

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7442822号
(P7442822)

(45)発行日 令和6年3月5日(2024.3.5)

(24)登録日 令和6年2月26日(2024.2.26)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	31/519(2006.01)	A 6 1 K	31/519
A 6 1 K	9/127(2006.01)	A 6 1 K	9/127
A 6 1 K	31/352(2006.01)	A 6 1 K	31/352
A 6 1 K	31/513(2006.01)	A 6 1 K	31/513
A 6 1 K	31/716(2006.01)	A 6 1 K	31/716
請求項の数 12 (全198頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2020-543517(P2020-543517)	(73)特許権者	517045370
(86)(22)出願日	平成31年2月7日(2019.2.7)		エル．イー．エー．エフ．ホールディ
(65)公表番号	特表2021-513550(P2021-513550		ングス グループ エルエルシー
	A)		L．E．A．F．HOLDINGS G
(43)公表日	令和3年5月27日(2021.5.27)		ROUP LLC
(86)国際出願番号	PCT/US2019/016966		アメリカ合衆国，ペンシルベニア州，
(87)国際公開番号	WO2019/160735		ガルフ ミルズ，オーバールック レーン
(87)国際公開日	令和1年8月22日(2019.8.22)		3 2 6
審査請求日	令和4年2月4日(2022.2.4)	(74)代理人	100114775
(31)優先権主張番号	62/636,289		弁理士 高岡 亮一
(32)優先日	平成30年2月28日(2018.2.28)	(74)代理人	100121511
(33)優先権主張国・地域又は機関			弁理士 小田 直
	米国(US)	(74)代理人	100202751
(31)優先権主張番号	62/702,774		弁理士 岩堀 明代
(32)優先日	平成30年7月24日(2018.7.24)	(74)代理人	100208580
最終頁に続く		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸およびその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を封入したリポソームを含む、リポソーム組成物であって、

前記γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、γカルボキシル基結合により連結された2つ以上のグルタミル基を含み、前記γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、

(a) γポリグルタミン酸化5－ホルミル－THF（例えば、γポリグルタミン酸化〔6S〕－5－ホルミル－THF）；

(b) γポリグルタミン酸化10－ホルミル－THF（例えば、γポリグルタミン酸化〔6R〕－10－ホルミル－THF）；

(c) γポリグルタミン酸化5，10－メテニル－THF（例えば、γポリグルタミン酸化〔6R〕－5，10－メテニル－THF）；

(d) γポリグルタミン酸化5－メチル－THF（例えば、γポリグルタミン酸化〔6S〕－5－メチル－THF）；

(e) γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、γポリグルタミン酸化〔6S〕－テトラヒドロ葉酸THF）；

(f) γポリグルタミン酸化5，10－メチレン－THF（例えば、γポリグルタミン酸化〔6R〕－5，10－メチレン－THF）；および

(g) γポリグルタミン酸化5－ホルムイミノ－THF（例えば、γポリグルタミン酸化〔6S〕－5－ホルムイミノ－THF）からなる群より選択され、

前記リポソームは、ペグ化されており、標的細胞上の表面抗原に対する特異的親和性を有するターゲティング部分を含まない、リポソーム組成物。

【請求項 2】

前記 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、 γ カルボキシル基結合を有するグルタミル基を含む、請求項 1 に記載のリポソーム組成物。

【請求項 3】

前記 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、 γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸、または γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸である、請求項 1 に記載のリポソーム組成物。

【請求項 4】

前記 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、 γ カルボキシル基結合を有する 4 ～ 6 グルタミル基を含む、請求項 1 に記載のリポソーム組成物。

【請求項 5】

前記リポソームは、20 nm ～ 500 nm の範囲、20 nm ～ 200 nm の範囲、または 80 nm ～ 120 nm の範囲の直径を有する、請求項 1 に記載のリポソーム組成物。

【請求項 6】

前記リポソームは、アニオン性脂質および中性脂質の少なくとも 1 つを含むリポソーム成分から形成され、DSPE；DSPE-PEG；DSPE-PEG-マレイミド；HSPC；HSPC-PEG；コレステロール；コレステロール-PEG；およびコレステロール-マレイミドからなる群より選択される少なくとも 1 つを含み、任意で、前記リポソーム成分は、DSPE；DSPE-PEG；DSPE-PEG-FITC；DSPE-PEG-マレイミド；コレステロール；および HSPC からなる群から選択される少なくとも 1 つを含み、任意で、1 つ以上のリポソーム成分は、立体安定剤をさらに含み、任意で、ポリエチレングリコール（PEG）；ポリ-L-リジン（PLL）；モノシアロガングリオシド（GM1）；ポリ（ビニルピロリドン）（PVP）；ポリ（アクリルアミド）（PAA）；ポリ（2-メチル-2-オキサゾリン）；ポリ（2-エチル-2-オキサゾリン）；ホスファチジルポリグリセロール；ポリ[N-（2-ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド]；両親媒性ポリ-N-ビニルピロリドン；L-アミノ酸系ポリマー；オリゴグリセロール、ポリエチレングリコールおよびポリプロピレンオキシド含有コポリマー、ポロクサマー 188、ならびにポリビニルアルコールからなる群から選択され、任意で、前記立体安定剤は、PEG であり、かつ前記 PEG は、200 ～ 5000 ダルトンの数平均分子量（Mn）を有する、請求項 1 に記載のリポソーム組成物。

【請求項 7】

前記リポソームはアニオン性であるか、前記リポソームはカチオン性であるか、前記リポソームは中性であるか、前記リポソームはゼロ以下のゼータ電位を有するか、前記リポソームは 0 ～ -150 mV のゼータ電位を有するか、または前記リポソームは -30 ～ -50 mV のゼータ電位を有する、請求項 1 に記載のリポソーム組成物。

【請求項 8】

前記リポソームは、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸および水性の薬学的に許容される担体を含む内部空間を有し、任意で、1 % を超える濃度で、デキストロース、マンニトール、グリセリン、塩化カリウム、塩化ナトリウムなどの等張化剤、1 % ～ 50 % のトレハロース、HEPES 緩衝液中に懸濁された 5 % のデキストロース、または 50 mM ～ 500 mM の総濃度の酢酸ナトリウムおよび酢酸カルシウムを含み、任意で、前記リポソームの内部空間は、5 ～ 8 の pH または 6 ～ 7 の pH、またはそれらの間の任意の範囲の pH を有し、任意で、前記リポソームは、500、000 個未満または 200、000 個未満の前記 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含むか、または 10 ～ 100、000 個、またはその間の任意の範囲の γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含む、請求項 1 に記載のリポソーム組成物。

【請求項 9】

免疫刺激剤、検出可能マーカーおよびマレイミドの 1 つ以上をさらに含み、前記免疫刺

10

20

30

40

50

激剤、検出可能マーカーまたはマレイミドは、PEGまたは前記リポソームの外面に付着され、前記免疫刺激剤は、フルオレセイン；フルオレセインイソチオシアネート（FITC）；DNP； β グルカン； β -1, 3-グルカン； β -1, 6-グルカン；レゾルビン（例えば、 D_n-6DPA もしくは D_n-3DPA などのレゾルビンD、レゾルビンE、またはTシリーズレゾルビン）；ならびに、酸化型低密度リポタンパク質（例えば、OXPA C、PGPC）、およびエリトラン脂質（例えば、E5564）などのトール様受容体（TLR）調節薬からなる群より選択される少なくとも1つであり、任意で、マンニトール；トレハロース；ソルビトール；およびスクロースからなる群より選択される少なくとも1つの凍結保護物質をさらに含むか、またはフルオロウラシル（fluoracil）もしくはテトラヒドロ葉酸をさらに含む、請求項1に記載のリポソーム組成物。

10

【請求項10】

請求項1に記載のリポソーム組成物、および任意で5FUなどのフルオロウラシル（fluoracil）を含む、医薬組成物。

【請求項11】

疾患、化学物質誘導毒性、白血球減少症の治療、および／または治療薬の有効性を増強するためもしくは治療薬と関連する毒性副作用を低減するための、化学療法薬などの1つ以上の治療薬との併用療法における使用のための、請求項1～9のいずれか1項に記載のリポソーム組成物または請求項10に記載の医薬組成物であって、任意で前記疾患は、癌、免疫系の障害、または感染性疾患であり、任意で自己免疫疾患、関節リウマチ、または炎症性疾患である、リポソーム組成物または医薬組成物。

20

【請求項12】

請求項1～9のいずれか1項に記載の組成物を調製する方法であって、前記方法は、溶液中でリポソーム成分および γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む混合物を形成すること；前記溶液中で前記混合物をホモジナイズしてリポソームを形成すること；および前記混合物を処理して γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有するリポソームを形成することを含み、任意で前記処理ステップは、薄膜水和、押し出し、インライン混合、エタノール注入技術、凍結融解法、逆相蒸発法、動的な高圧マイクロ流動化、マイクロ流体混合、二重エマルジョン、凍結乾燥二重エマルジョン、3Dプリンティング、膜コンタクター法、および攪拌の1つ以上のステップを含む、方法。

【発明の詳細な説明】

30

【技術分野】

【0001】

本開示は一般に、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を含有するリポソームなどの送達ビヒクルを含む γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物、ならびに、癌などの過剰増殖性疾患、関節リウマチなどの免疫系の障害、ならびにHIVおよびマラリアなどの感染性疾患を含む疾患を治療するために組成物を製造および使用方法に関する。ポリグルタミン酸化 γ テトラヒドロ葉酸組成物はまた、化学療法薬（例えば、5-フルオロウラシル）などの1つ以上の治療薬との併用療法において、治療薬（複数可）の有効性を増強するため、または、「化学防護剤」として（例えば、メトトレキサートなどの葉酸代謝拮抗薬との組み合わせで）治療薬（複数可）と関連する毒性副作用を低減するための、用途を有する。

40

【背景技術】

【0002】

葉酸は、生合成およびDNA修復、ホモシステインの再メチル化（Hcy）、およびDNA、タンパク質、および脂質のメチル化に關与する一炭素単位の移動を媒介する不可欠な補因子である。血液中の唯一の循環型の葉酸は、モノグルタミン酸であり、葉酸モノグルタメートは、細胞膜を通して輸送される唯一の形態の葉酸であり、同様に、モノグルタミン酸型のテトラヒドロ葉酸も細胞膜を通して輸送される。細胞中に取り込まれると、細胞内テトラヒドロ葉酸は、酵素ホリルポリガンマグルタミン酸シンターゼ（FPGS）によりポリグルタミン酸化される。FPGSによるテトラヒドロ葉酸のポリグルタミン酸

50

化は少なくとも2つの主治療目的を果たす：(1)それはDHFRに対するテトラヒドロ葉酸親和性を大きく増強する；ならびに(2)それは、テトラヒドロ葉酸（モノグルタミン酸）とは異なり、細胞排出ポンプにより細胞から外に容易に輸送されない、ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸の蓄積を促進する。

【0003】

提供されるγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物は、テトラヒドロ葉酸の治療効果を改善するための戦略を与える。

【発明の概要】

【0004】

本開示は一般に、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（THF）組成物、ならびに、癌などの過剰増殖性疾患、炎症および関節リウマチなどの免疫系の障害、ならびにHIVおよびマラリアなどの感染性疾患を含む疾患を治療するために組成物を製造および使用する方法に関する。αポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物はまた、化学療法薬（例えば、5-フルオロウラシル）などの1つ以上の治療薬との併用療法において、治療薬（複数可）の有効性を増強するため、または「化学防護剤」として（例えば、メトトレキサートなどの葉酸代謝拮抗薬との組み合わせで）治療薬（複数可）と関連する毒性副作用を低減するための、用途を有する。

【0005】

いくつかの実施形態では、本開示は、下記を提供する：

【1】 γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む組成物；

【2】 γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は下記からなる群より選択される、【1】の組成物：

(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化【6S】-5-ホルミル-THF）；

(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化【6R】-10-ホルミル-THF）；

(c) ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化【6R】-5, 10-メテニル-THF）；

(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化【6S】-5-メチル-THF）；

(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、ポリグルタミン酸化【6S】-テトラヒドロ葉酸）；

(f) ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化【6R】-5, 10-メチレン-THF）；および

(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化【6S】-5-ホルムイミノ-THF）；

【3】 γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、4、5、2-10、4-6、または5超の、γカルボキシル基結合を有するグルタミル基を含む、【1】または【2】の組成物；

【4】 γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸はγテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸である、【1】-【3】のいずれかによる組成物；

【5】 γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸はγペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸である、【1】-【3】のいずれかによる組成物；

【6】 γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸はγヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸である、【1】-【3】のいずれかによる組成物；

【7】 下記である、【1】-【6】のいずれかによる組成物：

(a) γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は2つ以上の、γカルボキシル基結合を有するL型のグルタミル基を含む、

(b) γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型であり、γカルボキシル基結合を有する、

(c) γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の少なくとも1つはD型

10

20

30

40

50

であり、 γ カルボキシル基結合を有する、

(d) テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型であり、 γ カルボキシル基結合を有する、または

(e) γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、2つ以上のL型のグルタミル基および少なくとも1つの、 γ カルボキシル基結合を有するD型のグルタミル基を含む；

[8] 下記である、[4]による組成物：

(a) グルタミル基の各々はL型であり、 γ カルボキシル基結合を有する、または

(b) テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外のグルタミル基の各々はD型であり、グルタミル (g l u y t a m y l) 基の各々は γ カルボキシル基結合を有する；

[9] 下記である、[5]の組成物：

(a) グルタミル基の各々はL型であり、 γ カルボキシル基結合を有する、または

(b) テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外のグルタミル基の各々はD型であり、グルタミル (g l u y t a m y l) 基の各々は γ カルボキシル基結合を有する；

[10] 下記である、[6]の組成物：

(a) グルタミル基の各々はL型であり、 γ カルボキシル基結合を有する、または

(b) テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外のグルタミル基の各々はD型であり、グルタミル (g l u y t a m y l) 基の各々は γ カルボキシル基結合を有する；

[11] γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は生理的条件下で、FGPSによりポリグルタミン酸化可能であり、および／または、ポリグルタミン酸化THFはTHFよりも低い、肝細胞による取り込み率 (<30%) を有する、[1] - [10] のいずれかによる組成物；

[12] [1] - [11] のいずれかによる、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含むリポソーム組成物 (L p - γ P T H F) ；

[13] γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は2つ以上のL型のグルタミル基を含む、[12]によるL p - γ P T H F組成物；

[14] γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である、[12]または[13]によるL p - γ P T H F組成物；

[15] γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の少なくとも1つはD型である、[12]または[13]のL p - γ P T H F組成物；

[16] リポソームは、1-10の、 γ カルボキシル基結合を有するグルタミル基を含む γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む、[12] - [15] のいずれかによるL p - γ P T H F組成物；

[17] リポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超のグルタミル基を含有する γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む、[12] - [16] のいずれかによるL p - γ P T H F組成物；

[18] リポソームは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む、[12] - [17] のいずれかによるL p - γ P T H F組成物；

[19] リポソームは γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む、[12] - [17] のいずれかによるL p - γ P T H F組成物；

[20] リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む、[12] - [17] のいずれかによるL p - γ P T H F組成物；

[21] リポソームはペグ化されていない (P γ L p - γ P T H F)、[12] - [20] のいずれかによるL p - γ P T H F組成物；

[22] リポソームはペグ化されている (P γ L p - γ P T H F)、[12] - [20] のいずれかによるL p - γ P T H F組成物；

[23] リポソームは少なくとも1%重量／重量 (w/w) の γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含み、または、L p - γ P T H Fを調製するプロセス中、 γ ポリグルタミン酸化THFの開始材料の少なくとも1%がL p - γ P T H F内に封入(捕捉)される、[12] - [22] のいずれかによるL p - γ P T H F組成物；

[24] リポソームは20nm～500nmの範囲の直径を有する、[12] - [23]

10

20

30

40

50

のいずれかによる L p - γ P T H F 組成物；

〔25〕リポソームは20nm～200nmの範囲の直径を有する、〔12〕－〔24〕のいずれかによる L p - γ P T H F 組成物；

〔26〕リポソームは80nm～120nmの範囲の直径を有する、〔12〕－〔25〕のいずれかによる L p - γ P T H F 組成物；

〔27〕リポソームはリポソーム成分から形成される、〔12〕－〔26〕のいずれかによる L p - γ P T H F 組成物；

〔28〕リポソーム成分は、アニオン性脂質および中性脂質の少なくとも1つを含む、〔27〕による L p - γ P T H F 組成物；

〔29〕リポソーム成分は下記からなる群より選択される少なくとも1つを含む、〔27〕または〔28〕による L p - γ P T H F 組成物：D S P E；D S P E - P E G；D S P E - P E G - マレイミド；H S P C；H S P C - P E G；コレステロール；コレステロール - P E G；およびコレステロール - マレイミド；

〔30〕リポソーム成分は下記からなる群より選択される少なくとも1つを含む、〔27〕－〔29〕のいずれかによる L p - γ P T H F 組成物：D S P E；D S P E - P E G；D S P E - P E G - F I T C；D S P E - P E G - マレイミド；コレステロール；および H S P C；

〔31〕1つ以上のリポソーム成分は、立体安定剤をさらに含む、〔27〕－〔30〕のいずれかによる L p - γ P T H F 組成物；

〔32〕立体安定剤は、下記からなる群より選択される少なくとも1つである、〔31〕による L p - γ P T H F 組成物：ポリエチレングリコール（P E G）；ポリ-L-リジン（P L L）；モノシアロガングリオシド（G M 1）；ポリ（ビニルピロリドン）（P V P）；ポリ（アクリルアミド）（P A A）；ポリ（2-メチル-2-オキサゾリン）；ポリ（2-エチル-2-オキサゾリン）；ホスファチジルポリグリセロール；ポリ〔N-（2-ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド〕；両親媒性ポリ-N-ビニルピロリドン；L-アミノ酸系ポリマー；オリゴグリセリン、ポリエチレングリコールおよびポリプロピレンオキシド含有コポリマー、ボロクサマー188、ならびにポリビニルアルコール；

〔33〕立体安定剤はP E Gであり、P E Gは200～5000ダルトンの数平均分子量（M n）を有する、〔32〕による L p - γ P T H F 組成物；

〔34〕リポソームはアニオン性または中性である、〔12〕－〔33〕のいずれかによる L p - γ P T H F 組成物；

〔35〕リポソームは、ゼロ以下であるゼータ電位を有する、〔12〕－〔33〕のいずれかによる L p - γ P T H F 組成物；

〔36〕リポソームは、0～-150mVであるゼータ電位を有する、〔12〕－〔33〕のいずれかによる L p - γ P T H F 組成物；

〔37〕リポソームは、-30～-50mVであるゼータ電位を有する、〔12〕－〔33〕のいずれかによる L p - γ P T H F 組成物；

〔38〕リポソームはカチオン性である、〔12〕－〔33〕のいずれかによる L p - γ P T H F 組成物；

〔39〕リポソームは、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸および水性の、薬学的に許容される担体を含む内部空間を有する、〔12〕－〔38〕のいずれかによる L p - γ P T H F 組成物；

〔40〕薬学的に許容される担体は、デキストロース、マンニトール、グリセリン、塩化カリウム、塩化ナトリウムなどの等張化剤を、1%を超える濃度で含む、〔39〕の L p - γ P T H F 組成物；

〔41〕水性の、薬学的に許容される担体はトレハロースである、〔39〕の L p - γ P T H F 組成物；

〔42〕薬学的に許容される担体は、1%～50%のトレハロースを含む、〔41〕の L p - γ P T H F 組成物；

〔43〕薬学的に許容される担体は1%～50%デキストロース溶液を含む、〔39〕－

10

20

30

40

50

〔42〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔44〕リポソームの内部空間は、HEPES緩衝液に懸濁された5%デキストロースを含む、〔39〕-〔43〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔45〕薬学的に許容される担体は、1~200mMの濃度および2~8のpHの、HEPES緩衝生理食塩水(HBS)または類似物などの緩衝液を含む、〔39〕-〔44〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔46〕薬学的に許容される担体は、50mM~500mMの総濃度の酢酸ナトリウムおよび酢酸カルシウムを含む、〔39〕-〔45〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔47〕リポソームの内部空間は5~8のpHまたは6~7のpH、またはそれらの間の任意の範囲を有する、〔12〕-〔46〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔48〕リポソームは、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸の500,000未満または200,000未満の分子を含む、〔12〕-〔47〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔49〕リポソームは、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸の10~100,000の分子、またはそれらの間の任意の範囲を含む、〔12〕-〔48〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔50〕ターゲティング部分をさらに含み、ターゲティング部分は、目的の標的細胞上の表面抗原に対して特異的親和性を有する、〔12〕-〔49〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔51〕ターゲティング部分はPEGおよびリポソームの外表面の一方または両方に付着され、任意で、ターゲティング部分は、共有結合によりPEGおよびリポソームの外表面の一方または両方に付着される、〔50〕によるLp-γPTHF組成物；

〔52〕ターゲティング部分はポリペプチドである、〔50〕または〔51〕のLp-γPTHF組成物；

〔53〕ターゲティング部分は抗体または抗体の抗原結合フラグメントである、〔50〕-〔52〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔54〕ターゲティング部分は、BIACORE(登録商標)分析で測定して、 $0.5 \times 10^{-10} \sim 10 \times 10^{-6}$ の範囲の平衡解離定数(Kd)で表面抗原に結合する、〔50〕-〔53〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔55〕ターゲティング部分は下記からなる群より選択される1つ以上の葉酸受容体に特異的に結合する、〔50〕-〔54〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物：葉酸受容体α(FR-α)、葉酸受容体β(FR-β)、および葉酸受容体δ(FR-δ)；

〔56〕ターゲティング部分は、下記からなる群より選択される1つ以上を含む、〔50〕-〔55〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物：抗体、ヒト化抗体、抗体の抗原結合フラグメント、単鎖抗体、シングルドメイン抗体、二重特異性抗体、合成抗体、ペグ化抗体、および多量体抗体；

〔57〕各ペグ化リポソームは1~1000または30~200のターゲティング部分を含む、〔50〕-〔56〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔58〕免疫刺激剤、検出可能マーカーおよびマレイミドのうちの1つ以上をさらに含み、免疫刺激剤、検出可能マーカーまたはマレイミドは前記PEGまたはリポソームの外表面に付着される、〔39〕-〔57〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔59〕免疫刺激剤は、下記からなる群より選択される少なくとも1つである、〔58〕のLp-γPTHF組成物：タンパク質免疫刺激剤；核酸免疫刺激剤；化学的免疫刺激剤；ハプテン；およびアジュバント；

〔60〕免疫刺激剤は、下記からなる群より選択される少なくとも1つである、〔58〕または〔59〕のLp-γPTHF組成物：フルオレセイン；フルオレセインイソチオシアネート(FITC)；DNP；βグルカン；β-1,3-グルカン；β-1,6-グルカン；レゾルビン(例えば、Dn-6DPAもしくはDn-3DPAなどのレゾルビンD、レゾルビンE、またはTシリーズレゾルビン)；ならびに、酸化型低密度リポタンパク質(

10

20

30

40

50

例えば、OXPA C、PGPC)、およびエリトラン脂質(例えば、E5564)などの
トール様受容体(TLR)調節薬;

[61] 免疫刺激剤および検出可能マーカーは同じである、[58] - [60] のいずれ
かによるLp-γPTHF組成物;

[62] ハプテンをさらに含む、[58] - [61] のいずれかによるLp-γPTHF
組成物;

[63] ハプテンはフルオレセインまたはβ1, 6-グルカンの1つ以上を含む、[62]
]のLp-γPTHF組成物;

[64] マンニトール;トレハロース;ソルビトール;およびスクロースからなる群より
選択される少なくとも1つの凍結保護物質をさらに含む、[12] - [63] のいずれか
によるLp-γPTHF組成物;

10

[65] [1] - [64] のいずれかによる組成物を含む標的化組成物;

[66] [1] - [49] のいずれかによる組成物を含む非標的化組成物;

[67] カルボプラチンおよび/またはペムブロリズマブをさらに含む、[12] - [6
6] のいずれかによるLp-γPTHF組成物;

[68] [12] - [67] のいずれかによるリポソームγポリグルタミン酸化テトラヒ
ドロ葉酸組成物を含む医薬組成物;

[69] [1] - [7] のいずれかによるγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物
を含む医薬組成物;

[70] 疾患の治療において使用するための、[1] - [69] のいずれかの組成物;

20

[71] 疾患の治療のための医薬品の製造における、および/または、化学療法薬(例え
ば、5-フルオロウラシル)などの1つ以上の治療薬との併用療法における、治療薬(複
数可)の有効性を増強するため、または、「化学防護剤」として(例えば、メトトレキサ
ートなどの葉酸代謝拮抗薬との組み合わせで)治療薬(複数可)と関連する毒性副作用を
低減するための使用のための、[1] - [70] のいずれかの組成物の使用;

[72] そのような治療または防止を必要とする被検体において疾患または化学物質誘導
毒性を治療する(例えば、治療または防止する)ための方法であって、[1] - [70]
のいずれかの組成物を被検体に投与することを含む方法;

[73] そのような治療または防止を必要とする被検体において疾患または化学物質誘導
毒性を治療する(例えば、治療または防止する)ための方法であって、[12] - [69]
]のいずれかのリポソームγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を被検体に投与
することを含む方法;

30

[74] 過剰増殖性細胞を[1] - [69] のいずれかの組成物と接触させることを含む
、過剰増殖性細胞を死滅させる方法;

[75] 過剰増殖性細胞を[12] - [69] のいずれかのリポソームγポリグルタミン
酸化テトラヒドロ葉酸組成物と接触させることを含む、過剰増殖性細胞を死滅させる方法;

[76] 過剰増殖性細胞は、癌細胞、哺乳類細胞、および/またはヒト細胞である、[7
4] または[75]の方法;

[77] 有効量の[1] - [69] のいずれかの組成物を、癌を有するまたは有するリス
クのある被験体に投与することを含む、癌を治療するための方法;

40

[78] 有効量の[12] - [68] のいずれかのリポソームγポリグルタミン酸化テト
ラヒドロ葉酸組成物を、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含
む、癌を治療する(例えば、治療または防止する)ための方法;

[79] 組成物は癌を治療または防止するために投与され、癌は下記からなる群より選択
される、[77] または[78]の方法:例えば、肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺
癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管
癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫(例えば、骨肉腫)、脳癌、中枢神経系癌、およびメラノーマ
などを含む非血液系腫瘍;および例えば、白血病、リンパ腫および他のB細胞悪性腫瘍、
骨髄腫および他の形質細胞異常増殖症などの血液系腫瘍;

[80] 組成物は癌を治療または防止するために投与され、癌は下記からなる群より選択

50

されるメンバーである、[77] または [78] の方法：肺癌、乳癌、結腸癌、膵臓癌、胃の癌、膀胱癌、頭頸部癌、卵巣癌、および子宮頸癌；

[81] 組成物は癌を治療または防止するために投与され、癌は下記からなる群より選択されるメンバーである、[77] または [78] の方法：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌；

[82] 組成物は、結腸直腸癌を治療または防止するために投与される、[77] または [78] の方法；

[83] 有効量の、[50] - [66] のいずれかの L p - γ P T H F 組成物を、ターゲティング部分により結合される葉酸受容体をその表面に発現する癌細胞を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法；

[84] 有効量の、[1] - [69] のいずれかの組成物を、癌療法を受けている、または受けたことがある被検体に投与することを含む、維持療法；

[85] 有効量の、[12] - [69] のいずれかのリポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を、癌療法を受けている、または受けたことがある被検体に投与することを含む、維持療法；

[86] 有効量の、[1] - [69] のいずれかの組成物を、免疫系の障害を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含み、任意で、免疫系の障害は、下記から選択される、免疫系の障害を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法：炎症（例えば、急性および慢性）、全身性炎症、関節リウマチ、炎症性腸疾患（IBD）、クローン病、皮膚筋炎／多発性筋炎、全身性エリテマトーデス、および高安病、ならびに乾癬；

[87] 有効量の、[8] - [69] のいずれかのリポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を免疫系の障害を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含み、任意で、免疫系の障害は、下記から選択される、免疫系の障害を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法：炎症（例えば、急性および慢性）、全身性炎症、関節リウマチ、炎症性腸疾患（IBD）、クローン病、皮膚筋炎／多発性筋炎、全身性エリテマトーデス、および高安病、ならびに乾癬；

[88] 下記の、治療する（例えば、治療または防止する）ための方法：

(a) 有効量の、[1] - [59] のいずれかによる組成物を、白血球減少症を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、白血球減少症を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法；

(b) 有効量の、[1] - [69] のいずれかによる組成物を、感染性疾患を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、感染性疾患を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法；

(c) 有効量の、[1] - [59] のいずれかによる組成物を、感染性疾患、心血管疾患、または別の疾患を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含み、疾患は下記から選択されるメンバーである、心血管疾患または代謝疾患を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法：アテローム性動脈硬化、心血管疾患（CVD）、冠動脈疾患、心筋梗塞、脳卒中、メタボリックシンドローム、妊娠性絨毛性疾患、および子宮外妊娠；

(d) 有効量の、[1] - [59] のいずれかによる組成物を、自己免疫疾患を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、自己免疫疾患を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法、；

(e) 有効量の、[1] - [59] のいずれかによる組成物を、関節リウマチを有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、関節リウマチを治療する（例えば、治療または防止する）ための方法；

(f) 有効量の、[1] - [59] のいずれかによる組成物を、炎症を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含み、任意で炎症は急性、慢性、および／または

10

20

30

40

50

全身性炎症である、炎症状態を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法；または

（g）有効量の、[1] – [59] のいずれかによる組成物を、皮膚疾患を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含み、任意で皮膚疾患は乾癬である、皮膚疾患を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法；

[89] 有効量の、[12] – [69] のいずれかのリポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を、感染性疾患を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、感染性疾患を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法；

[90] γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を、葉酸受容体をその表面に発現している腫瘍に送達する方法であって、下記を含む方法：[1] – [69] のいずれかの L p – γ P T H F 組成物を腫瘍を有する被検体に、治療的有效量の γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を腫瘍に送達する量で投与すること；

[91] [12] – [69] のいずれかのリポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を含む γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を調製する方法であって、下記を含む方法：溶液中でリポソーム成分および γ ポリグルタミン酸化葉酸代謝拮抗薬を含む混合物を形成すること；溶液中で混合物をホモジナイズしてリポソームを形成すること；および、混合物を処理して、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有するリポソームを形成すること；

[92] 下記のステップを含む、[12] – [69] のいずれかの組成物を調製する方法であって：溶液中でリポソーム成分および γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む混合物を形成するステップ；溶液中で混合物をホモジナイズしてリポソームを形成するステップ；混合物を処理して、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を捕捉および／または封入するリポソームを形成するステップ；およびリポソームの表面上にターゲティング部分を提供するステップ、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α (F R – α)、葉酸受容体 β (F R – β) および葉酸受容体 δ (F R – δ) の少なくとも1つに対し特異的親和性を有する、方法；

[93] 処理ステップは下記の1つ以上のステップを含む、[92] による方法：薄膜水和、押し出し、インライン混合、エタノール注入技術、凍結融解技術、逆相蒸発、動的高圧マイクロ流動化、マイクロ流体混合、二重エマルジョン、凍結乾燥二重エマルジョン、3Dプリンティング、膜コンタクター法、および攪拌；および／または

[94] 処理ステップは、押し出し、高圧マイクロ流動化、および／または超音波処理の1つ以上のステップによりリポソームのサイズを変更する1つ以上のステップを含む、[92] による方法。

【0006】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 (γ P T H F) 組成物を提供し、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル残基の少なくとも2つは γ カルボキシル基結合を有する。いくつかの実施形態では、 γ P T H F は、2 – 20、2 – 15、2 – 10、2 – 5、または5超のグルタミル基（テトラヒドロ葉酸中のグルタミル基を含む）を含有する。いくつかの実施形態では、 γ P T H F は2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ P T H F は、D型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ P T H F はD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0007】

1つの実施形態では、 γ P T H F 組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された3つのグルタミル基の鎖を含有する（すなわち、テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸）。いくつかの実施形態では、テトラグルタミン酸化 T H F は2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、テトラグルタミン酸化 T H F は、D型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラグルタミン酸化 T H F はD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0008】

10

20

30

40

50

1つの実施形態では、 γ P T H F 組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された4つの γ -グルタミル基の鎖を含有する（例えば、 γ -ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸）。いくつかの実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化 T H F は2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化 T H F は、D型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化 T H F はD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0009】

1つの実施形態では、 γ P T H F 組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された5つの γ -グルタミル基の鎖を含有する（例えば、 γ -ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸）。いくつかの実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化 T H F は2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化 T H F は、D型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化 T H F はD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0010】

追加の実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸で充填された（例えば、これを封入する）および／または別の方法でそれと結合したリポソームなどの送達ビヒクルを含有する組成物、ならびに γ P T H F 充填／結合送達ビヒクル組成物（D V - γ P T H F）の作製方法およびそれを用いて γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を病気の（例えば、癌性）および／または標的細胞に送達する方法を提供する。これらの組成物は、例えば、癌などの過剰増殖性疾患、炎症および関節リウマチなどの免疫系の障害、ならびにH I Vおよびマラリアなどの感染性疾患を含む疾患を治療する（例えば、治療または防止する）ことを含むが、それに限定されない用途を有する。いくつかの実施形態では、D V - γ P T H F 中の γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は2-20、2-15、2-10、2-5、5超、または20超の、グルタミル基を含有する（テトラヒドロ葉酸中のグルタミル基を含む）。D V - γ P T H F 充填／結合送達ビヒクル組成物は、そのモノグルタミン酸状態（T H F）で投与されるテトラヒドロ葉酸の細胞毒性と比較して、より細胞毒性の高いペイロード（例えば、ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸）の優先的送達を提供することにより、テトラヒドロ葉酸を癌細胞に送達させる効能および安全性への改善を提供する。

【0011】

いくつかの実施形態では、本開示は、化学療法薬（例えば、5-フルオロウラシル）などの1つ以上の治療薬との併用療法における、治療薬（複数可）の有効性を増強するため、または、「化学防護剤」として（例えば、メトトレキサートなどの葉酸代謝拮抗薬との組み合わせで）治療薬（複数可）と関連する毒性副作用を低減するための、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸で充填された（例えば、これを封入する）および／または別の方法でそれと結合したリポソームなどの送達ビヒクルを含有する組成物の使用を提供する。いくつかの実施形態では、D V - α P T H F 中の γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は2-20、2-15、2-10、2-5、5超、または20超の、グルタミル基を含有する（テトラヒドロ葉酸中のグルタミル基を含む）。D V - α P T H F 充填／結合送達ビヒクル組成物は、そのモノグルタミン酸状態（T H F）で投与されるテトラヒドロ葉酸の細胞毒性と比較して、より細胞毒性の高いペイロード（例えば、ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸）の優先的送達を提供することにより、テトラヒドロ葉酸を癌細胞に送達させる効能および安全性への改善を提供する。

【0012】

追加の実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（ γ P T H F）を含む組成物を提供する。

【0013】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H Fを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、 γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H Fは γ ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-T H Fである。いくつかの実施形

態では、組成物は γ ポリグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ポリグルタミン酸化〔6 R〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、2-20、2-15、2-10、2-5、または20超の、グルタミル基（5-ホルミル-THFにおけるグルタミル基を含む）を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含有する。いくつかの実施形態では、組成物は2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含有する。他の実施形態では、組成物はD型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含有する。さらなる実施形態では、組成物はD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含有する。

10

【0014】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された3つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（すなわち、テトラグルタミン酸化5-ホルミル-THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は γ テトラグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ テトラグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ テトラグルタミン酸化〔6 R〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-ホルミル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-ホルミル-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-ホルミル-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

20

【0015】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された4つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（すなわち、ペンタグルタミン酸化5-ホルミル-THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は、 γ ペンタグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、 γ ペンタグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ペンタグルタミン酸化〔6 R〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、ペンタグルタミン酸化5-ホルミル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、ペンタグルタミン酸化5-ホルミル-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、ペンタグルタミン酸化5-ホルミル-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

30

【0016】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された5つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（すなわち、ヘキサグルタミン酸化5-ホルミル-THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は γ ヘキサグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、 γ ヘキサグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ヘキサグルタミン酸化〔6 R〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5-ホルミル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、ヘキサグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5-ホルミル-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

40

【0017】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は、 γ ポリグルタミン酸化〔6 R〕-5, 10-メテニル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ポ

50

リグルタミン酸化〔6 R, S〕-5, 10-メテニル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、 γ ポリグルタミン酸化〔6 S〕-5, 10-メテニル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、2-20、2-15、2-10、2-5、または20超の、グルタミル基（5, 10-メテニル-THFにおけるグルタミル基を含む）を有する、 γ ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFを含有する。いくつかの実施形態では、組成物は2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含有する。他の実施形態では、組成物は、D型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFを含有する。さらなる実施形態では、組成物は、D型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFを含有する。

10

【0018】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された3つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-THF（すなわち、テトラグルタミン酸化5, 10-メテニル-THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は γ テトラグルタミン酸化〔6 R〕-5, 10-メテニル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ テトラグルタミン酸化〔6 R, S〕-5, 10-メテニル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ テトラグルタミン酸化〔6 S〕-5, 10-メテニル-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

20

【0019】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された4つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-THF（すなわち、ペンタグルタミン酸化5, 10-メテニル-THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は γ ペンタグルタミン酸化〔6 R〕-5, 10-メテニル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ペンタグルタミン酸化〔6 R, S〕-5, 10-メテニル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ペンタグルタミン酸化〔6 S〕-5, 10-メテニル-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

30

【0020】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された5つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-THF（すなわち、ヘキサグルタミン酸化5, 10-メテニル-THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は γ ヘキサグルタミン酸化〔6 R〕-5, 10-メテニル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ヘキサグルタミン酸化〔6 R, S〕-5, 10-メテニル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ヘキサグルタミン酸化〔6 S〕-5, 10-メテニル-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5, 10-メテニル-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

40

【0021】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は γ ポリグルタミン酸化〔6 S〕-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ポリグルタミン酸化〔

50

6 R, S] - 5 - メチル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ポリグルタミン酸化 [6 R] - 5 - メチル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、2 - 2 0、2 - 1 5、2 - 1 0、2 - 5、または 2 0 超の、グルタミル基 (5 - メチル - T H F におけるグルタミル基を含む) を有する γ ポリグルタミン酸化 5 - メチル - T H F を含有する。いくつかの実施形態では、組成物は 2 つ以上の L 型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化 5 - メチル - T H F を含有する。他の実施形態では、組成物は、D 型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化 5 - メチル - T H F を含有する。さらなる実施形態では、組成物は D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化 5 - メチル - T H F を含有する。

【0022】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された 3 つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化 5 - メチル - T H F (すなわち、テトラグルタミン酸化 5 - メチル - T H F) を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は γ テトラグルタミン酸化 [6 S] - 5 - メチル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ テトラグルタミン酸化 [6 R, S] - 5 - メチル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ テトラグルタミン酸化 [6 R] - 5 - メチル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化 5 - メチル - T H F は 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化 5 - メチル - T H F は D 型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化 5 - メチル - T H F は D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。

【0023】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された 4 つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化 5 - メチル - T H F (すなわち、ペンタグルタミン酸化 5 - メチル - T H F) を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は γ ペンタグルタミン酸化 [6 S] - 5 - メチル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ペンタグルタミン酸化 [6 R, S] - 5 - メチル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ペンタグルタミン酸化 [6 R] - 5 - メチル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化 5 - メチル - T H F は 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化 5 - メチル - T H F は D 型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化 5 - メチル - T H F は D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。

【0024】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された 5 つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化 5 - メチル - T H F (すなわち、ヘキサグルタミン酸化 5 - メチル - T H F) を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は γ ヘキサグルタミン酸化 [6 S] - 5 - メチル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ヘキサグルタミン酸化 [6 R, S] - 5 - メチル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ヘキサグルタミン酸化 [6 R] - 5 - メチル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化 5 - メチル - T H F は 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化 5 - メチル - T H F は D 型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化 5 - メチル - T H F は D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。

【0025】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化 T H F を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は γ ポリグルタミン酸化 [6 S] - T H F を含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ポリグルタミン酸化 [6 R, S] - T H F を含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ポリグルタミン酸化 [6 R] - T H F を含む。い

くつかの実施形態では、組成物は、2-20、2-15、2-10、2-5、または20超の、グルタミル基（THFにおけるグルタミル基を含む）を有するγポリグルタミン酸化THFを含有する。いくつかの実施形態では、組成物は2つ以上のL型のグルタミル基を有するγポリグルタミン酸化THFを含有する。他の実施形態では、組成物はD型のグルタミル基を有するγポリグルタミン酸化THFを含有する。さらなる実施形態では、組成物はD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を有するγポリグルタミン酸化THFを含有する。

【0026】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸THFのグルタミル基に付着された3つのグルタミル基の鎖を含有するγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（すなわち、テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物はγテトラグルタミン酸化[6S]テトラヒドロ葉酸THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγテトラグルタミン酸化[6R, S]-テトラヒドロ葉酸THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγテトラグルタミン酸化[6R]-テトラヒドロ葉酸THFを含む。いくつかの実施形態では、γテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、γテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、γテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0027】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸THFのグルタミル基に付着された4つのグルタミル基の鎖を含有するγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（すなわち、ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物はγペンタグルタミン酸化[6S]テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、組成物はγペンタグルタミン酸化[6R, S]-テトラヒドロ葉酸THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγペンタグルタミン酸化[6R]-テトラヒドロ葉酸THFを含む。いくつかの実施形態では、γペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、γペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、γペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0028】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸THFのグルタミル基に付着された5つのグルタミル基の鎖を含有するγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（すなわち、ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物はγヘキサグルタミン酸化[6S]テトラヒドロ葉酸THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγヘキサグルタミン酸化[6R, S]-テトラヒドロ葉酸THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγヘキサグルタミン酸化[6R]-テトラヒドロ葉酸THFを含む。いくつかの実施形態では、γヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、γヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0029】

いくつかの実施形態では、本開示は、γポリグルタミン酸化5,10-メチレン-THFを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物はγポリグルタミン酸化[6R]-5,10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγポリグルタミン酸化[6R, S]-5,10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγポリグルタミン酸化[6S]-5,10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、2-20、2-15、2-10、2-5、または20

超の、グルタミル基（5，10-メチレン-THFにおけるグルタミル基を含む）を有するγポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含有する。いくつかの実施形態では、組成物は、2つ以上のL型のグルタミル基を有するγポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含有する。他の実施形態では、組成物は、D型のグルタミル基を有するγポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含有する。さらなる実施形態では、組成物は、D型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を有するγポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含有する。

【0030】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された3つのグルタミル基の鎖を含有するγポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（すなわち、テトラグルタミン酸化5，10-メチレン-THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は、γテトラグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、γテトラグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、γテトラグルタミン酸化[6S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、γテトラグルタミン酸化5，10-メチレン-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、γテトラグルタミン酸化5，10-メチレン-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、γテトラグルタミン酸化5，10-メチレン-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0031】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された4つのグルタミル基の鎖を含有するγポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（すなわち、ペンタグルタミン酸化10-メチレン-THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物はγペンタグルタミン酸化[6R]5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγペンタグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγペンタグルタミン酸化[6S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、γペンタグルタミン酸化5，10-メチレン-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、γペンタグルタミン酸化5，10-メチレン-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、γペンタグルタミン酸化5，10-メチレン-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0032】

いくつかの実施形態では、本開示は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された5つのグルタミル基の鎖を含有するγポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（すなわち、ヘキサグルタミン酸化5，10-メチレン-THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物はγヘキサグルタミン酸化[6R]5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγヘキサグルタミン酸化[6R]5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγヘキサグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγヘキサグルタミン酸化[6S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、γヘキサグルタミン酸化5，10-メチレン-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、γヘキサグルタミン酸化5，10-メチレン-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、γヘキサグルタミン酸化5，10-メチレン-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0033】

いくつかの実施形態では、本開示は、γポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物はγポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物はγポリグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、

組成物は γ ポリグルタミン酸化〔6 R〕-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、2-20、2-15、2-10、2-5、または20超の、グルタミル基（5-ホルムイミノ-THFにおけるグルタミル基を含む）を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFを含有する。いくつかの実施形態では、組成物は、2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFを含有する。他の実施形態では、組成物は、D型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFを含有する。さらなる実施形態では、組成物は、D型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFを含有する。

【0034】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化（b）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-THF；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF；（e）ポリグルタミン酸化-テトラヒドロ葉酸；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF；および（g）テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された3つのグルタミル基の鎖を含有するポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（すなわち、テトラグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF）を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、組成物は、 γ テトラグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ テトラグルタミン酸化〔6 S〕5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ テトラグルタミン酸化〔6 R，S〕-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、 γ テトラグルタミン酸化〔6 R〕-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0035】

1つの実施形態では、組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された4つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（すなわち、ペンタグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF）を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、 γ ペンタグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ペンタグルタミン酸化〔6 R，S〕-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、 γ ペンタグルタミン酸化〔6 R〕5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0036】

1つの実施形態では、組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された5つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（すなわち、ヘキサグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF）を含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ヘキサグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ヘキサグルタミン酸化〔6 R，S〕-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、組成物は γ ヘキサグルタミン酸化〔6 R〕5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0037】

追加の実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を封入した（充填した）リポソームを含む組成物を提供する（Lp- γ PTHF）。

【0038】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを封入した（充填した）リポソームを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化[6R, S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化[6R]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2-20、2-15、2-10、2-5、または20超の、グルタミル基（5-ホルミル-THFにおけるグルタミル基を含む）を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含有する。いくつかの実施形態では、リポソームは、2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含有する。他の実施形態では、リポソームは、D型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含有する。さらなる実施形態では、リポソームは、D型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含有する。

【0039】

1つの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された3つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（すなわち、テトラグルタミン酸化5-ホルミル-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6R, S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6R]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-ホルミル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-ホルミル-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-ホルミル-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0040】

1つの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された4つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（すなわち、ペンタグルタミン酸化5-ホルミル-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化[6R, S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化[6R]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、ペンタグルタミン酸化5-ホルミル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、ペンタグルタミン酸化5-ホルミル-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、ペンタグルタミン酸化5-ホルミル-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0041】

1つの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された5つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（すなわち、ヘキサグルタミン酸化5-ホルミル-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化[6R, S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化[6R]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5-ホルミル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、ヘ

キサグルタミン酸化 THF は D 型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化 5-ホルミル-THF は D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。

【0042】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF を封入した（充填した）リボソームを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、リボソームは γ ポリグルタミン酸化 [6R]-5, 10-メテニル-THF を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは γ ポリグルタミン酸化 [6R, S]-5, 10-メテニル-THF を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは γ ポリグルタミン酸化 [6S]-5, 10-メテニル-THF を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは、2-20、2-15、2-10、2-5、または 20 超の、グルタミル基（5, 10-メテニル-THF におけるグルタミル基を含む）を有する γ ポリグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF を含有する。いくつかの実施形態では、リボソームは、2 つ以上の L 型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化 5-ホルミル-THF を含有する。他の実施形態では、リボソームは、D 型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF を含有する。さらなる実施形態では、リボソームは、D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF を含有する。

【0043】

1 つの実施形態では、Lp- γ PTHF 組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された 3 つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF（すなわち、テトラグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは γ テトラグルタミン酸化 [6R]-5, 10-メテニル-THF を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは γ テトラグルタミン酸化 [6R, S]-5, 10-メテニル-THF を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは γ テトラグルタミン酸化 [6S]-5, 10-メテニル-THF を含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF は 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF は D 型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF は D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。

【0044】

1 つの実施形態では、Lp- γ PTHF 組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された 4 つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF（すなわち、ペンタグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは γ ペンタグルタミン酸化 [6R]-5, 10-メテニル-THF を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは γ ペンタグルタミン酸化 [6R, S]-5, 10-メテニル-THF を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは γ ペンタグルタミン酸化 [6S]-5, 10-メテニル-THF を含む。いくつかの実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF は 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF は D 型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF は D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。

【0045】

1 つの実施形態では、Lp- γ PTHF 組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された 5 つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF（すなわち、ヘキサグルタミン酸化 5, 10-メテニル-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは γ ヘキサグルタミン酸化 [6R]-5, 10-メテニル-THF を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは γ ヘキサグルタミン酸化 [6R, S]-5, 10-メテニル-THF を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは γ ヘキサグルタミン酸化 [6S]-5, 10-メテニル-THF を含む。いくつかの実施

形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5，10-メチル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5，10-メチル-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5，10-メチル-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。
【0046】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを封入した（充填した）リポソームを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化[6R，S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化[6R]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2-20、2-15、2-10、2-5、または20超の、グルタミル基（5-メチル-THFにおけるグルタミル基を含む）を有する γ ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含有する。いくつかの実施形態では、リポソームは、2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含有する。他の実施形態では、リポソームは、D型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含有する。さらなる実施形態では、リポソームは、D型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含有する。

【0047】

1つの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された3つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（すなわち、テトラグルタミン酸化5-メチル-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6R，S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6R]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-メチル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-メチル-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-メチル-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0048】

1つの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された4つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（すなわち、ペンタグルタミン酸化5-メチル-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化[6R，S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化[6R]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5-メチル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5-メチル-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5-メチル-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0049】

1つの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された5つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（すなわち、ヘキサグルタミン酸化5-メチル-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化[6R，S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化[6R]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5-メチル-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5-メチル-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5-メチル-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

ルー T H F は 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化 5 - メチルー T H F は D 型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化 5 - メチルー T H F は D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。

【 0 0 5 0 】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化 T H F を封入した（充填した）リポソームを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化 [6 S] - T H F を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化 [6 R , S] - T H F を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化 [6 R] - T H F を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2 - 2 0 、 2 - 1 5 、 2 - 1 0 、 2 - 5 、または 2 0 超の、グルタミル基（T H F におけるグルタミル基を含む）を有する γ ポリグルタミン酸化 T H F を含有する。いくつかの実施形態では、リポソームは、2 つ以上の L 型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化 T H F を含有する。他の実施形態では、リポソームは、D 型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化 T H F を含有する。さらなる実施形態では、リポソームは、D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化 T H F を含有する。

【 0 0 5 1 】

1 つの実施形態では、L p - γ P T H F 組成物は、T H F のグルタミル基に付着された 3 つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（すなわち、テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化 [6 S] テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化 [6 R , S] - T H F を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化 [6 R] - T H F を含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化 T H F は 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化 T H F は D 型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化 T H F は D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。

【 0 0 5 2 】

1 つの実施形態では、L p - γ P T H F 組成物は、T H F のグルタミル基に付着された 4 つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（すなわち、ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化 [6 S] テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化 [6 R , S] - T H F を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化 [6 R] - T H F を含む。いくつかの実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化 T H F は 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化 T H F は D 型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化 T H F は D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。

【 0 0 5 3 】

1 つの実施形態では、L p - γ P T H F 組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された 5 つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（すなわち、ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化 [6 S] テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化 [6 R , S] - T H F を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化 [6 R] - T H F を含む。いくつかの実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化 T H F は 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、ヘキサグルタミン酸化 T H F は D 型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化 T H F は D 型のグルタミル基および 2 つ以上の L 型のグルタミル基を含む。

【0054】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを封入した（充填した）リポソームを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化[6S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2-20、2-15、2-10、2-5、または20超の、グルタミル基（5，10-メチレン-THFにおけるグルタミル基を含む）を有する γ ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含有する。いくつかの実施形態では、リポソームは、2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含有する。他の実施形態では、リポソームは、D型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含有する。さらなる実施形態では、リポソームは、D型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含有する。

10

【0055】

1つの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された3つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（すなわち、テトラグルタミン酸化5，10-メチレン-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5，10-メチレン-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5，10-メチレン-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5，10-メチレン-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

20

【0056】

1つの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された4つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（すなわち、ペンタグルタミン酸化10-メチレン-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化[6R]5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化[6S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5，10-メチレン-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5，10-メチレン-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5，10-メチレン-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

30

【0057】

1つの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された5つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（すなわち、ヘキサグルタミン酸化5，10-メチレン-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化[6R]5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化[6S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5，10-メチレン-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5，1

40

50

0-メチレン-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5，10-メチレン-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0058】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFを封入した（充填した）リポソームを含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ポリグルタミン酸化[6R]-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2-20、2-15、2-10、2-5、または20超の、グルタミル基（5-ホルムイミノ-THFにおけるグルタミル基を含む）を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFを含有する。いくつかの実施形態では、リポソームは、2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFを含有する。他の実施形態では、リポソームは、D型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFを含有する。さらなる実施形態では、リポソームは、D型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFを含有する。

【0059】

1つの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、 γ ポリグルタミン酸化（b）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF；（e）ポリグルタミン酸化-テトラヒドロ葉酸；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF；および（g）テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された3つのグルタミル基の鎖を含有するポリグルタミン酸化-5-ホルムイミノ-THF（すなわち、テトラグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6S]5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化[6R]-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0060】

1つの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された4つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（すなわち、ペンタグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化[6R]5-ホルムイミノ-THFを含む。いくつかの実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0061】

1つの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された5つのグルタミル基の鎖を含有する γ ポリグルタミン酸化-5-ホルムイミノ

ーT H F（すなわち、ヘキサグルタミン酸化5－ホルムイミノーT H F）を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化[6 S]－5－ホルムイミノーT H Fを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化[6 R, S]－5－ホルムイミノーT H Fを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化[6 R]5－ホルムイミノーT H Fを含む。いくつかの実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5－ホルムイミノーT H Fは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5－ホルムイミノーT H FはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化5－ホルムイミノーT H FはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0062】

いくつかの実施形態では、L p－ γ P T H F組成物はカチオン性である。いくつかの実施形態では、L p－ γ P T H Fリポソームはカチオン性であり、20 nm～500 nm、20 nm～200 nm、30 nm～175 nm、または50 nm～150 nmの範囲、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有する。さらなる実施形態では、L p－ γ P T H Fリポソームはカチオン性であり、組成物は、80 nm～120 nmの範囲、またはその間の任意の範囲の直径を有する。いくつかの実施形態では、カチオン性L p－ γ P T H F組成物は、少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75% w/w超の γ ポリグルタミン酸化T H Fを含む。いくつかの実施形態では、L p－ γ P T H Fを調製するプロセス中、 γ ポリグルタミン酸化T H Fの開始材料の少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%超がカチオン性L p－ γ P T H F中に封入される（捕捉される）。追加の実施形態では、リポソームにより封入される γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、リポソーム内のH E P E S緩衝液中に存在する。

【0063】

他の実施形態では、L p－ γ P T H F組成物、アニオン性または中性である。いくつかの実施形態では、L p－ γ P T H Fリポソームは、アニオン性または中性であり、20 nm～500 nm、20 nm～200 nm、30 nm～175 nm、または50 nm～150 nmの範囲、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有する。さらなる実施形態では、L p－ γ P T H Fリポソームは、アニオン性または中性であり、組成物は、80 nm～120 nmの範囲、またはその間の任意の範囲の直径を有する。いくつかの実施形態では、L p－ γ P T H Fリポソームはアニオン性であり、20 nm～500 nm、20 nm～200 nm、30 nm～175 nm、または50 nm～150 nmの範囲、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有する。さらなる実施形態では、L p－ γ P T H Fリポソームはアニオン性であり、組成物は、80 nm～120 nmの範囲、またはその間の任意の範囲の直径を有する。いくつかの実施形態では、L p－ γ P T H Fリポソームは中性であり、20 nm～500 nm、20 nm～200 nm、30 nm～175 nm、または50 nm～150 nmの範囲、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有する。いくつかの実施形態では、アニオン性または中性L p－ γ P T H F組成物は、少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75% w/w超の γ ポリグルタミン酸化T H Fを含む。いくつかの実施形態では、L p－ γ P T H Fを調製するプロセス中、 γ ポリグルタミン酸化T H Fの開始材料の少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%超がアニオン性または中性L p－ γ P T H Fに封入（捕捉）される。いくつかの実施形態では、アニオン性または中性L p－ γ P T H F組成物は、少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35、40%、45

10

20

30

40

50

%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%w/w超の γ ペンタグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、アニオン性または中性Lp- γ PTHF組成物は、少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%w/w超の γ ヘキサグルタミン酸化THFを含む。追加の実施形態では、リポソームにより封入される γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、リポソーム内のHEPES緩衝液中に存在する。

【0064】

追加の実施形態では、リポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物はペグ化されている（PLp- γ PTHF）。

【0065】

いくつかの実施形態では、リポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物は標的化されていない（NTLp- γ PTHF）。すなわち、NTLp- γ PTHF組成物は、目的の標的細胞の表面上に発現したエпитープ（例えば、表面抗原のエピトープ）に対する特異的親和性を有さない。さらなる実施形態では、非標的化リポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物はペグ化されている（NTPLp- γ PTHF）。

【0066】

他の実施形態では、リポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物は、標的化されている（TLp- γ PTHF）。すなわち、TLp- γ PTHF組成物は、目的の標的細胞上のエピトープ（表面抗原）に対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含有する。いくつかの実施形態では、TLp- γ PTHFまたはTPLp- γ PTHFのターゲティング部分は、共有結合を介してリポソームに付着されていない。他の実施形態では、TLp- γ PTHFまたはTPLp- γ PTHFのターゲティング部分はPEGおよびリポソームの外表面の一方または両方に付着される。標的化リポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物（TLp- γ PTHFおよびTPLp- γ PTHF）は、 γ ポリグルタミン酸化（例えば、 γ -ペンタグルタミン酸化および／または γ -ヘキサグルタミン酸化）テトラヒドロ葉酸を癌細胞などの標的細胞に特異的に送達することにより、テトラヒドロ葉酸の効能および安全性プロファイルにさらなる改善を提供する。いくつかの実施形態では、標的化リポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物はペグ化されている（TPLp- γ PTHF）。いくつかの実施形態では、TLp- γ PTHFまたはTPLp- γ PTHFのターゲティング部分はPEGおよびリポソームの外表面の一方または両方に付着される。いくつかの実施形態では、TLp- γ PTHFまたはTPLp- γ PTHFのターゲティング部分は、共有結合を介してリポソームに付着される。TLp- γ PTHFおよび／またはTPLp- γ PTHF組成物のターゲティング部分の機能としては、下記が挙げられるが、それらに限定されない：インビボまたはインビトロでリポソームを目的の標的細胞にターゲティングすること；ターゲティング部分が特異的親和性を有する表面抗原と相互作用すること、および、リポソームペイロード（ γ PTHF）を細胞中に送達すること。好適なターゲティング部分は当技術分野で知られており、抗体、抗原結合抗体フラグメント、足場タンパク質、ポリペプチド、およびペプチドが挙げられるが、それらに限定されない。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分はポリペプチドである。さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、少なくとも3、5、10、15、20、30、40、50、または100個のアミノ酸残基を含むポリペプチドである。

【0067】

いくつかの実施形態では、TLp- γ PTHFまたはTPLp- γ PTHFのターゲティング部分は抗体または抗原結合抗体フラグメントである。さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、抗体、ヒト化抗体、抗体の抗原結合フラグメント、単鎖抗体、シングルドメイン抗体、二重特異性抗体、合成抗体、ペグ化抗体、および多量体抗体の1つ以上を含む。いくつかの実施形態では、TLp- γ PTHFまたはTPLp- γ PTHFのターゲティング部分は、正常なまたは非腫瘍細胞に比べて、腫瘍細胞などの標的細胞上で選

10

20

30

40

50

択的に発現されるエピトープに対して特異的親和性を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は腫瘍細胞上に存在するが、非腫瘍細胞上には存在しないかまたは接近し難い腫瘍細胞表面抗原上のエピトープに対して特異的親和性を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、BIACORE（登録商標）分析で測定して、 $0.5 \times 10^{-10} \sim 10 \times 10^{-6}$ の範囲の平衡解離定数（Kd）で目的のエピトープに結合する。

【0068】

特定の実施形態では、TLp-γPTHFまたはTPLp-γPTHFターゲティング部分は、葉酸受容体に特異的に結合するポリペプチドを含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗原結合抗体フラグメントである。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分により結合される葉酸受容体は下記からなる群より選択される1つ以上の葉酸受容体である：葉酸受容体α（FR-α、FOLR1）、葉酸受容体β（FR-β、FOLR2）、および葉酸受容体δ（FR-δ、FOLR4）。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分により結合される葉酸受容体は、葉酸受容体α（FR-α）である。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分により結合される葉酸受容体は、葉酸受容体β（FR-β）である。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分はFR-αおよびFR-βに特異的に結合する。

【0069】

追加の実施形態では、Lp-γPTHF組成物は、PEGおよびリポソームの外面の少なくとも1つ上に配置された、免疫刺激剤、検出可能マーカー、およびマレイミドの1つ以上を含む。いくつかの実施形態では、リポソームγPTHF組成物（例えば、Lp-γPTHF、PLp-γPTHF、NTLp-γPTHF、NTPLp-γPTHF、TLp-γPTHF、またはTPLp-γPTHF）はカチオン性である。他の実施形態では、リポソームγPTHF組成物（例えば、Lp-γPTHF、PLp-γPTHF、NTLp-γPTHF、NTPLp-γPTHF、TLp-γPTHFまたはTPLp-γPTHF）は、アニオン性または中性である。追加の実施形態では、リポソームγPTHF組成物（例えば、Lp-γPTHF、PLp-γPTHF、NTLp-γPTHF、NTPLp-γPTHF、TLp-γPTHFまたはTPLp-γPTHF）のリポソームは20nm～500nm、20nm～200nm、30nm～175nm、50nm～150nmの範囲、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有する。いくつかの実施形態では、リポソームγPTHF組成物のリポソームは、30nm～175nmまたは50nm～150nmの範囲、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有する。さらなる実施形態では、リポソームγPTHF組成物のリポソームは、80nm～120nmの範囲、またはその間の任意の範囲の直径を有する。いくつかの実施形態では、リポソームγPTHF組成物はペグ化されている（例えば、PLp-γPTHF、NTPLp-γPTHF、またはTPLp-γPTHF）。いくつかの実施形態では、リポソームγPTHF組成物はターゲティング部分を含む（例えば、TLp-γPTHFまたはTPLp-γPTHF）。さらなる実施形態では、リポソームγPTHF組成物はペグ化および標的化されている（例えば、TPLp-γPTHF）。いくつかの実施形態では、リポソームγPTHF組成物は、4、5、2-10、4-6、または5超のグルタミル基を含有するγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームγPTHF組成物はγペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、リポソームγPTHF組成物はγヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

【0070】

いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、4、5、2-10、4-6、または5超のグルタミル基を含有するγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸および少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%w/w超のγポリグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、Lp-γPTHF組成物は、4、5、2-

10

20

30

40

50

10、4-6、または5超のグルタミル基を含有する γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸および1%-98.5%w/wの γ ポリグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超のグルタミル基を含有する γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含み、Lp- γ PTHFを調製するプロセス中、 γ ポリグルタミン酸化THFの開始材料の少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%超がLp- γ PTHF中に封入（捕捉）される。

【0071】

いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、 γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸、および、少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%w/w超の γ テトラグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸および1%-98.5%w/wの γ テトラグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含み、Lp- γ PTHFを調製するプロセス中、 γ テトラグルタミン酸化THFの開始材料の少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%超がLp- γ PTHF中に封入（捕捉）される。

【0072】

いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸および少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%w/w超の γ ペンタグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸および1%-98.5%w/wの γ ペンタグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含み、Lp- γ PTHFを調製するプロセス中、 γ ペンタグルタミン酸化THFの開始材料の少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%超がLp- γ PTHF中に封入（捕捉）される。

【0073】

いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸および少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%w/w超の γ ヘキサグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸および1%-98.5%w/wの γ ヘキサグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含み、Lp- γ PTHFを調製するプロセス中、 γ ペンタグルタミン酸化THFの開始材料の少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%超がLp- γ PTHF中に封入（捕捉）される。

【0074】

γ PTHF封入リポソームを含むリポソーム組成物も提供される。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物はペグ化 γ PTHF組成物を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物はターゲティング部分に連結された、または別の方法でそれに結合された γ PTHF組成物を含む。さらなる実施形態では、リポソーム組成物は、ペグ化され、ターゲティング部分に連結された、または別の方法でそれに結合された γ PTHF組成物を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は4、5、2-10、4-6、または5超のグルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、

10

20

30

40

50

リポソーム組成物は γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

【0075】

いくつかの実施形態では、リポソーム組成物はリポソーム γ PTHF（例えば、Lp- γ PTHF、PLp- γ PTHF、NTLp- γ PTHF、NTPLp- γ PTHF、TLp- γ PTHF、およびTPLp- γ PTHF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム γ PTHFはペグ化されている（例えば、NTPLp- γ PTHF、およびTPLp- γ PTHF）。いくつかの実施形態では、リポソーム γ PTHFは、癌細胞などの目的の標的細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む（例えば、TLp- γ PTHFまたはTPLp- γ PTHF）。さらなる実施形態では、リポソーム組成物は、ペグ化されており、癌細胞などの目的の標的細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分をさらに含むリポソーム γ PTHFを含む（例えば、TPLp- γ PTHF）。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、カチオン性であるリポソーム γ PTHFを含む。他の実施形態では、リポソーム組成物は、アニオン性または中性であるリポソーム γ PTHFを含む。追加の実施形態では、リポソーム組成物は、20nm～500nm、20nm～200nmの範囲、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有するリポソーム γ PTHFを含む。さらなる実施形態では、リポソーム γ PTHFは80nm～120nmの範囲、またはその間の任意の範囲の直径を有する。

10

【0076】

リポソーム γ PTHFなどの送達ビヒクルを含む γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（ γ PTHF）を含むも提供される。いくつかの実施形態では、医薬組成物はペグ化 γ PTHF組成物を含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、ターゲティング部分に連結された、または別の方法でそれに結合された γ PTHF組成物を含む。さらなる実施形態では、医薬組成物は、ペグ化され、ターゲティング部分に連結された、または別の方法でそれに結合された γ PTHF組成物を含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は4、5、2-10、4-6、または5超のグルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、医薬組成物は γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、医薬組成物は γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

20

【0077】

いくつかの実施形態では、医薬組成物は、リポソーム γ PTHF（例えば、Lp- γ PTHF、PLp- γ PTHF、NTLp- γ PTHF、NTPLp- γ PTHF、TLp- γ PTHF、およびTPLp- γ PTHF）を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム γ PTHF組成物はペグ化されている（例えば、NTPLp- γ PTHF、およびTPLp- γ PTHF）。いくつかの実施形態では、リポソーム γ PTHFは、癌細胞などの目的の標的細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む（例えば、TLp- γ PTHFまたはTPLp- γ PTHF）。さらなる実施形態では、医薬組成物は、ペグ化されており、癌細胞などの目的の標的細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分をさらに含むリポソーム γ PTHF組成物を含む（例えば、TPLp- γ PTHF）。いくつかの実施形態では、医薬組成物は、カチオン性であるリポソーム γ PTHFを含む。他の実施形態では、医薬組成物は、アニオン性または中性であるリポソーム γ PTHFを含む。追加の実施形態では、医薬組成物は、20nm～500nmまたは20nm～500nmの範囲、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有するリポソーム γ PTHFを含む。さらなる実施形態では、リポソーム γ PTHF組成物は80nm～120nmの範囲、またはその間の任意の範囲の直径を有する。

30

40

【0078】

追加の実施形態では、本開示は、細胞を γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物（ γ PTHF）（例えば、本明細書で開示される γ PTHF）を含む組成物と接触させることを含む細胞を死滅させる方法を提供する。いくつかの実施形態では、接触される細胞

50

胞は哺乳類細胞である。さらなる実施形態では、接触される細胞はヒト細胞である。いくつかの実施形態では、接触される細胞は過剰増殖性細胞である。さらなる実施形態では、過剰増殖性細胞は、癌細胞である。さらなる実施形態では、接触される癌細胞は、下記からなる群より選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である：例えば、肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、およびメラノーマを含む非血液系腫瘍；および、例えば、白血病、リンパ腫および他のB細胞悪性腫瘍、骨髄腫および他の形質細胞異形成症または悪液質などの血液系腫瘍。さらなる実施形態では、接触される癌細胞は、下記からなる群より選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である：乳癌、頭頸部癌、肺癌、胃癌、骨肉腫、非ホジキンリンパ腫（NHL）、急性リンパ性白血病（ALL）、菌状息肉症（皮膚T細胞リンパ腫）絨毛癌、および絨毛腺腫、非白血性髄膜がん腫症、軟部肉腫（類腱腫、侵襲性線維腫症、膀胱癌、および中枢神経系（CNS）リンパ腫。さらに別の実施形態では、癌細胞は、結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌から選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である。特定の実施形態では、癌細胞は結腸直腸癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である。いくつかの実施形態では、方法はインビボで実施される。他の実施形態では、方法はインビトロで実施される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは4つの γ -グルタミル基を含有する5-ホルミル-THFを含有する。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは5つの γ -グルタミル基を含有する5-ホルミル-THFを含有する。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは6つの γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、 γ PTHFはD型の γ -グルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、 γ PTHFはL型の γ -グルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、LおよびD型の γ -グルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、 γ PTHF組成物は γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、 γ PTHF組成物は γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、 γ PTHF組成物は γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

【0079】

追加の実施形態では、本開示は、細胞を、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有するリポソーム（例えば、PLP- γ PTHF、NTLP- γ PTHF、NTPLP- γ PTHF、TLP- γ PTHFまたはTPLP- γ PTHFなどのLP- γ PTHF）と接触させることを含む、細胞を死滅させる方法を提供する。いくつかの実施形態では、接触される細胞は哺乳類細胞である。さらなる実施形態では、接触される細胞はヒト細胞である。いくつかの実施形態では、接触される細胞は過剰増殖性細胞である。さらに別の実施形態では、接触される過剰増殖性細胞は癌細胞である。さらなる実施形態では、癌細胞は、下記からなる群より選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である：例えば、肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、およびメラノーマを含む非血液系腫瘍；および、例えば、白血病、リンパ腫および他のB細胞悪性腫瘍、骨髄腫および他の形質細胞異形成症または悪液質などの血液系腫瘍。さらなる実施形態では、接触される癌細胞は、下記からなる群より選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または

10

20

30

40

50

細胞株由来細胞である：乳癌、頭頸部癌、肺癌、胃癌、骨肉腫、非ホジキンリンパ腫（NHL）、急性リンパ性白血病（ALL）、菌状息肉症（皮膚T細胞リンパ腫）絨毛癌、および絨毛腺腫、非白血性髄膜がん腫症、軟部肉腫（類腱腫、侵襲性線維腫症、膀胱癌、および中枢神経系（CNS）リンパ腫。いくつかの実施形態では、癌細胞は、結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌から選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である。特定の実施形態では、癌細胞は結腸直腸癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である。いくつかの実施形態では、方法はインビボで実施される。他の実施形態では、方法はインビトロで実施される。いくつかの実施形態では、リポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超のグルタミル基を含有する γ PTHFを含有する。いくつかの実施形態では、リポソームは、 γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有する。いくつかの実施形態では、リポソームは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有する。他の実施形態では、リポソームは、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有する。

【0080】

いくつかの実施形態では、リポソームは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは4つの γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは5つの γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは6つの γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはD型の γ -グルタミル基を含む γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、L型の γ -グルタミル基を含む γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはL型およびD型の γ -グルタミル基を含む γ PTHFを含む。いくつかの実施形態ではリポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

【0081】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む送達ビヒクル（（例えば、免疫複合体またはリポソーム）を、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体含有免疫複合体（例えば、全長IgG抗体、二重特異性抗体、またはscFvを含む）である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはリポソーム（例えば、PLP- γ PTHF、NTLP- γ PTHF、NTPLP- γ PTHF、TLP- γ PTHF、またはTPLP- γ PTHFなどのLP- γ PTHF）である。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されている。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されていない。追加の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、癌細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。追加の実施形態では、送達ビヒクルは、下記からなる群より選択される、細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：GONMB、TACSTD2（TROP2）、CEACAM5、EPCAM、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体- α 、葉酸受容体- β または葉酸受容体- δ ）、ムチン1（MUC-1）、MUC-6、STEAP1、メソテリン、ネクチン4、ENPP3、グアニリルシクラーゼC（GCC）、SLC44A4、NaPi2b、CD70（TNFSF7）、CA9（炭酸脱水酵素）、ST4（TPBG）、SLTRK6、SC-16、組織因子、LIV-1（ZIP6）、CGEN-15027、Pカドヘリン、フィ

ブロネクチンエクストラドメインB (ED-B)、VEGFR2 (CD309)、テネイシン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1 EphA受容体、EphB受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン (例えば、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ 、または $\alpha v \beta 6$)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFR α 、PDGFR β 、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMuSK。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ネオアンチゲンなどの特定の被検体の癌 (腫瘍) に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原 (複数可) に特異的に結合するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の腫瘍に由来する、またはその上で発現されると決定された、細胞表面抗原 (複数可) のエピトープに対して特異的親和性を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗原結合抗体フラグメントである。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、4つの γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは5つの γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、6つの γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは下記から選択されるメンバーである：(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF)；(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF)；(c) ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メテニル-THF)；(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF)；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF)；(f) ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF)；および(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF)。いくつかの実施形態では、 γ PTHFはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFである。さらなる実施形態では、 γ PTHFはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFである。他の実施形態では、 γ PTHFはポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFである。いくつかの実施形態では、 γ PTHFはポリグルタミン酸化5-メチル-THFである。さらなる実施形態では、 γ PTHFは[6S]-5-メチル-THFである。他の実施形態では、 γ PTHFは[6R，S]-5-メチル-THFである。いくつかの実施形態では、 γ PTHFはポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFである。さらなる実施形態では、 γ PTHFはポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFである。他の実施形態では、 γ PTHFはポリグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルミル-THFである。

[0082]

10

20

30

40

50

いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択される γ PTHFを含む：(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；(c) ポリグルタミン酸化5，10-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチル-THF）；(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；(f) ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；および(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、L γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、癌は下記からなる群より選択される：例えば、肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫、脳癌、中枢神経系癌、およびメラノーマなどを含む非血液系腫瘍；および、例えば、白血病、リンパ腫および他のB細胞悪性腫瘍、骨髄腫および他の形質細胞異形成症または悪液質などの血液系腫瘍。いくつかの実施形態では、癌は下記からなる群より選択される：乳癌、頭頸部癌、肺癌、胃癌、骨肉腫、非ホジキンリンパ腫（NHL）、急性リンパ性白血病（ALL）、菌状息肉症（皮膚T-細胞リンパ腫）絨毛癌、および絨毛腺腫、非白血性髄膜がん腫症、軟部肉腫（類腱腫、侵襲性線維腫症、膀胱癌、および中枢神経系（CNS）リンパ腫。いくつかの実施形態では、癌は下記からなる群より選択される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。特定の実施形態では、癌は結腸直腸癌である。

【0083】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含むリポソーム（例えば、PLP- γ PTHF、NTLP- γ PTHF、NTPLP- γ

10

20

30

40

50

P T H F、T L p - γ P T H F、またはT P L p - γ P T H FなどのL p - γ P T H F)を、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されている。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されていない。追加の実施形態では、リポソームは、癌細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。追加の実施形態では、リポソームは、下記からなる群より選択される細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：G O N M B、T A C S T D 2 (T R O P 2)、C E A C A M 5、E P C A M、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体-α、葉酸受容体-βまたは葉酸受容体-δ）、ムチン1 (M U C - 1)、M U C - 6、S T E A P 1、メソテリン、ネクチン4、E N P P 3、グアニリルシクラーゼ (G C C)、S L C 4 4 A 4、N a P i 2 b、C D 7 0 (T N F S F 7)、C A 9 (炭酸脱水酵素)、5 T 4 (T P B G)、S L T R K 6、S C - 1 6、組織因子、L I V - 1 (Z I P 6)、C G E N - 1 5 0 2 7、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB (E D - B)、V E G F R 2 (C D 3 0 9)、テネイシン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、H E R 2、H E R 3、E r b B 4、E G F R、E G F R v I I I、F G F R 1、F G F R 2、F G F R 3、F G F R 4、F G F R 6、I G F R - 1、F Z D 1、F Z D 2、F Z D 3、F Z D 4、F Z D 5、F Z D 6、F Z D 7、F Z D 8、F Z D 9、F Z D 1 0、S M O、C D 2、C D 3、C D 4、C D 5、C D 6、C D 8、C D 1 1、C D 1 1 a、C D 1 5、C D 1 8、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 2 6、C D 2 7 L、C D 2 8、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 4、C D 3 7、C D 3 8、C D 4 0、C D 4 4、C D 5 6、C D 7 0、C D 7 4、C D 7 9、C D 7 9 b、C D 9 8、C D 1 0 5、C D 1 3 3、C D 1 3 8、c r i p t o、I G F - 1 R、I G F - 2 R、E p h A 1 E p h A受容体、E p h B受容体、E p h A 1、E p h A 2、E p h A 3、E p h A 4、E p h A 5、E p h A 6、E p h A 7、E p h A 8、E p h B 1、E p h B 2、E p h B 3、E p h B 4、E p h B 6、インテグリン（例えば、インテグリンα v β 3、α v β 5、またはα v β 6）、C 2 4 2抗原、A p o 2、P S G R、N G E P、P S C A、T M E F F 2、エンドグリン、P S M A、C a n A g、C A L L A、c - M e t、V E G F R - 1、V E G F R - 2、D D R 1、P D G F R α、P D G F R β、T r k A、T r k B、T r k C、U F O、L T K、A L K、T i e 1、T i e 2、P T K 7、R y k、T C R、N M D A R、L N G F R、およびM u S K。これには、C D 3 4、C D 1 3 3およびC D 4 4、C D 1 3 8、およびC D 1 5を標的とするものなどの癌幹細胞ターゲティング部分の使用も含まれる。いくつかの実施形態では、リポソームは、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の腫瘍に由来する、またはその上で発現されると決定された、細胞表面抗原（複数可）のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗原結合抗体フラグメントである。いくつかの実施形態では、リポソームは、4、5、2 - 1 0、4 - 6、または5超のグルタミル基を含有するγ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは下記から選択されるγ P T H Fを含む：(a) ポリグルタミン酸化5 - ホルミル - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5 - ホルミル - T H F）；(b) ポリグルタミン酸化10 - ホルミル - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R] - 10 - ホルミル - T H F）；(c) ポリグルタミン酸化5，10 - メチル - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R] - 5，10 - メチル - T H F）；(d) ポリグルタミン酸化5 - メチル - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5 - メチル - T H F）；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - テトラヒドロ葉酸T H F）；(f) ポリグルタミン酸化5，10 - メチレン - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R] - 5，10 - メチレン - T H F）；および(g) ポリグルタミン酸化5 - ホルムイミノ - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5 - ホルムイミノ - T H F）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5，10 - メチレン - T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化 [6 R] - 5，10 - メチレン - T H Fを含む。他の実

10

20

30

40

50

施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化〔6 R, S〕-5, 10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、〔6 S〕-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームは〔6 R, S〕-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはL型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、LおよびD型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型のγ-グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では投与されるリポソーム組成物はテトラグルタミン酸化γPTHFを含む。いくつかの実施形態では投与されるリポソーム組成物はペンタグルタミン酸化γPTHFを含む。いくつかの実施形態では投与されるリポソーム組成物はヘキサグルタミン酸化γPTHFを含む。いくつかの実施形態では、癌は下記からなる群より選択される：肺（例えば、非小細胞肺癌）、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、メラノーマ、および血液系腫瘍（例えば、白血病またはリンパ腫）。さらに別の実施形態では、癌細胞は、結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌から選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である。特定の実施形態では、癌細胞は、結腸直腸癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である。

【0084】

追加の実施形態では、本開示は、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に、有効量の、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸および癌の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含むリポソームを含むリポソーム組成物を投与することを含む、癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、リポソームは、下記からなる群より選択される細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：GONMB、TACSTD2（TROP2）、CEACAM5、EPCAM、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体-α、葉酸受容体-βまたは葉酸受容体-δ）、ムチン1（MUC-1）、MUC-6、STEAP1、メソテリン、ネクチン4、ENPP3、グアニリルシクラーゼC（GCC）、SLC44A4、NaPi2b、CD70（TNFSF7）、CA9（炭酸脱水酵素）、5T4（TPBG）、SLTRK6、SC-16、組織因子、LIV-1（ZIP6）、CGEN-15027、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB（ED-B）、VEGFR2（CD309）、テネニン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、Erbb4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1 EphA受容体、Eph

B受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン（例えば、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ 、または $\alpha v \beta 6$ ）、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFR α 、PDGFR β 、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMusK。いくつかの実施形態では、リポソームは、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌（腫瘍）に由来する、またはその上で発現されると決定された、細胞表面抗原（複数可）のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗原結合抗体フラグメントである。いくつかの実施形態では、リポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、4つの γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは5つの γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、6つの γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは下記から選択される γ PTHFを含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチル-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、[6S]-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームは[6R，S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはL型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

【0085】

いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化リポソーム（例えば、TPLp- γ PTHF）を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物

10

20

30

40

50

はペグ化されていないリボソームを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソームは、4つの γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソームは5つの γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソームは、6つの γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソームは下記から選択される γ -PTHFを含む：

(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-PTHF）；(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-PTHF）；(c) ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メテニル-PTHF）；(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-PTHF）；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸PTHF）；(f) ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-PTHF）；および(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-PTHF）。いくつかの実施形態では、投与されるリボソームはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-PTHFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリボソームはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-PTHFを含む。他の実施形態では、投与されるリボソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソームはポリグルタミン酸化5-メチル-PTHFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリボソームは、[6S]-5-メチル-PTHFを含む。他の実施形態では、投与されるリボソームは[6R，S]-5-メチル-PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソームは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-PTHFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリボソームは、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-PTHFを含む。他の実施形態では、投与されるリボソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルミル-PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは、D型の γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームはL型の γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは、LおよびD型の γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは γ -テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは γ -ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは γ -ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：肺癌（例えば、非小細胞）、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、メラノーマ、骨髄腫、白血病およびリンパ腫。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌 および／または 腺がん）、頭頸部癌、

10

20

30

40

50

卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。 特定の実施形態では、リポソーム組成物は、結腸直腸癌を治療するために投与される。

【0086】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、リポソーム組成物を、その細胞表面上に葉酸受容体を発現する癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療するための方法を提供し、リポソーム組成物は、(a) γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 (γ P T H F) および (b) 葉酸受容体に対して特異的結合親和性を有するターゲティング部分を含むリポソームを含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α (F R - α)、葉酸受容体 β (F R - β)、および/または葉酸受容体 δ (F R - δ) に対して特異的結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α (F R - α)、葉酸受容体 β (F R - β)、および/または葉酸受容体 δ (F R - δ) に対して特異的結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α (F R - α) および葉酸受容体 β (F R - β) に対して特異的結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化リポソームを含む (例えば、T P L p - γ P T H F)。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化されていないリポソームを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、4つの γ -グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは5つの γ -グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、6つの γ -グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは下記から選択される γ P T H F を含む：(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5-ホルミル-T H F)；(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R] - 10-ホルミル-T H F)；(c) ポリグルタミン酸化5，10-メチニル-T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R] - 5，10-メチニル-T H F)；(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5-メチル-T H F)；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - テトラヒドロ葉酸 T H F)；(f) ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R] - 5，10-メチレン-T H F)；および (g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5-ホルムイミノ-T H F)。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-T H F を含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化 [6 R] - 5，10-メチレン-T H F を含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化 [6 R，S] - 5，10-メチレン-T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5-メチル-T H F を含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、[6 S] - 5-メチル-T H F を含む。他の実施形態では、投与されるリポソームは [6 R，S] - 5-メチル-T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H F を含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5-ホルミル-T H F を含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化 [6 R，S] - 5-ホルミル-T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの

10

20

30

40

50

実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：例えば、肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、およびメラノーマなどを含む非血液系腫瘍；および、例えば、白血病、リンパ腫および他のB細胞悪性腫瘍、骨髄腫および他の形質細胞異形成症または悪液質などの血液系腫瘍。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：乳癌、頭頸部癌、肺癌、胃癌、骨肉腫、非ホジキンリンパ腫（NHL）、急性リンパ性白血病（ALL）、菌状息肉症（皮膚T細胞リンパ腫）絨毛癌、および絨毛腺腫、非白血性髄膜がん腫症、軟部肉腫（類腱腫、侵襲性線維腫症、膀胱癌、および中枢神経系（CNS）リンパ腫。いくつかの実施形態ではリポソーム組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。

【0087】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有するリポソーム（LP- γ PTHF）を含むリポソーム組成物を、癌療法を受けている、または受けたことがある被検体に投与することを含む、癌の維持療法のための方法を提供する。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はPLP- γ PTHF、NTLP- γ PTHF、NTPLP- γ PTHF、TLP- γ PTHFまたはTPLP- γ PTHFである。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化リポソームを含む（例えば、PLP- γ PTHF、NTPLP- γ PTHF、またはTPLP- γ PTHF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物は標的化リポソームを含む（例えば、TLP- γ PTHFまたはTPLP- γ PTHF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化され、ターゲティング部分を含むリポソームを含む（例えば、TPLP- γ PTHF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、4つの γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは5つの γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、6つの γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは下記から選択される γ PTHFを含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メテニル-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、[6S]-5

10

20

30

40

50

ーメチルーTHFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームは〔6R, S〕ー5ーメチルーTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化5ーホルミルーTHFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化〔6S〕ー5ーホルミルーTHFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化〔6R, S〕ー5ーホルミルーTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型のγーグルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型のγーグルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型のγーグルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型のγーグルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはγテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはγペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはγヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

【0088】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有するリポソームを含むリポソーム組成物（例えば、Lp-γPTHF、PLp-γPTHF、NTLp-γPTHF、NTPLp-γPTHF、TLp-γPTHFまたはTPLp-γPTHF）を、免疫系の障害を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、免疫系の障害を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、自己免疫疾患を治療するために投与される。さらなる実施形態では、リポソーム組成物は、関節リウマチを治療するために投与される。別の実施形態では、リポソーム組成物は、炎症を治療するために投与される。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化リポソームを含む（例えば、PLp-γPTHF、NTPLp-γPTHF、またはTPLp-γPTHF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物は、目的の標的細胞（例えば、免疫細胞）上の表面抗原に対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含有する標的化リポソームを含む（例えば、TLp-γPTHFまたはTPLp-γPTHF）。さらなる実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化され、ターゲティング部分を含むリポソームを含む（例えば、TPLp-γPTHF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは4、5、2ー10、4ー6、または5超の、γーグルタミル基を含有するγペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、4つのγーグルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは5つのγーグルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、6つのγーグルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは下記から選択されるγPTHFを含む：（a）ポリグルタミン酸化5ーホルミルーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕ー5ーホルミルーTHF）；（b）ポリグルタミン酸化10ーホルミルーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕ー10ーホルミルーTHF）；（c）ポリグルタミン酸化5，10ーメチルーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕ー5，10ーメチルーTHF）；（d）ポリグルタミン酸化5ーメチルーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕ー5ーメチルーTHF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕ーテトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5，10ーメチレンーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕ー5，10ーメチレンーTHF）；および（g）ポリグルタミン酸化5ーホルムイミノーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕ー5ーホルムイミノーTHF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5，10ーメチレンーTHFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化

10

20

30

40

50

〔6 R〕－5，10－メチレン－T H Fを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化〔6 R，S〕－5，10－メチレン－T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5－メチル－T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、〔6 S〕－5－メチル－T H Fを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームは〔6 R，S〕－5－メチル－T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化5－ホルミル－T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－5－ホルミル－T H Fを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化〔6 R，S〕－5－ホルミル－T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型のγ－グルタミル基を含有するγ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型のγ－グルタミル基を含有するγ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型のγ－グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型のγ－グルタミル基を含有するγ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはγテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはγペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはγヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

〔0089〕

本開示はまた、腫瘍を有する被検体に、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（L－γ P T H F）および腫瘍細胞または癌細胞上の表面抗原のエピトープに対して特異的結合親和性を有するターゲティング部分を含む組成物を投与することを含む、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を腫瘍および／または癌細胞に送達する方法を提供する。いくつかの実施形態では、投与されるターゲティング部分は送達ビヒクルと結合されている。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体または抗体の抗原結合フラグメントである。さらなる実施形態では、送達ビヒクルはリポソームである。いくつかの実施形態では、抗体、抗原結合抗体フラグメント、またはリポソームはペグ化されている。いくつかの実施形態では、投与される組成物は、4、5、2－10、4－6、または5超のグルタミル基を含有するγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物はγテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物はγペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される組成物は、γヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物は、下記から選択されるγ P T H Fを含む：（a）ポリグルタミン酸化5－ホルミル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－5－ホルミル－T H F）；（b）ポリグルタミン酸化10－ホルミル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 R〕－10－ホルミル－T H F）；（c）ポリグルタミン酸化5，10－メチレン－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 R〕－5，10－メチレン－T H F）；（d）ポリグルタミン酸化5－メチル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－5－メチル－T H F）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－テトラヒドロ葉酸 T H F）；（f）ポリグルタミン酸化5，10－メチレン－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 R〕－5，10－メチレン－T H F）；および（g）ポリグルタミン酸化5－ホルムイミノ－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－5－ホルムイミノ－T H F）。いくつかの実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化5，10－メチレン－T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化〔6 R〕－5，10－メチレン－T H Fを含む。他の実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化〔6 R，S〕－5，10－メチレン－T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化5－メチル－T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与される組成物

は〔6 S〕－5－メチル－T H Fを含む。他の実施形態では、投与される組成物は〔6 R，S〕－5－メチル－T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化5－ホルミル－T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化〔6 S〕－5－ホルミル－T H Fを含む。他の実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化〔6 R，S〕－5－ホルミル－T H Fを含む。

【0090】

追加の実施形態では、本開示は、リポソームγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（γ P T H F）組成物を含むリポソーム組成物を調製する方法を提供し、方法は下記を含む：溶液中でリポソーム成分およびγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む混合物を形成すること；溶液中で混合物をホモジナイズしてリポソームを形成すること；および、混合物を処理してポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有するリポソームを形成すること。いくつかの実施形態では、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、4、5、2－10、4－6、または5超の、γ－グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、γ P T H F組成物は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型のγ－グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、γ P T H F組成物は、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型のγ－グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、γ P T H F組成物は、2、3、4、5、または5超の、L型のγ－グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型のγ－グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、γ P T H F組成物はγペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、γ P T H F組成物はγテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、γ P T H F組成物は、γヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、組成物は、下記から選択されるγ P T H Fを含む：（a）ポリグルタミン酸化5－ホルミル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－5－ホルミル－T H F）；（b）ポリグルタミン酸化10－ホルミル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 R〕－10－ホルミル－T H F）；（c）ポリグルタミン酸化5，10－メチル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 R〕－5，10－メチル－T H F）；（d）ポリグルタミン酸化5－メチル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－5－メチル－T H F）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－テトラヒドロ葉酸T H F）；（f）ポリグルタミン酸化5，10－メチレン－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 R〕－5，10－メチレン－T H F）；および（g）ポリグルタミン酸化5－ホルムイミノ－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－5－ホルムイミノ－T H F）。いくつかの実施形態では、組成物はポリグルタミン酸化5，10－メチレン－T H Fを含む。さらなる実施形態では、組成物はポリグルタミン酸化〔6 R〕－5，10－メチレン－T H Fを含む。他の実施形態では、組成物はポリグルタミン酸化〔6 R，S〕－5，10－メチレン－T H Fを含む。いくつかの実施形態では、組成物はポリグルタミン酸化5－メチル－T H Fを含む。さらなる実施形態では、組成物は〔6 S〕－5－メチル－T H Fを含む。他の実施形態では、組成物は〔6 R，S〕－5－メチル－T H Fを含む。いくつかの実施形態では、組成物はポリグルタミン酸化5－ホルミル－T H Fを含む。さらなる実施形態では、組成物はポリグルタミン酸化〔6 S〕－5－ホルミル－T H Fを含む。他の実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化〔6 R，S〕－5－ホルミル－T H Fを含む。

【0091】

1つの実施形態では、本開示は、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物、および／または、本明細書で記載される、γ P T H Fまたはγ P T H F免疫複合体（例えば、ADC）を含有するリポソームなどのγ P T H F送達ビヒクルを含むキットを提供する。

【図面の簡単な説明】

【0092】

【図1A－1L】例示的な5－10メチレンT H F誘導体の化学式を示す：5－10メチレンT H F（図1A）、γ5－10メチレンT H Fジグルタミン酸（図1B）、γ5－1

10

20

30

40

50

0メチレンTHFトリグルタミン酸（図1Cおよび1D）、 γ 5-10メチレンTHFテトラグルタミン酸（図1Eおよび1F）、 γ 5-10メチレンTHFペンタグルタミン酸（図1Gおよび1H）、 γ 5-10メチレンTHFヘキサグルタミン酸（図1Iおよび1J）、 γ 5-10メチレンTHFヘプタグルタミン酸（図1Kおよび1L）、 γ 5-10メチレンTHFオクタグルタミン酸（図1Mおよび1N）、ならびに、テトラヒドロ葉酸THFの例示的な γ テトラヒドロ葉酸ポリグルタミン酸誘導体、10ホルミルTHF、5ホルミルTHF、5-メチルTHF、5ホルムイミノTHF、5,10メテニルTHF、および5,10メチレンTHF（図1O-1Q）。

【図2】48時間の処理後の生細胞のパーセンテージとして示される、NCI H2342非小細胞肺癌（NSCLC）、腺がんサブタイプにおける、遊離ペメトレキセド γ ヘキサグルタミン酸（gG6）、リポソームペメトレキセド γ ヘキサグルタミン酸（リポソームgG6）、ペメトレキセド、および葉酸受容体 α 標的化抗体（FR1Ab）リポソームペメトレキセド γ ヘキサグルタミン酸（リポソームgG6-FR1Ab）の用量応答関係例を示す。

10

【図3】48時間でのHT-29（結腸癌）における遊離ペメトレキセド γ ヘキサグルタミン酸（gG6）、リポソームペメトレキセド γ ヘキサグルタミン酸（リポソームgG6）、ペメトレキセド、および葉酸受容体 α 標的化抗体（FR1Ab）リポソームペメトレキセド γ ヘキサグルタミン酸（リポソームgG6-FR1Ab）の用量応答関係例を示す。

【図4】256nMの対応する作用物質の48時間の曝露後の、結腸癌SW260細胞の増殖に対する、遊離ペメトレキセド γ ヘキサグルタミン酸（hexa gG6）およびリポソームペメトレキセド γ ヘキサグルタミン酸（リポソームhexa gG6）の効果を示す。非標的化および標的化リポソームペメトレキセドhexa gG6は、結腸癌SW260細胞の増殖を阻害するために、遊離ペメトレキセドhexa gG6よりも効率的に細胞に入ることができる。

20

【図5】48時間にわたる癌細胞株SW620（CRC）、HT-29（結腸癌）、H1806（トリプルネガティブ乳癌）、OAW28（卵巣癌）、H292（NSCLC、腺がんサブタイプ）、およびH2342（NSCLC、腺がんサブタイプ）の曝露後の、ペメトレキセドと比較した、リポソームペメトレキセド γ ヘキサグルタミン酸（リポソームgG6）とその鏡像、リポソームペメトレキセド γ -Dヘキサグルタミン酸（リポソームgDG6）の相対効力を示す。

30

【図6】48時間にわたるリポソームペメトレキセド γ -Lヘキサグルタミン酸（Lps Hexa gG6）、リポソームペメトレキセド γ -Dヘキサグルタミン酸（Lps Hexa gDG6）、およびペメトレキセドの曝露後のHCC1806トリプルネガティブ乳癌細胞に対する治療効果を示す。

【図7】48時間にわたるペメトレキセドと比較した、リポソームペメトレキセド γ -Lヘキサグルタミン酸（Lps Hexa gG6）、リポソームペメトレキセド γ -Dヘキサグルタミン酸（Lps Hexa gDG6）の曝露後の、OAW28卵巣癌細胞に対する治療効果を示す。

【図8】48時間にわたる、リポソームペメトレキセド γ -Lヘキサグルタミン酸（Lps Hexa gG6）、リポソームペメトレキセド γ -Dヘキサグルタミン酸（Lps Hexa gDG6）の、およびペメトレキセドへの曝露後のH292非小細胞肺癌細胞に対する治療効果を示す。

40

【図9】48時間にわたる16~128nMの範囲の種々の投与レベルのリポソームペメトレキセド γ -Lヘキサグルタミン酸（リポソームgG6）、リポソームペメトレキセド γ -Dヘキサグルタミン酸（リポソームgDG6）、およびペメトレキセドの曝露後のH292非小細胞肺癌細胞に対する治療効果を示す。それぞれの試験した用量範囲で、リポソームペメトレキセドgG6製剤は、ペメトレキセドに比較して、H292非小細胞肺癌細胞の抑制に優れている。

【図10】48時間にわたる、16~128nMの範囲の種々の投与レベルのリポソーム

50

ペメトレキセド γ -Lヘキサグルタミン酸（リポソームg G 6）、リポソームペメトレキセド γ -Dヘキサグルタミン酸（リポソームg D G 6）、およびペメトレキセドの曝露後のHCC1806トリプルネガティブ乳癌細胞に対する治療効果を示す。それぞれの試験した用量で、リポソームペメトレキセドg G 6製剤は、HCC1806トリプルネガティブ乳癌細胞の抑制に関し、ペメトレキセドより優れている。

【図11】リポソームペメトレキセド γ -Lヘキサグルタミン酸（リポソームg G 6）、リポソームペメトレキセド γ -Dヘキサグルタミン酸（リポソームg D G 6）、およびペメトレキセドのさまざまな濃度での48時間にわたる曝露後のOAW28卵巣癌細胞に対する治療効果を示す。128 nMの用量で、ペメトレキセドは、リポソームペメトレキセドg G 6リポソーム製剤より効果的であるように見えるが、32 nMおよび64 nMの用量では、リポソーム製剤はペメトレキセドより優れた治療効果を有し；16 nMでは、リポソームペメトレキセドg G 6の治療効果は、ペメトレキセドと同様である。

10

【図12】リポソームペメトレキセド γ -Lヘキサグルタミン酸（リポソームg G 6）、リポソームペメトレキセド γ -Dヘキサグルタミン酸（リポソームg D G 6）、およびペメトレキセドの、64 nM、128 nM、および264 nMでの分化しているヒト好中球に対する毒性を示す。図は、リポソームペメトレキセドg G 6が分化しているヒト好中球に対し、ペメトレキセドより優位に少ない毒性であることを示す。

【図13】リポソームペメトレキセド γ -Lヘキサグルタミン酸（リポソームg G 6）、リポソームペメトレキセド γ -Dヘキサグルタミン酸（リポソームg D G 6）、およびペメトレキセドの対応する薬剤の16～128 nMの範囲の種々の投与レベルの48時間にわたる曝露後の好中球（CD34+細胞から分化）に対する効果を示す。

20

【図14】リポソームペメトレキセド γ -Lヘキサグルタミン酸（リポソームg G 6）、リポソームペメトレキセド γ -Dヘキサグルタミン酸（リポソームg D G 6）、およびペメトレキセドの16 nM、32 nM、および64 nM、および128 nMでの対応する薬剤への48時間にわたる曝露後のAML12肝臓細胞に対する効果を示す。際立っていることは、試験した投与レベルのいずれのリポソーム薬剤でもリポソームペメトレキセドg G 6での治療後、これらは、AML12肝臓細胞に対し何ら毒性があるようには見えないことである。対照的に、ペメトレキセド治療は、調査した全ての用量で約40%のAML12肝臓細胞数の低減を生じる。

【図15】リポソームペメトレキセド γ -Lヘキサグルタミン酸（リポソームg G 6）、リポソームペメトレキセド γ -Dヘキサグルタミン酸（リポソームg D G 6）、およびペメトレキセドの16 nM、32 nM、および64 nM、および128 nMでの対応する薬剤への48時間にわたる曝露後のCCD841結腸上皮細胞に対する効果を示す。試験した全ての濃度で、試験したそれぞれのリポソーム組成物で治療した後のCCD841結腸上皮細胞数の約20%以下の減少に比べて、ペメトレキセドは、約50%以上の細胞数の減少をもたらす。

30

【図16】ポリグルタミン酸葉酸代謝拮抗薬、シスプラチン（CDDP）および2つの可能なg G 6-シスプラチン複合体の構造を示す。ポリグルタミン酸化葉酸代謝拮抗薬のカルボキシル基と、シスプラチンとの間の鎖間および／または鎖内配位のpH依存性形成は、酸性のpHのリソソーム（pH3～5）に遭遇時および細胞内の塩化物イオンの存在時には、g G 6とシスプラチンの個別の分子に分解する可能性がある。

40

【図17】血液学的パラメータ：白血球（WBC）数、好中球数および血小板数に対する、40 mg/kgおよび80 mg/kgで週1回の4週間投与によるマウスのリポソームg G 6治療の効果を示す。平均好中球、平均白血球または平均血小板数に明らかな減少は観察されなかった。

【図18】ヘモグロビンおよび網赤血球数指数に対する、40 mg/kgおよび80 mg/kgで週1回の4週間投与によるマウスのリポソームg G 6治療の効果を示す。より高い投与レベルで平均ヘモグロビン濃度の最小限の減少がある。同時に、平均網赤血球数指数のわずかな増加がある。

【図19】血清アルブミンに加えて、血清アスパラギン酸アミノ基転移酵素（AST）お

50

よび血清アラニンアミノ基転移酵素（ALT）を含む肝臓マーカーに対する、40mg/kgおよび80mg/kgで週1回の4週間投与によるマウスのリポソームgG6治療の効果を示す。肝臓アミノ基転移酵素平均ASTまたは平均ALTレベルに明らかな増加は認められず、さらに、平均アルブミンレベルの変化は観察されなかった。

【図20】NCI-H292（非小細胞肺癌）細胞を接種し、対照、ペメトレキセド、およびリポソームgG6を167mg/kgで3週毎に1回静脈内投与された、免疫不全の雌Nu/Jマウス（6～8週齢）の相対的腫瘍体積を示す。これらの予備的データからわかるように、リポソームgG6は、ペメトレキセドに比べて低減した腫瘍制御をもたらす。

【図21A-F】H2342（NSCLC、腺がんサブタイプ）（図21A）、H292（NSCLC、腺がんサブタイプ）（図21B）、HT-29（結腸癌）（図21C）、HCC1806（トリプルネガティブ乳癌）（図21D）、MCF7（ER+乳癌）（図21E）、およびOAW28（卵巣癌）（図21F）に対する48時間にわたる、リポソームペメトレキセドγ-トリグルタミン酸（リポソームaG3）、リポソームペメトレキセドγ-ペンタグルタミン酸（リポソームaG5）、リポソームペメトレキセドγ-オクタグルタミン酸（リポソームaG7）、およびリポソームペメトレキセドγ-ヘキサグルタミン酸（aG6）とγ-ドデカグルタミン酸（aG12）の組み合わせ（リポソームaG6とaG12）の用量応答関係を示す。細胞生存率は、基本的に実施例1で記載のようにして、CellTiter-Glo（登録商標）（CTG）発光細胞生存率アッセイにより測定した。全ての細胞株で示すように、それぞれのポリグルタミン酸化ペメトレキセドリポソーム組成物の効力は、リポソームビヒクルおよび空のリポソーム対照の効力を十分に超えていた。

【発明を実施するための形態】

【0093】

本開示は、一般に、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物に関する。組成物は癌などの過剰増殖性疾患の既往治療に対して進歩をもたらす。γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物の製造、送達および使用方法も提供される。γポリグルタミン酸化組成物は、癌などの過剰増殖性疾患、炎症および関節リウマチなどの免疫系の障害、ならびにHIVおよびマラリアなどの感染性疾患を治療する（例えば、治療および／または防止することを含むが、それらに限定されない用途を有する。γポリグルタミン酸化組成物はまた、化学療法薬（例えば、5-フルオロウラシル）などの1つ以上の治療薬との併用療法において、治療薬（複数可）の有効性を増強するため、または、「化学防護剤」として（例えば、メトトレキサートなどの葉酸代謝拮抗薬との組み合わせで）治療薬（複数可）と関連する毒性副作用を低減するための用途を有する。

【0094】

I. 定義

別に規定されない限り、本明細書で使用される全ての技術および科学用語は、本開示が属する当業者により普通に理解されるのと同じ意味を有する。

【0095】

実施形態が用語の「含む（comprising）」と共に本明細書で記載される場合は常に、「を含む（containing）」、「からなる（consisting of）」および／または「から本質的に構成される（consisting essentially of）」の用語で記載される別の類似の実施形態も同様に提供されることが理解される。しかし、特許請求の範囲で移行句として使用される場合は、それぞれが別々におよび適切な法的文脈および事実の文脈で解釈されるべきである（例えば、特許請求の範囲中で、移行句「含む（comprising）」は、より開放型の語句であると見なされ、移行句「からなる（consisting of）」はより排他的であると見なされ、「から本質的に構成される（consisting essentially of）」はこれらの中間的であると見なされる）。

【0096】

本明細書で使用される場合、単数形「a」、「an」、および「the」は、特に明記

しない限り、または文脈より複数の参照物が意図されないことが明確に明らかでない限り、複数の参照物を含む。

【0097】

「Aおよび／またはB」などの表現で使用される用語の「および／または」は本明細書では、AとBの両方；AまたはB；A（単独）；およびB（単独）を含むことが意図されている。同様に、「A、Bおよび／またはC」などの表現で使用される用語の「および／または」はそれぞれ次の実施形態を包含する：A、B、およびC；A、B、またはC；AまたはC；AまたはB；BまたはC；AおよびC；AおよびB；BおよびC；A（単独）；B（単独）；およびC（単独）。

【0098】

見出しおよび小見出しは、便宜上使用される、および／または公式の規則遵守のためのみで使用され、被検体技術を限定するものではなく、被検体技術の記述の解釈に関連して言及されるものではない。被検体開示の1つの見出しまたは1つの小見出しの下で記述される特徴は、種々の実施形態で、他の見出しまたは小見出しの下で記述の特徴と組み合わせ得る。さらに、単一の見出しまたは小見出しの下での全ての特徴がいくつかの実施形態中で必ずしも一緒に使用されるわけではない。

【0099】

「テトラヒドロ葉酸」および「THF」という用語は同じ意味で使用されて、テトラヒドロ葉酸の塩、酸および／または遊離塩基形態（例えば、テトラヒドロ葉酸二ナトリウム）を含む。明示的に別記されない限りまたは文脈から一義的に明確でない限り、「THF（複数可）」および「テトラヒドロ葉酸（複数可）」は天然および非天然THF形態を含み、1炭素置換されたTNF誘導体を含む。特に、明示的に別記されない限りまたは文脈から一義的に明確でない限り、「THF（複数可）」および「テトラヒドロ葉酸（複数可）」は、THFのテトラヒドロプテリン成分のC-6原子で[6R]配置を有するジアステレオマー組成物、C-6原子で[6S]配置を有するジアステレオマー組成物、および／または[6, R, S]ジアステレオマーの混合物（例えば、1:1）を含む。明示的に別記されない限りまたは文脈から一義的に明確でない限り、「THF（複数可）」および「テトラヒドロ葉酸（複数可）」は下記を含む：（a）5-ホルミル-THF（例えば、[6S]、[6R, S]、または[6R]-5-ホルミル-THF）；（b）5-ホルミル-THF（例えば、[6S]、[6R, S]、または[6R]-5-ホルミル-THF）；（c）5, 10-メテニル-THF（例えば、[6R]、[6R, S]、または[6S]、-5, 10-メテニル-THF）；（d）5-メチル-THF（例えば、[6S]、[6R, S]、または[6R]、-5-メチル-THF）；（e）テトラヒドロ葉酸THF（（2S）-2-（{[4-（{[2-アミノ-4-オキソ-1, 4, 5, 6, 7, 8-ヘキサヒドロプテリジン-6-イル]メチル}アミノ）フェニル]ホルムアミド}ペンタン二酸）（例えば、[6S]、[6R, S]、および[6R,]-（（2S）-2-（{[4-（{[2-アミノ-4-オキソ-1, 4, 5, 6, 7, 8-ヘキサヒドロプテリジン-6-イル]メチル}アミノ）フェニル]ホルムアミド}ペンタン二酸））；（f）5, 10-メチレン-THF（例えば、[6R]、[6R, S]、または[SR]、-5, 10-メチレン-THF）；および（g）5-ホルムイミノ-THF（例えば、[6S]、[6R, S]、または[6R]、-5-ホルムイミノ-THF。いくつかの実施形態では、本開示は、下記から選択されるTHFジアステレオマーを含有する組成物を提供する：（a）[6S]-5-ホルミル-THF；（b）[6R]-5-ホルミル-THF；（c）[6R]-5, 10-メテニル-THF；（d）[6S]-5-メチル-THF；（e）[6S]-テトラヒドロ葉酸；（f）[6R]-5, 10-メチレン-THF；および（g）[6S]-5-ホルムイミノ-THF。いくつかの実施形態では、本開示は、THFジアステレオマー混合物（例えば、ジアステレオ異性体混合物[6R, S]-5-メチル-THF（1:1）、および／またはジアステレオ異性体混合物[6R, S]-5-CHO-THF（1:1））を含有する組成物を提供する。THF塩を含有する組成物は、Na⁺、Mg²⁺、K⁺、NH₄⁺、および／またはCa²⁺などの、様々なカチオ

10

20

30

40

50

ンのいずれかをさらに含み得る。特定の実施形態では、塩は薬学的に許容される塩である。追加の特定の実施形態では、THF塩は Na^+ を含有する。テトラヒドロ葉酸は1つの $\text{L-}\gamma$ グルタミル基を含有し、本開示の目的のためにモノグルタミン酸化されていると考えられる。

【0100】

「テトラヒドロ葉酸THF」という用語は、構造 $2 - \{ [4 - (\{ [(6S) - 2 - \text{アミノ} - 4 - \text{オキソ} - 1, 4, 5, 6, 7, 8 - \text{ヘキサヒドロプテリジン} - 6 - \text{イル}] \text{メチル} \} \text{アミノ}) \text{フェニル}] \text{ホルムアミド} \}$ ペンタン二酸を有するTHF組成物を特定的に指す。「テトラヒドロ葉酸THF」はまた、本明細書で、テトラヒドロ葉酸 (tetrahydrofolate) (THF) の一種と呼ばれる。

10

【0101】

「ポリグルタミン酸化-テトラヒドロ葉酸」、「ポリグルタミン酸化-THF」、「THF-PG」、「PTHF」という用語およびそれらの繰り返しは本明細書では同じ意味で使用されて、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に加えて少なくとも1つのグルタミル基を含むテトラヒドロ葉酸組成物（すなわち、 THF-PG_n 、式中、 $n \geq 1$ ）を指す。本明細書の、 γPTHF (THF-PG) 中のグルタミル基の数への言及は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基を考慮する。例えば、THFのグルタミル基に加えて5つのグルタミル残基を含有するTHF-PG組成物は、本明細書では、ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸またはテトラヒドロ葉酸ヘキサグルタミン酸と呼ばれる。ポリグルタミン酸鎖は、N末端グルタミル基および1つ以上のC末端グルタミル基を含む。ポリグルタミン酸鎖のN末端グルタミル基は、そのアミノ基を介して別のグルタミル基に結合しないが、そのカルボン酸基を介して1つ以上のグルタミル基に結合する。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のN末端グルタミル基は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基である。ポリグルタミン酸鎖のC末端グルタミル基（単一または複数）は、それらのアミノ基を介して別のグルタミル基に結合するが、それらのカルボン酸基を介して別のグルタミル基に結合しない。

20

【0102】

いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化-テトラヒドロ葉酸は下記から選択されるメンバーである：(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF；(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF；(c) ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-THF；(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 ($(2S) - 2 - \{ [4 - (\{ [2 - \text{アミノ} - 4 - \text{オキソ} - 1, 4, 5, 6, 7, 8 - \text{ヘキサヒドロプテリジン} - 6 - \text{イル}] \text{メチル} \} \text{アミノ}) \text{フェニル}] \text{ホルムアミド} \}$ ペンタン二酸) (例えば、 $[6S]$ 、 $[6R, S]$ 、および $[6R,] - ((2S) - 2 - \{ [4 - (\{ [2 - \text{アミノ} - 4 - \text{オキソ} - 1, 4, 5, 6, 7, 8 - \text{ヘキサヒドロプテリジン} - 6 - \text{イル}] \text{メチル} \} \text{アミノ}) \text{フェニル}] \text{ホルムアミド} \}$ ペンタン二酸))；(f) ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THF；および(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF。さらなる実施形態では、ポリグルタミン酸化-テトラヒドロ葉酸は下記から選択されるメンバーである：(a) ポリグルタミン酸化 $[6S] - 5 - \text{ホルミル} - \text{THF}$ ；(b) ポリグルタミン酸化 $[6R] - 10 - \text{ホルミル} - \text{THF}$ ；(c) ポリグルタミン酸化 $[6R] - 5, 10 - \text{メテニル} - \text{THF}$ ；(d) ポリグルタミン酸化 $[6S] - 5 - \text{メチル} - \text{THF}$ ；(e) ポリグルタミン酸化 $[6S] - \text{テトラヒドロ葉酸}$ ；(f) ポリグルタミン酸化 $[6R] - 5, 10 - \text{メチレン} - \text{THF}$ ；および(g) ポリグルタミン酸 $[6S] - 5 - \text{ホルムイミノ} - \text{THF}$ 。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化-テトラヒドロ葉酸は $[6R] - 5, 10 - \text{メチレン} - \text{THF}$ である。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化-テトラヒドロ葉酸は $[6S] - 5 - \text{メチル} - \text{THF}$ である。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化-テトラヒドロ葉酸は $[6S] - 5 - \text{ホルミル} - \text{THF}$ である。他の実施形態では、ポリグルタミン酸化-テトラヒドロ葉酸は $[6R, S] - 5, 10 - \text{メチレン} - \text{THF}$ ジアステレオマー混合物、 $[6R, S] - 5 - \text{メチル} - \text{THF}$ ジアステレオマー混合物、または $[6R, S] - 5 - \text{ホルミル}$

30

40

50

ー T H F ジアステレオマー混合物（例えば、1 : 1 w / w）である。

【0103】

「ガンマグルタミル基」、「 γ グルタミル基」、および「 γ 結合」という用語は、これらがグルタミル基の結合に関する場合、 γ カルボキシル基結合を含有するグルタミル基を指す。 γ 結合は、グルタミル基とテトラヒドロ葉酸のグルタミル基の間、または、グルタミル基とテトラヒドロ葉酸中に存在しない第2のグルタミル基（例えば、テトラヒドロ葉酸に付着されたポリグルタミン酸鎖内のグルタミル基）の間であってよい。いくつかの実施形態では、 γ 結合は、1つのグルタミル基の γ カルボキシル基と第2のグルタミル基の間のアミド結合である。いくつかの実施形態では、 γ 結合は、テトラヒドロ葉酸におけるグルタミル基のアミド結合を指す。いくつかの実施形態では、 γ 結合は、1つのグルタミル基の γ カルボキシル基と第2のグルタミル基の間のアミド結合である。 γ 結合への言及は、そのようなことは意図されていないと明示的に表明されない限り、または文脈から一義的に明確でない限り、テトラヒドロ葉酸内のグルタミル基の γ 結合を含む。いくつかの実施形態では、 γ グルタミル基はL型である。いくつかの実施形態では、 γ グルタミル基はD型である。本明細書で記載されるように、テトラヒドロ葉酸療法中、テトラヒドロ葉酸は細胞に入り、酵素ホリルポリ- γ -グルタミン酸シンターゼ（FPGS）によりポリグルタミン酸化され、これは、テトラヒドロ葉酸のテトラヒドロ葉酸L-グルタミル基内のグルタミン酸の γ カルボキシル基に連続的にLグルタミル基を付加する。その結果として、D- γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物は、テトラヒドロ葉酸療法中に細胞内で形成されない。

【0104】

「 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸」、「 γ -ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸」、「 γ PTHF」、「 γ ポリグルタミン酸化-テトラヒドロ葉酸」、「ポリグルタミン酸化-THF」、「 γ THF-PG」という用語、およびそれらの繰り返しは本明細書では同じ意味で使用されて、テトラヒドロ葉酸の γ グルタミル基に加えて、 γ カルボキシル基結合を有する少なくとも1つの γ グルタミル基を含むテトラヒドロ葉酸組成物（例えば、THF-PG_n、式中、 $n \geq 1$ γ グルタミル基）を指す。本明細書では、 γ PTHF（ γ THF-PG）中のグルタミル基の数への言及は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基を考慮する。例えば、THFのグルタミル基に加えて5つの γ -グルタミル基を含有する γ THF-PG組成物は、本明細書では、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸または γ テトラヒドロ葉酸ヘキサグルタミン酸とも呼ばれ得る。

【0105】

「 α グルタミル基」、「 α -グルタミル基」、および「 α 結合」という用語は、それらがグルタミル基の結合に関するもので、 α カルボキシル基結合を含有するグルタミル基を指す。

【0106】

本明細書で使用される場合、「単離された」という用語は、天然で認められない形態の組成物を意味する。単離 γ ポリグルタミン酸化組成物は、それらがもはや天然で見出される形態ではなくなる程度に精製されているものを含む。いくつかの実施形態では、単離されている γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は実質的に純粋である。単離組成物は、潜在的に天然でまたはそれらが作製される環境（例えば、細胞培養）中で認められ得るタンパク質および核酸などのその他の細胞成分などの天然で組み込まれている物質を不含であるかまたは実質的に不含である。 γ ポリグルタミン酸化組成物は、希釈剤またはアジュバントとともに配合され、さらに実用的な目的のために単離され得る—例えば、診断薬または療法に使用される場合、 γ ポリグルタミン酸化組成物は通常、薬学的に許容される担体または希釈剤と混合される。いくつかの実施形態では、単離 γ ポリグルタミン酸化組成物（例えば、 γ ポリグルタミン酸および γ ポリグルタミン酸を含むリポソームなどの送達ビヒクルは、1%未満または0.1%未満の望ましくないDNAまたはタンパク質含有物を含む。いくつかの実施形態では、 γ ポリグルタミン酸組成物（例えば、 γ ポリグルタミン酸および γ ポリグルタミン酸を含むリポソームなどの送達ビヒクル）は「単離されてい

る」。

【0107】

本明細書で使用される場合、用語の「ターゲティング部分」は、選択目標、例えば、細胞、細胞型、組織、臓器、身体の領域、または区画、例えば、細胞、組織または臓器の区画に対する高められた親和性を与える分子を意味する。ターゲティング部分は、多種多様の実体を含み得る。ターゲティング部分には、天然の分子、または組換え、もしくは合成分子が含まれる。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、抗体抗原結合抗体フラグメント、二重特異性抗体またはその他の抗体ベース分子または化合物である。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分はアプタマー、アビマー、受容体結合リガンド、核酸、ビオチン-アビジン結合対、ペプチド、タンパク質、炭水化物、脂質、ビタミン、毒素、微生物の成分、ホルモン、受容体リガンドまたはこれらの任意の誘導体である。その他のターゲティング部分は当技術分野において既知であり、本開示により包含される。

【0108】

用語の「特異的親和性」、「特異的に結合する」および「増強された親和性」は、抗体または抗原結合抗体フラグメントなどのターゲティング部分が、エピトープ、タンパク質、または標的分子に対して、標的エピトープを含む抗原に無関係のタンパク質を含む別の物質に対する場合より高頻度に、より急速に、より長期間、より大きな親和性で、またはこれらのいくつかの組み合わせで、エピトープ、タンパク質、または標的分子に対して反応するまたは結合することを意味する。異なる種中の相同タンパク質間の配列同一性のために、特定の親和性は、いくつかの実施形態では、2つ以上の種中のタンパク質および／または標的分子上のエピトープを認識する結合物質を含む。同様に、異なるタンパク質のポリペプチド配列の特定の領域内の相同性のために、用語の「特異的親和性」または「特異的に結合する」は、2つ以上のタンパク質および／または標的分子上に存在するエピトープを認識する結合物質を含み得る。特定の実施形態では、第1の標的に特異的に結合するターゲティング部分は、第2の標的に特異的に結合しても、またはしなくてもよいと理解される。従って、「特異的親和性」は、排他的な結合、例えば、ただ1つの標的上のエピトープに対する結合を必要とするとは限らない（含むことはできるが）。従って、ターゲティング部分は、特定の実施形態では、2つ以上の標的上に存在するエピトープを特異的に結合し得る。特定の実施形態では、複数標的が、複数の標的上に存在するエピトープを特異的に結合する同じターゲティング部分により結合され得る。

【0109】

用語の「エピトープ」は、抗体などのターゲティング部分（すなわち、結合部分）により認識され、特異的に結合され得る抗原の一部を意味する。抗原がポリペプチドの場合、エピトープは、タンパク質の3次フォールディングにより併置された、連続アミノ酸および不連続アミノ酸の両方から形成され得る。連続アミノ酸から形成されるエピトープは通常、タンパク質変性時に保持されるが、3次フォールディングにより形成されるエピトープは通常、タンパク質変性時に失われる。エピトープは通常、特有の空間高次構造中に、少なくとも3個のアミノ酸、より一般的には少なくとも5個または8～10個のアミノ酸を含む。

【0110】

当該技術分野において既知の「標的に対する結合親和性」、「標的に対する結合」、「増強された親和性」のような表現、および類似の表現は、親和定数、例えば、所与の抗原濃度で結合するおよび解離するターゲティング部分の量を決定することにより直接測定され得るターゲティング部分の特性を意味する。限定されないが、競合分析、平衡分析およびマイクロ熱量分析、および表面プラズモン共鳴相互作用に基づくリアルタイム相互作用分析（例えば、Biacore（登録商標）装置を用いて）などの別の方法を使用して分子間相互作用を特徴付けることができる。これらの方法は、当業者によく知られており、例えばNeri et al., Tibtech 14:465-470 (1996), およびJansson et al., J. Biol. Chem. 272:8189-8197 (1997)に記載されている。

【0111】

用語の「送達ビヒクル」は通常、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸の細胞中への侵入を支援、促進または容易にする作用をする任意の組成物を意味する。このような送達ビヒクルは当技術分野において既知であり、限定されないが、リポソーム、リボスフェア、ポリマー（例えば、ポリマー複合体）、ペプチド、抗体などのタンパク質（例えば、抗体薬物複合体（ADC）などの免疫複合体および抗原結合抗体フラグメントおよびその誘導体）、細胞成分、環状オリゴ糖（例えば、シクロデキストリン）、ミセル、微粒子（例えば、マイクロスフェア）、ナノ粒子（例えば、脂質ナノ粒子、生分解性ナノ粒子、およびコアシェルナノ粒子）、ヒドロゲル、リポタンパク質粒子、ウイルス配列、ウイルス物質、または脂質またはリポソーム製剤、およびこれらの組み合わせが挙げられる。送達ビヒクルは、ターゲティング部分に直接または間接的に結合できる。いくつかの実施例では、ターゲティング部分は、高分子、タンパク質、ペプチド、モノクローナル抗体または脂肪酸脂質から選択される。

10

【0112】

「被検体」は、ヒトまたは限定されないが、イヌ、ネコ、ウマ、ヤギおよび霊長類、例えば、サルを含む脊椎哺乳動物を意味する。従って、本発明はまた、非ヒト被検体の疾患または状態を治療するために使用できる。例えば、癌は、伴侶動物（例えば、ネコおよびイヌ）における死亡の主要な原因の1つである。本発明のいくつかの実施形態では、被検体はヒトである。本開示では、用語の「被検体」および「患者」は互換的に使用され、同じ意味を有する。一般に、最大用量、すなわち、健全な医学的判断に従って最大安全用量が使用されるのが好ましい。

20

【0113】

本明細書で使用される場合、「有効量」は、医学的に目的の結果をもたらすのに十分な薬剤の投与量を意味する。有効量は、所望の転帰、治療または予防される特定の状態、治療される被検体の年齢および健康状態、状態の重症度、治療期間、同時または併用療法（もしあれば）の性質、具体的投与経路および健康開業医の知識と専門的意見の範囲内の類似の因子により変わり得る。「有効量」は、示した目的に関連して実験的に、定型業務により決定できる。癌の場合、有効量の薬剤は、癌細胞の数を減少させ；腫瘍の大きさを減少させ；癌細胞の周辺器官への浸潤を阻害し（すなわち、ある程度に遅くし、好ましくは止める）；腫瘍の転移を阻害し（すなわち、ある程度に遅くし、好ましくは止める）；腫瘍の成長をある程度阻害し；および／または障害に関連する症状の1つ以上をある程度緩和し得る。薬物が、既存の癌細胞の増殖を防止および／または死滅させ得る程度に応じて、薬物は、細胞増殖抑制性および／または細胞傷害性であり得る。癌療法に対し、インビボ有効性は、例えば、生存期間、無進行生存（PFS）期間、応答率（RR）、反応期間、および／または生活の質を評価することにより測定できる。

30

【0114】

用語の「過剰増殖性障害」、「増殖性疾患」、および「増殖性障害」は、本明細書では同じ意味で用いられ、インビトロまたはインビボに関係なく、腫瘍性または過形成性増殖などの望ましくない過剰のまたは異常な細胞の望ましくないまたは無制御の細胞増殖に関する。いくつかの実施形態では、増殖性疾患は、癌、腫瘍および／または腫瘍転移の位置に関係なく、癌または腫瘍疾患（良性または癌性を含む）および／または任意の腫瘍転移である。いくつかの実施形態では、増殖性疾患は、良性のまたは悪性腫瘍である。いくつかの実施形態では、増殖性疾患は、非癌性疾患である。いくつかの実施形態では、増殖性疾患は、過形成、線維症（特に、肺性であるが、腎線維症などの他の型の線維症も）、血管新生、乾癬、アテローム性動脈硬化症および血管形成後の狭窄または再狭窄などの血管中の平滑筋増殖などの過剰増殖状態である。

40

【0115】

「癌」、「腫瘍」、または「悪性腫瘍」は、同義の用語として使用され、細胞の無制御な、異常増殖、感染細胞の局所的または血流およびリンパ系を介した身体その他の部分への拡散（転移）能力を特徴とする多くの細胞型または疾患のいずれか、および／または

50

、これらの細胞型または疾患と関連することが知られている特徴的構造および／または分子的特色のいずれかを意味する。本明細書で使用される場合、「腫瘍」は、悪性または良性に関係なく、全ての新生細胞成長および増殖、ならびに全ての前癌および癌細胞および組織を意味する。「癌性腫瘍」、または「悪性細胞」は、特異的構造特性を有し、分化を欠き、浸潤および転移できる細胞と理解される。本明細書で提供される γ P T H F 組成物を用いて治療できる癌には、限定されないが、例えば、肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺がん、頭頸部癌、胃癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、およびメラノーマを含む非血液系腫瘍；および、例えば、白血病、リンパ腫およびその他のB細胞悪性腫瘍、骨髄腫およびその他の形質細胞異形成症または悪液質などの血液系腫瘍が挙げられる。いくつかの実施形態では、癌は下記からなる群より選択される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。

10

【0116】

γ P T H F 組成物を用いて治療され得る他の型の癌および腫瘍は、本明細書で記載されているか、あるいは、当該技術分野において既知である。用語の「癌」、「癌性」、「細胞増殖性障害」、「増殖性障害」、および「腫瘍」は、本明細書において参照される場合、相互排他的ではない。

【0117】

「治療すること」、「治療」、または「治療する」などの用語は、（a）診断される病態または障害の症状を治癒させる、遅くする、症状を小さくする、および／または進行を停止させる治療手段および（b）標的化疾患または状態の発生を防止するおよび／または遅らせる予防または防止手段の両方を意味する。従って、治療を必要としている被検体には、既にその癌、障害または疾患を有する被検体、癌または状態になる危険のある被検体、および感染または状態が予防されるべき被検体が含まれる。被検体は、よく知られた医学および診断技術を用いて、癌、感染性疾患、免疫系障害、過剰増殖性疾患、または本明細書で言及される別の疾患または障害「を有する危険がある」と特定されている。特定の実施形態では、被検体が、例えば、疾患または状態（例えば、癌、炎症および関節リウマチ）に関連する症状の全体的、部分的、または一時的寛解または除去を示す場合、被検体は、本明細書で提供される方法により成功裏に「治療されている」。特定の実施形態では、用語の「治療すること（treating）」または「治療（treatment）」または「治療する（treat）」は、患者により識別可能とは限らない、腫瘍の成長などの増殖性障害の少なくとも1つの測定可能な物理的パラメータの改善を意味する。他の実施形態では、用語の「治療すること（treating）」または「治療（treatment）」または「治療する（treat）」は、例えば、識別可能症状の安定化により物理的に、または、例えば、物理的パラメータの安定化により生理学的に、または両方により、増殖性障害の進行を抑制することを意味する。他の実施形態では、用語の「治療すること（treating）」または「治療（treatment）」または「治療する（treat）」は、サイズ、腫瘍細胞増殖または生存、または癌細胞数の減少または安定化を意味する。治療には、 γ P T H F 組成物を単独でまたは追加の治療薬と組み合わせて用いることができる。

20

30

40

【0118】

「被検体」、「患者」、および「動物」は、同義に使用され、ヒト患者および非ヒト霊長類などの哺乳動物、ならびにウサギ、ラット、マウスなどの実験動物およびその他の動物を意味する。動物には、全ての脊椎動物、例えば、ニワトリ、両生類、および爬虫類などの哺乳動物および非哺乳動物が含まれる。本明細書で使用される場合、「哺乳動物」は、限定されないが、ヒトおよび非ヒト霊長動物、例えば、チンパンジーおよび他の類人猿ならびにサル種；ウシ、ヒツジ、ブタ、ヤギ、およびウマなどの家畜動物；イヌおよびネコなどの飼育哺乳動物；マウス、ラット、モルモットなどの齧歯動物などの実験動物、および当該技術分野において既知のその他の哺乳綱のメンバーを含む、哺乳綱のいずれかの

50

メンバーを意味する。特定の実施形態では、被検体はヒトである。

【0119】

本明細書で使われる場合、「増殖性障害の治療」は、増殖性障害の被検体の腫瘍サイズの維持または低減、腫瘍縮小の誘導（部分的なまたは完全な）、腫瘍増殖の抑制、および／または寿命の延長を含む。一実施形態では、増殖性障害は固形腫瘍である。このような腫瘍には、例えば、肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺がん、頭頸部癌、胃癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、およびメラノーマが挙げられる。一実施形態では、増殖性障害は血液系腫瘍である。このような血液系腫瘍には、例えば、白血病、リンパ腫およびその他のB細胞悪性腫瘍、骨髄腫および他の形質細胞異形成症または悪液質が挙げられる。

10

【0120】

本明細書で使用される場合、用語の「自己免疫疾患」は、自己免疫反応から生じる障害として定義される。自己免疫疾患は、自己抗原に対する不適切で、過剰な反応の結果である。自己免疫疾患の例には、限定されないが、アジソン病、円形脱毛症、強直性脊椎炎、自己免疫性肝炎、自己免疫性耳下腺炎、クローン病、糖尿病（I型）、栄養障害型表皮水疱症、精巣上体炎、糸球体腎炎、グレーブス病、ギラン・バレー症候群、橋本病、溶血性貧血、全身性エリテマトーデス、多発性硬化症、重症筋無力症、尋常性天疱瘡、乾癬、リウマチ熱、炎症および関節リウマチ、サルコイドーシス、強皮症、シェーグレン症候群、脊椎関節症、甲状腺炎、血管炎、白斑症、粘液水腫、悪性貧血、および潰瘍性大腸炎が特に挙げられる。

20

【0121】

本明細書で使われる場合、用語の「治療薬」は、癌細胞または免疫細胞などの過剰増殖性細胞と相互作用し、それにより、細胞の増殖性状態を低減および／または細胞を死滅させることができる、薬剤またはその誘導体を意味する。治療薬の例には、限定されないが、化学療法剤、細胞傷害薬、白金系薬剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン）、タキサン（例えば、タキソール（登録商標））、エトポシド、アルキル化剤（例えば、シクロホスファミド、イホスファミド）、代謝拮抗薬（例えば、テトラヒドロ葉酸（THF））、5-フルオロウラシル、ゲムシタビン、またはその誘導体）、抗腫瘍抗生物質（例えば、マイトマイシン、ドキソルビシン）、植物由来抗腫瘍薬剤（例えば、ビンクリスチン、ビンデシン、タキソール）が挙げられる。このような薬剤には、限定されないが、抗癌剤トリメトレキサート、テモゾロミド、テトラヒドロ葉酸、S-（4-ニトロベンジル）-6-チオイノシン（NBMPR）、6-ベンジグアニジン（6-BG）、ビス-クロロニトロソ尿素（BCNU）およびカンプトテシン、またはそれらの任意の治療的誘導体がさらに挙げられる。本開示の方法による使用に好適し得る治療薬のさらなる例には、限定されないが、抗再狭窄薬、促進性増殖剤または抗増殖剤、抗炎症薬、抗新生物薬、抗有糸分裂性薬、抗血小板作用薬、抗凝固剤、抗フィブリン薬、抗トロンビン薬、細胞増殖抑制性薬、抗生物質およびその他の抗感染薬、抗酵素薬、抗代謝薬、血管新生薬、細胞保護薬、アンギオテンシン変換酵素（ACE）阻害剤、アンギオテンシンII受容体拮抗剤および／または心保護薬が挙げられる。「治療薬」はまた、上記薬剤の塩、酸、および遊離塩基型を意味する。

30

40

【0122】

本明細書で使用される場合、「化学療法剤」という用語は、癌療法との関連で使用される場合、癌細胞の死亡をもたらすまたは癌細胞の増殖または拡散を阻害する任意の薬剤を意味する。このような化学療法剤の例には、アルキル化剤、抗生物質、代謝拮抗薬、植物由来薬、およびホルモンが挙げられる。いくつかの実施形態では、開示されたγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物は、化学療法薬との併用で使用される。いくつかの実施形態では、化学療法薬は5-フルオロウラシルである。いくつかの実施形態では、化学療法剤はシスプラチンである。いくつかの実施形態では、化学療法剤はカルボプラチンである。いくつかの実施形態では、化学療法剤はオキサリプラチンである。他の実施形態で

50

は、化学療法剤は、ゲムシタピンである。他の実施形態では、化学療法剤は、ドキソルビシンである。特定の実施形態では、化学療法薬はピリミジン類似体（例えば、5-フルオロウラシル（5-FU）などのフルオロピリミジン（fluorpyrimidine））である。

【0123】

本明細書で使われる場合、用語の「代謝拮抗薬」は、代謝物またはそのプロドラッグの利用を抑制する治療薬を意味する。代謝拮抗薬の例には、5-FUおよび5-FU代謝産物および／またはプロドラッグ、例えば5-FUMP、5-FUDP、5-FdUMP、カペシタピン、テガフル5-フルオロデオキシウリジンリン酸塩；ならびにシタラビン、およびシタラビンプロドラッグ、例えばネララビン、5-アザシチジン、ゲムシタピン、メルカプトプリン、チオグアニン、アザチオプリン、アデノシン、ペントスタチン、エリトロヒドロキシノニルアデニン、およびクラドリピンが挙げられる。本開示方法を実施するために有用な代謝拮抗薬には、プリンまたはピリミジン類似体を含むヌクレオシド類似体が挙げられる。いくつかの実施形態では、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物は、下記からなる群より選択される代謝拮抗薬と組み合わせて使用される：フルオロピリミジン、5-フルオロウラシル、5-フルオロ-1-（オキソラン-2-イル）ピリミジン-2，4-ジオン、5-フルオロ-2'-デオキシシチジン、シタラビン、ゲムシタピン、トロキサシタピン、デシタピン、アザシチジン、プソイドイソシチジン、ゼブラリン、アンシタピン、ファザラビン、6-アザシチジン、カペシタピン、N4-オクタデシルシタラビン、エライジン酸シタラビン、フルダラビン、クラドリピン、クロファラビン、ネララビン、フォロデシン、およびペントスタチン、またはこれらの誘導体。一例では、ヌクレオシド類似体は、アデノシンデアミナーゼまたはシチジンデアミナーゼであるヌクレオシドデアミナーゼの基質である。いくつかの例では、ヌクレオシド類似体は、フルダラビン、シタラビン、ゲムシタピン、デシタピンおよびアザシチジンまたはそれらの誘導体から選択される。いくつかの実施例では、ヌクレオシド類似体は下記から選択される：5-フルオロウラシルのN3-アルキル化類似体、1，4-オキサヘテロエパン（oxaheteroepane）部分を有する5-フルオロウラシル誘導体、5-フルオロウラシルおよびヌクレオシド類似体、cis-およびtrans-5-フルオロ-5，6-ジヒドロ-6-アルコキシウラシル、シクロペンタン5-フルオロウラシル類似体、A-OT-フルオロウラシル、N4-トリメトキシベンゾイル-5'-デオキシ-5-フルオロ-シチジンおよび5'-デオキシ-5-フルオロウリジン、1-ヘキシルカルバモイル-5-フルオロウラシル、B-3839、ウラシル-1-（2-テトラヒドロフリル）-5-フルオロウラシル、1-（2'-デオキシ-2'-フルオロ-β-D-アラビノフラノシル）-5-フルオロウラシル、ドキシフルリジン、5'-デオキシ-5-フルオロウリジン、1-アセチル-3-O-トルオイル-5-フルオロウラシル、5-フルオロウラシル-m-ホルミルベンゼン-スルホネート（JP55059173）、N'-（2-フラニジル）-5-フルオロウラシル（JP53149985）および1-（2-テトラヒドロフリル）-5-フルオロウラシルまたはその誘導体。特定の実施形態では、代謝拮抗薬はピリミジン類似体またはピリミジン類似体プロドラッグ（例えば、フルオロピリミジン（fluorpyrimidine））である。ある一定の実施形態では、代謝拮抗薬は5-フルオロウラシルである。

【0124】

本明細書で使用される場合、「タキサン」は、微小管安定性、形成および／または機能を妨害するまたは破壊する抗癌剤である。タキサン剤には、パクリタキセルおよびドセタキセルならびにそれらの誘導体が挙げられ、誘導体は、微小管に対してそれらが由来するタキサンと同じ作用モードで機能する。特定の実施形態では、タキサンは、パクリタキセルまたはドセタキセル、または薬学的に許容可能なパクリタキセルまたはドセタキセルの塩、酸または誘導体である。特定の実施形態では、タキサンは、パクリタキセル（タキソール（登録商標））、ドセタキセル（タキソテール（登録商標））、アルブミン結合パクリタキセル（nab-パクリタキセル；アブラキサン（登録商標））、DHA-パクリタ

10

20

30

40

50

キセル、またはPG-パクリタキセルである。

【0125】

用語の「薬学的に許容される担体」は、医薬製剤中の有効成分以外の、被検体に対し無毒性の成分を意味する。薬学的に許容される担体には、限定されないが、緩衝液、担体、賦形剤、安定化剤、希釈剤、または保存剤が挙げられる。薬学的に許容される担体には、例えば、1つ以上の適合性のある、ヒトまたはその他の被検体への投与に好適する固体または液体フィラー、希釈剤または封入物質が挙げられる。

【0126】

本開示は一般に、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 (γ PTHF) 組成物ならびに、癌などの過剰増殖性疾患、関節リウマチなどの免疫系の障害、ならびにHIVおよびマラリアなどの感染性疾患を含む疾患を治療するために組成物を製造および使用方法に関する。 γ ポリグルタミン酸化組成物はまた、化学療法薬（例えば、5-フルオロウラシル）などの1つ以上の治療薬との併用療法において、治療薬（複数可）の有効性を増強するため、または、「化学防護剤」として（例えば、メトトレキサートなどの葉酸代謝拮抗薬との組み合わせで）治療薬（複数可）と関連する毒性副作用を低減するための用途を有する。

【0127】

いくつかの実施形態では、本開示は、下記を提供する：

[1] γ PTHFを含む組成物；

[2] γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は下記からなる群より選択される、[1]の組成物；

(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；

(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；

(c) ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メテニル-THF）；

(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；

(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸）；

(f) ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチレン-THF）；および

(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）；

[3] γ PTHFは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ カルボキシル基結合を有するグルタミル基を含む、[1]または[2]の組成物；

[4] γ PTHFは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸である、[1] - [3]のいずれかによる組成物；

[5] γ PTHFは γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸である、[1] - [3]のいずれかによる組成物；

[6] γ PTHFは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸である、[1] - [3]のいずれかによる組成物；

[7]

(a) γ PTHFは2つ以上の、 γ カルボキシル基結合を有するL型のグルタミル基を含む、

(b) γ PTHFのグルタミル基の各々はL型であり、 γ カルボキシル基結合を有する、

(c) γ PTHFのグルタミル基の少なくとも1つはD型であり、 γ カルボキシル基結合を有する、

(d) テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ PTHFのグルタミル基の各々はD型で

10

20

30

40

50

あり、 γ カルボキシル基結合を有する、または

(e) γ P T H Fは、2つ以上の、L型のグルタミル基および少なくとも1つの、 γ カルボキシル基結合を有するD型のグルタミル基を含む、[1] – [6]のいずれかによる組成物；

[8] (a) グルタミル基の各々はL型であり、 γ カルボキシル基結合を有する、または (b) テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外のグルタミル基の各々はD型であり、グルタミル (g l u y t a m y l) 基の各々は γ カルボキシル基結合を有する、[4]による組成物；

[9] (a) グルタミル基の各々はL型であり、 γ カルボキシル基結合を有する、または (b) テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外のグルタミル基の各々はD型であり、グルタミル (g l u y t a m y l) 基の各々は γ カルボキシル基結合を有する、[5]の組成物；

10

[10] (a) グルタミル基の各々はL型であり、 γ カルボキシル基結合を有する、または (b) テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外のグルタミル基の各々はD型であり、グルタミル (g l u y t a m y l) 基の各々は γ カルボキシル基結合を有する、[6]の組成物；

[11] γ P T H Fは生理的条件下で、F G P Sによりポリグルタミン酸化可能であり、および／または、ポリグルタミン酸化T H FはT H Fよりも低い、肝細胞による取り込み率 (< 30%) を有する、[1] – [10]のいずれかによる組成物；

[12] [1] – [11]のいずれかによる γ P T H Fを含むリポソーム組成物 (L p – γ P T H F) ；

20

[13] γ P T H Fは2つ以上のL型のグルタミル基を含む、[12]によるL p – γ P T H F組成物；

[14] γ P T H Fのグルタミル基の各々はL型である、[12]または[13]によるL p – γ P T H F組成物；

[15] γ P T H Fのグルタミル基の少なくとも1つはD型である、[12]または[13]のL p – γ P T H F組成物；

[16] リポソームは、1 – 10の、 γ カルボキシル基結合を有するグルタミル基を含む γ P T H Fを含む、[12] – [15]のいずれかによるL p – γ P T H F組成物；

[17] リポソームは、4、5、2 – 10、4 – 6、または5超のグルタミル基を含有する γ P T H Fを含む、[12] – [16]のいずれかによるL p – γ P T H F組成物；

30

[18] リポソームは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む、[12] – [17]のいずれかによるL p – γ P T H F組成物；

[19] リポソームは γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む、[12] – [17]のいずれかによるL p – γ P T H F組成物；

[20] リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む、[12] – [17]のいずれかによるL p – γ P T H F組成物；

[21] リポソームはペグ化されていない (P γ L p – γ P T H F)、[12] – [20]のいずれかによるL p – γ P T H F組成物；

[22] リポソームはペグ化されている (P γ L p – γ P T H F)、[12] – [20]のいずれかによるL p – γ P T H F組成物；

40

[23] リポソームは少なくとも1%重量／重量 (w／w) の γ P T H Fを含み、または、L p – γ P T H Fを調製するプロセス中、 γ ポリグルタミン酸化T H Fの開始材料の少なくとも1%がL p – γ P T H F内に封入(捕捉)される、[12] – [22]のいずれかによるL p – γ P T H F組成物；

[24] リポソームは20 nm～500 nmの範囲の直径を有する、[12] – [23]のいずれかによるL p – γ P T H F組成物；

[25] リポソームは20 nm～200 nmの範囲の直径を有する、[12] – [24]のいずれかによるL p – γ P T H F組成物；

[26] リポソームは80 nm～120 nmの範囲の直径を有する、[12] – [25]のいずれかによるL p – γ P T H F組成物；

50

〔27〕リボソームはリボソーム成分から形成される、〔12〕－〔26〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔28〕リボソーム成分は、アニオン性脂質および中性脂質の少なくとも1つを含む、〔27〕によるLp-γPTHF組成物；

〔29〕リボソーム成分は下記からなる群より選択される少なくとも1つを含む、〔27〕または〔28〕によるLp-γPTHF組成物：DSPE；DSPE-PEG；DSP-PEG-マレイミド；HSPC；HSPC-PEG；コレステロール；コレステロール-PEG；およびコレステロール-マレイミド；

〔30〕リボソーム成分は下記からなる群より選択される少なくとも1つを含む、〔27〕－〔29〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物：DSPE；DSPE-PEG；DSPE-PEG-FITC；DSPE-PEG-マレイミド；コレステロール；およびHSPC；

10

〔31〕1つ以上のリボソーム成分は、立体安定剤をさらに含む、〔27〕－〔30〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔32〕立体安定剤は、下記からなる群より選択される少なくとも1つである、〔31〕によるLp-γPTHF組成物：ポリエチレングリコール（PEG）；ポリ-L-リジン（PLL）；モノシアロガングリオシド（GM1）；ポリ（ビニルピロリドン）（PVP）；ポリ（アクリルアミド）（PAA）；ポリ（2-メチル-2-オキサゾリン）；ポリ（2-エチル-2-オキサゾリン）；ホスファチジルポリグリセロール；ポリ〔N-（2-ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド〕；両親媒性ポリ-N-ビニルピロリドン；L-アミノ酸系ポリマー；オリゴグリセリン、ポリエチレングリコールおよびポリプロピレンオキシド含有コポリマー、ポロキサマー188、ならびにポリビニルアルコール；

20

〔33〕立体安定剤はPEGであり、PEGは200～5000ダルトンの数平均分子量（Mn）を有する、〔32〕によるLp-γPTHF組成物；

〔34〕リボソームはアニオン性または中性である、〔12〕－〔33〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔35〕リボソームは、ゼロ以下であるゼータ電位を有する、〔12〕－〔33〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔36〕リボソームは、0～-150mVであるゼータ電位を有する、〔12〕－〔33〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

30

〔37〕リボソームは、-30～-50mVであるゼータ電位を有する、〔12〕－〔33〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔38〕リボソームはカチオン性である、〔12〕－〔33〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔39〕リボソームはγPTHFおよび水性の、薬学的に許容される担体を含む内部空間を有する、〔12〕－〔38〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔40〕薬学的に許容される担体は、デキストロース、マンニトール、グリセリン、塩化カリウム、塩化ナトリウムなどの等張化剤を、1%を超える濃度で含む、〔39〕のLp-γPTHF組成物；

〔41〕水性の、薬学的に許容される担体はトレハロースである、〔39〕のLp-γPTHF組成物；

40

〔42〕薬学的に許容される担体は、1%～50%のトレハロースを含む、〔41〕のLp-γPTHF組成物；

〔43〕薬学的に許容される担体は1%～50%デキストロース溶液を含む、〔39〕－〔42〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔44〕リボソームの内部空間は、HEPES緩衝液に懸濁された5%デキストロースを含む、〔39〕－〔43〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔45〕薬学的に許容される担体は、1～200mMの濃度および2～8のpHの、HEPES緩衝生理食塩水（HBS）または類似物などの緩衝液を含む、〔39〕－〔44〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

50

〔46〕薬学的に許容される担体は、50mM～500mMの総濃度の酢酸ナトリウムおよび酢酸カルシウムを含む、〔39〕－〔45〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔47〕リボソームの内部空間は5－8のpHまたは6－7のpH、またはそれらの間の任意の範囲を有する、〔12〕－〔46〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔48〕リボソームは500,000未満または200,000未満のγPTHF分子を含む、〔12〕－〔47〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔49〕リボソームは10～100,000のγPTHF分子、またはその間の任意の範囲を含む、〔12〕－〔48〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔50〕ターゲティング部分をさらに含み、ターゲティング部分は、目的の標的細胞上の表面抗原に対して特異的親和性を有する、〔12〕－〔49〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

10

〔51〕ターゲティング部分はPEGおよびリボソームの外表面の一方または両方に付着され、任意で、ターゲティング部分は、共有結合によりPEGおよびリボソームの外表面の一方または両方に付着される、〔50〕によるLp-γPTHF組成物；

〔52〕ターゲティング部分はポリペプチドである、〔50〕または〔51〕のLp-γPTHF組成物；

〔53〕ターゲティング部分は抗体または抗体の抗原結合フラグメントである、〔50〕－〔52〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔54〕ターゲティング部分が、BIA CORE（登録商標）分析で測定して、 $0.5 \times 10^{-10} \sim 10 \times 10^{-6}$ の範囲の平衡解離定数（Kd）で表面抗原に結合する、〔50〕－〔53〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

20

〔55〕ターゲティング部分は下記からなる群より選択される1つ以上の葉酸受容体の特異的に結合する、〔50〕－〔54〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物：葉酸受容体α（FR-α）、葉酸受容体β（FR-β）、および葉酸受容体δ（FR-δ）；

〔56〕ターゲティング部分は、下記からなる群より選択される1つ以上を含む、〔50〕－〔55〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物：抗体、ヒト化抗体、抗体の抗原結合フラグメント、単鎖抗体、シングルドメイン抗体、二重特異性抗体、合成抗体、ペグ化抗体、および多量体抗体；

〔57〕各ペグ化リボソームは1～1000または30－200のターゲティング部分を含む、〔50〕－〔56〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

30

〔58〕免疫刺激剤、検出可能マーカーおよびマレイミドのうちの1つ以上をさらに含み、免疫刺激剤、検出可能マーカーまたはマレイミドは、前記PEGまたはリボソームの外表面に付着される、〔39〕－〔57〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔59〕免疫刺激剤は、下記からなる群より選択される少なくとも1つである、〔58〕のLp-γPTHF組成物：タンパク質免疫刺激剤；核酸免疫刺激剤；化学的免疫刺激剤；ハプテン；およびアジュバント；

〔60〕免疫刺激剤は、下記からなる群より選択される少なくとも1つである、〔58〕または〔59〕のLp-γPTHF組成物：フルオレセイン；フルオレセインイソチオシアネート（FITC）；DNP；βグルカン；β-1,3-グルカン；β-1,6-グルカン；レゾルビン（例えば、Dn-6DPAもしくはDn-3DPAなどのレゾルビンD、レゾルビンE、またはTシリーズレゾルビン）；ならびに、酸化型低密度リポタンパク質（例えば、OXPAC、PGPC）、およびエリトラン脂質（例えば、E5564）などのトール様受容体（TLR）調節薬；

40

〔61〕免疫刺激剤および検出可能マーカーは同じである、〔58〕－〔60〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔62〕ハプテンをさらに含む、〔58〕－〔61〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔63〕ハプテンはフルオレセインまたはβ1,6-グルカンの1つ以上を含む、〔62〕のLp-γPTHF組成物；

50

〔64〕マンニトール；トレハロース；ソルビトール；およびスクロースからなる群より選択される少なくとも1つの凍結保護物質をさらに含む、〔12〕－〔63〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔65〕〔1〕－〔64〕のいずれかによる組成物を含む標的化組成物；

〔66〕〔1〕－〔49〕のいずれかによる組成物を含む非標的化組成物；

〔67〕カルボプラチンおよび／またはペムブロリズマブをさらに含む、〔12〕－〔66〕のいずれかによるLp-γPTHF組成物；

〔68〕〔12〕－〔67〕のいずれかによるリポソームγPTHF組成物を含む医薬組成物；

〔69〕〔1〕－〔7〕のいずれかによるγPTHF組成物を含む医薬組成物；

10

〔70〕疾患の治療において使用するための、〔1〕－〔69〕のいずれかの組成物；

〔71〕疾患の治療のための医薬品の製造における、および／または、化学療法薬（例えば、5-フルオロウラシル）などの1つ以上の治療薬との併用療法において、治療薬（複数可）の有効性を増強するため、または、「化学防護剤」として（例えば、メトトレキサートなどの葉酸代謝拮抗薬との組み合わせで）治療薬（複数可）と関連する毒性副作用を低減するための使用のための、〔1〕－〔70〕のいずれかの組成物の使用；

〔72〕そのような治療または防止を必要とする被検体において疾患または化学物質誘導毒性を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法であって、〔1〕－〔70〕のいずれかの組成物を被検体に投与することを含む方法；

〔73〕そのような治療または防止を必要とする被検体において疾患または化学物質誘導毒性を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法であって、〔12〕－〔69〕のいずれかのリポソームγPTHF組成物を被検体に投与することを含む方法；

20

〔74〕過剰増殖性細胞を〔1〕－〔69〕のいずれかの組成物と接触させることを含む、過剰増殖性細胞を死滅させる方法；

〔75〕過剰増殖性細胞を〔12〕－〔69〕のいずれかのリポソームγPTHF組成物と接触させることを含む、過剰増殖性細胞を死滅させる方法；

〔76〕過剰増殖性細胞は、癌細胞、哺乳類細胞、および／またはヒト細胞である、〔74〕または〔75〕の方法；

〔77〕有効量の〔1〕－〔69〕のいずれかの組成物を癌を有するまたは有するリスクのある被験体に送達することを含む、癌を治療するための方法；

30

〔78〕有効量の、〔12〕－〔68〕のいずれかのリポソームγPTHF組成物を、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法；

〔79〕組成物は癌を治療または防止するために投与され、癌は下記からなる群より選択される、〔77〕または〔78〕の方法：例えば、肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、およびメラノーマなどを含む非血液系腫瘍；および例えば、白血病、リンパ腫および他のB細胞悪性腫瘍、骨髄腫および他の形質細胞異常増殖症などの血液系腫瘍；

〔80〕組成物は癌を治療または防止するために投与され、癌は下記からなる群より選択されるメンバーである、〔77〕または〔78〕の方法：肺癌、乳癌、結腸癌、膵臓癌、胃の癌、膀胱癌、頭頸部癌、卵巣癌、および子宮頸癌；

40

〔81〕組成物は癌を治療または防止するために投与され、癌は下記からなる群より選択されるメンバーである、〔77〕または〔78〕の方法：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌；

〔82〕組成物は、結腸直腸癌を治療または防止するために投与される、〔77〕または〔78〕の方法；

〔83〕有効量の、〔50〕－〔66〕のいずれかのLp-γPTHF組成物を、ターゲティング部分により結合される葉酸受容体をその表面に発現する癌細胞を有するまたは有

50

するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療する（例えば、治療または防止する）ための方法；

〔84〕有効量の、〔1〕－〔69〕のいずれかの組成物を、癌療法を受けている、または受けたことがある被検体に投与することを含む、維持療法；

〔85〕有効量の、〔12〕－〔69〕のいずれかのリポソーム γ P T H F 組成物を、癌療法を受けている、または受けたことがある被検体に投与することを含む、維持療法；

〔86〕有効量の、〔1〕－〔69〕のいずれかの組成物を、免疫系の障害を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含み、任意で、免疫系の障害は、下記から選択される、免疫系の障害を治療するための方法：炎症（例えば、急性および慢性）、全身性炎症、関節リウマチ、炎症性腸疾患（I B D）、クローン病、皮膚筋炎／多発性筋炎、全身性エリテマトーデス、および高安病、ならびに乾癬；

10

〔87〕有効量の、〔8〕－〔69〕のいずれかのリポソーム γ P T H F 組成物を、免疫系の障害を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含み、任意で、免疫系の障害は、下記から選択される、免疫系の障害を治療するための方法：炎症（例えば、急性および慢性）、全身性炎症、関節リウマチ、炎症性腸疾患（I B D）、クローン病、皮膚筋炎／多発性筋炎、全身性エリテマトーデス、および高安病、ならびに乾癬；

〔88〕下記の、治療するための方法：

（a）有効量の、〔1〕－〔59〕のいずれかによる組成物を、白血球減少症を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、白血球減少症を治療するための方法；

20

（b）有効量の、〔1〕－〔69〕のいずれかによる組成物を、感染性疾患を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、感染性疾患を治療するための方法；

（c）有効量の、〔1〕－〔59〕のいずれかによる組成物を、感染性疾患、心血管疾患、または別の疾患を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含み、疾患は下記から選択されるメンバーである、心血管疾患または代謝疾患を治療するための方法：アテローム性動脈硬化、心血管疾患（C V D）、冠動脈疾患、心筋梗塞、脳卒中、メタボリックシンドローム、妊娠性絨毛性疾患、および子宮外妊娠；

（d）有効量の、〔1〕－〔59〕のいずれかによる組成物を、自己免疫疾患を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、自己免疫疾患を治療するための方法；

30

（e）有効量の、〔1〕－〔59〕のいずれかによる組成物を、関節リウマチを有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、関節リウマチを治療するための方法；

（f）有効量の、〔1〕－〔59〕のいずれかによる組成物を、炎症を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含み、任意で炎症は急性、慢性、および／または全身性炎症である、炎症状態を治療するための方法；または

（g）有効量の、〔1〕－〔59〕のいずれかによる組成物を、皮膚疾患を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含み、任意で皮膚疾患は乾癬である、皮膚疾患を治療するための方法；

〔89〕有効量の、〔12〕－〔69〕のいずれかのリポソーム γ P T H F 組成物を、感染性疾患を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、感染性疾患を治療するための方法；

40

〔90〕 γ P T H F を、葉酸受容体をその表面に発現している腫瘍に送達する方法であって、下記を含む方法：〔1〕－〔69〕のいずれかの L p - γ P T H F 組成物を腫瘍を有する被検体に、治療的有效量の γ P T H F を腫瘍に送達する量で投与すること；

〔91〕〔12〕－〔69〕のいずれかのリポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を含む γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を調製する方法であって、下記を含む方法：溶液中でリポソーム成分および γ ポリグルタミン酸化葉酸代謝拮抗薬を含む混合物を形成すること；溶液中で混合物をホモジナイズしてリポソームを形成すること；および、混合物を処理して、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有するリ

50

ポソームを形成すること；

〔92〕〔12〕－〔69〕のいずれかのリポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を含む γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を調製する方法であって、下記を含む方法：溶液中でリポソーム成分および γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む混合物を形成すること；および、混合物を処理して、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有するリポソームを形成すること；

〔93〕混合物を処理することは、溶液中で混合物をホモジナイズしてリポソームを形成することを含む、〔92〕の方法、

〔94〕〔50〕－〔69〕のいずれかの組成物を調製する方法であって、下記ステップを含み：溶液中でリポソーム成分および γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む混合物を形成するステップ；溶液中で混合物をホモジナイズしてリポソームを形成するステップ；混合物を処理して、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を捕捉および／または封入するリポソームを形成するステップ；およびリポソームの表面上にターゲティング部分を提供するステップ、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α （FR- α ）、葉酸受容体 β （FR- β ）および葉酸受容体 δ （FR- δ ）の少なくとも1つに対し特異的親和性を有する、方法；

〔95〕〔50〕－〔69〕のいずれかの組成物を調製する方法であって、下記ステップを含み：溶液中でリポソーム成分および γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む混合物を形成するステップ；混合物を処理して、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を捕捉および／または封入するリポソームを形成するステップ；およびリポソームの表面上にターゲティング部分を提供するステップ、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α （FR- α ）、葉酸受容体 β （FR- β ）および葉酸受容体 δ （FR- δ ）の少なくとも1つに対し特異的親和性を有する、方法；

〔96〕処理ステップは、溶液中で混合物をホモジナイズしてリポソームを形成することを含む、〔95〕の方法、

〔97〕処理ステップは下記の1つ以上のステップを含む、〔92〕による方法：薄膜水和、押し出し、インライン混合、エタノール注入技術、凍結融解技術、逆相蒸発、動的な高圧マイクロ流動化、マイクロ流体混合、二重エマルジョン、凍結乾燥二重エマルジョン、3Dプリンティング、膜コンタクター法、および攪拌；および／または

〔98〕前記処理ステップは押し出し、高圧マイクロ流動化、および／または超音波処理の1つ以上のステップによりリポソームのサイズを変更する1つ以上のステップを含む、

〔95〕～〔97〕のいずれかによる方法；および／または

〔99〕 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸の開始材料の少なくとも1%がリポソームに封入または捕捉される、〔91〕～〔98〕のいずれかによる方法。

〔0128〕

II. γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（ γ PTHF）

一般に、本開示は、 γ PTHF（ γ PTHF）組成物に関する。 γ PTHF組成物は、 γ カルボキシル基結合を有する少なくとも1個のグルタミル基を含む。これらは、テトラヒドロ葉酸療法中に細胞中で酵素ホリルポリ γ グルタミン酸シンターゼ（FPGS）により作製されるL- γ ポリグルタミン酸化型のテトラヒドロ葉酸（L γ 1PTHF）とは構造的に異なる。

〔0129〕

いくつかの実施形態では、 γ PTHF組成物は、2-20、2-15、2-10、2-5、または5超のグルタミル基（テトラヒドロ葉酸中のグルタミル基を含む）を含有する。いくつかの実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ PTHF中のグルタミル基の各々は、 γ 結合を有する。いくつかの実施形態では、 γ PTHF中の、2つ以上のグルタミル基は、 γ 結合（gamma linkage）を有する。いくつかの実施形態では、 γ PTHF中のグルタミル基の各々はL型である。いくつかの実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ PTHF中のグルタミル基の各々はD型である。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは2つ以上のL型のグルタミル基および1つ以

10

20

30

40

50

上のD型のグルタミル基を含む。

【0130】

いくつかの実施形態では、 γ P T H Fはジグルタミン酸化される。すなわち、 γ P T H Fはテトラヒドロ葉酸のグルタミル基に加えて1つの γ -グルタミル基を含有する(γ T H F - P G₁)。いくつかの実施形態では、 γ ジグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ ジグルタミン酸化T H FはD型のグルタミル基を含む。

【0131】

いくつかの実施形態では、 γ P T H Fはトリグルタミン酸化される。すなわち、 γ P T H Fは、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に加えて2つの γ -グルタミル基を含有する(γ T H F - P G₂)。いくつかの実施形態では、 γ トリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ トリグルタミン酸化T H FはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ -トリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、 γ -トリグルタミン酸化T H FはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0132】

いくつかの実施形態では、 γ P T H Fはテトラグルタミン酸化され、よって、テトラヒドロ葉酸中の γ -グルタミル基に加えて3つの γ -グルタミル基を含有する(γ T H F - P G₃)。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化T H Fは2つ以上のL型の γ -グルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸の γ -グルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化T H FはD型の γ -グルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化T H Fは、2つのD型の γ -グルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、テトラグルタミン酸化T H Fは、D型の γ -グルタミル基および2つ以上のL型の γ -グルタミル基を含む。

【0133】

いくつかの実施形態では、 γ P T H Fはペンタグルタミン酸化(γ T H F - P G₄)され、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された4つの γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化T H Fは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化T H FはD型のグルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化T H Fは2または3つの、D型の γ -グルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸の γ -グルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、ペンタグルタミン酸化T H Fは、D型の γ -グルタミル基および2つ以上のL型の γ -グルタミル基を含む。

【0134】

いくつかの実施形態では、 γ P T H Fはヘキサグルタミン酸化され(γ T H F - P G₅)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された5つの γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化T H Fは、2つ以上のL型の γ -グルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化T H FはD型の γ -グルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化T H Fは、2、3、4、または5つの、D型の γ -グルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々、はD型である。追加の実施形態では、ヘキサグルタミン酸化T H FはD型の γ -グルタミル基および2つ以上のL型の γ -グルタミル基を含む。

【0135】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F はヘプタグルタミン酸化され (γ T H F - P G₆)、よって、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された6つの γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ ヘプタグルタミン酸化T H Fは、2つ以上のL型の γ -グルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘプタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸の γ -グルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ ヘプタグルタミン酸化T H FはD型の γ -グルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化T H Fは2、3、4、5、または6つの、D型の γ -グルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ ヘプタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸の γ -グルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、ヘプタグルタミン酸化T H FはD型の γ -グルタミル基および2つ以上のL型の γ -グルタミル基を含む。

10

【0136】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F はオクタグルタミン酸化され (γ T H F - P G₇)、よって、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された7つの γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ オクタグルタミン酸化T H Fは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ オクタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ オクタグルタミン酸化T H FはD型のグルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、 γ オクタグルタミン酸化T H Fは2、3、4、5、6、または7つの、D型の γ -グルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ オクタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、オクタグルタミン酸化T H FはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

20

【0137】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F はノナグルタミン酸化され (γ T H F - P G₈)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された8つの γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ ノナグルタミン酸化T H Fは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ノナグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ ノナグルタミン酸化T H FはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ ノナグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、ノナグルタミン酸化T H FはD型の γ -グルタミル基および2つ以上のL型の γ -グルタミル基を含む。

30

【0138】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F はデカグルタミン酸化され (γ T H F - P G₉)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された9つの γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ デカグルタミン酸化T H Fは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ デカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ デカグルタミン酸化T H FはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ デカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、デカグルタミン酸化T H FはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

40

【0139】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F はウンデカグルタミン酸化され (γ T H F - P G₁₀)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された10個の γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ ウンデカグルタミン酸化T H Fは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ウンデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ ウンデカグルタミン酸化T H FはDグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ ウンデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型であ

50

る。追加の実施形態では、ウンデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0140】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFはドデカグルタミン酸化され(γ THF-PG₁₁)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された11個の γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ ドデカグルタミン酸化THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ドデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ ドデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ ドデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、ドデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

10

【0141】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFはトリスカイデカグルタミン酸化され(γ THF-PG₁₂)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された12個の γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ トリスカイデカグルタミン酸化THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ トリスカイデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ トリスカイデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ トリスカイデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、トリスカイデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

20

【0142】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFはテトラデカグルタミン酸化され(γ THF-PG₁₃)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された13個の γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ テトラデカグルタミン酸化THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ テトラデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ テトラデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ テトラデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、テトラデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

30

【0143】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFはペンタデカグルタミン酸化され(γ THF-PG₁₄)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された14個の γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ ペンタデカグルタミン酸化THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ペンタデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ ペンタデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ ペンタデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、ペンタデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

40

【0144】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFはヘキサデカグルタミン酸化され(γ THF-PG₁₅)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された15個の γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ ヘキサデカグルタミン酸化THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘキサデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ ヘキサデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ ヘキサデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の

50

各々はD型である。追加の実施形態では、ヘキサデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0145】

他の実施形態では、 γ PTHFはヘプタデカグルタミン酸化され(γ THF-PG₁₆)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された16個の γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ ヘプタデカグルタミン酸化THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ ヘプタデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ ヘプタデカグルタミン酸化THFはDグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ ヘプタデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、ヘプタデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

10

【0146】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFはオクタデカグルタミン酸化され(γ THF-PG₁₇)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された17個の γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ オクタデカグルタミン酸化THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ オクタデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ オクタデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ オクタデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、オクタデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

20

【0147】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFはエネアデカグルタミン酸化され(γ THF-PG₁₈)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された18個の γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ エネアデカグルタミン酸化THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ エネアデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ エネアデカグルタミン酸化THFはDグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ エネアデカグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、エネアデカグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

30

【0148】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFはイコシグルタミン酸化され(γ THF-PG₁₉)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された19個の γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ イコシグルタミン酸化THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ イコシグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ イコシグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ イコシグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、イコシグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

40

【0149】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFはイコシカイエナグルタミン酸化され(γ THF-PG₂₀)、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基に付着された20個の γ -グルタミル基の鎖を含有する。いくつかの実施形態では、 γ イコシカイエナグルタミン酸化THFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、 γ イコシカイエナグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、 γ イコシカイエナグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ イコシカイエナグルタミン酸化テトラヒドロ

50

葉酸のグルタミル基の各々はD型である。追加の実施形態では、イコシカイエナグルタミン酸化THFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。

【0150】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFはテトラヒドロ葉酸に付着された4-7個のグルタミル基の鎖を含有し（すなわち、 γ THF-PGn、式中、 $n=4-7$ ）、4-7個の付着されたグルタミル基の各々は γ 結合を有する。いくつかの実施形態では、4-7個の付着されたグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、4-7個の付着されたグルタミル基の各々はD型である。他の実施形態では、4-7個の付着されたグルタミル基はL型およびD型である。

【0151】

1つの実施形態では、 γ PTHFはテトラグルタミン酸化され、テトラヒドロ葉酸に付着されたポリグルタミン酸鎖中の3つのグルタミル基の各々は γ 結合を含有する。いくつかの実施形態では、4つのグルタミル基の各々はL型である。いくつかの実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸中のグルタミル基の各々はD型である。他の実施形態では、 γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸中の少なくとも2つのグルタミル基はL型であり、少なくとも1つのグルタミル基はD型である。

【0152】

1つの実施形態では、 γ PTHFはペンタグルタミン酸化され、テトラヒドロ葉酸に付着されたポリグルタミン酸鎖中の4つのグルタミル基の各々は γ 結合を含有する。いくつかの実施形態では、4つのグルタミル基の各々はL型である。いくつかの実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸中のグルタミル基の各々はD型である。他の実施形態では、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸中の少なくとも2つのグルタミル基はL型であり、少なくとも1つのグルタミル基はD型である。

【0153】

1つの実施形態では、 γ PTHFはヘキサグルタミン酸化されている。いくつかの実施形態では、5つのグルタミル基の各々はL型である。いくつかの実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸中のグルタミル基の各々はD型である。他の実施形態では、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸中の少なくとも2つのグルタミル基はL型であり、少なくとも1つのグルタミル基はD型である。

【0154】

別の実施形態では、 γ PTHFはヘプタグルタミン酸化されている。いくつかの実施形態では、6つのグルタミル基の各々はL型である。いくつかの実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の、 γ ヘプタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸中のグルタミル基の各々はD型である。他の実施形態では、 γ ヘプタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸中の少なくとも2つのグルタミル基はL型であり、少なくとも1つのグルタミル基はD型である。

【0155】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、合計、1-15、1-10、2-15、2-10、3-15、3-10、3-6、3-5、4-10、4-7、または4-6個の、テトラヒドロ葉酸中のグルタミル基を含むグルタミル基、またはそれらの間の任意の範囲を含有する。いくつかの実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ PTHF中のグルタミル基の各々は γ 結合を有する。いくつかの実施形態では、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、または14個の、 γ PTHF中のグルタミル基は γ 結合を有する。いくつかの実施形態では、 γ PTHFはL型およびD型の γ グルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸のポリグルタミン酸構造中のグルタミル基の各々はL型である。いくつかの実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ PTHF中のグルタミル基の各々はD型である。

10

20

30

40

50

1つの実施形態では、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、または15個の、 γ P T H F中のグルタミル基はL型である。別の実施形態では、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、または14個の、 γ P T H F中のグルタミル基はD型である。

【0156】

追加の実施形態では、 γ P T H Fは20-100、20-75、20-50、20-40、20-30、20-25、または100超の、 γ グルタミル基、またはそれらの間の任意の範囲を含有する。いくつかの実施形態では、 γ P T H Fのグルタミル基の各々はL型である。他の実施形態では、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基以外の γ P T H Fのグルタミル基の各々はD型である。他の実施形態では、 γ P T H F中の、少なくとも2つのグル

10

【0157】

追加の実施形態では、提供される組成物は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、1-10、または1-20個のグルタミル基（ γ 結合を有する）を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、 γ P T H Fは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、1-10、または1-20個の、L型のグルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、 γ P T H Fは、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、1-10、または1-20個の、D型のグルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、 γ P T H Fは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、1-10、または1-20個の、L型のグルタミル基、および、0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、または1-10または1-20個の、D型のグルタミル基を含有する。

20

【0158】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される γ P T H F組成物は、1つ以上の追加のグルタミル基を付加することができ、すなわち、組成物は、F P G S（ホリルポリグルタミン酸シンターゼ）の基質としての役割を果たすことができる。 γ P T H F組成物のF P G S（例えば、ヒトF P G S、またはラット肝臓F P G S）に対する基質として作用する能力を測定する試薬およびアッセイおよび試薬は、容易に入手でき、日常業務として実施できる。

【0159】

いくつかの実施形態では、本明細書で開示される裸の γ P P M X組成物（例えば、送達ビヒクルと結合していない γ P T H F）は、同じ生理的条件下で、テトラヒドロ葉酸の取り込み速度に比べて、大きく低減された速度で、肝臓細胞により取り込まれる。いくつかの実施形態では、裸の γ P T H F組成物の肝臓細胞取り込み速度は、テトラヒドロ葉酸の速度に比べて、30%、20%、15%、または10%未満である。さらなる実施形態では、本明細書で開示される γ P T H F組成物の肝臓細胞からの流出（輸送）速度は、テトラヒドロ葉酸に比べて顕著に遅い速度（30%、20%、15%、または10%未満）で起こる。

30

【0160】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F組成物はフッ素原子を含有しない。いくつかの実施形態では、 γ P T H F組成物は4-フルオログルタミル基を含有しない。

40

【0161】

γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（ γ P T H F）組成物およびそれらの使用は米国特許出願第62/374,458号、62/583,432号、62/630,820号 and 62/630,821号；62/630,824号、62/630,825号、15/675,695号、および15/675,701号；ならびに国際特許出願第PCT/US2017/046666号、およびPCT/US2017/046667号においてさらに開示され、それらの各々の内容は本明細書において、参照によりその全体が組み込まれる。

【0162】

A. ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 類似体および誘導体

50

本開示はまた、 γ P T H F 誘導体および類似体を包含する。本明細書で開示される組成物および方法は、任意のおよび全ての既知のポリグルタミン酸化されているテトラヒドロ葉酸の誘導体または類似体への適用が想定されている。いくつかの実施形態では、開示された組成物および方法により調製され使用されるポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸類似体または誘導体組成物は、図 1 E - 1 J で示される。いくつかの実施形態では、類似体は、テトラヒドロ葉酸の修飾型に対応し、その場合、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基は、 γ ペプチド結合を介してテトラヒドロ葉酸分子の残部と結合しない。いくつかの実施形態では、類似体は、テトラヒドロ葉酸の異形であり、この場合、テトラヒドロ葉酸のグルタミル基は、D 型である。いくつかの実施形態では、テトラヒドロ葉酸のポリグルタミン酸化型、またはポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸類似体または誘導体は、フッ化されていない。

10

【0163】

B. T H F - P G 合成

本明細書で提供されるテトラヒドロ葉酸ポリグルタミン酸組成物は、入手可能な試薬および合成中間体を用いて、次の合成法により得られ得る。テトラヒドロ葉酸のグルタミル残基へのグルタミル残基の付加は、当技術分野で知られている合成手順を使用して達成することができる。いくつかの実施形態では、グルタミル残基は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル残基に連続的に付加される。追加の実施形態では、ポリグルタミン酸はテトラヒドロ葉酸のグルタミル残基 (r e s i d e) に、「クリックケミストリー」法または当業者に知られている他のバイオコンジュゲートケミストリーを使用して付加される。あるいは、所望の長さのグルタミル残基のペプチドを作製し、グルタミル残基を有しないテトラヒドロ葉酸の前駆体 (p r e c u r s e r) に付加することができる。ペプチドは当技術分野で知られている合成手順を使用して生成され得る。いくつかの実施形態では、最初のグルタミル残基を w a n g 樹脂に結合し、追加のグルタミル残基を固相ペプチド合成により、F - m o c 化学を使用して連続的に付加する。最終グルタミル残基を付加した後、テトラヒドロ葉酸前駆体 (p r e c u r s e r) をペプチドにカップリングし、分子を樹脂から切断する。

20

【0164】

テトラヒドロ葉酸のグルタミル残基へのグルタミル残基の付加は、当技術分野で知られている合成手順を使用して達成できる。いくつかの実施形態では、グルタミル残基は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル残基に連続的に付加される。追加の実施形態では、ポリグルタミン酸は、テトラヒドロ葉酸のグルタミル残基 (r e s i d e) に、「クリックケミストリー」法または当業者に知られている他のバイオコンジュゲートケミストリーを使用して付加される。あるいは、所望の長さのグルタミル残基のペプチドを作製し、グルタミル残基を有しないテトラヒドロ葉酸の前駆体 (p r e c u r s e r) に付加することができる。ペプチドは当技術分野で知られている合成手順を使用して生成され得る。いくつかの実施形態では、最初のグルタミル残基が w a n g 樹脂に結合され、追加のグルタミル残基は固相ペプチド合成により、F - m o c 化学を使用して連続的に付加される。最終グルタミル残基が付加された後、テトラヒドロ葉酸前駆体 (p r e c u r s e r) がペプチドにカップリングされ、分子が樹脂から切断される。

30

40

【0165】

C. テトラヒドロ葉酸 - P G 複合体

意外にも、発明者らは、テトラヒドロ葉酸 (γ P T H F) と同様の構造的および化学的特徴を共有するポリグルタミン酸化葉酸代謝拮抗薬が、白金系化合物などの細胞傷害性化合物を含む治療薬を含む、他の組成物と複合体を形成できることを見出した。従って、いくつかの実施形態では、本開示は、 γ P T H F (例えば、本明細書で開示される γ P T H F) と、治療薬またはその塩もしくは酸との複合体を提供する。

【0166】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F / 複合体は γ P T H F および治療薬を含む。いくつかの実施形態では、治療薬は、化学療法薬などの細胞傷害性化合物である。さらなる実

50

施形態では、 γ P T H F / 複合体は、白金系化学療法薬（例えば、シスプラチン、カルボプラチンおよびオキサリプラチン）などの白金系薬物を含有する。他の実施形態では、 α P T H F / 複合体は、タキサン系化学療法薬（例えば、パクリタキセルおよびドセタキセル）を含む。他の実施形態では、 γ P T H F / 複合体は、シクロデキストリンを含む。さらなる実施形態では、 γ P T H F / 複合体は、リポソーム中に封入される。

【0167】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ P T H F および治療薬またはその塩もしくは酸の複合体を含む組成物を提供する。さらなる実施形態では、 γ P T H F / 治療薬複合体は、2-150、2-100、2-75、2-50、2-24、2-30、2-20、2-19、2-15、2-10、または2-5のグルタミル基を含有する1つ以上の γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、 γ P T H F / 治療薬複合体は、3-10、3-9、3-8、または3-7のグルタミル基、またはそれらの間の任意の範囲を含有する1つ以上の γ P T H F を含む。他の実施形態では、 γ P T H F / 治療薬複合体は、4-10、4-9、4-8、4-7、4-6、または4-5のグルタミル基、またはそれらの間の任意の範囲を含有する1つ以上の γ P T H F を含む。1つの特定の実施形態では、複合体は、3-10のグルタミル基を含有する1つ以上の γ P T H F を含む。さらなる実施形態では、 γ P T H F / 治療薬複合体は、3-7のグルタミル基を含有する1つ以上の γ P T H F を含む。別の実施形態では、 γ P T H F / 治療薬複合体は、5つのグルタミル基を含有する1つ以上の γ P T H F を含む。別の実施形態では、 γ P T H F / 治療薬複合体は、6つのグルタミル基を含有する1つ以上の γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、治療薬は、細胞傷害性化合物またはその塩もしくは酸である。さらなる実施形態では、治療薬は、化学療法薬またはその塩もしくは酸である。別の実施形態では、治療薬は、白金系薬物である。別の実施形態では、治療薬は、タキサン系薬物である。追加の実施形態では、複合体中の γ P T H F / 治療薬のモル比は、1-10:1の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / 治療薬のモル比は1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1、または>50:1である。他の実施形態では、複合体中の γ P T H F / 治療薬のモル比は1:1-20、1:1-10、または1:2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ P P T H F / 治療薬のモル比は、1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)、または1:>50である。いくつかの実施形態では、 γ P T H F / 治療薬複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

【0168】

他の実施形態では、 γ P T H F 複合体は、 γ P T H F およびシクロデキストリンを含む。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F（例えば、 γ P T H F 塩）/シクロデキストリンのモル比は1-20:1の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / シクロデキストリンのモル比は、1-10:1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / シクロデキストリンのモル比は、2-8:1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / シクロデキストリンのモル比は1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1、または>50:1である。他の実施形態では、複合体中の γ P T H F / シクロデキストリンのモル比は1:1-20、1:1-10、または1:2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ P T H F / シクロデキストリンのモル比は1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、

1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : (21 - 50)、または1 : > 50である。いくつかの実施形態では、 γ P T H F / シクロデキストリン複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

【0169】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ P T H F / 白金系化学療法薬複合体を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、白金系化学療法薬は下記からなる群より選択される：シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン、またはそれらの塩もしくは酸。他の実施形態では、 γ P T H F / 白金系化学療法薬複合体は、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチンの類似体、またはそれらの塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / 白金系薬剤のモル比は1 - 20 : 1の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / 白金系薬剤のモル比は、1 - 10 : 1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / 白金系薬剤のモル比は、2 - 8 : 1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / 白金系薬剤のモル比は1 : 1、2 : 1、3 : 1、4 : 1、5 : 1、6 : 1、7 : 1、8 : 1、9 : 1、10 : 1、11 : 1、12 : 1、13 : 1、14 : 1、15 : 1、16 : 1、17 : 1、18 : 1、19 : 1、20 : 1、(21 - 50) : 1、または> 50 : 1である。他の実施形態では、複合体中の γ P T H F / 白金系薬剤のモル比は1 : 1 - 20、1 : 1 - 10、または1 : 2 - 8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ P T H F / 白金系薬剤のモル比は1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : (21 - 50)、または1 : > 50である。追加の実施形態では、 γ P T H F / 白金系薬剤複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

【0170】

追加の実施形態では、 γ P T H F / 白金系化学療法薬複合体は、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチンの類似体、またはそれらの塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / 白金系類似体のモル比は1 - 20 : 1の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / 白金系類似体のモル比は、1 - 10 : 1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / 白金系薬剤のモル比は、2 - 8 : 1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / 白金系類似体のモル比は1 : 1、2 : 1、3 : 1、4 : 1、5 : 1、6 : 1、7 : 1、8 : 1、9 : 1、10 : 1、11 : 1、12 : 1、13 : 1、14 : 1、15 : 1、16 : 1、17 : 1、18 : 1、19 : 1、20 : 1、(21 - 50) : 1、または> 50 : 1である。他の実施形態では、複合体中の γ P T H F / 白金系類似体のモル比は1 : 1 - 20、1 : 1 - 10、または1 : 2 - 8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ P T H F / 白金系類似体のモル比は1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : (21 - 50)、または1 : > 50である。追加の実施形態では、 γ P T H F / 白金系類似体複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

【0171】

さらなる実施形態では、本開示は、 γ P T H F およびシスプラチンまたはその塩もしくは酸を含有する複合体を提供する。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / シスプラチン（またはシスプラチンの塩もしくは酸）のモル比は1 - 20 : 1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / シスプ

10

20

30

40

50

ラチン（またはシスプラチンの塩もしくは酸）のモル比は、 $1-10:1$ の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / シスプラチン（またはシスプラチンの塩もしくは酸）のモル比は、 $2-8:1$ の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / シスプラチン（またはシスプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1$ 、 $2:1$ 、 $3:1$ 、 $4:1$ 、 $5:1$ 、 $6:1$ 、 $7:1$ 、 $8:1$ 、 $9:1$ 、 $10:1$ 、 $11:1$ 、 $12:1$ 、 $13:1$ 、 $14:1$ 、 $15:1$ 、 $16:1$ 、 $17:1$ 、 $18:1$ 、 $19:1$ 、 $20:1$ 、 $(21-50):1$ 、または $>50:1$ である。他の実施形態では、複合体中の γ P T H F / シスプラチン（またはシスプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1-20$ 、 $1:1-10$ 、または $1:2-8$ の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ P T H F / シスプラチン（またはシスプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1$ 、 $1:2$ 、 $1:3$ 、 $1:4$ 、 $1:5$ 、 $1:6$ 、 $1:7$ 、 $1:8$ 、 $1:9$ 、 $1:10$ 、 $1:11$ 、 $1:12$ 、 $1:13$ 、 $1:14$ 、 $1:15$ 、 $1:16$ 、 $1:17$ 、 $1:18$ 、 $1:19$ 、 $1:20$ 、 $1:(21-50)$ 、または $1:>50$ である。追加の実施形態では、 γ P T H F / シスプラチン（またはシスプラチンの塩もしくは酸）複合体はリボソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

【0172】

別の実施形態では、本開示は、 γ P T H F およびカルボプラチンまたはその塩もしくは酸を含有する複合体を提供する。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / カルボプラチン（またはカルボプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1-20:1$ の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / カルボプラチン（またはカルボプラチンの塩もしくは酸）のモル比は、 $1-10:1$ の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / カルボプラチン（またはカルボプラチンの塩もしくは酸）のモル比は、 $2-8:1$ の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / カルボプラチン（またはカルボプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1$ 、 $2:1$ 、 $3:1$ 、 $4:1$ 、 $5:1$ 、 $6:1$ 、 $7:1$ 、 $8:1$ 、 $9:1$ 、 $10:1$ 、 $11:1$ 、 $12:1$ 、 $13:1$ 、 $14:1$ 、 $15:1$ 、 $16:1$ 、 $17:1$ 、 $18:1$ 、 $19:1$ 、 $20:1$ 、 $(21-50):1$ 、または $>50:1$ である。他の実施形態では、複合体中の γ P T H F / カルボプラチン（またはカルボプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1-20$ 、 $1:1-10$ 、または $1:2-8$ の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ P T H F / カルボプラチン（またはカルボプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1$ 、 $1:2$ 、 $1:3$ 、 $1:4$ 、 $1:5$ 、 $1:6$ 、 $1:7$ 、 $1:8$ 、 $1:9$ 、 $1:10$ 、 $1:11$ 、 $1:12$ 、 $1:13$ 、 $1:14$ 、 $1:15$ 、 $1:16$ 、 $1:17$ 、 $1:18$ 、 $1:19$ 、 $1:20$ 、 $1:(21-50)$ 、または $1:>50$ である。追加の実施形態では、 γ P T H F / カルボプラチン（またはカルボプラチンの塩もしくは酸）複合体はリボソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

【0173】

別の実施形態では、本開示は、 γ P T H F およびオキサリプラチン、またはそれらの塩もしくは酸を含有する複合体を提供する。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1-20:1$ の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）のモル比は、 $1-10:1$ の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）のモル比は、 $2-8:1$ の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1$ 、 $2:1$ 、 $3:1$ 、 $4:1$ 、 $5:1$ 、 $6:1$ 、 $7:1$ 、 $8:1$ 、 $9:1$ 、 $10:1$

、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1、または $>50:1$ である。他の実施形態では、複合体中の γ PTHF/オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）のモル比は1:1-20、1:1-10、または1:2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ PTHF/オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）のモル比は1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)、または1: >50 である。追加の実施形態では、 γ PTHF/オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

10

【0174】

追加の実施形態では、本開示は、 γ PTHFおよび下記からなる群より選択される白金系化学療法薬（白金）を含む複合体を提供する：ネダプラチン、ヘプタプラチン、ロバプラチン、ストラトプラチン、パラプラチン、プラチノール、シクロプラチン、デキソルマプラチン、スピロプラチン、ピコプラチン、トリプラチン、テトラプラチン、イプロプラチン、オルマプラチン、ゼニプラチン、白金-トリアミン、サトラプラチン（traplatin）、エンロプラチン、JM216、NK121、CI973、DWA2114R、NDDP、およびデダプラチン（dedaplatin）、またはそれらの塩もしくは酸。他の実施形態では、 γ PTHF/白金系化学療法薬複合体は、ネダプラチン、ヘプタプラチン、ロバプラチン、ストラトプラチン、パラプラチン、プラチノール、シクロプラチン、デキソルマプラチン、スピロプラチン、ピコプラチン、トリプラチン、テトラプラチン、イプロプラチン、オルマプラチン、ゼニプラチン、白金-トリアミン、サトラプラチン（traplatin）、エンロプラチン、JM216、NK121、CI973、DWA2114R、NDDP、またはデダプラチン（dedaplatin）の類似体、またはこれらの塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中の γ PTHF/白金（または白金の塩もしくは酸）のモル比は1-20:1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ PTHF/白金（または白金の塩もしくは酸）のモル比は、1-10:1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ PTHF/白金（または白金の塩もしくは酸）のモル比は、2-8:1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ PTHF/白金（または白金の塩もしくは酸）のモル比は1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1、または $>50:1$ である。他の実施形態では、複合体中の γ PTHF/白金（または白金の塩もしくは酸）のモル比は1:1-20、1:1-10、または1:2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ PTHF/白金（または白金塩もしくは酸）のモル比は1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)、または1: >50 である。追加の実施形態では、 γ PTHF/白金（またはその塩もしくは酸または類似体）複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

20

30

40

【0175】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ PTHF/タキサン系化学療法薬（タキサン）複合体を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、タキサン系化学療法薬は下記からなる群より選択される：パクリタキセル（PTX）、ドセタキセル（DTX）、ラロタキセル（LTX）、およびカバジタキセル（CTX）、またはそれらの塩もしくは酸。いくつかの実施形態では、複合体中の γ PTHF/タキサン系薬剤のモル比は1-20:

50

1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / タキサン（またはタキサンの塩もしくは酸）のモル比は、1 - 10 : 1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / タキサン（またはタキサンの塩もしくは酸）のモル比は、2 - 8 : 1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / タキサン（またはタキサンの塩もしくは酸）のモル比は1 : 1、2 : 1、3 : 1、4 : 1、5 : 1、6 : 1、7 : 1、8 : 1、9 : 1、10 : 1、11 : 1、12 : 1、13 : 1、14 : 1、15 : 1、16 : 1、17 : 1、18 : 1、19 : 1、20 : 1、(21 - 50) : 1、または $> 50 : 1$ である。他の実施形態では、複合体中の γ P T H F / タキサン（またはタキサンの塩もしくは酸）のモル比は1 : 1 - 20、1 : 1 - 10、または1 : 2 - 8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ γ P T H F / タキサン（またはタキサンの塩もしくは酸）のモル比は1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : (21 - 50)、または1 : > 50 である。追加の実施形態では、 γ P T H F / タキサン系薬剤複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

【0176】

追加の実施形態では、本開示は、 γ P T H F およびパクリタキセル (P T X)、またはその塩もしくは酸を含む複合体を提供する。他の実施形態では、 γ P T H F / タキサン系化学療法薬複合体は、パクリタキセル (P T X) の類似体、またはその塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / パクリタキセル（またはパクリタキセルの塩もしくは酸）のモル比は1 - 20 : 1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / パクリタキセル（またはパクリタキセルの塩もしくは酸）のモル比は、1 - 10 : 1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / パクリタキセル（またはパクリタキセルの塩もしくは酸）のモル比は、2 - 8 : 1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / パクリタキセル（またはパクリタキセルの塩もしくは酸）のモル比は1 : 1、2 : 1、3 : 1、4 : 1、5 : 1、6 : 1、7 : 1、8 : 1、9 : 1、10 : 1、11 : 1、12 : 1、13 : 1、14 : 1、15 : 1、16 : 1、17 : 1、18 : 1、19 : 1、20 : 1、(21 - 50) : 1、または $> 50 : 1$ である。他の実施形態では、複合体中の γ P T H F / パクリタキセル（またはパクリタキセルの塩もしくは酸）のモル比は1 : 1 - 20、1 : 1 - 10、または1 : 2 - 8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ P T H F / パクリタキセル（またはパクリタキセルの塩もしくは酸）のモル比は1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : (21 - 50)、または1 : > 50 である。追加の実施形態では、 γ P T H F / パクリタキセル（またはパクリタキセルの塩もしくは酸）複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

【0177】

追加の実施形態では、本開示は、 γ P T H F およびドセタキセル (D T X)、またはその塩もしくは酸を含む複合体を提供する。他の実施形態では、 γ P T H F / タキサン系化学療法薬複合体は、ドセタキセル (D T X) の類似体、またはその塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / ドセタキセル（またはドセタキセルの塩もしくは酸）のモル比は1 - 20 : 1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ P T H F / ドセタキセル（またはドセタキセルの塩もしくは酸）のモル比は、1 - 10 : 1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ P T H F / ドセタキセル（またはドセタキセルの塩もしくは

は酸)のモル比は、2-8:1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ PTHF/ドセタキセル(またはドセタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1、または $>50:1$ である。他の実施形態では、複合体中の γ PTHF/ドセタキセル(またはドセタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1-20、1:1-10、または1:2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ PTHF/ドセタキセル(またはドセタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)、または1: >50 である。追加の実施形態では、 γ PTHF/ドセタキセル(またはドセタキセルの塩もしくは酸)複合体はリポソーム中に封入される(例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように)。

【0178】

追加の実施形態では、本開示は、 γ PTHFおよびラロタキセル(LTX)、またはその塩もしくは酸を含む複合体を提供する。他の実施形態では、 γ PTHF/タキサン系化学療法薬複合体は、ラロタキセル(LTX)の類似体、またはその塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中の γ PTHF/ラロタキセル(またはラロタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1-20:1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ PTHF/ラロタキセル(またはラロタキセルの塩もしくは酸)のモル比は、1-10:1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ PTHF/ラロタキセル(またはラロタキセルの塩もしくは酸)のモル比は、2-8:1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ PTHF/ラロタキセル(またはラロタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1、または $>50:1$ である。他の実施形態では、複合体中の γ PTHF/ラロタキセル(またはラロタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1-20、1:1-10、または1:2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ PTHF/ラロタキセル(またはラロタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)、または1: >50 である。追加の実施形態では、 γ PTHF/ラロタキセル(またはラロタキセルの塩もしくは酸)複合体はリポソーム中に封入される(例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように)。

【0179】

追加の実施形態では、本開示は、 γ PTHFおよびカバジタキセル(CTX)、またはその塩もしくは酸を含む複合体を提供する。他の実施形態では、 γ PTHF/タキサン系化学療法薬複合体は、カバジタキセル(CTX)の類似体、またはその塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中の γ PTHF/カバジタキセル(またはカバジタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1-20:1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ PTHF/カバジタキセル(またはカバジタキセルの塩もしくは酸)のモル比は、1-10:1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ PTHF/カバジタキセル(またはカバジタキセルの塩もしくは酸)のモル比は、2-8:1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ PTHF/カバジタキセル(またはカバジタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1

、16：1、17：1、18：1、19：1、20：1、(21-50)：1、または>50：1である。他の実施形態では、複合体中の γ PTHF／カバジタキセル（またはカバジタキセルの塩もしくは酸）のモル比は1：1-20、1：1-10、または1：2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ PTHF／カバジタキセル（またはカバジタキセルの塩もしくは酸）のモル比は1：1、1：2、1：3、1：4、1：5、1：6、1：7、1：8、1：9、1：10、1：11、1：12、1：13、1：14、1：15、1：16、1：17、1：18、1：19、1：20、1：(21-50)、または1：>50である。追加の実施形態では、 γ PTHF／カバジタキセル（またはカバジタキセルの塩もしくは酸）複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

10

【0180】

追加の実施形態では、本開示は、 γ PTHFおよび別の代謝拮抗薬、またはその塩もしくは酸を含む複合体を提供する。代謝拮抗薬は、正常な生化学反応に必要な代謝産物に類似であるが、細胞分裂などの1つ以上の細胞の正常機能を妨害するのに十分な差異がある構造を有する化学物質である。いくつかの実施形態では、本開示は、 γ PTHFおよびテトラヒドロ葉酸（THF）、またはその塩もしくは酸を含む複合体を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、 γ PTHFおよび、下記からなる群より選択される代謝拮抗薬を含む複合体を提供する：ゲムシタビン、フルオロウラシル、カペシタビン、葉酸代謝拮抗薬（antifolate）（例えば、テトラヒドロ葉酸、テトラヒドロ葉酸）、

テガフル、シトシンアラビノシド、チオグアニン、5-アザシチジン、6-メルカプトプリン、アザチオプリン、6-チオグアニン、ペントスタチン、リン酸フルダラビン、およびクラドリビン、ならびにこれらのいずれかの薬学的に許容される塩もしくは酸（単一または複数）、または誘導体。いくつかの実施形態では、複合体中の γ PTHF／代謝拮抗薬（または代謝拮抗薬の塩もしくは酸）のモル比は1-20：1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ PTHF／代謝拮抗薬（または代謝拮抗薬の塩もしくは酸）のモル比は、1-10：1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。さらなる実施形態では、複合体中の γ PTHF／代謝拮抗薬（または代謝拮抗薬の塩もしくは酸）のモル比は、2-8：1の範囲、またはその間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中の γ PTHF／代謝拮抗薬（または代謝拮抗薬の塩もしくは酸）のモル比は1：1、2：1、3：1、4：1、5：1、6：1、7：1、8：1、9：1、10：1、11：1、12：1、13：1、14：1、15：1、16：1、17：1、18：1、19：1、20：1、(21-50)：1、または>50：1である。他の実施形態では、複合体中の γ PTHF／代謝拮抗薬（または代謝拮抗薬の塩もしくは酸）のモル比は1：1-20、1：1-10、または1：2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、 γ PTHF／代謝拮抗薬（または代謝拮抗薬の塩もしくは酸）のモル比は1：1、1：2、1：3、1：4、1：5、1：6、1：7、1：8、1：9、1：10、1：11、1：12、1：13、1：14、1：15、1：16、1：17、1：18、1：19、1：20、1：(21-50)、または1：>50である。追加の実施形態では、 γ PTHF／代謝拮抗薬（または代謝拮抗薬の塩もしくは酸）複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

20

30

40

【0181】

追加の実施形態では、本開示は、 γ PTHF（例えば、本明細書で開示される γ PTHF）およびシクロデキストリンの複合体を提供する。シクロデキストリン（CD）は、複合体の形成を介して多くの薬物の物理化学的性質を改善することが示されている環状オリゴ糖のグループである。CDは、 α -(1,4)結合により連結されたいくつかのD-グルコース単位から構成される環状オリゴ糖である。この環式構造は、疎水性の内部空洞を提供し、CDに短縮された錐体形状を与える。多くのヒドロキシル基が環の端部に位置し、これが、CDを親油性および水に可溶性の両方にする。その結果、CDは、多種多様

50

の疎水性薬剤と複合体を形成でき、それにより、これらの複合体化薬剤の物理化学的性質を変化させる。

【0182】

用語の「シクロデキストリン」または「CD」は、別段の指定がない限り、通常、可変数の $(\alpha - 1, 4)$ 結合D-グルコピラノシド単位を含む、テトラヒドロ葉酸-PGと複合体を形成できる親または誘導体化環状オリゴ糖を意味する。各シクロデキストリングルコピラノシドサブユニットは、2および3位置に二級ヒドロキシル基を、6位置に一級ヒドロキシル基を有する。用語の「親」、「非誘導体化」、または「不活性の」シクロデキストリンは、D-グルコピラノシド単位を含む、基本式 $C_6H_{12}O_6$ およびグルコース構造を有し、追加の化学的置換基のないシクロデキストリンを意味する（例えば、6つのD-グルコピラノシド単位からなる α -シクロデキストリン、7つのD-グルコピラノシド単位からなる β -シクロデキストリン、および8つのD-グルコピラノシド単位からなる γ -シクロデキストリン）。親シクロデキストリンの物理的および化学的性質は、ヒドロキシル基を他の官能基で誘導体化することにより改変できる。シクロデキストリン内相に位置する任意の物質は、シクロデキストリンと「複合体化」している、またはシクロデキストリンと複合体（包接複合体）を形成していると呼ばれる。

10

【0183】

本明細書で使用される場合、シクロデキストリンが γ PTHFと複合体を形成できる限りにおいて、 γ PTHF/シクロデキストリン複合体のシクロデキストリン成分に対し特別な制限は存在しない。特定の実施形態では、シクロデキストリンは、 γ PTHFおよび／またはリポソーム封入物との複合体形成を容易にするために、イオン化可能（例えば、弱塩基性および／または弱酸性）官能基を有するように誘導体化された。

20

【0184】

イオン化可能化学基を用いたシクロデキストリン内相から反対側に向けたヒドロキシル基などのシクロデキストリンのヒドロキシル基の改変は、シクロデキストリンおよびシクロデキストリンと複合体化した治療薬の添加を容易にすることが知られている。いくつかの実施形態では、 γ PTHF/シクロデキストリン複合体のシクロデキストリンは、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、または10個のイオン化可能化学基で置換されたヒドロキシル基を有する。用語の「荷電シクロデキストリン」は、1つ以上のその荷電部分で置換されたヒドロキシル基を有するシクロデキストリンを意味する。このような部分は、それ自体荷電基であるか、または1つ以上の荷電部分で置換された有機部分（例えば、 C_1-C_6 アルキルまたは C_1-C_6 アルキルエーテル部分）を含むことができる。

30

【0185】

いくつかの実施形態では、CD誘導体の「イオン化可能」または「荷電」部分は弱イオン化可能である。弱イオン化可能部分は、弱塩基性または弱酸性の部分である。弱塩基性官能基(W)は、約6.0~9.0、6.5~8.5、7.0~8.0、7.5~8.0、およびこれらの間の任意の範囲（端点含む）の CH_3-W による pK_a を有する。同様に、弱酸性官能基(X)は、約3.0~7.0、4.0~6.5、4.5~6.5、5.0~6.0、5.0~5.5、およびこれらの間の任意の範囲（端点含む）の CH_3-X によるログ記録した解離定数(pK_a)を有する。代表的アニオン性部分には、限定されないが、カルボキシレート、カルボキシメチル、スクシニル、スルホニル、ホスフェート、スルホアルキルエーテル、サルフェートカーボネート、チオ炭酸塩、ジチオカーボネート、ホスフェート、ホスホネート、スルホネート、ニトレート、およびボレート基が挙げられる。代表的カチオン性部分には、限定されないが、アミノ、グアニジン、および四級アンモニウム基が挙げられる。

40

【0186】

別の実施形態では、誘導体化シクロデキストリンは、「ポリアニオン」または「ポリカチオン」である。ポリアニオンは、2つ以上の負電荷基を有する誘導体化シクロデキストリンで、3つ以上のユニットの正味の負イオン電荷を生じる。ポリカチオンは、2つ以上の正電荷基を有する誘導体化シクロデキストリンで、3つ以上のユニットの正味の正イオ

50

ン電荷を生じる。

【0187】

別の実施形態では、誘導体化シクロデキストリンは、「荷電可能両親媒性物質」である。「荷電可能」は、両親媒性物質が $pH\ 4\sim 8$ または $4\sim 8.5$ の範囲の pK を有することを意味する。荷電可能両親媒性物質は、従って、弱酸または塩基であり得る。本明細書における「両性」は、アニオン性およびカチオン性特性の両方のイオン化可能基を有する誘導体化シクロデキストリンを意味し、(a)少なくとも片方の、任意選択で、両方のカチオンおよびアニオン性両親媒性物質が荷電可能で、 4 と $8\sim 8.5$ との間の pK を有する少なくとも1つの電荷基を有する、(b) $pH\ 4$ でカチオン電荷が優勢であり、および(c) $pH\ 8\sim 8.5$ でアニオン電荷が優勢である。

10

【0188】

いくつかの実施形態では、「イオン化可能」または「荷電」誘導体化シクロデキストリンは、総じて、ポリイオン性、両親媒性、またはその他に関わらず、弱くイオン化可能である(例えば、約 $4.0\sim 8.5$ 、 $4.5\sim 8.0$ 、 $5.0\sim 7.5$ 、 $5.5\sim 7.5$ 、 $6.0\sim 6.5$ 、の pK_{ai} 、およびこの間の任意の範囲(両端含む)を有する)。

【0189】

どれか1つの、いくつかまたは全てのシクロデキストリンの α -D-グルコピラノシド単位のどれか1つ、いくつか、または全てのヒドロキシル基は、本明細書に記載のようにイオン化可能化学基に改変できる。各シクロデキストリンヒドロキシル基は化学的反応性が異なるので、改変部分との反応は、位置および光学異性体の非晶質混合物を生成できる。あるいは、特定の化学により、事前改変した α -D-グルコピラノシド単位の均一の生成物を形成するように反応させ得る。

20

【0190】

混合物中のシクロデキストリン誘導体で起こる集合体置換(aggregate substitution)は、置換度と呼ばれる用語で説明される。例えば、置換度7を有する6-エチレンジアミノ- β -シクロデキストリンは、6-エチレンジアミノ- β -シクロデキストリン分子あたりのエチレンジアミノ基の数が7である、6-エチレンジアミノ- β -シクロデキストリンの異性体の分布から構成されるであろう。シクロデキストリン誘導体混合物の置換度は、質量分析法または核磁気共鳴分光法を用いて、日常作業により測定できる。

30

【0191】

一実施形態では、シクロデキストリン内部から反対方向を向いた少なくとも1個のヒドロキシル部分がイオン化可能化学基により置換される。例えば、C2、C3、C6、C2およびC3、C2およびC6、C3およびC6、ならびにC2-C3-C6ヒドロキシルの3つ全ての内の少なくとも1つの γ -D-グルコピラノシド単位は、イオン化可能化学基で置換される。任意のこのようなヒドロキシルの組み合わせは、本明細書に記載のいずれかの置換度と組み合わせることができるのに加えて、改変シクロデキストリン中の、少なくとも2、3、4、5、6、7、8、9、10、11個、最大で全ての α -D-グルコピラノシド単位を同様に組み合わせることができる。1つのこのような誘導体は、スルホアルキルエーテルシクロデキストリン(SAE-CD)である。 β -シクロデキストリンのスルホブチルエーテル誘導体(SBE- β -CD)は、親シクロデキストリンに比べて、顕著に改善された水溶解度を有することが示された。

40

【0192】

開示リポソーム組成物中で治療薬と複合体化され得る追加のシクロデキストリン誘導体には、スガマデクスまたはOrg-25969が挙げられ、この場合、 γ -CD上の6-ヒドロキシ基は、カルボキシチオアセートエーテル結合、およびヒドロキシブテニル- β -CDにより置換された。代替形態のシクロデキストリンには、2,6-ジ- α -メチル- β -CD(DIMEB)、2-ヒドロキシルプロピル-3-シクロデキストリン(HP- β -CD)、ランダムメチル化- β -シクロデキストリン(RAMEB)、スルホブチルエーテル- β -シクロデキストリン(SBE- β -CD)、およびスルホブチルエー

50

テルー γ -シクロデキストリン (SBE γ CD)、スルホブチル化 β -シクロデキストリンナトリウム塩、(2-ヒドロキシプロピル)- γ -シクロデキストリン、(2-ヒドロキシプロピル)- β -シクロデキストリン、(2-ヒドロキシプロピル)- γ -シクロデキストリン、2,6-ジ-*O*-メチル)- β -シクロデキストリン (DIMEB-50ヘプタキス)、2,3,6-トリ-*O*-メチル)- β -シクロデキストリン (TRIMEBヘプタキス)、メチル β -シクロデキストリン、オクタキス(6-デオキシ-6-ヨード)- γ -シクロデキスリン、およびオクタキス(6-デオキシ-6-ブromo)- γ -シクロデキスリンが挙げられる。

【0193】

いくつかの実施形態では、シクロデキストリンは、リポソーム内相中のシクロデキストリンのより大きな量の捕捉を容易にするために、水中で高溶解度を有する。いくつかの実施形態では、シクロデキストリンの水中溶解度は、少なくとも10mg/mL、20mg/mL、30mg/mL、40mg/mL、50mg/mL、60mg/mL、70mg/mL、80mg/mL、90mg/mL、100mg/mL、またはそれ以上である。いくつかの実施形態では、シクロデキストリンの水溶性は、10~150mg/mL、20~100mg/mL、20~75mg/mLの範囲内、およびこれらの間の任意の範囲(両端含む)内である。

【0194】

いくつかの実施形態では、シクロデキストリンと γ PTHFおよび/またはシクロデキストリンと複合体化したその他の治療薬との間の大きな結合定数が好ましく、治療薬のサイズに基づいてシクロデキストリン中のグルコース単位の数を選択することにより得ることができる(例えば、Albers et al., Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Syst. 12:311-337 (1995); Stella et al., Toxicol. Pathol. 36:30-42 (2008)を参照)。結合定数がpHに依存する場合には、リポソーム内相のpHで結合定数が大きくなるようにシクロデキストリンを選択できる。その結果、シクロデキストリンの存在下での治療薬の溶解度(名目上の溶解度)をさらに改善できる。いくつかの実施形態では、シクロデキストリンと治療薬との結合定数は、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1000、またはこれ以上である。いくつかの実施形態では、シクロデキストリンと治療薬との結合定数は、100~1,200、200~1,000、300~750、およびこれらの間の任意の範囲である。

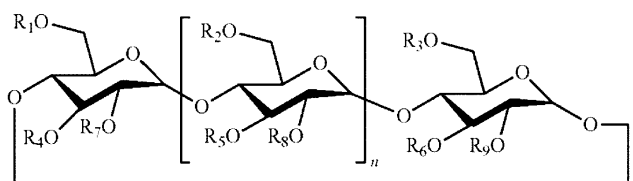
【0195】

いくつかの実施形態では、 γ PTHF/シクロデキストリン複合体および/またはシクロデキストリン/治療薬複体のシクロデキストリンは、誘導体化されない。

【0196】

いくつかの実施形態では、 γ PTHF/シクロデキストリン複合体および/またはシクロデキストリン/治療薬複体のシクロデキストリンは、誘導体化される。さらなる実施形態では、複体のシクロデキストリン誘導体は、式I:

【化1】



の構造を有し、 n は4、5、または6であり;

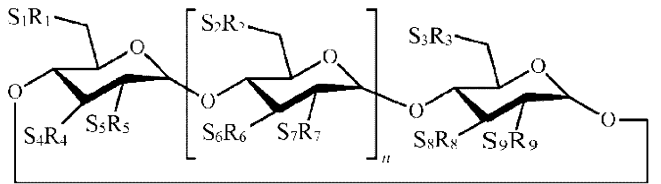
R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 はそれぞれ独立に、-H、直鎖または分岐 C_1-C_8 アルキレン基、または任意に置換されてもよい直鎖または分岐 C_1-C_6 基であり、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の内の少なくとも1つは、直鎖または分岐 C_1-C_8 アルキレン(例えば、 C_1-C_8 -(アル

キレン) $-SO_3^-$ 基) である。

【0197】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F / シクロデキストリン複合体および / またはシクロデキストリン / 治療薬複合体のシクロデキストリン誘導体は、式 I I :

【化 2】



の構造を有し、 n は 4、5、または 6 であり；

R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 はそれぞれ独立に、 $-O-$ または $-O-(C_2-C_6 \text{ アルキレン})-SO_3^-$ 基であり； R_1 および R_2 の少なくとも 1 つは独立に $-O-(C_2-C_6 \text{ アルキレン})-SO_3^-$ 基であり； S_1 、 S_2 、 S_3 、 S_4 、 S_5 、 S_6 、 S_7 、 S_8 、および S_9 はそれぞれ独立に、薬学的に許容されるカチオンである。さらなる実施形態では、薬学的に許容されるカチオンは、 Li^+ 、 Na^+ 、または K^+ などのアルカリ金属； Ca^{2+} 、または Mg^{2+} などのアルカリ土類金属ならびにアンモニウムイオンおよび $(C_1-C_6)-$ アルキルアミン、ピペリジン、ピラジン、 $(C_1-C_6)-$ アルカノールアミンおよび $(C_4-C_8)-$ シクロアルカノールアミンのカチオンなどのアミンカチオンから選択される。いくつかの実施形態では、 R_1 および R_2 の内の少なくとも 1 つは、独立に $-O-(CH_2)_mSO_3^-$ 基である $-O-(C_2-C_6 \text{ アルキレン})-SO_3^-$ 基であり、 m は 2 ~ 6、好ましくは 2 ~ 4 (例えば、 $-O-CH_2CH_2CH_2SO_3^-$ または $-O-CH_2CH_2CH_2CH_2SO_3^-$) であり；および S_1 、 S_2 、 S_3 、 S_4 、 S_5 、 S_6 、 S_7 、 S_8 、および S_9 はそれぞれ独立に、 H または薬学的に許容されるカチオンであり、これには、例えば、アルカリ金属 (例えば、 Li^+ 、 Na^+ 、 K^+)、アルカリ土類金属 (例えば、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+})、アンモニウムイオンならびに $(C_1-C_6)-$ アルキルアミン、ピペリジン、ピラジン、 $(C_1-C_6)-$ アルカノールアミンおよび $(C_4-C_8)-$ シクロアルカノールアミンのカチオンなどのアミンカチオンが挙げられる。

【0198】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F / シクロデキストリン複合体および / またはシクロデキストリン / 治療薬複合体のシクロデキストリン誘導体は、米国特許第 6, 133, 248 号、同第 5, 874, 418 号、同第 6, 046, 177 号、同第 5, 376, 645 号、同第 5, 134, 127 号、同第 7, 034, 013 号、同第 6, 869, 939 号；および国際公開第 02005 / 117911 号に開示されているシクロデキストリンである。これら特許文献のそれぞれの内容は、参照により本明細書に優先的に組み込まれる。

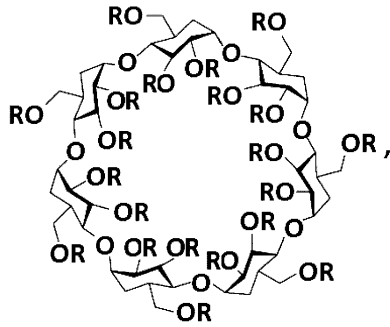
【0199】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F / シクロデキストリン複合体および / またはシクロデキストリン / 治療薬複合体のシクロデキストリン誘導体は、スルホアルキルエーテルシクロデキストリンである。いくつかの実施形態では、複合体のシクロデキストリン誘導体は、CAPTISOL (登録商標) (CyDex Pharma, Inc., Lenexa, Kansas) などのスルホブチルエーテル-3-シクロデキストリンである。スルホブチルエーテル-3-シクロデキストリンおよびその他のスルホアルキルエーテルシクロデキストリンの作製方法は、当技術分野において既知である。

【0200】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F / シクロデキストリン複合体および / またはシクロデキストリン / 治療薬複合体のシクロデキストリン誘導体は、式 I I I :

【化 3】



の化合物であり、式中、Rは、

(a) $(H)_{21-x}$ または $(- (CH_2)_4 - SO_3 Na)_x$ 、および $x = 1.0 \sim 10.0$ 、 $1.0 \sim 5.0$ 、 $6.0 \sim 7.0$ 、または $8.0 \sim 10.0$ ；

(b) $(H)_{21-x}$ または $(- (CH_2 CH(OH) CH_3)_x$ 、および $x = 1.0 \sim 10.0$ 、 $1.0 \sim 5.0$ 、 $6.0 \sim 7.0$ 、または $8.0 \sim 10.0$ ；

(c) $(H)_{21-x}$ または(スルホアルキルエーテル) $_x$ 、および $x = 1.0 \sim 10.0$ 、 $1.0 \sim 5.0$ 、 $6.0 \sim 7.0$ 、または $8.0 \sim 10.0$ ；または

(d) $(H)_{21-x}$ または $(- (CH_2)_4 - SO_3 Na)_x$ 、および $x = 1.0 \sim 10.0$ 、 $1.0 \sim 5.0$ 、 $6.0 \sim 7.0$ 、または $8.0 \sim 10.0$ である。

【0201】

追加の実施形態では、 γ PTHF／シクロデキストリン複合体および／またはシクロデキストリン／治療薬複合体は、リポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

【0202】

III. γ PTHF 送達ビヒクル

他の実施形態では、本開示は、 γ PTHF 送達システムおよび γ PTHFのペイロードを細胞（単一または複数）にインビトロまたはインビボで送達するためのそれらの使用を提供する。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、送達ビヒクルと複合体化されるか、または送達ビヒクル中に組み込まれる。このような送達ビヒクルは当技術分野において既知であり、限定されないが、リポソーム、リボスフェア、ポリマー、ペプチド、タンパク質、抗体（例えば、抗体- γ PTHF複合体などのADC）、細胞成分、環状オリゴ糖（例えば、シクロデキストリン）、ナノ粒子（例えば、脂質ナノ粒子、生分解性ナノ粒子、およびコアシェルナノ粒子）、リボタンパク質粒子、およびこれらの組み合わせが挙げられる。特定の実施形態では、送達ビヒクルはリポソームである。他の特定の実施形態では、送達ビヒクルは、抗体または抗原結合抗体フラグメントである。

【0203】

A. リポソーム

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ PTHF（例えば、本明細書で開示される γ PTHF）を封入した（すなわち、充填した）リポソームを含むリポソーム組成物を提供する。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物中のリポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超のグルタミル基（テトラヒドロ葉酸中のグルタミル基を含む）を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHF中の γ PTHFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、Lp- γ PTHF中の γ PTHFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、Lp- γ PTHF中の γ PTHFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。追加の実施形態では、Lp- γ PTHF中の γ PTHFは、 γ カルボキシル結合を有する2つ以上のグルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は γ ペンタグルタミン酸化THFを含むリポソームを含む。さらなる実施形態では、リポソームは、L- γ ペンタグルタミン酸化THF、D- γ ペンタグルタミン酸化THF、またはL-およびD- γ ペンタ

グルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は γ ヘキサグルタミン酸化THFを含むリポソーム(Lp- γ PTHF)を含む。さらなる実施形態では、リポソームは、L- γ ヘキサグルタミン酸化THF、D- γ ヘキサグルタミン酸化THF、またはL-およびD- γ ヘキサグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物はアニオン性または中性であるリポソームを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物はカチオン性であるリポソームを含む。いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物はペグ化されていない。いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は標的化されていない(NTLp- γ PTHF)。他の実施形態では、Lp- γ PTHF組成物は、標的化されている(TLp- γ PTHF)。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、20nm~500nm、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有するリポソームを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、20nm~400nm、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有するリポソームを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、20nm~300nm、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有するリポソームを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、20nm~200nm、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有するリポソームを含む。さらなる実施形態では、リポソーム組成物は、20nm~150nm、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有するリポソームを含む。さらなる実施形態では、リポソーム組成物は、80nm~120nm、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有するリポソームを含む。追加の実施形態では、30~70%、30~60%、または30~50%w/w、またはそれらの間の任意の範囲の γ PTHFが、リポソームを調製するプロセス中に、Lp- γ PTHF中に封入(捕捉)される。いくつかの実施形態では、Lp- α PTHF組成物は、少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%w/w超の γ ポリグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%または75%w/w超の γ PTHF、が、リポソームを調製するプロセス中に、Lp- γ PTHF中に封入される。

【0204】

いくつかの実施形態では、提供されるリポソームは、免疫刺激剤、検出可能マーカー、または両方を、そのリポソームの外面上に配置して、さらに含む。免疫刺激剤または検出可能マーカーは、リポソームの外面にイオン結合、または共有結合でき、この場合、任意選択で、リポソームの立体安定化成分に対する結合を含んでもよい。

【0205】

用語の「免疫刺激剤(immunostimulatory agent)」はまた、「免疫賦活薬(immunostimulant)」および「免疫賦活剤(immunostimulator)」としても知られ、免疫系のいずれかの成分の活性化または活性の増大を誘導することにより免疫(既存の免疫応答を含む)を刺激する物質を意味する。これらの免疫刺激剤には、ハプテン、アジュバント、タンパク質免疫刺激剤、核酸免疫刺激剤、および化学的免疫刺激剤の内の1つ以上が挙げられる。多くのアジュバントは、脂質A、百日咳菌または結核菌由来タンパク質などの免疫応答を刺激するように設計された物質を含む。特定のアジュバントは、例えば、フロイント不完全アジュバントおよび完全アジュバント(Difco Laboratories, Detroit, Mich.) ; Merckアジュバント65(Merck and Company, Inc., Rahway, N. J.) ; AS-2(SmithKline Beecham, Philadelphia, PA.) ; 水酸化アルミニウムゲル(ミョウバン)またはアルミニウムリン酸塩などのアルミニウム塩; カルシウム、鉄、または亜鉛の塩; アシル化チロシンの不溶性の懸濁液; アシル化糖類; カチオンでまたはアニオンで誘導体化したポリサッカライド; ポリホスファゼン; 生分解性マイクロスフェア; モノホスホリルリピドAおよびquil A; IFN α 、IFN γ 、FLT3リガンド; および免疫賦活性抗体(例えば、抗CTLA-4、抗CD28、抗CD3)として商業的に入手可能である。GM-CSF、

インターロイキン2、7、12、および15などのサイトカイン、およびその他の類似成長因子もアジュバントとして使用できる。好ましい実施形態では、免疫賦活薬は、フルオレセイン、DNP、ベータグルカン、 β -1,3-グルカン、 β -1,6-グルカンからなる群より選択される少なくとも1つであり得る。さらなる好ましい実施形態では、免疫賦活薬は、トル様受容体(TLR)調節剤である。さらなる実施形態では、トル様受容体(TLR)調節剤は、酸化型低密度リポタンパク質(例えば、OXPA C、PGPC)、エリトランリピド(例えば、E5564)、およびレゾルビンの内の1つ以上である。いくつかの実施形態では、リボソームは、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)を含み、これは、我々の実験に基づく、驚くべきことに、免疫賦活薬および検出可能マーカーの両方として機能する。

10

【0206】

いくつかの実施形態では、リボソームは、検出可能マーカーを含む。検出可能マーカーには、例えば、当該技術分野において既知の任意の好適な手段、例えば、少なくとも、磁気共鳴画像法(MRI)、光学画像法、蛍光/発光画像法、および/または核画像法技術により検出可能である、放射性同位元素、蛍光化合物、生物発光化合物、化学発光化合物、金属キレート剤、酵素、色素、インク、磁性化合物、生体触媒または顔料を挙げ得る。

【0207】

いくつかの実施形態では、免疫刺激剤および/または検出可能マーカーは、リボソームとの同時インキュベーションにより外面に結合される。例えば、免疫刺激剤および/または検出可能マーカーは、アビジン/ビオチン結合または金属キレート結合(例えば、Ni-NTA)などの疎水性相互作用またはイオン結合によりリボソーム膜に結合され得る。あるいは、免疫刺激剤または検出可能マーカーは、例えば、リボソーム成分にまたはPEGである立体安定剤に共有結合するなどにより、リボソームの外面に共有結合し得る。

20

【0208】

いくつかの実施形態では、リボソームは、サイトゾルを含む目的の細胞内区画へのリボソームの取り込みを増大させる薬剤をさらに含む。

【0209】

いくつかの実施形態では、リボソームは、ミトコンドリア標的化薬剤を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは、トリフェニルホスホニウム(TPP)を含む。TPPを用いたリボソームの表面官能化の方法と機序は、当該技術分野において既知である(例えば、pegスパーサー基を介してTPPを脂質アンカーに結合させ、TPPをステアリル基で修飾する(ステアリルトリフェニルホスホニウム(STPP)))。いくつかの実施形態では、リボソームは、高密度オクタアルギニンを含む。いくつかの実施形態では、リボソームは、スフィンゴミエリンおよび/またはスフィンゴミエリン代謝産物を含む。本発明のリボソームを処方するために使用されるスフィンゴミエリン代謝産物は、例えば、セラミド、スフィンゴシンまたはスフィンゴシン1-ホスフェートを含むことができる。いくつかの実施形態では、リボソームは、ローダミン123を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは、ミトコンドリア透過性ペプチドを含む。いくつかの実施形態では、リボソームは、下記からなる群より選択されるミトコンドリア浸透剤を含む： マイトフュージンペプチド、ミトコンドリアの標的化シグナルペプチド、およびアンテナペディ

30

40

50

GGGCGAGCTG（配列番号6）を含む）、またはそのミトコンドリア透過性フラグメント。

【0210】

いくつかの実施形態では、提供されるリポソーム組成物中のリポソームは、グアニジンリッチペプチド、テトラグアニジウム、トリグアニジウム、ジグアニジウム、モノグアニジウム、グアニジンリッチポリカーバメート、ベータオリゴアルギニン、プロリンリッチデンドリマー、およびホスホニウム塩（例えば、メチルトリフェニルホスホニウムおよび／またはテトラフェニルホスホニウム）から選択されるミトコンドリア浸透剤を含む。

【0211】

いくつかの実施形態では、提供されるリポソーム組成物中のリポソームは、スフィンゴミエリンおよび／またはステアリルオクタアルギニンを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、スフィンゴミエリンおよび／またはステアリルオクタアルギニンを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、DOPE、スフィンゴミエリン、ステアリルオクタアルギニンスフィンゴミエリンおよびステアリルオクタアルギニンを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、DOPE、スフィンゴミエリン、ステアリルオクタアルギニンスフィンゴミエリンおよびステアリルオクタアルギニンを9：2：1のモル比で含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、MITOポーター（登録商標）システムまたはその変形体を含む。

【0212】

いくつかの実施形態では、提供されるリポソーム組成物中のリポソームは、細胞膜を横切ってリポソームの送達を容易にし、リポソームに対しエンドサイトーシス通路およびリソソームの過酷な環境をバイパスする能力を付与する膜透過剤などの薬剤を含む。膜透過剤は当技術分野において既知であり、定常的に使用して、提供されるリポソーム組成物の製造および使用に応用できる。いくつかの実施形態では、膜浸透剤／リソソームバイパス剤はクロロキンである。いくつかの実施形態では、膜透過剤は、細胞透過性ペプチドである。いくつかの実施形態では、提供されるリポソーム組成物中のリポソームは、下記群から選択される膜透過剤を含む：RKKRRQRRR（配列番号7）、GRKKRRQRRRTPQ（配列番号8）、YGRKKRRQRRR（配列番号9）、AAVALLPAVLLALLA（配列番号10）、MGLGLHLVLAAALQ（配列番号11）、GALFLGLGAAGSTM（配列番号12）、AGYLLGKINLKALAALAKKIL（配列番号13）、RVIRVWFQNKRCCKDKK（配列番号14）、RQIKIWFQNRRMKWKK（配列番号15）、GLFEAIAGFIENGWEGMIDG（配列番号16）、GWTLNSAGYLLGKIN（配列番号17）、RSQSRSYRQRQRS（配列番号18）、LAIQEQEY（配列番号19）、LGI AEQ EY（配列番号20）、LGIPAQ EY（配列番号21）、LGIPEAEY（配列番号22）、LGIPEQAY（配列番号23）、LGI AEAEY（配列番号24）、LGIPEAAAY（配列番号25）、LGI AEQAY（配列番号26）、LGI AEAAAY（配列番号27）、LLIILRRRIRKQAHASK（配列番号28）、LKALAALAKKIL（配列番号29）、KLALKLALKALKALKLA（配列番号30）、KETWWETWWTEWSQPKKKRKV（配列番号31）、DHQLNPAF（配列番号32）、DPKGD PKG（配列番号33）、VTVTVTVTVTGKGDPKPD（配列番号34）、RQIKIWFQNRRMKWKK（配列番号35）、GRKKRRQRRRPPQ（配列番号36）、GWTLNSAGYLLGKINLKALAALAKKIL（配列番号37）、GRKKRRQRRR（配列番号38）、RRRRRRRR（配列番号39）、RRRRRRRRRR（配列番号40）、RRRRRRRRRRRR（配列番号41）、RRRRRRRRRRRRRR（配列番号42）、RRRRRRRRRRRRRR（配列番号43）、およびYTIWMPENPRPGTPCDI FTNSRGKRA SNGGGG（R）n（式中、Lーおよび／またはD型でn＝2～15R）（配列番号44）、またはこれらの細胞透過性フラグメント。

【0213】

上記で考察したように、リボソームは、循環中でのそれらの寿命を延長できる立体安定剤を含み得る。立体安定剤を組み込んでいるこれらの実施形態に対し、立体安定剤は、ポリエチレングリコール（PEG）；ポリ-L-リシン（PLL）；モノシアロガングリオシド（GM1）；ポリ（ビニルピロリドン）（PVP）；ポリ（アクリルアミド）（PAA）；ポリ（2-メチル-2-オキサゾリン）；ポリ（2-エチル-2-オキサゾリン）；ホスファチジルポリグリセロール；ポリ〔N-（2-ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド〕；両親媒性ポリ-N-ビニルピロリドン；L-アミノ酸ベースポリマー；オリゴグリセリン、ポリエチレングリコールおよびポリプロピレンオキシド含有コポリマー、ポロキサマー188、およびポリビニルアルコールからなる群より選択される少なくとも1つのメンバーであり得る。いくつかの実施形態では、立体安定剤または立体安定剤群は、PEGである。一実施形態では、立体安定剤はPEGである。さらなる実施形態では、PEGは、200～5000ダルトンの数平均分子量（Mn）を有する。これらのPEGは、直鎖、分岐、星形または 形構造など任意の構造であり得、商業的に入手できる。

【0214】

いくつかの実施形態では、リボソーム組成物はペグ化リボソーム（PLp-γPTHF）を含む。いくつかの実施形態では、ペグ化リボソーム組成物中のリボソームは、4、5、2-10、4-6、または5超のグルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、Lp-γPTHF中のγPTHFは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、Lp-γPTHF中のγPTHFはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、Lp-γPTHF中のγPTHFはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物はγペンタグルタミン酸化THFを含むペグ化リボソームを含む。さらなる実施形態では、リボソームは、L-γペンタグルタミン酸化THF、D-γペンタグルタミン酸化THF、またはL-およびD-γペンタグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物はγヘキサグルタミン酸化THFを含むペグ化リボソームを含む。さらなる実施形態では、リボソームは、L-γヘキサグルタミン酸化THF、D-γヘキサグルタミン酸化THF、またはL-およびD-γヘキサグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物は、アニオン性または中性であるペグ化リボソームを含む。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物は、カチオン性であるペグ化リボソームを含む。いくつかの実施形態では、PLp-γPTHF組成物は標的化されていない（NTPLp-γPTHF）。他の実施形態では、PLp-γPTHF組成物は、標的化されている（TPLp-γPTHF）。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物は、少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%w/w超のγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物は、リボソームを調製するプロセス中に、PLp-γPTHFに封入（捕捉）された、少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%w/w超のγPTHFを含むペグ化リボソームを含む。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物は20nm～500nmの範囲の直径を有するペグ化リボソームを含む。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物は20nm～400nmの範囲の直径を有するペグ化リボソームを含む。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物は20nm～300nmの範囲の直径を有するペグ化リボソームを含む。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物は20nm～200nmの範囲の直径を有するペグ化リボソームを含む。さらなる実施形態では、リボソーム組成物は80nm～120nmの範囲の直径を有するペグ化リボソームを含む。

【0215】

いくつかの実施形態では、提供されるリボソーム組成物中のポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸の70%、80%または90%超は、ペンタグルタミン酸化されている。いくつかの実施形態では、提供される組成物中のポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸の70%、80%または90%超は、ヘキサグルタミン酸化されている。いくつかの実施形態で

は、組成物中のポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸の70%、80%または90%超は、4-10、4-6、または5超のγ-グルタミル基を有する。

【0216】

いくつかの実施形態では、γ P T H F 組成物（例えば、ポリグルタミン酸およびポリグルタミン酸を含有するリポソームなどの送達ビヒクル）は水溶液中にある。いくつかの実施形態では、γ P T H F 組成物はリポソーム組成物中で、体表面積1平方メートル（m²）あたり0.005～5000mgのγ P T H Fまたはそれらの間の任意の範囲の用量で投与される。さらなる実施形態では、γ P T H F 組成物はリポソーム組成物中で、1平方メートルの体表面積あたり0.1～1000mgのγ P T H F、またはそれらの間の任意の範囲の用量で投与される。

【0217】

（1）リポソーム組成物

リポソーム組成物中に含まれるリポソームの脂質およびその他の成分は、任意の脂質、脂質の組み合わせおよび比率、または脂質およびその他のリポソーム成分の組み合わせおよび当該技術分野において既知のそれらそれぞれの比率とすることができる。しかし、限定されないが、本明細書で考察のγポリグルタミン酸化T H Fなどの任意の特定の薬物のリポソーム封入は、有用で機能的なリポソーム製剤を得るための実質的に定型的な実験を含み得ることは、当業者には理解されよう。一般に、提供されるリポソームは、任意のリポソーム構造、例えば、1つ以上の脂質二重層により外側媒体から隔離された内側の空間を有する構造、または膜が内部を隔離する親油性の中心部分を備えた半透膜を有する任意のマイクロカプセル構造を有し得る。脂質二重層は、親水性部（親水性部分親水性部分）および疎水性部（疎水性部分）を特徴とする任意の構造の両親媒性分子であり得る。通常、二重層中の両親媒性分子は、2次元シートに配置され、そこで、疎水性部分は、シートの内側に向き、一方、親水性部分は外側を向く。提供されるリポソームを形成する両親媒性分子は、任意の既知の、または今後発見される両親媒性分子（例えば、合成または天然起源脂質または生体適合性脂質）であり得る。リポソームは、両親媒性ポリマーおよび界面活性剤、例えば、ポリマーソームおよびニオソームにより形成することができる。本開示においては、限定されないが、これらのリポソーム形成材料はまた、「脂質」とも呼ばれる。

【0218】

本明細書で提供されるリポソーム組成物製剤は、液体または乾燥粉末もしくは乾燥ケーキなどの乾燥型であり得る。乾燥粉末または乾燥ケーキは、例えば、凍結乾燥条件下で一次乾燥を受け得る、または一次乾燥のみもしくは一次乾燥と二次乾燥の両方を受け得る。乾燥型では、粉末またはケーキは、例えば、1%～6%の水分、例えば、2%～5%の水分または2%～4%の水分を有し得る。乾燥法の一例は、凍結乾燥（凍結乾燥（f r e e z e - d r y i n g）または凍結乾燥（c r y o d e s s i c a t i o n）とも呼ばれる）である。本開示のいずれかの組成物および方法は、リポソーム、凍結乾燥リポソームまたは凍結乾燥リポソームから再構成したリポソームを含み得る。いくつかの実施形態では、開示組成物および方法は、1つ以上の凍結乾燥保護剤または凍結保護物質を含む。これらの保護剤は通常、糖類（単糖、二糖、および多糖類）、多価アルコール、およびこれらの誘導体、グリセロールもしくはポリエチレングリコール、トレハロース、マルトース、スクロース、グルコース、ラクトース、デキストラン、グリセロール、またはアミノグリコシドなどのポリヒドロキシ化合物である。さらなる実施形態では、凍結乾燥保護剤または凍結保護物質は、リポソームの外側、リポソームの内側、またはリポソームの外側および内側の溶液の最大10%または最大20%を含む。

【0219】

いくつかの実施形態では、リポソームは、循環中でのそれらの寿命を延長する立体安定剤を含む。親水性高分子（ポリエチレングリコール（P E G））、糖脂質（モノシアログングリオシド（G M 1））、その他などの1つ以上の立体安定剤は、リポソーム表面に直接隣接した空間を占め、他の高分子をこの空間から排除する。この結果、血漿オプソニン

のリポソーム表面へのアクセスと結合が妨害され、従って、マクロファージのこのようなリポソームとの相互作用、またはいずれか他の除去機序が抑制され、循環中のリポソームの寿命が延長される。いくつかの実施形態では、立体安定剤または立体安定剤群は、PEGまたはPEGを含む組み合わせである。さらなる実施形態では、立体安定剤は、PEGまたは200～5000ダルトンの数平均分子量(Mn)を有するPEGを含む組み合わせである。これらのPEGは、直鎖、分岐、星形または 形構造など任意の構造であり得、商業的に入手できる。

【0220】

開示されるリポソームの直径は特に限定されない。いくつかの実施形態では、リポソームは例えば30～150nm(ナノメートル)の範囲の直径を有する。他の実施形態では、リポソームは40～70nmの範囲の直径を有する。

10

【0221】

リポソームの特性は、リポソームを作製するために使用した脂質の性質により影響を受ける。多種多様な脂質がリポソームを作製するために使用されてきた。これらには、カチオン性、アニオン性および中性脂質が含まれる。いくつかの実施形態では、γPTHFを含むリポソームは、アニオン性または中性である。他の実施形態では、提供されるリポソームはカチオン性である。電荷(例えば、アニオン性、中性のまたはカチオン性)の判定は、リポソームのゼータ電位を測定することにより定型作業で決定できる。リポソームのゼータ電位は、プラス、ゼロまたはマイナスであり得る。いくつかの実施形態では、リポソームのゼータ電位は、ゼロ以下である。いくつかの実施形態では、リポソームのゼータ電位は、0～-150mVの範囲である。別の実施形態では、リポソームのゼータ電位は、-30～-50mVの範囲である。

20

【0222】

いくつかの実施形態では、カチオン性脂質を用いて、遺伝子導入剤としてよく使われるカチオン性リポソームが作製される。カチオン性リポソーム上の正電荷が細胞表面上の負電荷との相互作用を可能とする。カチオン性リポソームの細胞への結合後、リポソームは、エンドサイトーシスにより細胞の内部に輸送される。

【0223】

いくつかの好ましい実施形態では、中性～アニオン性リポソームが使用される。好ましい実施形態では、アニオン性リポソームが使用される。例えば、HSPCなどの中性脂質およびPEG-DSPCなどのアニオン性脂質の混合物の使用により、アニオン性リポソームが形成され、これは、正常細胞に非特異的に結合する可能性が低い。腫瘍細胞に対する特異的結合は、例えば、葉酸受容体アルファ抗体、葉酸受容体β抗体および/または葉酸受容体葉酸受容体δ抗体を含む葉酸受容体抗体などの腫瘍標的化抗体を用いて実現できる。

30

【0224】

一例として、少なくとも1つの(またはいくつかの)脂質は、親水性および疎水性部分(通常、親水性頭部および疎水性尾部)を有するとして定義される両親媒性脂質である。疎水性部分は通常、疎水性相(例えば、二重層内)に向き、一方、親水性部分は通常、水相(例えば、二重層の外側)を向く。親水性部分は、炭水化物、ホスフェート、カルボン酸、スルファート、アミノ、スルフヒドリル、ニトロ、ヒドロキシおよびその他の類似の基などの極性基または荷電基を含むことができる。疎水性部分は、限定されないが、長鎖飽和および不飽和の脂肪族炭化水素基および1つ以上の芳香族、脂環式または複素環基により置換された基を含む無極性基を含むことができる。両親媒性化合物の例としては、リン脂質、アミノ脂質およびスフィンゴ脂質が挙げられるが、これらに限定されない。

40

【0225】

典型的には、例えば、脂質はリン脂質である。リン脂質には、限定されないが、ホスファチジルコリン、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、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルセリン、などが挙げられる。コレステロール、スフィンゴミエリン、およびカルジオリピンなどの他の脂質膜成分も使用できることを理

50

解されたい。

【0226】

本明細書で提供されるリボソームを含む脂質は、アニオン性および中性のリン脂質を含むアニオン性および中性（双性イオン性および極性を含む）脂質であり得る。中性脂質は、選択pHで、非荷電または中性の双性イオン性型で存在する。生理学的pHで、このような脂質には、例えば、ジオレオイルホスファチジルグリセロール（DOPG）、ジアシルホスファチジルコリン、ジアシルホスファチジルエタノールアミン、セラミド、スフィンゴミエリン、ケファリン、コレステロール、セレブロシドおよびジアシルグリセロールが挙げられる。双性イオン性脂質の例には、限定されないが、ジオレオイルホスファチジルコリン（DOPC）、ジミリストイルホスファチジルコリン（DMPC）、およびジオレオイルホスファチジルセリン（DOPS）が挙げられる。アニオン性脂質は、生理学的pHで負に帯電している。これらの脂質には、限定されないが、ホスファチジルグリセロール、カルジオリピン、ジアシルホスファチジルセリン、ジアシルホスファチジン酸、N-ドデカノイルホスファチジルエタノールアミン、N-スクシニルホスファチジルエタノールアミン、N-グルタリルホスファチジルエタノールアミン、リシルホスファチジルグリセロール、パルミトイルオレオイルホスファチジルグリセロール（POPG）、および中性脂質に結合したアニオン性修飾基が挙げられる。

【0227】

まとめると、アニオン性および中性脂質は本明細書において非カチオン性脂質と呼ばれる。そのような脂質はリンを含み得るが、それらはそのように限定されない。非カチオン性脂質の例としては、レシチン、リゾレシチン、ホスファチジルエタノールアミン、リゾホスファチジルエタノールアミン、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（DOPE）、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン（DPPE）、ジミリストイルホスホエタノールアミン（DMPE）、ジステアロイルホスファチジルエタノールアミン（DSPE）、パルミトイルオレオイルホスファチジルエタノールアミン（POPE）パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン（POPC）、卵ホスファチジルコリン（EPC）、ジステアロイルホスファチジルコリン（DSPC）、ジオレオイルホスファチジルコリン（DOPC）、ジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）、ジオレオイルホスファチジルグリセロール（DOPG）、ジパルミトイルホスファチジルグリセロール（DPPG）、パルミトイルオレオイルホスファチジルグリセロール（POPG）、16-0-モノメチルPE、16-0-ジメチルPE、18-1-トランスPE、パルミトイルオレオイルホスファチジルエタノールアミン（POPE）、ステアロイル-2-オレオイルホスファチジルエタノールアミン（SOPE）、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、スフィンゴミエリン、セファリン、カルジオリピン、ホスファチジン酸、セレブロシド、ジセチルホスフェート、およびコレステロールが挙げられる。

【0228】

リボソームは、任意のリボソーム組み立て方法を用いて、当該技術分野において既知のリボソーム（liposomal）成分（リボソーム（liposome）成分とも呼ばれる）を使って構築され得る。リボソーム成分には、例えば、DSPE、HSPC、コレステロールなどの脂質、およびこれらの成分の誘導体が挙げられる。他の好適な脂質は、例えば、Avanti Polar Lipids, Inc. (Alabaster, Alabama, USA) から商業的に入手できる。アニオン性リボソームの作製に好適する入手可能な負電荷または中性電荷の脂質の一部のリストは、例えば、次記の少なくとも1種であり得る：DLPC、DMPC、DPPE、DSPC、DOPC、DMPE、DPPE、DOPE、DMPA・Na、DPPA・Na、DOPA・Na、DMPG・Na、DPPG・Na、DOPG・Na、DMPS・Na、DPPS・Na、DOPS・Na、DOPE-グルタリル・(Na)₂、テトラミリストイルカルディオリピン・(Na)₂、DSPE-mPEG-2000・Na、DSPE-mPEG-5000・Na、およびDSPE-マレイミドPEG-2000・Na。

10

20

30

40

50

【0229】

いくつかの実施形態では、本明細書で提供される γ P T H F 組成物は、カチオン性脂質を含むリポソーム中に配合される。一実施形態では、限定はされないが、カチオン性脂質は、国際公開第 2012/040184 号、同第 2011/153120 号、同第 2011/149733 号、同第 2011/090965 号、同第 2011/043913 号、同第 2011/022460 号、同第 2012/061259 号、同第 2012/054365 号、同第 2012/044638 号、同第 2010/080724 号、同第 2010/21865 号および同第 2008/103276 号、米国特許第 7,893,302 号、同第 7,404,969 号、同第 8,283,333 号、米国特許出願公開第 20100036115 号、および同第 20120202871 号に記載のカチオン性脂質から選択される。これらの特許文献のそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。別の実施形態では、カチオン性脂質は、限定されないが、国際公開第 2012/040184 号、同第 2011/153120 号、同第 2011/1149733 号、同第 2011/090965 号、同第 2011/043913 号、同第 2011/022460 号、同第 2012/061259 号、同第 2012/054365 号および同 2012/044638 号に記載の式 A から選択され得る。これらの特許文献のそれぞれは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。さらに別の実施形態では、カチオン性脂質は、限定されないが、国際公開特許第 2008103276 号の式 C L I ~ C L X X I X、米国特許第 7,893,302 号の式 C L I ~ C L X X I X、米国特許第 7,404,969 号の式 C L I ~ C L X X X X I I および米国特許出願公開第 20100036115 号の式 I ~ V I から選択され得る。これらそれぞれの特許文献は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。非限定的例として、カチオン性脂質は、次記から選択され得る：

(20Z, 23Z) - N, N-ジメチルノナコサ-20, 23-ジエン-10-アミン、
(17Z, 20Z) - N, N-ジメチルヘキサコサ-17, 20-ジエン-9-アミン、
(1Z, 19Z) - N5N-ジメチルペンタコサ-16, 19-ジエン-8-アミン、
(13Z, 16Z) - N, N-ジメチルドコサ-13, 16-ジエン-5-アミン、(12Z, 15Z) - N, N-ジメチルヘンイコサ-12, 15-ジエン-4-アミン、(14Z, 17Z) - N, N-ジメチルトリコサ-14, 17-ジエン-6-アミン、(15Z, 18Z) - N, N-ジメチルテトラコサ-15, 18-ジエン-7-アミン、(18Z, 21Z) - N, N-ジメチルヘプタコサ-18, 21-ジエン-10-アミン、(15Z, 18Z) - N, N-ジメチルテトラコサ-15, 18-ジエン-5-アミン、(14Z, 17Z) - N, N-ジメチルトリコサ-14, 17-ジエン-4-アミン、(19Z, 22Z) - N, N-ジメチルオクタコサ-19, 22-ジエン-9-アミン、(18Z, 21Z) - N, N-ジメチルヘプタコサ-18, 21-ジエン-8-アミン、(17Z, 20Z) - N, N-ジメチルヘキサコサ-17, 20-ジエン-7-アミン、(16Z, 19Z) - N, N-ジメチルペンタコサ-16, 19-ジエン-6-アミン、(22Z, 25Z) - N, N-ジメチルヘントリアコンタ-22, 25-ジエン-10-アミン、(21Z, 24Z) - N, N-ジメチルトリアコンタ-21, 24-ジエン-9-アミン、(18Z) - N, N-ジメチルヘプタコサ-18-エン-10-アミン、(17Z) - N, N-ジメチルヘキサコサ-17-エン-9-アミン、(19Z, 22Z) - N, N-ジメチルオクタコサ-19, 22-ジエン-7-アミン、N, N-ジメチルヘプタコサ-10-アミン、(20Z, 23Z) - N-エチル-N-メチルノナコサ-20, 23-ジエン-10-アミン、1-[(11Z, 14Z) - 1-ノニルイコサ-11, 14-ジエン-1-イル]ピロリジン、(20Z) - N, N-ジメチルヘプタコサ-20-エン-10-アミン、(15Z) - N, N-ジメチルエプタコサ-15-エン-10-アミン、(14Z) - N, N-ジメチルノナコサ-14-エン-10-アミン、(17Z) - N, N-ジメチルノナコサ-17-エン-10-アミン、(24Z) - N, N-ジメチルトリトリアコンタ-24-エン-10-アミン、(20Z) - N, N-ジメチルノナコサ-20-エン-10-アミン、(22Z) - N, N-ジメチルヘントリアコンタ-22-エン-10-アミン、(16Z) - N, N-ジメチルペンタコサ-16-エン-8

10

20

30

40

50

-アミン、(12Z, 15Z) -N, N-ジメチル-2-ノニルヘンイコサ-12, 15-
 ジエン-1-アミン、(13Z, 16Z) -N, N-ジメチル-3-ノニルドコサ-1
 3, 16-ジエン-1-アミン、N, N-ジメチル-1-[(1S, 2R)-2-オクチ
 ルシクロプロピル] エプタデカン-8-アミン、1-[(1S, 2R)-2-ヘキシルシ
 クロプロピル] -N, N-ジメチルノナデカン-10-アミン、N, N-ジメチル-1-
 [(1S, 2R)-2-オクチルシクロプロピル] ノナデカン-10-アミン、N, N-
 ジメチル-21-[(R1S, 2R)-2-オクチルシクロプロピル] ヘンイコサン-10
 -アミン、N, N-ジメチル-1-[(1S, 2S)-2-{[(1R, 2R)-2-ペン
 チルシクロプロピル] メチル} シクロプロピル] ノナデカン-10-アミン、N, N-
 ジメチル-1-[(1S, 2R)-2-オクチルシクロプロピル] ヘキサデカン-8-ア
 ミン、N, N-ジメチル-[(1R, 2S)-2-ウンデシル-シクロプロピル] テトラ
 デカン-5-アミン、N, N-ジメチル-3-{7-[(1S, 2R)-2-オクチルシ
 クロプロピル] ヘプチル} ドデカン-1-アミン、1-[(1R, 2S)-2-ヘプチル
 シクロプロピル] -N, N-ジメチルオクタデカン-9-アミン、1-[(1S, 2R)
 -2-デシルシクロプロピル] -N, N-ジメチル-ペンタデカン-6-アミン、N, N-
 ジメチル-1-[(1S, 2R)-2-オクチルシクロプロピル] ペンタデカン-8-
 アミン、R--N, N-ジメチル-1-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジ
 エン-1-イルオキシ] -3-(オクチルオキシ) プロパン-2-アミン、S--N, N-
 ジメチル-1-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ
] -3-(オクチルオキシ) プロパン-2-アミン、1-{2-[(9Z, 12Z)-オ
 クタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] -1-[(オクチルオキシ) メチル] エ
 チル} ピロリジン、(2S) -N, N-ジメチル-1-[(9Z, 12Z)-オクタデカ
 -9, 12-ジエン-1-イルオキシ] -3-[(5Z)-オクタ-5-エン-1-イル
 オキシ] プロパン-2-アミン、1-{2-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 1
 2-ジエン-1-イルオキシ] -1-[(オクチルオキシ) メチル] エチル} アゼチジン
 、(2S) -1-(ヘキシルオキシ) -N, N-ジメチル-3-[(9Z, 12Z)-オ
 クタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] プロパン-2-アミン、(2S) -1-
 (ヘプチルオキシ) -N, N-ジメチル-3-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 1
 2-ジエン-1-イルオキシ] プロパン-2-アミン、N, N-ジメチル-1-(ノニル
 オキシ) -3-[(9Z, 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ]
 プロパン-2-アミン、N, N-ジメチル-1-[(9Z)-オクタデカ-9-エン-1
 -イルオキシ] -3-(オクチルオキシ) プロパン-2-アミン; (2S) -N, N-ジ
 メチル-1-[(6Z, 9Z, 12Z)-オクタデカ-6, 9, 12-トリエン-1-イル
 オキシ] -3-(オクチルオキシ) プロパン-2-アミン、(2S) -1-[(11Z
 , 14Z)-イコサ-11, 14-ジエン-1-イルオキシ] -N, N-ジメチル-3-
 (ペンチルオキシ) プロパン-2-アミン、(2S) -1-(ヘキシルオキシ) -3-
 [(11Z, 14Z)-イコサ-11, 14-ジエン-1-イルオキシ] -N, N-ジメチ
 ルプロパン-2-アミン、1-[(11Z, 14Z)-イコサ-11, 14-ジエン-1
 -イルオキシ] -N, N-ジメチル-1-3-(オクチルオキシ) プロパン-2-アミン、
 1-[(13Z, 16Z)-ドコサ-13, 16-ジエン-1-イルオキシ] -N, N-
 ジメチル-3-(オクチルオキシ) プロパン-2-アミン、(2S) -1-[(13Z,
 16Z)-ドコサ-13, 16-ジエン-1-イルオキシ] -3-(ヘキシルオキシ) -
 N, N-ジメチル-プロパン-2-アミン、(2S) -1-[(13Z)-ドコサ-13
 -エン-1-イルオキシ] -3-(ヘキシルオキシ) -N, N-ジメチルプロパン-2-
 アミン、1-[(13Z)-ドコサ-13-エン-1-イルオキシ] -N, N-ジメチル
 -3-(オクチルオキシ) プロパン-2-アミン、1-[(9Z)-ヘキサデカ-9-エ
 ン-1-イルオキシ] -N, N-ジメチル-3-(オクチルオキシ) プロパン-2-アミ
 ン、(2R) -N, N-ジメチル-H(1-メチルオクチル) オキシ] -3-[(9Z,
 12Z)-オクタデカ-9, 12-ジエン-1-イルオキシ] プロパン-2-アミン、(
 2R) -1-[(3, 7-ジメチルオクチル) オキシ] -N, N-ジメチル-3-R9Z

10

20

30

40

50

， 1 2 Z）－オクタデカ－ 9， 1 2－ジエン－ 1－イロキシプロパン－ 2－アミン、 N， N－ジメチル－ 1－（オクチルオキシ）－ 3－（ { 8－ [（ 1 S， 2 S）－ 2－ { [（ 1 R， 2 R）－ 2－ペンチルシクロプロピル]－メチル} シクロプロピル] オクチル} オキシ）プロパン－ 2－アミン、 N， N－ジメチル－ 1－ { [－（ 2－オクリルシクロプロピル） オクチル] オキシ}－ 3－（オクチルオキシ）プロパン－ 2－アミンおよび（ 1 1 E， 2 0 Z， 2 3 Z）－ N， N－ジメチルノナコサ－ 1 1， 2 0， 2－トリエン－ 1 0－アミンまたは薬学的に許容されるこれらの塩もしくは酸または立体異性体。

【 0 2 3 0 】

一実施形態では、脂質は、国際公開第 2 0 1 2 / 1 7 0 8 8 9 号に記載のものなどの切断可能な脂質であり得る。この特許は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【 0 2 3 1 】

カチオン性脂質は、当該技術分野において既知の方法を使用しておよび／または国際公開第 2 0 1 2 / 0 4 0 1 8 4 号、同第 2 0 1 1 / 1 5 3 1 2 0 号、同第 2 0 1 1 / 1 4 9 7 3 3 号、同第 2 0 1 1 / 0 9 0 9 6 5 号、同第 2 0 1 / 1 0 4 3 9 1 3 号、同第 2 0 1 1 / 0 2 2 4 6 0 号、同第 2 0 1 2 / 0 6 1 2 5 9 号、同第 2 0 1 2 / 0 5 4 3 6 5 号、同第 2 0 1 2 / 0 4 4 6 3 8 号、同第 2 0 1 0 / 0 8 0 7 2 4 号および同第 2 0 1 0 / 2 1 8 6 5 号に記載のようにして、定常的に合成できる。これら特許文献は参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【 0 2 3 2 】

脂質誘導体は、例えば、少なくとも、 1 つ以上の立体安定剤および／または官能基のリポソーム成分への結合（好ましくは共有結合）（この結合の後で、立体安定剤および／または官能基は、リポソーム成分の一部と見なされるはずである）を含むことができる。官能基は、リポソーム成分を、タンパク質などの別の部分に結合するために使用できる基を含む。このような官能基には、少なくとも、マレイミドが含まれる。これらの立体安定剤には、ポリエチレングリコール（ P E G ）；ポリ－ L－リシン（ P L L ）；モノシアロガングリオシド（ G M 1 ）；ポリ（ビニルピロリドン）（ P V P ）；ポリ（アクリルアミド）（ P A A ）；ポリ（ 2－メチル－ 2－オキサゾリン）；ポリ（ 2－エチル－ 2－オキサゾリン）；ホスファチジルポリグリセロール；ポリ [N－（ 2－ヒドロキシプロピル）メタクリルアミド]；両親媒性ポリ－ N－ビニルピロリドン； L－アミノ酸ベースポリマー；およびポリビニルアルコールからなる群由来の少なくとも 1 種が含まれる。

【 0 2 3 3 】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は、脂質－ポリカチオン複合体中に配合される。脂質－ポリカチオン複合体の形成は、当該技術分野において既知の方法を用いて、および／または米国特許出願公開第 2 0 1 2 0 1 7 8 7 0 2 号に記載のようにして、実現され得る。この特許は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。非限定的例として、ポリカチオンには、限定されないが、ポリリシン、ポリオルニチン、および／またはポリアルギニンなどのカチオン性ペプチドまたはポリペプチド、および国際公開第 2 0 1 2 / 0 1 3 3 2 6 号に記載のカチオン性ペプチドが挙げられる。この特許は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる別の実施形態では、 γ P T H F は、脂質－ポリカチオン複合体中に配合され、これには、限定されないが、コレステロールまたはジオレオイルホスファチジルエタノールアミン（ D O P E ）などの中性脂質がさらに含まれる。

【 0 2 3 4 】

リポソームの成分は、それに結合する任意の分子（すなわち、化学薬品／試薬／タンパク質）を含むことができ、いくつかの実施形態では、提供されるリポソームの成分には、少なくとも、群 D S P E、D S P E－P E G、D S P E－マレイミド、H S P C；H S P C－P E G；H S P C－マレイミド；コレステロール；コレステロール－P E G；およびコレステロール－マレイミドから選択されるメンバーが含まれる。いくつかの実施形態では、提供されるリポソームの成分は、D S P E、D S P E－P E G、D S P E－マレイミド、H S P C；H S P C－P E G；H S P C－マレイミド；コレステロール；コレステロール－P E G；およびコレステロール－マレイミドを含む。好ましい実施形態では、リポ

10

20

30

40

50

ソームを構成するリポソーム成分には、DSPE；DSPE-FITC；DSPE-マレイミド；コレステロール；およびHSPCが含まれる。

【0235】

さらなる実施形態では、本明細書で提供されるリポソーム組成物のリポソームは、酸化型リン脂質を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルコリンおよび1-パルミトイル-2-アラキドノイル-sn-グリセロ-2-ホスフェートからなる群より選択されるメンバーの酸化型リン脂質を含む。いくつかの実施形態では、リン脂質は不飽和結合を有する。いくつかの実施形態では、リン脂質は、リン脂質を含むアラキドン酸である。さらなる実施形態では、リン脂質は、sn-2-酸素化されている。さらなる実施形態では、リン脂質は、断片化していない。

10

【0236】

いくつかの実施形態では、開示リポソーム組成物のリポソームは、酸化型1-パルミトイル-2-アラキドノイル-sn-グリセロ-3-ホリルコリン(OxPAPC)を含む。本明細書で使用される場合、用語の「OxPAPC」は、1-パルミトイル-2-アラキドノイル-sn-グリセロ-3-ホリルコリン(PAPC)の酸化により生成される脂質を意味し、これにより、断片化または完全長酸素化sn-2残基を含む酸化型リン脂質の混合物を生じる。特徴がはっきりした酸化的断片化種は、オメガアルデヒドまたはオメガカルボキシル基を有する5-炭素sn-2残基を含む。アラキドン酸残基の酸化はまた、エステル化イソプロスタノールを含むリン脂質を生成する。OxPAPCは、OxPAPC中に存在する多くの酸化型生成物の内でも特に、HOdiA-PC、KOdiA-PC、HOOA-PCおよびKOOA-PC種を含む。さらなる実施形態では、OxPAPCは、エポキシイソプロスタノール含有リン脂質である。さらなる実施形態では、OxPAPCは、1-パルミトイル-2-(5,6-エポキシイソプロスタノール E2)-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(5,6-PEIPC)、1-パルミトイル-2-(エポキシシクロペンテノン)-sn-グリセロ-3-ホリルコリン(PECPC)および/または1-パルミトイル-2-(エポキシイソプロスタノール E2)-sn-グリセロ-4-ホスホコリン(PEIPC)である。いくつかの実施形態では、リン脂質は不飽和結合を有する。いくつかの実施形態では、リン脂質は、リン脂質を含むアラキドン酸である。さらなる実施形態では、リン脂質は、sn-2-酸素化されている。さらなる実施形態では、リン脂質は、断片化していない。

20

30

【0237】

いくつかの実施形態では、リポソームγPTHF組成物はペグ化されている(すなわち、ペグ化リポソームγポリグルタミン酸化(例えば、ペンタグルタミン酸化またはヘキサグルタミン酸化)葉酸代謝拮抗薬(PLp-γPTHFまたはTPLp-γPTHF))。いくつかの実施形態では、PLp-γPTHFまたはTPLp-γPTHFは水溶性である。すなわち、PLp-γPTHFまたはTPLp-γPTHFは、水溶液の形態である。

【0238】

いくつかの実施形態では、開示リポソーム組成物のリポソームは、次記から選択される脂質を含む：1-パルミトイル-2-グルタロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(PGPC)；1-パルミトイル-2-(9'-オキソノナノイル)-sn-グリセロ-3-ホスホコリン；1-パルミトイル-2-アラキドノイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン；1-パルミトイル-2-ミリストイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン；1-パルミトイル-2-ヘキサデシル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン；1-パルミトイル-2-アゼラオイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン；および1-パルミトイル-2-アセトイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン。さらなる実施形態では、リポソームは、PGPCを含む。

40

【0239】

いくつかの実施形態では、リポソーム組成物を含む溶液のpHは、pH 5~8または

50

pH 2～6、2～8、またはそれらの間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物を含む溶液のpHは、pH 5～8、またはその間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物を含む溶液のpHは、pH 6～7、またはその間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物を含む溶液のpHは、6～7.5、6.5～7.5、6.7～7.5、または6.3～7.0、またはそれらの間の任意の範囲である。

【0240】

いくつかの実施形態では、リポソーム脂質二重層の少なくとも1つの成分は、官能化されている（または反応性である）。本明細書で使用される場合、官能化成分は、試薬および部分を脂質に架橋するために使用できる反応性基を含む成分である。脂質が官能化されると、それが形成するいずれのリポソームも官能化される。いくつかの実施形態では、反応性基は、架橋剤（またはその他の部分）と反応して架橋を形成するものである。リポソーム脂質二重層中の反応性基は、架橋剤と接触して、別の部分（例えば、立体安定剤またはターゲティング部分）との架橋を可能とする脂質のどこかに配置される。いくつかの実施形態では、反応性基は、例えば、リン脂質などの脂質の先端基中にある。いくつかの実施形態では、反応性基はマレイミド基である。マレイミド基は、限定されないが、ジチオトレイトール（DTT）などのジチオール架橋剤の存在下で相互に架橋できる。

【0241】

上記のものを越える他の官能化脂質、他の反応性基、および他の架橋剤の使用がさらに意図されていることを理解されたい。マレイミド基に加えて、意図される反応性基の他の例には、限定されないが、他のチオール反応性基、1級または2級アミンなどのアミノ基、カルボキシル基、ヒドロキシル基、アルデヒド基、アルキン基、アジド基、カルボニル基、ハロアセチル（例えば、ヨードアセチル）基、イミドエステル基、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、スルフヒドリル基、およびピリジルジスルフィド基が挙げられる。

【0242】

官能化および非官能化脂質は、Avanti Polar Lipids（アラバスター、AL）およびLipoid LLC（ニューアーク、NJ）を含む市販元から入手可能である。

【0243】

（2）リポソーム内部空間

さらなる非限定的実施形態では、提供されるリポソームは、内部空間を含んでいる。いくつかの実施形態では、内部空間は、限定されないが、水溶液を含む。いくつかの実施形態では、内部空間は、本明細書で提供されるγPTHFを含む。さらなる実施形態では、リポソームの内部空間は、等張化剤を含む。いくつかの実施形態では、いくつかの実施形態では、等張化剤の濃度（重量%）は、0.1～20%、1～20%、0.5～15%、1～15%または1～50%、または、これらの間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、リポソームの内部空間は、糖（例えば、トレハロース、マルトース、スクロース、ラクトース、マンノース、マンニトール、グリセロール、デキストロース、フルクトース、など）を含む。さらなる実施形態では、糖の濃度（重量%）は、0.1～20%、1～20%、0.5～15%、1～15%または1～50%、または、これらの間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、リポソームの内部空間のpHは、pH 2～8、またはその間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物を含む溶液のpHは、pH 5～8、またはその間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物を含む溶液のpHは、pH 6～7、またはその間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物を含む溶液のpHは、6～7.5、6.5～7.5、6.7～7.5、または6.3～7.0、またはそれらの間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、内部空間は、緩衝液を含む。さらなる実施形態では、緩衝液は、HEPES、クエン酸塩、またはリン酸ナトリウム（例えば、第一リン酸ナトリウムおよび／または第二リン酸ナトリウム）から選択される緩衝液である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、HEPESである。いくつかの実施形態では、緩衝液は、クエン酸塩で

10

20

30

40

50

ある。いくつかの実施形態では、緩衝液は、リン酸ナトリウム（例えば、第一リン酸ナトリウムおよび／または第二リン酸ナトリウム）である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、15～200mM、またはその間の任意の範囲の濃度である。さらに別の実施形態では、緩衝液は、5～200mM、15～200mM、5～100mM、15～100mM、5～50mM、15～50mM、5～25mM、5～20mM、5～15mM、またはその間の任意の範囲の濃度である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、15～200mM、またはその間の任意の範囲の濃度のH E P E Sである。いくつかの実施形態では、緩衝液は、15～200mM、またはその間の任意の範囲の濃度のクエン酸塩である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、15～200mM、またはその間の任意の範囲の濃度のリン酸ナトリウムである。いくつかの実施形態では、リポソームの内部空間は、5mM～500mM、または50mM～500mM、またはその間の任意の範囲の酢酸ナトリウムおよび酢酸カルシウムの合計濃度を含む。

【0244】

いくつかの実施形態では、リポソームの内部空間はトレハロースを含む。さらなる実施形態では、トレハロースの濃度重量パーセントは0.1～20%、1～20%、0.5～15%、1%～15%、または5～20%、またはそれらの間の任意の範囲である。さらに別の実施形態では、トレハロースの濃度（重量パーセント）は1～15%、またはそれらの間の任意の範囲である。追加の実施形態では、トレハロースは、約5%～20%（重量%）トレハロースの濃度で、または、1つ以上の凍結乾燥保護剤または凍結保護物質の任意の組み合わせの合計5%～20%の濃度で存在する。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物を含む溶液のpHは、6～7.5、6.5～7.5、6.7～7.5、または6.3～7.0、またはそれらの間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、内部空間は、緩衝液を含む。いくつかの実施形態では、緩衝液は、H E P E S、クエン酸塩、またはリン酸ナトリウム（例えば、第一リン酸ナトリウムおよび／または第二リン酸ナトリウム）から選択される。いくつかの実施形態では、緩衝液は、H E P E Sである。いくつかの実施形態では、緩衝液は、クエン酸塩である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、リン酸ナトリウム（例えば、第一リン酸ナトリウムおよび／または第二リン酸ナトリウム）である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、15～200mM、またはその間の任意の範囲の濃度である。さらに別の実施形態では、緩衝液は、5～200mM、15～200mM、5～100mM、15～100mM、5～50mM、15～50mM、5～25mM、5～20mM、5～15mM、またはこれらの間の任意の範囲の濃度である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、15～200mM、またはその間の任意の範囲の濃度のH E P E Sである。いくつかの実施形態では、緩衝液は、15～200mM、またはその間の任意の範囲の濃度のクエン酸塩である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、15～200mM、またはその間の任意の範囲の濃度のリン酸ナトリウムである。さらなる実施形態では、リポソームの内部空間は、酢酸ナトリウムおよび／または酢酸カルシウムを含む。いくつかの実施形態では、リポソームの内部空間は、5mM～500mM、または50mM～500mM、またはその間の任意の範囲の酢酸ナトリウムおよび酢酸カルシウムの合計濃度を含む。

【0245】

いくつかの実施形態では、リポソームの内部空間は、デキストロースを含む。さらなる実施形態では、デキストロースの濃度（重量%）は、0.1～20%、1～20%、0.5～15%、1～15%、または5～20%、または、これらの間の任意の範囲である。またさらなる実施形態では、デキストロースの濃度（重量%）は、1～15%、または、この間の任意の範囲である。追加の実施形態では、デキストロースは、約5%～20%（重量%）のデキストロース濃度で、または、1つ以上の凍結乾燥保護剤または凍結保護物質の任意の組み合わせは、合計濃度5%～20%で存在する。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物を含む溶液のpHは、6～7.5、6.5～7.5、6.7～7.5、または6.3～7.0、またはこれらの間の任意の範囲である。いくつかの実施形態では、内部空間は、緩衝液を含む。いくつかの実施形態では、緩衝液は、H E P E S、クエン

酸塩、またはリン酸ナトリウム（例えば、第一リン酸ナトリウムおよび／または第二リン酸ナトリウム）から選択される。いくつかの実施形態では、緩衝液は、H E P E Sである。いくつかの実施形態では、緩衝液は、クエン酸塩である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、リン酸ナトリウム（例えば、第一リン酸ナトリウムおよび／または第二リン酸ナトリウム）である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、15～200mM、またはその間の任意の範囲の濃度である。またさらなる実施形態では、緩衝液は、5～200mM、15～200mM、5～100mM、15～100mM、5～50mM、15～50mM、5～25mM、5～20mM、5～15mM、またはその間の任意の範囲の濃度である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、15～200mM、またはその間の任意の範囲の濃度のH E P E Sである。いくつかの実施形態では、緩衝液は、15～200mM、またはその間の任意の範囲の濃度のクエン酸塩である。いくつかの実施形態では、緩衝液は、15～200mM、またはその間の任意の範囲の濃度のリン酸ナトリウムである。さらなる実施形態では、リポソームの内部空間は、酢酸ナトリウムおよび／または酢酸カルシウムを含む。いくつかの実施形態では、リポソームの内部空間は、5mM～500mM、または50mM～500mM、またはその間の任意の範囲の酢酸ナトリウムおよび酢酸カルシウムの合計濃度を含む。

【0246】

追加の実施形態では、本開示は、 γ P T H F（例えば、本明細書で開示される γ P T H F）を封入した（充填した）リポソームを含むリポソーム組成物を提供する。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物中のリポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基（テトラヒドロ葉酸中のグルタミル基を含む）を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、L p - γ P T H F中の γ P T H Fは2つ以上のL型のグルタミル基を含む。他の実施形態では、L p - γ P T H F中の γ P T H FはD型のグルタミル基を含む。さらなる実施形態では、L p - γ P T H F中の γ P T H FはD型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む。追加の実施形態では、L p - γ P T H F中の γ P T H Fは、 γ カルボキシル結合を有する2つ以上のグルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は γ ペンタグルタミン酸化T H Fを含むリポソームを含む。さらなる実施形態では、リポソームは、L - γ ペンタグルタミン酸化T H F、D - γ ペンタグルタミン酸化T H F、またはL - およびD - γ ペンタグルタミン酸化T H Fを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は γ ヘキサグルタミン酸化T H Fを含むリポソーム（L p - γ P T H F）を含む。さらなる実施形態では、リポソームは、L - γ ヘキサグルタミン酸化T H F、D - γ ヘキサグルタミン酸化T H F、またはL - およびD - γ ヘキサグルタミン酸化T H Fを含む。

【0247】

いくつかの実施形態では、標的化ペグ化リポソーム γ ポリグルタミン酸化（例えば、ペンタグルタミン酸化またはヘキサグルタミン酸化）テトラヒドロ葉酸は、内部空間；内部空間内に配置される水性 γ P T H F；および少なくとも1つの葉酸受容体に対し特異的親和性を有するタンパク質を含むターゲティング部分を含むリポソームを含む媒体を含み、ターゲティング部分はリポソームの外面に配置される。いくつかの実施形態では、媒体は水溶液である。いくつかの実施形態では、内部空間、外部空間（例えば、媒体）、または内部空間と媒体の両方は、前述される1種類以上の凍結乾燥保護剤または凍結保護物質を含む。いくつかの実施形態では、凍結保護物質はマンニトール、トレハロース、ソルビトール、またはスクロースである。

【0248】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F封入リポソーム（すなわち、P L p - γ P T H F、T P L p - γ P T H F、T L p - γ P T H F、およびN T L p - γ P T H Fを含むL p - γ P T H F）は、500,000個未満、または200,000個未満の γ P T H F分子を含む内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソーム内部空間は、10～100,000個またはその間の任意の範囲の γ P T H F分子を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム内部空間は、10,000～100,000個またはその間の任意の範

図の γ P T H F 分子を含む。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、500,000個未満または200,000個未満の γ P T H F 分子を含む内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10~100,000個またはその間の任意の範囲の γ P T H F 分子を含む。さらなる実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の γ P T H F 分子を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは標的化され、ペグ化されておらず (T L p - γ P T H F)、500,000個未満または200,000個未満の γ P T H F 分子を含む内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソームは標的化され、ペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10~100,000個またはその間の任意の範囲の γ P T H F 分子を含む。さらなる実施形態では、リポソームは標的化され、ペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の γ P T H F 分子を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは標的化されておらず、ペグ化されておらず (N T L p - γ P T H F)、500,000個未満または200,000個未満の γ P T H F 分子を含む内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソームは標的化されておらず、ペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の γ P T H F 分子を含む。

【0249】

いくつかの実施形態では、リポソームは、2~10個のグルタミル基を含む γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を封入し (すなわち、P L p - γ P T H F、T P L p - γ P T H F、T L p - γ P T H F、および N T L p - γ P T H F を含む L p - γ P T H F)、500,000個または200,000個未満の、2~10個のグルタミル基を含む γ P T H F 分子を含む内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソーム内部空間は、10~100,000個またはその間の任意の範囲の、2~10個のグルタミル基を含む γ P T H F 分子を含む。さらなる実施形態では、リポソーム内部空間は、10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の、2~10個のグルタミル基を含む γ P T H F 分子を含む。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、500,000個または200,000個未満の、2~10個のグルタミル基を含む γ P T H F 分子を含む内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10~100,000個またはその間の任意の範囲の、2~10個のグルタミル基を含む γ P T H F 分子を含む。さらなる実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の、2~10個のグルタミル基を含む γ P T H F 分子を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは標的化され、ペグ化されておらず (T L p - γ P T H F)、500,000個または200,000個未満の、2~10個のグルタミル基を含む γ P T H F 分子を含む内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソームは標的化され、ペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10~100,000個またはその間の任意の範囲の、2~10個のグルタミル基を含む γ P T H F 分子を含む。さらなる実施形態では、リポソームは標的化され、ペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の、2~10個のグルタミル基を含む γ P T H F 分子を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは標的化されておらず、ペグ化されておらず (N T L p - γ P T H F)、500,000個または200,000個未満の、2~10個のグルタミル基を含む γ P T H F 分子を含む内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソームはターゲティング部分を含まず、ペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10~100,000個またはその間の任意の範囲の、2~10個のグルタミル基を含む γ P T H F 分子を含む。さらなる実施形態では、リポソームは標的化されておらず、ペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の、2~10個のグルタミル基を

10

20

30

40

50

含む γ P T H F 分子を含む。

【0250】

いくつかの実施形態では、リポソームは、 γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を封入し（すなわち、 $PLp-\gamma PTHF$ 、 $TPLp-\gamma PTHF$ 、 $TLp-\gamma PTHF$ 、および $N TLp-\gamma PTHF$ を含む $Lp-\gamma PTHF$ ）、500,000個または200,000個未満の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソーム内部空間は、10~100,000個またはその間の任意の範囲の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。いくつかの実施形態では、リポソーム内部空間は、10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、500,000個または200,000個未満の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10~100,000個またはその間の任意の範囲の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。さらなる実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。いくつかの実施形態では、リポソームは、標的化され、ペグ化されておらず（ $TLp-\gamma PTHF$ ）、500,000個または200,000個未満の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソームは、標的化され、ペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10~100,000個またはその間の任意の範囲の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。さらなる実施形態では、リポソームは、標的化され、ペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。いくつかの実施形態では、リポソームは標的化されておらず、ペグ化されておらず（ $N TLp-\gamma PTHF$ ）、500,000個または200,000個未満の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソームは、標的化され、ペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10~100,000個またはその間の任意の範囲の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。さらなる実施形態では、リポソームは標的化されておらず、ペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。

【0251】

いくつかの実施形態では、リポソームは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を封入し（すなわち、 $PLp-\gamma PTHF$ 、 $TPLp-\gamma PTHF$ 、 $TLp-\gamma PTHF$ 、および $N TLp-\gamma PTHF$ を含む $Lp-\gamma PTHF$ ）、500,000個または200,000個未満の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソーム内部空間は、10~100,000個またはその間の任意の範囲の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。いくつかの実施形態では、リポソーム内部空間は、10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、500,000個または200,000個未満の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、リポソームの内部空間は、10~100,000個またはその間の任意の範囲の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。さらなる実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、リポソームの内部空間は10,000~100,000個またはその間の任意の範囲の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。いくつかの実施形態では、リポソームは、標的化され、ペグ化されておらず（ $TLp-\gamma PTHF$ ）、500,000個または200,000個未満の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する内部

10

20

30

40

50

空間を有する。いくつかの実施形態では、リボソームは、標的化され、ペグ化されておらず、リボソームの内部空間は、10～100,000個またはその間の任意の範囲の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。さらなる実施形態では、リボソームは、標的化され、ペグ化されておらず、リボソームの内部空間は、10,000～100,000個またはその間の任意の範囲の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。いくつかの実施形態では、リボソームは標的化されておらず、ペグ化されておらず（NTLP- γ PTHF）、500,000個または200,000個未満の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リボソームは標的化されておらず、ペグ化されておらず、リボソームの内部空間は、10～100,000個またはその間の任意の範囲の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。さらなる実施形態では、リボソームは標的化されておらず、ペグ化されておらず、リボソームの内部空間は、10,000～100,000個またはその間の任意の範囲の γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。

【0252】

いくつかの実施形態では、リボソームは、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を封入し（すなわち、PLP- γ PTHF、TPLP- γ PTHF、TLP- γ PTHF、およびNTLP- γ PTHFを含むLP- γ PTHF）、500,000個または200,000個未満の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リボソーム内部空間は、10～100,000個またはその間の任意の範囲の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。さらなる実施形態では、リボソーム内部空間は、10,000～100,000個またはその間の任意の範囲の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。いくつかの実施形態では、リボソームはペグ化されておらず、500,000個または200,000個未満の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リボソームはペグ化されておらず、リボソームの内部空間は10～100,000個またはその間の任意の範囲の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。さらなる実施形態では、リボソームはペグ化されておらず、リボソームの内部空間は10,000～100,000個またはその間の任意の範囲の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。いくつかの実施形態では、リボソームは、標的化され、ペグ化されておらず（TLP- γ PTHF）、500,000個または200,000個未満の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リボソームは、標的化され、ペグ化されておらず、リボソームの内部空間は、10～100,000個またはその間の任意の範囲の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。さらなる実施形態では、リボソームは、標的化され、ペグ化されておらず、リボソームの内部空間は、10,000～100,000個またはその間の任意の範囲の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。いくつかの実施形態では、リボソームは標的化されておらず、ペグ化されておらず（NTLP- γ PTHF）、500,000個または200,000個未満の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する内部空間を有する。いくつかの実施形態では、リボソームは標的化されておらず、ペグ化されておらず、リボソームの内部空間は、10～100,000個またはその間の任意の範囲の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。さらなる実施形態では、リボソームは標的化されておらず、ペグ化されておらず、リボソームの内部空間は、10,000～100,000個またはその間の任意の範囲の γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸分子を含有する。

【0253】

いくつかの実施形態では、本開示は、リボソーム γ PTHF組成物を提供し、リボソームは、 γ PTHFまたはその塩もしくは酸、および1つ以上の水性の薬学的に許容される担体を封入する。いくつかの実施形態では、リボソームの内部空間は、トレハロースを含む。いくつかの実施形態では、リボソームの内部空間は、5%～20%（重量%）のトレハロースを含む。いくつかの実施形態では、リボソーム内部空間は、1～200mMの濃

10

20

30

40

50

度および2～8のpHのHBSを含む。いくつかの実施形態では、リポソームの内部空間は、pH5～8、またはその間の任意の範囲を有する。いくつかの実施形態では、リポソームの内部空間は、pH6～7、またはその間の任意の範囲を有する。いくつかの実施形態では、リポソームの内部空間は、50mM～500mM、またはその間の任意の範囲の酢酸ナトリウムおよび酢酸カルシウムの合計濃度を含む。

【0254】

A ポリグルタミン酸化されていないポリグルタミン酸化可能な葉酸代謝拮抗薬

いくつかの実施形態では、リポソーム γ PTHF（例えば、PLP- γ PTHF、TPLP- γ PTHF、TLP- γ PTHF、およびNTLP- γ PTHFを含むLP- γ PTHF）組成物は、 γ PTHF（例えば、本明細書で開示される γ PTHF）および1つ以上のポリグルタミン酸化されていないポリグルタミン酸化可能な葉酸代謝拮抗薬組成物を含む。

10

【0255】

いくつかの実施形態では、LP- γ PTHF（例えば、PLP- γ PTHF、TPLP- γ PTHF、TLP- γ PTHF、およびNTLP- γ PTHF）は、 γ PTHF（例えば、本明細書で開示される γ PTHF）およびテトラヒドロ葉酸（THF）を含む。いくつかの実施形態では、LP- γ PTHF（すなわち、リポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸）は、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸、および、下記からなる群より選択されるポリグルタミン酸化可能な葉酸代謝拮抗薬を含む：テトラヒドロ葉酸、メトトレキサート（MTX）、ペメトレキセド（PMX）、ロメトレキソール（LMX）、ラルチトレキセド（RTX）、プララトレキサート、AG2034、GW1843、アミノプテリン、およびLY309887。いくつかの実施形態では、LP- γ PTHFは、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸およびロメトレキソールを含む。いくつかの実施形態では、LP- γ PTHFは、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸およびペメトレキセドを含む。いくつかの実施形態では、LP- γ PTHFは、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸およびロイコボリンを含む。いくつかの実施形態では、LP- γ PTHFは、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸およびトリアジン葉酸代謝拮抗薬誘導体（例えば、NSC127755などのスルホニルルオリドトリアジン）を含む。いくつかの実施形態では、LP- γ PTHFは、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸およびセリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ（SHMT2）阻害剤を含む。いくつかの実施形態では、SHMT2阻害剤は、葉酸代謝拮抗薬（例えば、ポリグルタミン酸化可能なまたはポリグルタミン酸化可能でない葉酸代謝拮抗薬）である。いくつかの実施形態では、SHMT2阻害剤は、葉酸代謝拮抗薬である。

20

30

【0256】

B ポリグルタミン酸化可能でない葉酸代謝拮抗薬

いくつかの実施形態では、LP- γ PTHF（例えば、PLP- γ PTHF、TPLP- γ PTHF、TLP- γ PTHF、NTLP- γ PTHF）は、 γ PTHF（例えば、本明細書で開示される γ PTHF）およびいわゆる「ポリグルタミン酸化可能でない」葉酸代謝拮抗薬を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、 γ PTHFおよび葉酸サイクル代謝経路で1つ以上の酵素を阻害するポリグルタミン酸化可能でない葉酸代謝拮抗薬を含む。さらなる実施形態では、ポリグルタミン酸化可能でない葉酸代謝拮抗薬は、チミジル酸合成酵素（TS）、ジヒドロ葉酸還元酵素（DHFR）、グリシンアミドリボヌクレオチド（GAR）トランスホルミラーゼ、およびアミノイミダゾールカルボキサミドリボヌクレオチド（AICAR）トランスホルミラーゼから選択される1つ以上の酵素を阻害する。いくつかの実施形態では、リポソームは、 γ PTHFおよびDHFRを阻害するポリグルタミン酸化可能でない葉酸代謝拮抗薬を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、 γ PTHFおよびTSを阻害するポリグルタミン酸化可能でない葉酸代謝拮抗薬を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、 γ PTHFおよびGARまたはAICARトランスホルミラーゼを阻害するポリグルタミン酸化可能でない葉酸代謝拮抗薬を含む。さらなる実施形態では、ポリグルタミン酸化可能でない葉酸代謝拮抗薬は、下記から

40

50

なる群より選択される：トリメトレキサート（TMQ）、ピリトレキシム（BW301U）、およびタロトレキシム（PT523）。さらなる実施形態では、ポリグルタミン酸化可能でない葉酸代謝拮抗薬は、下記からなる群より選択される：ノラトレキシド（AG337）、プレビトレキシド（ZD9331、BGC9331）、BGC945（ONX0801）。

【0257】

C 白金

いくつかの実施形態では、リボソームは γ PTHF（例えば、PLp- γ PTHF、TPLp- γ PTHF、TLp- γ PTHF、およびNTLp- γ PTHFなどのLp- γ PTHF）を含み、 γ PTHF（例えば、本明細書で開示される γ PTHF）および白金系化学療法薬またはその塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは、 γ PTHF／白金系薬剤複合体（例えば、セクションIICで記載）を含有する。

【0258】

いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHFは、下記からなる群より選択される白金系化学療法薬を含む：シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン、またはそれらの塩もしくは酸。他の実施形態では、Lp- γ PTHFは、下記からなる群より選択される白金系化学療法薬の類似体を含む：シスプラチン、カルボプラチン、またはオキサリプラチン、またはそれらの塩もしくは酸。

【0259】

いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHFは、 γ PTHFおよびシスプラチンまたはその塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHFは、 γ PTHFおよびシスプラチン類似体またはその塩もしくは酸を含む。

【0260】

いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHFは、 γ PTHFおよびカルボプラチンまたはその塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは、 γ PTHFおよびカルボプラチン類似体またはその塩もしくは酸を含む。

【0261】

いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHFは、 γ PTHFおよびオキサリプラチンまたはその塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは、 γ PTHFおよびオキサリプラチン類似体またはその塩もしくは酸を含む。

【0262】

いくつかの実施形態では、リボソームは、 γ PTHF（例えば、本明細書で開示される γ PTHF）および下記からなる群より選択される白金系化学療法薬を含む：ネダプラチン、ヘプタプラチン、およびロバプラチン、ネダプラチン、ヘプタプラチンおよびロバプラチンまたはそれらの塩もしくは酸。いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHFは、 γ PTHFおよび下記からなる群より選択される白金系化学療法薬の類似体を含む：ネダプラチン、ヘプタプラチン、およびロバプラチン、またはそれらの塩もしくは酸。

【0263】

いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHFは γ PTHFおよび下記からなる群より選択される白金系化学療法薬を含む：ストラトプラチン、パラプラチン、プラチノール、シクロプラチン、デキソルマプラチン、スピロプラチン、ピコプラチン、トリプラチン、テトラプラチン、イプロプラチン、オルマプラチン、ゼニプラチン、白金ートリアミン、サトラプラチン（traplatin）、エンロプラチン、JM216、254S、NK121、CI973、DWA2114R、NDDP、およびデダプラチン（dedaplatin）、またはこれらの塩もしくは酸。いくつかの実施形態では、Lp- γ PTHFは γ PTHFおよび下記からなる群より選択される白金系化学療法薬の類似体を含む：ストラトプラチン、パラプラチン、プラチノール、シクロプラチン、デキソルマプラチン、スピロプラチン、ピコプラチン、トリプラチン、テトラプラチン、イプロプラチン、オルマプラチン、ゼニプラチン、白金ートリアミン、サトラプラチン（traplatin）、エンロプラチン、JM216、254S、NK121、CI973、DWA2114R、

10

20

30

40

50

NDDP、およびデダプラチン (dedaplatin)、またはそれらの塩もしくは酸。
【0264】

いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、PEGまたはリポソームの外面の内の少なくとも1つに配置された、免疫刺激剤、検出可能マーカーおよびマレイミドの内の1つ以上をさらに含むリポソームを含む。

【0265】

D シクロデキストリン

追加の実施形態では、 γ PTHFリポソームは、 γ PTHF（例えば、本明細書で開示される γ PTHF）およびシクロデキストリン（例えば、本明細書のセクションIICのシクロデキストリン）を含む。

【0266】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFリポソームは、シクロデキストリンおよび治療薬により形成された複合体を含む。いくつかの実施形態では、治療薬は、細胞傷害性化合物またはその塩もしくは酸である。さらなる実施形態では、治療薬は、化学療法薬またはその塩もしくは酸である。別の実施形態では、化学療法薬は、白金系薬物である。別の実施形態では、化学療法薬は、タキサン系薬物である。さらなる実施形態では、シクロデキストリン／治療薬複合体の治療薬は、下記からなる群より選択されるメンバーである：ゲムシタビン、ゲムシタビン系治療薬、ドキソルビシン、葉酸代謝拮抗薬、葉酸代謝拮抗薬系化学療法薬、またはこれらの塩もしくは酸、酸型もしくは遊離塩基型。追加の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／治療薬のモル比は、1-10：1の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／治療薬のモル比は1：1、2：1、3：1、4：1、5：1、6：1、7：1、8：1、9：1、10：1、11：1、12：1、13：1、14：1、15：1、16：1、17：1、18：1、19：1、20：1、(21-50)：1、または >50 ：1である。他の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／治療薬のモル比は1：1-20、1：1-10、または1：2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン／治療薬のモル比は、1：1、1：2、1：3、1：4、1：5、1：6、1：7、1：8、1：9、1：10、1：11、1：12、1：13、1：14、1：15、1：16、1：17、1：18、1：19、1：20、1：(21-50)、または1： >50 である。

【0267】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFリポソームは、 γ PTHFおよびシクロデキストリン／白金系化学療法薬複合体を含む。いくつかの実施形態では、白金系化学療法薬は、下記からなる群より選択される：シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン、またはそれらの塩もしくは酸。他の実施形態では、シクロデキストリン／白金系化学療法薬複合体は、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチンの類似体、またはそれらの塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／白金系薬剤のモル比は、1-10：1の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／白金系薬剤のモル比は1：1、2：1、3：1、4：1、5：1、6：1、7：1、8：1、9：1、10：1、11：1、12：1、13：1、14：1、15：1、16：1、17：1、18：1、19：1、20：1、(21-50)：1、または >50 ：1である。他の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／白金系薬剤のモル比は1：1-20、1：1-10、または1：2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン／白金系薬剤のモル比は、1：1、1：2、1：3、1：4、1：5、1：6、1：7、1：8、1：9、1：10、1：11、1：12、1：13、1：14、1：15、1：16、1：17、1：18、1：19、1：20、1：(21-50)、または1： >50 である。

【0268】

いくつかの実施形態では、白金系化学療法薬は下記からなる群より選択される：シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン、またはそれらの塩もしくは酸。他の

10

20

30

40

50

実施形態では、シクロデキストリン／白金系化学療法薬複合体は、シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン、またはそれらの塩もしくは酸の類似体を含む。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／白金系薬剤のモル比は、 $1-10:1$ の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／白金系薬剤のモル比は、 $1:1$ 、 $2:1$ 、 $3:1$ 、 $4:1$ 、 $5:1$ 、 $6:1$ 、 $7:1$ 、 $8:1$ 、 $9:1$ 、 $10:1$ 、 $11:1$ 、 $12:1$ 、 $13:1$ 、 $14:1$ 、 $15:1$ 、 $16:1$ 、 $17:1$ 、 $18:1$ 、 $19:1$ 、 $20:1$ 、 $(21-50):1$ 、または $>50:1$ である。他の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／白金系薬剤のモル比は、 $1:1-20$ 、 $1:1-10$ 、または $1:2-8$ の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン／白金系薬剤のモル比は、 $1:1$ 、 $1:2$ 、 $1:3$ 、 $1:4$ 、 $1:5$ 、 $1:6$ 、 $1:7$ 、 $1:8$ 、 $1:9$ 、 $1:10$ 、 $1:11$ 、 $1:12$ 、 $1:13$ 、 $1:14$ 、 $1:15$ 、 $1:16$ 、 $1:17$ 、 $1:18$ 、 $1:19$ 、 $1:20$ 、 $1:(21-50)$ 、または $1:>50$ である。追加の実施形態では、シクロデキストリン／／白金系薬剤複合体は、リポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

【0269】

さらなる実施形態では、本開示は、シクロデキストリンおよびシスプラチンまたはその塩もしくは酸を含有する複合体を提供する。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／シスプラチン（またはシスプラチンの塩もしくは酸）のモル比は、 $1-10:1$ の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／シスプラチン（またはシスプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1$ 、 $2:1$ 、 $3:1$ 、 $4:1$ 、 $5:1$ 、 $6:1$ 、 $7:1$ 、 $8:1$ 、 $9:1$ 、 $10:1$ 、 $11:1$ 、 $12:1$ 、 $13:1$ 、 $14:1$ 、 $15:1$ 、 $16:1$ 、 $17:1$ 、 $18:1$ 、 $19:1$ 、 $20:1$ 、 $(21-50):1$ 、または $>50:1$ である。他の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／シスプラチン（またはシスプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1-20$ 、 $1:1-10$ 、または $1:2-8$ の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン／シスプラチン（またはシスプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1$ 、 $1:2$ 、 $1:3$ 、 $1:4$ 、 $1:5$ 、 $1:6$ 、 $1:7$ 、 $1:8$ 、 $1:9$ 、 $1:10$ 、 $1:11$ 、 $1:12$ 、 $1:13$ 、 $1:14$ 、 $1:15$ 、 $1:16$ 、 $1:17$ 、 $1:18$ 、 $1:19$ 、 $1:20$ 、 $1:(21-50)$ 、または $1:>50$ である。追加の実施形態では、シクロデキストリン／／シスプラチン（またはシスプラチンの塩もしくは酸）複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

【0270】

別の実施形態では、本開示は、シクロデキストリンおよびカルボプラチンまたはその塩もしくは酸を含有する複合体を提供する。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／カルボプラチン（またはカルボプラチンの塩もしくは酸）のモル比は、 $1-10:1$ の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／カルボプラチン（またはカルボプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1$ 、 $2:1$ 、 $3:1$ 、 $4:1$ 、 $5:1$ 、 $6:1$ 、 $7:1$ 、 $8:1$ 、 $9:1$ 、 $10:1$ 、 $11:1$ 、 $12:1$ 、 $13:1$ 、 $14:1$ 、 $15:1$ 、 $16:1$ 、 $17:1$ 、 $18:1$ 、 $19:1$ 、 $20:1$ 、 $(21-50):1$ 、または $>50:1$ である。他の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／カルボプラチン（またはカルボプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1-20$ 、 $1:1-10$ 、または $1:2-8$ の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン／カルボプラチン（またはカルボプラチンの塩もしくは酸）のモル比は $1:1$ 、 $1:2$ 、 $1:3$ 、 $1:4$ 、 $1:5$ 、 $1:6$ 、 $1:7$ 、 $1:8$ 、 $1:9$ 、 $1:10$ 、 $1:11$ 、 $1:12$ 、 $1:13$ 、 $1:14$ 、 $1:15$ 、 $1:16$ 、 $1:17$ 、 $1:18$ 、 $1:19$ 、 $1:20$ 、 $1:(21-50)$ 、または $1:>50$ である。追加の実施形態では、シクロデキストリン／カルボプラチン（またはカルボプラチンの塩もしくは酸）複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記

10

20

30

40

50

載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように)。

【0271】

別の実施形態では、本開示は、シクロデキストリンおよびオキサリプラチン、またはそれらの塩もしくは酸を含有する複合体を提供する。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）のモル比は、1－10：1の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）のモル比は1：1、2：1、3：1、4：1、5：1、6：1、7：1、8：1、9：1、10：1、11：1、12：1、13：1、14：1、15：1、16：1、17：1、18：1、19：1、20：1、(21－50)：1、または>50：1である。他の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）のモル比は1：1－20、1：1－10、または1：2－8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン／オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）のモル比は1：1、1：2、1：3、1：4、1：5、1：6、1：7、1：8、1：9、1：10、1：11、1：12、1：13、1：14、1：15、1：16、1：17、1：18、1：19、1：20、1：(21－50)、または1：>50である。追加の実施形態では、シクロデキストリン／オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように）。

【0272】

追加の実施形態では、本開示は、シクロデキストリンおよび下記からなる群より選択される白金系化学療法薬を含む複合体を提供する：ネダプラチン、ヘプタプラチン、ロバプラチン、ストラトプラチン、パラプラチン、プラチノール、シクロプラチン、デキソルマプラチン、スピロプラチン、ピコプラチン、トリプラチン、テトラプラチン、イプロプラチン、オルマプラチン、ゼニプラチン、白金－トリアミン、サトラプラチン (traplatin)、エンロプラチン、JM216、NK121、CI973、DWA2114R、NDDP、およびデダプラチン (dedaplatin)、またはこれらの塩もしくは酸。他の実施形態では、シクロデキストリン／白金系化学療法薬複合体は、ネダプラチン、ヘプタプラチン、ロバプラチン、ストラトプラチン、パラプラチン、プラチノール、シクロプラチン、デキソルマプラチン、スピロプラチン、ピコプラチン、トリプラチン、テトラプラチン、イプロプラチン、オルマプラチン、ゼニプラチン、白金－トリアミン、サトラプラチン (traplatin)、エンロプラチン、JM216、NK121、CI973、DWA2114R、NDDP、またはデダプラチン (dedaplatin) の類似体、またはこれらの塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／オキサリプラチン（またはオキサリプラチンの塩もしくは酸）のモル比は、1－10：1の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／白金系化学療法薬（またはその塩もしくは酸または類似体）のモル比は1：1、2：1、3：1、4：1、5：1、6：1、7：1、8：1、9：1、10：1、11：1、12：1、13：1、14：1、15：1、16：1、17：1、18：1、19：1、20：1、(21－50)：1、または>50：1である。他の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／白金系化学療法薬（またはその塩もしくは酸または類似体）のモル比は1：1－20、1：1－10、または1：2－8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン／白金系化学療法薬（またはその塩もしくは酸または類似体）のモル比は1：1、1：2、1：3、1：4、1：5、1：6、1：7、1：8、1：9、1：10、1：11、1：12、1：13、1：14、1：15、1：16、1：17、1：18、1：19、1：20、1：(21－50)、または1：>50である。追加の実施形態では、シクロデキストリン／白金系化学療法薬（またはその塩もしくは酸または類似体）複合体はリポソーム中に封入される（例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られている

ように)。

【0273】

いくつかの実施形態では、本開示は、シクロデキストリン／タキサン系化学療法薬複合体を含む組成物を提供する。いくつかの実施形態では、タキサン系化学療法薬は下記からなる群より選択される：パクリタキセル (PTX)、ドセタキセル (DTX)、ラロタキセル (LTX)、およびカバジタキセル (CTX)、またはその塩もしくは酸。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／タキサン系薬剤のモル比は、1-10 : 1の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／タキサン系薬剤のモル比は1 : 1、2 : 1、3 : 1、4 : 1、5 : 1、6 : 1、7 : 1、8 : 1、9 : 1、10 : 1、11 : 1、12 : 1、13 : 1、14 : 1、15 : 1、16 : 1、17 : 1、18 : 1、19 : 1、20 : 1、(21-50) : 1、または> 50 : 1である。他の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／タキサン系薬剤のモル比は1 : 1-20、1 : 1-10、または1 : 2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン／タキサン系薬剤のモル比は1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : (21-50)、または1 : > 50である。追加の実施形態では、シクロデキストリン／タキサン系薬剤複合体はリポソーム中に封入される (例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように)。

【0274】

追加の実施形態では、本開示は、シクロデキストリンおよびパクリタキセル (PTX)、またはその塩もしくは酸を含む複合体を提供する。他の実施形態では、シクロデキストリン／タキサン系化学療法薬複合体は、パクリタキセル (PTX) の類似体、またはその塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／パクリタキセル (またはパクリタキセルの塩もしくは酸) のモル比は、1-10 : 1の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／パクリタキセル (またはパクリタキセルの塩もしくは酸) のモル比は1 : 1、2 : 1、3 : 1、4 : 1、5 : 1、6 : 1、7 : 1、8 : 1、9 : 1、10 : 1、11 : 1、12 : 1、13 : 1、14 : 1、15 : 1、16 : 1、17 : 1、18 : 1、19 : 1、20 : 1、(21-50) : 1、または> 50 : 1である。他の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／パクリタキセル (またはパクリタキセルの塩もしくは酸) のモル比は1 : 1-20、1 : 1-10、または1 : 2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン／パクリタキセル (またはパクリタキセルの塩もしくは酸) のモル比は1 : 1、1 : 2、1 : 3、1 : 4、1 : 5、1 : 6、1 : 7、1 : 8、1 : 9、1 : 10、1 : 11、1 : 12、1 : 13、1 : 14、1 : 15、1 : 16、1 : 17、1 : 18、1 : 19、1 : 20、1 : (21-50)、または1 : > 50である。追加の実施形態では、シクロデキストリン／パクリタキセル (またはパクリタキセルの塩もしくは酸) 複合体はリポソーム中に封入される (例えば、本明細書で記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように)。

【0275】

追加の実施形態では、本開示は、シクロデキストリンおよびドセタキセル (DTX)、またはその塩もしくは酸を含む複合体を提供する。他の実施形態では、シクロデキストリン／タキサン系化学療法薬複合体は、ドセタキセル (DTX) の類似体、またはその塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／ドセタキセル (またはドセタキセルの塩もしくは酸) のモル比は、1-10 : 1の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／ドセタキセル (またはドセタキセルの塩もしくは酸) のモル比は1 : 1、2 : 1、3 : 1、4 : 1、5 : 1、6 : 1、7 : 1、8 : 1、9 : 1、10 : 1、11 : 1、12 : 1、13 : 1、14 : 1、15 : 1、16 : 1、17 : 1、18 : 1、19 : 1、20 : 1、(21-50) : 1、または> 50 : 1である。他の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン／ドセタキセル (また

はドセタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1-20、1:1-10、または1:2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン/ドセタキセル(またはドセタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)、または1:>50である。追加の実施形態では、シクロデキストリン/ドセタキセル(またはドセタキセルの塩もしくは酸)複合体はリポソーム中に封入される(例えば、本明細書に記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように)。

【0276】

追加の実施形態では、本開示は、シクロデキストリンおよびラロタキセル(LTX)、またはその塩もしくは酸を含む複合体を提供する。他の実施形態では、シクロデキストリン/タキサン系化学療法薬複合体は、ラロタキセル(LTX)の類似体、またはその塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン/ラロタキセル(またはラロタキセルの塩もしくは酸)のモル比は、1-10:1の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン/ラロタキセル(またはラロタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1、または>50:1である。他の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン/ラロタキセル(またはラロタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1-20、1:1-10、または1:2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン/ラロタキセル(またはラロタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)、または1:>50である。追加の実施形態では、シクロデキストリン/ラロタキセル(またはラロタキセルの塩もしくは酸)複合体はリポソーム中に封入される(例えば、本明細書に記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように)。

【0277】

追加の実施形態では、本開示は、シクロデキストリンおよびカバジタキセル(CTX)、またはその塩もしくは酸を含む複合体を提供する。他の実施形態では、シクロデキストリン/タキサン系化学療法薬複合体は、カバジタキセル(CTX)の類似体、またはその塩もしくは酸を含む。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン/カバジタキセル(またはカバジタキセルの塩もしくは酸)のモル比は、1-10:1の範囲にある。いくつかの実施形態では、複合体中のシクロデキストリン/カバジタキセル(またはカバジタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1、2:1、3:1、4:1、5:1、6:1、7:1、8:1、9:1、10:1、11:1、12:1、13:1、14:1、15:1、16:1、17:1、18:1、19:1、20:1、(21-50):1、または>50:1である。他の実施形態では、複合体中のシクロデキストリン/カバジタキセル(またはカバジタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1-20、1:1-10、または1:2-8の範囲、またはそれらの間の任意の範囲にある。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン/カバジタキセル(またはカバジタキセルの塩もしくは酸)のモル比は1:1、1:2、1:3、1:4、1:5、1:6、1:7、1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:(21-50)、または1:>50である。追加の実施形態では、シクロデキストリン/カバジタキセル(またはカバジタキセルの塩もしくは酸)複合体はリポソーム中に封入される(例えば、本明細書に記載されるように、または、そうでなければ、当技術分野で知られているように)。

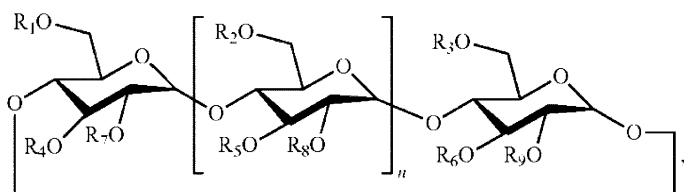
【0278】

シクロデキストリン／治療薬複合体のシクロデキストリンは、誘導体化されていてもまたはされていないでもよい。いくつかの実施形態では、シクロデキストリンは、誘導体化されている。さらなる実施形態では、シクロデキストリンは、誘導体化βシクロデキストリン（例えばヒドロキシプロピルβシクロデキストリン（HP-β-CD）、およびスルホブチルエーテルβ-CD（（SBE）-β-シクロデキストリン））である。いくつかの実施形態では、シクロデキストリン／治療薬複合体のシクロデキストリンは、ヒドロキシ基の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超える2-ヒドロキシプロピル-3-基置換、またはヒドロキシ基の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、またはそれを超えるスルホアルキルエーテル基置換を含む誘導体化βシクロデキストリンである。さらなる実施形態では、シクロデキストリン／治療薬複合体のシクロデキストリンは、ヒドロキシ基の1、2、3、4、5、6、7、8、9、または10個またはそれを超えるスルホブチルエーテル基置換を含む誘導体化βシクロデキストリンである。

【0279】

いくつかの実施形態では、γPTHFリポソーム組成物中に含まれるシクロデキストリン／治療薬複合体のシクロデキストリンは、式I：

【化4】

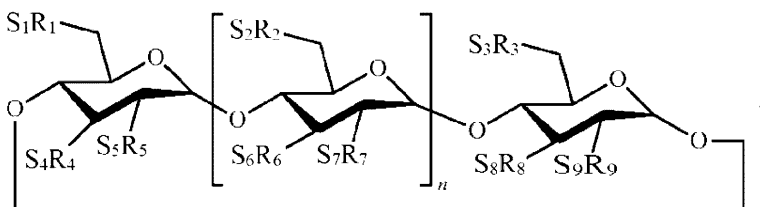


の誘導体化シクロデキストリンであり、式中、 n は4、5、または6であり； R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 はそれぞれ独立に、-H、直鎖または分岐 C_1-C_8 アルキレン基、2-ヒドロキシプロピル-3-基；または任意に置換されてもよい直鎖または分岐 C_1-C_6 基であり、 R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 の内の少なくとも1個は、直鎖または分岐 C_1-C_8 アルキレン基または2-ヒドロキシプロピル-3-基である。

【0280】

いくつかの実施形態では、γPTHFリポソーム組成物中に含まれるシクロデキストリン／治療薬複合体のシクロデキストリンは、式II：

【化5】



の誘導体化シクロデキストリンであり、式中、 n は4、5、または6であり； R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 、 R_6 、 R_7 、 R_8 、および R_9 はそれぞれ独立に、-O-または-O-（ C_2-C_6 アルキレン）- SO_3^- 基であり； R_1 および R_2 の少なくとも1つは独立に-O-（ C_2-C_6 アルキレン）- SO_3^- 基であり； S_1 、 S_2 、 S_3 、 S_4 、 S_5 、 S_6 、 S_7 、 S_8 、および S_9 はそれぞれ独立に、-HまたはHまたは薬学的に許容されるカチオンである。さらなる実施形態では、薬学的に許容されるカチオンは、 Li^+ 、 Na^+ 、または K^+ などのアルカリ金属； Ca^{2+} 、または Mg^{2+} などのアルカリ土類金属、ならびにアンモニウムイオンおよび（ C_1-C_6 ）-アルキルアミン、ピペリジン、ピラジン、（ C_1-C_6 ）-アルカノールアミンおよび（ C_4-C_8 ）-シクロアルカノールアミンのカチオンなどのアミンカチオンから選択される。

【0281】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F リポソームは、100～100,000個のシクロデキストリン／治療薬複合体を含む。

【0282】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F／シクロデキストリン複合体および／またはシクロデキストリン／治療薬複体のシクロデキストリン誘導体は、米国特許第6,133,248号、同第5,874,418号、同第6,046,177号、同第5,376,645号、同第5,134,127号、同第7,034,013号、同第6,869,939号；および国際公開第02005/117911号に開示されているシクロデキストリンである。これら特許文献のそれぞれの内容は、参照により本明細書に優先的に組み込まれる。

10

【0283】

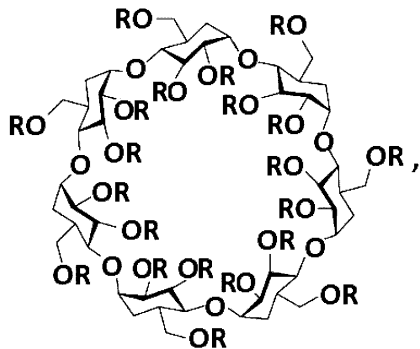
いくつかの実施形態では、シクロデキストリン／シクロデキストリン複体のシクロデキストリン誘導体は、スルホアルキルエーテルシクロデキストリンである。いくつかの実施形態では、複体のシクロデキストリン誘導体は、CAPTISOL（登録商標）（CyDex Pharma, Inc., Lenexa, Kansas）などのスルホブチルエーテル-3-シクロデキストリンである。スルホブチルエーテル-3-シクロデキストリンおよびその他のスルホアルキルエーテルシクロデキストリンの作製方法は、当技術分野において既知である。

20

【0284】

いくつかの実施形態では、シクロデキストリン／治療薬複合体および／またはシクロデキストリン誘導体は、式III：

【化6】



30

の化合物であり、式中、Rは、

- (a) $(H)_{21-x}$ または $(- (CH_2)_4 - SO_3 Na)_x$ 、および $x = 1.0 \sim 10.0$ 、 $1.0 \sim 5.0$ 、 $6.0 \sim 7.0$ 、または $8.0 \sim 10.0$ ；
- (b) $(H)_{21-x}$ または $(- (CH_2 CH(OH) CH_3)_x$ 、および $x = 1.0 \sim 10.0$ 、 $1.0 \sim 5.0$ 、 $6.0 \sim 7.0$ 、または $8.0 \sim 10.0$ ；
- (c) $(H)_{21-x}$ または (スルホアルキルエーテル) $_x$ 、および $x = 1.0 \sim 10.0$ 、 $1.0 \sim 5.0$ 、 $6.0 \sim 7.0$ 、または $8.0 \sim 10.0$ ；または
- (d) $(H)_{21-x}$ または $(- (CH_2)_4 - SO_3 Na)_x$ 、および $x = 1.0 \sim 10.0$ 、 $1.0 \sim 5.0$ 、 $6.0 \sim 7.0$ 、または $8.0 \sim 10.0$ である。

40

【0285】

γ P T H F リポソーム中に含まれ、開示方法により使用できる追加のシクロデキストリンおよびシクロデキストリン／白金系治療複合体は、米国特許出願番号第62/583,432号で開示されている。この特許の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

【0286】

いくつかの実施形態では、 γ P T H F リポソームは、シクロデキストリンおよび白金系

50

化学療法薬、またはその塩の複合体を含む。いくつかの実施形態では、白金系化学療法薬はシスプラチンまたはシスプラチン類似体である。いくつかの実施形態では、白金系化学療法薬はカルボプラチンである。追加の実施形態では、リポソーム組成物は、下記からなる群より選択されるメンバーである白金系化学療法薬を含む：カルボプラチン、シスプラチン、オキサリプラチン、サトラプラチン、ピコプラチン、ネダプラチン、トリプラチン、テトラプラチン、リボプラチン、ロバプラチン、オルマプラチン、ゼニプラチン、白金ートリアミン、サトラプラチン (traplatin)、エンロプラチン、JM216、254S、NK121、CI973、DWA2114R、NDDP、およびデダプラチン (dedaplatin)。いくつかの実施形態では、 γ PTHFリポソームは、100～100,000個の白金系化学療法薬／CD複合体を含む。さらなる実施形態では、リポソーム組成物は、20nm～500nmまたは20nm～200nm、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有するリポソームを含む。いくつかの実施形態では、組成物中のリポソームは、100～100,000個の白金を含む。

【0287】

(3) 標的化リポソーム

いくつかの実施形態では、本開示はリポソーム γ PTHF組成物を提供し、ここでリポソームは γ PTHFならびにPEGおよびリポソームの外面の一方または両方に付着されるターゲティング部分を含み、ここでターゲティング部分は目的の標的細胞上の表面抗原に対する特異的親和性を有する。このようなリポソームは本明細書において「標的化リポソーム」と一般的に呼ばれ得、例えばリポソームは、リポソームの表面に、さもなければリポソームに付着される、1つ以上のターゲティング部分または生体分布調節物質を含む。標的化リポソームのターゲティング部分は、所望の標的（例えば、目的の標的細胞の表面上に発現される抗原標的）に特異的に結合できるいずれかの部分または作用物質であってよい。一つの実施形態では、標的化リポソームは、その中へ標的化リポソームを内部移行する、目的の標的細胞の表面上の標的に特異的および優先的に結合し、リポソームに封入された γ PTHF（例えば、 γ ペンタグルタミン酸化THFまたは γ ヘキサグルタミン酸化THF）がその細胞毒性効果を発揮する。さらなる実施形態では、標的細胞は癌細胞、腫瘍細胞、または転移細胞である。いくつかの実施形態では、標的化リポソームはペグ化されている。

【0288】

「付着する」または「付着された」という用語は、例えば、共有結合、イオン結合（例えば、アビジン-ビオチン）、疎水性相互作用による結合、およびマレイミドなどの官能基またはPEGなどのリンカーを介する結合などの任意のタイプの結合を指す。例えば、検出可能マーカー、立体安定剤、リポソーム、リポソーム成分、免疫刺激剤は、マレイミド官能基によって、またはPEG-マレイミド基によって、互いに直接的に付着され得る。

【0289】

ターゲティング部分の組成および起源は、本開示の範囲に限定されるものではない。いくつかの実施形態では、リポソームに結合したターゲティング部分は、ポリペプチドまたはペプチド模倣体リガンドである。ペプチドおよびペプチド模倣体ターゲティング部分には、天然または改変ペプチド、例えば、DまたはLペプチド； γ 、 β 、または γ (gamma) ペプチド；N-メチルペプチド；アザペプチド；1つ以上のアミドを有するペプチド、すなわち、ペプチド、1つ以上の尿素、チオ尿素、カルバメート、またはスルホニル尿素結合で置換された結合のペプチド；環状ペプチドを有するものが挙げられる。ペプチド模倣体は、天然ペプチドに類似の一定の三次元構造体に折り畳むことができる分子である。いくつかの実施形態では、ペプチドまたはペプチド模倣体ターゲティング部分は、2～50アミノ酸長さ、例えば、5、10、15、20、25、30、35、40、45、または50アミノ酸長さである。

【0290】

いくつかの実施形態では、ターゲティング部分ポリペプチドは、40アミノ酸残基の長さである。他の実施形態では、ターゲティング部分ポリペプチドは、少なくとも50、6

0、75、100、125、150、175、200、250、300アミノ酸残基の長さである。

【0291】

追加の実施形態では、さらなる実施形態では、抗体または抗原結合抗体フラグメントなどのターゲティング部分ポリペプチドは、B I A C O R E（登録商標）分析で測定して、 $0.5 \times 10^{-10} \sim 10 \times 10^{-6}$ の範囲の平衡解離定数（Kd）で抗原に結合する。

【0292】

いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗体誘導体である。他の実施形態では、ターゲティング部分の結合ドメインは、抗体の抗原結合ドメインに由来しない。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、D A R P i n、アフィリン、およびアルマジロリピート（例えば、国際出願第2016/164308号参照）、Zドメイン（アフィボディ）、アドネクチン、リボカリン、アフィリン、アンチカリン、ノッチン、フィノマー、アトリマー、クニッツドメイン（例えば、国際公開第2004/063337号参照）、C T L A 4、またはアビマー（例えば、米国特許出願公開第2004/0175756号、同第2005/0053973号、同第2005/0048512号、および同第2006/0008844号を参照）からなる群より選択される結合足場に由来するポリペプチドである。

【0293】

追加の実施形態では、ターゲティング部分は標的細胞の表面に発現される目的の細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有する抗体または抗体の抗原結合ドメインの誘導体である。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は全長抗体である。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体の抗原結合部分である。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分はs c F vであるいくつかの実施形態では、ターゲティング部分はF a bである。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、抗体の抗原結合ドメイン由来の結合ドメインを含む（例えば、s c F v、F a b、F a b'、F（a b'）₂、およびF vフラグメント、ジスルフィド結合F v（s d F v）、V HおよびC H 1ドメインを含むF dフラグメント、s c F v、ミニボディ、B i T E、T a n d a b、ダイアボディ（（V L - V H）₂または（V H - V L）₂）、シングルドメイン抗体（例えば、ナノボディなどのs d A b（V LまたはV H）、およびラクダ類V H Hドメイン）および抗体フラグメントから形成された多重特異的抗体が含まれる）。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体由来の1つ以上の相補性決定領域（C D R）を含む。開示される標的化リボソームのための抗体に基づくターゲティング部分として好適なシグナルの例としては、全長ヒト抗体、ヒト化抗体、キメラ抗体、抗体の抗原結合フラグメント、単鎖抗体、シングルドメイン抗体、二重特異性抗体、合成抗体、ペグ化抗体および多量体抗体が挙げられる。提供される標的化リボソームの抗体は上記特性の組み合わせを有し得る。例えば、ヒト化抗体は抗原結合フラグメントであってよく、かつペグ化され、多量体化されてもよい。

【0294】

「ヒト化抗体」という用語は、最小限の非ヒト（例えば、マウス）配列を含む特異的免疫グロブリン鎖、キメラ免疫グロブリン、またはそれらのフラグメントである非ヒト（例えば、マウス）の形態を指す。一般的に、ヒト化抗体は、相補性決定領域（C D R）由来の残基が所望の特異性、親和性、および能力を有する非ヒト種（例えば、マウス、ラット、ウサギ、およびハムスター）のC D R由来の残基によって置換される、ヒト免疫グロブリンである（J o n e sら、N a t u r e 321:522-525（1986）、R i e c h m a n nら、N a t u r e 332:323-327（1988）、V e r h o e y e nら、S c i e n c e 239:1534-1536（1988））。場合によっては、ヒト免疫グロブリンのF vフレームワーク領域（F R）残基が、所望の特異性、親和性、および能力を有する非ヒト種由来の抗体における相当する残基で置換される。ヒト化抗体は、F vフレームワーク領域および／または置換された非ヒト残基内における追加残基の置換によってさらに修飾されて、抗体特異性、親和性、および／または能力を洗練し

10

20

30

40

50

最適化できる。一般的に、ヒト化抗体は非ヒト免疫グロブリンに相当するCDR領域のすべてまたはほとんどすべてを含む少なくとも1つ、典型的には2または3つの可変領域のほとんどすべてを含み、ここでFR領域のすべてまたはほとんどすべてはヒト免疫グロブリン共通配列のものである。ヒト化抗体はまた、免疫グロブリン定常領域またはドメイン（Fc）、典型的にはヒト免疫グロブリンのもの、の少なくとも一部を含み得る。ヒト化抗体を作製するために使用される方法の例は、米国特許第5,225,539号および第5,639,641号で記載されている。

【0295】

さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、目的の標的細胞の表面抗原のエピトープに対する特異的親和性を有する。いくつかの実施形態では、標的細胞は癌細胞である。いくつかの実施形態では、標的細胞は腫瘍細胞である。他の実施形態では、標的細胞は免疫細胞である。

【0296】

いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、腫瘍細胞表面抗原上に発現したエピトープに対し特異的親和性を有する。用語の「腫瘍細胞表面抗原」は、癌などの特定の過剰増殖障害に共通の抗原を意味する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、腫瘍関連抗原（TAA）である腫瘍細胞表面抗原のエピトープに対し特異的親和性を有する。TAAは、腫瘍およびいくつかの正常細胞の両方で認められる抗原である。TAAは、胎児発生中の免疫系が未成熟で、応答できない場合に、正常細胞上で発現される、または通常、正常細胞上で極めて低いレベルで存在し得るが、腫瘍細胞上では遙かに高いレベルで発現される。腫瘍の動的性質のために、いくつかの事例では、腫瘍細胞は、特定のステージで特有の抗原を発現し得、およびその他の場合でも、非腫瘍細胞上でも発現される抗原を発現する。従って、TAAのような特定のマーカーの包含は、それが腫瘍特異的抗原と見なされることを排除しない。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、腫瘍特異的抗原（TSA）である腫瘍細胞表面抗原のエピトープに対し特異的親和性を有する。TSAは、腫瘍細胞に特有であり、身体中の他の細胞では発生しない抗原である。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、限定されないが、原発性または転移性メラノーマ、胸腺腫、リンパ腫、肉腫、肺癌（例えば、NSCLCまたはSCLC）、肝臓癌、非ホジキンリンパ腫、ホジキンリンパ腫、白血病、多発性骨髄腫、神経膠芽腫、神経芽腫、子宮癌、子宮頸癌、腎臓癌、甲状腺がん、膀胱癌、腎臓癌、中皮腫、および乳癌、前立腺がん、卵巣癌、膵臓癌、肺癌、結腸癌などの腺がんおよびその他の当該技術分野において既知の癌を含む癌の表面上に発現した腫瘍細胞表面抗原のエピトープに対し特異的親和性を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、腫瘍微小環境（例えば、それぞれ内皮細胞およびマクロファージ上に発現したVEGFRおよびTIE1、またはTIE2、または癌関連線維芽細胞（CAF）腫瘍浸潤性T細胞およびその他の白血球などの腫瘍間質細胞、およびマスト細胞、好酸球、および腫瘍関連マクロファージ（TAM）を含む骨髄性細胞）中の細胞の表面上に発現した細胞表面抗原のエピトープに対し特異的親和性を有する。

【0297】

いくつかの実施形態では、標的化リポソームγPTHF組成物（例えばTLp-γPTHFまたはTPLp-γPTHF）は、正常または非腫瘍細胞に比べて、腫瘍細胞上に存在するが非腫瘍細胞上には存在しないかまたはアクセスできない、癌細胞または腫瘍細胞などの標的細胞上で選択的に／差次的に発現される、癌または腫瘍細胞表面抗原のエピトープに対し特異的親和性を有するターゲティング部分を有する。例えば、いくつかの状況では、腫瘍抗原は、正常細胞および悪性の癌細胞の両方の表面上にあるが、腫瘍エピトープは、癌細胞でのみ露出されている。さらなる例として、腫瘍細胞表面抗原は、癌細胞特異的エピトープを存在させる癌性状態で構造変化を受けることがある。本明細書で記載の、または当該技術分野において別に既知の標的化可能腫瘍細胞表面抗原上のエピトープに対し、特異的親和性を有するターゲティング部分は、有用であり、開示組成物および方法により包含される。いくつかの実施形態では、腫瘍細胞表面抗原を有する腫瘍細胞は癌細胞

10

20

30

40

50

胞である。このような腫瘍細胞表面抗原の例には、限定されないが、葉酸受容体 α 、葉酸受容体 β および葉酸受容体 δ が挙げられる。

【0298】

さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、抗体または抗原結合抗体フラグメントなどのポリペプチドターゲティング部分を含み、ターゲティング部分は葉酸受容体に対し結合特異性を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、B I A C O R E（登録商標）分析で測定して、 $0.5 \times 10^{-10} \sim 10 \times 10^{-6}$ の範囲の平衡解離定数（Kd）で葉酸受容体に結合する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分により結合される葉酸受容体は下記からなる群より選択される1つ以上の葉酸受容体である：葉酸受容体 α （FR- α ）、葉酸受容体 β （FR- β ）、および葉酸受容体 δ （FR- δ ）。さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α 、葉酸受容体 β 、および／または葉酸受容体 δ からなる群より選択される少なくとも2つの抗原に対し特異的親和性を有する。別の実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α 、葉酸受容体 β 、および／または葉酸受容体 δ に対し、特異的親和性を有する。

10

【0299】

いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、結合時に、ターゲティング部分を内部移行させる細胞表面抗原のエピトープに対し特異的親和性を有する。結合時に、抗体などの結合相手を内部移行させる多くの細胞表面抗原が当技術分野において既知であり、本明細書で開示される標的化リポソーム γ P T H F組成物（例えばT L p - γ P T H FまたはT P L p - γ P T H F）上に発現したターゲティング部分に対し結合標的となることが想定される。

20

【0300】

いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、下記からなる群より選択される細胞表面抗原のエピトープに対し特異的親和性を有する：G O N M B、T A C S T D 2（T R O P 2）、C E A C A M 5、E P C A M、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体 α 、葉酸受容体 β または葉酸受容体 δ ）、ムチン1（M U C - 1）、M U C - 6、S T E A P 1、メソテリン、ネクチン4、E N P P 3、グアニリルシクラーゼC（G C C）、S L C 4 4 A 4、N a P i 2 b、C D 7 0（T N F S F 7）、C A 9（炭酸脱水酵素）、5 T 4（T P B G）、S L T R K 6、S C - 1 6、組織因子、L I V - 1（Z I P 6）、C G E N - 1 5 0 2 7、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB（E D - B）、V E G F R 2（C D 3 0 9）、テネイシン、コラーゲンI V、ペリオスチン、エンドセリン受容体、H E R 2、H E R 3、E r b B 4、E G F R、E G F R v I I I、F G F R 1、F G F R 2、F G F R 3、F G F R 4、F G F R 6、I G F R - 1、F Z D 1、F Z D 2、F Z D 3、F Z D 4、F Z D 5、F Z D 6、F Z D 7、F Z D 8、F Z D 9、F Z D 1 0、S M O、C D 2、C D 3、C D 4、C D 5、C D 6、C D 8、C D 1 1、C D 1 1 a、C D 1 5、C D 1 8、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 2 6、C D 2 7 L、C D 2 8、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 4、C D 3 7、C D 3 8、C D 4 0、C D 4 4、C D 5 6、C D 7 0、C D 7 4、C D 7 9、C D 7 9 b、C D 9 8、C D 1 0 5、C D 1 3 3、C D 1 3 8、c r i p t o、I G F - 1 R、I G F - 2 R、E p h A 1 E p h A受容体、E p h B受容体、E p h A 1、E p h A 2、E p h A 3、E p h A 4、E p h A 5、E p h A 6、E p h A 7、E p h A 8、E p h B 1、E p h B 2、E p h B 3、E p h B 4、E p h B 6、インテグリン（例えば、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ 、または $\alpha v \beta 6$ ）、C 2 4 2抗原、A p o 2、P S G R、N G E P、P S C A、T M E F F 2、エンドグリン、P S M A、C a n A g、C A L L A、c - M e t、V E G F R - 1、V E G F R - 2、D D R 1、P D G F R α 、P D G F R β 、T r k A、T r k B、T r k C、U F O、L T K、A L K、T i e 1、T i e 2、P T K 7、R y k、T C R、N M D A R、L N G F R、およびM u S K。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌（腫瘍）に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原（複数可）上のエピトープに対して特異的親和性を有する。

30

40

【0301】

50

いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、マンノース-6-ホスフェート受容体、トランスフェリン受容体、および細胞接着分子（CAM）からなる群より選択される細胞表面抗原のエピトープに対し特異的親和性を有する。さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、細胞間接着分子（ICAM）、血小板-内皮細胞接着分子（PECAM）、活性化白血球細胞接着分子（ALCAM）、Bリンパ球細胞接着分子（BL-CAM）、血管細胞接着分子（VCAM）、粘膜血管アドレシン細胞接着分子（MAdCAM）、CD44、LFA-2、LFA-3、およびペイシジンからなる群から選択されるCAMのエピトープに特異的親和性を有する。

【0302】

本明細書で記載されるように、葉酸受容体（FR）は、還元葉酸キャリア（RFC）とは異なり、葉酸および葉酸代謝拮抗薬を細胞中にもたらしするために異なる経路を活用する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は葉酸受容体に特異的に結合する。さらなる実施形態では、ターゲティング部分は葉酸受容体 α 、葉酸受容体 β 、および葉酸受容体 δ から選択される葉酸受容体に特異的に結合する。葉酸受容体 α に対する抗体は、当技術分野で知られている技術技術を用いて一般的に作製できる。さらに、多くの抗葉酸受容体抗体の配列が公有に属し、および／または市販されており、容易に入手可能である。

【0303】

葉酸受容体に対するマウス抗体は、本開示の標的化リポソームのターゲティング部分として使用できる抗体の例である。これらの抗体の配列は既知であり、例えば、米国特許第5,646,253号、同第8,388,972号、同第8,871,206号、同第9,133,275号、および国際出願第PCT/US2011/056966号、および同第PCT/US2012/046672号に記載されている。例えば、すでにパブリックドメインである配列に基づいて、抗体の遺伝子を合成し、一過性発現ベクター中に置き、HEK-293一過性発現系で抗体を作製した。抗体は、完全抗体、Fab、または本明細書で考察した、または別に当該技術分野において既知の種々の抗体変種のいずれかであり得る。

【0304】

いくつかの実施形態では、標的化リポソーム（例えば、TL- γ PTHFまたはTPL- γ PTHF）は、その表面に1~1,000、30~1,000、50~1,000、または1,000超のターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、標的化リポソームは30~500、30~250または30~200個、またはそれらの間の任意の範囲のターゲティング部分を含有する。いくつかの実施形態では、標的化リポソームは、220個未満のターゲティング部分、200個未満のターゲティング部分、または175個未満のターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分はリポソームの外部に非共有結合される（例えば、イオン相互作用またはGPIアンカーを介して）。

【0305】

いくつかの実施形態では、標的化リポソーム（例えばTL- γ PTHFまたはTPL- γ PTHF）の外面上の分子には、脂質、ターゲティング部分、立体安定剤（例えば、PEG）、マレイミド、およびコレステロールが含まれる。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分はマレイミド官能基を介して共有結合される。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分はリポソーム成分またはPEG分子などの立体安定剤に共有結合される。いくつかの実施形態では、リポソームの全てのターゲティング部分は、PEGなどのリポソームの1つの成分に結合する。他の実施形態では、標的化リポソームの全てのターゲティング部分は、リポソームの異なる成分に結合する。例えば、いくつかのターゲティング部分は、脂質成分またはコレステロールに結合し、いくつかのターゲティング部分は立体安定剤（例えば、PEG）に結合し、さらに他のターゲティング部分は、検出可能マーカーまたは別のターゲティング部分に結合し得る。いくつかの実施形態では、標的化リポソーム（例えば、TL- γ PTHFまたはTPL- γ PTHF）の外表面は、PEGおよびリポソームの外表面の少なく1つに配置された免疫刺激剤、検出可能マーカーおよびマレ

10

20

30

40

50

イミドの1つ以上をさらに含む。

【0306】

いくつかの実施形態では、標的化リボソーム（例えば、 $TL-\gamma PTHF$ または $TPL-\gamma PTHF$ ）は、アニオン性または中性である。いくつかの実施形態では、標的化アニオン性または中性リボソームは、 $20\text{ nm}\sim 500\text{ nm}$ または $20\text{ nm}\sim 200\text{ nm}$ 、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有する。さらなる実施形態では、標的化アニオン性または中性リボソームは、 $80\text{ nm}\sim 120\text{ nm}$ の範囲、またはその間の任意の範囲の直径を有する。

【0307】

他の実施形態では、標的化リボソーム（例えば、 $TL-\gamma PTHF$ または $TPL-\gamma PTHF$ ）はカチオン性である。いくつかの実施形態では、標的化アニオン性または中性リボソームは $20\text{ nm}\sim 500\text{ nm}$ または $20\text{ nm}\sim 200\text{ nm}$ の範囲、またはそれらの間の任意の範囲の直径を有する。さらなる実施形態では、標的化アニオン性または中性リボソームは、 $80\text{ nm}\sim 120\text{ nm}$ の範囲、またはその間の任意の範囲の直径を有する。

【0308】

追加の実施形態では、リボソーム組成物は、標的化リボソーム（例えば、 $TL-\gamma PTHF$ または $TPL-\gamma PTHF$ ）および $30-70\%$ 、 $30-60\%$ 、もしくは $30-50\% w/w$ 、またはそれらの間の任意の範囲の γ ポリグルタミン酸化 THF を含む。いくつかの実施形態では、標的化リボソームは、少なくとも 1% 、 5% 、 10% 、 15% 、 20% 、 25% 、 30% 、 35% 、 40% 、 45% 、 50% 、 55% 、 60% 、 65% 、 70% 、 75% 、または 75% 超 w/w の α ポリグルタミン酸化 THF を含む。いくつかの実施形態では、標的化リボソームを調製するプロセス中、 γ ポリグルタミン酸化 THF の開始材料の少なくとも 1% 、 5% 、 10% 、 15% 、 20% 、 25% 、 30% 、 35% 、 40% 、 45% 、 50% 、 55% 、 60% 、 65% 、 70% 、 75% 、または 75% 超が標的化リボソーム中に封入(捕捉)される。

【0309】

いくつかの実施形態では、標的化リボソーム組成物は、 $30-70\%$ 、 $30-60\%$ 、または $30-50\% w/w$ 、またはそれらの間の任意の範囲の γ テトラグルタミン酸化 THF を含むいくつかの実施形態では、標的化リボソームは、少なくとも 1% 、 5% 、 10% 、 15% 、 20% 、 25% 、 30% 、 35% 、 40% 、 45% 、 50% 、 55% 、 60% 、 65% 、 70% 、 75% 、または 75% 超 w/w の γ テトラグルタミン酸化 THF を含む。いくつかの実施形態では、標的化リボソームを調製するプロセス中、 γ テトラグルタミン酸化 THF の開始材料の少なくとも 1% 、 5% 、 10% 、 15% 、 20% 、 25% 、 30% 、 35% 、 40% 、 45% 、 50% 、 55% 、 60% 、 65% 、 70% 、 75% 、または 75% 超が標的化リボソーム中に封入(捕捉)される。

【0310】

いくつかの実施形態では、標的化リボソーム組成物は、 $30-70\%$ 、 $30-60\%$ 、または $30-50\% w/w$ 、またはそれらの間の任意の範囲の γ ペンタグルタミン酸化 THF を含む。いくつかの実施形態では、標的化リボソームは、少なくとも 1% 、 5% 、 10% 、 15% 、 20% 、 25% 、 30% 、 35% 、 40% 、 45% 、 50% 、 55% 、 60% 、 65% 、 70% 、 75% 、または 75% 超 w/w の γ ペンタグルタミン酸化 THF を含む。いくつかの実施形態では、標的化リボソームを調製するプロセス中、 γ ペンタグルタミン酸化 THF の開始材料の少なくとも 1% 、 5% 、 10% 、 15% 、 20% 、 25% 、 30% 、 35% 、 40% 、 45% 、 50% 、 55% 、 60% 、 65% 、 70% 、 75% 、または 75% 超が標的化リボソーム中に封入(捕捉)される。

【0311】

いくつかの実施形態では、標的化リボソーム組成物は、 $30-70\%$ 、 $30-60\%$ 、または $30-50\% w/w$ 、またはそれらの間の任意の範囲の γ ヘキサグルタミン酸化 THF を含む。いくつかの実施形態では、標的化リボソームは、少なくとも 1% 、 5% 、 10% 、 15% 、 20% 、 25% 、 30% 、 35% 、 40% 、 45% 、 50% 、 55% 、 60%

%、65%、70%、75%、または75%超w/wのγヘキサグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、標的化リポソームを調製するプロセス中、γヘキサグルタミン酸化THFの開始材料の少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、または75%超が標的化リポソーム中に封入(捕捉)される。

【0312】

ポリペプチドターゲティング部分のリポソーム表面分子との共有結合の方法および技術は、当技術分野において既知であり、TL-γPTHFまたはTPL-γPTHFリポソーム組成物の作製に容易に適用できる。

【0313】

タンパク質性ターゲティング部分および他の組成物のリポソーム表面への化学的結合を採用し得る。従って、任意の連結または結合法および/または当該技術分野において既知の任意の好適なリンカーを用いて、非タンパク質部分を、リポソームに対し、共有結合または非共有結合し得る。このような架橋剤および架橋方法の正確な型および化学的性質は、使われる親和性基の型およびリポソームの性質に適合されるのが好ましい。ターゲティング部分の結合または吸着または連結方法はまた、当該技術分野において周知である。例えば、いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、限定されないが、アミノ、SH、ヒドロキシル、アルデヒド、ホルミル、カルボキシル、Hisタグまたはその他のポリペプチドなどの極性基を介して界面で基に付着され得る。加えて、ターゲティング部分は、限定されないが、スクシンイミジルコハク酸、塩化シアヌル、トシル活性化基、イミダゾール基、CNBr、NHS、活性化CH、ECH、EAH、エポキシ、チオプロピル、活性化チオール、などのなどの活性基を介して付着され得る。さらに、ターゲティング部分は、限定されないが、架橋剤を含んでも含まなくてもよい、疎水性結合(ファンデルワールス)または静電相互作用(例えば、二価のアニオン、ポリアニオン、ポリカチオンなど)を介して付着され得る。

【0314】

(4) リポソームの製造

いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書で開示されるリポソーム組成物の製造方法を提供する。一実施形態では、方法は、(1) リポソーム成分；(2) γポリグルタミン酸化(例えばペンタグルタミン酸化またはヘキサグルタミン酸化)テトラヒドロ葉酸を含む混合物を水溶液中で形成することを含む。さらなる実施形態では、混合物は、ペグ化リポソーム成分を含む。その後、混合物をホモジナイズして水溶液中でリポソームを形成する。さらに、混合物を膜を通して押出し、水溶液中のγPTHFを捕捉したリポソームを形成することができる。本開示のリポソーム成分は、官能化脂質およびターゲティング部分に結合した脂質、検出可能標識、および立体安定剤、またはこれら全てのいずれかのサブセットを含む任意の脂質(コレステロールを含む)を含むことができることが理解される。水溶液中の生理活性γPTHFは、リポソームの内部または外面に対し、例えば、緩衝剤、塩、および凍結保護物質を含む、本明細書で考察の、または当該技術分野において別に既知の任意の試薬および化学薬品を含むことがさらに注目される。

【0315】

いくつかの実施形態では、本開示は、本明細書で開示される標的化ペグ化リポソームγPTHF(標的化PLp-γPTHF)または非標的化PLp-γPTHFの製造方法を提供する。一実施形態では、方法は、(1) リポソーム成分；(2) 水溶液中のγポリグルタミン酸化(例えばペンタグルタミン酸化またはヘキサグルタミン酸化)テトラヒドロ葉酸；および(3) ターゲティング部分を含む混合物を形成するステップを含む。その後、混合物をホモジナイズして水溶液中でリポソームを形成する。さらに、混合物を膜を通して押出し、水溶液中の標的化γPTHFを捕捉したリポソームを形成し得る。標的化ペグ化リポソーム成分は、官能化脂質およびターゲティング部分に結合した脂質、検出可能標識、および立体安定剤、またはこれら全てのいずれかのサブセットを含む任意の脂質(コレステロールを含む)を含むことができることが理解される。標的化ペグ化リポソーム

は、リポソームの内部または外面に対し、例えば、緩衝剤、塩、および凍結保護物質を含む、本明細書で考察の、または当該技術分野において別に既知の任意の試薬および化学薬品を含むことがさらに注目される。

【0316】

上記方法は、任意選択で、除去ステップの後で、凍結乾燥して、凍結乾燥組成物を形成するステップをさらに含む。上記のように、水溶液中の標的化PTPLAまたは非標的化PTPLAは、本明細書で記載の、または別に当該技術分野において既知の凍結保護物質を含む。組成物が凍結乾燥される予定の場合、凍結保護物質が好ましいであろう。

【0317】

加えて、凍結乾燥ステップの後で、方法は、任意選択で、凍結乾燥ステップ後に、溶媒中に組成物を溶解することにより、凍結乾燥組成物を再構成するステップをさらに含む。再構成方法は、当該技術分野において既知である。1種の好ましい溶媒は水である。他の好ましい溶媒には、生理食塩水および緩衝液が挙げられる。

【0318】

特定の代表的実施形態が本明細書で考察されるが、リポソームは、当該技術分野において既知のいずれの方法によっても作製できることが理解される。例えば、G. Gregoriadis (editor), Liposome Technology, vol. 1-3, 1st edition, 1983; 2nd edition, 1993, CRC Press, 45 Boca Raton, Flaを参照されたい。リポソーム組成物の作製に公的な方法の例には、押し出し、逆相蒸発、超音波処理、溶媒（例えば、エタノール）注入、マイクロ流動化、界面活性剤透析；エーテル注入、および脱水／再水和が挙げられる。リポソームのサイズは、低圧押出に使われる膜の細孔径、またはマイクロ流動化で利用される圧力および通過回数を制御することにより、または任意の他の当該技術分野において既知の好適な方法により、定型作業で制御できる。

【0319】

一般に、 γ PTHFは、内部、すなわち、リポソームの内側（内部）空間中に、含まれる。一実施形態では、置換されたアンモニウムは、部分的にまたは実質的に完全に、リポソームの周りの外側媒体から除去される。このような除去は、当該技術分野において既知の任意の好適な手段（例えば、希釈、イオン交換クロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィー、透析、限外濾過、および沈殿）により達成できる。従って、上述のまたは当該技術分野において既知の別の方法によるリポソーム組成物の作成方法は、任意選択で、リポソームの形成後に、例えば、ホモジナイゼーションまたは押出ステップにより、リポソームの外側の水溶液中の γ PTHFを除去するステップをさらに含む。

【0320】

他の実施形態では、本開示は、下記を含む葉酸受容体を選択的に標的化する標的化ペグ化リポソーム γ PTHF (TPLP- γ PTHF)を提供し：内部空間を含むリポソーム、内部空間に配置された γ PTHF、リポソームの外面に付着した立体安定剤分子、および少なくとも1つの葉酸受容体に対し特異的親和性を有するタンパク質を含むターゲティング部分、前記ターゲティング部分は、立体安定剤およびリポソームの外面の内の少なくとも1つに付着している。この実施形態の成分は、本開示の他の実施形態で記載のものと同じであってもよい。例えば、標的化ペグ化リポソーム γ PTHFおよびPEGであってもよい立体安定剤は、本開示の他の部分で記載された通りである。

【0321】

いくつかの実施形態では、本開示は、捕捉されたおよび／または封入された γ PTHF；ターゲティング部分、アミノ酸鎖を含むペグ化リポソームを含む標的化組成物を調製する方法を提供し、アミノ酸鎖は、複数のアミノ酸を含み、ターゲティング部分は、少なくとも1つのタイプの葉酸受容体に対し特異的親和性を有し、特異的親和性は、少なくとも1つの型の葉酸受容体に対し $0.5 \times 10^{-10} \sim 10 \times 10^{-6}$ 分子 $[0.05 \text{ nM} \sim 10 \text{ } \mu\text{M}]$ の範囲の平衡解離定数(Kd)を含むと定義され、ターゲティング部分は、PEGおよびリポソームの外面の片方または両方に結合し、該方法は、溶液中でリポソーム成

分および γ P T H Fを含む混合物を形成するステップ；溶液中で混合物をホモジナイズしてリポソームを形成するステップ；混合物を処理して、 γ P T H Fを捕捉および／または封入するリポソームを形成するステップ；および γ P T H Fを捕捉および／または封入するリポソームの表面上にターゲティング部分を付与するステップを含み、ターゲティング部分は葉酸受容体 α (F R - α)、葉酸受容体 β (F R - β) および葉酸受容体 δ (F R - δ) の内の少なくとも1つに対し特異的親和性を有する。いくつかの実施形態では、方法は、溶液中でリポソーム成分および γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む混合物を形成するステップ；例えば、混合物をホモジナイズして、または他の方法で処理してリポソームを形成することにより、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を捕捉および／または封入するリポソームを形成するステップ；および γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を捕捉および／または封入するリポソームの表面上にターゲティング部分を付与するステップを含み、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α (F R - α)、葉酸受容体 β (F R - β) および葉酸受容体 δ (F R - δ) の内の少なくとも1つに対し特異的親和性を有する。いくつかの実施形態では、処理ステップが、薄膜水和、押し出し、インライン混合、エタノール注入技術、凍結融解法、逆相蒸発法、動的高圧マイクロ流動化、マイクロ流体混合、二重エマルジョン、凍結乾燥二重エマルジョン、3 Dプリンティング、膜コンタクター法、および攪拌の内の1つ以上のステップを含み、粒子が形成されると、粒子のサイズを、押し出しおよび超音波処理の内の1つ以上によりさらに変更することができる。いくつかの実施形態では、リポソームを調製するプロセス中に、少なくとも1%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%または75%を超える γ P T H Fの開始材料が標的化リポソーム中に封入（捕捉）される。いくつかの実施形態では、リポソームは、アニオン性または中性である。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α (F R - α)、葉酸受容体 β (F R - β)、および葉酸受容体 δ (F R - δ) の内の1個または複数に対し、特異的親和性を有する。さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α (F R - α) および葉酸受容体 β (F R - β) に対し特異的結合親和性を有する。さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、腫瘍細胞上に存在するが、非腫瘍細胞上には存在しないかまたは接近し難い腫瘍細胞表面抗原上のエピトープに対し特異的親和性を有する。

【0322】

B. 抗体送達ビヒクル

追加の実施形態では、本開示は、抗体送達ビヒクル（例えば、免疫複合体（A D C））を提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、式（A） - （L） - （ γ P T H F）を有する免疫複合体を提供し、式中、（A）は、抗体または抗体の抗原結合フラグメントであり；（L）はリンカーであり；および（ γ P T H F）は本明細書で記載される γ P T H F組成物であり；前記リンカー（L）は、（A）を（ γ P T H F）に結合させる。

【0323】

いくつかの実施形態では、抗体または抗原結合抗体フラグメントは、目的の細胞上の細胞表面抗原のエピトープ（例えば、本明細書で記載のエピトープおよび／または抗原）に対し特異的親和性を有する。特定の実施形態では、抗体は、癌／腫瘍の細胞膜中またはその上に（例えば、細胞表面上に）発現した抗原標的に結合し、抗体は、（抗原）標的に結合後に細胞により内部移行され、その後、 γ P T H Fが細胞内で放出される。いくつかの実施形態では、抗体は全長抗体である。

【0324】

（A） - （L） - （ γ P T H F）免疫複合体の抗体または抗原結合抗体フラグメントは、I g A、I g D、I g E、I g GまたはI g M抗体であり得る。異なるクラスの免疫グロブリンは、異なるおよびよく知られたサブユニット構造および三次元配置を有する。特定の実施形態では、抗体はI g G抗体である。いくつかの実施形態では、抗体はI g G 1、I g G 2、I g G 3またはI g G 4抗体である。特定の実施形態では、抗体はI g G 1抗体である。

【0325】

いくつかの実施形態では、(A)は、抗体の抗原結合フラグメントである。いくつかの実施形態では、(A)は、抗体の抗原結合フラグメントである。

【0326】

「リンカー」は、化合物、通常は γ P T H Fなどの薬物を、抗体または抗体の抗原結合フラグメントに、安定に、共有結合方式で結合できる任意の化学的部分である。リンカーは、化合物または抗体が活性のままである条件下で、酸誘導切断、光誘発性切断、ペプチダーゼ誘導切断、エステラーゼ誘導切断、およびジスルフィド結合切断を受けやすいか、またはこれらに対し実質的に耐性があり得る。好適なリンカーは、当技術分野において既知であり、例えば、ジスルフィド基、チオエーテル基、酸に不安定な基、感光性基、ペプチダーゼに不安定な基およびエステラーゼに不安定な基が挙げられる。リンカーにはまた、荷電リンカー、およびその親水性型が挙げられる。

10

【0327】

いくつかの実施形態では、リンカーは、切断可能リンカー、非切断可能リンカー、親水性リンカー、およびジカルボン酸ベースリンカーからなる群より選択される。別の実施形態では、リンカーは非切断可能リンカーである。別の実施形態では、リンカーは、N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ペンタノエート(SPP)；N-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)ブタノエート(SPDB)またはN-スクシンイミジル4-(2-ピリジルジチオ)-2-スルホブタノエート(スルホ-SPDB)；N-スクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシレート(SMCC)；N-スルホスクシンイミジル4-(マレイミドメチル)シクロヘキサンカルボキシレート(スルホSMCC)；N-スクシンイミジル-4-(ヨードアセチル)アミノベンゾエート(SIAB)；およびN-スクシンイミジル[(N-マレイミドプロピオンアミド)テトラエチレングリコール]エステル(NHS-PEG4-マレイミド)からなる群から選択される。さらなる実施形態では、リンカーは、N-スクシンイミジル[(N-マレイミドプロピオンアミド)テトラエチレングリコール]エステル(NHS-PEG4-マレイミド)である。

20

【0328】

いくつかの実施形態では、 γ ポリグルタミン酸化T H Fは、免疫複合体の抗体または抗原結合抗体フラグメントに直接、またはリンカーを介して、当該技術分野において既知の技術を使用して、結合(連結)される。このような1つ以上の γ P T H Fの結合は、共有結合、結合親和性、インターカレーション、配位結合および複合体形成などの多くの化学的機序を含み得る。 γ P T H Fおよび抗体または抗原結合抗体フラグメントの共有結合は、既存の側鎖の直接縮合または外側架橋分子の組み込みにより、達成できる。多くの二価または多価の薬剤は、カルボジイミド、ジイソシアネート、グルタルアルデヒド、ジアゾベンゼン、およびヘキサメチレンジアミンなどのカップリング剤を用いたポリペプチドの、他のタンパク質への結合に有用である。このリストは、当該技術分野において既知の種々のカップリング剤を網羅することを意図するものではなく、むしろ、よりよく使われる代表的カップリング剤の例示である。いくつかの実施形態では、抗体または抗原結合抗体フラグメントは、誘導体化され、次いで γ ポリグルタミン酸化T H Fに結合される。あるいは、 γ P T H Fは誘導体化でき、当該技術分野において既知の技術を使用して、抗体または抗原結合抗体フラグメントに結合できる。

30

40

【0329】

いくつかの実施形態では、免疫複合体は、抗体または抗体の抗原結合フラグメントおよび4、5、2-10、4-6、または5超のグルタミル基を含有する(テトラヒドロ葉酸中のグルタミル基を含む) γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、免疫複合体は、2つ以上のL型のグルタミル基を含む γ P T H Fを含む。他の実施形態では、免疫複合体は、D型のグルタミル基を含む γ P T H Fを含む。さらなる実施形態では、免疫複合体は、D型のグルタミル基および2つ以上のL型のグルタミル基を含む γ P T H Fを含む。追加の実施形態では、免疫複合体は、 γ カルボキシル結合を有する2つ以上のグルタミル基

50

を含む γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、免疫複合体は、 γ ペンタグルタミン酸化 T H Fを含む。さらなる実施形態では、免疫複合体は、L- γ ペンタグルタミン酸化 T H F、D- γ ペンタグルタミン酸化 T H F、またはL-およびD- γ ペンタグルタミン酸化 T H Fを含む。いくつかの実施形態では、免疫複合体は、 γ ヘキサグルタミン酸化 T H F (L p- γ P T H F)を含む。さらなる実施形態では、免疫複合体は、L- γ ヘキサグルタミン酸化 T H F、D- γ ヘキサグルタミン酸化 T H F、またはL-およびD- γ ヘキサグルタミン酸化 T H Fを含む。

【0330】

いくつかの実施形態では、抗体送達ビヒクル組成物は、 γ P T H Fおよび、下記からなる群より選択される細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有する抗体または抗原結合抗体フラグメントを含む：G O N M B、T A C S T D 2 (T R O P 2)、C E A C A M 5、E P C A M、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体- α 、葉酸受容体- β または葉酸受容体- δ ）、ムチン1 (M U C-1)、M U C-6、S T E A P 1、メソテリン、ネクチン4、E N P P 3、グアニリルシクラーゼC (G C C)、S L C 4 4 A 4、N a P i 2 b、C D 7 0 (T N F S F 7)、C A 9 (炭酸脱水酵素)、S T 4 (T P B G)、S L T R K 6、S C-16、組織因子、L I V-1 (Z I P 6)、C G E N-15027、P カドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB (E D-B)、V E G F R 2 (C D 3 0 9)、テネイシン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、H E R 2、H E R 3、E r b B 4、E G F R、E G F R v I I I、F G F R 1、F G F R 2、F G F R 3、F G F R 4、F G F R 6、I G F R-1、F Z D 1、F Z D 2、F Z D 3、F Z D 4、F Z D 5、F Z D 6、F Z D 7、F Z D 8、F Z D 9、F Z D 10、S M O、C D 2、C D 3、C D 4、C D 5、C D 6、C D 8、C D 11、C D 11 a、C D 15、C D 18、C D 19、C D 20、C D 22、C D 26、C D 27 L、C D 28、C D 30、C D 33、C D 34、C D 37、C D 38、C D 40、C D 44、C D 56、C D 70、C D 74、C D 79、C D 79 b、C D 98、C D 105、C D 133、C D 138、c r i p t o、I G F-1 R、I G F-2 R、E p h A 1 E p h A 受容体、E p h B 受容体、E p h A 1、E p h A 2、E p h A 3、E p h A 4、E p h A 5、E p h A 6、E p h A 7、E p h A 8、E p h B 1、E p h B 2、E p h B 3、E p h B 4、E p h B 6、インテグリン（例えば、インテグリン α v β 3、 α v β 5、または α v β 6）、C 2 4 2 抗原、A p o 2、P S G R、N G E P、P S C A、T M E F F 2、エンドグリン、P S M A、C a n A g、C A L L A、c-M e t、V E G F R-1、V E G F R-2、D D R 1、P D G F R α 、P D G F R β 、T r k A、T r k B、T r k C、U F O、L T K、A L K、T i e 1、T i e 2、P T K 7、R y k、T C R、N M D A R、L N G F R、およびM u S K。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌（腫瘍）に由来する、またはそれ上で発現することが決定された、細胞表面抗原（複数可）のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。

【0331】

いくつかの実施形態では、抗体送達ビヒクル組成物は、 γ P T H Fおよび、マンノース-6-ホスフェート受容体、トランスフェリン受容体、および細胞接着分子 (C A M) からなる群より選択される抗原のエピトープに対し特異的親和性を有する抗体または抗原結合抗体フラグメントを含む。さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、細胞間接着分子 (I C A M)、血小板-内皮細胞接着分子 (P E C A M)、活性化白血球細胞接着分子 (A L C A M)、Bリンパ球細胞接着分子 (B L-C A M)、血管細胞接着分子 (V C A M)、粘膜血管アドレシン細胞接着分子 (M A d C A M)、C D 4 4、L F A-2、L F A-3、およびベシジンからなる群から選択されるC A Mのエピトープに特異的親和性を有する。

【0332】

いくつかの実施形態では、抗体送達ビヒクル組成物は、1、2、3、4、5、5~10個、または10個を超える γ ポリグルタミン酸化 T H Fを含む。いくつかの実施形態では、抗体送達ビヒクル組成物は、1、2、3、4、5、5~10個、または10個を超える

10

20

30

40

50

γ ペンタグルタミン酸化 T H F を含む。いくつかの実施形態では、抗体送達ビヒクル組成物は、1、2、3、4、5、5～10個、または10個を超える γ ヘキサグルタミン酸化 T H F を含む。

【0333】

IV. 医薬組成物 および投与

いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、リポソームおよび担体、例えば、薬学的に許容される担体を含む医薬組成物として提供される。提供される医薬組成物中に含まれる薬学的に許容される担体には、生理食塩水、等張性デキストロース、等張性スクロース、リンゲル液、およびハंकス液が挙げられる。いくつかの実施形態では、緩衝物質が医薬組成物の保存安定性のための最適 pH を維持するために添加される。いくつかの実施形態では、医薬組成物の pH は、6.0～7.5 である。いくつかの実施形態では、pH は、6.3～7.0 である。さらなる実施形態では、pH は、6.5 である。理想的には、医薬組成物の pH は、リポソーム膜脂質の安定性および捕捉された物質の保持の両方を可能にする。通常、2～20 mM 濃度の、ヒスチジン、ヒドロキシエチルピペラジーンエチルスルホネート (H E P E S)、モルホリポエチルスルホネート (M E S)、コハク酸塩、酒石酸塩およびクエン酸塩が代表的緩衝物質である。他の好適な担体には、例えば、水、緩衝水溶液、0.4% NaCl、および0.3%グリシンが挙げられる。タンパク質、炭水化物、またはポリマー安定剤および張度調節剤として、例えば、ゼラチン、アルブミン、デキストラン、またはポリビニルピロリドンを追加できる。組成物の浸透圧は、グルコースまたはラクトース、スクロース、マンニトール、またはデキストリンなどのより不活性の化合物を用いて、0.25～0.35 モル/kg の生理学的レベルに調節できる。これらの組成物は、定型作業により、当該技術分野において既知の従来の技術を用いて（例えば、濾過により）滅菌できる。得られた水溶液は、使用のためにパッケージ化でき、または無菌条件下で濾過および凍結乾燥でき、凍結乾燥製剤は、投与の前に、無菌の水性媒体と混合される。

【0334】

提供される医薬リポソーム組成物はまた、pH調整剤および緩衝剤、浸透圧調整剤、例えば、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、および塩化カルシウム、どの製薬学的に許容され得る補助物質を適切な生理学的条件の必要性に応じて含み得る。さらに、リポソーム懸濁液は、貯蔵時のフリーラジカルおよび脂質過酸化傷害に対する脂質保護剤を含み得る。 γ トコフェロールなどの親油性フリーラジカル失活剤およびフェリオキサミンなどの水溶性イオン特異的キレート化剤が好適する。

【0335】

提供される流体医薬製剤中のリポソーム濃度は、必要に応じて広い範囲、例えば、通常約0.05%未満、または少なくとも約2～10%から30～50%程度まで変えることができ、選択される特定の投与方法に従って、主として液体の体積、粘度により選択される。例えば、治療に関連する流体量を低下させるために、濃度を増加させることがある。これは、アテローム性動脈硬化症関連うっ血性心不全または重度高血圧の患者に特に望ましい。あるいは、刺激性脂質から構成されるリポソーム医薬組成物は、投与部位での炎症を少なくするために、低濃度に希釈されることがある。

【0336】

いくつかの実施形態は、その表面に葉酸受容体を発現する腫瘍に、 γ P T H F の標的化ペグ化リポソーム製剤を送達する方法に関する。例示的な方法は、腫瘍に治療的に有効な用量の標的化ペグ化 リポソーム γ P T H F を送達する量で、本明細書で提供されるリポソーム医薬組成物を投与するステップを含む。

【0337】

投与されるリポソーム医薬組成物の量は、リポソーム内部に捕捉される特定の γ P T H F、治療される疾患状態、使用されるリポソーム型、および臨床医の判断に依存する。一般的に、投与されるリポソーム医薬組成物の量は、特定の治療剤物質の治療的に有効な用量を送達するのに十分なものである。

【0338】

治療的に有効な用量を送達するのに必要なリポソーム医薬組成物の量は、薬物試験の技術分野で一般的である定型的なインビトロおよびインビボ法で決定できる。例えば、D. B. Budman、A. H. Calvert、E. K. Rowinsky（編者）、*Handbook of Anticancer Drug Development*（抗癌剤開発のハンドブック）、LWW、2003を参照されたい。様々な治療用組成物の治療的に有効な投与量は、従来技術の当業者に知られている。いくつかの実施形態では、医薬リポソーム組成物によって送達される治療用物質は、その定型的な非リポソーム製剤中の同量の治療用物質を投与することによって得られる活性と少なくとも同等またはより高い活性をもたらす。一般的には、リポソーム医薬組成物における投与量は、例えば、体表面積1平方メートル（ m^2 ）あたり約0.005～約5000mgの治療用物質、ほとんどの場合、約0.1～約100mg治療用物質/ m^2 体表面積の範囲にある。

10

【0339】

例えば、被検体が腫瘍を有する場合、有効量は、腫瘍体積または腫瘍量（例えば、腫瘍の画像処理により測定できる）を低減する薬剤（例えば γ PTHF組成物）の量であり得る。有効量はまた、血液中または他の体液もしくは組織（例えば、生検）中の癌細胞の存在および／または頻度により評価できる。腫瘍が組織または臓器の正常機能に影響を与える場合には、有効量は、組織または臓器の正常機能を測定することにより日常的に評価できる。いくつかの事例では、有効量は、症状の1つ以上、および好ましくは全てを低減するまたは除去するのに必要な量である。

20

【0340】

γ PTHF組成物（例えば、ペンタグルタミン酸化またはヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有するリポソーム）を含む医薬組成物もまた、提供される。医薬組成物は、好ましくは薬学的に許容される担体中に、サンプルリポソームおよび好ましくは γ PTHFを含む無菌組成物である。

【0341】

本明細書において他に記載がない限り、様々な投与経路が利用可能である。選択される特定の方式は、選択される特定の有効薬物、治療される特定の条件および治療的効能のために必要とされる投与量に依存する。提供される方法は、医学的に許容できる任意の既知の方式の投与を用いて、および適正な医療行為に従い実施できる。いくつかの実施形態では、投与経路は注射である。さらなる実施形態では、注射は筋肉内、皮下、静脈内、動脈内、腹腔内、関節内、硬膜内、髄腔内、静脈内、筋肉内、または胸骨内注射から選択される非経口経路によるものである。いくつかの実施形態では、投与経路は注入である。追加の実施形態では、投与経路は経口、経鼻、粘膜、舌下、気管内、眼部、直腸、膣、眼内、局所、経皮、肺、または吸入である。

30

【0342】

本明細書で記載のリポソーム γ PTHF組成物などの γ PTHF含有治療用組成物は、例えば、単位用量の注射などの従来法で静脈内に投与できる。本明細書で提供される治療用組成物に関連して使用される用語の「単位用量」は、被検体に対する単一用量として適する物理的に別々の単位を意味し、各単位は、例えば、担体、またはビヒクルなどの必要とされる希釈剤と組み合わせて、所望の治療効果が得られるように計算された所定量の活性物質を含む。特定の実施形態では、アダプターを含む治療用組成物は、皮下に投与される。

40

【0343】

いくつかの実施形態では、 γ PTHF組成物は、剤形と適合性がある方式により治療有効量で投与される。投与される量は、治療される被検体、被検体の組織の有効成分を利用する能力、および所望の治療効果の程度に依存する。投与に必要な有効成分の厳密な量は、開業医の判断に依存し、それぞれの個体に特有である。しかし、全身投与のための好適な用量範囲は本明細書で開示され、これは、投与経路に依存する。好適な投与計画も変更可能であるが、初期投与とこれに続く、注射または他の投与法による1時間または複数時

50

間の間隔での反復投与が典型例である。あるいは、インビボでの指定された範囲での、血液中の濃度を維持するのに十分な連続的静脈内注入も意図される。

【0344】

γ P T H F 組成物は、処方され、用量が決定され、良質の医療のための原則に従って投与される。これに関して考慮すべき因子には、処置される特定の障害、処置される特定の患者、個別患者の臨床状態、障害の原因、薬剤送達部位、投与方法、投与スケジュール、およびその他の開業医に既知の因子が挙げられる。γ P T H F 組成物の投与のための投与量の範囲は、標的分子により媒介される病徴の改善に向けた所望の効果をもたらすのに十分大きい量である。投与量は、過粘稠度症候群、肺水腫、うっ血性心不全、およびその他の当該技術分野において既知の有害副作用などの有害な副作用を引き起こすほど多量であってはならない。一般に、投与量は、患者の年齢、重量、身長、体表面積、健康状態（例えば、腎臓および肝臓関数）、病状、性別、および疾患の程度で変化し、当業者による定形作業で決定可能である。万一何らかの合併症が生じる場合には、投与量は個々の医師によって調節できる。

10

【0345】

治療および予防用途に効果的な投薬スケジュールおよび量、すなわち「投薬計画」は、疾患または障害の原因、ステージおよび重症度、治療される被検体の身体的状態、年齢、およびγ P T H F 組成物の送達部位および経路を含む種々の要因に依存するであろう。γ P T H F 組成物の治療効力および毒性は、細胞培養物または実験動物を用いて、標準的医薬薬理学的、および毒性学的方法により測定できる。これらの方法により得られたデータは同様に、ヒトにおける使用のための投与量範囲の処方に使用することができる。さらに、治療指数（すなわち、集団の50%で治療的に有効な用量を集団の50%の致死用量で割った値（ED50/LD50））は、既知の手順を用いて容易に決定できる。投与量は、毒性がほとんどまたは全くなしに、ED50を含む濃度の範囲内であるのが好ましく、採用される剤形、患者の感受性、および投与経路に応じて、この範囲内で変わってもよい。

20

【0346】

投与計画では、薬物吸収速度、バイオアベイラビリティ、代謝およびクリアランスなどの、当該技術分野において既知の薬物動態学パラメータも考慮される（例えば、Hidalgo-Aragones, J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 58:611-617 (1996); Groning et al., Pharmazie 51:337-341 (1996); Fotherby, Contraception 54:59-69 (1996); および Johnson et al., J. Pharm. Sci. 84:1144-1146 (1995) を参照されたい）。治療されるそれぞれの被検体に対し、臨床医が投与計画を決定することは、十分に現状技術の範囲内にある。さらに、γ P T H F 組成物の単一または複数投与は、被検体に必要で、耐容される投与量と頻度に応じて投与できる。予防および治療処置の期間は、治療される特定の疾患または状態に依存するであろう。いくつかの疾患は、急性期治療に適用できるが、他のものは、長い期間にわたる長期治療が必要である。γ P T H F 組成物は、追加の治療薬を用いて順次に、または同時に投与できる。

30

【0347】

いくつかの実施形態では、γ P T H F 組成物は、リポソーム組成物として、1平方メートルの体表面積当たり、約0.005~約5000mgのγ P T H F、またはそれらの間の任意の範囲の用量で投与される。さらなる実施形態では、γ P T H F 組成物は、リポソーム組成物として、1平方メートルの体表面積当たり、約0.1~約1000mgのγ P T H F、またはその間の任意の範囲の用量で投与される。

40

【0348】

いくつかの実施形態では、γ P T H F 組成物は、免疫複合体組成物として、1mg/kg~500mg/kg、1mg/kg~250mg/kg、1mg/kg~200mg/kg、1mg/kg~150mg/kg、1mg/kg~100mg/kg、1mg/kg~50mg/kg、1mg/kg~25mg/kg、1mg/kg~20mg/kg、

50

1 mg/kg ~ 15 mg/kg、1 mg/kg ~ 10 mg/kg、または 1 mg/kg ~ 5 mg/kg、またはこれらの間の任意の範囲の用量で投与される。

【0349】

別の実施形態では、 γ P T H F 組成物は、1つ以上の追加の治療薬と組み合わせて投与される。

【0350】

いくつかの実施形態では、P L p - γ P T H F および／または標的化 P L p - γ P T H F は、注入組成物、注射組成物、非経口組成物、または局所組成物として作製される。さらなる実施形態では、注射は、腹腔内注射、直接腫瘍内注射、動脈内注射、および静脈内注射、皮下注射、筋肉注射、経皮的および鼻腔内経路を介した送達の中の1つ以上を含む。さらなる実施形態では、P L p - γ P T H F および／または標的化 P L p - γ P T H F は液剤または懸濁剤である。しかし、注射の前に液体担体中で溶液または懸濁液とするために好適する固体形態も本明細書で提供される。いくつかの実施形態では、標的化ペグ化リポソーム γ P T H F 組成物は、当該技術分野において既知の方法に従って、腸溶性コート錠剤またはジェルカプセルとして処方される。

【0351】

いくつかの実施形態では、標的化ペグ化リポソーム γ P T H F 製剤は、腫瘍にリポソームの緩徐な持続的 direct 頭蓋内注入（例えば、対流強化輸送（CED））を用いて、中枢神経系の腫瘍に投与される。Saito et al., Cancer Research 64: 2572-2579 (2004); Mamot et al., J. Neuro-Oncology 68: 1-9 (2004) を参照されたい。他の実施形態では、製剤は組織表面に直接適用される。ペグ化リポソーム γ P T H F 製剤の徐放、pH 依存性放出、およびその他の特定の化学的または環境的条件媒介放出投与（例えば、蓄積注射および腐食性移植組織）も同様に提供される。このような放出媒介組成物の例は、本明細書でさらに記載されるか、あるいは、当該技術分野において既知である。

【0352】

吸入による投与では、組成物は適切な高圧ガス、例えば、ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素または他の適切なガスの使用によって、加圧バックまたは噴霧器からエアゾールスプレー調製物の剤形で都合よく送達できる。加圧エアゾールの場合には、投与単位は計量された量を送達するためのバルブを備えることによって決定できる。

【0353】

組成物の全身送達が望ましい場合、注入、例えば、ボラス注入または持続注入による非経口投与用に処方できる。注入用の製剤は、単位剤形、例えば、アンプル、または複数回投与用容器で投与できる。医薬非経口製剤には、成分の水溶液が含まれる。水性の注射用懸濁剤には、懸濁剤の粘度を増大させる物質、例えば、ナトリウムカルボキシメチルセルロース、ソルビトールまたはデキストランなどを含めることができる。あるいは、リポソームの懸濁剤は、油性懸濁剤として作製できる。好適な親油性の溶媒または担体としては、脂肪油、例えば、ゴマ油、または合成脂肪酸エステル、例えば、オレイン酸エチルまたはトリグリセリドが挙げられる。

【0354】

あるいは、非標的化または標的化ペグ化リポソーム γ P T H F は、好適な担体、例えば、無菌の、発熱性物質非含有水を使用前に用いて構成するための粉末の形態または凍結乾燥形態とすることができる。

【0355】

提供された組成物（例えば、 γ P T H F および γ P T H F を含むリポソーム）は、例えば、ココアバターまたは他のグリセリドなどの従来の座薬基剤を含む、座薬または停留浣腸剤などの直腸または腔用組成物としても処方できる。

【0356】

使用および治療方法

10

20

30

40

50

追加の実施形態では、本開示は、 γ P T H F (γ P T H F) 組成物の使用方法を提供する。いくつかの実施形態では、ガンマ γ P T H F 組成物は、疾患または障害を治療するために使用される。

【0357】

いくつかの実施形態では、本開示は、細胞を、 γ P T H F (例えば、本明細書で開示される γ P T H F) を含む組成物と接触させることを含む、細胞を死滅させる方法を提供する。いくつかの実施形態では、 γ P T H F は下記から選択される：(a) ポリグルタミン酸化 5-ホルミル-T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5-ホルミル-T H F)；(b) ポリグルタミン酸化 10-ホルミル-T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R] - 10-ホルミル-T H F)；(c) ポリグルタミン酸化 5, 10-メテニル-T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R] - 5, 10-メテニル-T H F)；(d) ポリグルタミン酸化 5-メチル-T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5-メチル-T H F)；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - テトラヒドロ葉酸 T H F)；(f) ポリグルタミン酸化 5, 10-メチレン-T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R] - 5, 10-メチレン-T H F)；および (g) ポリグルタミン酸化 5-ホルムイミノ-T H F (例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5-ホルムイミノ-T H F)。いくつかの実施形態では、 γ P T H F はポリグルタミン酸化 5, 10-メチレン-T H F を含む。さらなる実施形態では、 γ P T H F はポリグルタミン酸化 [6 R] - 5, 10-メチレン-T H F を含む。他の実施形態では、 γ P T H F はポリグルタミン酸化 [6 R, S] - 5, 10-メチレン-T H F を含む。いくつかの実施形態では、 γ P T H F はポリグルタミン酸化 5-メチル-T H F を含む。さらなる実施形態では、 γ P T H F は、[6 S] - 5-メチル-T H F を含む。他の実施形態では、 γ P T H F は [6 R, S] - 5-メチル-T H F を含む。いくつかの実施形態では、 γ P T H F は、ポリグルタミン酸化 5-ホルミル-T H F を含む。さらなる実施形態では、 γ P T H F は、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5-ホルミル-T H F を含む。他の実施形態では、 γ P T H F はポリグルタミン酸化 [6 R, S] - 5-ホルミル-T H F を含む。いくつかの実施形態では、接触される細胞は哺乳類細胞である。さらなる実施形態では、接触される細胞はヒト細胞である。いくつかの実施形態では、接触される細胞は過剰増殖性細胞である。さらなる実施形態では、過剰増殖性細胞は癌細胞である。さらに別の実施形態では、癌細胞は、下記からなる群より選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である：例えば、肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫 (例えば、骨肉腫)、脳癌、中枢神経系癌、およびメラノーマなどを含む非血液系腫瘍；および、例えば、白血病、リンパ腫および他の B 細胞悪性腫瘍、骨髄腫および他の形質細胞異形成症または悪液質などの血液系腫瘍。さらに別の実施形態では、癌細胞は、下記から選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌 (例えば、胃癌)、膵臓癌、肝臓癌、肺癌 (例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん)、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。特定の実施形態では、癌細胞は結腸直腸癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である。いくつかの実施形態では、方法はインビボで実施される。他の実施形態では、方法はインビトロで実施される。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は 4、5、2-10、4-6、または 5 超の γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は L γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は L および D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

【0358】

追加の実施形態では、本開示は、細胞を、 γ P T H F を含有するリポソーム (例えば、

10

20

30

40

50

本明細書で開示される $PLp-\gamma PTHF$ 、 $NTPp-\gamma PTHF$ 、 $NTPPLp-\gamma PTHF$ 、 $TLp-\gamma PTHF$ または $TPLp-\gamma PTHF$ などの $Lp-\gamma PTHF$ と接触させることを含む、細胞を死滅させる方法を提供する。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されている（例えば、 $PLp-\gamma PTHF$ および $NTPPLp-\gamma PTHF$ ）。いくつかの実施形態では、リポソームはその表面に、細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む（例えば、 $TLp-\gamma PTHF$ および $TPLp-\gamma PTHF$ ）。さらなる実施形態では、リポソームはペグ化されており、その表面に、細胞の表面上の抗原に特異的に結合するターゲティング部分を含む（例えば、 $TPLp-\gamma PTHF$ ）。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されていない（例えば、 $PLp-\gamma PTHF$ および $NTPPLp-\gamma PTHF$ ）。いくつかの実施形態では、ペグ化されていないリポソームは、その表面に、細胞の表面上の抗原を特異的に結合するターゲティング部分を含む（例えば、 $TLp-\gamma PTHF$ および $TPLp-\gamma PTHF$ ）。いくつかの実施形態では、接触される細胞は哺乳類細胞である。さらなる実施形態では、接触される細胞はヒト細胞である。追加の実施形態では、接触される細胞は過剰増殖性細胞である。さらなる実施形態では、過剰増殖性細胞は癌細胞である。さらなる実施形態では、接触される癌細胞は、下記からなる群より選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である：肺癌（例えば、非小細胞）、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、メラノーマ、骨髄腫、白血病およびリンパ腫。いくつかの実施形態では、接触される癌細胞は、下記からなる群より選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。特定の実施形態では、接触される癌細胞は結腸直腸癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である。いくつかの実施形態では、方法はインビボで実施される。他の実施形態では、方法はインビトロで実施される。いくつかの実施形態では、リポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する $\gamma PTHF$ を含有する。いくつかの実施形態では、リポソームは、下記から選択される $\gamma PTHF$ を含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル- THF （例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル- THF ）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル- THF （例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル- THF ）；（c）ポリグルタミン酸化5,10-メテニル- THF （例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5,10-メテニル- THF ）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル- THF （例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル- THF ）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 THF （例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸 THF ）；（f）ポリグルタミン酸化5,10-メチレン- THF （例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5,10-メチレン- THF ）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ- THF （例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ- THF ）。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5,10-メチレン- THF を含む。さらなる実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6R]-5,10-メチレン- THF を含む。他の実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6R,S]-5,10-メチレン- THF を含む。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5-メチル- THF を含む。他の実施形態では、リポソームは[6R,S]-5-メチル- THF を含む。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5-ホルミル- THF を含む。さらなる実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル- THF を含む。他の実施形態では、リポソームは[6R,S]-5-ホルミル- THF を含む。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5-ホルミル- THF を含む。さらなる実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6R,S]-5-ホルミル- THF を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、 $L\gamma$ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -

10

20

30

40

50

グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、リポソームはLおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、リポソームは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

10

【0359】

いくつかの実施形態では、本開示は、過剰増殖性細胞を、 γ P T H F（例えば、本明細書で開示される γ P T H F）を含む送達ビヒクル（例えば、リポソームまたは抗体免疫複合体）と接触させることを含む、過剰増殖性細胞を死滅させる方法を提供する。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体（例えば、全長 I g G 抗体、二重特異性抗体、または s c F v）である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはリポソーム（例えば、P L p - γ P T H F、N T L p - γ P T H F、N T P L p - γ P T H F、T L p - γ P T H F、または T P L p - γ P T H F などの L p - γ P T H F）である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクル標的化されていない。他の実施形態では、送達ビヒクルは、標的化されており、その表面に、過剰増殖性細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、過剰増殖性細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含み、抗原は下記からなる群より選択される：G O N M B、T A C S T D 2（T R O P 2）、C E A C A M 5、E P C A M、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体 - α 、葉酸受容体 - β または葉酸受容体 - δ ）、ムチン 1（M U C - 1）、M U C - 6、S T E A P 1、メソテリン、ネクチン 4、E N P P 3、グアニリルシクラーゼ C（G C C）、S L C 4 4 A 4、N a P i 2 b、C D 7 0（T N F S F 7）、C A 9（炭酸脱水酵素）、5 T 4（T P B G）、S L T R K 6、S C - 1 6、組織因子、L I V - 1（Z I P 6）、C G E N - 1 5 0 2 7、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメイン B（E D - B）、V E G F R 2（C D 3 0 9）、テネイシン、コラーゲン I V、ペリオスチン、エンドセリン受容体、H E R 2、H E R 3、E r b B 4、E G F R、E G F R v I I I、F G F R 1、F G F R 2、F G F R 3、F G F R 4、F G F R 6、I G F R - 1、F Z D 1、F Z D 2、F Z D 3、F Z D 4、F Z D 5、F Z D 6、F Z D 7、F Z D 8、F Z D 9、F Z D 10、S M O、C D 2、C D 3、C D 4、C D 5、C D 6、C D 8、C D 11、C D 11 a、C D 15、C D 18、C D 19、C D 20、C D 22、C D 26、C D 27 L、C D 28、C D 30、C D 33、C D 34、C D 37、C D 38、C D 40、C D 44、C D 56、C D 70、C D 74、C D 79、C D 79 b、C D 98、C D 105、C D 133、C D 138、c r i p t o、I G F - 1 R、I G F - 2 R、E p h A 1 E p h A 受容体、E p h B 受容体、E p h A 1、E p h A 2、E p h A 3、E p h A 4、E p h A 5、E p h A 6、E p h A 7、E p h A 8、E p h B 1、E p h B 2、E p h B 3、E p h B 4、E p h B 6、インテグリン（例えば、インテグリン α v β 3、 α v β 5、または α v β 6）、C 2 4 2 抗原、A p o 2、P S G R、N G E P、P S C A、T M E F F 2、エンドグリン、P S M A、C a n A g、C A L L A、c - M e t、V E G F R - 1、V E G F R - 2、D D R 1、P D G F R α 、P D G F R β 、T r k A、T r k B、T r k C、U F O、L T K、A L K、T i e 1、T i e 2、P T K 7、R y k、T C R、N M D A R、L N G F R、および M u S K。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌（腫瘍）に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原（複数可）上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、方法はインビボで実施される。いくつかの実施形態では、方法はインビトロで実施される。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、4、5、

20

30

40

50

2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは下記から選択される γ PTHFを含む：(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；(c) ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メテニル-THF）；(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；(f) ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチレン-THF）；および(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルはポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R, S]-5, 10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、[6S]-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、送達ビヒクルは、[6R, S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R, S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、L γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、送達ビヒクルは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

【0360】

特定の実施形態では、過剰増殖性細胞を死滅させる方法は、 γ PTHF（例えば、本明細書で開示される、PLp- γ PTHF、NTLp- γ PTHF、NTPLp- γ PTHF、TLp- γ PTHFまたはTPLp- γ PTHFなどのLp- γ PTHF）を含むリポソーム送達ビヒクルを用いて実施される。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、非標的化リポソームである。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、その表面に、過剰増殖性細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む（例えば、TLp- γ PTHFおよびTPLp- γ PTHF）。いくつかの実施形態では送達ビヒクルはその表面に、過剰増殖性細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含むリポソームである（例えば、TLp- γ PTHFおよびTPLp- γ PTHF）。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはその表面に、過剰増殖性細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含むリポソームである。さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、下記からなる群より選択される抗原のエピトープに対して特異的親和性を有する：GONMB、TACSTD2 (TROP2)、CEACAM5、EPCAM、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体- α 、葉酸受容体- β または葉酸受容体- δ ）、ムチン1 (MUC

10

20

30

40

50

-1)、MUC-6、STEAP1、メソテリン、ネクチン4、ENPP3、グアニリルシクラーゼC(GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70(TNFSF7)、CA9(炭酸脱水酵素)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、組織因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB(ED-B)、VEGFR2(CD309)、テネイシン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1 EphA受容体、EphB受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン(例えば、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ 、または $\alpha v \beta 6$)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFR α 、PDGFR β 、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMuSK。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌(腫瘍)に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原(複数可)上のエピトープに対して特異的親和性を有する。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されている(例えば、PLp- γ PTHF、およびNTPLp- γ PTHF)。さらなる実施形態では、リポソームはペグ化されており、その表面に、過剰増殖性細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む(例えば、TPLp- γ PTHF)。他の実施形態では、リポソームはペグ化されていない。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されておらず、リポソームはその表面に、過剰増殖性細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む(例えば、TPLp- γ PTHF)。いくつかの実施形態では、リポソームは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、リポソームは、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、下記から選択される γ PTHFを含む：(a)ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF(例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF)；(b)ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF(例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF)；(c)ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-THF(例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メテニル-THF)；(d)ポリグルタミン酸化5-メチル-THF(例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF)；(e)ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF(例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF)；(f)ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF(例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF)；および(g)ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF(例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF)。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態ではリポソームはポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む

10

20

30

40

50

。さらなる実施形態ではリポソームは〔6 S〕-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、リポソームは〔6 R, S〕-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、L γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、D γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはLおよびD γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型のγ-グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。

【0361】

追加の実施形態では、本開示は、癌細胞を、γPTHF（例えば、本明細書で開示されるγPTHF）を含む送達ビヒクル（例えば、リポソームまたは抗体）と接触させることを含む、癌細胞の増殖を抑制する方法を提供する。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体（例えば、全長IgG抗体、二重特異性抗体、またはscFv）である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはリポソーム（例えば、PLp-γPTHF、NTLP-γPTHF、NTPLp-γPTHF、TLp-γPTHF、またはTPLp-γPTHFなどのLP-γPTHF）である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは標的化されていない。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、標的化されており、その表面に、癌細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、下記からなる群より選択される、細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：GONMB、TACSTD2（TROP2）、CEACAM5、EPCAM、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体-α、葉酸受容体-βまたは葉酸受容体-δ）、ムチン1（MUC-1）、MUC-6、STEAP1、メソテリン、ネクチン4、ENPP3、グアニリルシクラーゼC（GCC）、SLC44A4、NaPi2b、CD70（TNFSF7）、CA9（炭酸脱水酵素）、5T4（TPBG）、SLTRK6、SC-16、組織因子、LIV-1（ZIP6）、CGEN-15027、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB（ED-B）、VEGFR2（CD309）、テネイシン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1 EphA受容体、EphB受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン（例えば、インテグリンαvβ3、αvβ5、またはαvβ6）、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFRα、PDGFRβ、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMuSK。いくつかの実施形態では、送

10

20

30

40

50

達ビヒクルは、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌(腫瘍)に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原(複数可)上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、癌細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有する抗体である。いくつかの実施形態では、接触される癌細胞は哺乳類細胞である。さらなる実施形態では、接触される癌細胞はヒト細胞である。追加の実施形態では、接触される癌細胞は、下記からなる群より選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である:肺癌(例えば、非小細胞)、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫(例えば、骨肉腫)、脳癌、中枢神経系癌、メラノーマ、骨髄腫、白血病およびリンパ腫。いくつかの実施形態では、接触される癌細胞は、下記からなる群より選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である:結腸直腸癌、乳癌、胃の癌(例えば、胃癌)、膵臓癌、肝臓癌、肺癌(例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん)、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。特定の実施形態では、接触される癌細胞は結腸直腸癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である。いくつかの実施形態では、方法はインビボで実施される。いくつかの実施形態では、方法はインビトロで実施される。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、上にリストした細胞表面抗原の1つ上のエピトープに対して特異的親和性を有する抗体である。他の実施形態では、ターゲティングビヒクルは、癌細胞の表面上のエピトープに対し特異的親和性を有するターゲティング部分を含むリポソームである。他の実施形態では、ターゲティングビヒクルは、上にリストした細胞表面抗原の1つ上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含むリポソームである。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはペグ化されているリポソームである。他の実施形態では、送達ビヒクルはペグ化されていないリポソームである。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ -PTHF組成物を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは γ -テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、 γ -ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、送達ビヒクルは γ -ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは下記から選択される γ -PTHFを含む: (a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF); (b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF); (c) ポリグルタミン酸化5, 10-メチニル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチニル-THF); (d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF); (e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF); (f) ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチレン-THF); および (g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF)。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルはポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R, S]-5, 10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、[6S]-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、送達ビヒクルは、[6R, S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R, S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、L γ -ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビ

10

20

30

40

50

ヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。

【0362】

さらなる実施形態では、本開示は、癌細胞を、 γ P T H F（例えば、本明細書で開示される γ P T H F）を含むリポソームと接触させることを含む癌細胞の増殖を抑制する方法を提供する。いくつかの実施形態では、リポソームは標的化されていない。いくつかの実施形態では、リポソームは、標的化されており、その表面に、癌細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。さらなる実施形態では、リポソームは、下記からなる群より選択される細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：GONMB、TACSTD2（TROP2）、CEACAM5、EPCAM、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体- α 、葉酸受容体- β または葉酸受容体- δ ）、ムチン1（MUC-1）、MUC-6、STEAP1、メソテリン、ネクチン4、ENPP3、グアニリルシクラーゼC（GCC）、SLC44A4、NaPi2b、CD70（TNFSF7）、CA9（炭酸脱水酵素）、5T4（TPBG）、SLTRK6、SC-16、組織因子、LIV-1（ZIP6）、CGEN-15027、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB（ED-B）、VEGFR2（CD309）、テネニン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1 EphA受容体、EphB受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン（例えば、インテグリン α v β 3、 α v β 5、または α v β 6）、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFR α 、PDGFR β 、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMusK。いくつかの実施形態では、リポソームはネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌（腫瘍）に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原（複数可）上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、接触される癌細胞は哺乳類細胞である。さらなる実施形態では、接触される癌細胞はヒト細胞である。追加の実施形態では、接触される癌細胞は、下記からなる群より選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である：肺癌（例えば、非小細胞）、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、メラノーマ、骨髄腫、白血病およびリンパ腫。いくつかの実施形態では、接触される癌細胞は、下記からなる群より選択される癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／また

10

20

30

40

50

は腺がん)、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。特定の実施形態では、接触される癌細胞は結腸直腸癌から得られる／これに由来する一次細胞または細胞株由来細胞である。いくつかの実施形態では、方法はインビボで実施される。いくつかの実施形態では、方法はインビトロで実施される。他の実施形態では、ターゲティングビヒクルは、上にリストした細胞表面抗原の1つ上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含むリポソームである。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されている。他の実施形態では、リポソームはペグ化されていない。いくつかの実施形態では、リポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ -PTHF組成物を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ -テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ -ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、リポソームは、 γ -ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、下記から選択される γ -PTHFを含む：(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-PTHF）；(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-PTHF）；(c) ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メテニル-PTHF）；(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-PTHF）；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸PTHF）；(f) ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-PTHF）；および(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-PTHF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-PTHF）。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-PTHFを含む。さらなる実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-PTHFを含む。他の実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5-メチル-PTHFを含む。さらなる実施形態では、リポソームは[6S]-5-メチル-PTHFを含む。他の実施形態では、リポソームは[6R，S]-5-メチル-PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5-ホルミル-PTHFを含む。さらなる実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-PTHFを含む。他の実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルミル-PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはD γ -ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはLおよびD γ -ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。

【0363】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、 γ -ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、本明細書で開示される γ -PTHF）を含む送達ビヒクル（例えば、抗体またはリポソーム）を、過剰増殖性障害を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、過剰増殖性障害を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体（例えば、全長IgG抗体、二重特異性抗体、またはscFv）である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはリポソーム（例えば、PLP- γ -PTHF、NTLP- γ -PTHF、NTPLP- γ -PTHF、TLP- γ -PTHF、またはTPLP- γ -PTHFなどのLP- γ -PTHF）である。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されている。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペ

10

20

30

40

50

グ化されていない。追加の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、過剰増殖性細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。追加の実施形態では、送達ビヒクルは、下記からなる群より選択される、細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：GONMB、TACSTD2 (TROP2)、CEACAM5、EPCAM、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体- α 、葉酸受容体- β または葉酸受容体- δ ）、ムチン1 (MUC-1)、MUC-6、STEAP1、メソテリン、ネクチン4、ENPP3、グアニリルシクラーゼC (GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70 (TNFSF7)、CA9 (炭酸脱水酵素)、5T4 (TPBG)、SLTRK6、SC-16、組織因子、LIV-1 (ZIP6)、CGEN-15027、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB (ED-B)、VEGFR2 (CD309)、テネイシン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1、EphA受容体、EphB受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン（例えば、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ 、または $\alpha v \beta 6$ ）、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFR α 、PDGFR β 、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMuSK。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌(腫瘍)に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原(複数可)上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗原結合抗体フラグメントである。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、過剰増殖性細胞の細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含まない。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択される γ PTHFを含む：(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；(c) ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メテニル-THF）；(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；(f) ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；および(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルはポリグルタミン酸化[6

10

20

30

40

50

R] - 5, 10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R, S] - 5, 10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、[6S] - 5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、送達ビヒクルは、[6R, S] - 5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6S] - 5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R, S] - 5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、L γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、過剰増殖性障害は癌である。いくつかの実施形態では、過剰増殖性障害は自己免疫疾患(例えば、炎症および関節リウマチ)である。いくつかの実施形態では、過剰増殖性障害は、良性のまたは悪性腫瘍；白血病、血液学的またはリンパ系悪性腫瘍である。他の実施形態では、過剰増殖性障害は下記からなる群より選択される：神経、グリア、星状細胞、視床下部、腺、マクロファージ、上皮、間質、胞胚腔、炎症性、血管新生、および自己免疫疾患を含む免疫性障害。

【0364】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含むリポソーム(例えば、PLp- γ PTHF、NTLP- γ PTHF、NTPLp- γ PTHF、TLp- γ PTHF、またはTPLp- γ PTHFなどのLp- γ PTHF)を、過剰増殖性障害を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、過剰増殖性障害を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されている。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されていない。追加の実施形態では、リポソームは、過剰増殖性細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。追加の実施形態では、リポソームは、下記からなる群より選択される細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：GONMB、TACSTD2(TROP2)、CEACAM5、EPCAM、葉酸受容体(例えば、葉酸受容体- α 、葉酸受容体- β または葉酸受容体- δ)、ムチン1(MUC-1)、MUC-6、STEAP1、メソテリン、ネクチン4、ENPP3、グアニリルシクラーゼC(GCC)、SLC44A4、NAPI2b、CD70(TNFSF7)、CA9(炭酸脱水酵素)、5T4(TPBG)、SLTRK6、SC-16、組織因子、LIV-1(ZIP6)、CGEN-15027、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB(ED-B)、VEGFR2(CD309)、テネイシン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、Erbb4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1 EphA受容体、EphB受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、Ep

10

20

30

40

50

hA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン（例えば、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ 、または $\alpha v \beta 6$ ）、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFR α 、PDGFR β 、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMuSK。いくつかの実施形態では、リポソームは、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌(腫瘍)に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原(複数可)上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗原結合抗体フラグメントである。いくつかの実施形態では、リポソームは、過剰増殖性細胞の細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含まない。いくつかの実施形態では、リポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、リポソームは、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、下記から選択される γ PTHFを含む：(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；(c) ポリグルタミン酸化5，10-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチル-THF）；(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；(f) ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；および(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、リポソームは[6S]-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、リポソームは[6R，S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはL γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはLおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、過剰増殖性障害は癌である。いくつかの実施形態では、過剰増殖性障害は自己免疫疾患（例えば、関節リウマチ）である。いくつかの実施形態では、過剰増殖性障害は、良性のまたは悪性腫瘍；白血病、血液学的またはリンパ系悪性腫瘍である。他の実施形態では、過剰増殖性障害は下記からなる群より選択される：神経、グリア、星状細胞、視床下部、腺、マクロファージ、上皮、間質、

10

20

30

40

50

胞胚腔、炎症性、血管新生、および自己免疫疾患を含む免疫性障害。

【0365】

開示方法により治療できる代表的過剰増殖性障害には、限定されないが、良性で前癌性、および悪性細胞増殖に関連する障害が挙げられ、これには、限定されないが、新生物および腫瘍（例えば、組織球腫、神経膠腫、星状細胞腫、骨腫）、癌（例えば、肺癌、小細胞肺癌、胃腸癌、腸癌、結腸直腸癌、乳癌、卵巣癌、前立腺がん、精巣癌、肝臓癌、腎臓癌、膀胱癌、膵臓癌、脳癌、肉腫（例えば、骨肉腫、カポジ肉腫）、およびメラノーマ）、白血病、乾癬、骨疾患、線維増殖性障害（例えば、結合組織の）、およびアテローム性動脈硬化症が含まれる。

【0366】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、本明細書で開示される γ PTHF）を含む送達ビヒクル（例えば、抗体またはリポソーム）を、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体（例えば、全長IgG抗体、二重特異性抗体、またはscFv）である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはリポソームである（例えば、PLP- γ PTHF、NTLP- γ PTHF、NTPLP- γ PTHF、TLP- γ PTHF、またはTPLP- γ PTHFなどのLP- γ PTHF）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されている。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されていない。追加の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、癌細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。追加の実施形態では、送達ビヒクルは、下記からなる群より選択される細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：GONMB、TACSTD2（TROP2）、CEACAM5、EPCAM、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体- α 、葉酸受容体- β または葉酸受容体- δ ）、ムチン1（MUC-1）、MUC-6、STEAP1、メソテリン、ネクチン4、ENPP3、グアニリルシクラーゼC（GCC）、SLC44A4、NaPi2b、CD70（TNFSF7）、CA9（炭酸脱水酵素）、5T4（TPBG）、SLTRK6、SC-16、組織因子、LIV-1（ZIP6）、CGEN-15027、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB（ED-B）、VEGFR2（CD309）、テネニン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、Erbb4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1 EphA受容体、EphB受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン（例えば、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ 、または $\alpha v \beta 6$ ）、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFR α 、PDGFR β 、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMuSK。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌（腫瘍）に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原（複数可）上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗原結合抗体フラグメントである。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは4、5、2-10、4-6、または5超

10

20

30

40

50

の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択される γ PTHFを含む：(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；(c) ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メテニル-THF）；(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；(f) ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチレン-THF）；および(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R, S]-5, 10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6S]-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6R, S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R, S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、L γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、癌は下記からなる群より選択される：肺（例えば、非小細胞肺癌）、膵臓、乳癌、卵巣、肺、前立腺、頭頸部、胃、胃腸管、結腸、食道、子宮頸部、腎臓、胆管、胆嚢、および血液系腫瘍（例えば、白血病またはリンパ腫）。

【0367】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含むリポソーム（例えば、PLp- γ PTHF、NTLp- γ PTHF、NTPLp- γ PTHF、TLp- γ PTHF、またはTPLp- γ PTHFなどのLp- γ PTHF）を、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されている。いくつかの実施形態では、リポソームはペグ化されていない。追加の実施形態では、リポソームは、癌細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。追加の実施形態では、リポソームは、下記からなる群より選択される細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：GONMB、TACSTD2 (TROP2)、CEACAM5、EPCAM、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体- α 、葉酸受容体- β または葉酸受容体- δ ）、ムチン1 (MUC-1)、MUC-6、STEAP1、メソテリン、ネクチン4、ENPP3、グアニリルシクラーゼC (GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70 (TNFSF7)、CA9（炭酸脱水酵素）、5T4 (TPBG)、SLTRK6、SC-16、組織因子、LIV-1 (ZIP6)、CGEN-15027、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB (ED-B)、VEGFR2 (CD309)、テネイシン、コラーゲンIV、ペリ

オスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1 EphA受容体、EphB受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン（例えば、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ 、または $\alpha v \beta 6$ ）、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFR α 、PDGFR β 、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMusK。いくつかの実施形態では、リポソームはネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌（腫瘍）に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原（複数可）上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗原結合抗体フラグメントである。いくつかの実施形態では、リポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、リポソームは、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは下記から選択される γ PTHFを含む：

（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、[6S]-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームは[6R，S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはL γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、1、2、3、4

10

20

30

40

50

、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはLおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型のγ-グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、癌は下記からなる群より選択される：肺(例えば、非小細胞肺癌)、脾臓、乳癌、卵巣、肺、前立腺、頭頸部、胃、胃腸管、結腸、食道、子宮頸部、腎臓、胆管、胆嚢、および血液系腫瘍(例えば、白血病またはリンパ腫)。

【0368】

追加の実施形態では、本開示は、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に、有効量の、γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸および癌の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含むリポソームを含有するリポソーム組成物を投与することを含む、癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、リポソームは、下記からなる群より選択される細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：G O N M B、T A C S T D 2 (T R O P 2)、C E A C A M 5、E P C A M、葉酸受容体(例えば、葉酸受容体-α、葉酸受容体-βまたは葉酸受容体-δ)、ムチン1 (M U C - 1)、M U C - 6、S T E A P 1、メソテリン、ネクチン4、E N P P 3、グアニリルシクラーゼC (G C C)、S L C 4 4 A 4、N a P i 2 b、C D 7 0 (T N F S F 7)、C A 9 (炭酸脱水酵素)、5 T 4 (T P B G)、S L T R K 6、S C - 1 6、組織因子、L I V - 1 (Z I P 6)、C G E N - 1 5 0 2 7、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB (E D - B)、V E G F R 2 (C D 3 0 9)、テネイシン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、H E R 2、H E R 3、E r b B 4、E G F R、E G F R v I I I I、F G F R 1、F G F R 2、F G F R 3、F G F R 4、F G F R 6、I G F R - 1、F Z D 1、F Z D 2、F Z D 3、F Z D 4、F Z D 5、F Z D 6、F Z D 7、F Z D 8、F Z D 9、F Z D 1 0、S M O、C D 2、C D 3、C D 4、C D 5、C D 6、C D 8、C D 1 1、C D 1 1 a、C D 1 5、C D 1 8、C D 1 9、C D 2 0、C D 2 2、C D 2 6、C D 2 7 L、C D 2 8、C D 3 0、C D 3 3、C D 3 4、C D 3 7、C D 3 8、C D 4 0、C D 4 4、C D 5 6、C D 7 0、C D 7 4、C D 7 9、C D 7 9 b、C D 9 8、C D 1 0 5、C D 1 3 3、C D 1 3 8、c r i p t o、I G F - 1 R、I G F - 2 R、E p h A 1 E p h A受容体、E p h B受容体、E p h A 1、E p h A 2、E p h A 3、E p h A 4、E p h A 5、E p h A 6、E p h A 7、E p h A 8、E p h B 1、E p h B 2、E p h B 3、E p h B 4、E p h B 6、インテグリン(例えば、インテグリンα v β 3、α v β 5、またはα v β 6)、C 2 4 2抗原、A p o 2、P S G R、N G E P、P S C A、T M E F F 2、エンドグリン、P S M A、C a n A g、C A L L A、c - M e t、V E G F R - 1、V E G F R - 2、D D R 1、P D G F R α、P D G F R β、T r k A、T r k B、T r k C、U F O、L T K、A L K、T i e 1、T i e 2、P T K 7、R y k、T C R、N M D A R、L N G F R、およびM u S K。いくつかの実施形態では、リポソームはネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌(腫瘍)に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原(複数可)上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化リポソームを含む(例えば、T P L p - γ P T H F)。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化されていないリポソームを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超の、γ-グルタミル基を含有するγ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはγテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはγペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、γヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、下記から選択されるγ P T H Fを含む：(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-TH

10

20

30

40

50

F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5, 10-メチニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕-5, 10-メチニル-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕-5, 10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化〔6R〕-5, 10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化〔6R, S〕-5, 10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、〔6S〕-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームは〔6R, S〕-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化〔6R, S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはLγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはDγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはLおよびDγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはDγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはLおよびDγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態ではリポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型のγ-グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、肺癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸癌、食道癌、子宮頸癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、および血液系腫瘍。

【0369】

いくつかの実施形態では、リポソームは、腫瘍特異的抗原（TSA）または腫瘍関連抗原（TAA）のエピトープに対し特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、リポソームは、下記からなる群より選択される抗原のエピトープに対し特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：腫瘍分化抗原（例えば、MART1/MelanA、gp100（Pmel17）、チロシナーゼ、TRP1、およびTRP2）、腫瘍特異的多系列抗原（例えば、MAGE1、MAGE3、BAGE、GAGE1、GAGE2、およびp15）、過剰発現胎児性抗原（例えば、癌胎児抗原（CEA））、過剰発現癌遺伝子または変異導入腫瘍抑制因子遺伝子産物（例えば、p53、Ras、およびHER2/neu）、染色体転座から生じたユニークな腫瘍抗原（例えば、BCR-ABL、E2A-PRL、H4-RET、IGH-IGK、およびMYL-RAR）、ウイルス抗原（例えば、エプスタイン・バーウイルス抗原EBVA、ヒトパピローマウイルス（HPV）抗原E6またはE7）、GP100）、前立腺酸ホスファターゼ（PAP）、前立腺特異的抗原（PSA）、PTGER4、ITGA4、CD37、CD52、

10

20

30

40

50

CD62L (L-セレクチン)、CXCR4、CD69、EVI2B (CD361)、SLC39A8、MICB、LRRC70、CLELC2B、HMHA1、LST1、およびCMTM6 (CKLFSF6)。

【0370】

いくつかの実施形態では、リボソームは、血液学的腫瘍抗原のエピトープに対し特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、下記からなる群より選択される血液学的腫瘍抗原のエピトープに対して特異的親和性を有する：CD19、CD20、CD22、CD30、CD138、CD33、CD38、CD123、CS1、ROR1、Lewis^Y、Igカッパ軽鎖、TCR、BCMA、TACI、BAFFR (CD268)、CALLA、およびNKG2DLリガンド。いくつかの実施形態では、リボソームは、B細胞リンパ腫特異的イディオタイプ免疫グロブリン、またはB細胞分化抗原 (例えば、CD19、CD20、およびCD37) のエピトープに対し特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、リボソームは、多発性骨髄腫細胞上の抗原 (例えば、CS1、CD38、CD138、MUC1、HM1.24、CYP1B1、SP17、PRAME、ウィルムス腫瘍1 (WT1)、およびヒートショックプロテインgp96)、または骨髄性細胞上の抗原 (例えば、TSLPRおよびIL-7R) のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。

10

【0371】

いくつかの実施形態では、リボソームは、固形腫瘍抗原のエピトープに対し特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、下記からなる群より選択される血液学的腫瘍抗原のエピトープに対して特異的親和性を有する：ジシアロガングリオシド (GD2)、o-アセチル GD2、EGFRvIII、ErbB2、FAP、メソテリン、IL13Ra2 (神経膠腫)、cMET、PSMA、L1CAM、CEA、およびEGFR。

20

【0372】

いくつかの実施形態では、リボソームは下記からなる群より選択される抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：CD137、PDL1、CTLA4、CD47、KIR、TNFRSF10B (DR5)、TIM3、PD1、cMet、糖脂質F77、EGFRvIII、HLAA2 (NY-ESO-1)、LAG3、CD134 (OX40)、HVEM、BTLA、TNFRSF25 (DR3)、CD133、MAGEA3、PSCA、MUC1、CD44v6、CD44v6/7、CD44v7/8、IL11Ra、ephA2、CAIX、MNCAIX、CSPG4、MUC16、EPCAM (EGP2)、TAG72、EGP40、ErbB受容体ファミリー、ErbB2 (HER2)、ErbB3/4、RAGE1、GD3、FAR、Lewis^Y、NCAM、HLAA1/MAGE1、MAGEA1、MAGEA3、MAGE-A4、B7H3、WT1、MelanA (MART1)、HPV E6、HPV E7、サイログロブリン、チロシナーゼ、PSA、CLL1GD3、TnAg、FLT3、KIT、PRSS21、CD24、PDGFR-β、SSEA4、プロスターゼ、PAP、ELF2M、ephB2、IGF1、IGFII、IGFI受容体、LMP2、gp100、bcr-ab1、フコシルGM1、sLe、GM3、TGS5、葉酸受容体β、TEM1 (CD248)、TEM7R、CLDN6、TSHR、GPRC5D、CXORF61、CD97、CD7a、HLE、CD179a、ALK、プリシアル酸、PLAC1、GloboH、NY-BR-1、UPK2、HAVCR1、ADRB3、PANX3、GPR20、LY6K、OR51E2、TARP、LAGE1a、レグマイン、E7、ETV6-AML、精子タンパク質17、XAGE1、Tie2、MAD-CT1、MAD-CT2、Fos-関連抗原1、p53、p53変異体、プロステイン、サバイビン、テロメラゼ、PCTA1 (ガレクチン8)、Ras変異体、hTERT、肉腫転座切断点、ML-IAP、ERG (TMPRSS2 ETS融合遺伝子)、NA17、PAX3、アンドロゲン受容体、サイクリンB1、MYCN、RhoC、TRP2、CYP1B1、BORIS、SA

30

40

50

RT3、PAX5、OY-TES1、LCK、AKAP4、SSX2、逆転写酵素、RU1、RU2、腸内カルボキシルエステラーゼ、好中球エラスターゼ、mut hsp70-2、CD79a、CD79b、CD72、LAIR1、FCAR、LILRA2、CD300LF、CLEC12A、BST2、EMR2、LY75、GPC3、FCRL5、IGLL1、TSP-180、MAGE4、MAGE5、MAGE6、VEGFR1、IGF1R、肝細胞増殖因子受容体、p185ErbB2、p180ErbB-3、nm-23H1、CA19-9、CA72-4、CAM17.1、NuMa、K-ras、βカテニン、CDK4、Mum1、p15、p16、43-9F、5T4、791Tgp72、β-ヒト絨毛性ゴナドトロピン、BCA225、BTAA、CA125、CA15-3、CA27.29 (BCAA)、CA195、CA242、CA-50、CAM43、CD68、CO-029、FGF5、G250、HTgp-175、M344、MA50、MG7-Ag、MOV18、NB/70K、NY-CO1、RCAS1、SDCCAG16、M2BP、TAAL6、TLP、およびTPS、神経膠腫関連抗原、γ-フェトプロテイン (AFP)、AFPのp26フラグメント、レクチン反応性AFP、およびTLR4。

【0373】

いくつかの実施形態では、リボソームは、下記からなる群より選択される抗原のエピトープに対し特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：PDGFRA、VEGFR1、VEGFR3、ニューロピリン1 (NRP1)、ニューロピリン2 (NRP2)、ベータセルリン、PLGF、RET (遺伝子導入中に再配列)、TIE1、TIE2 (TEK)、CA125、CD3、CD4、CD7、CD10、CD13、CD25、CD32、CD32b、CD44 (例えば、CD44v6)、CD47、CD49e (インテグリンγ5)、CD54 (ICAM)、CD55、CD64、CD74、CD80、CD90、CD200、CD147、CD166、CD200、ESA、SHH、DHH、IHH、patched 1 (PTCH1)、スムーズド (SMO)、WNT1、WNT2B、WNT3A、WNT4、WNT4A、WNT5A、WNT5B、WNT7B、WNT8A、WNT10A、WNT10B、WNT16B、LKP5、LRP5、LRP6、FZD1、FZD2、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、Notch、Notch1、Notch3、Notch4、DLL4、Jagged、Jagged1、Jagged2、Jagged3、TNFRSF1A (TNFR1、p55、p60)、TNFRSF1B (TNFR2)、TNFRSF6 (Fas、CD95)、TNFRSF6B (DcR3)、TNFRSF7 (CD27)、TNFRSF9 (41BBリガンド)、TNFRSF8 (CD30)、TNFRSF10A (TRAILRL、DR4)、TNFRSF11A (RANK)、TNFRSF12 (TWEAKR)、TNFRSF19L (KELT)、TNFRSF19 (TROY)、TNFRSF21 (DR6)、IL1R1、IL1R2、IL2R、IL5R、IL6R、IL8R、IL10R、IL12R、IL13R、IL15R、IL18R、IL19R、IL21R、IL23R、XAG1、XAG3、REGIV、FGFR1、FGFR2、FGFR3、ALK、ALK1、ALK7、ALCAM、Axl、TGFB、TGFB2、TGFB3、TGFBRL1、IGF1IR、BMPRI、N-カドヘリン、E-カドヘリン、VE-カドヘリン、ガングリオシドGM2、ガングリオシドGD3、PSGR、DCC、CDCP1、CXCR2、CXCR7、CCR3、CCR4、CCR5、CCR7、CCR10、Claudin1、Claudin2、Claudin3、Claudin4、TMEFF2、ニューレグリン、MCSF、CSF、CSFR (fms)、GCSF、GCSFR、BCAM、BRCA1、BRCA2、HLA-DR、ABCC3、ABCB5、HM 1.24、LFA1、LYNX、S100A8、S100A9、SCF、フォンウィルブランド因子、ルイスY6受容体、CA G250 (CA9)、CRYPTO、VLA5、HLADR、MUC18、ムチンCanAg、EGFL7、インテグリンαvβ3、インテグリンγ5βアクチビンBly、ロイコトリエンB4受容体 (LTB4R)、ニューロテンシンNT受容体 (NTR)、5T4癌胎児性抗原、テネイシンC、MMP、MMP2、MMP7、MMP9

10

20

30

40

50

、MMP12、MMP14、MMP26、カテプシンG、SULF1、SULF2、MET、CA9、TM4SF1、シンデカン(SDCL)、エフリンB4、TEM1、TGFB β 1、およびTGFBRII。

【0374】

いくつかの実施形態では、リポソームは、免疫系の障害（例えば、自己免疫障害および炎症性疾患）に関連する、または免疫応答の調節に関連する抗原のエピトープに対し特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、マクロファージ（CD44を発現している）の表面上に発現している細胞表面抗原のエピトープに対し特異的親和性を有する。

【0375】

いくつかの実施形態では、リポソームは、免疫抑制標的のエピトープに対し特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ADは、下記からなる群より選択される免疫抑制標的のエピトープである：IL1Ra、IL6R、CD26L、CD28、CD80、FcGammaRIIBから選択される免疫抑制標的のエピトープである。いくつかの実施形態では、アダプター中のADは、CD25、CD28、CTLA4、PD1、B7H1(PDL1)、B7H4TGFB β 、TNFRSF4(OX40)、TNFRSF5(CD40)、TNFRSF9(41BB、CD137)、TNFRSF14(HVEM)、TNFRSF25(DR3)、およびTNFRSF18(GITR)。

【0376】

いくつかの実施形態では、リポソームは、下記からなる群より選択される抗原のエピトープに対し特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：IL1Rb、C3AR、C5AR、CXCR1、CXCR2、CCR1、CCR3、CCR7、CCR8、CCR9、CCR10、ChemR23、MPL、GP130、TLR2、TLR3、TLR4、TLR5、TLR7、TLR8、TLR9、TREM1、TREM2、CD49a（インテグリン γ 1）、インテグリン α 5 β 3、 γ 4インテグリンサブユニット、A4B7インテグリン、カテプシンG、TNFRSF3(LTBR)、TNFRSF6(Fas、CD95)、TNFRSF6B(DcR3)、TNFRSF8(CD30)、TNFRSF11A(RANK)、TNFRSF16(NGFR)、TNFRSF19L(RELT)、TNFRSF19(TROY)、TNFRSF21(DR6)、CD14、CD23、CD36、CD36L、CD39、CD91、CD153、CD164、CD200、CD200R、B71(CD80)、B72(CD86)、B7h、B7DC(PDL2)、ICOS、ICOSL、MHC、CD、B7H2、B7H3、B7x、SLAM、KIM1、SLAMF2、SLAMF3、SLAMF4、SLAMF5、SLAMF6、SLAMF7、TNFRSF1A(TNFR1、p55、p60)、TNFRSF1B(TNFR2)、TNFRSF7(CD27)、TNFRSF12(TWEAKR)、TNFRSF5(CD40)、IL1R、IL2R、IL4Ra、IL5R、IL6RIL15R、IL17R、IL17Rb、IL17RC、IL22RA、IL23R、TSLPR、B7RP1、cKit、GMCSF、GMCSFR、CD2、CD4、CD11a、CD18、CD30、CD40、CD86、CXCR3、CCR2、CCR4、CCR5、CCR8、RhD、IgE、およびRh。

【0377】

追加の実施形態では、本開示は、癌を治療するための方法を提供し、方法は、有効量の、リポソーム組成物を、その細胞表面上に葉酸受容体を発現する癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含み、リポソーム組成物は、(a) γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸(γ PTHF)および(b)葉酸受容体に対して特異的結合親和性を有するターゲティング部分を含むリポソームを含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α (FR- α)、葉酸受容体 β (FR- β)、および／または葉酸受容体 δ (FR- δ)に対して特異的結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α (FR- α)、葉酸受容体 β (FR- β)、

10

20

30

40

50

および／または葉酸受容体 δ (FR- δ) に対して特異的結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α (FR- α) および葉酸受容体 β (FR- β) に対して特異的結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化リポソームを含む（例えば、TPLP- γ PTHF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化されていないリポソームを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、下記から選択される γ PTHFを含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチル-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、[6S]-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームは、[6R，S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームは、[6R，S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはL γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはLおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。

【0378】

いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、上皮組織悪性腫瘍を治療するために投与される。いくつか

10

20

30

40

50

の実施形態では、リポソーム組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、肺癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸癌、食道癌、子宮頸癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、および血液系腫瘍。

【0379】

いくつかの実施形態では、本開示は、肺癌を有するまたは有するリスクのある被験体に、有効量の、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、本明細書で開示される γ P T H F）を含む送達ビヒクル（例えば、抗体またはリポソーム）を投与することを含む肺癌（例えば、非小細胞肺癌）を治療するための方法を提供する。特定の実施形態では、癌は非小細胞肺癌である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体（例えば、全長 I g G 抗体、二重特異性抗体、または s c F v）である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはリポソーム（例えば、P L p - γ P T H F、N T L p - γ P T H F、N T P L p - γ P T H F、T L p - γ P T H F、または T P L p - γ P T H F などの L p - γ P T H F）である。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されている。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されていない。追加の実施形態では、送達ビヒクルは、その表面に、肺癌（例えば、非小細胞肺癌）細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、ムチン 1、ネクチン 4、N a P i 2 b、C D 5 6、E G F R、および S C - 1 6 からなる群より選択される抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗体フラグメントである。追加の実施形態では、送達ビヒクルはリポソームであり、リポソームは、ムチン 1、ネクチン 4、N a P i 2 b、C D 5 6、E G F R、および S C - 1 6 からなる群より選択される抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、ムチン 1、ネクチン 4、N a P i 2 b、C D 5 6、E G F R、および S C - 1 6 からなる群より選択される抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含むペグ化リポソームである。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、4、5、2 - 1 0、4 - 6、または 5 超のグルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択される γ P T H F を含む：（a）ポリグルタミン酸化 5 - ホルミル - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5 - ホルミル - T H F）；（b）ポリグルタミン酸化 1 0 - ホルミル - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R] - 1 0 - ホルミル - T H F）；（c）ポリグルタミン酸化 5，1 0 - メテニル - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R] - 5，1 0 - メテニル - T H F）；（d）ポリグルタミン酸化 5 - メチル - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5 - メチル - T H F）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - テトラヒドロ葉酸 T H F）；（f）ポリグルタミン酸化 5，1 0 - メチレン - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R] - 5，1 0 - メチレン - T H F）；および（g）ポリグルタミン酸化 5 - ホルムイミノ - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5 - ホルムイミノ - T H F）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化 5，1 0 - メチレン - T H F を含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化 [6 R] - 5，1 0 - メチレン - T H F を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化 [6 R，S] - 5，1 0 - メチレン - T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化 5 - メチル - T H F を含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6 S] - 5 - メチル - T H F を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6 R，S] - 5 - メチル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化 5 - ホルミル - T H F を含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化 [6 S] - 5 - ホルミル - T H F を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化 [6 R，S] - 5 - ホルミル - T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、L γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形

10

20

30

40

50

態では、投与される送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

【0380】

いくつかの実施形態では、本開示は、有効量の、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、本明細書で開示される γ PTHF）を含む送達ビヒクル（例えば、抗体（ADC）またはリポソーム）を、膵臓癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、膵臓癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体（例えば、全長IgG抗体、二重特異性抗体、またはscFv）である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはリポソームである（例えば、PLP- γ PTHF、NTLP- γ PTHF、NTPLP- γ PTHF、TLP- γ PTHF、またはTPLP- γ PTHFなどのLP- γ PTHF）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されている。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されていない。追加の実施形態では、送達ビヒクルは、その表面に、膵臓癌細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、下記からなる群より選択される抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：TACSTD2（TROP2）、ムチン1、メソテリン、グアニリルシクラーゼC（GCC）、SLC44A4、およびネクチン4。さらなる実施形態では、送達ビヒクルはリポソームであり、リポソームは、下記からなる群より選択される抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：TACSTD2（TROP2）、ムチン1、メソテリン、グアニリルシクラーゼC（GCC）、SLC44A4、およびネクチン4。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択される γ PTHFを含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メテニル-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メ

10

20

30

40

50

チレンーTHFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6R,S〕-5,10-メチレンーTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-メチルーTHFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、〔6S〕-5-メチルーTHFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、〔6R,S〕-5-メチルーTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-ホルミルーTHFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-ホルミルーTHFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6R,S〕-5-ホルミルーTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、Lγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、Dγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびDγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型のγ-グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。

【0381】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、本明細書で開示されるγPTHF）を含む送達ビヒクル（例えば、抗体またはリポソーム）を、乳癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、乳癌（例えば、トリプルネガティブ乳癌（エストロゲン受容体⁻、プロゲステロン受容体⁻、およびHER2））を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含むリポソームである。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体（例えば、全長IgG抗体、二重特異性抗体、またはscFv）である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはリポソーム（例えば、PLP-γPTHF、NTLP-γPTHF、NTPLP-γPTHF、TLP-γPTHF、またはTPLP-γPTHFなどのLP-γPTHF）である。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されている。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されていない。追加の実施形態では、送達ビヒクルは、その表面に、乳癌細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、下記からなる群より選択される抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：LIV-1（ZIP6）、EGFR、HER2、HER3、ムチン1、GONMB、およびネクチン4。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗体フラグメントである。追加の実施形態では、送達ビヒクルはリポソームであり、リポソームは、下記からなる群より選択される抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：LIV-1（ZIP6）、EGFR、HER2、HER3、ムチン1、GONMB、およびネクチン4。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは4、5、2-10、4-6、または5超の、γ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはγテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、γペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはγヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択されるγPTHFを含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミルーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-ホルミルーTHF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミルーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕-10-ホルミルーTHF）；（c）ポリグルタミン酸化5,10-メチルーTHF（例え

10

20

30

40

50

ば、ポリグルタミン酸化〔6R〕-5, 10-メチレン-THF) ; (d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-メチル-THF) ; (e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF (例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕-テトラヒドロ葉酸THF) ; (f) ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THF (例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕-5, 10-メチレン-THF) ; および (g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF (例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-ホルムイミノ-THF)。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化〔6R〕-5, 10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6R, S〕-5, 10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、〔6S〕-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、〔6R, S〕-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6R, S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、L γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。

【0382】

いくつかの実施形態では、本開示は、有効量の、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 (例えば、本明細書で開示される γ PTHF) を含む送達ビヒクル (例えば、抗体またはリポソーム) を、血液癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、血液癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体 (例えば、全長IgG抗体、二重特異性抗体、またはscFv) である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはリポソーム (例えば、PLp- γ PTHF、NTLP- γ PTHF、NTPLp- γ PTHF、TLp- γ PTHF、またはTPLp- γ PTHFなどのLP- γ PTHF) である。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されている。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されていない。追加の実施形態では、送達ビヒクルは、その表面に、血液癌細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、下記からなる群より選択される抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：CD30、CD79b、CD19、CD138、CD74、CD37、CD19、CD22、CD33、およびCD98。さらなる実施形態では、送達ビヒクルはリポソームであり、リポソームは、下記からなる群より選択される抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：CD30、CD79b、CD19、CD138、CD74、CD37、CD19、CD22、CD33、およびCD98。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ ヘキサグ

10

20

30

40

50

ルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択される γ P T H F を含む：（a）ポリグルタミン酸化 5－ホルミル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S]－5－ホルミル－T H F）；（b）ポリグルタミン酸化 10－ホルミル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R]－10－ホルミル－T H F）；（c）ポリグルタミン酸化 5，10－メテニル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R]－5，10－メテニル－T H F）；（d）ポリグルタミン酸化 5－メチル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S]－5－メチル－T H F）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S]－テトラヒドロ葉酸 T H F）；（f）ポリグルタミン酸化 5，10－メチレン－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 R]－5，10－メチレン－T H F）；および（g）ポリグルタミン酸化 5－ホルムイミノ－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S]－5－ホルムイミノ－T H F）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化 5，10－メチレン－T H F を含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化 [6 R]－5，10－メチレン－T H F を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化 [6 R，S]－5，10－メチレン－T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化 5－メチル－T H F を含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6 S]－5－メチル－T H F を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6 R，S]－5－メチル－T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化 5－ホルミル－T H F を含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化 [6 S]－5－ホルミル－T H F を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化 [6 R，S]－5－ホルミル－T H F を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、L γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ －グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ －グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ －グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型の γ －グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。

【0383】

いくつかの実施形態では、本開示は、その細胞表面上の抗原の発現により識別可能な癌を有するまたは有するリスクのある被験体を治療するための方法を提供する。従って、いくつかの実施形態では、本開示は、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に、有効量の、癌の表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分および γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、本明細書で開示される γ P T H F）を含む送達ビヒクル（例えば、抗体またはリポソーム）を投与することを含む、癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されている。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗体フラグメントである。追加の実施形態では、送達ビヒクルはリポソームである。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは4、5、2－10、4－6、または5超の、 γ －グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択される γ P T H F を含む：（a）ポリグルタミン酸化 5－ホルミル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化 [6 S]－5－ホルミル－T H F）；（b）ポリグルタミン酸化 10－ホルミル－T H F（例えば、ポ

10

20

30

40

50

リグルタミン酸化〔6 R〕－10－ホルミル－T H F）；（c）ポリグルタミン酸化5，10－メチル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 R〕－5，10－メチル－T H F）；（d）ポリグルタミン酸化5－メチル－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－5－メチル－T H F）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－テトラヒドロ葉酸T H F）；（f）ポリグルタミン酸化5，10－メチレン－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 R〕－5，10－メチレン－T H F）；および（g）ポリグルタミン酸化5－ホルムイミノ－T H F（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－5－ホルムイミノ－T H F）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5，10－メチレン－T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化〔6 R〕－5，10－メチレン－T H Fを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6 R，S〕－5，10－メチレン－T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5－メチル－T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、〔6 S〕－5－メチル－T H Fを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、〔6 R，S〕－5－メチル－T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5－ホルミル－T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6 S〕－5－ホルミル－T H Fを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6 R，S〕－5－ホルミル－T H Fを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、L γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型のγ－グルタミル基を含有するγ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、D γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型のγ－グルタミル基を含有するγ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびD γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型のγ－グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型のγ－グルタミル基を含有するγ P T H Fを含む。

【0384】

いくつかの実施形態では、開示された組成物（例えば、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有するリポソーム）は、その細胞表面上の腫瘍特異抗原または腫瘍関連抗原の発現により識別可能な癌、固形腫瘍、および／または転移を有するまたは有するリスクのある被検体に投与される。従って、いくつかの実施形態では、本開示は、有効量の、ターゲティング部分およびγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、本明細書で開示されるγ P T H F）を含む送達ビヒクル（例えば、リポソーム）を、その細胞表面癌上の腫瘍特異抗原または腫瘍関連抗原の発現により識別可能な癌、固形腫瘍、および／または転移を有するまたは有するリスクのある被検体に投与することを含む、癌を治療するための方法を提供し、ターゲティング部分は、腫瘍特異抗原または腫瘍関連抗原上のエピトープに対して特異的結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクル、リポソームである。さらなる実施形態では、リポソームはペグ化されている。追加の実施形態では、送達ビヒクルは、癌、固形腫瘍、および／または転移細胞の表面上で発現される細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。追加の実施形態では、ターゲティング部分は、下記からなる群より選択される細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有する：G O N M B、T A C S T D 2（T R O P 2）、C E A C A M 5、E P C A M、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体－α、葉酸受容体－βまたは葉酸受容体－δ）、ムチン1（M U C－1）、M U C－6、S T E A P 1、メソテリン、ネクチン4、E N P P 3、グアニリルシクラーゼC（G C C）、S L C 4 4 A 4、N a P i 2 b、C D 7 0（T N F S F 7）、C A 9（炭酸脱水酵素）、5 T 4（T P B G）、S L T R K 6、S C－16、組織因子、L I V－1（Z I P 6）、C G E

N-15027、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB (ED-B)、VEGFR2 (CD309)、テネイシン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1 EphA受容体、EphB受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン (例えば、インテグリン $\alpha\beta$ 3、 $\alpha\beta$ 5、または $\alpha\beta$ 6)、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFR α 、PDGFR β 、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMusK。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌 (腫瘍) に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原 (複数可) 上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択される γ PTHFを含む：(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF)；(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF)；(c) ポリグルタミン酸化5，10-メチル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチル-THF)；(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF)；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF)；(f) ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF)；および(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF (例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF)。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6S]-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6R，S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、

10

20

30

40

50

または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。

【0385】

さらなる実施形態では、送達ビヒクルはリボソームであり、リボソームは、下記からなる群より選択される細胞表面抗原に対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：GONMB、TACSTD2 (TROP2)、CEACAM5、EPCAM、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体- α 、葉酸受容体- β または葉酸受容体- δ ）、ムチン1 (MUC-1)、MUC-6、STEAP1、メソテリン、ネクチン4、ENPP3、グアニリルシクラーゼC (GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70 (TNFSF7)、CA9 (炭酸脱水酵素)、5T4 (TPBG)、SLTRK6、SC-16、組織因子、LIV-1 (ZIP6)、CGEN-15027、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB (ED-B)、VEGFR2 (CD309)、テネイシン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、ErbbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1 EphA受容体、EphB受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン（例えば、インテグリン $\alpha v \beta 3$ 、 $\alpha v \beta 5$ 、または $\alpha v \beta 6$ ）、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFR α 、PDGFR β 、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMuSK。いくつかの実施形態では、リボソームはネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌（腫瘍）に由来する、またはそれ上で発現されることが決定された細胞表面抗原（複数可）上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、4、5、2-10、4-6、または5超のグルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、リボソームは、下記から選択される γ PTHFを含む：(a) ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；(b) ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；(c) ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メテニル-THF）；(d) ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；(e) ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；(f) ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；および(g) ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、リボソームはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。

10

20

30

40

50

さらなる実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化〔6R〕-5, 10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化〔6R, S〕-5, 10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、リポソームは〔6S〕-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、リポソームは〔6R, S〕-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化〔6S〕-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、リポソームはポリグルタミン酸化〔6R, S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、L γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはLおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。

【0386】

さらなる実施形態では、本開示は、有効量の、その表面に、葉酸受容体のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分、および γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、本明細書で開示される γ PTHF）を含む送達ビヒクル（例えば、抗体またはリポソーム）を、葉酸受容体をその表面に発現している細胞を含有する癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗体の抗原結合フラグメントである。さらなる実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α 、葉酸受容体 β または葉酸受容体 δ に対して特異的親和性を有する。本明細書で開示されるように、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有する葉酸受容体標的化ペグ化リポソームは、正常細胞（すなわち、癌細胞とは異なり、積極的にリポソームを取り込まず、および／または葉酸受容体を発現しない細胞）に比べて、多量の γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を癌細胞、特に葉酸受容体を発現する癌細胞に送達できる。葉酸受容体を発現する任意の癌は、開示方法により治療され得る。いくつかの癌は、初期段階に葉酸受容体を発現し、一方、大部分の癌は、後期段階に葉酸受容体を発現し得ることに注意すべきである。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、リポソームである。さらなる実施形態では、リポソームはペグ化されている。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択される γ PTHFを含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5, 10-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕-5, 10-メチル-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕-5, 10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化〔6R〕-5, 10-メチレン-TH

10

20

30

40

50

Fを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6 R, S〕-5, 10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、〔6 S〕-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、〔6 R, S〕-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、Lγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、Dγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびDγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型のγ-グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。

【0387】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、本明細書で開示されるγPTHF）を含有するリポソームを含むリポソーム組成物を、癌療法を受けている、または受けたことがある被検体に投与することを含む、癌の維持療法のための方法を提供する。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はPLp-γPTHF、NTLp-γPTHF、NTPLp-γPTHF、TLp-γPTHFまたはTPLp-γPTHFである。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化リポソームを含む（例えば、PLp-γPTHF、NTPLp-γPTHF、またはTPLp-γPTHF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物は、癌細胞の表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む（例えば、TLp-γPTHFまたはTPLp-γPTHF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化され、ターゲティング部分を含むリポソームを含む（例えば、TPLp-γPTHF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物は、ターゲティング部分を含むリポソームを含み、ターゲティング部分を含まないリポソームをさらに含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物は、ペグ化されたリポソームおよびペグ化されていないリポソームを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、4、5、2-10、4-6、または5超の、γ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはγテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはγペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、γヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択されるγPTHFを含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 R〕-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 R〕-5, 10-メチレン-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 S〕-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6 R〕-5, 10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミ

10

20

30

40

50

ン酸化〔6S〕-5-ホルムイミノ-THF)。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化〔6R〕-5, 10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6R, S〕-5, 10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、〔6S〕-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、〔6R, S〕-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6S〕-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化〔6R, S〕-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ PTHFを含む。

【0388】

いくつかの実施形態では、本明細書において開示される方法の1つ以上によって治療される癌は固形腫瘍リンパ腫である。固形腫瘍リンパ腫の例としては、ホジキンリンパ腫、非ホジキンリンパ腫、およびB細胞リンパ腫が挙げられる。

【0389】

いくつかの実施形態では、本明細書において開示される方法の1つ以上によって治療される癌は、骨癌、脳癌、乳癌、結腸直腸癌、結合組織癌、消化器系の癌、子宮内膜癌、食道癌、眼癌、頭頸部癌、胃の癌、上皮内新生物、メラノーマ、神経芽細胞腫、非ホジキンリンパ腫、非小細胞肺癌、前立腺癌、網膜芽細胞腫、または横紋筋肉腫である。いくつかの実施形態では、本明細書において開示される方法の1つ以上によって治療される癌は下記からなる群より選択される：肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、メラノーマ、骨髄腫、白血病およびリンパ腫。いくつかの実施形態では、本明細書において開示される方法の1つ以上によって治療される癌は下記からなる群より選択される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。特定の実施形態では、本明細書において開示される方法の1つ以上によって治療される癌は結腸直腸癌である。

【0390】

いくつかの実施形態では、本開示は、有効量の、送達ビヒクルおよび γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む組成物を、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、投与される組成物はペグ化送達ビヒクルを含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物は、癌細胞などの目的の標的細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体または抗原結合抗体フラグメントを含む。いくつかの実施形態では、組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、メラノーマ、骨髄腫、

10

20

30

40

50

白血病およびリンパ腫。いくつかの実施形態では、組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。特定の実施形態では、組成物は、結腸直腸癌を治療するために投与される。いくつかの実施形態では、投与される組成物は、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される組成物は γ -テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物は γ -ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される組成物は、 γ -ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物は、下記から選択される γ -PTHFを含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5, 10-メチニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチニル-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6R, S]-5, 10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される組成物は[6S]-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与される組成物は[6R, S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与される組成物はポリグルタミン酸化[6R, S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、L γ -ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物は、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物はD γ -ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物はLおよびD γ -ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される組成物は、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ -PTHFを含む。

【0391】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、 γ -ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有するリポソームを含むリポソーム組成物（例えば、Lp- γ -PTHF、PLp- γ -PTHF、NTLp- γ -PTHF、NTPLp- γ -PTHF、TLp- γ -PTHFまたはTPLp- γ -PTHF）を、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、メラノーマ、骨髄腫、白血病およびリンパ腫。いくつかの実施形態では、リポソーム組成

10

20

30

40

50

物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。特定の実施形態では、リポソーム組成物は、結腸直腸癌を治療するために投与される。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化リポソームを含む（例えば、PLP-γPTHF、NTPLP-γPTHF、またはTLP-γPTHF）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは4、5、2-10、4-6、または5超の、γ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはγテトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームはγペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、γヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、下記から選択されるγPTHFを含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メテニル-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは[6S]-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは[6R，S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはLγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはDγポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型のγ-グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型のγ-グルタミル基を含有するγPTHFを含む。

【0392】

追加の実施形態では、本開示は、有効量の、標的化リポソーム（例えば、TLP-γPTHFまたはTLP-γPTHF）を含むリポソーム組成物を、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療するための方法を提供し、リポソーム組成物は、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（LP-γPTHF）を含み、癌

10

20

30

40

50

上の表面抗原（エピトープ）に対して特異的親和性を有するターゲティング部分をさらに含むリポソームを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸直腸癌、食道癌、子宮頸癌、肝臓癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、膀胱癌、肉腫（例えば、骨肉腫）、脳癌、中枢神経系癌、メラノーマ、骨髄腫、白血病およびリンパ腫。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。特定の実施形態では、リポソーム組成物は、結腸直腸癌を治療するために投与される。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物はペグ化リポソームを含む（例えば、T P L p - γ P T H F）。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはL γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、4、5、2 - 10、4 - 6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、 γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは下記から選択される γ P T H Fを含む：

（a）ポリグルタミン酸化5 - ホルミル - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S] - 5 - ホルミル - T H F）；（b）ポリグルタミン酸化10 - ホルミル - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 R] - 10 - ホルミル - T H F）；（c）ポリグルタミン酸化5，10 - メチニル - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 R] - 5，10 - メチニル - T H F）；（d）ポリグルタミン酸化5 - メチル - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S] - 5 - メチル - T H F）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S] - テトラヒドロ葉酸T H F）；（f）ポリグルタミン酸化5，10 - メチレン - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 R] - 5，10 - メチレン - T H F）；および（g）ポリグルタミン酸化5 - ホルムイミノ - T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S] - 5 - ホルムイミノ - T H F）。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5，10 - メチレン - T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化[6 R] - 5，10 - メチレン - T H Fを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化[6 R，S] - 5，10 - メチレン - T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化5 - メチル - T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、[6 S] - 5 - メチル - T H Fを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームは[6 R，S] - 5 - メチル - T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化5 - ホルミル - T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与されるリポソームは、ポリグルタミン酸化[6 S] - 5 - ホルミル - T H Fを含む。他の実施形態では、投与されるリポソームはポリグルタミン酸化[6 R，S] - 5 - ホルミル - T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはLおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。

【0393】

10

20

30

40

50

さらなる実施形態では、本開示は、有効量の、標的化リボソーム（例えば、 γ -P_{THF}または γ -P_{THF}）を含有するリボソーム組成物を、その細胞表面上に葉酸受容体を発現する癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、癌を治療するための方法を提供し、リボソーム組成物は、（a） γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（ γ -P_{THF}）および（b）葉酸受容体に対して特異的結合親和性を有するターゲティング部分を含むリボソームを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物はペグ化リボソーム（例えば、 γ -P_{THF}）を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α （FR- α ）、葉酸受容体 β （FR- β ）、および／または葉酸受容体 δ （FR- δ ）に対して特異的結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α （FR- α ）、葉酸受容体 β （FR- β ）、および／または葉酸受容体 δ （FR- δ ）に対して特異的結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 γ （FR-late受容体 β （FR- β ）、および／または葉酸受容体 δ （FR- δ ）に対して特異的結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は、葉酸受容体 α （FR- α ）および葉酸受容体 β （FR- β ）に対して特異的結合親和性を有する。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物は、下記からなる群より選択される癌を治療するために投与される：肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、肺癌、前立腺癌、頭頸部癌、胃の癌、胃腸癌、結腸癌、食道癌、子宮頸癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、および血液系腫瘍。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ -P_{THF}を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは γ -テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは γ -ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは、 γ -ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソームは下記から選択される γ -P_{THF}を含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチル-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、投与されるリボソームはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリボソームはポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリボソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソームはポリグルタミン酸化5-メチル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリボソームは、[6S]-5-メチル-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリボソームは[6R，S]-5-メチル-THFを含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソームは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFを含む。さらなる実施形態では、投与されるリボソームは、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFを含む。他の実施形態では、投与されるリボソームはポリグルタミン酸化[6R，S]-5-ホルミル-THFを含む。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物のリボソームは γ -ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与されるリボソーム組成物のリボソームは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ -P_{THF}を含む。いくつかの実施形態では、リボソーム組成物のリボソームはD γ -ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を

10

20

30

40

50

含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームはLおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、リポソーム組成物のリポソームは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。

【0394】

いくつかの実施形態では、本開示は、有効量の、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、本明細書で開示される γ P T H F）を含む送達ビヒクル（例えば、抗体またはリポソーム）を、免疫系の障害を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、免疫系の障害（例えば、炎症および関節リウマチなどの自己免疫疾患）を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体（例えば、全長I g G抗体、二重特異性抗体、またはs c F v）である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはリポソームである（例えば、P L p- γ P T H F、N T L p- γ P T H F、N T P L p- γ P T H F、T L p- γ P T H F、またはT P L p- γ P T H FなどのL p- γ P T H F）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されている。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されていない。追加の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、免疫系の障害に関連する免疫細胞の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗原結合抗体フラグメントである。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択される γ P T H Fを含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル- γ P T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S]-5-ホルミル- γ P T H F）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル- γ P T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 R]-10-ホルミル- γ P T H F）；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン- γ P T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 R]-5，10-メチレン- γ P T H F）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル- γ P T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S]-5-メチル- γ P T H F）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 γ P T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S]-テトラヒドロ葉酸 γ P T H F）；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン- γ P T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 R]-5，10-メチレン- γ P T H F）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ- γ P T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S]-5-ホルムイミノ- γ P T H F）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5，10-メチレン- γ P T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化[6 R]-5，10-メチレン- γ P T H Fを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6 R，S]-5，10-メチレン- γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-メチル- γ P T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6 S]-5-メチル- γ P T H Fを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6 R，S]-5-メチル- γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル- γ P T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6 S]-5-ホルミル- γ P T H Fを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6 R，S]-5-ホルミル- γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、L γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形

10

20

30

40

50

態では、送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、自己免疫疾患は炎症および関節リウマチである。
【0395】

いくつかの実施形態では、本開示は、有効量の、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、本明細書で開示される γ P T H F）を含む送達ビヒクル（例えば、抗体またはリポソーム）を、感染性疾患を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む、感染性疾患（例えば、H I V）を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは抗体（例えば、全長I g G抗体、二重特異性抗体、またはs c F v）である。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルはリポソームである（例えば、P L p- γ P T H F、N T L p- γ P T H F、N T P L p- γ P T H F、T L p- γ P T H F、またはT P L p- γ P T H FなどのL p- γ P T H F）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されている。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはペグ化されていない。追加の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、感染性疾患に関連する病原体の表面上の抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。いくつかの実施形態では、ターゲティング部分は抗体または抗原結合抗体フラグメントである。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する γ P T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ テトラグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、 γ ペンタグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは γ ヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは下記から選択される γ P T H Fを含む：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S]-5-ホルミル-T H F）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 R]-10-ホルミル-T H F）；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 R]-5，10-メテニル-T H F）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S]-5-メチル-T H F）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S]-テトラヒドロ葉酸T H F）；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 R]-5，10-メチレン-T H F）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S]-5-ホルムイミノ-T H F）。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化5，10-メチレン-T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルはポリグルタミン酸化[6 R]-5，10-メチレン-T H Fを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6 R，S]-5，10-メチレン-T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-メチル-T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6 S]-5-メチル-T H Fを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、[6 R，S]-5-メチル-T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H Fを含む。さらなる実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6 S]-5-ホルミル-T H Fを含む。他の実施形態では、投与される送達ビヒクルは、ポリグルタミン酸化[6 R，S]-5-ホルミル-T H Fを含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、L γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、L型の γ -グルタミ

10

20

30

40

50

ル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、D γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、または10超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、LおよびD γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、2、3、4、5、または5超の、L型の γ -グルタミル基、および、1、2、3、4、5または5超の、D型の γ -グルタミル基を含有する γ P T H F を含む。

【0396】

いくつかの実施形態では、投与される送達ビヒクルは、リボソームである。さらなる実施形態では、リボソームはペグ化されている。追加の実施形態では、送達ビヒクルは、その表面に、目的の標的細胞の表面上の抗原に特異的に結合するターゲティング部分を含む。さらなる実施形態では、送達ビヒクルは、下記からなる群より選択される、細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：GONMB、TACSTD2 (TROP2)、CEACAM5、EPCAM、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体- α 、葉酸受容体- β または葉酸受容体- δ ）、ムチン1 (MUC-1)、MUC-6、STEAP1、メソテリン、ネクチン4、ENPP3、グアニリルシクラーゼC (GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70 (TNFSF7)、CA9 (炭酸脱水酵素)、5T4 (TPBG)、SLTRK6、SC-16、組織因子、LIV-1 (ZIP6)、CGEN-15027、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB (ED-B)、VEGFR2 (CD309)、テネイシン、コラーゲンIV、ペリオスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1 EphA受容体、EphB受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン（例えば、インテグリン α v β 3、 α v β 5、または α v β 6）、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFR α 、PDGFR β 、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMusK。いくつかの実施形態では、送達ビヒクルは、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌（腫瘍）に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原（複数可）上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。

【0397】

さらなる実施形態では、送達ビヒクルはリボソームであり、リボソームは、下記からなる群より選択される細胞表面抗原のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む：GONMB、TACSTD2 (TROP2)、CEACAM5、EPCAM、葉酸受容体（例えば、葉酸受容体- α 、葉酸受容体- β または葉酸受容体- δ ）、ムチン1 (MUC-1)、MUC-6、STEAP1、メソテリン、ネクチン4、ENPP3、グアニリルシクラーゼC (GCC)、SLC44A4、NaPi2b、CD70 (TNFSF7)、CA9 (炭酸脱水酵素)、5T4 (TPBG)、SLTRK6、SC-16、組織因子、LIV-1 (ZIP6)、CGEN-15027、Pカドヘリン、フィブロネクチンエクストラドメインB (ED-B)、VEGFR2 (CD309)、テネイ

10

20

30

40

50

シン、コラーゲンⅣ、ペリオスチン、エンドセリン受容体、HER2、HER3、ErbB4、EGFR、EGFRvIII、FGFR1、FGFR2、FGFR3、FGFR4、FGFR6、IGFR-1、FZD1、FZD2、FZD3、FZD4、FZD5、FZD6、FZD7、FZD8、FZD9、FZD10、SMO、CD2、CD3、CD4、CD5、CD6、CD8、CD11、CD11a、CD15、CD18、CD19、CD20、CD22、CD26、CD27L、CD28、CD30、CD33、CD34、CD37、CD38、CD40、CD44、CD56、CD70、CD74、CD79、CD79b、CD98、CD105、CD133、CD138、cripto、IGF-1R、IGF-2R、EphA1 EphA受容体、EphB受容体、EphA1、EphA2、EphA3、EphA4、EphA5、EphA6、EphA7、EphA8、EphB1、EphB2、EphB3、EphB4、EphB6、インテグリン（例えば、インテグリン $\alpha\beta$ 3、 $\alpha\beta$ 5、または $\alpha\beta$ 6）、C242抗原、Apo2、PSGR、NGEP、PSCA、TMEFF2、エンドグリン、PSMA、CanAg、CALLA、c-Met、VEGFR-1、VEGFR-2、DDR1、PDGFR α 、PDGFR β 、TrkA、TrkB、TrkC、UFO、LTK、ALK、Tie1、Tie2、PTK7、Ryk、TCR、NMDAR、LNGFR、およびMusK。いくつかの実施形態では、リポソームは、ネオアンチゲンなどの、特定の被検体の癌（腫瘍）に由来する、またはその上で発現されると決定された細胞表面抗原（複数可）上のエピトープに対して特異的親和性を有するターゲティング部分を含む。

【0398】

いくつかの実施形態では、本開示は過剰増殖性疾患の治療用医薬品の製造のための γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む組成物の使用を提供する。いくつかの実施形態では、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は5つ以上のグルタミル基を含む。いくつかの実施形態では、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸はペンタグルタミン酸化またはヘキサグルタミン酸化されている。いくつかの実施形態では、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸はポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（THF）、テトラヒドロ葉酸（THF）である。いくつかの実施形態では、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸はリポソーム中である。いくつかの実施形態では、過剰増殖性疾患は癌である。いくつかの実施形態では、癌は肺（例えば、非小細胞肺癌）、膵臓、乳癌、卵巣、肺、前立腺、頭頸部、胃、胃腸管、結腸、食道、子宮頸部、腎臓、胆管、胆嚢、および血液系腫瘍からなる群から選択される。いくつかの実施形態では、癌は膵臓癌である。いくつかの実施形態では、癌は乳癌である。いくつかの実施形態では、癌は膵臓癌である。いくつかの実施形態では、癌はトリプルネガティブ乳癌である。いくつかの実施形態では、癌は肺癌である。いくつかの実施形態では、癌は非小細胞肺癌である。いくつかの実施形態では、癌は白血病またはリンパ腫である。いくつかの実施形態では、過剰増殖性疾患は自己免疫疾患である。いくつかの実施形態では、過剰増殖性疾患は炎症および関節リウマチである。

【0399】

開示される方法は、本明細書で企図される組成物（例えば、 γ ペンタグルタミン酸化または γ ヘキサグルタミン酸化THFを含有するリポソームなどの γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物）の送達から利益を得る可能性があるいずれかの被験体で実施できる。哺乳類被験体、特にヒト被験体が好ましい。いくつかの実施形態では、被験体はまた動物を含み、家庭用愛玩動物（例えば、イヌ、ネコ、ウサギ、およびフェレット）、家畜または農場動物（例えば、ウシ、ブタ、ヒツジ、ニワトリおよび他の家禽類）、純血種ウマなどのウマ、実験動物（例えば、マウス、ラット、およびウサギ）、および他の哺乳類などが挙げられる。他の実施形態では、被験体は魚類および他の水生種を含む。

【0400】

薬剤が送達される被検体は、正常な被検体であり得る。あるいは、被検体は、提供された組成物の1つ以上の提供される組成物の送達から診断され得るまたは恩恵を受け得る状態を有するまたは状態を発症する危険があり得る。いくつかの実施形態では、このような状態には、癌（例えば、固形腫瘍癌または白血病などの非固形癌）が含まれる。いくつか

10

20

30

40

50

の実施形態では、これらの状態（例えば、癌）は、本明細書で開示される標的化ペグ化リポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸により特異的に結合され得る抗原を発現する細胞を含む。さらなる実施形態では、これらの抗原は、特異的に結合し、標的化ペグ化リポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を細胞中に内部移行させる。いくつかの実施形態では、標的化ペグ化リポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、癌細胞の表面上に発現した葉酸受容体（例えば、葉酸受容体 α (FR- α)、葉酸受容体 β (FR- β)、および葉酸受容体 δ (FR- δ)) に特異的に結合する。

【0401】

提供された組成物で治療できる状態の診断のための試験は、当技術分野において既知であり、開業医によく知られている。特定の細胞型が葉酸受容体を発現するかどうかの決定は、商業的に入手できる抗体を用いて行うことができる。これらの臨床検査には、限定されないが、顕微鏡による分析、培養依存性検査（培養物など）および核酸検出試験が挙げられる。これらは、湿式マウント、染色強化顕微鏡 (stain-enhanced microscopy)、免疫顕微鏡（例えば、FISH）、ハイブリダイゼーション顕微鏡、粒子凝集試験、酵素結合免疫吸着アッセイ、尿スクリーニング検査、DNAプローブハイブリダイゼーション、および血清検査が含まれる。開業医は通常、上記臨床検査の実施に加えて、全病歴を取得し、完全な身体検査を行うであろう。

【0402】

癌を有する被検体は、例えば、検出可能な癌細胞を有する被検体であり得る。癌を発症する危険のある被検体は、例えば、通常より高い癌発症の可能性を有する被検体であり得る。これらの被検体には、例えば、癌を発症するより高い可能性に関連付けられることが示されている遺伝子異常を有する被検体、癌の家族性素質を有する被検体、タバコ、アスベスト、またはその他の化学的毒素などの癌誘発剤（例えば、発癌性物質）へ曝露された被検体、および以前に癌の治療を受け、見かけの寛解にある被検体が含まれる。

【0403】

いくつかの実施形態では、本開示は葉酸受容体標的化ペグ化リポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を、高い割合で（その細胞表面に葉酸受容体を発現しない細胞よりも少なくとも2倍高い、少なくとも3倍高い、少なくとも4倍高い、または少なくとも5倍高い）その表面に葉酸受容体を発現する腫瘍細胞に選択的に送達するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、送達されるペグ化リポソームは γ ポリグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、送達されるペグ化リポソームはL- γ ポリグルタミン酸化THFを含む。いくつかの実施形態では、送達されるペグ化リポソームはD- γ ポリグルタミン酸化THFを含む。

【0404】

i. 併用療法

ある一定の実施形態では、本開示は、本明細書で記載される γ ポリグルタミン酸化THF組成物を、少なくとも1つの追加の治療薬と組み合わせて投与することを提供する。追加の治療薬は、 γ ポリグルタミン酸化THF組成物の投与の前に、それと同時に、および／またはその後投与できる。追加の治療薬は、 γ ポリグルタミン酸化THF送達ビヒクルを含有する溶液中に、または γ ポリグルタミン酸化THF組成物を含有する組成物とは別の製剤中に存在する γ ポリグルタミン酸化THF送達ビヒクルと結合させることができる（例えば、 γ ポリグルタミン酸化THFとリポソーム中に同時封入される）。ポリペプチドまたは薬剤および追加の治療薬（複数可）を含む医薬組成物も提供される。いくつかの実施形態では、少なくとも1つの追加の治療薬は1、2、3、またはそれより多い追加の治療薬を含む。

【0405】

2つ以上の治療薬を含む併用療法では、必要なことではないが、異なる作用機序で機能する薬剤が使用されることが多い。異なる作用機序を有する薬剤を使用する併用療法では、加算的または相乗的效果が生ずる場合がある。併用療法は、単剤療法で使用される場合よりも、各薬剤の用量の低減化が可能となり、それにより、毒性副作用の低減化および／

10

20

30

40

50

またはポリペプチドまたは薬剤の治療指数の向上をなし得る。併用療法は、耐性癌細胞が発生する可能性を減らし得る。いくつかの実施形態では、併用療法は、免疫反応に影響を与える（例えば、反応を高めるまたは活性化する）治療薬および腫瘍／癌細胞に影響を与える（例えば、抑制または死滅させる）治療薬を含む。

【0406】

いくつかの実施形態では、本開示は、有効量の、本明細書で開示される生物学的γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を投与することを含む、癌を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、治療抗体と組み合わせて投与される。さらなる実施形態では、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、抗CD抗体（例えば、リツキシマブ）または免疫チェックポイントタンパク質（例えば、CTLA4、PD1、PDL1、およびTIM3）と結合する抗体と組み合わせて投与される。さらなる実施形態では、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、Fc融合タンパク質（例えば、エタネルセプト）と組み合わせて投与される。

【0407】

いくつかの実施形態では、本開示は、有効量の、本明細書で開示される生物学的γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を投与することを含む、免疫系の障害を治療するための方法を提供する。いくつかの実施形態では、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、治療抗体と組み合わせて投与される。さらなる実施形態では、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、抗TNF抗体（例えば、アダリムマブ）と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、γポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、Fc融合タンパク質（例えば、エタネルセプト）と組み合わせて投与される。

【0408】

本明細書記載の方法のいくつかの実施形態では、本明細書で記載のγPTHF組成物および少なくとも1種の追加の治療薬の組み合わせは、加算的または相乗的結果を生ずる。いくつかの実施形態では、併用療法は、γPTHFまたは薬剤の治療指数の増大をもたらす。いくつかの実施形態では、併用療法は、追加の治療薬の治療指数の増大をもたらす。いくつかの実施形態では、併用療法は、γPTHFまたは薬剤の毒性および／または副作用の低減をもたらす。いくつかの実施形態では、併用療法は、追加の治療薬の毒性および／または副作用の低減をもたらす。

【0409】

本明細書で記載されるγPTHF組成物と組み合わせて投与され得る治療薬には、化学療法薬が含まれる。従って、いくつかの実施形態では、本明細書で記載される方法または治療は、本明細書で記載される少なくとも1つのγPTHF組成物を化学療法薬と組み合わせて、または化学療法薬の混合物と組み合わせて投与することをさらに含む。いくつかの実施形態では、投与されるγPTHFは下記から選択される：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5,10-メテニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5,10-メテニル-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸）；（f）ポリグルタミン酸化5,10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5,10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。γPTHF組成物による治療は、化学療法薬の投与の前に、それと同時に、またはその後に行うことができる。併用投与は、単一医薬製剤として、もしくは別々の製剤を用いた同時投与、またはどちらかの順番での逐次投与であるが、全ての活性薬剤がそれらの生物活性を同時に働かせることができるように、一定の時間内での投与が含まれる。このような化学療法薬のための作製と投与スケジュールは、製造業者の説明書に従って、または熟練開業医により経験的に決定して、使用することができる

。このような化学療法薬のための作製と投与スケジュールは、The Chemotherapy Source Book, 4. sup. th Edition, 2008, M. C. Perry, Editor, Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, PAにも記載されている。

【0410】

本発明での使用に有用な化学療法薬には、限定されないが、チオテパおよびシクロホスファミド（シトキサン）などのアルキル化剤；ブスルファン、インプロスルファンおよびピボスルファンなどのスルホン酸アルキル；ベンゾドーパ、カルボコン、メツレドーパ、およびウレドーパなどのアジリジン；アルトレタミン、トリエチレンメラミン、トリエチレンフォスフォラミド、トリエチレンチオホスホラミドおよびトリメチロールメラミンを含むエチレンイミンおよびメチラメラミン；クロランブシル、クロルナファジン、クロロホスファミド、エストラムスチン、イホスファミド、メクロレタミン、メクロレタミンオキシド塩酸塩、メルファラン、ノベンピチン、フェネステリン、プレドニムスチン、トロホスファミド、ウラシルマスタードなどのナイトロジェンマスタード；カルムスチン、クロロゾトシン、ホテムスチン、ロムスチン、ニムスチン、ラニムスチンなどのニトロソウレア；アクラシノマイシン、アクチノマイシン、オースラマイシン、アザセリン、ブレオマイシン、カクチノマイシン、カリチアマイシン、カラビシン、カルミノマイシン、ダクチノマイシン、ダウノルピシン、デトルピシン、6-ジアゾ-5-オキソ-2-ノルロイシン、ドキシソルピシン、エピルピシン、エソルピシン、イダルピシン、マルセロマイシン、マイトマイシン、ミコフェノール酸ノガラマイシン、オリボマイシン、ペプロマイシン、ポトフィロマイシン、ピューロマイシン、クエラマイシン、ロドルピシン、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ツベルシジン、ウベニメクス、ジノスタチン、ゾルピシンなどの抗生物質；テトラヒドロ葉酸および5-フルオロウラシル（5-FU）などの代謝拮抗薬；デノプテリン、テトラヒドロ葉酸、プテロプテリン、トリメトレキサートなどの葉酸類似体；フルダラビン、6-メルカプトプリン、チアミプリン、チオグアニンなどのプリン類似体；アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シトシンアラビノシド、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン、5-FU；カルステロン、プロピオン酸ドロモスタノロン、エピチオスタノール、メピチオスタン、テストラクトンなどのアンドロゲン；アミノグルテチミド、ミトタン、トリロスタンなどの抗副腎物質；フォリン酸などの葉酸補充液；アセグラトン；アルドフォスファミドグリコシド；アミノレブリン酸；アムサクリン；ベストラブシル；ビスアントレン；エダトラキセート；デフォファミン；デメコルチン；ジアジクオン；エルホルミチン；エリプチニウムアセテート；エトグルシド；ガリウムニトレート；ヒドロキシ尿素；レンティナン；ロニダミン；ミトグアゾン；ミトキサントロン；モピダモール；ニトラクリン；ペントスタチン；フェナメット；ピラルピシン；ポドフィリン酸；2-エチルヒドラジド；プロカルバジン；PSK；ラゾキサン；シゾフィラン；スピロゲルマニウム；テヌアゾン酸；トリアジクオン；2, 2', 2''-トリクロロトリエチルアミン；ウレタン；ビンデシン；ダカルバジン；マンノムスチン；ミトブロニトール；ミトラクトール；ピボプロマン；ガシトシン；アラビノシッド（Ara-C）；パクリタキセル（タキソール（登録商標））およびドセタキセル（タキソテール（登録商標））などのタキソイド；クロラムブシル；ゲムシタビン；6-チオグアニン；メルカプトプリン；シスプラチンおよびカルボプラチンなどの白金類似体；ビンブラスチン；白金；エトポシド（VP-16）；イホスファミド；マイトマイシンC；ミトキサントロン；ピンクリスチン；ビノレルビン；ナベルピン；ノバントロン；テニポシド；ダウノマイシン；テトラヒドロ葉酸；イバンドロネート；CPT11；トポイソメラーゼ阻害剤RFS2000；チルルオロメチルオルニチン（DMFO）；レチノイン酸；エスペラマイシン；カペシタビン（XELODA（登録商標））；タモキシフェン、ラロキシフェン、アロマターゼ阻害性4（5）-イミダゾール、4-ヒドロキシタモキシフェン、トリオキシフェン、ケオキシフェン、LY117018、オナプリストン、およびトレミフェン（フェアストン（登録商標））などの抗ホルモン剤；フルタミド、ニルタミド、ピカルタミド、ロイプロリド、およびゴセレリ

10

20

30

40

50

ンなどの抗アンドロゲン剤；および上記のいずれかの薬学的に許容される塩、酸または誘導体が挙げられる。特定の実施形態では、追加の治療薬はシスプラチンである。特定の実施形態では、追加の治療薬はカルボプラチンである。他の実施形態では、追加の治療薬は、オキサリプラチンである。特定の実施形態では、追加の治療薬はピリミジン類似体（例えば、5-フルオロウラシル（5-FU）などのフルオロピリミジン（fluoropyrimidine））である。

【0411】

いくつかの実施形態では、本開示はまた、本明細書で記載される γ P T H F および下記から選択される少なくとも1つの追加の治療薬を投与することを含む方法または治療を提供する：抗チューブリン剤、アウリスタチン、DNA副溝バイнда、DNA複製阻害剤、アルキル化剤（例えば、シスプラチン、単（白金）、二（白金）および三核白金錯体およびカルボプラチンなどの白金錯体）、アントラサイクリン、抗生物質、葉酸代謝拮抗薬（例えば、ポリグルタミン酸化可能な葉酸代謝拮抗薬またはポリグルタミン酸化可能でない葉酸代謝拮抗薬）、抗有糸分裂性薬（例えば、ビンクリスチン、ビンブラスチン、ビノレルビン、またはビンデシンなどのビンカアルカロイド）、放射線増感剤、ステロイド、タキサン、トポイソメラーゼ阻害剤（例えば、ドキシソルビシンHCl、ダウノルビシンシトレート、ミトキサントロンHCl、アクチノマイシンD、エトポシド、トポテカンHCl、テニポシド（VM-26）、およびイリノテカン）、代謝拮抗薬、化学療法増感剤、デュオカルマイシン、エトポシド、フッ化ピリミジン、イオノフォア、レキシトロプシン、ニトロソウレア、プラチノール、プリン代謝拮抗薬、PARP阻害剤、およびビューロマイシン。ある一定の実施形態では、第2の治療薬は、アルキル化剤、代謝拮抗薬、抗有糸分裂性薬、トポイソメラーゼ阻害剤、または血管新生阻害剤である。いくつかの実施形態では、投与される γ P T H F は下記から選択される：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-T H F）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-T H F）；（c）ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メテニル-T H F）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-T H F）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸）；（f）ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチレン-T H F）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-T H F）。

【0412】

特定の実施形態では、本明細書で提供される治療法は、本明細書で記載される γ P T H F 組成物を葉酸代謝拮抗薬と組み合わせて投与することを含む。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は下記から選択される：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-T H F）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-T H F）；（c）ポリグルタミン酸化5, 10-メテニル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メテニル-T H F）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-T H F）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸T H F）；（f）ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5, 10-メチレン-T H F）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-T H F）。いくつかの実施形態では、投与される γ P T H F 組成物はリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は、葉酸代謝拮抗薬と別々に投与される。いくつかの実施形態では、 γ P T H

10

20

30

40

50

F 組成物は、葉酸代謝拮抗薬と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、 γ P T H F および葉酸代謝拮抗薬は同じリポソームに封入される。

【0413】

特定の実施形態では、本明細書で提供される治療法は、本明細書で記載される γ P T H F 組成物をメトトレキサートまたはメトトレキサート誘導体もしくは類似体と組み合わせて投与することを含む。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は下記から選択される：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S]-5-ホルミル-T H F）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 R]-10-ホルミル-T H F）；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 R]-5，10-メテニル-T H F）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S]-5-メチル-T H F）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S]-テトラヒドロ葉酸 T H F）；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 R]-5，10-メチレン-T H F）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-T H F（例えば、ポリグルタミン酸化[6 S]-5-ホルムイミノ-T H F。いくつかの実施形態では、投与される γ P T H F 組成物はリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物は、メトトレキサートと別々に投与される。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物はメトトレキサートと同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、 γ P T H F およびメトトレキサートは同じリポソームに封入される。

【0414】

特定の実施形態では、本開示は、ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-T H F をメトトレキサートと組み合わせて投与することを提供する。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6 R]-5，10-メチレン-T H F は、メトトレキサートまたはメトトレキサート誘導体もしくは類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、テトラグルタミン酸化[6 R]-5，10-メチレン-T H F は、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ペンタグルタミン酸化[6 R]-5，10-メチレン-T H F は、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ヘキサグルタミン酸化[6 R]-5，10-メチレン-T H F はメトトレキサートの投与後に投与される（例えば、1つ以上のメトトレキサート関連毒性を低減するため）。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6 R]-5，10-メチレン-T H F は、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6 R，S]-5，10-メチレン-T H F は、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、テトラグルタミン酸化[6 R，S]-5，10-メチレン-T H F は、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ペンタグルタミン酸化[6 R，S]-5，10-メチレン-T H F は、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ヘキサグルタミン酸化[6 R，S]-5，10-メチレン-T H F はメトトレキサートの投与後に投与される（例えば、1つ以上のメトトレキサート関連毒性を低減するため）。いくつかの実施形態では、投与されるポリグルタミン酸化5，10-メチレン-T H F はリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-T H F は、メトトレキサートと別々に投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-T H F はメトトレキサートと同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-T H F およびメトトレキサートは同じリポソームに封入される。

【0415】

特定の実施形態では、本開示は、ポリグルタミン酸化5-メチル-T H F をメトトレキサートまたはメトトレキサート誘導体もしくは類似体と組み合わせて投与することを提供

する。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6 S〕-5-メチル-THFは、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、テトラグルタミン酸化〔6 S〕-5-メチル-THFは、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ペンタグルタミン酸化〔6 S〕-5-メチル-THFは、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ヘキサグルタミン酸化〔6 S〕-5-メチル-THFはメトトレキサートの投与後に投与される（例えば、1つ以上のメトトレキサート関連毒性を低減するため）。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-メチル-THFは、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、テトラグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-メチル-THFは、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ペンタグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-メチル-THFは、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ヘキサグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-メチル-THFはメトトレキサートの投与後に投与される（例えば、1つ以上のメトトレキサート関連毒性を低減するため）。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFはリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFは、メトトレキサートと別々に投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFはメトトレキサートと同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THF組成物およびメトトレキサートは同じリポソームに封入される。

【0416】

特定の実施形態では、本開示は、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFをメトトレキサートと組み合わせて投与することを提供する。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルミル-THFは、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、テトラグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルミル-THFは、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ペンタグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルミル-THFは、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ヘキサグルタミン酸化〔6 S〕-5-ホルミル-THFはメトトレキサートの投与後に投与される（例えば、1つ以上のメトトレキサート関連毒性を低減するため）。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6 R, S〕-ホルミル-THFは、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、テトラグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-ホルミル-THFは、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ペンタグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-ホルミル-THFは、メトトレキサートと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ヘキサグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-ホルミル-THFはメトトレキサートの投与後に投与される（例えば、1つ以上のメトトレキサート関連毒性を低減するため）。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFはリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFは、メトトレキサートと別々に投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFはメトトレキサートと同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THF組成物およびメトトレキサートは同じリポソームに封入される。

【0417】

いくつかの実施形態では、本開示は、 γ PTHFを代謝拮抗薬と組み合わせて投与することを提供する。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、代謝拮抗薬と別々に投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは代謝拮抗薬と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFおよび代謝拮抗薬は同じリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される γ PTHFは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される γ PTHF組成物は下記から選択される：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミ

ルーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕－5－ホルミルーTHF）；（b）ポリグルタミン酸化10－ホルミルーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕－10－ホルミルーTHF）；（c）ポリグルタミン酸化5，10－メテニルーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕－5，10－メテニルーTHF）；（d）ポリグルタミン酸化5－メチルーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕－5－メチルーTHF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕－テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5，10－メチレンーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6R〕－5，10－メチレンーTHF）；および（g）ポリグルタミン酸化5－ホルムイミノーTHF（例えば、ポリグルタミン酸化〔6S〕－5－ホルムイミノーTHF。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、アンシタビン、アザシチジン、6－アザウリジン、カルモフル、シトシンアラビノシド、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン、および5－FUからなる群より選択されるピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、ピリミジン類似体と別々に投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、ピリミジン類似体と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFおよびピリミジン類似体は同じリポソームに封入される。特定の実施形態では、 γ PTHFは、5－FUと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、5－FUと別々に投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、5－FUと同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFおよび5－FUは同じリポソームに封入される。

【0418】

いくつかの実施形態では、本開示は、ポリグルタミン酸化5，10－メチレンーTHFを代謝拮抗薬と組み合わせて投与することを提供する。いくつかの実施形態では、投与されるポリグルタミン酸化5，10－メチレンーTHF（例えば、〔6R〕－5，10－メチレンーTHFまたは〔6R，S〕－5，10－メチレンーTHF）は、4、5、2－10、4－6、または5超の、 γ －グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、テトラグルタミン酸化5，10－メチレンーTHF（例えば、〔6R〕－5，10－メチレンーTHF）は、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ペンタグルタミン酸化5，10－メチレンーTHF（例えば、〔6R〕－5，10－メチレンーTHF）は、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ヘキサグルタミン酸化5，10－メチレンーTHF（例えば、〔6R〕－5，10－メチレンーTHF）は、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6R〕－5，10－メチレンーTHFは、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6R，S〕－5，10－メチレンーTHFは、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5，10－メチレンーTHFは、代謝拮抗薬と別々に投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5，10－メチレンーTHFは代謝拮抗薬と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5，10－メチレンーTHFおよび代謝拮抗薬は同じリポソームに封入される。いくつかの実施形態ではポリグルタミン酸化5，10－メチレンーTHFは、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5，10－メチレンーTHFは、アンシタビン、アザシチジン、6－アザウリジン、カルモフル、シトシンアラビノシド、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン、および5－FUからなる群より選択されるピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6R〕－5，10－メチレンーTHFは、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6R，S〕－5，10－メチレンーTHFは、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。特定の実施形態では、ポリグルタミン酸化5，10－メチレンーTHFは、5－FUと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6R〕－5，10－メチレンーTHFは、5－FUと組み合わせて投与される。

いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6 R, S〕-5, 10-メチレン-THFは、5-FUと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFは、ピリミジン類似体（例えば、5-FU、カペシタビン、またはテガフル）と別々に投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFは、ピリミジン類似体（例えば、5-FU、カペシタビン、またはテガフル）と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFおよびピリミジン類似体（例えば、5-FU、カペシタビン、またはテガフル）は同じリポソームに封入される。特定の実施形態では、ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFは、5-FUと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFは、5-FUと別々に投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFは、5-FUと同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5, 10-メチレン-THFおよび5-FUは同じリポソームに封入される。

【0419】

いくつかの実施形態では、本開示は、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFを代謝拮抗薬と組み合わせて投与することを提供する。いくつかの実施形態では、投与されるポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、〔6 S〕-5-メチル-THFまたは〔6 R, S〕-5-メチル-THF）は、4, 5, 2-10, 4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、テトラグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、〔6 S〕-5-メチル-THF）は、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ペンタグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、〔6 S〕-5-メチル-THF）は、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ヘキサグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、〔6 S〕-5-メチル-THF）は、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6 S〕-5-メチル-THFは、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-メチル-THFは、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFは、代謝拮抗薬と別々に投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFは代謝拮抗薬と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFおよび代謝拮抗薬は同じリポソームに封入される。いくつかの実施形態ではポリグルタミン酸化5-メチル-THFは、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFは、アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シトシンアラビノシド、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン、および5-FUからなる群より選択されるピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6 S〕-5-メチル-THFは、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-メチル-THFは、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。特定の実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFは、5-FUと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6 S〕-5-メチル-THFは、5-FUと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化〔6 R, S〕-5-メチル-THFは、5-FUと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFは、ピリミジン類似体（例えば、5-FU、カペシタビン、またはテガフル）と別々に投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFは、ピリミジン類似体（例えば、5-FU、カペシタビン、またはテガフル）と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFおよびピリミジン類似体（例えば、5-FU、カペシタビン、またはテガフル）は同じリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン

10

20

30

40

50

酸化5-メチル-T H Fは、5-F Uと別々に投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-T H Fは、5-F Uと同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-T H Fおよび5-F Uは同じリポソームに封入される。

【0420】

いくつかの実施形態では、本開示は、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H Fを代謝拮抗薬と組み合わせて投与することを提供する。いくつかの実施形態では、投与されるポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H F（例えば、[6S]-5-ホルミル-T H Fまたは[6R, S]-5-ホルミル-T H F）は、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、テトラグルタミン酸化5-ホルミル-T H F（例えば、[6S]-5-ホルミル-T H F）は、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ペンタグルタミン酸化5-ホルミル-T H F（例えば、[6S]-5-ホルミル-T H F）は、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ヘキサグルタミン酸化5-ホルミル-T H F（例えば、[6S]-5-ホルミル-T H F）は、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-T H Fは、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6R, S]-5-ホルミル-T H Fは、代謝拮抗薬と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H Fは、代謝拮抗薬と別々に投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H Fは代謝拮抗薬と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H Fおよび代謝拮抗薬は同じリポソームに封入される。

【0421】

いくつかの実施形態ではポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H F T H F（例えば、[6S]-5-ホルミル-T H Fまたは[6R, S]-5-ホルミル-T H F）は、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与されるポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H Fは、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、テトラグルタミン酸化5-ホルミル-T H F（例えば、[6S]-5-ホルミル-T H F）は、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ペンタグルタミン酸化5-ホルミル-T H F（例えば、[6S]-5-ホルミル-T H F）は、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ヘキサグルタミン酸化5-ホルミル-T H F（例えば、[6S]-5-ホルミル-T H F）は、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H Fは、アンシタピン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シトシンアラビノシド、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジン、および5-F Uからなる群より選択されるピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与されるピリミジン類似体はフルオロピリミジンである。いくつかの実施形態では、フルオロピリミジンは、カペシタピン、テガフル（例えば、ウラシルありまたはなしのテガフル、ギメラシルおよび／またはオテラシル）、および5-フルオロウラシル（5-F U）から選択される。いくつかの実施形態では、投与されるフルオロピリミジンは5-F Uである。いくつかの実施形態では、投与されるフルオロピリミジンはカペシタピンである。いくつかの実施形態では、投与されるフルオロピリミジンはウラシルありまたはなしのテガフル、ギメラシルおよび／またはオテラシルである。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-T H Fは、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6R, S]-5-ホルミル-T H Fは、ピリミジン類似体と組み合わせて投与される。特定の実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-T H Fは、5-F Uと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-T H Fは、5-F Uと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6R, S]-

10

20

30

40

50

5-ホルミル-THFは、5-FUと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFは、ピリミジン類似体（例えば、5-FU、カペシタビン、またはテガフル）と別々に投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFは、ピリミジン類似体（例えば、5-FU、カペシタビン、またはテガフル）と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFおよびピリミジン類似体（例えば、5-FU、カペシタビン、またはテガフル）は同じリポソームに封入される。特定の実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFは、5-FUと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFは、5-FUと別々に投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFは、5-FUと同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFおよび5-FUは同じリポソームに封入される。

【0422】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、白金系薬剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン）と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される γ PTHFは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、テトラグルタミン酸化 γ PTHFは、白金系薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、白金系薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ヘキサグルタミン酸化 γ PTHFは、白金系薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される γ PTHFは下記から選択される：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5，10-メテニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メテニル-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5，10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF）。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、白金系薬剤と別々に投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは白金系薬剤と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFおよび白金系薬剤は同じリポソームに封入される。特定の実施形態では、 γ PTHF組成物は、オキサリプラチンと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、オキサリプラチン（oxaloplatin）と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、 γ PTHFおよびオキサリプラチン（oxaloplatin）は同じリポソームに封入される。

【0423】

いくつかの実施形態では、 γ PTHFは、白金系薬剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン）およびピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される γ PTHFは4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される γ PTHFはテトラグルタミン酸化 γ PTHFである。いくつかの実施形態では、投与される γ PTHFはペンタグルタミン酸化 γ PTHFである。いくつかの実施形態では、投与される γ PTHFはヘキサグルタミン酸化 γ PTHFである。いくつかの実施形態では、投与されるピリミジン類似体は下記から選択される：アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シトシンアラビノシド、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン、および5-FU。いくつかの実施形態では、投与され

るピリミジン類似体はフルオロピリミジンである。いくつかの実施形態では、フルオロピリミジンは、カペシタビン、テガフル（例えば、ウラシルありまたはなしのテガフル、ギメラシルおよび／またはオテラシル）、および5-フルオロウラシル（5-FU）から選択される。いくつかの実施形態では、投与されるフルオロピリミジンは5-FUである。いくつかの実施形態では、投与されるフルオロピリミジンはカペシタビンである。いくつかの実施形態では、投与されるフルオロピリミジンはウラシルありまたはなしのテガフル、ギメラシルおよび／またはオテラシルである。いくつかの実施形態では、投与されるγPTHFは下記から選択される：（a）ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THF）；（b）ポリグルタミン酸化10-ホルミル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-10-ホルミル-THF）；（c）ポリグルタミン酸化5,10-メテニル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5,10-メテニル-THF）；（d）ポリグルタミン酸化5-メチル-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THF）；（e）ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-テトラヒドロ葉酸THF）；（f）ポリグルタミン酸化5,10-メチレン-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6R]-5,10-メチレン-THF）；および（g）ポリグルタミン酸化5-ホルムイミノ-THF（例えば、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルムイミノ-THF。いくつかの実施形態では、γPTHFは、白金系薬剤および／またはピリミジン類似体と別々に投与される。いくつかの実施形態では、γPTHFは、白金系薬剤および／またはピリミジン類似体と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、γPTHFはリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、（a）γPTHFおよび白金系薬剤は同じリポソームに封入される、（b）γPTHFおよびピリミジン類似体は同じリポソームに封入される、（c）白金系薬剤、およびピリミジン類似体は同じリポソームに封入される、または（d）γPTHF、白金系薬剤、およびピリミジン類似体は同じリポソームに封入される。

【0424】

特定の実施形態では、γPTHFは、オキサリプラチン（oxaloplatin）および5-FU（例えば、FOLFOX療法）と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与されるγPTHFは4、5、2-10、4-6、または5超の、γ-グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与されるγPTHFはテトラグルタミン酸化γPTHFである。いくつかの実施形態では、投与されるγPTHFはペンタグルタミン酸化γPTHFである。いくつかの実施形態では、投与されるγPTHFはヘキサグルタミン酸化γPTHFである。いくつかの実施形態では、γPTHFはリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、（a）γPTHFおよびオキサリプラチン（oxaloplatin）は同じリポソームに封入される、（b）γPTHFおよび5-FUは同じリポソームに封入される、（c）オキサリプラチン（oxaloplatin）および5-FUは同じリポソームに封入される、または（d）γPTHF、オキサリプラチン（oxaloplatin）、および5-FUは同じリポソームに封入される。追加の実施形態では、γPTHF、オキサリプラチン（oxaloplatin）および5-FUは、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与される。いくつかの実施形態では、癌は下記から選択される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、および基底細胞癌。特定の実施形態では、癌は結腸直腸癌である。さらなる実施形態では、γPTHFは、オキサリプラチン（oxaloplatin）、5-FU、およびVEGFに結合する抗体（例えば、ベバシズマブ）と組み合わせて投与される。

【0425】

いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5,10-メチレン-THFは、白金系薬剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン）と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される5,10-メチレン-THF（例えば、[6R]-5,10-メチレン-THF、または[6R,S]-5,10-メチレン

10

20

30

40

50

ーTHF)は、4、5、2-10、4-6、または5超の、γ-グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される5，10-メチレン-THF(例えば、[6R]-5，10-メチレン-THF)はテトラグルタミン酸化5，10-メチレン-THFである。いくつかの実施形態では、投与される5，10-メチレン-THF(例えば、[6R]-5，10-メチレン-THF)はペンタグルタミン酸化5，10-メチレン-THFである。いくつかの実施形態では、投与される5，10-メチレン-THF(例えば、[6R]-5，10-メチレン-THF)はヘキサグルタミン酸化5，10-メチレン-THFである。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFは、白金系薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFは、白金系薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、5，10-メチレン-THFは、白金系薬剤と別々に投与される。いくつかの実施形態では、5，10-メチレン-THFは白金系薬剤と同時に(例えば、共にまたは連続的に)投与される。いくつかの実施形態では、5，10-メチレン-THFおよび白金系薬剤は同じリポソームに封入される。特定の実施形態では、5，10-メチレン-THF組成物は、オキサリプラチンと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、5，10-メチレン-THFは、オキサリプラチン(oxaloplatin)と別々に投与される。いくつかの実施形態では、5，10-メチレン-THFは、オキサリプラチン(oxaloplatin)と同時に(例えば、共にまたは連続的に)投与される。いくつかの実施形態では、5，10-メチレン-THFおよびオキサリプラチン(oxaloplatin)は同じリポソームに封入される。

【0426】

いくつかの実施形態では、5，10-メチレン-THFは、白金系薬剤(例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン)およびピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される5，10-メチレン-THF(例えば、[6R]-5，10-メチレン-THF、または[6R，S]-5，10-メチレン-THF)は、4、5、2-10、4-6、または5超の、γ-グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される5，10-メチレン-THF(例えば、[6R]-5，10-メチレン-THF)はテトラグルタミン酸化5，10-メチレン-THFである。いくつかの実施形態では、投与される5，10-メチレン-THF(例えば、[6R]-5，10-メチレン-THF)はペンタグルタミン酸化5，10-メチレン-THFである。いくつかの実施形態では、投与される5，10-メチレン-THF(例えば、[6R]-5，10-メチレン-THF)はヘキサグルタミン酸化5，10-メチレン-THFである。いくつかの実施形態では、投与されるピリミジン類似体は下記から選択される：アンシタピン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シトシンアラビノシド、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジン、および5-FU。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6R]-5，10-メチレン-THFは、白金系薬剤(例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン)およびピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6R，S]-5，10-メチレン-THFは、白金系薬剤(例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン)およびピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、5，10-メチレン-THFは、白金系薬剤および/またはピリミジン類似体と別々に投与される。いくつかの実施形態では、5，10-メチレン-THFは、白金系薬剤および/またはピリミジン類似体と同時に(例えば、共にまたは連続的に)投与される。いくつかの実施形態では、5，10-メチレン-THFはリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、(a)5，10-メチレン-THFおよび白金系薬剤は同じリポソームに封入される、(b)5，10-メチレン-THFおよびピリミジン類似体は同じリポソームに封入される、(c)白金系薬剤、およびピリミジン類似体は同じリポソームに封入される、または(d)5，10-メチレン-THF、白金系薬剤、およびピリミジン類似体は同じリポソームに封入される。

10

20

30

40

50

【0427】

特定の実施形態では、5，10-メチレン-THFは、オキサリプラチン（oxaloplatin）および5-FUと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される5，10-メチレン-THF（例えば、[6R]-5，10-メチレン-THF、または[6RS]-5，10-メチレン-THF）は、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される5，10-メチレン-THF（例えば、[6R]-5，10-メチレン-THF）はテトラグルタミン酸化5，10-メチレン-THFである。いくつかの実施形態では、投与される5，10-メチレン-THF（例えば、[6R]-5，10-メチレン-THF）はペンタグルタミン酸化5，10-メチレン-THFである。いくつかの実施形態では、投与される5，10-メチレン-THF（例えば、[6R]-5，10-メチレン-THF）はヘキサグルタミン酸化5，10-メチレン-THFである。いくつかの実施形態では、5，10-メチレン-THFはリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、（a）5，10-メチレン-THFおよびオキサリプラチン（oxaloplatin）は同じリポソームに封入される、（b）5，10-メチレン-THFおよび5-FUは同じリポソームに封入される、（c）オキサリプラチン（oxaloplatin）および5-FUは同じリポソームに封入される、または（d）5，10-メチレン-THF、オキサリプラチン（oxaloplatin）、および5-FUは同じリポソームに封入される。追加の実施形態では、5，10-メチレン-THF、オキサリプラチン（oxaloplatin）および5-FUは、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与される。追加の実施形態では、5，10-メチレン-THF、オキサリプラチン（oxaloplatin）および5-FUは、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与される。いくつかの実施形態では、癌は下記から選択される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。特定の実施形態では、癌は結腸直腸癌である。さらなる実施形態では、5，10-メチレン-THFは、オキサリプラチン（oxaloplatin）、5-FU、およびVEGFに結合する抗体（例えば、ベバシズマブ）と組み合わせて投与される。

【0428】

いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-メチル-THFは、白金系薬剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン）と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される5-メチル-THF（例えば、[6S]-5-メチル-THF、または[6R,S]-5-メチル-THF）は、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される5-メチル-THF（例えば、[6S]-5-メチル-THF）はテトラグルタミン酸化5-メチル-THFである。いくつかの実施形態では、投与される5-メチル-THF（例えば、[6S]-5-メチル-THF）はペンタグルタミン酸化5-メチル-THFである。いくつかの実施形態では、投与される5-メチル-THF（例えば、[6S]-5-メチル-THF）はヘキサグルタミン酸化5-メチル-THFである。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6S]-5-メチル-THFは、白金系薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6R,S]-5-メチル-THFは、白金系薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、5-メチル-THFは、白金系薬剤と別々に投与される。いくつかの実施形態では、5-メチル-THFは白金系薬剤と同時に投与される。いくつかの実施形態では、5-メチル-THFおよび白金系薬剤は同じリポソームに封入される。特定の実施形態では、5-メチル-THF組成物は、オキサリプラチンと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、5-メチル-THFは、オキサリプラチン（oxaloplatin）と別々に投与される。いくつかの実施形態では、5-メチル-THFは、オキサリプラチン（oxaloplatin）と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、5-メチル-THFおよびオキサリプラチン（oxaloplatin）は

10

20

30

40

50

同じリポソームに封入される。

【0429】

いくつかの実施形態では、5-メチル-T H F は、白金系薬剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン）およびピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される5-メチル-T H F（例えば、[6 S]-5-メチル-T H F、または[6 R, S]-5-メチル-T H F）は、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される5-メチル-T H F（例えば、[6 S]-5-メチル-T H F）はテトラグルタミン酸化5-メチル-T H Fである。いくつかの実施形態では投与される5-メチル-T H F（例えば、[6 S]-5-メチル-T H F）はペンタグルタミン酸化5-メチル-T H Fである。いくつかの実施形態では、投与される5-メチル-T H F（例えば、[6 S]-5-メチル-T H F）はヘキサグルタミン酸化5-メチル-T H Fである。いくつかの実施形態では、投与されるピリミジン類似体は下記から選択される：アンシタビン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シトシンアラビノシド、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタビン、フロクスウリジン、および5-F U。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6 S]-5-メチル-T H Fは、白金系薬剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン）およびピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6 R, S]-5-メチル-T H Fは、白金系薬剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン）およびピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、5-メチル-T H Fは、白金系薬剤および／またはピリミジン類似体と別々に投与される。いくつかの実施形態では、5-メチル-T H Fは、白金系薬剤および／またはピリミジン類似体と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、5-メチル-T H Fはリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、（a）5-メチル-T H Fおよび白金系薬剤は同じリポソームに封入される、（b）5-メチル-T H Fおよびピリミジン類似体は同じリポソームに封入される、（c）白金系薬剤およびピリミジン類似体は同じリポソームに封入される、または（d）5-メチル-T H F、白金系薬剤、およびピリミジン類似体は同じリポソームに封入される。

【0430】

特定の実施形態では、5-メチル-T H F は、オキサリプラチン（oxaloplatin）および5-F Uと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される5-メチル-T H F（例えば、[6 S]-5-メチル-T H F、または[6 R, S]-5-メチル-T H F）は、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される5-メチル-T H F（例えば、[6 S]-5-メチル-T H F）はテトラグルタミン酸化5-メチル-T H Fである。いくつかの実施形態では投与される5-メチル-T H F（例えば、[6 S]-5-メチル-T H F）はペンタグルタミン酸化5-メチル-T H Fである。いくつかの実施形態では、投与される5-メチル-T H F（例えば、[6 S]-5-メチル-T H F）はヘキサグルタミン酸化5-メチル-T H Fである。いくつかの実施形態では、5-メチル-T H Fはリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、（a）5-メチル-T H Fおよびオキサリプラチン（oxaloplatin）は同じリポソームに封入される、（b）5-メチル-T H Fおよび5-F Uは同じリポソームに封入される、（c）オキサリプラチン（oxaloplatin）および5-F Uは同じリポソームに封入される、または（d）5-メチル-T H F、オキサリプラチン（oxaloplatin）、および5-F Uは同じリポソームに封入される。追加の実施形態では、5-メチル-T H F、オキサリプラチン（oxaloplatin）および5-F Uは、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与される。いくつかの実施形態では、癌は下記から選択される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢癌、および基底細胞癌。特定の実施形態では、癌は結腸直腸癌である。さらなる実施形態では、5-メチル-T H Fは、オキサリプラチン（

10

20

30

40

50

oxaloplatin)、5-FU、およびVEGFに結合する抗体（例えば、ベバシズマブ）と組み合わせて投与される。

【0431】

いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化5-ホルミル-THFは、白金系薬剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン）と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される5-ホルミル-THF（例えば、[6S]-5-ホルミル-THF、または[6R, S]-5-ホルミル-THF）は、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される5-ホルミル-THFはテトラグルタミン酸化5-ホルミル-THFである。いくつかの実施形態では、投与される5-ホルミル-THFはペンタグルタミン酸化5-ホルミル-THFである。いくつかの実施形態では、投与される5-ホルミル-THFはヘキサグルタミン酸化5-ホルミル-THFである。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFは、白金系薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6R, S]-5-ホルミル-THFは、白金系薬剤と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、5-ホルミル-THFは、白金系薬剤と別々に投与される。いくつかの実施形態では、5-ホルミル-THFは白金系薬剤と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、5-ホルミル-THFおよび白金系薬剤は同じリポソームに封入される。特定の
10
実施形態では、5-ホルミル-THF組成物は、オキサリプラチンと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、5-ホルミル-THFは、オキサリプラチン（oxaloplatin）と別々に投与される。いくつかの実施形態では、5-ホルミル-THFはオキサリプラチン（oxaloplatin）と同時に（例えば、共にまたは連続的に）
20
投与される。いくつかの実施形態では、5-ホルミル-THFおよびオキサリプラチン（oxaloplatin）は同じリポソームに封入される。

【0432】

いくつかの実施形態では、5-ホルミル-THFは、白金系薬剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン）およびピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される5-ホルミル-THF（例えば、[6S]-5-ホルミル-THF、または[6R, S]-5-ホルミル-THF）は、4、5、2-10、4-6、または5超の、 γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態
30
では、投与される5-ホルミル-THF（例えば、[6S]-5-ホルミル-THF）は、4つの γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される5-ホルミル-THF（例えば、[6S]-5-ホルミル-THF）は、5つの γ -グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される5-ホルミル-THF（例えば、[6S]-5-ホルミル-THF）は、6つの γ -グルタミル基を含有する。追加の実施形態では、投与されるピリミジン類似体は下記から選択される：アンシタピン、アザシチジン、6-アザウリジン、カルモフル、シトシンアラビノシド、ジデオキシウリジン、ドキシフルリジン、エノシタピン、フロクスウリジン、および5-FU。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6S]-5-ホルミル-THFは、白金系薬剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン）およびピリミジン類似体と組み
40
合わせて投与される。いくつかの実施形態では、ポリグルタミン酸化[6R, S]-5-ホルミル-THFは、白金系薬剤（例えば、シスプラチン、カルボプラチン、およびオキサリプラチン）およびピリミジン類似体と組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、5-ホルミル-THFは、白金系薬剤および／またはピリミジン類似体と別々に投与される。いくつかの実施形態では、5-ホルミル-THFは、白金系薬剤および／またはピリミジン類似体と同時に（例えば、共にまたは連続的に）投与される。いくつかの実施形態では、5-ホルミル-THFはリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、
（a）5-ホルミル-THFおよび白金系薬剤は同じリポソームに封入される、（b）5-ホルミル-THFおよびピリミジン類似体は同じリポソームに封入される、（c）白金系薬剤およびピリミジン類似体は同じリポソームに封入される、または（d）5-ホルミ
50

ルーTHF、白金系薬剤、およびピリミジン類似体は同じリボソームに封入される。

【0433】

特定の実施形態では、5-ホルミルーTHFは、オキサリプラチン (oxaloplatin) および5-FUと組み合わせて投与される。いくつかの実施形態では、投与される5-ホルミルーTHF (例えば、[6S]-5-ホルミルーTHF、または[6R, S]-5-ホルミルーTHF) は、4、5、2-10、4-6、または5超の、γ-グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される5-ホルミルーTHF (例えば、[6S]-5-ホルミルーTHF) は、4つのγ-グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される5-ホルミルーTHF (例えば、[6S]-5-ホルミルーTHF) は、5つのγ-グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、投与される5-ホルミルーTHF (例えば、[6S]-5-ホルミルーTHF) は、6つのγ-グルタミル基を含有する。いくつかの実施形態では、5-ホルミルーTHFはリボソームに封入される。いくつかの実施形態では、(a) 5-ホルミルーTHFおよびオキサリプラチン (oxaloplatin) は同じリボソームに封入される、(b) 5-ホルミルーTHFおよび5-FUは同じリボソームに封入される、(c) オキサリプラチン (oxaloplatin) および5-FUは同じリボソームに封入される、または(d) 5-ホルミルーTHF、オキサリプラチン (oxaloplatin)、および5-FUは同じリボソームに封入される。追加の実施形態では、5-ホルミルーTHF、オキサリプラチン (oxaloplatin) および5-FUは、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与される。いくつかの実施形態では、癌は下記から選択される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌 (例えば、胃癌)、膵臓癌、肝臓癌、肺癌 (例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん)、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢、および基底細胞癌。特定の実施形態では、癌は結腸直腸癌である。さらなる実施形態では、5-ホルミルーTHFは、オキサリプラチン (oxaloplatin)、5-FU、およびVEGFに結合する抗体 (例えば、ペバシズマブ) と組み合わせて投与される。

【0434】

追加の実施形態では、本明細書で提供される治療法は、γPTHF組成物をVEGFに結合する抗体 (例えば、ペバシズマブ) と組み合わせて投与することを含む。いくつかの実施形態では、本開示は、γPTHF組成物を、VEGFに結合する抗体および5-FUと組み合わせて投与することを提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、γPTHF組成物を、VEGFに結合する抗体およびオキサリプラチン (oxaloplatin) と組み合わせて投与することを提供する。さらなる実施形態では、本開示は、γPTHF組成物を、VEGFに結合する抗体、5-FU、およびオキサリプラチン (oxaloplatin) と組み合わせて投与することを提供する。

【0435】

追加の実施形態では、本明細書で提供される治療法は、γPTHF組成物を、EGFRに結合する抗体 (例えば、パニツムマブまたはセツキシマブ) と組み合わせて投与することを含む。いくつかの実施形態では、本開示は、γPTHF組成物を、EGFRに結合する抗体および5-FUと組み合わせて投与することを提供する。いくつかの実施形態では、本開示は、γPTHF組成物を、EGFRに結合する抗体およびオキサリプラチン (oxaloplatin) と組み合わせて投与することを提供する。さらなる実施形態では、本開示は、γPTHF組成物を、EGFRに結合する抗体、5-FUおよびオキサリプラチン (oxaloplatin) と組み合わせて投与することを提供する。追加の実施形態では、リボソーム組成物は、結腸直腸癌、乳癌、胃の癌 (例えば、胃癌)、膵臓癌、肝臓癌、肺癌 (例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん)、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢、または基底細胞癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与される。さらなる実施形態では、リボソーム組成物は、結腸直腸癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与される。

【0436】

特定の実施形態では、本明細書で提供される治療法は、本明細書で記載されるγPTH

F 組成物を、5-フルオロウラシル（5-FU）およびイリノテカン（FOLFIRI）と組み合わせて投与することを含む。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物はリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物および5-FUはリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物およびイリノテカンはリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物、5-FU、およびイリノテカンは同じリポソームに封入される。追加の実施形態では、リポソーム組成物は、下記から選択される癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与される：結腸直腸癌、乳癌、胃の癌（例えば、胃癌）、膵臓癌、肝臓癌、肺癌（例えば、非小細胞肺癌および／または腺がん）、頭頸部癌、卵巣癌、胆嚢、または基底細胞癌。さらなる実施形態では、リポソーム組成物は、結腸直腸癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与される。特定の実施形態では、本開示は、本明細書に記載される γ P T H F 組成物の、カペシタピンと組み合わせての投与を提供する。いくつかの実施形態では、 γ P T H F 組成物はリポソームに封入される。いくつかの実施形態では、投与される γ P T H F およびカペシタピンは同じリポソームに封入される。

【0437】

V. γ P T H F 組成物を含むキット

本開示はまた、本明細書に記載される γ P T H F 組成物を含み、本明細書に記載される方法を実施するために使用できるキットも提供する。ある一定の実施形態では、キットは、1つ以上の容器中に少なくとも1つの精製 γ P T H F 組成物を含む。

【0438】

いくつかの実施形態では、キットは、本明細書で開示される、少なくとも1つの γ P T H F 組成物（例えば、 γ P T H F リポソーム）またはその医薬製剤の投与量（例えば、療法または診断のために使用される）を含む。キットは、好適な梱包材料および／または組成物を使用するための使用説明書をさらに含み得る。キットはまた、組成物、または注射用の注射器または本明細書に記載のおよび当業者に既知のその他の装置などのその医薬製剤の送達のための手段も含む。当業者なら、当該技術分野において周知の確立されたキットフォーマットの1つに開示 γ P T H F 組成物を容易に組み込むことができることを容易に理解するであろう。

【0439】

さらに提供されるのは、 γ P T H F 組成物ならびに少なくとも1種の追加の治療薬を含むキットである。特定の実施形態では、第2の（またはそれ以上の）治療薬は代謝拮抗薬である。特定の実施形態では、第2の（またはそれ以上の）治療薬は化学療法薬である。

【0440】

下記実施例は、限定されないが、明白または暗に、いずれかの手段、形状、または形態で本開示を説明することが意図されている。これらは使用され得る典型的なものであるが、当技術分野における当業者に知られている他の手順、方法論、または技術も代わりとして、本開示の範囲から逸脱せずに使用され得る。

【0441】

場合によっては、ポリグルタミン酸化されたポリグルタミン酸化可能な葉酸代謝拮抗薬を使用する効果を決定するために、葉酸代謝拮抗薬ペメトレキセドが評価される。ペメトレキセドについて得られた結果は、他のポリグルタミン酸化可能な葉酸代謝拮抗薬ならびにテトラヒドロ葉酸などの葉酸に同じように等しく（しかし、必ずしも等しい度合いではなく）当てはまることが予想される。葉酸代謝拮抗薬は、半世紀以上もの間、臨床および研究の場で使用され、特徴づけられてきており、細胞毒性に影響を与える場合の、ポリグルタミン酸化可能な葉酸代謝拮抗薬についてのポリグルタミン酸化の役割は当技術分野においてよく理解されている。

【0442】

図1B-1Nは本開示によって包含される例示的なL- γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物の化学式を示す。

【0443】

実施例

実施例 1：リポソーム γ ポリグルタミン酸化ペメトレキセド組成物

方法：

γ ヘキサグルタミン酸化ペメトレキセド (γ H g P M X) リポソームの作製

簡単に説明すると、 γ ヘキサグルタミン酸化ペメトレキセド (g G R 6) および D γ ヘキサグルタミン酸化ペメトレキセド (g D G R 6) を次の手順によってリポソームに封入した。最初に、リポソーム膜の脂質成分を量り分け、エタノール中の濃縮溶液として約 65℃の温度で混合した。この例では、使用した脂質はホモジナイズされたダイズホスファチジルコリン、コレステロール、および D S P E - P E G - 2 0 0 0 (1, 2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ(ポリエチレングリコール)-2000]) だった。H S P C: コレステロール: P E G - D S P E のモル比は約 3: 2: 0.15 だった。次に、g G R 6 または g D G R 6 を 6.5~6.9 の pH で 100~150 mg/ml の濃度にて水性緩衝液に溶解した。薬物溶液を 65℃まで加熱した。エタノール脂質溶液を小孔ニードルによって g G R 6 または g D G R 6 に注入した。このステップの際、薬物溶液を磁気攪拌装置によって十分攪拌した。混合を高温 (63~72℃) で実施して、脂質が液晶状態 (液体転移温度 $T_m = 51 \sim 54^\circ\text{C}$ を下回る温度で達するゲル状態に対して) にあることを確実にした。結果として、液体は水和化され、水性コアに g G R 6 または g D G R 6 を含む複数の二層 (多層膜) 小胞 (M T H F) を形成した。

【0444】

フィルタ押し出しを用いる M T H F のサイズ低下

M T H F は、高圧押し出しを用いて、積層 (トラックエッチドポリカーボネート) メンブレンを 3 回通して、所望サイズの単層 (単一~二重層) 小胞に細分化された。第 1 パスを 200 nm の細孔径の 2 つの層からなる積層メンブレンを通過させて実施した。残りの 2 回のパスは、100 nm の細孔径の 3 つの層からなる積層メンブレンを通過させた。押し出しの間、温度を T_m 超に維持して、脂質膜の可塑性を確保した。押し出しの結果として、大きなおよび不均一なサイズおよび層数の M T H F が小型で、均一な (90~125 nm)、それらの内部に薬物を隔離した、単層小胞 (U T H F) が得られた。後方散乱検出器 (90°) を備えた Malvern Zetasizer Nano ZS 測定器 (Southborough, MA) を用いて、石英マイクロキュベット中、25℃で流体力学的サイズ (直径) を測定した。分析の前に、処方マトリックス中で試料を 50 倍に希釈した。

【0445】

リポソームの精製

g G R 6 または g D G R 6 含有 U T H F が製造された後に、少量用のカラムまたは大量用の好適な緩衝液に対するタンジェンシャルフロー透析濾過を用いて、リポソーム外の遊離薬物が除去された。任意の緩衝溶液を使用できるが、この実施例では、使用緩衝液は、5 mM H E P E S、145 mM 塩化ナトリウム、pH 6.7 であった。精製の完了時に、0.22 ミクロンフィルターを使って濾過滅菌を実施した。

【0446】

リポソーム誘導体の典型的な特性を下表に示す。

10

20

30

40

50

【表 1】

	出 発 濃 度	封入効率	最終濃度	薬 物 / 脂 質 比 率	直 径	PDI	ゼー タ 電位
Lps gDG6	1mg/ml	5.71%	0.038mg/ml	25- 30g/mol	103.8nm	0.017	-1.77mV
Lps gG6	20mg/ml	10.60%	1.39mg/ml	35- 50g/mol	114.9nm	0.035	-1.76mV
Lps gG6	100mg/ml	34%	7.5mg/ml	225- 265g/mol	116.3nm	0.045	-2.32mV

10

【0447】

γ HGP（ヘキサグルタミン酸化ペメトレキセド）およびリポソームの用量反応試験

基本的に上述のようにして作成したヘキサグルタミン酸化ペメトレキセドを含むリポソームを用いて用量反応試験を実施した。

【0448】

細胞生存率を、Cell Titer-Glo（登録商標）（CTG）発光細胞生存率アッセイによって3日目（48時間）および4日目（72時間）に測定した。このアッセイは培養中の生細胞の数を、その中に存在したATPを定量することに基づいて測定し、これが今度は代謝的に活性な細胞の存在を示した。CTGアッセイは読み取りにルシフェラーゼを使用する。ペメトレキセドの細胞生存率用量反応阻害を評価するため、異なる癌細胞増殖におけるHGPおよびリポソームを、Cell Titer-Glo（登録商標）発光細胞生存率アッセイを用いて検討した。ヒト癌細胞を収集し、計数し0日目に同一細胞密度で播種した。各試験物質の8段階希釈系列を1日目に細胞に加えた。用量反応曲線を作製し、Graph Pad Prismを用いてフィッティングし、各試験物質のIC50を計算した。IC50がより低いと、試験物質は癌細胞増殖阻害に関しより強力であった。

20

【0449】

0日目に、100 μlの新鮮培地中で5 × 10⁴細胞／ウェルの細胞密度で96ウェルプレート中に播種した。8つの2倍系列希釈のそれぞれの培地中の試験品を生成し、1日目に、3回繰り返して細胞に添加した。加えて、3つのウェルの細胞を担体（遊離薬物に対するHBSまたはリポソームHGPに対する空のリポソーム）単独で、対照として処理した。

30

【0450】

3および4日目に、100 μlのCell Titer-Glo（登録商標）試薬を各ウェルに加え、室温で15分間インキュベートした。ルシフェラーゼ発光を各ウェルについて記録した。加えて、培地中の8つの2倍系列希釈の担体（HBSまたは空のリポソーム）を空のウェルに加え、バックグラウンド発光信号シグナルを生成するためにアッセイに含めた。バックグラウンド発光シグナルをそれぞれの出力から差し引くことによりルシフェラーゼシグナルを正規化した。

40

【0451】

ヒト正常初代骨髄CD34+細胞をATCCから入手した（ATCCカタログ番号PCS-800-012）。細胞を37℃で1分間解凍した後、氷上に置いた。その後、細胞をStemSpan SFEM（Stem Cell Techカタログ番号9650）プラス10%加熱不活性化ウシ胎仔血清（Corning 35-015-CV）中に再懸濁させた。細胞を2.5 × 10⁴細胞／ウェルの密度で96ウェル培養プレートに播種した。翌日、遠心分離により生細胞を集め、好中球成長培地（StemSpan SFEMプラス10%加熱不活性化ウシ胎仔血清プラス100 ng/ml ヒト幹細胞因子（Sigmaカタログ番号H8416）、20 ng/ml ヒト顆粒球コロニー刺激因子（S i

50

gmaカタログ番号H5541)、および10ng/ml ヒト組換えIL3 (Sigma SRP3090) 中で、 2.5×10^4 細胞/ウェルの密度で再懸濁させた。細胞を37℃で10日間インキュベートした。新鮮培地を2日毎に加えた。その後、成熟好中球を収集し、96ウェルプレートに 1×10^4 細胞/ウェルの密度で播種し、37℃で一晩インキュベートした。翌日、試験品または担体を好中球成長培地に再懸濁させ、プレートに加えた。その後、細胞を37℃で48時間または72時間インキュベートした後、Cell Titer Glo Assay (Promegaカタログ#G7572)を用いて各時点でアッセイした。

【0452】

細胞株AML12 (非癌性の肝臓細胞) およびCCD841 (非癌性の結腸上皮細胞) に対し使用した方法は、癌細胞に使用した方法と類似である。

【0453】

結果

図1B-1Nは、 γ テトラヒドロ葉酸ポリグルタミン酸の例示的な化学式を示す。図1O-1Qは例示的な γ ポリグルタミン酸テトラヒドロ葉酸誘導体を示す。

【0454】

一連の用量反応実験では、種々のタイプの癌、すなわち、HT-29 (結腸癌)、H2342 (NSCLC、腺がんサブタイプ)、H292 (NSCLC、腺がんサブタイプ)、SW620 (CRC)、H1806 (トリプルネガティブ乳癌) およびOAW28 (卵巣癌) に相当する6種の細胞株を調査した (図5)。治療は、2種の異なる封入されたリポソーム γ ペメトレキセドヘキサグルタミン酸、すなわち、リポソーム γ Lヘキサグルタミン酸 (リポソームgG6) およびその鏡像、リポソーム γ Dヘキサグルタミン酸 (リポソームgDG6) (その対応する鏡像異性体とも呼ばれる) の誘導体を用いる48時間の曝露から構成した。

【0455】

ペメトレキセドと比較して、48時間を超える曝露後の上述の誘導体の相対的効力は、図5に示されている。この図で示されるように、種々の誘導体を使用した治療の相対効力は、ペメトレキセドのIC50を、各細胞株に対するリポソーム γ ペメトレキセドヘキサグルタミン酸のIC50により除算することにより計算された。この図で示すように、全ての細胞株で、リポソーム γ ペメトレキセドヘキサグルタミン酸の効力は、ペメトレキセドの効力を十分に超えていた。一例として、NSCLC細胞株H292を考察してみよう。図で示すように、リポソーム γ ペメトレキセドヘキサグルタミン酸の効力は、ペメトレキセドの効力の50倍以上であった。このことは、2%以下の用量のリポソーム γ ペメトレキセドヘキサグルタミン酸が100%の用量のペメトレキセドと同じ治療効果を有すると思われることを示唆している。

【0456】

リポソーム γ ペメトレキセドヘキサグルタミン酸誘導体 (リポソームLy G6/Lps Hexa gG6 およびリポソームDy G6/Lps Hexa gDG6) とペメトレキセドの、乳癌、結腸癌、肺癌および卵巣癌の代表的細胞株に対する細胞傷害活性を比較する癌細胞生存率試験を図2、3、4、6、7および8に示す。これらのデータは、リポソーム γ Lペメトレキセドヘキサグルタミン酸およびリポソーム γ Dペメトレキセドヘキサグルタミン酸の両方が、ペメトレキセドより高い効力であることを示す。さらに、有効性の指標として、16~128nMの範囲の種々の投与レベルで示した同じ細胞株についての実験の結果を図9-11に示す。これらの図で示されるように、これらの用量範囲のそれぞれで、リポソーム γ Lペメトレキセドヘキサグルタミン酸およびリポソーム γ Dペメトレキセドヘキサグルタミン酸は、肺癌および癌細胞株に対する癌細胞を抑制する観点からペメトレキセドより優れている。卵巣癌細胞株では、128nMの用量のペメトレキセドは、リポソーム γ ペメトレキセドヘキサグルタミン酸と同様に効果的であるように見え、32nMおよび64nMの用量では、リポソーム γ ペメトレキセドヘキサグルタミン酸は、ペメトレキセドより良好な治療効果を有し、16nMでは、リポソーム γ ペメトレ

10

20

30

40

50

キセドヘキサグルタミン酸およびペメトレキセドは、治療効果はより低く、効果の程度は類似である。

【0457】

ペメトレキセドで治療した患者で見られる大部分の毒性は、骨髄抑制であり、これは、好中球数（白血球の種類）を含む血球数の減少として顕在化する。また、下痢および粘膜炎症として顕在化する、口および消化管の内側面に対するいくつかの有害作用、ならびにいくつかの事例では、肝臓に対する有害作用が存在する。上記毒性を評価するために、リポソーム γ ペメトレキセドヘキサグルタミン酸誘導体（LおよびD）と、ペメトレキセドの治療を、好中球、CCD841結腸上皮細胞およびAML12肝臓細胞に分化したCD34+細胞に対し測定した、図12に示すように、リポソーム γ ペメトレキセドヘキサグルタミン酸は、分化しているヒト好中球に対しては、ペメトレキセドと対照的に、毒性が有意に少ない。これはまた、リポソーム γ Lペメトレキセドヘキサグルタミン酸またはリポソーム γ Dペメトレキセドヘキサグルタミン酸での治療後に、ペメトレキセドに比較して、16nM~128nMの範囲の用量で、より良好に保存される好中球数によっても裏付けられる（図13）。際立っていることは、リポソームL γ ペメトレキセドヘキサグルタミン酸またはリポソーム γ Dペメトレキセドヘキサグルタミン酸による調査した容量レベルで治療後、これらは、肝臓細胞に対し何ら毒性があるようには見えないことである（図14）。対照的に、ペメトレキセドは、調査したすべての用量で約40%の肝臓細胞数の低減につながる。および最終的に、上皮結腸細胞の治療後にも、同じ傾向が認められる（図15）。この図に示されるように、リポソーム γ Lペメトレキセドヘキサグルタミン酸およびリポソーム γ Dペメトレキセドヘキサグルタミン酸により治療後の約20%以下の減少に比べて、試験した全ての濃度でペメトレキセドは、約50%以上の細胞数の減少をもたらす。

【0458】

実施例2：標的化リポソームポリグルタミン酸化葉酸代謝拮抗薬細胞送達方法

標的化 γ ヘキサグルタミン酸化ペメトレキセド（HGP）リポソームの製造

γ HGP（gG6）をリポソームに封入し、リポソームを小型化し、基本的に実施例1で上述の手順により精製した。

【0459】

抗体コンジュゲーション

DSPE-PEG-マレイミドを脂質組成物に添加することにより、活性化リポソームを作製した。リポソームは、4種の異なる脂質：水素添加大豆ホスファチジルコリン（HSPC）、コレステロール、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ（ポリエチレングリコール）-2000]（DSPE-PEG-2000）、および1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[マレイミド（ポリエチレングリコール）-2000]（DSPE-PEG-マレイミド）を3:2:0.1125:0.0375の比率で含む。

【0460】

トラウト試薬（2-イミノチオラン）を用いて、スルフヒドリル基を一級アミンに結合させることにより、抗体チオール化を行った。抗体を0.9~1.6mg/mlの濃度でPBS中に懸濁させた。トラウト試薬（14mM）を抗体溶液に1~5mMの最終濃度で加えた後、室温で1時間のインキュベーション後に、透析により除去した。60g/molのホスフェート脂質の比率でチオール化抗体を加えて、リポソームを活性化し、反応混合物を室温で1時間および一晩インキュベートし、4uLのシステインを用いて反応を終わらせ、非結合抗体を透析により除去した。

【0461】

例示的な直接およびポスト挿入抗体-リポソームコンジュゲーション（conjugation）法を以下で提供する。

【0462】

例示的抗体コンジュゲーション法1：直接コンジュゲーション

抗体またはFabまたはscFvなどのそのフラグメントは、チオール反応性リポソーム上に直接コンジュゲートできる。チオール反応性リポソームは、DSPE-PEG-マレイミドを脂質組成物に添加することにより作製される。リポソームは、4種の異なる脂質：水素添加大豆ホスファチジルコリン（HSPC）、コレステロール、1，2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[メトキシ（ポリエチレングリコール）-2000]（DSPE-PEG-2000）、および1，2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン-N-[マレイミド（ポリエチレングリコール）-2000]（DSPE-PEG-マレイミド）を3：2：0.1125：0.0375の比率で含む。

【0463】

抗体（またはFabまたはscFvなどのそのフラグメント）のチオール化は、トラウト試薬（2-イミノチオラン）を用いて、スルフヒドリル基を一級アミンに結合させることにより、達成される。抗体（またはそのフラグメント）を0.9～1.6mg/mlの濃度でPBS中に懸濁させる。トラウト試薬（14mM）を抗体（またはそのフラグメント）溶液に1～5mMの最終濃度で加えた後、室温で1時間のインキュベーション後に、透析により除去した。チオール化抗体（またはそのフラグメント）を60g/molのホスフェート脂質の比率でチオール反応性リポソームに加えて、反応混合物を室温で1時間、および4℃で一晩インキュベートした。L-システインを用いて反応を終わらせ、非結合抗体（またはそのフラグメント）を透析により除去した。

【0464】

抗体またはFabまたはscFvなどのそのフラグメントは、C末端にシステイン残基を含み、還元抗体（またはそのフラグメント）をチオール反応性リポソームとインキュベートすることにより、リポソーム上に直接コンジュゲートできる。システイン尾部を有する抗体（またはそのフラグメント）は溶解され、10～20mMの還元剤（2-メルカプトエチルアミン、システイン、またはジチオエリスリトール）によりpH7未満で還元される。過剰の還元試薬は、サイズ排除クロマトグラフィーまたは透析により完全に除去される。精製され、還元された抗体（またはそのフラグメント）は、チオール反応性リポソームに直接コンジュゲートできる。

【0465】

例示的な抗体コンジュゲーション法2：ポスト挿入

抗体またはFabまたはscFvなどのそのフラグメントは、C末端にシステイン残基を含み、「ポスト挿入」法によりリポソームにコンジュゲートおよびリポソーム中に組み込むことができる。チオール反応性リポポリマー（例えば、DSPE-PEG-マレイミド）のミセルは、10mg/mlで水溶液中に溶解することにより作製される。システイン尾部を有する抗体（またはそのフラグメント）は溶解され、10～20mMの還元剤（2-メルカプトエチルアミン、システイン、またはジチオエリスリトール）によりpH7未満で還元される。過剰の還元試薬は、サイズ排除クロマトグラフィーまたは透析により完全に除去される。精製および還元された抗体（またはそのフラグメント）はその後、1：4のモル比のチオール反応性リポポリマーのミセルと共に、インキュベートされる。反応の終わりに、過剰のマレイミド基が少量のシステイン（1mM）またはメルカプトエタノールによりクエンチされる。非結合抗体（またはそのフラグメント）は、サイズ排除クロマトグラフィーにより除去される。精製コンジュゲートミセルは、その後、リポソームと共に37℃または高温でインキュベートされる。

【0466】

ナノ粒子の物理的特性

HGP（ペンタグルタミン酸化ペメトレキセド）およびリポソームの用量反応研究

細胞生存率は、CellTiter-Glo（登録商標）（CTG）発光細胞生存率アッセイにより3日目（48時間）および4日目（72時間）に測定した。このアッセイは、内部に存在するATPを定量化することにより、培養物中の生存細胞の数を決定し、次

10

20

30

40

50

に代謝的に活性な細胞の存在を知らせる。C T Gアッセイは、読み取りにルシフェラーゼを使用する。細胞生存率を評価するために、C e l l T i t e r - G l o（登録商標）発光細胞生存率アッセイを用いてペメトレキセド、H G Pおよびリボソームの種々の癌細胞増殖に対する用量反応阻害を調査した。ヒト癌細胞を採取、計数し、0日目に同じ細胞密度で播種した。1日目に、一連の8種のそれぞれの希釈物を細胞に加えた。用量反応曲線を生成し、G r a p h P a d P r i s mを用いて当てはめ、各試験品のI C 5 0を計算した。I C 5 0が低下すると、細胞増殖阻害の観点からの試験品の効力がより高くなった。

【0467】

0日目に、100 μ lの新鮮培地中で5 x 10⁴細胞/ウェルの細胞密度で96ウェルプレート中に播種した。8つの2倍系列希釈のそれぞれの培地中の試験品を生成し、1日目に、3回繰り返して細胞に添加した。加えて、3つのウェルの細胞を担体（遊離薬物に対するH B SまたはリボソームH G Pに対する空のリボソーム）単独で、対照として処理した。

【0468】

3および4日目に、100 μ lのC e l l T i t e r G l o（登録商標）試薬を各ウェルに加え、室温で15分間インキュベートした。ルシフェラーゼ発光を各ウェルについて記録した。加えて、培地中の8つの2倍系列希釈の担体（H B Sまたは空のリボソーム）を空のウェルに加え、バックグラウンド発光信号シグナルを生成するためにアッセイに含めた。バックグラウンド発光シグナルをそれぞれの出力から差し引くことによりルシフェラーゼシグナルを正規化した。

【0469】

ヒト正常初代骨髓C D 3 4 +細胞をA T C Cから入手した（A T C Cカタログ番号P C S - 8 0 0 - 0 1 2）。細胞を37℃で1分間解凍した後、氷上に置いた。その後、細胞をS t e m S p a n S F E M（S t e m C e l l T e c hカタログ番号9650）プラス10%加熱不活性化ウシ胎仔血清（C o r n i n g 35-015-CV）中に再懸濁させた。細胞を2.5 x 10⁴細胞/ウェルの密度で96ウェル培養プレートに播種した。翌日、遠心分離により生細胞を集め、好中球成長培地（S t e m S p a n S F E M プラス10%加熱不活性化ウシ胎仔血清プラス100 ng/ml ヒト幹細胞因子（S i g m aカタログ番号H8416）20 ng/ml ヒト顆粒球コロニー刺激因子（S i g m aカタログ番号H5541）、および10 ng/ml ヒト組換えI L 3（S i g m a S R P 3 0 9 0）中で、2.5 x 10⁴細胞/ウェルの密度で再懸濁させた。細胞を37℃で10日間インキュベートした。新鮮培地を2日毎に加えた。その後、成熟好中球を収集し、96ウェルプレートに1 x 10⁴細胞/ウェルの密度で播種し、37℃で一晩インキュベートした。翌日、試験品または担体を好中球成長培地に再懸濁させ、プレートに加えた。その後、細胞を37℃で48時間または72時間インキュベートした後、C e l l T i t e r G l o A s s a y（P r o m e g aカタログ# G 7 5 7 2）を用いて各時点でアッセイした。

【0470】

細胞株A M L 1 2（非癌性の肝臓細胞）およびC C D 8 4 1（非癌性の結腸上皮細胞）に対し使用した方法は、癌細胞に使用した方法と類似である。

【0471】

結果

N C I H 2 3 4 2 非小細胞肺癌（N S C L C）、腺がんサブタイプ中での、遊離ペメトレキセド γ ヘキサグルタミン酸（g G 6）、（非標的化）リボソーム γ ヘキサグルタミン酸（リボソーム g G 6）、ペメトレキセド、および葉酸受容体 α 標的化抗体（F R 1 A b）リボソームペメトレキセド γ ヘキサグルタミン酸（リボソーム g G 6 - F R 1 A b）の、用量反応関係を図2に示す。出力は、治療の48時間後の生存細胞のルシフェラーゼ発光により測定したパーセンテージである。図2に示すように、遊離ペメトレキセド g G 6は、I C 5 0で測定して、最小の効力であるように見える。リボソームペメトレキセド g G 6およびリボソームペメトレキセド g G 6 - F R 1 A bの両方は、それぞれ、遊離ペ

メトレキシドより7倍および40倍より高い効力である。

【0472】

類似のデータは、HT-29結腸癌細胞株に対しても図3に示される。この図は、パーセンテージで表した細胞生存率を示す。この図で示されるように、遊離ペメトレキシドgG6は、最小の効力であるように見える。この例では、リポソームペメトレキシドgG6は、ペメトレキシドの2倍の効力であり、リポソームペメトレキシドgG6-FR1Abは、遊離ペメトレキシドより5倍高い効力である。

【0473】

実施例3：インビボ研究

下記実施例は、インビボ（マウス）モデルにおける、αG6（Lp-αG6）（αポリグルタミン酸化ペメトレキシド）の投与で得られた、インビボ効能および毒性データを記載する。当業者であれば、リポソームαポリグルタミン酸化ペメトレキシド組成物について観察された効能および低減された毒性は、おそらく異なるレベルであるが、同じ条件下での対応物リポソームγポリグルタミン酸化ペメトレキシド（γG6（Lp-γG6））の投与でも観察されると予測されることを認識するであろう。

【0474】

方法

マウスでの安全性研究

ペメトレキシドベース治療に関連するいくつかの主要な毒性は、血液学的および肝臓の毒性であり、リポソームαG6（Lp-αG6）のインビボ（マウス）での効果を評価し、治療後に、血液学的および肝臓血液生化学検査パネルの変化を比較することが重要である。このデータを得るために、初期用量範囲試験を、Jackson Laboratory（Bar Harbor, ME）から購入した健康な雌Balb/cマウス（6～8週齢）を使って実施した。試験の前に、動物を秤量し、体重でランダム化し、臨床的異常を観察し、群に分配した（5匹のマウス／群）。10mg/kg～最大200mg/kgの用量を試験し、マウスの耐容量を特定した。治療薬を静脈内に週1回、4週間にわたり投与した。体重および詳細臨床的観察を毎日記録した。試験の終わりの、28日目に、マウスを安楽死させて、未治療対照マウスおよびリポソームαG6（Lp-αG6）40mg/kgおよびリポソームαG6（Lp-αG6）80mg/kgで治療されたマウスから血液および組織を採取した。包括的全血球数（CBC）のために、全血をK2-EDTA抗凝固剤チューブ中に収集し、包括的化学のために血清を単離し、収集を行った日に、IDEXX（Westbrook, ME）に送った。

【0475】

結果

一般に、週1回の40mg/kgおよび80mg/kgの2種の投与レベルの4週間にわたるリポソームαG6による治療は、耐容性良好で、未治療対照に比べて体重の大きな差異はなかった。血液学的パラメータに対するいくつかの効果を評価するために、40mg/kgおよび80mg/kgの2種の投与レベルの週1回、4週間投与によるリポソームαG6での治療後に、白血球（WBC）数、好中球数および血小板数を測定した。図17で認められるように、治療動物のリポソームαG6による4週間の治療後、未治療対照動物に比べて、治療動物における平均好中球数、平均白血球数および平均血小板数の明らかな減少はなかった。ヘモグロビンおよび網赤血球数指数を測定し、赤血球に対する影響を評価した。図18に示すように、より高い投与レベルで、平均ヘモグロビン濃度の最小限の減少があった。同時に、網赤血球数指数のわずかな増加があり、これは、赤血球産生の増大による、治療に対する骨髄の反応を示唆する。全体として、マウスのヘモグロビンレベルは治療の4週後に維持されているので、この効果は、小さいと思われる。まとめると、これらのデータは、40mg/kgおよび80mg/kgの投与レベルの週1回の投与では、骨髄および関連する血液学的指数に対しほとんど影響がないことを示唆する。

【0476】

ペメトレキシドに伴う別の懸念は、ペメトレキシドベース療法で治療した一部の患者の

肝臓毒性である。マウスの満足な状態を評価するために、血清アルブミンに加えて、血清アスパラギン酸アミノ基転移酵素（AST）およびアラニンアミノ基転移酵素（ALT）を含む、マウス血清化学反応を測定した。図19に示すように、40mg/kgおよび80mg/kgの2種の投与レベルで週1回の4週間にわたるリポソームαG6による治療後、4週間での、肝臓アミノ基転移酵素平均ASTおよび平均ALTレベルの明らかな増加はなかった。いずれの平均アルブミンレベルの変化もなかった。まとめると、これらのデータは、リポソームαG6の好ましい安全性プロファイルを示唆する。

【0477】

マウス異種移植片による予備的パイロット有効性研究

リポソームαG6（Lp-αG6）による治療後に何らかの腫瘍制御があったのかどうかを評価するために、パイロット研究を実施した。この研究では、免疫不全の雌ヌードマウス（Nu/J；6～8週齢）をJackson Laboratory（Bar Harbor, ME）から購入した。NCI-H292（非小細胞肺癌）細胞を、10%ウシ胎仔血清を補充したRPMI培地中、37℃、5%CO₂インキュベーター中で培養した。1×10⁶細胞を各マウスの背側後部側腹皮下に接種した。腫瘍体積および体重を毎週2回モニターした。0日目に、担腫瘍マウスを腫瘍体積でランダム化し、群（群当たり5匹のマウス）：対照、ペメトレキセド、およびリポソームαG6に分配した。ペメトレキセドは、3週毎に1回、167mg/kgを静脈内に投与された。このマウス用量の3週毎に167mg/kgは、FDA/EMAの承認ヒト用量および3週毎の500mg/m²の計画と同等である。リポソームαG6は、80mg/kgを静脈内に週1回、4週間にわたり投与された。ノギスで腫瘍サイズを測定し、腫瘍量を次の式：腫瘍体積＝0.5×（腫瘍長さ）×（腫瘍幅）²；相対的腫瘍体積＝（腫瘍堆積／0日目の腫瘍体積）×100%、を用いて計算した。この研究は未だ進行中であるが、予備的データは、図20に示すとおりである。この図では、リポソームαG6およびペメトレキセドによる治療後の相対的腫瘍体積が示される。これらの予備的データからわかるように、リポソームαG6は、ペメトレキセドに比べて良好な腫瘍制御をもたらす。

【0478】

実施例4：ポリグルタミン酸化葉酸代謝拮抗薬－シスプラチン複合体（PGPD）

方法

葉酸代謝拮抗薬としても知られている葉酸類似体は、この70年間重要な抗癌治療である。この設定で使用されると、このクラスの抗癌剤は重要な葉酸代謝経路中の様々な酵素を妨害する。これは、細胞内での、ピリミジンおよびプリン（DNAおよびRNA）合成障害、アミノ酸グリシンおよびセリン代謝障害、レドックス応答障害およびメチル化プロセス障害をもたらす。

【0479】

臨床診療では、ペメトレキセドおよびテトラヒドロ葉酸などの葉酸代謝拮抗薬はしばしば、シスプラチンおよびカルボプラチンなどの白金作用物質と組み合わせて使用される。併用は、効能の増強をもたらす。この状況で、我々は、2つの抗癌剤、すなわち、ポリグルタミン酸化葉酸代謝拮抗薬と白金類似体のあらかじめ決められた比率の制御送達を促進するために、特定の比率でポリグルタミン酸と白金作用物質を同時封入しようと試みた。我々は驚いたことに、長い形態のポリグルタミン酸葉酸代謝拮抗薬（例えば、ペンタグルタミン酸化葉酸代謝拮抗薬）が、高いpHで安定なシスプラチンとの複合体を形成すること、およびこの複合体が、低いpHでポリグルタミン酸およびシスプラチンに分離することを発見した。低いpHは、多くの腫瘍細胞および腫瘍細胞環境において、特に低酸素状況で起こると考えられる。この発見の適用は、γPPMXおよびシスプラチンなどの治療薬の組み合わせの腫瘍細胞などの標的細胞への送達を促進し、生理的に適切な低いpH条件において複合体から薬物を放出させる能力を提供する。

【0480】

ポリグルタミン酸化葉酸代謝拮抗薬－DDAP（シスプラチン）複合体（PGPD）の作製

（ポリグルタミン酸化葉酸代謝拮抗薬－DDAP複合体）を作製するために、γヘキサ

グルタミン酸 (a G 6) およびジアンミンジカルボン酸白金 (D D A P) を使用した。複合体化のプロセスは、塩化白金化合物の存在および pH 条件に依存した。複合体化を、白金酸塩誘導体によるグルタミン酸の 1 つまたは 2 つのカルボキシル基上での求核攻撃により達成した。簡単に言うと、複合体を下記手順により形成させた。最初に、活性化化合物 D D A P を秤量し、5 % デキストロースに溶解した。D D A P 溶解ステップ後に、a G 6 を量り分け、D D A P - C a p t i s o l 溶液に添加し、1 時間 4 5 - 5 5 °C で攪拌させた。溶液の pH を、1 N N a O H を使用して 6 . 5 - 7 . 0 に調整し、溶液を 1 - 2 時間攪拌した。複合体の形成を視覚的に確認した。しかしながら、pH を酸性 pH 3 ~ 5 に調整すると、色は元に戻り、ポリグルタミン酸化 (p o l y g l u t m a t e d) 葉酸代謝拮抗薬とシスプラチンの脱複合体化を示した。

【0481】

複合体形成を、H P L C を用いて確認し、これは 2 つの別個のピークを示し、それらは、6 . 5 ~ 7 . 5 の高い pH で 1 つの大きなピークにまとまり、その後 3 ~ 5 の低い pH で再び現れる。C a p t i s o l なしで実験を繰り返すと、複合体形成は C a p t i s o l (登録商標) と無関係であったことが示された。図 16 はポリグルタミン酸葉酸代謝拮抗薬、シスプラチン (C D D P) および 2 つの可能性のある g G 6 - シスプラチン複合体の構造を示す。ポリグルタミン酸化葉酸代謝拮抗薬およびシスプラチンのカルボキシル基間のストランド間および / またはストランド内配位の pH 依存的形成は、リソソームの酸性 pH (p H 3 - 5) および細胞の内側の塩化物イオンの存在に遭遇すると、g G 6 およびシスプラチンの個々の分子に分解する可能性がある。

【0482】

ペンタグルタミン酸化ペメトレキセド - D D A P / C D D P 複合体 (P G P D) リポソームの作製

簡単に言うと、P G P D を下記手順によりリポソームに封入した。最初に、リポソーム膜の脂質成分を量り分け、エタノール中の濃縮溶液として約 6 5 °C の温度で混合した。この例では、使用した脂質は、水素化大豆ホスファチジルコリン、コレステロール、および D S P E - P E G - 2 0 0 0 (1, 2 - ジステアロイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン - N - [メトキシ (ポリエチレングリコール) - 2 0 0 0]) であった。H S P C : コレステロール : P E G - D S P E のモル比はおおよそ 3 : 2 : 0 . 1 5 であった。次に、P G P D を以上で記載される通りに調製した。P G P D 薬物溶液を 6 5 °C まで加熱した。エタノール脂質溶液を、小孔ニードルを用いて P G P D 溶液に注入した。このステップの間、薬物溶液を、磁気攪拌装置を用いて十分攪拌した。混合を高温 (6 3 ~ 7 2 °C) で実施して、脂質が液晶状態 (脂質転移温度 $T_m = 51 \sim 54$ °C を下回る温度で達するゲル状態に対して) にあることを確実にした。その結果、脂質は水和化され、水性コアに P G P D を含有する複数の二層 (多層膜) 小胞 (M T H F) を形成した。

【0483】

フィルタ押し出しを用いる M T H F のサイズ低下

M T H F を、高圧押し出しにより、積層 (トラックエッチドポリカーボネート) メンブレンを 2 回通して、所望のサイズの単層 (単 - 二重層) 小胞に細分化した。積層メンブレンは 2 0 0 n m の細孔サイズを有する 2 つの層、および、1 0 0 n m の細孔サイズを有する 6 つの層を有する。押し出しの間、温度を T_m 超に維持して、脂質膜の可塑性を確保した。押し出しにより、大きなおよび不均一なサイズおよび層数の M T H F は、それらの内部に薬物を隔離する、小型で均一な (9 0 ~ 1 2 0 n m) 単層小胞 (U T H F) となった。後方散乱検出器 (9 0 °) を備えた M a l v e r n Z e t a s i z e r N a n o Z S 測定器 (S o u t h b o r o u g h, M A) を用いて、ポリスチレンマイクロキュベット中、2 5 °C で流体力学的サイズ (直径) を測定した。試料を、分析の前に処方マトリックス中で 5 0 倍希釈した。

【0484】

リポソームの精製

P G P D 含有 U T H F が製造された後に、少量用のカラムまたは大量用の好適な緩衝液

10

20

30

40

50

に対するタンジェンシャルフロー透析濾過を用いて、リポソーム外 P G P D を除去した。当技術分野で知られている多くの異なる緩衝液を使用できたが、この実施例では、使用した緩衝液は、5 mM H E P E S、145 mM 塩化ナトリウム、p H 6.7 であった。精製の完了時に、0.22 ミクロンフィルターを使って濾過滅菌を実施した。

【0485】

さらなる実施形態：

本開示の非限定的実施形態では、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む組成物が提供される。

【0486】

直前の段落の組成物において、組成物はペンタグルタミン酸化またはヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含み得る。

10

【0487】

上記2つの段落のいずれかの組成物において、組成物は、ペンタグルタミン酸化またはヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含み得る、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含み得る。

【0488】

非限定的な例であるリポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸 (L- γ P T H F) 組成物は上記3つの段落のいずれかの組成物を含み得、リポソームは任意にペグ化され得る (P L- γ P T H F)。

【0489】

20

直前の段落の L- γ P T H F または P L- γ P T H F 組成物において、 γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸は、ペンタグルタミン酸化またはヘキサグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含み得る。

【0490】

上記2つの段落のいずれかの L- γ P T H F または P L- γ P T H F 組成物において、リポソームはアニオン性または中性であり得る。

【0491】

上記3つの段落のいずれかの L- γ P T H F または P L- γ P T H F 組成物において、ターゲティング部分は P E G およびリポソームの外面の一方または両方に付着され得、ターゲティング部分は目的の標的細胞上の表面抗原に対する特異的親和性を有し得る (T L- γ P T H F または T P L- γ P T H F)。

30

【0492】

上記4つの段落のいずれかの L- γ P T H F または P L- γ P T H F 組成物において、ターゲティング部分は P E G およびリポソームの外面の一方または両方に付着され得、ポリペプチドであり得る。

【0493】

上記5つの段落のいずれかの L- γ P T H F または P L- γ P T H F 組成物において、ターゲティング部分は P E G およびリポソームの外面の一方または両方に付着され得、抗体または抗体のフラグメントであり得る。

【0494】

40

上記6つの段落のいずれかの L- γ P T H F または P L- γ P T H F 組成物において、免疫刺激剤、検出可能マーカーおよびマレイミドのうちの1つ以上が、P E G およびリポソームの外面の少なくとも1つ上に配置され得る。

【0495】

上記7つの段落のいずれかの L- γ P T H F または P L- γ P T H F 組成物において、ポリペプチドは、B I A C O R E (登録商標) 分析で測定して、 $0.5 \times 10^{-10} \sim 1.0 \times 10^{-6}$ の範囲の平衡解離定数 (K d) で抗原と結合し得る。

【0496】

上記8つの段落のいずれかの L- γ P T H F または P L- γ P T H F 組成物において、ポリペプチドは、下記からなる群より選択される1つ以上の葉酸受容体に特異的に結合し

50

得る：葉酸受容体 α (FR- α)、葉酸受容体 β (FR- β)、および葉酸受容体 δ (FR- δ)。

【0497】

過剰増殖性細胞を、上記9つの段落のいずれかのリポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物と接触させることを含む、過剰増殖性細胞を死滅させる非限定的な例示的方法。

【0498】

直前の段落の方法において、過剰増殖性細胞は癌細胞である。

【0499】

癌を治療するための方法の非限定的例は、有効量の、上記段落11～上記段落3の上記段落のいずれかの γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を、癌を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む。

10

【0500】

直前の段落の方法において、癌は、下記からなる群より選択される1つ以上であり得る：肺癌、膵臓癌、乳癌、卵巣癌、肺癌、前立腺がん、頭頸部癌、胃癌、胃腸癌、結腸癌、食道癌、子宮頸癌、腎臓癌、胆管癌、胆嚢癌、および血液系腫瘍。

【0501】

有効量の、上記段落13～上記段落5の上記段落のいずれかの γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を、癌療法を受けている、または受けたことがある被検体に投与することを含む、癌療法を受けているまたは受けたことがある被検体のための維持療法の非限定的例。

20

【0502】

医薬組成物の非限定的例はセクションIVのいずれかの γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を含み得る。

【0503】

免疫系の障害を治療する方法の非限定的例は、有効量の、上記段落14～上記段落6の上記段落のいずれかの γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を、免疫系の障害を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む得る。

【0504】

感染性疾患を治療する方法の非限定的例は、有効量の、上記段落15～上記段落7の上記段落のいずれかの γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を、感染性疾患を有するまたは有するリスクのある被験体に投与することを含む得る。

30

【0505】

γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を葉酸受容体をその表面に発現している腫瘍に送達する方法の非限定的例は、上記段落16～上記段落8の上記段落のいずれかのポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を、腫瘍を有する被検体に、治療的有效量の γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を腫瘍に送達する量で投与することを含む得る。

【0506】

上記段落17～上記段落9の上記段落のいずれかの γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を含む、リポソーム γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を調製する方法の非限定的例は、リポソーム成分；溶液中の γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含む混合物を形成すること；溶液中で混合物をホモジナイズしてリポソームを形成すること；および混合物を処理して、ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸を含有するリポソームを形成することを含む。

40

【0507】

医薬組成物の非限定的例は、上記段落18～上記段落10の上記段落のいずれかの γ ポリグルタミン酸化テトラヒドロ葉酸組成物を含む。

【0508】

本開示は、様々ないくつかの実施形態を基準にして説明してきたが、本開示の趣旨から逸脱することなく、種々の修正をなし得ることを理解されたい。従って、本発明の範囲は

50

、添付の特許請求の範囲、ならびに、このような特許請求の範囲が権利を受ける等価物の全範囲を基準として決定されるべきである。本出願の全体を通して、種々の刊行物が著者名および日付、または特許番号、特許公報番号により参照されている。これらの刊行物の開示は、本明細書で記載および請求される本発明の日付の時点での当業者により既知の現状技術をより完全に説明するために、参照によりその全体が本出願中に組み込まれる。しかし、本出願における文献の引用が、このような文献が本発明の先行技術であるということを承認するものと解釈されるべきではない。種々の新規化学物質、これらの化学物質を作製するための方法および装置は、下記の添付の特許請求の範囲に示される。

【0509】

発明の概要および要約セクションを除く、発明を実施するための形態のセクションは、特許請求の範囲を解釈するために使用されることが意図されていることを理解されたい。発明の概要および要約セクションは、本発明の全てではなく、1つ以上の本発明により意図されている例示的实施形態を記載し得るものであり、従って、本発明および添付特許請求の範囲を多少なりとも限定する意図はない。

【0510】

2/7/2018に出願された米国特許出願第62/627,732号；2/7/2018に出願された米国特許出願第62/627,733号；2/14/2018に出願された米国特許出願第62/630,613号；2/14/2018に出願された米国特許出願第62/630,620号；2/14/2018に出願された米国特許出願第62/630,625号；2/14/2018に出願された米国特許出願第62/630,652号；2/14/2018に出願された米国特許出願第62/630,751号；2/14/2018に出願された米国特許出願第62/630,824号；2/28/2018に出願された米国特許出願第62/636,289号；4/25/2018に出願された米国特許出願第62/662,372号；7/24/2018に出願された米国特許出願第62/702,774号；7/24/2018に出願された米国特許出願第62/702,779号；8/17/2018に出願された米国特許出願第62/764,945号；および8/17/2018に出願された米国特許出願第62/764,951号の各々の開示は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

10

20

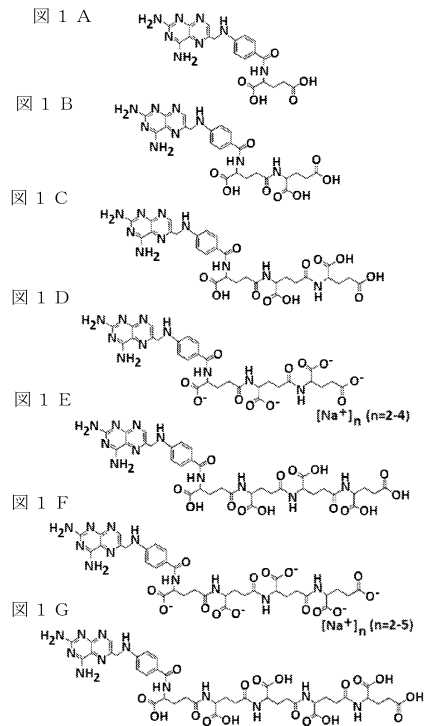
30

40

50

【図面】

【図 1 - 1】



【図 1 - 2】

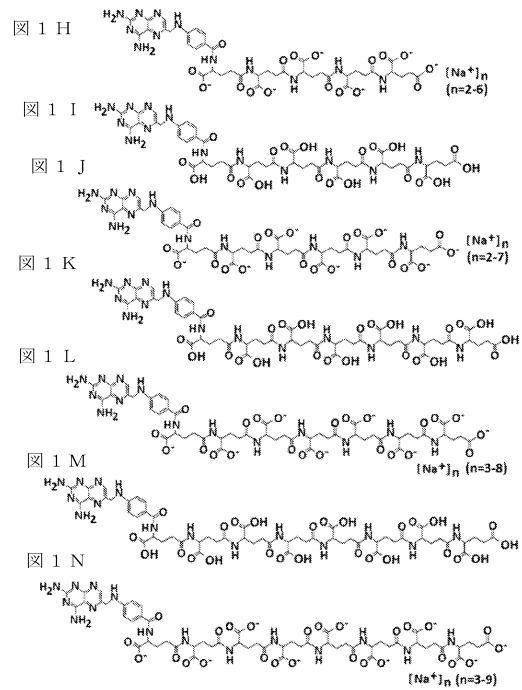


図 1 A - 5 - 10 メチレン THF

図 1 B - 1 N 例示的なポリグルタミン酸化 γ 5 - 10 メチレン THF 誘導体

【図 1 - 3】

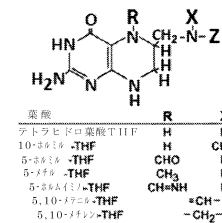
図 1 O

例示的な γ ポリグルタミン酸テトラヒドロ薬誘導体
 テトラヒドロ薬 THF - [グルタミン]_n,
 10-ホルミル-THF-[グルタミン]_n,
 5-ホルミル-THF-[グルタミン]_n,
 5-メチル-THF-[グルタミン]_n,
 5-ホルムイミノ-THF-[グルタミン]_n,
 5, 10-メチル-THF-[グルタミン]_n, および
 5, 10-メチレン-THF-[グルタミン]_n.

ここで、各グルタミン（同じ分子内のものであれば）は独立して、
 D-γ グルタミン、または
 L-γ グルタミンであってよく、
 n = 4, 5, 2-10, 4-6, または ≥ 5 である

図 1 P

例示的な γ ポリグルタミン酸テトラヒドロ薬誘導体

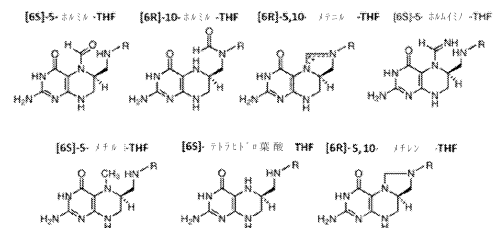


および n = 2, 3, 4, 5, 6, 7, 2-10, 4-6, または 5 超

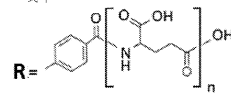
【図 1 - 4】

図 1 Q

例示的な γ ポリグルタミン酸テトラヒドロ薬誘導体



式 中



および n = 2, 3, 4, 5, 6, 7, 2-10, 4-6, または 5 超

10

20

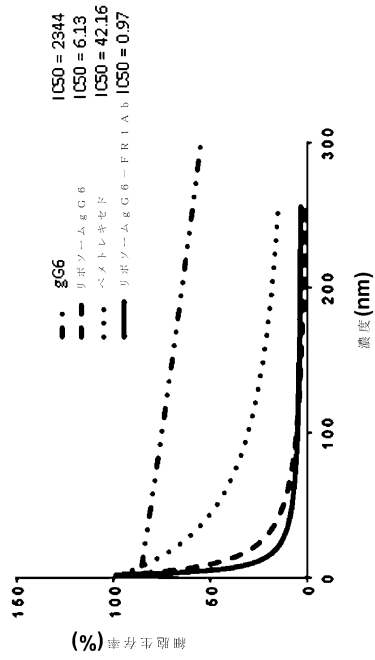
30

40

50

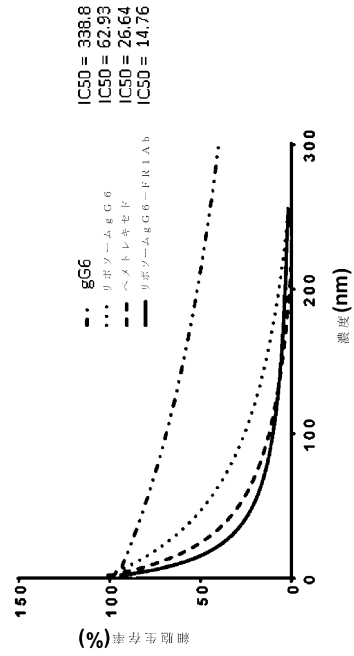
【図 2】

48時間でのNCI-H2342に対するヘキサグルタミン酸化ペメトレキセドの
用量応答曲線



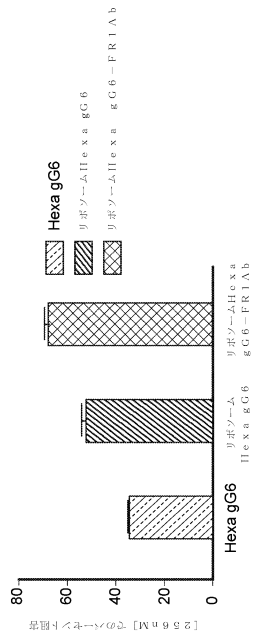
【図 3】

ヘキサグルタミン酸化ペメトレキセドのH29 (結腸癌)
に対する48時間での用量応答曲線



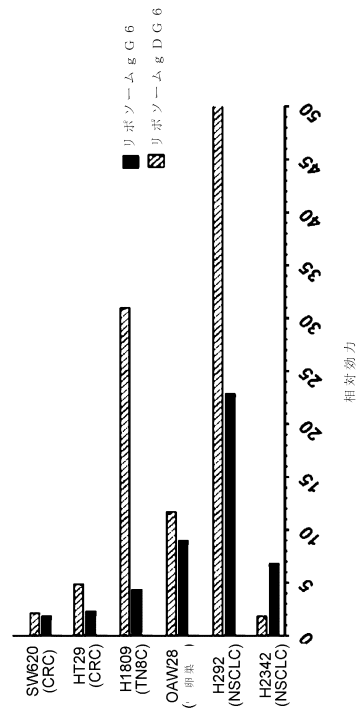
【図 4】

非標的化および標的化リポソームHexa gG6は、Hexa gG6の
結腸癌細胞 (SW260) 中への侵入を可能にする



【図 5】

48時間におたる細胞曝露後のペメトレキセドと比較した
ヘキサグルタミン酸化ペメトレキセド異性体の相対効力



10

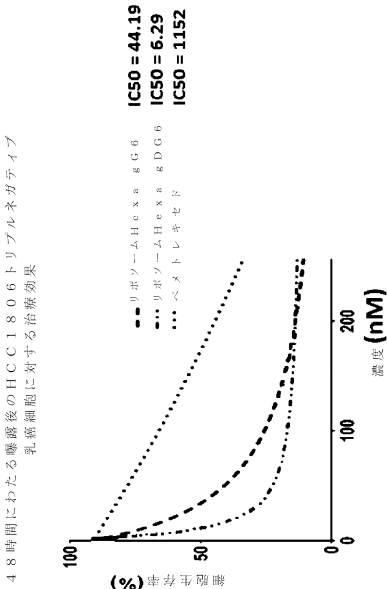
20

30

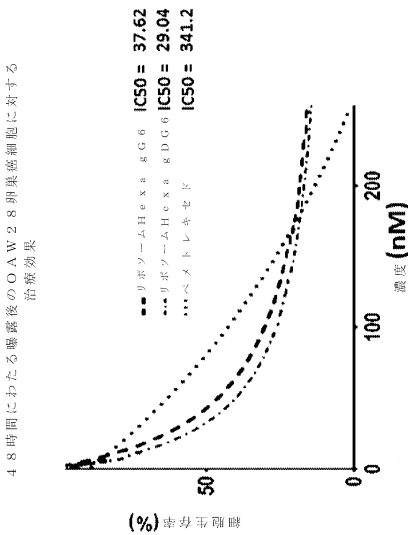
40

50

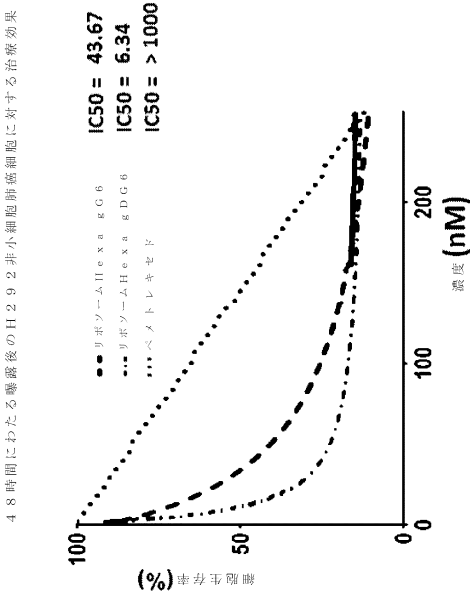
【図 6】



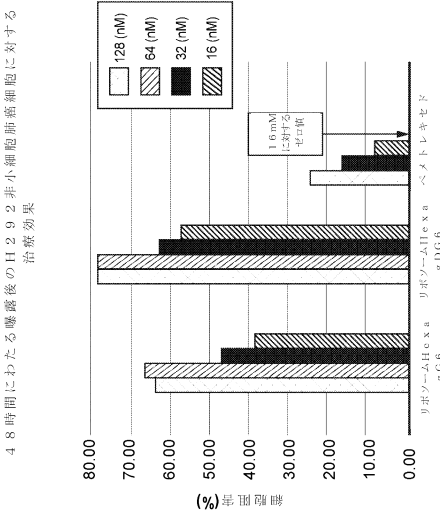
【図 7】



【図 8】



【図 9】



10

20

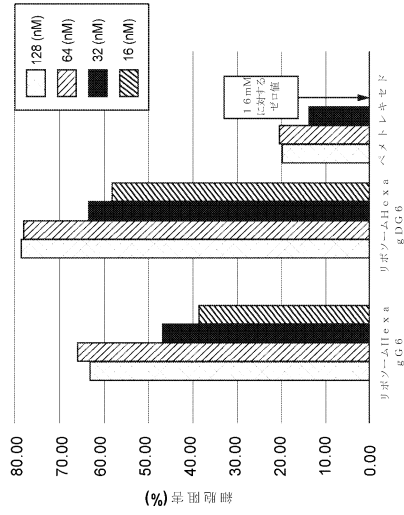
30

40

50

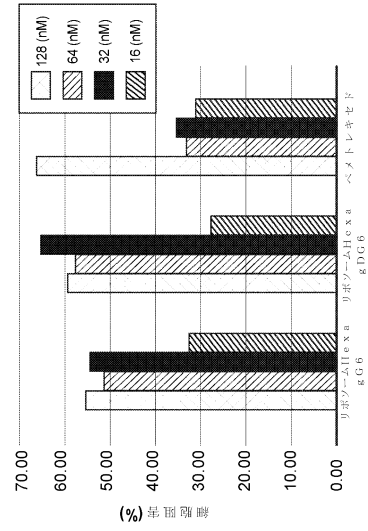
【図 10】

48時間にあたる曝露後のHCC1806トリプルネガティブ乳癌細胞



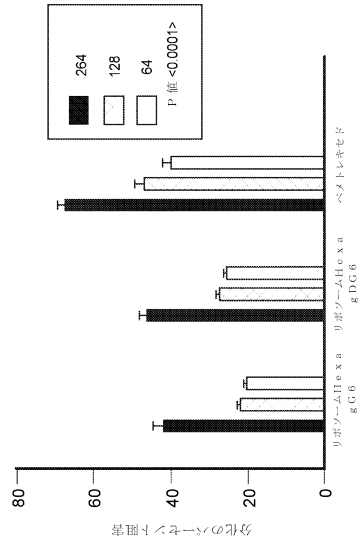
【図 11】

48時間にあたる曝露後のOAW28卵巣癌細胞に対する治療効果



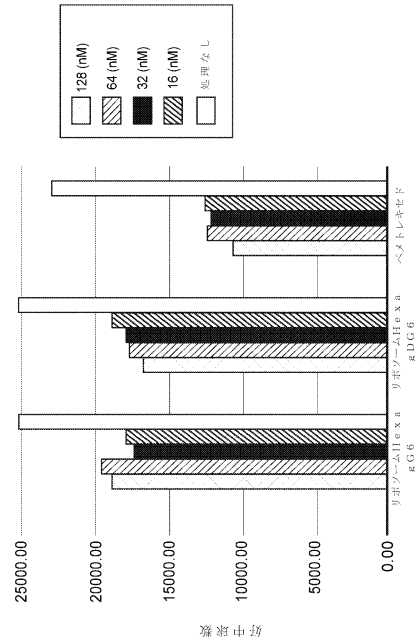
【図 12】

リボソーム阻害剤とベンチレータの曝露後の分化誘導効果は、有意に少ない毒性である



【図 13】

48時間にあたる曝露後の好中球に対する治療効果



10

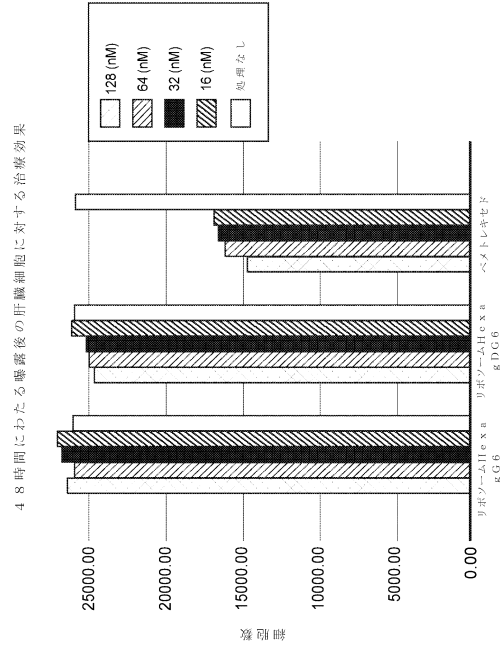
20

30

40

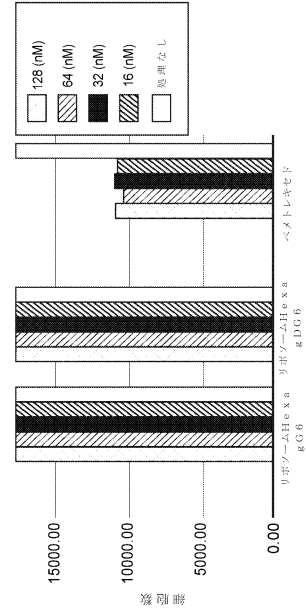
50

【図 1 4】



【図 1 5】

4.8時間におたる曝露後の上皮結腸細胞に対する治療効果

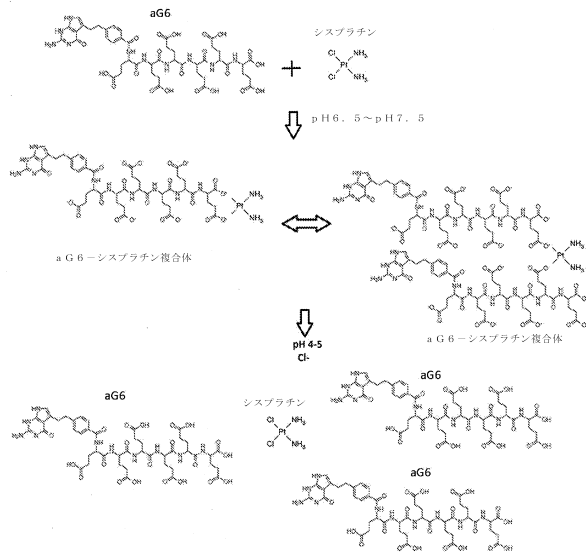


10

20

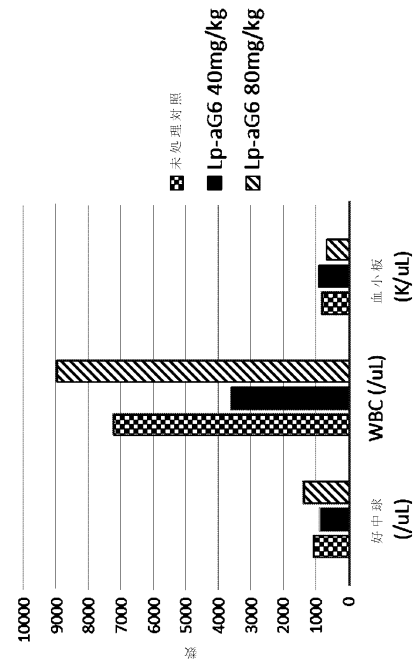
【図 1 6】

様々なpHでのaG6とシスプラチンの形成及び分解



【図 1 7】

リポソームaG6 (Lp-aG6) で週1回、4週間治療後の、BALB/cマウス中の平均好中球、白血球および血小板数

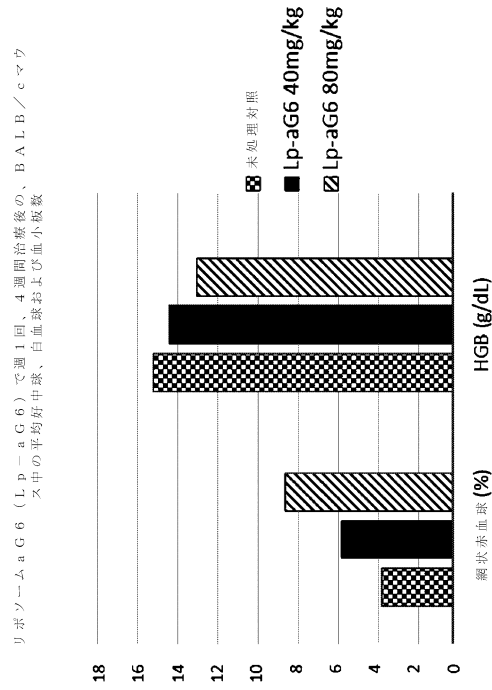


30

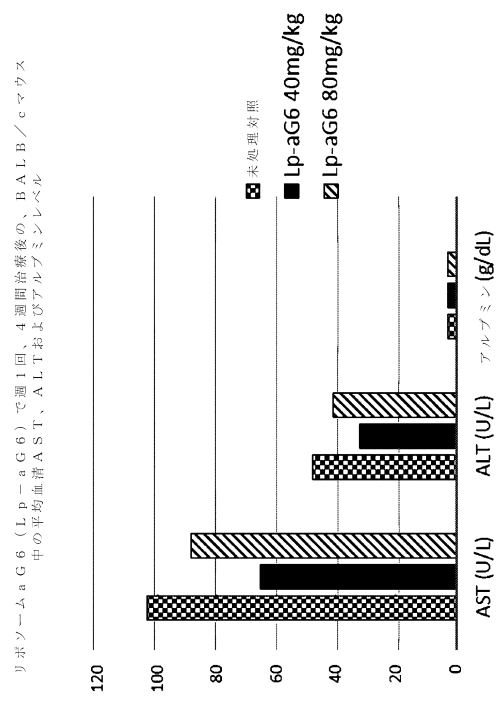
40

50

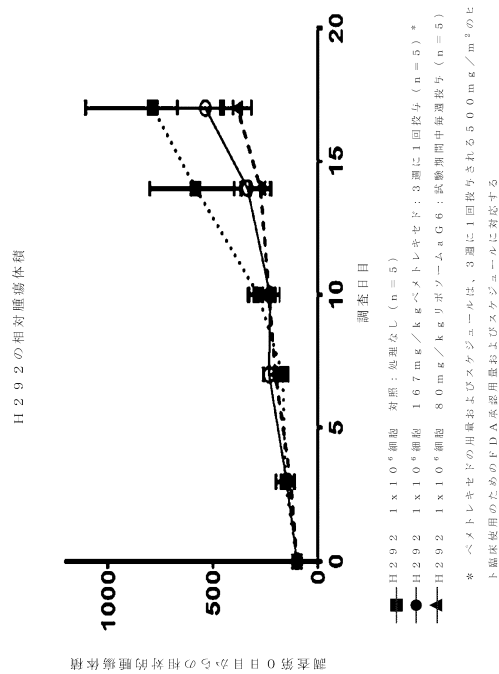
【図 18】



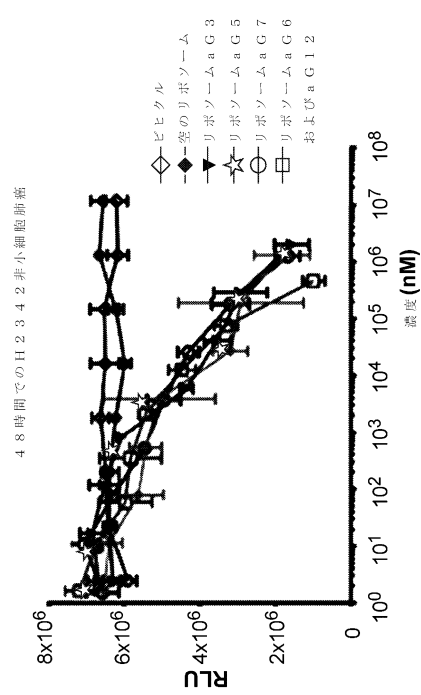
【図 19】



【図 20】



【図 21 A】



10

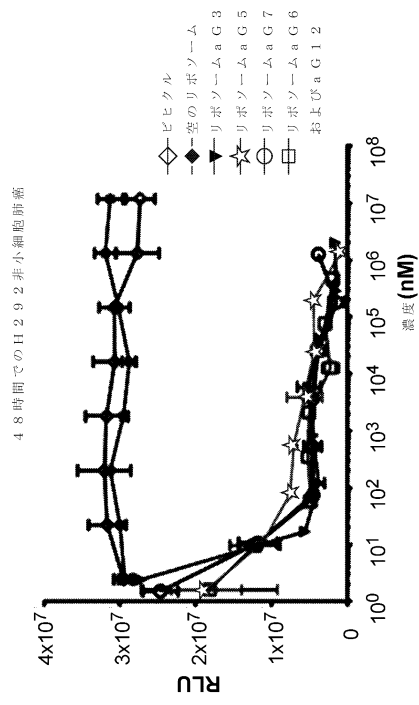
20

30

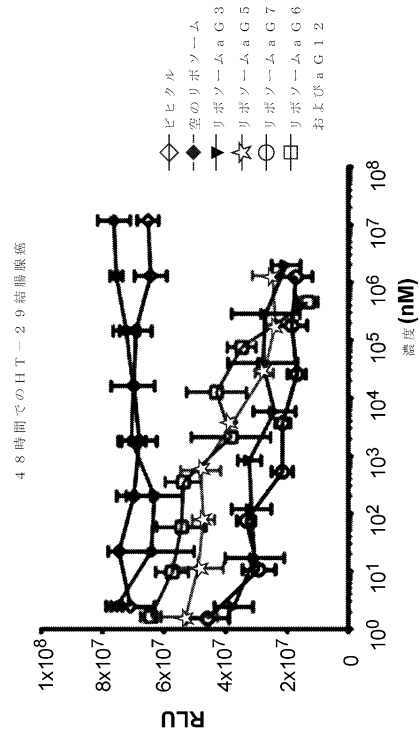
40

50

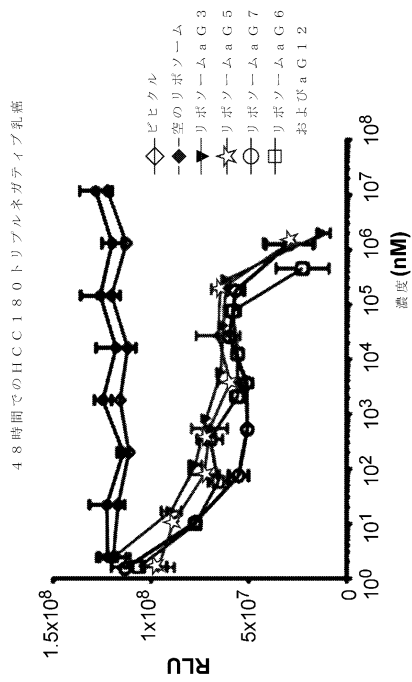
【図 2 1 B】



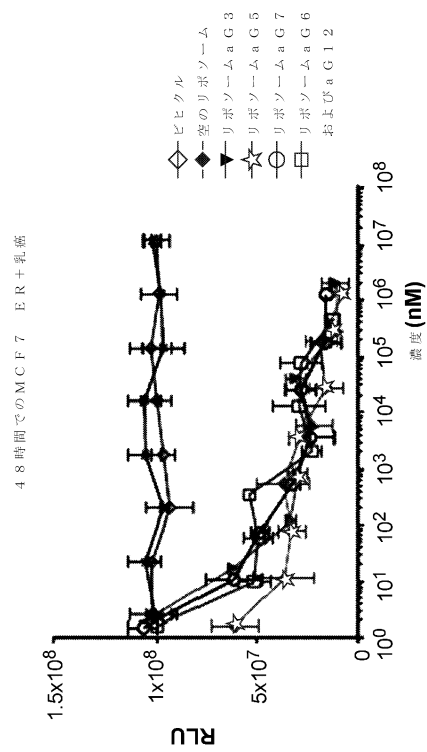
【図 2 1 C】



【図 2 1 D】



【図 2 1 E】



10

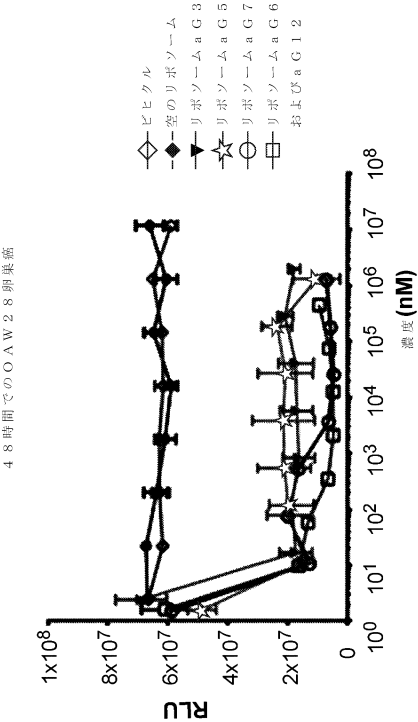
20

30

40

50

【図 2 1 F】



【配列表】

0007442822000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K	31/785 (2006.01)	A 6 1 K	31/785	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	47/02 (2006.01)	A 6 1 K	47/02	
A 6 1 K	47/10 (2017.01)	A 6 1 K	47/10	
A 6 1 K	47/22 (2006.01)	A 6 1 K	47/22	
A 6 1 K	47/24 (2006.01)	A 6 1 K	47/24	
A 6 1 K	47/26 (2006.01)	A 6 1 K	47/26	
A 6 1 K	47/28 (2006.01)	A 6 1 K	47/28	
A 6 1 K	47/32 (2006.01)	A 6 1 K	47/32	
A 6 1 K	47/34 (2017.01)	A 6 1 K	47/34	
A 6 1 K	47/36 (2006.01)	A 6 1 K	47/36	
A 6 1 K	47/42 (2017.01)	A 6 1 K	47/42	
A 6 1 K	47/64 (2017.01)	A 6 1 K	47/64	
A 6 1 P	1/00 (2006.01)	A 6 1 P	1/00	
A 6 1 P	1/04 (2006.01)	A 6 1 P	1/04	
A 6 1 P	3/00 (2006.01)	A 6 1 P	3/00	
A 6 1 P	3/06 (2006.01)	A 6 1 P	3/06	
A 6 1 P	7/00 (2006.01)	A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	
A 6 1 P	15/00 (2006.01)	A 6 1 P	15/00	
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P	17/00	
A 6 1 P	17/06 (2006.01)	A 6 1 P	17/06	
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 P	19/02	
A 6 1 P	21/00 (2006.01)	A 6 1 P	21/00	
A 6 1 P	29/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	31/00 (2006.01)	A 6 1 P	29/00	1 0 1
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	31/00	
A 6 1 P	35/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	37/02 (2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 P	37/02	
A 6 1 P	37/06 (2006.01)	A 6 1 P	37/04	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	37/06	
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
		C 1 2 N	15/12	Z N A

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/764,945

(32)優先日 平成30年8月17日(2018.8.17)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/662,372

(32)優先日 平成30年4月25日(2018.4.25)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(31)優先権主張番号 62/630,824

(32)優先日 平成30年2月14日(2018.2.14)

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

弁理士 三好 玲奈

(74)代理人 100191086

弁理士 高橋 香元

(72)発明者 ニイエキザ, クレト

-
- アメリカ合衆国，ペンシルベニア州 19428，ガルフ ミルズ，326 オーバーラック レーン
(72)発明者 モヨ，ヴィクター，マンドラ
アメリカ合衆国，ニュージャージー州 08551，リンゴーズ，2 ネスハニック ドライブ
審査官 春日 淳一
(56)参考文献 国際公開第2009/153575 (WO, A1)
特表2021-513533 (JP, A)
特表2017-526744 (JP, A)
特表2010-539135 (JP, A)
特表2015-504080 (JP, A)
特開2013-203710 (JP, A)
特表2014-506918 (JP, A)
Drug Resistance Updates, 2016年, Vol.28, p.43-64
(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)
A61K, A61P
CAplus/REGISTRY (STN)