

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成20年12月25日 (2008.12.25)

【公表番号】特表2008-525514(P2008-525514A)

【公表日】平成20年7月17日 (2008.7.17)

【年通号数】公開・登録公報2008-028

【出願番号】特願2007-548751(P2007-548751)

【国際特許分類】

A 6 1 K 9/113 (2006.01)

A 6 1 K 47/34 (2006.01)

A 6 1 K 47/36 (2006.01)

A 6 1 K 47/16 (2006.01)

A 6 1 K 47/48 (2006.01)

A 6 1 K 47/24 (2006.01)

A 6 1 K 47/32 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/711 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 P 43/00 (2006.01)

A 6 1 K 45/00 (2006.01)

C 1 2 N 15/09 (2006.01)

【 F I 】

A 6 1 K 9/113 Z N A

A 6 1 K 47/34

A 6 1 K 47/36

A 6 1 K 47/16

A 6 1 K 47/48

A 6 1 K 47/24

A 6 1 K 47/32

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 31/711

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 P 43/00 1 0 5

A 6 1 K 45/00

A 6 1 P 43/00 1 2 1

C 1 2 N 15/00 A

【手続補正書】

【提出日】平成20年11月4日 (2008.11.4)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

少なくとも 1 つの第一脂質成分、

少なくとも 1 つの第一ヘルパー脂質、および

i n v i v o 条件下で脂質組成物から除去できる遮蔽化合物

を含む、脂質組成物。

【請求項 2】

前記遮蔽化合物が、PEG、HEG、ポリヒドロキシエチルスターチ（ポリHES）、およびポリプロポレンを含む群より選択される、請求項 1 に記載の脂質組成物。

【請求項 3】

前記遮蔽化合物が、PEG 2000 または PEG 5000 である、請求項 2 に記載の脂質組成物。

【請求項 4】

前記組成物が、さらなる構成および / または第二ヘルパー脂質を含む、請求項 1 ~ 3 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 5】

前記脂質組成物が、核酸を含み、それにより該核酸が、好ましくは前記さらなる構成である、請求項 1 ~ 4 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 6】

前記核酸が、RNAi、siRNA、siNA、アンチセンス核酸、リボザイム、アプタマー、およびスピゲルマー（spiegelmer）を含む群より選択される、請求項 5 に記載の脂質組成物。

【請求項 7】

前記遮蔽化合物が、PEG とセラミドとのコンジュゲートである、請求項 1 ~ 6 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 8】

前記セラミドが、少なくとも 1 つの 6 ~ 10 の炭素原子、好ましくは 8 の炭素原子の短い炭素鎖置換基を含む、請求項 7 に記載の脂質組成物。

【請求項 9】

前記セラミドが、第一ヘルパー脂質である、請求項 7 ~ 8 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 10】

前記セラミドが、第二ヘルパー脂質である、請求項 7 ~ 8 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 11】

前記遮蔽化合物が、前記核酸へ結合される、請求項 5 ~ 6 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 12】

前記遮蔽化合物が、リンカー部分によって前記核酸に結合され、好ましくはリンカー部分によって前記核酸に共有結合される、請求項 11 に記載の脂質組成物。

【請求項 13】

前記リンカー部分が、ssRNA、ssDNA、dsRNA、dsDNA、ペプチド、S-S リンカー、および pH 感受性リンカーを含む群より選択される、請求項 12 に記載の脂質組成物。

【請求項 14】

前記核酸が、RNAi、siRNA、および siNA を含む群より選択され、前記リンカーが、センス鎖の 3' 末端に結合される、請求項 11 ~ 13 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 15】

前記遮蔽化合物が、pH 感受性リンカーまたは pH 感受性部分を含む、請求項 1 ~ 6 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 16】

前記リンカーまたは部分が、陰イオン性リンカーまたは陰イオン性部分である、請求項 15 に記載の脂質組成物。

【請求項 17】

前記陰イオン性リンカーまたは陰イオン性部分が、酸性環境においてほとんど陰イオン性または中性ではなく、それにより好ましくは該酸性条件がエンドソームである、請求項 16 に記載の脂質組成物。

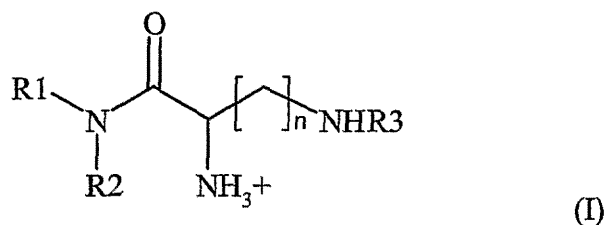
【請求項 18】

前記 pH 感受性リンカーまたは pH 感受性部分が、オリゴ（グルタミン酸）、オリゴフェノラート、およびジエチレントリアミン五酢酸を含む群より選択される、請求項 15 ~ 17 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 19】

前記第一脂質成分が、式（I）

【化 1】

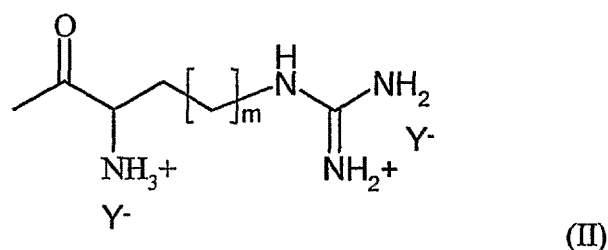


（式中、 $R_1$  および  $R_2$  は、アルキルを含む群より各々独立して選択され、

$n$  は、1 ~ 4 の任意の整数であり、

$R_3$  は、リジル、オルニチル、2, 4 - ジアミノブチリル、ヒスチジル、および式（I）

【化 2】



（式中、 $m$  は、1 ~ 3 の任意の整数であり、場合により  $NH_3^+$  を欠き、そして  $Y$  は、薬学的に許容される陰イオンである。）に記載のアシル部分を含む群より選択されるアシルである。）

に記載の化合物である、請求項 1 ~ 18 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 20】

$R_1$  および  $R_2$  が、ラウリル、ミリスチル、パルミチル、およびオレイルを含む群より各々独立して選択される、請求項 19 に記載の脂質組成物。

【請求項 21】

$R_1$  が、ラウリルであり、 $R_2$  が、ミリスチルであるか、または

$R_1$  が、パルミチルであり、 $R_2$  が、オレイルである、請求項 19 および 20 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 22】

$m$  が、1 または 2 である、請求項 19 ~ 21 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 23】

前記化合物が、好ましくは陰イオン  $Y^-$  と会合した陽イオン性脂質である、請求項 19 ~ 22 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

【請求項 24】

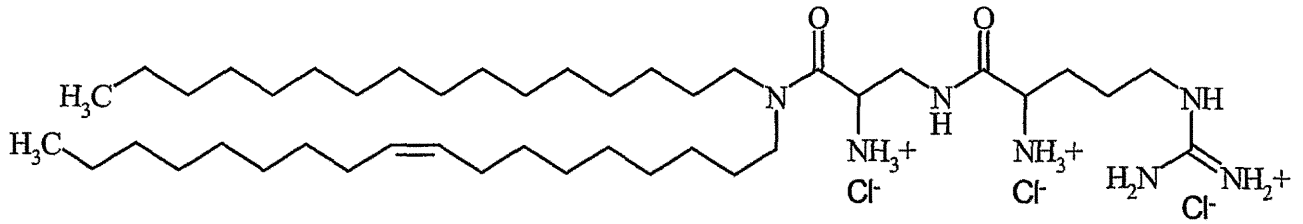
$Y^-$  が、ハロゲニド、アセテート、およびトリフルオロアセテートを含む群より選択される、請求項 19 ~ 23 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

## 【請求項 25】

前記化合物が、

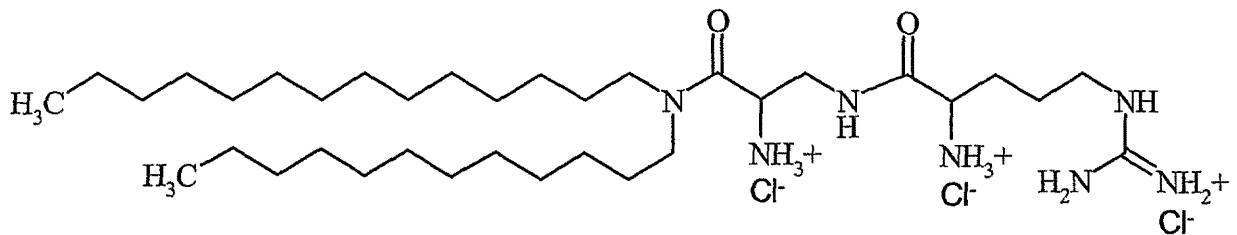
- アルギニル - 2, 3 - ジアミノプロピオン酸 - N - パルミチル - N - オレイル - アミドトリヒドロクロリド

## 【化 3】



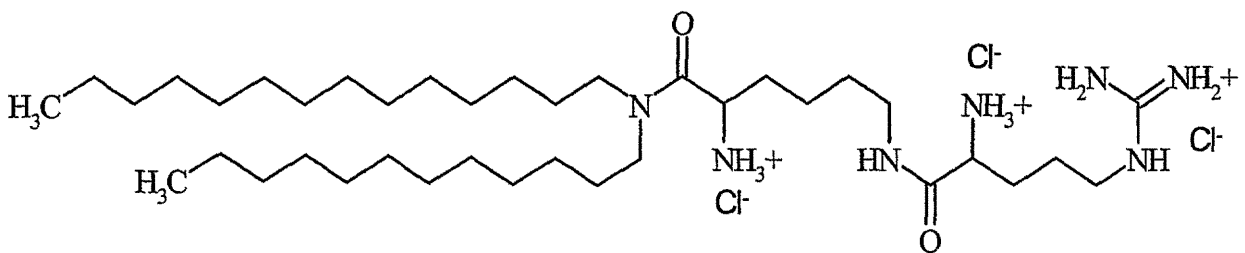
- アルギニル - 2, 3 - ジアミノプロピオン酸 - N - ラウリル - N - ミリスチル - アミドトリヒドロクロリド

## 【化 4】



- アルギニル - リジン - N - ラウリル - N - ミリスチル - アミドトリヒドロクロリド

## 【化 5】



を含む群より選択される、請求項 19 ~ 24 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

## 【請求項 26】

前記組成物が、担体を含む、請求項 1 ~ 25 のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

## 【請求項 27】

請求項 1 ~ 26 のうちのいずれか一項に記載の組成物と、薬学的に活性のある化合物と、好ましくは薬学的に許容され得る担体とを含む、薬学的組成物。

## 【請求項 28】

前記薬学的に活性のある化合物および / または前記さらなる構成体が、ペプチド、タンパク質、オリゴヌクレオチド、ポリヌクレオチド、および核酸を含む群より選択される、請求項 27 に記載の組成物。

## 【請求項 29】

前記タンパク質が、抗体であり、好ましくはモノクローナル抗体である、請求項 28 に記載の組成物。

## 【請求項 30】

前記核酸が、DNA、RNA、PNA、およびLNAを含む群より選択される、請求項

28に記載の組成物。

【請求項31】

前記核酸が、機能的核酸であり、それにより、好ましくは前記機能的核酸が、RNAi、siRNA、siNA、アンチセンス核酸、リボザイム、アプタマー、およびスピゲルマーを含む群より選択される、請求項28または30のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項32】

好ましくは、前記第一および/または前記第二ヘルパー脂質が、セラミドとは異なるという条件のもとで、前記第一ヘルパー脂質および/または第二ヘルパー脂質が、リン脂質およびステロイドを含む群より選択される、請求項1～31のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項33】

前記第一および/または第二ヘルパー脂質またはヘルパー脂質成分が、1,2-ジフィタノイル-sn-グリセロ-3-フォスフォエタノールアミンおよび1,2-ジオレイル-sn-グリセロ-3-フォスフォエタノールアミンを含む群より選択される、請求項32に記載の組成物。

【請求項34】

前記ヘルパー脂質成分の含有量が、前記組成物の全体的な脂質含有量の約20～約80モル%である、請求項32～33のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項35】

前記ヘルパー脂質成分の含有量が、約35～約65モル%である、請求項34に記載の組成物。

【請求項36】

前記脂質が、-アルギニル-2,3-ジアミノプロピオン酸-N-パルミチル-N-オレイル-アミドトリヒドロクロリドであり、前記ヘルパー脂質が、1,2-ジフィタノイル-sn-グリセロ-3-フォスフォエタノールアミンである、請求項33～35のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項37】

前記脂質が、前記組成物の全体的な脂質含有量の50モル%であり、前記ヘルパー脂質が、50モル%である、請求項36に記載の組成物。

【請求項38】

前記組成物が、さらに第二ヘルパー脂質を含む、請求項4～37のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項39】

前記第一および/または前記第二ヘルパー脂質が、PEG部分、HEG部分、ポリヒドロキシエチルスターチ(polyHES)部分及びポリプロピレン部分を含む群より選択される群を含み、該部分が、好ましくは約500～10000Daの、より好ましくは約2000～5000Daの分子量を与える、請求項1～38のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項40】

PEG部分を含む前記ヘルパー脂質が、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-フォスフォエタノールアミンおよび1,2-ジアルキル-sn-グリセロ-3-フォスフォエタノールアミンを含む群より選択される、請求項39に記載の組成物。

【請求項41】

前記ヘルパー脂質の前記PEG部分が、2,000～5,000Daの分子量を、好ましくは2,000Daの分子量を有する、請求項40に記載の組成物。

【請求項42】

前記組成物が、脂質成分として-アルギニル-2,3-ジアミノプロピオン酸-N-パルミチル-N-オレイル-アミドトリヒドロクロリドを、第一ヘルパー脂質として1,2-ジフィタノイル-sn-グリセロ-3-フォスフォエタノールアミンを、および第二

ヘルパー脂質として 1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - フォスフォエタノールアミン - PEG 2000 を含む、請求項 41 に記載の組成物。

【請求項 43】

前記第二ヘルパー脂質の含有量が、約 0.05 ~ 4.9 モル%、好ましくは約 1 ~ 2 モル%である、請求項 38 ~ 42 のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 44】

前記組成物が、約 1 ~ 10 モル%の、より好ましくは 1 ~ 7.5 モル%の、および最も好ましくは 1 ~ 5 モル%の PEG および前記セラミドのコンジュゲートを含有する、請求項 7 ~ 10 および請求項 15 ~ 43 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 45】

前記セラミドが、C8m であり、PEG が、PEG 2000 であり、PEG と前記セラミドとのコンジュゲートの含有量が、約 1 ~ 7.5 モル%である、請求項 44 に記載の組成物。

【請求項 46】

前記セラミドが、C8m であり、PEG が、PEG 5000 であり、PEG と前記セラミドとのコンジュゲートの含有量が、約 1 ~ 5 モル%である、請求項 44 に記載の組成物。

【請求項 47】

前記第一脂質成分の含有量が、約 42.5 ~ 50 モル%であり、前記第一ヘルパー脂質の含有量が、約 42.5 ~ 50 モル%であり、それにより、前記第一脂質成分、前記第一ヘルパー脂質、ならびに PEG とセラミドとのコンジュゲートの含有量の合計が、100 モル%である、請求項 43 ~ 45 のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 48】

前記機能的核酸が、二本鎖リボ核酸であり、前記組成物がさらに、核酸を、好ましくは、より好ましくは二本鎖リボ核酸である機能的核酸を、最も好ましくは、RNAi、siRNA、siNA、アンチセンス核酸、およびリボザイムを含む群より選択される核酸であり、それにより好ましくは、陽イオン性脂質に対する RNAi のモル比が、約 0 ~ 0.075 であり、好ましくは約 0.02 ~ 0.05 であり、さらにより好ましくは 0.037 である、請求項 1 ~ 47 のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 49】

前記第一脂質成分および / または前記ヘルパー脂質の少なくとも一つおよび / または前記遮蔽化合物が、水性媒体中の分散物として存在する、請求項 1 ~ 48 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 50】

前記第一脂質成分および / または前記ヘルパー脂質の少なくとも一つおよび / または前記遮蔽化合物が、水混和性溶媒中の溶液として存在し、それにより好ましくは、前記溶媒が、エタノールおよび tert - ブタノールを含む群より選択される、請求項 1 ~ 48 のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 51】

薬物の製造のための、請求項 1 ~ 50 のうちのいずれか一項に記載の組成物の使用。

【請求項 52】

転移剤としての、請求項 1 ~ 50 のうちのいずれか一項に記載の組成物の使用。

【請求項 53】

前記転移剤が、薬学的に活性のある成分および / またはさらなる構成体を細胞、好ましくは哺乳類細胞、およびより好ましくはヒト細胞に転移させる、請求項 52 に記載の使用。

【請求項 54】

下記工程：

- 細胞または膜を提供すること、
- 請求項 1 ~ 50 のうちのいずれか一項に記載の組成物を提供し、それにより前記組

成物が前記薬学的に活性のある化合物および／または前記さらなる構成体を含むこと、および

- 前記細胞または前記膜を、請求項 1 ～ 50 のうちのいずれか一項に記載の組成物と接触させること

を含む、薬学的に活性のある化合物および／またはさらなる構成体を前記細胞内にか、または前記膜、好ましくは細胞膜を横切って転移させるための方法。

【請求項 55】

前記方法が、さらなる工程として、前記薬学的に活性のある化合物および／または前記さらなる構成体を前記細胞中でおよび／または前記膜を越えて検出することを含む、請求項 54 に記載の方法。

【請求項 56】

請求項 1 ～ 50 のいずれか一項に記載の脂質組成物及び siRNA を含むリボプレックス。