10	85	2990
	25	17	598
F32_F_2-8°C_48h	10	68	2392
	25	0	0
許容判断基準 (USP 26 <788>)		10 μm カウント ≤ 1 容器あたり 6000	
		25 μm カウント ≤ 1 容器あたり 600	

10

20

30

*1400mg/70kg ヒトに基づく；1400mg/(40mg/mL)=35mL。注：F：凍結融解；L：凍結乾燥

【0109】

すべてのF32試料は、凍結融解したかまたは凍結乾燥－再構成したかどうかに関係なく、25°Cで24時間および2～8°Cで48時間保存した後に、USP26<788>の微粒子状物質許容判断基準を満たしたか、それに近かった。

【0110】

HPLCの結果

表8に従って試料調製を行った。

40

(表8) HPLCの試料

50

試料	API 重量 (mg)	ビヒクル	ビヒクル 重量(g)	目標 濃度 (mg/g)*	pH_T0	外観
F32	216.5	F32V	4.776	40.2	3.1	24時間後に25℃で 目に見える粒子がなく、 わずかに混濁している、 および48時間後に2～8℃で 透明である／濁っている

10

目標濃度は、すべての固体が溶解した場合の理論的アッセイ=API重量*純度*(100%-水分含有量)/(ビヒクル重量+API重量)である。

【0111】

安定性の結果を以下の表9に示す。

(表9) 安定性の結果

試料 ID (pH)	試料 サイズ (mg)	第1の インジェ クション のPA	第2の インジェ クション のPA	平均 PA	希釈剤中の API濃度 (mg/mL)	体積に QS (mL)	アッセイ (mg/g)	T0に 対する 回収%	純度 %
F32_T0	102.5	12931	13120	13026	0.854	5	41.7	-	95.98
F32_25℃_24h	95.8	12278	12259	12268	0.804	5	42.0	100.7	95.75
F32_2-8℃_48h	102.5	13130	13162	13146	0.850	5	41.5	99.6	96.55
F32_L_25℃_T0	96.7	11830	11831	11831	0.766	5	39.6	-	93.32
F32_L_25℃_24h	100.0	12109	12182	12145	0.787	5	39.4	99.3	92.33
F32_L_2-8℃_T0	99.5	12049	12019	12034	0.780	5	39.2	-	93.43
F32_L_2-8℃_48h	101.4	12315	12287	12301	0.797	5	39.3	100.4	93.24
F32_F_25℃_T0	99.0	12551	12548	12550	0.813	5	41.1	-	95.59
F32_F_25℃_24h	100.0	12718	12715	12716	0.824	5	41.2	100.3	95.19
F32_F_2-8℃_T0	97.6	12371	12346	12359	0.801	5	41.0	-	95.83
F32_F_2-8℃_48h	101.7	13170	12981	13076	0.847	5	41.7	101.5	95.90

20

30

40

注：F：凍結融解；L：凍結乾燥

50

【0112】

F32製剤は、25℃で少なくとも24時間および2～8℃で少なくとも48時間安定であった。凍結乾燥－再構成した、および凍結融解した製剤F32はすべて、25℃で24時間および2～8℃で48時間安定であった。

【0113】

重量モル浸透圧濃度

(表10) 重量モル浸透圧濃度

試料	重量モル浸透圧濃度 (mOsm)
F32 (新しく調製した)	411 (希釈なし)
F32 (25℃_24h)	169 (DI水で1:1v/v希釈した後) *
F32V	316 (希釈なし)

10

【0114】

希釈なしのF32製剤の重量モル浸透圧濃度は、浸透圧計で測定することができなかった。したがって、測定のために、試料をDI水で1:1v/v希釈した。F32の重量モル浸透圧濃度は411mOsmであり、これは、IV注射／注入に許容されるものである。

20

【0115】

結論

F32製剤は、25℃で少なくとも24時間および2～8℃で少なくとも48時間安定であった。凍結乾燥－再構成した製剤F32および凍結融解した製剤F32はすべて、25℃で24時間および2～8℃で48時間安定であった。F32試料のすべては、凍結融解したかまたは凍結乾燥－再構成したかどうかに関係なく、25℃で24時間および2～8℃で48時間保存した後に、USP26〈788〉の微粒子状物質許容判断基準を満たした。F32の重量モル浸透圧濃度は411mOsmであり、これは、IV注射／注入に許容されるものである。

30

【0116】

実施例5：RLS-0071についての安定な液体および凍結乾燥小児製剤の調製

本実施例の目的は、(i)F7、F8、F9、F10製剤を調製すること、(ii)既存の凍結乾燥サイクルを使用して、バイアル中で製剤を凍結乾燥すること、ならびに(iii)凍結乾燥物を再構成し、凍結したバイアルを解凍し、不純物および微粒子状物質を試験アッセイすることによって、小児使用のためのRLS-0071の安定な液体および凍結乾燥製剤を調製することであった。

【0117】

材料

表11および12は、様々な製剤の組成を示す。

(表11) 組成表

40

成分	製剤 ID (% , wt)			
	F7	F8	F9	F10
RLS-0071	1.0	1.0	1.0	1.0
メチオニン	-	0.25	0.25	0.25
EDTA・Na ₂	-	0.05	0.05	0.05
トレハロース	10.0	8.7	8.2	-
ショ糖	-	-	-	7.6
緩衝液1 (クエン酸)	-	-	90.5	91.1
WFI	89.0	90.0	-	-
pH 調整	5.3			

10

20

(表 1 2) 配合表

成分	製剤 ID (mg/40g)			
	F7	F8	F9	F10
RLS-0071	400.0	400.0	400.0	400.0
メチオニン	-	100.0	100.0	100.0
EDTA・Na ₂	-	20.0	20.0	20.0
トレハロース	4000.0	3480.0	3280.0	-
ショ糖	-	-	-	3040.0
緩衝液1 (クエン酸)	-	-	40g に QS	40g に QS
WFI	40g に QS	40g に QS	-	-
pH 調整	5.3			

30

40

【 0 1 1 8 】

プロトコール

以下のように、製剤 (F7~F10) を調製した。400mgのRLS-0071を秤量し、F7~F10用のファルコンチューブに移した。メチオニン、EDTA・Na₂、トレハロース、およびショ糖を秤量し、対応するファルコンチューブに移した。WFIまたは緩衝液を使用して製剤を40gにした。各バイアルをボルテックスして、固体を溶解させた。NaOHまたは

50

HCl溶液を使用して、各試料を目標pH値に調整した。

【0119】

次いで、以下のように製剤を凍結乾燥した：0.2 μmのフィルターでF7～F10を濾過した。各濾液の4mLを10mLのきれいな脂質分解ガラスバイアルに等分した。既存の凍結乾燥サイクルを使用して、ガラスバイアルを凍結乾燥した。次いで、凍結乾燥したバイアルを再構成し、再構成および解凍した溶液を2～8℃で12～24時間および25℃で2時間保存した。次いで、微粒子状物質および不純物について溶液をアッセイした。

【0120】

結果

図5は、異なる保存条件下でのRLS-0071を含む製剤のバイアルを示す。以下の表13および14は、HPLCおよび微粒子状物質の結果を示す。

【0121】

(表13) HPLCの結果

試料ID		計算濃度 (mg/mL)	回収 (%)	分解 (%)	外観	pH	重量モル浸透圧濃度 (mOsm)
F7	T0	9.80	100.00	0.00	透明	5.31	331
	Lyo_T0	9.77	99.65	0.35	透明	-	-
	Lyo- 25°C 2h	9.70	99.00	1.00	透明	5.29	-
	Lyo- 5°C 22h	9.71	99.04	0.96	透明	-	-
F8	T0	9.78	100.00	0.00	透明	5.29	315
	Lyo_T0	9.66	98.80	1.20	透明	-	-
	Lyo- 25°C 2h	9.71	99.33	0.67	透明	5.30	-
	Lyo- 5°C 22h	9.77	99.90	0.10	透明	-	-
F9*	T0	7.59	100.00	0.00	沈殿 (未濾過) 透明 (濾過後)	5.30	314
	Lyo_T0	7.45	98.15	1.85	透明	-	-
	Lyo- 25°C 2h	7.41	97.63	2.37	より少ない 粒子	5.29	-
	Lyo- 5°C 22h	7.38	97.18	2.82	透明	-	-
F10	T0	9.88	100.00	0.00	透明	5.30	323
	Lyo_T0	9.71	98.28	1.72	透明	-	-
	Lyo- 25°C 2h	9.77	98.85	1.15	透明	5.19	-
	Lyo- 5°C 22h	9.81	99.23	0.77	透明	-	-

【0122】

(表14) 微粒子状物質

10

20

30

40

50

ID	F7	F8	F9	F10
Lyo_T0	>10μm: 374 >25μm: 30	>10μm: 276 >25μm: 10	>10μm: 160 >25μm: 26	>10μm: 718 >25μm: 92
Lyo-25°C_2h	>10μm: 680 >25μm: 52	>10μm: 582 >25μm: 164	>10μm: 752 >25μm: 92	>10μm: 1182 >25μm: 342
Lyo-5°C_22h	>10μm: 2412 >25μm: 314	>10μm: 3794 >25μm: 564	>10μm: 1258 >25μm: 240	>10μm: 3050 >25μm: 610

10

*注：製剤をDI水で20倍希釈した（1:20、v/v）

【0123】

結論

製剤の調製の間、F9に混濁した沈殿があった。濾過後、アッセイ試験によって、沈殿が活性成分（API）であることが示された。F7、F8、およびF10の微粒子状物質試験の結果によって、溶液を構成するために水を使用することが緩衝液よりも優れていることが示された。凍結乾燥の結果から、EDTA-Na2およびメチオニンを有するF8は、F7と比較して有意な変化がないように思われた。F7は、製剤を凍結乾燥する場合、優れたリード製剤であることが示された。F8は、製剤が水性である場合、優れたリード製剤であることが示された。

20

【0124】

実施例6：薬学的製剤の投与

疾患または状態を処置または防止するために、SEQ ID NO:3の脂質ベースの製剤の治療的に有効な量を含む薬学的製剤を、その必要がある対象に投与する。投与は、任意の適切な経路（例えば、注射、注入、埋め込み）であり得る。

【0125】

対象において補体系を調節するために、SEQ ID NO:3の脂質ベースの製剤の治療的に有効な量を含む薬学的製剤を、その必要がある対象に投与する。投与は、任意の適切な経路（例えば、注射、注入、埋め込み）であり得る。

30

【0126】

疾患または状態を処置または防止するために、静脈内投与に適している賦形剤と組み合わせてSEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3の治療的に有効な量を含む薬学的製剤を、その必要がある対象に静脈内投与する。賦形剤は、対象の年齢に基づいて選択することができる。

【0127】

対象において補体系を調節するために、静脈内投与に適している賦形剤と組み合わせてSEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3の治療的に有効な量を含む薬学的製剤を、その必要がある対象に静脈内投与する。賦形剤は、対象の年齢に基づいて選択することができる。

40

【0128】

態様のリスト

以下は、本明細書によって提供される態様の非網羅的リストである。

1.

SEQ ID NO:3の治療的に有効な量および脂質ベースの担体を含む、組成物。

2.

前記脂質ベースの担体が脂質ミセルを含む、態様1の組成物。

3.

前記脂質ベースの担体が脂質乳剤を含む、態様1または2の組成物。

50

4. 前記脂質ベースの担体が約10%w/v～約20%w/vの量で存在する、態様3の組成物。
5. SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3の治療的に有効な量および少なくとも1つの賦形剤を含む、組成物。
6. 前記少なくとも1つの賦形剤が静脈内投与に適している、態様5の組成物。
7. 前記少なくとも1つの賦形剤が、クエン酸、アスコルビン酸、アミノ酸、およびそれらの組み合わせからなる群より選択される、態様5または6の組成物。 10
8. 前記クエン酸がクエン酸ナトリウムを含む、態様7の組成物。
9. 前記クエン酸が約1%w/v～約5%w/vの量で存在する、態様8の組成物。
10. 前記アスコルビン酸がアスコルビン酸ナトリウムを含む、態様7の組成物。
11. 前記アスコルビン酸が約1%w/v～約5%w/vの量で存在する、態様10の組成物。
12. 前記アミノ酸がL-メチオニンを含む、態様7の組成物。 20
13. 前記アミノ酸が約0.01%w/v～約5%w/vの量で存在する、態様12の組成物。
14. SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3が、体重キログラムあたり約0.001～約200ミリグラム (mg/kg) の量で存在する、態様1～13のいずれかの組成物。
15. SEQ ID NO:2および／またはSEQ ID NO:3が、約5～約160mg/kgの量で存在する、態様1～14のいずれかの組成物。
16. SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3が、約1mg/ml～約100mg/mlの量で存在する、態様1～13のいずれかの組成物。 30
17. SEQ ID NO:2またはSEQ ID NO:3が、約10mg/ml～約80mg/mlの量で存在する、態様1～13のいずれかの組成物。
18. 態様1～17のいずれかの組成物を、その必要がある対象に投与する段階を含む、サイトカイン発現を変化させる方法。
19. 前記投与が非経口投与を含む、態様18の方法。
20. 前記投与が静脈内投与を含む、態様18または19の方法。 40
21. 態様1～17のいずれかの組成物を、その必要がある対象に投与する段階を含む、疾患または状態を処置または防止する方法。
22. 前記投与が非経口投与を含む、態様21の方法。
23. 前記投与が静脈内投与を含む、態様21または22の方法。

【0129】

配列の表

10

20

30

40

50

SEQ ID NO.	配列	説明
1	IALILEPICCQERAA	PA (PIC1)
2	IALILEPICCQERAA-PEG24	PA-dPEG24
3	IALILEP(Sar)CCQERAA	PA-I8Sar

10

【0130】

いくつかの可能性のある態様が上に開示されるが、本発明の態様は、そのようには限定されない。これらの例示的な態様は、網羅的であること、または本発明の範囲を不必要に限定することを意図するものではなく、代わりに、他の当業者が本発明を実施することができるように本発明の原理を説明するために、選択され、記載された。実際に、本明細書に記載されるものに加えて、本発明の様々な修正が前述の説明から当業者に明らかとなると考えられる。そのような修正は、添付の特許請求の範囲の範囲に入ることが意図される。

20

【0131】

参考文献

30

40

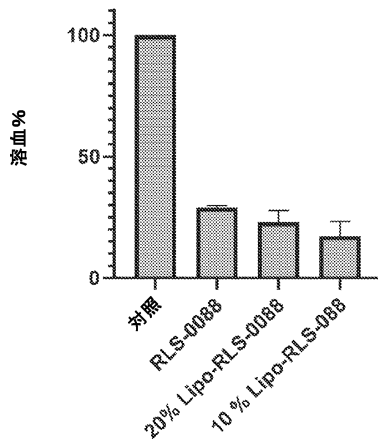
50

1. Fosgerau K and Hoffmann T (2014) Peptide therapeutics: current status and future directions. *Drug Disc Today* 20: 122-129.
2. Ali AM, Atmaj J, Van Oosterwijk N, Groves MR, Domling A (2019) Stapled peptide inhibitors: a new window for target drug discovery. *Comp Struct Biotech J* 17: 263-281
3. Sharp JA, Hair PS, Pallera HK, Kumar PS, Mauriello CT, et al. (2015) Peptide Inhibitor of Complement C1 (PIC1) Rapidly Inhibits Complement Activation after Intravascular Injection in Rats. *PLoS ONE* 10: e0132446. 10
4. Hair PS, Sass LA, Krishna NK, Cunnion KM (2017) Inhibition of Myeloperoxidase Activity in Cystic Fibrosis Sputum by Peptide Inhibitor of Complement C1 (PIC1). *PLoS ONE* 12: e0170203.
5. Hair PS, Cunnion KM, Krishna NK (2017) Peptide Inhibitor of Complement C1 Inhibits the Peroxidase Activity of Hemoglobin and Myoglobin. *Int J Pept* 2017: 9454583.
6. Gregory Rivera M, Hair PS, Cunnion KM, Krishna NK (2018) Peptide Inhibitor of Complement C1 (PIC1) demonstrates antioxidant activity via single electron transport (SET) and hydrogen atom transfer (HAT). *PLoS ONE* 13: e0193931. 20
7. Hair PS, Enos AI, Krishna NK, Cunnion KM (2018) Inhibition of Immune Complex Complement Activation and Neutrophil Extracellular Trap Formation by Peptide Inhibitor of Complement C1. *Front Immunol* 9: 558.
8. Hair PS, Rivera MG, Enos AI, Pearsall SE, Sharp JA, et al. (2017) Peptide Inhibitor of Complement C1 (PIC1) Inhibits Growth of Pathogenic Bacteria. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* DOI 10.1007/s10989-017-9651-z. 30
9. Matsui SM, Kiang D, Ginzton N, Chew T, Geigenmuller-Gnirke U (2001) Molecular biology of astroviruses: selected highlights. *Novartis Found Symp* 238: 219-233; discussion 233-216.
10. Bonaparte RS, Hair PS, Banthia D, Marshall DM, Cunnion KM, et al. (2008) Human astrovirus coat protein inhibits serum complement activation via C1, the first component of the classical pathway. *J Virol* 82: 817-827. 40
11. Hair PS, Enos AI, Krishna NK, Cunnion KM. (2019) Inhibition of complement activation, myeloperoxidase, NET formation and oxidant activity by PIC1 peptide variants. *PLoS ONE* 14: e0226875.
12. Cunnion KM, Lee JC, Frank MM (2001) Capsule production and growth phase influence binding of complement to *Staphylococcus aureus*. *Infect Immun* 69: 6796-6803. 50

【図面】

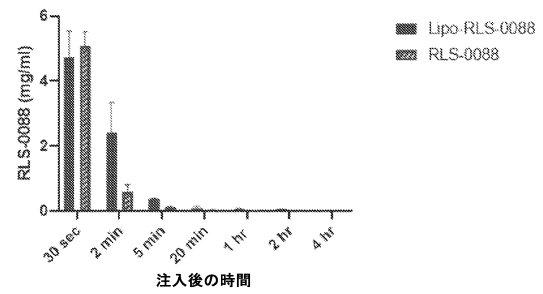
【図 1】

ABO 溶血アッセイ



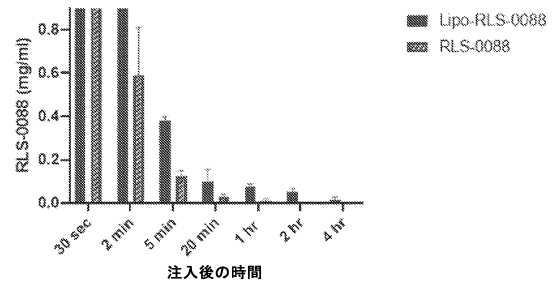
【図 2】

緩衝液対Intralipidにおける、RLS-0088を与えられたラットからオーバーレイしたC1q結合のPKの結果 (200mg/kg)



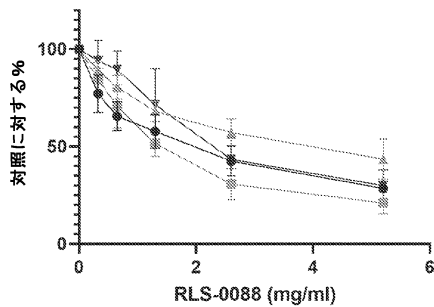
A

緩衝液対Intralipidにおける、RLS-0088を与えられたラットからオーバーレイしたC1q結合のPKの結果 (200mg/kg)

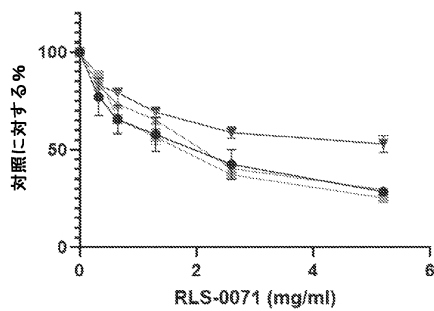


B

【図 3】



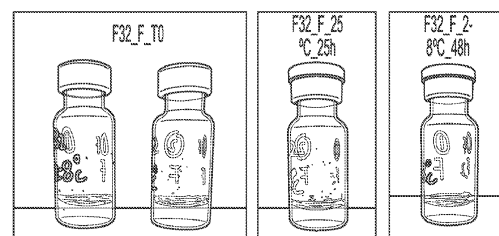
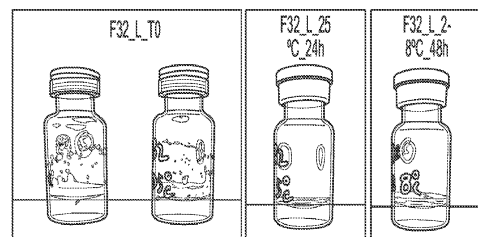
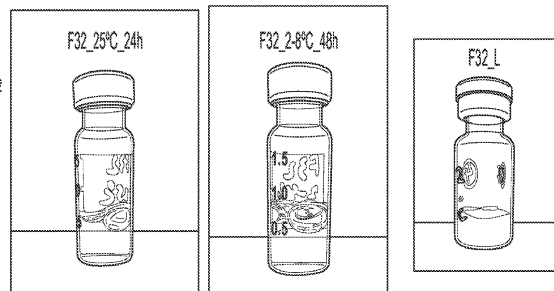
A



B

【図 4】

- ヒスチジン
- クエン酸
- アスコルビン酸
- メチオニン



10

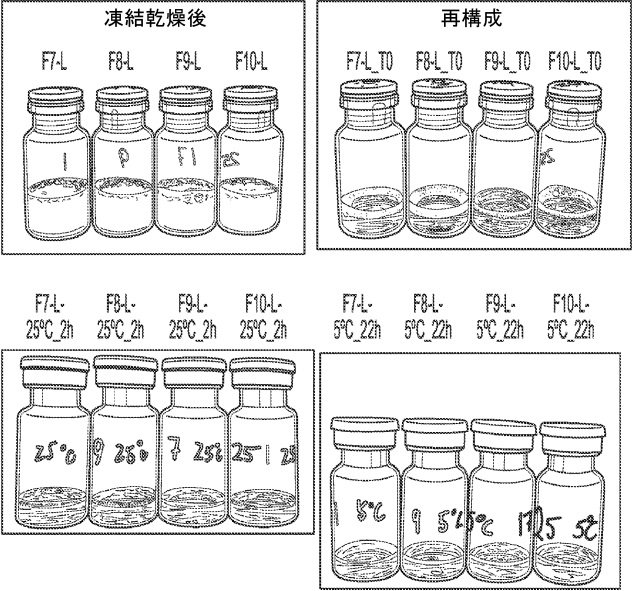
20

30

40

50

【図 5】



10

【配列表】

202354912600001.app

20

30

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/57802

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC - A61K 38/08, A61K 38/10, A61K 9/00, A61K 9/127 (2022.01)

CPC - A61K 38/08, A61K 38/10, A61K 9/0019, A61K 9/1271

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

See Search History document

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

See Search History document

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

See Search History document

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2016/210370 A2 (EASTERN VIRGINIA MEDICAL SCHOOL et al.) 29 December 2016 (29.12.2016); para [0013], [0018], [0032], [0034], [0131], [0163], SEQ ID NO: 3, Claim 1, Table 2	5-6
Y		1-4, 7-13
Y	WO 2017/093810 A2 (PHARCON INC) 8 June 2017 (08.06.2017); Abstract; para [00040], [00075], [0076]	1-4
Y	WO 2008/013955 A2 (NEKTAR THERAPEUTICS) 31 January 2008 (31.01.2008); Abstract, Claim 11	7-13
Y	US 2016/0184231 A1 (SANOFI) 30 June 2016 (30.06.2016); Abstract; para [0026]	10-11
Y	WO 2018/189372 A1 (VALNEVA AUSTRIA GMBH) 18 October 2018 (18.10.2018); Abstract; p 22, ln 1-2	12-13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"D" document cited by the applicant in the international application earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 February 2022

Date of mailing of the international search report

MAR 16 2022

Name and mailing address of the ISA/US

Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents

P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450

Facsimile No. 571-273-8300

Authorized officer

Kari Rodriguez

Telephone No. PCT Helpdesk: 571-272-4300

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2019)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/57802

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☒ Claims Nos.: 14-23
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be searched, the appropriate additional search fees must be paid.

Groups I+: Claims 1-13, drawn to a composition comprising a PIC1 peptide and a lipid based carrier. The composition will be searched to the extent that the PIC1 peptide encompasses SEQ ID NO: 3. It is believed that claims 1-13 encompass this first named invention, and thus these claims will be searched without fee to the extent that they encompass SEQ ID NO: 3. Additional PIC1 peptide(s) will be searched upon the payment of additional fees. Applicants must specify the claims that encompass any additionally elected PIC1 peptide(s). Applicants must further indicate, if applicable, the claims which encompass the first named invention, if different than what was indicated above for this group. Failure to clearly identify how any paid additional invention fees are to be applied to the "+" group(s) will result in only the first claimed invention to be searched. An exemplary election would be a composition comprising the PIC1 peptide of SEQ ID NO: 2 (Claims 1-13).

*****Continued in Supplemental Box*****

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-13 limited to SEQ ID NO: 3

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US 21/57802

Continuation of Box NO. III (Observations where unity of invention is lacking):

The inventions listed as Groups I+ do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

No technical features are shared between the amino acid sequences of Groups I+ and, accordingly, these groups lack unity a priori.

Additionally, even if Groups I+ were considered to share the technical features of including: a PIC1 peptide and a lipid based carrier, these shared technical features are previously disclosed by WO 2016/210370 A2 to Eastern Virginia Medical School et al. (hereinafter "EVMS") and WO 2017/093810 A2 to Pharcon Inc. (hereinafter "Pharcon").

EVMS teaches (instant claim 1) a composition comprising a therapeutically effective amount of a PIC1 peptide (para [0019] "The PA peptide is also known as PIC1 (Peptide Inhibitors of Complement C1), AstroFend, AF, or SEQ ID NO: 3. As used herein, the term "PIC1 peptides" include SEQ ID NO: 3 as well as other amino acid sequences that are the same as SEQ ID NO:3 but with PEGylation modifications."; para [0163] "The present disclosure provides pharmaceutical compositions capable of regulating the complement system, comprising at least one peptide compound, as discussed above, and at least one pharmaceutically acceptable carrier, diluent, stabilizer, or excipient. Pharmaceutically acceptable carriers, excipients, or stabilizers are nontoxic to recipients at the dosages and concentrations employed."), however fails to teach a lipid based carrier.

Pharcon teaches a lipid carrier for delivering peptides (Abstract "The present disclosure relates to self-emulsifying pharmaceutical compositions for transmucosal delivery of biologically active peptides and proteins."; para [00075] "It was unexpectedly found that incorporation of such polar hydrophobic aromatic component as salicylic acid ester in some ratios into lipid phase of the emulsion allows complete solubilization of peptide-counter-ion complex in the oil core and keeps it in dissolved state after formation of the oil-in-water emulsion. It not only significantly improves incorporation of the formed complex/salt into lipid phase of the colloidal delivery system, e.g., emulsion, nanoemulsion or micelles, but also noticeably increases drug transporting via biological barriers.").

Given that EVMS teaches wherein the peptides are directed towards mucosal build up in complement-mediated inflammation (para [0013] "Complement-mediated inflammation may be a major contributor to inflammatory lung damage in CF. Treatment of CF includes a regular treatment routine to maintain lung health and good nutrition. Other treatments for CF include airway clearance every day to help loosen and clear thick mucus that can build up in the lungs, inhaled medicines, including antibiotics, to help keep the airways clear, and pancreatic enzyme supplements to improve absorption of vital nutrients. There is a need for both anti-inflammatory and anti-microbial treatments for CF."), and Pharcon teaches wherein lipid carriers can be used for transmucosal delivery (para [00040] "The object of the invention is to provide safe and convenient method for transmucosal delivery of biologically active peptide, providing fast onset of biological action."; para [0076] "The lipid-soluble protein or peptide complex with hydrophobic counter-ion, reversibly (non-covalently) associated with the basic amino acid(s) of the peptide chain, penetrates through mucosal layers remaining incorporated into internal area of the oil droplet, being protected from damage and degradation, and gradually releases the biologically active polypeptide inside the body tissues, providing fast and effective onset of physiological action."), it would have been obvious to an artisan of ordinary skill in the art to utilize a carrier capable of facilitating transmucosal delivery.

As said technical features were known in the art at the time of the invention, these cannot be considered special technical features that would otherwise unify the groups.

Groups I+ therefore lack unity under PCT Rule 13 because they do not share a same or corresponding special technical feature.

Item 4 (continued):

Claims 14-23 are improper multiple dependent claims because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

A 6 1 K 47/22 (2006.01)
 A 6 1 K 47/18 (2017.01)
 A 6 1 K 47/12 (2006.01)
 A 6 1 K 47/69 (2017.01)
 C 0 7 K 7/02 (2006.01)

A 6 1 K 47/22
 A 6 1 K 47/18
 A 6 1 K 47/12
 A 6 1 K 47/69
 C 0 7 K 7/02

Z N A

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
 E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
 CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
 E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
 G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,
 TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100188433

弁理士 梅村 幸輔

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100214396

弁理士 塩田 真紀

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(74)代理人 100221741

弁理士 酒井 直子

(74)代理人 100114926

弁理士 枝松 義恵

(72)発明者 クリシュナ ニール ケイ.

アメリカ合衆国 2 3 5 0 8 バージニア州 ノーフォーク プレザント アベニュー 4 8 1 1

(72)発明者 クニオン ケンジ

アメリカ合衆国 2 3 5 0 8 バージニア州 ノーフォーク ラーチモント クレセント 9 1 5

F ターム (参考) 4C076 AA16 AA17 BB11 BB13 CC04 CC07 DD43 DD51 DD59 DD63

FF04 FF15 FF16 FF34 FF36 FF63 FF67 FF68

4C084 AA02 BA01 BA08 BA18 BA23 BA31 BA37 CA01 CA59 MA05

MA17 MA55 MA66 NA03 NA06 NA11 NA14 ZB111 ZB112 ZB131 ZB132

4H045 AA10 BA16 EA20 FA20