

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第2区分

【発行日】平成28年12月22日(2016.12.22)

【公表番号】特表2016-535058(P2016-535058A)

【公表日】平成28年11月10日(2016.11.10)

【年通号数】公開・登録公報2016-063

【出願番号】特願2016-533388(P2016-533388)

【国際特許分類】

A 6 1 K	47/48	(2006.01)
C 1 2 N	15/00	(2006.01)
C 1 2 N	15/113	(2010.01)
A 6 1 K	47/42	(2006.01)
A 6 1 K	31/7105	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 P	43/00	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)

【F I】

A 6 1 K	47/48	
C 1 2 N	15/00	Z N A Z
C 1 2 N	15/00	G
A 6 1 K	47/42	
A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 P	43/00	1 0 5
A 6 1 P	35/00	

【手続補正書】

【提出日】平成28年10月28日(2016.10.28)

【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】

以下によって表される化合物を含む、インテグリン陽性腫瘍細胞にRNAiトリガーをインビボで送達するための医薬組成物：

R - L - P - RNAiトリガー

式中、Rは、RGD模倣体を含み、Lは生理学的に不安定な連結を含み、Pは膜活性ポリアミンを含む。

【請求項2】

前記インテグリンが $\gamma$ 、 $\delta$ インテグリンである、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項3】

前記RGD模倣体が、アミド結合を介してグリシン-アスパラギン酸ジペプチドに連結したグアニジニウム基を含む、請求項2に記載の医薬組成物。

【請求項4】

Lが

$A^1 A^2 - \text{アミドベンジル - カルバマート}$

(式中、 $A^1$ は、疎水性アミノ酸であり、 $A^2$ は、アミド結合を介して $A^1$ に連結した非

荷電親水性アミノ酸であり、該非荷電親水性アミノ酸は、中性pHで非荷電である。) を含む、請求項3に記載の医薬組成物：

【請求項5】

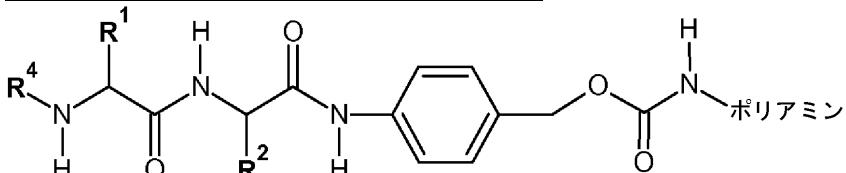
A<sup>1</sup>が、アラニン、フェニルアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、およびトリプトファンからなる群より選択される、請求項4に記載の医薬組成物。

【請求項6】

A<sup>2</sup>が、シトルリン、スレオニン、アスパラギン、およびグルタミンからなる群より選択される、請求項5に記載の医薬組成物。

【請求項7】

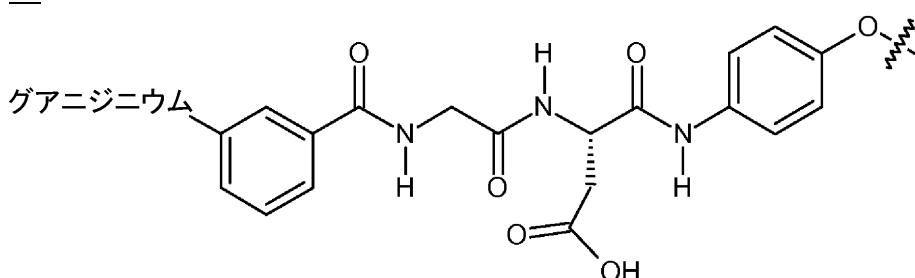
R-A<sup>1</sup>A<sup>2</sup>-アミドベンジル-カルバマート-Pが、以下によって表される構造を有する、請求項6に記載の医薬組成物：



式中、R<sup>4</sup>は、RGD模倣体を含み、R<sup>1</sup>は、疎水性アミノ酸の側基であり、R<sup>2</sup>は、非荷電親水性アミノ酸の側基であり、ポリアミンは、膜活性ポリアミンPである。

【請求項8】

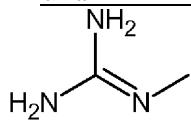
前記RGD模倣体が、以下によって表される構造を含む、請求項3に記載の医薬組成物：



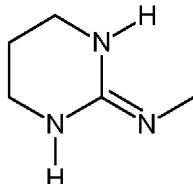
。

【請求項9】

前記グアニジニウムが、



およびその共鳴構造、または



およびその共鳴構造

より選択される、請求項8に記載の医薬組成物。

【請求項10】

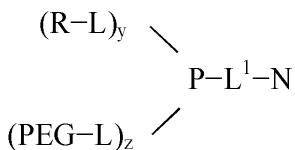
膜活性ポリアミンが可逆的に修飾されている、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項11】

前記化合物が、生理学的に不安定な可逆的共有結合を介して前記膜活性ポリアミンに連結したポリエチレングリコールをさらに含む、請求項1に記載の医薬組成物。

【請求項12】

前記化合物が以下によって表される構造を有する、請求項11に記載の医薬組成物：



式中、 $N$  は、RNAi トリガーであり、 $L^1$  は、任意であり、存在する場合には、生理学的に不安定な連結であり、PEG は、ポリエチレングリコールを含み、 $y$  は、ゼロより大きい整数であり、 $z$  は、ゼロより大きい整数である。

### 【請求項 1 3】

以下によって表される構造を含む、RGD 模倣体含有化合物：



式中、Rは、RGD模倣体を含み、A<sup>1</sup>は、疎水性アミノ酸であり、A<sup>2</sup>は、アミド結合を介してA<sup>1</sup>に連結した非荷電親水性アミノ酸であり、カルボナートは、アミンと反応でき、カルバマートを形成する、アミン反応性カルボナート部分を含む。

## 【請求項 1 4】

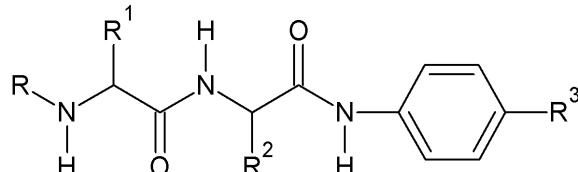
A<sup>1</sup>が、アラニン、フェニルアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、およびトリプトファンからなる群より選択される、請求項13に記載の化合物。

【請求項15】

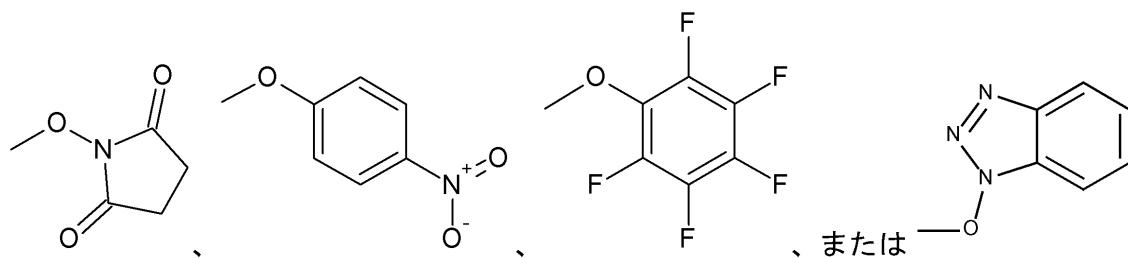
A<sup>2</sup>が、シトルリン、スレオニン、アスパラギン、およびグルタミンからなる群より選択される、請求項13に記載の化合物。

## 【請求項 1 6】

R - A<sup>1</sup> A<sup>2</sup> - アミドベンジル - カルボナートが、以下によって表される構造を有する  
、請求項 15 に記載の化合物：



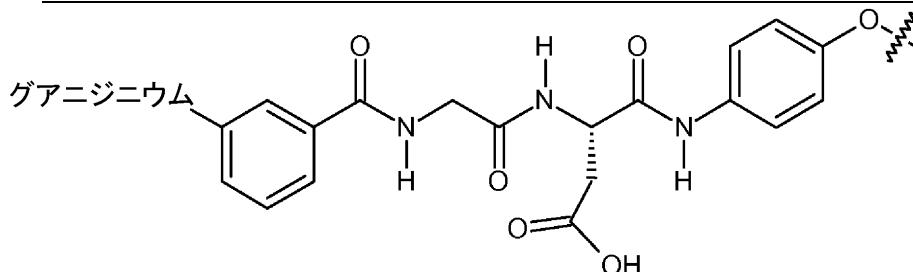
式中、R<sup>1</sup>は、疎水性アミノ酸A<sup>1</sup>の側基であり、R<sup>2</sup>は、非荷電親水性アミノ酸A<sup>2</sup>の側基であり、R<sup>3</sup>は、-CH<sub>2</sub>-O-C(=O)-Zであり、ここで-Zは、



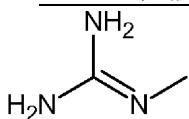
である。

## 【請求項 17】

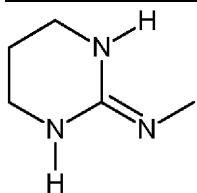
前記 R G D 模倣体が、以下によって表される構造を含む、請求項 1 3 に記載の化合物：



ここで、該グアニジニウムは、



およびその共鳴構造、または



およびその共鳴構造から選択される。

【請求項 18】

前記 RGD 模倣体が、PEG 連結部分を含む、請求項 13 に記載の化合物。

【請求項 19】

(a) R<sup>1</sup> が、-CH<sub>3</sub>、-(CH<sub>2</sub>)-フェニル、-CH-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>-(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、-CH(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>、およびトリプトファンからなる群より選択され、

(b) R<sup>2</sup> が、-(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>-NH-C(=O)-NH<sub>2</sub>、-CH<sub>2</sub>-C(=O)-NH<sub>2</sub>、および-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-C(=O)-NH<sub>2</sub> からなる群より選択される、

請求項 16 に記載の化合物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0018

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0018】

一実施形態において、RGD リガンドは、RGD リガンドのジペプチドへの連結およびマスキング剤の可溶性を助長するリンカーを用いてジペプチドに連結される。好ましいマスキング剤は、一般式：RGD リガンド - PEG 1 - ジアリールヒドラゾン - PEG 2 - ジペプチド - アミドベンジル - カルボナートを有する。各要素は、アミド結合の形成などの当該技術分野にて標準的な方法を用いて連結することができる。ジアリールヒドラゾンは、Hy Nic (ヒドラジノ - ニコチニアミド) とアリールアルデヒドとの反応によって生成することができる。PEG 1 は、(CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>n</sub> を含み、PEG 2 は (CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O)<sub>m</sub> を含む。n および m は、独立して、4 以上の整数であり、n と m の和は、12 ~ 48 である。PEG 基は、RGD リガンドの溶解性および提示を助長し、これにより、修飾ポリアミンの腫瘍標的化が向上する。驚くべきことに、ジアリールヒドラゾンはまた、修飾ポリアミンのインビオ機能も向上させる。一実施形態において、アリールアルデヒド - PEG 2 - ジペプチド - アミドベンジル - カルボナートを、初めにポリアミンと反応させて、アリールアルデヒド - PEG 2 - ジペプチド - アミドベンジル - カルバマート - ポリアミンを生成する。次いで、この化合物を RGD リガンド - PEG 1 - Hy Nic と反応させて、RGD リガンド - PEG 1 - ジアリールヒドラゾン - PEG 2 - ジペプチド - アミドベンジル - カルボマート - ポリアミンを生成する。

[本発明1001]

次式によって表される構造を含む、インテグリン陽性腫瘍細胞に RNAi トリガーをインビオで送達するための化合物：

R - A<sup>1</sup>A<sup>2</sup> - アミドベンジル - カルバマート - P

式中、R は、RGD リガンドを含み、A<sup>1</sup> は、疎水性アミノ酸であり、A<sup>2</sup> は、アミド結合を介して A<sup>1</sup> に連結した非荷電親水性アミノ酸であり、該非荷電親水性アミノ酸は、中性 pH で非荷電であり、P は、膜活性ポリアミンを含む。

[本発明1002]

$A^1$ が、アラニン、フェニルアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、およびトリプトファンからなる群から選択される、本発明1001の化合物。

[本発明1003]

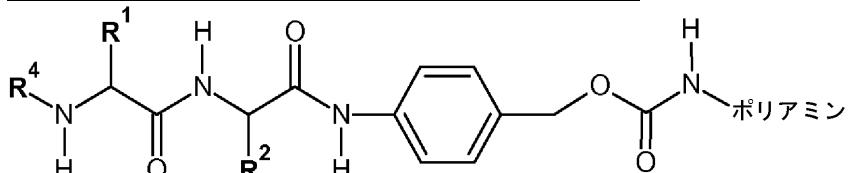
$A^2$ が、シトルリン、グリシン、スレオニン、アスパラギン、およびグルタミンからなる群から選択される、本発明1001～1002のいずれかの化合物。

[本発明1004]

前記インテグリンが  $\gamma_3$ インテグリンである、本発明1001～1003のいずれかの化合物。

[本発明1005]

$R - A^1 A^2 - \text{アミドベンジル} - \text{カルバマート} - P$ が、次式によって表される構造を有する、本発明1001～1004のいずれかの化合物：



式中、 $R^4$ は、RGDリガンドを含み、 $R^1$ は、疎水性アミノ酸の側基であり、 $R^2$ は、非荷電親水性アミノ酸の側基であり、ポリアミンは、膜活性ポリアミンPである。

[本発明1006]

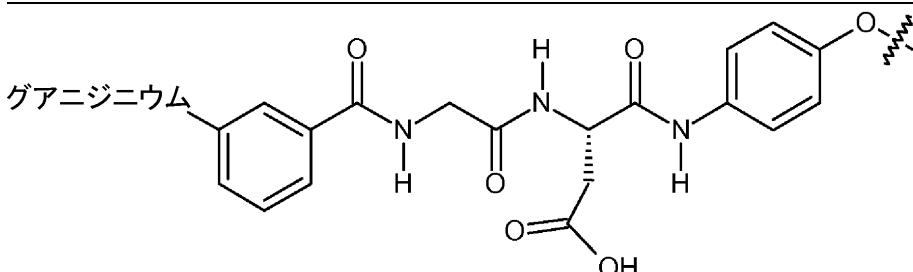
前記RGDリガンドがRGD模倣体を含む、本発明1001～1005のいずれかの化合物。

[本発明1007]

前記RGD模倣体が、アミド結合を介してグリシン-アスパラギン酸ジペプチドに連結したグアニジニウム基を含む、本発明1006の化合物。

[本発明1008]

前記RGD模倣体が、次式によって表される構造を含む、本発明1007の化合物：

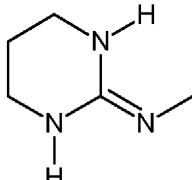


[本発明1009]

前記グアニジニウムが、



およびその共鳴構造、ならびに



およびその共鳴構造から選択される、本発明1008の化合物。

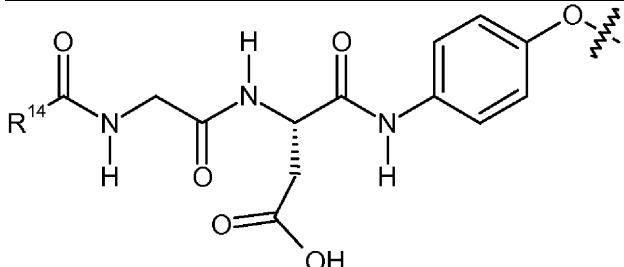
[本発明1010]

Rが、

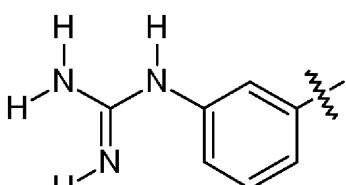
RGD模倣体-PAGE1-ジアリールヒドラゾン-PAGE2を含み、  
式中、

PEG1は(  $\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O}$  )<sub>n</sub>を含み、  
PEG2は(  $\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O}$  )<sub>m</sub>を含み、  
nおよびmは、独立して、4以上の整数であり、  
nとmの和は、12~48であり、

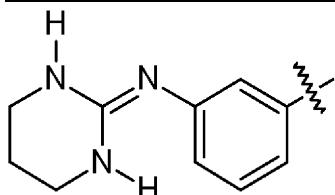
RGD模倣体は、次式によって表される構造からなり、



式中、R14は、



およびその共鳴構造、ならびに



およびその共鳴構造からなる群から選択される、

本発明1001~1005のいずれかの化合物。

[本発明1011]

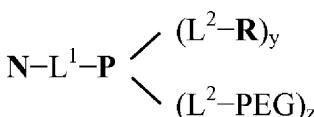
生理学的に不安定な可逆的共有結合を介して前記膜活性ポリアミンに連結したポリエチレンゲリコールをさらに含む、本発明1001~1010のいずれかの化合物。

[本発明1012]

前記RNAiトリガーが前記膜活性ポリアミンに共有結合している、本発明1001~1011のいずれかの化合物。

[本発明1013]

次式によって表される構造を有する、本発明1012の化合物：



式中、Nは、RNAiトリガーであり、L<sup>1</sup>は、生理学的に不安定な連結であり、PEGは、ポリエチレンゲリコールを含み、L<sup>2</sup>は、A<sup>1</sup>A<sup>2</sup>-アミドベンジル-カルバマートであり、yは、ゼロより大きい整数であり、zは、ゼロより大きい整数であり、yとzの和の値は、修飾されていない膜活性ポリアミン上のアミンの数により求めた膜活性ポリアミンP上に存在するアミンの数の50%よりも大きい。

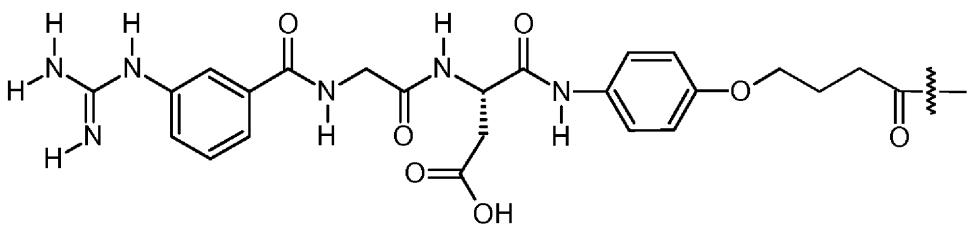
[本発明1014]

P-L<sup>2</sup>-Rが、

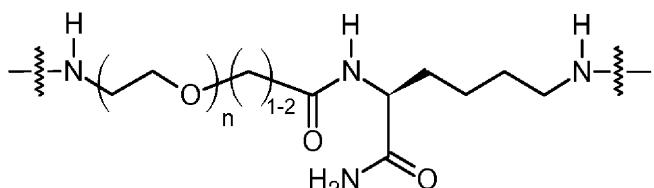
R-PEG'-ジアリールヒドラゾン-PEG''-AA-アミドベンジルカルバマート-ポリアミンを含み、

式中、

Rは、次式によって表される構造を有し、

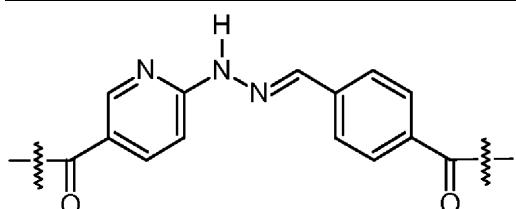


PEG' は、次式によって表される構造を有し、

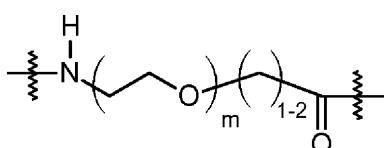


式中、 $N = 4 \sim 44$  であり、

ジアリールヒドラゾンは、次式によって表される構造を有し、

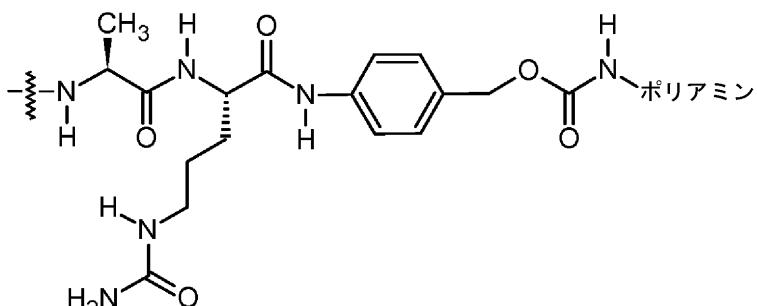


PEG' は、次式によって表される構造を有し、



式中、 $m$  は 4 ~ 44 であり、

AA - アミドベンジルカルバマート - ポリアミンは、次式によって表される構造を有し



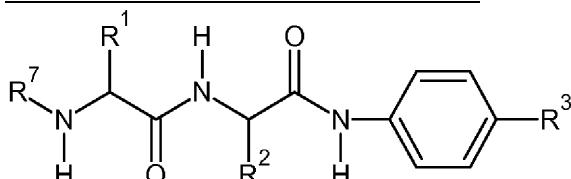
式中、ポリアミンは、膜活性ポリアミン P である、

## 本発明1013の化合物。

[本発明1015]

以下の段階を含む、インテグリン陽性腫瘍細胞にRNAiトリガーをインピボで送達するための化合物を生成するために、膜活性ポリアミンを可逆的に修飾するための方法：

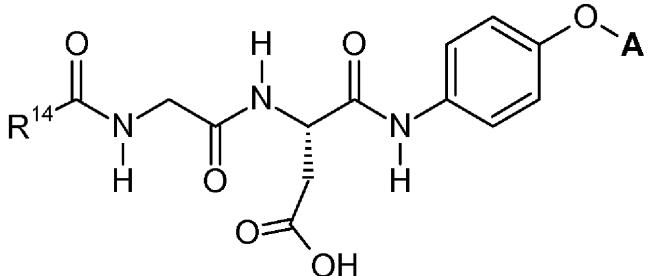
(a) 前記ポリアミン上の1つまたは複数のアミンを、次式によって表される構造をそれぞれ有する1つまたは複数の第1の化合物と反応させることにより、前記1つまたは複数のアミンを可逆的に修飾する段階：



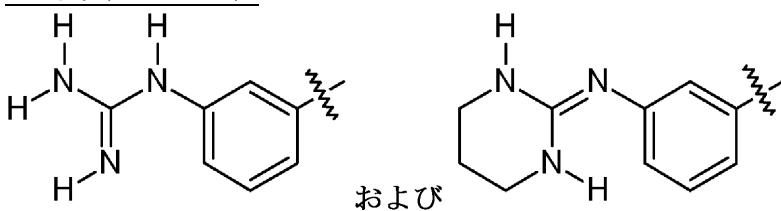
式中、R<sup>3</sup>は、前記アミンと反応してカルバニートを生成することができるアミン反応

性カルボナート部分を含み、R<sup>7</sup>は、前記アミン反応性カルボナートよりもアミン反応性の低い第1の反応性基を含み、R<sup>1</sup>は、疎水性アミノ酸の側基であり、R<sup>2</sup>は、非荷電親水性アミノ酸の側鎖であり、ならびに

(b) R<sup>7</sup>を、次式によって表される構造を有する第2の化合物と反応させる段階：



式中、R<sup>14</sup>は、



からなる群から選択され、

Aは、前記R7の第1の反応性基と反応して共有結合を形成することができる第2の反応性基に連結した、4～44のエトキシ単位を有するポリエチレングリコールを含む。

[本発明1016]

R<sup>7</sup>が、4～44のエトキシ単位を有するポリエチレングリコール基をさらに含む、本発明1015の方法。

[本発明1017]

前記ポリアミン上の1つまたは複数のアミンを、次式によって表される構造をそれぞれ有する1つまたは複数の化合物と反応させることにより、前記1つまたは複数のアミンを可逆的に修飾する段階をさらに含む、本発明1015～1016のいずれかの方法：

PEG - A<sup>1</sup>A<sup>2</sup> - アミドベンジル - カルボナート

PEGは、ポリエチレングリコールを含み、A<sup>1</sup>は、疎水性アミノ酸であり、A<sup>2</sup>は、アミド結合を介してA<sup>1</sup>に連結した非荷電親水性アミノ酸であり、該非荷電親水性アミノ酸は、中性pHで非荷電である。

[本発明1018]

前記ポリアミン上のアミンの数の80%以上が可逆的に修飾され、該修飾されたポリアミンが膜活性でない、本発明1015～1017のいずれかの方法。

[本発明1019]

RNAiトリガー分子が、生理学的に不安定な結合を介して前記ポリアミンに共有結合される、本発明1015～1018のいずれかの方法。

[本発明1020]

前記インテグリンが<sub>v</sub><sub>3</sub>インテグリンである、本発明1015～1019のいずれかの方法。