

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成30年11月29日(2018.11.29)

【公表番号】特表2018-524311(P2018-524311A)

【公表日】平成30年8月30日(2018.8.30)

【年通号数】公開・登録公報2018-033

【出願番号】特願2017-565114(P2017-565114)

【国際特許分類】

C 0 7 K 14/525 (2006.01)

C 1 2 M 1/00 (2006.01)

C 0 7 K 19/00 (2006.01)

A 6 1 K 38/19 (2006.01)

A 6 1 K 47/54 (2017.01)

A 6 1 P 37/06 (2006.01)

A 6 1 P 29/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/00 (2006.01)

A 6 1 P 25/04 (2006.01)

A 6 1 P 9/00 (2006.01)

A 6 1 P 19/02 (2006.01)

A 6 1 P 1/04 (2006.01)

A 6 1 P 17/06 (2006.01)

A 6 1 P 37/02 (2006.01)

A 6 1 P 25/28 (2006.01)

A 6 1 P 25/16 (2006.01)

A 6 1 P 25/08 (2006.01)

G 0 1 N 33/50 (2006.01)

G 0 1 N 33/15 (2006.01)

G 0 1 N 33/566 (2006.01)

【 F I 】

C 0 7 K 14/525 Z N A

C 1 2 M 1/00 A

C 0 7 K 19/00

A 6 1 K 38/19

A 6 1 K 47/54

A 6 1 P 37/06

A 6 1 P 29/00

A 6 1 P 25/00

A 6 1 P 25/04

A 6 1 P 9/00

A 6 1 P 29/00 1 0 1

A 6 1 P 19/02

A 6 1 P 1/04

A 6 1 P 17/06

A 6 1 P 37/02

A 6 1 P 25/28

A 6 1 P 25/16

A 6 1 P 25/08

G 0 1 N 33/50 Z

G 0 1 N 33/15 Z

G 0 1 N 33/566

【手続補正書】

【提出日】平成30年10月19日(2018.10.19)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

場合により、関節リウマチ、クローン病、乾癬、全身性エリテマトーデス、アルツハイマー病、パーキンソン病及びてんかんのうちの1つ又は複数を含む自己免疫障害及び炎症障害；神経障害及び神経変性障害；疼痛及び侵害障害；並びに心血管障害のうちの1つ又は複数の処置及び／又は予防における使用のための、配列番号36、又は対応する配列のアミノ酸配列を含むタンパク質サブユニットの非対称性TNF α トリマーであって、X線結晶解析により決定された場合、参照構造化合物34. pdbの同じ原子の0.9 Å RMSD以内の全てのサブユニットについて、配列番号36、又は対応する配列の残基12～18、47～50、54～64、76～82、91～97、117～125、129～137、及び150～156のC α 原子を含むコンフォメーションを採用し、TNFR1に結合することができるが、前記結合したTNFR1からのシグナリングが減弱又は拮抗される、上記TNF α トリマーを含む、ヒト又は動物の体の治療剤。

【請求項2】

(a) RMSDが0.85、0.8、0.7、0.65、0.6、0.5又は0.47 Å以内、

(b) コンフォメーションが、化合物(1)～(64)のいずれか1つとの複合体を形成するTNF α トリマーを介して得ることができる、又は得られる、請求項1に記載の治療剤。

【請求項3】

場合により、関節リウマチ、クローン病、乾癬、全身性エリテマトーデス、アルツハイマー病、パーキンソン病及びてんかんのうちの1つ又は複数を含む自己免疫障害及び炎症障害；神経障害及び神経変性障害；疼痛及び侵害障害；並びに心血管障害のうちの1つ又は複数の処置における使用のための、配列番号36、又は対応する配列のアミノ酸配列を含むタンパク質サブユニットのTNF α トリマーと、TNF α トリマーに結合することができる化合物とを含む複合体であって、化合物トリマー複合体がTNFR1に結合し、TNFR1を介してトリマーにより誘導されるシグナリングを減弱させ、X線結晶解析により決定された場合、化合物がTNF α トリマー内に結合しているファーマコフォアを含み、それが以下の残基：サブユニットAのLeu57；サブユニットBのTyr119；サブユニットBのGly121；サブユニットBのGly122；サブユニットCのTyr59；サブユニットCのLeu120；及びサブユニットCのTyr151の全ての4 Å以内にあり、ファーマコフォアが、2個の縮合した5又は6員環（「R3」及び「R2」に中心を有する）からなり、一方の環（R2に中心を有する）がH結合アクセプター（「A1」）を含み、さらに、連結非水素原子を介してさらなる5又は6員環（「R4」に中心を有する）に置換されている、上記複合体を含む、ヒト又は動物の体の治療剤。

【請求項4】

(a) R2環が5又は6員であり、

(b) R3環が5又は6員であり、

(c) R4環が5又は6員であり、

(d) R2環が芳香族又はヘテロ芳香族であり、

(e) R3環が芳香族又はヘテロ芳香族であり、

(f) R 4 環が芳香族又はヘテロ芳香族であり、

(g) 縮合環が 2 個の原子を共有し、

(h) 連結非水素原子が炭素、窒素、又は酸素であり、

(i) A 1 特徴部が R 2 環中の窒素又は酸素原子によるものであり、

(j) A 1 特徴部が TNF α トリマーのサブユニット C 上の Tyr 151 の側鎖に水素結合し、

(k) R 2、R 3 及び R 4 環、並びに A 1 特徴部が、以下の表に記載の TNF α トリマー構造体内に配置されており、

【表 1】

TNF α トリマーアミノ酸	TNF α トリマーアミノ酸の 4 Å 以内の ファーマコフォア特徴部
Tyr151 サブユニット C	A1 水素結合アクセプター
Tyr59 サブユニット C	R、R3 環
Leu120 サブユニット C	R、R3 環
Leu57 サブユニット A	R3, R4 環
Tyr119 サブユニット B	R4 環
Gly121 サブユニット B	R4 環
Gly122 サブユニット B	R4 環

(l) R 1、R 2、R 3 及び A 1 特徴部の間の距離の 1 つ又は複数が、以下の表に記載の値のほぼその値、正確にその値、又はその値の 10 % 以内にあり、

【表 2】

部位 1 特徴部	部位 2 特徴部	距離(Å)
A1	R2	1.187
A1	R3	2.737
A1	R4	5.661
R2	R3	2.107
R2	R4	4.650
R3	R4	5.088

(m) R 1、R 2、R 3 及び A 1 特徴部の間の角度の 1 つ又は複数が、以下の表に記載の値のほぼその値、正確にその値、又はその値の 10 % 以内にあり

【表 3】

部位 1 特徴部	部位 2 特徴部	部位 3 特徴部	角度(度)
R2	A1	R3	46.6
R2	A1	R4	28.2
R3	A1	R4	63.9
A1	R2	R3	109.2
A1	R2	R4	144.9
R3	R2	R4	89.5
A1	R3	R2	24.2
A1	R3	R4	87.3
R2	R3	R4	66.0
A1	R4	R2	6.9
A1	R4	R3	28.9
R2	R4	R3	24.5

(n) R3-R2-R4の角度が、TNF α トリマーの非対称化に関与するバナナ形を画定し、

(o) ファーマコフォアを含む化合物が20～41個の非水素原子を有し、

(p) 化合物が化合物(1)～(64)のいずれか1つである、請求項3に記載の治療剤。

【請求項5】

治療がヒトの体に対するものである、請求項1、2、又は3に記載の治療剤。

【請求項6】

複合体中のTNF α トリマーが、請求項1又は2に定義されるTNF α トリマーである、請求項3から5までのいずれか一項に記載の治療剤。

【請求項7】

(a) 化合物が、TNFR1受容体を介してTNF α トリマーにより誘導されるシグナリングに拮抗し：及び／又は

(b) 化合物が、化合物の非存在下でのTNF α トリマーの安定性と比較して、TNF α トリマーの安定性を増加させ、

ここで、場合により、安定性の増加が、少なくとも1℃、少なくとも10℃、又は10℃～20℃のTNF α トリマーの温度遷移中点(T_m)の増加をもたらし、及び／又は

(c) 化合物が、化合物の非存在下でのTNFR1受容体に対するTNF α トリマーの結合親和性と比較して、TNFR1受容体に対するTNF α トリマーの結合親和性を増加させ、

ここで、場合により、

(i) 化合物が、化合物の非存在下でのTNFR1受容体に対するTNF α トリマーの結合に関する k_{on-r} 及び k_{off-r} 値と比較して、結合速度(k_{on-r})を増加させること、及び／又は解離速度(k_{off-r})を減少させることにより、TNFR1受容体に対するTNF α トリマーの結合親和性を増加させ、及び／又は

(ii) 化合物が、化合物の非存在下でのTNFR1受容体に対するTNF α トリマーの K_{D-r} と比較して、TNFR1受容体に対するTNF α トリマーの K_{D-r} を減少させ、

化合物が、化合物の非存在下でのTNFR1受容体に対するTNF α トリマーの K_{D-r} と比較して、TNFR1受容体に対するTNF α トリマーの K_{D-r} を少なくとも10分の1に減少させ；

化合物の存在下での TNFR1 受容体に対する TNF α トリマーの K_{D-r} 値が 10 nM 未満であり、又は

化合物が、化合物の非存在下での TNFR1 受容体に対する TNF α トリマーの K_{D-r} と比較して、TNFR1 受容体に対する TNF α トリマーの K_{D-r} を少なくとも 4 分の 1 に減少させ；

化合物の存在下での TNFR1 受容体に対する TNF α トリマーの K_{D-r} 値が 600 pM 未満であり、

場合により、化合物の存在下での TNFR1 受容体に対する TNF α トリマーの K_{D-r} 値が 200 pM 未満であり；及び／又は

(d) 前記化合物が 500 nM 以下の IC_{50} 値を有する、請求項 3 から 6 までのいずれか一項に記載の治療剤。

【請求項 8】

(a) TNF α トリマーが TNFR1 受容体のシグナリングに拮抗し、及び／又は

(b) TNF α トリマーが対称性 TNF α トリマーの安定性と比較して増加した安定性を有し、

ここで、場合により、安定性の増加が、少なくとも 1℃、少なくとも 10℃、又は 10℃～20℃の TNF α トリマーの温度遷移中点 (T_m) の増加をもたらし、及び／又は

(c) TNF α トリマーが、TNFR1 受容体に対する対称性 TNF α トリマーの結合親和性と比較して、TNFR1 受容体に対する増加した結合親和性を有し、

ここで、場合により、

(i) TNF α トリマーが、TNFR1 受容体に対する対称性 TNF α トリマーの結合に関する k_{on-r} 及び k_{off-r} 値と比較して、結合速度 (k_{on-r}) を増加させること、及び／又は解離速度 (k_{off-r}) を減少させることにより、TNFR1 受容体に対する増加した結合親和性を有し、及び／又は

(i i) TNFR1 受容体に対する TNF α トリマーの K_{D-r} が、TNFR1 受容体に対する対称性 TNF α トリマーの K_{D-r} と比較して減少し、

TNFR1 受容体に対する TNF α トリマーの K_{D-r} が、TNFR1 受容体に対する対称性 TNF α トリマーの K_{D-r} と比較して少なくとも 10 分の 1 に減少し；

TNFR1 受容体に対する TNF α トリマーの K_{D-r} 値が 10 nM 未満であり；又は

TNFR1 受容体に対する TNF α トリマーの K_{D-r} が、TNFR1 受容体に対する対称性 TNF α トリマーの K_{D-r} と比較して少なくとも 4 分の 1 に減少し；

TNFR1 受容体に対する TNF α トリマーの K_{D-r} 値が 600 pM 未満であり、

ここで、場合により、TNFR1 受容体に対する TNF α トリマーの K_{D-r} 値が 200 pM 未満である、請求項 1 又は 2 に記載の治療剤。

【請求項 9】

(a) 前記 TNF α トリマーが、1 nM 以下の K_{D-ab} で以下の抗体：配列番号 26 の配列の軽鎖及び配列番号 27 の配列の重鎖を有する CA185__1979；又は配列番号 11 の配列の軽鎖及び配列番号 12 の配列の重鎖を有する CA185__1974 のいずれかに結合し；及び／又は

(b) TNF α トリマーが可溶性 TNF α 、膜結合型 TNF α 、又は可溶性 TNF α と膜結合型 TNF α の両方であり；及び／又は

(c) TNF α トリマーが配列番号 36 のタンパク質配列を含む、又はそれからなる、請求項 1 から 8 までのいずれか一項に記載の治療剤。

【請求項 10】

場合により感染が TB 及び／又は細菌性敗血症及び／又は真菌感染であり、或いは悪性腫瘍がリンパ腫である、感染及び／又は悪性腫瘍を誘導しない、或いは悪化させない、請求項 1 から 9 までのいずれか一項に記載の治療剤。

【請求項 11】

空間群 P21 21 21、P21 21 2、又は P1 21 1 を有する TNF α トリマー結晶であって、場合により

(a) TNF α トリマー結晶が配列番号35又は36に記載のアミノ酸残基を含むポリペプチドを含み；及び／又は

(b) 結晶が、単位格子寸法 $a = 54 \text{ \AA} \pm 1 \sim 2 \text{ \AA}$ 、 $b = 81 \text{ \AA} \pm 1 \sim 2 \text{ \AA}$ 、 $c = 93 \text{ \AA} \pm 1 \sim 2 \text{ \AA}$ 、 $\alpha = 90^\circ$ 、 $\beta = 90^\circ$ 、及び $\gamma = 90^\circ$ 又は $a = 47.7 \text{ \AA} \pm 1 \sim 2 \text{ \AA}$ 、 $b = 95.8 \text{ \AA} \pm 1 \sim 2 \text{ \AA}$ 、 $c = 100.7 \text{ \AA} \pm 1 \sim 2 \text{ \AA}$ 、 $\alpha = 90^\circ$ 、 $\beta = 99.1^\circ$ 、及び $\gamma = 90^\circ$ を有し；及び／又は

(c) 結晶が化合物(1)～(64)のいずれかをさらに含む、上記TNF α トリマー結晶。

【請求項12】

a) 化合物1. pdb～化合物64. pdbのいずれかに記載のTNF α トリマーの構造座標を非対称性TNF α トリマーの3次元モデルとして使用するため；

b) 3次元モデルにおけるトリマーの中心の結合ポケットを分析するため；及び

c) 前記結合部位に適合する低分子について *in silico* ライブラリーをスクリーニングするため
の実行可能なコードを含むコンピュータ。

【請求項13】

アポTNF α トリマーの潜在的な阻害剤を同定するための方法であって、

a) 化合物1. pdb～化合物64. pdbのいずれかに記載のTNF α トリマーの構造座標を使用して、非対称性TNF α トリマーの3次元モデルを生成するステップ；

b) 3次元モデルにおけるトリマーの中心の結合ポケットの残基を同定するステップ；

c) 結合部位残基を使用して特異的3D標的を生成するステップ；

d) 特異的3D標的を用いて、TNF α トリマーの潜在的な阻害剤を設計又は選択するステップ；

e) 潜在的な阻害剤を取得するステップ；及び

f) *in vitro* で潜在的な阻害剤とアポTNF α トリマーとを接触させて、前記潜在的な阻害剤が前記アポTNF α トリマーと相互作用する能力を決定するステップ
を含み、相互作用する能力が、アポTNF α トリマーの前記潜在的な阻害剤が決定されることを示す、上記方法。

【請求項14】

アポTNF α トリマーに結合する化合物を設計する方法であって、

a) 化合物1. pdb～化合物64. pdbのいずれかに記載のTNF α トリマーの原子座標を使用して、TNF α トリマーの中心の結合ポケットの3次元コンピュータモデルを構築するステップ；

b) 化合物と結合ポケットとの立体化学的相補性を評価するステップ；

c) タンパク質／化合物結合に影響するタンパク質又は化合物の変化を観察することによって、反復手法で立体化学的相補性を最適化するステップ；及び

d) 前記タンパク質／化合物の立体化学的相補性を最適化する化合物を設計するステップ
を含む、上記方法。

【請求項15】

アポTNF α トリマーの中心の結合ポケットと相互作用する候補阻害剤を同定するための方法であって、

a) 請求項11に記載の結晶を取得するステップ；

b) ステップa)の結晶のアミノ酸の構造座標を取得するステップ；

c) ステップb)で生成されたアミノ酸の構造座標を使用してTNF α トリマーの3-Dモデルを生成するステップ；

d) 3-DモデルからTNF α トリマーの中心の結合ポケットを決定するステップ；

e) コンピュータ適合分析を実行して、結合ポケットと相互作用する候補阻害剤を設計又は同定するステップ；及び

f) *in vitro* で、設計又は同定された候補阻害剤とアポTNF α トリマーとを

接触させて、TNF α 活性に対する阻害剤の効果を決定するステップを含む、上記方法。

【請求項16】

アポTNF α トリマーに結合する化合物を同定する方法であって、

a) 請求項11に記載の結晶を使用してTNF α トリマーの3-D分子モデルを取得するステップ；

b) 合理的薬物設計の方法においてステップa)のモデルを使用して、TNF α トリマーの中心に結合することができる候補化合物を同定するステップ；及び

c) ステップb)で同定された結合候補化合物の存在下でTNF α 活性についてアッセイすることによって、アポTNF α トリマーに結合する化合物を同定するステップを含む、上記方法。

【請求項17】

アポTNF α トリマーの阻害剤の同定における、請求項11に記載の結晶又は化合物1 . p d b ~ 化合物64 . p d bのいずれかの構造座標の使用。