

【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30年9月20日(2018.9.20)

【公表番号】特表2017-526744(P2017-526744A)

【公表日】平成29年9月14日(2017.9.14)

【年通号数】公開・登録公報2017-035

【出願番号】特願2017-528765(P2017-528765)

【国際特許分類】

A 6 1 K	9/127	(2006.01)
A 6 1 K	47/66	(2017.01)
A 6 1 K	47/60	(2017.01)
A 6 1 K	47/69	(2017.01)
A 6 1 K	47/54	(2017.01)
A 6 1 K	47/24	(2006.01)
A 6 1 K	47/28	(2006.01)
A 6 1 K	47/26	(2006.01)
A 6 1 K	47/12	(2006.01)
A 6 1 K	47/68	(2017.01)
A 6 1 K	9/19	(2006.01)
A 6 1 K	47/10	(2006.01)
A 6 1 K	47/34	(2017.01)
A 6 1 K	47/32	(2006.01)
A 6 1 K	47/36	(2006.01)
A 6 1 K	31/06	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 K	45/06	(2006.01)
A 6 1 K	31/352	(2006.01)
A 6 1 K	31/716	(2006.01)
A 6 1 K	31/519	(2006.01)
A 6 1 K	31/505	(2006.01)
A 6 1 K	31/155	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	37/04	(2006.01)
A 6 1 K	39/395	(2006.01)
A 6 1 K	39/385	(2006.01)
A 6 1 K	39/39	(2006.01)
A 6 1 K	49/00	(2006.01)
B 8 2 Y	5/00	(2011.01)
B 8 2 Y	40/00	(2011.01)

【F I】

A 6 1 K	9/127
A 6 1 K	47/66
A 6 1 K	47/60
A 6 1 K	47/69
A 6 1 K	47/54
A 6 1 K	47/24
A 6 1 K	47/28
A 6 1 K	47/26
A 6 1 K	47/12

A 6 1 K	47/68
A 6 1 K	9/19
A 6 1 K	47/10
A 6 1 K	47/34
A 6 1 K	47/32
A 6 1 K	47/36
A 6 1 K	31/06
A 6 1 K	45/00
A 6 1 K	45/06
A 6 1 K	31/352
A 6 1 K	31/716
A 6 1 K	31/519
A 6 1 K	31/505
A 6 1 K	31/155
A 6 1 P	35/00
A 6 1 P	37/04
A 6 1 K	39/395
A 6 1 K	39/395
A 6 1 K	39/385
A 6 1 K	39/39
A 6 1 K	49/00
B 8 2 Y	5/00
B 8 2 Y	40/00

C

L

**【手続補正書】****【提出日】**平成30年8月9日(2018.8.9)**【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】**

内部空間を含むリポソーム、

前記内部空間内に配置された生物活性抗葉酸剤、

リポソームの外部に付加されたPEG、及び

少なくとも1つの葉酸受容体に対する特異的親和性を有するタンパク質であって、前記PEG及び前記リポソームの外部のうちの少なくとも一方に付加されているタンパク質を含み、

前記リポソームのゼータ電位がゼロ以下であり、

前記PEGが、200～5000ダルトンの数平均分子量( $M_n$ )を有していてもよい、リポソーム抗葉酸剤組成物。**【請求項2】**

リポソームが、生物活性抗葉酸剤及び薬学的に許容される水性担体を封入しており、前記薬学的に許容される担体がトレハロースを含んでいてもよく、

前記薬学的に許容される担体が、5%～20%質量パーセントのトレハロースを含んでいてもよく、

前記薬学的に許容される担体が、5～200mMの間の濃度及び2.8～6の間のpHのクエン酸緩衝液を含んでいてもよく、

前記薬学的に許容される担体が、50mM～500mMの間の総濃度の酢酸ナトリウム及

び酢酸カルシウムを含んでいてもよい、

請求項 1 に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

**【請求項 3】**

D S P E、D S P E - P E G - マレイミド、H S P C、H S P C - P E G、コレステロール、コレステロール - P E G 及びコレステロール - マレイミドの少なくとも一つ、又は、D S P E、D S P E - P E G - F I T C、D S P E - P E G - マレイミド、コレステロール及びH S P C の少なくとも一つ、

水性溶液中の生物活性抗葉酸剤、

タンパク質

を含む混合物を形成するステップ、

前記混合物を均質化して、前記水性溶液中にリポソームを形成するステップ、及び膜を通して前記混合物を押し出して、前記水性溶液中に前記生物活性抗葉酸剤を封入するリポソームを形成するステップ  
を含み、

前記押出しステップ後に、前記水性溶液中の過剰な生物活性抗葉酸剤を前記リポソームの外部に除去するステップを含んでもよく、

前記除去ステップ後に、前記組成物を凍結乾燥させ、凍結乾燥組成物を形成するステップを含んでもよく、

前記凍結乾燥ステップ後に、前記凍結乾燥組成物を溶媒中に溶解させることにより、前記凍結乾燥組成物を復元するステップを含んでもよく、

前記溶媒が水性溶媒であってもよく、

前記混合物が、マンニトール、トレハロース、ソルビトール、及びスクロースからなる群から選択される少なくとも 1 つを含んでいてもよい、

請求項 1 に記載の組成物を調製する方法。

**【請求項 4】**

内部空間を含むリポソームを含む媒体、

前記内部空間内に配置された水性生物活性抗葉酸剤、

少なくとも 1 つの葉酸受容体に対する特異的親和性を有するタンパク質であって、前記リポソームの外部に配置されているタンパク質  
を含み、

前記媒体は、水性溶液であってもよく、

前記媒体は、マンニトール、トレハロース、ソルビトール、及びスクロースからなる群から選択される、少なくとも 1 つの抗凍結剤を含む水性溶液であってもよく、

前記リポソームの外部に付加された立体安定剤をさらに含み、前記タンパク質が、前記立体安定剤及び前記リポソームの外部のうちの少なくとも一方に付加されていてもよく、

前記立体安定剤が、ポリエチレングリコール (P E G)、ポリ - L - リジン (P L L)、モノシアロガングリオシド (G M 1)、ポリ (ビニルピロリドン) (P V P)、ポリ (アクリルアミド) (P A A)、ポリ (2 - メチル - 2 - オキサゾリン)、ポリ (2 - エチル - 2 - オキサゾリン)、ホスファチジルポリグリセロール、ポリ [N - (2 - ヒドロキシプロピル) メタクリルアミド]、両親媒性ポリ - N - ビニルピロリドン、L - アミノ酸ペースポリマー及びポリビニルアルコールからなる群から選択される少なくとも 1 つであってもよく、

前記P E Gが、2 0 0 ~ 5 0 0 0 ダルトンの数平均分子量 (M n) を有していてもよい、リポソーム抗葉酸剤組成物。

**【請求項 5】**

前記立体安定剤及び前記リポソームの外部のうちの少なくとも一方に配置された免疫刺激剤及びマレイミドのうちの少なくとも 1 つをさらに含み、

前記免疫刺激剤が、前記立体安定剤及び前記リポソームの外部のうちの少なくとも一方と共有結合していてもよく、

前記免疫刺激剤が、ハプテン及びアジュバントからなる群から選択される少なくとも 1 つ

、フルオレセインイソチオシアネート( FITC )、又は、フルオレセイン、DNP、ベータグルカン、ベータ-1,3-グルカン及びベータ-1,6-グルカンからなる群から選択される少なくとも1つであってもよい、

請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項6】

前記リポソームが、30~150nmの範囲の、好ましくは40~70nmの範囲の、直径を有する、請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項7】

前記リポソームが、アニオン性リポソーム又は中性リポソームであり、前記リポソームのゼータ電位がゼロ以下、好ましくは0~-150mVの範囲、より好ましくは-30~-50mVの範囲であってもよい、  
請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項8】

アニオン性脂質及び中性脂質のうちの少なくとも1つ、  
DSP-E、DSP-E-P EG、DSP-E-マレイミド、HSP-C、HSP-C-P EG、  
HSP-C-マレイミド、コレステロール、コレステロール-P EG及びコレステロール-  
マレイミドからなる群から選択されるすくなくとも1つ、及び  
DSP-E、DSP-E-FITC、DSP-E-マレイミド、コレステロール及びHSP-C  
からなる群から選択される少なくとも1つ  
から形成される、請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項9】

前記リポソームが水性溶液を封入しており、  
前記リポソームが生物活性抗葉酸剤及び薬学的に許容される水性担体を封入していてもよく、  
前記薬学的に許容される担体がトレハロースを含んでいてもよく、  
前記薬学的に許容される担体が、5%~20%質量パーセントのトレハロースを含んでいてもよく、  
前記薬学的に許容される担体が、5~200mMの間の濃度及び2.8~6の間のpHの  
クエン酸緩衝液を含んでいてもよく、  
前記薬学的に許容される担体が、50mM~500mMの間の総濃度の酢酸ナトリウム及び  
酢酸カルシウムを含んでいてもよい、  
請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項10】

前記生物活性抗葉酸剤が水溶性である、請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項11】

各リポソームが、200,000分子未満の、好ましくは10,000~100,000分子の、前記生物活性抗葉酸剤を含む、請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項12】

前記生物活性抗葉酸剤がペメトレキセド、ロメテレキソール、メトトレキセート、ラリトレキセド、アミノブテリン、プララトレキセート、ロメテレキソール、トリメトレキセド、LY309887、GW1843U89、プログアニル、ピリメタミン、トリメトブリム、並びに、6-置換ピロ口及びチエノ[2,3-d]ピロ口ピリミジンクラスのGARFT阻害剤からなる群から選択される少なくとも1つであるである、請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項13】

前記生物活性抗葉酸剤が5~8の、好ましくは2~6の、pHである、請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項14】

前記タンパク質が、マレイミド官能基を介して、立体安定剤分子に共有結合している、  
請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項15】

前記タンパク質が、葉酸受容体アルファ、葉酸受容体ベータ、及び葉酸受容体デルタからなる群から選択される少なくとも1つ、好ましくは少なくとも2つ、より好ましくは少なくとも3つ、に対する特異的親和性を有する、請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項16】

前記タンパク質が、腫瘍細胞には存在するが、非腫瘍細胞では存在しないか又は接触不能である、腫瘍細胞表面抗原上のエピトープに対する特異的親和性を有し、  
前記腫瘍細胞が悪性細胞であってよく、

前記腫瘍細胞表面抗原が、葉酸受容体アルファ、葉酸受容体ベータ及び葉酸受容体デルタからなる群から選択される少なくとも1つであってよい、

請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項17】

前記タンパク質が、抗体の抗原結合配列を含み、  
前記抗体の抗原結合配列が、抗体由来の1つ又は複数の相補性決定領域を含んでいてもよく、

前記タンパク質は抗体を含んでいてよい、

請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項18】

前記タンパク質が、抗体、ヒト化抗体、抗体の抗原結合断片、单鎖抗体、單一ドメイン抗体、二重特異性抗体、合成抗体、PEG化抗体、及び多量体抗体からなる群から選択される少なくとも1つである、請求項14～17のいずれか一項に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項19】

各リポソームが、200個までの、好ましくは30個～200個の、ターゲッティング部分を含む、請求項1又は4に記載のリポソーム抗葉酸剤組成物。

【請求項20】

アニオン性脂質及び中性脂質のうちの少なくとも1つ、

DSPe、DSPe-PEG、DSPe-マレイミド、HSPC、HSPC-PEG、HSPC-マレイミド、コレステロール、コレステロール-PEG及びコレステロール-マレイミドからなる群から選択される少なくとも1つ、

水性溶液中の生物活性抗葉酸剤、

タンパク質

を含む混合物を形成するステップ、

前記混合物を均質化して、前記水性溶液中にリポソームを形成するステップ、及び膜を通して前記混合物を押し出して、前記水性溶液中に前記生物活性抗葉酸剤を封入するリポソームを形成するステップ  
を含み、

前記押出しへ後、前記水性溶液中の過剰な生物活性抗葉酸剤を前記リポソームの外部に除去するステップを含んでいてもよく、

前記除去ステップ後に、前記組成物を凍結乾燥させ、凍結乾燥組成物を形成するステップを含んでいてもよく、

前記凍結乾燥ステップ後に、前記凍結乾燥組成物を溶媒中に溶解させることにより、前記凍結乾燥組成物を復元するステップを含んでいてもよく、

前記混合物が、マンニトール、トレハロース、ソルビトール、及びスクロースからなる群から選択される少なくとも1つを含んでいてもよく、

前記溶媒が水性溶媒であってよい、

請求項1又は4に記載の組成物を調製する方法。

**【請求項 2 1】**

形成されたリポソームが、立体安定剤をさらに含み、  
前記立体安定剤が、ポリエチレングリコール（PEG）、ポリ-L-リジン（PLL）、  
モノシアロガングリオシド（GM1）、ポリ（ビニルピロリドン）（PVP）、ポリ（ア  
クリルアミド）（PAA）、ポリ（2-メチル-2-オキサゾリン）、ポリ（2-エチル  
-2-オキサゾリン）、ホスファチジルポリグリセロール、ポリ[N-(2-ヒドロキシ  
プロピル)メタクリルアミド]、両親媒性ポリ-N-ビニルピロリドン、L-アミノ酸ベ  
ースポリマー及びポリビニルアルコールからなる群から選択される少なくとも1つであ  
てもよく、

前記PEGが、200～5000ダルトンの数平均分子量（Mn）を有していてもよい、  
請求項20に記載の方法。

**【請求項 2 2】**

内部空間を含むリポソーム、  
前記内部空間内に配置された生物活性剤、  
前記リポソームの外部に付加された立体安定剤分子、及び  
少なくとも1つの葉酸受容体に対する特異的親和性を有するタンパク質であって、前記立  
体安定剤及び前記リポソームの外部のうちの少なくとも一方に付加されているタンパク  
質  
を含み、

前記立体安定剤が、ポリエチレングリコール（PEG）、ポリ-L-リジン（PLL）、  
モノシアロガングリオシド（GM1）、ポリ（ビニルピロリドン）（PVP）、ポリ（ア  
クリルアミド）（PAA）、ポリ（2-メチル-2-オキサゾリン）、ポリ（2-エチル  
-2-オキサゾリン）、ホスファチジルポリグリセロール、ポリ[N-(2-ヒドロキシ  
プロピル)メタクリルアミド]、両親媒性ポリ-N-ビニルピロリドン、L-アミノ酸ベ  
ースポリマー、及びポリビニルアルコールからなる群から選択される少なくとも1つであ  
ってよく、

前記PEGが、200～5000ダルトンの数平均分子量（Mn）を有していてもよく、  
前記生物活性剤が、エリプチシン、パクリタキセル、ペメトレキセド、メトトレキセート  
、ラリトレキセド、アミノブテリン、プララトレキセート、ロメテレキソール、トリメト  
レキセド、LY309887、GW1843U89、ログニアニル、ピリメタミン、トリ  
メトプリム、並びに、6-置換ピロ口及びチエノ[2,3-d]ピロ口ピリミジンクラス  
のGART阻害剤からなる群のうちの少なくとも1つを含んでいてもよい、  
葉酸受容体を選択的に標的とする標的化リポソーム組成物。

**【請求項 2 3】**

癌治療薬を製造するための、請求項1、2、14～19及び22のいずれか一項に記載  
のリポソーム抗葉酸剤組成物の使用。

**【請求項 2 4】**

DSPe、DSPe-PEG、DSPe-マレイミド、HSPC、HSPC-PEG、  
HSPC-マレイミド、コレステロール、コレステロール-PEG及びコレステロール-  
マレイミドからなる群から選択されるすくなくとも1つ、及び、DSPe、DSPe-F  
ITC、DSPe-マレイミド、コレステロール及びHSPCからなる群から選択される  
少なくとも1つ、及び

生物活性剤をカプセル化するための組成物を使用するための説明書、  
を含み、

別の容器に入った、生物活性剤を含んでいてもよい、  
請求項8に記載の組成物を提供するためのキット。