

【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

in vivo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（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、PEG2000またはPEG5000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ゾームである、請求項16に記載の脂質組成物。

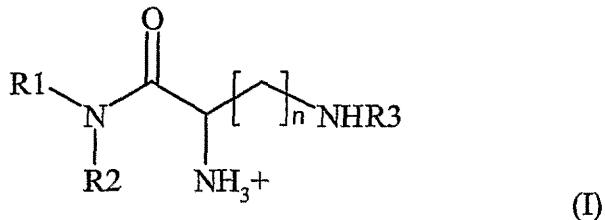
**【請求項18】**

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】**

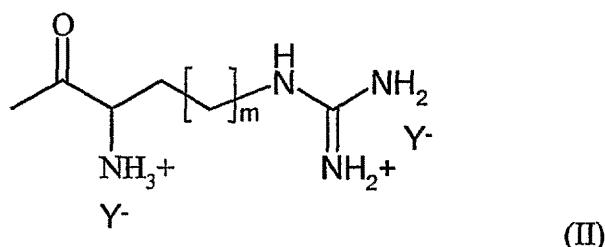


(式中、R<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>は、アルキルを含む群より各々独立して選択され、

nは、1～4の任意の整数であり、

R<sub>3</sub>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<sub>3</sub><sup>+</sup>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<sub>1</sub>およびR<sub>2</sub>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<sub>1</sub>が、ラウリルであり、R<sub>2</sub>が、ミリスチルであるか、または

R<sub>1</sub>が、パルミチルであり、R<sub>2</sub>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<sup>-</sup>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】**

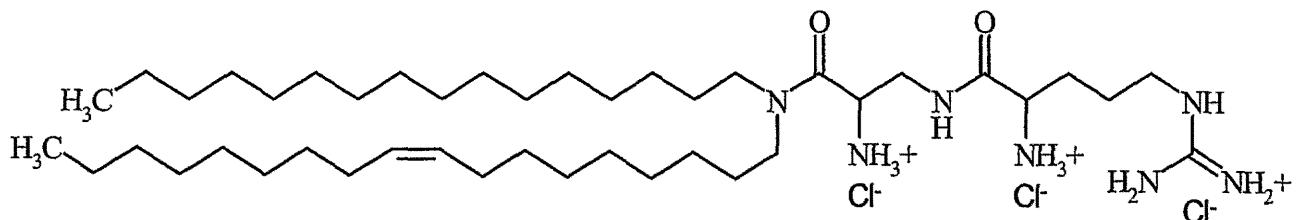
Y<sup>-</sup>が、ハロゲニド、アセテート、およびトリフルオロアセテートを含む群より選択される、請求項19～23のうちのいずれか一項に記載の脂質組成物。

## 【請求項 25】

前記化合物が、

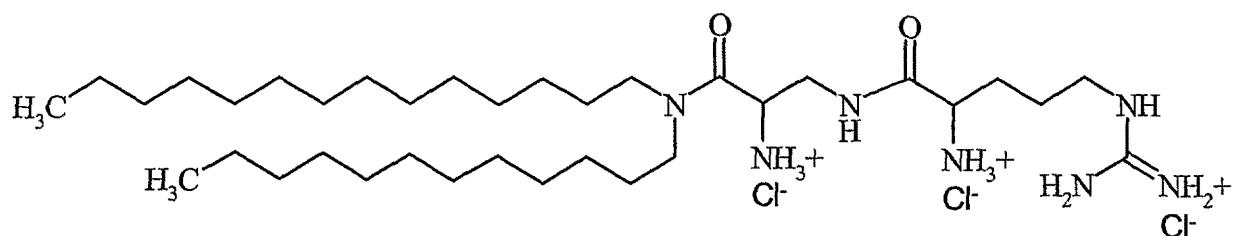
- アルギニル - 2 , 3 - ジアミノプロピオン酸 - N - パルミチル - N - オレイル - アミドトリヒドロクロリド

## 【化 3】



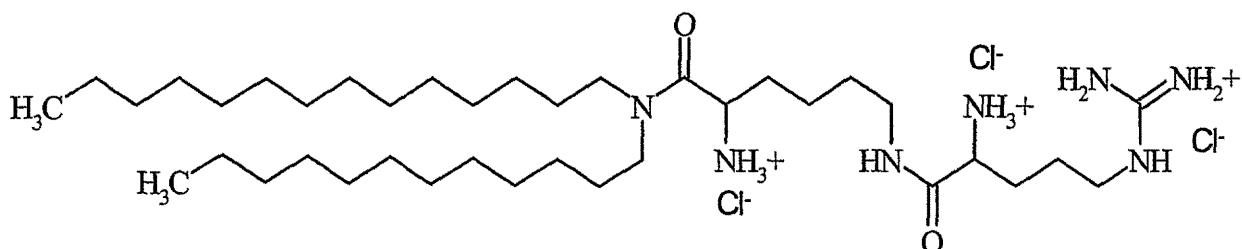
- アルギニル - 2 , 3 - ジアミノプロピオン酸 - N - ラウリル - N - ミリスチル - アミドトリヒドロクロリド

## 【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-fosfoetanolaminおよび1,2-ジオレイル-sn-グリセロ-3-fosfoetanolamin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-fosfoetanolamin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( 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-fosfoetanolaminおよび1,2-ジアルキル-sn-グリセロ-3-fosfoetanolamin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-fosfoetanolaminを、および第二

ヘルパー脂質として 1 , 2 - ジステアロイル - s n - グリセロ - 3 - フォスフォエタノールアミン - P E G 2 0 0 0 を含む、請求項 4 1 に記載の組成物。

【請求項 4 3】

前記第二ヘルパー脂質の含有量が、約 0 . 0 5 ~ 4 . 9 モル%、好ましくは約 1 ~ 2 モル%である、請求項 3 8 ~ 4 2 のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 4 4】

前記組成物が、約 1 ~ 1 0 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 P E G 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 ~ 1 0 および請求項 1 5 ~ 4 3 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 4 5】

前記セラミドが、C 8 m であり、P E G が、P E G 2 0 0 0 であり、P E G 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 4 4 に記載の組成物。

【請求項 4 6】

前記セラミドが、C 8 m であり、P E G が、P E G 5 0 0 0 であり、P E G 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 4 4 に記載の組成物。

【請求項 4 7】

前記第一脂質成分の含有量が、約 4 2 . 5 ~ 5 0 モル%であり、前記第一ヘルパー脂質の含有量が、約 4 2 . 5 ~ 5 0 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 P E G とセラミドとのコンジュゲートの含有量の合計が、1 0 0 モル%である、請求項 4 3 ~ 4 5 のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 4 8】

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、R N A i 、 s i R N A 、 s i N A 、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 R N A i のモル比が、約 0 ~ 0 . 0 7 5 であり、好ましくは約 0 . 0 2 ~ 0 . 0 5 であり、さらにより好ましくは 0 . 0 3 7 である、請求項 1 ~ 4 7 のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 4 9】

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 ~ 4 8 のいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5 0】

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 t e r t - ブタノールを含む群より選択される、請求項 1 ~ 4 8 のうちのいずれか一項に記載の組成物。

【請求項 5 1】

薬物の製造のための、請求項 1 ~ 5 0 のうちのいずれか一項に記載の組成物の使用。

【請求項 5 2】

転移剤としての、請求項 1 ~ 5 0 のうちのいずれか一項に記載の組成物の使用。

【請求項 5 3】

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 5 2 に記載の使用。

【請求項 5 4】

下記工程 :

- 細胞または膜を提供すること、
- 請求項 1 ~ 5 0 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s i R N Aを含むリポプレックス。