

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2022年4月21日(21.04.2022)



(10) 国際公開番号

WO 2022/080294 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 47/34 (2017.01) C07K 7/00 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01) C07K 14/00 (2006.01)
A61K 47/32 (2006.01) C07K 16/00 (2006.01)

区大宮五丁目16番1号 Osaka (JP). 株式会社 A D E K A (ADEKA CORPORATION) [JP/JP]; 〒1168554 東京都荒川区東尾久7丁目2番35号 Tokyo (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP2021/037523

(22) 国際出願日: 2021年10月11日(11.10.2021)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

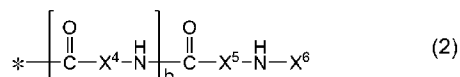
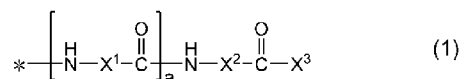
(30) 優先権データ:
特願 2020-174704 2020年10月16日(16.10.2020) JP

(71) 出願人: 学校法人常翔学園 (JOSHO GAKUEN EDUCATIONAL FOUNDATION) [JP/JP]; 〒5358585 大阪府大阪市旭

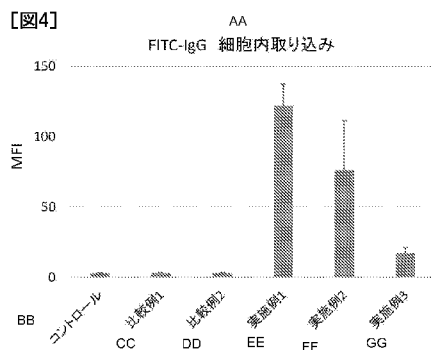
(72) 発明者: 佐久間 信至 (SAKUMA Shinji); 〒5730101 大阪府枚方市長尾峠町45-1 摂南大学内 Osaka (JP). 伴野 拓巳 (TOMONO Takumi); 〒5730101 大阪府枚方市長尾峠町45-1 摂南大学内 Osaka (JP). 宮田 康平 (MIYATA Kohhei); 〒1168554 東京都荒川区東尾久7丁目2番35号 株式会社 A D E K A 内 Tokyo (JP). 滋野 浩一 (SHIGENO Koichi); 〒1168554 東京都荒川区東尾久7丁目2番35号 株式会社 A D E K A 内 Tokyo (JP).

(54) Title: COMPOSITION

(54) 発明の名称: 組成物



[図4]



AA Intake of FITC-IgG into cell
BB Control
CC Comparative example 1
DD Comparative example 2
EE Example 1
FF Example 2
GG Example 3

(57) Abstract: The present invention addresses the problem of providing an absorption promoting agent which makes it possible to introduce a compound having a high molecular weight into a cell. The problem can be solved by a composition comprising a high-molecular-weight compound which has a group represented by general formula (1) or (2) described in the present invention in a side chain thereof and a compound to be administered which has a molecular weight of 1,000 to 1,200,000. Formula (1) (wherein X¹ represents a residue having a structure such that a

(74) 代理人: 山口 健次郎, 外(YAMAGUCHI Kenjiro et al.); 〒1730004 東京都板橋区板橋二丁目 6 7 番 8 号 板橋中央ビル 5 階 森田・山口国際特許事務所内 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

- 国際調査報告 (条約第21条(3))
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト (規則5.2(a))

terminal amino group and a terminal carboxyl group are removed from a neutral amino acid or an ω -aminoalkanoic acid; X^2 represents a residue having a structure such that a terminal amino group and a terminal carboxyl group are removed from a membrane-permeable peptide; X^3 represents a hydroxyl group, an amino group, or an alkoxy or benzyloxy group having 1 to 4 carbon atoms; a represents an integer of 0 to 50; and * indicates a binding site.) Formula (2) (wherein X^4 represents a residue having a structure such that a terminal amino group and a terminal carboxyl group are removed from a neutral amino acid or an ω -aminoalkanoic acid; X^5 represents a residue having a structure such that a terminal amino group and a terminal carboxyl group are removed from a membrane-permeable peptide; X^6 represents a hydrogen atom, an alkyl group having 1 to 6 carbon atoms, a benzyl group, an acyl group having 1 to 6 carbon atoms, an arylsulfonyl group or an oxycarbonyl group; b represents an integer of 0 to 50; and * indicates a binding site.)

(57) 要約: 本発明の目的は、高分子量の化合物を細胞内に導入できる吸収促進剤を提供することである。前記課題は、本発明の一般式(1)又は一般式(2)で表される基を側鎖に有する高分子化合物と、分子量1, 000~1, 200, 000の投与化合物と、を含有する組成物によって解決することができる。式(1)(式中、 X^1 は、中性アミノ酸又は ω -アミノアルカン酸から末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^2 は膜透過性ペプチドから末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^3 は、水酸基、アミノ基、炭素数1~4のアルコキシル基又はベンジルオキシ基であり、aは0~50の整数である。*は結合箇所を表す。)式(2)(式中、 X^4 は、中性アミノ酸又は ω -アミノアルカン酸から末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^5 は膜透過性ペプチドから末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^6 は、水素原子、炭素数1~6のアルキル基、ベンジル基、炭素数1~6のアシル基、アリールスルホニル基又はオキシカルボニル基であり、bは0~50の整数である。*は結合箇所を表す。)

明 細 書

発明の名称：組成物

技術分野

[0001] 本発明は組成物に関する。本発明によれば、抗体医薬などの高分子量の化合物を細胞内に導入することができる。

背景技術

[0002] 医薬等の吸収促進剤として、例えばサルカプロザートナトリウム（S N A C : N - (8 - [2 - ヒドロキシベンゾイル] アミノ) カプリル酸）が知られている（特許文献1）。S N A Cは、医薬等と共存させて投与するが、高分子量の化合物を細胞内に導入することは難しかった。

[0003] また、膜透過性ペプチドを吸収促進剤として用いる方法がある。例えば膜透過性ペプチドと細胞に導入しようとする目的化合物を共存させ、目的化合物のみを導入する方法（特許文献2及び3）が知られている。膜透過性ペプチドを使用する方法は、簡便であるが、高分子量物質の導入効率が不十分であった。

先行技術文献

特許文献

[0004] 特許文献1：特表2010-502667号公報

特許文献2：国際公開第2010/134537号明細書

特許文献3：特表2019-522020号公報

特許文献4：国際公開第2016/136708号明細書

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 本発明者らは、高分子化合物の側鎖に膜透過性ペプチドを結合させた高分子化合物を用いることにより、低膜透過性化合物の細胞への導入が促進されることを見出した（特許文献4）。しかしながら、高分子量の化合物を細胞内に導入できる吸収促進剤の開発が期待されていた。

従って、本発明の目的は、高分子量の化合物を細胞内に導入できる吸収促進剤を提供することである。

課題を解決するための手段

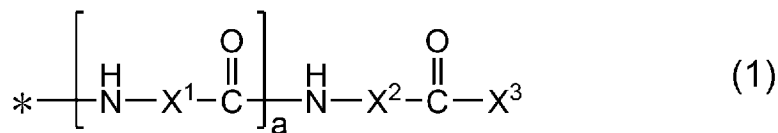
[0006] 本発明者は、高分子量の化合物を細胞内に導入できる吸収促進剤について、鋭意研究した結果、驚くべきことに、特定の構造のペプチドを側鎖に有する高分子化合物と組み合わせることにより、効率よく高分子量の化合物を細胞内に導入できることを見出した。

本発明は、こうした知見に基づくものである。

従って、本発明は、

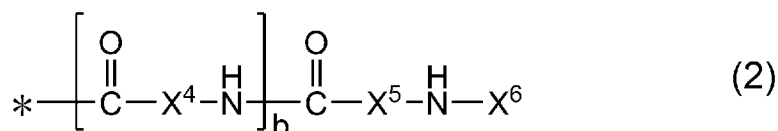
[1] 下記一般式(1)又は下記一般式(2)で表される基を側鎖に有する高分子化合物と、分子量1,000～1,200,000の投与化合物と、を含有する組成物。

[化1]



(式中、 X^1 は、中性アミノ酸又は ω -アミノアルカン酸から末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^2 は膜透過性ペプチドから末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^3 は、水酸基、アミノ基、炭素数1～4のアルコキシル基又はベンジルオキシ基であり、 a は0～50の整数である。*は結合箇所を表す。)

[化2]



(式中、 X^4 は、中性アミノ酸又は ω -アミノアルカン酸から末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^5 は膜透過性ペプチドから末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^6 は、水素原子、炭素数1～6のアルキル基、ベンジル基、炭素数1～6のアシル基、アリ

ールスルホニル基又はオキシカルボニル基であり、bは0～50の整数である。＊は結合箇所を表す。）、

〔2〕前記投与化合物の分子量が1,000～200,000である、〔1〕に記載の組成物、

〔3〕前記高分子化合物の幹高分子がビニル系親水性高分子である〔1〕又は〔2〕に記載の組成物、

〔4〕前記投与化合物が抗体である〔1〕～〔3〕のいずれかに記載の組成物、

〔5〕前記抗体が、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、若しくはヒト抗体、又はそれらの抗原結合性断片である、〔4〕に記載の組成物、及び

〔6〕前記高分子化合物及び投与化合物を混合した後に細胞に接触させるための、〔1〕～〔5〕のいずれかに記載の組成物、に関する。

発明の効果

[0007] 本発明の組成物によれば、高分子量の化合物を細胞内に導入することができる。特に、抗体医薬などの薬剤の生体内での吸収を促進させることができ、薬効を高めることが可能である。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]投与化合物としてFITC-INSを用いた本発明の組成物の細胞への取り込みを示したグラフである。

[図2]投与化合物としてFITC-CTBを用いた本発明の組成物の細胞への取り込みを示したグラフである。

[図3]投与化合物としてFITC-OVAを用いた本発明の組成物の細胞への取り込みを示したグラフである。

[図4]投与化合物としてFITC-IgGを用いた本発明の組成物の細胞への取り込みを示したグラフである。

[図5]投与化合物としてFITC-Tfを用いた本発明の組成物の細胞への取

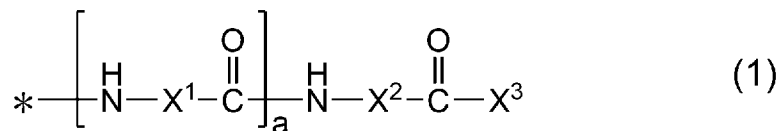
り込みを示したグラフである。

[図6]投与化合物としてFITC-IgMを用いた本発明の組成物の細胞への取り込みを示したグラフである。

発明を実施するための形態

[0009] 本発明の組成物は、下記一般式(1)：

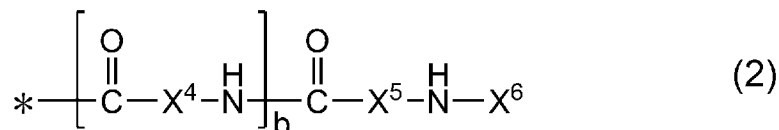
[化3]



(式中、 X^1 は、中性アミノ酸又は ω -アミノアルカン酸から末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^2 は膜透過性ペプチドから末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^3 は、水酸基、アミノ基、炭素数1～4のアルコキシル基又はベンジルオキシ基であり、 a は0～50の整数である。*は結合箇所を表す。)

又は下記一般式(2)：

[化4]



(式中、 X^4 は、中性アミノ酸又は ω -アミノアルカン酸から末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^5 は膜透過性ペプチドから末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^6 は、水素原子、炭素数1～6のアルキル基、ベンジル基、炭素数1～6のアシル基、アリールスルホニル基又はオキシカルボニル基であり、 b は0～50の整数である。*は結合箇所を表す。)

で表される基を側鎖に有する高分子化合物と、分子量1,000～1,200,000の投与化合物とを含有する。前記投与化合物の分子量は、例えば1,000～200,000であってもよい。

[0010] 本発明の組成物は、高分子化合物及び投与化合物を含み、細胞に投与化

物を効率的に導入することができる。従って、本発明の組成物は、限定されるものではないが、化合物導入用組成物である。また、投与化合物が薬剤であり、ヒト又は動物等の治療に用いられる場合、本発明の組成物は、医薬組成物として用いることができる。本発明の組成物は、例えば、粘膜（例えば、鼻粘膜、口腔粘膜、膣粘膜、直腸粘膜、眼粘膜、胃粘膜、腸管粘膜等）を介して細胞に導入することができる。

[0011] 《投与化合物》

本発明の組成物は、実施例に示すように高分子の投与化合物を細胞内に導入することができる。投与化合物の分子量は、特に限定されるものではないが、本発明の効果を顕著に発揮する観点から、例えば1,000～1,200,000であり、ある態様では4,000～1,100,000であり、ある態様では5,000～1,000,000であり、ある態様では9,000～990,000であり、ある態様では20,000～980,000であり、ある態様では40,000～950,000であり、ある態様では70,000～940,000であり、ある態様では85,000～930,000であり、ある態様では100,000～920,000であり、ある態様では130,000～910,000であり、ある態様では140,000～905,000であり、ある態様では150,000～900,000であり、ある態様では160,000～890,000であり、ある態様では170,000～880,000であり、ある態様では180,000～870,000であり、ある態様では190,000～860,000であり、ある態様では200,000～850,000であり、ある態様では230,000～830,000であり、ある態様では250,000～800,000であり、ある態様では300,000～750,000であり、ある態様では350,000～700,000であり、ある態様では400,000～650,000であり、ある態様では450,000～600,000であり、ある態様では500,000～550,000である。更にある態様では1,000～200,000であり、ある態様では5,0

00～200,000であり、ある態様では20,000～180,000であり、ある態様では40,000～180,000、ある態様では70,000～170,000、ある態様では85,000～160,000、ある態様では100,000～155,000である。前記分子量範囲の上限と下限とは、例えば1,000～1,100,000、又は4,000～1,200,000などのように適宜組み合わせた範囲とすることができる。

投与化合物の分子量は、物質1分子の質量の統一原子質量単位に対する比であり、分子中に含まれる原子量の総和を意味する。従って、それぞれの化合物の化学式から計算することができる。なお、特に断らない限り、構成元素の天然の核種組成に基づいた相対原子質量（原子量）を用いて算出される。投与化合物が混合物の場合は、混合された2種以上の化合物の比から計算することができる。

投与化合物がポリマー、又は混合比の不明な混合物などの場合は、分子量として重量平均分子量を用いることができる。本明細書において「重量平均分子量」とは、水系溶媒を用いてGPC分析を行った場合の重量平均分子量を意味する。例えば、プルラン換算の重量平均分子量、又はポリエチレングリコール（PEG）若しくはポリエチレンオキッド（PEO）換算の重量平均分子量を用いることができる。

投与化合物が抗体、タンパク質などの場合は、上記の換算の他、例えば、Thyroglobulin、 γ -Globulin、BSA、OVA、Myoglobin、Ribonuclease A、Aprotinin換算の重量平均分子量を用いることができる。投与化合物が抗体、タンパク質などの場合、GPC測定における分子量は、特に限定されないが、例えば、以下の装置及びカラムで測定した値を採用できる。

- ・装置 EXTREMA（日本分光社製）
- ・カラム PROTEIN LW-803（Shodex社製）

[0012] 投与化合物としては、限定されるものではないが、抗体などのバイオ医薬品、インスリン及びインスリン分泌促進剤（例えば、エキセンディン-4、

GLP-1)などのペプチド・タンパク性医薬品、ステロイドホルモン、非ステロイド系鎮痛抗炎症剤、精神安定剤、抗高血圧薬、虚血性心疾患治療薬、抗ヒスタミン薬、抗喘息薬、抗パーキンソン薬、脳循環改善薬、制吐剤、抗うつ薬、抗不整脈薬、抗凝固薬、抗痛風薬、抗真菌薬、抗痴呆薬、シェーングレン症候群治療薬、麻薬性鎮痛薬、ベータ遮断薬、 $\beta 1$ 作動薬、 $\beta 2$ 作動薬、副交感神経作動薬、抗腫瘍薬、利尿薬、抗血栓薬、ヒスタミンH1レセプター拮抗薬、ヒスタミンH2レセプター拮抗薬、抗アレルギー薬、禁煙補助薬、ビタミン等の医薬品；デオキシリボ核酸（DNA）又はリボ核酸（RNA）及びこれらの類似体又は誘導体（例えば、ペプチド核酸（PNA）、ホスホロチオエートDNA等）等の核酸化合物；酵素、糖タンパク質、転写因子等のペプチド化合物；プルラン、アミロペクチン、アミロース、グリコーゲン、シクロデキストリン、デキストラン、ヒドロキシエチルデキストラン、マンナン、セルロース、デンプン、アルギン酸、キチン、キトサン、ヒアルロン酸等の多糖誘導体およびそれらの誘導体等が挙げられる。本発明の効果が顕著に発揮される観点から、投与化合物としては、好ましくは、抗体などのバイオ医薬品、インスリン及びインスリン分泌促進剤（例えば、エキセンディン-4、GLP-1）などのペプチド・タンパク性医薬品、デオキシリボ核酸（DNA）又はリボ核酸（RNA）及びこれらの類似体又は誘導体（例えば、ペプチド核酸（PNA）、ホスホロチオエートDNA等）等の核酸化合物、酵素、糖タンパク質、転写因子等のペプチド化合物等、より好ましくは、抗体、タンパク質、ペプチド等である。本発明に用いる投与化合物から、FITC-BSAを除くことができる。

[0013]（抗体）

前記抗体としては、限定されるものではないが、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、若しくはヒト抗体、又はそれらの抗原結合性断片が挙げられる。ヒト化抗体は、超可変領域からの残基を目的する特異性、親和性および能力を保有している非ヒト種（供与者抗体）、例えば、マウス、ラット、ウサギまたは非ヒト霊長類の超可変領域か

らの残基で代替させたヒト免疫グロブリンである。前記ヒト抗体は、ヒト免疫グロブリンから由来する分子であって、相補性決定領域、構造領域を含む抗体を構成するすべてのアミノ酸配列全体が、ヒト免疫グロブリンのアミノ酸配列で構成されているものを意味する。ヒト抗体は、ヒトによって生産させる他に、ファージディスプレイライブラリーを含み、当業界に公示された種々の技術を使用して製造することができる。また、抗原試験接種に反応して抗体を生産するように変形されたが、その内因性ロカス（locus）が機能しないトランスジェニック動物、例えば免疫処理されたゼノマウス（xenomouse）に抗原を投与して作成することもできる。

[0014] 抗原結合性断片としては、Fab、Fab'、F(ab')₂、及びFv断片、又は単鎖抗体分子（scFv）が挙げられる。更に、抗原結合性断片として、ディアボディー、トリアボディー、テトラボディー、ドメイン抗体、ミニボディー、スキップ（single chain antibody、scAb）、又は前記抗体断片から形成されたマルチ特異性抗体を用いることもできる。これらの抗原結合性断片は、例えば、抗体を常法によりタンパク質分解酵素（例えば、ペプシン又はパパイン等）によって消化し、続いて、常法のタンパク質の分離精製の方法により精製することにより、得ることができるか、又は遺伝子組換えにより調製することができる。例えば、前記scFv（single-chain variable fragment）は、重鎖可変領域ドメイン（VH）と軽鎖可変領域ドメイン（VL）とをリンカーで連結することにより得られる単鎖ポリペプチド抗体である。VHとVLとを連結する順序は、特に限定されておらず、任意の順序で配置することができる。すなわち、[VH] リンカー [VL] の順序で配置されてもよく、又は[VH] リンカー [VL] の順序で配置されてもよい。

[0015] 前記抗体又は抗原結合断片は、抗体医薬として用いることができる。具体的な抗体医薬としては、ベバシズマブ、リツキシマブ、トラスツズマブ、パニツムマブ、セツキシマブ、ペルツズマブ、トラスツズマブーエムタンシン、ブレンツキシマブベドチン、トラスツズマブ、メポリズマブ、ゲムツズマ

ブオゾガマイシン、モガムリズマブ、アレムツズマブ、イノツズマブ、オファツムマブ、イピリムマブ、ラムシルマブ、ニボルマブなどが挙げられる。

[0016] 本発明の組成物における投与化合物の含有量は、特に制限されるものではないが、本発明の効果を発揮する観点から、0.00001～40質量%であることが好ましく、0.0001～30質量%であることがより好ましく、0.0001～20質量%であることが最も好ましい。

[0017] 《高分子化合物》

前記高分子化合物は、一般式(1)又は一般式(2)で表される基を側鎖に有するグラフト型の高分子化合物である。

[0018] (一般式(1)の基)

一般式(1)において、 X^1 は、中性アミノ酸又は ω -アミノアルカン酸から末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基を表し、 a は0～50の数を表す。中性アミノ酸としては、例えば、アラニン、アスパラギン、システイン、グルタミン、グリシン、イソロイシン、ロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、トレオニン、トリプトファン、チロシン、バリン、ヒドロキシプロリン等が挙げられ、 ω -アミノアルカン酸としては、3-アミノプロパン酸、4-アミノブタン酸、5-アミノペンタン酸、6-アミノヘキサン酸、7-アミノヘプタン酸、8-アミノオクタン酸、9-アミノノナン酸、10-アミノデカン酸、11-アミノウンデカン酸等が挙げられる。 X^1 に適用される中性アミノ酸としては、投与化合物の導入効率が上がることから、グリシン、アラニン、バリン、イソロイシン、ロイシン、セリン、トレオニン、フェニルアラニンが好ましく、グリシン、アラニン、セリンが更に好ましく、グリシンが最も好ましい。 a は、本発明の効果を発揮する観点から、0～30の数が好ましく、0～20の数が更に好ましく、0～10の数が最も好ましい。ある実施態様としては a が0であり、ある実施態様としては a が4である。

[0019] 一般式(1)において、 X^2 は膜透過性ペプチドから末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基を表す。本発明における高分子化合物の膜透

過性ペプチド残基は、細胞や粘膜、導入しようとする投与化合物に応じて適宜選択されてよいが、本発明の効果を発揮する観点から、膜透過性ペプチド残基を構成するアミノ酸の少なくとも1つは塩基性アミノ酸であることが好ましい。また、塩基性アミノ酸は、L体又はD体のいずれであってもよいが、好ましくはD体である。D体のアミノ酸は、通常生体内に存在しないため、分解されにくく、本発明の組成物の効果を維持できる可能性がある。

[0020] 塩基性アミノ酸としては、本発明の効果をより発揮する観点から、アルギニン、オルニチン、リジン、ヒドロキシリジン、ヒスチジン等が挙げられ、中でも、グアニジノ基含有アミノ酸が好ましく、アルギニンが更に好ましい。膜透過性ペプチド残基中の塩基性アミノ酸の割合が高いほど、投与化合物の導入効率が上がることから、膜透過性ペプチドを構成する全アミノ酸に対する塩基性アミノ酸の割合は、モル基準で、50%以上であることが好ましく、70%以上であることが更に好ましい。膜透過性ペプチド残基を構成するアミノ酸のうち、塩基性アミノ酸以外のアミノ酸は、中性アミノ酸であることが好ましい。なお、本明細書中でアミノ酸と記載する場合、特に断らない限り、 α -アミノ酸を意味する。

[0021] 膜透過性ペプチド残基を構成するアミノ酸の数は、投与化合物の導入効率が上がることから、5～30であることが好ましく、6～20であることが更に好ましく、7～15であることが最も好ましい。

膜透過性ペプチドの好ましい具体例としては、7～30個のアルギニンがペプチド結合したアルギニンオリゴマー、GRKKRRQRRRPPQなるアミノ酸配列を有するペプチド（通称HIV-1 Tat：配列番号1）、TRQARRNRRRRWRERQRなるアミノ酸配列を有するペプチド（通称HIV-1 Rev：配列番号2）、RRRRNRTRRNRRRVRRなるアミノ酸配列を有するペプチド（通称FHV Coat：配列番号3）、TRRQRTRRARRRNRなるアミノ酸配列を有するペプチド（通称HTLV-II Rex：配列番号4）、KLTRAQRRAAARKNKRNTRなるアミノ酸配列を有するペプチド（通称CCMV Gag：配列番号

号5)等の親水性の塩基性ペプチド; RQIKIWFQNRRMKWKKなるアミノ酸配列を有するペプチド(通称アンテナペディア:配列番号6)、KMTRAQRRAAARRNRWTARなるアミノ酸配列を有するペプチド(通称BMW Gag:配列番号7)、RQIKIWFQNRRMKWKKなるアミノ酸配列を有するペプチド(通称ペネトラチン:配列番号8)、NAKTRRHERRRKLAIERなるアミノ酸配列を有するペプチド(通称P22N:配列番号9)、DAATATRGRSAASRPTERPRAPARSASRPDDPVDなるアミノ酸配列を有するペプチド(通称VP22:配列番号10)等の両親媒性の塩基性ペプチド; GWTLNSAGYLLGKINLKALAALAKKILなるアミノ酸配列を有するペプチド(通称トランスポータン:配列番号11)、AGYLLGKINLKALAALAKKILなるアミノ酸配列を有するペプチド(通称TP-10:配列番号12)等の疎水性の塩基性ペプチドが挙げられる。これらの中で、投与化合物の導入効率が優れることから、親水性の塩基性ペプチドが好ましく、アルギニンオリゴマーが更に好ましい。アルギニンオリゴマーの中でも、アルギニンの繰り返し数は、本発明の効果を発揮する観点から、7~20が好ましく、7~15が更に好ましく、7~10が最も好ましい。ある実施態様としてはアルギニンの繰り返し数は8である。

[0022] 一般式(1)において、 X^3 は、水酸基、アミノ基、炭素数1~4のアルコキシル基又はベンジルオキシ基を表す。炭素数1~4のアルコキシル基としては、メトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、イソプロポキシ基、ブトキシ基、イソブトキシ基、1-メチルプロポキシ基、*t*-ブトキシ基等が挙げられる。投与化合物の導入効率の点から、 X^3 としては、水酸基、アミノ基、*t*-ブトキシ基、ベンジルオキシ基が好ましく、水酸基、アミノ基が更に好ましく、アミノ基が最も好ましい。

一般式(1)で表される基を側鎖に有する高分子化合物中、一般式(1)で表される基が複数存在する場合、それぞれの一般式(1)で表される基の、 X^1 、 X^2 、 X^3 及びaは同一であってもよく、異なってもよい。

[0023] (一般式(2)の基)

一般式(2)において、 X^4 は、中性アミノ酸又は ω -アミノアルカン酸から末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基を表し、 b は0～50の数を表す。中性アミノ酸としては、前記一般式(1)の X^1 に用いる中性アミノ酸と同様の中性アミノ酸を用いることができる。 b は、本発明の効果を発揮する観点から、0～30の数が好ましく、0～20の数が更に好ましく、0～10の数が最も好ましい。ある実施態様としては b が0であり、ある実施態様としては b が4である。

[0024] 一般式(2)において、 X^5 は膜透過性ペプチドから末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基を表す。本発明における高分子化合物の膜透過性ペプチド残基は、前記一般式(1)の X^2 に用いる膜透過性ペプチド残基と同様の膜透過性ペプチド残基を用いることができる。また、塩基性アミノ酸は、L体又はD体のいずれであってもよいが、好ましくはD体である。D体のアミノ酸は、通常生体内に存在しないため、分解されにくく、本発明の組成物の効果を維持できる可能性がある。

前記塩基性アミノ酸としては、前記一般式(1)の X^2 に記載の塩基性アミノ酸と同様の塩基性アミノ酸を用いることができる。

[0025] 膜透過性ペプチド残基を構成するアミノ酸の数は、投与化合物の導入効率が上がることから、5～30であることが好ましく、6～20であることが更に好ましく、7～15であることが最も好ましい。

具体的な膜透過性ペプチドとしては、前記一般式(1)の X^2 に用いる膜透過性ペプチドと同様の膜透過性ペプチドが挙げられる。膜透過性ペプチドとしてアルギニンオリゴマーを用いる場合、アルギニンの繰り返し数は、本発明の効果を発揮する観点から、7～20が好ましく、7～15が更に好ましく、7～10が最も好ましい。ある実施態様としてはアルギニンの繰り返し数は8である。

[0026] 一般式(2)において、 X^6 は、水素原子、炭素数1～6のアルキル基、ベンジル基、炭素数1～6のアシル基、アリールスルホニル基又はカルボオキ

シル基を表す。炭素数 1 ～ 6 のアルキル基としては、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、2 級ブチル基、*t*-ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、2 級ペンチル基、*t*-ペンチル基、ヘキシル基、2 級ヘキシル基等が挙げられる。炭素数 1 ～ 6 のアシル基としては、ホルミル基、アセチル基、プロピノイル基、ブチノイル基、ペンチノイル基、ヘキシノイル基等が挙げられる。アリアルスルホニル基としては、*p*-トルエンスルホニル基、2-ニトロベンゼンスルホニル基、トリフルオロアセチル基等が挙げられる。オキシカルボニル基としては、例えば、*t*-ブトキシカルボニル基、ベンジルオキシカルボニル基、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル基、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル基、アリルオキシカルボニル基等が挙げられる。投与化合物の導入効率の点から、 X^6 としては、アセチル基、水素原子、メチル基、トリフルオロアセチル基が好ましく、アセチル基、水素原子が更に好ましく、アセチル基が最も好ましい。

一般式 (2) で表される基を側鎖に有する高分子化合物中、一般式 (2) で表される基が複数存在する場合、それぞれの一般式 (2) で表される基の、 X^4 、 X^5 、 X^6 及び b は同一であってもよく、異なってもよい。

[0027] 《高分子化合物の幹高分子》

前記高分子化合物の主鎖の部分を、幹高分子と称する。本発明のグラフト型高分子の幹高分子は、特に限定されないが、細胞やタンパク質等の水溶性高分子量物質との親和性に優れることから親水性高分子であることが好ましい。ここで、親水性高分子とは、水溶性高分子、または水中で膨潤する高分子を意味する。本発明において、水溶性高分子とは、常圧下で 25℃ の水に 0.1 質量% 以上の量で均一に溶解する高分子をいう。

[0028] 親水性高分子としては、例えば、グアーガム、アガロース、マンナン、グルコマンナン、ポリデキストロース、リグニン、キチン、キトサン、カラギーナン、プルラン、コンドロイチン硫酸、セルロース、ヘミセルロース、メチルセルロース、エチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロ

キシプロピルセルロース、デンプン、カチオンデンプン、デキストリンの多糖類又は多糖類の変性物；アルブミン、カゼイン、ゼラチン、ポリグルタミン酸、ポリリジン等の水溶性タンパク質又は水溶性ポリペプチド；ポリ（メタ）アクリル酸、ポリ（アクリル酸ヒドロキシエチル）、ポリ（メタ）アクリルアミド、ポリN-ビニルアセトアミド、ポリビニルピロリドン、ポリビニルアルコール、ポリ（2-アミノエチル（メタ）アクリレート）、（メタ）アクリル酸／アクリルアミド共重合物、（メタ）アクリル酸／N-イソプロピルアクリルアミド共重合物、（メタ）アクリル酸／N-ビニルアセトアミド共重合物、（メタ）アクリル酸／マレイン酸共重合物、（メタ）アクリル酸／フマル酸共重合物、エチレン／マレイン酸共重合物、イソブチレン／マレイン酸共重合物、スチレン／マレイン酸共重合物、アルキルビニルエーテル／マレイン酸共重合物、アルキルビニルエーテル／フマル酸共重合物等のビニル系親水性高分子；水溶性ポリウレタン等が挙げられるが、本発明の効果を顕著に発揮する観点から、好ましくはビニル系親水性高分子である。

[0029] 幹高分子への膜透過性ペプチド残基のグラフト化が容易になることから、幹高分子としては、本発明における高分子化合物が、一般式（1）で表される基を側鎖に有する高分子化合物の場合には、カルボキシル基を有する高分子が好ましく、カルボキシル基を有する親水性高分子がより好ましく、カルボキシル基を有するモノマーとカルボキシル基を有しないモノマーとの共重合物が更に好ましく、（メタ）アクリル酸／N-ビニルアセトアミド共重合物が最も好ましい。

[0030] また、一般式（2）で表される基を側鎖に有する高分子化合物の場合には、幹高分子への膜透過性ペプチド残基のグラフト化が容易になることから、アミノ基を有する高分子が好ましく、アミノ基を有する親水性高分子がより好ましく、キトサンが最も好ましい。なお、アミノ基又はカルボキシル基を有するとは、一般式（1）又は（2）で表される基を側鎖に有する前の幹高分子に該当するものであればよい。

幹高分子がカルボキシル基を有する場合、幹高分子を構成するモノマーユ

ニットの数に対するカルボキシル基を有するモノマーユニットの数の割合は、本発明における高分子化合物として好ましいものを得やすい観点等から5～80%が好ましく、10～60%がより好ましい。

幹高分子がアミノ基を有する場合、幹高分子を構成するモノマーユニットの数に対するアミノ基を有するモノマーユニットの数の割合は、本発明における高分子化合物として好ましいものを得やすい観点等から5～100%が好ましく、10～100%がより好ましい。なお、上記で述べたアミノ基又はカルボキシル基を有するユニットの割合は、一般式(1)又は一般式(2)で表される基を側鎖に有する前の幹高分子に該当することが好ましい。

[0031] 前記高分子化合物は、一般式(1)又は一般式(2)で表される基を側鎖に有するところに特徴がある。本発明の高分子化合物における、一般式(1)又は一般式(2)で表される基の割合があまりに低い場合及びあまりに高い場合、投与化合物の導入効率が低くなることを防ぐ観点から、本発明における高分子化合物中の、一般式(1)又は一般式(2)で表される基の数が、幹高分子を構成するモノマーユニット(多糖類又は多糖類の変性物の場合は単糖ユニット、水溶性タンパク質又は水溶性ポリペプチドの場合はアミノ酸ユニット)の数に対して、0.001～0.9であることが好ましく、0.005～0.8であることが更に好ましく、0.01～0.7であることが最も好ましい。

[0032] 本発明における高分子化合物の特性を活かし、後述するように、偶発的かつ継続的に投与化合物が細胞に取り込まれ易くなる観点から、また、本発明における高分子化合物があまりに大きい場合に導入しようとする投与化合物の導入効率が低下することを防ぐ観点から、本発明における高分子化合物の重量平均分子量は2万～5000万が好ましく、10万～3000万がより好ましく、20万～1000万が更に好ましく、25万から100万が最も好ましい。前記下限と上限とは適宜組み合わせることができる。なお、本発明において重量平均分子量とは、水系溶媒を用いてGPC分析を行った場合の重量平均分子量であって、幹高分子が多糖類若しくは多糖類の変性物、又

は水溶性タンパク質の場合には、プルラン換算の重量平均分子量、幹高分子がビニル系親水性高分子の場合には、ポリエチレングリコール（PEG）若しくはポリエチレンオキシド（PEO）換算の重量平均分子量をいう。

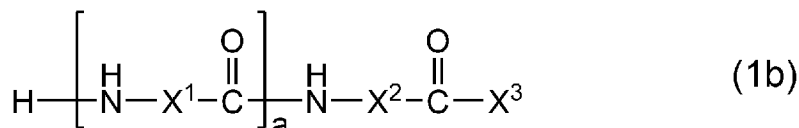
GPC測定における分子量は、例えば、以下の装置及びカラムで測定した値を採用できる。

・装置 EXTREMA（日本分光社製）

・カラム TSKgel G4000 PWXL×2 または TSKgel G6000 PWXL-CP + G3000 PWXL-CP（東ソー社製）

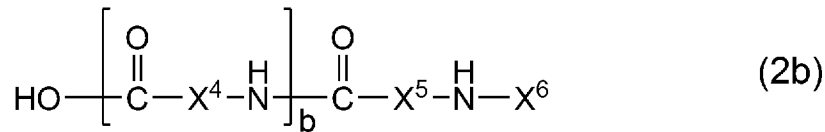
[0033] 前記高分子化合物を製造方法は特に限定されず、一般式（１）又は一般式（２）で表される基を有する重合性モノマーを重合して製造してもよいし、幹高分子に一般式（１）又は一般式（２）で表される基を導入して製造してもよいが、製造の容易さの点から、幹高分子に一般式（１）又は一般式（２）で表される基を導入して製造することが好ましい。幹高分子がカルボキシル基を有する親水性高分子である場合には、カルボキシル基に下記一般式（１b）で表されるペプチド化合物のアミノ基をペプチド反応させることにより得ることができる。カルボキシル基とアミノ基との反応は、公知の方法を用いればよく、例えば、カルボキシル基をN-ヒドロキシコハク酸イミドによりスクシイミドエステル化した後、アミノ基を反応させる方法等が挙げられる。また、幹高分子がアミノ基を有する親水性高分子である場合には、アミノ基に下記一般式（２b）で表されるペプチド化合物のカルボキシル基をペプチド反応させることにより得ることができる。この方法によれば、幹高分子の側鎖として、アミド結合を介して一般式（１）又は（２）で表される基を最も簡単に導入できる。ただし、一般式（１）又は（２）で表される基の固定法は、本法に限るものではなく、一般的に知られている化学反応を用いて、固定化できる。

[化5]



(式中、 X^1 、 X^2 、 X^3 および a は一般式(1)と同義である。)

[化6]



(式中、 X^4 、 X^5 、 X^6 および b は一般式(2)と同義である。)

[0034] 膜透過性ペプチドが細胞に取り込まれる機構は、一般的には、膜透過性ペプチドが細胞のマクロピノサイトーシスを誘発して取り込まれるもので、周囲に化合物が存在する場合には、膜透過性ペプチドとともにこれらの化合物が取り込まれるものと考えられている。本発明における高分子化合物では、膜透過性ペプチド残基により細胞の複数の箇所でもマクロピノサイトーシスが誘発されるが、本発明における高分子化合物は、巨大分子であり、また、本発明の高分子化合物の1分子を細胞が複数の箇所から取り込むことも困難である。このため、本発明における投与化合物は、本発明の組成物によりマクロピノサイトーシスを誘発された細胞により、偶発的に、かつ継続的に取り込まれることになる。また、本発明の組成物においては、高分子化合物と投与化合物とを組み合わせることにより、高分子化合物と投与化合物とが相互作用するため、抗体医薬のような高分子量の投与化合物であっても、細胞により効率的に導入される。

[0035] 本発明の組成物における高分子化合物の含有量は、特に制限されるものではないが、本発明の効果を発揮する観点から、0.00001～20質量%であることが好ましく、0.0001～15質量%であることがより好ましく、0.0001～10質量%であることが更により好ましく、0.0001～5質量%であることが最も好ましい。

[0036] 《医薬組成物》

本発明の組成物は、限定されるものではないが、医薬組成物として用いることができる。医薬組成物の有効成分は、前記投与化合物である。医薬組成物における、投与化合物の含有量は、使用する投与化合物により異なるが、成人の場合、1日当たり10mg～4g、より好ましくは20mg～2g摂

取できる量を医薬組成物中に含有できればよい。本発明の効果を発揮する観点から、具体的には、有効成分は医薬組成物中、0.00001～40質量%であることが好ましく、0.0001～30質量%であることがより好ましく、0.0001～20質量%であることが最も好ましい。

本発明の組成物においては、(A)高分子化合物と、(B)投与化合物を、これらの質量比が、(A) : (B) = 0.1 : 1～20 : 1の範囲で含有することが好ましく、0.1 : 1～10 : 1の範囲で含有することがより好ましく、0.1 : 1～5 : 1の範囲で含有することが更により好ましく、0.5 : 1～3 : 1の範囲で含有することが一層好ましく、0.5 : 1～2 : 1の範囲で含有することが最も好ましい。これにより、本発明の効果を顕著に発揮できる。

[0037] 医薬組成物の投与剤型としては、特に限定がなく、例えば、散剤、細粒剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤、懸濁剤、エマルジョン剤、シロップ剤、エキス剤、若しくは丸剤等の経口剤、又は注射剤、外用液剤、軟膏剤、坐剤、局所投与のクリーム、若しくは点眼剤などの非経口剤が挙げられる。経口剤の場合、機能性食品や健康食品（飲料も含む）、又は飼料として飲食物の形態で与えることも可能である。

[0038] 医薬組成物は、前記高分子化合物及び投与化合物に加えて、例えば、ゼラチン、アルギン酸ナトリウム、澱粉、コーンスターチ、白糖、乳糖、ブドウ糖、マンニット、カルボキシメチルセルロース、デキストリン、ポリビニルピロリデン、結晶セルロース、大豆レシチン、ショ糖、脂肪酸エステル、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ポリエチレングリコール、ケイ酸マグネシウム、無水ケイ酸、又は合成ケイ酸アルミニウムなどの賦形剤、結合剤、崩壊剤、界面活性剤、滑沢剤、流動性促進剤、希釈剤、保存剤、着色剤、香料、矯味剤、安定化剤、保湿剤、防腐剤、又は酸化防止剤等を用いて、常法に従って製造することができる。

[0039] 医薬組成物を用いる場合の投与量は、例えば、使用する有効成分の種類、病気の種類、患者の年齢、性別、体重、生上の程度、又は投与方法に応じて

適宜決定することができ、経口的に又は非経口的に投与することが可能である。医薬組成物は、好ましくは薬剤学的又は獣医学的に許容することができる通常の担体又は希釈剤とともに、対象〔例えば、動物、好ましくは哺乳動物（特にヒト）〕に有効量で投与することができる。

[0040] 本発明の組成物は、限定されるものではないが、前記高分子化合物及び投与化合物を混合した後に細胞に接触させるために用いることができる。例えば高分子化合物及び投与化合物が粉体で組成物に含まれている場合、溶液又は懸濁液として高分子化合物と投与化合物とが相互作用できる混合物とした後に、細胞と接触させることができる。高分子化合物と投与化合物とが相互作用することによって、投与化合物が効率的に細胞に取り込まれることができる。

[0041] また、本発明の組成物は、粘膜に使用することにより、種々の粘膜内の細胞に投与化合物を導入することが可能である。粘膜としては、鼻粘膜、口腔粘膜、膣粘膜、直腸粘膜、眼粘膜、胃粘膜、腸管粘膜等が挙げられる。粘膜に使用する場合、液体、ゲル、又はスプレーによって投与することが好ましい。本発明の組成物と細胞（粘膜）の接触時間は特に限定されないが、30分～24時間とするのが好適である。

[0042] 本発明の組成物が投与される細胞は、動物、植物、細菌等のいずれの細胞でもよい。in vitroで細胞に適用する場合、培養液（液体培地ともいう）等に分散された細胞、固定培地等に接着した細胞、生体組織の細胞等のいずれの細胞にも投与化合物を導入することが可能である。細胞は、組織細胞や神経細胞等を形成する接着系の細胞と、血球細胞等の浮遊系の細胞に大別できる。本発明の組成物は、接着系の細胞だけでなく、浮遊系の細胞に対しても、投与化合物を高い効率で導入することが可能である。

実施例

[0043] 以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。

[0044] 本発明の組成物に用いる高分子化合物を、下記の製造例1－5で作製した

。

《製造例 1》

本製造例では、主鎖高分子として、アクリル酸／N-ビニルアセトアミド共重合体を用いて、D-オクタアルギニンを側鎖に有する高分子化合物を調製した。

特開平08-081428の実施例14を参考に、アクリル酸ナトリウム30g及びN-ビニルアセトアミド70gを原料として、常法に従って共重合体（NVA-AA Naポリマー）を合成した。

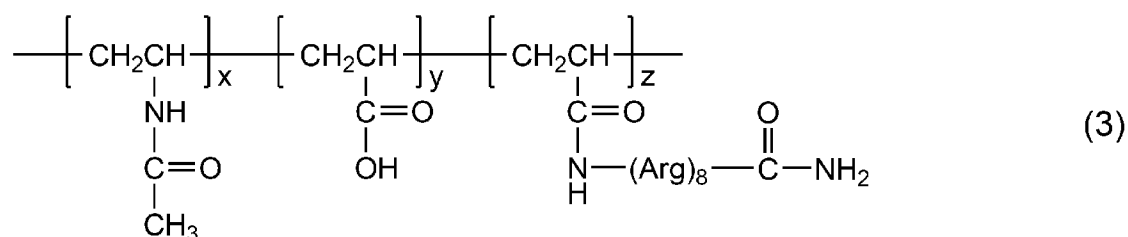
続いて、直径20mmのカラム管に陽イオン交換樹脂（IR120B、オルガノ製）を充填し、5.0wt% NVA-AA Naポリマー水溶液130gを2.6mL/minにて通液することで、NVA-AAポリマー水溶液を得た。得られたNVA-AAポリマー水溶液を凍結乾燥し、NVA-AAポリマーを5.7g得た。

300mLの4つ口フラスコに、5.0gのNVA-AAポリマーを142gのN,N'-ジメチルホルムアミド（DMF）に溶解し、この溶液を10℃以下に冷却した。この溶液に、N-ヒドロキシコハク酸イミドのDMF溶液58g（0.2g/mL）と、N,N'-ジシクロヘキシルカルボジイミドのDMF溶液66g（0.4g/mL）を添加した。氷浴下1時間攪拌した後、室温に昇温し24時間攪拌した。反応溶液を吸引濾過して濾液を回収し、アセトニトリル2Lを用いて再沈殿した。その後、沈殿をアセトン2Lにて洗浄し吸引濾過により固体を回収した。得られた固体を減圧乾燥することでスクシンイミドエステル化されたNVA-AAポリマー（NVA-AAポリマーOSu体）5.4gを得た。

[0045] 52mgのNVA-AAポリマーOSu体を2.4mLのDMFへ溶解した。この溶液に、8個のD-アルギニンからなる塩基性ペプチド（ $\text{NH}_2\text{-R}_8$ ／D、トリフルオロ酢酸塩、シグマアルドリッチ製）（一般式（1b）において、aが0、 X^2 がD-オクタアルギニンから末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基、 X^3 がアミノ基である化合物）のDMF溶液（40

0 mg/mL) 0.50 mL とトリエチルアミン (TCI 製) 0.01 mL を添加し 50℃ で 24 時間攪拌し反応を行った。その後、反応溶液をセルロース透析チューブ (シームレスセルロースチューブ、スペクトラム製、MWCO : 3.5 kDa) に移し、チューブの両口を縛った後、超純水を用いて 3 日間透析を行った。その後、チューブ内の内容物を凍結乾燥して、製造例 1 の高分子化合物 (以下、VP-R₈/D と称する) 110 mg を得た (一般式 (3))。製造例 1 の高分子化合物は、一般式 (1) の a が 0、X² が D-オクタアルギニンから末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基、X³ がアミノ基ある化合物である。GPC 分析により、VP-R₈/D の重量平均分子量は 350000 (PEG/PEO 換算) であり、NMR の積分値から下記の構造を有することが分かった。また、式中、Arg はアルギニン残基を表し、¹H-NMR 分析から x : y : z = 70 : 21 : 9 (モル比率) であった。

[化7]



GPC 分析における分子量は、以下の装置及びカラムで、以下の条件により測定した値を採用した。

- ・装置 EXTREMA (日本分光社製)
- ・カラム TSKgel G6000 PWXL-CP + G3000 PWXL-CP (東ソー社製)
- ・溶離液 0.1M リン酸緩衝液 (pH=2.7) 溶出
- ・流速 0.6 mL/min
- ・測定温度 60℃
- ・検出 RI
- ・分析時間 90分
- ・試料濃度 3 mg/mL

・ サンプル注入量 50 μ L

[0046] 《製造例 2》

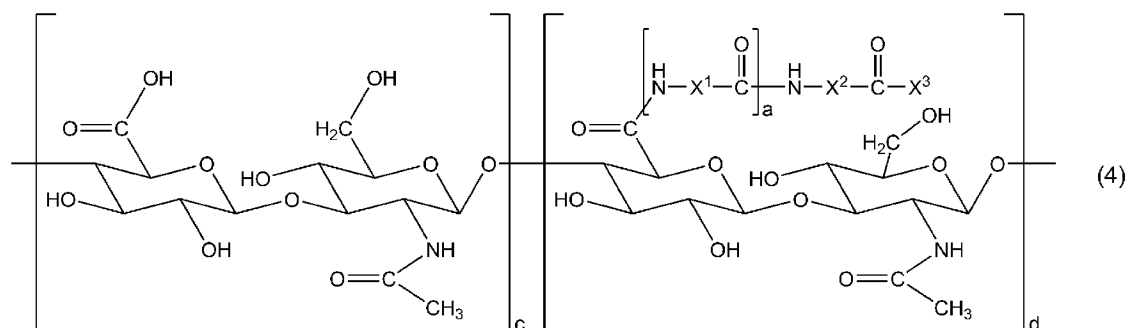
製造例 1 において、 X^2 を L-オクタアルギニンに変更した以外は製造例 1 と同様の操作（試薬類も同量）を行い、製造例 2 の高分子化合物（以下、 $VP-R_8/L$ と称する）110 mg を得た。GPC 分析（実施例 1 と同様の条件）により、 $VP-R_8/L$ の重量平均分子量は 370000（PEG/PEO 換算）であり、NMR の積分値から式（3）の構造を有することが分かった。また、 1H -NMR 分析から $x : y : z = 70 : 19 : 11$ （モル比率）であった。

[0047] 《製造例 3》

0.8 mL のジメチルスルホキシド（DMSO）に 20 mg のヒアルロン酸（鶏冠由来、東京化成製）を溶解した。この溶液へ 0.1 mL の DMSO に溶解した 18 mg の N-ヒドロキシコハク酸イミドを添加し、更に 0.1 mL の DMSO に溶解した 33 mg の N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミドを添加して 25℃ で 24 時間攪拌し反応を行った。析出した固体をフィルターろ過によりろ別し、0.5 mL の DMSO を添加して、スクシンイミドエステル化されたヒアルロン酸の DMSO 溶液を得た。この溶液に、4 個のグリシン及び 8 個の L-アルギニンからなる塩基性ペプチド（ $NH_2-G_4R_8/L$ 、トリフルオロ酢酸塩、シグマアルドリッチ製、末端カルボキシル基がアミド化）の DMSO 溶液（400 mg/mL）0.40 mL とトリエチルアミン 0.02 mL を添加し、25℃ にて 24 時間攪拌し反応を行った。その後、反応溶液をセルロース透析チューブ（シームレスセルロースチューブ、スペクトラム社製、MWCO : 3.5 kDa）に移し、チューブの両口を縛った後、超純水を用いて 7 日間透析を行った。その後、チューブ内の内容物を凍結乾燥して、製造例 3 の高分子化合物（以下、 $HA-G_4R_8/L$ と称する）100 mg を得た（一般式（4））。製造例 3 の高分子化合物は、一般式（1）（一般式（4））の a が 4、 X^1 が L-グリシンから末端アミノ基及び末端カルボキシル基を除いた残基、 X^2 が L-オクタアルギニンから

末端アミノ基及び末端カルボキシル基を除いた残基、 X^3 がアミノ基であり、 $d/(c+d)$ が1.0（ ^1H-NMR の積分値）である化合物である。GPC分析により、 $HA-G_4R_8/L$ の重量平均分子量は44000（プルラン換算）であった。

[化8]



GPC分析における分子量は、以下の装置及びカラムで、以下の条件により測定した値を採用した。

- ・装置 EXTREMA（日本分光社製）
- ・カラム TSKgel G4000 PWXL×2（東ソー社製）
- ・溶離液 0.5M酢酸+0.1M 硝酸ナトリウム水溶液溶出
- ・流速 1mL/min
- ・測定温度 40℃
- ・検出 RI
- ・分析時間 45分
- ・試料濃度 3mg/mL
- ・サンプル注入量 50μL

[0048] 《製造例4》

D-オクタアルギニン（以下 NH_2-R_8/D 、シグマアルドリッチ製）を、製造例4とした。

[0049] 《製造例5》

サルカプロザートナトリウム（以下SNAC、Synchem製）を、製造例5とした。

[0050] 《モデル薬物》

F I T C - I N S : F I T C 標識インスリン (ペプチド・タンパク性医薬品、分子量 5, 800、シグマアルドリッチ製、終濃度 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$)

F I T C - C T B : F I T C 標識コレラトキシンBサブユニット (タンパク質、分子量 11, 000、シグマアルドリッチ製、終濃度 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$)

F I T C - O V A : F I T C 標識オボアルブミン (タンパク質、分子量 45, 000、サーモフィッシャーサイエンティフィック製、終濃度 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$)

F I T C - I g G : F I T C 標識ヒト免疫グロブリンG (ヒト抗体、分子量 150, 000、シグマアルドリッチ製、終濃度 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$)

F I T C - T f : F I T C 標識トランスフェリン (タンパク質、分子量 77, 000、サーモフィッシャーサイエンティフィック製、終濃度 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$)

F I T C - I g M : F I T C 標識ヒト免疫グロブリンM (ヒト抗体、分子量 900, 000、自社合成、終濃度 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$)

[0051] 《細胞への取り込み評価》

実施例 1～3 (製造例 1～3 の高分子化合物) 又は比較例 1～2 (製造例 4 及び 5 の化合物) を用いて、上記記載のモデル薬物の細胞への取り込み評価を実施した。24 穴プレートの各ウエルに、チャイニーズハムスター卵巣由来細胞 (CHO 細胞) を含む Ham' s F-12 培地 (富士フィルム和光純薬社製) の懸濁液を $2 \times 10^5 \text{ cells}/\text{mL}$ で調製し、それを $500 \mu\text{L}/\text{well}$ で播種し、炭酸ガスインキュベーター (37°C 、 $5\% \text{CO}_2$) 内で 24 時間培養を行った。

[0052] 次に、上記のモデル薬物を含む Ham' s F-12 培地溶液 $250 \mu\text{L}/\text{well}$ と、製造例を含む Ham' s F-12 培地溶液 $250 \mu\text{L}/\text{well}$ と、を混合し、実施例または比較例の組成物 (表 1-6) を調製した。製造例の Ham' s F-12 培地溶液における終濃度は、CHO 細胞に対して傷害性を示さない濃度を個々に評価した上で下記の通りとした。

製造例 1 : 終濃度 $5 \mu\text{g}/\text{mL}$

製造例 2 : 終濃度 $5 \mu\text{g} / \text{mL}$

製造例 3 : 終濃度 $10 \mu\text{g} / \text{mL}$

製造例 4 : 終濃度 $170 \mu\text{g} / \text{mL}$

製造例 5 : 終濃度 $3000 \mu\text{g} / \text{mL}$

[0053] 次に、前培養後の 24 穴プレートの各ウェルについて、アスピレーターにて上清を除去した後、リン酸緩衝生理食塩水 $500 \mu\text{L} / \text{well}$ で 2 回洗浄した。その後、前述の組成物を穏やかに添加して、炭酸ガスインキュベーター内で 2 時間培養した。実験数は $n = 3$ で実施した。

2 時間後、上清の培地溶液を除去し、リン酸緩衝生理食塩水 $500 \mu\text{L} / \text{well}$ で 2 回洗浄した後、トリプシン-EDTA 溶液 (0.25% のトリプシン、 $1 \text{mmol} / \text{L}$ の EDTA 水溶液、Life Technologies 社製) $100 \mu\text{L} / \text{well}$ を添加して、培養した CHO 細胞を 24 穴プレートから剥離した。

次に、トリパンブルー溶液 (富士フィルム和光純薬社製) $400 \mu\text{L} / \text{well}$ を添加して細胞を懸濁させ、マイクロチューブに回収した。回収した細胞懸濁液をセルストレーナーに通過させ、フローサイトメーターに供し、平均蛍光強度 (MFI) を測定した。高分子化合物を使用しなかったもの (モデル薬物のみを添加したもの) をコントロールとした。

細胞外に吸着した FITC 標識モデル薬物は、トリパンブルーにより消光して蛍光を発せず、細胞内に導入されたモデル薬物のみが蛍光を発する。MFI は細胞 1 個当たりの蛍光強度の相加平均を示しており、MFI の値が大きい程、モデル薬物が高効率に細胞内に取り込まれたことを表している。

[0054] FITC-INS の細胞への取り込み評価の結果を表 1、及び図 1 に示す。FITC-CTB の細胞への取り込み評価の結果を表 2、及び図 2 に示す。FITC-OVA の細胞への取り込み評価の結果を表 3、及び図 3 に示す。FITC-IgG の細胞への取り込み評価の結果を、表 4、及び図 4 に示す。FITC-Tf の細胞への取り込み評価の結果を、表 5、及び図 5 に示す。FITC-IgM の細胞への取り込み評価の結果を、表 6、及び図 6 に

示す。

[0055] 実施例 1 ～ 3 は、比較例 1 及び 2 よりも、モデル薬物の細胞への取り込みが良好であり、モデル薬物が高分子量の範囲で、その結果は顕著になる傾向が見られた。これより、実施例 1 ～ 3 の組成物は、抗体のような高分子量の化合物との組み合わせにおいても、該化合物を細胞内へ良好に取り込めることがわかった。また、D 体の高分子化合物を含む実施例 1 の方が、L 体の高分子化合物を含む実施例 2 よりも、モデル薬物の細胞への取り込みが良好であった。また、実施例 1、2 の方が、高分子化合物としてヒアルロン酸を含む実施例 3 よりも、モデル薬物の細胞への取り込みが良好であった。また、実施例は、比較例よりも、低い終濃度で、モデル薬物の細胞への取り込み効果が発揮できることがわかった。

[0056] [表1]

モデル薬物：FITC-INS（分子量 5,800）

	高分子化合物（製造例）	MFI $\pm$ S.D.
コントロール	未使用	6.2 $\pm$ 0.4
比較例 1	NH ₂ -R ₈ /D（製造例 4）	27.4 $\pm$ 1.2
比較例 2	SNAC（製造例 5）	19.7 $\pm$ 0.2
実施例 1	VP-R ₈ /D（製造例 1）	472.2 $\pm$ 20.4
実施例 2	VP-R ₈ /L（製造例 2）	208.3 $\pm$ 29.2
実施例 3	HA-G ₄ R ₈ /L（製造例 3）	112.5 $\pm$ 16.6

[0057] [表2]

モデル薬物：FITC-CTB（分子量 11,000）

	高分子化合物（製造例）	MFI $\pm$ S.D.
コントロール	未使用	3.4 $\pm$ 0.0
比較例 1	NH ₂ -R ₈ /D（製造例 4）	32.7 $\pm$ 4.7
比較例 2	SNAC（製造例 5）	3.7 $\pm$ 0.1
実施例 1	VP-R ₈ /D（製造例 1）	241.4 $\pm$ 52.8
実施例 2	VP-R ₈ /L（製造例 2）	163.7 $\pm$ 3.6
実施例 3	HA-G ₄ R ₈ /L（製造例 3）	176.6 $\pm$ 9.0

[0058] [表3]

モデル薬物：FITC-OVA（分子量45,000）

	高分子化合物（製造例）	MFI $\pm$ S.D.
コントロール	未使用	3.4 $\pm$ 0.1
比較例1	NH ₂ -R ₈ /D（製造例4）	14.3 $\pm$ 2.5
比較例2	SNAC（製造例5）	3.6 $\pm$ 0.4
実施例1	VP-R ₈ /D（製造例1）	946.6 $\pm$ 122.3
実施例2	VP-R ₈ /L（製造例2）	594.5 $\pm$ 9.2
実施例3	HA-G ₄ R ₈ /L（製造例3）	218.0 $\pm$ 29.9

[0059] [表4]

モデル薬物：FITC-IgG（分子量150,000）

	高分子化合物（製造例）	MFI $\pm$ S.D.
コントロール	未使用	3.2 $\pm$ 0.1
比較例1	NH ₂ -R ₈ /D（製造例4）	3.3 $\pm$ 0.0
比較例2	SNAC（製造例5）	3.2 $\pm$ 0.1
実施例1	VP-R ₈ /D（製造例1）	122.1 $\pm$ 15.5
実施例2	VP-R ₈ /L（製造例2）	76.2 $\pm$ 35.3
実施例3	HA-G ₄ R ₈ /L（製造例3）	17.2 $\pm$ 4.2

[0060] [表5]

モデル薬物：FITC-Tf（分子量77,000）

	高分子化合物（製造例）	MFI $\pm$ S.D.
コントロール	未使用	5.2 $\pm$ 0.3
比較例1	NH ₂ -R ₈ /D（製造例4）	9.8 $\pm$ 0.8
比較例2	SNAC（製造例5）	6.7 $\pm$ 0.2
実施例1	VP-R ₈ /D（製造例1）	88.2 $\pm$ 2.9
実施例2	VP-R ₈ /L（製造例2）	43.2 $\pm$ 7.7
実施例3	HA-G ₄ R ₈ /L（製造例3）	20.7 $\pm$ 0.6

[0061]

[表6]

モデル薬物：FITC-1 g M（分子量900,000）

	高分子化合物（製造例）	MFI $\pm$ S.D.
コントロール	未使用	2.9 $\pm$ 0.0
比較例 1	NI ₂ -R ₈ /D（製造例 4）	5.9 $\pm$ 0.4
比較例 2	SNAC（製造例 5）	3.1 $\pm$ 0.2
実施例 1	VP-R ₈ /D（製造例 1）	447.4 $\pm$ 3.1
実施例 2	VP-R ₈ /L（製造例 2）	277.2 $\pm$ 8.6
実施例 3	HA-G ₄ R ₈ /L（製造例 3）	121.7 $\pm$ 12.2

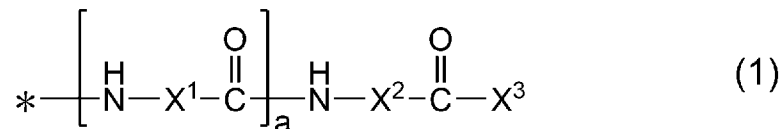
産業上の利用可能性

[0062] 本発明の組成物は、抗体医薬などの高分子量の化合物の細胞内投与に使用することができる。

請求の範囲

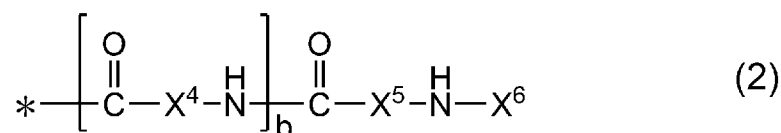
[請求項1] 下記一般式（１）又は下記一般式（２）で表される基を側鎖に有する高分子化合物と、分子量 1,000～1,200,000 の投与化合物と、を含有する組成物。

[化1]



（式中、 X^1 は、中性アミノ酸又は ω -アミノアルカン酸から末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^2 は膜透過性ペプチドから末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^3 は、水酸基、アミノ基、炭素数 1～4 のアルコキシル基又はベンジルオキシ基であり、 a は 0～50 の整数である。*は結合箇所を表す。）

[化2]



（式中、 X^4 は、中性アミノ酸又は ω -アミノアルカン酸から末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^5 は膜透過性ペプチドから末端アミノ基および末端カルボキシル基を除いた残基であり、 X^6 は、水素原子、炭素数 1～6 のアルキル基、ベンジル基、炭素数 1～6 のアシル基、アリールスルホニル基又はオキシカルボニル基であり、 b は 0～50 の整数である。*は結合箇所を表す。）

[請求項2] 前記投与化合物の分子量が 1,000～200,000 である、請求項 1 に記載の組成物。

[請求項3] 前記高分子化合物の幹高分子がビニル系親水性高分子である請求項 1 又は 2 に記載の組成物。

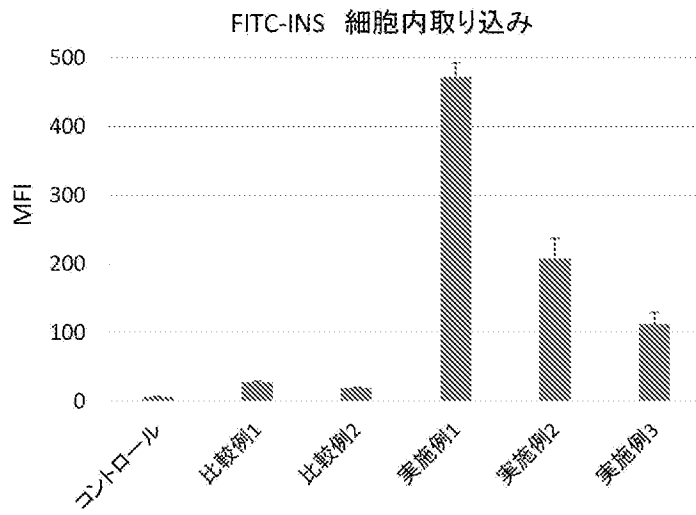
[請求項4] 前記投与化合物が抗体である請求項 1～3 のいずれか一項に記載の

組成物。

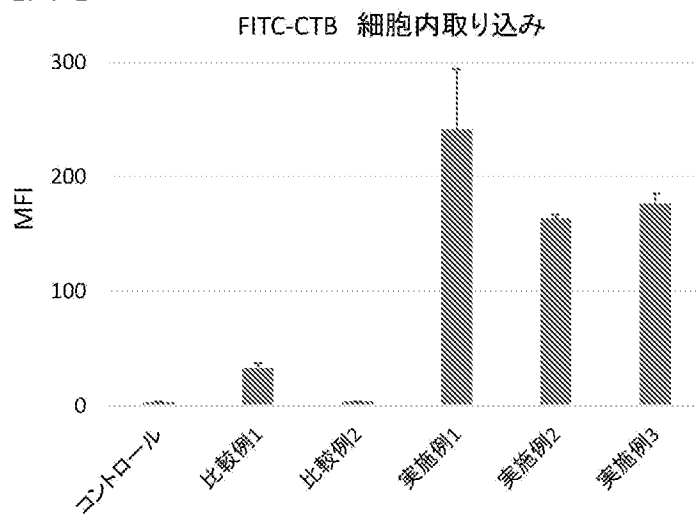
[請求項5] 前記抗体が、ポリクローナル抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、ヒト化抗体、若しくはヒト抗体、又はそれらの抗原結合性断片である、請求項4に記載の組成物。

[請求項6] 前記高分子化合物及び投与化合物を混合した後に細胞に接触させるための、請求項1～5のいずれか一項に記載の組成物。

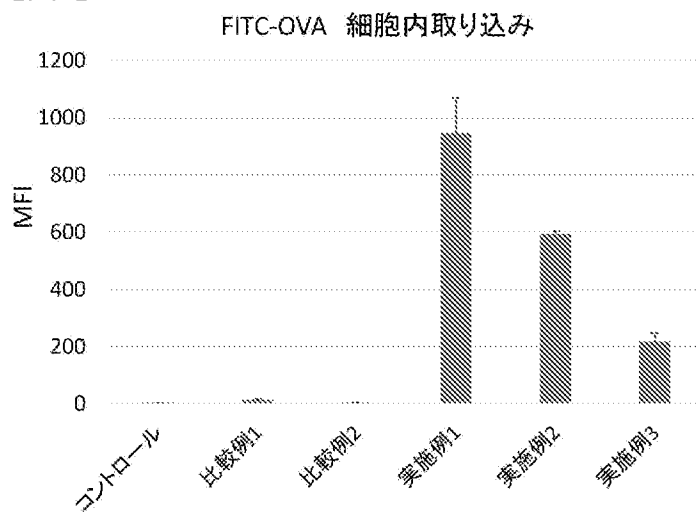
[図1]



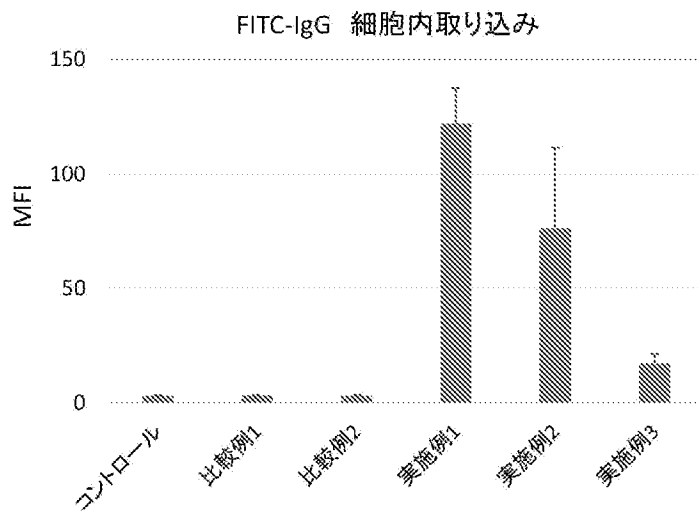
[図2]



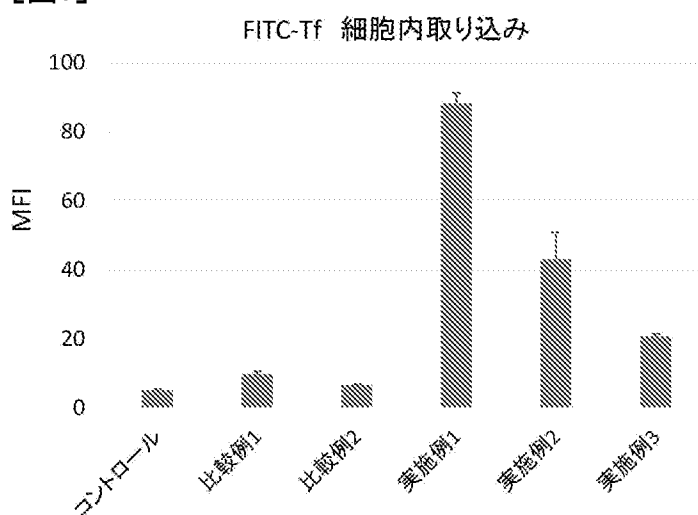
[図3]



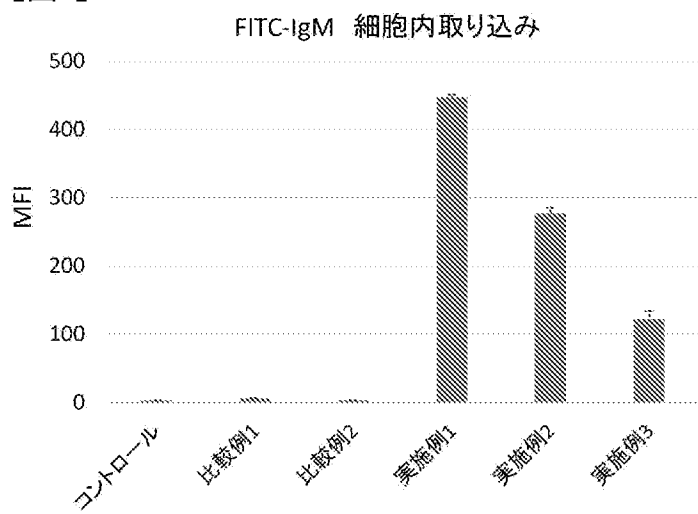
[図4]



[図5]



[図6]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/037523

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 47/34(2017.01)i; **A61K 39/395**(2006.01)i; **A61K 47/32**(2006.01)i; **C07K 7/00**(2006.01)i; **C07K 14/00**(2006.01)i;
C07K 16/00(2006.01)i

FI: A61K47/34; C07K14/00; A61K47/32; A61K39/395 M; C07K7/00; C07K16/00 ZNA

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K47/34; A61K39/395; A61K47/32; C07K7/00; C07K14/00; C07K16/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2021
 Registered utility model specifications of Japan 1996-2021
 Published registered utility model applications of Japan 1994-2021

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2011-229495 A (ADEKA CORP.) 17 November 2011 (2011-11-17) claims, paragraphs [0031]-[0033], preparation examples 1, 2, examples 1-5	1-6
X	WO 2016/136708 A1 (JOSHO GAKUEN EDUCATIONAL FOUND.) 01 September 2016 (2016-09-01) claims, paragraphs [0037]-[0039], [0051]-[0059]	1-6
X	WO 2016/136707 A1 (JOSHO GAKUEN EDUCATIONAL FOUND.) 01 September 2016 (2016-09-01) claims, paragraphs [0033]-[0034], [0046]-[0052]	1-6
X	WO 2020/013265 A1 (JOSHO GAKUEN EDUCATIONAL FOUND.) 16 January 2020 (2020-01-16) claims, paragraphs [0025]-[0026], [0031], [0038]-[0064]	1-6
X	JP 2010-100781 A (JOSHO GAKUEN EDUCATIONAL FOUND.) 06 May 2010 (2010-05-06) claims, paragraph [0042], examples 1, 2, evaluations 1, 2	1-3, 6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

16 November 2021

Date of mailing of the international search report

07 December 2021

Name and mailing address of the ISA/JP

**Japan Patent Office (ISA/JP)
 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915
 Japan**

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/037523

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	佐久間信至, 日渡謙一郎, オリゴアルギニン固定化高分子を用いた低膜透過性分子の細胞膜透過促進, Drug Delivery System, 2013, vol. 28-2, pages 109-118, (SAKUMA, Shinji, HIWATARI, Ken-ichiro. Oligoarginine-linked polymers-induced penetration enhancement of poorly membrane-permeable molecules via cell membranes.) pages 112-114	1-3, 6
X	田原章寛 et al. 膜透過ペプチド固定化ヒアルロン酸を用いた抗体医薬の経鼻吸収促進, 第35回日本薬学会年会講演要旨集, 08 May 2020, page 170, abstract no. 2-5-10, (TAMURA, Akihiro et al. Enhancement of nasal absorption of antibody drug using cell-penetrating peptide-linked hyaluronic acid.), non-official translation (Proceedings of the 35th meeting of the Academy of Pharmaceutical Science and Technology, Japan.) entire text	1, 2, 4-6

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/037523

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
 - a. ☒ forming part of the international application as filed:
 - ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - ☐ on paper or in the form of an image file.
 - b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13*ter*.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
 - c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
 - ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13*ter*.1(a)).
 - ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13*ter*.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2021/037523

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP	2011-229495	A	17 November 2011	(Family: none)	
WO	2016/136708	A1	01 September 2016	EP 3263582 A1 claims, paragraphs [0042]-[0043], [0053]-[0065]	
				US 2018/0016366 A1	
				CN 107207565 A	
				KR 10-2017-0122180 A	
				TW 201639872 A	
WO	2016/136707	A1	01 September 2016	EP 3263604 A1 claims, paragraphs [0029]-[0030], [0040]-[0052]	
				US 2018/0044381 A1	
				CN 107207627 A	
				KR 10-2017-0122179 A	
				TW 201639864 A	
WO	2020/013265	A1	16 January 2020	EP 3822292 A1 claims, paragraphs [0048]-[0049], [0054], [0064]-[0124]	
JP	2010-100781	A	06 May 2010	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61K 47/34(2017.01)i; A61K 39/395(2006.01)i; A61K 47/32(2006.01)i; C07K 7/00(2006.01)i; C07K 14/00(2006.01)i; C07K 16/00(2006.01)i FI: A61K47/34; C07K14/00; A61K47/32; A61K39/395 M; C07K7/00; C07K16/00 ZNA																				
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61K47/34; A61K39/395; A61K47/32; C07K7/00; C07K14/00; C07K16/00 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2021年</td> </tr> </table> 国際調査で利用した電子データベース（データベースの名称、調査に利用した用語） CAPLUS/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN), JSTPLUS/JMEDPLUS/JST7580 (JDreamIII)			日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2021年	日本国実用新案登録公報	1996-2021年	日本国登録実用新案公報	1994-2021年										
日本国実用新案公報	1922-1996年																			
日本国公開実用新案公報	1971-2021年																			
日本国実用新案登録公報	1996-2021年																			
日本国登録実用新案公報	1994-2021年																			
C. 関連すると認められる文献 <table border="1"> <thead> <tr> <th>引用文献の カテゴリー*</th> <th>引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th>関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>JP 2011-229495 A (株式会社 ADEKA) 17.11.2011 (2011-11-17) 特許請求の範囲、段落[0031]-[0033]、製造例1,2, 実施例1-5</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2016/136708 A1 (学校法人常翔学園) 01.09.2016 (2016-09-01) 特許請求の範囲、段落[0037]-[0039], [0051]-[0059]</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2016/136707 A1 (学校法人常翔学園) 01.09.2016 (2016-09-01) 特許請求の範囲、段落[0033]-[0034], [0046]-[0052]</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>WO 2020/013265 A1 (学校法人常翔学園) 16.01.2020 (2020-01-16) 特許請求の範囲、段落[0025]-[0026], [0031], [0038]-[0064]</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>X</td> <td>JP 2010-100781 A (学校法人常翔学園) 06.05.2010 (2010-05-06) 特許請求の範囲、段落[0042]、実施例1,2, 評価1,2</td> <td>1-3, 6</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	X	JP 2011-229495 A (株式会社 ADEKA) 17.11.2011 (2011-11-17) 特許請求の範囲、段落[0031]-[0033]、製造例1,2, 実施例1-5	1-6	X	WO 2016/136708 A1 (学校法人常翔学園) 01.09.2016 (2016-09-01) 特許請求の範囲、段落[0037]-[0039], [0051]-[0059]	1-6	X	WO 2016/136707 A1 (学校法人常翔学園) 01.09.2016 (2016-09-01) 特許請求の範囲、段落[0033]-[0034], [0046]-[0052]	1-6	X	WO 2020/013265 A1 (学校法人常翔学園) 16.01.2020 (2020-01-16) 特許請求の範囲、段落[0025]-[0026], [0031], [0038]-[0064]	1-6	X	JP 2010-100781 A (学校法人常翔学園) 06.05.2010 (2010-05-06) 特許請求の範囲、段落[0042]、実施例1,2, 評価1,2	1-3, 6
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号																		
X	JP 2011-229495 A (株式会社 ADEKA) 17.11.2011 (2011-11-17) 特許請求の範囲、段落[0031]-[0033]、製造例1,2, 実施例1-5	1-6																		
X	WO 2016/136708 A1 (学校法人常翔学園) 01.09.2016 (2016-09-01) 特許請求の範囲、段落[0037]-[0039], [0051]-[0059]	1-6																		
X	WO 2016/136707 A1 (学校法人常翔学園) 01.09.2016 (2016-09-01) 特許請求の範囲、段落[0033]-[0034], [0046]-[0052]	1-6																		
X	WO 2020/013265 A1 (学校法人常翔学園) 16.01.2020 (2020-01-16) 特許請求の範囲、段落[0025]-[0026], [0031], [0038]-[0064]	1-6																		
X	JP 2010-100781 A (学校法人常翔学園) 06.05.2010 (2010-05-06) 特許請求の範囲、段落[0042]、実施例1,2, 評価1,2	1-3, 6																		
☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。																				
<table border="0"> <tr> <td>* 引用文献のカテゴリー</td> <td>"T" 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの</td> </tr> <tr> <td>"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの</td> <td>"X" 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>"E" 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの</td> <td>"Y" 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの</td> </tr> <tr> <td>"L" 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）</td> <td>"&" 同一パテントファミリー文献</td> </tr> <tr> <td>"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献</td> <td></td> </tr> <tr> <td>"P" 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献</td> <td></td> </tr> </table>			* 引用文献のカテゴリー	"T" 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの	"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	"X" 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの	"E" 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	"Y" 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの	"L" 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）	"&" 同一パテントファミリー文献	"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		"P" 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献							
* 引用文献のカテゴリー	"T" 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの																			
"A" 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの	"X" 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの																			
"E" 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの	"Y" 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの																			
"L" 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）	"&" 同一パテントファミリー文献																			
"O" 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献																				
"P" 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献																				
国際調査を完了した日		国際調査報告の発送日																		
16.11.2021		07.12.2021																		
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		権限のある職員（特許庁審査官） 新留 素子 4C 2939 電話番号 03-3581-1101 内線 3452																		

C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	佐久間信至、日渡謙一郎，オリゴアルギニン固定化高分子を用いた低膜透過性分子の細胞膜透過促進，Drug Delivery System, 2013, Vol.28-2, pp.109-118, (SAKUMA, Shinji, HIWATARI, Ken-ichiro, Oligoarginine-linked polymers-induced penetration enhancement of poorly membrane-permeable molecules via cell membranes) pp.112-114	1-3, 6
X	田原章寛 et al., 膜透過ペプチド固定化ヒアルロン酸を用いた抗体医薬の経鼻吸収促進，第35回日本薬剤学会年会講演要旨集，2020.05.08, p.170, Abstract No.2-5-10, (TAMURA, Akihiro et al., Enhancement of nasal absorption of antibody drug using cell-penetrating peptide-linked hyaluronic acid) 全文	1, 2, 4-6

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。

- a. ☒ 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
- ☒ 附属書C/ST.25テキストファイル形式
- ☐ 紙形式又はイメージファイル形式
- b. ☐ 国際出願とともに、PCT規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表
- c. ☐ 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
- ☐ 附属書C/ST.25テキストファイル形式(PCT規則13の3.1(a))
- ☐ 紙形式又はイメージファイル形式(PCT規則13の3.1(b)及びPCT実施細則第713号)

2. ☐ さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見:

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2021/037523

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP	2011-229495	A	17.11.2011	(ファミリーなし)	
WO	2016/136708	A1	01.09.2016	EP 3263582 A1	
				Claims, Paragraphs	
				[0042]-[0043], [0053]-	
				[0065]	
				US 2018/0016366 A1	
				CN 107207565 A	
				KR 10-2017-0122180 A	
				TW 201639872 A	
WO	2016/136707	A1	01.09.2016	EP 3263604 A1	
				Claims, Paragraphs	
				[0029]-[0030], [0040]-	
				[0052]	
				US 2018/0044381 A1	
				CN 107207627 A	
				KR 10-2017-0122179 A	
				TW 201639864 A	
WO	2020/013265	A1	16.01.2020	EP 3822292 A1	
				Claims, [0048]-[0049],	
				[0054], [0064]-[0124]	
JP	2010-100781	A	06.05.2010	(ファミリーなし)	