【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25年6月20日(2013.6.20)

【公表番号】特表2009-520040(P2009-520040A)
【公表日】平成21年5月21日(2009.5.21)
【年通号数】公開・登録公報2009-020
【出願番号】特願2008-547735(P2008-547735)
【国際特許分類】
Ａ６１Ｋ　47/48　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　47/34　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　38/26　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　38/22　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　38/21　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　38/00　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　39/395　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　47/36　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　45/00　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　31/4439　(2006.01)
Ａ６１Ｋ　 9/14　(2006.01)
Ｃ０７Ｋ　17/02　(2006.01)
【ＦＩ】
Ａ６１Ｋ　47/48
Ａ６１Ｋ　47/34
Ａ６１Ｋ　37/28
Ａ６１Ｋ　37/24
Ａ６１Ｋ　37/66　Ｈ
Ａ６１Ｋ　37/02
Ａ６１Ｋ　39/395　Ｃ
Ａ６１Ｋ　47/36
Ａ６１Ｋ　45/00
Ａ６１Ｋ　31/4439
Ａ６１Ｋ　 9/14
Ｃ０７Ｋ　17/02

【誤訳訂正書】
【提出日】平成25年4月26日(2013.4.26)
【誤訳訂正１】
【訂正対象書類名】特許請求の範囲
【訂正対象項目名】全文
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
（ｉ）担体；
（ｉｉ）各疎水性基が担体にペンダント基として共有結合しており、装填分子を非共有結合することができる、複数の第一疎水性基；及び
（ｉｉｉ）各親水性保護側鎖が担体にペンダント基として共有結合しており、複数のポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖
を含む組成物であって、

前記疎水性基に対する前記ポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖の重量比率が１７：１より大きく、それによって、前記組成物が水性溶媒中に可溶性となり；
各疎水性基が前記担体の重量とは独立に約１，０００ダルトン未満の分子量を有し；
各ポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖が、前記担体の重量とは独立に約５００乃至２０，０００ダルトンの間の分子量を有する、前記組成物。
【請求項２】
前記疎水性基に非共有結合されている装填分子を更に含む、請求項１に記載の組成物。
【請求項３】
前記担体に共有結合させた装填分子配向分子を更に含む、請求項１に記載の組成物。
【請求項４】
前記装填分子配向分子が、ペプチド、スルフェート、スルホネート、ホスフェート、ホスホネート、ビスホスホネート、カルボキシレート、金属結合部分、アミノ基、リジン、及びアルギニンから成る群より選択される、請求項３に記載の組成物。
【請求項５】
前記疎水性基及び／又は前記装填分子配向分子に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項３に記載の組成物。
【請求項６】
前記保護側鎖に共有結合させた標的決定分子を更に含む、請求項１に記載の組成物。
【請求項７】
前記標的決定分子が抗体、抗体のフラグメント、キメラ抗体、レクチン、受容体リガンド、タンパク質、酵素、ペプチド、糖、酵素の準基質、細胞表面結合性化合物、及び細胞外マトリックス結合性化合物から成る群より選択される、請求項６に記載の組成物。
【請求項８】
前記疎水性基に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項６に記載の組成物。
【請求項９】
前記担体に共有結合させた装填分子配向分子を更に含む、請求項６に記載の組成物。
【請求項１０】
前記疎水性基及び／又は前記装填分子配向分子に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項９に記載の組成物。
【請求項１１】
第二保護側鎖及び複数の第二疎水性基を更に含み、前記第二疎水性基は前記担体に共有結合した第一端と、前記第二保護側鎖に共有結合した第二端とを有し；
前記第二疎水性基は前記担体及び保護側鎖重量とは独立に１，０００ダルトン未満の分子量を有し；
前記疎水性基に共有結合した前記第二保護側鎖は前記疎水性基重量とは独立に１０００乃至２０，０００ダルトンの間の分子量を有する、
請求項１に記載の組成物。
【請求項１２】
前記疎水性基に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項１１に記載の組成物。
【請求項１３】
前記担体に共有結合させた装填分子配向分子を更に含む、請求項１１に記載の組成物。
【請求項１４】
前記疎水性基及び／又は前記装填分子配向分子に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項１１に記載の組成物。
【請求項１５】
前記保護側鎖に共有結合させた標的決定分子を更に含む、請求項１１に記載の組成物。
【請求項１６】
前記疎水性基に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項１５に記載の組成物。
【請求項１７】

前記担体に共有結合させた装填分子配向分子を更に含む、請求項１５に記載の組成物。
【請求項１８】
前記疎水性基及び／又は前記装填分子配向分子に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項１７に記載の組成物。
【請求項１９】
（ｉ）担体；及び
（ｉｉ）共有結合により連結したポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖を持つ複数の第一疎水性基、
を含む組成物であって、
但し前記第一疎水性基は、前記担体に共有結合した第一端と、前記ポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖に共有結合した第二端とを有し；
前記第二疎水性基は前記担体及びポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖重量とは独立に１，０００ダルトン未満の分子量を有し；
前記第一疎水性基は、前記担体及びポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖重量とは独立に１５０乃至１０００ダルトンの間の分子量を有し；
前記ポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖は前記担体及び疎水性基重量とは独立に約１０００乃至２０，０００ダルトンの間の分子量を有し；
前記疎水性基に対する前記ポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖の重量比率が１７：１より大きく、それによって、前記組成物が水性溶媒中に可溶性となる、
組成物。
【請求項２０】
前記ポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖が、メトキシポリエチレングリコール又はメトキシポリプロピレングリコールなどのアルコキシ誘導体である、請求項１又は１９に記載の組成物。
【請求項２１】
前記疎水性基に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項１又は１９に記載の組成物。
【請求項２２】
前記装填分子がグルカゴン様ペプチド、グルカゴン様ペプチド誘導体、エキセナチド、グルカゴン様ペプチド－１、グルカゴン様ペプチド－２、レプチンフラグメント、胃抑制ポリペプチド　（ＧＩＰ）、上皮成長因子（ＥＧＦ）受容体リガンド、ＥＧＦ、トランスフォーミング成長因子アルファ（ＴＧＦ－アルファ）、ベータセルリン、ガストリン／コレシストキニン受容体リガンド、ガストリン、コレシストキニン、リゾスタフィン、インターフェロン、インターフェロンガンマ、インターフェロンベータ、インターフェロンアルファ、インターロイキン－１、インターロイキン－２、インターロイキン－４、インターロイキン－６、インターロイキン－８、インターロイキン－１０、インターロイキン－１２、腫瘍壊死因子、腫瘍壊死因子アルファ、腫瘍壊死因子ベータ、アウリスタチン、ナイシン、インシュリン、インシュリン様成長因子、成長ホルモン、神経成長因子、脳由来神経栄養因子、酵素、エンドスタチン、アンジオスタチン、トロンボスポンジン、ウロキナーゼ、ストレプトキナーゼ、血液凝固因子　ＶＩＩ、血液凝固因子　ＶＩＩＩ、顆粒球－マクロファージコロニ刺激因子（ＧＭ－ＣＳＦ）、顆粒球コロニ刺激因子（Ｇ－ＣＳＦ）、トロンボポエチン、カルシトニン、副甲状腺ホルモン（ＰＴＨ）及びそのフラグメント、エリスロポエチン、心房性ナトリウム利尿因子、モノクローナル抗体、モノクローナル抗体フラグメント、ソマトスタチン、プロテアーゼ阻害剤、アドレノコルチコトロピン、性腺刺激ホルモン放出ホルモン、オキシトシン、黄体形成ホルモン－放出ホルモン、卵胞刺激ホルモン、グルコセレブロシダーゼ、トロンボポエチン、フィルグラスチム、プロスタグランジン、エポプロステノール、プロスタサイクリン、シクロスポリン、バソプレッシン、テルリプレッシン、デスモプレッシン、クロモリンナトリウム（ナトリウム又はジソジウムクロモグリケート）、血管作用性小腸ペプチド（ＶＩＰ）、バンコマイシン、

抗菌剤、ポリミキシンｂ、抗カビ剤、抗ウィルス剤、エンフビルティド、ドキソルビシン、エトポシド、フェンタニル、ケタミン、及びビタミンから成る群より選択される、請求項２又は２１に記載の組成物。

【請求項２３】

前記装填分子がグルカゴン様ペプチド－１、上皮成長因子（ＥＧＦ）受容体リガンド、ＥＧＦ、トランスフォーミング成長因子アルファ（ＴＧＦ－アルファ）、ベータセルリン、ガストリン／コレシストキニン受容体リガンド、ガストリン、及びコレシストキニンからなる群から選択される、請求項２又は２１に記載の組成物。

【請求項２４】

前記装填分子がグルカゴン様ペプチド－１である、請求項２又は２１に記載の組成物。

【請求項２５】

前記装填分子がガストリン／コレシストキニン受容体リガンド、ガストリン、及びコレシストキニンからなる群から選択される、請求項２又は２１に記載の組成物。

【請求項２６】

前記装填分子が上皮成長因子（ＥＧＦ）受容体リガンド、ＥＧＦ、トランスフォーミング成長因子アルファ（ＴＧＦ－アルファ）及びベータセルリンからなる群から選択される、請求項２又は２１に記載の組成物。

【請求項２７】

前記担体に共有結合させた装填分子配向分子を更に含む、請求項２又は２１に記載の組成物。

【請求項２８】

前記装填分子配向分子が、ペプチド、スルフェート、スルホネート、ホスフェート、ホスホネート、ビスホスホネート、カルボキシレート、金属キレート部分、アミノ基、リジン、及びアルギニンから成る群より選択される、請求項２７に記載の組成物。

【請求項２９】

前記疎水性基及び／又は前記装填分子配向分子に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項２７に記載の組成物。

【請求項３０】

前記ポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖に共有結合させた標的決定分子を更に含む、請求項１９に記載の組成物。

【請求項３１】

前記標的決定分子が抗体、抗体のフラグメント、キメラ抗体、酵素、ペプチド、酵素の準基質、レクチン、受容体、及びレクチンの糖リガンドから成る群より選択される、請求項３０に記載の組成物。

【請求項３２】

前記疎水性基に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項３０に記載の組成物。

【請求項３３】

前記担体に共有結合させた装填分子配向分子を更に含む、請求項３０に記載の組成物。

【請求項３４】

前記疎水性基及び／又は前記装填分子配向分子に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項３３に記載の組成物。

【請求項３５】

複数の第二疎水性基を更に含み、但し前記第二疎水性基は前記担体に共有結合していると共に前記担体重量とは独立に１，０００ダルトン未満の分子量を有する、請求項１９に記載の組成物。

【請求項３６】

前記疎水性基に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項３５に記載の組成物。

【請求項３７】

前記担体に共有結合させた装填分子配向分子を更に含む、請求項３５に記載の組成物。

【請求項３８】

前記疎水性基及び／又は前記装填分子配向分子に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項３７に記載の組成物。
【請求項３９】
前記ポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖に共有結合させた標的決定分子を更に含む、請求項３５に記載の組成物。
【請求項４０】
前記疎水性基に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項３９に記載の組成物。
【請求項４１】
前記担体に共有結合させた装填分子配向分子を更に含む、請求項３９に記載の組成物。
【請求項４２】
前記疎水性基及び／又は前記装填分子配向分子に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項３９に記載の組成物。
【請求項４３】
（ｉ）ポリリジン、ポリアスパラギン酸、ポリグルタミン酸、ポリセリン、ポリスレオニン、ポリシステイン、ポリグリセロール、ポリエチレンイミン、天然の糖、アミノ化多糖、アミノ化オリゴ糖、ポリアミドアミン、ポリアクリル酸、ポリアルコール、スルホン化多糖、スルホン化オリゴ糖、カルボキシル化多糖、カルボキシル化オリゴ糖、アミノカルボキシル化多糖、アミノカルボキシル化オリゴ糖、カルボキシルメチル化多糖、及びカルボキシルメチル化オリゴ糖から成る群より選択されるポリマ製担体と；
（ｉｉ）装填分子に非共有結合することができると共に前記担体に共有結合した複数の疎水性基であって、但し各疎水性基が前記担体重量とは独立に１，０００ダルトン未満の分子量を有し、そして各疎水性基が直線状のアルキル、分枝状アルキル、フェニル、ナフチル、コレステロール、ビタミンＤ、及びビタミンＥから成る群より独立に選択される、複数の疎水性基と、
（ｉｉｉ）各親水性保護側鎖が担体にペンダント基として共有結合している、複数のポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖と
を含む組成物であって、
前記疎水性基に対する前記ポリエチレングリコール又はポリプロピレングリコール親水性保護側鎖の全体的な重量比率が１７：１より大きく、それによって、前記組成物が水性緩衝液中に可溶性となる、前記組成物。
【請求項４４】
前記疎水性基に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項４３に記載の組成物。
【請求項４５】
前記担体に共有結合させた装填分子配向分子を更に含む、請求項４３に記載の組成物。
【請求項４６】
前記装填分子配向分子が、ペプチド、スルフェート、スルホネート、ホスフェート、ホスホネート、ビスホスホネート、カルボキシレート、アミノ基、金属結合分子、リジン、及びアルギニンから成る群より選択される、請求項４５に記載の組成物。
【請求項４７】
前記疎水性基及び／又は前記装填分子配向分子に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項４５に記載の組成物。
【請求項４８】
前記担体又は前記疎水性基に共有結合させた標的決定分子を更に含む、請求項４３に記載の組成物。
【請求項４９】
前記標的決定分子が抗体、抗体のフラグメント、キメラ抗体、酵素、ペプチド、受容体、酵素の準基質、レクチン、及びレクチンの糖リガンドから成る群より選択される、請求項４８に記載の組成物。
【請求項５０】
前記疎水性基に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項４８に記載の組成物。

【請求項５１】
前記担体に共有結合させた装填分子配向分子を更に含む、請求項４８に記載の組成物。
【請求項５２】
前記疎水性基及び／又は前記装填分子配向分子に非共有結合させた装填分子を更に含む、請求項５１に記載の組成物。
【請求項５３】
請求項２３乃至２６に記載の組成物から成る群より選択される第一組成物を含む糖尿病治療剤。
【請求項５４】
請求項２１及び２５に記載の組成物から成る群より選択される第二組成物を更に含み、前記第一組成物が請求項２４に記載の組成物及び請求項２１に記載の組成物から成る群より選択される、請求項５３に記載の糖尿病治療剤。
【請求項５５】
プロトン・ポンプ阻害剤を第三組成物として更に含む、請求項５４に記載の糖尿病治療剤。
【請求項５６】
プロトン・ポンプ阻害剤を第二組成物として更に含む、請求項５３に記載の糖尿病治療剤。
【請求項５７】
前記プロトン・ポンプ阻害剤がオメプラゾールである、請求項５６に記載の糖尿病治療剤。
【請求項５８】
ＤＰＰ４阻害剤を第三組成物として更に含む、請求項５６に記載の糖尿病治療剤。
【請求項５９】
ＤＰＰ４阻害剤を第二組成物として更に含む、請求項５３に記載の糖尿病治療剤。
【請求項６０】
前記プロトン・ポンプ阻害剤がオメプラゾールである、請求項５５に記載の糖尿病治療剤。
【請求項６１】
プロトン・ポンプ阻害剤を第二組成物として更に含み、前記第一組成物が請求項２６のいずれかに記載されている、請求項５３に記載の糖尿病治療剤。
【請求項６２】
前記プロトン・ポンプ阻害剤がオメプラゾールである、請求項６１に記載の糖尿病治療剤。

【誤訳訂正２】
【訂正対象書類名】明細書
【訂正対象項目名】全文
【訂正方法】変更
【訂正の内容】
【発明の詳細な説明】
【発明の名称】治療薬の送達のための疎水性コアの担体組成物、及び同担体組成物の作製法及び使用法
【技術分野】
【０００１】
関連出願の情報
本出願は、２００５年１２月１９日に出願された米国特許出願第11/311,895号の改変で生じた米国仮出願第60/813,629号に依る米国特許法第１１９条（ｅ）に基づく優先権を主張するものである。

【０００２】
政府による許諾権
ここに解説された研究は米国国立糖尿病・消化器病・腎疾患研究所により5 R43 DK069727-01の下で付与された政府支援を受けてなされた。米国政府はここに紹介する手段における特定の権利を有するであろう。
【背景技術】
【０００３】
生理学的に活性なペプチド、たんぱく質、有機薬物、他の治療薬及び物質を投与するための新規な薬物、調合物及び他の系の開発は、所望の生理学的効果を達成するという必要に駆られている。ペプチド及びたんぱく質に関しては、それらの数多くが胃腸管では不安定であることが観察されているため、安定化させたり、保護したり、又は、全身循環を通じて送達する必要がある場合がある。その上、低分子量を有するペプチド及びたんぱく質は、腎臓を通じて全身循環から効率的に取り除かれてしまうために、短時間の生物学的半減期しか有さない傾向がある。例えば、これらのペプチド及びたんぱく質の一部分は、単球／マクロファージによる認識が原因で細網内皮細胞による取り込みを通じて取り除かれるか、補体成分のオプソニン化の結果によっても、取り除かれ得る。また多くのペプチド及びたんぱく質は、タンパク質分解（ペプチド結合の開裂）によって、それらのin vivoでの活性を失うこともある。
【０００４】
部分的には、これらの望ましくない効果を回避するためにも、薬物送達系を用いてもよい。ペプチド及びたんぱく質のin vivoでの送達に有用であろう薬物送達戦略がいくつか、ある。第一に、ポンプを通じた、薬物の継続的全身輸注を利用することができる。この戦略は臨床の実際では効率的であることが立証されているが、高レベルの可動性を要すると共に、付随する生活レベル面での不都合や、静脈内（Ｉ．Ｖ．）系感染症の可能性のある外来患者にとっては実際的でない場合がある。
【０００５】
第二に、所望の放出速度などで薬物を拡散できるようなメンブレンを持つカプセルから成る移植可能なポンプ内にペプチド及びたんぱく質を含めることができる。これらのカプセルの容積は限られているため、ペプチド及びたんぱく質が、しばしば濃縮された調合物にして用いられるため、凝集を原因とする可溶性の消失や、特異的活性消失の可能性につながる。大半の場合、薬物は通常、細胞外空間に放出されてリンパ系に分布していく。ペプチド及びたんぱく質の総濃度は、移植部位の局部的なリンパ節の活性やリンパ節排泄効力に左右されるであろう。また更に、カプセルの材料に対するホスト反応の可能性もあるが、一般的には、この副作用は余りない。
【０００６】
第三に、例えばポリマ・マトリックス、粒子又は膜ベシクル（リポソーム）など、分解性の薬物送達伝播体又は担体内に封入又は含有させた結果、薬物放出系を生分解性にすることができる。これらの送達系は通常、移植可能であるか、又は注射可能である。移植可能な薬物送達系は、当該の系の成分が通常、周囲細胞の生物学的活性の結果（即ち、これらのインプラントを一体に保持している化学結合を分解する酵素の放出の結果）、ゆっくりと分解するような上皮下に、しばしば配置される。
【０００７】
言及をもってここに援用することとする、ボダノフらの米国特許第5,871,710号は、ポリマ製担体と、該ポリマ製担体に連結した保護鎖と、該担体又は該担体及び保護鎖に連結したレポータ基と、診断用に可逆的に連結したPt(II)化合物とを含む生体適合性の移植片コポリマ付加物を開示している。しかしながら、ボダノフらは、幅広い治療薬に有用であると共に放出速度を調節する手段を有するような治療薬送達組成物を開示してはいない。言及をもってここに援用することとするボロチンの米国特許第 7,138,105号は、両側を２つの金属結合分子に挟まれた金属架橋を含む生体適合性ある移植片コポリマを開示しているが、このとき、該金属結合分子の一方は、治療薬の一部であるか、あるいは治療薬に共

有結合させてある。該架橋は、担体と、金属を結合させることのできる治療薬との間の連結を提供する。

【０００８】

それでも尚、幅広い治療薬に有用であると共に、放出速度を容易に制御できるような徐放性治療薬送達系が必要とされている。本出願では、治療薬に可逆的に結合することのできる疎水性のコアを含み生体適合性組成物であって、前記コアの疎水性の程度は、可逆的に結合した治療薬の放出速度を制御することのできる、生体適合性組成物が開示される。

【０００９】

発明の概要

本発明の目的は、安全かつ生体適合性があり、公知の化学薬品及び化合物から容易に調製され、幅広い治療薬になじむ徐放性の治療薬送達系であって、当該送達系の物理的特徴を変更する簡単な機序により、放出速度を用意に調節できるような治療薬送達系を提供することである。

【００１０】

更に本発明の目的は、本徐放性送達系が、治療薬を、それを必要とする部位に効率的に送達するための標的決定部分を含むことである。

【００１１】

更に本発明の目的は、治療薬を、それを必要とする患者に、制御された態様で、そして安全かつ有効な、そしてそのように容易に調節された放出速度で、送達することにより、障害を治療する方法を提供することである。

【００１２】

更に本発明の目的は、薬物送達に向け、可溶性の乏しい分子を可溶化させる方法を提供することである。

【００１３】

本発明は、本発明の担体系と治療薬との間の疎水性相互作用は、治療薬の放出、あるいはより広い意味では「装填分子」の放出、を制御するために容易に調節することができるであろうという認識に基づく。当該担体の疎水性を制御することにより、高い装填能と調節可能な放出速度の両方を有する、安全かつ非免疫原性の担体を調製できよう。

【００１４】

部分的には、本発明は、新規な薬物送達系又は撮像剤、並びに同送達系又は撮像剤の作製法及び使用法に関する。

【００１５】

本発明は主に、担体に共有結合させた疎水性基と、前記疎水性基に疎水性相互作用により結合させた目的の活性物質（装填分子）とを含む疎水性コアの担体組成物に関する。

【００１６】

ある実施態様では、本発明は、（ｉ）骨格を含むポリマ製担体であって、前記担体がポリリジン、ポリアスパラギン酸、ポリグルタミン酸、ポリセリン、ポリスレオニン、ポリシステイン、ポリグリセロール、ポリエチレンイミン、天然の糖類、アミノ化多糖、アミノ化オリゴ糖、ポリアミドアミン、ポリアクリル酸、ポリアルコール、スルホン化多糖、スルホン化オリゴ糖、カルボキシル化多糖、カルボキシル化オリゴ糖、アミノカルボキシル化多糖、アミノカルボキシル化オリゴ糖、カルボキシルメチル化多糖、又はカルボキシルメチル化オリゴ糖である、ポリマ製担体と；（ｉｉ）装填分子に結合できると共に、前記ポリマ製担体に共有結合した複数の疎水性基であって、但しこの場合、各疎水性基は、前記担体分子重量とは独立に1,000ダルトン未満の分子量を有し、但しこの場合、前記疎水性基は直線状アルキル、分枝状アルキル、フェニル、ナフチル、コレステロール、ビタミンＤ、及び／又はビタミンＥである、疎水性基と、を含む生体適合性の疎水性コアの担体組成物に関する。

【００１７】

別の実施態様では、本発明は、（ｉ）骨格を含む担体と；（ｉｉ）装填分子に結合できる複数の疎水性基であって、但しこの場合、各疎水性基は前記ポリマ製担体に共有結合し

ていると共に、それぞれ前記ポリマ製担体重量とは独立に約1,000ダルトン未満の分子量を有する、疎水性基と；（ｉｉｉ）複数のポリマ製保護側鎖であって、但しこの場合、各保護側鎖は前記担体に共有結合していると共に、それぞれ、前記担体重量とは独立に約400乃至20,000ダルトンの間の分子量を有する、ポリマ製保護側鎖と、を含む生体適合性の疎水性コアの担体組成物に関する。更なる実施態様では、前述の組成物は、共有結合した保護側鎖を持つ第二の組の疎水性基を更に含み、但しこの場合、前記疎水性基は第一及び第二端を有し、前記第一端は前記担体に共有結合しており、前記第二端は保護側鎖に共有結合しており、この第二の組の疎水性基は前記担体及び保護側鎖の重量とは独立に1,000ダルトン未満の分子量を有し、そして該疎水性基に連結した保護側鎖は、該疎水性基の重量とは独立に400乃至20,000ダルトンの間の分子量を有する。

【００１８】

別の実施態様では、本発明は、（ｉ）骨格を含む担体と；（ｉｉ）装填分子に結合することのできる複数の疎水性基であって、但しこの場合、各疎水性基は、前記担体に共有結合していると共に、それぞれ、前記骨格重量とは独立に約1,000ダルトン未満の分子量を有する、疎水性基と；（ｉｉｉ）共有結合した保護側鎖を持つ第二の組の複数の疎水性基であって、但しこの場合、該疎水性基は第一及び第二端を有し、前記第一端は前記担体に共有結合しており、前記第二端は保護側鎖に共有結合しており、該疎水性基は前記担体及び保護側鎖重量とは独立に1,000ダルトン未満の分子量を有し、そして該疎水性基に連結した前記保護側鎖は、該疎水性基重量とは独立に400乃至20,000ダルトンの間の分子量を有する、疎水性基と、を含む生体適合性の疎水性コアの担体組成物に関する。

【００１９】

別の実施態様では、本発明は、（ｉ）骨格を含む担体と；（ｉｉ）共有結合した保護側鎖を持つ複数の疎水性基であって、但しこの場合、前記疎水性基は第一及び第二端を有し、前記第一端は前記担体に共有結合しており、前記第二端は保護側鎖に共有結合しており、該疎水性基は前記担体及び保護側鎖重量とは独立に150乃至1,000ダルトンの間の分子量を有し、そして前記保護側鎖は前記担体及び疎水性基の重量とは独立に約400乃至20,000ダルトンの間の分子量を有する、疎水性基とを含む、生体適合性の疎水性のコアの担体組成物に関する。

【００２０】

更なる実施態様では、本発明は、前記疎水性基がアルキル基を含む、前述の組成物のいずれかに関する。更なる実施態様では、前記アルキル基は分枝状アルキル基を含む。更なる実施態様では、前記アルキル基は一個の二重結合を含む。更なる実施態様では、前記アルキル基は一個のエチル又はプロピル基を含む。更なる実施態様では、前記アルキル基は一個のブチル、ペンチル又はヘキシル基である。更なる実施態様では、前記アルキル基は、$CH_3(CH_2)_nCH_2$-、$CH_3(CH_2)_nCH_2NH$-、$CH_3(CH_2)_nCO$-、$CH_3(CH_2)_nCH_2O$-、$CH_3(CH_2)_nCH_2S$-、-$OC(CH_2)_nCH_2$-、-$OC(CH_2)_nCH_2$
NH-、-$OC(CH_2)_nCO$-、-$OC(CH_2)_nCH_2O$-、-$OC(CH_2)_nCH_2S$-、-$HNC(CH_2)_nCH_2$-、-$HNC(CH_2)_nCH_2$
NH-、-$HNC(CH_2)_nCO$-、-$HNC(CH_2)_nCH_2O$-、-$HNC(CH_2)_nCH_2S$-、-$OCH_2(CH_2)_nCH_2$-、-$OCH_2(CH_2)_nCH_2$
NH-、-$OCH_2(CH_2)_nCO$-、-OCH_2 $(CH_2)_nCH_2O$-、or-$OCH_2(CH_2)_nCH_2S$-
基であり；但しこの場合、式中の「n」は４以上３４以下である。更なる実施態様では、本発明は、保護側鎖に共有結合した疎水性鎖を持つ前述の組成物に関し、但しこの場合、共有結合した保護側鎖を持つ前記疎水性鎖は、-$(CH_2)_4NHCO(CH_2)_nOC$-A-OR_3、-$(CH_2)_4NHCO(CH_2)_n$
$NHCO(CH_2)_yCO$-A-OR_3、-$CH_2OOC(CH_2)_nOC$-A-OR_3、-$CH_2OOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO$-A-$OR_3$,-$CH(CH_3)OOC(CH_2)_nOC$-A-$OR_3$、-$CH(CH_3)OOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO$-A-$OR_3$、-$CH_2COOC(CH_2)_nCO$-A-$OR_3$、-$CH_2COOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO$-A-$OR_3$、-$CH_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2CH_2$-A-$OR_3$、-$CH_2CONH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO$-A-$OR_3$、-$(CH_2)_2COOC(CH_2)_nCO$-A-$OR_3$、-$(CH_2)_2COOC(CH_2)_n$
$NHCO(CH_2)_yCO$-A-OR_3、-$(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2CH_2$-A-$OR_3$、-$(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO$-A-$OR_3$、-$(C_6H_4)OCO(CH_2)_nCO$-A-$OR_3$、及び-$(C_6H_4)OCO(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO$-A-$OR_3$（但

し式中、n は2-22であり；y は 2-6であり；R_3 は H、$(CH_2)_pCH_3$又は $(CH_2)_pCOOH$であり、この場合p は0-7であり；そしてA は$[OCH_2CH_2]_x$ 又は $[OCHCH_3CH_2]_x$（（但し式中、x は 17-250である））、あるいは合計17-250単位の$[OCH_2CH_2]$ 及び $[OCHCH_3CH_2]$ の様々な組合せである）から成る群から独立に選択される。別の実施態様では、前記疎水性基は一個の芳香環化合物を含む。更なる実施態様では、前記芳香環はフェニルである。更なる実施態様では、前記芳香環はナフチルである。更なる実施態様では、前記芳香環化合物はコレステロールである。更なる実施態様では、前記芳香環化合物はフルオレシエン（原語：fluorescien）であり、そしてフルオレシエン中のカルボキシル基は配向分子として作用するであろう。

【００２１】

別の実施態様では、本発明は、保護鎖を持つ前述の組成物のいずれかに関するが、但しこの場合、前記保護側鎖はポリエチレングリコール、ポリプロピレン
グリコール、ポリエチレングリコール及びポリプロピレングリコールのコポリマ、メトキシポリエチレングリコール、メトキシポリプロピレングリコール、又はメトキシポリエチレングリコール及びメトキシポリプロピレングリコールのコポリマから成る群のうちのいずれかひとつを含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖は、ポリエチレングリコールと、ポリアミノ酸、多糖、ポリアミドアミン、ポリエチレンアミン、又はポリヌクレオチドのグループのうちの一つとのブロック・コポリマを含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖は、ジカルボン酸のモノエステルを含むポリエチレングリコールのコポリマを含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はシアル酸鎖を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖は、500-20,000ダルトンの分子量を有する。更なる実施態様では、前記保護側鎖はそれらのモノエステル型誘導体、好ましくはメトキシポリエチレングリコール-エステル、メトキシポリプロピレングリコール-エステル、又はメトキシポリエチレングリコール及びメトキシポリプロピレングリコール-エステルのコポリマを含む。 更なる実施態様では、前記保護側鎖は、ポリエチレングリコールモノアミン、メトキシポリエチレングリコールモノアミン、ポリプロピレングリコールモノアミン、メトキシポリプロピレングリコールモノアミン、ポリエチレングリコール
ヒドラジン、メトキシポリエチレングリコール ヒドラジン、ポリプロピレングリコール ヒドラジン、メトキシポリプロピレングリコール ヒドラジン、ポリエチレングリコール イミダゾリド、メトキシポリエチレングリコール イミダゾリド、ポリプロピレングリコール
イミダゾリド、メトキシポリプロピレングリコール イミダゾリド、ポリエチレングリコール二酸、メトキシポリエチレングリコール二酸、ポリプロピレングリコール二酸、メトキシポリプロピレングリコール二酸のうちのいずれか一つを含み、但しこの場合、末端のアミン、ヒドラジン、イミダゾリド、又は酸を用いて担体、疎水性基、又は標的決定分子に付着させる。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリ（エチレングリコール）と、ポリアミノ酸、ポリ-ラクチドグリコリドコポリマ、多糖、ポリアミドアミン、ポリエチレンイミン又は ポリヌクレオチド で表される一つ又は複数のポリマ（ポリマ製担体を参照されたい）とのメトキシポリ（エチレングリコール）イミダゾリドブロックコポリマを含むが、この場合、これらのブロックは、好ましくは直線状のブロック・コポリマを生じるように交互になっていることが好ましい。更なる実施態様では、前記保護側鎖は好ましくは単一の連結により担体又は疎水性基に連結されている。

【００２２】

別の実施態様では、本発明は、保護鎖及び担体を持つ前述の組成物のいずれか一つに関するが、但しこの場合、前記担体は、固体の担体、ナノ粒子、及びマイクロ粒子から成る群のうちのいずれかひとつを含む。更なる実施態様では、前記担体はブロック・コポリマを含む。更なる実施態様では、前記担体はポリマ製担体を含む。更なる実施態様では、前記ポリマ製担体は、ポリアミノ酸、ポリエチレンイミン、天然の糖、アミノ化多糖、アミノ化オリゴ糖、ポリアミドアミン、ポリアクリル酸、ポリアルコール、スルホン化多糖、スルホン化オリゴ糖、カルボキシル化多糖、カルボキシル化オリゴ糖、アミノカルボキシ

ル化多糖、アミノカルボキシル化オリゴ糖、カルボキシルメチル化多糖、及びカルボキシルメチル化オリゴ糖からなる群より選択される。更なる実施態様では、前記ポリマ製担体は、2乃至560個のアミノ酸単位を有するポリアミノ酸である。更なる実施態様では、前記ポリマ製担体は、1,000-100,000
ダルトンの分子量を有するポリアミノ酸である。更なる実施態様では、前記ポリマ製担体は単一種のアミノ酸から成るポリアミノ酸である。更なる実施態様では、前記ポリマ製担体は少なくとも二種の異なるアミノ酸から成るポリアミノ酸である。更なる実施態様では、前記ポリマ製担体はポリアミノ酸であるが、この場合の前記ポリアミノ酸はブロック・コポリマである。
更なる実施態様では、前記ポリマ製担体 はポリアミノ酸であるが、この場合の前記ポリアミノ酸は開裂可能な結合により連結されたポリアミノ酸フラグメントを含む。更なる実施態様では、前記の開裂可能な結合はＳ－Ｓ－結合である。更なる実施態様では、前記ポリマ製担体は、ポリ-L-リジン、ポリ-D-リジン、ポリ-アルファ,ベータ-(2-アミノエチル)-D,L アスパルトアミド、ポリ-L-アスパラギン酸、ポリ-D-アスパラギン酸、ポリ-L-グルタミン酸、ポリ-D-グルタミン酸、ポリ-L-セリン、ポリ-D-セリン、ポリ-L-スレオニン、ポリ-D-スレオニン、ポリ-L-チロシン、又はポリ-D-チロシンから成る群より選択されるポリアミノ酸である。更なる実施態様では、前記ポリマ製担体はポリアミノ酸であり、該ポリアミノ酸は非タンパク様である。
【００２３】
別の実施態様では、本発明は、前記保護鎖、疎水性基又は担体に共有結合した標的決定分子を更に含む、前述の組成物のいずれかに関する。更なる実施態様では、本発明は、標的決定分子を持つ前述の組成物のいずれかに関するが、但しこの場合、前記標的決定分子は抗体、抗体のフラグメント、キメラ抗体、酵素、酵素の準基質、レクチン、糖リガンド、ペプチド、たんぱく質、受容体リガンド、細胞表面結合タンパク質、細胞表面結合ペプチド、細胞表面結合化合物、細胞外マトリックス結合ペプチド、細胞外マトリックス結合たんぱく質、細胞外マトリックス化合物、から成る群より選択される。
【００２４】
別の実施態様では、本発明は、前記担体に共有結合した配向分子を更に含む、前述の組成物のいずれかに関する。更なる実施態様では、本発明は、配向分子を持つ前述の組成物のいずれかに関するが、但しこの場合、前記配向分子はペプチド、スルフェート部分、スルホネート部分、ホスフェート部分、ホスホネート部分、ビスホスホネート部分、カルボキシル部分、アミノ部分、リジン、及びアルギニンのいずれか一つを含む。更なる実施態様では、本発明は配向分子を持つ前述の組成物のいずれかに関するが、但しこの場合、前記配向分子は、ポリマ製骨格と装填分子との間の架橋を形成することのできる金属イオンを含む。
【００２５】
別の実施態様では、本発明は、装填分子を更に含む前述の組成物のいずれかに関するが、但しこの場合、装填分子は前述の組成物のいずれかに可逆的に結合することのできるいずれかの分子である。更なる実施態様では、本発明は、前記疎水性基、標的決定分子、配向分子、及び／又は保護側鎖に解離可能に連結した装填分子のいずれかの組み合わせを更に含む、前述の組成物のいずれかに関する。更なる実施態様では、前記装填分子は撮像剤である。更なる実施態様では、前記装填分子は治療薬である。更なる実施態様では、前記治療薬はサイトカイン、リンホカイン、ホルモン、ホルモンアゴニスト、ホルモンアンタゴニスト、抗生物質、鎮痛薬、毒素、光毒素、細胞増殖抑制性物質、細胞障害性物質、向精神性物質、ステロイド系抗炎症剤、非ステロイド系抗炎症剤、免疫抑制剤、抗菌剤、抗ウィルス薬、抗カビ薬、キレータ、ビタミン、プロテアーゼ阻害剤、殺虫剤、アミノグリコシド、ポリミキシン、ACE阻害剤、ペプチド、たんぱく質、抗体、抗体フラグメント、組換えペプチド、植物から単離されたペプチド、カビから単離されたペプチド、動物から単離されたペプチド、細菌から単離されたペプチド、ウィルスから単離されたペプチド、培養細胞から単離されたペプチド、合成ペプチド、ペプチドミメティック化合物、有機化

合物、合成有機化合物、植物から単離された有機化合物、カビから単離された有機化合物、動物から単離された有機化合物、細菌から単離された有機化合物、ウィルスから単離された有機化合物、培養細胞から単離された有機化合物、有機金属化合物、デオキシリボ核酸、リボ核酸、オリゴヌクレオチド、核酸誘導体、オリゴ糖、糖質；脂質；感光性有機化合物、及びプロテオグリカンである。

【００２６】

別の実施態様では、本発明は、装填分子を持つ前述の組成物のいずれかに関するが、但しこの場合、前記装填分子はグルカゴン様ペプチド、グルカゴン様ペプチド誘導体、エキセナチド、グルカゴン様ペプチド-1、グルカゴン様ペプチド-2、レプチンフラグメント、胃抑制ポリペプチド(GIP)、上皮成長因子(EGF) 受容体リガンド、EGF、トランスフォーミング成長因子アルファ (TGF-アルファ)、ベータセルリン、ガストリン／コレシストキニン受容体リガンド、ガストリン、コレシストキニン、リゾスタフィン、インターフェロン、インターフェロンガンマ、インターフェロンベータ、インターフェロンアルファ、インターロイキン-1、インターロイキン-2、インターロイキン-4、インターロイキン-6、インターロイキン-8、インターロイキン-10、インターロイキン-12、腫瘍壊死因子、腫瘍壊死因子アルファ、腫瘍壊死因子ベータ、アウリスタチン、ナイシン、インシュリン、インシュリン様成長因子、成長ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン (GHRH)、神経成長因子、脳由来神経栄養因子、酵素、エンドスタチン、アンジオスタチン、トロンボスポンジン、ウロキナーゼ、ストレプトキナーゼ、血液凝固因子 VII、血液凝固因子 VIII、顆粒球-マクロファージコロニ刺激因子(GM-CSF)、顆粒球コロニ刺激因子
(G-CSF)、トロンボポエチン、カルシトニン、副甲状腺ホルモン(PTH) 及びそのフラグメント、エリスロポエチン、心房性ナトリウム利尿因子、モノクローナル抗体、モノクローナル抗体フラグメント、ソマトスタチン、プロテアーゼ阻害剤、アドレノコルチコトロピン、性腺刺激ホルモン
放出ホルモン、オキシトシン、黄体形成ホルモン放出ホルモン、卵胞刺激ホルモン、グルコセレブロシダーゼ、トロンボポエチン、フィルグラスチン（原語：filgrastin）、プロスタグランジン、エポプロステノール、プロスタサイクリン、シクロスポリン、バソプレッシン、テルリプレッシン、デスモプレッシン、クロモリンナトリウム（ナトリウム又はジソジウムクロモグリケート）、血管作用性小腸ペプチド (VIP)、バンコマイシン、抗菌剤、ポリミキシン 、抗カビ剤、抗ウィルス剤、エンフビルティド、ドキソルビシン、エトポシド、フェンタニル、ケタミン、及びビタミンから成る群より選択される治療薬である。更なる実施態様では、前記治療薬はグルカゴン様ペプチド-1である。更なる実施態様では、前記治療薬はグルカゴン様ペプチド-2である。更なる実施態様では、前記治療薬はリゾスタフィンである。更なる実施態様では、前記治療薬はインターフェロンである。更なる実施態様では、前記治療薬はインターフェロンアルファである。更なる実施態様では、前記治療薬はインターフェロンベータである。更なる実施態様では、前記治療薬はインターフェロンガンマである。 更なる実施態様では、前記治療薬はナイシンである。更なる実施態様では、前記治療薬は上皮成長因子 (EGF) 受容体リガンドである。更なる実施態様では、前記治療薬 はEGFである。更なる実施態様では、前記治療薬はトランスフォーミング成長因子アルファ (TGF-アルファ)である。更なる実施態様では、前記治療薬はベータセルリンである。更なる実施態様では、前記治療薬はガストリン/コレシストキニン受容体リガンドである。 更なる実施態様では、前記治療薬はガストリンである。更なる実施態様では、前記治療薬 はコレシストキニンである。

【００２７】

別の実施態様では、本発明は、（ｉ）上述の装填分子を持つ疎水性コアの担体組成物を治療上有効量、投与するステップであって、前記装填分子がGLP-1、EGF 受容体リガンド、EGF、TGF-アルファ、ベータセルリン,ガストリン/コレシストキニン 受容体リガンド、ガストリン、又はコレシストキニンである、ステップと、選択的に（ｉｉ）治療上有効量のプロトンポンプ阻害剤を投与するステップ
と、を含む、患者のインシュリン不足性糖尿病を治療する方法に関する。更なる実施態様

では、前記プロトンポンプ阻害剤はオメプラゾールである。
【００２８】
別の実施態様では、本発明は、（ｉ）上述の装填分子を持つ疎水性コアの担体組成物を治療上有効量、投与するステップであって、前記装填分子がGLP-1である、ステップと、（ｉｉ）治療上有効量のプロトンポンプ阻害剤を投与するステップ
と、を含む、患者のインシュリン不足性糖尿病を治療する方法に関する。（ｉｉ）上述の装填分子を持つ疎水性コアの担体組成物を治療上有効量、投与するステップであって、前記装填分子が
ガストリン/コレシストキニン受容体リガンド、ガストリン、又はコレシストキニンである、ステップと、選択的に（ｉｉｉ）治療上有効量のプロトンポンプ阻害剤を投与するステップ
と、を含む、患者のインシュリン不足性糖尿病を治療する方法に関する。更なる実施態様では、前記プロトンポンプ阻害剤はオメプラゾールである。
【００２９】
別の実施態様では、本発明は、（ｉ）上述の装填分子を持つ疎水性コアの担体組成物を治療上有効量、投与するステップであって、前記装填分子がEGF 受容体リガンド、EGF、TGF-アルファ、又はベータセルリンである、ステップと、（ｉｉ）上述の装填分子を持つ疎水性コアの担体組成物を治療上有効量、投与するステップであって、前記装填分子がガストリン/コレシストキニン受容体リガンド、ガストリン、又はコレシストキニンである、ステップと、選択的に（ｉｉｉ）治療上有効量のプロトンポンプ阻害剤を投与するステップ
と、を含む、患者のインシュリン不足性糖尿病を治療する方法に関する。更なる実施態様では、前記プロトンポンプ阻害剤はオメプラゾールである。
【００３０】
別の実施態様では、本発明は、上述の疎水性コアの担体組成物を治療上有効量、それを必要とする患者に投与するステップを含む、患者の感染症を治療する方法に関するが、但しこの場合、前記装填分子はリゾスタフィンである。
【００３１】
本発明のこれらの実施態様、他の実施態様、及びそれらの特徴及び特長は、以下の説明、図面及び請求項から明白になるであろう。
【００３２】
発明の詳細な説明
定義
便宜上、本発明を更に説明する前に、本明細書、実施例及び付属の請求項で用いるいくつかの用語をここに集める。これらの定義は本開示の他の部分を参照して読まれ、当業者が理解する通りに理解されねばならない。そうでないと定義しない限り、ここで用いられた全ての技術的及び科学的用語は、当業者が通常理解するものと同じ意味を有するものである。
【００３３】
冠詞「一つの（原語：”a”）」及び「一つの（原語：”an”）」は、この冠詞の文法上の目的語の一つ又は二つ以上（即ち少なくとも一つ）を言うために用いられる。例を挙げると、「一つの要素」とは、一つの要素又は二つ以上の要素を意味する。
【００３４】
ここで用いられる用語「及び／又は」は、一方、両方、又はこれらのいずれかの組合せを意味するものと理解されねばならない。例を挙げると、「A及び／又はB」には「A」又は「B」又は「A及びB」が含まれる。
【００３５】
ここで説明するように、いずれかの濃度範囲、百分率範囲、割合の範囲又は整数範囲は、限定された範囲の中のいずれかの整数、そして適当な場合はその一部分（例えばある整数の１０分の１及び１００分の１など）、の値を包含するものと、意図されている。

【００３６】
ここで用いられる場合の「約」又は「を基本的に含む」とは、そうでないと明示しない限り、提示された数値又は範囲の±１５％を意味する。
【００３７】
代替物（例えば「又は」）の使用は、当該代替物の一方、両方、又はそれらのいずれかの組合せを意味するものと理解されねばならない。
【００３８】
ここで用いられる場合の用語「疎水性基」とは、非極性であると共に、周囲の水環境を避けるために相互作用する疎水性環境を装填分子に提供する一つ又は複数の分子あるいは化学的部分を言う。疎水性誘引力は、巨大分子の折り畳み、基質の酵素への結合、並びに、細胞及びそれらの内部区画の境界を規定する膜の形成、における主要な駆動力である。非極性分子は水中では一緒になるよう引き寄せられるが、その主な原因は、それらは水不在下で互いに対して高い親和性を有するからでなく、水の存在下では水同士の結合力の方が強いためにそれらが水から押しのけられるからである。疎水性基は、担体に取り込まれた後に正の電荷も負の電荷も有さずに、かつ、電荷による相互作用の関与しない相互作用により分子に結合することのできるような炭化水素鎖、及び／又は、環化合物であってよい。いくつかの分子はｐＨ変化により電荷を得たり、失ったりすることがあり、本発明は、治療薬又は装填分子への結合中、何の電荷も含有しないか、あるいは疎水性であるような組成物を包含するものと考えられる。また更に、例えば前記ポリマ製担体がポリアミノ酸である場合に、このポリアミノ酸上の天然R基が疎水性基としてはみなされないなど、当該疎水性基は、前記ポリマ製担体とは別個の実体とみなされるとも考えられる。しかしながら、R基を誘導体化して疎水性基を付加してもよい。例えば一個の疎水性基を、ブチルアミンR基のアミド化を通じてポリリジン担体に付加してもよい。場合によっては、疎水性基は、配向分子としてデザインされたアミノ又はカルボキシル基を、この分子の一端に含有していてもよいが、これはこの疎水性基とは別個とみなさなくてはならない（例えばカルボキシル基を持つフルオレセイン分子など）。
【００３９】
用語「配向分子」とは、ここでは、装填分子が、当該組成物の疎水性基と相互作用しつつも特定の態様で配向するように本発明の疎水性コアの組成物に対して装填分子が結合することを支援するようないずれかの分子構造を言うために用いられている。配向分子は通常、前記ポリマ製担体骨格に付着させる。大半の場合、配向分子は、配向というその役割に加え、装填分子の担体への結合を促進又は強化する。配向分子はペプチド、スルフェート、スルホネート、ホスホネート、ビスホスホネート、リジン、及びアルギニンから成る群より選択できよう。また配向分子は、ポリマ製骨格と装填分子との間で架橋を形成することのできる金属イオンも含んでいてよい。更に配向分子は、当該ポリマ製担体に共有結合したアミノ又はカルボキシル部分であってもよい。
【００４０】
ここで用いられる用語「誘導体」又は「類似体」とは、そのコア構造が親化合物のそれを同じか又はよく似ているが、異なる又は付加的な基など、化学的又は物理的修飾を有するような化合物を言い、この用語は、他の原子又は分子に連結することのできる親化合物のコポリマを包含する。またこの用語は、親ペプチドと少なくとも５０％の配列同一性を持つペプチドも包含する。更にこの用語は、親ペプチドに比較して、脂肪酸など、それに付加的な基及び／又は付加的なアミノ酸を持つペプチドも包含する。またこの用語は、親ポリマに比較して、アルコキシ基などの付加的な基をそれに付着させて持つポリマも包含する。またこの用語は、親鎖に比較して、付加的な基をそれに付着させて持つ分枝状又は非分枝状アルキル鎖も包含する。
【００４１】
用語「標的決定部分」、「標的決定分子」、又は「標的決定基」とは、特定の標的部位での局在、標的細胞への進入、及び／又は、標的受容体への結合、において、当該組成物のコンストラクトを支援するいずれかの分子構造を言う。例えば、脂質（陽イオン性、中

性、及びストロイド系の脂質、ビロゾーム、及びリポソームを含む）、抗体、レクチン、リガンド、糖類、ステロイド、ホルモン、栄養物質、ペプチド、及びたんぱく質は標的決定部分として役立つかも知れない。「標的」とは、標的決定されたコンストラクト又は本疎水性コアの組成物が結合する先の部位である。標的はin vivoにあっても、あるいはin vitroにあってもよい。いくつかの実施態様では、標的は腫瘍（例えば脳、肺（小細胞又は非小細胞）、卵巣、前立腺、乳房及び結腸の腫瘍や、他の癌腫及び肉腫など）であってもよい。他の実施態様では、標的は感染（例えば細菌、ウィルス（例えばHIVウィルス、疱疹、肝炎）及び病原性真菌（カンジダ種）などによる）の部位であってもよい。更に他の実施態様では、標的は、標的決定部分が結合する先の分子構造、例えばハプテンエピトープ、受容体、dsDNAフラグメント、糖質又は酵素など、である場合もある。加えて、標的は、例えば神経組織、腸組織、膵臓組織等、組織の一種であってもよい。

【００４２】

ここで用いられる場合の用語「装填分子」は、診断薬及び治療薬を含め、本発明の疎水性コアの組成物に装填することのできるあらゆる分子を包含する。

【００４３】

ここで用いられる場合「治療薬」とは、対象の局所又は全身で生物学的、生理学的、又は薬理学的に活性な物質のいずれかの化学的部分を言う。「薬物」とも言及される治療薬の例は、グルカゴン様ペプチド、グルカゴン様ペプチド誘導体、エキセナチド、グルカゴン様ペプチド-1、グルカゴン様ペプチド-2、レプチンフラグメント、胃抑制ポリペプチド(GIP)、上皮成長因子(EGF) 受容体リガンド、EGF、トランスフォーミング成長因子アルファ (TGF-アルファ)、ベータセルリン、ガストリン/コレシストキニン受容体リガンド、ガストリン、コレシストキニン、リゾスタフィン、インターフェロン、インターフェロン
ガンマ、インターフェロンベータ、インターフェロン アルファ、インターロイキン-1、インターロイキン-2、インターロイキン-4、インターロイキン-6、インターロイキン-8、インターロイキン-10、インターロイキン-12、アウリスタチン、ナイシン、インシュリン、インシュリン様成長因子 1、成長ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン (GHRH)、神経成長因子、脳由来神経栄養因子、酵素、エンドスタチン、アンジオスタチン、トロンボスポンジン、ウロキナーゼ、ストレプトキナーゼ、血液凝固因子VII、血液凝固因子VIII、顆粒球-マクロファージコロニ刺激因子(GM-CSF)、顆粒球コロニ刺激因子
(G-CSF)、スロンボポエチン、カルシトニン、副甲状腺ホルモン(PTH) 及びそのフラグメント、エリスロポエチン、心房性ナトリウム利尿因子、モノクローナル抗体、モノクローナル抗体
フラグメント、ソマトスタチン、プロテアーゼ阻害剤、アドレノコルチコトロピン、性腺刺激ホルモン放出ホルモン、オキシトシン、黄体形成ホルモン-放出ホルモン、卵胞刺激ホルモン、グルコセレブロシダーゼ、トロンボポエチン、フィルグラスチム、プロスタグランジンs、エポプロステノール、プロスタサイクリン、シクロスポリン、バソプレッシン、テルリプレッシン、デスモプレッシン、クロモリンナトリウム（ナトリウム又はジソジウムクロモグリケート)、血管作用性小腸 ペプチド (VIP)、バンコマイシン、抗菌剤、ポリミキシン b、抗カビ剤、抗ウィルス剤、エンフビルティド、ドキソルビシン、エトポシド、フェンタニル、ケタミン、及びビタミンである。「薬物」とも言及される治療薬の更なるメルク・インデックス、メルク・マニュアル・オブ・ダイアグノーシス・アンド・セラピー、ザ・フィジシャンズ・デスク・レファレンス、及びザ・ファーマコロジカル・ベイシス・オブ・セラピューティックスなど、公知の文献に解説されており、その中には、限定はしないが、タンパク質、ペプチド、医薬；ビタミン；
ミネラル・サプリメント；疾患又は疾病の治療、防止、診断、治癒又は緩和に用いられる物質；身体の構造又は機能に影響する物質；あるいは生理環境に置かれた後に生物学的に活性又はより活性になるプロドラッグ、がある。対象に投与すると近傍の組織又は流体に当該組成物から放出させることのできる多様な形の治療薬を用いてよい。例には、ステロイド類及びステロイド類のエステル（例えば、プロゲステロン、テストステロン、アンド

ロステロン、コレステロール、コレステロール、ノルエチンドロン、ジゴキシゲニン、コール酸、デオキシコール酸、及びケノデオキシコール酸）、含ホウ素化合物（例えばカルボラン）、化学療法的ヌクレオチド、薬物（例えば抗生剤、抗ウィルス剤、抗カビ剤）、エネジイン（例えばカリケアミシン、エスペラミシン、ジネミシン、ネオカルジノスタチン発色団、及びケダルシジン発色団）、重金属錯体（例えばシスプラチン）、ホルモンアンタゴニスト（例えばタモキシフェン）、非特異的（非抗体）タンパク質（例えば糖オリゴマ）、オリゴヌクレオチド（例えば標的核酸配列（例えばmRNA）に結合するアンチセンスオリゴヌクレオチド）、siRNA、ペプチド、たんぱく質、抗体、光力学的物質（例えばローダミン123）、放射性核種（例えば
1-131、Re-186、Re-188、Y-90、Bi-212、At-211、Sr-89、Ho-166、Sm-153、Cu-67及び Cu-64)、毒素（例えばリシン）、及び転写ベースの医薬がある。

【００４４】

ここで用いられる場合の用語「治療上有効量」とは、患者に治療的利益をもたらす組成物量を言う。
いくつかの実施態様では、この用語は、本発明の疎水性の担体組成物に装填されて患者に投与されたときに、いずれかの医学的治療に適用される妥当な利益／リスク比で何らかの所望の効果を生じるような、治療薬の量を言う。いくつかの実施態様では、この用語は、腫瘍又は特定の治療計画の他の標的を消失させる、減少させる又は維持する（例えば拡がるのを妨げる）のに必要又は充分な量を言う。有効量は、治療しようとする疾患又は状態、投与される特定のコンストラクト、対象の大きさ、及び／又は、疾患又は状態の重篤度などの因子に応じて様々であろう。当業者であれば、不当な実験を要することなく、ある特定の化合物の治療上の有効量を経験的に決定できよう。いくつかの実施態様では、この用語は、ここで解説する組成物の使用にとって必要又は充分な量を言う。インシュリン不足性糖尿病の治療においては、治療上有効量とは、患者のグルコースホメオスタシスを向上させるであろう、あるいは、血糖レベルを正規化するであろう、及び／又は、膵臓内のベータ島細胞を再生するであろう、対応する装填分子を持つ本発明の組成物の量である。ベータ島細胞の再生は、血中の血糖レベル、ヘモグロビン A1c レベル、C-ペプチド レベル、又はインシュリンレベルを観察することにより、間接的に測定することができる。

【００４５】

用語「診断物質」又は「診断薬」とは、患者の診断又は撮像に用いてもよいいずれかの化学的成分である。例えば診断薬には、インジウム又はテクネチウムなどの放射性同位元素を含有する撮像剤；ヨウ素、テクネチウム、又はガドリニウムを含有する造影剤；西洋わさびペルオキシダーゼ、GFP、アルカリホスファターゼ、又はベータ-ガラクトシダーゼなどの酵素；フルオレセイン、ローダミン及びユーロピウム誘導体などの蛍光物質；N-メチルアクリジウム誘導体等の発光物質、がある。

【００４６】

ここで用いられる場合の用語「アルキル」とは、４個以上３６個以下の炭素原子から成り、担体の周りに非極性又は疎水性の環境を提供することのできる分枝状又は直鎖状の炭化水素を言う。更にここで用いられる場合のアルキルは、４個乃至３６個の炭素原子から成る分枝状又は直鎖状の炭化水素である分子の一部分でもあり、この部分は、担体及び／又は保護基のいずれかに付着させる手段として含窒素又は含酸素部分を両側に持っていてもよい。

【００４７】

ここで用いられる場合の用語「低級シクロアルキル」とは、４個以上６個以下の炭素原子から成る環状の炭化水素を言う。

【００４８】

ここで用いられる場合の用語「解離可能に連結されて」、「可逆的に連結されて」及び「結合されて」とは、非共有結合を言う。

【００４９】

本発明の用語「担体」は、疎水性基を支援し、ひいては装填分子と相互作用することの

できる、いずれの物質であってもよい。これらは修飾可能な官能基を複数持つ物質である。担体の非限定的な例には、ポリマ及びコポリマ、マイクロ粒子、ナノ粒子、及び固体表面がある。マイクロ粒子には直径１００ｎｍ以上の粒子が含まれるが、他方、ナノ粒子は直径１００ｎｍ未満の粒子である。ある局面では、当該担体は生体適合性のものである。

【００５０】

ここで用いられる場合の用語「ポリマ製担体」とは、複数の連結された化学的部分から成る分子を言うが、前記の化学的部分は同じでも、又は異なっていてもよく、また、疎水性基及び／又は保護鎖が連結される部位として役立つ部分である。

【００５１】

ここで用いられる場合の用語「非タンパク質性ポリアミノ酸」とは、人為的に組換え操作されなければ生物が天然で生ずることのないポリアミノ酸を言う。これらの非限定的例はポリ-(L 及び／又はD)-リジン、ポリ-(L 及び／又は D)-グルタミン酸、ポリ-(L 及び／又は D)-グルタミン酸、ポリ-(L及び／又は D)-アスパラギン酸、ポリ-(L 及び／又は D)-セリン、ポリ-(L及び／又は D)-スレオニン、ポリ-(L 及び／又は D)-チロシン、及びポリ-(L 及び／又はD)-アルギニンである。

【００５２】

ここで用いられる場合の用語「保護側鎖」とは、過剰な連結又は当該鎖への水の結合を原因として、担体分子、疎水性基、及び装填分子が他の巨大分子と接触しないように保護する分子を言う。水分子とのこのような過剰な結合が原因で、保護鎖もまた、当該組成物の水溶性を増す。これは更に、保護鎖が当該組成物に新水性を提供するということも意味する。用語「保護側鎖」は、用語「親水性鎖」、「保護基」、及び「保護鎖」と交換可能に用いられている。

【００５３】

ここで用いられる場合の用語「アミノ化」とは、アミノ基を含む分子を言う。

【００５４】

導入

部分的には、本発明は、（ｉ）担体、（ｉｉ）前記担体に共有結合した疎水性基、（ｉｉｉ）前記担体又は疎水性基に共有結合した保護側鎖、及び（ｉｖ）前記疎水性基に結合した装填分子、を含む組成物に関する。更なる実施態様としては、前記担体は選択に応じて、前記担体又は保護側鎖に共有結合させた標的決定分子を含有していてもよい。

【００５５】

本発明の担体組成物には、直線状もしくは分枝状構造のポリマ及びコポリマあるいはその結合体、ミセル、乳液、及び固体表面が含まれるが、この場合、当該のポリマ自体は分子構造表面上で自己集合したものでもよい。担体には、共有結合した疎水性基を含むポリマ骨格があるが、このとき、該疎水性基は炭化水素鎖又は芳香族化合物を含む。この担体及び装填分子の疎水性部分同士は、生物流体などの水性又は主に水性の媒質中で互いに相互作用する。疎水性基が二種以上の炭化水素分子及び／又は芳香族分子を担体に共有結合させて含む場合もあるだろう。更に、疎水性基を含有する担体への装填分子の結合を保護基が補強するような場合もあるだろう。装填分子は有機溶媒の存在下でも、又は非存在下でも、疎水性基に結合する。ある好適な実施態様では、疎水性部分は、限定はしないが$CH_3(CH_2)_xCO$-、及び$C_6H_5(CH_2)_xCO$-（但し式中、xは0-34である）.などの炭化水素鎖を含む。疎水性コアの担体から分子を溶離又は抽出するために用いることのできる有機溶媒には、限定はしないがアセトニトリル、メタノール、エタノール、及びプロパノールがある。担体から装填分子を溶離させるのに多量の有機溶媒が必要であることは、結合が強いことの指標である。必要な有機溶媒が多いほど、結合は強い。本発明の一実施態様は、フェニル環を含有する疎水性基を持つ担体である。特定の装填分子に対する、担体に連結させる疎水性基の選択は、装填分子の疎水性によって決定されるであろう。例えば球体のタンパク質は水環境中では球体であるが、それはなぜなら、球体というコンホメーションは熱力学的により安定だからである。この安定性は水により働いており、このタンパク質の疎水性部分を、水に晒された球体表面から遠ざかった状態に維持する。疎水性基を含む担体に

球体タンパク質を暴露すると、この球体タンパク質のコンホメーションは変化して、球体タンパク質のコアが疎水性部分と相互作用できるようにする。球体が大きいほど、そのタンパク質の内包する疎水性は大きい。水環境中で伸展したタンパク質は球体タンパク質よりも疎水性が乏しい。装填分子の疎水性担体への結合は、重量で少なくとも１００倍に等しい水性溶媒で洗浄した後でも担体に保持される能力を意味する。装填分子への結合の強い担体が欲しい場合、より大型でより多数の疎水性基を用いて担体を修飾してもよい。疎水性基を含む担体への装填分子の高親和性結合により、いずれの時点でも遊離装填分子（即ち薬物又は治療薬）が低レベルに維持され、また、装填分子の貯留分が保護されるであろう（即ち、担体に結合したままの装填分子は貯留分となるであろう）。これにより、治療薬投与の頻度が減少するであろう。またこれは、低濃度で治療効果を上げることを要するが、と同時に高濃度では毒性となるような治療薬にとっても有利である。また本発明は、特定の治療用化合物に向けた疎水性コアの担体を作製及び使用する方法も提供するものである。

【００５６】

一例では、本発明の組成物は、2-10,000の範囲の重合度を有する直線状ポリアミノ酸骨格担体を含むが、この骨格には質量300-20,000Daのメトキシポリエチレングリコール（mPEG）保護鎖と疎水性基とが共有結合しており、このとき前記鎖と疎水性基は独立に前記骨格に連結している。別の例では、前記担体の重合度は20-1,000の範囲である。更に別の例では、前記担体の重合度は50 乃至 300の範囲である。本発明の疎水性基には、更に窒素及び／又は酸素を含有していてもよく、また担体への連結前に電荷を有していてもよい芳香化合物及び脂肪族の基が含まれよう。しかしながら、これらの基を担体骨格ポリマに共有結合させた後は、この電荷は消失してそれらを疎水性にする。これらの疎水性コアの担体－保護基組成物は、いくらかの程度の疎水性のある装填分子に結合するであろう。精製された状態で添加された装填分子はこの担体の疎水性部分に結合して、薬物－送達組成物のための調合物となるであろう。疎水性コアの担体－保護基錯体と装填分子とのこのような添加又は混合は水溶液中で行なわせることができ、選択によってはその後、凍結乾燥を行なってもよい。代替的には、この混合を有機溶媒及び水の混合液中で行なわせることもできる。前記の有機溶媒は水に混和性であることが好ましい。混合後、蒸発又は凍結乾燥でこの混合液を乾燥させることができる（図３４）。乾燥後の混合物は、投与に向けて水、緩衝液、又は薬学的に許容可能な希釈剤又は医薬品添加物に溶解させることにより、既成の調合物にすることができる。血液又はいずれかの体液中に入ると、当該組成物中の装荷分子は、この装填分子及び疎水性コアの担体の平衡結合－又は解離定数に基づき、放出されることになるであろう。遊離装填分子の濃度は、担体中に装填分子の貯蔵分がある限り、維持されるであろう。血中タンパク質による、予想される放出の加速は、保護基があると大変著しく和らげられるであろう。加えて、疎水性コアの担体からのタンパク質の放出は、担体中の疎水性部分の数及び大きさに応じて、遅くなったり、あるいは早くなったりする。

【００５７】

疎水性基との装填分子の結合は、疎水性基の選択を通じて制御することができる。一般的には、脂肪族炭素鎖が長いほど、結合が強くなる。細胞上の標的受容体に対する装填分子の親和性も、疎水性基を選択する際の指針として用いることができる。理想的には、担体中の疎水性基に対する装填分子の親和性は、装填分子の、その生物学的標的に対する親和性よりも小さくなくてはならない。溶液中では、遊離装填分子と結合装填分子との間には平衡があるであろう。疎水性基を持つ担体は、所望の治療的濃度に等しい遊離装填分子を有するように設計されるであろう。

【００５８】

疎水性コアの担体は、活性分子の安定性、可溶性及び分布で大きな増加が可能になる薬物送達系となる。

【００５９】

疎水性コアの担体組成物は、更に、in

vitro及びin vivoの標的組織及び／又は臓器への担体の局在化が容易になるように、共有結合した標的決定分子を含んでもよい。加えて、疎水性コアの担体組成物は、更に、疎水性コア内に装填分子がより良好に組織化するように、共有結合した配向分子を含んでいてもよい。特異的プロテアーゼ感受性末端を有する装填分子（例えばグルカゴン様ペプチドはジペプチジルペプチダーゼＩＶ（DPP-IV）感受性のＮ末端を有する）には、配向が好ましい。配向分子を担体に沿って配置することにより、プロテアーゼ感受性末端を担体の近くに配置することができる。この配向分子は、言及をもってここに引用することとするBolotin（米国特許第7,138,105号）が解説した金属イオンの架橋であってもよい。加えて、装填分子を含有する疎水性の担体組成物には、更に、真皮下又は経口投与に向けて、装填分子を含有する疎水性担体組成物全体を包み込んだ半浸透性のメンブレンを含めることもできる。この半浸透性のメンブレンは、装填分子がこの半浸透性のメンブレンを通過できるように充分な大きさのポアを持つポリマ製シートから成っていてもよい。本発明のもう一つの目的は、多様な疾患の治療のための同組成物を作製及び使用する方法の提供である。

【００６０】

装填分子を持つ疎水性コアの担体組成物は、経口、真皮下、及び局所用投与に特に向くゲル様組成物の伸展構造を形成するように最高数兆kDaまでの大きさを有していてもよい。ゲルを形成させるためには、より小型の疎水性コアの担体組成物も作製してよい。これは、親水性の保護鎖、対、疎水性基に対する重量比が１７以下になるように、疎水性コアの組成物を作製することにより、達成することができる。例えば、ポリマ製担体を持つ組成物が、MPEG（保護鎖）対C18脂肪酸（疎水性のコアを形成する）の重量比１０を含有するときには、ゲルが形成されるであろう。装填分子を持つ疎水性の担体組成物をシート様構造に作製してもよい。これは、疎水性基、保護基、及び／又は配向分子を付着させることのできる、例えばアミノ、カルボキシル、又はヒドロキシル基などの修飾可能な官能基を持つシートの形の担体を用いることにより、行なうことができる。凝固因子などの装填分子を持つ、この疎水性コアの担体シートは、緊急の場合や戦場で外傷治療用の包帯として用いることができる。装填分子が抗感染薬であれば本組成物を感染症を治療するために用いることができる。

【００６１】

担体

本発明の担体は、その後装填分子と相互作用させることのできる疎水性基を支援することができればいずれの物質であってもよい。本発明の担体は、疎水性基及び／又は保護鎖を付着させるために、複数の誘導体化可能又は修飾可能な官能基を有していなければならない。担体の非限定的な例には、ポリマ及びコポリマ、マイクロ粒子、ナノ粒子、及び固体表面がある。ある局面では、当該の担体は生体適合性である。

【００６２】

ポリマ製及びコポリマ製担体

いくつかの実施態様では、例えば当該式のいずれかに示された反復要素を含むなど、本組成物のポリマ製又はコポリマ製担体は、約500 乃至約 1,000,000ダルトン以上、あるいは代替的には約5,000；10,000；20,000；30,000；40,000；又は50,000ダルトン、より具体的には少なくとも約100,000 ダルトン、そして更により具体的には少なくとも約 250,000 ダルトン、又は更に少なくとも500,000
ダルトンの分子量を有する。数－平均分子量
(Mw) は幅広く様々であってよいが、一般的には約500
乃至約200,000 ダルトン、又は約 500 乃至約 100,000 ダルトンあるいは約 500 乃至約 50,000 ダルトンの範囲内である。ある実施態様では、Mwは約8,000乃至45,000 ダルトンの間で様々である。ある一つのポリマの一試料中でも、幅広い分子量が存在するであろう。例えば試料中の分子同士が、2、5、10、20、50、100以上の因数で異なるような分子量を有していたり、あるいは平均分子量から 2、5、10、20、50、100以上の因数分、異なるような分子量を有していたりする場合がある。

【００６３】
分子量を決定する方法の一つは、例えば混合ベッド・カラム、CH_2Cl_2 溶媒、光散乱検出器、及びオフライン dn/dcなど、ゲルろ過クロマトグラフィ（「GFC」）としても知られるゲル透過クロマトグラフィ（「GPC」）である。他の方法は当業で公知である。
【００６４】
いくつかの実施態様では、ポリマの固有粘度は一般に、４０℃のクロロホルム中で約 0.01 乃至約 2.0dL/g であり、代替的には約 0.01 乃至約 1.0 dL/g 、そして場合によっては約
0.01 乃至約 0.5dL/gである。
【００６５】
ある実施態様では、当該担体はポリアミノ酸、好ましくは非タンパク質性ポリアミノ酸、ポリエチレンイミン、天然の糖類、アミノ化及びカルボキシル化多糖、アミノ化及びカルボキシル化オリゴ糖、スルホン化多糖、スルホン化オリゴ糖、アミノカルボキシル化多糖、アミノカルボキシル化オリゴ糖、カルボキシルメチル化多糖、カルボキシルメチル化オリゴ糖、ポリアミドアミン、ポリアクリル酸、ポリアルコール、ポリビニルアルコール、及びポリチオールから成っていてもよい。これらの担体ポリマはすべて、疎水性基又は保護基を、基本的にはそれらの特性を変化させながら、かつ、それらを同時に可溶性かつ疎水性の両方で有り得るように付着させるために用いることのできるアミノ、カルボキシル、ヒドロキシル、スルホネート又はチオール基を有する。
【００６６】
当該の担体は、例えば、しかし限定はしないが、多塩基、ポリアルコール、又は多酸、例えばポリリジン、ポリセリン、ポリスレオニン、ポリグリセロール、ポリチロシン、ポリアスパラギン酸又はポリグルタミン酸、又はカルボキシル化ポリリジンなど、修飾可能な官能基を含むポリマからなっていてもよい。骨格に沿ったこれらの反応性又は荷電官能基は、保護基もしくは疎水性基又はそれらの誘導体もしくは類似体と化学結合を形成することができるため、有用である。これらの官能基にはまた、いずれかの電荷を取り除くと共に担体の骨格に疎水性を与えるために、小型の疎水性基でキャップを付けることもできる。
【００６７】
前記のポリアミノ酸は、単一種のポリマでも、又は、少なくとも二種の異なるアミノ酸種のポリマであってもよく、あるいは、ブロック・コポリマであってもよい。前記のポリアミノ酸には、限定はしないが、Ｓ－Ｓ結合などの開裂可能な結合で連結されたポリアミノ酸フラグメントが含まれよう。具体的には、前記のポリアミノ酸は、ポリ-(L 及び／又は D)-リジン、ポリ-(L及び／又は D)-グルタミン酸、ポリ-(L 及び／又は D)-グルタミン酸、ポリ-(L 及び／又はD)-アスパラギン酸、ポリ-(L 及び／又は D)-セリン、ポリ-(L 及び／又は D)-スレオニン、ポリ-(L及び／又は D)-チロシン、ポリ-(L 及び／又は D)-アルギニン、又はポリ-アルファ,ベータ-(2-アミノエチル)-(L及び／又は D)-アスパルトアミドであってよい。これらのポリマはすべて、疎水性基、保護基、又は配向分子を、同時に可溶性及び疎水性の両方で有り得るようにしながら付着させるために用いることのできるアミノ、カルボキシル、ヒドロキシル、又はチオール基を有する。
疎水性コアの担体組成物のポリアミノ酸担体は、好ましくは、5-560 アミノ酸単位、500-100,000 ダルトンの分子量を有するとよく、そして非タンパク質性であることが好ましい。
【００６８】
アミノ化多糖又はオリゴ糖担体の例には、限定はしないが、ポリグルコサミン（キトサン）、及びポリガラクトサミンがある。
【００６９】
カルボキシル化多糖又はオリゴ糖担体の例には、限定はしないが、ポリグルクロン酸及びポリガラクツロン酸のものがある。
【００７０】

ポリマ製担体の更なる例には、カルボキシル化もしくはカルボキシルメチル化した直線状ポリ-L-リジン(PL)又はポリ-D-リジン；カルボキシル化もしくはカルボキシルメチル化したポリアルファ,ベータ-(2-アミノエチル)-D,L-アスパルトアミド；ポリ-L-アスパラギン酸；ポリ-L-グルタミン酸、ヒスチジンと正又は負の電荷を持つアミノ酸とのコポリマ、カルボキシル化ポリエチレンイミン、即ちカルボン酸の誘導体と反応させたポリエチレンイミン；カルボン酸基を持つ、天然の糖又はそれを化学的由来とする生成物、例えば：ガラクツロン酸、グルクロン酸、マンヌロン酸、ヒアルロン酸、ペクチン酸、ノイラミン酸、アルギン酸、カラギーナン；酸化デキストラン；例えば連結したアミノ基を含有するなど、アミノ化した多糖又はオリゴ糖、直線状又は分枝状；ポリカルボキシル化、カルボキシルメチル化、硫酸化もしくはリン酸化した多糖又はオリゴ糖、例えば炭酸、二炭酸、硫酸、アミノ硫酸、リン酸の誘導体と反応させて、その結果カルボン酸、アミノカルボン酸、カルボキシメチル、硫酸、アミノもしくはリン酸基を連結させたものなど、がある。.このようなオリゴ糖は、例えばデキストラン、マンナン、キシラン、プルラン、セルロース、キトサン、アガロース、フコイダン、ガラクタン、アラビナン、フルクタン、タン、フカン、キチン、プスツラン（原語：pustulan）、レバン又はペクチンなどの化学的変更により得られよう。加えて、これらのポリ-又はオリゴ糖は、例えばグルコース、ガラクトース、マンノース、ガラクトース、デオキシグルコース、リボース、デオキシリボース、アラビノース、フコース、キシロース、キシルロース、リブロース、ポリアミドアミンなど、直鎖状又は分枝状に関係なく単糖のヘテロポリマ又はホモポリマ；ポリアクリル酸；カルボン酸基又はアミノ基が化学的に連結されるポリアルコール、例えばポリビニルアルコール及びポリキシリトール、が代表であろう。ポリアミノ酸の分子量は好ましくは、500 より大きく、そして100,000より小さいとよい。分子量（MW）分布の狭いポリアミノ酸は、MW分布の広いものよりも好ましい。ポリアミノ酸は化学合成又は遺伝子操作などの組換え技術により調製される。

【００７１】

別の実施態様では、担体として作用するポリマは、装填分子又は活性薬剤が結合する先となる部位を成す疎水性基を遠い末端に持つようなポリ（エチレングリコール）(PEG) であろう。概略的には、本実施態様は以下：PEG－疎水性基－装填分子、で表されるであろう。代替的には、PEGはその骨格に沿って官能付与して、骨格に対して疎水性部分がペンダント基として結合することで、このペンダント基の疎水性部分に装填分子が結合できるようにしてもよい。この官能付与により、ペンダント基の保護鎖も許容され得る。

【００７２】

別の実施態様では、担体として作用するポリマは、 式HO-PEG-[-$CH_2CH(OH)CH_2O$-]$_n$-PEG-OH

（但し式中、PEG はポリ（エチレングリコール）を表し、nは3 乃至1000の整数である）のポリ（エチレングリコール）を持つポリグリセロールであってよい。

【００７３】

本発明で用いるのに適したポリマの更なる例については、言及をもってここに援用することとする米国特許第6,509,323号；第6,492,560号；第6,468,532号；第6,521,736号；第6,348,069号；第5,871,710号；及び第6,051,549号を参照されたい。

【００７４】

担体のもう一つの例は、薬物溶離性のステントを形成するステントの表面であろう。

【００７５】

ナノ粒子及びマイクロ粒子

本発明で担体として用いることのできるナノ粒子及びマイクロ粒子の例には、1.0 g/cm^{3}未満、又は約 0.4 g/cm^{3}未満の密度を有する多孔質粒子がある。この多孔質構造により、例えば平均直径が5ミクロンを越えるなどの比較的に大型の直径の治療用エーロゾルを肺内深部に送達することができる。これらの多孔質粒子を改良して、装填分子を結合させることのできる疎水性基を含有させることができる。

【００７６】

多孔質粒子は好ましくは生分解性かつ生体適合性であるとよく、そして選択的には薬物の送達に向けて制御された速度で生分解することができるとよい。多孔質粒子は約 0.4 g/cm^{3}未満の密度を有する多孔質粒子を形成することができれば、いずれの材料から形成してもよい。無機及び／又は有機材料の両方を用いることができる。例えばセラミックを用いてもよい。

【００７７】

当該粒子は、約0.4 g/cm^{3}未満の密度を有する多孔質粒子を形成できればいずれの生体適合性、かつ好ましくは生分解性であるポリマ、コポリマ、又は混合物からも形成してよい。

【００７８】

ポリ無水物などの表面侵食性ポリマを用いて多孔質粒子を形成してもよい。例えばポリ[(p-カルボキシフェノキシ)-無水ヘキサン](「PCPH」) などのポリ無水物を用いてもよい。生分解性のポリ無水物は例えば米国特許第4,857, 311号に解説されている。

【００７９】

別の実施態様では、ポリ（ヒドロキシ酸）を含むポリエステル・ベースのものなど、かさ浸食性ポリマを用いることができる。例えば、ポリグリコール酸（「PGA」）又はポリ乳酸（「PLA」）又はこれらのコポリマを用いて多孔質粒子を形成してもよく、この場合、当該のポリエステルは下に解説するアミノ酸などの荷電又は官能付与可能又は修飾可能な基を中に取り込んでいる。この官能付与可能な基を修飾して、装填分枝を結合させることのできる疎水性基を含有させることができる。

【００８０】

他のポリマには、ポリアミド、ポリカーボネート、ポリエチレン、ポリプロピレンなどのポリアルキレン、ポリ（エチレングリコール）、ポリ（エチレンオキシド）、ポリ（エチレンテレフタレート）、ポリビニルアルコールなどのポリビニル化合物、ポリビニルエーテル、アクリル酸及びメタクリル酸のポリマ、セルロース、多糖、並びにペプチド又はたんぱく質、あるいは、約 0.4 g/cm^{3}未満の密度の多孔質粒子を形成することのできるこれらのコポリマ又は混合物、がある。様々な制御された薬物送達用途に向け、in vivoでの 適した安定性及び分解速度でポリマを選択しても、あるいは、適した安定性及び分解速度を有するように修飾してもよい。

【００８１】

別の例として、言及をもってその開示をここに援用することとするHrkach et al., Macromolecules,28:4736-4739 (1995); and Hrkach et al.,"Poly(L-Lactic acid-co-amino acid) Graft Copolymers: A Class of FunctionalBiodegradable Biomaterials" in Hydrogel and Biodegradable Polymers forBioapplications, ACS Symposium Series No. 627, Raphael M. Ottenbrite etal., Eds., American Chemical Society, Chapter 8, pp. 93-101, 1996 に解説されたように、官能付与されたポリエステル・グラフト・コポリマから多孔質粒子を形成してもよい。官能付与されたグラフト・コポリマとは、ポリ（グリコール酸）又はポリ（乳酸）などのポリエステルと、ポリ（アミノ酸）などの官能付与可能又はイオン化可能な基を含む別のポリマとのコポリマである。別の実施態様では、中に取り込まれたアミノ酸と、そして当該ポリエステル骨格のアミノ酸基から延びたポリ（アミノ酸）側鎖とを有する直線状ポリエステル骨格を含むコーム様グラフト・コポリマを用いる。当該ポリエステルは、例えば乳酸、グリコール酸、ヒドロキシ酪酸及び吉草酸、あるいはこれらの誘導体又は組合せなどのα-ヒドロキシ酸のポリマであってよい。ポリリジンなどのイオン化可能な側鎖をポリマに含めると、溶媒蒸発法などの当業で公知のマイクロ粒子作製の技術を用いて、より多孔性の高い粒子を形成させることができることが見出されている。アミノ又はカルボキシル基などの他のイオン化可能な、多孔性を高めるために共有結合又は非共有結合でポリマ中に取り入れてよい。例えば、ポリアニリンをポリマに取り入れることができよう。これらの基を更に修飾して、装填分枝を結合させることのできる疎水性基を含有させることができる。

【００８２】
多孔質ポリマ製粒子を形成するために用いてもよいポリエステル・グラフト・コポリマの一例は、ポリ（乳酸-コ-Z-L-リジン）(PLAL)とグラフトされたリジン鎖とから成るポリエステル骨格を有するグラフト・コポリマであるポリ（乳酸-コ-リジン-グラフト-リジン）
("PLALLys")である。PLAL-Lysはコーム様のグラフト・コポリマであり、例えば98モル％の乳酸及び２モル%のリジンから成る骨格組成と、この骨格のリジン部位から延びるポリ（リジン）側鎖
とを有する。ポリ（乳酸）コポリマの使用は、それが乳酸及びリジンという、身体で処理可能な物質に生分解されるため、有利である。既存の骨格リジン基は、ポリ（アミノ酸）側鎖野成長を開始させる部位として用いられる。
【００８３】
合成の場合、ｉ）送達しようとする薬剤と、該薬剤の安定性や送達時の活性保持を提供する当該コポリマとの間の疎水性相互作用；ｉｉ）ポリマの分解速度、ひいては薬物放出プロファイルの速度；ｉｉｉ）化学修飾による表面特徴及び標的決定能；及びｉｖ）粒子の多孔性、を含め、多孔質粒子の様々な特徴が最適になるように、グラフト・コポリマを誂えてもよい。本発明に適したナノ粒子及びマイクロ粒子の更なる例については、米国特許第6,447,753号及び第6,274,175号を参照されたい。
【００８４】
固体の支持体
いくつかの実施態様では、本発明で用いられる担体は、例えばWang樹脂など、ポリマ・ビーズ又は樹脂などの固体の支持体であってもよい。支持体は、珪素、プラスチック等、一定の剛性を有する固体であってもよい。また支持体は、例えばプラスチック又はその他の合成材料（例えばナイロン）、天然ポリマから作製された材料（セルロース又は絹など）あるいはこれらの誘導体（ニトロセルロースなど）など、可撓性材料であってもよい。いくつかの実施態様では、支持体は、剛性又は可撓性であってよい、織物を含む撚り合わされた繊維等、多孔質材料である。いくつかの実施態様では、固体の支持体は、多孔質であってもよいビーズ又はペレットである。
【００８５】
担体は可撓性の半固体ポリマから成っていてもよい。可撓性とは、繰り返し曲げたり、その最初の形状に戻したりすることができる能力である。可撓性のポリマから作製された担体は、隣接する器官又は身体壁面の運動に遭遇するような解剖学的箇所への配置に適合させる。このように、可撓性の担体は、組織の損傷を引き起こすことなく、動く組織によって充分に変形させられ得る。担体がその最初の位置から外れてしまうような傷害を防ぐために、可撓性は特に有利である。このような可撓性の担体は、頸部の頚動脈などの拍動性血管を覆ったり、又は、やはり局部的な運動の影響を受けるであろう、頚静脈などの頸部のより繊細な構造を覆ったりするために適切であろう。同様に、可撓性の担体を用いて、脊髄の付属神経など、頸部切開術中に露出する神経を保護してもよく、この場合、当該担体の可撓性により、運動に遭遇したときに神経を侵食したり損傷したりせずに曲げ又は変形を行なわせることが可能であろう。上述の方法で本発明による担体を用いると、機能にとって重要な構造を外科的に維持した状態で、切開をより小さな範囲に制限することが可能であろう。担体を、特定の解剖学的部分への移植に適した三次元構造に構成してよい。担体を、特定の解剖学的部分の寸法及び機能的要件に適したフィルム、メッシュ、シート、チューブ、又はいずれか他の形状に形成してもよい。ポリマの物理的特性は、化学的成分の修飾やそれらの架橋を、当業者に公知の方法を用いて行なうことにより、所望の程度の可撓性を達成するように調節できよう。
【００８６】
反応性部位を持つ固体の支持体による担体を作製する方法の一つは、化合物に結合できるように、固体の支持体を直接、誘導体化することである。これを行なうために用いられる化学法は、制御されたポア・ガラス（cpg）ビーズ及びポリマ・ビーズを誘導体化する

ために用いられるものと同じ又は同様でよい。典型的には、このプロセスの一番目のステップは、支持体上にヒドロキシル基（それが支持体上にまだなければ）又はアミノ基を作ることである。ヒドロキシル基が存在するか、又は作られたら、典型的には、例えばヒドロキシル基をガンマ-アミノプロピルトリエトキシシランと反応させることなどにより、これらをアミノ基に転化させる。無水物、環状の酸無水物、活性化エステル、重合アルキレン酸化物との反応、及び当業で公知の他の方法により、疎水性基をこのアミノ基に添加することができる。

【００８７】

固体の支持体による担体の反応性表面面積を増す方法の一つは、例えばSiOの熱蒸発などにより、一酸化珪素のコラム構造を作ることである。もう一つのこのような方法は、不織ガラス又はプラスチック（好ましくはファイバーガラス又はポリプロピレン・ファイバー）生地などの反応繊維に挿入し、このファブリックをプラズマ処理して反応性部位を作ることである。更に別の方法は、熱酸化によりシルーセスキオキサンのはしご状ポリマ構造からほぼ化学量論的なSiOの薄膜を生ずるスピン-オン・グラスを用いるものである。まず、混合アルコール中にポリマ状の有機金属構造を形成させた後、慎重に乾燥及び焼成させることにより、有機金属製の開始材料からガラス様組成物の薄膜がゾルーゲル・プロセスにより生ずる。このゾルーゲル系を臨界温度及び溶液圧力より上で乾燥させると、エーロゲルができる。エーロゲルはガラス（例えばSiO）に似た化学的組成を有するが、非常に多孔質なミクロ構造を有する。それらの密度は比較的に低く、場合によっては僅かに約1-3% の固体組成しかなく、その残りは空気である。

【００８８】

疎水性基及び担体への付着

疎水性基及び保護基を付着させるために用いる化学的連結の種類は、錯体と、この錯体に結合した治療薬の所望の生物学的半減期に依るであろう。半減期が長い方がよいのであればエーテル又はアミド結合が好ましいが、生物学的流体又は組織中での半減期の短い担体にはエステル結合が用いられるであろう。両者の化学結合を混合させて用いて、特定の装填分子の所望の安定性を達成することができる。またＳ－Ｓ結合を用いても、特定の目的に合った所望の半減期を達成できよう。

【００８９】

化学的連結は担体又は骨格に沿って露出した修飾アミノ基を含んでいてもよい。修飾アミノ基とは、一般式[CxHyOz]（但し式中、x は 2-36であり；y は 3-71であり；z は1-4である）を有する、脂肪酸を由来とするアルキルアシル、又は、芳香族アルキル酸を由来とする芳香族アルキルアシル、を含む疎水性の官能基のアミド結合である。アミノ基とのアミド結合に必要な最小値である z = 1であることが好ましい。しかしながら、開始分子は、アミド結合形成前には1よりも大きいzを有していてもよい。

【００９０】

疎水性官能基は、一般式 $[-OC(CH_2)_xCO-]$
又は$[-OC(CH_2)_xCN-]$
（但し式中、x は2-36である）を有する2つの末端を持つ疎水性アルキル基を含んでいてもよく、そして更に、この疎水性基の他方の共有結合した保護基、それらの類似体又は誘導体を含んでいてもよい。この場合、アミノ基の修飾は、遊離アミノ基が全く残っていないような完全なものであっても、あるいは、修飾の程度が50 乃至 100 %、より好ましくは90 乃至100 %で有り得るような部分的なものでもよい。更に、残ったアミノ基を更に修飾して、保護基のない疎水性部分を含有させることができる。その結果できる組成も、本発明の実施態様の一つである。

【００９１】

本発明のもう一つの目的は、担体上で長手方向に沿ったアミノ基に疎水性基を付着させる方法を提供することである。この修飾はアミド結合形成により行なうことができる。本発明の範囲を制限することは意図していない一例として、カルボキシルを含有する疎水性分子は、担体のアミノ基に、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド又

はジシクロヘキシルカルボジイミドなどのカルボジイミド含有試薬を用いて付着させることができる。カルボジイミド試薬は、式N=C=Nから成る官能基を含有する。カップリング反応の過程の間、活性化したカルボキシル基（O-アシルイソウレア-中間体）は選択に応じ、N-ヒドロキシスクシンイミドを用いてN-ヒドロキシスクシンイミドエステルを形成させることにより、安定化させることができる。この比較的に安定な中間体をポリリジン又はキトサンなどの担体のアミノ基に反応させて、アミノ－アシル結合又はアミド結合を形成させることができる。

【００９２】

疎水性基を付着させるもう一つの方法は、担体のアミノ基を無水脂肪酸と反応させる方法である。例えば担体のアミノ基を無水パルミチン酸と反応させると、１６個の炭素を含む長鎖の疎水性基が形成される。いずれの無水脂肪酸をこの方法で用いてもよい。

【００９３】

本発明の別の目的は、疎水性基を担体の、長手方向でそのカルボキシル基に付着させる方法を提供することである。この修飾はアミド結合形成により行なうことができる。本発明の範囲を限定することは意図していない一例として、担体のカルボキシル基を活性化させて、疎水性基のアミノ官能基と反応させることができる。この活性化は、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド又はジシクロヘキシルカルボジイミドなどのカルボジイミド含有試薬を用いて達成することができる。カルボジイミド試薬は式N=C=Nから成る官能基を含有する。活性化の過程の間、カルボキシル基はO-アシルイソウレア-中間体を形成するが、これを選択によってはN-ヒドロキシスクシンイミドにより安定化させてN-ヒドロキシスクシンイミドエステルを形成させることができる。この比較的に安定な中間体を疎水性基のアミノ基と反応させることができる。疎水性基又は分子がアミノ基を有さない場合、アミノ基はこの分子に比較的に大変簡単に導入することができ、その化学法は当業者に公知である。

【００９４】

本発明のもう一つの目的は、疎水性基を担体に、その長手方向のヒドロキシル基で付着させる方法を提供することである。ヒドロキシル基のこの修飾は、ハロゲン化アシル又は脂肪酸、カルボキシル芳香族炭化水素、又はジカルボキシルアルキルの合成により、簡単に行なうことができる。ハロゲン化アシルの合成は、カルボン酸部分をジクロロスルホキシド（$SOCl_2$）又は当業者に公知の他の試薬に反応させることにより、行なうことができる。その結果できるハロゲン化アシルは、ポリセリン、ポリスレオニン、及びポリチロシンなどのポリアミノ酸のアルコール官能基存在残基に対して反応性である。この反応の結果、疎水性基又は分子を担体に付着させるエステル結合が形成されるであろう。

【００９５】

担体の長手方向でエステル結合を形成させることで疎水性基を付着させるもう一つの方法は、担体のヒドロキシ基を無水脂肪酸に反応させる方法である。例えば、担体のヒドロキシ基を無水パルミチン酸に反応させると、１６個の炭素を含む長鎖の疎水性基が形成される。いずれの無水脂肪酸をこの方法で用いてもよい。

【００９６】

更に本発明は、ポリマ製担体か、又は、保護鎖を持ち、更に当該ポリマに沿って露出した修飾カルボキシル基も含むポリマ製担体、を含む疎水性コアの担体組成物にも関する。当該ポリマ製担体中のカルボキシル基の修飾は、一般式[NwCxHyOz]（但し式中、w は1-6であり；x は2-36であり；y は 3-74であり；zは 0-10である）を有する、含窒素炭化水素鎖又は脂肪酸エステル（又はアミド）あるいは含窒素芳香族炭化水素（これはエステル又はアミド結合を有していてもよい）を含む疎水性官能基のアミド共有結合であり、このとき、担体又は骨格への付着後、当該部分は、何の電荷も有さず、非極性であり、即ち疎水性であろう。

【００９７】

更に本発明は、担体又は骨格に沿って露出した修飾カルボキシル基を持つポリマ製担体を含む疎水性コアの担体組成物に関し、この場合、当該ポリマ製担体中のカルボキシル基

の修飾は、一般式[-NC(CH_2)$_x$CN-] 又は [-NC(CH_2)$_x$CO-]（但し式中、xは2-36である）を有する、2つの末端を持つ疎水性のアルキル基と、更に、疎水性基の他方の末端に共有結合した保護基、その類似体又は誘導体とを含む疎水性官能基のアミド共有結合である。この場合、担体に沿ったアミノ基の修飾は、遊離アミノ基が全く残っていないような完全なものでも、修飾の程度が50 乃至 100 %、より好ましくは90 乃至 100 %で有り得るような部分的なものでもよい。更に、残ったアミノ基を更に修飾して、保護基のない疎水性部分を含有させることができる。その結果できる組成もまた、本発明の実施態様の一つである。

【００９８】

更に本発明は、ポリマ製担体か、または保護鎖のあるポリマ製担体を含み、更に修飾ヒドロキシル基を該ポリマに沿って含むような疎水性コアの担体組成物にも関する。ヒドロキシル基の修飾は、一般式 [CxHyOz]（但し式中、x は 2-36であり；y は 3-74であり；z は 1-10である）を有する、脂肪酸由来のアルキルアシル、又は、芳香族アルキル酸由来の芳香族アルキルアシル炭化水素、を含む疎水性の官能基のエーテル又はエステル共有結合であり、この場合、担体又は骨格への付着後、当該部分は全く電荷を有さず、非極性であり、即ち疎水性であろう。

【００９９】

更に本発明は、担体又は骨格に沿って修飾ヒドロキシル基を持つポリマ製担体を含む疎水性コアの担体組成物に関し、この場合、前記ポリマ製担体中のヒドロキシ基の修飾は、一般式[-OC(CH_2)$_x$CO-] 又は [-OC(CH_2)$_x$CN-]（但し式中、xは 2-36である）を有する、2つの末端を持つ疎水性アルキル基と、更に、疎水性基の他方の待ったに共有結合した保護基、その類似体又は誘導体とを含む疎水性官能基のエステル共有結合である。この場合、担体に沿ったヒドロキシ基の修飾は、遊離ヒドロキシ基が全く残っていないような完全なものでも、修飾の程度が50 乃至 100 %、より好ましくは90 乃至 100 %で有り得るような部分的なものでもよい。更に、残ったヒドロキシ基を更に修飾して、保護基のない疎水性部分を含有させることができる。その結果できる組成もまた、本発明の実施態様の一つである。

【０１００】

更に本発明は、ポリマ製担体か、あるいは、担体又は骨格に沿って露出した修飾アミノ基を更に含む、保護鎖を持つポリマ製担体、を含む組成物にも関する。前記ポリマ製担体中のアミノ基の修飾は、一般式 [NwCxHyOz]（但し式中、wは 0-6であり；x は 2-36であり；y は3-74であり；z は 1-10である）を有する、アシル脂肪酸又はアシル芳香族炭化水素を含む疎水性官能基のアミド共有結合である。

【０１０１】

更に本発明は、ポリマ製担体か、あるいは、当該ポリマに沿って露出した修飾カルボキシル基を更に含む、保護鎖を持つポリマ製担体、を含む組成物にも関する。前記ポリマ製担体中のカルボキシル基の修飾は、一般式[NwCxHyOz]（但し式中、w は1-6であり；x は 2-36であり；yは 3-74であり；z は 0-10である）を有する、含窒素炭化水素鎖又は脂肪酸エステル（又はアミド）あるいは含窒素芳香族炭化水素（これはエステル又はアミド結合を有していてよい）を含む疎水性官能基のアミド共有結合であり、この場合、担体又は骨格への付着後、当該部分は全く電荷を有さないであろう。疎水性基にはビタミンＥ、ビタミンＡ、ビタミンＤ、ビタミンＫ、及びそれらの類似体又は誘導体が含まれる。

【０１０２】

更に本発明は、ポリマ製担体か、又は、当該ポリマに沿って修飾ヒドロキシル基を更に含む、保護鎖を持つポリマ製担体、を含む組成物にも関する。ヒドロキシル基のこの修飾は、一般式[CxHyOz]（但し式中、x は 2-36であり；y は 3-74であり；z は1-10である）を有する、アシル脂肪酸又はアシル芳香族炭化水素を含む疎水性官能基のエステル共有結合であり、この場合、担体又は骨格への付着後、当該部分は全く電荷を有さないであろう。

【０１０３】

更に本発明は、当該ポリマに沿って露出した未修飾のアミノ基を更に含む、保護鎖を持つポリマ製担体を含む組成物にも関し、この場合、当該の疎水性は、主に保護鎖により提供される。

【０１０４】

更に本発明は、当該ポリマに沿って露出した未修飾のカルボキシル基を更に含む、保護鎖を持つポリマ製担体を含む組成物にも関し、この場合、当該の疎水性は、主に保護鎖により提供される。

【０１０５】

更に本発明は、当該ポリマに沿って露出した未修飾のヒドロキシル基を更に含む、保護鎖を持つポリマ製担体を含む組成物にも関し、この場合、当該の疎水性は、主に保護鎖により提供される。

【０１０６】

疎水性基及び保護基を付着させるために用いる化学的連結の種類は、錯体と、この錯体に結合した治療薬の所望の生物学的半減期に依るであろう。半減期が長い方がよいのであればアミド結合が好ましいが、生物学的流体又は組織中での半減期又は安定性の短い担体にはエステル結合が用いられるであろう。両者の化学結合を混合させて用いて、送達しようとする特定の治療薬にとって所望の安定性を達成することができる。またＳ－Ｓ結合を用いても、意図された治療上及び診断上の目的にとって有益であろう担体の所望の特性を達成できよう。

【０１０７】

装填分子

更に本発明は、装填分子を含む疎水性コアの組成物も含み、この場合の前記装填分子は以下：治療薬又は診断薬。治療用装填分子には、サイトカイン、リンホカイン、ホルモン、ホルモンアゴニスト、ホルモンアンタゴニスト、抗生物質、鎮痛剤、毒素、光毒素、細胞増殖抑制性物質、細胞障害性物質、向精神薬、ステロイド系抗炎症剤、非ステロイド系抗炎症剤、免疫抑制剤、抗菌剤、抗ウィルス剤、抗カビ剤、キレータ、ビタミン、プロテアーゼ阻害剤、殺虫剤、アミノグリコシド、ポリミキシン、ACE阻害剤がある。これらの装填分子は、タンパク質、抗体、抗体フラグメント、ペプチド、組換えペプチド、植物から単離されたペプチド、カビから単離されたペプチド、動物から単離されたペプチド、細菌から単離されたペプチド、ウィルスから単離されたペプチド、培養細胞から単離されたペプチド、合成ペプチド、ペプチドミメティック、有機化合物、合成有機化合物、植物から単離された有機化合物、カビから単離された有機化合物、動物から単離された有機化合物、細菌から単離された有機化合物、ウィルスから単離された有機化合物、培養細胞から単離された有機化合物、有機金属化合物、デオキシリボ核酸、リボ核酸、オリゴヌクレオチド、他の核酸、オリゴ糖、糖質；脂質；光感受性有機化合物、及びプロテオグリカンであってよい。

【０１０８】

治療用装填分子の非限定的な例は、グルカゴン様ペプチド、グルカゴン様ペプチド誘導体s、エキセナチド、グルカゴン様ペプチド-1、グルカゴン様ペプチド-2、レプチンフラグメント、胃抑制ポリペプチド(GIP)、上皮成長因子(EGF)受容体リガンド、EGF、トランスフォーミング成長因子アルファ(TGF-アルファ)、ベータセルリン、ガストリン/コレシストキニン受容体リガンド、ガストリン、コレシストキニン、リゾスタフィン（原語：lysosthaphin）、インターフェロン、インターフェロンガンマ、インターフェロンベータ（例えばインターフェロン-ベータ1、インターフェロン-ベータ2)、インターフェロンアルファ（例えばインターフェロンアルファ-2a 又はインターフェロンアルファ-2b)、インターロイキン-1、インターロイキン-2、インターロイキン-4、インターロイキン-6、インターロイキン-8、インターロイキン-10、インターロイキン-12、腫瘍壊死因子、腫瘍壊死因子アルファ、腫瘍壊死因子ベータ、アウリスタチン、ナイシン、インシュリン、インシュリン様成長因子、インシュリン様成長因子1、成長ホルモン、ヒト成長ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン(GHRH)、神経成長因子、脳由来神経栄養因子、酵素、エンドスタチ

ン、アンジオスタチン、トロンボスポンジン、ウロキナーゼ、ストレプトキナーゼ、血液凝固因子 VII、血液凝固因子VIII、顆粒球-マクロファージ コロニ刺激因子 (GM-CSF)、顆粒球コロニ刺激因子 (G-CSF)、トロンボポエチン、カルシトニン、副甲状腺ホルモン(PTH) 及びそのフラグメント、エリスロポエチン、心房性ナトリウム利尿因子、モノクローナル抗体、モノクローナル抗体
フラグメント、ソマトスタチン、プロテアーゼ阻害剤、アドレノコルチコトロピン、性腺刺激ホルモン放出ホルモン、オキシトシン、黄体形成ホルモン-放出ホルモン、卵胞刺激ホルモン、グルコセレブロシダーゼ、トロンボポエチン、フィルグラスチム、プロスタグランジン、エポプロステノール、プロスタサイクリン、シクロスポリン、バソプレッシン、テルリプレッシン、デスモプレッシン、クロモリンナトリウム（ナトリウム又はジソジウムクロモグリケート)、血管作用性小腸 ペプチド (VIP)、バンコマイシン、抗菌剤s、ポリミキシン b、抗カビ剤、抗ウィルス剤、フゼオン（原語：Fuzeon）(エンフビルティド)、ドキソルビシン、エトポシド、フェンタニル、ケタミン、ビタミン、ダプトマイシン、ジコノチド、テリパラチド、ヘマタイド、組織因子経路阻害剤(TFPI)、デスフェロキサミン (DFO)、オキシトシン、シクロスポリン、ヘマタイド、組織因子経路阻害剤(TFPI)、インテグリリン(エプチフィバチド)である。

【０１０９】

更に装填分子は、例えばスルホンアミド、スルファメトキサゾール及びスルファセトアミドなどのスルホンアミド；トリメトプリム、特にスルファメトキサゾールと組み合わせたもの；ノルフロキサシン及びシプロフロキサシンなどのキノリン；ペニシリンG、ペニシリンVなどのペニシリン、アンピシリン、アモキシシリン、イミペネム、アズトレオナム、及びピペラシリンを含むベータ-ラクタム化合物；セファロスポリンＣなどのセファロスポリン、セファロシン、セフォキシチン及びセフタジジム；クラブラン酸などのベータラクタマーゼ阻害剤；ゲンタマイシン、アミカシン、トブラマイシン、ネオマイシン、カナマイシン及びネチルミシンなどのアミノグリコシド；クロルテトラサイクリン及びドキシサイクリンなどのテトラサイクリン；クロラムフェニコール；エリスロマイシンなどのマクロライド；又はクリンダマイシン、ポリミキシン及びバシトラシンなどのその他の抗生物質；アンホテリシンB、ナイスタチン、及びハミシンなどのポリエン抗生物質；フルシトシン；ケトコナゾール、ミコナゾール、イトラコナゾール及びフルコナゾールなどのイミダゾール又はトリアゾール；アスペルギルス症、カンジダ症又はヒストプラズム症などの真菌性疾患のためのグリセオフルビン；ウィルス性疾患用のジドブジン、アシクロビル、ガンシクロビル、ビダラビン、イドクスリジン、トリフルリジン、及びリバビリンなどの抗ウィルス薬；アスピリン、フェニルブタゾン、フェナセチン、アセトアミノフェン、イブプロフェン、インドメタシン、スリンダック、ピロキシカム、ジクロフェナック；関節炎などの炎症性疾患用の金及びステロイド系抗炎症剤；心臓不整脈治療用のカプトプリル、エナラプリル、リシノプリル、キニジン、プロカインアミド、リドカイン、エンカイニド、プロプラノロール、エズモロール、ブレチリウム、ベラパミル及びジルチアゼムなどのACE阻害剤；低脂血症治療用のロボスタチン、リピトール、クロフィブレート、コレストリアミン、プロブコール、及びニコチン酸；亜硝酸アミル、ニトログリセリン及びイソソルビドジニトレートなどの有機硝酸；ジルチアゼム、ニフェジピン及びベラパミルなどのカルシウムチャンネル遮断剤；心臓血管疾患用のプロプラノロールなどのベータアドレナリン作動性アンタゴニスト；チアジドなどの利尿薬；例えばベンゾチアジアジン、又はフロセミドなどのリープ利尿薬；メチルドーパ、クロニジン、グナベンズ、グアナエチジン及びレセルピンなどの交感神経遮断剤；ヒダラジン及びミノキシジルなどの血管拡張剤；ドキソルビシン、ダウノルビシン及びイダルビシンなどのアントラサイクリン；シスプラチン及びカルボプラチンなどの共有結合DNA結合性化合物、共有結合DNA結合性化合物及びプラチナ化合物；メトトレキセート及びトリメトレキセートなどの葉酸アンタゴニスト；フルオロウラシル、5-フルオロウラシル及びフルオロデオキシウリジンなどの抗代謝産物及びピリミジンアンタゴニスト；メルカプトプリン、6-メルカプトプリン及びチオグアニンなどの抗代謝産物及びプリンアンタゴニスト；シタラビン及びフルダラビンな

どの抗代謝産物及び糖修飾類似体；ヒドロキシウレアなどの抗代謝産物及びリボヌクレオチドレダクターゼ阻害剤；シクロホスファミド及びイフォスファミドなどの共有結合DNA結合性化合物及びナイトロジェン・マスタード化合物；ブスルファンなどの共有結合DNA結合性化合物及びアルカンスルホネート；カルムスチンなどのニトロソウレア；プロカルバジンなどの共有結合DNA結合性化合物及びメチル化剤；ミトマイシンなどの共有結合DNA結合性化合物及びアジリジン；非共有結合DNA結合性化合物；ミトキサントロン及びブレオマイシンなどの非共有結合DNA結合性化合物；エトポシド、テニポシド、カンプトテシン及びトポテカンなどのクロマチン機能阻害剤及びトポイソメラーゼ阻害剤；ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビンジシン及びパクリタキセルを含むビンカアルカロイド、タキソテル又は他のタキサンなどのクロマチン機能阻害剤及び微小管阻害剤；プレドニゾン、プレドニゾロン、タモキシフェン、ロイプロリド、エチニルエストラジオールなどの内分泌機能に影響する化合物、及びハーセプチンなどの抗体； p-53 遺伝子、 p 16遺伝子、MIT遺伝子、及び遺伝子E-カドヘリンなどの遺伝子、顆粒球コロニ刺激因子(G-CSF)、マクロファージ コロニ刺激因子 (M-CSF)及び顆粒球マクロファージ コロニ刺激因子 (GM-CSF)などのコロニ刺激因子；癌治療用のオール-trans-レチノイン酸又は他のレチノイド；シクロスポリン、免疫グロブリン、及びスルファサジン、メトキサレン及びサリドイミドなどの免疫抑制剤；インシュリン欠乏性糖尿病用のインシュリン及びグルカゴン；骨粗鬆症、高カルシウム血症及びページェット病の治療用のカルシトニン及びナトリウムアレンドロネート；モルヒネ及び関連するオピオイド；メペリジン又は同属体；メタドン又は同属体；ナロルフィンなどのオピオイドアンタゴニスト；デクススロメスロファン（原語：dexthromethrophan）などの中枢作用性鎮咳薬；疼痛管理用のテトラヒドロカンナビノール又はマリノール；リドカイン及びブピビカイン；クロロプロマジン、プロクロルペラジン；テトラヒドロカンナビノールなどのカンナビノイド、ドロペリドールなどのブチロフェノン；吐き気及び嘔吐の治療用のメトクロプラミドなどのベンズアミド；抗凝固剤、抗血栓溶解及又は抗血小板薬としてのヘパリン、クマリン、ストレプトキナーゼ、組織プラスミノーゲンアクチベータ(t-PA)；炎症性腸疾患治療用のヘパリン、スルファサラジン、ニコチン及び副腎皮質ステロイド類及び腫瘍壊死因子- アルファ；喫煙中毒の治療用のニコチン；ホルモン治療用の成長ホルモン、成長ホルモン放出ホルモン(GHRH)、黄体形成ホルモン、コルチコトロピン、及びソマトトロピン；及び全身性アナフィラキシー用のアドレナリンである。

【０１１０】

装填分子には、更にテオフィリンなどのメチルキサンチン；クロモリン；アルブテロール及びテトラブタリンなどのベータ-アドレンジック（原語：adrenginic）アゴニスト；アトロピン及びイパトロピウムブロミドなどの抗コリン作用性アルカロイド；喘息及び炎症性疾患用のプレドニゾン、ベクロメタゾン及びデキサメタゾンなどの副腎皮質ステロイド類；肺疾患患者における抗菌及び抗カビ感染症用の上記の抗菌剤及び抗カビ剤（これらは肺疾患に含まれる上記の特定の疾患である）、特にこれにはアミノグリコシド（例えばアミカシン、トブラマイシン及びゲンタマイシン）、ポリミキシン（例えばポリミキシンE、コリスチン）、カルボキシシリン（チカルシリン）及びモノバクタムの、嚢胞性線維症患者などにおけるグラム陰性抗菌感染症の治療、結核患者のグラム陰性感染症の治療用、慢性気管支炎及び気管支拡張症患者におけるグラム陰性感染症治療用、全身性免疫無防備状態の患者（例えばHIV／AIDS患者）におけるグラム陰性感染症の治療用、の使用； カリニ肺炎感染のある患者（例えばHIV／AIDS患者）の治療用のペンタミジンの使用；アンホテリシンB、ナイスタチン、及びハミシンなどのポリエン抗生剤の使用；フルシトシン；ケトコナゾール、ミコナゾール、イトラコナゾール及びフルコナゾールなどのイミダゾール又はトリアゾール；アスペルギルス症、カンジダ症及びヒストプラズマ症などの真菌感染症、特に肺に発症するか、又は肺に播種中のもの、の治療用のグリセオフルビン；

肺疾患患者（これらは肺疾患に含まれる上記の特定の疾患である）における抗炎症状態の治療用の上記のコルチコステロイド類及び他のステロイド類や非ステロイド系抗炎症薬の

使用；嚢胞性線維症の治療におけるDNase、アミロリド、CFTRcDNA；肺気腫治療用のアルファ- 1 アンチトリプシン及びアルファ-1 アンチトリプシンcDNA；結核及びマイコプラズマ感染症治療用のアミカシン、トブラマイシン又はゲンタマイシンなどのアミノグリコシド、イソニアジド、エタンブトール、リファンピン及びその類似体；呼吸系発疹ウィルス治療用のリバビリン；肺癌用の上記の抗癌剤、特にシスプラチン、カルボプラチン及びパクリタキセルなどのタキサン、並びにタキサン、カンプトテシン、トポテシン、及び他のカンプトテシン、ハーセプチン、p-53遺伝子、の使用、も含まれよう。

【０１１１】

本発明において装填分子として用いるのに適した生物学的に活性な治療薬には、それら自体は胃腸管粘膜を通過しない（あるいは投与された用量のうちの一部しか通過しない）、及び／又は、胃腸管中の酸及び酵素による化学的及び／又は酵素的開裂に感受性である、あるいはこれらのいずれかの組合せである、化合物が含まれる。それらには、タンパク質、ポリペプチド；ペプチド；ホルモン；多糖、及び具体的にはムコ多糖類及びそれらの混合物がある。

【０１１２】

更なる実施態様では、本発明は二種以上の装填分子が前記ポリマ製担体の疎水性基に結合しているような前述の組成物に関する。

【０１１３】

更なる実施態様では、本発明は、装填分子が診断薬である、前述の組成物に関する。それらには、蛍光分子、常磁性分子、及び放射性分子がある。

【０１１４】

更に別の本発明の目的は、充分な量の装填分子と疎水性コアの担体を適した溶媒に入れて混合し、そして選択によってこの装填分子及び疎水性コアの担体の両者を同時に凍結乾燥させることにより、本発明の疎水性コアの担体組成物に装填分子を装填する方法を提供することである。装填分子の充分な量は装填分子に応じて様々であろうが、好ましくは疎水性コアの担体の重量の1 乃至400 % であるとよい。

【０１１５】

本発明は、「診断及び治療のメルク・マニュアル」（ニュージャージー州ラーウェイのMerck& Co., 社の一部門であるMerck Laboratories により１９９２年に発刊）に解説された多様な疾患を、PDR 即ち Physician
Desk Reference（ニュージャージー州モントヴェールのMedicalEconomics Company社により２００１年に発刊）に記載されたものの中から選ばれた適した装填分子と一緒に、本発明で解説された組成物を用いることで治療する方法を提供することを意図している。この診断及び治療のメルク・マニュアルと PDR を言及をもってここに援用することとする。特定の疾患に対する、ある装填分子の適性は「診断及び治療のメルク・マニュアル」又はPDRを調べることにより、確認することができる。

【０１１６】

保護鎖又は基

当該の疎水性コアの担体組成物、並びに、同組成物を作製する方法及び使用する方法により、保護鎖により提供される数多くの所望の結果及び特徴が達成され、一つ以上の同保護鎖（存在する場合）は、本発明のいずれの特定の実施態様にも存在しよう。本組成物の保護鎖は、好ましくは、エチレンオキシド（ポリ（エチレン
グリコール）のポリマ、即ちポリ（エチレン グリコール）のPEG 又はモノ-メトキシエーテル、即ちMPEGであるとよい。保護鎖は以下の理由から有用である。１）それは当該組成物の可溶性を確実にしながらも、薬物装填量を高く維持することができる。例えばGLP-1で、可溶性の低下が観察されるまでに重量の少なくとも30%が担体に装填された。２）保護鎖は装填分子（ペプチド、タンパク質及び他の治療薬）が身体中の他の巨大分子、酵素及び細胞と結合又は相互作用することを防ぐことのできる立体障害の形成に役立つ。３）保護鎖は
装填分子（ペプチド及びタンパク質及び薬物）にin vivoでの長時間の循環時間又は生物

学的半減期を提供し（例えば腎臓での糸球体濾過を減らす、腎臓及び肝臓での取り込みを減らす、マクロファージ取り込みを減らすため、等）循環貯蔵分を生じさせる。４）保護鎖は、担体や、ペプチド又はタンパク質薬物などのその装填分子の望ましくない免疫原性を低下させる。５）腫瘍血管の異常な浸透性は、装填分子や抗腫瘍性化合物を腫瘍に送達することにより、腫瘍又は炎症部位に装填分子を持つ担体を蓄積させることを促すため、腫瘍を治療するために特に有用である。６）保護鎖は更に、付加的な結合強度をもたらすと考えられる。そして７）保護鎖は粘膜と相互作用することにより、粘膜表面などの表面への結合に役立つと考えられる。

【０１１７】

本疎水性のコアの担体組成物の保護鎖は、例えばポリエチレングリコール、メトキシポリエチレングリコール、メトキシポリプロピレングリコール、ポリエチレングリコールのコポリマ、メトキシポリエチレングリコール、又はメトキシポリプロピレングリコール、あるいはこれらの誘導体であってよい。加えて、保護鎖はポリエチレングリコールと、ポリアミノ酸、多糖、ポリアミドアミン、ポリエチレンアミン、又はポリヌクレオチドのうちの一つの基のブロックコポリマであってよい。更に保護鎖はジカルボン酸のモノエステルを含むポリエチレングリコールのコポリマであってもよい。また保護鎖はシアル酸鎖であってもよい。保護鎖は好ましくは500-10,000ダルトンの分子量を有するとよい。

【０１１８】

別の関連する局面では、本疎水性コアの担体組成物には、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリエチレングリコール及びポリプロピレングリコールのコポリマ；又はこれらのアルコキシ誘導体、好ましくはメトキシポリエチレングリコール、メトキシポリプロピレングリコール、又はメトキシポリエチレングリコール及びメトキシポリプロピレングリコールのコポリマである保護鎖が含まれ；該保護鎖は；ポリエチレングリコールモノアミン、メトキシポリエチレングリコールモノアミン、メトキシポリエチレングリコールヒドラジン、メトキシポリエチレングリコール
イミダゾリド又はポリエチレングリコール二酸であってよく；該保護鎖はポリエチレングリコールと、ポリアミノ酸、多糖、アルコキシル化多糖、ポリアミドアミン、ポリエチレンアミン、又はポリヌクレオチドのうちの一つの基とのブロックコポリマであり；該保護鎖はジカルボン酸のモノエステルを含むポリエチレングリコールのコポリマであってよく、そして該保護鎖は500-10,000 ダルトンの分子量を有する。

【０１１９】

保護鎖の更なる例には、ポリ（エチレングリコール)
とポリアミノ酸、ポリ-ラクチドグリコリドコポリマ、多糖、ポリアミドアミン、ポリエチレンイミン又は ポリヌクレオチド（ポリマ製担体を参照されたい）に代表される一つ又は複数のポリマとのメトキシポリ（エチレングリコール）イミダゾリド
ブロックコポリマがあるが、この場合、これらのブロックは好ましくは交互になって、好ましくは直線状のブロックコポリマを生じているとよい。保護鎖の全体的分子量は好ましくは300より大きいと有利であるが、好ましくは10,000を越えないとよい。一本又は複数の保護鎖を前記ポリマ製担体に単結合で連結することが好ましい。

【０１２０】

保護鎖を付着させるための担体のアミノ基の修飾

更に本発明は、ポリマ製担体か、又は、当該ポリマに沿って露出した修飾アミノ基を更に含む疎水性基又は分子を持つポリマ製担体を含む、疎水性コアの担体組成物にも関する。前記ポリマ製担体に沿ったアミノ基修飾の非限定的な一例は、アシルポリメトキシオキシエチレングリコールを含む保護鎖のアミド結合である。本発明の範囲を限定することは意図していない保護鎖の一例は、一般式:-$CO(CH_2)_nCOOCH_2CH_2$-A-OR_3
又は　-$COCH_2$-A-OR_3（但し式中、nは2-22であり；Aは $[OCH2CH2]_x$ 又は $[OCH2CH2]_x$ 又は $[OCHCH_3CH_2]_x$（（ただしこの式中、x は17-250である））、あるいは合計17-250単位の[OCH2CH2]、[OCH2CH2]、及び／又は $[OCHCH_3CH_2]$
の多様な組合せであり、R_3

は H、$(CH_2)_pCH_3$又は $(CH_2)_pCOOH$であり、そしてp は 0-7である）で表されるアシルPEG、その類似体又は誘導体である。

【０１２１】

更に本発明は、ポリマ製担体か、又は、該ポリマに沿って修飾アミノ基を有する疎水性基を持つポリマ製担体、を含む疎水性コアの担体組成物にも関する。更なる実施態様では、本発明は、前記担体が保護側鎖を含むような上述の組成物に関する。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリ（エチレングリコール）を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はアルコキシポリ（エチレングリコール）を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はメトキシ
ポリ（エチレングリコール）(MPEG)を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリシアル酸を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリ（アクリルアミド）を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリ（ビニルピロリドン）を含む。これらは前記ポリマ製担体に上述の化学結合のいずれかを用いて付着させることができる。

【０１２２】

本発明の別の目的は保護鎖を担体に付着させる方法を提供することである。この修飾はアミド結合形成により行なうことができる。本発明の範囲を制限することは意図していない一例として、カルボキシル含有保護分子は、担体のアミノ基に、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド又はジシクロヘキシルカルボジイミドなどのカルボジイミド含有試薬を用いて付着させることができる。カルボジイミド試薬は、式N=C=Nから成る官能基を含有する。カップリング反応の過程中、活性化したカルボキシル基 O-アシルイソウレア中間体はN-ヒドロキシスクシンイミドを用いてN-ヒドロキシスクシンイミドエステルを形成させることにより、安定化させることができる。この比較的に安定な中間体をポリリジン又はキトサンなどの担体のアミノ基に反応させると、アミノ－アシル結合又はアミド結合を形成させることができる。同様な結果は、アルデヒド含有保護基を担体に沿ってアミノ基に反応させることでも達成することができる。アルデヒドをポリリジン又はキトサンなどの担体のアミノ基に反応させれば、アミノ－アシル結合又はアミド結合を形成させることができる。

【０１２３】

保護鎖を付着させるための担体のカルボキシル基の修飾

更に本発明は、ポリマ製担体か、又は、該ポリマに沿って露出した修飾カルボキシル基を更に含む疎水性基又は分子を持つポリマ製担体、を含む疎水性コアの担体組成物にも関する。前記ポリマ製担体中のカルボキシル基の修飾は、
アミノポリメトキシオキシエチレングリコールを含むアミノ基含有保護鎖のアミド共有結合である。本発明の範囲を制限することは意図していない一例として、保護鎖は、式$-NH(CH_2)_nNHCOCH_2\text{-}A\text{-}OR_3$、$-NH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_nCOOCH_2CH_2\text{-}A\text{-}OR_3$、（但し式中、nは 2-22であり； Aは$[OCH_2CH2]_x$ 又は $[OCH_2CH_2]_x$
又は $[OCHCH_3CH_2]_x$（（但し式中、xは 17-250である））、あるいは合計17-250単位の多様な組合せの$[OCH_2CH_2]$、$[OCH_2CH_2]$、及び／又は$[OCHCH_3CH_2]$
であり、R_3は H、$(CH_2)_pCH_3$ 又は $(CH_2)_pCOOH$であり、そしてpは 0-7である）で表すことのできるアミノPEGであってよい。

【０１２４】

更に本発明は、ポリマ製担体か、又は、該ポリマに沿って修飾カルボキシル基を有する疎水性基を持つポリマ製担体、を含む疎水性コアの担体組成物にも関する。更なる実施態様では、本発明は、前記担体が保護側鎖を含むような上述の組成物に関する。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリ（エチレングリコール）を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はアルコキシポリ（エチレングリコール）を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はメトキシポリ（エチレングリコール）(MPEG)を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリシアル酸を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリ（アクリルアミド）を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリ（ビニルピロリドン）を含む。これらは前記ポリマ製担体の上述の化学結合のいずれかを用いて付着させることができ

る。

【０１２５】

本発明のもう一つの目的は保護鎖を担体に付着させる方法を提供することである。これらの修飾はアミド結合形成により行なうことができる。本発明の範囲を制限することは意図していない一例として、担体のカルボキシル基を活性化させて、保護分子のアミノ官能基と反応させることができる。この活性化は、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド 又はジシクロヘキシルカルボジイミドなどのカルボジイミド含有試薬を用いて達成することができる。カルボジイミド試薬は式N=C=Nから成る官能基を含有する。活性の過程の間、カルボキシル基は O-アシルイソウレア中間体を形成するが、この中間体はN-ヒドロキシスクシンイミドにより安定化させてN-ヒドロキシスクシンイミドエステルを形成させることができる。この比較的に安定な中間体を保護分子のアミノ基と反応させることができる。担体に導入する必要のある保護基又は分子がアミノ基を有さない場合、アミノ基をこの分子に比較的に簡単に導入することができ、このプロセスは当業者には公知である。

【０１２６】

保護鎖を付着させるための担体のヒドロキシル基の修飾

更に本発明は、ポリマ製担体か、又は、該ポリマに沿って修飾ヒドロキシル基を更に含む疎水性基又は分子を持つポリマ製担体、を含む疎水性コアの担体組成物にも関する。前記ポリマ製担体中のヒドロキシル基の修飾は、アシルポリメトキシオキシエチレングリコールを含む保護基又は分子のエステル結合である。本発明の範囲を制限することは意図していない一例として、保護鎖は、

－CO で表されると共に担体のヒドロキシル基のOに付着してエステルを形成することができるアシル又はカルボニルを持つPEGであってよい。このアシルPEG又はその誘導体は式-CO$(CH_2)_n$NHCOCH_2-A-OR_3、－COCH_2CH_2-A-OR_3、又は－COCH_2-A-OR_3（但し式中、nは2-22であり；A は$[OCH_2CH_2]_x$ 又は $[OCH_2CH_2]_x$
又は $[OCHCH_3CH_2]_x$（（但し式中、x は 17-250である）、あるいは合計17-250単位の $[OCH_2CH_2]$,
$[OCH_2CH_2]$、及び／又は$[OCHCH_3CH_2]$ の多様な組み合わせである）であり、R_3 は H、$(CH_2)_pCH_3$ 又は $(CH_2)_p$COOHであり、そしてpは0-7である）で表すことができる。

【０１２７】

更に本発明は、ポリマ製担体か、又は、該ポリマに沿って修飾ヒドロキシル基を有する疎水性基を持つポリマ製担体、を含む疎水性コアの担体組成物にも関する。更なる実施態様では、本発明は、前記担体が保護側鎖を含むような上述の組成物に関する。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリ（エチレングリコール）を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はアルコキシポリ（エチレングリコール）を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はメトキシポリ（エチレングリコール）(MPEG)を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリシアル酸を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリ（アクリルアミド）を含む。更なる実施態様では、前記保護側鎖はポリ（ビニルピロリドン）を含む。これらは前記ポリマ製担体の上述の化学結合のいずれかを用いて付着させることができる。

【０１２８】

本発明の別の目的は、保護鎖を担体に付着させる方法を提供することである。ヒドロキシル基の修飾は、保護分子のハロゲン化アシルの合成により、容易に行なうことができる。ハロゲン化アシルの合成は、保護分子のカルボン酸部分をジクロロスルホキシド（$SOCl_2$）又は当業者に公知の他の試薬に反応させることにより、行なうことができる。その結果できるハロゲン化アシルは、ポリアミノ酸のセリン、スレオニン、及びチロシン残基を含むアルコールに対して反応性である。この反応の結果、エステル結合が形成されて、保護基又は分子が担体に基本的に付着するであろう。PEG-エポキシ度、PEG-イソシアネート、 PEG-PNC(PEG-ニトロフェニルカルボキシエステル) は、ヒドロキシル基を修飾することで保護基と担体との間にそれぞれエーテル、エステル、及びウレタン結合を形成させる

ために用いてもよいPEG類似体である。
【０１２９】
配向分子
本発明の更に別の目的は、担体に又は担体及び保護基に共有結合した疎水性基と、疎水性相互作用により疎水性分子に結合した装填分子と、前記担体に共有結合すると共に前記装填分子に結合して前記疎水性基内で装填分子を配向又は位置決めする配向分子と、を含む疎水性コアの担体を提供することである。該配向分子は、装填分子を認識する受容体又はペプチドであってもよく、あるいはそれは、Bolotin（公開番号NO.: US 200310224974 A1）が解説し、ここに言及をもって援用される金属イオン架橋を含む錯体であってもよいであろう。金属イオン架橋は、金属イオンに配位した第一金属結合ドメインを持つ担体を含む。この金属イオンは更に装填分子に、第二金属結合ドメインを介して配位している。また配向分子は前記ポリマ製担体に共有結合した一個のアミノ又はカルボキシル部分であってもよい。更に配向分子は、単に非限定的な例を挙げるのみだが、スルフェート、スルホネート、ホスフェート、ホスホネート又はビスホスホネートを含有する分子、あるいはリジン、アルギニン、及びヒスチジンなどの含窒素化合物など、正の荷電を持っていても、あるいは負の荷電を持っていてもよい。
【０１３０】
標的決定分子
本発明の更に別の目的は、担体に又は担体及び保護基に共有結合した疎水性基と、疎水性相互作用により疎水性分子に結合した装填分子と、目的の組織への当該医薬組成物の位置決めを容易にするための標的決定分子とを含む、医薬組成物を提供することである。
【０１３１】
標的決定基は前記ポリマ製担体に連結しても、あるいは保護鎖又は両者に連結してもよい。標的決定基は、ポリクローナル又はモノクローナルである、抗体、抗体のフラグメント、キメラ抗体；ペプチド；酵素；酵素の準基質；レクチン；又は本組成物、酵素、レクチン、糖リガンド、又はペプチドフラグメントから解離可能又は解離不能に連結された糖リガンドであってよい。
【０１３２】
標的決定部分の役割は、本発明の組成物を、患者の身体内の標的近傍に配置することである。この態様では、本発明は選択に応じて標的決定剤又は分子を利用することができると想到される。
【０１３３】
標的決定部分の例には：（ｉ）単球化学走性タンパク質1 (MCP-I)、N-ホルミル-メチオニル-ロイシル-フェナラニン（原語：phenalanine）を含む化学走性タンパク質及びペプチド；（ｉｉ）GM-CSF、CSF-1、及び受容体を含むコロニ刺激因子及びこれらに対する抗体；並びに血小板因子 4；（ｉｉｉ）TGF-fl 及びVEGFを含む成長因子；（ｖ）E-セレクチン、VCAM-1、及びVCAMlflを含む接着性細胞表面糖タンパク質；（ｉｖ）llC-デオキシ-D-グルコース、及びIsF-2-フルオロデオキシ-D-グルコースを含む糖質；（ｖｉ）C1、Clq、Clr、Cls、C2、C3、C3a、C3b、C4、C4C2、C4C2C3b、C5a、C5b及び C5aを含む血管炎症性応答のコンポーネント；（ｖｉｉ） IL-1、IL-la、IL-10、IL-2、IL-3、IL-6、IL-7、及び IL-8を含むインターロイキン；（ｖｉｉｉ）
インターフェロンa 及びインターフェロン
yを含むインターフェロン；（ｉｘ）腫瘍壊死因子TNF-a；並びに（ｘ）リポソーム、ポリエチレングリコールで被覆されたリポソーム、コレステロール、コレステロールのエステル、LDL、HDL、酸化LDLを含むリポタンパク質、及び脂質受容体、を含む脂質、がある。
【０１３４】
疎水性コアの担体組成物
装填分子を持つ疎水性コアの担体組成物の実施態様の一つを図１に挙げる。この図は本発明の範囲を制限することは意図しておらず、むしろ、本発明のいくつか重要な特徴を示

すことを意図している。疎水性コアの担体組成物及び装填分子の成分の大きさの尺度は、当該組成物中に存在する化学結合の長さに基づいて推定されている。この図において、装荷分子は当該組成物の疎水性部分に吸着され、この担体から放射状に広がった直線状の保護鎖により保護されるであろう。保護鎖は独立に担体に付着させてもよく、あるいは、疎水性分子の末端に付着させてもよい。前者の場合、保護鎖は多様な方法で担体に付着させられようが、好ましくはアミド結合又はエステル結合によるとよい。後者の場合、保護鎖を疎水性基に、好ましくは疎水性基の末端部分に、付着させてよい。この疎水性基を更に担体に付着させるが、好ましくはアミド又はエステル結合によるとよい。装填分子は、水性環境では強くなる疎水性相互作用により、疎水性コアの担体の疎水性部分に可逆的に結合させる。疎水性コアの安泰にに対する装填分子の装填は、単に、約 1:0.1 乃至 1:10の疎水性コアの担体、対、装填分子の重量対重量比で疎水性コアの担体に装填分子を混合することにより、達成することができる。この混合は、装填分子の特性に応じ、水中、又はリン酸緩衝生理食塩水中で行なわれることが好ましく、その後選択に応じては凍結乾燥が行なわれる。他の医薬品添加物も選択に応じてこの錯体に加え、ｐＨ、張性、及び粘性をコントロールすることができる。この錯体中の特定の装填分子による治療が必要な患者への投与に向け、この疎水性コアの担体－装填分子の錯体を既知の量の部分、凍結乾燥させることができる。例えばインシュリン欠乏性糖尿病、血管疾患、心疾患、脳卒中、血管内の血液凝固、癌、肝臓の癌、腎臓の癌、結腸の癌、膵臓の癌、肺の癌、内分泌線の癌、脳下垂体腫瘍、軟組織腫瘍、舌の癌、骨の癌、白血病、黒色腫、リンパ腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、肝炎、Ａ型肝炎、Ｂ型肝炎、非Ａ、非Ｂ、Ｃ型肝炎、アルツハイマー病、パーキンソン病、精神障害、分裂病、二極性障害、内分泌障害、高血圧、低血圧、凝固因子欠損症、寄生生物疾患、真菌感染症、細菌感染症、スタフィロコッカス感染症、バシラス感染症、壊死性感染症、壊疽、中毒、細菌毒素による中毒、及びヘビ毒による中毒など、疾患の治療のための患者への投与に向け、この凍結乾燥後の錯体を生理食塩水又は水に溶かして再構築することができる。本発明の疎水性コアの担体－装填分子という錯体を用いて治療することのできる疾患には、適した装填分子の選択がPDR即ち Physician
Desk Reference （ニュージャージー州モントヴェール、MedicalEconomics Company, 社により２００１年に発刊）で明示された「診断及び治療のメルク・マニュアル」（ニュージャージー州ラーウェイのMerck & Co.,社の一部門であるMerck Laboratoriesにより１９９２年に発刊）に解説されている。この「診断及び治療のメルク・マニュアル」及び「PDR」の開示を言及をもってここに援用することとする。ある特定の疾患に対する装填分子の適性は、「診断及び治療のメルク・マニュアル」又は PDRで調べることで確認することができる。

【０１３５】

疎水性コアの担体に対する装填分子の親和性は、疎水性鎖の長さを変更したり、芳香族基の大きさを調節したり、疎水性鎖の数を調節したり、あるいは芳香族基の数を調節したりすることで、調節することができる。本発明の疎水性コアの担体は、各疎水性基毎に一本の保護鎖を有することができ、こうし0.3nm毎に一個の疎水性基となる。保護基の数がより少ないと（二つ以上の疎水性基に一個の保護基）、各疎水性基同士の間の距離を 0.15 nm にすることができ、これは大変高い。各疎水性基は2 個以上 36個以下の炭素鎖を有することができるため、装填分子の疎水性コアの担体に対する結合を決定する炭素数は、必要に応じて大変高くてもよい。担体に付着させる疎水性基の密度を増加させることにより、親和性の高い疎水性コアの担体をデザインすることができる。前記ポリマ製担体上で利用可能な部位の全てに長鎖疎水性基を配置することにより、最大値を達成することができ、また保護基に残る部位は全くなくなるため、保護基を疎水性基の末端に付着させることになるであろう。これは以下の分子：ブタンジオン($HOOC(CH_2)_2COOH$)、ペンタジオン酸($HOOC(CH_2)_3COOH$)、ヘキサンジオン酸 ($HOOC(CH_2)_4COOH$)、ヘプタンジオン酸($HOOC(CH_2)_5COOH$)、オクタンジオン酸($HOOC(CH_2)_6COOH$)、ノナンジオン酸 ($HOOC(CH_2)_7COOH$)、デカンジオン酸($HOOC(CH_2)_8COOH$)、ウンデカンジオン酸 ($HOOC(CH_2)_9COOH$)、ドデカンジ

オン酸($HOOC(CH_2)_{10}COOH$)、ウンデカンジオン酸 ($HOOC(CH_2)_{11}COOH$)、ドデカンジオン酸 ($HOOC(CH_2)_{12}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{13}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{14}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{15}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{16}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{17}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{18}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{19}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{20}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{21}COOH$)、又は($HOOC(CH_2)_{22}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{23}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{24}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{25}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{26}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{27}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{28}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{29}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{30}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{31}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{32}COOH$)、($HOOC(CH_2)_{33}COOH$)、又は($HOOC(CH_2)_{34}COOH$) のうちのいずれか一つの一端を担体に、そして他端をアミノ化PEG誘導体又は類似体のいずれかに付着させることにより、達成することができる。これは図２に概観した反応を用いて行なうことができる。二酸の両端がポリアミノ担体と反応することを防ぐために、ポリアミノ基の修飾中、過剰量の二酸を用いるべきである。アミノ化 PEG、その類似体又は誘導体を添加する前に、未反応の二酸は取り除かねばならない。ジカルボン酸疎水性分子の両端にはアミド結合が形成されることとなるが、このとき一端は担体に付着し、他端は保護基に付着する。同様なプロセスは、疎水性基として$H_2N(CH_2)_xNH_2$（但し式中、xは 4-36である）などのジアミノアルカンを用いて達成することができる。ジアミノアルカンは、カルボキシル基を含有する担体に図２の反応を用いて付着させることができる。代替的には、$HOOC(CH_2)_xNH_2$ （但し式中、xは 4-36である）などのヘテロ二官能性の疎水性部分を用いて、疎水性基の両端が担体に対して潜在的な副反応を起こすことを避けることができる。この試薬を用いる場合、ポリグルタミン酸又はポリアスパラギン酸担体を予備活性化型に用いることができる。カルボキシル基による担体の予備活性化は図２の通りに行なうことができる。
$HOOC(CH_2)_xNH_2$（但し式中、xは 4-36である）などのヘテロ二官能性疎水性基との反応の前に濾過又はゲル濾過・クロマトグラフィにより、過剰な活性化試薬を取り除くことができる。活性化剤を取り除くための膜濾過及びゲル濾過クロマトグラフィは当業で公知である。上記のヘテロ二官能性疎水性部分のいずれかを予備活性化後の担体に加えて、ポリグルタミン酸又はポリアスパラギン酸など、担体のアミノ基とカルボキシル基との間にアミド結合が形成できるようにすることができる。次に、この反応混合液を再度濾過して、過剰なヘテロ二官能性疎水性部分を取り除くことができる。その後、付着した疎水性部分のカルボキシル基を活性化し（担体の活性化と同様な態様で）、活性化しさえすれば、アミノ基を含有する保護基類似体又は誘導体を次に添加して、アミド結合を形成させることができる。その結果できる生成物は、担体の周囲に高密度の疎水性基を有するであろう。疎水性鎖が長い方が、担体周囲の疎水性基の密度や体積が大変高くなる。更に、担体に沿って修飾可能な官能基（例えばアミノ又はカルボキシル基）の数を増加させるような部分を担体に付着させ、上述したのと同じプロセスを行なうことによっても、密度を増すことができる。更に、分枝状疎水性分子を用いて、担体中で修飾可能な官能基一個当り二本の疎水性鎖が付着するように、担体を修飾することができる。所望の装填分子にとって親和性が高すぎれば、より短い疎水性鎖を用いて密度を減らすことができる。短い疎水性基を用い、密度を下げると、装填分子に対する疎水性コアの担体の親和性が低下するであろう。好適な疎水性基は脂肪酸を由来とする直線状の鎖であるが、それはなぜなら、これらが身体で非毒性であり、簡単に代謝されるからである。これらは更に非免疫原性でもある。

【０１３６】

担体の長さに沿ってアミド結合を形成することで疎水性基を付着させる別の方法の一つは、担体のアミノ基を無水脂肪酸と反応させる方法である。例えば、担体のアミノ基を無水パルミチン酸と反応させると、１６個の炭素から成る長鎖疎水性基が形成される。いずれの無水脂肪酸をこの態様で用いてもよい。

【０１３７】

低親和性の疎水性コアの担体が望ましいのであれば、疎水性基とは独立に保護基を付着させることにより、疎水性基の密度を更に減らすことができる。このアプローチを用いると、担体に沿って疎水性基が付いた部位の数を１０％以上８０％以下で様々にすることができ、また疎水性基の長さも、２個以上１４個以下の炭素まで、様々にすることができる

。
【０１３８】
分解からの保護、遅い放出、及びいずれかの時点での遊離量のコントロールなどの特性を有する薬物又は治療薬送達系が長い間、求められてきた。遊離薬物量は、担体の装填分子への解離定数により定義される結合平衡により、決定されよう。解離定数は、規定された組成を持つ特定の装填分子と担体との間で決定することができる。
【０１３９】
疎水性コアの担体と装填分子との間の解離定数の決定
分子量が100kDaを越える疎水性コアの担体について解離定数を決定するには、100ul アリクォートの疎水性コアの担体（リン酸緩衝生理食塩水で1mg/ml、PBS；50 mM リン酸、150 mMNaCl、pH 7.4）を、３重にした１０本の試験管内に容れる。コントロールとして、疎水性コアの担体は加えずに100ulのPBSを容れて三重にしたもう一組の１０本の試験管を用意する。三重にした100ulのアリクォートの1000 nM、500 nM、100 nM、50 nM、10 nM、5 nM、1 nM、0.5nM、0.1 nM、及び0 nM の装填分子リン酸緩衝生理食塩水溶液を、コントロールを含む全ての試験管内に容れる。ボルテックスで混合し、溶液を１時間、３７℃でインキュベートした後、凍結乾燥させる。この乾燥した試料を200 ul の蒸留脱イオン水で再構築し、すべての溶液を100 kDa カットオフ・メンブレン（マサチューセッツ州ベッドフォード、Millipore社製）を通した遠心分離により、ろ過する。フィルタを通過した装填分子は溶液中の遊離装填分子の濃縮物である。疎水性コアの担体のないコントロール試験管は、結合に向けることのできる装填分子量の総量であろう。結合した装填分子は、同じ装填分子濃縮物を容れた、しかし疎水性コアの担体は容れなかった対応するコントロールからの遊離物を減算することにより、計算することができる。結合／遊離装填分子をy軸に、対、結合装填分子（nM）をx軸にしたグラフを作製する。このグラフのy軸上の結合／遊離、対、結合（nM）x軸の傾斜は、 -1/Kd となり、このとき Kdが解離定数とである。フィルタを通過した装填分子の定量は、 Elisa （酵素結合免疫吸着検定法）、 HPLC、又はHPLC/MSなどの手段により、行なうことができる。
【０１４０】
遊離装填分子濃度の維持
経時的な遊離装填分子濃度は、遊離装填分子と、疎水性コアの担体に結合した装填分子との間の平衡定数から予測することができる。これは等張の生理食塩水で決定することができる。平衡定数は、担体内の疎水性部分の大きさ及び量と、保護基の大きさ及び量とを変更することにより、調節することができる。疎水性部分の大きさ及び量が低いほど、装荷分子の貯留分が枯渇するまでのいずれかの時点における遊離装填分子濃度は高くなる。疎水性部分の大きさ及び量が高いほど、装填分子の貯留分が枯渇するまでのいずれかの時点における遊離装填分子濃度は低くなる。後者のシナリオでは、貯留分が枯渇するまでの時間が長くなり、装填分子の放出は長引くであろう。このような放出プロファイルの結果、好適には、有効量（例えば
約 0.00001mg/kg/時間 乃至約 10 mg/kg/時間）の装填分子、又は、当該の生体適合性組成物に結び付けたいずれか他の物質、の送達が長引くであろう（例えば 3 乃至約 4,000 時間、あるいは約10 乃至約 1500 時間を越えるなど）。疎水性コアの担体及び装填分子は、親和定数（Ka）又は解離定数（Kd）により定義することのできる親和性を互いに対して有するであろうことに、留意されねばならない。この親和性は、担体内の疎水性部分の大きさ及び量を変更することにより、調節することができる。Kd 又はKaは平衡定数を表すため、これらはいずれかの時点における遊離装填分子の量を定義するものである。身体による利用のために遊離装填分子の濃度が減少すると、担体から装填分子が自動的に放出されて、この平衡が取り戻されるであろう。放出速度は遊離装填分子の利用速度により決定されるであろう。担体の総収容力も、放出する装填分子がなくなるまでに担体が遊離装荷分子又は治療薬の一定の濃度を維持できる時間の長さを決定するであろう。
【０１４１】
多種の因子が、疎水性コアの担体に対する装填分子のKd、ひいては放出速度、に影響を

与えると考えられる。これらには、担体内の疎水性部分の密度、疎水性部分の大きさ、担体内の保護部分の密度、担体内の保護鎖の大きさ、疎水性コアの担体の全体的な大きさ、疎水性担体－装填分子錯体を取り巻く環境、及び、身体の細胞及び／又は器官による遊離装填分子の利用又は消失速度、がある。取り巻く環境条件には、温度、イオン強度により決定されるであろう溶媒の極性、タンパク質及び／又は有機分子濃度、及び重量モル濃度、がある。タンパク質及び／又は有機分子は更に、保護鎖の密度や変位中のタンパク質又は分子の疎水性に応じて、担体から装填分子を変位させることもあるであろう。

【０１４２】

更に実例を挙げると、当該ポリマに意図された使用にとって充分な生体分解性を維持しつつ、いずれかのこのようなポリマの骨格又は側鎖の疎水性を調節することにより、幅広い解離速度が得られよう。このような結果は、当該ポリマの疎水性基及び保護基の両方を変更することにより、達成できよう。

【０１４３】

水性環境中のいずれかの装填分子、又は他の物質の平衡定数を決定するために、当分野で広く許容されているプロトコルの一つは、３７℃のPBS 溶液（50 mM PO_4、150 mM NaCl、pH 7.4）中での装填分子又は他の物質の解離を含む。本発明の目的のために、用語「PBS プロトコル」はここでこのようなプロトコルを言うために用いられている。

【０１４４】

場合によっては、本発明の様々な疎水性コアの担体により維持される遊離装填分子濃度を、これらをこのようなプロトコルに晒すことで比較してもよい。特定の場合では、複数の異なる疎水性コアの担体を同じ方法で処理して、作製しようとする様々な疎水性コアの担体の直接的かつ比較的に精確な比較ができるようにする必要があるかも知れない。このような比較により、いずれか一つの疎水性コアの担体が別の疎水性コアの担体に比べて約2 nM以下乃至約1000 nM 以上の濃度に活性薬剤を維持できることが示されるかも知れない。 あるいは、比較の結果、約 3、5、7、10、25、50、100、250、500 又は 750 nMの濃度差が明らかになるかも知れない。さらにより高い遊離装填分子濃度差も、本発明及びKdプロトコルの考察するところである。

【０１４５】

いくつかの実施態様では、平衡定数が単相又は二相系（又は二つのKdのある２サイト系）を表すことがある。装填分子の放出は、場合によっては、高Kdのサイトが枯渇するまで、あるいは約 10、15、 20、 25、 30 又は 40%まで、装填分子のうちの約 5 乃至約 50 % 以上から放出されていると思われる、高遊離装填分子濃度である最初の高い放出速度と、それに続く、低Kdのサイトが担うより低い遊離装填分子濃度とを特徴とする場合がある。

【０１４６】

活性薬剤の放出速度はまた、担体1mg当り、１日当りで放出されるこのような物質の量で特徴付けてもよい。例えばいくつかの実施態様では、担体がポリマである場合、放出速度は1mgのポリマ系当り、一日当り約1
ng 以下の装填分子乃至約5000 ng/日/mg以上であるかも知れない。あるいは、放出速度は約 10、 25、50、 75、 100、 125、 150、 175、 200、 250、 300、 350、 400、 450、 500、 600、700、 800 又は 900 ng/日/mgかも知れない。更に他の実施態様では、活性薬剤の放出速度は20、000 ng/日/mg 又はそれ以上であってもよい。場合によっては、このような放出プロトコルを特徴とする活性薬剤には、治療薬、抗原、診断薬、標的決定部分及び他の物質が含まれよう。

【０１４７】

別の局面では、装填分子の放出速度は疎水性コアの担体中の装填分子の半減期として表されよう。

【０１４８】

放出速度のinvitroでの決定のためのプロトコルを含む実施態様に加え、場合によっては担体からの活性薬剤の放出速度をin

vivo で決定するようなinvivoプロトコルも、本発明の考察するところである。本発明の担体からの活性薬剤の放出を決定するために有用な他の検定法も想到できよう。

【０１４９】

組成物の合成

本発明の組成物は、以下の方法のいずれか一つを用いて合成してもよい（図３）。ポリ-L-リジンをポリマ製担体として、

MPEG を保護鎖として、そして疎水性基を用いた疎水性コアの担体組成物の合成の一例を提供する。この合成組成物は有機薬物、ペプチド／タンパク質治療薬、又は造影剤のための疎水性コアの担体として特に適している。

【０１５０】

スキーム１： 本組成物は、まずポリアミノ酸を活性化MPEG 類似体と反応させ、次にこの反応混合液を活性化疎水性化合物と反応させることにより、二段階で調製できよう。この手法はポリ-L-リジンを当該ポリマ製担体として用いる場合に特に好適である（図３）。

【０１５１】

ポリ-L-リジンのイプシロン-アミノ基を酸塩化物、無水物、混合無水物、ナイトレン、イソチオシアネート及びイミダゾリドなどのカルボキシル化MPEGの活性化誘導体と、ヒドロキシスクシンイミド、 ヒドロキシスルホスクシンイミド、p-ニトロフェニル、ベンゾトリアゾリドなどの活性化エステルに反応させる。PEG、それらの類似体又はそれらの誘導体を前記ポリマ製担体に沿ってアミノ基に付着させる他の方法が、図４、図５（但し図中、Rは担体を表す）に示すようにある。

【０１５２】

疎水性分子を残りのアミノ基に、例えば無水物、混合無水物、又はイソチオシアネートなどの活性化型あるいは非活性化型で反応させる。疎水性分子が非活性化型である場合、それをスクシンイミド又はスルホスクシンイミド及びカルボジイミドを存在下でそれを活性化させることで活性化エステルを得た後、残りのアミノ基と反応させることができる。その反応に先駆けて、ポリアミノ酸骨格又はMPEG鎖に更なる化学修飾を行ってもよく、その化学修飾は、少なくとも一つの化学結合の形成又は消失に至る反応に限られない。疎水性基、それらの類似体、又はそれらの誘導体を当該前記ポリマ製担体に沿ったアミノ基に付着させる他の方法がある。これらを図４及び図５に示すが、この場合、PEG 又は mPEG は疎水性基となり、Rは担体のままである。

【０１５３】

保護鎖及び疎水性基をポリマ製担体に化学的に連結する順序を逆にしてもよく、即ち、当該ポリマ製担体に疎水性基をまず連結した後保護鎖を連結してもよいが、好ましくは疎水性基を単一官能性の活性化類似体として用いるとよく、即ち、活性化疎水性基の一分子がポリマ製担体と共有結合を一個のみ、形成するとよい。

【０１５４】

スキーム２：更に本組成物を、標準的ペプチド合成プロトコルを用いてMPEG-アミノ酸などの修飾アミノ酸前駆体と疎水性のアミノ酸で合成してもよい。この場合、疎水性基及びPEGを制御可能な態様で交互にしてもよい。

【０１５５】

スキーム３：PEG-ポリアミノ酸のオリゴマを疎水性基－ポリアミノ酸のオリゴマと接合してブロックコポリマを形成させてもよい。

【０１５６】

三つのスキームの全てで、高度に予測可能な分子量分布を持つ予測可能な組成が得られるであろう。

【０１５７】

MPEGを前記ポリマ製担体を最初に連結すると、その後の反応で起き得るポリアミノ酸の架橋が防止される。MPEG鎖は試薬の架橋に対して立体障害を生ずるため、副産物の形成を妨げる。従って、高分子量の生成物の形成を制御できるため、合成ステップが予測可能と

なる。その結果、分子量分布の小さな均質な製剤が得られる。

【０１５８】

例えばカルボキシル化した糖や、 あるいはポリアスパラギン酸又はポリグルタミン酸など、それらの側鎖にカルボキシ基を持つポリアミノ酸などのカルボキシル化した担体を用いる場合、前記ポリマ製担体を好ましくはカルボジイミド及びスルホスクシンイミドの存在下で活性化した後、同時又は順番にのいずれかで、例えばｐＨ７－９のMPEGモノアミンなどのアミノ化保護鎖及びアミノ化疎水性基と反応させる（図２）。

【０１５９】

例えばポリセリン又はポリスレオニンや、あるいはそれらの側鎖にヒドロキシル基を持ついずれかのポリマなど、ヒドロキシル化した担体を用いる場合、PEGなどの保護鎖を好ましくは図６で示すように活性化するとよい。同様に、アルキル及び芳香族の基などの疎水性基も、図７及び図８に示すように活性化することが好ましい。

【０１６０】

本ポリマ製担体は好ましくはペプチド結合を含有するとよい。アミノ酸側鎖の反応性基に疎水性分子を接合する際に同じ結合が関与する。従って本組成物は、多様な動物性非特異的ペプチダーゼによる生分解性である可能性がある。本ポリマ製担体、保護鎖及、及び疎水性基のinvivoでの消失を支援するために、本ポリマ製担体、保護鎖又は疎水性基の要素をＳ－Ｓ結合などの準安定な結合で相互に連結するとよいかも知れない。少量の被捕捉組成物は、より小型のフラグメントに分解されることで身体から除去されるであろう。しかしながら、本組成物を実質的に分解不能なものから不安定なものに至るまで様々にするために、多種の活性化PEG誘導体を本組成物の調製に用いてよい。しかし、MPEGが外れると細網内皮系組織での装填分子組成物の蓄積がより広範になるため、不安定な組成物は望ましくない。

【０１６１】

本発明の保護鎖は補体のＣ３コンポーネントを活性化しない。Ｃ３は、血中の補体経路の一成分であり、活性化すると細胞膜に穿孔を開けることで細胞を破壊する膜攻撃複合体(MAC)の形成を引き起こす。これらの経路の完全な解説は、言及をもってここに援用することとする診断及び治療のメルク・マニュアルに記載されている。これは、例えばデキストランなど、補体のＣ３コンポーネントを活性化することが知られているこれまでの公知の薬剤に比べたときのポリエチレングリコール保護鎖及びそれらの誘導体の顕著な利点である。同様に、この組成物の疎水性脂肪酸成分は免疫反応性でない。なぜなら、脂肪酸は生物系において脂肪酸自体の形及び／又はトリグリセリドの形で広汎に存在し、当業者に公知のクエン酸回路又はクレブス回路を通じた普通のエネルギー供給源の一つだからである。保護鎖は、濃度が充分高いときにそれらを認識することができる糸球体腎貪食細胞などの受容体細胞に対する大量の装填分子の暴露を妨げる。しかしながら、低濃度は、特異的装填分子に対する高親和受容性により認識されるであろう。更に保護鎖は、装填分子を変位させるか、変位させない場合にはそれらの放出を増加させるような、より大きな血清タンパク質を妨げる立体障害を形成する。更に本発明の組成物は、肝臓及び脾臓内の装填分子の急速な蓄積を妨げることにより、高濃度の遊離装填分子を原因とする毒性の可能性も妨げる。装填分子がなければ、本発明の疎水性コアの担体組成物には何ら、急性の毒性は予測されない。なぜならPEGは非毒性であることが公知であり、また脂肪酸はすべて、生物組織及び流体中に普通に存在するからである。

【０１６２】

疎水性コアの担体の患者への投与

装填分子を含有する疎水性コアの担体組成物は、医薬品添加物又は希釈剤と一緒に患者に投与することができる。適した医薬品添加物又は希釈剤の非限定的な例には、でんぷん、グルコース、ラクトース、スクロース、ゼラチン、麦芽、米、小麦粉、白亜、シリカゲル、炭酸マグネシウム、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸ナトリウム、モノステアリン酸グリセロール、タルク、塩化ナトリウム、乾燥スキムミルク、グリセロール、プロピレン、グリコール、水、エタノール、緩衝水、リン酸緩衝生理食塩水等がある。これ

らの組成物は溶液、懸濁液、錠剤、丸剤、カプセル、粉末、徐放調合物等の形を採ることができる。別の好適な実施態様では、いずれかの形の疎水性コアの組成物はラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、でんぷん、アカシアゴム、リン酸カルシウム、アルギン酸塩、トラガカント、ゼラチン、珪酸カルシウム、微結晶セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水シロップ、メチルセルロース、メチル及びプロピルヒドロキシベンゾエート、タルク、ステアリン酸マグネシウム及び鉱物油を含む適した医薬品添加物及び希釈剤を用いて更に調節できよう。当該調合物には更に潤滑剤、湿潤剤、乳化剤及び懸濁剤、保存剤、甘味料又は着香料を含めることができる。本発明の組成物を、患者への投与後、更により維持された又は遅らされた装填分子又は活性成分の担体からの放出を提供するように調合してもよい。本組成物は好ましくは、lug 乃至 500 mg の装填分子又は活性成分を含有する約1 乃至約 1000 mg の疎水性コアの組成物をそれぞれの剤形が含有するような単位剤形で、調合されるとよい。しかしながら、投与される治療用投与量は、治療しようとする臨床状態や選択された投与経路を含む関連する状況を鑑みて、医師が決定するであろうことは理解されよう。従って、上記の投与量範囲はいずれの態様でも本発明の範囲を制限するものとは意図されてはいない。用語「単位剤形」とは、ヒト及び他の哺乳動物にとって単位投薬量として適した物理的に別個の単位であって、それぞれが、適した医薬用希釈剤又は添加物とあいまって所望の治療効果を生ずるように計算された所定量の活性物質を含有する、単位を言う。これらをヒト、家庭のペット、家畜、又は他の動物に、単位剤形にして薬学的に許容可能な希釈剤又は医薬品添加物と一緒に投与してよい。投与は局所、非経口、静脈内、動脈内、皮下、筋肉内、頭蓋内、眼窩内、眼内、心室内、嚢内、髄腔内、槽内、腹腔内、鼻腔内、エーロゾル、座薬により、又は経口投与であってよい。経口での使用用の調合物には、非毒性の薬学的に許容可能な医薬品添加物と混合した活性成分を含有する錠剤がある。これらの医薬品添加物は、例えば不活性の希釈剤又は充填剤（例えばスクロース又はソルビトール）、潤滑剤、推進剤、及び抗接着剤（例えばステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸亜鉛、ステアリン酸、シリカ、硬化植物油、又はタルク）であってよい。

【０１６３】

本発明の活性治療用調合物は、非経口、皮下、皮内、筋肉内又は静脈内投与に向け、例えば等張の、水性の、又は生理食塩水に入れて再構築する凍結乾燥型にして提供することができる。本発明の組成物はまた、例えば経口、鼻腔、舌下用オリフィスなど、懸濁液、シロップ又はエリキシルなどの投与用の液体製剤により、治療薬を必要とする患者に、投与してもよい。また本発明の組成物を、例えばカプセル、錠剤、丸剤等や咀嚼用固体調合物など、経口投与用に調製してもよい。また本発明の組成物を、液体、粘性の液体、ペースト、又は粉末など、経皮投与用のクリームとして調製してもよい。

【０１６４】

現在開示されている組成物は、活性薬剤を特に経口、鼻腔内、舌下、十二指腸内、皮下、口腔、結腸内、直腸、膣、粘膜、肺、経皮、皮内、非経口、静脈内、筋肉内及び眼系で送達したり、血液脳関門を通過したりできるようにデザインされる。本発明の疎水性コアの担体組成物に結合した活性薬剤を投与すると、図３０の仮定シナリオで示すように、活性薬剤単独で投与した場合に比較して当該活性薬剤の生物学的利用能が増す。本発明の実施態様の一つは、２０時間の半減期を有すると共に、血管透過性の高い部位に蓄積すると予測される疎水性の担体である。これはポリ（エチレングリコール)で保護された同様な大きさのナノ担体による以前の研究に基づく。このような実施態様は、図３０に示すように、大変短い生物学的半減期を持つ装填分子への身体の暴露を長引かせる上で理想的であろう。従ってこの結果、生物学的利用能が増すのである。

【０１６５】

本発明の意図するところは、「診断及び治療のメルク・マニュアル」（ニュージャージー州ラーウェイのMerck& Co.社の一部門であるMerck Laboratoriesにより１９９２年に発刊、,Inc, Rahway, NJ）に記載された様々な疾患を、本発明で解説した組成物をPDR即ちPhysicianDesk Reference （ニュージャージー州モントヴェール、Medical Economi

cs Company,
Inc社により２００１年に発刊)に解説されたものから選択された適した装填分子と一緒に用いることで治療する方法を提供することである。この診断及び治療のメルク・マニュアルとPDRを言及をもってここに援用することとする。ある特定の疾患に対する装填分子の適性は「診断及び治療のメルク・マニュアル」又はPDRで調べることにより、確認することができる。

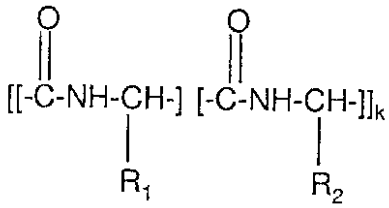
【０１６６】

本発明の好適な組成物

更に本発明は、式：

【０１６７】

【化１】



【０１６８】

を持つポリアミノ酸担体を有する組成物を特徴とし、

但し式中、基はいずれの順序で連結していてもよく、例えば疎水性基R_1 単位は保護鎖R_2単位が始まる前に鎖内で数回、繰り返されていてもよく、その逆でもよく、但しk は 50-560である。

【０１６９】

前記疎水性基 R_1は、限定はしないが：

ａ）限定はしないが：

$-(CH_2)_4NHCO(CH_2)_nCH_3$、
$-(CH_2)_4NHCO(C_6H_4)(CH_2)_nCH_3$、
$-(CH_2)_4NHCO(CH_2)_n(C_6H_5)$、又は
$-(CH_2)_4NHCO[CxHyOz]$、
（但し式中、n は0-24であり；x は 6-36であり；y は 5-73であり；z は0-10である）
などのアミド結合で付着した疎水性分子を持つ修飾リジンR基；

ｂ）限定はしないが：

$-CH_2CONH(CH_2)_nNHOC(CH_2)_nCH_3$、
$-CH_2CONH(CH_2)_nNHOC(C_6H_4)(CH_2)_nCH_3$、
$-CH_2CONH(CH_2)_nNHOC(CH_2)_n(C_6H_5)$、
$-CH_2CONH(CH_2)_nOPO_2OCH_2CH[OOC(CH_2)_n(CHCH)(CH_2)_nCH_3]CH$
$OOC(CH_2)_n(CHCH)(CH_2)_nCH_3$、
$-CH_2CONHCH[CH2OH]CHOHCHCH(CH2)_nCH_3$、又は
$-CH_2CONH[CxHyOz]$、
（但し式中、n は0-24であり；x は 6-36であり；yは 5-73であり；z は 0-10である）
などのアミド結合で付着した疎水性分子を持つ修飾アスパラギン酸R基；

ｃ）限定はしないが：

$-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHOC(CH_2)_nCH_3$、
$-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHOC(C_6H_4)(CH_2)_nCH_3$、
$-(CH_2)_2ONH(CH_2)_nNHOC(CH_2)_n(C_6H_5)$、
$-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nOPO_2OCH_2CH[OOC(CH_2)_n(CHCH)(CH_2)_nCH_3]CH$
$OOC(CH_2)_n(CHCH)(CH_2)_nCH_3$、

-$(CH_2)_2$CONHCH[CH2OH]CHOHCHCH$(CH2)_nCH_3$、又は
-$(CH_2)_2$CONH[CxHyOz]、
（但し式中、n は0-24であり；x は 6-36であり；y は 5-73であり；z は0-10である）
などのアミド結合で付着した疎水性分子を持つ修飾グルタミン酸R基；
ｄ）限定はしないが：
-$CH_2OOC(CH_2)_nCH_3$、
-$CH_2OOC(C_6H_4)(CH_2)_nCH_3$、
-$CH_2OOC(CH_2)_n(C_6H_5)$、
-CH_2OOC[CxHyOz]、
（但し式中、n は0-24であり；xは6-36であり；y は5-73であり；z は0-10である）
などのエステル結合で付着した疎水性分子を持つ修飾セリンR基；
ｅ）限定はしないが：
-$CH_2[CH_3]OOC(CH_2)_nCH_3$、
-$CH_2[CH_3]OOC(C_6H_4)(CH_2)_nCH_3$、
-$CH_2[CH_3]OOC(CH_2)_n(C_6H_5)$、
-$CH_2[CH_3]OOC$[CxHyOz]、
（但し式中、nは0-24であり；x は 6-36であり；y は 5-73であり；z は0-10である）
などのエステル結合で付着した疎水性分子を持つ修飾スレオニンR基；あるいは
ｆ）限定はしないが：
-$(C_6H_4)OOC(CH_2)_nCH_3$、
-$(C_6H_4)OOC(C_6H_4)(CH_2)_nCH_3$、
-$(C_6H_4)OOC(CH_2)_n(C_6H_5)$、又は
-$(C_6H_4)OOC$[CxHyOz]、
（但し式中、n は0-24であり；xは6-36であり；y は 5-73であり；z は0-10である）
などのエステル結合で付着した疎水性分子を持つ修飾チロシンR基、
から成る群より選択される。

【０１７０】

前記保護基 R_2は、限定はしないが：
ａ）限定はしないが：
-$(CH_2)_4NHCO(CH_2)_nOC$-A-OR_3、又は
-$(CH_2)_4NHCOCH_2$-A-OR_3、
（但し式中、n は2-22であり；R_3 は H、 $(CH_2)_pCH_3$ 又は $(CH_2)_pCOOH$であり、pは 0-7であり；そして
A は $[OCH_2CH_2]_x$又は $[OCH_2CH_2]_x$
又は $[OCHCH_3CH_2]_x$、
（（但し式中、x は17-250である））、あるいは合計17-250単位の $[OCH_2CH_2]$、 $[OCH_2CH_2]$、及び／又は $[OCHCH_3CH_2]$
の多様な組合せである）；
などのアミド結合で付着した保護基を持つ修飾リジンR基；
ｂ）限定はしないが：
-$CH_2OOC(CH_2)_nOC$-A-OR_3、
-CH_2OOCCH_2-A-OR_3、又は
-$CH_2OOCCH_2CH_2$-A-OR_3、
（但し式中、n は2-22であり；
R_3はH、 $(CH_2)_pCH_3$ 又は $(CH_2)_pCOOH$であり、p は 0-7であり；そして
A は$[OCH_2CH_2]_x$又は $[OCH_2CH_2]_x$
又は $[OCHCH_3CH_2]_x$、
（（但し式中、x は17-250である））、あるいは合計17-250単位の $[OCH_2CH_2]$、 $[OCH_2CH_2]$、及び／又は $[OCHCH_3CH_2]$
の多様な組合せである）；

などのエステル結合で付着した保護基を持つ修飾セリンR基；
ｃ）限定はしないが：
$-CH(CH_3)OOC(CH_2)_nOC-A-OR_3$、
$-CH(CH_3)OOCCH_2-A-OR_3$、又は
$-CH(CH_3)OOCCH_2CH_2-A-OR_3$、
（但し式中、n は2-22であり；
R_3 はH、$(CH_2)_pCH_3$ 又は $(CH_2)_pCOOH$であり、p は 0-7であり；そして
A は $[OCH2CH2]_x$又は $[OCH2CH2]_x$ 又は$[OCHCH_3CH_2]_x$、
（（但し式中、x は17-250である））か、あるいは合計17-250単位の[OCH2CH2]、[OCH2CH2]、及び／又は $[OCHCH_3CH_2]$
の多様な組合せである）；
などのエステル結合で付着した保護基を持つ修飾スレオニンR基；
ｄ）限定はしないが：
$-CH_2COOC(CH_2)_nCO-A-OR_3$
（但し式中、n は2-22である；
R_3 はH、$(CH_2)_pCH_3$ 又は $(CH_2)_pCOOH$であり、p は 0-7であり；そして
A は $[OCH_2CH_2]_x$又は $[OCH_2CH_2]_x$
又は $[OCHCH_3CH_2]_x$、
（（但し式中、x は17-250である））、あるいは合計17-250単位の$[OCH_2CH_2]$、$[OCH_2CH_2]$、及び／又は$[OCHCH_3CH_2]$
の多様な組合せである）；
などのエステル結合で付着した保護基を持つ修飾アスパラギン酸R基；
ｅ）限定はしないが：
$-CH_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2CH_2-A-OR_3$、
$-CH_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2-A-OR_3$、又は
$-CH_2CONH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$、
（但し式中、n は2-22であり；
R_3 はH、$(CH_2)_pCH_3$ 又は $(CH_2)_pCOOH$であり、p は 0-7であり；
y は 2-6であり；そして
A は$[OCH_2CH_2]_x$又は$[OCH_2CH_2]_x$ 又は$[OCHCH_3CH_2]_x$、
（（但し式中、xは 17-250である））、あるいは合計17-250単位の $[OCH_2CH_2]$、$[OCH_2CH_2]$、及び／又は $[OCHCH_3CH_2]$
の多様な組合せである）；
などのアミド結合で付着した保護基を持つ修飾アスパラギン酸R基；
ｆ）限定はしないが：
$-(CH_2)_2COOC(CH_2)_nCO-A-OR_3$、
（但し式中、n は2-22であり；
R_3 はH、$(CH_2)_pCH_3$ 又は $(CH_2)_pCOOH$であり、p は 0-7であり；そして
A は $[OCH_2CH_2]_x$又は $[OCH_2CH_2]_x$
又は $[OCHCH_3CH_2]_x$、
（（但し式中、x は17-250である））、あるいは合計17-250単位の $[OCH_2CH_2]$、$[OCH_2CH_2]$、及び／又は $[OCHCH_3CH_2]$
の多様な組合せである）；
などのエステル結合で付着した保護基を持つ修飾グルタミン酸R基；
ｇ）限定はしないが：
$-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2CH_2-A-OR_3$、
$-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2-A-OR_3$、又は
$-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$
（但し式中、nは2-22であり；
R_3 はH、$(CH_2)_pCH_3$ 又は $(CH_2)_pCOOH$であり、p は 0-7であり；

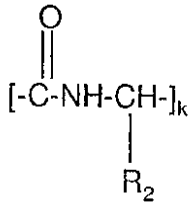
y は 2-6であり；そして
A は $[OCH_2CH_2]_x$又は $[OCH_2CH_2]_x$
、又は$[OCHCH_3CH_2]_x$、
（（但し式中、x は17-250である））、あるいは合計17-250単位の$[OCH_2CH_2]$、 $[OCH_2CH_2]$、 及び／又は $[OCHCH_3CH_2]$
の多様な組合せである）；
などのアミド結合で付着した保護基を持つ修飾グルタミン酸R基；あるいは
h）限定はしないが：
$-(C_6H_4)OCO(CH_2)_nCO-A-OR_3$、
$-(C_6H_4)OOCCH_2CH_2-A-OR_3$、
$-(C_6H_4)OOCCH_2-A-OR_3$、又は
$-(C_6H_4)OCO(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$、
（但し式中、n は2-22であり；
R_3 はH、 $(CH_2)_pCH_3$ 又は $(CH_2)_pCOOH$であり、p は 0-7であり；
y は 2-6であり；そして
A は $[OCH2CH2]_x$又は $[OCH2CH2]_x$ 又は $[OCHCH_3CH_2]_x$、
（（但し式中、x は17-250である））、あるいは合計17-250単位の$[OCH_2CH_2]$、 $[OCH_2CH_2]$、 及び／又は $[OCHCH_3CH_2]$
の多様な組合せである）；
などのエステル結合で付着した保護基を持つ修飾チロシンR基；
から成る群より選択される。

【０１７１】

更に本発明は、R_1が全くないか、又は大変少ない数であるとき、特に担体及び保護基を両側から挟んでいる有意な量の疎水性基をR_2 が含有するときに、前記組成物がR2のみを有していてもよいことをも目的とする。また本発明は式：

【０１７２】

【化２】



【０１７３】

を持つポリアミノ酸担体を有する組成物も特徴とし、
但し式中、R_2は、限定はしないが：
$-(CH_2)_4NHCO(CH_2)_nOC-A-OR_3$、
$-(CH_2)_4NHCO(CH_2)_n$
$NHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$、
$-CH_2OOC(CH_2)_nOC-A-OR_3$、
$-CH_2OOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$、
$-CH(CH_3)OOC(CH_2)_nOC-A-OR_3$、
$-CH(CH_3)OOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$、
$-CH_2COOC(CH_2)_nCO-A-OR_3$、
$-CH_2COOC(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$、
$-CH_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2CH_2-A-OR_3$、
$-CH_2CONH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO-A-OR_3$、
$-(CH_2)_2COOC(CH_2)_nCO-A-OR_3$、
$-(CH_2)_2COOC(CH_2)_n$

$NHCO(CH_2)_yCO\text{-}A\text{-}OR_3$、
$-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCOCH_2CH_2\text{-}A\text{-}OR_3$、
$-(CH_2)_2CONH(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO\text{-}A\text{-}OR_3$、
$-(C_6H_4)OCO(CH_2)_nCO\text{-}A\text{-}OR_3$、又は
$-(C_6H_4)OCO(CH_2)_nNHCO(CH_2)_yCO\text{-}A\text{-}OR_3$、
（但し式中、nは2-22であり；
R_3 はH、$(CH_2)_pCH_3$ 又は $(CH_2)_pCOOH$であり、p は 0-7であり；
y は 2-6であり；そして
A は $[OCH_2CH_2]_x$又は $[OCH_2CH_2]_x$
又は $[OCHCH_3CH_2]_x$、
（（但し式中、x は17-250である））、あるいは合計17-250単位の$[OCH_2CH_2]$、$[OCH_2CH_2]$、及び／又は $[OCHCH_3CH_2]$
の多様な組合せである）
から成る群より選択される疎水性基及び保護基の組合せを表す。

【０１７４】

非免疫原性

細胞表面が高濃度の装填分子に暴露することを防止するには、疎水性のコアに対して高い結合親和性を持つ装填分子を用いることで達成され、その結果、いずれかの瞬間における遊離装填分子の濃度が僅かにナノモル乃至ピコモルとなる。

【０１７５】

加えて、PEG保護基は、濃縮された結合装填分子が細胞表面と接触することから保護するであろう。これにより、遊離抗原が遥かに高い濃度（マイクログラム乃至ミリグラム／ml）のときに起きる免疫応答の刺激が妨げられるであろう。PEGによる保護により、疎水性コアの担体と、抗原提示貪食細胞などのオプソニン認識可能な細胞との結合、あるいは、免疫コンピテントな抗原提示貪食細胞との結合、あるいは休止期B細胞などの免疫コンピテントな血球との結合、はない。その結果、装填分子自体に対する免疫応答の可能性は低く、装填分子に対するホスト抗体の産生を防ぐことができる。これにより、本組成物を、必要時に繰り返し使用することができる。

【０１７６】

長い血中半減期と、免疫原性のないこととの組合せは本発明の重要な特徴である。

【０１７７】

本発明の組成物は、GLP-1については、例えば重量で最大少なくとも30%など、驚くべき高い収容能力を実証している。リゾスタフィンを用いた別の実験では、本発明の組成物は重量で600%という驚くべき収量能力を実証している。

【０１７８】

投与量

本発明のいずれかの化合物の投与量は、症状、患者の年齢及び体重、治療又は防止しようとする障害の性質及び重篤度、投与経路及びサプリメントの形状に応じて様々であろう、当該調合物のいずれも、一回分の用量にして投与しても、あるいは分割された用量にして投与してもよい。本発明の化合物の投与量は当業者に公知の技術により、あるいはここで教示するように、容易に決定できよう。更に、本発明は、２種以上の当該化合物や他の治療薬の混合も考察するものである。

【０１７９】

いくつかの実施態様では、当該化合物の投与量は、一般的には体重１ｋｇ当り約 0.01 ng 乃至約 10 g、具体的には体重１ｋｇ当り約1 ng 乃至約 0.1 gの範囲、そしてより具体的には体重１ｋｇ当り約 100 ng 乃至約 10 mg の範囲内であろう。

【０１８０】

本調合物のいずれかの有効な用量又は量、及び投与のタイミングに対して考え得る影響を、本発明のいずれか特定の化合物について明らかにしておく必要があるかも知れない。これは、ここで解説する通りの慣例的な実験により、１群以上の動物（好ましくは１群当

り少なくとも５匹の動物）、あるいは適当な場合はヒトでの治験を用いて、達成できよう。いずれかの化合物の有効性や治療又は防止の方法は、当該サプリメントを投与し、目的の新生物に関連する一種以上の指数を測定して、処置前の同じ指数の数値に対するこれらの指数の処置前数値を比較することにより、投与の効果を評価することで、評価できよう。

【０１８１】

ある特定の患者において最も有効な処置となるであろう、いずれか特定の化合物の精確な投与時期及び量は、ある特定の化合物の活性、薬物動態、及び生物学的利用能、患者の生理的状態（年齢、性別、疾患の種類及び段階、全身の健康状態、医薬の投薬量及び種類に対する応答性を含む）投与経路等に応じるである。ここで提示する指針を用いて、例え投与の最適な時期及び／又は量を決定するなど、処置を最適化してもよく、それに必要なのは、対象を観察し、投与量及び／又はタイミングを調節することから成る慣例的な実験を用いることだけであろう。

【０１８２】

対象を治療中、２４時間の間の所定の時点で一種以上の関係する指数を測定することにより、患者の健康を観察してもよい。サプリメント、投与の量、時期及び処方を含む処置を、このような観察の結果に従って最適化してもよい。同じパラメータを測定することにより、患者を周期的に再評価して改善の程度を判定してもよく、このような評価の最初のものは、治療開始から４週間の終了時に行なわれ、次の評価は治療中の４乃至８週毎に行なわれ、その後３ヶ月毎となるのが典型的である。治療は数ヶ月又は数年の間、継続される場合があり、最低１ヶ月がヒトを治療する場合の典型的な長さである。投与される薬剤の量の調節や、可能性としては投与時期の調節を、これらの再評価に基づいて行なってもよい。

【０１８３】

当該化合物の最適な用量よりも少ない、より小さな投与量で処置を開始してもよい。その後、最適な治療効果が得られるまで、この投与量を少しずつ、増加させていってもよい。

【０１８４】

本発明の数種の化合物を、あるいは代替的には他の化学療法薬を組み合わせて用いると、いずれかの個々の成分に必要な投与量が減少する場合がある。なぜなら様々な成分の効果の開始及び持続時間が補完的である場合があるからである。このような併用療法においては、異なる活性薬剤を一緒に送達しても、別々に送達しても、そして同日中に同時又は異なる時点で送達してもよい。

【０１８５】

当該化合物の毒性及び治療効果を、例えばLD_{50}及びED_{50}を判定するなど、細胞培養又は実験動物での標準的な薬学的手法により決定してもよい。

【０１８６】

大きな治療指数を示す組成物が好ましい。毒性の副作用を示す化合物を用いてもよいが、副作用を減らすために、所望の部位を当該化合物の標的とする送達系をデザインするよう、注意を払わねばならない。

【０１８７】

細胞培養検定及び動物研究で得られたデータを、ヒトでの使用に向けた投与量範囲を処方する際に用いてもよい。いずれかのサプリメント又は代替的にはその中のいずれかの化合物の投与量は、好ましくは毒性が少ししかないか、又は全くないようなED_{50}を含む循環中濃度範囲内にあるとよい。投与量は、用いる投与量や、用いる投与経路に応じて、この範囲内で様々であろう。本発明の薬剤の場合、治療上の有効量は、まず細胞培養検定から推定されよう。用量を動物モデルで処方して、細胞培養で判定した場合のIC_{50}（即ち、症状の半分－最大の阻害を達成する検査化合物の濃度）を含む循環血漿中濃度範囲を達成するようにしてもよい。このような情報を用いると、ヒトで有用な用量をより精確に決定できよう。血漿中のレベルは、例えば高速液体クロマトグラフィ（ＨＰＬＣ）により、測定

できよう。
【０１８８】
調合物
本発明の疎水性コアの担体組成物を、当業で公知のように、それらの目的の用途に応じて多様な手段により投与してもよい。例えば本発明の組成物を経口投与する場合、これらを錠剤、カプセル、顆粒、粉末又はシロップとして調合してもよい。代替的には、本発明の調合物を、注射（静脈内、筋肉内又は皮下）、点滴製剤又は座薬として非経口投与してもよい。眼粘膜経路による適用の場合、本発明の組成物を目薬又は目用軟膏として調合してもよい。これらの調合物を従来の手段により調製してもよく、また、必要に応じ、本組成物を例えば医薬品添加物、結合剤、崩壊剤、潤滑剤、矯正薬、安定化剤、懸濁補助剤、乳化剤、又はコーティング剤などのいずれか従来の添加剤に混合してもよい。
【０１８９】
本発明の調合物においては、湿潤剤、乳化剤及び潤滑剤、例えばラウリル硫酸ナトリウム及びステアリン酸マグネシウム、や、着色剤、剥離剤、コーティング剤、甘味料、着香料及び芳香剤、保存剤及び抗酸化剤が、調合後の薬剤中に存在してもよい。
【０１９０】
当該の疎水性の担体組成物は、経口、鼻腔、局所（口腔及び舌下を含む）、直腸、膣、エーロゾル及び／又は非経口投与に適するものであってもよい。疎水性の担体組成物の本調合物を、適宜、単位剤形で提供してもよく、製薬業で公知のいずれかの方法により調製してもよい。一回分の用量を作成するために他の医薬品添加物と配合してもよい組成物量は、治療しようとする対象や特定の投与形態に応じて様々であろう。
【０１９１】
これらの疎水性の担体－装填分子調合物を調製する方法には、本発明の疎水性の担体を装填分子、そして選択によっては一種以上の付属成分と結び付けるステップが含まれる。一般的には、本調合物は、装填分子を疎水性の担体、又は微細に分割された固体の疎水性の担体、あるいは両者、と均質かつ密接に結び付けた後、必要に応じてその生成物を成型することにより、調製される。
【０１９２】
経口投与に適した調合物は、それぞれが所定量の当該組成物を活性成分として含有する、カプセル、カシェ剤、錠剤、ロゼンジ（通常はスクロース及びアカシアゴム又はトラガカントゴムである、着香済みの基剤を用いて）、粉末、顆粒、あるいは、水性又は非水性の液体に入れた溶液又は懸濁液として、あるいは、水中油又は油中水液体乳濁液として、あるいはエリキシル又はシロップとして、あるいは香錠（ゼラチン及びグリセリンなど、あるいはスクロース又はアカシアゴムなどの不活性の基剤を用いて）形であろう。更に本発明の組成物を巨丸剤、舐剤、又はペーストとして投与してもよい。
【０１９３】
経口投与用の固体剤形（カプセル、錠剤、丸剤、糖衣錠、粉末、顆粒等）では、当該の疎水性の担体－装填分子組成物を、例えばクエン酸ナトリウム又はリン酸二カルシウムなどの一種以上の薬学的に許容可能な担体及び／又は以下のうちのいずれかと混合する：（１）でんぷん、ラクトース、スクロース、グルコース、マンニトール、及び／又は珪酸などの充填剤又は増量剤；（２）
カルボキシメチルセルロース、アルギン酸塩、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、スクロース及び／又はアカシアゴムなどの結合剤；（３）グリセロールなどの保水剤；（４）寒天、炭酸カルシウム、いも又はタピオカでんぷん、アルギン酸、特定の珪酸塩、及び炭酸ナトリウムなどの崩壊剤；（５）パラフィンなどの溶解遅延剤；（６）４級アンモニウム化合物などの吸収加速剤；（７）アセチルアルコール及びモノステアリン酸グリセロールなどの湿潤剤；（８）カオリン及びベントナイト・クレイなどの吸収剤；（９）タルク、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、固形ポリエチレングリコール、ラウリル硫酸ナトリウム、及びこれらの混合物などの潤滑剤；及び（１０）着色剤。カプセル、錠剤及び丸剤の場合、当該の疎水性の担体－装填分子組成物に更に緩衝剤を含めても

よい。同様な種類の固形組成物を、例えばラクトース即ち乳糖や高分子量ポリエチレングリコール等の医薬品添加物を用いた軟質及び硬質充填ゼラチン・カプセルの充填剤としても用いてよい。

【０１９４】

錠剤は圧縮又は成型により、選択的には一種以上の付属成分と一緒に作製できよう。圧縮錠剤は、結合剤（例えばゼラチン又はヒドロキシプロピルメチルセルロース）、潤滑剤、不活性の希釈剤、保存剤、崩壊剤（例えばグリコール酸でんぷんナトリウム
又は架橋カルボキシメチルセルロースナトリウム）、界面活性剤又は分散剤などを用いて調製できよう。成型錠剤は、不活性の液体希釈剤で湿らせた本組成物の混合物を適した機械で成型することにより、作製できよう。錠剤、並びに糖衣錠、カプセル、丸剤及び顆粒などの他の固体剤形には、選択に応じて切れ目を入れたり、あるいは、腸溶コーティングや製薬－処方業で公知の他のコーティングなど、コーティング及びシェルと一緒に調製してもよい。

【０１９５】

経口投与用の液体剤形には、薬学的に許容可能な乳液、マイクロ乳液、溶液、懸濁液、シロップ及びエリキシルがある。液体投与量の疎水性の担体－装填分子調合物は、例えば水又は他の溶媒、可溶化剤及び乳化剤、例えばエチルアルコール、イソプロピルアルコール、炭酸エチル、酢酸エチル、ベンジルアルコール、安息香酸ベンジル、プロピレングリコール、1,3-ブチレングリコール、油類（特に綿実油、落花生、コーン、胚芽、オリーブ、ひまし及びごま油）、グリセロール、テトラヒドロフリルアルコール、ポリエチレングリコール及びソルビタンの脂肪酸エステル、並びにこれらの混合物など、当業で通常用いられる不活性の希釈剤を含有していてもよい。

【０１９６】

懸濁剤としての投与用の疎水性の担体－装填分子調合物は、例えばエトキシ化イソステアリルアルコール、ポリオキシエチレンソルビトール及びソルビタンエステル、微結晶セルロース、メタ水酸化アルミニウム、ベントナイト、寒天及びトラガカントゴム、並びにこれらの混合物などの懸濁剤を含有するであろう。

【０１９７】

直腸又は膣投与用の疎水性の担体－装填分子調合物を座薬として提供してもよいが、この座薬は、一種以上の疎水性の担体と、室温では固体であるが体温で液体となるために体腔で融解して疎水性の担体を装填分子と一緒に放出するような、ココアバター、ポリエチレングリコール、座薬用ろう又はサリチル酸塩などを含む他の医薬品添加物とに、装填分子を混合することにより、調製できよう。膣投与用に適した調合物には、適していることが当業で公知の医薬品添加物を含有するペッサリ、タンポン、クリーム、ゲル、ペースト、泡、又はスプレー調合物も含まれる。

【０１９８】

当該の組成物の経皮投与用の疎水性の担体－装填分子の投与量調合物には、粉末、スプレー、軟膏、ペースト、クリーム、ローション、ゲル、溶液、パッチ及び吸入剤が含まれる。活性成分は、無菌条件下で薬学的に許容可能な担体やいずれかの保存剤、緩衝剤、又は必要に応じて推進剤と混合してよい。

【０１９９】

軟膏、ペースト、クリーム及びベルには、当該の組成物に加え、動物性及び植物性脂肪、油類、ワックス、パラフィン、でんぷん、トラガカントゴム、セルロース誘導体、ポリエチレングリコール、シリコーン、ベントナイト、珪酸、タルク及び酸化亜鉛、並びにこれらの混合物などの医薬品添加物が含まれよう。本発明の疎水性の担体－装填分子の組成物は更にベビー・ワイプなどの形であってもよい。

【０２００】

粉末及びスプレーには、当該組成物に加え、ラクトース、タルク、珪酸、水酸化アルミニウム、珪酸カルシウム及びポリアミド粉末、又はこれらの物質の混合物などの医薬品添加物が含まれよう。スプレーには、更に、例えばクロロフルオロカーボンや、ブタン及び

プロパンなどの揮発性非置換炭化水素などの慣例的な推進剤が含まれよう。
【０２０１】
選択的には、本発明の疎水性の担体－装填分子の組成物をエーロゾルで投与してもよい。これは、本化合物を含有する水性のエーロゾル、リポソーム型製剤又は固体粒子を調製することにより、達成される。非水性（例えばフルオロカーボンの推進剤）の懸濁液も用いられよう。音波ネブライザは、当該組成物中に含まれた本化合物の分解を引き起こしかねないせん断力に薬剤が晒されることを抑えるため、用いてもよい。
【０２０２】
通常、水性のエーロゾルは、本組成物の水溶液又は懸濁液を従来の薬学的に許容可能な担体及び安定化剤と一緒に調合することにより、作製される。当該の担体及び安定化剤は特定の組成物の要件に応じて様々であるが、その中には典型的には非イオン性の界面活性剤（Tweens、Pluronics、又はポリエチレングリコール）、無害のタンパク質様血清アルブミン、 ソルビタンエステル、オレイン酸、レシチン、グリシンなどのアミノ酸、緩衝剤、塩類、糖類又は糖アルコールがある。エーロゾルは一般的には等張の溶液から調製される。
【０２０３】
非経口投与に適した本発明の医薬組成物は、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、本調合物を目的のレシピエントの血液と等張にする溶質、又は懸濁剤又は増粘剤を含有するであろう一種以上の薬学的に許容可能な無菌の等張の水性又は非水性溶液、分散液、懸濁液又は乳液に、あるいは、使用直前に無菌の注射用溶液又は分散液に再構築できる無菌の粉末、組み合わせて本組成物を含むものである。
【０２０４】
本発明の医薬組成物に用いてもよい適した水性及び非水性の担体の例には、水、エタノール、ポリオール（例えばグリセロール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール等）、並びにこれらの適した混合物、オリーブ油などの植物油、並びにオレイン酸エチルなどの注射可能なエステル、がある。適した流動性は、例えばレシチンなどのコーティング材料を用いたり、分散液の場合には必要な粒子サイズを維持したり、そして界面活性剤を用いるなどして維持できよう。
【０２０５】
疎水性コアの担体組成物を用いた疾患の治療
インシュリン欠乏性糖尿病は、血糖を調節するホルモンであるインシュリンを身体が産生しないか、あるいは適切に用いない疾患である。インシュリン欠乏性糖尿病は北アメリカでは三番目に最も普通の疾患、かつ四番目の死因であり、米国内では推定１８２万人（人口の６．３％）が罹患している。米国内におけるインシュリン欠乏性糖尿病の毎年の経済的コストは１０００億ドルもであると推定されており、この疾患が重要な臨床上及び公共の保健上の問題となっている（レビューについてはEttaro、 L.、 et al.、 Cost-of-illness studiesin
diabetesmellitus. Pharmacoeconomics、 2004. 22(3):
p. 149-64を参照されたい）。
【０２０６】
二つの主な種類の糖尿病がある。１型又はＴ１Ｄ（糖尿病患者の５－１０％）では、免疫系が膵臓のインシュリン産生性ベータ細胞を攻撃し、２型又はＴ２Ｄでは、その個体はインシュリンへの耐性を生ずる。未処理の糖尿病患者は、眼、腎臓、神経及び心臓血管の疾患を含め、無数の合併症に罹患する。インシュリン欠乏性糖尿病治療の目的は、血糖レベルを調節し、高血糖症を防ぐことである。高血糖は２型糖尿病の場合、ライフスタイルの変化及び／又は抗高血糖剤でコントロールすることができるが、Ｔ１Ｄの標準的な治療は、インシュリン注射による血糖レベルの厳しいコントロールであり、重篤な低血糖発症という危険性が伴う。より最近では、インシュリン産生性膵臓島細胞の移植が、１型糖尿病患者でインシュリン欠乏性糖尿病を逆行させる上で効果が高いことが示された。しかしこの治療法の成功は患者の異型－及び自己免疫応答による被移植島の拒絶を防ぐための免

疫抑制が有効であることに依存する
(Shapiro, A.M.,S.A. Nanji, and J.R. Lakey, Clinical islet transplant: current and
futuredirections towards tolerance. Immunol Rev, 2003. 196: p. 219-36) のだが、移植片に対する持続的な寛容が報告されている。他に方法が見つからなければこの移植というアプローチは、慢性の免疫抑制計画に見られる毒性にもかかわらず、臨床上の標準的処置となると期待されている。

【０２０７】

島細胞は糖尿病動物でペプチドホルモングルカゴン様ペプチド 1 (GLP-1) (Drucker, D.J., Enhancing
incretin actionfor the treatment of type 2 diabetes. Diabetes Care, 2003. 26(10): p. 2929-40,Perry, T. and N.H.
Greig, Theglucagon-like peptides: a
double-edgedtherapeutic sword? Trends Pharmacol Sci, 2003. 24(7): p. 377-83) により再生させることができるという最近の発見により、島の移植の必要やそれに伴う合併症を避ける新しい処置法という興奮すべき可能性が持ち上がった。GLP-1はin vivoでは大変短い半減期しか有さないため、効験の評価には、長期の半減期を持ち、免疫原性の可能性のある類似体を用いる必要がある。実際、GLP-1 (エキセナチド) の類似体が現在、NIH支援の１段階臨床治験で、T1Dの逆行のための免疫抑制剤と組み合わせて評価を受けている。しかしながらエキセナチドを投与された２型糖尿病患者の３８％でGLP-1類似体に対する抗体が生じたため、将来的にはこのホルモンの効験には限界があるであろう。本発明は、天然GLP-1の循環中半減期を５分間乃至驚くべきことに２４時間を越えるまでに延長した（図４４）ことから、中和化抗体の発生のない島再生研究を行なうための可能性が提供された。本発明は、ベータ細胞を再生するため、及び／又は、インシュリン欠乏性糖尿病を治療するための長期作用性天然GLP-1の開発を促すものである。

【０２０８】

薬物としての天然GLP-1の限界と当業における問題： GLP-1(7-36 アミド)はインシュリン分泌を増加させる強力な腸管ホルモンである。食事に応答して放出されたGLP-1は膵臓ベータ細胞からのインシュリン分泌を刺激し、ホルモングルカゴン（インシュリン・アンタゴニストとして機能する）の放出を阻害し、胃腸が空になるのを遅らせる。GLP-1は、膵臓島細胞上のGLP-1受容体と相互作用することにより、シグナル伝達反応のカスケードを引き起こすことでインシュリン含有顆粒のエキソサイトーシスを厳密にグルコース依存的な態様で増加させる（グルコース濃度が＞4.5 mMのとき）。加えて、GLP-1 はインシュリン遺伝子の転写を含むインシュリン生合成の全てのステップを強力に亢進する(Ahren,
B., et al.,Improved glucose tolerance
and insulinsecretion by inhibition of dipeptidyl peptidase IV in mice. Eur J Pharmacol,2000. 404(1-2): p.
239-45)。ベータ細胞機能に必須な他の遺伝子（グルコキナーゼ及びGlut-2）の転写もまた、GLP-1治療に応答して増加する(Ahren, B., et al., Improved glucose tolerance and insulin
secretion byinhibition of dipeptidyl peptidase IV in mice. Eur J Pharmacol,2000. 404(1-2): p.
239-45)。GLP-1によるこれらの効果を考え、島細胞が機能的な２型糖尿病患者でインシュリン放出を刺激することができそうな潜在的な治療薬として、このペプチドへの高い関心がある。しかしながら、GLP-1活性は、血流中のジペプチジルペプチダーゼ4（DPP4）により、Ala2位置のＮ末端開裂の結果、急速に阻害される。この開裂はGLP-1の半減期を２－６分間に制限するが、これはその治療上の可能性に対する深刻な制限だと考えられる。数多くのGLP-1 類似体がDPP4（表１）の効果に対抗しようと開発されつつあるが、そのいずれも天然GLP-1や、本発明での担体系を用いるものではない。これらのうちのいくつか

が、糖尿病動物モデル
(Xu, G., etal., Exendin-4 stimulates
both beta-cellreplication and neogenesis, resulting in increased beta-cell
mass andimproved glucose tolerance in diabetic rats. Diabetes, 1999. 48(12): p.
2270-6) やヒト(Drucker, D.J., Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes.
Diabetes Care,2003. 26(10): p.
2929-40)で絶食時及び食後血糖を正常化することが示されている。これらのうちで最も進歩したものであるエクステンジン4 又はエキセナチド（ヒトGLP-1の爬虫類類似体）が現在、２型糖尿病に認められている。しかしながら、これらの非天然のペプチドの長期にわたる全身投与の効果は不明である。持続的投与の副作用は胃腸管及び心臓血管の副作用に至るようであり(Nielsen, L.L. and A.D. Baron, Pharmacology
of exenatide(synthetic exendin-4) for the treatment of type 2 diabetes. Curr
Opin InvestigDrugs, 2003. 4(4): p.
401-5)、低血糖発症を防ぐために用量を慎重にコントロールしなければならない。更に、エキセナチドなどの非天然GLP-1類似体の投与は今、治療を受けた２型糖尿病患者の３８％で抗体発生を起こすことが文献化されている。発生した抗体が、おそらくはＮ末端ではなくＣ末端への選択性が原因で非中和化性であることは示されてはいるが、そのうちにＮ末端中和化抗体も生ずる可能性は高い。

【０２０９】

シタグリプチン(7-[(3R)-3-アミノ-1-オキソ-4-(2,4,5-トリフルオロフェニル)ブチル]-
5,6,7,8-テトラヒドロ-3-(トリフルオロメチル)-1,2,4-トリアゾロ[4,3-a]ピラジンホスフェート(1:1) モノヒドレート) はDPP-4阻害剤であり、GLP-1を含むインクレチン・ホルモンの失活を鈍化させることで２型糖尿病患者でその作用を発揮すると考えられている。この活性なインタクト・ホルモンの濃度はシタグリプチにより増加し、こうしてこれらのホルモンの作用が上昇及び長期化する。グルカゴン様
ペプチド-1(GLP-1) 及びグルコース依存的インシュリン分泌性ポリペプチド (GIP)を含むインクレチン・ホルモンは、一日中、腸管から放出され、レベルは食事に応答して増加する。これらのホルモンは酵素DPP-4により急速に失活する。インクレチンは糖恒常性生理的調節に関与する内因性の系の一部である。血糖濃度が正常又は上昇しているとき、GLP-1及びGIPはインシュリン合成や膵臓ベータ細胞からの放出を、サイクリックAMPの関与する細胞内シグナル伝達経路を通じて増加させる。GLP-1はまた、膵臓アルファ細胞からのグルカゴン分泌を低下させることで肝臓の糖産生を減少させる。シタグリプチンは活性インクレチン・レベルを上昇及び長期化することにより、糖依存的な態様でインシュリン放出を増加させ、循環中のグルカゴン・レベルを減少させる。治療用用量に近い濃度ではシタグリプチンはDPP-4への選択性を示すが、DPP-8又はDPP-9活性を in vitroでは阻害しない。

【０２１０】

【表１】

表１．　天然GLP-1の限界により、GLP-1類似体の開発にいたった。

製品	天然GLP-1に比べた改善の基盤	開発の段階
エキセナチド Amylin Pharma社	DPP4-耐性類似体、ヒトGLP-1に53%の相同性	２型糖尿病について認可済み
CJC 1131 Conjuchem社	半減期の長いBSA連結型類似体	第２相治験
リラグルチド Novo Nordisk社	半減期を延長したBSA連結型脂肪酸アシル化GLP-1	第３相治験
エキセナチドLAR Amylin社	１週乃至１ヶ月一回用量の徐放調合物	第２相治験
BIM 51077 Ipsen社	一日一回乃至２週間一回用量の徐放調合物	徐放調合物に入れたときのこの化合物の効験及び安全性を確認する第２相試験は２００７年初頭に開始する予定。

【０２１１】

半減期を延長したGLP-1類似体に代わるアプローチとして、DPP-4の低分子阻害剤が、経口提供可能であるという長所をもたらすべく、開発中である。しかしながら、これらの阻害剤は、免疫機能に重要な他の分子の開裂におけるDPP4の重要性を考えると、他の副作用がある可能性がある(Wiedeman, P.E. and J.M. Trevillyan, Dipeptidyl peptidase IV inhibitors forthe treatment of impaired glucosetolerance and type 2 diabetes. Curr Opin Investig Drugs, 2003. 4(4): p. 412-20)。

【０２１２】

GLP-1はベータ細胞の増殖を増加させ(Buteau, J., et al., glucagon-likepeptide-1 promotes DNA synthesis,activates phosphatidylinositol 3-kinase and increases transcription factorpancreatic and duodenal homeobox gene 1 (PDX-1) DNA binding activity in beta(INS-1)-cells. Diabetologia, 1999. 42(7): p. 856-64) 、それらのアポトーシスを妨げる(Urusova, I.A., et al., GLP-1 inhibition ofpancreatic islet cell apoptosis. Trends Endocrinol Metab, 2004. 15(1): p.27-33)だけでなく、それらの新生を刺激し、管前駆細胞からの新しいベータ細胞の分化を誘導する (Bulotta, A.,et al., Cultured pancreatic ductal cellsundergo cell cycle re-distribution and beta-cell様 differentiationin response to glucagon-like peptide-1. J Mol Endocrinol, 2002. 29(3): p. 347-60)という観察から、Ｔ１Ｄの考え得る治療法としてこのペプチドに関心が持たれている。実際、島生成におけるGLP-1の重要性が、ベータ細胞の数が少ない島を有し、糖耐性が異常であるGLP-1受容体欠損マウスで見られている (Scrocchi, L.A.,et al., Identification ofglucagon-like peptide-1 (GLP-1) actions essential for glucose homeostasis in mice withdisruption of GLP-1 receptor signaling. Diabetes, 1998. 47(4): p. 632-

9)。GLP-1や他のGLP-1受容体アゴニストによる島細胞の再生と膵臓ベータ細胞質量の増加が動物モデルで実証されており（Xu, G., et al., Exendin-4 stimulates bothbeta-cell replication and neogenesis, resulting in increased beta-cell massand improved glucose tolerance in diabetic rats. Diabetes, 1999. 48(12):p. 2270-6)、更に、GLP-1は部分的膵臓切除術後のインシュリン欠乏性糖尿病発生を減衰することが示されている(Xu, G., et al., Exendin-4 stimulates bothbeta-cell replication and neogenesis, resulting in increased beta-cell massand improved glucose tolerance in diabetic rats. Diabetes, 1999. 48(12):p. 2270-6)。従って、GLP-1 治療はＴ１Ｄにおいて破壊された島を再生することができると考えられる。残念ながら、薬物としての天然GLP-1 は本発明なしでは商業上の価値はない。本発明は多くの人が長らく求めてきた数多くの利益を提供することができる。

【０２１３】

本発明は、77及び249nMの解離定数を持つ少なくとも２つの我々の担体中へのGLP-1の調合を含む（図３５及び３６）。これらのKdはGLP-1に対するDPP4のKmよりも遥かに低いため、GLP-1を分解から保護する。この保護は、ストレプトゾトシン誘導性糖尿病ラットで、有効サイズの増大と相まって腎臓での消失を防ぐと共に我々の天然GLP-1調合物の循環中半減期を驚くほど延長し（図４２－４４）、糖レベルを低下させた（図４５）。認可された、又はFDAの認可を受ける予定のGLP-1類似体と比較して、我々の長期作用性GLP-1調合物はプロテアーゼ耐性 GLP-1類似体（FDAの認可を受けたエキセナチド； t1/2 = 4時間、１日に二回投与）又は非プロテアーゼ耐性リラグルチド（脂肪酸をGLP-1に連結してアルブミンに結合させたもの；t1/2 = 10 時間、一日に一回、投与されるよう計画されている）で達成されたものよりも遥かに長い半減期を有する。我々の天然GLP-1が、エキセナチド（Byetta社）で治療された患者で見られた抗体形成を起こす可能性がないことに注目することが重要である。加えて、調合された天然GLP-1の循環中半減期が長いために、投与の頻度が少なくなると予測される。長期作用性エキセナチド（Byetta-LAR社）が開発されつつあるが、我々のアプローチはByetta-LAR社とは異なる。Byetta-LAR社は皮下で溶解して遊離GLP-1類似体をゆっくりと放出させるポリマ（時間と共に分解するポリ乳酸）を用いる。我々の調合物は皮下に注射されるが、血中の結合及び遊離GLP-1の我々の測定値を証左とするように、当該担体はGLP-1と一緒に血中を循環し、このとき総GLP-1の87.5 %は血中を循環している担体に結合しており、残りの12.5 %が遊離している。これは本発明の有用性の実証のうちのごく一例であり、本発明の範囲を制限することは意図していない。

【０２１４】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がGLP-1である上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。

【０２１５】

別の実施態様では、本発明は、ポリアミノ酸の担体と、前記ポリアミノ酸の担体に共有結合させたメトキシポリエチレングリコール保護鎖と、前記ポリアミノ酸の担体に共有結合させた疎水性の脂肪酸鎖と、前記疎水性の脂肪酸鎖に可逆的に結合させた装填分子とを含む上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップを含み、当該装填分子がGLP-1である、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。

【０２１６】

天然ガストリン及び天然EGFには天然GLP-1と同様な限界がある； 成体マウスでガストリン及びEGF
受容体リガンドのトランスジェニックな過剰発現があると島新生が刺激され、島細胞質量が有意に増加する(Wang, T.C., et al., Pancreatic gastrinstimulates islet differentiation of transforming growth factor

alpha-inducedductular precursor cells. J Clin Invest, 1993. 92(3): p. 1349-56)。EGF、TGF-アルファ、及びベータセルリンなどのEGF受容体リガンドは、膵臓のインシュリン産生性ベータ島細胞の新生及び増殖を増加させる(Suarez-Pinzon, W.L., et al., Combination
therapy with epithelialgrowth factor and gastrin increases beta-cell mass and reverseshyperglycemia in diabetic NOD mice. Diabetes, 2005. 54(9): p. 2596-601, Song,S.Y., et al.,
Expansion ofPdx1-expressing pancreatic
epithelium andislet neogenesis in transgenic mice overexpressing transforming grawth factoralpha. Gastroenterology, 1999. 117(6): p. 1416-26, Krakowski, M.L., et al.,Transgenic expression of epithelial growth factor and keratinocyte growth factorin beta-cells results in substantial morphological changes. J Endocrinol,1999. 162(2): p. 167-75,
Cras-Meneur,C., et al., epithelial growth factor increases undifferentiated pancreaticembryonic cells in vitro: a
balance betweenproliferation and differentiation. Diabetes, 2001. 50(7): p. 1571-9, Huotari,M.A., J.
Palgi, and T.Otonkoski, growth factor-mediated
proliferationand differentiation of insulin-producing INS-1 and RINm5F cells: identificationof beta cellulin as a novel beta-cell mitogen. Endocrinology,1998. 139(4): p.
1494-9,Yamamoto, K., et al., recombinant
humanbetacellulin promotes the neogenesis of beta-cells and ameliorates glucoseintolerance in mice with diabetes induced by selective alloxan perfusion.Diabetes, 2000. 49(12):
p. 2021-7)。加えて、慢性ストレプトゾトシン誘導性糖尿病ラットをEGF及びガストリンの全身投与により薬理学的に治療すると、糖の正常化が起き、糖耐性が向上する (Brand, S.J., etal. pharmacological
treatment ofchronic diabetes by stimulating pancreatic beta-cell regeneration with systemicco-administration of EGF and gastrin. Pharmacol Toxicol, 2002. 91(6): p.414-20)。組織分析ではベータ細胞質量の増加が示され、新生の指標であるBrdU標識の増加もある。重要なことに、エビデンスは、EGFなどの成長因子も、新たに再生したベータ細胞に対する免疫寛容の誘導を起こすことを示している
(Suarez-Pinzon,W.L., et al., Combination
therapy withepithelial growth factor and gastrin increases beta-cell mass and reverseshyperglycemia in diabetic NOD mice. Diabetes, 2005. 54(9): p. 2596-601)。短い生物学的半減期しか有さない天然ガストリン及び天然EGFの限界を克服するために（両者とも、数分の半減期しか有さない） (Hansen, C.P.,
et al.pharmacokinetics and organ
metabolism ofcarboxyamidated and glycine-extended gastrins in pigs. Am J Physiol, 1996.271(1 Pt 1): p. G156-63,
Lev-Ran, A., etal., Origin of urinary
epithelialgrowth factor in humans: excretion of endogenous EGF and infused [131I]-humanEGF and kidney histochemistry. ClinExp Pharmacol Physiol, 1992. 19(10): p.667-73,
Senekowitsch-Schmidtke,R., et al., In vivo
evaluation ofepithelial growth factor (EGF) receptor density on human tumor xenograftsusing radiolabeled EGF and anti-(EGF receptor) mAb 425. Cancer ImmunolImmunother, 1996. 42(2): p.
108-14, Feng,J., et al., Tissue

distributionand plasma clearance of heparin-binding EGF-like growth factor (HB-EGF) inadult and newborn rats. Peptides, 2005)、腹腔内注射により一日二回投与される、EGF及びガストリンの類似体が用いられた（米国特許第6,992,060号、Suarez-Pinzon, W.L., etal., Combination therapy with epithelial growth factor andgastrin increases beta-cell mass and reverses hyperglycemia in diabetic NODmice. Diabetes, 2005. 54(9): p. 2596-601)。やはり、これも天然ガストリン及び天然EGFの使用を離れた当業の一例である。

【０２１７】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がEGFである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかと、当該装填分子がガストリンである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかとを、治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。

【０２１８】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がGLP-1である上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかと、当該装填分子がガストリンである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかとを、治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。

【０２１９】

オメプラゾールは、新しいポンプの合成が起きるまで胃の中のプロトン・ポンプを非可逆的に阻害する(In, W.B., D.P. Blakeman, and J.P. Davis, Irreversible inactivation of ratgastric (H+-K+)-ATPase in vivo by omeprazole.Biochem Biophys Res Commun, 1985. 126(1): p. 78-82, Keeling, D.J., et al., Studieson the mechanism of action of omeprazole. Biochem Pharmacol,1985. 34(16): p. 2967-73)。プロトン・ポンプが阻害されると、血清中ガストリン・レベルが15pg/ml から 200pg/mlを越えるまで増加することのある高ガストリン血症が起きたり(Lamberts, R., et al., Long-term omeprazoletreatment in man: effects on gastric endocrine cell populations. Digestion,1988. 39(2): p. 126-35)、そして既にガストリンが高レベルである場合(Zollinger-Ellison syndrome) には、オメプラゾールはそれを更に700 pg/ml にまで増加させたりすることがある(Cadranel, J.F., et al.,[Long-term efficacy and tolerability ofomeprazole in 20 patients with severe Zollinger-Ellison syndrome].Gastroenterol Clin Biol, 1989. 13(8-9): p. 654-62)ことが長く知られている。オメプラゾールは２０年以上も用いられてきており、その安全性は、胃食道逆流性疾患（GERD）及び他の消化疾患の治療について経時的に検査されてきた(LD_{50} > 4g/Kg)。H2受容体遮断剤などの他のプロトン・ポンプ阻害剤も、同じ適応症に用いられている(Schentag, J.J.and T.F. Goss, Pharmacokinetics andpharmacodynamics of acid-suppressive agents in patients with gastroesophagealreflux disease. Am J Hosp Pharm, 1993. 50(4 Suppl 1): p. S7-10)。オメプラゾールによる処置で、ガストリン・レベルは通常の少なくとも３倍、そして大半の場合には１０倍に上昇するはずである (Halter, F., et al., Effect of acidinhibition on the growth of parietal cells. Scand J Gastroenterol Suppl, 1986.125: p. 9-13, Hakanson, R., et al.,Evidence that gastrin enhances 45Cauptake into bone through release of a gastric hormone. Regul Pept, 1990.28(1): p. 107-18, Van Nieuwenhove,Y., et al., gastrin stimulatesepithelial cell proliferation in the oesophagus of rats.

Virchows Arch,1998. 432(4): p.
371-5, Koop, H.,M. Klein, and R. Arnold, Serum
gastrin levelsduring long-term omeprazole treatment. Aliment Pharmacol
Ther, 1990.4(2): p. 131-8, Larson,
G.M., H.W.Sullivan, and P. Rayford, omeprazole-induced hypergastrinemia: role o
f gastricacidity. J Surg Res,
1986. 40(5): p.504-9, Larson, G.M.,
H.W. Sullivan,and P.L. Rayford, Relationship
ofomeprazole-induced hypergastrinemia to gastric pH. Surgery, 1986. 100(2): p.
175-80,Creutzfeldt, W. and
R. Lamberts, Ishypergastrinaemia
dangerous toman? Scand J Gastroenterol Suppl, 1991. 180: p. 179-91), and this e
levation issustained (Klinkenberg-Knol,
E.C., The roleof omeprazole in healing
and preventionof reflux disease. Hepatogastroenterology, 1992. 39 Suppl 1: p. 2
7-30)。オメプラゾールの他の誘導体もあるが、オメプラゾールは長らく検査されてきており、その結果としての血清中ガストリンの増加は大変一致している。オメプラゾール及びその誘導体は新世代のプロトン・ポンプ阻害剤の比較の際に未だに基準であり、プロトン・ポンプ阻害剤の有効性の証左は血清中ガストリン・レベルの増加である（Yu, K.S., et al.pharmacokinetic
andpharmacodynamic evaluation of a novel proton pump inhibitor, YH1885, in
healthyvolunteers. J Clin Pharmacol, 2004. 44(1): p. 73-82)。本発明の別の実施態様は、本発明の疎水性コアの担体組成物と一緒に調合された天然GLP-1又は天然EGFをプロトン・ポンプ阻害剤と併用して、血中のガストリン・レベルを上昇させることで、ベータ島細胞再生を誘導することによりインシュリン結合性糖尿病を治療することに関する。

【０２２０】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がGLP-1である上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップと、更にプロトン・ポンプ阻害剤と患者に投与するステップとを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。更なる実施態様では、前記プロトン・ポンプ阻害剤はオメプラゾールであってよい。更なる実施態様では、オメプラゾールは患者の体重１kg当り4g未満の用量、投与されるが、好ましくは、患者の体重1kg当り500mg未満、そして更により好ましくは100mg未満、投与されるとよい。

【０２２１】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子が上皮成長因子（EGF）受容体リガンドである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。

【０２２２】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子が上皮成長因子（EGF）受容体リガンドである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップと、更にプロトン・ポンプ阻害剤と患者に投与するステップとを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。更なる実施態様では、前記プロトン・ポンプ阻害剤はオメプラゾールであってもよい。更なる実施態様では、オメプラゾールは患者の体重１kg当り4g未満の用量、投与されるが、好ましくは、患者の体重1kg当り500mg未満、そして更により好ましくは100mg未満、投与されるとよい。

【０２２３】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がEGFである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。

【０２２４】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がGLP-1である上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかと、当該装填分子がガストリンである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかとを、治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。

【０２２５】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がEGFである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップと、更にプロトン・ポンプ阻害剤と患者に投与するステップとを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。更なる実施態様では、前記プロトン・ポンプ阻害剤はオメプラゾールであってもよい。更なる実施態様では、オメプラゾールは患者の体重１kg当り4g未満の用量、投与されるが、好ましくは、患者の体重1kg当り500mg未満、そして更により好ましくは100mg未満、投与されるとよい。

【０２２６】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がTGF-アルファである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。

【０２２７】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がEGF-アルファである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップと、更にプロトン・ポンプ阻害剤と患者に投与するステップとを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。更なる実施態様では、前記プロトン・ポンプ阻害剤はオメプラゾールであってもよい。更なる実施態様では、オメプラゾールは患者の体重１kg当り4g未満の用量、投与されるが、好ましくは、患者の体重1kg当り500mg未満、そして更により好ましくは100mg未満、投与されるとよい。

【０２２８】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がベータセルリンである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。

【０２２９】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がベータセルリンである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップと、更にプロトン・ポンプ阻害剤と患者に投与するステップとを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。更なる実施態様では、前記プロトン・ポンプ阻害剤はオメプラゾールであってもよい。更なる実施態様では、オメプラゾールは患者の体重１kg当り4g未満の用量、投与されるが、好ましくは、患者の体重1kg当り500mg未満、そして更により好ましくは100mg未満、投与されるとよい。

【０２３０】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がガストリン/コレシストキニン受容体リガンドである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。

【０２３１】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がガストリンである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。

【０２３２】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がガストリンである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップと、更にプロトン・ポンプ阻害剤と患者に投与するステップとを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。更なる実施態様では、前記プロトン・ポンプ阻害剤はオ

メプラゾールであってもよい。更なる実施態様では、オメプラゾールは患者の体重１kg当り4g未満の用量、投与されるが、好ましくは、患者の体重1kg当り500mg未満、そして更により好ましくは100mg未満、投与されるとよい。ガストリン及びオメプラゾールを含有する疎水性コアの担体組成物の組合せにより、ガストリンを含有する疎水性コアの担体組成物の必要な用量が減少するであろう。

【０２３３】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がコレシストキニンである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。

【０２３４】

別の実施態様では、本発明は、当該装填分子がコレシストキニンである上述の疎水性コアの担体組成物のいずれかを治療上有効量、これを必要とする患者に投与するステップと、更にプロトン・ポンプ阻害剤と患者に投与するステップとを含む、患者のインシュリン欠乏性糖尿病を治療する方法に関する。更なる実施態様では、前記プロトン・ポンプ阻害剤はオメプラゾールであってもよい。更なる実施態様では、オメプラゾールは患者の体重１kg当り4g未満の用量、投与されるが、好ましくは、患者の体重1kg当り500mg未満、そして更により好ましくは 100mg未満、投与されるとよい。コレシストキニン及びオメプラゾールを含有する疎水性コアの担体組成物の組合せにより、コレシストキニンを含有する疎水性コアの担体組成物の必要な用量が減少するであろう。

【０２３５】

本発明は、「診断及び治療のメルク・マニュアル」（ニュージャージー州ラーウェイのMerck& Co., 社の一部門であるMerck Laboratories により１９９２年に発刊）に解説された多様な疾患を、PDR 即ち Physician Desk Reference（ニュージャージー州モントヴェールのMedicalEconomics Company社により２００１年に発刊）に記載されたものの中から選ばれた適した装填分子と一緒に、本発明で解説された組成物を用いることで治療する方法を提供することを意図している。この診断及び治療のメルク・マニュアルと PDR を言及をもってここに援用することとする。特定の疾患に対する、ある装填分子の適性は「診断及び治療のメルク・マニュアル」又はPDRを調べることにより、確認することができる。

【０２３６】

実施例

合成法の概観

本発明の疎水性コアの担体は、中心の担体鎖、疎水性基、保護基、及び選択的に標的決定基を含む。各基は互いに連結されており、当該の疎水性基は薬物、治療薬、又は診断薬などの装填分子と可逆的な連結を形成することができる。疎水性コアの担体と装填分子との間のこの可逆的な連結は疎水性相互作用を含む。

【０２３７】

アミノ、カルボキシル、又はヒドロキシル基を含有するポリマ製担体からの疎水性コアの担体装填分子錯体の合成は一般に三つの合成段階を含む：１）保護鎖による骨格担体の共有結合的修飾；２）ステップ１）の生成物の、例えばパルミチン酸などの疎水性基による修飾；及び３）例えばGLP-1とインキュベートして疎水性コアの担体－GLP-1錯体の形成を達成するなど、ステップ２）の生成物の装填分子と一緒にインキュベートする。

【実施例１】

【０２３８】

脂肪酸及び芳香族アルキルカルボン酸のN-ヒドロキシスクシンアミドエステルの調製

脂肪酸及び芳香族アルキルカルボン酸のN-ヒドロキシスクシンアミドエステルは、当該担体に沿ったアミノ基と容易に反応するため、これらは本発明の疎水性コアの担体の合成を容易にするであろう。以下の方法はLapidot et al.から採られた [Lapidot, Y., Rappoport,S. and Wolman, Y. (1967) J. Lipid Res., 8, 142]: （ｉ）共栓した250ml入りガラス製コニカルフラスコ内で、分子ふるいペレットで乾燥させた30mlの酢酸エ

チルに3.45g（30nmol）を溶解させることにより、230mM のN-ヒドロキシスクシンイミド溶液を調製する；（ｉｉ）上記の溶液に30nmolの所望の脂肪酸を加える；（ｉｉｉ）30 mmol (6.18gのジシクロヘキシルカルボジイミドを10ml の酢酸エチルに溶かした溶液)を含有する溶液を調製し、それを脂肪酸溶液に加える；（ｉｖ）室温で反応を一晩、進行させる；（ｖ）沈殿したジシクロヘキシルウレアを吸引タップを用いたろ過により除去する；（ｖｉ）濾過物を回転蒸発器で乾燥するまで蒸発させて、エタノールにより再結晶化でそれを精製する；及び（ｖｉｉ）以下の溶媒系：（ａ）クロロホルム、（ｂ）石油(b.p. 40-60°C)-ジエチルエーテル、8:2、を用いてTLCにより純度を確認する。10%ヒドロキシアミンの0.1 MNaOH溶液を噴霧した後、 5%
$FeCl_3$の1.2 M HCl溶液を２分間噴霧してN-ヒドロキシスクシンイミド及びエステル（赤色）について染色する。80-90% の収率を得ることができる。

【０２３９】

他の活性化脂肪酸及び芳香族アルキルカルボン酸が（例えばミズーリ州セントルイス、Sigma-AldrichChem.社からなど)、無水脂肪酸、脂肪酸アシル－ハリド、芳香族-アルキル-カルボニル-アンヒドリド、又は芳香族-アルキル-アシル-ハリド（例えば-アシル-Cl及び-acyl-Br）などの形で市販されている。例えば無水ステアリン酸は当該担体のアミノ基と自発的に反応してアミド結合を形成してその無水ステアリン酸の$CH_3(CH_2)_{16}CO$- を付着させ、無水ステアリン酸の他の部分をステアリン酸として放出するであろう。ステアリン酸生成物を塩基性緩衝剤で中和化すると反応を完了まで進めるのに役立つであろう。同様な反応は、疎水性のフェニル基を当該担体に付着させるために無水安息香酸を用いて行なうことができる。同様に、アルキル-アシル-ハリド又はベンジル-アルキル-アシル-ハリドはアミノ基と、あるいは加熱した場合にはヒドロキシル基とも反応するであろう。これにより、疎水性基を当該担体に加えることができるであろう。

【実施例２】

【０２４０】

MPEG-ポリ-L-リジン(5000; 40,000; 73%) (PLPEG-I)の合成　試薬であるMPEG-スクシンイミジル-スクシネート及びポリリジンは市販されており、それらの合成は当業で公知である。ポリ-L-リジン(200 mg; ポリリジンヒドロブロミド；Sigma chemical 社; DPvis: 264; MWvis:55,200; DPmalls:190;
MWmalls:39,800;0.7 mmoles のアミノ基、TNBS assay
Sparado
et al. AnalBiochem 96:317, 1979による）を10 ml の0.1 M 炭酸緩衝液 pH 8.35 に溶解させ、1150mgの MPEG-スクシンイミジル-スクシネートを加え、ボルテックスし、室温で一晩、インキュベートした。翌日にアリクォートを採取し、残ったアミノ基の量をトリニトロベンゼンスルホン酸 (Sparado et al. Anal Biochem 96:317, 1979)を用いて定量した。その結果、73%のアミノ基がMPEGに結合したことが示された。次の反応（疎水性基の添加）に干渉しかねないポリリジンのカルボキシル末端にキャップをするために、600 ul のエチレンジアミン及び100
mgのEDCを加え、混合し、室温で１時間、インキュベートした。この溶液(200 ml) を、５回、水を替えながら100 kDa カットオフのフィルタ・メンブレン（マサチューセッツ州ウェストボロー、Amersham
Biosciences 社）を通す濾過で洗浄した。その結果のPLPEG錯体を凍結乾燥させ、計量すると860 mgの収量が得られた。結果的に、生成物は、MPEGで誘導体化したアミノ基の数に基づくと730kDaの分子量を有すると推定される。最終生成物1g当りの遊離アミノ基の数は0.43umole/mgである（図９）。あまりないことだが、用いられた MPEG-スクシンイミジル-スクシネートに遊離スクシネートが混入していれば、PEGの量はアミノ基解析から推定されたよりも少なく、最終生成物1mg当りのアミノ基量と一致しないであろうことに留意されたい。

【実施例３】

【０２４１】

MPEG-ポリ-L-リジン(5000;40,000;55%)(PLPEG-II)の合成
試薬であるMPEG-スクシンイミジル-スクシネート及びポリリジンは市販されており、それらの合成は当業で公知である。ポリ-L-リジン (200 mg; ポリリジンヒドロブロミド;Sigma chemical 社;DPvis:264; MWvis: 55,200; DPmalls:190;
MWmalls:39,800;0.7 mmoles のアミノ基、TNBS assay
Sparado et al.Anal Biochem 96:317, 1979による) を10 ml の0.1 M 炭酸緩衝液 pH 8.35 に溶解させ、900 mgのMPEG-スクシンイミジル-スクシネートを加え、ボルテックスし、室温で一晩、インキュベートした。翌日にアリクォートを採取し、残ったアミノ基の量をトリニトロベンゼンスルホン酸 (Sparado et al. Anal Biochem 96:317, 1979)を用いて定量した。その結果、55% のアミノ基がMPEGに結合したことが示された。次の反応（疎水性基の添加）に干渉しかねないポリリジンのカルボキシル末端にキャップをするために、600 ul のエチレンジアミン及び100
mgのEDCを加え、混合し、室温で１時間、インキュベートした。この溶液(200 ml) を、５回、水を替えながら100 kDa カットオフのフィルタ・メンブレン（マサチューセッツ州ウェストボロー、Amersham
Biosciences 社）を通す濾過で洗浄した。その結果のPLPEG錯体を凍結乾燥させ、計量すると860 mgの収量が得られた。結果的に、生成物は、MPEGで誘導体化したアミノ基の数に基づくと560kDaの分子量を有すると推定される。最終生成物1g当りの遊離アミノ基の数は0.795umole/mgである（図９）。用いられたMPEG-スクシンイミジル-スクシネートに遊離スクシンイミジル-スクシネートが混入していれば、PEGの量はアミノ基解析から推定されたよりも少なく、最終生成物1mg当りのアミノ基量と一致しないであろうことに留意されたい。
【実施例４】
【０２４２】
MPEG-ポリ-1-リジン(5000;40,000;22%)(PLPEG-III)の合成
試薬であるMPEG-スクシンイミジル-スクシネート及びポリリジンは市販されており、それらの合成は当業で公知である。ポリ-L-リジン (200 mg; ポリリジンヒドロブロミド;Sigma chemical 社;DPvis:264; MWvis: 55,200; DPmalls:190;
MWmalls:39,800;0.7 mmoles のアミノ基、TNBS assay
Sparado et al.Anal Biochem 96:317, 1979による) を10 ml の0.1 M 炭酸緩衝液 pH 8.35 に溶解させ、600 mgのMPEG-スクシンイミジル-スクシネートを加え、ボルテックスし、室温で一晩、インキュベートした。翌日にアリクォートを採取し、残ったアミノ基の量をトリニトロベンゼンスルホン酸 (Sparado et al. Anal Biochem 96:317, 1979)を用いて定量した。その結果、22% のアミノ基がMPEGに結合したことが示された。次の反応（疎水性基の添加）に干渉しかねないポリリジンのカルボキシル末端にキャップをするために、600 ul のエチレンジアミン及び100
mgのEDCを加え、混合し、室温で１時間、インキュベートした。この溶液(200 ml) を、５回、水を替えながら100 kDa カットオフのフィルタ・メンブレン（マサチューセッツ州ウェストボロー、Amersham
Biosciences 社）を通す濾過で洗浄した。その結果のPLPEG錯体を凍結乾燥させ、計量すると320 mgの収量が得られた。結果的に、生成物は、MPEGで誘導体化したアミノ基の数に基づくと250kDaの分子量を有すると推定される。最終生成物1g当りの遊離アミノ基の数は1.14umole/mgである（図９）。用いられたMPEG-スクシンイミジル-スクシネートに遊離スクシンイミジル-スクシネートが混入していれば、PEGの量はアミノ基解析から推定されたよりも少なく、最終生成物1mg当りのアミノ基量と一致しないであろうことに留意されたい。
【実施例５】
【０２４３】
MPEG-ポリ-1-リジン(5000;40,000;9%)(PLPEG-IV)の合成
試薬であるMPEG-スクシンイミジル-スクシネート及びポリリジンは市販されており、それ

らの合成は当業で公知である。ポリ-L-リジン（200 mg; ポリリジンヒドロブロミド；Sigma chemical 社;DPvis:264; MWvis: 55,200; DPmalls:190;
MWmalls:39,800;0.7 mmoles のアミノ基、TNBS assay
Sparado et al.Anal Biochem 96:317, 1979による）を10 ml の0.1 M 炭酸緩衝液 pH 8.35 に溶解させ、300 mgのMPEG-スクシンイミジル-スクシネートを加え、ボルテックスし、室温で一晩、インキュベートした。ポリ-L-リジン（200 mg; ポリリジンヒドロブロミド；Sigmachemical 社; DPvis:264; MWvis: 55,200; DPmalls:190;
MWmalls:39,800;0.7 mmoles のアミノ基、TNBS assay
Sparado et al.Anal Biochem 96:317, 1979による）を10 ml の0.1 M 炭酸緩衝液 pH 8.35 に溶解させ、600 mgのMPEG-スクシンイミジル-スクシネートを加え、ボルテックスし、室温で一晩、インキュベートした。翌日にアリクォートを採取し、残ったアミノ基の量をトリニトロベンゼンスルホン酸 (Sparado et al. Anal Biochem 96:317, 1979)を用いて定量した。その結果、9% のアミノ基がMPEGに結合したことが示された。次の反応（疎水性基の添加）に干渉しかねないポリリジンのカルボキシル末端にキャップをするために、600 ul のエチレンジアミン及び100
mgのEDCを加え、混合し、室温で１時間、インキュベートした。この溶液(200 ml) を、５回、水を替えながら100 kDa カットオフのフィルタ・メンブレン（マサチューセッツ州ウェストボロー、Amersham
Biosciences 社）を通す濾過で洗浄した。その結果のPLPEG錯体を凍結乾燥させ、計量すると300 mgの収量が得られた。結果的に、生成物は、MPEGで誘導体化したアミノ基の数に基づくと125kDaの分子量を有すると推定される。最終生成物1g当りの遊離アミノ基の数は1.5umole/mgである（図９）。用いられたMPEG-スクシンイミジル-スクシネートに遊離スクシンイミジル-スクシネートが混入していれば、PEGの量はアミノ基解析から推定されたよりも少なく、最終生成物1mg当りのアミノ基量と一致しないであろうことに留意されたい。

【実施例６】

【０２４４】

MPEG-ポリ-1-リジン-C12(PLPEG-III-C12)の合成　PLPEG-III-C12は、$CH_3(CH_2)_{10}CO$-疎水性基を残りのリジン残基のイプシロンアミノ基に付着させて含有する疎水性コアの担体である。２０ミリグラムの実施例４のPLPEG-IIIを2 ml になるように0.1 M 炭酸緩衝液 pH 8.35に溶解させた。５０mgのラウリン酸、ナトリウム塩（ニュージャージー州Acros Organics社）を2ml の30% アセトニトリル：水に溶解させ、この溶液に25 mg の NHSS（N-ヒドロキシスクシンイミドスルフェート；イリノイ州ロックフォード、Pierce社）を加えた後、100mg の EDC（1-エチル-3-[3-ジメチルアミノプロピル]カルボジイミドヒドロクロリド；イリノイ州ロックフォード、Pierce社）を加えた。この溶液を滴下でPLPEG-IIIの2mlの溶液に加え、室温でインキュベートした。その翌日にアリクォートを採取し、残ったアミノ基の量をトリニトロベンゼンスルホン酸 (NBS)(Sparado et al. Anal Biochem 96:317,1979)を用いて定量した。その結果、遊離アミノ基は何ら残っていないことが示された。50%アセトニトリル水で平衡させた2mlの陰イオン交換樹脂(カリフォルニア州ヘラクレス、Mono-Q,Bio-Rad社)にこの溶液を通過させることで、残った可溶性の脂肪酸及びNHSSを取り除いた。その後、50%のアセトニトリル／水で平衡させた20ml Superdex 200 （マサチューセッツ州ウェストボロー、AmershamBiosciences Corp社）上でその溶出物を脱塩し、PLPEG-III-C12を含有するボイド容量を凍結乾燥させ、計量すると12 mg の収量が得られた。

【実施例７】

【０２４５】

MPEG-ポリ-1-リジン-C18(PLPEG-III-C18)の合成　PLPEG-III-C18は、$CH_3(CH_2)_{16}CO$-疎水性基を残りのリジン残基のイプシロンアミノ基に付着させて含有する疎水性コアの担体である。実施例４の２０mgのPLPEG-IIIを2 ml になるように0.1 M 炭酸緩衝液 pH 8.35で増加させた。５０mgのステアリン酸、ナトリウム塩（テキサス州ヒューストン、Fishe

r社）を2 ml の アセトニトリルで溶解させ、この溶液に25mg の NHSS（N-ヒドロキシスクシンイミドスルフェート；イリノイ州ロックフォード、Pierce社）を加えた後、100 mg の EDC（1-エチル-3-[3-ジメチルアミノプロピル]カルボジイミドヒドロクロリド；イリ
ノイ州ロックフォード、Pierce社）を加えた。これを滴下でPLPEG-IIIの2mlの溶液に加え、室温でインキュベートした。その翌日にアリクォートを採取し、残ったアミノ基の量をトリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS)(Sparado et al. Anal Biochem 96:317, 1979)を用いて定量した。その結果、遊離アミノ基は何ら残っていないことが示された。50%アセトニトリル水で平衡させた2mlの陰イオン交換樹脂(カリフォルニア州ヘラクレス、Mono-Q, Bio-Rad社)にこの溶液を通過させることで、残った可溶性の脂肪酸及びNHSSを取り除いた。その後、50%のアセトニトリル／水で平衡させた20ml Superdex 200 （マサチューセッツ州ウェストボロー、Amersham Biosciences Corp社）上でその溶出物を脱塩し、PLPEG-III-C18 を含有するボイド容量を凍結乾燥させ、計量すると18mgの収量が得られた。

【実施例８】

【０２４６】

MPEG-ポリ-1-リジン-C8(PLPEG-III-C8)の合成　PLPEG-III-C8は、$CH_3(CH_2)_6CO$-疎水性基を残りのリジン残基のイプシロンアミノ基に付着させて含有する疎水性コアの担体である。実施例４の２０mgのPLPEG-IIIを2 ml になるように0.1 M 炭酸緩衝液 pH 8.35で増加させた。５０mgのカプリル酸、ナトリウム塩（ミズーリ州セントルイス、Sigma chemical 社）を2 mlの30% アセトニトリル：水で溶解させ、この溶液に25 mg の NHSS（N-ヒドロキシスクシンイミドスルフェート；イリノイ州ロックフォード、Pierce社）を加えた後、100mg の EDC（1-エチル-3-[3-ジメチルアミノプロピル]カルボジイミドヒドロクロリド；イリノイ州ロックフォード、Pierce社）を加えた。これを滴下でPLPEG-IIIの2mlの溶液に加え、室温でインキュベートした。その翌日にアリクォートを採取し、残ったアミノ基の量をトリニトロベンゼンスルホン酸 (NBS)(Sparado et al. Anal Biochem 96:317, 1979)を用いて定量した。その結果、遊離アミノ基は何ら残っていないことが示された。50%アセトニトリル水で平衡させた2mlの陰イオン交換樹脂(カリフォルニア州ヘラクレス、Mono-Q,Bio-Rad社)にこの溶液を通過させることで、残った可溶性の脂肪酸及びNHSSを取り除いた。その後、50%のアセトニトリル／水で平衡させた20ml Superdex 200 （マサチューセッツ州ウェストボロー、Amersham Biosciences Corp社）上でその溶出物を脱塩し、PLPEG-III-C8を含有するボイド容量を凍結乾燥させ、計量すると8 mgの収量が得られた。

【実施例９】

【０２４７】

MPEG-ポリ-1-リジン-C12(PLPEG-II-C12)の合成　PLPEG-II-C12は、$CH_3(CH_2)_{10}CO$-疎水性基を残りのリジン残基のイプシロンアミノ基に付着させて含有する疎水性コアの担体である。実施例３の４０mgのPLPEG-IIを4 ml になるように0.1 M 炭酸緩衝液 pH 8.35で増加させた。５０mgのラウリル酸、ナトリウム塩（ニュージャージー州、Acros Organics社）を2 ml の30%アセトニトリル：水で溶解させ、この溶液に25 mg の NHSS（N-ヒドロキシスクシンイミドスルフェート；イリノイ州ロックフォード、Pierce社）を加えた後、100 mg のEDC（1-エチル-3-[3-ジメチルアミノプロピル]カルボジイミドヒドロクロリド；イリノイ州ロックフォード、Pierce社）を加えた。これを滴下でPLPEG-IIIの4mlの溶液に加え、室温でインキュベートした。その翌日にアリクォートを採取し、残ったアミノ基の量をトリニトロベンゼンスルホン酸 (NBS)(Sparado et al. Anal Biochem 96:317, 1979)を用いて定量した。その結果、遊離アミノ基は何ら残っていないことが示された。
50%アセトニトリル水で平衡させた2mlの陰イオン交換樹脂(カリフォルニア州ヘラクレス、Mono-Q,Bio-Rad社)にこの溶液を通過させることで、残った可溶性の脂肪酸及びNHSSを取り除いた。その後、50%のアセトニトリル／水で平衡させた20 ml Superdex 200 （マサチューセッツ州ウェストボロー、Amersham Biosciences Corp社）上でその溶出物を脱塩

し、PLPEG-II-C12を含有するボイド容量を凍結乾燥させ、計量すると25 mgの収量が得られた。

【実施例１０】

【０２４８】

PLPEG-II-C12へのGLP-1の結合　６本のポリプロピレン製マイクロ遠心管を三重にして準備した。実施例９のPLPEG-II-C12
ストック（5mg/ml）のアリクォート（90ul）を
ポリプロピレン製マイクロ遠心管１番及び２番内に配置した。PLPEG-II ストック（5 mg/ml）のアリクォート（90ul）をポリプロピレン製マイクロ遠心管３番及び４番内に配置した。試験管３番及び４番にはC12脂肪酸誘導体化のないPLPEG-II
を容れる。しかし、これらはC4に同等な保護基の基部にスクシネート誘導体を含有することに留意されたい。GLP-1
(3mg/ml; 7-36 アミド化ヒトGLP-1、ドイツ、PolypeptideLab.GmbH) の60ulのアリクォートを管２番、４番及び６番に加えた。1.5 M NaCl/0.5M PO_4 緩衝液、pH 7.35 の50ulのアリクォートを全ての試験管に加えた。全ての試験管の内容物を水で0.5 ml まで増加させ、最終的な緩衝剤及びNaCl 濃度を50 mM リン酸/150 mM Nacl/ pH 7.35とした。この溶液を混合し、凍結乾燥させた。翌日、全ての溶液を水で 0.5 ml にし、遠心分離で100 kDa カットオフ・メンブレン（マサチューセッツ州ベッドフォード、Millipore社）を通過させた。フィルタを通過したGLP-1は遊離 GLP-1が溶液に溶けた濃縮物だった。PLPEG-II-C12 又は PLPEG-II（試験管６番）のないコントロール試験管は、結合に利用することのできる GLP-1の総量であろう。試験管６番のコントロールは、緩衝剤のみの試験管５番である。結合した装填分子の量は、遊離装填分子の量を、同じ濃度の装填分子を、しかし疎水性コアの担体なしで容れた対応するコントロールから減算することにより、計算することができる。フィルタを通過した装填分子の定量はHPLCで行なわれた（図１０を参照されたい）。その結果、C12脂肪酸修飾のないPLPEG-II
はその重量の20%に等しいGLP-1に結合することができることが示された。しかし、C12脂肪酸修飾のないPLPEG-IIは、可能な限りのGLP-1の全ての結合を示した。これは、PLPEG-II-C12 はその重量の少なくとも32%に等しいGLP-1に結合することができることを示すものである。遊離GLP-1の量は従来のHPLC-UV検出法を用いても検出できないことから、遊離GLP-1の量は10 nM未満であることが分かる。この条件下での遊離GLP-1 の精確な量はGLP-1用のElisaキット（ミズーリ州セントチャールズ、Linco社）を用いて確認することができる。

【実施例１１】

【０２４９】

20PLPEG5-55の合成及び品質の確認：　PLPEG （ポリリジン-ポリエチレングリコールコポリマ）のアミノ基/mgの量と、ポリリジンのアミノ基飽和％との間の理論的及び実際の関係を判定するために、最終PLPEG生成物の1mg当りで表されるTNBS反応で測定されるアミノ基に基づいてポリリジンの飽和度を予測する等式を開発した。これは、いずれかのカルボキシル含有化合物で、当該反応に用いられるＰＥＧの純度が95-100% であるときに用いることができる。この等式はPLPEGの組成を二次的に確認するものとして大変有用である。理論上の予測は以下の等式を用いて計算された：X= [100x(C-Y)]/5YC+C]；但し式中、X は% 飽和度であり；YはTNBSで判定したときのPLPEG1グラム当りのmmol NH_2 であり；CはTNBSで判定したときのPL（ポリリジン）1グラム当りのNH_2のmmolである。等式中、用語5YCの5は用いたPEGの大きさを表し、この場合は5kDaであるため、5YCである。10 kDaのPEGを用いた場合、これは10YCとなるであろう。これは便利である。なぜならPLPEG生成物がいったん形成されれば、ポリリジンのアミノ基の飽和度は、最終生成物の一回のTNBS検定でYを判定することで判定でき、そこからXも計算することができるからである。この等式は、以下の通りに高純度のMPEGスクシネートを用いてPLPEGを合成することにより、実験データに対して検査された。1 gm の 20PL （今回、1 gm は1.7 mmol のNH2を有する）を100 mlの200mM HEPESに溶解させた。別の容器で25

ml の10 mM MESpH=4.7 に溶かした5 g の MPEGスクシネートを、250 mg のNHSS、続いて500 mg EDC 水溶液を加えることで活性化した。活性化を１８－２０分間、進ませた。活性化したMPEGスクシネートを20PL溶液に加え、４時間、反応させた。４時間後、更に5gの MPEGスクシネートを活性化させ、上述の通りに添加し、一晩、攪拌しながらインキュベートした。翌日、アミノ基を測定し、0.77 mmol であることが見出されたため、アミノ基が55%飽和していることが示された。この試料のうちの小量を、100kDa分子量カットオフ・フィルタを通す限外濾過による洗浄前（図３２のパネルＡ）及び洗浄後（図３２のパネルＣ）にサイズ排除クロマトグラフィで解析し、コポリマの直径を判定した（図３３）。洗浄後の試料を凍結乾燥させ（8グラム；20PLPEG5-55と呼称）、乾燥した最終生成物1mg当りのアミノ基の量をTNBS検定 (Sparado et al. Anal Biochem 96:317, 1979)で判定した。上記の等式を用いてPEG飽和度が55%であることを確認した（図３１）。他にもいくつかの合成を行い、その理論を実験と比較した（図３１）。

【実施例１２】

【０２５０】

C18-20PLPEG5-55(PGC-HC18)の合成： 8 gm の 20PLPEG5-55 (1.6 mmol NH2) をTEA (200 ul; Mw=101; 2mmol)を加えた143 ml DCMに溶解させた。DCC (Mw=206; 0.47ml=0.618g=3.0 mmol) を加え、２時間インキュベートする（溶液はNHS活性化FAとして不溶性になり、ウレアが形成する）ことにより、ステアリン酸又はC18 (570 mg;
Mw=285; 2 mmol)を活性化させ、230 mg
NHS (Mw=115; 2mmol) の 5.7 ml DMF溶液で安定化させた。活性化したC18を20PLPEG5-55溶液に加え、反応させた。２時間後にこのプロセスを繰り返し、攪拌しながら週末かけてインキュベートした。総体積は 160 ml (PLPEGは50mg/mである l) であり、この反応混合液のうちの40ul を1 ml の水に希釈して150 ulのアリクォートをアミノ基について検定した(2mg/ml;0.002umol-NH2/mg)。不溶性のウレアをフィルタ番号１番のWhatman フィルタ・ペーパを用いてろ過した。濾過物を回転蒸発法で濃縮し、４ l の70%エタノールで一晩、続いて1Lの水を加えた100kDa分子量カットオフ・フィルタを通した限外濾過で洗浄した。この試料を0.2um フィルタを通して濾過滅菌し、凍結乾燥させた (6.7 g)。

【実施例１３】

【０２５１】

C24-20PLPEG5-55の合成: 3 gm の 20PLPEG5-55
(0.6 mmol NH2) を、100ulのTEAを加えた60ml DCMに溶解させた。DCC (Mw=206;
0.17ml=0.226g=1.1 mmol) を加え、２時間インキュベートする（不溶性のウレアはNHS活性化FAとして沈殿し、ウレアが形成する）ことにより、リグノセリン酸又はC24 (Mw=368.6;
276 mg;0.75mmol) を活性化させ、 NHS (86
mg; Mw=115;0.75mmol) の2.7 ml DMF溶液により安定化させた。活性化したC24を20PLPEG5-55溶液に加え、反応させた。２時間後にこのプロセスを繰り返し、攪拌しながら一晩かけてインキュベートした。総体積は 70 ml だった。この反応混合液の23ulを1 mlの水に希釈し、150ul のアリクォートをアミノ基(1mg/ml)について検定すると6uMの水ブランクよりも僅かに上である8 uM を含有していることが見出された。不溶性のウレアを１番Whatmanフィルタ・ペーパを用いてろ過した。その濾過物を回転蒸発法で濃縮し、4Lの70%エタノールで一晩、続いて1Lの水を加えた100 kDa分子量カットオフ・フィルタを通した限外濾過で一晩、洗浄した。この試料を0.2 um フィルタを通して濾過滅菌し、凍結乾燥させた (1.9g)。

【実施例１４】

【０２５２】

GLP-1によるC18-PLPEG5-55
(PGC-HC18) の装填。 GLP1(200 ug) を500 ul の 70% アセトン／水 (v/v)に溶解させ、乾燥バイアルに容れた10 mg の担体に移した。200 ug GLP1 を含有するこの担体を、こ

の試料を凍結させたり、暴力的に沸騰させることのないよう、印加される真空量を制御することで注意を払いながら、温和な真空中で蒸発させた。溶液が乾燥したら、後での使用に向けてバイアルを密封した。バイアル中のペプチド試料は４℃では数ヶ月間、大変安定である。今までのところ、この条件下ではGLP-1の分解を観察していない。この装填プロセスは図３４に示した結果に基づき、PGC-HC24を用いて開発された。乾燥したらすぐに試料にふたをし、使用時まで４℃の冷凍庫内に保管した。装填後の担体は通常、注射用のPBSで再構築されるであろう。これらの全ては無菌条件下で行なわれる。代替的には、再構築後に最終生成物を0.5 um フィルタを通して濾過することができる。こうして濾過後の生成物を凍結乾燥させることができる。アセトニトリルメタノール又はエタノールなどのアセトン以外の溶媒を用いることができる。これらの溶媒の目的は脂肪酸を部分的に可溶化させてペプチドが近くなるようにすることである。乾燥中、揮発性の溶媒が消失するにつれ、当該のペプチドは脂肪酸に近付いてそれに結合するであろう。これらすべて溶媒が水よりも低い沸点を有することに注目されたい。
(アセトン bp=57°C;
アセトニトリルbp=80°C;
メタノールbp=65°C;
エタノールbp=78°C)。装填比はペプチドや所望の血中濃度に依るであろうが、通常は担体重量に対して2-20%ほどである。GLP1 ペプチドの場合、僅かに 4-5% が高親和部位（nM）で結合し、残りの6 % は低親和部位(uM)で結合する。我々は血中のGLP1濃度を低く維持したかったため、我々は高親和部位のみを用い、従って我々は通常、担体重量の 2 % を装填した。
【実施例１５】
【０２５３】
PGC-HC18及びGLP1間の解離定数（Kd）の判定。 PGC-HC18は20kDa ポリリジンから成る疎水性コアの担体であり、但しこのときアミノ基の55%は 5 kDa 分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。試験管１本当り5 mgの担体を容れた複数の試験管を0.50、0.40、0.30、0.25、0.20、0.15、0.1mg のGLP1に三重にして混合した。各バイアル中で担体と混合したGLP-1の量は担体重量の2、3、4、5、6、8、及び10% であった。担体を含有しないブランク試験管も準備し、その後の手続きでは同様に処理した。これらの試料を凍結乾燥させ、70%アセトンの100 ul アリクォートを各バイアルに加え、試料を乾燥するまで蒸発させた。該試料を500 ul の PBS (pH 7.3)で再構築し、結合したGLP1を100MWCO再生セルロース・フィルタ (マサチューセッツ州ベッドフォード、Millipore社)を用いて10,000xgの１２分間の遠心分離により濾過した。遊離GLP-1を含有する濾過物を逆相HPLCで定量した。フィルタ内に残った物質を上述した通りに遠心分離により100ulの70%アセトニトリルで３回洗浄し、各試料から出たGLP1 (結合部分) を逆相HPLCで定量した。結合／遊離値を計算し、結合値に対して表にした（図３５）。遊離に比較したときの結合GLP-1の相対量を図３７に示す。直線状領域の回帰直線の傾斜は -1/Kdとなり、ここからKds が計算された（図３５）。各担体には三つの異なる Kdsがあることが見出された。249nMのKdは高い方の親和部位であり、この親和性を持つ部位の推定上の数は担体一つ当り4-5である。２番目の 3.7 uM のKdは担体一つ当り２部位を表す中間の親和性である。３番目の33 uM のKdは担体一つ当り別の２部位を表す最も低い親和性である。後者の２つの親和性はGLP-1送達の目的には余り関係のない部位である。なぜならこれらはGLP-1に対するDPP4 酵素 (GLP-1 分解酵素) のKm（300uM）に近い親和性を有するからである。
【実施例１６】
【０２５４】
PGC-HC24及びGLP1間の解離定数（Kd）の判定。 PGC-HC24は20kDa ポリリジンから成る疎水性コアの担体であり、但しこのときアミノ基の55%は 5 kDa 分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はリグノセリン酸又はC24と反応させた。試験管１本当り5 mgの担体を容れた複数の試験管を0.50、0.40、0.30、0.25、0.20、0.15、0.1mg のGLP1

に三重にして混合した。担体と混合したGLP-1の量は担体重量の2、3、4、5、6、8、及び10% であった。担体を含有しないブランク試験管も準備し、その後の手続きでは同様に処理した。これらの試料を凍結乾燥させ、70%アセトンの100 ul アリクォートを各試験管に加え、乾燥するまで蒸発させた。該試料を500 ul の PBS (pH 7.3)で再構築し、結合したGLP1を100 MWCO再生セルロース・フィルタ(マサチューセッツ州ベッドフォード、Millipore社)を用いて10,000xgの１２分間の遠心分離により濾過した。遊離GLP-1を含有する濾過物を逆相HPLCで定量した。フィルタ内に残った物質を上述した通りに遠心分離により100ulの70%アセトニトリルで３回洗浄し、各試料から出たGLP1(結合部分) を逆相HPLCで定量した。結合／遊離値を計算し、結合値に対して表にした（図３６）。直線状領域の回帰直線の傾斜は-1/Kd となり、ここからKds が計算された。各担体には三つの異なる Kds があることが見出された。77 nMのKdは高い方の親和部位であり、これらの部位の推定上の数は3-4である。２番目の2 uM のKdは２部位を表す中間の親和性である。後者の親和性は余り関係のない部位である。なぜならこれはGLP-1に対するDPP4 酵素 (GLP-1 分解酵素) のKm（300uM）に近いからである。

【実施例１７】

【０２５５】

GLP1-疎水性コアの担体(PGC-HC18)錯体の溶解安定性の検査。 PGC-HC18 は20 kDa ポリリジンから成る疎水性コアの担体であり、但しこのときアミノ基の55%は 5 kDa 分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。ゲル透過クロマトグラフィは分子をサイズに基づいて溶出させる。PGC-HC18のサイズは 約 300 kDaであるが、他方、GLP-1のサイズは3kDaである。PGC-HC18 がゲル透過カラム (BioSep
2000 カラム；0.78 x30 cm;
Phenomenex社) を通って単独で溶出するとそれはボイド体積(Vo)に近くなって出てくるが、他方、GLP1が単独の場合は絡む又はVtの総容積に近くなってはるくに遅くに出てくる。PGC-HC18及びGLP-1間の非共有結合錯体はゲル透過カラムを通って溶出するが、この錯体はこのカラムの各理論段で平衡になり、その相互作用の強度は、PBS（pH 7.4）中での数千回の平衡後にどれくらいのGLP-1がPGC-HC18に結合したままでいられるかに反映するであろう。これはKdに加えて錯体の安定性の二次的な確認として用いられた。GLP-1-疎水性コアの担体(C18-20PLPEG555)錯体の溶解安定性を、錯体がサイズ排除カラム(0.78x30cm)を通過した後で担体に結合しているGLP-1の量を観察することにより、検査した。それぞれ合計2 mg のGLP-1を多様な量のC18-担体に図３４で概観したアセトン法を用いて装荷した。錯体を形成した（結合した）ものと遊離のものの両方のGLP-1を含有する溶液をサイズ排除クロマトグラフィ(n=5)で溶出させ、220 nmで観察した。遊離GLP-1は総体積(Vt) で出てくるが、単体はボイド体積
(Vo)で出てくる。BioSep2000 カラム (0.78 x 30 cm; Phenomenex社)のVoで出てくる、担体に結合したGLP-1の面積を定量するために担体のみをブランクとして用いた。錯体は安定であり、249nM のKdはこの安定性検査の結果と一致している（図３８）。

【実施例１８】

【０２５６】

DPP4による急速な分解からのPGC-HC18によるGLP-1の保護。 PGC-HC18は20 kDa ポリリジンであり、但しこのときアミノ基の55%は 5 kDa 分子量のMPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。PGC-HC18 が GLP-1 をDPP-4による急速な分解から保護するかどうかを判定するために、リン酸緩衝生理食塩水(PBS; pH 7.4) に入れたGLP-1
(1mg/ml)アリクォートをPGC-HC18
(10mg/ml) 又はC18 脂肪酸もしくはPGCのないコントロール担体の存在下又は非存在下でDPP4 (1.25mU/ml; ミズーリ州セントルイス、Sigma Chem.社)で消化した。このPGC は20 kDaのポリリジンであり、但しこのときアミノ基の55%は5kDaの分子量のPEGスクシネート

と反応させてあり、残りのアミノ基は未反応のままであった。２４時間のインキュベート後、DPP4阻害剤を添加して消化を終了させてから、各溶液の10ulアリクォートのHPLC解析を行なった（図３９）。HPLC（マサチューセッツ州ミルフォード、Waters Co.社）解析ではPhenomenex社のMercury SynergyMax-RP (0.4x2cm) を用いるが、1.5ml/分の流速で、５分間かけて25%アセトニトリル／水／0.1 % TFA から 50% アセトニトリル／水／0.1 % TFA までの勾配にして溶出させ、その溶出物を220nmで観察した。DPP4のPBS溶液によるGLP-1の in vitro消化のクロマトグラムは初期溶出ピークとしてインタクト GLP1が示される（右を向いた矢印、図３９）。GLP1 の分解生成物（ヒスチジン残基は取り除かれており、pH 2 のクロマトグラフィ条件では電荷も小さい）は遅い時点で溶出する（左を向いた矢印）。その他のピークはDPP4 ピーク（及びプロテアーゼ阻害剤
(3-4分ピーク)）である。PGC-HC18担体の存在下では、DPP4によるGLP-1の分解は著しく遅れるが、他方、GLP1のみと、PGC（脂肪酸のない担体） のあるGLP-1は同様な程度まで分解する。この解析は何度も行なわれたが結果は大変決定的である。

【実施例１９】

【０２５７】

GLP-1-PGC-HC18錯体は細胞内受容体に結合してCa-インフラックスを刺激するのに充分な遊離GLP-1を有する。 膵臓島細胞上のGLP-1受容体と相互作用することにより、GLP-1は細胞内Ca^{2+}-濃度の増加を含むシグナル伝達反応のカスケードを引き起こし、結果的にインシュリン含有顆粒のエキソサイトーシスを厳密にグルコース依存的態様で増加させる（グルコース濃度が> 4.5 mMのとき）。担体に対するGLP-1の親和性 (Kd 249 nM) はGLP-1のその受容体に対するそれ
受容体 (Kd1nM)よりも小さいため、この受容体の存在下では、遊離GLP-1が放出される方向に有利に平衡が移行するであろうと我々は予測した。我々は、カルシウム・インフラックスを刺激する能力を評価することにより、調合されたGLP-1が培養島細胞上でGLP-1受容体を活性化する能力を検査した。ラットインシュリノーマ細胞（INS-1 細胞）を96 ウェル・プレートに１ウェル当り 200,000 個の細胞になるようにプレートし、RPMI、10% ウシ胎児血清(FBS)、11.1mM グルコース、10mM HEPES (pH 7.4)、1mM ピルビン酸ナトリウム、及び50 uM2-メルカプトエタノールを含有する200ul培地中で37°C/5% CO_2/100% の相対湿度で一晩、付着させた。.翌日、培地を2% FBS、11.1 mM グルコース及び0.5ug/ml Fura 2 （オレゴン州ユージーン、MolecularProbes社）を加えた20ulのリン酸緩衝生理食塩水（PBS）に取り替えた。３０分後、2%
FBS 及び11.1 mM グルコースを加えた180ul PBS 並びにウェルをバックグラウンドの蛍光（励起 340nm; 放出 510nm）について、Chemeleon (ワシントンＤＣ、BioScan社)を用いて観察した。１０ｇ秒後、300 nM GLP1か、あるいは、300 nM
GLP1 と150 nMPGC-HC18又は 150 nM PGC-HC18、を加えた、又は加えていない20 ul の PBSをそれぞれウェル(n=5) に注入し、各ウェルの蛍光を６０秒間観察した（励起340 nm; 放出 510nm）。図４０に示すように、PGC-HC18を調合されたGLP-1はINS-1島細胞のカルシウム・インフラックスを刺激したことから、GLP-1受容体に結合して活性化するのに充分なGLP-1を放出するその能力が確認された。

【実施例２０】

【０２５８】

GLP-1-PGC-HC18錯体は細胞内受容体に結合してグルコース刺激性インシュリン分泌を更新するのに充分なGLP-1を有する。 調合されたGLP-1の活性を更に確認するために、GLP受容体活性化の結果起きるインシュリン放出のグルコース性刺激の亢進に対するGLP1及び調合されたGLP-1の効果を検査した。ラットインシュリノーマ細胞(INS-1 細胞) を96 ウェル・プレートに１ウェル当り 50,000個の細胞になるようにプレートし、
RPMI、10% ウシ胎児血清(FBS)、11.1mMグルコース、10mM HEPES
(pH 7.4)、1mM ピルビン酸ナトリウム、及び50 uM 2-メルカプトエタノールを含有する100ulの培地中で37°C/5%CO_2/100% の相対湿度で一晩、付着させた。翌日、グルコースのない更なる 100ulの培地を加えて総グルコース濃度を5.5 mMとした。それら細胞を更に

一晩、インキュベートした。グルコース（11.1mM）並びに様々な量の GLP1 (0、0.33、1及び 3 nM)、PGC-HC18(0、0.17、0.33 及び 1 nM)、PGC-HC18 (0、0.17、0.33 及び1 nM)に入れたGLP1 (0、0.33、1及び3 nM) 、を含有する200ulの無血清培地に培地を取り替えることで、グルコース刺激性インシュリン放出を誘導した。用いたPGC-HC18は用いたGLP-1の 0.5 モル等量である。３０分後、上清を採集し、細胞が放出したインシュリンの量を Linco 社(ミズーリ州セントチャールズ、LincoResearch社)のELISA検定キットで判定した。その結果は、GLP-1調合物はINS細胞におけるインシュリン分泌を遊離 GLP-1と同様に亢進することを示しており、当該調合物の活性が裏付けられた（図４１）。更にGLP-1調合物は、GLP-1及びGLP-1調合物で刺激されたINS-1細胞の抽出物で検出された通り、遊離GLP-1と同様にインシュリンの合成を亢進する。

【実施例２１】

【０２５９】

PGC-HC
はGLP-1の生物学的半減期を延長する。 このin vivo プロトコルには、体重約２５ｇのメスのBalb/c マウス（引退したブリーダー、Charles
River氏）を用いた。GLP-1分析に干渉するであろう高脂血症を避けるために、使用前に動物を絶食（１６時間）させた。イソフランによる麻酔下で断頭することで、採血時に１群当り７匹のマウスをと殺した。薬物が投与されていない t=-1 の時点で７匹のマウスをと殺して群毎の基線を判定した。 t=0 にマウスに、調合されていない50pmolのGLP-1か、又は50pmolのGLP-1を25pmolのPGC-HC18を調合物の100ul生理食塩水溶液に入れたものを注射した。この注射は尾の側脈注射による大量注射として行なわれた。同一の実験は、尾の基部近傍の背側皮下に薬物を投与することでも行なわれた。これは二つの異なる投与経路を用いたときのGLP-1調合物の薬物動態変化を判定するために必須であった。これにより、皮膚組織への投与が調合されたGLP-1の血中半減期を更に延長することを我々は確認できた。１群当り７匹のマウスを投与後様々な時点で断頭によりと殺し、メーカ（ミズーリ州セントチャールズ、LincoResearch社）の指示通りに用いられたDPP4阻害剤を容れたマイクロ遠心管にその血液試料を採集した。血清中の総GLP-1をLinco社（ミズーリ州セントチャールズ、LincoResearch社）のGLP-1 ELISA検定キットを用いて測定した。担体に結合したGLP-1に比較したときの血中の遊離GLP-1の量を判定するために、希釈した血清を100 kDa分子量カットオフの再生セルロース・フィルタ（マサチューセッツ州ベッドフォード、Millipore社）を通してろ過し、この濾過物中の遊離GLP-1を上述したLinco検定キットを用いて判定した。図４２及び４３は両者とも、PGC-HC18 が GLP-1のin vivo での半減期を延長すること、そして皮下投与によりGLP-1の半減期が更に向上することを示している。その上、皮下投与により、図４３に示すように、遊離GLP1が血清中の総GLP-1よりも遥かに少ない場所である皮膚からのPGC-HC 担体の放出が可能である（y軸が対数尺度であることに注目された）。同様な実験をラットで行なった。簡単に説明すると、このin vivoプロトコルでは、予め頚部にカニューレを挿入してある体重350-370gのオスのSprague Dawley (HSD) ラットを用いた。GLP-1分析に干渉するであろう高脂血症を避けるために使用前に動物を絶食（１６時間）させた。GLP-1
(50 nmol) 又はPGC:GLP-1 調合物投与前の t = -1 分の時点で血液試料（250ul）を採取した。 t = 0分の時点でGLP-1 (50 nmol) 又は GLP-1 (50 nmol) をPGC-HC18 (25nmol) に入れて含有する1mlのリン酸緩衝生理食塩水を側方尾静注により大量注射として与えた。カニューレ挿入した頚部静脈から、様々な時点で血液試料を採取した。９６時間目の終わりに動物に過量のペントバルビタール（200mg/kg）を静脈注射してと殺した。この実験の結果から、PGC-HC18で調合されたGLP-1は、未調合のGLP-1よりも長い生物学的半減期を有することが確認できた（図４４）。

【実施例２２】

【０２６０】

糖尿病治療のためのPGC-HC1中に調合されたGLP-1の使用。 簡単に説明すると、このin vivoプロトコルでは、１２週齢のオスのSprague-Dawley

(HSD) ラット（インディアナ州インディアナポリス、Harlan社)を23 ± 1°C で１２：１２時間の明暗サイクルで収容し、適宜食餌と水を与えた（ウィスコンシン州マジソン、Teklad社、飼料LM-485）。全てのラットは実験開始前に体重測定し、全てが240-260グラムであることを見出した。ストレプトゾトシン（STZ; 100mg/kg）をpH 4.5の200 ul 50 mM ナトリウム-クエン酸緩衝液に入れたものの側方尾の静脈注射により、これらのラットのうちの２０匹で糖尿病を誘発した。尾の先端のスニップ血採取（5ul）により２日目から毎日、非絶食時血糖レベルを観察したが、血糖レベルはGlucometer（インディアナ州ミシャワカ、Bayer社、AscensiaElite） 及び検査片（インディアナ州ミシャワカ、Bayer社)を用いて測定された。１０日後、340-380mg/dl の平均非絶食時血糖レベルに基づき、ベータ細胞塊の９５％の破壊があった動物（19）を研究用に選抜した。これらの動物を四つの群に分けた：STZ処置(n=4)、STZ-処置後にGLP-1なしのPGC-HC18 のみによる処置(n=5)、STZ処置後にGLP-1処置(n=5)、及びSTZ-処置後にPGC-HC18 調合物に入れたGLP-1による処置(n=5)。糖尿病誘発後の処置は２日毎(月曜日、水曜日、金曜日)に４週間、皮下的に施された。処置用量は
リン酸緩衝生理食塩水、GLP-1 (20ug)、PGC-HC18 (1mg)に入れた GLP-1
(20ug) 、PGC-HC18(1mg)を含んでいた。GLP-1、PGC-HC18、及びPGC-HC18 調合物に入れたGLP-1を１mlのリン酸生理食塩水で再構築し、２日毎（月曜日、水曜日、金曜日）に４週間、背側肩の皮膚に皮下注射して投与し、グルコース測定に向けて尾の採血をした。最後の注射又は処置及び採血終了時にラットを体重測定して糖尿病の重篤度を判定した（実験開始からの総体重消失分）。なぜならこれらは全てほぼ同じ重量で開始したからである。その後ラットを１６時間、翌日の腹腔内糖耐性検査に向けて絶食させた。糖耐性検査には絶食が必要であった。ラットに麻酔をした後、2 ml のグルコース (1.0 mg/体重1g) と、島細胞新生マーカとして5’-ブロモ-2’-デオキシウリジン (BrdU) (50 mg/体重1kg) を腹腔内注射した。インシュリン及びグルコース測定に向けて、血液(250 ul) は尾の静脈からグルコース/BrdU注射から-2、0、2、5、10、20、30、及び60 分の時点で採取されるであろう。６０分間の最後に動物にイソフラン麻酔をし、下大静脈を切断して瀉血させることで動物をと殺してから、免疫化学検査に向けて膵臓を取り出した。この膵臓は、BrdU 取り込み、アポトーシス、インシュリンの免疫組織化学的解析やベータ細胞塊の判定に向けて取り出された。PGC-HC18で調合されたGLP-1で処置されたラットは、コントロール群よりも低い平均蓄積血糖を有しており、PGCHC18に調合されたGLP-1はこれらのラットで糖尿病の重篤度を軽減する上で正の影響力を有することが示された（図４５）。その上、糖尿病に関連する重篤な体重減少が、コントロール群に比較してPGC-HC18で調合されたGLP-1による処置で妨げられた（図４６）。これらの動物由来の膵臓をBrDUについて染色して、島細胞中の分裂細胞の数を判定した（図４７）。

【実施例２３】

【０２６１】

非ペプチド有機化合物はPGC-HC18に結合する。 ドキソルビシンは多様なヒトの癌の治療に用いられる非ペプチド有機化合物である。PGC-HCの能力の汎用性を実証するために、 PGC-HC18にドキソルビシンを装填して解離定数(Kd)を判定した。HPLCによるドキソルビシンの当初の解析では、それがGLP-1よりも遥かに低い有機溶媒濃度で溶出すること、従ってGLP-1for PGC-HC18への結合についてはGLP-1よりも高いKdを有すると予測されることが示された。 この実験のために、0.006、0.012、0.018、0.024、0.030、0.036 mgのドキソルビシン
(Mw=580)を2mgのC18担体への結合に向けて用いた。１５mgの担体を1.5ml の水に溶解させ、200ul のアリクォートを各試験管内に入れて乾燥させた。１．５mgのドキソルビシンを0.75 ml
の水 (2mg/ml)に溶解させた。 0、3 (0.006mg 又は 0.3%)、6 (0.012mg 又は 0.6%)、9 (0.018mg 又は0.9%)、12(0.024mg 又は 1.2%)、15 ul (0.030mg 又は 1.5 %)、及び 18 ul
(0.036mg 又は1.8%)のドキソルビシンのアリクォートを、乾燥後の担体の各アリクォー

トと担体なしのブランク試験管に加えた。50% tert-ブタノールを加えてこれらの試験管を72ulにし、蒸発乾燥させた。乾燥した試料を250ul の PBS (pH 7.3)に溶解させ、２時間の平衡後に各試料を100 MWCO 再生セルロース・フィルタ（マサチューセッツ州ベッドフォード、Millipore社）による10,000xgで１２分間の遠心分離でろ過した。濾過物中のドキソルビシン（遊離又は結合したドキソルビシン）をHPLC (マサチューセッツ州ミルフォード、ダイオード・アレイを付けたWaters2975)で定量した。このHPLC解析ではPhenomenex社の MercurySynergyMax-RP from (0.4x2cm) を用い、 1.5ml/分の流速で、0.1 % TFAを加えた水に対してアセトニトリルを25-50%の勾配にして５分間かけて溶出させ、溶出物を220 nmで観察した。遊離ドキソルビシンを総ドキソルビシンから減算して結合分を得た（図４８）。ろ過に用いられた再生セルロース・フィルタはこの解析に干渉するほど有意な量のドキソルビシンを結合させない。結合／遊離値を計算し、結合値に対する表にした（図４９）。直線状の領域の回帰直線の傾斜は -1/Kd を表し、ここからKdsを計算した。ドキソルビシンは PGC-HC18に315nMのKdで相互作用することが見出された。

【０２６２】

以上、理解が明確になされるように描写や実例を挙げて前記の発明を幾分詳細に解説してきたが、当業者であれば、付属の請求項の精神及び範囲から逸脱することなくいくつかの変更及び改良が可能であることは容易に確認されるであろう。

【０２６３】

引用による援用

ここに引用した特許及び公開文献のすべてを、引用をもってここに援用することとする。

【０２６４】

均等物

当業者であれば、ごく慣例的な実験を用いるのみで、ここに解説した本発明の具体的な実施例の均等物を数多く認識され、又は確認できることであろう。このような均等物は以下の請求項の包含するところと意図されている。

【図面の簡単な説明】

【０２６５】

【図１】図１は、本発明の疎水性コアの組成物の一実施態様の概略図である： Ａ）保護側鎖；Ｂ）ポリマ製コア（黒）；Ｃ）疎水性鎖（灰色）；及びＤ）当該担体に近い基部の保護側鎖同士の間の空間は、３６０度の分布のために少なくとも9nmである。なぜなら図示のコアの６個のポリマ残基当り１個の保護側鎖があるからである。小さな丸は装填分子を表す。例えば：水和化アルブミン（直径 = 7.2 nm）；水和化成長ホルモン（直径 =3 nm); 糸球体濾過 直径< 4 nm;ベータ-2 マクログロブリン (直径 = 3.2 nm); ミオグロビン (直径 =3.9 nm); ヘモグロビン (直径 = 6.5 nm); ガンマグロブリン (直径 = 11.1 nm); 及びベンス-ジョーンズタンパク質(直径 = 5.5 nm)。

【図２】図２は、本発明の組成物を作製する上で有用なアミド結合を作るための多様な化学反応の図である。；R_1 はアルキルカルボキシル又は芳香族カルボキシルであってよく、そしてR_2はポリリジン又はポリリジン-PEGであってよく；あるいはR_1 はPEG-カルボキシルであってよく、そしてR_2 はポリリジン、アルキル-ポリリジン、又は芳香族-ポリリジンであってよい；あるいはR_1 はポリグルタミン酸又はポリアスパラギン酸であってよく、そしてR_2はPEG-アミン、アルキルアミン又は芳香族アミンであってよい；あるいはR_1はポリグルタメート-PEG又はポリアスパルテート-PEGであってよく、そして R_2はアルキルアミン又は芳香族アミンであってよい。EDCは水溶性型のDCCであり；両者を用いて当該反応を行なわせることができる。

【図３】図３は本発明の組成物を合成するためのスキームの概略図である。

【図４】図４はPEG保護基、その類似体又は誘導体をアミノ基含有担体に加えるために用いてもよい化学反応のいくつかの図である。

【図５】図５は、アルデヒドPEG誘導体をアミノ基含有担体に加えるために用いてもよい化学反応のいくつかの図である。これらは二段階の縮合－還元反応である（ａ＆ｂ）。

【図６】図６は、PEG保護基、その類似体又は誘導体をヒドロキシル含有担体に加えるために用いてもよい化学反応のいくつかの図である。
【図７】図７は、アルキル疎水性基をヒドロキシル含有担体に加えるために用いてもよい化学反応のいくつかの図である。
【図８】図８は、芳香族疎水性基をヒドロキシル含有担体に加えるために用いてもよい化学反応のいくつかの図である。
【図９】図９は、イプシロンアミノ基を多様な濃度のMPEGと反応させた後の生成物1mg当りのポリリジン（PL）中の遊離イプシロンアミノ基のグラフである。Y軸は生成物（PLPEG）1mg当りの遊離イプシロンアミノ基の量であり、x軸は反応前の半応体（PEG及びPL）の比率である。
【図１０】図１０は、PLPEG-III-C12及びPLPEG-IIIと一緒にインキュベートした後の遊離GLP-1のHPLCによる追跡を示す。；Ａ）総GLP-1は0.5mlのPBS中、180μgである。これは100kDaフィルタを通過させたGLP-1の50μl注入液である。担体への結合に利用できる総 GLP-1 量は144μgである；Ｂ）450μg PLPEG 担体に結合しなかったGLP-1の50μlの注入液である。100kDa フィルタを通過させた非結合性GLP。結合しなかった総GLP-1は55μgである。C12のないPLPEGの総収容力はその89μg、即ちその重量の２０％である；Ｃ）これは450μgのC12-PLPEG担体に結合しなかったGLP-1の50μlの注入液である。非結合性GLP-1は100kDa フィルタを通過するはずである。結合しなかった総GLP-1量は0μgである。450μgのC12-PLPEGの総収容力は少なくとも144μgである（すべて利用可能である）。追跡は、疎水性コアの担体中の疎水性部分の存在が、担体への装填分子（この場合はGLP-1）の結合を増加させることを実証している。
【図１１】図１１は、担体、疎水性基を含み、そして（Ｂ）装填分子のある、及び（Ａ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図１２】図１２は、担体、疎水性基、配向分子を含み、そして（Ｂ）装填分子のある、及び（Ａ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図１３】図１３は、担体、保護鎖、疎水性基を含み、そして（Ｂ）装填分子のある、及び（Ａ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様であって、前記疎水性基が保護基とは独立に担体に接着されている実施態様の図を示す。この組成物のコア中の疎水性部分の密度は、担体上の全ての部位が疎水性基で占められている場合ほどには高くないであろう。
【図１４】図１４は、担体、保護鎖、疎水性基、配向分子を含み、そして（Ｂ）装填分子のある、及び（Ａ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様であって、前記疎水性基が保護基とは独立に担体に直接接着されている実施態様の図を示す。この組成物のコア中の疎水性基の密度は、担体上の全ての部位が疎水性部分で占められている場合ほどには高くないであろう。
【図１５】図１５は、担体、保護鎖、標的決定分子、疎水性基を含み、そして（Ｂ）装填分子のある、及び（Ａ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様であって、前記疎水性基が保護基とは独立に担体に接着されている実施態様の図を示す。この担体上の疎水性基の密度は、コア中の全ての部位が疎水性基で占められている場合ほどには高くないであろう。
【図１６】図１６は、担体、保護鎖、標的決定分子、疎水性基、配向分子を含み、そして（Ｂ）装填分子のある、及び（Ａ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様であって、前記疎水性基が保護基とは独立に担体に接着されている実施態様の図を示す。この担体上の疎水性基の密度は、担体の全ての部位が疎水性部分で占められている場合ほどには高くないであろう。
【図１７】図１７は、担体、前記担体に直接接着された保護鎖、共有結合させた保護鎖を持つ疎水性基、共有結合させた保護鎖を持たない疎水性基、配向分子を含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図１８】図１８は、担体、前記担体に直接接着された保護鎖、共有結合させた保護鎖を

持つ疎水性基、疎水性基、配向分子を含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図１９】図１９は、担体、前記担体に直接接着された保護鎖、共有結合させた保護鎖を持つ疎水性基、標的決定分子、共有結合させた保護鎖を持たない疎水性基を含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図２０】図２０は、担体、前記担体に直接接着された保護鎖、共有結合させた保護鎖を持つ疎水性基、標的決定分子、共有結合させた保護鎖を持たない疎水性基、配向分子を含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図２１】図２１は、担体、共有結合させた保護鎖を持つ疎水性基、共有結合させた保護鎖を持たない疎水性基を含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図２２】図２２は、担体、共有結合させた保護鎖を持つ疎水性基、共有結合させた保護鎖を持たない疎水性基、配向分子を含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図２３】図２３は、担体、共有結合させた保護鎖を持つ疎水性基、標的決定分子、共有結合させた保護鎖を持たない疎水性基を含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図２４】図２４は、担体、共有結合させた保護鎖を持つ疎水性基、標的決定分子、共有結合させた保護鎖を持たない疎水性基、配向分子を含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図２５】図２５は、担体、共有結合させた保護鎖を持つ疎水性基を含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図２６】図２６は、担体、共有結合させた保護鎖を持つ疎水性基、配向分子を含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図２７】図２７は、担体、標的決定分子、共有結合させた保護鎖を持つ疎水性基を含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図２８】図２８は、担体、標的決定分子、共有結合させた保護鎖を持つ疎水性基、配向分子を含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図２９】図２９は、担体と、疎水性をもたらすと共に前記担体に直接接着された保護鎖とを含み、そして（Ａ）装填分子のある、及び（Ｂ）ない、本発明の疎水性コアの組成物の２つの実施態様の図を示す。
【図３０】図３０は、血中で２０分間の天然半減期を持つ仮説上の遊離装填分子である。本担体なしでは、遊離装填分子の濃度に有意な変動がある。担体があると、この遊離装填分子は治療的濃度に維持されるであろう。疎水性の担体のnM濃度は減少していき、その半減期は２０時間である。Ａ）疎水性の担体なしで、5mg/kgの注射を１日に３回行なった結果の装填分子レベル。この装填分子は２０分間の血中半減期を有する；Ｂ）装填分子を装填した疎水性の担体は２０時間の半減期を有する；Ｃ）疎水性の担体により維持される遊離装填分子の治療的レベル。
【図３１】図３１は、PLPEG（ポリリジン-ポリエチレングリコールコポリマ）のアミノ基量／mgとポリリジンの％アミノ基飽和度との間の理論上及び実際の関係を示したグラフである。PLPEGの組成の二次的な確認として大変有用である。このPEG化プロセスは再現性がとても高く、所望の％ＰＥＧ％が達成されるまでTNBSアミノ基検定を反応中のフィードバック指針として用いて反応を続行させることにより、合成中に調節することもできる。収率は開始材料の約 50-60% (5-6gr) である。理論的な予測値は以下の等式を用いて計算さ

れた：X=[100x(C-Y)]/5YC+C]；但し式中、X は ％飽和度である；Y はTNBSで判定したときにPLPEG１グラム当りのNH_2のmmolである；CはTNBSで判定したときのPL（ポリリジン）１グラム当りのNH_2のmmolである。等式中、用語5YCの5は用いたPEGの大きさを表し、この場合は5kDaであるため、5YCである。10kDa のPEGを用いた場合、これは10YCとなるであろう。これは便利である。なぜならPLPEG生成物がいったん形成されれば、ポリリジンのアミノ基の飽和度は、最終生成物の一回のTNBS検定でYを判定することで判定でき、そこからXも計算することができるからである。

【図３２】これらは100kDa MWCO メンブレン（マサチューセッツ州ニードハム、Amersham Biosciences社）を通す洗浄前及び洗浄後の、当該反応生成物のゲル濾過クロマトグラムであり、未反応のPEGはすべて取り除かれていることが分かる。用いたカラムは Ultrahydrogel リニア(0.78x30 cm、Waters社）であり、0.6 ml/minPBSの流速で溶出させた。物質は屈折率検出器を用いて検出された。パネルＡは、未反応の5kDaのPEGを除去する前の20PLPEG5-55である(20 kDa ポリリジン、但しアミノ基の55%は5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させた)。パネルＢは、5 kDa PEGのみである。パネルＣは除去後の20PLPEG5-55である。

【図３３】これらはストークス半径の判明しているタンパク質と一緒に示した多様な担体のストークス半径である。これらはUltrahydrogel リニア・カラム (0.78 cm直径x30 cm 長) で15%アセトニトリルを加えたPBSを用い、移動相として0.6 ml/分の流速にして分析された。20PL-PEG5-55(20 kDa ポリリジン、但しアミノ基の55% は5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させた)、40PL-PEG5-30(40 kDa ポリリジン、但しアミノ基の30% は5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させた)、40PL-PEG5-51 (40 kDa ポリリジン、但しアミノ基の51%は5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させた)、及び40PL-PEG5-27 (40 kDa ポリリジン、但しアミノ基の27%は5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させた) は、直径で4nm（40オングストローム）（又は半径で20オングストローム）よりも上である糸球体濾過カットオフよりも大きい。サイログロブリン (669 kDa; 85.5 オングストロームのストークス半径)、カタラーゼ (248 kDa; 52.2 オングストロームのストークス半径)、及びBSA(67kDa; 35.5 オングストロームのストークス半径)を含む、ストークス半径の判明しているタンパク質を基準として用いた。

【図３４】これは多様な条件下（n=6）での疎水性の担体の装填効率を示す図である。y軸は担体に結合しなかった量である。この図において、10mgのPGC-HC24 (20PLPEG5-55 C24; これは20kDa ポリリジンである、但しアミノ基の55% は5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はリグノセリン酸又はC24) に0.6 mg のGLP1 をx軸で示す多様な条件下で装填した。装填後、全ての試料を再考1 ml PBS (pH 7.4) にし、100 kDa 分子量カットオフ・セルロース・フィルタ（マサチューセッツ州ベッドフォード、Millipore社） を通してろ過して、各濾過物中の遊離GLP-1を逆相HPLCを用いて定量した。このフィルタは、担体のないコントロール試料（図示せず）で判定したところ、GLP-1に結合しない。この条件は、装填量が最も高いのは70%アセトン後に乾燥した場合であることを示している。この具体的な装填プロセス（アセトンを用いたもの）は、他のタンパク質でも有効であると予測されるが、他方、他のプロセス、特に水による装填はタンパク質毎に異なるであろう。このプロセスは、タンパク質の疎水性部分及び担体の疎水性部分を露出する溶媒の能力を利用するものである。大型のタンパク質10-30kDaの場合、変性のリスクは、有機溶媒の量を減らすことにより、抑えることができる。

【図３５】これは、C18に基づくPGC-HC（C18-20PLPEG5-55；これは20 kDa ポリリジンであり、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。）はペプチド（例えばGLP-1）に４－５部位でナノモル範囲（249nM）のKdで結合することを示している。他の部位は、二つの部位に対してKdが 2.7uM、そして別の二つの部位に対してKdが33uMという、より低い親和性を有する。この実験では10mgの担体に多様な量のGLP-1を（図３４で解説したように、アセトン法）装填した。装填された各担体を1 ml PBS に溶解させ、２時間、平衡させた。遊離及び結合GLP-1を含有する各溶液を100kDa 分子量カットオフ・フィルタを通してろ過し、遊離GL

P-1を含有する各濾過物を逆相HPLCで定量した。各溶液からの結合GLP1を70% アセトニトリルで放出させ、同様にHPLCで定量した。

【図３６】これは、C24に基づくPGC-HC（C24-20PLPEG5-55；これは20 kDa ポリリジンであり、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はリグノセリン酸又はC24と反応させた。）はペプチド（例えばGLP-1）に３－４部位でナノモル範囲（77nM）の狭いKdで結合することを示している。他の部位は、二つの部位に対してKdが2uMという、より低い親和性を有する。他の低親和性部位は分析しなかった。この実験では10mgの疎水性コアの担体に多様な量のGLP-1を（図３４で解説したように、アセトン法）装填した。装填された各担体を1 ml PBS に溶解させ、２時間、平衡させた。遊離及び結合GLP-1を含有する各溶液を100kDa 分子量カットオフ・フィルタを通してろ過し、遊離GLP-1を含有する各濾過物を逆相HPLCで定量した。各溶液からの結合GLP1を70 % アセトニトリルで放出させ、同様にHPLCで定量した。

【図３７】この図はGLP-1のC18-PL-PEG5-55に対する装填を示す（この疎水性コアの担体は20 kDaポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた）。グラフは、10mgの疎水性コアの担体に多様な量のGLP-1（x軸）を図３４で解説したアセトンを用いて装填したときの結合（灰色の棒）及び遊離（白抜きの棒）GLP-1の量を示す。装填された各担体を1ml PBSに溶解させ、２時間、平衡させた。遊離及び結合GLP-1を含有する各溶液を100 kDa 分子量カットオフ再生フィルタ（マサチューセッツ州ベッドフォード、Millipore社）を通してろ過した。70%アセトニトリルの後に同様な濾過を行なって放出させた遊離及び結合GLP1を含有する各溶液を逆相HPLC（n=9）で定量した。見られるように、装填収容力は担体一個当り４－５部位となる4 乃至 5 %の間 (0.4 － 0.5 mg / 10 mg の担体)である。1.0mg の装填ではタンパク質の僅かに３分の２しか、装填されないことに注目されたい。収容力を超える装填量の増加はおそらく、3.7 uM 及び33 uMのKdを持つ、付加的な低い親和性部位によるものであろう。これらの部位は、PEGとの、あるいは、ナノ構造内の表面の他の組合せとの、相互作用によるものかも知れない。

【図３８】グラフは、担体をPBS中で数千回も平衡させて後でも、担体に結合したままのGLP-1の量を示す。GLP1-疎水性の担体(C18-20PLPEG555)錯体の溶解安定性は、錯体をサイズ排除カラム(0.78x30cm)に通した後のGLP-1-結合担体の量を観察することにより、検査された。合計2 mgのGLP-1 が多様な量のC18-担体に、図３４に概観したアセトン法を用いて装填された。錯体形成した（結合）及び遊離GLP-1の両者を含有する溶液をサイズ排除クロマトグラフィ（n=5）を通して溶出させ、220 nmで観察した。遊離GLP-1 は総体積 (Vt)で出てくるが、担体はボイド体積(Vo)で出てくる。担体のみをブランクとして用いて、BioSep2000 カラム (0.78 x 30 cm; Phenomenex社)のVoで出てくる担体に結合したGLP-1の面積を定量した。その高い標準偏差は、装填量のばらつきよりも高いブランクが原因であることに注目されたい。これは基本的には、当該錯体が安定であることを示しており、249nM のKdはこの安定性検査で裏付けられた。

【図３９】PGC-HC18担体（この疎水性コアの担体は20 kDa ポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた）又は20PLPEG5-55（これは担体であり、20kDa ポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基は未反応のままとした）の存在下及び非存在下におけるリン酸緩衝生理食塩水中のDPP4によるGLP1のinvitro消化の試料クロマトグラムを示す。インタクトGLP1は初期に溶出するピークである（右側を指す矢印）。GLP1の分解生成物（ヒスチジン残基は取り除かれ、ｐＨ２のクロマトグラフィ条件下では電荷は小さい）はより遅い時点で溶出する（左側を指す矢印）。PGC-HC18担体の存在下では、DPP4によるGLP1の分解は著しく遅らされる。両方のコントロール（GLP1のみ）と20PLPEG5-55の付いたGLP1は同程度、分解している。この分析は何度も行なわれたが、結果は大変、決定的である。HPLC ではPhenomenex 社製のMercurySynergyMax-RP (0.4x2cm) を用い、 1.5ml/分の流速で、５分間かけて 25-50% アセトニトリル／水/0.1 %TFAの勾配にして溶出させ、 溶出物を220 nmで観察した。担体のあ

る、そしてないGLP1溶液を２４時間、1.25mU/ml DPP4 と一緒にインキュベートし、HPLC分析の前にDPP4阻害剤を添加して消化を終了させた。
【図４０】GLP1と、疎水性コアの担体（PGC-HC18; この疎水性コアの担体は 20 kDa ポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた)に含有させたGLP1により誘導されるカルシウム・インフラックス。INS細胞においてGLP1 (20nM)及び GLP1 調合物 (3.3ug/ml PGC-HC18; 20nM GLP1有り)により誘導されるカルシウム・インフラックスを示す。細胞にFura-2(Molecular probes社)を装薬し、PBS(リン酸緩衝生理食塩水)、GLP-1、C18 調合物(3.3ug/ml PGC-HC18; 20 nM GLP1有り)、及びC18担体 (3.3ug/mlPGC-HC18)を添加する前（１－９秒）、及び後（１１－６０秒）に、細胞内蛍光を経時的に判定した。見られるように、PGC-HC18を調合されたGLP1(C18-調合物）はこのin vitro検査 (n=5)で生物学的に活性である。
【図４１】調合されたGLP1 はグルコース刺激性インシュリン放出を亢進する。様々な濃度のGLP1及び調合されたGLP1(重量で２％のGLP1を含有するPGC-HC18)の存在下においてINS細胞により放出されたグルコース刺激性インシュリンのレベルを示す。本調合物中で用いられたPGC-HC18は20kDa ポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。インシュリノーマ細胞、即ち INS 細胞 (50,000) を96 ウェル・プレートにプレートし、通常の培地（11.1mMのグルコース有り）で一晩、付着させ、この培地中のグルコースを一晩、5.5 mMまで低下させた。翌日、インシュリン11.1mM グルコース及び多様な濃度の調合された及び未調合のGLP1 (x軸)を含有する無血清培地でインシュリン放出を誘導した。１５分間にわたって放出されたインシュリンをLINCOElisa キットを用いて測定した(n=3)。
【図４２】GLP1及び調合されたGLP1 (重量で２％のGLP1を含有するPGC-HC18)の静脈内投与後の血中の総GLP1の時間依存的減少。この調合物中に用いられたPGC-HC18は20kDa ポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。GLP1を単独で投与したときの消失半減期は僅かに数分であるが、調合されたGLP1は少なくとも６時間の半減期を有する。メスのBalb/cマウスに2 mg GLP-1 のみ又は PGC-HC18 に入れた2 mg GLP-1を静脈内注射した。末端採血を任意の時点で行なった。総GLP1 (PGC-HC18 に結合及び未結合）はLinco社（ミズーリ州セントチャールズ、LINCOReseach社）のElisa キットで測定されている。
【図４３】GLP1及び調合されたGLP1 (重量で２％のGLP1を含有するPGC-HC18)の皮下（s.c.）投与後の血中の総GLP1の時間依存的減少。この調合物中に用いられたPGC-HC18は20 kDa ポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。GLP1を単独で投与したときの消失半減期は僅かに数分であるが、調合されたGLP1は少なくとも２４時間の半減期を有する。メスのBalb/cマウスに2 mg GLP-1 のみ又はPGC-HC調合物 に入れた2 mg GLP-1を皮下注射した。末端採血を任意の時点で行なった。総GLP1 (担体に結合及び未結合) はLinco社（ミズーリ州セントチャールズ、LINCOReseach社）のElisa キットで測定されている。
【図４４】GLP1及び調合されたGLP1 (重量で２％のGLP1を含有するPGC-HC18)の皮下（s.c.）投与後の血中の総GLP1の時間依存的減少。この調合物中に用いられたPGC-HC18は20 kDa ポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。GLP1を単独で投与したときの消失半減期は僅かに数分であるが、調合されたGLP1は少なくとも２０時間の半減期を有する。予めカヌーレ挿入したオスのSprague Dawleyラットに1 ug GLP-1 のみ、又は、PGC-HC調合物に入れた1ugGLP-1を皮下注射した。採血は頚静脈カヌーラ（原語：cannula）から行なわれ、分析まで血清を－８０℃で保存した。総GLP1 (PGC-HC18に結合及び未結合）はLinco社（ミズーリ州セントチャールズ、LINCOReseach社）のElisa キットで測定されている。
【図４５】これは、60mg/kgのストレプトゾトシンによる糖尿病誘発後の１３日目に開始した４週間の治療期間にわたって試料採取した平均合計１５のグルコースを示す。治療前

に、治療前の２日毎乃至６日毎に採取された血糖レベルは300-600 mg/dlだった。無作為化後、各群の平均血糖レベルは421 乃至 433 mg/dlの間だった。ラットを２日毎に皮下処置した。コントロール群には生理食塩水を与え、担体コントロール群にはPGC-HC18 のみ(1 mgをPBSに入れたもの)を、GLP-1群には20ugGLP-1を、そして PGC-HC18/GLP-1 には、20 ugGLP-1を装填した1 mgのPGC-HC18を与えた。本調合物中に用いられたPGC-HC18は20 kDa ポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。GLP-1動物のうち一匹は、重篤な体重消失ををを伴う重症な糖尿病のために２週間目の時点でと殺しなければならなかった。２日毎に採取された非絶食時糖レベルを一緒に合計して、各動物中の周期生存率を平均するために、各動物について曲線（AUC）より下の面積を得た。調合されたGLP-1-処置動物とコントロール又はPGC-HCのみで処置された動物との間には有意な違いがあった (*P<0.01)。

【図４６】これは、60mg/kgのストレプトゾトシンによる糖尿病誘発後の１３日目に開始した４週間の治療期間（+/- 標準偏差; n=4）の終了時のストレプトゾトシン糖尿病ラットの平均体重を示すグラフである。ストレプトゾトシン処置前の全ての動物の開始体重は240 乃至260グラムの間だった。コントロール群には生理食塩水を与え、担体コントロール群にはPGC-HC18のみ(1mgをPBSに入れたもの)を、GLP-1群には20ug GLP-1を、そしてPGC-HC18/GLP-1 には、20 ug GLP-1を装填した1 mgのPGC-HC18を与えた。本調合物中に用いられたPGC-HC18は20kDa ポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。PBS又は担体のみで処置されたストレプトゾトシン糖尿病ラットには、調合物で処置された動物よりも有意に大きな体重減少が起きた (P< 0.01)。担体なしのGLP1のみで処置された動物群はGLP-1調合物で処置されたラットに比較して、応答に大きな違いを示した。

【図４７】このグラフは、60mg/kgのストレプトゾトシンによる糖尿病誘発後の１３日目に開始した４週間の治療期間（+/- 標準偏差; n=4）の終了時のストレプトゾトシン糖尿病ラットのラット膵臓の組織切片から得られた。ラット膵臓を抗BrdU-抗体及びヘマトキシリンで染色し、２５０×の倍率で撮影した。島の位置を特定し、各島中のBrDU 陽性核を計数した。コントロール群には生理食塩水を与え（Ａ）、担体コントロール群にはPGC-HC18 のみ(1mgをPBSに入れたもの)を（Ｂ）、GLP-1群には20ug GLP-1を（Ｃ）、そしてPGC-HC18/GLP-1 には、20 ug GLP-1を装填した1 mgのPGC-HC18を与えた（Ｄ）。本調合物中に用いられたPGC-HC18 は20 kDa ポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。抗BrdU-抗体染色では、PBS又は空の担体処置ラット（Ａ及びＢ）に比較して、GLP-1 及びGLP-1/PGC-HC18調合物処置ラット（Ｃ及びＤ）の島の方で有意により多くの細胞分裂が発生していることが分かる。加えて、GLP-1/PGC-HC18調合物処置ラット（図示せず）の該分泌組織中に、管前駆細胞からの島細胞の新生を示すと考えられる、より多くのBrdU陽性細胞がある。

【図４８】これは、PGC-HC18が有機化合物（例えばドキソルビシン）に６－７部位で315uMのKdを示しつつ結合することを示している。PGC-HC18は20kDa のポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。ドキソルビシンは抗癌剤である。この実験では、8mg の疎水性コアの担体に（図３４に解説した通りに、アセトン法）様々な量のドキソルビシンを装填した。装填された各担体を1 ml PBSに溶解させ、２時間、平衡させた。遊離及び結合ドキソルビシンを含有する各溶液を100 kDa 分子量カットオフ・フィルタを通してろ過し、遊離ドキソルビシンを含有する各ろ過物を逆相HPLCにより定量した。結合ドキソルビシンは、装填中に用いた総ドキソルビシンからHPLCで判定された遊離ドキソルビシンを引いて判定される。

【図４９】図４９は、ドキソルビシンのPGC-HC18への装填の結果を示す。PGC-HC18 は20 kDa ポリリジンであるが、但しアミノ基の55%を5kDaの分子量のPEGスクシネートと反応させ、残りのアミノ基はステアリン酸又はC18と反応させた。ドキソルビシンは抗癌剤であ

る。このグラフは、8 mg のPGC-HC18 を様々な量のドキソルビシン(x軸)に図３４に解説したアセトン法を用いて装填したときのPGC-HC18結合及び遊離ドキソルビシンの量を示す。装填後、装填された各担体を1 ml PBS に溶解させ、２時間、平衡させた。PGC-HC18結合及び遊離ドキソルビシンの混合物を再生セルロース・フィルタを通すろ過で分離した。遊離ドキソルビシンを表すろ過物を逆相 HPLC で定量した(n=3)。結合ドキソルビシンは装填中に用いた総ドキソルビシンからHPLCで判定された遊離ドキソルビシンを引いて判定される。