

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6366598号
(P6366598)

(45) 発行日 平成30年8月1日 (2018.8.1)

(24) 登録日 平成30年7月13日 (2018.7.13)

(51) Int. Cl.	F I
A 6 1 K 31/7048 (2006.01)	A 6 1 K 31/7048
A 6 1 K 31/7056 (2006.01)	A 6 1 K 31/7056
A 6 1 P 27/02 (2006.01)	A 6 1 P 27/02 Z N A

請求項の数 3 (全 96 頁)

(21) 出願番号	特願2015-542820 (P2015-542820)	(73) 特許権者	507333649
(86) (22) 出願日	平成25年11月15日 (2013.11.15)		タフツ ユニバーシティー
(65) 公表番号	特表2016-501849 (P2016-501849A)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O
(43) 公表日	平成28年1月21日 (2016.1.21)		2 1 1 O ポストン, ハリソン・アベニュー, 1 3 6
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/070306	(73) 特許権者	515129700
(87) 国際公開番号	W02014/078655		ガレクト バイオテック エービー
(87) 国際公開日	平成26年5月22日 (2014.5.22)		デンマーク ディーケー-2 2 0 0 コペンハーゲン オレ・マアロエベジ 3
審査請求日	平成28年10月6日 (2016.10.6)	(74) 代理人	100082072
(31) 優先権主張番号	61/726, 998		弁理士 清原 義博
(32) 優先日	平成24年11月15日 (2012.11.15)	(72) 発明者	パンジワニ, ノオルジャハン
(33) 優先権主張国	米国 (US)		アメリカ合衆国 O 2 1 5 5 マサチューセッツ州 メッドフォード リチャード・ストリート 2 7

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ガレクチンタンパク質阻害剤を用いて被験体の眼の血管新生または繊維症を処置し、調節し、または、予防する方法、組成物、およびキット

(57) 【特許請求の範囲】

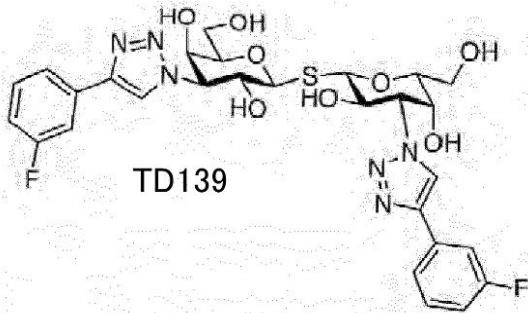
【請求項 1】

眼の繊維症および眼の血管新生の少なくとも 1 つを処置または予防するための医薬組成物であって、

医薬組成物は、薬学的に適切な担体または希釈剤、およびある量の合成低分子量化合物を 3 0 0 n g ~ 7 5 0 μ g の投与量範囲で含み、但し、合成低分子量化合物はポリマーではなく、天然に存在しないという条件で、合成低分子量化合物はガラクトピラノース環を含み、合成低分子量化合物の量は、眼の繊維症および眼の血管新生の少なくとも 1 つを阻害するのに十分なガレクチンタンパク質またはその一部の活性を阻害または調節するように操作され、医薬組成物は眼の硝子体内または結膜下に投与され、

医薬組成物は、ビスー { 3 - O - [(5 , 6 - ジフルオロ - 2 H - 1 - ベンゾピラン - 2 - オン - 3 - イル) - メチル] - β - D - ガラクトピラノシル } スルファン、または、以下の構造を有する合成低分子量化合物の 1 つ以上を含み、

【化 1】



10

合成低分子量化合物は血管新生を阻害する、医薬組成物。

【請求項 2】

ガレクチンタンパク質は、ガレクチン-1、ガレクチン-3、ガレクチン-7、およびガレクチン-8の群から選択され、

合成低分子量化合物は、眼の血管新生に関連した疾患または疾病の処置または予防に有効であり、例えば、前記疾患または疾病は過度の血管新生に関連付けられ、前記疾患または疾病は、瘢痕に関連付けられる手術、例えば、緑内障手術、血管新生緑内障、角膜外傷、結膜炎後瘢痕、翼状片、加齢黄斑変性（AMD）、例えば、湿潤型AMDまたは乾燥型AMD、乾燥型AMDから湿潤型AMDへの変換、増殖性糖尿病性網膜症、糖尿病性黄斑浮腫、および角膜血管新生（トラコーマ）の群から選択され、

20

合成低分子量化合物は、抗血管新生、抗腫瘍、抗ウイルス、抗菌性、抗ミコプラズマ、抗菌、抗増殖、および、抗アポトーシスからなる群から選択される少なくとも1つの薬剤をさらに含む、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項 3】

被験体における、または、被験体からの細胞における、眼の血管新生または眼の繊維症を処置または予防するためのキットであって、

キットは、

ガレクチンタンパク質またはその一部を阻害する医薬組成物であって、ガレクチンタンパク質に結合してVEGF/VEGF受容体-2経路またはTGF-β経路を調節するか、あるいは、ガレクチンタンパク質の活性を調節する、医薬組成物、

30

使用説明書、および、

容器を含み、

医薬組成物は、請求項1または2に記載されている、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

<関連出願>

本出願は、発明者、Noorjahan Panjwani, Wei-Sheng Chen, Hakon Leffler and Ulf Nilssonによって、「Methods, compositions and kits for treating, modulating, or preventing ocular angiogenesis or fibrosis in a subject using a galectin protein inhibitor」と題され、2012年11月15日に出願された、米国の仮特許出願第61/726,998号、の利益を主張し、この文献は参照により全体として本明細書に組み込まれる。

40

【0002】

被験体の眼の血管新生または眼の繊維症を阻害する際に使用される医薬組成物を用いた方法とキットが提供される。

【0003】

（政府支援）

50

本発明は、国立衛生研究所によって与えられた助成金EY007088の下、政府の支援を受けて作られた。政府は本発明において一定の権利を有している。

【背景技術】

【0004】

脈絡膜血管新生などの目の血管新生に関連する障害は、目の出血や繊維症、および、視力喪失をもたらす。血管新生に関連する障害は、加齢黄斑変性、目のヒストプラズマ症候群、血管新生緑内障、後水晶体線維増殖症、病的近視、網膜色素線条症、特発性障害、脈絡膜炎、脈絡膜破裂、脈絡膜母斑の重なり（overlying choroid nevi）、移植片拒絶反応、単純ヘルペス性角膜炎、リーシュマニア症、オンコセルカ症、ドライアイ症候群などの特定の炎症性疾患、および、目（例えば角膜）に対する外傷を含んでいる。

10

【0005】

脈絡膜血管新生は、出血、繊維症、および視力喪失を引き起こす血管新生に関連する障害である（2009年8月20日に公開された、Kumar-Singhらの特許文献1）。正常な角膜は血管を欠いているが、しかしながら、脈絡膜血管新生などの特定の病理学的状態では、毛細管は、縁の角膜周囲の血管網から角膜に伸びている。角膜は血管新生化するにつれて曇るようになり、患者の視力を減少させる。

【0006】

加齢黄斑変性（AMD）は、65歳以上の人々の重篤な視力喪失の主要な原因である（ressleらの非特許文献1、Guyerらの非特許文献2、Hymannらの非特許文献3、Klein & Kleinの非特許文献4、および、Leibowitzらの非特許文献5）。臨床病理学的な記載はAMDで作られているが、疾患の原因や病因に関してはほとんど理解されていない。

20

【0007】

乾燥型AMDは黄斑変性症のより一般的な形態であり、中心視力の緩慢かつ進行性の喪失と共に、ドルーゼンの形成、黄斑の色素性および萎縮性の変化を特徴とする。浸潤型またはcAMDは、脈絡膜血管新生（CNV）の形成に続発する網膜下出血、繊維症、および体液と、急激かつ顕著な視力喪失を特徴とする。血管新生AMDは、乾燥型AMDほど一般的ではないが、AMDによる重篤な視力喪失の80%を占める。米国だけで毎年約200,000件、血管新生AMDが診断されている（2006年10月24日に発行されたMillerらの特許文献2を参照のこと。この文献は参照により本明細書に組み込まれる）。

30

【0008】

現在のところ、浸潤型AMDと乾燥型AMDのような目の血管新生に関連する障害の有効な処置はごくわずかしかない。最近まで、レーザー光凝固術は、血管新生AMDの選択された事例に利用可能な唯一の治療であった。不運なことに、血管新生AMDの患者の大多数はレーザー光凝固術治療の基準を満たしていない。血管新生AMDの患者の約85%は、定義が不十分な、難解な、あるいは、比較的広範囲な中心窩下脈絡膜血管新生を有しており、いずれの場合もレーザー療法を受けることができない。加えて、レーザー光凝固術は、CNV組織に対する熱損傷に依存しており、これは重なっている網膜神経感覚上皮を破損し、結果的に視覚機能の喪失を伴う。レーザー光凝固術では事例の約50%で生じる再発も悩みの種である。

40

【0009】

光力学療法（PDT）は、望ましくないCNVを取り除き、血管新生AMDを処置することに関しては将来有望な結果を示している（Millerらの非特許文献6、Schmidt-Erfurthらの非特許文献7、非特許文献8、および、Husainらの非特許文献9）。PDTは、光増感剤またはPDT色素（腫瘍や新しく形成された血管などの増殖組織で蓄積する光増感剤または色素）を全身に投与し、その後、色素の吸収ピークに対応する波長において、低い強度および熱を生じない光で標的組織を照射することを含んでいる（Oleinickらの非特許文献10）。色素の励起により一重項酸素および

50

遊離基（活性酸素種として一層よく知られている）が形成され、これは標的組織に対して光化学的損傷を引き起こす（Weishauptらの非特許文献11）。

【0010】

CNVを処置するためにPDTを使用する研究によれば、光増感剤投与量、レーザー光用量、および放射のタイミングの適切な処置パラメーターを用いて、網膜血管、大きな脈絡膜血管を残しつつ、かつ、網膜神経感覚上皮内で最小の変化しかもたらさずに、実験的なCNVに対する相対的な選択的損傷を達成することができる（Husainらの非特許文献12、Husainらの非特許文献13、Millerらの非特許文献14、およびKramerらの非特許文献15）。緑のポルフィリン色素を使用するPDTに基づく手順は、血管新生AMDの処置で使用するために、最近では様々な国々で承認されている。

10

【0011】

しかしながら、臨床研究において、調査者たちは、処置の1～3か月後に少なくともCNVの一部で再発が生じたと報告した。光増感剤または光の用量を増加させてもこの再発を防げず、網膜血管に対する望ましくない非選択的な損傷を与え得ることさえあり得る（Millerらの非特許文献16）。3か月ごとに適用された反復PDT療法を研究するために、複数の複数機関によるフェーズ3試験が進行中である。調査者たちは、PDT療法を用いて中程度の視力喪失の割合が減ることを望んでいる（非特許文献8）。しかしながら、繰り返しのPDT療法により、網膜色素上皮（RPE）や脈絡毛細管に対する損傷が蓄積し、進行性の処置に関連する視力喪失を引き起こしている。

【0012】

20

被験体のAMDの処置のために開発されたタンパク質は、アバスタチン（商標）（ベバシズマブ（商標））、および、ルセンチス（商標）（ラニズマブ（商標））のような血管内皮増殖因子（VEGF）、および、アイリーア（商標）（アフリベルセプト（商標））のようなVEGFデコイ受容体に特異的な抗体を含んでいる。しかしながら、何人かの患者が状態の改善を経験しているものの、医療サービス提供者はこれらの処置の効果はそれぞれの患者の独特の生態に基づいて高度に個別化されていることを知っている。したがって、これらのタンパク質で処置されたすべての患者が改善を経験するとは限らない。

【0013】

眼疾患のいくつかのタイプ、とりわけ、網膜と角膜の疾患は瘢痕組織の形成を伴う。これは、瘢痕組織形成の予防の特定の障害が、視覚的な予後の改善をもたらす可能性が高い程度までは、視力喪失に寄与する。

30

【0014】

目における瘢痕組織形成は、加齢黄斑変性における脈絡膜血管新生に関連し発生することもあり、瘢痕組織は盛んに滲み出て出血する血管成長期の退縮の後に最も顕著であり、それゆえ、瘢痕組織は中心窩の光受容体の後ろの網膜下の空間全体を占領することもあり、それにより、網膜神経感覚上皮の光受容体を、機能している網膜色素上皮と接触させない。現在のところ、網膜線維症、角膜繊維症、または網膜下線維症などの眼の繊維症や付随する視力喪失の処置に利用可能な方法はない。網膜下線維症の予防または抑制は、光凝固、バルテポルフィン光力学療法、または、血管内皮細胞増殖因子の硝子体内の薬理的な障害によって達成することができる。しかしながら、こうした処置は網膜下血管新生における網膜下線維症を完全に防ぐことができるとは示されていない。網膜下線維症の他の原因としては、変性近視、脈絡膜破裂、外部の網膜瘢痕、および、脈絡膜炎、色素線条、または外部の網膜損傷の他の原因を伴うブルッフ膜瘢痕が挙げられる。

40

【0015】

目における瘢痕組織形成は、例えば、増殖性糖尿病性網膜症、網膜静脈閉塞、鎌状赤血球症、および、ぶどう膜炎を含む、網膜前のおよび／または視神経乳頭の血管新生の形成をもたらす疾患に関連して生じることもある。瘢痕組織形成は一般に新しい血管新生よりもピークに達するのが遅く、同じ位置で新しい血管の退縮と同時であることが多い。近年の臨床観察によると、増殖性糖尿病性網膜症では、血管内皮細胞増殖因子阻害剤（ラニズマブまたはベバシズマブ）の硝子体内での投与の後に、網膜前の新しい血管の迅速な退

50

行が来る場合がある。不運なことに、攻撃的な網膜前線維症はこうした処置の数週間後に起こり、硝子体を早期に切除する必要に迫られることになる場合もある。

【0016】

目における瘢痕組織形成は、増殖性硝子体網膜症として知られている状態である、裂孔原性網膜剥離を伴うことも分かっている。この状態では、事前に新しい血管が形成されなくとも繊維症は生じ、繊維細胞は、硝子体のおよび網膜の内表面上での、または、網膜下の空間内での異所性網膜色素上皮細胞の形質転換の結果、形成され则认为られている。現在のところ、網膜前膜切除による硝子体切除は、牽引性網膜剥離の一般に認可された唯一の処置方法である。

【0017】

目における瘢痕組織形成は、未熟児網膜症の結果、一見すると、未熟な周辺の網膜内の血管新生化された組織と血管新生化されていない組織の間の分界線から出た新しい血管の形成に対する結果として、生じることもある。無血管性網膜の凍結融解壊死治療および光学的切除 (photocoagulation) を含む現在の処置方法は、完全に網膜前線維症膜の収縮により引き起こされた牽引性網膜剥離に続発する視力喪失を防ぐには不十分である。現在のところ、網膜前膜の切除による硝子体切除が牽引性網膜剥離の認可された唯一の処置である。脈絡膜の新しい脈管による網膜下の空間の侵入は、加齢黄斑変性 (AMD) における視力喪失の主な原因である。血管新生AMDは血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) を特異的に阻害する処置の恩恵を受けるが、この治療ではごくわずかな患者の視力が正規化されるだけで、処置にもかかわらず約30%がかなりの視力喪失を経験する (Rosenfeldらの非特許文献17、Brownらの非特許文献18)。

【0018】

網膜下線維症は、視覚機能の局所的な喪失を伴って、網膜神経感覚上皮の下の瘢痕組織による網膜色素上皮の置き換えを引き起こす。増殖性の、すなわち、主として血管増殖性の (vasoproliferative) 糖尿病性網膜症において、ラニビズマブまたはベバシズマブを使用するVEGF阻害剤処置は、病理学的な新しい血管の灌流を塞ぐ、すなわち、除去することができると報告されている。不運なことに、この潜在的に有益な反応は、VEGF阻害剤処置の導入後に数週間以内に起こる攻撃的な繊維症反応によって、ある程度相殺される。

【0019】

目の前部における血管新生と炎症は、網膜疾患、脈絡膜疾患、または視神経疾患と同様に、前部疾患も悪化させることもある。重篤な事例は、虹彩上、毛様体上、および、前房隅角内での線維膜の形成を伴うこともあり得る。

【0020】

繊維症が前記疾患における視力喪失をもたらすプロセスの不可欠な部分であるため、繊維症を除去することが困難または不可能であるため、および、繊維症によって引き起こされた損傷を修復することが困難または不可能なこともあり得るため、前記疾患の繊維症成分を除去するまたは減らすことができる治療法を施すことへの強力な論理的根拠がある。

【0021】

一種の原発性白内障である前嚢下白内障 (ASC) は、前嚢の真下の濃い光散乱繊維症領域を特徴とする。この種の白内障は眼の外傷、炎症、および刺激作用 (例えば、アトピー性皮膚炎) に関連付けられる。

【0022】

結膜の瘢痕および繊維症は、繊維症が線維柱帯切除気泡 (trabeculectomy bleb) への房水ドレナージを妨害する、緑内障を処置するためのろ過手術といった眼の手術後の特定の問題であるように思われる。

【0023】

感染症 (例えば、ヘルペス性角膜炎のようなウイルス感染)、角膜深くにおける手術、外傷、化学的/熱による火傷、および、遺伝性のジストロフィーを含む様々な角膜損傷は、炎症性の治癒反応を刺激することもあり、このとき、繊維症は、不透明化、規則的な弯

10

20

30

40

50

曲の変化、および視力の低下をもたらす。

【0024】

水晶体線維症は、白内障後手術または水晶体嚢の損傷後といった水晶体の創傷治癒とともに観察されることもある。白内障手術の後、後嚢の不透明化（PCO）は一般に目の透明性の低下と移植された水晶体の偏位を引き起こし、これらは両方とも視力の低下を招く。

【0025】

慢性的な紫外線暴露に関連付けられる結膜の非悪性の成長である翼状片は、線維性血管性組織を特徴とする。翼状片は局所刺激を引き起こすこともあり、乱視を誘発するまたは視軸に直接影響することによって視覚障害を引き起こすこともある。手術後の再発リスクは存在する。

10

【0026】

繊維症は、特定の続発性閉塞隅角緑内障の病態生理学に関与している（例えば、血管新生緑内障における虹彩から線維性血管膜の成長は前房隅角の閉鎖をもたらす）。加えて、一連の証拠は、原発性開放隅角緑内障の進行において、線維柱帯網ECM沈着と、結果として生じる水性排出の妨害を密接に結び付ける。

【0027】

いくつかの増殖因子は繊維症を実験的に刺激するために記載されている。具体的には、形質転換増殖因子 β （TGF- β ）について、眼内繊維症の促進と網膜色素上皮細胞の繊維細胞への変化とにおける役割が実証されてきた。血管新生に関連する障害と線維症に関連する障害を処置または予防するための改善された組成物と方法が依然として必要とされている。

20

【先行技術文献】

【特許文献】

【0028】

【特許文献1】国際出願番号WO 2009/102488号

【特許文献2】米国特許7, 125, 542号

【非特許文献】

【0029】

【非特許文献1】1988 Surv. Ophthalmol. 32: 375-413 30

【非特許文献2】1986 Arch. Ophthalmol. 104: 702-705

【非特許文献3】1983 Am. J. Epidemiol. 118: 816-824

【非特許文献4】1982 Arch. Ophthalmol. 100: 571-573

【非特許文献5】1980 Surv. Ophthalmol. 24: 335-610

【非特許文献6】1999 Archives of Ophthalmology 117: 1161-1173 40

【非特許文献7】1999 Archives of Ophthalmology 117: 1177-1187

【非特許文献8】TAP Study Group 1999 Archives of Ophthalmology 117: 1329-1345

【非特許文献9】1999 Philadelphia: Mosby 297-307

【非特許文献10】1998 Radiation Research 150: S146-S156

【非特許文献11】1976 Cancer Res. 36: 2326-2329

【非特許文献12】1996 Arch. Ophthalmology 114: 50

978-985

【非特許文献13】1997 Seminars in Ophthalmology
12: 14-25

【非特許文献14】1995 Arch. Ophthalmology 113: 8
10-818

【非特許文献15】1996 Ophthalmology 103(3): 427-
438

【非特許文献16】1999 Arch. Ophthalmology 117: 1
161-1173

【非特許文献17】NEJM 2006; 355: 1419-

【非特許文献18】NEJM 2006; 355: 1432-

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0030】

本発明の態様は、眼の血管新生または眼の繊維症を阻害する際に使用される医薬組成物を提供し、医薬組成物は薬学的に適切な担体または希釈剤を含み、医薬組成物の量は、眼の血管新生または眼の繊維症を阻害するのに十分なガレクチンタンパク質またはその一部の活性を阻害または調節するのに有効である。特定の実施形態では、阻害剤は、炭水化物認識ドメインの少なくとも1つのアミノ酸を含むガレクチンタンパク質の一部に結合する。

【0031】

組成物の様々な実施形態では、ガレクチンタンパク質は、ガレクチン-1、ガレクチン-3、ガレクチン-7、および、ガレクチン-8の群から選択される。様々な実施形態における組成物は以下の少なくとも1つから選択される：薬物、ポリマー、タンパク質、ペプチド、炭水化物、低分子量化合物、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、および、DNAまたはRNAなどの遺伝物質。例えば、遺伝物質は、ガレクチンの発現を否定的に調節するsiRNAである。様々な実施形態における薬物は、治療上、予防的に、および／または、薬理学的あるいは生理学的に有益な、活性薬剤、物質、または、その混合物であり、細胞または被験体に送達されて、所望の有益な効果をもたらす。薬物は例えば、タンパク質、ペプチド、または核酸を含む。

【0032】

様々な実施形態における医薬組成物は、眼の血管新生に関連した疾患または疾病を処置または予防するのに有効である。本明細書で使用されているように、眼の「疾患または疾病」との用語は、以下の少なくとも1つによって特徴付けられた任意の障害を意味する：目に対する過度の血管新生、外傷、または損傷、瘢痕に関連付けられる手術、例えば、緑内障過手術；血管新生緑内障；角膜外傷；結膜炎後瘢痕；翼状片、加齢黄斑変性（AMD）、例えば、湿潤型AMD、乾燥型AMD；乾燥型AMDから湿潤型AMDへの変換；増殖性糖尿病性網膜症；糖尿病性黄斑浮腫；および、角膜血管新生（トラコーマ）。あるいは、「障害または疾病」との用語は、眼の血管新生によって引き起こされた、または、眼の血管新生に由来する、任意の病状である。様々な実施形態では、障害または疾病は、眼の血管新生、網膜浮腫、糖尿病性網膜症、網膜虚血に関連する後遺症、後部血管新生、および血管新生緑内障と関連付けられる。

【0033】

様々な実施形態における医薬組成物は、眼の繊維症に関連した疾患または疾病を処置または予防するのに有効である。本明細書で使用されているように、眼の「疾患または疾病」との用語は、以下の少なくとも1つによって特徴付けられた任意の障害を意味する：眼の1つ以上の解剖位置における過度な繊維症またはコラーゲン沈着、とりわけ眼に対する外傷または他の損傷による繊維症、手術によって引き起こされる瘢痕、例えば、緑内障過手術；血管新生緑内障；角膜外傷；結膜炎後瘢痕；翼状片、加齢黄斑変性（AMD）、例えば、湿潤型AMDまたは乾燥型AMD；乾燥型AMDから湿潤型AMDへの変換；増

10

20

30

40

50

殖性糖尿病性網膜症；糖尿病性黄斑浮腫；病的な近視、未熟児網膜症、網膜色素の上皮の分離、スティーヴェンズ・ジョンソン症候群、ぶどう膜炎、前嚢下白内障、ドライアイ疾患、および、角膜血管新生（トラコーマ）。あるいは、「障害または疾病」との用語は、眼の繊維症によって引き起こされた、または、眼の繊維症に由来する、任意の病状である。様々な実施形態では、障害または疾病は、眼の繊維症、網膜の瘢痕、糖尿病性網膜症、網膜虚血に関連付けられる後遺症、および緑内障に関連する。

【0034】

様々な実施形態における医薬組成物はβガラクトシドである。様々な実施形態では、医薬組成物は誘導体化または機能化される。様々な実施形態では、医薬組成物は代謝可能ではないか、または、代替的な実施形態では代謝可能である。

10

【0035】

関連する実施形態における組成物は、抗血管新生、抗腫瘍、抗ウイルス、抗菌性、抗ミコプラズマ、抗真菌、抗増殖、抗炎症、および、抗アポトーシスからなる群から選択される少なくとも1つの薬剤をさらに含んでいる。例えば、薬剤は目における感染症を防ぐ、抗菌性分子である。

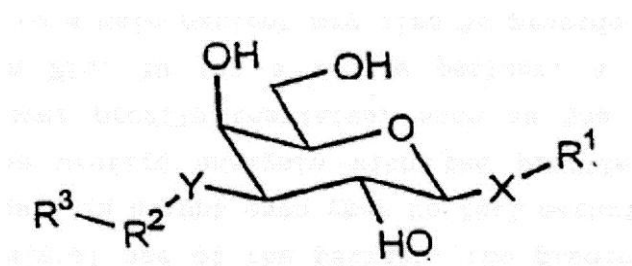
【0036】

眼の血管新生または眼の繊維症の阻害に使用される組成物は、様々な実施形態で、以下の一般式を含み：

【0037】

【化1】

20



ピラノース環の構造はD-ガラクトであり、Xは、O、S、NH、CH₂、およびNR⁴からなる群から選択されるか、または、単結合であり、Yは、NH、CH₂、およびNR⁴からなる群から選択されるか、または、単結合であり、R¹は、糖類、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基、および複素環からなる群から選択され、R²は、CO、SO₂、SO、PO、およびPO₂からなる群から選択され、R³は、以下からなる群：少なくとも4つの炭素原子のアルキル基、少なくとも4つの炭素原子のアルケニル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4つの炭素原子のアルキル基またはアルケニル基、カルボキシ基とアミノ基の両方で置換された少なくとも4つの炭素原子のアルキル基、および、ハロゲンで置換された少なくとも4つの炭素原子のアルキル基；フェニル基、カルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、アルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンと少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンと少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、ニトロ基で置換されたフェニル基、スルホ基で置換されたフェニル基、アミン基で置換されたフェニル基、ヒドロキシ基で置換されたフェニル基、カルボニル基で置換されたフェニル基、および、置換されたカルボニル基で置換されたフェニル基；および、フェニルアミノ基から選択され、または、R⁴は、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基、および、複素環からなる群から選択される。

30

40

【0038】

組成物の関連する実施形態では、糖類（R¹）は、グルコース、マンノース、ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、フコース、フルクトース、キシロース、シアル酸、グルクロン酸、イズロン酸、二糖類、または、上記の糖類の

50

少なくとも2つを含むオリゴ糖、および、これらの誘導体からなる群から選択される。

【0039】

組成物の様々な実施形態では、YはNHであり、XはOであり、または、ハロゲンは、F、Cl、Br、およびIからなる群から選択される。

【0040】

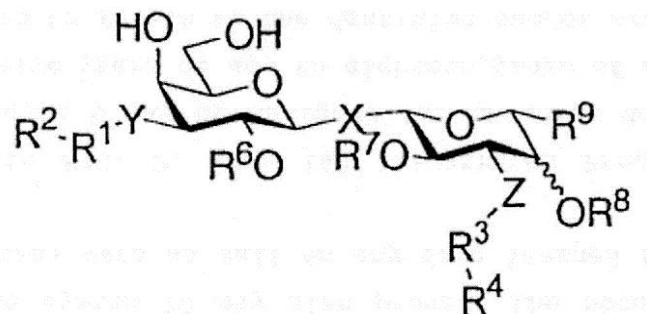
様々な実施形態における組成物は以下から選択される：メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[3-カルボキシプロパンアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[(Z)-3-カルボキシプロパンアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-ベンズアミド-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[2-カルボキシ-3,4,5,6-テトラフルオロベンズ(tetrafluorobenz)-アミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[4-メトキシ-2,3,5,6-テトラフルオロベンズ(tetrafluorobenz)-アミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[2-カルボキシ-3,4,5,6-テトラフルオロベンズアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-メタンスルホンアミド-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[4-ニトロベンゼンスルホンアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-フェニルアミノカルボニルアミノ(amino)-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-アミノアセトアミド-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[(2S)-2-アミノ-3-カルボキシプロパンアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド。

【0041】

様々な実施形態の組成物は、以下の一般式を含み、

【0042】

【化2】



ピラノース環の1つの構造はβ-D-ガラクトであり、Xは、O、S、SO、SO₂、NH、CH₂、およびNR⁵からなる群から選択され、Yは、O、S、NH、CH₂、およびNR⁵からなる群から選択されるか、または、単結合であり、Zは、O、S、NH、CH₂、およびNR⁵からなる群から選択されるか、または、単結合であり、R¹とR³は、CO、SO₂、SO、PO₂、PO、およびCH₂からなる群から独立して選択されるか、または、単結合であり、R²とR⁴は、以下からなる群：少なくとも4つの炭素のアルキル基、少なくとも4つの炭素のアルケニル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4つの炭素のアルキル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4つの炭素のアルケニル

基、アミノ基で置換された少なくとも4つの炭素のアルキル基、アミノ基で置換された少なくとも4つの炭素のアルケニル基、アミノ基とカルボキシ基の両方で置換された少なくとも4つの炭素のアルキル基、アミノ基とカルボキシ基の両方で置換された少なくとも4つの炭素のアルケニル基、および、1つ以上のハロゲンで置換されたアルキル基；少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたフェニル基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたフェニル基；または、ナフチル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたナフチル基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたナフチル基；ヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたヘテロアリール基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたヘテロアリール基から独立して選択され、 R^6 と R^8 は、水素、アシル基、アルキル基、ベンジル基、および、糖類からなる群から独立して選択され、 R^7 は、水素、アシル基、アルキル基、およびベンジル基からなる群から選択され、および／または、 R^9 は水素、メチル基、ヒドロキシメチル基、アシルオキシメチル基、アルコキシメチル基、および、ベンジルオキシメチル基からなる群から選択される。

【0043】

組成物の様々な実施形態では、YはNHである。組成物の様々な実施形態では、ZはNHである。組成物の様々な実施形態では、XはSである。組成物の様々な実施形態では、 R^1 はCOである。組成物の様々な実施形態では、 R^3 はCOである。組成物の様々な実施形態では、 R^2 または R^4 は芳香族であり、例えば芳香環であり、 R^6 、 R^7 、および R^8 のいずれかは水素であり、または、 R^9 はヒドロキシメチル基である。

【0044】

様々な実施形態における組成物は、bis-(3-デオキシ-3-ベンズアミド-β-D-ガラクトピラノシル)スルファン(17)、bis-(3-デオキシ-3-(3-メトキシベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル)スルファン；bis-(3-デオキシ-(3,5-ジメトキシベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル)スルファン；bis-(3-デオキシ-3-(4-ニトロベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル)スルファン；bis-(3-デオキシ-3-(2-ナフトアミド(naphthamido))-β-D-ガラクトピラノシル)スルファン；bis-(3-デオキシ-3-(4-メトキシベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル)スルファン；bis-(3-デオキシ-3-(3-ニトロベンズアミド)-β-D-ガラクトピラノシル)スルフ

アン；b i s－（3－デオキシ－3－〔4－（ジメチルアミノ）－ベンズアミド〕－β－
 D－ガラクトピラノシル）スルファン；b i s－（3－デオキシ－3－（4－メチルベン
 ズアミド）－β－D－ガラクトピラノシル）スルファン；b i s－（3－デオキシ－3－
 （4－クロロベンズアミド）－β－D－ガラクトピラノシル）スルファン；b i s－（3
 －デオキシ－3－（4－t e r t－ブチルベンズアミド）－β－D－ガラクトピラノシル
 ）スルファン；b i s－（3－デオキシ－3－（4－アセチルベンズアミド）－β－D－
 ガラクトピラノシル）スルファン；b i s－（3－デオキシ－3－〔2－（3－カルボキ
 シ）－ナフトアミド〕－β－D－ガラクトピラノシル）スルファン；b i s－〔3－デオ
 キシ－3－（3，4－メチレンジオキシ）ベンズアミド〕－β－D－ガラクトピラノシル
 ）スルファン、b i s－（3－デオキシ－3－（4－メトキシカルボニルベンズアミド）
 －β－D－ガラクトピラノシル）スルファン；b i s－（3－デオキシ－3－（3－カル
 ボキシベンズアミド）－β－D－ガラクトピラノシル）スルファン；b i s－（3－デオ
 キシ－3－（3－ベンジルオキシ－5－ヒドロキシ－ベンズアミド）－β－D－ガラクト
 ピラノシル）スルファン；b i s－（3－デオキシ－3－（3，5－ジベンジルオキシベ
 ンズアミド）－β－D－ガラクトピラノシル）スルファン；b i s－（3－デオキシ－3
 －（3－ベンジルオキシ－5－メトキシ－ベンズアミド）－β－D－ガラクトピラノシル
 ）スルファン；b i s－（3－デオキシ－3－（3－ベンジルオキシ－5－ノニロキシ
 ベンズアミド）－β－D－ガラクトピラノシル）スルファン；b i s－（3－デオキシ
 3－（3－ヒドロキシ－5－メトキシ－ベンズアミド）－β－D－ガラクトピラノシル）
 スルファン；b i s－（3－デオキシ－3－（3－ヒドロキシ－5－ノニロキシ－ベン
 ズアミド）－β－D－ガラクトピラノシル）スルファン、b i s－（3－デオキシ－3－
 〔3－ベンジルオキシ－5－（4－フルオロ－ベンジルオキシ）－ベンズアミド〕－β－
 D－ガラクトピラノシル）スルファン；b i s－（3－デオキシ－3－〔3－メトキシ
 5－（4－メチル－ベンジルオキシ）－ベンズアミド〕－β－D－ガラクトピラノシル）
 スルファン；または、b i s－（3－デオキシ－3－（3－アリルオキシ－5－ベンジル
 オキシ－ベンズアミド）－β－D－ガラクトピラノシル）スルファンである。

10

20

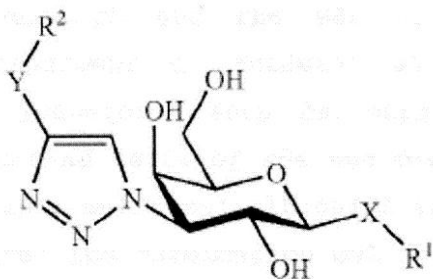
【0045】

組成物は、様々な実施形態で、ガラクトシド、例えば、3－トリアゾリル（t r i a x
 o l y l）－ガラクトシドを含んでいる。様々な実施形態では、組成物は、以下に示され
 る一般式を含み、

30

【0046】

【化3】



40

ピラノース環の構造はD－ガラクトであり、Xは、O、S、NH、CH₂、およびNR⁴
 からなる群から選択されるか、または、単結合であり、Yは、CH₂、CO、SO₂、S
 O、PO₂、およびPO、フェニル、からなる群から選択されるか、または、単結合で
 あり、R¹は、糖類、置換された糖類、Dガラクトース、置換されたDガラクトース、C3
 －〔1，2，3〕－トリアゾルー1－イル－置換されたDガラクトース、水素、アルキ
 ル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基、および、複素環、ならびに、これら
 の誘導体、および、アミノ基、置換されたアミノ基、イミノ基、または、置換されたイミ
 ノ基からなる群から選択され、および／または、R²は、水素、アミノ基、置換されたア
 ミノ基、アルキル基、置換されたアルキル基、アルケニル基、置換されたアルケニル基、

50

アルキニル基、置換されたアルキニル基、アルコキシ基、置換されたアルコキシ基、アルキルアミノ基、置換されたアルキルアミノ基、アリールアミノ基、置換されたアリールアミノ基、アリールオキシ基、置換されたアリールオキシ基、アリール基、置換されたアリール基、ヘテロアリール基、置換されたヘテロアリール基、および、複素環、置換された複素環からなる群から選択される。

【0047】

組成物の関連する実施形態における糖類は、グルコース、マンノース、ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、フコース、フルクトース、キシロース、シアル酸、グルクロン酸、イズロン酸、ガラクトツロン酸、二糖類、または、少なくとも上記の糖類の2つを含むオリゴ糖、および、これらの誘導体からなる群から選択される。

10

【0048】

組成物の様々な実施形態では、YはCO、SO₂、または単結合である。組成物の様々な実施形態では、R²はアミンまたはアリール基である。組成物の様々な実施形態では、R²は置換されたフェニル基であり、置換基は、ハロゲン、アルコキシ、アルキル、ニトロ、スルホ、アミノ、ヒドロキシ、または、カルボニルの基からなる群から選択された1つ以上である。組成物の様々な実施形態では、R¹はガラクトース、グルコース、またはN-アセチルグルコサミンである。組成物の様々な実施形態では、R¹は置換されたガラクトースである。組成物の様々な実施形態では、R¹は、置換されたガラクトース、置換されたグルコース、または、置換されたN-アセチルグルコサミンのいずれかである。組成物の様々な実施形態では、R¹はC3-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル-置換されたガラクトースである。組成物の様々な実施形態では、XはOまたはSである。

20

【0049】

様々な実施形態における組成物は、以下から選択された基の少なくとも1つを含んでいる：メチル3-デオキシ-3-(1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-(4-プロピル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-(4-メトキシカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-(4-(1-ヒドロキシ-1-シクロヘキシル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-(4-フェニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-(4-p-トリルスルホニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド (galactopyranoside)；メチル3-(4-メチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-(4-ブチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-(4-ベンジルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-{4-(3-ヒドロキシプロパ(hydroxyprop))-1-イルアミノカルボニル}-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル}-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-{4-[2-(N-モルホリノ)-エチルアミノカルボニル]-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル}-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-(4-メチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル)-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル-(1→4)-2-アセトアミド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド、bis-(3-デオキシ-3-(4-(メチルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル)-β-D-ガラクトピラノシル)スルファン、メチル3-デオキシ-3-{4-(2-フルオロフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラ

30

40

50

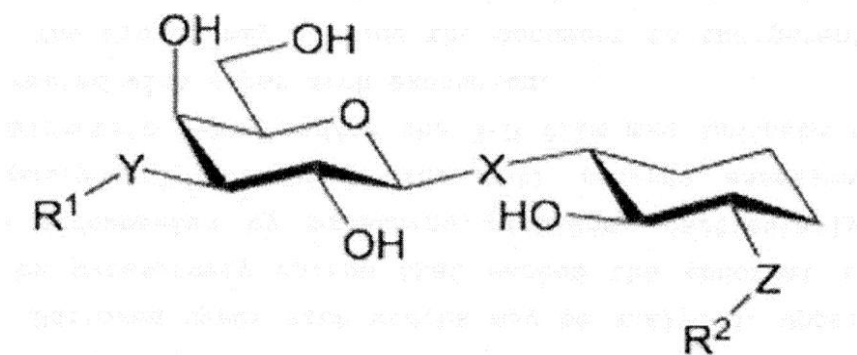
ノシド；メチル3-デオキシ-3-〔4-（2-メトキシフェニル）-1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-〔4-（3-メトキシフェニル）-1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-〔4-（4-メトキシフェニル）-H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-〔4-（3, 5-ジメトキシフェニル）-1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-〔4-（1-ナフチル）-1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-〔4-（2-ナフチル）-1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-〔4-（2-ピリジル）-1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-〔4-（3-ピリジル）-1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-〔4-（4-ピリジル）-1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；O-〔3-デオキシ-3-〔4-フェニル-〔1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-β-D-ガラクトピラノシル〕-3-インドール（indol）-カルバルドキシム（carbaldoxim）；O-〔3-デオキシ-3-〔4-（メチルアミノカルボニル）-1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-β-D-ガラクトピラノシル〕-3-インドール-カルバルドキシム；O-〔3-デオキシ-3-〔4-フェニル-〔1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-β-D-ガラクトピラノシル〕-（2-ヒドロキシ-5-ニトロフェニル）-カルバルドキシム；O-〔3-デオキシ-3-〔4-（メチルアミノカルボニル）-1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-β-D-ガラクトピラノシル〕-（2-ヒドロキシ-5-ニトロフェニル）-カルバルドキシム；O-〔3-デオキシ-3-〔4-フェニル-〔1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-β-D-ガラクトピラノシル〕-（2, 5-ジヒドロキシフェニル）-カルバルドキシム；O-〔3-デオキシ-3-〔4-（メチルアミノカルボニル）-1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-β-D-ガラクトピラノシル〕-（2, 5-ジヒドロキシフェニル）-カルバルドキシム；O-〔3-デオキシ-3-〔4-フェニル-〔1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-β-D-ガラクトピラノシル〕-1-ナフチル-カルバルドキシム；または、O-〔3-デオキシ-3-〔4-（メチルアミノカルボニル）-1H-〔1, 2, 3〕-トリアゾル-1-イル〕-β-D-ガラクトピラノシル〕-1-ナフチル-カルバルドキシム。

【0050】

様々な実施形態における組成物は、ジガラクトシド（digalactoside）またはチオジガラクトシド（thiodigalactoside）を含んでおり、例えば、組成物は、以下に示される一般式を含み、

【0051】

【化4】



10

20

30

40

50

ピラノース環の構造はD-ガラクトであり、Xは、O、S、およびSOからなる群から選択され、YとZは、独立して、CONHまたは1H-1, 2, 3-トリアゾール環から選択され、R¹とR²は、独立して、以下からなる群から選択される：少なくとも4つの炭素のアルキル基、少なくとも4つの炭素のアルケニル基、少なくとも4つの炭素のアルキニル基；カルバモイル基、アルキル基で置換されたカルバモイル基、アルケニル基で置換されたカルバモイル基、アルキニル基で置換されたカルバモイル基、アリール基で置換されたカルバモイル基、置換されたアルキル基で置換されたカルバモイル基、および、置換されたアリール基で置換されたカルバモイル基；少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルキル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのトリフルオロメチル基で置換されたフェニル基；少なくとも1つのトリフルオロメトキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたフェニル基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたフェニル基；ナフチル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルキル基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたナフチル基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたナフチル基；ヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたヘテロアリール基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたヘテロアリール基；ならびに、チエニル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたチエニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたチエニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたチエニル基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたチエニル基。

【0052】

組成物の様々な実施形態では、YはCONHであり、例えば、CONH基はN原子によってピラノース環に結合される。組成物の様々な実施形態では、ZはCONHである。組成物の様々な実施形態では、CONH基はN原子によってシクロヘキサンに結合される。組成物の様々な実施形態では、Yは1H-1, 2, 3-トリアゾールであり、例えば、組成物の関連する実施形態では、1H-1, 2, 3-トリアゾール環はN1原子によってピラノース環に結合される。組成物の様々な実施形態では、R¹は1H-1, 2, 3-トリアゾール環のC4原子に結合される。

【0053】

組成物の様々な実施形態では、Zは1H-1, 2, 3-トリアゾール環である。例えば、1H-1, 2, 3-トリアゾール環は、N1原子によってシクロヘキサンに結合される。組成物の様々な実施形態では、R²は1H-1, 2, 3-トリアゾール環のC4原子に結合される。

【0054】

組成物の様々な実施形態では、R¹とR²は、カルバモイル基、アルキル化したカルバモイル基、アルケニル化したカルバモイル基、アリール化したカルバモイル基、フェニル基、置換されたフェニル基、ハロゲン化したフェニル基、フッ素化したフェニル基、塩素

化したフェニル基、臭素化したフェニル基、アルキル化したフェニル基、アルケニル化したフェニル基、トリフルオロメチル化したフェニル基、メトキシ化したフェニル基、トリフルオロメトキシ化したフェニル基、ナフチル基、置換されたナフチル基、ヘテロアリール基、置換されたヘテロアリール基、チエニル基、および、置換されたチエニル基からなる群から独立して選択される。

【0055】

組成物の様々な実施形態では、 R^1 は、アルキル化したカルバモイル基、フッ素化したフェニル基、または、チエニル基である。組成物の様々な実施形態では、 R^2 は、アルキル化したカルバモイル基、フッ素化したフェニル基、または、チエニル基である。組成物の様々な実施形態では、XはOまたはSである。

10

【0056】

様々な実施形態における組成物は、以下からなる群から選択される：（（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-（N-（1-プロピル）-カルバモイル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）シクロヘキシル）-3-デオキシ-（3-（4-（N-（1-プロピル）-カルバモイル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル））-β-D-ガラクトピラノシド；（（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-（2-フルオロフェニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-シクロヘキシル）-3-デオキシ-3-（4-（2-フルオロフェニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；（（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-（3-フルオロフェニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-シクロヘキシル）-3-デオキシ-3-（4-（3-フルオロフェニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；（（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-（4-フルオロフェニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-シクロヘキシル）-3-デオキシ-3-（4-（4-フルオロフェニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-（3-チエニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-シクロヘキシル）-3-デオキシ-3-（4-（3-チエニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-（N-（1-プロピル）-カルバモイル）1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-シクロヘキシル）-3-デオキシ-3-（4-（N-（1-プロピル）-カルバモイル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、および、（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-クロロベンズアミド）-シクロヘキシル）3-デオキシ-3-（4-クロロベンズアミド）-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド。組成物の様々な実施形態では、阻害剤は、TD139、化合物32、あるいは、その一部またはホモログを含む。

20

30

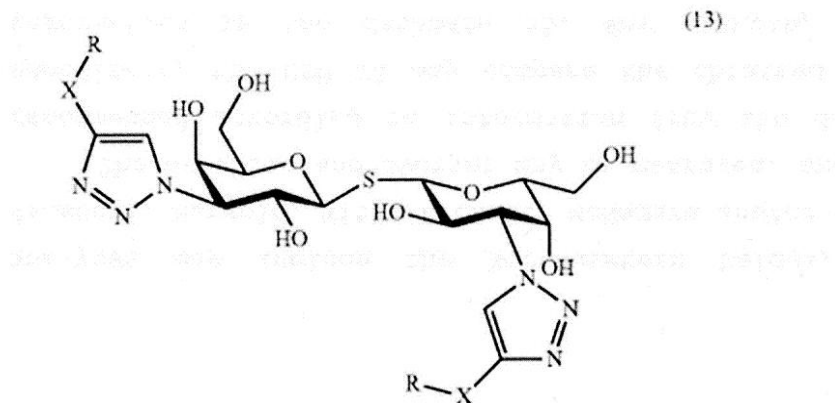
【0057】

様々な実施形態における組成物はジガラクトシドを含み、例えば、組成物は一般式（13）を含み、

【0058】

40

【化 5】



10

ピラノース環の少なくとも1つの構造は β -Dガラクトであり、Xは単結合であり、Rは、メチル、エチル、イソプロピル、tert-ブチル、フルオロ、クロロ、ブロモ、およびトリフルオロメチルからなる群から選択された1つ以上の置換基によって、任意の位置で置換されたフェニル基であり、あるいは、Rはチエニル基である。

【0059】

組成物の様々な実施形態では、Rは、フルオロ、クロロ、およびブロモからなる群から選択された1つ以上の置換基によって、任意の位置で置換されたフェニル基である。例えば、Rは、フルオロから選択された1つ以上の置換基によって任意の位置で置換されたフェニル基である。一般に、両方のピラノース環の構造はD-ガラクトである。

20

【0060】

本発明の態様は、被験体の眼の血管新生または眼の繊維症を処置または予防する方法を提供し、該方法は、治療上有効な量の少なくとも1つの組成物を被験体に投与する工程を含み、組成物はガレクチンタンパク質またはその一部の阻害剤を含む。被験体は、例えばヒト、イヌ、ネコ、ウマ、ブタ、げっ歯類、および雌ウシなどの哺乳動物である。

【0061】

方法の様々な実施形態における眼の血管新生または眼の繊維症は、瘢痕、例えば、緑内障手術、血管新生緑内障；角膜外傷；結膜炎後瘢痕；翼状片、AMD、例えば、湿潤型AMDまたは乾燥型AMD、乾燥型AMDから湿潤型AMDへの変換；増殖性糖尿病性網膜症；糖尿病黄斑浮腫；または、角膜血管新生（トラコーマ）に関連付けられる手術によって従来処置される疾患または疾病に関連付けられる。

30

【0062】

方法の様々な実施形態におけるガレクチンタンパク質は、以下の群から選択される：ガレクチン-1タンパク質、ガレクチン-3タンパク質、ガレクチン-7タンパク質、および、ガレクチン-8タンパク質、ならびに、組成物は以下の少なくとも1つから選択される：薬物、ポリマー、タンパク質、ペプチド、炭水化物、低分子量化合物、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、および、DNAまたはRNAなどの遺伝物質。

40

【0063】

様々な実施形態における方法は、疾患または疾病のパラメーターまたは指標の低下を観察する工程を含み、例えば、パラメーターまたは指標はマーカーである。例えば、マーカーは、眼の血管新生または眼の繊維症の存在または不在を示す分子（例えば増殖因子）である。

【0064】

様々な実施形態における方法は、組成物を投与する前に組成物を操作する工程をさらに含み、組成物はガレクチンタンパク質に結合し、VEGF/VEGF受容体-2経路を調節するか、あるいは、組成物はガレクチンタンパク質の発現を調節する。様々な実施形態における方法は、組成物を投与する前に組成物を操作する工程をさらに含み、組成物はガ

50

レクチンタンパク質に結合して繊維芽細胞増殖因子経路を調節するか、あるいは、組成物はガレクチンタンパク質の発現を調節する。

【0065】

本発明の態様は、被験体の眼の血管新生または眼の繊維症を処置または予防する方法を提供し、該方法は、治療上有効な量の少なくとも1つの組成物を被験体に投与する工程を含み、組成物は、ガレクチンタンパク質またはその一部の阻害剤を含み、投与する工程は、本明細書に記載される医薬組成物のいずれかを被験体を接触させる工程を含む。方法のいくつかの実施形態では、被験体は哺乳動物である。

【0066】

様々な実施形態における方法は、繊維症の減少を観察または検知する工程をさらに含んでいる。方法の様々な実施形態において、投与する工程は、少なくとも以下の投与量を含む組成物を、被験体または被験体の組織に接触させる工程を含む：約0.01ナノグラム (ng) ~ 約1 ng (ng)、約1 ng ~ 約10 ng、約10 ng ~ 約20 ng、約20 ng ~ 約30 ng、約30 ng ~ 約40 ng、約40 ng ~ 約50 ng、約50 ng ~ 約100 ng、100 ng ~ 約200 ng、200 ng ~ 約300 ng、約300 ng ~ 約400 ng、約400 ng ~ 約600 ng、約600 ng ~ 約800 ng、約1マイクログラム (μg) ~ 約5 μg、約5 μg ~ 約20 μg、約20 μg ~ 約40 μg、約40 μg ~ 約60 μg、約60 μg ~ 約80 μg、約80 μg ~ 約100 μg、約100 μg ~ 約200 μg、約200 μg ~ 約300 μg、および、約300 μg ~ 約400 μg。例えば、投与量は、約0.01 ng ~ 約10 ng、または、約10 ng ~ 約100 ng、約100 ng ~ 約500 ng、約500 ng ~ 約2 μg、または、約2 μg ~ 約250 μg、または、約250 μg ~ 約750 μgである。

【0067】

様々な実施形態では、被験体に投与する前に、該方法は、阻害剤をコード化するポリヌクレオチド配列を操作する工程をさらに含み、阻害剤は、ガレクチン-1、ガレクチン-3、ガレクチン-7、または、ガレクチン-8の炭水化物認識ドメインを模倣する結合タンパク質である。例えば、阻害剤は融合タンパク質である。

【0068】

様々な実施形態における方法は、投与する前に、注射、点眼薬、パッチ、軟膏、ゲル、または噴霧剤からなる群から選択された眼内送達のための組成物を処方する工程をさらに含む。例えば、阻害剤は、pH中性で、緩衝され、および、等張である組成物中で処方される。

【0069】

方法の様々な実施形態において被験体に組成物を投与する工程は、眼球内、硝子体内、角膜内、結膜内、結膜下、静脈内、または、テノン嚢 (tenon's) などの経路によって、組成物を注入する工程を含んでいる。様々な実施形態では、眼の血管新生または眼の繊維症は、目の血管新生、網膜浮腫、糖尿病性網膜症、網膜虚血に関連付けられる後遺症、後部血管新生、および、血管新生緑内障に関連付けられる。方法の様々な実施形態では、阻害剤は、TD139、化合物32、あるいは、その一部またはホモログを含む。

【0070】

本発明の態様は、被験体における、または、被験体からの細胞における、眼の血管新生または眼の繊維症を処置または予防するためのキットを提供し、キットは、ガレクチンタンパク質またはその一部を阻害する医薬組成物であって、ガレクチンタンパク質に結合してVEGF/VEGF受容体-2経路または繊維芽細胞増殖因子 (FGF) 経路を調節するか、あるいは、医薬組成物はガレクチンタンパク質の発現を調節する、医薬組成物、使用説明書；および、容器を含む。医薬組成物は、本明細書に記載される組成物のいずれかを含んでいる。

【0071】

本発明の態様は、被験体における、または、被験体からの細胞における、眼の血管新生または眼の繊維症を処置または予防するためのキットを提供し、キットは、ガレクチンタ

10

20

30

40

50

ンパク質またはその一部を阻害する医薬組成物であって、活性化合物がガレクチンタンパク質に結合してVEGF／VEGF受容体－2経路を調節するか、あるいは、医薬組成物がガレクチンタンパク質の発現を調節する、医薬組成物、使用説明書；および、キットを含む。医薬組成物は、例えば、TD139化合物または化合物32化合物を含む、本明細書に記載される組成物のいずれかを含む。

【0072】

様々な実施形態におけるキットは、組成物を投与するための塗布器または装置をさらに含み、例えば、塗布器または装置は、シリンジ、針、噴霧器、スポンジ、ゲル、ストリップ、テープ、包帯、トレイ、ストリング、または、ナノ構造体である。

【0073】

キットの様々な実施形態における組成物は、以下の少なくとも1つから選択される：薬物、ポリマー、タンパク質、ペプチド、炭水化物、低分子量化合物、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、および、DNAまたはRNAなどの遺伝物質。関連する実施形態では、組成物は薬学的に適切な担体または希釈剤で処方される。

【0074】

様々な実施形態におけるキットは、対照、例えば、アバスタチン（商標）（ベバシズマブ（商標））、ルセンチス（商標）（ラニビズマブ（商標））、または、アイリーア（商標）（アフリベルセプト（商標））を含み、対照はVEGFに特異的に結合し、VEGFによって引き起こされた血管新生を阻害する。様々な実施形態では、対照は、FGFまたはFGF経路に結合するか阻害する。キットの様々な実施形態では、医薬組成物は、以下の群：ガレクチン－1タンパク質、ガレクチン－3タンパク質、ガレクチン－7タンパク質、および、ガレクチン－8タンパク質から選択されるガレクチンタンパク質に結合する。

【0075】

本発明の態様は、眼の血管新生または眼の繊維症の疾病の阻害に使用される医薬組成物を提供し、医薬組成物は薬学的に適切な担体または希釈剤を含み、医薬組成物の量は、眼の血管新生または眼の繊維症を阻害するのに十分なガレクチンタンパク質またはその一部の活性を阻害または調節するのに有効である。一般に、担体と希釈剤は、被験体の目に適合し、無毒で、かつ、刺激しないように特別に選択される。

【0076】

医薬組成物の様々な実施形態では、ガレクチンタンパク質は、ガレクチン－1、ガレクチン－3、ガレクチン－7およびガレクチン－8の群から選択される。ガレクチンタンパク質は、例えば、ヒト、マウス、ラット、またはウサギに由来する。

【0077】

様々な実施形態における医薬組成物は以下の少なくとも1つから選択される：薬物、ポリマー、タンパク質、ペプチド、炭水化物、低分子量化合物、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、および、DNAまたはRNAなどの遺伝物質。例えば、タンパク質はガレクチンタンパク質のエピトープに特異的に結合する抗体であり、抗体はガレクチンタンパク質の活性を阻害する。特定の実施形態では、抗体は、キメラ抗体、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、またはその一部である。例えば、抗体はガレクチン炭水化物結合ドメイン領域またはその一部に特異的に結合する。

【0078】

様々な実施形態における医薬組成物は、眼の血管新生または眼の繊維症に関連した疾病を処置または予防するのに有効であり、例えば、疾患または疾病は過度の血管新生に関連付けられる。様々な実施形態における医薬組成物は、以下の群から選択された疾病を処置または予防するのに有効である：目またはその一部（例えば、網膜、レンズ、および角膜）に対する外傷または損傷；瘢痕に関連付けられる手術、例えば、緑内障手術；血管新生緑内障；角膜外傷；角膜ジストロフィー、結膜炎後瘢痕；翼状片、AMD、例えば湿潤型AMDまたは乾燥型AMD；乾燥型AMDから湿潤型AMDへの変換；増殖性糖尿病性網膜症；糖尿病性黄斑浮腫；および、角膜血管新生（トラコーマ）。

【0079】

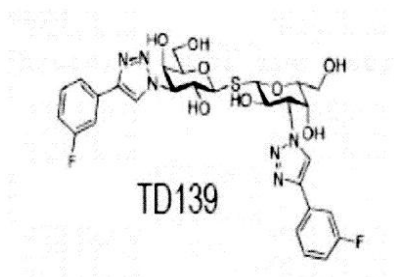
様々な実施形態では、医薬組成物は、眼の繊維症、または、疾病に関連する別のタイプの繊維症を処置または予防するのに有効である。

【0080】

様々な実施形態における医薬組成物は、以下の構造を有する化合物を含み、

【0081】

【化6】



10

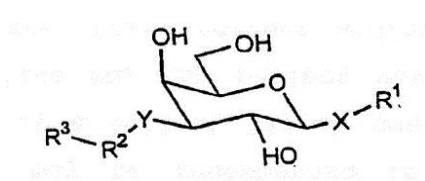
化合物は被験体の眼の血管新生の疾病を阻害する。

【0082】

関連する実施形態における医薬組成物は、誘導体化または機能化されるベータ・ガラクトシドであり、例えば、組成物は以下の一般式を有し、

【0083】

【化7】



20

ピラノース環の構造はD-ガラクトであり、Xは、O、S、NH、CH₂、およびNR⁴からなる群から選択されるか、または、単結合であり、Yは、NH、CH₂、およびNR⁴からなる群から選択されるか、または、単結合であり、R¹は、c) 糖類、d) 水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基、および、複素環からなる群から選択され、R²は、CO、SO₂、SO、PO、およびPO₂からなる群から選択され、R³は、以下からなる群：少なくとも4つの炭素原子のアルキル基、少なくとも4つの炭素原子のアルケニル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4つの炭素原子のアルキル基またはアルケニル基、カルボキシ基とアミノ基の両方で置換された少なくとも4つの炭素原子のアルキル基、および、ハロゲンで置換された少なくとも4つの炭素原子のアルキル基；フェニル基、カルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、アルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンと少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンと少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、ニトロ基で置換されたフェニル基、スルホ基で置換されたフェニル基、アミノ基で置換されたフェニル基、ヒドロキシ基で置換されたフェニル基、カルボニル基で置換されたフェニル基、および、置換されたカルボニル基で置換されたフェニル基；および、フェニルアミノ基から選択され、R⁴は、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基、および、複素環からなる群から選択される。

30

40

【0084】

様々な実施形態では、組成物は代謝可能であるか代謝可能ではない。医薬組成物の様々な実施形態では、糖類R¹は、グルコース、マンノース、ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、フコース、フルクトース、キシロース、シアル酸、グルクロン酸、イズロン酸、二糖類、または、上記の糖類の少なくとも2つを含む

50

オリゴ糖、および、これらの誘導体からなる群から選択される。

【0085】

医薬組成物の様々な実施形態では、YはNHであり、XはOであり、または、ハロゲン
は、F、Cl、Br、およびIからなる群から選択される。

【0086】

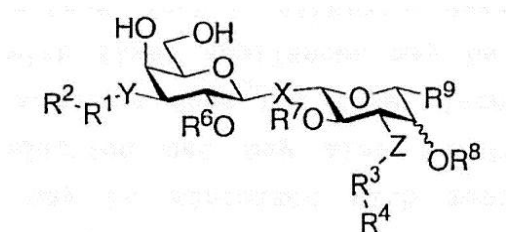
様々な実施形態における医薬組成物は以下から選択される1つである：メチル2-アセ
トアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[3-カルボキシプロパンアミド]-3-デオ
キシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトア
ミド-2-デオキシ-4-O-(3-[(Z)-3-カルボキシプロパンアミド]-3-
デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-
アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-ベンズアミド-3-デオキシ-β-D-ガ
ラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デ
オキシ-4-O-(3-[2-カルボキシ-ベンズアミド]-3-デオキシ-β-D-ガ
ラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デ
オキシ-4-O-(3-[4-メトキシ-2, 3, 5, 6-テトラフルオロベンズ(tetra
fluorobenz)-アミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β
-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-
[2-カルボキシ-3, 4, 5, 6-テトラフルオロベンズアミド]-3-デオキシ-β-
D-ガラクトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-
デオキシ-4-O-(3-メタンスルホンアミド-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラ
ノシル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O
-(3-[4-ニトロベンゼンスルホンアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラクトピ
ラノシル)-β-D-グルコピラノシド、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-
O-(3-フェニルアミノカルボニルアミノ-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシ
ル)-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(
3-アミノアセトアミド-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-β-D-グル
コピラノシド；および、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[(
2S)-2-アミノ-3-カルボキシプロパンアミド]-3-デオキシ-β-D-ガラ
クトピラノシル)-β-D-グルコピラノシド。

【0087】

様々な実施形態では、医薬組成物は以下の一般式を有し、

【0088】

【化8】



ピラノース環の1つの構造はβ-D-ガラクトであり、Xは、O、S、SO、SO₂、N
H、CH₂、および、NR⁵からなる群から選択され、Yは、O、S、NH、CH₂、お
よび、NR⁵からなる群から選択されるか、または、単接合であり、Zは、O、S、NH
、CH₂、およびNR⁵からなる群から選択されるか、または、単結合であり、R¹とR³
は、CO、SO₂、SO、PO₂、PO、およびCH₂からなる群から独立して選択さ
れるか、または、単結合であり、R²とR⁴は、以下からなる群：少なくとも4つの炭素
のアルキル基、少なくとも4つの炭素のアルケニル基、カルボキシ基で置換された少なく
とも4つの炭素のアルキル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4つの炭素のアルケ
ニル基、アミノ基で置換された少なくとも4つの炭素のアルキル基、アミノ基で置換され
た少なくとも4つの炭素のアルケニル基、アミノ基とカルボキシ基の両方で置換された少

なくとも4つの炭素のアルキル基、アミノ基とカルボキシ基の両方で置換された少なくとも4つの炭素のアルケニル基、および、1つ以上のハロゲンで置換されたアルキル基；少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアリアルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたフェニル基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたフェニル基；ナフチル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたナフチル基、および、少なくとも1つのアリアルアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたナフチル基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたナフチル基；ヘテロアリアル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたヘテロアリアル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリアル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたヘテロアリアル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたヘテロアリアル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたヘテロアリアル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたヘテロアリアル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたヘテロアリアル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたヘテロアリアル基、少なくとも1つのアリアルアミノ基で置換されたヘテロアリアル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたヘテロアリアル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたヘテロアリアル基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたヘテロアリアル基から独立して選択され、 R^6 と R^8 は、水素、アシル基、アルキル基、ベンジル基、および、糖類からなる群から独立して選択され、 R^7 は、水素、アシル基、アルキル基、およびベンジル基からなる群から選択され、または、 R^9 は水素、メチル基、ヒドロキシメチル基、アシルオキシメチル基、アルコキシメチル基およびベンジルオキシメチル基からなる群から選択される。

【0089】

医薬組成物の様々な実施形態では、YはNHであり、ZはNHであり、XはSであり、 R^1 はCOであり、 R^3 はCOであり、 R^2 または R^4 は芳香族であり、例えば、芳香環であり、 R^6 、 R^7 、および R^8 のいずれかは水素であり、または、 R^9 はヒドロキシメチル基である。

【0090】

様々な実施形態における医薬組成物は、以下の群から選択された少なくとも1つを含んでいる： $bis-(3-デオキシ-3-ベンズアミド-\beta-D-ガラクトピラノシル)$ スルファン(17)、 $bis-(3-デオキシ-3-(3-メトキシベンズアミド)-\beta-D-ガラクトピラノシル)$ スルファン； $bis-(3-デオキシ-(3,5-ジメトキシベンズアミド)-\beta-D-ガラクトピラノシル)$ スルファン； $bis-(3-デオキシ-3-(4-ニトロベンズアミド)-\beta-D-ガラクトピラノシル)$ スルファン； $bis-(3-デオキシ-3-(2-ナフトアミド)-\beta-D-ガラクトピラノシル)$ スルファン； $bis-(3-デオキシ-3-(4-メトキシベンズアミド)-\beta-D-ガラクトピラノシル)$ スルファン； $bis-(3-デオキシ-3-(3-ニトロベンズアミド)-\beta-D-ガラクトピラノシル)$ スルファン； $bis-(3-デオキシ-3-[4-(ジメチルアミノ)-ベンズアミド]-\beta-D-ガラクトピラノシル)$ スルファン； $bis-(3-デオキシ-3-(4-メチルベンズアミド)-\beta-D-ガラクトピラノシル)$ スルファン；

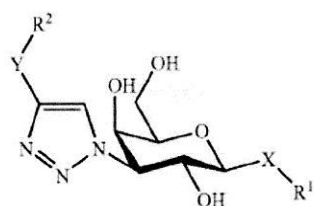
b i s - (3 - デオキシ - 3 - (4 - クロロベンズアミド) - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; b i s - (3 - デオキシ - 3 - (4 - t e r t - ブチルベンズアミド) - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; b i s - (3 - デオキシ - 3 - (4 - アセチルベンズアミド) - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; b i s - (3 - デオキシ - 3 - [2 - (3 - カルボキシ) - ナフトアミド] - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; b i s - [3 - デオキシ - 3 - (3 , 4 - メチレンジオキシ) ベンズアミド] - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン、b i s - (3 - デオキシ - 3 - (4 - メトキシカルボニルベンズアミド) - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; b i s - (3 - デオキシ - 3 - (3 - カルボキシベンズアミド) - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; b i s - (3 - デオキシ - 3 - (3 - ベンジルオキシ - 5 - ヒドロキシ - ベンズアミド) - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; b i s - (3 - デオキシ - 3 - (3 , 5 - ジベンジルオキシベンズアミド) - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; b i s - (3 - デオキシ - 3 - (3 - ベンジルオキシ - 5 - メトキシ - ベンズアミド) - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; b i s - (3 - デオキシ - 3 - (3 - ベンジルオキシ - 5 - ノニロキシ - ベンズアミド) - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; b i s - (3 - デオキシ - 3 - (3 - ヒドロキシ - 5 - メトキシ - ベンズアミド) - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; b i s - (3 - デオキシ - 3 - (3 - ヒドロキシ - 5 - ノニロキシ - ベンズアミド) - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン、b i s - (3 - デオキシ - 3 - [3 - ベンジルオキシ - 5 - (4 - フルオロ - ベンジルオキシ) - ベンズアミド] - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; b i s - (3 - デオキシ - 3 - [3 - メトキシ - 5 - (4 - メチル - ベンジルオキシ) - ベンズアミド] - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン ; または、b i s - (3 - デオキシ - 3 - (3 - アリルオキシ - 5 - ベンジルオキシ - ベンズアミド) - β - D - ガラクトピラノシル) スルファン。

【0091】

様々な実施形態における医薬組成物は、3-トリアゾリル-ガラクトシドを含み、例えば、医薬組成物は以下に示される一般式を含み、

【0092】

【化9】



ピラノース環の構造はD-ガラクトであり、Xは、O、S、NH、CH₂、およびNR⁴からなる群から選択されるか、または、単結合であり、Yは、CH₂、CO、SO₂、SO、PO₂、およびPO、フェニル、からなる群から選択されるか、または、単結合であり、R¹は、以下からなる群：糖類、置換された糖類；D-ガラクトース；置換されたD-ガラクトース；C3-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル-置換されたD-ガラクトース；水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基、および、複素環、ならびに、これらの誘導体；および、アミノ基、置換されたアミノ基、イミノ基、または、置換されたイミノ基；および、R²は、水素、アミノ基、置換されたアミノ基、アルキル基、置換されたアルキル基、アルケニル基、置換されたアルケニル基、アルキニル基、置換されたアルキニル基、アルコキシ基、置換されたアルコキシ基、アルキルアミノ基、置換されたアルキルアミノ基、アリールアミノ基、置換されたアリールアミノ基、アリールオキシ基、置換されたアリールオキシ基、アリール基、置換されたアリール基、ヘテロアリール基、置換されたヘテロアリール基、および、複素環、置換された複素環からなる群から選択される。

【0093】

医薬組成物の実施形態における糖類は、グルコース、マンノース、ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、フコース、フルクトース、キシロース、シアル酸、グルクロン酸、イズロン酸、ガラクトツロン酸、二糖類、または、少なくとも上記の糖類の2つを含むオリゴ糖、および、これらの誘導体からなる群から選択される。

【0094】

医薬組成物の様々な実施形態では、YはCO、SO₂、または単結合であり、R²はアミンまたはアリール基であり、R¹はガラクトース、グルコース、または、N-アセチルグルコサミンであり、R¹は置換されたガラクトース、グルコース、または、N-アセチルグルコサミンであり、R¹はC3-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル-置換されたガラクトースであり、あるいは、XはOまたはSである。

10

【0095】

組成物の様々な実施形態では、R²は置換されたフェニル基であり、置換基は、ハロゲン、アルコキシ、アルキル、ニトロ、スルホ、アミノ、ヒドロキシ、または、カルボニルの基からなる群から選択された1つ以上である。

【0096】

様々な実施形態における医薬組成物は、眼内送達のために処方される。様々な実施形態では、組成物は、注入薬、点眼薬、または軟膏として、眼内送達のために処方される。例えば、注入薬は、硝子体内注入、眼球内注入、結膜下注入、およびテノン嚢下(subtenon)注入からなる群から選択される。

20

【0097】

医薬組成物は、以下から選択された様々な実施形態である／を含む：メチル3-デオキシ-3-(1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-(4-プロピル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-(4-メトキシカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-(4-(1-ヒドロキシ-1-シクロヘキシル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-(4-フェニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-(4-p-トリルスルホニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド(galactopyranoside)；メチル3-(4-メチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-(4-ブチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-(4-ベンジルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-{4-(3-ヒドロキシプロプ-1-イルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-{4-[2-(N-モルホリノ)-エチルアミノカルボニル]-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-(4-メチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル-(1→4)-2-アセトアミド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド、bis-(3-デオキシ-3-(4-(メチルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-β-D-ガラクトピラノシル)スルファン、メチル3-デオキシ-3-{4-(2-フルオロフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-3-{4-(2-メトキシフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-1-チオ-β-D-

30

40

50

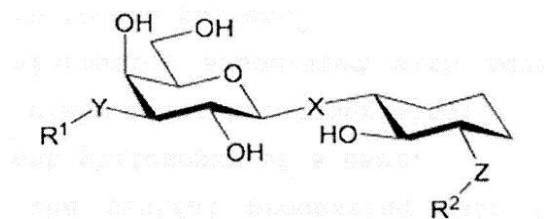
ガラクトピラノシド；メチル 3-デオキシ-3- {4- (3-メトキシフェニル)-1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル} -1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル 3-デオキシ-3- {4- (4-メトキシフェニル)-H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル} -1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル 3-デオキシ-3- {4- (3, 5-ジメトキシフェニル)-1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル} -1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル 3-デオキシ-3- {4- (1-ナフチル)-1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル} -1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル 3-デオキシ-3- {4- (2-ナフチル)-1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル} -1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル 3-デオキシ-3- {4- (2-ピリジル)-1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル} -1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル 3-デオキシ-3- {4- (3-ピリジル)-1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル} -1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；メチル 3-デオキシ-3- {4- (4-ピリジル)-1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル} -1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；O- {3-デオキシ-3- [4-フェニル- [1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル} -3-インドール (indol) -カルバルドキシム (carbaldoxim)；O- {3-デオキシ-3- [4- (メチルアミノカルボニル)-1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル} -3-インドール-カルバルドキシム；O- {3-デオキシ-3- [4-フェニル- [1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル} - (2-ヒドロキシ-5-ニトロフェニル)-カルバルドキシム；O- {3-デオキシ-3- [4- (メチルアミノカルボニル)-1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル} - (2-ヒドロキシ-5-ニトロフェニル)-カルバルドキシム；O- {3-デオキシ-3- [4-フェニル- [1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル} - (2, 5-ジヒドロキシフェニル)-カルバルドキシム；O- {3-デオキシ-3- [4- (メチルアミノカルボニル)-1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル} - (2, 5-ジヒドロキシフェニル)-カルバルドキシム；O- {3-デオキシ-3- [4-フェニル- [1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル} -1-ナフチル-カルバルドキシム；または、O- {3-デオキシ-3- [4- (メチルアミノカルボニル)-1H- [1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル} -1-ナフチル-カルバルドキシム。

【0098】

様々な実施形態において、医薬組成物はチオジガラクトシドを含んでおり、例えば、医薬組成物は、以下に示される一般式を含み、

【0099】

【化10】



ピラノース環の構造はD-ガラクトであり、Xは、O、S、およびSOからなる群から選択され、YとZは、独立して、CONHまたは1H-1, 2, 3-トリアゾール環から選択され、R¹とR²は、独立して、以下からなる群から選択される：少なくとも4つの炭素のアルキル基、少なくとも4つの炭素のアルケニル基、少なくとも4つの炭素のアルキニル基；カルバモイル基、アルキル基で置換されたカルバモイル基、アルケニル基で置換されたカルバモイル基、アルキニル基で置換されたカルバモイル基、アリール基で置換さ

れたカルバモイル基、置換されたアルキル基で置換されたカルバモイル基、および、置換されたアリール基で置換されたカルバモイル基；少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルキル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのトリフルオロメチル基で置換されたフェニル基；少なくとも1つのトリフルオロメトキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたフェニル基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたフェニル基；ナフチル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルキル基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたナフチル基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたナフチル基；ヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたヘテロアリール基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたヘテロアリール基；ならびに、チエニル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたチエニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのスルホ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのヒドロキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたチエニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたチエニル基、および、少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたチエニル基。

【0100】

医薬組成物の様々な実施形態では、YはCONHであり、例えば、CONH基はN原子によってピラノース環に結合され、ZはCONHであり、CONH基はN原子によってシクロヘキサンに結合され、Yは1H-1, 2, 3-トリアゾール環であり、例えば、N1原子によってピラノース環に結合され、R¹は1H-1, 2, 3-トリアゾール環のC4原子に結合され、Zは1H-1, 2, 3-トリアゾール環であり、例えば、1H-1, 2, 3-トリアゾール環は、N1原子によってシクロヘキサンに結合され、あるいは、R²は1H-1, 2, 3-トリアゾール環のC4原子に結合される。

【0101】

様々な実施形態では、医薬組成物のR¹とR²は、カルバモイル基、アルキル化したカルバモイル基、アルケニル化したカルバモイル基、アリール化したカルバモイル基、フェニル基、置換されたフェニル基、ハロゲン化したフェニル基、フッ素化したフェニル基、塩素化したフェニル基、臭素化したフェニル基、アルキル化したフェニル基、アルケニル化したフェニル基、トリフルオロメチル化したフェニル基、メトキシ化したフェニル基、トリフルオロメトキシ化したフェニル基、ナフチル基、置換されたナフチル基、ヘテロアリール基、置換されたヘテロアリール基、チエニル基、および、置換されたチエニル基からなる群から独立して選択される。

【0102】

医薬組成物の様々な実施形態におけるR¹は、アルキル化したカルバモイル基、フッ素化したフェニル基、またはチエニル基である。

【0103】

医薬組成物の様々な実施形態では、R²は、アルキル化したカルバモイル基、フッ素化したフェニル基、またはチエニル基であり、あるいは、XはOまたはSである。

【0104】

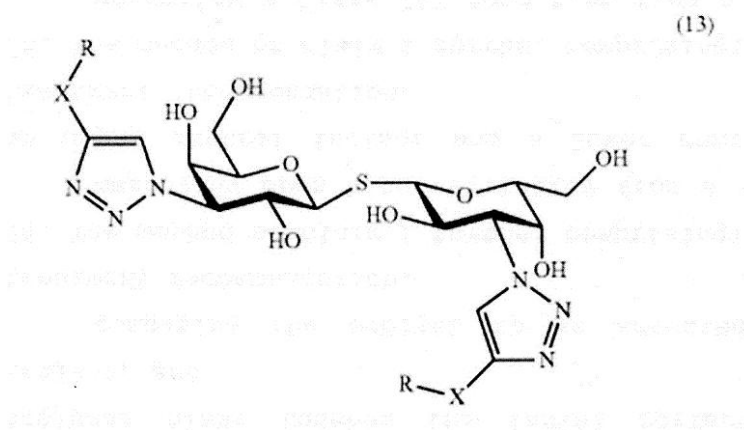
様々な実施形態における医薬組成物は以下からなる群から選択される：（（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-（N-（1-プロピル）-カルバモイル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）シクロヘキシル）-3-デオキシ-（3-（4-（N-（1-プロピル）-カルバモイル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-β-D-ガラクトピラノシド；（（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-（2-フルオロフェニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-シクロヘキシル）-3-デオキシ-3-（4-（2-フルオロフェニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；（（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-（3-フルオロフェニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-シクロヘキシル）-3-デオキシ-3-（4-（3-フルオロフェニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；（（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-（4-フルオロフェニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-シクロヘキシル）-3-デオキシ-3-（4-（4-フルオロフェニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-（3-チエニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-シクロヘキシル）-3-デオキシ-3-（4-（3-チエニル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド；（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-（N-（1-プロピル）-カルバモイル）1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-シクロヘキシル）-3-デオキシ-3-（4-（N-（1-プロピル）-カルバモイル）-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル）-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド、および、（1R, 2R, 3S）-2-ヒドロキシ-3-（4-クロロベンズアミド）-シクロヘキシル）3-デオキシ-3-（4-クロロベンズアミド）-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド。

【0105】

様々な実施形態では、医薬組成物はジガラクトシドを含んでおり、例えば、医薬組成物は一般式（13）を含み、

【0106】

【化11】



ピラノース環の少なくとも1つの構造はD-ガラクトであり、Xは単結合であり、Rは、メチル、エチル、イソプロピル、tert-ブチル、フルオロ、クロロ、ブロモ、およびトリフルオロメチルからなる群から選択された1つ以上の置換基によって、任意の位置で置換されたフェニル基であり、あるいは、Rはチエニル基である。

【0107】

組成物の様々な実施形態では、Rは、フルオロ、クロロ、およびブロモからなる群から選択された1つ以上の置換基によって、任意の位置で置換されたフェニル基である。例えば、Rは、フルオロから選択された1つ以上の置換基によって任意の位置で置換されたフ

ェニル基である。一般に、両方のピラノース環の構造はD-ガラクトである。

【0108】

本発明の態様は、被験体の眼の血管新生または眼の繊維症状態を処置または予防する方法を提供し、該方法は、治療上有効な量の少なくとも1つの組成物を被験体に投与する工程を含み、組成物はガレクチンタンパク質またはその一部の阻害剤を含む。様々な実施形態における被験体は哺乳動物である。

【0109】

方法の様々な実施形態における疾病は、以下の群から選択される：瘢痕に関連付けられる手術、例えば、緑内障過手術；血管新生緑内障；角膜外傷；結膜炎後瘢痕；翼状片、加齢黄斑変性（AMD）、例えば、湿潤型AMDまたは乾燥型AMD；乾燥型AMDから湿潤型AMDへの変換；増殖性糖尿病性網膜症；糖尿病性黄斑浮腫；および、角膜血管新生（トラコーマ）。

10

【0110】

方法の様々な実施形態では、ガレクチンタンパク質は、ガレクチン-1タンパク質、ガレクチン-3タンパク質、ガレクチン-7タンパク質、および、ガレクチン-8の群から選択され、組成物は、以下の少なくとも1つから選択される：薬物、ポリマー、タンパク質、ペプチド、炭水化物、低分子量化合物、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、および、DNAまたはRNAなどの遺伝物質。

【0111】

様々な実施形態における方法は、疾患または疾病のパラメーターまたは指標の低下を観察する工程をさらに含み、例えば、パラメーターまたは指標はマーカーである。

20

【0112】

様々な実施形態では、方法は、組成物を投与する前に組成物を操作する工程をさらに含み、組成物はガレクチンタンパク質に結合し、VEGF/VEGF受容体-2経路を調節するか、あるいは、組成物はガレクチンタンパク質の発現を調節する。関連する実施形態では、阻害剤はFGFを調節し、FGFによって引き起こされた血管新生を阻害する。

【0113】

本発明の態様は、疾病、被験体の眼の血管新生または眼の繊維症を処置または予防する方法を提供し、該方法は、治療上有効な量の少なくとも1つの組成物を被験体に投与する工程を含み、組成物はガレクチンタンパク質またはその一部の阻害剤を含み、投与する工程は本明細書に記載された医薬組成物のいずれかに被験体を接触させる工程を含む。いくつかの実施形態では、被験体は哺乳動物である。

30

【0114】

様々な実施形態では、方法は繊維症の減少を観察または検知する工程をさらに含んでいる。

【0115】

方法の様々な実施形態において組成物を投与する工程は、少なくとも以下の投与量を、被験体または被験体の組織に接触させる工程を含む：約0.01ng～約1ng（ng）、約1ng～約10ng、約10ng～約20ng、約20ng～約30ng、約30ng～約40ng、約40ng～約50ng、約50ng～約100ng、100ng～約200ng、200ng～約300ng、約300ng～約400ng、約400ng～約600ng、約600ng～約800ng、約1マイクログラム（μg）～約5μg、約5μg～約20μg、約20μg～約40μg、約40μg～約60μg、約60μg～約80μg、約80μg～約100μg、約100μg～約200μg、約200μg～約300μg、および、約300μg～約400μg。

40

【0116】

様々な実施形態における方法は、投与する前に、注入薬、点眼薬、パッチ、軟膏、ゲル、または噴霧剤の群から選択された眼球内送達のための組成物を処方する。

【0117】

方法の様々な実施形態において組成物を投与する工程は、例えば、眼球内、硝子体内、

50

角膜内、結膜内、または、テノン囊 (tenon's) に、組成物を注入する工程を含んでいる。例えば、注入薬は被験体の粘膜層または目の外部の層に投与される。

【0118】

本発明の態様は、被験体におけるまたは被験体からの細胞における眼の血管新生または眼の繊維症を処置または予防するためのキットを含み、キットは、ガレクチンタンパク質またはその一部を阻害する医薬組成物であって、ガレクチンタンパク質に結合して VEGF/VEGF 受容体-2 経路を調節するか、あるいは、ガレクチンタンパク質の発現を調節する、医薬組成物、使用説明書、および、容器を含む。例えば、医薬組成物は、TD139、化合物 32、あるいは、そのアナログまたは誘導体を含む。

【0119】

本発明の態様は、被験体における、または、被験体からの細胞における、眼の血管新生または眼の繊維症の状態を処置または予防するためのキットを提供し、キットは、ガレクチンタンパク質またはその一部を阻害する医薬組成物であって、ガレクチンタンパク質に結合して VEGF/VEGF 受容体-2 経路を調節するか、あるいは、ガレクチンタンパク質の発現を調節する、本明細書に記載されるいずれかの医薬組成物、使用説明書、および、容器、を含む。例えば、医薬組成物は、TD139、化合物 32、または、そのアナログまたは誘導体などの少なくとも 1 つのガレクチン阻害剤を含んでいる。

【0120】

様々な実施形態におけるキットはさらに、組成物を投与するための塗布器または装置を含み、塗布器または装置は、シリンジ、針、噴霧器、スポンジ、ゲル、ストリップ、テープ、包帯、トレー、ストリング、または、ナノ構造体である。

【0121】

キットの様々な実施形態における組成物は、以下の少なくとも 1 つから選択される：薬物、ポリマー、タンパク質、ペプチド、炭水化物、低分子量化合物、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、および、DNA または RNA などの遺伝物質。

【0122】

キットの様々な実施形態では、組成物は、薬学的に適切な担体または希釈剤で処方される。関連する実施形態では、キットは、対照、例えば、アバスタチン (商標) (ベバシズマブ (商標))、ルセンチス (商標) (ラニビズマブ (商標))、または、アイリーア (商標) (アフリベルセプト (商標)) を含む。様々な実施形態における対照は、VEGF に結合して眼の血管新生を阻害するために、対照の被験体またはサンプルと共に使用されるか、あるいは、眼の血管新生を阻害するために医薬組成物と組み合わせて使用される。キットの関連する実施形態では、アバスタチン (商標) は VEGF に特異的に結合し、VEGF によって引き起こされた血管新生を阻害する。様々な実施形態では、対照は FGF または FGF の経路に結合するか FGF または FGF の経路を阻害する。キットの様々な実施形態では、組成物は、ガレクチン-1 タンパク質、ガレクチン-3 タンパク質、ガレクチン-7 タンパク質およびガレクチン-8 の群から選択されたガレクチンタンパク質に特異的に結合してこれを阻害する。

【0123】

本発明の態様は、ガレクチンタンパク質またはその一部を阻害し、眼の血管新生または眼の繊維症を阻害または調節するのに有効な、本明細書に記載された医薬組成物と、抗血管新生剤または繊維症治療剤とを含む生成物を提供し、生成物は抗血管新生または抗繊維症治療で使用するのに有効である。様々な実施形態では、生成物は、同時投与、別々の投与、または、連続した投与のために組み合わせられた調製物である。例えば、抗血管新生剤は、アバスタチン (商標) (ベバシズマブ (商標))、ルセンチス (商標) (ラニビズマブ (商標))、および、アイリーア (商標) (アフリベルセプト (商標)) の少なくとも 1 つである。

【0124】

本発明の態様は、上に記載された生成物を用いて、眼の血管新生または眼の繊維症を阻害または調節する方法を提供し、該方法は、本明細書に記載された少なくとも 1 つの医薬

10

20

30

40

50

組成物と別の抗血管新生剤を投与する工程を含む。例えば、組成物および／または別の抗血管新生剤は、血管新生シグナル伝達経路の分子の発現または活性を調節する。様々な実施形態において、組成物および／または別の抗血管新生剤は、薬物、タンパク質、ペプチド、炭水化物、または、小分子である。様々な実施形態において、組成物および／または別の抗血管新生剤は、キナーゼ受容体の阻害剤、または、チロシンキナーゼ受容体の阻害剤を含む。様々な実施形態では、受容体は、VEGF受容体(VEGFR)、血小板由来増殖因子受容体(PDGFR)、アンジオポエチン受容体(例えば、Tie-1およびTie-2)、繊維芽細胞増殖因子受容体(FGFR)、または、内皮増殖因子受容体(EGFR)から選択される。様々な実施形態では、別の血管新生剤は、アバスタチン(商標)(ベバシズマブ(商標))、ルセンティス(商標)(ラニビズマブ(商標))またはアイリーア(商標)(アフリベルセプト(商標))である。

10

【図面の簡単な説明】

【0125】

【図1】図1は、ヒトのガレクチン-3タンパク質のアミノ酸配列および組成物を描写する(Accession No. BAA22164 in GenBank, SEQ ID NO: 1)。

【図2】図2は、ヒトのガレクチン-7タンパク質のアミノ酸配列および組成物を描写する(Accession No. 155469 in GenBank, SEQ ID NO: 2)。

【図3】図3は、ウサギのガレクチン-3タンパク質(Accession No. JC4300 in GenBank)、ニワトリのガレクチン-3タンパク質(Accession No. AAB02856 in GenBank)、およびハムスターのガレクチン-3タンパク質(Accession No. CAA55479 in GenBank)のアミノ酸配列を有する、ヒトのガレクチン-3タンパク質(SEQ ID NO: 1)のアミノ酸配列のCLUSTAL Wアラインメントを描写する。図中の第1(上の)配列は、ヒトのガレクチン-3タンパク質のアミノ酸1乃至250(SEQ ID NO: 1)であり、図中の第2配列は、ハムスターのガレクチン-3タンパク質のアミノ酸1乃至245であり、図中の第3配列は、ウサギのガレクチン-3タンパク質のアミノ酸1乃至242であり、および図中の第4(下の)配列は、ニワトリのガレクチン-3タンパク質のアミノ酸1乃至262である。

20

30

【図4】図4は、ラットのガレクチン-7タンパク質(Accession No. P97590 in GenBank)およびマウスのガレクチン-7タンパク質(Accession No. 054974 in GenBank)のアミノ酸配列を有する、ヒトのガレクチン-7のアミノ酸配列(SEQ ID NO: 2)のCLUSTAL Wアラインメントを描写する。図中の第1(上の)配列は、ラットのガレクチン-7タンパク質のアミノ酸1乃至136であり、図中の第2配列は、マウスのガレクチン-7タンパク質のアミノ酸1乃至136であり、および図中の第3(下の)配列は、ヒトのガレクチン-7タンパク質のアミノ酸1乃至136である。

【図5】図5は、ヒトのガレクチン-3タンパク質(SEQ ID NO: 1)のPROSITEスキャンの結果の概要である。

40

【図6】図6は、ヒトのガレクチン-7タンパク質(SEQ ID NO: 2)のPROSITEスキャンの結果の概要である。

【図7】図7は、ヒトのガレクチン-3タンパク質のガラクトシド結合ドメインの、PFAMからの隠れマルコフモデル(HMM)に由来する、コンセンサスアミノ酸配列(PF00337)とのアラインメントを描写する。上の配列は、コンセンサスアミノ酸配列(PF00337, SEQ ID NO: 3)であり、一方で下のアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 1のアミノ酸117乃至247に対応している。

【図8】図8は、ヒトのガレクチン-7タンパク質のガラクトシド結合ドメインの、PFAMからの隠れマルコフモデル(HMM)に由来する、コンセンサスアミノ酸配列(PF00337)とのアラインメントを描写する。上の配列は、コンセンサスアミノ酸配列

50

(PF00337, SEQ ID NO: 3)であり、一方で下のアミノ酸配列は、SEQ ID NO: 2のアミノ酸5乃至135に対応している。

【図9A】図9Aは、TD 139のガレクチン-3阻害剤が、ヒト臍静脈内皮細胞(HUVEC)において、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)誘発性の毛細血管形成を実質的に減少させたことを示す棒グラフである。図9Aは、25 ng/mLのVEGF、25 ng/mLのVEGFおよび10マイクロモルのTD 139、または25 ng/mLのVEGFおよび50マイクロモルのTD 139のいずれかによる処置(横座標)に応じて、対照HUVEC(縦座標)と比較した、HUVECにおける毛細血管形成の倍変化を示す棒グラフである。対照HUVECは、VEGFまたはTD 139では処置されなかった。25 ng/mLのVEGFのみで処置されたHUVECと比較して、25 ng/mLのVEGFおよび10マイクロモルのTD 139で処置されたHUVEC、および25 ng/mLのVEGFおよび50マイクロモルのTD 139で処置されたHUVECに対して、毛細血管形成の減少が観察された。

10

【図9B】図9Bは、TD 139のガレクチン-3阻害剤が、ヒト臍静脈内皮細胞(HUVEC)において、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)誘発性の毛細血管形成を実質的に減少させたことを示す顕微鏡写真である。図9Bのデータは、以下のいずれかで処置されたHUVECの1セットの顕微鏡写真である: 25 ng/mLのVEGF(左); 25 ng/mLのVEGFおよび10マイクロモルのTD 139(真中); または25 ng/mLのVEGFおよび50マイクロモルのTD 139(右)。顕微鏡写真は、VEGFおよびTD 139のガレクチン-3タンパク質阻害剤と接触させられたHUVECと比較した、VEGFと接触させられたHUVECに対する広範囲な毛細血管形成を示す。25 ng/mLのVEGFと10マイクロモルのTD 139との混合物で処置されたHUVECと比較した、25 ng/mLのVEGFと50マイクロモルのTD 139(右)との混合物で処置されたHUVECにおいて、毛細血管形成の減少が観察された。

20

【図10A】図10Aは、ガレクチン-3阻害剤TD 139が、HUVECのインビトロの血管新生/新芽形成のアッセイにおいて、VEGF誘発性の毛細血管の新芽形成を実質的に減少させたことを示す棒グラフである。図10Aは、25 ng/mLのVEGF; 25 ng/mLのVEGFおよび10マイクロモルのTD 139のガレクチン-3タンパク質阻害剤; または25 ng/mLのVEGFおよび50マイクロモルのTD 139のガレクチン-3タンパク質阻害剤のいずれかで処置(横座標)に応じた、HUVECの個々のスフェロイド(縦座標)のセントラルプレインから生じるすべての毛細血管様の新芽の累積的な長さを示す棒グラフである。対照HUVECは、VEGFまたはTD 139では処置されなかった。データは、VEGFのみでの処置されたHUVECが、結果的に、対照細胞と比較して、実質的な新芽形成の長さをもたらしたことを示す。スフェロイドの長さは、25 ng/mLのVEGFおよび10マイクロモルのTD 139、または25 ng/mLのVEGFおよび50マイクロモルのTD 139で処置されたHUVECに対して縮小することが観察された。新芽形成の長さのVEGF誘発性の増加の最も大きな減少が、50マイクロモルのTD 139で処置されたHUVECに対して観察された。

30

【図10B】図10Bは、ガレクチン-3阻害剤TD 139が、HUVECのインビトロの血管新生/新芽形成のアッセイにおいて、VEGF誘発性の毛細血管の新芽形成を実質的に減少させたことを示す顕微鏡写真である。図10Bのデータは、25 ng/mLのVEGF(右上); 25 ng/mLのVEGFおよび10マイクロモルのTD 139のガレクチン-3タンパク質阻害剤(左下); または25 ng/mLのVEGFおよび50マイクロモルのTD 139のガレクチン-3タンパク質阻害剤(右下)のいずれかで処置されたHUVECのスフェロイドを示す一連の顕微鏡写真である。対照HUVECは、VEGFまたはTD 139では処置されなかった(図10Bの左上)。顕微鏡写真は、対照細胞と比較した、VEGFと接触させられたHUVECに対するその新芽形成および新芽形成の長さを示す。VEGF誘発性の新芽形成は、VEGFとTD 139との混合物と接触させられたHUVECにおいて減少された。25 ng/mLのVEGFのみで処置された細胞と比較した、25 ng/mLのVEGFと10マイクロモルのTD 139との混合物で処

40

50

置されたヒト内皮細胞と比較する、 25 ng/mL のVEGFと 50 ミクロモル のTD139（右）との混合物で処置されたヒト内皮細胞において、減少した毛細血管形成が観察された。

【図11A】図11Aは、TD139がインビボでの抗血管新生効果を有することを示す図面である。血管新生は、眼を硝酸銀で焼灼することによってマウスの角膜において誘発された。図11Aは、ネズミ被験体の株C57B/6Lにおける薬物の投与のための実験的なレジメンの図面である。被験体は、0日目、2日目および4日目の各々に、結膜下注射によって、 0.5% のDMSOを含有しているPBS中の 10 マイクロリットル (μl)のTD139 (325 ng)、または $10 \mu\text{l}$ のビヒクルのみ (0.5% のDMSOを含有しているPBS)のいずれかを投与された。さらに、 $10 \mu\text{l}$ のビヒクル単独または $50 \mu\text{M}$ のTD139が、毎日1回点眼剤によって適用された。被験体の眼を焼灼するために、硝酸銀が0日目に適用された。マウスは5日目に屠殺され、角膜のフラットマウント (flat mounts) が、血管を視覚化するために抗CD31で染色された。図11B-Cで示されるデータは、図11Aに記載されるように処置された被験体からのものであった。

10

【図11B】図11Bは、TD139がインビボでの抗血管新生効果を有することを示す一連の顕微鏡写真である。血管新生は、眼を硝酸銀で焼灼することによってマウスの角膜において誘発された。図11Bは、焼灼の5日後の、図11Aに記載されているように処置されたC57B/6L被験体の代表的な眼（上の列）および角膜のフラットマウント（下の列）の顕微鏡写真である。示される角膜のフラットマウントの代表的な写真は、抗CD31で染色された。顕微鏡写真は、図11Aに記載されるような、TD139（右のカラム）で処置された被験体、または 0.5% のDMSOを含有しているPBSで処置された対照被験体のいずれかの眼組織を示す。倍率は、 $\times 100$ であった。図11B-Cで示されるデータは、図11Aに記載されるように処置された被験体からのものであった。

20

【図11C】図11Cは、TD139がインビボでの抗血管新生効果を有することを示すグラフである。血管新生は、眼を硝酸銀で焼灼することによってマウスの角膜において誘発された。図11Cは、図11Aにおけるような、TD139を投与された被験体の眼内の血管のパーセント領域（縦座標）を示すグラフである。対照被験体は、 0.5% のDMSOを含有しているPBSを投与された。全体の角膜を覆う血管の密度は、Image J.によって定量化された。データは、Studentのt検定で分析された。血管は、対照被験体の角膜のおよそ 40% を覆い、TD139処置された被験体の角膜の 28% を覆った。焼灼後の眼内の血管新生の反応は、対照被験体と比較して、TD139のガレクチン阻害剤を投与された被験体に対して著しく阻害された。図11B-Cで示されるデータは、図11Aに記載されるように処置された被験体からのものであった。

30

【図12】図12は、ガレクチン-1およびガレクチン-3がVEGFR-2で相互作用したことを示すウエスタンブロットの顕微鏡写真である。HUVEC溶解物は、 0.1 M のスクロースまたはラクトースの存在下または欠如下での、ガレクチン-1およびガレクチン-3-アガロースのビーズでインキュベートされた。対照サンプルは、HUVECの溶解物またはビーズのみを包含した。結合された物質は、Laemmliのサンプル緩衝液で溶出され、 $4-20\%$ のSDS-PAGEのゲル剤に加えられ、電気泳動にかけられた。ゲル剤は、膜ブロット上に移され、その後、抗VEGFR-2抗体でプローブされた (probed)。VEGFR-2抗体は、ビーズのみの対照ではなく、HUVEC溶解物の対照に対する結合が観察された。VEGF-2抗体は、HUVECが、ビーズを表示するガレクチン-1およびビーズを表示するガレクチン-3の両方に結合したことを示す。ビーズを表示するガレクチン-1およびガレクチン-3に対するVEGF-2抗体の結合は、レクチン競合の (lectin competing) 糖類、ラクトースの存在によって阻害され、非競合の (non competing) 糖類、スクロースによっては阻害されなかった。したがって、VEGFR-2と、ガレクチン-1およびガレクチン-3との間の相互作用は、本明細書において、炭水化物依存性であると観察された。

40

【図13A】図13Aは、TD139が、VEGF-A誘発性の内皮細胞の新芽形成およ

50

び遊走を妨害したことを示す一連の棒グラフである。T D 1 3 9 は、用量依存性の方法で V E G F - A 誘発性の新芽形成および遊走を著しく阻害した。H P F は強拡大視野を示す。データは、平均±S E として図示され、一元配置分散分析によって分析される。* P < 0. 0 5 対 対照；*** P < 0. 0 0 1 対 対照；### P < 0. 0 0 1 対 V E G F - A。図 1 3 A は、(0. 0 1 μ M、0. 1 μ M、1 μ M、5 μ M、または 1 0 μ M の各々で) T D 1 3 9 を用いる又はそれなしでの、(横座標) V E G F - A (1 0 0 n g / m L) で処置された H U V E C 細胞、および T D 1 3 9 なしの又はそれを単独 (1 0 μ M) で用いる対照の新芽の長さ (縦座標) を示す棒グラフである。H U V E C スフェロイドは、タイプ 1 コラーゲンゲルへと調製および播種された。重合されたコラーゲンは、2 0 μ M の T D 1 3 9 または 5 0 μ M の T D 1 3 9 のいずれかを補足された E B M - 2 中で、1 0 0 μ l の E B M - 2 および 2 5 n g / m L の V E G F を重ねられた。対照コラーゲンサンプルは、E B M - 2 中で 1 0 0 μ l の E B M - 2 および 2 5 n g / m L の V E G F で処置された。6 時間の前処置後、ゲル剤は、V E G F - A (1 0 0 n g / m l) のみ、V E G F - A (1 0 0 n g / m l) および T D 1 3 9 (0. 0 1 μ M、0. 1 μ M、1 μ M、5 μ M、または 1 0 μ M)、または T D 1 3 9 (1 0 μ M) のみで処理された 2 4 時間のインキュベーション後、スフェロイドは、カルセイン A M 色素で染色され、蛍光顕微鏡によって撮影された。ゲル剤中の H U V E C に対する累積的な新芽の長さは、I m a g e J によって定量化された。H U V E C を、0. 1 μ M、1 μ M、5 μ M または 1 0 μ M のいずれかの T D 1 3 9 と接触させることによって、用量依存性の方法で V E G F - A 誘発性の新芽形成が著しく阻害されたことが観察された。

【図 1 3 B】図 1 3 B は、T D 1 3 9 が、V E G F - A 誘発性の内皮細胞の新芽形成および遊走を妨害したことを示す一連の棒グラフである。T D 1 3 9 は、用量依存性の方法で V E G F - A 誘発性の新芽形成および遊走を著しく阻害した。H P F は強拡大視野を示す。データは、平均±S E として図示され、一元配置分散分析によって分析される。* P < 0. 0 5 対 対照；*** P < 0. 0 0 1 対 対照；### P < 0. 0 0 1 対 V E G F - A。図 1 3 B は、図 1 3 A で示されるような、V E G F - A を用いて又はそれなしで、(横座標) V E G F - A で処置された H U V E C 細胞の遊走距離 (遊走指数、縦座標) を示すグラフである。H U V E C は、一晚血清不足にされ、タンパク質分解性および膠原溶解性の酵素生成物 A c c u t a s e (商標) (M i l l i p o r e I n c.) で引き離され、1 % の F B S / M 1 9 9 中で再懸濁され、その後、遊走試験システムの上部チャンバーに加えられた。システムの下部チャンバーは、1 % の F B S / M 1 9 9 中の変化する濃度の T D 1 3 9 (1 μ M、1 0 μ M、1 0 0 μ M、または 1 0 0 0 μ M) の存在下または欠如下で、V E G F - A (1 0 0 n g / m L) を充填された。3 時間のインキュベーション後、膜の下側に遊走した H U V E C が数えられた。1 n M もの低い濃度での T D 1 3 9 の存在によって、より高い濃度で、V E G F - A 誘発性の走化性が著しく抑制されたことが観察された。T D 1 3 9 は、用量依存性の方法で、V E G F - A 誘発性の遊走を著しくさらに阻害した。

【図 1 4 A】図 1 4 A は、T D 1 3 9 が H U V E C に対して無毒であることを示す一連の棒グラフである。H U V E C は、一晚 1 % の F B S / M 1 9 9 でインキュベートされ、その後 3 時間、0. 1 % の D M S O、0. 1 % の T r i t o n (商標) X - 1 0 0、または 5 μ M の T D 1 3 9 のいずれかで処置された。その後、H U V E C は、カルセイン A M 色素または W S T - 1 (テトラゾリウム塩) のいずれかでインキュベートされた。カルセイン A M および W S T - 1 は、細胞増殖および細胞生存度の指標である。蛍光信号が、分光光度計によって検出された。H U V E C 生存度は、T D 1 3 9 処置後に変更せず、これは、T D 1 3 9 ガレクチン阻害剤による V E G F - A 誘発性の機能の阻害が、細胞生存度の変化が原因ではなかったことを示している。陽性対照の T r i t o n X - 1 0 0 は、生存度をなくし (e l i m i n a t e d)、データは、平均±S E M で図示され、一元配置分散分析によって分析される。*** P < 0. 0 0 1 対 対照。図 1 4 A は、一晚 1 % の F B S / M 1 9 9 中でインキュベートされ、その後、(横座標) 3 時間 0. 1 % の D M S O、0. 1 % の T r i t o n (商標) X - 1 0 0、または 5 μ M の T D 1 3 9 のいずれ

かで処置されたHUVECのカルセインAM蛍光（縦座標）を示す棒グラフである。対照細胞は、DMSO、Triton（商標）X-100またはTD139によっては処置されなかった。処置された細胞は、30分間カルセインAMでインキュベートされた。データは、DMSOおよび対照細胞で処置された細胞と比較した、TD139細胞に対する匹敵するカルセインAM蛍光を示す。Triton（商標）X-100で処置された細胞は、TD139で処置された細胞と比較して、減少した蛍光を示した。

【図14B】図14Bは、TD139がHUVECに対して無毒であることを示す一連の棒グラフである。HUVECは、一晚1%のFBS/M199でインキュベートされ、その後3時間、0.1%のDMSO、0.1%のTriton（商標）X-100、または5 μ MのTD139のいずれかで処置された。その後、HUVECは、カルセインAM色素またはWST-1（テトラゾリウム塩）のいずれかでインキュベートされた。カルセインAMおよびWST-1は、細胞増殖および細胞生存度の指標である。蛍光信号が、分光光度計によって検出された。HUVEC生存度は、TD139処置後に変更せず、これは、TD139ガレクチン阻害剤によるVEGF-A誘発性の機能の阻害が、細胞生存度の変化が原因ではなかったことを示している。陽性対照のTriton X-100は、生存度をなくし（eliminated）、データは、平均 $\pm$ SEMで図示され、一元配置分散分析によって分析される。*** $P < 0.001$ 対 対照。図14Bは、一晚1%のFBS/M199中でインキュベートされ、その後、（横座標）3時間0.1%のDMSO、0.1%のTriton（商標）X-100、または5 μ MのTD139のいずれかで処置されたHUVECのWST-1蛍光（縦座標）を示す棒グラフである。対照細胞は、DMSO、Triton（商標）X-100またはTD129では処置されなかった。WST-1は、処置された細胞に加えられ、2時間インキュベートされた。データは、DMSOおよび対照細胞で処置された細胞と比較して、TD139細胞に対する匹敵する細胞生存度を示す。Triton（商標）X-100で処置された細胞は、TD139で処置された細胞と比較して、減少したWST-1蛍光を示した。

【図15】図15は、細胞中のVEGFR2発現が、TD139処置による影響を受けなかったことを示すウェスタンブロットの写真である。HUVECは、一晚1%のFBS/M199でインキュベートされ、その後、6時間、0.1%のDMSOおよび10 μ MのTD139で処置された。細胞溶解物は、4-20%のSDS-PAGEゲル剤中で電気泳動によって分析された。ゲル剤は、ウェスタンブロットの膜に移され、抗VEGFR-2抗体（図15の上の列）または β -アクチン抗体（図15の下の方）でプローブされた。VEGFR2発現レベルは、対照およびTD139処置された細胞の両方において類似していることが観察された。TD139のガレクチン阻害剤での内皮細胞の処置は、合計のVEGFR2発現を減少させなかった。

【図16】図16は、ガレクチン-3阻害化合物32が、インビボでの角膜血管新生を阻害したことを示す、棒グラフおよび顕微鏡写真である。8週齢のC57BL/6マウスの角膜は、5秒間硝酸銀で焼灼され、血管新生を誘発した。10 μ lの化合物32のガレクチン-3阻害剤（0.5%のジメチルスルホキシド（DMSO）中に100 μ M）が、0日目、およびその後、2日目、4日目および6日目に角膜に結膜下注入された。対照被験体は、10 μ lのDMSOビヒクルのみ（PBS中に0.5%のDMSO）を結膜下注入された。化合物32を注入された被験体は、化合物32の点眼剤（5 μ l）を毎日投与され、対照被験体は、DMSOビヒクルの点眼剤（5 μ l）を毎日投与された。7日目に、角膜が切除され、角膜中の血管およびリンパ管が、視覚化および定量化された。2つの別々の結果からの組み合わせられたデータが、図16の左の棒グラフで示される。代表的な画像が図16の右に示される。図16は、10 μ lの化合物32のガレクチン-3阻害剤（0.5%のDMSO中に100 μ M；横座標）を結膜下注入された被験体における角膜中の血管領域のパールセンテージ（BV%；縦座標）を示す棒グラフである。対照被験体は、10 μ lのDMSOビヒクルのみ（PBS中に0.5%のDMSO；横座標）を結膜下注入された。化合物32またはDMSOビヒクルの点眼剤（5 μ l）は、それぞれの眼に毎日投与された。7日目に、マウスの角膜は切除され、角膜中の血管の領域が定量化さ

10

20

30

40

50

れた。データは、DMSOビヒクルのみを注入された対照被験体と比較した、化合物32を注入された被験体の角膜中の血管領域の著しい減少を示す。化合物32を注入された被験体の角膜中の血管のパーセンテージ領域は、29%であり、対照被験体に対する角膜中の血管のパーセンテージ領域は、42%であった。図16のデータは、平均±SEMとして図示され、Studentのt検定を使用して分析された。図16の顕微鏡写真は、10μlの化合物32のガレクチン-3阻害剤（0.5%のDMSO中に100μM；図16の右下）を結膜下注入された被験体における代表的な角膜の写真である。対照被験体は、DMSOビヒクルのみ（PBS中に0.5%のDMSO；図16の右上）を結膜下注入された。それぞれの眼は、化合物32またはDMSOビヒクルのいずれかの点眼剤（5μl）を毎日投与された。角膜は、切除され、視覚化された。DMSOビヒクルのみを注入された対照被験体と比較して、化合物32を注入された被験体の角膜において、減少した数の血管が観察された。

10

【図17A】図17Aは、TD139が角膜線維症を阻害したことを示す、一連の写真である。C57BJ/6マウスは、ケタミンとキシラジンの混合物の腹腔内注入によって麻酔をかけられた。被験体の角膜は、プロパラカインの点眼剤を適用することによって、局所的に麻酔をかけられた。0.15Mの水酸化ナトリウムの1.5μlの点滴が、各被験体の中央角膜に1分間適用された。各眼は、すぐにPBS中で広範囲に洗浄され、角膜上皮および縁上皮は、ALGEBRUSH（商標）の光学デバイス（Storz Ophthalmic Instruments, St. Louis, MO）でそっと除去された。各角膜は、抗生物質軟膏で覆われた。50mMのTD139、10μlが、14日間毎日、結膜下注入された。対照被験体は、対照ビヒクルPBSを結膜下注入された。角膜は、混濁に関して視覚化および分析され、線維症に関してタンパク質マーカーが、下記に記載されるように定量化された。眼の角膜混濁は、以下の基準を使用して、手術後の7日目および14日目に採点された（任意単位）：0は、角膜が透明であることを示す；1は、瞳孔未満の不透明度の領域を示す；2は、不透明度の領域が瞳孔より大きいことを示す；3は、不透明度の領域が角膜領域の2/3より大きいことを示す；および、4は、全体の角膜が不透明であることを示す。マウスは、ケタミンとキシラジンの混合物を使用して、手術後の1日目に屠殺された。マウスの角膜は、切開され、5mMのNaF、1mMのPMSF、1mMのDTT、20mMのHEPES、1mMのEDTA、400mMのNaCl、1mMのEGTA、0.1%のNP-40、およびプロテアーゼ阻害剤のカクテル生成物（Roche）を含有している氷冷の溶解緩衝液中に溶解された。分割量の角膜のタンパク質（20μg）が、ゲルの各レーンに充填され、ニトロセルロース膜上に移された。プロットは、平滑筋アクチン（10,000希釈；Abeam Inc., Cambridge, England）に特異的なウサギ抗体、またはβ-アクチンに特異的な対照抗体のいずれかによって4℃で一晩プローブされた。プロットは、広範囲に洗浄され、ヤギ抗ウサギIRDye 800CW抗体（1:10,000の希釈比；LICOR Biosciences; Lincoln Nebraska）でインキュベートされた。膜は、Odysseyのイメージングシステム（LICOR Biosciences）を使用して、走査され、定量化された。図17Aは、50μMのTD139、10μl（図17Aの下の方）を結膜下注入された被験体、およびビヒクルのみ（図17Bの上の方）を結膜下注入された対照被験体における、代表的な角膜の一連の写真である。TD139を投与された被験体からの角膜が、PBSビヒクルのみを注入された対照被験体と比較して、角膜混濁の量/程度を減少させたことが観察された。

20

30

【図17B】図17Bは、TD139が角膜線維症を阻害したことを示すグラフである。C57BJ/6マウスは、ケタミンとキシラジンの混合物の腹腔内注入によって麻酔をかけられた。被験体の角膜は、プロパラカインの点眼剤を適用することによって、局所的に麻酔をかけられた。0.15Mの水酸化ナトリウムの1.5μlの点滴が、各被験体の中央角膜に1分間適用された。各眼は、すぐにPBS中で広範囲に洗浄され、角膜上皮および縁上皮は、ALGEBRUSH（商標）の光学デバイス（Storz Ophthalmic Instruments, St. Louis, MO）でそっと除去された。

40

【図17B】図17Bは、TD139が角膜線維症を阻害したことを示すグラフである。C57BJ/6マウスは、ケタミンとキシラジンの混合物の腹腔内注入によって麻酔をかけられた。被験体の角膜は、プロパラカインの点眼剤を適用することによって、局所的に麻酔をかけられた。0.15Mの水酸化ナトリウムの1.5μlの点滴が、各被験体の中央角膜に1分間適用された。各眼は、すぐにPBS中で広範囲に洗浄され、角膜上皮および縁上皮は、ALGEBRUSH（商標）の光学デバイス（Storz Ophthalmic Instruments, St. Louis, MO）でそっと除去された。

50

各角膜は、抗生物質軟膏で覆われた。50 mMのTD139、10 μ lが、14日間毎日、結膜下注入された。対照被験体は、対照ビヒクルPBSを結膜下注入された。角膜は、混濁に関して視覚化および分析され、線維症に関してタンパク質マーカーが、下記に記載されるように定量化された。眼の角膜混濁は、以下の基準を使用して、手術後の7日目および14日目に採点された（任意単位）：0は、角膜が透明であることを示す；1は、瞳孔未満の不透明度の領域を示す；2は、不透明度の領域が瞳孔より大きいことを示す；3は、不透明度の領域が角膜領域の2/3より大きいことを示す；および、4は、全体の角膜が不透明であることを示す。マウスは、ケタミンとキシラジンとの混合物を使用して、手術後の1日目に屠殺された。マウスの角膜は、切開され、5 mMのNaF、1 mMのPMSF、1 mMのDTT、20 mMのHEPES、1 mMのEDTA、400 mMのNaCl、1 mMのEGTA、0.1%のNP-40、およびプロテアーゼ阻害剤のカクテル生成物（Roche）を含有している氷冷の溶解緩衝液中に溶解された。分割量の角膜のタンパク質（20 μ g）が、ゲルの各レーンに充填され、ニトロセルロース膜上に移された。プロットは、平滑筋アクチン（10,000希釈；Abeam Inc., Cambridge, England）に特異的なウサギ抗体、または β -アクチンに特異的な対照抗体のいずれかによって4°Cで一晩プローブされた。プロットは、広範囲に洗浄され、ヤギ抗ウサギIRDye 800CW抗体（1:10,000の希釈比；Li-Cor Biosciences；Lincoln Nebraska）でインキュベートされた。膜は、Odysseyのイメージングシステム（Li-Cor Biosciences）を使用して、走査され、定量化された。図17Bは、10 μ lのTD139（PBS中に50 mM；横座標）を結膜下注入された被験体における角膜中の角膜混濁の量（任意の不透明度スコア；縦座標）を示す棒グラフである。対照被験体は、10 μ lの対照ビヒクルのみを結膜下注入された。角膜は、14日間、水酸化ナトリウムで処置され、TD139または対照PBSが、それぞれの眼に毎日投与された。14日目に、マウスの角膜は切除され、角膜中の不透明度が定量化された。データは、PBSビヒクルのみを注入された対照被験体と比較して、TD139を注入された被験体の角膜における著しく減少した程度の不透明度を示す。TD139を注入された被験体は、瞳孔の部位まわり未満の不透明度の領域を有した。

【図17C】図17Cは、TD139が角膜線維症を阻害したことを示す、ウェスタンブロットの写真である。C57BJ/6マウスは、ケタミンとキシラジンとの混合物の腹腔内注入によって麻酔をかけられた。被験体の角膜は、プロパラカインの点眼剤を適用することによって、局所的に麻酔をかけられた。0.15 Mの水酸化ナトリウムの1.5 μ lの点滴が、各被験体の中央角膜に1分間適用された。各眼は、すぐにPBS中で広範囲に洗浄され、角膜上皮および縁上皮は、ALGEBRUSH（商標）の光学デバイス（Storz Ophthalmic Instruments, St. Louis, MO）でそっと除去された。各角膜は、抗生物質軟膏で覆われた。50 mMのTD139、10 μ lが、14日間毎日、結膜下注入された。対照被験体は、対照ビヒクルPBSを結膜下注入された。角膜は、混濁に関して視覚化および分析され、線維症に関してタンパク質マーカーが、下記に記載されるように定量化された。眼の角膜混濁は、以下の基準を使用して、手術後の7日目および14日目に採点された（任意単位）：0は、角膜が透明であることを示す；1は、瞳孔未満の不透明度の領域を示す；2は、不透明度の領域が瞳孔より大きいことを示す；3は、不透明度の領域が角膜領域の2/3より大きいことを示す；および、4は、全体の角膜が不透明であることを示す。マウスは、ケタミンとキシラジンとの混合物を使用して、手術後の1日目に屠殺された。マウスの角膜は、切開され、5 mMのNaF、1 mMのPMSF、1 mMのDTT、20 mMのHEPES、1 mMのEDTA、400 mMのNaCl、1 mMのEGTA、0.1%のNP-40、およびプロテアーゼ阻害剤のカクテル生成物（Roche）を含有している氷冷の溶解緩衝液中に溶解された。分割量の角膜のタンパク質（20 μ g）が、ゲルの各レーンに充填され、ニトロセルロース膜上に移された。プロットは、平滑筋アクチン（10,000希釈；Abeam Inc., Cambridge, England）に特異的なウサギ抗体、また

はβ-アクチンに特異的な対照抗体のいずれかによって4℃で一晩プローブされた。プロットは、広範囲に洗浄され、ヤギ抗ウサギIRDye 800CW抗体(1:10,000の希釈比; LI-Cor Biosciences; Lincoln Nebraska)でインキュベートされた。膜は、Odysseyのイメージングシステム(LI-Cor Biosciences)を使用して、走査され、定量化された。図17Cは、TD339処置が、外傷を有する眼内での線維症を減少させたことを示す、ウェスタンブロットの写真である。被験体の角膜は、水酸化ナトリウムと接触させられ、14日間連続して毎日、50mMのTD139の量(10μl)を結膜下注入された。対照被験体は、ビヒクル(PBS)のみを結膜下注入された。角膜細胞溶解物(20ug)または対照β-アクチン物質は、ゲル電気泳動およびウェスタンブロットによって分析された。膜は、マウス抗SMA(平滑筋アクチン)抗体(図17Cの上の列)でプローブされたか、または対照抗体に特異的なβ-アクチン(図17Cの下の列)でプローブされた。TD139を注入された眼におけるSMA(平滑筋アクチン)発現レベルは、PBSを注入された対照の眼と比較して、30%減少されたことが観察された。

【図18】図18は、TD139処置が、眼内の網膜神経膠症を減少させたことを示す、ウェスタンブロットの一連の写真である。ネズミ被験体の角膜は、水酸化ナトリウムと接触させられた。50mMの溶液のTD139、10μlが、14日間連続して毎日、結膜下注入された。対照被験体は、PBS対照ビヒクルのみで結膜下注入された。被験体は、手術後の14日目にケタミンおよびキシラジンによって屠殺された。マウスの角膜は、切開され、5mMのNaF、1mMのPMSF、1mMのDTT、20mMのHEPES、1mMのEDTA、400mMのNaCl、1mMのEGTA、0.1%のNP-40、およびプロテアーゼ阻害剤のカクテル生成物(Roche)を含有している氷冷の溶解緩衝液中に溶解された。溶解物からの分割量の網膜のタンパク質(30μg)、または対照β-アクチン物質が、ゲル剤に充填され、ニトロセルロース膜上に移された。プロットは、神経膠線維酸性タンパク質(GFAP; 50,000希釈; Abcam Inc.; 図18の上の列)に特異的なウサギ抗マウス抗体、またはβ-アクチンに特異的な対照抗体のいずれかによって4℃で一晩プローブされた。GFAPは、網膜神経膠症を暗示する中間径フィラメントに対するマーカーである。対照プロットは、β-アクチンに特異的なウサギ抗体でプローブされた(図18の下の列)。プローブは、洗浄され、ヤギ抗ウサギIRDye 800CW抗体(1:10,000の希釈比; LI-Cor Biosciences)でインキュベートされた。膜は、Odysseyのイメージングシステム(LI-Cor Biosciences)を使用して、走査され、定量化された。TD139を注入された被験体からの網膜が、PBSを注入された対照被験体と比較して、GFAPの発現を減少させたことが観察された。

【発明を実施するための形態】

【0126】

血管新生、または予め存在する脈管構造からの新しい血管の成長は、胚発生、創傷治癒、および性機能などの、一連の正常過程、および腫瘍成長および腫瘍転移、イールズ病、血管新生緑内障、および加齢性黄斑変性などの眼の障害および疾病、虚血、糖尿病性微小血管障害、および関節リウマチに関係する(Markowska et al., 2011 J. of Bio Chem Vol. 286 (34): 29913-29921; and Ocular Angiogenesis: Diseases, Mechanisms, and Therapeutics (Ophthalmology Research) 1st edition, Joyce Tombran-Tink and Colin J. Barnstable (editors) Human press published April 1, 2006 pages 1-428、その各々は引用によってその全体が本明細書に組み込まれる)。血管新生は、基底膜および周囲細胞からの内皮細胞の解放(loosening)によって促進され、新しい毛細管腔の遊走、増殖、および最終的な形成を促進する(Olsson et al., 2006 Rev. Mol. Cell Biol. 7: pages 359-371)。多くのサイトカイン受容

体およびシグナル伝達因子の中で、VEGF-AおよびVEGF受容体2（VEGF-R2）とのその相互作用が、生理学および病理学的両方の血管新生のための主要な陽性信号伝達経路の構成要素として特定された。VEGF-R2に対するVEGF-Aの結合は、受容体の二量体化、キナーゼ活性化、および二量体複合体内の複数のチロシン残留物の自己リン酸化を促進する。自己リン酸化は、p42/44マップキナーゼ経路などの、細胞内シグナル伝達経路を活性化し、これは、内皮細胞の増殖、遊走、および生存に係る。

【0127】

ガラクトシド結合タンパク質のガレクチンファミリーのメンバーである、ガレクチン-3は、インビトロでの内皮細胞の遊走および毛細血管の形成を促進し、インビボでの血管新生を増強する（Markowska et al., 2011 J of Bio Chem Vol. 286 (34): 29913-29921、その全体が引用によって本明細書に組み込まれる）。VEGF-A媒介性の血管新生は、優性の陰性ガレクチン-3の付加によって、汎（pan）-ガレクチン阻害剤（例えば、ラクトース）によって、およびガレクチン-3のノックダウンによって、インビトロで減少される。さらに、VEGF-A誘発性の血管新生は、インビボでのGal3-ノーマウスで著しく減少された。

10

【0128】

原発性開放隅角緑内障（POAG）は、房水の不十分な流出が原因の眼内圧の上昇を特徴とする、主要な失明を引き起こす疾患である。房水流出経路を覆う（lining）線維柱帯網（TM）は、房水流出の能力（facility）を調整する（Diskin et al., 2009 Glycobiology 19 (1): 29-37、その全体が引用によって本明細書に組み込まれる）。TM細胞中のRhoshigナル伝達に影響を及ぼすTM細胞接着、細胞基質相互作用、および因子は、房水流出の調節に中心的な役割を果たす。ガレクチン-8タンパク質は、β1インテグリンに結合し、Rhoshigナル伝達を誘発することによって、TM細胞の接着および細胞骨格の配置を調整する。

20

【0129】

ガレクチン-8タンパク質は、TM細胞が、ガレクチン-1コーティングされたウェルまたはガレクチン-3コーティングされたウェルではなく、ガレクチン-8コーティングされたウェルに接着する及びその上に展着すると、TM細胞の接着および展着を媒介することが示された。本明細書において（Ibid.）、ガレクチン-8コーティングされたウェルに対するTM細胞の接着は、競合の糖、β-ラクトースを投与することによって、阻害されたか又は妨げられたが、スクロースなどの、非競合の糖を投与することによって阻害されなかった。ガレクチン-8タンパク質のアミノ末端の糖認識ドメイン（CRD）に特異的に結合する、三糖類、NeuAcα2-3Galβ1-4GlcNAcは、ガレクチン-8タンパク質コーティングされたウェルに対するTM細胞の展着を阻害した。対照的に、ガレクチン-8に対する親和性を欠くNeuAcα2-6Galβ1-4GlcNAcは、TM細胞の展着に効果がなかった。

30

ガレクチン-8の親和性カラムを有する細胞抽出液の親和性クロマトグラフィーおよび植物レクチン、イヌエンジュ（Maackia amurensis）およびセイヨウニワトコ（Sambucus nigra）を用いる結合実験は、α3β1、α5β1、およびαvβ1のインテグリンが、TM細胞中のガレクチン-8の主要な対抗受容体であること、およびそのTM細胞β1のインテグリンが、Gal1またはGal3ではなく、Gal8に対する高親和性のリガンドである、α2-3-シアル酸付加のグリカンを中心に運ぶ（carry）ことを明らかにしている。ガレクチン-8タンパク質は、インテグリン上のインテグリン上と相互作用することによって、TM細胞の接着および展着を調整する。

40

【0130】

ガレクチンは、糖認識ドメイン（CRD）を含有している（Nilsson et al., 2011年6月2日に公開された、米国特許公開番号2011/0130553、その全体が引用によって本明細書に組み込まれる）。CRDは、β-ガラクトース結合部位および約7つのアミノ酸（そのほとんど（約6つの残留物）が、β-ガラクトース結合部

50

位を作り上げる)の配列モチーフの十分な類似性の2つの特性を備える、約130のアミノ酸(約15 kDa)の強く折り重ねられた β -サンドイッチである。さらに、隣接する部位が、天然の糖類の強い結合に必要とされ、これらの異なる優先性(preferences)は、ガレクチンに、天然の糖類に対する異なる微細特異性を与えている。

【0131】

ヒト、マウスおよびラットのゲノム配列の完了は、種間でわずかな変動を有して、1つの哺乳動物ゲノムにおいて約15のガレクチンおよびのガレクチン様のタンパク質を明らかにしている(Leffler et al. 2004 Glycoconj. J. 19: 433-440; Houzelstein et al. 2004 Mol Biol Evol. 21 (7): 1177-1187)。

10

【0132】

ガレクチンのサブユニットは、単一のペプチド鎖内に1つまたは2つのCRDを含有している。第1カテゴリーの、モノ-CRDのガレクチンは、脊椎動物において単量体または二量体(2つのタイプ)として生じる。ガレクチン-1は二量体であり、ガレクチン-3は、溶液および凝集物(aggregates)中で単量体であり、リガンドと遭遇して多量体となる(Leffler et al. 2004 Glycoconj. J. 19: 433-440; Ahmad et al. 2004 J. Biol. Chem. 279: 10841-10847)。

【0133】

ガレクチンは、シグナルペプチドなしで、遊離型リボソーム上のサイトゾルタンパク質として合成される。ガレクチンタンパク質のN末端は、アセチル化され、サイトゾルタンパク質の典型的な修飾、およびガレクチンが、長い間サイトゾルにとどまる(分泌されたタンパク質の典型的ではない)。サイトゾルから、ガレクチンは、特定のサイトゾルの部位である、核に対して標的とされ、あるいはまだ知られていないが、インターロイキン-1、IL-1の排出(export)に恐らく類似した、非古典的(非ER-Gilgi)経路によって分泌される(誘発されるか又は構成的に)(Leffler et al., 2004 Glycoconj. J. 19: 433-440)。

20

【0134】

ガレクチンは、すべてのこれらの区画において機能する、例えば、ガレクチン-3は、核内のNAスプライシング、サイトゾル内のアポトーシスの阻害、および細胞シグナル伝達および接着に対する様々な細胞外の効果に関係する。ガレクチン-7およびのガレクチン-12は、アポトーシスを増強し、特定の細胞において細胞周期および分化を調節することによって、サイトゾルにおいて作用する(Leffler, H. . editor, (2004b) Special Issue on Galectins. Glycoconj. J. 19: 433-638)。ほとんどのガレクチンは、可能性として超分子の順序配列を形成することより糖タンパク質(例えば、ラミニン、インテグリン、およびlgE受容体)を交差結合することによって、細胞外で機能し(Brewer et al. 2002 Curr. Opin. Struct. Biol. 12: 616-623)、それによって、細胞接着を調節して、細胞内の信号を誘発する。ガレクチンタンパク質のためのアミノ酸配列および相同性のデータは、Panjwani、2010年1月7日に公開された、米国特許出願番号2010/0004163 A1で示され、その全体が引用によって本明細書に組み込まれる。

30

40

【0135】

作用の特定の理論または機構に限定されることなく、ガレクチンタンパク質が、血管新生の重要な調節物質であり、ガレクチンタンパク質の発現及び/又は活性の阻害剤が、VEGF受容体に結合することによりVEGFシグナル伝達を調整することによって血管新生を阻害することが本明細書で想定される。

【0136】

ガレクチン阻害剤

本明細書には、ガレクチンタンパク質の発現及び/又は活性のガラクトシド阻害剤を投

50

与することによって、眼の血管新生または眼の線維症を処置または予防するための、組成物、方法およびキットが提供される。特定の実施形態では、ガラクトシド阻害剤TD139は、ガレクチン-3タンパク質の活性を調整するために、および眼の血管新生または眼の線維症を阻害するために使用される。血管新生または線維症を阻害するための本明細書における様々な組成物、方法およびキットで使用されるガレクチン阻害剤は、例えば、Nilsson et al.、2004年7月29日に公開された、米国特許公開番号2004/0147730 A1（シリアルナンバー10/466,933）；Nilsson et al.、2007年8月7日に公開された、米国特許公開番号2007/0185039（シリアルナンバー11/561,124）；Leffler et al.、2007年8月9日に公開された、米国特許公開番号2007/0185041（シリアルナンバー11/561,465）；Nilsson et al.、2004年7月29日に公開された、米国特許公開番号2011/0130553（シリアルナンバー12/992,328）；およびLeffler et al.、2012年6月28日に公開された、米国特許公開番号2012/0165277（シリアルナンバー13/266,960）に見られ、その各々は引用によってその全体が本明細書に組み込まれる。

【0137】

本明細書に記載される、組成物、方法およびキットは、身体における他の所望のプロセスにマイナスの影響を与えることなく、血管新生または線維症を選択的に阻害および調整するために、ガレクチンタンパク質の阻害剤を使用する。ガレクチン阻害剤は、本明細書において、眼の血管新生のためのモデル系におけるVEGF受容体-2を介するVEGFシグナル伝達に関係する、血管新生経路を調整することが、実施例において示される。

【0138】

ガレクチン-3は、細胞表面滞留を引き延ばし、それ故、TGF- β 受容体の反応性を増強することが示され（Partridge et al. 2004 Science 306: 120-124）、これは、M2マクロファージへの代替的なマクロファージ分化を調節する（MacKinnon et al. 2008. J. Immun. 180: 2650-2658）。ガレクチン-3はまた、線維芽細胞の動員および活性化に中心的な役割を果たし、それ故、腎臓、肝臓および肺を含む様々な臓器において瘢痕組織を形成することが示された（MacKinnon et al Am J Respir Crit Care Med 2012; 185 (5): 537-46, Henderson et al Am J Pathol 2008: 172; 288, Henderson et al Proc Natl Acad Sci 2006: 103 (13); 5060）。作用の特定の理論または機構に限定されることなく、ガレクチン-3が、TGF- β シグナル伝達および代替的なマクロファージ分化の内因性の促進剤であり、ガレクチン-3阻害剤が、眼の線維症および有害な組織リモデリングを処置するのに有用であることが想定される。

【0139】

免疫組織化学的研究は、癌内のガレクチンに対する異常な発現のパターンおよびレベルを示した（van den Brule et al. and Bidon et al. in Leffler, H., editor, (2004b) Special Issue on Galectins. Glycoconj. J. 19: 433-638）。ガレクチン-3は、甲状腺癌の組織化学的マーカーであり、ガレクチン-4の新たな発現は、初期の乳癌の有望なマーカーである（Huflejt, M. E. and Leffler, H. 2004 Glycoconj. J. 20: 247-255; and Leffler et al. 2004 Glycoconj. J. 19: 433-440）。癌内のガレクチン-3の役割に対する証拠は、マウスモデルなどのモデル系で得られた（Takenaka et al. in Leffler, H., editor, (2004b) Special Issue on Galectins. Glycoconj. J. 19: 433-638）。（ガレクチン-3の減少または増加した発現とともに）対になった腫瘍細胞株を使用して、ガレクチン-3の誘導（inducti

ng) は被験体における腫瘍および転移の増加をもたらし、ガレクチン-3 の抑制は、結果として、より少ない腫瘍および転移をもたらした。

【0140】

作用の特定の理論または機構に限定されることなく、ガレクチンタンパク質（例えば、ガレクチン-3）の阻害剤が、眼内の血管新生または線維症の障害の阻害に有効である。

【0141】

活性化T細胞におけるガレクチン-1誘発性のアポトーシスは、インビボでの自己免疫性疾患に対する顕著な免疫抑制効果を有していた。癌内のガレクチンの過剰発現は、宿主（ルービンスタインら、2004年の癌細胞5:241-251）によって引き起こされたT細胞反応に対する腫瘍防御の助けとなるかもしれない。

【0142】

ガレクチン-1およびガレクチン-3の欠損マウスが作り出され（Poirier 2002 Biochem. Soc. Symp. 69: 95-103）、これらの被験体は、健康であり、通常、動物住宅疾病において再生することが観察された。ガレクチン-3欠損マウスに関する続く研究は、ガレクチン-1欠損マウスに対する、好中球およびマクロファージの機能、および骨形成、および神経および平滑筋の細胞の再生/分化における表現型を明らかにした（Leffler et al. 2004 Glycoconj. J. 19: 433-440; Poirier 2002 Biochem. Soc. Symp. 69: 95-103; およびWatt in Leffler, H., editor, (2004b) Special Issue on Galectins. Glycoconj. J. 19: 433-638）。ガレクチン-7およびガレクチン-9の欠損マウスは、動物住宅疾病において健康である。発現、特異性および他の特性の部位の違いによって、異なるガレクチンは互いに機能的に取って代わりにくくなる。ヌル変異体マウスの観察は、ガレクチンが、正常な動物住宅疾病で観察され得るような基本的な生命維持機能にとって不可欠ではないことを示すだろう。代わりに、ガレクチンタンパク質は、正常機能のオプティマイザー（optimizers）であり得る、及び/又は動物住宅疾病で見られないストレス状態で不可欠であり得る。ヌル変異体マウス中の強力な効果の欠如は、ガレクチン阻害剤を、潜在的薬物として、より好都合なものとし得る。レクチンタンパク質の阻害は、不要な副作用をより少なくする傾向がある。

【0143】

固相の結合はアッセイおよび阻害アッセイは、ガレクチンを結合する能力を有する糖類および糖複合体を特定した（Leffler et al. 2001 Galectins structure and function - a synopsis (In Mammalian Carbohydrate Recognition Systems Crocker, P., ed., pages 57-83; およびLeffler et al. 2004 Glycoconj. J. 19: 433-440によって検討された）。ガレクチンは、0.5-1mMの解離定数（ K_D ）でラクトースと結合する。 K_D は、結合定数の逆であり、より低い K_D は、分子間の増大した結合親和性を示す。ガレクチンに対するD-ガラクトースの結合親和性は、一般に、ガレクチンに対するラクトースの結合親和性よりも約50倍から100倍低い。N-アセチルラクトサミンおよび関連する二糖類の結合親和性は、これらの分子が、ガレクチンのサブセットの他に、ラクトース（約0.5-1mMの K_D ）、および他のガレクチンと、ラクトースよりも約10倍以上低く結合するために、可変的である。小さな糖類のリガンドは、ラクトースまたはlactNAc-残留物に付けられた血液型A-決定因子を運ぶガレクチン-3タンパク質の結合に有効であり、ラクトースに対する結合親和性より約50倍高く結合することが観察された。ガレクチン-1は、これらの糖類に対する優先性を示さない。

【0144】

ポリラクトサミン型のより大きな糖類は、ガレクチン-1ではなく、ガレクチン-3タンパク質などのガレクチンに対する好ましいリガンドとして提案された（Leffler et al. 1986 J. Biol. Chem. 261: 10119-1012

10

20

30

40

50

6)。修飾された植物ペクチン多糖類は、ガレクチン-3に結合すると測定された (Pienta et al., 1995 J Natl Cancer Inst., 1995 Mar 1; 87 (5): 348-53)。

【0145】

ガレクチン-3リガンドとして特定された上述の天然の糖類は、医薬組成物中の有効成分としての使用に適しておらず、なぜなら、それらは、胃内の酸性の加水分解および酵素分解に弱いからである。さらに、天然の糖類は、本質的に親水性であり、経口投与後に消化管から容易に吸収されない。

【0146】

阻害剤の合成

抗癌活性を有するアミノ酸に連結された糖類は、血清中の天然の化合物であり、合成アナログが作られた (Glinsky et al., 196 Cancer Res 56: 5319-5324)。アミノ酸に連結されたラクトースまたはガラクトースを有する糖類は、ガレクチンを阻害し、対応する非誘導体化された (underivatized) 糖と同じ効能を有する。かんきつペクチンの化学修飾された形態 (Platt et al., 1992 J. Natl. Cancer. Inst., 84: 438-442) は、ガレクチン-3の阻害剤およびインビボでの抗腫瘍薬剤として記載された (Pienta et al., 1995 J. Natl. Cancer Inst., 94: 1854-1862)。

【0147】

天然のオリゴ糖、糖クラスター、糖デンドリマー、および糖コポリマーは、身体に効果的に吸収する、および幾つかの場合に、患者内で免疫反応を生成するには、あまりにも極性である且つ大き過ぎる。さらに、それらは、胃内の酸性の加水分解および酵素加水分解に弱い。

【0148】

チオジガラクトシド分子は、合成的であり、加水分解的に安定しており、およびN-アセチルラクトサミンと略同じくらい効率的である (Leffler et al., 1986 J. Biol. Chem., 261: 10119-10126)。ペンタペプチドのライブラリーは、ガラクトースの K_D 値と同様の K_D 値を有している、ガレクチン-1および-3のタンパク質の低親和性阻害剤を得るために使用された (Arnusch et al., 2004 Bioorg. Med. Chem. Lett., 14: 1437-1440)。さらに、ペプチドは、加水分解に弱く、典型的に極性であるために、インビボでガレクチンを標的のためのそれほど理想的な薬剤ではない。C-3'での芳香族アミドまたは置換されたベンジルエーテルを運ぶN-アセチルラクトサミン誘導体は、ガレクチン-3の非常に効率的な阻害剤であって、 $4.8 \mu M$ もの低い IC_{50} 値を有し、これは、天然のN-アセチルラクトサミンの二糖類と比較して、20倍の阻害の改善である (Sorme Pet al., 2002 Chembiochem., 3 (2-3): 183-189; および Sorme Pet al., 2003 Methods Enzymol., 363: 157-169)。N-アセチルラクトサミン誘導体は、芳香族アミド部分の存在が原因で、全体的にそれほど極性ではなく、それ故、インビボでのガレクチンの阻害のための薬剤としてより適切である。さらに、C3-トリアゾリルガラクトシドは、幾つかのガレクチンの対応するC3-アミドと同じくらい強力な阻害剤であることが実証された。したがって、あらゆる適切に構造化されたガラクトースC3-置換基が、増強されたガレクチン親和性を与え得る。

【0149】

C3-アミド-およびC3-トリアゾリル誘導体化された化合物は、ガラクトースおよびN-アセチルラクトサミンの糖類部分におけるグリコシド結合の存在が原因で、インビボでの加水分解に弱く、それらは、ガレクチン-3の強力な小分子阻害剤であるが、さらなる親和性および安定性さえも望まれる。したがって、チオジガラクトシドの3, 3'-ジアミド-または3, 3'-ジトリアゾリル-誘導体化に基づく阻害剤が開発され (Cu

10

20

30

40

50

mpstey et al. 2005 Angew. Int. Ed. 44:5110-5112; Cumpstey et al. 2008 Chem. Eur. J. 14:4233-4245; および Dam et al. 2008 Biochemistry 47:8470-8476; 国際出願番号 WO2005113569 および WO2005113568、米国特許公開番号 2007/185041、および米国特許第 7,638,623 B2 号、その各々は、引用によってその全体が本明細書に組み込まれる）、これは、O-グリコシドの加水分解的に及び酵素学的に不安定な結合を欠いている。

【0150】

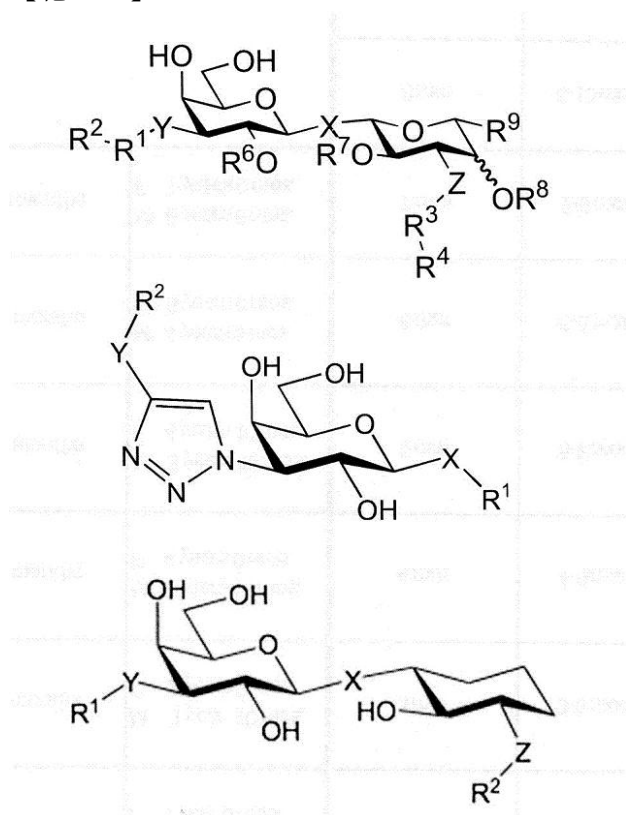
しかしながら、3, 3' 誘導体化されたチオジガラクトシドは、3-N 誘導体化されたガラクトース構築ブロックを得るための二重反転反応に関係する多段階の合成を含む欠点を有する。さらに、チオジガラクトシド分子における 1 つのガラクトース環のシクロヘキサン置換は、ガラクトース環を模倣し、これらのガレクチン-1 および-3 の阻害剤に、ジアミド-およびジトリアゾリル-チオジガラクトシドの誘導体に近い効率を提供する（国際公開番号 WO2010/126435、その全体が引用によって組み込まれる）。D-ガラクトピラノースのユニットの、置換されたシクロヘキサンとの置き換えは、極性に加えて代謝感受性も減少させ、それによって、薬物のような特性を改善する。

【0151】

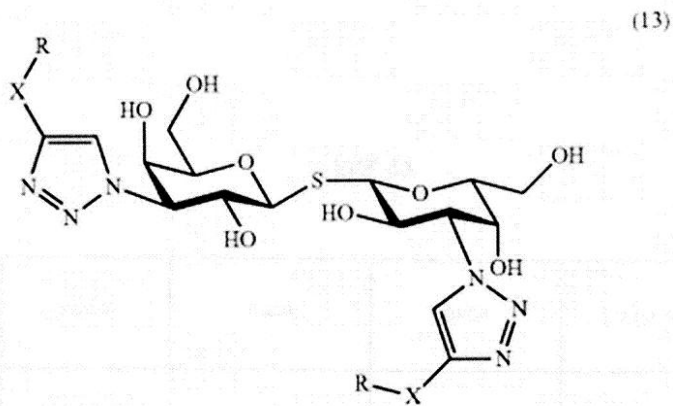
既知の化合物は、以下に示される一般式を有し：

【0152】

【化 12】



【化 1 3】



式中、第 2 構造において、R 1 は、D ガラクトースであり得る。

【0153】

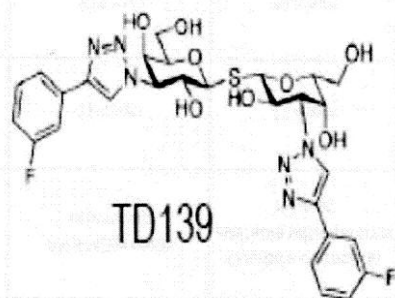
例えばガラクトシドおよび中間物のためにガレクチンタンパク質阻害剤を合成的に調製する方法が、Nilsson et al.、2004 年 7 月 29 日に公開された、米国公開番号 2004/0147730 A1 (シリアルナンバー 10/466, 933) ; Nilsson et al.、2007 年 8 月 7 日に公開された、米国公開番号 2007/0185039 (シリアルナンバー 11/561, 124) ; Leffler et al.、2007 年 8 月 9 日に公開された、米国公開番号 2007/0185041 (シリアルナンバー 11/561, 465) ; Nilsson et al.、2004 年 7 月 29 日に公開された、米国公開番号 2011/0130553 (シリアルナンバー 12/992, 328) ; および Leffler et al.、2012 年 6 月 28 日に公開された、米国特許公開番号 2012/0165277 (シリアルナンバー 13/266, 960) 、に記載され、その各々は、引用によってその全体が本明細書に組み込まれる。ガラクトシドを合成する方法は、3-アジド-ガラクトシルチウロニウム塩誘導体 (これは、対応するインサイツのチオールに対して活性化される) を、3, 3'-ジ-アジド-チオ-ガラクトシドを結果としてもたらす 3-アジド-ガラクトシルブロミドと反応させる工程を含む。

【0154】

特定の実施形態では、眼内の血管新生または線維症を阻害するための医薬組成物は、ビス- (3-デオキシ-3- {3-フルオロフェニル-1H-1, 2, 3-トリアゾル-1-イル} -β-D-ガラクトピラノシル) スルファンを含み、これは以下に示される構造を有し：

【0155】

【化 1 4】



それによって、化合物は、被験体の眼内の血管新生を阻害する。Mackinnon et al. Am. J. Respir. Crit. Care Med. March 1, 2012 vol. 185 no. 5537-546 を参照し、これはその全体が引

10

20

30

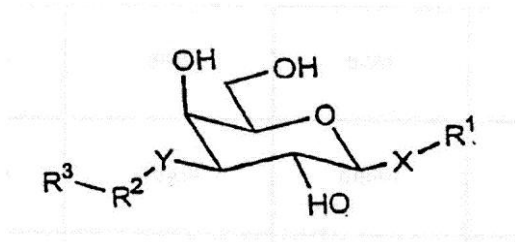
40

50

用によって本明細書に組み込まれる。様々な実施形態では、組成物は、誘導体化または機能化される、ベーターガラクトシドであり、例えば、組成物は、以下の一般式を有し：

【0156】

【化15】



10

ピラノース環の構成は、D-ガラクトであり；Xは、O、S、NH、CH₂、およびNR⁴から成る群から選択されるか、または単結合であり；Yは、NH、CH₂、およびNR⁴から成る群から選択されるか、または単結合であり；R¹は、糖類；水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基、および複素環から成る群から選択され；R²は、CO、SO₂、SO、PO、およびPO₂から成る群から選択され；R³は、少なくとも4つの炭素原子のアルキル基、少なくとも4つの炭素原子のアルケニル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4つの炭素原子のアルキル基またはアルケニル基、カルボキシ基とアミノ基の両方で置換された少なくとも4つの炭素原子のアルキル基、およびハロゲンで置換された少なくとも4つの炭素原子のアルキル基；フェニル基、カルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、アルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンおよび少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンと少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、ニトロ基で置換されたフェニル基、スルフォ基で置換されたフェニル基、アミン基で置換されたフェニル基、水酸基で置換されたフェニル基、カルボニル基で置換されたフェニル基、および置換されたカルボニル基で置換されたフェニル基；あるいはフェニルアミノ基、から成る群から選択され；およびR⁴は、水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基、および複素環から成る群から選択される。様々な実施形態では、組成物は、非代謝性であるか、代替的に、様々な実施形態における組成物は、代謝可能である。

20

30

【0157】

特定の実施形態では、糖類（R¹）は、グルコース、マンノース、ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、フコース、フルクトース、キシロース、シアル酸、グルクロン酸、イズロン酸、二糖類、または上述の糖類の少なくとも2つを含むオリゴ糖、およびそれらの誘導体、から成る群から選択され、特定の実施形態では、YはNHであり、XはOであり、およびハロゲンは、F、Cl、BrおよびIから成る群から選択される。

【0158】

特定の実施形態における組成物は、メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-（3-〔3-カルボキシプロパンアミド〕-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル）-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-（3-〔（{Z}）-3-カルボキシプロパンアミド〕-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル）-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-（3-ベンズアミド-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル）-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-（3-〔2-カルボキシベンズアミド〕-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル）-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-（3-〔4-メトキシ-2, 3, 5, 6-テトラフルオロベンズアミド〕-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル）-β-D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-（3-〔2-カルボキシ-3, 4, 5, 6-テトラフルオロベンズアミド〕-3-デオキシ

40

50

β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-メタンスルホンアミド-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[4-ニトロベンゼンスルホンアミド]-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-フェニルアミノカルボニルアミノ-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド；メチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-アミノアセトアミド-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド；およびメチル2-アセトアミド-2-デオキシ-4-O-(3-[2S]-2-アミノ-3-カルボキシプロパンアミド)-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)- β -D-グルコピラノシド、から成る群から選択される。

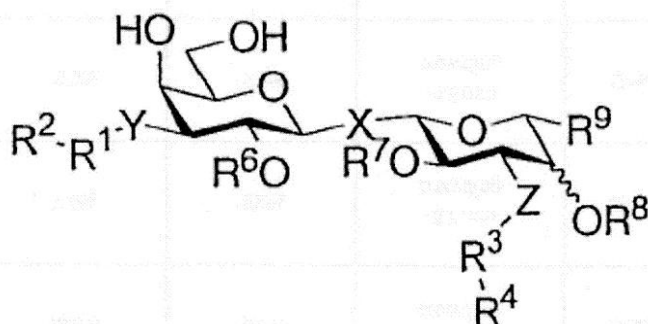
10

【0159】

様々な実施形態における組成物は、以下の一般式を有し：

【0160】

【化16】



20

それによって、ピラノース環の1つの構成は、 β -D-ガラクトであり；Xは、O、S、SO、SO₂、NH、CH₂、およびNR⁵から成る群から選択され、Yは、O、S、NH、CH₂、およびNR⁵から成る群から選択されるか、または単結合であり；Zは、O、S、NH、CH₂、およびNR³から成る群から選択されるか、または単結合であり；R¹およびR³は、CO、SO₂、SO、PO₂、PO、およびCH₂から成る群から独立して選択されるか、または単結合であり；およびR²およびR⁴は、少なくとも4つの炭素のアルキル基、少なくとも4つの炭素のアルケニル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4つの炭素のアルキル基、カルボキシ基で置換された少なくとも4つの炭素のアルケニル基、アミノ基で置換された少なくとも4つの炭素のアルキル基、アミノ基で置換された少なくとも4つの炭素のアルケニル基、アミノ基とカルボキシ基の両方で置換された少なくとも4つの炭素のアルキル基、アミノ基とカルボキシ基の両方で置換された少なくとも4つの炭素のアルケニル基、および1つ以上のハロゲンで置換されたアルキル基；または少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのスルフォ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つの水酸基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたフェニル基、および少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたフェニル基；またはナフチル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのスルフォ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたナフチル基、

30

40

50

ル基、少なくとも1つの水酸基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたナフチル基、および少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたナフチル基；あるいはヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのニトロ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのスルフォ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルキルアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのジアルキルアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つの水酸基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたヘテロアリール基、および少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたヘテロアリール基、からなる群から独立して選択される。R⁶ および R⁸ は、水素、アシル基、アルキル基、ベンジル基、および糖類から成る群から独立して選択される。R⁷ は、水素、アシル基、アルキル基、およびベンジル基から成る群から選択される。R⁹ は、水素、メチル基、ヒドロキシメチル基、アシルオキシメチル基、アルコキシメチル基、およびベンジルオキシメチル基から成る群から選択される。

【0161】

特定の実施形態では、YはNHであり、ZはNHであり、XはSであり、R¹はCOであり、R³はCOであり、R²またはR⁴は、芳香族化合物、例えば、芳香環であり；R⁶、R⁷、およびR⁸は、水素であり；あるいは、R⁹は、ヒドロキシメチル基であり、特定の実施形態では、組成物は、ビスー（3-デオキシ-3-ベンズアミド-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン、ビスー（3-デオキシ-3-（3-メトキシベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-（3, 5-ジメトキシベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（4-ニトロベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（2-ナフトアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（4-メトキシベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（3-ニトロベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-〔4-（ジメチルアミノ）-ベンズアミド〕-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（4-メチルベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（4-クロロベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（4-tert-ブチルベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（4-アセチルベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）；ビスー（3-デオキシ-3-〔2-（3-カルボキシ）-ナフトアミド〕-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー〔3-デオキシ-3-（3, 4-メチレンジオキシ）ベンズアミド〕-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（4-メトキシカルボニルベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（3-カルボキシベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（3-ベンジルオキシ-5-ヒドロキシ-ベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（3, 5-ジベンジルオキシベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（3-ベンジルオキシ-5-メトキシ-ベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（3-ベンジルオキシ-5-ノニロキシ-ベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-（3-ヒドロキシ-5-メトキシ-ベンズアミド）-β-D-ガラクトピラノシル）スルファン；ビスー（3-デオキシ-3-〔3-ベンジルオキシ-5-（4-フルオロ-ベンジルオキシ）-ベンズアミド〕-β-D-ガラク

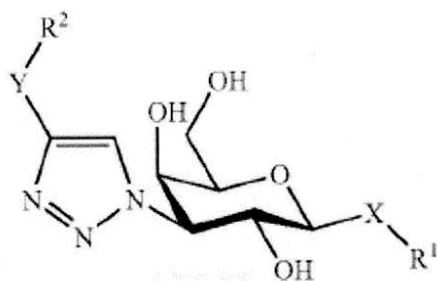
トピラノシル) スルファン; ビスー (3-デオキシ-3- [3-メトキシ-5-(4-メチル-ベンジルオキシ)-ベンズアミド] -β-D-ガラクトピラノシル) スルファン; あるいはビスー (3-デオキシ-3-(3-アリルオキシ-5-ベンジルオキシ-ベンズアミド) -β-D-ガラクトピラノシル) スルファン、である。

【0162】

様々な実施形態における組成物は、3-トリアキソリル (triaxolyl) -ガラクトシドを含み、例えば、組成物は、以下に示される一般式を有し：

【0163】

【化17】



それによって、ピラノース環の構成は、D-ガラクトであり；Xは、O、S、H、CH₂、およびNR⁴から成る群から選択されか、または単結合であり；Yは、CH₂、CO、SO₂、SO、PO₂およびPO、フェニルから成る群から選択されか、または単結合であり；R¹は、糖類；置換された糖類；D-ガラクトース；置換されたD-ガラクトース；C3-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル置換されたD-ガラクトース；水素、アルキル基、アルケニル基、アリール基、ヘテロアリール基、および複素環、ならびにそれらの誘導体；あるいはアミノ基、置換されたアミノ基、イミノ基、または置換されたイミノ基、から成る群から選択され；およびR²は、水素、アミノ基、置換されたアミノ基、アルキル基、置換されたアルキル基、アルケニル基、置換されたアルケニル基、アルキニル基、置換されたアルキニル基、アルコキシ基、置換されたアルコキシ基、アルキルアミノ基、置換されたアルキルアミノ基、アリールアミノ基、置換されたアリールアミノ基、アリールオキシ基、置換されたアリールオキシ基、アリール基、置換されたアリール基、ヘテロアリール基、置換されたヘテロアリール基、および複素環、置換された複素環、から成る群から選択される。

【0164】

様々な実施形態における糖類は、グルコース、マンノース、ガラクトース、N-アセチルグルコサミン、N-アセチルガラクトサミン、フコース、フルクトース、キシロース、シアル酸、グルクロン酸、イズロン酸、ガラクトツロン酸、上述の糖類の少なくとも2つを含む、二糖類またはオリゴ糖、およびそれらの誘導体、から成る群から選択される。

【0165】

組成物の様々な実施形態では、Yは、CO、SO₂、または単結合であり；R²は、アミンまたはアリール基であり；R¹は、ガラクトース、グルコース、またはN-アセチルグルコサミンであり；R¹は、置換されたガラクトース、グルコース、またはN-アセチルグルコサミンであり；R¹は、C3-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル置換されたガラクトースであり；あるいはXは、OまたはSである。

【0166】

組成物の様々な実施形態では、R²は、置換されたフェニル基であり、ここで前記置換されたフェニル基は、ハロゲン、アルコキシ、アルキル、ニトロ、スルフォ、アミノ、ヒドロキシ基またはカルボニル基から成る群から選択される1つ以上である。

【0167】

様々な実施形態における組成物は、メチル3-デオキシ-3-(1H-[1, 2, 3]-トリアゾルー1-イル)-1-チオ-β-ガラクトピラノシド；メチル3-デオキシ-

10

20

30

40

50

3-(4-プロピル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-(4-メトキシカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-デオキシ-3-(4-(1-ヒドロキシ-1-シクロヘキシル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-デオキシ-3-(4-フェニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-デオキシ-3-(4-p-トリルスルフォニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-(4-メチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-(4-ブチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-(4-ベンジルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-{4-(3-ヒドロキシプロプ-1-イルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-{4-[2-(N-モルホリノ)-エチルアミノカルボニル]-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-3-デオキシ-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-(4-メチルアミノカルボニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル-(1→4)-2-アセトアミド-2-デオキシ-β-D-グルコピラノシド、
 ビス-(3-デオキシ-3-(4-(メチルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル)-β-D-ガラクトピラノシル)スルファン、メチル 3-デオキシ-3-{4-(2-フルオロフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-デオキシ-3-{4-(2-メトキシフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-デオキシ-3-{4-(3-メトキシフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-デオキシ-3-{4-(4-メトキシフェニル)-H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-デオキシ-3-{4-(3, 5-ジメトキシフェニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-デオキシ-3-{4-(1-ナフチル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-デオキシ-3-{4-(2-ナフチル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-デオキシ-3-{4-(2-ピリジル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-デオキシ-3-{4-(3-ピリジル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; メチル 3-デオキシ-3-{4-(4-ピリジル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル}-1-チオ-β-D-ガラクトピラノシド; O-{3-デオキシ-3-[4-フェニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}-3-インドル-カルバルドキシム; O-{3-デオキシ-3-[4-(メチルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}-3-インドル-カルバルドキシム; O-{3-デオキシ-3-[4-フェニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}-(2-ヒドロキシ-5-ニトロフェニル)-カルバルドキシム; O-{3-デオキシ-3-[4-(メチルアミノカルボニル)-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}-(2-ヒドロキシ-5-ニトロフェニル)-カルバルドキシム; O-{3-デオキシ-3-[4-フェニル-1H-[1, 2, 3]-トリアゾル-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}-(2, 5-ジヒドロキシフェニル)-カルバルドキシム; O-{3-デオキシ-3

10

20

30

40

50

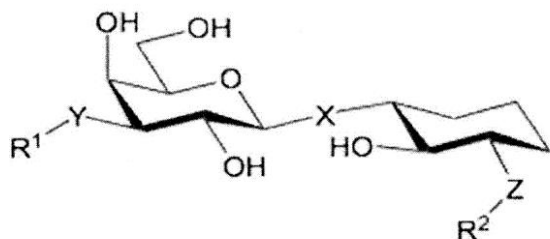
－[4－(メチルアミノカルボニル)－1H－[1, 2, 3]－トリアゾル－1－イル]－β-D-ガラクトピラノシル}－(2, 5-ジヒドロキシフェニル)－カルバルドキシム；O－{3-デオキシ-3－[4-フェニル－[1H－[1, 2, 3]－トリアゾル－1－イル]－β-D-ガラクトピラノシル}－1-ナフチル－カルバルドキシム；あるいはO－{3-デオキシ-3－[4－(メチルアミノカルボニル)－1H－[1, 2, 3]－トリアゾル－1－イル]－β-D-ガラクトピラノシル}－1-ナフチル－カルバルドキシム、である。

【0168】

様々な実施形態における組成物は、チオジガラクトシドを有し、例えば、組成物は、以下に示される一般式を有し：

【0169】

【化18】



それによって、ピラノース環の構成は、D-ガラクトであり；Xは、O、S、およびSOから成る群から選択され；YおよびZは、CONHまたは1H-1, 2, 3-トリアゾール環から独立して選択され；R¹およびR²は、少なくとも4つの炭素のアルキル基、少なくとも4つの炭素のアルケニル基、少なくとも4つの炭素のアルキニル基；カルバモイル基、アルキル基で置換されたカルバモイル基、アルケニル基で置換されたカルバモイル基、アルキニル基で置換されたカルバモイル基、アリール基で置換されたカルバモイル基、置換されたアルキル基で置換されたカルバモイル基、および置換されたアリール基で置換されたカルバモイル基；少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルキル基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのトリフルオロメチル基で置換されたフェニル基；少なくとも1つのトリフルオロメトキシ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのスルフォ基で置換されたフェニル基、少なくとも1つの水酸基で置換されたフェニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたフェニル基、および少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたフェニル基；ナフチル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルキル基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのスルフォ基で置換されたナフチル基、少なくとも1つの水酸基で置換されたナフチル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたナフチル基、および少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたナフチル基；ヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのスルフォ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つの水酸基で置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたヘテロアリール基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたヘテロアリール基、および少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたヘテロアリール基；およびチエニル基、少なくとも1つのカルボキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたチエニル基、少なくとも1つのアルコキシ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのスルフォ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つのアリールアミノ基で置換されたチエニル基、少なくとも1つの水酸基で置換

10

20

30

40

50

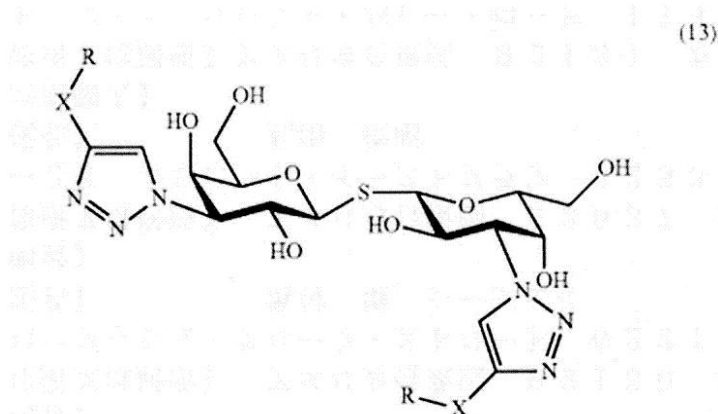
されたチエニル基、少なくとも1つのハロゲンで置換されたチエニル基、少なくとも1つのカルボニル基で置換されたチエニル基、および少なくとも1つの置換されたカルボニル基で置換されたチエニル基、から成る群から独立して選択される。

【0170】

様々な実施形態における組成物は、化学式を有し、式中、YはCONHであり；CONH基は、N原子を介してピラノース環に連結され；Zは、CONHであり、例えば、CONH基は、N原子を介してシクロヘキサンに連結され；あるいは、Yは、1H-1, 2, 3-トリアゾール環であり、例えば、1H-1, 2, 3-トリアゾール環は、N1原子を介してピラノース環に連結される。組成物の様々な実施形態では、R¹は、1H-1, 2, 3-トリアゾール環のC4原子に連結され；Zは、1H-1, 2, 3-トリアゾール環であり、例えば、1H-1, 2, 3-トリアゾール環は、N1原子を介してシクロヘキサンに連結され；あるいは、R²は、1H-1, 2, 3-トリアゾール環のC4原子に連結される。様々な実施形態では、組成物は、ジガラクトシドを含み、例えば、組成物は、以下の一般式(13)を含み：

【0171】

【化19】



式中、ピラノース環の少なくとも1つの構成は、D-ガラクトであり；Xは、単結合であり；Rは、任意の位置で、メチル、エチル、イソプロピル、tert-ブチル、フルオロ、クロロ、ブロモ、およびトリフルオロメチルから成る群から選択される1つ以上の置換基で置換される、フェニル基であるか、あるいはRはチエニル基である。

【0172】

組成物の様々な実施形態では、Rは、任意の位置で、フルオロ、クロロ、およびブロモから成る群から選択される1つ以上の置換基で置換される、フェニル基である。例えば、Rは、任意の位置で、フルオロから選択される1つ以上の置換基で置換される、フェニル基である。典型的には、両方のピラノース環の構成は、D-ガラクトである。

【0173】

本明細書で使用されるような用語「アルキル基」は、単結合によって結合される水素および炭素原子のみから成る、化学化合物を含む。例えば、アルキル基は、約1つの炭素原子から約7つの炭素原子を含み、様々な実施形態では、約1つの炭素原子から約4つの炭素原子を含む。アルキル基は、直鎖または分枝鎖であってもよく、3、4、5、6、または7つの炭素原子などの、3乃至7の炭素原子を含む環(cycle)も形成し得る。したがって、アルキルは、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、3-メチルブチル、2, 2-ジメチルプロピル、n-ヘキシル、2-メチルペンチル、2, 2-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、n-ヘプチル、2-メチルヘキシル、2, 2-ジメチルペンチル、2, 3-ジメチルペンチル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、および1-メチルシクロプロピルのいずれかを指す。

【0174】

本明細書で使用されるような用語「アルケニル基」は、少なくとも1つの二重結合を含む任意の官能基または置換基である。アルケニル基は、約2つの炭素原子から約7つの炭素原子を含む。アルケニル基は、ビニル、アリル、ブター1-エニル、ブター2-エニル、2, 2-ジメチルエテニル、2, 2-ジメチルプロプ-1-エニル、ペンター1-エニル、ペンター2-エニル、2, 3-ジメチルブター1-エニル、ヘキサ-1-エニル、ヘキサ-2-エニル、ヘキサ-3-エニル、プロプ-1, 2-ジエニル、4-メチルヘキサ-1-エニル、シクロプロプ-1-エニル基のいずれか、および他のものを含む。

【0175】

本明細書で使用されるような用語「アルキル化された」は、アルキル基で置換されることを意味する。本明細書で使用されるような用語「アルケニル化された」は、アルケニル基で置換されることを指す。

10

【0176】

本明細書で使用されるような用語「アリール基」は、芳香環に由来し、約4つの炭素原子から約12の炭素原子を有している、任意の官能基または置換基を指す。アリール基は、例えば、フェニル基またはナフチル基であり得る。前述の基は、有機化学の技術分野内で、任意の他の既知の置換基で置換されてもよい。基はまた、置換基の2つ以上で置換されてもよい。置換基の例は、ハロゲン、アルキル、アルケニル、アルコキシ、ニトロ、スルフォ、アミノ、ヒドロキシ、およびカルボニルの基である。ハロゲン置換基は、ブロモ、フルオロ、ヨード、およびクロロである。アルキル基は、例えば、約1つの炭素原子から約7つの炭素原子を含む。アルケニル基は、例えば、2つの炭素原子または4つの炭素原子などの、2乃至7の炭素原子を含む。アルコキシ基は、不飽和の炭素原子を含有し得る、1つの炭素原子から7つの炭素原子を含む。置換基の組み合わせは、トリフルオロメチルなどとして存在すし得る。

20

【0177】

本明細書で使用されるような用語「アルコキシ基」は、例えば、約1つの炭素原子から約7つの炭素原子などの、酸素に結合される炭素原子を含む、官能基または置換基である。アルコキシ基は、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、n-ブトキシ基、sec-ブトキシ基、tert-ブトキシ基、ペントキシ基、イソペントキシ基、3-メチルブトキシ基、2, 2-ジメチルプロポキシ基、n-ヘキソキシ基、2-メチルペントキシ基、2, 2-ジメチルブトキシ基、2, 3-ジメチルブトキシ基、n-ヘ

30

【0178】

本明細書で使用されるような用語「アルキルアミノ基」は、孤立電子対を有する窒素原子に結合したアルキル基（約1つの炭素原子から約7つの炭素原子）を含む、官能基または置換基である。例えば、アルキル基は、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、sec-ブチル、tert-ブチル、ペンチル、イソペンチル、3-メチルブチル、2, 2-ジメチルプロピル、n-ヘキシル、2-メチルペンチル、2, 2-ジメチルブチル、2, 3-ジメチルブチル、n-ヘプチル、2-メチルヘキシル、2, 2-ジメチルペンチル、2, 3-ジメチルペンチル、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、および1-メチルシクロプロピルのいずれかである。

40

【0179】

本明細書で使用されるような用語「アリールアミノ基」は、アンモニアの誘導体に結合されるアリール基であり、アンモニアの誘導体は、孤立電子対を有する塩基性窒素原子を含有している。アリールアミノ基は、例えば、約4つの炭素原子から約7つの炭素原子を有しているアリール基を有する。アリールアミノ基は、例えば、アニリン、カルボキシル化されたアニリン、ハロゲン化されたアニリンであり、ハロゲンは、上に定義されている

50

通りである。

【0180】

本明細書で使用されるような用語「アリールオキシ基」は、酸素に結合したアリール官能基である。例えば、アリールオキシ基は、約4つの炭素原子から約12の炭素原子を含む。アリールオキシ基は、フェノール、カルボキシ化されたフェノールまたはハロゲン化されたフェノールであり得、ハロゲンは、上に定義された通りである。

【0181】

本明細書で使用されるような用語「ヘテロアリール基」は、約4つの炭素原子から約18の炭素原子を含むアリール基であり、環の少なくとも1つの原子は、ヘテロ原子であり、すなわち、炭素ではない。様々な実施形態では、ヘテロ原子は、N、OまたはSである。特定の実施形態におけるヘテロアリール基は、ピリジン、またはインドールの基である。

10

【0182】

前述の基は、有機化学の技術分野内で、任意の他の既知の置換基で置換されてもよい。基はまた、置換基の2つ以上で置換されてもよい。置換基の例は、ハロゲン、アルコキシ、ニトロ、スルフォ、アミノ、ヒドロキシ、およびカルボニルの基である。ハロゲン置換基は、ブロモ、フルオロ、ヨード、およびクロロである。様々な実施形態では、アルキル基は、約1つの炭素原子から約7つの炭素原子を含む。様々な実施形態におけるアルケニル基は、約2つの炭素原子から約7つの炭素原子を含む。様々な実施形態におけるアルコキシは、約1つの炭素原子から約7つの炭素原子、好ましくは、1乃至4つの炭素原子を含み、不飽和の炭素原子を含有し得る。

20

【0183】

本明細書で使用されるような用語「被験体」は、様々な実施形態において、哺乳動物を指し、ヒト、霊長類、家畜動物（例えば、ヒツジ、ブタ、牛、馬、およびロバ）、実験動物（例えば、マウス、ウサギ、ラット、およびモルモット）、ペット（例えば、犬および猫）、および高価な動物園での動物および野生動物（例えば、狐、カンガルー、象、およびシカ）を含む。

【0184】

ポリヌクレオチド阻害剤

本発明の実施形態は、本明細書において、眼の血管新生または眼の線維症、眼の血管新生に関連する障害または眼の線維症に関連する障害を阻害または予防するための方法を提供し、該方法は、細胞または組織を、ガレクチンタンパク質の阻害剤または調節物質、または調節物質の発現のソースを含む、医薬組成物と接触させる工程を含む。例えば、阻害剤は、インサイツまたはエキソビボで投与された組換え生成されたタンパク質である。用語「組換え型 (recombinant)」は、遺伝子組換え体、例えば、培養中の微生物または真核細胞の操作によって生成されたタンパク質を指す。

30

【0185】

本発明の実施形態では、組成物、方法およびキットは、阻害剤である調節物質のソースを含み、例えば、阻害タンパク質をコード化するポリヌクレオチド配列は、組換え型DNA分子へと操作されて、阻害タンパク質またはその一部の発現を、適切な宿主細胞へと配向する。生物学的に活性な阻害剤を発現するために、阻害剤をコード化するヌクレオチド配列、または機能的に同等な配列は、適切な発現ベクター、すなわち、阻害タンパク質のアミノ酸配列をコード化するヌクレオチド配列に操作可能に連結された、挿入されたコード配列の転写および翻訳を調節する要素をコード化する必要な核酸を含む、ベクターへと挿入される。

40

【0186】

例えば、適切な転写および翻訳の調節要素に操作可能に連結されたタンパク質またはペプチドをコード化する核酸配列を包含している、発現ベクターを構築するために、当業者に周知である方法が使用される。これらの方法は、インビトロでの組換え型DNA技術、合成技術、およびインビボでの組換え又は遺伝子組換えを含む。Sambrook et

50

al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview, NY, 1989において技術が記載されている。

【0187】

様々な市販の発現ベクター／宿主のシステムが、タンパク質またはペプチドをコード化する配列を含む及び発現するのに有用である。これらは、限定されないが、組換え型のバクテリオファージ、プラスミドまたはコスミドDNA発現ベクターによって形質転換された細菌；酵母発現ベクターによって形質転換された酵母；ウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウイルス）と接触させられた昆虫細胞系；ウイルス発現ベクター（例えば、カリフラワー・モザイク・ウイルス、CaMV；タバコモザイクウイルス、TMV）によって形質移入された、または細菌の発現ベクター（例えば、Ti、pBR322、またはpET25bプラスミド）によって形質転換された、植物細胞系；あるいは動物細胞系、などの微生物を含む。Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, NY, 1989を参照。

10

【0188】

ウイルスベクターは、限定されないが、アデノウイルスベクター、レンチウイルスベクター、レトロウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクター、およびヘルパー依存性のアデノウイルスベクターを含む。例えば、ベクターは、本明細書に示されるように筋サテライト細胞の分化転換を調整する転写（transcription）に結合する転写因子または薬剤をコード化する、核酸配列を送達する。アデノウイルス・パッケージング・ベクターは、American Type Tissue Culture Collection (Manassas, VA) から市販で入手可能である。アデノウイルスベクターを構築し、アデノウイルスベクターを使用する方法は、Klein et al., Ophthalmology, 114:253-262, 2007 and van Leeuwen et al., Eur. J. Epidemiol., 18:845-854, 2003に示される。

20

【0189】

アデノウイルスベクターは、真核細胞遺伝子の発現（Levrero et al., Gene, 101:195-202, 1991）およびワクチン開発（Graham et al., Methods in Molecular Biology: Gene Transfer and Expression Protocols 7, (Murray, Ed.), Humana Press, Clifton, NJ, 109-128, 1991）において使用されてきた。さらに、組換え型アデノウイルスベクターは、遺伝子療法に使用される（Wu et al., 2007年6月26日に発行された、米国特許第7,235,391号）。

30

【0190】

組換え型アデノウイルスベクターは、例えば、シャトルベクターとプロウイルスベクターとの間の相同遺伝子組換えから生成される（Wu et al., 米国特許第7,235,391号）。これらの組換え型アデノウイルスベクターで使用するためのヘルパー細胞株は、293個のヒト胎生腎細胞、筋細胞、造血細胞または他のヒト胚性の間葉細胞または上皮細胞などの、ヒト細胞に由来し得る。代替的に、ヘルパー細胞は、ヒトアデノウイルスに許容的な他の哺乳動物の種の細胞、例えば、ベロ細胞または他のサル胚性の間葉細胞または上皮細胞に由来し得る。ヘルパー細胞株を使用するこれらの複製欠損のアデノウイルスベクターの生成および増殖が、Graham et al., 1997 J. Gen. Virol., 36:59-72, 1977に記載される。

40

【0191】

レンチウイルスベクターのパッケージングベクターは、Invitrogen Corporation (Carlsbad CA) から市販で入手可能である。レンチウイルスベクターの生成用のHIVベースのパッケージングシステムは、Naldini et

50

al., Science 272: 263-267, 1996; Zufferey et al., Nature Biotechnol., 15: 871-875, 1997; および Dull et al., J. Virol. 72: 8463-8471, 1998における構成物を使用して調製される。

【0192】

多くのベクター構成物は、第三世代のレンチウイルス SINベクターバックボーンに基づき、システムを使用してパッケージングされて利用可能である (Dull et al., J. Virol. 72: 8463-8471, 1998)。例えば、ベクター構成物、pRRLsinCMVGFPpreは、HIVプロモーター配列がラウス肉腫ウイルス (RSV) の配列と置き換えられている 5'LTR、U3プロモーター領域の欠失を含んでいる自己不活性化 3'LTR、HIVパッケージングシグナル、CMVプロモーターによって促進されたオワンクラゲの緑色蛍光タンパク質 (GFP) から成るマーカー遺伝子カセットに連結された RREシーケンス、および核輸出を増強するようである、ウッドチャック肝炎ウイルスの PRE要素、を含む。GFPマーカー遺伝子は、UV蛍光顕微鏡法またはフローサイトメトリーの直接観察による形質移入または形質導入の効率の定量化を可能にする (Kafri et al., Nature Genet., 17: 314-317, 1997 および Sakoda et al., J. Mol. Cell. Cardiol., 31: 2037-2047, 1999)。

【0193】

タンパク質をコード化する遺伝子を含有しているレトロウイルスベクターを構築するためのレトロウイルス核酸の操作、および細胞においてパッケージングするための方法は、当該技術分野に既知の技術を使用して達成される。Ausubel, et al., 1992, Volume 1, Section III (units 9.10.1-9.14.3); Sambrook, et al., 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. Second Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.; Miller, et al., Biotechniques. 7:981-990, 1989; Eglitis, et al., Biotechniques. 6:608-614, 1988; 米国特許第4, 650, 764号, 第4, 861, 719号, 第4, 980, 289号, 第5, 122, 767号, および第5, 124, 263号; および PCT特許公開番号 WO 85/05629、WO 89/07150、WO 90/02797、WO 90/02806、WO 90/13641、WO 92/05266、WO 92/07943、WO 92/14829、および WO 93/14188、を参照。

【0194】

レトロウイルスベクターは、広宿主性のパッケージングシステムを使用して、無感染の形質導入するウイルス粒子 (ビリオン) へと構築且つパッケージングされる。そのようなパッケージングシステムの例は、例えば、Miller, et al., Mol. Cell Biol. 6:2895-2902, 1986; Markowitz, et al., J. Virol. 62:1120-1124, 1988; Cosset, et al., J. Virol. 64:1070-1078, 1990; 米国特許第4, 650, 764号、第4, 861, 719号、第4, 980, 289号、第5, 122, 767号、および第5, 124, 263号、および PCT特許公開番号 WO 85/05629、WO 89/07150、WO 90/02797、WO 90/02806、WO 90/13641、WO 92/05266、WO 92/07943、WO 92/14829、および WO 93/14188、で見られる。

【0195】

「プロデューサー細胞」の生成は、レトロウイルスベクターをパッケージング細胞へと導入することによって達成される。そのようなレトロウイルスベクターの例は、例えば、Korman, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA.

84:2150-154, 1987; Morgenstern, et al., Nucleic Acids Res. 18:3587-3596, 1990; 米国特許第4,405,712号、第4,980,289号、および5,112,767号; およびPCT特許公開番号WO 85/05629、WO 90/02797、およびWO 92/07943、で見られる。ヘルペスウイルスのパッケージングベクターは、Invitrogen Corporation, (Carlsbad CA) から市販で入手可能である。典型的なヘルペスウイルスは、水痘帯状疱疹ウイルスまたは仮性狂犬病ウイルスなどの、ヘルペスウイルス; HSV-1またはHSV-2などの、単純性疱疹ウイルス; あるいはエプスタインバーウイルスなどの、ヘルペスウイルス、である。所望のヌクレオチド部分 (nucleotide segment) とパッケージングされ得る中空の (empty) ヘルペスウイルス粒子を調製するための方法は、Fraefel et al., 1999年12月7日に発行された米国特許第5,998,208号、で示される。

10

【0196】

ヘルペスウイルスDNAベクターは、当業者によく知られている技術を使用して構築され得る。例えば、ヘルペスウイルスの全体のゲノムをコード化するDNA断片は、大きなDNA断片、例えば、コスミド (Evans, et al., Gene 79, 9-20, 1989)、酵母人工染色体 (YACS) (Sambrook, J. et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N. Y., 1989)、または大腸菌F要素プラスミド (O'Conner, et al., Science 244: 1307-1313, 1989) を運ぶことができる、多くのベクターの中から分断される。例えば、エプスタインバーウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、仮性狂犬病ウイルスおよびHSV-1を含む、様々なヘルペスウイルスの全体のゲノムを表わす重複するクローンを含有している、一連のコスミドは単離されている。M. van Zijl et al., J. Virol. 62, 2191, 1988; Cohen, et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. U. S. A. 90, 7376, 1993; Tomkinson, et al., J. Virol. 67, 7298, 1993; および Cunningham et al., Virology 197, 116, 1993、を参照。

20

30

【0197】

AAVは、培養細胞中の増殖性感染を受けるために、別のウイルス (アデノウイルスまたはヘルペスウイルスファミリーのメンバーのいずれか) との同時感染に依存するという点で、依存性のパルボウイルスである (Muzyczka, Curr Top Microbiol Immunol, 158:97-129, 1992)。例えば、組換え型AAV (rAAV) ウイルスは、対象の遺伝子、例えば、Nkx3.2 遺伝子を含有しているプラスミドを同時形質移入することによって作られる。細胞もまた、アデノウイルス、またはAAVヘルパー機能に必要とされるアデノウイルス遺伝子を運ぶプラスミドと接触させられるか又は形質移入される。そのような方法で作られた組換え型AAVウイルスのストックは、(例えば、塩化セシウム密度の遠心分離によって) 組換え型AAV粒子から物理的に分離されなければならない、アデノウイルスとともに含まれる。

40

【0198】

アデノ随伴ウイルス (AAV) のパッケージングベクターは、GeneDetect (Auckland, New Zealand) から市販で入手可能である。AAVは、高頻度の統合 (integration) を有することが示されており、非分裂細胞を感染させ、そのため、遺伝子の、組織培養中の哺乳動物細胞への送達に有用である (Muzyczka, Curr Top Microbiol Immunol, 158:97-129, 1992)。AAVは、感染力に対して広範囲の宿主領域を有する (Tratschin et al., Mol. Cell. Biol., 4:2072-2081,

50

1984; Laughlin et al., J. Virol., 60 (2): 515 524, 1986; Lebkowski et al., Mol. Cell. Biol., 8 (10): 3988 3996, 1988; McLaughlin et al., J. Virol., 62 (6): 1963 1973, 1988).

【0199】

AAVベクターを構築及び使用方法は、例えば米国特許第5,139,941号及び同第4,797,368号に記載される。遺伝子送達におけるAAVの使用は更に、LaFaceらのVirology, 162 (2): 483 486, 1988; ZhouらのExp. Hematol, 21: 928 933, 1993; FlotteらのAm. J. Respir. Cell Mol. Biol., 7 (3): 349 356, 1992; 及び、WalshらのJ. Clin. Invest, 94: 1440 1448, 1994に記載される。

【0200】

組み換え型AAVベクターは、マーカー遺伝子のインビトロ及びインビボでの形質導入 (KaplittrらのNat Genet., 8 (2): 148 54, 1994; LebkowskiらのMol. Cell. Biol., 8 (10): 3988 3996, 1988; SamulskiらのEMBO J., 10: 3941 3950, 1991; ShellingとSmithのGene Therapy, 1: 165 169, 1994; YoderらのBlood, 82 (Supp.): 1: 347A, 1994; ZhouらのExp. Hematol, 21: 928 933, 1993; TratschinらのMol. Cell. Biol., 5: 3258 3260, 1985; McLaughlinらのJ. Virol., 62 (6): 1963 1973, 1988) と、ヒト疾患に關与する遺伝子の形質導入 (FlotteらのAm. J. Respir. Cell Mol. Biol., 7 (3): 349 356, 1992; OhiらのGene, 89 (2): 279 282, 1990; WalshらのJ. Clin. Invest, 94: 1440 1448, 1994; 及びWeiらのGene Therapy, 1: 261 268, 1994) に使用されてきた。

【0201】

<抗体阻害剤>

様々な実施形態における本発明は、血管新生 (例えば眼の血管新生) を調節するガレクチンタンパク質の阻害剤を含む。タンパク質であるガレクチン阻害剤の一実施形態は、ガレクチンタンパク質に結合する、又は、ガレクチンタンパク質の発現又は活性に影響する分子に結合する抗体を含む。本明細書で言及される用語「抗体」は、全体の抗体、抗原結合フラグメント (即ち、「抗原結合部分」)、又はこれらの単一の鎖を含む。自然発生の「抗体」は、ジスルフィド結合により相互に接続される、少なくとも2つの重 (H) 鎖と2つの軽 (L) 鎖を備える糖タンパク質である。

【0202】

様々な実施形態において、「特にガレクチンタンパク質に結合する」抗体は、血管新生を阻害する又は調節するのに十分なKD (例えば、KDは、 5×10^{-9} M以下、 2×10^{-9} M以下、又は 1×10^{-10} M以下である) によりガレクチンタンパク質に結合する抗体を指す。例えば、抗体はモノクローナル抗体又はポリクローナル抗体である。本明細書で使用される用語「モノクローナル抗体」又は「モノクローナル抗体組成物」は、単一の分子組成の抗体分子の調製物を指す。モノクローナル抗体組成物は、転写因子、又は転写因子の特定のエピトープのための、単一の結合特異性及び親和性を表示する。抗体は、例えばIgM、IgE、IgG1又はIgG4などのIgGを含む。

【0203】

用語「ポリクローナル抗体」又は「ポリクローナル抗体組成物」は、各々が免疫抗原に見出される多くの異なるエピトープの1つに特異的であり、且つ各々がそのエピトープのための特異親和性を特徴とする、大きなセットの抗体を指す。エピトープは、タンパク質

に関して長さ6乃至8の残基を含む、抗原の最も小さな決定因子である (Berzofsky, J. and I. Berkower, (1993) in Paul, W., Ed., Fundamental Immunology, Raven Press, N. Y., p. 246)。親和性は、低いもの (例えば、 10^{-6} M) から高いもの (例えば、 10^{-11} M) にまで及ぶ。哺乳動物の血清から集めたポリクローナル抗体の画分は、IgG画分を得るために、周知の技術、例えば、タンパク質Aなどの免疫グロブリン分子を選択的に結合する親和性マトリックスを用いたクロマトグラフィーにより、分離される。抗体の純度と特異性を増強するために、特異抗体は、固相に付けられた免疫抗原を使用する、免疫親和性クロマトグラフィーによって更に精製されてもよい。免疫抗原が固相に付けられた免疫複合体を形成する抗体分子と免疫反応するのに十分な期間、抗体は、固相に付けられた免疫抗原と共に接触される。結合された抗体は、標準の技術 (pHを減少させる又はイオン強度を高めるためのバッファの使用など) により固相から溶出され、溶出した画分はアッセイされ、特異抗体を含むものが組み合わされる。

【0204】

また、本明細書に置ける方法には、組み換え型抗体である抗体が有用である。本明細書で使用される用語「組み換え型ヒト抗体」は、組み換え手段によって調製、発現、作成、又は分離される抗体を含む。本明細書における方法において使用される組み換え型抗体を発現するための哺乳動物宿主細胞は、例えば、R. J. KaufmanとP. A. Sharpらによる1982 Mol. Biol. 159: 601-621に記載されている、DHFR選択可能なマーカーを用いた、UrlaubとChasinによる論文 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216-4220, 1980に記載された、dhfr-CHO細胞を含むチャイニーズ・ハムスター・オーバーレイ (CHO細胞) と、NSO骨髓腫細胞と、COS細胞と、SP2細胞とを含む。特に、NSO骨髓腫細胞を用いるための、別の発現システムは、WO87/04462、WO89/01036、及びEP338, 841に示される、GS遺伝子発現システムである。抗体を生成するために、抗体遺伝子をコードする発現ベクターは、哺乳動物宿主細胞へと導入され、該宿主細胞は、宿主細胞内への抗体の発現、又は、宿主細胞が成長している培養培地内への抗体の分泌を可能にするのに十分な期間、培養される。抗体は、標準タンパク質精製方法を用いて培養培地から回収される。

【0205】

種々の種の標的への抗体の結合能力を評価するための標準アッセイが、例えば、ELISA法、ウェスタンブロット法、放射免疫測定法 (RIA) を含め、知られている。また抗体の結合キネティクス (例えば、結合親和力) は、Biacore分析などの、当該技術分野で既知の標準アッセイによって評価され得る。

【0206】

抗血清の生成のために動物を選ぶ際に考慮されるべき基準を含む、抗体産生のための一般的な方法論は、Harlowらによる論文Antibodies, Cold Spring Harbor Laboratory, pp. 93-117, 1988に記載されている。例えば、ヤギ、イヌ、ヒツジ、マウス、又はラクダ等の、適切なサイズの動物が、免疫反応をもたらすのに有効な、例えば、インタクトタンパク質、又は、ヒト転写因子からのエピトープを含むそのタンパク質等の、ある量の免疫原の投与によって免疫性が与えられる。典型的なプロトコルは、動物の大きさに依存してアジュバント (例えば完全フロイントアジュバント) を備えた100マイクログラム乃至100ミリグラムの免疫原の腹腔内注射の3週間後の、動物のサイズに依存した、100マイクログラム乃至100ミリグラムの抗原の皮下注射を含む。アジュバント (例えば、フロイント不完全アジュバント) の、2週間毎の追加の腹腔内注射が、動物の血中に適切な抗体の力価が達成されるまで、投与される。典型的な力価、少なくとも、約1:5000又は1:10000以上の力価を含み、即ち、最も大きな希釈物が、検出可能な抗体活性を有していることを示す。抗体は、例えば、ヒトMACを有するカラムへの結合を使用する親和性精製によって、精製される。

【0207】

モノクローナル抗体は、ヒトリンパ球のインビトロでの免疫化によって作成される。ヒトリンパ球のインビトロでの免疫化のための技術は、Inaiらの*Histochemistry*, 99 (5): 335-362, May 1993; Mulderらの*Hum. Immunol.*, 36 (3): 186-192, 1993; Haradaらの*J. Oral Pathol. Med.*, 22 (4): 145-152, 1993; Stauberらの*J. Immunol. Methods*, 161 (2): 157-168, 1993; 及びVenkateswaranらの*Hybridoma*, 11 (6): 729-739, 1992に記載される。これら技術は、抗原特異性のIgGを含む抗原反応性のモノクローナル抗体、及びIgMモノクローナル抗体を生産するために使用され得る。任意の抗体、又は、転写因子のための親和性及び特異性を持つそのフラグメントは、本明細書に提供される修飾物質組成物の範囲内にある。

10

【0208】

本明細書で言及される用語「抗体」は、全体の抗体、及び任意の抗原結合性フラグメント（即ち、「抗原結合部分」）、又はその単一の鎖（例えば、Fvフラグメント）を含む。自然発生の「抗体」は、ジスルフィド結合により相互に接続される、少なくとも2つの重（H）鎖と2つの軽（L）鎖を備える糖タンパク質である。各重鎖は、重鎖可変領域（本明細書ではV_Hと省略）と重鎖定常領域とで構成される。重鎖定常領域は、3つのドメイン（CH1、CH2、及びCH3）で構成される。各軽鎖は、軽鎖可変領域（本明細書ではV_Lと省略）と軽鎖定常領域とで構成される。軽鎖定常領域は、1つのドメイン（C_L）で構成される。V_HとV_Lの領域は更に、フレームワーク領域（FR）と称される、より良く保存される領域が点在する、相補性決定領域（CDR）と称される超可変性の領域へと細分され得る。各V_H及びV_Lは、以下の順：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、及びFR4で、アミノ末端からカルボキシ末端まで配置される、3つのCDR及び4つのFRで構成される。重鎖と軽鎖の可変領域は、抗原と相互に作用する結合領域を含む。抗体の定常領域は、免疫系（例えば、エフェクター細胞）と古典的な補体系の第1構成要素（C1q）の様々な細胞を含む、宿主組織又は因子への免疫グロブリンの結合を媒介してもよい。

20

【0209】

本明細書で使用される、抗体の「抗原結合部分」（又は単に「抗原部分」）との用語は、標的（例えば、ガレクチン、又はガレクチンのフラグメント、又はガレクチン阻害剤、又は組織中のガレクチンのリガンド）と特異的に結合する能力を保持する抗体の完全長の又は1以上のフラグメントを指す。抗体の抗原結合機能は、完全長の抗体のフラグメントによって実行され得ることが示されてきた。抗体の「抗原結合部分」との用語の中に包含される結合フラグメントの例は、V_L、V_H、C_L、及びCH1のドメインから成る一価フラグメントであるFabフラグメント；ヒンジ領域にてジスルフィド架橋により結合した2つの抗原結合性フラグメントを含む二価フラグメントであるF(ab)₂フラグメント；V_HとCH1のドメインから成るFdフラグメント；抗体の単一の腕のV_LとV_Hのドメインから成るFvフラグメント；V_Hドメインから成るdAbフラグメント（Ward et al., 1989 *Nature* 341: 544）；及び、分離された相補性決定領域（CDR）を含む。

30

40

【0210】

更に、Fvフラグメントの2つのドメイン（V_LとV_H）は別個の遺伝子によってコードされるが、それらは、V_LとV_Hの領域が一価分子を形成するように対となる単一タンパク質鎖（単一の鎖Fv（scFv））として知られる；例えば、Bird R. E. らの1988 *Science* 242: 423；及びHouston, J. S. らの1988 *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 5879を参照）としてそれらを作ることの可能な合成リンカーによる、組み換え法を使用して、連結され得る。そのような単一鎖抗体はまた、抗体の「抗原結合部分」との用語の中に包含されるように意図される。これら抗体フラグメントは、当業者に既知の従来技術を使用して得られる

50

ものであり、フラグメントは、無傷の抗体であるような同じ方法で有用性のためにスクリーンされる。

【0211】

本明細書で使用される「分離した抗体」は、異なる抗原特異性を持つ他の抗体が実質的にない（例えば、ガレクチン、又はガレクチンのフラグメント、又はガレクチン阻害剤、又は組織中のガレクチンのリガンドなどの標的と特異的に結合する、分離した抗体は、この標的以外に抗原と特異的に結合する抗体が実質的にない）抗体を指す。しかし、DEC205と特異的に結合する、分離した抗体は、他の種からの対応する標的分子などの、他の抗原に対する交差反応性を持っていてもよい。更に、分離した抗体は、他の細胞材料及び／又は化学品が実質的になくてもよい。

10

【0212】

本明細書で使用される用語「モノクローナル抗体」又は「モノクローナル抗体組成物」は、単一の分子組成の抗体分子の調製物を指す。モノクローナル抗体組成物は、特定のエピトープのための単一の結合特異性と親和性を表示する。

【0213】

本明細書で使用される用語「ヒト抗体」は、フレームワークとCDR領域の両方がヒト起源の配列に由来する可変領域を持つ抗体を含むように意図される。更に、抗体が定常領域を含む場合、定常領域はまた、そのようなヒト配列（例えば、ヒト生殖系列配列）、又はヒト生殖系列配列の突然変異したバージョンに由来する。本発明のヒト抗体は、ヒト配列（例えば、インビトロのランダム突然変異又は部位突然変異、或いは、インビボの体細胞突然変異により導入された突然変異）によってコードされないアミノ酸残基を含んでもよい。しかし、本明細書で使用される用語「ヒト抗体」は、マウスなどの別の哺乳動物種の生殖系列に由来するCDR配列が、ヒトフレームワーク配列に移植された抗体を含むようには意図されない。

20

【0214】

用語「ヒトモノクローナル抗体」は、フレームワークとCDR領域の両方がヒト配列に由来する可変領域を持つ単一の結合特異性を表示する抗体を指す。1つの実施形態において、ヒトモノクローナル抗体は、永久増殖細胞に融合したヒト重鎖導入遺伝子と軽鎖導入遺伝子とを含むゲノムを持つトランスジェニックの非ヒト動物（例えばトランスジェニックマウス）から得たB細胞を含む、ハイブリドーマによって生成される。

30

【0215】

本明細書で使用される用語「組み換え型ヒト抗体」は、ヒト免疫グロブリン遺伝子又はそこから調製されるハイブリドーマのためにトランスジェニックである又はトランス染色体（transchromosomal）である動物（例えばマウス）から分離した抗体、例えばトランスフェクターマからヒト抗体を発現するために形質転換された宿主細胞から分離した抗体、組み換え型で組み合わせ型のヒト抗体ライブラリから分離した抗体、及び、ヒト免疫グロブリン遺伝子、他のDNA配列に対する配列の全て又は一部のスプライシングに参与する任意の他の手段により調製、発現、作成、又は分離される抗体などの、組み換え手段によって調製、発現、作成、又は分離される全てのヒト抗体を含む。そのような組み換え型ヒト抗体は、フレームワークとCDR領域がヒト生殖系列免疫グロブリン配列に由来する可変領域を持つ。しかし、特定の実施形態において、そのような組み換え型ヒト抗体は、インビトロでの突然変異誘発（又は、ヒトIg配列についてトランスジェニック動物（animal transgenic）が用いられる場合は、インビボでの突然変異誘発）にさらすことができる。故に、組み換え型抗体の V_H と V_L の領域のアミノ酸配列は、ヒト生殖系列 V_H と V_L の配列に由来及び関連する一方でインビボでのヒト抗体生殖系列レパートリー内に自然に存在し得ない配列である。

40

【0216】

本明細書で使用されるように、「アイソタイプ」は、重鎖定常域遺伝子によって提供される抗体クラス（例えば、IgM、IgE、IgG1又はIgG4などのIgG）を指す。

50

【0217】

「抗原を認識する抗体」と「抗原に特異的な抗体」との句は、用語「抗原と特異的に結合する抗体」と、本明細書で互換的に使用される。

【0218】

本明細書で使用されるように、樹状細胞受容体（例えば、具体的にはヒト組織中のガレクチンのリガンドなどのヒト標的である標的）と特異的に結合する、抗体又は抗体融合タンパク質は、約 5×10^{-9} M以下、約 2×10^{-9} M以下、又は約 1×10^{-1} M以下の K_D を用いてヒト標的と結合する抗体を指すように、意図される。「ヒト標的以外の抗原と交差反応する」抗体は、約 0.5×10^{-8} M以下、約 5×10^{-9} M以下、又は約 2×10^{-9} M以下の K_D を用いて抗原と結合する抗体を指すように意図される。「特定の抗原と交差反応しない」抗体は、約 1.5×10^{-8} M以上の K_D 、約 $5 - 10 \times 10^{-8}$ M又は約 1×10^{-7} M以上の K_D を用いて抗原と結合する抗体を指すように意図される。特定の実施形態において、抗原と交差反応しない、そのような抗体は、標準結合アッセイにおいてこれらタンパク質に対する、本質的に検出不能な結合を示す。

10

【0219】

本明細書で使用されるように、ガレクチンへの標的の結合を阻害する抗体は、約 1 nM以下、約 0.75 nM以下、約 0.5 nM以下、又は約 0.25 nM以下の K を用いて標的が受容体に結合するのを阻害する抗体を指す。GL117は、細菌性の抗- β -ガラクトシダーゼの非特異性のアイソタイプと一致した、ラット・モノクローナル抗体の負の対照である（Hawigerらの2001 J Exp Med 194: 769-779）。

20

【0220】

本明細書で使用される「 K_{assoc} 」又は「 K_a 」との用語は、抗体抗原相互作用の会合速度を指すように意図され、一方で、本明細書で使用される「 K_{dis} 」又は「 K_D 」との用語は、特定の抗体抗原相互作用の解離速度を指すように意図される。本明細書に使用される用語「 K_D 」は、 K_a に対する K_d の比率（即ち、 K_d/K_a ）から得られ、且つモル濃度（M）として発現される、解離定数を指すように意図される。抗体に関する K_D 値は、当該技術分野において十分に確立された方法を用いて決定され得る。抗体の K_D を決定する方法は、表面プラズモン共鳴の使用、又はBiacore（登録商標）システムなどのバイオセンサシステムの使用によるものである。

30

【0221】

本明細書で使用されるように、用語「親和性」は、単一の抗原部位での抗体と抗原間の相互作用の強度を指す。各抗原部位内では、抗体の「腕」の可変領域は、多数の部位での抗原との弱い非共有結合力を介して相互に作用し、相互作用が多くなると、親和性は強くなる。

【0222】

本明細書で使用されるように、用語「結合活性」は、抗体と抗原の複合体の全体的な安定性又は強度の有益な尺度を指す。それは、3つの主要な因子、即ち抗体エピトープ親和性、抗原と抗体の両方の原子価、及び相互に作用する部分の構造配列により制御される。最終的に、これらの因子は、抗体の特異性（即ち、特定の抗体が正確な抗原エピトープに結合している可能性）を定める。

40

【0223】

本明細書で使用されるように、用語「交差反応性」は、他の抗原上でのエピトープに結合する抗体、又はその抗体の集まりを指す。これは、抗体の低い結合活性又は特異性により、或いは、同一又は非常に類似したエピトープを持つ多数の異なる抗原により、引き起こされ得る。抗原の関連する群への一般的な結合を望む場合、又は、抗原エピトープ配列が進化において高度に保存されない時に異種間の標識化を試みる場合、交差反応性が望ましいこともある。

【0224】

本明細書で使用されるように、IgG抗体に関して用語「高親和性」は、標的抗原に関

50

して 10^{-8} M以下、 10^{-9} M以下、又は 10^{-10} M以下の K_D を持つ抗体を指す。しかし、「高親和性」結合は、他の抗体アイソタイプとは異なり得る。例えば、IgMアイソタイプに関する「高親和性」結合は、 10^{-7} M以下又は 10^{-8} M以下の K_D を持つ抗体を指す。

【0225】

様々な種の何れかの標的に対する抗体の結合能力を評価するための標準アッセイが、例えば、ELISA法、ウェスタンブロット法、RIA法を含め、知られている。適切なアッセイは実施例で詳しく記載する。また抗体の結合キネティクス（例えば、結合親和力）は、Biacore分析などの、当該技術分野で既知の標準アッセイによって評価され得る。抗体の機能特性に対する抗体の効果（例えば、受容体結合、自己免疫疾患を妨げる又は回復させる）を評価するためのアッセイは、実施例で更に詳しく記載する。

10

【0226】

従って、当該技術分野に既知の、及び本明細書に記載される方法論に従って決定されるように、これらのガレクチン関連性の機能特性（例えば、生化学的、免疫化学的、細胞性、生理的、又は他の生物活性など）の1以上を「阻害する」抗体は、抗体の欠如下で見られるものに関連する特定の活性の、統計的に深刻な減少に関係することが理解されよう（例えば、又は無関係の特異性の対照抗体が存在する場合に）。ガレクチン関連性活性を阻害する抗体は、測定したパラメータの少なくとも10%まで、少なくとも50%、80%、又は90%までの、そのような統計的に深刻な減少に影響し、及び特定の実施形態において、本発明の抗体は、ガレクチン機能活性の95%、98%、又は99%より多くを阻

20

【0227】

<RNA干渉>

阻害剤には、は核酸が血管新生を調節するように、ガレクチンタンパク質をコードするか、又はガレクチンタンパク質の活性を調節する分子をコードする核酸に結合するRNA干渉剤が挙げられる。核酸への結合のための方法と組成は、RNA干渉（RNAi）を利用することを含む。RNAiは、細胞に存在する、短い（例えば、30のヌクレオチド）二本鎖RNA（dsRNA）分子によって誘発される。これらの短いdsRNA分子は、短い干渉RNA（siRNA）と呼ばれ、siRNAと配列相同性を共有するメッセンジャーRNA（mRNA）の破壊を引き起こす。Beachらの、2003年7月31日公開の国際公開番号WO/2003/062394；McSwigganらの、2005年2月10日公開の米国特許公開番号2005/0032733；Ciccirelliらの、2012年8月7日発行の米国特許第8,236,771号。様々な実施形態において、標的核酸配列は、ガレクチンタンパク質又はその一部をコードする。例えば、RNA干渉剤は、ガレクチン1-11又はその一部（例えば、炭水化物結合領域）の何れかの発現を負に調節する。

30

【0228】

合成siRNA又はアンチセンス発現カセットを構築してベクターの組み換え設計した核酸（recombinantly engineered nucleic acid）に挿入する方法は、当該技術分野で周知であり、例えば、Reichらの2010年12月7日発行の米国特許第7,847,090号、Reichらの2010年3月9日発行の米国特許第7,674,895号、Khvorovaらの2010年1月5日発行の米国特許第7,642,349号に示される。例えば、本明細書記載の発明は、センスRNA鎖とアンチセンスRNA鎖を含む合成siRNAを含み、それにより、センスRNA鎖は、細胞中に標的核酸配列と実質的に同一のヌクレオチド配列を含む。故に、細胞がsiRNAをコードするウイルス・ベクターと接触される状況下で、細胞は、後に標的核酸配列の発現を負に調節するsiRNAを発現する。

40

【0229】

<ガレクチン>

レクチンタンパク質は、特異的に炭水化物、膠着性細胞に結合する（全体が参照により

50

本明細書に組み込まれる、国際公開番号WO／2006／113311を参照）。レクチンは、細胞－細胞と細胞－基質の相互作用を含む、種々様々な細胞機能に関係すると示された。レクチンは、植物、無脊椎動物、及び哺乳動物中で広がっている。動物レクチンは、次のファミリー：C型レクチン；P型レクチン；ガレクチン（以前はS型レクチンと称された）；及びペントラキシンにグループ化された（例えば、BarondesらのJ.

Biol. Chem. 269:20807, 1994を参照）。

【0230】

哺乳動物のガレクチンは、ラクトース及び関連するガラクトシドを認識する。全ての哺乳動物ガレクチンが小さなβガラクトシドのために同様の親和性を共有する一方で、これらは、より複雑な糖複合体のための結合特異性とは著しく異なることを示す（HenrickらのGlycobiology 8:45, 1998；SatoらのJ. Biol. Chem. 267:6983, 1992；及びSeetharamanらのJ. Biol. Chem. 273:13047, 1998）。βガラクトシド糖への結合に加え、ガレクチンは血球凝集活性を持つ。ラミニン（多数のポリラクトサミン鎖を包含する、自然に発生の糖タンパク質）は、特定のガレクチンのための天然リガンドであると示された。ラミニンは、基底膜の構成要素、即ち、全ての上皮の基礎となり且つ個々の筋肉、脂肪、及びシュワン細胞を包囲する細胞外マトリックスである。細胞と基底膜の間の相互作用は、哺乳動物の成長中に様々な細胞型の移動及び／又は分化に影響を及ぼすと知られている。ガレクチンは、膜輸送を特定するが、細胞内で分泌され且つ位置付けられる、従来の配列を包含しない。βガラクトシド糖のためのそれらの親和性に加えて、ガレクチンファミリーのメンバーは、炭水化物認識ドメイン（CRD；炭水化物結合ドメインとも称される）、X線結晶解析により決定されたそれらの関連するアミノ酸残基における、重要な配列類似性を共有する（上述のLobsanovらのJ. Biol. Chem. 267:27034, 1993及びSeetharamanらの文献）。ガレクチンは、細胞粘着（CooperらのJ. Cell Biol. 115:1437, 1991）、成長調節（WellsらのCell 64:91, 1991）、細胞移動（Hughes, Curr. Opin. Struct. Biol. 2:687, 1992）、悪性形質転換（RazらのInt. J. Cancer 46:871, 1990）、及び免疫反応（OffnerらのJ. Neuroimmunol. 28:177, 1990）を含む、種々様々な生物学的機能に密接に結び付けられた。

【0231】

<ガレクチン－1>

ガレクチン－1は、14キロダルトンのサブユニットのホモダイマーを形成し、各サブユニットには単一の結合部位がある。ガレクチン－1は、レクチンがモノマーの形態で蓄積する哺乳動物細胞のサイトゾル中で合成される（Cumming'sらの、1999年9月7日発行の米国特許第5,948,628号；Cumming'sらの、2001年5月1日発行の米国特許第US6225071号；Horieらの、2005年5月10日発行の米国特許第6,890,531号；及びCambyらの、2011年6月21日発行の米国特許第7,964,575号）。ヒトガレクチン－1のアミノ酸配列（SEQ ID NO:6）を、以下に示す：

【0232】

【化20】

```
1  MACGLVASNL NLKPGCELRV RGEVAPDAKS FVLNLGKDSN NLCLHFNPFRF
51  NAHGDANTIV CNSKDGGAWG TEQREAVFPF QPGSVAEVCITFDQANLTVK
101 LPDGYEFKFP NRLNLEAINY MAADGDFKIK CVAFD
```

【0233】

<ガレクチン－3>

タンパク質のガレクチン－3ファミリーのメンバー（以前は、CBP－35、Mac－

2、L-34、εBP、及びRL-29として知られている）は典型的に、約240乃至270のアミノ酸の配列を有し、約25乃至約29kDaの分子量を有する。ガレクチン-3タンパク質は一般に、短いN-末端ドメイン、ガラクトシド結合領域を含むC-末端ドメイン、及び介在するプロリン、並びに、7-10の保存されたアミノ酸の繰り返しを含むチロシンが豊富なドメインからなる（LiuらのBiochemistry 35:6073, 1996及びCherayilらのProc. Natl. Acad. Sci. USA, 87:7324, 1990）。縦列反復は、コラーゲン遺伝子のスーパーファミリーに見出されるものに類似する。繰り返しの数は、ガレクチン-3タンパク質間で異なり、異なる種からのガレクチン-3タンパク質の間での大きさの差を占める。ガレクチン-3のN-末端ドメインにより、タンパク質は、糖複合体リガンドを包含する表面に結合した後にマルチマー化を受けることが可能となる。

10

【0234】

ガレクチン-3は、様々な炎症細胞（例えば、活性化マクロファージ、好塩基球、及びマスト細胞）、及び様々な組織上皮と繊維芽細胞の中で発現される（PerilloらのJ. Mol. Med. 76:402, 1998）。それは、細胞表面上で、細胞外マトリックス（ECM）内で、細胞質において、及び細胞の核において見出される。細胞表面上で、又はECMにおいて、ガレクチン-3は、多くのECMと細胞表面の分子に見出されるポリラクトサミン鎖を包含する相補的な糖複合体に結合することにより、細胞-細胞及び細胞-基質の相互作用を媒介すると考えられる。ガレクチン-3は、ラミニンに結合することにより細胞-基質の接着を阻害すると考えられる。細胞の核において、ガレクチン-3は、周知の細胞接着分子（例えば、α6β1、α4β7インテグリン、WarlfieldらのInvasion Metastasis 17:101, 1997及びMatarreseらのInt. J. Cancer 85:545, 2000）、及びサイトカイン（例えば、IL-1、JengらのImmunol. Lett. 42:113, 1994）の発現に影響を及ぼすことにより、細胞-基質の相互作用に間接的に影響を及ぼし得る。ガレクチン-3発現は、腎臓などの選択した臓器において啓発的に調節され、肺の乳腺細胞及び肝細胞におけるその発現レベルは、損傷後に上方調節される。ガレクチン-3は、増殖中に特定の細胞型の核に集中すると示された。ガレクチン-3の発現は特定の腫瘍において上昇し、ガレクチン-3が転移において役割を果たすことを示唆する。実際、弱い転移性の細胞株におけるガレクチン-3の過剰発現は、転移性の潜在性の深刻な増加を引き起こした（上述のRazらの文献）。

20

30

【0235】

ヒトガレクチン-3は、長さ250のアミノ酸であり、26.1kDaのおよその分子量を持つ（SEQ ID NO:1、図1）。図1、3、5、及び7に図示されるように、ヒトガレクチン-3は、次のドメイン、特徴的配列、又は他の構造特徴を含む（PSとPFの接頭語の識別番号に関する一般的な情報については、SonhammerらのProtein 28:405, 1997を参照）：SEQ ID NO:1のアミノ酸残基1乃至14の周囲に位置するN-末端ドメイン；SEQ ID NO:1のアミノ酸残基15乃至116の周囲に位置するプロリン、グリシン、及びチロシンが豊富なドメイン；SEQ ID NO:1のアミノ酸残基117乃至247の周囲に位置するガラクトシド結合ドメイン；SEQ ID NO:1のアミノ酸181乃至200の周囲に位置するガラプチン特徴的配列：（PROSITE No. PS00309）；SEQ ID NO:1のアミノ酸4乃至7の周囲に位置する1つの潜在的なN-糖鎖付加部位（PROSITE No. PS00001）；SEQ ID NO:1のアミノ酸137乃至139、及び194乃至196の周囲に位置する2つの潜在的なタンパク質キナーゼCリン酸化部位（PROSITE No. PS00005）；SEQ ID NO:1のアミノ酸6乃至9、及び175乃至178の周囲に位置する2つの潜在的なカゼインキナーゼIリン酸化部位（PROSITE No. PS00006）；及び、SEQ ID NO:1のアミノ酸24乃至29、27乃至32、34乃至39、43乃至48、52乃至57、61乃至66、65乃至70、及び68乃至73の周囲に位置する8つの潜在的なミ

40

50

ストイル化部位：（PROSITE No. PS00008）。

【0236】

本明細書に定義されるように、「ガレクチン-3タンパク質」は、ガレクチン-3「N-末端ドメイン」、ガレクチン-3「プロリン、グリシン、及びチロシンが豊富なドメイン」、及び／又はガレクチン-3「ガラクトシド結合ドメイン」を含むこれらドメインは更に以下のように定められる。

【0237】

本明細書で使用されるように、ガレクチン-3「N-末端ドメイン」は、約10乃至20のアミノ酸のアミノ酸配列、好ましくは、SEQ ID NO: 1のアミノ酸1乃至14と少なくとも約60%、70%、80%、90%、95%、99%、又は100%の同一性を共有する、約14のアミノ酸を含む。N-末端ドメインは、N-糖鎖付加部位（PROSITE No. PS00001）及び／又はカゼインキナーゼIIリン酸化部位（PROSITE No. PS00006）を含み得る。PROSITE N-糖鎖付加部位は、共通配列：N-〔P〕-〔ST〕-〔P〕を持ち、PROSITE カゼインキナーゼIIリン酸化部位は、共通配列：〔St〕-X(2)-〔DE〕を持つ。上記の共通配列、及び、本明細書に記載の他のモチーフ又は特徴的配列において、アミノ酸のための標準IUPACの1文字のコードが使用される。パターン形成における各要素は、ダッシュ（-）によって分離され；角括弧〔 〕は、その位置で受けられる特定の残基を示し；Xは、任意の残基がその位置で受けられることを示し；及び、丸括弧（ ）の中の数字は、残基の数が付随のアミノ酸によって表わされることを示す。特定の実施形態において、N-末端ドメインは、SEQ ID NO: 1のアミノ酸L7とL11を含む。図3に示されるように、これらアミノ酸は、ガレクチン-3の様々な哺乳動物種にわたって保存されるため、触媒及び／又は構造的な役割を果たし得る。

【0238】

本明細書で使用されるように、ガレクチン-3「プロリン、グリシン、及びチロシンが豊富なドメイン」は、約60乃至約140のアミノ酸のアミノ酸配列、より好ましくは約80乃至120のアミノ酸、又は、SEQ ID NO: 1のアミノ酸15乃至116と少なくとも約60%、70%、80%、90%、95%、99%、又は100%の同一性を共有する、約90乃至110のアミノ酸を含む。プロリン、グリシン、及びチロシンが豊富なドメインはまた、共通配列：G-〔EDRKHPFYW〕-X(2)-〔STAGCN〕-〔P〕を持つ、1、2、3、4、5、6、7、又は8のN-ミリストイル化部位（PROSITE No. PS00008）を含み得る。特定の実施形態において、プロリン、グリシン、及びチロシンが豊富なドメインは、SEQ ID NO: 1の以下のアミノ酸と領域を含む：G21、P23、G27、N28、P30、G32、G34、P37、Y41-P46、G53、Y55-G57、P61、G62、G66、P72、G73、G77、Y79-G81、P83、G87、Y89、P90、G99、Y101、P102、P106、Y107、A109、L114、及びV116。これらのアミノ酸と領域は、様々な哺乳動物種のガレクチン-3にわたって保存され、触媒及び／又は構造的な役割を果たし得る（図3において「*」で示されるアミノ酸を参照）。

【0239】

本明細書で使用されるように、ガレクチン-3「ガラクトシド結合ドメイン」は、少なくとも150のPFAM（ID NO: 3）からの共通配列PF00337に対する配列のアラインメントに関する少量のスコア（bit score）を有する、約80乃至約180のアミノ酸のアミノ酸配列を含む。好ましくは、ガレクチン-3ガラクトシド結合ドメインは、少なくとも約100乃至160のアミノ酸、より好ましくは約110乃至150のアミノ酸、又は約120乃至約140のアミノ酸を含み、且つ、少なくとも150、少なくとも175、又は200以上のPFAM（SEQ ID NO: 3）からの共通配列PF00337に対する配列のアラインメントに関する少量のスコアを有する。

【0240】

PFAMからの共通配列PF00337に対する特定の配列のアラインメントに関する

少量のスコアを計算するために、www.sanger.ac.uk/Software/Pfamにて利用可能なデフォルトパラメーターを使用して、対象の配列を、HMMのPFAMデータベース（例えば、PFAMデータベース、リリース2.1）に照らして検索することができる。PFAMデータベースの記載は、上述のSonnhhammerらの文献において見出され得、HMMの詳細な記載は、例えばGrubskovらのMeth. Enzymol. 183:146, 1990及びStultzらのProtein Sci. 2:305, 1993において見出され得る。

【0241】

ガレクチン-3ガラクトシド結合ドメインは更に、プロテインキナーゼCリン酸化部位（PROSITE No. PS00005）；カゼインキナーゼIIリン酸化部位；（PROSITE No. PS00006）；及び／又は、ガラプチン特徴的配列（PROSITE No. PS00309）の1つ、好ましくは2つを含む。プロテインキナーゼCリン酸化部位は、共通配列：[St]X-[RK]を持つ。ガラプチン特徴的配列は、共通配列：W-[GEK]-X-[EQ]-X-[KRE]-X(3,6)-[PCTF]-[LIVMF]-[NQE GSKV]-X-[GH]-X(3)-[DENKHS]-[LIVMFC]を持つ。特定の実施形態において、ガレクチン-3ガラクトシド結合ドメインは、SEQ ID NO:1の次のアミノ酸と領域を含む：P117、Y118、L120-L122、G125、P128、R129、L131-I134、G136-V138、N141、N143、R144、L147、F149、R151、G152、D154、A156-F163、E165、R169-N174、N179-G182、E184-R186、F190-E193、G195、P197-K199、Q201-L203、E205、D207-Q220、N222、R224、L228、I231、I236、G238-I240、及びL242-S244。これらのアミノ酸と領域は、様々な哺乳動物種のガレクチン-3にわたって保存され、触媒及び／又は構造的な役割を果たし得る（図3において「*」で示されるアミノ酸を参照）。

【0242】

特定のガレクチン-3タンパク質は、SEQ ID NO:1によって表わされるようなヒトガレクチン-3のアミノ酸配列を含む。他のガレクチン-3タンパク質は、SEQ ID NO:1のアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含む。用語「実質的に同一の」は、本明細書において、第1のアミノ酸を指すように使用される。第1のアミノ酸は、第2のアミノ酸配列中のアラインしたアミノ酸残基と同一である十分な数の、又は少数のアミノ酸残基を含み、それにより、第1のアミノ酸と第2のアミノ酸の配列は、共通の構造ドメイン及び／又は共通の機能活性を持ち得る。例えば、SEQ ID NO:1に対する少なくとも約60%又は65%の同一性、好ましくは少なくとも75%の同一性、より好ましくは少なくとも85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を持つ共通の構造ドメインを含む、アミノ酸配列は、SEQ ID NO:1のアミノ酸配列と実質的に同一であると称される。特に、SEQ ID NO:1の特定のアミノ酸残基の欠失、追加、置換、又は修飾などの、偶然又は故意に誘発された変化を含むタンパク質は、本明細書に提供されるガレクチン-3の定義に該当し得る。本明細書で定義されるように、ガレクチン-3タンパク質は、ウシ、イヌ、ネコ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、ネズミ、及びウマの種を含むがこれらに限定されない他の哺乳動物種から得たガレクチン-3のアミノ酸配列によって表わされる領域を含み得ることが、理解される。

【0243】

配列間の配列同一性の計算は以下のように行われる。2つのアミノ酸配列の百分率同一性を決定するために、配列は、最適な比較目的のためにアラインされる（例えば、最適なアラインメントのために、第1及び第2のアミノ酸配列の1つ又は両方に隙間を導入することができる）。その後、対応するアミノ酸位置又はヌクレオチド位置にあるアミノ酸残基が比較される。第1の配列における位置が、第2の配列における対応する位置として同じアミノ酸残基又はヌクレオチドに占有されると、その後、タンパク質はその位置にて同

一である。2つの配列間の百分率同一性は、配列により共有される同一の位置の数の関数であり、2つの配列の最適なアラインメントのために導入する必要のある隙間の数、そして各隙間の長さを説明する。

【0244】

配列の比較と、2つの配列間の百分率同一性の決定は、数学アルゴリズムを使用して達成することができる。好ましい実施形態において、2つのアミノ酸配列間の百分率同一性は、デフォルトパラメーターを使用するアラインメントソフトウェアプログラムを使用して決定される。適切なプログラムは、例えば、ThompsonらによるCLUSTAL W (Nuc. Acids Research 22:4673, 1994 (www.ebi.ac.uk/clustalw))、TatusovaとMaddenによるBL2SEQ (FEMS Microbiol. Lett. 174:247, 1999 (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/bl2seq/bl2.html))、NotredameとHigginsによるSAGA (Nuc. Acids Research 24:1515, 1996 (igs-server.cnrs-mrs.fr/~cnotred))、及びMorgensternらによるDIALIGN (Bioinformatics 14:290, 1998 (bibiserv.techfak.uni-bielefeld.de/dialign))を含む。

【0245】

<ガレクチン-7>

タンパク質のガレクチン-7ファミリーのメンバーは典型的に、約130乃至140のアミノ酸を含み且つ約15乃至約16 kDaの分子量を持つモノマーとして存在する（例えば、MagnaldoらによるDevelop. Biol. 168:259, 1995及びMadsenらによるJ. Biol. Chem. 270:5823, 1995を参照）。ガレクチン-7の発現は、上皮の層化の発症に関係していた（TimmonsらによるInt. J. Dev. Biol. 43:229, 1999）。ガレクチン-7は、細胞-基質及び細胞間の相互作用における役割を果たすと考えられる。ガレクチン-7は、（例えば、ヒト上皮の上部層における）細胞間の接触の領域において見出される。その発現は、足場非依存性の角化細胞において急激にダウンレギュレートされるものであり、悪性角化細胞の細胞株には存在しない。ガレクチン-7は、正常な角化細胞の維持に必要とされ得る（上述のMadsenらによる文献を参照）。

【0246】

ヒトガレクチン-7は、136のアミノ酸を含み、15.1 kDaのおよその分子量を持つ（SEQ ID NO:2、図2）。図2、4、6、及び8に示されるように、ヒトガレクチン-7は、以下のドメイン、特徴的配列、又は他の構造特徴を含む：SEQ ID NO:2のアミノ酸残基5乃至135の周囲に位置するガラクトシド結合ドメイン；SEQ ID NO:2のアミノ酸70乃至89の周囲に位置するガラプチン特徴的配列：（PROSITE No. PS00309）；SEQ ID NO:2のアミノ酸29乃至32の周囲に位置する1つのN-糖鎖付加部位（PROSITE No. PS00001）；SEQ ID NO:2のアミノ酸位置132乃至134の周囲に位置する1つのタンパク質キナーゼCリン酸化部位（PROSITE No. PS00005）；SEQ ID NO:2のアミノ酸9乃至12の周囲に位置する1つのカゼインキナーゼIリン酸化部位（PROSITE No. PS00006）；及びSEQ ID NO:2のアミノ酸13乃至18、及び44乃至49の周囲に位置する2つのミリストイル化部位（PROSITE No. PS00008）。

【0247】

本明細書に定義されるように、「ガレクチン-7タンパク質」は、ガレクチン-7「ガラクトシド-結合ドメイン」を含む。このドメインは更に以下のように定められる。

【0248】

本明細書で使用されるように、ガレクチン-7「ガラクトシド-結合ドメイン」は、少

なくとも80のPFAM (ID NO: 3) からの共通配列PF00337に対する配列のアラインメントに関する少量のスコアを有する、約80乃至約180のアミノ酸のアミノ酸配列を含む。好ましくは、ガレクチン-7ガラクトシド結合ドメインは、少なくとも約100乃至160のアミノ酸、又は約110乃至150のアミノ酸、又は約120乃至140のアミノ酸を含み、且つ、少なくとも80、より好ましくは少なくとも100、最も好ましくは120以上のPFAM (SEQ ID NO: 3) からの共通配列PF00337に対する配列のアラインメントに関する少量のスコアを有する。ガレクチン-7ガラクトシド結合ドメインは、1つのN-グリコシル化部位 (PROSITE No. PS00001) ; 1つのプロテインキナーゼCリン酸化部位 (PROSITE No. PS00005) ; 1つのカゼインキナーゼIIリン酸化部位 ; (PROSITE No. PS00006) ; 1又は2つのミリストイル化部位 (PROSITE No. PS00008) ; 及び/又は、ガラプチン特徴的配列 (PROSITE No. PS00309) を含み得る。特定の実施形態において、ガレクチン-7ガラクトシド結合ドメインは、SEQ ID NO: 2の以下のアミノ酸と領域を含む: M1、S2、H6、K7、L10、P11、G13、R15、G17-V19、R21-G24、V26、P27、A30、R32-Q43、D46-N63、K65、Q67、G68、W70-G76、G78、P80-L90、I92、G97-K99、V101、G103、D104、Y107、H109、F110、H112、R113、P115、V119、R120、V122-L130、S132、I135、及びF136。これらのアミノ酸と領域は、様々な哺乳動物種のガレクチン-7にわたって保存され、触媒及び/又は構造的な役割を果たし得る (図4において「*」で示されるアミノ酸を参照)。

10

20

【0249】

特定のガレクチン-7タンパク質は、SEQ ID NO: 2によって表わされるようなヒトガレクチン-7のアミノ酸配列を含む。他のガレクチン-7タンパク質は、SEQ ID NO: 2のアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含む。特に、SEQ ID NO: 2の特定のアミノ酸残基の欠失、追加、置換、又は修飾などの、偶然又は故意に誘発された変化を含むタンパク質は、本明細書におけるガレクチン-7の定義に該当し得る。本明細書で定義されるように、ガレクチン-7タンパク質は、ウシ、イヌ、ネコ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、ネズミ、及びウマの種を含むがこれらに限定されない他の哺乳動物種から得たガレクチン-7のアミノ酸配列によって表わされる領域を含み得ることが、

30

【0250】

<ガレクチン-8>

ガレクチン-8は、例えば、肝臓、心臓、筋肉、腎臓、脾臓、後肢、及び脳に存在する、広く発現したタンパク質であり、ヒト及びラットのガレクチン-8遺伝子とタンパク質の配列が利用可能である (例えばHadariらによるTrends in Glycosci and Glycotecnol. 9: 103-112, 1997を参照)。ムチンのO結合オリゴ糖に見出されるGal β 1-4GlcNAc二糖類への結合のための、非常に親水性の特徴及び機能は、このタンパク質を、眼乾燥症候群を処置するための理想的な薬剤にする。

40

【0251】

ヒトガレクチン-8のためのアミノ酸配列の代替的な形態は、例えば、316のアミノ酸形態 (受入番号O00214、1997年11月1日に作成) 及び359のアミノ酸形態 (受入番号Q8TEV1、2002年6月1日に作成) と知られている。これらの配列は、かなりの長さに関して同様又は同一である一方で、全体的な単なる長さの変異体ではなく、異なる部分がある。1文字のアミノ酸コードを使用する316の形態のアミノ酸配列は、以下のように示される (SEQ ID NO: 4) :

【0252】

【化 2 1】

MLSSLNNLQNI IYNPVIPIYVG TIPDQLDPGT LIVICGHVPS DADRFQVDLQ
 NGSSVKPRAD 60
 VAFHFNPFRK RAGCIVCNTL INEKWGREEI TYDTPFKREK SFEIVIMVLK
 DKFQVAVNGK 120
 HTLLYGHRIK PEKIDTLGIY GKVNIHSIGF SFSSDLQSTQ ASSLELTEIS
 RENVPKSGTP 180
 QLSLPFAARL NTPMGPGRTV VVKGEVNANA KSFNVDLLAG KSKDIALHLN
 PRLNIKAFVR 240
 NSFLQESWGE EERNITSFPF SPGMYFEMII YCDVREFKVA VNGVHSLEYK
 HRFKELSSID 300
 TLEINGDIHL LEVRSW 316

10

【0 2 5 3】

より長い形態のアミノ酸配列は、以下のように示される (SEQ ID NO: 5) :

【0 2 5 4】

【化 2 2】

MMLSSLNNLQN IIYSPVIPYV GTIPDQLDPG TLIVICGHVP SDADRFQVDL
 QNGSSVKPRA 60
 DVAHFHFNPFR KRAHCIVCNT LINEKWGREE ITYDTPFKRE KSFEIVIMVL
 KDKFQVAVNG 120
 KHTLLYGHRI GPEKIDTLGI YGKVNIHSIG FSFSSDLQST QASSLELTEI
 SRENVPKSGT 180
 PQLPSNRGGD ISKIAPRTVY TSKDSTVNH TLTCTKIPPT NYVSKILPFA
 ARLNTPMGPG 240
 GTVVVKGEVN ANAKSFNVDL LAGKSKHIAL HLNPRLNIKA FVRNSFLQES
 WGEEERNITS 300
 FPFSPGMYFE MIIYCDVREF KVAVNGVHSL EYKHRFKELS SIDTLEINGD
 IHLLEVRSW 359

20

30

【0 2 5 5】

本明細書に定義されるように、「ガレクチン-8タンパク質」は、ガレクチン-8「N-末端ドメイン」、ガレクチン-8「プロリン、グリシン、及びチロシンが豊富なドメイン」、及び／又はガレクチン-8「ガラクトシド結合ドメイン」を含み得るこれらドメインは更に以下のように定められる。

【0 2 5 6】

本明細書で使用されるように、ガレクチン-8「N-末端ドメイン」は、約10乃至20のアミノ酸のアミノ酸配列、好ましくは、SEQ ID NO: 4又は5のアミノ酸1乃至14と少なくとも約60%、70%、80%、90%、95%、99%、又は100%の同一性を共有する、約14のアミノ酸を含む。N-末端ドメインは、N-糖鎖付加部位 (PROSITE No. PS00001) 及び／又はカゼインキナーゼIIリン酸化

40

50

部位 (PROSITE No. PS00006) を含み得る。PROSITE N-糖鎖付加部位は、共通配列: N- {P} p} - [ST] - {P} を持ち、PROSITE カゼインキナーゼ II リン酸化部位は、共通配列: [St] - X (2) - [DE] を持つ。上記の共通配列、他のモチーフ、又は特徴的配列における。

【0257】

本明細書で使用されるように、ガレクチン-8「プロリン、グリシン、及びチロシンが豊富なドメイン」は、約60乃至140のアミノ酸のアミノ酸配列、より好ましくは約80乃至120のアミノ酸、又は、SEQ ID NO: 4及び5の各々のアミノ酸15乃至116と少なくとも約60%、70%、80%、90%、95%、99%、又は100%の同一性を共有する、約90乃至110のアミノ酸を含む。プロリン、グリシン、及びチロシンが豊富なドメインはまた、共通配列: G- {EDRKHPFYW} - X (2) - [STAGCN] - {P} を持つ、1、2、3、4、5、6、7、又は8のN-ミリスチル化部位 (PROSITE No. PS00008) を含み得る。特定の実施形態において、プロリン、グリシン、及びチロシンが豊富なドメインは、SEQ ID NO: 4の以下のアミノ酸と領域: G20、P23、P28、G29、G36、P39、及び、当業者に明白な他の残基などを含む。これらのアミノ酸及び領域は、ガレクチン-8の様々な哺乳動物種にわたって保存され、そして触媒及び／又は構造的な役割を果たし得る。特定の実施形態において、プロリン、グリシン、及びチロシンが豊富なドメインは、SEQ ID NO: 5の以下のアミノ酸と領域: G21、P24、P29、G30、G37、P40、及び、当業者に明白な他の残基などを含む。

【0258】

本明細書で使用されるように、ガレクチン-4「ガラクトシド結合ドメイン」は、少なくとも150のPFAM (SEQ ID NO: 3) からの共通配列PF00337に対する配列のアラインメントに関する少量のスコアを持つ、約80乃至180のアミノ酸のアミノ酸配列を含む。好ましくは、ガレクチン-3ガラクトシド結合ドメインは、少なくとも約100乃至160のアミノ酸、より好ましくは約110乃至150のアミノ酸、又は約120乃至140のアミノ酸を含み、且つ、少なくとも150、より好ましくは少なくとも175、最も好ましくは200以上のPFAM (SEQ ID NO: 3) からの共通配列PF00337に対する配列のアラインメントに関する少量のスコアを有する。

【0259】

PFAMからの共通配列PF00337に対する特定の配列のアラインメントに関する少量のスコアを計算するために、www.sanger.ac.uk/Software/Pfamにて利用可能なデフォルトパラメーターを使用して、対象の配列を、HMMのPFAMデータベース (例えば、PFAMデータベース、リリース2.1) に照らして検索することができる。PFAMデータベースの記載は、上述のSonnhammerらの文献において見出され得、HMMの詳細な記載は、例えばGrubskovらのMeth. Enzymol. 183:146, 1990及びStultzらのProtein Sci. 2:305, 1993において見出され得る。

【0260】

ガレクチン-8ガラクトシド結合ドメインは更に、プロテインキナーゼCリン酸化部位 (PROSITE No. PS00005) ; カゼインキナーゼ II リン酸化部位; (PROSITE No. PS00006) ; 及び／又は、ガラプチン特徴的配列 (PROSITE No. PS00309) の1つ又は2つを含み得る。プロテインキナーゼCリン酸化部位は、共通配列: [St] X- [RK] を持つ。ガラプチン特徴的配列は、共通配列: W- [GEK] - X- [EQ] - X- [KRE] - X (3, 6) - [PCTF] - [LIVMF] - [NQE GSKV] - X- [GH] - X (3) - [DENKHS] - [LIVMFC] を持つ。特定の実施形態において、ガレクチン-8ガラクトシド結合ドメインは、SEQ ID NO: 4の以下のアミノ酸と領域: L123-L124、G126、P131、R128、L140-I146、及び上述のものと同様の他の部位を含

む。これらのアミノ酸と領域は、様々な哺乳動物種のカレクチン-8にわたって保存され、触媒及び／又は構造的な役割を果たし得る（図3において「*」で示されるアミノ酸を参照）。

【0261】

特定のカレクチン-8タンパク質は、SEQ ID NO: 4及び5によって表わされるようなヒトカレクチン-8のアミノ酸配列を含む。他のカレクチン-8タンパク質は、SEQ ID NO: 4又は5のアミノ酸配列と実質的に同一のアミノ酸配列を含む。用語「実質的に同一の」は、本明細書において、第1のアミノ酸を指すように使用される。第1のアミノ酸は、第2のアミノ酸配列中のアラインメントしたアミノ酸残基と同一である十分な数の、又は少数のアミノ酸残基を含み、それにより、第1のアミノ酸と第2のアミノ酸の配列は、共通の構造ドメイン及び／又は共通の機能活性を持ち得る。例えば、SEQ ID NO: 4又は5に対する少なくとも約60%又は65%の同一性、好ましくは少なくとも75%の同一性、より好ましくは少なくとも85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、又は99%の同一性を持つ共通の構造ドメインを含む、アミノ酸配列は、SEQ ID NO: 4又は5のアミノ酸配列と実質的に同一であると称される。特に、SEQ ID NO: 4又は5の特定のアミノ酸残基の欠失、追加、置換、又は修飾などの、偶然又は故意に誘発された変化を含むタンパク質は、本明細書におけるカレクチン-8の定義に該当し得る。本明細書で定義されるように、カレクチン-8タンパク質は、ウシ、イヌ、ネコ、ヤギ、ヒツジ、ブタ、ネズミ、及びウマの種を含むがこれらに限定されない他の哺乳動物種から得たカレクチン-8のアミノ酸配列によって表わされる領域を含み得ることが、理解される。

【0262】

<カレクチンタンパク質の調製>

本発明のカレクチンは、任意の利用可能なソースから得ることができることを、当業者は理解するであろう。これらは、自然源から分離され、例えば固相手順により組み換え型に又は合成的に製造されるタンパク質であるが、これに限定されない。本発明に従い、カレクチン-3、カレクチン-7、又はカレクチン-8をコードするポリヌクレオチド配列は、適切な宿主細胞において本発明のカレクチンの発現を誘導する、組換え型DNA分子において使用されてもよい。上述のCherayilらの文献、上述のMadsenらの文献、及びHadriらの文献には、ヒトカレクチン-1、ヒトカレクチン-3、ヒトカレクチン-7、及びヒトカレクチン-8それぞれのクローン作成が詳しく記載される。生物学的に活性なカレクチン-1、カレクチン-3、カレクチン-7、又はカレクチン-8を発現するために、カレクチン-1、カレクチン-3、カレクチン-7、カレクチン-8、又はそれらの機能的な同等物をコードするヌクレオチド配列は、適切な発現ベクター、即ち、挿入されたコード配列の転写と翻訳に必要な要素を含むベクターに挿入される。当業者に周知の方法は、カレクチン-1-コード化配列、カレクチン-3-コード化配列、カレクチン-7-コード化配列、又はカレクチン-8-コード化配列、及び、適切な転写又は翻訳の対照を含む発現ベクターを構築するために使用され得る。これらの方法は、インビトロの組換えDNA技術、合成技術、及びインビボの組換え又は遺伝子組換えを含む。欠失、追加、又は置換の導入は、例えばPCRベースの突然変異生成を使用する、当業者に既知の任意の技術を用いて達成される。そのような技術は、SambrookらのMolecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Press, Plainview, NY, 1989、及びAusubelらのCurrent Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, NY, 1989に記載されている。様々な発現ベクター／ホストシステムは、カレクチン-1-コード化配列、カレクチン-3-コード化配列、カレクチン-7-コード化配列、又はカレクチン-8-コード化配列を含み、且つこれらを示すために利用されてもよい。これらは、限定されないが、組み換え型バクテリオファージ、プラスミド、又はコスミドDNA発現ベクターにより変形される細菌などの微生物；酵母菌発現ベクター

により変形される酵母菌；ウイルス発現ベクター（例えば、バキュロウィルス）に感染した昆虫細胞系；ウイルス発現ベクターにより変形される植物細胞系（例えば、カリフラワーモザイクウイルス、CaMV；タバコモザイクウイルス、TMV）、又は細菌発現ベクターにより変形される植物細胞系（例えば、Ti、pBR322、又はpET25bのプラスミド）；又は、動物細胞系を含む。代替的に、ガレクチンは、ガレクチン-1アミノ酸配列、ガレクチン-3アミノ酸配列、ガレクチン-7アミノ酸配列、又はガレクチン-8アミノ酸配列を、全体的又は部分的に合成する化学方法を使用して製造される。例えば、ペプチド合成は、様々な固相法（RobergeらのScience 269:202, 1995）を使用して行われ、自動合成は、例えば、メーカーによって提供される説明書に従い、431Aペプチド合成機（Applied Biosystems of Foster City, CAから入手可能）を使用して達成され得る。

10

【0263】

<医薬組成物>

本発明の1つの態様において、ガレクチンタンパク質（例えば、ガレクチン-1タンパク質、ガレクチン-3タンパク質、ガレクチン-7タンパク質、及びガレクチン-8タンパク質）の活性の少なくとも1つの阻害剤、及び随意に薬学的に許容可能な担体を含むように、医薬組成物が提供される。特定の実施形態において、これらの組成物は、随意に、1以上の追加の治療剤を更に含む。特定の実施形態において、追加の治療剤又は薬剤は、増殖因子、抗炎症剤、昇圧薬、コラゲナーゼ阻害剤、局所用ステロイド、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、アスコルビン酸塩、アンジオテンシンII、アンジオテンシンIII、カルレチキュリン、テトラサイクリン、フィブネクチン、コラーゲン、トロネボスポンジン、形質転換増殖因子（TGF）、ケラチノサイト増殖因子（KGF）、線維芽細胞増殖因子（FGF）、インスリン様増殖因子（IGF）、血管内皮細胞増殖因子（VEGF）、表皮増殖因子（EGF）、血小板由来増殖因子（PDGF）、neu分化因子（neurodifferentiation factor）（NDF）、肝細胞増殖因子（HGF）、ビオチンなどのビタミンB、及びヒアルロン酸から成る群から選択される。

20

【0264】

「薬学的に許容可能な担体」及び「薬学的に適切な担体」との句は、本明細書で互換的に使用され、且つ、所望の特定の剤形に適するように、溶媒、希釈剤、又は他の液状ビヒクル、分散剤又は懸濁補助剤（suspension aids）、表面活性剤、等張剤、増粘剤又は乳化剤、防腐剤、固体の結合剤、潤滑剤の何れか及び全てを含む。Remington's Pharmaceutical Sciences Ed. by Gennaro, Mack Publishing, Easton, PA, 1995には、医薬組成物を処方する際に用いられる様々な担体、及びその調製のための既知の技術が開示される。薬学的に許容可能な担体として役立つことができる材料の幾つかの例は、限定されないが、グルコース及びスクロースなどの糖；トウモロコシデンプン及びジャガイモデンプンなどのデンプン；カルボキシメチルセルロースナトリウム、エチルセルロース、及び酢酸セルロースなどのセルロース、及びその誘導体；トラガント粉末；麦芽；ゼラチン；タルク；ココアバター及び坐薬のワックスなどの賦形剤；落花生油、綿実油、サフラワー油、胡麻油、オリーブオイル、トウモロコシ油および大豆油などの油；プロピレングリコールなどのグリコール；オレイン酸エチル及びラウリン酸エチルなどのエステル；寒天；水酸化マグネシウム及び水酸化アルミニウムなどの緩衝剤；アルギン酸；発熱物質を含まない水；等張の食塩水；リンガー溶液；エチルアルコール、及びリン酸緩衝液、同様に、ラウリル硫酸ナトリウム及びステアリン酸マグネシウムなどの他の無毒な適合性の潤滑剤、着色剤、放出剤、コーティング剤、甘味料、香味剤及び芳香剤、防腐剤及び抗酸化剤を含み、これらはまた、処方する人の判断によって組成物中に存在し得る。

30

40

【0265】

<治療上有効な投与量>

また別の態様において、本発明の処置方法に従い、眼の血管新生（例えば、血管新生関

50

連性の障害又は疾病)又は眼の繊維症(例えば、繊維症関連性の疾患又は疾病)の処置は、本明細書に記載されるように、目を医薬組成物と接触させることにより行われる。故に、本発明は、眼の血管新生関連性の障害又は繊維症関連性の障害の処置方法を提供し、該方法は、所望の結果を達成するのに必要な量及び時間で、必要とする被験体に、ガレクチン-3、ガレクチン-7、及び／又はガレクチン-8を素材する活性薬剤を含む医薬組成物の治療上効果的な量を投与する工程を含む。前記方法は、眼の血管新生又は眼の繊維症を阻害するための治療手段として、又は、加齢黄斑変性、眼のヒストプラズマ症候群、血管新生緑内障、後水晶体線維形成症、病的近視、網膜色素線条症、特発性疾患、脈絡膜炎、脈絡膜破裂、被覆する脈絡膜の母斑、移植片拒絶反応、単純ヘルペス角膜炎、リーシュマニア症、オンコセルカ症、及び特定の炎症性疾患などの、眼の血管新生関連性の障害又は眼の繊維症関連性の障害に関連する合併症を最小化するための治療手段として、本発明の医薬品を投与する工程を含むことが、理解される。特定の実施形態において、医薬組成物の「治療上効果的な量」は、血管新生関連性の障害又は繊維症関連性の障害を調節する、具体的には眼の血管新生又は眼の繊維症を下方調節するのに効果的な量である。本発明の方法に従って、組成物は、眼又は他の組織を処置するのに効果的な任意の投与量及び任意の投与経路を使用して投与されてもよい。正確な投薬は、処置される患者を考慮して個々の医師によって選択される。投与量と投与は、十分なレベルの活性薬剤を提供し、又は所望の効果を維持するように調節される。考慮され得る追加の要因は、疾患状態の重症度(例えば、血管新生の範囲、又は繊維症の範囲)、疾病の履歴；患者の年齢、体重及び性別；食事、投与の時間及び頻度；複合薬；反応感受性；及び治療に対する耐性／反応を含む。長時間作用型の医薬組成物は、特定の組成物の半減期及びクリアランス率に依存して、1日数回、毎日、3～4日ごと、毎週、又は2週間に1回、投与され得る。

【0266】

本発明の活性薬剤は、好ましくは、投与のし易さ及び投薬の均一性のために投薬ユニット形態で処方される。本明細書に使用される表現「投薬ユニット形態」は、処置される患者に適切な活性薬剤の、物理的に別個のユニットを指す。しかし、組成物の合計の毎日の使用量は、正当な医学上の判断の範囲内で、主治医によって決定されることが理解される。任意の活性薬剤に関して、治療上有効な投与量は、細胞培養アッセイにおいて、又は、動物モデル(通常、マウス、ウサギ、イヌ、又はブタ)において、最初に推定され得る。動物モデルはまた、望ましい濃度範囲と投与経路を達成するために使用される。眼への直接の適用は、投与経路として想定される一方で、そのような情報は、その後、ヒトにおける投与に関する有用な用量と追加の経路を決定するために使用され得る。治療上有効な用量は、症状又は疾病を改善する活性薬剤の量を指す。活性薬剤の治療上の有効性及び毒性、例えば、ED₅₀(その用量は個体群の50%に治療上有効である)、及びLD₅₀(その用量は個体群の50%に致死性である)は、細胞培養又は実験動物における標準の製薬の手順によって決定され得る。毒性の治療効果に対する用量比は、治療指数であり、比率LD₅₀/ED₅₀として表され得る。大規模な治療指数を示す医薬組成物が好ましい。細胞培養アッセイと動物研究から得たデータは、ヒトへの使用のための投与量の範囲を調製するために使用され得る。

【0267】

<医薬組成物の投与>

所望の投与量における適切な薬学的に許容可能な担体による処方の後、本発明の医薬組成物は、(ゲル、軟膏、又はドロップにより)ヒト人又は他の動物の眼に直接、即ち、眼の外部組織に直接適用するように、投与され得る。処置される疾病の重症度に依存して、硝子体内(*in vitreally*)、テノン囊(*subtenonally*)、及び網膜化、又は経口、直腸、非経口、大槽内、腔内、腹腔内、頬側、又は経鼻の投与を含む眼への注射などの、代替的及び付加的な経路が想定される。眼への注射は、水様液又は硝子体液への眼内注射、又は結膜下注射或いはテノン囊下注射などの眼の外層への注射を含む。経口投与が、合成小分子阻害剤に有効なものとして想定される。

【0268】

眼への投与のための液体剤形は、バッファーと可溶化剤を含み、好ましくは、水などの希釈剤、チモソール（t h y m o s o l）などの防腐剤、及び、ポリエチレングリコール、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ヒアルロン酸ナトリウム、ポリアクリル酸ナトリウム、又はタマリンドガムなどの、溶液を含有するための1以上のバイオポリマー又ポリマーを含む。

【0269】

経口投与のための液体の剤形は、限定されないが、薬学的に許容可能なエマルジョン、マイクロエマルジョン、溶液、懸濁液、シロップ剤、及びエリキシル剤を含む。活性薬剤に加えて、液体の剤形は、例えば水又は他の溶媒などの当該技術分野で一般的に使用される不活性な希釈剤、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油（特に、綿実、落花生類、トウモロコシ、胚、オリーブ、カスター、及び胡麻の油）、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコール、及びソルビタンの脂肪酸エステル、及びそれらの組み合わせなどの可溶化剤及び乳化剤を含み得る。不活性の希釈剤に加えて、経口組成物はまた、湿潤剤、乳化剤及び懸濁化剤、甘味料、香味料、及び芳香剤などのアジュバントを含み得る。

10

【0270】

本発明の医薬組成物の局所投与又は経皮投与のための投薬形態は、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、粉末、溶液、噴霧、吸入、又はパッチを含む。活性薬剤は、無菌条件下で、薬学的に許容可能な担体と、所望され得る任意の必要な防腐剤又は緩衝剤と、混合される。例えば、眼又は皮膚の感染は、水滴、霧、エマルジョン、又は、クリームによって処置され得る。投与は、治療又は予防のためのものでも良い。予防的な製剤が、潜在的な創傷の部位又は創傷の原因に存在するか、又はそれらに適用され、コンタクトレンズ、コンタクトレンズの洗浄溶液及びすすぎ溶液、コンタクトレンズの保管又は持ち運び用の容器、コンタクトレンズを取り扱うためのデバイス、目薬、外科用洗浄液、点耳液、アイパッチ、及び、クリーム、ローション、マスカラ、アイライナー、及びアイシャドウを含む眼の周り用の化粧品などである。本発明は、眼科用デバイス、外科用デバイス、聴覚科学デバイス、又は、開示された組成物を含む製品（例えば、ガーゼ包帯又はガーゼ片）、並びに、そのようなデバイス又は製品の製造又は使用の方法を含む。これらデバイスは、開示された組成物によりコーティングされ、含浸され、結合され、又は他に処理されてもよい。

20

30

【0271】

軟膏剤、ペースト剤、クリーム剤、及びゲル剤は、本発明の活性薬剤に加えて、動物及び植物の脂肪、油、ワックス、パラフィン、デンプン、トラガカント、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコン、ベントナイト、ケイ酸、タルク、酸化亜鉛、又はそれらの混合物などの賦形剤を含み得る。

【0272】

粉末剤及び噴霧剤は、本発明の薬剤に加えて、タルク、ケイ酸、水酸化アルミニウム、ケイ酸カルシウム、ポリアミド粉末、又はこれら物質の混合物などの賦形剤を含み得る。噴霧剤は付加的に、クロロフルオロヒドロカーボンなどの通常の噴射剤を含む。

40

【0273】

経皮パッチは、身体への活性成分の制御送達を提供するという追加の利点を持つ。そのような剤形は、適切な培地において化合物を溶かす又は分配することにより作られ得る。吸収促進剤も、皮膚にわたる化合物の流出を増加させるために使用され得る。速度は、細胞膜を制御する速度の提供により、又は、ポリマーマトリクス又はゲルにおいて化合物を分散させることにより、制御され得る。

【0274】

注射可能な製剤、例えば、無菌の注射可能な水溶性又は油性の懸濁液が、適切な分散剤又は湿潤剤及び懸濁化剤を使用する、既知の技術に従って処方されてもよい。無菌の注射

50

可能な製剤はまた、例えば、1, 3-ブタンジオール中の溶液として、無毒な非経口的に許容可能な希釈剤又は溶媒における、無菌の注射可能な溶液、懸濁液、又はエマルジョンでもよい。使用してもよい許容可能なビヒクル及び溶媒の中には、水、リンガー溶液、U.S.P. 及び塩化ナトリウム溶液がある。加えて、無菌の固定油は従来、溶媒又は懸濁培地として使用される。この目的のために、合成のモノグリセリド又はジグリセリドを含む、任意の穏やかな固定油が使用され得る。加えて、オレイン酸などの脂肪酸が、注射剤の調製において使用される。注射可能な製剤は、例えば、細菌保持フィルターによる濾過によって、又は、使用前に滅菌水或いは他の無菌の注射可能な培地に溶解される又は分散され得る、無菌の固体組成物の形態の滅菌剤を組み込むことによって、滅菌され得る。活性薬剤の効果を延長するために、皮下注射又は筋肉注射からの薬剤の吸収を遅くすることが、望ましいことが多い。非経口投与した活性薬剤の遅延された吸収は、油型ビヒクル中に薬剤を溶解する又は懸濁することにより達成され得る。注射可能なデポー剤の形態は、ポリラクチド-ポリグリコリドなどの生分解性ポリマー中に薬剤のマイクロカプセルマトリックスを形成することにより作られる。活性薬剤のポリマーに対する比率、及び使用された特定のポリマーの性質に依存して、活性薬剤の放出速度を制御することができる。他の生分解性ポリマーの例は、ポリ（オルトエステル）及びポリ（無水物）を含む。デポー剤の注射可能な製剤も、体内組織との適合性があるリポソーム又はマイクロエマルジョン中に薬剤を封入することによって、調製される。

10

【0275】

経口投与のための固形剤形は、カプセル剤、錠剤、丸剤、粉末剤、及び果粒剤を含む。そのような固形剤形において、活性薬剤は、クエン酸ナトリウム又はリン酸二カルシウムなどの少なくとも1つの不活性な、薬学的に許容可能な賦形剤又は担体、及び／又は、a) デンプン、スクロース、グルコース、マンニトール、及びケイ酸などの充填剤又は増量剤、b) 例えばカルボキシメチルセルロース、アルギニン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロース、及びアカシアなどの結合剤、c) グリセロールなどの湿潤剤、d) 寒天-観点、炭酸カルシウム、ジャガイモ又はタピオカのデンプン、アルギン酸、特定のケイ酸塩、及び炭酸ナトリウムなどの崩壊剤、e) パラフィンなどの溶液緩和剤、f) 四級アンモニウム化合物などの吸収促進剤、g) 例えばセチルアルコール及びモノステアリン酸グリセロールなどの湿潤剤、h) カオリン及びベントナイト粘土などの吸収剤、及びi) タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固形のポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウムなどの潤滑剤、及びそれらの混合物と混合される。

20

30

【0276】

同様のタイプの固体の組成物も、高分子量ポリエチレングリコールなどと同様に、乳糖などの賦形剤を使用して、軟性及び剛性の充填ゼラチンカプセル中に充填剤として使用してもよい。錠剤、ドラゼー、カプセル剤、丸剤、及び果粒剤の固形剤形は、腸溶コーティング、放出制御コーティング、及び製薬調剤技術の分野で周知の他のコーティングなどの、コーティング及びシェルにより調製され得る。そのような固形剤形において、活性薬剤は、スクロース又はデンプンなどの少なくとも1つの不活性な希釈剤と混合してもよい。通常の慣例であるように、そのような剤形はまた、不活性な希釈剤以外の追加の物質、例えば、タブレット潤滑剤 (tableting lubricants)、及びステアリン酸マグネシウムと微結晶性セルロースなどの他のタブレット補助剤 (tableting aids) を含み得る。カプセル剤、錠剤、及び丸剤の場合、剤形はまた、緩衝剤を含んでもよい。それらは、随意に乳白剤を含み、且つ、それらが活性剤のみを、又は優先的に、消化管の特定の部分において、随意に遅延した様式で、放出する組成物であり得る。使用され得る組成物を埋め込む例は、ポリマー物質とワックスを含む。

40

【0277】

<医薬組成物の使用>

上述されるように、且つ実施例において更に詳しく記載されるように、ガレクチン-3、ガレクチン-7、及びガレクチン-8の少なくとも1つの阻害剤は、眼のVEGF受容

50

体を結合することにより、眼の T G F - s 受容体に結合することにより、他の受容体又は調節タンパク質に結合することにより、又は、任意の特定の理論又は作用機構に制限されることなく膜貫通性ムチン（又は他の糖タンパク質）に分泌するムチンのオリゴ糖鎖に結合することにより、アクチンの血管新生又は繊維症疾病を処置又は調節するのに有用である。一般的に、ガレクチンのこれらの阻害剤は、例えば、過度の新血管新生、血管新生、又は繊維症に関連する疾病を含む、眼の血管由来又は繊維症の障害の進行を抑えるのに、臨床的に有用であると考えられる。

【0278】

一般的に、ガレクチンのこれらの阻害剤は、角膜上皮；網膜の上皮、眼の血液の内皮、及びリンパ管を含むがこれらに限定されない、任意の上皮又は内皮の組織に関連する、血管新生又は繊維症を抑えるのに臨床的に有用であることが、本明細書で示される。

10

【0279】

ガレクチン 1-11 の何れか（例えば、ガレクチン-1、ガレクチン-3、ガレクチン-7、及びガレクチン-8）の少なくとも 1 つの阻害剤を含む医薬組成物は、例えば、本明細書において、血管新生又は繊維症の標準レベルを促進するのに有用である。

【0280】

ガレクチン-1、ガレクチン-3、ガレクチン-7、及び／又はガレクチン-8 の阻害剤は、様々な病理学的状態によって引き起こされる、眼に対する過剰な血管新生又は繊維症による損傷を減らす又は妨げるために、予防的に投与され得る。例えば、急性又は慢性の肺損傷を予防する、弱める、又は処置するために肺胞及び細気管支の上皮の修復を促進するために使用される、適正量のガレクチン-1、ガレクチン-3、ガレクチン-7、及び／又はガレクチン-8 が、本明細書における組成物により制御され得る。細気管支の上皮と肺胞の壊死を引き起こす、気腫（肺胞の進行性損失の結果として生じる）、及び、吸入損傷（即ち、煙吸入と熱傷から結果として生じる）は、ガレクチン-1、ガレクチン-3、ガレクチン-7、及び／又はガレクチン-8 の阻害剤を使用して効果的に処置され得、ガレクチンの処置後、化学療法、放射線治療、肺癌、喘息、黒色肺、及び他の肺が損傷する状態に起因する損傷を引き起こし得る。

20

【0281】

これらの例に記載される全ての動物処置は、視力研究での動物の使用と、実験動物のケア及び使用のための NIH ガイドの推薦にて、視覚と眼科学分解能の研究協会（Association for Research in Vision and Ophthalmology Resolution）に順応した。

30

【0282】

本発明の様々な実施形態は、以下の特許請求の範囲と実施例と図面により例証されるものであり、これらは単なる例示目的のためのものであり、更なる制限を与えるものとして解釈されるものではない。付属物 A、B、及び C は、その全体を引用することによって、本明細書に組み込まれる。本出願において引用された、非特許文献引用、交付済み特許、及び公表された特許出願を含む全ての引用の内容は、その全体を引用することによって、本明細書に組み込まれる。

【実施例】

40

【0283】

（実施例 1. bis (3-デオキシ-3-(3-フルオロフェニル-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファンの合成の材料および器具)

bis (3-デオキシ-3-(3-フルオロフェニル-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル)-β-D-ガラクトピラノシル) スルファン (TD139) は、Hakon Leffler 教授及び Ulf Nilsson (ルンド大学) 教授より与えられ、本明細書中に記載された材料および方法を用いて調製した。

【0284】

融点をコフラー装置 (Kofler apparatus) (Reichert) に記

50

録し未訂正である。プロトン核磁気共鳴 (^1H) スペクトルを、Bruker DRX 400 (400 MHz) または Bruker ARX 300 (300 MHz) 分光計を使用して記録した；多様性は、シングレット (s)、ダブレット (d)、ダブレットのダブレット (dd)、トリプレット (t)、明白なトリプレット (at) 又はダブレットの明白なトリプレット (atd) として引用される。炭素核磁気共鳴 (^{13}C) スペクトルを Bruker DRX 400 (100.6 MHz) 分光計を使用して記録した。スペクトルを COSY、HMQC および DEPT 実験を使用して割り当てた。すべての化学シフトを、百万分の一 (PPM) で d-スケールで引用する。

【0285】

低分解能および高分解能 (FAB-HRMS) 高速原子衝撃質量スペクトルを JEOL SX-120 器具を使用して記録し、低分解能および高分解能 (ES-HRMS) を Micromass Q-TOF 機により記録した。旋光度を Perkin-Elmer 341 の偏光計上で 1 dm の路程にて測定した；濃度は 100 mL 中の g 数で与えられる。薄層クロマトグラフィー (TLC) 法を Merck Kieselgel シートを使用して実行し、60 F254 シリカであらかじめ被覆した。プレートを 10% の硫酸を使用して展開した。フラッシュ・カラムクロマトグラフィーをシリカ (Matrex、60 Å、35–70 μm 、Grace Amicon) で行った。アセトニトリルを水素化カルシウムから蒸留し、4 Å モレキュラーシーブ上に保存した。DMF を 4 Å モレキュラーシーブから蒸留し、4 Å モレキュラーシーブ上に保存した。

【0286】

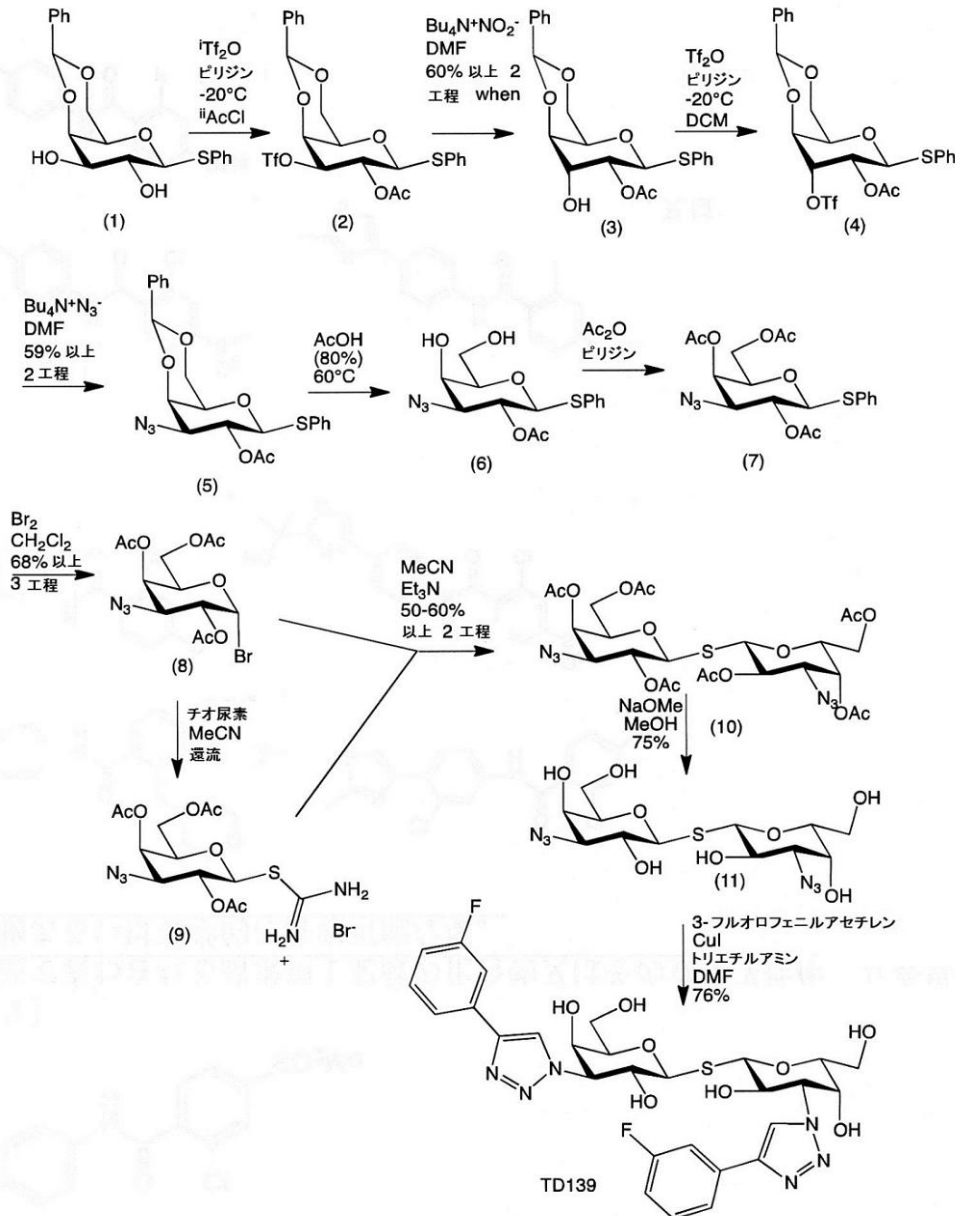
bis (3-デオキシ-3- (3-フルオロフェニル-1H-1, 2, 3-トリアゾール-1-イル) - β -D-ガラクトピラノシル) スルファン (TD139) を以下のような反応模式図 1 に従って調製した：

【0287】

10

20

【化 2 3】



【 0 2 8 8 】

化合物1（上記反応1）はCarbosynth Limited 8 & 9 Old Station Business Park - Compton - Berkshire - RG20 6NE - UKから得られ、またはDガラクトース（Li, Z. およびGildersleeve, J. J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 11612-11619を参照されたい）から3つのほぼ定量的な工程において合成した。

【 0 2 8 9 】

(実施例 2. フェニル 2-O-アセチル-4, 6-O-ベンジリデン-1-チオ-3-O-トリフルオロメタンスルホニル-β-D-ガラクトピラノシド (模式図 1 の構造 2) の合成)

化合物 1 (10.5 g, 29.2 mmol) を、乾燥したピリジン (4.73 mL (58.4 mmol)) および乾燥した CH_2Cl_2 (132 mL) に溶かした。反応混合物を -20°C (氷と NaCl 3 : 1 の槽) まで攪拌して冷やした。ゆっくり、および N_2 大気の下で、 Tf_2O (5.68 mL, 33.6 mmol) を加えた。反応混合物を TL C (ヘプタン : EtOAc , 1 : 1 およびトルエン : アセトン, 10 : 1) によってモ

ニターした。反応が完了した時、 AcCl (2.29 mL, 32.1 mmol) を加え、および攪拌を維持し、および温度を室温まで上昇させた。この混合物を TLC (ヘプタン： EtOAc , 1:1 およびトルエン：アセトン, 10:1) によってモニターした。反応が完了した時、それを CH_2Cl_2 でクエンチし、5% の HCl 、 NaHCO_3 (飽和させられた) および NaCl (飽和させられた) で洗った。有機層を MgSO_4 で乾燥し、減圧化でろ過し、および濃縮した。

【0290】

(実施例 3. フェニル 2- O -アセチル-4, 6- O -ベンジリデン-1-チオ- β -D-グルコピラノシド (模式図 1 の構造 3) の合成)

テトラブチルアンモニウム亜硝酸塩 (25.3 g, 87.7 mmol) を DMF (110 mL) において化合物 2 (15.6 g, 29.2 mmol) の溶液に加え、および 50 °C で、 N_2 大気の下で、攪拌し続けた。その反応は、初めに紫色を呈し、その後暗紅色を呈することが観察された。その反応を TLC (ヘプタン： EtOAc , 1:1 およびトルエン：アセトン, 10:1) によってモニターし、 CH_2Cl_2 で急冷した。その混合物を 5% HCl 、 NaHCO_3 (飽和させられた) および NaCl (飽和させられた) で洗った。有機層を MgSO_4 で乾燥し、ろ過し、および減圧化で濃縮し、続いてフラッシュ・クロマトグラフィー (溶離剤ヘプタン： EtOAc , 1:1 およびヘプタン： EtOAc , 1:2) によって精製し、および、 EtOAc およびヘプタン (1:3) の混合物から再結晶する。 CDCl_3 における ^1H NMR δ 7.60–7.57 (m, 2H, Ar), 7.43–7.40 (m, 2H, Ar), 7.37–7.34 (m, 3H, Ar), 7.29–7.25 (m, 3H, Ar), 5.50 (s, 1H, PhCH), 5.15 (d, 1H, $J=10.29$ Hz, H-1), 5.10 (dd, 1H, $J=10.27$ Hz, 2.85 Hz, H-2), 4.36 (dd, 1H, $J=12.49$ Hz, 1.4 Hz, H-6), 4.18 (br s, 1H, H-3), 4.08 (dd, 1H, $J=3.59$ Hz, 1.04 Hz, H-6), 4.03 (dd, 1H, $J=12.53$ Hz, 1.75 Hz, H-4), 3.88 (s, 2H, H-5+OH), 2.12 (s, 3H, OAc).

【0291】

(実施例 4. フェニル 2- O -アセチル-4, 6- O -ベンジリデン-1-チオ-3- O -トリフルオロメタンシルホニル- β -D-グルコピラノシド (模式図 1 の構造 4) の合成。)

化合物 3 (1.00 g, 2.48 mmol) を、乾燥した CH_2Cl_2 (12.5 mL) および乾燥したピリジン (0.40 mL, 4.96 mmol) に溶かした。反応混合物を -20°C (氷と NaCl_3 :1 の槽) まで攪拌して冷やした。ゆっくり、および N_2 大気の下で、 Tf_2O (0.48 mL, 2.85 mmol) を加えた。反応混合物を TLC (ヘプタン： EtOAc , 1:1 およびトルエン：アセトン, 10:1) によってモニターし、反応が完了した時、 CH_2Cl_2 でクエンチし、5% の HCl 、 NaHCO_3 (飽和させられた) および NaCl (飽和させられた) で洗った。有機層を、乾燥するまで、 MgSO_4 で乾燥し、ろ過し、および減圧化で濃縮して乾燥した。

【0292】

(実施例 5. フェニル 2- O -アセチル-3-アジド-4, 6- O -ベンジリデン-3-デオキシ-1-チオ- β -D-ガラクトピラノシド (模式図 1 の構造 5))

テトラブチルアンモニウムアジ化物 (2.12 g, 7.44 mmol) を DMF (10 mL) において、攪拌しながら、 N_2 大気の下で、50 °C で、化合物 4 (1.3256 g, 2.48 mmol) の溶液に注意深く加えた。その反応を TLC (E:H, 1:1) によってモニターし、および減圧化で濃縮し、続いてフラッシュ・クロマトグラフィー (溶離剤ヘプタン： EtOAc , 2:1 およびヘプタン： EtOAc , 1:1) によって精製した。 CDCl_3 における ^1H NMR δ 7.61–7.58 (m, 2H, Ar), 7.44–7.41 (m, 2H, Ar), 7.39–7.36 (m, 3H, Ar), 7.30–7.24 (m, 3H, Ar), 5.59 (s, 1H, PhCH), 5.35 (t, 1H

, $J = 9.95 \text{ Hz}$, $H-2$), 4.73 (d, $1H$, $J = 9.63 \text{ Hz}$, $H-1$), 4.44 (dd, $1H$, $J = 6.24 \text{ Hz}$, 1.60 Hz , $H-6$), $4.35-4.34$ (dd, $1H$, $J = 3.33 \text{ Hz}$, 0.88 Hz , $H-4$), 4.11 (dd, $1H$, $J = 12.48 \text{ Hz}$, 1.67 Hz , $H-6$), 3.57 (d, $1H$, $J = 1.15 \text{ Hz}$, $H-5$), 3.44 (dd, $1H$, $J = 10.21 \text{ Hz}$, 3.29 Hz , $H-3$), 2.17 (s, $3H$, OAc).

【0293】

(実施例6. フェニル2- O -アセチル-3-アジド-3-デオキシ-1-チオ- β -D-ガラクトピラノシド (模式図1の構造6) の合成)

化合物5 (470 mg , 1.1 mmol) を80%の酢酸 (75 mL) に溶かし、おおよび、混合物を加熱し 60°C で維持した。反応をTLC (ヘプタン: EtOAc, 1:1) によってモニターした。反応が完了した時、混合物を減圧化で熱により濃縮した。

【0294】

(実施例7. フェニル2, 4, 6-トリ- O -アセチル-3-アジド-3-デオキシ-1-チオ- β -D-ガラクトピラノシド (模式図1の構造7) の合成。)

無水酢酸 (30 mL) を、乾燥ピリジン (30 mL) において、化合物6 (373 mg , 1.1 mmol) の溶液に加えた。反応をTLC (ヘプタン: EtOAc, 1:1) によってモニターし、おおよび完了した時、減圧化で濃縮した。(CDCl₃における¹H NMR δ $7.54-7.51$ (m, $2H$, Ar), $7.35-7.30$ (m, $3H$, Ar), 5.46 (dd, $1H$, $H-4$), 5.23 (t, $1H$, $H-2$), 4.73 (d, $1H$, $H-1$), 4.15 (d, $2H$, $H-6$, $H-6$), 3.94 (dt, $1H$, $H-5$), 3.68 (dd, $1H$, $H-3$), 2.18 (s, $3H$, OAc), 2.15 (s, $3H$, OAc), 2.06 (s, $3H$, OAc)).

【0295】

(実施例8. 2, 4, 6-トリ- O -アセチル-3-アジド-3-デオキシ- α -D-ガラクトピラノシルブロミド (模式図1の構造8) の合成)

化合物7 (237.4 mg , $560 \mu\text{mol}$) を乾燥したCH₂Cl₂ (2 mL) に溶かし、おおよび臭素 ($32 \mu\text{l}$, $620 \mu\text{mol}$) を加えた。反応をTLC (ヘプタン: EtOAc, 1:1) によってモニターした。完了する時、少量のシクロペンテンを反応混合物に加えて、残る未処理のBr₂を除去した。混合物を減圧化で濃縮し、速いフラッシュ・クロマトグラフィー (溶離剤: 500 mL ヘプタン: EtOAc, 2:1) によって精製した。

【0296】

(実施例9. 2, 4, 6-トリ- O -アセチル-3-アジド-3-デオキシ- α -D-ガラクトピラノース-1-イソチウロニウム ブロミド (模式図1の構造9) の合成)

高感度なブロミド化合物8 (70.6 mg , $180 \mu\text{mol}$) を、乾燥アセトニトリル (1.7 mL) に直ちに溶かし、4時間N₂の下でチオ尿素 (13.7 mg , $180 \mu\text{mol}$) で還流した。その反応をTLC (ヘプタン: EtOAc, 1:1) によってモニターし、おおよび、完了したとき、混合物を冷やした。

【0297】

(実施例10. bis (2, 4, 6-トリ- O -アセチル-3-アジド-3-デオキシ- β -D-ガラクトピラノシル)-スルファン (模式図1の構造10) の合成)

高感度なブロミド化合物8 (77.0 mg , $196 \mu\text{mol}$) およびEt₃N ($60 \mu\text{l}$ ($430 \mu\text{mol}$)) を、先の混合物 (化合物9) に加えた。その反応をTLC (ヘプタン: EtOAc, 1:1) によってモニターした。反応が完了した時、混合物は熱を加えることなく減圧化で濃縮した。残留物をフラッシュ・クロマトグラフィー (溶離剤: ヘプタン: EtOAc, 1:1) によって精製した。CDCl₃における¹H NMR δ 5.50 (dd, $2H$, $H-4$), 5.23 (t, $2H$, $H-2$, $H-2'$), 4.83 (d, $2H$, $H-1$, $H-1'$), 4.15 (dd, $4H$, $H-6$, $H-6$, $H-6'$, $H-6'$), 3.89 (dt, $2H$, $H-5$, $H-5'$), 3.70 (dd, $2H$

, H-3, H-3'), 2.19 (s, 6H, 2OAc), 2.15 (s, 6H, 2OAc), 2.18 (s, 6H, 2OAc).

【0298】

(実施例11: bis(3-アジド-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-スルファン(模式図1の構造11)の合成)

化合物10(160mg、0.00024mol)を乾燥MeOH(2.6mL)および乾燥CH₂Cl₂(1.6mL)に溶かし、およびNaOMe(1M、24μL、24μmol)を加えた。その反応をTLC(ヘプタン:EtOAc1:1およびD:M5:1)によってモニターした。反応が完了した時、混合物をpH7になるまでDuoLite C436で中和し、およぼろ過し、MeOHで洗った。ろ過された溶液を、減圧化で濃縮した。純粋な化合物11(74.1mg、75%)を与えるために、残留物をフラッシュ・クロマトグラフィー(溶離剤:CH₂Cl₂:MeOH、5:1)によって精製した。CDCl₃における¹H NMR δ 4.72 (d, 2H, J=9.7 Hz, H-1, H-1'), 3.95 (br s, 2H, H-4, H-4'), 3.84 (t, 2H, J=9.8 Hz, H-2, H-2'), 3.74 (dd, 2H, J=11.47 Hz, 7.23 Hz, H-6, H-6'), 3.64 (dd, 2H, J=11.48 Hz, 4.72 Hz, H-6, H-6'), 3.60-3.55 (ddd, 2H, 7.15 Hz, 4.67 Hz, 0.93 Hz, H-5, H-5'), 3.36 (d, 2H, J=10 Hz, 3.05 Hz, H-3, H-3').

【0299】

(実施例12: bis-{3-デオキシ-3-[4-(3-フルオロフェニル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル]-β-D-ガラクトピラノシル}スルファン(TD139)の合成)

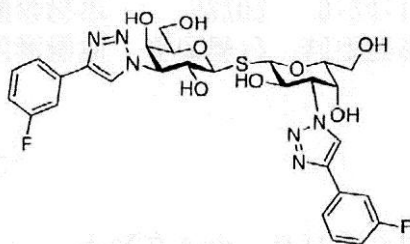
N,N-ジメチルホルムアミド(DMF(100mL/mmolスルファン))において、Cu(I)(0.2eq)、トリエチルアミン(2eq.)と共に、bis-(3-アジド-3-デオキシ-β-D-ガラクトピラノシル)-スルファンと3-フルオロフェニルアセチレン(3eq.)の間のCu(I)に触媒される付加環化によって、外界温度でTD139を合成した。反応を完了するまでTLCによってモニターし、および濃縮し、および最初はフラッシュ・クロマトグラフィー(溶離剤:CH₂Cl₂:MeOH、8:1)によって、その後は予備のHPLCによって精製し、TD139を76%の産出量で白い非晶質固体として産出した。¹H-NMR(CD₃OD, 400MHz) δ 8.59 (s, 2H, トリアゾール-H), 7.63 (br d, 2H, 7.6 Hz, Ar-H), 7.57 (br d, 2H, 8.4 Hz, Ar-H), 7.41 (dt, 2H, 6, 0および8.0 Hz, Ar-H), 7.05 (br dt, 2H, 2.4および6.4 Hz, Ar-H), 4.93 (dd, 2H, 2, 4および10.4 Hz, H3), 4.92 (d, 2H, 10.4 Hz, H1), 4.84 (2H, 10.4 Hz, H2), 4.18 (d, 2H, 2.4 Hz, H4), 3.92 (dd, 2H, 4.2および7.6 Hz, H5), 3.84 (dd, 2H, 7.6および11.4 Hz, H6), 3.73 (dd, 2H, 4.2および11.4 Hz, H6); FAB-HRMSm/z calcd for C₂₈H₃₀F₂N₆NaO₈S (M+Na⁺), 671.1712; found, 671.1705.

【0300】

化合物TD139の構造は下のように示される:

【0301】

【化 2 4】



【0302】

10

(実施例13. 毛細管形成アッセイ (capillary tubule formation assays) において用いられる材料)

Growth Factor Reduced Matrigel (カタログ番号354230) 材料を、Becton Dickinson社 (Franklin Lakes, NJ) から得た。8マイクロメートル (ミクロン、 μm) の孔径を有する Transwell inserts を、Corning社 (Corning, NY; カタログ番号3422) から得た。内皮の基本培地をLonza社 (Walkersville, MD; カタログ番号CC-3156) から得た。血管内皮細胞増殖因子 (VEGF) をセル・シグナル社 (Canton, MA; カタログ番号CRV001A) から得た。

【0303】

20

(実施例14. 毛細管形成アッセイに対する阻害剤の効果)

Matrigel を4.5mg/mLの濃度に希釈し、8チャンバースライド (eight-chamber slide) ($200\mu\text{l}$ /チャンバー) に加え、20分間37℃で重合した。ヒト臍静脈内皮細胞 (HUV EC) を、容器において培養し、および0.25%のトリプシン-エチレンジアミン四酢酸を用いて容器の表面から持ち上げるにより分離した。

【0304】

溶液を、1%のウシ胎仔血清 (FBS) が補われた内皮の基本培地2 (EBM-2) に25ナノグラム (ng) /mLのVEGFを含むように準備した。HUV ECサンプル (20,000細胞/サンプル) を次のどちらかに投与した: EBM-2中に25ng/mLのVEGFおよび10マイクロモル濃度 (μM) のTD139ガレクチン-3阻害剤 (600の分子量)、またはEBM-2中に25ng/mLのVEGFおよび50 μM のTD139。

30

【0305】

対照HUV ECを、EBM-2中の25ng/mLのVEGFのみで処理した。異なるHUV ECサンプルの各々を、マトリゲルチャンバー内で6時間、37℃、5%CO₂でインキュベートした。

【0306】

代表的な写真の画像 (1チャンバー当たり4画像) を得た。毛細管形成のデータを得て、分岐点の数を数えることにより、定量化した。データを、1%のFBSのみ (VEGFもTD139阻害剤も加えられない) が補われたEBM-2培地で処理した対照サンプルに規格化した。

40

【0307】

X40/0.75 (f/1.25) の対物レンズ (Markowskaら、2011 J of Bio Chem Vol. 286 (34): 29913-29921 を参照) を装備する、ライカDM IRE共焦点レーザー顕微鏡 (Leica Laser technik, Heidelberg, Germany) を使用して、共焦点画像を得た。CFI Plan Fluor X4 (f/0.13) 又は CFI Plan Fluor X20 (f/0.50) の対物レンズを備えたEclipse E400 顕微鏡 (Nikon, Tokyo, Japan) を用いて、蛍光画像

50

を取得した。細胞の出芽の画像を、C F I P l a n F l u o r X 4 および C F I P l a n F l u o r X 1 0 (f / 0 . 3 0) 対物レンズを備えた N i k o n E c l i p s e T E 2 0 0 位相差顕微鏡で撮影した。画像は、S P O T R T c o l o r d i g i t a l c a m e r a (D i a g n o s t i c I n s t r u m e n t s , S t e r l i n g H e i g h t s , M I) および S P O T A c q u i s i t i o n s o f t w a r e v e r s i o n 4 . 0 . 6 (D i a g n o s t i c I n s t r u m e n t s) により、室温で取得された。データはスチューデントの t 検定により分析した (表 1)。

【0308】

【表 1】

表 1: VEGF 及び TD139 阻害剤、及び対象の無阻害剤 (control absent inhibitor) を投与したヒト臍静脈内非細胞の毛細管形成

	VEGF (25ng/mL) 及び阻害剤で処理されていない対照細胞と比較した、処理細胞の毛細管形成の倍率変化		
複製	VEGF	VEGF + 10 μ M 阻害剤	VEGF + 50 μ M 阻害剤
1	2.42	1.94	1.13
2	2.6	1.85	0.79
3	1.64	1.32	0.27
平均	2.22	1.70	0.73
標準偏差	0.51	0.34	0.43
標準誤差	0.29	0.19	0.25

【0309】

EBM-2 および 10 μ M の TD139 ガレクチン-3 阻害剤で処理した HUVEC、又は、EBM-2 および 10 μ M の TD139 で処理した HUVEC のいずれと比較しても、25 ng/mL の VEGF で処理された HUVEC においては増強された毛細管形成が、観察された (1-3 倍) (表 1, 図 9A および図 9B)。10 μ M の TD139 阻害剤による HUVEC の処理は、VEGF のみで処理した HUVEC と比較して、HUVEC 内での VEGF を媒介とする毛細管形成を減少させた (表 2 および図 9B)。

【0310】

最も重要なことに、50 μ M の TD139 阻害剤での HUVEC の処理は、VEGF のみで処理した HUVEC と比較して、VEGF を媒介とした毛細管形成の範囲を著しく減少させた (n=3, p<0.05; 図 9B)。ガレクチン阻害剤が、実質的には TD139 が、VEGF に引き起こされる毛細管形成を阻害した、ということをこれらのデータは示す。

【0311】

(実施例 15. 3次元のインビトロ血管新生アッセイ/出芽アッセイにおける材料)

メチル・セルロース (カタログ番号 M0512) を Sigma 社, (St. Louis, MO) より得て、ダルベッコ変法イーグル培地 (DMEM; カタログ番号 11965) を Invitrogen 社 (Carlsbad, CA) から得た。I 型コラーゲン (カタログ番号 354-4236) を Becton Dickinson 社から得た。濃縮 (10x) 培地 199 (カタログ番号 11825) を、Invitrogen 社から得た。濃縮 (100x) ペニシリン-ストレプトマイシン溶液 (カタログ番号 15140) を、Gibco Invitrogen 社 (Carlsbad, CA) から得た。

【0312】

ポリスチレン浮遊培養マイクロプレート (プレート当たり 96 ウェル; カタログ番号 50185) を、Greiner Bio One (Frickenhausen, Germany) から得た。VEGF (カタログ番号 100-200) を PeptoTec

h 社 (R o c k y H i l l , N H) から得た。内皮の増殖培地-2 (E G M - 2) (カタログ番号 C C 4 1 7 6) および E B M - 2 (カタログ番号 C C 3 1 5 6) を、L o n z a 社から得た。

【0313】

(実施例16. メチル・セルロースの調製)

メチル・セルロース粉末 (6 g) を 500 mL 瓶中で磁気棒を使用して攪拌しながらオートクレーブした。粉末を 60℃で30分間攪拌しながら DMEM 培地 250 mL に溶かし、およびその後、室温の DMEM 250 mL を加え、混合物を 4℃で2時間攪拌した。その後、結果として生じる混合物を、50 mL 円筒形チューブへ分注し、室温で2時間遠心分離して (毎分回転数 6170)、球状体構造 (s p h e r o i d f o r m a t i o n) と干渉する細片を除去する。透明な上清を遠心分離したチューブから収集する。

10

【0314】

(実施例17. 内皮細胞球状体 (E n d o t h e l i a l c e l l - s p h e r o i d) の調製)

内皮細胞 (E C) を容器において培養し、0.25%のトリプシンで容器表面から分離した。トリプシン処理した E C 細胞の pH を DMEM で中和した。メチルセルロース 3.75 mL、FBS 1.75 mL、ペニシリン/ストレプトマイシン 17.5 μ l、および 90,000 の内皮細胞を混ぜ合わせ、DMEM を加えて全容積を 17.5 mL に至らせることによって、球状体溶液をチューブ内に調製する。チューブを転倒させることにより球状体溶液を混合し、多チャンネルピペッターおよび広口チップ (w i d e m o u t h t i p s) を使用して、150 μ l のアリコート を 96 ウェルプレートのウェルの各々に加えた。球状体を固定し、5% CO₂ において 24 時間 37℃でインキュベートした。

20

【0315】

(実施例18. コラーゲンの調製)

それぞれの 96 ウェルプレートは、24 ウェルプレートの 4 ウェルのために十分な球状体を産出した。コラーゲン溶液を、2.3 mL の (3.9 mg/mL) I 型コラーゲン、400 μ l の 10x M199 培地、200 μ l の FBS、および 1.1 mL 水を使用して調製した。コラーゲン溶液を、カラー pH 指示薬 (c o l o r p H i n d i c a t o r) を使用して水酸化ナトリウムで中和した。メチル・セルロース溶液 (4.5 mL) を、1.5 mL の DMEM と組み合わせて、ウォーターバスで 37℃に暖めた。E C 球状体を、広口ピペット (w i d e m o u t h p i p e t t e) を使用して集め、3分間室温で遠心分離した (毎分 700 回転)。

30

【0316】

結果として生じる上清を除去し、およびメチル・セルロース溶液 2 mL をペレットに加えた。中和されたコラーゲン溶液 (2 mL) を、混合物に加え、および泡形成を避けるためにピペットを使用して注意深く混合した。

【0317】

混合されたコラーゲン溶液のアリコート (1 mL) を 24 ウェルプレートの 4 ウェルに加え、およびプレートを 37℃ 5% CO₂ で 30 分間インキュベートして、コラーゲンを重合した。重合されたコラーゲンを、20 μ M の T D 1 3 9 又は 50 μ M の T D 1 3 9 のいずれかで補った、100 μ l の E B M - 2 および E B M - 2 中の 25 ng/mL V E G F で覆った。対照コラーゲン・サンプルを、100 μ l の E B M - 2 および E B M - 2 中の 25 ng/mL の V E G F で処理した。出芽および管形成を、時間に応じて倒立位相差顕微鏡 (N i k o n) で観察し、S P O T R T カラーデジタルカメラ (D i a g n o s t i c I n s t r u m e n t s , S t e r l i n g H e i g h t s , M I) および S P O T A c q u i s i t i o n ソフトウェアバージョン 4.0.6 (D i a g n o s t i c I n s t r u m e n t s) を使用して撮影した。Meyerら 2003 J B i o l C h e m . 278 (18):16347-55 を参照されたい。インキュベートされたサンプルの代表的な画像を得て、内皮細胞の出芽の任意単位における累積の長さを

40

50

、Image Jの加工および解析手法によって決定した。データをスチューデントのt検定によって解析した(表2)。

【0318】

統計解析：VEGFのみの存在と比較された対照は0.0012である；10 μ Mの阻害剤およびVEGFの存在と比較して、VEGFのみの存在は、0.119である；50 μ Mの阻害剤およびVEGFの存在と比較して、VEGFのみの存在は、0.079である。

【0319】

データは、VEGF 25 ng/mLのみを投与されたEC球状体が、培地のみで処理した対照EC球状体と比較して、4倍の内皮細胞の出芽を生み出したことを示す(FIG. 10A)。

TD139阻害剤10 μ Mの投与は、VEGFのみと接触したEC球状体と比較して、VEGFを媒介としたEC出芽の量の約3分の1だけ、出芽を減少させた、ということを観察した(表2および図10B)。TD139阻害剤50 μ Mの投与は、TD139阻害剤10 μ Mで処理したEC球状体と比較して、VEGFを媒介とした出芽の程度(約3分の2)を著しくさらに減少させた($n=3$, $p<0.01$)。従って、ガレクチン阻害剤は実質的に血管新生のプロセス、すなわち、VEGFに引き起こされる毛細管出芽を阻害し、阻害は投与された阻害剤の量に関して用量依存的であった。

【0320】

【表2】

表2. VEGF及びTD139阻害剤を投与したECにおけるインビトロの血管新生

複製	VEGF及び阻害剤で処理されていない対照細胞にわたるECの毛細管出芽における倍率変化			
	対照	VEGF	VEGF +10 μ M 阻害剤	VEGF + 50 μ M 阻害剤
1	207	800	779	-
2	N/A	650	294	394
3	169	921	729	294
4	132	604	200	93
平均	169	743	500	260
標準偏差	38	145	296	153
標準誤差	22	72	148	77

【0321】

(実施例19. ガレクチンタンパク質阻害はインビボのVEGF受容体経路を調節する)

VEGF受容体-2 (VEGFR2)を通じた血管内皮細胞増殖因子(VEGF)シグナルは、第一の血管新生経路であり、ガレクチン-1タンパク質およびガレクチン-3タンパク質がその重要な修飾因子である。TD139は、ガレクチン-1(12 nMの平衡解離定数または K_D)およびガレクチン-3($K_D=14$ nM)に対して高い親和性を有する。引用によって本明細書全体に組み込まれる、Lepur Aら2012 Biochim Biophys Acta. 1820(7):804-18を参照されたい。化合物TD139はガレクチン-1およびガレクチン-3それぞれと特異的に結合する。

【0322】

本明細書における実施例は、ガレクチン-1およびガレクチン-3の両方を標的とするTD139がVEGF-A/VEGFR2シグナルに影響したことを示す。病的な血管新生を阻害するTD139の効果を、本明細書の実施例において示す。任意の特定の理論または作用機序によって限定的されないが、TD139処理はVEGF-A/VEGFR2シグナルに干渉し、およびVEGF-A-に引き起こされる血管新生を抑制することが、本明細書で予見される。

【0323】

眼における新生血管形成を、硝酸銀を使用した焼灼によってマウス角膜に引き起こした。図11Aは、C57B/6Lマウス被験体のための、レジメン/投与の予定を示す。被験体のグループに、0.5%DMSOを含むPBS中のTD139(325ng)10μLを、一日おきに結膜下注射した。対照被験体に、ビヒクルのみ(0.5%DMSOのみを含むPBS)を結膜下注射した。被験体の別のグループに、10μlのビヒクルのみ又はビヒクル中の50μMのTD139のいずれかの点眼剤を、1日当たり1回投与した。

【0324】

結膜下注射処理または点眼薬処理のいずれかの5日後、被験体を屠殺し、角膜のフラットマウント(flat mounts)を切除し、撮影し、および抗CD31で染色して血管を可視化した(図11B、倍率はx100である)。角膜全体を覆う血管の密度を、Image Jによって定量し、スチューデントt検定で解析した(図11C)。

10

【0325】

焼灼後5日の被験体からの眼の代表的な写真を、図11Bの最上列に示す。PBSで処理された対照被験体の眼は、血管新生および新しい血管の形成の強力な徴候を示す(図11B、左側の欄、最上列)。最も重要なことに、TD139処理された眼の写真の解析は、対照被験体と比較して減少した血管新生を示す(図11B、右側の欄、最上列)。

【0326】

抗CD31で染色された角膜のフラットマウントからの代表的な部分を、図11B底列に示す。PBSのみで処理された対照被験体からの眼は、強力なCD31染色を示す(図11B、左側の欄、底列)。最も重要なことに、TD139処理された角膜で処理された被験体からの角膜は、PBSのみで処理された対照被験体からの眼と比較して、減少したCD31染色を示す。

20

【0327】

さらに、PBSのみで処理された対照被験体からの角膜をカバーする血管の密度は、約40%であった。TD139で処理された被験体からの角膜をカバーする血管の密度は、有意に減少した(28%)。図11Cを参照されたい。TD139点眼剤の結膜下注射および局所的投与の両方が、インビボで焼灼により引き起こされる角膜血管新生を、減少させた。したがって、TD139は角膜血管新生の効果的なインビボの阻害剤であり、それは眼の血管新生の重要なシステムである、と観察された。

【0328】

(実施例20. ガレクチン-1およびガレクチン-3タンパク質は、VEGFR-2と結合しおよびそれと相互作用する)

30

VEGFR-2を発現するHUVECからの溶解物を、0.1モル濃度(M)ショ糖または0.1Mのラクトース存在下において、ガレクチン-1タンパク質が結合されたアガロースビーズ、またはアガロースビーズと結合されたガレクチン-3タンパク質とインキュベートした。対照HUVEC溶解物を、ガレクチン-1アガロースビーズ、または、ガレクチン-3アガロースビーズのみでインキュベートした。ビーズをすすいで非結合の材料を除去した。

【0329】

ビーズに結合するHUVEC溶解物材料を、Laemmliサンプル緩衝液で溶出し、ゲル電気泳動(4-20%のSDS-PAGEゲル剤)を使用して分析した。ブロッキングに引き続き、メンブレンブロット(membrane blots)を抗VEGFR-2抗体(図12)を使用してプローブした。データは、VEGFR-2を発現するHUVECからの溶解物が、アガロース・ビーズと結合されたガレクチン-1タンパク質、または、アガロース・ビーズと結合されたガレクチン-3タンパク質にそれぞれ特異的に結合した、ということを示す。ガレクチン-1およびガレクチン-3タンパク質ビーズの各々へのHUVEC溶解物材料の結合は、ラクトース、競合する糖類での処理によって阻害されることが観察された。さらに、VEGFR2 HUVEC溶解物のビーズへの結合は、ショ糖、競合する糖類で処理されるビーズについては観察されなかった。

40

【0330】

50

任意の特定の理論または作用機序によって限定されないが、VEGFR-2およびガレクチン-1タンパク質間の、およびVEGFR-2およびガレクチン-3タンパク質間の相互作用は、炭水化物依存性であることが、本明細書で予見される。ガレクチン-1およびガレクチン-3の炭水化物結合ドメインは、VEGFR2と特異的に結合および相互作用した。

【0331】

(実施例21. TD139はVEGF-Aにより引き起こされる内皮細胞の出芽を阻害した)

本明細書中の実施例に記述されるようにHUV EC球状体を調製し、該球状体をI型コラーゲンゲルの中にまいた。6時間インキュベートした後、ゲルを次のいずれかで処理した：VEGF-A (100 ng/ml) のみ、VEGF-A (100 ng/ml) およびTD139 (0.01 μM、0.1 μM、1 μM、5 μMまたは10 μM)、またはTD139 (10 μM) のみ。対照球状体はVEGF-AでもTD139でも処理されなかった。処理の24時間の後、球状体を、カルセインAM、真核細胞における細胞の生存率を示す細胞浸透性の色素 (Invitrogen社) で染色し、球状体を蛍光顕微鏡を用いて撮影した。累積の出芽の長さを、ImageJによって定量した。

10

【0332】

VEGF-Aのみで処理されるHUV EC球状体は、VEGFで処理されていない対照細胞と比較して、出芽するHUV ECを増加させたことが観察された (図13A)。最も重要なことに、TD139で処理されるHUV EC球状体は、VEGF-Aのみで処理されるHUV EC球状体と比較して、出芽の長さを減少させたことが観察された (図13A)。0.1 μM、1 μM、5 μMおよび10 μMのTD139各々による処理は、HUV ECのVEGF-Aに引き起こされる出芽を有意に阻害した。

20

【0333】

(実施例22. TD139はVEGF-Aに引き起こされる内皮細胞の移動を阻害した)

HUV ECを、血清なしで夜通しインキュベートし、Accutaseで分離し、1% FBS/M199中に再懸濁し、メンブレンにより底部チャンバーから分離されている上部チャンバー中に加えた。1% FBS/M199中の異なる濃度 (1 nM、10 nM、100 nM、1000 nMまたは5000 nM) のTD139存在下で、あるいはTD139なしの対照の存在下で、底部チャンバーをVEGF-Aで充たした。対照HUV ECは、VEGF-AでもTD139でも処理されなかった。

30

【0334】

3時間インキュベートした後、HUV ECは、メンブレンのより下側に移動したことが観察され、高倍率視野 (high-power field) (HPF) 解析を使用して数えられた (図13B)。データを平均±SEMとしてプロットし、一元配置分散分析で解析した。* P<0.05 vs 対照; *** P<0.001 vs 対照; ### P<0.001 vs VEGF-A。

【0335】

VEGF-Aは、VEGFでもTD139でも処理されない対照HUV ECと比較して、HUV ECの走化性を増加させたことが観察された。TD139は、VEGFのみで処理されたHUV ECと比較して、HUV EC内でのVEGF-Aに引き起こされた走化性を阻害した。

40

【0336】

三次元の出芽アッセイを用いて、TD139がVEGF-Aに引き起こされる走化性および遊走を、用量依存性の様式で有意に抑止したことが観察された。

【0337】

(実施例23. TD139はHUV ECに無毒である)

HUV ECを1% FBS/M199内で夜通しインキュベートし、その後、0.1% DMSO、0.1%のトリトン (商標) X-100 (死滅の陽性対照) またはTD139 (5 μM) のいずれかで3時間処理した。対照HUV ECを、DMSO、トリトン (商標

50

) X-100またはTD139のいずれも含まないビヒクルで処理した。

【0338】

処理されたHUVECおよび対照HUVECの細胞の生存率を、細胞の生存率を決定するのに使用される2つのシステム、カルセインAMおよびWST-1それぞれで決定した。カルセインAMを処理されたHUVECのグループに加え、それを30分インキュベートした(図14A)。処理されたHUVECの別のグループを、WST-1、細胞増殖の決定のために用いられ、細胞の生存率の指標であるテトラゾリウム塩、で2時間インキュベートした(図14B)。データを平均±SEMにプロットし、一元配置分散分析で解析する。*** $P < 0.001$ vs 対照。

【0339】

蛍光放射を、カルセインAMまたはWST-1のいずれかと接触したそれぞれの処理グループについて、分光光度計で検知した。カルセインAMまたはWST-1システムの両方は類似する結果を示し、データは特に、対照の未処理のHUVECと比較して、トリトン(商標)X-100で処理したHUVECについて、細胞の生存率が減少したことを示す。HUVECの生存率は、対照のHUVECと比較して、TD139処理またはDMSO処理のいずれの後でも減少しなかった(図14B)。したがって、VEGF-Aに引き起こされる出芽および移動に対するTD139の阻害効果は、2つの異なる試薬、カルセインAMおよびWST-1で評価されるような細胞の生存率の変化の結果ではなかった。

【0340】

(実施例24. VEGFR2発現はTD139処理に影響されない)

HUVECを、1%FBS/M199において夜通しインキュベートし、その後、6時間0.1%のDMSOおよび10 μ M TD139を含むPBSで処理した。対照HUVECはTD139で処理されなかった。細胞溶解物をゲル電気泳動(4-20%のSDS-PAGEゲル剤)を用いて解析し、およびメンブレンブロットを抗VEGFR-2抗体あるいは β -アクチン抗体のいずれかでプローブした。データは、VEGFR2発現レベルおよび β -アクチン発現レベルが、対照のHUVECおよびTD139処理されたHUVECの各々において、類似していたことを示す。HUVECのTD139処理は、VEGFR2の全タンパク発現に対して、ほとんどまたはまったく効果がないことが観察された(図15)。

【0341】

本明細書中の実施例は、TD139がガレクチン-1タンパク質およびガレクチン-3タンパク質をターゲットとしたこと、および、TD139が培養中の細胞において、および組織において、およびインビボの被験体において、病的な血管新生を改善したことを示す。本明細書に記述されるガラクトシド化合物を使用するガレクチン-1およびガレクチン-3の阻害は、眼の血管新生について、および加齢黄斑変性および角膜血管新生を含む眼の血管新生と関係する様々な疾患状態について、有効な処置および予防的な養生法であることが示された。

【0342】

(実施例25: 眼の血管新生を妨げるガレクチン阻害剤の送達)

代替のガレクチン阻害剤および化合物を投与するルートを、目の血管新生を処置する又は妨げるために調製した。

【0343】

ガレクチンタンパク質(ガレクチン-1、ガレクチン-3、ガレクチン-7およびガレクチン-8)又はガレクチンタンパク質をコードするヌクレオチド配列について特異的な阻害剤を準備した。阻害剤は、抗体、小さなガラクトシド化合物、siRNA、およびガレクチン活性のタンパク質修飾物質をコードするベクターを含んでいた。被験体に、以下から選ばれた投与のルートを経由して、阻害剤を投与した(administered): 静脈内、筋肉内、腹腔内、皮内、肺内、腔内、経口、頬側、局所的、舌下、鼻腔内、局所的小および眼内。対照の被験体に、リン酸緩衝生理食塩水または修飾物質をコードしない空

10

20

30

40

50

ベクターを投与する。本明細書中に記述されるような焼灼を使用して、目の血管新生および（または）新生血管形成が起きよう、動物を誘導する。動物を屠殺し、組織サンプルを内皮細胞の出芽を含む血管新生の兆候に関して解析した。

【0344】

ガレクチン阻害剤の投与は、対照被験体の結果と比較して、被験体の目の血管新生を阻止する結果をもたらすことが観察された。ガレクチン阻害剤で処理された被験体からの組織は、使用される阻害剤の各タイプ（すなわち抗体、ガラクトシド、s i R N Aおよびベクター）および投与のルートを用いて、被験体からの組織と比較して低いレベルの目の血管新生を示した。

【0345】

（実施例26：ガレクチン阻害剤の送達は眼の線維症を防ぐ）

眼の視覚の疾患は、異常な血管新生、創傷治癒、組織虚血、または炎症の結果として、破滅的な視力喪失を引き起こす（Friedlander, M. 2007 J Clin Invest. 117(3):576-586、これは引用によって本明細書に全体として組み込まれる）。線維症は、炎症、虚血、および変性疾患に対する反応を含む物理的な創傷または代謝性機能不全によってしばしば引き起こされる。眼の線維症は、炎症細胞、繊維芽細胞または繊維芽細胞様の細胞の、眼および眼組織（例えば網膜）への浸潤に関与し、および新血管新生および変更される血管透過性のような状態にもまた関与する。

【0346】

眼の線維症のための動物モデルおよびインビトロのモデルは、基本溶液（例えば水酸化ナトリウム）、タンパク質（例えばディスパーゼ）、およびマクロファージに富んだ腹腔滲出細胞のような細胞を含む、多くの異なるシステムを使用する（Okadaら2001 American Journal of Pathology 178(6):2654-2664; Tanら2012 Molecular Vision 18:887-900; および Zhangら. 2012 International Journal of Ophthalmology 5(3):307-311を参照し、これらは引用によって本明細書に全体として組み込まれる）。

【0347】

被験体の眼に適用される水酸化ナトリウム溶液を使用する眼の線維症のモデル（Okadaら. 2001 American Journal of Pathology 178(6):2654-2664）は、眼の線維症を阻害するか、防ぐか、あるいは調節するために本明細書に記述される医薬組成物の能力を試験するために本明細書中で使用される。ガレクチンタンパク質（ガレクチン-1、ガレクチン-3、ガレクチン-7およびガレクチン-8）またはガレクチンタンパク質をコードするヌクレオチド配列に特異的な阻害剤を調製する。阻害剤は、抗体、小さなガラクトシド化合物、s i R N A、およびガレクチン活性のタンパク質修飾物質をコードするベクターを含んでいた。被験体に、以下から選ばれる投与の経路によって阻害剤を投与する：静脈内、筋肉内、腹腔内、皮内、肺内、腔内、経口、頬側、局所的、舌下、鼻腔内、局所的、眼内。対照被験体に、リン酸緩衝生理食塩水または修飾物質をコードしない空ベクターを投与する。動物は、本明細書中に記述されるような眼の線維症を誘発させられる。動物を屠殺し、組織サンプルを除去し、繊維芽細胞の増殖を含む眼の線維症の兆候に関して解析する。

【0348】

ガレクチン阻害剤の投与は、対照被験体の結果と比較して、被験体の眼の線維症を阻止する結果をもたらすことが観察される。ガレクチン阻害剤で処理された被験体からの組織は、使用される阻害剤の各タイプ（すなわち抗体、ガラクトシド、s i R N Aおよびベクター）および投与のルートを用いて、被験体からの組織と比較して低いレベルの目の血管新生を示した。

【0349】

（実施例27：ガレクチン-3特異的阻害剤は角膜血管新生を低下させた）

外傷、手術、または疾患から起きることがある角膜における血管新生は、疼痛、霧視、流涙、発赤および光への極端な感受性を引き起こす。ガレクチン-3に対する高い特異的な親和性を備えた阻害剤が被験体の眼内での新血管新生を減少させるかどうか決定するために、外傷 (t r u m a) のある動物モデルを使用して、血管をほぼ又は全く含まない正常な被験体の角膜に傷をつけて、眼の機能に影響する角膜において新血管新生を引き起こす。

【0350】

化合物を合成し、化合物がガレクチン-1およびガレクチン-3に特異的に結合するかどうか試験した。ガレクチンへの分子の結合を決定する方法を以下に記述する。B r e v e t t oらの2004年7月29日に公表された米国特許公開公報番号2004/0147730も参照されたい。微量定量プレートウェルを、組み換え型のガレクチン-1またはガレクチン-3 (10 μ g/ml、50 μ l/ウェル) で被覆し、次に、PBSと洗剤を含む洗浄溶液で洗った。ウェルをBSAで遮断し、洗浄溶液/緩衝液で洗った。化合物32 (さらに以下に記述される)、TD139 (上に記述する) または非特異性のレクチンそれぞれのある量を調製し、複製したウェルに加えた (100 μ L/ウェル)。対照ウェルはPBSのみを含んでいた。ガレクチン-1またはガレクチン-3のいずれかに特異的な、ガレクチン受容体-HRP共役 (100 μ L/ウェル、1mg/mL) のある量を、それぞれのウェルに加えた。ウェルを1時間インキュベートし、次に、室温で緩衝液で洗った。西洋わさびペルオキシダーゼ酵素反応を、TMBペルオキシダーゼ基質キット (B i o R a d 社) を使用して行なった。1時間後、1N硫酸 (100 μ L/well) の追加により反応を止め、光学濃度を450nmで読みとった。データは、化合物32がガレクチン-3へ特異的に結合し、ガレクチン-1へ結合しなかったこと、およびTD139は結合ガレクチン-1およびガレクチン-3に特異的に結合したことを示す。非特異的なレクチンはガレクチン-1またはガレクチン-3のどちらにも結合しなかった。

【0351】

化合物32は、N i l s s o nらのPCT出願番号PCT/EP2013/051339、2013年8月1日に公開された国際公開番号WO2013/110704 A1に記述される方法によって同定され、調製され、これら文献の内容は引用によって本明細書に組み込まれる。

【0352】

8週齢のC57BL/6マウスの角膜を5秒間硝酸銀で焼灼した。0、2、4および6日目において、試験被験体に、角膜に結膜下注射される化合物32 (0.5% DMSO中に100 μ M) 10 μ lを投与した。対照被験体の焼灼された角膜に、DMSOビヒクルのみ (PBS中に0.5%のDMSO) を結膜下注射し、および、試験被験体および対照被験体にそれぞれ、化合物32または対照DMSOビヒクルそれぞれのいずれかを、毎日の点眼剤 (5 μ l) で投与した。7日目で、角膜を切除し解析した。

【0353】

化合物32、ガレクチン-3阻害剤を結膜下注入された被験体は、ビヒクルのみを注射された対照被験体と比較して、より低い血管の面積の割合を示した (化合物32を注射した被験体について29% ; 対照被験体について42%)。2つの独立の結果から組み合わされたデータを、図16のA内に示す。対照または化合物32のいずれかを結膜下注射された被験体の焼灼された眼からの角膜の代表的な蛍光イメージングを、図16のBにおいて示す。DMSOおよびPBS対照ビヒクルを注射された対照被験体からの角膜と比較して、化合物32を結膜下に注射された被験体からの角膜において、有意に少ない血管および減少した新血管新生の量が観察された。図16のAにおけるデータは、平均 $\pm$ SEMとしてプロットされ、スチューデントt検定を使用して解析される。

【0354】

(実施例28：角膜の繊維症および網膜神経膠症を引き起こすためのモデル・システム)

マウス・モデル・システムを使用して、角膜の繊維症および網膜神経膠症を減少させるための、ガレクチン-3阻害剤TD139の効果を決定した (P a r a n t h a n, R.

10

20

30

40

50

R. ら 2011 Molecular Vision 17:1901-1908を参照されたい)。C57BJ/6マウスに、ケタミンおよびキシラジン混合物の腹腔内 (intraperitoneal) 注射によって麻酔をかけた。角膜に、プロパラカイン点眼薬の適用によって局所的に麻酔をかけた。希釈した0.15M水酸化ナトリウムの一滴 (1.5 μ l) を、1分間各マウスの角膜中央に適用した。角膜をPBSで直ちに広範囲に洗い、角膜および角膜縁上皮 (limbal epithelium) をALGEB RUSH (商標) 光学デバイス (Storz Ophthalmic Instruments, St. Louis, MO) で穏やかに除去した。抗生物質軟膏を各角膜を被覆するために適用した。TD139 (50mM) またはPBSビヒクルのある量 (10 μ l) を、アルカリ処理/外科手術の後に14日間連続して、毎日結膜下腔に注射した。

10

【0355】

角膜の不透明度は以下の基準を使用して、アルカリ処理後7日目および14日目に計算した：0は透明を示す；1は、不透明領域/サイズが瞳孔のそれ未満であることを示す；2は、不透明領域が瞳孔より大きいことを示す；3は、不透明領域が角膜の2/3の領域より大きいことを示す；4は、角膜全体が不透明であることを示す。被験体を、ケタミンとキシラジンの混合物を使用するアルカリ手術 (alkali surgery) 後14日目に屠殺する。角膜と網膜を解剖し、5mMのNaF、1mMのPMSE、1mMのDTT、20mMのHEPES、1mMのEDTA、400mMのNaCl、1mMのEGTA、0.1%のNP-40およびプロテアーゼ阻害剤カクテル (Roche) を含む氷冷した溶解緩衝液中に溶解した。角膜のタンパク質 (20 μ g) および網膜のタンパク質 (30 μ g) のアリコート、ゲルの各レーンにロードし、ニトロセルロースメンブレン上に転送した。プロットは、マウス α -SMAに対して特異的なウサギ抗体 (1:10, 000; Abcam) またはGFAPに対して特異的なウサギ抗体 (網膜神経膠症において見出される中間フィラメントのためのマーカー；1:50, 000; Abcam) により、4℃で夜通しプローブした。メンブレンを洗い、ヤギ抗ウサギIRDye 800CW抗体 (1:10, 000; Li-Cor 社) でインキュベートし、そのメンブレンをOdyssey画像システム (Li-Cor 社) でスキャンし、定量した。

20

【0356】

(実施例29：TD139は、角膜の繊維症を阻害する)

SMA (平滑筋アクチン) は角膜の繊維症のマーカーである。眼を実施例28に述べられているようなアルカリで処理して、TD139が角膜の繊維症を阻害するかどうか決定するためのモデル・システム中で使用する。被験体の眼は、アルカリ処理後に14日間連続して、50mMのTD139の10 μ lを、結膜下に (subconjunctively) 注射した。対照被験体に、対照PBSビヒクルのみを結膜下に注射した。眼の不透明性を7日目および14日目に計算した。角膜を収集し溶解緩衝液中に溶解した。図17Aは、アルカリ処理後およびTD139の結膜下注射後7日目の、1セットの代表的な画像である。生体顕微鏡検査、および以下の不透明性の規模を使用するアルカリ処理後7日目に、TD139で処理された被験体の角膜混濁の定量化を行った：0は不透明度のない透明な目を示す；1は、不透明領域が瞳孔の領域/面積未満であることを示す；2は、不透明領域が瞳孔の領域よりも大きいことを示す、3は、不透明領域が角膜領域の3分の2より大きいことを示す、4は、不透明体が角膜領域全体よりも大きいことを示す。(n=9匹のマウス/グループ) p<0.05。図17B。

30

40

【0357】

TD139の注射は、対照PBSビヒクルでの注射と比較して、眼内での角膜混濁を減少させたことが観察された。角膜細胞溶解物のウェスタンブロット解析は、PBSを注射された対照被験体と比較して、 α -SMA発現がTD139の注射によって30%減少したことを示す。図17C。

【0358】

(実施例30：TD139は網膜神経膠症を阻害する。)

グリア細胞繊維性酸性タンパク質 (GFAP) は網膜神経膠症を示す中間フィラメント

50

のためのマーカーである。ネズミの眼を、実施例 28 に記述されるようにアルカリで処理して、T D 1 3 9 が網膜神経膠症を阻害するかどうか決定した。50 mM の T D 1 3 9 のある量 (10 μ l) を、アルカリ処理後に 14 日間連続して、結膜下に注射した。対照被験体に、対照 P B S ビヒクルのみを結膜下に注入した。被験体を屠殺し、網膜を回収し、溶解緩衝液中に溶解させた。網膜細胞溶解物のウェスタンブロットにより、T D 1 3 9 は、P B S を投与された対照被験者と比較して、G F A P の発現を減少させたことが観察された。図 18。T D 1 3 9 の投与は、眼内での網膜神経膠症 (図 18) を減少させ、角膜の繊維症を減少させた (図 17 A - C)。

【0359】

上に記述されるように、ガレクチン阻害剤を含む組成物は、角膜と網膜の繊維症および神経膠症を含む眼の障害および疾患の処置での使用に有効であること、および傷ついたりまたは病変の組織における新血管新生および血管増殖と同様に繊維症を阻害するのに有効であることが本明細書で示される。ガレクチンは異なる組織に広く分布しているので、1 以上の特定のガレクチンを選択的に標的とし阻害するための、特定のピラノースペースの阻害剤の使用は、望まれない付随的な相互作用を最小化し一般的な視覚の処置を提供するという見通しを提供し、一方で、局所的な視覚の環境は、他の体内組織における腫瘍および疾患に適用されるガレクチンの調節または阻害による治療的な処置について予測する、いくつかの血管新生のおよび組織成長過程の詳細な組織学的観察を可能にする。

10

【図 1】

ヒトガレクチン-3 配列				
ヒトガレクチン-3 (SEQ ID NO.1):				
1	MADNFS	LHDA	LSGSGNPNPQ	GWPGAWGNPQ
61	GAYHGAPGAY	PGAPAGVYP	GPFGPGAYP	SSGQPSAPGA
121	PLPGGVVPRM	LITILGTVPK	NANRIALDFQ	RGNDVAFHFN
181	WGREERQSVF	PFESGKPFKI	QVLVEPDHFK	VAVNDAHLQ
241	DLTSASYTMI			YNHRVKKLE
				ISKLGISGDI
アミノ酸組成物 (250 アミノ酸 , 分子量 : 26174.2 Da)				
aa	#	mole%	wt%	
A Ala	27	10.80	7.33	
C Cys	1	0.40	0.39	
D Asp	9	3.60	3.96	
E Glu	6	2.40	2.96	
F Phe	9	3.60	5.06	
G Gly	34	13.60	7.41	
H His	6	2.40	3.14	
I Ile	10	4.00	4.32	
K Lys	8	3.20	3.92	
L Leu	15	6.00	6.49	
M Met	3	1.20	1.51	
N Asn	18	7.20	7.85	
P Pro	36	14.40	13.36	
Q Gln	9	3.60	4.41	
R Arg	9	3.60	5.37	
S Ser	14	5.60	4.66	
T Thr	6	2.40	2.32	
V Val	14	5.60	5.30	
W Trp	3	1.20	2.13	
Y Tyr	13	5.20	8.11	

【図 2】

ヒトガレクチン-7 配列				
ヒトガレクチン-7 (SEQ ID NO.2):				
1	MSNVPHKSSL	PEGIRPGTVL	RIRGLVPPNA	SRFHVNLCCG
61	VFNSKEQGSW	GREERGPV	FQRGQPFV	IIASDDGFK
121	LVEVGGDVQL	DSVRIF		
アミノ酸組成物 (136 アミノ酸 , 分子量 : 15059.1 Da)				
aa	#	mole%	wt%	
A Ala	7	5.15	3.30	
C Cys	1	0.74	0.68	
D Asp	7	5.15	5.35	
E Glu	9	6.62	7.72	
F Phe	8	5.88	7.82	
G Gly	14	10.29	5.31	
H His	6	4.41	5.46	
I Ile	5	3.68	3.76	
K Lys	3	2.21	2.55	
L Leu	12	8.82	9.02	
M Met	1	0.74	0.87	
N Asn	5	3.68	3.79	
P Pro	10	7.35	6.45	
Q Gln	6	4.41	5.11	
R Arg	13	9.56	13.48	
S Ser	10	7.35	5.78	
T Thr	2	1.47	1.34	
V Val	15	11.03	9.88	
W Trp	1	0.74	1.24	
Y Tyr	1	0.74	1.08	

【図 8】

ヒトのガレクチン-7のPFAM解析

PFAM 7.0 HMM 配列アラインメント

PF00337 (ガラクトシド-結合レクチンドメイン) スコア 124.0, E = 1.6e-34

PF00337 *->pglvalnlgkpkGktltVkGtVapknakrFavNlgkgekEEndlvLH
p + l++g +pG l+++G+V p na rF+vNl+ g +d +LH

ヒトのガレクチン-7 5 PHKSSSLPEGIRPGTVLRIRGLVPP-NASRFHVNLCEEQGSDAALH 50

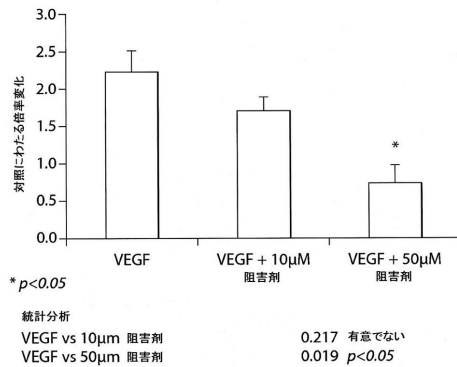
PF00337 fNPRFneaHGdQntvVcNSkenGDNeWtEqReaafPFqaGgpFeisv
fNPR + + vV NSke G +WG E+R + PFq+GgpFe+ I

ヒトのガレクチン-7 51 fNPRLDTSE----VVFNSKEQG--SWGREERGPGVPFQAGQPFEVLIIA 93

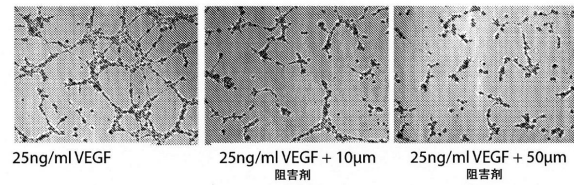
PF00337 eedkfkVkvndghfeFphRlkleavqyLgikGDikltsikf<-*
d fK v d+ + +F hrL+l +v +++ GD+ l+s+ +

ヒトのガレクチン-7 94 SDDGFKAVVGDAQYHHFRHRLPLARVRLVEVGDDVQLDSVRI 135

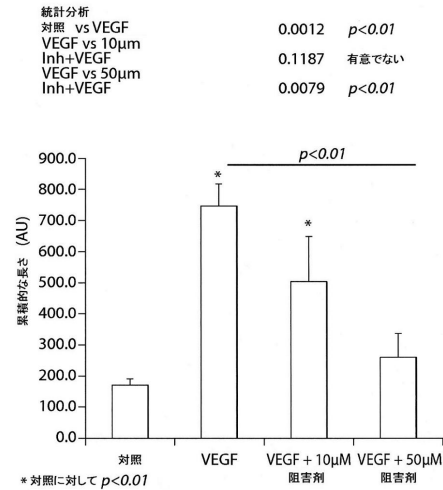
【図 9 A】



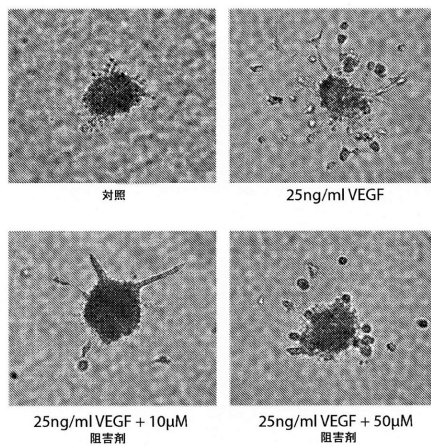
【図 9 B】



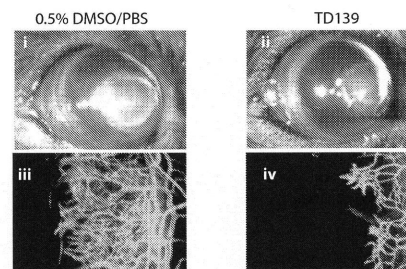
【図 10 A】



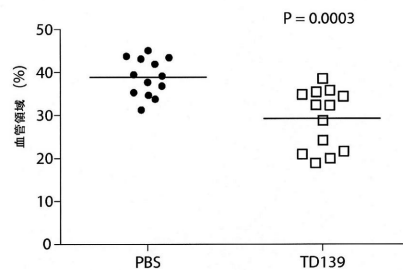
【図 10 B】



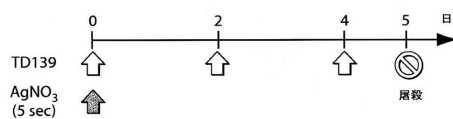
【図 11 B】



【図 11 C】



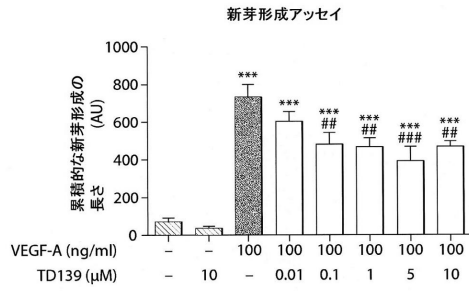
【図 11 A】



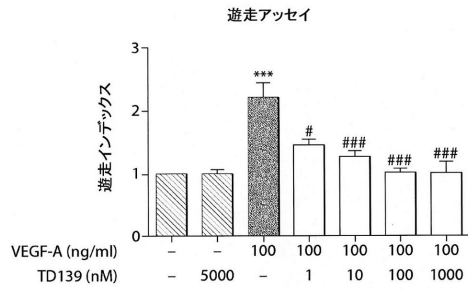
【図 12】



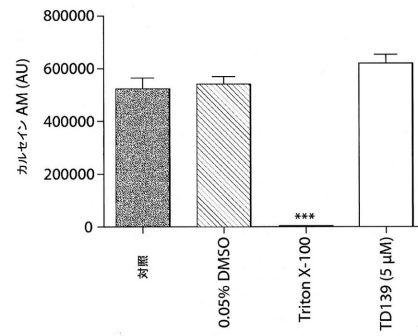
【図 1 3 A】



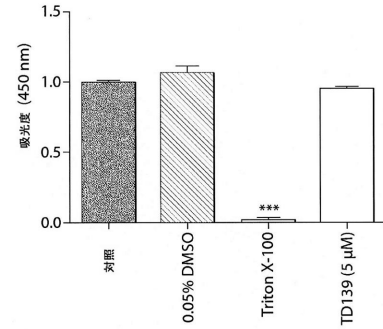
【図 1 3 B】



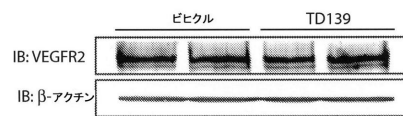
【図 1 4 A】



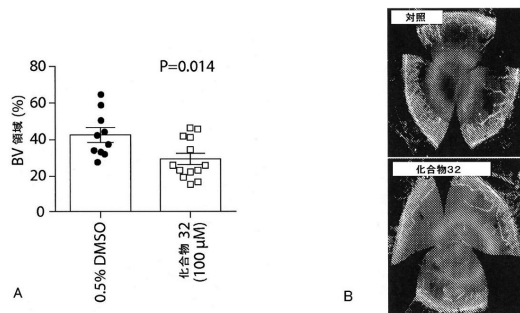
【図 1 4 B】



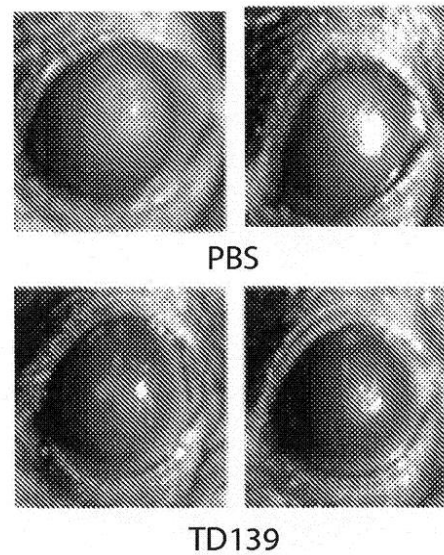
【図 1 5】



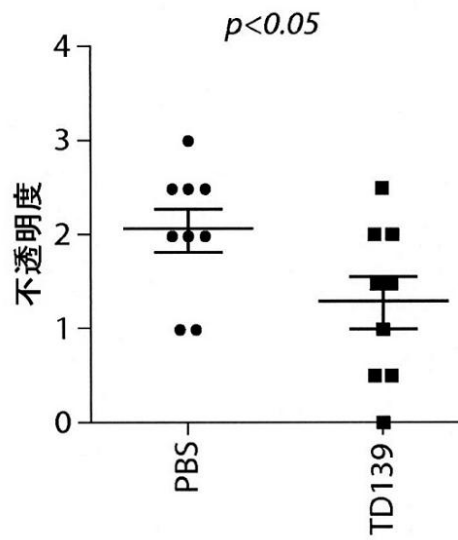
【図 1 6】



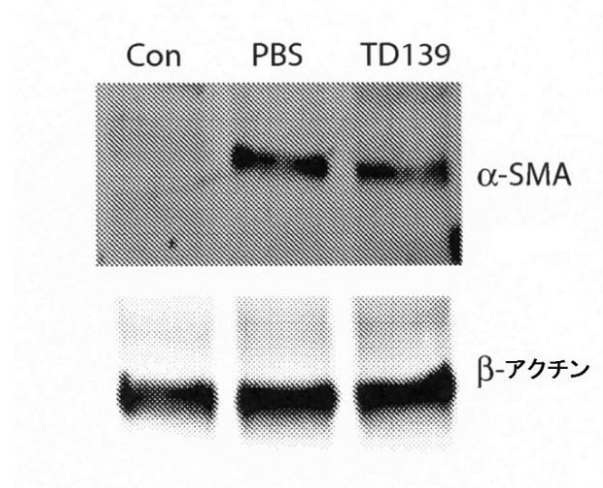
【図 1 7 A】



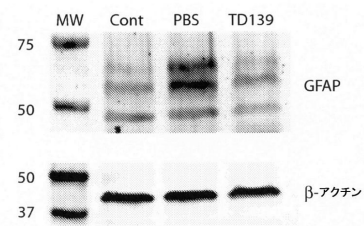
【図 1 7 B】



【図 1 7 C】



【図 1 8】



【配列表】

[0006366598000001.app](#)

フロントページの続き

- (72)発明者 チェン, ウェイーシェン
台湾 830 カオシュン フォンシャン シェンーリ・ロード ナンバー4
- (72)発明者 リーフラー, ハコン
スウェーデン エス-222 24 ルンド スパネガタン 7ビー
- (72)発明者 ニルソン, ウルフ
スウェーデン エス-225 94 ルンド スメドスボベージェン 10

審査官 菊池 美香

- (56)参考文献 特表2007-521106 (JP, A)
特表2015-504909 (JP, A)
Am J Respir Crit Care Med, Mar. 2012, Vol.185, Iss. 5, p.537-546

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A61K 31/7048
A61K 31/7056
A61P 27/02
CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)