

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6622192号
(P6622192)

(45) 発行日 令和1年12月18日(2019.12.18)

(24) 登録日 令和1年11月29日(2019.11.29)

(51) Int.Cl.	F 1
A 61 K 47/69	(2017.01)
A 61 K 47/54	(2017.01)
A 61 K 47/36	(2006.01)
A 61 K 47/38	(2006.01)
A 61 K 47/42	(2017.01)
	A 61 K 47/69
	A 61 K 47/54
	A 61 K 47/36
	A 61 K 47/38
	A 61 K 47/42

請求項の数 15 (全 28 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-521553 (P2016-521553)
(86) (22) 出願日	平成26年6月18日(2014.6.18)
(65) 公表番号	特表2016-522261 (P2016-522261A)
(43) 公表日	平成28年7月28日(2016.7.28)
(86) 國際出願番号	PCT/US2014/043020
(87) 國際公開番号	W02014/205126
(87) 國際公開日	平成26年12月24日(2014.12.24)
審査請求日	平成29年6月12日(2017.6.12)
(31) 優先権主張番号	61/836,800
(32) 優先日	平成25年6月19日(2013.6.19)
(33) 優先権主張国・地域又は機関	米国(US)

(73) 特許権者	506115514 ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシティ オブ カリフォルニア アメリカ合衆国、カリフォルニア州 94607-5200, オークランド、フランクリン ストリート 1111, 5番 フロア
(73) 特許権者	515352825 アルケミカル リサーチ ホールディングス エルエルシー ALCHEMICAL RESEARCH HOLDINGS, LLC アメリカ合衆国、ペンシルベニア州 18104, アレンタウン、ノース サーティース ストリート 326

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】治療薬を局所的送達するための化学構造

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

有効量の治療薬または診断薬を患者の標的化器官または組織の第1の位置に選択的に送達する方法に使用するための、第1の結合剤と結合した生体適合性固体支持体と、第2の結合剤と結合した前記治療薬または診断薬とを含むキットであって、前記生体適合性固体支持体が、多糖ヒドロゲル、アルギン酸塩、セルロース、ヒアルロン酸、キトサン、キチン、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、ポリマーマトリックス、金属、セラミック、およびプラスチックからなる群から選択され、前記第1の結合剤と第2の結合剤が、それぞれ独立して、シクロオクテンおよびテトラジンからなる群から選択され、そして前記方法が、

(a) 前記第1の結合剤と結合した前記生体適合性固体支持体を前記患者の前記標的化器官または組織の前記第1の位置に移植するステップと、ここで、前記標的化器官または組織の前記第1の位置は、前記患者の前記標的化器官または組織の他の位置に対して化学標的化剤によっても生物標的化剤によっても選択的に標的化することができないものとし；
(b) 前記第1の結合剤と前記第2の結合剤とが接触すると互いに結合し、それによって有効量の前記治療薬または診断薬を前記患者の前記標的化器官または組織の前記第1の位置に選択的に送達するように、前記患者に前記第2の結合剤と結合した前記治療薬または診断薬を投与するステップとを含む、前記キット。

【請求項 2】

前記固体支持体が、ヒドロゲルを含む、請求項 1 に記載のキット。

【請求項 3】

前記固体支持体が、アルギン酸塩を含む、請求項 1 に記載のキット。

【請求項 4】

前記第 1 の結合剤と第 2 の結合剤の一方が、トランス - シクロオクテンであり、他方が 1 , 2 , 4 , 5 - テトラジンであるように、前記第 1 の結合剤と第 2 の結合剤が、それぞれ独立して、トランス - シクロオクテンおよび 1 , 2 , 4 , 5 - テトラジンからなる群から選択される、請求項 1 に記載のキット。

【請求項 5】

前記標的化器官または組織が、骨である、請求項 1 に記載のキット。

【請求項 6】

前記標的化器官または組織の前記第 1 の位置での前記治療薬または診断薬の濃度が、前記患者の他の場所の濃度よりも高い、請求項 1 に記載のキット。

【請求項 7】

前記治療薬がバンコマイシンである、請求項 1 に記載のキット。

【請求項 8】

患者の疾患または状態を治療するための、第 1 の結合剤に結合した治療薬であって、前記第 1 の結合剤が、前記疾患または状態の部位で、生体適合性固体支持体に結合した第 2 の結合剤と接触すると、前記第 1 の結合剤と第 2 の結合剤が互いに結合し、それによって前記疾患または状態の部位で治療上有効量の治療薬を形成し、前記患者に投与する前記治療薬の量は前記第 2 の結合剤の非存在下で前記患者に投与する治療上有効量未満であり、

前記生体適合性固体支持体が、多糖ヒドロゲル、アルギン酸塩、セルロース、ヒアルロン酸、キトサン、キチン、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、ポリマーマトリックス、金属、セラミック、およびプラスチックからなる群から選択され、そして

前記第 1 の結合剤と第 2 の結合剤が、それぞれ独立して、シクロオクテンおよびテトラジンからなる群から選択される、前記治療薬。

【請求項 9】

前記疾患または状態が、骨髄炎である、請求項 8 に記載の治療薬。

10

【請求項 10】

前記治療薬が、バンコマイシンである、請求項 8 に記載の治療薬。

【請求項 11】

多糖ヒドロゲル、アルギン酸塩、セルロース、ヒアルロン酸、キトサン、キチン、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、ポリマーマトリックス、金属、セラミック、およびプラスチックからなる群から選択される生体適合性固体支持体と；

前記生体適合性固体支持体と結合した第 1 の結合剤であって、前記第 1 の結合剤がシクロオクテンおよびテトラジンからなる群から選択される、前記の少なくとも 1 種の結合剤と；

を含む、患者の疾患または状態を治療するための組成物であって、

前記第 1 の結合剤が、前記疾患または状態の部位で治療薬と結合した第 2 の結合剤と接触すると、前記第 1 の結合剤と第 2 の結合剤が互いに結合し、それによって前記疾患または状態の部位で治療上有効量の治療薬を形成する、前記組成物。

20

【請求項 12】

各々の結合剤と前記生体適合性固体支持体を共有結合するリンカーをさらに含む、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 13】

前記固体支持体がヒドロゲルを含む、請求項 11 に記載の組成物。

【請求項 14】

前記固体支持体がアルギン酸塩を含む、請求項 11 に記載の組成物。

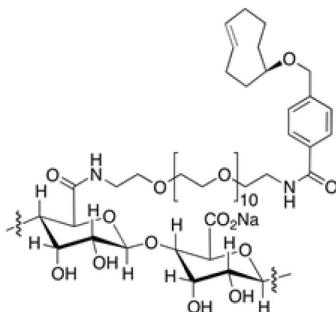
40

50

【請求項 15】

式：

【化 1】



10

の構造を有する、請求項 11 に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【関連出願の相互参照】

【0001】

本出願は、全体が本明細書に組み込まれる、2013年6月19日出願の米国特許出願第61/836800号に基づく優先権を主張するものである。

【0002】

20

連邦政府による資金提供を受けた研究および開発のもとでなされた発明の権利に関する陳述

該当なし

【背景技術】

【0003】

米国の整形外科医は、治癒遅延に悩まされている 600000 例の骨折および偽関節になる 100000 例のための改善した治療を探し続けている。感染性偽関節は、困難な問題のままであり、段階的な治療プロトコルを頻繁に要する。第 1 のステップは、感染したハードウェアの除去、外科的創面切除および溶離液で前処理した固体担体（例えば、抗生物質「ビーズ」）の配置である。第 2 のステップは、抗生物質の全身静脈送達を伴う。最後に、患者は、固体担体の可能な除去、最終的な外科的固定および治療薬（例えば、組換えヒト骨形成タンパク質 - 2）の局所送達ならびに外科手術中の骨移植のための第 2 の外科手技を受ける。

30

【0004】

現在の治療は多数の困難な問題に直面しており、侵襲的である。これらの治療は、繰り返しの外科的手段を伴い、（例えば、培養組織が耐性生物を示す場合に）移植後に治療薬を修正することができないことによって限定される。抗生物質の全身投与は、骨折環境で治療レベルを達成するために高い血中濃度が必要であることに次いで問題がある。これらの高い血清中濃度の副作用により、主要な合併症を避けるための綿密なモニタリングが必要となる。このことが薬物送達方法の改善から利益が得られるという論点である。

40

【0005】

これは、決して治療薬の送達に至る場合に、外科医が直面する唯一の課題ではない。他の課題としては、全身静脈送達（例えば、がんのための化学療法薬または静脈内鎮痛薬）、外科手術時の局所送達（例えば、脊椎固定後の組換えヒト骨形成タンパク質 - 2）、および関節への直接注射（例えば、骨関節炎管理のための膝へのコルチコステロイド注射）が挙げられる。これらの課題は、治療薬、すなわち、抗生物質、抗炎症鎮痛薬、骨治癒調節物質および化学療法薬の送達改善から利益を得るだろう。必要とされているのは、薬剤を必要な部位に集め、したがって、患者に投与する治療薬または診断薬の全体用量を低下させるための治療薬または診断薬を標的化送達する方法である。驚くべきことに、本発明はこの要求および他の要求を満たす。

50

【発明の概要】**【0006】**

いくつかの実施形態では、本発明は、有効量の治療薬または診断薬を患者の標的化器官または組織の第1の位置に選択的に送達する方法であって、生体適合性固体支持体を患者の標的化器官または組織の第1の位置に移植するステップであって、固体支持体は第1の結合剤と結合しており、標的化器官または組織の第1の位置は患者の標的化器官または組織の他の位置に対して化学標的化剤によっても生物標的化剤によっても選択的に標的化することができないステップを含む方法を提供する。この方法はまた、第1の結合剤と第2の結合剤が接触すると互いに結合し、それによって有効量の治療薬または診断薬を患者の標的化器官または組織の第1の位置に選択的に送達するように、患者に第2の結合剤と結合した治療薬または診断薬を投与するステップも含む。10

【0007】

いくつかの実施形態では、本発明は、患者の疾患または状態を治療する方法であって、第1の結合剤が疾患または状態の部位で第2の結合剤と接触すると、第1の結合剤と第2の結合剤が互いに結合し、疾患または状態の部位で治療上有効量の治療薬を形成するよう、第1の結合剤と結合した治療薬を患者に投与するステップを含み、患者に投与する治療薬の量は第2の結合剤の非存在下で患者に投与する治療上有効量未満である方法を提供する。

【0008】

いくつかの実施形態では、本発明は、生体適合性固体支持体と、生体適合性固体支持体と結合した少なくとも1種のシクロオクテンとを含む組成物を提供する。20

【0009】

いくつかの実施形態では、本発明は、治療薬または診断薬と、1, 2, 4, 5-テトラジンと、治療薬または診断薬と1, 2, 4, 5-テトラジンを共有結合するリンカーとを含む組成物を提供する。

【図面の簡単な説明】**【0010】**

【図1】テトラジンが結合した治療薬の調製を示す図である。

【0011】

【図2】シクロオクテンリンカー成分9の調製を示す図である。30

【0012】

【図3】DMF中0.1 mMの1の吸収スペクトル(550 nmのトップライン)を示す図である。0.5当量の9を添加すると、540 nmでの吸収帯の遙滅が得られた。この減少は1.5当量の9を添加するともはや観察されず(550 nmの2つのボトムライン)、それによって、生成物9が33%以下のシス-シクロオクテン異性体しか含まないことが示唆されている。

【0013】

【図4】トランス-シクロオクテン(TCO)によるアルギン酸塩ヒドロゲルの修飾を示す図である。

【0014】

【図5】出発材料テトラジン5のRP-HPLCトレースを示す図である。40

【0015】

【図6】⁶⁴Cu-テトラジン5反応混合物の粗放射性ITLCトレースを示す図である。

【0016】

【図7】⁶⁴Cu-テトラジン5反応混合物の粗放射性RP-HPLCトレースを示す図である。

【0017】

【図8】⁶⁴Cu-テトラジン5のRP-HPLC精製後の放射性RP-HPLCトレースを示す図である。50

【0018】

【図9】¹¹¹In - テトラジン5反応混合物の粗ITLCトレースを示す図である。

【0019】

【図10】¹¹¹In - テトラジン5反応混合物の粗放射性HPLCトレースを示す図である。

【0020】

【図11】¹¹¹In - テトラジン5のHPLC精製後の放射性HPLCトレースを示す図である。

【0021】

【図12】TCO - ゲルによる放射能の取り込みを示すサイズ排除HPLCスペクトルを示す図である。 10

【0022】

【図13】アルギン酸塩 - PEG - TCOとテトラジン - PEG - DOT A - 金属のコンジュゲートを示す図である。

【0023】

【図14】実験群での放射能の取り込みの増加を示す、ディスクを用いたインピトロ試験を示す図である。

【0024】

【図15】テトラジン注射24時間後の⁶⁴Cu - テトラジン5の生体分布を示す図である。 20

【0025】

【図16】テトラジン注射1時間後の時点の¹¹¹In - テトラジン5の生体分布を示す図である。

【0026】

【図17】⁶⁴Cu - テトラジン5(0.09 ~ 0.21mCi)を受けたマウスのCT像を示す図である。

【0027】

【図18】⁶⁴Cu - テトラジン5(0.09 ~ 0.21mCi)を受けたマウスのCT像を示す図である。

【0028】

【図19】ROIおよび活性の測定(注射用量の絶対%)による⁶⁴Cu - テトラジン5注射からのイメージングデータの解析を示す図である。 30

【0029】

【図20】ROIおよび活性の測定(注射用量の絶対%)による⁶⁴Cu - テトラジン5注射からのイメージングデータの解析を示す図である。

【発明の詳細な説明】

【0030】

I. 概要

本発明は、標的化されていない同一器官または組織の他の部分から化学的にも生物学的にも区別することができない器官または組織の部分を選択的に標的化するための方法および組成物を提供する。本方法は、レポーター、生体適合性固体支持体と結合した結合剤を患者に移植するステップを伴う。患者に移植する結合剤は、互いに極めて高い反応速度を有する結合剤の対の半分である。レポーターを、同一器官または組織の他の標的化されていない部位から化学的にも生物学的にも区別されない器官または組織の特定の部位で移植する。次いで、治療薬または診断薬と共に結合した第2の結合剤、プローブを患者に投与する。レポーターとプローブの2つの結合剤が接触すると、反応が速くなり、共有結合が形成するので、器官または組織の標的化部位で治療薬または診断薬を共有結合する。したがって、治療上有効量の治療薬または診断薬を患者の器官または組織の標的化部位に選択的に送達することができる。 40

【0031】

I I . 定義

「選択的に送達する」とは、治療を必要としない器官または組織の他の部分を標的化することなく、治療薬または診断薬を治療を必要とする器官または組織の部分に送達することを指す。

【 0 0 3 2 】

「治療薬」とは、状態または疾患を治療および／または改善することができる薬剤を指す。代表的な治療薬としては、それだけに限らないが、パクリタキセル、ドキソルビシン、エトポシド、イリノテカン、SN - 38、シクロスボリンA、ポドフィロトキシン、カルムスチン、アムホテリシン、イキサベピロン、パツピロン(Patupilone)(エポチロングラス)、バンコマイシン、ラバマイシンおよび白金薬剤が挙げられる。本発明の治療薬にはプロドラッグ型も含まれる。10

【 0 0 3 3 】

「診断薬」とは、状態または疾患を診断するのを助ける薬剤を指す。代表的な診断薬は、常磁性剤、光プローブおよび放射性核種などのイメージング剤を含む。常磁性剤外部印は、加磁場の下で磁性のイメージング剤である。常磁性剤の例としては、それだけに限らないが、ナノ粒子を含む鉄粒子が挙げられる。光プローブは、1波長の放射での励起および第2の異なる波長の放射での検出によって検出することができる蛍光化合物である。本発明で有用な光プローブとしては、それだけに限らないが、Cy 5.5、Alexa 680、Cy 5、DiD(1,1'-ジオクタデシル-3,3',3'-テトラメチルインドジカルボシアニン過塩素酸塩)およびDiR(1,1'-ジオクタデシル-3,3',3'-テトラメチルインドトリカルボシアニンヨージド)が挙げられる。他の光プローブには量子ドットが含まれる。放射性核種は、放射性崩壊を受ける元素である。本発明で有用な放射性核種としては、それだけに限らないが、³H、¹¹C、¹³N、¹⁸F、¹⁹F、⁶⁰Co、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁶⁸Ga、⁸²Rb、⁹⁰Sr、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、^{99m}Tc、¹¹¹In、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、¹³¹I、¹³⁷Cs、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、²¹¹At、²²³Rn、²²⁶Ra、²²⁸Th、^{234m}Puおよび²⁴¹Amが挙げられる。20

【 0 0 3 4 】

「標的化器官または組織」とは、治療薬または診断薬を送達する標的にされている器官または組織を指す。標的化のための代表的な器官および組織としては、化学標的化剤または生物標的化剤によって標的化することができるもの、ならびに化学標的化剤によっても生物標的化剤によっても標的化することができない器官および組織が挙げられる。代表的な器官または組織には骨が含まれる。30

【 0 0 3 5 】

「移植する」とは、患者の体への外科移植を指す。

【 0 0 3 6 】

「生体適合性固体支持体」とは、患者の体に移植することができ、結合剤の1つならびに結合剤コンジュゲート後の治療薬または診断薬を支持する固体支持材料を指す。固体支持体は患者の体と適合性である。代表的な生体適合性固体支持体としては、それだけに限らないが、ヒドロゲル、例えば、多糖ヒドロゲル、アルギン酸塩、セルロース、キトサン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリンなどが挙げられる。40

【 0 0 3 7 】

「接触させる」または「接触」とは、少なくとも2つの別種が反応することができるよう、これらを接触させる過程を指す。しかしながら、結果として生じる反応生成物を、添加した試薬間の反応から直接または反応混合物中に生成し得る添加した試薬の1種または複数からの中間体から生成することができることを認識すべきである。

【 0 0 3 8 】

「リンカー」、「結合した」または「結合」とは、本発明の化合物と、特定の細胞型(がん細胞など)、他の疾患細胞型または正常細胞型を標的化する生物材料と結合する化学部分を指す。結合は、共有結合またはイオン結合形成を介し得る。結合は、結合されてい50

る2つの部分間の直接結合であってもよいし、またはリンカーなどを介して間接的であってもよい。本発明で有用なリンカーは、最大30個の炭素原子長となり得る。好ましくは、リンカーが5～15個の炭素原子長である。リンカーと本発明の化合物および生物分子を結合するために使用される結合型としては、それだけに限らないが、アミド、アミン、エステル、カルバメート、尿素、チオエーテル、チオカルバメート、チオカーボネートおよびチオ尿素が挙げられる。当業者であれば、他の結合型が本発明で有用であることを認識するだろう。

【0039】

「結合剤」とは、生物学的環境で別の結合剤との共有結合を形成することができる任意のグループを指す。これを通常はバイオコンジュゲーション(bioconjugation)または生体直交化学(bioorthogonal chemistry)と呼ぶ。¹⁰ 代表的な結合剤としては、それだけに限らないが、アミンと活性化エステル、アミンとイソシアネート、アミンとイソチオシアネート、ジスルフィドを形成するためのチオール、エナミンを形成するためのアルデヒドとアミン、シュタウディングライゲーションを介してアミドを形成するためのアジド、クリックケミストリーを介してチアゾールを形成するためのアジドとアルキン、トランス-シクロオクテン(TCO)とテトラジンなどが挙げられる。本発明で有用な結合剤は、反応が速くなるように、対応する結合剤との高い反応性を有する。

【0040】

「治療する」、「治療すること」および「治療」とは、症状の寛解；緩解もしくは減少または症状、傷害、病態もしくは状態を患者にとってより許容できるものにすること；症状もしくは状態の頻度または持続時間を減少させること；またはいくつかの状況では、症状もしくは状態の開始を防ぐことなどの任意の客観的または主観的パラメータを含む傷害、病態、状態または症状(例えば、疼痛)の治療または改善の成功の任意の証拠を指す。症状の治療または改善は、例えば、身体検査の結果を含む、任意の客観的または主観的パラメータに基づき得る。²⁰

【0041】

「投与する」とは、経口投与、坐剤としての投与、局所接触、非経口、静脈内、腹腔内、筋肉内、病変内、鼻腔内もしくは皮下投与、髄腔内投与、または徐放装置、例えば、ミニ浸透圧ポンプの対象への移植を指す。³⁰

【0042】

「患者」とは、それだけに限らないが、靈長類(例えば、ヒト)、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラット、マウスなどを含む哺乳動物などの治療を必要とする動物を指す。特定の実施形態では、患者がヒトである。

【0043】

「治療上有効量または用量」または「治療上十分量または用量」または「有効または十分量あるいは用量」とは、そのために投与される治療効果をもたらす用量を指す。正確な用量は治療の目的に依存し、既知の技術(例えば、Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms'(第1～3巻、1992)；Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding(1999)；Pickar, Dosage Calculations(1999)；およびRemington: The Science and Practice of Pharmacy、第20版、2003、Gennaro編、Lippincott, Williams & Wilkins参照)を用いて当業者によって確認されるだろう。感作細胞では、治療上有効用量が非感作細胞のための従来の治療上有効用量よりも通常低くなり得る。⁴⁰

【0044】

I I I . 治療薬を選択的に送達する方法

本発明は、治療薬を患者の標的化器官または組織の位置に選択的に送達する方法を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、有効量の治療薬または診断薬を患者の標的化⁵⁰

器官または組織の第1の位置に選択的に送達する方法であって、生体適合性固体支持体を患者の標的化器官または組織の第1の位置に移植するステップであって、固体支持体は第1の結合剤と結合しており、標的化器官または組織の第1の位置は患者の標的化器官または組織の他の位置に対して化学標的化剤によっても生物標的化剤によっても選択的に標的化することができないステップを含む方法を提供する。この方法はまた、第1の結合剤と第2の結合剤が接触すると互いに結合し、それによって有効量の治療薬または診断薬を患者の標的化器官または組織の第1の位置に選択的に送達するように、患者に第2の結合剤と結合した治療薬または診断薬を投与するステップも含む。

【0045】

任意の適当な生体適合性固体支持体を本発明の方法に使用することができる。例えば、10 生体適合性固体支持体は、ヒドロゲル、架橋ポリマー・マトリックス、金属、セラミック、プラスチックなどであり得る。本発明で有用なヒドロゲルとしては、それだけに限らないが、多糖ヒドロゲル、アルギン酸塩、セルロース、ヒアルロン酸、キトサン、キトシン、キチン、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリンなどが挙げられる。他の糖系生体材料は当技術分野で知られており、Polymer Advanced Technology 2014、25、448～460に記載されているものがある。生体適合性支持体として有用なポリマーとしては、それだけに限らないが、ポリホスファゼン、ポリ無水物、ポリアセタール、ポリ(オルトエステル)、ポリホスホエステル、ポリカプロラクトン、ポリウレタン、ポリ乳酸、ポリカーボネート、ポリアミドおよびポリエーテル、ならびにこれらのブレンド／複合体／コポリマーが挙げられ得る。代表的なポリエーテルとしては、それだけに限らないが、ポリ(エチレングリコール)(PEG)、ポリ(プロピレングリコール)(PPG)、トリプロックPluronics([PEG]_n-[PPG]_m-[PEG]_n)、PEGジアクリレート(PEGDA)およびPEGジメタクリレート(PEGDMA)が挙げられる。生体適合性固体支持体には、タンパク質および他のポリ(アミノ酸)、例えば、コラーゲン、ゼラチン、エラスチンおよびエラスチン様ポリペプチド、アルブミン、フィブリン、ポリ(-グルタミン酸)、ポリ(L-リジン)、ポリ(L-グルタミン酸)およびポリ(アスパラギン酸)も含まれ得る。20

【0046】

いくつかの実施形態では、固体支持体がヒドロゲルであり得る。いくつかの実施形態では、固体支持体がアルギン酸塩であり得る。いくつかの実施形態では、固体支持体がキチンであり得る。いくつかの実施形態では、固体支持体がヒアルロン酸であり得る。いくつかの実施形態では、固体支持体がキトサンであり得る。30

【0047】

任意の適当な結合剤を本発明の方法に使用することができる。代表的な結合剤は、「Bioconjugate Techniques」Greg T. Hermanson、1996およびACS Chemical Biology 2014、9、592～605に見出され得る。例えば、本発明の方法で有用な結合剤としては、それだけに限らないが、シクロオクテン、テトラジン、アジド、アルキン、アミン、活性化エステル、イソシアネート、イソチオシアネート、チオール、アルデヒド、アミドなどが挙げられる。いくつかの実施形態では、第1の結合剤と第2の結合剤がそれぞれ独立に、シクロオクテン、テトラジン、アジドまたはアルキンであり得る。いくつかの実施形態では、第1の結合剤と第2の結合剤の一方がトランス-シクロオクテンであり、他方が1,2,4,5-テトラジンであるように、第1の結合剤と第2の結合剤がそれぞれ独立に、トランス-シクロオクテンまたは1,2,4,5-テトラジンであり得る。40

【0048】

本発明の方法を用いて、任意の適当な器官または組織を標的化することができる。代表的な器官または組織としては、それだけに限らないが、骨、軟骨、靭帯、腱、腸、筋肉、神経系(脳、脊髄、心臓および神経を含む)などが挙げられる。例えば、器官が心臓である場合、本発明の方法を心臓修復に使用することができる。いくつかの実施形態では、標的化器官または組織が骨である。50

【0049】

任意の治療薬または診断薬を本発明の方法に使用することができる。代表的な治療薬としては、それだけに限らないが、抗生物質、例えば、バンコマイシン、パクリタキセル、ドキソルビシン、エトポシド、イリノテカン、SN-38、シクロスボリンA、ポドフィロトキシン、カルムスチン、アムホテリシン、イキサベピロン、パツピロン（Patupilone）（エポチロンクラス）、ラバマイシンおよび白金薬剤が挙げられる。他の治療薬にはドキシサイクリンおよび他のMMR阻害剤が含まれる。いくつかの実施形態では、治療薬がバンコマイシンであり得る。

【0050】

代表的な診断薬は、常磁性剤、光プローブおよび放射性核種などのイメージング剤を含む。常磁性剤外部印は、加磁場の下で磁性のイメージング剤である。常磁性剤の例としては、それだけに限らないが、ナノ粒子を含む鉄粒子が挙げられる。光プローブは、1波長の放射での励起および第2の異なる波長の放射での検出によって検出することができる蛍光化合物である。本発明で有用な光プローブとしては、それだけに限らないが、¹Cy5.5、Alexa 680、¹Cy5、DiD（1,1'-ジオクタデシル-3,3',3'-テトラメチルインドジカルボシアニン過塩素酸塩）およびDiR（1,1'-ジオクタデシル-3,3',3'-テトラメチルインドトリカルボシアニンヨージド）が挙げられる。他の光プローブには量子ドットが含まれる。放射性核種は、放射性崩壊を受ける元素である。本発明で有用な放射性核種としては、それだけに限らないが、³H、¹¹C、¹³N、¹⁸F、¹⁹F、⁶⁰Co、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、⁶⁸Ga、⁸²Rb、⁹⁰Sr、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、⁹^{9m}Tc、¹¹¹In、¹²³I、¹²⁴I、¹²⁵I、¹²⁹I、¹³¹I、¹³⁷Cs、¹⁷⁷Lu、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、²¹¹At、Rn、Ra、Th、U、Puおよび²⁴¹Amが挙げられる。診断薬としては、キレート剤、例えば、1,4,8,11-テトラアザシクロドデカン-1,4,8,11-四酢酸（TETA）、4,11-ビス（カルボキシメチル）-1,4,8,11-テトラアザビシクロ[6.6.2]ヘキサデカン（CB-TETA）、ジエチレントリアミン五酢酸（DTPA）および1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン四酢酸（DOTA）も挙げられ得る。他のキレート剤も本発明の方法で有用である。

【0051】

本発明の方法は、治療薬および診断薬を標的化器官または組織に集める。いくつかの実施形態では、標的化器官または組織の第1の位置での治療薬または診断薬の濃度が、患者の他の場所の濃度よりも高い。

【0052】

当業者に知られている任意の適当な手段によって、第1の結合剤を生体適合性固体支持体と結合することができる。例えば、共有またはイオン結合を介して、第1の結合剤を生体適合性固体支持体と結合することができる。あるいは、第1の結合剤を生体適合性固体支持体のマトリックスに挿入し、そこで第2の結合剤が生体適合性固体支持体の表面または生体適合性固体支持体の内部部分に存在する第1の結合剤と結合することができる。

【0053】

いくつかの実施形態では、第1の結合剤を生体適合性固体支持体と共有結合することができる。第1の結合剤は直接またはリンカーの使用を介して間接的に生体適合性固体支持体と結合することができる。任意の適当なリンカーを本発明に使用して結合剤と生体適合性固体支持体または治療薬もしくは診断薬を結合することができる。代表的なリンカーは、約10～約100個の結合原子を有することができ、エチレン-オキシ基、アミン、エステル、アミドおよびケトン官能基を含むことができる。本発明の方法で有用な他のリンカーは、約10～約50個の結合原子、または約25～約50個の結合原子を有することができる。代表的なリンカーとしては、それだけに限らないが、以下に示されるもの：

10

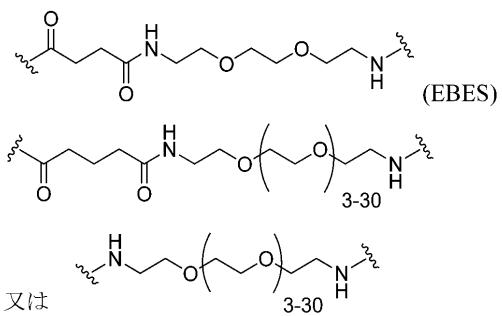
20

20

30

40

【化1】

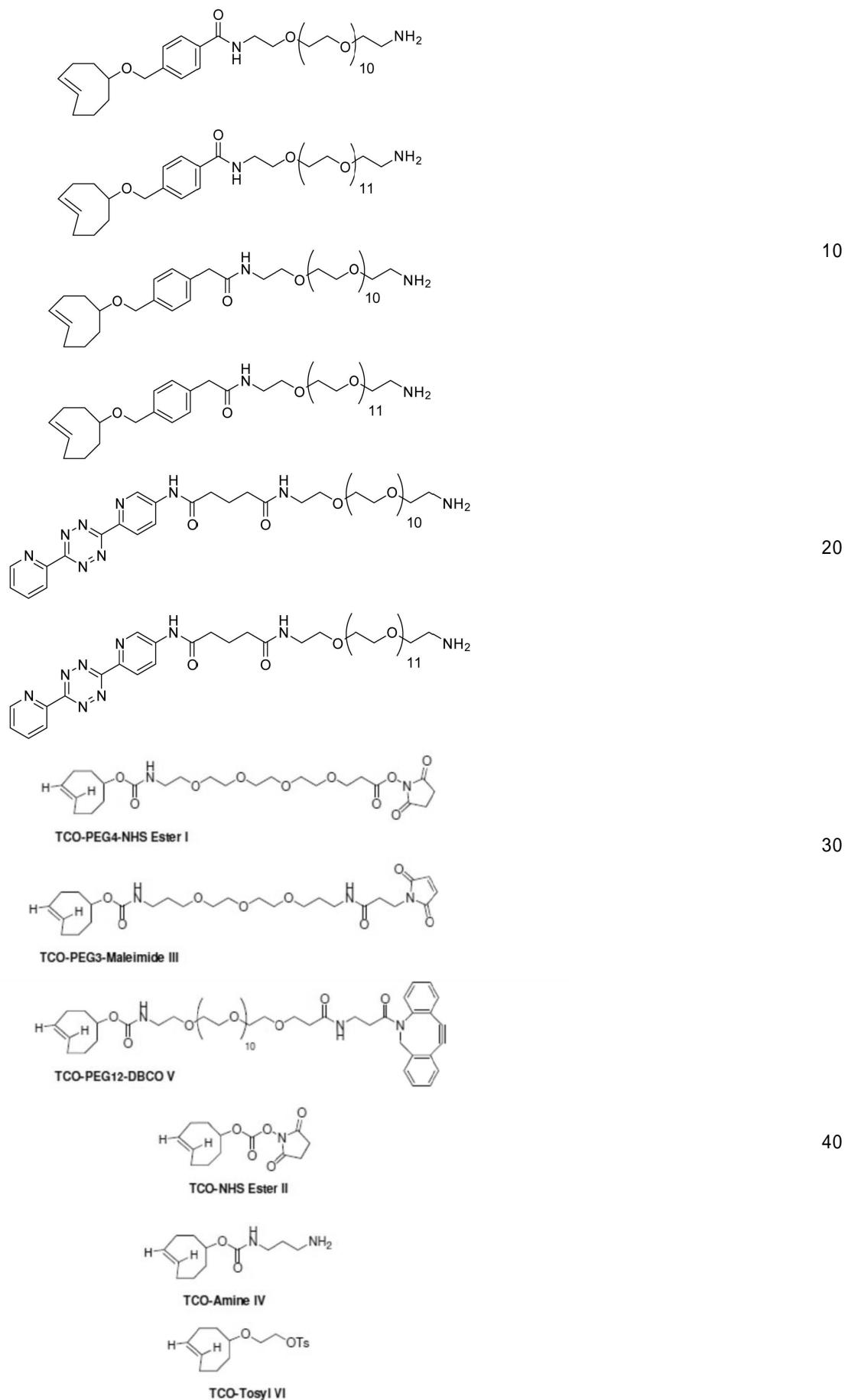


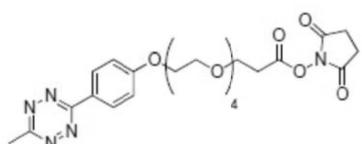
が挙げられる。

【0054】

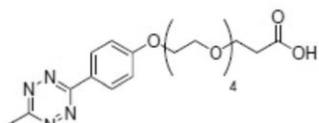
生体適合性固体支持体と治療薬または診断薬を、適当なリンカー、例えば、以下に示されるもの：

【化 2】



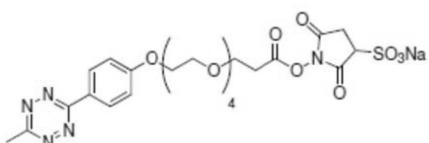


Tetrazine-PEG4-NHS Ester VII

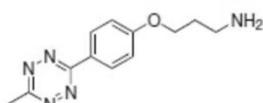


Tetrazine-PEG4-Acid IX

10

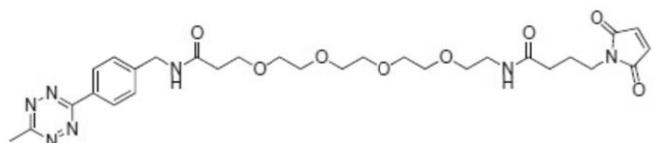


Tetrazine-Sulfo-NHS Ester VIII

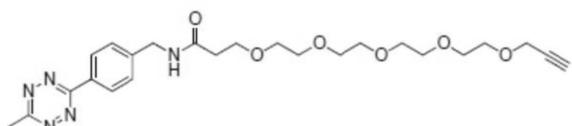


Tetrazine-Amine X

20

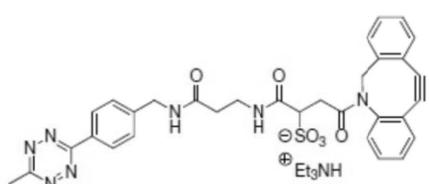


Tetrazine-PEG4-Maleimide XI

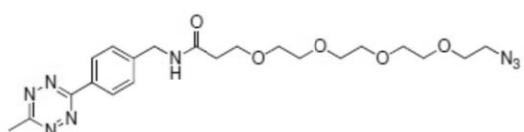


Tetrazine-PEG4-Alkyne XII

30



Tetrazine-DBCO XIII



Tetrazine-PEG4-Azide XIV

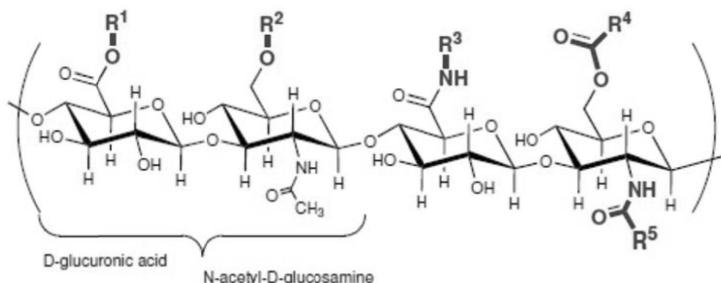
40

を用いて、任意の適当なレポーターまたはプローブ結合剤で修飾することができる。

【0055】

本発明のレポーターおよびプローブ結合剤を用いる場合、生体適合性固体支持体を当業者に知られている任意の手段によって修飾することができる。例えば、共有結合修飾によって、以下に示されるように存在する任意のカルボン酸をエステル化する、アルコールをエーテルもしくはエステルに変換する、または酸もしくはアミンをアミドに変換することができる：

【化3】



(式中、R¹、R²、R³、R⁴およびR⁵は任意の適當なリンカーおよび結合基であり得る)。生体適合性固体支持体の他の修飾としては、ヒドロキシまたはアミノ基のカルボキシメチル修飾が挙げられ得る。

【0056】

生体適合性固体支持体を当業者に知られている任意の手段によって移植することができる。

【0057】

治療薬または診断薬は、患者が患っている疾患または状態を治療するのに十分な任意の適當な量で投与することができる。このような投与の用量、頻度およびタイミングは、大部分が選択する治療薬、治療している状態の性質、年齢、体重および他の状態もしくは障害の存在を含む対象の状態、投与している製剤、主治医の裁量に依存する。一般的に、治療薬または診断薗を約2mg～最大約2000mg/日に及ぶ投与量で投与するが、上述のように、疾患標的、患者および投与経路に応じて変動が必然的に生じるだろう。本発明の治療薬または診断薗は、毎時、毎日、毎週または毎月を含む、必要な頻度で投与することができる。本発明の製薬方法に利用する治療薬または診断薗は、1日約0.0001mg/kg～約1000mg/kgの初期投与量で投与する。約0.01mg/kg～約500mg/kg、または約0.1mg/kg～約200mg/kg、または約1mg/kg～約100mg/kg、または約10mg/kg～約50mg/kgの1日量範囲を使用することができる。しかしながら、患者の要求、治療している状態の重症度および使用している化合物に応じて、投与量を変えることができる。例えば、特定の患者で診断された疾患の種類および病期を考慮して、投与量を経験的に決定することができる。患者に投与する用量は、本発明の文脈において、時間と共に患者の有益な治療反応をもたらすのに十分であるべきであるが、典型的には治療薬または診断薗を治療を必要とする器官または組織に集める生体適合性固体支持体を埋め込んでいない患者を治療するのに要する用量より低い。用量サイズは、特定の化合物の特定の患者への投与に伴う任意の有害副作用の存在、性質および程度によっても決定されるだろう。特定の状況のための適當な投与量の決定は、当業者の技能の範囲内である。一般的に、治療を、化合物の最適用量未満の少ない投与量で開始する。その後、状況下での最適効果に達するまで、投与量を少しづつ増加させる。便宜上、所望であれば、全1日投与量を1日の間に数回に分けて投与することができる。投与量は、治療している医師によって決定されるように毎日与えても隔日に与えてよい。投与量を長期間にわたって(数週間、数ヶ月または数年)、定期的に与えても連続的に与えてもよい。

【0058】

IV. 治療方法

本発明は、上記方法を用いて患者の疾患または状態を治療する方法を提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、患者の疾患または状態を治療する方法であって、第1の結合剤が疾患または状態の部位で第2の結合剤と接触すると、第1の結合剤と第2の結合剤が互いに結合し、疾患または状態の部位で治療上有効量の治療薬を形成するように、第1の結合剤と結合した治療薬を患者に投与するステップを含み、患者に投与する治療薬の量は第2の結合剤の非存在下で患者に投与する治療上有効量未満である方法を提供する。

【0059】

10

20

30

40

50

本発明の方法を用いて任意の疾患または状態を治療することができる。代表的な疾患または状態としては、それだけに限らないが、がん、自己免疫障害、遺伝障害、感染症、炎症、神経障害および代謝障害、または任意の組み合わせが挙げられる。いくつかの実施形態では、疾患または状態が感染症もしくは炎症、または任意の組み合わせであり得る。いくつかの実施形態では、疾患または状態が骨髄炎であり得る。

【0060】

疾患または状態を任意の適当な治療薬、例えば、上記のものによって治療することができる。いくつかの実施形態では、治療薬がバンコマイシンであり得る。

【0061】

V. 組成物

10

本発明はまた、患者に移植するためのレポーター組成物、および患者に投与し、レポーター組成物と結合するプローブ組成物も提供する。いくつかの実施形態では、本発明は、生体適合性固体支持体と、生体適合性固体支持体と結合した少なくとも1種のシクロオクテンとを含む組成物を提供する。

【0062】

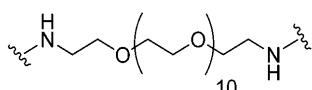
上で論じられるように、生体適合性固体支持体は任意の適当な固体支持体であり得る。いくつかの実施形態では、固体支持体がヒドロゲルであり得る。いくつかの実施形態では、固体支持体がアルギン酸塩であり得る。

【0063】

本発明のレポーター組成物は場合によりリンカーを含むことができる。いくつかの実施形態では、本発明は、生体適合性固体支持体と、少なくとも1種のシクロオクテンと、各シクロオクテンと生体適合性固体支持体を共有結合するリンカーとを含む組成物を提供する。リンカーは上で論じられる任意の適当なリンカーであり得る。いくつかの実施形態では、リンカーが以下の構造：

20

【化4】



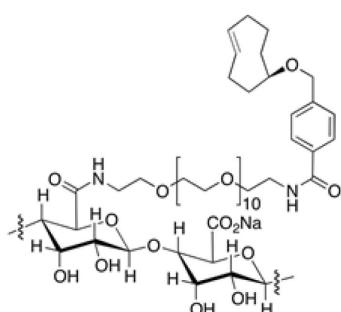
を有することができる。

【0064】

30

いくつかの実施形態では、レポーター組成物が式：

【化5】



40

の構造を有することができる。

【0065】

本発明はまた、患者に投与するためのプローブ組成物も提供する。プローブ組成物は、プローブ組成物がレポーター組成物と接触したら、結合剤が反応して共有結合を形成することができるよう、レポーター組成物の結合剤と相補的な結合剤を有することができる。いくつかの実施形態では、本発明は、治療薬または診断薬と、1,2,4,5-テトラジンと、治療薬または診断薬と1,2,4,5-テトラジンを共有結合するリンカーとを含む組成物を提供する。

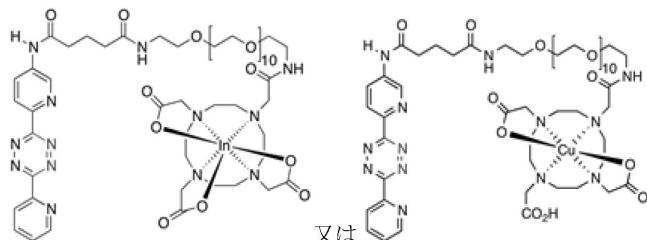
【0066】

上に論じられるように、任意の適当な治療薬または診断薬を本発明のプローブ組成物に

50

使用することができる。代表的な治療薬としてはバンコマイシンが挙げられる。代表的な診断薬としてはDOTA-⁶⁴CuまたはDOTA-¹¹¹Inが挙げられる。いくつかの実施形態では、組成物が構造：

【化6】



10

を有することができる。

【0067】

本発明の化合物を当業者に知られている種々の方法によって調製することができる。例えば、代表的なプローブ組成物を図1に示されるように調製することができ、ここでは化合物1、修飾テトラジンを以前記載されたように(Fox, J. M.; Hassink, M.; Blackman, M.; Li, Z.; Conti, P. S. PCT/US2011/044814; WO2012/012612)合成することができる。アミド形成条件下での1と保護リンカー2の反応によって中間体3が得られる。保護基を脱保護して4を形成した後、治療薬または診断薬を4と結合し、よってプローブ化合物5を形成することができる。

20

【0068】

レポーター組成物を同様に調製する。例えば、図2に示されるように、以前記載されたように合成することができる化合物6を、標準的アミド形成条件下で保護リンカーと結合させて8を形成することができ、次いで、これを脱保護して9を形成する。次いで、レポーター組成物を、9と生体適合性固体支持体、例えば、アルギン酸塩との反応によって、図4に記載されるように形成する。

【0069】

本発明の化合物を作成する方法は、任意の適当な保護基または保護基戦略を含むことができる。保護基とは、官能基を特定の反応条件設定に非反応性にするが、その後、官能基をその元の状態に戻すために後の合成ステップで除去可能な化合物を指す。このような保護基は当業者に周知であり、これらには全体が参照により本明細書に組み込まれる、「Protective Groups in Organic Synthesis」、第4版、T. W. GreeneおよびP. G. M. Wuts、John Wiley & Sons、ニューヨーク、2006に開示されている化合物が含まれる。

30

【0070】

V I . 製剤化

本発明の組成物は、多種多様な経口、非経口および局所剤形で調製することができる。経口製剤としては、患者による消化に適した錠剤、丸剤、散剤、粉剤、糖衣錠剤、カプセル剤、液剤、ロゼンジ剤、カシェ剤、ゲル剤、シロップ剤、スラリー剤、懸濁剤等が挙げられる。本発明の組成物は、注射によって、すなわち、静脈内、筋肉内、皮内、皮下、十二指腸内または腹腔内投与することもできる。また、本明細書に記載される組成物を、吸入によって、例えば、鼻腔内投与することもできる。さらに、本発明の組成物を経皮投与することができる。本発明の組成物を、眼内、膣内および直腸内経路(坐剤を含む)、吹送、散剤およびエアゾール製剤(例えば、ステロイド吸入剤の、Rohatagi, J. Clin. Pharmacol. 35: 1187~1193, 1995; Tjwa, Ann. Allergy Asthma Immunol. 75: 107~111, 1995参照)によって投与することもできる。したがって、本発明はまた、薬学的に許容される担体または賦形剤と、本発明の化合物とを含む医薬組成物も提供する。

40

【0071】

50

本発明の化合物から医薬組成物を調製するために、薬学的に許容される担体は固体であつても液体であつてもよい。固体形態製剤としては、散剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、カシェ剤、坐剤および分散性粒剤が挙げられる。固体担体は、希釈剤、香味剤、結合剤、保存剤、錠剤崩壊剤またはカプセル化材料としても作用し得る1種または複数の物質であり得る。製剤化および投与の技術についての詳細は、科学文献および特許文献、例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences、Maack Publishing Co、Easton PA(「Remington's」)の最新版に十分記載されている。

【0072】

散剤では、担体が微細化された活性成分との混合物である微細化された固体である。錠剤では、活性成分を必要な結合特性を有する担体と適当な割合で混合し、所望の形状およびサイズに圧縮する。散剤および錠剤は、好ましくは5%または10%~70%の本発明の化合物を含む。

【0073】

適当な固体賦形剤としては、それだけに限らないが、炭酸マグネシウム；ステアリン酸マグネシウム；タルク；ペクチン；デキストリン；デンプン；トラガント；低融点ワックス；カカオ脂；炭水化物；それだけに限らないが、乳糖、ショ糖、マンニトールもしくはソルビトールを含む糖、トウモロコシ、コムギ、イネ、ジャガイモもしくは他の植物からのデンプン；セルロース、例えば、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチル-セルロースまたはカルボキシメチルセルロースナトリウム；およびアラビアガムおよびトラガントガムを含むガム；ならびにそれだけに限らないが、ゼラチンおよびコラーゲンを含むタンパク質が挙げられる。所望であれば、架橋ポリビニルピロリドン、寒天、アルギン酸またはこれらの塩、例えば、アルギン酸ナトリウムなどの崩壊剤または可溶化剤を添加してもよい。

【0074】

糖衣錠コアに、アラビアガム、タルク、ポリビニルピロリドン、カーボポールゲル、ポリエチレングリコールおよび/または二酸化チタンも含んでもよい濃縮糖液、ラッカー溶液ならびに適当な有機溶媒または溶媒混合物などの適当なコーティングを備えさせる。製品識別のためまたは活性化合物の品質（すなわち、投与量）を特徴付けるために、染料または顔料を錠剤または糖衣錠コーティングに添加してもよい。本発明の医薬製剤を、例えば、ゼラチンでできたプッシュフィット(push-fit)カプセル剤、ならびにゼラチンとコーティング、例えば、グリセロールまたはソルビトールでできた軟密閉カプセル剤を用いて経口で使用することもできる。プッシュフィットカプセル剤は、充填剤または結合剤（乳糖またはデンプンなど）、潤滑剤（タルクまたはステアリン酸マグネシウムなど）および場合により安定剤と混合した本発明の化合物を含む。軟カプセル剤では、本発明の化合物を、安定剤を含むまたは含まない適当な液体、例えば、脂肪油、流動パラフィンまたは液体ポリエチレングリコールに溶解または懸濁させてもよい。

【0075】

坐剤を調製するために、低融点ワックス、例えば、脂肪酸グリセリドまたはカカオ脂の混合物を最初に溶融し、本発明の化合物を攪拌するなどしてその中に均質に分散させる。次いで、溶融した均質な混合物を簡便な大きさの型に注ぎ入れ、冷却させ、それによって凝固させる。

【0076】

液体形態製剤としては、液剤、懸濁剤および乳剤、例えば、水または水/プロピレングリコール溶液が挙げられる。非経口注射のためには、液体製剤を水性ポリエチレングリコール溶液中の液剤に製剤化することができる。

【0077】

経口使用に適した水溶液は、本発明の化合物を水に溶解し、所望のように適当な着色剤、香味剤、安定剤および増粘剤を添加することによって調製することができる。経口使用に適した水性懸濁剤は、微細化された活性成分を粘性材料、例えば、天然もしくは合成ゴ

10

20

30

40

50

ム、樹脂、メチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、アルギン酸ナトリウム、ポリビニルピロリドン、トラガントガムおよびアカシアガム、ならびに分散剤または湿潤剤、例えば、天然ホスファチド（例えば、レシチン）、アルキレンオキシドと脂肪酸の縮合生成物（例えば、ポリオキシエチレンステアレート）、エチレンオキシドと長鎖脂肪族アルコールの縮合生成物（例えば、ヘプタデカエチレンオキシセタノール）、エチレンオキシドと脂肪酸およびヘキシトールに由来する部分エステルの縮合生成物（例えば、ポリオキシエチレンソルビトールモノ-オレエート）、またはエチレンオキシドと脂肪酸およびヘキシトール無水物に由来する部分エステルの縮合生成物（例えば、ポリオキシエチレンソルビタンモノ-オレエート）を用いて水に分散させることによって作成することができる。水性懸濁剤はまた、1種または複数の保存剤、例えば、エチルもしくはn-プロピルp-ヒドロキシベンゾエート、1種または複数の着色剤、1種または複数の香味剤および1種または複数の甘味剤、例えば、シヨ糖、アスパルテームまたはサッカリンも含むことができる。製剤を容量オスモル濃度について調整することができる。

【0078】

使用の少し前に、経口投与用の液体形態製剤に変換することを意図した固体形態製剤も含まれる。このような液体形態としては、液剤、懸濁剤および乳剤が挙げられる。これらの製剤は、活性成分に加えて、着色剤、香味剤、安定剤、緩衝剤、人工および天然甘味剤、分散剤、増粘剤、可溶化剤などを含んでもよい。

【0079】

別の実施形態では、本発明の組成物を、非経口投与、例えば、静脈内（IV）投与または体腔もしくは器官のルーメンへの投与のために製剤化することができる。投与するための製剤は、一般的に薬学的に許容される担体に溶解した本発明の組成物の溶液を含むだろう。使用することができる許容されるビヒクルおよび溶媒の中には水およびリンガー液、等張食塩水がある。さらに、無菌不揮発性油を溶媒または懸濁媒体として慣用的に使用することができる。この目的のために、合成モノ-またはジグリセリドを含む任意の無刺激不揮発性油を使用することができる。さらに、オレイン酸などの脂肪酸を同様に注射剤の調製に使用することができる。これらの溶液は無菌であり、一般的に望ましくない物質を含まない。これらの製剤を、慣用的な周知の滅菌技術によって滅菌してもよい。製剤は、生理的条件に近づけるのに必要とされる薬学的に許容される補助物質、例えば、pH調整剤および緩衝剤、毒性調整剤、例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、乳酸ナトリウムなどを含んでもよい。これらの製剤中の本発明の組成物の濃度は広く変化することができ、選択する特定の投与様式および患者のニーズにしたがって、主に流体体積、粘土、体重などに基づいて選択されるだろう。IV投与のために、製剤は無菌注射製剤、例えば、無菌注射水性または油性懸濁液であり得る。この懸濁液は、適当な分散剤または湿潤剤および懸濁剤を用いて先行技術にしたがって製剤化することができる。無菌注射製剤はまた、非毒性の非経口的に許容される希釈剤または溶媒中の無菌注射溶液または懸濁液、例えば、1,3-ブタンジオールの溶液であり得る。

【0080】

別の実施形態では、本発明の組成物の製剤を、細胞膜と融合するまたは細胞内取り込まれるリポソームの使用によって、すなわち、細胞内取り込みをもたらす細胞の表面膜タンパク質受容体と結合する、リポソームに付着したまたはオリゴヌクレオチドに直接付着したリガンドを使用することによって、送達することができる。リポソームを使用することにより、特にリポソーム表面が標的細胞に特異的なリガンドを保有する、または特定の器官に優先的に向けられている場合に、本発明の組成物のインビボでの標的細胞への送達に集中することができる（例えば、A1-Muhammed, J. Microencapsul. 13: 293~306, 1996; Chonn, Curr. Opin. Biotechnol. 6: 698~708, 1995; Ostro, Am. J. Hosp. Pharm. 46: 1576~1587, 1989参照）。

【0081】

10

20

30

40

50

V I I . 投与

本発明の組成物を、経口、非経口および局所法を含む任意の適当な手段によって送達することができる。局所経路による経皮投与法は、アプリケータースティック、液剤、懸濁剤、乳剤、ゲル剤、クリーム、軟膏、ペースト、ゼリー剤、塗料、散剤およびエアゾール剤として製剤化することができる。

【 0 0 8 2 】

医薬製剤は、好ましくは単位剤形である。このような形態では、製剤を、適当な量の本発明の化合物を含む単位用量に細分する。単位剤形をパッケージ化製剤とすることができます、パッケージは別々の量の製剤、例えば、小包化錠剤、カプセル剤およびバイアルまたはアンプル中の散剤を含む。また、単位剤形がカプセル剤、錠剤、カシェ剤もしくはロゼンジ剤自体であってもよいし、またはパッケージ化形態の中の適当な数のこれらのいずれかであってもよい。10

【 0 0 8 3 】

本発明の化合物は、任意の適当な量で存在することができ、それだけに限らないが、対象の体重および年齢、疾患の状態等を含む種々の因子に依存し得る。本発明の化合物の適当な投与量範囲としては、約 0.1 m g ~ 約 1 0 0 0 0 m g 、または約 1 m g ~ 約 1 0 0 0 m g 、または約 1 0 m g ~ 約 7 5 0 m g 、または約 2 5 m g ~ 約 5 0 0 m g 、または約 5 0 m g ~ 約 2 5 0 m g が挙げられる。本発明の化合物の適当な投与量としては、約 1 m g 、 5 、 1 0 、 2 0 、 3 0 、 4 0 、 5 0 、 6 0 、 7 0 、 8 0 、 9 0 、 1 0 0 、 2 0 0 、 3 0 0 、 4 0 0 、 5 0 0 、 6 0 0 、 7 0 0 、 8 0 0 、 9 0 0 または 1 0 0 0 m g が挙げられる。20

【 0 0 8 4 】

本発明の化合物は、任意の適当な頻度、間隔および持続時間で投与することができる。例えば、本発明の化合物を、好ましい投与量レベルをもたらすように、1時間に1回または1時間に2回、3回もしくはそれ以上の回数、1日1回または1日2回、3回もしくはそれ以上の回数、あるいは2日、3日、4日、5日、6日または7日に1回投与することができる。本発明の化合物を1日2回以上投与する場合、代表的な間隔としては5、10、15、20、30、45および60分、ならびに1、2、4、6、8、10、12、16、20および24時間が挙げられる。本発明の化合物を、1時間、1~6時間、1~12時間、1~24時間、6~12時間、12~24時間、1日間、1~7日間、1週間、1~4週間、1ヶ月間、1~12ヶ月間、1年間もしくはそれ以上、または無期限にさえ、1回、2回もしくは3回またはそれ以上の回数投与することができる。30

【 0 0 8 5 】

本発明の化合物は別の活性剤と同時投与することができる。同時投与は、本発明の化合物と活性剤を互いに0.5、1、2、4、6、8、10、12、16、20または24時間以内に投与することを含む。同時投与はまた、本発明の化合物と活性剤を、同時に、ほぼ同時に（例えば、互いに約1、5、10、15、20または30分以内に）、または任意の順序で順次投与することも含む。さらに、本発明の化合物と活性剤を、1日当たりの好ましい投与量レベルが得られるように、それぞれ1日1回、または1日2回、3回もしくはそれ以上の回数投与することができる。40

【 0 0 8 6 】

いくつかの実施形態では、同時投与を、共製剤（co-formulation）、すなわち、本発明の化合物と活性剤の両方を含む单一医薬組成物を調製することによって達成することができる。他の実施形態では、本発明の化合物と活性剤を別々に製剤化することができる。

【 0 0 8 7 】

本発明の化合物と活性剤は、任意の適当な重量比、例えば、約 1 : 1 0 0 ~ 約 1 0 0 : 1 (w / w) 、または約 1 : 5 0 ~ 約 5 0 : 1 、または約 1 : 2 5 ~ 約 2 5 : 1 、または約 1 : 1 0 ~ 約 1 0 : 1 、または約 1 : 5 ~ 約 5 : 1 (w / w) で本発明の組成物中に存在することができる。本発明の化合物と他の活性剤は、任意の適当な重量比、例えば、約50

1 : 1 0 0 (w / w) 、 1 : 5 0 、 1 : 2 5 、 1 : 1 0 、 1 : 5 、 1 : 4 、 1 : 3 、 1 : 2 、 1 : 1 、 2 : 1 、 3 : 1 、 4 : 1 、 5 : 1 、 1 0 : 1 、 2 5 : 1 、 5 0 : 1 または 1 0 0 : 1 (w / w) で存在することができる。本発明の化合物と活性剤の他の投与量および投与量比も本発明の組成物および方法に適している。

【 0 0 8 8 】

V I I I . 実施例

特記しない限り、全ての試薬およびNMR溶媒は、Sigma - Aldrich (St . Louis 、 MS) から購入した。化合物2はIris Biotech (Marktredwitz 、 ドイツ) から得た一方、化合物8はPoly pure (Oslo 、 ノルウェー) から購入した。DOTA - NHSエステルはMacro cyclics (Dallas 、 Texas) から得た。シリカゲルはSilicycle (Quebec 、 カナダ) から購入した一方、分取TLCプレート (20 × 20 cm ; 厚さ 1 0 0 0 μm) はAnaltech (Newark 、 DE) から購入した。超純アルギン酸塩はPro Nov a Biomedical (ノルウェー) から購入した。塩化 [^{1 1 1} In] インジウム溶液はPerkinElmer (Waltham 、 米国) から購入した。希HCl中の塩化 [^{6 4} Cu] 銅は、ワシントン大学 (St . Louis 、 MO) から購入した、または11 MeV Siemens RDS 111サイクロトロンを用いて 6 4 Ni (p , n) 6 4 Cu 核反応によって社内で製造し、陰イオン交換クロマトグラフィー (Bi o r a d AG 1 - X 8) によって精製した。ダルベッコリン酸緩衝生理食塩水 (D P B S) はInvitrogen Corporation (Carlsbad 、 CA) から購入した。

【 0 0 8 9 】

NMR実験は、Varian 400 MHz VNMR S装置を用いて、CDCl₃または[D₆]DMSOで行った。高分解能ESI質量分析データは、ポジティブとネガティブのいずれかで測定されるボストン大学化学計測センター (Boston University Chemical Instrumentation Center) でAgilent Ion Trap LC / MSD SLを用いて得た。有機合成段階中、0.1% TFAを含む水およびMeCNの勾配を適用するWaters XBridge C18 Column (19 × 250 mm) を備えたAgilent 1100 SeriesシステムをHPLC精製に使用した。

【 0 0 9 0 】

放射化学中ならびにインピボ分析および精製のために、逆相HPLCは、Jupiter Proteo C - 12カラム (250 × 4.6 mm 、 4 μm 、 Phenomenex 、 Torrance 、 CA) およびBioscan FlowCount光電子増倍管 (PMT) (Bioscan 、 Washington , DC) と直列に接続した単一波長またはダイオードアレイUV検出器 (220 & 254 nm に設定) を備えたBeckman - Colter System Gold 128 (Brea 、 CA) クロマトグラフィーシステムを用いて行った。データは、32 Karatソフトウェアパッケージ (Beckman - Colter) を用いて解析した。移動相は溶媒A：水中 0.05 % トリフルオロ酢酸および溶媒B：100 % アセトニトリルからなっており、流量 1.5 mL / 分で、特に言及しない限り、注入 2 分後に始まる線形勾配 9 % 溶媒B、次いで、30分間にわたって 81 % まで増加。

【 0 0 9 1 】

アルギン酸塩ゲルを用いたインピトロ実験中、モレキュラーシーブ高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を、Waters 2487二重吸光度検出器 (220 & 320 nm) およびBioscan Flowカウント放射能検出器を備えたWaters Breezeクロマトグラフィーシステムで行った。Phenomenex BioSep SEC - S3000カラム (7.8 × 300 mm) を 1.0 mL / 分のイソクラティック 0.1 M リン酸ナトリウム、pH 6.8 で溶出した。

【 0 0 9 2 】

10

20

30

40

50

0.9% NaCl 水溶液中 200 mM EDTA で溶出し、Biосcan 200 イメージングスキャナ (Biосcan, Washington DC) を用いて行う、ITLC-SG ストリップ (Pall Life Sciences, Ann Arbor、MI) を用いた放射性 TLC によって、⁶⁴Cu および ¹¹¹In - 標識収率を測定した。これらの条件で、遊離放射性核種は $R_f = 0.9$ で移動する一方、テトラジン 6 と結合した放射性核種は起点に残っている。

【0093】

PET/CT データは、Inveon Preclinical Imaging Station (Siemens Medical Solutions) を用いて取得した。

10

【0094】

動物取扱 全ての動物は、カリフォルニア大学、Davis、動物実験委員会によって承認されているプロトコルにしたがって取り扱った。

【0095】

統計解析 群変動を、平均値 \pm 1 つの標準偏差として記載する。単一群を両側独立 t 検定で比較した。P < 0.05 の群を有意に異なるとみなした。マイクロソフトエクセルバージョン 12.8.9 を全ての統計学的計算に使用した。

【実施例 1】

【0096】

テトラジン修飾診断薬 (5)

20

tert-ブチル(37, 41-ジオキソ-41-((6-(6-(ピリジン-2-イル)-1, 2, 4, 5-テトラジン-3-イル)ピリジン-3-イル)アミノ)-3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33-ウンデカオキサ-36-アザヘンテトラコンチル)カルバメート(3)。2(0.39 g、0.61 mmol)をDMF(15 mL)に溶解する。2のDMF中攪拌溶液に、1(0.20 g、0.55 mmol)、ベンゾトリアゾール-1-イルオキシトリス(デメチルアミノ)ホスホニウムヘキサフルオロホスフェート(BOP)(0.25 g、0.55 mmol)およびトリエチルアミン(0.55 g、5.5 mmol)を順次添加した。反応混合物を、窒素雰囲気下室温で18時間攪拌した。溶媒を低真空下で除去し、標記生成物をMeOHのCH₂Cl₂中勾配(0~10%)を用いて重力シリカラムによって精製した。収量 = 0.40 g(74%) NMRスペクトルは、以前公開されたものと一致した(Rossin, R.; Verkerk, P. R.; van den Bosch, S. M.; Vulders, R. C. M.; Verel, I.; Lub, J.; Robillard, M. S. Angew. Chem. Int. Ed. 2010, 49, 3375. Mooney, 1999)。

30

【0097】

N1-(2-(2-(2-(2-(2-(2-(2-(2-(2-(2-(2-アミノエトキシ)エチル)-N5-(6-(6-(ピリジン-2-イル)-1, 2, 4, 5-テトラジン-3-イル)ピリジン-3-イル)グルタルアミド(4)。化合物 3 を CH₂Cl₂:TFA の 5:1 混合物(10 mL)に溶解し、室温で2時間攪拌した。溶液がピンク色から深赤色になった。溶媒を除去し、生成物を MeOH(2 × 20 mL)と共に沸した。粗生成物をさらに精製することなく次のステップに持ち越した。¹H NMR(CDCl₃) 10.36(s, 1 H)、9.37(s, 1 H)、9.26(bs, 1 H)、9.01(s, 1 H)、8.91(d, J = 7.8 Hz, 1 H)、8.81(d, J = 8.6 Hz, 1 H)、8.61(d, J = 8.1 Hz, 1 H)、8.39(t, J = 8.0 Hz, 1 H)、7.95(t, J = 5.0 Hz, 1 H)、7.50(s, 1 H)、6.94(bs, 3 H)、3.72~3.08(m, 35 H)、2.51(t, J = 4.6 Hz, 2 H)、2.36(t, J = 6.0 Hz, 2 H)、1.99(t, J = 6.7 Hz, 2 H)、1.26(t, J = 7.3 Hz, 7 H)。¹³C NMR(CDCl₃) 175.27, 173.06, 161.32, 161.17, 159.4

40

50

2 (q, J = 39.5 Hz, TFA)、147.52、145.94、142.85、140.89、139.13、138.48、130.81、128.95、126.65、125.97、115.2 (q, J = 287.5 Hz, TFA)、70.13、70.09、70.05、69.98、69.92、69.88、69.77、69.72、69.66、69.55、69.49、69.38、69.35、69.26、68.82、66.52、46.59、39.61、35.63、34.67、29.59、21.21、8.38。HRMS: C₄₁H₆₆N₉O₁₃ [M+H₂O] 計算値 892.4702 (データに列挙されている値と異なる)、実測値 892.4739。

[0 0 9 8]

2 , 2 ' , 2 ' ' - (1 0 - (2 , 4 0 , 4 4 - トリオキソ - 4 4 ((6 - (6 - (ピ
リジン - 2 - イル) - 1 , 2 , 4 , 5 - テトラジン - 3 - イル) ピリジン - 3 - イル) ア
ミノ) - 6 , 9 , 1 2 , 1 5 , 1 8 , 2 1 , 2 4 , 2 7 , 3 0 , 3 3 , 3 6 - ウンデカオ
キサ - 3 , 3 9 - ジアザテトラテトラコンチル) - 1 , 4 , 7 , 1 0 - テトラアザシクロ
ドデカン - 1 , 4 , 7 - トリチル) 三酢酸 (5)。 D O T A - N H S エステル (1 0 0 m
g、 0 . 1 3 1 m m o l) を 4 (1 2 9 m g、 0 . 1 3 1 m m o l) およびトリエチルア
ミン (1 7 9 μ L、 1 . 3 1 m m o l) の D M F (5 m L) 中溶液に添加した。反応混合
物を、 室温で 4 時間攪拌した。溶媒を減圧下で除去した。粗生成物を、 0 . 1 % T F A (2 m L)
を含む水に溶解し、 0 . 4 5 μ m ポリビニリデンフルオリド膜 (P V D F) を通
して濾過した。標記生成物を、 H₂O (0 . 1 % T F A) および C H₃C N (0 . 1 % T
F A) の勾配を用いて分取 H P L C によって精製した。収量 7 8 m g (4 7 %)。 N M R
スペクトルは、 以前公開されたものと一致した (R o s s i n , R . ; V e r k e r k ,
P . R . ; v a n d e n B o s c h , S . M . ; V u l d e r s , R . C . M . ; V
e r e l , I . ; L u b , J . ; R o b i l l a r d , M . S . A n g e w . C h e m .
I n t . E d . 2 0 1 0 、 4 9 、 3 3 7 5 . M o o n e y , 1 9 9 9)。
H R M S : C₅H₉N₁O₂ 計算値 1 2 7 8 . 6 5 0 3 、 実測値 1 2 7 8 . 6 5
8 0 。

【实施例 2】

(0 0 9 9)

TCOヨンジュゲートの調製

【0100】

4 - ((S, Z) - シクロオクタ - 4 - エニルオキシ) メチル) - N - (2 - (2 - (2 - (2 - (2 - (2 - (2 - (2 - (2 - (2 - (2 - (2 - アミノエトキシ) エトキシ) エチル) ベンズアミド(9)。ピペリジン(2.5 mL)を8(193 mg、0.19 mmol)のCH₂Cl₂(10 mL)中溶液に滴加した。得られた溶液を、室温で4時間攪拌した。溶媒を除去し、標記生成物を、溶離液として1:10 MeOH:CH₂Cl₂を用いて重力シリカカラムによって精製した。収量=86 mg(57%)。¹H NMR(CDCl₃) 7.73(t, J=7.9 Hz, 2H)、7.36~7.28(m, 2H)、6.96(b d, J=7.5 Hz, 1H)、5.65~5.40(m, 2H)、5.30~5.26(m, 1H)、4.54~4.33(m, 3H)、3.60~3.36(m, 48H)、3.06~2.99(m, 1H)、2.40~1.44(m, 10H)。HRMS: C₄₀H₇₀N₂O₁₃ 計算値787.4878、実測値787.4938。

【実施例3】

【0101】

9によるアルギン酸塩化学修飾

MVGアルギン酸塩、高G含有アルギン酸塩(製造業者によって指定されるM:G比が40:60である)を試験の全てに使用した。以前記載されたカルボジイミド化学を用いて、高M-および高G含有アルギン酸塩中のカルボン酸をトランス-シクロオクテン9で修飾した。全ての反応を、0.3 M NaClを含む0.1 M 2-(N-モルホリノ)エタンスルホン(MES)酸緩衝液pH 6.5 25 mL中でアルギン酸塩250 mg、濃度1%(w/v)を用いて行った。1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)12.1 mg(0.063 mmol)をアルギン酸塩に添加して、アルギン酸塩のウロン酸モノマーに対して1:20モル比でポリマー鎖に沿ってカルボン酸を活性化した。N-ヒドロキシスルホスクシンイミド(スルホ-NHS)6.9 mg(0.032)をEDCに対して1:2モル比で共反応物質(coreactant)として添加した。アミン9(10 mg、0.013 mmol)をMES緩衝液1 mL中反応物に添加し、アルギン酸塩を20時間反応させた。修飾アルギン酸塩を5日間にわたり大規模な透析(MWCO3500)によって精製した。次いで、アルギン酸塩を透析管から取り出し、0.22 μm Millipore Sterileフィルタを用いて濾過して25 mL円錐形バイアルに入れた。次いで、アルギン酸塩を冷蔵庫に1時間、次いで、-20 冷凍庫に2時間、最後に-80 冷凍庫に一晩入れることによって凍結させた。次いで、試料を完全に乾燥するまで(5~10日)凍結乾燥器に入れ、次いで、必要となるまで-80 で保管した。

【0102】

使用する準備ができたら、カルシウム架橋アルギン酸塩ヒドロゲルを、0.25% (w/v) PBSを含むddH₂O中2.5% (v/v) アルギン酸塩溶液に希釈した。無菌過飽和硫酸カルシウム溶液を0.21 g CaSO₄/mL ddH₂Oの濃度で作成した。スラリー約0.4 mLを2.0% アルギン酸塩溶液全10 mLに添加した。

【0103】

インピボで使用するために、上記アルギン酸塩ゲル溶液と過飽和硫酸カルシウム溶液を、2重の雌コネクタを通して注射器中で迅速に混合し、直ちに動物に注射した。

【0104】

インピトロ実験のために、上記アルギン酸塩ゲル溶液と過飽和硫酸カルシウム溶液を、2重の雌コネクタを通して注射器中で迅速に混合した。次いで、2% アルギン酸塩ゲル溶液を、2 mmスペーサーを有する平行なガラスプレートの間で鋳造してゲルフィルムを調製した。ヒドロゲルディスクを、パンチ(McMaster-Carr, Chicago、IL)を用いてフィルムからくり抜いた。

【0105】

10

20

30

40

50

イオン結合群については、トランス - シクロオクテン 9 を E D C およびスルホ - N H S と共に添加しなかったが、後のステップで、過飽和硫酸カルシウム溶液と共に添加したことを除いて、正確に同じプロトコルを使用した。対照群については、トランス - シクロオクテン 9 を順序のいずれの点でも添加しなかった。

【実施例 4】

【0106】

インビトロ実験

テトラジン銅放射標識。塩化⁶⁴Cu (0.5 M HCl 中 5 ~ 10 μL) を 0.1 M 醋酸アンモニウム緩衝液 (pH 7, 50 ~ 100 μL) で希釈した。DOTAコンジュゲートテトラジン (5) を 0.1 M 醋酸アンモニウム、pH 7.0 に溶解した (1.28 mg / mL)。5 のアリコートを適当な量の塩化 [⁶⁴Cu] 銅と合わせ、穏やかな攪拌の下室温で 10 分間インキュベートした。放射性核種の完全な取り込みを放射性 TLC によって監視した。HPLC 精製および穏やかな加熱下での溶媒の蒸発後、⁶⁴Cu - テトラジン 5 の放射化学的純度を放射性 HPLC によって監視した。

【0107】

動物実験のために、⁶⁴Cu - テトラジン溶液を無菌生理食塩水で希釈した。インビオ実験に使用する⁶⁴Cu - テトラジン 5 溶液の比放射能は、典型的には 3.3 MCi / g であった。

【実施例 5】

【0108】

テトラジンインジウム放射標識

塩化¹¹¹In (0.5 M HCl 中 5 ~ 10 μL) を 0.1 M 醋酸アンモニウム緩衝液 (pH 7, 50 ~ 100 μL) で希釈した。DOTAコンジュゲートテトラジン (5) を 0.1 M 醋酸アンモニウム、pH 7.0 に溶解した (1.28 mg / mL)。5 のアリコートを適当な量の塩化 [¹¹¹In] インジウムと合わせ、穏やかな攪拌の下室温で 10 分間インキュベートした。放射性核種の完全な取り込みを放射性 TLC によって監視した。HPLC 精製および穏やかな加熱下での溶媒の蒸発後、¹¹¹In - テトラジン 5 の放射化学的純度を放射性 HPLC によって監視した。

【0109】

動物実験のために、¹¹¹In - テトラジン溶液を無菌生理食塩水で希釈した。インビオ実験に使用する¹¹¹In - テトラジン 5 溶液の比放射能は、典型的には 18 Ci / g であった。

【実施例 6】

【0110】

インビトロ反応性

サイズ排除 HPLC。アルギン酸塩骨格への化合物 9 の取り込みを、代理として放射標識テトラジン 5 を用いて定量化した。手短に言えば、2 % アルギン酸塩ゲル溶液を既知の量の比放射能が測定されているテトラジン - 放射性核種と混合した。ゲルに組み込まれた放射能の量を、大きい化合物（アルギン酸塩）が小さい化合物より早く溶出するサイズ排除 HPLC を通して測定した。

【0111】

ディスク。アルギン酸塩 - TCO の反応性を PBS およびマウス血清で試験した。典型的には、重さ約 25 μg の予め作られたディスクを試験管に入れた。対照として、TCO で処理していないアルギン酸塩ディスクを使用した。ディスクを放射性核種で標識した既知の量の化合物 10 (⁶⁴Cu - テトラジン 5 または¹¹¹In - テトラジン 5 のいずれか) を含む生理食塩水または血清溶液に添加した。Wallac 1470 Wizard ガンマカウンタ (PerkinElmer Inc.) を用いて放射能を測定した。次いで、ディスクを生理食塩水 250 μL を用いて 3 回洗浄およびボルテックスし、放射能を再度測定した。

【実施例 7】

10

20

30

40

50

【0112】**インビオ試験**

生体分布実験。2つの生体分布試験を行った。第1の試験は、全てのスキャンを行った26時間後に⁶⁴Cu - テトラジン5を用いて行った。第2の生体分布試験は、アルギン酸塩ゲルの皮下注射、引き続いてテトラジン5の静脈内注射の3時間後に¹¹¹In - テトラジン5を用いて行った。

【0113】

マウスを頸椎脱臼によって安樂死させた。対象となる器官および体液、例えば、尿、血液、胆嚢、肝臓、心臓、腎臓、脾臓、肺、胃、小腸、大腸、膀胱、皮膚、筋肉、骨、尾、脳、ならびに実験群（ゲル、TCO - ゲル、sTCO + ゲル）を回収し、全て脱イオン水で洗浄して過剰な血液を除去し、秤量した。Wallac 1470 Wizard ガンマカウンタ（PerkinElmer Inc.）を用いて放射能を測定した。放射能取り込みを、注射用量 / g の % (%ID/g) として表した。全ての値を同位元素崩壊について補正した。

【実施例8】**【0114】****イメージング実験**

マウスに、皮下部位（右肩または左肩のいずれか）において、アルギン酸塩実験群（対照、TCO - ゲル、sTCO + ゲル）の1つの注射を受けさせた。約2時間後、マウスに⁶⁴Cu - テトラジン5（0.09 ~ 0.21mCi）の尾静脈注射を受けさせた。テトラジン5注射の1時間後、マウスに1% ~ 2% イソフルランで麻酔をかけ、PETスキャナを通して30分間イメージングし、次いで、CT像を回収した。静止画像を15 ~ 30分間回収し、Inveon Research Workstationソフトウェア（Siemens Medical Solutions、Memphis、TN）によって共記載した。アルギン酸塩の初期注射の6、14および26時間後に、この工程を繰り返した。PET像を復元した。Inveon Research Workshopを用いて、小動物PET像を解析した。CT解剖学ガイドラインを用いて対象となる領域をPET像から選択し、これらに関連する活性をInveon Research Workshopソフトウェアによって測定した。

【0115】

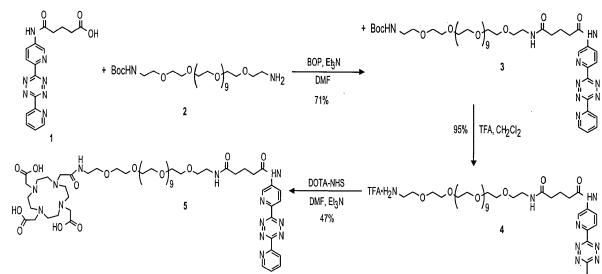
前記発明を、理解を明確にする目的で実例および例としていくらか詳細に記載してきたが、当業者であれば、添付の特許請求の範囲の範囲内で一定の変更および修正を行ってもよいことを認識するだろう。さらに、本明細書に提供される各参考文献は、あたかも各参考文献が参照により個別に組み込まれると同程度に全体が参照により組み込まれる。本出願と本明細書に提供される参考文献との間に矛盾が存在する場合、本出願が優先されるものとする。

10

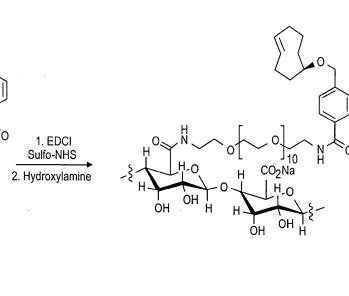
20

30

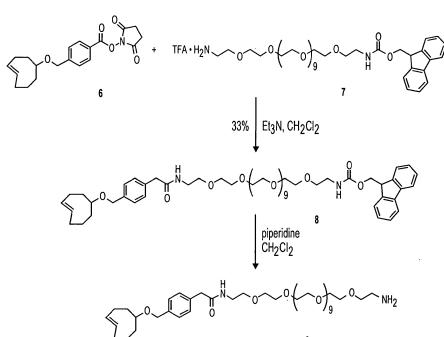
【図1】



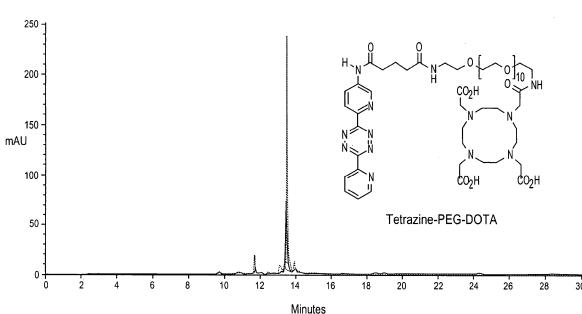
【図4】



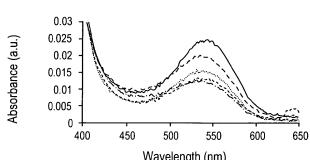
【図2】



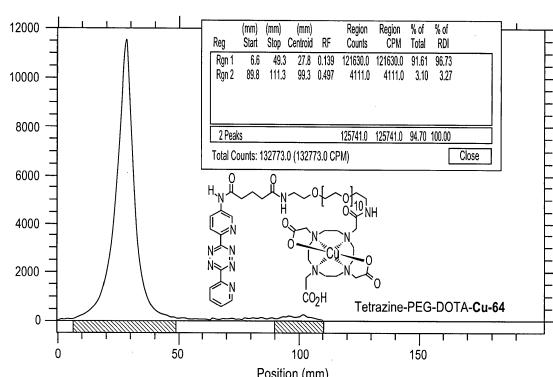
【図5】



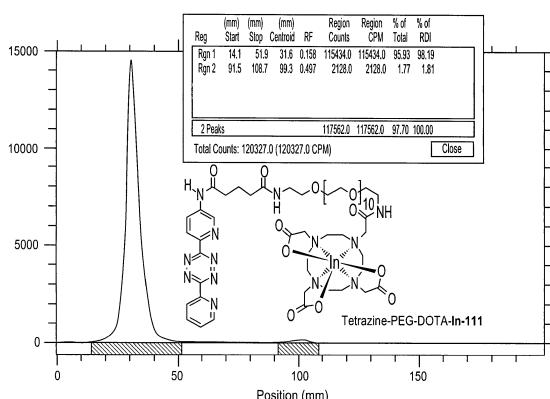
【図3】



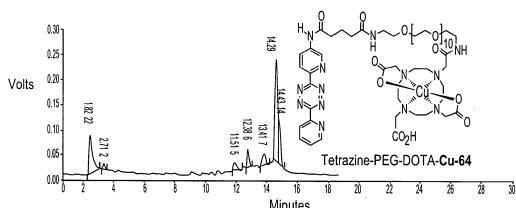
【図6】



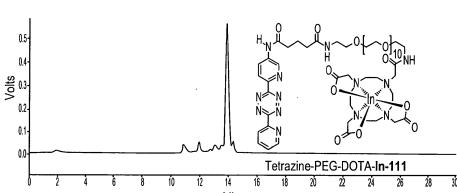
【図9】



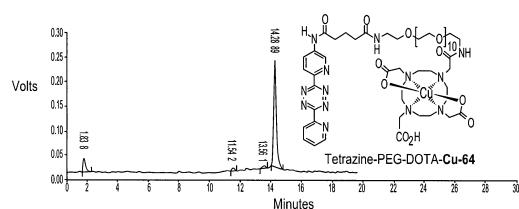
【図7】



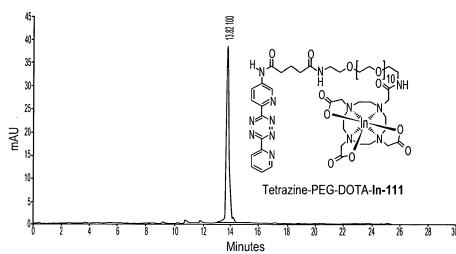
【図10】



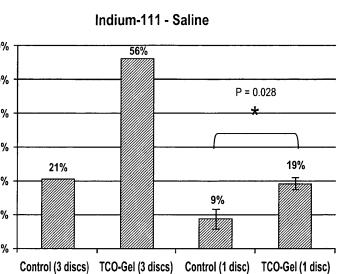
【図8】



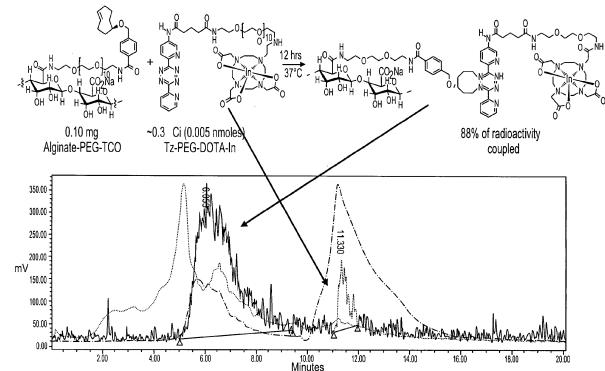
【図11】



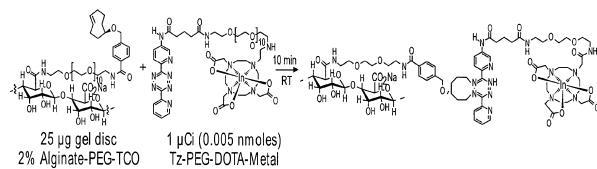
【図14】



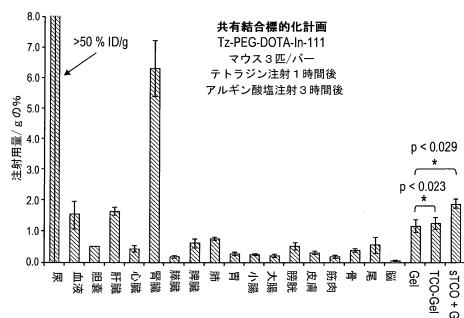
【図12】



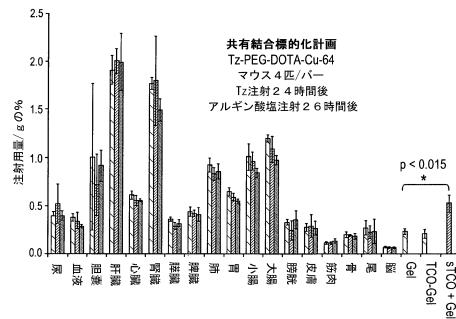
【図13】



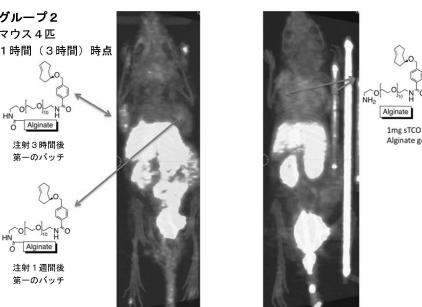
【図16】



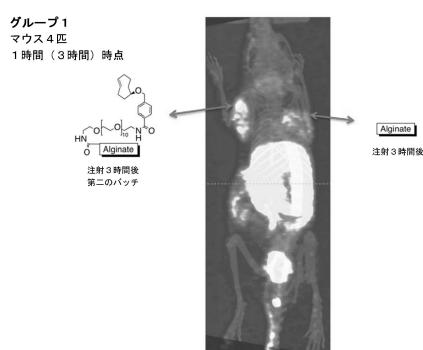
【図15】



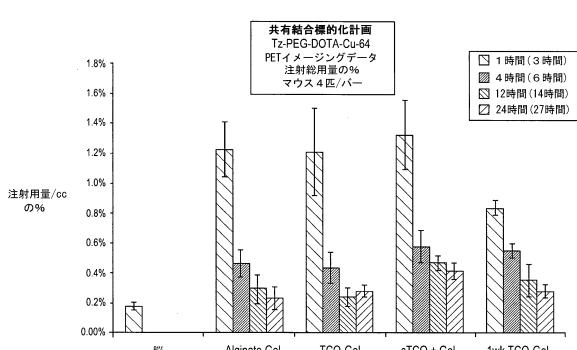
【図18】



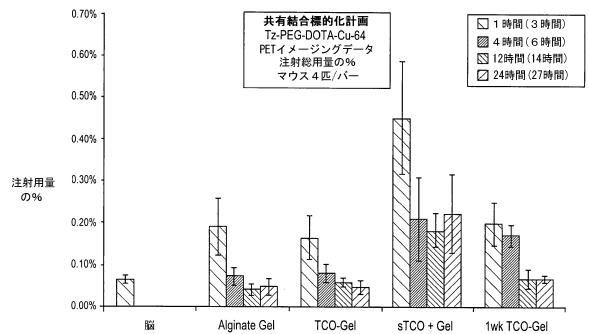
【図17】



【図19】



【図20】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I
A 6 1 K 47/30	(2006.01) A 6 1 K 47/30
A 6 1 K 47/02	(2006.01) A 6 1 K 47/02
A 6 1 K 47/04	(2006.01) A 6 1 K 47/04
A 6 1 P 19/08	(2006.01) A 6 1 P 19/08
A 6 1 P 29/00	(2006.01) A 6 1 P 29/00

(74)代理人 100090251

弁理士 森田 憲一

(74)代理人 100139594

弁理士 山口 健次郎

(74)代理人 100185915

弁理士 長山 弘典

(74)代理人 100194973

弁理士 尾崎 祐朗

(72)発明者 メヒア オネト ホセ マヌエル

アメリカ合衆国, カリフォルニア州 95618, デイビス, リサーチ パーク ドライブ 18
50, スイート 100

(72)発明者 アル - ラシド ジヤド エフ .

アメリカ合衆国, ペンシルベニア州 18104, アレンタウン, ノース サーティース ストリ
ート 326

審査官 山村 祥子

(56)参考文献 國際公開第2012/153254 (WO, A1)

國際公開第2003/084571 (WO, A1)

國際公開第2012/165462 (WO, A1)

特表2009-513696 (JP, A)

特開2010-036032 (JP, A)

Nanotechnology, Science and Applications, 2011年, Vol.4, p.87-94

Biomacromolecules, 2013年, Vol.14, p.949-953

PNAS, 2012年, Vol.109, No.13, p.4762-4767

Angewandte Chemie, 2010年, Vol.49, p.3375-3378

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2

A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)