

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-525459

(P2014-525459A)

(43) 公表日 平成26年9月29日(2014.9.29)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07F 9/40 (2006.01)	C07F 9/40 CSPZ	4C076
A61K 47/34 (2006.01)	A61K 47/34	4C084
A61K 47/32 (2006.01)	A61K 47/32	4C085
A61K 47/36 (2006.01)	A61K 47/36	4C086
A61K 47/28 (2006.01)	A61K 47/28	4C206

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 55 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-528613 (P2014-528613)
 (86) (22) 出願日 平成24年8月30日 (2012. 8. 30)
 (85) 翻訳文提出日 平成26年4月24日 (2014. 4. 24)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2012/053211
 (87) 国際公開番号 WO2013/033450
 (87) 国際公開日 平成25年3月7日 (2013. 3. 7)
 (31) 優先権主張番号 61/529, 665
 (32) 優先日 平成23年8月31日 (2011. 8. 31)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

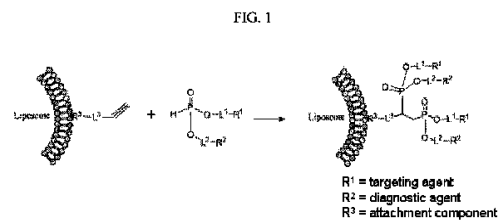
(71) 出願人 595181003
 マリンクロッド エルエルシー
 アメリカ合衆国 ミズーリ 63042,
 セント ルイス, マクドネル プール
 バード 675
 (74) 代理人 100107489
 弁理士 大塩 竹志
 (72) 発明者 ロジャーズ, トーマス イー.
 アメリカ合衆国 ミズーリ 63021,
 ボールウィン, トラゴ クリーク ド
 ライブ 755
 (72) 発明者 クアン, カー チオン
 アメリカ合衆国 ミズーリ 63011-
 3710, ボールウィン, ロック ド
 ライブ 123

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 H-ホスホネート-エン/H-ホスホネート-インヒドロホスホニル化反応を用いた標的化ナノ粒子のリモートアセンブリ

(57) 【要約】

本発明は、例えば、標的化薬物送達用途のためのナノ粒子を改変する能力を高めることを可能にするために、ホスホン酸化合物および前記ホスホン酸化合物を調製する方法を提供する。本発明のホスホン酸化合物およびそれらの作製方法は、多数の独自の態様を薬物送達および画像診断の領域に提供する。例えば、本発明は、非標的化ナノ粒子の標的化ナノ粒子への変換を容易にすることができる化合物を作製するためのロバストかつ簡便な方法を提供する。

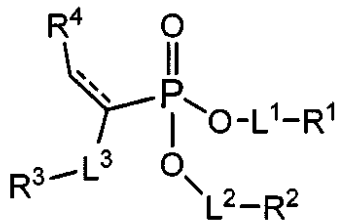


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式：

【化 28】



10

(式中、

【化 29】

==

によって特定される結合は、単結合または二重結合であり；

L^1 、 L^2 および L^3 はそれぞれ、結合または連結基であり；

R^1 、 R^2 および R^3 はそれぞれ、独立して、ナノ粒子、結合成分、標的化剤、診断剤およびステルス剤からなる群より選択され；

R^4 は、H および $-P(=O)(OL^1-R^1)(OL^2-R^2)$ からなる群より選択されるメンバーであり、 R^4 が H 以外である場合、

20

【化 30】

==

によって特定される結合は、単結合である)の化合物。

【請求項 2】

L^1 、 L^2 および L^3 の少なくとも 1 つが、親水性非免疫原性水溶性連結基である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 3】

前記親水性非免疫原性水溶性連結基が、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリカルボキシラート、多糖およびデキストランからなる群より選択される、請求項 2 に記載の化合物。

30

【請求項 4】

前記標的化剤がアプタマーである、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 5】

前記診断剤が、放射性作用物質、蛍光剤または造影剤である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 6】

前記ステルス剤が、ポリエチレングリコール、 dendrimer、ポリビニルアルコール、ポリカルボキシラート、多糖およびヒドロキシアシルキルデンブンからなる群より選択される、請求項 1 に記載の化合物。

40

【請求項 7】

R^3 が、脂質およびコレステロールからなる群より選択される結合成分である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 8】

L^1 および L^2 がそれぞれ結合であり、 R^1 および R^2 がそれぞれ、脂質およびコレステロールからなる群より選択される結合成分である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 9】

L^1 および L^2 がそれぞれ結合であり、 R^1 および R^2 がそれぞれ、飽和または不飽和 C_{10-24} アルキル基、および置換された飽和または不飽和 C_{10-24} アルキル基からなる群より独立して選択される結合成分である、請求項 1 に記載の化合物。

50

【請求項 10】

R¹ および R² がそれぞれ、独立して、標的化剤、診断剤およびステルス剤からなる群より選択され； R³ がナノ粒子またはナノ粒子に結合した結合成分であり； R⁴ が H である、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 11】

L³ が連結基であり、R³ がステルス剤である、請求項 1 に記載の化合物。

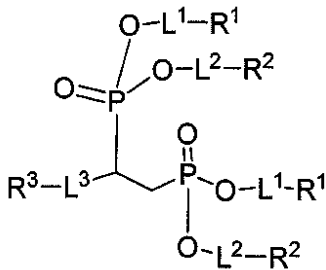
【請求項 12】

前記ステルス剤が、PEG₅₀₀、PEG₁₀₀₀、PEG₂₀₀₀ および PEG₅₀₀₀ からなる群より選択される、請求項 11 に記載の化合物。

【請求項 13】

式：

【化 3 1】



(式中、R¹ および R² はそれぞれ、飽和または不飽和 C₁₀-24 アルキル基、置換された飽和または不飽和 C₁₀-24 アルキル基、およびコレステロールから選択される結合成分であり； L¹ および L² はそれぞれ結合である) を有する、請求項 1 に記載の化合物。

【請求項 14】

R³ が、PEG₅₀₀、PEG₁₀₀₀、PEG₂₀₀₀ および PEG₅₀₀₀ からなる群より選択されるステルス剤である、請求項 13 に記載の化合物。

【請求項 15】

R³ が標的化剤であり、L³ が親水性非免疫原性水溶性連結基である、請求項 13 に記載の化合物。

【請求項 16】

R³ が診断剤であり、L³ が親水性非免疫原性水溶性連結基である、請求項 13 に記載の化合物。

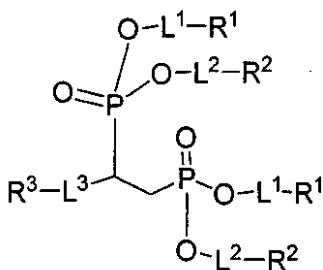
【請求項 17】

R³ がステルス剤であり、L³ が親水性非免疫原性水溶性連結基である、請求項 13 に記載の化合物。

【請求項 18】

式：

【化 3 2】



(式中、R³ は、飽和または不飽和 C₁₀-24 アルキル基、置換された飽和または不飽和 C₁₀-24 アルキル基、およびコレステロールから選択される結合成分であり； R¹ および R² はそれぞれ、独立して、標的化剤、診断剤およびステルス剤からなる群より選

10

20

30

40

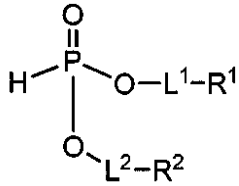
50

択される)を有する、請求項1に記載の化合物。

【請求項19】

ホスホン酸化合物を調製する方法であって、式：

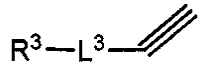
【化33】



10

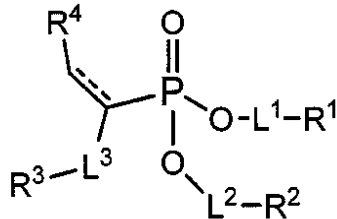
を有するH-ホスホン酸化合物、および式：

【化34】



を有するアルキン化合物を触媒の存在下で結合させて、式：

【化35】



20

(式中、

【化36】

によって特定される結合は、単結合または二重結合であり；

L¹、L²およびL³はそれぞれ連結基であり；

R¹、R²およびR³はそれぞれ、独立して、結合成分、標的化剤、診断剤およびステルス剤からなる群より選択され；

R⁴は、Hおよび-P(=O)(OL¹-R¹)(OL²-R²)からなる群より選択されるメンバーであり、R⁴がH以外である場合、

30

【化37】

によって特定される結合は、単結合である)を有するホスホン酸化合物を形成する工程を含む、方法。

【請求項20】

R³が、飽和または不飽和C₁₀₋₂₄アルキル基、置換された飽和または不飽和C₁₀₋₂₄アルキル基、およびコレステロールから選択される結合成分である、請求項19に記載の方法。

40

【請求項21】

R³がナノ粒子に結合している、請求項20に記載の方法。

【請求項22】

R¹およびR²がそれぞれ、飽和または不飽和C₁₀₋₂₄アルキル基、置換された飽和または不飽和C₁₀₋₂₄アルキル基、およびコレステロールから独立して選択される結合成分である、請求項19に記載の方法。

【請求項23】

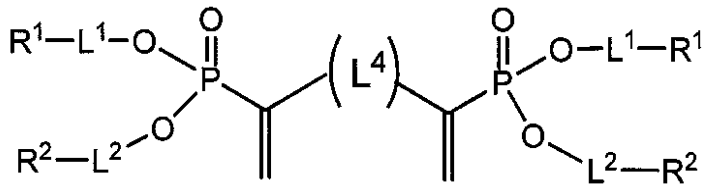
R¹およびR²がナノ粒子に結合している、請求項22に記載の方法。

50

【請求項 24】

式：

【化 38】



(式中、

L^1 および L^2 はそれぞれ、結合または連結基であり；

R^1 および R^2 はそれぞれ、独立して、ナノ粒子、結合成分、標的化剤、診断剤およびステルス剤からなる群より選択され；

L^4 は、アルキレン、アリーレンまたはこれらの組み合わせからなる群より選択される連結骨格である) の化合物。

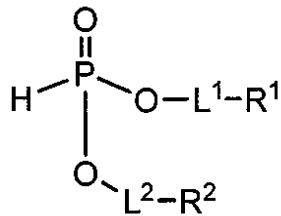
【請求項 25】

R^1 および R^2 がそれぞれ、飽和または不飽和 C_{10-24} アルキル基、置換された飽和または不飽和 C_{10-24} アルキル基、およびコレステロールから選択される結合成分である、請求項 24 に記載の化合物。

【請求項 26】

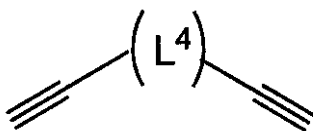
ホスホン酸化合物を調製する方法であって、式：

【化 39】



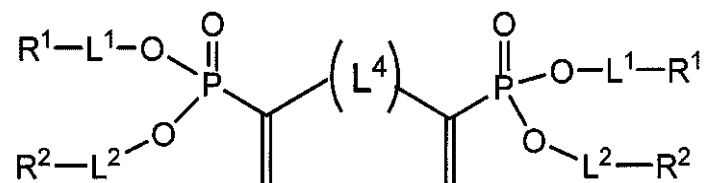
を有する H - ホスホン酸化合物、および式：

【化 40】



を有するアルキン化合物を触媒の存在下で結合させて、式：

【化 41】



(式中、 L^1 および L^2 はそれぞれ、結合または連結基であり； R^1 および R^2 はそれぞれ、独立して、ナノ粒子、結合成分、標的化剤、診断剤およびステルス剤からなる群より選択され； L^4 は、アリーレン、アルキレンまたはこれらの組み合わせからなる群より選択される) を有するホスホン酸化合物を形成する工程を含む、方法。

【請求項 27】

前記 H - ホスホン酸化合物および前記アルキン化合物をそれぞれ 2 : 1 のモル比で結合さ

10

20

30

40

50

せる、請求項 26 に記載の方法。

【請求項 28】

請求項 1 および 24 に記載の化合物を含む標的化送達組成物であって、 R^1 および R^2 の少なくとも 1 つが標的化剤であり、 R^3 がナノ粒子またはナノ粒子に結合した結合成分である、標的化送達組成物。

【請求項 29】

前記ナノ粒子がリポソームであり、前記結合成分が、前記リポソームの二重層に結合した脂質またはコレステロールである、請求項 28 に記載の標的化送達組成物。

【請求項 30】

請求項 1 および 24 に記載の化合物を含む標的化送達組成物であって、 R^1 および R^2 がそれぞれ、ナノ粒子に結合した結合成分であり、 R^3 が、標的化剤、診断剤およびステルス剤からなる群より選択される、標的化送達組成物。

10

【請求項 31】

前記ナノ粒子がリポソームであり、前記結合成分が、前記リポソームの二重層に結合した脂質である、請求項 30 に記載の標的化送達組成物。

【請求項 32】

被験体におけるがん状態を処置または診断するための方法であって、請求項 28 または 30 に記載の標的化送達組成物を前記被験体に投与する工程を含み、前記標的化送達組成物は、前記状態を処置または診断するのに十分な治療剤または診断剤を含む、方法。

【請求項 33】

前記ナノ粒子がリポソームであり、前記治療剤が前記リポソームに封入されているか、前記リポソームに包埋されているか、または前記リポソームに係留されている、請求項 32 に記載の方法。

20

【請求項 34】

前記治療剤が、ドキソルビシン、シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチン、5-フルオロウラシル、ゲムシタピン (gemcitabine) およびタキサンからなる群より選択される抗がん剤である、請求項 32 に記載の方法。

【請求項 35】

標的化治療処置についての被験体の適性を判定する方法であって、請求項 28 または 30 に記載の標的化送達組成物を前記被験体に投与する工程、および前記被験体をイメージングして前記診断剤を検出する工程を含み、 R^1 、 R^2 または R^3 が診断剤であるか、または前記ナノ粒子が診断剤を含む、方法。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願への相互参照

本願は、本願は、2011年8月31日に出願された米国仮特許出願第 61/529,665 号への優先権の利益を主張し、この米国仮特許出願の全体の内容は、本明細書中に参考として援用される。

【0002】

政府支援の研究開発下でなされた発明に対する権利に関する陳述
適用なし。

40

【0003】

コンパクトディスクで提出した「配列表」、表、またはコンピュータプログラムリストの付録への参照

該当なし

【背景技術】

【0004】

現在のところ、大部分の治療剤および診断剤は、患者に全身投与される。残念なことに、現在の送達方法はいくつかの不利な点を有することがあり、例えば、薬物が患者の非標

50

的部位で活性化することによる治療薬の有効性の低下および副作用が挙げられる。これらの欠点のいくつかに対処しようとして、診断剤および治療剤に結合したナノ粒子の標的化送達は、有望かつ新たな薬物送達様式を提示する。一部の薬物送達法では、リポソームなどのナノ粒子は、リポソーム表面に結合した標的化剤を使用して、細胞表面の受容体を標的とすることができる。例えば、 α 3インテグリン受容体は、一般的には、活性化内皮細胞上でアップレギュレーションされており、適切なRGDリガンドをナノ粒子表面に組み込むことによって標的化することができる（非特許文献1）。

近年、標的化薬物送達法の開発にいくつかの進歩が見られるが、さらなる改良の必要性が依然としてある。例えば、ナノ粒子を標的化ナノ粒子に変換するための方法は限定されており、前記方法が提供するナノ粒子改変の柔軟性は、一般に、不十分である。加えて、例えば、ナノ粒子の表面特性または診断適性を変化させるために、ナノ粒子を改変するのに使用され得る化合物は、十分な範囲の官能性を許容しない。本発明は、これらのおよび他の必要性に対処する。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】Dubeyら、「RGD-modified liposomes for tumor targeting」 in Amiji, M.M., Ed. Nanotechnology for Cancer Therapy, CRC Press (2007), pp. 643 - 661

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0006】

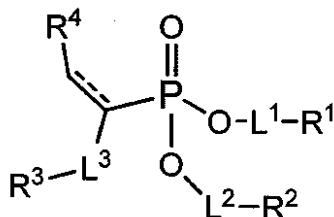
発明の簡単な概要

本発明は、例えば、標的化薬物送達用途のためのナノ粒子を改変する能力を高めることを可能にするために、ホスホン酸化合物（phosphonate compound）および前記ホスホン酸化合物を調製する方法を提供する。

【0007】

本発明の一態様では、本発明の化合物は、式：

【化1】

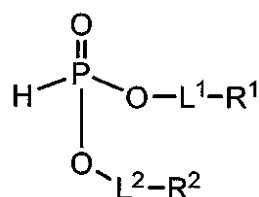


（式中、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 L^1 、 L^2 および L^3 はそれぞれ、以下により詳細に記載される）の化合物を含むことができる。

【0008】

別の態様では、本発明は、ホスホン酸化合物を調製する方法を含み、この方法は、式：

【化2】



を有するH-ホスホン酸化合物、および式：

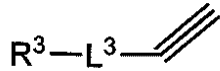
10

20

30

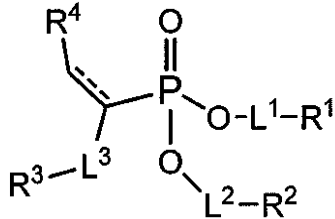
40

【化 3】



を有するアルキン化合物を触媒の存在下で結合させ (combine) て、式：

【化 4】



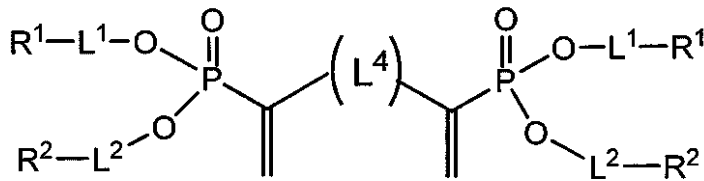
10

を有するホスホン酸化合物を形成する工程を含み、前記 H - ホスホン酸化合物、アルキン化合物および本発明のホスホン酸化合物は、以下により詳細に記載される。

【0009】

さらに別の態様では、本発明の化合物は、式：

【化 5】



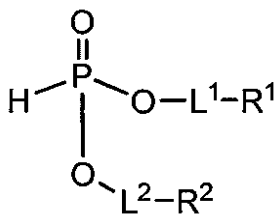
20

(式中、 L^1 、 L^2 、 L^4 、 R^1 および R^2 はそれぞれ、以下により詳細にさらに記載される) の化合物を含むことができる。

【0010】

さらに別の態様では、本発明は、連結骨格を有するホスホン酸化合物を調製する方法を含み、この方法は、式：

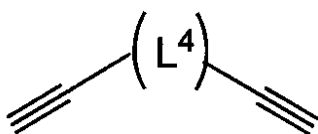
【化 6】



30

を有する H - ホスホン酸化合物、および式：

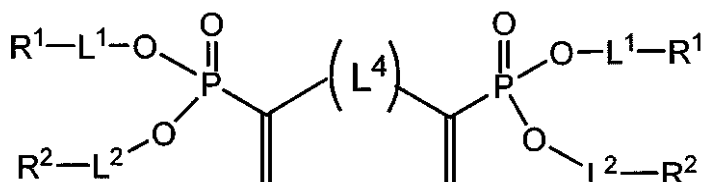
【化 7】



40

を有するアルキン化合物を触媒の存在下で結合させて、式：

【化 8】



50

を有するホスホン酸化合物を形成する工程を含み、前記H - ホスホン酸化合物、アルキン化合物、および連結骨格を有する本発明のホスホン酸化合物は、以下により詳細に記載される。

【0011】

本発明のホスホン酸化合物およびそれらの作製方法は、多数の独自の態様を薬物送達および画像診断の領域に提供する。例えば、本発明は、非標的化ナノ粒子の標的化ナノ粒子への変換を容易にすることができる化合物を作製するためのロバストかつ簡便な方法を提供する。加えて、種々の標的化剤、ステルス剤、および/または診断剤のいくつかの組み合わせを、リポソームなどの様々なナノ粒子に組み込むことができる。改変ナノ粒子を作製する際のこの柔軟性は、例えば、特定の治療用途および/または診断用途に適合されたナノ粒子であって、患者への投与後に長期の *in vivo* 半減期を有することもできるナノ粒子にすることができる。

10

【0012】

本明細書および図面の他の部分を参照することによって、本発明の本質および利点についてのさらなる理解を実現することができる。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】図1は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、アルキン化合物を含むナノ粒子を用いてホスホン酸化合物を作製する合成方法を示す。

【0014】

【図2】図2は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、H - ホスホン酸化合物を含むナノ粒子を用いてホスホン酸化合物を作製する合成方法を示す。

20

【0015】

【図3】図3は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、ジオクタデシルオクタ - 1 - エン - 2 - イルホスホネートを調製するための一般的な反応スキームを示す。

【0016】

【図4】図4は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、5 - (ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘキサ - 5 - エン酸を調製するための一般的な反応スキームを示す。

【0017】

【図5】図5は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、5 - (ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘキサ - 5 - エン酸をPEG₁₀₀₀-NH₂とカップリングするための一般的な反応スキームを示す。

30

【0018】

【図6】図6は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、tert - ブチル5 - (ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘキサ - 5 - エノエートを作製する方法を示す。

【0019】

【図7】図7は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、5, 7 - ビス(ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘプタン酸を作製する方法を示す。

【0020】

【図8】図8は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、5, 7 - ビス(ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘプタン酸とPEG₁₀₀₀-NH₂との一般的な反応を提供する。

40

【0021】

【図9】図9は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、テトラオクタデシルヘプタン - 1, 3 - ジイルジホスホネートの調製を示す。

【0022】

【図10】図10は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、ジオクタデシル2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29 - デカオキサトリトリアコンタ - 31 - エン - 31 - イルホスホネートを調製するための一般的な反応スキームを示す。

【0023】

50

【図 1 1】図 1 1 は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、テトラオクタデシル 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29 - デカオキサトリトリアコンタン - 32, 33 - ジイルジホスホネートを調製するための一般的な反応スキームを示す。

【0024】

【図 1 2】図 1 2 は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、テトラオクタデシル 1, 1' - (1, 3 - フェニレン) ビス(エテン - 1, 1 - ジイル) ジホスホネートを調製するための一般的な反応スキームを示す。

【0025】

【図 1 3】図 1 3 は、ジオクタデシル 1 - シクロヘキセニルビニルホスホネートおよび (E, Z) - ジオクタデシル (2 - (シクロヘキサ - 1 - エン - 1 - イル) ビニル) ホスホネートを調製するための反応スキームを示す。

10

【発明を実施するための形態】

【0026】

発明の詳細な説明

I. 定義

本明細書において使用される場合、記号

【化 9】

「—」

は単結合を意味し、

20

【化 10】

「=」

は二重結合を意味し、

【化 11】

「≡」

は三重結合を意味し、

【化 12】

「≡」

30

は単結合または二重結合を意味する。

【0027】

本明細書において使用される場合、用語「アルキル」は、それ自体でまたは別の置換基の一部として、特に明記しない限り、指定された数の炭素原子（すなわち、C₁₀₋₂₄ は、10 個 ~ 24 個の炭素を意味する）を有する直鎖状または分岐鎖状の炭化水素ラジカルを意味する。いくつかの実施形態では、アルキル基は、1 個 ~ 36 個の炭素の範囲であり得る。ある特定の実施形態では、アルキル基は、10 個 ~ 24 個の炭素の範囲であり得る。いくつかの実施形態では、アルキル基は、飽和しているものでもよいし不飽和のものでもよく、置換されているものでもよいし非置換のものでもよい。

40

【0028】

本明細書において使用される場合、用語「置換された」は、親分子または基に結合している基を指す。例えば、メチル置換基を有するアルキル基は、メチル置換アルキル基である。適切な置換基としては、限定されないが、ハロ、シアノ、アルキル、アミノ、ヒドロキシ、アルコキシ、およびアミドが挙げられる。

【0029】

本明細書において使用される場合、用語「H - ホスホン酸化合物」は、H - P(O)(OL¹ - R¹)(OL² - R²) の一般式を有する化合物を指し、本明細書においてさらに記載される。

【0030】

50

本明細書において使用される場合、用語「アルキン化合物」は、一般に、少なくとも1つの炭素-炭素三重結合を有する化合物を指す。ある特定の実施形態では、本発明に使用されるアルキン化合物は、第一級アルキンを有する。本発明のアルキン化合物は、本明細書においてさらに記載される。

【0031】

本明細書において使用される場合、用語「標的化送達組成物」は、本発明のホスホン酸化合物に結合したナノ粒子組成物を指し、この詳細は、本明細書においてさらに記載される。本発明の組成物は、治療組成物として、診断組成物として、または治療組成物および診断組成物の両方として使用することができる。ある特定の実施形態では、前記組成物は、本明細書においてさらに記載されるように、被験体または試験試料内の特定の標的に標的化することができる。

10

【0032】

本明細書において使用される場合、用語「触媒」は、本発明のある特定のホスホン酸化合物の合成を容易にするために化学反応で使用される試薬を指す。ある特定の実施形態では、触媒は、本明細書においてさらに記載されるように、ヒドロホスホニル化反応に使用することができる。適切な触媒としては、限定されないが、シス-PdMe₂(PPh₂Me)₂、シス-PdMe₂(PPh₃)₂、Pd(CH₂=CH₂)(PPh₃)₂、Pt(CH₂=CH₂)(PPh₃)₂、Pd(PPh₃)₄、Pt(PPh₃)₄、Pd(OAc)₂を挙げることができる。

20

【0033】

本明細書において使用される場合、用語「ナノ粒子」は、様々なサイズ、形状、種類、および用途の粒子を指し、これらは、本明細書においてさらに記載される。当業者によって認識されるように、ナノ粒子の特性、例えば、サイズは、ナノ粒子の種類および/または用途、ならびに当技術分野において一般に周知の他の要因に依存し得る。一般に、ナノ粒子は、約1nm~約1000nmのサイズの範囲であり得る。他の実施形態では、ナノ粒子は、約10nm~約200nmのサイズの範囲であり得る。さらに他の実施形態では、ナノ粒子は、約50nm~約150nmのサイズの範囲であり得る。ある特定の実施形態では、ナノ粒子は、腎排泄限界よりサイズが大きく、例えば、直径が約6nmより大きい。他の実施形態では、ナノ粒子は、肝臓による血流からのクリアランスを回避するのに十分小さく、例えば、直径が1000nmより小さい。ナノ粒子としては、球体、円錐体、スフェロイド、および当技術分野において一般に公知の他の形状を挙げることができる。ナノ粒子は、中空(例えば、コアの外側が中実(solid)で、コアの内側が中空)でもよいし中実でもよく、中空層と中実層または様々な中実層とで多層化されていてもよい。例えば、ナノ粒子は、中実コア領域および中実外側封入領域を含むことができ、これらの両方を架橋することができる。ナノ粒子は、脂質、ポリマー、磁性材料、またはシリカ、金、および酸化鉄などの金属材料などを含む様々な物質の中の1つの物質または任意の組み合わせから構成され得る。脂質としては、脂肪、ワックス、ステロール、コレステロール、脂溶性ビタミン、モノグリセリド、ジグリセリド、リン脂質、スフィンゴ脂質、糖脂質、カチオン性脂質またはアニオン性脂質、誘導体化脂質、およびカルジオリピンなどを挙げることができる。ポリマーとしては、一般にブロックコポリマー、ポリ(乳酸)、ポリ(乳酸-co-グリコール酸)、ポリエチレングリコール、アクリル酸ポリマー、カチオン性ポリマー、ならびにナノ粒子を作製するために使用するための当技術分野において公知の他のポリマーを挙げることができる。いくつかの実施形態では、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。ナノ粒子としては、リポソーム、ミセル、リポタンパク質、脂質コーティングバブル、ブロックコポリマーミセル、ポリマーソーム、ニオソーム、量子ドット、酸化鉄粒子、金粒子、 dendrimer、またはシリカ粒子を挙げることができる。ある特定の実施形態では、脂質単層または脂質二重層は、脂質によってコーティングされ得る材料から構成されるナノ粒子、例えば、ポリマーナノ粒子を完全または部分的にコーティングすることができる。いくつかの実施形態では、リポソームとしては、多層ベシクル(MLV)、大単層ベシクル(LUV)、および小単層ベシクル(SUV)

30

40

50

SUV)を挙げることができる。

【0034】

本明細書において使用される場合、用語「治療剤」は、有効量で存在する場合、それを必要とする被験体に所望の治療効果を生じさせる化合物または分子を指す。本発明は、本明細書においてさらに記載されるように、広い範囲の治療剤、ならびにナノ粒子およびホスホン酸化合物と併せたこれらの使用を意図する。

【0035】

本明細書において使用される場合、用語「診断剤」は、被験体または試験試料に検出することができる成分を指し、本明細書においてさらに記載される。

【0036】

本明細書において使用される場合、用語「連結基」は、化合物の一部を連結するホスホン酸化合物の一部を指す。例えば、連結基 L^1 は、 R^1 （例えば、標的化剤）を、ホスホン酸化合物のリンに結合した酸素に連結することができる。調製されるホスホン酸化合物、および化合物に望まれる特性に応じて、容易に入手可能なモノマー成分から連結基をアセンブルして、標的化剤と、例えばナノ粒子に結合され得るホスホン酸化合物の他の部分との適切な分離を実現することができる。

【0037】

本明細書において使用される場合、用語「標的化剤」は、標的に対して特異的である分子を指す。ある特定の実施形態では、標的化剤としては、標的リガンドの低分子模倣体（例えば、ペプチド模倣リガンド）、標的リガンド（例えば、RGDペプチド含有ペプチド、もしくは葉酸アミド）、または特定の標的に特異的な抗体もしくは抗体断片を挙げることができる。標的化剤は、疾患の特定の発症段階と関連し得る器官、組織、細胞、細胞外マトリックス成分、および/または細胞内コンパートメントにおける標的を含む多種多様な標的に結合することができる。いくつかの実施形態では、標的としては、がん細胞、特にがん幹細胞を挙げることができる。標的としては、細胞表面の抗原、またはがん細胞に存在するかもしくは正常組織と比較してがん細胞ではより優勢な抗原である腫瘍マーカーをさらに挙げることができる。ある特定の実施形態では、標的化剤としては、葉酸誘導体、B-12誘導体、インテグリンRGDペプチド、RGD模倣体、NGR誘導体、ソマトスタチン受容体に結合するソマトスタチン誘導体またはペプチド、例えば、オクトレオチドおよびオクトレオテートなどをさらに挙げることができる。いくつかの実施形態では、標的化剤は、核酸（例えば、DNAまたはRNA）またはペプチドから構成され、特定の標的に結合するアプタマーであり得る。標的化剤は、受容体標的、特に、腫瘍に関連して発現される受容体標的に特異的または非特異的に結合するように設計することができる。受容体標的の例としては、限定されないが、MUC-1、EGFR、クローディン4、MUC-4、CXCR4、CCR7、FOL1R、ソマトスタチン受容体4、Erb-B2（赤芽球性白血病発がん遺伝子相同体2）受容体、CD44受容体、およびVEGF受容体-2キナーゼが挙げられる。

【0038】

本明細書において使用される場合、用語「ステルス剤」は、ナノ粒子の表面特性を改変することができる分子を指し、本明細書においてさらに記載される。

【0039】

本明細書において使用される場合、用語「に包埋された」は、ナノ粒子の表面の、またはその表面の近傍の薬剤の位置を指す。ナノ粒子に包埋された薬剤は、例えば、リボソームの二重層膜内に位置してもよいし、ナノ粒子の外側ポリマーシェル内に、そのシェル内に含まれるように位置してもよい。

【0040】

本明細書において使用される場合、用語「に封入された」は、ナノ粒子の内側に囲い込まれているかまたは完全に含まれている薬剤の位置を指す。リボソームの場合、例えば、治療剤および/または診断剤を、リボソームの水性内部に存在するように封入することができる。次いで、リボソームを不安定化するか、または封入された薬剤の放出を他の方法

10

20

30

40

50

で生じさせることを目的とするある特定の条件によって、このような封入された薬剤の放出を誘発することができる。

【0041】

本明細書において使用される場合、用語「に係留された」は、成分の1つまたは複数空間内で自由に動き回ることができるような、ある成分の別の成分への結合を指す。ある特定の例示的な実施形態では、結合成分を、ナノ粒子周囲の溶液中で自由に動き回るようにナノ粒子に係留することができる。いくつかの実施形態では、結合成分は、ナノ粒子の表面に係留され、表面から離れて伸長することができる。

【0042】

本明細書において使用される場合、用語「脂質」は脂質分子を指し、脂肪、ワックス、ステロール、コレステロール、コレステロール誘導体、脂溶性ビタミン、モノグリセリド、 $C_8 - C_{36}$ アルキル、ジグリセリド、リン脂質、スフィンゴ脂質、糖脂質、カチオン性脂質またはアニオン性脂質、および誘導体化脂質などを挙げるることができる。脂質は、ミセル、単層、および二重層膜を形成することができる。ある特定の実施形態では、脂質は、リポソームに自己組織化することができる。他の実施形態では、脂質は、単層または二重層としてナノ粒子の表面を覆うことができる。

【0043】

本明細書において使用される場合、用語「アプタマー」は、特定の標的に特異的に結合する天然に存在しないオリゴヌクレオチド（典型的には、20～200ヌクレオチド）を指す。「天然に存在しない」は、天然のヌクレオチド（A、T、C、G、U）の天然に存在しない配列、ならびに天然に存在しないヌクレオチドまたは修飾ヌクレオチドを有するオリゴヌクレオチドを包含する。例えば、「Spiegelmers（登録商標）」は、鏡像核酸を有するアプタマー、すなわち、天然に存在するD立体配置の代わりにLキラル立体配置にあるアプタマーである。アプタマーは、分子内相互作用を介して、固有の三次元構造を形成し、かつ/または例えば、一次構造もしくは二次構造からの誘導適合機構を介して標的に結合すると構造を変化させることができる。標的へのアプタマーの結合は、従来の相補的核酸ハイブリダイゼーション、例えば、二重らせん形成または三重らせん形成によって媒介されないが、アプタマーの一部は、このようなハイブリダイゼーションに関与することができる。例えば、アプタマーは一般に、分子内ヘアピン構造および他の三次元構造を形成する。アプタマーは、任意の方法または方法の組み合わせによって選択することができる。指数関数的富化によるリガンドの系統的進化（SELEX^{（商標）}）またはその変法は、この分野において一般に使用されている。基本のSELEX^{（商標）}法は、例えば、米国特許第5,567,588号明細書に記載されている。基本方法に対する多数の変法、例えば、米国特許出願公開第2010015041号明細書に記載されているin vivo SELEX^{（商標）}も使用することができる。MONOLEX^{（商標）}は、例えば、Nitschera、(2007) BMC Biotechnology 7:48、および国際公開第02/29093号パンフレットに記載されている別の選択法である。腫瘍細胞内に注入される核酸ライブラリを使用するin vivo選択も可能である（例えば、Mira、(2010) Nat. Chem. Biol. 1:22を参照のこと）。本発明に使用するためのアプタマーは、限定されないが、MUC-1、EGFR、クロードイン4、MUC-4、CXCR4、CCR7、FOL1R、ソマトスタチン受容体4、Erb-B2（赤芽球性白血病発がん遺伝子相同体2）受容体、CD44受容体、VEGF受容体-2キナーゼ、およびヌクレオリンを含む様々な標的に結合するように設計することができる。

【0044】

本明細書において使用される場合、用語「被験体」は、寿命の任意の段階にある任意の哺乳動物、特にヒトを指す。

【0045】

本明細書において使用される場合、用語「投与する」、「投与された」、または「投与すること」は、本発明の標的化送達組成物を投与する方法を指す。本発明の標的化送達組

10

20

30

40

50

成物は、局所投与、非経口投与、静脈内投与、皮内投与、筋肉内投与、結腸投与、直腸投与、または腹腔内投与を含む様々な方法で投与することができる。非経口投与および静脈内投与は、好ましい投与方法である。標的化送達組成物は、組成物または製剤の一部として投与することもできる。

【0046】

本明細書において使用される場合、状態、疾患、障害、または症候を「処置する」または状態、疾患、障害、または症候の「処置」という用語は、(i) 疾患、障害、または症候を阻害すること、すなわち、その発達を停止すること；および(ii) 疾患、障害、または症候を軽減すること、すなわち、疾患、障害、または症候の後退を引き起こすことを包含する。当技術分野において公知であるように、全身送達対局所送達、年齢、体重、全体的な健康、性別、食事、投与時間、薬物相互作用、および状態の重症度についての調整が必要であり得、当業者による通常の実験によって確認することができる。

10

【0047】

本明細書において使用される場合、用語「製剤」は、被験体に投与するための成分の混合物を指す。例えば、関節内(関節内)経路、静脈内経路、筋肉内経路、腫瘍内経路、皮内経路、腹腔内経路、ならびに皮下経路などによる非経口投与に適切な製剤は、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、および製剤を意図されたレシピエントの血液と等張性にする溶質を含有することができる水性および非水性の等張性滅菌注射液剤、ならびに懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤、および保存剤を含むことができる水性滅菌懸濁剤および非水性滅菌懸濁剤を含む。注射液剤および懸濁剤は、滅菌粉末、顆粒、および錠剤からも調製することができる。標的化送達組成物の製剤は、単位用量または複数回用量の密閉容器、例えば、アンプルおよびバイアルで提供することができる。標的化送達組成物は、単独でまたは他の適切な成分と組み合わせ、口または鼻部を通じた吸入を介して投与されるエアロゾル製剤(すなわち、これらは、「噴霧する」ことができる)にすることができる。エアロゾル製剤は、加圧された許容され得る噴霧剤、例えば、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、および窒素などの中に入れることができる。直腸投与に適切な製剤としては、例えば、坐剤基剤とともに有効量の標的化送達組成物を含む坐剤が挙げられる。適切な坐剤基剤としては、天然または合成のトリグリセリドまたはパラフィン炭化水素が挙げられる。加えて、標的化送達組成物と、基剤(例えば、液体トリグリセリド、ポリエチレングリコール、およびパラフィン炭化水素が挙げられる)との組み合わせを含有するゼラチン直腸カプセルを使用することも可能である。ある特定の実施形態では、製剤は、局所投与することもできるし、点眼剤の形態で投与することもできる。

20

30

本発明の実施形態

II. 概要

【0048】

本発明は、ホスホン酸化合物、ならびにH-ホスホン酸化合物およびアルキン化合物を含むヒドロホスホニル化反応を使用して前記ホスホン酸化合物を作製する方法を提供する。ある特定の実施形態では、本発明のホスホン酸化合物は、ナノ粒子の特性を変えるのに使用することができる。例えば、ホスホン酸化合物は、非標的化ナノ粒子を標的化ナノ粒子に変換することができ、またはステルス剤を前記ナノ粒子に結合させて、例えば、患者への投与後に前記ナノ粒子の*in vivo*半減期を促進することができる。

40

【0049】

さらに、ホスホン酸化合物を作製するのに使用されるヒドロホスホニル化化学反応は、いくつかの独自の態様を提供する。例えば、ナノ粒子がH-ホスホン酸化合物の反応性部分をナノ粒子表面上にディスプレイするように、H-ホスホン酸化合物をナノ粒子に結合させることができる。それに続く反応工程は、例えば、標的化剤を含み、H-ホスホン酸化合物と反応してホスホン酸化合物を形成し、それにより、ナノ粒子を非標的化ナノ粒子から標的化ナノ粒子(これが、対象とする特定の標的に結合することができる標的化剤をディスプレイする)に変換するアルキン化合物を提供することができる。

【0050】

50

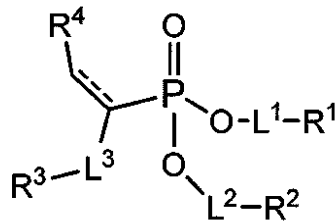
ホスホン酸化合物およびそれらの作製方法は、診断剤および/または治療剤を患者に送達するのに使用され得るナノ粒子または他の組成物を生成するための多種多様な選択肢を提供する。ある特定の実施形態では、ナノ粒子は、例えば、標的化剤および/またはステルス剤をナノ粒子表面に結合させるためのより安定なシステムをもたらすのに使用され得る例えば2つまたは4つの結合成分を有するホスホン酸化合物のアンカーアセンブリ (anchoring assembly) を含むことができる。あるいは、提示アセンブリ (presentation assembly) をナノ粒子表面上に生成することができ、前記提示アセンブリは、治療剤および/または診断剤の標的化送達を増強することができる例えば2つまたは4つの標的化剤を提示することができる。

III. ホスホン酸化合物

【0051】

一態様では、本発明の化合物は、式：

【化13】



(式中、

【化14】

==

によって特定される結合は、単結合または二重結合であり；L¹、L²およびL³はそれぞれ、結合または連結基であり；R¹、R²およびR³はそれぞれ、独立して、ナノ粒子、結合成分、標的化剤、診断剤およびステルス剤からなる群より選択され；R⁴は、Hおよび-P(=O)(OL¹-R¹)(OL²-R²)からなる群より選択されるメンバーであり、R⁴がH以外である場合、

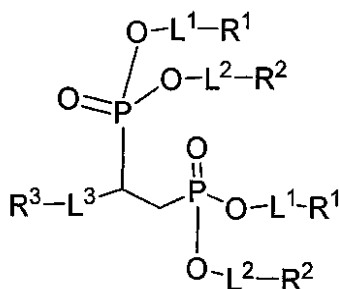
【化15】

によって特定される結合は、単結合である)の化合物を含むことができる。

【0052】

別の態様では、本発明の化合物は、式：

【化16】



(式中、R¹およびR²はそれぞれ、結合成分である)を有する化合物を含むことができる。ある特定の実施形態では、結合成分は、飽和または不飽和C₁₀₋₂₄アルキル基、置換された飽和または不飽和C₁₀₋₂₄アルキル基、およびコレステロールから選択され；L¹およびL²はそれぞれ結合である。いくつかの実施形態では、これらの化合物は、ホスホン酸化合物が、ナノ粒子と結合することができる4つの結合成分(2×R¹およ

10

20

30

40

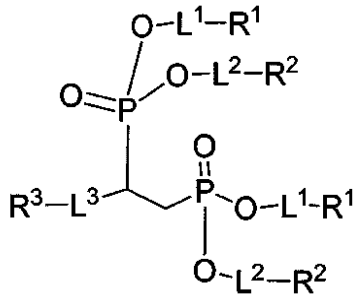
50

び $2 \times R^2$) を含むナノ粒子アンカーアセンブリを提供することができる。例えば、4つの結合成分は、 R^3 がリボソーム表面上にディスプレイされ、例えば、標的化剤、診断剤またはステルス剤を提示することができるように、リボソームの脂質二重層表面と相互作用することができる。

【0053】

さらに別の態様では、本発明の化合物は、式：

【化17】



10

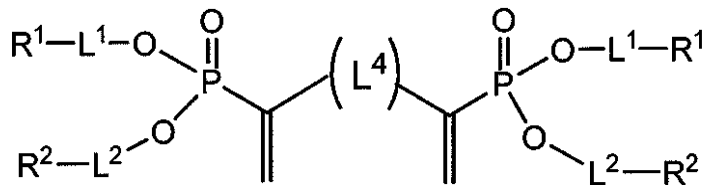
(式中、 R^3 は、結合成分である) を有する化合物を含むことができる。ある特定の実施形態では、結合成分は、飽和または不飽和 C_{10-24} アルキル基、置換された飽和または不飽和 C_{10-24} アルキル基、およびコレステロールから選択され得る。いくつかの実施形態では、 R^1 および R^2 はそれぞれ、独立して、標的化剤、診断剤およびステルス剤からなる群より選択され得る。これらの実施形態では、前記化合物は、 R^3 が、例えば、脂質二重層と相互作用することができ、 R^1 および R^2 が、例えば、標的化剤、診断剤、ステルス剤またはこれらの組み合わせを提示するように選択され得る提示アセンブリを提供することができる。

20

【0054】

さらに別の態様では、本発明の化合物は、式：

【化18】



30

(式中、 L^1 および L^2 はそれぞれ、結合または連結基であり； R^1 および R^2 はそれぞれ、独立して、ナノ粒子、結合成分、標的化剤、診断剤およびステルス剤からなる群より選択され； L^4 は、アリーレン、アルキレンまたはこれらの組み合わせからなる群より選択される) を有する化合物を含むことができる。

【0055】

当業者によって認識されているように、上記アンカーアセンブリおよび提示アセンブリはまた、

40

【化19】

==

によって特定される結合が単結合であり、 R^1 、 R^2 および R^3 の各1つが化合物中に存在する化合物に適用することができる。これらの実施形態では、2つの結合成分(例えば、 R^1 および R^2) は、化合物をナノ粒子に結合させるのに使用することができ、あるいは R^3 は、ナノ粒子に結合することができ、 R^1 および R^2 は、例えば、標的化剤、診断剤、ステルス剤またはこれらの組み合わせとして提示され得る。また、本明細書においてさらに記載されるように、 L^1 、 L^2 および L^3 は、本発明のホスホン酸化合物の所望の特徴または構造特性に応じて、結合または連結基であり得る。

50

ナノ粒子

【0056】

多種多様なナノ粒子を、本発明に使用することができる。当業者によって認識されるように、ナノ粒子の特性、例えば、サイズは、ナノ粒子の種類および/または用途、ならびに当技術分野において一般に周知の他の要因に依存し得る。適切な粒子は、球体、スフェロイド、平型、板形状、管、立方体、立方形、長円形、楕円、円柱、円錐体または角錐であり得る。適切なナノ粒子は、最大寸法（例えば、直径）のサイズが約1 nm～約1000 nm、約10 nm～約200 nm、および約50 nm～約150 nmの範囲であり得る。

【0057】

適切なナノ粒子は、当技術分野において一般に公知の様々な材料で作製することができる。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、脂質、ポリマー、またはシリカ、金、および酸化鉄などの金属材料などを含む1つの物質または様々な物質の任意の組み合わせを含むことができる。ナノ粒子の例としては、限定されないが、リポソーム、ミセル、リボタンパク質、脂質コーティングバブル、ブロックコポリマーミセル、ポリマーソーム、ニオソーム、酸化鉄粒子、金粒子、シリカ粒子、デンドリマー、または量子ドットを挙げることができる。

【0058】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、飽和脂質または不飽和脂質から部分的または完全に構成されるリポソームである。適切な脂質としては、限定されないが、脂肪、ワックス、ステロール、コレステロール、コレステロール誘導体、脂溶性ビタミン、モノグリセリド、ジグリセリド、リン脂質、スフィンゴ脂質、糖脂質、および誘導体化脂質などを挙げることができる。いくつかの実施形態では、適切な脂質としては、両親媒性脂質、中性脂質、非カチオン性脂質、アニオン性脂質、カチオン性脂質、または疎水性脂質を挙げることができる。ある特定の実施形態では、脂質としては、細胞膜に典型的に存在する脂質、例えばリン脂質および/またはスフィンゴ脂質を挙げることができる。適切なリン脂質としては、限定されないが、ホスファチジルコリン（PC）、ホスファチジン酸（PA）、ホスファチジルエタノールアミン（PE）、ホスファチジルグリセロール（PG）、ホスファチジルセリン（PS）、およびホスファチジルイノシトール（PI）が挙げられる。適切なスフィンゴ脂質としては、限定されないが、スフィンゴシン、セラミド、スフィンゴミエリン、セラブロシド、スルファチド、ガングリオシド、およびフィトスフィンゴシンが挙げられる。他の適切な脂質としては、脂質抽出物、例えば、卵PC、心臓抽出物、脳抽出物、肝臓抽出物、およびダイズPCを挙げることができる。いくつかの実施形態では、ダイズPCとしては、ヒドロダイズPC（Hydro Soy PC）（HSPC）を挙げることができる。カチオン性脂質としては、限定されないが、N,N-ジオレオイル-N,N-ジメチルアンモニウムクロリド（DODAC）、N,N-ジステアリル-N,N-ジメチルアンモニウムプロミド（DDAB）、N-(1-(2,3-ジオレオイルオキシ)プロピル)-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロリド（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）、およびN,N-ジメチル-2,3-ジオレイルオキシ)プロピルアミン（DODMA）が挙げられる。非カチオン性脂質としては、限定されないが、ジミリストイルホスファチジルコリン（DMPC）、ジステアロイルホスファチジルコリン（DSPC）、ジオレオイルホスファチジルコリン（DOPC）、ジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）、ジミリストイルホスファチジルグリセロール（DMPG）、ジステアロイルホスファチジルグリセロール（DSPG）、ジオレオイルホスファチジルグリセロール（DOPG）、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール（DPPG）、ジミリストイルホスファチジルセリン（DMPS）、ジステアロイルホスファチジルセリン（DSPS）、ジオレオイルホスファチジルセリン（DOPS）、ジパルミトイルホスファチジルセリン（DPPS）、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（DPE）、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン（POPC）、パルミトイル

10

20

30

40

50

オレオイル - ホスファチジルエタノールアミン (P O P E)、およびジオレオイル - ホスファチジルエタノールアミン 4 - (N - マレイミドメチル) - シクロヘキサン - 1 - カルボキシラート (D O P E - m a l)、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)、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)、16 - O - モノメチル P E、16 - O - ジメチル P E、18 - 1 - トランス 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 (p h o s p h a t i d y e t h a n o l a m i n e) (S O P E)、1, 2 - ジエライドイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (p h o p h o e t h a n o l a m i n e) (トランス D O P E)、およびカルジオリピンが挙げられる。ある特定の実施形態では、脂質としては、P E G 化脂質などの誘導体化脂質を挙げることができる。誘導体化脂質としては、例えば、D S P E - P E G ₂₀₀₀、コレステロール - P E G ₂₀₀₀、D S P E - ポリグリセロール、または当技術分野において一般に周知の他の誘導体を挙げることができる。

【0059】

脂質の任意の組み合わせを、リポソームなどのナノ粒子を構築するのに使用することができる。ある特定の実施形態では、リポソームの脂質組成は、リポソームの特性、例えば、漏出速度、安定性、粒子サイズ、ゼータ電位、タンパク質結合性、i n v i v o 循環、および/または腫瘍、肝臓、および脾臓などの組織への蓄積に影響を与えるように調整することができる。例えば、D S P C および/またはコレステロールを使用して、リポソームからの漏出を減少させることができる。D S P G および/または D O T A P などの負または正に荷電した脂質は、リポソームの表面電荷に影響を与えるように含めることができる。いくつかの実施形態では、リポソームは、約10種類以下の脂質、または約5種類以下の脂質、または約3種類以下の脂質を含むことができる。いくつかの実施形態では、存在する特定の種類の脂質のモル百分率 (m o l %) は、典型的には、リポソームなどのナノ粒子中に存在する総脂質の約0% ~ 約10%、約10% ~ 約30%、約30% ~ 約50%、約50% ~ 約70%、約70% ~ 約90%、約90% ~ 100%を含む。本明細書において記載される脂質はリポソームに含めることもできるし、または該脂質は、ポリマーナノ粒子などの本発明のナノ粒子をコーティングするのに使用することもできる。コーティングは、ナノ粒子を部分的または完全に囲むものでもよく、単層および/または二重層を含むことができる。

【0060】

他の実施形態では、ナノ粒子の一部または全部は、ポリマー、例えば、ブロックコポリマー、またはナノ粒子を作製するための技術分野で公知の他のポリマーを含むことができる。いくつかの実施形態では、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。適切なポリマーとしては、限定されないが、ポリエチレン、ポリカーボネート、ポリ酸無水物、ポリヒドロキシ酸、ポリプロピルフマレート (p o l y p r o p y l f u m e r a t e)、ポリカプロラクトン、ポリアミド、ポリアセタール、ポリエーテル、ポリエステル、ポリ(オルトエステル)、ポリシアノアクリレート、ポリビニルアルコール、ポリウレタン、ポリホスファゼン、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリシアノアクリレート、ポリ尿素、ポリスチレン、ポリアミン、およびこれらの組み合わせを挙げることができる。いくつかの実施形態では、例示的な粒子としては、シェル架橋クネデル (s h e l l c r o s s - l i n k e d k n e d e l) を挙げることができ、これは、以下の参考文献: Beckerら、米国特許出願第11/250830号明細書; Thurmond, K. Bら、J. Am. Chem. Soc., 119(28)6656(1997); Woolley, K. L., Chem. Eur. J., 3(9):1397-1399(1997); Woolley, K. L., J. Poly. Sci.: Part A: Polymer Chem., 38:1397-1407(2000)にさらに記載されている。他の実施形態では、適切な粒子としては、ポリ(乳酸 co - グリコール酸) (P L G A) を挙げることができる (Fu, Kら、Pharm Res., 27:100-106(2000))。

【0061】

さらに他の実施形態では、ナノ粒子は、シリカ、金、および酸化鉄などの本質的に金属である材料から部分的または完全に構成され得る。いくつかの実施形態では、シリカ粒子は、中空、多孔質、および/またはメソポーラスであり得る (Slowing, I. Iら, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 60(11):1278-1288(2008))。金粒子は、以下の例示的な参考文献によって示されているように、当技術分野において一般に公知である: Bhattacharya, R. & Mukherjee, P., *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 60(11):1289-1306(2008)。酸化鉄粒子または量子ドットも使用することができ、当技術分野において周知である (van Vlerken, L. E. & Amiji, M. M., *Expert Opin. Drug Deliv.*, 3(2):205-216(2006))。ナノ粒子としては、限定されないが、ウイルス粒子およびセラミック粒子も挙げられる。

10

ナノ粒子との結合

【0062】

ある特定の実施形態では、結合成分は、ナノ粒子に存在する反応基に結合成分を共有結合させるのに使用され得る官能基を含むことができる。官能基は、例えば、結合成分の末端位置などの結合成分のどこにでも位置することができる。多種多様な官能基が当技術分野において一般に公知であり、いくつかのクラスの反応、例えば、限定されないが、求核置換 (例えば、アミンおよびアルコールのハロゲン化アシルまたは活性エステルとの反応)、求電子置換 (例えば、エナミン反応)、ならびに炭素-炭素および炭素-ヘテロ原子多重結合への付加 (例えば、マイケル反応またはディールス-アルダー付加) の下で反応することができる。これらのおよび他の有用な反応は、例えば March, *Advanced Organic Chemistry*, 3rd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1985; および Hermanson, *Bioconjugate Techniques*, Academic Press, San Diego, 1996 で考察されている。適切な官能基としては、例えば、(a) 限定されないが、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、N-ヒドロキシベンズトリアゾールエステル、酸ハロゲン化物、アシルイミダゾール、チオエステル、p-ニトロフェニルエステル、アルキル、アルケニル、アルキニル、および芳香族エステルを含むカルボキシル基およびこれらの種々の誘導体; (b) エステル、エーテル、アルデヒドなどに変換することができるヒドロキシル基 (c) ハロアルキル基であって、ハロゲン化物を、求核基、例えば、アミン、カルボキシラートアニオン、チオールアニオン、カルボアニオン、またはアルコキシドイオンなどで、後に置き換えることができ、それにより、ハロゲン原子の部位において新しい基の共有結合をもたらすハロアルキル基; (d) 例えば、マレイミド基などの、ディールス-アルダー反応に關与することができるジエノフィル基; (e) 例えば、イミン、ヒドラゾン、セミカルバゾン、もしくはオキシムなどのカルボニル誘導体の形成を介して、またはグリニャール付加もしくはアルキルリチウム付加などの反応を介して後続の誘導体化が可能であるようなアルデヒド基またはケトン基; (f) 例えば、スルホンアミドを形成するためのアミンとの後続の反応のためのハロゲン化スルホニル基; (g) ジスルフィドに変換することができるか、またはハロゲン化アシルと反応することができるチオール基; (h) 例えば、アシル化、アルキル化、または酸化され得るアミン基またはスルフヒドリル基; (i) 例えば、付加環化、アシル化、マイケル付加などを起こすことができるアルケン; ならびに (j) 例えば、アミンおよびヒドロキシル化合物と反応することができるエポキシドを挙げることができる。いくつかの実施形態では、クリック化学ベースのプラットフォームを用いて、ナノ粒子に結合成分を結合させることができる (Kollb, H. C. et al. M. G. Finn and K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int'l. Ed.* 40(11):2004(2001))。いくつかの実施形態では、結合成分は、1つの官能基、またはナノ粒子との複数の共有結合をもたらす複数の官能基を含むことができる。

20

30

40

【0063】

50

表 1 は、本発明に使用され得る官能基のさらなる非限定的かつ代表的なリストを提供する。

表 1 . 共役化学反応についての例示的な官能基のペア

【表 1】

官能基:	反応相手:
ケトン基およびアルデヒド基	アミノ、ヒドラジドおよびアミノオキシ
イミド	アミノ、ヒドラジドおよびアミノオキシ
シアノ	ヒドロキシ
アルキル化剤(ハロアルキル基およびマレイミド誘導体など)	チオール、アミノ、ヒドラジド、アミノオキシ
カルボキシル基(活性化カルボキシル基を含む)	アミノ、ヒドロキシル、ヒドラジド、アミノオキシ
活性化スルホニル基(スルホニルクロリドなど)	アミノ、ヒドロキシル、ヒドラジド、アミノオキシ
スルフヒドリル	スルフヒドリル
His-タグ(6-Hisタグ付きペプチドまたはタンパク質など)	ニッケルニトリロ酢酸

10

20

【0064】

他の実施形態では、結合成分は、非共有結合性の相互作用によってナノ粒子に結合させることができ、これらとしては、限定されないが、親和性相互作用、金属配位、物理的吸着、疎水性相互作用、ファンデルワールス相互作用、水素結合相互作用、磁気相互作用、静電相互作用、双極子-双極子相互作用、抗体結合相互作用、および相補性DNA同士のハイブリダイゼーション相互作用などを挙げることができる。いくつかの実施形態では、結合成分は、ナノ粒子の脂質二重層部分に存在してもよく、この場合、ある特定の実施形態では、ナノ粒子はリボソームである。例えば、結合成分は、脂質二重層の疎水性領域および/または親水性領域と部分的または完全に相互作用する脂質またはリン脂質(例えば、飽和しているものでもよいし不飽和のものでもよいC₈-C₃₆アルキル)であり得る。いくつかの実施形態では、結合成分は、ナノ粒子との非共有結合性相互作用を可能にする1つの基を含むことができるが、複数の基も意図される。例えば、複数のイオン電荷を使用することによって、結合成分とナノ粒子との間の十分な非共有結合性相互作用を生じさせることができる。代替の実施形態では、結合成分は、複数の脂質が、リボソームの二重層膜、またはナノ粒子上にコーティングされた二重層もしくは単層と相互作用するように、複数の脂質を含むことができる。ある特定の実施形態では、周囲の溶液の条件を変化して非共有結合性相互作用を破壊し、それにより、ナノ粒子から結合成分を解離させることができる。

30

40

【0065】

本明細書においてさらに記載されるように、本発明の化合物のいくつかは、結合成分としてR¹、R²および/またはR³を含むことができる。いくつかの実施形態では、結合成分は、飽和もしくは不飽和C₁₀-C₂₄アルキル基、置換された飽和もしくは不飽和C₁₀-C₂₄アルキル基、またはコレステロールを含むことができる。ある特定の例示的な実施形態では、結合成分は、結合成分と脂質二重層との結合を容易にするように選択

50

することができる。例えば、二重結合の長さ、部位および構造ならびにノまたはアルキル基の置換は、脂質二重層との所望レベルの組み込みを提供して、例えば、標的化剤およびノまたはステルス剤などの他の成分をディスプレイするリボソームの表面特性の改変を可能にするように選択することができる。

【0066】

他の実施形態では、ホスホン酸化合物は、連結基 L^1 、 L^2 およびノまたは L^3 によって、ナノ粒子に直接結合させることができる。これらの実施形態では、 R^1 、 R^2 およびノまたは R^3 は、ナノ粒子であり得る。

連結基

【0067】

連結基は、本発明のホスホン酸化合物の別の特徴である。当業者であれば、様々な連結基が当技術分野において公知であり、例えば、以下の参考文献：Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, 2nd Ed., Academic Press, Inc. (2008)に見出し得ることを認識することができる。本発明の連結基を使用して、化合物の異なる部分間に間隔 (spacing) を提供するなど、さらなる特性を化合物に提供することができる。この間隔を使用して、例えば、ナノ粒子から離れて位置する標的化剤が標的に結合することができる場合に、例えば、ナノ粒子によって引き起こされる立体障害問題を克服することができる。いくつかの実施形態では、連結基を使用して、化合物の物理的特性を変化させることができる。

【0068】

いくつかの実施形態では、本発明のホスホン酸化合物は、それぞれが独立して連結基または結合であり得る L^1 、 L^2 、および L^3 を含む。ある特定の実施形態では、 L^1 、 L^2 、および L^3 はそれぞれ、独立して、親水性非免疫原性水溶性連結基であるように選択することができる。本発明の親水性非免疫原性水溶性連結基としては、限定されないが、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリカルボキシラート、多糖、およびデキストランを挙げることができる。当業者であれば、上で考察した間隔の検討事項などのある特定の用途のために、連結基の長さおよびノまたは化学特性を選択することができることを認識する。

【0069】

他の実施形態では、連結基は、例えば、 C_{1-30} アルキレン連結基または類似のヘテロアルキレン連結基 (炭素鎖が、O、NおよびSから選択される1個~10個のヘテロ原子によって中断されているアルキレン連結基) であり得る。あるいは、いくつかの実施形態では、連結基としては、フェニレン環またはヘテロアリールカウンターパートなどのアリール部分を挙げることができる。ある特定の実施形態では、連結基としては、結合成分について上に列挙した官能基を挙げることができる。官能基 (例えば、カルボキシル基) は、別の作用物質 (例えば、ステルス剤または標的化剤) をホスホン酸化合物に結合させるのに使用することができる。広い範囲の一般に周知の連結化学反応を用いて、当業者であれば、本明細書において記載される作用物質 (例えば、ステルス剤) に結合させるために連結基を使用することができる無数の方法を認識するであろう。

【0070】

ある特定の実施形態では、本発明の化合物は、例えば、本明細書においてさらに記載されるホスホン酸化合物に結合することができる連結骨格をさらに含むことができる。本発明の連結骨格は L^4 によって表され、アルキレン、アリーレンまたはこれらの組み合わせを挙げることができる。連結骨格としては、アルキレン連結骨格または類似のヘテロアルキレン連結骨格 (炭素鎖が、O、NおよびSから選択される1個~10個のヘテロ原子によって中断されているアルキレン連結基) を挙げることができる。連結骨格としては、アリーレン連結骨格 (例えば、フェニレン) または類似のヘテロアリーレン連結骨格 (芳香環中の炭素の少なくとも1つが、O、NおよびSから選択されるヘテロ原子で置換されているアリーレン連結骨格) も挙げることができる。いくつかの実施形態では、 L^4 としては、場合により、置換アルキレン、置換アリーレンまたはこれらの組み合わせを挙げるこ

10

20

30

40

50

とができる。例えば、アルキレンおよび/またはアリーレンは、アルキル、アミン、ニトリルおよびカルボン酸で置換され得る。

ステルス剤

【0071】

いくつかの実施形態では、ホスホン酸化合物は、少なくとも1つのステルス剤を含むことができる。例えば、ある特定の実施形態では、 R^1 、 R^2 、および R^3 は、独立して、ステルス剤であるように選択することができる。ステルス剤は、ナノ粒子が互いにおよび血液細胞または血管壁に粘着するのを防ぐことができる。ある特定の実施形態では、ステルスナノ粒子、例えばステルスリポソームは、ナノ粒子が被験体に投与される場合に、免疫原性および/または反応原性を減少させることができる。ステルス剤はまた、被験体内でのナノ粒子の血液循環時間を増加させることができる。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、例えば、ナノ粒子がステルス剤から部分的もしくは完全に構成されるか、またはナノ粒子がステルス剤でコーティングされるように、ステルス剤を含むことができる。本発明に使用するためのステルス剤としては、当技術分野において一般に周知のものを挙げることができる。適切なステルス剤としては、限定されないが、デンドリマー、ポリアルキレンオキシド、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリカルボキシレート、多糖、および/またはヒドロキシアルキルデンプンを挙げることができる。結合成分に関して上に記載したように、ステルス剤は、共有結合および/または非共有結合を介して、本明細書において記載されるホスホン酸化合物に結合させることができる。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるホスホン酸化合物へのステルス剤の結合は、ステルス剤の末端官能基（例えば、アミノ基）と官能基（例えば、カルボキシル基）を末端に有する連結基との間の反応を伴うことができる。

【0072】

ある特定の実施形態では、ステルス剤としては、ポリアルキレンオキシド、例えば「ポリエチレングリコール」を挙げることができるが、これは当技術分野において周知であり、一般に、エチレンオキシドのオリゴマーまたはポリマーを指す。ポリエチレングリコール(PEG)は直鎖状でもよいし分岐状でもよく、分岐状のPEG分子は、中心コアから出るさらなるPEG分子を有することができる。かつ/または複数のPEG分子は、ポリマー骨格にグラフトすることができる。当技術分野において理解されているように、ポリエチレングリコールはある分子量分布で生成することができ、その分布を使用してPEGの種類を特定することができる。例えば、PEG₅₀₀は、当技術分野において一般に公知の方法によって測定した場合に約500 g/molの平均分子量を有するPEG分子の分布によって特定される。あるいは、PEGは、以下の式： $H - [O - (CH_2)_2]_n - OH$ （式中、 n は、このポリマーに存在するモノマーの数である（例えば、 n は、1~200の範囲であり得る））によって表すことができる。例えば、PEG₁₀₀の分布では、 n が2に等しいPEGポリマーを挙げることができる。別の例では、PEG₁₀₀₀としては、 n が24に等しいPEG分子を挙げることができる。あるいは、PEG₅₀₀₀としては、 n が114に等しいPEG分子を挙げることができる。いくつかの実施形態では、上に示したように、PEGは、-OH基に代えてメチル基を末端に有することができる。

【0073】

ある特定の実施形態では、PEGとしては、低分子量または高分子量のPEG、例えばPEG₁₀₀、PEG₅₀₀、PEG₁₀₀₀、PEG₂₀₀₀、PEG₃₄₀₀、PEG₅₀₀₀、PEG₁₀₀₀₀、またはPEG₂₀₀₀₀を挙げることができる。いくつかの実施形態では、PEGは、PEG₁₀₀~PEG₁₀₀₀₀、またはPEG₁₀₀₀~PEG₁₀₀₀₀、またはPEG₁₀₀₀~PEG₅₀₀₀の範囲であり得る。ある特定の実施形態では、ステルス剤は、PEG₅₀₀、PEG₁₀₀₀、PEG₂₀₀₀、またはPEG₅₀₀₀であり得る。ある特定の実施形態では、PEGは、アミン、メチルエーテル、アルコール、またはカルボン酸を末端に有することができる。ある特定の実施形態では、ステルス剤としては、それぞれが連結基で互いに連結された少なくとも2つのP

EG分子を挙げることができる。連結基としては、上記のもの、例えばアミド結合 (amide linkage) を挙げることができる。いくつかの実施形態では、PEG化脂質は、ナノ粒子、例えばリポソームの二重層に、ナノ粒子を「ステルス」にするのに十分な量で存在し、ここで、ステルスナノ粒子は、減少した免疫原性を示す。

治療剤

【0074】

いくつかの実施形態では、本発明の化合物は、治療剤、診断剤、またはこれらの組み合わせを含むことができる。ある特定の実施形態では、治療剤および/または診断剤は、本発明のホスホン酸化合物と直接結合させることができる。例えば、治療剤および/または診断剤は、ホスホン酸化合物に共有結合させることができる。他の実施形態では、治療剤および/または診断剤は、本発明のホスホン酸化合物と結合したナノ粒子内、該ナノ粒子上、または該ナノ粒子周囲のどこにでも存在することができる。いくつかの実施形態では、治療剤および/または診断剤は、ナノ粒子に包埋するか、ナノ粒子に封入するか、またはナノ粒子に係留することができる。ある特定の実施形態では、ナノ粒子はリポソームであり、診断剤および/または治療剤は、該リポソームに封入されている。

10

【0075】

本発明に使用される治療剤は、被験体における状態を処置するように向けられた任意の薬剤を含むことができる。一般に、限定されないが、United States Pharmacopeia (U.S.P.), Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th Ed., McGraw Hill, 2001; Katzung, Ed., Basic and Clinical Pharmacology, McGraw-Hill/Appleton & Lange, 8th ed., September 21, 2000; Physician's Desk Reference (Thomson Publishing; および/または The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, 18th ed., 2006, Beers and Berkow, Eds., Merck Publishing Group; または、動物の場合には、The Merck Veterinary Manual, 9th ed., Kahn Ed., Merck Publishing Group, 2005 (これらの文献はすべて、参照により本明細書に組み込まれる) に列挙されている薬剤を含む当技術分野において公知の任意の治療剤を使用することができる。

20

30

【0076】

治療剤は、処置されることが所望される疾患の種類に応じて選択することができる。例えば、ある特定の種類のがんまたは腫瘍、例えば、癌、肉腫、白血病、リンパ腫、骨髄腫、および中枢神経系がん、ならびに固形腫瘍および混合腫瘍は、同じまたは場合により異なる治療剤の投与を伴い得る。ある特定の実施形態では、被験体におけるがん状態を処置するかまたは該がん状態に影響を与えるように治療剤を送達することができ、治療剤としては、化学療法剤、例えば、アルキル化剤、代謝拮抗剤、アントラサイクリン、アルカロイド、トポイソメラーゼ阻害剤、および他の抗がん剤を挙げることができる。いくつかの実施形態では、上記薬剤としては、アンチセンス剤、マイクロRNA剤、siRNA剤および/またはshRNA剤を挙げることができる。

40

【0077】

いくつかの実施形態では、治療剤としては、限定されないが、アバスチン、ドキシソルピシン、シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチン、5-フルオロウラシル、ゲムシタピン (gemcitabine)、またはタキサン、例えば、パクリタキセルおよびドセタキセルを含む抗がん剤または細胞傷害剤を挙げることができる。さらなる抗がん剤としては、限定されないが、20-epi-1, 25ジヒドロキシビタミンD3, 4-イポメアノール、5-エチニルウラシル、9-ジヒドロタキソール、アビラテロン、アシピシン、アクラルピシン、アコダゾール塩酸塩、アクロニン、アシルフルベン、アデシペノール、アドゼレシン、アルデスロイキン、全ての-tkアンタゴニスト、アルトレタミン

50

、アンバムスチン、アンボマイシン、酢酸アメタントロン、アミドックス (amidox)、アミホスチン、アミノグルテチミド、アミノレプリン酸、アムルピシン、アムサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アンドログラホリド、新脈管形成阻害剤、アンタゴニストD、アンタゴニストG、アンタレリクス (antarelix)、アントラマイシン、；抗背側形態形成タンパク質 - 1 (anti-dorsalizing morphogenetic protein - 1)、抗エストロゲン剤、アンチネオプラストン、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アフィディコリングリシネート、アポトーシス遺伝子モジュレーター、アポトーシス制御因子、アプリン酸、ARA - CDP - DL - PTB A、アルギニンデアミナーゼ、アスパラギナーゼ、アスペルリン、アスラクリン、アタメスタン、アトリムスチン、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキシナスタチン3、アザシチジン、アザセトロン、アザトキシン、アザチロシン、アゼテパ、アゾトマイシン、パッカチンIII誘導体、パラノール、パチマスタット、ベンゾクロリン、ベンゾデパ、ベンゾイルスタウロスポリン、ベータラクタム誘導体、 - アレチン、ベタクラマイシンB、ベツリン酸、BFGF阻害剤、ピカルタミド、ピサントレン、ピサントレン塩酸塩、ビスアジリジニルスペルミン、ビスナフィド、ジメシル酸ビスナフィド、ピストラテンA、ピゼレシン、プレオマイシン、硫酸プレオマイシン、BRC / ABLアンタゴニスト、プレフレート、プレキナルナトリウム、プロピリミン、ブドチタン、ブスルファン、ブチオニンスルホキシミン、カクチノマイシン、カルシボトリオール、カルホスチンC、カルステロン、カンプトテシン誘導体、カナリアボックスIL - 2、カベシタピン、カラセミド、カルベチマー、カルボプラチン、カルボキサミド - アミノ - トリアゾール、カルボキシアミドトリアゾール、カレストM3、カルムスチン、cam700、軟骨由来阻害因子、カルピシン塩酸塩、カルゼレシン、カゼインキナーゼ阻害剤、カスタノスペルミン、セクロピンB、セデフィンゴール、セトロレリクス、クロラムブシル、クロリン、クロロキノキサリンスルホンアミド、シカプロスト、シロレマイシン、シスプラチン、cis - ポルフィリン、クラドリピン、クロミフェン類似体、クロトリマゾール、コリスマイシンA、コリスマイシンB、コンプレタスタチンA4、コンプレタスタチン類似体、コナゲニン、クランベシジン816 (crambescidin 816)、クリスナトール、メシル酸クリスナトール、クリプトフィシン8、クリプトフィシンA誘導体、キュラシンA、シクロペンタアントラキノン、シクロホスファミド、シクロプラタム、シペマイシン、シタラピン、シタラピンオクホスフェート、細胞溶解因子、シトスタチン、ダカルバジン、ダクリキシマブ、ダクチノマイシン、ダウノルピシン塩酸塩、デシタピン、デヒドロジデムニンB、デスロレリン、デキシホスファミド、デキソルマプラチン、デクスラゾキサソ、デクスベラパミル、デザグアニン、メシル酸デザグアニン、ジアジコン、ジデムニンB、ジドックス、ジエチルノルスペルミン、ジヒドロ - 5 - アザシチジン、ジオキサマイシン、ジフェニルスピロムスチン、ドセタキセル、ドコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドキシソルピシン、ドキシソルピシン塩酸塩、ドロロキシフェン、クエン酸ドロロキシフェン、プロピオン酸ドロモスタノロン、ドロナビノール、ズアゾマイシン (duazomycin)、デュオカルマイシンSA、エブセレン、エコムスチン、エダトレキサート、エデルホシン、エドレコロマブ、エフロミチン、塩酸エフロミチン、エレメン、エルサミトルシン、エミテフル、エンロプラチン、エンプロメート、エピプロピジン、エピルピシン、エピルピシン塩酸塩、エプリステリド、エルプロゾール、赤血球遺伝子療法ベクターシステム、塩酸エソルピシン、エストラムスチン、エストラムスチン類似体、リン酸エストラムスチンナトリウム、エストロゲンアゴニスト、エストロゲンアンタゴニスト、エタニダゾール、エトポシド、リン酸エトポシド、エトプリン、エキセメスタン、ファドロゾール、塩酸ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステリド、フラボピリドール、フレゼラスチン、フロクスウリジン、フルアステロン、フルダラビン、リン酸フルダラビン、塩酸フルオロダウノルニシン、フルオロウラシル、フルオロシタピン、ホルフェニメクス、フォルメスタン、ホスキドン、ホストリエシン、ホストリエシンナトリウム、ホテムスチン、ガドリニウムテキサフィリン、硝酸ガリウム、ガロシタピン、ガニレリクス、ゼラチナーゼ阻害剤、ゲムシタピン、塩

10

20

30

40

50

酸ゲムシタピン、グルタチオン阻害剤、ヘブスルファミ、ヘレグリン、ヘキサメチレンビスアセトアミド、ヒドロキシウレア、ヒペリシン、イバンドロン酸、イダルピシン、塩酸イダルピシン、イドキシフェン、イドラマントン、イホスファミド、イルモホシン、イロマスタット、イミダゾアクリドン、イミキモド、免疫賦活ペプチド、インスリン様増殖因子-1受容体阻害剤、インターフェロンアゴニスト、インターフェロンアルファ-2A、インターフェロンアルファ-2B、インターフェロンアルファ-N1、インターフェロンアルファ-N3、インターフェロンベータ-I A、インターフェロンガンマ-I B、インターフェロン、インターロイキン、イオベングアン、ヨードキシソルピシン、イプロプラチン、イリノテカン、塩酸イリノテカン、イロプラクト、イルソグラジン、イソベンガゾール、イソホモハリコンドリンB、イタセトロン、ジャスブラキノリド、カハラリドF、ラメラリン-Nトリアセテート、ランレオチド、酢酸ランレオチド、レイナマイシン、レノグラスチム、硫酸レンチナン、レプトルスタチン、レトロゾール、白血病抑制因子、白血球アルファインターフェロン、酢酸ロイプロリド、ロイプロリド/エストロゲン/プロゲステロン、リュープロレリン、レバミゾール、リアロゾール、塩酸リアロゾール、直鎖ポリアミン類似体、親油性二糖ペプチド、親油性白金化合物、リソクリナミド7(Lissoclinamide 7)、ロバプラチン、ロンブリシン(Lombricine)、ロメトレキソール、ロメトレキソールナトリウム、ロムスチン、ロニダミン、ロソキサントロン、塩酸ロソキサントロン、ロバスタチン、ロキソリピン、ルルトテカン(Lurtotecan)、ルテチウムテキサフィリン、リソフィリン、溶解性ペプチド、メイタンシン(maitansine)、マンノスタチンA、マリマスタット、マソプロコール、マスピン、マトリライシン阻害剤、マトリックスメタロプロテイナーゼ阻害剤、メイタンシン、塩酸メクロレタミン、酢酸メゲストロール、酢酸メレンゲストロール、メルファラン、メノガリル、メルパロン、メルカプトプリン、メテレリン、メチオニナーゼ、メトトレキセート、メトトレキセートナトリウム、メトクロプラミド、メトプリン、メツレデバ、微細藻類プロテインキナーゼC阻害剤、MIF阻害剤、ミフェプリストン、ミルテホシン、ミリモスチム、ミスマッチ二本鎖RNA、ミチンドミド、ミトカルシン、ミトクロミン、ミトギリン、ミトグアゾン、ミトラクトール、ミトマルシン、マイトマイシン、マイトマイシン類似体、ミトナフィド、ミトスペル、ミトタン、マイトトキシシン線維芽細胞増殖因子-サポリン、ミトキサントロン、塩酸ミトキサントロン、モファロテン、モルグラモスチム、モノクローナル抗体、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、モノホスホリル脂質a/MiOバクテリウム細胞壁SK、モビダモール、多剤耐性遺伝子阻害剤、多発性腫瘍抑制因子1に基づく療法、マスタード抗がん剤、ミカペルオキシドB、マイコバクテリア細胞壁抽出物、ミコフェノール酸、ミリアポロン、n-アセチルジナリン、ナファレリン、ナグレスチブ、ナロキソン/ペンタゾシン、ナパビン、ナフテルピン、ナルトグラスチム、ネダプラチン、ネモルピシン、ネリドロロン酸、中性エンドペプチダーゼ、ニルタミド、ニサマイシン、一酸化窒素モジュレーター、窒素酸化物抗酸化剤、ニトルリン、ノコダゾール、ノガラマイシン、n-置換ベンズアミド、06-ベンジルグアニン、オクトレオチド、オキセノン、オリゴヌクレオチド、オナプリストン、オンダンセトロン、オラシン、経口サイトカイン誘導物質、オルマプラチン、オサテロン、オキサリプラチン、オキサウノマイシン、オキシスラン、パクリタキセル、パクリタキセル類似体、パクリタキセル誘導体、パラウアミン、パルミトイルリゾキシシン、パミドロロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、パラバクチン、パゼリプチン、ペグアスパラガーゼ、ペルデシン、ペリオマイシン、ペンタムスチン、ペントサンポリサルフェートナトリウム、ペントスタチン、ペントロゾール、硫酸ペプロマイシン、ペルフルブロン、ペルホスファミド、ペリリルアルコール、フェナジノマイシン、フェニルアセテート、ホスファターゼ阻害剤、ピシバニール、塩酸ピロカルピン、ピボプロマン、ピボスルファン、ピラルピシン、ピリトレキシム、塩酸ピロキサントロン、プラセチンA、プラセチンB、プラスミノーゲンアクチベーターインヒビター、白金錯体、白金化合物、白金-トリアミン錯体、プリカマイシン、プロメスタン、ポルフィマーナトリウム、ポルフィロマイシン、プレドニムスチン、塩酸プロカルバジン、プロピルビス-アクリドン、プロスタグランジンJ2、前立腺癌抗アンドロゲ

10

20

30

40

50

ン剤、プロテアソーム阻害剤、プロテインAに基づく免疫モジュレーター、プロテインキナーゼC阻害剤、タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤、ピューロマイシン、塩酸ピューロマイシン、プルプリン、ピラゾフリン、ピラゾロアクリジン、ピリドキシル化ヘモグロビンポリオキシエチレンコンジュゲート、RAFアンタゴニスト、ラルチトレキセド、ラモセトロン、RASファルネシルタンパク質トランスフェラーゼ阻害剤、RAS阻害剤、RAS-GAP阻害剤、脱メチル化レトリプチン、レニウムRE186エチドロネート、リゾキシム、リボプリン、リボザイム、RIIレチナミド、RNAi、ログレチミド、ロヒツキン、ロムルチド、ロキニメクス、ルピギノンB1、ルボキシム、サフィンゴール、塩酸サフィンゴール、サイントピン、sarcnu、サルコフィトールA、サルグラモスチム、SDI 1模倣体、セムスチン、老化由来阻害因子1 (senescence derived inhibitor 1)、センスオリゴヌクレオチド、シグナル伝達阻害剤、シグナル伝達モジュレーター、シムトラゼン、単鎖抗原結合タンパク質、シゾフィラン (sizofuran)、ソブゾキサム、ポロカプテイトナトリウム、フェニル酢酸ナトリウム、ソルベロール、ソマトメジン結合タンパク質、ソネルミン、スパルホス酸ナトリウム、スパルホス酸、スパルソマイシン、スピカマイシンD、塩酸スピロゲルマニウム、スピロムスチン、スピロプラチン、スプレノペンチン、スポンギスタチン1、スクアラミン、幹細胞阻害剤、幹細胞分裂阻害剤、スチピアミド、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ストロメライシン阻害剤、スルフィノシン、スロフェヌル、超活性血管作用性腸ペプチドアンタゴニスト、スラジスタ、スラミン、スワインソニン、合成グリコサミノグリカン、タリソマイシン、タリムスチ

10

20

ン、タモキシフェンメチオジド、タウロムスチン、タザロテン、テコガランナトリウム、テガフル、テルラピリリウム、テロメラゼ阻害剤、塩酸テロキサントロン、テモボルフィン、テモゾロミド、テニボシド、テロキシロン、テストラクトン、テトラクロロデカオキシド、テトラゾミン、タリブラスチン、サリドマイド、チアミプリン、チオコラリン、チオグアニン、チオテバ、トロンボボエチン、トロンボボエチン模倣体、チマルファシン、サイモボエチン受容体アゴニスト、チモトリナン、甲状腺刺激ホルモン、チアゾフリン、スズエチルエチオプルプリン、チラパザミン、二塩化チタノセン、塩酸トポテカン、トブセンチン、トレミフェン、クエン酸トレミフェン、全能性幹細胞因子、翻訳阻害剤、酢酸トレストロン、トレチノイン、トリアセチルウリジン、トリシリピン、リン酸トリシリピン、トリメトレキセート、グルクロン酸トリメトレキセート、トリプトレリン、トロピセトロン、塩酸ツプロゾール、ツロステリド、チロシンキナーゼ阻害剤、チロホスチン (tyrphostin)、UBC阻害剤、ウベニメクス、ウラシルマスタード、ウレデパ、尿生殖洞由来増殖阻害因子、ウロキナーゼ受容体アンタゴニスト、バブレオチド、バリオリンB、ベラレソール、ベラミン、ベルジン、ベルテボルフィン、硫酸ピンブラスチン、硫酸ピンクリスチン、ピンデシン、硫酸ピンデシン、硫酸ピネビジン、硫酸ピングリシネート、硫酸ピンロイロシン、ピノレルピン、酒石酸ピノレルピン、硫酸ピンロシジン、ピンキサルチン、硫酸ピンゾリジン、ピタキシム、ポロゾール、ザノテロン、ゼニプラチン、ジラスコルブ、ジノスタチン、ジノスタチンスチマラマー、またはゾルピシン塩酸塩を挙げることができる。

30

40

【0078】

いくつかの実施形態では、治療剤は、2つ以上の治療剤の投与を含む薬剤カクテルの一部であり得る。例えば、シスプラチンおよびオキサリプラチンの両方を有するリボソームを投与することができる。加えて、治療剤は、免疫刺激アジュバント、例えば、アルミニウムゲルもしくはアルミニウム塩のアジュバント (例えば、リン酸アルミニウム (aluminum phosphate) または水酸化アルミニウム)、リン酸カルシウム、エンドトキシン、およびツール様受容体アジュバントなどの前、それらの後、またはそれらとともに送達することができる。

【0079】

本発明の治療剤は、治療用途に使用するための放射性核種も含むことができる。例えば

50

、 ^{111}In などのオージェ電子のエミッターを、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)または1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸(DOTA)などのキレートと結合させて、処置に使用するべき標的化送達組成物、例えばリポソームに含めることができる。他の適切な放射性核種および/または放射性核種-キレートの結合としては、限定されないが、ベータ放射性核種(^{177}Lu 、 ^{153}Sm 、 $^{88/90}\text{Y}$)とDOTA、 ^{64}Cu -TETA、 $^{188/186}\text{Re}(\text{CO})_3$ -IDA; $^{188/186}\text{Re}(\text{CO})$ トリアミン(環状または直鎖状)、 $^{188/186}\text{Re}(\text{CO})_3$ -Enpy 2、および $^{188/186}\text{Re}(\text{CO})_3$ -DTPAを挙げることができる。

【0080】

上記のように、本発明に使用される治療剤は、ナノ粒子に包埋するか、ナノ粒子に封入するか、またはナノ粒子に係留するなどの様々な方法でナノ粒子に結合させることができる。治療剤の充填は、例えば、以下の参考文献: de Villiers, M. Mら、Eds., *Nanotechnology in Drug Delivery*, Springer (2009); Gregoriadis, G., Ed., *Liposome Technology: Entrapment of drugs and other materials into liposomes*, CRC Press (2006)に開示されている当技術分野において公知の様々な方法によって行うことができる。一実施形態群では、1つまたは複数の治療剤をリポソームに充填することができる。リポソームの充填は、例えば、能動的または受動的に行うことができる。例えば、治療剤がリポソーム内に封入されるように、溶液中でのリポソームの自己組織化プロセスの間に治療剤を含めることができる。ある特定の実施形態では、治療剤は、リポソーム二重層に、または多重膜リポソームの複数の層内に包埋することもできる。代替の実施形態では、治療剤は、リポソームに能動的に充填することができる。例えば、治療剤を含有する溶液に対して二重層膜を透過性にするような条件(例えば、エレクトロポレーション)にリポソームを曝露し、それにより、治療剤がリポソームの内部体積に入ることを可能にすることができる。

診断剤

【0081】

本発明に使用される診断剤は、例えば、以下の参考文献: Armstrongら、*Diagnostic Imaging*, 5th Ed., Blackwell Publishing (2004); Torchilin, V. P., Ed., *Targeted Delivery of Imaging Agents*, CRC Press (1995); Vallabhajosula, S., *Molecular Imaging: Radiopharmaceuticals for PET and SPECT*, Springer (2009)に示されている当技術分野において公知の任意の診断剤を挙げることができる。ある特定の実施形態では、 R^1 、 R^2 、および R^3 は、独立して、診断剤であるように選択することができる。診断剤は、限定されないが、放射シグナル、放射性シグナル、エコー源性シグナル、光学シグナル、蛍光シグナル、吸収シグナル、磁気シグナル、または断層撮影シグナルを含む検出可能なシグナルを提供および/または増強する薬剤を含む様々な方法によって検出することができる。診断剤をイメージングするための技術としては、限定されないが、単光子放出コンピュータ断層撮影(SPECT)、磁気共鳴イメージング(MRI)、光学的イメージング、ポジトロン放出断層撮影(PET)、コンピュータ断層撮影(CT)、X線イメージング、および線イメージングなどを挙げることができる。

【0082】

いくつかの実施形態では、診断剤は、例えば、様々な画像診断技術に使用される金属イオンに結合するキレターを含むことができる。例示的なキレターとしては、限定されないが、エチレンジアミン四酢酸(EDTA)、[4-(1,4,8,11-テトラアザシクロテトラデカ-1-イル)メチル]安息香酸(CPTA)、シクロヘキサンジアミン

10

20

30

40

50

四酢酸 (CDTA)、エチレンビス(オキシエチレンニトリロ)四酢酸 (EGTA)、ジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA)、クエン酸、ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸 (HEDTA)、イミノ二酢酸 (IDA)、トリエチレンテトラアミン六酢酸 (THA)、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-テトラ(メチレンホスホン酸) (DOTP)、1, 4, 8, 11-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 8, 11-四酢酸 (TETA)、1, 4, 7, 10-テトラアザシクロドデカン-1, 4, 7, 10-四酢酸 (DOTA)、およびこれらの誘導体が挙げられる。

【0083】

放射性同位体は、本明細書において記載される診断剤のいくつかを組み込むことができ、放射性同位体としては、線、ポジトロン、粒子および粒子、ならびにX線を放出する放射性核種を挙げることができる。適切な放射性核種としては、限定されないが、²²⁵Ac、⁷²As、²¹¹At、¹¹B、¹²⁸Ba、²¹²Bi、⁷⁵Br、⁷⁷Br、¹⁴C、¹⁰⁹Cd、⁶²Cu、⁶⁴Cu、⁶⁷Cu、¹⁸F、⁶⁷Ga、⁶⁸Ga、³H、¹²³I、¹²⁵I、¹³⁰I、¹³¹I、¹¹¹In、¹⁷⁷Lu、¹³N、¹⁵O、³²P、³³P、²¹²Pb、¹⁰³Pd、¹⁸⁶Re、¹⁸⁸Re、⁴⁷Sc、¹⁵³Sm、⁸⁹Sr、^{99m}Tc、⁸⁸Yおよび⁹⁰Yが挙げられる。ある特定の実施形態では、放射性作用物質としては、¹¹¹In-DTPA、^{99m}Tc(CO)₃-DTPA、^{99m}Tc(CO)₃-ENPy2、⁶²/⁶⁴/⁶⁷Cu-TETA、^{99m}Tc(CO)₃-IDA、および^{99m}Tc(CO)₃トリアミン(環状または直鎖状)を挙げることができる。他の実施形態では、作用物質としては、¹¹¹In、¹⁷⁷Lu、¹⁵³Sm、⁸⁸/⁹⁰Y、⁶²/⁶⁴/⁶⁷Cu、または⁶⁷/⁶⁸Gaを含むDOTAおよびその種々の類似体を挙げることができる。いくつかの実施形態では、リポソームは、例えば、以下の参考文献：Phillipsら、Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology, 1(1): 69-83 (2008); Torchilin, V. P. & Weissig, V., Eds. Liposomes 2nd Ed.: Oxford Univ. Press (2003); Elbayoumi, T. A. & Torchilin, V. P., Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 33: 1196 - (2006); Mouglin-Degraef, Mら、Int'l J. Pharmaceutics 344: 110-117 (2007)に示されているようなキレートに結合した脂質、例えばDTPA-脂質を組み込むことによって放射標識することができる。

10

20

30

【0084】

他の実施形態では、診断剤としては、光学剤、例えば、蛍光剤、リン光剤、および化学発光剤などを挙げることができる。多数の剤(例えば、色素、プローブ、標識、または指示薬)が当技術分野において公知であり、本発明に使用することができる。(例えば、Invitrogen, The Handbook - A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies, Tenth Edition (2005)を参照のこと)。蛍光剤としては、様々な有機および/もしくは無機の低分子、または様々な蛍光タンパク質、およびこれらの誘導体を挙げることができる。例えば、蛍光剤としては、限定されないが、シアニン、フタロシアニン、ポルフィリン、インドシアニン、ローダミン、フェノキサジン、フェニルキサンテン、フェノチアジン、フェノセレナジン、フルオレセイン、ベンゾポルフィリン、スクアライン、ジピロロピリミドン、テトラセン、キノリン、ピラジン、コリン、クロコニウム、アクリドン、フェナントリジン、ローダミン、アクリジン、アントラキノン、カルコゲノピリリウム類似体、クロリン、ナフタロシアニン、メチン色素、インドレニウム色素、アゾ化合物、アズレン、アザアズレン、トリフェニルメタン色素、インドール、ベンゾインドール、インドカルボシアニン、ベンゾインドカルボシアニン、および4, 4'-ジフルオロ-4'-ボラ-3a, 4a'-ジアザ-s'-インダセンの一般構造を有するBODIPY(商標)誘導体、ならびに/またはこれらの任意のコンジュゲートおよび/もしくは誘導体

40

50

を挙げることができる。使用され得る他の剤としては、限定されないが、例えば、フルオレセイン、フルオレセイン-ポリアスパラギン酸コンジュゲート、フルオレセイン-ポリグルタミン酸コンジュゲート、フルオレセイン-ポリアルギニンコンジュゲート、インドシアニングリーン、インドシアニン-ドデカアスパラギン酸コンジュゲート、インドシアニン-ポリアスパラギン酸コンジュゲート、イソスルファンブルー、インドールジスルホネート、ベンゾインドールジスルホネート、ビス(エチルカルボキシメチル)インドシアニン、ビス(ペンチルカルボキシメチル)インドシアニン、ポリヒドロキシインドールスルホネート、ポリヒドロキシベンゾインドールスルホネート、リジッドヘテロ原子インドールスルホネート(rigid heteroatomic indole sulfonate)、インドシアニンビスプロパン酸、インドシアニンビスヘキサノ酸、3,6-ジシアノ-2,5-[(N,N,N',N'-テトラキス(カルボキシメチル)アミノ]ピラジン、3,6-[(N,N,N',N'-テトラキス(2-ヒドロキシエチル)アミノ]ピラジン-2,5-ジカルボン酸、3,6-ビス(N-アザテジノ)ピラジン-2,5-ジカルボン酸、3,6-ビス(N-モルホリノ)ピラジン-2,5-ジカルボン酸、3,6-ビス(N-ピペラジノ)ピラジン-2,5-ジカルボン酸、3,6-ビス(N-チオモルホリノ)ピラジン-2,5-ジカルボン酸、3,6-ビス(N-チオモルホリノ)ピラジン-2,5-ジカルボン酸S-オキシド、2,5-ジシアノ-3,6-ビス(N-チオモルホリノ)ピラジンS,S-ジオキシド、インドカルボシアニンテトラスルホネート、クロロインドカルボシアニン、および3,6-ジアミノピラジン-2,5-ジカルボン酸が挙げられる。

10

20

【0085】

当業者であれば、使用される特定の光学剤が、励起に使用される波長、皮膚組織下の深さ、当技術分野において一般に周知の他の要因に依存し得ることを認識する。例えば、光学剤についての最適な吸収極大または、励起極大は、使用される剤に応じて変化し得るが、一般に、本発明の光学剤は、電磁スペクトルの紫外(UV)、可視、または赤外(IR)範囲の光を吸収するか、またはこれらの光によって励起される。イメージングについては、近IRで吸収および放出する色素(約700~900nm、例えば、インドシアニン)が好ましい。内視鏡的方法を使用する局所視覚化については、可視範囲で吸収する任意の色素が適切である。

【0086】

いくつかの実施形態では、本発明のプロセスにおいて使用される非イオン化放射線は、約350nm~約1200nmの波長の範囲であり得る。例示的な一実施形態では、蛍光剤は、電磁スペクトルの可視部分の青色範囲の波長(約430nm~約500nm)を有する光によって励起することができ、電磁スペクトルの可視部分の緑色範囲の波長(約520nm~約565nm)で発光する。例えば、フルオレセイン色素は、約488nmの波長を有する光で励起することができ、約520nmの発光波長を有する。別の例として、3,6-ジアミノピラジン-2,5-ジカルボン酸は、約470nmの波長を有する光で励起することができ、約532nmの波長で蛍光を発する。別の実施形態では、光学剤の励起波長および発光波長は、電磁スペクトルの近赤外範囲に入り得る。例えば、インドシアニングリーンなどのインドシアニン色素は、約780nmの波長を有する光で励起

30

40

【0087】

さらに他の実施形態では、診断剤は、限定されないが、例えば、ヨウ素系X線造影剤、超常磁性酸化鉄(SPIO)、およびガドリニウムまたはマンガンの錯体などを含む当技術分野において一般に周知の磁気共鳴(MR)造影剤およびX線造影剤を含むことができる。(例えば、Armstrongら、Diagnostic Imaging, 5th Ed., Blackwell Publishing(2004)を参照のこと)。いくつかの実施形態では、診断剤は、磁気共鳴(MR)イメージング剤を含むことができる。例示的な磁気共鳴剤としては、限定されないが、常磁性剤、および超常磁性剤などが挙げられる。例示的な常磁性剤としては、限定されないが、ガドペンテト酸、ガドテル酸、ガ

50

ドジアミド、ガドリニウム、ガドテリドール、マンガホジピル、ガドベルセタミド、クエン酸第二鉄アンモニウム、ガドベン酸、ガドブトロール、またはガドキセト酸を挙げることができる。超常磁性剤としては、限定されないが、超常磁性酸化鉄およびフェリスチン酸を挙げることができる。ある特定の実施形態では、診断剤は、例えば、以下の参考文献：H. S. Thomsen, R. N. Muller and R. F. Mattrey, Eds., Trends in Contrast Media, (Berlin: Springer-Verlag, 1999); P. Dawson, D. Cosgrove and R. Grainger, Eds., Textbook of Contrast Media (ISIS Medical Media 1999); Torchilin, V. P., Curr. Pharm. Biotech. 1: 183 - 215 (2000) ; Bogdanov, A. A., Adv. Drug Del. Rev. 37: 279 - 293 (1999); Sachse, A., Investigative Radiology 32 (1): 44 - 50 (1997) に示されている X 線造影剤を挙げることができる。X 線造影剤の例としては、限定されないが、イオパミドール、イオメブロール、イオヘキソール、イオペントール、イオプロミド、イオシミド、イオベルソール、イオトロラン、イオタスル、イोजキサノール、イオデシモール、イオグルカミド、イオグルニド、イオグラミド、イオサルコール、イオキシラン、イオパミロン、メトリザミド、イオビトリドール、およびイオシメノールが挙げられる。ある特定の実施形態では、X 線造影剤としては、イオパミドール、イオメブロール、イオプロミド、イオヘキソール、イオペントール、イオベルソール、イオビトリドール、イोजキサノール、イオトロラン、およびイオシメノールを挙げることができる。

【0088】

上記治療剤と同様に、診断剤は、例えば、ナノ粒子に包埋され、ナノ粒子に封入され、またはナノ粒子に係留される工程を含む様々な方法でナノ粒子に結合させることができる。同様に、診断剤の充填は、例えば、以下の参考文献：de Villiers, M. M., Eds., Nanotechnology in Drug Delivery, Springer (2009); Gregoriadis, G., Ed., Liposome Technology: Entrapment of drugs and other materials into liposomes, CRC Press (2006) に開示されている当技術分野において公知の様々な方法によって行うことができる。

標的化剤

【0089】

いくつかの実施形態では、本発明のホスホン酸化合物は、少なくとも1つの標的化剤も含むことができる。例えば、ある特定の実施形態では、 R^1 、 R^2 、 R^3 、 R^4 、 R^5 および R^6 は、独立して、標的化剤であるように選択することができる。一般に、本発明の標的化剤は、器官、組織、細胞、細胞外マトリックス、または細胞内領域に関連した標的などの、対象とする任意の標的に結合することができる。ある特定の実施形態では、標的は、がん状態などの特定の疾患状態に関連し得る。あるいは、標的化剤は、例えば、細胞、組織、および/または被験体の特定の疾患および/または特定の状態を示す標的を有することができる1つまたは複数の特定の種類の細胞を標的にすることができる。いくつかの実施形態では、標的化剤は、受容体などの唯一の標的に特異的であり得る。適切な標的としては、限定されないが、DNA、RNAなどの核酸、またはこれらの改変誘導体を挙げることができる。適切な標的としては、限定されないが、タンパク質、例えば、細胞外タンパク質、受容体、細胞表面受容体、腫瘍マーカー、膜貫通タンパク質、酵素、または抗体も挙げることができる。適切な標的としては、例えば、細胞表面に存在し得る単糖、二糖、または多糖などの炭水化物を挙げることができる。ある特定の実施形態では、適切な標的としては、MUC-1およびMUC-4などのムチン、EGFRなどの増殖因子受容体、クローディン4、ヌクレオリンなどの核小体リンタンパク質、CCR7などのケモカイン受容体、ソマトスタチン受容体4、Erb-B2 (赤芽球性白血病発がん遺伝子相

同体 2) 受容体、CD44 受容体、ならびに VEGF 受容体 - 2 キナーゼなどの受容体を挙げるができる。

【0090】

ある特定の実施形態では、標的化剤としては、標的リガンドの低分子模倣体（例えば、ペプチド模倣リガンド）、標的リガンド（例えば、RGD ペプチド含有ペプチド、もしくは葉酸アミド）、または特定の標的に特異的な抗体もしくは抗体断片を挙げるができる。いくつかの実施形態では、標的化剤としては、葉酸誘導体、B-12 誘導体、インテグリン RGD ペプチド、NGR 誘導体、およびソマトスタチン受容体に結合するソマトスタチン誘導体またはペプチド、例えば、オクトレオチドおよびオクトレオテートなどをさらに挙げるができる。

10

【0091】

本発明の標的化剤としては、アプタマーも挙げるができる。アプタマーは、対象とする標的に結合する (associate) または結合する (bind) ように設計することができる。アプタマーは、例えば、DNA、RNA、および/またはペプチドから構成され得、アプタマーの特定の側面は、当技術分野において周知である。（例えば、Kl ussman, S., Ed., The Aptamer Handbook, Wiley-VCH (2006); Nissenbaum, E.T., Trends in Biotech. 26 (8): 442-449 (2008) を参照のこと）。本発明では、適切なアプタマーは、直鎖状であっても、環化されていてもよく、約 150 塩基未満（すなわち、約 150 mer 未満）を有するオリゴヌクレオチドを含むことができる。アプタマーは、約 100 塩基～約 150 塩基または約 80 塩基～約 120 塩基の長さの範囲であり得る。ある特定の実施形態では、アプタマーは、約 12 塩基～約 40 塩基、約 12 塩基～約 25 塩基、約 18 塩基～約 30 塩基、または約 15 塩基～約 50 塩基の範囲であり得る。アプタマーは、適切な標的（これは疾患状態で存在または発現しており、限定されないが、本明細書において言及される標的部位を含む）とともに使用するために開発することができる。

20

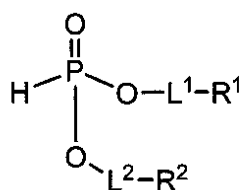
IV. ホスホン酸化合物および関連成分を調製する方法

【0092】

ホスホン酸化合物は、様々な方法で生成することができる。一態様では、本発明は、ホスホン酸化合物を調製する方法を含み、この方法は、式：

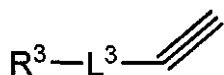
30

【化 20】



を有する H-ホスホン酸化合物、および式：

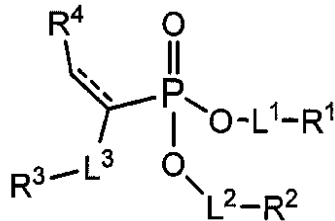
【化 21】



40

を有するアルキン化合物を触媒の存在下で結合させて、式：

【化 2 2】



(式中、

【化 2 3】

==

10

によって特定される結合は、単結合または二重結合であり； L^1 、 L^2 および L^3 はそれぞれ連結基であり； R^1 、 R^2 および R^3 はそれぞれ、独立して、結合成分、標的化剤、診断剤およびステルス剤からなる群より選択され； R^4 は、H および $-P(=O)(OL^1-R^1)(OL^2-R^2)$ からなる群より選択されるメンバーであり、 R^4 が H 以外である場合、

【化 2 4】

==

20

によって特定される結合は、単結合である)を有するホスホン酸化合物を形成する工程を含む。

【0093】

本明細書において提供されるように、H - ホスホン酸化合物およびアルキン化合物を用いる反応を使用して、結合成分、標的化剤、診断剤、治療剤、ステルス剤またはこれらの組み合わせを含むことができる多種多様な化合物を生成することができる。さらに、これらの化合物を作製する方法をナノ粒子と組み合わせて、出発物質の1つ(例えば、アルキン化合物)をナノ粒子に結合させながら、化合物の合成を可能にすることができる。

【0094】

当業者であれば、本発明のホスホン酸化合物を生成するのに使用され得る様々な合成方法を認識するであろう。例えば、図1に示されているように、アルキン化合物をそれぞれリポソームに結合させ、H - ホスホン酸化合物と結合させて、ホスホン酸化合物をリポソーム表面上に合成することにより、例えば、標的化剤および/またはステルス剤を提示することができる。図1に示されているように、結合成分 R^3 を用いて、アルキン化合物をリポソームに結合させる。続いて、例えば、2つのH - ホスホン酸化合物と反応させることにより、2つの標的化剤(R^1)および2つの診断剤(R^2)がリポソーム表面上に提示されている図1に示される提示アセンブリを生成することができる。

30

【0095】

あるいは、図2の例に示されているように、H - ホスホン酸化合物をナノ粒子に結合させ、次いでアルキン化合物と結合させて、本発明のホスホン酸化合物をナノ粒子表面上に生成することができる。例えば、図2に示されているように、 R^1 および R^2 は、リポソームの脂質二重層に結合する結合成分であり得る。次いで、H - ホスホン酸化合物を有する調製したリポソームを、アルキン化合物(例えば、標的化剤が挙げられる)と結合させることができる。続いて、ヒドロホスホニル化反応の後、標的化剤がリポソーム表面上にディスプレイされることにより、リポソームを標的化リポソームに変換することができる。図2のアンカーアセンブリは、それぞれ2つおよび4つの結合成分を脂質二重層内に包埋するのを可能にすることによって、さらなる安定性を提供する。上により詳細に記載したように、連結 L^1 、 L^2 および L^3 は、独立して、所望の間隔もしくは特定用途に望ましい他の特性を可能にするように、連結基または結合として選択することができる。

40

【0096】

50

ヒドロホスホニル化反応は、本発明のホスホン酸化合物をナノ粒子上に生成するためのいくつかの利点を提供するが、他の方法を使用して化合物を作製することができる。例えば、H - ホスホン酸化合物およびアルキン化合物と一緒に反応させて、本発明のホスホン酸化合物を形成することができる。続いて、ホスホン酸化合物をナノ粒子に結合させることができる。いくつかの実施形態では、最初に、標準的な方法（例えば、押し出し）を使用してリポソームを生成し、続いて、ホスホン酸化合物をリポソームに結合させることによって、ホスホン酸化合物をリポソームに組み込むことができる。他の実施形態では、リポソームの形成中に、例えば、ホスホン酸化合物および脂質成分と一緒に乾燥し、次いで混合物を水溶液中に再懸濁して、二重層に結合したホスホン酸化合物を有するリポソームを形成することによって、ホスホン酸化合物をリポソーム二重層に組み込むことができる。

10

【0097】

他の合成手順を使用して、ホスホン酸化合物を生成することができることも意図される。例えば、図1に示されているようにR³およびL³を含むアルキン化合物を、R¹およびR²を含有しないH - ホスホン酸塩と反応させることができる。このような実施形態では、L¹は、R¹および/またはR²（例えば、標的化剤、ステルス剤または診断剤を挙げることができる）への結合のための官能基を含む連結基であり得る。したがって、R¹および/またはR²をL¹の官能基と反応させて、最終ホスホン酸化合物を生成することができる。当業者であれば、本発明のホスホン酸化合物を生成するための他の可能な合成順序がいくつかあることを認識するであろう。例えば、L³は、H - ホスホン酸化合物をアルキン化合物と反応させた後にR³と後で反応させることができる官能基を有することができる。ある特定の実施形態では、R¹およびR²は同じものでもよく、したがって例えば、R¹およびR²が標的化剤である場合、L¹およびL²はそれぞれ、標的化剤と反応して本発明のホスホン酸化合物を生成することができる官能基を含有することができる。

20

【0098】

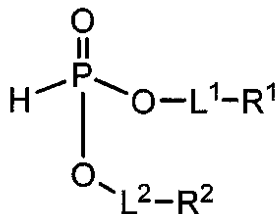
本発明はさらに、例えば、本明細書においてさらに記載されるH - ホスホン酸化合物に結合することができる連結骨格を含む化合物を提供する。本明細書においてさらに記載される連結骨格はL⁴によって表され、アルキレン、アリーレンまたはこれらの組み合わせを挙げることができる。

30

【0099】

一態様では、本発明は、ホスホン酸化合物を調製する方法を含み、この方法は、式：

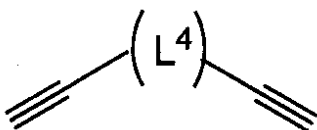
【化25】



40

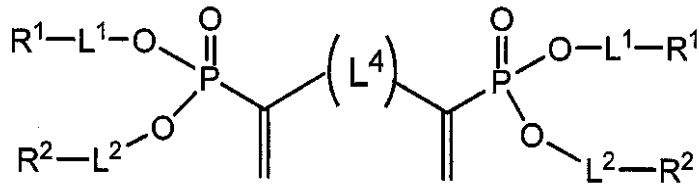
を有するH - ホスホン酸化合物、および式：

【化26】



を有するアルキン化合物を触媒の存在下で結合させて、式：

【化 27】



(式中、 L^1 および L^2 はそれぞれ、結合または連結基であり； R^1 および R^2 はそれぞれ、独立して、ナノ粒子、結合成分、標的化剤、診断剤およびステルス剤からなる群より選択され； L^4 は、アリーレン、アルキレンまたはこれらの組み合わせからなる群より選択される)を有するホスホン酸化合物を形成する工程を含む。ある特定の実施形態では、H-ホスホン酸化合物およびアルキン化合物をそれぞれ2:1のモル比で結合させる。

ナノ粒子

【0100】

本明細書において提供されるように、本発明は、当技術分野において一般に公知の様々な方法によって生成することができるナノ粒子の使用を含み、このようなナノ粒子を作製する方法は、所望される特定のナノ粒子に依存し得る。当技術分野において利用可能な任意の測定技術を使用して、標的化送達組成物およびナノ粒子の特性を決定することができる。例えば、動的光散乱、X線光電子顕微鏡法、粉末X線回折、走査電子顕微鏡法(SEM)、透過型電子顕微鏡法(TEM)、および原子間力顕微鏡法(AFM)などの技術を使用して、ナノ粒子および/または標的化送達組成物の平均サイズおよび分散度を決定することができる。

【0101】

本発明に使用されるリポソームは、当技術分野において一般に周知の様々な技術を使用して作製することができる。(例えば、Williams, A. P., *Liposomes: A Practical Approach*, 2nd Edition, Oxford Univ. Press (2003); Lasic, D. D., *Liposomes in Gene Delivery*, CRC Press LLC (1997)を参照のこと)。例えば、リポソームは、限定されないが、例えば、押し出し、攪拌、超音波処理、逆相蒸発、水溶液中の自己組織化、電極ベースの形成技術、およびマイクロフルイディック指向型形成技術(microfluidic directed formation techniques)などの技術によって生成することができる。ある特定の実施形態では、大単層ベシクル(LUV)および/または小単層ベシクル(SUV)を含むことができる、多層および/または単層であるリポソームを生成するための方法を使用することができる。溶液中のリポソームの自己組織化と同様に、ミセルは、両親媒性分子が、ミセルを形成するのに十分な溶液条件下で溶解される場合にミセルを形成するように、当技術分野において一般に周知の技術を使用して生成することができる。脂質コーティングバブルおよびリポタンパク質も、当技術分野において公知の方法を使用して構築することができる(例えば、Farook, U., J. R. Soc. Interface, 6(32): 271-277 (2009); Lackoら、*Lipoprotein Nanoparticles as Delivery Vehicles for Anti-Cancer Agents in Nanotechnology for Cancer Therapy*, CRC Press (2007)を参照のこと)。

【0102】

本発明に使用され得るポリマーナノ粒子を作製する方法は、当技術分野において一般に周知である(例えば、Sigmund, Wら、Eds., *Particulate Systems in Nano- and Biotechnologies*, CRC Press LLC (2009); Karnikら、*Nano Lett.*, 8(9): 2906-2912 (2008)を参照のこと)。例えば、ブロックコポリマーが溶液中で自

10

20

30

40

50

己組織化してポリマーソームおよび/またはブロックコポリマーミセルを形成することができるように、当技術分野において公知の合成方法を使用して、ブロックコポリマーを作製することができる。ニオソームは、当技術分野において公知であり、様々な技術および組成物を使用して作製することができる (Baillie A. Jら、J. Pharm. Pharmacol., 38: 502 - 505 (1988))。磁性粒子および/または金属粒子は、当技術分野において公知の任意の方法、例えば、共沈、熱分解、およびマイクロエマルジョンを使用して構築することができる。(Nagarajan, R. & Hutton, T. A., Eds., Nanoparticles Synthesis, Stabilization, Passivation, and Functionalization, Oxford Univ. Press (2008)も参照のこと)。金粒子およびこれらの誘導体は、当技術分野において一般に公知の様々な技術、例えば、Turkevich法、Brust法、Perraut法、またはソノリシスを使用して作製することができる (Grzelczakら、Chem. Soc. Rev., 37: 1783 - 1791 (2008)も参照のこと)。いくつかの実施形態では、結合成分は、硫黄-金係留化学反応によって結合させることができる。量子ドットまたは半導体ナノ結晶は、コロイド合成技術などの当技術分野において公知の任意の方法を使用して合成することができる。一般に、量子ドットは、セレン化カドミウム、硫化カドミウム、ヒ化インジウム、およびリン化インジウムなどを含む半導体材料などの様々な材料から構成され得る。

他の関連成分

【0103】

本明細書において記載されるように、本発明のホスホン酸化合物は、標的化剤、ステルス剤、診断剤、治療剤および結合成分などの成分を含むことができる。当業者であれば、種々の成分を生成するのに使用され得る一般に周知の標準的な技術を認識するであろう。例えば、結合成分に関して上に記載したように、標的化剤、ステルス剤、診断剤、治療剤は、共有結合および/または非共有結合を介して、本発明のホスホン酸化合物に結合させることができる。

【0104】

標的化剤に関して、ある特定の実施形態では、標的化剤は、アプタマーを含むことができる。特定の標的用のアプタマーを、当技術分野において公知の技術、例えば、限定されないが、SELEX (商標) (指数関数的富化によるリガンドの系統的進化) もしくは MonoLex (商標) 技術 (AptaRes AGの1ラウンドのアプタマー単離手順) などの *in vitro* 選択法、*in vivo* 選択法、またはこれらの組み合わせを使用して同定することができる。(例えば、Ellington, A. D. & Szostak, J. W., Nature 346 (6287): 818 - 22; Bockら、Nature 355 (6360): 564 - 6 (1992)を参照のこと)。いくつかの実施形態では、本明細書において開示されるように、上記方法を使用して、対象とする特定の標的部位に結合させるのに使用され得る特定のDNA配列またはRNA配列を同定することができる。特定のアプタマーの配列が一旦同定されたら、ホスホロアミダイト合成などの当技術分野において公知の様々な方法でアプタマーを構築することができる。ペプチドアプタマーについては、様々な同定技術および製造技術を使用することができる (例えば、Colas, P., J. Biol. 7: 2 (2008); Woodman, Rら、J. Mol. Biol. 352 (5): 1118 - 33 (2005)を参照のこと)。

【0105】

様々な方法によって、アプタマーをH-ホスホン酸化合物およびアルキン化合物に結合させることができる。例えば、H-ホスホン酸化合物およびアルキン化合物上の連結基L¹、L²またはL³をアプタマーの3'末端または5'末端と反応させることができる。代替の実施形態では、1つの核酸をH-ホスホン酸化合物およびアルキン化合物上の連結基L¹、L²またはL³に同時に付加することによって、アプタマーを連続合成することができる。

V. 標的化送達組成物を投与する方法

【0106】

本発明はまた、ホスホン酸化合物を含む標的化送達組成物を含む。一態様では、本発明は、本明細書において記載されるホスホン酸化合物を含む標的化送達組成物であって、 R^1 および R^2 の少なくとも1つが標的化剤であり、 R^3 が、ナノ粒子またはナノ粒子に結合した結合成分である標的化送達組成物を含む。上により詳細に記載したように、結合成分は、いくつかの方法でナノ粒子に結合することができ、例えば、結合成分は、リポソームの二重層と結合する脂質であり得る。

【0107】

本発明の標的化送達組成物および方法は、被験体に関連する任意の疾患、障害、および/または状態を処置および/または診断するのに使用することができる。一実施形態では、本発明の方法は、被験体におけるがん状態を処置または診断するための方法を含み、この方法は、本発明のホスホン酸化合物およびナノ粒子を含む標的化送達組成物であって、前記状態を処置または診断するのに十分な治療剤または診断剤も含む標的化送達組成物を前記被験体に投与する工程を含む。ある特定の形態では、がん状態としては、本発明の標的化送達組成物の標的化剤が標的とする受容体を十分に発現する（例えば、細胞表面上または血管系に）がんを挙げることができる。

10

【0108】

別の形態では、本発明の方法は、標的化治療処置についての被験体の適性を判定する方法であって、本明細書において記載されるナノ粒子およびホスホン酸化合物を含む標的化送達組成物であって、前記ホスホン酸化合物またはナノ粒子が診断剤を含む標的化送達組成物を前記被験体に投与すること、および前記被験体をイメージングして前記診断剤を検出する工程を含む方法を含む。

20

投与

【0109】

いくつかの実施形態では、本発明は、標的化送達組成物および生理学的に（すなわち、薬学的に）許容され得るキャリアを含むことができる。本明細書において使用される場合、用語「キャリア」は、治療剤などの薬物のための希釈剤またはビヒクルとして使用される典型的には不活性の物質を指す。この用語は、組成物に粘着性の品質を付与する典型的には不活性の物質も包含する。典型的には、生理学的に許容され得るキャリアは、液体形態で存在する。液体キャリアの例としては、生理食塩水、リン酸塩緩衝液、通常の緩衝食塩水（135～150 mMのNaCl）、水、緩衝水、0.4%食塩水、0.3%グリシン、および安定性を増強するための糖タンパク質（例えば、アルブミン、リポタンパク質、グロブリンなど）などが挙げられる。生理学的に許容され得るキャリアは、投与される特定の組成物によって、ならびに組成物を投与するのに使用される特定の方法によって部分的には決定されるので、本発明の医薬組成物の多種多様な適切な製剤が存在する（例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., 1989を参照のこと）。

30

【0110】

本発明の組成物は、慣例的な周知の滅菌技術によって滅菌してもよいし、滅菌条件下で生成してもよい。水溶液は、使用のためにパッケージされ得るか、または無菌条件下で過し、凍結乾燥することができ、その凍結乾燥調製物は、投与前に滅菌水溶液と合わされる。組成物は、生理的条件に近づけるために、必要に応じて薬学的に許容され得る補助物質、例えば、pH調整剤および緩衝剤、張度調整剤、および湿潤剤など、例えば、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、モノラウリン酸ソルビタン、およびオレイン酸トリエタノールアミンを含有することができる。糖（例えば、凍結乾燥標的化送達組成物のための安定剤）も、組成物を安定化させるために含めることができる。

40

【0111】

選択された標的化送達組成物は、単独でまたは他の適切な成分と組み合わせ、吸入を介して投与されるエアロゾル製剤（すなわち、これらは、「噴霧する」ことができる）に

50

することができる。エアロゾル製剤は、加圧された許容され得る噴霧剤、例えば、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、および窒素などの中に入れることができる。

【0112】

直腸投与に適切な製剤としては、例えば、坐剤基剤とともに有効量のパッケージされた標的化送達組成物を含む坐剤が挙げられる。適切な坐剤基剤としては、天然または合成のトリグリセリドまたはパラフィン炭化水素が挙げられる。加えて、選択された標的化送達組成物と、例えば、液体トリグリセリド、ポリエチレングリコール、およびパラフィン炭化水素を含む基剤との組み合わせを含有するゼラチン直腸カプセルを使用することも可能である。

【0113】

例えば、関節内（関節内）経路、静脈内経路、筋肉内経路、腫瘍内経路、皮内経路、腹腔内経路、ならびに皮下経路などによる非経口投与に適切な製剤は、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、および製剤を意図されたレシピエントの血液と等張性にする溶質を含有することができる水性および非水性の等張性滅菌注射液剤、ならびに懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤、および保存剤を含むことができる水性および非水性滅菌懸濁液を包含する。注射液剤および懸濁剤は、滅菌粉末、顆粒、および錠剤からも調製することができる。本発明の実施において、組成物は、例えば、静脈内注入によって、局所に、腹腔内に、嚢内に、または髄腔内に投与することができる。非経口投与および静脈内投与は、好ましい投与方法である。標的化送達組成物の製剤は、単位用量または複数回用量の密閉容器、例えば、アンプルおよびバイアルで提供することができる。

【0114】

医薬調製物は、好ましくは、単位剤形である。このような形態では、調製物は、適切な量の活性成分、例えば、標的化送達組成物を含有する単位用量にさらに小分けされる。単位剤形は、パッケージされた調製物とすることができ、パッケージは、別々の量の調製物を含有する。組成物は、所望により、他の適合した治療剤も含有することができる。

【0115】

がんを処置するための治療用途において、本発明の医薬組成物に用いられる治療剤および/または診断剤を含む標的化送達組成物は、毎日約0.001mg/kg～約1000mg/kgの初期投与量で投与することができる。約0.01mg/kg～約500mg/kg、または約0.1mg/kg～約200mg/kg、または約1mg/kg～約1000mg/kg、または約10mg/kg～約50mg/kgの1日量範囲を使用することができる。しかしながら、投与量は、患者の要求事項、処置される状態の重症度、および使用される標的化送達組成物に応じて変更することができる。例えば、投与量は、特定の患者において診断されたがんの種類および病期を考慮して経験的に決定することができる。患者に投与される用量は、本発明との関連において、経時的に患者における有益な治療応答に影響を与えるのに十分であるべきである。用量のサイズはまた、特定の患者における特定の標的化送達組成物の投与に付随する、あらゆる有害な副作用の存在、性質、および程度によって決定される。特定の状況に適切な投与量を決定することは、従事者の技量の範囲内である。一般に、処置は、標的化送達組成物の最適用量未満であるより少ない投与量で開始する。その後、投与量は、状況下で最適の効果に到達するまで、少しずつ増加させる。便宜上、所望により、総1日投与量を分割して、1日の間に一部ずつ投与することができる。

【0116】

いくつかの実施形態では、本発明の標的化送達組成物は、疾患、障害、および/または状態を診断するのに使用することができる。いくつかの実施形態では、標的化送達組成物は、被験体におけるがん状態、例えば、肺がん、乳がん、膵がん、前立腺がん、子宮頸がん、卵巣がん、結腸がん、肝がん、および食道がんなどを診断するのに使用することができる。いくつかの実施形態では、疾患状態を診断する方法は、標的化送達組成物を使用して、被験体の体内の腫瘍を物理的に検出および/または位置決定する工程を含むことができる。例えば、腫瘍は、本発明の標的化送達組成物の標的化剤が標的とする受容体を十分

10

20

30

40

50

に発現する（例えば、細胞表面に、または血管系に）がんに関するものであり得る。いくつかの実施形態では、標的化送達組成物は、がん以外の疾患、例えば、増殖性疾患、心血管疾患、胃腸疾患、尿生殖器疾患、神経疾患、筋骨格疾患、血液系疾患、炎症疾患、自己免疫疾患、および関節リウマチなどを診断するのに使用することができる。

【0117】

本明細書において開示されるように、本発明の標的化送達組成物は、本質的に検出可能な特性を有する診断剤を含むことができる。被験体における診断剤の検出において、標的化送達組成物、または標的化送達組成物である部分を有する粒子の集団を、被験体に投与することができる。次いで、診断剤をイメージングするための技術、例えば、単光子放出コンピュータ断層撮影（SPECT）、磁気共鳴イメージング（MRI）、光学的イメージング、ポジトロン放出断層撮影（PET）、コンピュータ断層撮影（CT）、X線イメージング、およびγ線イメージングなどを使用して被験体をイメージングすることができる。本明細書において記載されるイメージング技術はいずれも、他のイメージング技術を組み合わせて使用することができる。いくつかの実施形態では、イメージングのための放射性同位体を粒子に組み込むことにより、被験体において標的化送達組成物を *in vivo* で追跡することが可能になる。例えば、標的化送達組成物の生体分布および/または排出を測定し、必要に応じて患者の処置を変更するのに使用することができる。例えば、患者の処置および/または診断を最適化するのに、より多くのまたはより少ない標的化送達組成物が必要となる場合がある。

標的化送達

【0118】

ある特定の実施形態では、本発明の標的化送達組成物は、治療剤または診断剤を標的化様式で放出するように被験体に送達することができる。例えば、標的化送達組成物が被験体における標的に送達され得ると、次いで、ナノ粒子などの標的化送達組成物に包埋されたか、該標的化送達組成物に封入されたか、または該標的化送達組成物に係留された治療剤が、標的近傍の溶液条件に基づいて送達され得る。例えば、pH、および塩濃度などの溶液条件は、治療剤が標的近傍の領域に短期間または長期間にわたる放出を誘発することができる。あるいは、酵素は、標的化送達組成物から治療剤または診断剤を切断することによって、放出を開始することができる。いくつかの実施形態では、標的化送達組成物は、エンドサイトーシスによって細胞の内部領域に送達され、場合によりその後リソソームなどの細胞の内部コンパートメント内で分解され得る。当業者であれば、治療剤または診断剤の標的化送達が、当技術分野において一般に公知の様々な方法を使用して行うことができることを認識する。

キット

【0119】

本発明はまた、疾患状態を処置および/または診断するために、被験体に標的化送達組成物を投与するためのキットを提供する。このようなキットは、典型的には、がん状態などの疾患状態を処置および/または診断するのに必要な2つ以上の構成要素を含む。構成要素としては、本発明の標的化送達組成物、試薬、容器、および/または器材（equipment）を挙げることができる。いくつかの実施形態では、キットにおける容器は、使用前に放射標識される放射性薬品を含む標的化送達組成物を含有することができる。キットは、標的化送達組成物を投与するのに必要な反応構成要素（reaction component）またはバッファのいずれかをさらに含むことができる。さらに、標的化送達組成物を凍結乾燥形態にして、次いで投与前に再構成することができる。

【0120】

ある特定の実施形態では、本発明のキットは、患者の疾患状態を処置および/または診断するのに使用される1つまたは複数の構成要素を含むことができるパッケージングアセンブリを含むことができる。例えば、パッケージングアセンブリは、本明細書において記載される標的化送達組成物の少なくとも1つを収容する容器を含むことができる。個別の容器は、患者への投与前に標的化送達組成物と混合することができる他の賦形剤または剤

を含むことができる。いくつかの実施形態では、医師は、特定の患者に必要な処置または診断に応じて、ある特定の構成要素および/またはパッケージングアセンブリを選択および適合させることができる。

【0121】

本明細書において記載される実施形態は、例示目的のためのものにすぎず、当業者であれば、それらを踏まえて種々の改変または変更が示唆されるであろうし、該改変または変更は、本出願の精神および範囲、ならびに添付の特許請求の範囲内に含まれると理解されよう。本明細書において引用されるすべての刊行物、特許、および特許出願は、あらゆる目的のためにその全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【実施例】

【0122】

VI. 実施例

実施例 1

ジオクタデシルオクタ - 1 - エン - 2 - イルホスホネートの調製

【0123】

図3は、ジオクタデシルオクタ - 1 - エン - 2 - イルホスホネートを調製するための一般的な反応スキームを示す。攪拌棒を備える蓋圧着 (crimped top) マイクロウェーブバイアル中で、テトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (0) (0.10 g、0.09 mmol)、ホスホン酸ジオクタデシル (1.56 g、2.66 mmol)、THF (6 mL) および 1 - オクチン (0.30 g、2.69 mmol) をマイクロ波放射 (Biotage Initiator) に 110 °C で 90 分間供した。³¹P NMR (CDCl₃) によって薄茶色の反応混合物を検査し、反応が完了したと判断した。それをエバポレートさせ、ヘキサン - 酢酸エチル勾配 (15 分間かけて 0% ~ 10% 酢酸エチル、流量 48 mL / 分、ELSD 検出) を用いて順相フラッシュクロマトグラフィー (40 g シリカカラム) によって粗生成物を精製して、生成物ジオクタデシルオクタ - 1 - エン - 2 - イルホスホネート (1.61 g、86.7%、90% エキソ異性体, A、および 10% E - 異性体, B) を得た。エキソ異性体, A の ¹H、¹³C および ³¹P NMR スペクトルは、所望の構造と一致したピークを示した。m/z 697.6571 ~ 697.6711 (エキソ異性体 A の [M+H]⁺ イオンに近い範囲) の抽出イオン液体クロマトグラムは、11.80 および 11.90 分付近でピークを示した。エキソ異性体, A のマススペクトルは、それぞれ 697.6627 m/z および 1394.3190 m/z で [M+H]⁺ および [2M+H]⁺ イオンのピークを示した。他の NMR、液体クロマトグラフおよび質量分析のデータは、所望の構造と一致していた。

実施例 2

【0124】

5 - (ビス (オクタデシルオキシ) ホスホリル) ヘキサ - 5 - エン酸の調製

【0125】

図4は、5 - (ビス (オクタデシルオキシ) ホスホリル) ヘキサ - 5 - エン酸を調製するための一般的な反応スキームを示す。攪拌棒を備える蓋圧着マイクロウェーブバイアル中で、テトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (0) (0.11 g、0.09 mmol)、ホスホン酸水素ジオクタデシル (dioctadecyl hydrogen phosphonate) (1.55 g、2.64 mmol)、THF (6 mL) および 5 - ヘキシシン酸 (0.30 g、2.69 mmol) をマイクロ波放射 (Biotage Initiator) に 110 °C で 90 分間供した。³¹P NMR (CDCl₃) によって黄色の反応混合物を検査し、反応が完了したと判断した。それをエバポレートさせ、ヘキサン - 酢酸エチル勾配 (10 分間かけて 0% ~ 100% 酢酸エチル、流量 48 mL / 分、ELSD 検出) を用いて順相フラッシュクロマトグラフィー (40 g シリカカラム) によって粗生成物を精製して、生成物 5 - (ビス (オクタデシルオキシ) ホスホリル) ヘキサ - 5 - エン酸 (0.98 g、52.8%、96% エキソ異性体, C および 4% E - 異性体, D) を得た。エキソ異性体, C の ¹H、¹³C および ³¹P NMR スペクトル

10

20

30

40

50

ルは、所望の構造と一致したピークを示した。m/z 699.5980 ~ 699.6120 (エキソ異性体 C の [M+H]⁺ イオンに近い範囲) の抽出イオン液体クロマトグラムは、11.14 および 11.20 分付近でピークを示した。エキソ異性体, C のマススペクトルは、それぞれ 699.6050 m/z および 1398.2035 m/z で [M+H]⁺ および [2M+H]⁺ イオンのピークを示した。他の NMR、液体クロマトグラフおよび質量分析のデータは、所望の構造と一致していた。

実施例 3

【0126】

5 - (ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘキサ - 5 - エン酸と PEG₁₀₀₀ - NH₂ (m - d PEG (登録商標)₂₄ - アミン) とのカップリング

10

【0127】

図 5 は、5 - (ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘキサ - 5 - エン酸と PEG₁₀₀₀ - NH₂ とをカップリングするための一般的な反応スキームを示す。m - d PEG (登録商標)₂₄ - アミン (102.0 mg、0.09 mmol)、5 - (ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘキサ - 5 - エン酸 (64.4 mg、0.09 mmol)、トリエチルアミン (13.3 mg、0.13 mmol)、DMF (2 mL) および CHCl₃ (1 mL) の 25 mL RBF 溶液をアルゴン雰囲気下、室温で 30 分間撹拌した。TBTU (35.7 mg、0.11 mmol) を反応混合溶液に追加し、室温で 16 時間撹拌し続けた。ロータリーエバポレーションによって揮発物質を除去し、クロロホルム - メタノール勾配 (10 分間かけて 0% ~ 10% メタノール、流量 10 mL / 分、ELSD 検出) を用いて順相フラッシュクロマトグラフィー (4 g シリカカラム) によって粗生成物を精製して、生成物ジオクタデシル (75 - オキソ - 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, - 29, 32, 35, 38, 41, 44, 47, 50, 53, 56, 59, 62, 65, 68, 71 - テトラコサオキサ - 74 - アザオクタコンタ - 79 - エン - 79 - イル) ホスホネート (58.1 mg、35.0%) を得た。高分解能質量スペクトルは、所望の反応生成物と一致していた: C₉₁H₁₈₂NO₂₈P の (陽イオンモード): 理論値 1769.2659、検出値 1769.2690。同様に、¹H および ³¹P NMR スペクトルは、所望の構造と一致していた: ³¹P NMR (202.3 MHz, CDCl₃) (ppm): 19.3 および ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) (ppm) は、複数の一致ピークを示した。

20

30

実施例 4

【0128】

tert - ブチル 5 - (ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘキサ - 5 - エノエート, D の調製

【0129】

図 6 に示されているように、tert - ブチル 5 - (ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘキサ - 5 - エノエート (分子量 (MW) 755.2), D は、5 - ヘキシノ酸に代えて tert - ブチル 5 - ヘキシノアートを除いて、実質的には実施例 2 に示した同じ条件および手順で作製することができる。

実施例 5

40

【0130】

tert - ブチル 5, 7 - ビス(ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘプタノアート, E の調製

【0131】

実質的には、Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements, 83 (1-4), 77-98: 1993 に見られ、図 6 に概説した条件を使用して、ホスホン酸水素ジオクタデシルを、実施例 4 で調製した tert - ブチル 5 - (ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘキサ - 5 - エノエート, D と反応させることができる。したがって、THF (30 mL) に溶解させたホスホン酸水素ジオクタデシル (分子量 (MW) 586.95、1.56 g、2.6

50

6 mmol) および水素化ナトリウム (95%、式量 (FW) 24.0、2.66 mmol、0.064 g) を不活性雰囲気下、室温 (RT) で攪拌しながら反応させる。次いで、THF中のtert-ブチル5-(ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘキサ-5-エノート(分子量(MW) 1356.2、3.65 g、2.69 mmol) を追加し、反応が完了するまで不活性雰囲気下で反応させる。反応の進行は、TLC、rphplcまたは $^3\text{ }^1\text{P}$ nmrによって追跡することができる。反応の完了時にエバポレーションによって溶媒を除去し、適切な溶媒系(例えば、ヘキサン-酢酸エチル勾配(ELSD検出))を使用して順相フラッシュクロマトグラフィーによって粗生成物を精製して、実質的に純粋な生成物を得ることができる。粗生成物はまた、逆相HPLC(例えば、C4、300A、および適切な溶媒勾配、例えば水; イソプロパノール)を使用して精製することができる。所望の生成物のMSは、 $M+H^+$ 1357.2、 $M+Na^+$ 1379.2である。

実施例 6

【0132】

5,7-ビス(ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘプタン酸, Gの調製

【0133】

tert-ブチルエステル, Eの酸Gへの変換を図7に概説する。tert-ブチル5,7-ビス(ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘプタノートを、t-ブチルエステルが除去されるまで、トリフルオロ酢酸(TFA)またはジオキサン中の塩化水素で処理する。反応の進行は、tlcまたはrphplcによって追跡することができる。揮発物質を真空下で除去し、rphplc(例えば、C4、300Aカラム、水:i-プロパノールなどの適切な溶媒勾配を使用、およびELSD検出器を用いる)によって、所望の酸生成物を得る。所望の生成物の質量は、1306.1である。

実施例 7

【0134】

5,7-ビス(ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘプタン酸とPEG1000-NH₂(mdPEG(登録商標)24-アミン)とのカップリング

【0135】

図8は、5,7-ビス(ビス(オクタデシルオキシ)ホスホリル)ヘプタン酸とPEG1000-NH₂との一般的な反応を示す。この反応は、実施例3に記載したのと同様の割合および条件を使用して行う。所望の生成物の質量は2370.4であり、 $M+H+$ 2371.4および $M+Na+$ 2394.4となる。

実施例 8

【0136】

テトラオクタデシルヘプタン-1,3-ジイルジホスホネート, Jの調製

【0137】

実質的にはPhosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements, 83(1-4), 77-98:1993.に見られる条件を使用して(図9を参照のこと)、ホスホン酸水素ジオクタデシルをジオクタデシルオクタ-1-エン-2-イルホスホネートと反応させて、テトラ-オクタデシルヘプタン-1,3-ジイルジホスホネート, Jを生成することができる。したがって、THF(6 mL)に溶解させたホスホン酸水素ジオクタデシル(分子量(MW) 586.95、1.56 g、2.66 mmol) および水素化ナトリウム(95%、式量(FW) 24.0、2.66 mmol、0.064 g) を不活性雰囲気下、室温(RT)で攪拌しながら反応させる。あるいは、水素化ナトリウムは、モル当量の強塩基、例えばリチウムジ-イソプロピルアミドまたはナトリウムアルコキシドなどで代替することができる。次いで、ジオクタデシルオクタ-1-エン-2-イルホスホネート, A(分子量(MW) 697.15、1.88 g、2.69 mmol) を追加し、反応が完了するまで不活性雰囲気下で反応させる。反応の進行は、TLC、hplcまたは $^3\text{ }^1\text{P}$ nmrによって追跡することができる。反応の完了時にエバポレーションによって溶媒を除去し、適切な溶媒

10

20

30

40

50

系（例えば、ヘキサン - 酢酸エチル勾配（E L S D 検出））を使用して順相フラッシュクロマトグラフィーによって粗生成物を精製して、実質的に純粋なテトラオクタデシルヘプタン - 1, 3 - ジイルジホスホネートを得ることができる。粗生成物はまた、r p h p l c（C 4、3 0 0 A、および適切な溶媒勾配）を使用して精製することができる。所望の生成物の質量は、1 2 7 0 . 1 である。

実施例 9

【0 1 3 8】

ジオクタデシル 2, 5, 8, 1 1, 1 4, 1 7, 2 0, 2 3, 2 6, 2 9 - デカオキサトリトリアコンタ - 3 1 - エン - 3 1 - イルホスホネート, M の調製

【0 1 3 9】

図 1 0 は、ジオクタデシル 2, 5, 8, 1 1, 1 4, 1 7, 2 0, 2 3, 2 6, 2 9 - デカオキサトリトリアコンタ - 3 1 - エン - 3 1 - イルホスホネートを調製するための一般的な反応スキームを示す。

【0 1 4 0】

工程 1. 2, 5, 8, 1 1, 1 4, 1 7, 2 0, 2 3, 2 6, 2 9 - デカオキサトリトリアコンタ - 3 2 - イン, L の調製

【0 1 4 1】

2, 5, 8, 1 1, 1 4, 1 7, 2 0, 2 3, 2 6, 2 9 - デカオキサトリトリアコンタ - 3 1 - イン, L の合成は、Shen, R., Shen, X., Zhang, Z., Li, Y., Liu, S., Liu, H., Journal of the American Chemical Society (2010), 132 (25), 8627 - 8634 にしたがって行った。モノメトキシ - ポリエチレングリコール 350 (3.50 g、10 mmol) の無水 THF (50 mL) 溶液で丸底フラスコを満たした。頻りにベントしながら、NaH (70 重量% 鉱油溶液、0.51 g、11 mmol) をこれに 0 で追加した。30 分間攪拌した後、プロパルギルプロミド (トルエン中 80%、1.31 g、11 mmol) をゆっくりと追加し、混合物を 0 で 1 時間攪拌し、次いで一晩還流した。この懸濁液をろ過し、次いで、減圧下でエバポレートさせることによってろ液を乾燥して、揮発物質を除去した。粗生成物を 50 mL の水に溶解させ、ジクロロメタンで抽出した (3 回)。この溶液を乾燥し、揮発物質を除去して、所望の生成物を得た。プロトン NMR (300 MHz, CDCl₃): 2.42 (s, 1H), 3.38 (s, 3H), 4.20 (s, 2H), 3.64 (t, 3.2H)。

【0 1 4 2】

工程 2 ジオクタデシル 2, 5, 8, 1 1, 1 4, 1 7, 2 0, 2 3, 2 6, 2 9 - デカオキサトリトリアコンタ - 3 1 - エン - 3 1 - イルホスホネート, M の調製

【0 1 4 3】

攪拌棒を備える蓋圧着マイクロウェーブバイアル中で、テトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (0) (0.11 g、0.09 mmol)、ホスホン酸水素ジオクタデシル (1.55 g、2.64 mmol)、THF (6 mL) および 2, 5, 8, 1 1, 1 4, 1 7, 2 0, 2 3, 2 6, 2 9 - デカオキサトリトリアコンタ - 3 2 - イン (分子量 (MW) 466.56、1.26 g、2.69 mmol) をマイクロ波放射 (Biotage Initiator) に 110 で 90 分間供することができる。反応は、³¹P NMR (CDCl₃) によって追跡することができる。反応が完了したら、それを冷却し、エバポレーションによって濃縮する。順相フラッシュクロマトグラフィー (適切な溶離溶媒、例えばヘキサン - 酢酸エチル勾配 (E L S D 検出) を使用) によって、または r p h p l c (C 4、3 0 0 A、適切な溶媒プログラムおよび E L S D 検出を使用) によって粗生成物を精製して、所望の生成物ジオクタデシル 2, 5, 8, 1 1, 1 4, 1 7, 2 0, 2 3, 2 6, 2 9 - デカオキサトリトリアコンタ - 3 1 - エン - 3 1 - イルホスホネートを得る。所望の生成物の質量スペクトルは、M + H⁺ 1054.5 である。

実施例 10

【0 1 4 4】

テトラオクタデシル 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29 - デカオキサトリリアコンタン - 32, 33 - ジイルジホスホネートの調製

【0145】

図11は、テトラオクタデシル 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29 - デカオキサトリリアコンタン - 32, 33 - ジイルジホスホネートを調製するための一般的な反応スキームを示す。最初に、ジオクタデシル 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29 - デカオキサトリリアコンタ - 31 - エン - 31 - イルホスホネート, Mを調製する。実質的には Phosphorus, Sulfur and Silicon and the Related Elements, 83 (1-4), 77-98: 1993に見られる条件を使用して、ホスホン酸水素ジオクタデシルをジオクタデシル 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29 - デカオキサトリリアコンタ - 31 - エン - 31 - イルホスホネートと反応させることができる。したがって、THF (6 mL) に溶解させたホスホン酸水素ジオクタデシル (分子量 (MW) 586.95、1.56 g、2.66 mmol) および水素化ナトリウム (95%、式量 (FW) 24.0、2.66 mmol、0.064 g) を不活性雰囲気下、室温 (RT) で攪拌しながら反応させる。次いで、ジオクタデシル 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29 - デカオキサトリリアコンタ - 31 - エン - 31 - イルホスホネート (分子量 (MW) 1053.5、2.83 g、2.69 mmol) を添加し、反応が完了するまで不活性雰囲気下で反応させる。反応の進行は、TLC、rphplcまたは³¹P NMRによって追跡することができる。反応の完了時にエバポレーションによって溶媒を除去し、適切な溶媒系 (例えば、ヘキサン - 酢酸エチル勾配 (ELSD検出)) を使用して順相フラッシュクロマトグラフィーによって粗生成物を精製して、実質的に純粋な生成物テトラオクタデシル 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 26, 29 - デカオキサトリリアコンタン - 32, 33 - ジイルジホスホネートを得ることができる。粗生成物はまた、rphplc (例えば、C4、300A、および適切な溶媒勾配、例えば水; イソプロパノール) を使用して精製することができる。所望の生成物のMSは、M + H⁺ 1655.5、M + Na⁺ 1677.5である。

実施例 11

【0146】

図12は、テトラオクタデシル 1, 1' - (1, 3 - フェニレン) ビス (エテン - 1, 1 - ジイル) ジホスホネートを調製するための一般的な反応スキームを示す。

【0147】

攪拌棒を備える蓋圧着マイクロウェーブバイアル中で、テトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (0) (0.071 g、0.06 mmol)、ホスホン酸ジオクタデシル (1.06 g、1.80 mmol)、1, 3 - ジエチルベンゼン (0.076 g、0.60 mmol) およびトルエン (1.5 mL) の混合物をマイクロ波放射 (Biotage Initiator、100、1時間) に供した。³¹P NMR (CDCl₃) によって黄色の反応混合物を検査し、反応が完了したと判断した。反応混合物をエバポレートさせ、ヘキサン - 酢酸エチル勾配 (10分間かけて0% ~ 20% 酢酸エチル、流量 48 mL / 分、ELSD検出)、次いでアイソクラチック (10分間かけて20% 酢酸エチル) を用いて順相フラッシュクロマトグラフィー (40 g シリカカラム) によって粗生成物を精製して、生成物テトラオクタデシル 1, 1' - (1, 3 - フェニレン) ビス (エテン - 1, 1 - ジイル) ジホスホネート (0.22 g、9.3%) を得た。¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) (ppm): 0.88 (t, 12H), 1.26 - 1.31 (m, 120H), 1.59 - 1.64 (m, 8H), 3.95 - 4.09 (m, 8H), 6.12 - 6.22 (d, 2H), 6.32 - 6.37 (d, 2H), 7.32 (t, 1H), 7.51 (d, 2H), 7.68 (s, 1H); ¹³C NMR (125.7 MHz, CDCl₃) (ppm): 14.09, 22.68, 25.52, 29.15, 29.36, 29.53, 29.59, 29.63, 29.66, 29.67, 29.71, 29.76, 30.38, 30.43, 31.92, 66.32, 66.37,

126.37, 126.42, 126.47, 127.40, 127.44, 128.39, 131.94, 132.01, 136.86, 136.95, 138.70, 140.10; ^{31}P NMR (202.3 MHz, CDCl_3) ppm): 16.9。

実施例 12

【0148】

3, 5 - ビス (1 - (ビス (オクタデシルオキシ) ホスホリル) ビニル) 安息香酸 (化学式 : $\text{C}_{83}\text{H}_{156}\text{O}_8\text{P}_2$ 、分子量 : 1344.07) の調製

【0149】

実質的には実施例 11 の手順を使用することによって標題化合物を調製することができるが、1, 3 - ジエチニルベンゼンを 3, 5 - ジエチニル安息香酸に替え、モル比を維持する。所望の生成物の m/z は、 $M + H^+$ 1345.0 である。

実施例 13

【0150】

図 13 は、ジオクタデシル 1 - シクロヘキセニルビニルホスホネートおよび (E , Z) - ジオクタデシル (2 - (シクロヘキサ - 1 - エン - 1 - イル) ビニル) ホスホネートを調製するための反応スキームを示す。

【0151】

攪拌棒を備える蓋圧着マイクロウェーブバイアル中で、テトラキス (トリフェニルホスフィン) パラジウム (0) (0.10 g、0.09 mmol)、ホスホン酸ジオクタデシル (1.50 g、2.66 mmol)、THF (12 mL) および 1 - エチニルシクロヘキサ - 1 - エン (0.27 g、2.57 mmol) の混合物をマイクロ波放射 (Biotage Initiator、110、1.5 時間) に供した。 ^{31}P NMR (CDCl_3) によって薄茶色の反応混合物を検査し、反応が完了したと判断した。反応混合物をエバポレートさせ、ヘキサン - 酢酸エチル勾配 (20 分間かけて 0% ~ 20% 酢酸エチル、流量 48 mL / 分、ELSD 検出) を用いて順相フラッシュクロマトグラフィー (40 g シリカカラム) によって粗生成物を精製して、主として 1 - シクロヘキセニルビニル生成物、ジオクタデシル (1 - (シクロヘキサ - 1 - エン - 1 - イル) ビニル) ホスホネート (1.14 g、64.4%)、ならびに E および Z - 2 - シクロヘキセニルビニル生成物の混合物 (0.08 g) を得た。ジオクタデシル (1 - (シクロヘキサ - 1 - エン - 1 - イル) ビニル) ホスホネートの NMR データ : ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) (ppm) : 0.88 (t, 6H), 1.26 - 1.33 (m, 60H), 1.54 - 1.71 (m, 8H), 2.17 (m, 4H), 3.94 - 4.05 (m, 4H), 5.81 - 5.90 (d, 1H), 6.00 - 6.04 (d, 1H), 6.31 (s, 1H); ^{13}C NMR (125.7 MHz, CDCl_3) ppm) : 14.12, 21.83, 22.70, 25.65, 25.76, 25.95, 26.39, 29.20, 29.38, 29.45, 29.58, 29.61, 29.63, 29.68, 29.72, 30.42, 30.47, 31.94, 32.84, 63.12, 65.93, 65.98, 126.77, 126.84, 130.20, 130.25, 132.46, 132.55, 139.28, 140.62; ^{31}P NMR (202.3 MHz, CDCl_3) ppm) : 18.9。

10

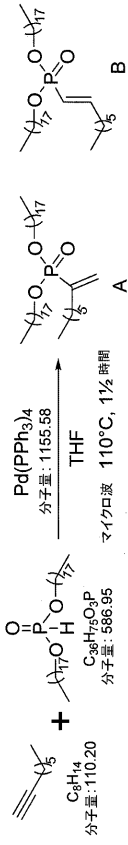
20

30

40

【 図 3 】

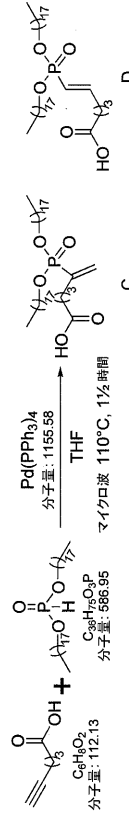
FIG. 3



化学式: $\text{C}_{44}\text{H}_{69}\text{O}_3\text{P}$
 精密質量: 696.65493
 分子量: 697.14942

【 図 4 】

FIG. 4



化学式: $\text{C}_{44}\text{H}_{69}\text{O}_3\text{P}$
 精密質量: 696.59781
 分子量: 699.07918

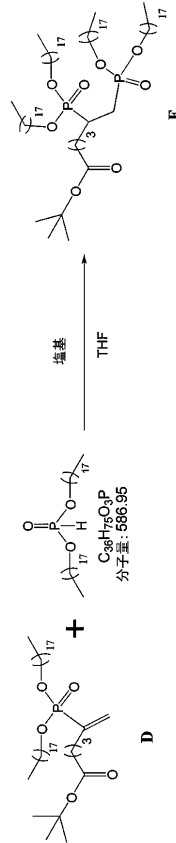
【 図 5 】

FIG. 5



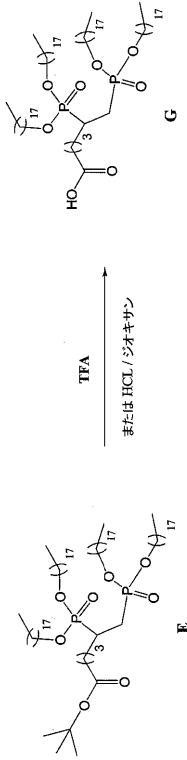
【 図 6 】

FIG. 6



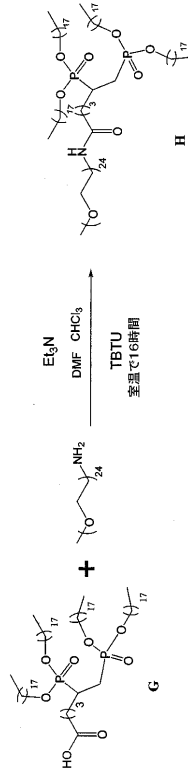
【 図 7 】

FIG. 7



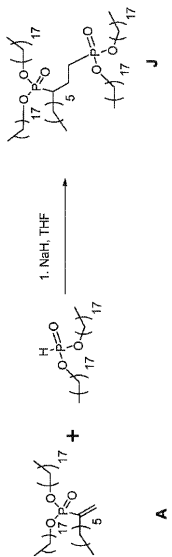
【 図 8 】

FIG. 8



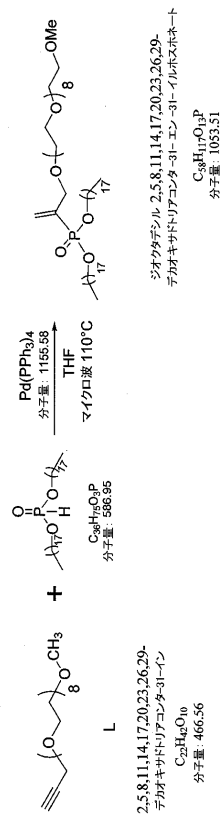
【 図 9 】

FIG. 9

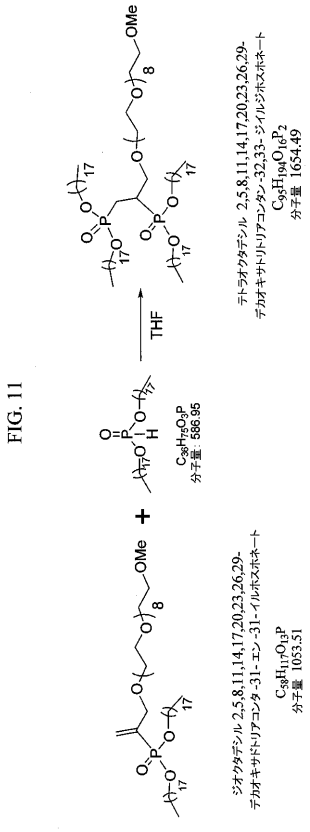


【 図 10 】

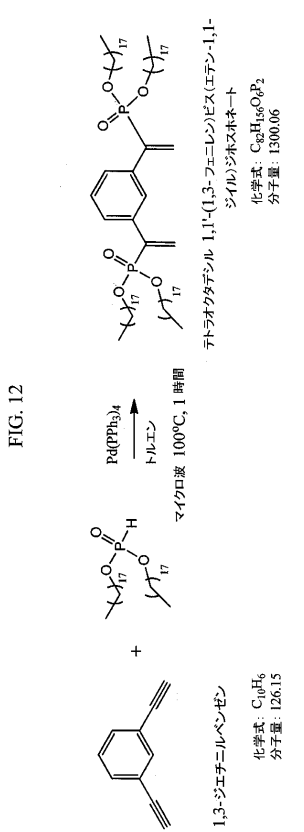
FIG. 10



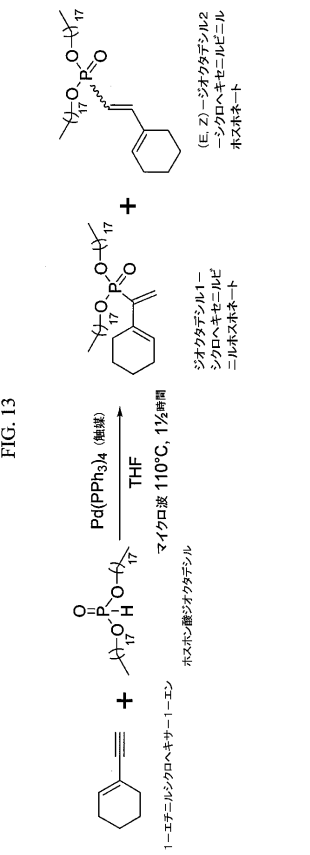
【 図 1 1 】



【 図 1 2 】

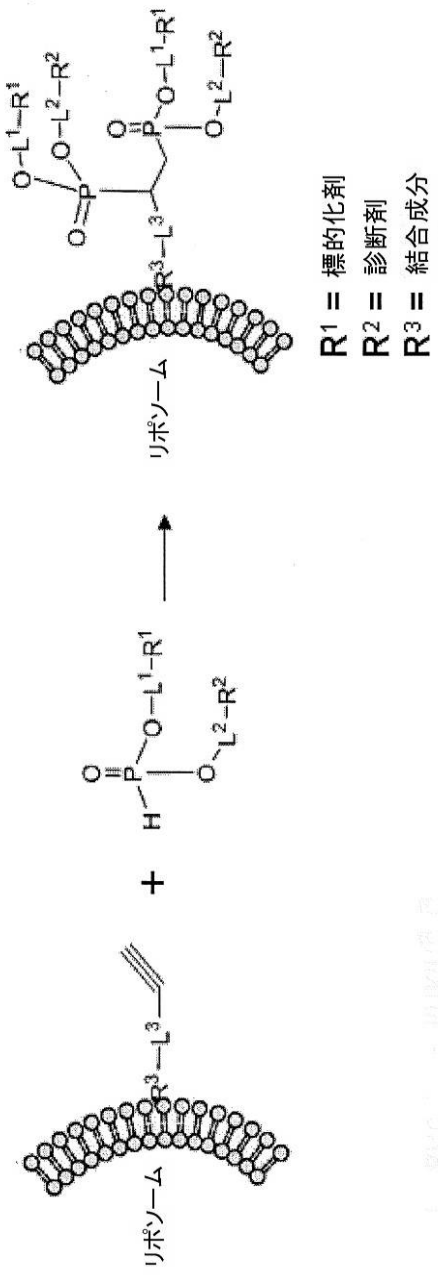


【 図 1 3 】



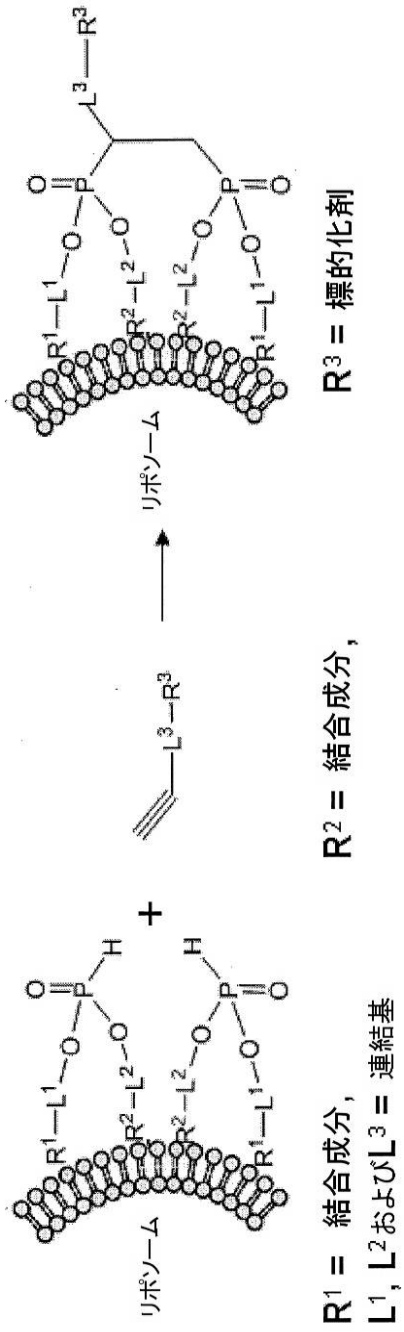
【 図 1 】

FIG. 1



【 図 2 】

FIG. 2



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

 International application No
 PCT/US2012/053211

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. A61K47/48 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	FR 2 921 838 A1 (GUERBET SA [FR]) 10 April 2009 (2009-04-10) Claim 1; pages 16-24, examples 1-12 -----	1-18, 28-35
X	ABERDEEN A. J. ET AL.: "Synthesis and functional bisphosphonates via new palladium-catalyzed bis-hydrophosphorylation reactions", TETRAHEDRON LETTERS, vol. 41, 1 January 2000 (2000-01-01), pages 151-154, XP002687898, abstract, page 151 line 1, page 152 figure 2 -----	1,19,20
Y	----- -/--	1-18, 28-35
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 26 November 2012		Date of mailing of the international search report 22/07/2013
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Bettio, Andrea

2

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2006)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2012/053211

(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>WANG LING ET AL: "A Biocompatible Method of Decorporation: Bisphosphonate-Modified Magnetite Nanoparticles to Remove Uranyl Ions from Blood", JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, ACS PUBLICATIONS, US, vol. 128, no. 41, 1 January 2006 (2006-01-01), pages 13358-13359, XP002475442, ISSN: 0002-7863, DOI: 10.1021/JA0651355 Page 13358 Scheme 1.</p> <p>-----</p>	1-18, 28-35
Y	<p>CHOI ET AL: "Design of surface-modified poly(d,l-lactide-co-glycolide) nanoparticles for targeted drug delivery to bone", JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 122, no. 1, 22 August 2007 (2007-08-22), pages 24-30, XP022208572, ISSN: 0168-3659, DOI: 10.1016/J.JCONREL.2007.06.003 Abstract, page 26, figure 1; page 8 second paragraph, page 12-13</p> <p>-----</p>	1-18, 28-35
Y	<p>WO 2005/070952 A1 (MCS MICRO CARRIER SYSTEMS GMBH [DE]; GREB WOLFGANG [DE]; SHYHSKOV OLEG) 4 August 2005 (2005-08-04) Claims 1-6; page 7. paragraphs 4-6; page 8 second paragraph; pages 12-13</p> <p>-----</p>	1-18, 28-35
A	<p>BALARAMAN E ET AL: "Hydrophosphonylation of activated alkenes and alkynes via fluoride ion activation in ionic liquid medium", TETRAHEDRON, ELSEVIER SCIENCE PUBLISHERS, AMSTERDAM, NL, vol. 65, no. 36, 5 September 2009 (2009-09-05), pages 7603-7610, XP026437279, ISSN: 0040-4020, DOI: 10.1016/J.TET.2009.06.096 [retrieved on 2009-07-01] the whole document</p> <p>-----</p>	1-23, 28-35
A	<p>EP 0 023 173 A1 (ELF AQUITAINE [FR]) 28 January 1981 (1981-01-28) Example 8 page 14</p> <p>-----</p>	14,18

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/US2012/053211**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1-23(completely); 28-35(partially)

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2012/053211

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2921838	A1	10-04-2009	CN 101835498 A 15-09-2010
			DK 2205284 T3 11-03-2013
			EP 2205284 A2 14-07-2010
			ES 2400980 T3 15-04-2013
			FR 2921838 A1 10-04-2009
			JP 2010540605 A 24-12-2010
			KR 20100080784 A 12-07-2010
			US 2010215586 A1 26-08-2010
			WO 2009053596 A2 30-04-2009

WO 2005070952	A1	04-08-2005	AT 527277 T 15-10-2011
			DE 102004032781 A1 11-08-2005
			DK 1706415 T3 20-02-2012
			EP 1706415 A1 04-10-2006
			ES 2375060 T3 24-02-2012
			JP 4851946 B2 11-01-2012
			JP 2007518746 A 12-07-2007
			US 2007154537 A1 05-07-2007
			WO 2005070952 A1 04-08-2005

EP 0023173	A1	28-01-1981	DE 3065878 D1 19-01-1984
			EP 0023173 A1 28-01-1981
			ES 8406213 A1 01-11-1984
			JP 56485987 A 30-03-1989
			MA 18894 A1 01-04-1981
			OA 6577 A 31-07-1981

International Application No. PCT/US2012/053211

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-23(completely); 28-35(partially)

Compounds according to the formula of present claim 1

2. claims: 24-27(completely); 28-35(partially)

Compounds according to the formula of present claim 24

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
A 6 1 K 45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	4 H 0 3 9
A 6 1 K 51/00	(2006.01)	A 6 1 K	49/02	4 H 0 5 0
A 6 1 K 49/04	(2006.01)	A 6 1 K	49/04	
A 6 1 K 31/704	(2006.01)	A 6 1 K	31/704	
A 6 1 K 33/24	(2006.01)	A 6 1 K	33/24	
A 6 1 K 31/282	(2006.01)	A 6 1 K	31/282	
A 6 1 K 31/513	(2006.01)	A 6 1 K	31/513	
A 6 1 K 31/7068	(2006.01)	A 6 1 K	31/7068	
A 6 1 K 47/48	(2006.01)	A 6 1 K	47/48	
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 K 9/127	(2006.01)	A 6 1 K	9/127	
C 0 7 B 61/00	(2006.01)	C 0 7 F	9/40	E
		C 0 7 B	61/00	3 0 0

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN

Fターム(参考) 4C076 AA19 AA95 CC27 CC41 DD47 DD70 EE06 EE23 EE30
 4C084 AA17 MA05 MA24 NA13 ZB261
 4C085 HH03 HH05 HH07 HH11 JJ05 KA09 KA36 KB59 KB65 KB74
 KB79 KB92
 4C086 AA01 AA02 BC43 EA10 EA17 MA03 MA05 NA13 ZB26
 4C206 AA01 AA02 JB16 JB17 MA03 MA05 MA44 NA13 ZB26
 4H039 CA21 CF10
 4H050 AA01 AA02 AA03 AB20 AB28 BA17 BA48 WA12 WA26