

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7657775号
(P7657775)

(45)発行日 令和7年4月7日(2025.4.7)

(24)登録日 令和7年3月28日(2025.3.28)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	47/42 (2017.01)	A 6 1 K	47/42
A 6 1 K	47/24 (2006.01)	A 6 1 K	47/24
A 6 1 P	25/02 (2006.01)	A 6 1 P	25/02
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00
A 6 1 K	9/10 (2006.01)	A 6 1 K	9/10
請求項の数 28 (全57頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2022-508753(P2022-508753)	(73)特許権者	518007418
(86)(22)出願日	令和2年8月11日(2020.8.11)		ペプティノボ・バイオフーマ・インコ
(65)公表番号	特表2022-544262(P2022-544262		ーポレイテッド
	A)		Peptinovo Biopharma
(43)公表日	令和4年10月17日(2022.10.17)		Inc.
(86)国際出願番号	PCT/US2020/045785		アメリカ合衆国48103ミシガン州ア
(87)国際公開番号	WO2021/030359		ナーバー、サウス・ワグナー・ロード6
(87)国際公開日	令和3年2月18日(2021.2.18)		00番、スウィート200
審査請求日	令和5年8月10日(2023.8.10)	(74)代理人	100145403
(31)優先権主張番号	62/886,282		弁理士 山尾 憲人
(32)優先日	令和1年8月13日(2019.8.13)	(74)代理人	100156144
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 落合 康
		(72)発明者	ホーマン、レイノルド
			アメリカ合衆国48103ミシガン州ア
			ナーバー、テスマー・ロード2607
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 がんの処置に付随する化学療法誘発性末梢神経障害の処置のためのPALM

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

化学療法誘発性末梢神経障害（CIPN）を引き起こす化学療法薬で処置されたか、またはそれで処置されるがん患者のCIPNを予防するかまたは遅延させるための、ペプチド両親媒性分子脂質ミセル（PALM）ナノ粒子を含有する組成物を含む、医薬であって、PALMナノ粒子が、前記CIPNを引き起こす化学療法薬を含有するPALMを含み、PALMが、ペプチドならびにスフィンゴミエリン及び1種以上の追加のリン脂質を含む脂質成分を含み、

PALMにおけるペプチドが、配列番号25；配列番号26；配列番号27；配列番号28；配列番号29；配列番号30；配列番号31、配列番号32；配列番号33；配列番号34；配列番号35及び配列番号36からなる群から選択されるアミノ酸配列を含み、当該ペプチドが、N末端でアシル化されているか、C末端でアミド化されているか、またはN末端でアシル化及びC末端でアミド化されているの両方であってもよい、医薬。

【請求項2】

化学療法誘発性末梢神経障害（CIPN）を引き起こす化学療法薬で処置されたか、またはそれで処置されるがん患者のCIPNを予防するかまたは遅延させるための、ペプチド両親媒性分子脂質ミセル（PALM）ナノ粒子を含有する組成物を含む、医薬であって、PALMナノ粒子が、前記CIPNを引き起こす化学療法薬を含有するPALMを含み、PALMが、ペプチドならびにスフィンゴミエリン及び1種以上の追加のリン脂質を含む脂質成分を含み、

P A L Mにおけるペプチドが、配列番号 3；配列番号 4；配列番号 5；配列番号 6；配列番号 7；配列番号 8；配列番号 9；配列番号 10；配列番号 11；配列番号 12；配列番号 13；配列番号 14；配列番号 15；配列番号 16；配列番号 17；配列番号 18；配列番号 19；配列番号 20；配列番号 21；配列番号 22；または配列番号 23 のアミノ酸配列を含み、当該ペプチドが、N末端でアシル化されているか、C末端でアミド化されているか、またはN末端でアシル化及びC末端でアミド化されているの両方であってもよく、ペプチドは、20～24アミノ酸長である、医薬。

【請求項 3】

1 種以上の追加の化学療法薬を更に含み、1 種以上の追加の化学療法薬が、前記 P A L Mにより含有される C I P Nを引き起こす化学療法薬と適合性がある、請求項 1 または 2 に記載の医薬。

10

【請求項 4】

前記 P A L Mにより含有される C I P Nを引き起こす化学療法薬が、ボルテゾミブ、カルボプラチン、シスプラチン、ゲムシタビン、ミソニダゾール、オキサリプラチン、プロカルバジン、サリドマイド、ドセタキセル、ヘキサメチルメラミン、パクリタキセル、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレルビン、イクサベピロン、エリブリン、メルタンシンからなる群から選択される、請求項 3 に記載の医薬。

【請求項 5】

前記 P A L Mにより含有される C I P Nを引き起こす化学療法薬が、カルボプラチン、シスプラチン、パクリタキセルまたはビノレルビンである、請求項 4 に記載の医薬。

20

【請求項 6】

がん患者が、卵巣癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、大腸癌、前立腺癌、乳癌、膵臓癌、頭頸部癌、精巣癌、白血病、神経芽細胞腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫及び非小細胞肺癌からなる群から選択されるがんを有する、請求項 1～5 のいずれか 1 項に記載の医薬。

【請求項 7】

がんが、卵巣癌、乳癌及び非小細胞肺癌からなる群から選択される、請求項 6 に記載の医薬。

【請求項 8】

P A L Mナノ粒子が、C I P Nの発症前に投与されるか、またはC I P Nの間に投与されるか、またはC I P Nの回復後に投与されるか、またはそれらの任意の組み合わせである、請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載の医薬。

30

【請求項 9】

P A L Mの脂質成分が、スフィンゴミエリン及び 1 種以上の追加のリン脂質から本質的になる、請求項 1～8 のいずれか 1 項に記載の医薬。

【請求項 10】

1 種以上の追加のリン脂質が、ホスファチジルコリン、ポリエチレングリコール-ホスファチジルエタノールアミン (P E G-P E)、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、カルジオリピン、またはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、請求項 1～9 のいずれか 1 項に記載の医薬。

40

【請求項 11】

1 種以上の追加のリン脂質が、ホスファチジルコリンを含む、請求項 10 に記載の医薬。

【請求項 12】

ホスファチジルコリンが、1-パルミトイル-2-オレオイル-ホスファチジルコリン (P O P C) である、請求項 11 に記載の医薬。

【請求項 13】

リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比が、約 90：10～約 5：95 である、請求項 1～12 のいずれか 1 項に記載の医薬。

【請求項 14】

50

リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比が、30：70である、請求項13に記載の医薬。

【請求項15】

リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比が、約80：20～約60：40である、請求項13に記載の医薬。

【請求項16】

リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比が、約70：30である、請求項15に記載の医薬。

【請求項17】

脂質成分対ペプチドのモル比が、約10：1～約2：1である、請求項1～16のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項18】

脂質成分対ペプチドのモル比が、約6：1～約4：1である、請求項17に記載の医薬。

【請求項19】

組成物が造影剤を更に含む、請求項1～18のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項20】

造影剤が、1，2-ジパルミトイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-ジエチレントリアミン五酢酸（ガドリニウム塩）（PE-DTPA（Gd））、1，2-ジパルミトイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-ジエチレントリアミン五酢酸（マンガン塩）（PE-DTPA（Mn））または¹¹¹In-DTPA-Aである、請求項19に記載の医薬。

【請求項21】

前記CIPNを引き起こす化学療法薬が、以下の式（I）を有する化合物コンジュゲートであり、

A-R-L-X（式I）

式中、Aは、ヒドロキシル基またはアミン基を有する前記CIPNを引き起こす化学療法薬であり、Rは、前記CIPNを引き起こす化学療法薬のヒドロキシル基またはアミン基であり、Lは、リンカーであり、Xは、コレステロール、α-トコトリエノール、β-トコトリエノール、γ-トコトリエノール、δ-トコトリエノール、コレカルシフェロール、エルゴカルシフェロール、α-トコフェロール、β-トコフェロール、γ-トコフェロール及びδ-トコフェロールからなる群から選択されるアンカー部分である、請求項1または3に記載の医薬。

【請求項22】

Rがヒドロキシ基であり、アンカー部分が炭酸エステル結合により薬剤に共有結合している、請求項21に記載の医薬。

【請求項23】

Rがアミン基であり、アンカー部分がカルバミン酸エステル結合により薬剤に共有結合している、請求項21に記載の医薬。

【請求項24】

アンカー部分がコレステロールである、請求項21～23のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項25】

アンカー部分がδ-トコトリエノールまたはδ-トコフェロールである、請求項21～23のいずれか1項に記載の医薬。

【請求項26】

前記CIPNを引き起こす化学療法薬が、アデノシン、ボルテゾミブ、ヒドロキシカンブトテシン、ダウノルピシン、ドキソルピシン、トポテカン、ゲムシタビン、ミソナダゾール、ミリプラチン、フェンレチニド、ドセタキセル、パクリタキセル、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレルビン、イクサベピロン、エリブリン、メルタンシン及びそれらの組み合わせからなる群から選択される化学療法薬である、請求項21～25のいずれか1項に記載の医薬。

10

20

30

40

50

【請求項 27】

前記 C I P N を引き起こす化学療法薬が、ヒドロキシカンプトテシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、トポテカン、パクリタキセルまたはドセタキセルである、請求項 26 に記載の医薬。

【請求項 28】

前記 C I P N を引き起こす化学療法薬が、パクリタキセルである、請求項 27 に記載の医薬。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

(関連出願の相互参照)

本 P C T 出願は、2019 年 8 月 13 日に出願の米国仮特許出願第 62 / 886 , 28 2 号の利益を主張する。その開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

(配列表)

本出願には、2020 年 8 月 11 日に作成され、本明細書と共に電子出願された、「236603__471132__SequenceListing__ST25.txt」(29KB) という名称の配列表の全体が参照により組み込まれる。

本発明は、ペプチド両親媒性分子脂質ミセル (peptide amphiphile lipid micelle、PALM) を使用したがんの処置に関するものであり、ここで、かかる使用は、化学療法薬の投与により引き起こされる化学療法誘発性末梢神経障害 (C I P N) が含まれる有害作用を予防するか、処置するか、改善するか、または減弱させる。より具体的には、本発明は、組み込まれた化学療法剤のそれらの治療標的への安全かつ有効な送達のために容易に非経口投与され得、化学療法薬の投与により引き起こされる化学療法誘発性末梢神経障害 (C I P N) が含まれる有害作用を減弱させるナノ粒子への C I P N を誘発する化学療法剤の組み込みを可能にする製剤技術に関する。

【背景技術】

【0002】

National Cancer Institute の優先的目標は、多数の確立された化学療法のしばしば消耗性の、かつ頻繁に処置を危うくする副作用である化学療法誘発性末梢神経障害 (C I P N) の治療法を発見することである。現在、用量の減量、投与の延期、または投与の中止以上の効果的な対策はない。減量された用量での曝露は、腫瘍成長の促進、化学療法抵抗性、及び処置失敗のリスクをもたらす。更に、C I P N の不快感は、処置の終了後もしばしば数カ月間から数年さへ持続し、このことが、生活の質を更に低下させ、重要な後続の化学療法 (必要とされる場合) の能力を妨げる。

【0003】

最も広く使用されており、効果的な化学療法剤の 1 つであるが、C I P N またはより具体的には P I P N の特に高いリスクも有するパクリタキセル (P T X) にとって、C I P N の治療法を発見は特に重要である。P I P N の有病率は、P T X 注入を受けている患者のうち 60 % を超える。処置の変更が指示される重度の P I P N (グレード 3 / 4) は、P I P N を有する患者のうち少なくとも 10 % である。

【0004】

P I P N の症状としては、四肢の刺痛、しびれ感、灼熱感、及び疼痛に加えて効果的な握り、細かい器用さ、及びバランスの喪失が挙げられる。患者の経験は、煩わしいものから消耗性のものの範囲に及ぶ。症状、それらの重症度、及び障害される末梢肢軸の量は、P T X 投与の量、頻度、及び回数が増加するにつれて増加する。P I P N からの回復は緩徐であり、多くの場合、化学療法完了後数ヶ月から数年間、日常生活動作を妨げる。

【0005】

現在、用量の減量が、P I P N の感覚及び運動への痛みを伴う消耗性の影響に対する唯一の効果的な治療法である。注入時間及び処置間隔の延長により得られる改善は限定的である。神経保護薬及び症状緩和薬の候補が評価されてきたが、大きな成功は収めていない。

10

20

30

40

50

【0006】

現在承認されているPTX製剤であるタキソール（登録商標）及びアブラキサン（登録商標）の両方が、同様の程度及び持続度でPIPNを引き起こす。この問題は、パクリタキセルに特有ではない。PIPNは、他のタキサン、すなわち、ドセタキセル（タキソテール（登録商標））及びカバジタキセル（ジェブタナ（登録商標））の臨床使用時、及びより低用量時についても主要なリスクである。

【0007】

PTXベースの化学療法の成功は、PTXを神経から隔離し、代わりにPTXをがん細胞に標的化した製剤技術によって大きく高められるであろう。がん患者は、PIPNによる不快感または治療のリスクなしに処置成果の改善（すなわち、より良好な生存率）を経験するであろう。

【発明の概要】

【0008】

第1の態様では、本開示は、がんを処置する必要がある対象におけるがんの処置のための方法であって、ペプチド両親媒性分子脂質ミセル（PALM）と結合した化学療法薬を含む治療上有効量の組成物を投与することを含み、当該対象が、PALMを投与される場合に、PALMによる処置の非存在下で当該化学療法薬で処置される場合と比べて低減された化学療法誘発性末梢神経障害を経験する、当該方法を提供する。PALMは、両親媒性ペプチドとリン脂質及び任意に他の疎水性分子の組み合わせにより水性懸濁液中で形成される。

【0009】

第2の態様で、本開示は、化学療法誘発性末梢神経障害（CIPN）を引き起こす化学療法薬により現在処置されている、及び／または以前に処置された、CIPNを処置する必要がある対象におけるCIPNの処置のための方法であって、ペプチド両親媒性分子脂質ミセル（PALM）にコンジュゲートされ、これにより、PALMナノ粒子を形成している化学療法薬を含む治療上有効量の組成物を投与することを含み、当該対象が、PALMナノ粒子を投与される場合に、PALMナノ粒子による処置の非存在下で当該化学療法薬で処置される場合と比べて低減された化学療法誘発性末梢神経障害（例えば、パクリタキセル誘発性末梢神経障害）を経験する、当該方法を提供する。関連する実施形態では、化学療法誘発性末梢神経障害（CIPN）は、タキサン；エポチロン（例えば、イクサベピロン及びサゴピロン）；ピンカアルカロイド、例えば、ピンブラスチン、ピンクリスチン、ビノレルビン、及びエトポシド（VP-16）；サリドマイド（サロミド（登録商標））、レナリドマイド（レブラミド（登録商標））、及びボマリドミド（ボマリスト（登録商標））；プロテアソーム阻害剤、例えば、ボルテゾミブ（ベルケイド（登録商標））、カルフィルゾミブ（カイプロリス（登録商標））、及びイキサゾミブ（ニンラーロ）；トポイソメラーゼ阻害剤、例えば、イリノテカンまたはトポテカン；ならびにシスプラチン、カルボプラチン、及びオキサリプラチンが含まれる白金類似体により引き起こされ、及び／またはそれらに関連する。関連する実施形態では、化学療法誘発性末梢神経障害（CIPN）は、タキサン化学療法、例えば、パクリタキセル（タキソール（登録商標））、アブラキサン（登録商標）、ドセタキセル（タキソテール（登録商標））カバジタキセル（ジェブタナ（登録商標））、ラロタキセル、ミラタキセル、オルタタキセル、BMS-275183、及びテセタキセルのうちの任意の1つ以上によるがんの処置により引き起こされ、及び／またはそれらに関連する。

【0010】

第3の態様では、本開示は、パクリタキセルにより現在処置されている、及び／または以前に処置されたがん対象におけるパクリタキセル誘発性末梢神経障害（PIPN）の処置のための方法であって、PALMナノ粒子を含む治療上有効量の組成物を投与することを含み、当該PALMナノ粒子が、パクリタキセルにコンジュゲートされたPALMを含む、当該方法を提供する。幾つかの関連する実施形態では、がん対象は、パクリタキセルを含有するPALMナノ粒子を投与される場合に、パクリタキセルを含むPALMナノ粒

10

20

30

40

50

子による処置の非存在下でパクリタキセルのみで処置される場合と比べて低減されたP I P Nを経験する。

【図面の簡単な説明】

【0011】

【図1】Aは、両親媒性構造を示す配列番号3のペプチドのEdmundsonホイール描写を示す。Bは、両親媒性構造を示す配列番号25のペプチドのEdmundsonホイール描写を示す。更に図1A及び1Bは、 α ヘリックスの長軸周りの構成アミノ酸（標準的な1文字の略語で識別される）の軸に沿った位置を示す。文字「B」は、2-アミノ-イソ酪酸を表す。破線は、ペプチドの極性面を形成する親水性アミノ酸（陰影付き）及び非極性面を形成する疎水性アミノ酸のおおよその境界を示す。Cは、配列番号3のペプチドのヘリカルネット描写を示す。Dは、配列番号25のペプチドのヘリカルネット描写を示す。

10

【0012】

【図2】ヒトHDL（破線）と比較した、ミリプラチンを含有するPALM（実線）のサイズ排除クロマトグラムを示す。PALMは、2.5:3:7:0.75のモル比の配列番号25のペプチドならびにPOPC、SM、及びミリプラチンから構成された。

【0013】

【図3】XCを含有し、配列番号25のペプチドを用いて、1:4:0.4のペプチド:リン脂質:XCのモル比で調製されたPALMのサイズ排除クロマトグラフを示す。種々のストークス径のタンパク質標準物質の溶出位置を示す。

20

【0014】

【図4】XTTを含有し、配列番号25のペプチド（破線）またはR4Fペプチド（実線）を用いて調製されたPALMのサイズ排除クロマトグラムの比較を示す。両方の組成物は、ペプチド:POPC:SM:XTTのモル当量比が1:2.8:1.2:0.4であった。

【0015】

【図5】配列番号25のペプチドを用いて調製され、フェンレチニドを含有するPALMのサイズ排除クロマトグラムを示す。PALM組成物は、ペプチド:POPC:SM:フェンレチニドのモル当量比が2.5:3:7:2であった。

【0016】

【図6】シスプラチンによる阻害と比較した、PALM(MP)によるPC3前立腺癌細胞増殖の阻害を示す。

30

【0017】

【図7】PALM(MP)によるPC3前立腺癌細胞増殖の阻害におけるSR-BI抗体の効果を示す。線は、データのロジスティック方程式へのフィッティングを示す。

【0018】

【図8】パクリタキセル（円、破線）による阻害と比較した、PALM/(XC)（正方形、点線）またはPALM(XTT)（菱形、実線）によるSKOV3卵巣癌細胞増殖の阻害を示す。線は、データのロジスティック方程式へのフィッティングを示す。

【0019】

【図9】示される種々のペプチドを用いて調製され、DiIを含有するPALMを、ミフェプリストン誘導性ヒトSR-BI遺伝子が安定的に形質移入されたBHK(SR-BI)細胞と共にインキュベートしたことを示す。誘導されていない細胞（対照）または誘導された細胞を用いてインキュベーションを実行した。DiIで標識されたヒトHDLを比較のために試験した。4時間のインキュベーションにわたって細胞により取り込まれたDiIの量を蛍光により検出した。

40

【0020】

【図10】誘導された(SR-BI+)または誘導されていない(対照)のいずれかであった、ミフェプリストン誘導性ヒトSR-BI遺伝子を有するBHK(SR-BI)細胞を、示される濃度のPTXまたはPALM(XTT)と共に12時間インキュベートした

50

ことを示す。更に、試験薬剤の非存在下で細胞を更に36時間インキュベートした後、MTTアッセイにより%増殖を検出した。

【0021】

【図11】SR-BI抗体が、PALM(XTT)からのXTTの取り込みを阻害した(矢印)ことを示す。

【0022】

【図12】添加なし(対照)で、リポ多糖($10\mu\text{g}/\text{mL}$ LPS)と共に、パクリタキセル(PTX)と共に、またはPALM(XTT)と共に24時間インキュベートされたSKOV-3細胞によるサイトカインIL-6分泌を示す棒グラフを示す。

【0023】

【図13】クレモホール/エタノールビヒクル(A)、パクリタキセル($10\text{mg}/\text{kg}$) (B)、PALM(XTT) ($8\text{mg}/\text{kg}$ パクリタキセル当量) (C)、または(D) PALM(XTT) ($24\text{mg}/\text{kg}$ パクリタキセル当量)を投与された胸腺欠損マウスにおけるヒト卵巣腫瘍(SKOV-3)の増殖を示す線グラフを示す。

【0024】

【図14】クレモホール/エタノールビヒクル(A)、 $1\text{mg}/\text{kg}$ のパクリタキセル(B)、生理食塩水(PALMビヒクル)(C)、 $1\text{mg}/\text{kg}$ 等価用量のPALM(XTT)(D)、 $2.7\text{mg}/\text{kg}$ 等価用量のPALM(XTT)(E)を投与されたラットにおける機械的アロディニアを示す線グラフを示す。

【0025】

【図15】クレモホール/エタノールビヒクル(A)、パクリタキセル($10\text{mg}/\text{kg}$) (B)、またはXTT非含有のPALM(C)を投与された胸腺欠損マウスにおけるヒト卵巣腫瘍(SKOV-3)の増殖を示す線グラフを示す。

【発明を実施するための形態】

【0026】

定義

【0027】

「ナノ粒子」は、 200nm を超える寸法を有さない粒子を意味する。

【0028】

本明細書で使用する場合、文脈上特に明記されない限り、単数形の「a」、「an」、及び「the」は、複数形の参照を含む。

【0029】

本開示において、「含む(comprises)」、「含んだ(comprised)」、「含む(comprising)」、「含有する(contains)」、「含有する(containing)」などの用語は、米国特許法による意味を有し、これらは包括的または開放型であり、記載されていない追加の要素または方法ステップを除外しないことに留意されたい。「から本質的になる(consisting essentially of)」及び「から本質的になる(consists essentially of)」などの用語は、米国特許法による意味を有し、これらは、特許請求された発明の基本的かつ新規の特徴に実質的に影響を及ぼさない追加の要素またはステップの包含を可能にする。用語「からなる(consists of)」及び「からなる(consisting of)」は、米国特許法におけるそれらの意味を有し、すなわち、これらの用語はクローズドエンドである。

【0030】

前に付く「約」は、値がおよそのものであることを示す。例えば、「約 1mg ～約 50mg 」の範囲は、値がおよその値であることを示す。「約 1mg ～約 50mg 」の範囲は、およその値及び特定の値を含む。例えば、この範囲は約 1mg 、 1mg 、約 50mg 、及び 50mg を含む。

【0031】

範囲が記載されている場合、その範囲は、範囲の端点及びその間の全ての数値の両方を

10

20

30

40

50

含む。例えば、「1mg～10mgの間」は、1mg、10mg、及び1mgと10mgとの間の全ての量を含む。同様に、「1mg～10mg」は、1mg、10mg、及び1mgと10mgとの間の全ての量を含む。

【0032】

本明細書で使用する場合、「アルキル」は、7～21個の炭素原子を含有する飽和脂肪族炭化水素基を指す。本明細書で使用する場合、(C₁～C_n)アルキルという用語は、1～n個の炭素原子を含有するアルキル基を指す。例えば、(C₈～C₁₂)アルキルは、8、9、10、11、または12個の炭素原子を含有するアルキル基を指す。アルキル基は、分枝または非分枝であり得る。

【0033】

本明細書で使用する場合、「アルケニル」は、7～21個の炭素原子及び少なくとも1つの二重結合を含有する脂肪族炭素基を指す。本明細書で使用する場合、(C₁～C_n)アルケニルという用語は、1～n個の炭素原子を含有するアルケニルを指す。アルケニル基は、分枝または非分枝であり得る。

【0034】

脂質成分を記載するために使用される場合、「から本質的になる (consisting essentially of)」は、脂質成分が、明記されるもの以外の任意の追加の脂質を0.1モル%未満含むことを意味する。

【0035】

「XC」は、パクリタキセル2'-コレステリルカーボネートの略語である。

【0036】

「XT3」または「XTT」は、パクリタキセル2'-δ-トコトリエニルカーボネートの略語である。

【0037】

「MP」は、ミリプラチンの略語である。

【0038】

「PTX」は、パクリタキセルの略語である。

【0039】

「POPC」は、1-パルミトイル-2-オレオイルホスファチジルコリンの略語である。

【0040】

「SM」は、スフィンゴミエリンの略語である。

【0041】

「TBA」は、tert-ブチルアルコールの略語である。

【0042】

「DMSO」は、ジメチルスルホキシドの略語である

【0043】

「HDL」は、高密度リポタンパク質の略語である。

【0044】

「SR-BI」は、スカベンジャー受容体クラスBタイプ1の略語である。

【0045】

「BHK」は、ベビーハムスター腎臓の略語である。

【0046】

「DiI」は、1,1'-ジオクタデシル-3,3,3',3'-テトラメチルインドカルボシアニンの略語である。

【0047】

「IL-6」は、インターロイキン-6の略語である。

【0048】

「CIPN」は、化学療法誘発性末梢神経障害の略語である。

【0049】

10

20

30

40

50

「PIP N」は、パクリタキセル誘発性末梢神経障害の略語である。

【0050】

「PALM」は、両親媒性ペプチドとリン脂質及び任意に他の疎水性分子との水性懸濁液中での組み合わせにより形成されたペプチド両親媒性分子脂質ミセルを識別するために使用される頭字語である。

【0051】

「両親媒性」は、分子またはポリマーの親水性（濡れ性）置換基及び疎水性（撥水性）置換基が構造的に互いに分離している立体構造により、脂質及び水相の両方に対して親和性を有する当該分子またはポリマー（例えば、ペプチド）を表す。

【0052】

「親油性」は、水性懸濁液中の脂質に富む粒子の脂質ドメインに優先的に分配する物質を表す。脂質に富む粒子としては、脂質ミセル、リポソーム、リポタンパク質、細胞膜、及び脂質エマルションが挙げられる。

【0053】

「ペプチド」は、ポリマー中の1つのアミノ酸のカルボン酸基と、次のアミノ酸の α アミン基との間で形成されたアミド結合により互いに連結された、 α アミノ酸モノマーから生成された当該ポリマーである。「ペプチド」としては、互いに連結されたアミノ酸モノマーのポリマーも挙げられる。アミノ酸のL-光学異性体とD-光学異性体の両方が使用され得る。ポリマーを構成するアミノ酸は、天然に見出されるもの（すなわち、天然アミノ酸）または非天然アミノ酸のいずれかであり得る。用語「残基」または「アミノ酸残基」は、ペプチド、ポリペプチド、またはタンパク質に組み込まれているアミノ酸への言及を含む。

【0054】

慣例に従って、かつ本明細書で使用する場合、ペプチド配列は、N末端からC末端へ、左から右に記載される。

【0055】

「ミセル」は、水相中での非共有結合性相互作用により組織化された多分子構造である。ミセルは、分子の疎水性ドメインが水から保護され、親水性構成成分がミセル-水界面に位置するように凝集する両親媒性分子及び疎水性分子から構成される。

【0056】

「カーゴ分子」は、PALM内に安定的に組み込まれ、PALMの安定性を妨げない、抗がん治療特性または診断的特性を有する疎水性または両親媒性の化学療法薬分子である。

【0057】

「siRNA」は、RNA誘導遺伝子サイレンシング複合体の一部として、細胞の遺伝子発現を制御するために作製された低分子干渉リボ核酸である。

【0058】

「Aib」は、アミノ酸である α -アミノイソ酪酸の3文字コードである。

【0059】

「Ab a」は、アミノ酸である α -アミノ酪酸の3文字コードである。

【0060】

「Amv」は、非天然アミノ酸である α -メチルバリンの3文字コードである。

【0061】

「Orn」は、アミノ酸であるオルニチンの3文字コードである。

【0062】

「SEC」は、サイズ排除クロマトグラフィーである。

【0063】

「DLS」は、動的光散乱法である。

【0064】

本明細書において、「対象」は、限定されるものではないが、霊長類（例えば、ヒト）、ウシ、ヒツジ、ヤギ、ウマ、イヌ、ネコ、ウサギ、ラット、マウスなどが含まれる哺乳

10

20

30

40

50

動物などの動物を含むと定義される。好ましい態様では、対象は、ヒトである。対象としては、がん患者または複数の患者が挙げられる。

【0065】

本明細書で使用する場合、「化学療法薬」または「化学療法剤」または「抗腫瘍剤」は、新生物疾患を有する対象において、新生物の増殖または転移を低減、予防、及び／または遅延させるか、または薬学上有効量で壊死もしくはアポトーシスにより直接的に新生細胞を死滅させて、新生物の増殖または転移を低減、予防、及び／または遅延させる薬剤を指す。

【0066】

「化学療法」は、化学療法薬、化学療法剤、または抗腫瘍剤を使用した処置を指す。

【0067】

化学療法薬にコンジュゲートされたPALMを含有する組成物に関して、「有効量」または「薬学上有効量」は、対象において所望の生物学的結果、薬理学的結果、または治療結果を誘発するのに十分な上記組成物の量を指す。

【0068】

「化学療法誘発性末梢神経障害」は、化学療法薬（複数可）による末梢神経系の直接的な損傷に起因する中毒性神経炎である。CIPNは、急性または慢性であり得る。CIPNは、感覚性、運動性、自律神経性、または3つの種類のいずれかの混合型であり得る。

【0069】

「神経毒性作用」及び「神経毒性」は、神経系の正常な活動を変化させる毒性物質を指す。

【0070】

「神経障害性疼痛」は、末梢または中枢神経系における機能障害により引き起こされる頑痛である。

【0071】

いずれの理論にも拘束されるものではないが、パクリタキセル（PTX）は、幾つかのメカニズムにより神経機能に干渉すると考えられる。最も顕著なものは、神経に隣接する常在マクロファージ（ミクログリア）のトール様受容体4（TLR4）を活性化するPTXの能力に起因する神経周囲の炎症である。PTXによるTLR4への結合は、ミクログリアによる炎症性サイトカインの産生及び放出を促す。次いで、サイトカインは、隣接する神経の痛みチャネルを活性化し始める。神経に入り、チューブリン標的化能力のために、軸索におけるチューブリン依存的な神経伝達物質輸送に干渉するPTXからも、PIPNは生じる。更に、PTXが神経萎縮症及び神経消失を引き起こすという証拠が存在する。

【0072】

パクリタキセルは、化学療法患者を悩ます別の神経障害である認知障害の根本でもある。パクリタキセル誘発性認知障害は、海馬に浸透し、炎症を引き起こし、その神経細胞機能に干渉するパクリタキセルの能力に起因する。これらは、PIPNの原因となるプロセスと同じプロセスである。

【0073】

PTXが神経に影響を与える複数のメカニズムは、PIPNに対抗するための単一症状緩和薬が成功しそうにないことを示唆する。より良いアプローチは、腫瘍への曝露を維持すると共に、TLR4及び神経からPTXを完全に隔離する製剤技術を開発することである。

【0074】

PTXがTLR4と相互作用するのを抑制する技術には、更なる利点がある。PTXのTLR4との相互作用は、胃腸炎及び化学療法抵抗性に関連付けられている。活性化は、がん細胞の転移及び増殖の誘導にも関連付けられている。更に、TLR4活性化により引き起こされる炎症カスケードは、腫瘍内の免疫抑制をもたらす。PTXにより誘発される炎症が腫瘍増殖の免疫抑制の減少をもたらすことがマウスモデルにおいて示されている。TLR4の腫瘍進行に対する影響のこれらの例は、低TLR4を有する腫瘍が非常に高い

10

20

30

40

50

患者生存率に関連するという知見により支持される。

【0075】

本開示は、脂質及びペプチドの新規のPALMナノ粒子製剤、ならびに化学療法薬分子、例えば、薬物の組み込みを可能にするそれらを形成する方法を提供することによって、当該ナノ粒子が注射液または注射液中で安定している、当該提供することにより、この必要性に取り組む。本発明の製剤は、限定されるものではないが、非経口投与される抗がん剤、特に、CIPN及び特にPIP Nを引き起こすか、またはこれらに関連する化学療法薬の改善された薬物動態学的パラメータ、半減期の増加、標的化送達、減弱された毒性、または改善された治療指数が含まれる、1つ以上の改善を提供する。

【0076】

本開示は、配列番号1、配列番号24、配列番号37または、配列番号59のアミノ酸配列を含む両親媒性 α ヘリックスペプチドを提供する。

【0077】

更に、本開示は、本開示のアミノ酸配列を含むペプチド、スフィンゴミエリン、及び1種以上の追加のリン脂質を含むペプチド両親媒性分子脂質ミセル(PALM)を提供する。本開示のPALMは、1種以上のカーゴ分子、例えば、造影剤及び薬物を任意に含む。

【0078】

本開示は、PALM及びカーゴ分子と共に製剤化されたPALM組成物を調製するためのプロセスも提供する。

【0079】

加えて、本開示は、PALMと共に使用するのに好適な化合物コンジュゲート、及び化合物コンジュゲートを調製する方法を提供する。

【0080】

更に本開示は、PALM-化学療法薬コンジュゲートを投与することによりCIPN(例えば、PIP N)有害事象を処置または予防する方法を提供する。

【0081】

本発明は、対象のCIPNを処置する方法であって、本明細書において例示されるCIPNを引き起こす化学療法薬を含有するPALMナノ粒子を含有する治療上有効量の組成物を当該対象に投与することを含む、当該方法を提供する。

【0082】

別の態様では、本発明は、対象のCIPNの予防処置のための方法であって、本明細書において例示されるCIPNを引き起こす化学療法薬を含有するPALMナノ粒子を含有する有効量の組成物を当該対象に投与することを含む、当該方法を提供する。

【0083】

別の態様では、本発明は、CIPNを引き起こし、及び／またはこれに関連する化学療法薬の神経毒性作用を軽減するための方法であって、本明細書において例示されるCIPNを引き起こす化学療法薬を含有するPALMナノ粒子を含有する有効量の組成物を対象に投与することを含む、当該方法を提供する。

【0084】

更に他の態様では、本発明は、対象の化学療法誘発性神経障害性疼痛を処置するための方法であって、本明細書において例示されるCIPNを引き起こす化学療法薬にコンジュゲートされたPALM部分を含有する有効量の組成物を当該対象に投与することを含む、当該方法を提供する。

【0085】

本開示の幾つかの実施形態では、PALM部分は、1種以上の「両親媒性ペプチド」を含有するか、または含む。両親媒性ペプチドは、ヘリックスが、ヘリックスの長軸に沿って配向される反対の極性及び非極性面を有する α ヘリックス立体構造をとることができる。ペプチドを合成する技術は、当該技術分野において周知である。本開示のペプチドは、当該技術分野において公知の任意の技術により合成され得る。

【0086】

10

20

30

40

50

【表 1】

中性 pH におけるアポリポタンパク質 A-I 模倣ペプチドの残基の電荷

「一」は、示した位置での負電荷を示す。

第1の態様の別の実施形態は、アミノ酸配列： $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}$ から本質的になるペプチドを提供し、式中、 X_1 は、アミノ酸Dであり、 X_2 及び X_{20} は、それぞれ、アミノ酸VまたはAibであり、 X_3 、 X_6 、 X_{10} 、及び X_{13} は、それぞれ、L及びFからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_4 、

X₁₂、及びX₁₉は、それぞれ、アミノ酸Qであり、X₅は、アミノAまたはA i bであり、X₇、X₁₆、及びX₁₈は、それぞれ、アミノ酸Kであり、X₈及びX₁₅は、それぞれ、アミノ酸Eであり、X₉及びX₁₄は、それぞれ、A、L、F、及びA i bからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₁₁は、A、A i b、及びNからなる群から選択されるアミノ酸であり、X₁₇は、W、F、及びLからなる群から選択されるアミノ酸であり（配列番号1）、当該ペプチドは、20～24アミノ酸長である。

【0089】

第1の態様の更に別の実施形態は、アミノ酸配列：X₁-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-X₁₉-X₂₀からなるペプチドを提供し、式中、X₁は、アミノ酸Dであり、X₂及びX₂₀は、それぞれ、アミノ酸VまたはA i bであり、X₃、X₆、X₁₀、及びX₁₃は、それぞれ、L及びFからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₄、X₁₂、及びX₁₉は、それぞれ、アミノ酸Qであり、X₅は、アミノAまたはA i bであり、X₇、X₁₆、及びX₁₈は、それぞれ、アミノ酸Kであり、X₈及びX₁₅は、それぞれ、アミノ酸Eであり、X₉及びX₁₄は、それぞれ、A、L、F、及びA i bからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₁₁は、A、A i b、及びNからなる群から選択されるアミノ酸であり、X₁₇は、W、F、及びLからなる群から選択されるアミノ酸である（配列番号1）。

10

【0090】

第1の態様の更に別の実施形態は、アミノ酸配列：X₁-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-X₁₉-X₂₀を含むペプチドを提供し、式中、X₁、X₈、及びX₁₅は、アミノ酸D及びEからなる群から独立して選択され、X₂及びX₂₀は、それぞれ、V、I、A i b、及びLからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₃及びX₁₃は、それぞれ、L、I、V、W、Y、Amv、A i b及びFからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₆及びX₁₀は、それぞれ、L、I、V、W、Y、A i b、Amv、及びFからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₄、X₁₂、及びX₁₉は、それぞれ、Q及びNからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₅、X₁₆、及びX₁₈は、それぞれ、K、R、H、及びOrnからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₇は、A、G、S、A i b、及びA i bから選択されるアミノ酸であり、X₉及びX₁₄は、それぞれ、A、G、S、V、Amv、及びA i bからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₁₁は、A、G、S、A i b、Amv、V、及びNからなる群から選択されるアミノ酸であり、X₁₇は、W、F、Y、I、V、及びLからなる群から選択されるアミノ酸であり（配列番号24）、当該ペプチドは、20～24アミノ酸長である。

20

30

【0091】

第1の態様の別の実施形態は、アミノ酸配列：X₁-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆-X₇-X₈-X₉-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-X₁₄-X₁₅-X₁₆-X₁₇-X₁₈-X₁₉-X₂₀から本質的になるペプチドを提供し、式中、X₁は、D及びEからなる群から選択されるアミノ酸であり、X₂及びX₂₀は、それぞれ、V、I、A i b、及びLからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₃、X₆、X₁₀、X₁₃は、それぞれ、L、I、V、W、Y、A i b、Amv、及びFからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₄、X₁₂、及びX₁₉は、それぞれ、Q及びNからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₅、X₁₆、及びX₁₈は、それぞれ、K、R、H、及びOrnからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₇は、A、G、S、V、A i b、及びAmvからなる群から選択され、X₈及びX₁₅は、アミノ酸E及びDからなる群から独立して選択される、X₉及びX₁₄は、A、G、S、L、F、V、Amv、及びA i bからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、X₁₁は、A、G、S、A i b、Amv、V、及びNからなる群から選択されるアミノ酸であり、X₁₇は、W、F、Y、I、V、及びLからなる群から選択されるアミノ酸であり（配列番号24）、当該ペプチ

40

50

ドは、20～24アミノ酸長である。

【0092】

第1の態様の更に別の実施形態は、アミノ酸配列： $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}$ からなるペプチドを提供し、式中、 X_1 は、D及びEからなる群から選択されるアミノ酸であり、 X_2 及び X_{20} は、それぞれ、V、I、Aib、及びLからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_3 、 X_6 、 X_{10} 、 X_{13} は、それぞれ、L、I、V、W、Y、Aib、Amv、及びFからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_4 、 X_{12} 、及び X_{19} は、それぞれ、Q及びNからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_5 、 X_{16} 及び X_{18} は、それぞれ、K、R、H、及びOrnからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_7 は、A、G、S、V、Aib、及びAmvからなる群から選択され、 X_8 及び X_{15} は、アミノ酸E及びDからなる群から独立して選択される、 X_9 及び X_{14} は、A、G、S、L、F、V、Amv、及びAibからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_{11} は、A、G、S、Aib、Amv、V、及びNからなる群から選択されるアミノ酸であり、 X_{17} は、W、F、Y、I、V、及びLからなる群から選択されるアミノ酸である（配列番号24）。

10

【0093】

第1の態様によるペプチドの本開示の実施形態のいずれかは、ペプチドのN末端アミノ酸の α アミンで任意にアシル化されているか、ペプチドの末端カルボキシル基で任意にアミド化されているか、または任意にペプチドのN末端アミノ酸の α アミンでアシル化されており、末端カルボキシル基でアミド化されていることが意図される。ペプチドは、当該技術分野において公知の方法によりアシル化またはアミド化され得る。

20

【0094】

本発明の特定のペプチドを以下の表2に掲示する。

30

40

50

【表 2 - 1】

表 2

配列 番号	ペプチド配列	平均疎水性 モーメント ^a	平均疎水性 ^b
2	DVFQALKELFAQLLEKWKQV	0.846	-1.043
3	DVFQ {AIB} LKELFNQLLEK WKQV	0.908	-1.135
4	DVFQ {AIB} LKELLAQLLEK FKQV	0.885	-0.995
5	DVFQ {AIB} LKELLNQLLEK FKQV	0.948	-1.092
6	DVFQ {AIB} LKELLNQL {A I B} EKFKQV	0.940	-1.120
7	DVFQ {AIB} LKELLNQL {A I B} EKWKQV	0.910	-1.151
8	DVFQALKELLAQLLEKFKQV	0.887	-1.000
9	DVFQALKELLNQLLEKFKQV	0.950	-1.097
10	DVFQ {AIB} LKELFAQLLEK WKQV	0.845	-1.038
11	DVFQ {AIB} LKELFNQLLEK WKQV	0.908	-1.135
12	DVFQ {AIB} LKELFNQLLEK FKQV	0.938	-1.104
13	DVFQALKELFAQL {AIB} EK WKQV	0.836	-1.071
14	DVFQALKELFNQL {AIB} EK WKQV	0.902	-1.168
15	DVFQALKELFNQL {AIB} EK FKQV	0.932	-1.137
16	DVFQAFKEAFAQLFEKWKQV	0.821	-1.099
17	DVFQAFKE {AIB} FAQLFEK WKQV	0.822	-1.094
18	DVFQ {AIB} FKE {AIB} FAQ LFEKWKQV	0.820	-1.089
19	DVFQAFKEAF {AIB} QLF EK WKQV	0.818	-1.094
20	DVFQAFKE {AIB} F {AIB} Q LFEKWKQV	0.819	-1.089
21	DVFQ {AIB} FKE {AIB} F {A IB} QLF EKWKQV	0.817	-1.084

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

配列 番号	ペプチド配列	平均疎水性 モーメント ^a	平均疎水性 ^b
2 2	D V F Q A L K E L F N Q L L E K W K Q V	0. 9 1 0	- 1. 1 4 0
2 3	D V F Q { A I B } L K E L L N Q L L E K L K Q V	0. 9 5 9	- 1. 0 8 1
2 5	D V F Q K L { A I B } E L F N Q L L E K W K Q V	0. 9 7 6	- 1. 1 3 5
2 6	D V F Q K L V E L F N Q L L E K W K Q V	0. 9 7 9	- 1. 1 1 9
2 7	D V { A I B } Q K L F E L F N Q L L E K W K Q V	0. 9 6 6	- 1. 1 3 5
2 8	D V F Q K L { A I B } E L F N Q L L E K F K Q V	1. 0 0 7	- 1. 1 0 4
2 9	D V F Q K L V E L F N Q L L E K F K Q V	1. 0 1 0	- 1. 0 8 8
3 0	D V { A I B } Q K L F E L F N Q L L E K F K Q V	0. 9 9 7	- 1. 1 0 4
3 1	D V L Q K F { A I B } E L F N Q L L E K W K Q V	0. 9 7 4	- 1. 1 3 5
3 2	D V { A I B } Q K F L E L F N Q L L E K W K Q V	0. 9 5 8	- 1. 1 3 5
3 3	D V F Q K L L E { A I B } F N Q L L E K W K Q V	0. 9 7 9	- 1. 1 3 5
3 4	D V F Q K L { A I B } E L F N Q { A I B } L E K W K Q V	0. 9 5 5	- 1. 1 6 3
3 5	D V F Q K L { A I B } E L F N Q L { A I B } E K W K Q V	0. 9 6 1	- 1. 1 6 3
3 6	D { A I B } F Q K L { A I B } E L F N Q L { A I B } E K W K Q V	0. 9 5 3	- 1. 1 7 9
^a P o w n a l l e t a l. (F E B S L e t t e r s 1 5 9 : 1 7 - 2 3 (1 9 8 3)) に従ってアミノ酸疎水性 (H e s s a e t a l. N a t u r e 4 3 3 : 3 7 7 - 3 8 1 (2 0 0 5)) から計算された。 ^b 残基数で除算したアミノ酸疎水性の合計として計算された (k c a l / m o l / 残基)。			

【 0 0 9 5 】

本開示の第 1 の態様の一実施形態は、配列番号 1 ～ 2 3 のアミノ酸配列のいずれかを含むペプチドであり、ここで、当該ペプチドは、20 ～ 24 アミノ酸長である。更に別の実施形態は、配列番号 1 ～ 2 3 のアミノ酸配列のいずれかから本質的になるペプチドであり、ここで、当該ペプチドは、20 ～ 24 アミノ酸長である。更に別の実施形態は、配列番号 1 ～ 2 3 のアミノ酸配列のいずれかからなるペプチドである。本開示のペプチドの上記実施形態のいずれかでは、任意に、ペプチドの N 末端アミノ酸の α アミンがアシル化されているか、末端カルボキシル基がアミド化されているか、またはペプチドの N 末端アミノ酸の α アミンがアシル化されており、末端カルボキシル基がアミド化されている。

【 0 0 9 6 】

本開示の第 1 の態様の一実施形態は、配列番号 2 5 ～ 3 6 のアミノ酸配列のいずれかを

含むペプチドであり、ここで、当該ペプチドは、20～24アミノ酸長である。更に別の実施形態は、配列番号25～36のアミノ酸配列のいずれかから本質的になるペプチドであり、ここで、当該ペプチドは、20～24アミノ酸長である。別の実施形態は、配列番号25～36のアミノ酸配列のいずれかからなるペプチドである。本発明のペプチドの上記実施形態のいずれかでは、任意に、ペプチドのN末端アミノ酸のαアミンがアシル化されているか、末端カルボキシル基がアミド化されているか、またはペプチドのN末端アミノ酸のαアミンがアシル化されており、末端カルボキシル基がアミド化されている。

【0097】

本開示の実施形態は、配列番号1及び24により一般的に規定されるペプチドの逆配列を有するペプチドを更に含む。

【0098】

本開示の第1の態様の一実施形態は、配列番号1の逆であるペプチドを提供し、当該ペプチドは、アミノ酸配列： $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}$ を含み、式中、 X_1 及び X_{19} は、それぞれ、アミノ酸VまたはAibであり、 X_2 、 X_9 、及び X_{17} は、それぞれ、アミノ酸Qであり、 X_3 、 X_5 、及び X_{14} は、それぞれ、アミノ酸Kであり、 X_4 は、W、F、及びLからなる群から選択されるアミノ酸であり、 X_6 及び X_{13} は、それぞれ、アミノ酸Eであり、 X_7 及び X_{12} は、それぞれ、A、L、F、及びAibからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_8 、 X_{11} 、 X_{15} 、及び X_{18} は、それぞれ、L及びFからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_{10} は、A、Aib、及びNからなる群から選択されるアミノ酸であり、 X_{16} は、A及びAibからなる群から選択されるアミノ酸であり、 X_{20} は、アミノ酸Dであり（配列番号37）、当該ペプチドは、20～24アミノ酸長である。

【0099】

本開示の第1の態様の別の実施形態は、配列番号24の逆であるペプチドを提供し、逆ペプチドは、アミノ酸配列： $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}$ を含み、式中、 X_1 及び X_{19} は、それぞれ、V、Aib、I、及びLからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_2 、 X_9 、及び X_{17} は、それぞれ、Q及びNからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_3 、 X_5 、及び X_{16} は、それぞれ、K、R、H、及びOrnからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_4 は、W、F、Y、I、V、及びLからなる群から選択されるアミノ酸であり、 X_6 、 X_{13} 、及び X_{20} は、それぞれ、E及びDからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_7 及び X_{12} は、それぞれ、A、G、S、L、F、V、Amv、及びAibからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_8 、 X_{11} 、 X_{15} 、及び X_{18} は、アミノ酸L、I、V、W、及びFからなる群から独立して選択され、 X_{10} は、A、G、S、Aib、Amv、V、及びNからなる群から選択されるアミノ酸であり、 X_{14} は、A、G、S、V、Aib、及びAmvからなる群から選択されるアミノ酸であり（配列番号59）、当該ペプチドは、20～24アミノ酸長である。

【0100】

本開示の第1の態様の別の実施形態は、配列番号24の逆であるペプチドを提供し、逆ペプチドは、アミノ酸配列： $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}$ からなり、式中、 X_1 及び X_{19} は、それぞれ、アミノ酸VまたはAibであり、 X_2 、 X_9 、及び X_{17} は、それぞれ、アミノ酸Qであり、 X_3 、 X_5 、及び X_{14} は、それぞれ、アミノ酸Kであり、 X_4 は、W、F、及びLからなる群から選択されるアミノ酸であり、 X_6 及び X_{13} は、それぞれ、アミノ酸Eであり、 X_7 及び X_{12} は、それぞれ、A、L、F、及びAibからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_8 、 X_{11} 、 X_{15} 、及び X_{18} は、それぞれ、L及びFからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_{10} は、A、Aib、及びNからなる群から選択されるアミノ酸であり、 X_{16} は、A及びA

i b かなる群から選択されるアミノ酸であり、X₂₀は、アミノ酸Dである（配列番号37）。

【0101】

本発明の追加のペプチドを、表3に掲示する。これらのペプチドのアミノ酸配列は、配列番号2～23及び25～36のアミノ酸配列の逆である。

【表3-1】

表3

配列 番号	ペプチド配列
38	VQKWKE LLQAFLEKLAQFV D
39	VQKWKE LLQNFLEKL {A I B} QFVD
40	VQKFKE LLQALLEKL {A I B} QFVD
41	VQKFKE LLQNLLEKL {A I B} QFVD
42	VQKFKE {A I B} LQNLLEKL {A I B} QFVD
43	VQKWKE {A I B} LQNLLEKL {A I B} QFVD
44	VQKFKE LLQALLEKLAQFV D
45	VQKFKE LLQNLLEKLAQFV D
46	VQKWKE LLQAFLEKL {A I B} QFVD
47	VQKWKE LLQNFLEKL {A I B} QFVD
48	VQKFKE LLQNFLEKL {A I B} QFVD
49	VQKWKE {A I B} LQAFLEKL AQFVD
50	VQKWKE {A I B} LQNFLEKL AQFVD
51	VQKFKE {A I B} LQNFLEKL AQFVD
52	VQKWKE FLQAF AEKFAQFV D
53	VQKWKE FLQAF {A I B} EK F AQFVD
54	VQKWKE FLQAF {A I B} EK F {A I B} QFVD

10

20

30

40

50

【表 3 - 2】

配列 番号	ペプチド配列
5 5	VQKWKEFLQ {AIB} FAEKF AQFVD
5 6	VQKWKEFLQ {AIB} F {A I B} EKFAQFVD
5 7	VQKWKEFLQ {AIB} F {A I B} EK F {AIB} QFVD
5 8	VQKWKELLQNFLEKLAQFV D
6 0	VQKLKELLQNLLEKL {A I B} QFVD
6 1	VQKWKELLQNFLE {AIB} L KQFVD
6 2	VQKWKELLQNFLEV LKQFV D
6 3	VQKWKELLQNFLEFLKQ {A IB} VD
6 4	VQKFKELLQNFLE {AIB} L KQFVD
6 5	VQKFKELLQNFLEV LKQFV D
6 6	VQKFKELLQNFLEFLKQ {A IB} VD
6 7	VQKWKELLQNFLE {AIB} F KQLVD

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

配列 番号	ペプチド配列
6 8	V Q K W K E L L Q N F L E L F K Q { A I B } V D
6 9	V Q K W K E L L Q N F { A I B } E L L K Q F V D
7 0	V Q K W K E L { A I B } Q N F L E { A I B } L K Q F V D
7 1	V Q K W K E { A I B } L Q N F L E { A I B } L K Q F V D
7 2	V Q K W K E { A I B } L Q N F L E { A I B } L K Q F { A I B } D

10

【0102】

本開示の第1の態様の一実施形態は、配列番号38～58のアミノ酸配列のいずれかを含むペプチドであり、当該ペプチドは、20～24アミノ酸長である。更に別の実施形態は、配列番号38～58のアミノ酸配列のいずれかから本質的になるペプチドである。更に別の実施形態は、配列番号38～58のアミノ酸配列のいずれかからなるペプチドである。本発明のペプチドの上記実施形態のいずれかでは、任意に、ペプチドのN末端アミノ酸の α アミンがアシル化されているか、末端カルボキシル基がアミド化されているか、またはペプチドのN末端アミノ酸の α アミンがアシル化されており、末端カルボキシル基がアミド化されている。

20

【0103】

本開示の第1の態様の一実施形態は、配列番号60～72のアミノ酸配列のいずれかを含むペプチドであり、ここで、当該ペプチドは、20～24アミノ酸長である。更に別の実施形態は、配列番号60～72のアミノ酸配列のいずれかから本質的になるペプチドである。更に別の実施形態は、配列番号60～72のアミノ酸配列のいずれかからなるペプチドである。本発明のペプチドの上記実施形態のいずれかでは、任意に、ペプチドのN末端アミノ酸の α アミンがアシル化されているか、末端カルボキシル基がアミド化されているか、またはペプチドのN末端アミノ酸の α アミンがアシル化されており、末端カルボキシル基がアミド化されている。

30

【0104】

本開示のペプチドが、配列番号1～72のいずれかのアミノ酸配列、及び当該アミノ酸配列のN末端またはC末端のいずれかに独立して付加された1～4個の追加のアミノ酸を含む場合、当該追加のアミノ酸は、アミノ酸の付加が当該ペプチドの両親媒性に悪影響を及ぼさないように選択される。

40

【0105】

本開示の第2の態様は、両親媒性ペプチドとリン脂質との組み合わせにより形成されたペプチド両親媒性分子脂質ミセル(PALM)部分(本明細書において、「PALM」とも称される)を提供する。本開示の第2の態様のPALMは、脂質成分と複合体を形成した本開示の第1の態様の1種以上のペプチドを含み、ここで、当該脂質成分は、スフィンゴミエリン及び1種以上の追加のリン脂質を含む。本開示によるPALMは、標的細胞集団に受動的または能動的に送達され得る。本開示の第2の態様の一実施形態では、PALMは、本開示の1種以上のペプチドを含み、ここで、脂質成分は、スフィンゴミエリン及び1種以上の追加のリン脂質から本質的になる。一実施形態では、PALMは、本開示の

50

ペプチド及び脂質成分を含み、ここで、当該脂質成分は、スフィンゴミエリン及び1種以上の追加のリン脂質を含み、当該追加のリン脂質は、ホスファチジルコリン、ポリエチレングリコール-ホスファチジルエタノールアミン（PEG-PE）、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、カルジオリピン、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。別の実施形態では、PALMは、本開示のペプチドを含み、脂質成分は、スフィンゴミエリン及びホスファチジルコリンを含む。別の実施形態では、PALMは、本開示のペプチド、スフィンゴミエリン、及び1-パルミトイル-2-オレオイルホスファチジルコリン（POPC）を含む。更に別の実施形態では、PALMは、本開示のペプチドを含み、脂質成分は、スフィンゴミエリン及びホスファチジルエタノールアミンを含む。更に別の実施形態では、PALMは、本開示のペプチドを含み、脂質成分は、スフィンゴミエリン及びポリ（エチレングリコール）ホスファチジルエタノールアミンを含む。更に別の実施形態では、PALMは、本開示のペプチドを含み、脂質成分は、スフィンゴミエリン及びホスファチジルセリンを含む。別の実施形態では、PALMは、本開示のペプチドを含み、脂質成分は、スフィンゴミエリン及びカルジオリピンを含む。

10

【0106】

本開示の第2の態様の更に別の実施形態では、PALMは、本開示のペプチドを含み、脂質成分は、スフィンゴミエリン及び1種以上の追加のリン脂質から本質的になり、当該1種以上の追加のリン脂質は、ホスファチジルコリン、ポリエチレングリコール-ホスファチジルエタノールアミン（PEG-PE）、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、カルジオリピン、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。更に別の実施形態では、PALMは、本開示のペプチドを含み、脂質成分は、スフィンゴミエリン及びホスファチジルコリンから本質的になる。別の実施形態では、PALMは、本開示のペプチドを含み、脂質成分は、スフィンゴミエリン及び1-パルミトイル-2-オレオイル-ホスファチジルコリン（POPC）から本質的になる。

20

【0107】

本開示の第2の態様の幾つかの実施形態では、PALMは、本開示のペプチドを含み、脂質成分は、スフィンゴミエリン及び1種以上の追加のリン脂質から本質的になり、当該1種以上の追加のリン脂質は、ホスファチジルコリン、ポリエチレングリコール-ホスファチジルエタノールアミン（PEG-PE）、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、カルジオリピン、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択され、リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比は、約95：5～約10：90である。別の実施形態では、リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比は、約90：10～約20：80である。更に別の実施形態では、リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比は、約25：75～約35：65である。別の実施形態では、リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比は、約30：70である。別の実施形態では、リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比は、約80：20～約60：40である。更に他の実施形態では、リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比は、約75：25～約65：35である。更に別の実施形態では、リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比は、約70：30である。

30

40

【0108】

リン脂質の脂肪酸成分としては、式： $R-COOH$ の脂肪酸が挙げられ、式中、 R は、 $(C_7 \sim C_{21})$ アルキル基または $(C_7 \sim C_{21})$ アルケニル基であり、アルケニル基は1～6個の二重結合を有し得る。好適な脂肪酸の例としては、限定されるものではないが、フィタン酸、リノレン酸、リノール酸、ドコサテトラエン酸、オレイン酸、カプリル酸、ラウリン酸、アラキジン酸、ミリスチン酸、及びパルミチン酸が挙げられる。特定のリン脂質のグリセロール骨格にエステル化された一対の脂肪酸は、同一であってもよく、またはそれぞれ異なる種類の脂肪酸であってもよい。

【0109】

50

脂質成分対ペプチドのモル比は、約 10 : 1 ~ 約 2 : 1 である。一実施形態では、比率は、約 9 : 1 ~ 約 2 : 1 である。一実施形態では、脂質成分対ペプチドのモル比は、約 8 : 1 ~ 約 2 : 1 である。更に別の実施形態では、脂質成分対ペプチドのモル比は、約 7 : 1 ~ 約 3 : 1 である。別の実施形態では、脂質成分対ペプチドのモル比は、約 6 : 1 ~ 約 4 : 1 である。

【0110】

ホスファチジルコリンの両親媒性ペプチドとの複合体は、公知である。これらの複合体を生成するための一方法は、一般的な溶媒相から最初に共凍結乾燥を行い、続いて、乾燥した凍結乾燥物を再水和させて、水性懸濁液中で複合体を形成させることによるものである。

【0111】

粒子サイズは、DLSにより測定され、流体力学的平均直径（「平均直径」）として表される。本開示の第2の態様によるPALMは、200 nm以下、50 nm以下、40 nm以下、または30 nm以下の平均直径を有するナノメートルサイズの粒子である。一実施形態では、平均粒子直径は、約 5 nm ~ 約 200 nm である。別の実施形態では、平均粒子直径は、約 5 nm ~ 約 50 nm である。一実施形態では、平均粒子直径は、約 5 nm ~ 約 30 nm である。更に別の実施形態では、平均粒子直径は、約 7.5 nm ~ 約 30 nm である。更に別の実施形態では、平均粒子直径は、約 10 nm ~ 約 30 nm である。別の実施形態では、平均粒子直径は、約 5 nm ~ 約 25 nm である。別の実施形態では、平均粒子直径は、約 7.5 nm ~ 約 25 nm である。更に別の実施形態では、平均粒子直径は、約 10 nm ~ 約 25 nm である。別の実施形態では、平均粒子直径は、約 5 nm ~ 約 20 nm である。別の実施形態では、平均粒子直径は、約 7.5 nm ~ 約 20 nm である。更に別の実施形態では、平均粒子直径は、約 10 nm ~ 約 20 nm である。更に別の実施形態では、平均粒子直径は、約 5 nm ~ 約 15 nm である。別の実施形態では、平均粒子直径は、約 7.5 nm ~ 約 15 nm である。更に別の実施形態では、平均粒子直径は、約 10 nm ~ 約 15 nm である。更に別の実施形態では、平均粒子直径は、約 7.5 nm ~ 約 10 nm である。

【0112】

本開示の第3の態様は、本開示の第2の態様の実施形態のPALMのいずれか及びカーゴ分子を含むPALM-カーゴ分子組成物を提供する。カーゴ分子としては、限定されるものではないが、薬学的特性または治療特性を有する分子が挙げられる。カーゴ分子の非限定的な例としては、総称的にまたは個別に、抗がん化合物、例えば、オールトランスレチノイン酸、レチノイン酸のメチルアルコールエステル、エチルアルコールエステル、及びより長鎖の脂肪族アルキル鎖アルコールエステルが含まれるオールトランスレチノイン酸のアルコールエステル、ならびにレチノイン酸のコレステリルエステル；レチノイン酸アミド、例えば、フェンレチニド；レチノール、ならびにレチノイン酸のメチルアルコールエステル、エチルアルコールエステル、及びより長鎖の脂肪族アルキル鎖アルコールエステルが含まれるレチノールのカルボン酸エステル；親油性抗真菌薬、例えば、アンホテリシンBまたはナイスタチン；ステロイド、例えば、プロゲステロン、テストステロン、プレドニゾロン、ヒドロコルチゾン、デキサメタゾン、及びエストラジオール；鎮痛剤、例えば、プロポフォール及びハロペリドール；抗精神病薬、例えば、フルフェナジンデカノエート及びアリピプラゾール；ビタミンD類似体であるコレカルシフェロール及びエルゴカルシフェロール；ならびにビタミンEの異性体が挙げられる。

【0113】

カーゴ分子としては、診断またはイメージング操作を可能にする分子、例えば、蛍光造影剤、放射性標識造影剤、ならびにMRI、PET、CT、SPECT/CT、及びX線検査に使用される薬剤も挙げられる。MRI造影剤としては、限定されるものではないが、コントラスト剤、例えば、ガドリニウムイオンもしくは同様のランタニドイオン、またはインジウム111もしくはガリウム67もしくはルテチウム177もしくはサマリウム153とキレート化しているジエチレントリアミン五酢酸部分を有するホスファチジルエ

10

20

30

40

50

タノールアミンが挙げられる。

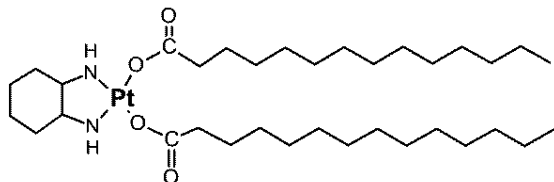
【0114】

またカーゴ分子は、既知の方法により、コレステロールまたは他の多環式脂肪族アルコールに連結された様々な種類及び長さのRNAまたはDNAであってもよい。

【0115】

第3の態様の一実施形態では、カーゴ分子は、シス[(1R, 2R)-1, 2-シクロヘキサンジアミン-N, N')ビス(ミリスタト)]白金(II)の化学名を有するミリプラチンである。

【化1】



10

【0116】

本開示の第3の態様の更に別の実施形態は、PALM-カーゴ分子複合体であり、ここで、当該カーゴ分子は、式Iの化合物コンジュゲートであり、

【0117】

A-R-L-X (式I)

式中、Aは、ヒドロキシまたはアミン基を有する薬剤であり、Rは、当該薬剤のヒドロキシルまたはアミン基であり、Lは、リンカーであり、Xは、アンカー部分である。

20

【0118】

本開示の第3の態様の別の実施形態は、PALM-カーゴ分子複合体であり、ここで、当該カーゴ分子は、式Iの化合物コンジュゲートであり、

【0119】

A-R-L-X (式I)

式中、Aは、ヒドロキシ基またはアミン基を有する薬剤であり、Rは、当該薬剤の当該ヒドロキシル基または当該アミン基であり、Lは、炭酸、コハク酸、またはジグリコール酸であり、Xは、コレステロール、 α -トコトリエノール、 β -トコトリエノール、 γ -トコトリエノール、 δ -トコトリエノール、コプロスタノール、植物ステロール(β -シトステロール、シトスタノール、スチグマステロール、スチグマスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール)、エルゴステロール、レチノール、コレカルシフェロール、エルゴカルシフェロール、トコフェロール、またはトコトリエノールである。

30

【0120】

本開示の第3の態様の別の実施形態は、PALM-カーゴ分子複合体であり、ここで、当該カーゴ分子は、式Iの化合物コンジュゲートであり、

式中、Aは、ヒドロキシまたはアミン基を有する薬剤であり、Rは、当該薬剤の当該ヒドロキシル基または当該アミン基であり、Lは、炭酸、コハク酸、またはジグリコール酸からなる群から選択され、Xは、コレステロール、 α -トコトリエノール、 β -トコトリエノール、 γ -トコトリエノール、 δ -トコトリエノール、コレステロール、コプロスタノール、植物ステロール(β -シトステロール、シトスタノール、スチグマステロール、スチグマスタノール、カンペステロール、ブラシカステロール)、エルゴステロール、レチノール、コレカルシフェロール、エルゴカルシフェロール、 α -トコフェロール、 β -トコフェロール、 γ -トコフェロール、及び δ -トコフェロールからなる群から選択される。

40

【0121】

本開示の第3の態様の別の実施形態は、PALM-カーゴ分子複合体であり、ここで、当該カーゴ分子は、式Iの化合物コンジュゲートであり、

式中、Aは、ヒドロキシまたはアミン基を有する薬剤であり、Rは、当該薬剤のヒドロキシルまたはアミン基であり、Lは、リンカーであり、Xは、コレステロール、コレカルシ

50

フェロール、及び δ - トコトリエノールからなる群から選択されるアンカー部分である。

【0122】

式(1)の化合物コンジュゲートの一実施形態では、Rは、薬剤のヒドロキシ基であり、アンカー部分は、炭酸エステル結合により薬剤に共有結合している。式(1)の化合物コンジュゲートの別の実施形態では、Rは、薬剤のアミン基であり、アンカー部分は、カルバミン酸エステル結合により薬剤に共有結合している。

【0123】

式(1)の化合物コンジュゲートの別の実施形態では、アンカー部分は、コレステロールである。式(1)の化合物コンジュゲートの更に別の実施形態では、アンカー部分は、コレステロールであり、但し、アンカー部分がコレステロールである場合、化合物は、パクリタキセルではない。

10

【0124】

式(1)の化合物コンジュゲートの更に別の実施形態では、アンカー部分は、 α - トコトリエノールである。式(1)の化合物コンジュゲートの別の実施形態では、アンカー部分は、 β - トコトリエノールである。式(1)の化合物コンジュゲートの更に別の実施形態では、アンカー部分は、 γ - トコトリエノールである。式(1)の化合物コンジュゲートの更に別の実施形態では、アンカー部分は、 δ - トコトリエノールである。式(1)の化合物コンジュゲートの更に別の実施形態では、アンカー部分は、エルゴカルシフェロールである。

【0125】

式(1)の化合物コンジュゲートの幾つかの実施形態では、薬剤は、薬物である。

20

【0126】

式(1)の化合物コンジュゲートの幾つかの実施形態では、薬剤は、CIPNを引き起こし、及び／またはそれに関連する化学療法薬である。式(1)の化合物コンジュゲートの一実施形態では、薬剤は、CIPNを引き起こす化学療法薬であり、化学療法薬は、炭酸エステル結合によりアンカーに共有結合している。

【0127】

式(1)の化合物コンジュゲートの一実施形態では、薬剤は、CIPNを引き起こす化学療法薬であり、CIPNを引き起こす化学療法薬は、カルバミン酸エステル結合によりアンカーに共有結合している。

30

【0128】

炭酸エステル結合を形成させるのに利用可能なヒドロキシル基を有する、CIPNを引き起こす化学療法薬の非限定的な例としては、ビンクリスチン、デスアセチルビンブラスチン、デスアセチルビノレルビン、チューブリシンA、エポチロンB、イクサベピロン、エリブリン、エムタンシン、ドセタキセル、カバジタキセル、またはパクリタキセルが挙げられる。

カルバミン酸エステル結合を形成させるのに利用可能なアミンを有するCIPNを引き起こす化学療法薬の非限定的な例としては、ゲムシタビン及びシタラビンが挙げられる。

【0129】

本開示の第3の態様のPALM-化学療法薬コンジュゲートナノ粒子組成物の幾つかの実施形態では、CIPNを引き起こす化学療法薬は、パクリタキセル2'-コレステリルカーボネートである。別の実施形態では、化学療法薬は、パクリタキセル2'- δ - トコトリエノールカーボネートである。

40

【0130】

更なる他の実施形態では、CIPNを引き起こす化学療法薬は、ドセタキセル2'-コレステリルカーボネートである。他の実施形態では、CIPNを引き起こす化学療法薬は、ゲムシタビンのコレステリルカーボネートエステルである。他の実施形態では、CIPNを引き起こす化学療法薬は、チューブリシンAのコレステリルカーボネートエステルである。

【0131】

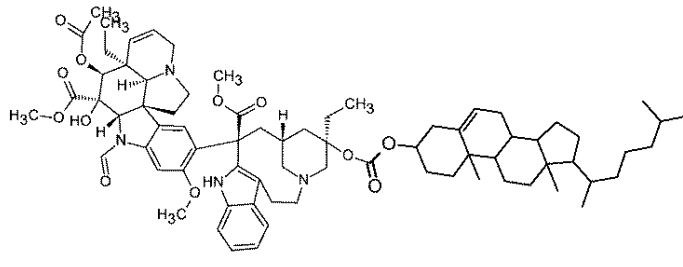
50

本開示の第3の態様のPALM-化学療法薬コンジュゲートナノ粒子組成物の他の実施形態では、CIPNを引き起こす化学療法薬は、ゲムシタビンのコレステリルカルバメートエステル（コレステリル（N⁴）-ゲムシタビンカルバメート）である。

【0132】

更に別の実施形態では、CIPNを引き起こす化学療法薬は、ビンクリスチンのコレステリルカーボネートエステルであり、その構造は、以下である：

【化2】

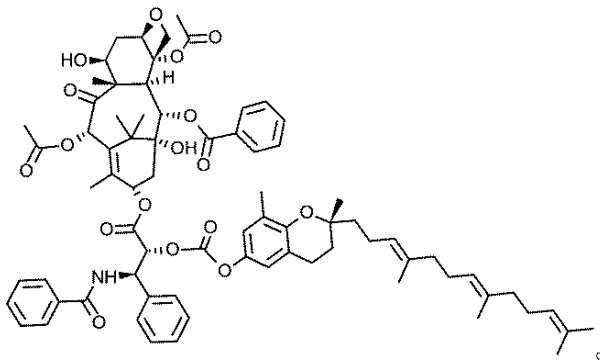


10

【0133】

更に別の実施形態では、CIPNを引き起こす化学療法薬は、パクリタキセルのδ-トリエンルカルバメートエステルであり、その構造は、以下である：

【化3】



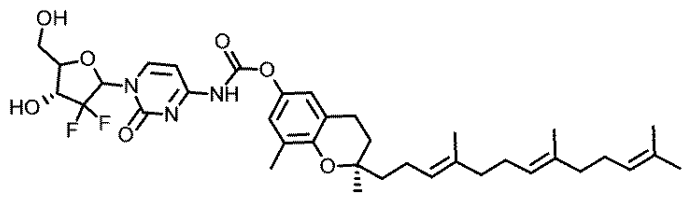
20

30

【0134】

更に別の実施形態では、CIPNを引き起こす化学療法薬は、ゲムシタビンのδ-トリエンルカーボネートエステルであり、その構造は、以下である：

【化4】



40

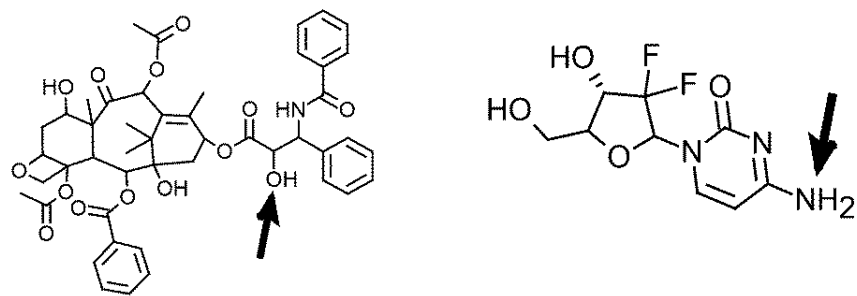
【0135】

表4は、矢印により示されるヒドロキシルまたはアミン基（R）を有する、本発明において有用なCIPNを引き起こす化学療法薬（A）の非限定的な例の構造を掲示する。

50

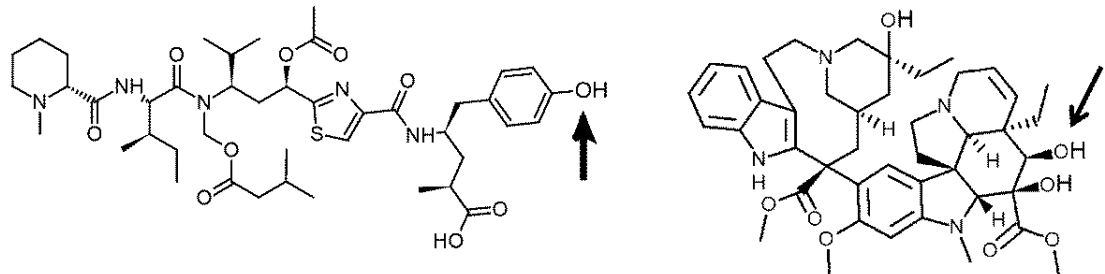
【表 4】

表 4



パクリタキセル

ゲムシタビン



チューブリシン A

デスアセチルビンブラスチン

【 0 1 3 6 】

表 5 は、式 A - R - L - X の P A L M - 化学療法薬組成物の非限定的な例を掲示する。

【表 5 - 1】

表 5

化合物	A	R	L	X
1	パクリタキセル	O	炭酸	γ - トコトリ
		H		エノール
2	パクリタキセル	O	炭酸	δ - トコトリ
		H		エノール
3	パクリタキセル	O	炭酸	コレカルシフ
		H		エロール
4	パクリタキセル	O	炭酸	エルゴカルシ
		H		フェロール
5	パクリタキセル	O	コハク酸	コレステロー
		H		ル
6	パクリタキセル	O	コハク酸	γ - トコトリ
		H		エノール
7	パクリタキセル	O	コハク酸	δ - トコトリ
		H		エノール
8	パクリタキセル	O	コハク酸	コレカルシフ
		H		エロール
9	パクリタキセル	O	コハク酸	エルゴカルシ
		H		フェロール

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

1 0	パクリタキセル	O	ジグリコール	コレステロー
		H	酸	ル
1 1	パクリタキセル	O	ジグリコール	γ-トコトリ
		H	酸	エノール
1 2	パクリタキセル	O	ジグリコール	δ-トコトリ
		H	酸	エノール
1 3	パクリタキセル	O	ジグリコール	コレカルシフ
		H	酸	エロール
1 4	パクリタキセル	O	ジグリコール	エルゴカルシ
		H	酸	フェロール
1 5	ゲムシタビン	N	炭酸	コレステロー
		H ₂		ル
1 6	ゲムシタビン	N	炭酸	γ-トコトリ
		H ₂		エノール
1 7	ゲムシタビン	N	炭酸	δ-トコトリ
		H ₂		エノール
1 8	ゲムシタビン	N	炭酸	コレカルシフ
		H ₂		エロール
1 9	ゲムシタビン	N	炭酸	エルゴカルシ
		H ₂		フェロール
2 0	ゲムシタビン	N	コハク酸	コレステロー
		H ₂		ル
2 1	ゲムシタビン	N	コハク酸	γ-トコトリ
		H ₂		エノール
2 2	ゲムシタビン	N	コハク酸	δ-トコトリ
		H ₂		エノール
2 3	ゲムシタビン	N	コハク酸	コレカルシフ
		H ₂		エロール
2 4	ゲムシタビン	N	コハク酸	エルゴカルシ
		H ₂		フェロール
2 5	ゲムシタビン	N	ジグリコール	コレステロー
		H ₂	酸	ル
2 6	ゲムシタビン	N	ジグリコール	γ-トコトリ
		H ₂	酸	エノール
2 7	ゲムシタビン	N	ジグリコール	δ-トコトリ
		H ₂	酸	エノール
2 8	ゲムシタビン	N	ジグリコール	コレカルシフ
		H ₂	酸	エロール
2 9	ゲムシタビン	N	ジグリコール	エルゴカルシ
		H ₂	酸	フェロール

10

20

30

40

50

【表 5 - 3】

3 0	チューブリシン A	O	炭酸	コレステロー
		H		ル
3 1	チューブリシン A	O	炭酸	γ - トコトリ
		H		エノール
3 2	チューブリシン A	O	炭酸	δ - トコトリ
		H		エノール
3 3	チューブリシン A	O	炭酸	コレカルシフ
		H		エロール
3 4	チューブリシン A	O	炭酸	エルゴカルシ
		H		フェロール
3 5	チューブリシン A	O	コハク酸	コレステロー
		H		ル
3 6	チューブリシン A	O	コハク酸	γ - トコトリ
		H		エノール
3 7	チューブリシン A	O	コハク酸	δ - トコトリ
		H		エノール
3 8	チューブリシン A	O	コハク酸	コレカルシフ
		H		エロール
3 9	チューブリシン A	O	コハク酸	エルゴカルシ
		H		フェロール
4 0	チューブリシン A	O	ジグリコール	コレステロー
		H	酸	ル
4 1	チューブリシン A	O	ジグリコール	γ - トコトリ
		H	酸	エノール
4 2	チューブリシン A	O	ジグリコール	δ - トコトリ
		H	酸	エノール
4 3	チューブリシン A	O	ジグリコール	コレカルシフ
		H	酸	エロール
4 4	チューブリシン A	O	ジグリコール	エルゴカルシ
		H	酸	フェロール

10

20

30

【0137】

本開示の第 4 の態様は、tert-ブチルアルコール及び水から構成される均一溶媒相から P A L M または P A L M - 化学療法薬ナノ粒子組成物を生成するための驚くほど効果的な共凍結乾燥技術を提供する。この手法の利点は、1) ペプチド、リン脂質、及び任意に親油性カーゴ（例えば、C I P N を引き起こす化学療法薬）、例えば、パクリタキセル - 2' - コレステリルカーボネートを含む全ての P A L M 構成成分が、単一の溶媒相中に共に可溶化されること、2) 溶媒成分が完全に相溶性であり、標準的な凍結乾燥手順による除去に十分適していること、3) tert-ブチルアルコールが低毒性（クラス 3 溶媒）であるため、この手順により潜在的に有毒な物質が避けられること、及び 4) 得られる乾燥凍結乾燥物が、水性調製物を用いて可能なものよりも、貯蔵中の安定性をより高める機会を可能にすることである。

40

【0138】

P A L M を調製するために使用される溶媒混合液は、好ましくは、tert-ブチルアルコール（T B A）及び水の混合物である。一実施形態では、T B A 対水のパーセント比

50

は、約 70% : 30% ~ 約 90% : 10% である。別の実施形態では、比率は、約 75% : 25% ~ 約 85% : 15% である。更に別の実施形態では、比率は、80% : 20% である。

【0139】

第 4 の態様の一実施形態は、

- i) 両親媒性ペプチドを第 1 の溶媒混合液中に可溶化して、ペプチド溶液を得るステップと、
 - ii) スフィンゴミエリンを第 2 の溶媒混合液中に可溶化して、スフィンゴミエリン溶液を得るステップと、
 - iii) 追加のリン脂質を第 3 の溶媒混合液中に可溶化して、リン脂質溶液を得るステップと、
 - iv) 当該ペプチド溶液、当該スフィンゴミエリン溶液、及び当該リン脂質溶液を組み合わせ、ペプチド／スフィンゴミエリン／リン脂質溶液を形成するステップと、
 - v) 当該ペプチド／スフィンゴミエリン／リン脂質溶液を凍結乾燥させるステップと、を含む、PALM を調製するためのプロセスを提供し、
- ここで、ステップ i)、ii) 及び iii) は任意の順序で実行され、当該第 1、第 2、及び第 3 の溶媒混合液は、tert-ブチルアルコール及び水を含む。

10

【0140】

本開示の第 4 の態様の別の実施形態は、

- i) 両親媒性ペプチド、スフィンゴミエリン、及び追加のリン脂質を組み合わせ、ペプチド／スフィンゴミエリン／リン脂質混合物を形成するステップと、
 - ii) 当該ペプチド／スフィンゴミエリン／リン脂質混合物を溶媒混合液中に可溶化して、ペプチド／スフィンゴミエリン／リン脂質溶液を形成するステップと、
 - iii) 当該ペプチド／リン脂質溶液を凍結乾燥させるステップと、を含む PALM を調製するためのプロセスを提供し、
- ここで、当該溶媒混合液は、tert-ブチルアルコール及び水を含む。

20

【0141】

更に本開示の第 4 の態様は、CIPN を引き起こす化学療法薬を含む PALM を調製して、PALM-化学療法薬ナノ粒子を形成するためのプロセスを提供する。PALM-化学療法薬ナノ粒子を調製するために、ペプチド、スフィンゴミエリン、1 種以上の追加のリン脂質、及び CIPN を引き起こす化学療法薬は、それぞれ個別に溶媒混合液中に調製され、所望の製剤に応じて、特定のモル比で組み合わせられる。あるいは、ペプチド、スフィンゴミエリン、1 種以上の追加のリン脂質、及び CIPN を引き起こす化学療法薬は、事前に可溶化されることなく直接組み合わせられ得、次いで、凍結乾燥の前に、所望の溶媒混合液を用いて溶液にされ得る。

30

【0142】

本開示の第 4 の態様の一実施形態は、

- i) 両親媒性ペプチドを第 1 の溶媒混合液中に可溶化して、ペプチド溶液を得るステップと、
- ii) スフィンゴミエリンを第 2 の溶媒混合液中に可溶化して、スフィンゴミエリン溶液を得るステップと、
- iii) 追加のリン脂質を第 3 の溶媒混合液中に可溶化して、リン脂質溶液を得るステップと、
- iv) CIPN を引き起こす化学療法薬を第 4 の溶媒混合液中に可溶化して、カーゴ分子溶液を得るステップと、
- v) 当該ペプチド溶液、当該スフィンゴミエリン溶液、当該リン脂質溶液、及び CIPN を引き起こす化学療法薬溶液を組み合わせ、ペプチド／スフィンゴミエリン／リン脂質／化学療法薬溶液を形成するステップと、
- vi) 当該ペプチド／スフィンゴミエリン／リン脂質／化学療法薬溶液を凍結乾燥させるステップと、を含む、PALM-化学療法薬ナノ粒子を調製するためのプロセスを提供し、

40

50

ここで、ステップ i)、ii)、iii)、及びiv)は、任意の順序で実行され、当該第1、第2、第3、及び第4の溶媒混合液は、tert-ブチルアルコール及び水を含む。

【0143】

PALM-化学療法薬ナノ粒子を調製する別の実施形態は、

i) 両親媒性ペプチド、スフィンゴミエリン、追加のリン脂質、及びカーゴ分子を組み合わせ、ペプチド/スフィンゴミエリン/リン脂質/カーゴ分子混合物を形成するステップと、

ii) 当該ペプチド/スフィンゴミエリン/リン脂質/カーゴ分子混合物を溶媒混合液中に可溶化して、ペプチド/リン脂質溶液を形成するステップと、

iii) ペプチド/スフィンゴミエリン/リン脂質/化学療法薬溶液を凍結乾燥させるステップと、を含み、

ここで、当該溶媒混合液は、tert-ブチルアルコール及び水を含む。

【0144】

得られた凍結乾燥ケーキは、長期間貯蔵され得、安定したままである。凍結乾燥生成物は、任意の好適な水溶液、例えば、水または生理食塩水を添加し、続いて、内容物を穏やかに回旋させることにより再水和される。50℃で5〜30分間、PALM溶液をインキュベーションすることにより、PALM凍結乾燥物の再構成が改善され得る。次いで、溶液は濾過滅菌(0.2 μm)され、4〜8℃で貯蔵される。あるいは、ペプチド、リン脂質、及びカーゴ分子を含む溶媒混合液は、凍結乾燥前に濾過滅菌される。

【0145】

本開示の第5の態様は、CIPN、例えば、PIPN(パクリタキセル誘発性末梢神経障害)を処置するための方法であって、本開示の任意の1つの実施形態によるPALM-化学療法薬含有ナノ粒子組成物を含有する有効量の組成物を処置の必要がある対象に投与することを含む、当該方法を提供する。

【0146】

スカベンジャー受容体B-1(SR-B1)は、HDLの主なタンパク質成分であるアポリポタンパク質A-Iに結合して、コレステロールの細胞輸送を促進する膜受容体である。コレステロールは、悪性腫瘍において見出されるもののような増殖細胞の必須栄養素である。SR-B1は、限定されるものではないが、乳癌、前立腺癌、大腸癌、膵臓癌、副腎癌、皮膚癌、鼻咽頭癌、及び卵巣癌が含まれる、多数の腫瘍細胞で高度に発現する。幾つかの両親媒性ペプチドは、SR-B1によっても認識及び結合される。PALMは、SR-B1に結合し、これにより、化学療法薬をSR-B1陽性細胞に選択的に送達するように設計された、リン脂質及び両親媒性ペプチドの組み合わせから形成される。

【0147】

医薬用途のために、凍結乾燥されたPALMは、使用の時点、例えば、病院または診療室で、注射用滅菌水、通常の滅菌生理食塩水、または滅菌5%デキストロース溶液などの標準的な希釈剤を使用して簡便に再構成され得る単回用量または複数回用量容器で提供され得る。次いで、好適な容器は、滅菌した混合物を無菌的に充填され、凍結乾燥され、凍結乾燥物質の無菌状態を維持するために適切に密閉される。好適な容器としては、限定されるものではないが、例えば、シリンジによる再構成のための希釈剤の導入を可能にする、ゴムシールを含むバイアルまたは等価物が挙げられる。かかるPALM調製物は、静脈内、皮下、筋肉内、腹腔内注射が含まれる、非経口投与に好適である。

【0148】

本発明は、部分的に、PALM及びCIPNを引き起こす化学療法薬を含む全ての組成物、ならびにそれらの使用方法も対象とする。PALM分子及びそれらのCIPNを引き起こす化学療法薬(複数可)は、賦形剤と共に、または賦形剤なしで投与され得る。賦形剤としては、限定されるものではないが、カプセル化装置及び添加剤、例えば、吸収促進剤、抗酸化剤、結合剤、緩衝剤、コーティング剤、着色剤、希釈剤、崩壊剤、乳化剤、増量剤、充填剤、香味剤、保湿剤、滑沢剤、香料、防腐剤、噴霧剤、放出剤、殺菌剤、甘味剤、可溶化剤、湿潤剤、それらの混合物などが挙げられる。

【0149】

単回用量または分割用量でヒトまたは他の哺乳動物宿主に投与される本発明のPALMの1日総量は、例えば、1日0.1～300mg/kg体重、より一般的には、1日0.1～200mg/kg体重の量、または1日0.1～100mg/kg体重の用量であり得る。

【0150】

本発明の一実施形態では、PALM-化学療法薬ナノ粒子の(総)用量は、0.1～300mg/kgの範囲、5～200mg/kgの範囲、10～100mg/kgの範囲、または10mg/kg～50mg/kgの範囲である。本発明の更なる実施形態では、PALM分子及び化学療法薬の(総)用量は、約5mg/kg、10mg/kg、20mg/kg、40mg/kg、50mg/kg、60mg/kg、70mg/kg、80mg/kg、90mg/kg、または100mg/kg、200mg/kg、300mg/kgである。用量は、1日1回投与され得る。用量は、週3回投与され得る。あるいは、用量は、週2回投与され得る。あるいは、用量は、週1回投与され得る。別の実施形態では、用量は、月1回投与され得る。

【0151】

関連する実施形態では、PALM及び化学療法薬の組み合わせでの化学療法薬の量、用量は、患者のキログラム体重当たり約0.01mg～約35mg、キログラム体重当たり約0.01mg～約30mg、キログラム体重当たり約0.01mg～約25mg、キログラム体重当たり約0.01～約20mg、またはキログラム体重当たり約0.01～約10mgの範囲であり得る。更なる関連する実施形態では、PALM分子との組成物中の化学療法薬の量は、患者が受け得るか、または受けているがんの処置のための化学療法薬の処方された、Food and Drug Administration (FDA USA) またはEuropean Medicines Agency (EMA) により承認された用量である。

【0152】

一実施形態では、CIPNは、感覚性である。一実施形態では、神経障害は、遠位軸索障害として現れる。別の実施形態では、神経障害は、感覚障害、感覚異常、灼熱感、しびれ感、及び／または疼痛として現れる。

【0153】

一実施形態では、CIPNは、運動性である。別の実施形態では、神経障害は、筋萎縮として現れる。別の実施形態では、神経障害は、遠位深部腱反射の消失を呈する。

【0154】

一実施形態では、CIPNは、自律神経性である。

【0155】

一実施形態では、対象は、化学療法誘発性末梢神経障害を発症する高いリスクを有する。CIPNを発症する高いリスクを有する対象は、糖尿病、栄養欠乏、アルコール中毒、及び神経毒性化学療法への過去の曝露が含まれる既往症を有する。別の実施形態では、対象は、神経障害の既往歴を有する。過去の神経障害は、糖尿病、栄養欠乏、アルコール中毒、遺伝病、及び／または神経毒性化学療法により引き起こされていてもよい。

【0156】

一実施形態では、本発明は、PALMを含有する組成物に付随する化学療法薬に加えて1種以上の化学療法薬を投与するステップを更に含む。

【0157】

各種の実施形態では、PALMを含有する組成物中の化学療法薬もしくは複数の化学療法薬及び／またはカーゴ分子としては、例えば、代謝拮抗薬(すなわち、葉酸アンタゴニスト、プリンアンタゴニスト、及びピリミジンアンタゴニスト)、ブレオマイシン、DNAアルキル化剤(すなわち、ニトロソ尿素、架橋剤、及びアルキル化剤)、ホルモン、アロマトラーゼ阻害剤、モノクローナル抗体、抗生物質、白金錯体、プロテアソーム阻害剤、タキサン類似体、ビンカアルカロイド、トポイソメラーゼ阻害剤(すなわち、アントラサ

イクリン、カンプトテシン、ポドフィロトキシン)、チロシンキナーゼ阻害剤、またはそれらの組み合わせが挙げられ得る。

【0158】

別の実施形態では、PALMを含有する組成物中の化学療法薬もしくは複数の化学療法薬及び／またはカーゴ分子としては、例えば、白金錯体、ピンカ類似体、タキサン類似体、アルキル化剤、代謝拮抗薬、プロテアソーム阻害剤、またはそれらの組み合わせが挙げられ得る。

【0159】

白金錯体としては、例えば、シスプラチン、オキサリプラチン、エプタプラチン、ロバプラチン、ネダプラチン、カルボプラチン、サトラプラチン、ピコプラチン、ミリプラチンなどが挙げられ得る。

10

【0160】

ピンカアルカロイドとしては、例えば、ピンクリスチン、ピンブラスチン、ビノレルビン、ビンデシンなどが挙げられ得る。

【0161】

タキサンとしては、例えば、パクリタキセル、ドセタキセル、カバジタキセル、ならびにそれらの様々な製剤及び類似体が挙げられ得る。

【0162】

アルキル化剤としては、例えば、ダカルバジン、プロカルバジン、テモゾロミド、チオテパ、メクロレタミン、クロラムブシル、L-フェニルアラニンマスタード、メルファラン、イホスファミド、シクロホスファミド、メホスファミド (me fos ph a m i d e)、ペルホスファミド、トロホスファミド、ブスルファン、カルムスチン、ロムスチン、チオテパ、セムスチンなどが挙げられ得る。

20

【0163】

代謝拮抗薬としては、ペメトレキセドニナトリウム、5-アザシチジン、カペシタビン、カルモフル、クラドリビン、クロファラビン、シタラビン、シタラビンオクフォスファート、シトシンアラビノシド、デシタビン、デフェロキサミン、ドキシフルリジン、エフロルニチン、エノシタビン、エチニルシチジン、フルダラビン、単独のまたはロイコボリンと組み合わせた5-フルオロウラシル、ゲムシタビン、ヒドロキシ尿素、メルファラン、メルカプトプリン、6-メルカプトプリンリボシド、メトトレキサート、ミコフェノール酸、ネララビン、ノラトレキセド、オクフォスファート、ペリトレキソール、ペントスタチン、ラルチトレキセド、リバビリン、トリアピン、トリメトレキサート、S-1、チアゾフリン、テガフル、TS-1、ビダラビン、UFTなどが挙げられる。

30

【0164】

プロテアソーム阻害剤としては、例えば、ボルテゾミブが挙げられ得る。

【0165】

トポイソメラーゼ阻害剤としては、アクリルピシン、9-アミノカンプトテシン、アモナフィド、アムサクリン、ベカテカリン、ベロテカン、イリノテカン塩酸塩、カンプトテシン、デクスラゾキサン、ジフロモテカン、エドテカリン、エビルピシン、エトポシド、エキサテカン、10-ヒドロキシカンプトテシン、ギマテカン、ラルトテカン、ミトキサントロン、オラセシン (o r a t h e c i n)、ピラルピシン、ピキサントロン、ルピテカン、ソブゾキサン、SN-38、タフルポシド、トポテカンなどが挙げられる。

40

【0166】

別の実施形態では、化学療法薬は、ボルテゾミブ、カルボプラチン、シスプラチン、ミソナダゾール、オキサリプラチン、プロカルバジン、サリドマイド、ドセタキセル、ヘキサメチルメラミン、パクリタキセル、ピンクリスチン、ピンブラスチン、またはビノレルビンである。

【0167】

一実施形態では、化学療法薬は、ドセタキセル、パクリタキセル、カルボプラチン、ドキソルピシン、シスプラチン、オキサリプラチン、カペシタビン、5-フルオロウラシル

50

、及びロイコボリンである。

【0168】

各種の実施形態では、C I P Nを経験しているか、またはC I P Nを経験しそうである患者は、化学療法薬、例えば、投与された患者においてC I P Nを引き起こすか、または患者のC I P Nに関連するか、または患者においてC I P Nを引き起こす可能性があるドセタキセル、パクリタキセル、カルボプラチン、シスプラチン、ゲムシタビン、オキサリプラチン、カペシタビン、５－フルオロウラシル、及びロイコボリンのうちの1つ以上による処置を受けているか、または以前にそれで処置されている。これらの患者において、C I P N、例えば、P I P Nの処置方法または予防方法は、患者が投与されているか、または投与された化学療法薬であって、新規の製剤に加わっており、当該製剤がP A L Mを含有する組成物を含む、当該化学療法薬を提供して、患者のC I P Nを処置するか、または処置されたがん患者におけるC I P Nの発生を予防することを含む。

10

【0169】

別の実施形態では、化学療法薬または複数の化学療法薬は、がんの処置のために投与される。

【0170】

本発明の一実施形態では、処置されるがんは、聴神経腫、急性白血病、急性リンパ球性白血病、急性骨髄性白血病（単核球性、骨髄芽球性、腺癌、血管肉腫、星細胞腫、骨髄単球性、及び前骨髄球性）、急性T細胞白血病、基底細胞癌、胆管癌、膀胱癌、脳癌、乳癌、気管支原性癌、子宮頸癌、軟骨肉腫、脊索腫、絨毛癌、慢性白血病、慢性リンパ球性白血病、慢性骨髄性（顆粒球性）白血病、慢性骨髄性白血病、大腸癌、大腸癌、頭蓋咽頭腫、嚢胞腺癌、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、増殖性の異常変化（異形成及び化生）、胎児性癌、子宮内膜癌、内皮肉腫、上衣腫、上皮性癌、赤白血病、食道癌、エストロゲン受容体陽性乳癌、本態性血小板血症、ユーイング腫瘍、線維肉腫、濾胞性リンパ腫、精巣胚細胞癌、神経膠腫、重鎖病、血管芽腫、肝臓癌、肝細胞癌、ホルモン非感受性前立腺癌、平滑筋肉腫、脂肪肉腫、肺癌、リンパ管内皮肉腫（*lymphagioendotheliosarcoma*）、リンパ管肉腫、急性リンパ球性白血病、リンパ腫（ホジキンリンパ腫及び非ホジキンリンパ腫）、膀胱、乳房、大腸、肺、卵巣、膵臓、前立腺、皮膚、及び子宮の悪性腫瘍及び過剰増殖障害、T細胞またはB細胞由来のリンパ系腫瘍、白血病、リンパ腫、髄様癌、髄芽腫、黒色腫、髄膜腫、中皮腫、多発性骨髄腫、骨髄性白血病、骨髄腫、粘液肉腫、神経芽細胞腫、非小細胞肺癌、乏突起膠腫、口腔癌、骨原性肉腫、卵巣癌、膵臓癌、乳頭状腺癌、乳頭状癌、松果体腫、真正多血症、前立腺癌、直腸癌、腎細胞癌、網膜芽細胞腫、横紋筋肉腫、肉腫、脂腺癌、精上皮腫、皮膚癌、小細胞肺癌、固形腫瘍（がん腫及び肉腫）、小細胞肺癌、胃癌、扁平上皮細胞癌、滑膜腫、汗腺癌、甲状腺癌、ワルデンシュトレームマクログロブリン血症、睾丸腫瘍、子宮癌、ならびにウィルムス腫瘍である。

20

30

【0171】

本発明の更に別の実施形態では、処置されるがんは、卵巣癌、子宮頸癌、大腸癌、前立腺癌、乳癌、胃腺癌、頭頸部癌、精巣癌、白血病、神経芽細胞腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、及び非小細胞肺癌からなる群から選択される。

40

【0172】

P A L M及び化学療法薬を含む組成物、ならびにその製剤の投与は、1種以上の化学療法薬の投与前、投与直前、投与の間、投与直後、または投与後であり得る。P A L M及び化学療法薬を含む組成物は、C I P Nが確立する前に、または確立したC I P Nを処置するために予防投与され得る。確立したC I P Nは、急性または慢性であり得る。

【0173】

本明細書において意図されるC I P Nの予防及び処置方法の種々の実施形態では、C I P Nの前、その間、またはその後のがん患者に投与される組成物は、約5mg～約5,000mgの範囲の量の化学療法薬を含有し得、これは、有効量、または無効量、または1日量、または分割した1日量の当該化学療法薬を含み得る。

50

【0174】

幾つかの実施形態では、シスプラチンは、1、2、3、4、5、6、7、または8サイクルで $20\text{ mg/m}^2 \sim 140\text{ mg/m}^2$ の範囲で投与され得る。例えば、シスプラチンは、1サイクル当たり5日間、毎日 20 mg/m^2 で投与され得る。シスプラチンは、1サイクル当たり1回、4週間毎（1日目）に $75 \sim 100\text{ mg/m}^2$ で投与され得る。シスプラチンは、1サイクル当たり1回、3～4週間毎（1日目）に $50 \sim 70\text{ mg/m}^2$ で投与され得る。

【0175】

カルボプラチンは、1サイクル当たり1回、3～4週間毎（1日目）に約 300 mg/m^2 以下または約 360 mg/m^2 以下で投与され得る。カルボプラチンは、1、2、3、4、5、6、7、または8サイクルで投与され得る。

10

【0176】

オキサリプラチンは、1サイクル当たり1回、2週間毎に約 85 mg/m^2 以下で投与され得る。オキサリプラチンは、1、2、3、4、5、6、7、または8サイクルで投与され得る。

【0177】

ドセタキセルは、1、2、3、4、5、6、7、または8サイクルで約 $60\text{ mg/m}^2 \sim 100\text{ mg/m}^2$ で投与され得る。例えば、ドセタキセルは、1サイクル当たり1回、3週間毎（1日目）に 75 mg/m^2 で投与され得る。

【0178】

パクリタキセルは、1、2、3、4、5、6、7、または8サイクルで約 $100\text{ mg/m}^2 \sim 175\text{ mg/m}^2$ の範囲で投与され得る。パクリタキセルは、1サイクル当たり1回、3週間毎（1日目）に約 100 mg/m^2 で投与され得る。パクリタキセルは、1サイクル当たり1回、3週間毎（1日目）に約 135 mg/m^2 で投与され得る。パクリタキセルは、1サイクル当たり1回、3週間毎（1日目）に約 175 mg/m^2 で投与され得る。

20

【0179】

ビンクリスチンは、1サイクル当たり1回、1～4週間毎（1日目）に約 $0.4\text{ mg/m}^2 \sim 1.4\text{ mg/m}^2$ の範囲で投与され得る。ビンクリスチンは、1、2、3、4、5、6、7、または8サイクルで投与され得る。

30

【0180】

ビンブラスチンは、1サイクル当たり1回、1～4週間毎（1日目）に約 $3.7\text{ mg/m}^2 \sim 18.5\text{ mg/m}^2$ の範囲で投与され得る。例えば、ビンブラスチンは、 3.7 mg/m^2 、 5.5 mg/m^2 、 7.4 mg/m^2 、 9.25 mg/m^2 、または 11.1 mg/m^2 で投与され得る。ビンブラスチンは、1、2、3、4、5、6、7、または8サイクルで投与され得る。

【0181】

ビノレルピンは、1サイクル当たり1回、1～6週間毎（1日目）に約 $25\text{ mg/m}^2 \sim 120\text{ mg/m}^2$ で投与され得る。例えば、ビノレルピンは、 30 mg/m^2 で投与され得る。ビノレルピンは、1、2、3、4、5、6、7、または8サイクルで投与され得る。

40

【0182】

一実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、処置サイクルの間、1日1回投与され、例えば、サイクルの1日目に投与され、ここで、サイクルは、5日間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間である。

【0183】

一実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、処置サイクルの間、1日2回投与され、例えば、サイクルの1日目に投与され、ここで、サイクルは、5日間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間である。

【0184】

50

一実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、処置サイクルの間、週2回投与され、例えば、サイクルの1日目に投与され、ここで、サイクルは、5日間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間である。

【0185】

一実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、処置サイクルの間、週1回投与され、例えば、サイクルの1日目に投与され、ここで、サイクルは、5日間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間である。

【0186】

一実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、処置サイクルの間、週1回投与され、例えば、サイクルの1日目に投与され、ここで、サイクルは、5日間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間である。

10

【0187】

一実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、処置サイクルの間、1日1回投与され、ここで、化学療法薬または化学療法薬（複数可）は、サイクルの1日目に投与され、サイクルは、5日間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間である。

【0188】

一実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、処置サイクルの間、1日2回投与され、ここで、化学療法薬または化学療法薬（複数可）は、サイクルの1日目に投与され、サイクルは、5日間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間である。

20

【0189】

一実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、処置サイクルの間、週2回投与され、ここで、化学療法薬または化学療法薬（複数可）は、サイクルの1日目に投与され、サイクルは、5日間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間である。

【0190】

一実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、処置サイクルの間、週1回投与され、ここで、化学療法薬または化学療法薬（複数可）は、サイクルの1日目に投与され、サイクルは、5日間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間である。

30

【0191】

一実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、処置サイクルの間、週1回投与され、ここで、化学療法薬または化学療法薬（複数可）は、サイクルの1日目に投与され、サイクルは、5日間、1週間、2週間、3週間、4週間、5週間、または6週間である。

【0192】

別の実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、化学療法の少なくとも1日前に投与される。別の実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、化学療法の2日前に投与される。別の実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、化学療法の1週間前に投与される。更に別の実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、各化学療法処置の直前に投与される。更に別の実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、各化学療法処置と同時に投与される。更に別の実施形態では、PALM及び化学療法薬を含む組成物ならびにその製剤は、化学療法の後に投与される。

40

【0193】

上記実施形態のサブセットでは、化学療法及び化学療法処置は、本開示の組成物、例えば、PALM及び化学療法薬を含む組成物の、任意の追加の化学療法薬の非存在下での単回投与または複数回投与を含み得る。上記の例示された他の関連する実施形態では、化学療法及び化学療法処置は、PALM及び化学療法薬を含む組成物及び製剤中に存在する化

50

学療法薬とは異なる化学療法薬の投与を含み、化学療法及び化学療法処置への言及は、PALM及び化学療法薬を含有する組成物中に存在する化学療法薬とは異なる化学療法薬の投与を意味する。

【0194】

更に本発明は、より高用量の化学療法の投与を可能にする。加えて、本発明は、追加のサイクルの化学療法の投与を可能にする。本発明は、化学療法サイクルの間の時間の削減も可能にする。

【0195】

CIPNの発生の重症度は、グレード（すなわち、0、1、2、3、または4）に反映される。スケールは、グレード0（正常及び症状がない）からグレード4（身体障害及び／または生命を脅かす）まで上昇する。（Postma T. J., *Annals of Oncology* 1998 9:739-744）。グレード3は、用量の減量及び／または投与の延期を含む是正措置を必要とする。

【0196】

CIPNの重症度を評価するために臨床診療において使用される複数の共通毒性基準（CTC）スケールが存在する：世界保健機関（WHO）スケール、米国東海岸癌臨床試験グループ（ECOG）スケール、米国国立がん研究所共通毒性基準（NCI-CTC）、及びAjaniスケール。（Cavaletti G., et al., *European Journal of Cancer* 2010 46:479-494）。スケールは、CIPNの影響の客観的な評価及び患者評価の組み合わせを示す。

【0197】

本発明の一実施形態は、PALM及び化学療法薬を含有する本発明の組成物を用いて化学療法誘発性末梢神経障害を予防処置することを含む、処置する方法であって、グレード3または4のCIPNの発生率が減少する、当該方法を提供する。別の実施形態では、グレード1または2のCIPNの発生率が減少する。別の実施形態では、グレード3または4のCIPNの発生率は、グレード1または2のCIPNに減少する。別の実施形態では、グレード2のCIPNの発生率は、グレード1に減少する。

【0198】

本発明は、化学療法薬の神経毒性作用を軽減するための方法であって、グレード3または4のCIPNの発生率が減少する、当該方法を更に提供する。別の実施形態では、グレード1または2のCIPNの発生率が減少する。別の実施形態では、グレード3または4のCIPNの発生率は、グレード1または2のCIPNに減少する。別の実施形態では、グレード2のCIPNの発生率は、グレード1に減少する。

【0199】

あるいは、CIPNは、生活の質評価により評価され得る。かかる評価の1つは、欧州がん研究治療機構（EORTC）QLQ-CIPN20質問表である。（Cavaletti G., et al., *European Journal of Cancer* 2010 46:479-494）。

【0200】

本発明の一実施形態では、がん患者がPALM及び化学療法薬を含有する本発明の組成物の1回以上の投与を施される場合、CIPNは、EORTC QLQ-CIPN 20質問表に関して改善され、ここで、CIPNを引き起こしているか、またはそれに関連する薬剤は、本発明の組成物中に存在するのと同じ化学療法薬である。

【0201】

本発明の一実施形態は、PALM及び化学療法薬を含有する本発明の組成物を用いて化学療法誘発性神経障害性疼痛を処置または予防する方法を提供する。「神経障害性疼痛」は、末梢または中枢神経系における機能障害により引き起こされる頑痛である。

【0202】

疼痛は、生活の質評価により評価され得る。かかる評価の1つは、European Organization of Research and Treatment of

10

20

30

40

50

Cancer (EORTC) の EORTC QLQ-C30/L13 質問表である。

【0203】

本発明の一実施形態では、疼痛は、EORTC QLQ-C30/L13 質問表の評価に基づいて減少する。

【0204】

本発明の一実施形態では、疼痛は、末梢性神経障害性疼痛または中枢性神経障害性疼痛である。

【0205】

本発明の別の実施形態では、疼痛は、慢性または急性である。

【0206】

本発明の別の実施形態では、疼痛のための支持療法の使用が低減される。支持療法としては、例えば、NSAIDs またはオピオイドが挙げられる。

【0207】

本明細書において引用される、刊行物、特許出願、及び特許を含む、全ての参考文献は、各々の参考文献が参照により組み込まれるように個々にかつ具体的に示され、かつその全体が本明細書に記載されているのと同程度まで、参照により本明細書に組み込まれる。

【0208】

本発明を説明する文脈において（特に、以下の特許請求の範囲の文脈において）使用される用語「a」及び「an」及び「the」ならびに同様の指示物は、本明細書において特に明記しない限り、または明らかに文脈と矛盾しない限り、単数及び複数の両方を包含すると解釈されるべきである。用語「含む (comprising)」、「有する (having)」、「包含する (including)」、及び「含有する (containing)」は、別途注記のない限り、開放型専門用語として解釈されるべきである（すなわち、「限定されるものではないが、～を含む」を意味する）。本明細書において特に明記しない限り、本明細書における値の範囲の記載は、その範囲に入る各々の別個の値を個々に指す略記方法として役立つことを意図したものであるにすぎず、各々の別個の値は、それが本明細書に個々に記載されているかのように本明細書に組み込まれる。本明細書に記載される全ての方法は、本明細書において特に明記しない限り、または明らかに文脈と矛盾しない限り、任意の適切な順序で実行され得る。本明細書において提供されるあらゆる例、または例示的な言葉（例えば「など (such as)」）の使用は、本発明をより上手く説明することを意図したものにすぎず、特に要求されない限り、本発明の範囲に限定をもたらすものではない。本明細書における言語は、本発明の実施に不可欠な任意の非請求要素を示すと解釈されるべきではない。

【0209】

本発明を実施するための発明者に公知の最良の形態を含む、本発明の好ましい実施形態が本明細書に記載されている。これらの好ましい実施形態の変形形態は、前述の説明を読むことで当業者に明らかになり得る。本発明者らは、当業者がかかる変形形態を適宜用いることを期待し、本発明者らは、本明細書に具体的に記載されている以外の方法で本発明が実施されることを意図する。従って、本発明は、適用法で許可されるように、本明細書に添付された特許請求の範囲に列挙された主題の全ての改変及び等価物を含む。更に、本明細書において特に明記しない限り、または明らかに文脈と矛盾しない限り、全ての可能な変形形態における上記要素の任意の組み合わせが本発明に包含される。

【実施例】

【0210】

実施例 1. ペプチド合成及び精製

【0211】

GenScript USA, Inc. (Piscataway, NJ) の標準的な Fmoc 固相合成技術によりペプチドを作製した。標準的な手順による N 末端のアセチル化及び C 末端のアミド化により、特定のペプチドの末端アミノ酸を修飾した。ペプチド精製のための標準的な高速液体クロマトグラフィー法により、ペプチドを、クロマトグラフィー

10

20

30

40

50

ーを用いて95%超の純度まで精製した。HPLC及び質量分光分析により純度を確認した。

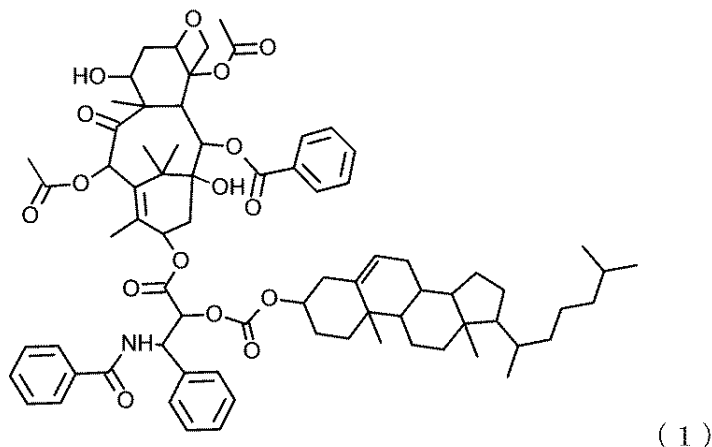
【0212】

実施例2．パクリタキセル2'-コレステリルカーボネート(XC)の合成

【0213】

50mgのパクリタキセルを2mLのクロロホルム中に溶解させ、次いで、2mLのクロロホルム中の1.5モル過剰のクロロギ酸コレステロール、加えて4mLのN,N-ジイソプロピルエチルアミン及び2mLのアセトニトリルと混合した。混合物を周囲温度で一晩攪拌し、次いで、ロータリーエバポレーターで乾燥させた。次いで、得られたオフホワイトの沈殿物を酢酸エチル／ヘキサン(3:1)中に溶解させ、水で抽出し、乾燥させ、次いで、クロロホルム中に再溶解させた。移動相として酢酸エチル／ヘキサン(3:1)を使用した薄層クロマトグラフィーにより、生成物の形成を確認した(パクリタキセルのR_fは0.4、Tax-cholのR_fは0.92)。次いで、移動相として酢酸エチル／ヘキサン(3:1)を使用してシリカゲルカラム上で生成物を更に精製し、表題の化合物(1)を得た。質量分析及びNMR分析により構造を確認した。

【化5】



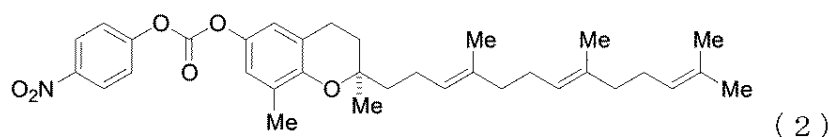
【0214】

実施例3．パクリタキセル2'-δ-トコリエニルカーボネート(XTTまたはXT3としても公知または化合物1)の合成

【0215】

ステップ1．δ-トコリエノールのp-ニトロフェニルカーボネートの合成

【化6】



【0216】

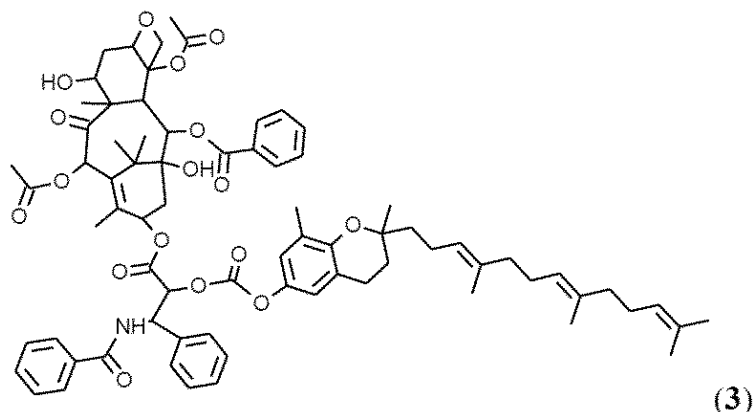
δ-トコリエノール(25mg、0.0629mmol)の無水塩化メチレン(1.5mL)中溶液に、クロロギ酸4-ニトロフェニル(51mg、0.25mmol)、及びトリエチルアミン(35μL、0.25mmol)を室温で添加した。反応混合物を室温で24時間攪拌し、次いで、濃縮し、次いで、酢酸エチル／ヘプタン(10:90)を溶出液として使用する分取TLCを使用して目的の生成物(2)を得た。目的の生成物を黄色粉末(18mg)として得た。¹H NMR(CDCl₃): δ 8.30(d, 2H), 7.45(d, 2H), 6.80(dd, 2H), 5.05-5.20(m, 3H), 2.72-2.78(t, 2H), 2.18(s, 4H), 1.95-2.15(m, 4H), 1.72-1.85(m, 4H), 1.68(s, 3H)

), 1.55–1.62 (br s, 12 H), 1.30 (br s, 5 H)。

【0217】

ステップ2. パクリタキセルの δ -トコトリエノールカーボネート(3)の合成

【化7】



【0218】

化合物(2)(18mg、ステップ1の生成物)の塩化メチレン(2mL)中溶液、パクリタキセル(28mg)、及びDMAP(10mg)を室温で合わせた。混合物を室温で24時間攪拌した。混合物を濃縮し、酢酸エチル／ヘプタン(50:50)を溶出液として使用する分取TLCを使用して精製した。目的の生成物(3)(17mg)を無色固体として得た。TLC分析(R_f:0.25、EA／ヘキサン=1:1)。¹H NMR(CDCl₃): δ 8.20 (d, 2H), 7.75 (d, 2H), 7.60–7.62 (m, 1H), 7.30–7.52 (m, 9H), 6.90–6.95 (d, 1H), 6.60–6.75 (dd, 2H), 6.20–6.30 (m, 2H), 6.00–6.05 (m, 1H), 5.70–5.75 (d, 1H), 5.50 (s, 1H), 5.10–5.20 (br s, 2H), 4.95–5.00 (d, 1H), 4.30–4.35 (br s, 1H), 4.20–4.30 (dd, 2H), 3.75–3.80 (d, 1H), 2.70–2.75 (m, 2H), 2.30–2.60 (m, 7H), 2.23–2.27 (m, 11H), 1.50–2.20 (m, 26H), 1.25 (m, 9H), 1.15 (s, 3H)。

【0219】

実施例4. ペプチド両親媒性分子脂質ミセル(PALM)の調製

【0220】

ペプチド及びリン脂質の別個の原液を、80%のtert-ブチルアルコール(TBA)及び20%の水から構成される溶媒混合液中に調製して、10mMのペプチド、20mMの1,2-ジオレイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(DOPC)または20mMの1-パルミトイル-2-オレオイル-ホスファチジルコリン(POPC)、及び20mMの卵SMの別個の溶液を得た。原液のアリコートを混合して、10モル当量のペプチド、42モル当量のホスファチジルコリン、及び18モル当量のSMを含有する最終溶液を得た。溶液を1.5mLのガラスバイアルの中で混合し、凍結させ(−70℃)、−5℃〜−10℃で一晩凍結乾燥した。得られた凍結乾燥ケーキに、ダルベッコリン酸緩衝食塩水を添加することにより再水和し、続いて、内容を穏やかに回旋させた。PALM溶液を50℃で10分間インキュベーションすることにより、PALMの形成を完了させた。ペプチド複合体の中には、加熱時に濁ったままだったものもあり、これらを、1サイクルの−80℃への凍結に続く室温への解凍にも供して、透明溶液を得ることを試みた。PALM調製物の質は、外観より明らかであった。外観上透明な調製物は、チンダル効果に基づき、形成されたどのナノ粒子も直径が約40nm未満であったことを示した。結果を表5に示す。

10

20

30

40

50

【表 6】

表 5

目視検査によるペプチド／リン脂質複合体の安定性

リン脂質 内容物 ^a	モル 比 P C / S M	モル比 C ₁₆ P T X / P L	ペプチド			
			配列番 号 2 5 ^b	配列番 号 2 6	配列番号 2 7	配列番 号 3 2
P O P C、 S M	7 0 / 3 0	0	透明	透明	透明	透明
P O P C、 S M	7 0 / 3 0	0 . 1	透明	濁り	濁り	濁り
D O P C、 S M	7 0 / 3 0	0	透明		濁り	濁り
D O P C、 S M	7 0 / 3 0	0 . 1	透明			濁り

^a 1－パルミトイル－2－オレオイルホスファチジルコリン（P O P C）、1，2－ジオレイルホスファチジルコリン（D O P C）、卵スフィンゴミエリン（S M）、ホスファチジルコリン（P C）、リン脂質（P L）、パクリタキセル2’－パルミテート（C₁₆ P T X）

^b ペプチド対リン脂質のモル比は1／4であった。

【0 2 2 1】

実施例 5．例示的な P A L M の調製

【0 2 2 2】

酢酸対イオンを有する配列番号 3 5 に記載のアミノ酸配列を有するペプチドを、標準的な F M O C 固相ペプチド合成によりカスタム合成した。P A L M 成分の原液を以下の通りに調製した。ペプチドの 1 0 m M 溶液を、 t -ブチルアルコール（T B A）／水／酢酸（8 0：2 0：7）中に調製した。P O P C 及び S M の 2 0 ミリモル溶液を、T B A／水（8 0／2 0）中に調製した。X T T の 1 0 m M 溶液を、T B A／水（9 5：5）中に調製した。

【0 2 2 3】

P A L M の調製を、1 0 m M の X T T（1 モル当量）、及び 2 0 m M の P O P C（5 . 6 モル当量）、及び 2 0 m M の S M（2 . 4 モル当量）、及び 1 0 m M の配列番号 3 5（2 モル当量）を混合することにより開始した。混合した量を、ドライアイス／2－プロパノール浴中で回旋させることにより凍結させ、 -76°C の冷凍庫内に 1 時間置くことにより更に凍結させた。混合物を -15°C で 2 4 時間、続いて、 15°C で更に 2 0 時間凍結乾燥した。一定量の無菌のダルベッコリン酸緩衝食塩水を凍結乾燥物に添加して、6 . 3 m M の X T T（5 . 4 m g／m l の P T X 当量）を得た。試料を短時間回旋させて、ケーキを溶解させ、次いで、 55°C のウォーターバスに 3 0 分間入れ、最後にウォーターバスソニケーターの音波節点内に短時間（約 1 0 ～ 2 0 秒）入れた。試料を 2 5 m m × 0 . 2 μ m の P E S フィルターを通して濾過滅菌し、合わせた。無菌の調製物を発熱物質を含まないガラスバイアルに分配し、アルミニウム製の上部をクリンプさせたブチルゴム栓で密閉し、 4°C で保存した。

【0 2 2 4】

実施例 6．インビトロでのSKOV-3の増殖阻害

【0225】

SKOV-3細胞を、10%のウシ胎児血清を含有する100μlのダルベッコ最小必須培地中5,000個細胞／ウェルで96ウェル組織培養プレートに蒔き、加湿雰囲気5%CO₂を含有する37℃のインキュベーターでインキュベートした。24時間後、培地を被験物質を含有する完全培地に交換した。完全培地中の最高濃度(10μM)のパクリタキセルは、DMSO中の1mMのパクリタキセル原液を添加することにより調製した。PALM中の3mMのXTTのPALM原液調製物を、50μM濃度まで培地中に希釈した。これらの試験液の完全培地中への系列希釈を行って、低濃度の試験液を得た。細胞を被験物質溶液中で72時間インキュベートした。次に、20μlのリン酸緩衝食塩水中5mg/mlのブルーテトラゾリウム臭化チアゾリルを全てのウェルに添加し、続いて、4時間インキュベートした。全てのウェルをダルベッコリン酸緩衝食塩水(カルシウム／マグネシウムを含有する)で洗浄し、100μlのDMSOを補充した。プレートを30分間37℃でインキュベートし、続いて、590nmに設定したプレートリーダーを用いて各ウェルの光学密度を決定した。50%の増殖阻害をもたらす濃度(IC50)を、データをロジスティック方程式に非線形回帰フィッティングすることにより決定した。対照ウェルの平均光学密度を100%の増殖とした。

10

【0226】

実施例 7．サイトカイン産生

【0227】

SKOV-3細胞を、10%のウシ胎児血清を含有する100μlのダルベッコ最小必須培地中10,000個細胞／ウェルで96ウェル組織培養プレートに蒔いた。24時間後、培地を除去した。細胞層をダルベッコリン酸緩衝食塩水(カルシウム／マグネシウムを含有する)で洗浄した。ウェルに被験物質を含有する無血清培地を補充した。試験群は、1)添加なし、2)10μg/mlのリボ多糖、3)10μMのパクリタキセル(DMSO中の原液から培地に添加される)、及び4)配列番号25のペプチドを用いて調製された10μMパクリタキセル当量のPALM(XTT)であった。細胞を24時間インキュベートした。その後、培地を採取し、遠心分離した(微量遠心機で1500rpm)。上澄みを回収し、サイトカイン検査のために凍結させた。培地中のインターロイキン6(IL-6)含量を、RayBiotech Life(Peachtree Corner s, GA)のヒトIL-6アッセイキットを用いて決定した。

20

30

【0228】

実施例 8．マウスにおけるSKOV-3異種移植片

【0229】

実験計画は、動物実験委員会により承認された。30匹の雌のNU(NCr)-Foxn1nuヌードマウス(Harlan Laboratories)をガンマ線滅菌済みIVCケージ(ケージ当たり5匹までのマウス)内で、22~25℃、40~60%湿度にて12時間の明期及び12時間の暗期サイクルで飼育した。ケージは、ガンマ線照射済みコーンコブ床敷及び滅菌水を備えていた。飼料は、ガンマ線滅菌した小粒状の乾燥餌であった。マウスを7日間慣れさせた。

40

【0230】

SKOV-3(ATCC)ヒト卵巣腫瘍細胞を、10%のウシ胎児血清を補足したマッコイ5A培地中の単層培養細胞としてインビトロで37℃にて空気中5%CO₂の雰囲気下で維持した。細胞を、トリプシン-EDTA処理(0.25%のトリプシン-EDTA)により週2回定期的に継代培養した。指数増殖期の細胞を収集し、異種移植前に細胞数及び細胞生存率(99%)についてGUAVA PCAフローサイトメトリーにより解析した。

【0231】

腫瘍を発生させるために、30匹の9~11週齢のマウスの側腹部領域に、マトリゲル(1:1)と混合した0.1mlの1xPBS中のSKOV-3腫瘍細胞(1.0×10

50

6) を皮下播種した。測定可能な腫瘍 ($50 \sim 100 \text{ mm}^3$) が7日後に発生した。約 $50 \sim 100 \text{ mm}^3$ の腫瘍 (電子ノギスで測定) を有する25匹の動物を試験用を選択し、以下の通りに乱塊法を使用してグループ1～5にランダムに配置した。第1に、実験動物をそれらの腫瘍容積に基づいて5つの均一なブロックに分けた。第2に、各ブロック内で、実験動物の異なる群への無作為化を実施した。

【0232】

マウスを、罹患率、死亡率、ならびに運動性などの正常な行動に対する腫瘍増殖及び処置の任意の有害作用、食餌及び水消費量の目視評価、体重増加／減少、眼／毛の艶のなさ (eye/hair matted)、ならびに任意の他の異常な影響について毎日検査した。

【0233】

試験液の尾静脈注射を、Genie Touch Syringe Pump (Kent Scientific) を使用して実行した。Terumo Surshield安全装置付き翼状注入セット (S25BLS、 $25 \text{ G} \times 3/4$) を、尾静脈にアクセスするために使用した。新品のシリンジを個々の被験物質に使用した。全ての研究を生物学的安全キャビネット内で実行した。

【0234】

投薬は、7、11、15、19、23、及び27日目に実行した。0日目が異種移植の日であった。全てのマウスに 8 mL/kg で投与した。溶液投与群は、生理食塩水中17%のクレモホールEL／エタノール (1:1) (パクリタキセルビヒクル) (グループ1)、クレモホールEL／エタノール／生理食塩水中1.25 mg/mL のパクリタキセル (グループ2)、1 mg/mL パクリタキセル当量のPALM (XTT) (グループ3)、2.5 mg/mL パクリタキセル当量のPALM (XTT) (グループ4)、及びグループ4のPALM成分の量の1.25倍のXTT非含有PALM (グループ5) であった。PALMは、配列番号35のペプチドを用いて調製した。

【0235】

腫瘍容積を7、12、17、22、27、32、37、及び42日目に電子ノギスを使用して二次元で測定した。容積は、式： $V = 0.5 a \times b^2$ を使用して mm^3 で表現され、式中、a及びbは、それぞれ、腫瘍の長径及び短径である。

【0236】

実施例9．ラットにおける化学療法薬誘発性末梢神経障害 (CIPN)

【0237】

医薬品グレードのパクリタキセル (PTX、Teva Pharmaceuticals) を、クレモホールEL及びエタノールの1:1の混合物中の6 mg/mL の原液から生理食塩水で1 mg/mL まで希釈した。PTXを、1 mg/kg 、Q2Dx6で注射した。配列番号35のペプチドを用いて調製され、XTTを含有するPALMを、1 mg/kg のPTX等価用量及び2.7 mg/kg のPTX等価用量でPTXと同じ投与スキームを使用して投与した。全ての薬物及びビヒクルの腹腔内注射を、2、4、6、8、10、及び12日目に実行した。

対照及び実験群の雄性SDラットが、等容量の溶液を投与された。群当たり10匹の動物の標本サイズを有する合計5つの群が存在した。グループAは、PTXを投与した投与溶液と同じクレモホールEL／エタノール／生理食塩液を投与され、グループBは、1 mg/kg のパクリタキセルを投与され、グループCは、リン酸緩衝食塩水 (PALMビヒクル) を投与され、グループDは、1 mg/kg のPTX当量のPALM中のXTTを投与され、グループEは、2.7 mg/kg のPTX当量のPALM中のXTTを投与された。

【0238】

パクリタキセル (及びおそらく試験化合物) の尿及び糞便中への排泄に起因する化合物への曝露を管理するために、動物を12:12時間 (午前7時～午後7時) の明暗周期下で水及び食餌を自由に摂取できる恒温室内で一対ずつ飼育し、各対の動物は同じグループに属した。全ての手順は、動物実験委員会により承認され、International

10

20

30

40

50

Association for the Study of PainのCommittee for Research and Ethical Issuesにより記載されたガイドライン (Zimmerman, 1983) を遵守した。

【0239】

末梢神経障害の発症を試験するために、ベースライン時に及び次いで、14日のプロトコールの間の1日おきに(1(ベースライン)、3、5、7、9、11、13日目)、動物を、機械的刺激に対する足引っ込み反射閾値(MPWT)の変化について検査した。この試験のために、動物をプレキシグラスチャンバー(20cm×10.5cm×40.5cm)に入れ、15分間慣れさせた。チャンバーは、両後足の足底表面に機械的刺激を与えることができるようにメッシュクリーンの上に配置された。8つの較正されたvon Freyモノフィラメント(3.85、5.68、9.74、18.39、39.42、77.30、135.30、及び251.34mN)を用いて上下の動きを使用して、各後足について機械刺激閾値の測定値を取得した。各試験を9.74mNのvon Frey力から始め、右後足に約1秒間与え、次いで、左後足に与えた。引っ込み反応がない場合、次のより強い力が与えられた。反応が起きた場合、次に弱い力が与えられた。最も強い力(251.34mN)で反応がなされないか、または最初の反応後に4回の刺激が与えられるまで、この手順を続けた。各足の引っ込み反射閾値を、以下の式を使用して計算した： $[X_{th}] \log = [vFr] \log + ky$ 。式中、 $[vFr]$ は最後に使用されたvon Freyの力であり、 $k=0.2593$ であり、これはvon Freyモノフィラメント間の平均間隔(log単位)であり、 y は引っ込み反応のパターンに依存する値である。動物が最も強いvon Frey毛に反応しない場合、 $y=1.00$ であり、その足の機械的刺激に対する足引っ込み反射閾値は、456.63mNであると計算される。1セッション当たり3回の試験にわたってMPWT試験を実行し、3回の試験にわたる引っ込み反射閾値を平均して、各動物の機械的刺激に対する足引っ込み反射平均閾値を決定した。

【0240】

実施例10. 蛍光色素DiIを含有するPALMの調製

【0241】

10mMのペプチドの40μLアリコート、小型ガラスバイアル内で56μLの20mMのPOPC、24μLの20mMのSM(卵)、及び16μLの2.5mMのDiIと混合した。ペプチド及び脂質溶液を、80%TBA/20%水中に調製した。DiI原液を92%TBA/8%水中に調製した。合わせた溶液を凍結乾燥し、得られたケーキを0.2mLのダルベッコリン酸緩衝食塩水を添加することにより再水和した。溶液を短時間回旋させ、ウォーターバスで超音波処理し(約15秒間)、50℃の加熱ブロックに20分間配置した。

【0242】

実施例11. ミリプラチン含有PALMの調製

【0243】

2.5モル当量のペプチドに相当する、80%TBA/20%水中の配列番号25のアミノ酸配列を有する10mMのペプチドの50μLアリコート、同じ溶媒混合液から構成されるそれぞれ40mM及び20mM原液からの3モル当量のPOPC及び7モル当量の卵SMと混合した。この混合液に、100%TBAを用いて調製された1mM原液からの0.75モル当量のミリプラチン(MedKoo Biosciences, Raleigh, NC)を添加した。溶液を凍結乾燥し、得られたケーキを0.4mLの5%デキストロス水溶液を添加することにより再水和した。溶液を短時間回旋させ、ウォーターバスで超音波処理し(約15秒間)、50℃の加熱ブロックに20分間配置した。得られた透明溶液を、0.2μm孔径のポリエーテルスルホン滅菌フィルターに通し、4℃で保存した。DLSによる粒径分析(実施例16)は、8nmの流体力学的平均直径を示した。SECにより、サイズがHDLと同等である単一粒子の集団を確認した。SECクロマトグラムを図2に示す(ミリプラチン(実線)、ヒトHDL(破線))。

【0244】

実施例12．パクリタキセルコレステリルカーボネート（XC）含有PALMの調製

【0245】

2．5モル当量のペプチドに相当する、80％TBA／20％水中10mMの配列番号25のペプチドの50μLアリコートと、同じ溶媒混合液から構成される20mM原液からの7モル当量のPOPC及び3モル当量の卵SMと混合した。これに、92％TBA／8％水中10mMの原液からの1モル当量のXCを添加した。溶液を凍結乾燥し、得られたケーキをダルベッコリン酸緩衝食塩水を用いて1mMのXCの最終濃度に再水和した。DLSにより決定されたこの調製物の流体力学的平均直径は、9nmであった（実施例16）。SECによる粒径分析は、直径が主に10nmの単一粒子集団を示した（図3）。

10

【0246】

実施例13．パクリタキセルδ-トコトリエニルカーボネート（XTT）含有PALMの調製

【0247】

2．5モル当量のペプチドに相当する、80％TBA／20％水中10mMの配列番号25のペプチドの50μLアリコートと、同じ溶媒混合液から構成される20mM原液からの7モル当量のPOPC及び3モル当量の卵SMと混合した。これに、92％TBA／8％水中10mMの原液からの1モル当量のXTTを添加した。凍結乾燥ケーキを0.4mLのダルベッコリン酸緩衝食塩水で再水和した。

【0248】

実施例14．R4Fは、パクリタキセルδ-トコトリエニルカーボネート（XTT）を含有するPALMの調製に不適である

20

【0249】

配列番号25のアミノ酸配列を有するペプチド及びペプチドR4F（表1）を用いて、実施例13のようにPALM調製を行った。室温及び4℃で透明溶液のままであった、配列番号25のペプチドを用いて作製されたPALMとは異なり、ペプチドR4Fを含有するPALMは、室温で透明溶液であったが、4℃では濁ったゲルになった。室温まで温めると、ゲルは透明液体に戻った。PALM調製物のサイズを分析した（実施例16）。動的光散乱法は、配列番号25のペプチドを有するPALMが、8nmの流体力学的平均直径（容積強度）を有することを示した。R4Fを有するPALMの同じ分析は、粒子集団の94％が11nmの流体力学的平均直径であり、残りは32nmであることを示した。SECにより、配列番号25のペプチドを有するPALMの均一なサイズ分布を確認した（図4）。対照的に、R4Fを有するPALMは、配列番号25のPALMより大きいサイズ、及びそれより小さいサイズでの溶出ピーク範囲を示した。7nm未満の粒子に対する感度は極めて弱いため、より小さな粒子がDLSにより検出できなかったことは、驚くことではない。これらの結果は、R4FがPALMの調製に好適なペプチドではないことを示す。

30

【0250】

実施例15．配列番号25のペプチドを用いて調製されたPALMにフェンレチニドを充填する

40

【0251】

2．5モル当量のペプチドに相当する、80％TBA／20％水中10mMの配列番号25のペプチドの35μLアリコートと、同じ溶媒混合液から構成されるそれぞれ40mM及び20mM原液からの3モル当量のPOPC及び7モル当量の卵SMと混合した。同じ溶媒混合液中の2モル当量の20mMフェンレチニドも添加した。溶液を凍結乾燥させ、0.325mLのリン酸緩衝食塩水を用いて得られたケーキを再水和した。溶液は50℃で20分以内に透明になった。SECによる分析（実施例16）は、全ての構成成分がシングルピークとして、8nm～10nmの直径範囲で溶出したことを示した（図5）。

【0252】

実施例16．PALMサイズの決定

50

【0253】

PALM調製物のサイズとサイズの均一性を、DLS及びSECにより決定した。流体力学的平均直径に基づくサイズを、Nicomp 370粒径分析器を用いたDLSにより決定した。分析器をラテックス標準物質で校正した。本明細書及び特許請求の範囲において言及される粒径は、明確に別様に示されない限り、上記のとおりDLSにより計算される。

【0254】

PALM粒子の相対的な流体力学的サイズも、Beckman/Coulter Model 126ポンプ及びModel 128ダイオードアレイ検出器に接続した、GESuperose 6 Increaseカラム(10×300mm)を備えたSECにより測定した。移動相(150mMのNaCl、6mMのNaPO₄(pH7.4))の流速は、0.5mL/分であった。溶出液を215及び280nmの波長でモニタリングした。タンパク質分子量標準を注射することにより、システム性能を確認した(図3)。

【0255】

実施例17. BHK(SR-BI)細胞におけるPALMのSR-BI選択性

【0256】

誘導性ヒトSR-BI遺伝子を安定的に形質移入したBHK(SR-BI)細胞を用いて、GeneSwitch(商標)システム(Invitrogen)(Vickers et al., (2011) Nat. Cell Biol. 13:423-433)によりSR-BI相互作用研究を行う。細胞を、それぞれ200ug/mLのゼオシン及びハイグロマイシンを含有する増殖培地(10%ウシ胎児血清を含有するダルベッコ改変イーグル培地)に蒔いた(96ウェルプレート)(8000個細胞/ウェル)。24時間のインキュベーション後、増殖培地を除去し、ダルベッコ改変イーグル培地中0.2%のウシ血清アルブミンと交換した。SR-BI発現が誘導される細胞の培地は、DMSO原液から添加された10nMのミフェプリストンも含有した。非誘導細胞の培地にはDMSOのみを添加した。誘導培地を24時間後に除去し、DiI標識PALM(32μgのペプチド/mL)またはDiI標識HDL(19μgのタンパク質/mL)を含有する培地(Kalen Biomedical, Montgomery Village, MD)と交換した。DiI標識PALM(実施例10)またはDiI標識HDLのアリコートはダルベッコ改変イーグル培地中0.2%ウシ血清アルブミン中に希釈することにより、試験培地を調製した。使用前に、溶液を0.2μm孔径のポリエーテルスルホン滅菌フィルターに通した。細胞を4時間インキュベートした。次に、ダルベッコリン酸緩衝食塩水(カルシウム及びマグネシウムを含有する)中0.1%のアルブミンを用いて、細胞を3回洗浄した。最後の洗浄は、200uL/ウェルのt-ブタノール/水(95%/5%)で交換した。覆ったプレートを室温(20~21℃)で30分間静置したままにし、時々振盪した。各ウェルの蛍光を、Molecular Dynamics Gemini 蛍光プレートリーダーで550nmカットオフフィルターを用いて、520nm励起及び580nm発光で検出した(図9)。

10

20

30

40

50

【表 7】

表 6

BHK (SR-BI) 細胞による、HDL 及び種々のペプチドを用いて調製された PALM からの DiI 取り込みは、SR-BI の発現に依存する

	誘導なし	誘導あり	誘導なしに対する増加
	DiI 取り込み ^a (pmol / ug / ml)	DiI 取り込み (pmol / ug / ml)	
HDL ^b	0.13 ± 0.02	0.86 ± 0.03	561 %
配列番号 3	0.16 ± 0.01	0.29 ± 0.03	88 %
配列番号 5	0.54 ± 0.03	0.93 ± 0.03	73 %
配列番号 25	0.24 ± 0.01	0.83 ± 0.02	245 %
配列番号 26	0.49 ± 0.04	0.81 ± 0.04	65 %
配列番号 27	0.34 ± 0.01	0.66 ± 0.02	90 %
配列番号 32	0.28 ± 0.02	0.90 ± 0.03	221 %
配列番号 35	0.35 ± 0.01	1.26 ± 0.06	264 %

^a タンパク質 (HDL) またはペプチド (PALM) 濃度に対する細胞により取り込まれた DiI の量。平均値 (n = 4) 及び平均値の標準誤差を示す。

^b HDL の DiI 含量は 21 pmol / ug タンパク質であった。PALM の DiI 含量は 40 pmol / ug ペプチドであった。HDL 濃度は 19 µg / ml であった。PALM ペプチド濃度は 32 µg / ml であった。

【0257】

実施例 18. パクリタキセルの定量化

【0258】

1 容量の水性試料を 4 容量の酢酸エチル / アセトン / メタノール (70 / 30 / 5 (v / v)) と混合することにより、パクリタキセル、XTT、及び XC を水性試料から抽出した。振盪及び遠心分離後に得た上の有機層を回収し、溶媒蒸発及び減圧により乾燥させ、HPLC 移動相 (メタノール / 水 (65 / 35 (v / v))) 中に再溶解させた。再構成した試料の 20 µL アリコート、Macherey-Nagel カラム (Nucleosil 10-5 C18 を有し、4 × 250 mm) を通して 1.2 mL / 分の流速で HP

LCに注入し、UV検出器を用いて230nmの波長で検出した。

【0259】

実施例19．ミリプラチンを含有するPALMは、シスプラチンと同様にPC-3細胞増殖を阻害する

【0260】

PC-3細胞(American Type Culture Collection、CRL-1435)を、1ウェル(100μL)当たり 5×10^3 個細胞の密度で96ウェルプレートに播種し、10%ウシ胎児血清を補足したF-12K培地から構成される増殖培地中で約70%コンフルエンスとなるまで増殖させた(24時間)。次に、増殖培地を、100μLの新鮮な増殖培地(対照)、または5%デキストロース中に調製された100倍濃縮原液から添加された種々の濃度のシスプラチン(例えば、培地中0μM、及び0.1~100μMの最終濃度)を補足した増殖培地、もしくは実施例11で調製されたPALM中の等量のミリプラチンを補足した増殖培地のいずれかと交換した。各条件を三重反復で試験した。プレートを48時間インキュベートした。ダルベッコリン酸緩衝食塩水(カルシウム及びマグネシウムを含有する)中5mg/mLの20μLのMTTを添加し、3時間インキュベーションすることより、細胞生存率をブルーテトラゾリウム臭化チアゾリル(MTT)アッセイにより分析した。次に、培地を慎重に除去し、200μLのジメチルスルホキシド(DMSO)と交換した。プレートをオービタルシェーカー上で穏やかに15分間攪拌した。各ウェルの吸光度を570nmで読み取った。50%の増殖阻害をもたらす濃度(IC₅₀)を、データをロジスティック方程式に非線形回帰フィッティングすることにより決定した。対照ウェルの平均吸光度を100%の増殖とした(図6)。

【0261】

実施例20．SR-BI抗体は、ミリプラチンを含有するPALMによるPC-3細胞増殖阻害を減弱する

【0262】

実施例19の通りにPC-3細胞を増殖させた。SR-BI抗体(Novus Biologicals、NB400-113)の存在下で試験する細胞を、抗体原液の1/400希釈物を含有する増殖培地中で1時間プレインキュベートした。次に、全ての培地を除去し、実施例13の通りに調製した示される量の白金化合物を含有する増殖培地と交換した。抗体で処理される細胞用のPALM(MP)を含有する増殖培地は、抗体原液の1/400希釈で抗体を含有した。細胞を5時間インキュベートした。次に、全ての培地を除去し、細胞を培地で1回洗浄し、次いで、増殖培地中で更に43時間インキュベートした。実施例19の通りに、MTTアッセイにより細胞生存率を決定した(図7)。

【0263】

実施例21．PALM中のXTTは、SKOV-3細胞増殖の阻害において、PALM中のXCと比べてより活性であった

【0264】

SKOV-3卵巣癌細胞(American Type Culture Collection、HTB-77)を、1ウェル(100μL)当たり 5×10^3 個細胞の密度で96ウェルプレートに播種し、10%ウシ胎児血清を補足したマッコイ培地から構成される増殖培地中で約70%コンフルエンスとなるまで増殖させた(24時間)。次に、増殖培地を、100μLの新鮮な増殖培地(対照)、または種々の濃度のパクリタキセル、PALM(XC)、もしくはPALM(XTT)を補足した増殖培地のいずれかと交換した。DMSO中のパクリタキセルの5mM原液を増殖培地中に希釈し、続いて、濾過滅菌(0.2μmフィルター)することにより、20μMのパクリタキセル試験液を調製した。20μM溶液のアリコートを増殖培地中に5倍希釈して、4μMのパクリタキセルを得た。4μMのパクリタキセルを用いて5倍希釈プロセスを継続して、800nMのパクリタキセル溶液を得た。増殖培地中のパクリタキセルの濃度が0.051nMとなるまで、このプロセスを継続した。このようにして得た9種類の溶液の各々について、4つの100

μ L アリコートをし、細胞を含有する別個のウェルに加えた。PALM (XC) 及び PALM (XTT) 試験溶液の調製のために、同様であるが、改変したプロセスを使用した。試験された最高濃度は $50 \mu\text{M}$ であり、これは、PALM (XC) 及び PALM (XTT) の 1 mM 調製物を増殖培地中に希釈し、続いて、濾過滅菌することにより調製した。8 回繰り返された最も新しい各希釈物の 5 倍希釈の過程で得られた最低濃度は、 0.13 nM であった。試験溶液を用いて細胞を 72 時間インキュベートした。この期間の終わりに、実施例 19 の通りに、MTT アッセイにより細胞生存率を決定した。(図 8)。

【0265】

実施例 22. PALM (XTT) による BHK (SR-BI) 細胞増殖の阻害は SR-BI 依存的である

【0266】

増殖培地 (10% ウシ胎児血清、ならびに $200 \mu\text{g/mL}$ のゼオシン及びハイグロマイシンの各々を含有するダルベッコ改変イーグル培地) を含有する 96 ウェルプレートに BHK (SR-BI) 細胞を蒔き (3000 個細胞/ウェル)、24 時間インキュベートした。増殖培地を、DMSO 原液から添加された 10 nM のミフェプリストン (誘導あり)、または等量の DMSO のみ (対照) のいずれかを含有するダルベッコ改変イーグル培地中 0.2% のウシ血清アルブミンと交換した。細胞を 24 時間インキュベートした。次に、培地を、ダルベッコ改変イーグル培地中 0.2% のウシ血清アルブミン中の示される濃度の PTX または PALM (XTT) と交換し、細胞を 12 時間インキュベートした。次いで、それらの培地を通常の増殖培地と交換し、細胞を更に 36 時間インキュベートした。試験薬剤非含有での細胞に対するパーセント細胞増殖を MTT アッセイにより決定した (図 10)。

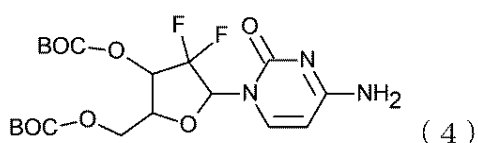
【0267】

実施例 23. δ -トコトリエニル (N^4)-ゲムシタピンカルバメート

【0268】

Guo 及び Gallo (J. Org. Chem. 1999, 64, 8319) の手順に従って、二炭酸ジ-tert-ブチルを用いて tert-ブトキシカルボニル (BOC) エステルに変換することにより、ゲムシタピンのヒドロキシル基を保護し、(1) を得る。

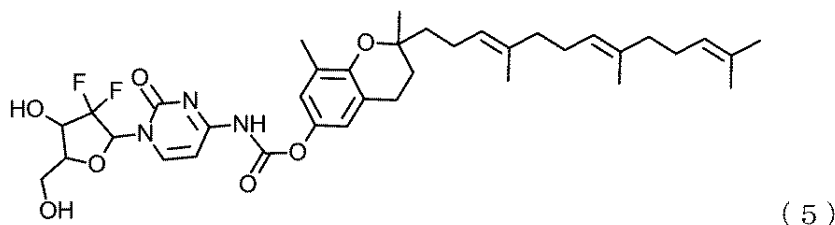
【化 8】



【0269】

化合物 4 を、 0.2 M の最終濃度の化合物 (4) まで無水ジクロロメタン中に溶解させる。溶液中の各モルの化合物 (4) に対して、塩化メチレン中 0.5 M 濃度の 1.2 モル当量の化合物 (2) 及び 3 モル当量の DMAP を室温で混合する。混合物を室温で 24 時間攪拌する。引用されるように、得られた生成物をトリフルオロ酢酸で脱保護する。ジクロロメタン及びメタノール溶出液を使用して、 100% ジクロロメタンから開始し、徐々に濃度を 10% メタノールまで増加させるフラッシュカラムクロマトグラフィーにより純粋な化合物を得、表題の化合物 (5) を得る。

【化 9】



10

20

30

40

50

【0270】

実施例24. α 、 β 、または γ -トコトリエノール異性体を用いる(N^4)-ゲムシタピンカルバメートの合成を、実施例24と同様に実行する。

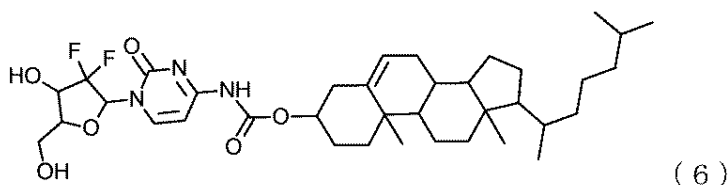
【0271】

実施例25. コlesteryl(N^4)-ゲムシタピンカルバメート

【0272】

化合物(4)をクロロギ酸コレステロール(市販)と反応させ、実施例19の通りに脱保護して、表題の化合物(6)を得ることを除いて、実施例25に記載したのと同じ方法で、コレsteryl(N^4)-ゲムシタピンカルバメート(6)の合成を実行する。

【化10】



【0273】

実施例26. コハク酸及びジグリコール酸を介して脂肪酸アルコールに連結されたパクリタキセル

【0274】

無水ピリジン中で脂肪酸アルコールを4-(ジメチルアミノ)ピリジン、及び無水コハク酸またはジグリコール酸無水物と、一定の攪拌下で室温にて24時間反応させることにより、コハク酸またはジグリコール酸ジエステル結合を介して脂肪酸アルコールに連結されたパクリタキセルの合成を達成する。ジクロロメタン中0.1NのHCLにより反応をクエンチする。石油エーテル中の酢酸エチルを用いた分取TLCまたはフラッシュカラムクロマトグラフィーにより生成物を得る。アルコール-コハク酸またはアルコール-ジグリコール酸コンジュゲートを、乾燥ジクロロメタン中で4-(ジメチルアミノ)ピリジン及びN-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミドと混合する。パクリタキセルを反応混合物に添加する。24時間後、水で反応をクエンチし、ジクロロメタンで抽出する。酢酸エチル/ヘプタン(50:50)を溶出液として使用する分取TLCにより生成物を得る。

【0275】

実施例27. SKOV-3細胞におけるPALM(XTT)細胞毒性へのSR-BI抗体の効果

【0276】

SKOV-3を蒔き、実施例16の通りに24時間インキュベートした。次に、増殖培地を、0.5%のアルブミン及び示される濃度の試験薬剤を含有し、抗SRBI(1/250希釈)(NB400-113、Novus Biologicals)を含有または非含有の無血清培地と交換した。細胞を12時間インキュベートした。次に、0.5%のアルブミンを含有する無血清培地で細胞を洗浄し、増殖培地中で更に60時間増殖させた。MTTアッセイにより細胞増殖を検出した(図11)。

【0277】

本発明はまた、以下の態様および実施形態を含む。

[1]

化学療法誘発性末梢神経障害(CIPN)を引き起こす化学療法薬で処置されたか、またはそれで処置されるがん患者のCIPNを処置または予防する方法であって、前記方法が、

前記がん患者にペプチド両親媒性分子脂質ミセル(PALM)ナノ粒子を含有する治療上有効量の組成物を投与することであって、前記PALMナノ粒子が、前記CIPNを引き起こす化学療法薬を含有するPALMを含み、前記PALMが、ペプチドならびにスフ

10

20

30

40

50

インゴミエリン及び1種以上の追加のリン脂質を含む脂質成分を含む、前記投与すること、を含み、

前記PALMにおける前記ペプチドが、アミノ酸配列： $X_1-X_2-X_3-X_4-X_5-X_6-X_7-X_8-X_9-X_{10}-X_{11}-X_{12}-X_{13}-X_{14}-X_{15}-X_{16}-X_{17}-X_{18}-X_{19}-X_{20}$ を含み、式中、 X_1 は、D及びEからなる群から選択されるアミノ酸であり、 X_2 及び X_{20} は、それぞれ、V、Aib、I、及びLからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_3 、 X_6 、 X_{10} 、及び X_{13} は、それぞれ、L、I、V、W、Y、Aib、Amv、及びFからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_4 、 X_{12} 、及び X_{19} は、それぞれ、Q及びNからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_5 、 X_{16} 、及び X_{18} は、それぞれ、K、R、H、及びOrnからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_7 は、A、G、S、V、Aib、及びAmvからなる群から選択され、 X_8 及び X_{15} は、アミノ酸E及びDからなる群から独立して選択され、 X_9 及び X_{14} は、A、G、S、L、F、V、Amv、及びAibからなる群から独立して選択されるアミノ酸であり、 X_{11} は、A、G、S、Aib、Amv、V、及びNからなる群から選択されるアミノ酸であり、 X_{17} は、W、F、Y、I、V、及びLからなる群から選択されるアミノ酸であり（配列番号24）、前記ペプチドは、任意にN末端でアシル化されているか、C末端でアミド化されているか、またはN末端でアシル化及びC末端でアミド化されているの両方であり、前記ペプチドは、20～24アミノ酸長である、前記方法。

10

[2]

20

前記PALMにおける前記ペプチドが、配列番号25；配列番号26；配列番号27；配列番号28；配列番号29；配列番号30；配列番号31、配列番号32；配列番号33；配列番号34；配列番号35、及び配列番号36からなる群から選択されるアミノ酸配列からなり、前記ペプチドが、任意にN末端でアシル化されているか、C末端でアミド化されているか、またはN末端でアシル化及びC末端でアミド化されているの両方である、[1]に記載のペプチド。

[3]

化学療法誘発性末梢神経障害（CIPN）を引き起こす化学療法薬で処置されたか、またはそれで処置されるがん患者のCIPNを処置または予防する方法であって、前記方法が、

30

前記がん患者にペプチド両親媒性分子脂質ミセル（PALM）ナノ粒子を含有する治療上有効量の組成物を投与することであって、前記PALMナノ粒子が、前記CIPNを引き起こす化学療法薬を含有するPALMを含み、前記PALMが、ペプチドならびにスフィンゴミエリン及び1種以上の追加のリン脂質を含む脂質成分を含む、前記投与すること、を含み、

前記PALMにおける前記ペプチドは、配列番号3；配列番号4；配列番号5；配列番号6；配列番号7；配列番号8；配列番号9；配列番号10；配列番号11；配列番号12；配列番号13；配列番号14；配列番号15；配列番号16；配列番号17；配列番号18；配列番号19；配列番号20；配列番号21；配列番号22；または配列番号23のアミノ酸配列を含み、前記ペプチドは、任意にN末端でアシル化されているか、C末端でアミド化されているか、またはN末端でアシル化及びC末端でアミド化されているの両方であり、前記ペプチドは、20～24アミノ酸長である、前記方法。

40

[4]

前記PALMにより含有される前記化学療法薬が、前記がん患者の前記CIPNを引き起こすか、引き起こす可能性があるか、またはそれに関連する化学療法薬である、[1]に記載の方法。

[5]

1種以上の追加の化学療法薬または複数の化学療法薬を投与することを更に含み、前記1種以上の追加の化学療法薬または複数の化学療法薬が、前記PALMにより含有される前記CIPNを引き起こす化学療法薬と適合性がある、[1]に記載の方法。

50

[6]

前記 P A L M により含有される前記 C I P N を引き起こす化学療法薬が、ボルテゾミブ、カルボプラチン、シスプラチン、ゲムシタビン、ミソニダゾール、オキサリプラチン、プロカルバジン、サリドマイド、ドセタキセル、ヘキサメチルメラミン、パクリタキセル、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレルビン、イクサベピロン、エリブリン、メルタンシンからなる群から選択される、[4] に記載の方法。

[7]

前記 P A L M により含有される前記 C I P N を引き起こす化学療法薬が、カルボプラチン、シスプラチン、パクリタキセル、またはビノレルビンである、[6] に記載の方法。

[8]

前記がん患者が、卵巣癌、子宮頸癌、子宮内膜癌、大腸癌、前立腺癌、乳癌、膵臓癌、頭頸部癌、精巣癌、白血病、神経芽細胞腫、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、及び非小細胞肺癌からなる群から選択されるがんを有する、[1] に記載の方法。

[9]

前記がんが、卵巣癌、乳癌、及び非小細胞肺癌からなる群から選択される、[8] に記載の方法。

[1 0]

前記 P A L M ナノ粒子が、C I P N の発症前に投与されるか、または C I P N の間に投与されるか、または C I P N の回復後に投与されるか、またはそれらの任意の組み合わせである、[1] に記載の方法。

[1 1]

前記 P A L M の前記脂質成分が、スフィンゴミエリン及び 1 種以上の追加のリン脂質から本質的になる、[1] に記載の方法。

[1 2]

前記 1 種以上の追加のリン脂質が、ホスファチジルコリン、ポリエチレングリコール-ホスファチジルエタノールアミン (P E G - P E)、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、カルジオリピン、またはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、[1] に記載の方法。

[1 3]

前記 1 種以上の追加のリン脂質が、ホスファチジルコリンを含む、[1 2] に記載の方法。

[1 4]

前記ホスファチジルコリンが、1-パルミトイル-2-オレオイル-ホスファチジルコリン (P O P C) である、[1 3] に記載の方法。

[1 5]

リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比が、約 9 0 : 1 0 ~ 約 5 : 9 5 である、[1] に記載の方法。

[1 6]

リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比が、3 0 : 7 0 である、[1 5] に記載の方法。

[1 7]

リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比が、約 8 0 : 2 0 ~ 約 6 0 : 4 0 である、[1 5] に記載の方法。

[1 8]

リン脂質対スフィンゴミエリンのモル比が、約 7 0 : 3 0 である、[1 7] に記載の方法。

[1 9]

脂質成分対ペプチドのモル比が、約 1 0 : 1 ~ 約 2 : 1 である、[1] に記載の方法。

[2 0]

脂質成分対ペプチドのモル比が、約 6 : 1 ~ 約 4 : 1 である、[1 9] に記載の方法。

10

20

30

40

50

〔 2 1 〕

前記組成物が造影剤を更に含む、〔 1 〕に記載の方法。

〔 2 2 〕

前記造影剤が、1, 2-ジパルミトイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-ジエチレントリアミン五酢酸（ガドリニウム塩）（P E-D T P A（G d））、1, 2-ジパルミトイル-s n-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-ジエチレントリアミン五酢酸（マンガン塩）（P E-D T P A（M n））、または¹¹¹In-D T P A-Aである、〔 2 1 〕に記載の方法。

〔 2 3 〕

前記組成物が、少なくとも1種のカーゴ分子を更に含む、〔 1 〕～〔 2 0 〕のいずれかに記載の方法。

10

〔 2 4 〕

前記少なくとも1種のカーゴ分子が造影剤である、〔 2 3 〕に記載の方法。

〔 2 5 〕

前記少なくとも1種のカーゴ分子が薬物である、〔 2 3 〕に記載の方法。

〔 2 6 〕

前記薬物がミリプラチンまたはフェンレチニドである、〔 2 5 〕に記載の方法。

〔 2 7 〕

前記少なくとも1種のカーゴ分子が、以下の式（I）を有する化合物コンジュゲートであり、

20

A-R-L-X（式I）

式中、Aは、ヒドロキシル基またはアミン基を有する薬剤であり、Rは、前記薬剤の前記ヒドロキシル基または前記アミン基であり、Lは、リンカーであり、Xは、コレステロール、α-トコトリエノール、β-トコトリエノール、γ-トコトリエノール、δ-トコトリエノール、コレカルシフェロール、またはエルゴカルシフェロールからなる群から選択されるアンカー部分である、〔 2 3 〕に記載の方法。

〔 2 8 〕

Rがヒドロキシ基であり、前記アンカー部分が炭酸エステル結合により薬剤に共有結合している、〔 2 7 〕に記載の方法。

〔 2 9 〕

Rがアミン基であり、前記アンカー部分がカルバミン酸エステル結合により前記薬剤に共有結合している、〔 2 7 〕に記載の方法。

30

〔 3 0 〕

前記アンカー部分がコレステロールである、〔 2 7 〕～〔 2 9 〕のいずれかに記載の方法。

〔 3 1 〕

前記アンカー部分がδ-トコトリエノールである、〔 2 7 〕～〔 2 9 〕のいずれかに記載の方法。

〔 3 2 〕

前記薬剤が、アデノシン、ボルテゾミブ、ヒドロキシカンプトテシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、トポテカン、ゲムシタビン、ミソニダゾール、ドセタキセル、パクリタキセル、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレルビン、イクサベピロン、エリブリン、メルタンシン、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される化学療法薬である、〔 2 7 〕～〔 2 9 〕のいずれかに記載の方法。

40

〔 3 3 〕

P A L Mにコンジュゲートされる前記化学療法薬が、ヒドロキシカンプトテシン、ダウノルビシン、ドキソルビシン、トポテカン、パクリタキセル、またはドセタキセルである、〔 3 2 〕に記載の方法。

〔 3 4 〕

P A L Mにコンジュゲートされる前記化学療法薬がパクリタキセルである、〔 3 3 〕に

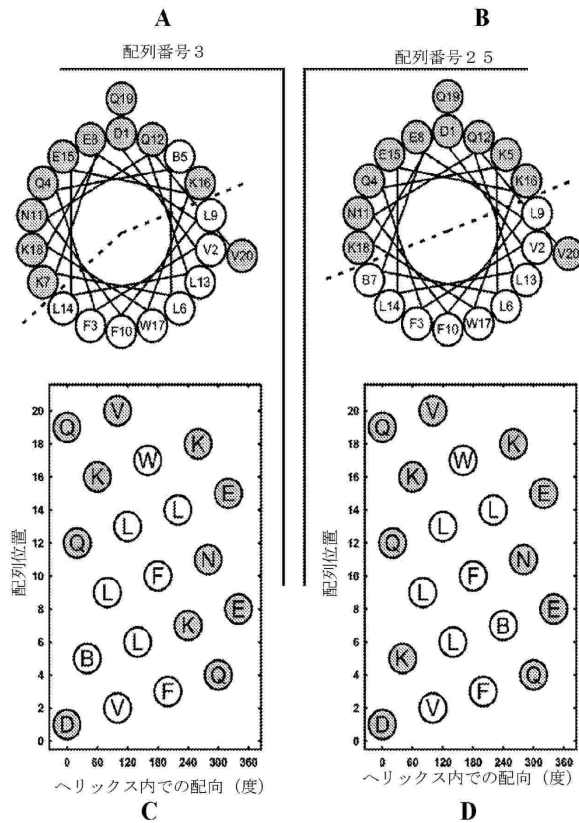
50

記載の方法。

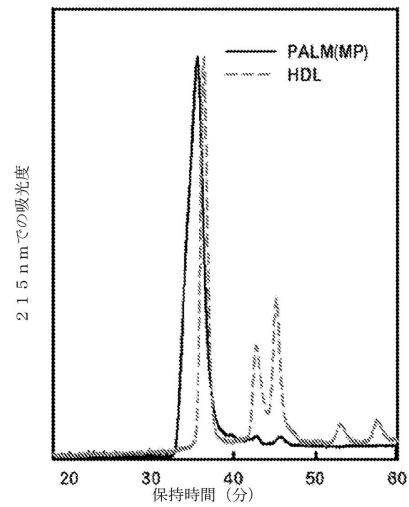
本開示の多数の実施形態を記載したが、基本例を改変して、本発明の方法及びプロセスを使用または包含する他の実施形態を提供してもよいことは明らかである。実施形態及び実施例は例示目的のものであり、本開示を限定するものとして解釈されるべきではなく、むしろ、添付の特許請求の範囲が本発明の範囲を規定する。

【図面】

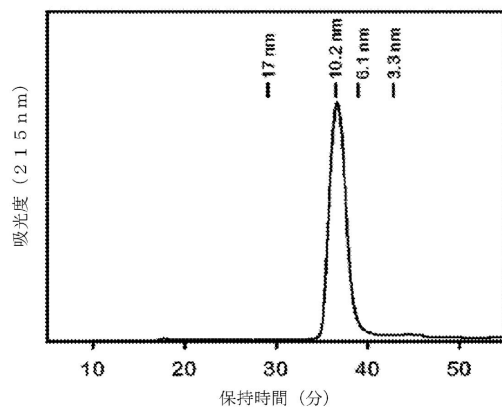
【図 1】



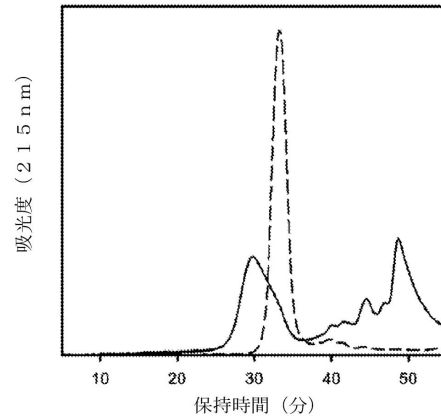
【図 2】



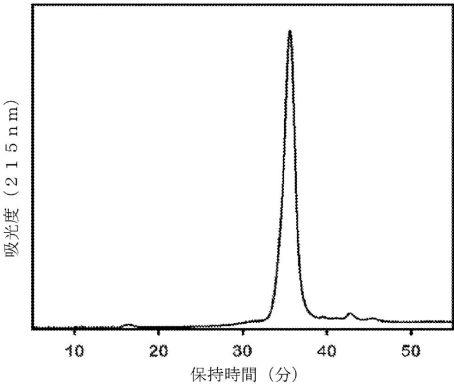
【図 3】



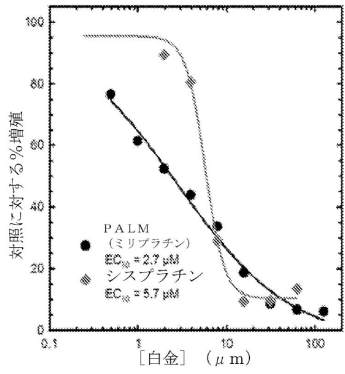
【図 4】



【図 5】

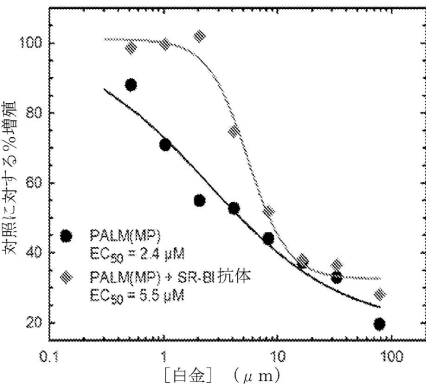


【図 6】

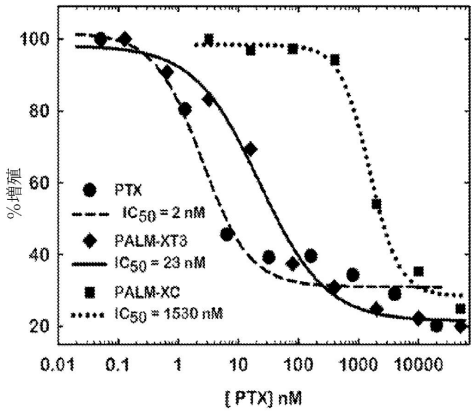


10

【図 7】



【図 8】



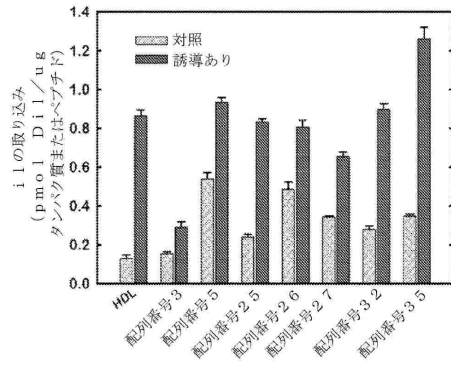
20

30

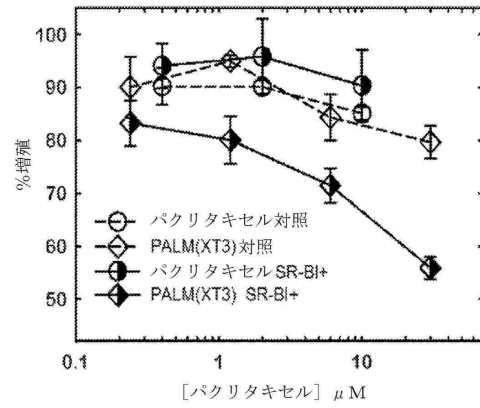
40

50

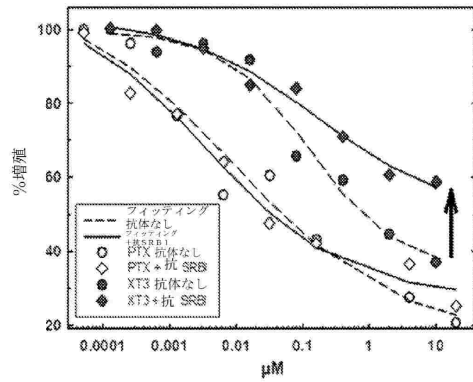
【図 9】



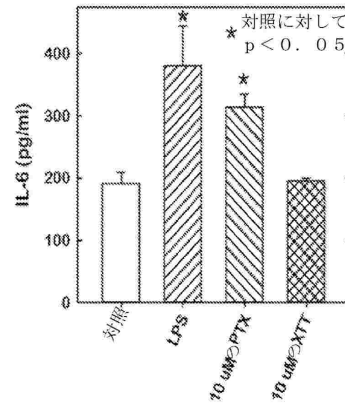
【図 10】



【図 11】



【図 12】



10

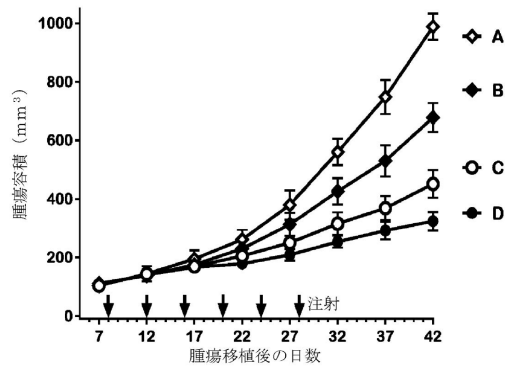
20

30

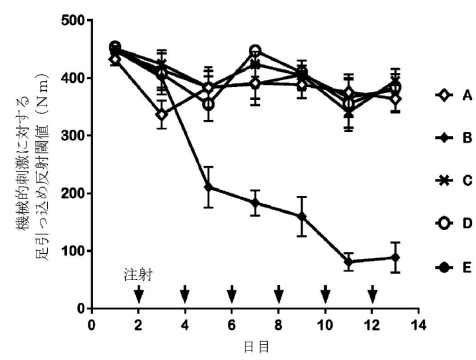
40

50

【図 1 3】

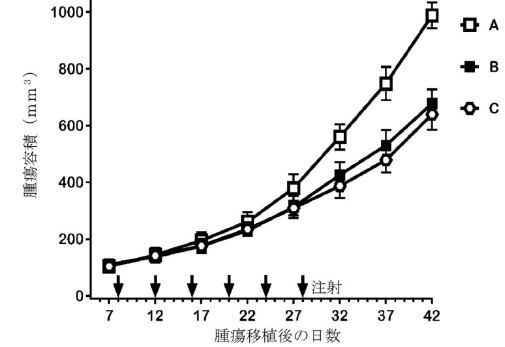


【図 1 4】



10

【図 1 5】



20

【配列表】

0007657775000001.app

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 0 7 K 14/00 (2006.01)**C 0 7 K 14/00****Z N A****A 6 1 K 31/337 (2006.01)****A 6 1 K 31/337****A 6 1 K 47/69 (2017.01)****A 6 1 K 47/69****A 6 1 K 47/54 (2017.01)****A 6 1 K 47/54****A 6 1 K 47/62 (2017.01)****A 6 1 K 47/62**

審査官 渡邊 潤也

(56)参考文献

特表 2 0 1 8 - 5 2 8 2 5 7 (J P , A)

米国特許出願公開第 2 0 1 9 / 0 0 7 6 5 4 4 (U S , A 1)

米国特許出願公開第 2 0 1 5 / 0 2 0 2 1 8 6 (U S , A 1)

(58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

A 6 1 K**J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)****C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)**