



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118401495 A

(43) 申请公布日 2024. 07. 26

(21) 申请号 202280082023.4

(22) 申请日 2022.12.14

(30) 优先权数据

2021-204594 2021.12.16 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2024.06.12

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2022/045954 2022.12.14

(87) PCT国际申请的公布数据

W02023/112939 JA 2023.06.22

(71) 申请人 JSR株式会社

地址 日本东京港区东新桥一丁目9番2号

申请人 国立大学法人北海道大学

(72) 发明人 宫崎雄大 新井隆之 伊东祐敬

根岸走 原岛秀吉 佐藤悠介

(74) 专利代理机构 北京同立钧成知识产权代理有限公司 11205

专利代理师 杨芳 刘芳

(51) Int.Cl.

C07C 213/10 (2006.01)

A61K 9/51 (2006.01)

A61K 31/713 (2006.01)

A61K 47/18 (2017.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07C 219/06 (2006.01)

C07C 219/08 (2006.01)

C07C 227/40 (2006.01)

C07C 229/12 (2006.01)

C12N 15/113 (2010.01)

权利要求书2页 说明书13页

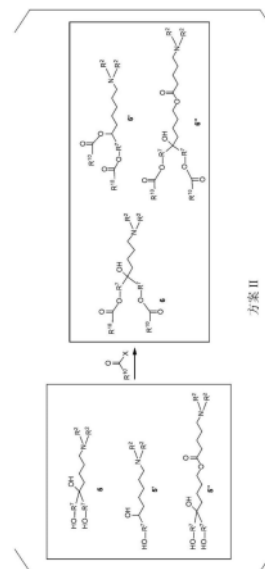
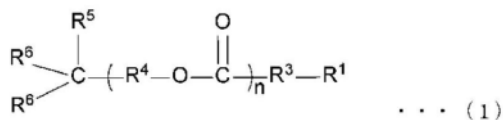
序列表(电子公布) 附图3页

(54) 发明名称

组合物的纯化方法

(57) 摘要

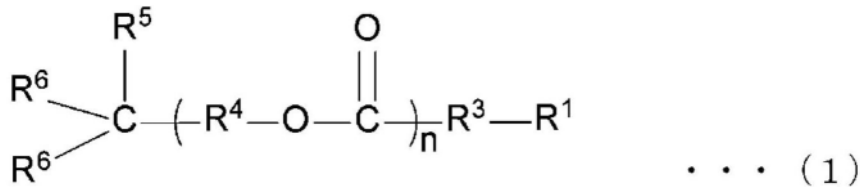
一种组合物的纯化方法,包括将包含下述式(1) [式(1)中,R<sup>1</sup>表示-N(R<sup>2</sup>)-R<sup>2</sup>(R<sup>2</sup>表示C1~C4的烷基),R<sup>3</sup>及R<sup>4</sup>表示C3~C8的烷二基,R<sup>5</sup>表示羟基,R<sup>6</sup>表示-R<sup>7</sup>-OH(R<sup>7</sup>表示C4~C12的烷二基)或氢原子,n表示0或1的整数]所示的化合物的组合物溶解于水层中进行液液萃取的工序,所述纯化方法中,所述液液萃取中使用的油层包含溶解度参数(SP值)为14.8~20.5(MPa<sup>1/2</sup>)的、选自由酮系液体、酯系液体及醚系液体所组成的群组中的一种或两种以上的液体。



1. 一种组合物的纯化方法,包括将包含下述式(1)所示的化合物的组合物溶解于水层中进行液液萃取,而对下述式(1)所示的化合物进行精制的工序,所述纯化方法中,

所述液液萃取中使用的油层包含溶解度参数(SP值)为14.8~20.5(MPa<sup>1/2</sup>)的、选自由酮系液体、酯系液体及醚系液体所组成的群组中的一种或两种以上的液体;

[化1]

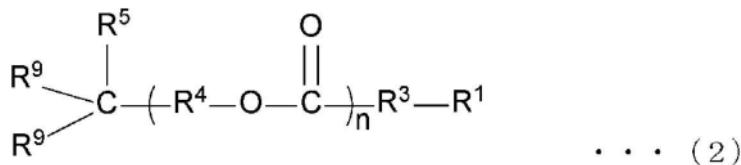


[式(1)中,R<sup>1</sup>表示-N(R<sup>2</sup>)-R<sup>2</sup>(此处,R<sup>2</sup>分别独立地表示C1~C4的烷基),R<sup>3</sup>表示C3~C8的烷二基,R<sup>4</sup>表示C3~C8的烷二基,R<sup>5</sup>表示羟基,R<sup>6</sup>分别独立地表示-R<sup>7</sup>-OH(此处,R<sup>7</sup>表示C4~C12的烷二基)或氢原子,n表示0或1的整数]。

2. 根据权利要求1所述的纯化方法,其中,所述酮系液体为环己酮、甲基异丁基酮或二异丙基酮,所述酯系液体为乙酸乙酯或乙酸丁酯,所述醚系液体为二乙醚、二丙醚、环戊基甲醚或丙二醇单甲醚乙酸酯。

3. 一种组合物,包含选自由化合物(2-1)、化合物(2-2)及化合物(2-3)所组成的群组中的一种或两种以上的化合物,所述化合物(2-1)是在下述式(2)所示的化合物中,n为0,两个R<sup>9</sup>均为-R<sup>7</sup>-O-C(O)-R<sup>10</sup>,R<sup>5</sup>为羟基的化合物;所述化合物(2-2)是在下述式(2)所示的化合物中,n为0,其中一个R<sup>9</sup>为-R<sup>7</sup>-O-C(O)-R<sup>10</sup>,另一个R<sup>9</sup>为-O-C(O)-R<sup>10</sup>,R<sup>5</sup>为氢原子的化合物;所述化合物(2-3)是在下述式(2)所示的化合物中,n为1,两个R<sup>9</sup>均为-R<sup>7</sup>-O-C(O)-R<sup>10</sup>,R<sup>5</sup>为羟基的化合物,且组合物中所含的化合物(2-1)、化合物(2-2)及化合物(2-3)的合计含有比例为90质量%以上;

[化2]



[式(2)中,R<sup>1</sup>表示-N(R<sup>2</sup>)-R<sup>2</sup>(此处,R<sup>2</sup>分别独立地表示C1~C4的烷基),R<sup>3</sup>表示C3~C8的烷二基,R<sup>4</sup>表示C3~C8的烷二基,R<sup>5</sup>表示羟基或氢原子,R<sup>9</sup>分别独立地表示-R<sup>7</sup>-O-C(O)-R<sup>10</sup>或-O-C(O)-R<sup>10</sup>(此处,R<sup>7</sup>表示C4~C12的烷二基,R<sup>10</sup>表示C4~C25的烯基),此处,至少一个R<sup>9</sup>为-R<sup>7</sup>-O-C(O)-R<sup>10</sup>,n表示0或1的整数]。

4. 根据权利要求3所述的组合物,其中,组合物中所含的所述化合物(2-1)的含有比例为85质量%~99质量%。

5. 根据权利要求3或4所述的组合物,其中,组合物中所含的所述化合物(2-2)及所述化合物(2-3)的合计含有比例为0.1质量%~15质量%。

6. 一种化合物,在根据权利要求3所述的式(2)中,n为0,其中一个R<sup>9</sup>为-R<sup>7</sup>-O-C(O)-R<sup>10</sup>,另一个R<sup>9</sup>为-O-C(O)-R<sup>10</sup>,R<sup>5</sup>为氢原子。

7. 一种化合物,在根据权利要求3所述的式(2)中,n为1,两个R<sup>9</sup>均为-R<sup>7</sup>-O-C(O)-R<sup>10</sup>,R<sup>5</sup>为羟基。

8. 一种脂质纳米粒子,由根据权利要求3或4所述的组合物中所含的化合物形成,且内封药物。

9. 一种脂质纳米粒子,由根据权利要求5所述的组合物中所含的化合物形成,且内封药物。

10. 根据权利要求8所述的脂质纳米粒子,其中,所述药物为短小干扰核糖核酸。

11. 根据权利要求9所述的脂质纳米粒子,其中,所述药物为短小干扰核糖核酸。

## 组合物的纯化方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种组合物的纯化方法。更详细而言,本发明涉及一种组合物的纯化方法、组合物、化合物、及脂质纳米粒子。本申请基于2021年12月16日在日本提出申请的日本专利特愿2021-204594号而主张优先权,并将其内容援用于本文中。

### 背景技术

[0002] 授予生物体的药物的大部分在到达受体或基因等靶部位 (on-target) 之前,在肝脏中代谢,并从肾脏排泄。另外,有时作用于非靶部位 (off-target),而引起副作用。

[0003] 药物递送系统 (Drug Delivery System, DDS) 是指为了最大限度地发挥药物的效果,而控制药物的体内动态的药物创新技术。通过 DDS, 可将药物以适当的浓度及期间内递送至靶部位 (on-target)。

[0004] 作为 DDS, 已知内封药剂的脂质纳米粒子等。例如, 专利文献1、非专利文献1中记载了一种内封短小干扰核糖核酸 (small interfering ribonucleic acid, siRNA) 的脂质纳米粒子。另外, 在专利文献1、非专利文献1中, 记载了内封 siRNA 的脂质纳米粒子有效用于通过利用以树突状细胞的免疫抑制因子为靶部位的 siRNA 的敲减的癌免疫疗法等。

[0005] 现有技术文献

[0006] 专利文献

[0007] 专利文献1: 美国专利申请公开第2017/00273905号说明书

[0008] 非专利文献

[0009] 非专利文献1: 瓦拉希纳S等人 (Warashina S., et al.) 着,《一种用于将 siRNA 有效递送至树突状细胞的脂质纳米颗粒 (A lipid nanoparticle for the efficient delivery of siRNA to dendritic cells), 控制释放期刊 (Journal of Controlled Release)》, 225, 183-191, 2016.

### 发明内容

[0010] 发明所要解决的问题

[0011] 但是, 本发明者等人发现, 在构成专利文献1、非专利文献1中记载的脂质纳米粒子的脂质中含有夹杂物, 所述夹杂物对内封 siRNA 的脂质纳米粒子在靶部位的体内动态造成不良影响, 并且降低靶基因的敲减效率。因此, 本发明的目的在于提供一种除去包含脂质的组合物中所含的夹杂物的技术。

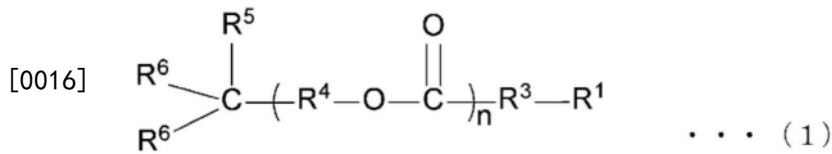
[0012] 解决问题的技术手段

[0013] 本发明包括以下的实施方式。

[0014] [1] 一种组合物的纯化方法, 包括将包含下述式 (1) 所示的化合物的组合物溶解于水层中进行液液萃取, 而对下述式 (1) 所示的化合物进行精制的工序, 所述纯化方法中, 所述液液萃取中使用的油层包含溶解度参数 (SP (solubility parameter) 值) 为 14.8 ~ 20.5 (MPa<sup>1/2</sup>) 的、选自由酮系液体、酯系液体及醚系液体所组成的群组中的一种或两种以上的液

体。

[0015] [化1]

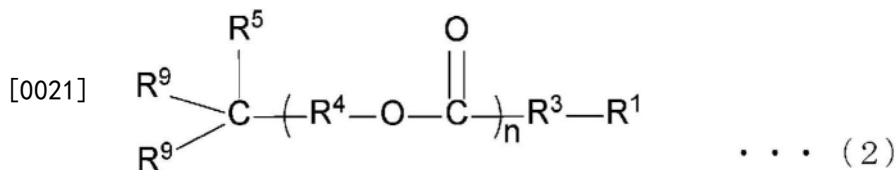


[0017] [式(1)中,  $\text{R}^1$ 表示 $-\text{N}(\text{R}^2) - \text{R}^2$ (此处,  $\text{R}^2$ 分别独立地表示C1~C4的烷基),  $\text{R}^3$ 表示C3~C8的烷二基,  $\text{R}^4$ 表示C3~C8的烷二基,  $\text{R}^5$ 表示羟基,  $\text{R}^6$ 分别独立地表示 $-\text{R}^7 - \text{OH}$ (此处,  $\text{R}^7$ 表示C4~C12的烷二基)或氢原子,  $n$ 表示0或1的整数]

[0018] [2]根据[1]所述的纯化方法,其中,所述酮系液体为环己酮、甲基异丁基酮或二异丙基酮,所述酯系液体为乙酸乙酯或乙酸丁酯,所述醚系液体为二乙醚、二丙醚、环戊基甲醚或丙二醇单甲醚乙酸酯。

[0019] [3]一种组合物,包含选自由化合物(2-1)、化合物(2-2)及化合物(2-3)所组成的群组中的一种或两种以上的化合物,所述化合物(2-1)是在下述式(2)所示的化合物中, $n$ 为0,两个 $\text{R}^9$ 均为 $-\text{R}^7 - \text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{R}^{10}$ ,  $\text{R}^5$ 为羟基的化合物;所述化合物(2-2)是在下述式(2)所示的化合物中, $n$ 为0,其中一个 $\text{R}^9$ 为 $-\text{R}^7 - \text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{R}^{10}$ ,另一个 $\text{R}^9$ 为 $-\text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{R}^{10}$ ,  $\text{R}^5$ 为氢原子的化合物;所述化合物(2-3)是在下述式(2)所示的化合物中, $n$ 为1,两个 $\text{R}^9$ 均为 $-\text{R}^7 - \text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{R}^{10}$ ,  $\text{R}^5$ 为羟基的化合物,且组合物中所含的化合物(2-1)、化合物(2-2)及化合物(2-3)的合计含有比例为90质量%以上。

[0020] [化2]



[0022] [式(2)中,  $\text{R}^1$ 表示 $-\text{N}(\text{R}^2) - \text{R}^2$ (此处,  $\text{R}^2$ 分别独立地表示C1~C4的烷基),  $\text{R}^3$ 表示C3~C8的烷二基,  $\text{R}^4$ 表示C3~C8的烷二基,  $\text{R}^5$ 表示羟基或氢原子,  $\text{R}^9$ 分别独立地表示 $-\text{R}^7 - \text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{R}^{10}$ 或 $-\text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{R}^{10}$ (此处,  $\text{R}^7$ 表示C4~C12的烷二基,  $\text{R}^{10}$ 表示C4~C25的烯基), 此处, 至少一个 $\text{R}^9$ 为 $-\text{R}^7 - \text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{R}^{10}$ ,  $n$ 表示0或1的整数]

[0023] [4]根据[3]所述的组合物,其中,组合物中所含的所述化合物(2-1)的含有比例为85质量%~99质量%。

[0024] [5]根据[3]或[4]所述的组合物,其中,组合物中所含的所述化合物(2-2)及所述化合物(2-3)的合计含有比例为0.1质量%~15质量%。

[0025] [6]一种化合物,在根据[3]所述的式(2)中, $n$ 为0,其中一个 $\text{R}^9$ 为 $-\text{R}^7 - \text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{R}^{10}$ ,另一个 $\text{R}^9$ 为 $-\text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{R}^{10}$ ,  $\text{R}^5$ 为氢原子。

[0026] [7]一种化合物,在根据[3]所述的式(2)中, $n$ 为1,两个 $\text{R}^9$ 均为 $-\text{R}^7 - \text{O} - \text{C}(\text{O}) - \text{R}^{10}$ ,  $\text{R}^5$ 为羟基。

[0027] [8]一种脂质纳米粒子,由根据[3]至[5]中任一项所述的组合物中所含的化合物形成,且内封药物。

[0028] [9]根据[8]所述的脂质纳米粒子,其中,所述药物为siRNA。

[0029] 发明的效果

[0030] 通过本发明,可提供一种除去包含脂质的组合物中所含的夹杂物的技术。

### 附图说明

[0031] [图1]图1是表示方案(I)的反应的图。

[0032] [图2]图2是表示方案(II)的反应的图。

[0033] [图3]图3是表示方案(III)的反应的图。

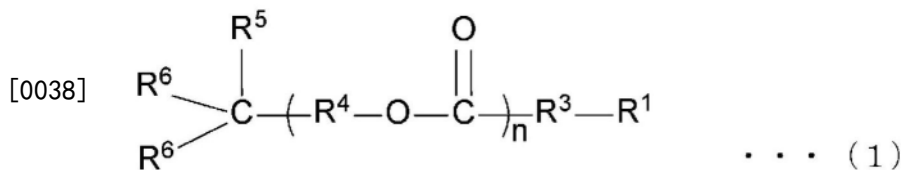
### 具体实施方式

[0034] 以下,示出实施方式来对本发明进行更详细的说明,但本发明并不受以下的实施方式的任何限定。

[0035] [组合物的纯化方法]

[0036] 在一实施方式中,本发明提供一种组合物的纯化方法,其包括将包含下述式(1)所示的化合物的组合物溶解于水层中进行液液萃取,而对下述式(1)所示的化合物进行精制的工序,所述纯化方法中,所述液液萃取中使用的油层包含溶解度参数(SP值)为14.8~20.5(MPa<sup>1/2</sup>)的、选自由酮系液体、酯系液体及醚系液体所组成的群组中的一种或两种以上的液体。

[0037] [化3]



[0039] 式(1)中,R<sup>1</sup>表示-N(R<sup>2</sup>)-R<sup>2</sup>(此处,R<sup>2</sup>分别独立地表示C1~C4的烷基),R<sup>3</sup>表示C3~C8的烷二基,R<sup>4</sup>表示C3~C8的烷二基,R<sup>5</sup>表示羟基,R<sup>6</sup>表示-R<sup>7</sup>-OH(此处,R<sup>7</sup>表示C4~C12的烷二基)或氢原子,n表示0或1的整数。

[0040] 如上所述,本发明者等人发现,在构成专利文献1、非专利文献1中记载的脂质纳米粒子的脂质中含有夹杂物,所述夹杂物对内封siRNA的脂质纳米粒子在靶部位的体内动态造成不良影响,并且降低靶基因的敲减效率。所述夹杂物的化学结构的鉴定困难,化学结构尚不明确。

[0041] 但是,通过本实施方式的纯化方法,可对所述式(1)所示的化合物进行精制而除去夹杂物,从而制造后述的组合物(脂质)。而且,在利用所述脂质制作内封siRNA的脂质纳米粒子的情况下,与不实施本实施方式的纯化方法的情况相比,可改善脂质纳米粒子在靶部位的体内动态,并且可抑制靶基因的敲减效率的降低。在本说明书中,所谓改善体内动态是指投予的脂质纳米粒子中被递送至靶部位的脂质纳米粒子的比例上升。

[0042] 包含所述式(1)所示的化合物的组合物例如可通过图1所示的方案(I)的反应而获得。图1中,R<sup>2</sup>、R<sup>7</sup>与前述式(1)中的R<sup>2</sup>、R<sup>7</sup>相同,R<sup>2</sup>分别独立地表示C1~C4的烷基,R<sup>7</sup>分别独立地表示C4~C12的烷二基,R<sup>8</sup>表示保护基。图1中,化合物2'、化合物2''、化合物3'、化合物3''、化合物4'、化合物4''、化合物5'、化合物5''是目标外产物,但发明者等人确认到,即使存在这些化合物,在制造后述的组合物(脂质),来制作内封siRNA的脂质纳米粒子的情况下,对脂

质纳米粒子在靶部位的体内动态、及靶基因的敲减效率并无不良影响。

[0043] 作为 $R^8$ 中的保护基,可适宜使用通常用作羟基的保护基的保护基。具体而言,例如可列举:叔丁基二甲基硅烷基、三甲基硅烷基、三乙基硅烷基、苄基、叔丁基、甲氧基甲基、2-四氢吡喃基、乙酰基、苯甲酰基等。

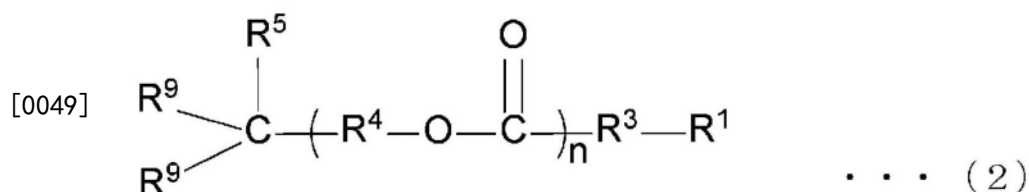
[0044] 所谓液液萃取,是利用溶质在互不混合的两种液体间的分配的分离-浓缩方法。在本实施方式的纯化方法中,使包含所述式(1)所示的化合物的组合物溶解于水层中,在与不与其混合的油层之间进行萃取。作为在液液萃取中使用的油层,使用溶解度参数(SP值)为 $14.8 \sim 20.5 (\text{MPa}^{1/2})$ 的、选自由酮系液体、酯系液体及醚系液体所组成的群组中的一种或两种以上的液体。液液萃取可在通常的条件下进行。具体而言,例如,在室温下混合所述水层与油层后,进行静置使水层与油层分离,并回收水层。其结果,可在回收的水层中获得除去了夹杂物的所述式(1)所示的化合物。

[0045] 此处,作为酮系液体,可列举:环己酮、甲基异丁基酮、二异丙基酮。作为酯系液体,可列举:乙酸乙酯、乙酸丁酯。作为醚系液体,可列举:二乙醚、二丙醚、环戊基甲醚、丙二醇单甲醚乙酸酯。在本说明书中,如丙二醇单甲醚乙酸酯那样具有 $-C(O)-$ 基与醚键两者的液体如上所述分类为醚系液体。这些液体可单独使用一种,也可混合两种以上来使用。

[0046] [组合物]

[0047] 在一实施方式中,本发明提供一种组合物,所述组合物包含选自由化合物(2-1)、化合物(2-2)及化合物(2-3)所组成的群组中的一种或两种以上的化合物,所述化合物(2-1)是在下述式(2)所示的化合物中, $n$ 为0,两个 $R^9$ 均为 $-R^7-O-C(O)-R^{10}$ , $R^5$ 为羟基的化合物;所述化合物(2-2)是在下述式(2)所示的化合物中, $n$ 为0,其中一个 $R^9$ 为 $-R^7-O-C(O)-R^{10}$ ,另一个 $R^9$ 为 $-O-C(O)-R^{10}$ , $R^5$ 为氢原子的化合物;所述化合物(2-3)是在下述式(2)所示的化合物中, $n$ 为1,两个 $R^9$ 均为 $-R^7-O-C(O)-R^{10}$ , $R^5$ 为羟基的化合物,且组合物中所含的化合物(2-1)、化合物(2-2)及化合物(2-3)的合计含有比例为90质量%以上。

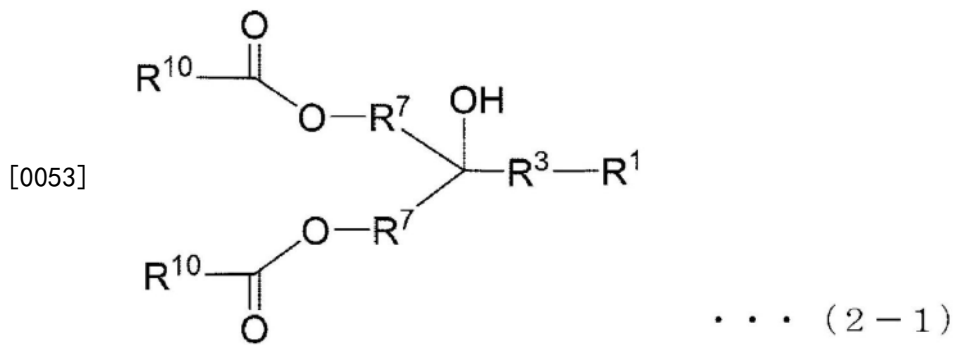
[0048] [化4]



[0050] 式(2)中, $R^1$ 表示 $-N(R^2)-R^2$ (此处, $R^2$ 分别独立地表示 $C1 \sim C4$ 的烷基), $R^3$ 表示 $C3 \sim C8$ 的烷二基, $R^4$ 表示 $C3 \sim C8$ 的烷二基, $R^5$ 表示羟基或氢原子, $R^9$ 分别独立地表示 $-R^7-O-C(O)-R^{10}$ 或 $-O-C(O)-R^{10}$ (此处, $R^7$ 表示 $C4 \sim C12$ 的烷二基, $R^{10}$ 表示 $C4 \sim C25$ 的烯基),此处,至少一个 $R^9$ 为 $-R^7-O-C(O)-R^{10}$ , $n$ 表示0或1的整数。

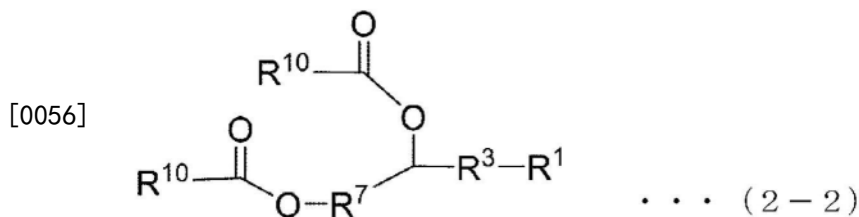
[0051] 化合物(2-1)、化合物(2-2)及化合物(2-3)的通式如下所示。

[0052] [化5]



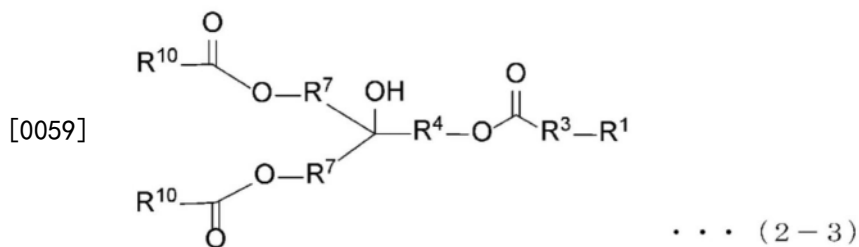
[0054] [式(2-1)中,  $R^1$ 表示-N( $R^2$ )- $R^2$ (此处, $R^2$ 分别独立地表示C1~C4的烷基),  $R^3$ 表示C3~C8的烷二基, $R^7$ 分别独立地表示C4~C12的烷二基, $R^{10}$ 分别独立地表示C4~C25的烯基]

[0055] [化6]



[0057] [式(2)中, $R^1$ 表示-N( $R^2$ )- $R^2$ (此处, $R^2$ 分别独立地表示C1~C4的烷基),  $R^3$ 表示C3~C8的烷二基, $R^7$ 表示C4~C12的烷二基, $R^{10}$ 分别独立地表示C4~C25的烯基]

[0058] [化7]



[0060] [式(2-3)中, $R^1$ 表示-N( $R^2$ )- $R^2$ (此处, $R^2$ 分别独立地表示C1~C4的烷基),  $R^3$ 表示C3~C8的烷二基, $R^4$ 表示C3~C8的烷二基, $R^7$ 分别独立地表示C4~C12的烷二基, $R^{10}$ 分别独立地表示C4~C25的烯基]

[0061] 本实施方式的组合物是脂质,可制造内封药物的脂质纳米粒子。本实施方式的组合物可通过如下方式而获得:将通过所述纯化方法而纯化的包含所述式(1)所示的化合物的组合物中的 $R^6$ 转换为 $R^9$ (此处, $R^9$ 表示- $R^7$ -O-C(O)- $R^{10}$ 或-O-C(O)- $R^{10}$ )。此处 $R^9$ 为- $R^7$ -O-C(O)- $R^{10}$ 或-O-C(O)- $R^{10}$ 。

[0062] 本实施方式的组合物例如可通过图2所示的方案(II)的反应而获得。方案(II)是与图1所示的方案(I)连续的反应。图2中, $R^2$ 、 $R^7$ 与所述式(1)中的 $R^2$ 、 $R^7$ 相同, $R^2$ 分别独立地表示C1~C4的烷基, $R^7$ 分别独立地表示C4~C12的烷二基。 $R^{10}$ 分别独立地表示C4~C25的烯基。

[0063] 图2中,化合物6是所述化合物(2-1)的例子,化合物6'是所述化合物(2-2)的例子,化合物6''是所述化合物(2-3)的例子。此处,化合物6'、化合物6''是目标外产物,但发明者等人确认到,即使存在这些化合物,在制作内封siRNA的脂质纳米粒子的情况下,对脂质纳米粒子在靶部位的体内动态、及靶基因的敲减效率并无不良影响。

[0064] 图2中,通过使包含化合物5、化合物5'、化合物5''的组合物与X-C(O)- $R^{10}$ (此处,X为

卤素原子)反应,而将 $R^6$ 转换为 $R^9$ (此处, $R^9$ 表示 $-R^7-O-C(O)-R^{10}$ 或 $-O-C(O)-R^{10}$ )。

[0065] 本实施方式的组合物包含选自所述化合物(2-1)、化合物(2-2)及化合物(2-3)所组成的群组中的一种或两种以上的化合物,且组合物中所含的化合物(2-1)、化合物(2-2)及化合物(2-3)的合计含有比例为90质量%以上,优选为95质量%以上,更优选为98质量%以上,进而优选为99质量%以上,其余包含夹杂物。本实施方式的组合物可通过实施所述组合物的纯化方法,除去夹杂物而获得。

[0066] 本实施方式的组合物中,组合物中所含的所述化合物(2-1)的含有比例优选为85质量%~99质量%。另外,组合物中所含的所述化合物(2-2)及所述化合物(2-3)的合计含有比例优选为0.1质量%~15质量%。

[0067] [化合物]

[0068] 在一实施方式中,本发明提供一种在所述式(2)中, $n$ 为0,其中一个 $R^9$ 为 $-R^7-O-C(O)-R^{10}$ ,另一个 $R^9$ 为 $-O-C(O)-R^{10}$ , $R^5$ 为氢原子的化合物(2-2)。化合物(2-2)的通式如上所述。

[0069] 在另一实施方式中,本发明提供一种在所述式(2)中, $n$ 为1,两个 $R^9$ 均为 $-R^7-O-C(O)-R^{10}$ , $R^5$ 为羟基的化合物(2-3)。化合物(2-3)的通式如上所述。

[0070] [脂质纳米粒子]

[0071] 在一实施方式中,本发明提供一种由如下的组合物形成且内封药物的脂质纳米粒子,所述组合物包含选自所述化合物(2-1)、化合物(2-2)及化合物(2-3)所组成的群组中的一种或两种以上的化合物,且组合物中所含的化合物(2-1)、化合物(2-2)及化合物(2-3)的合计含有比例为90质量%以上,优选为95质量%以上,更优选为98质量%以上,进而优选为99质量%以上。

[0072] 本说明书中的脂质纳米粒子表示以脂质为主成分的粒径为10nm~1,000nm的粒子。脂质纳米粒子也称为“脂质纳米颗粒(Lipid Nanoparticle)”(LNP)。

[0073] 本实施方式的脂质纳米粒子由于减少了有不良影响的夹杂物的混入,因此在靶部位的体内动态良好。另外,在药物为siRNA的情况下,靶基因的敲减效率高。本实施方式的脂质纳米粒子可由实施所述组合物的纯化方法而除去了夹杂物的组合物形成。

[0074] 作为脂质纳米粒子的脂质成分,可仅使用选自所述化合物(2-1)、化合物(2-2)及化合物(2-3)所组成的群组中的一种或两种以上的化合物,一般而言,例如组合选自磷脂、糖脂质、固醇、饱和或不饱和的脂肪酸、及饱和或不饱和的脂肪酸酯所组成的群组中的一种或两种以上的脂质而形成脂质纳米粒子。多种脂质的组合及其调配比例可根据目的适宜调整。

[0075] 作为磷脂质及磷脂质衍生物,例如可列举磷脂酰乙醇胺、磷脂酰胆碱、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油、心磷脂、鞘磷脂、神经酰胺磷脂酰乙醇胺、神经酰胺磷脂酰甘油、神经酰胺磷脂酰甘油磷酸酯、1,2-二肉豆蔻酰基-1,2-脱氧磷脂酰胆碱、二硬脂酰磷脂酰胆碱、缩醛磷脂、磷脂酸等,这些可使用一种或组合两种以上使用。这些磷脂质中的脂肪酸残基并无特别限定,例如可列举碳数12~20的饱和或不饱和的脂肪酸残基,具体而言,可列举源自月桂酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚麻油酸等脂肪酸的酰基。另外,也可使用蛋黄卵磷脂、大豆卵磷脂等源自天然产物的磷脂质。

[0076] 作为糖脂质,例如可列举:甘油糖脂质(例如,磺氧基核糖苷基甘油酯(sulfoxy

ribosyl glyceride)、二糖苷基二甘油酯、二半乳糖基二甘油酯、半乳糖基二甘油酯、糖苷基二甘油酯)、鞘糖脂质(例如,半乳糖基脑苷脂、乳糖基脑苷脂、神经节苷脂)等。

[0077] 作为固醇,例如可列举:源自动物的固醇(例如,胆固醇、琥珀酸胆固醇酯、羊毛固醇、二氢羊毛固醇、链固醇、二氢胆固醇)、源自植物的固醇(植物固醇)(例如,豆固醇、谷固醇、菜油固醇、菜籽固醇)、源自微生物的固醇(例如,酵母固醇、麦角固醇)等。

[0078] 作为饱和或不饱和的脂肪酸,例如可列举:棕榈酸、油酸、硬脂酸、花生四烯酸、肉豆蔻酸等碳数12~20的饱和或不饱和的脂肪酸。

[0079] 作为饱和或不饱和的脂肪酸酯,可列举甘油的一个或两个羟基与脂肪酸形成酯键而得的甘油脂肪酸酯。所述甘油脂肪酸酯中的脂肪酸残基例如可列举源自棕榈酸、油酸、硬脂酸、花生四烯酸、肉豆蔻酸等碳数12~20的饱和或不饱和的脂肪酸的酰基。具体而言,可列举:二肉豆蔻酰基甘油(dimyristoyl glycerol,DMG)、二硬脂酰基甘油(distearoyl glycerol,DSG)等。

[0080] 脂质纳米粒子的制造方法并无特别限定。例如,可通过如下方式来制造:将全部的脂质成分溶解于氯仿等有机溶媒中,利用蒸发器进行减压干固或利用喷雾干燥机进行喷雾干燥,由此形成脂质膜后,向干燥后的所述混合物中添加水系溶媒,进而利用均化器等乳化机、超声波乳化机或高压喷射乳化机等进行乳化。另外,脂质纳米粒子例如也可通过反相蒸发法等来制造。在欲控制脂质纳米粒子的大小的情况下,使用孔径一致的膜滤器等,在高压下进行挤出(挤出过滤)即可。

[0081] 分散状态的脂质纳米粒子的大小可根据目的适宜选择,可为:例如平均粒径60nm~140nm左右,例如平均粒径80nm~120nm左右、例如平均粒径20nm~50nm左右。粒径可通过例如动态光散射(dynamic light scattering,DLS)法进行测定。在本申请说明书中,所谓脂质纳米粒子的平均粒径是指通过DLS测定的个数平均粒径。通过DLS的测定可使用市售的DLS装置等利用常规方法进行。多分散度指数(polydisperse index,PDI)为0.05~0.1左右,优选为0.06~0.08左右,进而优选为约0.07左右。

[0082] 水系溶媒(分散介质)的组成并无特别限定,例如可列举:磷酸缓冲液、柠檬酸缓冲液、磷酸缓冲生理盐水等缓冲液、生理盐水、细胞培养用的培养基等。这些水系溶媒(分散介质)可使脂质纳米粒子稳定地分散,进而可加入:葡萄糖、半乳糖、甘露糖、果糖、肌醇、核糖、木糖的单糖类;乳糖、蔗糖、纤维双糖、海藻糖、麦芽糖等二糖类;棉子糖、松三糖等三糖类;环糊精等多糖类;赤藻糖醇、木糖醇、山梨糖醇、甘露糖醇、麦芽糖醇等的糖醇等糖(水溶液);或者甘油、二甘油、聚甘油、丙二醇、聚丙二醇、乙二醇、二乙二醇、三乙二醇、聚乙二醇、乙二醇单烷基醚、二乙二醇单烷基醚、1,3-丁二醇等多元醇(水溶液)等。为了长期稳定地保存分散于水系溶媒中的脂质纳米粒子,就抑制凝聚等物理稳定性的方面而言,优选为尽量排除水系溶媒中的电解质。另外,就脂质的化学稳定性的方面而言,优选为将水系溶媒的pH设定为弱酸性至中性附近(pH3.0~8.0左右),优选为通过氮气鼓泡等除去溶解氧。

[0083] 在将所获得的脂质纳米粒子的水性分散物冷冻干燥或喷雾干燥的情况下,若使用例如葡萄糖、半乳糖、甘露糖、果糖、肌醇、核糖、木糖的单糖类;乳糖、蔗糖、纤维双糖、海藻糖、麦芽糖等二糖类;棉子糖、松三糖等三糖类;环糊精等多糖类;赤藓糖醇、木糖醇、山梨糖醇、甘露糖醇、麦芽糖醇等糖醇等糖(水溶液),则有时可改善稳定性。另外,在将所述水性分散物冷冻的情况下,若使用例如所述糖类或甘油、二甘油、聚甘油、丙二醇、聚丙二醇、乙二

醇、二乙二醇、三乙二醇、聚乙二醇、乙二醇单烷基醚、二乙二醇单烷基醚、1,3-丁二醇等多元醇(水溶液),则有时可改善稳定性。

[0084] 在本实施方式的脂质纳米粒子中,内封的药物并无特别限定。例如,除了siRNA、微小核糖核酸(MicroRNA)、消息核糖核酸(mRNA)、质体等核酸类以外,还可将抗肿瘤剂、抗炎剂、抗菌剂、抗病毒剂等任意医药的有效成分、糖类、肽类、低分子化合物、金属化合物等任意物质内封于脂质纳米粒子中。这些可单独内封一种,也可混合两种以上内封。

[0085] siRNA(small interfering RNA)是由21~23个碱基对构成的低分子双链RNA,参与RNA干扰(RNAi),通过mRNA的破坏而序列特异性地抑制基因的表达。通过使用了siRNA的RNA干扰可敲减基因,因此期待在作为医药的用途或癌症等治疗领域中应用。能够使用的siRNA的种类并无特别限定,只要可引起RNA干扰,则可使用任意的siRNA,一般而言,可使用为21~23个碱基对的双链RNA、且RNA链的3'部分采取突出两个碱基的结构、各自的链在5'末端具有磷酸基与在3'末端具有羟基的结构的RNA作为siRNA。另外,也包括核糖骨架的2'位的羟基被甲氧基、氟基或甲氧基乙基部分取代、磷酸二酯键被硫代磷酸酯键部分取代的siRNA。

[0086] 本实施方式的脂质纳米粒子的形态并无特别限定,例如可列举分散在水系溶媒(例如水、生理盐水、磷酸缓冲生理盐水等)中的形态、将水性分散物冷冻干燥后的形态等。

[0087] 实施例

[0088] 其次,示出实施例对本发明进行更详细的说明,但本发明并不限于以下的实施例。所有的动物实验由北海道大学的设施内动物管理使用委员会审查,按照北海道大学校长承认的协议实施。另外,组合物中所含的化合物的结构利用<sup>1</sup>H核磁共振(nuclear magnetic resonance,NMR)(布鲁克(Bruker)公司制造,AVANCE III 600)鉴定。

[0089] [实验例1]

[0090] (纯化前的组合物的制备)

[0091] 按照图3所示的方案(III),制备包含化合物(4-1-1)、化合物(4-2-1)、及化合物(4-3-1)的纯化前的组合物(组合物(1-1))。

[0092] [实验例1-1]

[0093] (包含化合物(2-1-1)、化合物(2-2-1)、及化合物(2-3-1)的组合物的制备)

[0094] 在26mL的干燥二乙醚中溶解(6-溴己氧基)叔丁基二甲基硅烷26.0g(88.0mmol),而制备溶液。在氩气气氛下,将所述溶液1mL、干燥二乙醚4mL、切屑状镁2.35g(96.8mmol)加入到烧瓶中,继而加入一片碘。在室温下静置直至溶液整体变为褐色后,在油浴中一边加热至40°C一边搅拌,确认脱色后,将所述(6-溴己氧基)叔丁基二甲基硅烷溶液滴加至烧瓶中。在40°C下反应2小时后,进行冰冷却。继而,将溶解于干燥二乙醚3.67mL中的 $\delta$ -戊内酯3.67mL(39.6mmol)滴加至烧瓶中,在室温下反应一晚。进行冰冷却,加入二乙醚进行稀释,将饱和柠檬酸水溶液滴加至烧瓶中,由此使残留的镁溶解。利用水及饱和食盐水对有机层进行分液清洗。继而,在有机层中加入无水硫酸钠进行脱水。将其过滤后,使用旋转蒸发器蒸馏除去溶媒,获得包含化合物(2-1-1)、化合物(2-2-1)、及化合物(2-3-1)的组合物(实验例1-1的组合物)。组合物(1-1)中所含的化合物(2-1-1)、化合物(2-2-1)、及化合物(2-3-1)的含有比例为化合物(2-1-1):化合物(2-2-1):化合物(2-3-1)=99.0:0.2:0.8。

[0095] [实验例1-2]

[0096] (包含化合物(3-1-1)、化合物(3-2-1)、及化合物(3-3-1)的组合物(组合物(1-2))的制备)

[0097] 在烧瓶中,将实验例1-1的组合物14.0g溶解于50mL二氯甲烷中,加入N,N-二甲基-4-氨基吡啶(N,N-dimethyl-4-aminopyridine,DMAP)321mg(2.63mmol)与二异丙基乙胺5.50mL(39.5mmol),进行冰冷却。将对甲苯磺酰氯6.02g(31.6mmol)慢慢加入至烧瓶中后,在室温下反应一晚。使用旋转蒸发器蒸馏除去溶媒后,利用乙酸乙酯悬浮,利用水及饱和食盐水进行分液清洗。向有机层中加入无水硫酸钠进行脱水,将其过滤后,使用旋转蒸发器蒸馏除去溶媒,获得包含化合物(3-1-1)、化合物(3-2-1)、及化合物(3-3-1)的组合物(实验例1-2的组合物)。

[0098] [实验例1-3]

[0099] (包含化合物(4-1-1)、化合物(4-2-1)、及化合物(4-3-1)的组合物(组合物(1-3))的制备)

[0100] 在烧瓶中,向实验例1-2的组合物12.4g中加入30mL四氢呋喃,冷却至4°C。继而,将二丙胺7.38mL(54.0mmol)加入至烧瓶中后,在室温下反应11天。使用旋转蒸发器蒸馏除去溶媒后,利用乙酸乙酯悬浮,利用0.5N氢氧化钠水溶液及饱和食盐水进行分液清洗。向有机层中加入无水硫酸钠进行脱水。将其过滤后,使用旋转蒸发器蒸馏除去溶媒,获得包含化合物(4-1-1)、化合物(4-2-1)、化合物(4-3-1)的组合物(实验例1-3的组合物)。

[0101] [实验例1-4]

[0102] (包含化合物(5-1-1)、化合物(5-2-1)、及化合物(5-3-1)的组合物(组合物(1-1))的制备)

[0103] 在烧瓶中,向实验例1-3的组合物7.27g中加入乙酸2.23mL(39mmol)及26mL的1.0M四丁基氟化铵(tetrabutylammonium fluoride,TBAF)的四氢呋喃溶液,在室温下反应一晚。使用旋转蒸发器蒸馏除去溶媒,获得包含化合物(5-1-1)、化合物(5-2-1)、及化合物(5-3-1)的组合物(组合物(1-1))。

[0104] [实验例2]

[0105] (纯化前的组合物(组合物(1-2))的制备)

[0106] 在实验例1-1中,除了使用 $\delta$ -戊内酯3.34mL(36.0mmol)以外,通过同样的操作,获得以化合物(2-1-1):化合物(2-2-1):化合物(2-3-1)=92.5:7.0:0.5的含有比例包含化合物(2-1-1)、化合物(2-2-1)、化合物(2-3-1)的组合物。继而,通过与实验例1-2、实验例1-3、及实验例1-4同样的操作,获得组合物(1-2)。

[0107] [实验例3]

[0108] (纯化前的组合物(组合物(1-3))的制备)

[0109] 在实验例1-1中,除了使用 $\delta$ -戊内酯4.04mL(43.6mmol)以外,通过同样的操作,获得以化合物(2-1-1):化合物(2-2-1):化合物(2-3-1)=85.0:0.0:15.0的含有比例包含化合物(2-1-1)、化合物(2-2-1)、化合物(2-3-1)的组合物。继而,通过与实验例1-2、实验例1-3、及实验例1-4同样的操作,获得组合物(1-3)。

[0110] [实验例4]

[0111] (组合物(1-3)的纯化)

[0112] 将包含化合物(5-1-1)、化合物(5-2-1)、及化合物(5-3-1)的组合物(组合物(1-1)、组合物(1-2)、及组合物(1-3)) (分别为9.5g) 分别溶解于0.5N盐酸水溶液(150mL)中,分

别投入表1中记载的溶媒(100mL)后,搅拌10分钟。继而,利用分液漏斗进行分液,回收水层。此时,反复进行分液清洗,直至在薄层色谱(thin layer chromatography, TLC)分析中有机层中所含的杂质消失或没有变化。然后,向回收的水层中投入5M氢氧化钠水溶液(30mL),搅拌10分钟。再次投入乙酸乙酯(100mL),搅拌10分钟。然后,利用分液漏斗对溶液进行分液,回收有机层。利用饱和食盐水对回收的有机层进行一次分液清洗。向有机层中加入无水硫酸钠进行脱水。将其过滤后,使用旋转蒸发器蒸馏除去溶媒,获得纯化的组合物。

[0113] [表1]

溶媒	溶解度参数 ( $\text{Mpa}^{1/2}$ )	纯化前的组合物名	纯化后的组合物名
环己酮	20.5	组合物(1-1)	组合物(2-1)
甲基异丁基酮	16.9	组合物(1-2)	组合物(2-2)
二异丙基酮	16.6	组合物(1-3)	组合物(2-3)
乙酸乙酯	17.9	组合物(1-1)	组合物(2-4)
乙酸丁酯	17.8	组合物(1-3)	组合物(2-5)
二乙醚	14.8	组合物(1-2)	组合物(2-6)
二丙醚	15.5	组合物(1-2)	组合物(2-7)
环戊基甲醚	17.6	组合物(1-1)	组合物(2-8)
丙二醇单甲醚乙酸酯	19.5	组合物(1-3)	组合物(2-9)
己烷	14.2	组合物(1-2)	组合物(2-10)
2-丁醇	22.1	组合物(1-3)	组合物(2-11)

[0115] [实验例5]

[0116] [包含化合物(6-1-1)、化合物(6-2-1)、及化合物(6-3-1)的组合物的制造]

[0117] 按照图3所示的方案(III),制造包含化合物(6-1-1)、化合物(6-2-1)、及化合物(6-3-1)的组合物(组合物(3-1)~组合物(3-11))。

[0118] [实验例5-1]

[0119] (组合物(3-1)~组合物(3-11)的制造)

[0120] 在烧瓶内,将实验例4中纯化的各组合物(组合物(2-1)~组合物(2-11))分别溶解于5mL的二氯甲烷中。继而,加入油酰氯900mg(3.0mmol)后,冷却至4℃。将三乙胺(triethylamine, TEA)697 $\mu$ L(5.0mmol)滴加至烧瓶中,使其在室温下反应3小时。使用旋转蒸发器蒸馏除去溶媒后,利用乙酸乙酯悬浮,通过过滤而除去不溶物。利用0.5N氢氧化钠水溶液及饱和食盐水对滤液进行分液清洗。向有机层中加入无水硫酸钠进行脱水。将其过滤后,使用旋转蒸发器蒸馏除去溶媒,获得粗产物。利用硅胶色谱法(洗脱溶媒为二氯乙烷及乙醇的连续梯度)对粗产物进行精制,获得包含化合物(6-1-1)、化合物(6-2-1)、及化合物(6-3-1)的组合物(分别为组合物(3-1)~组合物(3-11))。

[0121] [实验例5-2]

[0122] (组合物(3-1)~组合物(3-11)中所含的化合物(6-1-1)、化合物(6-2-1)、化合物(6-3-1)及夹杂物的含有比例的评价)

[0123] 通过使用管柱(C18管柱,1.7 $\mu$ m,内径2.1mm $\times$ 150mm)、洗脱液(20mM乙酸铵水溶液与20mM乙酸铵乙醇溶液的连续梯度)的超高效液相色谱仪(ultra high performance liquid chromatograph, UHPLC)(电雾式检测器(charged aerosol detector, CAD)),对包含化合物(6-1-1)、化合物(6-2-1)、及化合物(6-3-1)的组合物(组合物(3-1)~组合物(3-

11)) 进行分离分析。将评价结果示于下述表2。

[0124] [表2]

纯化中使用的溶媒	组合物名	UHPLC (CAD) 面积比 (%)			
		化合物 (6-1-1)	化合物 (6-2-1)	化合物 (6-3-1)	夹杂物
环己酮	(3-1)	97.8	0.0	1.0	1.2
甲基异丁基酮	(3-2)	95.2	0.2	2.2	2.4
二异丙基酮	(3-3)	90.9	0.2	1.0	7.9
乙酸乙酯	(3-4)	91.7	0.3	0.0	8.0
乙酸丁酯	(3-5)	93.0	0.0	5.1	1.9
二乙醚	(3-6)	96.5	0.1	0.5	2.9
二丙醚	(3-7)	93.8	0.2	0.4	5.6
环戊基甲醚	(3-8)	98.4	0.0	0.1	1.5
丙二醇单甲醚乙酸酯	(3-9)	78.9	0.2	13.4	7.5
己烷	(3-10)	85.7	0.2	0.8	13.3
2-丁醇	(3-11)	57.4	0.0	0.0	42.6

[0125] [实验例6]

[0126] (内封siRNA的脂质纳米粒子的制造)

[0127] 利用连续反应器混合将组合物(3-1) 1.83mg、磷脂质(DSPC, 商品目录编号“寇萨姆(COATSOME) MC-8080”, 油化产业) 0.158mg、胆固醇(商品目录编号“C8667”, 西格玛奥瑞奇(Sigma-Aldrich)) 0.696mg、PEG脂质(PEG-DMG, 制品名“尚拜尔特(SUNBRIGHT) GM-020”, 油化产业) 0.0502mg溶解于乙醇0.5mL而得的脂质溶液、及将siRNA 0.0594mg溶解于乙酸缓冲液(pH4)而得的siRNA溶液1.5mL。利用磷酸缓冲生理盐水(phosphate buffered saline, PBS)对混合后的溶液进行透析, 而制造内封siRNA的脂质纳米粒子(LNP1)。作为siRNA, 使用使具有序列编号1所示的碱基序列的核酸与具有序列编号2所示的碱基序列的核酸杂交而得的物质。此siRNA以小鼠血液凝固第VII因子的mRNA为靶。

[0128] 另外, 除了使用组合物(3-2) ~ 组合物(3-11)来代替组合物(3-1)以外, 通过同样的方法, 制造内封siRNA的脂质纳米粒子(LNP2 ~ LNP11)。

[0129] [实验例7]

[0130] (内封siRNA的脂质纳米粒子在活体(in vivo)中的体内动态评价)

[0131] 对内封siRNA的脂质纳米粒子在活体中的体内动态进行评价。具体而言, 将实验例6中制造的(LNP1 ~ LNP11)分别从尾静脉投予小鼠(C57BL/6NCrSlc 6周龄, 雌性, 三共实验室服务(Sankyo Labo Service)公司), 以成为siRNA量为0.03mg/kg的体重。继而, 24小时后使小鼠安乐死, 摘除肝脏及脾脏, 利用液氮进行冷冻。

[0132] 继而, 将摘除的各脏器利用含有0.25%曲拉通(Triton) X-100的PBS进行稀释, 利用珠式破碎装置均质化。继而, 在95°C下处理10分钟, 使蛋白质热变性。继而, 将各样品在冰上静置5分钟后, 在20,000×g、4°C下离心20分钟。继而, 将各样品的上清在95°C下处理10分钟, 进行RNA的反转录反应。反转录反应使用市售的试剂盒(制品名“塔克曼微小RNA反转录

试剂盒(TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit)”,赛默飞世尔科技(Thermo Fisher Scientific)公司)。反应条件为在16°C下30分钟,继而在42°C下30分钟,继而在85°C下5分钟。

[0134] 继而,向反转录反应后的各样品中添加聚合酶连锁反应(polymerase chain reaction,PCR)用试剂(制品名“塔克曼通用混合大师(TaqMan Universal Master Mix)II,无(no)尿嘧啶-N-糖苷酶(uracil-N-glycosylase,UNG)”,赛默飞世尔科技(Thermo Fisher Scientific)公司),利用实时PCR对肝脏及脾脏中的siRNA量进行定量。

[0135] 继而,根据以下评价基准对各脂质纳米粒子在活体中的体内动态进行评价。将结果示于下述表3。通过与LNP1~LNP9中siRNA向肝脏及脾脏中的递送量最低的LNP9进行比较来评价体内动态。

[0136] (评价基准)

[0137] ++:肝脏及脾脏中的siRNA量的合计为LNP9的65%以上。

[0138] -:肝脏及脾脏中的siRNA量的合计小于LNP9的65%。

[0139] [实验例8]

[0140] (内封siRNA的脂质纳米粒子在活体中的敲减活性评价)

[0141] 对内封siRNA的脂质纳米粒子在活体中的敲减活性进行评价。具体而言,将实验例6中制造的(LNP1~LNP11)分别从尾静脉投予小鼠(C57BL/6NCrSlc 6周龄,雌性,三共实验室服务(Sankyo Labo Service)公司),以成为siRNA量为0.03mg/kg的体重。继而,24小时后使小鼠安乐死,从下大静脉采血。继而,将血液样品在800×g、4°C下离心5分钟,获得血浆样品。继而,使用百奥芬(BIOPHEN)FVII试剂盒(海芬生物医药(Hyphen Biomed)公司),测定各样品中的血液凝固第FVII因子量与脂质纳米粒子未投予组中的血液凝固第FVII因子量,基于下述式(1)算出敲减率。

[0142] 敲减率(%) = (1 - (样品中的血液凝固第FVII因子量/脂质纳米粒子未投予组中的血液凝固第FVII因子量)) × 100 · · · (1)

[0143] 继而,通过以下的评价基准对各脂质纳米粒子的敲减活性进行评价。将结果示于下述表3。

[0144] (评价基准)

[0145] ++:敲减率为70%以上

[0146] +:敲减率为30%以上且小于70%

[0147] -:敲减率小于30%

[0148] [表3]

[0149]

纯化中使用的溶媒	组合物名	脂质纳米粒子名	体内动态	敲减活性
环己酮	(3-1)	LNP1	++	++
甲基异丁基酮	(3-2)	LNP2	++	++
二异丙基酮	(3-3)	LNP3	++	++
乙酸乙酯	(3-4)	LNP4	++	++
乙酸丁酯	(3-5)	LNP5	++	++
二乙醚	(3-6)	LNP6	++	++
二丙醚	(3-7)	LNP7	++	++

环戊基甲醚	(3-8)	LNP8	++	++
丙二醇单甲醚乙酸酯	(3-9)	LNP9	++	++
己烷	(3-10)	LNP10	-	++
2-丁醇	(3-11)	LNP11	-	-

[0150] 产业上的可利用性

[0151] 通过本发明,可提供一种除去包含脂质的组合物中所含的夹杂物的技术。

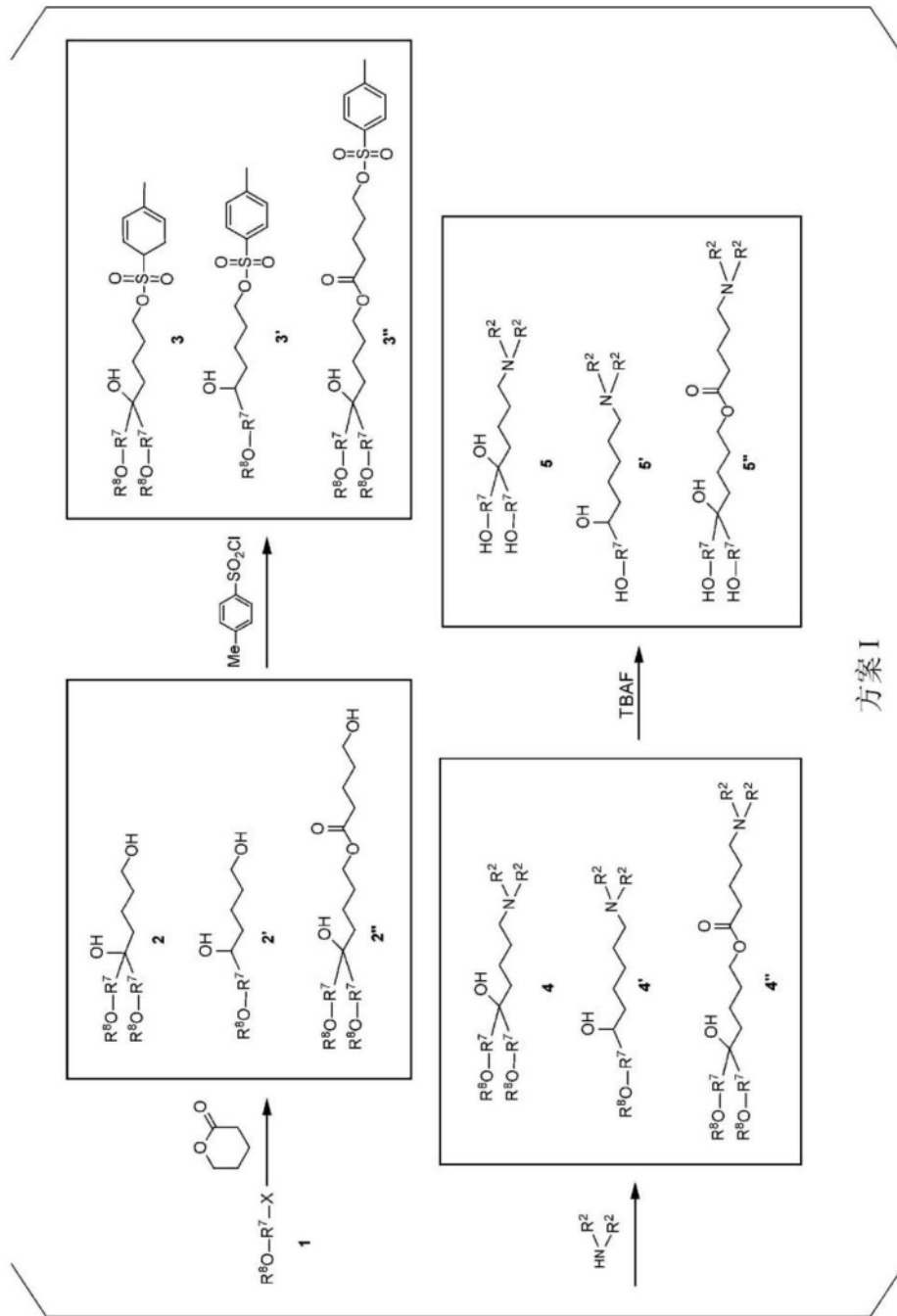


图1

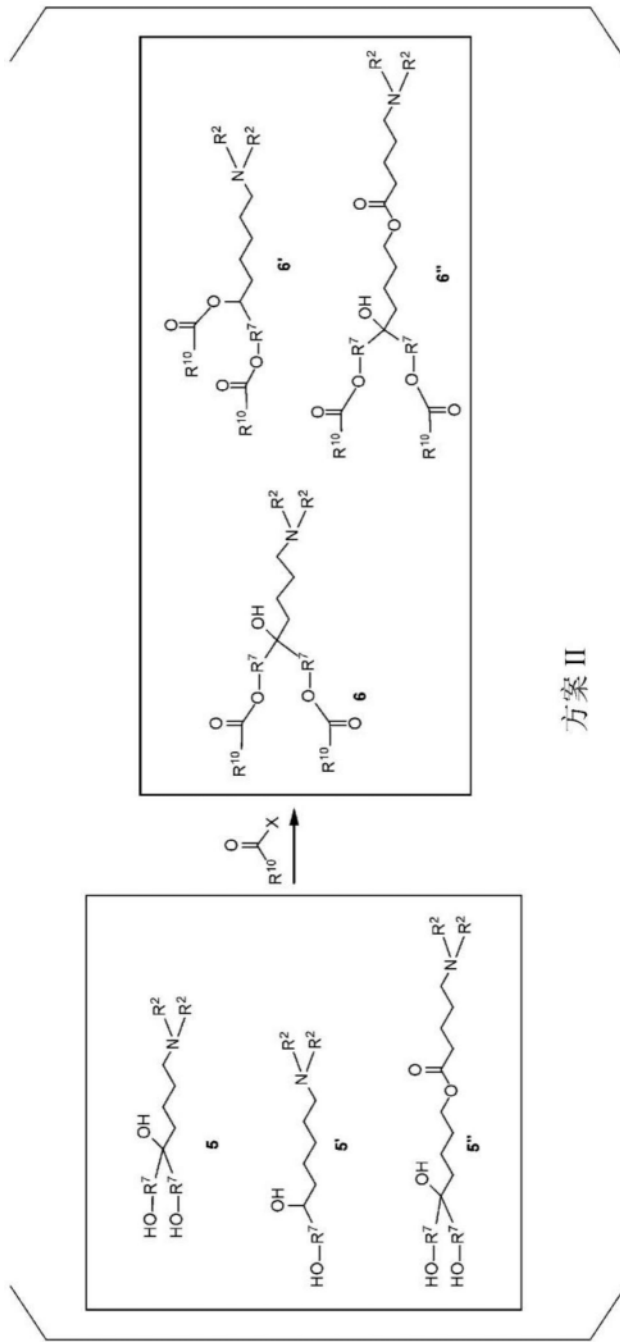


图2

