

【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23年5月19日(2011.5.19)

【公表番号】特表2010-524964(P2010-524964A)

【公表日】平成22年7月22日(2010.7.22)

【年通号数】公開・登録公報2010-029

【出願番号】特願2010-504252(P2010-504252)

【国際特許分類】

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 K 9/00 (2006.01)

A 6 1 K 47/34 (2006.01)

A 6 1 K 47/32 (2006.01)

A 6 1 K 47/04 (2006.01)

A 6 1 K 9/12 (2006.01)

A 6 1 K 47/28 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 K 48/00

A 6 1 K 9/00

A 6 1 K 47/34

A 6 1 K 47/32

A 6 1 K 47/04

A 6 1 K 9/12

A 6 1 K 47/28

【手続補正書】

【提出日】平成23年3月25日(2011.3.25)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

一つ以上の核酸と一つ以上の非ポリマーカチオンとを含む複数の核酸微小粒子を含む組成物であって、該微小粒子が実質的に球状、周囲温度で水溶性であり、0.5ミクロン～5ミクロンの平均粒径を有し、該微小粒子が、ポリマーポリカチオンを含まず、そして必要に応じて、10重量%未満の該一つ以上の非ポリマーカチオンと、50重量%より多い該一つ以上の核酸とを含む、組成物。

【請求項 2】

前記微小粒子が、約4重量%～約10重量%の間の非ポリマーカチオンを含む、請求項1に記載の組成物。

【請求項 3】

前記微小粒子が、6重量%未満の一つ以上の非ポリマーカチオンと、60重量%より多い前記一つ以上の核酸とを含む、請求項1または2に記載の組成物。

【請求項 4】

非核酸マトリックスおよび非核コア、および必要に応じて、非核エンベロープ(non-nucleic envelope)を含まない、請求項1～3のいずれか一つに記載の組成物

。

【請求項 5】

前記非ポリマーカチオンが、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Na^{+} 、 Ba^{2+} 、 K^{+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、および Li^{+} からなる群より選択される、請求項 1～4 のいずれか一つに記載の組成物。

【請求項 6】

前記核酸が、アンチセンスオリゴヌクレオチドである、請求項 1～5 のいずれか一つに記載の組成物。

【請求項 7】

前記核酸が、siRNA である、請求項 1～5 のいずれか一つに記載の組成物。

【請求項 8】

前記核酸が、疎水性部分を含むように修飾される、請求項 1～7 のいずれか一つに記載の組成物。

【請求項 9】

前記疎水性部分が、コレステロールである、請求項 8 に記載の組成物。

【請求項 10】

請求項 1～9 のいずれか一つに記載の組成物を含む、エアゾール組成物。

【請求項 11】

核酸微小粒子を作製する方法であって、該方法は：

a) ホスホロチオエート化核酸溶液と、0.1 M～5 M の濃度の非ポリマーカチオン溶液とを含む混合物を、該混合物から透明な溶液を形成させるのに十分な温度で十分な時間、インキュベートするステップと；

b) ステップ (a) の溶液を、核酸と非ポリマーカチオンとを含む実質的に球状の微小粒子の集団が形成されるまで、約 1～約 10℃ の温度に冷却するステップ
を含み、必要に応じて、

(c) 該ステップ (b) の微小粒子を単離するステップ
を含み、さらに必要に応じて、

(d) 該単離された微小粒子を、ポリマー水溶液中に再懸濁した後、遠心分離を用いて該微小粒子を沈降させるステップ
を含み、さらに必要に応じて、

(e) 該沈降した微小粒子を再懸濁し、該再懸濁された微小粒子を凍結乾燥させて、凍結乾燥微小粒子を生成するステップ
を含む、方法。

【請求項 12】

前記ステップ (a) またはステップ (b) の混合物に、ポリマー溶液を加えるステップをさらに含む、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】

前記ステップ (b) におけるインキュベーション温度が、約 25℃～約 90℃であり、そして／または該ステップ (b) におけるインキュベーション時間が、約 1 分～約 1 時間である、請求項 11 または 12 に記載の方法。

【請求項 14】

前記方法が、実質的に球状の微小粒子を含むミクロスフィア集団および／または少なくとも 55 重量% の核酸を含む微小粒子を生成する、請求項 11～13 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 15】

前記インキュベーション温度が、70℃である、請求項 11～14 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 16】

核酸微小粒子を作製する方法であって、該方法は：

一つ以上の核酸、一つ以上の非ポリマーカチオン、および一つ以上の非イオン性ポリマ

ーを含む、溶液または分散物を形成するステップと；

複数の実質的に球状の核酸微小粒子を形成するために、該溶液または分散物を冷却するステップであって、該微小粒子が、ポリマーポリカチオンを含まず、非核酸マトリックスも、コアも、エンベロープも含まない、ステップを含む、方法。

【請求項 17】

前記一つ以上の核酸が、疎水性部分を含むように修飾される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】

前記疎水性部分が、コレステロールである、請求項 17 に記載の方法。

【請求項 19】

前記一つ以上の非ポリマーカチオンの、前記一つ以上の核酸に対するモル比が、50,000:1 以下である、請求項 11～18 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 20】

前記核酸が、阻害性 RNA 分子である、請求項 11～19 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 21】

前記非ポリマーカチオンが、多価カチオンである、請求項 11～20 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 22】

前記多価カチオンが、前記混合物中に、約 7.5 M 以上 で存在する、請求項 11～21 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 23】

前記多価カチオンが、前記混合物中に、約 10 mM～約 20 mM で 存在する、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 24】

前記非ポリマーカチオンが、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Na^{+} 、 Ba^{2+} 、 K^{+} 、 Mg^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、および Li^{+} からなる群より選択される、請求項 11～23 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 25】

前記ポリマーが、ポリエチレングリコール、またはポリエチレングリコール (PEG) とポリビニルピロリドン (PVP) との混合物である、請求項 12～24 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 26】

前記ポリマーが、前記混合物中に、約 12.5% (w/v)～約 25% (w/v) 存在する、請求項 12～25 のいずれか一つに記載の方法。

【請求項 27】

医薬において使用するための、請求項 1～10 のいずれか一つに記載の組成物。

【請求項 28】

微小粒子を標的粘膜に送達するための、請求項 1～10 のいずれか一つに記載の組成物。

【請求項 29】

前記標的粘膜が、頬粘膜、食道粘膜、胃粘膜、腸粘膜、嗅粘膜、口腔粘膜、気管支粘膜、子宮粘膜、および子宮内膜からなる群より選択される、請求項 28 に記載の組成物。

【請求項 30】

医薬の調製における、請求項 1～10 のいずれか一つに記載の組成物の使用。

【請求項 31】

前記医薬が、標的粘膜に侵入して作用するために有効な量で患者に投与される、請求項 30 に記載の使用。

【請求項 32】

前記標的粘膜が、頬粘膜、食道粘膜、胃粘膜、腸粘膜、嗅粘膜、口腔粘膜、気管支粘膜、子宮粘膜、および子宮内膜からなる群より選択される、請求項 31 に記載の使用。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0013

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0013】

本発明は、例えば、以下を提供する：

(項目 1)

一つ以上の核酸と一つ以上の非ポリマーカチオンとを含む複数の核酸微小粒子を含む組成物であって、該微小粒子が実質的に球状、周囲温度で水溶性であり、0.5 ミクロン～5 ミクロンの平均粒径を有し、該微小粒子が、ポリマーポリカチオンを含まない、組成物。

(項目 2)

非核酸マトリックスおよび非核コア (non-nucleic core) を含まない、項目 1 に記載の組成物。

(項目 3)

非核酸マトリックス、非核コアおよび非核エンベロップ (non-nucleic envelope) を含まない、項目 1 に記載の組成物。

(項目 4)

上記微小粒子が、約 4 重量%～約 10 重量%の間の非ポリマーカチオンを含む、項目 1 に記載の組成物。

(項目 5)

上記無機カチオンが、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Na^{+} 、 Ba^{2+} 、 K^{+} 、 Mg^{2+} 、 $\text{Mn}^{2+}\text{Co}^{2+}$ 、 Cu^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、および Li^{+} からなる群より選択される、項目 4 に記載の組成物。

(項目 6)

上記核酸が、アンチセンスオリゴヌクレオチドである、項目 1 に記載の組成物。

(項目 7)

上記核酸が、siRNA である、項目 1 に記載の組成物。

(項目 8)

上記組成物中の上記微小粒子が、単分散している、項目 1 に記載の組成物。

(項目 9)

一つ以上の核酸と一つ以上の非ポリマーカチオンとを含む複数の核酸微小粒子を含む組成物であって、該微小粒子は実質的に球状、固体、周囲温度で水溶性であり、0.5 ミクロン～5 ミクロンの平均粒径を有し、該微小粒子は、10 重量%未満の該一つ以上の非ポリマーカチオンと、50 重量%より多い該一つ以上の核酸とを含む、組成物。

(項目 10)

上記微小粒子が、6 重量%未満の一つ以上の非ポリマーカチオンと、60 重量%より多い上記一つ以上の核酸とを含む、項目 9 に記載の組成物。

(項目 11)

核酸微小粒子を作製する方法であって、該方法は：

a) アンチセンスホスホロチオエート化核酸溶液を、0.1 M～5 M の濃度の、 CaCl_2 、 NaCl 、 MgCl_2 、 MnCl_2 、 ZnCl_2 、 LiCl からなる群より選択されるポリマーカチオン溶液と、混合するステップと；

b) ステップ (a) の混合物を、該混合物から透明な溶液を形成させるのに十分な温度で十分な時間、インキュベートするステップと；

c) ステップ (b) の溶液を、核酸と非ポリマーカチオンとを含む実質的に球状の微小粒子の集団が形成されるまで、約 1～約 10 °C の温度に冷却するステップ

を含む、方法。

(項目 1 2)

上記ステップ (a) またはステップ (b) の混合物に、1 : 1 比の 1 2 . 5 % ポリエチレングリコール : P V P を含むポリマー溶液を加えるステップをさらに含む、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 1 3)

上記ステップ (b) におけるインキュベーション温度が、約 2 5 °C ~ 約 9 0 °C である、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 1 4)

上記ステップ (b) におけるインキュベーション時間が、約 1 分 ~ 約 1 時間である、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 1 5)

(e) 上記ステップ (d) の微小粒子を、単離するステップをさらに含む、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 1 6)

上記微小粒子が、遠心分離を用いた沈降により単離される、項目 1 5 に記載の方法。

(項目 1 7)

(f) 上記単離された微小粒子を、ポリマー水溶液中に再懸濁した後、遠心分離を用いて該微小粒子を沈降させるステップをさらに含む、項目 1 6 に記載の方法。

(項目 1 8)

一つ以上の (e) 沈降および (f) 再懸濁のステップをさらに含む、項目 1 7 に記載の方法。

(項目 1 9)

上記沈降した微小粒子を再懸濁し、該再懸濁された微小粒子を凍結乾燥させて、凍結乾燥微小粒子を生成するステップを含む、項目 1 7 または項目 1 8 に記載の方法。

(項目 2 0)

上記方法が、実質的に球状の微小粒子を含むミクロスフィア集団を生成する、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 2 1)

上記方法が、周囲温度で実質的に水溶性のミクロスフィア集団を生成する、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 2 2)

上記方法が、約 0 . 5 ミクロン ~ 約 3 ミクロンの間の平均粒径を有する微小粒子集団を生成する、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 2 3)

上記方法が、少なくとも 5 5 重量 % の核酸を含む微小粒子を生成する、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 2 4)

上記方法が、約 5 5 重量 % ~ 約 8 5 重量 % の間の核酸を含む微小粒子を生成する、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 2 5)

上記方法が、約 5 5 重量 % ~ 約 9 0 重量 % の間の核酸を含む微小粒子を生成する、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 2 6)

上記方法が、約 5 5 重量 % ~ 約 9 5 重量 % の間の核酸を含む微小粒子を生成する、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 2 7)

上記微小粒子が、約 4 重量 % ~ 約 1 0 重量 % の間の非ポリマーカチオンを含む、項目 1 1 に記載の方法。

(項目 2 8)

上記微小粒子を形成するための上記溶液のpH範囲が、約3～約10の間である、項目11に記載の方法。

(項目29)

上記非ポリマーカチオン溶液が、 CaCl_2 溶液である、項目11に記載の方法。

(項目30)

上記非ポリマーカチオン溶液が、 ZnCl_2 溶液である、項目11に記載の方法。

(項目31)

上記非ポリマーカチオン溶液が、 MgCl_2 溶液である、項目11に記載の方法。

(項目32)

上記非ポリマーカチオン溶液が、 NaCl 溶液である、項目11に記載の方法。

(項目33)

上記 CaCl_2 が1.25Mの濃度で提供され、上記インキュベーション温度が75℃であり、上記生成される微小粒子が1～2ミクロンの間のサイズを有する、項目29に記載の方法。

(項目34)

上記 CaCl_2 が1Mの濃度で提供され、上記インキュベーション温度が75℃であり、上記生成される微小粒子が1.3～2.3ミクロンの間のサイズを有する、項目29に記載の方法。

(項目35)

上記インキュベーション温度が、70℃である、項目29に記載の方法。

(項目36)

上記 CaCl_2 の濃度が約0.67Mであるとき、上記生成される微小粒子が、約2～2.6ミクロンの間のサイズを有する、項目35に記載の方法。

(項目37)

上記 CaCl_2 の濃度が約0.15M～0.75Mの間であるとき、上記生成される微小粒子が、約2～2.6ミクロンの間のサイズを有する、項目35に記載の方法。

(項目38)

項目11に記載の方法にしたがって調製される、微小粒子組成物。

(項目39)

項目1に記載の組成物または項目38に記載の組成物を含む、エアゾール組成物。

(項目40)

治療を必要とする対象を治療する方法であって、項目36に記載のエアゾール組成物を該対象に投与するステップを含む、方法。

(項目41)

一つ以上の核酸と一つ以上の非ポリマーカチオンとを含む核酸微小粒子であって、該微小粒子が、ポリカチオン性ポリカチオンを含まず、非核酸マトリックス、コア、またはエンベロープを含まない、核酸微小粒子。

(項目42)

核酸微小粒子を作製する方法であって、該方法は：

一つ以上の核酸、一つ以上の非ポリマーカチオン、および一つ以上の非イオン性ポリマーを含む、溶液または分散物を形成するステップと；

複数の実質的に球状の核酸微小粒子を形成するために、該溶液または分散物を冷却するステップであって、該微小粒子が、ポリマーポリカチオンを含まず、非核酸マトリックス、コア、またはエンベロープを含まない、ステップを含む、方法。

(項目43)

上記一つ以上の核酸が、疎水性部分を含むように修飾される、項目42に記載の方法。

(項目44)

上記疎水性部分が、コレステロールである、項目43に記載の方法。

(項目45)

上記一つ以上の非ポリマーカチオンの、上記一つ以上の核酸に対するモル比が、50,000:1以下である、項目42に記載の方法。

(項目46)

上記冷却ステップが、0.5℃/分の速度で行われる、項目42に記載の方法。

(項目47)

上記冷却ステップが、0.75℃/分の速度で行われる、項目42に記載の方法。

(項目48)

上記冷却ステップが、0.8℃/分の速度で行われる、項目42に記載の方法。

(項目49)

上記冷却ステップが、約4℃で終了する、項目42に記載の方法。

(項目50)

上記冷却ステップが、約0℃で終了する、項目42に記載の方法。

(項目51)

上記冷却ステップが、約-5℃で終了する、項目42に記載の方法。

(項目52)

核酸微小粒子を作製する方法であって、該方法は：

コレステロール修飾核酸、水溶性ポリマーおよび多価カチオンの混合物を、インキュベートするステップと、

微小粒子を形成するのに十分な速度で、時間にわたって該混合物を冷却するステップを含む、方法。

(項目53)

上記冷却ステップが、0.5℃/分の速度で行われる、項目52に記載の方法。

(項目54)

上記冷却ステップが、0.75℃/分の速度で行われる、項目52に記載の方法。

(項目55)

上記冷却ステップが、0.8℃/分の速度で行われる、項目52に記載の方法。

(項目56)

上記冷却ステップが、約4℃で終了する、項目52に記載の方法。

(項目57)

上記冷却ステップが、約0℃で終了する、項目52に記載の方法。

(項目58)

上記冷却ステップが、約-5℃で終了する、項目52に記載の方法。

(項目59)

上記核酸が、阻害性RNA分子である、項目52に記載の方法。

(項目60)

上記核酸が、siRNAである、項目59に記載の方法。

(項目61)

上記多価カチオンが、項目3に記載のとおりである、項目52に記載の方法。

(項目62)

上記多価カチオンが、Mg⁺⁺またはCa⁺⁺である、項目52に記載の方法。

(項目63)

上記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコールである、項目52に記載の方法。

(項目64)

上記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコール(PEG)およびポリビニルピロリドン(PVP)の混合物である、項目52に記載の方法。

(項目65)

上記混合物が、室温でインキュベートされる、項目52に記載の方法。

(項目66)

上記混合物が、37℃でインキュベートされる、項目52に記載の方法。

(項目67)

上記混合物が、65℃でインキュベートされる、項目52に記載の方法。

(項目68)

上記インキュベートするステップが、約5分～約10分行われる、項目52に記載の方法。

(項目69)

上記水溶性ポリマーが、上記混合物中に、約12.5% (w/v)～約25% (w/v) 存在する、項目52に記載の方法。

(項目70)

上記水溶性ポリマーが、上記混合物中に、約12.5% (w/v) 存在する、項目69に記載の方法。

(項目71)

上記水溶性ポリマーが、上記混合物中に、約16.7% (w/v) 存在する、項目69に記載の方法。

(項目72)

上記水溶性ポリマーが、上記混合物中に、約20% (w/v) 存在する、項目69に記載の方法。

(項目73)

上記多価カチオンが、上記混合物中に、約7.5M～1Mを超えて存在する、項目52に記載の方法。

(項目74)

上記多価カチオンが、上記混合物中に、約10mM～約20mM、～約25mM、または～約35mMで存在する、項目73に記載の方法。

(項目75)

上記多価カチオンが、上記混合物中に、約25mMで存在する、項目73に記載の方法。

(項目76)

項目42～75のいずれか一つに記載の方法により生成される、微小粒子。

(項目77)

微小粒子を標的粘膜に送達するための方法であって、標的粘膜に浸透してその上または中で作用するのに有効な量の項目76に記載の微小粒子と、該標的粘膜を接触させるステップを含む、方法。

(項目78)

上記標的粘膜が、頬粘膜、食道粘膜、胃粘膜、腸粘膜、嗅粘膜、口腔粘膜、気管支粘膜、子宮粘膜、および子宮内膜からなる群より選択される、項目77に記載の方法。

本開示は、微小粒子が核酸および非ポリマーカチオンで作られ、湿潤または水性の標的位置（例えば肺組織）への投与に適する、組成物に関する。微小粒子は、標的位置で溶解により核酸を放出して、放出された核酸を標的細胞と自由に相互作用させる、実質的に球状の核酸微小粒子である。