

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第5575639号

(P5575639)

(45) 発行日 平成26年8月20日 (2014. 8. 20)

(24) 登録日 平成26年7月11日 (2014. 7. 11)

(51) Int. Cl.	F 1
A 6 1 K 38/00 (2006. 01)	A 6 1 K 37/02 Z N A
A 6 1 P 11/00 (2006. 01)	A 6 1 P 11/00
A 6 1 K 47/24 (2006. 01)	A 6 1 K 47/24
A 6 1 K 9/10 (2006. 01)	A 6 1 K 9/10

請求項の数 15 (全 15 頁)

(21) 出願番号	特願2010-509714 (P2010-509714)	(73) 特許権者	591201985
(86) (22) 出願日	平成20年5月22日 (2008. 5. 22)		キエージ・フアルマチエウテイチ・エツセ
(65) 公表番号	特表2010-528997 (P2010-528997A)		・ピ・ア
(43) 公表日	平成22年8月26日 (2010. 8. 26)		イタリア国、43100・パルマ、ピア・
(86) 国際出願番号	PCT/EP2008/004097		パレルモ、26/A
(87) 国際公開番号	W02008/145298	(74) 代理人	100078662
(87) 国際公開日	平成20年12月4日 (2008. 12. 4)		弁理士 津国 肇
審査請求日	平成23年4月20日 (2011. 4. 20)	(74) 代理人	100113653
(31) 優先権主張番号	07010857.6		弁理士 東田 幸四郎
(32) 優先日	平成19年6月1日 (2007. 6. 1)	(74) 代理人	100116919
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		弁理士 齋藤 房幸
		(72) 発明者	ヨハンソン, ヤン
			イタリア国、イー43100・パルマ、ピ
			ア・パレルモ、26/A

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 改善された特性を有する再構成サーファクタント

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

脂質担体、ならびにネイティブなサーファクタントタンパク質 S P - C のアナログと式

【化 7】

KLLLLKLLLLKLLLLKLLLLK (配列番号 6)

を含むポリペプチドとの組み合わせを含む再構成サーファクタントであって、タンパク質 S P - C のアナログは一般式 (I c) :

【化 4】

IPSSPVHLKRLKLLLLLLLLLLLLILGALL Ω_p G_pL_p (Ic)

[式中、

 Ω は、M または硫黄原子上で酸化された M、I、L および n L e u からなる群より選択されるアミノ酸残基であり；そして

p は、0 または 1 である]

で表される、再構成サーファクタント。

【請求項 2】

ネイティブなサーファクタントタンパク質 S P - C のアナログが、以下：
【化 5】

IPSSPVHLKRLKLLLLLLLLLILLLILGALLMGL (Id) (配列番号 1)

IPSSPVHLKRLKLLLLLLLLLILLLILGALLIGL (Ie) (配列番号 2)

IPSSPVHLKRLKLLLLLLLLLILLLILGALLLGL (If) (配列番号 3)

IPSSPVHLKRLKLLLLLLLLLILLLILGALLnLeuGL (Ig) (配列番号 4)

IPSSPVHLKRLKLLLLLLLLLILLLILGALL (Ih) (配列番号 5)

10

からなる群より選択される、請求項 1 記載の再構成サーファクタント。

【請求項 3】

ネイティブなサーファクタントタンパク質 S P - C のアナログが、下記の式：

【化 8】

IPSSPVHLKRLKLLLLLLLLLILLLILGALLLGL (If) (配列番号 3)

を有する、請求項 1 記載の再構成サーファクタント。

【請求項 4】

20

脂質担体がリン脂質の混合物を含む、請求項 1 ～ 3 のいずれか 1 項記載の再構成サーファクタント。

【請求項 5】

リン脂質の混合物が、95：5～50：50の範囲の重量比の、ジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）、およびパルミトイルオレオイルホスファチジルグリセロール（POPG）またはそのパルミトイルオレオイルリン脂質からなる、請求項 4 記載の再構成サーファクタント。

【請求項 6】

リン脂質の混合物が、68：31の重量比のDPPCおよびPOPGからなる、請求項 5 記載の再構成サーファクタント。

30

【請求項 7】

請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項記載の再構成サーファクタントを含む医薬組成物。

【請求項 8】

水性懸濁剤の形態の、請求項 7 記載の医薬組成物。

【請求項 9】

再構成サーファクタントを2～160mg/mlの濃度で含む、請求項 8 記載の医薬組成物。

【請求項 10】

再構成サーファクタントの濃度が20～80mg/mlである、請求項 9 記載の医薬組成物。

40

【請求項 11】

医薬としての使用のための請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項記載の再構成サーファクタント。

【請求項 12】

未熟出産乳児における呼吸窮迫症候群（RDS）の予防および／または処置のための医薬の製造のための、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項記載の再構成サーファクタントの使用。

【請求項 13】

未熟出産乳児における呼吸窮迫症候群（RDS）の予防および／または処置における使用のための、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項記載の再構成サーファクタント。

【請求項 14】

50

急性肺傷害（A L I）、成人におけるR D S（A R D S）、胎便吸引症候群（M A S）および気管支肺形成不全（B P D）からなる群より選択されるサーファクタント欠乏または機能不全に関連する疾患の予防および／または処置のための医薬の製造のための、請求項1～6のいずれか1項記載の再構成サーファクタントの使用。

【請求項15】

急性肺傷害（A L I）、成人におけるR D S（A R D S）、胎便吸引症候群（M A S）および気管支肺形成不全（B P D）からなる群より選択されるサーファクタント欠乏または機能不全に関連する疾患の予防および／または処置における使用のための、請求項1～6のいずれか1項記載の再構成サーファクタント。

【発明の詳細な説明】

10

【技術分野】

【0001】

本発明は、脂質担体、ならびにネイティブなサーファクタントタンパク質S P - Cの特定のポリペプチドアナログと3～8個の疎水性アミノ酸残基および1個の塩基性アミノ酸残基から構成される反復単位の配列を含むポリペプチドとの組み合わせを含む再構成サーファクタントに関する。

【0002】

本発明はまた、対応する医薬組成物、ならびにR D Sおよび他の呼吸障害の予防および／または処置のためのその使用に関する。

【0003】

20

発明の背景

ヒトの肺は、多数の小さな気嚢（肺胞と呼ばれる）から構成されており、そこで気体は血液と肺の空気空間との間で交換される。健常な個体において、この交換は、肺が呼気の終末に虚脱することを防止するタンパク質含有サーファクタント複合体の存在によって媒介される。

【0004】

肺サーファクタント複合体は、主として脂質から構成され、そして微量の種々のタンパク質を含む。適当なレベルのこの複合体の非存在の結果、肺の機能障害が生じる。この症候群は呼吸窮迫症候群（R D S）と呼ばれ、そしてこれは一般に早産児を冒す。

【0005】

30

前記症候群は、動物の肺から抽出された改変天然サーファクタント調製物を用いて有効に処置される。

【0006】

市販の改変サーファクタント調製物は、例えば、ブタ肺由来のクロサーフ（Curosurf）、仔ウシ肺洗浄液から抽出されたインファサーフ（Infasurf）および化学改変天然ウシ肺抽出物であるサーバンタ（Survanta）である。

【0007】

これらのサーファクタント調製物の主成分は、リン脂質、例えば1，2-ジパルミトイル-sn-グリセロール-3-ホスホコリン（一般にジパルミトイルホスファチジルコリン（D P P C）として知られる）、ホスファチジルグリセロール（P G）ならびにサーファク 40
タント疎水性タンパク質BおよびC（S P - BおよびS P - C）である。

【0008】

動物組織由来のサーファクタント調製物の欠点（例えば、複雑な製造および滅菌プロセスならびに可能な免疫反応の誘発）に起因して、改変天然サーファクタントの組成を模倣する合成サーファクタントが開発されている。

【0009】

前記合成サーファクタントは再構成サーファクタントとして知られている。

【0010】

しかし、ネイティブな疎水性タンパク質は合成するには大きすぎ、構造的に複雑であり、そして純粋形態で不安定であるので、臨床的に活性な再構成サーファクタントの開発は 50

厄介であることが判明した。

【0011】

前記のネイティブな疎水性タンパク質と置き換えるために、その配列に部分的に対応するいくつかの合成ポリペプチドおよびそのアナログが先行技術において提案されており、そして例えばWO 89/06657、WO 92/22315、WO 95/32992、US 6,660,833、EP 413,957、WO 91/18015およびWO 00/47623において開示されている。

【0012】

しかし、利用可能な文献によれば、動物研究において、再構成サーファクタントを用いる処置は呼気の終末にわずかな肺気量 (lung gas volume) およびわずかな程度の肺胞開存性 (alveolar patency) を生じ、そして改変天然サーファクタントを用いて達成されるものに匹敵するインビボ活性を達成するためには呼気終末陽性換気 (positive end expiratory pressure; PEEP) を用いた換気が必要とされる (Johansson J et al J Appl Physiol 2003, 95, 2055-2063; Davis AJ et al Am J Respir Crit Care Med 1998; 157, 553-559)。

10

【0013】

利用可能な再構成サーファクタント調製物は、実際、呼気の終末に肺胞において安定なリン脂質膜を形成することができない。

【0014】

それゆえ、肺コンプライアンス (lung compliance) に関して改善された特性を有する再構成サーファクタントに対する満たされていない必要性がなお存在する。

20

【0015】

特に、肺胞の安定性を保証し、従って PEEP を用いる換気を必要とすることなしに呼気の終末に肺胞の安定性を維持することができる再構成サーファクタント調製物に対する必要性が存在する。

【0016】

肺コンプライアンスに関して、特に PEEP を用いる換気を必要とすることなしに呼気の終末に肺胞開存性を有効に維持する能力に関して、改善された特性を有する再構成サーファクタント調製物を提供するために、ネイティブな S P-C タンパク質の特定のポリペプチドアナログが、3～8個の疎水性アミノ酸残基および1個の塩基性アミノ酸残基が交互に生じる配列を含む特定のポリペプチドと有利に組み合わせられ得ることがここに見出され、そしてこれが本発明の目的である。

30

【0017】

PEEP を適用することなしに外因性サーファクタント調製物を用いて未熟新生児を処置した RDS のモデルにおいて、前記ポリペプチドの組み合わせは、呼気の終末での肺胞開存性の指標である肺気量に対して作用する。

【0018】

発明の概要

本発明は、脂質担体、ならびにネイティブなサーファクタントタンパク質 S P-C の特定のポリペプチドアナログと3～8個、好ましくは4～5個の疎水性アミノ酸残基および1個の塩基性アミノ酸残基から構成される反復単位の配列を含むポリペプチドとの組み合わせを含む再構成サーファクタントに関する。

40

【0019】

特に、本発明は、以下を含む再構成サーファクタントに関する：

- a) 脂質担体；
- b) 一般式 (I)：

【化1】



50

[式中、

Xは、I、Lおよびn Lからなる群より独立して選択されるアミノ酸残基であり；

Bは、K、R、H、W、F、YおよびO r nからなる群より独立して選択されるアミノ酸残基であり；

Sは、エステル結合を介して側鎖に連結された1 2～2 2個の炭素原子、好ましくは1 6個の炭素原子を含むアシル基で場合により置換されており；

Ωは、Mまたは硫黄原子上で酸化されたM、I、Lおよびn Lからなる群より選択されるアミノ酸残基であり；

aは、1～8の値を有する整数であり；

bは、1～1 9の値を有する整数であり；

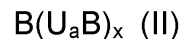
e、f、gおよびpは、0または1の値を有する整数であり；

ただし、X_a B X_bは、最大2 2アミノ酸を有する配列である]

で表される配列を有する少なくとも2 0アミノ酸残基かつ4 0アミノ酸残基以下のポリペプチド；

c)一般式(I I)：

【化2】



[式中、

Uは、L、I、n L、V、A、MおよびFからなる群より独立して選択されるアミノ酸残基であり；

Bは、K、R、HおよびO r nからなる群より独立して選択されるアミノ酸残基であり；

aは、3～8、好ましくは4～5の値を有する整数であり；そして

xは、2～6、好ましくは3～4の値を有する整数である]

で表される配列を含む少なくとも1 2アミノ酸残基かつ6 0アミノ酸残基以下のポリペプチド。

【0 0 2 0】

本発明はまた、前記ポリペプチドの薬学的に許容され得る塩ならびにそのブロックされたNおよび／またはC末端誘導体（例えばアセチル化およびアミド化を介する）を含む。

【0 0 2 1】

本発明はまた、本発明の再構成サーファクタントを含む医薬組成物を提供する。

【0 0 2 2】

本発明はさらに、医薬としての上記の再構成サーファクタントの使用に関する。

【0 0 2 3】

本発明の別の局面によれば、未熟出産乳児における呼吸窮迫症候群(R D S)、サーファクタント欠乏または機能不全に関連する疾患、および他の呼吸障害の予防および／または処置のための上記の再構成サーファクタントの使用に言及される。

【0 0 2 4】

本発明のなおさらなる局面によれば、未熟出産乳児における呼吸窮迫症候群(R D S)、サーファクタント欠乏または機能不全に関連する他の疾患、および他の呼吸障害を予防および／または処置する方法であって、有効量の上記の再構成サーファクタントの投与を含む方法に言及される。

【図面の簡単な説明】

【0 0 2 5】

【図1】図1は、ヒトタンパク質S P-Cのアミノ酸配列を示す。C y s残基はネイティブなS P-Cにおいてパルミトイル化されている。

【図2】図2は、ポリペプチドK L₄のらせん車輪(helical wheel)表示を示す。塩基性アミノ酸残基を丸で囲む。

10

20

30

40

50

【図 3】図 3 は、肺気量 (m l / k g) に関する結果を示す。

【図 4】図 4 は、時間／圧に応じての一回換気量 (tidal volume) (m l / k g) に関する結果を示す。

【0026】

定義

外因性サーファクタント調製物を用いるインビボ処置後の呼吸機能を以下の 2 つのパラメーターを測定することによって行う：

i) 肺コンプライアンスの指標である一回換気量、および

ii) 呼気の終末での肺胞空気膨張または開存性の、従って呼気の終末での肺胞における安定なリン脂質膜を形成する能力の指標である肺気量。

10

【0027】

本明細書において使用する、特定の疾患を処置するための化合物の有効量は、疾患に関連する症状を寛解させるか、または何らかの様式で低下させるために十分な量である。前記の量は疾患の種類および重篤度ならびに患者の状態（体重、性別、年齢）に依存する。

【0028】

本明細書において使用する「再構成サーファクタント」という用語は、組換え技術または合成方法を通じて作製されたサーファクタントタンパク質のポリペプチドアナログが加えられた脂質担体を意味する。

【0029】

本明細書において使用する「脂質担体」という用語は、リン脂質および場合によりさらなる脂質成分、例えば中性脂質（例えばトリアシルグリセロール）、遊離脂肪酸および／またはコレステロールの混合物を意味する。

20

【0030】

本明細書において使用する「ネイティブなサーファクタントタンパク質 S P - C のポリペプチドアナログ」という用語は、ポリペプチドが脂質担体との混合物中で肺サーファクタント活性を示す限り、ネイティブなタンパク質と比較して 1 個以上のアミノ酸が欠失しているかまたは他のアミノ酸に置換されているアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。

【0031】

アミノ酸配列を、遊離アミノ基を有するアミノ酸を左端にし（アミノ末端）、そして遊離カルボキシル基を有するアミノ酸を右端にして（カルボキシ末端）、3 文字コードに従って示す。

30

【0032】

本明細書において同定される全てのアミノ酸残基は天然の L 立体配置にあり、そして本明細書において同定される配列は下記の対応表に示すようなアミノ酸残基のための標準的な略語に従って報告される。

【0033】

対応表

アミノ酸	シンボル	
	1 文字	3 文字
グリシン	G	G l y
L - プロリン	P	P r o
L - イソロイシン	I	I l e
L - ロイシン	L	L e u
L - チロシン	Y	T y r
L - システイン	C	C y s
L - トリプトファン	W	T r p
L - アラニン	A	A l a
L - リジン	K	L y s
L - アルギニン	R	A r g

40

50

L-グルタミン	Q	G l u
L-メチオニン	M	M e t
L-セリン	S	S e r
L-バリン	V	V a l
L-アスパラギン	N	A s n
L-アスパラギン酸	D	A s p
L-グルタミン酸	E	G l u
L-ヒスチジン	H	H i s
L-トレオニン	T	T h r
L-フェニルアラニン	F	P h e
L-ノルロイシン	—	n L e u
L-オルニチン	—	O r n

10

【0034】

発明の詳細な説明

本発明は、脂質担体、ならびに一般式（I）で表されるポリペプチドと3～8個、好ましくは4～5個の疎水性アミノ酸残基および1個の塩基性アミノ酸残基から構成される反復単位の配列を含むポリペプチドとの組み合わせを含む再構成サーファクタントに関する。

【0035】

本発明者らは、実際、PEEPを適用することなしに外因性サーファクタント調製物を用いて未熟新生児を処置したRDSのモデルにおいて、一般式（II）で表されるポリペプチドとの組み合わせで、一般式（I）で表されるポリペプチドが、呼気の終末での肺胞開存性の指標である肺気量に対して好都合に作用することを見出した。

20

【0036】

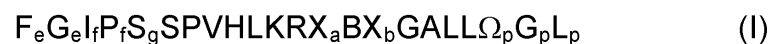
本発明の再構成サーファクタント調製物は、一回換気量によって表現される呼吸機能を改変天然サーファクタントの投与後に達成されるものに匹敵する程度まで改善させることが判明した。

【0037】

有利には、ネイティブなタンパク質SP-Cのアナログは、少なくとも20アミノ酸残基かつ40アミノ酸残基以下のポリペプチドであり、そして一般式（I）：

30

【化3】



[式中、

Xは、I、LおよびnLからなる群より独立して選択されるアミノ酸残基であり；

Bは、K、R、H、W、F、YおよびOrnからなる群より独立して選択されるアミノ酸残基であり；

Sは、エステル結合を介して側鎖に連結された12～22個の炭素原子、好ましくは16個の炭素原子を含むアシル基で場合により置換されており；

40

Ωは、Mまたは硫黄原子上で酸化されたM、I、L、QおよびnLからなる群より選択されるアミノ酸残基であり；

aは、1～8の値を有する整数であり；

bは、1～19の値を有する整数であり；

e、f、gおよびpは、0または1の値を有する整数であり；

ただし、X_aBX_bは、最大22アミノ酸、好ましくは10～22アミノ酸を有する配列である]

で表される配列を有する。

【0038】

好ましくは、一般式（I）で表されるポリペプチドは、少なくとも30アミノ酸かつ3

50

5 アミノ酸以下、より好ましくは 3 3 アミノ酸以下からなる。

【0039】

特定の実施態様において、一般式 (I) で表されるポリペプチドは、30 または 33 または 35 アミノ酸からなる。

【0040】

好ましくは、S P - C タンパク質のポリペプチドアナログは、e および n が 0 であり、そして g が 1 である一般式 (I a) :

【化 4】



10

[式中、

X、B および Ω は上記で定義するとおりであり；

a は、1 であり；

b は、1 4 であり；

f および p は 0 または 1 である]

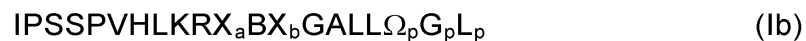
で表される。

【0041】

より好ましくは、S P - C タンパク質のポリペプチドアナログは、f が 1 である一般式 (I b) :

20

【化 5】



[式中、

X、B、 Ω 、a および b は上記で定義するとおりであり；

p は、0 または 1 である]

で表される。

【0042】

さらにより好ましくは、S P - C タンパク質のポリペプチドアナログは、一般式 (I c) :

30

【化 6】



[式中、

Ω は上記で定義するとおりであり；

p は、0 または 1 である]

で表される。

【0043】

40

式 (I c) で表されるポリペプチドの例を以下に報告する：

【化 7】

IPSSPVHLKRLKLLLLLLLLLLLLLILGALLMGL (Id) (配列番号 1)

IPSSPVHLKRLKLLLLLLLLLLLLLILGALLIGL (Ie) (配列番号 2)

IPSSPVHLKRLKLLLLLLLLLLLLLILGALLLGL (If) (配列番号 3)

IPSSPVHLKRLKLLLLLLLLLLLLLILGALLnLGL(Ig) (配列番号 4)

IPSSPVHLKRLKLLLLLLLLLLLLLILGALL (Ih) (配列番号 5)

10

【0044】

ポリペプチド (I d) は先行技術において S P - C 3 3 ともいわれている。

【0045】

最も好ましくは、S P - C アナログは、式 (I e)、(I f)、(I g) および (I h) を有するポリペプチドの群より選択されるポリペプチドである。

【0046】

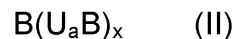
最も好ましいポリペプチドは式 (I f) を有する。

【0047】

有利には、3～8個の疎水性アミノ酸残基および1個の塩基性アミノ酸残基が交互に生じる配列を含むポリペプチドは、少なくとも12アミノ酸残基かつ60アミノ酸残基以下、好ましくは少なくとも20アミノ酸残基かつ35アミノ酸残基以下からなり、そして一般式 (I I) :

20

【化 8】



[式中、

Uは、L、I、n L、V、A、MおよびFからなる群より独立して選択されるアミノ酸残基であり；

Bは、K、R、HおよびO r nからなる群より独立して選択されるアミノ酸残基であり；

30

aは、4～5、好ましくは4の値の整数であり；そして

xは、3～4、好ましくは4の値を有する整数である]

で表される。

【0048】

好ましいポリペプチドの群は、UがLまたはIであり、BがKまたはRであり、aが4または5、好ましくは4であり、そしてxが3または4、好ましくは4である配列を含むかまたは該配列からなる。

【0049】

特に好ましいポリペプチドは、当技術分野においてK L₄といわれており、そして以下に報告する配列を有するものである：

40

【化 9】

KLLLLKLLLLKLLLLKLLLLK (KL₄) (配列番号 6)

【0050】

特に好ましいポリペプチドの別の例は、本明細書においてK L₅という以下に報告する配列を有するものである：

【化 10】

KLLLLKLLLLKLLLLKLLLLK (KL₅) (配列番号 7)

50

【0051】

実際、KL₅は、KL₄のものと類似のペプチドの全体的らせん外周の周囲の荷電残基の分布を示すことが見出された。

【0052】

好ましいポリペプチドのさらなる例は、式(III)：

【化11】



を有するものである。

10

【0053】

一般式(IIa)で表されるポリペプチドの例は、当技術分野においてSP-C(LKS)といわれているものである：

【化12】



【0054】

一般式(I)および(II)で表されるポリペプチドを、固相ペプチド合成についてのJ.M. Steward and J.D. Young, "Solid Phase Peptide Synthesis", W.H. Freeman Co., San Francisco, 1969、およびJ. Meienhofer, Hormonal Proteins and Peptides", Vol. 1.2, p. 46, Academic Press (New York), 1983、ならびに古典的溶液合成についてのE. Schroder and K. Kubke, "The Peptides", Vol. 1, Academic Press (New York), 1965に記載されるもののような任意の公知の技術によって調製し得る。ポリペプチド合成技術の概要を、J. Stuart and J.D. Young, Solid Phase Peptide Synthesis, Pierce Chemical Company, Rockford, IL, 3d Ed., Neurath, H. et al., Eds., p. 104-237, Academic Press, New York, NY (1976)中に見出し得る。

20

【0055】

そのような合成における使用のために適切な保護基は、上記のテキストおよびJ.F.W. McOmie, Protective Groups in Organic Chemistry, Plenum Press, New York, NY (1973)中に見出される。

30

【0056】

一般に、これらの方法は、1つ以上のアミノ酸残基または適切に保護されたアミノ酸残基の成長中のペプチド鎖への逐次的な付加を含む。通常、第1のアミノ酸残基のアミノ基またはカルボキシル基のいずれかを適切な選択的に除去可能な保護基によって保護する。

【0057】

例としての固相合成を使用して、保護または誘導体化されたアミノ酸を、その非保護カルボキシル基またはアミノ基を通して不活性固体支持体に結合させる。次いで、アミノまたはカルボキシル保護基を選択的に除去し、そして適切に保護された相補(アミノまたはカルボキシル)基を有する配列中の次のアミノ酸を混合し、そして固体支持体に既に結合されている残基とアミド結合を形成させるために適切な条件下で反応させる。次いで、アミノまたはカルボキシル保護基をこの新たに付加されたアミノ酸残基から除去し、次いで次のアミノ酸(適切に保護されている)を付加する、等。

40

【0058】

全ての所望のアミノ酸を適正な配列で連結させた後、いずれもの残存する末端および側鎖保護基(および固体支持体)を逐次的にかまたは同時に除去して、最終ポリペプチドを得る。

【0059】

特に、一般式(I)および(II)で表されるポリペプチドをWO 00/47623に開示される方法に従って調製し得、一方、一般式(II)で表される配列からなるポリペプチドをWO 92/22315に記載の方法に従って調製し得る。

50

【0060】

本発明の再構成サーファクタントを一般式（I）および（II）で表されるポリペプチドおよび脂質の溶液または懸濁液を混合し、次に混合物を乾燥させることによって調製し得るか、そうでなければそれを凍結乾燥または噴霧乾燥によって調製し得る。

【0061】

好ましくは、一般式（I）で表されるポリペプチドおよび一般式（II）で表されるポリペプチドは、本発明の再構成サーファクタント中に、固定された量および量比で、固定された組み合わせとして存在する。

【0062】

再構成サーファクタントに対する一般式（I）および（II）で表されるポリペプチドの割合は変動し得る。有利には、各々のポリペプチドは、サーファクタントの重量に基づいて0.5～10%（w/w）、好ましくは1～5%、最も好ましくは1～3%の量で存在し得る。

【0063】

有利には、脂質担体は、天然肺サーファクタント調製物中に含まれるリン脂質、例えばジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）およびパルミトイルオレオイルホスファチジルコリン（POPC）のようなホスファチジルコリン（PC）、ならびにパルミトイルオレオイルホスファチジルグリセロール（POPG）およびジパルミトイルホスファチジルグリセロール（DPPG）のようなホスファチジルグリセロール（PG）を含む。

【0064】

有利に使用することができる他のリン脂質は、ホスファチジルイノシトール（PI）、ホスファチジルエタノールアミン（PE）、ホスファチジルセリンおよびスフィンゴミエリン（SM）である。

【0065】

特定の実施態様において、脂質担体は、さらなる成分、例えば中性脂質（例えばトリアシルグリセロール）、遊離脂肪酸および／またはコレステロールを含み得る。

【0066】

有利には、本発明による再構成サーファクタントは、90～99%（重量）、好ましくは92～98%、より好ましくは94～96%の脂質担体、および1～10%（重量）、好ましくは2～8%、より好ましくは4～6%の両方のペプチドの合計を含む。

【0067】

本発明の特定の実施態様において、再構成サーファクタントは、96%（重量）の脂質担体、2%（重量）の一般式（I）で表されるポリペプチドおよび2%（重量）の一般式（II）で表されるポリペプチドを含む。

【0068】

脂質担体中に含まれるリン脂質は、好ましくは、95：5～50：50、好ましくは80：20～60：40の範囲の重量比の、DPPC、およびPOPGまたはそのPOPCとの混合物より選択されるパルミトイルオレオイルリン脂質からなる混合物である。POPGに対するDPPCの重量比は、好ましくは75：25～65：35の範囲であり、より好ましくは68：31である。DPPC：POPG：POPC混合物の場合、リン脂質は、好ましくは、60：20：20または68：15：16の重量比で使用される。

【0069】

好ましい実施態様において、再構成サーファクタントは、1～5%（重量）の一般式（Ia）で表されるポリペプチド、1～5%（重量）の式（II）で表されるポリペプチド、ならびに68：31の重量比のDPPCおよびPOPGの混合物を含む。

【0070】

さらにより好ましい実施態様において、再構成サーファクタントは、1.5～3%（重量）の（Ie）、（If）、（Ig）および（Ih）からなる群より選択されるポリペプチド、より好ましくはポリペプチド（If）、1.5～3%（重量）の一般式（II）で表されるペプチド、ならびに68：31の重量比のDPPCおよびPOPGの混合物を含

10

20

30

40

50

む。

【0071】

本発明の再構成サーファクタントの投与は、従来どおり、好ましくは気管内投与（注入もしくはボーラス）によってかまたは噴霧によって行われる。

【0072】

再構成サーファクタントの有効用量は、投与の手段、疾患の型および重篤度、ならびに処置が予防的であるかまたは治療的であるかどうかを含む多くの様々な要因に応じて変動する。一般に、用量は、 $0.01\text{ mg} \sim 10\text{ g} / \text{kg}$ 体重、好ましくは $10 \sim 500\text{ mg} / \text{kg}$ 、より好ましくは $40 \sim 200\text{ mg} / \text{kg}$ である。当業者は、至適用量およびその投与の頻度を容易に決定することができる。

10

【0073】

本発明はまた、本発明の再構成サーファクタントを含む医薬組成物に関する。前記組成物は、有利には、液剤、分散剤、懸濁剤または乾燥散剤の形態で投与される。好ましくは、前記組成物は、適切な溶媒または再懸濁媒体中に溶解または懸濁された再構成サーファクタントを含む。

【0074】

好ましくは、前記医薬組成物は、使い捨てガラスバイアル中の緩衝生理食塩水溶液中の懸濁剤として供給される。有利には、再構成サーファクタントの濃度（リン脂質含量として表現される）は、約 $2 \sim 160\text{ mg} / \text{ml}$ 、好ましくは $10 \sim 100\text{ mg} / \text{ml}$ 、より好ましくは $20 \sim 80\text{ mg} / \text{ml}$ のサーファクタントの範囲である。

20

【0075】

より低い粘度を達成するために、前記組成物は、電解質、例えばカルシウム、マグネシウムおよび／またはナトリウム塩（例えば塩化カルシウムまたは塩化ナトリウム）をさらに含み得る。

【0076】

本発明による医薬組成物は、未熟出産乳児における呼吸窮迫症候群（RDS）またはサーファクタント欠乏もしくは機能不全に関連する他の疾患（急性肺傷害（ALI）、成人におけるRDS（ARDS）、胎便吸引症候群（MAS）および気管支肺形成不全（BPD）を含む）の予防および／または処置に適切である。

【0077】

30

それはまた、肺炎、気管支炎、COPD（慢性閉塞性肺疾患）、喘息および嚢胞性線維症のような他の呼吸障害の予防および／または処置のために、そして滲出性中耳炎（膠耳（glue ear））の処置のために有用であり得る。

【0078】

以下の実施例は、本発明をより詳細に例証する。

【0079】

実施例

ポリペプチドSP-C33およびKL₄に基づく再構成サーファクタントを用いるインビボ実験

サーファクタント調製物を、妊娠期間27日での子宮摘出によって得た未熟新生ウサギにおいてアッセイする。実験を呼気終末陽性換気（PEEP）を適用することなしに行う。

40

【0080】

SP-Cアナログとして、WO00/47623に記載されるように調製されるSP-C33といわれるポリペプチドを使用する。

【0081】

タンパク質SP-Bのアナログとして、WO92/22315の教示に従って調製されるKL₄といわれるポリペプチドを使用した。

【0082】

動物を、68:31（w/w）の比率のDPPC:POPGからなるリン脂質混合物と

50

の組み合わせで2%SP-C33または2%SP-C33+2%KL₄を含む再構成サーファクタント調製物200mg/kg(80mg/ml)を用いて出生時に処置する。

【0083】

クロサーフ(登録商標)(80mg/ml)で処置した動物を陽性対照とし、そして非処置同腹仔を陰性対照とする。

【0084】

未熟新生ウサギを、標準化された一連のピークガス注入圧を用いて平行して換気する。肺を開けるために、圧を最初に35cmH₂Oに1分間設定する。この補充手技の後、圧を25cmH₂Oに15分間低下させ、さらに20および15cmH₂Oに低下させる。最後に、圧を再度25cmH₂Oに5分間上昇させ、その後肺を窒素を用いてさらに5分間換気し、次いで気量測定のために切除する。

10

【0085】

ml/kgとして表現される肺気量および一回換気量の両方を測定し、そして結果(中央値として与える)をそれぞれ図4および5に報告する。

【0086】

図3は、2%KL₄との組み合わせで2%(w/w)SP-C33を含む再構成サーファクタント調製物で処置した動物が、2%(w/w)SP-C33を与えた動物よりも高い肺気量を有していたことを示し、このことはSP-C33サーファクタントへ2%(w/w)KL₄を加えることにより肺気量の増大が生じたことを示す。

【0087】

20

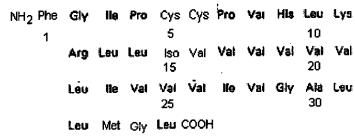
前記結果は、本発明の再構成サーファクタントが、タンパク質SP-Cのアナログのみを含む再構成サーファクタント調製物よりも良好な呼気の終末での肺胞におけるリン脂質膜の安定化を提供することを実証する。

【0088】

さらに、図4は、本発明の再構成サーファクタント調製物が、一回換気量として表現される呼吸機能を有意に改善することが判明したことを示す。

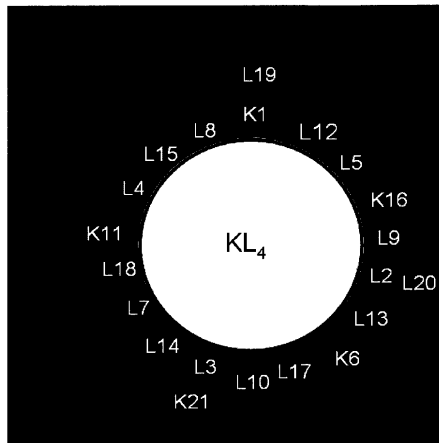
【図 1】

Figure 1

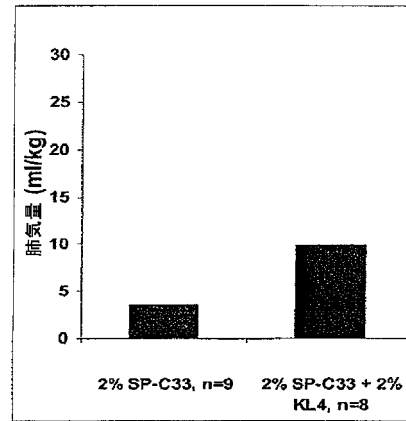


【図 2】

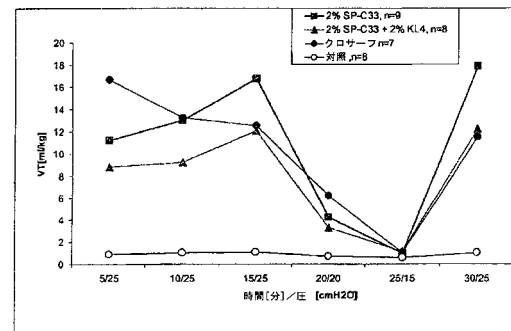
Figure 2



【図 3】



【図 4】



【配列表】

0005575639000001.app

フロントページの続き

- (72)発明者 カーステッド, トーレ
イタリア国、イー43100・パルマ、ビア・パレルモ、26/ア
- (72)発明者 ロバートソン, ベント
イタリア国、イー43100・パルマ、ビア・パレルモ、26/ア

審査官 山村 祥子

- (56)参考文献 特表2006-504635 (JP, A)
特表2003-501481 (JP, A)

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
- | | |
|--------|-------------|
| A 61 K | 38/00 |
| A 61 K | 47/00-47/48 |
| A 61 K | 9/10 |
| A 61 P | 11/00 |