

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2018-119002

(P2018-119002A)

(43) 公開日 平成30年8月2日(2018.8.2)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>A 6 1 K 38/57 (2006.01)</b>	A 6 1 K 38/57 Z N A	4 C 0 7 6
<b>A 6 1 P 9/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 9/00	4 C 0 8 4
<b>A 6 1 P 7/10 (2006.01)</b>	A 6 1 P 7/10	4 H 0 4 5
<b>A 6 1 P 43/00 (2006.01)</b>	A 6 1 P 43/00 1 1 1	
<b>A 6 1 K 9/19 (2006.01)</b>	A 6 1 K 9/19	

審査請求 有 請求項の数 29 O L 外国語出願 (全 18 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2018-73691 (P2018-73691)	(71) 出願人	515227420
(22) 出願日	平成30年4月6日 (2018.4.6)		シャイア バイロファーマ インコーポレ
(62) 分割の表示	特願2017-51361 (P2017-51361)		イテッド
	の分割		アメリカ合衆国 マサチューセッツ O 2
原出願日	平成26年3月17日 (2014.3.17)		4 2 1, レキシントン, シャイア ウ
(31) 優先権主張番号	61/791, 399		エイ 3 0 0
(32) 優先日	平成25年3月15日 (2013.3.15)	(74) 代理人	100078282
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 山本 秀策
		(74) 代理人	100113413
			弁理士 森下 夏樹
(特許庁注：以下のものは登録商標)		(74) 代理人	100181674
1. T W E E N			弁理士 飯田 貴敏
		(74) 代理人	100181641
			弁理士 石川 大輔

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 C 1 エステラーゼ抑制因子欠乏に関連する障害の予防及び治療のための C 1 - 1 N H 組成物ならびに方法

## (57) 【要約】

【課題】 C 1 エステラーゼ抑制因子欠乏に関連する障害の治療及び/または予防のための組成物ならびに方法を提供すること。

【解決手段】 障害の治療、抑制、または予防を必要とする対象における C 1 エステラーゼ抑制因子の欠乏に関連する障害を治療、抑制、または予防するための方法であって、該方法が、少なくとも1つの C 1 エステラーゼ抑制因子を含む組成物を投与することを含み、該 C 1 エステラーゼ抑制因子が、約 4 0 0 U / m l 以上で存在する、前記方法。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

遺伝性血管性浮腫（HAE）の予防的処置のための薬学的組成物であって、該組成物は、C1エステラーゼ抑制因子と、クエン酸ナトリウムとを含み、6.5～8.0のpH範囲を有し、該組成物は、遺伝性血管性浮腫（HAE）の予防的処置を必要とする対象に皮下投与されることを特徴とし、該C1エステラーゼ抑制因子は約400～600U/mlの濃度を有し、該C1エステラーゼ抑制因子は、配列番号1の残基23～500のアミノ酸配列を含み、該組成物の投与は、該対象の血中の該C1エステラーゼ抑制因子レベルを少なくとも約0.4U/mlに増大させる、薬学的組成物。

## 【請求項 2】

少なくとも約2000UのC1エステラーゼ抑制因子かつ約5000U未満のC1エステラーゼ抑制因子を含む少なくとも1つの凍結乾燥粉末から水で再構成された、請求項1に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 3】

前記C1エステラーゼ抑制因子が、約1500U～約2500Uの範囲で投与されることを特徴とする、請求項1に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 4】

少なくとも約2000UのC1エステラーゼ抑制因子が投与されることを特徴とする、請求項1に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 5】

前記C1エステラーゼ抑制因子が、約5000Uの用量で投与されることを特徴とする、請求項1に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 6】

前記C1エステラーゼ抑制因子が、少なくとも約2000Uかつ約5000U未満の用量で投与されることを特徴とする、請求項1に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 7】

毎日、1日おき、または3日毎に投与されることを特徴とする、請求項1に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 8】

週に1回、2回または3回投与されることを特徴とする、請求項1に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 9】

週に3回以上投与されることを特徴とする、請求項1に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 10】

前記組成物の投与が、前記対象の血中の機能的C1エステラーゼ抑制因子レベルを0.4U/mlにまたはこれを上回って増大させる、請求項1に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 11】

前記組成物の投与が、投与の間の時間の少なくとも50%の間、前記対象の血中の機能的C1エステラーゼ抑制因子レベルを0.4U/mlにまたはこれを上回って維持させる、請求項1に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 12】

前記組成物の投与が、投与の間の時間の少なくとも75%の間、前記対象の血中の機能的C1エステラーゼ抑制因子レベルを0.4U/mlにまたはこれを上回って維持させる、請求項1に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 13】

前記組成物の投与が、投与の間の時間の少なくとも90%の間、前記対象の血中の機能的C1エステラーゼ抑制因子レベルを0.4U/mlにまたはこれを上回って維持させる、請求項1に記載の薬学的組成物。

## 【請求項 14】

前記組成物の投与が、投与の間の時間の少なくとも95%の間、前記対象の血中の機能的

10

20

30

40

50

的 C 1 エステラーゼ抑制因子レベルを 0.4 U / ml にまたはこれを上回って維持させる、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 15】

機能的 C 1 エステラーゼ抑制因子血液レベルが、薬物が投与されている間の時間の少なくとも 95 % の間、0.4 U / ml を上回って維持される、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 16】

機能的 C 1 エステラーゼ抑制因子血液レベルが、薬物が投与されている間の時間の 100 % の間、0.4 U / ml を上回って維持される、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 17】

1 回以上皮下投与されることを特徴とする、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 18】

前記組成物の投与が、C 1 エステラーゼ抑制因子の初期の静脈内投与される用量を含まない、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 19】

前記組成物の投与が、少なくとも H A E 発作の重症度及び / または数の低減をもたらす、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 20】

投与の前に凍結乾燥粉末から再構成される、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 21】

前記凍結乾燥粉末が滅菌水で再構成される、請求項 20 に記載の薬学的組成物。

【請求項 22】

前記対象によって投与されることを特徴とする、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 23】

前記遺伝性血管性浮腫 ( H A E ) の予防的処置を必要とする対象が青年期のヒトである、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 24】

前記 pH が約 6.5 ~ 約 7.5 である、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 25】

前記 pH が約 6.5 ~ 約 7.0 である、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 26】

前記クエン酸ナトリウムが約 10 mM ~ 約 30 mM で存在する、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 27】

前記クエン酸ナトリウムが 10 mM ~ 30 mM で存在する、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 28】

前記クエン酸ナトリウムが約 10 mM で存在する、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【請求項 29】

C 1 エステラーゼ抑制因子から本質的になる薬学的活性成分の単一製剤である、請求項 1 に記載の薬学的組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、米国特許法第 119 条 ( e ) の下で、2013 年 3 月 15 日出願の米国仮特許出願第 61 / 791, 399 号の優先権を主張するものである。前述の出願は、参照により本明細書に組み込まれる。

【0002】

本発明は、治療薬及びその使用方法の分野に関する。具体的には、本発明は、C 1 エス

10

20

30

40

50

テラーゼ抑制因子欠乏に関連する障害の治療及び/または予防のための組成物ならびに方法を提供する。

【背景技術】

【0003】

本発明が関する当技術分野の現状を説明するために、いくつかの刊行物及び特許文献が本明細書全体にわたって引用される。これらの参考文献の完全な引用は、本明細書全体にわたって見出すことができる。これらの引用のそれぞれは、参照により完全に記載されているかのように本明細書に組み込まれる。

【0004】

遺伝性血管性浮腫（HAE）は、C1エステラーゼ抑制因子の欠乏によって引き起こされる、稀で重篤な遺伝性障害である（一般に、www.haei.org及びwww.haea.orgを参照されたい）。米国においては少なくとも6,500人の人々、そして欧州においては少なくとも10,000人の人々が、HAEを有する。HAE患者は、反復性、予測不可能、衰弱性、かつ重篤な炎症の発作、及び粘膜下/皮下の腫脹を経験する。炎症は、典型的に、喉頭、腹部、顔、四肢、及び泌尿生殖路のものである。この遺伝性障害は、C1エステラーゼ抑制因子の合成を制御する遺伝子の欠損の結果である。したがって、これらの患者における活性C1エステラーゼ抑制因子のレベルを正常なレベルまたは、正常に近いレベルまで回復させることは、HAEを治療するための有効な手段である。依然として、C1エステラーゼ抑制因子の欠乏に関連する障害、例えばHAEなどを治療及び予防する新規の改善された方法が所望される。

10

20

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

本発明に従って、対象におけるC1エステラーゼ抑制因子の欠乏に関連する障害を抑制、治療、及び/または予防するための方法が提供される。特定の実施形態では、本方法は、少なくとも1つのC1エステラーゼ抑制因子を含む組成物を投与することを含む。

【0006】

本発明に従って、治療組成物も提供される。特定の実施形態では、本組成物は、少なくとも1つのC1エステラーゼ抑制因子と、任意に、送達（例えば、静脈内または皮下送達）のための少なくとも1つの薬学的に許容される担体とを含む。少なくとも1つのC1エステラーゼ抑制因子を含む組成物を含むキットも、本明細書において提供される。

30

本発明の実施形態において、例えば以下の項目が提供される。

（項目1）

障害の治療、抑制、または予防を必要とする対象におけるC1エステラーゼ抑制因子の欠乏に関連する障害を治療、抑制、または予防するための方法であって、該方法が、少なくとも1つのC1エステラーゼ抑制因子を含む組成物を投与することを含み、該C1エステラーゼ抑制因子が、約400U/ml以上で存在する、前記方法。

（項目2）

該組成物が皮下投与される、項目1に記載の前記方法。

（項目3）

該組成物が静脈内投与される、項目1に記載の前記方法。

40

（項目4）

該障害が遺伝性血管性浮腫である、項目1に記載の前記方法。

（項目5）

該C1エステラーゼ抑制因子が、ヒトC1エステラーゼ抑制因子である、項目1に記載の前記方法。

（項目6）

該ヒトC1エステラーゼ抑制因子が、血漿から精製される、項目5に記載の前記方法。

（項目7）

該組成物がクエン酸塩を含む、項目3に記載の前記方法。

50

(項目 8)

該組成物がリン酸塩を含む、項目 2 に記載の前記方法。

(項目 9)

該組成物が約 6.5 を超える pH を有する、項目 1 に記載の前記方法。

(項目 10)

少なくとも 1 つの C1 エステラーゼを約 400 U/ml 以上で含む、組成物。

(項目 11)

少なくとも 1 つの薬学的に許容される担体をさらに含む、項目 10 に記載の前記組成物。

(項目 13)

少なくとも 1 つの項目 10 に記載の組成物を含む、キット。

(項目 14)

少なくとも 1 つのシリンジ及び/または再構成緩衝液をさらに含む、項目 13 に記載の前記キット。

(項目 15)

該シリンジに該組成物が予め充填されている、項目 14 に記載の前記キット。

【図面の簡単な説明】

【0007】

【図 1】ヒト C1 エステラーゼ抑制因子のアミノ酸配列を提供する。

【図 2】初期スピン濃縮試料についての粘度に対するタンパク質濃度の影響のグラフを提供する。

【発明を実施するための形態】

【0008】

欠乏または低減したレベルの活性 C1 エステラーゼ抑制因子に関連する障害（例えば、HAE）を有する患者における、活性 C1 エステラーゼ抑制因子レベルの回復は、かかる障害を治療するための有効な手段である。現在、C1 エステラーゼ抑制因子（例えば Cinryze（登録商標）（Virupharma, Inc.; Extton, PA）など）は、医療従事者によって患者に静脈内投与されている。本明細書において、皮下（SC）投与に同様に有効である、C1 エステラーゼ抑制因子の製剤（例えば Cinryze（登録商標）など）が提供される。驚くべきことに、C1 エステラーゼ抑制因子の皮下投与は、C1 エステラーゼ抑制因子の血中レベルを維持するのに十分である。C1 エステラーゼ抑制因子の SC 投与は、HAE 患者における静脈内投与の制限に起因する、未だ満たされていない医学的必要性を満たす。

【0009】

本発明に従って、対象における C1 エステラーゼ抑制因子欠乏に関連する障害を抑制（例えば、低減または緩徐化）、治療、及び/または予防するための組成物ならびに方法が提供される。特定の実施形態では、本方法は、少なくとも 1 つの C1 エステラーゼ抑制因子を、それを必要とする対象に、（例えば、皮下または静脈内）投与することを含む。特定の実施形態では、C1 エステラーゼ抑制因子は、C1 エステラーゼ抑制因子の初期の静脈内投与の後に、皮下投与される。

【0010】

C1 エステラーゼ抑制因子は、C1 抑制因子（C1 I）としても知られる。C1 エステラーゼ抑制因子は、補体 C1 の抑制因子であり、セリンプロテアーゼ抑制因子のスーパーファミリーに属する。ヒト C1 エステラーゼ抑制因子は、22 アミノ酸シグナル配列を含む、500 個のアミノ酸のタンパク質である（Carter et al. (1988) Eur. J. Biochem., 173:163）。血漿において、C1 エステラーゼ抑制因子は、およそ 76 kDa の重度にグリコシル化された糖タンパク質である（Perkins et al. (1990) J. Mol. Biol., 214:751）。C1 エステラーゼ抑制因子の活性は、既知の方法によってアッセイされ得る（例えば、Drouet et al. (1988) Clin. Chim. Acta., 174:12

10

20

30

40

50

1 - 30を参照されたい)。特定の実施形態では、C1エステラーゼ抑制因子はヒト型である。ヒトC1エステラーゼ抑制因子のアミノ酸配列は、GenBank登録番号CAA30314(C1エステラーゼ抑制因子のヌクレオチド配列も提供する、GeneID:710も参照されたい)及び図1において提供される。本発明の方法において使用するためのC1エステラーゼ抑制因子は、図1のアミノ酸配列と少なくとも65、70、75、80、85、90、95、98、99、または100%の同一性を有するアミノ酸配列を有し得る。C1エステラーゼ抑制因子は、血漿(例えば、ヒト血漿)から単離もしくは精製されるか、または組換えで産生され得る。血漿から精製される場合、C1エステラーゼ抑制因子は、ナノ濾過及び低温殺菌され得る。特定の実施形態では、血漿由来のC1エステラーゼ抑制因子は、Cinryze(登録商標)である。特定の実施形態では、C1エステラーゼ抑制因子は、高濃度で本発明の組成物中に存在する。実際に、非常に高レベルのC1エステラーゼ抑制因子を含む組成物は、驚くほど安定しており、かつ活性であると決定されている。特定の実施形態では、C1エステラーゼ抑制因子は、約250U/ml~約1000U/ml、約400U/ml~約600U/ml、または約500U/mlで存在する。

10

20

30

40

50

**【0011】**

特定の実施形態では、本発明の組成物は、クエン酸塩またはクエン酸を含有しない。クエン酸塩/クエン酸は注射部位反応を引き起こし得るため、クエン酸塩及びクエン酸を欠く組成物は、C1エステラーゼ抑制因子の皮下投与に特に有用である。特定の実施形態では、本組成物の緩衝液は、リン酸ナトリウム(例えば、約5mM~約50mMのリン酸ナトリウム、約10mM~約30mMのリン酸ナトリウム、または約20mMのリン酸ナトリウム)である。特定の実施形態(例えば、静脈内投与のための)では、本組成物の緩衝液は、カルボン酸基を含む。例えば、緩衝液は、制限なく、クエン酸、コハク酸、タータレート、マレイン酸、酢酸、及びこれらの塩であり得る。特定の実施形態では、本組成物の緩衝液は、クエン酸塩またはクエン酸ナトリウム(例えば、約5mM~約50mMのクエン酸ナトリウム、約10mM~約30mMのクエン酸ナトリウム、または約20mMのクエン酸ナトリウム)である。

**【0012】**

本発明の組成物は、約6.5以上、具体的には約6.5~約8.0、具体的には約6.5~約7.5、そしてより具体的には約6.5~約7.0のpH範囲を有し得る。

**【0013】**

本発明の組成物は、ポリソルベート80(TWEEN)を含んでもよい。ポリソルベート80を含む組成物は、タンパク質凝集を低減/軽減するため、特に有用である。ポリソルベート80はまた、シリンジ及び他の投与装置において使用されるものなどのシリコンを含有する潤滑剤/油と本組成物が接触するとき、タンパク質相互作用を制限することができる。ポリソルベート80を含む組成物は、凍結乾燥した調製物のためにも有用である。特定の実施形態では、ポリソルベート80は、約0.01%~約0.1%、具体的には約0.025%~約0.075%、具体的には約0.05%の濃度で存在する。

**【0014】**

本発明の組成物は、スクロースを含んでもよい。スクロースは、「増量」剤ならびに凍結乾燥防止剤(lyo-protectant)として添加され得る。特定の実施形態では、スクロースは、凍結乾燥される組成物に添加される。特定の実施形態では、本組成物は、約25mM~約125mMのスクロース、具体的には約50mM~約100mMのスクロースを含む。

**【0015】**

本発明の組成物は、少なくとも1個のアミノ酸またはその塩、具体的にはメチオニン及び/またはアルギニンを含んでもよい。アルギニンはその側鎖上に正電荷を帯び、リン酸塩を有する緩衝溶液に使用され得る。メチオニンは安定剤として作用する(例えば、酸化を制限することによって)。アミノ酸は、個別のアミノ酸として組成物中に存在するか、または短ペプチド(例えば、2~約5個のアミノ酸、具体的にはジ-ペプチドまたはトリ

- ペプチド)として存在し得る。

【0016】

本明細書上文に記載の通り、本発明は、機能性C1エステラーゼ抑制因子の絶対的もしくは相対的欠乏に関連する任意の病態または疾患を治療、抑制、及びまたは予防する方法を包含する。かかる障害としては、制限なく、後天性血管性浮腫(AAE)及び遺伝性血管性浮腫(HAE)が挙げられる。特定の実施形態では、該障害は、HAE及び/またはそれに関連する発作である。本明細書上文に記載の通り、HAEは、C1エステラーゼ抑制因子の欠乏に起因する反復性の粘膜下/皮下腫脹発作として現れる重篤かつ衰弱性の疾患である(Zuraw, B. L. (2008) N. Engl. J. Med., 359: 1027-1036)。特定の実施形態では、遺伝性血管性浮腫は、I型またはII型である。I型及びII型の両方が、C1抑制因子を産生しない(I型HAE)か、または機能障害性C1抑制因子を産生する(II型HAE)かのいずれかの、C1エステラーゼ抑制因子の合成の欠損遺伝子を有する(Rosen et al. (1965) Science 148: 957-958、Bissler et al. (1997) Proc. Assoc. Am. Physicians 109: 164-173、Zuraw et al. (2000) J. Allergy Clin. Immunol. 105: 541-546、Bowen et al. (2001) Clin. Immunol. 98: 157-163)。

10

【0017】

本発明の方法は、少なくとも1つのC1エステラーゼ抑制因子の投与を包含する。少なくとも1つのC1エステラーゼ抑制因子と、任意に、少なくとも1つの薬学的に許容される担体(例えば、皮下または静脈内投与に好適なもの)とを含む組成物は、本発明に包含される。かかる組成物は、治療上有効な量で、C1エステラーゼ抑制因子欠乏に関連する障害の治療のために、それを必要とする患者に投与され得る。本発明は、少なくとも1つの本発明の組成物、例えば、少なくとも1つのC1エステラーゼ抑制因子と、任意に、少なくとも1つの薬学的に許容される担体(例えば、静脈内または皮下投与に好適なもの)とを含む組成物を含むキットも包含する。本キットは、再構成緩衝液(複数可)、非経口(例えば、皮下)注射のためのシリンジ(例えば、使い捨て)、及び説明材料のうちの少なくとも1つをさらに含み得る。特定の実施形態では、本キットは、C1エステラーゼ抑制因子及び少なくとも1つの薬学的に許容される担体を含む、少なくとも1つの予め充填されているシリンジを含む。例えば、シリンジは、少なくとも1つのC1エステラーゼ抑制因子と、投与(例えば、静脈内または皮下投与)のための少なくとも1つの薬学的に許容される担体とで充填され得る。あるいは、単一のシリンジが、凍結乾燥したC1エステラーゼ抑制因子で充填されてよい。特定の実施形態では、予め充填されているシリンジは、(例えば、タンパク質-シリコン相互作用またはタンパク質凝集を防止する量で)ポリソルベート80を構成成分として含有する薬学的組成物を有する。

20

30

【0018】

本発明の薬剤及び組成物は、任意の好適な経路、例えば、注射(例えば、局所(直接的または全身投与のため)によって投与され得る。特定の実施形態では、本組成物は、皮下または静脈内投与される。一般に、本組成物の薬学的に許容される担体は、希釈剤、保存剤、可溶化剤、乳化剤、アジュバント、及び/または担体の群から選択される。本組成物は、様々な緩衝液含量(例えば、トリスHCl、酢酸塩、リン酸塩)、pH、及びイオン強度の希釈剤、ならびに、洗剤及び可溶化剤(例えば、Tween 80、ポリソルベート80)、抗酸化剤(例えば、アスコルビン酸、二亜硫酸ナトリウム)、保存剤(例えば、Thimerisol、ベンジルアルコール)、及び増量物質(例えば、ラクトース、マンニトール)などの添加剤を含み得る。本発明の薬学的組成物は、例えば、液体形態で調製されるか、または(例えば、後の再構成のために凍結乾燥された)乾燥粉末形態であってもよい。

40

【0019】

特定の実施形態では、本組成物は、凍結乾燥形態で製剤化される。本組成物が凍結乾燥

50

形態で提供される場合、本組成物は、適切な緩衝液（例えば、無菌水、無菌生理食塩水、または適切な薬学的に許容される担体を含む無菌溶液（例えば、本明細書上文に記載の組成物を再構成するための））によって、使用前に（例えば、使用の1時間、数時間、または1日以上うちに）再構成される。再構成緩衝液（複数可）は、本発明のキット内に提供されるか、または別々に取得もしくは提供されてよい。

【0020】

本明細書において使用される場合、「薬学的に許容される担体」は、前項に例示される通り、薬学的調製物の所望の投与経路に適切であり得る任意及びすべての溶剤、分散培地などを含む。薬学的に活性な物質のためのかかる培地の使用は、当技術分野において既知である。任意の従来培地または薬剤が、投与される分子と不適合である場合を除き、薬学的調製物中のその使用が企図される。

10

【0021】

好適な薬学的調製物の選択は、選択される投与の方法に依存する。この事例では、薬学的調製物は、それが投与される組織と適合性がある培地中に分散された分子を含む。非経口的または皮下に投与可能な組成物を調製するための方法は、当技術分野において周知である（例えば、Remington's Pharmaceutical Science (E. W. Martin, Mack Publishing Co., Easton, PA)を参照されたい）。

【0022】

本明細書上文に記載の通り、本発明の薬剤は、例えば血流への静脈内注射、及び/または皮下注射によって、非経口的に投与される。非経口、静脈内、及び皮下注射のための薬学的調製物は、当技術分野において既知である。分子を投与するための方法として非経口注射が選択される場合、十分な量の分子がそれらの標的細胞に到達し、生物学的効果を発揮することを確かにするための措置が講じられるべきである。

20

【0023】

薬学的担体を有する密接混加物中の活性成分として本発明の化合物を含有する薬学的組成物は、従来薬学的化合技術に従って調製され得る。担体は、投与、例えば、非経口的または皮下投与に所望される調製物の形態に依存して、広範な形態を取り得る。非経口については、担体は通常、無菌水を含むが、例えば、可溶性を補助するため、または保存目的のための、他の成分が含まれてもよい。注射用懸濁液も調製され得、その場合、適切な液体担体、懸濁化剤などが用いられ得る。

30

【0024】

本発明の薬学的調製物は、投与の容易さ及び薬用量の均一性のために、薬用量単位形態で製剤化され得る。薬用量単位形態は、本明細書において使用される場合、治療を受けている患者に適切な薬学的調製物の物理的に別々の単位を指す。各薬用量は、選択された薬学的担体と関連して所望の効果を生み出すように算定された量の活性成分を含有すべきである。薬用量単位は、患者の体重に基づいて、比例して増加または減少してよい。特定の病理学的状態の緩和に適切な濃度は、薬用量濃度曲線算定によって決定され得る。適切な薬用量単位は、治療の効力を査定することによっても決定され得る。

40

【0025】

本発明の分子を含む薬学的調製物は、病理学的症状が低減または緩和されるまで、適切な間隔で、例えば、毎日、1日おき、3日毎、毎7日中5日、または週に少なくとも1回、2回、もしくは3回以上投与され得、その後、薬用量は維持レベルまで低減され得る。特定の場合における適切な間隔は、通常は患者の病態に依存するであろう。

【0026】

特定の実施形態では、C1エステラーゼ抑制因子は、約100単位～約10,000単位、約500単位～約5,000単位、約1,000単位～約3,500単位、または約1,500単位～約2,500単位の範囲内で本組成物中に存在するか、または投与される。特定の実施形態では、少なくとも約2,000単位が使用される。特定の実施形態では、高い初期用量のC1エステラーゼ抑制因子（上文に列記される通り（静脈内投与され

50

得る))、続いてより低い維持用量が使用される。例えば、高い初期用量は、後続の用量の少なくとも1.5、2、3、4、または5倍であり得る。特定の実施形態では、C1エステラーゼ抑制因子は、約100単位~約5,000単位、約250単位~約2,000単位、約250単位~約1,000単位の範囲内、または約500単位で維持用組成物中に存在するか、または維持のために投与される。高い初期用量のC1エステラーゼ抑制因子は、目下特許請求される発明の方法において任意である(例えば、予防的方法では任意であり得る)。

#### 【0027】

特定の実施形態では、C1エステラーゼ抑制因子は、対象の血液中、少なくとも約0.3、またはより具体的には、0.4 U/ml以上、最大約1 U/ml(1単位/mlは、1 mlの正常なヒト血漿中に存在するC1抑制因子の平均量である)までC1エステラーゼ抑制因子レベルを上昇させるような頻度及び薬用量で投与される。例えば、C1エステラーゼ抑制因子レベルは、時間(例えば、薬物が投与されている間の時間)の少なくとも50%、少なくとも75%、少なくとも90%、少なくとも95%以上、またはその時間の全体にわたり、0.4 U/mlに、またはそれを超えるレベルに保たれ得る。例えば、2000 Uの初期用量、続いて毎日250 Uまたは1日おきに500 UのC1エステラーゼ抑制因子の投与は、血液中0.4 U/mlを少し下回る維持をもたらす。さらに、2000 Uの初期用量、続いて3日毎に1000 UのC1エステラーゼ抑制因子の投与は、血液中約0.4 U/mlの維持をもたらす。とりわけ、患者による使用の容易さのために、より低い頻度の投与が好ましい場合がある。2000 Uの初期用量、続いて週末の投与からの休息日を伴って毎日(すなわち、毎7日中5日)500 UのC1エステラーゼ抑制因子の投与も、血液中約0.4 U/ml以上の維持をもたらす。とりわけ、維持用量のみの投与は、上昇し、かつ生理学的に関連があるが、初期の高用量を受けているものと比較すると遅延した、C1エステラーゼ抑制因子の血中レベルをもたらす。

#### 【0028】

定義

「1つの(a)」、「1つの(an)」、及び「その(the)」という単数形は、文脈が別途明確に指示しない限り、複数形の指示対象を含む。

#### 【0029】

本明細書において使用される場合、用語「約」は、±5%、±2%、または±1%を指し得る。

#### 【0030】

本明細書において使用される場合、「宿主」、「対象」、及び「患者」という用語は、ヒトを含む、任意の動物を指す。

#### 【0031】

本明細書において使用される場合、用語「予防する」は、対象が病態を発症する可能性の減少をもたらす、病態(例えば、HAEまたはHAE発作)を発症する危険性がある対象の予防的処置に言及する。

#### 【0032】

用語「治療する」は、本明細書において使用される場合、患者の病態の(例えば、1つ以上の症状における)改善、病態の進行の遅延などを含む、障害を患う患者に対する利益を与えるいかなる種類の治療をも指す。特定の実施形態では、HAEの治療は、少なくともHAE発作の重症度及び/または数の低減をもたらす。

#### 【0033】

語句「有効な量」は、患者の病態の改善をもたらす治療薬のその量を指す。化合物または薬学的組成物の「治療上有効な量」は、特定の障害もしくは疾患の症状を予防、抑制、治療、または軽減するために有効な量を指す。

#### 【0034】

「薬学的に許容される」とは、動物における、より具体的にはヒトにおける使用のための、連邦政府もしくは州政府の規制機関による許可、または米国薬局方もしくは他の一般

10

20

30

40

50

に認識される薬局方に列記されていることを示す。

【0035】

「担体」は、例えば、希釈剤、アジュバント、保存剤（例えば、Thimersol、ベンジルアルコール）、抗酸化剤（例えば、アスコルビン酸、二亜硫酸ナトリウム）、可溶化剤（例えば、TWEEN80、ポリソルベート80）、乳化剤、緩衝剤（例えば、トリスHCl、酢酸塩、リン酸塩）、水、水溶液、油、増量物質（例えば、ラクトース、マンニトール）、凍結/凍結乾燥防止剤（cryo- / lyo- protectant）、張度変更剤、賦形剤、補助剤、または本発明の活性剤がともに投与されるビヒクルを指す。好適な薬学的担体は、E. W. Martinによる「Remington's Pharmaceutical Sciences」(Mack Publishing Co., Easton, PA)、Gennaro, A. R., Remington: The Science and Practice of Pharmacy, (Lippincott, Williams and Wilkins)、Lieberman, et al., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker, New York, N. Y.、及びKibbe, et al., Eds., Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association, Washingtonに記載されている。

10

【0036】

用語「単離される」は、それが自然に関連するであろう環境から十分に分離された（例えば、「実質的に純粋な」形態で存在するように）タンパク質、核酸、化合物、または細胞に言及し得る。「単離される」は、他の化合物または材料との人工もしくは合成混合物、または、基礎的な活性に干渉せず、かつ、例えば、不完全な精製に起因して存在し得る不純物の存在の除外を必ずしも意味しない。

20

【0037】

用語「実質的に純粋な」は、少なくとも50～60重量%の所与の材料（例えば、核酸、オリゴヌクレオチド、タンパク質など）を含む調製物に言及する。ある特定の実施形態では、該調製物は、少なくとも75重量%、具体的には90～95重量%以上の所与の化合物を含む。純度は、所与の化合物に適切な方法（例えば、クロマトグラフィ法、アガロースまたはポリアクリルアミドゲル電気泳動、HPLC分析など）によって測定される。

30

【0038】

以下の実施例は、本発明の様々な実施形態を例示するために提供される。実施例は例示的であり、本発明をいかようにも制限することを意図するものではない。

【実施例】

【0039】

スピン濃縮研究

タンパク質をスピン濃縮器に充填し、5～10分間10,500rpmで回転させた。試料が回転を停止したとき、スピン濃縮器内の最終容積を記録し、それぞれのおおまかなタンパク質濃度を算定した。追加のタンパク質をスピン濃縮器に加え、所望のタンパク質濃度に達するまで回転させ、この時点でUV測定を行った。それぞれの標的タンパク質濃度において、UV及び粘度の測定を実施した。タンパク質の粘度が試料のさらなる濃縮を防止するまで、上記の手順を続けた。

40

【0040】

粘度測定

ゲルを充填するピペット先端の所定の距離まで試料が引き込まれるのにかかった時間の量を測定することによって、粘度を判定した。試料粘度を算定するために、既知の粘度を有する一連の標準を使用して、標準曲線をまず調製した。スクロース（またはBrix）溶液が、かかる曲線を調製するために好適だが、規定の温度で既知の粘度を有するいかなる材料も適切であろう。

【0041】

50

測定を行うために、ピペットプランジャーを抑圧し、ピペット先端を試料バイアルに挿入し、プランジャーを解放し、流体がピペット先端の所定の距離を移動する時間をストップウォッチで測定した。これらの実験に使用した距離は、30  $\mu$ Lの水であった。重要な点では、1つのピペット先端は単一の測定にしか信頼性がないため、複数の先端を使用して試料の反復測定を行う。また、ピペット先端に引き込まれる容積は、測定のための試料の均一な引張を確かにするために先端上にマークされた容積よりも大きいべきである。ピペット先端上の30  $\mu$ Lの容積のマークについては、42  $\mu$ Lを引きこむようにマイクロピペットを設定した。

#### 【0042】

##### 結果

本実施例は、単一製剤 (monoformulation) としての、より高濃度の C1 I の液体製剤を開発するための能力を判定した。初期研究は、スピン濃縮法を使用して C1 I の原液の濃度に着目した。溶液を、はじめに pH について調節したが、他の賦形剤は添加しなかった。3つの pH 値を調査した (pH 5.9、6.9、及び 7.9)。スピン濃縮すると、溶液のすべてが、試験した pH 値すべてについて、最大約 500 U/mL (およそ 100 mg/mL) の濃度まで、澄んだままであった (表 1)。これらの研究では可溶性限度に達しなかったが、濃度が 300 U/mL を超えると粘度に測定可能な上昇があった (図 2)。すべての pH 値において、C1 I NH 濃度が 400 U/mL を超えると、粘度が顕著に上昇し始める。

#### 【表 1】

7.9		6.9		5.9	
U/mL	粘度	U/mL	粘度	U/mL	粘度
93.12	0.99	182.4	4.23	187.2	2.36
415.18	3.95	289.4	4.90	296.9	7.71
454.81	13.74	378.6	12.08	396.7	5.46
501.17	30.43	479.0	14.67	478.8	24.09

表 1 : スピン濃縮実験の間に調製された試料の最終濃度 (U/mL における) 及び粘度。

これらの値は、初期のバルク薬物の初期の 160 U/mL の濃度に基づいた。

#### 【0043】

3つの標的 pH 値のそれぞれにおいて異なる緩衝液 (20 mM のリン酸塩、20 mM のクエン酸塩、及び 20 mM のトリス) を検査して、より大きな実現可能性研究を実施した。400 U/mL 及び 500 U/mL 両方の試料を調製し、40 で 1 週間後、そして 25 で 2 週間後に安定性について評価した。初期粘度レベルは純水の値 (約 1 mPa·s) を優に超えたが、十分に注射用生成物としての使用のために通常設定される限度内であった (表 2)。400 U/mL の試料の粘度値は、500 U/mL におけるものを、通常 7 ~ 10 mPa·s の差で下回った。40 で 1 週間の保管すると、すべての試料の粘度が上昇した。pH 5.9 において、おそらく熱的に誘導された凝集に起因して、そのすべてがゲル化した。残りの製剤については、粘度はある程度上昇した。いくつかの場合では、これらの値は 30 mPa·s を超えた。粘度の上昇は、40 よりも 25 の保管時に少なかった。pH 6.9 における試料については、あったとしても少しの変化しかなく、pH 6.9 が長期の保管安定性のためにより好ましい場合があることを示した。

【表 2】

pH	[C 1 I NH]	緩衝液	t 0	t 1	t 2
5.9	400	リン酸塩	13.3 ± 0.6	ゲル	17.4 ± 2.1
	500		24.6 ± 1.5	ゲル	36.9 ± 7.3
	400	ヒスチジン	14.7 ± 0.8	ゲル	19.1 ± 2.5
	500		27.7 ± 3.8	ゲル	27.7 ± 3.8
6.9	400	リン酸塩	12.2 ± 1.5	16.1 ± 0.6	11.9 ± 3.0
	500		20.8 ± 2.0	35.3 ± 2.1	32.1 ± 7.7
	400	クエン酸塩	7.4 ± 0. 8	9.2 ± 0. 7	7.1 ± 0. 6
	500		14.4 ± 3.2	19.8 ± 1.1	12.6 ± 0.5
7.9	400	リン酸塩	8.2 ± 1. 2	12.8 ± 0.7	22.0 ± 3.5
	500		16.2 ± 1.4	23.1 ± 2.1	25.5 ± 7.5
	400	トリス	14.1 ± 0.7	18.7 ± 0.7	30.0 ± 3.8
	500		20.5 ± 0.9	33.3 ± 6.2	31.0 ± 1.8

表 2 : t 0 及び 40℃ での 1 週間の保管後 (t 1) における粘度。粘度は mPa・s で報告される。

## 【0044】

とりわけ、pH 6.9 において、クエン酸塩製剤はリン酸塩のものよりも低い粘度値を有し、一方で、pH 7.9 において、リン酸緩衝液はトリス緩衝液よりも低い粘度をもたらした。より高い粘度は、ある特定の時間枠内で指定の容積の薬物を送達するために、より大きな力が必要とされることを意味する。

## 【0045】

RP HPLC による純度は、pH 6.9 及びそれを超える pH の製剤について、はじめは 86 ~ 87% 近くであった (表 3)。初期レベルは pH 5.9 においてより低く、単に試料を調製する過程においていくらかの分解が既に生じたことを示唆した。40℃ で 1 週間の保管すると、pH 5.9 の試料がゲル化し、RP HPLC による分析が不可能になった。他の試料のすべてについて、パーセント純度は本質的に変化せず、これらの条件下での保管では、起こるとしても少しの化学分解しか起こらないことを示す。

10

20

30

40

【表 3】

pH	[C 1 I NH]	緩衝液	t 0	t 1	t 2
5.9	400	リン酸塩	82.87 ±0.75	ゲル	81.10 ±2.11
	500		84.74 ±1.24	ゲル	83.61 ±1.02
	400	ヒスチジン	84.11 ±1.53	ゲル	85.34 ±1.55
	500		86.36 ±0.76	ゲル	82.99 ±0.64
6.9	400	リン酸塩	87.14 ±0.67	88.59 ±0.29	85.19 ±2.00
	500		86.44 ±1.49	85.65 ±1.32	84.07 ±1.24
	400	クエン酸塩	86.67 ±1.36	82.92 ±1.48	86.03 ±0.87
	500		86.89 ±1.24	86.74 ±0.88	84.42 ±1.19
7.9	400	リン酸塩	86.09 ±1.14	85.29 ±0.84	85.98 ±0.90
	500		86.47 ±1.15	83.57 ±1.33	84.00 ±0.97
	400	トリス	87.14 ±0.98	81.74 ±7.89	86.14 ±0.81
	500		88.74 ±0.82	87.24 ±1.47	87.30 ±0.95

表 3 : 25℃ (t 2) または 40℃ (t 1) における保管時の RP HPLC によるパーセント純度。

## 【 0 0 4 6 】

25 で 2 週間保管された試料について、t 1 において見られたものに匹敵する少しの損失があった。まとめて、RP HPLC データは、化学分解に起因する少しの損失があることを示す。より高い pH は分解の速度を減少させるようであり、緩衝液組成物に対するいくつかの感受性があり得る。

## 【 0 0 4 7 】

C 1 I NH の化学的安定性は保管時に変化しないようであるが、SEC によって示される通り観測される来る物理的不安定性がある (表 4)。C 1 I NH 混合物中に存在する他のタンパク質があり、t 0 においておよそ約 67% の総合的な「純度」の結果が出る。40 で 1 週間の保管すると (t 1)、試料の総合的なモノマー含量は、pH 6.9 及びそれを超える pH を有する試料については 54 ~ 56% に減少した。2 つの異なる pH 条件、異なる緩衝液、及び 2 つのタンパク質濃度の間の差はほとんどなかった。25 で 2 週間保管したとき (t 2)、pH 5.9 の試料はゲル化しなかったが、それらはより高

10

20

30

40

50

い保管温度でゲル化した。しかしながら、特にヒスチジン緩衝液では、かなり高い分解があった。pH 6.9または7.9におけるこれらについては、半分の時間に対するより高い温度における10~12%の損失と比較して、SECによって測定された損失は約2%程度であった。

【表4】

pH	[C1 I NH]	緩衝液	t0	t1	t2
5.9	400	リン酸塩	68.32 ±1.04	ゲル	62.56 ±0.94
	500		67.19 ±0.14	ゲル	61.46 ±0.14
	400	ヒスチジン	64.68 ±0.42	ゲル	46.58 ±1.09
	500		66.60 ±0.08	ゲル	44.48 ±1.04
6.9	400	リン酸塩	67.85 ±0.22	55.29 ±0.36	
	500		67.41 ±0.36	54.79 ±0.14	65.45 ±0.23
	400	クエン酸塩	67.82 ±0.07	56.14 ±0.41	65.49 ±0.16
	500		67.43 ±0.30	56.59 ±0.33	65.03 ±0.36
7.9	400	リン酸塩	67.85 ±0.09	54.96 ±0.52	61.31 ±0.25
	500		67.58 ±0.40	55.57 ±0.56	64.98 ±0.50
	400	トリス	67.63 ±0.27	55.40 ±0.30	65.70 ±0.56
	500		67.67 ±0.47	56.18 ±0.64	66.19 ±0.84

表4: 25℃ (t2) または40℃ (t1) における保管時のSECによるモノマー含量。

## 【0048】

データは、分解の速度が4において25におけるものよりも約1.3倍~3.5倍緩徐になることを示す。より高い推定値はArrheniusプロットを使用することから来る。より低い推定値は、温度が5低下するときの平均損失の決定、及び4の保管温度に外挿することから来る。現在のデータを指標として使用すると、これは、冷蔵温度において2年後の約3~10%損失の損失を予測する。言い換えると、これらのデータに基づいて、液体製剤はかなり安定しているようである。さらに、分解速度は、400U/mLの試料と500U/mLの試料との間でいたい匹敵し、より高濃度の製剤を開発することが同様に実行可能であることを示唆する。

## 【0049】

分解速度は pH 5.9 ではなくに高く、40 におけるゲル化、及び 25 におけるより大きな損失の原因となる。したがって、さらなる pH / 緩衝液スクリーニングは、pH 6.5 ~ 8.0 の範囲に着目する。粘度に、そしておそらく安定性に対する明確な緩衝効果がある。

【 0050 】

研究は、最大 500 U / ml の濃度における C1 I の調製には可溶性の限度がないことを実証した。濃度が 400 ~ 500 U / ml の範囲（これは緩衝液に依存し、クエン酸塩は、トリスよりも良好なリン酸塩よりも良好である）に達すると粘度の上昇があったが、それらは管理可能であり、標準的なシリンジシステムのための注射による容易な送達依然として可能である。一般に、C1 INH は、RP HPLC によって決定されるように、化学分解に対して比較的安定している。

10

【 0051 】

本発明の好ましい実施形態のいくつかを上文で説明し、具体的に例示したが、本発明がかかる実施形態に制限されることを意図するものではない。以下の特許請求の範囲に記載される、本発明の範囲及び趣旨から逸脱することなく、それらに対する様々な変更が行われ得る。

【 図 1 】

【図1】

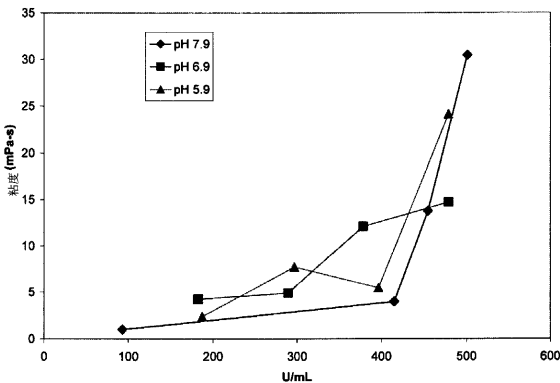
```

1 MASRLTLTL LLLLLAGDRA SSNPATSSS SQDPESLQDR GEGKVATTVI SKMLFVEPIL
61 EVSSLPTTNS TTNSATKITA NTTDEPTQP TTEPTTQPTI OPTQPTTQLP TDSPTQPTTG
121 SFCPGPVTLC SDLESHSTEA VLGDALVDFS LKLYHAFSAM KKVETNMAFS PFSIASLLTQ
181 VLLGAGENTK TNLESILSYP KDFTCVHQAL KGFTTKGVTS VSQIFHSPDL AIRDTFVNAS
241 RTLYSSSPRV LSNNSDANLE LINTWVAKNT NNKISRLDLS LPSDTRLVLL NAIYLSAKWK
301 TTFDPKKTRM EPFHFKNGVI KVFMMNSKKY FVAHFIDQTL KAKVGQLQLS HNLSLVILVP
361 QNLKHRLEDM EQALSPSVFK AIMEKLEMSK FQPTLLTLPK IKVITSQDML SIMEKLEFFD
421 PSYDLNLCGL TEDPDLQVSA MQHQTVLELT ETGVEAAAAA AISVARTLLV FEVQQPFLFV
481 LWDQHKFPV FMGRVYDPA

```

【 図 2 】

【図2】



【配列表】

2018119002000001.app

## フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K	47/12 (2006.01)	A 6 1 K 47/12	
A 6 1 K	9/08 (2006.01)	A 6 1 K 9/08	
C 0 7 K	14/47 (2006.01)	C 0 7 K 14/47	

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 シンティア ギャラガー

アメリカ合衆国 ペンシルベニア 1 9 3 4 1 , エクストン , ストックトン ドライブ 7 3 0

(72)発明者 スティーブン ラディー

アメリカ合衆国 ペンシルベニア 1 9 3 4 1 , エクストン , ストックトン ドライブ 7 3 0

(72)発明者 マーク コーネル マニング

アメリカ合衆国 コロラド 8 0 5 3 4 - 6 4 0 4 , ジョンズタウン , ソレル レーン 4 6 3 0

Fターム(参考) 4C076 AA12 AA22 AA29 BB13 BB16 DD43 FF02 FF04 FF12 FF13  
 FF14 FF15 FF16 FF39 FF43 FF51 FF61  
 4C084 AA01 AA02 BA44 CA62 DC32 MA17 MA23 MA44 MA66 NA04  
 NA14 ZA361 ZA362 ZA511 ZA512 ZA831 ZA832 ZC411 ZC412  
 4H045 AA10 AA30 BA10 CA40 DA56 EA20

【外国語明細書】  
2018119002000001.pdf