

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第1部門第1区分

【発行日】令和3年7月26日(2021.7.26)

【公表番号】特表2020-512843(P2020-512843A)

【公表日】令和2年4月30日(2020.4.30)

【年通号数】公開・登録公報2020-017

【出願番号】特願2020-505531(P2020-505531)

【国際特許分類】

C 1 2 N	15/117	(2010.01)
C 0 7 H	21/04	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/02	(2006.01)
A 6 1 P	37/02	(2006.01)
A 6 1 P	37/04	(2006.01)
A 6 1 P	37/06	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/7088	(2006.01)
A 6 1 K	39/00	(2006.01)
A 6 1 K	39/39	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
A 6 1 K	47/68	(2017.01)
A 6 1 K	47/59	(2017.01)
A 6 1 K	47/60	(2017.01)
C 0 7 K	16/00	(2006.01)

【F I】

C 1 2 N	15/117	Z N A Z
C 0 7 H	21/04	Z
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	37/04	
A 6 1 P	37/06	
A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K	39/00	H
A 6 1 K	39/39	
A 6 1 K	39/395	C
A 6 1 K	39/395	L
A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 K	39/395	N
A 6 1 K	47/68	
A 6 1 K	47/59	
A 6 1 K	47/60	
C 0 7 K	16/00	

【手続補正書】**【提出日】**令和3年5月14日(2021.5.14)**【手続補正1】****【補正対象書類名】**特許請求の範囲**【補正対象項目名】**全文**【補正方法】**変更**【補正の内容】****【特許請求の範囲】****【請求項1】**

式(A)のオリゴヌクレオチド:又はその立体異性体、2以上のジアステレオマーの混合物、互変異性体、もしくは2以上の互変異性体の混合物;又は、これらの医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは水和物;

$$X^{5'} - (X^N)_b - Y^P - (X^N)_c - X^{3'} \quad (A)$$
(式中:各々の X^N は、独立に、ヌクレオチドであり; $X^{3'}$ は、3'末端ヌクレオチドであり; $X^{5'}$ は、5'末端ヌクレオチドであり; Y^P は、ヌクレオシド間ホスホトリエステルであり;かつ

b及びcは、各々、約0~約25の範囲の整数であり;ただし、その和は5以上であり;

ここで、該オリゴヌクレオチドは、修飾ヌクレオ塩基を有するヌクレオチドを含む)。

【請求項2】

(i) bが約1~約15の範囲の整数であり、該bは任意で、約2、約3、約4、約11、又は約14の整数であり、

(ii) cが約0~約10の範囲の整数であり、該cは任意で、約0又は約8の整数であり、及び/又は、

(iii) bとcの和が約5~約20の範囲であり、該和は任意で、約8、約9、約10、約11、約12、約13、又は約14である、

請求項1記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項3】

(i) 各々の X^N が、独立に、2'-デオキシリボヌクレオチドであり、該 X^N の各々は任意で、独立に、2'-デオキシアデノシン、2'-デオキシグアノシン、2'-デオキシシチジン、5-ハロ-2'-デオキシシチジン、2'-デオキシチミジン、2'-デオキシウリジン、もしくは5-ハロ-2'-デオキシウリジンであり;

(ii) $X^{3'}$ が、2'-デオキシリボヌクレオチドであり、該 $X^{3'}$ は任意で、2'-デオキシアデノシン、2'-デオキシグアノシン、2'-デオキシシチジン、5-ハロ-2'-デオキシシチジン、2'-デオキシチミジン、2'-デオキシウリジン、もしくは5-ハロ-2'-デオキシウリジンであり;

(iii) $X^{3'}$ が、2'-修飾リボヌクレオチドであり、該 $X^{3'}$ は任意で、2'-メトキシリボヌクレオチドもしくは2'-エトキシメトキシリボヌクレオチドであり、

(iv) $X^{5'}$ が、2'-デオキシリボヌクレオチドであり、該 $X^{5'}$ は任意で、2'-デオキシアデノシン、2'-デオキシグアノシン、2'-デオキシシチジン、5-ハロ-2'-デオキシシチジン、2'-デオキシチミジン、2'-デオキシウリジン、もしくは5-ハロ-2'-デオキシウリジンであり;

(v) $X^{5'}$ が、置換ピリミジン塩基を有する2'-デオキシリボヌクレオチドもしくは5-置換ピリミジン塩基を有する2'-デオキシリボヌクレオチドであり;並びに/又は

(vi) $X^{5'}$ が、2'-デオキシチミジン、5-ハロ-2'-デオキシシチジン、もしくは5-ハロ-2'-デオキシウリジンであり、該 $X^{5'}$ は任意で、2'-デオキシチミジン、5-プロモ-2'-デオキシシチジン、5-ヨード-2'-デオキシシチジン、5-プロモ-2'-デオキシウリジン、もしくは5-ヨード-2'-デオキシウリジンである、

請求項1又は2記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項4】

X^5' が3'-ホスホロチオエート基を有し、該3'-ホスホロチオエートは任意で、キラルである、請求項1~3のいずれか一項記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項5】

X^5' がRpのキラリティーを有する3'-ホスホロチオエート基を有し、かつ X^3' が2'-メトキシリボヌクレオチドもしくは2'-エトキシメトキシリボヌクレオチドである、又は

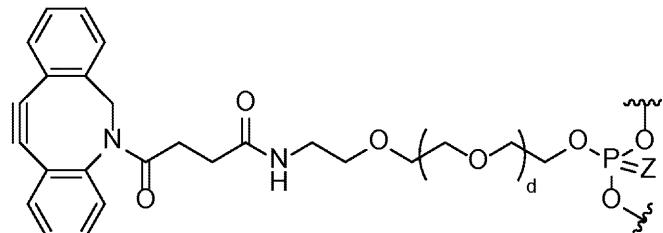
X^5' がSpのキラリティーを有する3'-ホスホロチオエート基を有し、かつ X^3' が2'-メトキシリボヌクレオチドもしくは2'-エトキシメトキシリボヌクレオチドである、請求項4記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項6】

Y^P が：

(i)

【化1】

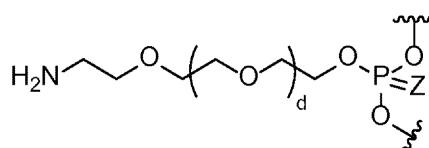


であり(式中、ZがO又はSであり；かつdが約0~約50の範囲の整数である)；又は

Y^P が：

(ii)

【化2】



である(式中、ZがO又はSであり；かつdが約0~約50の範囲の整数である)、請求項1~5のいずれか一項記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項7】

さらなるヌクレオシド間ホスホトリエステルを含み、該さらなるヌクレオシド間ホスホトリエステルは任意で、アルキルホスホトリエステル又はエチルホスホトリエステルである、請求項1~6のいずれか一項記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項8】

1以上のヌクレオシド間ホスホロチオエートを含み、該ヌクレオシド間ホスホロチオエートのうちの少なくとも1つは任意で、キラルである、請求項1~7のいずれか一項記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項9】

前記修飾ヌクレオ塩基はハロ-ヌクレオ塩基である、請求項1記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項10】

1、2、又は3つのCGジヌクレオチドを含む、請求項1~9のいずれか一項記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項11】

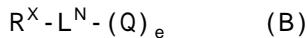
腫瘍関連抗原(TAA)に特異的に結合する抗体にコンジュゲートされている、請求項1~10のいずれか一項記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項12】

前記TAAはHer2又はCD22である、請求項11記載のオリゴヌクレオチド。

【請求項 1 3】

式(B)の化合物:又はその立体異性体、2以上のジアステレオマーの混合物、互変異性体、もしくは2以上の互変異性体の混合物;又は、これらの医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは水和物;



(式中:

R^X は、共役基であり;

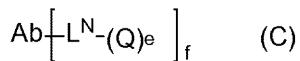
L^N は、リンカーであり;

各々のQは、独立に、ホスホトリエステルを含むオリゴヌクレオチドであり;かつ
 e は、1、2、3、もしくは4の整数である)。

【請求項 1 4】

式(C)の化合物:又はその立体異性体、2以上のジアステレオマーの混合物、互変異性体、もしくは2以上の互変異性体の混合物;又は、これらの医薬として許容し得る塩、溶媒和物、もしくは水和物;

【化 4】



(式中:

Ab は、抗体であり;

各々の L^N は、独立に、リンカーであり;

各々のQは、独立に、ホスホトリエステルを含むオリゴヌクレオチドであり;

各々の e は、独立に、1、2、3、又は4の整数であり;かつ

f は、1、2、3、又は4の整数である)。

【請求項 1 5】

$N^1N^2CGN^3CG(T)_xGN^4CGN^5T$ という配列を有するオリゴヌクレオチド

(ここで:

x は、1~4の範囲の整数であり;

N^1 は、非存在又は2'-デオキシチミジンであり;

N^2 は、修飾ヌクレオ塩基を有する2'-デオキシリボヌクレオチドであり;

N^3 は、3'-ホスホトリエステルを各々任意に含む、2'-デオキシアデノシン又は2'-デオキシチミジンであり;

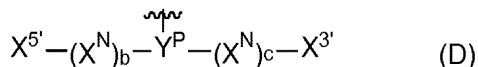
N^4 は、2'-デオキシアデノシン又は2'-デオキシチミジンであり;かつ

N^5 は、3'-ホスホトリエステルを任意に含む2'-デオキシチミジンである)。

【請求項 1 6】

各々のQが、独立に、式(D)の構造を有する、請求項14記載の化合物:

【化 7】



(式中:

各々の X^N は、独立に、ヌクレオチドであり;

$X^{3'}$ は、3'末端ヌクレオチドであり;

$X^{5'}$ は、5'末端ヌクレオチドであり;

Y^P は、ヌクレオシド間ホスホトリエステルの残基であり;かつ

b 及び c は、各々、約0~約25の範囲の整数であり;ただし、その和は5以上であり;

ここで、該オリゴヌクレオチドは、修飾ヌクレオ塩基を有するヌクレオチドを含む)。

【請求項 1 7】

1以上の脱塩基スペーサー又はヌクレオシド間ホスホトリエステルを含む免疫調節ポリヌクレオチド。

【請求項 18】

抗体又は抗体断片及び1以上の免疫調節ポリヌクレオチドを含むコンジュゲートであって、該抗体又は該抗体断片がQ-タグを含み、かつ該免疫調節ポリヌクレオチドの各々が、独立に、該Q-タグに共有結合しているリンカーを含む、前記コンジュゲート。

【請求項 19】

標的化部分及び1以上の免疫調節ポリヌクレオチドを含むコンジュゲートであって、該免疫調節ポリヌクレオチドの各々が、独立に、リンカーを含み、ここで、該標的化部分が該リンカーに共有結合しており、ここで、該免疫調節ポリヌクレオチドの少なくとも1つが5-修飾ウリジン又は5-修飾シチジンを含む、前記コンジュゲート。

【請求項 20】

標的化部分及び1以上の免疫調節ポリヌクレオチドを含むコンジュゲートであって、該免疫調節ポリヌクレオチドの各々が、独立に、リンカーを含み、ここで、該標的化部分が該リンカーに共有結合しており、該免疫調節ポリヌクレオチドの少なくとも1つが1以上の脱塩基スペーサー又はヌクレオシド間ホスホトリエステルを含む、前記コンジュゲート。

【請求項 21】

標的化部分、1以上の補助部分、及び1以上の免疫調節ポリヌクレオチドを含むコンジュゲートであって、該免疫調節ポリヌクレオチドの各々が、独立に、該標的化部分に結合したリンカーを含む、前記コンジュゲート。

【請求項 22】

標的化部分及び1以上の免疫調節ポリヌクレオチドを含むコンジュゲートを含む組成物であって、該免疫調節ポリヌクレオチドの各々が、独立に、リンカーを含み、ここで、該標的化部分が該リンカーに共有結合しており、該免疫調節ポリヌクレオチドの少なくとも1つが少なくとも1つの立体化学的に濃縮されたヌクレオシド間ホスホロチオエートを含む、前記組成物。

【請求項 23】

それを必要としている対象における癌を治療するための医薬品の製造におけるCpG-Ab免疫コンジュゲートの使用であって、

- (i) 該CpG-Ab免疫コンジュゲートが腫瘍関連抗原(TAA)に結合しない；
- (ii) 該CpG-Ab免疫コンジュゲートが腫瘍関連抗原(TAA)に特異的に結合し、ここで、該TAAが、CD19、CD20、CD22、STAT3、エクスピーチン7、Her2、Src、EGFR、CD52、CXCR-4、Muc-1、及びDNAからなる群から選択される抗原ではない；又は
- (iii) 該癌が免疫療法抵抗性又は不応性癌である、
前記使用。

【請求項 24】

それを必要としている対象における癌を治療するための医薬品の製造における、請求項1もしくは15記載のオリゴヌクレオチド、請求項13もしくは14記載の化合物、請求項17記載の免疫調節ポリヌクレオチド、請求項18～21のいずれか一項記載のコンジュゲート、又は、請求項22記載の組成物の使用。

【請求項 25】

それを必要としている対象における癌を予防するための医薬品の製造における、CpG-Ab免疫コンジュゲートの使用であって、ここで、

- (i) 該CpG-Ab免疫コンジュゲートが少なくとも1つのtoll様受容体を発現する正常免疫細胞と関連する標的抗原に特異的に結合する；及び/又は
- (ii) 該医薬品は癌ワクチンと共に投与で使用され、かつ該CpG-Ab免疫コンジュゲートは、少なくとも1つのtoll様受容体を発現する正常免疫細胞と関連する標的抗原に特異的に結合するものである、
前記使用。

【請求項 26】

対象における適応免疫応答を誘導するための医薬品の製造における、CpG-Ab免疫コンジュゲートの使用であって、ここで、該CpG-Ab免疫コンジュゲートが少なくとも1つのtoll

様受容体を発現する正常免疫細胞と関連する標的抗原に特異的に結合するものである、前記使用。

【請求項 27】

エンドソーム性 toll 様受容体を含む、細胞内で該エンドソーム性 toll 様受容体を調節する方法であって、該細胞を、請求項1もしくは15記載のオリゴヌクレオチド、請求項13もしくは14記載の化合物、請求項17記載の免疫調節ポリヌクレオチド、請求項18～21のいずれか一項記載のコンジュゲート、又は、請求項22記載の組成物と、該免疫調節ポリヌクレオチドが該細胞内に輸送されるのを可能にする条件下で接触させることを含み、ここで、該接触の後に、該エンドソーム性 toll 様受容体の活性が調節される、前記方法。

【請求項 28】

1以上のサイトカインをエンドソーム性 toll 様受容体を含む抗原提示細胞内で誘導する方法であって、該抗原提示細胞を、請求項1もしくは15記載のオリゴヌクレオチド、請求項13もしくは14記載の化合物、請求項17記載の免疫調節ポリヌクレオチド、請求項18～21のいずれか一項記載のコンジュゲート、又は、請求項22記載の組成物と、該1以上の免疫調節ポリヌクレオチドが該細胞内に輸送されるのを可能にする条件下で接触させることを含み、

ここで、該接触の後に、該細胞内の少なくとも1つのサイトカインのレベルが増大し、かつ前記標的化部分が該抗原提示細胞を標的とし；かつ、

ここで、該免疫調節ポリヌクレオチドが免疫刺激ポリヌクレオチドである、前記方法。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0671

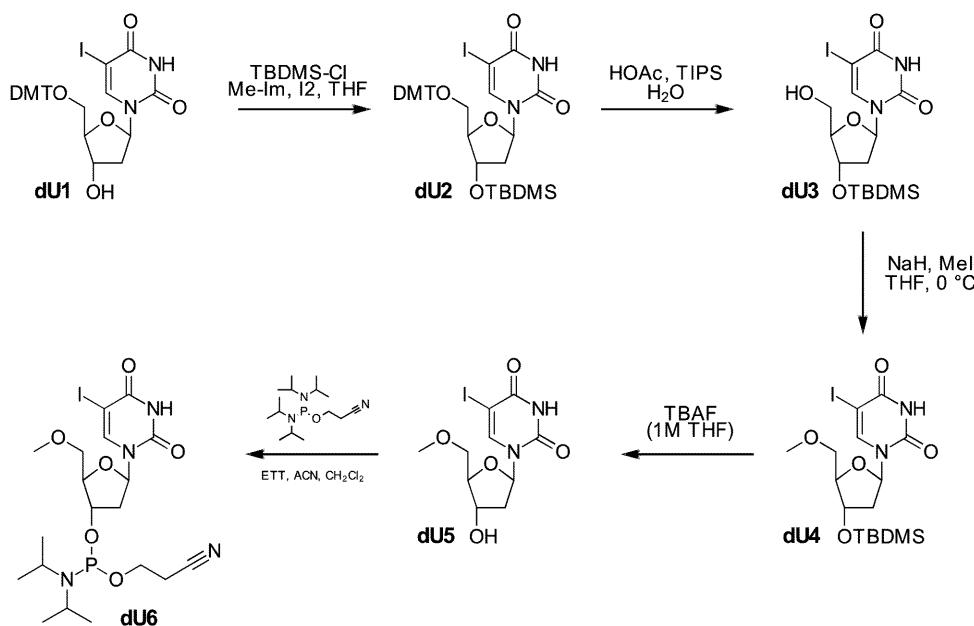
【補正方法】変更

【補正の内容】

【0671】

(化合物dU6)

【化178】



Ar(g)下、室温のdU1(3.3g、5.0mmol)、1-メチルイミダゾール(1.2mL、15.0mmol)、及びヨウ素(1.9g、15.0mmol)のTHF(10mL)溶液に、塩化tert-ブチルジメチルシリル(0.8g、5.5mmol)のTHF(5mL)溶液を攪拌しながら滴加した。反応液を室温で1時間攪拌した。TLCにより、反応の終了が確認された。溶媒を真空中で除去し、粗製物を酢酸エチルに溶解させ、水性Na2S2O3(濃縮)で洗浄した。有機相をNa2SO4上で乾燥させ、濾過し、液体を蒸発させた。粗製物を、ISCOコンパニオン(ヘキサン/酢酸エチル、0～50%)を用いるフラッシュシ

リカゲルカラムにより精製すると、dU2が固体として定量的収率で得られた。NMRは、発表されたものと一致している。Nucleic Acids Research, 2011, Vol. 39, No. 9, 3962-3971。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0698

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0698】

標準的なポリヌクレオチド合成条件の例外は、次の通りであった：

- Uny-リンカーと呼ばれる非ヌクレオシドリンカーを有するCPG支持体を使用した。
- 修飾された2'-デオキシ-ホスホロアミダイトの一部を、出発材料の溶解度に応じて、100mMまでTHF/アセトニトリル混合物(1:4)に溶解させることを除き、合成前に全ての2'-デオキシリボース-ホスホロアミダイトを100mMまで100%無水アセトニトリルに再懸濁させた。
 - ホスホロアミダイト活性化を2.5倍モル濃度過剰の5-ベンジルチオ-1H-テトラゾール(BTT)を用いて行った。活性化された2'-デオキシリボース-ホスホロアミダイトを挿入1回当たり 2×1 分間のカップリングでカップリングさせ、修飾されたホスホロアミダイトを挿入1回当たり 2×3 分間のカップリングでカップリングさせた。
 - 骨格の硫化を、ピリジン/アセトニトリル(6:4)中の0.05M浸硫試薬IIを用いて1分間行った。