

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6055928号
(P6055928)

(45) 発行日 平成28年12月27日(2016.12.27)

(24) 登録日 平成28年12月9日(2016.12.9)

(51) Int.Cl.	F I	
A 6 1 K 31/715 (2006.01)	A 6 1 K 31/715	
A 6 1 P 13/12 (2006.01)	A 6 1 P 13/12	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00	1 O 5
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
請求項の数 18 (全 26 頁)		

(21) 出願番号	特願2015-536892 (P2015-536892)	(73) 特許権者	514065014
(86) (22) 出願日	平成25年10月10日(2013.10.10)		ガレクティン・セラピューティクス・インコーポレイテッド
(65) 公表番号	特表2015-533166 (P2015-533166A)		GALECTIN THERAPEUTICS, INC.
(43) 公表日	平成27年11月19日(2015.11.19)		アメリカ合衆国30071ジョージア州ノアクロス、ピーチトゥリー・インダストリアル・ブールバード4960番、スウィート240
(86) 国際出願番号	PCT/US2013/064322		
(87) 国際公開番号	W02014/059135	(74) 代理人	100101454
(87) 国際公開日	平成26年4月17日(2014.4.17)		弁理士 山田 卓二
審査請求日	平成28年9月28日(2016.9.28)	(74) 代理人	100062144
(31) 優先権主張番号	61/711, 929		弁理士 青山 稔
(32) 優先日	平成24年10月10日(2012.10.10)	(74) 代理人	100106518
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 松谷 道子
早期審査対象出願			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 糖尿病性腎症および関連障害の処置のためのガラクトース分枝炭水化合物化合物

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

医薬許容される担体中にガラクトーラムノガラクトツロネートを含む非経腸または経腸投与用組成物であって、

処置を必要とする対象に該組成物を、

タンパク尿の少なくとも10%減少またはタンパク尿の増加率の少なくとも10%減少、糸球体濾過率の少なくとも10%増加または糸球体濾過率の低下率の少なくとも10%減少、

細胞外メサンギウム基質の少なくとも10%減少または少なくとも10%の増加率の少なくとも10%減少、

糸球体毛細管基底膜厚の少なくとも5%減少、

メサンギウムの体積比の少なくとも10%減少またはメサンギウムの体積比の増加率の少なくとも10%減少、

間質性尿細管体積の少なくとも10%減少または間質性尿細管体積の増加率の少なくとも10%減少、

間質性尿細管間隙におけるコラーゲン量の少なくとも10%減少または間質性尿細管間隙におけるコラーゲンの増加率の少なくとも10%減少、

糖尿病性腎症の血清バイオマーカーレベルの少なくとも10%の変化

の少なくとも一つを生じる有効量で投与する方法において使用するためのものであり、

ここで、処置を必要とする対象が原発性糸球体症疾患、二次性糸球体症疾患および尿細

管間質性障害の少なくとも一つを有し、

有効量が0.1 mg/kg～9.99 mg/kgの動物用量と同等である、
組成物。

【請求項2】

ガラクトーラムノガラクトツロネートが、 α -1,2-結合ラムノース残基および α -1,4-結合GalA残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)およびガラクトツロン酸メチル(MeGalA)残基主鎖を含み、該ラムノース残基が、1,4- β -D-ガラクトース残基のオリゴマーの一次分枝を有し得る、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

ガラクトーラムノガラクトツロネートが、 α -1,2-結合ラムノース残基および α -1,4-結合GalA残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)残基主鎖を含み、該ラムノース残基が、1,4- β -D-ガラクトース残基のオリゴマーの一次分枝を有する、請求項1に記載の組成物。

【請求項4】

ガラクトーラムノガラクトツロネートがさらにキシロース、グルコース、フコース残基またはこれらの組み合わせを含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項5】

ガラクトーラムノガラクトツロネートが、SEC-RIおよび／またはSEC-MALLS法により測定して、2,000～80,000ダルトン、20,000～70,000ダルトンまたは5,000～55,000ダルトンの平均分子量分布を有する、請求項1に記載の組成物。

【請求項6】

ガラクトーラムノガラクトツロネートが1,5- α -L-Ara残基を実質的に含まない、請求項1に記載の組成物。

【請求項7】

糖尿病性腎症の血清バイオマーカーが炎症性および血行力学性サイトカイン類、TNF- α 、TGF- β またはIL-8、オステオポンチンまたは糖尿病性腎症の存在または重症度の指標である血清成分の代謝プロファイルを含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項8】

組成物が1種以上のガレクチン阻害剤をさらに含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項9】

ガレクチン阻害剤がガレクチンの小有機阻害剤、モノクローナル抗体、RNA阻害剤、小結合ペプチド、タンパク質阻害剤またはこれらの組み合わせを含む、請求項8に記載の組成物。

【請求項10】

有効量が0.05～0.49 mg/kgの範囲である、請求項1に記載の組成物。

【請求項11】

医薬許容される担体中にガラクトアラビノールラムノガラクトツロネートを含む非経腸または経腸投与用組成物であって、

処置を必要とする対象に該組成物を、

タンパク尿の少なくとも10%減少またはタンパク尿の増加率の少なくとも10%減少、糸球体濾過率の少なくとも10%増加または糸球体濾過率の低下率の少なくとも10%減少、

細胞外メサングウム基質の少なくとも10%減少または少なくとも10%の増加率の少なくとも10%減少、

糸球体毛細管基底膜厚の少なくとも5%減少、

メサングウムの体積比の少なくとも10%減少またはメサングウムの体積比の増加率の少なくとも10%減少、

10

20

30

40

50

間質性尿細管体積の少なくとも10%減少または間質性尿細管体積の増加率の少なくとも10%減少、

間質性尿細管間隙におけるコラーゲン量の少なくとも10%減少または間質性尿細管間隙におけるコラーゲンの増加率の少なくとも10%減少、

糖尿病性腎症の血清バイオマーカーレベルの少なくとも10%の変化有効量で投与するの少なくとも一つを生じる有効量で投与する方法において使用するものであり、

ここで、処置を必要とする対象が原発性糸球体症疾患、二次性糸球体症疾患および尿管間質性障害の少なくとも一つを有し、

有効量が0.1 mg/kg～1.99 mg/kgの動物用量と同等である、

組成物。

10

【請求項12】

ガラクトーラムノガラクトツロネートが、 α -1,2-結合ラムノース残基および α -1,4-結合GalA残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)およびガラクトツロン酸メチル(MeGalA)残基主鎖を含むガラクトアラビノールラムノガラクトツロネートであり、該ラムノース残基が、1,4- β -D-ガラクトース残基、1,5- α -L-アラビノース残基またはこれらの組み合わせのオリゴマーの一次分枝を有する、請求項11に記載の組成物。

【請求項13】

1,4- β -D-Gal残基、1,5- α -L-Ara残基およびこれらの組み合わせのモルパーセントが炭水化物の総モルの少なくとも8%である、請求項11に記載の組成物。

20

【請求項14】

1,4- β -D-Gal残基および1,5- α -L-Ara残基が1:1～3:1の範囲の比で存在する、請求項11に記載の組成物。

【請求項15】

ガラクトアラビノールラムノガラクトツロネートが、SEC-RIおよび/またはSEC-MALLS法により測定して、2,000～80,000ダルトン、20,000～70,000ダルトンまたは5,000～55,000ダルトンの平均分子量分布を有する、請求項11に記載の組成物。

【請求項16】

30

ガラクトアラビノールラムノガラクトツロネートが40～70%の範囲のメトキシル化の程度を有する、請求項11に記載の組成物。

【請求項17】

ガラクトアラビノールラムノガラクトツロネートが、4:1～7:1の範囲のガラクトツロン酸メチル+ガラクトツロン酸対ガラクトース比を有する、請求項11に記載の組成物。

【請求項18】

有効量が0.05～0.19 mg/kgの範囲である、請求項12に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

40

関連出願

本出願は、2012年10月10日出願の米国仮出願番号61/711,929の利益およびそれに対する優先権を主張し、その開示は引用によりその全体を本明細書に包含させる。

【0002】

発明の分野

本発明の面は、医薬グレードのガラクトース分枝(pronged)多糖またはその医薬組成物を使用する糖尿病性腎症および関連障害の処置法に関する。

【背景技術】

【0003】

50

発明の背景

糖尿病性腎症は、腎糸球体の毛細血管の血管障害が原因である進行性腎疾患である。病理学的に汎発性糸球体硬化症として特徴付けられ、これはタンパク尿、ネフローゼ症候群、糸球体濾過率の進行性低下をもたらし、最終的に腎不全となる。

糖尿病性腎症は長年の糖尿病が原因であり、西洋諸国では透析の主適応症である。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

血清グルコースレベルの管理と血圧の管理が糖尿病性腎症の進行を遅延させるのに有効であるが、腎不全は重大な健康問題として残る。従って、糖尿病性腎症を予防する、進行を遅延させるまたは回復させるのに有効な治療剤を提供することが必要とされている。

【課題を解決するための手段】

【0005】

発明の概要

本発明のある面は、糖尿病性腎症の処置における適切なまたは増強された効果を有する治療剤に関する。ある態様において、本治療剤は、有効量のガラクトース分枝多糖化合物を含む。ある態様において、本治療剤は単独で投与しても、有効量の治療剤と混合してまたは一つのレジメンとして併用される。本製剤は、さらに、糖尿病性腎症もしくは糖尿病の処置用の併用治療剤を含んでもよく、または本製剤が粉末形態または液体形態であるときには添加物も含み得る。

【0006】

ある態様において、有効量のガラクトース含有多糖を経口用製剤で投与できる。本製剤の製造方法は、ガラクトース含有多糖の経口吸収を増強する物理的改変または種々の薬剤の添加の方法を含み得る。

【0007】

ある態様において、本化合物はガラクトース含有多糖であり、単一ガレクチンタンパク質またはガレクチンタンパク質のセットを阻害し得る治療有効量の1種以上の他のガレクチン阻害剤と組み合わせて使用できる。ガレクチン阻害剤は、ガレクチンの小有機阻害剤、モノクローナル抗体、RNA阻害剤、小結合ペプチド、タンパク質阻害剤またはこれらの組み合わせを含み、これらに限定されない。

【0008】

ある態様において、処置方法は、許容される医薬担体中にガラクトース分枝炭水化合物化合物を含む、非経腸または経腸投与用医薬組成物を得る工程を含む。

【0009】

ある態様において、本化合物は、主鎖が主に1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)部分を含み、1,4-結合GalAおよび1,2-結合ラムノース(Rha)を交互に含むより少ない主鎖組成を伴い、これが次に主に1,4-β-D-ガラクトース(Gal)を含む複数の側鎖と結合している、選択的に脱重合している分枝ヘテロポリマーであるガラクトーラムノガラクトツロネートとして定義し得る多糖である。他の側鎖少量成分はアラビノース(Ara)、キシロース(Xyl)、グルコース(Glu)およびフコース(Fuc)を含み得る。

【0010】

ある態様において、本化合物は、主鎖が主に1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)部分からなり、1,4-結合GalAおよび1,2-結合ラムノース(Rha)が交互に結合する少量の主鎖組成を伴い、これが次に主に1,4-β-D-ガラクトース(Gal)および1,5-α-L-アラビノース(Ara)残基を含むいくつかの側鎖と結合している、選択的に脱重合した分枝ヘテロポリマーである、ガラクトアラビノーラムノガラクトツロネートと命名されるガラクトーラムノガラクトツロネートのサブタイプとして化学的に定義され得るガラクトース分枝炭水化合物である。他の側鎖少量成分はキシロース(Xyl)、グルコース(Glu)およびフコース(Fuc)を含み得る。

【0011】

ある態様において、本化合物は天然ペクチンから合成できる。さらに、ある態様において、本化合物は合成ガラクトース分枝化合物であり得る。

【0012】

ある態様において、本化合物は、柑橘系の果物、リンゴまたはビートを含み、これらに限定されない、任意の植物源に由来し得る天然の、高度に分枝し、最小限に加工され、高度にメトキシル化されたUSPペクチンから合成できる。

【0013】

ある態様において、本化合物は、8～12%ペクチンを含むリンゴジュース加工副産物(apple pomace)から製造されるような天然の、高度に分枝し、最小限に加工され、高度にメトキシル化されたUSPペクチンから合成できる。

10

【0014】

ある態様において、本化合物は、アルカリ(pH 8～12)および酸(pH 1～5)による十分に制御された特異的加水分解または過酸化物または他の化学物質によるベータ脱離または適切な酵素加水分解および分画により合成できる。

【0015】

ある態様において、本化合物は、付加的な還元形態の遷移金属イオン、例えば1～100mMの Cu^{++} の存在下または非存在下でアスコルビン酸および／または過酸化物から産生されたイオン化 OH^- によるグリコシド結合の標的化過酸化開裂により異化された脱重合を含む方法により製造できる。 Ca^{++} または Fe^{++} のような他の遷移金属もこの目的で使用できる。

20

【0016】

ある態様において、本化合物は、1,4-β-D-Galおよび1,5-α-L-Araを富化して側鎖を維持しながら、グリコシド結合メトキシル化α-1,4-結合GalAの十分に制御された、特異的加水分解下に合成できる。1,4-β-D-Galおよび1,5-α-L-Araの量はGC-MS(ガスクロマトグラフィー質量分析)およびAELC-PAD(アニオン交換液体クロマトグラフィーパルス電流測定検出器)法により定量的に決定できる。

【0017】

ある態様において、本発明の化合物における1,4-β-D-Gal残基および1,5-α-L-Ara残基のモルパーセントは、炭水化物の総モル量の10%を超え、およその割合はそれぞれ1:1～3:1の範囲であり得る。

30

【0018】

ある態様において、本発明の化合物における1,5-α-L-Ara残基のモルパーセントは0であるかまたは最大1%までの微量であってよい。

【0019】

ある態様において、本化合物は、SEC-RIおよび／またはSEC-MALLS法で測定して2,000～80,000ダルトンまたは20,000～70,000ダルトンまたは5,000～55,000ダルトンの平均分子量分布を有する分枝ヘテロポリマーである、化学的にガラクトーラムノガラクトロネートまたはガラクトアラビノーラムノガラクトロネートとして定義される多糖である。

40

【0020】

ある態様において、本化合物は、治療剤を静脈内、皮下、関節内、吸入および経口を含み、これらに限定されない経路を介する多元的投与に適するようにするために、分子量範囲が十分に低減された、例えば約2,000～約80,000Dの高度に可溶性の修飾多糖であり得る。

【0021】

ある態様において、本ガラクトース分枝炭水化物化合物はガラクトマンナン多糖を含み得る。ある態様において、本化合物は、本質的にガラクトース残基およびマンノース残基からなり、規定の平均分子量のガラクトマンナン多糖組成物が得られるようにガラクトマ

50

ンナンの十分に制御された脱重合により得られたガラクトマンナンオリゴ糖である。

【0022】

ある態様において、本ガラクトマンナン多糖組成物は本質的にガラクトース残基およびマンノース残基からなり、ガラクトマンナンの十分に制御された脱重合により得られる。ある態様において、本組成物は均一ガラクトマンナン多糖を含む。ある態様において、本ガラクトマンナン多糖は、GPC-MALLS(ガラクトマンナン)でアッセイして、4,000~60,000Dの平均重量を有する。

【0023】

ある態様において、本ガラクトマンナン多糖組成物は、マンノース分子対ガラクトース分子の比が1:1~1:4の範囲である。

10

【0024】

ある態様において、ガラクトマンナン多糖組成物は、マンノース分子対ガラクトース分子の比が1.7:1である。

【0025】

ある態様において、本ガラクトマンナン多糖組成物は、平均分子量が約48,000ダルトンの範囲であり、マンノース対ガラクトース比が約1.7:1の範囲である高度に純粋な可溶性かつ均一オリゴマーを製造するために設計された方法により製造される。ある態様において、本生成物はガラクトマンナン(GM)の高度に可溶性のオリゴマーの形態である。

【0026】

20

ある態様において、本ガラクトース含有多糖およびここに記載する他の化合物は、単独でまたは他の薬剤と組み合わせて糖尿病性腎症、全身性エリテマトーデス、アミロイド症、グッドパスチャー症候群、顕微鏡的多発血管炎/多発性血管炎、ウェグナー肉芽腫症、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病および腎臓への免疫複合体沈着と関係する障害を含み、これらに限定されない全身疾患に二次性の糸球体症疾患における治療に提案される。

【0027】

ある態様において、本ガラクトース含有多糖およびここに記載する他の化合物は、単独でまたは他の薬剤と組み合わせて急性汎発性増殖性糸球体腎炎(連鎖球菌感染後および非連鎖球菌性)、急速進行性糸球体腎炎、慢性糸球体腎炎、膜性糸球体腎炎、微小変化型疾患、限局性分割型糸球体硬化症、膜増殖性糸球体腎炎およびIgA腎症を含み、これらに限定されない原発性糸球体症疾患における治療に提案される。

30

【0028】

ある態様において、本ガラクトース含有多糖およびここに記載する他の化合物は、単独でまたは他の薬剤と組み合わせて、尿細管間質性障害または糖尿病性腎症、間質性腎炎および同種移植片拒絶を含み、これに限定されない肝臓への免疫学的損傷を含む、間質腔の増大と細胞外マトリクス沈着を含む全身疾患における治療に提案される。

【0029】

ある態様において、治療有効量は、アルブミンタンパク質を含む、タンパク尿の少なくとも10%減少またはタンパク尿の増加率の少なくとも10%減少をもたらす糖尿病性腎症に対する効果により評価できる。

40

【0030】

ある態様において、治療有効量は、任意の標準法で測定して、糸球体濾過率の少なくとも10%増加または糸球体濾過率の低下率の少なくとも10%減少をもたらす糖尿病性腎症に対する効果により評価できる。

【0031】

ある態様において、治療有効量は、腎臓の組織切片で測定して、細胞外メサンギウム基質の少なくとも10%減少または細胞外メサンギウム基質の増加率の少なくとも10%減少をもたらす糖尿病性腎症に対する効果により評価できる。

【0032】

ある態様において、治療有効量は、光学顕微鏡または電子顕微鏡を使用して腎臓の組織

50

切片で測定して、糸球体毛細管基底膜厚の少なくとも5%減少をもたらす糖尿病性腎症に対する効果により評価できる。

【0033】

ある態様において、治療有効量は、腎臓の組織切片で測定して、メサンギウムの体積比(fractional volume)の少なくとも10%減少またはメサンギウムの体積比の増加率の少なくとも10%減少をもたらす糖尿病性腎症に対する効果により評価できる。

【0034】

ある態様において、治療有効量は、腎臓の組織切片で測定して、間質性尿細管体積の少なくとも10%減少または間質性体積の増加率の少なくとも10%減少をもたらす糖尿病性腎症に対する効果により評価できる。

10

【0035】

ある態様において、治療有効量は、腎臓の組織切片で測定して、間質性尿細管間隙におけるコラーゲン量の少なくとも10%減少または間質性尿細管間隙におけるコラーゲンの増加率の少なくとも10%減少をもたらす糖尿病性腎症に対する効果により評価できる。

【0036】

ある態様において、治療有効量は、糖尿病性腎症の血清バイオマーカーレベルの少なくとも10%の変化をもたらす糖尿病性腎症に対する効果により評価できる。このようなマーカーは、炎症性および血行動態性サイトカイン類、TNF- α 、TGF- β またはIL-8、オステオポンチンまたは糖尿病性腎症の存在または重症度の指標である血清成分(血清マーカーおよび尿マーカーを含む)の代謝プロファイルを含み、これらに限定されない。免疫アッセイまたはLCマスマスプロファイルによるプロテオミクス評価により測定して、これらのサイトカイン類の1種以上のプロファイルは、疾患の活動性の評価および疾患治療において追跡すべきマーカーを提供し得る。

20

【0037】

本発明のある面は、医薬的に許容される担体中にガラクトーラムノガラクトンネートを含む非経腸または経腸投与用組成物を得て、処置を必要とする対象に該組成物を有効量で投与することを含む方法に関する。ある態様において、有効量は0.1 mg/kg~9.9 mg/kgの動物用量と同等であり、次のタンパク尿の少なくとも10%減少またはタンパク尿の増加率の少なくとも10%減少、糸球体濾過率の少なくとも10%増加または糸球体濾過率の低下率の少なくとも10%減少、細胞外メサンギウム基質の少なくとも10%減少または少なくとも10%の増加率の少なくとも10%減少、糸球体毛細管基底膜厚の少なくとも5%減少、メサンギウムの体積比の少なくとも10%減少またはメサンギウムの体積比の増加率の少なくとも10%減少、間質性尿細管体積の少なくとも10%減少または間質性体積の増加率の少なくとも10%減少、間質性尿細管間隙におけるコラーゲン量の少なくとも10%減少または間質性尿細管間隙におけるコラーゲンの増加率の少なくとも10%減少、糖尿病性腎症の血清バイオマーカーレベルの少なくとも10%の変化の少なくとも一つを生じる。ある態様において、処置を必要とする対象は、次の原発性糸球体症疾患、二次性糸球体症疾患および尿細管間質性障害の少なくとも一つを有する。ある態様において、糖尿病性腎症の血清バイオマーカーは、炎症性および血行動態性サイトカイン類、TNF- α 、TGF- β またはIL-8、オステオポンチンまたは糖尿病性腎症の存在または重症度の指標である血清成分の代謝プロファイルを含む。ある態様において、有効量は、0.05~0.49 mg/kgの範囲であり得る。

30

40

【0038】

ある態様において、本ガラクトーラムノガラクトンネートは、 α -1,2-結合ラムノース残基および α -1,4-結合GalA残基を交互に有するオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1,4-結合ガラクトン酸(GalA)およびガラクトン酸メチル(MeGalA)残基主鎖を含み、該ラムノース残基は、1,4- β -D-ガラクトース残基のオリゴマーの一次分枝を有する。

【0039】

ある態様において、本ガラクトーラムノガラクトンネートは、 α -1,2-結合ラムノ

50

ース残基および $\alpha-1,4$ -結合GalA残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した $1,4$ -結合ガラクトロン酸(GalA)残基主鎖を含み、該ラムノース残基は、 $1,4-\beta-D$ -ガラクトース残基のオリゴマーの一次分枝を有する。

【0040】

ある態様において、本ガラクトーラムノガラクトロネートはさらにキシロース、グルコース、フコース残基またはこれらの組み合わせを含み得る。

【0041】

ある態様において、本ガラクトーラムノガラクトロネートは、SEC-RIおよび／またはSEC-MALLS法で測定して、 $2,000\sim80,000$ ダルトン、 $20,000\sim70,000$ ダルトンまたは $5,000\sim55,000$ ダルトンの平均分子量分布を有し得る。

10

【0042】

ある態様において、本ガラクトーラムノガラクトロネートは、 $1,5-\alpha-L-Ara$ 残基を実質的に含まない。

【0043】

ある態様において、本組成物は、1種以上のガレクチン阻害剤をさらに含む。ある態様において、本ガレクチン阻害剤は、ガレクチンの小有機阻害剤、モノクローナル抗体、RNA阻害剤、小結合ペプチド、タンパク質阻害剤またはこれらの組み合わせを含み得る。

【0044】

本発明のある面は、医薬許容される担体中にガラクトアラビノーラムノガラクトロネートを含む非経腸または経腸投与用組成物を得て、処置を必要とする対象に該組成物を有効量で投与することを含む方法に関し、有効量は組成物の $0.1\text{mg/kg}\sim9.9\text{mg/kg}$ の動物用量と同等である。ある態様において、有効量は次のタンパク尿の少なくとも10%減少またはタンパク尿の増加率の少なくとも10%減少、糸球体濾過率の少なくとも10%増加または糸球体濾過率の低下率の少なくとも10%減少、細胞外メサンギウム基質の少なくとも10%減少または少なくとも10%の増加率の少なくとも10%減少、糸球体毛細管基底膜厚の少なくとも5%減少、メサンギウムの体積比の少なくとも10%減少またはメサンギウムの体積比の増加率の少なくとも10%減少、間質性尿細管体積の少なくとも10%減少または間質性体積の増加率の少なくとも10%減少、間質性尿細管間隙におけるコラーゲン量の少なくとも10%減少または間質性尿細管間隙におけるコラーゲンの増加率の少なくとも10%減少、糖尿病性腎症の血清バイオマーカーレベルの少なくとも10%の変化の少なくとも一つを生じる。ある態様において、処置を必要とする対象は次の原発性糸球体症疾患、二次性糸球体症疾患および尿細管間質性障害の少なくとも一つを有する。ある態様において、糖尿病性腎症の血清バイオマーカーは炎症性および血行動態性サイトカイン類、TNF- α 、TGF- β またはIL-8、オステオポンチンまたは糖尿病性腎症の存在または重症度の指標である血清成分の代謝プロファイルを含む。ある態様において、有効量は $0.05\sim0.19\text{mg/kg}$ の範囲であり得る。

20

30

【0045】

ある態様において、本ガラクトーラムノガラクトロネートは、 $\alpha-1,2$ -結合ラムノース残基および $\alpha-1,4$ -結合GalA残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した $1,4$ -結合ガラクトロン酸(GalA)およびガラクトロン酸メチル(MeGalA)残基主鎖を含むガラクトアラビノーラムノガラクトロネートであり、該ラムノース残基は、 $1,4-\beta-D$ -ガラクトース残基、 $1,5-\alpha-L$ -アラビノース残基またはこれらの組み合わせのオリゴマーの一次分枝を有する。ある態様において、 $1,4-\beta-D-Gal$ 残基、 $1,5-\alpha-L-Ara$ 残基およびこれらの組み合わせのモルパーセントは炭水化物の総モルの少なくとも8%である。ある態様において、本 $1,4-\beta-D-Gal$ 残基および $1,5-\alpha-L-Ara$ 残基は、 $1:1\sim3:1$ の範囲の比で存在できる。ある態様において、本ガラクトアラビノーラムノガラクトロネートは、SEC-RIおよび／またはSEC-MALLS法で測定して、 $2,000\sim80,000$ ダルトン、 $20,000\sim70,000$ ダルトンまたは $5,000\sim55,000$ ダルトンの平均

40

50

分子量分布を有し得る。ある態様において、本ガラクトアラビノースノガラクトツロネートは、40～70%の範囲のメトキシル化の程度を有し得る。ある態様において、本ガラクトアラビノースノガラクトツロネートは、4:1～7:1の範囲のガラクトツロン酸メチル+ガラクトツロン酸対ガラクトース比を有し得る。

【0046】

本発明の面は、糖尿病性腎症の処置に使用するための、許容される医薬担体中にガラクトアラビノースノガラクトツロネート0.1mg/kg～1.99mg/kgの動物用量と同等の有効量を含む組成物に関し、ここで、該ガラクトアラビノースノガラクトツロネートは、 α -1,2-結合ラムノース残基および α -1,4-結合GalA残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)およびガラクトツロン酸メチル(MeGalA)残基主鎖を含み、該ラムノース残基は、1,4- β -D-ガラクトース残基、1,5- α -L-アラビノース残基またはこれらの組み合わせのオリゴマーの一次分枝を有し得る。ある態様において、有効量は0.05～0.19mg/kgの範囲であり得る。

10

【0047】

本発明の面は、糖尿病性腎症の処置に使用するための、許容される医薬担体中にガラクトアラビノースノガラクトツロネート0.1mg/kg～9.99mg/kgの動物用量と同等の有効量を含む組成物に関し、ここで、該ガラクトアラビノースノガラクトツロネートは、 α -1,2-結合ラムノース残基および α -1,4-結合GalA残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)残基主鎖を含み、該ラムノース残基は、1,4- β -D-ガラクトース残基のオリゴマーの一次分枝を有する。ある態様において、有効量は、0.05～0.49mg/kgの範囲であり得る。

20

【0048】

図面の簡単な説明

本発明を、添付する図面を参照してさらに説明し、ここで、同じ構造は数枚の図を通して同じ数表示で引用する。示す図面は必ずしも縮尺どおりではなく、むしろ、本発明の原理を説明するための強調を含んでいる。

【図面の簡単な説明】

【0049】

【図1】過ヨウ素酸シッフ(PAS)試薬で染色したマウス腎臓組織切片を示す。3実験群の低倍率($\times 200$)図および高倍率($\times 400$)図を示す：1)正常マウス；2)媒体(リン酸緩衝化食塩水、処置対照)で処置した糖尿病性マウス；および3)GR-MD-02/001B(IV 40mg/kg)で処置した糖尿病性マウス。矢印は糸球体を指す。

30

【図2】ピクロシリウスレッド試薬で染色したマウス腎臓組織切片を示す。3実験群の低倍率($\times 50$)図および高倍率($\times 200$)図を示す：1)正常マウス；2)媒体(リン酸緩衝化食塩水、処置対照)で処置した糖尿病性マウス；および3)GR-MD-02/001B(IV 40mg/kg)で処置した糖尿病性マウス。矢印は、コラーゲンタイプの存在の指標である染色されたストランドを指す。

【図3】シリウスレッド染色パーセントを定量するための、ピクロシリウスレッド試薬で染色したマウス腎臓のデジタル形態計測の結果を示す。シリウスレッド染色パーセントの統計的比較を3実験群で示す：1)正常マウス；2)媒体(リン酸緩衝化食塩水、処置対照)で処置した糖尿病性マウス；および3)GR-MD-02/001B(IV 40mg/kg)で処置した糖尿病性マウス。

40

【発明を実施するための形態】

【0050】

発明の詳細な説明

本発明の詳細な態様をここに記載するが、しかしながら、開示した態様は、種々の形態に具体化できる本発明の単なる説明例であると解釈されるべきである。さらに、本発明の種々の態様に関連して示す実施例の各々は説明的であり、限定的ではないことを意図する。さらに、図は必ずしも縮尺どおりではなく、ある特性を特定の要素の詳細を示すために

50

誇張していることがある。さらに、図に示すあらゆる測定値、仕様などは説明的であり、限定的ではないことを意図する。それゆえに、ここに記載する具体的構造的および機能的詳細は限定ではなく、当業者に本発明を様々に用いることを教示するための代表的基板として解釈すべきである。

【0051】

特に断らない限り、ここに示す全てのパーセントは重量／重量である。

糖尿病(I型およびII型)患者の20%～40%が最終的に糖尿病性腎症を発症する。糖尿病性腎症はまたキンメルスティール・ウィルソン症候群または結節性糖尿病性糸球体硬化症および毛細血管間糸球体腎炎としても知られ、腎糸球体における毛細血管の血管障害が原因の進行性腎疾患である。糖尿病性腎症は米国および他の西欧諸地域での慢性腎疾患の主原因であり、米国の全末期腎疾患の30～40%の原因である。また糖尿病を有する個々の患者での罹病率および死亡率の点で最も顕著な長期合併症の一つでもある。

10

【0052】

糖尿病性腎症は、次のものにより特徴付けられる臨床的症候群である：1)永続性アルブミン尿($>300\text{ mg/d}$ または $>200\text{ }\mu\text{g/分}$)、2)糸球体濾過率(GFR)の進行性減少、3)高動脈性血圧。

【0053】

糖尿病性腎症は、一般に糖尿病の状況での日常的尿検査および微量アルブミン尿のスクリーニング後に診断される。

【0054】

20

患者は、高血圧、末梢血管疾患、細かい感覚の低下および腱反射低下の形態での糖尿病性ニューロパシーの証拠、心聴診での第4心音の証拠または難治性皮膚潰瘍／骨髄炎など長年の糖尿病と関係する身体所見を有し得る。腎症およびI型糖尿病を有するほとんど全ての患者が、網膜症およびニューロパシーのような糖尿病性微小血管疾患の徴候を示す。

【0055】

糖尿病性腎症の患者は、糸球体濾過率が進行性に、容赦なく低下する。I型またはII型糖尿病と糖尿病性腎症の患者は、糸球体濾過率がそれぞれ約 $9.6\sim12\text{ ml/分/年}$ ～約 $5.4\sim7.2\text{ ml/分/年}$ の比で低下する。

【0056】

早期処置が糖尿病性腎症または糖尿病性腎疾患の発症を遅延させるまたは阻止することを示す良好な証拠はあるが、大きな健康問題のままである。従って、本疾患を予防できる、進行を遅延できるまたは退縮を起こし得る処置に対する要望がある。

30

【0057】

糖尿病性腎症における古典的腎臓病理は結節性糸球体硬化症である。糖尿病性腎症患者の糸球体で3つの大きな組織学的変化が起こる：1)メサンギウム細胞増大およびマトリクス産生増加および／またはマトリクスタンパク質のグリコシル化；2)メサンギウム細胞およびマトリクス増大後に起こる糸球体基底膜(GBM)の肥厚；3)糸球体硬化。これらの異なる組織学的パターンは、同等の予後的意義を有すると考えられる。

【0058】

糖尿病性糸球体症における重要な変化は細胞外マトリクスの増大である。糖尿病性腎症の最も早い形態異常は、細胞外マトリクスの蓄積が原因の糸球体基底膜肥厚とメサンギウムの増大である。

40

【0059】

糸球体の病状が進行するに連れて尿細管の間の間質の、細胞外マトリクス物質およびコラーゲンの沈着増加を含む、病理学的変化が増加する。

【0060】

組織所見は、糸球体の中実間隙における細胞外マトリクス物質およびコラーゲンの沈着の増加を示し、最もしばしば固体(陽性過ヨウ素酸シッフ反応(PAS))物質の粗分枝として観察され、また大細胞蓄積または小結節(キンメルスティール・ウィルソン病変／小結節)もある。

50

【0061】

糖尿病性糸球体症の重症度は、末梢基底膜の厚さと、適当な間隙の比として表されるメサンギウムおよびマトリクス(例えば、メサンギウム／糸球体、マトリクス／メサンギウムまたはマトリクス／糸球体の体積比)により推定できる。

【0062】

免疫蛍光顕微鏡観察は、血管からの滲出の結果と信じられる、線状パターンで糸球体基底膜に添ったアルブミン、免疫グロブリン類、フィブリンおよび他の血漿タンパク質の沈着を明らかにし得る。

【0063】

進行した疾患では、電子顕微鏡検査が、メサンギウム域が糸球体の大部分を占め、顕著なマトリクス含量であることを示す。さらに、毛細血管壁における基底膜(すなわち、末梢基底膜)は正常より厚い。

【0064】

糸球体病理に加えて、糖尿病性腎症は、腎臓における尿細管間質腔におけるマトリクス物質を増加させる。間質性疾患の重症度は、I型コラーゲン、IV型コラーゲン、ヒアルロン酸、ヒアルロナンおよびプロテオグリカン類を含み、これらに限定されない腎臓尿細管細胞間のマトリクス物質の量の測定により決定できる。

【0065】

病理学的病変に至る根底の病態生理学は完全には理解されていないが、高度糖化および酸化ストレスの産物を含み得る。糖尿病性腎症の発症は高血糖と結びついていると考えられている。グルコースはタンパク質と非酵素的に反応して、シッフ塩基およびアマドリ産物および高度糖化最終産物(AGE)を形成し、これらは糖尿病性腎症進行に中心的役割を有すると考えられている。

【0066】

病態生理学は、トランスフォーミング増殖因子1、アンギオテンシンIIおよび一酸化窒素を含み、これらに限定されない多様な炎症性および細胞毒性サイトカイン類も含み得る。

【0067】

本発明のある面は、処置を必要とする対象におけるガレクチン類が関与する1種以上の疾患、障害または状態を処置(例えば、制御、軽減、回復、緩和または進行遅延)する方法または予防(例えば、発症遅延または発症のリスクの減少)する方法に関する。ある面において、本方法は、糖尿病性腎症を有する対象に、有効量のガラクトース分枝炭水化物化合物またはガラクトース分枝炭水化物化合物を含む組成物を投与することを含む。

【0068】

ここで使用する用語“有効量”は、単独でまたは一定量の治療剤と組み合わせて、非経腸(parental)、皮下、吸入、関節内、眼または経口製剤として糖尿病性腎症または関連疾患を有する動物またはヒトに投与したとき、種々の態様において下に定義する疾患活動性の低下をもたらす化合物の量をいう。例えば、用語“有効量”は、非経腸(parental)用量としてまたは経口製剤で糖尿病性腎症を有する動物またはヒトに投与したとき、次の少なくとも一つを生じるガラクトース分枝炭水化物またはガラクトース分枝炭水化物と組み合わせて投与する他の薬剤の量を意味する：タンパク尿(アルブミンタンパク質を含み、これに限定されない)の少なくとも10%減少、糸球体濾過率の少なくとも10%増加、細胞外メサンギウム基質の少なくとも10%減少、糸球体毛細管基底膜厚の少なくとも10%減少、メサンギウム体積比の少なくとも10%減少、間質性尿細管体積の少なくとも10%減少および／または間質性尿細管間隙におけるコラーゲン量の少なくとも10%減少。

【0069】

用語“薬学的に許容される担体”は、本発明の化合物と共に対象(例えば、患者)に投与でき、その薬理的活性を破壊せず、本化合物の治療量または有効量の送達に十分な容量で投与したとき非毒性である、担体またはアジュバントをいう。例えば、用語薬学的に許

10

20

30

40

50

容される担体は、生理学的に適応可能である、任意かつ全ての溶媒、分散媒体、例えば、ヒトアルブミンまたは架橋ゼラチンポリペチド、コーティング、抗細菌および抗真菌化合物、等張、例えば、塩化ナトリウムまたはグルタミン酸ナトリウムおよび吸収遅延化合物などを指し得る。薬学的活性物質のためのこのような媒体および化合物は当分野で周知である。好ましくは、担体は、経口、静脈内、筋肉内、皮下、非経腸、脊髄または硬膜外投与に適する(例えば、注射または点滴による)。投与経路によって、活性化合物を、該化合物を不活化し得る酸および他の自然条件の作用から保護するために物質で被覆してよい。

【0070】

用語“有効性”は、ある態様において、糖尿病性腎症または他の原発性または二次性糸球体腎症の病理、疾患顕在化または臨床的所見における改善を示すことをいう。

10

【0071】

ある態様において、処置方法は、許容される医薬担体中にガラクトース分枝炭水化物化合物を含む非経腸または経腸投与用組成物を含む。

【0072】

ある態様において、本化合物は、主鎖が主に1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)部分からなり、1,4-結合GalAおよび1,2-結合ラムノース(Rha)を交互に有する少量の主鎖組成を伴い、これが次に主に1,4-β-D-ガラクトース(Gal)を含むいくつもの側鎖と結合している、選択的に脱重合した分枝ヘテロポリマーであるガラクトーラムノガラクトツロネートとして化学的に定義され得る糖である。他の側鎖微量成分はアラビノース(Ara)、キシロース(Xyl)、グルコース(Glu)およびフコース(Fuc)を含み得る。

20

【0073】

ある態様において、本化合物は、主鎖が主に1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)部分からなり、1,4-結合GalAおよび1,2-結合ラムノース(Rha)を交互に有する少量の主鎖組成を伴い、これが次に主に1,4-β-D-ガラクトース(Gal)および1,5-α-L-アラビノース(Ara)残基を含むいくつもの側鎖と結合している、選択的に脱重合した分枝ヘテロポリマーである、ガラクトアラビノーラムノガラクトツロネートと呼ばれるガラクトーラムノガラクトツロネートのサブタイプとして化学的に定義され得るガラクトース分枝炭水化物である。他の側鎖微量成分はキシロース(Xyl)、グルコース(Glu)およびフコース(Fuc)を含み得る。

30

【0074】

ある態様において、本発明の化合物における1,4-β-D-Gal残基および1,5-α-L-Ara残基のモルパーセントは、炭水化物の総モル量の10%を超え、およその割合はそれぞれ1:1~3:1の範囲であり得る。

【0075】

ある態様において、本発明の化合物における1,5-α-L-Ara残基のモルパーセントは0であるかまたは最大1%までの微量である。

【0076】

ある態様において、本化合物は、は、α-1,2-結合ラムノース残基およびα-1,4-結合GalA残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)およびガラクトツロン酸メチル(MeGalA)残基主鎖を含むガラクトアラビノーラムノガラクトツロネート化合物として化学的に定義され得るガラクトース分枝炭水化物であり、該ラムノース残基は、1,4-β-D-ガラクトース残基、1,5-α-L-アラビノース残基またはこれらの組み合わせのオリゴマーの一次分枝を有する。

40

【0077】

ある態様において、本化合物は、40~70%の範囲のメトキシル化度を有して、よく、87%である。ある態様において、本化合物は、2:1~1:2の範囲のガラクトツロン酸メチル対ガラクトツロン酸比を有する。ある態様において、本化合物は、4:1~7:1の範囲のガラクトツロン酸メチル+ガラクトツロン酸対ガラクトース比を有する。

50

【0078】

ある態様において、1,4-β-D-ガラクトース残基、1,5-α-L-アラビノース残基またはこれらの組み合わせのオリゴマーは、少なくとも総炭水化物モル含量の8モルパーセントとなる。ある態様において、1,4-β-D-ガラクトースおよび1,5-α-L-アラビノース残基は、2:1または3:1比で存在する。

【0079】

ある態様において、本化合物は、SEC-RIおよび/またはSEC-MALLS法で測定して、2,000~80,000ダルトンまたは20,000~70,000ダルトンまたは5,000~55,000ダルトンの平均分子量分布を有する分枝ヘテロポリマーであるガラクトーラムノガラクトンレートまたはガラクトアラビノーラムノガラクトンレートとして化学的に定義される多糖である。

10

【0080】

ある態様において、本化合物は、治療剤を静脈内、皮下、関節内、吸入および経口を含み、これらに限定されない経路を介する多元的投与に適するようにするために、分子量範囲を十分に低下した、例えば約2,000~約80,000Dの高度に可溶性の修飾多糖であり得る。

【0081】

ある態様において、本ガラクトーラムノガラクトンレート化合物は、米国番号8,236,780およびPCT/US12/55311(これらはその全体を全ての目的のために引用により本明細書に包含させる)に記載の方法により製造できる。

20

【0082】

ある態様において、本化合物は、柑橘系の果物、リンゴまたはビートを含み、これらに限定されない、任意の植物源に由来し得る天然の、高度に分枝した、最小限に加工され、高度にメトキシル化されたUSPペクチンから合成できる。

【0083】

ある態様において、本化合物は、8~12%ペクチンを含むリンゴジュース加工副産物から製造されたもののような、天然の、高度に分枝した、最小限に加工され、高度にメトキシル化されたUSPペクチンから製造できる。

【0084】

ある態様において、本化合物は、濃縮量の1,4-β-D-Galおよび1,5-α-L-Araの側鎖を維持しながら、グリコシド結合メトキシル化α-1,4-結合GalAの十分に制御された、特異的加水分解下に合成できる。1,4-β-D-Galおよび1,5-α-L-Araの量はGC-MS(ガスクロマトグラフィー質量分析)およびAELC-PAD(アニオン交換液体クロマトグラフィーパルス電流測定検出器)法により定量的に決定できる。

30

【0085】

ある態様において、本化合物は、アルカリ(pH8~12)および酸(pH1~5)による十分に制御された、特異的な加水分解下または過酸化物または他の化学手段によるベータ脱離または適切な酵素加水分解および分画により合成できる。

【0086】

ある態様において、本化合物は、付加的な還元形態の遷移金属イオン、例えば1~100mMのCu⁺⁺の存在下または非存在下でアスコルビン酸および/または過酸化物から産生されたイオン化OH⁻によるグリコシド結合の標的過酸化開裂により異化された脱重合を含む方法により製造できる。Ca⁺⁺またはFe⁺⁺のような他の遷移金属もこの目的で使用できる。

40

【0087】

ここで使用する用語“脱重合”は、例えば、多糖を酵素的に処理して、元の多糖と比較してサイズが減少したフラグメントを得るときに起こる、多糖主鎖の部分的、選択的または完全な加水分解をいう。

【0088】

50

ある態様において、本脱重合化合物を10～30分、2～60℃の温度で8～10のpHに曝し、制御された限定的脱メトキシシル化を開始して、最大87%の初期レベルと比較して40～70%のメトキシシル化の程度の脱重合化合物を産生し、中程度メトキシシル化合物と称することができる。ガラクトツロン酸の完全メトキシシル化は約DE87%と考えられる。

【0089】

ある態様において、本脱重合組成物を熱酸性アルコールで複数回洗浄して(例えば30～80℃の範囲の温度で)、残存する内毒素、銅および重金属、農業汚染物および他の不純物を除去し得る。

【0090】

ある態様において、可溶性の化学改変ガラクトーラムノガラクトネートを、天然に存在するポリマーを所望の範囲に分子量を減少させるために修飾し、アルキル化された基を減少させて(脱メトキシシル化または脱アセチル化)製造できる。化学修飾前に、天然多糖は、約40,000～1,000,000Dの分子量範囲と、多糖の複数分枝、例えば、1～20単糖のグルコース、アラビノース、ガラクトース等を含む分枝を有し、これらの分枝は、主鎖にラムノースのような中性単糖を介して結合し得る。これらの分子は、さらに1個のまたは鎖状のウロン酸多糖の主鎖を含んでよく、これは約2%ほどの少程度から約70%ほどの高度にエステル化されていてよい。複数分枝それ自体、多糖の複数分枝を有してよく、該複数分枝は、所望により中性多糖および主に疎水性物を創出する中性多糖誘導体を含んでよい。

【0091】

ある態様において、本ガラクトーラムノガラクトネート組成物は、任意の植物源からの生ペクチン物質を使用した、加熱、高もしくは低pH、種々の形態の分子量選別濾過(またはこれらの方法の組み合わせ)を含む、種々の処理により製造できる。例えば、生ペクチン物質はリンゴペクチン、柑橘類ペクチンまたはビートペクチンに由来してよく、そのいくつかはUSPペクチンとして市販されている。

【0092】

ある態様において、本化合物は修飾ペクチンを含む。炭水化物化合物のいくつかの組成およびその製造法は記載されている。米国特許番号6,573,245、6,645,946、6,914,055、6,982,255、7,012,068、7,491,708および7,893,252参照(これら特許の各々の開示は、その全体を全ての目的のために引用により本明細書に包含させる)。

【0093】

ある態様において、本ガラクトーラムノガラクトネート組成物を米国特許番号8,128,966および米国出願番号US2012-0149658(この各々の開示をその全体を全ての目的のために引用により本明細書に明示的に包含させる)に記載の方法により製造する。

【0094】

ある態様において、本ガラクトース分枝炭水化物組成物を米国仮出願番号61/704,174および61/693,978(これらの特許の各々の開示をその全体を全ての目的のために引用により本明細書に包含させる)に記載の方法により製造する。

【0095】

ある態様において、本化合物は、張り出したラムノース残基側鎖を有する実質的に脱メトキシシル化されたポリガラクトツロン酸主鎖を含む多糖化合物群に入る。このタイプの物質において、末端ガラクトース単位は、ガレクチンタンパク質に結合する主鎖から張り出している。当該分子の残りの部分は、免疫系応答の修飾における化合物の作用を増強することができる。推測に拘りたくはないが、該分子の残りの部分は、ガレクチンタンパク質の残りの部分と相互作用し、および/または、糖部分の結合を延長し得る。

【0096】

ある態様において、本化合物は、ガラクトマンナン多糖を含み得る。ある態様において

、本化合物は、本質的にガラクトース残基およびマンノース残基からなるガラクトマンナンオリゴ糖であり、所定の平均分子量を有するガラクトマンナン多糖組成物を生じるようにガラクトマンナンの十分に制御された脱重合により製造される。

【0097】

ガラクトマンナンは、植物および微生物のような多様な天然資源から取得できる。本多糖はまた合成により製造もできる。ガラクトマンナンはイナゴマメガム(*Ceratonia siliqua*)、グアーガム(*Cyamopsis tetragonoloba*)およびアメリカサイカチ(*Gleditsia triacanthos*)から取得でき、これらは市販ガラクトマンナンの例である。本多糖は、多数の植物および微生物から取得可能なガラクトマンナンを含み、これらに限定されない。例えば、本ガラクトマンナンは、*Cyamopsis tetragonoloba*の種子からのグアーガムの誘導体である。さらに他の態様において、本ガラクトマンナンは、*Gleditsia triacanthos*、*medicago falcata*、*Trigonella Foenum-graecum*の誘導体および微生物、例えば*Ceratonia siliqua*、*Xanthomonas campestris*、酵母およびカビガラクトマンナン、アラビノガラクトタン(*Larix occidentalis*由来)、ラムノガラクトツロナン(ジャガイモ由来)、カラゲナン(*Eucheuma Seaweed*由来)およびローカストビーンガム(*Ceratonia siliqua*由来)であり得る。

10

【0098】

ここで使用する用語“主鎖”は、多糖の主要な連鎖またはアルファもしくはベータグリコシド結合により連続的に結合したサッカライド結合部分を有する出発多糖の主要な連鎖から始まる主要な連鎖を意味する。主鎖は、連鎖に添った種々の位置で結合した付加的単糖部分を含み得る。

20

【0099】

ある態様において、本ガラクトマンナン多糖組成物は本質的にガラクトース残基およびマンノース残基からなり、均一ガラクトマンナン多糖を生じるようなガラクトマンナンの十分に制御された脱重合に由来する。ある態様において、本ガラクトマンナン多糖は、GPC-MALLS(ガラクトマンナン)でアッセイして、平均分子量4,000~60,000Dを有する。

【0100】

ある態様において、本ガラクトマンナン多糖組成物は、1:1~1:4の範囲のマンノース分子対ガラクトース分子比を有する。

ある態様において、本ガラクトマンナン多糖組成物は、1.7:1のマンノース分子対ガラクトース分子比を有する。

30

【0101】

ある態様において、本ガラクトマンナン多糖組成物は、US7,893,252(その全体を全ての目的のために引用により本明細書に明示的に包含させる)に記載のとおり製造する。該方法は、約48,000ダルトンの範囲の平均分子量および約1.7:1の範囲のマンノース対ガラクトース比を有する高度に純粋な可溶性および均一オリゴマーを製造するために設計される。本方法は4つの主要な部分を含む。すなわち、所望のガラクトマンナンオリゴマーを製造するための制御された脱重合および、不溶性不純物除去、水可溶性不純物除去、有機可溶性不純物除去の3精製工程を含み、最後に純粋で安定な形態のガラクトマンナン粉末を得るために凍結乾燥する。ある態様において、本生成物はガラクトマンナン(GM)の高度に可溶性のオリゴマーの形態である。

40

【0102】

ガラクトマンナンを、使い捨てバイアルに無菌濃縮溶液として充填し、配送でき、一方バルクガラクトマンナンを粉末として製造し、保存できる。ここに記載する方法はバルク薬物および最終製剤の両者のためである。本ガラクトマンナン製剤を、医薬製剤の活性成分を形成するために治療有効量の治療剤と組み合わせ、共投与できる。ある態様において、本製剤は、点滴用生理食塩水(約0.9M 塩化ナトリウム水溶液)を含んでよく、約6.5のpHを有する。

【0103】

上記は、主に修飾ペクチンおよびガラクトマンナンに基づく治療物質に関するが、

50

本発明はそれに限定されないと解釈すべきである。本発明の一般的原則に従い、ガレクチンと相互作用し、遮断できる広範な化合物群のあらゆるメンバーを用い得る。これらの物質は、ある態様において、炭水化物物質を含むが、これは該物質が毒性が低く、ガレクチンと強い相互作用を示しまたは強い抗炎症効果を示すためである。修飾ペクチン物質は、炭水化物物質の一つの特定の群を含む。同様に、ポリガラクトuron酸物質のようなその合成および半合成類似体を同様に用い得る。

【0104】

本発明の物質のさらに別の群は、典型的に炭水化物であり、タンパク質活性を不活化するまたは他に調節する第二の部分に結合した、ガレクチンと結合できる第一の部分を有する分子を含む。この第二の部分は炭水化物である必要はなく、ガレクチンタンパク質の活性部分またはガレクチンと相互作用する他のタンパク質の活性部分を含むタンパク質のセグメントと架橋結合するか他に変性する物質を含み得る。このような物質は、硫黄または他のカルコゲン元素単独またはチオール、スルフヒドリルなどの組み合わせのような活性種を含む。他の活性種はシアノ基、チオシアネート、アルキル化剤、アルデヒドなどを含み得る。ある活性種は、モノクローナル抗体を含み、これに限定されないタンパク質であり得る。

10

【0105】

ある態様において、本方法は、許容される医薬担体中の非経腸または経腸投与用ガラクトース分枝炭水化物化合物を得る段階を含む。

【0106】

20

ある態様において、本方法は、ガラクトピラノシドまたは3-トリアゾリル-ガラクトシドを含み、これらに限定されない、出発化学構造として少なくとも1個のガラクトースを有する二糖またはオリゴ糖を化学的修飾することを含むおよびまたはこれらの誘導体である、非経腸または経腸投与用ガラクトース分枝炭水化物化合物を得る段階を含む。

【0107】

ある態様において、化学的に修飾された二糖またはオリゴ糖組成物はUS 6,444,655に記載されているように製造する。

【0108】

ある態様において、化学的に修飾された二糖またはオリゴ糖組成物はUS 8,092,825(その全体を全ての目的のために引用により本明細書に包含させる)に記載されているように製造する。

30

【0109】

ある態様において、化学的に修飾された二糖またはオリゴ糖組成物はUS 7,700,763(その全体を全ての目的のために引用により本明細書に包含させる)に記載されているように製造する。

【0110】

ある態様において、化学的に修飾された二糖またはオリゴ糖組成物はUS 7,638,623(その全体を全ての目的のために引用により本明細書に包含させる)に記載されているように製造する。

【0111】

40

ある態様において、化学的に修飾された二糖またはオリゴ糖組成物はUS 7,230,096(その全体を全ての目的のために引用により本明細書に包含させる)に記載されているように製造する。

【0112】

ある態様において、本ガラクトース分枝化合物を米国仮出願番号61/704,174および61/693,978(その全体を全ての目的のために引用により本明細書に包含させる)に記載されているように合成し得る。

【0113】

ある態様において、本ガラクトース分枝炭水化物化合物を治療有効量の治療剤と組み合わせて使用し得る。例えば、本ガラクトース分枝炭水化物化合物を、治療有効量の糖尿病

50

性腎症の慣用の治療剤と組み合わせて使用できる。

【0114】

ある態様において、本ガラクトース分枝炭水化物化合物を混合物で使用できる。“混合物”は、1種を超える成分が混合されて組み合わせ剤を形成することを意味する。本発明の目的で、“混合物”は、投与の前または後もしくは同時の2種以上の化合物の混合を意味する。

【0115】

本発明のある面は、糖尿病性腎症の処置において適切なまたは増強された有効性を有する糖尿病性腎症治療剤に関する。ある態様において、本糖尿病性腎症治療剤は有効量のガラクトース分枝多糖を含む。ある態様において、本糖尿病性腎症治療剤は単独で投与しても、有効量の治療剤との混合物でまたはレジメンで併用してよい。本剤は、さらに、糖尿病性腎症もしくは糖尿病の処置用の付加的治療剤または本剤が粉末形態または液体形態である添加物を含み得る。

10

【0116】

他の態様において、有効量のガラクトース含有多糖を経口用剤で投与できる。本剤の製造方法は、ガラクトース含有多糖の経口吸収を増強し得る化合物の物理的改変または種々の薬剤の添加の方法を含み得る。化合物の改変は、脂肪族基のような、しかしこれに限定されない疎水性部分との結合を含み得るが、これに限定されない。吸収を増強し得る剤への添加は、腸管バリアの透過性を増強する薬剤を含み得るが、これに限定されない。

20

【0117】

ある態様において、本化合物は、ガラクトース含有多糖であり、単一ガレクチンタンパク質またはガレクチンタンパク質のセットを阻害し得る治療有効量の1種以上の他のガレクチン阻害剤と組み合わせて使用できる。ガレクチン阻害剤は、ガレクチンの小有機阻害剤、モノクローナル抗体、RNA阻害剤、小結合ペプチド、タンパク質阻害剤またはこれらの組み合わせを含み、これらに限定されない。

【0118】

ある態様において、本ガラクトース含有多糖およびここに記載する他の化合物は、単独でまたは上記の他の薬剤と組み合わせて、ヒト糖尿病性腎症のための治療として、該疾患の予防、進行遅延または改善または回復のための方法として提案される。

30

【0119】

ある態様において、本ガラクトース含有多糖およびここに記載する他の化合物は、単独でまたは上記の他の薬剤と組み合わせて、急性汎発性増殖性糸球体腎炎(連鎖球菌感染後および非連鎖球菌)、急速進行性糸球体腎炎、慢性糸球体腎炎、膜性糸球体腎炎、微小変化型疾患、限局性分割型糸球体硬化症、膜増殖性糸球体腎炎およびIgA腎症を含み、これらに限定されない原発性糸球体症疾患における治療として提案される。

【0120】

ある態様において、本ガラクトース含有多糖およびここに記載する他の化合物は、単独でまたは上記の他の薬剤と組み合わせて、糖尿病性腎症、全身性エリテマトーデス、アミロイド症、グッドパスチャー症候群、顕微鏡的多発血管炎/多発性血管炎、ウェゲナー肉芽腫症、ヘノッホ・シェーンライン紫斑病および腎臓への免疫複合体沈着と関係する障害を含み、これらに限定されない全身疾患に二次性の糸球体症疾患における治療として提案される。

40

【0121】

ある態様において、本ガラクトース含有多糖およびここに記載する他の化合物は、単独でまたは上記の他の薬剤と組み合わせて、尿細管間質性障害または糖尿病性腎症、間質性腎炎および同種移植片拒絶を含む、これに限定されない肝臓への免疫学的損傷を含む、間質腔の増大と細胞外マトリクス沈着を含む全身疾患における治療剤として提案される。

【0122】

ある態様において、有効量のガラクトース含有多糖は、反復ボラス点滴または持続的

50

輸液としての静脈内投与、皮内注射、反復ボーラス注射または持続的輸液としての皮下投与を介する非経腸または経口投与を含む、種々の経路を介して投与できる。

【0123】

実験動物へのガラクトース含有多糖の有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は、0.1 mg/kgから最大160 mg/kg体重の範囲または1 mg/kgまたは10 mg/kgまたは30 mg/kgまたは60 mg/kgまたは90 mg/kgまたは120 mg/kg体重である。ある態様において、実験動物へのガラクトース含有多糖の有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は、0.1 mg/kg～1 mg/kg、0.1 mg/kg～1.5 mg/kg、0.1 mg/kg～1.9 mg/kgの範囲である。ある態様において、実験動物へのガラクトース含有多糖の有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は、0.1 mg/kg～3 mg/kg、0.1 mg/kg～4 mg/kg、0.1 mg/kg～5 mg/kg、0.1 mg/kg～6 mg/kg、0.1 mg/kg～7 mg/kg、0.1 mg/kg～8 mg/kg、0.1 mg/kg～9 mg/kgまたは0.1 mg/kg～9.9 mg/kgの範囲である。ある態様において、実験動物へのガラクトース含有多糖の有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は、10 mg/kg未満または2 mg/kg未満である。

10

【0124】

ある態様において、実験動物へのガラクトーラムノガラクトツロネートの有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は、0.1 mg/kg、0.5 mg/kg、1 mg/kg、2 mg/kg、5 mg/kg、6 mg/kg、7 mg/kg、8 mg/kg、9 mg/kgまたは9.99 mg/kgであり得る。ある態様において、実験動物へのガラクトーラムノガラクトツロネートの有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は、0.1～9.99 mg/kg、0.2～9.99 mg/kg、0.3～9.99 mg/kg、0.4～9.99 mg/kg、0.5～9.99 mg/kg、1～9.99 mg/kg、2～9.99 mg/kg、3～9.99 mg/kg、4～9.99 mg/kg、5～9.99 mg/kg、6～9.99 mg/kg、7～9.99 mg/kg、8～9.99 mg/kg、9～9.99 mg/kg、0.1～0.2 mg/kg、1～2 mg/kg、2～3 mg/kg、3～4 mg/kg、4～5 mg/kg、5～6 mg/kg、6～7 mg/kg、7～8 mg/kg、8～9 mg/kgの範囲であり得る。

20

【0125】

ある態様において、実験動物へのガラクトアラビノーラムノガラクトツロネートの有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は0.1 mg/kg、0.2 mg/kg、0.40 mg/kg、0.5 mg/kg、0.6 mg/kg、0.7 mg/kg、0.8 mg/kg、0.9 mg/kg、1 mg/kg、1.1 mg/kg、1.2 mg/kg、1.3 mg/kg、1.4 mg/kg、1.5 mg/kg、1.5 mg/kg、1.6 mg/kg、1.7 mg/kg、1.8 mg/kg、1.9 mg/kgまたは1.99 mg/kgであり得る。ある態様において、実験動物へのガラクトアラビノーラムノガラクトツロネートの有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は0.1 mg/kg～0.2 mg/kg、0.2～0.3 mg/kg、0.3 mg/kg～0.4 mg/kg、0.4～0.5 mg/kg、0.5 mg/kg～0.6 mg/kg、0.6 mg/kg～0.7 mg/kg、0.7～0.8 mg/kg、0.8～0.9 mg/kg、0.9 mg/kg～1 mg/kg、1～1.1 mg/kg、1.1～1.2 mg/kg、1.2～1.3 mg/kg、1.3 mg/kg～1.4 mg/kg、1.4 mg/kg～1.5 mg/kg、1.5～1.6 mg/kg、1.6～1.7 mg/kg、1.7～1.9 mg/kgまたは1.9～1.99 mg/kgの範囲であり得る。

30

【0126】

実験動物へのガラクトース含有多糖の有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は、週に3回、週に2回、週に1回、2週毎、月に1回または持続的輸液として投与できる。

40

【0127】

ある態様において、ヒトへのガラクトース含有多糖の有効非経腸用量を、動物におけるようにヒトで同じ全身暴露を与える動物用量と同等のとして定義する。全身暴露の同等性は、薬物動態パラメータ解析の一部として実施した同じ曲線下面積(AUC_{無限大})として定義される。例えば、動物用量に対して同等のヒト用量は、動物でその用量で見られるのと、同一の全身曝露またはAUCを与えるヒトでの用量である。ある態様において、実験動物モデルはマウスである。

【0128】

50

ある態様において、ガラクトーラムノガラクトツロネートの有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は、0.1~9.99mg/kg、0.2~9.99mg/kg、0.3~9.99mg/kg、0.4~9.99mg/kg、0.5~9.99mg/kg、1~9.99mg/kg、2~9.99mg/kg、3~9.99mg/kg、4~9.99mg/kg、5~9.99mg/kg、6~9.99mg/kg、7~9.99mg/kg、8~9.99mg/kg、9~9.99mg/kg、0.1~0.2mg/kg、1~2mg/kg、2~3mg/kg、3~4mg/kg、4~5mg/kg、5~6mg/kg、6~7mg/kg、7~8mg/kg、8~9mg/kgの範囲の動物用量と同等である。ある態様において、ガラクトアラビノーラムノガラクトツロネートの有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は、0.1mg/kg~0.2mg/kg、0.2~0.3mg/kg、0.3mg/kg~0.4mg/kg、0.4~0.5mg/kg、0.5mg/kg~0.6mg/kg、0.6mg/kg~0.7mg/kg、0.7~0.8mg/kg、0.8~0.9mg/kg、0.9mg/kg~1mg/kg、1~1.1mg/kg、1.1~1.2mg/kg、1.2~1.3mg/kg、1.3mg/kg~1.4mg/kg、1.4mg/kg~1.5mg/kg、1.5~1.6mg/kg、1.6~1.7mg/kg、1.7~1.9mg/kgまたは1.9~9.99mg/kgの範囲の動物用量と同等である。

【0129】

ヒト対象へのガラクトース含有多糖の有効非経腸用量(静脈内または皮下投与)は、0.05mg/kgから最大25mg/kg体重の範囲または1mg/kgまたは2mg/kgまたは5mg/kgまたは7.5mg/kgまたは10mg/kg体重または15mg/kg体重である。ある態様においてヒト対象へのガラクトース含有多糖の有効非経腸用量(静脈内または皮下投与)は、0.05mg/kg~0.1mg/kg、0.05mg/kg~0.19mg/kg、0.05mg/kg~0.3mg/kg、0.05mg/kg~0.4mg/kgまたは0.05mg/kg~0.49mg/kgの範囲内である。ある態様において、ヒト対象へのガラクトース含有多糖の有効非経腸用量(静脈内または皮下投与)は0.5mg/kg未満または0.2mg/kg未満である。例えば、実験動物へのガラクトース含有多糖の有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は0.05mg/kg、0.1mg/kg、0.19mg/kgであり得る。ある態様において、実験動物へのガラクトース含有多糖の有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は、0.05mg/kg、0.1mg/kg、0.2mg/kg、0.3mg/kg、0.4mg/kgまたは0.49mg/kgであり得る。

【0130】

ある態様において、ガラクトーラムノガラクトツロネートの有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は、0.05mg/kg~0.1mg/kg、0.05mg/kg~0.2mg/kg、0.05mg/kg~0.3mg/kg、0.05mg/kg~0.4mg/kgまたは0.05mg/kg~0.49mg/kg、0.1mg/kg~0.2mg/kg、0.2mg/kg~0.3mg/kg、0.3mg/kg~0.4mg/kg、0.4mg/kg~0.49mg/kg、0.2mg/kg~0.49mg/kg、0.3mg/kg~0.49mg/kgの範囲内であり得る。

【0131】

ある態様において、ガラクトアラビノーラムノガラクトツロネートの有効非経腸用量(静脈内、腹腔内または皮下投与)は0.05mg/kg~0.1mg/kg、0.05mg/kg~0.06mg/kg、0.05mg/kg~0.07mg/kg、0.05mg/kg~0.08mg/kg、0.05mg/kg~0.09mg/kg、0.05mg/kg~0.11mg/kg、0.05mg/kg~0.12mg/kg、0.05mg/kg~0.13mg/kg、0.05mg/kg~0.14mg/kg、0.05mg/kg~0.15mg/kg、0.05mg/kg~0.16mg/kg、0.05mg/kg~0.17mg/kg、0.05mg/kg~0.18mg/kg、0.1~0.19mg/kgであり得る。

【0132】

ヒト対象へのガラクトース含有多糖の有効非経腸用量(静脈内または皮下投与)は、週に3回、週に2回、週に1回、2週毎、月に1回または持続輸注として投与できる。

【0133】

ある態様において、糖尿病性腎症は、マウス、ラット、ブタ、カンクイザルを含み、これらに限定されない動物でモデル化できる。これらの動物において、島細胞の毒素(高用量および低用量ストレプトゾトシンを含み、これらに限定されない)での処理および/または高脂肪餌での飼育を含み、これらに限定されない種々の方法により、糖尿病を誘発で

10

20

30

40

50

きる。

【0134】

ある態様において、糖尿病性腎症を、マウス遺伝的モデルでモデル化できる。このようなモデルは、NODマウス、インスリン-2秋田マウス、db/dbマウス、Ob/obマウス、アグーチ変異を有するマウス、NZOマウスまたは一遺伝子変異を有する種々のマウスまたはアポリポタンパク質E、内皮一酸化窒素合成酵素の遺伝子を含み、これらに限定されないトランスジェニックマウス、AGEおよびGLUT1の増加に至る変異または糖尿病の系統依存的発症がある近交系マウスを含み、これらに限定されない。

【0135】

ある態様において、治療有効量は、アルブミンタンパク質を含む、タンパク尿の少なくとも10%減少またはタンパク尿の増加率の少なくとも10%減少をもたらす糖尿病性腎症における効果により評価できる。

10

【0136】

ある態様において、治療有効量は、任意の標準法で測定して、糸球体濾過率の少なくとも10%増加または糸球体濾過率の低下率の少なくとも10%減少をもたらす糖尿病性腎症における効果により評価できる。

【0137】

ある態様において、治療有効量は、腎臓の組織切片で測定して、細胞外メサンギウム基質の少なくとも10%減少または細胞外メサンギウム基質の増加率の少なくとも10%減少をもたらす糖尿病性腎症における効果により評価できる。

20

【0138】

ある態様において、治療有効量は、光学顕微鏡または電子顕微鏡を使用して腎臓の組織切片で測定して、糸球体毛細管基底膜厚の少なくとも5%減少をもたらす糖尿病性腎症における効果により評価できる。

【0139】

ある態様において、治療有効量は、腎臓の組織切片で測定して、メサンギウムの体積比の少なくとも10%減少またはメサンギウムの体積比の増加率の少なくとも10%減少をもたらす糖尿病性腎症における効果により評価できる。

【0140】

ある態様において、治療有効量は、腎臓の組織切片で測定して、間質性尿細管体積の少なくとも10%減少または間質性体積の増加率の少なくとも10%減少をもたらす糖尿病性腎症における効果により評価できる。

30

【0141】

ある態様において、治療有効量は、腎臓の組織切片で測定して、間質性尿細管間隙におけるコラーゲン量の少なくとも10%減少または間質性尿細管間隙におけるコラーゲンの増加率の少なくとも10%減少をもたらす糖尿病性腎症における効果により評価できる。

【0142】

ある態様において、治療有効量は、糖尿病性腎症の血清バイオマーカーレベルの少なくとも10%の変化をもたらす糖尿病性腎症における効果により評価できる。このようなマーカーは、炎症性および血行動態性サイトカイン類、TNF- α 、TGF- β またはIL-8、オステオポンチンまたは糖尿病性腎症の存在または重症度の指標である血清成分(血清マーカーおよび尿マーカーを含む)の代謝プロファイルを含み、これらに限定されない。疫アッセイまたはLCマスペクトルによるプロテオミクス評価により測定して、これらのサイトカイン類の1種以上のプロファイルは、疾患の活動性の評価および疾患治療において追跡すべきマーカーを提供し得る。

40

【0143】

ある態様において、治療有効量は、例えば、透析および腎臓移植を含む腎置換療法の必要性のような、慢性腎機能不全または慢性腎不全の臨床的合併症の減少をもたらす糖尿病性腎症における効果により評価できる。

【実施例】

50

【0144】

実施例1：ガラクトース分枝炭水化物化合物の製造法

下記は、治療的多糖の製造の説明的例であり、これは本発明を限定することを意味しない。この場合、ガラクトース分枝炭水化物化合物はガラクトアラビノースノガラクトロネートであり、本明細書では製品はGR-MD-02/001Bとラベルされている。

【0145】

リンゴペクチンUSP HM(50kg)を溶解し、水中で35～85℃で加熱した。1M HClまたはNaOHを、溶液のpHをpH5～7に調節するために添加し、十分に混合した。混合を2時間、35～85℃設定点で続けた。1M NaOHまたはHClを必要に応じて添加し、pHを5～7に再調節した。溶液を30℃に冷却した。30℃で、pHを5～7に調節した。

10

【0146】

CuSO₄をpH調節ペクチン溶液に添加し、最終1mM CuSO₄濃度とした。1mM CuSO₄溶液を30分、10℃～30℃の温度で撹拌した。

【0147】

30分、1mM CuSO₄混合工程の最後に、50g アスコルビン酸ナトリウムを添加し(所望のMWとなるように量を)、5～20分撹拌した。H₂O₂を0.02moles/kgペクチンで開始し、1.0moles/kgペクチン(最初の出発ペクチンMWに対して予め校正した)を添加し、H₂O₂濃度を4時間維持し(定量的試験を使用、Sigma, St-Louis)、同時に溶液pHを4～7に維持した。

20

【0148】

5M NaOHを溶液に添加し、溶液pHを8～10とした。pH調製溶液を10～30分撹拌した。濃縮HClをpH調節溶液に添加して、溶液のpHを4～5に調節した。溶液を、pHを4～5に調節したら、2～24時間、2℃～8℃で撹拌を維持した。

【0149】

溶液を80℃で30～180分加熱し、1～5kgのFilter-Aid(セライト)を溶液に添加し、溶液を添加したセライトと共に30分撹拌し、濾過した。濾過から得られた固体を廃棄した。

【0150】

濾液を減圧下に1.5～3倍濃縮し、pHを3～5に調節した。熱エタノールまたはイソプロパノールを50%重量で添加した。混合物を1～2時間撹拌し、生成物を沈殿させ、混合物を濾過した。濾液を廃棄し、白色～灰白色沈殿を得た。

30

【0151】

冷96%EtOHを溶液に添加し、得られたスラリーを30分撹拌した。溶液を濾過し、濾液を廃棄した。96%EtOHスラリー工程を繰り返し、最終濾過し、白色～灰白色沈殿を得た。

【0152】

実施例2：糖尿病性腎症のマウスモデルの処置方法

本実施例で使用した実験モデルは、糖尿病を誘発し、高脂肪餌を投与したマウスである。糖尿病は、生まれた直後のストレプトゾトシンの1回注射により誘発した。4週間後、マウスの高脂肪餌を開始した。

40

【0153】

糖尿病マウスを媒体(リン酸緩衝食塩水)またはGR-MD-02/001Bの、40mg/kg週に3回、計4週間の静脈内投与により処置した。各群8匹のマウスであった。比較群として、2匹の正常マウスも使用した。

【0154】

対照群およびGR-MD-02/001B群の両方で血糖値は顕著に増加し、群間に統計学的差はなかった。マウスの正常血糖は約100mg/dLであり、糖尿病動物の平均は700～800mg/dLであり、全ての動物が顕性糖尿病を有していたことが明らかであった。

50

【0155】

糖尿病マウスは、図1におけるPAS染色腎臓切片において示されるとおり、糖尿病性腎症の明瞭な組織学的証拠を有した。各群の矢印は、この疾患で最も影響を受ける構造体である糸球体を示す。媒体処置対照動物において、正常動物よりも明らかに増加したメサンギウム基底膜物質(ピンク色細胞外マトリクス)がある。GR-MD-02/001B処置マウスは、媒体処置対照動物と比較して、細胞外メサンギウム基質物質の有意な減少を示した。

【0156】

図2は、I型コラーゲン線維を特異的に染色するシリウスレッド試薬で染色した腎臓切片を示す。シリウスレッド試薬を、尿細管細胞の間の間質における細胞外マトリクス物質の増加を評価するための染料として使用した。最小の赤色染色が正常動物で見られる。しかしながら、媒体処置対照動物で染色が増加する。これは、尿細管の間の間質腔におけるコラーゲンの存在を示す、“金網”配置での赤色染色の線形領域により表される。GR-MD-02/001Bでの処置により、シリウスレッド染色の有意な減少があり、処置が間質性コラーゲンを減少させたことを示す。

10

【0157】

図3は、実験群間のシリウスレッド染色パーセントの統計的比較を示す。各群からの32子の別々のスライドを、シリウスレッドでの染色パーセントについて定量的デジタル形態計測により盲検的に評価した。本図は、正常動物と比較して、媒体処置対照動物のシリウスレッド染色が増加しており、本糖尿病性モデルにおける尿細管の間の間質腔におけるコラーゲンの沈着があることを示した。GR-MD-02/001Bでの処置は、媒体処置対照と比較してシリウスレッド染色の統計的に有意な減少をもたらした、正常マウスとほぼ同等なレベルであった。

20

【0158】

本実施例は、使用した糖尿病のマウスモデルは、糖尿病性腎症の絶対必要な病理学的変化を示す。さらに、多数の他のモデルとは逆に、糸球体腎症および尿細管間質性増大を示す点で、ヒト糖尿病性腎症に見られるものを再現しているように見える。

【0159】

本実施例は、本明細書に記載した多くのガラクトース分枝炭水化物化合物のうちの一つであるGR-MD-02/001Bが、このマウスモデルにおける糖尿病性腎症の病理学的顕在化に対して治療効果を有することをさらに示した。GR-MD-02/001Bは、細胞外マトリクスのメサンギウム増大の減少および尿細管間質腔におけるコラーゲンにより例示されるマトリクス沈着の減少を示した。

30

【0160】

本実施例の結果は、ガラクトース分枝炭水化物化合物がヒト糖尿病性腎症の処置に有用であり得ることを示唆する。

【0161】

ここに記載する例および態様は説明の目的のためだけであり、それに照らした種々の修飾または改変が本発明の精神および範囲内ならびに添付する特許請求の範囲の範囲内に含まれると理解されるべきである。ここで引用する全ての刊行物、特許および特許出願は、その全体を、全ての目的のために引用により本明細書に包含させる。

40

本願発明は、さらに以下のものを包含する。

1. a. 医薬許容される担体中にガラクトーラムノガラクトツロネートを含む非経腸または経腸投与用組成物を得て、

b. 処置を必要とする対象に該組成物を、

タンパク尿の少なくとも10%減少またはタンパク尿の増加率の少なくとも10%減少、糸球体濾過率の少なくとも10%増加または糸球体濾過率の低下率の少なくとも10%減少、

細胞外メサンギウム基質の少なくとも10%減少または少なくとも10%の増加率の少なくとも10%減少、

50

糸球体毛細管基底膜厚の少なくとも 5 % 減少、
 メサンギウムの体積比の少なくとも 10 % 減少またはメサンギウムの体積比の増加率の少なくとも 10 % 減少、
 間質性尿細管体積の少なくとも 10 % 減少または間質性体積の増加率の少なくとも 10 % 減少、
 間質性尿細管間隙におけるコラーゲン量の少なくとも 10 % 減少または間質性尿細管間隙におけるコラーゲンの増加率の少なくとも 10 % 減少、
 糖尿病性腎症の血清バイオマーカーレベルの少なくとも 10 % の変化
 の少なくとも一つを生じる有効量で投与することを含み、

ここで、処置を必要とする対象が原発性糸球体症疾患、二次性糸球体症疾患および尿管管間質性障害の少なくとも一つを有し、

有効量が 0.1 mg/kg ~ 9.99 mg/kg の動物用量と同等である、
 方法。

2. ガラクトーラムノガラクトツロネートが、 α -1,2-結合ラムノース残基および α -1,4-結合 GalA 残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した 1,4-結合ガラクトツロン酸 (GalA) およびガラクトツロン酸メチル (MeGalA) 残基主鎖を含み、該ラムノース残基が、1,4- β -D-ガラクトース残基のオリゴマーの一次分枝を有し得る、項 1 に記載の方法。

3. ガラクトーラムノガラクトツロネートが、 α -1,2-結合ラムノース残基および α -1,4-結合 GalA 残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した 1,4-結合ガラクトツロン酸 (GalA) 残基主鎖を含み、該ラムノース残基が、1,4- β -D-ガラクトース残基のオリゴマーの一次分枝を有する、項 1 に記載の方法。

4. ガラクトーラムノガラクトツロネートがさらにキシロース、グルコース、フコース残基またはこれらの組み合わせを含む、項 1 に記載の方法。

5. ガラクトーラムノガラクトツロネートが、SEC-R I および/または SEC-MALLS 法により測定して、2,000 ~ 80,000 ダルトン、20,000 ~ 70,000 ダルトンまたは 5,000 ~ 55,000 ダルトンの平均分子量分布を有する、項 1 に記載の方法。

6. ガラクトーラムノガラクトツロネートが 1,5- α -L-Ara 残基を実質的に含まない、項 1 に記載の方法。

7. 糖尿病性腎症の血清バイオマーカーが炎症性および血行力学性サイトカイン類、TNF- α 、TGF- β または IL-8、オステオポンチンまたは糖尿病性腎症の存在または重症度の指標である血清成分の代謝プロファイルを含む、項 1 に記載の方法。

8. 組成物が 1 種以上のガレクチン阻害剤をさらに含む、項 1 に記載の方法。

9. ガレクチン阻害剤がガレクチンの小有機阻害剤、モノクローナル抗体、RNA 阻害剤、小結合ペプチド、タンパク質阻害剤またはこれらの組み合わせを含む、項 8 に記載の方法。

10. 有効量が 0.05 ~ 0.49 mg/kg の範囲である、項 1 に記載の方法。

11 a. 医薬許容される担体中にガラクトアラビノースノガラクトツロネートを含む非経腸または経腸投与用組成物を得て、

b. 処置を必要とする対象に該組成物を、

タンパク尿の少なくとも 10 % 減少またはタンパク尿の増加率の少なくとも 10 % 減少、
 糸球体濾過率の少なくとも 10 % 増加または糸球体濾過率の低下率の少なくとも 10 % 減少、

細胞外メサンギウム基質の少なくとも 10 % 減少または少なくとも 10 % の増加率の少なくとも 10 % 減少、

糸球体毛細管基底膜厚の少なくとも 5 % 減少、

メサンギウムの体積比の少なくとも 10 % 減少またはメサンギウムの体積比の増加率の少なくとも 10 % 減少、

間質性尿細管体積の少なくとも 10 % 減少または間質性体積の増加率の少なくとも 10 %

10

20

30

40

50

減少、

間質性尿細管間隙におけるコラーゲン量の少なくとも10%減少または間質性尿細管間隙におけるコラーゲンの増加率の少なくとも10%減少、

糖尿病性腎症の血清バイオマーカーレベルの少なくとも10%の変化有効量で投与するの少なくとも一つを生じる有効量で投与することを含み、

ここで、処置を必要とする対象が原発性糸球体症疾患、二次性糸球体症疾患および尿管間質性障害の少なくとも一つを有し、

有効量が0.1 mg/kg～1.99 mg/kgの動物用量と同等である、
方法。

12. ガラクトーラムノガラクトツロネートが、 α -1,2-結合ラムノース残基および α -1,4-結合GalA残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)およびガラクトツロン酸メチル(MeGalA)残基主鎖を含むガラクトアラビノールラムノガラクトツロネートであり、該ラムノース残基が、1,4- β -D-ガラクトース残基、1,5- α -L-アラビノース残基またはこれらの組み合わせのオリゴマーの一次分枝を有する、項11に記載の方法。

10

13. 1,4- β -D-Gal残基、1,5- α -L-Ara残基およびこれらの組み合わせのモルパーセントが炭水化物の総モルの少なくとも8%である、項11に記載の方法。

14. 1,4- β -D-Gal残基および1,5- α -L-Ara残基が1:1～3:1の範囲の比で存在する、項11に記載の方法。

15. ガラクトアラビノールラムノガラクトツロネートが、SEC-RIおよび/またはSEC-MALLS法により測定して、2,000～80,000ダルトン、20,000～70,000ダルトンまたは5,000～55,000ダルトンの平均分子量分布を有する、項11に記載の方法。

20

16. ガラクトアラビノールラムノガラクトツロネートが40～70%の範囲のメトキシル化の程度を有する、項11に記載の方法。

17. ガラクトアラビノールラムノガラクトツロネートが、4:1～7:1の範囲のガラクトツロン酸メチル+ガラクトツロン酸対ガラクトース比を有する、項11に記載の方法。

18. 有効量が0.05～0.19 mg/kgの範囲である、項11に記載の方法。

19. 糖尿病性腎症の処置に使用するための、許容される医薬担体中にガラクトアラビノールラムノガラクトツロネート0.1 mg/kg～1.99 mg/kgの動物用量と同等の有効量を含む組成物であって、ガラクトアラビノールラムノガラクトツロネートが、 α -1,2-結合ラムノース残基および α -1,4-結合GalA残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)およびガラクトツロン酸メチル(MeGalA)残基主鎖を含み、該ラムノース残基が、1,4- β -D-ガラクトース残基、1,5- α -L-アラビノース残基またはこれらの組み合わせのオリゴマーの一次分枝を有し得る、組成物。

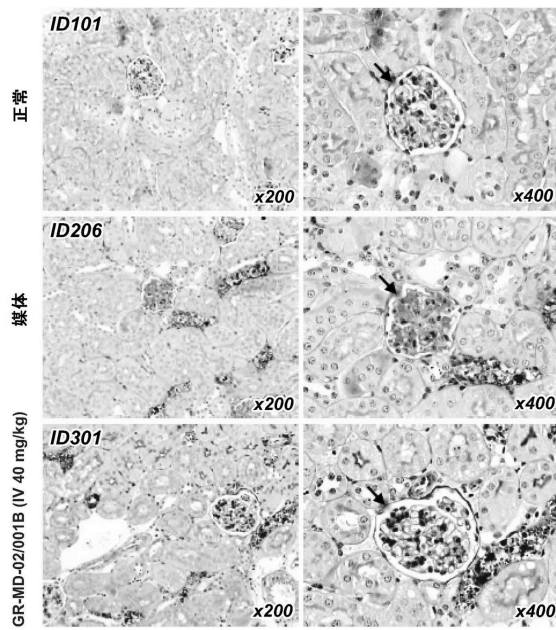
30

20. 糖尿病性腎症の処置に使用するための、許容される医薬担体中にガラクトーラムノガラクトツロネート.1 mg/kg～9.99 mg/kgの動物用量と同等の有効量を含む組成物であって、ガラクトーラムノガラクトツロネートが、 α -1,2-結合ラムノース残基および α -1,4-結合GalA残基が交互に結合しているオリゴマーの分枝ヘテロポリマーに結合した1,4-結合ガラクトツロン酸(GalA)残基主鎖を含み、該ラムノース残基が、1,4- β -D-ガラクトース残基のオリゴマーの一次分枝を有する、組成物。

40

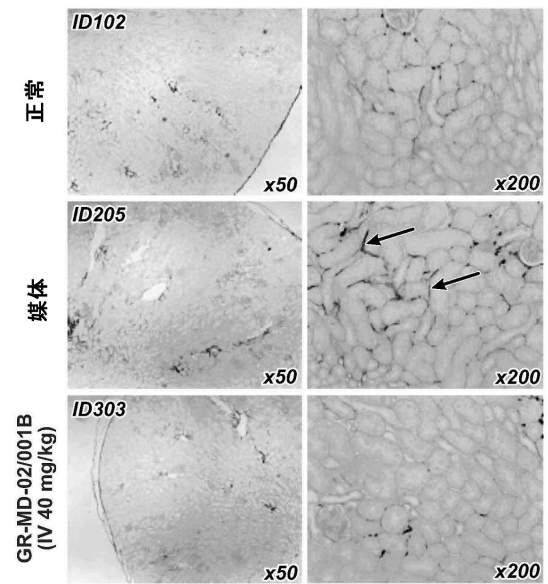
【図 1】

FIG. 1



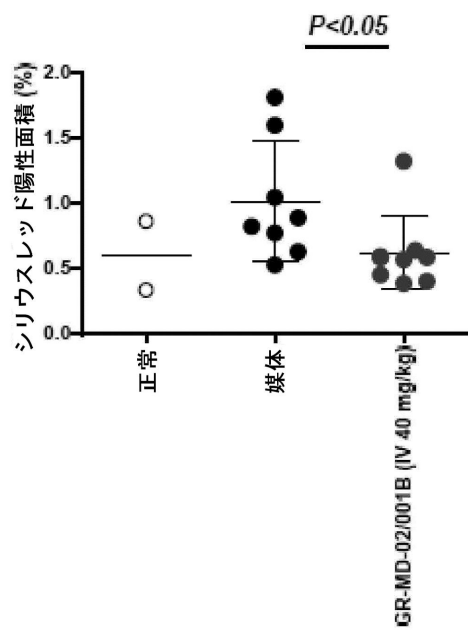
【図 2】

FIG. 2



【図 3】

FIG. 3



フロントページの続き

(74)代理人 100156144

弁理士 落合 康

(72)発明者 ピーター・ジー・トレバー

アメリカ合衆国30022ジョージア州ジョンズ・クリーク、ラコスタ・レーン5272番

(72)発明者 エリーザー・ゾマー

アメリカ合衆国02459マサチューセッツ州ニュートン、ケンリック・ストリート374番

審査官 横山 敏志

(56)参考文献 米国特許第8236780 (US, B2)

国際公開第2006/082643 (WO, A1)

特表2007-529554 (JP, A)

米国特許出願公開第2008/0107622 (US, A1)

PLoS ONE, 2011年 4月, Vol.6, No.4, e18683, pp.1-9

Physiological and Molecular Plant Pathology, 2007年, Vol.70, pp.13-24

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A61K31/00-33/44

A61K39/00-39/44

A61K45/00-45/08

A61P1/00-43/00

CAPLUS/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamIII)

WPI

Science Direct

CiNii

Japio-GPG/FX

医中誌WEB

メディカルオンライン

PubMed