

【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24年11月22日(2012.11.22)

【公表番号】特表2012-505913(P2012-505913A)

【公表日】平成24年3月8日(2012.3.8)

【年通号数】公開・登録公報2012-010

【出願番号】特願2011-532268(P2011-532268)

【国際特許分類】

A 6 1 K	47/14	(2006.01)
A 6 1 K	9/127	(2006.01)
A 6 1 K	47/22	(2006.01)
A 6 1 K	48/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/713	(2006.01)
A 6 1 K	31/7105	(2006.01)
A 6 1 K	31/711	(2006.01)
A 6 1 K	47/42	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	1/16	(2006.01)
A 6 1 P	3/06	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	19/02	(2006.01)
A 6 1 P	19/08	(2006.01)
A 6 1 P	9/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/12	(2006.01)
C 0 7 K	7/06	(2006.01)
C 1 2 N	15/09	(2006.01)

【F I】

A 6 1 K	47/14	
A 6 1 K	9/127	
A 6 1 K	47/22	
A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	31/713	
A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	31/711	
A 6 1 K	47/42	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	1/16	
A 6 1 P	3/06	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	19/08	
A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	31/12	
C 0 7 K	7/06	Z N A
C 1 2 N	15/00	A

【手続補正書】

【提出日】平成24年9月27日(2012.9.27)

## 【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】

活性薬剤を含む組成物を作製するためのプロセスであって、

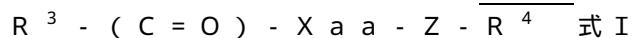
- a) 活性薬剤の水性緩衝溶液を含む第1の流れを提供することと、
- b) 有機溶媒中に1つ以上のリポソーム形成化合物の非水溶液を含む第2の流れを提供することと、
- c) 前記第1の流れと前記第2の流れとを衝突させ、それによって、約20%～約50%v/vの前記有機溶媒の濃度を有し、約6～約7.4のpHを有する、衝突流を形成することと、
- d) 約20～約35の温度で、約0.5時間～約8時間、収集リザーバー中で前記衝突流を培養し、それによって、リポソームを含む培養物を形成することと、を含む、プロセス。

## 【請求項2】

約20%v/v未満の前記有機溶媒の濃度を作製するのに十分な緩衝液を前記培養物に添加することによって、前記培養物を反応停止させることをさらに含む、請求項1に記載のプロセス。

## 【請求項3】

前記リポソーム形成化合物は、式I：



(式中、

Xaaaは、一般式 - N R<sup>N</sup> - C R<sup>1</sup> R<sup>2</sup> - (C=O) - を有する任意のD-またはL-アミノ酸残基、または2～20アミノ酸残基のペプチドであり、式中、

R<sup>1</sup>は、非水素、アミノ酸の、置換もしくは非置換の側鎖であり、

R<sup>2</sup>は、水素、または炭素、酸素、窒素、硫黄、および水素原子からなり、かつ1～20個の炭素原子を有する有機基、またはC(1～5)アルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、C(3～5)アルケニル、C(3～5)アルキニル、C(1～5)アルカノイル、C(1～5)アルカノイルオキシ、C(1～5)アルコキシ、C(1～5)アルコキシ-C(1～5)アルキル、C(1～5)アルコキシ-C(1～5)アルコキシ-C(1～5)アルキル-アミノ-C(1～5)アルキル-、C(1～5)ジアルキル-アミノ-C(1～5)アルキル-、ニトロ-C(1～5)アルキル、シアノ-C(1～5)アルキル、アリール-C(1～5)アルキル、4-ビフェニル-C(1～5)アルキル、カルボキシリル、もしくはヒドロキシリルであり、

R<sup>N</sup>は、水素、または炭素、酸素、窒素、硫黄、および水素原子からなり、かつ1～20個の炭素原子を有する有機基、またはC(1～5)アルキル、シクロアルキル、シクロアルキルアルキル、C(3～5)アルケニル、C(3～5)アルキニル、C(1～5)アルカノイル、C(1～5)アルカノイルオキシ、C(1～5)アルコキシ、C(1～5)アルコキシ-C(1～5)アルキル、C(1～5)アルコキシ-C(1～5)アルコキシ-C(1～5)アルキル-アミノ-C(1～5)アルキル-、ニトロ-C(1～5)アルキル、シアノ-C(1～5)アルキル、アリール-C(1～5)アルキル、4-ビフェニル-C(1～5)アルキル、カルボキシリル、もしくはヒドロキシリルであり、

R<sup>3</sup>は、天然に存在するか、もしくは合成のリン脂質、糖脂質、トリアシルグリセロール、グリセロリン脂質、スフィンゴ脂質、セラミド、スフィンゴミエリン、セレブロシド、もしくはガングリオシドに由来する親油性尾部；または置換もしくは非置換の、C(3～22)アルキル、C(6～12)シクロアルキル、C(6～12)シクロアルキル-C

(3-22)アルキル、C(3-22)アルケニル、C(3-22)アルキニル、C(3-22)アルコキシ、もしくはC(6-12)アルコキシ-C(3-22)アルキル；または任意の他の天然に存在するか、もしくは合成の脂質の親油性尾部であり；

R<sup>4</sup>は、天然に存在するか、もしくは合成のリン脂質、糖脂質、トリアシルグリセロール、グリセロリン脂質、スフィンゴ脂質、セラミド、スフィンゴミエリン、セレブロシド、もしくはガングリオシドに由来する親油性尾部；または置換もしくは非置換の、C(3-22)アルキル、C(6-12)シクロアルキル、C(6-12)シクロアルキル-C(3-22)アルキル、C(3-22)アルケニル、C(3-22)アルキニル、C(3-22)アルコキシ、もしくはC(6-12)アルコキシ-C(3-22)アルキル；または任意の他の天然に存在するか、もしくは合成の脂質の親油性尾部であり；

Zは、N H、O、S、-CH<sub>2</sub>S-、-CH<sub>2</sub>S(O)-、または水素、炭素、酸素、窒素、および硫黄原子から選択される1~40個の原子からなる有機リンカーである)を有する、1つ以上のDILA2アミノ酸化合物、ならびにその塩である、請求項1に記載のプロセス。

#### 【請求項4】

前記リポソーム形成化合物の1つは、PONAであり、前記PONAは、C18:1-ノルArg-C16である、請求項1に記載のプロセス。

#### 【請求項5】

前記第1の流れの体積流量は、前記第2の流れの体積流量の2倍以上である、請求項1に記載のプロセス。

#### 【請求項6】

前記衝突流の前記pHを、約3~約6るように調節することと、約3~約6のpHで培養することとをさらに含む、請求項1に記載のプロセス。

#### 【請求項7】

前記有機溶媒の濃度を調節するために、前記収集リザーバに緩衝液を添加することをさらに含む、請求項1に記載のプロセス。

#### 【請求項8】

前記活性薬剤が、約50%を上回るレベルで、好ましくは約70%を上回るレベルでリポソーム中にカプセル化される、請求項1に記載のプロセス。

#### 【請求項9】

前記活性薬剤は、遺伝子発現抑制剤、遺伝子調節剤、アンチセンス薬剤、ペプチド核酸薬剤、リボザイム薬剤、RNA薬剤、またはDNA薬剤であり、好ましくはロックされない核酸塩基アナログを含有するsiRNAである、請求項1に記載のプロセス。

#### 【請求項10】

接線流過後、前記リポソームは、直径約160nm未満の均一の大きさであるか、または約40nm~約160nm、もしくは約80nm~約150nmの平均直径を有する、請求項1に記載のプロセス。

#### 【請求項11】

前記有機溶媒は、注射用の滅菌水中で約40~約99%v/vの濃度の(C1-6)アルカノールである、請求項1に記載のプロセス。

#### 【請求項12】

前記培養時間は、約1時間~約4時間である、請求項1に記載のプロセス。

#### 【請求項13】

請求項1~12のうちのいずれか1項に記載のプロセスによって作製される、薬学的組成物。

#### 【請求項14】

生体細胞に治療核酸を送達するための非治療的方法であって、請求項1~12のうちのいずれか1項に記載のプロセスに従って組成物を調製することと、前記組成物で前記細胞を処置することと、を含む、方法。

**【請求項 1 5】**

癌、膀胱癌、肝臓癌、肝疾患、高コレステロール血症、炎症性疾患、代謝性疾患、炎症、関節炎、リウマチ性関節炎、脳炎、骨折、心臓疾患、およびウイルス性疾患を含む疾患を治療するための組成物であって、請求項 1 ~ 12 のうちのいずれか 1 項に記載のプロセスに従って作製される組成物。

**【手続補正 2】**

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0044

【補正方法】変更

【補正の内容】

**【0044】**

幾つかの変形において、本開示は、リウマチ性関節炎を含む炎症性疾患、高コレステロール血症を含む代謝性疾患、肝疾患、脳炎、骨折、心臓疾患、肝炎およびインフルエンザを含むウイルス性疾患、ならびに癌から選択される疾患を治療するためのリポソーム組成物の使用を提供する。

本発明は、例えば以下の項目を提供する。

**(項目 1)**

活性薬剤を含む組成物を作製するためのプロセスであって、

a) 活性薬剤の水性緩衝溶液を含む第1の流れを提供することと、

b) 有機溶媒中に1つ以上のリポソーム形成化合物の非水溶液を含む第2の流れを提供することと、

c) 前記第1の流れを前記第2の流れに衝突させ、それによって、約20%~約50% v/v の前記有機溶媒の濃度を有し、約6~約7.4のpHを有する、衝突流を形成することと、

d) 約20~約35の温度で、約0.5時間~約8時間、収集リザーバー内で前記衝突流を培養し、それによって、リポソームを含む培養物を形成することと、を含む、プロセス。

**(項目 2)**

約20% v/v 未満の前記有機溶媒の濃度を作製するのに十分な緩衝液を前記培養物に添加することによって、前記培養物を反応停止させることをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

**(項目 3)**

前記リポソーム形成化合物は、1つ以上のDILA2アミノ酸化合物である、項目1に記載のプロセス。

**(項目 4)**

前記リポソーム形成化合物の1つは、PONA、C18:1-ノルArg-C16である、項目1に記載のプロセス。

**(項目 5)**

前記第1の流れの体積流量は、前記第2の流れの体積流量の2倍以上であることをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

**(項目 6)**

前記第1の流れの体積流量は、前記第2の流れの体積流量の3倍以上であることをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

**(項目 7)**

前記第1の流れの体積流量は、前記第2の流れの体積流量の5倍以上であることをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

**(項目 8)**

前記衝突流の前記pHを、約3~約6であるように調節することをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

(項目9)

約3～約6のpHで培養することをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

(項目10)

前記有機溶媒の濃度を調節するために、前記収集リザーバに緩衝液を添加することをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

(項目11)

前記活性薬剤が、約50%を上回るレベルでリポソーム中にカプセル化されることをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

(項目12)

前記活性薬剤が、約70%を上回るレベルでリポソーム中にカプセル化されることをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

(項目13)

前記活性薬剤は、遺伝子発現抑制剤、遺伝子調節剤、アンチセンス薬剤、ペプチド核酸薬剤、リボザイム薬剤、RNA薬剤、またはDNA薬剤である、項目1に記載のプロセス。

(項目14)

前記活性薬剤はUsiRNAである、項目1に記載のプロセス。

(項目15)

前記活性薬剤は薬学的化合物である、項目1に記載のプロセス。

(項目16)

前記リポソーム組成物は、45の温度で7日間、遺伝子発現抑制活性を保持する、項目1に記載のプロセス。

(項目17)

前記リポソーム組成物は、45の温度で7日間、前記活性薬剤のカプセル化を保持する、項目1に記載のプロセス。

(項目18)

接線流濾過後、前記リポソームは、直径約160nm未満の均一の大きさである、項目1に記載のプロセス。

(項目19)

接線流濾過後、前記リポソームは、約40nm～約160nmの平均直径を有する均一の大きさである、項目1に記載のプロセス。

(項目20)

接線流濾過後、前記リポソームは、約80nm～約150nmの平均直径を有する均一の大きさである、項目1に記載のプロセス。

(項目21)

接線流濾過および透析濾過によって前記培養物を濾過することをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

(項目22)

前記培養物を滅菌することをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

(項目23)

異なる薬学的に許容される緩衝液と前記有機溶媒を交換することをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

(項目24)

約1%～約40%v/vの濃度で、前記第1の流れに有機溶媒を添加することをさらに含む、項目1に記載のプロセス。

(項目25)

前記有機溶媒は、注射用の滅菌水中で約40～約99%v/vの濃度の(C1-6)アルカノールである、項目1に記載のプロセス。

(項目26)

前記有機溶媒は、注射用の滅菌水中の約70～約95%v/vの濃度の(C1-6)アルカノールである、項目1に記載のプロセス。

(項目27)

前記培養時間は、約1時間～約4時間である、項目1に記載のプロセス。

(項目28)

項目1～27のうちのいずれか1項に記載のプロセスによって作製される、薬学的組成物。

(項目29)

生体細胞に治療核酸を送達するための方法であって、項目1～27のうちのいずれか1項に記載のプロセスに従って組成物を調製することと、前記組成物で前記細胞を処置することと、を含む、方法。

(項目30)

生体細胞内の遺伝子の発現を阻害するための方法であって、項目1～27のうちのいずれか1項に記載のプロセスに従って組成物を調製すること、および前記組成物で前記細胞を処置することを含む、方法。

(項目31)

哺乳動物において、遺伝子の発現を阻害するための方法であって、項目1～27のうちのいずれか1項に記載のプロセスに従って組成物を調製することと、前記哺乳動物に前記組成物を投与することと、を含む、方法。

(項目32)

ヒトにおいて、疾患を治療するための方法であって、項目1～27のうちのいずれか1項に記載のプロセスに従って組成物を調製することと、前記ヒトに前記組成物を投与することと、を含み、前記疾患は、癌、膀胱癌、肝臓癌、肝疾患、高コレステロール血症、炎症性疾患、代謝性疾患、炎症、関節炎、リウマチ性関節炎、脳炎、骨折、心臓疾患、およびウイルス性疾患である、方法。

(項目33)

癌、膀胱癌、肝臓癌、肝疾患、高コレステロール血症、炎症性疾患、代謝性疾患、炎症、関節炎、リウマチ性関節炎、脳炎、骨折、心臓疾患、およびウイルス性疾患を含む疾患を治療するための、項目1～27のうちのいずれか1項に記載のプロセスに従って作製される組成物の使用。

(項目34)

癌、膀胱癌、肝臓癌、肝疾患、高コレステロール血症、炎症性疾患、代謝性疾患、炎症、関節炎、リウマチ性関節炎、脳炎、骨折、心臓疾患、およびウイルス性疾患を含む疾患を治療するための医薬の調製における、項目1～27のうちのいずれか1項に記載のプロセスに従って作製される組成物の使用。

(項目35)

1個以上の担体粒子を含有するリポソームを含む組成物であって、各担体粒子は、活性核酸薬剤およびペプチドを含み、前記ペプチドの質量 + 前記リポソームの質量 / 前記核酸薬剤の質量の比は、約15未満である、組成物。

(項目36)

前記ペプチドの質量 + 前記リポソームの質量 / 前記核酸薬剤の質量の比は、約12未満である、項目35に記載の組成物。

(項目37)

前記ペプチドの質量 + 前記リポソームの質量 / 前記核酸薬剤の質量の比は、約10未満である、項目35に記載の組成物。

(項目38)

前記ペプチドの質量 + 前記リポソームの質量 / 前記核酸薬剤の質量の比は、約9未満である、項目35に記載の組成物。

(項目39)

前記ペプチドの質量 + 前記リポソームの質量 / 前記核酸薬剤の質量の比は、約8未満である、項目35に記載の組成物。

(項目40)

前記ペプチドの質量 + 前記リポソームの質量 / 前記核酸薬剤の質量の比は、約 5 未満である、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 4 1 )

前記組成物は、生体内で、A p o B の遺伝子発現を抑制するための 5 0 % 以上のノックダウン活性を有する、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 4 2 )

前記組成物は、生体内で、A p o B の遺伝子発現を抑制するための 7 0 % 以上のノックダウン活性を有する、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 4 3 )

前記組成物は、生体内で、A p o B の遺伝子発現を抑制するための 9 0 % 以上のノックダウン活性を有する、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 4 4 )

前記組成物は、アミノ酸脂質を含むリポソームを含有する、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 4 5 )

前記組成物は、荷電した担体粒子を含有する、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 4 6 )

前記組成物は、負に荷電した担体粒子を含有する、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 4 7 )

前記組成物は、正に荷電した担体粒子を含有する、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 4 8 )

前記活性核酸薬剤は、R N A i 誘導薬剤またはアンチセンス薬剤である、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 4 9 )

前記活性核酸薬剤は、R N A i 誘導薬剤またはアンチセンス薬剤であり、各リポソームは、前記活性薬剤分子の 5 0 0 個以上の複製を含有する、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 5 0 )

前記活性核酸薬剤は、R N A i 誘導薬剤またはアンチセンス薬剤であり、各リポソームは、前記活性薬剤分子の 1 0 0 0 個以上の複製を含有する、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 5 1 )

前記活性核酸薬剤は、R N A i 誘導薬剤またはアンチセンス薬剤であり、各リポソームは、前記活性薬剤分子の 5 0 0 0 個以上の複製を含有する、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 5 2 )

前記ペプチドは、切断可能なペプチドである、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 5 3 )

前記ペプチドは、架橋可能なペプチドである、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 5 4 )

前記ペプチドは、配列番号 3 7 3 を有する P N 4 1 1 0 である、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 5 5 )

前記ペプチドは、配列番号 3 7 5 を有する P N 1 8 3 である、項目 3 5 に記載の組成物。

(項目 5 6 )

細胞に活性核酸薬剤を送達するための方法であって、項目 3 5 ~ 5 5 のうちのいずれか 1 項に従って組成物を調製することと、前記組成物で前記細胞を処置することと、を含む、方法。

(項目 5 7 )

細胞内の遺伝子の発現を阻害するための方法であって、項目 3 5 ~ 5 5 のうちのいずれか 1 項に従って組成物を調製することと、前記組成物で前記細胞を処置することと、を含む、方法。

(項目 5 8 )

哺乳動物において、遺伝子の発現を阻害するための方法であって、項目 3 5 ~ 5 5 のうち

のいずれか 1 項に従って組成物を調製することと、前記哺乳動物に前記組成物を投与することと、を含む、方法。

(項目 59)

ヒトにおいて、疾患を治療するための方法であって、該疾患は、リウマチ性関節炎を含む炎症性疾患、高コレステロール血症を含む代謝性疾患、肝疾患、脳炎、骨折、心臓疾患、肝炎およびインフルエンザを含むウイルス性疾患、ならびに癌から選択され、項目 35 ~ 55 のうちのいずれか 1 項に従って組成物を調製することと、前記ヒトに前記組成物を投与することと、を含む、方法。

(項目 60)

リウマチ性関節炎を含む炎症性疾患、高コレステロール血症を含む代謝性疾患、肝疾患、脳炎、骨折、心臓疾患、肝炎およびインフルエンザを含むウイルス性疾患、ならびに癌を含む疾患を治療するための医薬の調製における、項目 35 ~ 55 のうちのいずれか 1 項に記載の組成物の使用。

(項目 61)

リウマチ性関節炎を含む炎症性疾患、高コレステロール血症を含む代謝性疾患、肝疾患、脳炎、骨折、心臓疾患、肝炎およびインフルエンザを含むウイルス性疾患、ならびに癌を含む疾患を治療するための、項目 35 ~ 55 のうちのいずれか 1 項に記載の組成物の使用。

。