

【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18年4月6日(2006.4.6)

【公表番号】特表2005-517739(P2005-517739A)

【公表日】平成17年6月16日(2005.6.16)

【年通号数】公開・登録公報2005-023

【出願番号】特願2003-569642(P2003-569642)

【国際特許分類】

**C 0 7 C 229/24 (2006.01)**

**A 6 1 K 9/127 (2006.01)**

**A 6 1 K 9/51 (2006.01)**

**C 0 7 D 233/60 (2006.01)**

**C 0 7 F 9/10 (2006.01)**

【F I】

C 0 7 C 229/24 C S P

A 6 1 K 9/127

A 6 1 K 9/51

C 0 7 D 233/60 1 0 4

C 0 7 F 9/10 B

【手続補正書】

【提出日】平成18年2月20日(2006.2.20)

【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】

下記一般式(I):

(I) 両性物質 - Y - スペーサー - 両親媒性物質

を有する脂質の等電点が4.5~8.5である両性脂質であって、

(a)両性物質が、 $pK_a$  値が4~8のカチオン電荷の少なくとも一部及び/又は $pK_a$  値が3~7のアニオン電荷の少なくとも一部及び任意により追加の電荷担体を有し、

aa)前記カチオン電荷の一部はイミダゾール、モルホリン、ピペラジン、プリン、ピリジン及び/又はピリミジン又はその誘導体を含む群より選ばれ、

bb)前記アニオン電荷の一部は、脂肪族鎖に結合した、酢酸、プロモ酢酸、クロロ酢酸、アセト酢酸、プロピオン酸、アクリル酸、酪酸、クロトン酸、又はカルボン酸を含むカルボキシル基；モノエステル化又はアミノ化又は脂肪族鎖に結合したジカルボン酸を含むカルボキシル基；モノエステル化又はアミノ化又は脂肪族鎖に結合したオリゴカルボン酸を含むカルボキシル基である、

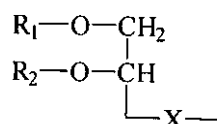
(b)スペーサーがエチレン系不飽和結合0、1又は2個と、ヒドロキシル基0~4個を含む直鎖、分枝鎖又は環状構造をもつC原子8個までを有する低級アルキル残基であり、

(c)Yが-(C=O)-O-； -(C=O)-NH-； -NH-(C=O)-O-； -O-； -NH-； -CH=N-； -O-(O=C)-； -S-； -(O=C)-； -NH-(O=C)-； -O-(O=C)-NH-， -N=CH- 及び/又は -S-S-を含み、

(d)両親媒性物質が下記一般式(II)又は(III)又は(IV):

## 【化 1】

(II)

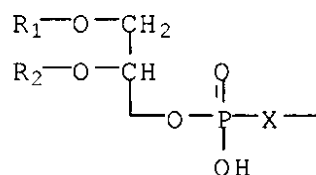


(式中、 $R_1$ 及び $R_2$ は独立してエチレン系不飽和結合0、1又は2個を有する $C_8-C_{30}$ アルキル鎖又はアシル鎖であり、

$X$ は $-O-(C=O)-$ ;  $-NH-(C=O)-$ ;  $-S-(C=O)-$ ;  $-O-$ ;  $-NH-$ ;  $-S-$ ;  $-N=CH-$ ;  $-(O=C)-O-$ ;  $-S-(O=C)-$ ;  $-NH-(O=C)-$ ;  $-N=CH-$ 及び/又は $-S-S-$ を含む群より選ばれる。); 又は

## 【化 2】

(III)

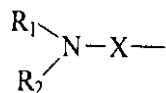


(式中、 $R_1$ 及び $R_2$ は独立してエチレン系不飽和結合0、1又は2個を有する $C_8-C_{30}$ アシル鎖であり、

$X$ は $-O-$ である。); 又は

## 【化 3】

(IV)



(式中、 $R_1$ 及び $R_2$ は独立してエチレン系不飽和結合0、1又は2個を有する $C_8-C_{30}$ アルキル鎖であり、

$X$ は存在しないか又は $-(C=O)-O-$ ;  $-(C=O)-NH-$ ;  $-(C=O)-S-$ ;  $-NH-$ ;  $-CH=N-$ ; 及び/又は $-S-(O=C)-$ からなる群より選ばれる。)

を有する構造であり、

(e)両親媒性物質が $C_8-C_{30}$ 直鎖アルコールでエステル化したアスパラギン酸、グルタミン酸、リンゴ酸、酒石酸、クエン酸、アコニチン酸、シトラコン酸及び/又はマレイン酸のような1,4-又は1,5-ジカルボン酸であり、及び/又は

(f)両親媒性物質が $C_8-C_{30}$ 直鎖脂肪酸でアミノ化した3-アミノアラニン、ジアミノ酪酸、オルニチン又はリシンの1,4-又は1,5-ジアミンである

ことを特徴とする、前記脂質。

## 【請求項 2】

ジカルボン酸がシュウ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、グルタル酸、アジピン酸、カプリル酸、ピメリン酸、スベリン酸、シクロヘキサンジカルボン酸及び/又はシクロペンタンジカルボン酸を含む群より選ばれ、及び/又はオリゴカルボン酸がクエン酸、イソクエン酸及び/又はエチレンジアミン四酢酸を含む群より選ばれることを特徴とする、請求項1記載の脂質。

## 【請求項 3】

両性脂質の等電点が5~7であることを特徴とする、請求項1又は2記載の脂質。

## 【請求項 4】

両性物質におけるカチオン電荷とアニオン電荷の部分の $pK_a$ 値が最大で2 pH単位離れて

いることを特徴とする、請求項1又は2に記載の脂質。

【請求項5】

両性物質のカチオン電荷の部分がイミダゾール、ピペラジン、モルホリンを含み、アニオン電荷部分がカルボキシル基を含んでいることを特徴とする、請求項1～4のいずれか1項に記載の脂質。

【請求項6】

両性物質がヒスチジン、アルギニン、リシン、グルタミン酸及び/又はアスパラギン酸からなる群より選ばれる2～6個のアミノ酸を有するペプチドであり、ここで、

i) HisとAsp/Gluの%は66%を超えない、

ii) Arg/Lysの%は50%より少なく、Asp/Gluの%は50%より多い、又は HisとArg/Lysの%は33%以下であり、Asp/Gluの%はArg/Lysの%より多いことを特徴とする、請求項1～5のいずれか1項に記載の脂質。

【請求項7】

両親媒性物質がジアシルグリセロール、ジアルキルグリセロール、ホスホグリセロール、アシル化又はアルキル化3-アミノ-1,2-プロパンジオール及び/又はN,N-ジアルキルアミンからなる群より選ばれることを特徴とする、請求項1～6のいずれか1項に記載の脂質。

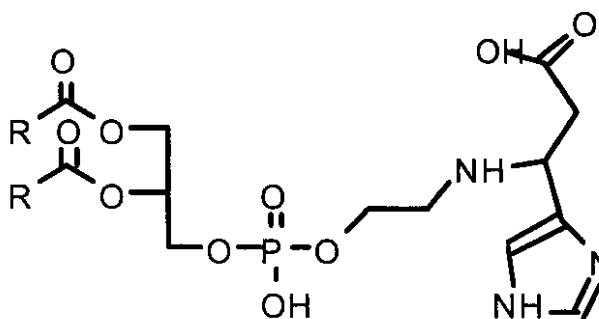
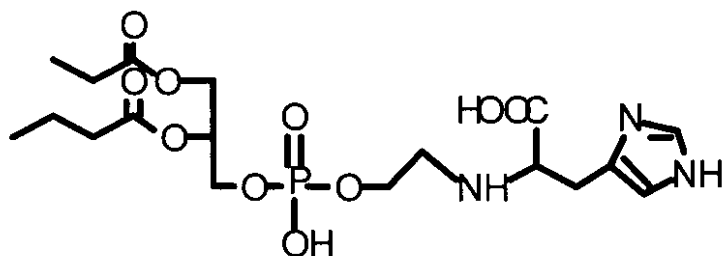
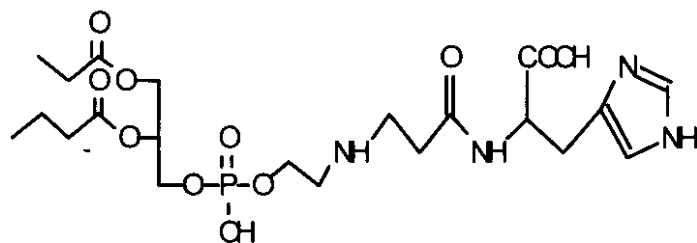
【請求項8】

スペーサーが糖又はモノマー単位20個までのポリエチレングリコールであることを特徴とする、請求項1～7のいずれか1項に記載の脂質。

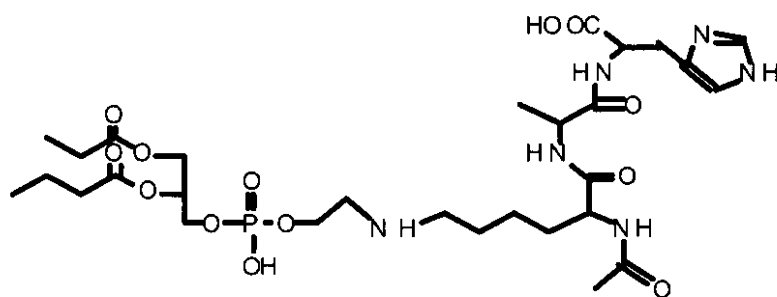
【請求項9】

両性脂質であって、脂質が下記構造

## 【化 4】



又は



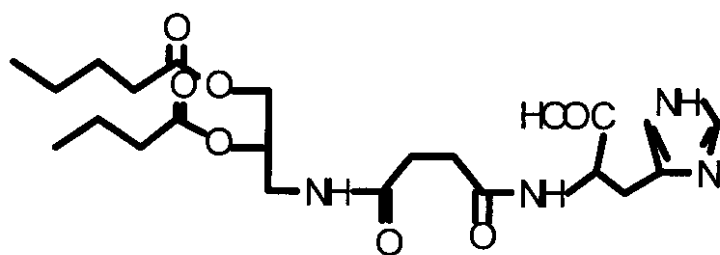
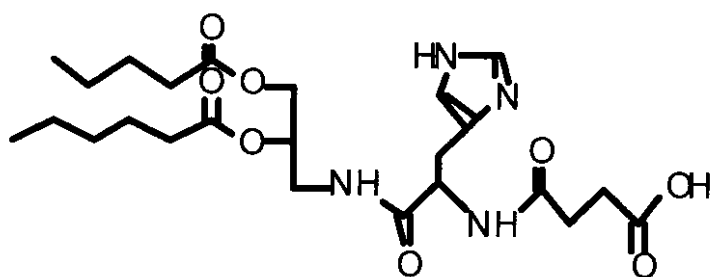
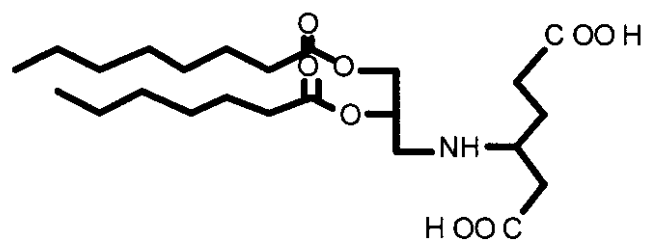
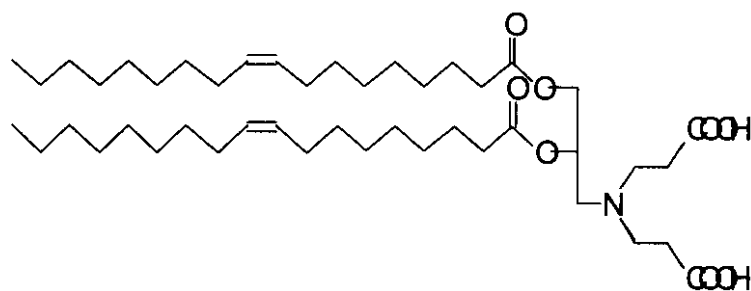
( 式中、長鎖両親媒性物質は独立してラウロイル、ミリストイル、パルミトイル、ステアロイル、オレオイル又はリノレオイルの残基を含んでいる。 )

を有する、前記脂質。

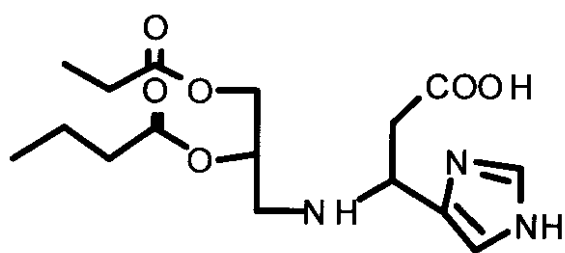
## 【請求項 10】

両性脂質であって、脂質が下記構造

【化5】



又は



(式中、長鎖両親媒性物質は独立して

a)ラウロイル、ミリストイル、パルミトイル、ステアロイル、オレオイル又はリノレオイ

ルの残基、又は

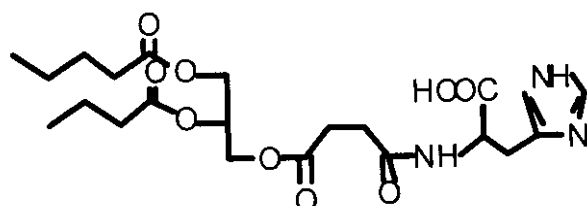
b)ラウリル、ミリスチル、パルミチル、ステアリル、オレイル又はリノレイルの残基を含んでいる。) )

を有する、前記脂質。

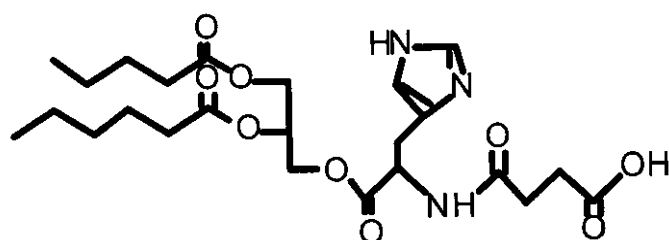
【請求項 1 1】

両性脂質であって、脂質が下記構造

【化 6】



又は



(式中、長鎖両親媒性物質は独立して

a)ラウロイル、ミリストイル、パルミトイル、ステアロイル、オレオイル又はリノレオイルの残基、又は

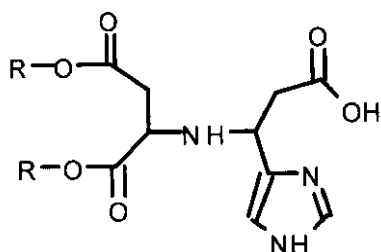
b)ラウリル、ミリスチル、パルミチル、ステアリル、オレイル又はリノレイルの残基を含んでいる。) )

を有する、前記脂質。

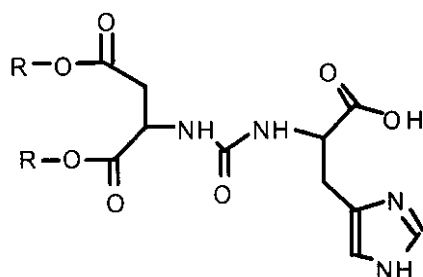
【請求項 1 2】

両性脂質であって、脂質が下記構造

【化 7】



又は



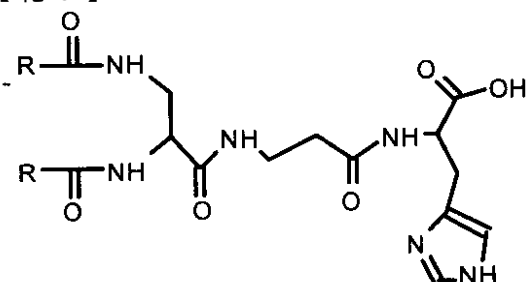
(式中、長鎖両親媒性物質は独立してラウリル、ミリスチル、パルミチル、ステアリル、オレイル又はリノレイルの残基を含んでいる。) )

を有する、前記脂質。

## 【請求項 13】

両性脂質であって、脂質が下記構造

## 【化 8】



(式中、長鎖両親媒性物質は独立してラウロイル、ミリストイル、パルミトイル、ステアロイル、オレオイル又はリノレオイルの残基を含んでいる。)

を有する、前記脂質。

## 【請求項 14】

請求項1～13のいずれか1項に記載の両性脂質を含むリポソーム。

## 【請求項 15】

リポソームが最高で50モル%の両性脂質、好ましくは2～50モル%、更に好ましくは10～40モル%を含むことを特徴とする、請求項1～14のいずれか1項に記載のリポソーム。

## 【請求項 16】

リポソームがホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ジアシルグリセロール、テトラエテル脂質及び/又はPEG脂質を含むことを特徴とする、請求項14又は15記載のリポソーム。

## 【請求項 17】

リポソームの平均サイズが50～1000 nm、好ましくは50～300 nm、更に好ましくは60～130 nmであることを特徴とする、請求項14～16のいずれか1項に記載のリポソーム。

## 【請求項 18】

リポソームが活性物質を含んでいることを特徴とする、請求項14～17のいずれか1項に記載のリポソーム。

## 【請求項 19】

脂質1 mgに対して少なくとも50 µg、好ましくは90 µgを超える、更に好ましくは150 µgを超える活性物質がリポソームの内部に入り込んでいることを特徴とする、請求項18記載のリポソーム。

## 【請求項 20】

請求項14～19のいずれか1項に記載のリポソームを活性物質で充填する方法であって、活性物質を封入するための結合pH値と非結合活性物質を除去するための第二pH値が用いられることを特徴とする、前記方法。

## 【請求項 21】

請求項14～19のいずれか1項に記載のリポソームを活性物質で充填する方法であって、該リポソームを特定のpH値で透過性にし、その後密封されることを特徴とする、前記方法。

## 【請求項 22】

ナノカプセルを製造するための請求項14～19のいずれか1項に記載のリポソームの使用。

## 【請求項 23】

診断において用いられる放出システムを製造するための請求項14～19のいずれか1項に記載のリポソームの使用。

## 【請求項 24】

活性物質を輸送及び放出するための請求項14～19のいずれか1項に記載のリポソームの使用。

## 【請求項 25】

生体内トランスフェクションシステムであって、  
遺伝物質で充填した請求項14～19のいずれか1項に記載のリポソームを含んでいることを特徴とする、前記システム。

## 【請求項 26】

生体内トランスフェクションシステムであって、  
遺伝物質で重点したリポソームを含み、前記リポソームが下記式

(I) 両性物質 - Y - スペース - 両親媒性物質

[ 式中、(a)両性物質は、 $pK_a$  値が4～8のカチオン電荷の少なくとも一部及び/又は $pK_a$  値が3～7のアニオン電荷の少なくとも一部及び任意により追加の電荷担体を有し、

aa)前記カチオン電荷の一部はイミダゾール、モルホリン、ピペラジン、プリン、ピリジン及び/又はピリミジン又はその誘導体を含む群より選ばれ、

bb)前記アニオン電荷の一部は、脂肪族鎖に結合した、酢酸、プロモ酢酸、クロロ酢酸、アセト酢酸、プロピオン酸、アクリル酸、酪酸、クロトン酸、又はカルボン酸を含むカルボキシル基；モノエステル化又はアミノ化又は脂肪族鎖に結合した、シュウ酸、マロン酸、コハク酸、マレイン酸、フマル酸、リンゴ酸、酒石酸、グルタル酸、アジピン酸、カプリル酸、ピメリン酸、スベリン酸、シクロヘキサジカルボン酸又はシクロペンタンジカルボン酸のようなジカルボン酸を含むカルボキシル基；モノエステル化又はアミノ化又は脂肪族鎖に結合した、クエン酸、イソクエン酸又はエチレンジアミン四酢酸のようなオリゴカルボン酸を含むカルボキシル基である、

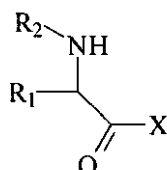
(b)スペースはエチレン系不飽和結合0、1又は2個と、ヒドロキシル基0～4個を含む直鎖、分枝鎖又は環状構造をもつC原子8個までを有する低級アルキル残基であり、

(c)Yは-(C=O)-O-；-(C=O)-NH-；-NH-(C=O)-O-；-O-；-NH-；-CH=N-；-O-(O=C)-；-S-；-(O=C)-；-NH-(O=C)-；-O-(O=C)-NH-、-N=CH-及び/又は-S-S-を含み、

(d)両親媒性物質は下記一般式(V)

## 【化 9】

(V)



( 式中、 $R_1$  及び  $R_2$  は独立してエチレン系不飽和結合0、1又は2個を有する $C_8$ - $C_{30}$ アルキルであり、

Xは-O-；-NH-；-S-の群より選ばれる。 )

を有する構造である。 ]

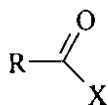
を有する両性脂質を含んでいることを特徴とする、前記システム。

## 【請求項 27】

両親媒性物質が下記式(VI)：

## 【化 10】

(VI)



( 式中、Rはエチレン系不飽和結合0、1又は2個を有する $C_8$ - $C_{30}$ アルキルであり、

Xは-O-；-NH-；-S-の群より選ばれる。 )

を有する構造であることを特徴とする、請求項26記載の生体内トランスフェクションシステム。

## 【請求項 28】



生体内、試験管内及び/又は生体外で細胞をトランスフェクトするベクターとしての請求項25～27のいずれか1項に記載の生体内トランスフェクションシステムの使用。