

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号

特許第7332478号

(P7332478)

(45)発行日 令和5年8月23日(2023.8.23)

(24)登録日 令和5年8月15日(2023.8.15)

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 47/28 (2006.01) A 6 1 K 47/28
 A 6 1 K 9/107(2006.01) A 6 1 K 9/107
 A 6 1 K 47/24 (2006.01) A 6 1 K 47/24
 A 6 1 K 47/22 (2006.01) A 6 1 K 47/22
 A 6 1 K 47/18 (2017.01) A 6 1 K 47/18

請求項の数 12 (全213頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2019-550770(P2019-550770)
 (86)(22)出願日 平成30年3月15日(2018.3.15)
 (65)公表番号 特表2020-510072(P2020-510072
 A)
 (43)公表日 令和2年4月2日(2020.4.2)
 (86)国際出願番号 PCT/US2018/022756
 (87)国際公開番号 WO2018/170336
 (87)国際公開日 平成30年9月20日(2018.9.20)
 審査請求日 令和3年3月12日(2021.3.12)
 (31)優先権主張番号 62/471,949
 (32)優先日 平成29年3月15日(2017.3.15)
 (33)優先権主張国・地域又は機関
 米国(US)
 (31)優先権主張番号 62/475,166
 (32)優先日 平成29年3月22日(2017.3.22)

最終頁に続く

(73)特許権者 513084469
 モデルナティエックス インコーポレイ
 テッド
 ModernaTX, Inc.
 アメリカ合衆国 02139 マサチュー
 セッツ州 ケンブリッジ テクノロジー
 スクエア 200
 (73)特許権者 505190770
 オレゴン ステート ユニバーシティ
 OREGON STATE UNIVER
 SITY
 アメリカ合衆国 97331-2147
 オレゴン, コーバリス, カー アドミニ
 ストレーション ビルディング 306
 (74)代理人 100105957

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 脂質ナノ粒子製剤

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

ナノ粒子組成物であって、
 イオン性脂質と、
 リン脂質と、
 コレステロールと、

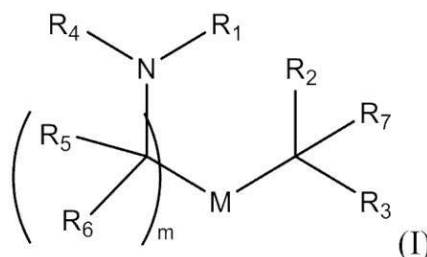
- シトステロールであるコレステロール誘導体とを含む脂質成分を含み、

前記コレステロールと前記コレステロール誘導体とのモル比が約1 : 100 ~ 100 : 1である、ナノ粒子組成物。

【請求項2】

前記イオン性脂質が、式(I)：

【化1】



10

20

(式中、

R_1 が、 $C_5 \sim 30$ アルキル、 $C_5 \sim 20$ アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、および $-R''M'R'$ からなる群から選択され；

R_2 および R_3 が、独立して、 H 、 $C_1 \sim 14$ アルキル、 $C_2 \sim 14$ アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、および $-RO R''$ からなる群から選択され、もしくは R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、複素環もしくは炭素環を形成し；

R_4 が、水素、 $C_3 \sim 6$ 炭素環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-CHQR$ 、 $-CQ(R)_2$ 、および非置換 $C_1 \sim 6$ アルキルからなる群から選択され、ここで、 Q が、炭素環、複素環、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(R)R_8$ 、 $-N(R)S(O)_2R_8$ 、 $-O(CH_2)_nOR$ 、 $-N(R)C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(=CHR_9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=CHR_9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR_9)R$ 、 $-C(O)N(R)OR$ 、および $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ から選択され、各 n が、独立して、1、2、3、4、および5から選択され；

各 R_5 が、独立して、 $C_1 \sim 3$ アルキル、 $C_2 \sim 3$ アルケニル、および H からなる群から選択され；

各 R_6 が、独立して、 $C_1 \sim 3$ アルキル、 $C_2 \sim 3$ アルケニル、および H からなる群から選択され；

M および M' が、独立して、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M''-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、およびヘテロアリール基から選択され、ここで M'' が結合、 $C_1 \sim 13$ アルキルもしくは $C_2 \sim 13$ アルケニルであり；

R_7 が、 $C_1 \sim 3$ アルキル、 $C_2 \sim 3$ アルケニル、および H からなる群から選択され；

R_8 が、 $C_3 \sim 6$ 炭素環および複素環からなる群から選択され；

R_9 が、 H 、 CN 、 NO_2 、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 $C_2 \sim 6$ アルケニル、 $C_3 \sim 6$ 炭素環および複素環からなる群から選択され；

各 R が、独立して、 $C_1 \sim 3$ アルキル、 $C_2 \sim 3$ アルケニル、および H からなる群から選択され；

各 R' が、独立して、 $C_1 \sim 18$ アルキル、 $C_2 \sim 18$ アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、および H からなる群から選択され；

各 R'' が、独立して、 $C_3 \sim 15$ アルキルおよび $C_3 \sim 15$ アルケニルからなる群から選択され；

各 R^* が、独立して、 $C_1 \sim 12$ アルキルおよび $C_2 \sim 12$ アルケニルからなる群から選択され；

各 Y が、独立して、 $C_3 \sim 6$ 炭素環であり；

各 X が、独立して、 F 、 Cl 、 Br 、および I からなる群から選択され；

m が、5、6、7、8、9、10、11、12、および13から選択される)の化合物、あるいはその塩または異性体である、請求項1に記載のナノ粒子組成物。

【請求項3】

前記イオン性脂質が、化合物1～280からなる群から選択される、請求項1または2に記載のナノ粒子組成物。

【請求項4】

前記リン脂質が、1,2-ジリノレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DLP C)、1,2-ジミリストイル-sn-グリセロ-ホスホコリン(DMPC)、1,2

10

20

30

40

50

- ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (D O P C)、1, 2 - ジパルミトイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (D P P C)、1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (D S P C)、1, 2 - ジウンデカノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (D U P C)、1 - パルミトイル - 2 - オレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (P O P C)、1, 2 - ジ - O - オクタデセニル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (18 : 0 ジエーテル P C)、1 - オレオイル - 2 - コレステリルヘミスクシノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (O C h e m s P C)、1 - ヘキサデシル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (C 16 L y s o P C)、1, 2 - ジリノレノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン、1, 2 - ジアラキドノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン、1, 2 - ジドコサヘキサエノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン、1, 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (D O P E)、1, 2 - ジフィタノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (M E 16 . 0 P E)、1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1, 2 - ジリノレノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1, 2 - ジアラキドノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1, 2 - ジドコサヘキサエノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1, 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホ - r a c - (1 - グリセロール) ナトリウム塩 (D O P G)、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール (D P P G)、パルミトイルオレオイルホスファチジルエタノールアミン (P O P E)、ジステアロイル - ホスファチジル - エタノールアミン (D S P E)、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン (D P P E)、ジミリストイルホスホエタノールアミン (D M P E)、1 - ステアロイル - 2 - オレオイル - ホスファチジルエタノールアミン (S O P E)、1 - ステアロイル - 2 - オレオイル - ホスファチジルコリン (S O P C)、スフィンゴミエリン、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、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジン酸、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン、リゾホスファチジルコリン、およびリゾホスファチジルエタノールアミン (L P E) からなる群から選択される 1 つまたは複数である、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

【請求項 5】

前記脂質成分が P E G 脂質をさらに含み、

前記 P E G 脂質が、P E G - 修飾ホスファチジルエタノールアミン、P E G - 修飾ホスファチジン酸、P E G - 修飾セラミド、P E G - 修飾ジアルキルアミン、P E G - 修飾ジアシルグリセロール、および P E G - 修飾ジアルキルグリセロールからなる群から選択される 1 つまたは複数である、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

【請求項 6】

前記組成物が、

(a) 約 30 mol % ~ 約 60 mol % のイオン性脂質、約 0.01 mol % ~ 約 30 mol % のリン脂質、約 18.5 mol % ~ 約 48.5 mol % の組み合わせたコレステロールおよびコレステロール誘導体、ならびに約 0 mol % ~ 約 10 mol % の P E G 脂質；

(b) 約 45 mol % ~ 約 65 mol % のイオン性脂質、約 5 mol % ~ 約 10 mol % のリン脂質、約 25 mol % ~ 約 40 mol % の組み合わせたコレステロールおよびコレステロール誘導体、ならびに約 0.5 mol % ~ 約 10 mol % の P E G 脂質；または、

(c) 約 50 mol % のイオン性脂質、約 10 mol % のリン脂質、約 38.5 mol % の組み合わせたコレステロールおよびコレステロール誘導体、ならびに約 1.5 mol % の P E G 脂質、を含む、請求項 1 ~ 5 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

【請求項 7】

治療薬および / または予防薬をさらに含む、請求項 1 ~ 6 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

【請求項 8】

前記治療薬および／または予防薬が、メッセンジャーRNA (mRNA) である、請求項7に記載のナノ粒子組成物。

【請求項9】

請求項1～8のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物と、薬学的に許容できる担体とを含む、医薬組成物。

【請求項10】

哺乳動物細胞または哺乳動物器官への治療薬および／または予防薬の送達に使用するためのナノ粒子組成物または医薬組成物であって、前記細胞または器官が、前記ナノ粒子組成物または前記医薬組成物と接触し、それによって、前記治療薬および／または予防薬が、前記細胞または前記器官に送達される、請求項1～8のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物または請求項9に記載の医薬組成物。

10

【請求項11】

哺乳動物細胞内における目的のポリペプチドの生成に使用するためのナノ粒子組成物または医薬組成物であって、前記細胞が、前記ナノ粒子組成物または前記医薬組成物と接触し、前記治療薬および／または予防薬がmRNAであり、前記mRNAが、前記目的のポリペプチドをコードし、それによって、前記mRNAが、前記細胞内で翻訳されて、前記目的のポリペプチドを生成することができる、請求項1～8のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物または請求項9に記載の医薬組成物。

【請求項12】

疾患または障害の治療を必要とする対象における疾患または障害の治療に使用するためのナノ粒子組成物または医薬組成物であって、前記治療が、前記対象に治療有効量の前記ナノ粒子組成物または前記医薬組成物を投与することを含む、請求項1～8のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物または請求項9に記載の医薬組成物。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2017年3月15日出願の米国仮特許出願第62/471,949号明細書；および2017年3月22日出願の同第62/475,166号明細書に対する優先権、およびその利益を主張し、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

30

【0002】

配列表の参照による援用

本願は、電子形式の配列表と共に出願されている。配列表は、2018年2月26日に作成された「MRNA036001WOSequencelisting.txt」と題したファイルとして提供され、そのサイズは661バイトである。配列表の電子形式における情報は、その全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【背景技術】

【0003】

小分子薬剤、タンパク質、および核酸などの生物学的活性物質の有効な標的化送達は、継続中の医療の課題である。特に、細胞への核酸の送達は、このような種の相対的不安定性および低い細胞透過性によって困難になる。したがって、細胞への核酸などの治療薬および／または予防薬の送達を容易にするための方法および組成物を開発する必要性がある。

40

【0004】

脂質含有ナノ粒子組成物、リボソーム、およびリポプレックスは、小分子薬剤、タンパク質、および核酸などの生物学的活性物質のための、細胞および／または細胞内区画への輸送ビヒクルとして有効であることが証明されている。このような組成物は、一般に、1つ以上の「カチオン性」および／またはアミノ（イオン性）脂質、多価不飽和脂質を含むリン脂質、構造脂質（例えば、ステロール）、および／またはポリエチレングリコールを含有する脂質（PEG脂質）を含む。カチオン性および／またはイオン性脂質としては、

50

例えば、容易にプロトン化され得るアミン含有脂質が挙げられる。様々なこのような脂質含有ナノ粒子組成物が実証されているが、安全性、有効性、および特異性の改善が、依然として不十分である。

【発明の概要】

【0005】

本開示は、新規のナノ粒子組成物およびそれを含む方法を提供する。

【0006】

一態様において、本開示は、

イオン性脂質、

リン脂質、

第1ステロールまたはトコフェロール、および

任意で第1ステロールとは異なる第2ステロールを含む脂質成分を含み、第1ステロールと第2ステロールとのモル比が約1:100~100:1であるか、またはトコフェロールと第2ステロールとのモル比が約1:100~100:1であるナノ粒子組成物を提供する。

【0007】

別の態様において、本開示は、

イオン性脂質；

リン脂質；

界面活性剤；

核酸部分；および

コレステロール誘導体を含むナノ粒子組成物を提供する。

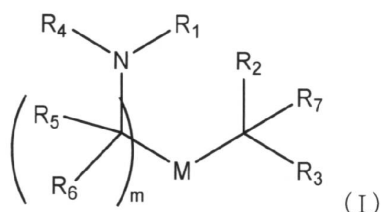
【0008】

特定の実施形態において、組成物は、第2ステロールを含む。例えば、第1ステロールと第2ステロールとのモル比は、約1:10~10:1、または約1:5~5:1、または約1:3~3:1、または約1:2~2:1、または約1:1である。例えば、トコフェロールと第2ステロールとのモル比は、約1:10~10:1、または約1:5~5:1、または約1:3~3:1、または約1:2~2:1、または約1:1である。例えば、第1ステロールはコレステロールであり、第2ステロールはコレステロール誘導体（例えば、フィトステロール）である。例えば、組成物は、トコフェロールおよびコレステロールもしくはコレステロール誘導体またはそれらの組合せである第2ステロールを含む。

【0009】

特定の実施形態において、イオン性脂質は、式(I)：

【化1】



(式中：

R_1 が、 $C_5 \sim 30$ アルキル、 $C_5 \sim 20$ アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、および $-R''$ 、 $M'R'$ からなる群から選択され；

R_2 および R_3 が、独立して、 H 、 $C_1 \sim 14$ アルキル、 $C_2 \sim 14$ アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、および $-ROR''$ からなる群から選択され、もしくは R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、複素環もしくは炭素環を形成し；

R_4 が、水素、 $C_3 \sim 6$ 炭素環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-CHQR$ 、 $-CQ(R)_2$ 、および非置換 $C_1 \sim 6$ アルキルからなる群から選択され、ここで、 Q が

10

20

30

40

50

、炭素環、複素環、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(R)R_8$ 、 $-N(R)S(O)_2R_8$ 、 $-O(CH_2)_nOR$ 、 $-N(R)C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(=CHR_9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=CHR_9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR_9)R$ 、 $-C(O)N(R)OR$ 、および $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ から選択され、各 n が、独立して、1、2、3、4、および5から選択され；

10

各 R_5 が、独立して、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、および H からなる群から選択され；

各 R_6 が、独立して、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、および H からなる群から選択され；

M および M' が、独立して、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M''-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')-$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、およびヘテロアリール基から選択され、ここで M'' が結合、 C_{1-3} アルキルもしくは C_{2-3} アルケニルであり；

20

R_7 が、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、および H からなる群から選択され；

R_8 が、 C_{3-6} 炭素環および複素環からなる群から選択され；

R_9 が、 H 、 CN 、 NO_2 、 C_{1-6} アルキル、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 C_{2-6} アルケニル、 C_{3-6} 炭素環および複素環からなる群から選択され；

各 R が、独立して、 C_{1-3} アルキル、 C_{2-3} アルケニル、および H からなる群から選択され；

各 R' が、独立して、 C_{1-18} アルキル、 C_{2-18} アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、および H からなる群から選択され；

各 R'' が、独立して、 C_{3-15} アルキルおよび C_{3-15} アルケニルからなる群から選択され；

30

各 R^* が、独立して、 C_{1-12} アルキルおよび C_{2-12} アルケニルからなる群から選択され；

各 Y が、独立して、 C_{3-6} 炭素環であり；

各 X が、独立して、 F 、 Cl 、 Br 、および I からなる群から選択され；

m が、5、6、7、8、9、10、11、12、および13から選択される)の化合物またはその N -オキシド、あるいはその塩または異性体である。

【0010】

例えば、 R_4 が $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-CHQR$ 、または $CQ(R)_2$ である場合、 $(i)n$ が1、2、3、4もしくは5である場合、 Q は $-N(R)_2$ ではなく、または $(ii)n$ が1もしくは2である場合、 Q は、5、6、もしくは7員ヘテロシクロアルキルではない。例えば、 R_1 は、 $-(CHR_5R_6)_m-M-CR_2R_3R_7$ とは異なる。

40

【0011】

別の態様において、本開示は、本明細書に記載されるナノ粒子組成物と、薬学的に許容できる担体とを含む医薬組成物を特徴とする。例えば、医薬組成物は、貯蔵および/または輸送のために冷蔵または冷凍される(例えば、約 -150 ~ 約 0 または約 -80 ~ 約 -20 の温度(例えば、約 -5 、 -10 、 -15 、 -20 、 -25 、 -30 、 -40 、 -50 、 -60 、 -70 、 -80 、 -90 、 -130 または -150)などの4 以下の温度で貯蔵される)。例えば、医薬組成物は、例えば、約 -20 、 -30 、 -40 、 -50 、 -60 、 -70 、または -80 で

50

、貯蔵および／または輸送のために冷蔵される溶液である。

【0012】

別の態様において、本開示は、治療薬および／または予防薬（例えば、mRNA）を、細胞（例えば、哺乳動物細胞）に送達する方法を提供する。この方法は、本開示のナノ粒子組成物を、対象（例えば、哺乳動物、ヒトなど）に投与する工程を含み、投与は、細胞をナノ粒子組成物と接触させることを含み、それによって、治療薬および／または予防薬は、細胞に送達される。

【0013】

別の態様において、本開示は、治療薬および／または予防薬（例えば、mRNA）を、哺乳動物の器官（例えば、肝臓、脾臓、肺、または大腿骨）に特異的に送達する方法を提供する。この方法は、本開示のものを含むナノ粒子組成物を、対象（例えば、哺乳動物、ヒトなど）に投与する工程を含み、投与は、器官をナノ粒子組成物と接触させることを含み、それによって、治療薬および／または予防薬は、器官に送達される。

10

【0014】

さらに別の態様において、本開示は、細胞（例えば、哺乳動物細胞）内で目的のポリペプチドを生成する方法を提供する。本方法は、本開示のナノ粒子組成物を、細胞と接触させる工程を含み、それによって、mRNAは、細胞内で翻訳されて、ポリペプチドを生成することができる。

【0015】

さらに別の態様において、本開示は、必要とする対象（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）における疾患または障害を治療する方法を提供する。本方法は、本開示の治療有効量のナノ粒子組成物を、対象に投与する工程を含む。ある実施形態において、疾患または障害は、機能不全または異常タンパク質またはポリペプチド活性によって特徴付けられる。例えば、疾患または障害は、希少疾患、感染症、癌および増殖性疾患、遺伝性疾患（例えば、嚢胞性線維症）、自己免疫疾患、糖尿病、神経変性疾患、心血管および腎血管疾患、ならびに代謝性疾患からなる群から選択される。ある実施形態において、疾患または障害は、ポリペプチドの過剰発現によって特徴付けられる。ある実施形態において、疾患または障害は、ポリペプチドの過少発現によって特徴付けられる。ある実施形態において、本開示のナノ粒子は、標的ポリペプチドの発現をサイレンシングまたは低減できる核酸を含む。ある実施形態において、本開示のナノ粒子は、標的ポリペプチドの発現を発現または増加できる核酸を含む。

20

30

【0016】

ある実施形態において、本方法は、接触または投与工程の前に、対象を1つ以上のさらなる化合物で前処理することをさらに含み、前処理が1つ以上のさらなる化合物を対象に投与することを含む。

【0017】

さらに別の態様において、本開示は、必要とする対象（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）における疾患または障害の治療に使用するためのナノ粒子組成物を提供する。ナノ粒子組成物は、本開示のナノ粒子を含む。ある実施形態において、疾患または障害は、機能不全または異常タンパク質またはポリペプチド活性によって特徴付けられる。例えば、疾患または障害は、希少疾患、感染症、癌および増殖性疾患、遺伝性疾患（例えば、嚢胞性線維症）、自己免疫疾患、糖尿病、神経変性疾患、心血管および腎血管疾患、ならびに代謝性疾患からなる群から選択される。ある実施形態において、疾患または障害は、ポリペプチドの過剰発現によって特徴付けられる。ある実施形態において、疾患または障害は、ポリペプチドの過少発現によって特徴付けられる。

40

【0018】

さらに別の態様において、本開示は、必要とする対象（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）における疾患または障害の治療を目的とした医薬の製造に使用するためのナノ粒子組成物を提供する。ナノ粒子組成物は、本開示のナノ粒子を含む。ある実施形態において、疾患または障害は、機能不全または異常タンパク質またはポリペプチド活性によって特徴

50

付けられる。例えば、疾患または障害は、希少疾患、感染症、癌および増殖性疾患、遺伝性疾患（例えば、嚢胞性線維症）、自己免疫疾患、糖尿病、神経変性疾患、心血管および腎血管疾患、ならびに代謝性疾患からなる群から選択される。ある実施形態において、疾患または障害は、ポリペプチドの過剰発現によって特徴付けられる。ある実施形態において、疾患または障害は、ポリペプチドの過少発現によって特徴付けられる。

【0019】

別の態様において、本開示は、必要とする対象（例えば、哺乳動物、例えば、ヒト）における疾患または障害の治療を目的とした医薬の製造におけるナノ粒子組成物の使用を提供する。ナノ粒子組成物は、本開示のナノ粒子組成物を含む。ある実施形態において、疾患または障害は、機能不全または異常タンパク質またはポリペプチド活性によって特徴付けられる。例えば、疾患または障害は、希少疾患、感染症、癌および増殖性疾患、遺伝性疾患（例えば、嚢胞性線維症）、自己免疫疾患、糖尿病、神経変性疾患、心血管および腎血管疾患、ならびに代謝性疾患からなる群から選択される。ある実施形態において、疾患または障害は、ポリペプチドの過剰発現によって特徴付けられる。ある実施形態において、疾患または障害は、ポリペプチドの過少発現によって特徴付けられる。

10

【0020】

ある実施形態において、対象は、1つ以上のさらなる化合物で前処理されていて、前処理が1つ以上のさらなる化合物を対象に投与することを含む。

【0021】

別の態様において、本開示は、標的組織（例えば、肝臓、脾臓、肺、または大腿骨）への治療薬および/または予防薬（例えば、mRNA）の向上した送達のための方法の特徴とする。この方法は、本開示のナノ粒子組成物を、対象（例えば、哺乳動物）に投与することを含み、投与は、標的組織をナノ粒子組成物と接触させることを含み、それによって、治療薬および/または予防薬は、標的組織に送達される。

20

【0022】

別の態様において、本開示は、細胞をトランスフェクトする方法を特徴とし、細胞を本開示の脂質ナノ粒子と接触させること、およびトランスフェクションが進行するのに十分な時間で細胞をインキュベートすることを含む。ある実施形態において、トランスフェクションが進行するのに十分な時間は、約1時間～約48時間である。他の実施形態において、トランスフェクションが進行するのに十分な時間は、約1時間～約5時間、約6時間～約12時間、約13時間～約24時間、約25時間～約36時間、または約37時間～約48時間である。さらなる実施形態において、トランスフェクションが進行するのに十分な時間は、約1時間、約5時間、約10時間、約15時間、約20時間、約25時間、約30時間、約35時間、約40時間、または約45時間である。一層さらなる実施形態において、トランスフェクションが進行するのに十分な時間は、約2時間、約6時間、約12時間、約18時間、約24時間、約36時間、約42時間、または約48時間である。

30

【0023】

別の態様において、本開示は、本開示の脂質ナノ粒子を作製する方法を特徴とし、
第1溶媒中に核酸を含む第1流をデバイスに導入すること；
第2溶媒中にカチオン性脂質、リン脂質、界面活性剤およびコレステロール誘導体を含む第2流をデバイスに導入すること；
第1および第2流を混合させるのに十分な時間で第1および第2流をデバイスの混合領域中に流し、脂質ナノ粒子を含む第3流を形成することを含む。ある実施形態において、第1および第2流を混合させるのに十分な時間は、約1時間～約48時間である。他の実施形態において、第1および第2流を混合させるのに十分な時間は、約1時間～約5時間、約6時間～約12時間、約13時間～約24時間、約25時間～約36時間、または約37時間～約48時間である。さらなる実施形態において、第1および第2流を混合させるのに十分な時間は、約1時間、約5時間、約10時間、約15時間、約20時間、約25時間、約30時間、約35時間、約40時間、または約45時間である。一層さらなる実施形態において、第1および第2流を混合させるのに十分な時間は、約2時間、約6時間

40

50

、約 12 時間、約 18 時間、約 24 時間、約 36 時間、約 42 時間、または約 48 時間である。ある実施形態において、第 2 流対第 1 流の体積比は、1 : 3 である。

【0024】

別の態様において、本開示は、標的ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの発現を調節する方法を特徴とし、細胞を、標的ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの発現を調節できる核酸を含む、本開示の脂質ナノ粒子と接触させることを含む。ある実施形態において、本開示のナノ粒子は、標的ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの発現を調節できる核酸を含む。

【0025】

本特許または出願書類は、カラーで作成された少なくとも 1 つの図面を含有する。カラー図面（複数可）を備える本特許または特許出願公開のコピーは、要請に応じて必要な手数料を支払うことにより、特許庁によって提供されることとする。

【0026】

上記特徴およびさらなる特徴は、以下の詳細な説明を添付の図面と併せるとき、より明らかに理解されることとする。

【図面の簡単な説明】

【0027】

【図 1】図 1 A および図 1 B は、コレステロール、ベータ - シトステロールおよびスチグマステロールを含有するナノ粒子での処理による、（図 1 A）H e L a 細胞および（図 1 B）H e p G 2 細胞のルシフェラーゼ / 細胞生存能アッセイのトランスフェクション効率結果を例示するグラフの対である。

【図 2】図 2 A および図 2 B は、化合物 18、コレステロールおよび / またはコレステロール誘導体を含む本開示の脂質ナノ粒子により誘導された H e L a 細胞中における緑色蛍光タンパク質の発現（e G F P）を例示するグラフの対である。粒子を、酢酸緩衝液を用いて製剤化した。コレステロールを含有するが、コレステロール誘導体は含有しない粒子の細胞取込みおよび発現レベルを、対照として示す。図 2 A は、16 時間にわたる本開示の製剤による e G F P 発現を示す。図 2 B は、各製剤の e G F P 発現の A U C を示す。

【図 3】図 3 A および図 3 B は、化合物 18、コレステロールおよび / またはコレステロール誘導体を含み、酢酸緩衝液を用いた本開示の脂質ナノ粒子の、H e L a 細胞中における緑色蛍光タンパク質の発現（e G F P）対細胞取込みを例示するグラフの対である。脂質取込みを、テトラメチルローダミン（T R I T C）標識化によって、より具体的には、1, 2 - ジオレオイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン - N - （リサミンローダミン B スルホニル）（アンモニウム塩）を使用して決定した。図 3 A は、16 時間にわたる e G F P 発現対細胞取込みを示す。図 3 B は、各製剤の A U C を示す。各グラフの右軸は e G F P 発現を測定し、左軸は脂質取込みを測定する。

【図 4】図 4 A および図 4 B は、化合物 18、コレステロールおよび / またはコレステロール誘導体を含み、酢酸緩衝液を用いた本開示の脂質ナノ粒子の、H e p 3 b 細胞中における緑色蛍光タンパク質の発現（e G F P）対細胞取込みを例示するグラフの対である。脂質取込みを、T R I T C 標識化によって、より具体的には、1, 2 - ジオレオイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン - N - （リサミンローダミン B スルホニル）（アンモニウム塩）を使用して決定した。図 4 A は、16 時間にわたる e G F P 発現対細胞取込みを示す。図 4 B は、各製剤の A U C を示す。各グラフの右軸は e G F P 発現を測定し、左軸は脂質取込みを測定する。

【図 5】図 5 A および図 5 B は、化合物 18、コレステロールおよび / またはコレステロール誘導体を含み、酢酸緩衝液を用いた本開示の脂質ナノ粒子の、A M L 1 2 細胞中における緑色蛍光タンパク質の発現（e G F P）対細胞取込みを例示するグラフの対である。脂質取込みを、T R I T C 標識化によって、より具体的には、1, 2 - ジオレオイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン - N - （リサミンローダミン B スルホニル）（アンモニウム塩）を使用して決定した。図 5 A は、16 時間にわたる e G F P 発現対細胞取込みを示す。図 5 B は、各製剤の A U C を示す。各グラフの右軸は e G F P 発現を測

10

20

30

40

50

定し、左軸は脂質取込みを測定する。

【図 6】図 6 A および図 6 B は、化合物 18、コレステロールおよび/またはコレステロール誘導体を含み、酢酸緩衝液を用いた本開示の組成物を投与したヒト末梢血単核細胞 (PBM C) 中における活性化 B 細胞頻度を示すグラフの対である。リポ多糖 (LPS) および細胞培養培地のみを、対照として使用する。図 6 A は、CD 19 + 細胞のパーセンテージを示す。図 6 B は、CD 19 + CD 69 + CD 86 + 細胞のパーセンテージを示す。

【図 7 - 1】図 7 A は、異なるコレステロール誘導体の構造を例示する：(1. a) コレステロール構造、(1. b) コレステロール環系の IUPAC 命名法 (1989)。(2. a) ビタミン D - 3、(2. b) ビタミン D - 2、(2. c) カルシポトリオール [セクション 2 は、9, 10 - セコステロイドを含む]、(3. a) スチグマステロール、(3. b) ベータ - シトステロール [セクション 3 は、C - 20 ~ C - 27 側鎖修飾を有するフィトステロールを含む]、(4. a) ベツリン、(4. b) ルペオール、(4. c) ウルソール酸、(4. d) オレアノール酸 [セクション 4 は、さらなる環を備えた C - 20 ~ C - 27 側鎖修飾を有するフィトステロールを含む]。全ての構造において、赤色はコレステロールと比較した構造変動を示す。 - シトステロールは純度 70 % であり、カンペステロール、スチグマステロールおよびシトスタノールの混合物を含有する。図 7 B ~ 7 H、図 8 A ~ 8 C、および図 9 A ~ 9 F において、e LNP が、コレステロールをコレステロール誘導体で置換した脂質ナノ粒子を指す一方で、LNP は、別段の指定がない限り、コレステロールを有する脂質ナノ粒子を指す。

【図 7 - 2】図 7 B は、 - シトステロール脂質ナノ粒子 (e LNP) は、サイズ (DLS により決定、36 ~ 45 回の走査平均)、mRNA 封入効率 (Rib o Green アッセイにより決定、N = 2)、およびトランスフェクション効率 (各 e LNP を使用して 200 ng の mRNA を添加することによって比較、コレステロール LNP でのトランスフェクションを基準として正規化、N = 3) に関してその他のコレステロール誘導体 e LNP よりも優れていることを示すグラフである。 - シトステロールは純度 70 % であり、カンペステロール、スチグマステロールおよびシトスタノールの混合物である。

【図 7 - 3】図 7 C は、LNP (青色) または e LNP (赤色) を使用した 0 ~ 400 ng のルシフェラーゼ mRNA によるトランスフェクションから 24 時間後の、細胞生存能を基準として正規化したルシフェラーゼ活性に関する HeLa 細胞中における試験のトランスフェクション効率結果を例示するグラフである。データを平均 ± SD として示す；N = 3。図 7 D は、増加倍率比 (e LNP / LNP) として表した、図 8 C のデータを例示するグラフである。データを平均 ± SD として示す；N = 3。 - シトステロールは、純度 97 % である。

【図 7 - 4】図 7 E は、LNP 対 - シトステロール - e LNP を使用したシアニン 5 標識 mRNA (0 ~ 400 ng の mRNA / ウェル) のトランスフェクションにより決定した；LNP 対 e LNP の平均細胞取込みを例示するグラフである。取込み領域を、Hoechst 核染色を使用して同定した核膜腔として定義する。シアニン 5 蛍光を、核の数を基準として正規化する。データを平均 ± SD として示す；N = 3。図 7 F は、他のフィトステロール類似体の構造を例示する。全て、コレステロールの C - 24 アルキル置換基およびアルケニル置換基である。全ての構造において、赤色はコレステロールと比較した構造変動を示す。サイズおよび E . e f f は、形成された場合の脂質ナノ粒子のサイズおよび封入効率を指す。

【図 7 - 5】図 7 G は、LNP (青色)、 - シトステロール - e LNP (赤色)、カンペステロール - e LNP (黄色)、フコステロール - e LNP (灰色)、またはシトスタノール - e LNP (緑色) を使用した 0 ~ 400 ng のルシフェラーゼ mRNA によるトランスフェクションから 24 時間後の、細胞生存能を基準として正規化したルシフェラーゼ活性に関する HeLa 細胞中における試験のトランスフェクション効率結果を例示するグラフである。データを平均 ± SD として示す；N = 3。

【図 7 - 6】図 7 H は、コレステロールおよび - シトステロール複合体 LNP の特徴付けを例示するグラフである。アセチル化の際、コレステロールおよび - シトステロール

10

20

30

40

50

L N Pの両方で機能喪失を観察するが、この部位でのアミノ酸の複合化は、部分的に官能性を回復させ得る。以下を示す：サイズ（D L Sにより決定、36～45回の走査平均）、mRNA封入効率（R i b o G r e e nアッセイにより決定、N = 2）、およびトランスフェクション効率（各e L N Pを使用して200 ngのmRNAを添加することによって比較、コレステロールL N Pでのトランスフェクションを基準として正規化、N = 3）。化合物の名称における文字は、H = ヒスチジン、R = アルギニン、G = グリシン、S = セリン、C = シス테인、A c = アセチルを表す。データは、OH基がコレステロール媒介遺伝子送達に不可欠であることを示唆している。

【図8 - 1】図8 Aは、リソソーム蓄積障害を有するヒト患者から培養した6つの異なる線維芽細胞株における試験の結果を示すグラフである。L N P（青色）または - シトステロールe L N P（赤色）を使用した0～600 ngのルシフェラーゼmRNAによるトランスフェクションから24時間後の、細胞生存能を基準として正規化したルシフェラーゼ活性。データを平均±SDとして示す；N = 3。

10

【図8 - 2】図8 Bは、3つのマクロファージ細胞株であるR A W 2 6 4 . 7およびJ 7 7 4 A . 1細胞（マウス）、ならびに明らかに健康なヒト患者からの末梢血マクロファージにおける試験の結果を示すグラフである。L N P（青色）または - シトステロールe L N P（赤色）を使用した0～200 ngのルシフェラーゼmRNAによるトランスフェクションから24時間後の、細胞生存能を基準として正規化したルシフェラーゼ活性。データを平均±SDとして示す；N = 3。図8 Cは、肝細胞H e p G 2細胞中における試験の結果を示すグラフである。L N P（青色）または - シトステロールe L N P（赤色）を使用した0～50 ngのルシフェラーゼmRNAによるトランスフェクションから24時間後の、細胞生存能を基準として正規化したルシフェラーゼ活性。データを平均±SDとして示す；N = 3。

20

【図9 - 1】図9 Aは、100%に設定した対照のみのmRNAリポプレックス（赤色）を基準として正規化した生物活性脂質（黒色）の存在下において、50 ngのmRNA用量でmRNAリポプレックスを用いてトランスフェクトしたH e L a細胞中におけるルシフェラーゼ活性を例示するグラフである。データを平均±SEMとして表す；n = 3。生物活性脂質ライブラリーの化合物# 2（M K - 5 7 1）は、対照に対しておよそ40%のタンパク質発現の増強を含む、最も良好な生物活性を実証する。

【図9 - 2】図9 Bは、対照のみのmRNAリポプレックス（赤色）と比較したM K - 5 7 1（青色）の異なる濃度の存在下において、50 ngのmRNA用量でmRNAリポプレックスを用いてトランスフェクトしたH e L a細胞中におけるルシフェラーゼ活性を例示するグラフである。データを平均±SDとして表す；n = 3。M K - 5 7 1は、5 μMの濃度でタンパク質発現を倍加できる。図9 Cは、対照のみのmRNAリポプレックス（赤色）と比較したアラキドン酸（青色）の異なる濃度の存在下において、50 ngのmRNA用量でmRNAリポプレックスを用いてトランスフェクトしたH e L a細胞中におけるルシフェラーゼ活性を例示するグラフである。データを平均±SDとして表す；n = 3。遊離アラキドン酸での細胞処理は、タンパク質発現の改善を誘発できなかった。

30

【図9 - 3】図9 Dは、L N Pを使用してトランスフェクトしたH e L a細胞中における、M K - 5 7 1（5 μM）を用いて24時間ブレインキュベートした場合としなかった場合の、mRNAの漸増用量でのルシフェラーゼ活性を例示するグラフである。データを平均±SDとして表す；n = 3。M K - 5 7 1は、mRNAの全ての用量でトランスフェクションを増強できる。図9 Eは、L N PおよびM K - 5 7 1含有L N Pを使用してトランスフェクトしたH e L a細胞中における、mRNAの漸増用量でのルシフェラーゼ活性を例示するグラフである。データを平均±SDとして表す；n = 3。リポプレックスおよび遊離M K - 5 7 1を使用して行った観察と同様に、M K - 5 7 1送達L N Pはタンパク質発現を2倍に増加させる。

40

【図9 - 4】図9 Fは、対照のみのmRNAリポプレックスと比較したM K - 5 7 1またはその類似体、モンテルカスト、ブランルカスト、およびザフィルルカストの異なる濃度の存在下において、50 ngのmRNA用量でmRNAリポプレックスを用いてトランス

50

フェクトしたH e L a細胞中におけるルシフェラーゼ活性を例示するグラフである。データを平均 \pm SDとして表す；n = 3。プラシカストおよびザフィリカストは、タンパク質発現の増強についてMK - 571と類似した活性を実証する。

【発明を実施するための形態】

【0028】

本開示は、新規ステロール、またはステロールの混合物、特にコレステロールおよびコレステロール誘導体（例えば、ナノ粒子組成物中のコレステロールの全置換または部分置換）の混合物を含む新規の脂質ナノ粒子組成物に関する。理論に束縛されることを望むものではないが、コレステロールの全置換または部分置換は、ニーマン・ピックC1（NPC1、哺乳動物中で細胞内コレステロール輸送を媒介する後期エンドソーム膜タンパク質）との結合を調節することによって細胞内脂質輸送を妨害し、脂質ナノ粒子の細胞取込みを増強させる、例えば、翻訳に利用可能となる細胞質に送達されるmRNAの量を増加させる可能性がある。さらにまたはあるいは、コレステロールの全置換または部分置換は、NPC1との結合を調節することによって細胞内脂質輸送を妨害し、目的のタンパク質の発現を増強させる可能性がある。コレステロール誘導体は、ステロールのOH基と結合するNPC1ヌクレオチドメインへの結合により効果的であり、小胞体へのエンドソーム脱出を引き起こす可能性がある。OH基の遮断は、有効性の低減を引き起こす。しかしながら、NPC1の欠如は、エンド/リソソーム系における代償経路の活性化に起因する可能性がある送達の増強を依然として招いた（例えば、図7Hおよび図8Aを参照のこと）。コレステロール誘導体は、Npc1、LIMP2、LAMP AおよびBのような異なるエンドリソソームタンパク質との結合親和性を変化させ得る可能性がある。

【0029】

本開示は、治療薬および/または予防薬を、哺乳動物細胞に送達する方法、具体的には、治療薬および/または予防薬を、哺乳動物の器官に送達する方法、哺乳動物細胞内で目的のポリペプチドを生成する方法、および必要とする哺乳動物における疾患または障害を治療する方法も提供する。例えば、細胞内で目的のポリペプチドを生成する方法は、mRNAを含むナノ粒子組成物を、哺乳動物細胞と接触させることを含み、それによって、mRNAは、翻訳されて、目的のポリペプチドを生成し得る。例えば、目的のポリペプチドの生成は、第1ステロールまたは第2ステロールの両方ではなくいずれかを含む対応する組成物を投与することと比較した場合、第1および第2ステロールの組合せ（例えば、コレステロールおよびコレステロール誘導体、例えば、スチグマステロール、 α -シトステロール、または本明細書に開示されるものなど）を使用することによって増加する（例えば、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、または100%の増加）。別の例において、目的のポリペプチドの生成は、コレステロールまたはコレステロールおよびコレステロール誘導体の組合せを含む対応する組成物を投与することと比較した場合、コレステロール誘導体（スチグマステロール、 α -シトステロール、または本明細書に開示されるものなど）を使用することによって増加する（例えば、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、または100%の増加）。治療薬および/または予防薬を、哺乳動物細胞または器官に送達する方法は、治療薬および/または予防薬を含むナノ粒子組成物の、対象への投与を含んでもよく、投与は、細胞または器官を組成物と接触させることを含み、それによって、治療薬および/または予防薬は、細胞または器官に送達される。例えば、送達効率は、第1ステロールまたは第2ステロールの両方ではなくいずれかを含む対応する組成物を投与することと比較した場合、第1および第2ステロールの組合せ（例えば、コレステロールおよびコレステロール誘導体、例えば、スチグマステロール、 α -シトステロール、または本明細書に開示されるものなど）を使用することによって増加する（例えば、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、または100%の増加）。別の例において、送達効率は、コレステロールまたはコレステロールおよびコレステロール誘導体の組合せを含む対応する組成物を投与することと比較した場合、コレステロール誘導体（スチグマステロール、 α -シトステロール、または本明細書に開示されるものなど）を使用することによって増加する（例えば、少なくとも10%、20%

％、30％、40％、50％、または100％の増加)。

【0030】

ステロール

本開示は、

イオン性脂質、

リン脂質、

第1ステロールまたはトコフェロール、および

任意で第1ステロールとは異なる第2ステロールを含む脂質成分を含み、第1ステロールと第2ステロールとのモル比が約1:100~100:1であるか、またはトコフェロールと第2ステロールとのモル比が約1:100~100:1であるナノ粒子組成物を提供する。

10

【0031】

本開示はまた、

イオン性脂質；

リン脂質；

界面活性剤；

核酸部分；および

コレステロール誘導体を含む、ナノ粒子組成物を提供する。

【0032】

「ステロール」という用語は、ステロイドアルコールとしても知られるステロイドのサブグループを指す。ステロールは、通常2つのクラスに分類される：(1)「フィトステロール」としても知られる植物ステロール、および(2)「ズーステロール」としても知られる動物ステロール。

20

【0033】

特定の実施形態において、組成物は、第2ステロールを含む。例えば、第1ステロールと第2ステロールとのモル比は、約1:10~10:1、または約1:5~5:1、または約1:3~3:1、または約1:2~2:1、または約1:1である。例えば、トコフェロールと第2ステロールとのモル比は、約1:10~10:1、または約1:5~5:1、または約1:3~3:1、または約1:2~2:1、または約1:1である。例えば、第1ステロールはコレステロールであり、第2ステロールはコレステロール誘導体（例えば、フィトステロール）である。例えば、組成物は、トコフェロール（-トコフェロール、-トコフェロール、-トコフェロール、-トコフェロール、またはその塩もしくはエステル、例えば、ヘミコハク酸-トコフェロールなど）およびコレステロールもしくはコレステロール誘導体またはそれらの組合せである第2ステロールを含む。

30

【0034】

特定の実施形態において、コレステロール誘導体は、フィトステロール、例えば、-シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール、フコステロール、またはスチグマスタノールである。

【0035】

特定の実施形態において、コレステロール誘導体は、ジヒドロコレステロール、 α -コレステロール、エピコレステロール、デスモステロール、コレスタノール、コレスタノン、コレステノン、コレステリル-2'-ヒドロキシエチルエーテル、コレステリル-4'-ヒドロキシブチルエーテル、3-[N-(N'-N'-ジメチルアミノエチル)カルバモイル]コレステロール(DC-Chol)、24(S)-ヒドロキシコレステロール、25-ヒドロキシコレステロール、25(R)-27-ヒドロキシコレステロール、22-オキサコレステロール、23-オキサコレステロール、24-オキサコレステロール、シクロアルテノール、22-ケトステロール、20-ヒドロキシステロール、7-ヒドロキシコレステロール、19-ヒドロキシコレステロール、22-ヒドロキシコレステロール、25-ヒドロキシコレステロール、7-デヒドロコレステロール、5-コレスタ-7-エン-3-オール、3,6,9-トリオキサオクタン-1-オール-コレステリル-3

40

50

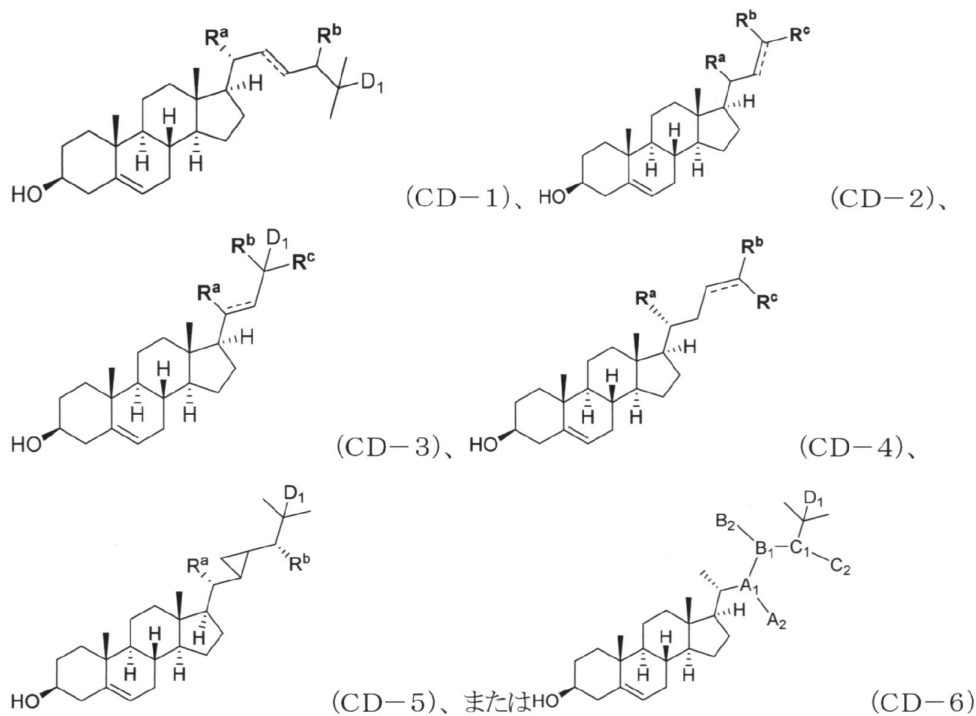
e - オール、デヒドロエルゴステロール、デヒドロエピアンドロステロン、ラノステロール、ジヒドロラノステロール、ラノステノール、ルミステロール、シトカルシフェロール、カルシポトリオール、コプロスタノール、コレカルシフェロール、ルペオール、エルゴカルシフェロール、22 - ジヒドロエルゴカルシフェロール、エルゴステロール、ブラシカステロール、トマチジン、トマチン、ウルソール酸、コール酸、ケノデオキシコール酸、チモステロール、ジオスゲニン、フコステロール、フェコステロール、もしくはフェコステロール、またはその塩もしくはエステル、例えば、コール酸ナトリウムである。

【0036】

特定の実施形態において、コレステロールは、コレステロールそれ自体またはその塩もしくはエステル、例えば、コハク酸コレステロール、硫酸コレステロール、ヘミコハク酸コレステロール、フタル酸コレステロール、リン酸コレステロール、吉草酸コレステロール、酢酸コレステロール、オレイン酸コレステリル、リノール酸コレステリル、ミリスチン酸コレステリル、パルミチン酸コレステリル、アラキジン酸コレステリル、およびコレステリルホスホリルコリンを指す。

【0037】

特定の実施形態において、コレステロール誘導体は、式(CD-1)から(CD-6)：
【化2】



(式中、
【化3】

=====

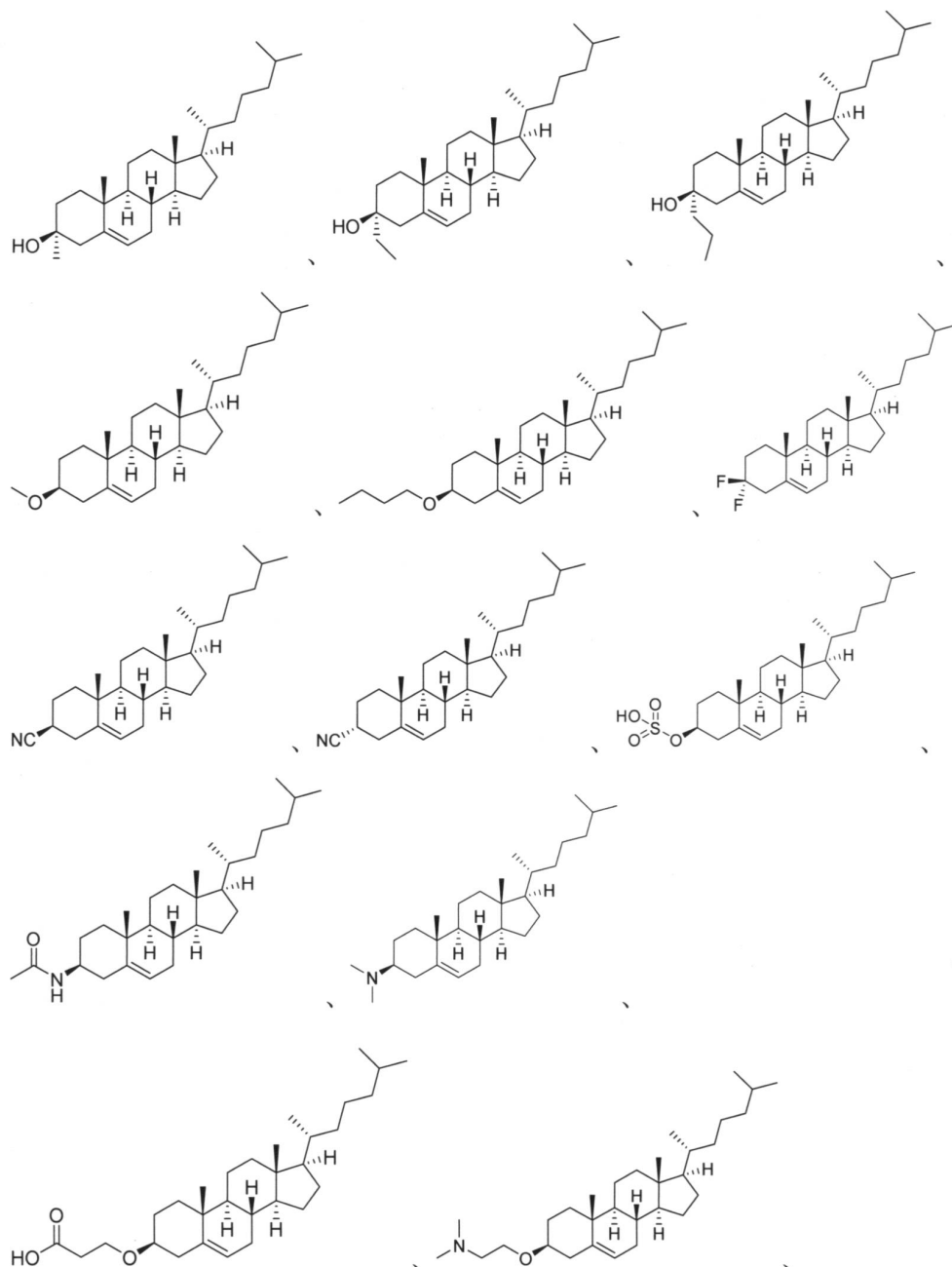
は、炭素 - 炭素単結合または二重結合を表し； R^a は、OH またはハロで任意に置換される $C_1 \sim 6$ アルキルであり； R^b および R^c の各々は、独立して、H または OH もしくはハ

口で任意に置換される $C_1 \sim C_6$ アルキルであり； A_1 、 B_1 、 C_1 の各々は、独立して、 CH 、 CF 、 O 、または S であり、 A_1 、 B_1 、 C_1 のうち1つが O または S である場合、他方の2つは独立して CH または CF であり； A_2 、 B_2 、 C_2 、 D_1 の各々は、独立して、 H 、 OH 、または F である)のいずれかの化合物、あるいはその塩または異性体である。

【0038】

特定の実施形態において、コレステロール誘導体は、

【化4-1】



10

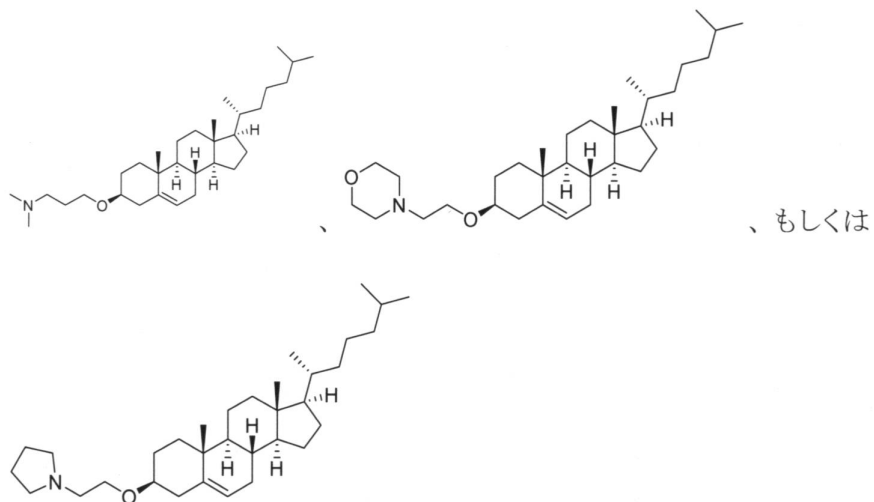
20

30

40

50

【化 4 - 2】



10

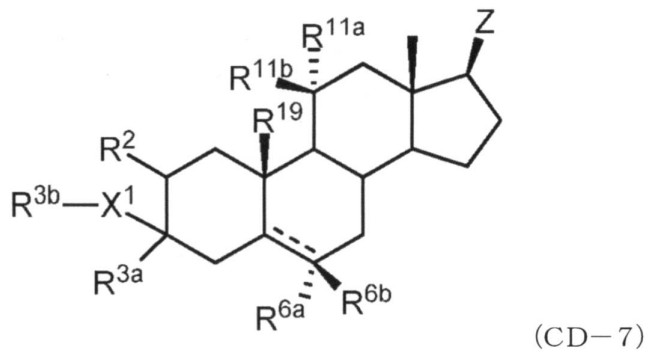
、またはその塩もしくは異性体である。

【 0 0 3 9 】

20

特定の実施形態において、コレステロール誘導体は、式 (C D - 7) :

【化 5】

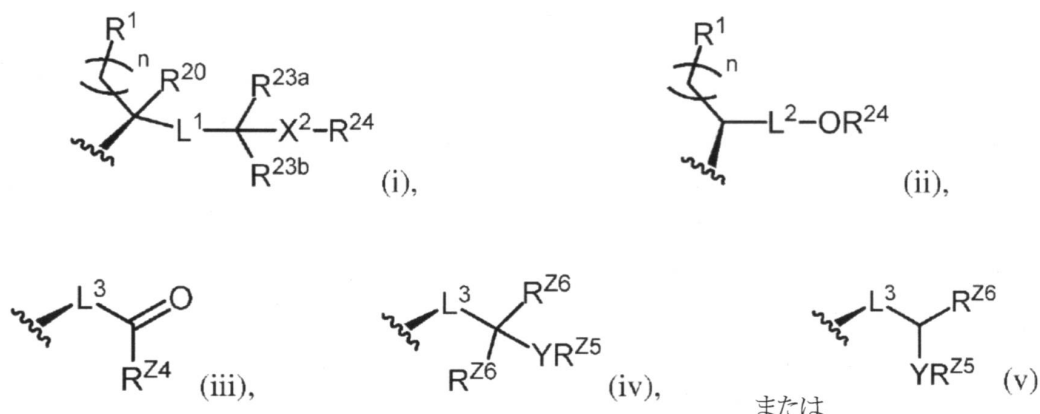


30

(式中、Zは、式 (i)、(i i)、(i i i) (i v)、または (v)

40

【化 6】



10

の群であり、

L^1 および L^2 は、結合、置換または非置換 $C_1 \sim C_6$ アルキレン、置換または非置換 $C_2 \sim C_6$ アルケニレン、置換または非置換 $C_2 \sim C_6$ アルキニレン、置換または非置換ヘテロ $C_1 \sim C_6$ アルキレン、置換または非置換ヘテロ $C_2 \sim C_6$ アルケニレン、および置換または非置換ヘテロ $C_2 \sim C_6$ アルキニレンからなる群から選択され；

20

L^3 は、置換もしくは非置換 $C_1 \sim C_6$ アルキレン、置換もしくは非置換 $C_2 \sim C_6$ アルケニレン、置換もしくは非置換 $C_2 \sim C_6$ アルキニレン、置換もしくは非置換ヘテロ $C_1 \sim C_6$ アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロ $C_2 \sim C_6$ アルケニレン、または置換もしくは非置換ヘテロ $C_2 \sim C_6$ アルキニレンであり；

X^1 および X^2 の各場合は、独立して、 $-O-$ 、 $-S-$ 、または $-NH-$ であり；

R^1 は、水素または置換もしくは非置換アルキルであり；

R^{3b} は水素であり；

30

R^{3a} は、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換アルケニル、または置換もしくは非置換アルキニルであり；

R^2 、 R^{11a} および R^{11b} の各場合は、独立して、水素または $-OR^{B1}$ であり、ここで R^{B1} は、水素または置換もしくは非置換アルキルであり、あるいは R^{11a} および R^{11b} は、結合してオキソ ($=O$) 基を形成し；

R^{6a} および R^{6b} の各々は、独立して、水素、ハロゲン、または置換もしくは非置換アルキルであり、

【化 7】

40

は単結合または二重結合を表し、二重結合が存在する場合には、 R^{6a} および R^{6b} のうち 1 つが欠如し、単結合が存在する場合には、 C_5 の水素がアルファまたはベータ位にあり；

R^{19} および R^{20} の各場合は、独立して、水素または $-CH_3$ であり；

R^{23a} および R^{23b} の各場合は、独立して、水素、ハロゲン、または置換もしくは非置換アルキルであり、あるいは R^{23a} および R^{23b} は、互いに結合して置換または非置換 $C_3 \sim C_6$ シクロアルキルを形成し；

50

R^{Z4} は、水素または置換もしくは非置換アルキルであり；

Y は、 $-O-$ 、 $-S-$ または $-NR^{Z5}-$ であり；

R^{Z4} は、独立して、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換アルケニル、置換もしくは非置換アルキニル、置換もしくは非置換カルボシクリル、置換もしくは非置換ヘテロシクリル、置換もしくは非置換アリール、置換もしくは非置換ヘテロアリール、 $-OR^{Z5}$ 、 $-SR^{Z5}$ 、または $-N(R^{Z5})_2$ であり；

R^{Z5} の各場合は、独立して、水素または置換もしくは非置換アルキルであり；

R^{Z6} の各場合は、独立して、水素または置換もしくは非置換アルキルであり、あるいは 2 つの R^{Z6} 基は、結合して $C_3 \sim C_6$ 炭素環を形成し；

添字 n は、0 または 1 である) の化合物、あるいはその塩または異性体である。

10

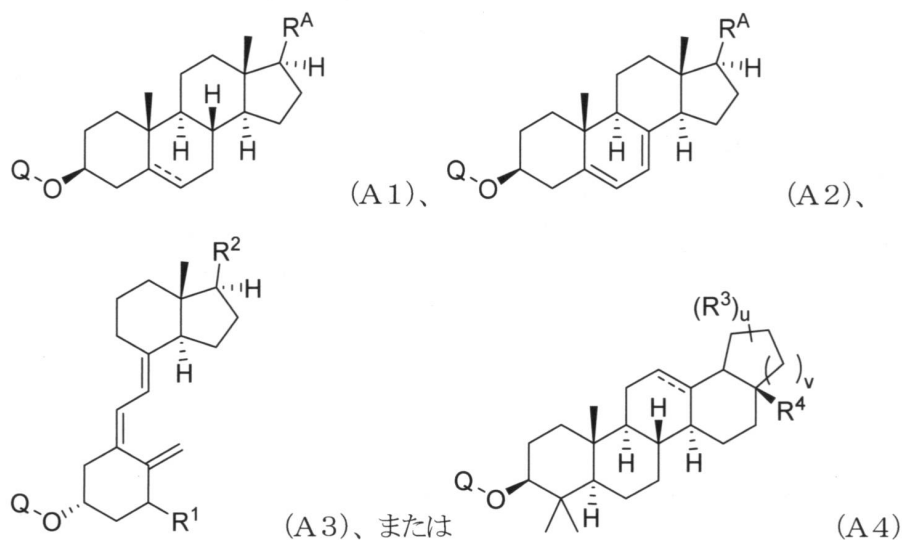
【0040】

コレステロール誘導体のその他の例は、例えば、米国特許第 4, 125, 544 号明細書および WO 2013 / 036835 に記載され、その内容全体が参照によって本明細書に各々組み込まれる。

【0041】

さらに他の実施形態において、コレステロール誘導体は、式 (A1) ~ (A4)：

【化 8】



20

30

(式中、

【化 9】



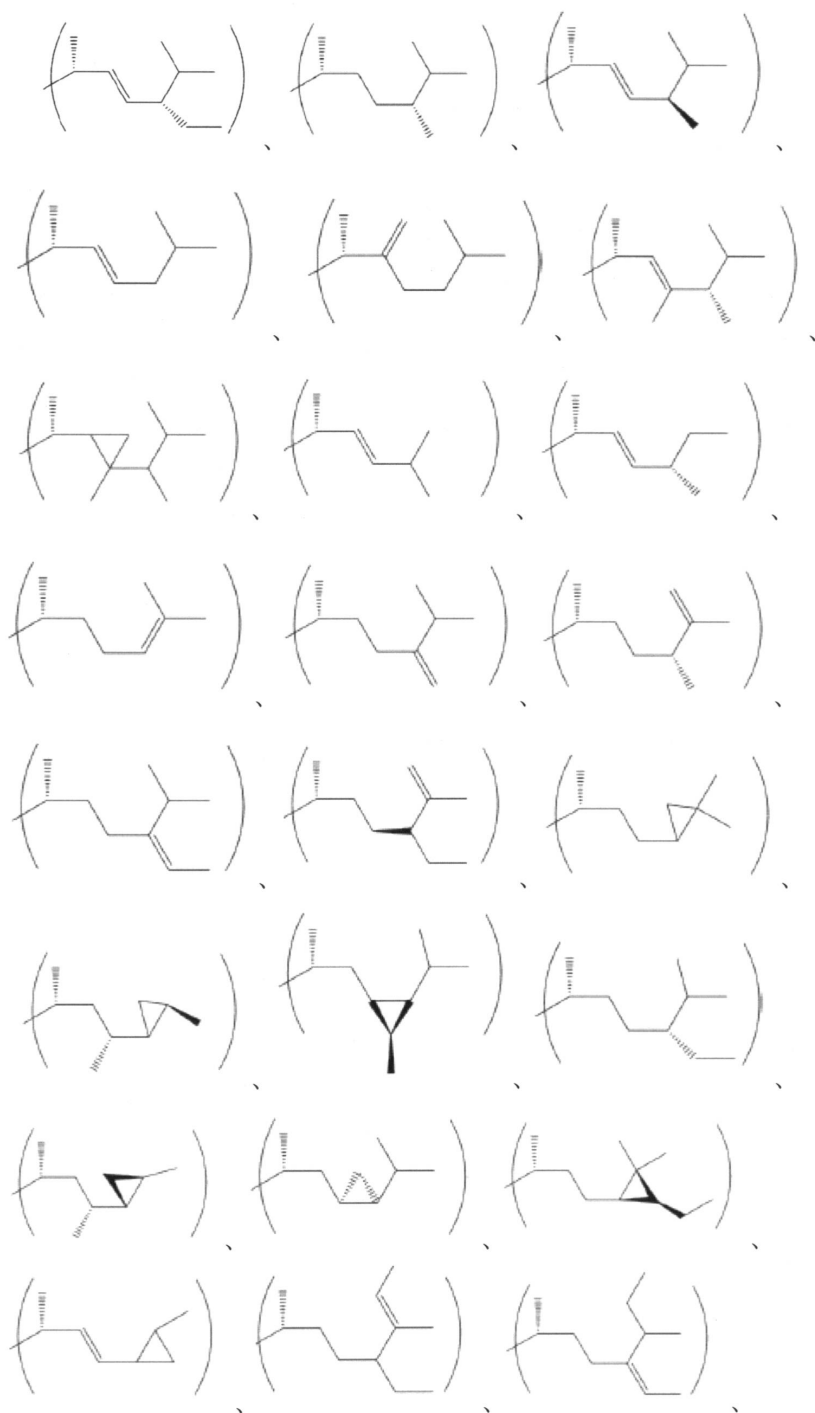
40

は、炭素 - 炭素単結合または二重結合を表し；

R^A は、

50

【化 1 0 - 1】



10

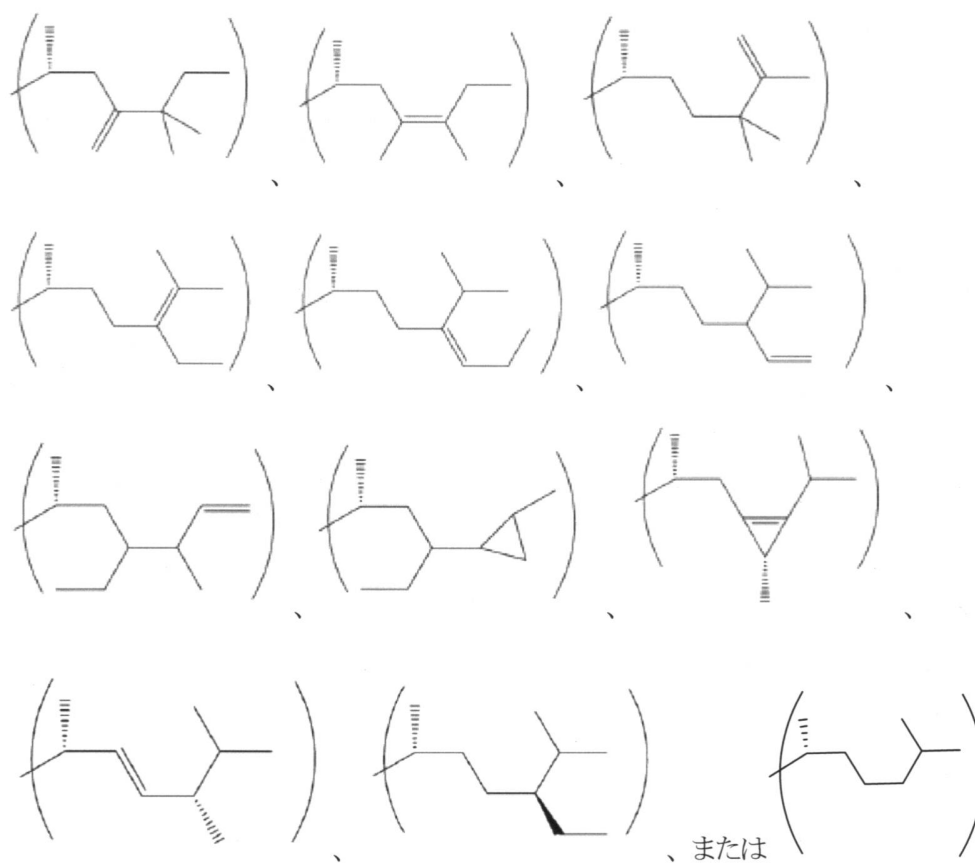
20

30

40

50

【化 1 0 - 2】



であり；

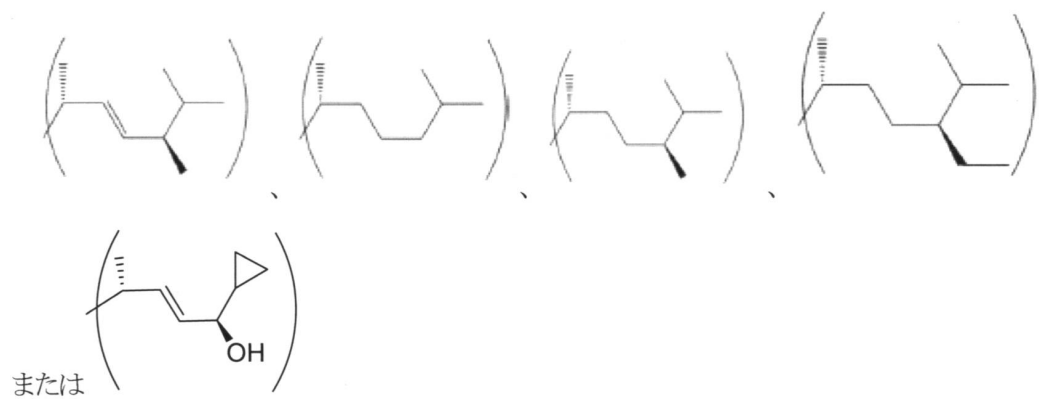
u は、1 または 2 であり ;

v は、1 または 2 であり；

R¹ は、HまたはOHであり；

R^2 は、

【化 1 1】



であり；

各 R^3 は、独立して、 CH_3 、または

【化 1 2】

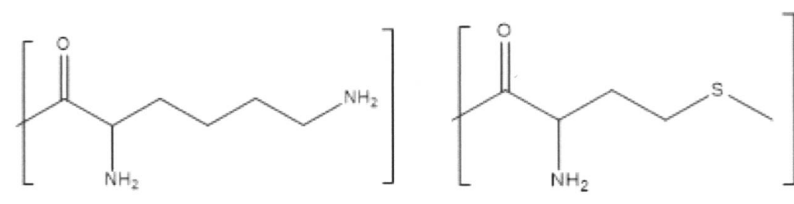
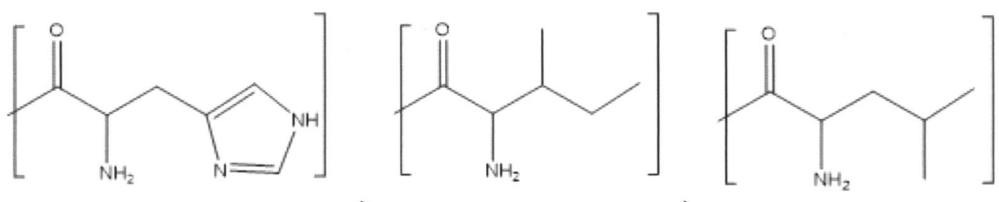
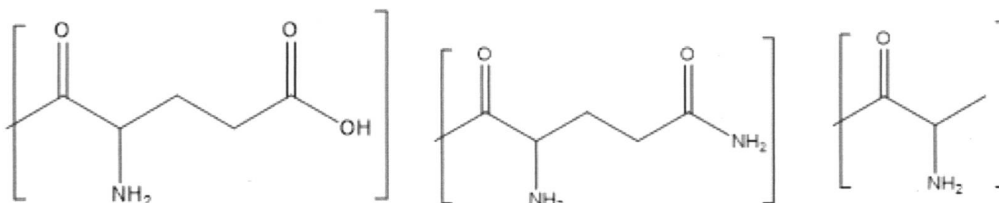
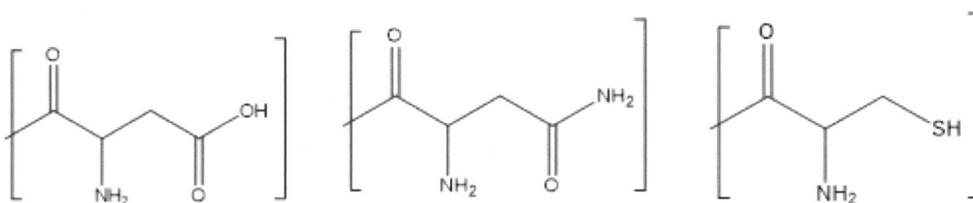
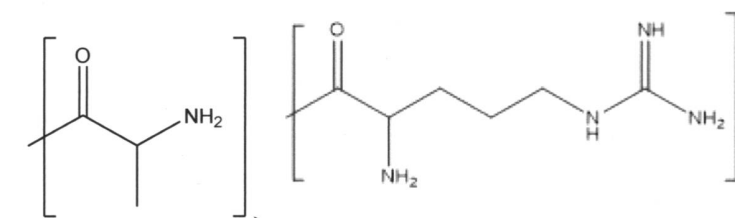


であり；

R⁴は、CH₃、CH₂OH、またはCO₂Hであり；

Qは、H、

【化 1 3 - 1】



10

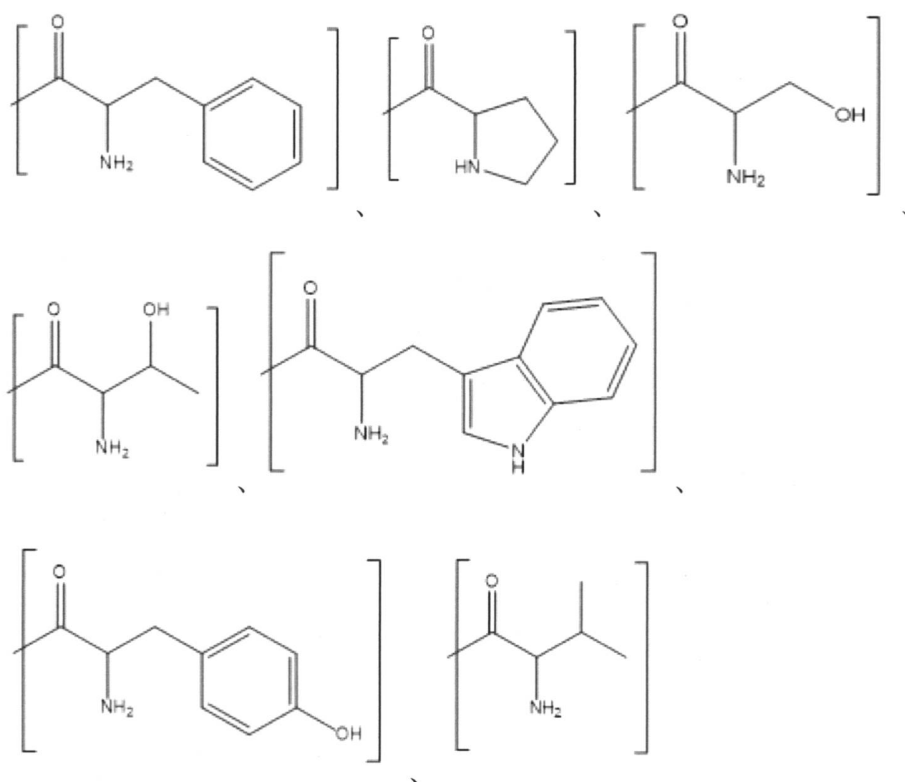
20

30

40

50

【化 1 3 - 2】



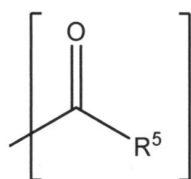
10

20

であり；または

Qは

【化 1 4】



30

であり、ここで R^5 が、 $C_{1\sim 25}$ アルキル、 $C_{2\sim 25}$ アルケニル、 $C_{2\sim 25}$ アルキニル、もしくはグリコシドである)のいずれかのもの；あるいはその塩または異性体である。

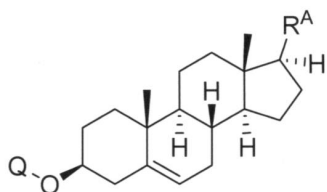
【0042】

ある実施形態において、コレステロール誘導体が式

40

50

【化 1 5】



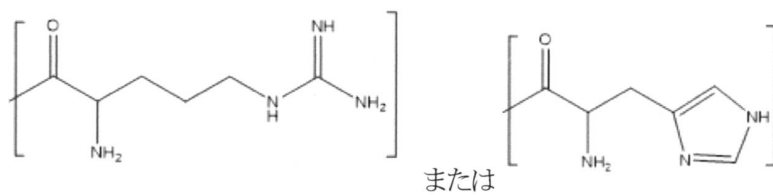
10

を有する場合には、QはHではない。

【0043】

例えば、Qは、

【化 1 6】



20

である。

【0044】

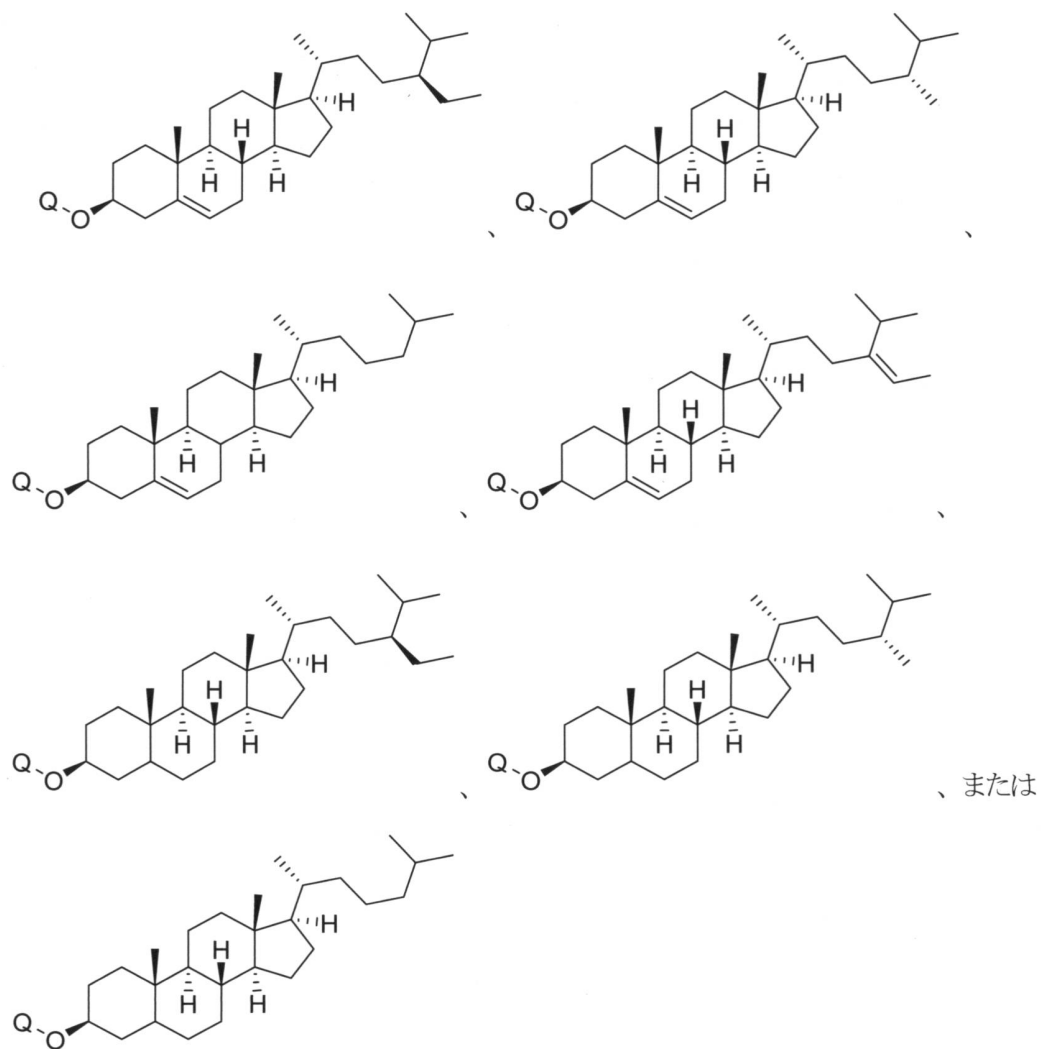
例えば、コレステロール誘導体は、式：

30

40

50

【化 1 7】



10

20

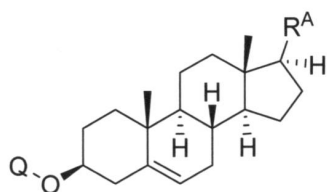
30

を有する。

【 0 0 4 5】

例えば、コレステロール誘導体は、式：

【化 1 8】



40

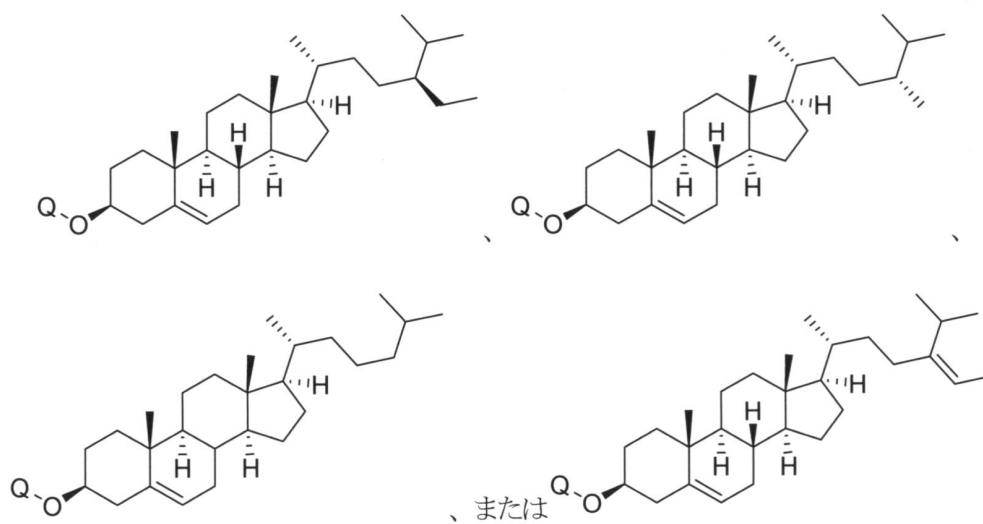
を有する。

【 0 0 4 6】

例えば、コレステロール誘導体は、式：

50

【化 1 9】



を有する。

【 0 0 4 7 】

例えば、コレステロール誘導体は、以下：

10

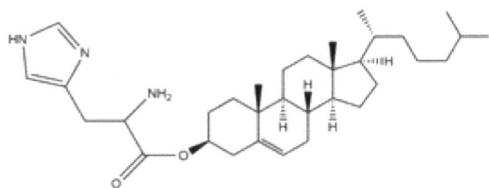
20

30

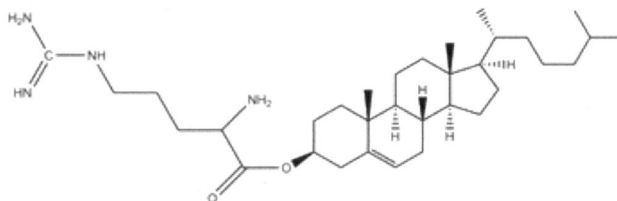
40

50

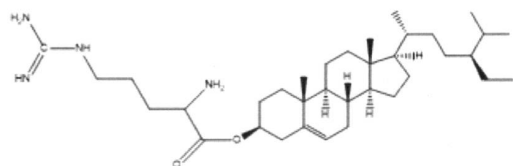
【化 2 0 - 1】



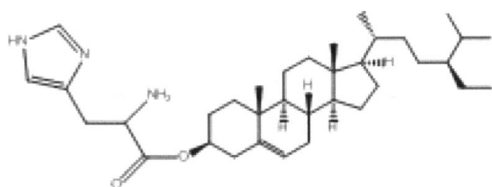
10



20



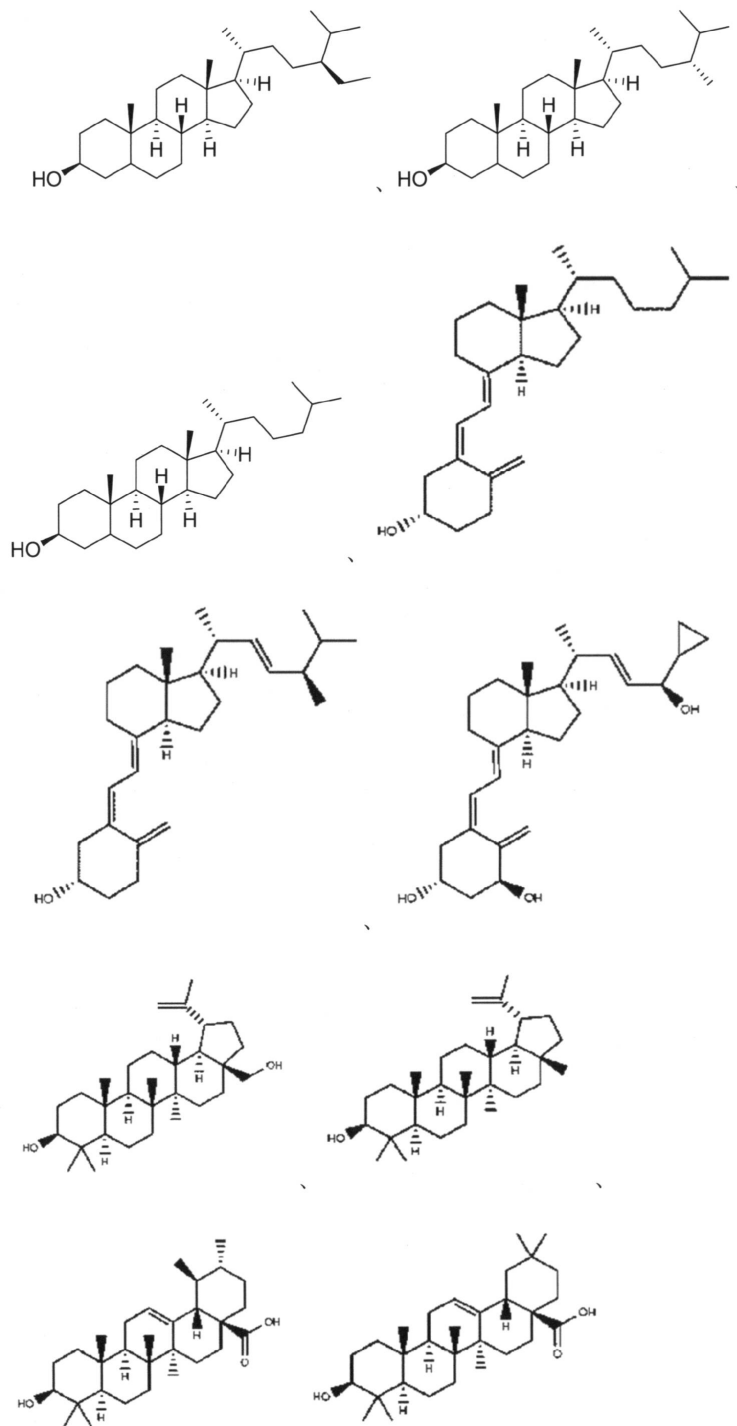
30



40

50

【化 20 - 2】



10

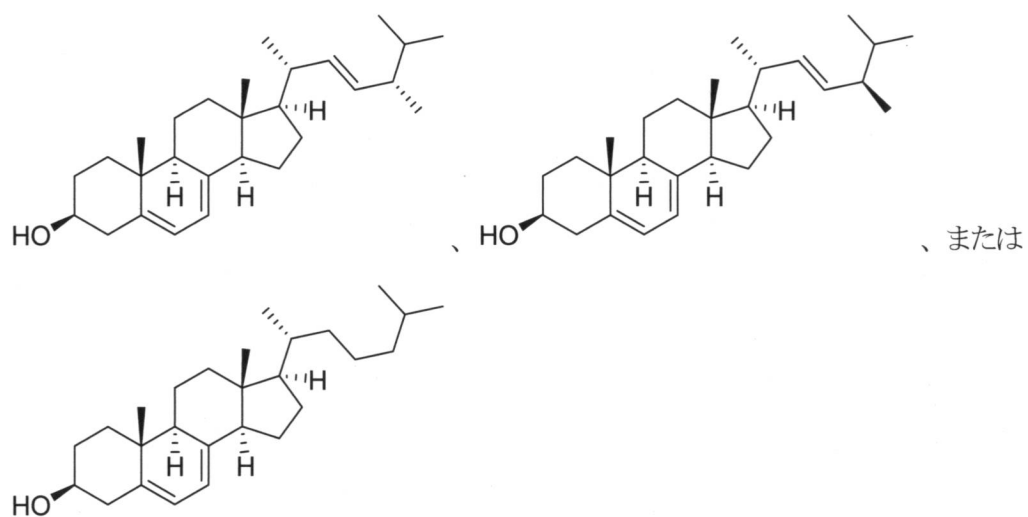
20

30

40

50

【化 2 0 - 3】



10

のいずれかの式を有する。

【 0 0 4 8】

20

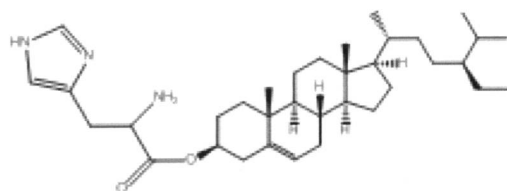
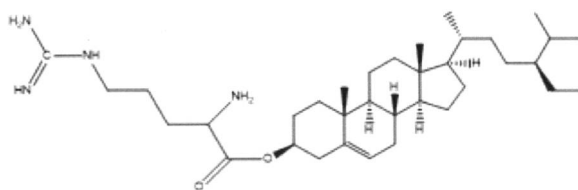
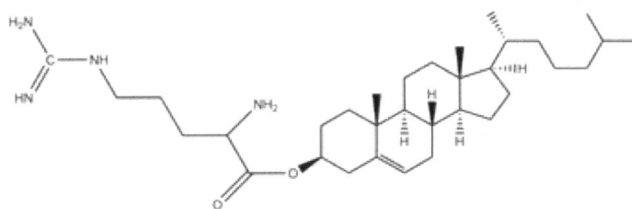
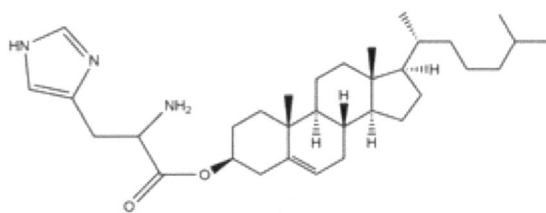
例えば、コレステロール誘導体は、式：

30

40

50

【化 2 1】

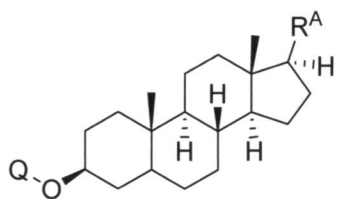


を有する。

【 0 0 4 9】

例えば、コレステロール誘導体は、式：

【化 2 2】

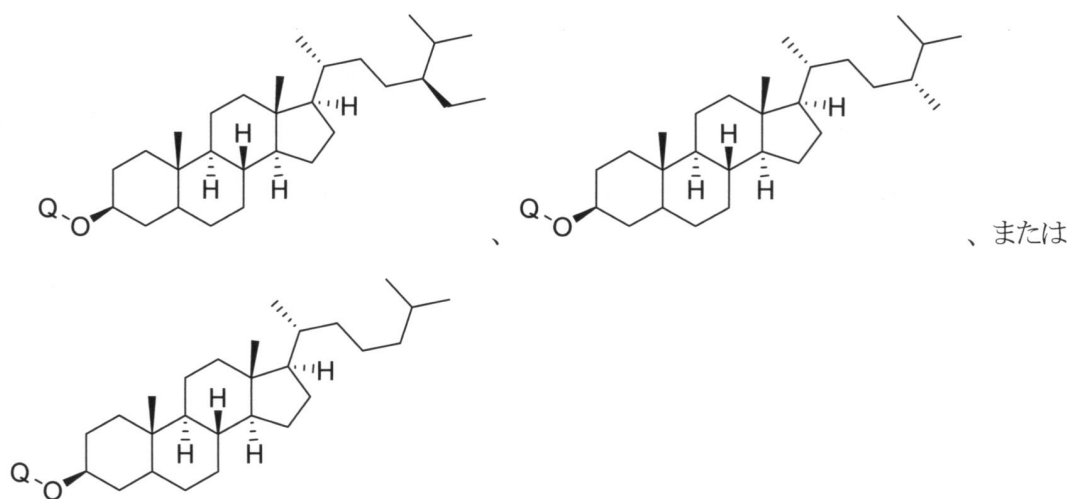


を有する。

【 0 0 5 0】

例えば、コレステロール誘導体は、式：

【化 2 3】



10

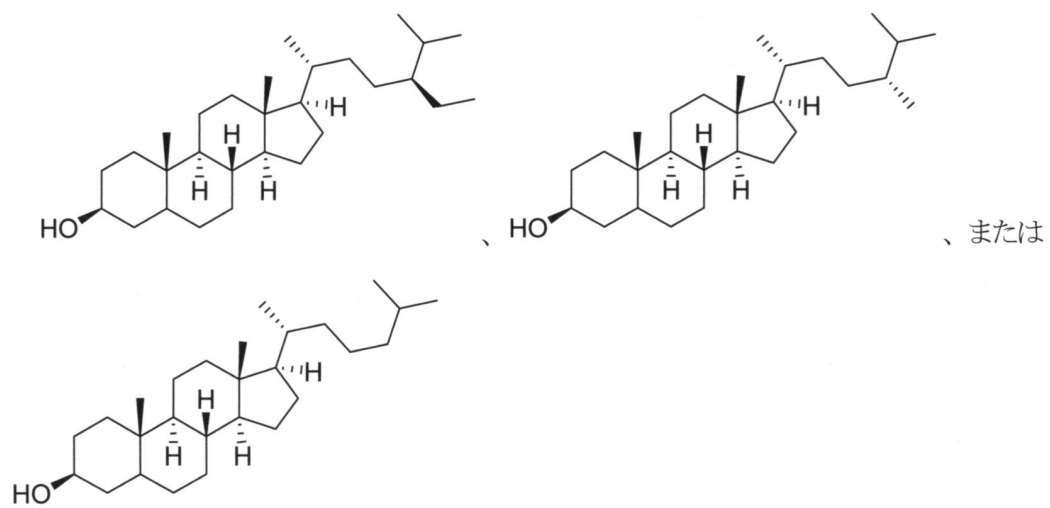
を有する。

20

【 0 0 5 1】

例えば、コレステロール誘導体は、式：

【化 2 4】



30

を有する。

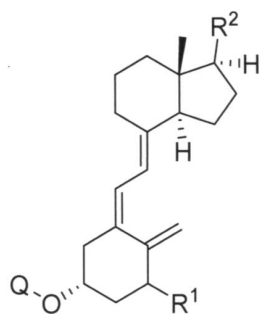
40

【 0 0 5 2】

例えば、コレステロール誘導体は、式：

50

【化 2 5】



10

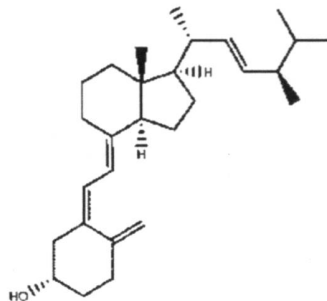
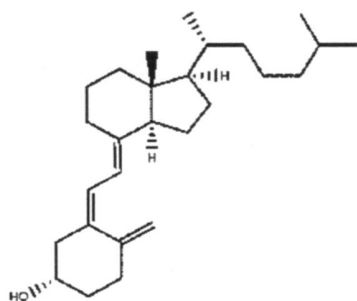
を有する。

【 0 0 5 3】

例えば、コレステロール誘導体は、式：

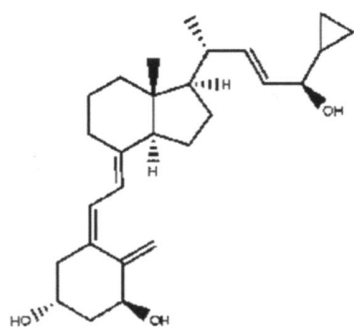
【化 2 6】

20



、または

30



40

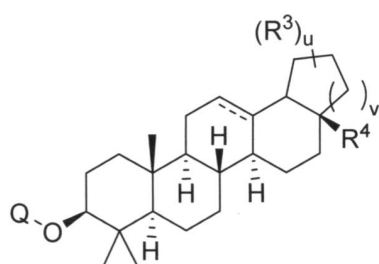
を有する。

【 0 0 5 4】

例えば、コレステロール誘導体は、式：

50

【化 2 7】



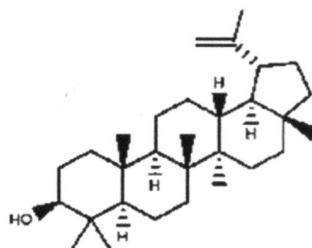
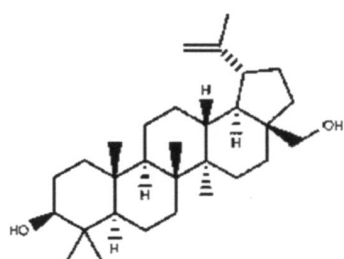
10

を有する。

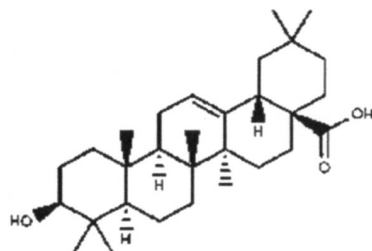
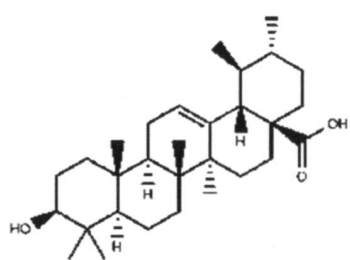
【 0 0 5 5】

例えば、コレステロール誘導体は、式：

【化 2 8】



20



30

、または

を有する。

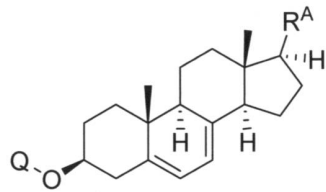
【 0 0 5 6】

例えば、コレステロール誘導体は、式：

40

50

【化 2 9】



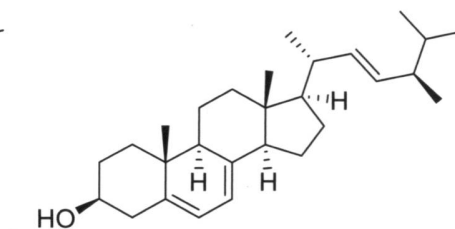
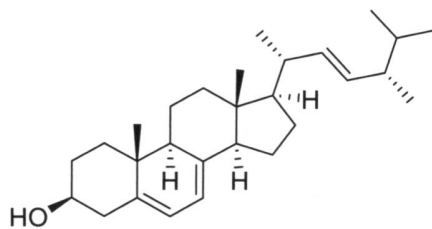
10

を有する。

【0057】

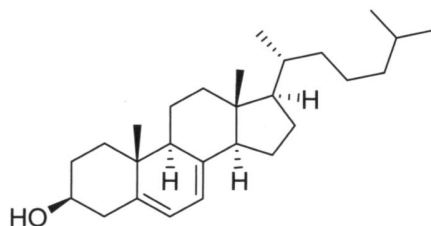
例えば、コレステロール誘導体は、式：

【化 3 0】



、または

20



30

を有する。

【0058】

他の実施形態において、第1ステロールはコレステロール誘導体であり、第2ステロールは存在しない。例えば、第1ステロールは、式(A1)～(A4)のいずれかおよび式(A1)～(A4)に包含される、本明細書に開示される任意の種から選択される。

40

【0059】

イオン性脂質

本開示は、中心のアミン部分および少なくとも1つの生分解性基を含むイオン性脂質を提供する。本明細書に記載される脂質は、哺乳動物細胞または器官への治療薬および/または予防薬の送達のために、脂質ナノ粒子組成物において有利に使用され得る。例えば、本明細書に記載される脂質は、免疫原性をほとんどまたは全く有さない。例えば、式(I)(IA)(IB)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIE)、(IIf)または(IIg)のいずれかの脂質化合物は、対照脂質(例えば、MC3、KC2、またはDLinDMA)と比較して、より低い免疫原性を有する。例えば、本明細書に開示される脂質および治療薬または予防薬を含む製剤は、対照脂質(例えば

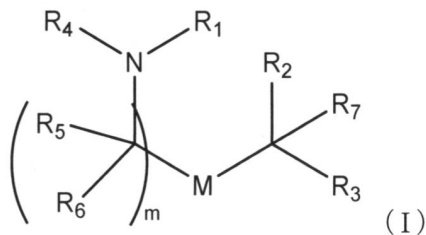
50

、MC3、KC2、またはDLinDMA)および同じ治療薬または予防薬を含む対応する製剤と比較して、増加した治療指数を有する。

【0060】

本発明の第1の態様において、本明細書に記載される化合物は、式(I)：

【化31】



10

(式中：

R₁が、C₅~30アルキル、C₅~20アルケニル、-R^{*}YR^{''}、-YR^{''}、および-R^{''}M'R[']からなる群から選択され；

R₂およびR₃が、独立して、H、C₁~14アルキル、C₂~14アルケニル、-R^{*}YR^{''}、-YR^{''}、および-ROR^{''}からなる群から選択され、もしくはR₂およびR₃が、それらが結合される原子と一緒に、複素環または炭素環を形成し；

20

R₄が、水素、C₃~6炭素環、-(CH₂)_nQ、-(CH₂)_nCHQR、-CHQR、-CQ(R)₂、および非置換C₁~6アルキルからなる群から選択され、ここで、Qが、炭素環、複素環、-OR、-O(CH₂)_nN(R)₂、-C(O)OR、-OC(O)R、-CX₃、-CX₂H、-CXH₂、-CN、-N(R)₂、-C(O)N(R)₂、-N(R)C(O)R、-N(R)S(O)₂R、-N(R)C(O)N(R)₂、-N(R)C(S)N(R)₂、-N(R)R₈、-N(R)S(O)₂R₈、-O(CH₂)_nOR、-N(R)C(=NR₉)N(R)₂、-N(R)C(=CHR₉)N(R)₂、-OC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)OR、-N(OR)C(O)R、-N(OR)S(O)₂R、-N(OR)C(O)OR、-N(OR)C(O)N(R)₂、-N(OR)C(S)N(R)₂、-N(OR)C(=NR₉)N(R)₂、-N(OR)C(=CHR₉)N(R)₂、-C(=NR₉)N(R)₂、-C(=NR₉)R、-C(O)N(R)OR、および-C(R)N(R)₂C(O)ORから選択され、各nが、独立して、1、2、3、4、および5から選択され；

30

各R₅が、独立して、C₁~3アルキル、C₂~3アルケニル、およびHからなる群から選択され；

各R₆が、独立して、C₁~3アルキル、C₂~3アルケニル、およびHからなる群から選択され；

MおよびM'が、独立して、-C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)-M''-C(O)O-、-C(O)N(R')-、-N(R')C(O)-、-C(O)-、-C(S)-、-C(S)S-、-SC(S)-、-CH(OH)-、-P(O)(OR')O-、-S(O)₂-、-S-S-、アリール基、およびヘテロアリール基から選択され、ここでM''が結合、C₁~13アルキルもしくはC₂~13アルケニルであり；

40

R₇が、C₁~3アルキル、C₂~3アルケニル、およびHからなる群から選択され；

R₈が、C₃~6炭素環および複素環からなる群から選択され；

R₉が、H、CN、NO₂、C₁~6アルキル、-OR、-S(O)₂R、-S(O)₂N(R)₂、C₂~6アルケニル、C₃~6炭素環および複素環からなる群から選択され；各Rが、独立して、C₁~3アルキル、C₂~3アルケニル、およびHからなる群から選択され；

各R'が、独立して、C₁~18アルキル、C₂~18アルケニル、-R^{*}YR^{''}、-YR^{''}、

50

およびHからなる群から選択され；

各R^{''}が、独立して、C₃～15アルキルおよびC₃～15アルケニルからなる群から選択され；

各R^{*}が、独立して、C₁～12アルキルおよびC₂～12アルケニルからなる群から選択され；

各Yが、独立して、C₃～6炭素環であり；

各Xが、独立して、F、Cl、Br、およびIからなる群から選択され；

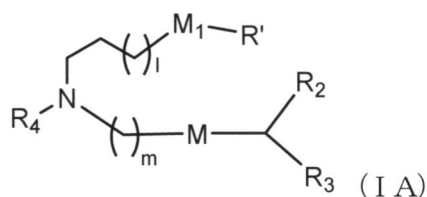
mが、5、6、7、8、9、10、11、12、および13から選択され；ここで、R₄が、-(CH₂)_nQ、-(CH₂)_nCHQR、-CHQR、もしくは-CQ(R)₂である場合、(i)_nが1、2、3、4もしくは5である場合、Qは-N(R)₂ではなく、もしくは(ii)_nが1もしくは2である場合、Qは、5、6、もしくは7員ヘテロシクロアルキルではない)のものまたはそれらのN-オキシド、あるいはその塩または異性体である。

10

【0061】

特定の実施形態において、式(I)の化合物のサブセットは、式(IA)：

【化32】



20

(式中、lが、1、2、3、4、および5から選択され；mが、5、6、7、8、および9から選択され；M₁が、結合もしくはM'であり；R₄が、水素、非置換C₁～3アルキル、もしくは-(CH₂)_nQであり、ここで、Qが、OH、-NHC(S)N(R)₂、-NHC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)R、-N(R)S(O)₂R、-N(R)R₈、-N(R)S(O)₂R₈、-NHC(=NR₉)N(R)₂、-NHC(=CHR₉)N(R)₂、-OC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)OR、ヘテロアリアルもしくはヘテロシクロアルキルであり；MおよびM'が、独立して、-C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)-M''-C(O)O-、-C(O)N(R')-、-P(O)(OR')O-、-S-S-、アリアル基、およびヘテロアリアル基から選択され；R₂およびR₃が、独立して、H、C₁～14アルキル、およびC₂～14アルケニルからなる群から選択される)のものまたはそのN-オキシド、あるいはその塩または異性体を含む。例えば、mが、5、7、または9である。例えば、Qが、OH、-NHC(S)N(R)₂、または-NHC(O)N(R)₂である。例えば、Qが、-N(R)C(O)R、または-N(R)S(O)₂Rである。

30

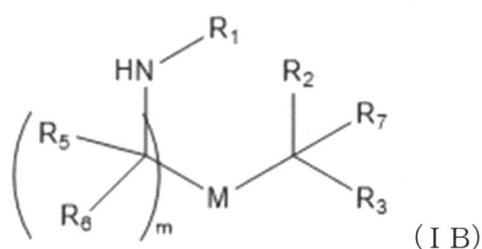
40

【0062】

特定の実施形態において、式(I)の化合物のサブセットは、式(IB)：

50

【化 3 3】



10

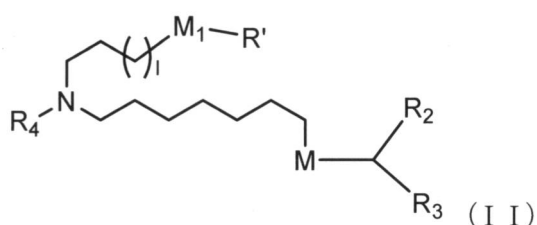
(式中、全ての変数は本明細書で定義されるとおりである)のものまたはそのN - オキシド、あるいはその塩または異性体を含む。例えば、mが、5、6、7、8、および9から選択され；R₄が、水素、非置換C₁~₃アルキル、または-(CH₂)_nQであり、ここで、Qが、OH、-NHC(S)N(R)₂、-NHC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)R、-N(R)S(O)₂R、-N(R)R₈、-N(R)S(O)₂R₈、-NHC(=NR₉)N(R)₂、-NHC(=CHR₉)N(R)₂、-OC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)OR、ヘテロアリールまたはヘテロシクロアルキルであり；MおよびM'が、独立して、-C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)-M''-C(O)O-、-C(O)N(R')-、-P(O)(OR')O-、-S-S-、アリール基、およびヘテロアリール基から選択され；R₂およびR₃が、独立して、H、C₁~₁₄アルキル、およびC₂~₁₄アルケニルからなる群から選択される。例えば、mが、5、7、または9である。例えば、Qが、OH、-NHC(S)N(R)₂、または-NHC(O)N(R)₂である。例えば、Qが、-N(R)C(O)R、または-N(R)S(O)₂Rである。

20

【0063】

特定の実施形態において、式(I)の化合物のサブセットは、式(II)：

【化 3 4】



30

(式中、lが、1、2、3、4、および5から選択され；M₁が、結合もしくはM'であり；R₄が、水素、非置換C₁~₃アルキル、もしくは-(CH₂)_nQであり、ここで、nが2、3、もしくは4であり、Qが、OH、-NHC(S)N(R)₂、-NHC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)R、-N(R)S(O)₂R、-N(R)R₈、-N(R)S(O)₂R₈、-NHC(=NR₉)N(R)₂、-NHC(=CHR₉)N(R)₂、-OC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)OR、ヘテロアリールもしくはヘテロシクロアルキルであり；MおよびM'が、独立して、-C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)-M''-C(O)O-、-C(O)N(R')-、-P(O)(OR')O-、-S-S-、アリール基、およびヘテロアリール基から選択され；R₂およびR₃が、独立して、H、C₁~₁₄アルキル、およびC₂~₁₄アルケニルからなる群から選択される)の

40

50

ものまたはその N - オキシド、あるいはその塩または異性体を含む。

【 0 0 6 4 】

式 (I) または (I A) のいずれか 1 つの化合物は、該当する場合、以下の特徴の 1 つ以上を含む。

【 0 0 6 5 】

ある実施形態において、 M_1 が M' である。

【 0 0 6 6 】

ある実施形態において、 M および M' が、独立して、 $-C(O)O-$ または $-OC(O)-$ である。

【 0 0 6 7 】

ある実施形態において、 M および M' の少なくとも 1 つが、 $-C(O)O-$ または $-OC(O)-$ である。

【 0 0 6 8 】

ある実施形態において、 M および M' の少なくとも 1 つが、 $-OC(O)-M''-C(O)O-$ である。

【 0 0 6 9 】

ある実施形態において、 M および M' の少なくとも 1 つが、 $-OC(O)-$ である。

【 0 0 7 0 】

特定の実施形態において、 M が $-OC(O)-$ であり、 M' が $-C(O)O-$ である。ある実施形態において、 M が $-C(O)O-$ であり、 M' が $-OC(O)-$ である。特定の実施形態において、 M および M' が、各々 $-OC(O)-$ である。ある実施形態において、 M および M' が、各々 $-C(O)O-$ である。

【 0 0 7 1 】

ある実施形態において、 M および M' が、独立して、 $-S-S-$ である。

【 0 0 7 2 】

ある実施形態において、 M および M' の少なくとも 1 つが、 $-S-S-$ である。

【 0 0 7 3 】

ある実施形態において、 M および M' の一方が、 $-C(O)O-$ または $-OC(O)-$ であり、他方が $-S-S-$ である。例えば、 M が、 $-C(O)O-$ または $-OC(O)-$ であり、 M' が $-S-S-$ であるか、または M' が、 $-C(O)O-$ または $-OC(O)-$ であり、 M が $-S-S-$ である。

【 0 0 7 4 】

ある実施形態において、 l が、1、3、または 5 である。

【 0 0 7 5 】

ある実施形態において、 R_4 が、水素である。

【 0 0 7 6 】

ある実施形態において、 R_4 は、水素ではない。

【 0 0 7 7 】

ある実施形態において、 R_4 が、非置換メチルまたは $-(CH_2)_nQ$ であり、ここで、 Q が、 OH 、 $-NHC(S)N(R)_2$ 、 $-NHC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、または $-N(R)S(O)_2R$ である。

【 0 0 7 8 】

ある実施形態において、 Q が OH である。

【 0 0 7 9 】

ある実施形態において、 Q が $-NHC(S)N(R)_2$ である。

【 0 0 8 0 】

ある実施形態において、 Q が $-NHC(O)N(R)_2$ である。

【 0 0 8 1 】

ある実施形態において、 Q が $-N(R)C(O)R$ である。

【 0 0 8 2 】

10

20

30

40

50

ある実施形態において、Qが $-N(R)S(O)_2R$ である。

【0083】

ある実施形態において、Qが $-O(CH_2)_nN(R)_2$ である。

【0084】

ある実施形態において、Qが $-O(CH_2)_nOR$ である。

【0085】

ある実施形態において、Qが $-N(R)R_8$ である。

【0086】

ある実施形態において、Qが $-N(R)S(O)_2R_8$ である。

【0087】

ある実施形態において、Qが $-NHC(=NR_9)N(R)_2$ である。

【0088】

ある実施形態において、Qが $-NHC(=CHR_9)N(R)_2$ である。

【0089】

ある実施形態において、Qが $-OC(O)N(R)_2$ である。

【0090】

ある実施形態において、Qが $-N(R)C(O)OR$ である。

【0091】

ある実施形態において、nが2である。

【0092】

ある実施形態において、nが3である。

【0093】

ある実施形態において、nが4である。

【0094】

ある実施形態において、 M_1 が存在しない。

【0095】

ある実施形態において、 R' が、 $C_1 \sim 18$ アルキル、 $C_2 \sim 18$ アルケニル、 $-R^*YR''$ 、または $-YR''$ である。

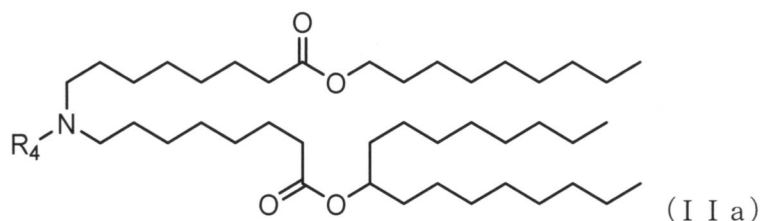
【0096】

ある実施形態において、 R_2 および R_3 が、独立して、 $C_3 \sim 14$ アルキルまたは $C_3 \sim 14$ アルケニルである。

【0097】

一実施形態において、式(I)の化合物は、式(IIa)

【化35】



(式中、 R_4 が本明細書に記載されるとおりである)のものまたはそれらのN - オキシド、あるいはその塩または異性体である。

【0098】

別の実施形態において、式(I)の化合物は、式(IIb)

10

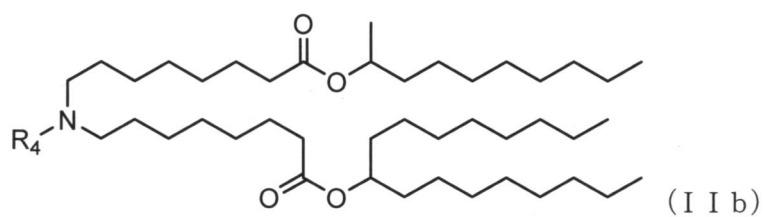
20

30

40

50

【化 3 6】



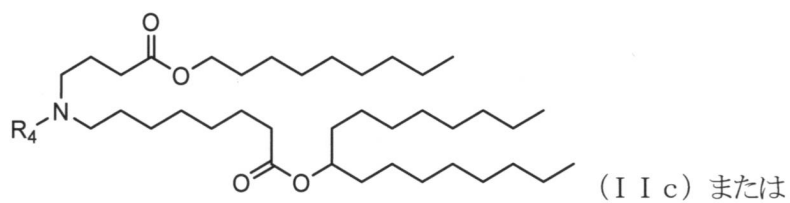
10

(式中、 R_4 が本明細書に記載されるとおりである)のものまたはそれらのN - オキシド、あるいはその塩または異性体である。

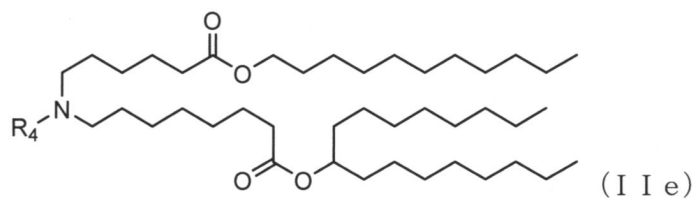
【0099】

別の実施形態において、式(I)の化合物は、式(I I c)または(I I e)：

【化 3 7】



20



30

(式中、 R_4 が本明細書に記載されるとおりである)のものまたはそれらのN - オキシド、あるいはその塩または異性体である。

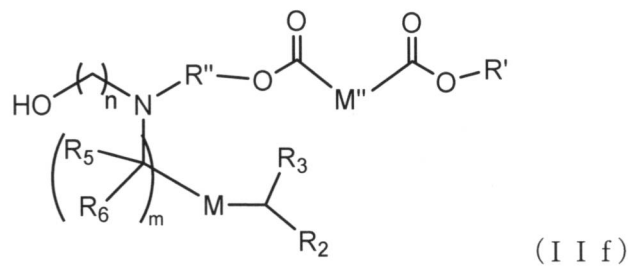
【0100】

別の実施形態において、式(I)の化合物は、式(I I f)：

40

50

【化 3 8】



10

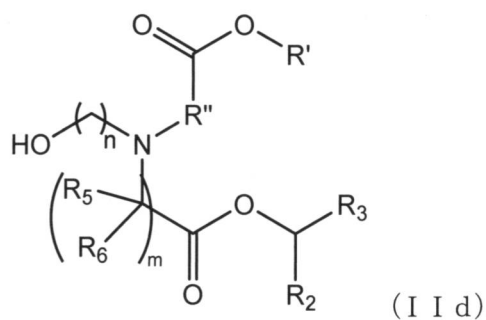
(式中、Mは、 $-C(O)O-$ もしくは $-OC(O)-$ であり、M''は、 $C_1 \sim 6$ アルキル(例えば、 $C_1 \sim 4$ アルキル)もしくは $C_2 \sim 6$ アルケニル(例えば、 $C_2 \sim 4$ アルケニル)であり、 R_2 および R_3 は、独立して、 $C_5 \sim 14$ アルキルおよび $C_5 \sim 14$ アルケニルからなる群から選択され、 n は、2、3、および4から選択される)のものまたはそれらのN-オキド、あるいはその塩または異性体である。

【0101】

20

さらなる実施形態において、式(I)の化合物は、式(I I d)

【化 3 9】



30

(式中、 n が、2、3、もしくは4であり； m 、 R' 、 R'' 、および $R_5 \sim R_6$ が本明細書に記載されるとおりである)のものまたはそれらのN-オキド、あるいはその塩または異性体である。例えば、 R_2 および R_3 のそれぞれが、独立して、 $C_5 \sim 14$ アルキルおよび $C_5 \sim 14$ アルケニルからなる群から選択され得る。

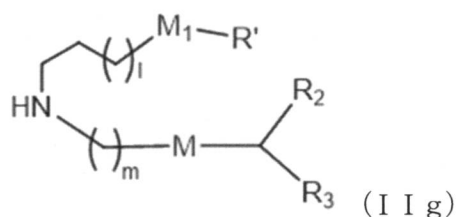
【0102】

40

別の実施形態において、式(I)の化合物は、式(I I g)：

50

【化 4 0】



10

(式中、 l が、1、2、3、4、および5から選択され； m が、5、6、7、8、および9から選択され； M_1 が、結合もしくは M' であり； M および M' が、独立して、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M''-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、およびヘテロアリール基から選択され； R_2 および R_3 が、独立して、 H 、 $C_1 \sim 14$ アルキル、および $C_2 \sim 14$ アルケニルからなる群から選択される)のものまたはそれらの N -オキシド、あるいはその塩または異性体である。例えば、 M'' は、 $C_1 \sim 6$ アルキル(例えば、 $C_1 \sim 4$ アルキル)または $C_2 \sim 6$ アルケニル(例えば、 $C_2 \sim 4$ アルケニル)である。例えば、 R_2 および R_3 は、独立して、 $C_5 \sim 14$ アルキルおよび $C_5 \sim 14$ アルケニルからなる群から選択される。

20

【0103】

式(I)、(IA)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIf)、および(II f)のいずれか1つの化合物は、該当する場合、以下の特徴の1つ以上を含む。

【0104】

ある実施形態において、 R_4 が、 $C_3 \sim 6$ 炭素環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nC_{HQR}$ 、 $-CHQR$ 、および $-CQ(R)_2$ からなる群から選択され、ここで、 Q が、 $C_3 \sim 6$ 炭素環、 N 、 O 、 S 、および P 、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)S(O)_2R_8$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、および $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ から選択される1つ以上のヘテロ原子を有する5員～14員芳香族または非芳香族複素環から選択され、各 n が、独立して、1、2、3、4、および5から選択される。

30

【0105】

別の実施形態において、 R_4 が、 $C_3 \sim 6$ 炭素環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nC_{HQR}$ 、 $-CHQR$ 、および $-CQ(R)_2$ からなる群から選択され、ここで、 Q が、 $C_3 \sim 6$ 炭素環、 N 、 O 、および S 、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)S(O)_2R_8$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ から選択される1つ以上のヘテロ原子を有する5員～14員ヘテロアリール、およびオキソ(=O)、OH、アミノ、および $C_1 \sim 3$ アルキルから選択される1つ以上の置換基で置換される N 、 O 、および S から選択される1つ以上のヘテロ原子を有する5員～14員ヘテロシクロアルキルから選択され、各 n が、独立して、1、2、3、4、および5から選択される。

40

【0106】

別の実施形態において、 R_4 が、 $C_3 \sim 6$ 炭素環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nC_{HQR}$ 、 $-CHQR$ 、および $-CQ(R)_2$ からなる群から選択され、ここで、 Q が、 C

50

3～6炭素環、N、O、およびS、-OR、-O(CH₂)_nN(R)₂、-C(O)OR、-OC(O)R、-CX₃、-CX₂H、-CXH₂、-CN、-C(O)N(R)₂、-N(R)C(O)R、-N(R)S(O)₂R、-N(R)S(O)₂R₈、-N(R)C(O)N(R)₂、-N(R)C(S)N(R)₂、-C(R)N(R)₂C(O)ORから選択される1つ以上のヘテロ原子を有する5員～14員複素環から選択され、各nが、独立して、1、2、3、4、および5から選択され；Qが5員～14員複素環であり、(i)R₄が-(CH₂)_nQであり、ここで、nが、1または2であるか、または(ii)R₄が-(CH₂)_nCHQRであり、ここで、nが1であるか、または(iii)R₄が、-CHQR、および-CQ(R)₂である場合、Qは、5員～14員ヘテロアリールまたは8員～14員ヘテロシクロアルキルのいずれかである。

10

【0107】

別の実施形態において、R₄が、C₃～6炭素環、-(CH₂)_nQ、-(CH₂)_nCHQR、-CHQR、および-CQ(R)₂からなる群から選択され、ここで、Qが、C₃～6炭素環、N、O、およびS、-OR、-O(CH₂)_nN(R)₂、-C(O)OR、-OC(O)R、-CX₃、-CX₂H、-CXH₂、-CN、-C(O)N(R)₂、-N(R)C(O)R、-N(R)S(O)₂R、-N(R)S(O)₂R₈、-N(R)C(O)N(R)₂、-N(R)C(S)N(R)₂、-C(R)N(R)₂C(O)ORから選択される1つ以上のヘテロ原子を有する5員～14員ヘテロアリールから選択され、各nが、独立して、1、2、3、4、および5から選択される。

【0108】

20

別の実施形態において、R₄が、-(CH₂)_nQであり、ここで、Qが、-N(R)S(O)₂R₈であり、nが1、2、3、4、および5から選択される。さらなる実施形態において、R₄が、-(CH₂)_nQであり、ここで、Qが、-N(R)S(O)₂R₈であり、ここでR₈が、C₃～6シクロアルキルなどのC₃～6炭素環であり、nが1、2、3、4、および5から選択される。例えば、R₄が、-(CH₂)₃NHS(O)₂R₈であり、R₈がシクロプロピルである。別の実施形態において、R₄が、非置換C₁～4アルキル、例えば、非置換メチルである。

【0109】

特定の実施形態において、本開示は、式(I)(式中、R₄が、-(CH₂)_nQまたは-(CH₂)_nCHQRであり、ここで、Qが-N(R)₂であり、nが、3、4、および5から選択される)で表される化合物を提供する。

30

【0110】

特定の実施形態において、本開示は、式(I)(式中、R₄が、-(CH₂)_nQ、-(CH₂)_nCHQR、-CHQR、および-CQ(R)₂からなる群から選択され、ここで、Qが-N(R)₂であり、nが、1、2、3、4、および5から選択される)で表される化合物を提供する。

【0111】

特定の実施形態において、本開示は、式(I)(式中、R₂およびR₃が、独立して、C₂～14アルキル、C₂～14アルケニル、-R^{*}YR^{*}、-YR^{*}、および-RO^{*}からなる群から選択され、またはR₂およびR₃が、それらが結合される原子と一緒に、複素環または炭素環を形成し、R₄が、-(CH₂)_nQまたは-(CH₂)_nCHQRであり、ここで、Qが-N(R)₂であり、nが、3、4、および5から選択される)で表される化合物を提供する。

40

【0112】

特定の実施形態において、R₂およびR₃が、独立して、C₂～14アルキル、C₂～14アルケニル、-R^{*}YR^{*}、-YR^{*}、および-RO^{*}からなる群から選択され、またはR₂およびR₃が、それらが結合される原子と一緒に、複素環または炭素環を形成する。

【0113】

ある実施形態において、R₁が、C₅～20アルキルおよびC₅～20アルケニルからなる群から選択される。

50

【0114】

他の実施形態において、 R_1 が、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、および $-R''M'R'$ からなる群から選択される。

【0115】

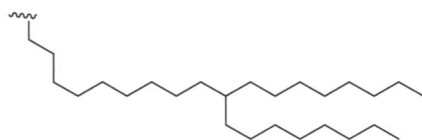
特定の実施形態において、 R_1 が、 $-R^*YR''$ および $-YR''$ から選択される。ある実施形態において、 Y がシクロプロピル基である。ある実施形態において、 R^* が、 C_8 アルキルまたは C_8 アルケニルである。特定の実施形態において、 R'' が $C_3 \sim 12$ アルキルである。例えば、 R'' が C_3 アルキルであり得る。例えば、 R'' が $C_4 \sim 8$ アルキル（例えば、 C_4 、 C_5 、 C_6 、 C_7 、または C_8 アルキル）であり得る。ある実施形態において、 R_1 が $C_5 \sim 20$ アルキルである。ある実施形態において、 R_1 が C_6 アルキルである。ある実施形態において、 R_1 が C_8 アルキルである。他の実施形態において、 R_1 が C_9 アルキルである。特定の実施形態において、 R_1 が C_{14} アルキルである。他の実施形態において、 R_1 が C_{18} アルキルである。

10

【0116】

ある実施形態において、 R_1 が $C_{21} \sim 30$ アルキルである。ある実施形態において、 R_1 が C_{26} アルキルである。ある実施形態において、 R_1 が C_{28} アルキルである。特定の実施形態において、 R_1 が

【化41】



20

である。

【0117】

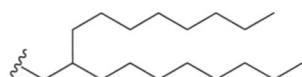
ある実施形態において、 R_1 が $C_5 \sim 20$ アルケニルである。特定の実施形態において、 R_1 が C_{18} アルケニルである。ある実施形態において、 R_1 がリノレイルである。

30

【0118】

特定の実施形態において、 R_1 が、分枝鎖状（例えば、デカン - 2 - イル、ウンデカン - 3 - イル、ドデカン - 4 - イル、トリデカン - 5 - イル、テトラデカン - 6 - イル、2 - メチルウンデカン - 3 - イル、2 - メチルデカン - 2 - イル、3 - メチルウンデカン - 3 - イル、4 - メチルドデカン - 4 - イル、またはヘプタデカ - 9 - イル）である。特定の実施形態において、 R_1 が

【化42】



40

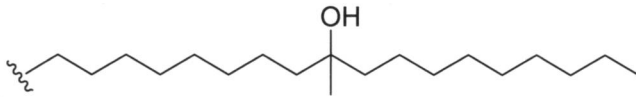
である。

【0119】

特定の実施形態において、 R_1 が、非置換 $C_5 \sim 20$ アルキルまたは $C_5 \sim 20$ アルケニルである。特定の実施形態において、 R' が、置換 $C_5 \sim 20$ アルキルまたは $C_5 \sim 20$ アルケニル（例えば、1 - シクロプロピルノニルなどの $C_3 \sim 6$ 炭素環で置換されるか、または

50

OH またはアルコキシで置換される) である。例えば、 R_1 が
【化 4 3】

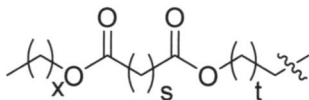


10

である。

【0 1 2 0】

他の実施形態において、 R_1 が $-R''M'R'$ である。特定の実施形態において、 M' が、 $-OC(O)-M''-C(O)O-$ である。例えば、 R_1 は
【化 4 4】



20

(式中、 x は 1 ~ 13 (例えば、3、4、5、および 6 から選択される) 整数であり、 s は 1 ~ 13 (例えば、1、2、および 3 から選択される) 整数であり、 t は 2 ~ 14 (例えば、4、5、および 6 から選択される) 整数である) である。例えば、 x は、3、4、5、および 6 から選択され、 s は、1、2、および 3 から選択され、 t は、4、5、および 6 から選択される。

【0 1 2 1】

他の実施形態において、 R_1 は、 $-(CHR_5R_6)_m-M-CR_2R_3R_7$ とは異なる。

30

【0 1 2 2】

ある実施形態において、 R' が、 $-R^*YR''$ および $-YR''$ から選択される。ある実施形態において、 Y が $C_3 \sim 8$ シクロアルキルである。ある実施形態において、 Y が $C_6 \sim 10$ アリールである。ある実施形態において、 Y がシクロプロピル基である。ある実施形態において、 Y がシクロヘキシル基である。特定の実施形態において、 R^* が C_1 アルキルである。

【0 1 2 3】

ある実施形態において、 R'' が、 $C_3 \sim 12$ アルキルおよび $C_3 \sim 12$ アルケニルからなる群から選択される。ある実施形態において、 Y に隣接する R'' が C_1 アルキルである。ある実施形態において、 Y に隣接する R'' が $C_4 \sim 9$ アルキル (例えば、 C_4 、 C_5 、 C_6 、 C_7 または C_8 または C_9 アルキル) である。

40

【0 1 2 4】

ある実施形態において、 R' が、 C_4 アルキルおよび C_4 アルケニルから選択される。特定の実施形態において、 R' が、 C_5 アルキルおよび C_5 アルケニルから選択される。

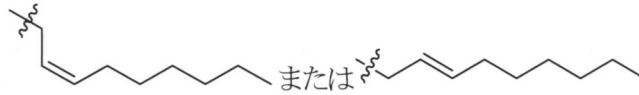
【0 1 2 5】

ある実施形態において、 R' が、 C_6 アルキルおよび C_6 アルケニルから選択される。ある実施形態において、 R' が、 C_7 アルキルおよび C_7 アルケニルから選択される。ある実施形態において、 R' が、 C_9 アルキルおよび C_9 アルケニルから選択される。

【0 1 2 6】

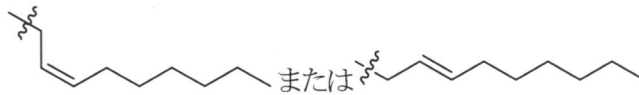
50

ある実施形態において、 R' が
【化 4 5】



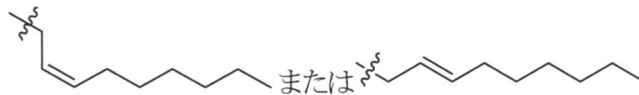
10

である。ある実施形態において、 R' が
【化 4 6】



20

であり、 M' が $-OC(O)-$ である。他の実施形態において、 R' が
【化 4 7】



30

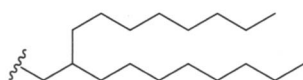
であり、 M' が $-C(O)O-$ である。

【0127】

他の実施形態において、 R' が、 C_{11} アルキルおよび C_{11} アルケニルから選択される。他の実施形態において、 R' が、 C_{12} アルキル、 C_{12} アルケニル、 C_{13} アルキル、 C_{13} アルケニル、 C_{14} アルキル、 C_{14} アルケニル、 C_{15} アルキル、 C_{15} アルケニル、 C_{16} アルキル、 C_{16} アルケニル、 C_{17} アルキル、 C_{17} アルケニル、 C_{18} アルキル、および C_{18} アルケニルから選択される。特定の実施形態において、 R' が、直鎖状 $C_{4 \sim 18}$ アルキルまたは $C_{4 \sim 18}$ アルケニルである。特定の実施形態において、 R' が、分枝鎖状（例えば、デカン - 2 - イル、ウンデカン - 3 - イル、ドデカン - 4 - イル、トリデカン - 5 - イル、テトラデカン - 6 - イル、2 - メチルウンデカン - 3 - イル、2 - メチルデカン - 2 - イル、3 - メチルウンデカン - 3 - イル、4 - メチルドデカン - 4 - イルまたはヘプタデカ - 9 - イル）である。特定の実施形態において、 R' が

40

【化 4 8】



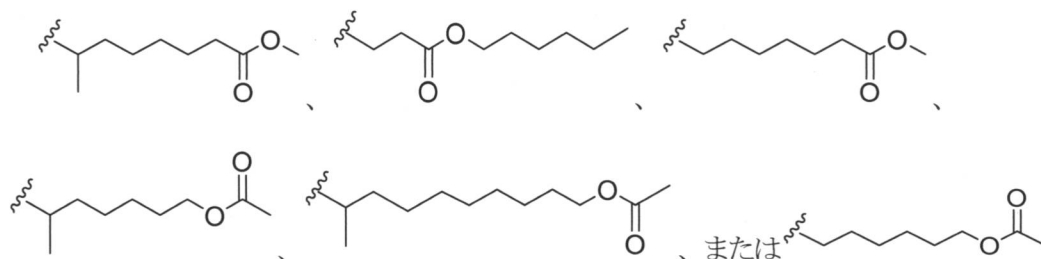
50

である。

【 0 1 2 8 】

特定の実施形態において、 R' が非置換 $C_1 \sim 18$ アルキルである。特定の実施形態において、 R' が置換 $C_1 \sim 18$ アルキル（例えば、例えば、メトキシなどのアルコキシ、または 1 - シクロプロピルノニルなどの $C_3 \sim 6$ 炭素環、または $C(O)OCH_3$ もしくは $OC(O)CH_3$ などの $C(O)O$ - アルキルもしくは $OC(O)$ - アルキルで置換された $C_{1 \sim 15}$ アルキル）である。例えば、 R' が、

【 化 4 9 】



10

20

である。

【 0 1 2 9 】

ある実施形態において、 R'' が、 $C_3 \sim 15$ アルキルおよび $C_3 \sim 14$ アルケニル（例えば、 $C_3 \sim 14$ アルキルおよび $C_3 \sim 14$ アルケニル）からなる群から選択される。ある実施形態において、 R'' が、 C_3 アルキル、 C_4 アルキル、 C_5 アルキル、 C_6 アルキル、 C_7 アルキル、または C_8 アルキルである。ある実施形態において、 R'' が、 C_9 アルキル、 C_{10} アルキル、 C_{11} アルキル、 C_{12} アルキル、 C_{13} アルキル、 C_{14} アルキル、または C_{15} アルキルである。

【 0 1 3 0 】

ある実施形態において、 M' が $-C(O)O-$ である。ある実施形態において、 M' が $-OC(O)-$ である。ある実施形態において、 M' が、 $-OC(O)-M''-C(O)O-$ である。

30

【 0 1 3 1 】

他の実施形態において、 M' が、アリール基またはヘテロアリール基である。例えば、 M' が、フェニル、オキサゾール、およびチアゾールからなる群から選択され得る。

【 0 1 3 2 】

ある実施形態において、 M が $-C(O)O-$ である。ある実施形態において、 M が $-OC(O)-$ である。ある実施形態において、 M が $-C(O)N(R')$ である。ある実施形態において、 M が $-P(O)(OR')O-$ である。ある実施形態において、 M が $-OC(O)-M''-C(O)O-$ である。

40

【 0 1 3 3 】

他の実施形態において、 M が、アリール基またはヘテロアリール基である。例えば、 M が、フェニル、オキサゾール、およびチアゾールからなる群から選択され得る。

【 0 1 3 4 】

ある実施形態において、 M が M' と同じである。他の実施形態において、 M が M' と異なる。

【 0 1 3 5 】

ある実施形態において、 M'' が結合である。ある実施形態において、 M'' が、 $C_{1 \sim 13}$ アルキルまたは $C_{2 \sim 13}$ アルケニルである。ある実施形態において、 M'' が、 $C_{1 \sim 6}$ アルキルまたは $C_{2 \sim 6}$ アルケニルである。特定の実施形態において、 M'' が、直鎖状アルキルま

50

たはアルケニルである。特定の実施形態において、M²が分枝鎖状、例えば、 $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ である。

【0136】

ある実施形態において、各R₅がHである。いくつかのこのような実施形態において、各R₆もHである。

【0137】

ある実施形態において、R₇がHである。他の実施形態において、R₇がC₁~3アルキル（例えば、メチル、エチル、プロピル、または*i*-プロピル）である。

【0138】

ある実施形態において、R₂およびR₃が、独立して、C₅~14アルキルまたはC₅~14アルケニルである。

10

【0139】

ある実施形態において、R₂およびR₃が同じである。ある実施形態において、R₂およびR₃がC₈アルキルである。特定の実施形態において、R₂およびR₃がC₂アルキルである。他の実施形態において、R₂およびR₃がC₃アルキルである。ある実施形態において、R₂およびR₃がC₄アルキルである。特定の実施形態において、R₂およびR₃がC₅アルキルである。他の実施形態において、R₂およびR₃がC₆アルキルである。ある実施形態において、R₂およびR₃がC₇アルキルである。

【0140】

他の実施形態において、R₂およびR₃が異なる。特定の実施形態において、R₂がC₈アルキルである。ある実施形態において、R₃がC₁~7（例えば、C₁、C₂、C₃、C₄、C₅、C₆、またはC₇アルキル）またはC₉アルキルである。

20

【0141】

ある実施形態において、R₇およびR₃がHである。

【0142】

特定の実施形態において、R₂がHである。

【0143】

ある実施形態において、mが、5、7、または9である。

【0144】

ある実施形態において、R₄が、 $-(\text{CH}_2)_n\text{Q}$ および $-(\text{CH}_2)_n\text{CHQR}$ から選択される。

30

【0145】

ある実施形態において、Qが、 $-\text{OR}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}$ 、 $-\text{CX}_3$ 、 $-\text{CN}$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{C}(\text{O})\text{R}$ 、 $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{R}$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{S}(\text{O})_2\text{R}$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{S}(\text{O})_2\text{R}_8$ 、 $-\text{N}(\text{H})\text{S}(\text{O})_2\text{R}$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{H})(\text{R})$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{N}(\text{H})\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{H})(\text{R})$ 、 $-\text{C}(\text{R})\text{N}(\text{R})_2\text{C}(\text{O})\text{OR}$ 、炭素環、および複素環からなる群から選択される。

【0146】

40

特定の実施形態において、Qが、 $-\text{N}(\text{R})\text{R}_8$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{S}(\text{O})_2\text{R}_8$ 、 $-\text{O}(\text{CH}_2)_n\text{OR}$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{C}(=\text{NR}_9)\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{N}(\text{R})\text{C}(=\text{CHR}_9)\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$ 、または $-\text{N}(\text{R})\text{C}(\text{O})\text{OR}$ である。

【0147】

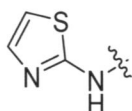
特定の実施形態において、Qが、 $-\text{N}(\text{OR})\text{C}(\text{O})\text{R}$ 、 $-\text{N}(\text{OR})\text{S}(\text{O})_2\text{R}$ 、 $-\text{N}(\text{OR})\text{C}(\text{O})\text{OR}$ 、 $-\text{N}(\text{OR})\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{N}(\text{OR})\text{C}(\text{S})\text{N}(\text{R})_2$ 、 $-\text{N}(\text{OR})\text{C}(=\text{NR}_9)\text{N}(\text{R})_2$ 、または $-\text{N}(\text{OR})\text{C}(=\text{CHR}_9)\text{N}(\text{R})_2$ である。

【0148】

特定の実施形態において、Qが、チオ尿素またはその同配体、例えば、

50

【化 5 0】



または $-NHC(=NR_9)N(R)_2$ である。

【0149】

10

特定の実施形態において、Q が、 $-C(=NR_9)N(R)_2$ である。例えば、Q が $-C(=NR_9)N(R)_2$ である場合、n が、4 または 5 である。例えば、 R_9 が $-S(O)_2N(R)_2$ である。

【0150】

特定の実施形態において、Q が、 $-C(=NR_9)R$ または $-C(O)N(R)OR$ 、例えば、 $-CH(=N-OCH_3)$ 、 $-C(O)NH-OH$ 、 $-C(O)NH-OCH_3$ 、 $-C(O)N(CH_3)-OH$ 、または $-C(O)N(CH_3)-OCH_3$ である。

【0151】

特定の実施形態において、Q が $-OH$ である。

【0152】

20

特定の実施形態において、Q が、置換または非置換 5 員 ~ 10 員ヘテロアリールであり、例えば、Q が、トリアゾール、イミダゾール、ピリミジン、プリン、2 - アミノ - 1, 9 - ジヒドロ - 6 H - プリン - 6 - オン - 9 - イル (またはグアニン - 9 - イル)、アデニン - 9 - イル、シトシン - 1 - イル、またはウラシル - 1 - イルであり、これらのそれぞれは、アルキル、OH、アルコキシ、 $-アルキル-OH$ 、 $-アルキル-O-アルキル$ から選択される 1 つ以上の置換基で任意に置換され、置換基はさらに置換され得る。特定の実施形態において、Q が、例えば、オキソ ($=O$)、OH、アミノ、モノ - またはジアルキルアミノ、および $C_1 \sim 3$ アルキルから選択される 1 つ以上の置換基で置換される、置換 5 員 ~ 14 員ヘテロシクロアルキルである。例えば、Q が、4 - メチルピペラジニル、4 - (4 - メトキシベンジル) ピペラジニル、イソインドリン - 2 - イル - 1, 3 - ジオン、ピロリジン - 1 - イル - 2, 5 - ジオン、またはイミダゾリジン - 3 - イル - 2, 4 - ジオンである。

30

【0153】

特定の実施形態において、Q が $-NHR_8$ であり、ここで、 R_8 が、オキソ ($=O$)、アミノ (NH_2)、モノ - またはジアルキルアミノ、 $C_1 \sim 3$ アルキルおよびハロから選択される 1 つ以上の置換基で任意に置換される $C_3 \sim 6$ シクロアルキルである。例えば、 R_8 が、シクロブテニル、例えば、3 - (ジメチルアミノ) - シクロブタ - 3 - エン - 4 - イル - 1, 2 - ジオンである。さらなる実施形態において、 R_8 が、オキソ ($=O$)、アミノ (NH_2)、モノ - またはジアルキルアミノ、 $C_1 \sim 3$ アルキルおよびハロから選択される 1 つ以上の置換基で任意に置換される $C_3 \sim 6$ シクロアルキルであり、ここでモノ - またはジアルキルアミノおよび $C_1 \sim 3$ アルキルは、さらに置換される。例えば、 R_8 が、オキソ、アミノ、およびアルキルアミノのうち 1 つ以上で置換されるシクロブテニルであり、ここでアルキルアミノは、例えば、アミノ、モノ - またはジアルキルアミノ、およびハロのうち 1 つ以上でさらに置換される。例えば、 R_8 が、3 - ((ジメチルアミノ)エチル)アミノ)シクロブタ - 3 - エニル - 1, 2 - ジオンである。

40

【0154】

特定の実施形態において、Q が $-NHR_8$ であり、ここで、 R_8 が、アミノ (NH_2)、モノ - またはジアルキルアミノ、 $C_1 \sim 3$ アルキルおよびハロから選択される 1 つ以上の置換基で任意に置換されるヘテロアリールである。例えば、 R_8 が、チアゾールまたはイミダゾールである。

50

【0155】

特定の実施形態において、Qが $-NHC(=NR_9)N(R)_2$ であり、ここで、 R_9 が、CN、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 NO_2 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、またはHである。例えば、Qが、 $-NHC(=NR_9)N(CH_3)_2$ 、 $-NHC(=NR_9)NHCH_3$ 、 $-NHC(=NR_9)NH_2$ である。ある実施形態において、Qが $-NHC(=NR_9)N(R)_2$ であり、ここで、 R_9 がCNであり、Rが、モノ-またはジアルキルアミノで置換される $C_1 \sim 3$ アルキルであり、例えば、Rが((ジメチルアミノ)エチル)アミノである。ある実施形態において、Qが $-NHC(=NR_9)N(R)_2$ であり、ここで、 R_9 が、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 NO_2 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、またはHであり、Rが、モノ-またはジアルキルアミノで置換される $C_1 \sim 3$ アルキルであり、例えば、Rが((ジメチルアミノ)エチル)アミノである。

10

【0156】

特定の実施形態において、Qが $-NHC(=CHR_9)N(R)_2$ であり、ここで、 R_9 が、 NO_2 、CN、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、またはHである。例えば、Qが、 $-NHC(=CHR_9)N(CH_3)_2$ 、 $-NHC(=CHR_9)NHCH_3$ 、または $-NHC(=CHR_9)NH_2$ である。

【0157】

特定の実施形態において、Qが、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、例えば、 $-OC(O)NHCH_3$ 、 $-N(OH)C(O)OCH_3$ 、 $-N(OH)C(O)CH_3$ 、 $-N(OCH_3)C(O)OCH_3$ 、 $-N(OCH_3)C(O)CH_3$ 、 $-N(OH)S(O)_2CH_3$ 、または $-NHC(O)OCH_3$ である。

20

【0158】

特定の実施形態において、Qが、 $-N(R)C(O)R$ であり、ここでRが、 $C_1 \sim 3$ アルコキシルまたは $S(O)_tC_1 \sim 3$ アルキルで任意に置換されるアルキルであり、ここでtが0、1、または2である。

【0159】

特定の実施形態において、Qが、非置換または置換 $C_6 \sim 10$ アリール(フェニルなど)または $C_3 \sim 6$ シクロアルキルである。

【0160】

ある実施形態において、nが1である。他の実施形態において、nが2である。さらなる実施形態において、nが3である。いくつかの他の実施形態において、nが4である。例えば、 R_4 が $-(CH_2)_2OH$ であり得る。例えば、 R_4 が $-(CH_2)_3OH$ であり得る。例えば、 R_4 が $-(CH_2)_4OH$ であり得る。例えば、 R_4 がベンジルであり得る。例えば、 R_4 が4-メトキシベンジルであり得る。

30

【0161】

ある実施形態において、 R_4 が $C_3 \sim 6$ 炭素環である。ある実施形態において、 R_4 が $C_3 \sim 6$ シクロアルキルである。例えば、 R_4 が、例えば、OH、ハロ、 $C_1 \sim 6$ アルキルなどで任意に置換されるシクロヘキシルであり得る。例えば、 R_4 が、2-ヒドロキシシクロヘキシルであり得る。

40

【0162】

ある実施形態において、RがHである。

【0163】

ある実施形態において、Rが、モノ-またはジアルキルアミノで置換される $C_1 \sim 3$ アルキルであり、例えば、Rが((ジメチルアミノ)エチル)アミノである。ある実施形態において、Rが、非置換 $C_1 \sim 3$ アルキルまたは非置換 $C_2 \sim 3$ アルケニルである。例えば、 R_4 が、 $-CH_2CH(OH)CH_3$ 、 $-CH(CH_3)CH_2OH$ 、または $-CH_2CH(OH)CH_2CH_3$ であり得る。

【0164】

ある実施形態において、Rが、置換 $C_1 \sim 3$ アルキル、例えば、 CH_2OH である。例え

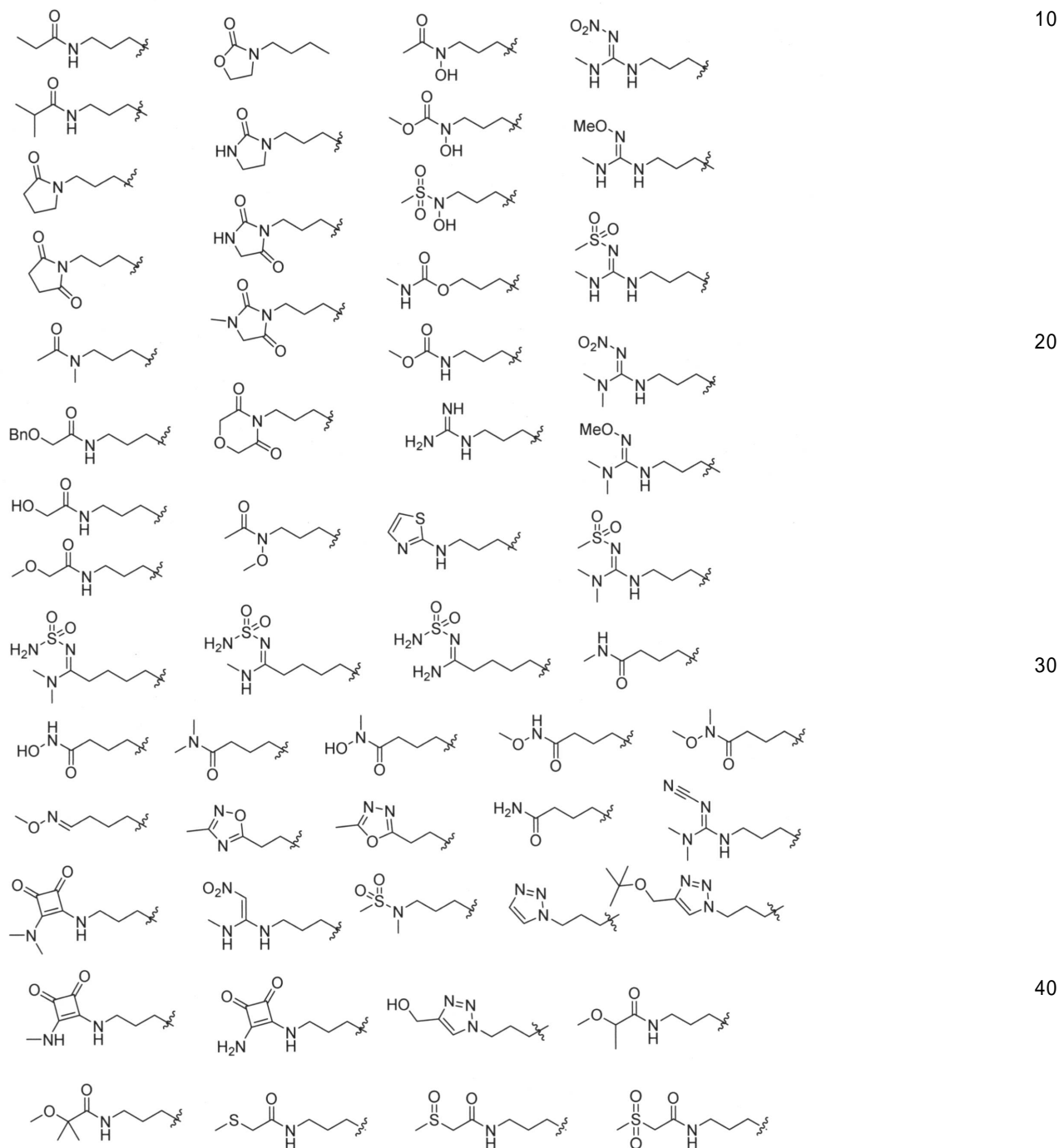
50

ば、 R_4 が、 $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_2\text{OBn}$ 、 $-(\text{CH}_2)_2\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCH}_2\text{OCH}_3$ 、 $-(\text{CH}_2)_3\text{NHCH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ 、 CH_2SCH_3 、 $\text{CH}_2\text{S}(\text{O})\text{CH}_3$ 、 $\text{CH}_2\text{S}(\text{O})_2\text{CH}_3$ 、または $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{OH})_2$ であり得る。

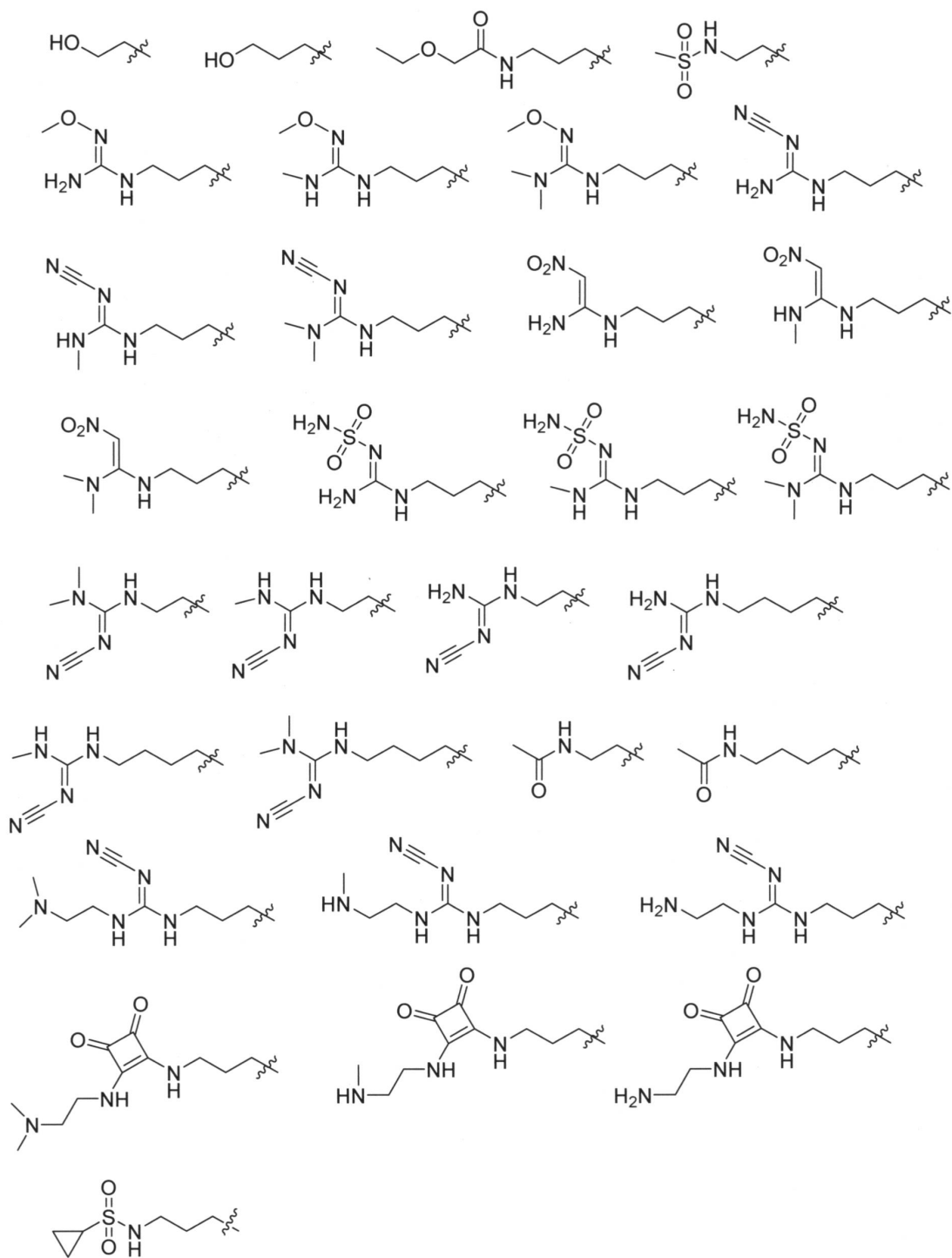
【0165】

ある実施形態において、 R_4 が、以下の基：

【化51-1】



【化 5 1 - 2】



10

20

30

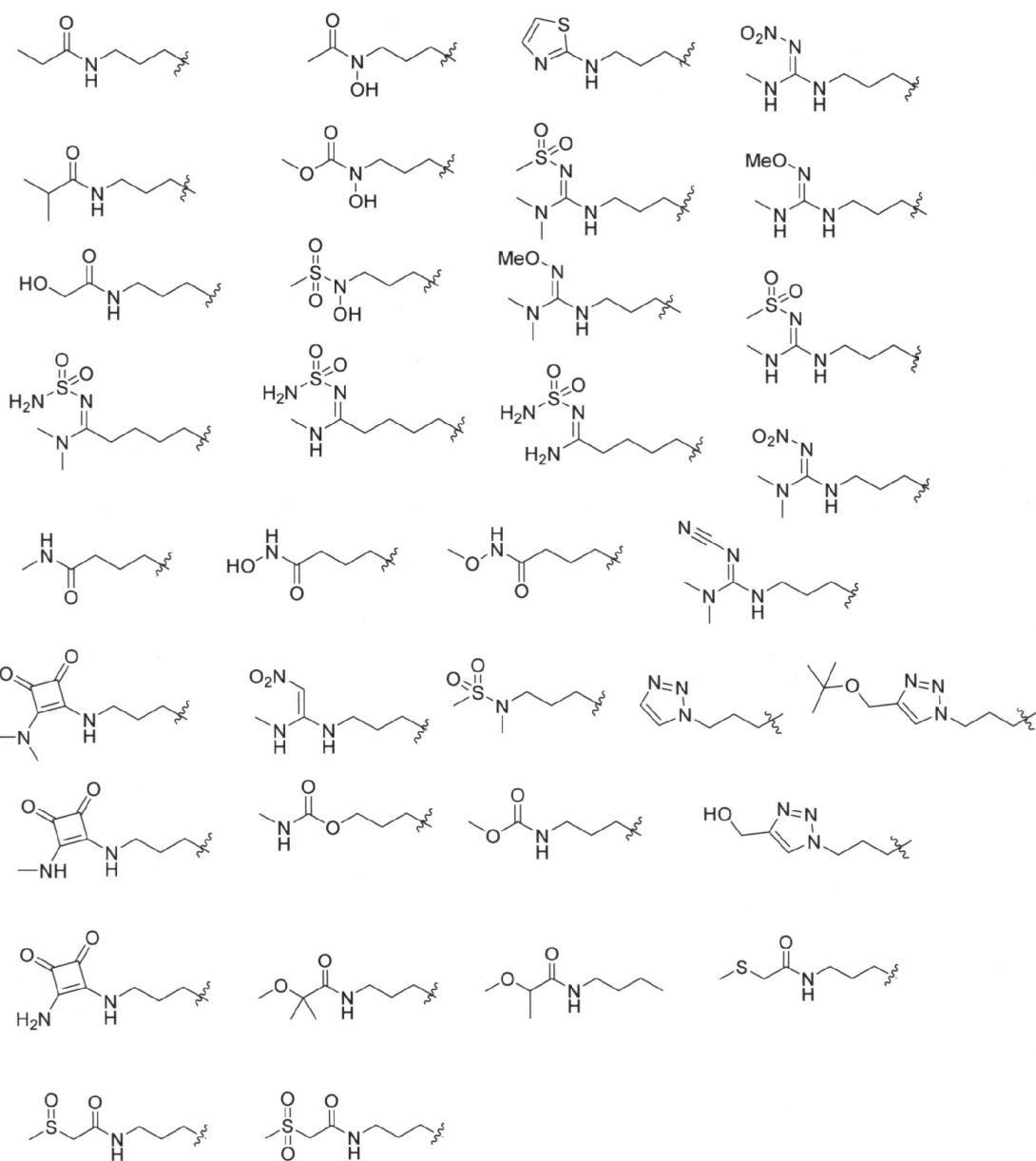
40

のいずれかから選択される。

【 0 1 6 6 】

ある実施形態において、 R_4 が、以下の基：

【化 5 2 - 1】



10

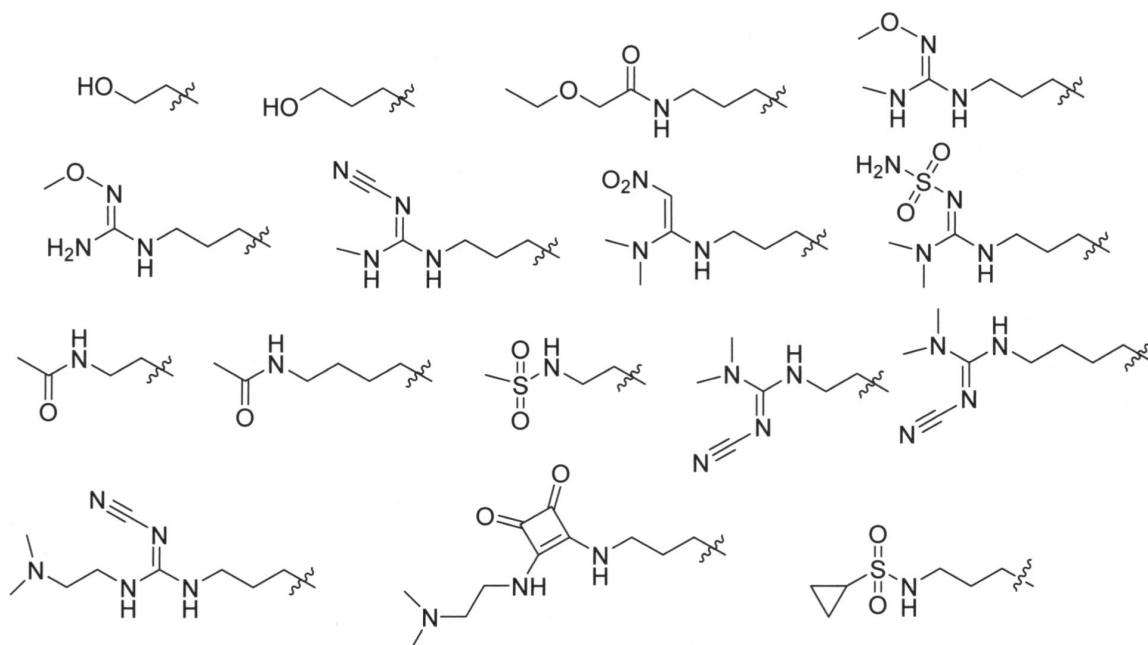
20

30

40

50

【化 5 2 - 2】



10

20

のいずれかから選択される。

【0167】

ある実施形態において、本明細書に記載される式のいずれかの化合物は、筋肉内投与用のナノ粒子組成物を作製するのに好適である。

【0168】

ある実施形態において、 R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、複素環または炭素環を形成する。ある実施形態において、 R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、N、O、S、およびPから選択される1つ以上のヘテロ原子を有する5員～14員芳香族または非芳香族複素環を形成する。ある実施形態において、 R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、芳香族または非芳香族のいずれかの、任意に置換される $C_3 \sim 20$ 炭素環（例えば、 $C_3 \sim 18$ 炭素環、 $C_3 \sim 15$ 炭素環、 $C_3 \sim 12$ 炭素環、または $C_3 \sim 10$ 炭素環）を形成する。ある実施形態において、 R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、 $C_3 \sim 6$ 炭素環を形成する。他の実施形態において、 R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、 C_6 炭素環、例えば、シクロヘキシルまたはフェニル基を形成する。特定の実施形態において、複素環または $C_3 \sim 6$ 炭素環は、（例えば、同じ環原子または隣接または非隣接環原子において）1つ以上のアルキル基で置換される。例えば、 R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、1つ以上の C_5 アルキル置換を有するシクロヘキシルまたはフェニル基を形成し得る。特定の実施形態において、 R_2 および R_3 によって形成される複素環または $C_3 \sim 6$ 炭素環は、炭素環基で置換される。例えば、 R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、シクロヘキシルで置換されるシクロヘキシルまたはフェニル基を形成し得る。ある実施形態において、 R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、 $C_7 \sim 15$ 炭素環、例えば、シクロヘプチル、シクロペンタデカニル、またはナフチル基を形成する。

30

40

【0169】

ある実施形態において、 R_4 が、 $-(CH_2)_nQ$ および $-(CH_2)_nCHQR$ から選択される。ある実施形態において、Qが、 $-OR$ 、 $-OH$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(H)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(H)S(O)_2R$ 、 $-N(R)S(O)_2R_8$ 、 $-N(R)$

50

$C(O)N(R)_2$ 、 $-N(H)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(H)C(O)N(H)(R)$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(H)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(H)C(S)N(H)(R)$ 、および複素環からなる群から選択される。他の実施形態において、Qが、イミダゾール、ピリミジン、およびプリンからなる群から選択される。

【0170】

ある実施形態において、 R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、複素環または炭素環を形成する。ある実施形態において、 R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、 $C_3 \sim 6$ 炭素環、例えば、フェニル基を形成する。特定の実施形態において、複素環または $C_3 \sim 6$ 炭素環は、（例えば、同じ環原子または隣接または非隣接環原子において）1つ以上のアルキル基で置換される。例えば、 R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、1つ以上の C_5 アルキル置換を有するフェニル基を形成し得る。

10

【0171】

ある実施形態において、 R_5 および R_6 のうち少なくとも1つの存在が、 $C_1 \sim 3$ アルキル、例えば、メチルである。ある実施形態において、Mに隣接する R_5 および R_6 のうち1つが、 $C_1 \sim 3$ アルキル、例えば、メチルであり、他方がHである。ある実施形態において、Mに隣接する R_5 および R_6 のうち1つが、 $C_1 \sim 3$ アルキル、例えば、メチルであり、他方がHであり、Mが $-OC(O)-$ または $-C(O)O-$ である。

【0172】

ある実施形態において、 R_5 および R_6 のうち多くとも1つの存在が、 $C_1 \sim 3$ アルキル、例えば、メチルである。ある実施形態において、Mに隣接する R_5 および R_6 のうち1つが、 $C_1 \sim 3$ アルキル、例えば、メチルであり、他方がHである。ある実施形態において、Mに隣接する R_5 および R_6 のうち1つが、 $C_1 \sim 3$ アルキル、例えば、メチルであり、他方がHであり、Mが $-OC(O)-$ または $-C(O)O-$ である。

20

【0173】

ある実施形態において、 R_5 および R_6 の各存在が、Hである。

【0174】

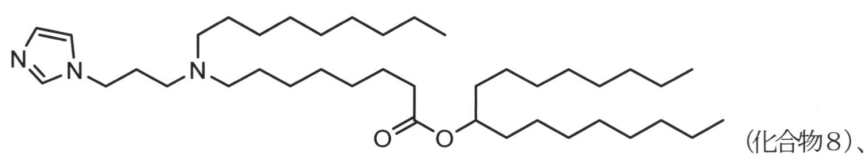
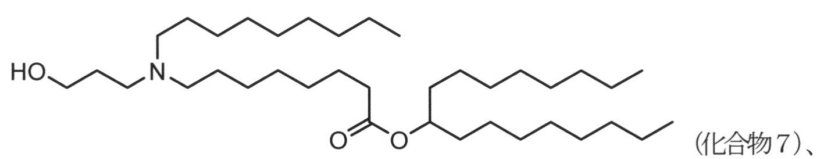
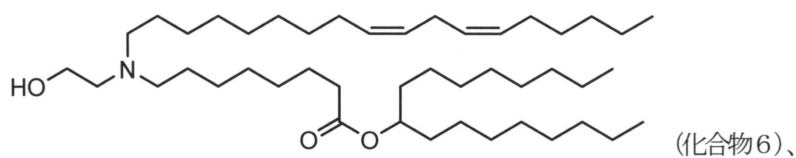
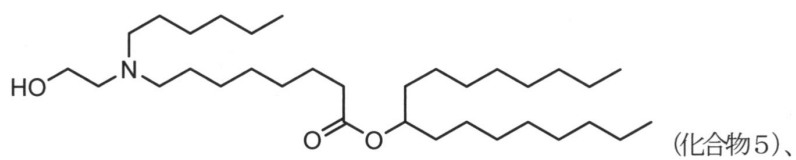
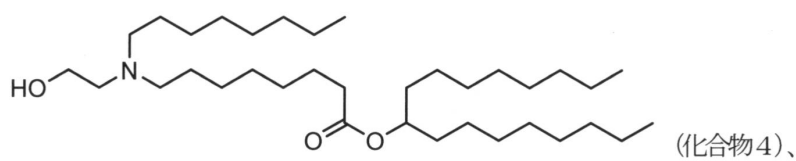
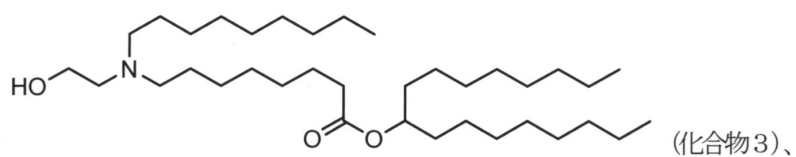
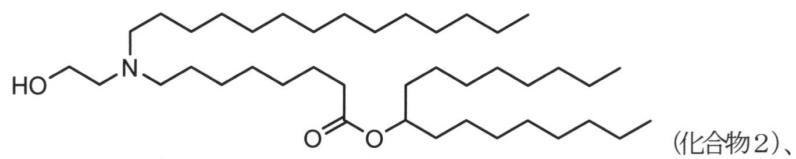
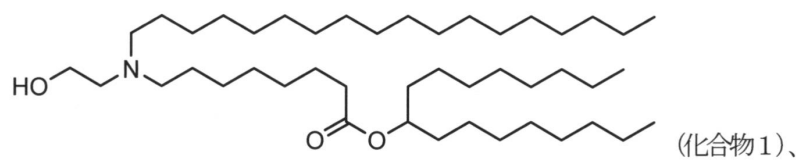
ある実施形態において、式(I)の化合物は、

30

40

50

【化 5 3 - 1】



10

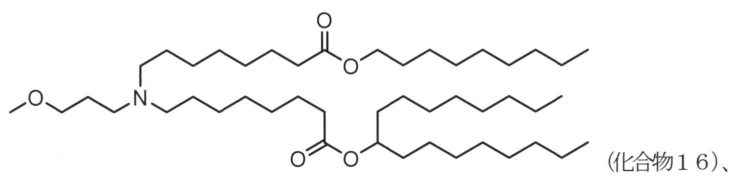
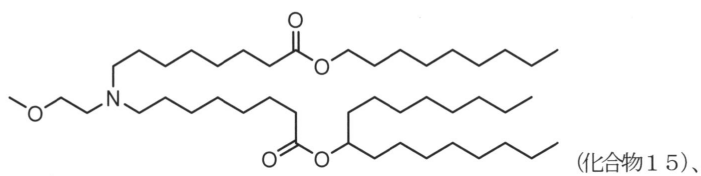
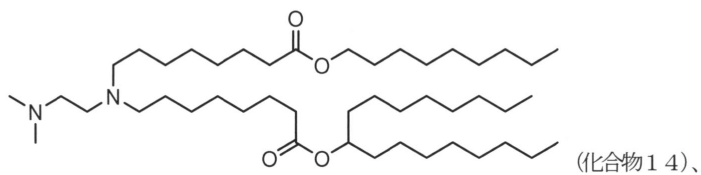
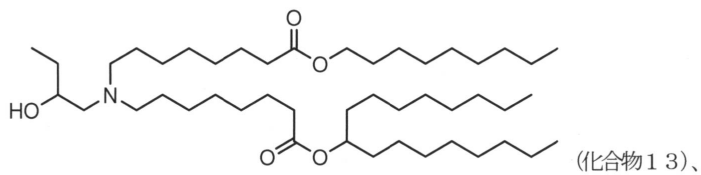
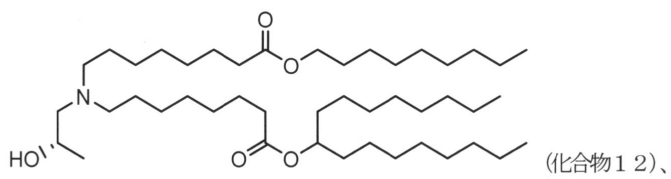
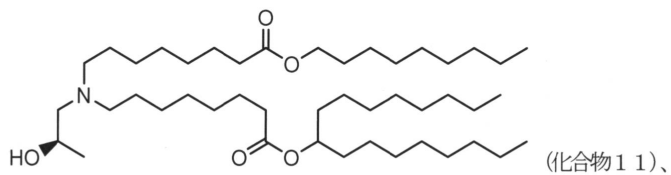
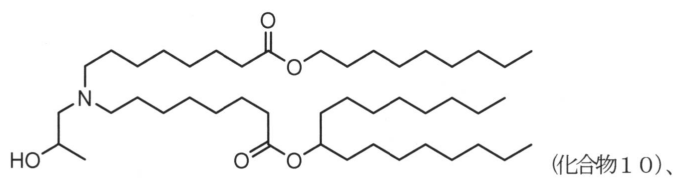
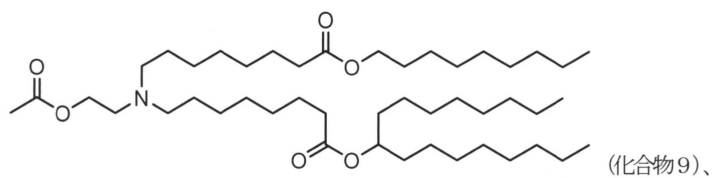
20

30

40

50

【化 5 3 - 2】



10

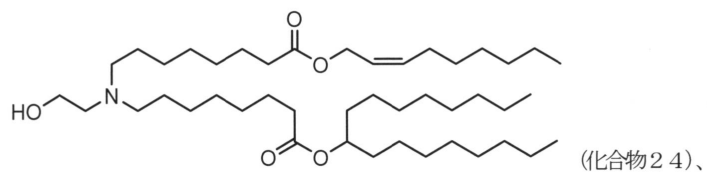
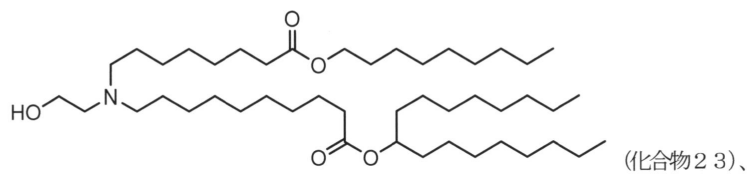
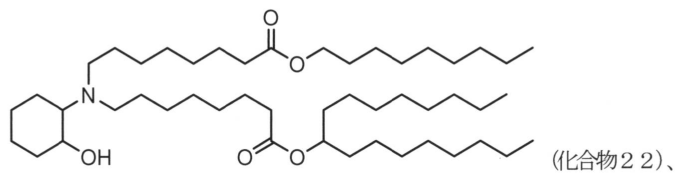
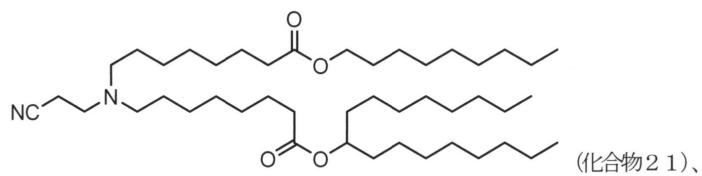
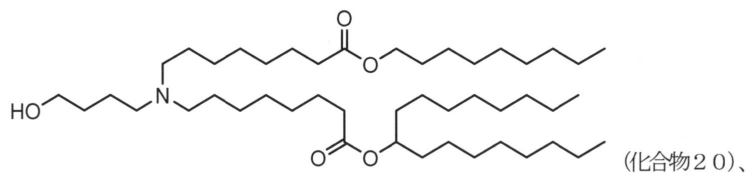
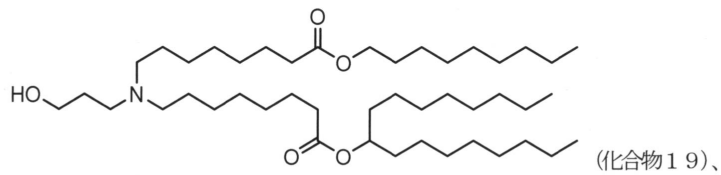
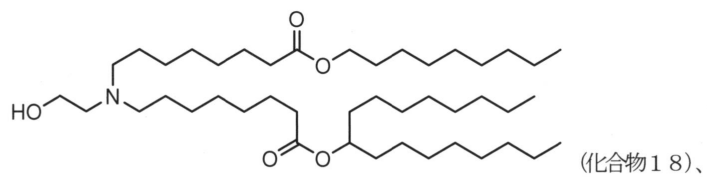
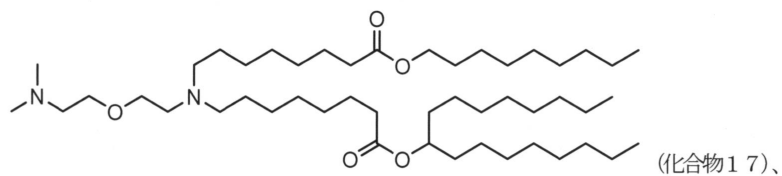
20

30

40

50

【化 5 3 - 3】



10

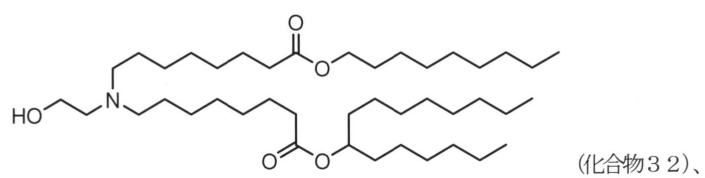
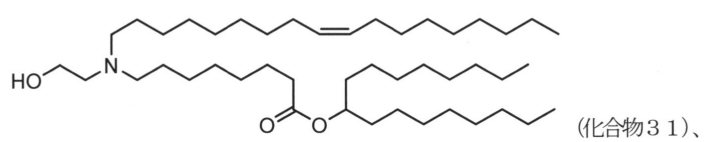
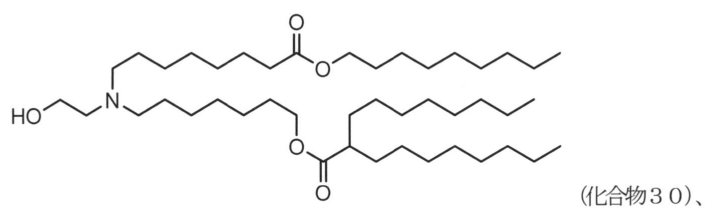
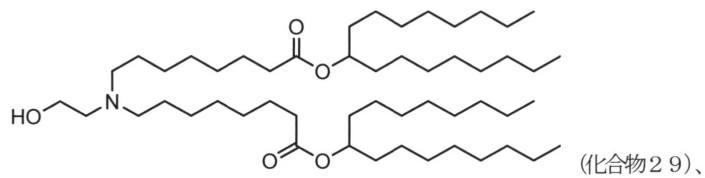
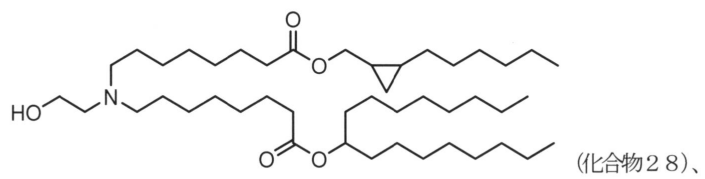
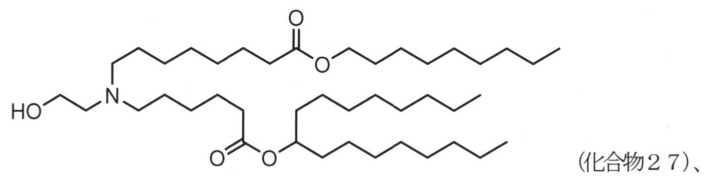
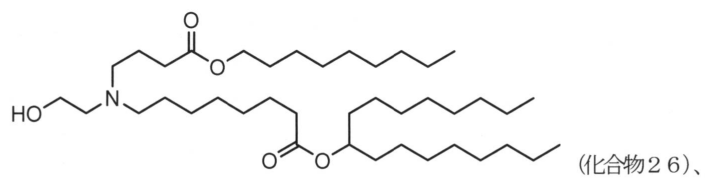
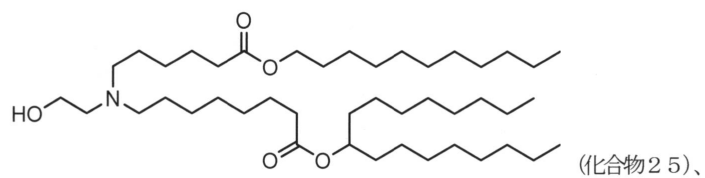
20

30

40

50

【化 5 3 - 4】



10

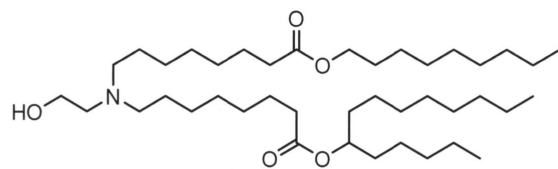
20

30

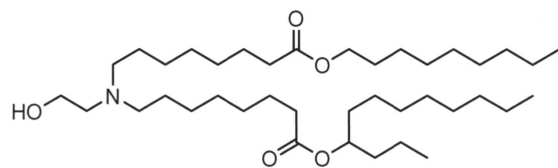
40

50

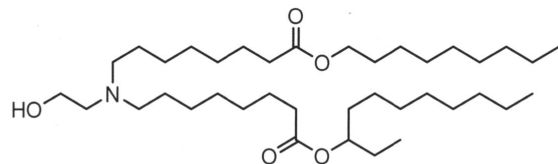
【化 5 3 - 5】



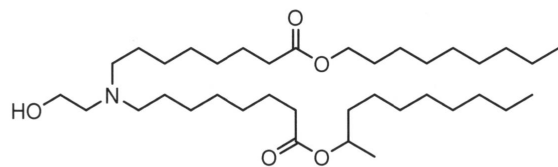
(化合物 3 3)、



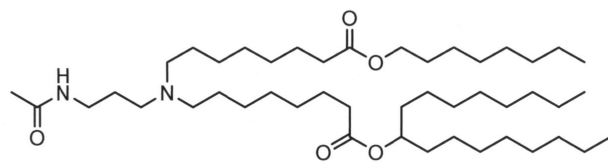
(化合物 3 4)、



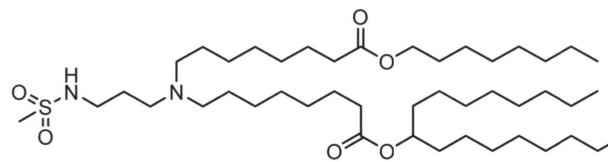
(化合物 3 5)、



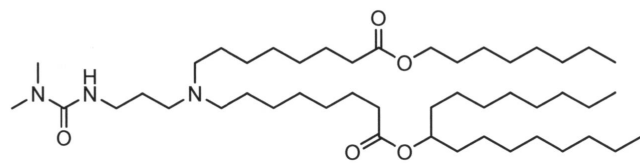
(化合物 3 6)、



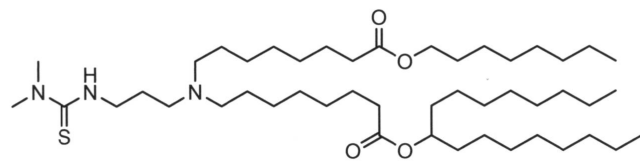
(化合物 3 7)、



(化合物 3 8)、



(化合物 3 9)、



(化合物 4 0)、

10

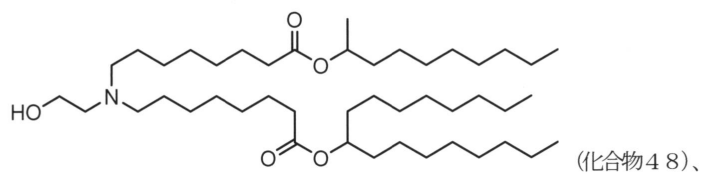
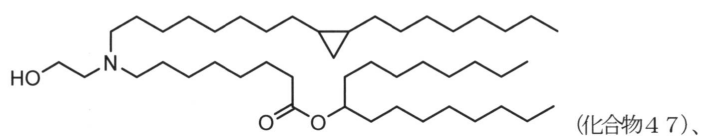
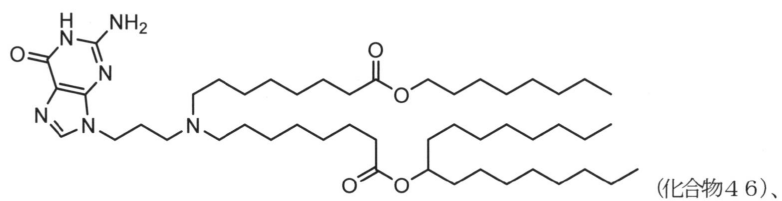
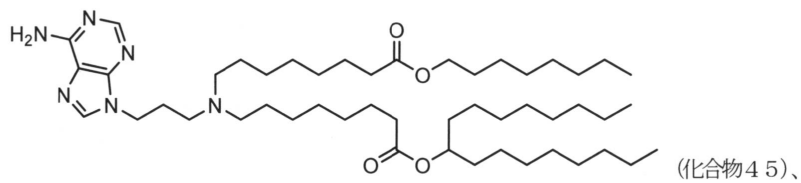
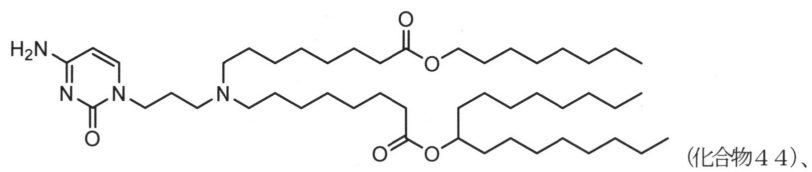
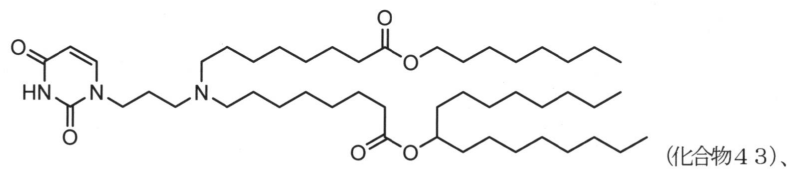
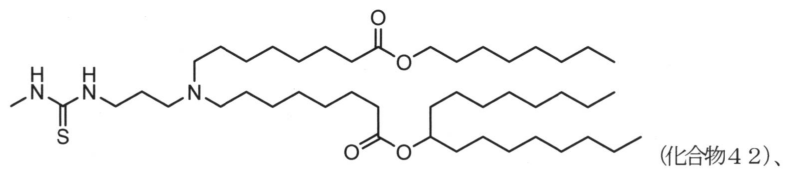
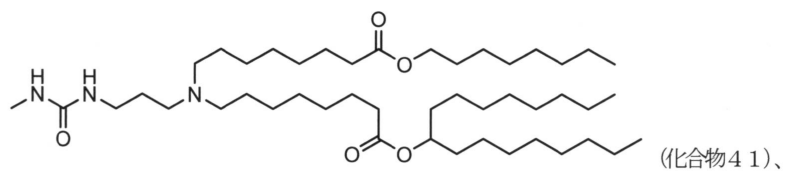
20

30

40

50

【化 5 3 - 6】



10

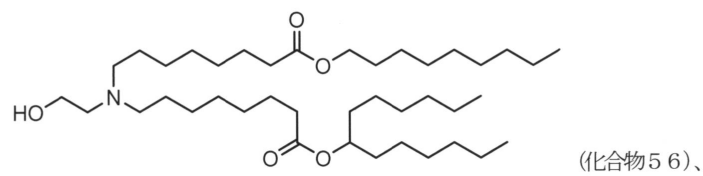
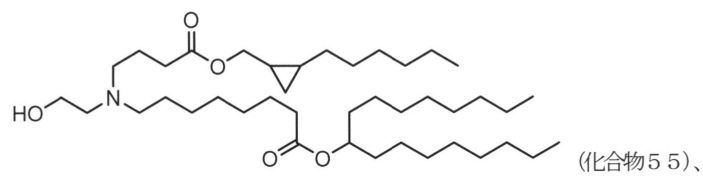
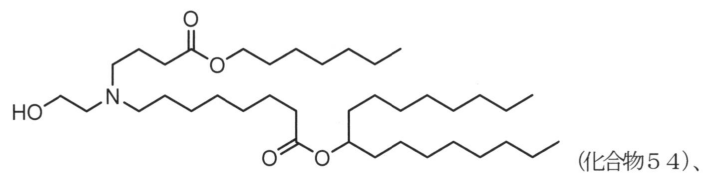
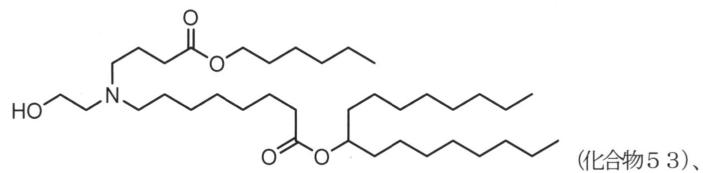
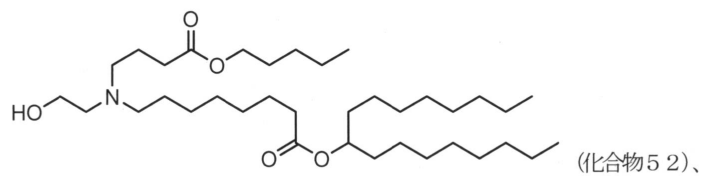
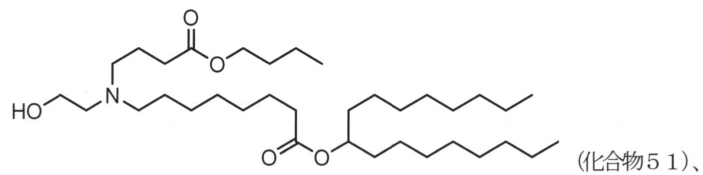
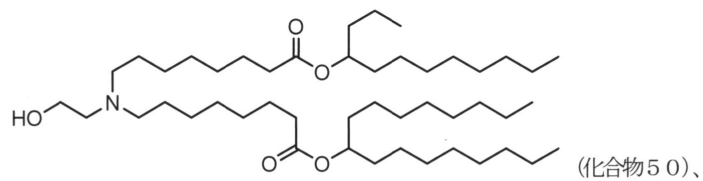
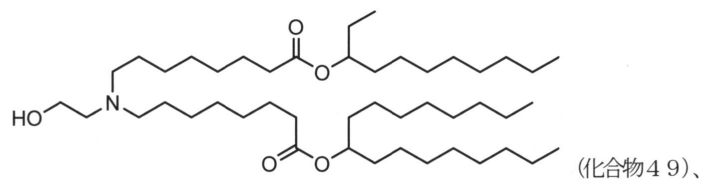
20

30

40

50

【化 5 3 - 7】



10

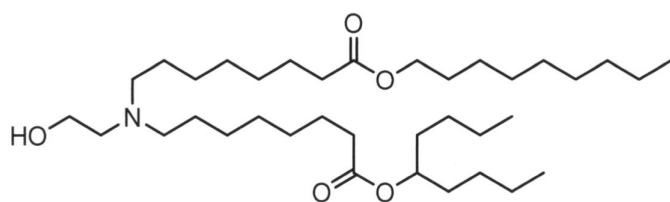
20

30

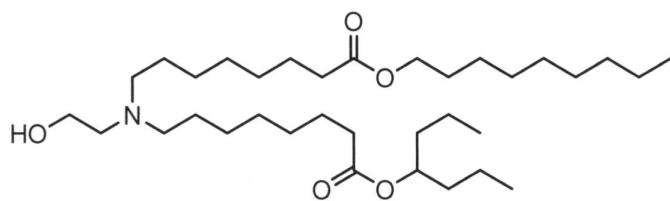
40

50

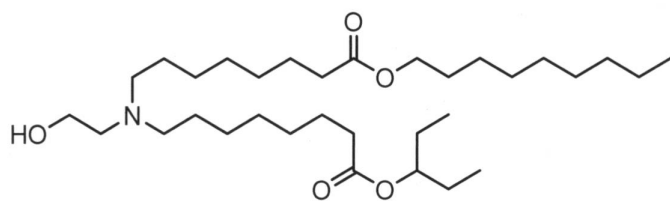
【化 5 3 - 8】



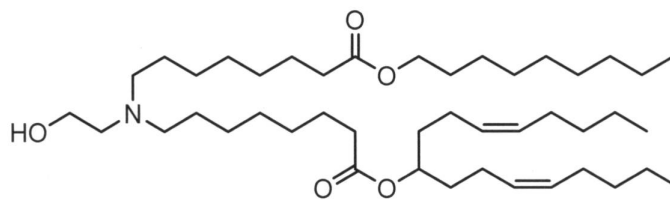
(化合物 5 7)、



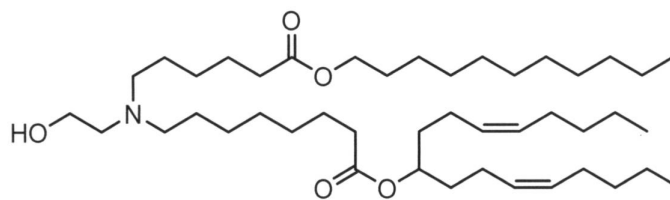
(化合物 5 8)、



(化合物 5 9)、



(化合物 6 0)、および



(化合物 6 1)

からなる群から選択される。

【 0 1 7 5】

さらなる実施形態において、式 (I) の化合物は、

10

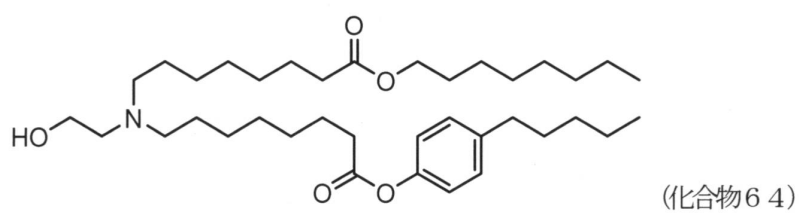
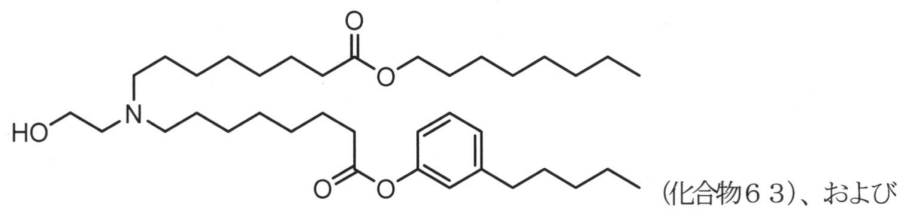
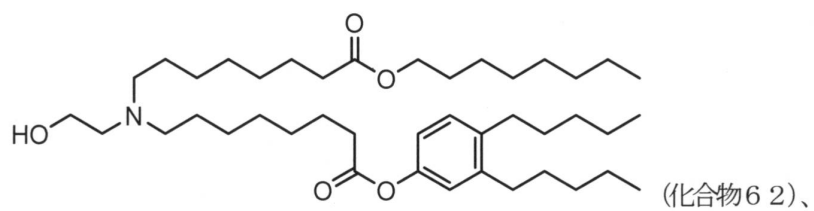
20

30

40

50

【化 5 4】



からなる群から選択される。

【 0 1 7 6 】

ある実施形態において、式 (I) の化合物は、

10

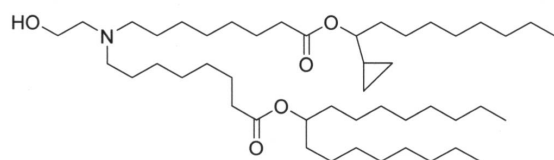
20

30

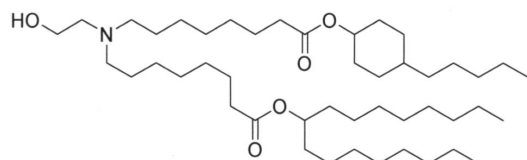
40

50

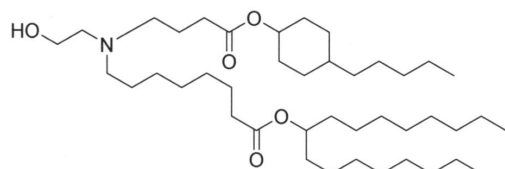
【化 5 5 - 1】



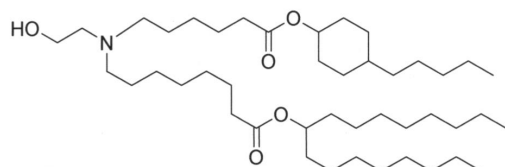
(化合物 6 5)、



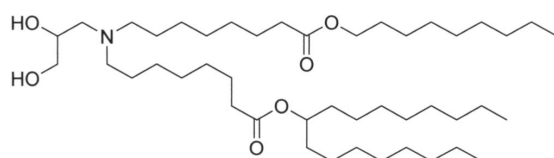
(化合物 6 6)、



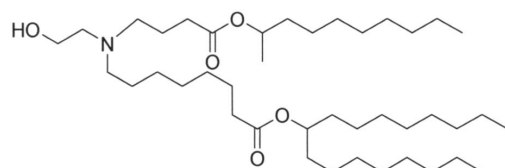
(化合物 6 7)、



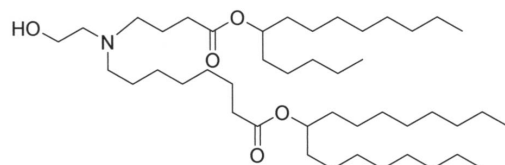
(化合物 6 8)、



(化合物 6 9)、



(化合物 7 0)、



(化合物 7 1)、

10

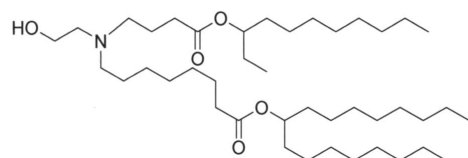
20

30

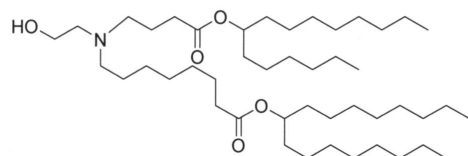
40

50

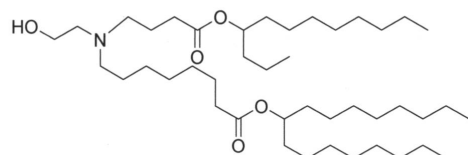
【化 5 5 - 2】



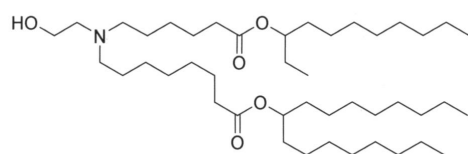
(化合物 7 2)、



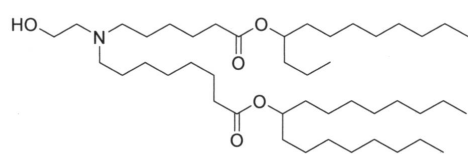
(化合物 7 3)、



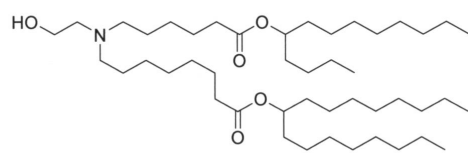
(化合物 7 4)、



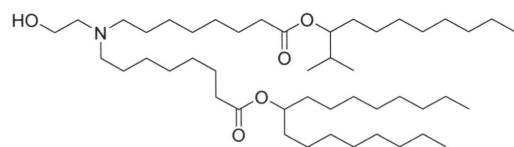
(化合物 7 5)、



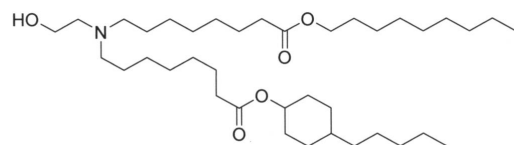
(化合物 7 6)、



(化合物 7 7)、



(化合物 7 8)、



(化合物 7 9)、

10

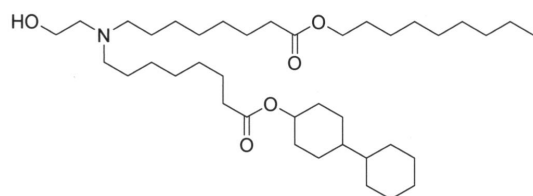
20

30

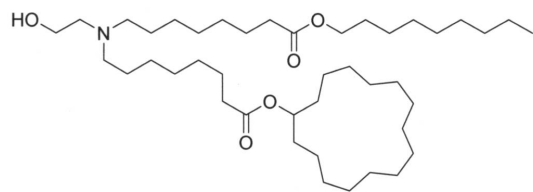
40

50

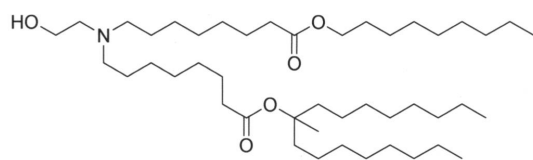
【化 5 5 - 3】



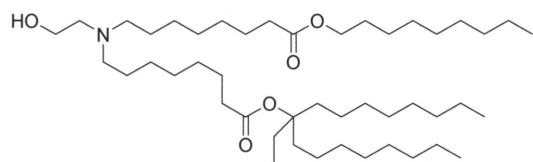
(化合物 8 0)、



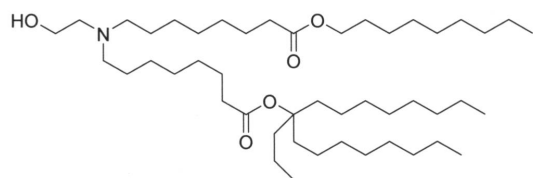
(化合物 8 1)、



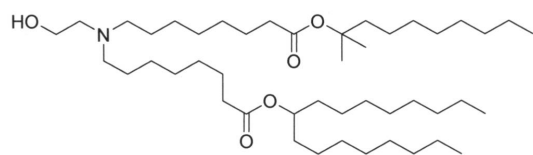
(化合物 8 2)、



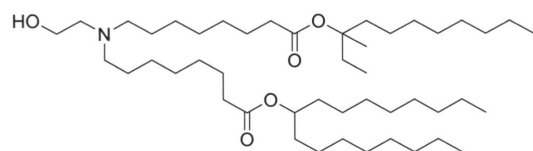
(化合物 8 3)、



(化合物 8 4)、



(化合物 8 5)、



(化合物 8 6)、

10

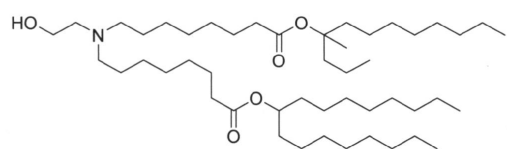
20

30

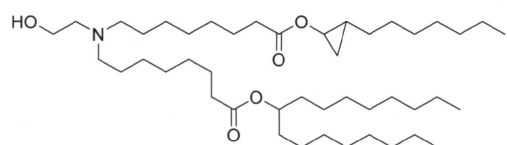
40

50

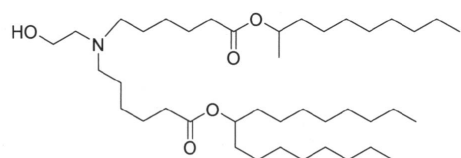
【化 5 5 - 4】



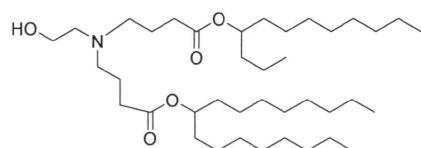
(化合物 8 7)、



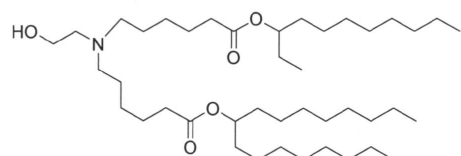
(化合物 8 8)、



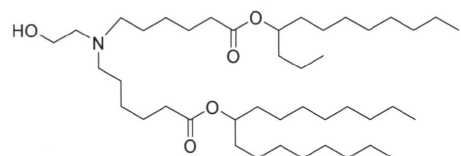
(化合物 8 9)、



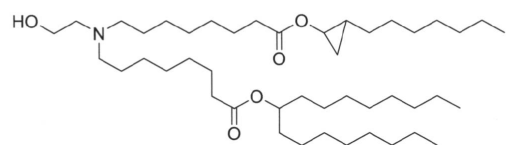
(化合物 9 0)、



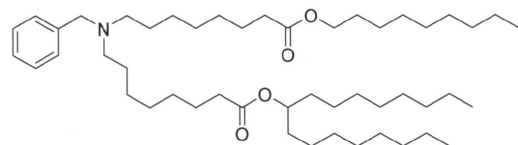
(化合物 9 1)、



(化合物 9 2)、



(化合物 9 3)、



(化合物 9 4)、

10

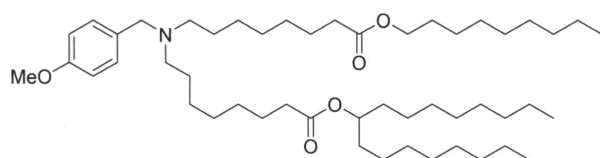
20

30

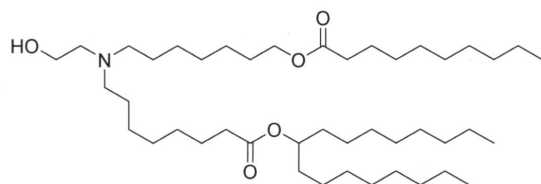
40

50

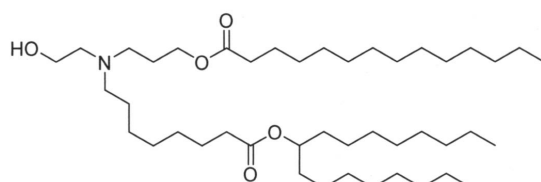
【化 5 5 - 5】



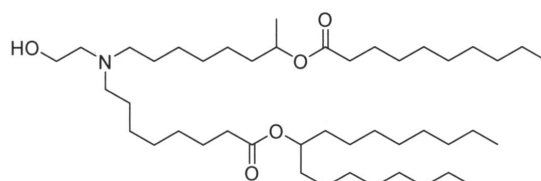
(化合物95)、



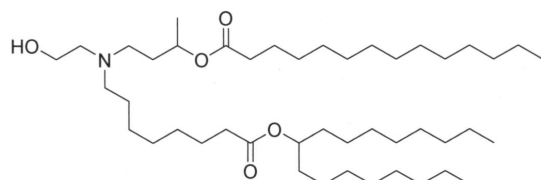
(化合物96)、



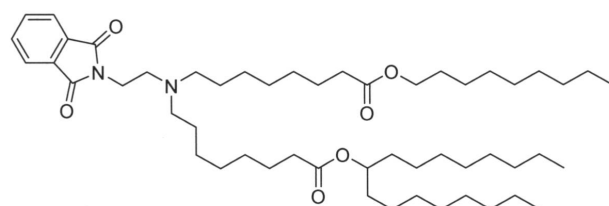
(化合物97)、



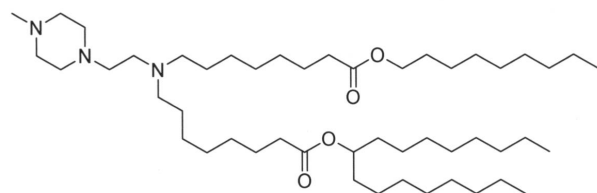
(化合物98)、



(化合物99)、



(化合物100)、



(化合物101)、

10

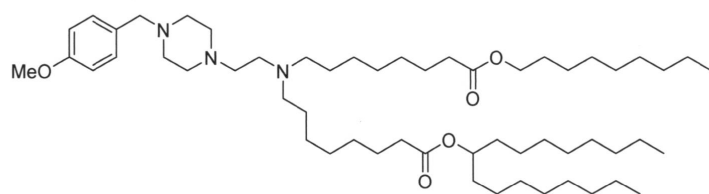
20

30

40

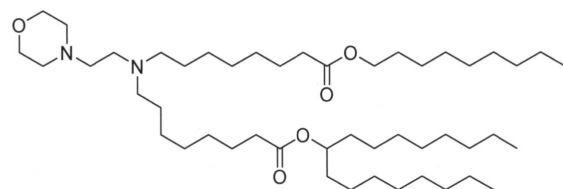
50

【化 5 5 - 6】

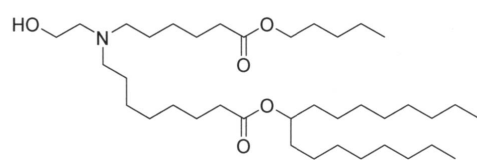


(化合物10)

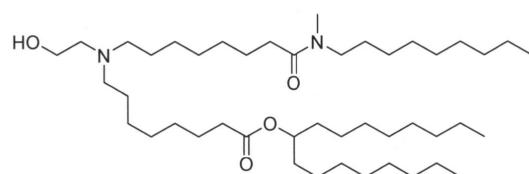
2)、



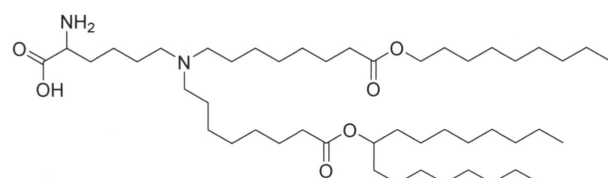
(化合物103)、



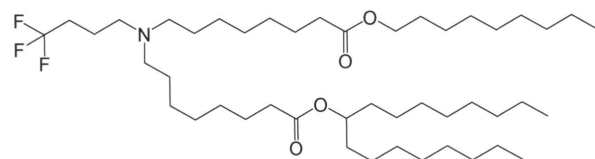
(化合物104)、



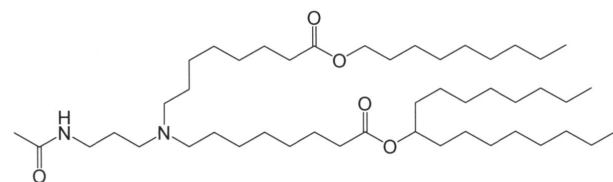
(化合物105)、



(化合物106)、



(化合物107)、



(化合物108)、

10

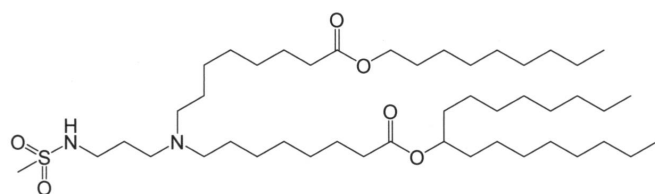
20

30

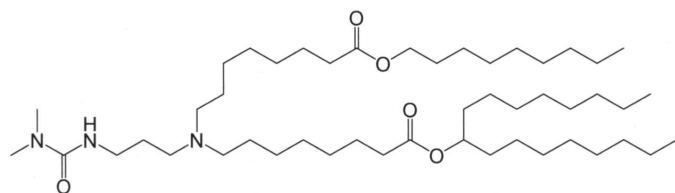
40

50

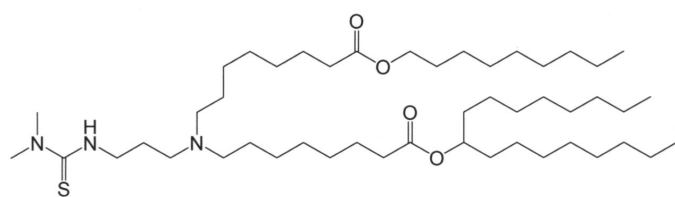
【化 5 5 - 7】



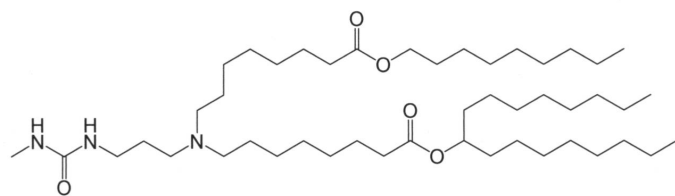
(化合物109)、



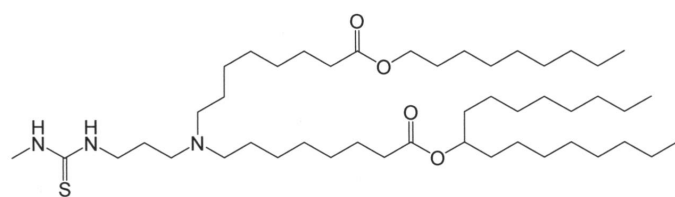
(化合物110)、



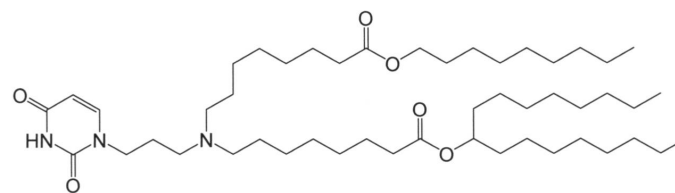
(化合物111)、



(化合物112)、



(化合物113)、



(化合物114)、

10

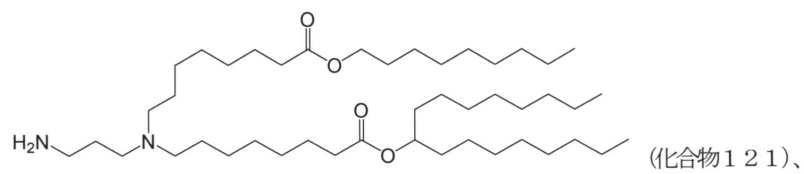
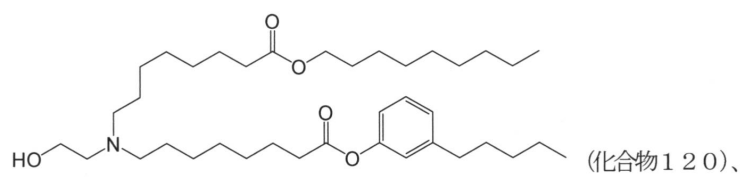
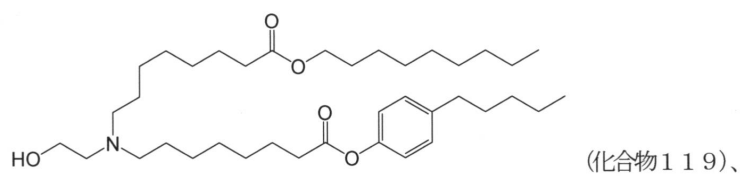
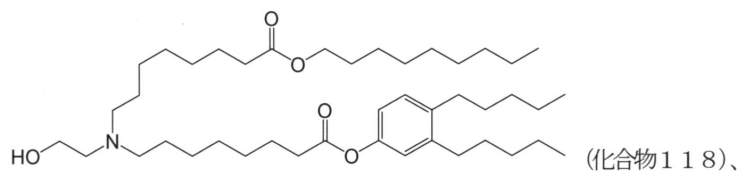
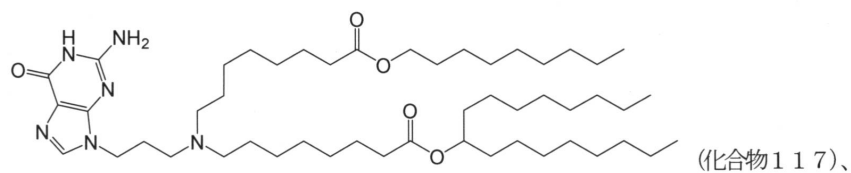
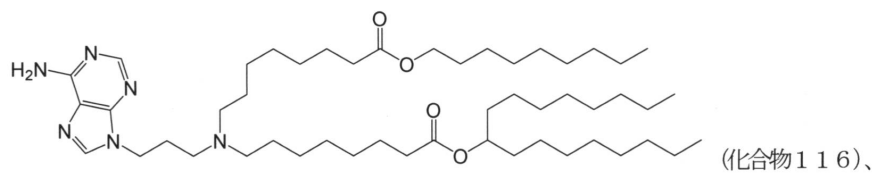
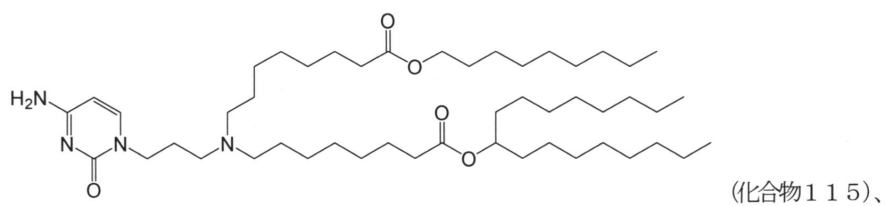
20

30

40

50

【化 5 5 - 8】



10

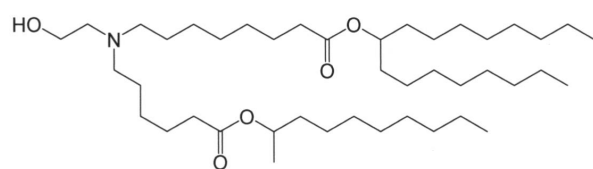
20

30

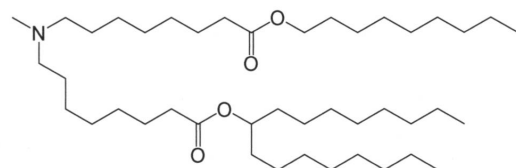
40

50

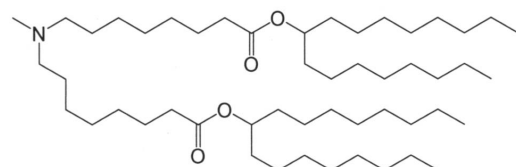
【化 5 5 - 9】



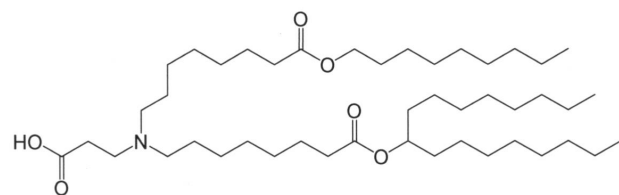
(化合物 1 2 2)、



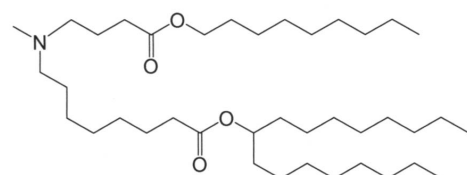
(化合物 1 2 3)、



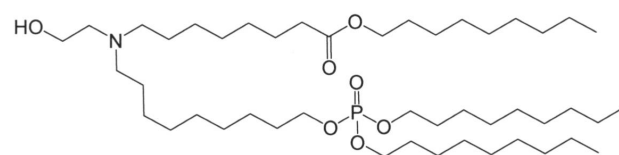
(化合物 1 2 4)、



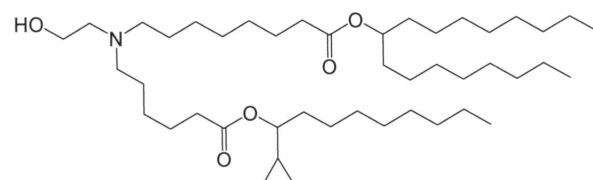
(化合物 1 2 5)、



(化合物 1 2 6)、



(化合物 1 2 7)、



(化合物 1 2 8)、

10

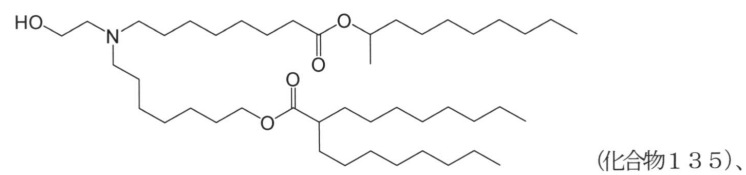
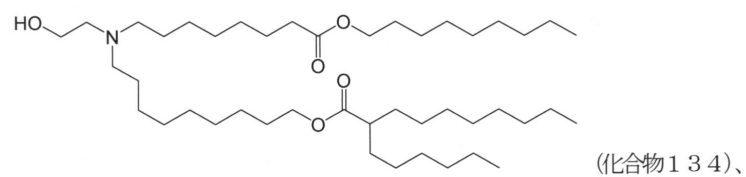
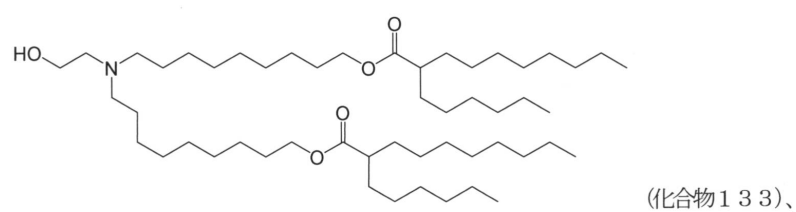
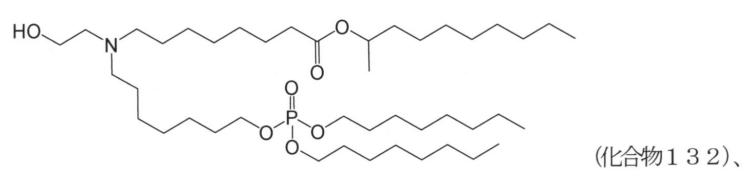
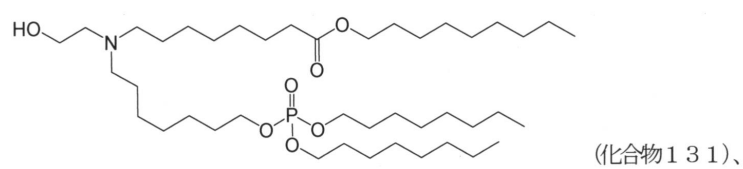
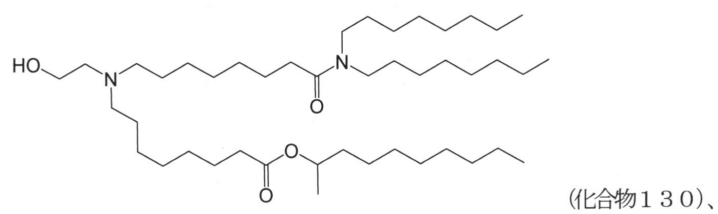
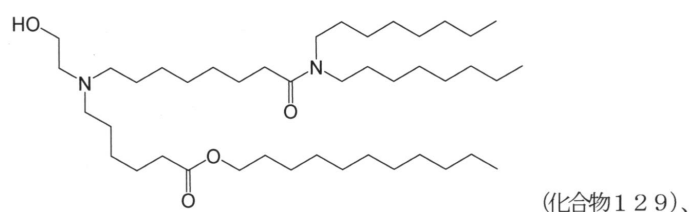
20

30

40

50

【化 5 5 - 1 0】



10

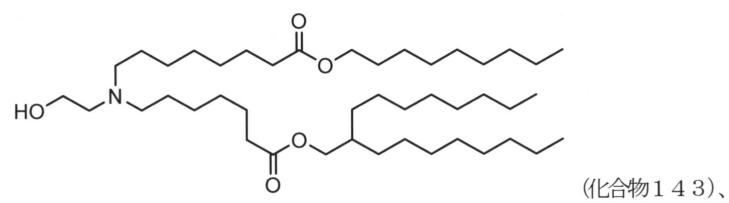
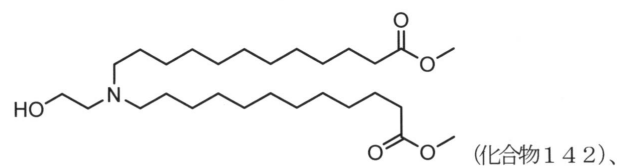
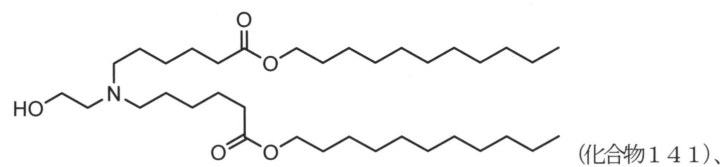
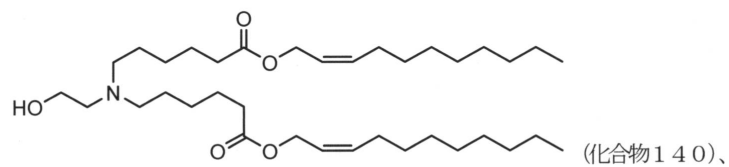
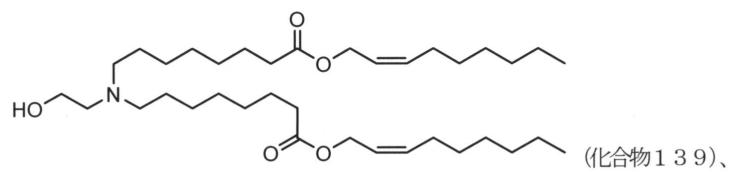
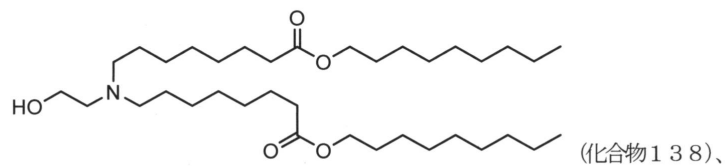
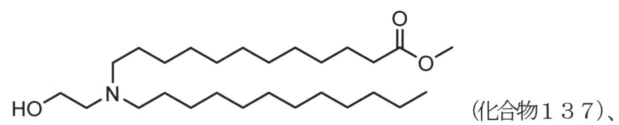
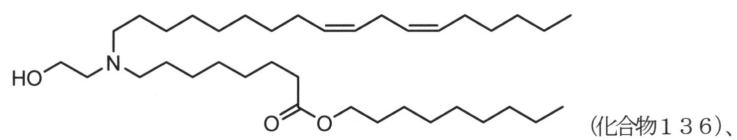
20

30

40

50

【化 5 5 - 1 1】



10

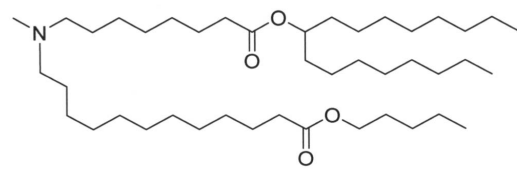
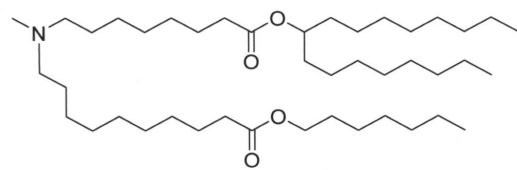
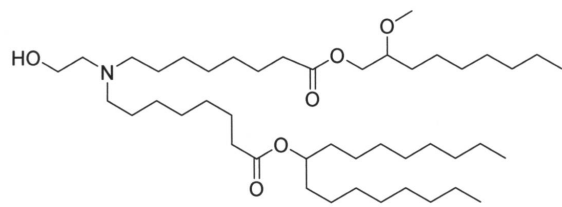
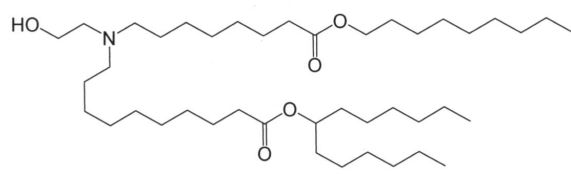
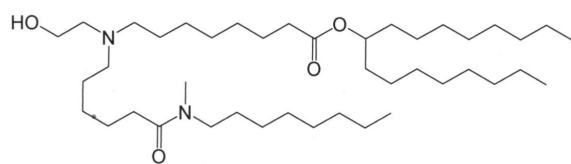
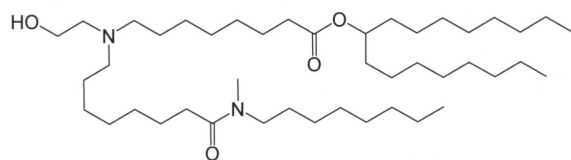
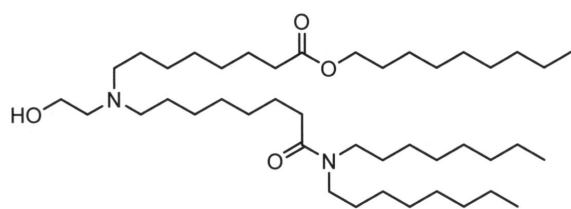
20

30

40

50

【化 5 5 - 1 2】



10

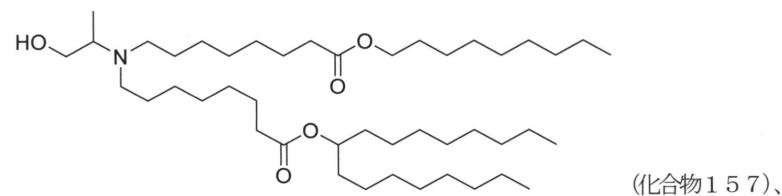
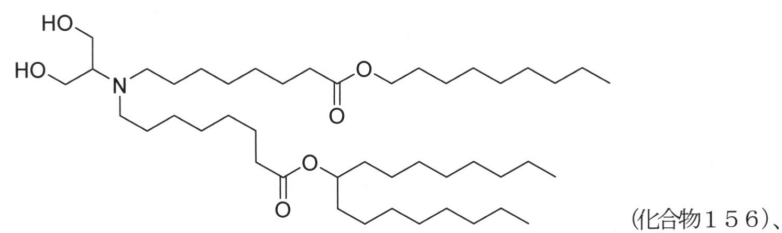
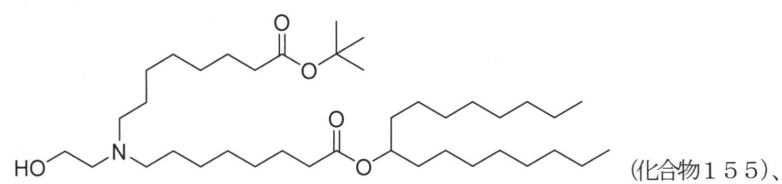
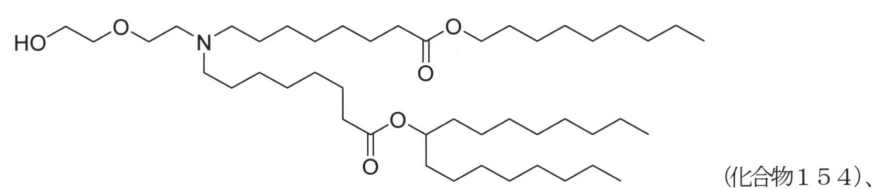
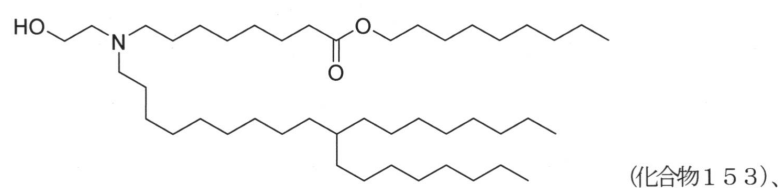
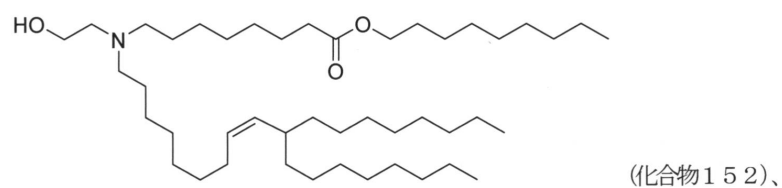
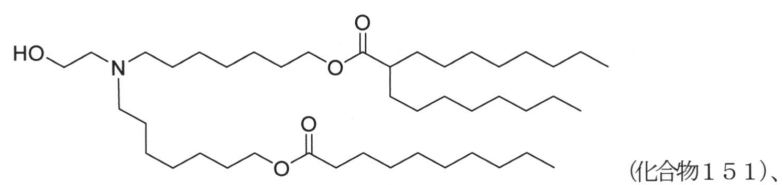
20

30

40

50

【化 5 5 - 1 3】



10

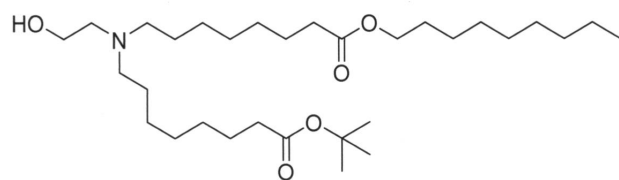
20

30

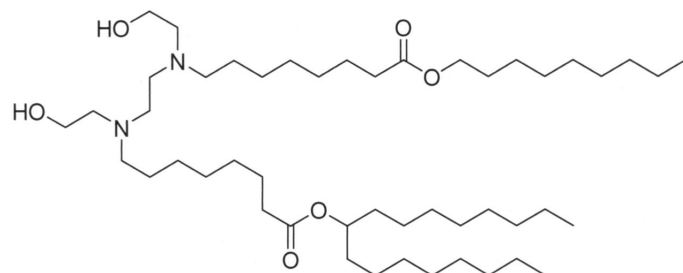
40

50

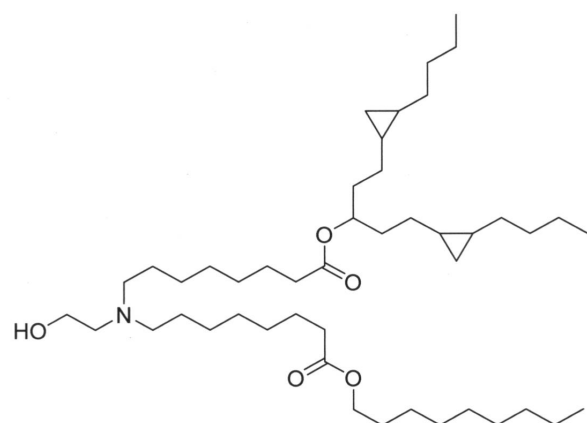
【化 5 5 - 1 4】



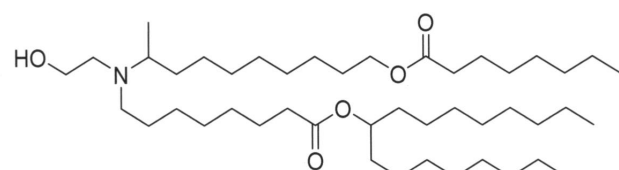
(化合物 1 5 8)、



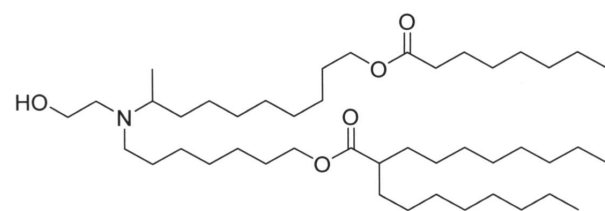
(化合物 1 5 9)、



(化合物 1 6 0)、



(化合物 1 6 1)、



(化合物 1 6 2)、

10

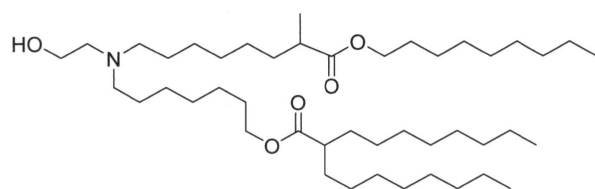
20

30

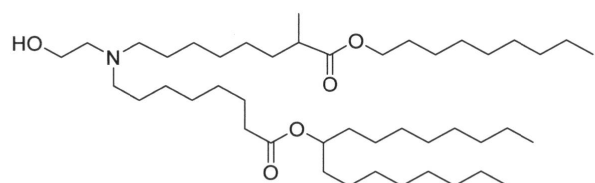
40

50

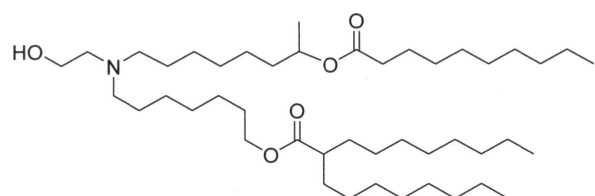
【化 5 5 - 1 5】



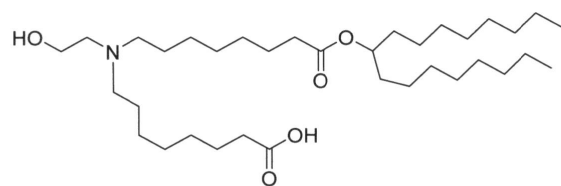
(化合物163)、



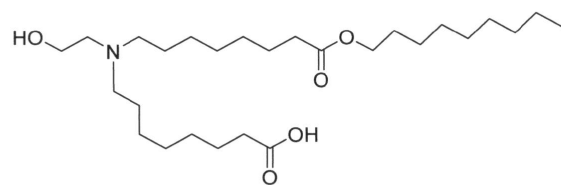
(化合物164)、



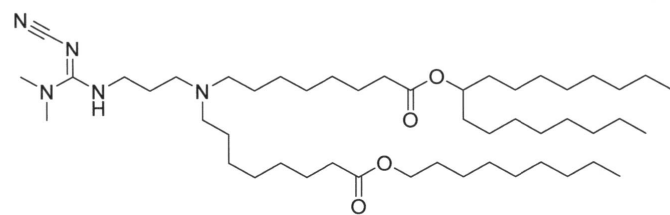
(化合物165)、



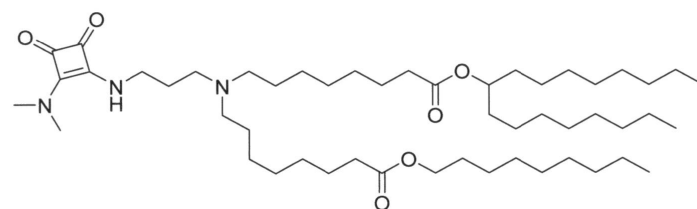
(化合物166)、



(化合物167)、



(化合物168)、



(化合物169)、

10

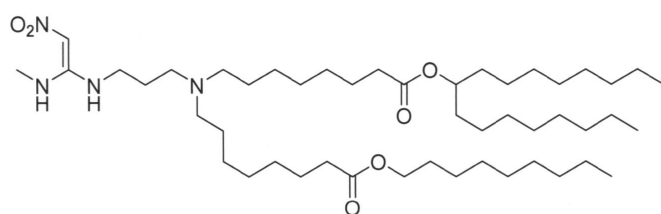
20

30

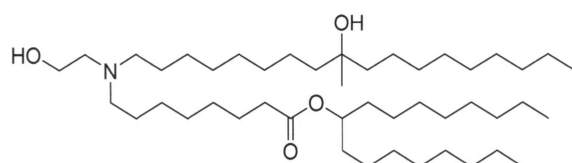
40

50

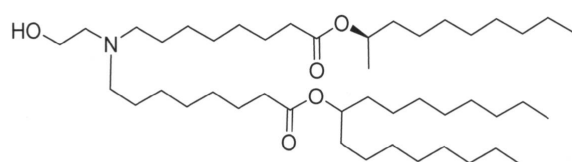
【化 5 5 - 1 6】



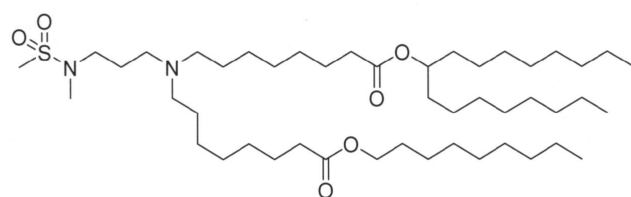
(化合物 1 7 0)、



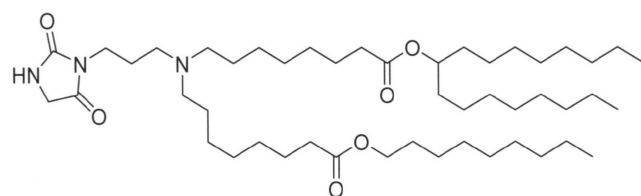
(化合物 1 7 1)、



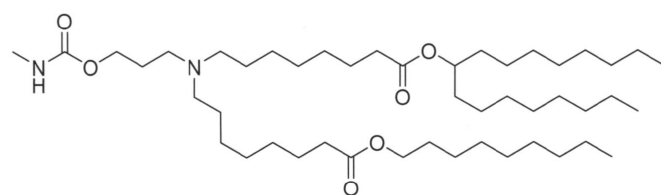
(化合物 1 7 2)、



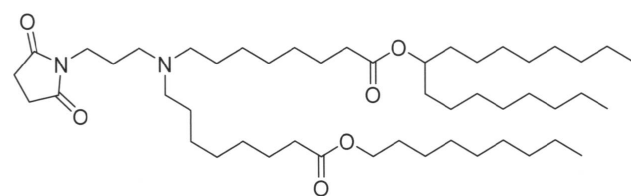
(化合物 1 7 3)、



(化合物 1 7 4)、



(化合物 1 7 5)、



(化合物 1 7 6)、

10

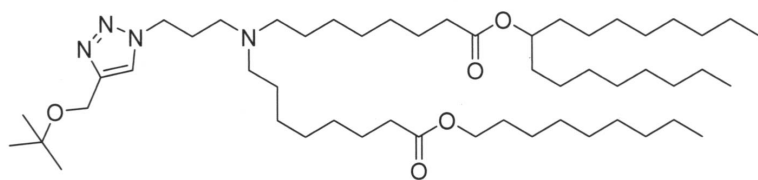
20

30

40

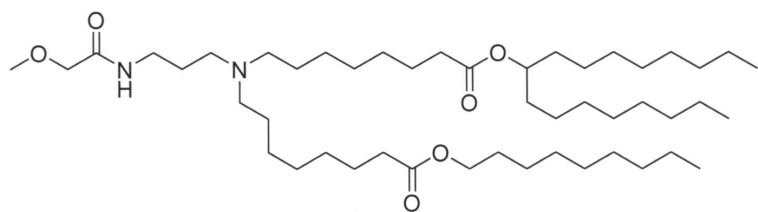
50

【化 5 5 - 1 7】



(化合物 1 7

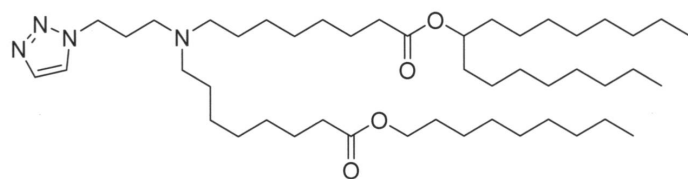
7)、



10

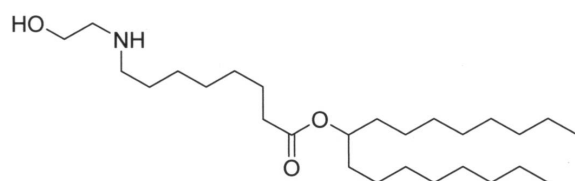
(化合物 1 7

8)、

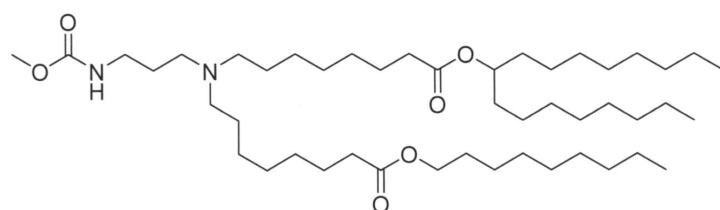


20

(化合物 1 7 9)、

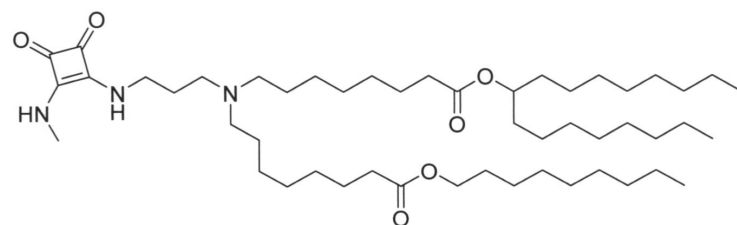


(化合物 1 8 0)、



30

(化合物 1 8 1)、

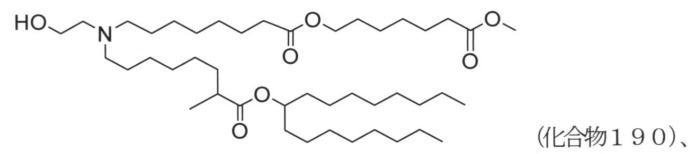
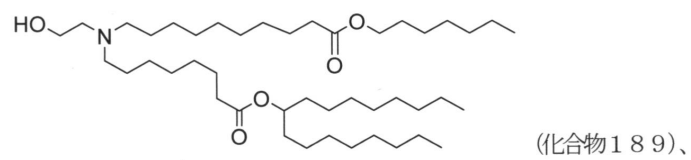
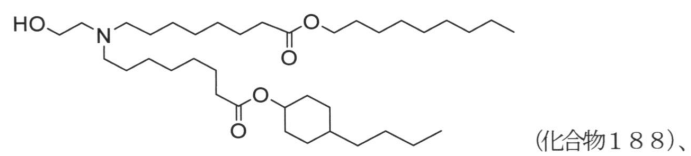
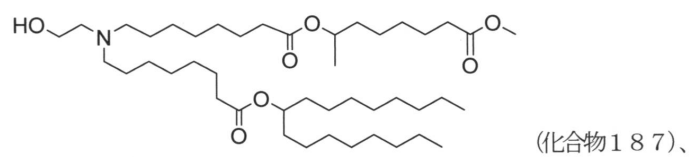
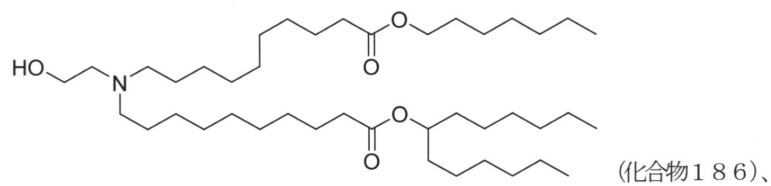
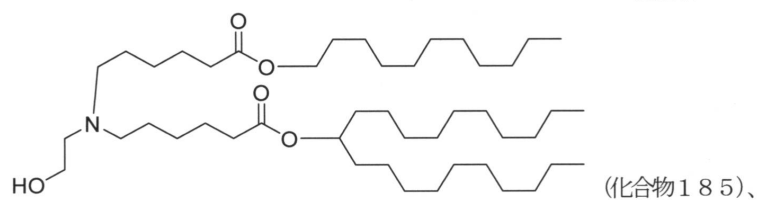
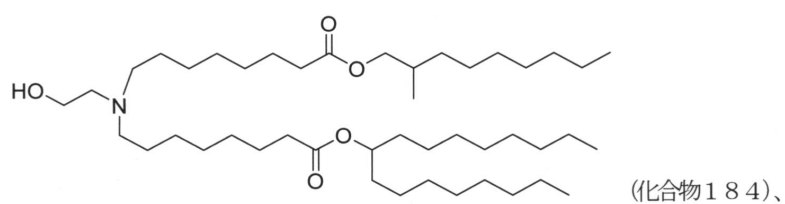
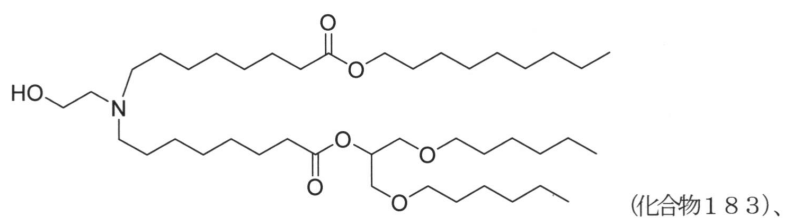


(化合物 1 8 2)、

40

50

【化 5 5 - 1 8】



10

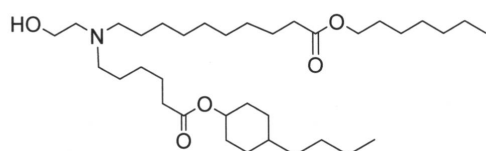
20

30

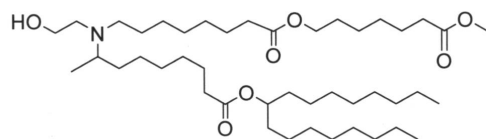
40

50

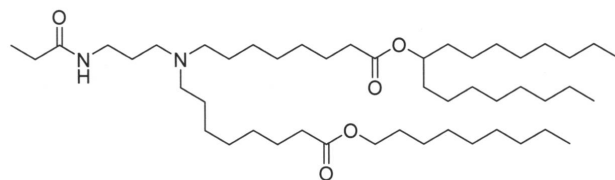
【化 5 5 - 1 9】



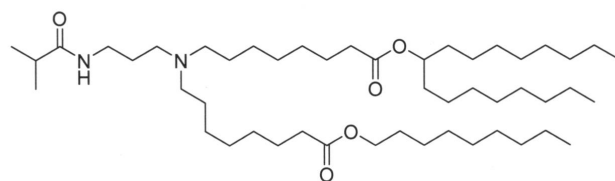
(化合物191)、



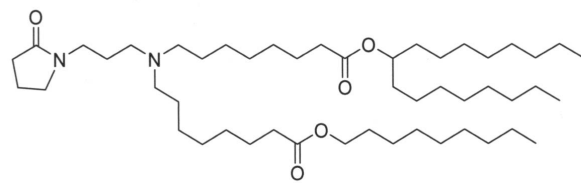
(化合物192)、



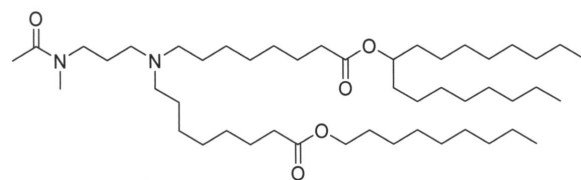
(化合物193)、



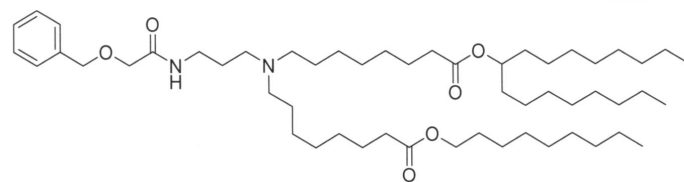
(化合物194)、



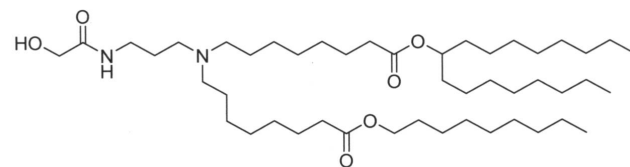
(化合物195)、



(化合物196)、



(化合物197)、



(化合物198)、

10

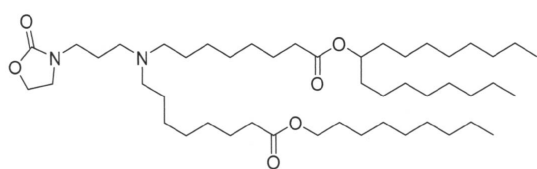
20

30

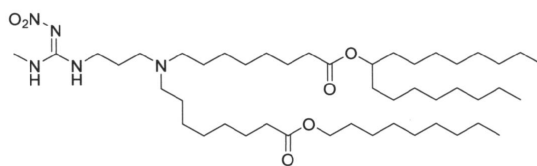
40

50

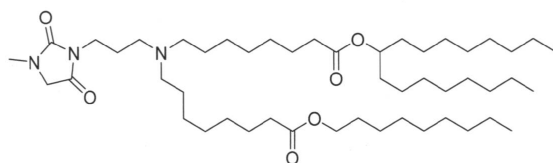
【化 5 5 - 2 0】



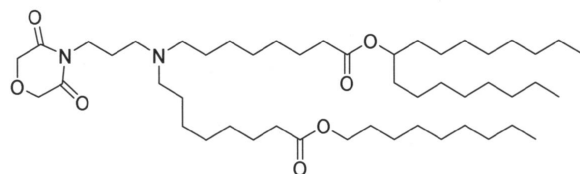
(化合物199)、



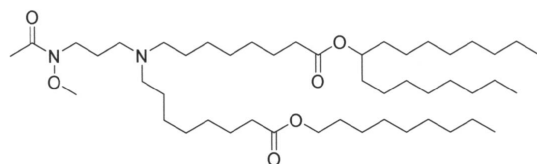
(化合物200)、



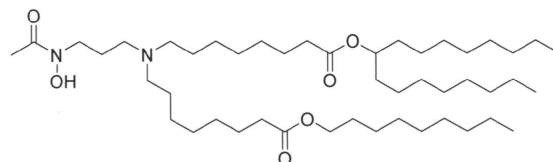
(化合物201)、



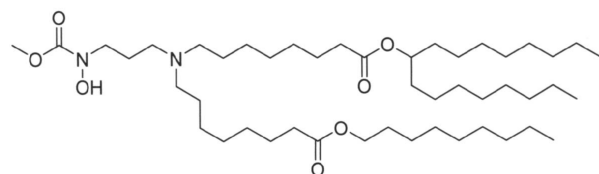
(化合物202)、



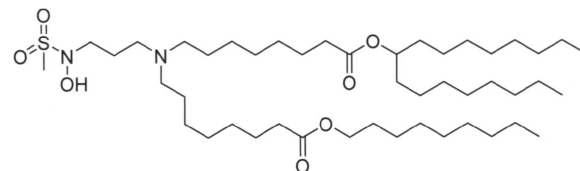
(化合物203)、



(化合物204)、



(化合物205)、



(化合物206)、

10

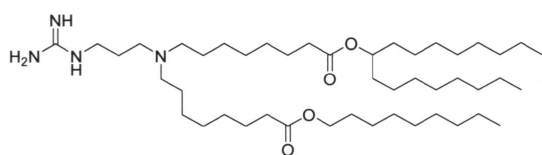
20

30

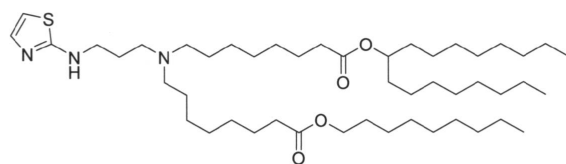
40

50

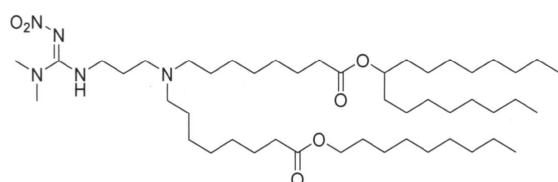
【化 5 5 - 2 1】



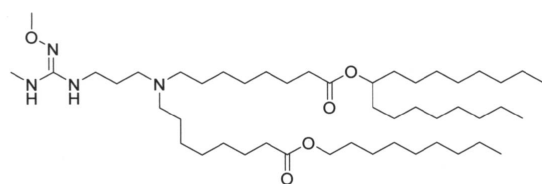
(化合物207)、



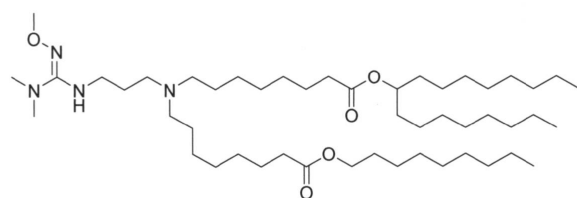
(化合物208)、



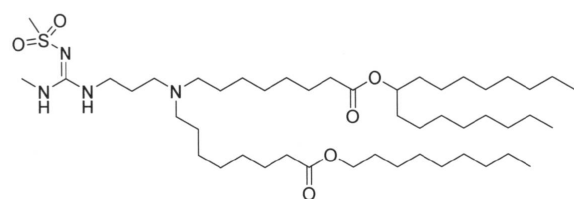
(化合物209)、



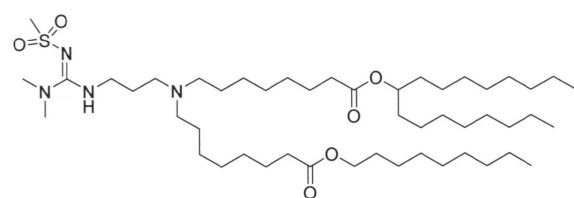
(化合物210)、



(化合物211)、



(化合物212)、



(化合物213)、

10

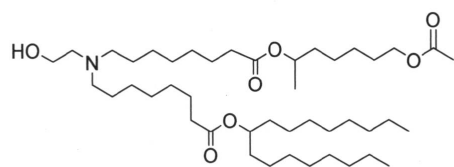
20

30

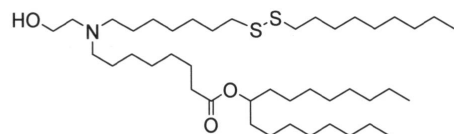
40

50

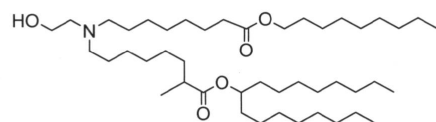
【化 5 5 - 2 2】



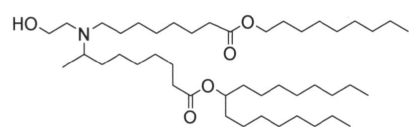
(化合物 2 1 4)、



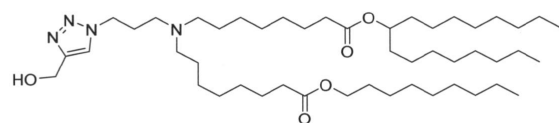
(化合物 2 1 5)、



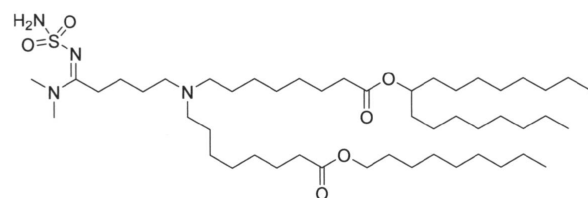
(化合物 2 1 6)、



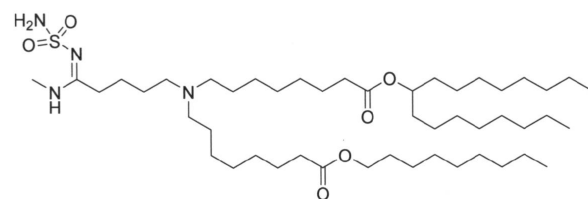
(化合物 2 1 7)、



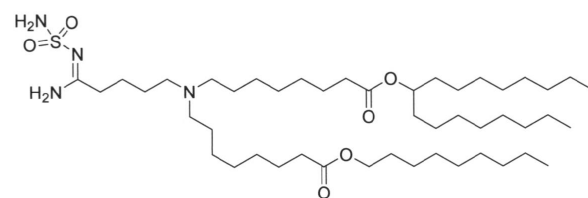
(化合物 2 1 8)、



(化合物 2 1 9)、



(化合物 2 2 0)、



(化合物 2 2 1)、

10

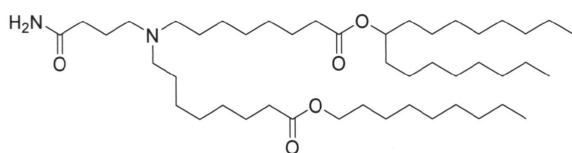
20

30

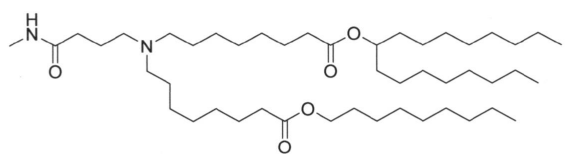
40

50

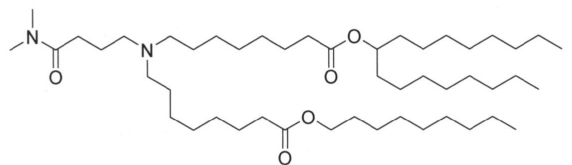
【化 5 5 - 2 3】



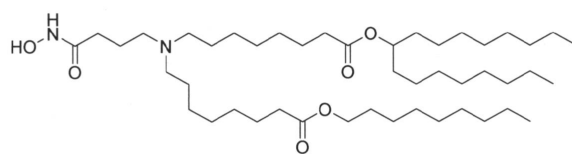
(化合物 2 2 2)、



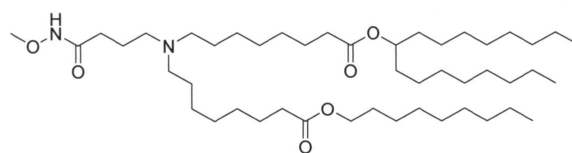
(化合物 2 2 3)、



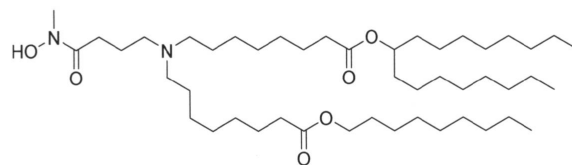
(化合物 2 2 4)、



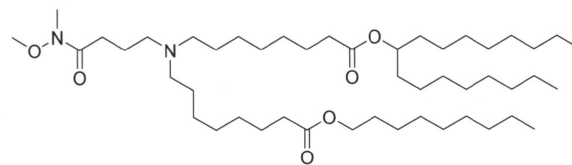
(化合物 2 2 5)、



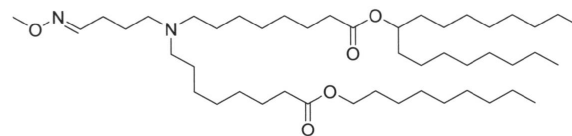
(化合物 2 2 6)、



(化合物 2 2 7)、



(化合物 2 2 8)、



(化合物 2 2 9)、

10

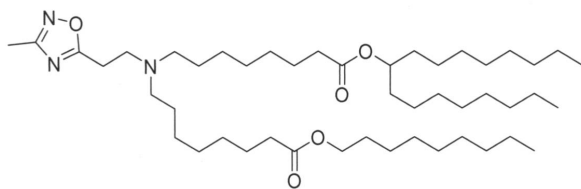
20

30

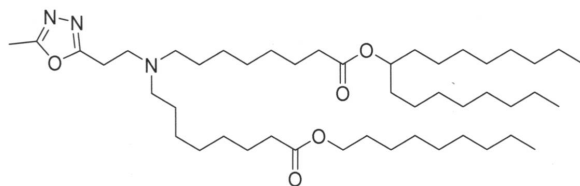
40

50

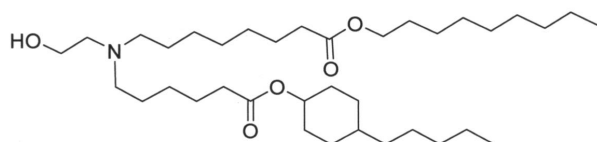
【化 5 5 - 2 4】



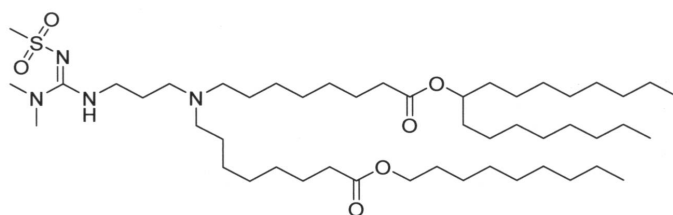
(化合物 2 3 0)、



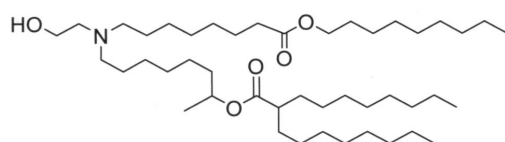
(化合物 2 3 1)、



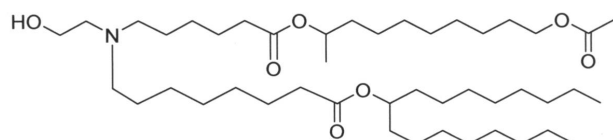
(化合物 2 3 2)、



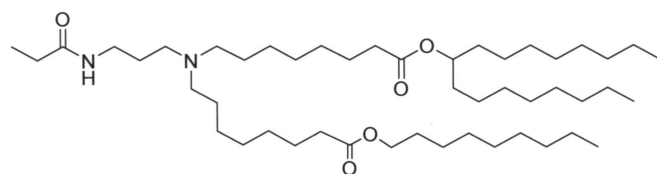
(化合物 2 3 3)、



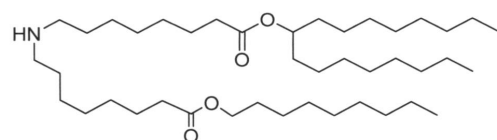
(化合物 2 3 4)、



(化合物 2 3 5)、



(化合物 2 3 6)、



(化合物 2 3 7)、

10

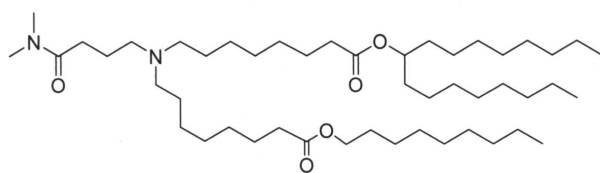
20

30

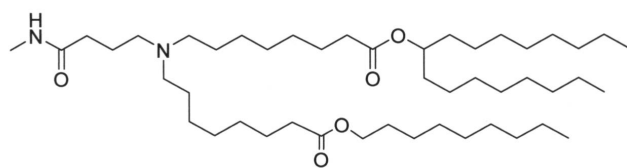
40

50

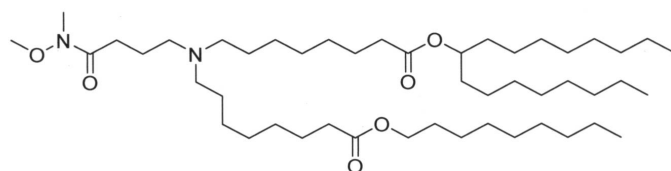
【化 5 5 - 2 5 】



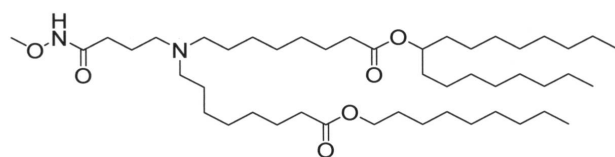
(化合物 2 3 8)、



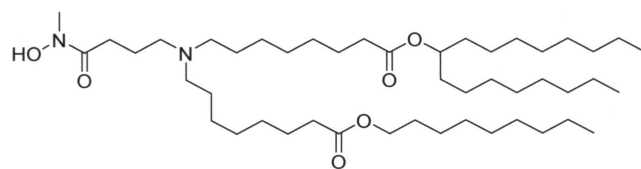
(化合物 2 3 9)、



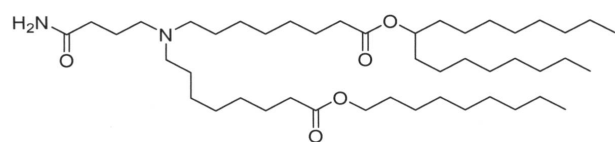
(化合物 2 4 0)、



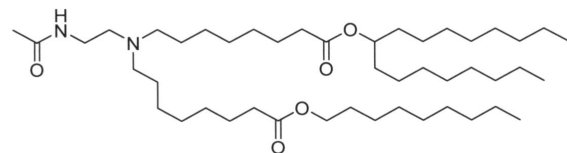
(化合物 2 4 1)、



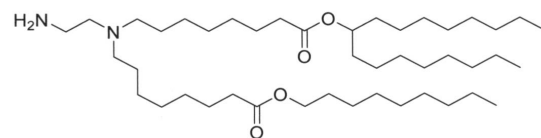
(化合物 2 4 2)、



(化合物 2 4 3)、



(化合物 2 4 4)、



(化合物 2 4 5)、

10

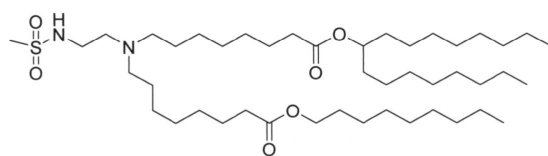
20

30

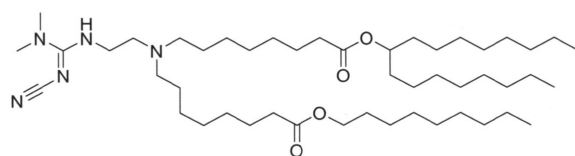
40

50

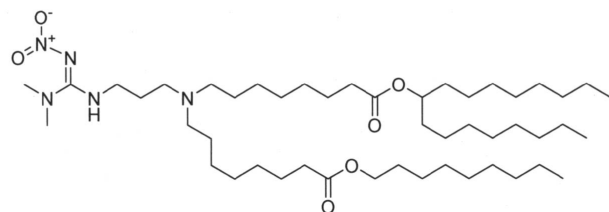
【化 5 5 - 2 6 】



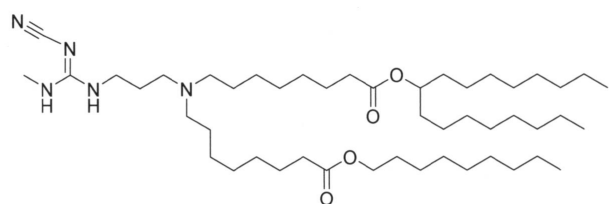
(化合物246)、



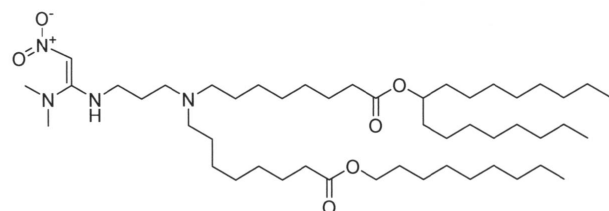
(化合物247)、



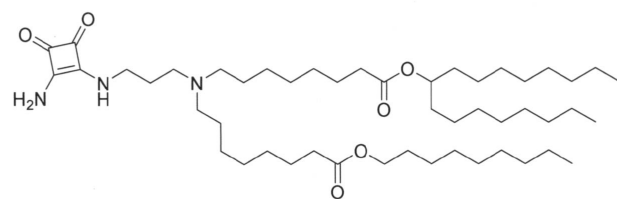
(化合物248)、



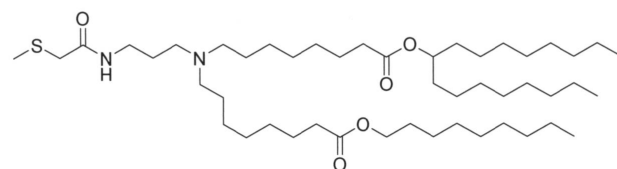
(化合物249)、



(化合物250)、



(化合物251)、



(化合物252)、

10

20

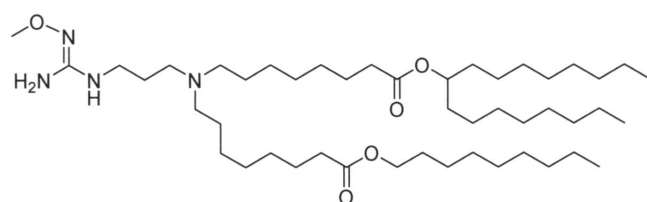
30

40

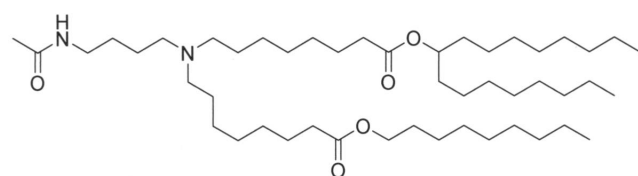
50

NCCCCN(CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OCCCCCCCCCCCCC)CCCCCCCCCCCCCCCC(=O)OCCCCCCCCCCCCC

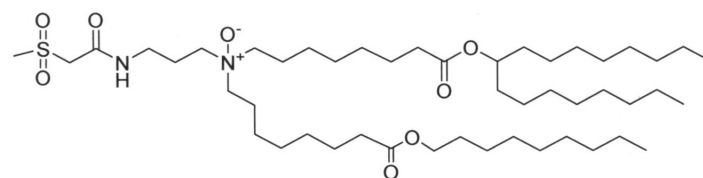
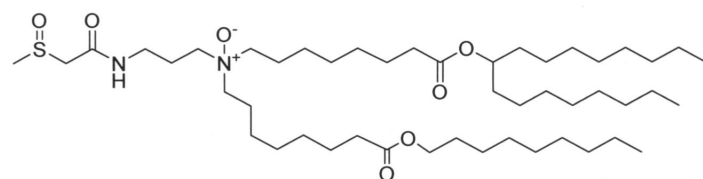
10



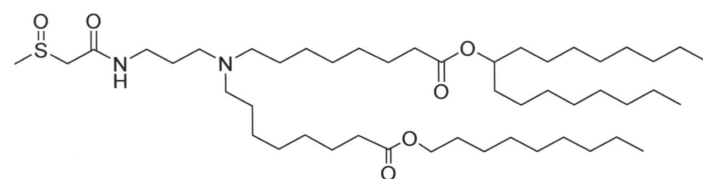
20



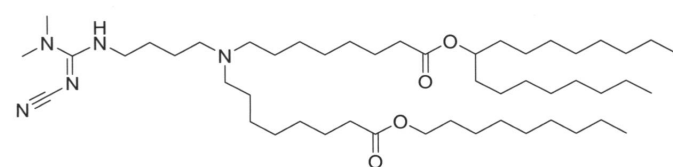
30



40

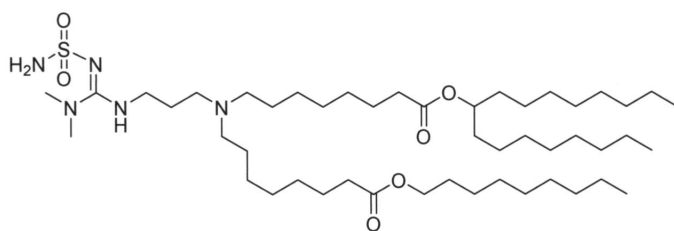


50

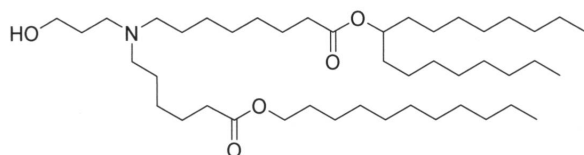


(化合物259)、

【化 5 5 - 2 8】



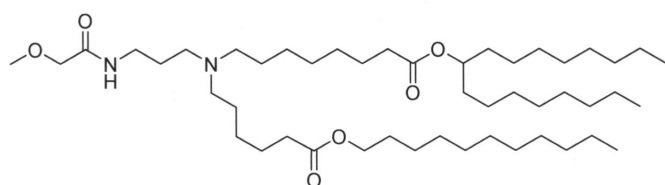
(化合物 2 6 0)、



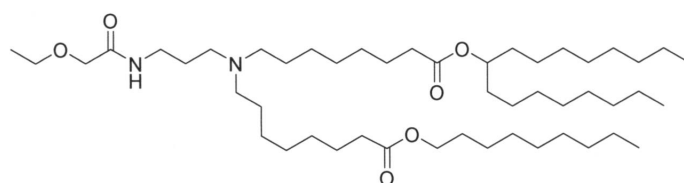
(化合物 2 6 1)、



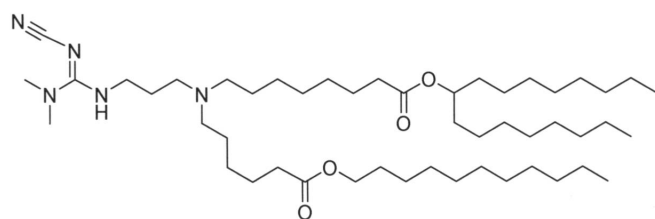
(化合物 2 6 2)、



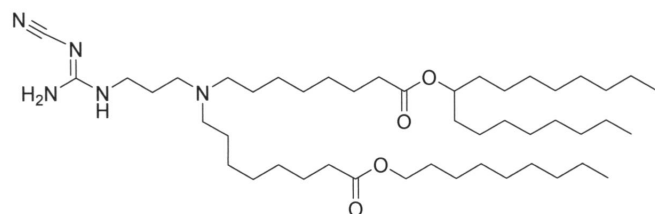
(化合物 2 6 3)、



(化合物 2 6 4)、



(化合物 2 6 5)、



(化合物 2 6 6)、

10

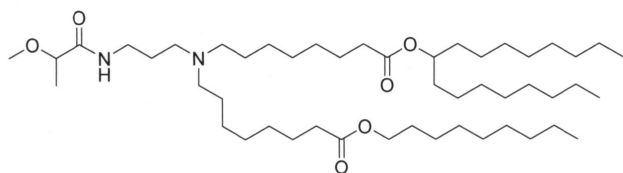
20

30

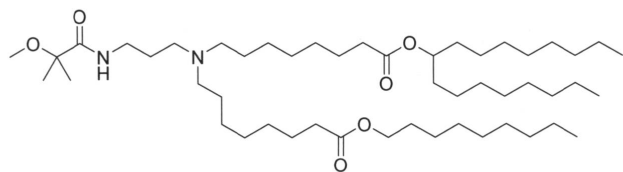
40

50

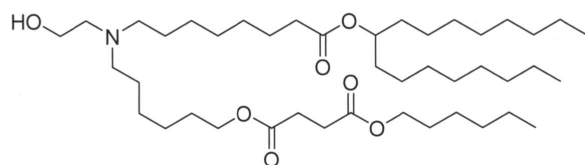
【化 5 5 - 2 9】



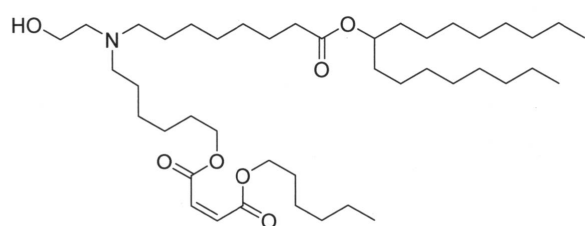
(化合物 2 6 7)、



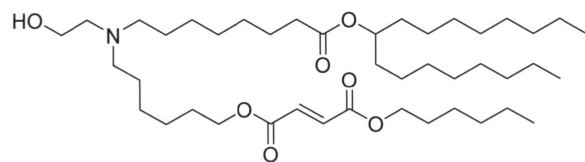
(化合物 2 6 8)、



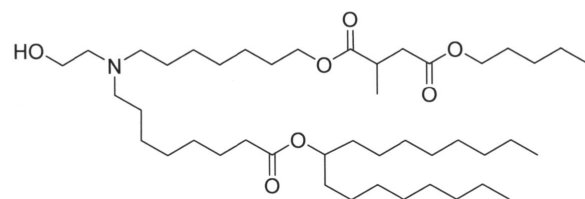
(化合物 2 6 9)、



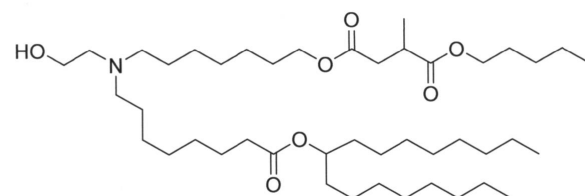
(化合物 2 7 0)、



(化合物 2 7 1)、



(化合物 2 7 2)、



(化合物 2 7 3)、

10

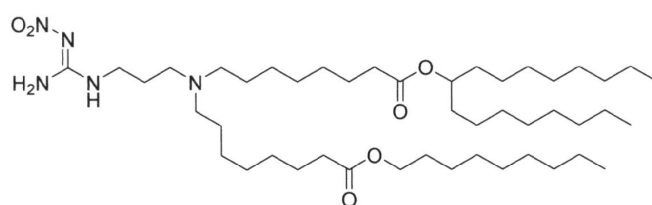
20

30

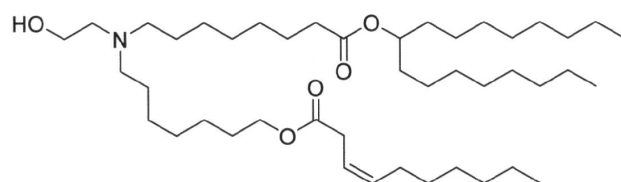
40

50

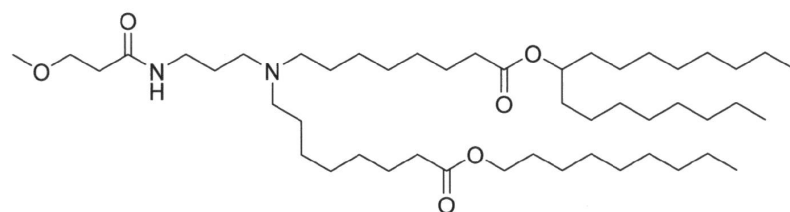
【化 5 5 - 3 0】



(化合物 2 7 4)、

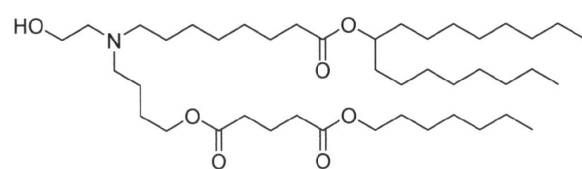


(化合物 2 7 5)、

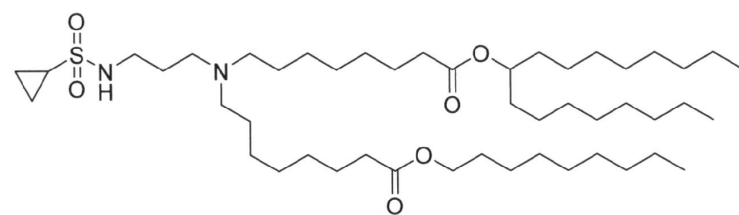


(化合物 2 7

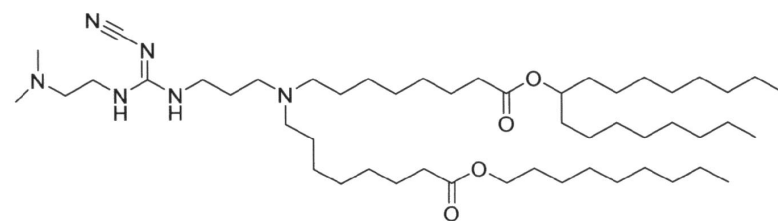
6)、



(化合物 2 7 7)、



(化合物 2 7 8)、



(化合物 2 7 9)、

10

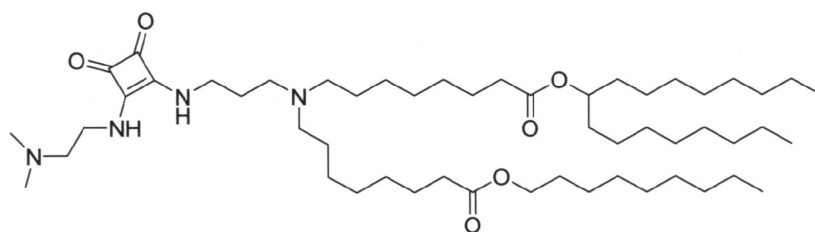
20

30

40

50

【化 5 5 - 3 1】



(化合物28)

0)、

10

およびそれらのN - オキシド、その塩ならびに異性体からなる群から選択される。

【0177】

式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIE)、(IIf)または(IIg)で表される脂質の中心のアミン部分は、生理学的pHでプロトン化され得る。したがって、脂質は、生理学的pHで正電荷または部分正電荷を有し得る。このような脂質は、カチオン性またはイオン性(アミノ)脂質と呼ばれ得る。脂質はまた、両性イオン性、すなわち、正電荷および負電荷の両方を有する中性分子であり得る。

20

【0178】

本明細書において使用される際、「アルキル」、「アルキル基」、または「アルキレン」という用語は、任意に置換される、1個以上の炭素原子(例えば、1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、またはそれ以上の炭素原子)を含む直鎖状または分枝鎖状飽和炭化水素を意味する。「C₁₋₁₄アルキル」という表記は、1~14個の炭素原子を含む任意に置換される直鎖状または分枝鎖状飽和炭化水素を意味する。特に規定されない限り、本明細書に記載されるアルキル基は、非置換および置換アルキル基の両方を指す。

【0179】

30

本明細書において使用される際、「アルケニル」、「アルケニル基」、または「アルケニレン」という用語は、任意に置換される、2個以上の炭素原子(例えば、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、またはそれ以上の炭素原子)および少なくとも1つの二重結合を含む直鎖状または分枝鎖状炭化水素を意味する。「C₂₋₁₄アルケニル」という表記は、2~14個の炭素原子および少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を含む任意に置換される直鎖状または分枝鎖状炭化水素を意味する。アルケニル基は、1つ、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上の炭素-炭素二重結合を含み得る。例えば、C₁₈アルケニルは、1つ以上の二重結合を含み得る。2つの二重結合を含むC₁₈アルケニル基は、リノレイル基であり得る。特に規定されない限り、本明細書に記載されるアルケニル基は、非置換および置換アルケニル基の両方を指す。

40

【0180】

本明細書において使用される際、「アルキニル」、「アルキニル基」、または「アルキニレン」という用語は、任意に置換される、2個以上の炭素原子(例えば、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、16個、17個、18個、19個、20個、またはそれ以上の炭素原子)および少なくとも1つの炭素-炭素三重結合を含む直鎖状または分枝鎖状炭化水素を意味する。「C₂₋₁₄アルキニル」という表記は、2~14個の炭素原子および少なくとも1つの炭素-炭素三重結合を含む任意に置換される直鎖状または分枝鎖状炭化水素を意味する。アルキニル基は、1つ、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上の炭素-炭素三重結合を含み得る。

50

例えば、 C_{18} アルキニルは、1つ以上の炭素-炭素三重結合を含み得る。特に規定されない限り、本明細書に記載されるアルキニル基は、非置換および置換アルキニル基の両方を指す。

【0181】

本明細書において使用される際、「炭素環」または「炭素環式基」という用語は、炭素原子の1つ以上の環を含む任意に置換される単環または多環系を意味する。環は、3員、4員、5員、6員、7員、8員、9員、10員、11員、12員、13員、14員、15員、16員、17員、18員、19員、または20員環であり得る。「 C_{3-6} 炭素環」という表記は、3～6個の炭素原子を有する単環を含む炭素環を意味する。炭素環は、1つ以上の炭素-炭素二重または三重結合を含んでもよく、非芳香族または芳香族（例えば、シクロアルキルまたはアリール基）であり得る。炭素環の例としては、シクロプロピル、シクロペンチル、シクロヘキシル、フェニル、ナフチル、および1,2-ジヒドロナフチル基が挙げられる。本明細書において使用される際の「シクロアルキル」という用語は、非芳香族炭素環を意味し、任意の二重または三重結合を含んでもまたは含まなくてもよい。特に規定されない限り、本明細書に記載される炭素環は、非置換および置換炭素環基の両方、すなわち、任意に置換される炭素環を指す。

10

【0182】

本明細書において使用される際、「複素環」または「複素環式基」という用語は、少なくとも1つの環が少なくとも1個のヘテロ原子を含む、1つ以上の環を含む任意に置換される単環または多環系を意味する。ヘテロ原子は、例えば、窒素、酸素、または硫黄原子であり得る。環は、3員、4員、5員、6員、7員、8員、9員、10員、11員、12員、13員、または14員環であり得る。複素環は、1つ以上の二重または三重結合を含んでもよく、非芳香族または芳香族（例えば、ヘテロシクロアルキルまたはヘテロアリール基）であり得る。複素環の例としては、イミダゾリル、イミダゾリジニル、オキサゾリル、オキサゾリジニル、チアゾリル、チアゾリジニル、ピラゾリジニル、ピラゾリル、イソキサゾリジニル、イソオキサゾリル、イソチアゾリジニル、イソチアゾリル、モルホリニル、ピロリル、ピロリジニル、フリル、テトラヒドロフリル、チオフェニル、ピリジニル、ピペリジニル、キノリル、およびイソキノリル基が挙げられる。本明細書において使用される際の「ヘテロシクロアルキル」という用語は、非芳香族複素環を意味し、任意の二重または三重結合を含んでもまたは含まなくてもよい。特に規定されない限り、本明細書に記載される複素環は、非置換および置換複素環基の両方、すなわち、任意に置換される複素環を指す。

20

30

【0183】

本明細書において使用される際、「ヘテロアルキル」、「ヘテロアルケニル」、または「ヘテロアルキニル」という用語は、本明細書で定義されるとおり、それぞれアルキル基、アルケニル基、アルキニル基を指し、これは1個以上（例えば、1個、2個、3個、または4個）のヘテロ原子（例えば、酸素、硫黄、窒素、ホウ素、ケイ素、リン）をさらに含み、1個以上のヘテロ原子が、親炭素鎖内の隣接する炭素原子間に挿入される、および/または1個以上のヘテロ原子が、炭素原子と親分子との間に、すなわち、結合点間に挿入される。別段の指定がない限り、本明細書に記載されるヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、またはヘテロアルキニルは、非置換および置換の両方のヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、またはヘテロアルキニル、すなわち、任意に置換されるヘテロアルキル、ヘテロアルケニル、またはヘテロアルキニルを指す。

40

【0184】

本明細書において使用される際、「生分解性基」は、哺乳動物の実体内の脂質のより速い代謝を促進し得る基である。生分解性基は、限定はされないが、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、アリール基、およびヘテロアリール基からなる群から選択され得る。本明細書において使用される際、「アリール基」は、1つ以上の芳香環を含む任意に置換さ

50

れる炭素環式基である。アリール基の例としては、フェニルおよびナフチル基が挙げられる。本明細書において使用される際、「ヘテロアリール基」は、1つ以上の芳香環を含む任意に置換される複素環式基である。ヘテロアリール基の例としては、ピロリル、フリル、チオフェニル、イミダゾリル、オキサゾリル、およびチアゾリルが挙げられる。アリールおよびヘテロアリール基は両方とも、任意に置換され得る。例えば、MおよびM'は、任意に置換されるフェニル、オキサゾール、およびチアゾールからなる非限定的な群から選択され得る。本明細書の式中、MおよびM'は、独立して、上記の生分解性基の一覧から選択され得る。特に規定されない限り、本明細書に記載されるアリールまたはヘテロアリール基は、非置換および置換された基の両方、すなわち、任意に置換されるアリールまたはヘテロアリール基を指す。

10

【0185】

アルキル、アルケニル、およびシクリル（例えば、カルボシクリルおよびヘテロシクリル）基は、特に規定されない限り、任意に置換され得る。任意選択の置換基は、限定はされないが、ハロゲン原子（例えば、塩化物、臭化物、フッ化物、またはヨウ化物基）、カルボン酸（例えば、 $-C(O)OH$ ）、アルコール（例えば、ヒドロキシル、 $-OH$ ）、エステル（例えば、 $-C(O)OR - OC(O)R$ ）、アルデヒド（例えば、 $-C(O)H$ ）、カルボニル（例えば、 $-C(O)R$ 、あるいは $C=O$ によって表される）、ハロゲン化アシル（例えば、 $-C(O)X$ 、ここで、Xが、臭化物、フッ化物、塩化物、およびヨウ化物から選択されるハロゲン化物である）、カーボネート（例えば、 $-OC(O)OR$ ）、アルコキシ（例えば、 $-OR$ ）、アセタール（例えば、 $-C(OR)_2R$ ）、ここで、各ORが、同じかまたは異なり得るアルコキシ基であり、 R が、アルキルまたはアルケニル基である）、ホスフェート（例えば、 $P(O)_4^{3-}$ ）、チオール（例えば、 $-SH$ ）、スルホキシド（例えば、 $-S(O)R$ ）、スルフィン酸（例えば、 $-S(O)OH$ ）、スルホン酸（例えば、 $-S(O)_2OH$ ）、チアール（例えば、 $-C(S)H$ ）、サルフェート（例えば、 $S(O)_4^{2-}$ ）、スルホニル（例えば、 $-S(O)_2-$ ）、アミド（例えば、 $-C(O)NR_2$ 、または $-N(R)C(O)R$ ）、アジド（例えば、 $-N_3$ ）、ニトロ（例えば、 $-NO_2$ ）、シアノ（例えば、 $-CN$ ）、イソシアノ（例えば、 $-NC$ ）、アシルオキシ（例えば、 $-OC(O)R$ ）、アミノ（例えば、 $-NR_2$ 、 $-NRH$ 、または $-NH_2$ ）、カルバモイル（例えば、 $-OC(O)NR_2$ 、 $-OC(O)NRH$ 、または $-OC(O)NH_2$ ）、スルホンアミド（例えば、 $-S(O)_2NR_2$ 、 $-S(O)_2NRH$ 、 $-S(O)_2NH_2$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(H)S(O)_2R$ 、 $-N(R)S(O)_2H$ 、または $-N(H)S(O)_2H$ ）、アルキル基、アルケニル基、およびシクリル（例えば、カルボシクリルまたはヘテロシクリル）基からなる群から選択され得る。上記のいずれかにおいて、Rが、本明細書に定義されるように、アルキルまたはアルケニル基である。ある実施形態において、置換基自体が、例えば、1、2、3、4、5、または6つの本明細書に定義される置換基でさらに置換され得る。例えば、 $C_1 \sim 6$ アルキル基は、1、2、3、4、5、または6つの本明細書に定義される置換基でさらに置換され得る。

20

30

【0186】

窒素を含有する本開示の化合物は、他の本開示の化合物を得るために、酸化剤（例えば、3-クロロ過安息香酸（mCPBA）および/または過酸化水素）を用いた処理によってN-オキシドへと変換され得る。したがって、示されている、かつ請求される全ての窒素含有化合物は、原子価および構造が許容される場合、示されるとおりの化合物およびそのN-オキシド誘導体（ $N=O$ または N^+-O^- として表され得る）の両方を含むと見なされる。さらに、他の場合では、本開示の化合物中における窒素は、N-ヒドロキシまたはN-アルコキシ化合物へと変換され得る。例えば、N-ヒドロキシ化合物は、m-CPBAなどの酸化剤による親アミンの酸化によって調製され得る。示されている、かつ請求される全ての窒素含有化合物はさらに、原子価および構造が許容される場合、示されるとおりの化合物ならびにそのN-ヒドロキシ（すなわち、 $N-OH$ ）およびN-アルコキシ（すなわち、 $N-OR$ （式中、Rは置換もしくは非置換 $C_1 \sim C_6$ アルキル、 $C_1 \sim C_6$ ア

40

50

ルケニル、 $C_1 \sim C_6$ アルキニル、3～14員炭素環または3～14員複素環である))誘導体の両方を包含すると見なされる。

【0187】

約、およそ：本明細書において使用される際、目的の1つ以上の値に適用される際の「および」および「約」という用語は、記載される参照値と類似の値を指す。特定の実施形態において、「およそ」または「約」という用語は、特に記載しない限りまたは文脈から別の解釈が明らかでない限り(ただし、このような数値が考えられる値の100%を超える場合を除く)、記載される参照値の25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、それ以下の値の両方向(超または未満)の範囲を指す。例えば、ナノ粒子組成物の脂質成分における所与の化合物の量に関して使用される場合、「約」は、記載される値の+/-10%を意味し得る。例えば、約40%の所与の化合物を有する脂質成分を含むナノ粒子組成物は、30～50%の化合物を含み得る。

10

【0188】

本明細書において使用される際、「化合物」という用語は、示される構造のあらゆる異性体および同位体を含むことを意味する。「同位体」は、同じ原子番号を有するが、核内の異なる中性子数に起因する異なる質量数を有する原子を指す。例えば、水素の同位体としては、トリチウムおよび重水素が挙げられる。さらに、本開示の化合物、塩、または複合体は、常法によって、溶媒和物および水和物を形成するために、溶媒または水分子と組み合わせて調製され得る。

20

【0189】

本明細書において使用される際、「接触させる」という用語は、2つ以上の実体間の物理的接続を確立することを意味する。例えば、哺乳動物細胞を、ナノ粒子組成物と接触させることは、哺乳動物細胞およびナノ粒子に、物理的接続を共有させることを意味する。細胞を外部の実体とインビボおよびエクシボの両方で接触させる方法は、生物学分野において周知である。例えば、哺乳動物内に配置されたナノ粒子組成物および哺乳動物細胞を接触させることは、様々な投与経路(例えば、静脈内、筋肉内、皮内、および皮下)によって行われてもよく、様々な量のナノ粒子組成物を含み得る。さらに、2つ以上の哺乳動物細胞が、ナノ粒子組成物によって接触され得る。

【0190】

本明細書において使用される際、「送達する」という用語は、実体を目的地に提供することを意味する。例えば、治療薬および/または予防薬を対象に送達することは、治療薬および/または予防薬を含むナノ粒子組成物を、対象に(例えば、静脈内、筋肉内、皮内、腹腔内、腫瘍内、または皮下経路によって)投与することを含み得る。哺乳動物または哺乳動物細胞へのナノ粒子組成物の投与は、1つ以上の細胞を、ナノ粒子組成物と接触させることを含み得る。

30

【0191】

本明細書において使用される際、「向上した送達」という用語は、目的の標的組織(例えば、MC3、KC2、またはDLinDMA)への対照ナノ粒子による治療薬および/または予防薬の送達のレベルと比較して、目的の標的組織(例えば、哺乳動物の肝臓)へのナノ粒子による治療薬および/または予防薬の、より多い(例えば、少なくとも1.5倍多い、少なくとも2倍多い、少なくとも3倍多い、少なくとも4倍多い、少なくとも5倍多い、少なくとも6倍多い、少なくとも7倍多い、少なくとも8倍多い、少なくとも9倍多い、少なくとも10倍多い)送達を意味する。特定の組織へのナノ粒子の送達のレベルは、組織において生成されるタンパク質の量を、前記組織の重量と比較するか、組織内の治療薬および/または予防薬の量を、前記組織の重量と比較するか、組織において生成されるタンパク質の量を、前記組織内の総タンパク質の量と比較するか、または組織内の治療薬および/または予防薬の量を、前記組織内の総治療薬および/または予防薬と比較することによって測定され得る。標的組織へのナノ粒子の向上した送達が、治療される対象において決定される必要がなく、それが動物モデル(例えば、ラットモデル)などの代

40

50

理において決定され得ることが理解されよう。特定の実施形態において、式 (I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIE)、(IIf) または (IIg) で表される化合物を含むナノ粒子組成物は、投与経路にかかわらず実質的に同じレベルの送達促進を有する。例えば、本明細書に開示される特定の化合物は、それらが治療薬および/または予防薬を静脈内または筋肉内のいずれかで送達するのに使用される場合、同様の送達促進を示す。他の実施形態において、本明細書に開示される特定の化合物 (例えば、式 (IA) または (II) の化合物、例えば、化合物 18、25、30、60、108 ~ 112、または 122) は、治療薬および/または予防薬を静脈内より筋肉内で送達するのに使用される場合、より高いレベルの送達促進を示す。

10

【0192】

本明細書において使用される際、「特異的送達」、「特異的に送達する」、または「特異的に送達すること」という用語は、標的以外の組織 (例えば、哺乳動物の脾臓) と比較して、目的の標的組織 (例えば、哺乳動物の肝臓) へのナノ粒子による治療薬および/または予防薬の、より多い (例えば、少なくとも 1.5 倍多い、少なくとも 2 倍多い、少なくとも 3 倍多い、少なくとも 4 倍多い、少なくとも 5 倍多い、少なくとも 6 倍多い、少なくとも 7 倍多い、少なくとも 8 倍多い、少なくとも 9 倍多い、少なくとも 10 倍多い) 送達を意味する。特定の組織へのナノ粒子の送達のレベルは、組織において生成されるタンパク質の量を、前記組織の重量と比較するか、組織内の治療薬および/または予防薬の量を、前記組織の重量と比較するか、組織において生成されるタンパク質の量を、前記組織内の総タンパク質の量と比較するか、または組織内の治療薬および/または予防薬の量を、前記組織内の総治療薬および/または予防薬と比較することによって測定され得る。例えば、腎血管標的については、治療薬および/または予防薬の全身投与後に肝臓または脾臓に送達されるものと比較して、組織 1 g 当たり 1.5、2 倍、3 倍、5 倍、10 倍、15 倍、または 20 倍多い治療薬および/または予防薬が腎臓に送達される場合、治療薬および/または予防薬は、肝臓および脾臓と比較して、哺乳動物の腎臓に特異的に送達される。標的組織に特異的に送達するナノ粒子の能力が、治療される対象において決定される必要はなく、動物モデル (例えば、ラットモデル) などの代理において決定され得ることが理解されよう。

20

【0193】

本明細書において使用される際、「封入効率」は、ナノ粒子組成物の調製に使用される治療薬および/または予防薬の最初の総量に対する、ナノ粒子組成物の一部になる治療薬および/または予防薬の量を指す。例えば、組成物に最初に提供される合計 100 mg の治療薬および/または予防薬のうち 97 mg の治療薬および/または予防薬が、ナノ粒子組成物に封入される場合、封入効率は、97% として示され得る。本明細書において使用される際、「封入」は、完全な、実質的な、または部分的な包接 (enclosure)、閉じ込め (confinement)、包囲 (surrounding)、または包み込み (encasement) を指し得る。

30

【0194】

本明細書において使用される際、核酸配列の「発現」は、ポリペプチドまたはタンパク質への mRNA の翻訳、および/またはポリペプチドまたはタンパク質の翻訳後修飾を指す。

40

【0195】

本明細書において使用される際、「インビトロ」という用語は、生物 (例えば、動物、植物、または微生物) 内ではなく、人工環境、例えば、試験管または反応容器、細胞培養物、ペトリ皿などで起こる事象を指す。

【0196】

本明細書において使用される際、「インビボ」という用語は、生物 (例えば、動物、植物、または微生物またはそれらの細胞もしくは組織) 内で起こる事象を指す。

【0197】

50

本明細書において使用される際、「エキスピボ」という用語は、生物（例えば、動物、植物、または微生物またはそれらの細胞もしくは組織）の外部で起こる事象を指す。エキスピボ事象は、天然（例えば、インピボ）環境から最小限に変化された環境内で起こり得る。

【0198】

本明細書において使用される際、「異性体」という用語は、化合物の任意の幾何異性体、互変異性体、両性イオン、立体異性体、鏡像異性体、またはジアステレオマーを意味する。化合物は、1つ以上のキラル中心および/または二重結合を含んでもよく、したがって、立体異性体、例えば、二重結合異性体（すなわち、幾何E/Z異性体）またはジアステレオマー（例えば、鏡像異性体（すなわち、（+）もしくは（-））またはシス/トランス異性体）として存在し得る。本開示は、立体異性体的に純粋な形態（例えば、幾何的に純粋、鏡像異性的に純粋、またはジアステレオマーとして純粋な）ならびに鏡像異性体および立体異性体混合物、例えば、ラセミ体を含む、本明細書に記載される化合物のあらゆる異性体を包含する。化合物の鏡像異性体および立体異性体混合物およびそれらをそれらの成分鏡像異性体または立体異性体に分割する手段は周知である。

10

【0199】

「互変異性体」は、2つ以上の構造異性体が平衡状態で存在し、ある異性体型から別の異性体型に容易に変換される、それらの構造異性体の1つである。この変換は、隣接する共役二重結合の切換えを伴う水素原子の形式的な移動をもたらす。互変異性体は、溶液中で互変異性体のセットの混合物として存在する。互変異性化が可能な溶液中では、互変異性体の化学平衡に達することになる。互変異性体の正確な比は、温度、溶媒およびpHを含むいくつかの要因に依存する。互変異性化により相互変換可能な互変異性体の概念は、互変異性と呼ばれる。

20

【0200】

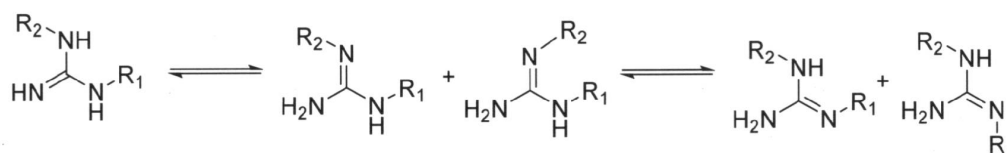
考えられる様々な種類の互変異性のうち、2つが一般に観察される。ケト-エノール互変異性では、電子および水素原子の同時移動が起こる。環鎖互変異性は、糖鎖分子のアルデヒド基（-CHO）が同じ分子中のヒドロキシ基（-OH）の1つと反応して、分子にグルコースに見られるような環式（環状）形態が生じた結果として起こる。

【0201】

一般的な互変異性対は：ケトン-エノール、アミド-ニトリル、ラクタム-ラクチム、複素環式環における（例えば、グアニン、チミンおよびシトシンなどの核酸塩基における）アミド-イミド酸互変異性、イミン-エナミンならびにエナミン-エナミンである。二置換グアニジンにおける互変異性の一例が、以下に示される。

30

【化56】



40

【0202】

本開示の化合物が、異なる互変異性体として示されてよいことが理解されるべきである。化合物が互変異性型を有する場合、全ての互変異性型が本開示の範囲に含まれることを意図し、化合物の名称は任意の互変異性体型を除外するものではないことも理解されるべきである。

【0203】

本明細書において使用される際、「脂質成分」は、1つ以上の脂質を含むナノ粒子組成

50

物の成分である。例えば、脂質成分は、1つ以上のカチオン性/イオン性脂質、PEG化脂質、構造脂質、または他の脂質、例えば、リン脂質を含み得る。

【0204】

本明細書において使用される際、「リンカー」は、2つの部分を連結する部分、例えば、キャップ種の2つのヌクレオシド間の結合である。リンカーは、限定はされないが、リン酸基（例えば、ホスフェート、ボラノリン酸、チオホスフェート、セレノホスフェート、およびホスホネート）、アルキル基、アミデート、またはグリセロールを含む1つ以上の基を含み得る。例えば、キャップ類似体の2つのヌクレオシドは、三リン酸基または2つのホスフェート部分およびボラノリン酸部分を含む鎖によって、それらの5'位において連結され得る。

10

【0205】

本明細書において使用される際、「投与の方法」は、静脈内、筋肉内、皮内、皮下、または組成物を対象に送達する他の方法を含み得る。投与の方法は、身体の特定の領域または系に標的送達する（例えば、特異的に送達する）ように選択され得る。

【0206】

本明細書において使用される際、「修飾」は、非天然を意味する。例えば、RNAは、修飾RNAであり得る。すなわち、RNAは、天然でない1つ以上の核酸塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド、またはリンカーを含み得る。「修飾」種は、本明細書において「改変」種と呼ばれることもある。種は、化学的に、構造的に、または機能的に修飾または改変され得る。例えば、修飾核酸塩基種は、天然でない1つ以上の置換を含み得る。

20

【0207】

本明細書において使用される際、「N:P比」は、例えば、脂質成分およびRNAを含むナノ粒子組成物中の、RNA中のリン酸基に対する脂質中のイオン性（生理学的pH範囲で）窒素原子のモル比である。

【0208】

本明細書において使用される際、「ナノ粒子組成物」は、1つ以上の脂質を含む組成物である。ナノ粒子組成物は、典型的に、マイクロメートルのオーダーまたはより小さいサイズであり、脂質二重層を含み得る。ナノ粒子組成物は、脂質ナノ粒子（LNPLipid nanoparticle）、リボソーム（例えば、脂質小胞）、およびリポプレックスを包含する。例えば、ナノ粒子組成物は、500nm以下の直径を有する脂質二重層を有するリボソームであり得る。

30

【0209】

本明細書において使用される際、「天然に存在する」は、人工的な補助なしに自然界に存在することを意味する。

【0210】

本明細書において使用される際、「患者」は、治療を求めるまたは治療が必要となり得る、治療を必要とする、治療を受けている、治療を受ける予定の対象、または特定の疾患または病態について専門家による医療を受けている対象を指す。

【0211】

本明細書において使用される際、「PEG脂質」または「PEG化脂質」は、ポリエチレングリコール成分を含む脂質を指す。

40

【0212】

「薬学的に許容できる」という語句は、本明細書において、適切な医学的判断の範囲内で、過剰な毒性、刺激、アレルギー反応、または他の問題もしくは合併症を伴わずに、ヒトおよび動物の組織と接触して使用するのに好適であり、妥当なリスク・ベネフィット比に見合う、化合物、材料、組成物、および/または剤形を指すために用いられる。

【0213】

本明細書において使用される際の「薬学的に許容できる賦形剤」という語句は、本明細書に記載される化合物以外の任意の成分（例えば、活性化合物を懸濁、複合体化（complexing）、または溶解させることができるビヒクル）であって、患者において実

50

質的に非毒性かつ非炎症性である特性を有する成分を指す。賦形剤としては、例えば：固結防止剤、酸化防止剤、結合剤、コーティング、圧縮補助剤、崩壊剤、染料（色素）、皮膚軟化剤、乳化剤、充填剤（希釈剤）、膜形成剤またはコーティング、香味料、香料、滑剤（流動促進剤）、潤滑剤、防腐剤、印刷インク、吸着剤、懸濁剤もしくは分散剤、甘味料、および水和水が挙げられる。例示的な賦形剤としては、限定はされないが：ブチル化ヒドロキシトルエン（BHT）、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム（二塩基性）、ステアリン酸カルシウム、クロスカルメロース、架橋ポリビニルピロリドン、クエン酸、クロスボピドン、システイン、エチルセルロース、ゼラチン、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ラクトース、ステアリン酸マグネシウム、マルチトール、マンニトール、メチオニン、メチルセルロース、メチルパラベン、微結晶性セルロース、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ボピドンヨード、アルファデンプン、プロピルパラベン、パルミチン酸レチニル、シェラック、二酸化ケイ素、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、クエン酸ナトリウム、デンプングリコール酸ナトリウム、ソルビトール、デンプン（トウモロコシ）、ステアリン酸、スクロース、タルク、二酸化チタン、ビタミンA、ビタミンE（ α -トコフェロール）、ビタミンC、キシリトール、および本明細書に開示される他の種が挙げられる。

【0214】

本明細書において、化合物の構造式は、便宜上、ある場合における特定の異性体を表すが、本開示は、幾何異性体、不斉炭素に基づく光学異性体、立体異性体、互変異性体などの全ての異性体を含み、全ての異性体が、同じレベルの活性を有し得るわけではないことが理解される。さらに、式によって表される化合物について、結晶多形が存在し得る。任意の結晶形態、結晶形態混合物、またはその無水物もしくは水合物が、本開示の範囲に含まれることが留意される。

【0215】

「結晶多形」、「多形」または「結晶形態」という用語は、化合物（またはその塩もしくは溶媒和物）が、全て同じ元素組成を有するが、異なる結晶充填配置（crystal packing arrangement）で結晶化することができる結晶構造を意味する。異なる結晶形態は、通常、異なるX線回折パターン、赤外線スペクトル、融点、密度、硬度、結晶形状、光学および電気特性、安定性および溶解性を有する。再結晶化溶媒、結晶化速度、貯蔵温度、および他の要因により、1つの結晶形態が優位になり得る。化合物の結晶多形は、様々な条件下で結晶化によって調製され得る。

【0216】

組成物は、1つ以上の化合物の塩も含み得る。塩は、薬学的に許容できる塩であり得る。本明細書において使用される際、「薬学的に許容できる塩」は、既存の酸または塩基部分をその塩形態に変換することによって（例えば、遊離塩基を好適な有機酸と反応させることによって）親化合物が改変された、開示される化合物の誘導体を指す。薬学的に許容できる塩の例としては、限定はされないが、アミンなどの塩基性残基の無機または有機酸塩；カルボン酸などの酸性残基のアルカリまたは有機塩が挙げられる。代表的な酸付加塩としては、酢酸塩、アジピン酸塩、アルギン酸塩、アスコルビン酸塩、アスパラギン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、安息香酸塩、重硫酸塩、ホウ酸塩、酪酸塩、カンホラート、カンファースルホン酸塩、クエン酸塩、シクロペンタンプロピオン酸塩、ジグルコン酸塩、ドデシル硫酸塩、エタンスルホン酸塩、フマル酸塩、グルコヘプトン酸塩、グリセロリン酸塩、ヘミ硫酸塩、ヘプトン酸塩、ヘキサノ酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヨウ化水素酸塩、2-ヒドロキシ-エタンスルホン酸塩、ラクチン酸塩、乳酸塩、ラウリン酸塩、ラウリル硫酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マロン酸塩、メタンスルホン酸塩、2-ナフタレンスルホン酸塩、ニコチン酸塩、硝酸塩、オレイン酸塩、シュウ酸塩、パルミチン酸塩、パモ酸塩、ペクチネート、過硫酸塩、3-フェニルプロピオン酸塩、リン酸塩、ピクリン酸塩、ピバル酸塩、プロピオン酸塩、ステアリン酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、酒石酸塩、チオシアン酸塩、トルエンスルホン酸塩、ウンデカン酸塩、吉草酸塩などが挙げられる。代表的なアルカリ金属塩またはアルカリ土類金属塩としては、ナトリウム、リチ

ウム、カリウム、カルシウム、マグネシウムなど、ならびに非毒性アンモニウム、第四級アンモニウム、およびアミンカチオン（限定はされないが、アンモニウム、テトラメチルアンモニウム、テトラエチルアンモニウム、メチルアミン、ジメチルアミン、トリメチルアミン、トリエチルアミン、エチルアミンなどを含む）が挙げられる。本開示の薬学的に許容できる塩は、例えば、非毒性無機または有機酸から形成される親化合物の従来の非毒性塩を含む。本開示の薬学的に許容できる塩は、従来の化学的方法によって、塩基性または酸性部分を含有する親化合物から合成され得る。一般に、このような塩は、これらの化合物の遊離酸または塩基形態を、水もしくは有機溶媒中、または両者の混合物中で、化学量論量の適切な塩基または酸と反応させることによって調製され得；一般に、エーテル、酢酸エチル、エタノール、イソプロパノール、またはアセトニトリルのような非水性媒体が好ましい。好適な塩の一覧は、「レミントンの薬学の科学 (Remington's Pharmaceutical Sciences)」、第17版、マック・パブリッシング・カンパニー (Mack Publishing Company)、ペンシルベニア州イーストン (Easton, Pa.)、1985、p. 1418、「製剤用塩：特性、選択、および使用 (Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use)」、P. H. スタール (P. H. Stahl) および C. G. ワームス (C. G. Wermuth) (編)、ワイリー - VCH (Wiley - VCH)、2008、およびバーゲ (Berge) ら著、ジャーナル・オブ・ファーマシューティカル・サイエンス (Journal of Pharmaceutical Science)、66、1~19 (1977) (これらのそれぞれは、全体が参照により本明細書に援用される) に見出される。

10

20

【0217】

本明細書において使用される際、「リン脂質」は、ホスフェート部分および1つ以上の炭素鎖、例えば、不飽和脂肪酸鎖を含む脂質である。リン脂質は、1つ以上の多重（例えば、二重または三重）結合（例えば、1つ以上の不飽和）を含み得る。特定のリン脂質は、膜への融合を促進し得る。例えば、カチオン性リン脂質は、膜（例えば、細胞膜または細胞内膜）の1つ以上の負に帯電したリン脂質と相互作用し得る。膜へのリン脂質の融合は、脂質含有組成物の1つ以上の要素が、膜を通過することを可能にし、例えば、細胞への当該1つ以上の要素の送達を可能にする。

【0218】

30

本明細書において使用される際、「多分散指数」は、系の粒径分布の均一性を表す比率である。例えば、0.3未満の小さい値は、狭い粒径分布を示す。

【0219】

本明細書において使用される際、「ポリペプチド」または「目的のポリペプチド」という用語は、天然でまたは合成で生成（例えば、単離または精製）され得るペプチド結合によって典型的に結合されるアミノ酸残基のポリマーを指す。

【0220】

本明細書において使用される際、「RNA」は、天然に存在するかまたは天然に存在しないリボ核酸を指す。例えば、RNAは、1つ以上の核酸塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド、またはリンカーなどの修飾されたおよび/または天然に存在しない成分を含み得る。RNAは、キャップ構造、鎖終止ヌクレオシド、ステムループ、ポリA配列、および/またはポリアデニル化シグナルを含み得る。RNAは、目的のポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を有し得る。例えば、RNAは、メッセンジャーRNA (mRNA) であり得る。特定のポリペプチドをコードするmRNAの翻訳、例えば、哺乳動物細胞内のmRNAのインビボ翻訳は、コードされたポリペプチドを生成し得る。RNAは、低分子干渉RNA (siRNA)、非対称干渉RNA (aiRNA)、マイクロRNA (miRNA)、ダイサー基質RNA (dsRNA)、小ヘアピンRNA (shRNA)、mRNA、一本鎖ガイドRNA (sgRNA)、cas9 mRNA、およびそれらの混合物からなる非限定的な群から選択され得る。

40

【0221】

50

本明細書において使用される際、「単一単位用量」は、1用量/1回/単一経路/単一接点、すなわち、単回の投与イベントで投与される任意の治療薬の用量である。

【0222】

本明細書において使用される際、「分割用量」は、単一単位用量または1日総用量を2つ以上の用量に分割することである。

【0223】

本明細書において使用される際、「1日総用量」は、24時間の期間に投与または処方される量である。それは、単一単位用量として投与され得る。

【0224】

本明細書において使用される際、ナノ粒子組成物に関して「サイズ」または「平均サイズ」は、ナノ粒子組成物の平均直径を指す。

10

【0225】

本明細書において使用される際、「対象」または「患者」という用語は、例えば、実験、診断、予防薬、および/または治療目的で本開示に係る組成物が投与され得るいずれかの生物を指す。典型的な対象としては、動物（例えば、マウス、ラット、ウサギ、非ヒト霊長類、およびヒトなどの哺乳動物）および/または植物が挙げられる。

【0226】

本明細書において使用される際、「標的細胞」は、任意の1つ以上の目的の細胞を指す。細胞は、インビトロ、インビボ、インサイチュ、または生物の組織もしくは器官において見出され得る。生物は、動物、好ましくは哺乳動物、より好ましくはヒト、最も好ましくは患者であり得る。

20

【0227】

本明細書において使用される際、「標的組織」は、治療薬および/または予防薬の送達、所望の生物学および/または薬理学的効果をもたらす任意の1つ以上の目的の組織タイプを指す。目的の標的組織の例としては、特定の組織、器官、およびその系または群が挙げられる。特定の用途において、標的組織は、腎臓、肺、脾臓、血管の血管内皮（例えば、冠動脈内または大腿骨内）、または腫瘍組織（例えば、腫瘍内投与によって）であり得る。「標的以外の組織」は、コードされたタンパク質の発現が、所望の生物学および/または薬理学的効果をもたらさない任意の1つ以上の組織タイプを指す。特定の用途において、標的以外の組織は、肝臓および脾臓を含み得る。

30

【0228】

「治療剤」または「予防剤」という用語は、対象に投与されると、治療、診断、および/または予防効果を有する、および/または所望の生物学および/または薬理学的効果を引き起こす任意の薬剤を指す。治療剤は、「活性物質 (active)」または「活性剤」とも呼ばれる。このような薬剤としては、限定はされないが、細胞毒素、放射性イオン、化学療法剤、小分子薬剤、タンパク質、および核酸が挙げられる。

【0229】

本明細書において使用される際、「治療有効量」という用語は、感染症、疾患、障害、および/または病態に罹患しているか、または罹患しやすい対象に投与されると、感染症、疾患、障害、および/または病態を治療する、その症状を改善する、診断する、予防する、および/またはその開始を遅延させるのに十分な送達される薬剤（例えば、核酸、薬剤、組成物、治療剤、診断剤、予防薬など）の量を意味する。

40

【0230】

本明細書において使用される際、「トランスフェクション」は、種（例えば、RNA）を細胞に導入することを指す。トランスフェクションは、例えば、インビトロ、エクスピボ、またはインビボで行われ得る。

【0231】

本明細書において使用される際、「治療する」という用語は、特定の感染症、疾患、障害、および/または病態の1つ以上の症状または特徴の部分的もしくは完全な緩和、回復、改善、軽減、その開始の遅延、その進行の阻害、その重症度の軽減、および/またはそ

50

の発生率の低下を指す。例えば、癌を「治療する」ことは、腫瘍の生存、成長、および／または広がり、の阻害を指し得る。治療は、疾患、障害、および／または病態に関連する病変を発症するリスクを低減する目的で、疾患、障害、および／または病態の兆候を示していない対象および／または疾患、障害、および／または病態の初期兆候しか示していない対象に投与され得る。

【 0 2 3 2 】

本明細書において使用される際、「ゼータ電位」は、例えば、粒子組成物中の脂質の運動電位である。

【 0 2 3 3 】

ナノ粒子組成物

本開示はまた、本明細書に記載される 1 つ以上のステロールおよび式 (I)、(I A)、(I B)、(I I)、(I I a)、(I I b)、(I I c)、(I I d)、(I I e)、(I I f) または (I I g) で表される化合物を含む脂質成分を含むナノ粒子組成物を特徴とする。

【 0 2 3 4 】

ある実施形態において、ナノ粒子組成物の最大寸法は、例えば、動的光散乱 (D L S)、透過電子顕微鏡法、走査電子顕微鏡法、または別の方法によって測定されるとき、1 μ m 以下 (例えば、1 μ m、900 nm、800 nm、700 nm、600 nm、500 nm、400 nm、300 nm、200 nm、175 nm、150 nm、125 nm、100 nm、75 nm、50 nm、またはそれ以下) である。ナノ粒子組成物は、例えば、脂質ナノ粒子 (L N P)、リポソーム、脂質小胞、およびリポブレンクスを含む。ある実施形態において、ナノ粒子組成物は、1 つ以上の脂質二重層を含む小胞である。特定の実施形態において、ナノ粒子組成物は、水性区画によって隔てられた 2 つ以上の同心二重層を含む。脂質二重層は、互いに官能化および／または架橋され得る。脂質二重層は、1 つ以上のリガンド、タンパク質、またはチャネルを含み得る。

【 0 2 3 5 】

ナノ粒子組成物は、式 (I)、(I A)、(I B)、(I I)、(I I a)、(I I b)、(I I c)、(I I d)、(I I e)、(I I f) または (I I g) で表される少なくとも 1 つの化合物を含む脂質成分を含む。例えば、ナノ粒子組成物の脂質成分は、化合物 1 ~ 280 のうちの 1 つ以上を含み得る。ナノ粒子組成物は、様々な他の成分も含み得る。例えば、ナノ粒子組成物の脂質成分は、式 (I)、(I A)、(I B)、(I I)、(I I a)、(I I b)、(I I c)、(I I d)、(I I e)、(I I f) または (I I g) で表される脂質に加えて、1 つ以上の他の脂質を含み得る。

【 0 2 3 6 】

カチオン性 / イオン性脂質

ナノ粒子組成物は、式 (I)、(I A)、(I B)、(I I)、(I I a)、(I I b)、(I I c)、(I I d)、(I I e)、(I I f) または (I I g) で表される脂質に加えて、1 つ以上のカチオン性および／またはイオン性脂質 (例えば、生理学的 pH で正電荷または部分正電荷を有し得る脂質) を含み得る。カチオン性および／またはイオン性脂質は、3 - (ジドデシルアミノ) - N 1, N 1, 4 - トリドデシル - 1 - ピペラジニエタンアミン (K L 1 0)、N 1 - [2 - (ジドデシルアミノ) エチル] - N 1, N 4, N 4 - トリドデシル - 1, 4 - ピペラジニエタンアミン (K L 2 2)、1 4, 2 5 - ジトリドデシル - 1 5, 1 8, 2 1, 2 4 - テトラアザ - オクタトリアコンタン (K L 2 5)、1, 2 - ジリノレイルオキシ - N, N - ジメチルアミンプロパン (D L i n - D M A)、2, 2 - ジリノレイル - 4 - ジメチルアミノメチル - [1, 3] - ジオキソラン (D L i n - K - D M A)、ヘプタトリアコンタ - 6, 9, 2 8, 3 1 - テトラエン - 1 9 - イル 4 - (ジメチルアミノ) プタノエート (D L i n - M C 3 - D M A)、2, 2 - ジリノレイル - 4 - (2 - ジメチルアミノエチル) - [1, 3] - ジオキソラン (D L i n - K C 2 - D M A)、1, 2 - ジオレイルオキシ - N, N - ジメチルアミンプロパン (D O D M A)、2 - ({ 8 - [(3) - コレスタ - 5 - エン - 3 - イルオキシ] オクチル } オキ

10

20

30

40

50

シ) - N, N - ジメチル - 3 - [(9 Z , 1 2 Z) - オクタデカ - 9 , 1 2 - ジエン - 1 - イルオキシ] プロパン - 1 - アミン (オクチル - C L i n D M A) 、 (2 R) - 2 - ({ 8 - [(3) - コレスタ - 5 - エン - 3 - イルオキシ] オクチル } オキシ) - N , N - ジメチル - 3 - [(9 Z , 1 2 Z) - オクタデカ - 9 , 1 2 - ジエン - 1 - イルオキシ] プロパン - 1 - アミン (オクチル - C L i n D M A (2 R)) 、 および (2 S) - 2 - ({ 8 - [(3) - コレスタ - 5 - エン - 3 - イルオキシ] オクチル } オキシ) - N , N - ジメチル - 3 - [(9 Z , 1 2 Z) - オクタデカ - 9 , 1 2 - ジエン - 1 - イルオキシ] プロパン - 1 - アミン (オクチル - C L i n D M A (2 S)) からなる非限定的な群から選択され得る。これらに加えて、カチオン性脂質はまた、環状アミン基を含む脂質であり得る。

10

【 0 2 3 7 】

カチオン性および/またはイオン性脂質は、

1 - リノレオイル - 2 - リノレイルオキシ - 3 - ジメチルアミノプロパン (D L i n - 2 - D M A P) 、

1 , 2 - ジリノレイルカルバモイルオキシ - 3 - ジメチルアミノプロパン (D L i n - C - D A P) 、

1 , 2 - ジリノレオイル - 3 - ジメチルアミノプロパン (D L i n - D A P) 、

1 , 2 - ジリノレイルオキシ - N , N - ジメチルアミノプロパン (D L i n - D M A) 、

2 , 2 - ジリノレイル - 4 - ジメチルアミノメチル - [1 , 3] - ジオキソラン (D L i n - K - D M A) 、

20

2 , 2 - ジリノレイル - 4 - (2 - ジメチルアミノエチル) - [1 , 3] - ジオキソラン (D L i n - K C 2 - D M A) 、

(6 Z , 9 Z , 2 8 Z , 3 1 Z) - ヘプタトリアコンタ - 6 , 9 , 2 8 , 3 1 - テトラエン - 1 9 - イル 4 - (ジメチルアミノ) ブタノエート (D L i n - M C 3 - D M A) 、

1 , 2 - ジオレオイル - 3 - ジメチルアンモニウムプロパン (D O D A P) 、

N , N - ジメチル - (2 , 3 - ジオレイルオキシ) プロピルアミン (D O D M A) 、

ジオクタデシルアミドグリシルカルボキシスベルミン (D O G S) 、

スベルミンコレステリルカルバメート (G L - 6 7) 、

ビス - グアニジニウム - スベルミジン - コレステロール (B G T C) 、

3 - (N - (N ' , N ' - ジメチルアミノエタン) - カルバモイル) コレステロール (D C - C h o l) 、

30

1 , 1 ' - (2 - (4 - (2 - ((2 - (ビス (2 - ヒドロキシドデシル) アミノ) エチル) (2 - ヒドロキシドデシル) アミノ) エチル) ピペラジン - 1 - イル) エチルアザンジイル) ジドデカン - 2 - オール (C 1 2 - 2 0 0) 、

N - t - ブチル - N ' - テトラデシルアミノ - プロピオンアミジン (ジ C 1 4 - アミジン)

、

ジメチルジオクタデシルアンモニウムブロミド (D D A B) 、

N - (1 , 2 - ジミリスチルオキシプロパ - 3 - イル) - N , N - ジメチル - N - ヒドロキシエチルアンモニウムブロミド (D M R I E) 、

N , N - ジオレイル - N , N - ジメチルアンモニウムクロリド (D O D A C) 、

40

ジオレイルオキシプロピル - 3 - ジメチルヒドロキシエチルアンモニウムブロミド (D O R I E) 、

N - (1 - (2 , 3 - ジオレイルオキシ) プロピル) - N - 2 - (スベルミンカルボキサミド) エチル) - N , N - ジメチルアンモニウムトリフルオロアセテート (D O S P A) 、

1 , 2 - ジオレオイルトリメチルアンモニウムプロパンクロリド (D O T A P) 、

N - (1 - (2 , 3 - ジオレイルオキシ) プロピル) - N , N , N - トリメチルアンモニウムクロリド (D O T M A) 、

アミノプロピル - ジメチル - ビス (ドデシルオキシ) - プロパンアミニウムブロミド (G A P - D L R I E) 、

50

1, 2 - ジオレオイル - sn - 3 - ホスホエタノールアミン (「D O P E」)、およびそれらの組合せからなる非限定的な群から選択されてもよい。

【0238】

PEG脂質

ナノ粒子組成物の脂質成分は、1つ以上のPEGまたはPEG修飾脂質を含み得る。このような種は、あるいは、PEG化脂質と呼ばれる。PEG脂質は、ポリエチレングリコールで修飾された脂質である。PEG脂質は、PEG修飾ホスファチジルエタノールアミン、PEG修飾ホスファチジン酸、PEG修飾セラミド(PEG-CER)、PEG修飾ジアルキルアミン、PEG修飾ジアシルグリセロール(PEG-DAG)、PEG修飾ジアルキルグリセロール、およびそれらの混合物からなる非限定的な群から選択され得る。例えば、PEG脂質は、PEG-c-DOMG、PEG-DMG、PEG-DLPE、PEG-DMPE、PEG-DPPC、またはPEG-DSPC脂質であり得る。

10

【0239】

ステロール

ナノ粒子組成物の脂質成分は、1つ以上のステロール、例えば、本明細書に開示されるものを含み得る。ある実施形態において、組成物は、コレステロールおよびフィトステロールを含む。ある実施形態において、組成物は、コレステロールおよびトコフェロールを含む。ある実施形態において、組成物は、フィトステロールおよびトコフェロールを含む。ある実施形態において、組成物は、コルチコステロイド(プレドニゾロン、デキサメタゾン、プレドニゾン、およびヒドロコルチゾンなど)をさらに含む。

20

【0240】

ある実施形態において、界面活性剤は、約1000ダルトン~約20,000ダルトンのサイズを有するPEG部分である。

【0241】

ある実施形態において、界面活性剤は、PEG-ジアシルグリセロール(PEG-DAG)、PEG-セラミド(PEG-CER)、またはPEG-ジアルキルグリセロールである。

【0242】

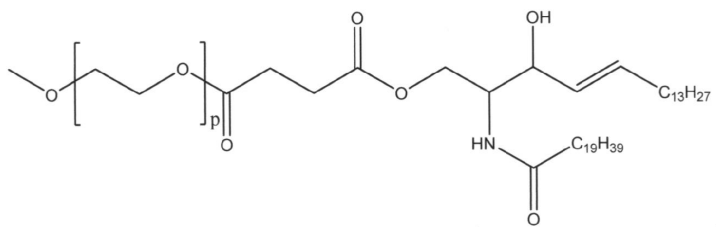
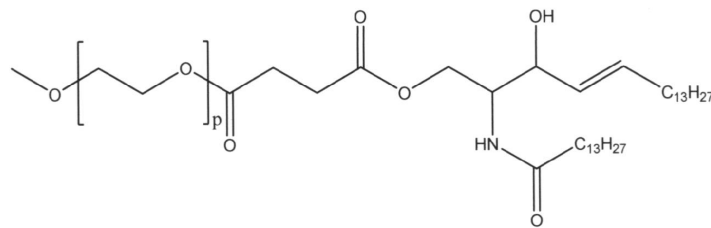
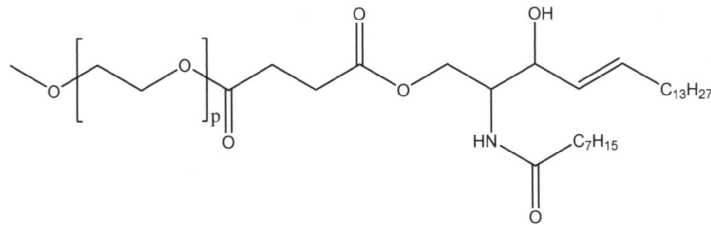
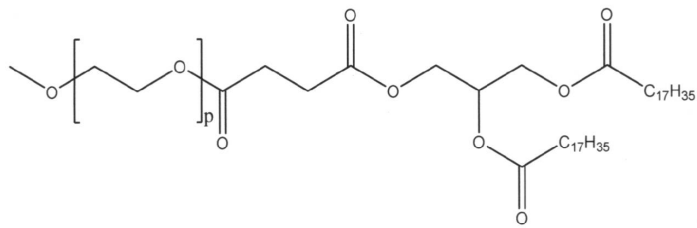
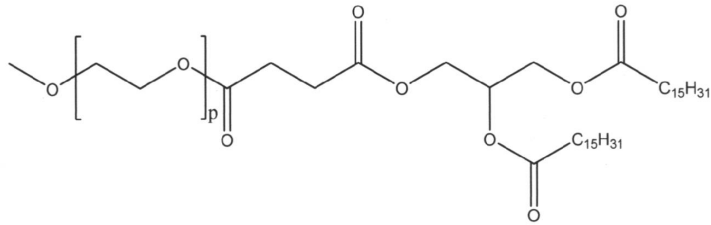
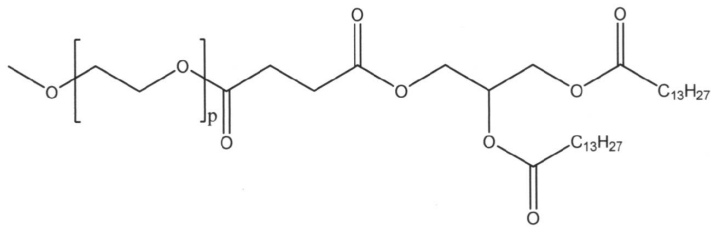
ある実施形態において、PEG脂質は、

30

40

50

【化 5 7 - 1】



10

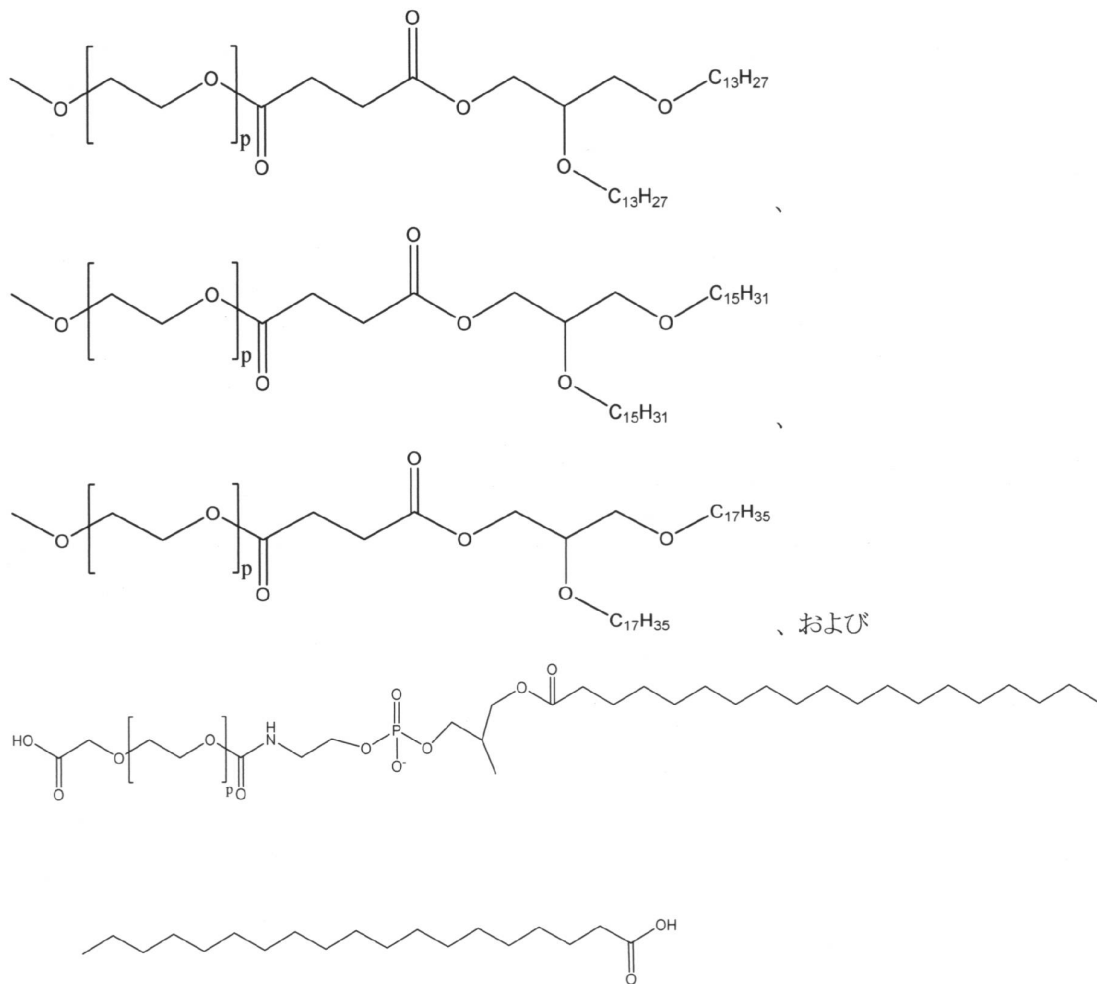
20

30

40

50

【化 5 7 - 2】



(式中、 p は 1 ~ 40 である) から選択される。

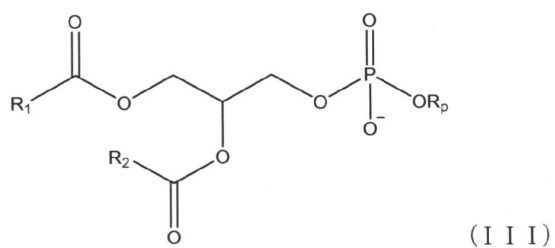
30

【0 2 4 3】

リン脂質

ナノ粒子組成物の脂質成分は、1つ以上の(ポリ)不飽和脂質などの1つ以上のリン脂質を含み得る。リン脂質は、集合して1つ以上の脂質二重層になり得る。一般に、リン脂質は、リン脂質部分および1つ以上の脂肪酸部分を含み得る。例えば、リン脂質は、式(I I I)：

【化 5 8】



40

(式中、 R_p が、リン脂質部分を表し、 R_1 および R_2 が、同じかまたは異なり得る不飽和を含むかまたは含まない脂肪酸部分を表す) で表される脂質であり得る。リン脂質部分は、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、ホスファチジルグリセロール

50

ル、ホスファチジルセリン、ホスファチジン酸、2-リゾホスファチジルコリン、およびスフィンゴミエリンからなる非限定的な群から選択され得る。脂肪酸部分は、ラウリン酸、ミリスチン酸、ミリストレイン酸、パルミチン酸、パルミトレイン酸、ステアリン酸、オレイン酸、リノール酸、 α -リノレン酸、エルカ酸、フィタン酸、アラキジン酸、アラキドン酸、エイコサペンタエン酸、ベヘン酸、ドコサペンタエン酸、およびドコサヘキサエン酸からなる非限定的な群から選択され得る。分枝、酸化、環化、およびアルキンを含む、修飾および置換を含む天然種を含む非天然種も考えられる。例えば、リン脂質は、1つ以上のアルキンと官能化されるかまたはそれに架橋され得る（例えば、1つ以上の二重結合が三重結合で置換されたアルケニル基）。適切な反応条件下で、アルキン基が、アジドに曝露されると、銅触媒付加環化を起こし得る。このような反応は、膜透過または細胞認識を促進するためにナノ粒子組成物の脂質二重層を官能化するか、またはナノ粒子組成物を、標的化またはイメージング部分などの有用な成分（例えば、色素）に結合するのに有用であり得る。

10

【0244】

本発明の組成物および方法に有用なリン脂質は、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DSPC: 1,2-distearoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)、1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(DOPE: 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine)、1,2-ジリノレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DLPC: 1,2-dilinoleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)、1,2-ジミリストイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DMPC: 1,2-dimyristoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)、1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DOPC: 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)、1,2-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DPPC: 1,2-dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)、1,2-ジウンデカノイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DUPC: 1,2-diundecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)、1-パルミトイル-2-オレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(POPC: 1-palmitoyl-2-oleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine)、1,2-ジ-O-オクタデセニル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(18:0ジエーテルPC)、1-オレオイル-2-コレステリルヘミスクシノイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(OChemSPC)、1-ヘキサデシル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(C16 Lyso PC)、1,2-ジリノレノイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、1,2-ジアラキドノイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、1,2-ジドコサヘキサエノイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン、1,2-ジフィタノイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(ME 16.0 PE)、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン、1,2-ジリノレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン、1,2-ジリノレノイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン、1,2-ジアラキドノイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン、1,2-ジドコサヘキサエノイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン、1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホ-rac-(1-グリセロール)ナトリウム塩(DOPG)、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール(DPPG)、パルミトイルオレオイルホスファチジルエタノールアミン(POPE)、ジステアロイル-ホスファチジル-エタノールアミン(DSPE)、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン(DPPE)、ジミリストイルホスホエタノールアミン(DMPE)、1-ステアロイル-2-オレオイル-ホスファチジルエタノールアミン(SOPE)、1-ステアロイル-2-オレオイル-ホスファチジルコリン(SOPC)、スフィンゴミエリン、ホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、

20

30

40

50

ホスファチジン酸、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン、リゾホスファチジルコリン、リゾホスファチジエタノールアミン（LPE）からなる非限定的な群から選択され得る。ある実施形態において、ナノ粒子組成物は、DSPCを含む。特定の実施形態において、ナノ粒子組成物は、DOPEを含む。ある実施形態において、ナノ粒子組成物は、DSPCおよびDOPEの両方を含む。

【0245】

補助剤

ある実施形態において、1つ以上の本明細書に記載される脂質を含むナノ粒子組成物は、1つ以上の補助剤、例えば、グルコピラノシル脂質補助剤（GLA）、CpGオリゴデオキシヌクレオチド（例えば、クラスAまたはB）、ポリ（I：C）、水酸化アルミニウム、およびPam3CSK4をさらに含み得る。

10

【0246】

治療剤

ナノ粒子組成物は、1つ以上の治療薬および/または予防薬を含み得る。本開示は、治療薬および/または予防薬を、哺乳動物細胞または器官に送達し、哺乳動物細胞内で目的のポリペプチドを生成し、必要とする哺乳動物における疾患または障害を治療する方法であって、治療薬および/または予防薬を含むナノ粒子組成物を哺乳動物に投与するか、および/または治療薬および/または予防薬を含むナノ粒子組成物と哺乳動物細胞を接触させることを含む方法の特徴とする。ある実施形態において、治療剤は、ナノ粒子内に封入される。

20

【0247】

治療薬および/または予防薬は、生物学的活性物質を含み、あるいは、「活性剤」と呼ばれる。治療薬および/または予防薬は、細胞または器官に送達されると、細胞、器官、または他の身体組織もしくは系に望ましい変化をもたらす物質であり得る。このような種は、1つ以上の疾患、障害、または病態の治療に有用であり得る。ある実施形態において、治療薬および/または予防薬は、特定の疾患、障害、または病態の治療に有用な小分子薬剤である。ナノ粒子組成物に有用な薬剤の例としては、限定はされないが、抗腫瘍薬（例えば、ピンクリスチン、ドキソルビシン、ミトキサントロン、カンプトテシン、シスプラチン、プレオマイシン、シクロホスファミド、メトトレキサート、およびストレプトゾトシン）、抗腫瘍薬（例えば、アクチノマイシンD、ピンクリスチン、ピンブラスチン、シトシンアラビノシド、アントラサイクリン、アルキル化剤、白金化合物、代謝拮抗剤、およびヌクレオシド類似体、例えば、メトトレキサートおよびプリンおよびピリミジン類似体）、抗感染症薬、局所麻酔薬（例えば、ジブカインおよびクロルプロマジン）、アドレナリン遮断薬（例えば、プロプラノロール、チモロール、およびラベタロール）、降圧薬（例えば、クロニジンおよびヒドララジン）、抗鬱薬（例えば、イミプラミン、アミトリプチリン、およびドキセピン）、抗けいれん薬（例えば、フェニトイン）、抗ヒスタミン剤（例えば、ジフェニルヒドラミン、クロルフェニラミン、およびプロメタジン）、抗生物質/抗菌剤（例えば、ゲンタマイシン、シプロフロキサシン、およびセフォキシチン）、抗真菌薬（例えば、ミコナゾール、テルコナゾール、エコナゾール、イソコナゾール、ブトコナゾール、クロトリマゾール、イトラコナゾール、ナイスタチン、ナフチフィン、およびアムホテリシンB）、抗寄生虫薬、ホルモン、ホルモン拮抗薬、免疫調節剤、神経伝達物質拮抗薬、抗緑内障薬、ビタミン、麻酔薬、およびイメージング剤が挙げられる。

30

40

【0248】

ある実施形態において、治療薬および/または予防薬は、細胞毒素、放射性イオン、化学療法剤、ワクチン、免疫応答を引き起こす化合物、および/または別の治療薬および/または予防薬である。細胞毒素または細胞毒性剤は、細胞に有害であり得る任意の薬剤を含む。例としては、限定はされないが、タキソール、サイトカラシンB、グラミシジンD、臭化エチジウム、エメチン、マイトマイシン、エトポシド、テニポシド、ピンクリスチン、ピンブラスチン、コルヒチン、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ジヒドロキシアン

50

トラセンジオン、ミトキサントロン、ミトラマイシン、アクチノマイシンD、1-デヒドロテストステロン、糖質コルチコイド、プロカイン、テトラカイン、リドカイン、プロプラノロール、ピューロマイシン、マイタンシノイド、例えば、マイタンシノール、ラケルマイシン(CC-1065)、およびそれらの類似体または同族体が挙げられる。放射性イオンとしては、限定はされないが、ヨウ素(例えば、ヨウ素125またはヨウ素131)、ストロンチウム89、リン、パラジウム、セシウム、イリジウム、スフェート、コバルト、イットリウム90、サマリウム153、およびプラセオジウムが挙げられる。ワクチンは、インフルエンザ、麻疹、ヒトパピローマウイルス(HPV)、狂犬病、髄膜炎、百日咳、破傷風、ペスト、肝炎、および結核などの感染症に関連する1つ以上の病態に対して免疫を与えることが可能な化合物および製剤を含み、感染症に由来する抗原および/またはエピトープをコードするmRNAを含み得る。ワクチンは、癌細胞に対して免疫応答を指令し、腫瘍細胞に由来する抗原、エピトープ、および/またはネオエピトープをコードするmRNAを含み得る化合物および製剤も含む。免疫応答を引き起こす化合物は、ワクチン、コルチコステロイド(例えば、デキサメタゾン)、および他の種を含み得る。ある実施形態において、ワクチンおよび/または免疫応答を引き起こすことが可能な化合物は、式(I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIE)、(IIf)または(IIg)で表される化合物(例えば、化合物3、18、20、25、26、29、30、60、108~112、または122)を含む組成物を介して、筋肉内投与される。他の治療薬および/または予防薬としては、限定はされないが、代謝拮抗剤(例えば、メトトレキサート、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、シタラビン、5-フルオロウラシルダカルバジン)、アルキル化剤(例えば、メクロレタミン、チオテバクロラムブシル、ラケルマイシン(CC-1065)、メルファラン、カルムスチン(BSNU)、ロムスチン(CCNu)、シクロホスファミド、ブスルファン、ジブロモマンニトール、ストレプトゾトシン、マイトマイシンC、およびシス-ジクロロジアミン白金(II)(DDP)シスプラチン)、アントラサイクリン(例えば、ダウノルピシン(以前はダウノマイシン)およびドキソルピシン)、抗生物質(例えば、ダクチノマイシン(以前はアクチノマイシン)、ブレオマイシン、ミトラマイシン、およびアントラマイシン(AMC))、および抗有糸分裂剤(例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチン、タキソールおよびマイタンシノイド)が挙げられる。

【0249】

他の実施形態において、治療薬および/または予防薬は、タンパク質である。本開示のナノ粒子に有用な治療用タンパク質としては、限定はされないが、ゲンタマイシン、アミカシン、インスリン、エリスロポエチン(EPO)、顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)、顆粒球-マクロファージコロニー刺激因子(GM-CSF)、第VIR因子、黄体形成ホルモン放出ホルモン(LHRH)類似体、インターフェロン、ヘパリン、B型肝炎表面抗原、腸チフスワクチン、およびコレラワクチンが挙げられる。

【0250】

ポリヌクレオチドおよび核酸

ある実施形態において、治療剤は、ポリヌクレオチドまたは核酸(例えば、リボ核酸またはデオキシリボ核酸)である。「ポリヌクレオチド」という用語は、その最も広い意味で、オリゴヌクレオチド鎖であるか、またはそれに組み込むことができる任意の化合物および/または物質を含む。本開示にしたがって使用するための例示的なポリヌクレオチドとしては、限定はされないが、デオキシリボ核酸(DNA)、メッセンジャーmRNA(mRNA)を含むリボ核酸(RNA)、そのハイブリッド、RNAi誘導剤、RNAi剤、siRNA、shRNA、miRNA、アンチセンスRNA、リボザイム、触媒DNA、三重らせん形成を誘導するRNA、アプタマー、ベクターなどのうちの1つ以上が挙げられる。ある実施形態において、治療薬および/または予防薬は、RNAである。本明細書に記載される組成物および方法に有用なRNAは、限定はされないが、ショートマ(shortmer)、アンタゴマー(antagomir)、アンチセンス、リボザイム、低分子干渉RNA(siRNA)、非対称干渉RNA(aiRNA)、マイクロRNA(m

iRNA)、ダイサー基質RNA(dsRNA)、小ヘアピンRNA(shRNA)、転移RNA(tRNA)、メッセンジャーRNA(mRNA)、およびそれらの混合物からなる群から選択され得る。特定の実施形態において、RNAは、mRNAである。

【0251】

特定の実施形態において、治療薬および/または予防薬は、mRNAである。mRNAは、任意の天然または非天然あるいは修飾ポリペプチドを含む、任意の目的のポリペプチドをコードし得る。mRNAによってコードされるポリペプチドは、任意のサイズのものであってもよく、任意の二次構造または活性を有し得る。ある実施形態において、mRNAによってコードされるポリペプチドは、細胞において発現されると、治療効果を有し得る。

10

【0252】

他の実施形態において、治療薬および/または予防薬は、siRNAである。siRNAは、目的の遺伝子の発現を選択的にノックダウンするかまたは下方制御することが可能であり得る。例えば、siRNAは、siRNAを含むナノ粒子組成物を、必要とする対象に投与すると、特定の疾患、障害、または病態と関連する遺伝子をサイレンシングするように選択され得る。siRNAは、目的の遺伝子またはタンパク質をコードするmRNA配列に相補的な配列を含み得る。ある実施形態において、siRNAは、免疫調節siRNAであり得る。

【0253】

特定の実施形態において、治療薬および/または予防薬は、sgRNAおよび/またはcas9 mRNAである。sgRNAおよび/またはcas9 mRNAは、遺伝子編集ツールとして使用され得る。例えば、sgRNA-cas9複合体は、細胞遺伝子のmRNA翻訳に影響を与え得る。

20

【0254】

ある実施形態において、治療薬および/または予防薬は、shRNAまたはそれをコードするベクターもしくはプラスミドである。shRNAは、適切な構築物が核に送達されると、標的細胞の内部で生成され得る。shRNAに関連する構築物および機構は、従来分野において周知である。

【0255】

本開示に有用な核酸およびポリヌクレオチドは、典型的に、目的のポリペプチドをコードする連結ヌクレオチドの第1の領域(例えば、コード領域)、第1の領域の5'末端に位置する第1のフランキング領域(例えば、5'-UTR)、第1の領域の3'末端に位置する第2のフランキング領域(例えば、3'-UTR)、少なくとも1つの5'-キャップ領域、および3'-安定化領域を含む。ある実施形態において、核酸またはポリヌクレオチドは、ポリ-A領域またはコザック配列(例えば、5'-UTR中に)をさらに含む。ある場合には、ポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドから切り取られることが可能な1つ以上のイントロンヌクレオチド配列を含有し得る。ある実施形態において、ポリヌクレオチドまたは核酸(例えば、mRNA)は、5'キャップ構造、鎖終止ヌクレオチド、ステムループ、ポリA配列、および/またはポリアデニル化シグナルを含み得る。核酸の領域のいずれか1つが、1つ以上の改変成分(例えば、改変ヌクレオチド)を含み得る。例えば、3'-安定化領域は、改変ヌクレオチド、例えば、L-ヌクレオチド、逆方向チミジン、または2'-O-メチルヌクレオチドを含有してもよく、および/またはコード領域、5'-UTR、3'-UTR、またはキャップ領域は、改変ヌクレオチド、例えば、5-置換ウリジン(例えば、5-メトキシウリジン)、1-置換プソイドウリジン(例えば、1-メチル-プソイドウリジンまたは1-エチル-プソイドウリジン)、および/または5-置換シチジン(例えば、5-メチル-シチジン)を含み得る。

30

40

【0256】

一般に、ポリヌクレオチドの最も短い長さは、ジペプチドをコードするのに十分なポリヌクレオチド配列の長さであり得る。別の実施形態において、ポリヌクレオチド配列の長さは、トリペプチドをコードするのに十分である。別の実施形態において、ポリヌクレオ

50

チド配列の長さは、テトラペプチドをコードするのに十分である。別の実施形態において、ポリヌクレオチド配列の長さは、ペンタペプチドをコードするのに十分である。別の実施形態において、ポリヌクレオチド配列の長さは、ヘキサペプチドをコードするのに十分である。別の実施形態において、ポリヌクレオチド配列の長さは、ヘプタペプチドをコードするのに十分である。別の実施形態において、ポリヌクレオチド配列の長さは、オクタペプチドをコードするのに十分である。別の実施形態において、ポリヌクレオチド配列の長さは、ノナペプチドをコードするのに十分である。別の実施形態において、ポリヌクレオチド配列の長さは、デカペプチドをコードするのに十分である。

【0257】

改変ポリヌクレオチド配列がコードすることができるジペプチドの例としては、限定はされないが、カルノシンおよびアンセリンが挙げられる。

10

【0258】

ある場合には、ポリヌクレオチドは、30ヌクレオチドを超える長さである。別の実施形態において、ポリヌクレオチド分子は、35ヌクレオチドを超える長さである。別の実施形態において、長さは、少なくとも40ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも45ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも55ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも60ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも80ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも90ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも100ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも120ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも140ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも160ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも180ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも200ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも250ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも300ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも350ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも400ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも450ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも500ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも600ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも700ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも800ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも900ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1000ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1100ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1200ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1300ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1400ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1500ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1600ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1800ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも2000ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも2500ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも3000ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも4000ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも5000ヌクレオチド、または5000ヌクレオチド超である。

20

30

40

【0259】

核酸およびポリヌクレオチドは、標準ヌクレオチドA（アデノシン）、G（グアノシン）、C（シトシン）、U（ウリジン）、またはT（チミジン）のいずれかを含む1つ以上の天然成分を含み得る。一実施形態において、(a) 5' - UTR、(b) オープンリーディングフレーム(ORF)、(c) 3' - UTR、(d) ポリA尾部および(上記のa、b

50

、c、またはd)の任意の組合せを含むヌクレオチドの全てまたは実質的に全てが、天然成分の標準ヌクレオチドA(アデノシン)、G(グアノシン)、C(シトシン)、U(ウリジン)、またはT(チミジン)を含む。

【0260】

核酸およびポリヌクレオチドは、向上した安定性および/またはポリヌクレオチドが導入される細胞の自然免疫応答の実質的な誘導がないことを含む有用な特性を与える、本明細書に記載される1つ以上の改変成分を含み得る。例えば、改変ポリヌクレオチドまたは核酸は、対応する非改変ポリヌクレオチドまたは核酸と比べて、ポリヌクレオチドまたは核酸が導入される細胞における減少した分解を示す。これらの改変種は、タンパク質産生の効率性、ポリヌクレオチドの細胞内貯留、および/または接触される細胞の生存率を向上させることができるだけでなく、減少した免疫原性を有する。

10

【0261】

ポリヌクレオチドおよび核酸は、天然または非天然であり得る。ポリヌクレオチドおよび核酸は、1つ以上の修飾(例えば、改変(altered)または改変(alternative))核酸塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド、またはそれらの組合せを含み得る。ナノ粒子組成物に有用な核酸およびポリヌクレオチドは、核酸塩基、糖、またはヌクレオシド間結合(例えば、連結ホスフェート/ホスホジエステル結合/ホスホジエステル骨格)に対するものなどの任意の有用な修飾または改変を含み得る。特定の実施形態において、改変(例えば、1つ以上の改変)は、核酸塩基、糖、およびヌクレオシド間結合のそれぞれに存在する。本開示に係る改変は、リボ核酸(RNA)のデオキシリボ核酸(DNA)(例えば、リボフラノシル環の2'-OHの2'-Hへの置換)、トレオース核酸(TNA)、グリコール核酸(GNA)、ペプチド核酸(PNA)、ロックド核酸(LNA)、またはそのハイブリッドへの改変であり得る。さらなる改変が、本明細書に記載される。

20

【0262】

ポリヌクレオチドおよび核酸は、分子の全長に沿って均一に改変されても、または均一に改変されなくてもよい。例えば、1つ以上または全てのタイプのヌクレオチド(例えば、プリンまたはピリミジン、またはA、G、U、Cのいずれか1つ以上または全て)は、ポリヌクレオチドまたは核酸において、またはその所与の所定の配列領域において均一に改変されても、または均一に改変されなくてもよい。ある場合には、ポリヌクレオチド中の全てのヌクレオチドX(またはその所与の配列領域において)が改変され、ここで、Xは、ヌクレオチドA、G、U、Cのいずれか1つ、または組合せA+G、A+U、A+C、G+U、G+C、U+C、A+G+U、A+G+C、G+U+CまたはA+G+Cのいずれか1つであり得る。

30

【0263】

異なる糖改変および/またはヌクレオシド間結合(例えば、骨格構造)は、ポリヌクレオチドの様々な位置に存在し得る。ポリヌクレオチドの機能が実質的に低下されないように、ヌクレオチド類似体または他の改変が、ポリヌクレオチドの任意の位置に位置し得ることが、当業者に理解されよう。改変はまた、5'末端または3'末端改変であり得る。ある実施形態において、ポリヌクレオチドは、3'末端に改変を含む。ポリヌクレオチドは、約1%~約100%の改変ヌクレオチド(全ヌクレオチド含量に対して、または1つ以上のタイプのヌクレオチド、すなわち、A、G、UまたはCのいずれか1つ以上に対して)またはその間の任意のパーセンテージ(例えば、1%~20%、1%~25%、1%~50%、1%~60%、1%~70%、1%~80%、1%~90%、1%~95%、10%~20%、10%~25%、10%~50%、10%~60%、10%~70%、10%~80%、10%~90%、10%~95%、10%~100%、20%~25%、20%~50%、20%~60%、20%~70%、20%~80%、20%~90%、20%~95%、20%~100%、50%~60%、50%~70%、50%~80%、50%~90%、50%~95%、50%~100%、70%~80%、70%~90%、70%~95%、70%~100%、80%~90%、80%~95%、80%~100%

40

50

0 %、90 % ~ 95 %、90 % ~ 100 %、および95 % ~ 100 %) を含有し得る。標準ヌクレオチド (例えば、A、G、U、またはC) の存在が任意の残りのパーセンテージを占めることが理解されよう。

【0264】

ポリヌクレオチドは、最小で0 %および最大で100 %の改変ヌクレオチド、またはその間の任意のパーセンテージ、例えば、少なくとも5 %の改変ヌクレオチド、少なくとも10 %の改変ヌクレオチド、少なくとも25 %の改変ヌクレオチド、少なくとも50 %の改変ヌクレオチド、少なくとも80 %の改変ヌクレオチド、または少なくとも90 %の改変ヌクレオチドを含有し得る。例えば、ポリヌクレオチドは、改変ピリミジン、例えば、改変ウラシルまたはシトシンを含有し得る。ある実施形態において、ポリヌクレオチド中のウラシルの少なくとも5 %、少なくとも10 %、少なくとも25 %、少なくとも50 %、少なくとも80 %、少なくとも90 %または100 %が、改変ウラシル (例えば、5 - 置換ウラシル) で置換される。改変ウラシルは、単一の独自の構造を有する化合物で置換され得、または異なる構造 (例えば、2、3、4またはそれ以上の独自の構造) を有する複数の化合物で置換され得る。ある場合には、ポリヌクレオチド中のシトシンの少なくとも5 %、少なくとも10 %、少なくとも25 %、少なくとも50 %、少なくとも80 %、少なくとも90 %または100 %が、改変シトシン (例えば、5 - 置換シトシン) で置換される。改変シトシンは、単一の独自の構造を有する化合物で置換され得、または異なる構造 (例えば、2、3、4またはそれ以上の独自の構造) を有する複数の化合物で置換され得る。

【0265】

ある場合には、核酸は、ポリヌクレオチド (例えば、mRNA) が導入された細胞の自然免疫応答を実質的に誘導しない。誘導される自然免疫応答の特徴としては、1) 炎症促進性サイトカインの発現の増加、2) 細胞内PRR (RIG-I、MDA5などの活性化、および/または3) タンパク質翻訳の終結または低減が挙げられる。

【0266】

核酸は、他の薬剤 (例えば、RNAi誘導剤、RNAi剤、siRNA、shRNA、miRNA、アンチセンスRNA、リボザイム、触媒DNA、tRNA、三重らせん形成を誘導するRNA、アプタマー、およびベクター) を任意に含み得る。ある実施形態において、核酸は、1つ以上の改変ヌクレオチドまたはヌクレオチド (すなわち、改変mRNA分子) を有する1つ以上のメッセンジャーRNA (mRNA) を含み得る。

【0267】

ある実施形態において、核酸 (例えばmRNA) 分子、それに関連する式、組成物または方法は、国際公開第2002/098443号パンフレット、国際公開第2003/051401号パンフレット、国際公開第2008/052770号パンフレット、国際公開第2009127230号パンフレット、国際公開第2006122828号パンフレット、国際公開第2008/083949号パンフレット、国際公開第2010088927号パンフレット、国際公開第2010/037539号パンフレット、国際公開第2004/004743号パンフレット、国際公開第2005/016376号パンフレット、国際公開第2006/024518号パンフレット、国際公開第2007/095976号パンフレット、国際公開第2008/014979号パンフレット、国際公開第2008/077592号パンフレット、国際公開第2009/030481号パンフレット、国際公開第2009/095226号パンフレット、国際公開第2011069586号パンフレット、国際公開第2011026641号パンフレット、国際公開第2011/144358号パンフレット、国際公開第2012019780号パンフレット、国際公開第2012013326号パンフレット、国際公開第2012089338号パンフレット、国際公開第2012113513号パンフレット、国際公開第2012116811号パンフレット、国際公開第2012116810号パンフレット、国際公開第2013113502号パンフレット、国際公開第2013113501号パンフレット、国際公開第2013113736号パンフレット、国際公開第2013143698号パ

10

20

30

40

50

ンフレット、国際公開第 2 0 1 3 1 4 3 6 9 9 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 3 1 4 3 7 0 0 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 3 / 1 2 0 6 2 6 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 3 1 2 0 6 2 7 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 3 1 2 0 6 2 8 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 3 1 2 0 6 2 9 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 3 1 7 4 4 0 9 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 4 1 2 7 9 1 7 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 5 / 0 2 4 6 6 9 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 5 / 0 2 4 6 6 8 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 5 / 0 2 4 6 6 7 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 5 / 0 2 4 6 6 5 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 5 / 0 2 4 6 6 6 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 5 / 0 2 4 6 6 4 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 5 1 0 1 4 1 5 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 5 1 0 1 4 1 4 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 5 0 2 4 6 6 7 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 5 0 6 2 7 3 8 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 5 1 0 1 4 1 6 号パンフレット（これらは全て、参照により本明細書に援用される）に記載される特徴を含む 1 つ以上のポリヌクレオチドを含む。

10

【 0 2 6 8 】

核酸塩基改変

改変ヌクレオチドおよびヌクレオチドは、改変核酸塩基を含み得る。核酸の核酸塩基は、有機塩基、例えば、プリンまたはピリミジンまたはその誘導体である。核酸塩基は、標準塩基（例えば、アデニン、グアニン、ウラシル、チミン、およびシトシン）であり得る。これらの核酸塩基は、向上した特性、例えば、ヌクレアーゼに対する耐性などの向上した安定性を有するポリヌクレオチド分子を提供するように、改変または完全に置換され得る。非標準または修飾塩基は、例えば、限定はされないが、アルキル、アリール、ハロ、オキソ、ヒドロキシル、アルキルオキシ、および / またはチオ置換； 1 つ以上の縮合環または開環；酸化；および / または還元を含む 1 つ以上の置換または修飾を含み得る。

20

【 0 2 6 9 】

改変ヌクレオチド塩基対形成は、標準アデニン - チミン、アデニン - ウラシル、またはグアニン - シトシン塩基対だけでなく、ヌクレオチドおよび / または非標準または改変塩基を含む改変ヌクレオチド間で形成される塩基対も包含し、水素結合供与体および水素結合受容体の構成が、非標準塩基と標準塩基との間または 2 つの相補的非標準塩基構造間の水素結合を可能にする。このような非標準塩基対形成の一例は、改変ヌクレオチドイノシンおよびアデニン、シトシン、またはウラシル間の塩基対形成である。

30

【 0 2 7 0 】

ある実施形態において、核酸塩基は、改変ウラシルである。改変ウラシルを有する例示的な核酸塩基およびヌクレオチドとしては、プソイドウリジン（ P ）、ピリジン - 4 - オンリボヌクレオチド、5 - アザ - ウラシル、6 - アザ - ウラシル、2 - チオ - 5 - アザ - ウラシル、2 - チオ - ウラシル（ s^2U ）、4 - チオ - ウラシル（ s^4U ）、4 - チオ - プソイドウリジン、2 - チオ - プソイドウリジン、5 - ヒドロキシ - ウラシル（ $\text{h o}^5\text{U}$ ）、5 - アミノアリル - ウラシル、5 - ハロ - ウラシル（例えば、5 - ヨード - ウラシルまたは 5 - プロモ - ウラシル）、3 - メチル - ウラシル（ m^3U ）、5 - メトキシ - ウラシル（ $\text{m o}^5\text{U}$ ）、ウラシル 5 - オキシ酢酸（ $\text{c m o}^5\text{U}$ ）、ウラシル 5 - オキシ酢酸メチルエステル（ $\text{m c m o}^5\text{U}$ ）、5 - カルボキシメチル - ウラシル（ $\text{c m}^5\text{U}$ ）、1 - カルボキシメチル - プソイドウリジン、5 - カルボキシヒドロキシメチル - ウラシル（ $\text{c h m}^5\text{U}$ ）、5 - カルボキシヒドロキシメチル - ウラシルメチルエステル（ $\text{m c h m}^5\text{U}$ ）、5 - メトキシカルボニルメチル - ウラシル（ $\text{m c m}^5\text{U}$ ）、5 - メトキシカルボニルメチル - 2 - チオ - ウラシル（ $\text{m c m}^5\text{s}^2\text{U}$ ）、5 - アミノメチル - 2 - チオ - ウラシル（ $\text{n m}^5\text{s}^2\text{U}$ ）、5 - メチルアミノメチル - ウラシル（ $\text{m n m}^5\text{U}$ ）、5 - メチルアミノメチル - 2 - チオ - ウラシル（ $\text{m n m}^5\text{s}^2\text{U}$ ）、5 - メチルアミノメチル - 2 - セレノ - ウラシル（ $\text{m n m}^5\text{s e}^2\text{U}$ ）、5 - カルバモイルメチル - ウラシル（ $\text{n c m}^5\text{U}$ ）、5 - カルボキシメチルアミノメチル - ウラシル（ $\text{c m n m}^5\text{U}$ ）、5 - カルボキシメチルアミノメチル - 2 - チオ - ウラシル（ $\text{c m n m}^5\text{s}^2\text{U}$ ）、5 - プロピニル - ウラシル、1 - プロピニル - プソイドウラシル、5 - タウリノメチル - ウラシル（ m^5U ）、1 - タ

40

50

ウリノメチル - プソイドウリジン、5 - タウリノメチル - 2 - チオ - ウラシル ($m^5 s^2 U$)、1 - タウリノメチル - 4 - チオ - プソイドウリジン、5 - メチル - ウラシル ($m^5 U$ 、すなわち、核酸塩基デオキシチミンを有する)、1 - メチル - プソイドウリジン (m^1)、1 - エチル - プソイドウリジン (Et^1)、5 - メチル - 2 - チオ - ウラシル ($m^5 s^2 U$)、1 - メチル - 4 - チオ - プソイドウリジン ($m^1 s^4$)、4 - チオ - 1 - メチル - プソイドウリジン、3 - メチル - プソイドウリジン (m^3)、2 - チオ - 1 - メチル - プソイドウリジン、1 - メチル - 1 - デアザ - プソイドウリジン、2 - チオ - 1 - メチル - 1 - デアザ - プソイドウリジン、ジヒドロウラシル (D)、ジヒドロプソイドウリジン、5、6 - ジヒドロウラシル、5 - メチル - ジヒドロウラシル ($m^5 D$)、2 - チオ - ジヒドロウラシル、2 - チオ - ジヒドロプソイドウリジン、2 - メトキシ - ウラシル、2 - メトキシ - 4 - チオ - ウラシル、4 - メトキシ - プソイドウリジン、4 - メトキシ - 2 - チオ - プソイドウリジン、N1 - メチル - プソイドウリジン、3 - (3 - アミノ - 3 - カルボキシプロピル) ウラシル ($acp^3 U$)、1 - メチル - 3 - (3 - アミノ - 3 - カルボキシプロピル) プソイドウリジン (acp^3)、5 - (イソペンテニルアミノメチル) ウラシル ($inm^5 U$)、5 - (イソペンテニルアミノメチル) - 2 - チオ - ウラシル ($inm^5 s^2 U$)、5、2' - O - ジメチル - ウリジン ($m^2 Um$)、2 - チオ - 2' - O - メチル - ウリジン ($s^2 Um$)、5 - メトキシカルボニルメチル - 2' - O - メチル - ウリジン ($mcm^5 Um$)、5 - カルバモイルメチル - 2' - O - メチル - ウリジン ($ncm^5 Um$)、5 - カルボキシメチルアミノメチル - 2' - O - メチル - ウリジン ($cmnm^5 Um$)、3、2' - O - ジメチル - ウリジン ($m^3 Um$)、および 5 - (イソペンテニルアミノメチル) - 2' - O - メチル - ウリジン ($inm^5 Um$)、1 - チオ - ウラシル、デオキシチミジン、5 - (2 - カルボメトキシビニル) - ウラシル、5 - (カルバモイルヒドロキシメチル) - ウラシル、5 - カルバモイルメチル - 2 - チオ - ウラシル、5 - カルボキシメチル - 2 - チオ - ウラシル、5 - シアノメチル - ウラシル、5 - メトキシ - 2 - チオ - ウラシル、および 5 - [3 - (1 - E - プロペニルアミノ)] ウラシルが挙げられる。

【0271】

ある実施形態において、核酸塩基は、改変シトシンである。改変シトシンを有する例示的な核酸塩基およびヌクレオシドとしては、5 - アザ - シトシン、6 - アザ - シトシン、プソイドイソシチジン、3 - メチル - シトシン ($m^3 C$)、N4 - アセチル - シトシン ($ac^4 C$)、5 - ホルミル - シトシン ($f^5 C$)、N4 - メチル - シトシン ($m^4 C$)、5 - メチル - シトシン ($m^5 C$)、5 - ハロ - シトシン (例えば、5 - ヨード - シトシン)、5 - ヒドロキシメチル - シトシン ($hm^5 C$)、1 - メチル - プソイドイソシチジン、ピロロ - シトシン、ピロロ - プソイドイソシチジン、2 - チオ - シトシン ($s^2 C$)、2 - チオ - 5 - メチル - シトシン、4 - チオ - プソイドイソシチジン、4 - チオ - 1 - メチル - プソイドイソシチジン、4 - チオ - 1 - メチル - 1 - デアザ - プソイドイソシチジン、1 - メチル - 1 - デアザ - プソイドイソシチジン、ゼブラリン、5 - アザ - ゼブラリン、5 - メチル - ゼブラリン、5 - アザ - 2 - チオ - ゼブラリン、2 - チオ - ゼブラリン、2 - メトキシ - シトシン、2 - メトキシ - 5 - メチル - シトシン、4 - メトキシ - プソイドイソシチジン、4 - メトキシ - 1 - メチル - プソイドイソシチジン、リシジン ($k^2 C$)、5、2' - O - ジメチル - シチジン ($m^5 Cm$)、N4 - アセチル - 2' - O - メチル - シチジン ($ac^4 Cm$)、N4、2' - O - ジメチル - シチジン ($m^4 Cm$)、5 - ホルミル - 2' - O - メチル - シチジン ($f^5 Cm$)、N4、N4、2' - O - トリメチル - シチジン ($m^4 2 Cm$)、1 - チオ - シトシン、5 - ヒドロキシ - シトシン、5 - (3 - アジドプロピル) - シトシン、および 5 - (2 - アジドエチル) - シトシンが挙げられる。

【0272】

ある実施形態において、核酸塩基は、改変アデニンである。改変アデニンを有する例示的な核酸塩基およびヌクレオシドとしては、2 - アミノ - プリン、2、6 - ジアミノプリン、2 - アミノ - 6 - ハロ - プリン (例えば、2 - アミノ - 6 - クロロ - プリン)、6 - ハロ - プリン (例えば、6 - クロロ - プリン)、2 - アミノ - 6 - メチル - プリン、8 -

10

20

30

40

50

アジド - アデニン、7 - デアザ - アデニン、7 - デアザ - 8 - アザ - アデニン、7 - デアザ - 2 - アミノ - プリン、7 - デアザ - 8 - アザ - 2 - アミノ - プリン、7 - デアザ - 2 , 6 - ジアミノプリン、7 - デアザ - 8 - アザ - 2 , 6 - ジアミノプリン、1 - メチル - アデニン (m 1 A)、2 - メチル - アデニン (m 2 A)、N 6 - メチル - アデニン (m 6 A)、2 - メチルチオ - N 6 - メチル - アデニン (m s 2 m 6 A)、N 6 - イソペンテニル - アデニン (i 6 A)、2 - メチルチオ - N 6 - イソペンテニル - アデニン (m s 2 i 6 A)、N 6 - (シス - ヒドロキシイソペンテニル) アデニン (i o 6 A)、2 - メチルチオ - N 6 - (シス - ヒドロキシイソペンテニル) アデニン (m s 2 i o 6 A)、N 6 - グリシニルカルバモイル - アデニン (g 6 A)、N 6 - トレオニルカルバモイル - アデニン (t 6 A)、N 6 - メチル - N 6 - トレオニルカルバモイル - アデニン (m 6 t 6 A)、2 - メチルチオ - N 6 - トレオニルカルバモイル - アデニン (m s 2 g 6 A)、N 6 , N 6 - ジメチル - アデニン (m 6 2 A)、N 6 - ヒドロキシノルバリルカルバモイル - アデニン (h n 6 A)、2 - メチルチオ - N 6 - ヒドロキシノルバリルカルバモイル - アデニン (m s 2 h n 6 A)、N 6 - アセチル - アデニン (a c 6 A)、7 - メチル - アデニン、2 - メチルチオ - アデニン、2 - メトキシ - アデニン、N 6 , 2 ' - O - ジメチル - アデノシン (m 6 A m)、N 6 , N 6 , 2 ' - O - トリメチル - アデノシン (m 6 2 A m)、1 , 2 ' - O - ジメチル - アデノシン (m 1 A m)、2 - アミノ - N 6 - メチル - プリン、1 - チオ - アデニン、8 - アジド - アデニン、N 6 - (1 9 - アミノ - ペンタオキサノナデシル (p e n t a o x a n o n a d e c y l)) - アデニン、2 , 8 - ジメチル - アデニン、N 6 - ホルミル - アデニン、および N 6 - ヒドロキシメチル - アデニンが挙げられる。

10

20

【 0 2 7 3 】

ある実施形態において、核酸塩基は、改変グアニンである。改変グアニンを有する例示的な核酸塩基およびヌクレオシドとしては、イノシン (I)、1 - メチル - イノシン (m 1 I)、ワイオシン (i m G)、メチルワイオシン (m i m G)、4 - デメチル - ワイオシン (i m G - 1 4)、イソワイオシン (i m G 2)、ワイプトシン (y W)、ペルオキシワイプトシン (o 2 y W)、ヒドロキシワイプトシン (O H y W)、不完全修飾型 (u n d e r m o d i f i e d) ヒドロキシワイプトシン (O H y W *)、7 - デアザ - グアニン、キューオシン (Q)、エポキシキューオシン (o Q)、ガラクトシル - キューオシン (g a l Q)、マンノシル - キューオシン (m a n Q)、7 - シアノ - 7 - デアザ - グアニン (p r e Q 0)、7 - アミノメチル - 7 - デアザ - グアニン (p r e Q 1)、アルカエオシン (G +)、7 - デアザ - 8 - アザ - グアニン、6 - チオ - グアニン、6 - チオ - 7 - デアザ - グアニン、6 - チオ - 7 - デアザ - 8 - アザ - グアニン、7 - メチル - グアニン (m 7 G)、6 - チオ - 7 - メチル - グアニン、7 - メチル - イノシン、6 - メトキシ - グアニン、1 - メチル - グアニン (m 1 G)、N 2 - メチル - グアニン (m 2 G)、N 2 , N 2 - ジメチル - グアニン (m 2 2 G)、N 2 , 7 - ジメチル - グアニン (m 2 , 7 G)、N 2 , N 2 , 7 - ジメチル - グアニン (m 2 , 2 , 7 G)、8 - オキソ - グアニン、7 - メチル - 8 - オキソ - グアニン、1 - メチル - 6 - チオ - グアニン、N 2 - メチル - 6 - チオ - グアニン、N 2 , N 2 - ジメチル - 6 - チオ - グアニン、N 2 - メチル - 2 ' - O - メチル - グアノシン (m 2 G m)、N 2 , N 2 - ジメチル - 2 ' - O - メチル - グアノシン (m 2 2 G m)、1 - メチル - 2 ' - O - メチル - グアノシン (m 1 G m)、N 2 , 7 - ジメチル - 2 ' - O - メチル - グアノシン (m 2 , 7 G m)、2 ' - O - メチル - イノシン (I m)、1 , 2 ' - O - ジメチル - イノシン (m 1 I m)、1 - チオ - グアニン、および O - 6 - メチル - グアニンが挙げられる。

30

40

【 0 2 7 4 】

ヌクレオチドの改変核酸塩基は、独立して、プリン、ピリミジン、プリンまたはピリミジン類似体であり得る。例えば、核酸塩基は、アデニン、シトシン、グアニン、ウラシル、またはヒポキサンチンの改変であり得る。別の実施形態において、核酸塩基は、例えば、塩基の天然および合成誘導体も含むことができ、このような誘導体は、ピラゾロ [3 , 4 - d] ピリミジン、5 - メチルシトシン (5 - m e - C)、5 - ヒドロキシメチルシト

50

シン、キサンチン、ヒポキサンチン、2 - アミノアデニン、アデニンおよびグアニンの 6 - メチルおよび他のアルキル誘導体、アデニンおよびグアニンの 2 - プロピルおよび他のアルキル誘導体、2 - チオウラシル、2 - チオチミンおよび 2 - チオシトシン、5 - プロピニルウラシルおよびシトシン、6 - アゾウラシル、シトシンおよびチミン、5 - ウラシル (プソイドウラシル)、4 - チオウラシル、8 - ハロ (例えば、8 - ブロモ)、8 - アミノ、8 - チオール、8 - チオアルキル、8 - ヒドロキシおよび他の 8 - 置換アデニンおよびグアニン、5 - ハロ、特に、5 - ブロモ、5 - トリフルオロメチルおよび他の 5 - 置換ウラシルおよびシトシン、7 - メチルグアニンおよび 7 - メチルアデニン、8 - アザグアニンおよび 8 - アザアデニン、デアザグアニン、7 - デアザグアニン、3 - デアザグアニン、デアザアデニン、7 - デアザアデニン、3 - デアザアデニン、ピラゾロ [3 , 4 - d] ピリミジン、イミダゾ [1 , 5 - a] 1 , 3 , 5 トリアジノン、9 - デアザプリン、イミダゾ [4 , 5 - d] ピラジン、チアゾロ [4 , 5 - d] ピリミジン、ピラジン - 2 - オン、1 , 2 , 4 - トリアジン、ピリダジン; または 1 , 3 , 5 トリアジンを含む。ヌクレオチドが、略語 A、G、C、T または U を用いて示される場合、各文字は、代表的な塩基および / またはその誘導体を指し、例えば、A は、アデニンまたはアデニン類似体、例えば、7 - デアザアデニン) を含む。

10

【 0 2 7 5 】

糖における改変

ヌクレオシドは、核酸塩基と組み合わせて、糖分子 (例えば、5 - 炭素または 6 - 炭素糖、例えば、ペントース、リボース、アラビノース、キシロース、グルコース、ガラクトース、またはそれらのデオキシ誘導体) を含む一方、ヌクレオチドは、ヌクレオシドおよびリン酸基または改変基 (例えば、ボラノリン酸、チオホスフェート、セレノホスフェート、ホスホネート、アルキル基、アミデート、およびグリセロール) を含有するヌクレオシドである。ヌクレオシドまたはヌクレオチドは、標準種、例えば、標準核酸塩基、糖、および、ヌクレオチドの場合、リン酸基を含むヌクレオシドまたはヌクレオチドであり得、または 1 つ以上の改変成分を含む改変ヌクレオシドまたはヌクレオチドであり得る。例えば、改変ヌクレオシドおよびヌクレオチドは、ヌクレオシドまたはヌクレオチドの糖において改変され得る。ある実施形態において、改変ヌクレオシドまたはヌクレオチドは、構造:

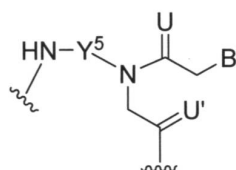
20

30

40

50

式V I



式V I I

30

40

れる炭素と一緒にあって、任意に置換されるヘテロシクリル（例えば、二環式、三環式、または四環式ヘテロシクリル）を提供し； m' および m'' のそれぞれが、独立して、 $0 \sim 3$ （例えば、 $0 \sim 2$ 、 $0 \sim 1$ 、 $1 \sim 3$ 、または $1 \sim 2$ ）の整数であり；

Y^1 、 Y^2 、および Y^3 のそれぞれが、独立して、O、S、Se、 $-NR^{N1}-$ 、任意に置換されるアルキレン、または任意に置換されるヘテロアルキレンであり、ここで、 R^{N1} が、H、任意に置換されるアルキル、任意に置換されるアルケニル、任意に置換されるアルキニル、任意に置換されるアリールであるか、または存在せず；

各 Y^4 が、独立して、H、ヒドロキシ、チオール、ボラニル、任意に置換されるアルキル、任意に置換されるアルケニル、任意に置換されるアルキニル、任意に置換されるアルコキシ、任意に置換されるアルケニルオキシ、任意に置換されるアルキニルオキシ、任意に置換されるチオアルコキシ、任意に置換されるアルコシアルコキシ、または任意に置換されるアミノであり；

各 Y^5 が、独立して、O、S、Se、任意に置換されるアルキレン（例えば、メチレン）、または任意に置換されるヘテロアルキレンであり；

B が、修飾または非修飾のいずれかの核酸塩基である。

【0276】

ある実施形態において、 $2'$ -ヒドロキシ基(OH)は、いくつかの異なる置換基で修飾または置換され得る。 $2'$ -位における例示的な置換としては、限定はされないが、H、アジド、ハロ（例えば、フルオロ）、任意に置換される $C_1 \sim 6$ アルキル（例えば、メチル）；任意に置換される $C_1 \sim 6$ アルコキシ（例えば、メトキシまたはエトキシ）；任意に置換される $C_6 \sim 10$ アリールオキシ；任意に置換される $C_3 \sim 8$ シクロアルキル；任意に置換される $C_6 \sim 10$ アリール- $C_1 \sim 6$ アルコキシ、任意に置換される $C_1 \sim 12$ （ヘテロシクリル）オキシ；糖（例えば、リボース、ペントース、または本明細書に記載されるいずれか）；ポリエチレングリコール(PEG)、 $-O(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2OR$ （ここで、Rが、Hまたは任意に置換されるアルキルであり、 n が、 $0 \sim 20$ （例えば、 $0 \sim 4$ 、 $0 \sim 8$ 、 $0 \sim 10$ 、 $0 \sim 16$ 、 $1 \sim 4$ 、 $1 \sim 8$ 、 $1 \sim 10$ 、 $1 \sim 16$ 、 $1 \sim 20$ 、 $2 \sim 4$ 、 $2 \sim 8$ 、 $2 \sim 10$ 、 $2 \sim 16$ 、 $2 \sim 20$ 、 $4 \sim 8$ 、 $4 \sim 10$ 、 $4 \sim 16$ 、および $4 \sim 20$ ）の整数である）；「ロックド」核酸(LNA)（ここで、 $2'$ -ヒドロキシが、 $C_1 \sim 6$ アルキレンまたは $C_1 \sim 6$ ヘテロアルキレン架橋によって、同じリボース糖の $4'$ -炭素に連結され、例示的な架橋は、メチレン、プロピレン、エーテル、またはアミノ架橋を含んでいた）；本明細書に定義されるアミノアルキル；本明細書に定義されるアミノアルコキシ；本明細書に定義されるアミノ；および本明細書に定義されるアミノ酸が挙げられる。

【0277】

一般に、RNAは、酸素を有する5員環である糖基リボースを含む。例示的な非限定的な改変ヌクレオチドとしては、リボース中の酸素の置換（例えば、S、Se、またはメチレンもしくはエチレンなどのアルキレンによる）；二重結合の付加（例えば、リボースを、シクロペンテニルまたはシクロヘキセニルで置換するために）；リボースの環縮小（例えば、シクロブタンまたはオキセタンの4員環を形成するために）；リボースの環拡大（例えば、アンヒドロヘキシトール、アルトリトール、マンニトール、シクロヘキサニル、シクロヘキセニル、およびモルホリノ（ホスホロアミデート骨格も有する）などの、さらなる炭素またはヘテロ原子を有する6員または7員環を形成するために）；多環式形態（例えば、トリシクロおよび「ロックされていない(unlocked)」形態、例えば、グリコール核酸(GNA)（例えば、R-GNAまたはS-GNA、ここで、リボースは、ホスホジエステル結合に結合されたグリコール単位で置換される）、トレオース核酸(TNA、ここで、リボースは、 $-L-$ トレオフラノシル- $(3' \rightarrow 2')$ で置換される）、およびペプチド核酸(PNA、ここで、2-アミノ-エチル-グリシン結合が、リボースおよびホスホジエステル骨格を置換する）が挙げられる。

【0278】

ある実施形態において、糖基は、リボース中に対応する炭素と反対の立体化学配置を有

10

20

30

40

50

する1つ以上の炭素を含有する。したがって、ポリヌクレオチド分子は、糖として、例えば、アラビノースまたはL-リボースを含有するヌクレオチドを含み得る。

【0279】

ある実施形態において、ポリヌクレオチドは、少なくとも1つのヌクレオシドを含み、ここで、糖は、L-リボース、2'-O-メチル-リボース、2'-フルオロ-リボース、アラビノース、ヘキシトール、LNA、またはPNAである。

【0280】

ヌクレオシド間結合における改変

改変ヌクレオチドは、ヌクレオシド間結合（例えば、ホスフェート骨格）において改変され得る。本明細書において、ポリヌクレオチド骨格に関して、「ホスフェート」および「ホスホジエステル」という語句は、同義的に使用される。骨格リン酸基は、酸素原子の1つ以上を、異なる置換基で置換することによって改変され得る。

【0281】

改変ヌクレオチドは、本明細書に記載されるような別のヌクレオシド間結合による非改変ホスフェート部分の大規模な(whole sale)置換を含み得る。改変リン酸基の例としては、限定はされないが、ホスホロチオエート、ホスホロセネート、ボラノリン酸、ボラノリン酸エステル、ホスホン酸水素、ホスホロアミデート、ホスホロジアミデート、ホスホン酸アルキルまたはアリール、およびホスホトリエステルが挙げられる。ホスホロジチオエートは、硫黄によって置換される両方の非結合酸素を有する。ホスフェートリンカーはまた、窒素（架橋ホスホロアミデート）、硫黄（架橋ホスホロチオエート）、および炭素（架橋メチレン-ホスホネート）による結合酸素の置換によって改変され得る。

【0282】

改変ヌクレオシドおよびヌクレオチドは、ボラン部分(BH₃)、硫黄(チオ)、メチル、エチル、および/またはメトキシによる非架橋酸素の1つ以上の置換を含み得る。非限定的な例として、同じ位置（例えば、アルファ()、ベータ()またはガンマ()位置）における2つの非架橋酸素が、硫黄(チオ)およびメトキシで置換され得る。

【0283】

ホスフェート部分（例えば、-チオリン酸）の位置における酸素原子の1つ以上の置換は、非天然ホスホロチオエート骨格結合によってRNAおよびDNAに安定性（例えば、エキソヌクレアーゼおよびエンドヌクレアーゼに対して）を与えるために提供される。ホスホロチオエートDNAおよびRNAは、増加したヌクレアーゼ耐性を有するため、細胞環境においてより長い半減期を有する。

【0284】

リン原子を含有しないヌクレオシド間結合を含む、本開示にしたがって用いられ得る他のヌクレオシド間結合が、本明細書に記載される。

【0285】

内部リボソーム侵入部位

ポリヌクレオチドは、内部リボソーム侵入部位(IRES: internal ribosome entry site)を含有し得る。IRESは、単独のリボソーム結合部位として作用し得るか、またはmRNAの複数のリボソーム結合部位の1つとして作用し得る。2つ以上の機能性リボソーム結合部位を含有するポリヌクレオチドは、リボソームによって独立して翻訳されるいくつかのペプチドまたはポリペプチドをコードし得る（例えば、多シストロン性mRNA）。ポリヌクレオチドがIRESを備えている場合、第2の翻訳可能領域がさらに任意に提供される。本開示にしたがって使用され得るIRES配列の例としては、限定はされないが、ピコルナウイルス（例えば、FMDV: picornavirus）、ペストウイルス(CFFV: pest virus)、ポリオウイルス(PV: polio virus)、脳筋炎ウイルス(ECMV: encephalomyocarditis virus)、口蹄疫ウイルス(FMDV: foot-and-mouth disease virus)、C型肝炎ウイルス(HCV: hepatitis C virus)、ブタコレラウイルス(CSFV: classical swine

10

20

30

40

50

e fever virus)、マウス白血病ウイルス (MLV: murine leukemia virus)、サル免疫不全ウイルス (SIV: simian immune deficiency virus) またはコオロギ麻痺ウイルス (CrPV: cricket paralysis virus) に由来するものが挙げられる。

【0286】

5' - キャップ構造

ポリヌクレオチド (例えば、mRNA) は、5' - キャップ構造を含み得る。ポリヌクレオチドの5' - キャップ構造は、核外輸送に関与し、ポリヌクレオチド安定性を高め、mRNA キャップ結合タンパク質 (CBP: Cap Binding Protein) に結合し、これは、CBP とポリ-A 結合タンパク質との結合を介して、細胞内のポリヌクレオチド安定性および翻訳能力に関与して、成熟環状 mRNA 種を形成する。キャップはさらに、mRNA スプライシング中の5' - 近位イントロン除去の除去を補助する。

10

【0287】

内因性ポリヌクレオチド分子は、5' 末端にキャッピングされて、ポリヌクレオチドの末端グアノシンキャップ残基と5' 末端転写センスヌクレオチドとの間に5' - ppp - 5' - 三リン酸結合を形成し得る。次に、この5' - グアニル酸キャップは、メチル化されて、N7 - メチル - グアニル酸残基を生成し得る。ポリヌクレオチドの5' 末端の末端および/または末端前 (antiterminal) の転写ヌクレオチドのリボース糖はまた、任意に2' - O - メチル化され得る。グアニル酸キャップ構造の加水分解および切断による5' - キャップ除去は、mRNA 分子などのポリヌクレオチド分子の分解にターゲティングすることができる。

20

【0288】

ポリヌクレオチドに対する改変は、非加水分解性キャップ構造を生成して、キャップ除去を防止し、それによってポリヌクレオチド半減期を増加させ得る。キャップ構造加水分解は、5' - ppp - 5' ホスホロジエステル結合の切断を必要とするため、改変ヌクレオチドが、キャッピング反応中に使用され得る。例えば、ニューイングランドバイオラボ (New England Biolabs) (マサチューセッツ州イプスウィッチ (Ipswich, MA)) 製のワクシニアキャッピング酵素 (Vaccinia Capping Enzyme) が、製造業者の指示にしたがって、- チオ - グアノシンヌクレオチドとともに使用されて、5' - ppp - 5' キャップ内にホスホロチオエート結合を形成し得る。- メチル - ホスホネートおよびセレノ - リン酸ヌクレオチドなどのさらなる改変グアノシンヌクレオチドが使用され得る。

30

【0289】

さらなる改変としては、限定はされないが、糖の2' - ヒドロキシ基におけるポリヌクレオチドの5' 末端および/または5' 末端前ヌクレオチドのリボース糖の2' - O - メチル化 (上述される) が挙げられる。複数の異なる5' - キャップ構造を用いて、mRNA 分子などのポリヌクレオチドの5' - キャップを生成することができる。

【0290】

5' - キャップ構造としては、国際特許公開番号国際公開第2008127688号パンフレット、国際公開第2008016473号パンフレット、および国際公開第2011015347号パンフレットに記載されるものが挙げられ、これらのそれぞれのキャップ構造は、参照により本明細書に援用される。

40

【0291】

本明細書において合成キャップ類似体、化学キャップ、化学キャップ類似体、または構造的もしくは機能性キャップ類似体とも呼ばれるキャップ類似体は、キャップ機能を保持しながら、その化学構造が天然の (すなわち、内因性、野生型、または生理学的) 5' - キャップとは異なる。キャップ類似体は、化学的に (すなわち、非酵素的に) または酵素的に合成され/ポリヌクレオチドに連結され得る。

【0292】

例えば、アンチリバーScap類似体 (ARCA: Anti-Reverse Cap

50

Analog) キャップは、5' - 5' - 三リン酸基によって連結された2つのグアノシンを含有し、ここで、1つのグアノシンは、N7 - メチル基ならびに3' - O - メチル基(すなわち、N7, 3' - O - ジメチル - グアノシン - 5' - 三リン酸 - 5' - グアノシン、⁷mG - 3' mppp - G、同様に3' O - Me - m⁷G (5') ppp (5') Gと呼ばれ得る)を含有する。他方の非改変グアノシンの3' - O原子が、キャッピングされたポリヌクレオチド(例えば、mRNA)の5'末端ヌクレオチドに連結される。N7 - および3' - O - メチル化グアノシンは、キャッピングされたポリヌクレオチド(例えば、mRNA)の末端部分を提供する。

【0293】

別の例示的なキャップは、mCAPであり、これは、ARCAと類似しているが、グアノシン上に2' - O - メチル基を有する(すなわち、N7, 2' - O - ジメチル - グアノシン - 5' - 三リン酸 - 5' - グアノシン、⁷mGm - ppp - G)。

10

【0294】

キャップは、ジヌクレオチドキャップ類似体であり得る。非限定的な例として、米国特許第8,519,110号明細書(そのキャップ構造は、参照により本明細書に援用される)に記載されるジヌクレオチドキャップ類似体などのジヌクレオチドキャップ類似体は、様々なリン酸位置で、ボラノリン酸基またはホスホロセレート基で修飾され得る。

【0295】

あるいは、キャップ類似体は、当該技術分野において公知の、および/または本明細書に記載されるN7 - (4 - クロロフェノキシエチル)置換ジヌクレオチドキャップ類似体であり得る。N7 - (4 - クロロフェノキシエチル)置換ジヌクレオチドキャップ類似体の非限定的な例としては、N7 - (4 - クロロフェノキシエチル) - G (5') ppp (5') GおよびN7 - (4 - クロロフェノキシエチル) - m3' - OG (5') ppp (5') Gキャップ類似体が挙げられる(例えば、コア(Kore)ら著、バイオオーガニック・アンド・メディシナル・ケミストリー(Bioorganic & Medicinal Chemistry)2013 21:4570~4574(そのキャップ構造は、参照により本明細書に援用される)に記載される様々なキャップ類似体およびキャップ類似体の合成方法を参照)。他の場合には、本開示のポリヌクレオチドに有用なキャップ類似体は、4 - クロロノプロモフェノキシエチル類似体である。

20

【0296】

キャップ類似体は、インビトロ転写反応においてポリヌクレオチドの同時キャッピングを可能にするが、転写物の最大20%がキャッピングされないままである。これは、内因性の細胞転写機構によって産生されたポリヌクレオチドの内因性5' - キャップ構造とのキャップ類似体の構造差とともに、翻訳能力の低下および細胞安定性の低下をもたらし得る。

30

【0297】

改変ポリヌクレオチドはまた、より真正な(authentic)5' - キャップ構造を生成するために、酵素を用いて転写後にキャッピングされ得る。本明細書において使用される際、「より真正な」という語句は、内因性または野生型の特徴と構造的または機能的に酷似しているか、またはそれを模倣する特徴を指す。すなわち、「より真正な」特徴は、先行技術の合成の特徴または類似体と比較して、内因性、野生型、天然または生理学的な細胞機能、および/または構造をより良好に示し、または1つ以上の点で対応する内因性、野生型、天然、または生理学的な特徴より性能が優れている。本開示のポリヌクレオチドに有用なより真正な5' - キャップ構造の非限定的な例は、中でも特に、当該技術分野において公知の合成5' - キャップ構造(または野生型、天然または生理学的5' - キャップ構造)と比較して、キャップ結合タンパク質の増大した結合、増加した半減期、5' - エンドヌクレアーゼに対する低下した感受性、および/または減少した5' - キャップ除去を有するものである。例えば、組み換えワクシニアウイルスキャッピング酵素(Vaccinia Virus Capping Enzyme)および組み換え2' - O - メチルトランスフェラーゼ酵素が、ポリヌクレオチドの5'末端ヌクレオチドとグアノシンキャップヌクレオチドとの間に標準5' - 5' - 三リン酸結合を形成することができ、ここで、キャッ

40

50

プグアノシンは、N7 - メチル化を含み、ポリヌクレオチドの5'末端ヌクレオチドは、2' - O - メチルを含む。このような構造は、キャップ1構造と呼ばれる。このキャップは、例えば、当該技術分野において公知の他の5'キャップ類似体構造と比較して、より高い翻訳能力、細胞安定性、および細胞の炎症促進性サイトカインの活性化の低下をもたらす。他の例示的なキャップ構造としては、7mG(5')ppp(5')N, pN2p(キャップ0)、7mG(5')ppp(5')N1mpNp(キャップ1)、7mG(5') - ppp(5')N1mpN2mp(キャップ2)、およびm(7)Gpppm(3)(6, 6, 2')Ap m(2')Ap m(2')Cp m(2)(3, 2')Up(キャップ4)が挙げられる。

【0298】

10

改変ポリヌクレオチドは、転写後にキャッピングされ得るため、また、このプロセスはより効率的であるため、ほぼ100%の改変ポリヌクレオチドがキャッピングされ得る。これは、キャップ類似体がインビトロ転写反応の過程でポリヌクレオチドに連結される場合の約80%と対照的である。

【0299】

5'末端キャップは、内因性キャップまたはキャップ類似体を含み得る。5'末端は、グアノシン類似体を含み得る。有用なグアノシン類似体としては、イノシン、N1 - メチル - グアノシン、2' - フルオロ - グアノシン、7 - デアザ - グアノシン、8 - オキソ - グアノシン、2 - アミノ - グアノシン、LNA - グアノシン、および2 - アジド - グアノシンが挙げられる。

20

【0300】

ある場合には、ポリヌクレオチドは、修飾5' - キャップを含有する。5' - キャップにおける修飾は、ポリヌクレオチドの安定性を高め、ポリヌクレオチドの半減期を増加させることができ、ポリヌクレオチド翻訳効率を高め得る。修飾5' - キャップとしては、限定はされないが、以下の修飾の1つ以上が挙げられる：キャッピングされたグアノシン三リン酸(GTP)の2'位および/または3'位における修飾、メチレン部分(CH₂)による糖環酸素置換(これにより炭素環が生成された)、キャップ構造の三リン酸架橋部分における修飾、または核酸塩基(G)部分における修飾。

【0301】

5' - UTR

30

5' - UTRは、ポリヌクレオチド(例えば、mRNA)とのフランキング領域として提供され得る。5' - UTRは、ポリヌクレオチドに見られるコード領域に対して相同的または異種であり得る。複数の5' - UTRが、フランキング領域に含まれてもよく、同じかまたは異なる配列のものであり得る。フランキング領域の任意の部分(皆無を含む)は、コドン最適化されてもよく、独立して、コドン最適化の前および/または後に、1つ以上の異なる構造的または化学的改変を含有し得る。

【0302】

米国仮特許出願第61/775,509号明細書の表21、ならびに米国仮特許出願第61/829,372号明細書の表21および表22(これらは、参照により本明細書に援用される)に示されるのは、改変ポリヌクレオチド(例えば、mRNA)の開始および終止部位の一覧である。表21において、各5' - UTR(5' - UTR - 005 ~ 5' - UTR 68511)は、その天然または野生型(相同性)転写物に対するその開始および終止部位によって同定される(ENST; ENSEMBLデータベースに使用される識別番号)。

40

【0303】

ポリヌクレオチド(例えば、mRNA)の1つ以上の特性を改変するために、改変ポリヌクレオチド(例えば、mRNA)のコード領域と異種の5' - UTRが操作され得る。次に、ポリヌクレオチド(例えば、mRNA)は、細胞、組織または生物に投与され得、タンパク質レベル、局在化、および/または半減期などの結果が、測定されて、異種5' - UTRが改変ポリヌクレオチド(mRNA)に対して与え得る有益な効果を評価し得る。A

50

、T、CまたはGを含む1つ以上のヌクレオチドが末端に付加されるかまたは除去された5'-UTRの変異体がいられ得る。5'-UTRはまた、コドン最適化されてもよく、または本明細書に記載される任意の方法で改変され得る。

【0304】

5'-UTR、3'-UTR、および翻訳エンハンサーエレメント(TEE: translation enhancer element)

ポリヌクレオチド(例えば、mRNA)の5'-UTRは、少なくとも1つの翻訳エンハンサーエレメントを含み得る。「翻訳エンハンサーエレメント」という用語は、ポリヌクレオチドから産生されるポリペプチドまたはタンパク質の量を増加させる配列を指す。非限定的な例として、TEEは、転写プロモータと開始コドンとの間に位置し得る。5'-UTRにおける少なくとも1つのTEEを有するポリヌクレオチド(例えば、mRNA)は、5'-UTRにおけるキャップを含み得る。さらに、少なくとも1つのTEEは、ポリヌクレオチド(例えば、mRNA)の5'-UTRに位置して、キャップ依存性またはキャップ非依存性の翻訳を行い得る。

【0305】

一態様において、TEEは、限定はされないが、キャップ依存性またはキャップ非依存性の翻訳などのポリヌクレオチドの翻訳活性を促進し得るUTRにおける保存エレメントである。これらの配列の保存は、ヒトを含む14種についてパネック(Panek)ら(ヌクレイック・アシッド・リサーチ(Nucleic Acids Research)、2013、1~10)によって既に示されている。

【0306】

1つの非限定的な例では、公知のTEEは、Gtxホメオドメインタンパク質の5'-リーダーにあり得る(チャペル(Chappel)ら著、米国科学アカデミー紀要(Proc. Natl. Acad. Sci. USA)101:9590~9594、2004(そのTEEは、参照により本明細書に援用される))。

【0307】

別の非限定的な例では、TEEは、米国特許公開第2009/0226470号明細書および同第2013/0177581号明細書、国際特許公開第WO2009/075886号パンフレット、同第WO2012/009644号パンフレット、および同第WO1999/024595号パンフレット、ならびに米国特許第6,310,197号明細書および同第6,849,405号明細書に開示され、その各々のTEE配列は参照によって本明細書に組み込まれる。

【0308】

さらに別の非限定的な例では、TEEは、内部リボソーム侵入部位(IRES)、HCV-IRESまたはIRESエレメント、例えば、限定はされないが、米国特許第7,468,275号明細書、米国特許出願公開第2007/0048776号明細書および同第2011/0124100号明細書および国際特許公開番号国際公開第2007/025008号パンフレットおよび国際公開第2001/055369号パンフレット(これらのそれぞれのIRES配列は、参照により本明細書に援用される)に記載されるものであり得る。IRESエレメントとしては、限定はされないが、チャペル(Chappel)ら(米国科学アカデミー紀要(Proc. Natl. Acad. Sci. USA)101:9590~9594、2004)によって、および Zhou(Zhou)ら(PNAS 102:6273~6278、2005)によって、ならびに米国特許出願公開第2007/0048776号明細書および同第2011/0124100号明細書および国際特許公開番号国際公開第2007/025008号パンフレット(これらのそれぞれのIRES配列は、参照により本明細書に援用される)に記載されるGtx配列(例えば、Gtx9-nt、Gtx8-nt、Gtx7-nt)が挙げられる。

【0309】

「翻訳エンハンサーポリヌクレオチド」は、本明細書に例示されるか、および/または当該技術分野において開示される(例えば、米国特許第6,310,197号明細書、同

10

20

30

40

50

第 6 , 8 4 9 , 4 0 5 号明細書、同第 7 , 4 5 6 , 2 7 3 号明細書、同第 7 , 1 8 3 , 3 9 5 号明細書、米国特許出願公開第 2 0 0 9 0 / 2 2 6 4 7 0 号明細書、同第 2 0 0 7 / 0 0 4 8 7 7 6 号明細書、同第 2 0 1 1 / 0 1 2 4 1 0 0 号明細書、同第 2 0 0 9 / 0 0 9 3 0 4 9 号明細書、同第 2 0 1 3 / 0 1 7 7 5 8 1 号明細書、国際特許公開番号国際公開第 2 0 0 9 / 0 7 5 8 8 6 号パンフレット、国際公開第 2 0 0 7 / 0 2 5 0 0 8 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 2 / 0 0 9 6 4 4 号パンフレット、国際公開第 2 0 0 1 / 0 5 5 3 7 1 号パンフレット、国際公開第 1 9 9 9 / 0 2 4 5 9 5 号パンフレット、ならびに欧州特許第 2 6 1 0 3 4 1 号明細書および同第 2 6 1 0 3 4 0 号明細書を参照（これらのそれぞれの T E E 配列は、参照により本明細書に援用される）特定の T E E の 1 つ以上またはそれらの変異体、相同体または機能的誘導体を含むポリヌクレオチドである。特定の T E E の 1 つまたは複数のコピーが、ポリヌクレオチド（例えば、m R N A ）に存在し得る。翻訳エンハンサーポリヌクレオチドにおける T E E は、1 つ以上の配列セグメントにおいて構成され得る。配列セグメントは、本明細書に例示される特定の T E E の 1 つ以上を保有することができ、各 T E E は、1 つ以上のコピーに存在する。複数の配列セグメントが、翻訳エンハンサーポリヌクレオチドに存在する場合、それらは、相同的または異種であり得る。したがって、翻訳エンハンサーポリヌクレオチドにおける複数の配列セグメントは、本明細書に例示される特定の T E E の同一または異なるタイプ、特定の T E E のそれぞれの同一または異なる数のコピー、および / または各配列セグメント内の T E E の同一または異なる構成を保有し得る。

10

【 0 3 1 0 】

20

ポリヌクレオチド（例えば、m R N A ）は、国際特許公開番号国際公開第 1 9 9 9 / 0 2 4 5 9 5 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 2 / 0 0 9 6 4 4 号パンフレット、国際公開第 2 0 0 9 / 0 7 5 8 8 6 号パンフレット、国際公開第 2 0 0 7 / 0 2 5 0 0 8 号パンフレット、国際公開第 1 9 9 9 / 0 2 4 5 9 5 号パンフレット、欧州特許出願公開第 2 6 1 0 3 4 1 号明細書および同第 2 6 1 0 3 4 0 号明細書、米国特許第 6 , 3 1 0 , 1 9 7 号明細書、同第 6 , 8 4 9 , 4 0 5 号明細書、同第 7 , 4 5 6 , 2 7 3 号明細書、同第 7 , 1 8 3 , 3 9 5 号明細書、ならびに米国特許出願公開第 2 0 0 9 / 0 2 2 6 4 7 0 号明細書、同第 2 0 1 1 / 0 1 2 4 1 0 0 号明細書、同第 2 0 0 7 / 0 0 4 8 7 7 6 号明細書、同第 2 0 0 9 / 0 0 9 3 0 4 9 号明細書、および同第 2 0 1 3 / 0 1 7 7 5 8 1 号明細書（これらのそれぞれの T E E 配列は、参照により本明細書に援用される）に記載される少なくとも 1 つの T E E を含み得る。T E E は、ポリヌクレオチド（例えば、m R N A ）の 5 ' - U T R に位置し得る。

30

【 0 3 1 1 】

ポリヌクレオチド（例えば、m R N A ）は、米国特許出願公開第 2 0 0 9 / 0 2 2 6 4 7 0 号明細書、同第 2 0 0 7 / 0 0 4 8 7 7 6 号明細書、同第 2 0 1 3 / 0 1 7 7 5 8 1 号明細書および同第 2 0 1 1 / 0 1 2 4 1 0 0 号明細書、国際特許公開番号国際公開第 1 9 9 9 / 0 2 4 5 9 5 号パンフレット、国際公開第 2 0 1 2 / 0 0 9 6 4 4 号パンフレット、国際公開第 2 0 0 9 / 0 7 5 8 8 6 号パンフレットおよび国際公開第 2 0 0 7 / 0 2 5 0 0 8 号パンフレット、欧州特許出願公開第 2 6 1 0 3 4 1 号明細書および同第 2 6 1 0 3 4 0 号明細書、米国特許第 6 , 3 1 0 , 1 9 7 号明細書、同第 6 , 8 4 9 , 4 0 5 号明細書、同第 7 , 4 5 6 , 2 7 3 号明細書、同第 7 , 1 8 3 , 3 9 5 号明細書（これらのそれぞれの T E E 配列は、参照により本明細書に援用される）に記載される T E E と少なくとも 5 0 %、少なくとも 5 5 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 6 5 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 5 % または少なくとも 9 9 % の同一性を有する少なくとも 1 つの T E E を含み得る。

40

【 0 3 1 2 】

ポリヌクレオチド（例えば、m R N A ）の 5 ' - U T R は、少なくとも 1、少なくとも 2、少なくとも 3、少なくとも 4、少なくとも 5、少なくとも 6、少なくとも 7、少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 1 0、少なくとも 1 1、少なくとも 1 2、少なくとも 1

50

3、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも35、少なくとも40、少なくとも45、少なくとも50、少なくとも55または60超のTEE配列を含み得る。ポリヌクレオチド(例えば、mRNA)の5'-UTRにおけるTEE配列は、同じかまたは異なるTEE配列であり得る。TEE配列は、1回、2回、または3回超反復される、ABABAB、AABBAABBAAB、またはABCABCABC、またはその変形などのパターンであり得る。これらのパターンにおいて、各文字、A、B、またはCは、ヌクレオチドレベルで異なるTEE配列を表す。

【0313】

ある場合には、5'-UTRは、2つのTEE配列を隔てるスペースを含み得る。非限定的な例として、スペースは、15ヌクレオチドスペースおよび/または当該技術分野において公知の他のスペースであり得る。別の非限定的な例として、5'-UTRは、5'-UTRにおいて少なくとも1回、少なくとも2回、少なくとも3回、少なくとも4回、少なくとも5回、少なくとも6回、少なくとも7回、少なくとも8回、少なくとも9回、または10回以上反復されるTEE配列-スペースモジュールを含み得る。

【0314】

他の場合には、2つのTEE配列を隔てるスペースは、限定はされないが、miR配列(例えば、miR結合部位およびmiRシード)などの、本開示のポリヌクレオチド(例えば、mRNA)の翻訳を調節し得る、当該技術分野において公知の他の配列を含み得る。非限定的な例として、2つのTEE配列を隔てるのに使用される各スペースは、異なるmiR配列またはmiR配列の成分(例えば、miRシード配列)を含み得る。

【0315】

ある場合には、ポリヌクレオチド(例えば、mRNA)の5'-UTRにおけるTEEは、米国特許出願公開第2009/0226470号明細書、同第2007/0048776号明細書、同第2013/0177581号明細書および同第2011/0124100号明細書、国際特許公開番号国際公開第1999/024595号パンフレット、国際公開第2012/009644号パンフレット、国際公開第2009/075886号パンフレットおよび国際公開第2007/025008号パンフレット、欧州特許出願公開第2610341号明細書および同第2610340号明細書、ならびに米国特許第6,310,197号明細書、同第6,849,405号明細書、同第7,456,273号明細書、および同第7,183,395号明細書(これらのそれぞれのTEE配列は、参照により本明細書に援用される)に開示されるTEE配列を、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または99%超含み得る。別の実施形態において、本開示のポリヌクレオチド(例えば、mRNA)の5'-UTRにおけるTEEは、米国特許出願公開第2009/0226470号明細書、同第2007/0048776号明細書、同第2013/0177581号明細書および同第2011/0124100号明細書、国際特許公開番号国際公開第1999/024595号パンフレット、国際公開第2012/009644号パンフレット、国際公開第2009/075886号パンフレットおよび国際公開第2007/025008号パンフレット、欧州特許出願公開第2610341号明細書および同第2610340号明細書、ならびに米国特許第6,310,197号明細書、同第6,849,405号明細書、同第7,456,273号明細書、および同第7,183,395号明細書(これらのそれぞれのTEE配列は、参照により本明細書に援用される)に開示されるTEE配列の5~30ヌクレオチド断片、5~25ヌクレオチド断片、5~20ヌクレオチド断片、5~15ヌクレオチド断片、5~10ヌクレオチド断片を含み得る。

【0316】

いくつかの場合には、本開示のポリヌクレオチド（例えば、mRNA）の5' - UTRにおけるTEEは、チャペル（Chappell）ら（米国科学アカデミー紀要（Proc. Natl. Acad. Sci. USA）101：9590～9594、2004）および Zhou（Zhou）ら（PNAS 102：6273～6278、2005）、ウェレンシーク（Wellensiek）ら（「ヒトキャップ非依存性翻訳促進エレメントのゲノムワイドプロファイリング（Genome-wide profiling of human cap-independent translation-enhancing elements）」、ネイチャー・メソッズ（Nature Methods）、2013；DOI：10.1038/NMETH.2522）によって開示される補足表1および補足表2（これらのそれぞれのTEE配列は、参照により本明細書に援用される）に開示されるTEE配列を、少なくとも5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも30%、少なくとも35%、少なくとも40%、少なくとも45%、少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも99%または99%超含み得る。別の実施形態において、本開示のポリヌクレオチド（例えば、mRNA）の5' - UTRにおけるTEEは、チャペル（Chappell）ら（米国科学アカデミー紀要（Proc. Natl. Acad. Sci. USA）101：9590～9594、2004）および Zhou（Zhou）ら（PNAS 102：6273～6278、2005）、ウェレンシーク（Wellensiek）ら（「ヒトキャップ非依存性翻訳促進エレメントのゲノムワイドプロファイリング（Genome-wide profiling of human cap-independent translation-enhancing elements）」、ネイチャー・メソッズ（Nature Methods）、2013；DOI：10.1038/NMETH.2522）によって開示される補足表1および補足表2（これらのそれぞれのTEE配列は、参照により本明細書に援用される）に開示されるTEE配列の5～30ヌクレオチド断片、5～25ヌクレオチド断片、5～20ヌクレオチド断片、5～15ヌクレオチド断片、5～10ヌクレオチド断片を含み得る。

【0317】

ある場合には、ポリヌクレオチド（例えば、mRNA）の5' - UTRに使用されるTEEは、限定はされないが、米国特許第7,468,275号明細書および国際特許公開番号国際公開第2001/055369号パンフレット（これらのそれぞれのTEE配列は、参照により本明細書に援用される）に記載されるものなどのIRES配列である。

【0318】

ある場合には、ポリヌクレオチド（例えば、mRNA）の5' - UTRに使用されるTEEは、米国特許出願公開第2007/0048776号明細書および同第2011/0124100号明細書および国際特許公開番号国際公開第2007/025008号パンフレットおよび国際公開第2012/009644号パンフレット（これらのそれぞれの方法は、参照により本明細書に援用される）に記載される方法によって同定され得る。

【0319】

ある場合には、本開示のポリヌクレオチド（例えば、mRNA）の5' - UTRに使用されるTEEは、米国特許第7,456,273号明細書および同第7,183,395号明細書、米国特許出願公開第2009/0093049号明細書、および国際公開番号国際公開第2001/055371号パンフレット（これらのそれぞれのTEE配列は、参照により本明細書に援用される）に記載される転写調節エレメントであり得る。転写調節エレメントは、限定はされないが、米国特許第7,456,273号明細書および同第7,183,395号明細書、米国特許出願公開第2009/0093049号明細書、および国際公開番号国際公開第2001/055371号パンフレット（これらのそれぞれの方法は、参照により本明細書に援用される）に記載される方法などの、当該技術分野において公知の方法によって同定され得る。

10

20

30

40

50

【0320】

さらに他の場合には、ポリヌクレオチド（例えば、mRNA）の5' - UTRに使用されるTEEは、米国特許第7,456,273号明細書および同第7,183,395号明細書、米国特許出願公開第2009/0093049号明細書、および国際公開番号国際公開第2001/055371号パンフレット（これらのそれぞれのTEE配列は、参照により本明細書に援用される）に記載されるポリヌクレオチドまたはその部分である。

【0321】

本明細書に記載される少なくとも1つのTEEを含む5' - UTRは、限定はされないが、ベクター系またはポリヌクレオチドベクターなどの単シストロン性配列に組み込まれ得る。非限定的な例として、ベクター系およびポリヌクレオチドベクターは、米国特許第7,456,273号明細書および同第7,183,395号明細書、米国特許出願公開第2007/0048776号明細書、同第2009/0093049号明細書および同第2011/0124100号明細書、ならびに国際特許公開番号国際公開第2007/025008号パンフレットおよび国際公開第2001/055371号パンフレット（これらのそれぞれのTEE配列は、参照により本明細書に援用される）に記載されるものを含み得る。

10

【0322】

本明細書に記載されるTEEは、ポリヌクレオチド（例えば、mRNA）の5' - UTRおよび/または3' - UTRに位置し得る。3' - UTRに位置するTEEは、5' - UTRに位置するか、および/または5' - UTRへの組み込みについて記載されるTEEと同じかおよび/または異なり得る。

20

【0323】

ある場合には、ポリヌクレオチド（例えば、mRNA）の3' - UTRは、少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも6、少なくとも7、少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも35、少なくとも40、少なくとも45、少なくとも50、少なくとも55または60超のTEE配列を含み得る。本開示のポリヌクレオチド（例えば、mRNA）の3' - UTRにおけるTEE配列は、同じかまたは異なるTEE配列であり得る。TEE配列は、1回、2回、または3回超反復される、A B A B A B、A A B B A A B B A A B B、またはA B C A B C A B C、またはその変形などのパターンであり得る。これらのパターンにおいて、各文字、A、B、またはCは、ヌクレオチドレベルで異なるTEE配列を表す。

30

【0324】

ある場合には、3' - UTRは、2つのTEE配列を隔てるスペースを含み得る。非限定的な例として、スペースは、15ヌクレオチドスペースおよび/または当該技術分野において公知の他のスペースであり得る。別の非限定的な例として、3' - UTRは、3' - UTRにおいて少なくとも1回、少なくとも2回、少なくとも3回、少なくとも4回、少なくとも5回、少なくとも6回、少なくとも7回、少なくとも8回、少なくとも9回、または10回以上反復されるTEE配列 - スペースモジュールを含み得る。

40

【0325】

他の場合には、2つのTEE配列を隔てるスペースは、限定はされないが、本明細書に記載されるmiR配列（例えば、miR結合部位およびmiRシード）などの、本開示のポリヌクレオチド（例えば、mRNA）の翻訳を調節し得る、当該技術分野において公知の他の配列を含み得る。非限定的な例として、2つのTEE配列を隔てるのに使用される各スペースは、異なるmiR配列またはmiR配列の成分（例えば、miRシード配列）を含み得る。

【0326】

さらに他の場合には、miR配列および/またはTEE配列の組み込みは、ステムルー

50

プ領域の形状を変化させ、これは、翻訳を増加および／または減少させ得る（例えば、ケデ（Kedde）ら著、「p27-3' UTRにおけるプミリオ誘導のRNA構造スイッチは、miR-221およびmiR-22接近性を制御する（A Pumilio-induced RNA structure switch in p27-3' UTR controls miR-221 and miR-22 accessibility）」、ネイチャー・セル・バイオロジー（Nature Cell Biology）、2010を参照）。

【0327】

ステムループ

ポリヌクレオチド（例えば、mRNA）は、限定はされないが、ヒストンステムループなどのステムループを含み得る。ステムループは、約25または約26ヌクレオチド長のヌクレオチド配列、例えば、限定はされないが、国際特許公開番号国際公開第2013/103659号パンフレット（それは参照により本明細書に援用される）に記載されるものであり得る。ヒストンステムループは、コード領域に対して3'側に（例えば、コード領域の3'末端に）位置し得る。非限定的な例として、ステムループは、本明細書に記載されるポリヌクレオチドの3'末端に位置し得る。ある場合には、ポリヌクレオチド（例えば、mRNA）は、2つ以上のステムループ（例えば、2つのステムループ）を含む。ステムループ配列の例は、国際特許公開番号国際公開第2012/019780号パンフレットおよび国際公開第201502667号パンフレット（これらのステムループ配列は、参照により本明細書に援用される）に記載されている。ある場合には、ポリヌクレオチドは、ステムループ配列CAAAGGCTCTTTTCAGAGCCACCA（配列番号：1）を含む。他の場合には、ポリヌクレオチドは、ステムループ配列CAAAGGCUUUUUUAGAGCCACCA（配列番号：2）を含む。

【0328】

ステムループは、ポリヌクレオチドの第2の末端領域に位置し得る。非限定的な例として、ステムループは、第2の末端領域の非翻訳領域（例えば、3'-UTR）に位置し得る。

【0329】

ある場合には、限定はされないが、ヒストンステムループを含むmRNAなどのポリヌクレオチドは、3'-安定化領域（例えば、少なくとも1つの鎖終止ヌクレオシドを含む3'-安定化領域）の付加によって安定化され得る。理論に制約されることは意図しないが、少なくとも1つの鎖終止ヌクレオシドの付加は、ポリヌクレオチドの分解を減速させ得るため、ポリヌクレオチドの半減期を増加させることができる。

【0330】

他の場合には、限定はされないが、ヒストンステムループを含むmRNAなどのポリヌクレオチドは、オリゴ（U）の付加を防止および／または阻害することができるポリヌクレオチドの3'-領域に対する改変によって安定化され得る（例えば、国際特許公開番号国際公開第2013/103659号パンフレットを参照）。

【0331】

さらに他の場合には、限定はされないが、ヒストンステムループを含むmRNAなどのポリヌクレオチドは、3'-デオキシヌクレオシド、2', 3'-ジデオキシヌクレオシド3'-O-メチルヌクレオシド、3'-O-エチルヌクレオシド、3'-アラビノシド、および当該技術分野において公知であるか、および／または本明細書に記載される他の改変ヌクレオシドにおいて終端するオリゴヌクレオチドの付加によって安定化され得る。

【0332】

ある場合には、本開示のポリヌクレオチドは、ヒストンステムループ、ポリ-A領域、および／または5'-キャップ構造を含み得る。ヒストンステムループは、ポリ-A領域の前および／または後にあり得る。ヒストンステムループおよびポリ-A領域配列を含むポリヌクレオチドは、本明細書に記載される鎖終止ヌクレオシドを含み得る。

【0333】

10

20

30

40

50

他の場合には、本開示のポリヌクレオチドは、ヒストンステムループおよび5' - キャップ構造を含み得る。5' - キャップ構造は、限定はされないが、本明細書に記載されるか、および/または当該技術分野において公知のものを含み得る。

【0334】

ある場合には、保存ステムループ領域は、本明細書に記載されるmiR配列を含み得る。非限定的な例として、ステムループ領域は、本明細書に記載されるmiR配列のシード配列を含み得る。別の非限定的な例では、ステムループ領域は、miR - 122シード配列を含み得る。

【0335】

いくつかの場合には、保存ステムループ領域は、本明細書に記載されるmiR配列を含んでもよく、TEE配列も含み得る。

【0336】

ある場合には、miR配列および/またはTEE配列の組み込みは、ステムループ領域の形状を変化させ、これは、翻訳を増加および/または減少させ得る（例えば、カデ（Kedde）ら著、「p27 - 3' UTRにおけるプミリオ誘導のRNA構造スイッチは、miR - 221およびmiR - 22接近性を制御する（A Pumilio - induced RNA structure switch in p27 - 3' UTR controls miR - 221 and miR - 22 accessibility）」、ネイチャー・セル・バイオロジー（Nature Cell Biology）、2010（全体が参照により本明細書に援用される）を参照）。

【0337】

ポリヌクレオチドは、少なくとも1つのヒストンステムループおよびポリ - A領域またはポリアデニル化シグナルを含み得る。少なくとも1つのヒストンステムループおよびポリ - A領域またはポリアデニル化シグナルをコードするポリヌクレオチド配列の非限定的な例は、国際特許公開番号国際公開第2013/120497号パンフレット、国際公開第2013/120629号パンフレット、国際公開第2013/120500号パンフレット、国際公開第2013/120627号パンフレット、国際公開第2013/120498号パンフレット、国際公開第2013/120626号パンフレット、国際公開第2013/120499号パンフレットおよび国際公開第2013/120628号パンフレット（これらのそれぞれの配列は、参照により本明細書に援用される）に記載されている。いくつかの場合には、ヒストンステムループおよびポリ - A領域またはポリアデニル化シグナルをコードするポリヌクレオチドは、国際特許公開番号国際公開第2013/120499号パンフレットおよび国際公開第2013/120628号パンフレット（これらの両方の配列は、参照により本明細書に援用される）に記載されるポリヌクレオチド配列などの病原体抗原またはその断片をコードし得る。他の場合には、ヒストンステムループおよびポリ - A領域またはポリアデニル化シグナルをコードするポリヌクレオチドは、国際特許公開番号国際公開第2013/120497号パンフレットおよび国際公開第2013/120629号パンフレット（これらの両方の配列は、参照により本明細書に援用される）に記載されるポリヌクレオチド配列などの治療用タンパク質をコードし得る。ある場合には、ヒストンステムループおよびポリ - A領域またはポリアデニル化シグナルをコードするポリヌクレオチドは、国際特許公開番号国際公開第2013/120500号パンフレットおよび国際公開第2013/120627号パンフレット（これらの両方の配列は、参照により本明細書に援用される）に記載されるポリヌクレオチド配列などの腫瘍抗原またはその断片をコードし得る。他の場合には、ヒストンステムループおよびポリ - A領域またはポリアデニル化シグナルをコードするポリヌクレオチドは、国際特許公開番号国際公開第2013/120498号パンフレットおよび国際公開第2013/120626号パンフレット（これらの両方の配列は、参照により本明細書に援用される）に記載されるポリヌクレオチド配列などのアレルゲン性抗原または自己免疫自己抗原をコードし得る。

【0338】

10

20

30

40

50

ポリ - A 領域

ポリヌクレオチドまたは核酸（例えば、mRNA）は、ポリA配列および/またはポリアデニル化シグナルを含み得る。ポリA配列は、全体的にまたは大部分が、アデニンヌクレオチドまたはその類似体もしくは誘導体から構成され得る。ポリA配列は、核酸の3'非翻訳領域に隣接して位置する尾部であり得る。

【0339】

RNAプロセシングの間、アデノシンヌクレオチド（ポリ - A領域）の長鎖は、通常、分子の安定性を高めるために、メッセンジャーRNA（mRNA）分子に加えられる。転写の直後、転写物の3'末端が切断されて、3'-ヒドロキシを解放する。次に、ポリ - Aポリメラーゼが、アデノシンヌクレオチドの鎖をRNAに加える。ポリアデニル化と呼ばれるこのプロセスは、長さが100～250残基であるポリ - A領域を加える。

10

【0340】

独自のポリ - A領域の長さは、本開示の改変ポリヌクレオチドにいくつかの利点を与え得る。

【0341】

一般に、本開示のポリ - A領域の長さは、少なくとも30ヌクレオチド長である。別の実施形態において、ポリ - A領域は、少なくとも35ヌクレオチド長である。別の実施形態において、長さは、少なくとも40ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも45ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも55ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも60ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも70ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも80ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも90ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも100ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも120ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも140ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも160ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも180ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも200ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも250ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも300ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも350ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも400ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも450ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも500ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも600ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも700ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも800ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも900ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1000ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1100ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1200ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1300ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1400ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1500ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1600ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1700ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1800ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも1900ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも2000ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも2500ヌクレオチドである。別の実施形態において、長さは、少なくとも3000ヌクレオチドである。

20

30

40

【0342】

ある場合には、ポリ - A領域は、本明細書に記載される改変ポリヌクレオチド分子において、80ヌクレオチド、120ヌクレオチド、160ヌクレオチド長であり得る。

50

【0343】

他の場合には、ポリ - A 領域は、本明細書に記載される改変ポリヌクレオチド分子において、20、40、80、100、120、140または160ヌクレオチド長であり得る。

【0344】

ある場合には、ポリ - A 領域は、改変ポリヌクレオチド全体の長さに対して設計される。この設計は、改変ポリヌクレオチドのコード領域の長さ、改変ポリヌクレオチド (mRNA など) の特定の特徴もしくは領域の長さに基づいて、または改変ポリヌクレオチドから発現される最終産物の長さに基づいて行われ得る。改変ポリヌクレオチドの任意の特徴 (例えば、ポリ - A 領域を含む mRNA 部分以外) と比べて、ポリ - A 領域は、さらなる特徴より長さが10、20、30、40、50、60、70、80、90または100%長くなり得る。ポリ - A 領域はまた、それが属する改変ポリヌクレオチドの一部として設計され得る。これに関して、ポリ - A 領域は、構築物の全長または構築物の全長からポリ - A 領域を引いたものの10、20、30、40、50、60、70、80、または90%以上であり得る。

10

【0345】

いくつかの場合には、ポリ - A 結合タンパク質のためのポリヌクレオチド (例えば、mRNA) の操作結合部位および/または共役が、発現を促進するのに使用され得る。操作結合部位は、ポリヌクレオチド (例えば、mRNA) の局所微小環境のリガンドの結合部位として動作し得るセンサー配列であり得る。非限定的な例として、ポリヌクレオチド (例えば、mRNA) は、ポリ - A 結合タンパク質 (PABP) およびその類似体の結合親和性を改変するために、少なくとも1つの操作結合部位を含み得る。少なくとも1つの操作結合部位の組み込みは、PABP およびその類似体の結合親和性を増加させ得る。

20

【0346】

さらに、複数の異なるポリヌクレオチド (例えば、mRNA) は、ポリ - A 領域の3'末端における改変ヌクレオチドを用いて、3'末端を介してPABP (ポリ - A 結合タンパク質) に一緒に連結され得る。トランスフェクション実験は、関連する細胞株において行うことができ、タンパク質産生は、トランスフェクションから12時間、24時間、48時間、72時間、および7日後にELISAによってアッセイすることができる。非限定的な例として、トランスフェクション実験は、少なくとも1つの操作結合部位の付加の結果としてのPABPまたはその類似体の結合親和性に対する影響を評価するのに使用され得る。

30

【0347】

いくつかの場合には、ポリ - A 領域は、翻訳開始を調節するのに使用され得る。理論に制約されることは意図しないが、ポリ - A 領域は、PABPを動員し、これは、次に、翻訳開始複合体と相互作用することができるため、タンパク質合成に不可欠であり得る。

【0348】

ある場合には、ポリ - A 領域はまた、3' - 5' - エキソヌクレアーゼ消化から保護するために、本開示において使用され得る。

【0349】

ある場合には、ポリヌクレオチド (例えば、mRNA) は、ポリA - Gカルテット (Quartet) を含み得る。G - カルテットは、DNAおよびRNAの両方においてグリッチ配列によって形成され得る4つのグアノシンヌクレオチドの環状水素結合アレイである。この実施形態において、G - カルテットは、ポリ - A 領域の末端に組み込まれている。得られたポリヌクレオチド (例えば、mRNA) は、様々な時点で、安定性、タンパク質産生および半減期を含む他のパラメータについてアッセイされ得る。ポリA - Gカルテットが、120ヌクレオチドのポリ - A 領域のみを用いて見られるタンパク質産生の少なくとも75%に相当するタンパク質産生をもたらすことが発見されている。

40

【0350】

ある場合には、ポリヌクレオチド (例えば、mRNA) は、ポリ - A 領域を含んでもよ

50

く、3' - 安定化領域の付加によって安定化され得る。ポリ - A 領域を含むポリヌクレオチド（例えば、mRNA）は、5' - キャップ構造をさらに含み得る。

【0351】

他の場合には、ポリヌクレオチド（例えば、mRNA）は、ポリ - A - Gカルテットを含み得る。ポリ - A - Gカルテットを含むポリヌクレオチド（例えば、mRNA）は、5' - キャップ構造をさらに含み得る。

【0352】

ある場合には、ポリ - A 領域またはポリ - A - Gカルテットを含むポリヌクレオチド（例えば、mRNA）を安定させるのに使用され得る3' - 安定化領域は、限定はされないが、国際特許公開番号国際公開第2013/103659号パンフレット（そのポリ - A 領域およびポリ - A - Gカルテットは、参照により本明細書に援用される）に記載されるものであり得る。他の場合には、本開示に使用され得る3' - 安定化領域としては、3' - デオキシアデノシン（コルジセピン）、3' - デオキシウリジン、3' - デオキシシトシン、3' - デオキシグアノシン、3' - デオキシチミン、2' , 3' - ジデオキシヌクレオシド、例えば、2' , 3' - ジデオキシアデノシン、2' , 3' - ジデオキシウリジン、2' , 3' - ジデオキシシトシン、2' , 3' - ジデオキシグアノシン、2' , 3' - ジデオキシチミン、2' - デオキシヌクレオシド、またはO - メチルヌクレオシドなどの鎖終止ヌクレオシドが挙げられる。

【0353】

他の場合には、限定はされないが、ポリA領域またはポリ - A - Gカルテットを含むmRNAなどのポリヌクレオチドは、オリゴ（U）の付加を防止および/または阻害することができるポリヌクレオチドの3' - 領域に対する改変によって安定化され得る（例えば、国際特許公開番号国際公開第2013/103659号パンフレットを参照）。

【0354】

さらに他の場合には、限定はされないが、ポリ - A 領域またはポリ - A - Gカルテットを含むmRNAなどのポリヌクレオチドは、3' - デオキシヌクレオシド、2' , 3' - ジデオキシヌクレオシド3' - O - メチルヌクレオシド、3' - O - エチルヌクレオシド、3' - アラビノシド、および当該技術分野において公知であるか、および/または本明細書に記載される他の改変ヌクレオシドにおいて終端するオリゴヌクレオチドの付加によって安定化され得る。

【0355】

鎖終止ヌクレオシド

核酸は、鎖終止ヌクレオシドを含み得る。例えば、鎖終止ヌクレオシドは、それらの糖基の2' および/または3' 位において脱酸素化されたヌクレオシドを含み得る。このような種としては、3' - デオキシアデノシン（コルジセピン）、3' - デオキシウリジン、3' - デオキシシトシン、3' - デオキシグアノシン、3' - デオキシチミン、および2' , 3' - ジデオキシヌクレオシド、例えば、2' , 3' - ジデオキシアデノシン、2' , 3' - ジデオキシウリジン、2' , 3' - ジデオキシシトシン、2' , 3' - ジデオキシグアノシン、および2' , 3' - ジデオキシチミンが挙げられる。

【0356】

他の成分

ナノ粒子組成物は、前の部分に記載されるものに加えて、1つ以上の成分を含み得る。例えば、ナノ粒子組成物は、ビタミン（例えば、ビタミンAもしくはビタミンE）またはステロールなどの1つ以上の疎水性小分子を含み得る。

【0357】

ナノ粒子組成物は、1つ以上の透過性促進剤（permeability enhancer）分子、炭水化物、ポリマー、表面改質剤（surface altering agent）、または他の成分も含み得る。透過性促進剤分子は、例えば、米国特許出願公開第2005/0222064号明細書に記載される分子であり得る。炭水化物は、単糖類（例えば、グルコース）および多糖類（例えば、グリコーゲンおよびその誘導体および

10

20

30

40

50

類似体)を含み得る。

【0358】

ポリマーが、ナノ粒子組成物に含まれてもよく、および/またはナノ粒子組成物を封入または部分的に封入するのに使用され得る。ポリマーは、生分解性および/または生体適合性であり得る。ポリマーは、限定はされないが、ポリアミン、ポリエーテル、ポリアミド、ポリエステル、ポリカルバメート、ポリ尿素、ポリカーボネート、ポリスチレン、ポリイミド、ポリスルホン、ポリウレタン、ポリアセチレン、ポリエチレン、ポリエチレンイミン、ポリイソシアネート、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリアクリロニトリル、およびポリアリレートから選択され得る。例えば、ポリマーとしては、ポリ(カプロラクトン)(PCL)、エチレン酢酸ビニルポリマー(EVA)、ポリ(乳酸)(PLA)、ポリ(L-乳酸)(PLLA)、ポリ(グリコール酸)(PGA)、ポリ(乳酸-コ-グリコール酸)(PLGA)、ポリ(L-乳酸-コ-グリコール酸)(PLLGA)、ポリ(D,L-ラクチド)(PDLA)、ポリ(L-ラクチド)(PLLA)、ポリ(D,L-ラクチド-コ-カプロラクトン)、ポリ(D,L-ラクチド-コ-カプロラクトン-コ-グリコリド)、ポリ(D,L-ラクチド-コ-PEO-コ-D,L-ラクチド)、ポリ(D,L-ラクチド-コ-PPO-コ-D,L-ラクチド)、ポリアルキルシアノアクリレート、ポリウレタン、ポリ-L-リジン(PLL)、ヒドロキシプロピルメタクリレート(HPMA)、ポリエチレングリコール、ポリ-L-グルタミン酸、ポリ(ヒドロキシ酸)、ポリ無水物、ポリオルトエステル、ポリ(エステルアミド)、ポリアミド、ポリ(エステルエーテル)、ポリカーボネート、ポリアルキレン、例えば、ポリエチレンおよびポリプロピレン、ポリアルキレングリコール、例えば、ポリ(エチレングリコール)(PEG)、ポリアルキレンオキシド(PEO)、ポリアルキレンテレフタレート、例えば、ポリ(エチレンテレフタレート)、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリビニルエーテル、ポリビニルエステル、例えば、ポリ(酢酸ビニル)、ポリハロゲン化ビニル、例えば、ポリ(塩化ビニル)(PVC)、ポリビニルピロリドン(PVP)、ポリシロキサン、ポリスチレン(PS)、ポリウレタン、誘導体化セルロース、例えば、アルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、セルロースエーテル、セルロースエステル、ニトロセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、カルボキシメチルセルロース、アクリル酸のポリマー、例えば、ポリ(メチル(メタ)アクリレート)(PMMA)、ポリ(エチル(メタ)アクリレート)、ポリ(ブチル(メタ)アクリレート)、ポリ(イソブチル(メタ)アクリレート)、ポリ(ヘキシル(メタ)アクリレート)、ポリ(イソデシル(メタ)アクリレート)、ポリ(ラウリル(メタ)アクリレート)、ポリ(フェニル(メタ)アクリレート)、ポリ(メチルアクリレート)、ポリ(イソプロピルアクリレート)、ポリ(イソブチルアクリレート)、ポリ(オクタデシルアクリレート)ならびにそれらのコポリマーおよび混合物、ポリジオキサノンおよびそのコポリマー、ポリヒドロキシアルカノエート、ポリプロピレンフマレート、ポリオキシメチレン、ポロキサマー、ポリオキサミン、ポリ(オルト)エステル、ポリ(酪酸)、ポリ(吉草酸)、ポリ(ラクチド-コ-カプロラクトン)、炭酸トリメチレン、ポリ(N-アクリロイルモルホリン)(PACM)、ポリ(2-メチル-2-オキサゾリン)(PMOX)、ポリ(2-エチル-2-オキサゾリン)(PEOZ)、およびポリグリセロールが挙げられる。

【0359】

表面改質剤としては、限定はされないが、アニオン性タンパク質(例えば、ウシ血清アルブミン)、界面活性剤(例えば、ジメチルジオクタデシル-アンモニウムプロミドなどのカチオン性界面活性剤)、糖または糖誘導体(例えば、シクロデキストリン)、核酸、ポリマー(例えば、ヘパリン、ポリエチレングリコール、およびポロキサマー)、粘液溶解剤(例えば、アセチルシステイン、オオヨモギ、ブロメライン、パパイン、クサギ属の木(cle rodendrum)、プロムヘキシン、カルボシステイン、エブラジノン、メスナ、アンプロキシソール、ソブレロール、ドミオドール、レトステイン、ステプロニン、チオプロニン、ゲルゾリン、チモシン 4、ドルナーゼアルファ、ネルテネキシン、およびエルドステイン)、およびDNases(例えば、rhDNase)が挙げられる。

表面改質剤は、ナノ粒子内に、および／またはナノ粒子組成物の表面に（例えば、コーティング、吸着、共有結合、または他のプロセスによって）配置され得る。

【0360】

ナノ粒子組成物は、1つ以上の官能化脂質も含み得る。例えば、脂質は、適切な反応条件下でアジドに曝露されると、環状付加反応を起こし得るアルキン基で官能化され得る。特に、脂質二重層は、膜透過、細胞認識、またはイメージングを促進するのに有用な1つ以上の基で、このように官能化され得る。ナノ粒子組成物の表面はまた、1つ以上の有用な抗体と結合され得る。標的細胞送達、イメージング、および膜透過に有用な官能基およびコンジュゲートは、当該技術分野において周知である。

【0361】

これらの成分に加えて、ナノ粒子組成物は、医薬組成物に有用な任意の物質を含み得る。例えば、ナノ粒子組成物は、1つ以上の薬学的に許容できる賦形剤または補助成分、例えば、限定はされないが、1つ以上の溶媒、分散媒、希釈剤、分散助剤、懸濁助剤、造粒助剤、崩壊剤、充填剤、滑剤、液体ビヒクル、結合剤、表面活性剤、等張剤、増粘剤または乳化剤、緩衝剤、滑沢剤、油、防腐剤、および他の種を含み得る。ワックス、バター、着色剤、コーティング剤、香料、および芳香剤などの賦形剤も含まれ得る。薬学的に許容できる賦形剤は、当該技術分野において周知である（例えば、「レミントンの薬学の科学および実施（Remington's The Science and Practice of Pharmacy）」、第21版、A. R. ジェンナロ（A. R. Gennaro）著；リップニコット・ウィリアムズ・アンド・ウィルキンス（Lippincott, Williams & Wilkins）、メリーランド州バルチモア（Baltimore, MD）、2006を参照）。

【0362】

希釈剤の例としては、限定はされないが、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、リン酸カルシウム、リン酸ニカルシウム、硫酸カルシウム、リン酸水素カルシウム、リン酸ナトリウムラクトース、スクロース、セルロース、微結晶性セルロース、カオリン、マンニトール、ソルビトール、イノシトール、塩化ナトリウム、乾燥デンプン、トウモロコシデンプン、粉砂糖、および／またはそれらの組合せが挙げられる。造粒剤および分散剤は、ジャガイモデンプン、トウモロコシデンプン、タピオカデンプン、デンプングリコール酸ナトリウム、粘土、アルギン酸、グアーガム、シトラスパルプ、寒天、ベントナイト、セルロースおよび木製品、天然海綿、カチオン交換樹脂、炭酸カルシウム、ケイ酸塩、炭酸ナトリウム、架橋ポリ（ビニル-ピロリドン）（クロスボビドン）、ナトリウムカルボキシメチルデンプン（デンプングリコール酸ナトリウム）、カルボキシメチルセルロース、架橋ナトリウムカルボキシメチルセルロース（クロスカルメロース）、メチルセルロース、アルファデンプン（スターチ1500）、微結晶性デンプン、水不溶性デンプン、カルシウムカルボキシメチルセルロース、ケイ酸アルミニウムマグネシウム（ビーガム（VEEGUM）（登録商標））、ラウリル硫酸ナトリウム、第四級アンモニウム化合物、および／またはそれらの組合せからなる非限定的な一覧から選択され得る。

【0363】

表面活性剤および／または乳化剤としては、限定はされないが、天然の乳化剤（例えば、アカシア、寒天、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、トラガカント、コンドラックス（chondrux）、コレステロール、キサンタン、ペクチン、ゼラチン、卵黄、カゼイン、羊毛脂、コレステロール、ワックス、およびレシチン）、コロイド性粘土（例えばベントナイト〔ケイ酸アルミニウム〕およびビーガム（VEEGUM）（登録商標）〔ケイ酸アルミニウムマグネシウム〕）、長鎖アミノ酸誘導体、高分子量アルコール（例えばステアリルアルコール、セチルアルコール、オレイルアルコール、トリアセチンモノステアレート、エチレングリコールジステアレート、モノステアリン酸グリセリル、およびプロピレングリコールモノステアレート、ポリビニルアルコール）、カルボマー（例えばカルボキシポリメチレン、ポリアクリル酸、アクリル酸ポリマー、およびカルボキシビニルポリマー）、カラギーナン、セルロース誘導体（例えばカルボキシメチルセルロースナト

10

20

30

40

50

リウム、粉末セルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、メチルセルロース)、ソルビタン脂肪酸エステル(例えばポリオキシエチレンソルビタンモノラウレート[トウイーン(TWEEN)(登録商標)20]、ポリオキシエチレンソルビタン[トウイーン(TWEEN)(登録商標)60]、ポリオキシエチレンソルビタンモノオレエート[トウイーン(TWEEN)(登録商標)80]、ソルビタンモノパルミテート[スパン(SPAN)(登録商標)40]、ソルビタンモノステアレート[スパン(SPAN)(登録商標)60]、ソルビタントリステアレート[スパン(SPAN)(登録商標)65]、モノオレイン酸グリセリル、ソルビタンモノオレエート[スパン(SPAN)(登録商標)80])、ポリオキシエチレンエステル(例えばポリオキシエチレンモノステアレート[ミルジ(MYRJ)(登録商標)45]、ポリオキシエチレン水素化ヒマシ油、ポリエトキシ化ヒマシ油、ポリオキシメチレンステアレート、およびソルトール(SOLUTOL)(登録商標))、スクロース脂肪酸エステル、ポリエチレングリコール脂肪酸エステル(例えば、クレモフォール(CREMOPHOR)(登録商標))、ポリオキシエチレンエーテル、(例えばポリオキシエチレンラウリルエーテル[ブリジ(BRIJ)(登録商標)30])、ポリ(ビニル-ピロリドン)、ジエチレングリコールモノラウレート、トリエタノールアミンオレエート、オレイン酸ナトリウム、オレイン酸カリウム、オレイン酸エチル、オレイン酸、ラウリン酸エチル、ラウリル硫酸ナトリウム、プルロニック(PLURONIC)(登録商標)F 68、ポロキサマー(POLOXAMER)(登録商標)188、臭化セトリモニウム、塩化セチルピリジニウム、塩化ベンザルコニウム、ドキュセートナトリウム、および/またはそれらの組合せが挙げられる。

10

20

【0364】

結合剤は、デンプン(例えば、トウモロコシデンプンおよびデンプンペースト)；ゼラチン；糖(例えばスクロース、グルコース、デキストロース、デキストリン、糖蜜、ラクトース、ラクチトール、マンニトール)；天然および合成ゴム(例えば、アカシア、アルギン酸ナトリウム、アイリッシュモスの抽出物、パンワルガム、ガティガム、イサポール皮(isapohlhusk)の粘液、カルボキシメチルセルロース、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、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、微結晶性セルロース、酢酸セルロース、ポリ(ビニル-ピロリドン)、ケイ酸アルミニウムマグネシウム(ビーガム(VEEGUM)(登録商標))、およびカラマツアラビノガラクトン)；アルギン酸塩；ポリエチレンオキシド；ポリエチレングリコール；無機カルシウム塩；ケイ酸；ポリメタクリレート；ワックス；水；アルコール；およびそれらの組合せ、または任意の他の好適な結合剤であり得る。

30

【0365】

防腐剤の例としては、限定はされないが、酸化防止剤、キレート剤、抗菌防腐剤、抗真菌防腐剤、アルコール防腐剤、酸性防腐剤、および/または他の防腐剤が挙げられる。酸化防止剤の例としては、限定はされないが、トコフェロール、アスコルビン酸、パルミチン酸アスコビル、ブチル化ヒドロキシアニソール、ブチル化ヒドロキシトルエン、モノチオグリセロール、メタ重亜硫酸カリウム、プロピオン酸、没食子酸プロピル、アスコルビン酸ナトリウム、重亜硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、および/または亜硫酸ナトリウムが挙げられる。キレート剤の例としては、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、クエン酸一水和物、エデト酸二ナトリウム、エデト酸二カリウム、エデト酸、フマル酸、リンゴ酸、リン酸、エデト酸ナトリウム、酒石酸、および/またはエデト酸三ナトリウムが挙げられる。抗菌防腐剤の例としては、限定はされないが、塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム、ベンジルアルコール、プロノポール、セトリミド、塩化セチルピリジニウム、クロルヘキシジン、クロロブタノール、クロロクレゾール、クロロキシレノール、クレゾール、エチルアルコール、グリセリン、ヘキセチジン、イミド尿素、フェノール、フェノキシエタノール、フェニルエチルアルコール、硝酸フェニル水銀、プロピレングリコール、および/またはチメロサールが挙げられる。抗真菌防腐剤の例としては、限定はされないが、ブチルパラベン、メチルパラベン、エチルパラベン、プロピルパラ

40

50

ベン、安息香酸、ヒドロキシ安息香酸、安息香酸カリウム、ソルビン酸カリウム、安息香酸ナトリウム、プロピオン酸ナトリウム、および／またはソルビン酸が挙げられる。アルコール防腐剤の例としては、限定はされないが、エタノール、ポリエチレングリコール、ベンジルアルコール、フェノール、フェノール化合物、ビスフェノール、クロロブタノール、ヒドロキシ安息香酸塩、および／またはフェニルエチルアルコールが挙げられる。酸性防腐剤の例としては、限定はされないが、ビタミンＡ、ビタミンＣ、ビタミンＥ、β-カロテン、クエン酸、酢酸、デヒドロアスコルビン酸、アスコルビン酸、ソルビン酸、および／またはフィチン酸が挙げられる。他の防腐剤としては、限定はされないが、トコフェロール、酢酸トコフェロール、デテロキシムメシレート、セトリミド、ブチル化ヒドロキシアニソール（ＢＨＡ）、ブチル化ヒドロキシトルエン（ＢＨＴ）、エチレンジアミン、ラウリル硫酸ナトリウム（ＳＬＳ）、ラウリルエーテル硫酸ナトリウム（ＳＬＥＳ）、重亜硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸ナトリウム、亜硫酸カリウム、メタ重亜硫酸カリウム、グリダント・プラス（ＧＬＹＤＡＮＴ ＰＬＵＳ）（登録商標）、フェノニップ（ＰＨＥＮＯＮＩＰ）（登録商標）、メチルパラベン、ジャーマル（ＧＥＲＭＡＬＬ）（登録商標）１１５、ジャーマベン（ＧＥＲＭＡＢＥＮ）（登録商標）ＩＩ、ネオロン（ＮＥＯＬＯＮＥ）（商標）、カトン（ＫＡＴＨＯＮ）（商標）、および／またはユーキシル（ＥＵＸＹＬ）（登録商標）が挙げられる。

【０３６６】

緩衝剤の例としては、限定はされないが、クエン酸緩衝液、酢酸緩衝液、リン酸緩衝液、塩化アンモニウム、炭酸カルシウム、塩化カルシウム、クエン酸カルシウム、グルピオン酸カルシウム、グルセプト酸カルシウム、グルコン酸カルシウム、d-グルコン酸、グリセロリン酸カルシウム、乳酸カルシウム、ラクトピオン酸カルシウム、プロパン酸、レブリン酸カルシウム、ペンタン酸、第二リン酸カルシウム、リン酸、第三リン酸カルシウム、リン酸水酸化カルシウム、酢酸カリウム、塩化カリウム、グルコン酸カリウム、カリウム混合物、二塩基性リン酸カリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸カリウム混合物、酢酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、塩化ナトリウム、クエン酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、第二リン酸ナトリウム、第一リン酸ナトリウム、リン酸ナトリウム混合物、トロメタミン、アミノ-スルホン酸緩衝液（例えば、ＨＥＰＥＳ）、水酸化マグネシウム、水酸化アルミニウム、アルギン酸、発熱性物質除去蒸留水、等張食塩水、リンゲル液、エチルアルコール、および／またはそれらの組合せが挙げられる。滑沢剤は、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸、シリカ、タルク、麦芽、ベヘン酸グリセリル、水素化植物油、ポリエチレングリコール、安息香酸ナトリウム、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、ロイシン、ラウリル硫酸マグネシウム、ラウリル硫酸ナトリウム、およびそれらの組合せからなる非限定的な群から選択され得る。

【０３６７】

油の例としては、限定はされないが、アーモンド、杏仁、アボカド、パパス、ベルガモット、クロスグリの種子、ルリヂサ、ケード、カモミール、キャノーラ、キャラウェイ、カルナウバ、ヒマシ、シナモン、カカオ脂、ココナッツ、タラの肝臓、コーヒー、トウモロコシ、綿実、エミュー、ユーカリ、月見草、魚、亜麻仁、ゲラニオール、ヒョウタン、ブドウの種子、ハシバミの実、ヒソップ、ミリスチン酸イソプロピル、ホホバ、ククイの実、ラバンジン、ラベンダー、レモン、リツェアクベバ、マカデミアナッツ、マロー、マンゴーの種子、メドウフォームの種子、ミンク、ナツメグ、オリーブ、オレンジ、オレンジラフィー、パーム、パーム核、桃仁、ピーナッツ、ケシの実、カボチャの種子、ナタネ、米ぬか、ローズマリー、ベニバナ、サンダルウッド、サスクアナ（sassauna）、セイボリー、サジー、ゴマ、シアバター、シリコーン、ダイズ、ヒマワリ、ティーツリー、アザミ、ツバキ、ベチパー、クルミ、および小麦胚芽油ならびにステアリン酸ブチル、カプリル酸トリグリセリド、カプリン酸トリグリセリド、シクロメチコン、セバシン酸ジエチル、ジメチコン３６０、シメチコン、ミリスチン酸イソプロピル、鉱油、オクチルドデカノール、オレイルアルコール、シリコーン油、および／またはそれらの組合せが挙げられる。

10

20

30

40

50

【 0 3 6 8 】

製剤

ナノ粒子組成物は、脂質成分および1つ以上のさらなる成分、例えば、治療薬および/または予防薬を含み得る。ナノ粒子組成物は、1つ以上の特定の用途または標的のために設計され得る。ナノ粒子組成物の要素は、特定の用途または標的に基づいて、および/または有効性、毒性、費用、使用の容易さ、入手可能性、または1つ以上の要素の他の特徴に基づいて選択され得る。同様に、ナノ粒子組成物の特定の製剤は、例えば、要素の特定の組合せの有効性および毒性に応じて、特定の用途または標的のために選択され得る。

【 0 3 6 9 】

ナノ粒子組成物の脂質成分は、例えば、式(Ⅰ)、(ⅠA)、(ⅠB)、(ⅠI)、(ⅠIa)、(ⅠIb)、(ⅠIc)、(ⅠId)、(ⅠIe)、(ⅠIf)または(ⅠIg)で表される脂質、リン脂質(不飽和脂質、例えば、DOPEまたはDSPCなど)、PEG脂質、および構造脂質を含み得る。脂質成分の要素は、特定の割合で提供され得る。

10

【 0 3 7 0 】

ある実施形態において、ナノ粒子組成物の脂質成分は、式(Ⅰ)、(ⅠA)、(ⅠB)、(ⅠI)、(ⅠIa)、(ⅠIb)、(ⅠIc)、(ⅠId)、(ⅠIe)、(ⅠIf)または(ⅠIg)で表される脂質、リン脂質、PEG脂質、および構造脂質を含む。特定の実施形態において、ナノ粒子組成物の脂質成分は、約30mol%~約60mol%の式(Ⅰ)、(ⅠA)、(ⅠB)、(ⅠI)、(ⅠIa)、(ⅠIb)、(ⅠIc)、(ⅠId)、(ⅠIe)、(ⅠIf)または(ⅠIg)の化合物、約0mol%~約30mol%のリン脂質、約18.5mol%~約48.5mol%の構造脂質、および約0mol%~約10mol%のPEG脂質を含み、ただし、総mol%は100%を超えない。ある実施形態において、ナノ粒子組成物の脂質成分は、約35mol%~約55mol%の式(Ⅰ)、(ⅠA)、(ⅠB)、(ⅠI)、(ⅠIa)、(ⅠIb)、(ⅠIc)、(ⅠId)、(ⅠIe)、(ⅠIf)または(ⅠIg)の化合物、約5mol%~約25mol%のリン脂質、約30mol%~約40mol%の構造脂質、および約0mol%~約10mol%のPEG脂質を含む。特定の実施形態において、脂質成分は、約50mol%の前記化合物、約10mol%のリン脂質、約38.5mol%の構造脂質、および約1.5mol%のPEG脂質を含む。別の特定の実施形態において、脂質成分は、約40mol%の前記化合物、約20mol%のリン脂質、約38.5mol%の構造脂質、および約1.5mol%のPEG脂質を含む。ある実施形態において、ナノ粒子組成物の脂質成分は、約45mol%~約65mol%の式(Ⅰ)、(ⅠA)、(ⅠB)、(ⅠI)、(ⅠIa)、(ⅠIb)、(ⅠIc)、(ⅠId)、(ⅠIe)、(ⅠIf)または(ⅠIg)の化合物、約5mol%~約10mol%のリン脂質、約25mol%~約35mol%の構造脂質、および約5mol%~約10mol%のPEG脂質を含み、ただし、総mol%は100%を超えない。ある実施形態において、リン脂質は、DOPEまたはDSPCであり得る。他の実施形態において、PEG脂質は、PEG-DMGであり得、および/または構造脂質は、コレステロールであり得る。

20

30

【 0 3 7 1 】

ある実施形態において、ナノ粒子組成物の脂質成分は、カチオン性脂質、リン脂質、界面活性剤、およびコレステロール誘導体を含む。特定の実施形態において、ナノ粒子組成物の脂質成分は、約30mol%~約60mol%のカチオン性脂質、約0mol%~約30mol%のリン脂質、約18.5mol%~約48.5mol%の界面活性剤、および約0mol%~約10mol%のコレステロール誘導体を含み、ただし、総mol%は100%を超えない。ある実施形態において、ナノ粒子組成物の脂質成分は、約45mol%~約65mol%のカチオン性脂質、約5mol%~約10mol%のリン脂質、約25mol%~約35mol%のコレステロール誘導体、および約5mol%~約10mol%の界面活性剤を含み、ただし、総mol%は100%を超えない。

40

【 0 3 7 2 】

ナノ粒子組成物は、1つ以上の特定の用途または標的のために設計され得る。例えば、

50

ナノ粒子組成物は、RNAなどの治療薬および/または予防薬を、哺乳動物の身体における特定の細胞、組織、器官、またはそれらの系もしくは群に送達するように設計され得る。ナノ粒子組成物の生理化学的特性は、特定の身体上の標的に対する選択性を高めるために改変され得る。例えば、粒径が、様々な器官の開窓 (fenestration) のサイズに基づいて調節され得る。ナノ粒子組成物に含まれる治療薬および/または予防薬はまた、1つまたは複数の所望の送達標的に基づいて選択され得る。例えば、治療薬および/または予防薬は、特定の適応症、病態、疾患、または障害のために、および/または特定の細胞、組織、器官、またはそれらの系もしくは群への送達 (例えば、局所的または特異的送達) のために選択され得る。特定の実施形態において、ナノ粒子組成物は、目的のポリペプチドを生成するように細胞内で翻訳されることが可能な目的のポリペプチドをコードする mRNA を含み得る。このような組成物は、特定の器官に特異的に送達されるように設計され得る。ある実施形態において、組成物は、哺乳動物の肝臓に特異的に送達されるように設計され得る。

10

【0373】

ナノ粒子組成物中の治療薬および/または予防薬の量は、ナノ粒子組成物のサイズ、組成、所望の標的および/または用途、または他の特性ならびに治療薬および/または予防薬の特性に左右され得る。例えば、ナノ粒子組成物に有用な RNA の量は、RNA のサイズ、配列、および他の特性に左右され得る。ナノ粒子組成物中の治療薬および/または予防薬および他の要素 (例えば、脂質) の相対量も変化し得る。ある実施形態において、ナノ粒子組成物中の治療薬および/または予防薬に対する脂質成分の wt / wt 比は、約 5 : 1 ~ 約 60 : 1、例えば、5 : 1、6 : 1、7 : 1、8 : 1、9 : 1、10 : 1、11 : 1、12 : 1、13 : 1、14 : 1、15 : 1、16 : 1、17 : 1、18 : 1、19 : 1、20 : 1、25 : 1、30 : 1、35 : 1、40 : 1、45 : 1、50 : 1、および 60 : 1 であり得る。例えば、治療薬および/または予防薬に対する脂質成分の wt / wt 比は、約 10 : 1 ~ 約 40 : 1 であり得る。特定の実施形態において、wt / wt 比は、約 20 : 1 である。ナノ粒子組成物中の治療薬および/または予防薬の量は、例えば、吸収分光法 (例えば、紫外 - 可視分光法) を用いて測定され得る。

20

【0374】

ある実施形態において、ナノ粒子組成物は、1つ以上の RNA を含み、1つ以上の RNA、脂質、およびそれらの量は、特定の N : P 比をもたらすように選択され得る。組成物の N : P 比は、RNA 中のリン酸基の数に対する1つ以上の脂質中の窒素原子のモル比を指す。一般に、より低い N : P 比が好ましい。1つ以上の RNA、脂質、およびそれらの量は、約 2 : 1 ~ 約 30 : 1、例えば、2 : 1、3 : 1、4 : 1、5 : 1、6 : 1、7 : 1、8 : 1、9 : 1、10 : 1、12 : 1、14 : 1、16 : 1、18 : 1、20 : 1、22 : 1、24 : 1、26 : 1、28 : 1、または 30 : 1 の N : P 比をもたらすように選択され得る。特定の実施形態において、N : P 比は、約 2 : 1 ~ 約 8 : 1 であり得る。他の実施形態において、N : P 比は、約 5 : 1 ~ 約 8 : 1 である。例えば、N : P 比は、約 5.0 : 1、約 5.5 : 1、約 5.67 : 1、約 6.0 : 1、約 6.5 : 1、または約 7.0 : 1 であり得る。例えば、N : P 比は、約 5.67 : 1 であり得る。

30

【0375】

物理的特性

ナノ粒子組成物の特性は、その成分に左右され得る。例えば、構造脂質としてコレステロールを含むナノ粒子組成物は、異なる構造脂質を含むナノ粒子組成物と異なる特性を有し得る。同様に、ナノ粒子組成物の特性は、その成分の絶対量または相対量に左右され得る。例えば、より高いモル分率のリン脂質を含むナノ粒子組成物は、より低いモル分率のリン脂質を含むナノ粒子組成物と異なる特性を有し得る。特性はまた、ナノ粒子組成物の調製の方法および条件に応じて変化し得る。

40

【0376】

ナノ粒子組成物は、様々な方法によって特性決定され得る。例えば、顕微鏡法 (例えば、透過電子顕微鏡法または走査電子顕微鏡法) が、ナノ粒子組成物の形態およびサイズ分

50

布を調べるのに使用され得る。動的光散乱または電位差測定法（例えば、電位差滴定法）が、ゼータ電位を測定するのに使用され得る。動的光散乱はまた、粒径を決定するのに用いられ得る。ゼータサイザーナノZS（Zetasizer Nano ZS）（マルバーン・インスツルメンツ社、英国ウスターシャー州マルバーン（Malvern Instruments Ltd, Malvern, Worcestershire, UK））などの機器がまた、ナノ粒子組成物の複数の特性、例えば、粒径、多分散指数、およびゼータ電位を決定するのに使用され得る。

【0377】

ナノ粒子組成物の平均サイズは、例えば、動的光散乱（DLS）によって測定して、数10 nm～数100 nmであり得る。例えば、平均サイズは、約40 nm～約150 nm、例えば、約40 nm、45 nm、50 nm、55 nm、60 nm、65 nm、70 nm、75 nm、80 nm、85 nm、90 nm、95 nm、100 nm、105 nm、110 nm、115 nm、120 nm、125 nm、130 nm、135 nm、140 nm、145 nm、または150 nmであり得る。ある実施形態において、ナノ粒子組成物の平均サイズは、約50 nm～約100 nm、約50 nm～約90 nm、約50 nm～約80 nm、約50 nm～約70 nm、約50 nm～約60 nm、約60 nm～約100 nm、約60 nm～約90 nm、約60 nm～約80 nm、約60 nm～約70 nm、約70 nm～約150 nm、約70 nm～約130 nm、約70 nm～約100 nm、約70 nm～約90 nm、約70 nm～約80 nm、約80 nm～約150 nm、約80 nm～約130 nm、約80 nm～約100 nm、約80 nm～約90 nm、約90 nm～約150 nm、約90 nm～約130 nm、または約90 nm～約100 nmであり得る。特定の実施形態において、ナノ粒子組成物の平均サイズは、約70 nm～約130 nmまたは約70 nm～約100 nmであり得る。特定の実施形態において、平均サイズは、約80 nmであり得る。他の実施形態において、平均サイズは、約100 nmであり得る。他の実施形態において、平均サイズは、約120 nmであり得る。

【0378】

ナノ粒子組成物は、比較的均一であり得る。多分散指数は、ナノ粒子組成物の均一性、例えば、ナノ粒子組成物の粒径分布を示すのに使用され得る。小さい（例えば、0.3未満）多分散指数は、一般に、狭い粒径分布を示す。ナノ粒子組成物は、約0～約0.25、例えば、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05、0.06、0.07、0.08、0.09、0.10、0.11、0.12、0.13、0.14、0.15、0.16、0.17、0.18、0.19、0.20、0.21、0.22、0.23、0.24、または0.25の多分散指数を有し得る。ある実施形態において、ナノ粒子組成物の多分散指数は、約0.10～約0.20であり得る。

【0379】

ナノ粒子組成物のゼータ電位は、組成物の運動電位を示すのに使用され得る。例えば、ゼータ電位は、ナノ粒子組成物の表面電荷を表し得る。比較的低い電荷（正電荷か負電荷かにかかわらず）を有するナノ粒子組成物が一般に望ましいが、これは、より高度に帯電した種は、細胞、組織、および体内の他の要素と不必要に相互作用し得るためである。ある実施形態において、ナノ粒子組成物のゼータ電位は、約-10 mV～約+20 mV、約-10 mV～約+15 mV、約-10 mV～約+10 mV、約-10 mV～約+5 mV、約-10 mV～約0 mV、約-10 mV～約-5 mV、約-5 mV～約+20 mV、約-5 mV～約+15 mV、約-5 mV～約+10 mV、約-5 mV～約+5 mV、約-5 mV～約0 mV、約0 mV～約+20 mV、約0 mV～約+15 mV、約0 mV～約+10 mV、約0 mV～約+5 mV、約+5 mV～約+20 mV、約+5 mV～約+15 mV、または約+5 mV～約+10 mVであり得る。

【0380】

治療薬および/または予防薬の封入の効率は、提供される初期の量と比べた、調製後に封入されるかまたは他の形でナノ粒子組成物と結合された治療薬および/または予防薬の量を表す。封入効率は、高いのが望ましい（例えば、ほぼ100%）。封入効率は、例え

ば、1つ以上の有機溶媒または洗浄剤でナノ粒子組成物を分解する前および後のナノ粒子組成物を含有する溶液中の治療薬および/または予防薬の量を比較することによって測定され得る。蛍光は、溶液中の遊離治療薬および/または予防薬（例えば、RNA）の量を測定するのに使用され得る。本明細書に記載されるナノ粒子組成物では、治療薬および/または予防薬の封入効率は、少なくとも50%、例えば50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%であり得る。ある実施形態において、封入効率は、少なくとも80%であり得る。特定の実施形態において、封入効率は、少なくとも90%であり得る。

【0381】

ナノ粒子組成物は、任意に、1つ以上のコーティングを含み得る。例えば、ナノ粒子組成物は、コーティングを有するカプセル、フィルム、または錠剤において製剤化され得る。本明細書に記載される組成物を含むカプセル、フィルム、または錠剤は、任意の有用なサイズ、引張り強さ、硬度、または密度を有し得る。

【0382】

医薬組成物

ナノ粒子組成物は、医薬組成物として全体的にまたは部分的に製剤化され得る。医薬組成物は、1つ以上のナノ粒子組成物を含み得る。例えば、医薬組成物は、1つ以上の異なる治療薬および/または予防薬を含む1つ以上のナノ粒子組成物を含み得る。医薬組成物は、本明細書に記載されるものなどの1つ以上の薬学的に許容できる賦形剤または補助成分をさらに含み得る。医薬組成物および薬剤の製剤化および製造についての一般的な指針は、例えば、「レミントンの薬学の科学および実施 (Remington's The Science and Practice of Pharmacy)」、第21版、A. R. ジェンナロ (A. R. Gennaro) ; リッピンコット・ウィリアムズ・アンド・ウィルキンス (Lippincott, Williams & Wilkins)、メリーランド州バルチモア (Baltimore, MD)、2006において入手可能である。任意の従来の賦形剤または補助成分が、ナノ粒子組成物の1つ以上の成分と不適合である場合を除いて、従来の賦形剤および補助成分が、任意の医薬組成物において使用され得る。賦形剤または補助成分は、ナノ粒子組成物の成分と何らかの望ましくない生物学的作用、または他の形の有害な作用をもたらし得る場合、ナノ粒子組成物の成分と不適合であり得る。

【0383】

ある実施形態において、1つ以上の賦形剤または補助成分は、ナノ粒子組成物を含む医薬組成物の総質量または体積の50%超を構成し得る。例えば、1つ以上の賦形剤または補助成分は、医薬品の慣例 (pharmaceutical convention) の50%、60%、70%、80%、90%、またはそれ以上を構成し得る。ある実施形態において、薬学的に許容できる賦形剤は、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%純粋である。ある実施形態において、賦形剤は、ヒトへの使用および獣医学用途のために承認されている。ある実施形態において、賦形剤は、米国食品医薬品局 (United States Food and Drug Administration) によって承認されている。ある実施形態において、賦形剤は、医薬品グレードである。ある実施形態において、賦形剤は、米国薬局方 (USP: United States Pharmacopoeia)、欧州薬局方 (EP: European Pharmacopoeia)、英国薬局方 (British Pharmacopoeia)、および/または国際薬局方 (International Pharmacopoeia) の基準を満たしている。

【0384】

本開示に係る医薬組成物中の1つ以上のナノ粒子組成物、1つ以上の薬学的に許容できる賦形剤、および/または任意のさらなる成分の相対量は、治療対象の属性 (identity)、サイズ、および/または状態に応じて、さらには、組成物が投与される経路に

10

20

30

40

50

応じて変化する。例として、医薬組成物は、 $0.1\% \sim 100\% (w t / w t)$ の1つ以上のナノ粒子組成物を含み得る。

【0385】

特定の実施形態において、本開示のナノ粒子組成物および/または医薬組成物は、貯蔵および/または輸送のために冷蔵または冷凍される（例えば、約 $-150 \sim 0$ または約 $-80 \sim -20$ の温度（例えば、約 -5 、 -10 、 -15 、 -20 、 -25 、 -30 、 -40 、 -50 、 -60 、 -70 、 -80 、 -90 、 -130 または -150 ）などの4 以下の温度で貯蔵される。例えば、式(I)、(IA)、(II)、および(IIa)~(IIE)のいずれかの化合物を含む医薬組成物は、例えば、約 -20 、 -30 、 -40 、 -50 、 -60 、 -70 、または -80 で、貯蔵および/または輸送のために冷蔵される溶液である。特定の実施形態において、本開示はまた、ナノ粒子組成物および/または医薬組成物を、4 以下の温度、例えば、約 $-150 \sim 0$ または約 $-80 \sim -20$ の温度、例えば、約 -5 、 -10 、 -15 、 -20 、 -25 、 -30 、 -40 、 -50 、 -60 、 -70 、 -80 、 -90 、 -130 または -150 ）で貯蔵することによって、式(I)、(IA)、(II)、および(IIa)~(IIE)のいずれかの化合物を含むナノ粒子組成物および/または医薬組成物の安定性を高める方法にも関する。例えば、本明細書に開示されるナノ粒子組成物および/または医薬組成物は、約少なくとも1週間、少なくとも2週間、少なくとも3週間、少なくとも4週間、少なくとも5週間、少なくとも6週間、少なくとも1か月間、少なくとも2か月間、少なくとも4か月間、少なくとも6か月間、少なくとも8か月間、少なくとも10か月間、少なくとも12か月間、少なくとも14か月間、少なくとも16か月間、少なくとも18か月間、少なくとも20か月間、少なくとも22か月間、または少なくとも24か月間、例えば、4 以下（例えば、約 $4 \sim -20$ ）の温度で安定している。一実施形態において、製剤は、約4 で少なくとも4週間安定される。特定の実施形態において、本開示の医薬組成物は、本明細書に開示されるナノ粒子組成物と、トリス、アセテート（例えば、酢酸ナトリウム）、シトレート（例えば、クエン酸ナトリウム）、生理食塩水、PBS、およびスクロースの1つ以上から選択される薬学的に許容できる担体とを含む。特定の実施形態において、本開示の医薬組成物は、約 $7 \sim 8$ （例えば、 6.8 、 6.9 、 7.0 、 7.1 、 7.2 、 7.3 、 7.4 、 7.5 、 7.6 、 7.7 、 7.8 、 7.9 または 8.0 、または $7.5 \sim 8$ もしくは $7 \sim 7.8$ ）のpH値を有する。例えば、本開示の医薬組成物は、本明細書に開示されるナノ粒子組成物、トリス、生理食塩水およびスクロースを含み、例えば、約 -20 での貯蔵および/または輸送に好適な、約 $7.5 \sim 8$ のpHを有する。例えば、本開示の医薬組成物は、本明細書に開示されるナノ粒子組成物およびPBSを含み、例えば、約4 以下での貯蔵および/または輸送に好適な、約 $7 \sim 7.8$ のpHを有する。本開示に関して「安定性」、「安定化された」、および「安定した」は、所与の製造、調製、輸送、貯蔵および/または使用中の条件下での、例えば、せん断力、冷解凍ストレスなどのストレスがかけられるときの、化学的または物理的变化（例えば、分解、粒径変化、凝集、封入の変化など）に対する本明細書に開示されるナノ粒子組成物および/または医薬組成物の耐性を指す。

【0386】

1つ以上のナノ粒子組成物を含むナノ粒子組成物および/または医薬組成物は、1つ以上の特定の細胞、組織、器官、またはそれらの系もしくは群（腎臓系など）への治療薬および/または予防薬の送達によって提供される治療効果から利益を受け得る患者または対象を含む任意の患者または対象に投与され得る。ナノ粒子組成物を含むナノ粒子組成物および医薬組成物の本明細書において提供される説明は、主に、ヒトへの投与に好適な組成物に関するが、このような組成物は、一般に、任意の他の哺乳動物への投与に好適であることが当業者によって理解されよう。組成物を様々な動物への投与に好適にするための、ヒトへの投与に好適な組成物の修飾は、十分に理解されており、通常の獣医学薬理学者は、もしあれば単なる通常の実験を用いて、このような修飾を設計および/または実施する

ことができる。組成物の投与が想定される対象としては、限定はされないが、ヒト、他の霊長類、およびウシ、ブタ、ウマ、ヒツジ、ネコ、イヌ、マウス、および／またはラットなどの商業的に価値のある哺乳動物を含む他の哺乳動物が挙げられる。

【0387】

1つ以上のナノ粒子組成物を含む医薬組成物は、薬理学分野において公知であるかまたは今後開発される任意の方法によって調製され得る。一般に、このような調製方法は、活性成分を、賦形剤および／または1つ以上の他の補助成分と結合させる工程と、次に、望ましい場合または必要に応じて、生成物を、所望の単回または複数回投与単位に、分割、成形および／または包装する工程とを含む。

【0388】

本開示に係る医薬組成物は、単一単位用量、および／または複数の単一単位用量として、調製、包装、および／または大量販売され得る。本明細書において使用される際、「単位用量」は、所定の量の活性成分（例えば、ナノ粒子組成物）を含む医薬組成物の個別の量である。活性成分の量は、一般に、対象に投与され得る活性成分の投与量、および／またはこのような投与量の好都合な割合、例えば、このような投与量の2分の1もしくは3分の1に等しい。

【0389】

医薬組成物は、様々な投与経路および方法に好適な様々な形態で調製され得る。例えば、医薬組成物は、液体剤形（例えば、乳剤、マイクロエマルジョン、ナノ乳剤、溶液、懸濁液、シロップ、およびエリキシル剤）、注射用形態、固体剤形（例えば、カプセル、錠剤、丸剤、粉剤、および顆粒剤）、局所および／または経皮投与のための剤形（例えば、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、粉剤、溶液、スプレー、吸入剤、およびパッチ剤）、懸濁液、粉剤、および他の形態で調製され得る。

【0390】

経口および非経口投与のための液体剤形としては、限定はされないが、薬学的に許容できる乳剤、マイクロエマルジョン、ナノ乳剤、溶液、懸濁液、シロップ、および／またはエリキシル剤が挙げられる。活性成分に加えて、液体剤形は、当該技術分野において一般的に使用される不活性希釈剤、例えば、水または他の溶媒、可溶化剤および乳化剤、例えば、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、ジメチルホルムアミド、油（特に、綿実油、ピーナッツ油、トウモロコシ油、胚芽油、オリーブ油、ヒマシ油、およびゴマ油）、グリセロール、テトラヒドロフルフリルアルコール、ポリエチレングリコールおよびソルビタンの脂肪酸エステル、およびそれらの混合物を含み得る。不活性希釈剤に加えて、経口組成物は、さらなる治療薬および／または予防薬、湿潤剤、乳化剤および懸濁化剤、甘味料、香味料、および／または芳香剤などのさらなる薬剤を含み得る。非経口投与のための特定の実施形態において、組成物は、クレモフォール（Cremophor）（登録商標）、アルコール、油、変性油、グリコール、ポリソルベート、シクロデキストリン、ポリマー、および／またはそれらの組合せなどの可溶化剤と混合される。

【0391】

注射用製剤、例えば、滅菌注射用水性または油性懸濁液が、好適な分散剤、湿潤剤、および／または懸濁化剤を用いて、公知の技術にしたがって製剤化され得る。滅菌注射用製剤は、例えば、1,3-ブタンジオール中の溶液のような、非毒性の非経口的に許容できる希釈剤および／または溶媒中の滅菌注射用溶液、懸濁液、および／または乳剤であり得る。用いられ得る許容可能なビヒクルおよび溶媒の中でも、水、リンゲル液、U.S.P.、および等張性塩化ナトリウム溶液がある。滅菌固定油は、通常、溶媒または懸濁媒体として用いられる。この目的のために、合成モノまたはジグリセリドを含む任意の無刺激性固定油が用いられ得る。オレイン酸などの脂肪酸が、注射薬の調製に使用され得る。

【0392】

注射用製剤は、例えば、細菌捕捉フィルタを介したる過によって、および／または使用

10

20

30

40

50

前に滅菌水または他の滅菌注射用媒体に溶解または分散され得る滅菌固体組成物の形態の滅菌剤を組み込むことによって滅菌され得る。

【0393】

活性成分の効果を長く持続させるために、多くの場合、皮下または筋肉内注射から活性成分の吸収を遅らせるのが望ましい。これは、難水溶性の結晶性または非晶質材料の液体懸濁液の使用によって達成することができる。その際、薬剤の吸収速度は、その溶解速度に左右されるが、この溶解速度は、今度は、結晶サイズおよび結晶形態に左右され得る。あるいは、非経口投与された薬剤形態の吸収の遅延は、薬剤を油媒体に溶解または懸濁させることによって達成される。注入可能なデポー形態は、ポリラクチド-ポリグリコリドなどの生分解性ポリマー中で薬剤のマイクロカプセルマトリックスを形成することによって作製される。薬剤対ポリマーの比率および用いられる特定のポリマーの性質に応じて、薬剤放出の速度が制御され得る。他の生分解性ポリマーの例としては、ポリ(オルトエステル)およびポリ(無水物)が挙げられる。デポー注入可能製剤は、身体組織と適合性のリポソームまたはマイクロエマルジョン中に薬剤を閉じ込めることによって調製される。

10

【0394】

直腸または腔投与のための組成物は、典型的に、坐薬であり、これは、周囲温度では固体であるが、体温では液体であるため、直腸または腔腔において溶解し、活性成分を放出する、カカオ脂、ポリエチレングリコールまたは坐薬ワックスなどの好適な無刺激の賦形剤と組成物を混合することによって調製され得る。

【0395】

20

経口投与用の固体剤形としては、カプセル、錠剤、丸剤、フィルム、粉剤、および顆粒剤が挙げられる。このような固体剤形では、活性成分は、少なくとも1つの不活性な薬学的に許容できる賦形剤、例えば、クエン酸ナトリウムまたはリン酸二カルシウムおよび/または充填剤または増量剤(例えば、デンプン、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、およびケイ酸)、結合剤(例えば、カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリジノン、スクロース、およびアカシア)、保湿剤(例えば、グリセロール)、崩壊剤(例えば、寒天、炭酸カルシウム、ジャガイモまたはタピオカデンプン、アルギン酸、特定のケイ酸塩、および炭酸ナトリウム)、溶解遅延剤(例えば、パラフィン)、吸収促進剤(例えば、第四級アンモニウム化合物)、湿潤剤(例えば、セチルアルコールおよびモノステアリン酸グリセロール)、吸収剤(例えば、カオリンおよびベントナイト粘土、ケイ酸塩)、および潤滑剤(例えば、タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固体ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム)、およびそれらの混合物と混合される。カプセル、錠剤および丸剤の場合、剤形は、緩衝剤を含み得る。

30

【0396】

類似のタイプの固体組成物が、ラクトースまたは乳糖ならびに高分子量ポリエチレングリコールなどの賦形剤を用いて、軟質および硬質の充填ゼラチンカプセル中の充填剤として用いられ得る。錠剤、糖衣錠、カプセル、丸剤、および顆粒剤の固体剤形は、腸溶コーティングおよび医薬製剤分野で周知の他のコーティングなどのコーティングおよびシェルを用いて調製され得る。それらは、任意に、乳白剤を含んでもよく、活性成分のみを、または、任意に遅延して、腸管の特定の部分において優先的に放出する組成物のものであり得る。使用され得る包埋組成物の例としては、ポリマー物質およびワックスが挙げられる。類似のタイプの固体組成物が、ラクトースまたは乳糖ならびに高分子量ポリエチレングリコールなどの賦形剤を用いて、軟質および硬質の充填ゼラチンカプセル中の充填剤として用いられ得る。

40

【0397】

組成物の局所および/または経皮投与のための剤形としては、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、粉剤、溶液、スプレー、吸入剤、および/またはパッチ剤が挙げられる。一般に、活性成分は、必要に応じて、滅菌条件下で、薬学的に許容できる賦形剤および/または任意の必要な防腐剤および/または緩衝剤と混合される。さらに、本開示

50

は、経皮パッチ剤の使用を想定し、経皮パッチ剤は、多くの場合、身体への化合物の制御送達をもたらすという追加の利点を有する。このような剤形は、例えば、化合物を適切な媒体に溶解および／または分散させることによって調製され得る。その代わりにまたはそれに加えて、速度制御膜を提供するか、および／または化合物をポリマーマトリックスおよび／またはゲルに分散させるかのいずれかによって、速度が制御され得る。

【0398】

本明細書に記載される皮内医薬組成物を送達するのに使用するための好適なデバイスとしては、米国特許第4,886,499号明細書；同第5,190,521号明細書；同第5,328,483号明細書；同第5,527,288号明細書；同第4,270,537号明細書；同第5,015,235号明細書；同第5,141,496号明細書；および同第5,417,662号明細書に記載されるものなどの短針デバイスが挙げられる。皮内組成物は、PCT公開国際公開第99/34850号パンフレットに記載されるものなどの、皮膚への針の有効貫入長さを制限するデバイスおよびその機能的同等物によって投与され得る。液体ジェット式注射器および／または角質層を貫通し、真皮に到達する噴流を生成する針を介して液体組成物を真皮に送達するジェット式注射デバイスが好適である。ジェット式注射デバイスは、例えば、米国特許第5,480,381号明細書；同第5,599,302号明細書；同第5,334,144号明細書；同第5,993,412号明細書；同第5,649,912号明細書；同第5,569,189号明細書；同第5,704,911号明細書；同第5,383,851号明細書；同第5,893,397号明細書；同第5,466,220号明細書；同第5,339,163号明細書；同第5,312,335号明細書；同第5,503,627号明細書；同第5,064,413号明細書；同第5,520,639号明細書；同第4,596,556号明細書；同第4,790,824号明細書；同第4,941,880号明細書；同第4,940,460号明細書；およびPCT公開国際公開第97/37705号パンフレットおよび国際公開第97/13537号パンフレットに記載されている。圧縮ガスを用いて、粉末状のワクチンを皮膚の外層から真皮へと加速させる弾道(ballistic)粉末/粒子送達デバイスが好適である。その代わりにまたはそれに加えて、従来の注射器が、皮内投与の古典的なマントー(mantoux)法に使用され得る。

【0399】

局所投与に好適な製剤としては、限定はされないが、塗布剤、ローション、クリーム、軟膏および／またはペーストなどの水中油型および／または油中水型エマルジョン、および／または溶液および／または懸濁液などの液体および／または半液体製剤が挙げられる。局所投与可能な製剤は、例えば、約1%～約10%(w/w)の活性成分を含み得るが、活性成分の濃度は、溶媒への活性成分の溶解限度と同程度に高くてもよい。局所投与用の製剤は、本明細書に記載されるさらなる成分の1つ以上をさらに含み得る。

【0400】

医薬組成物は、口腔を介した経肺投与に好適な製剤として調製、包装、および／または販売され得る。このような製剤は、活性成分を含む乾燥粒子を含み得る。このような組成物は、好都合には、推進剤の流れを誘導して、粉末を分散させ得る乾燥粉末リザーバを含むデバイスを用いた、および／または密閉容器内で低沸点推進剤に溶解および／または懸濁された活性成分を含むデバイスなどの自己推進溶媒/粉末分配容器を用いた投与のための乾燥粉末の形態である。乾燥粉末組成物は、糖などの固体微粉希釈剤を含んでもよく、好都合には、単位剤形で提供される。

【0401】

低沸点推進剤は、一般に、大気圧で18.3(65°F)未満の沸点を有する液体推進剤を含む。一般に、推進剤は、組成物の50%～99.9%(w/w)を構成してもよく、活性成分は、組成物の0.1%～20%(w/w)を構成してもよい。推進剤は、液体の非イオン性および／または固体のアニオン性界面活性剤および／または固体の希釈剤(活性成分を含む粒子と同程度の粒径を有し得る)などのさらなる成分をさらに含み得る。

10

20

30

40

50

【 0 4 0 2 】

肺送達のために製剤化される医薬組成物は、溶液および／または懸濁液の液滴の形態で活性成分を提供し得る。このような製剤は、活性成分を含む、任意に滅菌した水性および／または希アルコール性溶液および／または懸濁液として調製、包装、および／または販売され得、好都合には、任意の噴霧および／または霧化デバイスを用いて投与され得る。このような製剤は、限定はされないが、サッカリンナトリウムなどの香味料、揮発性油、緩衝剤、表面活性剤、および／またはメチルヒドロキシ安息香酸塩などの防腐剤を含む1つ以上のさらなる成分をさらに含み得る。この投与経路によって提供される液滴は、約1 nm ~ 約200 nmの範囲の平均直径を有し得る。

【 0 4 0 3 】

肺送達に有用であることが本明細書に記載される製剤は、医薬組成物の鼻内送達に有用である。鼻内投与に好適な別の製剤は、活性成分を含み、かつ約0.2 μm ~ 500 μmの平均粒子を有する粗粉末である。このような製剤は、鼻から吸い込む方法で、すなわち、鼻の近くに保持した粉末の容器から鼻腔を介した高速吸入によって投与される。

【 0 4 0 4 】

経鼻投与に好適な製剤は、例えば、わずか約0.1% (w t / w t) 程度から100% (w t / w t) もの活性成分を含んでもよく、本明細書に記載されるさらなる成分の1つ以上を含み得る。医薬組成物は、口腔投与に好適な製剤として調製、包装、および／または販売され得る。このような製剤は、例えば、従来の方法を用いて作製される錠剤および／またはトローチ剤の形態であってもよく、例えば、0.1% ~ 20% (w t / w t) の活性成分を含んでもよく、残りが、経口溶解性および／または分解性組成物ならびに、任意に、本明細書に記載されるさらなる成分の1つ以上を含む。あるいは、口腔投与に好適な製剤は、活性成分を含む、粉末および／またはエアロゾル化および／または霧化溶液および／または懸濁液を含み得る。このような粉末化、エアロゾル化、および／またはエアロゾル化製剤は、分散されると、約0.1 nm ~ 約200 nmの範囲の平均粒径および／または液滴径を有してもよく、本明細書に記載される任意のさらなる成分の1つ以上をさらに含み得る。

【 0 4 0 5 】

医薬組成物は、眼投与に好適な製剤として調製、包装、および／または販売され得る。このような製剤は、例えば、水性または油性液体賦形剤中の活性成分の0.1 / 1.0% (w t / w t) の溶液および／または懸濁液を含む、例えば、点眼薬の形態であり得る。このような点眼薬は、緩衝剤、塩、および／または本明細書に記載される任意のさらなる他の成分の1つ以上をさらに含み得る。有用である他の眼投与可能な製剤としては、微結晶形態および／またはリポソーム製剤として活性成分を含むものが挙げられる。点耳薬および／または点眼薬は、本開示の範囲内であると考えられる。

【 0 4 0 6 】

細胞内でポリペプチドを生成する方法

本開示は、哺乳動物細胞内で目的のポリペプチドを生成する方法を提供する。ポリペプチドを生成する方法は、細胞を、目的のポリペプチドをコードするmRNAを含むナノ粒子組成物と接触させることを含む。細胞をナノ粒子組成物と接触させると、mRNAは、細胞に取り込まれ、細胞内で翻訳されて、目的のポリペプチドを生成し得る。

【 0 4 0 7 】

一般に、哺乳動物細胞を、目的のポリペプチドをコードするmRNAを含むナノ粒子組成物と接触させる工程は、インピボ、エクスピボ、培養下、またはインビトロで行われ得る。細胞と接触されるナノ粒子組成物の量、および／またはその中のmRNAの量は、接触される細胞または組織のタイプ、投与手段、ナノ粒子組成物およびその中のmRNAの物理化学的特性（例えば、サイズ、電荷、および化学組成）、および他の要因に左右され得る。一般に、有効量のナノ粒子組成物は、細胞内の効率的なポリペプチド生成を可能にする。効率の測定基準としては、ポリペプチド翻訳（ポリペプチド発現によって示される）、mRNA分解のレベル、および免疫応答指標が挙げられる。

10

20

30

40

50

【 0 4 0 8 】

mRNAを含むナノ粒子組成物を、細胞と接触させる工程は、トランスフェクションを含むかまたは引き起こし得る。ナノ粒子組成物の脂質成分を含むリン脂質は、例えば、細胞膜または細胞内膜と相互作用し、および/またはそれと融合することによって、トランスフェクションを促進し、および/またはトランスフェクション効率を高め得る。トランスフェクションは、細胞内のmRNAの翻訳を可能にし得る。

【 0 4 0 9 】

ある実施形態において、本明細書に記載されるナノ粒子組成物は、治療的に使用され得る。例えば、ナノ粒子組成物に含まれるmRNAは、（例えば、翻訳可能領域において）治療用ポリペプチドをコードし、細胞内に接触および/または侵入（例えば、トランスフェクション）すると治療用ポリペプチドを生成し得る。他の実施形態において、ナノ粒子組成物に含まれるmRNAは、対象の免疫を改善し、または高め得るポリペプチドをコードし得る。例えば、mRNAは、顆粒球コロニー刺激因子またはトラスツズマブをコードし得る。

【 0 4 1 0 】

特定の実施形態において、ナノ粒子組成物に含まれるmRNAは、ナノ粒子組成物と接触された細胞に実質的に存在しない1つ以上のポリペプチドを置換し得る組み換えポリペプチドをコードし得る。1つ以上の実質的に存在しないポリペプチドは、コード遺伝子またはその調節経路の突然変異のため欠落していることがある。あるいは、mRNAの翻訳によって生成された組み換えポリペプチドは、細胞内、細胞の表面に存在するか、または細胞から分泌される内因性タンパク質の活性に拮抗し得る。拮抗的組み換えポリペプチドは、突然変異によって引き起こされる改変活性または局在化などの、内因性タンパク質の活性によって引き起こされる有害作用に対抗するのが望ましいことがある。別の改変では、mRNAの翻訳によって生成される組み換えポリペプチドは、細胞内、細胞の表面に存在するか、または細胞から分泌される生物学的部分の活性に間接的にまたは直接拮抗し得る。拮抗される生物学的部分としては、限定はされないが、脂質（例えば、コレステロール）、リポタンパク質（例えば、低比重リポタンパク）、核酸、炭水化物、および小分子毒素が挙げられる。mRNAの翻訳によって生成される組み換えポリペプチドは、細胞内、例えば、核などの特定の区画内の局在化のために操作され得、または細胞からの分泌または細胞の細胞膜への転位のために操作され得る。

【 0 4 1 1 】

ある実施形態において、細胞を、mRNAを含むナノ粒子組成物と接触させることは、外因性核酸に対する細胞の自然免疫応答を低減し得る。細胞は、翻訳可能領域を含む第1の量の第1の外因性mRNAを含む第1のナノ粒子組成物と接触され得、第1の外因性mRNAに対する細胞の自然免疫応答のレベルが決定され得る。続いて、細胞は、第2の量の第1の外因性mRNAを含む第2の組成物と接触され得、ここで、第2の量は、第1の量と比較して第1の外因性mRNAのより少ない量である。あるいは、第2の組成物は、第1の外因性mRNAと異なる第1の量の第2の外因性mRNAを含み得る。細胞を、第1および第2の組成物と接触させる工程は、1回以上繰り返され得る。さらに、細胞内のポリペプチド生成（例えば、翻訳）の効率は、任意に決定され得、細胞は、標的タンパク質生成効率が達成されるまで、第1および/または第2の組成物と繰り返し再接触され得る。

【 0 4 1 2 】

治療剤を細胞および器官に送達する方法

本開示は、治療薬および/または予防薬を、哺乳動物細胞または器官に送達する方法を提供する。細胞への治療薬および/または予防薬の送達は、治療薬および/または予防薬を含むナノ粒子組成物を、対象に投与することを含み、ここで、組成物の投与は、細胞を組成物と接触させることを含む。例えば、タンパク質、細胞毒性剤、放射性イオン、化学療法剤、または核酸（RNA、例えば、mRNAなど）は、細胞または器官に送達され得る。治療薬および/または予防薬がmRNAである場合、細胞をナノ粒子組成物と接触させ

ると、翻訳可能な mRNA は、細胞内で翻訳されて、目的のポリペプチドを生成し得る。しかしながら、実質的に翻訳不可能な mRNA も、細胞に送達され得る。実質的に翻訳不可能な mRNA は、ワクチンとして有用であり得、および/または細胞内での他の種の発現を低減するように、細胞の翻訳成分を隔離 (s e q u e s t e r) し得る。

【 0 4 1 3 】

ある実施形態において、ナノ粒子組成物は、細胞 (例えば、特定の器官またはその系の細胞) の特定のタイプまたはクラスを標的にし得る。例えば、目的の治療薬および/または予防薬を含むナノ粒子組成物は、哺乳動物の肝臓、腎臓、脾臓、大腿骨、または肺に特異的に送達され得る。特定のクラスの細胞、器官、またはその系もしくは群への特異的送達は、例えば、哺乳動物へのナノ粒子組成物の投与後に、他の目的地と比べて、より高い割合の、治療薬および/または予防薬を含むナノ粒子組成物が、目的の目的地 (例えば、組織) に送達されることを意味する。ある実施形態において、特異的送達は、別の目的地 (例えば、脾臓) と比較して、標的化された目的地 (例えば、肝臓などの目的の組織) の組織 1 g 当たり治療薬および/または予防薬の量の 2 倍、5 倍、10 倍、15 倍、または 20 倍超の増加をもたらし得る。ある実施形態において、目的の組織は、肝臓、腎臓、肺、脾臓、大腿骨、眼組織 (例えば、眼内、網膜下、または硝子体内注入によって)、血管の血管内皮 (例えば、冠動脈内または大腿骨内) または腎臓、および腫瘍組織 (例えば、腫瘍内投与によって) からなる群から選択される。

10

【 0 4 1 4 】

標的化または特異的送達の別の例として、タンパク質 - 結合パートナー (例えば、抗体またはその機能的断片、足場タンパク質、またはペプチド) または細胞表面上の受容体をコードする mRNA が、ナノ粒子組成物に含まれ得る。mRNA は、脂質、炭水化物、または他の生物学的部分の合成および細胞外局在化を指令するために、さらにまたは代わりに使用され得る。あるいは、ナノ粒子組成物の他の治療薬および/または予防薬または要素 (例えば、脂質またはリガンド) は、ナノ粒子組成物が、受容体を含む標的細胞集団とより容易に相互作用し得るように、特定の受容体 (例えば、低比重リポタンパク受容体) に対するそれらの親和性に基づいて選択され得る。例えば、リガンドとしては、限定はされないが、特異的結合対のメンバー、抗体、モノクローナル抗体、Fv 断片、一本鎖 Fv (s c F v) 断片、F a b ' 断片、F (a b ') 2 断片、一本鎖抗体、ラクダ化抗体およびその断片、ヒト化抗体およびその断片、およびその多価形態; 単一特異性または二重特異性抗体を含む多価結合試薬、例えば、ジスルフィド安定化 Fv 断片、s c F v タンデム、二重特異性抗体 (d i a b o d i e s)、三重特異性抗体 (t r i b o d i e s)、または四重特異性抗体 (t e t r a b o d i e s) ; およびアプタマー、受容体、および融合タンパク質が挙げられる。

20

30

【 0 4 1 5 】

ある実施形態において、リガンドは、細胞標的特異性の調整を可能にし得る表面結合抗体であり得る。これは、特異性の高い抗体が、所望の標的化部位のための目的のエピトープに対して増加され得るため、特に有用である。一実施形態において、複数の抗体が、細胞の表面において発現され、各抗体は、所望の標的に対して異なる特異性を有し得る。このような手法は、標的とする相互作用の親和性 (a v i d i t y) および特異性を高めることができる。

40

【 0 4 1 6 】

リガンドは、例えば、細胞の所望の局在化または機能に基づいて、生物学分野の当業者によって選択され得る。例えば、タモキシフェンなどのエストロゲン受容体リガンドは、細胞を、細胞表面に増加した数のエストロゲン受容体を有するエストロゲン依存性の乳癌細胞に標的化することができる。リガンド/受容体相互作用の他の非限定的な例としては、CCR1 (例えば、関節リウマチ、および/または多発性硬化症における炎症関節組織または脳の治療のために)、CCR7、CCR8 (例えば、リンパ節組織に対する標的化)、CCR6、CCR9、CCR10 (例えば、腸組織に標的化するために)、CCR4、CCR10 (例えば、皮膚に標的化するために)、CXCR4 (例えば、一般的な向上

50

した移動のために)、H C E L L (例えば、炎症および炎症性疾患、骨髄の治療のために)、4 7 (例えば、腸粘膜標的化のために)、およびV L A - 4 N C A M - 1 (例えば、内皮に対する標的化)が挙げられる。一般に、標的化(例えば、癌転移)に關与する任意の受容体が、本明細書に記載される方法および組成物における使用に利用され得る。

【0417】

標的化細胞としては、限定はされないが、肝細胞、上皮細胞、造血細胞、上皮細胞、内皮細胞、肺細胞、骨細胞、幹細胞、間葉細胞、神経細胞、心臓細胞、脂肪細胞、血管平滑筋細胞、心筋細胞、骨格筋細胞、細胞、下垂体細胞、滑膜表層細胞、卵巣細胞、精巣細胞、線維芽細胞、B細胞、T細胞、網状赤血球、白血球、顆粒球、および腫瘍細胞が挙げられる。

10

【0418】

ある実施形態において、ナノ粒子組成物は、肝細胞を標的にし得る。アポリポタンパク質E (a p o E) などのアポリポタンパク質が、身体内の中性またはほぼ中性の脂質含有ナノ粒子組成物と結合することが示されており、肝細胞の表面に見られる低比重リポタンパク受容体 (L D L R : l o w - d e n s i t y l i p o p r o t e i n r e c e p t o r) などの受容体と結合することが知られている。したがって、対象に投与される、中性またはほぼ中性の電荷を有する脂質成分を含むナノ粒子組成物が、対象の身体内のa p o Eを獲得することができるため、治療薬および/または予防薬(例えば、R N A)を、L D L Rを含む肝細胞に、標的化して送達することができる。

【0419】

20

疾患および障害を治療する方法

ナノ粒子組成物は、疾患、障害、または病態を治療するのに有用であり得る。特に、このような組成物は、欠損したまたは異常なタンパク質またはポリペプチド活性によって特徴付けられる疾患、障害、または病態を治療するのに有用であり得る。例えば、欠損したまたは異常なポリペプチドをコードするm R N Aを含むナノ粒子組成物が、細胞に投与または送達され得る。m R N Aのその後の翻訳により、ポリペプチドが生成され、それによって、ポリペプチドに起因する活性の非存在または異常な活性に起因する問題を低減するかまたはなくすことができる。翻訳は急速に起こり得るため、この方法および組成物は、敗血症、脳卒中、および心筋梗塞などの急性疾患、障害、または病態の治療に有用であり得る。ナノ粒子組成物に含まれる治療薬および/または予防薬は、所与の種の転写の速度を変化させ、それによって、遺伝子発現に影響を与えることも可能であり得る。

30

【0420】

組成物が投与され得る原因の機能不全または異常タンパク質またはポリペプチド活性によって特徴付けられる疾患、障害、および/または病態としては、限定はされないが、希少疾患、感染症(ワクチンおよび治療薬の両方として)、癌および増殖性疾患、遺伝性疾患(例えば、嚢胞性線維症)、自己免疫疾患、糖尿病、神経変性疾患、心血管および腎血管疾患、リソソーム蓄積障害ならびに代謝性疾患が挙げられる。複数の疾患、障害、および/または病態が、欠損した(または適切なタンパク質機能が起こらないほど実質的に低下された)タンパク質活性によって特徴付けられ得る。このようなタンパク質は、存在しないことがあり、またはそれらは、実質的に機能しないことがある。機能不全タンパク質の具体例は、C F T Rタンパク質の機能不全タンパク質変異体を生成し、嚢胞性線維症を引き起こす、嚢胞性線維症膜貫通コンダクタンス調節(C F T R : c y s t i c f i b r o s i s t r a n s m e m b r a n e c o n d u c t a n c e r e g u l a t o r)遺伝子のミスセンス突然変異体である。本開示は、R N Aと、式(I)で表される脂質、リン脂質(任意に不飽和である)、P E G脂質、および構造脂質を含む脂質成分とを含むナノ粒子組成物を投与することによって、対象におけるこのような疾患、障害、および/または病態を治療するための方法を提供し、ここで、R N Aは、対象の細胞内に存在する異常なタンパク質活性に拮抗するかまたは他の形で克服するポリペプチドをコードするm R N Aであり得る。

40

【0421】

50

本開示は、1つ以上の治療薬および/または予防薬を含むナノ粒子組成物、およびそれを含む医薬組成物を投与することを含む方法を提供する。治療薬および予防薬という用語は、本開示の特徴および実施形態に関して、本明細書において同義的に使用され得る。その治療用組成物、またはイメージング、診断、もしくは予防用組成物は、疾患、障害、および/または病態の予防、治療、診断、またはイメージング、および/または任意の他の目的に有効な任意の適度な量および任意の投与経路を用いて、対象に投与され得る。所与の対象に投与される具体的な量は、対象の種、年齢、および全般的な状態；投与の目的；具体的な組成物；投与方法などに応じて変化し得る。本開示に係る組成物は、投与の容易さおよび投与量の均一性のために投与単位形態で製剤化され得る。しかしながら、本開示の組成物の1日総使用量が、担当医によって適切な医学的判断の範囲内で決定されることが理解されよう。任意の特定の患者についての具体的な治療有効、予防有効、または適切な用量レベル（例えば、イメージングのための）は、もしあれば、治療される障害の重症度および治療される障害が何であるか；用いられる1つ以上の治療薬および/または予防薬；用いられる具体的な組成物；患者の年齢、体重、全体的な健康、性別、および食習慣；投与時間、投与経路、および用いられる具体的な医薬組成物の排せつ速度；治療の継続期間；用いられる具体的な医薬組成物と組み合わせ、またはそれと同時に使用される薬剤；および医療分野で周知の同様の要因を含む様々な要因に左右される。

【0422】

1つ以上の治療薬および/または予防薬を含むナノ粒子組成物は、任意の経路によって投与され得る。ある実施形態において、本明細書に記載される1つ以上のナノ粒子組成物を含む予防、診断、またはイメージング組成物を含む組成物は、経口、静脈内、筋肉内、動脈内、髄内、髄腔内、実質内、皮下、心室内、経皮もしくは皮内、皮内、直腸、膣内、腹腔内、眼内、網膜下、硝子体内、局所（例えば、粉剤、軟膏、クリーム、ゲル、ローション、および/または液滴による）、粘膜、経鼻、口腔、経腸、硝子体、腫瘍内、舌下、鼻腔内を含む、様々な経路の1つ以上によって；気管内注入、気管支注入、および/または吸入によって；経口スプレーおよび/または粉末、経鼻スプレー、および/またはエアロゾルとして、および/または門脈カテーテルを介して投与される。ある実施形態において、組成物は、静脈内に、筋肉内に、皮内に、動脈内に、腫瘍内に、皮下に、眼内に、網膜下に、硝子体内に、実質内に、もしくは任意のその他の非経口投与経路によって、または吸入によって投与され得る。しかしながら、本開示は、薬剤送達の科学の起こり得る進歩を考慮に入れて、任意の適切な経路による、本明細書に記載される組成物の送達または投与を包含する。一般に、最も適切な投与経路は、1つ以上の治療薬および/または予防薬を含むナノ粒子組成物の性質（例えば、血流および胃腸管などの様々な身体環境内でのその安定性）、患者の状態（例えば、患者が特定の投与経路に耐えられるかどうか）などを含む様々な要因に左右される。

【0423】

特定の実施形態において、本開示に係る組成物は、所与の用量で、約0.0001mg/kg～約10mg/kg、約0.001mg/kg～約10mg/kg、約0.005mg/kg～約10mg/kg、約0.01mg/kg～約10mg/kg、約0.05mg/kg～約10mg/kg、約0.1mg/kg～約10mg/kg、約1mg/kg～約10mg/kg、約2mg/kg～約10mg/kg、約5mg/kg～約10mg/kg、約0.0001mg/kg～約5mg/kg、約0.001mg/kg～約5mg/kg、約0.005mg/kg～約5mg/kg、約0.01mg/kg～約5mg/kg、約0.05mg/kg～約5mg/kg、約0.1mg/kg～約5mg/kg、約1mg/kg～約5mg/kg、約2mg/kg～約5mg/kg、約0.0001mg/kg～約2.5mg/kg、約0.001mg/kg～約2.5mg/kg、約0.005mg/kg～約2.5mg/kg、約0.01mg/kg～約2.5mg/kg、約0.05mg/kg～約2.5mg/kg、約0.1mg/kg～約2.5mg/kg、約1mg/kg～約2.5mg/kg、約2mg/kg～約2.5mg/kg、約0.0001mg/kg～約1mg/kg、約0.001mg/kg～約1mg/kg、

約 0.005 mg/kg ~ 約 1 mg/kg、約 0.01 mg/kg ~ 約 1 mg/kg、約 0.05 mg/kg ~ 約 1 mg/kg、約 0.1 mg/kg ~ 約 1 mg/kg、約 0.001 mg/kg ~ 約 0.25 mg/kg、約 0.001 mg/kg ~ 約 0.25 mg/kg、約 0.005 mg/kg ~ 約 0.25 mg/kg、約 0.01 mg/kg ~ 約 0.25 mg/kg、約 0.05 mg/kg ~ 約 0.25 mg/kg、または約 0.1 mg/kg ~ 約 0.25 mg/kg の治療薬および/または予防薬（例えば、mRNA）を送達するのに十分な投与量レベルで投与され得、ここで、1 mg/kg (mpk) の用量は、対象の体重 1 kg 当たり 1 mg の治療薬および/または予防薬を提供する。ある実施形態において、約 0.001 mg/kg ~ 約 10 mg/kg の用量の、ナノ粒子組成物の治療薬および/または予防薬（例えば、mRNA）が投与され得る。他の実施形態において、約 0.005 mg/kg ~ 約 2.5 mg/kg の用量の治療薬および/または予防薬が投与され得る。特定の実施形態において、約 0.1 mg/kg ~ 約 1 mg/kg の用量が投与され得る。他の実施形態において、約 0.05 mg/kg ~ 約 0.25 mg/kg の用量が投与され得る。用量は、mRNA 発現および/または治療、診断、予防薬、またはイメージング効果の所望のレベルを得るために、1 日 1 回以上、同じかまたは異なる量で投与され得る。所望の投与量が、例えば、1 日 3 回、1 日 2 回、1 日 1 回、1 日おき、3 日毎、毎週、隔週、3 週間毎、または 4 週間毎に送達され得る。特定の実施形態において、所望の投与量が、複数回の投与（例えば、2 回、3 回、4 回、5 回、6 回、7 回、8 回、9 回、10 回、11 回、12 回、13 回、14 回、またはそれ以上の投与）を用いて送達され得る。ある実施形態において、例えば、外科手術の前もしくは後、または急性疾患、障害、もしくは病態の場合、単回用量が、投与され得る。

10

20

【0424】

1 つ以上の治療薬および/または予防薬を含むナノ粒子組成物は、1 つ以上の他の治療、予防、診断、またはイメージング剤と組み合わせて使用され得る。「と組み合わせて」とは、複数の薬剤が同時に投与されるか、および/または一緒に送達するために製剤化されなければならないことを意味することを意図しないが、これらの送達方法は、本開示の範囲内である。例えば、1 つ以上の異なる治療薬および/または予防薬を含む 1 つ以上のナノ粒子組成物が、組み合わせて投与され得る。組成物は、1 つ以上の他の所望の治療薬または医療手順と同時に、またはその前に、またはその後に投与され得る。一般に、各薬剤は、その薬剤について決定された用量および/または時間スケジュールで投与される。ある実施形態において、本開示は、それらの生物学的利用能を向上させ、それらの代謝を抑制および/または調節し、それらの排泄を阻害し、および/または体内でのそれらの分布を調節する薬剤と組み合わせられた、組成物、またはそのイメージング、診断、もしくは予防用組成物の送達を包含する。

30

【0425】

組み合わせて用いられる治療、予防、診断、またはイメージング活性剤は、単一の組成物として一緒に投与されるか、または異なる組成物として別個に投与され得ることがさらに理解されよう。一般に、組み合わせて使用される薬剤は、それらが個々に用いられるレベルを超えないレベルで用いられることが予測される。ある実施形態において、組み合わせて用いられるレベルは、個々に用いられるレベルより少ない。

40

【0426】

併用レジメンに用いるための治療法（治療薬または手順）の特定の組合せは、所望の治療薬および/または手順の適合性ならびに達成しようとする所望の治療効果を考慮に入れる。用いられる治療法は、同じ障害について所望の効果を達成することができ（例えば、癌を治療するのに有用な組成物は、化学療法剤と同時に投与され得る）、またはそれらは、異なる効果（例えば、注入に関連する反応などの、何らかの有害な作用の制御）を達成することができることも理解されよう。

【0427】

ナノ粒子組成物は、組成物の有効性および/または治療濃度域を増大するために、薬剤と組み合わせて使用され得る。このような薬剤は、例えば、抗炎症性化合物、ステロイド

50

(例えば、コルチコステロイド)、スタチン、エストラジオール、BTK阻害剤、S1P1アゴニスト、グルココルチコイド受容体調節因子(GRM: glucocorticoid receptor modulator)、または抗ヒスタミンであり得る。ある実施形態において、ナノ粒子組成物は、デキサメタゾン、メトトレキサート、アセトアミノフェン、H1受容体拮抗薬、またはH2受容体拮抗薬と組み合わせて使用され得る。ある実施形態において、必要とする対象を治療し、または治療薬および/または予防薬を、対象(例えば、哺乳動物)に送達する方法は、ナノ粒子組成物を投与する前に、対象を1つ以上の薬剤で前処理することを含み得る。例えば、対象は、有用な量(例えば、10mg、20mg、30mg、40mg、50mg、60mg、70mg、80mg、90mg、100mg、または任意の他の有用な量)のデキサメタゾン、メトトレキサート、アセトアミノフェン、H1受容体拮抗薬、またはH2受容体拮抗薬で前処理され得る。前処理は、ナノ粒子組成物の投与の前の24時間以内(例えば、24時間、20時間、16時間、12時間、8時間、4時間、2時間、1時間、50分、40分、30分、20分、または10分以内)に行われてもよく、例えば、投与量を増加させて、1回、2回、またはそれ以上行われ得る。

10

【0428】

当業者は、本明細書に記載される本開示に係る特定の実施形態の多くの均等物を認識するか、または単なる日常的な実験を用いて、それを確認することができるであろう。本開示の範囲は、上記の説明に限定されることは意図されず、添付の特許請求の範囲に記載されるとおりである。

20

【0429】

特許請求の範囲において、「a」、「an」、および「the」などの冠詞は、矛盾する記載がない限り、または文脈上他の意味であることが明らかでない限り、1つまたは2つ以上を意味し得る。群の1つ以上の構成要素間に「または」を含む特許請求の範囲または本明細書の記載は、矛盾する記載がない限り、または文脈上他の意味であることが明らかでない限り、群の構成要素の1つ、2つ以上、または全てが、所与のプロダクトまたはプロセスに存在するか、それに用いられるか、またはそれに関連している場合、満たされると考えられる。本開示は、群のちょうど1つの構成要素が、所与のプロダクトまたはプロセスに存在するか、それに用いられるか、またはそれに関連している実施形態を含む。本開示は、群の構成要素の2つ以上、または全てが、所与のプロダクトまたはプロセスに存在するか、それに用いられるか、またはそれに関連している実施形態を含む。本明細書において使用される際、表現「A、B、またはCのうち1つ以上」、「1つ以上のA、B、またはC」、「A、B、およびCのうち1つ以上」、「1つ以上のA、B、およびC」、「A、B、およびCから選択される」、「A、B、およびCからなる群から選択される」などは、同じ意味として使用され、全て、A、B、および/またはCからなる群からの選択、すなわち、別段の指定がない限り、1つ以上のA、1つ以上のB、1つ以上のC、またはそれらの任意の組合せを指す。

30

【0430】

「を含む(comprising)」という用語は、非限定的であることを意図され、追加の要素または工程の包含を許容するが、それを必要とするわけではないことも留意される。したがって、「を含む(comprising)」という用語が本明細書において使用されるとき、「から本質的になる(consisting essentially of)」および「からなる(consisting of)」という用語も、包含され、開示される。本明細書全体にわたって、組成物が、特定の成分を有する、包含する、または含むと記載される場合、組成物はまた、記載される成分から本質的になるか、またはからなることが考えられる。同様に、方法またはプロセスが、特定のプロセス工程を有する、包含する、または含むと記載される場合、プロセスはまた、記載されるプロセス工程から本質的になるか、またはからなることが考えられる。さらに、工程の順序または特定の動作を行う順序が、本発明が動作可能なままである限り、重要でないことが理解されるべきである。さらに、2つ以上の工程または動作を同時に行うことができる。

40

50

【0431】

範囲が示される場合、両端の値が含まれる。さらに、特に記載されない限り、または文脈および当業者の理解から他の意味であることが明らかでない限り、範囲として表される値は、文脈上特に明記されない限り、当該範囲の下限の単位の10分の1まで、本開示の様々な実施形態における記載範囲内のあらゆる特定の値または部分範囲を想定し得ることが理解されるべきである。

【0432】

本開示の合成方法は、様々な官能基を許容することができるため、様々な置換出発材料が使用され得る。この方法は、一般に、全プロセスの最後またはほぼ最後に所望の最終化合物を提供するが、場合によっては、化合物をその薬学的に許容できる塩にさらに転化することが望ましいことがある。

10

【0433】

本開示の化合物は、様々な方法で、市販の出発材料、文献において公知の化合物を用いて、または当業者に公知であるか、または本明細書の教示を考慮して当業者に明らかであろう標準的な合成方法および手順を用いることによって、容易に調製される中間体から調製され得る。有機分子の調製ならびに官能基の変換および操作のための標準的な合成方法および手順は、関連する科学文献からまたは当該技術分野における標準的なテキストから得られる。いずれか1つまたはいくつかの資料に限定されないが、参照により本明細書に援用される、スミスM.B.(Smith, M.B.)、マーチJ.(March, J.)著、「マーチ最新有機化学：反応、機構、および構造(March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure)」、第5版、ジョン・ワイリー・アンド・サンズ(John Wiley & Sons): New York、2001; グリーンT.W.(Greene, T.W.)、ワッツP.G.M.(Wuts, P.G.M.)著、「有機合成における保護基(Protective Groups in Organic Synthesis)」、第3版、ジョン・ワイリー・アンド・サンズ(John Wiley & Sons): ニューヨーク(New York)、1999; R.ラロック(R. Larock)著、「総合有機変換(Comprehensive Organic Transformations)」、VCHパブリッシャー(VCH Publishers)(1989); L.フィーザー(L. Fieser)およびM.フィーザー(M. Fieser)著、「フィーザーおよびフィーザーの有機合成用試薬(Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis)」、ジョン・ワイリー・アンド・サンズ(John Wiley and Sons)(1994); およびL.パケット(L. Paquette)編、「有機合成用試薬百科事典(Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis)」、ジョン・ワイリー・アンド・サンズ(John Wiley and Sons)(1995)などの古典的なテキストが、有用であり、当該技術分野において公知の有機合成の認識された参考テキストである。合成方法の以下の説明は、本開示の化合物の調製のための一般的手順を、限定するのではなく、例示するように設計される。

20

30

【0434】

さらに、先行技術に含まれる本開示のいずれかの特定の実施形態が、請求項のいずれか1つ以上から明示的に除外され得ることが理解されるべきである。このような実施形態は、当業者に公知であると見なされるため、それらは、除外が本明細書に明示されていない場合であっても、除外され得る。

40

【0435】

全ての引用資料、例えば、本明細書で引用される参考文献、刊行物、データベース、データベースエントリ、および技術は、引用に際して明示的に記載されていない場合であっても、参照により本出願に援用される。引用資料と本出願の記載内容に矛盾が生じる場合、本出願の記載内容が優先されるものとする。

【実施例】

50

【 0 4 3 6 】

実施例 1：化合物 1～280 の合成

化合物 1～280 の合成は、国際特許出願公開第 WO 2017/049245 号パンフレット、および同時係属出願第 PCT/US2018/22717 号明細書に記載され、その各々の内容全体が参照によって本明細書に組み込まれる。

【 0 4 3 7 】

実施例 2：ナノ粒子組成物の生成

A．ナノ粒子組成物の生成

細胞への治療薬および/または予防薬の送達に使用するための安全かつ有効なナノ粒子組成物を調査するために、様々な製剤が調製され、試験される。具体的には、ナノ粒子組成物の脂質成分中の特定の要素および比率が最適化される。

10

【 0 4 3 8 】

ナノ粒子は、2つの流体流れ（一方は治療薬および/または予防薬を含有し、他方は、脂質成分を有する）のマイクロ流体力学および T 字合流管混合などの混合プロセスを用いて作製され得る。

【 0 4 3 9 】

脂質組成物は、式 (I)、(IA)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIE)、(IIf) で表される脂質またはリン脂質（アバンティ・ポーラ・リピッド、アラバマ州アラバスター (Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL) から入手可能な DOPE または DSPC など）、PEG 脂質（アバンティ・ポーラ・リピッド、アラバマ州アラバスター (Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL) から入手可能な、PEG-DMG としても知られている 1,2-ジミリスチル-sn-グリセロールメトキシポリエチレングリコールなど）、および構造脂質（シグマ・アルドリッチ、独国タウフキルヘン (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany) から入手可能なコレステロール、コレステロール誘導体、またはコレステロールおよびコレステロール誘導体の混合物など）を、溶媒、例えば、エタノール中において約、例えば、50 mM の濃度で組み合わせることによって調製する。溶液は、例えば、-20 で、貯蔵のために冷蔵されるべきである。脂質は、所望のモル比（例えば、下表 1 を参照）を得るように組み合わせ、例えば、約 5.5 mM～約 25 mM の最終脂質濃度になるまで、水およびエタノールで希釈する。表 1 の Chol* は、コレステロール、コレステロール誘導体、またはそれらの組合せを指す。

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表1. 式 (I)、(IA)、(IB)、(II)、(IIa)、(IIb)、(IIc)、(IId)、(IIe)、(IIf) または (IIg) で表される化合物を含む例示的な製剤。

組成 (mol%)	成分
40:20:38.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
45:15:38.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
50:10:38.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
55:5:38.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
60:5:33.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
45:20:33.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
50:20:28.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
55:20:23.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
60:20:18.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
40:15:43.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
50:15:33.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
55:15:28.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
60:15:23.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
40:10:48.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
45:10:43.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
55:10:33.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
60:10:28.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
40:5:53.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
45:5:48.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
50:5:43.5:1.5	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
40:20:40:0	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
45:20:35:0	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
50:20:30:0	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
55:20:25:0	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
60:20:20:0	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG
40:15:45:0	化合物: リン脂質: Chol*: PEG-DMG

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

組成 (mol%)	成分
45:15:40:0	化合物:リン脂質:Chol*:PEG-DMG
50:15:35:0	化合物:リン脂質:Chol*:PEG-DMG
55:15:30:0	化合物:リン脂質:Chol*:PEG-DMG
60:15:25:0	化合物:リン脂質:Chol*:PEG-DMG
40:10:50:0	化合物:リン脂質:Chol*:PEG-DMG
45:10:45:0	化合物:リン脂質:Chol*:PEG-DMG
50:0:48.5:1.5	化合物:リン脂質:Chol*:PEG-DMG
50:10:40:0	化合物:リン脂質:Chol*:PEG-DMG
55:10:35:0	化合物:リン脂質:Chol*:PEG-DMG
60:10:30:0	化合物:リン脂質:Chol*:PEG-DMG

10

【0440】

20

治療薬および/または予防薬および脂質成分を含むナノ粒子組成物は、約5:1~約50:1の脂質成分対治療薬および/または予防薬のwt:wt比で、脂質溶液を、治療薬および/または予防薬を含む溶液と組み合わせることによって調製する。脂質溶液は、約10ml/分~約18ml/分の流量で、ナノアセンブラ(NanoAssembler)マイクロ流体ベースシステムを用いて、治療薬および/または予防薬溶液中に迅速に注入して、約1:1~約4:1の水対エタノール比を有する懸濁液を生成する。

【0441】

RNAを含むナノ粒子組成物については、脱イオン水中0.1mg/mlの濃度でRNAの溶液は、3~4のpHの緩衝液、例えば、50mMのクエン酸ナトリウム緩衝液で希釈して、ストック溶液を形成する。

30

【0442】

ナノ粒子組成物は、エタノールを除去し、緩衝液交換を達成するために、透析によって処理され得る。10kDaの分子量カットオフを有するスライド-A-ライザー(Slide-A-Lyzer)カセット(サーモ・フィッシャー・サイエンティフィック社、イリノイ州ロックフォード(Thermo Fisher Scientific Inc., Rockford, IL))を用いて、一次生成物の200倍の体積のリン酸緩衝生理食塩水(PBS)(pH7.4)で製剤を2回透析する。最初の透析は、室温で3時間行う。次に、製剤は、4で一晩透析する。得られたナノ粒子懸濁液は、0.2μmの滅菌フィルタ(サルステッド、独国ヌンブレヒト(Sarstedt, Nuembrecht, Germany))に通して、ガラスバイアル中にろ過し、クリンブクロージャーで密閉する。0.01mg/ml~0.10mg/mlのナノ粒子組成物溶液が一般に得られる。

40

【0443】

上述される方法は、ナノ析出および粒子形成を誘導する。限定はされないが、T字合流管および直接注入を含む別のプロセスを用いて、同じナノ析出を行ってもよい。

【0444】

B. ナノ粒子組成物の特性決定
ゼータサイザーナノZS(Zetasizer Nano ZS)(マルバーン・インスツルメンツ社、英国ウスターシャー州マルバーン(Malvern Instruments Ltd, Malvern, Worcestershire, UK))が、粒径の決定の際

50

には1×PBS中で、およびゼータ電位の決定の際には15mMのPBS中で、ナノ粒子組成物の粒径、多分散指数(PDI)およびゼータ電位を決定するのに使用され得る。

【0445】

紫外-可視分光法が、ナノ粒子組成物中の治療薬および/または予防薬(例えば、RNA)の濃度を決定するのに使用され得る。1×PBS中の希釈された製剤100μLは、メタノールおよびクロロホルムの4:1(v/v)混合物900μLに加える。混合後、溶液の吸収スペクトルが、DU 800分光光度計(ベックマン・コールター(Beckman Coulter)、ベックマン・コールター社、カリフォルニア州ブレア(Beckman Coulter, Inc., Brea, CA))において、例えば、230nm~330nmで記録される。ナノ粒子組成物中の治療薬および/または予防薬の濃度は、組成物に使用される治療薬および/または予防薬の吸光係数、および例えば、260nmの波長での吸光度と、例えば、330nmの波長でのベースライン値との差に基づいて計算され得る。

10

【0446】

RNAを含むナノ粒子組成物については、クオント-IT(QUANT-IT)(商標)リボグリーン(RIBOGREEN)(登録商標)RNAアッセイ(インビトロジェン・コーポレーション、カリフォルニア州カールスバッド(Invitrogen Corporation Carlsbad, CA))が、ナノ粒子組成物によるRNAの封入を評価するのに使用され得る。サンプルは、TE緩衝液(10mMのトリス-HCl、1mMのEDTA、pH7.5)中の約5μg/mLの濃度で希釈する。50μLの希釈されたサンプルは、ポリスチレン96ウェルプレートに移し、50μLのTE緩衝液または50μLの2%のトリトンX-100(Triton X-100)溶液のいずれかをウェルに加える。プレートは、37℃の温度で15分間インキュベートする。リボグリーン(RIBOGREEN)(登録商標)試薬は、TE緩衝液中で1:100に希釈し、100μLのこの溶液を各ウェルに加える。蛍光強度は、例えば、約480nmの励起波長、および例えば、約520nmの発光波長で、蛍光プレートリーダー(ワラック・ビクター1420マルチラベル・カウンター(Wallac Victor 1420 Multilabel Counter));パーキン・エルマー、マサチューセッツ州ウォルサム(Perkin Elmer, Waltham, MA))を用いて測定され得る。試薬ブランクの蛍光値を、サンプルのそれぞれの値から減算し、無傷のサンプル(トリトンX-100(Triton X-100)の添加なし)の蛍光強度を、破壊されたサンプル(トリトンX-100(Triton X-100)の添加によって引き起こされた)の蛍光値で除算することによって、遊離RNAのパーセンテージを決定する。

20

30

【0447】

C. インビボ製剤化試験

様々なナノ粒子組成物が、治療薬および/または予防薬を標的細胞にいかに効率的に送達するかを監視するために、特定の治療薬および/または予防薬(例えば、mRNAなどの修飾または天然RNA)を含む様々なナノ粒子組成物を調製し、げっ歯類集団に投与する。マウスに、脂質ナノ粒子製剤を含むナノ粒子組成物を含む単回用量を、静脈内に、筋肉内に、動脈内に、または腫瘍内に投与する。ある場合には、マウスに、用量を吸入させ得る。用量サイズは、0.001mg/kg~10mg/kgの範囲であってもよく、ここで、10mg/kgは、マウスの体重各1kg当たりナノ粒子組成物中の10mgの治療薬および/または予防薬を含む用量を表す。PBSを含む対照組成物も用いられ得る。

40

【0448】

ナノ粒子組成物をマウスに投与した後、用量送達プロファイル、用量反応、ならびに特定の製剤の毒性およびその用量が、酵素結合免疫吸着法(ELISA)、生物発光イメージング、または他の方法によって測定され得る。mRNAを含むナノ粒子組成物については、タンパク質発現の経時変化も評価され得る。評価のためにげっ歯類から採取されるサンプルとしては、血液、血清、および組織(例えば、筋肉内注射の部位からの筋肉組織および内部組織)が挙げられ;サンプル採取は、動物の殺処分を必要とし得る。

50

【 0 4 4 9 】

mRNAを含むナノ粒子組成物は、治療薬および/または予防薬の送達のための様々な製剤の有効性および有用性の評価に有用である。mRNAを含む組成物の投与によって誘導されるより高いレベルのタンパク質発現は、より高いmRNA翻訳および/またはナノ粒子組成物mRNA送達効率を示す。非RNA成分が、翻訳機構自体に影響を与えると考えられないため、より高いレベルのタンパク質発現は、他のナノ粒子組成物またはその非存在と比べて、所与のナノ粒子組成物による治療薬および/または予防薬の送達のより高い効率を示す可能性が高い。

【 0 4 5 0 】

実施例3：コレステロールの置換を用いた脂質製剤の評価

タンパク質発現および脂質取込みに対する、共通の脂質製剤における部分的または完全なコレステロール置換の効果を、インビトロで試験した。コレステロールを、抗炎症特性を有する新規の脂質（「試験物質」）で完全にまたは部分的に置換した例示的な製剤を、表2に提示する。

【表2】

表2. 部分的または完全な置換コレステロールを含む例示的な製剤

製剤	試験物質	モル比	%EE	[mRNA], u g/mL	サイズ (nm)	PDI
化合物18 : DSPC:Chol:PEG (2k)-DMG	-	50:10:38.5:1.5	95	59.4	84.6	0.19
化合物18 : DSPC:Chol:試験 物質 : PEG(2k)-DMG	ルペオール	50:10:20:18.5:1.5	91	62.3	90.5	0.16
化合物18 : DSPC:Chol:試験 物質 : PEG(2k)-DMG	スチグマステ ロール	50:10:20:18.5:1.5	94	61.7	90.9	0.20

【 0 4 5 1 】

表2の製剤の中でも、コレステロールとスチグマステロールの両方（すなわち、スチグマステロールで部分的に置換したコレステロール）を含むものが、最高のeGFP発現を示したため、これをさらなる最適化のために選択した。コレステロールとルペオールの組合せ（すなわち、ルペオールで部分的に置換したコレステロール）は、コレステロール対照よりも高い発現を示した。スチグマステロールの範囲を、液体ナノ粒子中において1～37.5mol%で評価した。表3は、異なる比のコレステロールおよびスチグマステロールを含有する製剤の粒子特性についてまとめている。

10

20

30

40

50

【表 3】

表3. 化合物18、コレステロールおよびスチグマステロールを含むナノ粒子組成物の特性。

%コレステロール	%スチグマステロール	サイズ (nm)	PDI	%EE
1.0%	37.5%	164.9	0.23	12.0
10.0%	28.5%	126.4	0.16	48.5
20.0%	18.5%	90.9	0.20	89.3
30.0%	8.5%	76.8	0.15	94.7
37.5%	1.0%	78.4	0.23	95.4
38.5% ^{##}	0.0%	86.2	0.22	98.1
20.0% ^{##}	18.5%	99.3	0.22	92.8

^{##}ローダミン-DOPEを用いて製剤化

【0452】

異なるフィトステロール（例えば、 α -シトステロールおよびスチグマステロール）を含む製剤を調製し、インピトロで試験した。各ナノ粒子組成物中のフィトステロールの相対量を変動させて、製剤を最適化した。化合物18を、ナノ粒子組成物に使用するために選択した。ナノ粒子組成物を、相対的なコレステロールおよびコレステロール誘導体含有量を独立して0mol%～38.5mol%の間で変動させて調製した。製剤を、蛍光および非蛍光バッチで調製した。次いで、組成物をそれらのサイズ、および封入効率について評価した。ナノ粒子組成物製剤の最適化に有用な例示的な製剤を、表4に提示する。コレステロールおよびフィトステロールを含むナノ粒子組成物、ならびにコレステロール、フィトステロール、またはそれらの組合せを含む組成物の特性を、表5～7にまとめる。

【表 4】

表4. 化合物18、コレステロール、およびフィトステロールを含む製剤

製剤	コレステロール誘導体 (モル%)	コレステロール (モル%)
コレステロール	0	38.5
β -シトステロール 3 8.5**	38.5	0
β -シトステロール 2 8.5**	28.5	10
β -シトステロール 1 8.5**	18.5	20
スチグマステロール 3 8.5**	38.5	0
スチグマステロール 2 8.5**	28.5	10
スチグマステロール 1 8.5**	18.5	20

** : 化合物18 : DSPC : コレステロール誘導体 : コレステロール : PEG-DMGを用いて製剤化

【表 5】

表5. コレステロールおよびフィトステロールを含むナノ粒子組成物の特性

サンプル	直径(nm)	PDI	封入効率 (%)
コレステロール	114.4 \pm 34.04	0.077	90.6
スチグマステロール	150.5 \pm 46.89	0.199	13.3
β -シトステロール	110.4 \pm 25.68	0.042	91.3

10

20

30

40

50

【表 6】

表6. 化合物18 (酢酸緩衝液) を含むナノ粒子組成物の特性

サンプル	直径(nm)	PDI	封入効率 (%)
コレステロール	77.3	0.15	97
コレステロール、蛍光	76.1	0.16	98
β -シトステロール 38.5	159.1	0.22	49
β -シトステロール 38.5、 蛍光	146	0.22	59
β -シトステロール 28.5	107.5	0.23	94
β -シトステロール 28.5、 蛍光	106.3	0.20	93
β -シトステロール 18.5	77.5	0.09	98
β -シトステロール 18.5、 蛍光	76.8	0.09	98
スチグマステロール 38.5	145.3	0.18	-5
スチグマステロール 38.5、 蛍光	128.1	0.16	2
スチグマステロール 28.5	137.6	0.16	38
スチグマステロール 28.5、 蛍光	135.4	0.14	43
スチグマステロール 18.5	89.4	0.18	96
スチグマステロール 18.5、 蛍光	95.1	0.21	95

10

20

30

40

50

【表 7】

表 7. 化合物 18 (クエン酸緩衝液) を含むナノ粒子組成物の特性

サンプル	直径(nm)	PDI	封入効率 (%)
コレステロール、蛍光	68.3	0.15	99
β -シトステロール 38.5、 蛍光	97.8	0.14	94
β -シトステロール 28.5、 蛍光	83.5	0.11	98
β -シトステロール 18.5、 蛍光	72.2	0.11	98
スチグマステロール 38.5、 蛍光	149.2	0.21	3
スチグマステロール 28.5、 蛍光	117.3	0.18	59
スチグマステロール 18.5、 蛍光	79.1	0.12	98

【0453】

実施例 4：サンプル製剤のインビトロ試験

本開示の組成物により誘導した、脂質ナノ粒子の細胞取込みとタンパク質発現、加えて B 細胞活性化との関連を評価した。ヒト細胞株を、表 6 によるナノ粒子組成物とインビトロで接触させ、タンパク質発現レベルおよび細胞取込みについて評価した。試験の結果を図 2～図 6 に示す。タンパク質発現の観点から、蛍光対非蛍光との間に大きな差は全くない。図 2～図 6 において、「コレステロール(対照)」はコレステロール置換がないことを表し、「ベータ」は β -シトステロールを指し、「スチグマ」はスチグマステロールを指し、「蛍光」は対応する蛍光パッチを指す。

【0454】

試験した組成物は、HeLa、Hep3b(ヒト肝細胞癌)、およびAML12(マウス肝細胞)細胞において類似した取込みおよび発現傾向を示した。本開示の組成物、すなわち、コレステロールおよびコレステロール誘導体(フィトステロールなど)を含む組成物を用いたタンパク質発現は、標準組成物(すなわち、コレステロール置換なし)のタンパク質発現よりも 30～50 倍高いことを見出した。加えて、 β -シトステロールによる 99.5%～100%のコレステロール置換を含む組成物を用いたタンパク質発現は、標準組成物(すなわち、コレステロール置換なし)のタンパク質発現よりも 100～200 倍高いことを見出した。例えば、図 8d を参照のこと。B 細胞活性化は、培地対照レベルであることを見出した。

【0455】

均等物

本開示が、その詳細な説明とともに説明されてきたが、上記の説明は、添付の特許請求の範囲によって規定される本開示の範囲を例示することが意図され、限定するものではないことが理解されるべきである。他の態様、利点、および改変が、以下の特許請求の範囲内である。

(付記)

上記実施形態及び変更例から把握できる技術的思想について記載する。

[項目1]

ナノ粒子組成物であって、

イオン性脂質と、

リン脂質と、

第1ステロールまたはトコフェロールと、

任意で前記第1ステロールとは異なる第2ステロールとを含む脂質成分を含み、前記第1ステロールと第2ステロールとのモル比が約1:100~100:1であるか、または前記トコフェロールと第2ステロールとのモル比が約1:100~100:1である、前記ナノ粒子組成物。

10

[項目2]

第2ステロールを含む、項目1に記載のナノ粒子組成物。

[項目3]

前記第1ステロールと第2ステロールとの前記モル比が、約1:10~10:1、または約1:5~5:1、または約1:3~3:1、または約1:2~2:1、または約1:1である、項目2に記載のナノ粒子組成物。

[項目4]

前記トコフェロールと第2ステロールとの前記モル比が、約1:10~10:1、または約1:5~5:1、または約1:3~3:1、または約1:2~2:1、または約1:1である、項目2に記載のナノ粒子組成物。

20

[項目5]

前記第1ステロールがコレステロールであり、前記第2ステロールがコレステロール誘導体である、項目2または3に記載のナノ粒子組成物。

[項目6]

前記第1ステロールがコレステロール誘導体であり、前記第2ステロールが存在しない、項目1に記載のナノ粒子組成物。

[項目7]

トコフェロールと、任意でコレステロールコレステロール誘導体である第2ステロールとを含む、項目1または3に記載のナノ粒子組成物。

[項目8]

前記コレステロール誘導体がフィトステロールである、項目5~7のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

30

[項目9]

前記フィトステロールが、 α -シトステロール、カンペステロール、スチグマステロール、フコステロール、またはスチグマスタノールである、項目8に記載のナノ粒子組成物。

[項目10]

前記コレステロール誘導体が、ジヒドロコレステロール、 Δ^5 -コレステロール、エピコレステロール、デスモステロール、コレスタノール、コレスタノン、コレステノン、コレステリル-2'-ヒドロキシエチルエーテル、コレステリル-4'-ヒドロキシブチルエーテル、3- $[(N-(N'-N')-$ ジメチルアミノエチル)カルバモイル]コレステロール(DC-Chol)、24(S)-ヒドロキシコレステロール、25-ヒドロキシコレステロール、25(R)-27-ヒドロキシコレステロール、22-オキサコレステロール、23-オキサコレステロール、24-オキサコレステロール、シクロアルテノール、22-ケトステロール、20-ヒドロキシステロール、7-ヒドロキシコレステロール、19-ヒドロキシコレステロール、22-ヒドロキシコレステロール、25-ヒドロキシコレステロール、7-デヒドロコレステロール、5-コレスタ-7-エン-3-オール、3,6,9-トリオキサオクタノール-1-オール-コレステリル-3e-オール、デヒドロエルゴステロール、デヒドロエピアンドロステロン、ラノステロール、ジヒドロラノステロール、ラノステノール、ルミステロール、シトカルシフェロール、カルシボトリオール、コプロスタノール、コレカルシフェロール、ルペオール、エルゴカルシフェロール、

40

50

22 - ジヒドロエルゴカルシフェロール、エルゴステロール、ブラシカステロール、トマチジン、トマチン、ウルソール酸、コール酸、ケノデオキシコール酸、チモステロール、ジオスゲニン、フコステロール、フェコステロール、もしくはフェコステロール、またはその塩もしくはエステルである、項目5～7のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

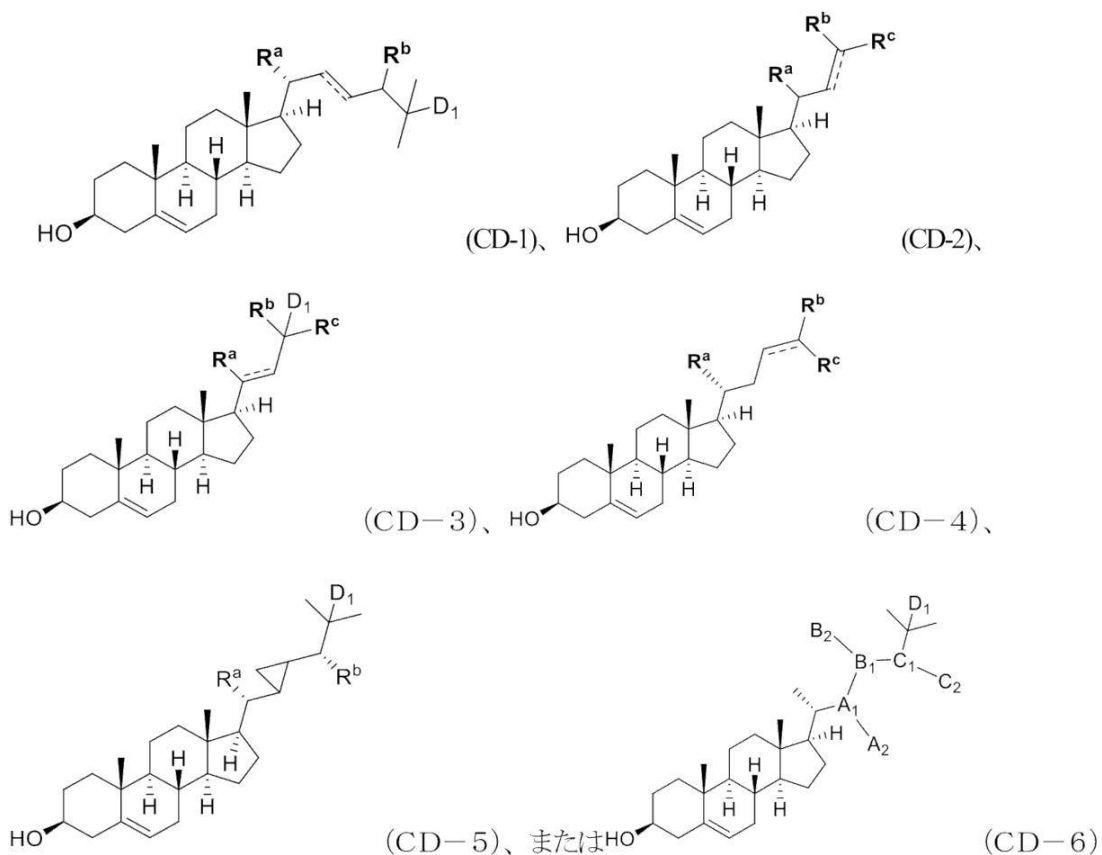
[項目 1 1]

前記コレステロールまたはコレステロール誘導体が、コレステロール、コハク酸コレステロール、硫酸コレステロール、ヘミコハク酸コレステロール、フタル酸コレステロール、リン酸コレステロール、吉草酸コレステロール、酢酸コレステロール、オレイン酸コレステリル、リノール酸コレステリル、ミリスチン酸コレステリル、パルミチン酸コレステリル、アラキジン酸コレステリル、コレステリルホスホリルコリン、およびコール酸ナトリウムである、項目5～7のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 1 2]

前記コレステロール誘導体が、式 (CD-1) から (CD-6) :

【化 6 0】



(式中、

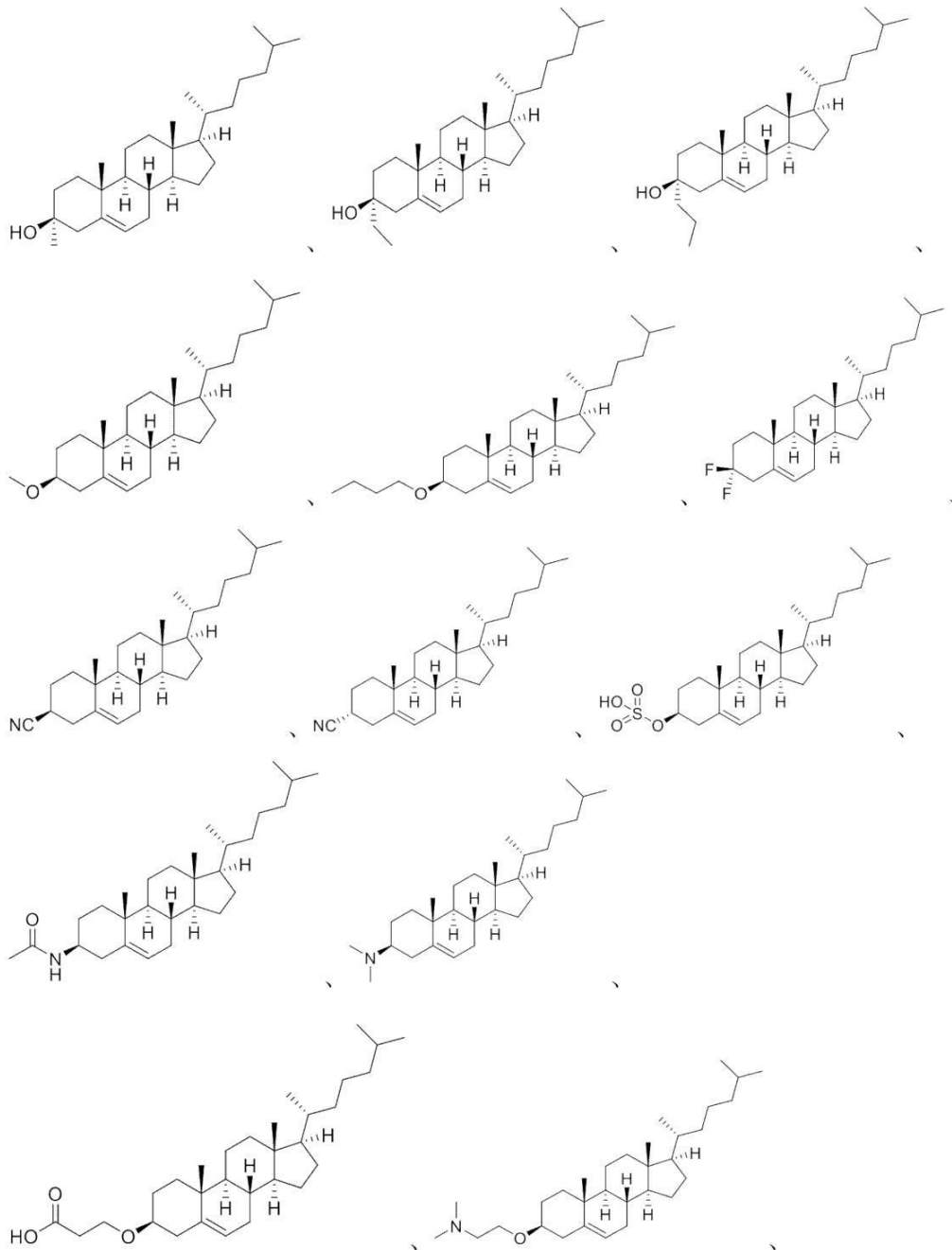
【化 6 1】

=====

は、炭素 - 炭素単結合または二重結合を表し； R^aは、OHまたはハロゲンで任意に置換される C₁ ~ 6 アルキルであり； R^bおよび R^cの各々は、独立して、HまたはOHもしくはハロゲンで任意に置換される C₁ ~ 6 アルキルであり； A₁、B₁、C₁の各々は、独立して、CH、CF、O、またはSであり、A₁、B₁、C₁のうち1つがOまたはSである場合、前記他方の2つは独立してCHまたはCFであり； A₂、B₂、C₂、D₁の各々は、独立して、H、OH、またはFである）のいずれかの化合物、あるいはその塩または異性体である、項目5～7のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 1 3]

前記コレステロール誘導体が、
【化 6 2 - 1】



10

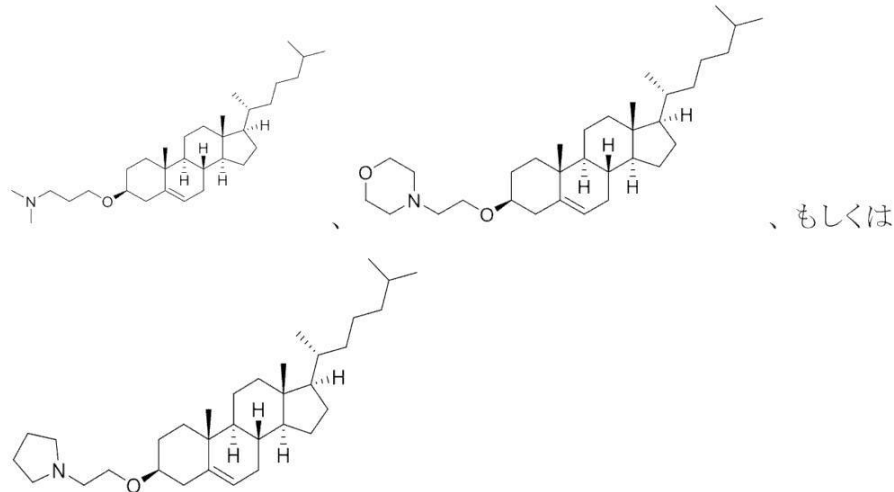
20

30

40

50

【化 6 2 - 2】



10

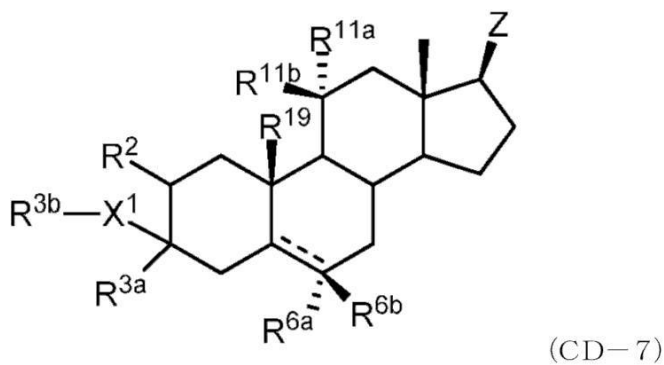
、またはその塩もしくは異性体である、項目 5 ~ 7 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 1 4]

前記コレステロール誘導体が、式 (CD - 7) :

20

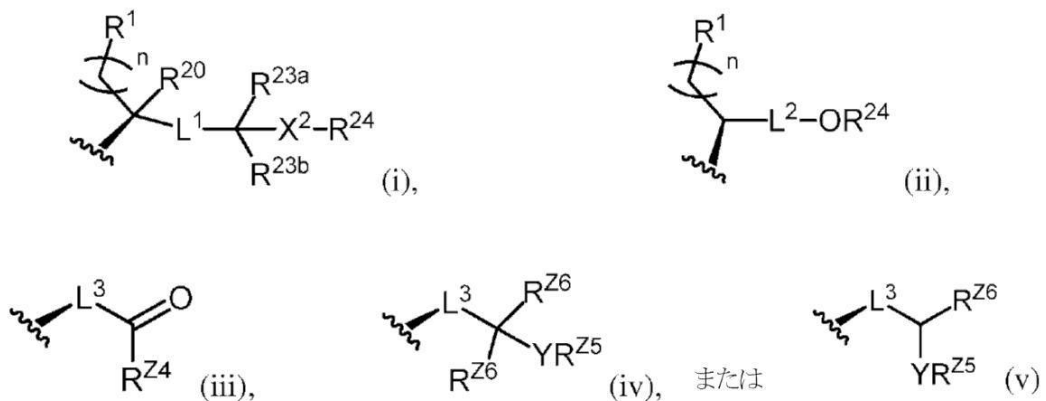
【化 6 3】



30

(式中、Zは、式 (i)、(ii)、(iii)、(iv)、または (v))

【化 6 4】



40

の群であり、

L¹およびL²は、結合、置換または非置換C₁~C₆アルキレン、置換または非置換C₂~C₆アルケニレン、置換または非置換C₂~C₆アルキニレン、置換または非置換ヘテロC₁~C₆アルキレン、置換または非置換ヘテロC₂~C₆アルケニレン、および置換ま

50

たは非置換ヘテロ $C_2 \sim C_6$ アルキニレンからなる群から選択され；

L^3 は、置換もしくは非置換 $C_1 \sim C_6$ アルキレン、置換もしくは非置換 $C_2 \sim C_6$ アルケニレン、置換もしくは非置換 $C_2 \sim C_6$ アルキニレン、置換もしくは非置換ヘテロ $C_1 \sim C_6$ アルキレン、置換もしくは非置換ヘテロ $C_2 \sim C_6$ アルケニレン、または置換もしくは非置換ヘテロ $C_2 \sim C_6$ アルキニレンであり；

X^1 および X^2 の各場合は、独立して、 $-O-$ 、 $-S-$ 、または $-NH-$ であり；

R^1 は、水素または置換もしくは非置換アルキルであり；

R^{3b} は水素であり；

R^{3a} は、水素、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換アルケニル、または置換もしくは非置換アルキニルであり；

R^2 、 R^{11a} および R^{11b} の各場合は、独立して、水素または $-OR^{B1}$ であり、ここで R^{B1} は、水素または置換もしくは非置換アルキルであり、あるいは R^{11a} および R^{11b} は、結合してオキソ ($=O$) 基を形成し；

R^{6a} および R^{6b} の各々は、独立して、水素、ハロゲン、または置換もしくは非置換アルキルであり、

【化 6 5】

は単結合または二重結合を表し、二重結合が存在する場合には、 R^{6a} および R^{6b} のうち 1 つが欠如し、単結合が存在する場合には、 C_5 の水素がアルファまたはベータ位にあり；

R^{19} および R^{20} の各場合は、独立して、水素または $-CH_3$ であり；

R^{23a} および R^{23b} の各場合は、独立して、水素、ハロゲン、または置換もしくは非置換アルキルであり、あるいは R^{23a} および R^{23b} は、互いに結合して置換または非置換 $C_3 \sim C_6$ シクロアルキルを形成し；

R^{24} は、水素または置換もしくは非置換アルキルであり；

Y は、 $-O-$ 、 $-S-$ または $-NR^{Z5}-$ であり；

R^{Z4} は、独立して、置換もしくは非置換アルキル、置換もしくは非置換アルケニル、置換もしくは非置換アルキニル、置換もしくは非置換カルボシクリル、置換もしくは非置換ヘテロシクリル、置換もしくは非置換アリール、置換もしくは非置換ヘテロアリール、 $-OR^{Z5}$ 、 $-SR^{Z5}$ 、または $-N(R^{Z5})_2$ であり；

R^{Z5} の各場合は、独立して、水素または置換もしくは非置換アルキルであり；

R^{Z6} の各場合は、独立して、水素または置換もしくは非置換アルキルであり、あるいは 2 つの R^{Z6} 基は、結合して $C_3 \sim C_6$ 炭素環を形成し；

前記添字 n は、0 または 1 である) の化合物、あるいはその塩または異性体である、項目 5 ~ 7 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 1 5]

前記トコフェロールが、 $-$ トコフェロール、 $-$ トコフェロール、 $-$ トコフェロール、 $-$ トコフェロール、またはその塩もしくはエステルである、項目 7 に記載のナノ粒子組成物。

[項目 1 6]

前記トコフェロールが、ヘミコハク酸トコフェロールである、項目 7 または 1 5 に記載のナノ粒子組成物。

[項目 1 7]

前記コレステロール誘導体が、式 (A 1) ~ (A 4) ；

10

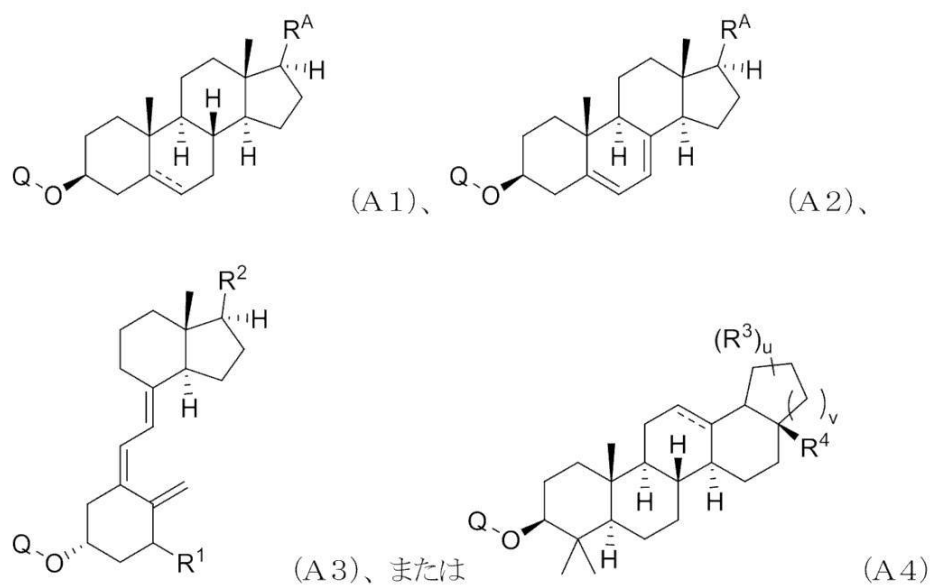
20

30

40

50

【化 6 6】



10

(式中、
【化 6 7】

20

=====

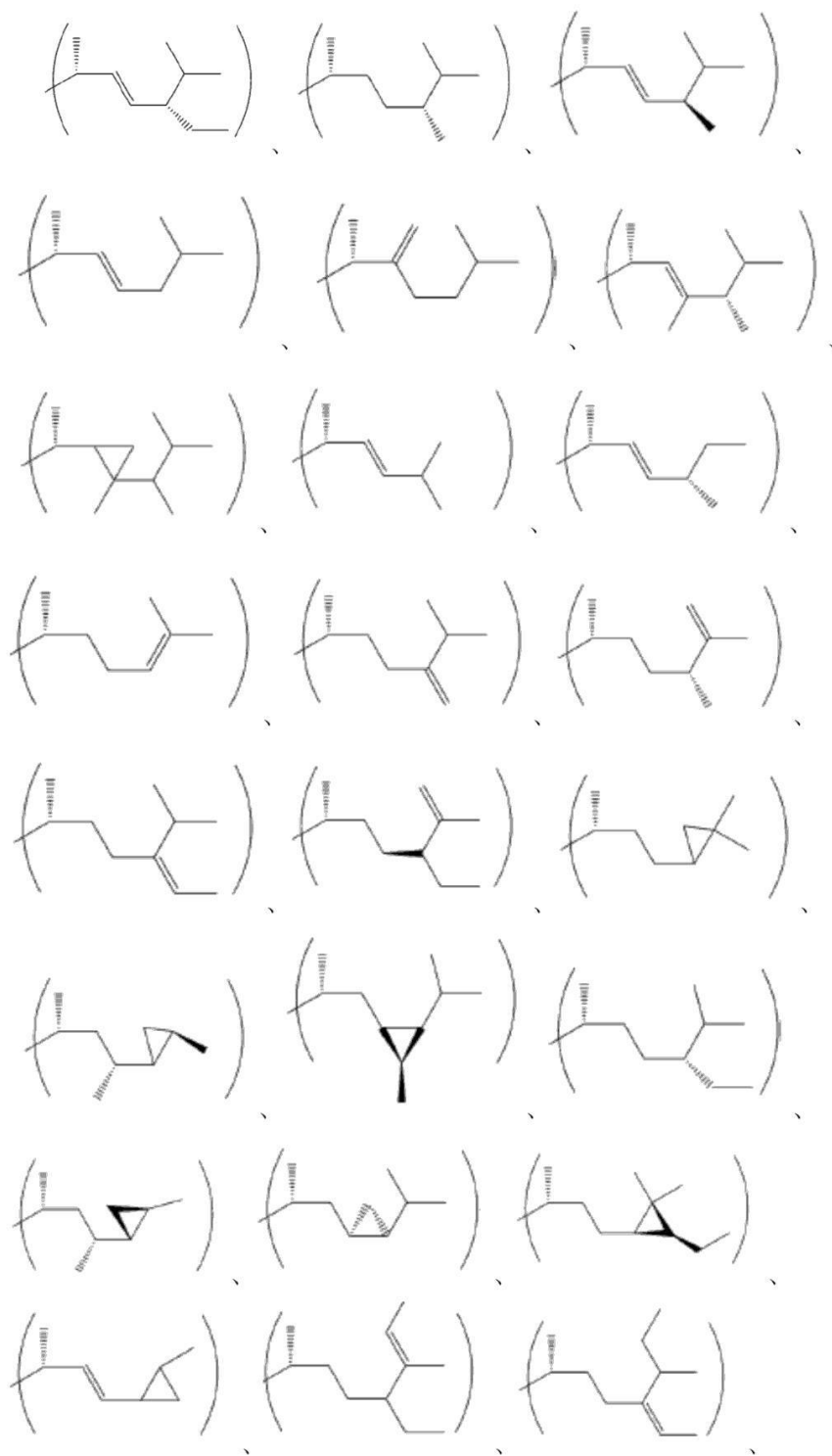
は、炭素 - 炭素単結合または二重結合を表し；
R^Aは、

30

40

50

【化 6 8 - 1】



10

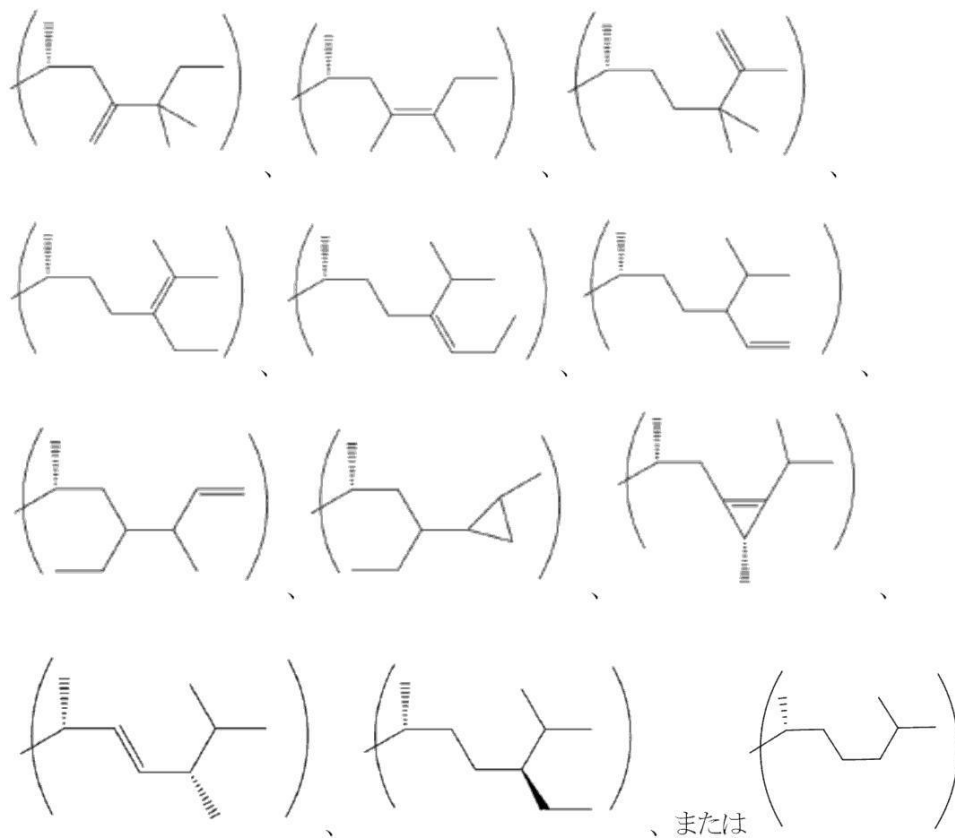
20

30

40

50

【化 6 8 - 2】



であり；

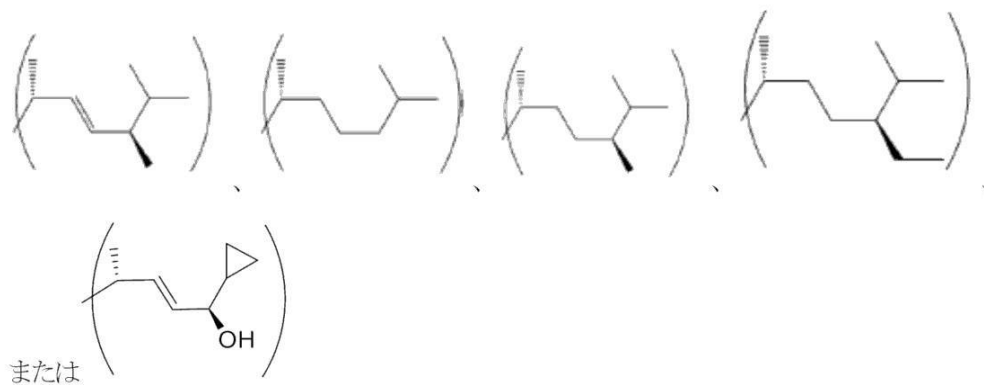
u は、1 または 2 であり；

v は、1 または 2 であり；

R^1 は、H または OH であり；

R^2 は、

【化 6 9】



であり；

各 R^3 は、独立して、 CH_3 、または

【化 7 0】



であり；

10

20

30

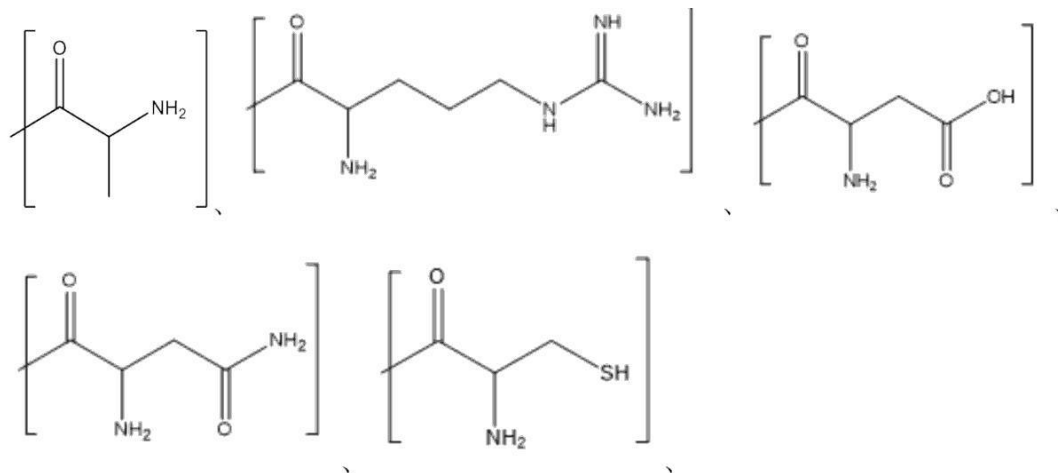
40

50

R⁴は、CH₃、CH₂OH、またはCO₂Hであり；

Qは、H、

【化 7 1 - 1】



10

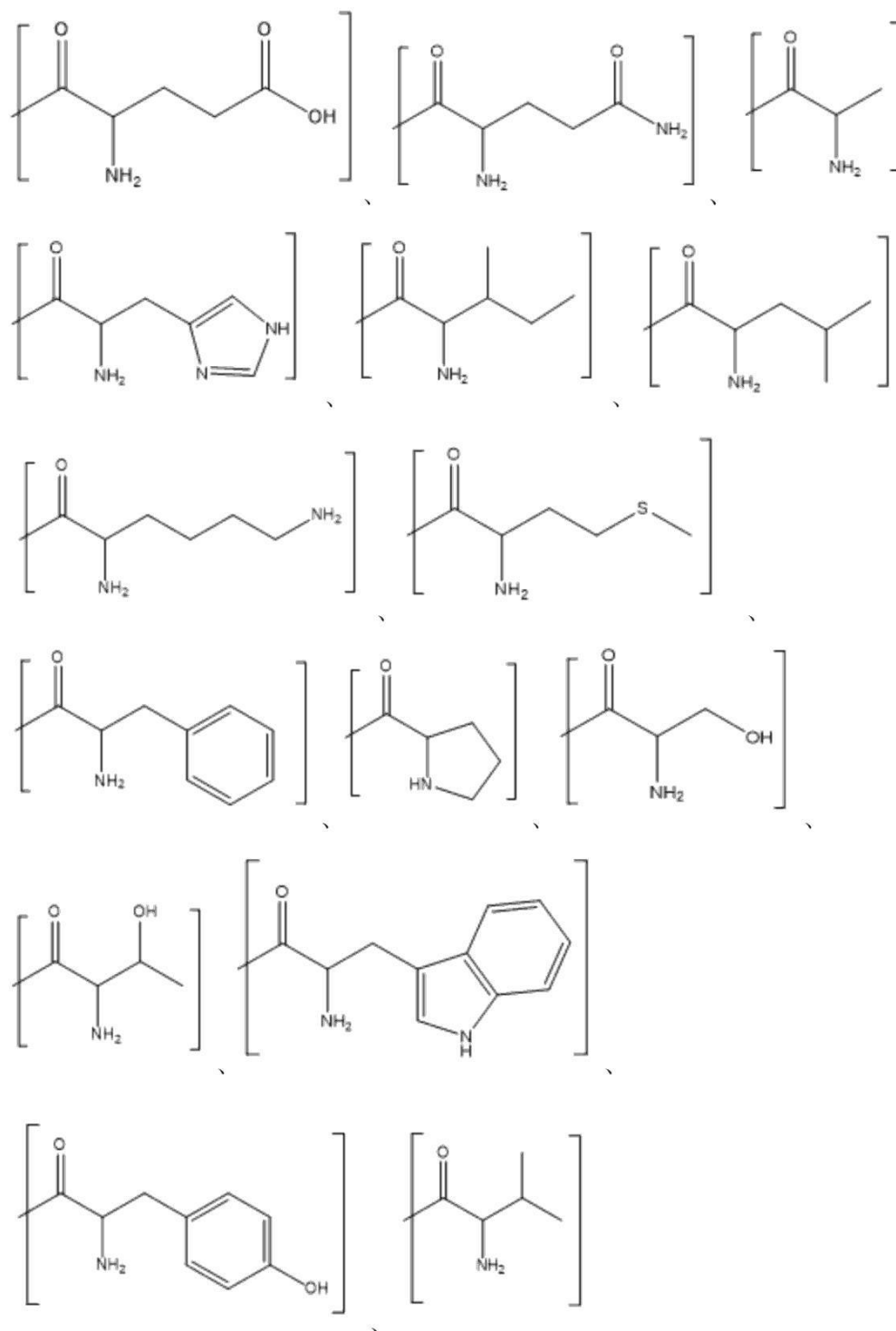
20

30

40

50

【化 7 1 - 2】



10

20

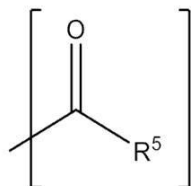
30

40

であり；または
Qは

50

【化 7 2】



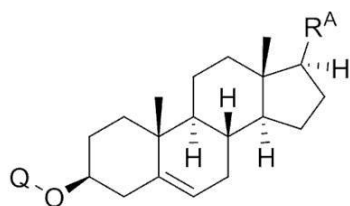
であり、ここで R^5 が、 $C_{1 \sim 25}$ アルキル、 $C_{2 \sim 25}$ アルケニル、 $C_{2 \sim 25}$ アルキニル、もしくはグリコシドである) のいずれかのもの、あるいはその塩または異性体である、
項目 5 ~ 7 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

10

[項目 1 8]

前記コレステロール誘導体が式

【化 7 3】



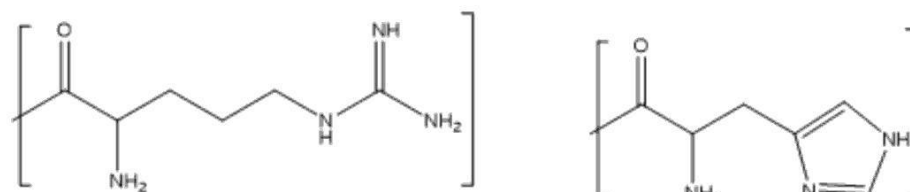
20

を有する場合には、Q が H ではない、項目 1 7 に記載のナノ粒子組成物。

[項目 1 9]

Q が

【化 7 4】



または

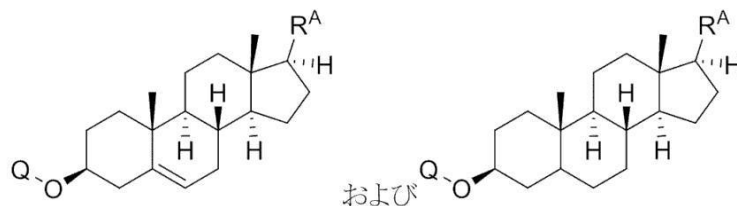
30

である、項目 1 7 または 1 8 に記載のナノ粒子組成物。

[項目 2 0]

前記コレステロール誘導体が、

【化 7 5】



および

40

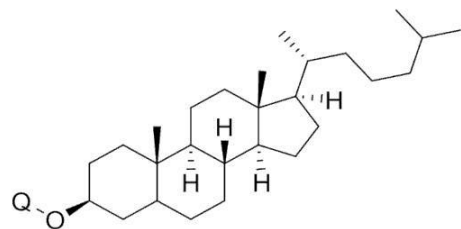
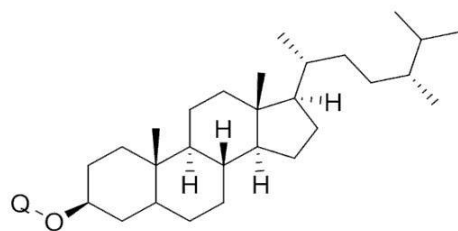
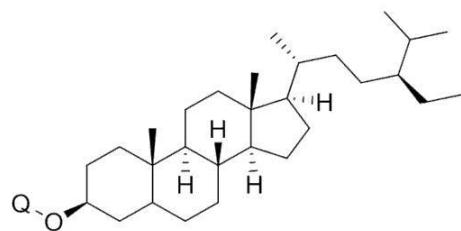
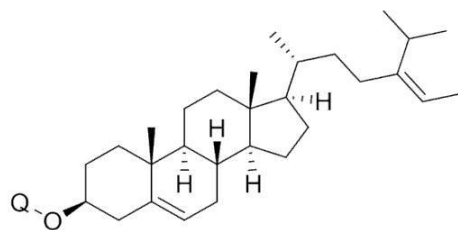
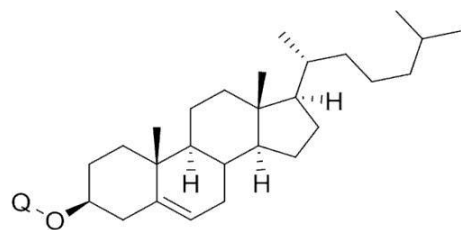
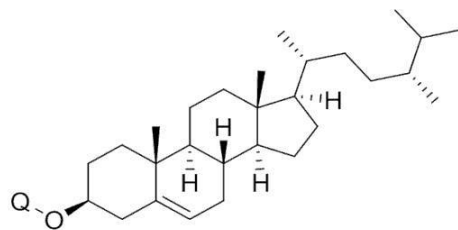
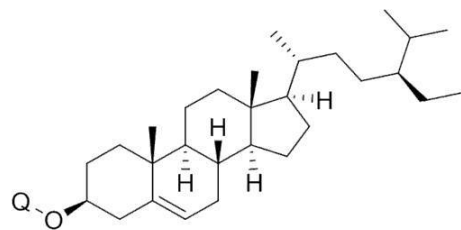
から選択される式を有する、項目 1 7 ~ 1 9 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 2 1]

前記コレステロール誘導体が、式：

50

【化 7 6】



を有する、項目 1 7 ~ 2 0 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 2 2]

前記コレステロール誘導体が、以下：

10

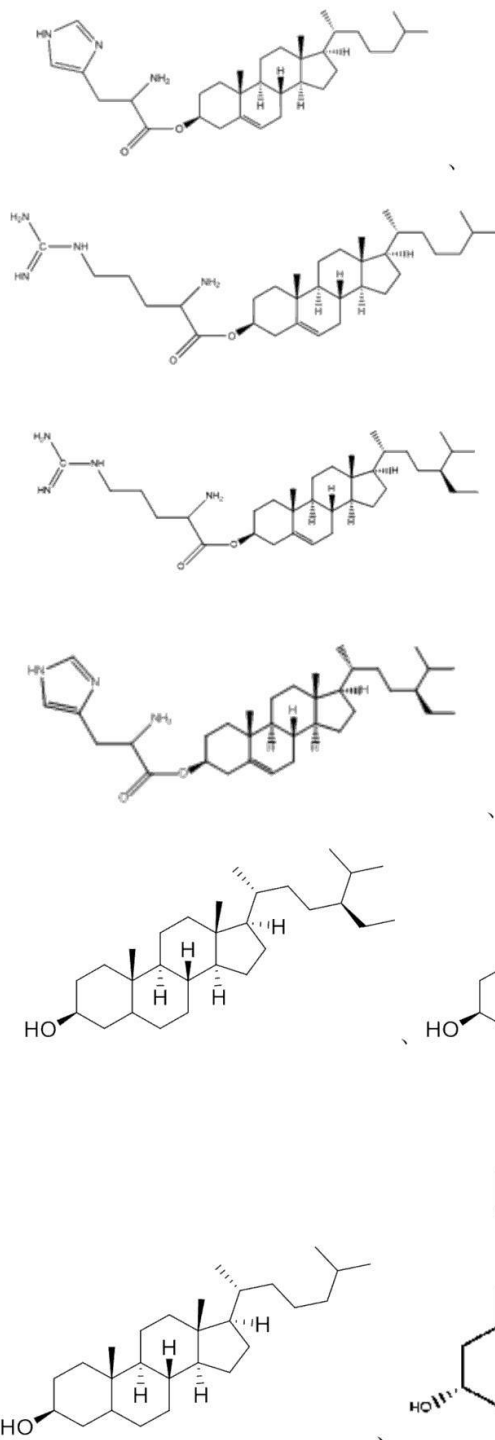
20

30

40

50

【化 7 7 - 1】



10

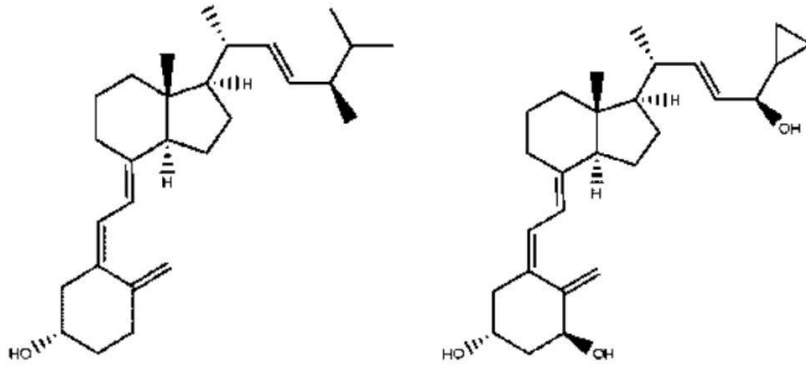
20

30

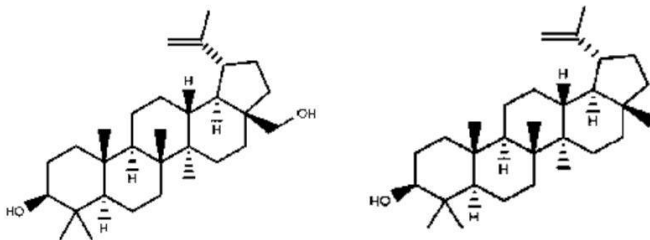
40

50

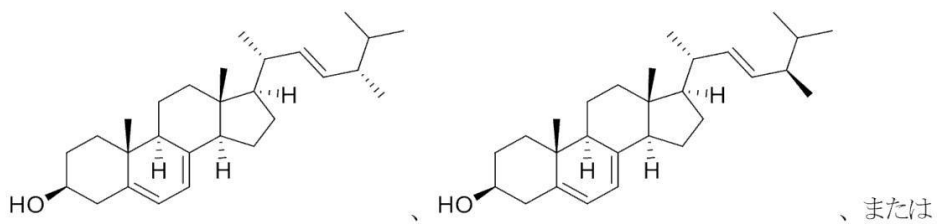
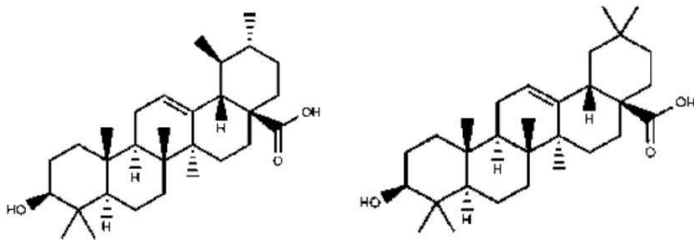
【化 7 7 - 2】



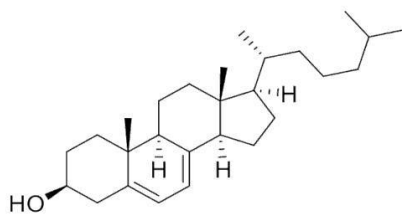
10



20



30



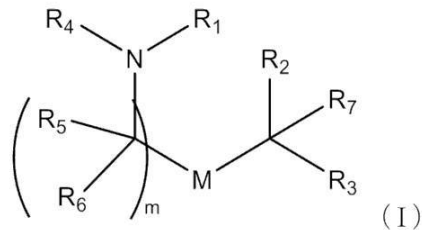
40

のいずれかの式を有する、項目 1 7 ~ 2 1 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 2 3]

前記イオン性脂質が、式 (I) :

【化 7 8】



(式中、

R_1 が、 $C_{5 \sim 30}$ アルキル、 $C_{5 \sim 20}$ アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、および $-R''M'R'$ からなる群から選択され；

R_2 および R_3 が、独立して、 H 、 $C_{1 \sim 14}$ アルキル、 $C_{2 \sim 14}$ アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、および $-ROR''$ からなる群から選択され、もしくは R_2 および R_3 が、それらが結合される原子と一緒に、複素環もしくは炭素環を形成し；

R_4 が、水素、 $C_{3 \sim 6}$ 炭素環、 $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-CHQR$ 、 $-CQ(R)_2$ 、および非置換 $C_{1 \sim 6}$ アルキルからなる群から選択され、ここで、 Q が、炭素環、複素環、 $-OR$ 、 $-O(CH_2)_nN(R)_2$ 、 $-C(O)OR$ 、 $-OC(O)R$ 、 $-CX_3$ 、 $-CX_2H$ 、 $-CXH_2$ 、 $-CN$ 、 $-N(R)_2$ 、 $-C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(R)R_8$ 、 $-N(R)S(O)_2R_8$ 、 $-O(CH_2)_nOR$ 、 $-N(R)C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(=CHR_9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=CHR_9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-C(=NR_9)R$ 、 $-C(O)N(R)OR$ 、および $-C(R)N(R)_2C(O)OR$ から選択され、各 n が、独立して、1、2、3、4、および 5 から選択され；

各 R_5 が、独立して、 $C_{1 \sim 3}$ アルキル、 $C_{2 \sim 3}$ アルケニル、および H からなる群から選択され；

各 R_6 が、独立して、 $C_{1 \sim 3}$ アルキル、 $C_{2 \sim 3}$ アルケニル、および H からなる群から選択され；

M および M' が、独立して、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M''-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、およびヘテロアリール基から選択され、ここで M'' が結合、 $C_{1 \sim 13}$ アルキルもしくは $C_{2 \sim 13}$ アルケニルであり；

各 R_7 が、 $C_{1 \sim 3}$ アルキル、 $C_{2 \sim 3}$ アルケニル、および H からなる群から選択され； R_8 が、 $C_{3 \sim 6}$ 炭素環および複素環からなる群から選択され；

R_9 が、 H 、 CN 、 NO_2 、 $C_{1 \sim 6}$ アルキル、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 $C_{2 \sim 6}$ アルケニル、 $C_{3 \sim 6}$ 炭素環および複素環からなる群から選択され；

各 R が、独立して、 $C_{1 \sim 3}$ アルキル、 $C_{2 \sim 3}$ アルケニル、および H からなる群から選択され；

各 R' が、独立して、 $C_{1 \sim 18}$ アルキル、 $C_{2 \sim 18}$ アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、および H からなる群から選択され；

各 R'' が、独立して、 $C_{3 \sim 15}$ アルキルおよび $C_{3 \sim 15}$ アルケニルからなる群から選択され；

各 R^* が、独立して、 $C_{1 \sim 12}$ アルキルおよび $C_{2 \sim 12}$ アルケニルからなる群から選択され；

10

20

30

40

50

各 Y が、独立して、C₃ ~ 6 炭素環であり；

各 X が、独立して、F、Cl、Br、および I からなる群から選択され；

m が、5、6、7、8、9、10、11、12、および 13 から選択される）の化合物またはその N - オキシド、あるいはその塩または異性体である、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 2 4]

R₄ が、- (CH₂)_nQ、- (CH₂)_nCHQR、- CHQR、または - CQ(R)₂ である場合、(i)_n が 1、2、3、4 もしくは 5 である場合、Q が - N(R)₂ ではなく、または (ii)_n が 1 もしくは 2 である場合、Q が、5、6、もしくは 7 員ヘテロシクロアルキルではない、項目 2 3 に記載のナノ粒子組成物。

10

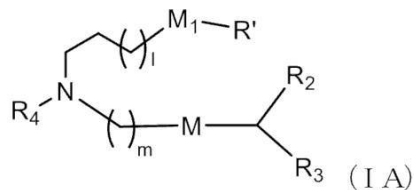
[項目 2 5]

R₁ が、- (CHR₅R₆)_m-M-CR₂R₃R₇ とは異なる、項目 2 3 または 2 4 に記載のナノ粒子組成物。

[項目 2 6]

前記イオン性脂質が、式 (IA)：

【化 7 9】



20

(式中、

l が、1、2、3、4、および 5 から選択され；

m が、5、6、7、8、および 9 から選択され；

M₁ が、結合もしくは M' であり；

R₄ が、水素、非置換 C₁ ~ 3 アルキル、もしくは - (CH₂)_nQ であり、ここで、Q が、OH、- NHC(S)N(R)₂、- NHC(O)N(R)₂、- N(R)C(O)R、- N(R)S(O)₂R、- N(R)R₈、- N(R)S(O)₂R₈、- NHC(=NR₉)N(R)₂、- NHC(=CHR₉)N(R)₂、- OC(O)N(R)₂、- N(R)C(O)OR、- N(OR)C(O)R、- N(OR)S(O)₂R、- N(OR)C(O)OR、- N(OR)C(O)N(R)₂、- N(OR)C(S)N(R)₂、- N(OR)C(=NR₉)N(R)₂、- N(OR)C(=CHR₉)N(R)₂、ヘテロアリールもしくはヘテロシクロアルキルであり；

30

M および M' が、独立して、- C(O)O-、- OC(O)-、- OC(O)-M''-C(O)O-、- C(O)N(R')-、- P(O)(OR')O-、- S-S-、アリール基、およびヘテロアリール基から選択され；

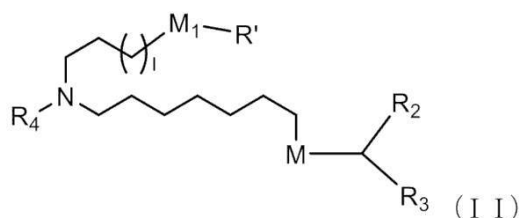
R₂ および R₃ が、独立して、H、C₁ ~ 14 アルキル、および C₂ ~ 14 アルケニルからなる群から選択される）の化合物またはその N - オキシド、あるいはその塩または異性体である、項目 2 3 ~ 2 5 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

40

[項目 2 7]

前記イオン性脂質が、式 (II)：

【化 8 0】



50

(式中、

1 が、1、2、3、4、および5から選択され；

M_1 が、結合もしくは M' であり；

R_4 が、水素、非置換 $C_{1\sim3}$ アルキル、もしくは $-(CH_2)_nQ$ であり、ここで、 n が2、3、もしくは4であり、 Q が、 OH 、 $-NHC(S)N(R)_2$ 、 $-NHC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)R_8$ 、 $-N(R)S(O)_2R_8$ 、 $-NHC(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-NHC(=CHR_9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)R$ 、 $-N(OR)S(O)_2R$ 、 $-N(OR)C(O)OR$ 、 $-N(OR)C(O)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(S)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-N(OR)C(=CHR_9)N(R)_2$ 、ヘテロアリールもしくはヘテロシクロアルキルであり；

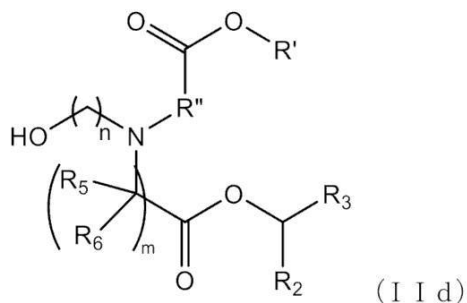
M および M' が、独立して、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-OC(O)-M''-C(O)O-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、およびヘテロアリール基から選択され；

R_2 および R_3 が、独立して、 H 、 $C_{1\sim14}$ アルキル、および $C_{2\sim14}$ アルケニルからなる群から選択される) の化合物またはその N -オキシド、あるいはその塩または異性体である、項目23または24に記載のナノ粒子組成物。

[項目28]

前記イオン性脂質が、式(II d)：

【化81】

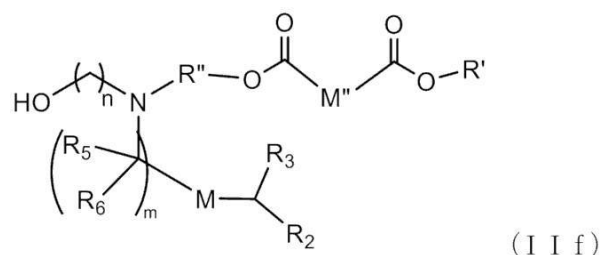


(式中、 R_2 および R_3 は、独立して、 $C_{5\sim14}$ アルキルおよび $C_{5\sim14}$ アルケニルからなる群から選択され、 n は、2、3、および4から選択される) の化合物またはその N -オキシド、あるいはその塩または異性体である、項目23～27のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目29]

前記イオン性脂質が、式(II f)：

【化82】



(式中、 M は、 $-C(O)O-$ もしくは $-OC(O)-$ であり、 M'' は、 $C_{1\sim6}$ アルキルもしくは $C_{2\sim6}$ アルケニルであり、 R_2 および R_3 は、独立して、 $C_{5\sim14}$ アルキルおよび $C_{5\sim14}$ アルケニルからなる群から選択され、 n は、2、3、および4から選択される) の化合物またはその N -オキシド、あるいはその塩または異性体である、項目23～27のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目30]

10

20

30

40

50

前記イオン性脂質が、化合物 1 ~ 280 からなる群から選択される、項目 23 ~ 29 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 31]

前記イオン性脂質が、1 - リノレオイル - 2 - リノレイルオキシ - 3 - ジメチルアミノプロパン (DLin - 2 - DMAP) ; 1, 2 - ジリノレイルカルバモイルオキシ - 3 - ジメチルアミノプロパン (DLin - C - DAP) ; 1, 2 - ジリノレオイル - 3 - ジメチルアミノプロパン (DLin - DAP) ; 1, 2 - ジリノレイルオキシ - N, N - ジメチルアミノプロパン (DLin - DMA) ; 2, 2 - ジリノレイル - 4 - ジメチルアミノメチル - [1, 3] - ジオキソラン (DLin - K - DMA) ; 2, 2 - ジリノレイル - 4 - (2 - ジメチルアミノエチル) - [1, 3] - ジオキソラン (DLin - KC2 - DMA) ; (6Z, 9Z, 28Z, 31Z) - ヘプタトリアコンタ - 6, 9, 28, 31 - テトラエン - 19 - イル 4 - (ジメチルアミノ) ブタノエート (DLin - MC3 - DMA) ; 1, 2 - ジオレオイル - 3 - ジメチルアンモニウムプロパン (DODAP) ; N, N - ジメチル - (2, 3 - ジオレイルオキシ) プロピルアミン (DODMA) ; ジオクタデシルアミドグリシルカルボキシスベルミン (DOGS) ; スベルミンコレステリルカルバメート (GL - 67) ; ビス - グアニジニウム - スベルミジン - コレステロール (BGTC) ; 3 - (N - (N', N' - ジメチルアミノエタン) - カルバモイル) コレステロール (DC - Chol) ; 1, 1' - (2 - (4 - (2 - ((2 - (ビス (2 - ヒドロキシドデシル) アミノ) エチル) (2 - ヒドロキシドデシル) アミノ) エチル) ピペラジン - 1 - イル) エチルアザンジイル) ジドデカン - 2 - オール (C12 - 200) ; N - t - 10
20
30
ブチル - N' - テトラデシルアミノ - プロピオンアミジン (JC14 - アミジン) ; ジメチルジオクタデシルアンモニウムブロミド (DDAB) ; N - (1, 2 - ジミリスチルオキシプロパ - 3 - イル) - N, N - ジメチル - N - ヒドロキシエチルアンモニウムブロミド (DMRIE) ; N, N - ジオレイル - N, N - ジメチルアンモニウムクロリド (DODAC) ; ジオレイルオキシプロピル - 3 - ジメチルヒドロキシエチルアンモニウムブロミド (DORIE) ; N - (1 - (2, 3 - ジオレイルオキシ) プロピル) - N, N - 2 - (スベルミンカルボキサミド) エチル) - N, N - ジメチルアンモニウムトリフルオロアセテート (DOSPA) ; 1, 2 - ジオレオイルトリメチルアンモニウムプロパンクロリド (DOTAP) ; N - (1 - (2, 3 - ジオレイルオキシ) プロピル) - N, N, N - トリメチルアンモニウムクロリド (DOTMA) ; アミノプロピル - ジメチル - ビス (ドデシルオキシ) - プロパンアミニウムブロミド (GAP - DLRIE) ; またはそれらの組合せからなる群から選択される、項目 17 ~ 22 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 32]

前記イオン性脂質が、1 - リノレオイル - 2 - リノレイルオキシ - 3 - ジメチルアミノプロパン (DLin - 2 - DMAP) ; 1, 2 - ジリノレイルカルバモイルオキシ - 3 - ジメチルアミノプロパン (DLin - C - DAP) ; 1, 2 - ジリノレオイル - 3 - ジメチルアミノプロパン (DLin - DAP) ; 1, 2 - ジリノレイルオキシ - N, N - ジメチルアミノプロパン (DLin - DMA) ; 2, 2 - ジリノレイル - 4 - ジメチルアミノメチル - [1, 3] - ジオキソラン (DLin - K - DMA) ; 2, 2 - ジリノレイル - 4 - (2 - ジメチルアミノエチル) - [1, 3] - ジオキソラン (DLin - KC2 - DMA) ; (6Z, 9Z, 28Z, 31Z) - ヘプタトリアコンタ - 6, 9, 28, 31 - テトラエン - 19 - イル 4 - (ジメチルアミノ) ブタノエート (DLin - MC3 - DMA) ; 1, 2 - ジオレオイル - 3 - ジメチルアンモニウムプロパン (DODAP) ; N, N - ジメチル - (2, 3 - ジオレイルオキシ) プロピルアミン (DODMA) ; ジオクタデシルアミドグリシルカルボキシスベルミン (DOGS) ; スベルミンコレステリルカルバメート (GL - 67) ; ビス - グアニジニウム - スベルミジン - コレステロール (BGTC) ; 3 - (N - (N', N' - ジメチルアミノエタン) - カルバモイル) コレステロール (DC - Chol) ; 1, 1' - (2 - (4 - (2 - ((2 - (ビス (2 - ヒドロキシドデシル) アミノ) エチル) (2 - ヒドロキシドデシル) アミノ) エチル) ピペラジン - 1 - イル) エチルアザンジイル) ジドデカン - 2 - オール (C12 - 200) ; N - t - 40
50

ブチル - N' - テトラデシルアミノ - プロピオンアミジン (ジ C 14 - アミジン) ; ジメチルジオクタデシルアンモニウムブロミド (DDAB) ; N - (1 , 2 - ジミリスチルオキシプロパ - 3 - イル) - N , N - ジメチル - N - ヒドロキシエチルアンモニウムブロミド (DMRIE) ; N , N - ジオレイル - N , N - ジメチルアンモニウムクロリド (DODAC) ; ジオレイルオキシプロピル - 3 - ジメチルヒドロキシエチルアンモニウムブロミド (DORIE) ; N - (1 - (2 , 3 - ジオレイルオキシ) プロピル) - N - 2 - (スペルミンカルボキサミド) エチル) - N , N - ジメチルアンモニウムトリフルオロアセテート (DOSPA) ; 1 , 2 - ジオレオイルトリメチルアンモニウムプロパンクロリド (DOTAP) ; N - (1 - (2 , 3 - ジオレイルオキシ) プロピル) - N , N , N - トリメチルアンモニウムクロリド (DOTMA) ; アミノプロピル - ジメチル - ビス (ドデシルオキシ) - プロパンアモニウムブロミド (GAP - DLRIE) ; またはそれらの組合せからなる群から選択される、項目 2 ~ 5 および 7 ~ 16 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

10

[項目 3 3]

前記リン脂質が、1 , 2 - ジリノレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (DLPC) 、 1 , 2 - ジミリストイル - sn - グリセロ - ホスホコリン (DMPC) 、 1 , 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (DOPC) 、 1 , 2 - ジパルミトイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (DPPC) 、 1 , 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (DSPC) 、 1 , 2 - ジウンデカノイル - sn - グリセロ - ホスホコリン (DUPC) 、 1 - パルミトイル - 2 - オレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (POPC) 、 1 , 2 - ジ - O - オクタデセニル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (18 : 0 ジエーテル PC) 、 1 - オレオイル - 2 - コレステルルヘミスクシノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (OChemSPC) 、 1 - ヘキサデシル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (C16 Lyso PC) 、 1 , 2 - ジリノレノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン、1 , 2 - ジアラキドノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン、1 , 2 - ジドコサヘキサエノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン、1 , 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (DOPE) 、 1 , 2 - ジフィタノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (ME 16 , 0 PE) 、 1 , 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1 , 2 - ジリノレノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1 , 2 - ジアラキドノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1 , 2 - ジドコサヘキサエノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン、1 , 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホ - rac - (1 - グリセロール) ナトリウム塩 (DOPG) 、 ジパルミトイルホスファチジルグリセロール (DPPG) 、 パルミトイルオレオイルホスファチジルエタノールアミン (POPE) 、 ジステアロイル - ホスファチジル - エタノールアミン (DSPE) 、 ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン (DPPE) 、 ジミリストイルホスホエタノールアミン (DMPE) 、 1 - ステアロイル - 2 - オレオイル - ホスファチジルエタノールアミン (SOPE) 、 1 - ステアロイル - 2 - オレオイル - ホスファチジルコリン (SOPC) 、 スフィンゴミエリン、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、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジン酸、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン、リゾホスファチジルコリン、リゾホスファチジルエタノールアミン (LPE) 、 およびそれらの混合物からなる群から選択される、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

20

30

40

[項目 3 4]

前記脂質成分が PEG 脂質をさらに含む、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 3 5]

前記 PEG 脂質が、PEG - 修飾ホスファチジルエタノールアミン、PEG - 修飾ホスファチジン酸、PEG - 修飾セラミド、PEG - 修飾ジアルキルアミン、PEG - 修飾ジ

50

アシルグリセロール、PEG-修飾ジアルキルグリセロール、およびそれらの混合物からなる群から選択される、項目34に記載のナノ粒子組成物。

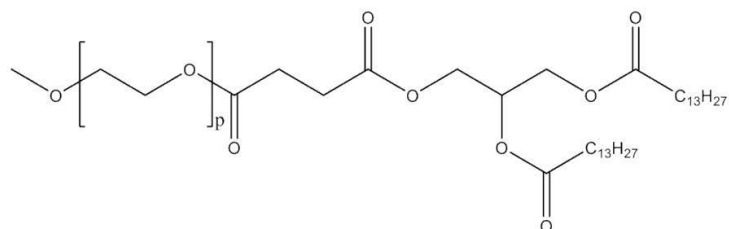
[項目36]

前記PEG脂質が、約1000Da～約20kDaのサイズを有するPEG部分を含む、項目34または35に記載のナノ粒子組成物。

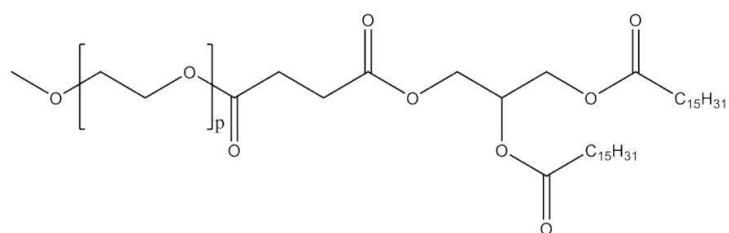
[項目37]

前記PEG脂質が、

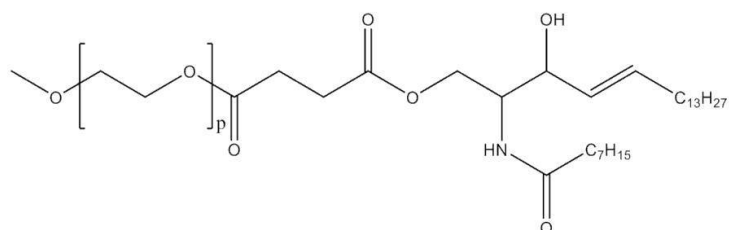
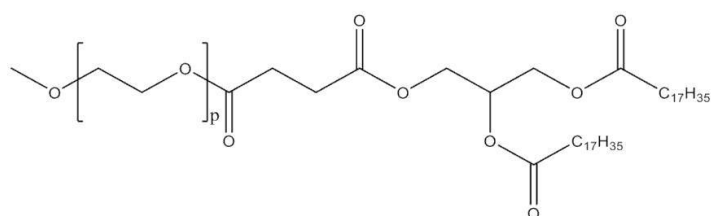
【化83-1】



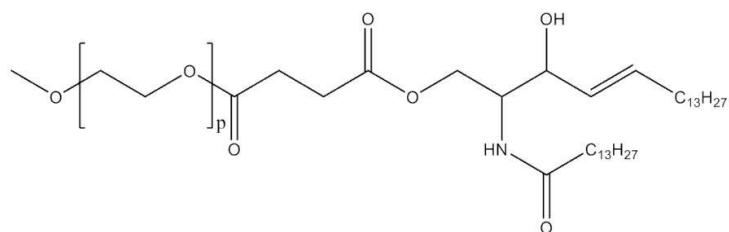
10



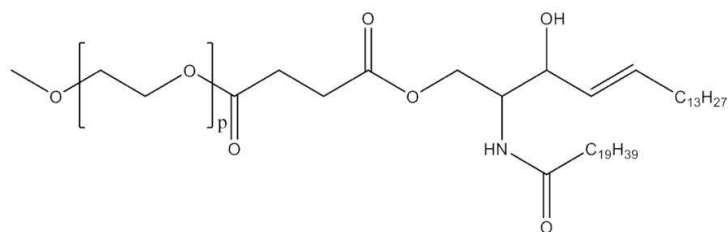
20



30

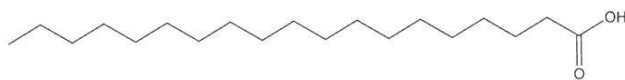
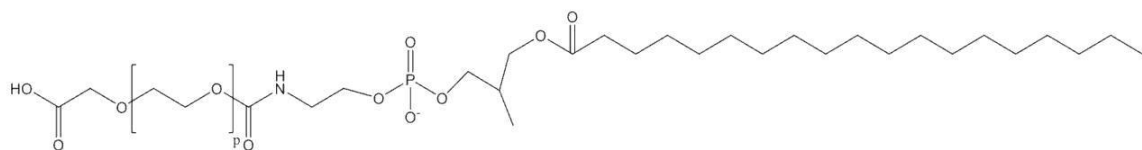
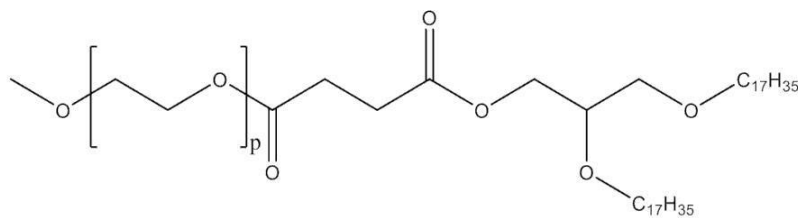
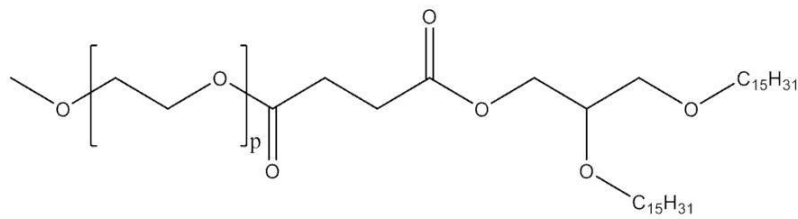
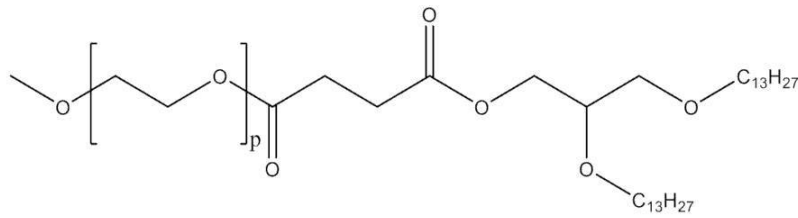


40



50

【化 8 3 - 2】



(式中、 p は 1 ~ 40 である) から選択される、項目 34 ~ 36 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

〔項目 38〕

前記組成物が、約 30 mol % ~ 約 60 mol % のイオン性脂質、約 0.01 mol % ~ 約 30 mol % のリン脂質、約 18.5 mol % ~ 約 48.5 mol % の組み合わせた第 1 および第 2 ステロール、ならびに約 0 mol % ~ 約 10 mol % の PEG 脂質を含む、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

〔項目 39〕

前記組成物が、約 45 mol % ~ 約 65 mol % のイオン性脂質、約 5 mol % ~ 約 10 mol % のリン脂質、約 25 mol % ~ 約 40 mol % の組み合わせた第 1 および第 2 ステロール、ならびに約 0.5 mol % ~ 約 10 mol % の PEG 脂質を含む、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

〔項目 40〕

前記組成物が、約 50 mol % のイオン性脂質、約 10 mol % のリン脂質、約 38.5 mol % の組み合わせた第 1 および第 2 ステロール、ならびに約 1.5 mol % の PEG 脂質を含む、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

〔項目 41〕

前記組成物が、3 - (ジドデシルアミノ) - N1, N1, 4 - トリドデシル - 1 - ピペラジンエタンアミン (KL10)、N1 - [2 - (ジドデシルアミノ) エチル] - N1, N4, N4 - トリドデシル - 1, 4 - ピペラジンジエタンアミン (KL22)、14, 25 - ジトリドデシル - 15, 18, 21, 24 - テトラアザ - オクタトリアコンタン (KL

25)、1,2-ジリノレイルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン(DLin-DMA)、2,2-ジリノレイル-4-ジメチルアミノメチル-[1,3]-ジオキソラン(DLin-K-DMA)、ヘプタトリアコンタ-6,9,28,31-テトラエン-19-イル4-(ジメチルアミノ)ブタノエート(DLin-MC3-DMA)、2,2-ジリノレイル-4-(2-ジメチルアミノエチル)-[1,3]-ジオキソラン(DLin-KC2-DMA)、1,2-ジオレイルオキシ-N,N-ジメチルアミノプロパン(DODMA)、2-({ 8 - [(3) - コレスタ - 5 - エン - 3 - イルオキシ } オクチル } オキシ) - N, N - ジメチル - 3 - [(9 Z, 12 Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] プロパン - 1 - アミン (オクチル - CLinDMA)、(2 R) - 2 - ({ 8 - [(3) - コレスタ - 5 - エン - 3 - イルオキシ } オクチル } オキシ) - N, N - ジメチル - 3 - [(9 Z, 12 Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] プロパン - 1 - アミン (オクチル - CLinDMA (2 R))、(2 S) - 2 - ({ 8 - [(3) - コレスタ - 5 - エン - 3 - イルオキシ } オクチル } オキシ) - N, N - ジメチル - 3 - [(9 Z, 12 Z) - オクタデカ - 9, 12 - ジエン - 1 - イルオキシ] プロパン - 1 - アミン (オクチル - CLinDMA (2 S))、(12 Z, 15 Z) - N, N - ジメチル - 2 - ノニルヘンイコサ - 12, 15 - ジエン - 1 - アミン、および N, N - ジメチル - 1 - { (1 S, 2 R) - 2 - オクチルシクロプロピル } ヘプタデカン - 8 - アミンからなる群から選択されるカチオン性および / またはイオン性脂質をさらに含む、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

10

[項目 4 2]

治療薬および / または予防薬をさらに含む、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

20

[項目 4 3]

前記治療薬および / または予防薬が、リボ核酸(RNA)である、項目 4 2 に記載のナノ粒子組成物。

[項目 4 4]

前記組成物が、約 0.025 mg/mL ~ 約 4 mg/mL の前記 RNA、好ましくは約 0.025 mg/mL ~ 約 0.4、0.05 mg/mL ~ 約 0.2 mg/mL、または 0.05 mg/mL ~ 約 0.1 mg/mL の前記 RNA を有する、項目 4 3 に記載のナノ粒子組成物。

30

[項目 4 5]

前記 RNA が、低分子干渉 RNA (siRNA)、非対称干渉 RNA (aiRNA)、マイクロ RNA (miRNA)、ダイサー基質 RNA (dsRNA)、小ヘアピン RNA (shRNA)、メッセンジャー RNA (mRNA)、長鎖非コード RNA (lncRNA) およびそれらの混合物からなる群から選択される、項目 4 2 ~ 4 4 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 4 6]

前記 RNA が mRNA である、項目 4 2 ~ 4 4 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 4 7]

前記 mRNA が、ステムループ、鎖終止ヌクレオシド、ポリ A 配列、ポリアデニル化シグナル、および / または 5' キャップ構造の 1 つ以上を含む、項目 4 6 に記載のナノ粒子組成物。

40

[項目 4 8]

前記 mRNA が、少なくとも 30 ヌクレオチド長である、項目 4 6 または 4 7 に記載のナノ粒子組成物。

[項目 4 9]

前記 mRNA が、少なくとも 300 ヌクレオチド長である、項目 4 6 または 4 7 に記載のナノ粒子組成物。

[項目 5 0]

前記治療薬および / または予防薬の封入効率が、少なくとも 50 %、少なくとも 80 %

50

、少なくとも90%、または少なくとも95%である、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 5 1]

前記ナノ粒子組成物が、前記第1および第2ステロールの両方を有し、前記組成物が、前記第1ステロールまたは前記第2ステロールの両方ではなくいずれかを含む対応する組成物と比較した場合、実質的に同じまたは増加した細胞取込み効率を有する、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 5 2]

前記細胞取込み効率が、少なくとも5%、10%、15%、20%、または25%増加する、項目51に記載のナノ粒子組成物。

[項目 5 3]

前記治療薬および/または予防薬に対する前記脂質成分のw t / w t 比が、約10 : 1 ~ 約60 : 1である、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 5 4]

前記N : P 比が、約2 : 1 ~ 約30 : 1である、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 5 5]

前記組成物の平均サイズが、約70 nm ~ 約130 nmである、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 5 6]

先行項目のいずれか一項に記載の前記ナノ粒子組成物と、薬学的に許容できる担体とを含む、医薬組成物。

[項目 5 7]

哺乳動物細胞への治療薬および/または予防薬の送達方法であって、先行項目のいずれか一項に記載の前記ナノ粒子組成物を対象に投与することを含み、前記投与が、前記細胞を、前記ナノ粒子組成物と接触させることを含み、それによって、前記治療薬および/または予防薬が、前記細胞に送達される、前記方法。

[項目 5 8]

哺乳動物器官への治療薬および/または予防薬の特異的送達方法であって、先行項目のいずれか一項に記載の前記ナノ粒子組成物を哺乳動物に投与することを含み、前記投与が、前記哺乳動物器官を、前記ナノ粒子組成物と接触させることを含み、それによって、前記治療薬および/または予防薬が、前記器官に送達される、前記方法。

[項目 5 9]

前記ナノ粒子組成物が、前記第1および第2ステロールの両方を有し、前記治療薬および/または予防薬の送達効率が、前記第1ステロールまたは前記第2ステロールの両方ではなくいずれかを含む対応する組成物を投与することと比較した場合、増強される、項目57または58に記載の方法。

[項目 6 0]

哺乳動物細胞内における目的のポリペプチドの生成方法であって、前記細胞を、先行項目のいずれか一項に記載の前記ナノ粒子組成物と接触させることを含み、前記治療薬および/または予防薬がmRNAであり、前記mRNAが、前記目的のポリペプチドをコードし、それによって、前記mRNAが、前記細胞内で翻訳されて、前記目的のポリペプチドを生成することができる、前記方法。

[項目 6 1]

前記ナノ粒子組成物が、前記第1および第2ステロールの両方を有し、前記目的のポリペプチドの生成が、前記第1ステロールまたは前記第2ステロールの両方ではなくいずれかを含む対応する組成物を投与することと比較した場合、増加する、項目60に記載の方法。

[項目 6 2]

前記ポリペプチド生成が、少なくとも10%、20%、30%、40%、50%、また

10

20

30

40

50

は 100% 増加する、項目 61 に記載の方法。

[項目 63]

前記ナノ粒子組成物が、前記第 1 および第 2 ステロールの両方を有し、前記ナノ粒子組成物の細胞取込み効率が、前記第 1 ステロールまたは前記第 2 ステロールの両方ではなく、いずれかを含む対応する組成物を投与することと比較した場合、実質的にそれと同じまたは増加する、項目 60 ~ 62 のいずれか一項に記載の方法。

[項目 64]

前記細胞取込み効率が、少なくとも 5%、10%、15%、20%、または 25% 増加する、項目 63 に記載の方法。

[項目 65]

前記ポリペプチドの前記生成の増加程度が、前記細胞取込み効率の増加程度以上である、項目 63 に記載の方法。

[項目 66]

前記哺乳動物細胞または器官が、哺乳動物中にある、先行項目のいずれか一項に記載の方法。

[項目 67]

疾患または障害の治療を必要とする対象における疾患または障害の治療方法であって、前記対象に治療有効量の先行項目のいずれか一項に記載の前記ナノ粒子組成物を投与することを含む、前記方法。

[項目 68]

脂質ナノ粒子であって、

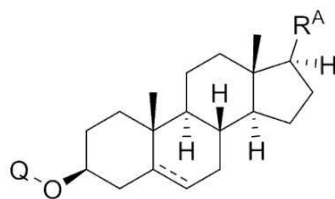
イオン性脂質と；

リン脂質と；

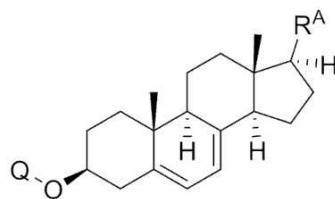
界面活性剤と；

核酸部分と；

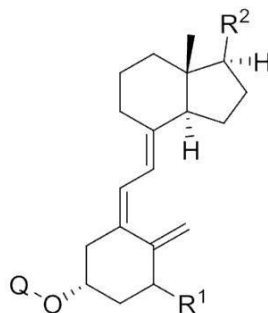
【化 84】



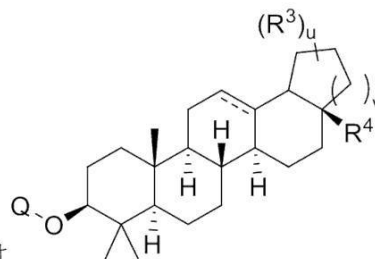
(A1)、



(A2)、



(A3)、または



(A4)

(式中、

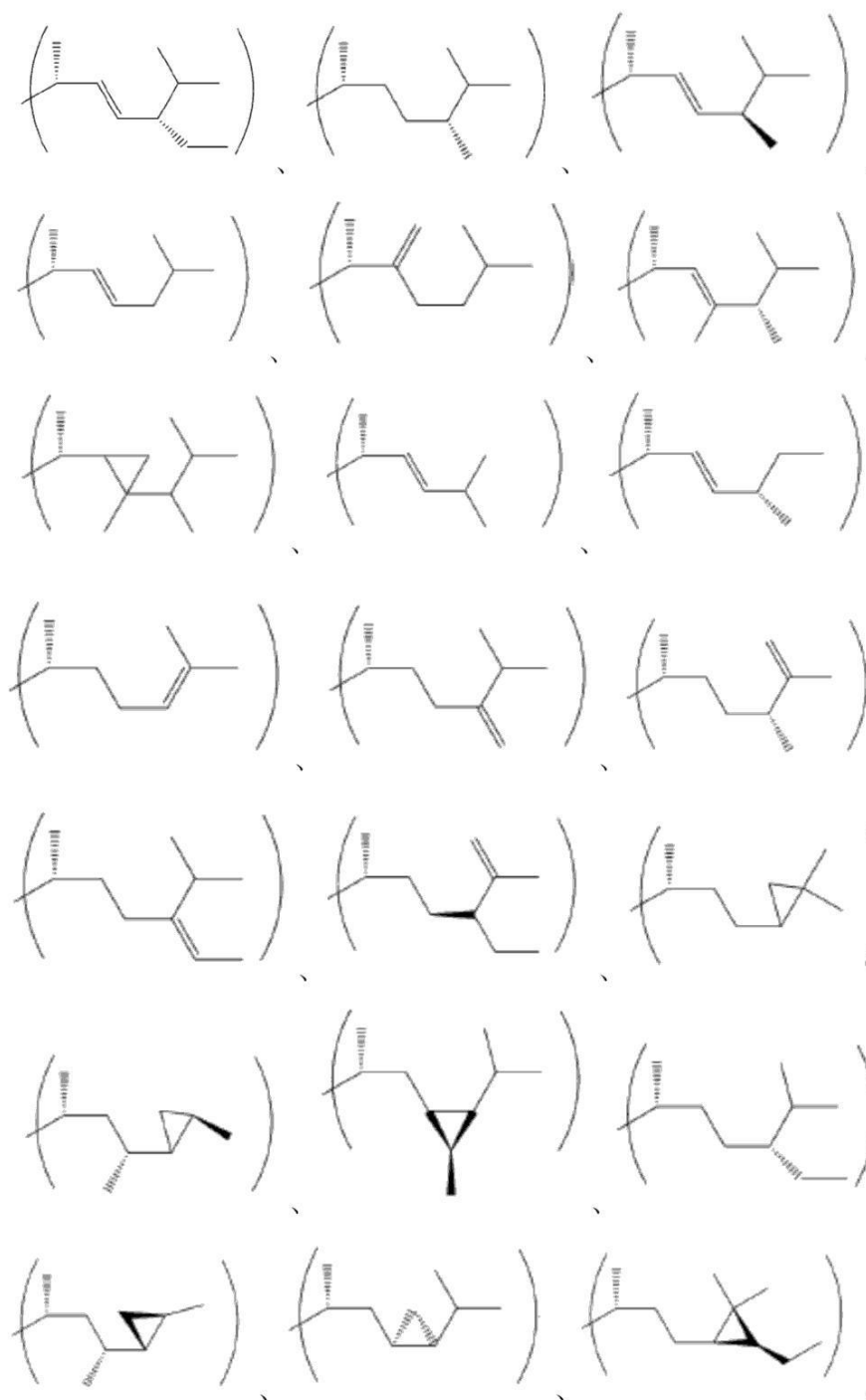
【化 85】

====

は、炭素 - 炭素単結合または二重結合を表し；

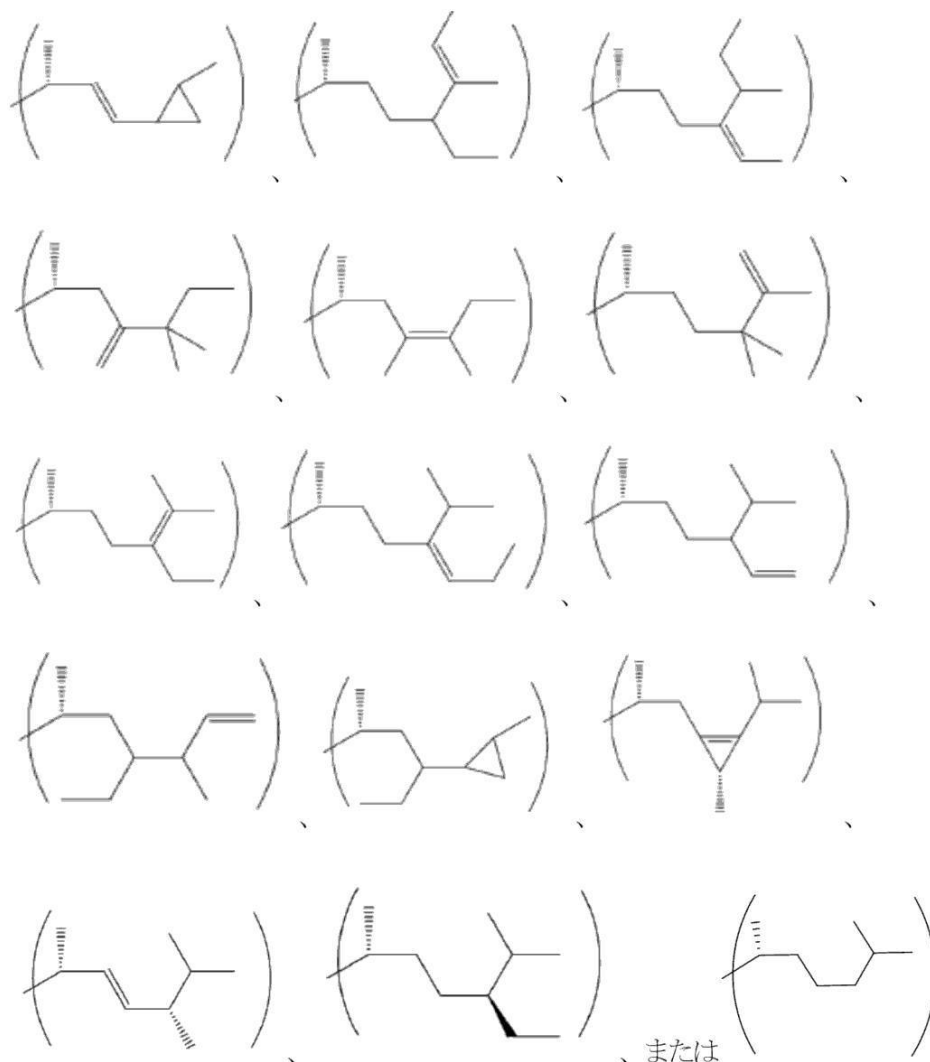
ここで R^A は、

【化 8 6 - 1】



50

【化 8 6 - 2】



であり；

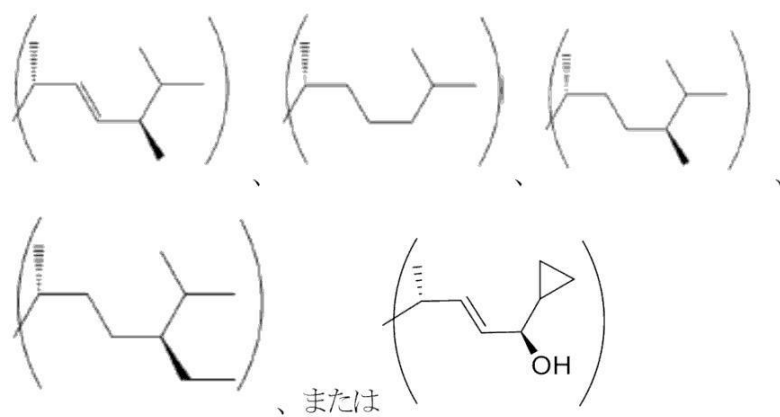
u は、1 または 2 であり；

v は、1 または 2 であり；

R¹ は、H または OH であり；

R² は、

【化 8 7】



から選択され；

各 R^3 は、独立で、 CH_3 、または
【化 8 8】

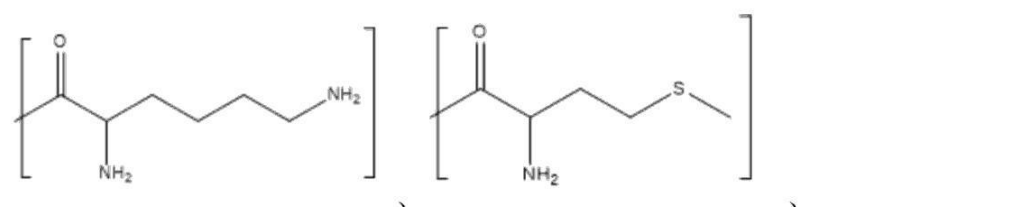
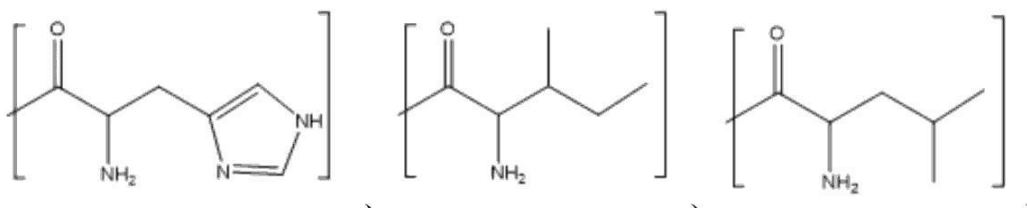
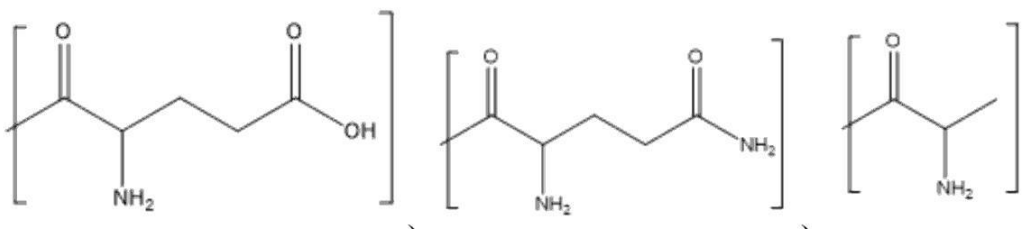
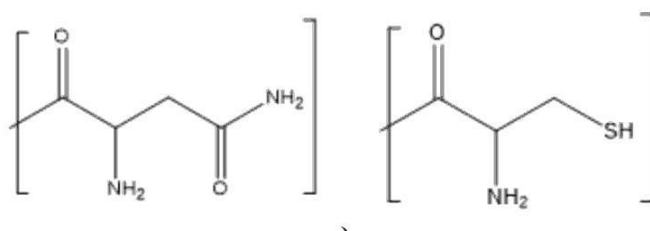
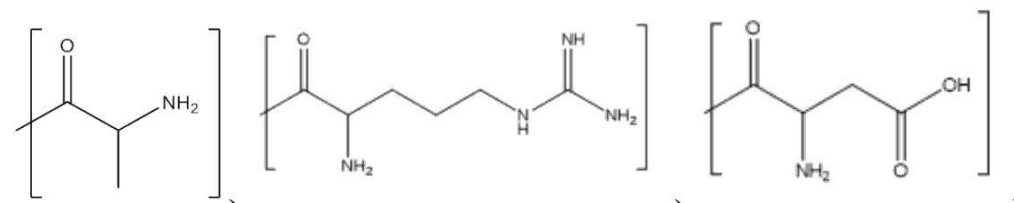


であり；

R^4 は、 CH_3 、 CH_2OH 、または CO_2H であり；

Q は、 H 、

【化 8 9 - 1】



10

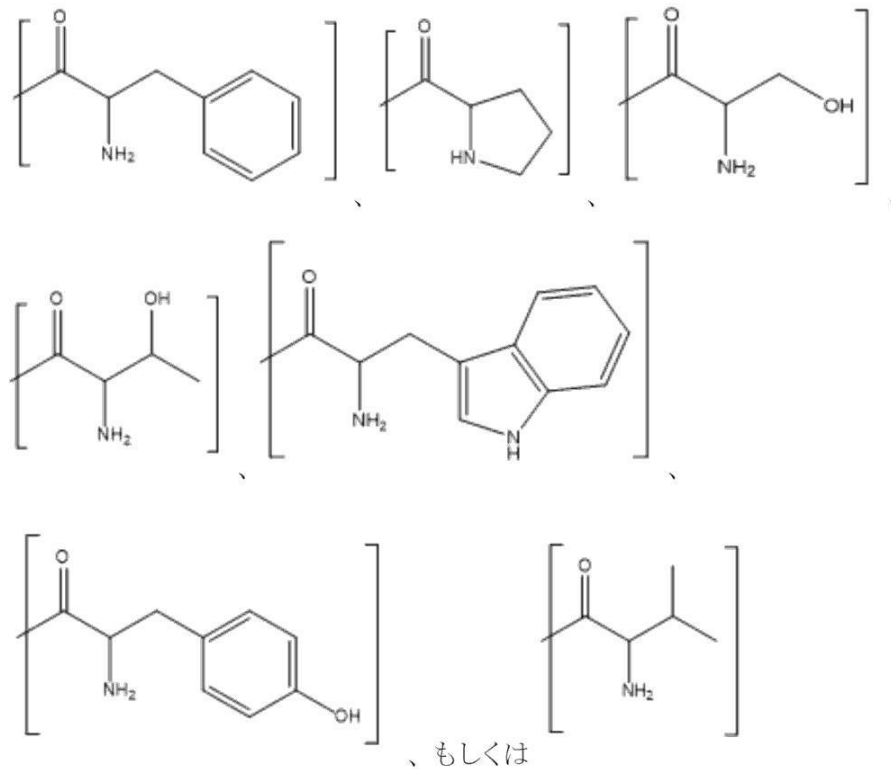
20

30

40

50

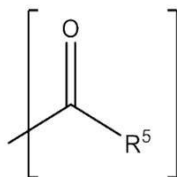
【化 8 9 - 2】



であり；または

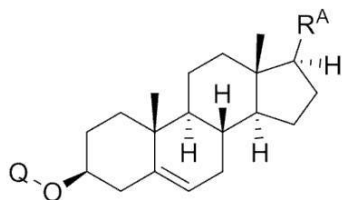
Q は

【化 9 0】



であり、ここで R⁵ が、C₁ ~ 25 アルキル、C₂ ~ 25 アルケニル、C₂ ~ 25 アルキニル、もしくはグリコシドであり、ここで前記コレステロール誘導体が式

【化 9 1】



を有する場合には、Q が H ではない）から選択される式を有するコレステロール誘導体とを含む、前記脂質ナノ粒子。

[項目 6 9]

前記核酸部分が m R N A である、項目 6 8 に記載の脂質ナノ粒子。

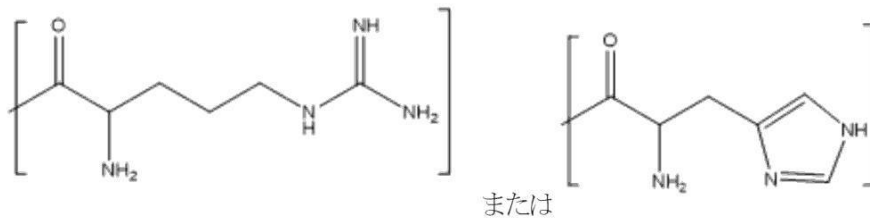
[項目 7 0]

前記核酸部分が、前記脂質ナノ粒子内に封入される、項目 6 9 に記載の脂質ナノ粒子。

[項目 7 1]

Qが

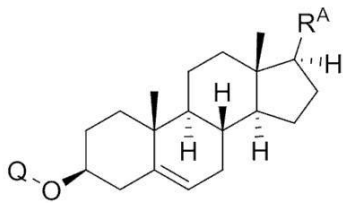
【化 9 2】

である、項目 6 8 ~ 7 0 のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子。

10

〔項目 7 2〕前記コレステロール誘導体が、式：

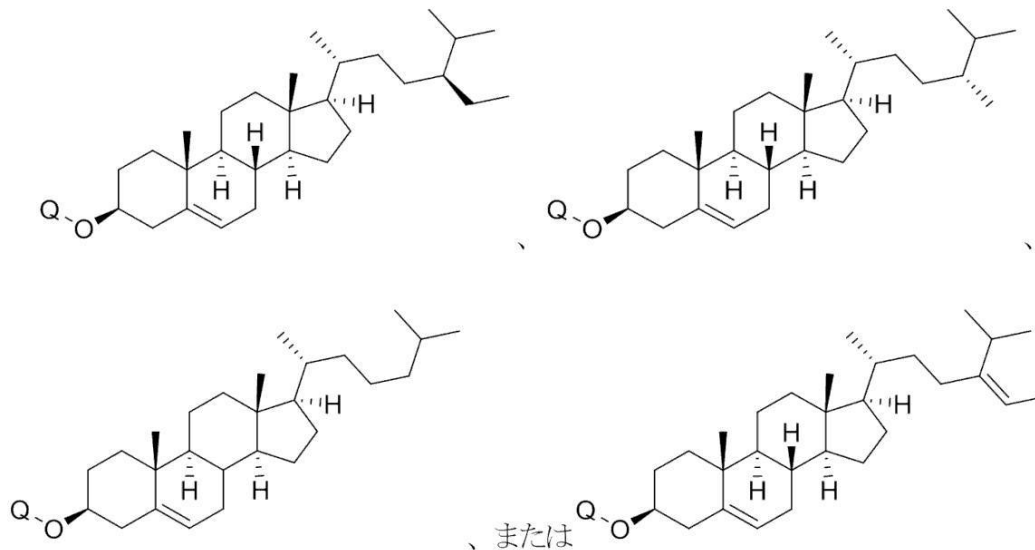
【化 9 3】



20

を有する、項目 6 8 ~ 7 1 のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子。〔項目 7 3〕前記コレステロール誘導体が、式：

【化 9 4】



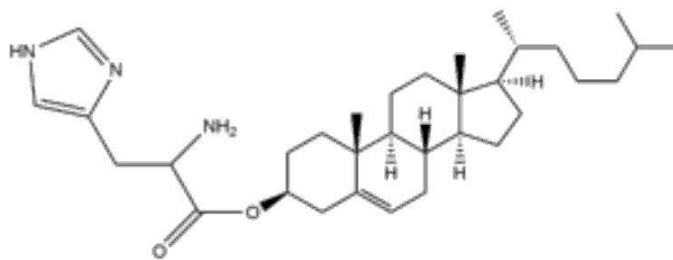
30

40

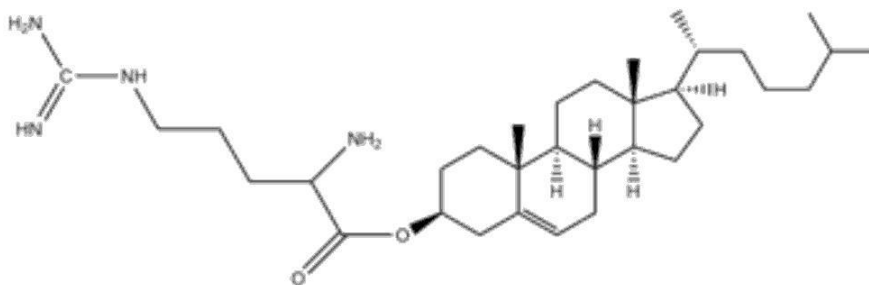
を有する、項目 6 8 ~ 7 2 のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子。〔項目 7 4〕前記コレステロール誘導体が、式：

50

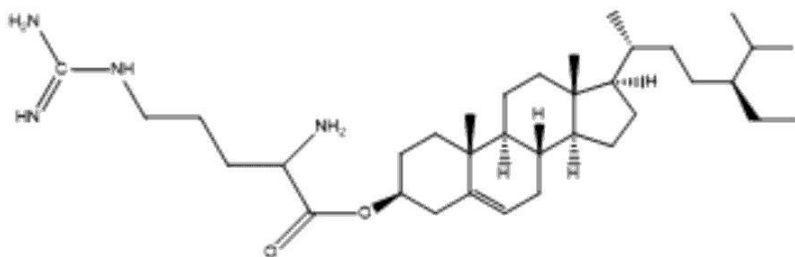
【化 9 5】



10

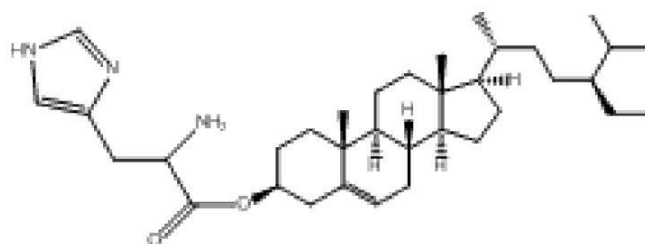


20



、または

30

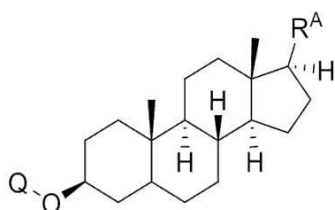


を有する、項目 6 8 ~ 7 3 のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子。

〔項目 7 5〕

前記コレステロール誘導体が、式：

【化 9 6】



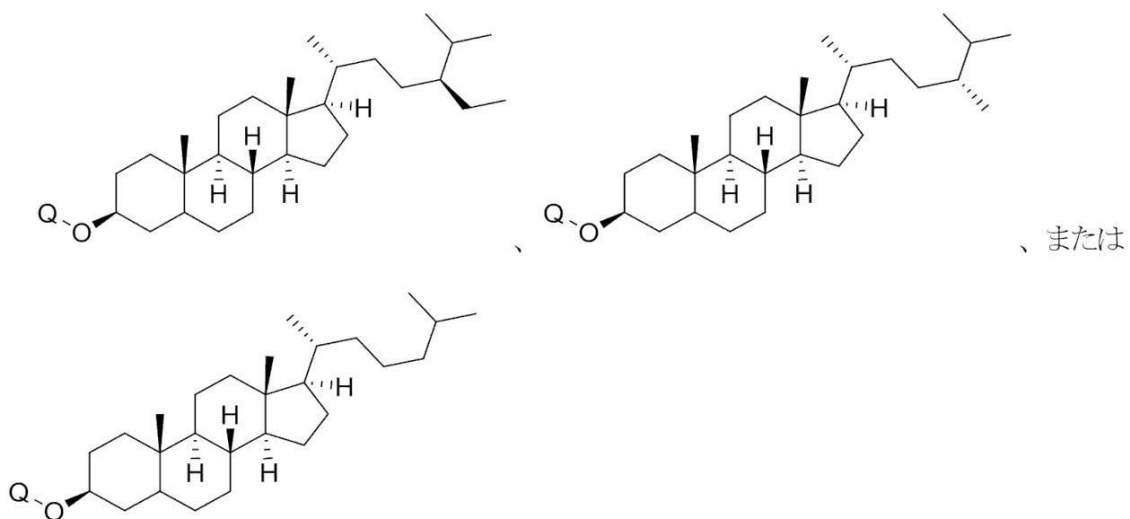
50

を有する、項目 6 8 ~ 7 1 のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子。

[項目 7 6]

前記コレステロール誘導体が、

【化 9 7】



10

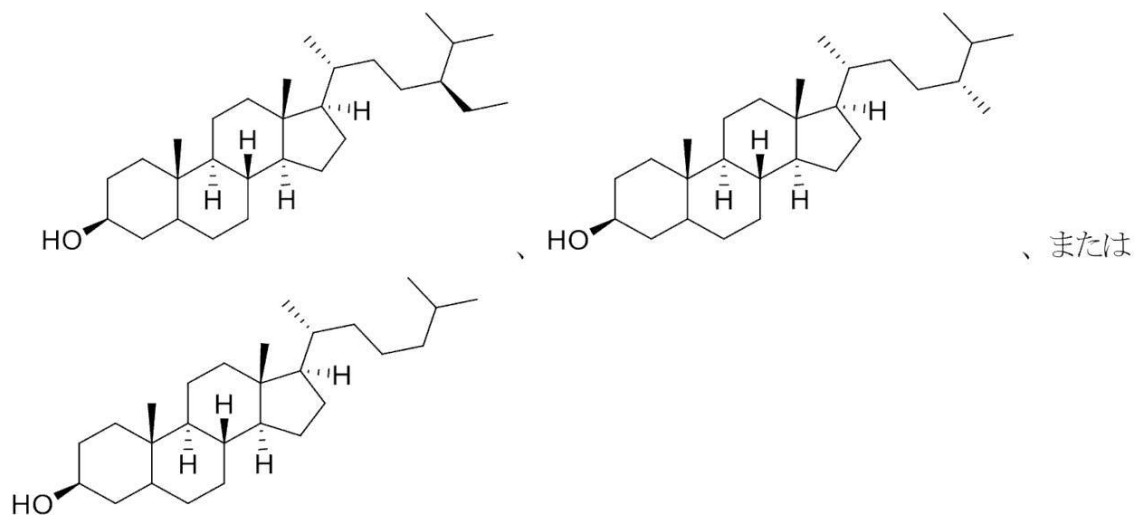
20

である、項目 7 5 に記載の脂質ナノ粒子。

[項目 7 7]

前記コレステロール誘導体が、

【化 9 8】



30

である、項目 7 5 または 7 6 に記載の脂質ナノ粒子。

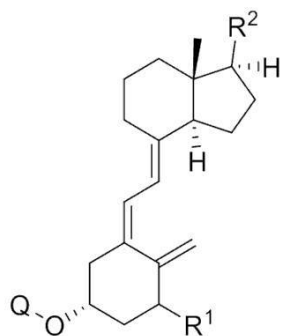
[項目 7 8]

前記コレステロール誘導体が、式：

40

50

【化 9 9】



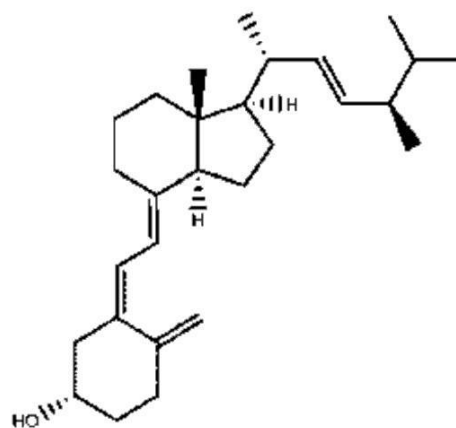
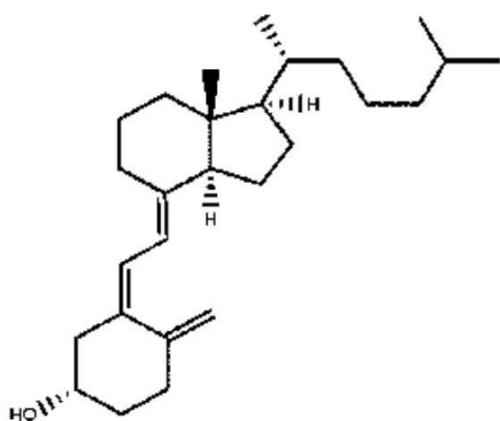
10

を有する、項目 6 8 ~ 7 1 のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子。

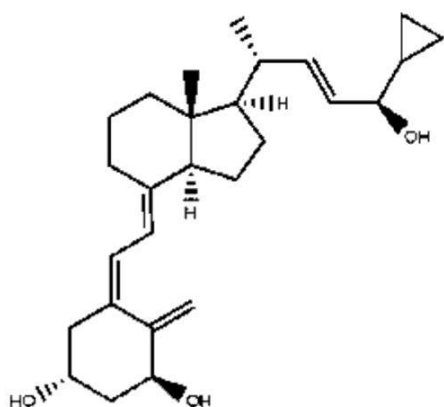
[項目 7 9]

前記コレステロール誘導体が、

【化 1 0 0】



20



30

または

40

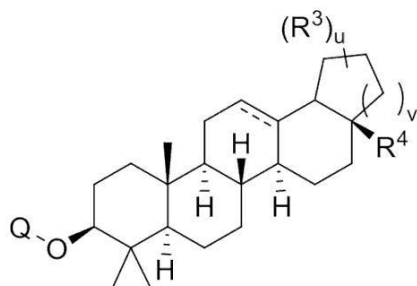
である、項目 7 8 に記載の脂質ナノ粒子。

[項目 8 0]

前記コレステロールが、式：

50

【化 1 0 1】



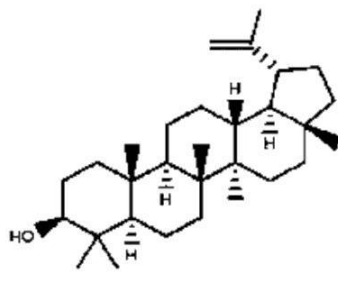
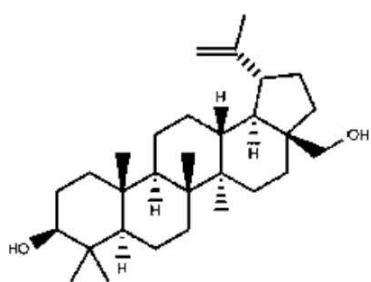
10

を有する、項目 6 8 ~ 7 1 のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子。

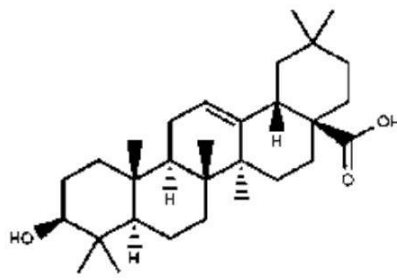
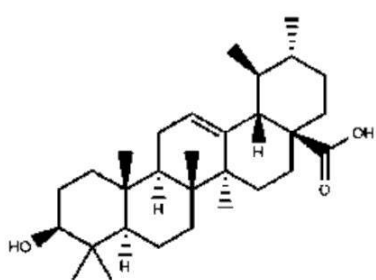
[項目 8 1]

前記コレステロール誘導体が、

【化 1 0 2】



20



30

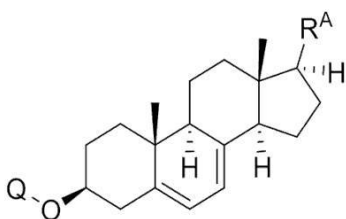
、または

である、項目 8 0 に記載の脂質ナノ粒子。

[項目 8 2]

前記コレステロール誘導体が、式：

【化 1 0 3】



40

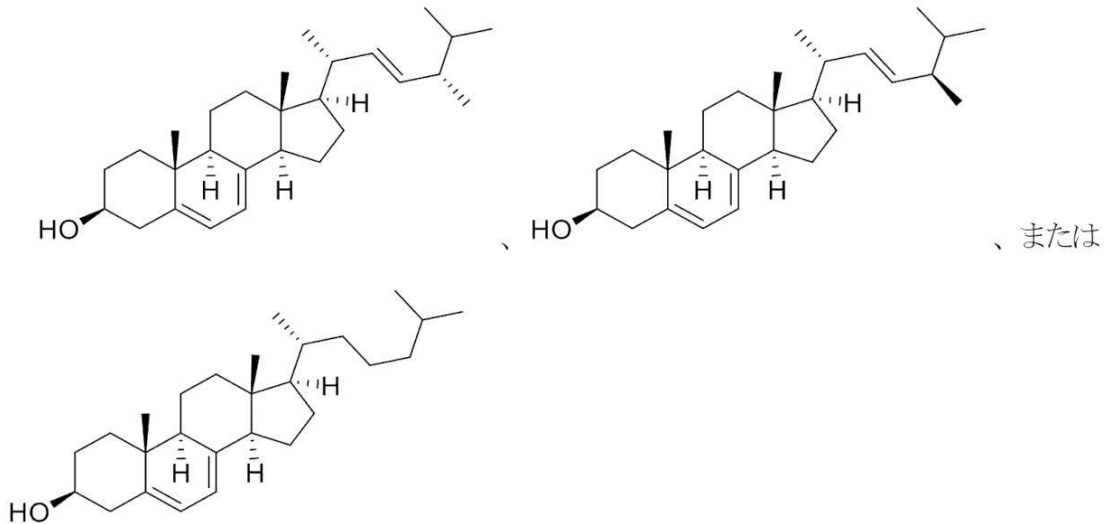
を有する、項目 6 8 ~ 7 1 のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子。

[項目 8 3]

前記コレステロール誘導体が、

50

【化 1 0 4】



10

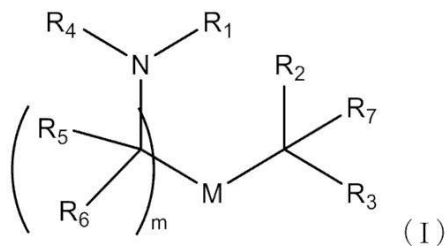
である、項目 8 2 に記載の脂質ナノ粒子。

[項目 8 4]

前記イオン性脂質が、式 (I) :

20

【化 1 0 5】



(式中、

30

R₁ が、C₅ ~ 30 アルキル、C₅ ~ 20 アルケニル、- R^{*}Y R^{''}、- Y R^{''}、および - R^{''} M^{''} R^{''} からなる群から選択され；

R₂ および R₃ が、独立して、H、C₁ ~ 14 アルキル、C₂ ~ 14 アルケニル、- R^{*}Y R^{''}、- Y R^{''}、および - R^{''}OR^{''} からなる群から選択され、もしくは R₂ および R₃ が、それらが結合される原子と一緒に、複素環もしくは炭素環を形成し；

R₄ が、水素、C₃ ~ 6 炭素環、- (CH₂)_nQ、- (CH₂)_nCHQR、- CHQR、- CQ(R)₂、および非置換 C₁ ~ 6 アルキルからなる群から選択され、ここで、Q が、炭素環、複素環、- OR、- O(CH₂)_nN(R)₂、- C(O)OR、- OC(O)R、- CX₃、- CX₂H、- CXH₂、- CN、- N(R)₂、- C(O)N(R)₂、- N(R)C(O)R、- N(R)S(O)₂R、- N(R)C(O)N(R)₂、- N(R)C(S)N(R)₂、- N(R)R₈、- N(R)S(O)₂R₈、- O(CH₂)_nOR、- N(R)C(=NR₉)N(R)₂、- N(R)C(=CHR₉)N(R)₂、- OC(O)N(R)₂、- N(R)C(O)OR、- N(OR)C(O)R、- N(OR)S(O)₂R、- N(OR)C(O)OR、- N(OR)C(O)N(R)₂、- N(OR)C(S)N(R)₂、- N(OR)C(=NR₉)N(R)₂、- N(OR)C(=CHR₉)N(R)₂、- C(=NR₉)N(R)₂、- C(=NR₉)R、- C(O)N(R)OR、および - C(R)N(R)₂C(O)OR から選択され、各 n が、独立して、1、2、3、4、および 5 から選択され；

40

各 R₅ が、独立して、C₁ ~ 3 アルキル、C₂ ~ 3 アルケニル、および H からなる群から選択され；

50

各 R_6 が、独立して、 $C_1 \sim 3$ アルキル、 $C_2 \sim 3$ アルケニル、および H からなる群から選択され；

M および M' が、独立して、 $-C(O)O-$ 、 $-OC(O)-$ 、 $-OC(O)-M''-C(O)O-$ 、 $-C(O)N(R')$ 、 $-N(R')C(O)-$ 、 $-C(O)-$ 、 $-C(S)-$ 、 $-C(S)S-$ 、 $-SC(S)-$ 、 $-CH(OH)-$ 、 $-P(O)(OR')O-$ 、 $-S(O)_2-$ 、 $-S-S-$ 、アリール基、およびヘテロアリール基から選択され、ここで M'' が結合、 $C_1 \sim 13$ アルキルもしくは $C_2 \sim 13$ アルケニルであり；

R_7 が、 $C_1 \sim 3$ アルキル、 $C_2 \sim 3$ アルケニル、および H からなる群から選択され；

R_8 が、 $C_3 \sim 6$ 炭素環および複素環からなる群から選択され；

R_9 が、H、CN、 NO_2 、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $-OR$ 、 $-S(O)_2R$ 、 $-S(O)_2N(R)_2$ 、 $C_2 \sim 6$ アルケニル、 $C_3 \sim 6$ 炭素環および複素環からなる群から選択され；

各 R が、独立して、 $C_1 \sim 3$ アルキル、 $C_2 \sim 3$ アルケニル、および H からなる群から選択され；

各 R' が、独立して、 $C_1 \sim 18$ アルキル、 $C_2 \sim 18$ アルケニル、 $-R^*YR''$ 、 $-YR''$ 、および H からなる群から選択され；

各 R'' が、独立して、 $C_3 \sim 15$ アルキルおよび $C_3 \sim 15$ アルケニルからなる群から選択され；

各 R^* が、独立して、 $C_1 \sim 12$ アルキルおよび $C_2 \sim 12$ アルケニルからなる群から選択され；

各 Y が、独立して、 $C_3 \sim 6$ 炭素環であり；

各 X が、独立して、F、Cl、Br、および I からなる群から選択され；

m が、5、6、7、8、9、10、11、12、および 13 から選択される) の化合物またはその N-オキシド、あるいはその塩または異性体である、項目 68 ~ 83 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 85]

R_4 が $-(CH_2)_nQ$ 、 $-(CH_2)_nCHQR$ 、 $-CHQR$ 、または $CQ(R)_2$ である場合、 $(i)_n$ が 1、2、3、4 もしくは 5 である場合、Q が $-N(R)_2$ ではなく、または $(ii)_n$ が 1 もしくは 2 である場合、Q が、5、6、もしくは 7 員ヘテロシクロアルキルではない、項目 84 に記載のナノ粒子組成物。

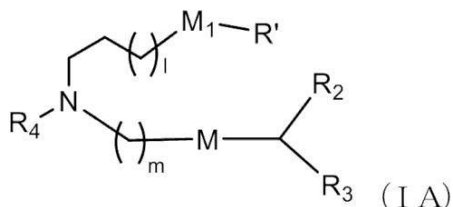
[項目 86]

R_1 が、 $-(CHR_5R_6)_m-M-CR_2R_3R_7$ とは異なる、項目 84 または 85 に記載のナノ粒子組成物。

[項目 87]

前記イオン性脂質が、式 (IA)：

【化 106】



(式中、

l が、1、2、3、4、および 5 から選択され；

m が、5、6、7、8、および 9 から選択され；

M_1 が、結合もしくは M' であり；

R_4 が、水素、非置換 $C_1 \sim 3$ アルキル、もしくは $-(CH_2)_nQ$ であり、ここで、Q が、OH、 $-NHC(S)N(R)_2$ 、 $-NHC(O)N(R)_2$ 、 $-N(R)C(O)R$ 、 $-N(R)S(O)_2R$ 、 $-N(R)R_8$ 、 $-N(R)S(O)_2R_8$ 、 $-NHC(=NR_9)N(R)_2$ 、 $-NHC(=CHR_9)N(R)_2$ 、 $-OC(O)N(R)_2$ 、 $-N$

(R)C(O)OR、-N(OR)C(O)R、-N(OR)S(O)₂R、-N(OR)C(O)OR、-N(OR)C(O)N(R)₂、-N(OR)C(S)N(R)₂、-N(OR)C(=NR₉)N(R)₂、-N(OR)C(=CHR₉)N(R)₂、ヘテロアリールもしくはヘテロシクロアルキルであり；

MおよびM'が、独立して、-C(O)O-、-OC(O)-、-OC(O)-M''-C(O)O-、-C(O)N(R')-、-P(O)(OR')O-、-S-S-、アリール基、およびヘテロアリール基から選択され；

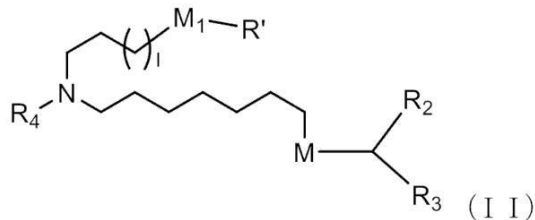
R₂およびR₃が、独立して、H、C₁~14アルキル、およびC₂~14アルケニルからなる群から選択される）の化合物またはそのN-オキシド、あるいはその塩または異性体である、項目84~86のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

10

[項目88]

前記イオン性脂質が、式(II)：

【化107】



20

(式中、

lが、1、2、3、4、および5から選択され；

M₁が、結合もしくはM'であり；

R₄が、水素、非置換C₁~3アルキル、もしくは-(CH₂)_nQであり、ここで、nが2、3、もしくは4であり、Qが、OH、-NHC(S)N(R)₂、-NHC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)R、-N(R)S(O)₂R、-N(R)R₈、-N(R)S(O)₂R₈、-NHC(=NR₉)N(R)₂、-NHC(=CHR₉)N(R)₂、-OC(O)N(R)₂、-N(R)C(O)OR、-N(OR)C(O)R、-N(OR)S(O)₂R、-N(OR)C(O)OR、-N(OR)C(O)N(R)₂、-N(OR)C(S)N(R)₂、-N(OR)C(=NR₉)N(R)₂、-N(OR)C(=CHR₉)N(R)₂、ヘテロアリールもしくはヘテロシクロアルキルであり；

30

MおよびM'が、独立して、-C(O)O-、-OC(O)-、-C(O)N(R')-、-OC(O)-M''-C(O)O-、-P(O)(OR')O-、-S-S-、アリール基、およびヘテロアリール基から選択され；

R₂およびR₃が、独立して、H、C₁~14アルキル、およびC₂~14アルケニルからなる群から選択される）の化合物またはそのN-オキシド、あるいはその塩または異性体である、項目84または85に記載のナノ粒子組成物。

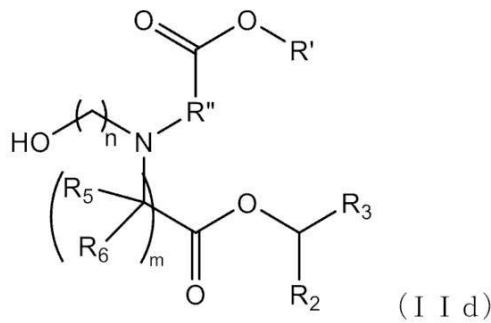
[項目89]

前記イオン性脂質が、式(II d)：

40

50

【化 1 0 8】



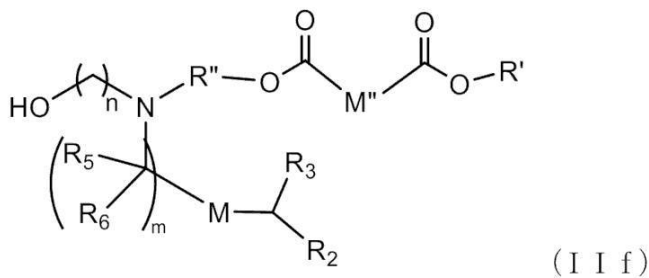
10

(式中、 R_2 および R_3 は、独立して、 $C_5 \sim 14$ アルキルおよび $C_5 \sim 14$ アルケニルからなる群から選択され、 n は、2、3、および 4 から選択される) の化合物またはその N - オキシド、あるいはその塩または異性体である、項目 6 8 ~ 8 3 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 9 0]

前記イオン性脂質が、式 (I I f) :

【化 1 0 9】



20

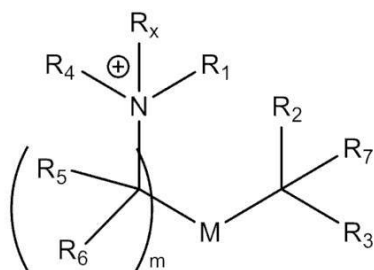
(式中、 M は、 $-C(O)O-$ もしくは $-OC(O)-$ であり、 M'' は、 $C_1 \sim 6$ アルキルもしくは $C_2 \sim 6$ アルケニルであり、 R_2 および R_3 は、独立して、 $C_5 \sim 14$ アルキルおよび $C_5 \sim 14$ アルケニルからなる群から選択され、 n は、2、3、および 4 から選択される) の化合物またはその N - オキシド、あるいはその塩または異性体である、項目 6 8 ~ 8 3 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

30

[項目 9 1]

前記イオン性脂質が、式 (I I I) :

【化 1 1 0】



40

の化合物である、項目 6 8 ~ 8 3 のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目 9 2]

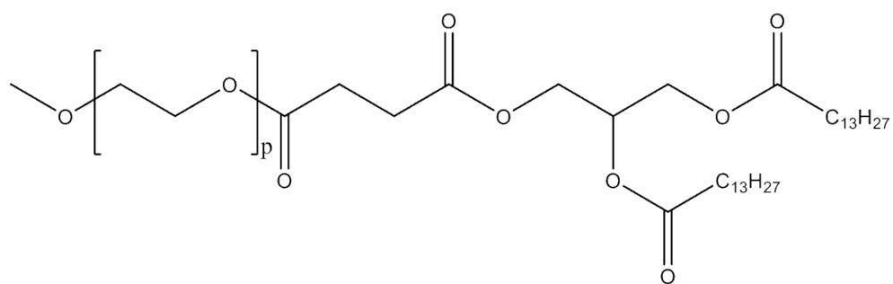
前記界面活性剤が、PEG - ジアシルグリセロール (PEG - DAG)、PEG - セラミド (PEG - CER)、または PEG - ジアルキルグリセロールである、項目 6 8 ~ 0 のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子。

[項目 9 3]

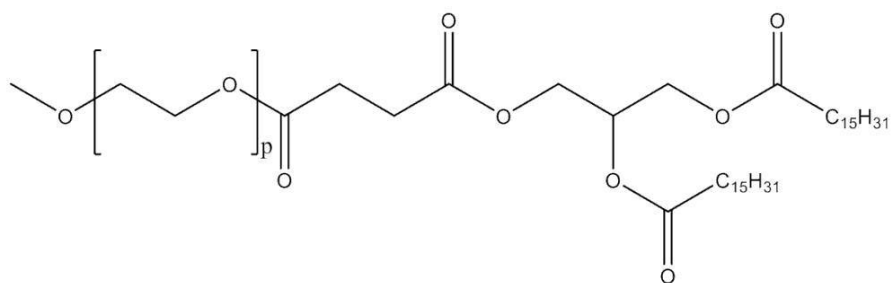
50

前記界面活性剤が、

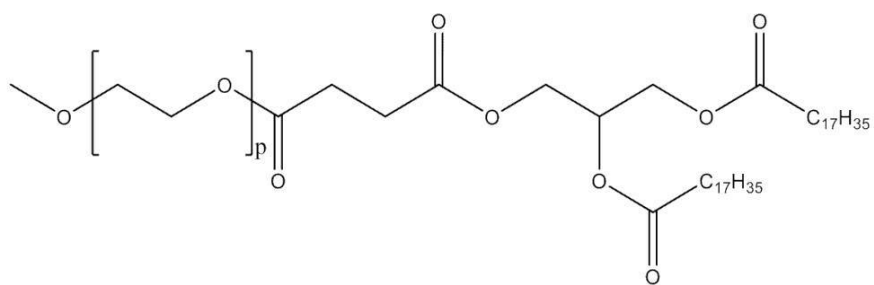
【化 1 1 1 - 1】



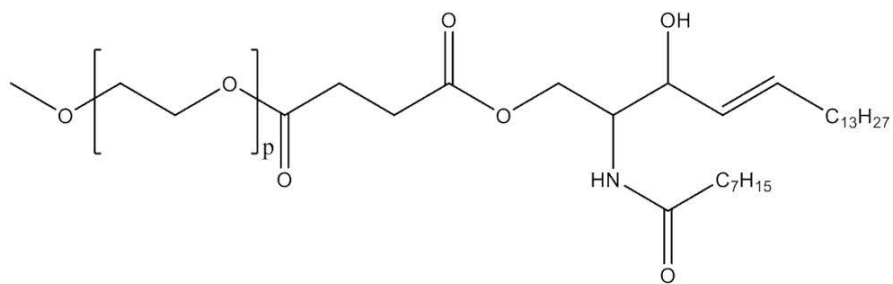
10



20



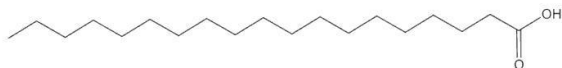
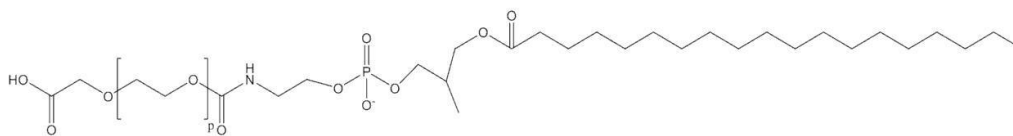
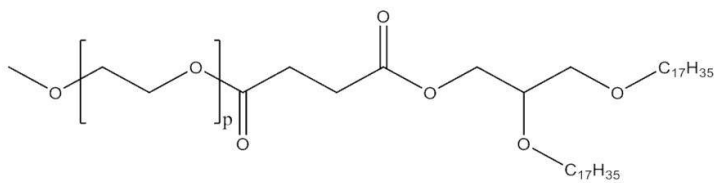
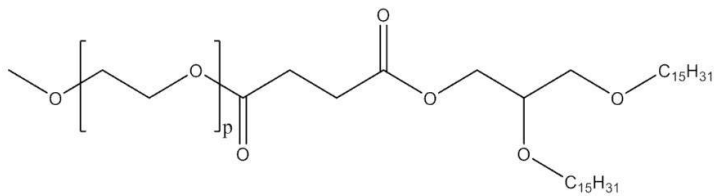
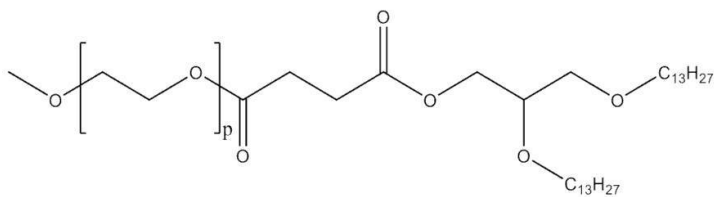
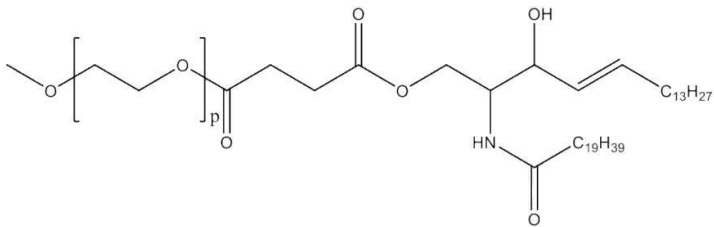
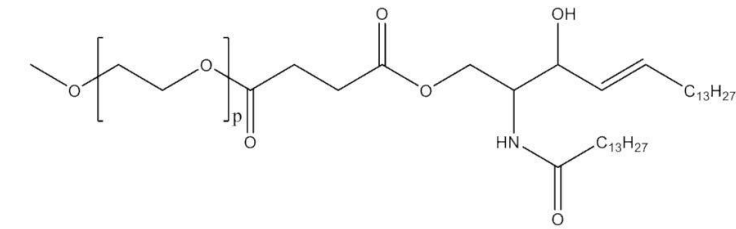
30



40

50

【化 1 1 1 - 2】



（式中、 p は1～40である）から選択される、項目68～90のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子。

〔項目94〕

前記組成物が、約45mol%～約65mol%のイオン性脂質、約5mol%～約10mol%のリン脂質、約25mol%～約35mol%のコレステロール誘導体、および約5mol%～約10mol%の界面活性剤を含む、項目68～93のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子。

〔項目95〕

前記脂質ナノ粒子が、80nm～150nmのナノ粒子サイズを有する、項目68～9

10

20

30

、および

40

50

4のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子。

[項目96]

前記ナノ粒子サイズが、90nm～130nmである、項目95に記載の脂質ナノ粒子。

[項目97]

細胞のトランスフェクション方法であって、

前記細胞を、項目68～96のいずれか一項に記載の脂質ナノ粒子と接触させることと、トランスフェクションが進行するのに十分な時間で前記細胞をインキュベートすることを含む、前記方法。

[項目98]

トランスフェクションが進行するのに十分な前記時間が、約1時間～約48時間である、項目97に記載の方法。

[項目99]

トランスフェクションが進行するのに十分な前記時間が、約1時間～約5時間、約6時間～約12時間、約13時間～約24時間、約25時間～約36時間、または約37時間～約48時間である、項目98に記載の方法。

[項目100]

トランスフェクションが進行するのに十分な前記時間が、約1時間、約5時間、約10時間、約15時間、約20時間、約25時間、約30時間、約35時間、約40時間、または約45時間である、項目98に記載の方法。

[項目101]

トランスフェクションが進行するのに十分な前記時間が、約2時間、約6時間、約12時間、約18時間、約24時間、約36時間、約42時間、または約48時間である、項目98に記載の方法。

[項目102]

対象においてポリペプチドの過剰発現を特徴とする疾患または障害の治療方法であって、前記対象に項目68～96のいずれか一項に記載の前記脂質ナノ粒子を投与することを含み、前記核酸が前記ポリペプチドの前記発現をサイレンシングまたは低減できる、前記方法。

[項目103]

対象においてポリペプチドの過少発現を特徴とする疾患または障害の治療方法であって、前記対象に項目68～96のいずれか一項に記載の前記脂質ナノ粒子を投与することを含み、前記核酸が前記ポリペプチドの前記発現を発現または増加できる、前記方法。

[項目104]

標的ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの発現の調節方法であって、細胞を項目68～96のいずれか一項に記載の前記脂質ナノ粒子と接触させることを含み、前記核酸が標的ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの前記発現を調節できる、前記方法。

[項目105]

項目68～96のいずれか一項に記載の前記脂質ナノ粒子の作製方法であって、

第1溶媒中に前記核酸を含む第1流をデバイスに導入することと；

第2溶媒中に前記カチオン性脂質、前記リン脂質、前記界面活性剤および前記コレステロール誘導体を含む第2流を前記デバイスに導入することと；

前記第1および第2流を混合させるのに十分な時間で前記第1および第2流を前記デバイスの混合領域中に流し、前記脂質ナノ粒子を含む第3流を形成することを含む、前記方法。

[項目106]

前記第1および第2流を混合させるのに十分な前記時間が、約1時間～約48時間である、項目105に記載の方法。

[項目107]

前記第1および第2流を混合させるのに十分な前記時間が、約1時間～約5時間、約6時間～約12時間、約13時間～約24時間、約25時間～約36時間、または約37時

10

20

30

40

50

間～約48時間である、項目106に記載の方法。

[項目108]

前記第1および第2流を混合させるのに十分な前記時間が、約1時間、約5時間、約10時間、約15時間、約20時間、約25時間、約30時間、約35時間、約40時間、または約45時間である、項目106に記載の方法。

[項目109]

前記第1および第2流を混合させるのに十分な前記時間が、約2時間、約6時間、約12時間、約18時間、約24時間、約36時間、約42時間、または約48時間である、項目106に記載の方法。

[項目110]

前記第2流対前記第1流の体積比が1:3である、項目106に記載の方法。

[項目111]

疾患または障害の前記治療を必要とする哺乳動物における疾患または障害の前記治療に使用するための、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目112]

疾患または障害の前記治療を必要とする哺乳動物における疾患または障害の前記治療を目的とした医薬として使用するための、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物。

[項目113]

疾患または障害の前記治療を必要とする哺乳動物における疾患または障害の前記治療を目的とした医薬の製造における、先行項目のいずれか一項に記載のナノ粒子組成物の使用。

[項目114]

前記疾患または障害が、前記対象におけるポリペプチドの過少発現を特徴とし、前記核酸が前記ポリペプチドの前記発現を発現または増加できる、先行項目のいずれか一項に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

[項目115]

前記疾患または障害が、前記対象におけるポリペプチドの過剰発現を特徴とし、前記核酸が前記ポリペプチドの前記発現をサイレンシングまたは低減できる、先行項目のいずれか一項に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

[項目116]

前記疾患または障害が、前記対象におけるポリペプチドの過少発現を特徴とし、前記核酸が前記ポリペプチドの前記発現を発現または増加できる、先行項目のいずれか一項に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

[項目117]

前記対象が哺乳動物である、先行項目のいずれか一項に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

[項目118]

前記哺乳動物がヒトである、先行項目のいずれか一項に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

[項目119]

前記ナノ粒子組成物が、静脈内に、筋肉内に、皮内に、髄腔内に、実質内に、硝子体内に、腹腔内に、腫瘍内に、皮下に、鼻腔内に、または吸入によって投与される、先行項目のいずれか一項に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

[項目120]

約0.001mg/kg～約10mg/kgの用量の前記治療薬および/または予防薬が、前記哺乳動物に投与される、あるいは前記医薬が、0.001mg/kg～約10mg/kgの前記治療薬および/または予防薬を含む、先行項目のいずれか一項に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

[項目121]

前記疾患または障害が、機能不全または異常タンパク質またはポリペプチド活性によって特徴付けられる、先行項目のいずれか一項に記載の方法、使用、または使用のためのナ

10

20

30

40

50

ノ粒子組成物。

[項目 1 2 2]

前記疾患または障害が、感染症、希少疾患、リソソーム蓄積症、癌および増殖性疾患、遺伝性疾患、自己免疫疾患、糖尿病、神経変性疾患、心血管および腎血管疾患、ならびに代謝性疾患からなる群から選択される、先行項目のいずれか一項に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

[項目 1 2 3]

前記接触または投与工程の前に、前記対象を、1つ以上のさらなる化合物で前処理することをさらに含み、前処理が、前記1つ以上のさらなる化合物を、前記対象に投与することを含む、先行項目のいずれか一項に記載の方法。

10

[項目 1 2 4]

前記対象が、1つ以上のさらなる化合物で前処理されていて、前処理が前記1つ以上のさらなる化合物を前記対象に投与することを含む、先行項目のいずれか一項に記載の使用または使用のためのナノ粒子。

[項目 1 2 5]

前記哺乳動物が、前記接触または投与工程前の2週間以内に前処理される、項目 1 2 3 または 1 2 4 に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

[項目 1 2 6]

前記哺乳動物が、前記接触または投与工程前の1週間以内に前処理される、項目 1 2 3 または 1 2 4 に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

20

[項目 1 2 7]

前記哺乳動物が、前記接触または投与工程前の24時間以内に前処理される、項目 1 2 3 または 1 2 4 に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

[項目 1 2 8]

前記哺乳動物が、前記接触または投与工程前の約1時間で前処理される、項目 1 2 3 または 1 2 4 に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

[項目 1 2 9]

前記1つ以上のさらなる化合物が、抗炎症性化合物、ステロイド、スタチン、エストラジオール、BTK阻害剤、S1P1アゴニスト、グルココルチコイド受容体調節因子(GRM)、ロイコトリエン拮抗薬、および抗ヒスタミンからなる群から選択される、先行項目のいずれか一項に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

30

[項目 1 3 0]

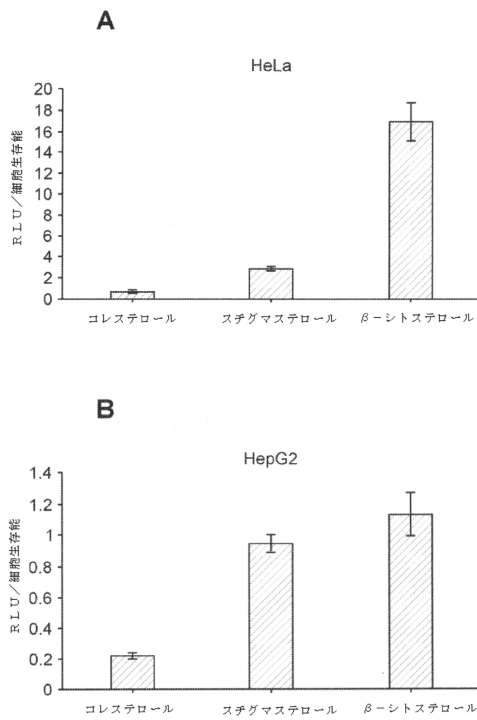
前記1つ以上のさらなる化合物が、デキサメタゾン、メトトレキサート、アセトアミノフェン、MK-571、モンテルカスト、ザフィルルカスト、ブランドルカスト、H1受容体拮抗薬、およびH2受容体拮抗薬からなる群から選択される、先行項目のいずれか一項に記載の方法、使用、または使用のためのナノ粒子組成物。

40

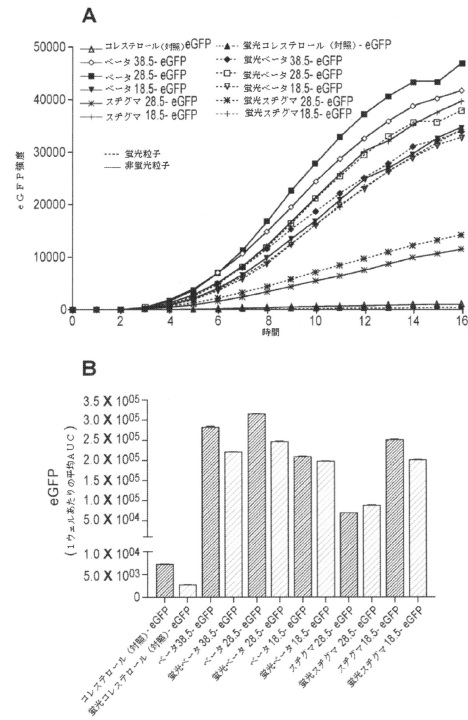
50

【図面】

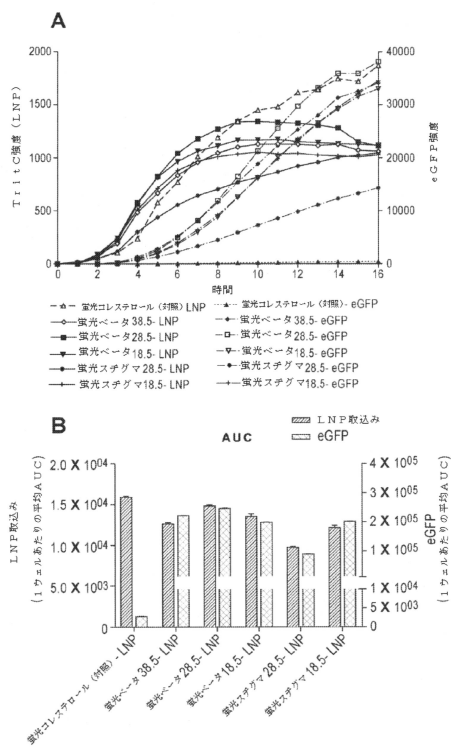
【図 1】



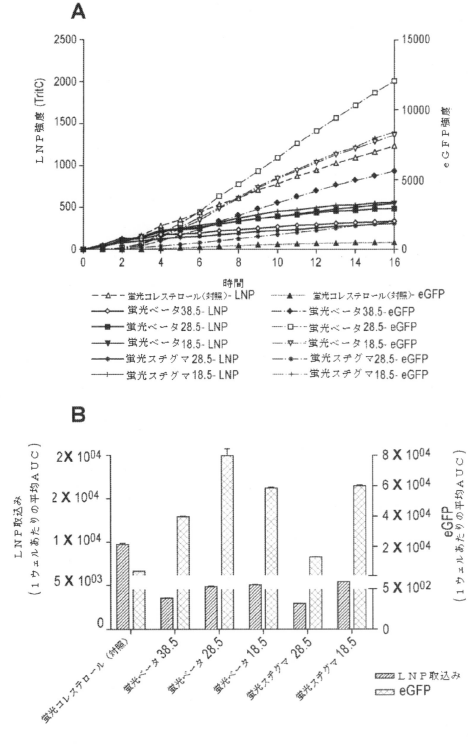
【図 2】



【図 3】



【図 4】



10

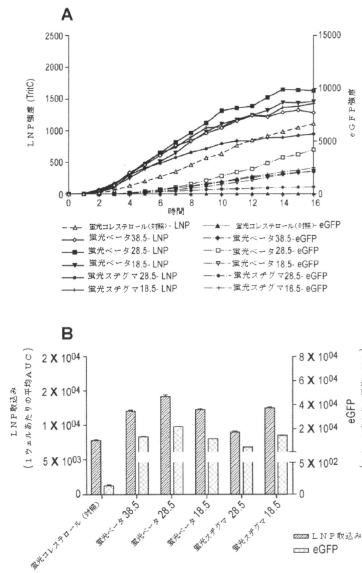
20

30

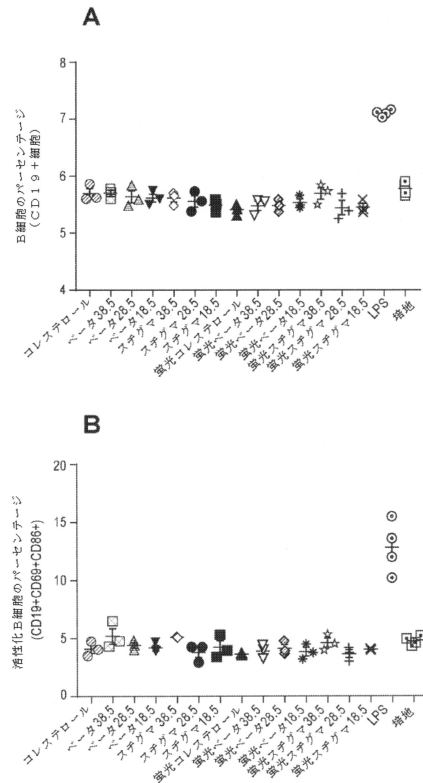
40

50

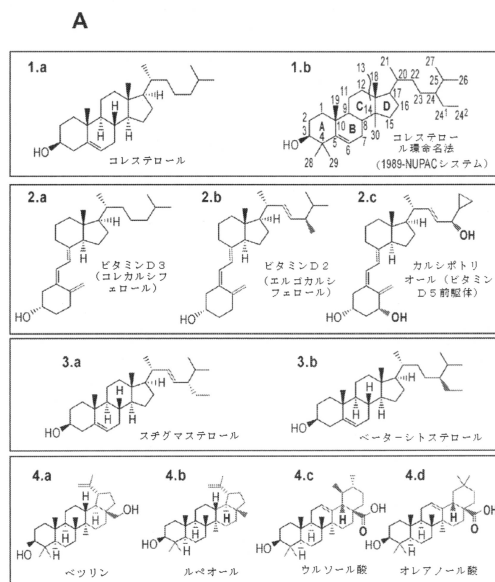
【図 5】



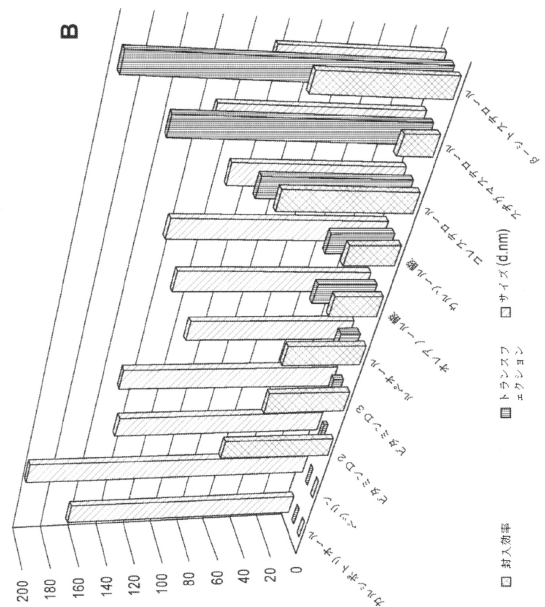
【図 6】



【図 7 - 1】



【図 7 - 2】



10

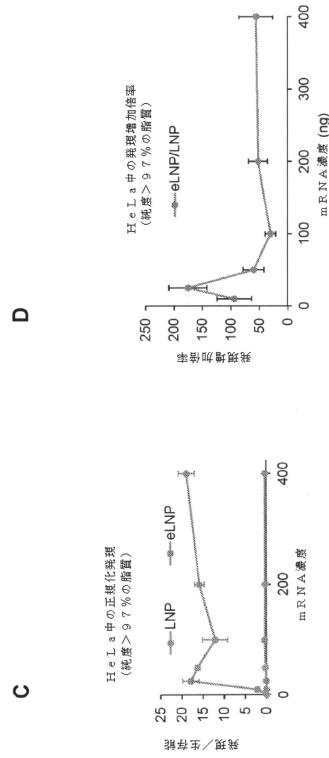
20

30

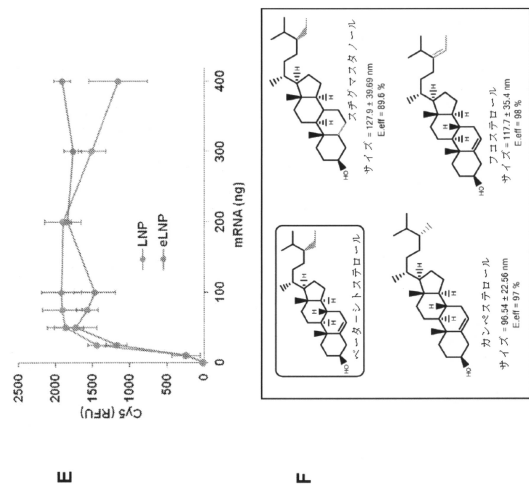
40

50

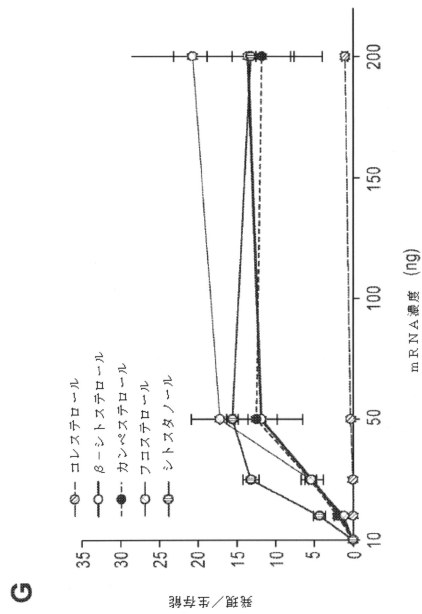
【図 7 - 3】



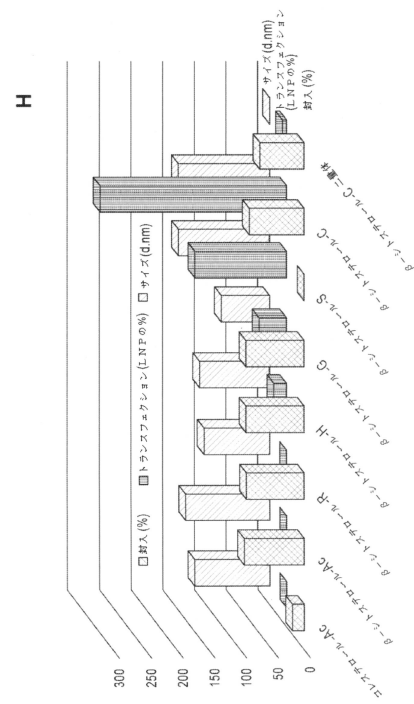
【図 7 - 4】



【図 7 - 5】



【図 7 - 6】



10

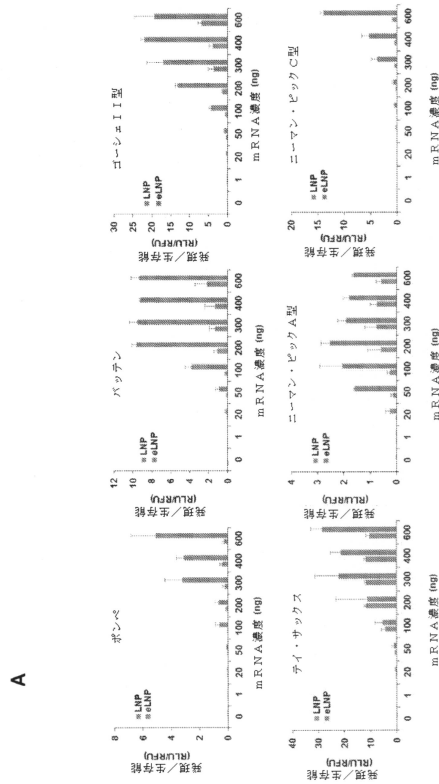
20

30

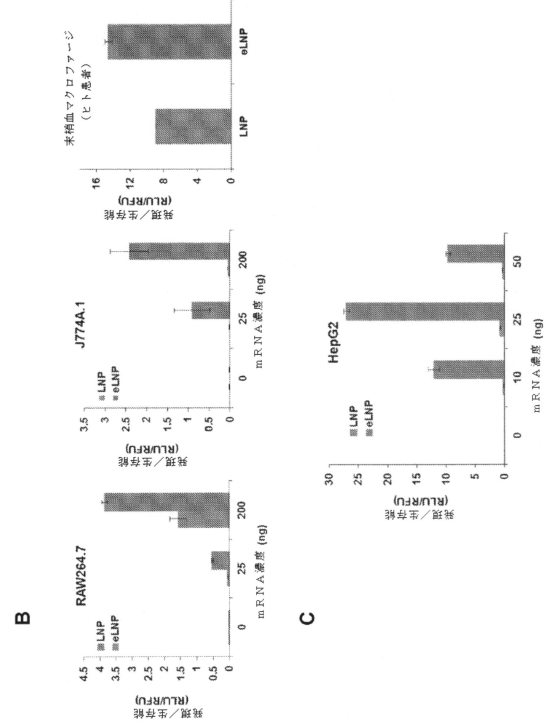
40

50

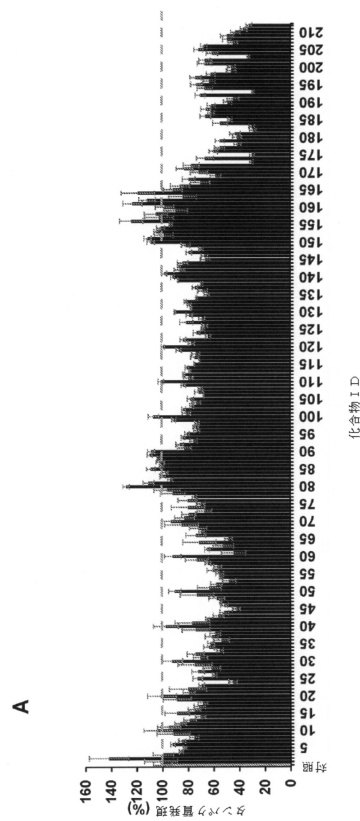
【図 8 - 1】



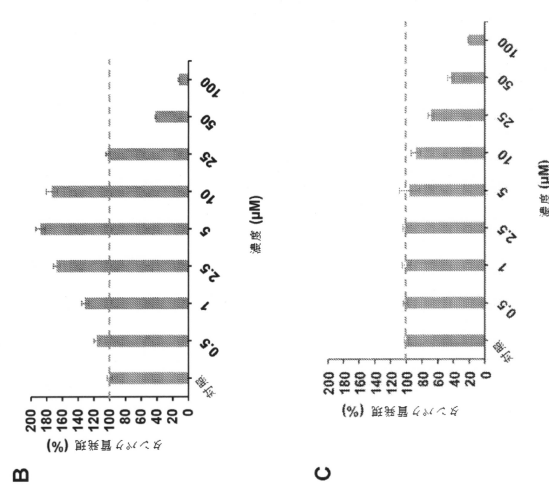
【図 8 - 2】



【図 9 - 1】



【図 9 - 2】



【図 10 - 1】



【図 10 - 2】



10

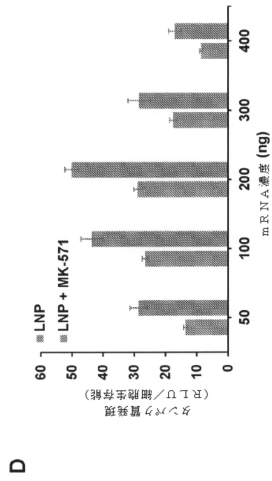
20

30

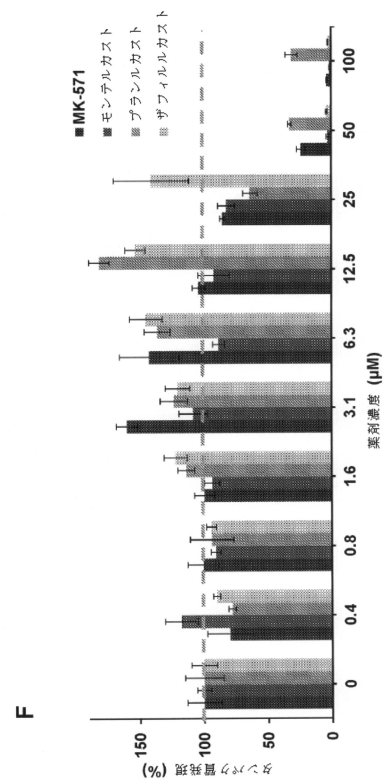
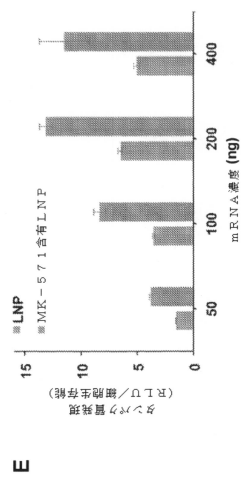
40

50

【図 9 - 3】



【図 9 - 4】



【配列表】

0007332478000001.app

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	47/34 (2017.01)	A 6 1 K	47/34		
A 6 1 K	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	31/7105		
A 6 1 K	31/713(2006.01)	A 6 1 K	31/713		
A 6 1 K	31/47 (2006.01)	A 6 1 K	31/47		
A 6 1 K	31/404(2006.01)	A 6 1 K	31/404		
A 6 1 K	31/41 (2006.01)	A 6 1 K	31/41		
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00		
A 6 1 P	31/00 (2006.01)	A 6 1 P	31/00		
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P	37/06 (2006.01)	A 6 1 P	37/06		
A 6 1 P	3/10 (2006.01)	A 6 1 P	3/10		
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P	9/00		
A 6 1 P	13/12 (2006.01)	A 6 1 P	13/12		
A 6 1 P	3/00 (2006.01)	A 6 1 P	3/00		
A 6 1 P	5/46 (2006.01)	A 6 1 P	5/46		
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 0 5	
C 1 2 N	15/88 (2006.01)	C 1 2 N	5/10		Z N A
C 1 2 N	15/11 (2006.01)	C 1 2 N	15/88		Z
C 1 2 N	15/113(2010.01)	C 1 2 N	15/11		Z
C 1 2 P	21/02 (2006.01)	C 1 2 N	15/113		Z
A 0 1 K	67/027(2006.01)	C 1 2 P	21/02		C
		A 0 1 K	67/027		

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

前置審査

弁理士 恩田 誠

(74)代理人 100068755

弁理士 恩田 博宣

(74)代理人 100142907

弁理士 本田 淳

(74)代理人 100152489

弁理士 中村 美樹

(72)発明者 バテール、シッタールタ

アメリカ合衆国 9 7 3 3 1 オレゴン州 コーバリス カー アドミニストレーション ビルディング
エイ 3 1 2 オレゴン ステート ユニバーシティ

(72)発明者 ロビンソン、エミリー

アメリカ合衆国 9 7 3 3 1 オレゴン州 コーバリス カー アドミニストレーション ビルディング
エイ 3 1 2 オレゴン ステート ユニバーシティ

(72)発明者 ブラウン、アナ

アメリカ合衆国 9 7 3 3 1 オレゴン州 コーバリス カー アドミニストレーション ビルディング
エイ 3 1 2 オレゴン ステート ユニバーシティ

(72)発明者 アルマーソン、オルン

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 2 0 0
モデルナティエックス インコーポレイテッド

(72)発明者 ベネナート、ケリー イー .

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 2 0 0
モデルナティエックス インコーポレイテッド

(72)発明者 サブニス、ステイシー

アメリカ合衆国 0 2 1 3 9 マサチューセッツ州 ケンブリッジ テクノロジー スクエア 2 0 0
モデルナティエックス インコーポレイテッド

-
- (72)発明者 サヘイ、ゴーラフ
 アメリカ合衆国 9 7 2 2 9 オレゴン州 ポートランド エヌダブリュ ストーンブリッジ ドライブ
 1 3 6 8 9
- (72)発明者 ナーラーヤナ、アシュワニ クマール
 アメリカ合衆国 9 7 2 3 9 オレゴン州 ポートランド エヌダブリュ ウォーター アベニュー 3
 8 0 9 アパートメント 9
- 審査官 平井 裕彰
- (56)参考文献 国際公開第 2 0 1 6 / 1 1 8 7 2 4 (W O , A 1)
 大神 信孝，細胞内のタンパク質はコレステロールのどこを認識して輸送しているのか？，
 生命健康科学研究所紀要，日本，2008年，第4号，第35頁 - 第40頁
- (58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)
 A 6 1 K 4 7 / 0 0 ~ 4 7 / 6 9
 9 / 0 0 ~ 9 / 8 2
 3 1 / 0 0 ~ 3 1 / 8 0
 A 6 1 P 1 / 0 0 ~ 4 3 / 0 0