

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7665540号  
(P7665540)

(45)発行日 令和7年4月21日(2025.4.21)

(24)登録日 令和7年4月11日(2025.4.11)

(51)国際特許分類		F I	
A 6 1 K	47/62 (2017.01)	A 6 1 K	47/62
A 6 1 K	47/60 (2017.01)	A 6 1 K	47/60
A 6 1 K	47/54 (2017.01)	A 6 1 K	47/54
A 6 1 K	45/08 (2006.01)	A 6 1 K	45/08
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
請求項の数 30 (全119頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-577297(P2021-577297)	(73)特許権者	521564467
(86)(22)出願日	令和2年6月26日(2020.6.26)		パイオーケストラ カンパニー, リミテッド
(65)公表番号	特表2022-538868(P2022-538868A)		大韓民国 3 4 1 4 1 テジョン, ユソン-グ, クァハク-ロ, 1 2 5, クリップ, ベンチャー-ドン, 2エフ-2 1 6
(43)公表日	令和4年9月6日(2022.9.6)	(74)代理人	100078282
(86)国際出願番号	PCT/IB2020/056093		弁理士 山本 秀策
(87)国際公開番号	WO2020/261227	(74)代理人	100113413
(87)国際公開日	令和2年12月30日(2020.12.30)		弁理士 森下 夏樹
審査請求日	令和5年6月21日(2023.6.21)	(74)代理人	100181674
(31)優先権主張番号	62/867,097		弁理士 飯田 貴敏
(32)優先日	令和1年6月26日(2019.6.26)	(74)代理人	100181641
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 石川 大輔
(31)優先権主張番号	63/043,693		
(32)優先日	令和2年6月24日(2020.6.24)		
最終頁に続く		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 ミセルナノ粒子及びその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

( i ) ポリエチレングリコール ( P E G ) を含む水溶性バイオポリマー部分、  
( i i ) 1 つ以上のリジンを含む正に荷電したキャリア部分、  
( i i i ) ビタミン B 3 を含むアジュバント部分、および  
( i v ) フェニルアラニンを含む標的化部分  
を含む、カチオン性キャリアユニットであって、  
前記標的化部分が水溶性ポリマーに連結され、  
前記水溶性バイオポリマー部分および前記正に荷電したキャリア部分が、直接、または二機能性リンカーを介して互いに結合され、  
前記 1 つ以上のリジンが ( a ) 前記アジュバント部分に共有結合性に連結された一部のリジンユニット ( 「 A M 連結リジンユニット 」 ) と ( b ) 正に荷電した一部のリジンユニットとを含み、  
各 A M 結合リジンユニットが、ビタミン B 3 ユニットの共有結合性に連結される、カチオン性キャリアユニット。

【請求項2】

複数の請求項1に記載のカチオン性キャリアユニットおよびアニオン性ペイロードを含むミセルであって、前記正に荷電したキャリア部分および前記アニオン性ペイロードが共有結合、非共有結合またはイオン結合を介して互いに会合している、ミセル。

【請求項3】

前記複数のカチオン性キャリアユニットの前記正に荷電したキャリア部分および前記アニオン性ペイロードが共有結合を介して互いに会合している、請求項 2 に記載のミセル。

【請求項 4】

前記複数のカチオン性キャリアユニットの前記正に荷電したキャリア部分および前記アニオン性ペイロードがイオン結合を介して互いに会合している、請求項 2 に記載のミセル。

【請求項 5】

前記ミセルにおけるカチオン性キャリア部分の正電荷および前記アニオン性ペイロードの負電荷が、約 3 : 1 ~ 約 1 : 3 の電荷比率である、請求項 2 に記載のミセル。

【請求項 6】

前記ミセルにおけるカチオン性キャリア部分の正電荷および前記アニオン性ペイロードの負電荷が、約 1 : 1 の電荷比率である、請求項 5 に記載のミセル。

10

【請求項 7】

前記ミセルにおけるカチオン性キャリア部分の正電荷および前記アニオン性ペイロードの負電荷が、約 1 : 2 または 2 : 1 の電荷比率である、請求項 5 に記載のミセル。

【請求項 8】

前記アニオン性ペイロードが、メッセンジャーリボ核酸 (mRNA)、マイクロ RNA (miRNA)、miRNA スポンジ、タフデコイ miRNA、antimir、低分子 RNA、rRNA、低分子干渉 RNA (siRNA)、短鎖ヘアピン RNA (shRNA)、ゲノムデオキシリボ核酸 (gDNA)、相補的 (cDNA)、プラスミド (pDNA)、ペプチド核酸 (PNA)、架橋化核酸 (BNA)、アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO)、アプタマー、環状ジヌクレオチドまたはそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される核酸を含む、請求項 7 に記載のミセル。

20

【請求項 9】

前記アニオン性ペイロードが、アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO) を含む、請求項 8 に記載のミセル。

【請求項 10】

前記アニオン性ペイロードが、siRNA を含む、請求項 8 に記載のミセル。

【請求項 11】

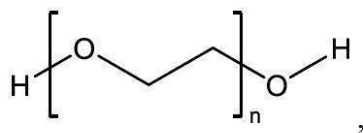
前記核酸が、5 ~ 30 ヌクレオチド長を有するヌクレオチド配列を含む、請求項 8 に記載のミセル。

30

【請求項 12】

前記水溶性バイオポリマー部分が、構造

【化 101】



(式中、n は 1 ~ 1000 である)

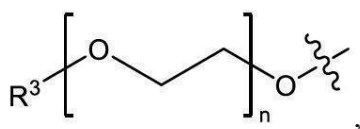
40

を含む、請求項 2 に記載のミセル。

【請求項 13】

前記水溶性バイオポリマー部分が、構造

【化 102】



50

(式中、 $R^3$  は水素、メチル、またはエチルであり、 $n$  は 2 ~ 200 である)  
を含む、請求項 2 に記載のミセル。

【請求項 14】

$n$  が約 80 ~ 約 90、約 90 ~ 約 100、約 100 ~ 約 110、約 110 ~ 約 120、約 120 ~ 約 130、約 130 ~ 約 140、約 140 ~ 約 150 または約 150 ~ 約 160 である、請求項 12 または 13 に記載のミセル。

【請求項 15】

前記水溶性バイオポリマー部分が、約 100 ~ 約 150 のエチレングリコール単位を含む、請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセル。

【請求項 16】

前記正に荷電したキャリア部分が約 30 ~ 約 1000 のリジンを含む、請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセル。

【請求項 17】

前記正に荷電したキャリア部分が約 30、約 40、約 50、約 60、約 70 または約 80 のリジンを含む、請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセル。

【請求項 18】

前記アジュバント部分が、前記正に荷電したキャリア部分に沿って 1 以上の位置で結合されている、請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセル。

【請求項 19】

前記アジュバント部分が、少なくとも 10 のビタミン B3 を含む、請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセル。

【請求項 20】

前記アジュバント部分が、20 ~ 40 のビタミン B3 を含む、請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセル。

【請求項 21】

(a) 前記水溶性ポリマーが約 40 ~ 約 1000 のエチレングリコール単位を含み、  
(b) 前記カチオン性キャリア部分が約 3 ~ 約 100 のリジンを含み、  
(c) 前記アジュバント部分が 1 ~ 100 のビタミン B3 を含む、  
請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセル。

【請求項 22】

(a) 前記水溶性ポリマーが約 40、100、150、200、300、400、500、600、700、800、900 または 1000 のエチレングリコール単位を含み、  
(b) 前記カチオン性キャリア部分が約 3、10、20、30、40、50、60、70、80、90 または 100 のリジンを含み、  
(c) 前記アジュバント部分が約 1、5、10、20、30、40、50、60、70、80、90 または 100 のビタミン B3 を含む、  
請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセル。

【請求項 23】

(a) 前記水溶性ポリマーが約 100 ~ 約 120 のエチレングリコール単位を含み、  
(b) 前記カチオン性キャリア部分が約 30 ~ 約 40 のリジンを含み、  
(c) 前記アジュバント部分が約 5 ~ 約 10 のビタミン B3 を含む、  
請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセル。

【請求項 24】

(a) 前記水溶性ポリマーが約 120 ~ 約 130 のエチレングリコール単位を含み、  
(b) 前記カチオン性キャリア部分が約 70 ~ 約 90 のリジンを含み、  
(c) 前記アジュバント部分が約 20 ~ 約 40 のビタミン B3 を含む、  
請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセル。

【請求項 25】

前記ミセルの前記直径が 40 nm ~ 70 nm の間である、請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセル。

10

20

30

40

50

**【請求項 26】**

請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセルおよび薬学的に許容されるキャリアを含む医薬組成物。

**【請求項 27】**

請求項 2 ~ 13 のいずれか一項に記載のミセルを含む、疾患または状態の処置のための組成物。

**【請求項 28】**

前記疾患が、神経膠腫、乳癌、膵臓癌、肝臓癌、皮膚癌、および子宮頸癌から選択されるがんである、請求項 27 に記載の組成物。

**【請求項 29】**

前記疾患が神経変性疾患である、請求項 27 に記載の組成物。

**【請求項 30】**

前記疾患がアルツハイマー病であり、前記ミセルがアミロイドブラーク負荷を低減する、請求項 27 に記載の組成物。

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

電子的に提出された配列表の参照

本出願とともに提出された ASCII テキストファイル（名称「4366\_\_002PC02\_\_SeqListing\_\_ST25」、サイズ：5,392 バイト、及び作成日付：2020 年 6 月 26 日）の電子的に提出された配列表の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

**【0002】**

分野

本開示は、生理学的透過障壁（例えば、血液脳関門）を通してアニオン性ペイロード（例えば、オリゴヌクレオチド）を送達するために使用され得る、カチオン性キャリアユニット及びミセルシステムを提供する。

**【背景技術】****【0003】**

身体には、膜を通した薬物の透過性を制限するある特定の障壁が存在する。したがって、特定の物質のみが、この種の膜を通過することができる。重要及び特殊な生理学的障壁の中には、血液脳関門及び細胞膜がある。血液脳関門（BBB）は、中枢神経系（CNS）において脳及び細胞外液から循環血液を分離する非常に選択的な半透性の境界である。血液脳関門は、毛細血管壁の内皮細胞、毛細血管を覆っているアストロサイト終足、及び毛細血管基底膜に埋め込まれた周皮細胞により形成される。このシステムは、受動拡散による水、一部の気体、及び脂溶性分子の通過、ならびに神経機能に重要なグルコース及びアミノ酸などの分子の選択的輸送を可能にする。

**【0004】**

血液脳関門は、脳脊髄液（CSF）への病原体の通過、血液中の溶質、及び大きな分子または親水性分子の拡散を制限する一方で、O<sub>2</sub>、CO<sub>2</sub>、疎水性分子（例えば、ホルモン）、及び小さな極性分子の拡散を可能にする（Johansen et al., (2017) Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism. Epub (4): 659 - 668）。BBB は、大分子神経治療薬のうちのほぼ 100% 及びすべての分子薬物のうちの 98% 超を脳から排除する。Daneman & Prat (2015) "The Blood Brain Barrier" Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 7(1): a020412。脳の特定の領域に治療薬を送達する困難を克服することは、ほとんどの脳障害の処置にとって主要な課題となる。したがって、BBB がなければ診断及び治療に効果的であり得る治療用分子は、適当量で BBB を通過しない。

**【0005】**

10

20

30

40

50

多くの場合、細胞内標的化も、外来性分子が細胞質ゾルに到達するために、最初に細胞膜を横切らなければならないため、困難である。細胞膜は、脂溶性であり、細胞膜を通過することができる非極性治療薬に対して選択的に透過性である。一方で、オリゴヌクレオチドなどの高度に荷電した治療薬は、細胞膜により効果的に排除される。

#### 【0006】

ポリヌクレオチドは、負に荷電した膜とポリヌクレオチドの高負電荷との間の電荷反発により容易に細胞膜を透過しない。結果として、ポリヌクレオチドは、生体利用効率が悪く、細胞への取り込みが乏しい（典型的に1%未満）（Dheur et al, Nucleic Acid Drug Dev., 9:522 (1999); Park et al, J Controlled Release, 93:188 (2003)）。一般にほとんどのポリヌクレオチドは5,000Daを越えるため、それらは容易に細胞膜を通して拡散できず、細胞への取り込みは主にピノサイトーシスまたはエンドサイトーシスプロセスに限定される。一旦細胞内に入ると、ポリヌクレオチドはリソソーム区画に蓄積し得、それらの細胞質または核への到達は限定される。非経口的投与されたポリヌクレオチドは、細胞質の内部及び外部の両方のヌクレアーゼによる急速な分解にも非常に感受性がある。研究により、静脈内投与後の血中ポリヌクレオチドの約30分の半減期での急速な分解が示されている（Geary et al, J. Pharmacol. Exp. Ther., 296:890-897 (2001)）。

#### 【0007】

したがって、ポリヌクレオチド、例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドの送達が直面している問題は、大まかに2つの部分に分けられ得る。第1に、治療用ポリヌクレオチドは、細胞質に送達され得るように製剤化されなければならない。第2に、インタクト及び十分に機能的なポリヌクレオチドが細胞核に到達しなければならない。オリゴヌクレオチド及びオリゴヌクレオチド類似体の治療薬としての適用における進歩にもかかわらず、改善された薬理学的特性、例えば、血清安定性、正しい器官、組織、または細胞への送達、及び膜透過送達を提供する送達システムの必要性が存在する。

核酸及びオリゴヌクレオチドの膜透過送達を改善することを目的とする試みは、タンパク質キャリア、抗体キャリア、リポソーム送達システム、エレクトロポレーション、直接注入、細胞融合、ウイルスベクター、及びリン酸カルシウム媒介形質転換を利用してきた。しかしながら、これらの技術のうちの多数は、膜透過輸送が使用可能である細胞の種類及びかかる輸送を達成するのに必要な条件により制限される。したがって、荷電した治療薬（例えば、antimiRなどのアンチセンスオリゴヌクレオチド）を、特定の標的細胞または組織に、及び透過障壁（例えば、形質膜またはBBB）を横切って選択的に誘導することができるとともに、血清安定性及び/または内因性分解酵素（例えば、RNAアーゼ）に対する耐性を改善する送達システムの必要性が存在する。

#### 【先行技術文献】

#### 【非特許文献】

#### 【0008】

【文献】Johansen et al., (2017) Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism. Epub (4): 659-668

【文献】Daneman & Prat (2015) "The Blood Brain Barrier" Cold Spring Harbor Perspectives in Biology 7(1): a020412

【文献】Dheur et al, Nucleic Acid Drug Dev., 9: 522 (1999)

#### 【発明の概要】

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0009】

本開示は、次式を含むカチオン性キャリアユニットであって、

10

20

30

40

50

[ W P ] - L 1 - [ C C ] - L 2 - [ A M ] ( 図式 I )

または

[ W P ] - L 1 - [ A M ] - L 2 - [ C C ] ( 図式 I I )

式中、

W P は、水溶性バイオポリマー部分であり、

C C は、正に荷電したキャリア部分であり、

A M は、アジュバント部分であり、

L 1 及び L 2 は、独立して、任意選択のリンカーであり、

約 1 : 1 のイオン比率で核酸と混合される場合、カチオン性キャリアユニットがミセルを形成する、

10

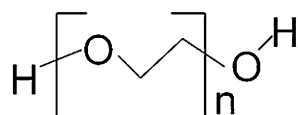
カチオン性キャリアユニットを提供する。

【 0 0 1 0 】

いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、ポリ(アルキレングリコール)、ポリ(オキシエチル化ポリオール)、ポリ(オレフィンアルコール)、ポリ(ビニルピロリドン)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリルアミド)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリレート)、ポリ(サッカライド)、ポリ( - ヒドロキシ酸)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリグリセロール、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン(「 P O Z 」)、ポリ(N-アクリロイルモルホリン)、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、ポリエチレングリコール(「 P E G 」)、ポリグリセロール、またはポリ(プロピレングリコール)(「 P P G 」)を含む。いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、次式を含み、

20

【 化 1 】



30

式中、nは、1 ~ 1 0 0 0 である。

【 0 0 1 1 】

いくつかの態様では、nは、少なくとも約 1 1 0、少なくとも約 1 1 1、少なくとも約 1 1 2、少なくとも約 1 1 3、少なくとも約 1 1 4、少なくとも約 1 1 5、少なくとも約 1 1 6、少なくとも約 1 1 7、少なくとも約 1 1 8、少なくとも約 1 1 9、少なくとも約 1 2 0、少なくとも約 1 2 1、少なくとも約 1 2 2、少なくとも約 1 2 3、少なくとも約 1 2 4、少なくとも約 1 2 5、少なくとも約 1 2 6、少なくとも約 1 2 7、少なくとも約 1 2 8、少なくとも約 1 2 9、少なくとも約 1 3 0、少なくとも約 1 3 1、少なくとも約 1 3 2、少なくとも約 1 3 3、少なくとも約 1 3 4、少なくとも約 1 3 5、少なくとも約 1 3 6、少なくとも約 1 3 7、少なくとも約 1 3 8、少なくとも約 1 3 9、少なくとも約 1 4 0、または少なくとも約 1 4 1 である。いくつかの態様では、nは、約 8 0 ~ 約 9 0、約 9 0 ~ 約 1 0 0、約 1 0 0 ~ 約 1 1 0、約 1 1 0 ~ 約 1 2 0、約 1 2 0 ~ 約 1 3 0、約 1 4 0 ~ 約 1 5 0、または約 1 5 0 ~ 約 1 6 0 である。

40

【 0 0 1 2 】

いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、直鎖状、分枝鎖状、または樹枝状である。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、1つ以上の塩基性アミノ酸を含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7、少なくとも8つ、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも

50

15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、少なくとも25、少なくとも26、少なくとも27、少なくとも28、少なくとも29、少なくとも30、少なくとも31、少なくとも32、少なくとも33、少なくとも34、少なくとも35、少なくとも36、少なくとも37、少なくとも38、少なくとも39、少なくとも40、少なくとも41、少なくとも42、少なくとも43、少なくとも44、少なくとも45、少なくとも46、少なくとも47、少なくとも48、少なくとも49、または少なくとも50の塩基性アミノ酸を含む。

【0013】

いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、約30～約50の塩基性アミノ酸を含む。いくつかの態様では、塩基性アミノ酸は、アルギニン、リジン、ヒスチジン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、約40のリジンモノマーを含む。

10

【0014】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、免疫反応、炎症反応、または組織微小環境を調節することができる。いくつかの態様では、アジュバント部分は、免疫反応を調節することができる。いくつかの態様では、アジュバント部分は、腫瘍を有する対象における腫瘍微小環境を調節することができる。

【0015】

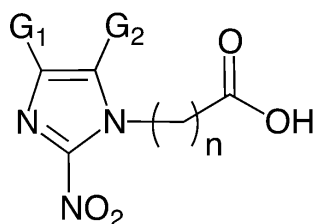
いくつかの態様では、アジュバント部分は、腫瘍微小環境における低酸素状態を阻害または低減することができる。いくつかの態様では、アジュバント部分は、イミダゾール誘導体、アミノ酸、ビタミン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

20

【0016】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、次式を含み、

【化2】



30

式中、

(i)  $G_1$  及び  $G_2$  の各々は、H、芳香環、もしくは1～10アルキルから独立して選択されるか、または

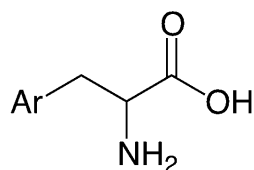
(ii)  $G_1$  及び  $G_2$  は、ともに芳香環を形成し、  
 $n$  は、1～10である。

40

【0017】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、ニトロイミダゾールを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、メトロニダゾール、チニダゾール、ニモラゾール、ジメトリダゾール、プレトマニド、オルニダゾール、メガゾール、アザニダゾール、ベンズニダゾール、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、アミノ酸を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、次式を含み、

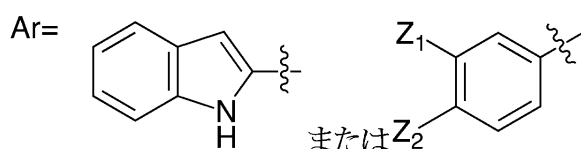
## 【化 3】



10

式中、A r が、

## 【化 4】



20

であり、

Z<sub>1</sub> 及び Z<sub>2</sub> の各々は、H 及び OH から独立して選択される。

## 【0018】

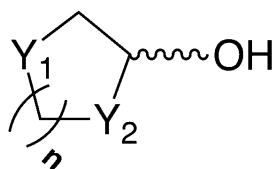
いくつかの態様では、アジュバント部分は、炎症反応を阻害または低減することができる。いくつかの態様では、アジュバント部分は、ビタミンである。いくつかの態様では、ビタミンは、環式環 (cyclic ring) または環式ヘテロ原子環 (cyclic hetero atom ring) 及びカルボキシル基またはヒドロキシル基を含む。

## 【0019】

いくつかの態様では、ビタミンは、次式を含み、

30

## 【化 5】



40

式中、Y<sub>1</sub> 及び Y<sub>2</sub> の各々は、C、N、O、ならびに S から独立して選択され、n は、1 または 2 である。

## 【0020】

いくつかの態様では、ビタミンは、ビタミン A、ビタミン B<sub>1</sub>、ビタミン B<sub>2</sub>、ビタミン B<sub>3</sub>、ビタミン B<sub>6</sub>、ビタミン B<sub>7</sub>、ビタミン B<sub>9</sub>、ビタミン B<sub>12</sub>、ビタミン C、ビタミン D<sub>2</sub>、ビタミン D<sub>3</sub>、ビタミン E、ビタミン M、ビタミン H、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。いくつかの態様では、ビタミンは、ビタミン B<sub>3</sub> である。

## 【0021】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、少なくとも約 2 つ、少なくとも約 3 つ、少

50



なくとも約 4 つ、少なくとも約 5 つ、少なくとも約 6 つ、少なくとも約 7 つ、少なくとも約 8 つ、少なくとも約 9 つ、少なくとも約 10、少なくとも約 11、少なくとも約 12、少なくとも約 13、少なくとも約 14、少なくとも約 15、少なくとも約 16、少なくとも約 17、少なくとも約 18、少なくとも約 19、または少なくとも約 20 のビタミン B3 ユニットを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、少なくとも約 25、少なくとも約 30、少なくとも約 35、少なくとも約 40、少なくとも約 45、または少なくとも約 50 のビタミン B3 ユニットを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 10 のビタミン B3 ユニットを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 20 のビタミン B3 ユニットを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 30 のビタミン B3 ユニットを含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 40 のビタミン B3 ユニットを含む。

10

#### 【0022】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、約 120 ~ 約 130 の PEG ユニットを有する水溶性バイオポリマー部分、約 30 ~ 約 40 のリジンユニットを有するポリリジンを含むカチオン性キャリア部分、及び約 5 ~ 約 10 のビタミン B3 ユニットを有するアジュバント部分を含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、イオン結合によりカチオン性キャリアユニットと相互作用するアニオン性ペイロードをさらに含む。

#### 【0023】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、約 120 ~ 約 130 の PEG ユニットを有する水溶性バイオポリマー部分、約 70 ~ 約 90 のリジンユニット、例えば、約 80 のリジンユニットを有するポリリジンを含むカチオン性キャリア部分、及び約 20 ~ 約 40 のビタミン B3 ユニット、例えば、約 30 のビタミン B3 ユニットを有するアジュバント部分を含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、イオン結合によりカチオン性キャリアユニットと相互作用するアニオン性ペイロードをさらに含む。

20

#### 【0024】

本開示は、本明細書において開示されるカチオン性キャリアユニット及びアニオン性ペイロードを含むミセルミセルも提供し、カチオン性キャリア複合体のカチオン性キャリア部分及びアニオン性ペイロードが互いに会合している。いくつかの態様では、会合は、共有結合である。他の態様では、会合は、非共有結合である。いくつかの態様では、会合は、イオン結合である。

30

#### 【0025】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分の正電荷は、溶液中でアニオン性ペイロードと混合される場合に、ミセルを形成するのに十分であり、ここで、溶液中のカチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分の正電荷及びアニオン性ペイロードの負電荷の全体的イオン比率は、約 1 : 1 である。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、DNアーゼ及び/またはRNアーゼによる分解からアニオン性ペイロードを保護することができる。いくつかの態様では、アニオン性ペイロードは、共有結合によりカチオン性キャリアユニットにコンジュゲートされていない、及び/またはアニオン性ペイロードは、イオン相互作用によってのみカチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分と相互作用する。

40

#### 【0026】

いくつかの態様では、アニオン性ペイロードの半減期は、ミセルに取り込まれていない遊離アニオン性ペイロードの半減期と比較して延長される。いくつかの態様では、ミセルにおけるカチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分の正電荷及びアニオン性ペイロードの負電荷は、約 3 : 1、約 2.9 : 1、約 2.8 : 1、約 2.7 : 1、約 2.6 : 1、約 2.5 : 1、約 2.4 : 1、約 2.3 : 1、約 2.2 : 1、約 2 : 1、約 2 : 1、約 1.9 : 1、約 1.8 : 1、約 1.7 : 1、約 1.6 : 1、約 1.5 : 1、約 1.4 : 1、約 1.3 : 1、約 1.2 : 1、約 1.1 : 1、約 1 : 1、約 1 : 1、約 1 : 1、約 1 : 1.2、約 1 : 1.3、約 1 : 1.4、約 1 : 1.5、約 1 : 1.6、約 1 : 1.7、約

50

1 : 1 . 8、約 1 : 1 . 9、約 1 : 2、約 1 : 2 . 1、約 1 : 2 . 2、約 1 : 2 . 3、約 1 : 2 . 4、約 1 : 2 . 5、約 1 : 2 . 6、約 1 : 2 . 7、約 1 : 2 . 8。約 1 : 2 . 9、または約 1 : 3 のイオン比率である。いくつかの態様では、ミセルにおけるカチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分の正電荷及びアニオン性ペイロードの負電荷は、約 3 : 1 ~ 約 1 : 3 のイオン比率である。いくつかの態様では、ミセルにおけるカチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分の正電荷及びアニオン性ペイロードの負電荷は、1 : 1 の電荷比率である。いくつかの態様では、ミセルの直径は、約 1 nm ~ 100 nm、約 10 nm ~ 約 100 nm、約 10 nm ~ 約 90 nm、約 10 nm ~ 約 80 nm、約 10 nm ~ 約 70 nm、約 20 nm ~ 約 100 nm、約 20 nm ~ 約 90 nm、約 20 nm ~ 約 80 nm、約 20 nm ~ 約 70 nm、約 30 nm ~ 約 100 nm、約 30 nm ~ 約 90 nm、約 30 nm ~ 約 80 nm、約 30 nm ~ 約 70 nm、約 40 nm ~ 約 100 nm、約 40 nm ~ 約 90 nm、約 40 nm ~ 約 80 nm、または約 40 nm ~ 約 70 nm である。

10

#### 【0027】

いくつかの態様では、アニオン性ペイロードは、核酸を含む。いくつかの態様では、核酸は、mRNA、miRNA、miRNA スポンジ、タフデコイ miRNA、antimiR、低分子 RNA、rRNA、siRNA、shRNA、gDNA、cDNA、pDNA、PNA、BNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド (ASO)、アプタマー、環状ジヌクレオチド、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、核酸は、少なくとも 1 つのヌクレオシドアナログを含む。いくつかの態様では、ヌクレオシドアナログは、ロックド核酸 (LNA) ; 2' - O - アルキル RNA ; 2' - アミノ DNA ; 2' - フルオロ DNA ; アラビノ核酸 (ANA) ; 2' - フルオロ ANA、ヘキシトール核酸 (HNA)、インターカレーティング核酸 (INA)、拘束エチルヌクレオシド (cEt)、2' - O - メチル核酸 (2' - OMe)、2' - O - メトキシエチル核酸 (2' - MOE)、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

20

#### 【0028】

いくつかの態様では、核酸は、5 ~ 30 ヌクレオチド長を有するヌクレオチド配列を含む。いくつかの態様では、ヌクレオチド配列は、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、または 26 ヌクレオチド長である。いくつかの態様では、ヌクレオチド配列は、ホスホジエステル結合、リン酸トリエステル結合、メチルホスホン酸結合、ホスホロアミダート結合、ホスホロチオエート結合、及びそれらの組み合わせを含む骨格を有する。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、任意選択的にリンカーにより水溶性ポリマーに連結されている標的化部分をさらに含む。

30

#### 【0029】

いくつかの態様では、標的化部分は、組織を標的とすることができる。いくつかの態様では、組織は、肝臓、脳、腎臓、肺、卵巣、脾臓、甲状腺、胸部、胃、またはそれらの任意の組み合わせである。いくつかの態様では、組織は、がん組織である。いくつかの態様では、組織は、肝臓である。いくつかの態様では、肝臓標的化部分は、コレステロールを含む。いくつかの態様では、組織は、脾臓である。いくつかの態様では、脾臓標的化部分は、インテグリン受容体に結合するリガンドを含む。

40

#### 【0030】

いくつかの態様では、標的化部分は、中枢神経系を標的とする。いくつかの態様では、脳標的化部分は、大型中性アミノ酸輸送体 1 (LAT1) により輸送されることができる。いくつかの態様では、脳標的化部分は、アミノ酸である。いくつかの態様では、脳標的化部分は、分枝鎖または芳香族アミノ酸を含む。いくつかの態様では、アミノ酸は、バリン、ロイシン、及び/またはイソロイシンである。いくつかの態様では、アミノ酸は、トリプトファン及び/またはチロシンである。

#### 【0031】

本開示は、本明細書において開示されるカチオン性キャリアユニット及び負に荷電した

50

分子を含む組成物も提供する。本明細書において開示されるカチオン性キャリアユニット、組成物、またはミセル、及び薬学的に許容されるキャリアを含む医薬組成物も提供される。

【0032】

本開示は、カチオン性キャリアユニットを合成することを含む、本明細書において開示されるカチオン性キャリアユニットを調製する方法も提供する。いくつかの態様では、本明細書において開示されるミセルを調製する方法は、溶液中でカチオン性キャリアユニットを負に荷電した分子と、1:1のイオン比率で混合することを含む。いくつかの態様では、本方法は、ミセルを精製することをさらに含む。

【0033】

本開示は、疾患または状態を処置する必要がある対象の疾患または状態を処置する方法も提供し、当該方法は、対象に本開示のミセルを投与することを含む。いくつかの態様では、ミセルの核のアニオン性ペイロードは、ミセルに組み込まれていない対応するアニオン性ペイロードより長い半減期を示す。いくつかの態様では、対象は、哺乳動物である。

【0034】

本開示は、がんを処置する必要がある対象のがんを処置する方法も提供し、当該方法は、治療上有効量の本明細書において開示されるミセルを対象に投与することを含む。いくつかの態様では、がんは、神経膠腫、乳癌、膵臓癌、肝臓癌、皮膚癌、または子宮頸癌である。いくつかの態様では、膵臓癌は、膵臓腺癌である。

【0035】

本開示は、神経変性疾患に罹患している対象における炎症を低減する方法も提供し、当該方法は、治療上有効量の本明細書において開示されるミセルを対象に投与することを含む。

【0036】

本開示は、神経変性疾患に罹患している対象において神経形成を回復させ、及び/または誘発する方法も提供し、当該方法は、治療上有効量の本明細書において開示されるミセルを対象に投与することを含む。

【0037】

本開示は、神経変性疾患に罹患している対象の認知機能を改善する方法も提供し、当該方法は、治療上有効量の本明細書において開示されるミセルを対象に投与することを含む。

【0038】

いくつかの態様では、神経変性疾患は、アルツハイマー病である。

【0039】

本開示は、アルツハイマー病に罹患している対象におけるアミロイドブラーク負荷を低減する方法も提供し、当該方法は、治療上有効量の本明細書において開示されるミセルを対象に投与することを含む。

【0040】

いくつかの態様では、ミセルは、LAT1を標的とするカチオン性キャリアユニット、及びmiRNA-485-3pを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチド、例えば、配列番号18のアンチセンスオリゴヌクレオチド、またはその断片、バリエーション、もしくは誘導体を含むペイロードを含む。いくつかの態様では、断片は、配列番号18の14、15、16、17、18、19、20、または21個の連続ヌクレオチドを含む。いくつかの態様では、バリエーションは、配列番号18に対して少なくとも70%の配列同一性を有する。いくつかの態様では、誘導体は、少なくとも1つの糖修飾及び/または少なくとも1つの骨格修飾を含む。

【図面の簡単な説明】

【0041】

【図1】本開示のキャリアユニットの例示的な構造を示す。例示的なキャリアユニットは、任意選択の組織特異的標的化部分、水溶性ポリマー、及びカチオン性またはアニオン性キャリアユニット（それぞれアニオン性またはカチオン性ペイロードと相互作用すること

10

20

30

40

50

ができる)を含む。いくつかの態様では、カチオン性/アニオン性キャリア及びアニオン性/カチオン性ペイロードは、係留されておらず、静電的相互作用する。いくつかの態様では、カチオン性/アニオン性キャリア及びアニオン性/カチオン性ペイロードは、係留されており、静電的相互作用する。簡単のために、水溶性ポリマーとカチオン性/アニオン性キャリアとの間、またはカチオン性/アニオン性キャリアの終末端に存在し得るアジュバント部分は、図面において示されない。

【図2】本開示のキャリアユニットを使用して中性ペイロードをロードするための代替的方法を示す。この方法では、中性ペイロード(例えば、疎水性治療薬)がアダプターに共有結合され、次に、これがキャリアユニットのカチオン性またはアニオン性キャリア部分と静電的相互作用することができる。

10

【図3】本開示のキャリアユニットの例示的な構造を示す。掲示される例は、アニオン性ペイロード、例えば、遺伝子を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドなどの核酸、例えば、miRNA(antimiR)と静電的相互作用することができるカチオン性キャリア部分を含む。いくつかの態様では、AMは、WPとCCとの間に位置し得る。CC及びAM構成要素は、簡単のために直線的配置で描写される。しかしながら、図4において例示されるように、CC及びAMは、スキャフォールドのように配置され得る。

【図4】アニオン性ペイロードへの結合後にミセル構造を形成することができる脳標的化部分を含むキャリアユニットの<sup>1</sup>H-NMR特徴を示す。脳標的化部分(「脳標的化分子」と表記されている)に相当する<sup>1</sup>H-NMRチャートは、脳標的化部分(脳の内皮細胞のLAT1標的に結合する環状構造を含有するアミノ酸部分)が成功裡に合成されたことを示す。第2の<sup>1</sup>H-NMRチャート(「ポリマー」と表記されている)は、カチオン性PEGブロックコポリマー(カチオン性キャリア部分及びアジュバント部分も含む)も合成されたことを示す。

20

【図5】本開示のキャリアユニットが、組織特異的標的化部分が、ミセルの外表面を装飾し、核酸ペイロードが、例えば、ミセルの核(ポリイオンコンプレックスアンチセンスオリゴヌクレオチド)に存在するミセルにどのように挿入されるかを示す概略図である。

【図6】水溶性バイオポリマー(例えば、PEG)とカチオン性キャリア(例えば、ポリリジン)との間の比率を変化させることにより、本開示のミセルの形状及びサイズ、ならびにしたがって、ローディング容量がどれほど修飾され得るかを示す。比率に応じて、キャリアユニットは、小粒子、小型ミセル、ミセル、桿状構造、またはポリマソームとして組織化し得る。「本開示のミセル」という用語は、典型的なミセルだけでなく小粒子、小型ミセル、ミセル、桿状構造、またはポリマソームも包含することを理解されたい。

30

【図7】本開示のミセルに含有されるペイロードが中枢神経系の標的位置に送達される機構の概略図を示す。ミセルは、受容体により媒介されるトランスサイトosisに続く、脳細胞、例えば、神経細胞、アストロサイト、またはミクログリアによる細胞内取り込みにより血液脳関門を通過する。ミセルは、細胞質で分解され、これによりペイロード、例えば、アンチmiRNAの放出がもたらされ、これは、標的mRNAへの結合時に、標的mRNAによりコードされるタンパク質の発現を抑制または下方調節する。

【図8】本開示のミセルへのペイロードのカプセル化に起因する安定性の増加(血漿半減期の増加)を示す。ミセルなしでは、アンチマイクロRNA(antimiR)は、5分未満の血漿半減期を有する。本開示のミセルへの取り込み後、antimiRの血漿半減期は、80~120分に増加する。カプセル化後、実施例において開示されるantimiRの半減期は、5分未満から約93分まで増加した(すなわち、血漿半減期の約20倍の増加)。

40

【図9】PBS中の本開示のオリゴヌクレオチド(例えば、アンチmiRNA)がロードされたミセルの粒子サイズ分布を示す。オリゴヌクレオチド(例えば、アンチmiRNA)がロードされたミセルは、低いPDI(多分散性指数)の分布を有する32nmの粒子サイズを示し、このことは、ミセルの集団が均一であることを示す。

【図10】様々な組織におけるLAT1(SLC7A5、溶質輸送体ファミリー7メンバー5[Homosapiens(ヒト)])の分布を示す。データはNCBIから取得

50

された。これは、20のヒト組織由来の全RNAのRNAシーケンシングに対応する。

【図11】異なるマウス組織でのインビボでのLAT1発現レベルを示す。

【図12】本開示の脳標的化キャリアユニットを使用したLAT1標的化を示す。蛍光(Cy5.5)標識された脳標的化キャリアユニットは、脳実質で発現されるLAT1に結合し、非標的化Cy5.5分子より高い蓄積を示す。

【図13】ヒトミクログリア、アストロサイト、神経芽細胞様のSH-5Y細胞、及び初代肝実質細胞によるCy5.5標識されたアンチマイクロRNAがロードされたミセルの細胞内取り込みを示す。各種の細胞をCy5.5とインキュベートした後、標識されたアンチマイクロRNAを細胞に形質移入し、蛍光画像を、Incucyteイメージングプラットフォームを使用して48時間追跡した。アンチマイクロRNAの取り込みは、ヒト脳細胞(ミクログリア、アストロサイト、SH-5Y)において顕著であったが、肝実質細胞(肝臓細胞株)では取り込みは観察されなかった。

10

【図14】細胞表面にLAT1を過剰発現するGL-26細胞におけるLAT1標的指向性の比較を示す。図面は、LAT1阻害剤処理あり及びなしでの細胞を示す。標的化ミセルの取り込みは、非標的化ミセルで観察される取り込みより3倍高かった。LAT1が阻害された場合では、非標的化ミセルと標的化ミセルとの間で取り込みにおける有意差は観察されなかった。

【図15】静脈内注射後のCy5.5標識された遊離アンチマイクロRNA及び本開示のミセル(ASO-MDS(アンチセンスオリゴヌクレオチド-ミセル送達システム))にロードされたCy5.5標識されたアンチマイクロRNAの体内分布の比較を示す。注射によるマウスへの両方の試料の投与後に、全身の蛍光画像が時間間隔を空けて16時間取得された。

20

【図16】裸のアンチmiRNA(裸のASO)投与と比較した本開示のアンチmiRNAがロードされたミセル(ASO-MDS)の脳蓄積を示す。Cy5.5標識されたアンチmiRNAがロードされたミセルが静脈内に注入され、残存蛍光強度が脳組織の溶解後に測定された。脳標的化ミセルは、非標的化ミセルと比較して有意な脳蓄積を示した。

【図17】実験手順の概略図を示す。ASO-MDSミセル、すなわち、LAT1標的化部分及びmiRNA485-3pに対するanti-miRペイロードを含む本開示のミセルが、8ヵ月齢の5XFADトランスジェニックマウスに4週間の間、週1回注射された。ASO-MDSは、(i)miR485-3pに対するanti-miR及び(ii)100のカチオン性キャリアユニットを含み、ここで、50のカチオン性キャリアユニットの各々が、フェニルアラニン(標的化部分)に連結されており、50のカチオン性キャリアユニットの各々が、どの標的化部分にも連結されていない。ASO-MDSにおけるカチオン性キャリアユニットの各々は、47のリジンに融合された(PEG)5000を含み、ここで、10のリジンの各々が、ニコチンアミドに連結されており、すなわち、カチオン性キャリアユニットにおいて合計10のニコチンアミドとなる。

30

【図18A】ASO-MDS処理後のマウス初代グリア細胞におけるAのファゴサイトーシスの増強を示す。

【図18B】ASO-MDS処理後のマウス初代ミクログリア細胞におけるAのファゴサイトーシスの増強を示す。

40

【図18C】ASO-MDS処理後のマウス初代ミクログリア細胞におけるAのファゴサイトーシスの増強を示す。画像は、対照またはASO-MDSで処理された初代ミクログリアにおけるIba1(ミクログリア)及び-アミロイド1~16(6E10、Aブラークを検出するため)の免疫サイトメトリーを示す。

【図19A】ASO-MDS送達が5XFADマウスの海馬における神経炎症を低減することを示す。画像は、Mock(miRのみ及びミセルのみ(それぞれ左及び中央パネル))及びASO-MDS(右パネル)により処置された5XFADマウスからの冠状脳切片での抗TNF-(上パネル)及びGFAP(下パネル)による免疫組織化学染色を示す。(x20)n=3。

【図19B】図19Aの同じデータの棒グラフを示す。左の棒はmiRのみであり、中央

50

の棒はミセルのみであり、右の棒はミセル + m i R である。

【図 2 0 A】A S O - M D S 送達 が 5 X F A D マウスの皮質における神経炎症を低減することを示す。画像は、M o c k ( m i R のみ及びミセルのみ (それぞれ左及び中央パネル) ) 及び A S O - M D S (右パネル) により処置された 5 X F A D マウスからの冠状脳切片での抗 T N F - (上パネル) 及び G F A P (下パネル) による免疫組織化学染色を示す。( × 2 0 ) n = 3 。

【図 2 0 B】図 2 0 A の同じデータの棒グラフを示す。左の棒は m i R のみであり、中央の棒はミセルのみであり、右の棒はミセル + m i R である。

【図 2 1 A】A S O - M D S 送達 が 5 X F A D におけるアミロイドプラーク負荷を減少させることを示す。m o c k ( m i R のみ及びミセルのみ (それぞれ左及び中間パネル) ) または A S O - M D S (右パネル) の投与後の海馬歯状回の免疫組織化学分析。脳切片に散在するプラークが、抗アミロイド (クローン 6 E 1 0 ) 及び核により染色された。

10

【図 2 1 B】図 2 1 A の同じデータの棒グラフを示す。左の棒は m i R のみであり、中央の棒はミセルのみであり、右の棒はミセル + m i R である。

【図 2 2 A】A S O - M D S の投与が 5 X F A D における神経形成を回復させることを示す。m o c k ( m i R のみ及びミセルのみ (それぞれ左及び中間パネル) ) または A S O - M D S (右パネル) の投与後の側脳室の免疫組織化学分析である。脳切片における神経形成が、抗 D C X 染色により同定された。グラフは、m m <sup>2</sup> 当たりの D C X で染色された細胞の平均数を示す。上パネルは、抗 D C X 染色 (すなわち、神経形成マーカー) による染色である。下パネルは、D A P I ( 4 ' , 6 - ジアミジノ - 2 - フェニルインドール ) に

20

よる染色を示す。

【図 2 2 B】図 2 2 A に示す同じデータの棒グラフを示す。

【図 2 3 A】A S O - M D S 送達 が 5 X F A D マウスの認知機能 ( Y 迷路 ) を改善することを示す。

【図 2 3 B】A S O - M D S 送達 が 5 X F A D マウスの認知機能 ( 受動的回避試験 ) を改善することを示す。図 2 3 A 及び図 2 3 B の Y 迷路試験及び受動的回避試験は、M o c k ( m i R のみ及びミセルのみ (それぞれ左及び中間パネル) ) 及び A S O - M D S (右パネル) が注射された 5 X F A D マウス ( M o c k で処置された 8 ~ 1 0 ヲ月齢の 5 X F A D マウスについて n = 5 、 A S O - M D S が注射された 8 ~ 1 0 ヲ月齢の 5 X F A D マウスについて n = 7 ) で実行された。

30

【図 2 4】アルツハイマー病における m i R N A 4 8 5 - 3 p の役割を示す。

【図 2 5】本開示のミセル送達システムのがん標的化への応用の概略図を示す。本明細書において開示されるミセルシステムは、がん処置及び脳疾患のための多用途送達システムである。様々ながん標的化リガンドが、治療薬、例えば、ポリヌクレオチドのがん細胞への送達のためのこのキャリアシステムに適用され得る。

【図 2 6 A】本開示のミセル送達システムを使用した膵臓癌における K - R a s 遺伝子サイレンシング効果を示す。K - R a s 遺伝子サイレンシング効果のタイムラインを示す。

【図 2 6 B】図 2 6 A の K - R a s 遺伝子サイレンシング処理後の K - R a s m R N A 相対量の棒グラフを示す。図 2 6 A 及び 2 6 B の両方について、K - R a s を阻害することができるオリゴヌクレオチドが、本開示のミセル送達システムにロードされた。異なる組織を標的化するために、本開示のミセル送達システムは、環状 R G D ペプチド ( ( v ) ( 3 ) インテグリンを標的とする) または X ( 標的 ) に融合された。

40

【図 2 7】C y 5 . 5 標識されたアンチマイクロ R N A ( 裸の A S O 、 左の マウス ) 及び C y 5 . 5 標識されたアンチマイクロ R N A がロードされたミセル ( A S O - M D S 、 右の マウス ) の筋肉内注射後の体内分布を比較する。両方の試料のマウスへの注射後、全身の蛍光画像が最長 1 2 0 時間取得された。

【発明を実施するための形態】

【 0 0 4 2 】

本開示は、水溶性バイオポリマー部分 (例えば、P E G ) 及び荷電した部分 (例えば、ポリリジン) を含むキャリアユニットを対象とする。荷電した部分と、反対の電荷及び同

50

程度のまたは同じ電荷量を有する荷電したペイロード（例えば、オリゴヌクレオチド）（すなわち、キャリアユニットの荷電したペイロード上及び荷電したペイロード上の荷電数が同程度または同じである）との間の静電的相互作用により、キャリアユニットの荷電した部分の電荷及び荷電したペイロードの電荷が互いを中性化し、キャリアユニット：ペイロード複合体をもたらす。キャリアユニット：ペイロード複合体は、自己会合して、ペイロードがミセルの核に存在し、水溶性バイオポリマー部分が溶媒に面しているミセルをもたらす得る。いくつかの態様では、キャリアユニットは、アニオン性ペイロードと相互作用することができる荷電したカチオン性部分を含む。逆に、キャリアユニットは、カチオン性ペイロードと相互作用することができる荷電したアニオン性部分を含み得る。様々な態様の非限定的な例を本開示に示す。

10

#### 【0043】

本開示がより詳細に記載される前に、本開示は、記載される特定の組成物またはプロセスステップに限定されず、したがって、当然異なり得ると理解されたい。本開示を読むことにより当業者に明らかとなるように、本明細書において記載及び例示される個々の態様の各々は、本開示の範囲または趣旨から逸脱することなく、他のいくつかの態様のいずれかから容易に分離され得るか、またはそれらの特徴と組み合わせられ得る別個の構成要素及び特徴を有する。任意の列挙される方法は、列挙される事象の順序で、または論理的に可能な任意の他の順序で実施され得る。

#### 【0044】

本明細書において提供される見出しは、本明細書全体を参照することによって定義される本開示の様々な態様を限定するものではない。本開示の範囲は添付の特許請求の範囲によってのみ限定されるため、本明細書に使用される用語は、単に特定の態様を説明することを目的とし、限定することを意図しないことも理解されたい。

20

#### 【0045】

したがって、直下に定義される用語は、明細書全体を参照することによって、より完全に定義される。

#### 【0046】

##### I. 定義

本明細書がより容易に理解され得るように、ある特定の用語が最初に定義される。追加の定義は、発明を実施するための形態の全体を通して記載される。

30

#### 【0047】

「a」または「an」という用語を付されたものは、そのもののうちの1つ以上を指すことに留意されたい。例えば、「ヌクレオチド配列」は、1つ以上のヌクレオチド配列を表すと理解される。したがって、「a」（また「an」）、「1つ以上」、及び「少なくとも1つ」という用語は、本明細書において互換的に使用され得る。特許請求の範囲が任意選択の要素を除外するように作成され得ることにさらに留意されたい。したがって、この記述は、特許請求の範囲の要素の列挙に関連した「単に」、「のみ」（“solely”、“only”）等の排他的な用語の使用のため、または「否定的な」（“negative”）限定の使用のための先行記述となるよう意図される。

#### 【0048】

40

さらに、「及び/または」は、本明細書において使用される場合、2つの指定された特徴または構成要素の各々の、他方を伴うか、または伴わない具体的な開示とみなされるものである。したがって、本明細書において「A及び/またはB」などの表現で使用される用語「及び/または」は、「A及びB」、「AまたはB」、「A」（単独）、及び「B」（単独）を含むことを意図する。同様に、「A、B、及び/またはC」などの表現において使用される「及び/または」という用語は、以下の態様の各々を包含することを意図する：A、B、及びC；A、B、またはC；AまたはC；AまたはB；BまたはC；A及びC；A及びB；B及びC；A（単独）；B（単独）；及びC（単独）。

#### 【0049】

態様が「含む」という用語を用いて本明細書に記載されている場合は、「からなる」及

50

び／または「本質的にからなる」という言葉で記載された別様の類似した態様もまた提供されていると理解されよう。

【0050】

特に定義しない限り、本明細書において使用されるすべての技術用語及び科学用語は、本開示が関連する分野の当業者により一般に理解されるのと同じ意味を有する。例えば、Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 及びOxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Pressが、本開示において使用される用語の多くの一般的な辞書を当業者に提供している。

10

【0051】

単位、接頭辞、及び記号は、それらの国際単位系(SI)で認められた形態で表される。数値範囲は、その範囲を定義する数値を包括する。値の範囲が列挙される場合、その範囲について列挙される上限値と下限値との間の介在する各整数値、及びそれらの各小数部も、そのような値の間の各部分範囲とともに、明確に開示されると理解されたい。あらゆる範囲の上限値及び下限値が、独立して範囲に含まれ得るか、または範囲から除外され得、上限値及び下限値のいずれかが含まれる各範囲、いずれも含まれない各範囲、または両方が含まれる各範囲も本開示に包含される。したがって、本明細書において列挙される範囲は、列挙される端点を含む範囲内の値のすべての省略表現であると理解される。例えば、1～10の範囲は、1、2、3、4、5、6、7、8、9、及び10からなる群からの任意の数、数の組み合わせ、または部分範囲を含むと理解される。

20

【0052】

値が明示的に列挙される場合、列挙される値とほぼ同じ数量または量の値も、本開示の範囲内であると理解されたい。組み合わせが開示される場合、その組み合わせの要素の各副組み合わせも明確に開示され、本開示の範囲内である。反対に、異なる要素または要素群が個別に開示される場合、それらの組み合わせも開示される。ある開示の任意の要素が複数の代替例を有すると開示される場合、各代替例が単独で、または他の代替例との任意に組み合わせで除外される、その開示の例も本明細書に開示され、ある開示の2つ以上の要素が、そのような除外を有し得、そのような除外を有する要素のすべての組み合わせが本明細書に開示される。

30

【0053】

ヌクレオチドは、一般的に認められたヌクレオチドの1文字記号により表記される。特に明記しない限り、ヌクレオチド配列は、5'から3'の方向で左から右へ記載される。本明細書においてヌクレオチドは、IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される一般的に公知のヌクレオチドの1文字記号により表記される。したがって、「a」はアデニンを表し、「c」はシトシンを表し、「g」はグアニンを表し、「t」はチミンを表し、「u」はウラシルを表す。

40

【0054】

特に明記しない限り、アミノ酸配列は、アミノからカルボキシの方向で、左から右へ記載される。本明細書においてアミノ酸は、IUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionにより推奨される、一般的に公知のアミノ酸の3文字記号または1文字記号により表記される。

【0055】

「約」という用語は、「ほぼ」、「大まかに」、「およそ」、または「の範囲で」を意味するように本明細書において使用される。「約」という用語が数値の範囲とともに使用される場合、この用語は、記載される数値の上限及び下限を広げることによりその範囲を修正する。一般に、「約」という用語は、例えば、10パーセントの上または下(より高

50



いまたはより低い)の変動で、明示される値の上及び下に数値を修正し得る。

【0056】

「投与」、「投与すること」という用語、及びその文法的変化形は、本開示のミセルなどの組成物を、薬学的に許容される経路により対象に導入することを指す。本開示のミセルなどの組成物の対象への導入は、腫瘍内、経口的、肺、鼻腔内、非経口的（静脈内、動脈内、筋肉内、腹腔内、または皮下）、直腸に、リンパ内、クモ膜下腔内、眼球周囲、または局所的が挙げられる任意の好適な経路によるものである。投与は、自己投与及び別のヒトによる投与を含む。好適な投与経路は、組成物または薬剤がその意図される機能を実行するのを可能にする。例えば、好適な経路が静脈内である場合、組成物は、対象の静脈に組成物または薬剤を導入することにより投与される。

10

【0057】

本明細書で使用する場合、関心対象の1つ以上の値に適用される「ほぼ」という用語は、明示される参照値と同程度である値を指す。ある特定の態様では、「ほぼ」という用語は、特に明記しない限り、または他のことが文脈から明らかでない限り、明示される参照値の両方向に（数を超えるか、またはそれ未満の）10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%、またはそれ以下の範囲内の値の範囲を指す（かかる数がとり得る値の100%を超える場合を除く）。

【0058】

本明細書で使用する場合、「保存された」という用語は、比較されている2つ以上の配列の同じ位置において不変に見出されるものである、それぞれポリヌクレオチド配列またはポリペプチド配列のヌクレオチドまたはアミノ酸残基を指す。相対的に保存されているヌクレオチドまたはアミノ酸は、配列の他の部分で出現するヌクレオチドまたはアミノ酸と比べてより関連する配列の間で保存されているものである。

20

【0059】

いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに100%同一である場合、「完全に保存されている」または「同一である」と言われる。いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに少なくとも70%同一であるか、少なくとも80%同一であるか、少なくとも90%同一であるか、または少なくとも95%同一である場合、「高度に保存されている」と言われる。いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに約70%同一であるか、約80%同一であるか、約90%同一であるか、約95%同一であるか、約98%同一であるか、または約99%同一である場合、「高度に保存されている」と言われる。いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに少なくとも30%同一であるか、少なくとも40%同一であるか、少なくとも50%同一であるか、少なくとも60%同一であるか、少なくとも70%同一であるか、少なくとも80%同一であるか、少なくとも90%同一であるか、または少なくとも95%同一である場合、「保存されている」と言われる。いくつかの態様では、2つ以上の配列は、それらが互いに約30%同一であるか、約40%同一であるか、約50%同一であるか、約60%同一であるか、約70%同一であるか、約80%同一であるか、約90%同一であるか、約95%同一であるか、約98%同一であるか、または約99%同一である場合、「保存されている」と言われる。配列の保存は、ポリヌクレオチドまたはポリペプチドの全長に適用され得るか、または部分、領域、もしくはそれらの特徴に適用され得る。

30

40

【0060】

本明細書で使用する場合、「由来する」という用語は、特定の分子もしくは生物または情報（例えば、アミノ酸または核酸の配列）を使用して、特定の分子もしくは生物から単離されるか、製造される構成要素を指す。例えば、第2の核酸配列に由来する核酸配列は、第2の核酸配列のヌクレオチド配列と同一であるか、または実質的に類似するヌクレオチド配列を含み得る。ヌクレオチドまたはポリペプチドの場合、派生した種は、例えば、自然に生じる変異誘発、人為的定方向突然変異誘発、または人為的ランダム変異誘発により得られ得る。ヌクレオチドまたはポリペプチドを派生させるために使用される変異誘発は、意図的に定方向、もしくは意図的にランダムであるか、または各々の組み合わせであ

50

る。最初のものに由来する異なるヌクレオチドまたはポリペプチドを作製するためのヌクレオチドまたはポリペプチドの変異誘発は、ランダム事象（例えば、ポリメラーゼの不忠実さにより引き起こされる）であり得、派生したヌクレオチドまたはポリペプチドの同定は、例えば、本明細書において述べられる適切なスクリーニング法によりなされ得る。ポリペプチドの変異誘発は、通常、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの操作を伴う。一部の態様では、第2のヌクレオチドまたはアミノ酸配列に由来するヌクレオチドまたはアミノ酸配列は、それぞれ第2のヌクレオチドまたはアミノ酸配列に対する少なくとも約50%、少なくとも約51%、少なくとも約52%、少なくとも約53%、少なくとも約54%、少なくとも約55%、少なくとも約56%、少なくとも約57%、少なくとも約58%、少なくとも約59%、少なくとも約60%、少なくとも約61%、少なくとも約62%、少なくとも約63%、少なくとも約64%、少なくとも約65%、少なくとも約66%、少なくとも約67%、少なくとも約68%、少なくとも約69%、少なくとも約70%、少なくとも約71%、少なくとも約72%、少なくとも約73%、少なくとも約74%、少なくとも約75%、少なくとも約76%、少なくとも約77%、少なくとも約78%、少なくとも約79%、少なくとも約80%、少なくとも約81%、少なくとも約82%、少なくとも約83%、少なくとも約84%、少なくとも約85%、少なくとも約86%、少なくとも約87%、少なくとも約88%、少なくとも約89%、少なくとも約90%、少なくとも約91%、少なくとも約92%、少なくとも約93%、少なくとも約94%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または約100%の配列同一性を有し、ここで、第1のヌクレオチドまたはアミノ酸配列は、第2のヌクレオチドまたはアミノ酸配列の生物活性を保持する。

#### 【0061】

「相補的」及び「相補性」という用語は、ワトソン・クリック型塩基対形成則により互いに関連する2つ以上のオリゴマー（すなわち、各々が核酸塩基配列を含む）、またはオリゴマーと標的遺伝子との間を指す。例えば、核酸塩基配列「T - G - A（5' 3'）」は、核酸塩基配列「A - C - T（3' 5'）」に相補的である。相補性は「部分的」であり得、その場合、所与の核酸塩基配列の核酸塩基のすべてより少ないものが塩基対形成則に従って他の核酸塩基配列と一致している。例えば、いくつかの態様では、所与の核酸塩基配列と他の核酸塩基配列との間の相補性は、約70%、約75%、約80%、約85%、約90%、または約95%であり得る。または例のような、「完璧な」または「完全な」（100%）相補性が、所与の核酸塩基配列と他の核酸塩基配列との間に存在し得る。核酸塩基配列間の相補性の程度は、配列間のハイブリダイゼーションの効率及び強度に顕著な影響を与える。

#### 【0062】

「下流」という用語は、参照ヌクレオチド配列の3'側に存在するヌクレオチド配列を指す。ある特定の態様では、下流ヌクレオチド配列は、転写開始点に続く配列に関する。例えば、遺伝子の翻訳開始コドンは、転写開始部位の下流に存在する。

#### 【0063】

「賦形剤」及び「キャリア」という用語は、互換的に使用され、化合物の投与をさらに容易にするために医薬組成物に添加される不活性物質を指す。

#### 【0064】

本明細書で使用する場合、「相同性」という用語は、ポリマー分子間の、例えば、核酸分子（例えば、DNA分子及び/またはRNA分子）間、及び/またはポリペプチド分子間の全体的関連性を指す。一般に、「相同性」という用語は、2つの分子の進化的関係を意味する。したがって、相同な2つの分子は、共通の進化的祖先を有する。本開示の文脈において、相同性という用語は、同一性及び類似性の両方を包含する。

#### 【0065】

いくつかの態様では、ポリマー分子は、分子における少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも

10

20

30

40

50

約 50 %、少なくとも約 55 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 65 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 75 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 85 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、または少なくとも約 99 % のモノマーが同一（厳密に同じモノマー）であるか、または類似する（保存的置換）場合、互いに「相同である」とみなされる。「相同である」という用語は、必然的に少なくとも 2 つの配列（ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列）間の比較を指す。

#### 【0066】

本明細書で使用する場合、「同一性」という用語は、ポリマー分子間の、例えば、ポリペプチド分子またはポリヌクレオチド分子（例えば、DNA 分子及び/または RNA 分子）間の全体的なモノマー保存性を指す。いかなる追加の修飾語もない「同一である」という用語、例えば、「プロテイン A はタンパク質 B と同一である」は、配列が 100 % 同一（100 % の配列同一性）であることを意味する。例えば、「70 % 同一である」と 2 つの配列を表現することは、例えば、「70 % 配列同一性」を有するとそれらを表現することに等しい。

#### 【0067】

2 つのポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列の同一性パーセントの計算は、例えば、最適な比較のために 2 つの配列をアラインメントすることにより実行され得る（例えば、最適なアラインメントのために第 1 及び第 2 のポリペプチドまたはポリヌクレオチド配列の一方または両方にギャップが導入され得、同一でない配列が比較のために無視され得る）。ある特定の態様では、比較のためにアラインメントされる配列の長さは、参照配列の全長の少なくとも約 30 %、少なくとも約 40 %、少なくとも約 50 %、少なくとも約 60 %、少なくとも約 70 %、少なくとも約 80 %、少なくとも約 90 %、少なくとも約 95 %、または約 100 % である。次いで、対応するアミノ酸位のアミノ酸、またはポリヌクレオチドの場合は塩基が比較される。

#### 【0068】

第 1 の配列におけるある位置が第 2 の配列における対応する位置と同じアミノ酸により占められる場合、分子はその位置で同一である。2 つの配列間の同一性パーセントは、2 つの配列の最適なアラインメントのために導入される必要があるギャップの数及び各ギャップの長さを考慮した、配列により共有される同一の位置の数の関数である。配列の比較及び 2 つの配列間の同一性パーセントの決定は、数学アルゴリズムを使用して達成され得る。

#### 【0069】

タンパク質及びヌクレオチド配列の両方のアラインメントのための好適なソフトウェアプログラムは、様々な供給源から利用可能である。配列同一性パーセントを決定するための 1 つの好適なプログラムは、米国政府の National Center for Biotechnology Information の BLAST ウェブサイト (blast.ncbi.nlm.nih.gov) から利用可能な BLAST プログラム集の一部である blastseq である。blastseq は、BLASTN または BLASTP アルゴリズムを使用して 2 つの配列間の比較を実行する。BLASTN は核酸配列を比較するために使用されるが、BLASTP はアミノ酸配列を比較するために使用される。他の好適なプログラムは、例えば、EMBOSS バイオインフォマティクスプログラム集の一部であり、また www.ebi.ac.uk/Tools/psa の European Bioinformatics Institute (EBI) から利用可能である、Needle、Stretcher、Water、または Matcher である。

#### 【0070】

配列アライメントは、当該技術分野において公知の方法、例えば、MAFFT、Clustal (ClustalW、Clustal X、または Clustal Omega)、MUSCLE などを使用して実施され得る。

#### 【0071】

ポリヌクレオチドまたはポリペプチド参照配列とアラインメントされている単一のポリ

10

20

30

40

50

ヌクレオチドまたはポリペプチド標的配列内の異なる領域は、それぞれ、それら自身の配列同一性パーセントを有し得る。配列同一性パーセント値は、小数第 1 位に丸められることに留意されたい。例えば、80.11、80.12、80.13、及び80.14は、80.1に切り捨てられるが、80.15、80.16、80.17、80.18、及び80.19は、80.2に切り上げられる。長さの値は常に整数であることに留意されたい。

#### 【0072】

ある特定の態様では、同一性パーセンテージ(%ID)または第1のアミノ酸配列(または核酸配列)の第2のアミノ酸配列(または核酸配列)に対する同一性パーセンテージ(%ID)は、 $\%ID = 100 \times (Y/Z)$ として計算され、式中、Yは、第1及び第2の配列のアラインメント(目視検査または特定の配列アライメントプログラムによりアラインメントされる)において完全な一致と評価されたアミノ酸残基(または核酸塩基)の数であり、Zは、第2の配列における残基の総数である。第1の配列の長さが第2の配列を超える場合、第1の配列の第2の配列に対する同一性パーセントは、第2の配列の第1の配列に対する同一性パーセントより高くなるであろう。

10

#### 【0073】

当業者は、配列同一性パーセントの計算のための配列アライメントの作成が、もっぱら一次配列データにより駆動される2つの配列間比較に限定されないことを当業者は理解するであろう。配列アライメントは、配列データを異種の供給源由来のデータ、例えば、構造データ(例えば、タンパク質結晶構造)、機能データ(例えば、変異の位置)、または系統学的データと統合することにより生成され得ることも理解されよう。異種のデータを統合して多重配列アラインメントを生成する好適なプログラムは、[www.tcoffee.org](http://www.tcoffee.org)で利用可能であり、代替的に例えば、EBIから利用可能なT-Coffeeである。配列同一性パーセントを計算するために使用される最終的なアラインメントは、自動または手動のいずれかで管理され得ることも理解されよう。

20

#### 【0074】

本明細書で使用する場合、「単離された」、「精製された」、「抽出された」という用語、及びそれらの文法的变化形は、互換的に使用され、1つ以上の精製プロセスを受けた本開示の所望の組成物の調製状態を指す。いくつかの態様では、本明細書で使用する場合、単離または精製は、夾雑物を含有する試料から本開示の組成物を取り出す、(例えば、画分を)部分的に取り出すプロセスである。いくつかの態様では、単離された組成物は、検出可能な望ましくない活性を有さないか、または代替的に、望ましくない活性のレベルもしくは量が許容可能なレベルまたは量以下である。他の態様では、単離された組成物は、許容可能な量及び/または濃度及び/または活性以上の量及び/または濃度の本開示の所望の組成物を有する。他の態様では、単離された組成物は、組成物が取得される出発物質と比較して濃縮される。この濃縮は、出発物質と比較して少なくとも約10%、少なくとも約20%、少なくとも約30%、少なくとも約40%、少なくとも約50%、少なくとも約60%、少なくとも約70%、少なくとも約80%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、少なくとも約99.9%、少なくとも約99.99%、少なくとも約99.999%、少なくとも約99.9999%、または99.9999%超であり得る。いくつかの態様では、単離された調製物は、残留する生物学的産物を実質的に含まない。いくつかの態様では、単離された調製物は、任意の混入している生物学的物質を100%、少なくとも約99%、少なくとも約98%、少なくとも約97%、少なくとも約96%、少なくとも約95%、少なくとも約94%、少なくとも約93%、少なくとも約92%、少なくとも約91%、または少なくとも約90%含まない。残留する生物学的産物としては、非生物学的物質(化学物質が挙げられる)、または望ましくない核酸、タンパク質、脂質、もしくは代謝産物が挙げられ得る。

30

40

#### 【0075】

本明細書で使用する場合、「連結された」という用語は、共有結合または非共有結合に

50

よりそれぞれ第2のアミノ酸配列またはポリヌクレオチド配列に結合された、第1のアミノ酸配列またはポリヌクレオチド配列を指す。第1のアミノ酸またはポリヌクレオチド配列は、第2のアミノ酸またはポリヌクレオチド配列に直接的に結合もしくは並列され得るか、または代替的に介在配列が第1の配列から第2の配列までに共有結合により加わり得る。「連結された」という用語は、第1のポリヌクレオチド配列の第2のポリヌクレオチド配列への5'末端または3'末端での融合を意味するだけでなく、第2のポリヌクレオチド配列（または第1のポリヌクレオチド配列）における任意の2つのヌクレオチドへの第1のポリヌクレオチド配列（またはそれぞれ第2のポリヌクレオチド配列）全体の挿入も含む。第1のポリヌクレオチド配列は、ホスホジエステル結合またはリンカーにより第2のポリヌクレオチド配列に連結され得る。リンカーは、例えば、ポリヌクレオチドであり得る。

10

#### 【0076】

「miRNA」または「miR」または「マイクロRNA」という用語は、互換的に使用され、RNAベースの遺伝子調節に関与する真核生物において見出されるマイクロRNA分子を指す。この用語は、前駆体からプロセシングされた一本鎖RNA分子を指すために使用される。本開示に関連するmiRNAの名称及びそれらの配列は、本明細書において提供される。マイクロRNAは、不完全な塩基対形成により標的mRNAを認識及びそれに結合し、標的mRNAの不安定化または翻訳阻害をもたらす、これにより、標的遺伝子発現を下方調節する。逆に、miRNA結合部位を含む分子（一般にmiRNAのシード領域に相補的な配列を含む分子）によるmiRNAの標的化は、miRNAにより誘発される翻訳阻害を低減または阻害し得、標的遺伝子の上方調節をもたらす。

20

#### 【0077】

「ミスマッチ」または「複数のミスマッチ」という用語は、オリゴマー核酸塩基配列における塩基対形成則に従って標的pre-mRNAと一致しない1つ以上の核酸塩基（連続しているまたは離れているにかかわらず）を指す。多くの場合、完全な相補性が所望されるが、いくつかの態様は、標的pre-mRNAに対する1つ以上であるが、好ましくは6つ、5つ、4つ、3つ、2つ、または1つのミスマッチを含み得る。オリゴマー内の任意の位置でのバリエーションが含まれる。ある特定の態様では、本開示のアンチセンスオリゴマーは、末端近くでの核酸塩基配列のバリエーション、内部でのバリエーションを含み、存在する場合、通常、5'及び/または3'末端の約6、5、4、3、2、または1サブユニット以内に存在する。ある特定の態様では、1つ、2つ、または3つの核酸塩基が除去され得、依然として正確な結合を提供し得る。

30

#### 【0078】

本明細書で使用する場合、「調節する」、「修飾する」という用語、及びそれらの文法的变化形は、一般に、特定の濃度、レベル、発現、機能、または行動に適用される場合、例えば、アンタゴニストまたはアゴニストとして作用するために、特定の濃度、レベル、発現、機能、または行動を増加または減少させること、例えば、直接または間接的に、促進すること/刺激すること/上方調節することまたはそれらに干渉すること/それらを阻害すること/それらを下方調節することにより変化させる能力を指す。場合によっては、修飾因子は、ある特定の濃度、レベル、活性、または機能を、対照と比較して、または一般に予想される活性の平均レベルと比較して、もしくは活性の対照レベルと比較して増加及び/または減少させ得る。

40

#### 【0079】

「核酸」、「核酸分子」、「ヌクレオチド配列」、「ポリヌクレオチド」、及びそれらの文法的变化形は、互換的に使用され、一本鎖形態または二重螺旋のいずれかでのリン酸エステルポリマー形態のリボヌクレオシド（アデノシン、グアノシン、ウリジン、またはシチジン；「RNA分子」）もしくはデオキシリボヌクレオシド（デオキシアデノシン、デオキシグアノシン、チミジン、またはデオキシシチジン；「DNA分子」）、またはそれらの任意のホスホエステルアナログ、例えば、ホスホロチオネート及びチオエステルを指す。一本鎖核酸配列は、一本鎖DNA（ssDNA）または一本鎖RNA（ssRNA）

50

）を指す。二本鎖DNA - DNA、DNA - RNA、及びRNA - RNA螺旋が可能である。核酸分子及び特にDNAまたはRNA分子という用語は、分子の一次及び二次構造のみを指し、任意の特定の三次形態に限定されない。したがって、この用語は、とりわけ線形または環状DNA分子（例えば、制限断片）、プラスミド、スーパーコイルDNA、及び染色体に見出される二本鎖DNAを含む。特定の二本鎖DNA分子の構造について述べる際、配列は、DNAの非転写鎖（すなわち、mRNAに相同な配列を有する鎖）に沿った5' ~ 3'方向での配列のみを提供する通常の慣例に従って本明細書に記載され得る。「組換えDNA分子」は、分子生物学的操作を受けたDNA分子である。DNAとしては、限定されるものではないが、cDNA、ゲノムDNA、プラスミドDNA、合成DNA、及び半合成DNAが挙げられる。本開示の「核酸組成物」は、本明細書に記載されるような1つ以上の核酸を含む。

10

#### 【0080】

本明細書で使用する場合、語句「非経口投与」及び「非経口的に投与される」は、経腸投与及び局所投与以外の通常注射による投与様式を意味し、限定されるものではないが、静脈内、筋肉内、動脈内、クモ膜下腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、クモ膜下、脊髄内、及び胸骨内注射及び注入が挙げられる。

#### 【0081】

「薬学的に許容されるキャリア」、「薬学的に許容される賦形剤」という用語、及びそれらの文法的变化形は、ヒトを含む動物に使用するための米国連邦政府の規制機関により承認されたか、またはU.S. Pharmacopeiaに列挙される薬剤のいずれか、ならびに対象への組成物の投与を禁止する程度まで望ましくない生理作用の発生を引き起こさず、投与される化合物の生物活性及び特性を抑制しない任意のキャリアまたは希釈剤を包含する。医薬組成物を調製するのに有用であり、一般に安全、非毒性、かつ望ましい賦形剤及びキャリアが挙げられる。

20

#### 【0082】

本明細書で使用する場合、「医薬組成物」という用語は、1種以上の他の化学成分、例えば、薬学的に許容されるキャリア及び賦形剤と混合もしくは混ぜ合わされたか、またはそれらの中に懸濁された、例えば、本開示のミセルなどの本明細書に記載される化合物のうちの1種以上を指す。医薬組成物の1つの目的は、対象へのミセル調製物の投与を容易にすることである。

30

#### 【0083】

本明細書で使用する場合、「ポリヌクレオチド」という用語は、リボヌクレオチド、デオキシリボヌクレオチド、それらのアナログ、またはそれらの混合物が挙げられるヌクレオチドの任意の長さのポリマーを指す。この用語は分子の一次構造を指す。したがって、この用語は、三本鎖、二本鎖、及び一本鎖デオキシリボ核酸（「DNA」）、ならびに三本鎖、二本鎖、及び一本鎖リボ核酸（「RNA」）を含む。この用語は、例えば、アルキル化及び/またはキャッピングにより修飾されたポリヌクレオチド及び未修飾形態のポリヌクレオチドも含む。

#### 【0084】

より具体的には、「ポリヌクレオチド」という用語は、ポリデオキシリボヌクレオチド（2 - デオキシ - D - リボースを含有する）、スプライシングされたまたはスプライシングされていないにかかわらず、tRNA、rRNA、hRNA、siRNA、及びmRNAが挙げられるポリリボヌクレオチド（D - リボースを含有する）、プリンまたはピリミジン塩基のN - またはC - 配糖体である任意の他の種類のポリヌクレオチド、ならびに非ヌクレオチド骨格を含有する他のポリマー、例えば、ポリアミド（例えば、ペプチド核酸「PNA」）及びポリモルホリノポリマー、ならびにDNA及びRNAにおいて見出されるような塩基対形成及び塩基スタッキングを可能にする配置で核酸塩基を含有することを条件とする他の配列特異的合成核酸ポリマーを含む。

40

#### 【0085】

50

本開示のいくつかの態様では、ポリヌクレオチドは、例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドなどのオリゴヌクレオチドであり得る。いくつかの態様では、オリゴヌクレオチドは、RNAである。いくつかの態様では、RNAは、合成RNAである。いくつかの態様では、合成RNAは、少なくとも1つの非天然核酸塩基を含む。いくつかの態様では、ある特定の種類のすべての核酸塩基が、非天然核酸塩基と置き換えられている（例えば、本明細書において開示されるポリヌクレオチドにおけるすべてのウリジンが、非天然核酸塩基、例えば、5 - メトキシウリジンと置き換えられ得る）。

【0086】

「ポリペプチド」、「ペプチド」、及び「タンパク質」という用語は、任意の長さのアミノ酸のポリマーを指すために本明細書において互換的に使用される。ポリマーは、修飾アミノ酸を含み得る。この用語は、自然に修飾されたか、または介入、例えば、ジスルフィド結合形成、グリコシル化、脂質化、アセチル化、リン酸化、または任意の他の操作もしくは修飾、例えば、標識成分とのコンジュゲーションにより修飾されたアミノ酸ポリマーも包含する。例えば、1つ以上のアミノ酸アナログ（例えば、ホモシステイン、オルニチン、p - アセチルフェニルアラニン、D - アミノ酸、及びクレアチンなどの非天然アミノ酸が挙げられる）、及び当該技術分野において公知の他の修飾を含有するポリペプチドも定義の範囲内に含まれる。本明細書で使用する場合、「ポリペプチド」という用語は、任意のサイズ、構造、または機能のタンパク質、ポリペプチド、及びペプチドを指す。ポリペプチドとしては、遺伝子産物、天然に存在するポリペプチド、合成ポリペプチド、上述のもののホモログ、オーソログ、パラログ、断片及び他の等価物、バリエーション、ならびにアナログが挙げられる。ポリペプチドは、単一のポリペプチドであり得るか、またはダイマー、トリマー、もしくはテトラマーなどの多分子複合体であり得る。それらは、一本鎖または多連鎖ポリペプチドも含み得る。最も一般的には、ジスルフィド結合が多連鎖ポリペプチドにおいて見出される。ポリペプチドという用語は、1つ以上のアミノ酸残基が、対応する天然に存在するアミノ酸の人工的な化学的アナログであるアミノ酸ポリマーにも適用され得る。いくつかの態様では、「ペプチド」は、50アミノ酸長以下、例えば、約5、10、15、20、25、30、35、40、45、または50アミノ酸長であり得る。

【0087】

本明細書で使用する場合、「予防する」、「予防すること」という用語、及びそれらの変化形は、疾患、障害、及び/または状態の発症を部分的または完全に遅延させること；特定の疾患、障害、及び/または状態の1つ以上の症状、特徴、または臨床徴候の発症を部分的または完全に遅延させること；特定の疾患、障害、及び/または状態の1つ以上の症状、特徴、または徴候の発症を部分的または完全に遅延させること；特定の疾患、障害、及び/または状態の進行を部分的または完全に遅延させること；及び/または疾患、障害、及び/または状態に関連する病理を生じるリスクを減少させることを指す。いくつかの態様では、結果を予防することは、予防処置により達成される。

【0088】

本明細書で使用する場合、「予防」は、疾患もしくは状態の発症を予防するために、または疾患もしくは状態に関連する症状を予防または遅延させるために使用される治療的行動または行動方針を指す。

【0089】

本明細書で使用する場合、「予防法」は、健康を維持し、出血症状の発症を予防もしくは遅延させるために、または疾患もしくは状態に関連する症状を予防もしくは遅延させるために取られる手段を指す。

【0090】

本明細書で使用する場合、「類似性」という用語は、ポリマー分子間の、例えば、ポリヌクレオチド分子（例えば、DNA分子及び/またはRNA分子）間及び/またはポリペプチド分子間の全体的な関連性を指す。ポリマー分子の互いに対する類似性パーセントの計算は、類似性パーセントの計算が当該技術分野において理解される保存的置換を考慮す

10

20

30

40

50

ることを除いて、同一性パーセントの計算と同様に実行され得る。類似性の百分率は、使用される比較尺度、すなわち、アミノ酸が、例えば、それらの進化的近接性、電荷、体積、可動性、極性、疎水性、芳香族性、等電点、抗原性、またはそれらの組み合わせに従って比較されるかどうかによって依存することが理解されよう。

#### 【0091】

「対象」、「患者」、「個体」、及び「宿主」という用語、及びそれらの変化形は、本明細書において互換的に使用され、限定されるものではないが、ヒト、家庭用動物（例えば、イヌ、ネコなど）、家畜（例えば、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマなど）、及び実験動物（例えば、サル、ラット、マウス、ウサギ、モルモットなど）が挙げられる、診断、処置、または治療が所望される任意の哺乳動物対象、特にヒトを指す。本明細書に記載される方法は、ヒト治療及び獣医学的用途に適用可能である。

10

#### 【0092】

本明細書で使用する場合、「その必要がある対象」という表現は、例えば、止血を改善するために、本開示のミセルの投与から恩恵を受ける哺乳動物対象などの対象を含む。

#### 【0093】

本明細書で使用する場合、「全身投与」、「全身投与される」、「末梢投与」、及び「末梢投与される」という表現は、化合物、薬物、または他の物質の中枢神経系への直接投与以外の、それが患者の系に入り、したがって、代謝及び他の同様のプロセスに供されるような投与、例えば、皮下投与を意味する。

#### 【0094】

本明細書で使用する場合、「治療上有効量」という用語は、所望の治療効果、薬理的、及び/または生理学的効果をもたらす必要がある対象に対する所望の治療効果、薬理的、及び/または生理学的効果をもたらすのに十分な、本開示のミセルを含む試薬または医薬化合物の量である。治療上有効量は、予防が治療とみなされ得る場合、「予防上有効量」であり得る。

20

#### 【0095】

本明細書で使用する場合、「処置する」、「処置」、または「処置すること」という用語は、例えば、疾患または状態の重症度の低減、疾患経過の期間の低減、疾患または状態に関連する1つ以上の症状の改善または除去、疾患または状態を必ずしも治療しない、疾患または状態を有する対象に対する有益な効果の提供を指す。この用語は、疾患もしくは状態またはそれらの症状の予防または防止も含む。一態様では、「処置する」または「処置」という用語は、対象における抗原に対する免疫反応を誘発することを意味する。

30

#### 【0096】

「上流」という用語は、参照ヌクレオチド配列の5'側に存在するヌクレオチド配列を指す。

#### 【0097】

#### II. キャリアユニット

本開示は、ミセルに自己組織化し得るか、またはミセルに取り込まれ得るキャリアユニットを提供する。本開示のキャリアユニットは、水溶性バイオポリマー部分（例えば、PEG）及び荷電したキャリア部分を含む。図1において例示されるように、いくつかの態様では、荷電したキャリア部分は、カチオン性（例えば、ポリリジン）であるが、他の態様では、荷電したキャリア部分は、アニオン性（例えば、ポリグルタミン酸）である。

40

#### 【0098】

本開示のキャリアユニットは、荷電したペイロード（例えば、治療薬または診断用薬）を送達するために使用され得る。カチオン性の荷電したキャリア部分を有するキャリアユニットは、アニオン性ペイロード（例えば、ポリヌクレオチド）の送達に使用され得る。アニオン性の荷電したキャリア部分を有するキャリアユニットは、カチオン性ペイロード（例えば、正に荷電した低分子薬物）の送達に使用され得る。図1を参照のこと。

#### 【0099】

中性または疎水性ペイロードも、アダプター（例えば、図2に図示するように、カチオ

50



ン性またはアニオン性アダプター)を使用することにより本開示のキャリアユニットを使用して送達され得る。アダプターは共有結合的に、例えば、疎水性ペイロードに結合し、本開示のキャリアユニットの荷電したキャリア部分と相互作用するための適切な電荷量を有するかかるペイロードを提供する。したがって、いくつかの態様では、本開示のペイロードは、本開示のキャリアユニットの荷電したキャリア部分と(例えば、静電的相互作用により)相互作用することができる荷電した部分(「アダプター」部分)及び生物学的に活性な部分(例えば、治療用部分)を含み得る。いくつかの態様では、アダプター部分及び生物学的に活性な部分は直接連結されるが、いくつかの他の態様では、それらはリンカーにより連結され得る。

【0100】

10

(i) 荷電したキャリア部分と、

(ii) 荷電したペイロード(例えば、ヌクレオチド配列、例えば、オリゴヌクレオチド、siRNA、shRNAなど)またはその荷電した一部(例えば、アダプター部分)との間の静電的相互作用であって、

a. 荷電したキャリア部分及び荷電したペイロードまたはその荷電した一部が異なる正味電荷(すなわち、一方はカチオン性であり、他方はアニオン性である)を有し、

b. 正味電荷量が同程度または同じである(すなわち、キャリアユニットの荷電した部分、及び荷電したペイロードまたはその荷電した一部の電荷の数が、同程度または同じである)、静電的相互作用時に、

荷電した部分の電荷及び荷電したペイロードの電荷が互いを中性化し、キャリアユニット：ペイロード複合体をもたらす。

20

【0101】

得られたキャリアユニット：ペイロード複合体は、水溶性バイオポリマー部分を含む親水性「頭部」及びペイロードに静電的に結合している荷電したキャリア部分を含む疎水性「尾部」を有し、両親媒性である。

【0102】

キャリアユニット：ペイロード複合体は、単独で、または他の両親媒性分子との組み合わせで自己会合して、ペイロードがミセルの核に存在し、水溶性バイオポリマー部分が溶媒に面しているミセルをもたらす得る。「本開示のミセル」という用語は、典型的なミセルだけでなく小粒子、小型ミセル、ミセル、桿状構造、またはポリマソームも包含する。ポリマソームが内腔を含むことを考慮すると、典型的なミセルの「核」に関連するすべての開示が、本開示のキャリアユニットを含むポリマソームにおける内腔に等しく適用されると理解されたい。したがって、いくつかの態様では、本開示のミセルは、本開示のキャリアユニットに結合されたペイロード分子及びミセルの内腔(例えば、ポリマソームの内腔)のペイロード分子を含み得る。いくつかの態様では、キャリアユニットに結合されたペイロード及び内腔のペイロードは同じである。いくつかの態様では、キャリアユニットに結合されたペイロード及び内腔のペイロードは異なる。

30

【0103】

本開示のキャリアユニットは、1つ以上の任意選択のリンカーにより水溶性バイオポリマー部分に共有結合された標的化部分を含み得る。一旦ミセルが形成されると、標的化部分はミセルの表面に位置し、特定の標的組織、特定の細胞種にミセルを送達し得、及び/または生理学的バリア(例えば、細胞形質膜またはBBB)を通した輸送を促進し得る。いくつかの態様では、本開示のミセルは、2種類以上の標的化部分を含み得る。

40

【0104】

本開示のキャリアユニットは、荷電したキャリア部分に共有結合されたアジュバント部分も含み得る。アジュバント部分は、以下の2つの目的を果たし得る。アジュバント部分は、ペイロードとの静電的相互作用のための電荷を提供し得、及び/または例えば、治療効果、補助的治療効果を有し得るか、もしくは標的細胞もしくは標的組織の恒常性に良い影響を与え得る。

【0105】

50

図 1 の概略図に示すように、いくつかの態様では、ペイロードは、キャリアユニットに共有結合されない。しかしながら、他の態様では、ペイロードは、キャリアユニット、例えば、切断可能なリンカーなどのリンカーに共有結合され得る。

#### 【 0 1 0 6 】

様々な態様の非限定的な例を本開示に示す。本開示は、特に、例えば、核酸などのアニオン性ペイロードを送達するための、カチオン性キャリアユニットの使用に関する。しかしながら、キャリア部分及びペイロードの電荷を逆転させること（すなわち、カチオン性ペイロードを送達するためにキャリアユニットにアニオン性キャリア部分を使用すること）により、またはアニオン性もしくはカチオン性キャリア部分と静電的相互作用するそれぞれカチオン性もしくはアニオン性アダプターに連結された中性ペイロードを使用することにより、本開示がカチオン性ペイロードの送達または中性ペイロードの送達に同様に適用され得ることが当業者には明らかであろう。

10

#### 【 0 1 0 7 】

したがって、一態様では、本開示は、図式 I または図式 I I のカチオン性キャリアユニットであって、

[ W P ] - L 1 - [ C C ] - L 2 - [ A M ] ( 図式 I )

[ W P ] - L 1 - [ A M ] - L 2 - [ C C ] ( 図式 I I )

式中、

W P は、水溶性バイオポリマー部分（例えば、P E G ）であり、

C C は、カチオン性キャリア部分、例えば、ポリリジンであり、

20

A M は、アジュバント部分、例えば、ビタミン、例えば、ビタミン B 3 であり、

L 1 及び L 2 は、独立して任意選択のリンカーである、カチオン性キャリアユニットを提供する。

#### 【 0 1 0 8 】

本開示は、図式 I I I または図式 I V のアニオン性キャリアユニットであって、

[ W P ] - L 1 - [ A C ] - L 2 - [ A M ] ( 図式 I I I )

[ W P ] - L 1 - [ A M ] - L 2 - [ A C ] ( 図式 I V )

式中、

W P は、水溶性バイオポリマー部分（例えば、P E G ）であり、

A C は、アニオン性キャリア部分であり、

30

A M は、アジュバント部分であり、

L 1 及び L 2 は、独立して任意選択のリンカーである、カチオン性キャリアユニットを提供する。

#### 【 0 1 0 9 】

本開示は、図式 V ~ V I I I のカチオン性及びアニオン性キャリアユニットであって、

[ W P ] - L 1 - [ A C ] - L 2 - [ A M ] - L 3 - [ P ] ( 図式 V )

[ W P ] - L 1 - [ A M ] - L 2 - [ A C ] - L 3 - [ P ] ( 図式 V I )

[ W P ] - L 1 - [ A C ] - L 2 - [ A M ] - L 3 - [ P ] ( 図式 V I I )

[ W P ] - L 1 - [ A M ] - L 2 - [ A C ] - L 3 - [ P ] ( 図式 V I I I )

式中、

40

W P は、水溶性バイオポリマー部分（例えば、P E G ）であり、

A C は、アニオン性キャリア部分であり、

C C は、カチオン性キャリア部分であり、

A M は、アジュバント部分であり、

L 1 及び L 2 は、独立して任意選択のリンカーであり、

L 3 は、切断可能であり得る任意選択のリンカーであり、

P は、ペイロードである、カチオン性及びアニオン性キャリアユニットも提供する。

#### 【 0 1 1 0 】

上記の図式 I ~ V I I I の構築物のいくつかの態様では、[ W P ] 構成要素は、少なくとも 1 つの標的化部分、すなわち、[ T ]<sub>n</sub> - [ W P ] - ... に連結され得、式中、n は整

50

数、例えば、1、2、または3である。

【0111】

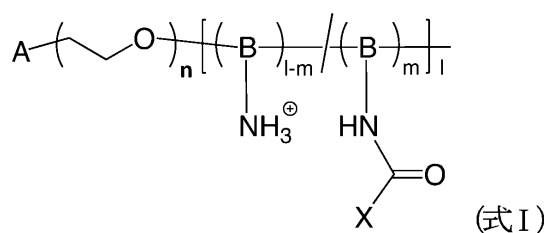
図3は、本開示のカチオン性キャリアユニットの概略図を示す。簡単のために、図3のユニットは、直線的に示されている。しかしながら、いくつかの態様では、キャリアユニットは、例えば、正に荷電したユニットを含むポリマーCC部分及びCC部分に沿って1つ以上の位置で結合されたAMを有する分枝したスカフォールド配置（図4及び図5を参照のこと）で構成されたCC及びAM部分を含み得る。他の態様では、CC及びAMは、図5に示すように、スカフォールド部分に結合され得る。

【0112】

いくつかの態様では、本開示のキャリアユニットは、次式を含み、

10

【化6】



20

Aは、標的化部分、例えば、LAT1輸送体を標的とする分子であり、

Bは、カチオン性キャリア部分におけるカチオン性ポリマーブロックであり、式中、

(i) lは、約1～約200、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150、約150～約160、約160～約170、約170～約180、約180～約190、または約190～約200の整数であり、

30

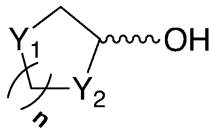
(ii) mは、1～150、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150の整数であり、

(iii) nは、約1～約200、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150、約150～約160、約160～約170、約170～約180、約180～約190、または約190～約200の整数であり、

40

Xは、アジュバント部分、例えば、ビタミン、例えば、

## 【化 7】



(式 I I)

10

であり、

Y 1 は、C、N、O、または S であり、Y 2 は、C、N、O、または S であり、n は、1 または 2 である。いくつかの態様では、X は、- S H (例えば、スルファニル基、アルカンチオール、またはアルキルチオール) であり得る。いくつかの態様では、本開示のミセルは、ビタミン、例えば、ビタミン B 3 にコンジュゲートされた 1 種類のカチオン性キャリアユニット及びスルファニル基 (例えば、アルカンチオールまたはアルキルチオール) にコンジュゲートされた別の種類のカチオン性キャリアユニットを含む。いくつかの態様では、本開示のミセルは、ビタミン、例えば、ビタミン B 3 にコンジュゲートされた第 1 の種類のカチオン性キャリアユニット、スルファニル基 (例えば、アルカンチオールまたはアルキルチオール) にコンジュゲートされた第 2 の種類のカチオン性キャリアユニット、及び遊離塩基である第 3 の種類のカチオン性キャリアユニットを含む。

20

## 【0 1 1 3】

本開示のカチオン性キャリアユニットがアニオン性ペイロード (例えば、核酸) と約 1 : 約 1 のイオン比率で混合される場合、すなわち、アニオン性ペイロードにおける負電荷の数及びカチオン性キャリア部分における正電荷の数がほぼ同じである場合、主に静電的相互作用を介したカチオン性キャリア部分における正電荷によるアニオン性ペイロードにおける負電荷の中性化は、不変の親水性部分 (W P 部分を含む) 及び実質的により疎水性の部分 (カチオン性キャリア部分 + アジュバント部分とアニオン性ペイロードとの間の会合に起因する) を有するカチオン性キャリアユニット : アニオン性ペイロード複合体の形成を引き起こす。

30

## 【0 1 1 4】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、それ自身の正電荷を、アニオン性ペイロードの負電荷と相互作用するカチオン性キャリア部分の正電荷に提供し得る。カチオン性キャリア部分とアニオン性ペイロードとの間の相互作用 (例えば、静電的相互作用) への言及は、アジュバント部分 + カチオン性キャリア部分の電荷とアニオン性ペイロードの電荷との間の相互作用も包含することを理解されたい。

## 【0 1 1 5】

アニオン性ペイロードの負電荷との静電的相互作用による正電荷の中性化に起因するカチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分の疎水性の増加は、両親媒性複合体をもたらす。かかる両親媒性複合体は、単独でまたは他の両親媒性成分との組み合わせでミセルに自己組織化し得る。得られたミセルは、溶媒に面している W P 部分 (すなわち、W P 部分はミセルの外面向いている) を含むが、C C 及び A M 部分ならびに会合したペイロード (例えば、ヌクレオチド配列、例えば、オリゴヌクレオチド、s i R N A、s h R N A、「a n t i m i R」、またはそれらの任意の組み合わせ) はミセルの中心に存在する。

40

## 【0 1 1 6】

いくつかの特定の態様では、カチオン性キャリアユニットは、  
(a) W P 部分であって、水溶性バイオポリマーが、式 I I I (下記参照のこと) のポリエチレングリコール (P E G) であり、n が約 1 2 0 ~ 約 1 3 0 である (例えば、P E G は、P E G 5 0 0 0 または P E G 6 0 0 0 である)、W P 部分と、

50

(b) CC部分であって、カチオン性キャリア部分が、例えば、約30～約40のリジン(例えば、直鎖状ポリ(L-リジン)n(ここで、nは約30～約40である))、ポリエチレンイミン(PEI)、またはキトサンを含む、CC部分と、  
(c) AM部分であって、アジュバント部分が、約5～約10のビタミンB3ユニット(例えば、約5～約10の連結されたビタミンB3ユニット)を有する、AM部分と、を含む。

#### 【0117】

いくつかの特定の態様では、カチオン性キャリアユニットは、  
(a) WP部分であって、水溶性バイオポリマーが、式III(下記参照のこと)のポリエチレングリコール(PEG)であり、nが約120～約130である(例えば、PEGは、PEG5000またはPEG6000である)、WP部分と、  
(b) CC部分であって、カチオン性キャリア部分が、例えば、約60～約100のリジン(例えば、直鎖状ポリ(L-リジン)n(ここで、nは約60～約100である))、例えば、約70～90のリジン、約80のリジン、ポリエチレンイミン(PEI)、またはキトサンを含む、CC部分と、  
(c) AM部分であって、アジュバント部分が、約10～約50のビタミンB3ユニット(例えば、約10～約50の連結されたビタミンB3ユニット、例えば、約20～40ユニット、例えば、約30ユニット)を有する、AM部分と、を含む。

#### 【0118】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、カチオン性キャリアユニットのWP部分に結合された少なくとも1つの標的化部分をさらに含む。いくつかの態様では、ミセルの表面に提示される標的化部分の数及び/または密度は、標的化部分を有するカチオン性キャリアユニット対標的化部分を有さないカチオン性キャリアユニットの特定の比率を使用することにより調節され得る。いくつかの態様では、標的化部分を有するカチオン性キャリアユニット対標的化部分を有さないカチオン性キャリアユニットの比率は、少なくとも約1:5、少なくとも約1:10、少なくとも約1:20、少なくとも約1:30、少なくとも約1:40、少なくとも約1:50、少なくとも約1:60、少なくとも約1:70、少なくとも約1:80、少なくとも約1:90、少なくとも約1:100、少なくとも約1:120、少なくとも約1:140、少なくとも約1:160、少なくとも約1:180、少なくとも約1:200、少なくとも約1:250、少なくとも約1:300、少なくとも約1:350、少なくとも約1:400、少なくとも約1:450、少なくとも約1:500、少なくとも約1:600、少なくとも約1:700、少なくとも約1:800、少なくとも約1:900、または少なくとも約1:1000である。

#### 【0119】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、  
(i) 輸送体LAT1を標的とする標的化部分(A)(例えば、フェニルアラニン)と、  
(ii) PEGである水溶性ポリマーと、  
(iii) リジンであるカチオン性ポリマーブロックを含むカチオン性キャリア部分と、  
(iv) ビタミンB3である2つ以上のアジュバント部分と、を含む。

#### 【0120】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、  
(i) 輸送体LAT1を標的とする標的化部分(A)(例えば、フェニルアラニン)と、  
(ii) PEGである水溶性ポリマーであって、n=100～200、例えば、100～150、例えば、120～130である、水溶性ポリマーと、  
(iii) カチオン性ポリマーブロックを含むカチオン性キャリア部分、例えば、ポリリジンと、  
(iv) 2つ以上のアジュバント部分、例えば、ビタミンB3と、を含む。

#### 【0121】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、  
(i) 輸送体LAT1を標的とする標的化部分(A)(例えば、フェニルアラニン)と、

( i i ) P E Gである水溶性ポリマーであって、 $n = 100 \sim 200$ 、例えば、 $100 \sim 150$ 、例えば、 $120 \sim 130$ である、水溶性ポリマーと、

( i i i ) カチオン性ポリマーブロックを含むカチオン性キャリア部分、例えば、 $10 \sim 100$ のリジン、例えば、 $10 \sim 50$ のリジン、例えば、 $30 \sim 40$ のリジン、例えば、 $70 \sim 80$ のリジンと、

( i v ) 2つ以上のアジュバント部分、例えば、ビタミン B 3、例えば、 $25 \sim 30$ のビタミン B 3と、を含む。

#### 【 0 1 2 2 】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、

( i ) 輸送体 L A T 1 を標的とする標的化部分 ( A ) (例えば、フェニルアラニン)と、 10

( i i ) P E Gである水溶性ポリマーであって、 $n = 100 \sim 200$ 、例えば、 $100 \sim 150$ 、例えば、 $120 \sim 130$ である、水溶性ポリマーと、

( i i i ) カチオン性ポリマーブロックを含むカチオン性キャリア部分、例えば、 $10 \sim 100$ のリジン、例えば、 $10 \sim 50$ のリジン、例えば、 $30 \sim 40$ のリジン、例えば、 $70 \sim 80$ のリジンと、

( i v ) 2つ以上のアジュバント部分、例えば、 $5 \sim 50$ のビタミン B 3、例えば、 $5 \sim 30$ のビタミン B 3、例えば、 $5 \sim 20$ のビタミン B 3、例えば、 $5 \sim 15$ のビタミン B 3、例えば、 $5 \sim 10$ のビタミン B 3、例えば、 $25 \sim 30$ のビタミン B 3と、を含む。

#### 【 0 1 2 3 】

図式 I に例示されるように、C C 部分は、いくつかの B ユニットを含むポリマーであり得 (ここで、各 B ユニットは、例えば、リジンであり得る)、A M 部分は、C C 部分上の側鎖結合点に共有結合されたいくつかの X ユニット (例えば、ビタミンユニット) を含む別個でない分子実体であり得る。したがって、特定の態様では、カチオン性キャリアユニットは、 20

( i ) 輸送体 L A T 1 を標的とする標的化部分 ( A ) (例えば、フェニルアラニン)と、

( i i ) P E Gである水溶性ポリマーであって、 $n = 120 \sim 130$ である、水溶性ポリマーと、

( i i i ) リジンである  $30 \sim 40$ 、 $40 \sim 50$ 、 $50 \sim 60$ 、または  $70 \sim 80$  の B ユニットの カチオン性ポリマーブロックを含むカチオン性キャリア部分と、

( i v ) ビタミン B 3 である  $5 \sim 10$ 、 $10 \sim 20$ 、 $20 \sim 25$ 、または  $25 \sim 30$  の X ユニットの アジュバント部分と、を含む。 30

#### 【 0 1 2 4 】

いくつかの態様では、本開示のカチオン性キャリアユニットは、m i R - 4 8 5 - 3 p を標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドペイロード、例えば、A G A G A G G A G A G C C G U G U A U G A C (配列番号 1 8) と相互作用する。いくつかの態様では、ペイロードと複合体を形成したキャリアユニットは、ミセルを形成する。

#### 【 0 1 2 5 】

いくつかの態様では、ビタミン B 3 ユニットは、好適なコンジュゲーション試薬、例えば、1 - エチル - 3 - ( 3 - ジメチルアミノプロピル ) - カルボジイミド ( E D C ) 及び N - ヒドロキシスクシンイミド ( N H S ) の存在下での例えば、リジンの  $NH_2$  基とビタミン B 3 の  $COOH$  基との間のカップリング反応により C C 部分の側鎖に導入される。 40

#### 【 0 1 2 6 】

本開示は、本開示のキャリアユニット (例えば、カチオン性キャリアユニット) を含む組成物を提供する。他の態様では、本開示は、ペイロード (例えば、ヌクレオチド配列などのアニオン性ペイロード、例えば、オリゴヌクレオチド、s i R N A、s h R N A、「a n t i m i R」、またはそれらの任意の組み合わせ) に非共有結合的に結合された、本開示のキャリアユニット (例えば、カチオン性キャリアユニット) を含む複合体を提供し、ここで、キャリアユニット及びペイロードは、静電的相互作用する。他の態様では、本開示は、ペイロード (例えば、ヌクレオチド配列などのアニオン性ペイロード、例えば、オリゴヌクレオチド、s i R N A、s h R N A、「a n t i m i R」、またはそ 50

これらの任意の組み合わせ)に共有結合された、本開示のキャリアユニット(例えば、カチオン性キャリアユニット)を含む結合体を提供し、ここで、キャリアユニット及びペイロードは、静電的相互作用する。いくつかの態様では、キャリアユニット及びペイロードは、切断可能なリンカーにより連結され得る。いくつかの態様では、キャリアユニット及びペイロードは、静電的相互作用することに加えて、共有結合的に相互作用し得る(例えば、静電的相互作用後、キャリアユニット及びペイロードは、ジスルフィド結合または切断可能な結合により「ロック」され得る)。

【0127】

いくつかの特定の態様では、カチオン性キャリアユニットは、約120～約130ユニットを有するPEGを含む水溶性ポリマー、約30～約のリジンユニットを有するポリリジンを含むカチオン性キャリア部分、及び約5～約10のビタミンB3ユニットを含むアジュバント部分を含む。

10

【0128】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、少なくとも1つのイオン結合により(すなわち、カチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分との静電的相互作用により)カチオン性キャリアユニットと相互作用する負に荷電したペイロード(例えば、ヌクレオチド配列、例えば、オリゴヌクレオチド(例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド)、siRNA、shRNA、「antimiR」、またはそれらの任意の組み合わせ)と会合している。

【0129】

20

いくつかの態様では、本開示のミセルは、図6に示す式に基づいて構築され得る。いくつかの態様では、ミセルの $mB / (nA + mB)$ は、0超かつ1未満、例えば、約0.25～約1、約0.3～約1、約0.4～約1、約0.5～約1、約0.25～約0.9、約0.3～約0.9、約0.4～約0.9、約0.5～約0.9、約0.25～約0.8、約0.3～約0.8、約0.4～約0.8、約0.5～約0.8、約0.25～約0.75、約0.3～約0.75、約0.4～約0.75、約0.5～約0.75、約0.25～約0.7、約0.3～約0.7、約0.4～約0.7、約0.5～約0.7、約0.25～約0.6、約0.3～約0.6、約0.4～約0.6、約0.5～約0.6、約0.45～約0.55、約0.4～約0.65、または約0.5～約0.65であり、式中、 $nA$ は、

30

【数1】

$$\sum_{i=0}^{1000} PEG$$

であり、 $mB$ は、

40

【数2】

$$\sum_{i=0}^{1000} Lys$$

である。

【0130】

いくつかの態様では、ミセルの $mB / (nA + mB)$ は、約0.4～約0.6、約0.

50

5 ～ 約 0 . 6、または約 0 . 4 ～ 約 0 . 5 であり、  
 式中、 $n_A$  は、  
 【数 3】

$$\sum_{i=0}^{1000} PEG$$

10

であり、 $m_B$  は、  
 【数 4】

$$\sum_{i=0}^{1000} Lys$$

である。いくつかの態様では、ミセルの  $m_B / (n_A + m_B)$ 、約 0 . 5 であり、  
 式中、 $n_A$  は、  
 【数 5】

20

$$\sum_{i=0}^{1000} PEG$$

30

であり、 $m_B$  は、  
 【数 6】

$$\sum_{i=0}^{1000} Lys$$

である。

【0 1 3 1】

40

本開示のカチオン性キャリアユニットの特定の構成要素は、以下に詳細に開示される。

【0 1 3 2】

a . 水溶性バイオポリマー

いくつかの態様では、本開示のカチオン性キャリアユニットは、少なくとも 1 つの水溶性バイオポリマーを含む。本明細書で使用する場合、「水溶性バイオポリマー」という用語は、生体適合性、生物学的に不活性、非免疫原性、非毒性、かつ親水性のポリマー、例えば、PEG を指す。

【0 1 3 3】

いくつかの態様では、水溶性ポリマーは、ポリ(アルキレングリコール)、ポリ(オキシエチル化ポリオール)、ポリ(オレフィンアルコール)、ポリ(ビニルピロリドン)、

50



ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリルアミド)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリレート)、ポリ(サッカライド)、ポリ( - ヒドロキシ酸)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリグリセロール、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン(「POZ」)、ポリ(N-アクリロイルモルホリン)、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、水溶性バイオポリマーは、直鎖状、分枝鎖状、または樹枝状である。

#### 【0134】

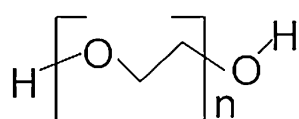
いくつかの態様では、水溶性バイオポリマーは、ポリエチレングリコール(「PEG」)、ポリグリセロール(「PG」)、またはポリ(プロピレングリコール)(「PPG」)を含む。PPGは、PEGより毒性が少ないため、現在非常に多くの生物学的製剤が、PEGの代わりにPPGで製造されている。

10

#### 【0135】

いくつかの態様では、水溶性バイオポリマーは、式： $R^3 - (O - CH_2 - CH_2)_n -$  または  $R^3 - (O - CH_2 - CH_2)_n - O -$  (式中、 $R^3$ は水素、メチル、またはエチルであり、 $n$ は2～200の値を有する)を特徴とするPEGを含む。いくつかの態様では、PEGは、次式を有し、

#### 【化8】



(式III)

20

式中、 $n$ は、1～1000である。

#### 【0136】

いくつかの態様では、PEGの $n$ は、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199、または200の値を有する。

30

40

#### 【0137】

いくつかの態様では、 $n$ は、少なくとも約10、少なくとも約20、少なくとも約30、少なくとも約40、少なくとも約50、少なくとも約60、少なくとも約70、少なくとも約80、少なくとも約90、少なくとも約100、少なくとも約110、少なくとも約120、少なくとも約130、少なくとも約140、少なくとも約150、少なくとも約

50

160、少なくとも約170、少なくとも約180、少なくとも約190、少なくとも約200、少なくとも約210、少なくとも約220、少なくとも約230、少なくとも約240、少なくとも約250、少なくとも約260、少なくとも約270、少なくとも約280、少なくとも約290、少なくとも約300、少なくとも約310、少なくとも約320、少なくとも約330、少なくとも約340、少なくとも約350、少なくとも約360、少なくとも約370、少なくとも約380、少なくとも約390、少なくとも約400、少なくとも約410、少なくとも約420、少なくとも約430、少なくとも約440、少なくとも約450、少なくとも約460、少なくとも約470、少なくとも約480、少なくとも約490、少なくとも約500、少なくとも約510、少なくとも約520、少なくとも約530、少なくとも約540、少なくとも約550、少なくとも約560、少なくとも約570、少なくとも約580、少なくとも約590、少なくとも約600、少なくとも約610、少なくとも約620、少なくとも約630、少なくとも約640、少なくとも約650、少なくとも約660、少なくとも約670、少なくとも約680、少なくとも約690、少なくとも約700、少なくとも約710、少なくとも約720、少なくとも約730、少なくとも約740、少なくとも約750、少なくとも約760、少なくとも約770、少なくとも約780、少なくとも約790、少なくとも約800、少なくとも約810、少なくとも約820、少なくとも約830、少なくとも約840、少なくとも約850、少なくとも約860、少なくとも約870、少なくとも約880、少なくとも約890、少なくとも約900、少なくとも約910、少なくとも約920、少なくとも約930、少なくとも約940、少なくとも約950、少なくとも約960、少なくとも約970、少なくとも約980、少なくとも約990、または約1000である。

10

20

# 【0138】

いくつかの態様では、nは、約50～約100、約100～約150、約150～約200、約200～約250、約250～約300、約300～約350、約350～約400、約400～約450、約450～約500、約500～約550、約550～約600、約600～約650、約650～約700、約700～約750、約750～約800、約800～約850、約850～約900、約900～約950、または約950～約1000である。

# 【0139】

30

いくつかの態様では、nは、少なくとも約80、少なくとも約81、少なくとも約82、少なくとも約83、少なくとも約84、少なくとも約85、少なくとも約86、少なくとも約87、少なくとも約88、少なくとも約89、少なくとも約90、少なくとも約91、少なくとも約92、少なくとも約93、少なくとも約94、少なくとも約95、少なくとも約96、少なくとも約97、少なくとも約98、少なくとも約99、少なくとも約100、少なくとも約101、少なくとも約102、少なくとも約103、少なくとも約104、少なくとも約105、少なくとも約106、少なくとも約107、少なくとも約108、少なくとも約109、少なくとも約110、少なくとも約111、少なくとも約112、少なくとも約113、少なくとも約114、少なくとも約115、少なくとも約116、少なくとも約117、少なくとも約118、少なくとも約119、少なくとも約120、少なくとも約121、少なくとも約122、少なくとも約123、少なくとも約124、少なくとも約125、少なくとも約126、少なくとも約127、少なくとも約128、少なくとも約129、少なくとも約130、少なくとも約131、少なくとも約132、少なくとも約133、少なくとも約134、少なくとも約135、少なくとも約136、少なくとも約137、少なくとも約138、少なくとも約139、少なくとも約140、少なくとも約141、少なくとも約142、少なくとも約143、少なくとも約144、少なくとも約145、少なくとも約146、少なくとも約147、少なくとも約148、少なくとも約149、少なくとも約150、少なくとも約151、少なくとも約152、少なくとも約153、少なくとも約154、少なくとも約155、少なくとも約156、少なくとも約157、少なくとも約158、少なくとも約159、または少なくとも

40

50

も約 160 である。

【0140】

いくつかの態様では、 $n$  は、約 80 ~ 約 90、約 90 ~ 約 100、約 100 ~ 約 110、約 110 ~ 約 120、約 120 ~ 約 130、約 130 ~ 約 140、約 140 ~ 約 150、約 150 ~ 約 160、約 85 ~ 約 95、約 95 ~ 約 105、約 105 ~ 約 115、約 115 ~ 約 125、約 125 ~ 約 135、約 135 ~ 約 145、約 145 ~ 約 155、約 155 ~ 約 165、約 80 ~ 約 100、約 100 ~ 約 120、約 120 ~ 約 140、約 140 ~ 約 160、約 85 ~ 約 105、約 105 ~ 約 125、約 125 ~ 約 145、または約 145 ~ 約 165 である。

【0141】

いくつかの態様では、 $n$  は、約 100 ~ 約 150 である。いくつかの態様では、 $n$  は、約 100 ~ 約 140 である。いくつかの態様では、 $n$  は、約 100 ~ 約 130 である。いくつかの態様では、 $n$  は、約 110 ~ 約 150 である。いくつかの態様では、 $n$  は、約 110 ~ 約 140 である。いくつかの態様では、 $n$  は、約 110 ~ 約 130 である。いくつかの態様では、 $n$  は、約 110 ~ 約 120 である。いくつかの態様では、 $n$  は、約 120 ~ 約 150 である。いくつかの態様では、 $n$  は、約 120 ~ 約 140 である。いくつかの態様では、 $n$  は、約 120 ~ 約 130 である。いくつかの態様では、 $n$  は、約 130 ~ 約 150 である。いくつかの態様では、 $n$  は、約 130 ~ 約 140 である。

【0142】

したがって、いくつかの態様では、PEG は、分枝鎖 PEG である。分枝鎖 PEG は、中心コア基から延びる 3 ~ 10 本の PEG 鎖を有する。ある特定の態様では、PEG 部分は、単分散ポリエチレングリコールである。本開示の文脈において、単分散ポリエチレングリコール (mdPEG) は、単一の既定の鎖長及び分子量を有する PEG である。mdPEG は、通常、クロマトグラフィーによる重合混合物からの分離により生成される。ある特定の式において、単分散 PEG 部分は、略語 mdPEG を割り当てられる。

【0143】

いくつかの態様では、PEG は、Star PEG である。Star PEG は、中心コア基から延びる 10 ~ 100 本の PEG 鎖を有する。いくつかの態様では、PEG は、Comb PEG である。Comb PEG は、通常、ポリマー主鎖上にグラフトされた複数の PEG 鎖を有する。

【0144】

ある特定の態様では、PEG は、約 1000 g/mol ~ 約 2000 g/mol、約 2000 g/mol ~ 約 3000 g/mol、約 3000 g/mol ~ 約 4000 g/mol、約 4000 g/mol ~ 約 5000 g/mol、約 5000 g/mol ~ 約 6000 g/mol、約 6000 g/mol ~ 約 7000 g/mol、または 7000 g/mol ~ 約 8000 g/mol のモル質量を有する。

【0145】

いくつかの態様では、PEG は、PEG100、PEG200、PEG300、PEG400、PEG500、PEG600、PEG700、PEG800、PEG900、PEG1000、PEG1100、PEG1200、PEG1300、PEG1400、PEG1500、PEG1600、PEG1700、PEG1800、PEG1900、PEG2000、PEG2100、PEG2200、PEG2300、PEG2400、PEG2500、PEG1600、PEG1700、PEG1800、PEG1900、PEG2000、PEG2100、PEG2200、PEG2300、PEG2400、PEG2500、PEG2600、PEG2700、PEG2800、PEG2900、PEG3000、PEG3100、PEG3200、PEG3300、PEG3400、PEG3500、PEG3600、PEG3700、PEG3800、PEG3900、PEG4000、PEG4100、PEG4200、PEG4300、PEG4400、PEG4500、PEG4600、PEG4700、PEG4800、PEG4900、PEG5000、PEG5100、PEG5200、PEG5300、PEG5400、PEG5500、PEG5600、PEG5700、PEG5800、PEG5900、

10

20

30

40

50

PEG 6000、PEG 6100、PEG 6200、PEG 6300、PEG 6400、PEG 6500、PEG 6600、PEG 6700、PEG 6800、PEG 6900、PEG 7000、PEG 7100、PEG 7200、PEG 7300、PEG 7400、PEG 7500、PEG 7600、PEG 7700、PEG 7800、PEG 7900、またはPEG 8000である。いくつかの態様では、PEGは、PEG 5000である。いくつかの態様では、PEGは、PEG 6000である。いくつかの態様では、PEGは、PEG 4000である。

#### 【0146】

いくつかの態様では、PEGは、単分散、例えば、mPEG 100、mPEG 200、mPEG 300、mPEG 400、mPEG 500、mPEG 600、mPEG 700、mPEG 800、mPEG 900、mPEG 1000、mPEG 1100、mPEG 1200、mPEG 1300、mPEG 1400、mPEG 1500、mPEG 1600、mPEG 1700、mPEG 1800、mPEG 1900、mPEG 2000、mPEG 2100、mPEG 2200、mPEG 2300、mPEG 2400、mPEG 2500、mPEG 2600、mPEG 2700、mPEG 2800、mPEG 2900、mPEG 3000、mPEG 3100、mPEG 3200、mPEG 3300、mPEG 3400、mPEG 3500、mPEG 3600、mPEG 3700、mPEG 3800、mPEG 3900、mPEG 4000、mPEG 4100、mPEG 4200、mPEG 4300、mPEG 4400、mPEG 4500、mPEG 4600、mPEG 4700、mPEG 4800、mPEG 4900、mPEG 5000、mPEG 5100、mPEG 5200、mPEG 5300、mPEG 5400、mPEG 5500、mPEG 5600、mPEG 5700、mPEG 5800、mPEG 5900、mPEG 6000、mPEG 6100、mPEG 6200、mPEG 6300、mPEG 6400、mPEG 6500、mPEG 6600、mPEG 6700、mPEG 6800、mPEG 6900、mPEG 7000、mPEG 7100、mPEG 7200、mPEG 7300、mPEG 7400、mPEG 7500、mPEG 7600、mPEG 7700、mPEG 7800、mPEG 7900、またはmPEG 8000である。いくつかの態様では、mPEGは、mPEG 5000である。いくつかの態様では、mPEGは、mPEG 6000である。いくつかの態様では、mPEGは、mPEG 4000である。

#### 【0147】

いくつかの態様では、水溶性バイオポリマー部分は、式 $(R^3 - O - (CH_2 - CHOH - CH_2O)_n - )$ で表現されるポリグリセロール(PG)であり、 $R^3$ は、水素、メチル、またはエチルであり、 $n$ は3～200の値を有する。いくつかの態様では、水溶性バイオポリマー部分は、式 $(R^3 - O - (CH_2 - CHOR^5 - CH_2 - O)_n - )$ で表現され、 $R^5$ が水素である分枝鎖状ポリグリセロールまたは式 $(R^3 - O - (CH_2 - CHOH - CH_2 - O)_n - )$ で表現される直鎖状グリセロール鎖であり、 $R^3$ は、水素、メチル、またはエチルである。いくつかの態様では、水溶性バイオポリマー部分は、式 $(R^3 - O - (CH_2 - CHOR^5 - CH_2 - O)_n - )$ で表現され、 $R^5$ が水素である超分岐ポリグリセロール、または式 $(R^3 - O - (CH_2 - CHOR^6 - CH_2 - O)_n - )$ で表現され、 $R^6$ が水素であるグリセロール鎖、または式 $(R^3 - O - (CH_2 - CHOR^7 - CH_2 - O)_n - )$ で表現され、 $R^7$ 水素であるグリセロール鎖、または式 $(R^3 - O - (CH_2 - CHOH - CH_2 - O)_n - )$ で表現される直鎖状グリセロール鎖であり、 $R^3$ は、水素、メチル、またはエチルである。超分岐グリセロール及びその合成方法は、Oudshorn et al. (2006) Biomaterials 27:5471-5479; Wilms et al. (20100 Acc. Chem. Res. 43, 129-41、及びその中で引用される参考文献に記載されている。

#### 【0148】

ある特定の態様では、PGは、約1000 g/mol～約2000 g/mol、約2000 g/mol～約3000 g/mol、約3000 g/mol～約4000 g/mol、約4000 g/mol～約5000 g/mol、約5000 g/mol～約6000 g

/mol、約6000g/mol～約7000g/mol、または7000g/mol～約8000g/molのモル質量を有する。

【0149】

いくつかの態様では、PGは、PG100、PG200、PG300、PG400、PG500、PG600、PG700、PG800、PG900、PG1000、PG1100、PG1200、PG1300、PG1400、PG1500、PG1600、PG1700、PG1800、PG1900、PG2000、PG2100、PG2200、PG2300、PG2400、PG2500、PG1600、PG1700、PG1800、PG1900、PG2000、PG2100、PG2200、PG2300、PG2400、PG2500、PG2600、PG2700、PG2800、PG2900、PG3000、PG3100、PG3200、PG3300、PG3400、PG3500、PG3600、PG3700、PG3800、PG3900、PG4000、PG4100、PG4200、PG4300、PG4400、PG4500、PG4600、PG4700、PG4800、PG4900、PG5000、PG5100、PG5200、PG5300、PG5400、PG5500、PG5600、PG5700、PG5800、PG5900、PG6000、PG6100、PG6200、PG6300、PG6400、PG6500、PG6600、PG6700、PG6800、PG6900、PG7000、PG7100、PG7200、PG7300、PG7400、PG7500、PG7600、PG7700、PG7800、PG7900、またはPG8000である。いくつかの態様では、PGは、PG5000である。いくつかの態様では、PGは、PG6000である。いくつかの態様では、PGは、PG4000である。

10

20

【0150】

いくつかの態様では、PGは、単分散、例えば、mPG100、mPG200、mPG300、mPG400、mPG500、mPG600、mPG700、mPG800、mPG900、mPG1000、mPG1100、mPG1200、mPG1300、mPG1400、mPG1500、mPG1600、mPG1700、mPG1800、mPG1900、mPG2000、mPG2100、mPG2200、mPG2300、mPG2400、mPG2500、mPG1600、mPG1700、mPG1800、mPG1900、mPG2000、mPG2100、mPG2200、mPG2300、mPG2400、mPG2500、mPG2600、mPG2700、mPG2800、mPG2900、mPG3000、mPG3100、mPG3200、mPG3300、mPG3400、mPG3500、mPG3600、mPG3700、mPG3800、mPG3900、mPG4000、mPG4100、mPG4200、mPG4300、mPG4400、mPG4500、mPG4600、mPG4700、mPG4800、mPG4900、mPG5000、mPG5100、mPG5200、mPG5300、mPG5400、mPG5500、mPG5600、mPG5700、mPG5800、mPG5900、mPG6000、mPG6100、mPG6200、mPG6300、mPG6400、mPG6500、mPG6600、mPG6700、mPG6800、mPG6900、mPG7000、mPG7100、mPG7200、mPG7300、mPG7400、mPG7500、mPG7600、mPG7700、mPG7800、mPG7900、またはmPG8000である。

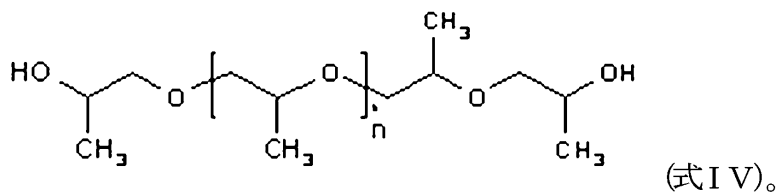
30

【0151】

いくつかの態様では、水溶性バイオポリマーは、ポリ(プロピレングリコール) (「PPG」) を含む。いくつかの態様では、PPGは、以下の式を特徴とし、式中、nは、1～1000の値を有する：

40

## 【化 9】



10

## 【0152】

いくつかの態様では、PPGのnは、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、101、102、103、104、105、106、107、108、109、110、111、112、113、114、115、116、117、118、119、120、121、122、123、124、125、126、127、128、129、130、131、132、133、134、135、136、137、138、139、140、141、142、143、144、145、146、147、148、149、150、151、152、153、154、155、156、157、158、159、160、161、162、163、164、165、166、167、168、169、170、171、172、173、174、175、176、177、178、179、180、181、182、183、184、185、186、187、188、189、190、191、192、193、194、195、196、197、198、199、または200の値を有する。

20

30

## 【0153】

いくつかの態様では、PPGのnは、少なくとも約10、少なくとも約20、少なくとも約30、少なくとも約40、少なくとも約50、少なくとも約60、少なくとも約70、少なくとも約80、少なくとも約90、少なくとも約100、少なくとも約110、少なくとも約120、少なくとも約130、少なくとも約140、少なくとも約150、少なくとも約160、少なくとも約170、少なくとも約180、少なくとも約190、少なくとも約200、少なくとも約210、少なくとも約220、少なくとも約230、少なくとも約240、少なくとも約250、少なくとも約260、少なくとも約270、少なくとも約280、少なくとも約290、少なくとも約300、少なくとも約310、少なくとも約320、少なくとも約330、少なくとも約340、少なくとも約350、少なくとも約360、少なくとも約370、少なくとも約380、少なくとも約390、少なくとも約400、少なくとも約410、少なくとも約420、少なくとも約430、少なくとも約440、少なくとも約450、少なくとも約460、少なくとも約470、少なくとも約480、少なくとも約490、少なくとも約500、少なくとも約510、少なくとも約520、少なくとも約530、少なくとも約540、少なくとも約550、少なくとも約560、少なくとも約570、少なくとも約580、少なくとも約590、少なくとも約600、少なくとも約610、少なくとも約620、少なくとも約630、少なくとも約640、少なくとも約650、少なくとも約660、少なくとも約670、少なくとも約680、少なくとも約690、少なくとも約700、少なくとも約710、少なくとも約720、少なくとも約730、少なくとも約740、少なくとも約750、少な

40

50

くとも約 760、少なくとも約 770、少なくとも約 780、少なくとも約 790、少なくとも約 800、少なくとも約 810、少なくとも約 820、少なくとも約 830、少なくとも約 840、少なくとも約 850、少なくとも約 860、少なくとも約 870、少なくとも約 880、少なくとも約 890、少なくとも約 900、少なくとも約 910、少なくとも約 920、少なくとも約 930、少なくとも約 940、少なくとも約 950、少なくとも約 960、少なくとも約 970、少なくとも約 980、少なくとも約 990、または約 1000 である。

#### 【0154】

いくつかの態様では、PPGのnは、約50～約100、約100～約150、約150～約200、約200～約250、約250～約300、約300～約350、約350～約400、約400～約450、約450～約500、約500～約550、約550～約600、約600～約650、約650～約700、約700～約750、約750～約800、約800～約850、約850～約900、約900～約950、または約950～約1000である。

10

#### 【0155】

いくつかの態様では、PPGのnは、少なくとも約80、少なくとも約81、少なくとも約82、少なくとも約83、少なくとも約84、少なくとも約85、少なくとも約86、少なくとも約87、少なくとも約88、少なくとも約89、少なくとも約90、少なくとも約91、少なくとも約92、少なくとも約93、少なくとも約94、少なくとも約95、少なくとも約96、少なくとも約97、少なくとも約98、少なくとも約99、少なくとも約100、少なくとも約101、少なくとも約102、少なくとも約103、少なくとも約104、少なくとも約105、少なくとも約106、少なくとも約107、少なくとも約108、少なくとも約109、少なくとも約110、少なくとも約111、少なくとも約112、少なくとも約113、少なくとも約114、少なくとも約115、少なくとも約116、少なくとも約117、少なくとも約118、少なくとも約119、少なくとも約120、少なくとも約121、少なくとも約122、少なくとも約123、少なくとも約124、少なくとも約125、少なくとも約126、少なくとも約127、少なくとも約128、少なくとも約129、少なくとも約130、少なくとも約131、少なくとも約132、少なくとも約133、少なくとも約134、少なくとも約135、少なくとも約136、少なくとも約137、少なくとも約138、少なくとも約139、少なくとも約140、少なくとも約141、少なくとも約142、少なくとも約143、少なくとも約144、少なくとも約145、少なくとも約146、少なくとも約147、少なくとも約148、少なくとも約149、少なくとも約150、少なくとも約151、少なくとも約152、少なくとも約153、少なくとも約154、少なくとも約155、少なくとも約156、少なくとも約157、少なくとも約158、少なくとも約159、または少なくとも約160である。

20

30

#### 【0156】

いくつかの態様では、PPGのnは、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150、約150～約160、約85～約95、約95～約105、約105～約115、約115～約125、約125～約135、約135～約145、約145～約155、約155～約165、約80～約100、約100～約120、約120～約140、約140～約160、約85～約105、約105～約125、約125～約145、または約145～約165である。

40

#### 【0157】

したがって、いくつかの態様では、PPGは、分枝鎖状PPGである。分枝鎖状PPGは、中心コア基から延びる3～10本のPPG鎖を有する。ある特定の態様では、PPG部分は、単分散ポリエチレングリコールである。本開示の文脈において、単分散ポリエチレングリコール(mdPPG)は、単一の既定の鎖長及び分子量を有するPPGである。mdPEGは、通常、クロマトグラフィーによる重合混合物からの分離により生成される

50

。ある特定の式において、単分散 P P G 部分は、略語 m d P P G を割り当てられる。

【 0 1 5 8 】

いくつかの態様では、P P G は、S t a r P P G である。S t a r P P G は、中心コア基から延びる 1 0 ~ 1 0 0 本の P P G 鎖を有する。いくつかの態様では、P P G は、C o m b P P G である。C o m b P P G は、通常、ポリマー主鎖上にグラフトされた複数の P P G 鎖を有する。

【 0 1 5 9 】

ある特定の態様では、P P G は、約 1 0 0 0 g / m o l ~ 約 2 0 0 0 g / m o l 、約 2 0 0 0 g / m o l ~ 約 3 0 0 0 g / m o l 、約 3 0 0 0 g / m o l ~ 約 4 0 0 0 g / m o l 、約 4 0 0 0 g / m o l ~ 約 5 0 0 0 g / m o l 、約 5 0 0 0 g / m o l ~ 約 6 0 0 0 g / m o l 、約 6 0 0 0 g / m o l ~ 約 7 0 0 0 g / m o l 、または 7 0 0 0 g / m o l ~ 約 8 0 0 0 g / m o l のモル質量を有する。

10

【 0 1 6 0 】

いくつかの態様では、P P G は、P P G 1 0 0 、P P G 2 0 0 、P P G 3 0 0 、P P G 4 0 0 、P P G 5 0 0 、P P G 6 0 0 、P P G 7 0 0 、P P G 8 0 0 、P P G 9 0 0 、P P G 1 0 0 0 、P P G 1 1 0 0 、P P G 1 2 0 0 、P P G 1 3 0 0 、P P G 1 4 0 0 、P P G 1 5 0 0 、P P G 1 6 0 0 、P P G 1 7 0 0 、P P G 1 8 0 0 、P P G 1 9 0 0 、P P G 2 0 0 0 、P P G 2 1 0 0 、P P G 2 2 0 0 、P P G 2 3 0 0 、P P G 2 4 0 0 、P P G 2 5 0 0 、P P G 1 6 0 0 、P P G 1 7 0 0 、P P G 1 8 0 0 、P P G 1 9 0 0 、P P G 2 0 0 0 、P P G 2 1 0 0 、P P G 2 2 0 0 、P P G 2 3 0 0 、P P G 2 4 0 0 、P P G 2 5 0 0 、P P G 2 6 0 0 、P P G 2 7 0 0 、P P G 2 8 0 0 、P P G 2 9 0 0 、P P G 3 0 0 0 、P P G 3 1 0 0 、P P G 3 2 0 0 、P P G 3 3 0 0 、P P G 3 4 0 0 、P P G 3 5 0 0 、P P G 3 6 0 0 、P P G 3 7 0 0 、P P G 3 8 0 0 、P P G 3 9 0 0 、P P G 4 0 0 0 、P P G 4 1 0 0 、P P G 4 2 0 0 、P P G 4 3 0 0 、P P G 4 4 0 0 、P P G 4 5 0 0 、P P G 4 6 0 0 、P P G 4 7 0 0 、P P G 4 8 0 0 、P P G 4 9 0 0 、P P G 5 0 0 0 、P P G 5 1 0 0 、P P G 5 2 0 0 、P P G 5 3 0 0 、P P G 5 4 0 0 、P P G 5 5 0 0 、P P G 5 6 0 0 、P P G 5 7 0 0 、P P G 5 8 0 0 、P P G 5 9 0 0 、P P G 6 0 0 0 、P P G 6 1 0 0 、P P G 6 2 0 0 、P P G 6 3 0 0 、P P G 6 4 0 0 、P P G 6 5 0 0 、P P G 6 6 0 0 、P P G 6 7 0 0 、P P G 6 8 0 0 、P P G 6 9 0 0 、P P G 7 0 0 0 、P P G 7 1 0 0 、P P G 7 2 0 0 、P P G 7 3 0 0 、P P G 7 4 0 0 、P P G 7 5 0 0 、P P G 7 6 0 0 、P P G 7 7 0 0 、P P G 7 8 0 0 、P P G 7 9 0 0 、または P P G 8 0 0 0 である。いくつかの態様では、P P G は、P P G 5 0 0 0 である。いくつかの態様では、P P G は、P P G 6 0 0 0 である。いくつかの態様では、P P G は、P P G 4 0 0 0 である。

20

30

【 0 1 6 1 】

いくつかの態様では、P P G は、単分散、例えば、m P P G 1 0 0 、m P P G 2 0 0 、m P P G 3 0 0 、m P P G 4 0 0 、m P P G 5 0 0 、m P P G 6 0 0 、m P P G 7 0 0 、m P P G 8 0 0 、m P P G 9 0 0 、m P P G 1 0 0 0 、m P P G 1 1 0 0 、m P P G 1 2 0 0 、m P P G 1 3 0 0 、m P P G 1 4 0 0 、m P P G 1 5 0 0 、m P P G 1 6 0 0 、m P P G 1 7 0 0 、m P P G 1 8 0 0 、m P P G 1 9 0 0 、m P P G 2 0 0 0 、m P P G 2 1 0 0 、m P P G 2 2 0 0 、m P P G 2 3 0 0 、m P P G 2 4 0 0 、m P P G 2 5 0 0 、m P P G 1 6 0 0 、m P P G 1 7 0 0 、m P P G 1 8 0 0 、m P P G 1 9 0 0 、m P P G 2 0 0 0 、m P P G 2 1 0 0 、m P P G 2 2 0 0 、m P P G 2 3 0 0 、m P P G 2 4 0 0 、m P P G 2 5 0 0 、m P P G 2 6 0 0 、m P P G 2 7 0 0 、m P P G 2 8 0 0 、m P P G 2 9 0 0 、m P P G 3 0 0 0 、m P P G 3 1 0 0 、m P P G 3 2 0 0 、m P P G 3 3 0 0 、m P P G 3 4 0 0 、m P P G 3 5 0 0 、m P P G 3 6 0 0 、m P P G 3 7 0 0 、m P P G 3 8 0 0 、m P P G 3 9 0 0 、m P P G 4 0 0 0 、m P P G 4 1 0 0 、m P P G 4 2 0 0 、m P P G 4 3 0 0 、m P P G 4 4 0 0 、m P P G 4 5 0 0 、m P P G 4 6 0 0 、m P P G 4 7 0 0 、m P P G 4 8 0 0 、m P P G 4 9 0 0 、m P P G 5 0 0 0 、m P P G 5 1 0 0 、m P P G 5 2 0 0 、m P P G 5 3 0 0 、m P P G 5 4 0 0 、m P P G 5 5 0 0 、m P P G 5 6 0 0 、m P P G 5 7 0 0 、m P P G 5 8 0 0 、m P P G 5 9 0 0 、m P P G 6 0 0 0 、m P P G 6 1 0 0 、m P P G 6 2 0 0 、m P P G 6 3 0 0 、m P P G 6 4 0 0 、m P P G 6 5 0 0 、m P P G 6 6 0 0 、m P P G 6 7 0 0 、m P P G 6 8 0 0 、m P P G 6 9 0 0 、m P

40

50



P G 7 0 0 0、m P P G 7 1 0 0、m P P G 7 2 0 0、m P P G 7 3 0 0、m P P G 7 4 0 0、m P P G 7 5 0 0、m P P G 7 6 0 0、m P P G 7 7 0 0、m P P G 7 8 0 0、m P P G 7 9 0 0、またはm P P G 8 0 0 0である。いくつかの態様では、m P P Gは、m P P G 5 0 0 0である。いくつかの態様では、m P P Gは、m P P G 6 0 0 0である。いくつかの態様では、m P P Gは、m P P G 4 0 0 0である。

【 0 1 6 2 】

b . カチオン性キャリア

いくつかの態様では、本開示のカチオン性キャリアユニットは、少なくとも1つのカチオン性キャリア部分を含む。「カチオン性キャリア」という用語は、アニオン性ペイロード（またはペイロードに結合されたアニオン性キャリア）と静電的相互作用し、結合することができる複数の正電荷を含む、本開示のカチオン性キャリアユニットの部分または一部を指す。いくつかの態様では、カチオン性キャリアの正電荷または正に荷電した基の数は、アニオン性ペイロード（またはペイロードに結合されたアニオン性キャリア）の負電荷または負に荷電した基の数と同程度である。いくつかの態様では、カチオン性キャリアは、バイオポリマー、例えば、ペプチド（例えば、ポリリジン）を含む。

【 0 1 6 3 】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアは、1つ以上の塩基性アミノ酸（例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン、またはそれらの組み合わせ）を含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアは、少なくとも約3、少なくとも約4、少なくとも約5、少なくとも約6、少なくとも約7、少なくとも約8、少なくとも約9、少なくとも約10、少なくとも約11、少なくとも約12、少なくとも約13、少なくとも約14、少なくとも約15、少なくとも約16、少なくとも約17、少なくとも約18、少なくとも約19、少なくとも約20、少なくとも約21、少なくとも約22、少なくとも約23、少なくとも約24、少なくとも約25、少なくとも約26、少なくとも約27、少なくとも約28、少なくとも約29、少なくとも約30、少なくとも約31、少なくとも約32、少なくとも約33、少なくとも約34、少なくとも約35、少なくとも約36、少なくとも約37、少なくとも約38、少なくとも約39、少なくとも約40、少なくとも約41、少なくとも約42、少なくとも約43、少なくとも約44、少なくとも約45、少なくとも約46、少なくとも約47、少なくとも約48、少なくとも約49、少なくとも約50、少なくとも約51、少なくとも約52、少なくとも約53、少なくとも約54、少なくとも約55、少なくとも約56、少なくとも約57、少なくとも約58、少なくとも約59、少なくとも約60、少なくとも約61、少なくとも約62、少なくとも約63、少なくとも約64、少なくとも約65、少なくとも約66、少なくとも約67、少なくとも約68、少なくとも約69、少なくとも約70、少なくとも約71、少なくとも約72、少なくとも約73、少なくとも約74、少なくとも約75、少なくとも約76、少なくとも約77、少なくとも約78、少なくとも約79、少なくとも約80の塩基性アミノ酸、例えば、リジン、アルギニン、またはそれらの組み合わせを含む。

【 0 1 6 4 】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、少なくとも約40の塩基性アミノ酸、例えば、リジンを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、少なくとも約45の塩基性アミノ酸、例えば、リジンを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、少なくとも約50の塩基性アミノ酸、例えば、リジンを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、少なくとも約55の塩基性アミノ酸、例えば、リジンを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、少なくとも約60の塩基性アミノ酸、例えば、リジンを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、少なくとも約65の塩基性アミノ酸、例えば、リジンを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、少なくとも約70の塩基性アミノ酸、例えば、リジンを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、少なくとも約75の塩基性アミノ酸、例えば、リジンを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、少なくとも約80の塩基性アミノ酸、例えば、リジンを含む。

## 【 0 1 6 5 】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、約 30 ~ 約 1000、約 30 ~ 約 900、約 30 ~ 約 800、約 30 ~ 約 700、約 30 ~ 約 600、約 30 ~ 約 500、約 30 ~ 約 400、約 30 ~ 約 300、約 30 ~ 約 200、約 30 ~ 約 100、約 40 ~ 約 1000、約 40 ~ 約 900、約 40 ~ 約 800、約 40 ~ 約 700、約 40 ~ 約 600、約 40 ~ 約 500、約 40 ~ 約 400、約 40 ~ 約 300、約 40 ~ 約 200、または約 40 ~ 約 100 の塩基性アミノ酸、例えば、リジンを含む。

## 【 0 1 6 6 】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、約 30 ~ 約 100、約 30 ~ 約 90、約 30 ~ 約 80、約 30 ~ 約 70、約 30 ~ 約 60、約 30 ~ 約 50、約 30 ~ 約 40、約 40 ~ 約 100、約 40 ~ 約 90、約 40 ~ 約 80、約 40 ~ 約 70、約 40 ~ 約 60、約 70 ~ 約 80、約 75 ~ 約 85、約 65 ~ 約 75、約 65 ~ 約 80、約 60 ~ 約 85、または約 40 ~ 約 500 の塩基性アミノ酸、例えば、リジンを含む。

## 【 0 1 6 7 】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、約 100 ~ 約 1000、約 100 ~ 約 900、約 100 ~ 約 800、約 100 ~ 約 700、約 100 ~ 約 600、約 100 ~ 約 500、約 100 ~ 約 400、約 100 ~ 約 300、約 100 ~ 約 200、約 200 ~ 約 1000、約 200 ~ 約 900、約 200 ~ 約 800、約 200 ~ 約 700、約 200 ~ 約 600、約 200 ~ 約 500、約 200 ~ 約 400、約 200 ~ 約 300、約 300 ~ 約 1000、約 300 ~ 約 900、約 300 ~ 約 800、約 300 ~ 約 700、約 300 ~ 約 600、約 300 ~ 約 500、約 300 ~ 約 400、約 400 ~ 約 1000、約 400 ~ 約 900、約 400 ~ 約 800、約 400 ~ 約 700、約 400 ~ 約 600、約 400 ~ 約 500、約 500 ~ 約 1000、約 500 ~ 約 900、約 500 ~ 約 800、約 500 ~ 約 700、約 500 ~ 約 600、約 600 ~ 約 1000、約 600 ~ 約 900、約 600 ~ 約 800、約 600 ~ 約 700、約 700 ~ 約 1000、約 700 ~ 約 900、約 700 ~ 約 800、約 800 ~ 約 1000、約 800 ~ 約 900、または約 900 ~ 約 1000 の塩基性アミノ酸、例えば、リジンを含む。

## 【 0 1 6 8 】

いくつかの態様では、塩基性アミノ酸、例えば、リジン、アルギニン、ヒスチジン、またはそれらの組み合わせの数は、アニオン性ペイロードの長さに基づいて調整され得る。例えば、より長い配列を有するアニオン性ペイロードは、より多い数の塩基性アミノ酸（例えば、リジン）と組み合され得る。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットにおける塩基性アミノ酸、例えば、リジンの数は、ポリマーにおけるプロトン化アミン対アニオン性ペイロード、例えば、オリゴヌクレオチド、例えば、*antimiR* におけるリン酸のモル比（*N/P*）が、約 1.0、約 1.1、約 1.2、約 1.3、約 1.4、約 1.5、約 1.6、約 1.7、約 1.8、約 1.9、約 2.0、約 2.1、約 2.2、約 2.3、約 2.4、約 2.5、約 2.6、約 2.7、約 2.8、約 2.9、または約 3 となるように計算され得る。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットにおける塩基性アミノ酸、例えば、リジンの数は、ポリマーにおけるプロトン化アミン対アニオン性ペイロード、例えば、オリゴヌクレオチド、例えば、*antimiR* におけるリン酸のモル比（*N/P*）が、約 1.3 ~ 約 1.7、例えば、約 1.5 となるように計算される。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットにおける塩基性アミノ酸、例えば、リジンの数は、ポリマーにおけるプロトン化アミン対アニオン性ペイロード、例えば、オリゴヌクレオチド、例えば、*antimiR* におけるリン酸のモル比（*N/P*）が、約 1.4 となるように計算される。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットにおける塩基性アミノ酸、例えば、リジンの数は、ポリマーにおけるプロトン化アミン対アニオン性ペイロード、例えば、オリゴヌクレオチド、例えば、*ant*

10

20

30

40

50

i m i Rにおけるリン酸のモル比 ( N / P ) が、約 1 . 3 となるように計算される。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットにおける塩基性アミノ酸、例えば、リジンの数は、ポリマーにおけるプロトン化アミン対アニオン性ペイロード、例えば、オリゴヌクレオチド、例えば、a n t i m i Rにおけるリン酸のモル比 ( N / P ) が、約 1 . 7 となるように計算される。

#### 【 0 1 6 9 】

当業者は、カチオン性キャリア部分の役割はペイロードの負電荷（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドのリン酸骨格における負電荷）を静電的相互作用により中性化することであるため、いくつかの態様では（例えば、ペイロードが a n t i m i R などの核酸である場合）、カチオン性キャリアの長さ、カチオン性キャリアの正に荷電した基の数、  
10  
ならびにカチオン性キャリアに存在する電荷の分布及び配置は、ペイロード分子の長さ及び電荷分布に依存することを理解するであろう。

#### 【 0 1 7 0 】

他の態様では、例えば、ペイロードが複数の低分子（例えば、アニオン性低分子薬物）である場合、カチオン性キャリアの長さ及びカチオン性キャリアの正に荷電した基の数は、所望のペイロードと相関する。例えば、本開示のカチオン性キャリアユニットにより輸送される低分子薬物の数は、カチオン性キャリア部分における電荷の数に依存するであろう。

#### 【 0 1 7 1 】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアは、約 5 ~ 約 10、約 10 ~ 約 15、約 15 ~ 約 20、約 20 ~ 約 25、約 25 ~ 約 30、約 30 ~ 約 35、約 35 ~ 約 40、約 40 ~ 約 45、約 45 ~ 約 50、約 50 ~ 約 55、約 55 ~ 約 60、約 60 ~ 約 65、約 ~ 約 70、約 70 ~ 約 75、または約 75 ~ 約 80 の塩基性アミノ酸を含む。いくつかの特定の態様では、正に荷電したキャリアは、約 30 ~ 約 50 の塩基性アミノ酸を含む。いくつかの特定の態様では、正に荷電したキャリアは、約 70 ~ 約 80 の塩基性アミノ酸を含む。  
20

#### 【 0 1 7 2 】

いくつかの態様では、塩基性アミノ酸は、アルギニン、リジン、ヒスチジン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、塩基性アミノ酸は、D - アミノ酸である。いくつかの態様では、塩基性アミノ酸は、L - アミノ酸である。いくつかの態様では、正に荷電したキャリアは、D - アミノ酸及び L - アミノ酸を含む。いくつかの態様では、塩基性アミノ酸は、少なくとも 1 つの非天然アミノ酸またはその誘導体を含む。いくつかの態様では、塩基性アミノ酸は、アルギニン、リジン、ヒスチジン、L - 4 - アミノメチル - フェニルアラニン、L - 4 - グアニジン - フェニルアラニン、L - 4 - アミノメチル - N - イソプロピル - フェニルアラニン、L - 3 - ピリジル - アラニン、L - t r a n s - 4 - アミノメチルシクロヘキシル - アラニン、L - 4 - ピペリジニル - アラニン、L - 4 - アミノシクロヘキシル - アラニン、4 - グアニジノ酪酸、L - 2 - アミノ - 3 - グアニジノプロピオン酸、D L - 5 - ヒドロキシリジン、ピロリジン、5 - ヒドロキシ - L - リジン、メチルリジン、ヒプシン、またはそれらの任意の組み合わせである。特定の態様では、正に荷電したキャリアは、約 40 のリジンを含む。特定の態様では、正に荷電したキャリアは、約 50 のリジンを含む。特定の態様では、正に荷電したキャリアは、約 60 のリジンを含む。特定の態様では、正に荷電したキャリアは、約 70 のリジンを含む。特定の態様では、正に荷電したキャリアは、約 80 のリジンを含む。  
30  
40

#### 【 0 1 7 3 】

他の態様では、カチオン性キャリアは、少なくとも 3 つ、少なくとも 4 つ、少なくとも 5 つ、少なくとも 6 つ、少なくとも 7 つ、少なくとも 8 つ、少なくとも 9 つ、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19、少なくとも 20、少なくとも 21、少なくとも 22、少なくとも 23、少なくとも 24、少なくとも 25、少なくとも 26、少なくとも 27、少なくとも 28、少なくとも 29、少なくとも 30、少なくとも 31、少なくとも 32、少なくとも 33、少なくとも 34、少なくとも  
50

35、少なくとも36、少なくとも37、少なくとも38、少なくとも39、少なくとも40、少なくとも41、少なくとも42、少なくとも43、少なくとも44、少なくとも45、少なくとも46、少なくとも47、少なくとも48、少なくとも49、少なくとも50、少なくとも51、少なくとも52、少なくとも53、少なくとも54、少なくとも55、少なくとも56、少なくとも67、少なくとも58、少なくとも59、少なくとも60、少なくとも61、少なくとも62、少なくとも63、少なくとも64、少なくとも65、少なくとも66、少なくとも67、少なくとも68、少なくとも69、少なくとも70、少なくとも71、少なくとも72、少なくとも73、少なくとも74、少なくとも75、少なくとも76、少なくとも77、少なくとも78、少なくとも79、または少なくとも80のカチオン性基（例えば、アミノ基）を含むアルキル鎖、例えば、 $C_3 \sim C_{50}$ を含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアは、約5～約10、約10～約15、約15～約20、約20～約25、約25～約30、約30～約35、約35～約40、約40～約45、約45～約50、約50～約55、約55～約60、約60～約65、約65～約70、約70～約75、または約75～約80のカチオン性基（例えば、アミノ基）を含むアルキル鎖、例えば、 $C_3 \sim C_{50}$ を含む。いくつかの特定の態様では、カチオン性キャリアは、30～約50のカチオン性基（例えば、アミノ基）を含むアルキル鎖、例えば、 $C_3 \sim C_{50}$ を含む。いくつかの特定の態様では、カチオン性キャリアは、70～約80のカチオン性基（例えば、アミノ基）を含むアルキル鎖、例えば、 $C_3 \sim C_{50}$ を含む。

#### 【0174】

他の態様では、カチオン性キャリアは、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、少なくとも8つ、少なくとも9つ、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、少なくとも25、少なくとも26、少なくとも27、少なくとも28、少なくとも29、少なくとも30、少なくとも31、少なくとも32、少なくとも33、少なくとも34、少なくとも35、少なくとも36、少なくとも37、少なくとも38、少なくとも39、少なくとも40、少なくとも41、少なくとも42、少なくとも43、少なくとも44、少なくとも45、少なくとも46、少なくとも47、少なくとも48、少なくとも49、少なくとも50、少なくとも51、少なくとも52、少なくとも53、少なくとも54、少なくとも55、少なくとも56、少なくとも57、少なくとも58、少なくとも59、少なくとも60、少なくとも61、少なくとも62、少なくとも63、少なくとも64、少なくとも65、少なくとも66、少なくとも67、少なくとも68、少なくとも69、少なくとも70、少なくとも71、少なくとも72、少なくとも73、少なくとも74、少なくとも75、少なくとも76、少なくとも77、少なくとも78、少なくとも79、または少なくとも80のカチオン性基（例えば、アミノ基）を含むポリマーまたはコポリマーを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアは、約5～約10のカチオン性基、約10～約15のカチオン性基、約15～約20のカチオン性基、約20～約25のカチオン性基、約25～約30のカチオン性基、約30～約35のカチオン性基、約35～約40のカチオン性基、約40～約45のカチオン性基、約45～約50のカチオン性基、約50～約55のカチオン性基、約55～約60のカチオン性基、約60～約65のカチオン性基、約65～約70のカチオン性基、約70～約75のカチオン性基、または約45～約50のカチオン性基（例えば、アミノ基）を含むポリマーまたはコポリマーを含む。いくつかの特定の態様では、カチオン性キャリアは、30～約50のカチオン性基（例えば、アミノ基）を含むポリマーまたはコポリマーを含む。いくつかの特定の態様では、カチオン性キャリアは、70～約80のカチオン性基（例えば、アミノ基）を含むポリマーまたはコポリマーを含む。いくつかの態様では、ポリマーまたはコポリマーは、アクリレート、ポリアルコール、または多糖である。

#### 【0175】

いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、単一のペイロード分子に結合する。他の態様では、カチオン性キャリア部分は、同一であり得るか、または異なり得る複数のペイロード分子に結合し得る。

【 0 1 7 6 】

いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分の正電荷及び核酸ペイロードの負電荷は、約 3 : 1、約 2 . 9 : 1、約 2 . 8 : 1、約 2 . 7 : 1、約 2 . 6 : 1、約 2 . 5 : 1、約 2 . 4 : 1、約 2 . 3 : 1、約 2 . 2 : 1、約 2 : 1、約 2 : 1、約 1 . 9 : 1、約 1 . 8 : 1、約 1 . 7 : 1、約 1 . 6 : 1、約 1 . 5 : 1、約 1 . 4 : 1、約 1 . 3 : 1、約 1 . 2 : 1、約 1 . 1 : 1、約 1 : 1、約 1 : 1 . 1、約 1 : 1 . 2、約 1 : 1 . 3、約 1 : 1 . 4、約 1 : 1 . 5、約 1 : 1 . 6、約 1 : 1 . 7、約 1 : 1 . 8、約 1 : 1 . 9、約 1 : 2、約 1 : 2 . 1、約 1 : 2 . 2、約 1 : 2 . 3、約 1 : 2 . 4、約 1 : 2 . 5、約 1 : 2 . 6、約 1 : 2 . 7、約 1 : 2 . 8、約 1 : 2 . 9、または約 1 : 3 のイオン比率である。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分の正電荷及び核酸ペイロードの負電荷は、1 : 1 の電荷比率である。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分の正電荷及び核酸ペイロードの負電荷は、3 : 2 の電荷比率である。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分の正電荷及び核酸ペイロードの負電荷は、2 : 3 の電荷比率である。

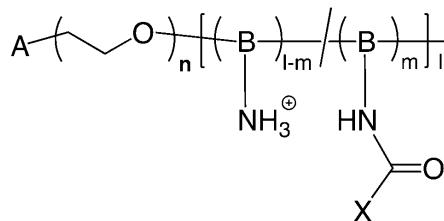
10

【 0 1 7 7 】

いくつかの態様では、本開示のキャリアユニットは、次式を含み、

【 化 1 0 】

20



式中、A は、トリプトファンまたはフェニルアラニンであり、B は、カチオン性キャリア部分、例えば、リジンであり、

30

式中、

( i ) l は、約 1 ~ 約 2 0 0、例えば、約 2 ~ 約 1 0、約 1 0 ~ 約 2 0、約 2 0 ~ 約 3 0、約 3 0 ~ 約 4 0、約 4 0 ~ 約 5 0、約 5 0 ~ 約 6 0、約 6 0 ~ 約 7 0、約 7 0 ~ 約 8 0、約 8 0 ~ 約 9 0、約 9 0 ~ 約 1 0 0、約 1 0 0 ~ 約 1 1 0、約 1 1 0 ~ 約 1 2 0、約 1 2 0 ~ 約 1 3 0、約 1 3 0 ~ 約 1 4 0、約 1 4 0 ~ 約 1 5 0、約 1 5 0 ~ 約 1 6 0、約 1 6 0 ~ 約 1 7 0、約 1 7 0 ~ 約 1 8 0、約 1 8 0 ~ 約 1 9 0、または約 1 9 0 ~ 約 2 0 0 の整数であり、

( i i ) m は、1 ~ 1 5 0、例えば、約 2 ~ 約 1 0、約 1 0 ~ 約 2 0、約 2 0 ~ 約 3 0、約 3 0 ~ 約 4 0、約 4 0 ~ 約 5 0、約 5 0 ~ 約 6 0、約 6 0 ~ 約 7 0、約 7 0 ~ 約 8 0、約 8 0 ~ 約 9 0、約 9 0 ~ 約 1 0 0、約 1 0 0 ~ 約 1 1 0、約 1 1 0 ~ 約 1 2 0、約 1 2 0 ~ 約 1 3 0、約 1 3 0 ~ 約 1 4 0、約 1 4 0 ~ 約 1 5 0 の整数であり、

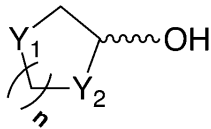
40

( i i i ) n は、約 1 ~ 約 2 0 0、例えば、約 2 ~ 約 1 0、約 1 0 ~ 約 2 0、約 2 0 ~ 約 3 0、約 3 0 ~ 約 4 0、約 4 0 ~ 約 5 0、約 5 0 ~ 約 6 0、約 6 0 ~ 約 7 0、約 7 0 ~ 約 8 0、約 8 0 ~ 約 9 0、約 9 0 ~ 約 1 0 0、約 1 0 0 ~ 約 1 1 0、約 1 1 0 ~ 約 1 2 0、約 1 2 0 ~ 約 1 3 0、約 1 3 0 ~ 約 1 4 0、約 1 4 0 ~ 約 1 5 0、約 1 5 0 ~ 約 1 6 0、約 1 6 0 ~ 約 1 7 0、約 1 7 0 ~ 約 1 8 0、約 1 8 0 ~ 約 1 9 0、または約 1 9 0 ~ 約 2 0 0 の整数であり、

X は、

50

## 【化 1 1】



であり、Y<sub>1</sub>は、C、N、O、またはSであり、Y<sub>2</sub>は、C、N、O、またはSであり、nは、1または2である。いくつかの態様では、Xは、-SH（例えば、スルファニル基、アルカンチオール、またはアルキルチオール）であり得る。いくつかの態様では、本開示のミセルは、ビタミン、例えば、ビタミンB3にコンジュゲートされた1種類のカチオン性キャリアユニット及びスルファニル基（例えば、アルカンチオールまたはアルキルチオール）にコンジュゲートされた別の種類のカチオン性キャリアユニットを含む。いくつかの態様では、本開示のミセルは、ビタミン、例えば、ビタミンB3にコンジュゲートされた第1の種類のカチオン性キャリアユニット、スルファニル基（例えば、アルカンチオールまたはアルキルチオール）にコンジュゲートされた第2の種類のカチオン性キャリアユニット、及び遊離塩基である第3の種類のカチオン性キャリアユニットを含む。

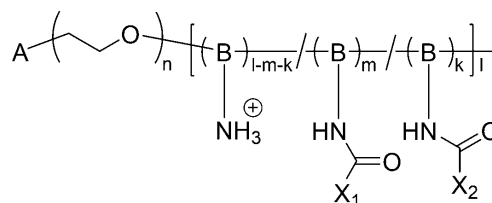
10

## 【0 1 7 8】

いくつかの態様では、本開示のキャリアユニットは、次式を含み、

20

## 【化 1 2】



30

式中、Aは、トリプトファンまたはフェニルアラニンであり、Bは、カチオン性キャリア部分、例えば、リジンであり、

式中、

(i) lは、約1～約200、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150、約150～約160、約160～約170、約170～約180、約180～約190、または約190～約200の整数であり、

(ii) mは、1～150、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150の整数であり、

40

(iii) kは、1～150、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150の整数であり、

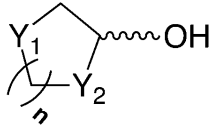
(iii) nは、約1～約200、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120

50

、約 120 ~ 約 130、約 130 ~ 約 140、約 140 ~ 約 150、約 150 ~ 約 160、約 160 ~ 約 170、約 170 ~ 約 180、約 180 ~ 約 190、または約 190 ~ 約 200 の整数であり、

$X_1$  は、

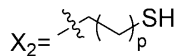
【化 13】



10

であり、 $Y_1$  は、C、N、O、または S であり、 $Y_2$  は、C、N、O、または S であり、 $n$  は、1 または 2 であり、 $X_2$  は、

【化 14】



20

であり、 $p = 0 \sim 5$  である。いくつかの態様では、 $p$  は 0 である。いくつかの態様では、 $X_2$  は SH である。

【0179】

いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、自由末端を有し、ここで、末端基は反応性基である。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、自由末端（例えば、ポリリジンカチオン性キャリア部分における C 末端）を有し、ここで、末端基は、アミノ（ $-NH_2$ ）基である。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分は、自由末端を有し、ここで、末端基はスルフヒドリル基である。いくつかの態様では、カチオン性キャリア部分の反応性基は、アジュバント部分、例えば、ビタミン B3 アジュバント部分に結合される。

30

【0180】

c. アジュバント部分

いくつかの態様では、本開示のカチオン性キャリアユニットは、少なくとも 1 つのアジュバント部分を含む。本明細書で使用する場合、「アジュバント部分」という用語は、例えば、(i) ペイロードの治療活性もしくは予防活性を補足し得るか、(ii) ペイロードの治療活性もしくは予防活性を調節し得るか、(iii) 標的組織もしくは標的細胞において治療薬及び/または予防薬として機能し得るか、(iv) 生理学的バリア、例えば、BBB 及び/または形質膜を通したカチオン性キャリアユニットの輸送を促進し得るか、(v) 標的組織もしくは標的細胞の恒常性を改善し得るか、(vi) 正に荷電した基をカチオン性キャリア部分に提供し得るか、または (vii) それらの任意の組み合わせであり得る分子実体を指す。

40

【0181】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、例えば、免疫反応、炎症反応、または組織微小環境を調節することができる。

【0182】

いくつかの態様では、免疫反応を調節することができるアジュバント部分は、例えば、チロシンまたはドーパミンを含み得る。チロシンは、L-ドーパに変換され得、次いで、2 ステップの酵素反応によりドーパミンに変換される。通常、ドーパミンレベルは、パーキンソン病患者において低い。したがって、いくつかの態様では、チロシンは、パーキン

50

ソン病の処置に使用されるカチオン性キャリアユニットにおけるアジュバント部分である。トリプトファンは、食欲、感情、ならびに運動機能、認知機能、及び自律神経機能において役割を果たすと考えられている神経伝達物質であるセロトニンに変換され得る。したがって、いくつかの態様では、低セロトニンレベルに関連する疾患または状態の処置に使用される本開示のカチオン性キャリアユニットは、アジュバント部分としてトリプトファンを含む。

【 0 1 8 3 】

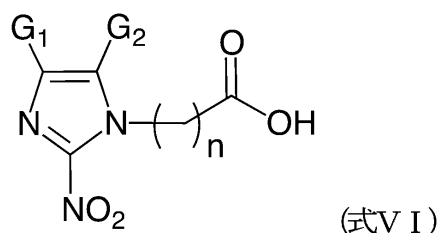
いくつかの態様では、アジュバント部分は、例えば、腫瘍微小環境における低酸素状態を阻害または低減することにより、腫瘍を有する対象における腫瘍微小環境を調節し得る。

【 0 1 8 4 】

いくつかの態様では、アジュバント部分、例えば、イミダゾール誘導体、アミノ酸、ビタミン、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

【 0 1 8 5 】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、次式を含むイミダゾール誘導体であり、



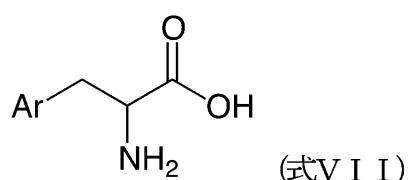
式中、 $G_1$  及び  $G_2$  の各々は、独立して、H、芳香環、もしくは1～10アルキルであるか、または  $G_1$  及び  $G_2$  は、ともに芳香環を形成し、 $n$  は1～10である。

【 0 1 8 6 】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、ニトロイミダゾールを含む。ニトロイミダゾールは、抗生物質として機能する。ニトロイミダゾールにおけるニトロ複素環は、低酸素細胞において還元的に活性化され得、次いで、酸化還元リサイクルを受け得るか、または細胞毒性産物に分解し得る。還元は、通常、嫌気性細菌または無酸素組織においてのみ起こるため、それらのヒト細胞または好気性細菌に対する影響は比較的小さい。いくつかの態様では、アジュバント部分は、メトロニダゾール、チニダゾール、ニモラゾール、ジメトリダゾール、プレトマニド、オルニダゾール、メガゾール、アザニダゾール、ベンズニダゾール、ニトロイミダゾール、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

【 0 1 8 7 】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、アミノ酸を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、次式を含み、



【 化 1 6 】

10

20

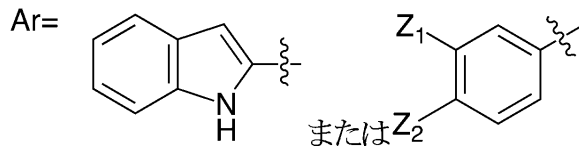
30

40

50



式中、Arは、  
【化17】



10

であり、  
Z<sub>1</sub>及びZ<sub>2</sub>の各々は、HまたはOHである。

【0188】

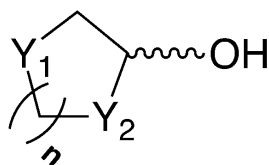
いくつかの態様では、アジュバント部分は、炎症反応を阻害または低減することができる。

【0189】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、ビタミンである。いくつかの態様では、ビタミンは、環式環(cyclic ring)または環式ヘテロ原子環(cyclic hetero atom ring)及びカルボキシル基またはヒドロキシル基を含む。いくつかの態様では、ビタミンは、次式を含み、

20

【化18】



(式VIII)

30

式中、Y<sub>1</sub>及びY<sub>2</sub>の各々は、C、N、O、またはSであり、nは、1または2である。

【0190】

いくつかの態様では、ビタミンは、ビタミンA(レチノール)、ビタミンB<sub>1</sub>(チアミン塩化物)、ビタミンB<sub>2</sub>(リボフラビン)、ビタミンB<sub>3</sub>(ナイアシンアミド)、ビタミンB<sub>6</sub>(ピリドキサル)、ビタミンB<sub>7</sub>(ビオチン)、ビタミンB<sub>9</sub>(葉酸)、ビタミンB<sub>12</sub>(コバラミン)、ビタミンC(アスコルビン酸)、ビタミンD<sub>2</sub>、ビタミンD<sub>3</sub>、ビタミンE(トコフェロール)、ビタミンM、ビタミンH、それらの誘導体、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される。

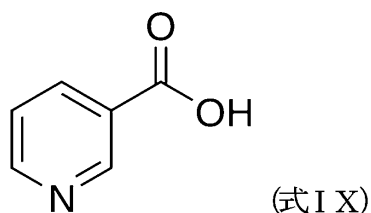
40

【0191】

いくつかの態様では、ビタミンは、以下のビタミンB<sub>3</sub>(ナイアシンまたはニコチン酸としても公知)である。

50

## 【化 1 9】



10

## 【0 1 9 2】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、少なくとも約 2 つ、少なくとも約 3 つ、少なくとも約 4 つ、少なくとも約 5 つ、少なくとも約 6 つ、少なくとも約 7 つ、少なくとも約 8 つ、少なくとも約 9 つ、少なくとも約 10、少なくとも約 11、少なくとも約 12、少なくとも約 13、少なくとも約 14、少なくとも約 15、少なくとも約 16、少なくとも約 17、少なくとも約 18、少なくとも約 19、少なくとも約 20、少なくとも約 21、少なくとも約 22、少なくとも約 23、少なくとも約 24、少なくとも約 25、少なくとも約 26、少なくとも約 27、少なくとも約 28、少なくとも約 29、または少なくとも約 30 のビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 10 のビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 7 つのビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 8 つのビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 9 つのビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 10 のビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 11 のビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 12 のビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 13 のビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 14 のビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 15 のビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 20 のビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 25 のビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 30 のビタミン B 3 を含む。

20

30

## 【0 1 9 3】

いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 5 ~ 約 10 のビタミン B 3、約 10 ~ 約 15 のビタミン B 3、約 15 ~ 約 20 のビタミン B 3、約 20 ~ 約 25 のビタミン B 3、約 25 ~ 約 30 のビタミン B 3、約 30 ~ 約 35 のビタミン B 3、約 35 ~ 約 40 のビタミン B 3、約 40 ~ 約 45 のビタミン B 3、約 45 ~ 約 50 のビタミン B 3 を含む。いくつかの態様では、アジュバント部分は、約 10 ~ 約 20 のビタミン B 3、約 20 ~ 約 30 のビタミン B 3、約 30 ~ 約 40 のビタミン B 3、約 40 ~ 約 50 のビタミン B 3、約 5 ~ 約 15 のビタミン B 3、約 15 ~ 約 25 のビタミン B 3、約 25 ~ 約 35 のビタミン B 3、約 35 ~ 約 45 のビタミン B 3、約 45 ~ 約 55 のビタミン B 3 を含む。

40

## 【0 1 9 4】

ナイアシンは、インピボにおいて補酵素であるニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD) 及びニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリリン酸 (NADP) の前駆体である。NAD は、酵素 NAD + キナーゼの存在下でのリン酸化により NADP に変換される。NADP 及び NAD は、多数の水素転移プロセスに関与する多数のデヒドロゲナーゼの補酵素である。NAD は、脂肪、炭水化物、タンパク質、及びアルコールの異化、ならびに細胞シグナル伝達及び DNA 修復に重要であり、NADP は、主に同化反応、例えば、脂肪酸及びコレステロール合成に重要である。エネルギー必要量が高い (脳) か、または代謝回転速度が速い器官 (消化管、皮膚) は、通常、それらの欠乏に最も感受性が高い。

## 【0 1 9 5】

50

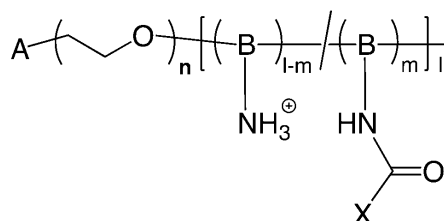
ナイアシンは、脳、消化管、皮膚、及び血管組織を含む種々の組織においてN I A C R 1の活性化により顕著な抗炎症効果をもたらす。ナイアシンは、神経炎症を減弱することが示されており、多発性硬化症及びパーキンソン病などの神経免疫障害の処置における有効性を有し得る。Offermanns & Schwanninger (2015) Trends in Molecular Medicine 21:245-266; Chai et al (2013) Current Atherosclerosis Reports 15:325; Graff et al. (2016) Metabolism 65:102-13; 及びWakade & Chong (2014) Journal of the Neurological Sciences 347:34-8 (参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)を参照のこと。

10

【0196】

いくつかの態様では、本開示のキャリアユニットは、次式を含み、

【化20】



20

式中、Xは、ビタミンB3であり、

Aは、標的化部分であり、

Bは、カチオン性キャリア部分、例えば、リジンであり、

式中、

(i) lは、約1～約200、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150、約150～約160、約160～約170、約170～約180、約180～約190、または約190～約200の整数であり、

30

(ii) mは、1～150、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150の整数であり、

(iii) nは、約1～約200、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150、約150～約160、約160～約170、約170～約180、約180～約190、または約190～約200の整数である。

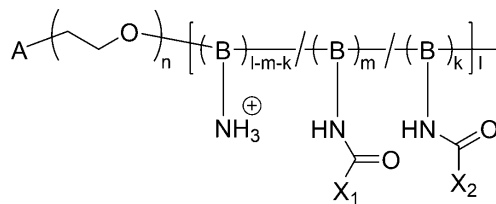
40

【0197】

いくつかの態様では、本開示のキャリアユニットは、次式を含み、

50

## 【化 2 1】



10

式中、X は、ビタミン B 3 であり、

A は、標的化部分であり、

B は、カチオン性キャリア部分、例えば、リジンであり、

式中、

( i ) l は、約 1 ～ 約 200、例えば、約 2 ～ 約 10、約 10 ～ 約 20、約 20 ～ 約 30、約 30 ～ 約 40、約 40 ～ 約 50、約 50 ～ 約 60、約 60 ～ 約 70、約 70 ～ 約 80、約 80 ～ 約 90、約 90 ～ 約 100、約 100 ～ 約 110、約 110 ～ 約 120、約 120 ～ 約 130、約 130 ～ 約 140、約 140 ～ 約 150、約 150 ～ 約 160、約 160 ～ 約 170、約 170 ～ 約 180、約 180 ～ 約 190、または約 190 ～ 約 200 の整数であり、

20

( ii ) m は、1 ～ 150、例えば、約 2 ～ 約 10、約 10 ～ 約 20、約 20 ～ 約 30、約 30 ～ 約 40、約 40 ～ 約 50、約 50 ～ 約 60、約 60 ～ 約 70、約 70 ～ 約 80、約 80 ～ 約 90、約 90 ～ 約 100、約 100 ～ 約 110、約 110 ～ 約 120、約 120 ～ 約 130、約 130 ～ 約 140、約 140 ～ 約 150 の整数であり、

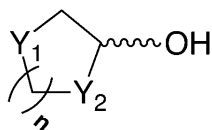
( iii ) k は、1 ～ 150、例えば、約 2 ～ 約 10、約 10 ～ 約 20、約 20 ～ 約 30、約 30 ～ 約 40、約 40 ～ 約 50、約 50 ～ 約 60、約 60 ～ 約 70、約 70 ～ 約 80、約 80 ～ 約 90、約 90 ～ 約 100、約 100 ～ 約 110、約 110 ～ 約 120、約 120 ～ 約 130、約 130 ～ 約 140、約 140 ～ 約 150 の整数であり、

( iii ) n は、約 1 ～ 約 200、例えば、約 2 ～ 約 10、約 10 ～ 約 20、約 20 ～ 約 30、約 30 ～ 約 40、約 40 ～ 約 50、約 50 ～ 約 60、約 60 ～ 約 70、約 70 ～ 約 80、約 80 ～ 約 90、約 90 ～ 約 100、約 100 ～ 約 110、約 110 ～ 約 120、約 120 ～ 約 130、約 130 ～ 約 140、約 140 ～ 約 150、約 150 ～ 約 160、約 160 ～ 約 170、約 170 ～ 約 180、約 180 ～ 約 190、または約 190 ～ 約 200 の整数であり、

30

X<sub>1</sub> は、

## 【化 2 2】

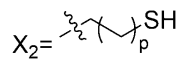


40

であり、Y<sub>1</sub> は、C、N、O、または S であり、Y<sub>2</sub> は、C、N、O、または S であり、n は、1 または 2 であり、X<sub>2</sub> は、

50

## 【化 2 3】



であり、 $p = 0 \sim 5$ である。いくつかの態様では、 $p$ は0である。いくつかの態様では、 $X_2$ はSHである。

## 【0198】

## d. 標的化部分

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、任意選択的にリンカーにより水溶性ポリマーに連結されている標的化部分を含む。本明細書で使用する場合、「標的化部分」という用語は、特定の生体物質または部位に結合する生体認識分子を指す。いくつかの態様では、標的化部分は、ある特定の標的分子に対して特異的（例えば、受容体を標的とするリガンドまたは表面タンパク質を標的とする抗体）であるか、組織に対して特異的（例えば、特定の器官または組織、例えば、肝臓、脳、または内皮にミセルを優先的に輸送する分子）であるか、または生理学的バリアを通した輸送を促進する（例えば、血液脳関門または形質膜を通した輸送を促進し得るペプチドまたは他の分子）。

## 【0199】

ペイロード（例えば、ヌクレオチド分子、例えば、マイクロRNAに結合するアンチセンスオリゴヌクレオチド）を本開示に従って標的化するために、標的化部分は、カチオン性キャリアユニットに連結され得、これによって、ミセルの外面に連結され得る一方で、ミセルは、その核内に封入されたペイロードを有する。

## 【0200】

いくつかの態様では、標的化部分は、本開示のミセルを組織に標的化することができる標的化部分である。いくつかの態様では、組織は、肝臓、脳、腎臓、肺、卵巣、膵臓、甲状腺、胸部、胃、またはそれらの任意の組み合わせである。いくつかの態様では、組織は、がん組織、例えば、肝臓癌、脳癌、腎臓癌、肺癌、卵巣癌、膵臓癌、甲状腺癌、乳癌、胃癌、またはそれらの任意の組み合わせである。

## 【0201】

特定の態様では、組織は、肝臓である。特定の態様では、肝臓を標的とする標的化部分は、コレステロールである。他の態様では、肝臓を標的とする標的化部分は、アシアロ糖タンパク質受容体標的化部分と結合するリガンドである。いくつかの態様では、アシアロ糖タンパク質受容体標的化部分は、GalNAcクラスターを含む。いくつかの態様では、GalNAcクラスターは、一価、二価、三価、または四価のGalNAcクラスターである。

## 【0202】

別の態様では、組織は、膵臓である。いくつかの態様では、膵臓を標的とする標的化部分は、膵臓細胞上の  $\alpha_3$  インテグリン受容体を標的とするリガンドを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、アルギニルグリシルアスパラギン酸（RGD）ペプチド配列（L-アルギニル-グリシル-L-アスパラギン酸、Arg-Gly-Asp）を含む。

## 【0203】

いくつかの態様では、組織は、中枢神経系の組織、例えば、神経組織である。いくつかの態様では、中枢神経系を標的とする標的化部分は、大型中性アミノ酸輸送体1（LAT1）により輸送されることができる。LAT1（SLC7A5）は、大型中性アミノ酸及びいくつかの医薬品の両方の取り込みのための輸送体である。LAT1は、L-ドーパまたはガバペンチンなどの薬物を輸送し得る。

## 【0204】

いくつかの態様では、標的化部分は、グルコース輸送体1（またはGLUT1）に結合

10

20

30

40

50

することができ、B B Bを通過することができるグルコース、例えば、D - グルコースを含む。溶質輸送体ファミリー 2 促進性グルコース輸送体メンバー 1 ( S L C 2 A 1 ) としても公知の G L U T 1 は、ヒトにおいて S L C 2 A 1 遺伝子によりコードされる単輸送体タンパク質である。G L U T 1 は、哺乳動物細胞の形質膜を通したグルコースの輸送を促進する。この遺伝子は、哺乳動物の血液脳関門における主要なグルコース輸送体をコードする。

#### 【 0 2 0 5 】

いくつかの態様では、標的化部分は、G L U T 1 輸送体に結合することができ、B B Bを通過することができるガラクトース（例えば、D - ガラクトース）を含む。いくつかの態様では、標的化部分は、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤 ( A C h E I ) 及び/または E A A T 阻害剤に結合することができ、B B Bを通過することができるグルタミン酸を含む。アセチルコリンエステラーゼは、コリンエステラーゼ酵素ファミリーの主要なメンバーである酵素である。アセチルコリンエステラーゼ阻害剤 ( A C h E I ) は、アセチルコリンエステラーゼがアセチルコリンをコリン及び酢酸に分解するのを阻害し、これにより、アセチルコリン受容体が豊富である中枢神経系、自律神経節、及び神経筋接合部における神経伝達物質アセチルコリンのレベル及び作用持続時間の両方を増加させる阻害剤である。アセチルコリンエステラーゼ阻害剤は、2 種類のコリンエステラーゼ阻害剤のうちの 1 つであり、もう一方は、ブチルコリンエステラーゼ阻害剤である。

#### 【 0 2 0 6 】

いくつかの態様では、標的化部分は、G A B A 受容体に結合することができ、B B Bを通過することができる G A B A である。G A B A 受容体は、成熟脊椎動物の中枢神経系における主要な抑制性化合物である神経伝達物質 - アミノ酪酸 ( G A B A ) に反応する受容体のクラスである。2 つのクラスの G A B A 受容体、すなわち G A B A A 及び G A B A B が存在する。G A B A A 受容体は、リガンド依存性イオンチャネル ( イオンチャネル型受容体としても知られる ) であり、一方、G A B A B 受容体は、代謝型受容体とも称される G タンパク質共役受容体である。

#### 【 0 2 0 7 】

いくつかの態様では、標的化部分は、L A T 1 に結合することができ、B B Bを通過することができるチロシンを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、L A T 1 に結合することができ、B B Bを通過することができるリジンを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、L A T 1 に結合することができ、B B Bを通過することができるグルタミンを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、G A B A 受容体、L A T 1、C N S 逆転写酵素阻害剤、及び/またはドーパミン ( D A ) 受容体に結合することができ、B B Bを通過することができるフェニルアラニンを含む。ドーパミン受容体は、脊椎動物中枢神経系 ( C N S ) において顕著である G タンパク質共役受容体のクラスである。ドーパミン受容体は、G タンパク質カップリングによってだけでなく、異なるタンパク質 ( ドーパミン受容体 - 相互作用タンパク質 ) 相互作用によるシグナル伝達によっても異なるエフェクターを活性化する。神経伝達物質ドーパミンは、ドーパミン受容体の主要な内因性リガンドである。

#### 【 0 2 0 8 】

ドーパミン受容体は、動機付け、快感、認知、記憶、学習、及び細かい運動制御、ならびに神経内分泌シグナル伝達の調節を含む多数の神経プロセスに関与するとされる。異常なドーパミン受容体シグナル伝達及びドーパミン作動性神経機能は、いくつかの神経精神障害に関係付けられている。したがって、ドーパミン受容体は、神経薬の一般的な標的であり、抗精神病薬が、多くの場合、ドーパミン受容体アンタゴニストである一方で、精神刺激薬が、通常、ドーパミン受容体の間接的アゴニストである。

#### 【 0 2 0 9 】

いくつかの態様では、標的化部分は、C N S 逆転写酵素阻害剤に結合することができ、B B Bを通過することができるバリンを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、G A B A 受容体及び/または C N S 逆転写酵素阻害剤に結合することができ、B B Bを通過す

10

20

30

40

50

ることができるトリプトファンを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、GABA受容体及び/またはCNS逆転写酵素阻害剤に結合することができ、BBBを通過することができるロイシンを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、GABA受容体及び/またはCNS逆転写酵素阻害剤に結合することができ、BBBを通過することができるメチオニンを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、GABA受容体に結合することができ、BBBを通過することができるヒスチジンを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、CNS逆転写酵素阻害剤に結合することができ、BBBを通過することができるイソロイシンを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、GSH輸送体に結合することができ、BBBを通過することができるグルタチオンを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、GSH輸送体に結合することができ、BBBを通過することができるグルタチオン-Metを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、一酸化窒素合成酵素(NOS)に結合することができ、BBBに結合することができる尿素/チオ尿素を含む。いくつかの態様では、標的化部分は、酸化還元機構によりBBBを通過することができるNAD+/NADHを含む。いくつかの態様では、標的化部分は、プリンを含み、BBBを通過することができる。CNS標的化のための標的化部分の追加の例は、Sutera et al. (2016): Small endogenous molecules as moiety to improve targeting of CNS drugs, Expert Opinion on Drug Delivery, DOI: 10.1080/17425247.2016.1208651に示されており、これは参照によりその全体が本明細書に組み入れられる。

10

20

#### 【0210】

いくつかの態様では、標的化部分により標的とされる組織は、骨格筋である。いくつかの態様では、骨格筋を標的とする標的化部分は、大型中性アミノ酸輸送体1(LAT1)により輸送されることができる。

#### 【0211】

LAT1は、T細胞、がん細胞、及び脳内皮細胞を含む多数の細胞種で発現される。LAT1は、脳微小血管内皮細胞において一貫して高レベルで発現される。溶質輸送体が主にBBBに存在するため、本開示のミセルのLAT1への標的化により、BBBを通した送達を可能となる。いくつかの態様では、本開示のミセルをLAT1輸送体に標的化する標的化部分は、アミノ酸、例えば、分枝鎖または芳香族アミノ酸である。いくつかの態様では、アミノ酸は、バリン、ロイシン、及び/またはイソロイシンである。いくつかの態様では、アミノ酸は、トリプトファン及び/またはチロシンである。いくつかの態様では、アミノ酸は、トリプトファンである。他の態様では、アミノ酸は、チロシンである。

30

#### 【0212】

いくつかの態様では、標的化部分は、トリプトファン、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファン、メチオニン、チロキシン、メルファラン、L-ドーパ、ガバペンチン、3,5-I-ジヨードチロシン、3-ヨード-I-チロシン、フェンクロニン、アシピシン、ロイシン、BCH、メチオニン、ヒスチジン、バリン、またはそれらの任意の組み合わせから選択されるLAT1リガンドである。

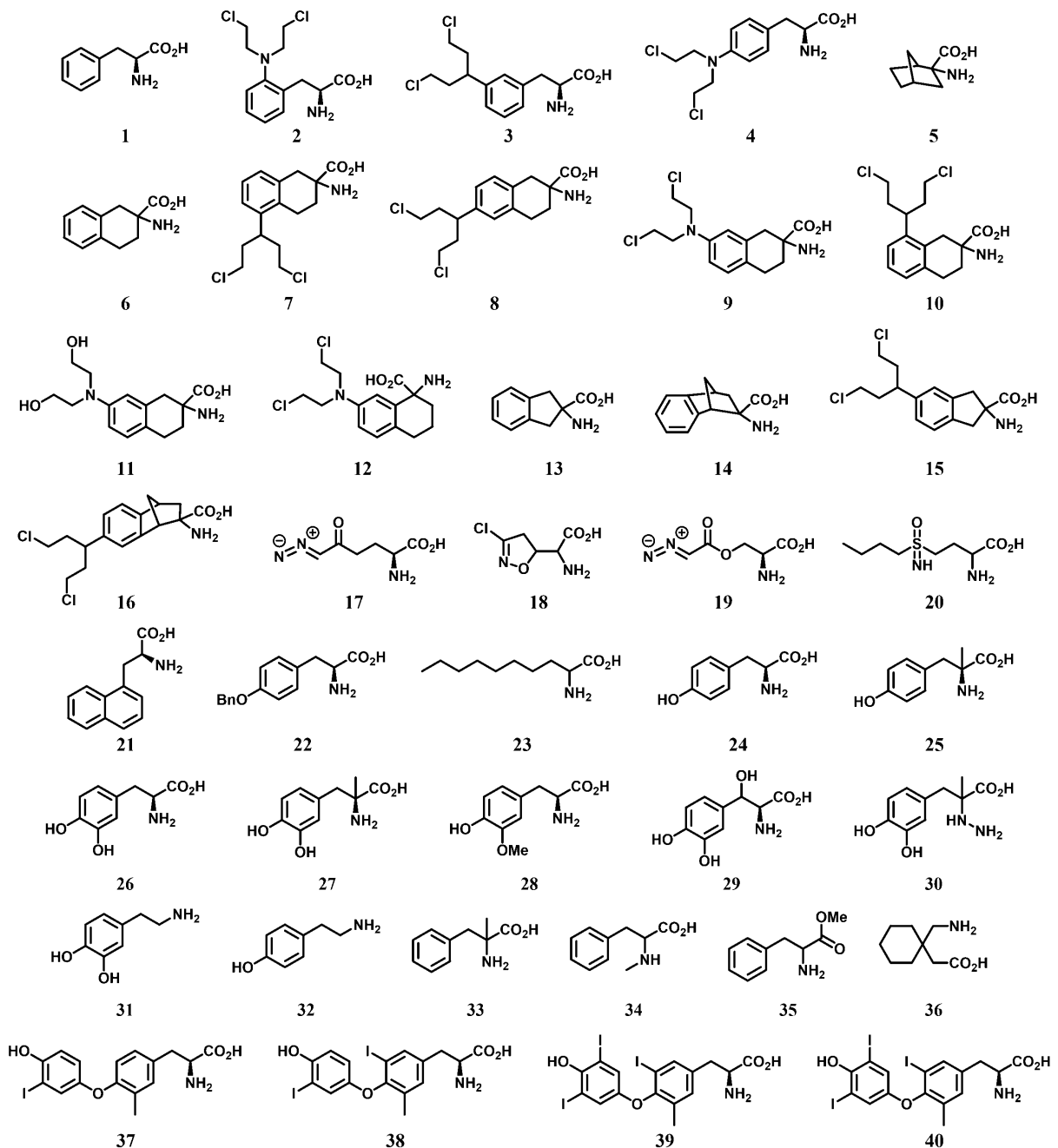
#### 【0213】

いくつかの態様では、LAT1リガンドは、以下に示されるように、[1]1-フェニルアラニン、[2]o-サルコリシン、[3]m-サルコリシン、[4]メルファラン、[5]2-アミノ-2-ノルボルナンカルボン酸(BCH)、[6](±)-2-アミノ-1,2,3,4-テトラヒドロ-2-ナフトエ酸、[7]dl-2-NAM-5、[8]dl-2-NAM-6、[9]dl-2-NAM-7、[10]dl-2-NAM-8、[11]dl-脱塩素化NAM、[12]dl-1-NAM-7、[13](±)-2-アミノインダン-2-カルボン酸、[14](±)-2-アミノベンゾ-ビスクロ-[2.2.1]ヘプタン-2'-エキソ-カルボン酸、[15](±)-2-アミノ-(ビス-2-クロロエチル)-5-アミノインダン-2-カルボン酸、[16](±)-2-エンド-アミノ-ビス(2-クロロエチル)-7'-アミノベンゾビスクロ[2.2.1]ヘ

40

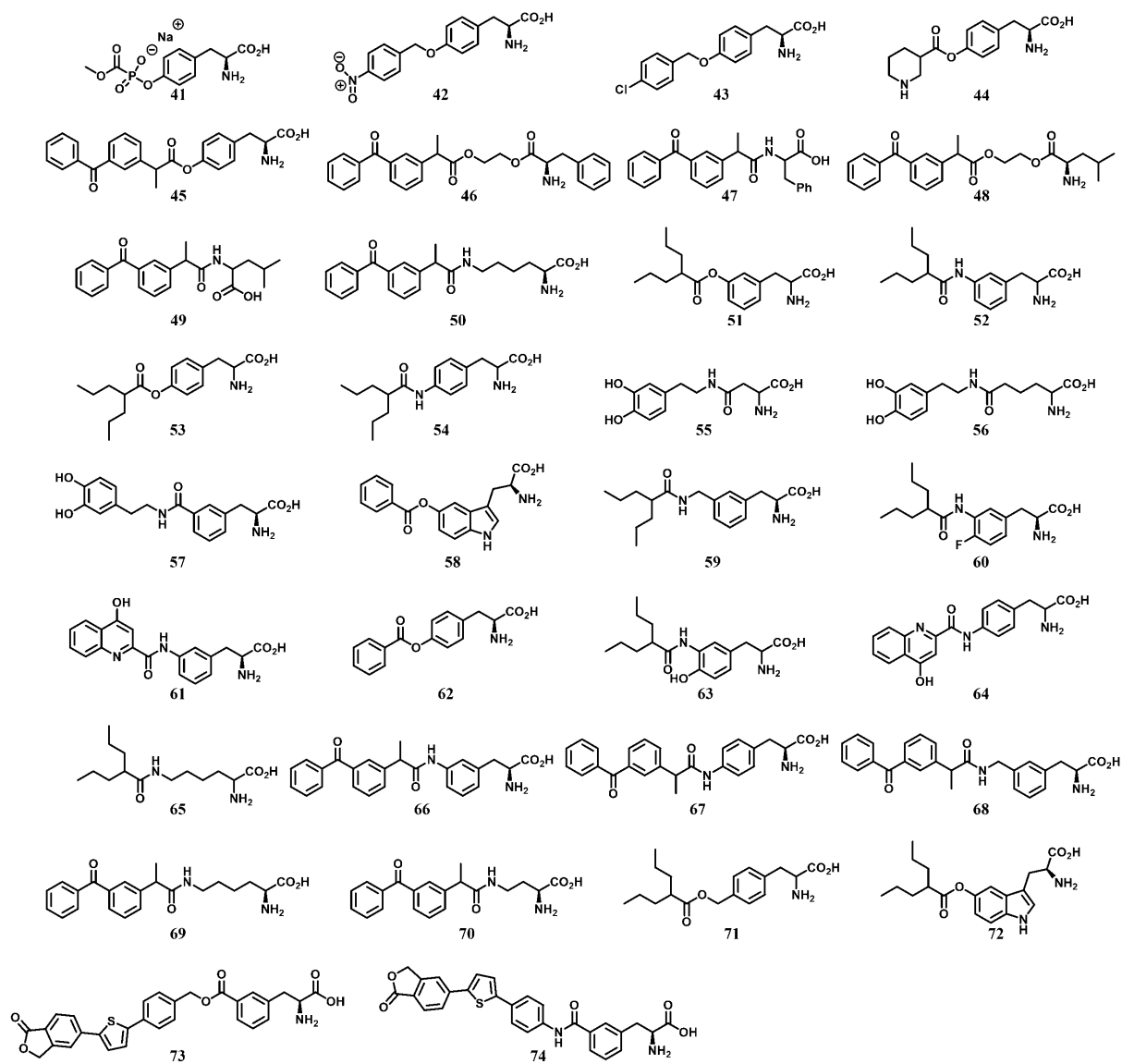
50

ブタン - 2 - エキソ - カルボン酸、[ 17 ] 1 - 6 - ジアゾ - 5 - オキソ - ノルロイシン ( 1 - DON )、[ 18 ] アシピシン、[ 19 ] アザセリン、[ 20 ] プチオニンスルホキシミン ( BSO )、[ 21 ] 1 - 1 - ナフチルアラニン、[ 22 ] o - ベンジル - 1 - チロシン、[ 23 ] 1 - 2 - アミノ - ノナン酸、[ 24 ] 1 - チロシン、[ 25 ] - メチルチロシン、[ 26 ] 1 - DOPA、[ 27 ] - メチルドパ、[ 28 ] 3 - o - メチルドパ、[ 29 ] ドロキシドパ、[ 30 ] カルビドパ、[ 31 ] ドーパミン、[ 32 ] チラミン、[ 33 ] - メチルフェニルアラニン、[ 34 ] N - メチルフェニルアラニン、[ 35 ] フェニルアラニンメチルエステル、[ 36 ] ガバベンチン、[ 37 ] 3 , 3 ' - ジヨードチロニン、[ 38 ] 1 - T3、[ 39 ] 3 ' , 5 ' , 3 - トリヨードチロニン ( リバース 1 - T3 )、もしくは[ 40 ] 1 - T4、またはそれらの任意の組み合わせである。  
【化 24 - 1】





## 【化 2 4 - 2】



またはそれらの任意の組み合わせ。

## 【 0 2 1 4】

いくつかの態様では、LAT1 リガンドは、以下に示されるLAT1 標的化プロドラッグである。

10

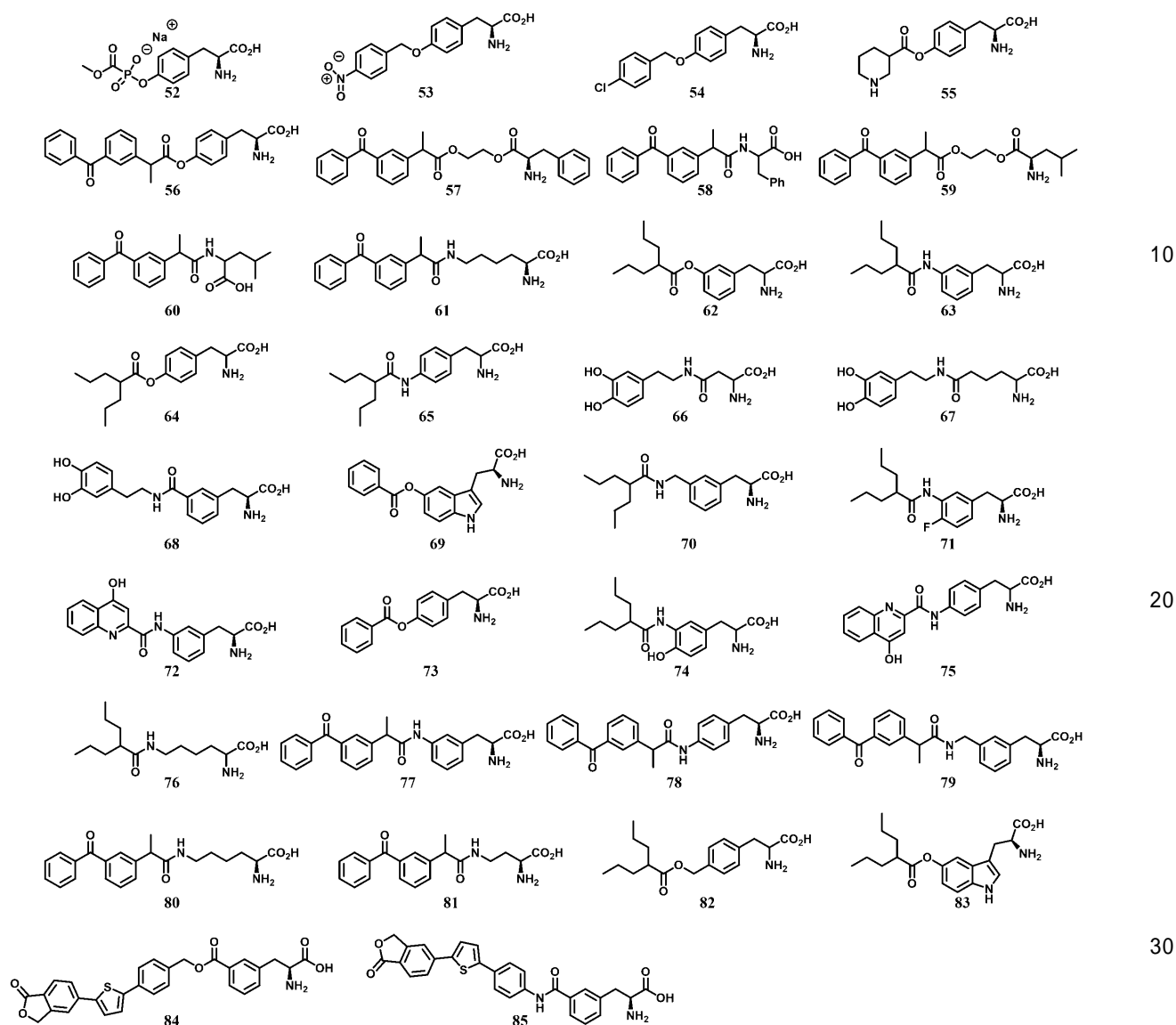
20

30

40

50

## 【化 25】



またはそれらの任意の組み合わせ。

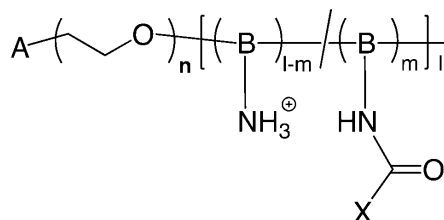
## 【0215】

Singh & Ecker (2018) "Insights into the Structure, Function, and Ligand Discovery of the Large Neutral Amino Acid Transporter 1, LAT1," *Int. J. Mol. Sci.* 19:1278; Geier et al. (2013) "Structure-based ligand discovery for the Large-neutral Amino Acid Transporter 1, LAT-1," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 110:5480-85; 及び Chien et al. (2018) "Reevaluating the Substrate Specificity of the L-type Amino Acid Transporter (LAT1)," *J. Med. Chem.* 61:7358-73 (参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)を参照のこと。

## 【0216】

いくつかの態様では、本開示のキャリアユニットは、次式を含み、

## 【化 2 6】



10

式中、Aは、トリプトファンまたはフェニルアラニンであり、Bは、カチオン性キャリア部分、例えば、リジンであり、

式中、

(i) lは、約1～約200、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150、約150～約160、約160～約170、約170～約180、約180～約190、または約190～約200の整数であり、

20

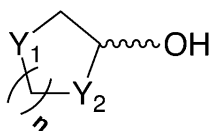
(ii) mは、1～150、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150の整数であり、

(iii) nは、約1～約200、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150、約150～約160、約160～約170、約170～約180、約180～約190、または約190～約200の整数であり、

30

Xは、

## 【化 2 7】



であり、nは、1または2であり、Y<sub>1</sub>は、C、N、O、またはSであり、Y<sub>2</sub>は、C、N、O、またはSであり、nは、1または2、例えば、ビタミンB<sub>3</sub>である。

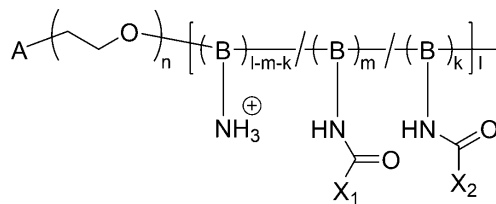
40

## 【0217】

いくつかの態様では、本開示のキャリアユニットは、次式を含み、

50

## 【化 2 8】



10

式中、Aは、トリプトファンまたはフェニルアラニンであり、Bは、カチオン性キャリア部分、例えば、リジンであり、

式中、

(i) lは、約1～約200、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150、約150～約160、約160～約170、約170～約180、約180～約190、または約190～約200の整数であり、

20

(ii) mは、1～150、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150の整数であり、

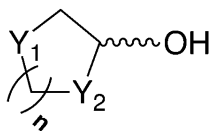
(iii) kは、1～150、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150の整数であり、

(iv) nは、約1～約200、例えば、約2～約10、約10～約20、約20～約30、約30～約40、約40～約50、約50～約60、約60～約70、約70～約80、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約130～約140、約140～約150、約150～約160、約160～約170、約170～約180、約180～約190、または約190～約200の整数であり、

30

X<sub>1</sub>は、

## 【化 2 9】



40

であり、Y<sub>1</sub>は、C、N、O、またはSであり、Y<sub>2</sub>は、C、N、O、またはSであり、nは、1または2であり、X<sub>2</sub>は、

50

$$X_2 = \text{---} \left( \text{---} \right)_p \text{SH}$$

【 0 2 1 8 】

【 0 2 1 9 】

リガンドは、別の物質に対する選択的（または特異的）親和性を有する選択的に結合可能な物質として定義される標的化部分の一種として機能する。リガンドは、必ずしもではないが、通常、より大きな特異的に結合する物体または「結合パートナー」または「受容体」により認識及び結合される。標的化に好適なりガンドの例は、とりわけ、抗原、ハプテン、ビオチン、ビオチン誘導体、レクチン、ガラクトサミン及びフコシルアミン部分、受容体、基質、補酵素、ならびに補因子である。

本開示のミセルに適用される場合、リガンドとしては、その対応する抗体もしくはその断片により、またはそれらに結合されることが出来る抗原またはハプテンが挙げられる。任意のDNA及びRNAウイルス、AIDS、HIV、及び肝炎ウイルス、アデノウイルス、アルファウイルス、アレナウイルス、コロナウイルス、フラビウイルス、ヘルペスウイルス、ミクソウイルス、オンコルナウイルス、パポバウイルス、パラミクソウイルス、バルボウイルス、ピコルナウイルス、ポックスウイルス、レオウイルス、ラブドウイルス、ライノウイルス、トガウイルス、及びウイロイド由来のものを含むウイルス抗原またはヘマグルチニン及びノイラミニダーゼ及びヌクレオカプシド；グラム陰性細菌及びグラム陽性細菌、Acinetobacter属、Achromobacter属、Bacteroides属、Clostridium属、Chlamydia属、腸内細菌、Haemophilus属、Lactobacillus属、Neisseria属、Staphylococcus属、またはStreptococcus属のものを含む任意の細菌抗原；Aspergillus属、Candida属、Coccidioides属、真菌症、藻菌類、及び酵母のものを含む任意の真菌抗原；任意のマイコプラズマ抗原；任意のリケッチア抗原；任意の原生動物抗原；任意の寄生虫抗原；血液細胞、ウイルス感染細胞、遺伝マーカー、心疾患、腫瘍性タンパク質、血漿タンパク質、補体因子、リウマチ因子のものを含む任意のヒト抗原も挙げられる。がん及び腫瘍抗原、例えば、とりわけ、フェトプロテイン、前立腺特異抗原（PSA）及びCEA、がんマーカー、ならびに腫瘍性タンパク質も挙げられる。

本開示のミセルを標的化するためのリガンドとして機能し得る他の物質は、ある特定のビタミン（すなわち、葉酸、B<sub>12</sub>）、ステロイド、プロスタグランジン、炭水化物、脂質、抗生物質、薬物、ジゴキシン、殺虫剤、麻薬、神経伝達物質、及びリガンドとして機能するように使用または修飾される物質である。

いくつかの態様では、標的化部分は、細胞親和性を有するタンパク質またはタンパク質断片（例えば、ホルモン、毒素）及び合成または天然ポリペプチドを含む。リガンドとしては、組換えDNA、遺伝子工学、及び分子工学により作製される、リグーターに対する選択的親和性を有する様々な物質も挙げられる。特に明示される場合を除き、本開示のリガンドには、米国特許第3,817,837号（参照によりその全体が本明細書に組み込

まれる)において定義されるリガンドも含まれる。

【0223】

i i . リゲーター

リゲーターは、必ずしもではないが、通常、結合することができるリガンドより大きな特異的に結合する物体または「パートナー」または「受容体」と本開示において定義される標的化部分の一種として機能する。本開示の目的のため、リゲーターは、特異的リガンドとの選択的親和性結合ができる特異的な物質または材料または化学物質または「反応物質」であり得る。リゲーターは、抗体などのタンパク質、タンパク質でない結合する物体、または「特異的反応を示すもの」であり得る。

【0224】

本開示に適用される場合、リゲーターとしては、すべてのクラスの抗体、モノクローナル抗体、キメラ抗体、F a b 断片、それらの断片及び誘導体を含むと定義される抗体が挙げられる。「抗体」という用語は、天然であるか、または一部もしくは全体が合成により生成されたかどうかにかかわらず、免疫グロブリン及びその断片を包含する。この用語は、免疫グロブリン結合ドメインに相同である結合ドメインを有する任意のタンパク質も包含する。「抗体」には、抗原を特異的に結合及び認識する、免疫グロブリン遺伝子またはその断片由来のフレームワーク領域を含むポリペプチドもさらに含まれる。抗体という用語の使用は、全長抗体、ポリクローナル、モノクローナル、及び組換え抗体、それらの断片を含み、一本鎖抗体、ヒト化抗体、マウス抗体、キメラ、マウス/ヒト、マウス/霊長類、霊長類/ヒトモノクローナル抗体、抗イディオタイプ抗体、抗体断片、例えば、s c F v、s c F a b、(s c F a b)<sub>2</sub>、(s c F v)<sub>2</sub>、F a b、F a b'、及び、F(a b')<sub>2</sub>、F(a b 1)<sub>2</sub>、F v、d A b、ならびにF d 断片、ダイアボディ、ならびに抗体関連ポリペプチドをさらに含むことを意図する。抗体は、所望の生物活性を示すか、または機能する限り、二重特異性抗体及び多特異性抗体を含む。本開示のいくつかの態様では、標的化部分は、抗体または分子であって、その抗原結合断片を含む、抗体または分子である。いくつかの態様では、抗体は、ナノボディである。いくつかの態様では、抗体は、ADCである。「抗体薬物コンジュゲート」及び「ADC」という用語は、互換的に使用され、例えば、共有結合により治療薬(場合により、本明細書において、薬剤、薬物、または活性医薬成分と称される)または薬剤に連結された抗体を指す。本開示のいくつかの態様では、標的化部分は、抗体薬物コンジュゲートである。

【0225】

ある特定の状況では、本開示は、他の物質のリゲーターとしての使用にも適用可能である。例えば、標的に好適な他のリゲーターとしては、ホルモン、ビタミン、薬物、抗生物質、がんマーカー、遺伝マーカー、ウイルス、及び組織適合性マーカーに特異的に結合する、天然に存在する受容体、任意のヘマグルチニン及び細胞膜及び核の誘導体挙げられる。別の類のリゲーターとしては、任意のRNA及びDNA結合物質、例えば、ポリエチレンジイミン(PEI)及びポリペプチドまたはタンパク質、例えば、ヒストン及びプロタミンが挙げられる。

【0226】

他のリゲーターとしては、酵素、特にノイラミニダーゼなどの細胞表面酵素、血漿タンパク質、アビジン、ストレプトアビジン、ケイロン、キャピタンド、チログロブリン、内因子、グロブリン、キレート剤、界面活性剤、有機金属物質、ブドウ球菌プロテインA、プロテインG、リボソーム、バクテリオファージ、シトクロム、レクチン、ある特定の樹脂、及び有機ポリマーも挙げられる。

【0227】

標的化部分としては、様々な物質、例えば、組換えDNA、遺伝子工学、及び分子工学により作製される、任意の細胞、組織、または微生物の表面に対する親和性を有する任意のタンパク質、タンパク質断片、またはポリペプチドも挙げられる。したがって、いくつかの態様では、標的化部分は、本開示のミセルを特定の組織(すなわち、肝臓組織または脳組織)、特定の種類の細胞(例えば、ある特定の種類のがん細胞)、または生理学的区

10

20

30

40

50

画もしくは生理学的バリア（例えば、B B B）に誘導する。

【0228】

e. リンカー

前述したように、本明細書において開示されるカチオン性キャリアユニットは、例えば、図3に示すように、1つ以上のリンカーを含み得る。本明細書で使用する場合、「リンカー」という用語は、主な機能が本明細書において開示されるカチオン性キャリアユニットにおける2つの部分を連結することである、ペプチドもしくはポリペプチド配列（例えば、合成ペプチドまたはポリペプチド配列）、または非ペプチドリリンカーを指す。いくつかの態様では、本開示のカチオン性キャリアユニットは、組織特異的標的化部分（TM）を水溶性ポリマー（WS）と連結する少なくとも1つのリンカー、水溶性バイオポリマー（WP）をカチオン性キャリア（CC）もしくはアジュバント部分（AM）と連結する少なくとも1つのリンカー、カチオン性キャリア（CC）をアジュバント部分（AM）と連結する少なくとも1つのリンカー、またはそれらの任意の組み合わせを含み得る。いくつかの態様では、2つ以上のリンカーが、直列に連結され得る。

10

【0229】

複数のリンカーが本明細書において開示されるカチオン性キャリアユニットに存在する場合、リンカーの各々は、同一であり得るか、または異なり得る。一般に、リンカーは、カチオン性キャリアユニットに柔軟性を提供する。リンカーは、通常切断されないが、ある特定の態様では、かかる切断が望ましいことがあり得る。したがって、いくつかの態様では、リンカーは、リンカーの配列内に存在し得るか、またはリンカー配列のいずれかの末端でリンカーと隣接し得る、1つ以上のプロテアーゼにより切断可能な部位を含み得る。

20

【0230】

一態様では、リンカーは、ペプチドリリンカーである。いくつかの態様では、ペプチドリリンカーは、少なくとも約2、少なくとも約3、少なくとも約4、少なくとも約5、少なくとも約10、少なくとも約15、少なくとも約20、少なくとも約25、少なくとも約30、少なくとも約35、少なくとも約40、少なくとも約45、少なくとも約50、少なくとも約55、少なくとも約60、少なくとも約65、少なくとも約70、少なくとも約75、少なくとも約80、少なくとも約85、少なくとも約90、少なくとも約95、または少なくとも約100アミノ酸を含み得る。

【0231】

いくつかの態様では、ペプチドリリンカーは、少なくとも約110、少なくとも約120、少なくとも約130、少なくとも約140、少なくとも約150、少なくとも約160、少なくとも約170、少なくとも約180、少なくとも約190、または少なくとも約200アミノ酸を含み得る。

30

【0232】

他の態様では、ペプチドリリンカーは、少なくとも約200、少なくとも約250、少なくとも約300、少なくとも約350、少なくとも約400、少なくとも約450、少なくとも約500、少なくとも約550、少なくとも約600、少なくとも約650、少なくとも約700、少なくとも約750、少なくとも約800、少なくとも約850、少なくとも約900、少なくとも約950、または少なくとも約1,000アミノ酸を含み得る。

40

【0233】

ペプチドリリンカーは、1～約5アミノ酸、1～約10アミノ酸、1～約20アミノ酸、約10～約50アミノ酸、約50～約100アミノ酸、約100～約200アミノ酸、約200～約300アミノ酸、約300～約400アミノ酸、約400～約500アミノ酸、約500～約600アミノ酸、約600～約700アミノ酸、約700～約800アミノ酸、約800～約900アミノ酸、または約900～約1000アミノ酸を含み得る。

【0234】

ペプチドリリンカーの例は、当該技術分野において周知である。いくつかの態様では、リンカーは、グリシン/セリンリンカーである。いくつかの態様では、ペプチドリリンカーは、式[(Gly)<sub>n</sub>-Ser]<sub>m</sub>によるグリシン/セリンリンカーであり、式中、nは、

50

1 ~ 100 の任意の整数であり、m は、1 ~ 100 から任意の整数である。他の態様では、グリシン/セリンリンカーは、式  $[(Gly)x - Ser]y$  (配列番号 1) によるものであり、式中、x は、1 ~ 4 の整数であり、y は、0 または 1 であり、z は、1 ~ 50 の整数である。一態様では、ペプチドリinkerは、配列  $G_n$  を含み、式中、n は、1 ~ 100 の整数であり得る。特定の態様では、ペプチドリinkerの配列は、GGGG (配列番号 2) である。

#### 【0235】

いくつかの態様では、ペプチドリinkerは、配列  $(GlyAla)_n$  (配列番号 3) を含み得、式中、n は、1 ~ 100 の整数である。他の態様では、ペプチドリinkerは、配列  $(GlyGlySer)_n$  (配列番号 4) を含み得、式中、n は、1 ~ 100 の整数である。

10

#### 【0236】

他の態様では、ペプチドリinkerは、配列  $(GGGS)_n$  (配列番号 5) を含む。さらに他の態様では、ペプチドリinkerは、配列  $(GGS)_n$  (配列番号 6) を含む。これらの例において、n は、1 ~ 100 の整数であり得る。他の例において、n は、1 ~ 20 の整数、すなわち、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または 20 であり得る。

#### 【0237】

リンカーの例としては、限定されるものではないが、GGG、SGGS、GGSGGS (配列番号 7)、GGSGGS、GGSGGS、GGSGGS (配列番号 8)、GGSGGS、GGSGGS、GGSGGS (配列番号 9)、GGSGGS、GGSGGS、GGSGGS、GGSGGS (配列番号 10)、または GGGSGGS、GGSGGS、GGSGGS (配列番号 11) が挙げられる。他の態様では、リンカーは、ポリG配列  $(GGGG)_n$  (配列番号 12) であり、式中、n は、1 ~ 100 の整数であり得る。

20

#### 【0238】

一態様では、ペプチドリinkerは、合成、すなわち、非天然である。一態様では、ペプチドリinkerは、第1の直鎖状アミノ酸配列を、自然界において自然に連結または遺伝子的に融合されない第2の直鎖状アミノ酸配列に連結または遺伝子的に融合させるアミノ酸配列を含むペプチド (またはポリペプチド) (例えば、天然または非天然ペプチド) を含む。例えば、一態様では、ペプチドリinkerは、天然に存在するポリペプチドの修飾形態である (例えば、付加、置換、または欠失などの変異を含む) 非天然ポリペプチドを含み得る。別の態様では、ペプチドリinkerは、非天然アミノ酸を含み得る。別の態様では、ペプチドリinkerは、自然に生じない直鎖状配列で生じる天然に存在するアミノ酸を含み得る。さらに別の態様では、ペプチドリinkerは、天然に存在するポリペプチド配列を含み得る。

30

#### 【0239】

いくつかの態様では、リンカーは、非ペプチドリinkerを含む。他の態様では、リンカーは、非ペプチドリinkerからなる。いくつかの態様では、非ペプチドリinkerは、例えば、マレイミドカプロイル (MC)、マレイミドプロパノイル (MP)、メトキシポリエチレングリコール (MPEG)、4 - (N - マレイミドメチル) - シクロヘキサン - 1 - カルボン酸スクシンイミジル (SMCC)、m - マレイミドベンゾイル - N - ヒドロキシスクシンイミドエステル (MBS)、4 - (p - マレイミドフェニル) 酪酸スクシンイミジル (SMPB)、(4 - ヨードアセチル) アミノ安息香酸 N - スクシンイミジル (SIAB)、6 - [3 - (2 - ピリジルジチオ) - プロピオンアミド] ヘキサン酸スクシンイミジル (LC - SPDP)、4 - スクシンイミジロキシカルボニル - - メチル - (2 - ピリジルジチオ) トルエン (SMP T)、など (米国特許第 7,375,078 号を参照のこと) であり得る。

40

#### 【0240】

リンカーは、当該技術分野において公知の技術 (例えば、化学的コンジュゲーション、組換え技術、またはペプチド合成) を使用してポリペプチド配列に導入され得る。修飾は

50



、DNA配列解析により確認され得る。いくつかの態様では、リンカーは、組換え技術を使用して導入され得る。他の態様では、リンカーは、固相ペプチド合成を使用して導入され得る。ある特定の態様では、本明細書において開示されるカチオン性キャリアユニットは、組換え技術を使用して導入された1つ以上のリンカー、及び固相ペプチド合成または当該技術分野において公知の化学的コンジュゲーションの方法を使用して導入された1つ以上のリンカーを同時に含有し得る。いくつかの態様では、リンカーは、切断部位を含む。

#### 【0241】

#### III. ペイロード

本明細書で使用する場合、「ペイロード」という用語は、生物活性分子、例えば、治療薬、またはそれ自体で、もしくはアダプターを介して本開示のカチオン性キャリアユニットと相互作用的であり得、本開示のミセルの核内に含まれ得るものを指す。本開示において企図されるペイロードとしては、限定されるものではないが、治療薬、例えば、プロドラッグ、抗がん薬、抗悪性腫瘍薬、抗真菌薬、抗菌薬、抗ウイルス薬、心臓病薬、神経薬、及び依存性薬物；アルカロイド、抗生物質、生理活性ペプチド、ステロイド、ステロイドホルモン、ポリペプチドホルモン、インターフェロン、インターロイキン、麻薬、アンチセンスオリゴヌクレオチドを含む核酸、殺虫剤、及びプロスタグランジンが挙げられる。生物活性分子には、とりわけ、アフラトキシン、リシン、ブンガロトキシン、イリノテカン、ガンシクロビル、フロセミド、インドメタシン、クロルプロマジン、メトトレキサート、セバジンが挙げられるセビン誘導体及びアナログ、デサトリン、及びベラトリジンが挙げられる任意の毒素も挙げられる。

#### 【0242】

生物活性分子としては、限定されるものではないが、ジヒドロキシフラボン（クリシン）、トリヒドロキシフラボン（アピゲニン）、ペンタヒドロキシフラボン（モリン）、ヘキサヒドロキシフラボン（ミリセチン）、フラビリウム、クエルセチン、フィセチンが含まれる様々なフラボン誘導体及びアナログ；誘導体及びアナログ、例えば、ペニシリン系抗生物質（すなわち、アンピシリン）、アントラサイクリン（すなわち、ドキソルビシン、ダウノルビシン、ミトキサントロン）、ブトコナゾール、カンプトセシン、カルコマイシン、チャートロイシン、クリソマイシン（V及びM）、クロラムフェニコール、クロロテトラサイクリン、クロモサイクリン、シクロスポリン、エリブチシン、フィリピン、フンギクロミン、グリセオフルビン、グリセオビリジン、グアメシクリン、マクロライド（すなわち、アンホテリシン、クロロトリシン）、メチシリン、ナイスタチン、クリムタシン、エルサマイシン、ギルボカルシン、ラビドマイシン、ランカシジン類抗生物質（すなわち、ランカマイシン）、マイトマイシン、テラマイシン、テトラサイクリン、ウォルトマンニンが含まれる様々な抗生物質；レセルビン、スピロノラクトン、スルファセタミドナトリウム、スルホンアミド、チアムフェニコール、チオルチンが含まれる様々な抗菌物質；5'-フルオロウラシル、5'-フルオロ-2'-デオキシウリジン、及びアロプリノールが含まれる様々なプリン及びピリミジン誘導体及びアナログ；メソクロリン e 6 モノエチレンジアミン（Mce6）、フタロシアニン、ポルフィリン、ならびにそれらの誘導体及びアナログが含まれる様々な光感作物質、特に、光線力学療法に有用な一重項酸素及び三重項酸素形成のために使用されるもの（van Lier, J. E. In "Photodynamic Therapy of Neoplastic Disease"; Kessel, D., Ed., CRC Press, Boca Raton, FL, 1990, Vol. 1）；様々なステロイド化合物、例えば、コルチゾン、エストラジオール、ヒドロコルチゾン、テストステロン、プレドニゾロン、プロゲステロン、デキサメタゾン、ベクロメタゾン、及び他のメタゾン誘導体、コレステロール、ジギトキシン、ジゴキシン、ジゴキシゲニンが含まれる他のステロイド誘導体及びアナログ；ジヒドロキシクマリン（エスクレチン）、ジクマロール、クリサロピン、クリソファン酸、エモジン、セカロン酸が含まれる様々なクマリン誘導体及びアナログ；ドーパ、ドーパミン、エピネフリン、及びノルエピネフリン（ノルアドレナリン）が含まれる様々なドーパ、誘導体、及びアナログ；様々な抗腫瘍剤または細胞増殖阻害剤、例えば、シスプラチンならびにパクリタキセル及

びドセタキセルが含まれるタキサン；フェノバルビトン、アモバルビタール、アロバルビタール、ペントバルビタール、及び他のバルビタール誘導体が含まれる様々なバルビツール酸；アミノ安息香酸、プロモ安息香酸、ベンゾカイン、ベンゾジアゼピン、ベンゾチアジド (benzothiazide)、p-アミノ安息香酸ブチルが含まれる様々なベンゼン誘導体；様々なポリペプチド誘導体；様々なカルボン酸誘導体、例えば、プロモイソバレリル尿素、フェニル酪酸、フェニルバレリアン酸、またはそれらの任意の組み合わせも挙げられる。

#### 【0243】

他の生物活性分子としては、限定されるものではないが、ジフェニルヒダントイン、アジフェニン、アネトール、アスピリン、アザプロパゾン、ベンシクラン、抱水クロラル、クロラムブシル、クロルプロマジン、クロロゲニン、ケイ皮酸、クロフィブレート、コエンザイムA、アントラニル酸シクロヘキシル、ジアゼパム、フルフェナム酸、フルオシノロンアセトニド、フルルビプロフェン、グアイアズレン、イブプロフェン、インジカン、インドメタシン、ヨウ素、ケトプロフェン、メフェナム酸、メナジオン、メトロニダゾール、ニトラゼパム、フェニトイン、プロピルパラベン、プロスシラリジン、キノロン、サリドマイド、チアミンラウリル硫酸塩、チオペンタール、トリアムシノロン、ビタミンA、D3、E、K3、ワルファリン、またはそれらの任意の組み合わせが挙げられる。

#### 【0244】

他の生物活性分子は、とりわけ、任意のDNA及びRNAウイルス、AIDS、HIV及び肝炎ウイルス、アデノウイルス、アルファウイルス、アレナウイルス、コロナウイルス、フラビウイルス、ヘルペスウイルス、ミクソウイルス属、オンコルナウイルス、パポバウイルス、パラミクソウイルス、パルボウイルス、ピコルナウイルス、ポックスウイルス、レオウイルス、ラブドウイルス、ライノウイルス、トガウイルス及びウイロイドに対するものが含まれる抗ウイルス薬、核酸、及び他の抗ウイルス物質；グラム陰性細菌及びグラム陽性細菌、Acinetobacter属、Achromobacter属、Bacteroides属、Clostridium属、Chlamydia属、腸内細菌、Haemophilus属、Lactobacillus属、Neisseria属、Staphylococcus属、またはStreptococcus属に対するものが含まれる任意の抗菌薬、核酸、及び他の抗菌物質；Aspergillus属、Candida属、Coccidioides属、真菌症、藻菌類、及び酵母に対するものが含まれる任意の抗真菌薬、核酸、及び他の抗真菌物質；マイコプラズマ及びリケッチアに対する任意の薬物、核酸、及び他の物質；任意の抗原虫薬、核酸、及び他の物質；任意の抗寄生虫薬、核酸、及び他の物質；心疾患、腫瘍、及びウイルス感染細胞に対する任意の薬物、核酸、及び他の物質である。

#### 【0245】

##### (a) 核酸

いくつかの態様では、生物活性分子（ペイロード）は、核酸、例えば、RNAまたはDNAである。本開示のミセルを使用した送達に好適な核酸活性薬剤としては、オリゴヌクレオチド、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、ハイブリダイゼーション、またはDNA塩基配列決定で使用されるプローブ及びプライマーも含まれるすべての種類のRNA及びすべての種類のDNAが挙げられる。いくつかの態様では、核酸は、mRNA、miRNA、miRNAスポンジ、タフデコイmiRNA（TD）、antimiR（antagomiR）、低分子RNA、rRNA、siRNA、shRNA、gDNA、cDNA、pDNA、PNA、BNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド（ASO）、アプタマー、環状ジヌクレオチド、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

#### 【0246】

いくつかの態様では、生物活性分子（ペイロード）は、配列特異的転写後遺伝子サイレンシングを誘発することができ、これにより、遺伝子発現を減少させるか、またはさらには阻害する二本鎖RNAである低分子干渉RNA（siRNA）を含む。例えば、siRNAは、siRNA及び標的RNAの両方の間の配列が相同な領域内で、mRNAなどの

10

20

30

40

50

相同なRNA分子の特異的な分解を引き起こすことができる。非限定的な例示的 siRNA は、WO 02 / 4 4 3 2 1 において開示されており、これはその全体が参照により組み込まれる。

【0247】

いくつかの態様では、生物活性分子（ペイロード）は、短鎖ヘアピンRNA（shRNA）を含む。いくつかの態様では、生物活性分子は、miRNA または miRNA 阻害剤（antimiR）を含む。いくつかの態様では、生物活性分子（ペイロード）は、10 ~ 30ヌクレオチド長、例えば、14 ~ 25ヌクレオチド長であり得る。いくつかの態様では、生物活性分子（ペイロード）は、16 ~ 30ヌクレオチド、18 ~ 25ヌクレオチド、特に18、19、20、21、22、23、24、または25ヌクレオチドの長さを有する。

10

【0248】

miRNAの配列は、例えば、miRBase レジストリ（Griffiths - Jones, et al., Nucleic Acids Res., 36 (Database Issue) : D154 - D158 (2008)、Griffiths - Jones, et al., Nucleic Acids Res., 36 (データベース特集号) : D140 - D144 (2008)、Griffiths - Jones, et al., Nucleic Acids Res., 36 (データベース特集号) : D109 - D111 (2008) ) 及び他の公的にアクセス可能なデータベースにより公的に入手可能である。

【0249】

いくつかの態様では、miRNA 阻害剤は、リボ核酸（RNA）またはデオキシリボ核酸（DNA）またはそれらの修飾形態のオリゴマーまたはポリマーである。いくつかの態様では、miRNA アンタゴニストは、antimiR である。antimiR は、例えば、Stoffel et al に属する US 2007 / 0213292 に記載されている特定のクラスの miRNA 阻害剤である。antimiR は、RNアーゼ保護及び薬理学的特性、例えば、組織及び細胞取り込みの増強のための様々な修飾を含有する RNA 様オリゴヌクレオチドである。antimiR は、糖の完全な 2' - O - メチル化、ホスホロチオエート骨格、及び 3' 末端のコレステロール部分を有するところが通常の RNA と異なる。

20

【0250】

antimiR 及び他の miRNA 阻害剤の非限定的な例は、WO 2009 / 020771、WO 2008 / 091703、WO 2008 / 046911、WO 2008 / 074328、WO 2007 / 090073、WO 2007 / 027775、WO 2007 / 027894、WO 2007 / 021896、WO 2006 / 093526、WO 2006 / 112872、WO 2007 / 112753、WO 2007 / 112754、WO 2005 / 023986、または WO 2005 / 013901 において記載されており、これらのすべては参照により本明細書に組み込まれる。

30

【0251】

いくつかの態様では、核酸は、リン酸ジエステルアンチセンスオリゴヌクレオチド、及び糖リン酸「骨格」が、誘導体化されているか、または「骨格アナログ」、例えば、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホロアミダート、アルキルリン酸トリエステル、またはメチルホスホン酸結合と置き換えられている任意のオリゴヌクレオチドである。いくつかの態様では、核酸活性薬剤は、アンチセンスオリゴヌクレオチド、及び非リン骨格アナログ、例えば、スルファメート、3' - チオホルムアセタール、メチレン（メチルイミノ）（MMI）、3' - N - カルバメート、またはモルホリノカルバメートを有する任意のオリゴヌクレオチドまたはオリゴデオキシヌクレオチドである。

40

【0252】

いくつかの態様では、生物活性分子（ペイロード）は、antimiR である。本明細書で使用する場合、「antimiR」、「アンチマイクロRNA」、「アンチmiRNA」という用語、及びそれらの変化形は、所望の反応のために細胞におけるマイクロRN

50

A (miRNA) 機能を無力化するために使用される分子（例えば、合成により生成された分子）を指す。miRNAは、RNAの切断または翻訳の抑制に関与するmRNAに相補的な配列（約20～22bp）である。細胞においてmRNAを調節するmiRNAを制御することにより、antimiR（アンチmiRNAオリゴヌクレオチド、AMO、またはantagomiRとも称される）は、さらなる調節、ならびにある特定の細胞障害の治療目的で使用され得る。この調節は、ステリックブロック機構ならびにmiRNAとのハイブリダイゼーションにより起こり得る。

#### 【0253】

antimiRとmiRNAとの間の身体内でのこれらの相互作用は、過剰/過小発現が起こるか、またはmiRNAにおける異常がコーディングにおける問題をもたらす障害の治療のためであり得る。ヒトが遭遇するmiRNAに関連する障害のうちのいくつかとしては、がん、筋疾患、自己免疫障害、及びウイルスが挙げられる。

#### 【0254】

antimiRの各種構成要素は、antimiRの結合親和性及び効力に影響を及ぼすように操作され得る。antimiRの2'-糖は、フッ素及び様々なメチル基で置換されるように修飾され得、ほぼすべてにおいて結合親和性が増加する。しかしながら、これらの修飾された2'-糖antimiRの一部は、細胞増殖に対する悪い影響をもたらす。5'-3'ホスホジエステル骨格結合をホスホロチオエート（P-S）骨格結合に修飾することも、標的親和性に対する効果を有することが公知である。P-S変異の使用は、オリゴヌクレオチドのTmを減少させ、このことが、より低い標的親和性をもたらすことが示された。antimiRの最後の必要条件は、ミスマッチ特異性及び長さの制限である。「シード」（共有）配列を共有し、2、3の追加のヌクレオチドのみが異なる同じファミリーのmiRNAに起因して、1つのantimiRが、複数のmiRNA配列を潜在的に標的とし得る。antimiRまたはmiRNA配列の1つ以上の例を、以下の表に示す。

#### 【表1】

表1

miRNAの配列番号	標的スコア	miRNAの名称	成熟miRNA配列	antimiRの配列番号	人工miRNA阻害剤配列 (antimiR)
13	95	hsa-miR-204-5p	UUCCCUUUGUCA UCCUAUGCCU	15	AGGCAUAGGAUG ACAAAGGGAA
14	89	hsa-miR-132-3p	UAACAGUCUACA GCCAUGGUCG	16	CGACCAUGGCUG UAGACUGUUA

#### 【0255】

いくつかの態様では、ペイロードは、5～30ヌクレオチド長を有するヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドである。いくつかの態様では、ポリヌクレオチドは、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチド長を有する。いくつかの態様では、ヌクレオチド配列は、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、または26ヌクレオチド長を有する。

#### 【0256】

いくつかの態様では、ペイロード（例えば、antimiR）は、hsa-miR-485を標的とするヌクレオチド配列、例えば、hsa-miR-485-3pである。いくつかの態様では、hsa-miR-485-3pは、配列GUCAUACACGGUCUCUCCUCUCU（配列番号17）を有する。いくつかの態様では、ペイロード（例えば、antimiR）は、AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC（配列番号18）を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヌクレオチド配列であり、

ここで、Uは任意選択的にTであり得る。いくつかの態様では、ペイロード（例えば、*antimiR*）は、AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC（配列番号18）を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヌクレオチド配列であり、ここで、ヌクレオチド配列は、1つのミスマッチ、2つのミスマッチ、3つのミスマッチ、または4つのミスマッチを有する。いくつかの態様では、ペイロード（例えば、*antimiR*）は、AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC（配列番号18）を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヌクレオチド配列であり、ここで、ヌクレオチド配列は、1つまたは2つのミスマッチを有する。他の態様では、ペイロード（例えば、*antimiR*）は、*has-miR-485-3p*（UCAUACA；配列番号19）のシード配列を標的とするヌクレオチド配列である。いくつかの態様では、ペイロード（例えば、*antimiR*）は、UCAUACA（配列番号19）を含むヌクレオチド配列であり、ここで、Uは任意選択的にT（シードの相補体）であり得、ヌクレオチド配列は、約10ヌクレオチド～30ヌクレオチド（例えば、10～25、10～24、10～23、10～22、10～21、10～20、10～19、または10～18）長である。いくつかの態様では、ペイロード（例えば、*antimiR*）は、UGUAUGA（配列番号20）を含むヌクレオチド配列であり、ここで、Uは任意選択的にT（シードの相補体）であり得、ここで、ヌクレオチド配列は、シード配列の相補体の5'末端の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20核酸及び/またはシード配列の相補体の3'末端の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20核酸を含む。

10

20

#### 【0257】

いくつかの態様では、ペイロードは、以下からなる群から選択されるヌクレオチド配列である：5'-UGUAUGA-3'（配列番号23）、5'-GUGUAUGA-3'（配列番号24）、5'-CGUGUAUGA-3'（配列番号25）、5'-CCGUGUAUGA-3'（配列番号26）、5'-GCCGUGUAUGA-3'（配列番号27）、5'-AGCCGUGUAUGA-3'（配列番号28）、5'-GAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号29）、5'-AGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号30）、5'-GAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号31）、5'-GGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号32）、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号33）、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号34）、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号35）、5'-GAGAGGAAGAGCCGUGUAUGA-3'（配列番号36）；5'-UGUAUGAC-3'（配列番号37）、5'-GUGUAUGAC-3'（配列番号38）、5'-CGUGUAUGAC-3'（配列番号39）、5'-CCGUGUAUGAC-3'（配列番号40）、5'-GCCGUGUAUGAC-3'（配列番号41）、5'-AGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号42）、5'-GAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号43）、5'-AGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号44）、5'-GAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号45）、5'-GGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号46）、5'-AGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号47）、5'-GAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号48）、5'-AGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号49）、または5'-GAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3'（配列番号50）。

30

40

#### 【0258】

いくつかの態様では、ペイロードは、5'-TGTATGA-3'（配列番号51）、5'-GTGTATGA-3'（配列番号52）、5'-CGTGTATGA-3'（配列番号53）、5'-CCGTGTATGA-3'（配列番号54）、5'-GCCGTGTATGA-3'（配列番号55）、5'-AGCCGTGTATGA-3'（配列番号56）、5'-GAGCCGTGTATGA-3'（配列番号57）、5'-AGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号58）、5'-GAGAGCCGTGTATGA-3'（配列番号59）、

50

5' - GGAGAGCCGTGTATGA - 3' (配列番号60)、5' - AGGAGAGCCGTGTATGA - 3' (配列番号61)、5' - GAGGAGAGCCGTGTATGA - 3' (配列番号62)、5' - AGAGGAGAGCCGTGTATGA - 3' (配列番号63)、5' - GAGAGGAGAGCCGTGTATGA - 3' (配列番号64) ; 5' - TGTATGAC - 3' (配列番号65)、5' - GTGTATGAC - 3' (配列番号66)、5' - CGTGTATGAC - 3' (配列番号67)、5' - CCGTGTATGAC - 3' (配列番号68)、5' - GCCGTGTATGAC - 3' (配列番号69)、5' - AGCCGTGTATGAC - 3' (配列番号70)、5' - GAGCCGTGTATGAC - 3' (配列番号71)、5' - AGAGCCGTGTATGAC - 3' (配列番号72)、5' - GAGAGCCGTGTATGAC - 3' (配列番号73)、5' - GGAGAGCCGTGTATGAC - 3' (配列番号74)、5' - AGGAGAGCCGTGTATGAC - 3' (配列番号75)、5' - GAGGAGAGCCGTGTATGAC - 3' (配列番号76)、5' - AGAGGAGAGCCGTGTATGAC - 3' (配列番号77)、または5' - GAGAGGAGAGCCGTGTATGAC - 3' (配列番号78)を含むヌクレオチド配列である。

#### 【0259】

いくつかの態様では、ペイロード(例えば、*antimiR*)は、*has-miR-204*を標的とするヌクレオチド配列、例えば、*has-miR-204-5p*である。*has-miR-204-5p*は、UCCCCUUUGUCAUCCUAUGCCU(配列番号13)として表1に示される。いくつかの態様では、ペイロード(例えば、*antimiR*)は、AGGCAUAGGAUGACAAAGGGAA(配列番号15)を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヌクレオチド配列であり、ここで、Uは任意にTであり得る。いくつかの態様では、ペイロード(例えば、*antimiR*)は、AGGCAUAGGAUGACAAAGGGAA(配列番号15)を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヌクレオチド配列であり、ここで、Uは任意選択的にTであり得、ヌクレオチド配列は、1つのミスマッチ、2つのミスマッチ、3つのミスマッチ、または4つのミスマッチを有する。いくつかの態様では、ペイロード(例えば、*antimiR*)は、AGGCAUAGGAUGACAAAGGGAA(配列番号15)を含むか、本質的にそれからなるか、またはそれからなるヌクレオチド配列であり、ここで、Uは任意選択的にTであり得、ヌクレオチド配列は、1つまたは2つのミスマッチを有する。他の態様では、ペイロード(例えば、*antimiR*)は、*has-miR-204-5p*(UCCCCUUU; 配列番号21)のシード配列を標的とするヌクレオチド配列である。いくつかの態様では、ペイロード(例えば、*antimiR*)は、AAAGGGA(配列番号22)(シードの相補体)を含むヌクレオチド配列であり、ここで、Uは任意選択的にT(シードの相補体)であり得、ヌクレオチド配列は、約10ヌクレオチド~30ヌクレオチド(例えば、10~25、10~24、10~23、10~22、10~21、10~20、10~19、または10~18)長である。いくつかの態様では、ペイロード(例えば、*antimiR*)は、AAAGGGA(配列番号22)(シードの相補体)を含むヌクレオチド配列であり、ここで、ヌクレオチド配列は、シード配列の相補体の5'末端の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20核酸及び/またはシード配列の相補体の3'末端の1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、または20核酸を含む。

#### 【0260】

##### i. 化学修飾されたポリヌクレオチド

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド(例えば、*antimiR*、例えば、*miR485-antimiR*)は、少なくとも1つの化学修飾されたヌクレオチド及び/またはヌクレオチドを含む。本開示のポリヌクレオチドが化学修飾されている場合、ポリヌクレオチドは、「修飾されたポリヌクレオチド」と称され得る。

#### 【0261】

「ヌクレオシド」は、糖分子（例えば、ペントースまたはリボース）またはその誘導体を、有機塩基（例えば、プリンまたはピリミジン）またはその誘導体（本明細書において「核酸塩基」とも称される）とともに含有する化合物を指す。

【0262】

「ヌクレオチド」は、リン酸基を含むヌクレオシドを指す。修飾されたヌクレオチドは、1つ以上の修飾された非天然ヌクレオシドを含むように、任意の有用な方法により、例えば、化学的に、酵素的に、または組換えにより合成され得る。

【0263】

ポリヌクレオチドは、連結されたヌクレオシドの領域または複数の領域を含み得る。かかる領域は、可変的な骨格結合を有し得る。連結は、標準的なホスホジエステル結合であり得、その場合、ポリヌクレオチドはヌクレオチドの領域を含む。

【0264】

本明細書において開示される修飾されたポリヌクレオチドは、様々な異なる修飾を含み得る。いくつかの態様では、修飾されたポリヌクレオチドは、1種、2種、またはそれ以上（任意選択的に異なる）のヌクレオシドまたはヌクレオチド修飾を含有する。いくつかの態様では、修飾されたポリヌクレオチドは、1つ以上の所望の特性、例えば、未修飾ポリヌクレオチドと比較して改善された熱または化学安定性、低減された免疫原性、低減された分解、標的マイクロRNAに対する結合の増加、他のマイクロRNAまたは他の分子に対する低減された非特異的結合を示し得る。

【0265】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチドは、化学修飾されている。本明細書で使用する場合、ポリヌクレオチドに関して、「化学修飾」または必要に応じて「化学修飾された」という用語は、アデノシン（A）、グアノシン（G）、ウリジン（U）、チミジン（T）、またはシチジン（C）リボヌクレオシドまたはデオキシリボヌクレオシドに対する、限定されるものではないが、それらの核酸塩基、糖、骨格、またはそれらの任意の組み合わせが挙げられるそれらの位置、パターン、パーセント、または集団のうちの1つ以上における修飾を指す。

【0266】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、anti-miR）は、同じヌクレオシド種類のすべてもしくはいずれかの均一な化学修飾、または同じヌクレオシド種類のすべてもしくはいずれかにおける同じ出発修飾の下方滴定（downward titration）によって生成される修飾の群、またはランダムな組み込みを伴うことを除いて同じヌクレオシド種類のすべてもしくはいずれかの測定されたパーセントの化学修飾を有し得る。別の態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、anti-miR）は、ポリヌクレオチド全体にわたって同じヌクレオシド種類のうちの2つ、3つ、または4つの均一な化学修飾を有し得る（例えば、すべてのウリジン及びすべてのシトシンなどが、同じように修飾される）。

【0267】

修飾されたヌクレオチドの塩基対形成は、標準的なアデニン-チミン、アデニン-ウラシル、またはグアニン-シトシン塩基対だけでなく、ヌクレオチド及び/または非標準的もしくは修飾塩基を含む修飾ヌクレオチドの間で形成される塩基対も包含し、ここで、水素結合ドナー及び水素結合アクセプターの配置が、非標準的塩基と標準的塩基との間、または2つの相補的な非標準的塩基構造間の水素結合を可能にする。かかる非標準的塩基対形成の1つの例は、修飾された核酸塩基イノシンとアデニン、シトシン、またはウラシルとの間の塩基対形成である。塩基/糖またはリンカーの任意の組み合わせが、本開示のポリヌクレオチドに組み込まれ得る。

【0268】

当業者は、特に注記される場合を除き、本出願に記載されるポリヌクレオチド配列は、代表的なDNA配列において「T」を列挙するが、配列がRNAを表す場合、「T」は「U」と置換されることを理解するであろう。例えば、本開示のTDは、RNAとして、D

10

20

30

40

50

NAとして、またはRNA及びDNAユニットの両方を含むハイブリッド分子として投与され得る。

【0269】

いくつかの態様では、ポリヌクレオチド（例えば、anti mi R、例えば、mi R 485 anti mi R）は、少なくとも2つ（例えば、2つ、3つ、4つ、5つ、6つ、7つ、8つ、8つ、10、11、12、13、14、15、16、17、18、18、20以上）の修飾された核酸塩基の組み合わせを含む。

【0270】

いくつかの態様では、ポリヌクレオチド（例えば、anti mi R、例えば、mi R 485 anti mi R）における核酸塩基、糖、骨格結合、またはそれらの任意の組み合わせは、少なくとも約5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%修飾される。

10

【0271】

1. 塩基修飾

ある特定の態様では、化学修飾は、本開示（例えば、anti mi R、例えば、mi R 485 anti mi R）のポリヌクレオチドにおける核酸塩基に存在する。いくつかの態様では、少なくとも1つの化学修飾ヌクレオチドは、修飾されたウリジン（例えば、シュードウリジン（）、2-チオウリジン（s2U）、1-メチル-シュードウリジン（m1）、1-エチル-シュードウリジン（e1）、または5-メトキシ-ウリジン（mo5U）、修飾されたシトシン（例えば、5-メチルシチジン（m5C））、修飾されたアデノシン（例えば、1-メチル-アデノシン（m1A）、N6-メチル-アデノシン（m6A）、または2-メチルアデニン（m2A））、修飾されたグアノシン（例えば、7-メチルグアノシン（m7G）または1-メチルグアノシン（m1G））、またはそれらの組み合わせである。

20

【0272】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、anti mi R、例えば、mi R 485 anti mi R）は、特定の修飾について均一に修飾される（例えば、完全に修飾される、配列全体にわたって修飾される）。例えば、ポリヌクレオチドは、同じ種類の塩基修飾、例えば、5-メチルシチジン（m5C）により均一に修飾され得、これは、ポリヌクレオチド配列におけるすべてのシトシン残基が、5-メチルシチジン（m5C）と置き換えられることを意味する。同様に、ポリヌクレオチドは、配列に存在する任意の種類のヌクレオチド残基について、修飾されたヌクレオチド、例えば、上記に記載されるもののいずれかとの置換により均一に修飾され得る。

30

【0273】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、anti mi R、例えば、mi R 485 anti mi R）は、少なくとも2つ（例えば、2つ、3つ、4つ、またはそれ以上）の修飾された核酸塩基の組み合わせを含む。いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、anti mi R、例えば、mi R 485 anti mi R）における1種類の核酸塩基の少なくとも約5%、少なくとも10%、少なくとも15%、少なくとも20%、少なくとも25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約96%、少なくとも約97%、少なくとも約98%、少なくとも約99%、または100%が、修飾された核酸塩基である。

40

50



## 【 0 2 7 4 】

## 2 . 骨格修飾

いくつかの態様では、ペイロードは、「本開示のポリヌクレオチド」（例えば、*anti* *miR*、例えば、*miR* 485 *anti* *miR*を含む）を含み得、ここで、ポリヌクレオチドは、ヌクレオシド間の連結に任意の有用な修飾を含む。本開示の組成物に有用である骨格修飾を含むかかる連結としては、限定されるものではないが、以下が挙げられる：  
3' - アルキレンホスホネート、3' - アミノホスホロアミダート、アルケン含有骨格、アミノアルキルホスホロアミダート、アミノアルキルホスホトリエステル、ボラノホスフェート、 $-CH_2-O-N(CH_3)-CH_2-$ 、 $-CH_2-N(CH_3)-N(CH_3)-CH_2-$ 、 $-CH_2-NH-CH_2-$ 、キラルホスホネート、キラルホスホロチオネート、ホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格、メチレン（メチルイミノ）、メチレンホルムアセチル及びチオホルムアセチル骨格、メチレンイミノ及びメチレンヒドラジノ骨格、モルホリノ結合、 $-N(CH_3)-CH_2-CH_2-$ 、ヘテロ原子ヌクレオシド間結合を有するオリゴヌクレオシド、ホスフィナート、ホスホロアミダート、ホスホロジチオエート、ホスホロチオエートヌクレオシド間結合、ホスホロチオネート、ホスホトリエステル、PNA、シロキサン骨格、スルファメート骨格、スルフィド、スルホキシド、及びスルホン骨格、スルホネート及びスルホンアミド骨格、チオノアルキルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、ならびにチオノホスホロアミダート。

10

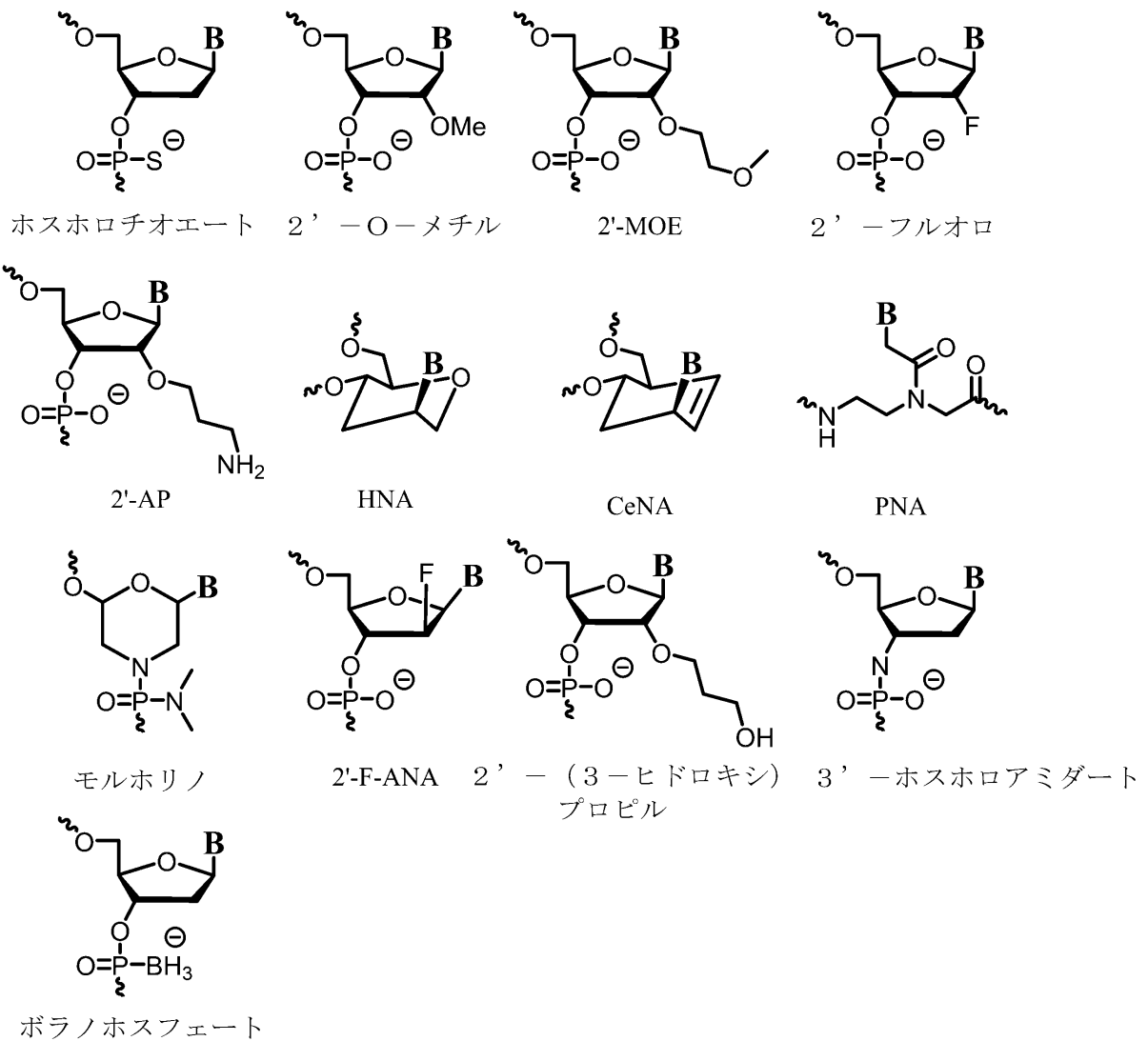
20

30

40

50

## 【化 3 1】



10

20

30

## 【 0 2 7 5】

いくつかの態様では、上記に開示される骨格結合の存在は、本開示のポリヌクレオチド（例えば、*anti*miR、例えば、*miR485 anti*miR）の安定性（例えば、熱的安定性）及び／または分解（例えば、酵素分解）に対する耐性を増加させる。いくつかの態様では、修飾されたポリヌクレオチドにおける安定性及び／または分解に対する耐性は、修飾されていない対応するポリヌクレオチド（参照または対照ポリヌクレオチド）と比較して少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約100%増加する。

40

## 【 0 2 7 6】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、*anti*miR、例えば、*miR485 anti*miR）における少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少

50

なくとも約 35%、少なくとも約 40%、少なくとも約 45%、少なくとも約 50%、少なくとも約 55%、少なくとも約 60%、少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% の骨格結合が修飾される（例えば、それらのすべてがホスホロチオエートである）。

【0277】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、*antimiR*、例えば、*miR485 antimiR*）における 1 つ、2 つ、3 つ、4 つ、5 つ、6 つ、7 つ、8 つ、9 つ、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、または 21 の骨格結合が修飾される（例えば、ホスホロチオエート）。

10

【0278】

いくつかの態様では、骨格は、ホスホジエステル結合、ホスホトリエステル結合、メチルホスホン酸結合、ホスホロアミダート結合、ホスホロチオエート結合、及びそれらの組み合わせからなる群から選択される結合を含む。

【0279】

3. 糖修飾

本開示のポリヌクレオチド（例えば、*antimiR*、例えば、*miR485 antimiR*）に組み込まれ得る修飾されたヌクレオシド及びヌクレオチドは、核酸の糖に対して修飾され得る。したがって、いくつかの態様では、ペイロードは、核酸を含み、ここで、核酸は、少なくとも 1 つのヌクレオシド類似体（例えば、糖修飾を有するヌクレオシド）を含む。

20

【0280】

いくつかの態様では、糖修飾は、ポリヌクレオチドのその標的 *miRNA* への結合の親和性を増加させる。ポリヌクレオチドに親和性を増強するヌクレオチド類似体、例えば、*LNA* または 2' 置換された糖を組み込むことは、ポリヌクレオチドの長さが低減されるのを可能にし得、非特異的または異常な結合が起こらないポリヌクレオチドサイズの上限も緩和し得る。

【0281】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、*antimiR*、例えば、*miR485 antimiR*）における少なくとも約 5%、少なくとも約 10%、少なくとも約 15%、少なくとも約 20%、少なくとも約 25%、少なくとも約 30%、少なくとも約 35%、少なくとも約 40%、少なくとも約 45%、少なくとも約 50%、少なくとも約 55%、少なくとも約 60%、少なくとも約 65%、少なくとも約 70%、少なくとも約 75%、少なくとも約 80%、少なくとも約 85%、少なくとも約 90%、少なくとも約 95%、少なくとも約 96%、少なくとも約 97%、少なくとも約 98%、少なくとも約 99%、または 100% のヌクレオチドが糖修飾（例えば、*LNA*）を含有する。

30

【0282】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド（例えば、*antimiR*、例えば、*miR485 antimiR*）における 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、または 22 ヌクレオチド単位が糖修飾される（例えば、*LNA*）。

40

【0283】

一般に、*RNA* は、酸素を有する五員環である糖基リボースを含む。非限定的な例示的修飾ヌクレオチドとしては、リボースにおける酸素の（例えば、*S*、*Se*、またはアルキレン、例えば、メチレンまたはエチレンとの）置換；二重結合の付加（例えば、リボースのシクロペンテニルまたはシクロヘキセニルとの置換）；リボースの環縮小（例えば、シクロブタンまたはオキセタンの四員環の形成）；リボースの環拡大（例えば、追加の炭素またはヘテロ原子を有し、6 または七員環の形成、例えば、アンヒドロヘキシトール、アルトリトール、マンニトール、シクロヘキサニル、シクロヘキセニル、及びホスホロアミ

50

ダート骨格も有するモルホリノ) ; 多環式形態 (例えば、トリシクロ) ; 及び「ロックされていない (unlocked)」形態、例えば、グリコール核酸 (GNA) (例えば、R-GNA または S-GNA、ここで、リボースは、ホスホジエステル結合に結合されたグリコール単位と置き換えられる)、トレオース核酸 (TNA、ここで、リボースは、-L-トレオフラノシル-(3' 2') と置き換えられる)、及びペプチド核酸 (PNA、ここで、2-アミノ-エチル-グリシン結合が、リボース及びホスホジエステル骨格と置き換わる) が挙げられる。糖基は、リボースにおける対応する炭素と反対の立体化学配置を有する1つ以上の炭素も含有し得る。したがって、ポリヌクレオチド分子は、糖として、例えば、アラビノースを含有するヌクレオチドを含み得る。

#### 【0284】

リボースの2'-ヒドロキシ基(OH)は、いくつかの異なる置換基で修飾または置換され得る。2'-位での例示的な置換としては、限定されるものではないが、H、ハロ、任意選択的に置換されたC<sub>1</sub>~6アルキル; 任意選択的に置換されたC<sub>1</sub>~6アルコキシ; 任意選択的に置換されたC<sub>6</sub>~10アリールオキシ; 任意選択的に置換されたC<sub>3</sub>~8シクロアルキル; 任意選択的に置換されたC<sub>3</sub>~8シクロアルコキシ; 任意選択的に置換されたC<sub>6</sub>~10アリールオキシ; 任意選択的に置換されたC<sub>6</sub>~10アリール-C<sub>1</sub>~6アルコキシ、任意選択的に置換されたC<sub>1</sub>~12(ヘテロシクリル)オキシ; 糖(例えば、リボース、ペントース、または本明細書に記載されるいずれか); ポリエチレングリコール(PEG)、-O(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O)<sub>n</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OR(ここで、Rは、Hまたは任意選択的に置換されたアルキルであり、nは、0~20(例えば、0~4、0~8、0~10、0~16、1~4、1~8、1~10、1~16、1~20、2~4、2~8、2~10、2~16、2~20、4~8、4~10、4~16、及び4~20)の整数である); 「ロックド」核酸(LNA)(2'-ヒドロキシが、C<sub>1</sub>~6アルキレンまたはC<sub>1</sub>~6ヘテロアルキレン架橋により、同じリボース糖の4'-炭素に連結されており、ここで、例示的な架橋としては、メチレン、プロピレン、エーテル、アミノ架橋、アミノアルキル、アミノアルコキシ、アミノ、及びアミノ酸が挙げられる)が挙げられる。

#### 【0285】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド(例えば、antimiR、例えば、miR485 antimiR)に存在するヌクレオシド類似体は、例えば、2'-O-アルキル-RNAユニット、2'-OMe-RNAユニット、2'-O-アルキル-SNA、2'-アミノ-DNAユニット、2'-フルオロ-DNAユニット、LNAユニット、アラビノ核酸(ANA)ユニット、2'-フルオロ-ANAユニット、HNAユニット、INA(インターカレーティング核酸)ユニット、2'MOEユニット、またはそれらの任意の組み合わせを含む。いくつかの態様では、LNAは、例えば、オキシLNA(例えば、-D-オキシ-LNAまたは-L-オキシ-LNA)、アミノLNA(例えば、-D-アミノ-LNAまたは-L-アミノ-LNA)、チオLNA(例えば、-D-チオ-LNAまたは-L-チオ-LNA)、ENA(例えば、-D-ENAまたは-L-ENA)、またはそれらの任意の組み合わせである。

#### 【0286】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチドに存在するヌクレオシドアナログは、ロックド核酸(LNA); 2'-O-アルキルRNA; 2'-アミノDNA; 2'-フルオロDNA; アラビノ核酸(ANA); 2'-フルオロANA、ヘキシトール核酸(HNA)、インターカレーティング核酸(INA)、拘束エチルヌクレオシド(cEt)、2'-O-メチル核酸(2'-OMe)、2'-O-メトキシエチル核酸(2'-MOE)、またはそれらの任意の組み合わせを含む。

#### 【0287】

いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチド(例えば、antimiR、例えば、miR485 antimiR)は、修飾されたRNAヌクレオチド類似体(例えば、LNA)及びDNAユニットの両方を含み得る。いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチドは、ギャップマーである。例えば、米国特許第8,404,649号、同第8,5

10

20

30

40

50

80, 756号、同第8, 163, 708号、同第9, 034, 837号(これらのすべてが参照によりそれらの全体が本明細書に組み込まれる)を参照のこと。いくつかの態様では、本開示のポリヌクレオチドは、マイクロ*miR*である。米国特許出願公開第US 20180201928号(参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)を参照のこと。  
【0288】

#### IV. ミセル

本開示は、本開示のカチオン性キャリアユニットを含むミセルも提供する。本開示のミセルは、本開示のカチオン性キャリアユニット及び負に荷電したペイロードを含み、ここで、負に荷電したペイロード及びカチオン性キャリアユニットは、互いに会合している。いくつかの態様では、会合は、共有結合を含む(図1を参照のこと)。他の態様では、会合は、共有結合を含まない(図1を参照のこと)。他の態様では、会合は、イオン結合、すなわち、静電的相互作用によるものである。いくつかの態様では、負に荷電したペイロード(例えば、DNA及び/またはRNA)は、共有結合によりカチオン性キャリアユニットにコンジュゲートされていない、及び/または負に荷電したペイロードは、イオン相互作用によってのみカチオン性キャリアユニットのカチオン性キャリア部分と相互作用する。

10

#### 【0289】

いくつかの態様では、本開示のカチオン性キャリアユニット及びミセルは、ペイロード(例えば、DNA及び/またはRNA)を(例えば、DNアーゼ及び/またはRNアーゼによる)分解から保護する。第1に、カチオン性キャリアユニットは、静電的相互作用によりペイロードを保護することができる。第2に、ミセルは、ペイロードをミセルの核に、すなわち、DNアーゼ及び/またはRNアーゼの影響が及ぶ範囲外に隔離する。いくつかの態様では、循環する酵素(例えば、ヌクレアーゼ)からのペイロードの保護は、負に荷電したペイロード(例えば、DNA及び/またはRNA)の半減期を遊離ペイロードと比較して増加させ得る。いくつかの態様では、本開示のミセルへのペイロードのカプセル化は、ペイロードの血漿半減期を遊離ペイロードと比較して少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約11倍、少なくとも約12倍、少なくとも約13倍、少なくとも約14倍、少なくとも約15倍、少なくとも約16倍、少なくとも約17倍、少なくとも約18倍、少なくとも約19倍、少なくとも約20倍、少なくとも約21倍、少なくとも約22倍、少なくとも約23倍、少なくとも約24倍、少なくとも約25倍、少なくとも約26倍、少なくとも約27倍、少なくとも約28倍、少なくとも約29倍、または少なくとも約30倍に増加させ得る。

20

30

#### 【0290】

いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットの正電荷、及び特にカチオン性キャリア部分の電荷は、溶液中で負に荷電したペイロード(例えば、核酸)を混合される場合にミセルを形成するのに十分であり、ここで、カチオン性キャリアユニット、特にそのカチオン性キャリア部分と、負に荷電したペイロード(例えば、核酸)との間の全体的イオン比率は、約1:1である。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニット、特にそのカチオン性キャリア部分と、負に荷電したペイロード(例えば、核酸)との間の全体的イオン比率は、1超:1であり、すなわち、過剰のカチオン性キャリアユニットが使用される。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニット、特にそのカチオン性キャリア部分と、負に荷電したペイロード(例えば、核酸)との間の全体的イオン比率は、1未満:1であり、すなわち、過剰の負に荷電したペイロードが使用される。

40

#### 【0291】

いくつかの態様では、好適な緩衝液(例えば、PBS)と組み合わせると、本開示のカチオン性キャリアユニットとペイロード(例えば、*anti-miR*などのアンチセンスオリゴヌクレオチド)との間に形成される複合体は、自己組織化して、ミセルをもたらす。図5を参照のこと。

#### 【0292】

50

ミセルは、1つ以上の両親媒性分子から構成される水溶性またはコロイド状の構造または集合体である。両親媒性分子は、少なくとも1つの親水性（極性）部分及び少なくとも1つの疎水性（非極性）部分を含有する分子である。「典型的なミセル」は、親水性層または「殻」により囲まれた単一の、中心の、かつ主に疎水性の区画または「核」を有する。水溶液において、ミセルは、両親媒性分子の親水性の「頭部」領域が周囲の溶媒と接触しており、両親媒性分子の疎水性の単一尾部領域をミセル核に隔離している集合体を形成する。ミセルの形状は、ほぼ球状である。他の形状、例えば、楕円体、円柱、桿状構造、またはポリマソームも可能である。開示されるミセルの形状及びサイズ、ならびにしたがって、ローディング容量は、水溶性バイオポリマー（例えば、PEG）とカチオン性キャリア（例えば、ポリリジン）との間の比率を変化させることにより修飾され得る。比率に応じて、キャリアユニットは、小粒子、小型ミセル、ミセル、桿状構造、またはポリマソームとして組織化し得る（図6を参照のこと）。したがって、「本開示のミセル」という用語は、典型的なミセルだけでなく小粒子、小型ミセル、ミセル、桿状構造、またはポリマソームも包含する。

10

#### 【0293】

本開示のミセルは、疎水性及び親水性部分を含有する単一の単分子ポリマー、または極性溶液（すなわち、水溶液）中で、臨界ミセル濃度（CMC）以上で形成された多数の両親媒性（すなわち界面活性剤）分子を含有する集合体の混合物のいずれかから構成され得る。ミセルは、1つ以上の両親媒性分子から自己組織化され、ここで、部分は、主に疎水性の内部核及び主に親水性の外側をもたらすように配向される。

20

#### 【0294】

本開示のミセルは、5～約2000ナノメートルの範囲のサイズであり得る。いくつかの態様では、ミセルの直径は、約10nm～約200nmである。いくつかの態様では、ミセルの直径は、約1nm～約100nm、約10nm～約100nm、約10nm～約90nm、約10nm～約80nm、約10nm～約70nm、約20nm～約100nm、約20nm～約90nm、約20nm～約80nm、約20nm～約70nm、約30nm～約100nm、約30nm～約90nm、約30nm～約80nm、約30nm～約70nm、約40nm～約100nm、約40nm～約90nm、約40nm～約80nm、または約40nm～約70nmである。いくつかの態様では、本開示のミセルの直径は、約30nm～約60nmである。いくつかの態様では、本開示のミセルの直径は、約15nm～約90nmである。いくつかの態様では、本開示のミセルの直径は、約15nm～約80nmである。いくつかの態様では、本開示のミセルの直径は、約15nm～約70nmである。いくつかの態様では、本開示のミセルの直径は、約15nm～約60nmである。いくつかの態様では、本開示のミセルの直径は、約15nm～約50nmである。いくつかの態様では、本開示のミセルの直径は、約20nm～約60nmである。いくつかの態様では、本開示のミセルの直径は、約20nm～約50nmである。いくつかの態様では、本開示のミセルの直径は、約20nm～約40nmである。いくつかの態様では、本開示のミセルの直径は、約25nm～約35nmである。いくつかの態様では、本開示のミセルの直径は、約32nmである。ミセルサイズの例示的な分布を図9に示す。

30

40

#### 【0295】

いくつかの態様では、ミセルは、単一種類のantimiR（例えば、miR485antimiR）を含み得る。他の態様では、ミセルは、2種類以上のantimiR、例えば、(i)同じmiRNAを標的とする異なる構造を有するantimiR、(ii)異なるmiRNAを標的とする異なる構造を有するantimiR、(iii)同じmiRNAを標的とする同じ構造を有するantimiR、または(iv)それらの組み合わせを含み得る。

#### 【0296】

いくつかの態様では、本開示のミセルは、単一種類のカチオン性キャリアユニットを含む。他の態様では、本開示のミセルは、2種類以上のカチオン性キャリアユニット（例え

50

ば、標的細胞表面上の異なる受容体を標的とする)を含む。いくつかの態様では、本開示のミセルは、異なる標的化部分、(例えば、異なるペイロードを収容するための)異なるカチオン性キャリア部分、及び/または異なるアジュバントユニットを有するカチオン性キャリアユニットを含み得る。

#### 【0297】

ミセルをペイロードとともに形成させるために、異なる種類のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットが、一緒に組み合わせられ得る。例えば、血液脳関門を標的とするために、本開示のミセルは、標的化部分に連結されたカチオン性(またはアニオン性)キャリアユニット及び標的化部分に連結されていないカチオン性(またはアニオン性)キャリアユニットを含み得る。いくつかの態様では、ミセルは、約50~約200のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットを含む。他の態様では、ミセルは、約50~約150、約50~約140、約50~約130、約50~約120、約50~約110、または約50~約100のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットを含む。いくつかの態様では、ミセルは、約60~約200のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットを含む。他の態様では、ミセルは、約60~約150、約60~約140、約60~約130、約60~約120、約60~約110、約60~約100、約60~約90、約60~約80、または約60~約70のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットを含む。いくつかの態様では、ミセルは、約70~約200のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットを含む。他の態様では、ミセルは、約70~約150、約70~約140、約70~約130、約70~約120、約70~約110、約70~約100、約70~約90、または約70~約80のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットを含む。いくつかの態様では、ミセルは、約80~約200のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットを含む。他の態様では、ミセルは、約80~約150、約80~約140、約80~約130、約80~約120、約80~約110、約80~約100、または約80~約90のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットを含む。いくつかの態様では、ミセルは、約90~約200のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットを含む。他の態様では、ミセルは、約90~約150、約90~約140、約90~約130、約90~約120、約90~約110、または約90~約100のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットを含む。いくつかの態様では、ミセルは、約100~約200のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットを含む。他の態様では、ミセルは、約100~約150、約100~約140、約100~約130、約100~約120、約100~約110、または約100~約100のカチオン性またはアニオン性キャリアユニットを含む。

#### 【0298】

本開示は、(i)ヌクレオチド配列(例えば、約14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または24ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチド)、及び(ii)本明細書に記載されるカチオン性キャリアユニットを含むミセルも含む。いくつかの態様では、本開示は、(i)ヌクレオチド配列、例えば、miRNAまたはmiRNA阻害剤(例えば、約14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または24ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチド)、及び(ii)約80~約120(例えば、約85~約115、約90~約110、約95~約105)の本明細書に記載されるカチオン性キャリアユニット、例えば、TM-WP-CC-AM、WP-CC-AM、またはそれらの組み合わせ(図3を参照のこと)を含むミセルを対象とする。いくつかの態様では、ミセルは、(i)ヌクレオチド配列、例えば、miRNAまたはmiRNA阻害剤(例えば、約14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、または24ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチド)、及び(ii)約80~約120(例えば、約80、約85、約90、約95、約100、約105、または約110)の本明細書に記載されるカチオン性キャリアユニット、例えば、任意選択のTM-WP-CC-AM(図3を参照のこと)を含む。いくつかの態様では、ミセルは、(i)ヌクレオチド配列、例えば、miRNAまたはmiRNA阻害剤(例えば、約14、15、16、17、18

、19、20、21、22、23、または24ヌクレオチド長のオリゴヌクレオチド)、及び(ii)約90~約110、例えば、約100のカチオン性キャリアユニットを含み、ここで、(a)約45~約55、例えば、約50のカチオン性キャリアユニットが、TM-WP-CC-AMを含み、(b)約45~約55、例えば、約50のカチオン性キャリアユニットが、WP-CC-CMを含み、ここで、TMは、フェニルアラニンであり、WPは、(PEG)<sub>5000</sub>であり、CCは、約40~約50のリジン、例えば、約45、約46、約47、約48、約49、または約50のリジンであり、約5~約15のリジン、約10のリジンの各々は、ビタミンB3(ニコチンアミド)に融合されている。

#### 【0299】

いくつかの態様では、本開示のミセルは、(i)ヌクレオチド配列、例えば、miR485-3p阻害剤、例えば、5'-AGAGAGGAGAGCCGUGUAUGAC-3' (配列番号18)、及び(ii)約100のカチオン性キャリアユニットを含み、ここで、(a)約50のカチオン性キャリアユニットが、TM-WP-CC-AMを含み、(b)約50のカチオン性キャリアユニットが、WP-CC-CMを含み、ここで、TMは、フェニルアラニンであり、WPは、(PEG)<sub>5000</sub>であり、CCは、約47のリジンであり、約10のリジンの各々は、ビタミンB3(ニコチンアミド)に融合されている。

#### 【0300】

いくつかの態様では、ミセルは、単一のペイロード(例えば、単一のオリゴヌクレオチド、例えば、anti-miR)を含み得る。他の態様では、ミセルは、2種以上のペイロード(例えば、複数のオリゴヌクレオチド、例えば、複数のanti-miR)を含み得る。

#### 【0301】

### V. 製造方法

本開示は、本開示のカチオン性キャリアユニット及びミセルを作製する方法も提供する。概して、本開示は、例えば、実施例セクションに記載されるようにカチオン性キャリアユニットを合成することを含む、本開示のカチオン性キャリアユニットを調製する方法を提供する。本明細書で使用する場合、「合成する」という用語は、当該技術分野において公知の方法を使用してカチオン性キャリアユニットを構築することを指す。例えば、タンパク質構成要素(例えば、抗体標的化部分)は、組換えにより調製され得、その後、カチオン性キャリアユニットの他の構成要素にコンジュゲートされ得る。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットの構成要素のそれぞれは、当該技術分野において公知の方法、例えば、組換えタンパク質生成、固相ペプチドまたは核酸合成、化学合成、酵素合成、またはそれらの任意の組み合わせを使用して調製され得、得られた構成要素は、当該技術分野において公知の化学的方法及び/または酵素による方法を使用してコンジュゲートされ得る。

#### 【0302】

本開示のカチオン性キャリアユニットは、夾雑物を除去するために精製され得る。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットは、カチオン性キャリアユニットの均一な集団を含む。しかしながら、他の態様では、カチオン性キャリアユニットは、複数の種類を含み得る(例えば、それらの一部は標的化部分を含み、一部は残りの部分を含むが、標的化部分を有さない)。いくつかの態様では、本開示のカチオン性キャリアユニットの製造は、凍結乾燥または再構成に好適な任意の他の種類の乾燥保存を含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニットをペイロード(例えば、核酸)と組み合わせた後に、乾燥形態のカチオン性キャリアユニットの調製が行われる。

#### 【0303】

いくつかの態様では、本開示のミセルを調製する方法は、カチオン性キャリアユニットを負に荷電したペイロード(例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドなどの核酸、例えば、anti-miR)と1:1のイオン比率で混合することを含む。いくつかの態様では、カチオン性キャリアユニット及び負に荷電したペイロードは、溶液中で組み合わされる。いくつかの態様では、溶液中でカチオン性キャリア及び負に荷電したペイロードを組み合わせた後に、得られた溶液が凍結乾燥または乾燥される。いくつかの態様では、カチオ



ン性キャリア及び負に荷電したペイロードの組み合わせは、乾燥形態で実施される。

【0304】

図6に示すように、カチオン性キャリア部分（B、例えば、ポリリジン）におけるモノマーユニット（例えば、リジン）の数 $m$ に対する水溶性ポリマー（A、例えば、PEG）におけるモノマーユニットの数 $n$ の比率（いずれの場合においても、ユニットの数 $n$ または $m$ は、最高1,000ユニットであり得る）は、得られるミセルのサイズ及び形状に影響を及ぼす。0.5の $mB/(nA+mB)$ 比率では、得られるミセルは、古典的なミセルである。 $mB/(nA+mB)$ が0.5超である場合、得られるミセルは、桿状ミセルまたはポリマソームである。 $mB/(nA+mB)$ が0.5未満である場合、得られるミセルは、小型ミセルまたは小粒子である。

10

【0305】

本開示のミセルは、当該技術分野において公知の技術のいずれか、例えば、ボルテックスすること、押出し、または音波処理を使用して生成され得る。ミセルの形成は、本開示のカチオン性キャリアユニットを含む溶液の臨界ミセル濃度（CMC）を越える条件を適用することに依存する。それらがある特定の値の濃度に達した後、界面活性剤が会合し始め、より複雑なユニット、例えば、ミセルに自己組織化し始める。本開示のカチオン性キャリアを含む溶液のCMCは、CMC周辺で明白な遷移を示す任意の物理的性質（例えば、表面張力）により決定され得る。

【0306】

周知のSmith-Ewart理論により、CMCを超える濃度でミセルの形成を引き起こす核生成した粒子の数は、界面活性剤（本開示では、アニオン性ペイロードと複合体形成または会合したカチオン性キャリアユニット）濃度の0.6乗と比例すると予測される。これは、所与の界面活性剤では、形成されるミセルの数は、一般に界面活性剤濃度の増加とともに増加するためである。

20

【0307】

いくつかの態様では、本開示のミセルは、例えば、夾雑物を除去するため、及び/または均一なミセルの集団（例えば、同じサイズを有するミセル、または同じペイロードもしくは同じ標的化部分を有するミセル）を生成するために精製され得る。

【0308】

VI. 医薬組成物

30

本開示は、対象への投与に好適である本開示のカチオン性キャリアユニット及び/またはミセル（すなわち、本開示のカチオン性キャリアユニットを含むミセル）を含む医薬組成物も提供する。上記のように、本開示のミセルは、均一であり得る（すなわち、すべてのミセルが同じ種類のカチオン性キャリアユニットを、同じ標的化部分及び同じペイロードとともに含む）。しかしながら、他の態様では、ミセルは、複数の標的化部分、複数のペイロードなどを含み得る。

【0309】

医薬組成物は、一般に、本開示のカチオン性キャリアユニット及び/またはミセル、ならびに薬学的に許容される賦形剤またはキャリアを、対象への投与に好適な形態で含む。薬学的に許容される賦形剤またはキャリアは、投与される特定の組成物、及び組成物を投与するために使用される特定の方法により部分的に決定される。

40

【0310】

本開示のミセルを含む医薬組成物の多種多様な好適な製剤が存在する（例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa. 18th ed. (1990)を参照のこと）。医薬組成物は、一般に、無菌及び米国食品医薬品局によるすべての医薬品優良製造規則（GMP）に完全準拠で製剤化される。いくつかの態様では、医薬組成物は、本明細書に記載される1つ以上のミセルを含む。

【0311】

ある特定の態様では、本明細書に記載されるミセルは、薬学的に許容されるキャリア中

50

で1種以上の追加の治療薬と同時投与される。いくつかの態様では、本明細書に記載されるミセルを含む医薬組成物は、追加の治療薬（複数可）の投与前に投与される。他の態様では、本明細書に記載されるミセルを含む医薬組成物は、追加の治療薬（複数可）の投与後に投与される。さらなる態様では、本明細書に記載されるミセルを含む医薬組成物は、追加の治療薬（複数可）と同時に投与される。

【0312】

いくつかの態様では、薬学的キャリアは、ミセル形成後に添加される。他の態様では、薬学的キャリアは、ミセル形成前に添加される。

【0313】

許容可能なキャリア、賦形剤、または安定剤は、用いられる投与量及び濃度でレシピエント（例えば、動物またはヒト）に対し無毒性であり、これらとしては、緩衝剤、例えば、リン酸、クエン酸、及び他の有機酸；アスコルビン酸及びメチオニンが挙げられる抗酸化剤；防腐剤（例えば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；塩化ヘキサメトニウム；塩化ベンザルコニウム、塩化ベンゼトニウム；フェノール、ブチル、またはベンジルアルコール；アルキルパラベン、例えば、メチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；3-ペンタノール；及びm-クレゾール）；低分子量（約10残基未満の）ポリペプチド；タンパク質、例えば、血清アルブミン、ゼラチン、または免疫グロブリン；親水性ポリマー、例えば、ポリビニルピロリドン；アミノ酸、例えば、グリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリジン；グルコース、マンノース、またはデキストリンが挙げられる単糖、二糖、及び他の炭水化物；キレート剤、例えば、EDTA；糖、例えば、スクロース、マンニトール、トレハロース、またはソルビトール；塩形成性対イオン、例えば、ナトリウム；金属錯体（例えば、Zn-タンパク質錯体）；及び/または非イオン性活性剤、例えば、TWEEEN（登録商標）、PLURONICS（商標）、またはポリエチレングリコール（PEG）が挙げられる。

【0314】

キャリアまたは希釈剤の例としては、限定されるものではないが、水、生理食塩水、リンガー液、デキストロース溶液、及び5%のヒト血清アルブミンが挙げられる。薬学的活性物質のためのかかる媒体及び化合物の使用は、当該技術分野において周知である。任意の従来の媒体または化合物が本明細書において開示されるカチオン性キャリアユニットまたはミセルと適合しない場合を除いて、組成物におけるそれらの使用が意図される。

【0315】

補助的治療薬も本開示の組成物に組み込まれ得る。通常、医薬組成物は、その意図される投与経路と適合可能となるように製剤化される。本明細書に記載されるミセルは、非経口、局所、静脈内、経口、皮下、動脈内、皮内、経皮、直腸、頭蓋内、腹腔内、鼻腔内、腫瘍内、筋肉内経路により、または吸入剤として投与され得る。ある特定の態様では、本明細書に記載される医薬組成物のミセルは、例えば、注射により静脈内投与される。本明細書に記載されるミセルは、任意選択的に、本明細書に記載されるミセルが対象とする疾患、障害、または状態を処置するのに少なくとも部分的に効果的である他の治療薬と組み合わせ投与され得る。

【0316】

溶液または懸濁液は、以下の構成要素を含み得る：無菌の希釈剤、例えば、水、生理食塩液、不揮発性油、ポリエチレングリコール、グリセリン、プロピレングリコール、または他の合成溶媒；抗菌化合物、例えば、ベンジルアルコールまたはメチルパラベン；抗酸化剤、例えば、アスコルビン酸または亜硫酸水素ナトリウム；キレート化合物、例えば、エチレンジアミン四酢酸（EDTA）；緩衝剤、例えば、酢酸塩、クエン酸塩またはホスフェート、及び張度の調整のための化合物、例えば、塩化ナトリウムまたはデキストロース。pHは、酸または塩基、例えば、塩酸または水酸化ナトリウムにより調整され得る。調製物は、ガラスまたはプラスチック製のアンプル、使い捨て注射器、または多人数用バイアルに入れられ得る。

10

20

30

40

50

## 【 0 3 1 7 】

注射用途に好適な医薬組成物は、無菌の水溶液（水溶性である場合）または分散体及び無菌の粉末が挙げられる。静脈内投与に好適なキャリアとしては、生理的食塩水、静菌水、Cremophor EL（商標）（BASF、Parsippany、N.J.）、またはリン酸緩衝食塩水（PBS）が挙げられる。組成物は、一般に、無菌及び注射針通過が容易である程度まで流動的である。キャリアは、例えば、水、エタノール、ポリオール（例えば、グリセロール、プロピレングリコール、及び液体ポリエチレングリコールなど）、ならびに好適なそれらの混合物を含有する溶媒または分散媒であり得る。適切な流動性は、例えば、レシチンなどのコーティングを使用することによって、分散体の場合に必要な粒子サイズを維持することによって、及び界面活性剤を使用することによって維持され得る。微生物の活動の防止は、様々な抗細菌化合物及び抗真菌化合物、例えば、パラベン、クロロブタノール、フェノール、アスコルビン酸、チメロサルなどにより達成され得る。必要に応じて、等張性化合物、例えば、糖、多価アルコール、例えば、マンニトール、ソルビトール、及び塩化ナトリウムが組成物に添加され得る。注射可能な組成物の吸収の延長は、吸収を遅延させる化合物、例えば、モノステアリン酸アルミニウム及びゼラチンを組成物に入れることにより引き起こされ得る。

10

## 【 0 3 1 8 】

本開示の医薬組成物は、従来の周知の滅菌技術により滅菌され得る。水溶液は、使用するために包装され得るか、または無菌条件下濾過され、凍結乾燥され、凍結乾燥された調製物は、投与の前に無菌の水溶液と組み合わせられる。

20

## 【 0 3 1 9 】

無菌注射剤は、所望される場合、本明細書において列挙される成分の1つまたは組み合わせとともに、本明細書に記載されるミセルを有効量でかつ適切な溶媒中に組み込むことにより調製され得る。一般に、分散体は、本明細書に記載されるミセルを基本的な分散媒及び任意の所望の他の成分を含有する無菌のビヒクルに組み込むことにより調製される。無菌注射剤を調製するための無菌粉末の場合、調製法は、事前に滅菌濾過された溶液から活性成分及び任意のさらなる所望の成分の粉末を生じる真空乾燥及びフリーズドライである。本明細書に記載されるミセルは、本明細書に記載されるミセルの持続放出またはパルス放出を可能にするような様式で製剤化され得る、蓄積注射またはインプラント調製物の形態で投与され得る。

30

## 【 0 3 2 0 】

本明細書に記載されるミセルを含む組成物の全身投与は、経粘膜手段によるものであり得る。経粘膜投与用には、透過されるべきバリアに適した浸透剤が製剤中に使用される。かかる浸透剤は、一般に当技術分野において公知であり、例えば、経粘膜投与用の、界面活性剤、胆汁酸塩、及びフシジン酸誘導体が挙げられる。経粘膜投与は、例えば、鼻内噴霧を使用することにより達成され得る。

## 【 0 3 2 1 】

ある特定の態様では、本明細書に記載されるミセルを含む医薬組成物は、医薬組成物から恩恵を受ける対象に静脈内投与される。ある特定の態様では、組成物は、例えば、リンパ管内注射もしくは結節内注射（例えば、Senti et al., PNAS 105 (46) : 17908 (2008) 参照のこと）によりリンパ系に、または筋肉内注射により、皮下投与により、腫瘍内注射により、胸腺または肝臓への直接注入により投与される。

40

## 【 0 3 2 2 】

ある特定の態様では、本明細書に記載されるミセルを含む医薬組成物は、懸濁液として投与される。ある特定の態様では、医薬組成物は、投与後の貯留物を形成することができる製剤として投与される。ある特定の好ましい態様では、貯留物は、本明細書に記載されるミセルを血行にゆっくりと放出するか、または貯留物形態で残存する。

## 【 0 3 2 3 】

通常、薬学的に許容される組成物は、夾雑物を含まないように高度に精製されており、生体適合性でありかつ有毒でなく、対象への投与に適している。水がキャリアの構成成分

50

である場合、水は、夾雑物（例えば、エンドトキシン）を含まないように高度に精製及び処理される。

【0324】

薬学的に許容されるキャリアは、ラクトース、デキストロース、スクロース、ソルビトール、マンニトール、デンプン、アラビアゴム、リン酸カルシウム、アルギナート、ゼラチン、ケイ酸カルシウム、微結晶性セルロース、ポリビニルピロリドン、セルロース、水、シロップ、メチルセルロース、ヒドロキシ安息香酸メチル、ヒドロキシ安息香酸プロピル、タルク、ステアリン酸マグネシウム、及び／または鉱油であり得るが、それらに限定されない。医薬組成物は、滑沢剤、湿潤剤、甘味剤、風味増強剤、乳化剤、沈殿防止剤、及び／または防腐剤をさらに含み得る。

10

【0325】

本明細書に記載される医薬組成物は、本明細書に記載されるミセル及び任意選択的に薬学的活性薬剤または治療薬を含む。治療薬は、生物学的薬剤、低分子薬剤、または核酸薬剤であり得る。

【0326】

本明細書に記載されるミセルを含む剤形が提供される。いくつかの態様では、剤形は、静脈内注射のための懸濁液として製剤化される。

【0327】

本明細書において開示されるミセルまたはミセルを含む医薬組成物は、他の薬物と同時に使用され得る。具体的には、本開示のミセルまたは医薬組成物は、薬剤、例えば、ホルモン治療薬、化学療法薬、免疫治療薬剤、細胞増殖因子または細胞増殖因子受容体の作用を阻害する薬剤などとともに使用され得る。

20

【0328】

VII. 処置方法及び使用方法

本開示は、疾患または状態を処置する必要がある対象の疾患または状態を処置する方法も提供し、当該方法は、本開示のミセルまたはその組み合わせを対象、例えば、ヒト対象などの哺乳動物に投与することを含む。いくつかの態様では、本開示は、神経変性障害またはがんを処置する必要がある対象の神経変性障害またはがんを処置する方法も提供し、当該方法は、治療上有効量の本開示のミセルまたは本開示の医薬組成物を対象に投与することを含む。

30

【0329】

いくつかの態様では、本開示のミセルは、静脈内、筋肉内、動脈内、クモ膜下腔内、嚢内、眼窩内、心臓内、皮内、腹腔内、経気管、皮下、表皮下、関節内、被膜下、クモ膜下、脊髄内、及び胸骨内注射及び注入により投与され得る。

【0330】

いくつかの態様では、本開示のミセルは、本明細書において開示される疾患及び症状の処置に好適な他の薬剤または処置と同時に使用され得る。

【0331】

本開示は、送達のためにペイロードをカプセル化する方法も提供し、当該方法は、ペイロード、例えば、核酸などのアニオン性ペイロード（例えば、*anti-miR*）を本開示のミセルに組み込むことを含む。

40

【0332】

本開示は、ペイロードの分解（例えば、ヌクレアーゼにより媒介される分解）への耐性を増加させる方法も提供し、当該方法は、ペイロード、例えば、核酸などのアニオン性ペイロード（例えば、*anti-miR*）を本開示のミセルに組み込むことを含む。

【0333】

いくつかの態様では、本開示は、血液脳関門（BBB）を通過する方法を提供し、当該方法は、本明細書において開示されるミセル、例えば、標的化部分としてトリプトファン及び／またはチロシンを含むミセルを投与することを含む。図7に例示されるように、*anti-miRNA* がロードされた本開示のミセルは、上記に開示されるように、BBBの受

50

容体、例えば、LAT1に標的化され得る。一旦ミセルが受容体により媒介されるトランスサイトーシスによりBBBを通して移動され、脳細胞（例えば、神経細胞、アストロサイト、またはミクログリア）による細胞内取り込みを受けると、ペイロード（例えば、antimiR）が放出され、細胞内の標的と相互作用する（例えば、antimiRが標的マイクロRNAに結合し得、RNアーゼHにより媒介される分解を引き起こし得る）。

【0334】

いくつかの態様では、本開示のミセルへのペイロードのカプセル化は、ペイロードの分解への耐性を、遊離ペイロード（すなわち、ミセル内でない、例えば、溶液中で遊離しているペイロード）と比較して少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約100%増加させ得る。

10

【0335】

いくつかの態様では、本開示のミセルへのペイロードのカプセル化は、ペイロードの分解への耐性を、遊離ペイロードと比較して少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約11倍、少なくとも約12倍、少なくとも約13倍、少なくとも約14倍、少なくとも約15倍、少なくとも約16倍、少なくとも約17倍、少なくとも約18倍、少なくとも約19倍、少なくとも約20倍、少なくとも約21倍、少なくとも約22倍、少なくとも約23倍、少なくとも約24倍、少なくとも約25倍、少なくとも約26倍、少なくとも約27倍、少なくとも約28倍、少なくとも約29倍、または少なくとも約30倍に増加させ得る。

20

【0336】

本開示は、投与の間（例えば、対象の血流中に存在する間）のペイロードの安定性を増加させる方法も提供し、当該方法は、ペイロード、例えば、核酸などのアニオン性ペイロード（例えば、antimiR）を本開示のミセルに組み込むことを含む。

【0337】

いくつかの態様では、本開示のミセルへのペイロードのカプセル化は、ペイロードの安定性を、遊離ペイロードと比較して少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約100%増加させ得る（例えば、ヌクレアーゼに対する耐性を増加させる）。

30

【0338】

いくつかの態様では、本開示のミセルへのペイロードのカプセル化は、ペイロードの安定性を、遊離ペイロードと比較して少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約11倍、少なくとも約12倍、少なくとも約13倍、少なくとも約14倍、少なくとも約15倍、少なくとも約16倍、少なくとも約17倍、少なくとも約18倍、少なくとも約19倍、少なくとも約20倍、少なくとも約21倍、少なくとも約22倍、少なくとも約23倍、少なくとも約24倍、少なくとも約25倍、少なくとも約26倍、少なくとも約27倍、少なくとも約28倍、少なくとも約29倍、または少なくとも約30倍増加させ得る（例えば、ヌクレアーゼに対する耐性を増加させる）。

40

【0339】

本開示は、ペイロードの血漿半減期を増加させる方法も提供し、当該方法は、ペイロード、例えば、核酸などのアニオン性ペイロード（例えば、antimiR）を本開示のミ

50

セルに組み込むことを含む。

【0340】

いくつかの態様では、本開示のミセルへのペイロードのカプセル化は、ペイロードの血漿半減期を、遊離ペイロードと比較して少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、少なくとも約100%、少なくとも約200%、少なくとも約300%、少なくとも約400%、少なくとも約500%、少なくとも約600%、少なくとも約700%、少なくとも約800%、少なくとも約900%、少なくとも約1000%、少なくとも約1100%、少なくとも約1200%、少なくとも約1300%、少なくとも約1400%、少なくとも約1500%、少なくとも約1600%、少なくとも約1700%、少なくとも約1800%、少なくとも約1900%、または少なくとも約2000%増加させ得る。

10

【0341】

いくつかの態様では、本開示のミセルへのペイロードのカプセル化は、ペイロードの血漿半減期を、遊離ペイロードと比較して少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約11倍、少なくとも約12倍、少なくとも約13倍、少なくとも約14倍、少なくとも約15倍、少なくとも約16倍、少なくとも約17倍、少なくとも約18倍、少なくとも約19倍、少なくとも約20倍、少なくとも約21倍、少なくとも約22倍、少なくとも約23倍、少なくとも約24倍、少なくとも約25倍、少なくとも約26倍、少なくとも約27倍、少なくとも約28倍、少なくとも約29倍、または少なくとも約30倍増加させ得る。

20

【0342】

いくつかの態様では、カプセル化されたペイロードは、本明細書において開示される *antimiR*、例えば、配列番号18のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはそのバリエーションもしくは誘導体（例えば、配列番号18のアンチセンスオリゴヌクレオチドに対する少なくとも約70%の同一性を有するオリゴヌクレオチド）であり、ここで、本開示のミセルへの *antimiR* のカプセル化は、*antimiR* の血漿半減期を、遊離 *antimiR* の血漿半減期と比較して少なくとも約10倍、少なくとも約12倍、少なくとも約14倍、少なくとも約16倍、少なくとも約18倍、または少なくとも約20倍増加させる。特定の一態様では、カプセル化されたペイロードは、本明細書において開示される *antimiR*、例えば、配列番号18のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはそのバリエーションもしくは誘導体（例えば、配列番号18のアンチセンスオリゴヌクレオチドに対する少なくとも約70%の同一性を有するオリゴヌクレオチド）であり、ここで、本開示のミセルへの *antimiR* のカプセル化は、*antimiR* の血漿半減期を、遊離 *antimiR* の血漿半減期と比較して約20倍に増加させる。いくつかの態様では、本開示のミセルにカプセル化された *antimiR* の血漿半減期は、少なくとも約30分、少なくとも約40分、少なくとも約50分、少なくとも約60分、少なくとも約70分、少なくとも約80分、少なくとも約90分、少なくとも約100分、または少なくとも約120分である。特定の一態様では、本開示のミセルにカプセル化された *antimiR*（例えば、配列番号18のアンチセンスオリゴヌクレオチド）の血漿半減期は、少なくとも約90分である。

30

40

【0343】

本開示は、生理学的バリア、例えば、BBBまたは形質膜を通したペイロードの透過、送達、移動、または輸送を増加させる方法も提供し、当該方法は、ペイロード、例えば、核酸などのアニオン性ペイロード（例えば、*antimiR*）を本開示のミセルに組み込むことを含む。

【0344】

50

いくつかの態様では、本開示のミセルへのペイロードのカプセル化は、生理学的バリア、例えば、BBBまたは形質膜を通したペイロードの透過、送達、移動、または輸送を、遊離ペイロードと比較して少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または少なくとも約100%増加させ得る。

#### 【0345】

いくつかの態様では、本開示のミセルへのペイロードのカプセル化は、生理学的バリア、例えば、BBBまたは形質膜を通したペイロードの透過、送達、移動、または輸送を、遊離ペイロードと比較して少なくとも約2倍、少なくとも約3倍、少なくとも約4倍、少なくとも約5倍、少なくとも約6倍、少なくとも約7倍、少なくとも約8倍、少なくとも約9倍、少なくとも約10倍、少なくとも約11倍、少なくとも約12倍、少なくとも約13倍、少なくとも約14倍、少なくとも約15倍、少なくとも約16倍、少なくとも約17倍、少なくとも約18倍、少なくとも約19倍、少なくとも約20倍、少なくとも約21倍、少なくとも約22倍、少なくとも約23倍、少なくとも約24倍、少なくとも約25倍、少なくとも約26倍、少なくとも約27倍、少なくとも約28倍、少なくとも約29倍、または少なくとも約30倍に増加させ得る。

#### 【0346】

いくつかの態様では、本開示のミセルは、幹細胞を標的とするために、例えば、治療用分子（例えば、治療用ポリヌクレオチド）または遺伝子治療成分を送達するために使用され得る。他の態様では、本開示のミセルは、がんを処置するために使用され得る。例えば、本開示のミセルは、ある特定の種類のがん、例えば、神経膠腫、乳癌、膵臓癌、肝臓癌、皮膚癌、または子宮頸癌に特異的なマーカーを標的とし得、治療用分子（例えば、治療用ポリヌクレオチド、ペプチド、または低分子）をペイロードとして保有し得る。

#### 【0347】

特定の態様では、本開示のミセルは、膵臓癌を処置するために使用され得る。いくつかの態様では、本開示のミセルを膵臓組織に誘導する標的化部分は、環状RGDペプチドである。他の態様では、本開示のミセルを膵臓組織に誘導する標的化部分は、正常またはがん性膵臓細胞の表面に主にまたはもっぱら発現されるバイオマーカーである。いくつかの態様では、本開示のミセルのペイロードは、K-Rasを標的とするオリゴヌクレオチドであり、ここで、膵臓組織へのペイロードの送達は、K-Rasの発現を効果的に低減する。

#### 【0348】

いくつかの態様では、本開示のミセルは、神経変性疾患、例えば、アルツハイマー病の症状を処置または改善するために使用され得る。いくつかの態様では、本開示のミセルは、アルツハイマー病神経組織において過剰発現される分子、例えば、miRNA-485-3pを標的とするペイロード（例えば、anti-miR）を含む。いくつかの態様では、したがって、本開示のミセル（例えば、BBBを通してミセル及びmiRNA-485-3pを標的とするanti-miRペイロードを効果的に輸送するためのLAT1標的化部分を含むミセル）のアルツハイマー病患者への投与は、アルツハイマー病の症状、例えば、アポトーシス、ミトコンドリア機能の喪失、または炎症を予防または改善し得る。図24を参照のこと。

#### 【0349】

いくつかの態様では、本開示は、神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病）に罹患している対象における炎症（例えば、神経炎症）を低減する方法を提供し、当該方法は、治療上有効量の本開示のミセルを対象に投与することを含み、ミセルは、対象における炎症（例えば、神経炎症）を効果的に低減することができる治療薬を含む。いくつかの態様では、神経炎症は、皮質の炎症である。いくつかの態様では、神経炎症は、海馬の炎症であ

る。いくつかの態様では、治療薬は、miRNA-485-3pを標的とするantimiR（例えば、配列番号18のantimiRまたはその断片もしくはバリエーション）であり、ここで、antimiRは、対象におけるmiRNA-485-3pのレベルを低減することができる。

【0350】

いくつかの態様では、神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病）に罹患している対象への本開示のミセルの投与は、神経炎症のレベルを、本開示のミセルで処置されていない対象または対象の集団において観察される神経炎症のレベルと比較して少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または約100%の神経炎症を減少させ得る。

10

【0351】

いくつかの態様では、本開示は、アルツハイマー病に罹患している対象におけるアミロイドプラーク負荷を低減する方法を提供し、当該方法は、治療上有効量の本開示のミセルを対象に投与することを含み、ミセルは、対象におけるアミロイドプラーク負荷を効果的に低減することができる治療薬を含む、方法を提供する。いくつかの態様では、治療薬は、miRNA-485-3pを標的とするantimiR（例えば、配列番号18のantimiRまたはその断片もしくはバリエーション）であり、ここで、antimiRは、対象におけるmiRNA-485-3pのレベルを低減することができる。

20

【0352】

いくつかの態様では、神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病）に罹患している対象への本開示のミセルの投与は、対象におけるアミロイドプラーク負荷を、本開示のミセルで処置されていない対象または対象の集団において観察されるアミロイドプラーク負荷と比較して、少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または約100%減少させ得る。

30

【0353】

いくつかの態様では、本開示は、神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病）に罹患している対象における神経形成を回復させる、及び/または誘発する方法を提供し、当該方法は、治療上有効量の本開示のミセルを対象に投与することを含み、ミセルは、対象における神経形成を効果的に回復させ、及び/または誘発することができる治療薬を含む。いくつかの態様では、治療薬は、miRNA-485-3pを標的とするantimiR（例えば、配列番号18のantimiRまたはその断片もしくはバリエーション）であり、ここで、antimiRは、対象におけるmiRNA-485-3pのレベルを低減することができる。

40

【0354】

いくつかの態様では、神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病）に罹患している対象への本開示のミセルの投与は、対象における神経形成を、本開示のミセルで処置されていない対象または対象の集団において観察される神経形成のレベルと比較して少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または約100%回復させる、及び/

50



または誘発させ得る。

【0355】

いくつかの態様では、本開示は、神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病）に罹患している対象の認知機能を改善する方法を提供し、当該方法は、治療上有効量の本開示のミセルを対象に投与することを含み、ミセルは、対象の認知機能を効果的に改善することができる治療薬を含む。いくつかの態様では、治療薬は、miRNA-485-3pを標的とするantimimicR（例えば、配列番号18のantimimicRまたはその断片もしくはバリエーション）であり、ここで、antimimicRは、対象におけるmiRNA-485-3pのレベルを低減することができる。

【0356】

いくつかの態様では、神経変性疾患（例えば、アルツハイマー病）に罹患している対象への本開示のミセルの投与は、対象の認知機能を、本開示のミセルで処置されていない対象または対象の集団において観察される認知機能と比較して少なくとも約5%、少なくとも約10%、少なくとも約15%、少なくとも約20%、少なくとも約25%、少なくとも約30%、少なくとも約35%、少なくとも約40%、少なくとも約45%、少なくとも約50%、少なくとも約55%、少なくとも約60%、少なくとも約65%、少なくとも約70%、少なくとも約75%、少なくとも約80%、少なくとも約85%、少なくとも約90%、少なくとも約95%、または約100%増加させ得る。

【0357】

VIII. キット

本開示は、本開示のカチオン性キャリアユニット、ミセル、または医薬組成物、及び任意選択的に使用説明書を含むキットまたは製造品も提供する。いくつかの態様では、キットまたは製造品は、本開示のカチオン性キャリアユニット、ミセル、または医薬組成物を1つ以上の容器に含む。いくつかの態様では、キットまたは製造品は、本開示のカチオン性キャリアユニット、ミセル、または医薬組成物、及びパンフレットを含む。いくつかの態様では、キットまたは製造品は、本開示のカチオン性キャリアユニット、ミセル、または医薬組成物、及び使用説明書を含む。当業者は、本開示のカチオン性キャリアユニット、ミセル、もしくは医薬組成物、またはそれらの組み合わせが、技術分野において周知である確立されたキットフォーマットのうちの1つに容易に組み込まれ得ることを容易に理解するであろう。

【0358】

いくつかの態様では、キットまたは製造品は、容器（例えば、ガラスバイアル）内の乾燥形態の本開示のカチオン性キャリアユニット、及び任意選択的に乾燥したカチオン性キャリアユニットを水和させるのに好適な溶媒を有するバイアル、及び任意選択的にカチオン性キャリアユニットの水和及びミセルの形成のための使用説明書を含む。いくつかの態様では、キットまたは製造品は、ミセルのアニオン性ペイロード（例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチド）を有する少なくとも1つの追加の容器（例えば、ガラスバイアル）をさらに含む。いくつかの態様では、キットまたは製造品は、乾燥形態の本開示のカチオン性キャリアユニット及び同様に乾燥形態のミセルのアニオン性ペイロードを同じ容器に、または異なる容器に含む。いくつかの態様では、キットまたは製造品は、溶液中の本開示のカチオン性キャリアユニット及び同様に溶液中のミセルのアニオン性ペイロードを同じ容器に、または異なる容器に含む。いくつかの態様では、キットまたは製造品は、溶液中の本開示のミセル及び使用説明書を含む。いくつかの態様では、キットまたは製造品は、乾燥形態の本開示のミセル及び使用説明書（例えば、再構成及び投与のための使用説明書）を含む。

【0359】

本開示の実施は、特に明記しない限り、当業者の技能範囲内にある、細胞生物学、細胞培養、分子生物学、トランスジェニック生物学、微生物学、組換えDNA、及び免疫学の従来技術を用いるであろう。このような技術は、文献において詳細に説明されている。例えば、Sambrook et al., ed. (1989) Molecular Cloning

10

20

30

40

50

ning A Laboratory Manual (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press)、Sambrook et al., ed. (1992) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY)、D.N. Glover ed., (1985) DNA Cloning, Volumes I and II、Gait, ed. (1984) Oligonucleotide Synthesis、Mullis et al. 米国特許第4,683,195号、Hames and Higgins, eds. (1984) Nucleic Acid Hybridization; Hames and Higgins, eds. (1984) Transcription And Translation、Freshney (1987) Culture Of Animal Cells (Alan R. Liss, Inc.)、Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press) (1986)、Perbal (1984) A Practical Guide To Molecular Cloning; the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.)、Miller and Calos eds. (1987) Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells, (Cold Spring Harbor Laboratory)、Wu et al., eds., Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155、Mayer and Walker, eds. (1987) Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Academic Press, London)、Weir and Blackwell, eds., (1986) Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I - IV; Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986)、Crooke, Antisense drug Technology: Principles, Strategies and Applications, 2nd Ed. CRC Press (2007)、及び Ausubel et al. (1989) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.) を参照のこと。

#### 【0360】

上記で引用された参考文献のすべて、及び本明細書において引用されるすべての参考文献は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

#### 【0361】

以下の実施例は、例証として提供されるものであり、限定するために提供されるものではない。

#### 【実施例】

#### 【0362】

##### 実施例 1

(a) アルキン修飾されたチロシンの合成：本開示のミセルを BBB の LAT1 輸送体に誘導するためのカチオン性キャリアユニットの組織特異的標的化部分 (TM、図3を参照のこと) の合成のための中間体として、アルキン修飾されたチロシンを作製した。

#### 【0363】

N - (tert - ブトキシカルボニル) - L - チロシンメチルエステル (Boc - Tyr - OMe) (0.5 g、1.69 mmol) 及び  $K_2CO_3$  (1.5 当量、2.54 mmol) のアセトニトリル (4.0 ml) 中混合物を、臭化プロパルギル (1.2 の当量、2.03 mmol) に一滴ずつ添加した。反応混合物を 60 で一晩加熱した。反応後、反応混合物を、水：酢酸エチル (EA) を使用して抽出した。次いで、有機層を、ブライン溶液を使用して洗浄した。粗製物を、フラッシュカラム (ヘキサン中の 10% EA)

により精製した。次に、得られた生成物を、1, 4 - ジオキサン ( 1 . 0 m l ) 及び 6 . 0 M の H C l ( 1 . 0 m l ) 中に溶解した。反応混合物を 1 0 0 で一晩加熱した。次に、ジオキサンを除去し、E A により抽出した。N a O H 水溶液 ( 0 . 5 M ) を p H 値が 7 になるまで混合物に添加した。反応物を蒸発器により濃縮し、0 にて 1 2 , 0 0 0 r p m で遠心分離した。沈殿物を脱イオン水で洗浄し、凍結乾燥した。

【 0 3 6 4 】

( b ) ポリ ( エチレングリコール ) - b - ポリ ( L - リジン ) ( P E G - P L L ) の合成：この合成ステップにより、本開示のカチオン性キャリアユニットの水溶性バイオポリマー ( W P ) 及びカチオン性キャリア ( C C ) を作製した ( 図 3 を参照のこと ) 。

【 0 3 6 5 】

ポリ ( エチレングリコール ) - b - ポリ ( L - リジン ) を、モノメトキシ P E G ( M e O - P E G ) を高分子開始剤として用いて L y s ( T F A ) - N C A の開環重合により合成した。要約すると、M e O - P E G ( 6 0 0 m g 、 0 . 1 2 m m o l ) 及び L y s ( T F A ) - N C A ( 2 5 7 4 m g 、 9 . 6 m m o l ) を、1 M のチオ尿素を含有する D M F 及び D M F ( または N M P ) 中に別々に溶解した。L y s ( T F A ) - N C A 溶液を、マイクロシリンジにより M e O - P E G 溶液に滴下し、反応混合物を 3 7 で 4 日間撹拌した。反応ボトルをアルゴン及び真空によりパージした。すべての反応をアルゴン雰囲気下で行った。反応後、混合物を過剰量のジエチルエーテル中に沈殿させた。沈殿物をメタノール中に再溶解し、冷ジエチルエーテル中に再び沈殿させた。次いで、それを濾過し、減圧下で乾燥後に白色粉末を得た。P E G - P L L ( T F A ) の T F A 基の脱保護のための次のステップに続いた。

【 0 3 6 6 】

M e O - P E G - P L L ( T F A ) ( 5 0 0 m g ) をメタノール ( 6 0 m L ) 中に溶解し、1 N の N a O H ( 6 m L ) を撹拌しながらポリマー溶液に滴下した。混合物を撹拌しながら 3 7 で 1 日維持した。反応混合物を 1 0 m M の H E P E S に対して 4 回及び蒸留水に対して透析した。P E G - P L L の白色粉末を凍結乾燥後に得た。

【 0 3 6 7 】

( b ) アジド - ポリ ( エチレングリコール ) - b - ポリ ( L - リジン ) ( N <sub>3</sub> - P E G - P L L ) の合成：この合成ステップにより、本開示のカチオン性キャリアユニットの水溶性バイオポリマー ( W P ) 及びカチオン性キャリア ( C C ) を作製した ( 図 3 を参照のこと ) 。

【 0 3 6 8 】

アジド - ポリ ( エチレングリコール ) - b - ポリ ( L - リジン ) を、アジド - P E G ( N <sub>3</sub> - P E G ) を用いて L y s ( T F A ) - N C A の開環重合により合成した。要約すると、N <sub>3</sub> - P E G ( 3 0 0 m g 、 0 . 0 6 m m o l ) 及び L y s ( T F A ) - N C A ( 1 2 8 7 m g 、 4 . 8 m m o l ) を、1 M のチオ尿素を含有する D M F 及び D M F ( または N M P ) 中に別々に溶解した。L y s ( T F A ) - N C A 溶液を、マイクロシリンジにより N <sub>3</sub> - P E G 溶液に滴下し、反応混合物を 3 7 で 4 日間撹拌した。反応ボトルをアルゴン及び真空によりパージした。すべての反応をアルゴン雰囲気下で行った。反応後、混合物を過剰量のジエチルエーテル中に沈殿させた。沈殿物をメタノール中に再溶解し、冷ジエチルエーテル中に再び沈殿させた。次いで、それを濾過し、減圧下で乾燥後に白色粉末を得た。P E G - P L L ( T F A ) の T F A 基の脱保護のための次のステップに続いた。

【 0 3 6 9 】

N <sub>3</sub> - P E G - P L L ( 5 0 0 m g ) をメタノール ( 6 0 m L ) 中に溶解し、1 N の N a O H ( 6 m L ) を撹拌しながらポリマー溶液に滴下した。混合物を撹拌しながら 3 7 で 1 日維持した。反応混合物を 1 0 m M の H E P E S に対して 4 回及び蒸留水に対して透析した。N <sub>3</sub> - P E G - P L L の白色粉末を凍結乾燥後に得た。

【 0 3 7 0 】

( c ) ( メトキシまたは ) アジド - ポリ ( エチレングリコール ) - b - ポリ ( L - リジン / ニコチンアミド / メルカプトプロパンアミド ) ( N <sub>3</sub> - P E G - P L L ( N i c / S

10

20

30

40

50

H) ) の合成：このステップでは、組織特異的アジュバント部分（AM、図3を参照のこと）を、本開示のカチオン性キャリアユニットのWP-CC構成要素に結合させた。カチオン性キャリアユニットに使用される組織特異的アジュバント部分（AM）は、ニコチンアミド（ビタミンB3）であった。このステップにより、図3に示されるカチオン性キャリアユニットのWP-CC-AM構成要素が得られる。

#### 【0371】

アジド-ポリ（エチレングリコール）-b-ポリ（L-リジン/ニコチンアミド/メルカプトプロパンアミド）（N<sub>3</sub>-PEG-PLL（Nic/SH））を、N<sub>3</sub>-PEG-PLL及びニコチン酸のEDC/NHSの存在下での化学修飾により合成した。N<sub>3</sub>-PEG-PLL（372mg、25.8μmol）及びニコチン酸（556.7mg、PEG-PLLのNH<sub>2</sub>に対して1.02当量）を、脱イオン水及びメタノール（1：1）の混合物中に別々に溶解した。EDC・HCl（556.7mg、N<sub>3</sub>-PEG-PLLのNH<sub>2</sub>に対して1.5当量）をニコチン酸溶液に添加し、NHS（334.2mg、PEG-PLLのNH<sub>2</sub>に対して1.5当量）を混合物に段階的に添加した。

10

#### 【0372】

反応混合物をN<sub>3</sub>-PEG-PLL溶液に添加した。反応混合物を攪拌しながら37で16時間維持した。16時間後、3,3'-ジチオジプロピオン酸（36.8mg、0.1当量）をメタノール中に溶解し、EDC・HCl（40.3mg、0.15当量）及びNHS（24.2mg、0.15当量）をそれぞれ脱イオン水中に溶解した。次いで、NHS及びEDC・HClを、3,3'-ジチオジプロピオン酸溶液に順次添加した。粗製のN<sub>3</sub>-PEG-PLL（Nic）溶液を添加した後、混合物溶液を37で4時間攪拌した。

20

#### 【0373】

精製のために、混合物をメタノールに対して2時間透析し、DL-ジチオトレイトール（DTT、40.6mg、0.15当量）を添加し、次いで、30分間活性化した。

#### 【0374】

DTTを除去するために、混合物を、メタノール、脱イオン水中50%のメタノール、脱イオン水に対して順次透析した。

#### 【0375】

(d) フェニルアラニン-ポリ（エチレングリコール）-b-ポリ（L-リジン/ニコチンアミド/メルカプトプロパンアミド）（Phe-PEG-PLL（Nic/SH））の合成：このステップでは、組織特異的標的化部分（TM）を、前のステップで合成されたWP-CC-AM構成要素に結合させた。TM構成要素（フェニルアラニン）は、ステップ（a）で生成された中間体のステップ（c）の生成物との反応により生成された。

30

#### 【0376】

脳の血管内皮組織を標的化するために、LAT1を標的とするアミノ酸としてフェニルアラニンを、銅触媒の存在下でのN<sub>3</sub>-PEG-PLL（Nic/SH）とアルキン修飾されたチロシンとの間のクリック反応により導入した。要約すると、N<sub>3</sub>-PEG-PLL（Nic/SH）（130mg、6.5μmol）及びアルキン修飾されたフェニルアラニン（5.7mg、4.0当量）を脱イオン水（または50mMのリン酸ナトリウム緩衝液）中に溶解した。次いで、CuSO<sub>4</sub>・H<sub>2</sub>O（0.4mg、25mol%）及びTris（3-ヒドロキシプロピルトリアゾリルメチル）アミン（THPTA、3.4mg、1.2当量）を脱イオン水中に溶解し、N<sub>3</sub>-PEG-PLL（Nic/SH）溶液を添加した。次いで、アスコルビン酸ナトリウム（3.2mg、2.5当量）を混合物溶液に添加した。反応混合物を、室温にて16時間攪拌しながら維持した。反応後、混合物を透析膜（MWCO=7,000）に移し、脱イオン水に対して1日間透析した。最終生成物を凍結乾燥後に得た。図4は、キャリアユニットの<sup>1</sup>H-NMRによる特徴付けを示す。

40

#### 【0377】

#### 実施例2

ポリイオンコンプレックス（PIC）ミセルの調製

50

本開示のカチオン性キャリアユニットを実施例 1 に記載したように作製したら、ミセルを作製した。本発明の実施例に記載されるミセルは、アンチセンスオリゴヌクレオチドペイロードと組み合わせたカチオン性キャリアユニットを含んだ。

【0378】

ナノサイズPICミセルを、MeO - またはPhe - PEG - PLL (Nic) 及びmiRNAを混合することにより調製した。PEG - PLL (Nic) を、0.5 mg / mL の濃度でHEPES緩衝液(10 mM)中に溶解した。次いで、RNアーゼ非含有水中のmiRNA溶液(22.5 μM)を、2:1 (v / v) のmiRNA対ポリマー比率でポリマー溶液と混合した。

【0379】

ポリマー対アンチmiRNAの混合比は、ミセル形成条件、すなわち、ポリマー(本開示のキャリア)中のアミン対アンチmiRNA(ペイロード)中のリン酸の比率を最適化することにより決定された。ポリマー(キャリア)及びアンチmiRNA(ペイロード)の混合物を、マルチボルテックスにより3000 rpmで90秒間強く混合し、室温にて30分間維持して、ミセルを安定化した。

【0380】

粒子サイズ分布及び散乱光強度(SLI)をZeta - sizerにより634 nmの波長で測定した。図9は、PBS中のmiRNAがロードされたポリイオンコンプレックスミセルの粒子サイズ分布を示す。アンチmiRNAがロードされたミセルは、低いPDIの分布を有する60 nm未満の粒子サイズを示し、これらは、複合体が均一な粒子であることを示す。図9に示すように、分布のピークは32 nmであった。

【0381】

ミセル(10 μMのアンチmiRNA濃度)を使用する前に4℃で保存した。MeO - またはPhe - ミセルを同じ方法を使用して調製し、ミセル調製時に両方のポリマーを混合することにより異なる量のPheを含有するミセル(25% ~ 75%)も調製した。

【0382】

### 実施例 3

LAT1 及びフェニルアラニンを使用した脳の標的化

本開示のミセルをBBBを通して入れるために、LAT1を標的分子として選択した。図10に示すように、ヒトにおいてLAT1は、脳で優先的に発現された。図11は、マウスでもLAT1が脳組織で優先的に発現されたことを示す。

【0383】

LAT1タンパク質を使用した血液脳関門の通過の実現性を調査するために、Cy5.5色素またはCy5.5標識されたフェニルアラニンを、マウス(n=3)に脳室内投与し、注射の1時間後に脳可溶化物の蛍光強度を解析した。測定のために、Cy5.5を、アルキン修飾されたチロシン及びN<sub>3</sub>-Cy5.5を用いたクリック反応により標識した。

【0384】

Cy5.5標識されたフェニルアラニンまたはN<sub>3</sub>-Cy5.5(20 μgのCy5.5濃度)を脳室内注射により別々に投与し、対照として同じ体積のPBSも注射した。注射の1時間後、すべてのマウス(n=3)を殺し、灌流のために残存する血液を5 mLのPBSで洗浄した。マウスの脳を摘出し、プローブ型超音波処理器を使用して溶解緩衝液とともに均質化した。可溶化物試料を96ウェルプレートに移し、蛍光強度をマルチプレートリーダーによりEx / Em = 650 / 690で測定した。

【0385】

脳に標的化された蛍光標識(Cy5.5)キャリアユニットは、実際に、脳実質で発現されたLAT1に結合することでき、標的化されていないCy5.5分子より高い蓄積レベルを示した。図12を参照のこと。

【0386】

LAT1に標的化された、アンチmiRNAがロードされたポリイオンコンプレックスミセル(すなわち、本開示のミセル)は、BBBを通過することができ、標的化されてい

10

20

30

40

50

ないミセルと比較して脳に顕著に蓄積された。

【0387】

#### 実施例4

本開示のミセルのインビボでの安定性

本明細書において開示されるミセルのインビボでの安定性を、ミセルの全身注射後の循環血液挙動を測定することにより評価した。Cy5.5標識されたmiRNAをロードしたミセル及び裸のCy5.5標識されたmiRNA(20μgのmiRNA濃度)をマウスに全身注射し、所望の時点で120μLの血液を尾静脈から採取した。血液試料を2,500rpmで遠心分離し、上澄みの血漿試料を96ウェルプレートに移した。血漿の残存蛍光強度を、マルチプレートリーダーによりEx/Em=650/690で解析した。

10

【0388】

本開示のミセル内への抗マイクロRNAペイロードのカプセル化は、安定性の増加をもたらした。図8を参照のこと。対照条件下では、アンチマイクロRNA(antimiR)は、5分未満の血漿半減期を有した。しかしながら、本開示のミセルへのアンチmiRNAの取り込み後は、血漿半減期が80~120分に増加した。ミセルの安定性は、異なるアンチmiRNAのロードによる影響を受けなかった。キャリアユニットがantimiRを含有しなかったミセルは、25%または50%のantimiRと複合体を形成したキャリアユニットを有するもののよう安定していた。

【0389】

#### 実施例5

20

アルツハイマー病モデルでの実験

(i)材料及び方法

(a)マウス:5XFAD APPトランスジェニックマウス(ストック番号:34840-JAX)をJackson Laboratoryから購入した。TG及び同年齢の野生型(WT)同腹仔を試験で使用した。すべての動物を、12/12時間の明暗周期下にて個別にケージ内で、温度及び湿度ならびに食餌及び水を管理して飼育した。APP/PS1、Tg6799、またはTg-5XFADとしても公知の5XFADマウスは、アルツハイマー病の動物モデル系である。5XFADマウスは、以下の合計5つのADに関連する変異を有するヒトAPP及びPSEN1導入遺伝子を発現する:APPのSwedish(K670N/M671L)、Florida(I716V)、及びLondon(V717I)変異、ならびにPSEN1のM146L及びL286V変異。元々、Tg6799、Tg7031、及びTg7092という3つの系統が作製された。最も高レベルの変異型APPを発現するTg6799系統は、3つのうちで最も研究されている。これらの広く使用されているマウスは、多数のADに関連する表現型を再現し、比較的に早期のかつ活動的な症状を有する。

30

【0390】

グリオシスに伴うアミロイドブラークが、生後2ヵ月の若齢マウスにおいて観察される。アミロイド病理は、雄より雌において重度である。神経細胞の喪失が複数の脳領域で発生し、最も顕著なアミロイドシスを有する領域において約6ヵ月で始まる。マウスは、様々な認知障害及び運動障害を示す。

40

【0391】

3つのヒト導入遺伝子であるAPP(Swe)、PS1(M146V)、及びタウ(P301L)を保有する3xTg-ADマウスをJackson Laboratoryから購入した。3xTg-ADマウスは、C57BL6/129SvJハイブリッドバックグラウンドで作製された。マウスをケージ当たりの4~5匹で飼育し、12時間の明暗周期下で維持し、マウスは食餌及び水を自由に摂取した。過剰発現された導入遺伝子の翻訳は、中枢神経系、特に、海馬及び大脳皮質を含むアルツハイマー病に関連する領域に限定されているようである。このマウス系統の最初の特徴付けは、アミロイドペプチドの沈着の漸進的増加を示し、3~4ヵ月という早い時期に一部の脳領域で細胞内免疫反応性が検出された。シナプス伝達及び長期増強が6ヵ月齢のマウスにおいて明らかに障害される

50

。12～15ヵ月の間に、高次構造が変化し、高リン酸化されたタウの凝集体が海馬で検出される。この変異体マウスは、アルツハイマー病患者において観察されるものと同様の特徴である、シナプス機能障害に関連するブラーク及び濃縮体病理を示す。

#### 【0392】

(b) ASO-MDS処置(静脈内注射)：静脈内(IV)注射のために、本開示のミセル(ASO-MDS)内のmiR-485-3p antagomiR(antimiR)または陰性対照(miR及びミセルのみ)を調製した。8ヵ月齢の5XFADマウスのすべての処置を、7、14、21、及び28日目の1.5mg/kgのASO-MDSの静脈内注射により達成した。図17を参照のこと。

#### 【0393】

(c) 免疫組織染色：免疫組織染色のために、脳を摘出し、後固定し、パラフィン中に包埋した。ミクロトームを使用して梗塞部を通る冠状切片(厚さ10µm)を作製し、スライドガラスにマウントした。パラフィンを除去し、切片をPBS-Tで洗浄し、10%のウシ血清アルブミンで2時間ブロッキングした。その後、以下の一次抗体を加えた：ウサギ抗-アミロイド(1~42)(Cell Signaling Technology、Cat#14974)、マウス抗GFAP(Merck、Cat#MAB360)、ウサギ抗IL-1(Abcam、Cat#9722)、マウス抗TNF-(Santa Cruz、Cat#sc-52746)、抗アクチン(Santa Cruz、Cat#sc-47778)。行動試験後、海馬領域及び皮質領域をH/Iマウスから解剖し、脳組織を、プロテアーゼ阻害剤を含有する氷冷したRIPA緩衝液中で均質化した。ホモジネートを4にて12,000rpmで30分間遠心分離し、上澄みを収集した。結果を、増強化学発光系を使用して可視化し、濃度測定解析(Image Jソフトウェア、NIH)により定量化した。すべての実験を独立して少なくとも3回実行した。

#### 【0394】

(d) 行動試験(Y迷路及び受動的回避)：Y迷路は、互いに120°の3つの黒色の不透明なプラスチックアーム(30cm×8cm×15cm)からなった。5XFADマウスを中心に配置し、3つすべてのアームを探索させた。アーム進入回数及び試行回数(交替行動数の標準は、中心から10cmの3回の異なるアームへの侵入である)を記録して、交替率を計算した。進入は3つすべての外肢がY迷路のアームに入っていることと定義された。交替行動は、アーム侵入回数-2で除算され、100で乗算された試行回数と定義された。受動的回避試験用チャンバーは、白(明)区画及び黒(暗)区画に分けられていた(41cm×21cm×30cm)。明区画は60Wの電球を備えていた。(暗室の)床は、5mm間隔で配置された多数の(2mm)ステンレス鋼ロッドを備えていた。試験を3日間行った。

#### 【0395】

1日目に、マウスを明区画で5分間慣れさせた。2日目は、2ステップからなる訓練フェーズであった。第1のステップでは、各マウスを明区画に配置し、暗区画に2回移動させた。第1のステップの1時間後、各マウスを明区画に配置した。2つの区画を隔てる扉を30秒後に開いた。マウスが暗区画に入ったら、扉を閉め、足への電気ショック(0.3mA/10g)を、グリッド床を通して3秒間与えた。5分間超えてマウスが暗区画に入らない場合、学習したとみなし、訓練を最高5回行った。訓練試験の24時間後、マウスを試験のために明室に配置した。潜時は、2つの区画を隔てる扉が開いた後にマウスが暗室に侵入するのにかかった時間と定義された。マウスが暗区画に進入し、明区画に出るのにかかった時間は、TDC(暗区画での所要時間)と定義された。

#### 【0396】

(e) データ解析：すべてのデータを平均±標準偏差として表現した。事後比較(Student-Newman-Keuls検定)をPrism 8を使用して実行した。行動試験をノンパラメトリック統計処理により評価した。3群間(対照(miRのみ及びミセルのみ)対HI-485-3p)の比較をマン・ホイットニーU検定により分析した。

#### 【0397】

10

20

30

40

50

## ( i i ) 結果

miRNA-485-3pは、アルツハイマー病を有する患者において増加し得、例えば、炎症、ミトコンドリア機能の変化、及びアポトーシスを引き起こす。図23を参照のこと。したがって、miRNA-485-3pを標的とするantimiRがロードされた本開示のミセルを、アルツハイマー病のマウスモデルに投与した。antimiR-485-3pを含むこれらのミセルは、図において、及び本出願の全体を通して「ASO-MDS」（アンチセンスオリゴヌクレオチド-ミセル送達システム）または「ミセル+antimiR-485-3p」と称される。

## 【0398】

ASO-MDSミセルが8ヵ月齢の5XFADトランスジェニックマウスに4週間の間、毎週注入された後、注射後に5XFADマウスの皮質及び海馬において神経炎症が低減されたことが観察された。図19A、19B、20A、及び20Bを参照のこと。さらに、ASO-MDSミセルの投与は、アミロイドブラーク負荷の減少を引き起こした。図21A及び21B。ASO-MDSによる処置は、神経形成の回復ももたらした。図22A及び22Bを参照のこと。炎症、アミロイドブラーク負荷、及び神経形成における改善に加えて、ASO-MDSによる処置は、Y迷路及び受動的回避試験により示されるように認知機能も改善した。図23A及び23Bを参照のこと。

## 【0399】

ASO-MDSは、有意に高い交替%、すなわち、約80%の交替を示したが、陰性対照はY迷路試験において約50%を示した。図23Aを参照のこと。ASO-MDSは、陰性対照と比較して有意に少ない暗区画所要時間（秒）も示した。

## 【0400】

## 実施例6

## 膵臓癌におけるK-Rasサイレンシング

効果的に抗がん治療を送達するために本開示のミセルを使用することができるかどうか決定するために（図25を参照のこと）、（i）ペプチドリガンドを用いた従来型のcRGD腫瘍標的化または（ii）代替的標的化戦略（X標的（X-target））を使用して、本開示のミセルをヒト膵臓細胞に標的化した。ミセルのペイロードは、K-Rasを標的とするアンチセンスオリゴヌクレオチドであった。

## 【0401】

マウスへのPanc1細胞の注射の10日後に、膵臓腫瘍マウス（n=3）が確立された。Panc1は、膵臓癌モデルとして使用されるヒト細胞株である。この細胞株は、腺管由来の膵臓腺癌（類上皮癌）から確立された。細胞はB型表現型のG6PDを有する。Lieber M, et al. "Establishment of a continuous tumor-cell line (panc-1) from a human carcinoma of the exocrine pancreas." Int. J. Cancer 15: 741-747, 1975。2種類の上記のミセルを、1日1回で3回静脈内注射した。図26Aを参照のこと。腫瘍を摘出した後、遺伝子サイレンシング効果をRT-PCRにより評価した。

## 【0402】

従来のcRGD腫瘍標的化ペプチドリガンドを有するミセルの投与は、約20%のK-Rasのノックダウンをもたらした。対照的に、代替的X標的システムを使用したミセルの投与は、約50%の遺伝子ノックダウン効果をもたらした。図26Bを参照のこと。

## 【0403】

## 実施例7

## ヒト脳細胞でのASO-MDSの細胞内取り込み挙動

ヒト初代ミクログリア、アストロサイト、肝実質細胞、及びSH-5Y細胞を、6ウェルプレートに一晩播種した。細胞を100nMのCy5.5標識されたASO-MDSで処理した。細胞におけるASO-MDS取り込みを、合計48時間の間、1時間毎に測定した。Incucyte S3機器を使用してウェルのパーセント培養密度を追跡するこ

10

20

30

40

50



とにより取り込み能力を計算した。

【0404】

細胞種に従った取り込み能力を調査するために、Cy5.5標識されたASO-MDSを調製し、ASO-MDS貯蔵液をPBSで希釈した。ASO-MDSの取り込みは、ヒト初代ミクログリア、アストロサイト、及びSH-5Y細胞において増加したが、ヒト初代肝実質細胞では増加しなかった(図13)。これは、ASO-MDSが脳の細胞に特異的に送達され得ることを示した。

【0405】

実施例8

アンチマイクロRNAをロードしたミセルのインビトロでのLAT1標的指向性

10

ASO-MDSミセルによるLAT1の標的化を評価するために、GL-26細胞を使用した。GL-26細胞を、10%のFBS、1%のP/Sを含有するDMEMを有する96ウェルプレートに播種した。以下の4種類の試料を使用した：(i)LAT1に標的化されたASO-MDSとインキュベートされた細胞(「標的化ミセル」)、(ii)LAT1に標的化されていないASO-MDSとインキュベートされた細胞(「非標的化ミセル」)、(iii)(i)と同様であるが、細胞におけるLAT1がフェニルアラニンとのプレインキュベーションにより阻害された試料(「標的化ミセル/阻害剤」)、及び(iv)(ii)と同様であるが、細胞におけるLAT1活性がフェニルアラニンとのプレインキュベーションにより阻害された試料(「非標的化ミセル/阻害剤」)。

【0406】

20

24時間の37℃での1日のインキュベーション後、培地を新鮮なものに交換し、1mMの遊離フェニルアラニンを試料(iii)及び(iv)に添加して、LAT1を阻害した。次いで、細胞をさらに1時間インキュベートし、Cy5.5標識されたアンチマイクロRNAがロードされたミセル(ASO-MDS)を、300nMのRNA濃度で添加した。培地を除去し、PBSで2回洗浄し、100μLのPBSを各ウェルに添加した。細胞の残存蛍光強度を、マイクロプレートリーダーを使用して励起波長：650/発光波長：690で測定した。

【0407】

標的化ミセルで処理された細胞の残存蛍光強度は、非標的化ミセルで処理された細胞の蛍光より約3倍高かった。このことは、ASO-MDSミセルがLAT1に標的化された場合に、Cy5.5標識されたアンチマイクロRNAの取り込みが増加したことを示す。

30

【0408】

標的化または非標的化ASO-MDSのいずれかで処理された細胞が、LAT1阻害剤とプレインキュベートされた場合、Cy5.5標識されたアンチマイクロRNAの細胞内取り込みに有意差はなかった(図14)。これは、LAT1がフェニルアラニンにより阻害される場合、ASO-MDSミセルのLAT1への標的化が、細胞によるCy5.5標識されたアンチマイクロRNAの取り込みを増加させるのに十分でなかったことを示した。換言すれば、ミセルがLAT1に標的化されている、本開示のミセルにカプセル化されたペイロードのLAT1により媒介される取り込みは、LAT1の機能状態に依存する。

【0409】

40

実施例9

アンチマイクロRNAがロードされたミセルの体内分布

アンチマイクロRNAの体内分布を、IVISライブ動物イメージングステーションを使用して測定した。裸のアンチマイクロRNA及びアンチマイクロRNAがロードされたミセル(ASO-MDS)について、アンチマイクロRNA分布の経時的差異を比較するために、両方の試料(25μgのRNA濃度)を尾静脈注射によりマウスに投与した。マウスの蛍光画像を所望の時点でIVISライブ動物イメージングステーションを使用して取得し、16時間観察した。

【0410】

裸のアンチマイクロRNAで処理されたマウスの残存蛍光強度は、腎臓への急速な局在

50

化を示し、シグナルは4時間でほとんど消失した。アンチマイクロRNAがロードされたミセル(ASO-MDS)では、蛍光強度は、主に脳、肝臓、及び腎臓に局在した。蛍光は、6時間まで腎臓で段階的に増加し、時間の経過とともに減少した。これらの結果は、裸のアンチマイクロRNAが、小さいサイズの分子であることに起因して尿により素早く(4時間以内に)排出されたことを示した。一方で、アンチマイクロRNAがロードされたミセル(ASO-MDS)は、長時間の循環を示し、16時間まで脳部位に蓄積し、残りのアンチマイクロRNAは尿により排出された。図15を参照のこと。

【0411】

#### 実施例10

インビトロファゴサイトーシスアッセイ(ELISA及び免疫細胞染色)

10

初代混合グリア細胞( $2 \times 10^5$ 個細胞)またはヒト初代ミクログリア細胞( $2 \times 10^5$ 個細胞)を、6ウェルプレートで一晩培養した。細胞を $1 \mu\text{M}$ の最終濃度のfAとともにASO-MDSで4時間処理した。上澄み中のヒトA(1~42)のレベルを、ヒトA42 ELISAキット(Invitrogen、Cat#KHB3441)を製造者の使用説明書に従って用いて測定した。

【0412】

加えて、ヒト初代ミクログリア細胞のファゴサイトーシスを蛍光顕微鏡により確認した。カバーガラスを、24ウェルプレートのウェル中に置いたカバーガラス当たり $8 \times 10^4$ 個のヒト初代ミクログリア細胞とともに一晩培養した。ヒト初代ミクログリア細胞をASO-MDSで処理し、 $1 \mu\text{M}$ の最終濃度の非標識のfAとともに4時間インキュベートした。4時間後、細胞を冷PBSで洗浄した。次いで、A取り込みの測定のために、初代グリア細胞を100%メタノールで-20℃にて1時間固定し、PBS-Tで洗浄し、マウス抗アミロイド1~16またはウサギ抗Iba-1抗体とともに4℃でインキュベートした。

20

【0413】

グリア細胞におけるASO-MDSの食作用への効果を評価するために、Aモノマー( $100 \mu\text{M}$ )を37℃で24時間インキュベートし、次いで、ペプチド貯蔵液を細胞培養培地で希釈することによりA凝集体を調製した。初代混合グリア細胞をASO-MDSで処理し、 $1 \mu\text{M}$ の線維性A(fA)とともに4時間同時処理した。馴化培地中のAレベルは、対照により遺伝子導入された細胞と比較してASO-MDSにより遺伝子導入された細胞において徐々に低減された。図18Aを参照のこと。

30

【0414】

上記の結果と一致して、ASO-MDSは、ヒト初代ミクログリア細胞によるA取り込み能力を用量依存的に増加させた。図18Bを参照のこと。

【0415】

これらの結果は、ASO-MDSがグリア細胞におけるAファゴサイトーシスを増強することを示す。さらにグリア細胞の役割を調査するために、本発明者らは、Iba1及び6E10抗体を使用してイムノサイトメトリー解析を実行して、ヒトミクログリア細胞及びAプラークの局在を同時に特定した。イムノサイトメトリーは、グリア細胞におけるAの発現が、ASO-MDSで処理されたヒト初代ミクログリア細胞において大幅に上昇したことを示した。図18Cを参照のこと。

40

【0416】

#### 実施例11

アンチマイクロRNAがロードされたミセルの体内分布

アンチマイクロRNAの体内分布を、IVISライブ動物イメージングステーションを使用して測定した。裸のRNAとRNAがロードされたミセル(ASO-MDS)との間で経時的なアンチマイクロRNA分布を比較するために、両方の試料( $10 \mu\text{g}$ のRNA濃度)を筋肉内注射によりマウスに投与した。マウスの蛍光画像を所望の時点でIVISライブ動物イメージングステーションを使用して取得し、120時間まで観察した。

【0417】

50

裸のアンチマイクロRNAの残存蛍光強度は、腎臓への急速な局在化を示し、シグナルは6時間以内にほとんど消失した。アンチマイクロRNAがロードされたミセル(ASO-MDS)の場合には、蛍光強度は主に骨格筋部位に局在した。これらの結果は、小さいサイズの分子であることに起因して尿による裸のRNAの排出が6時間以内に急速に起こることを示した。一方では、アンチマイクロRNAがロードされたミセルは、注入部位での持続的な蛍光強度及びリンパ節での部分的に増加した蛍光挙動を示し、アンチマイクロRNAがロードされたミセルからのアンチマイクロRNAの持続放出を示した。図27を参照のこと

#### 【0418】

発明を実施するための形態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を意図し、発明の概要及び要約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を意図しないことを理解されたい。発明の概要及び要約セクションは、本発明者(複数可)により意図される1つ以上であるが、すべてではない本開示の例示的態様を示し得、したがって、本開示及び添付の特許請求の範囲を如何様にも限定することを意図しない。

#### 【0419】

本開示は、特定の機能及びそれらの関係の実施を示す機能的構成単位を用いて上記された。これらの機能的構成単位の境界は、説明の便宜上、本明細書において任意に定められたものである。特定の機能及びそれらの関係が適切に実行される限り、別の境界を定めることが可能である。

#### 【0420】

特定の実施形態の以上の説明は、本発明の全般的性質を完全に明らかにしているため、当該分野の技術の範囲内の知識を適用することにより、他の者が、本開示の基本概念を逸脱することなく、過度の実験の必要なく容易に、かかる特定の実施形態を様々な用途に合わせて改変し、及び/または適合させることができるだろう。したがって、そのような適合及び改変は、本明細書に提示された教示及び手引きに基づき、開示された実施形態の等価物の意味及び範囲内であることが意図される。本明細書中の表現または用語は、限定ではなく説明を目的とするものであり、本明細書の用語または表現は、当業者により上記教示及び手引きに照らして解釈されるべきことを理解すべきである。

#### 【0421】

本開示の広さ及び範囲は、上記の例示的实施形態のいずれによっても限定されるべきではなく、以下の特許請求の範囲及びその等価物に従ってのみ定義されるべきである。

本発明は、例えば、以下の項目を提供する。

(項目1)

次式を含むカチオン性キャリアユニットであって、

[WP] - L1 - [CC] - L2 - [AM] (図式I)

または

[WP] - L1 - [AM] - L2 - [CC] (図式II)

式中、

WPは、水溶性バイオポリマー部分であり、

CCは、正に荷電したキャリア部分であり、

AMは、アジュバント部分であり、

L1及びL2は、独立して、任意選択のリンカーであり、

約1:1のイオン比率で核酸と混合される場合、前記カチオン性キャリアユニットがミセルを形成する、

前記カチオン性キャリアユニット。

(項目2)

前記水溶性ポリマーが、ポリ(アルキレングリコール)、ポリ(オキシエチル化ポリオール)、ポリ(オレフィンアルコール)、ポリ(ビニルピロリドン)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリルアミド)、ポリ(ヒドロキシアルキルメタクリレート)、ポリ(サッ

10

20

30

40

50

カライド)、ポリ( - ヒドロキシ酸)、ポリ(ビニルアルコール)、ポリグリセロール、ポリホスファゼン、ポリオキサゾリン(「POZ」)、ポリ(N-アクリロイルモルホリン)、またはそれらの任意の組み合わせを含む、項目1に記載のカチオン性キャリアユニット。

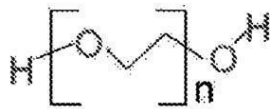
(項目3)

前記水溶性ポリマーが、ポリエチレングリコール(「PEG」)、ポリグリセロール、またはポリ(プロピレングリコール)(「PPG」)を含む、項目1に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目4)

前記水溶性ポリマーが、次式を含み、

【化32】



式中、nは、1～1000である、項目1～3のいずれか1項に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目5)

前記nが、少なくとも約110、少なくとも約111、少なくとも約112、少なくとも約113、少なくとも約114、少なくとも約115、少なくとも約116、少なくとも約117、少なくとも約118、少なくとも約119、少なくとも約120、少なくとも約121、少なくとも約122、少なくとも約123、少なくとも約124、少なくとも約125、少なくとも約126、少なくとも約127、少なくとも約128、少なくとも約129、少なくとも約130、少なくとも約131、少なくとも約132、少なくとも約133、少なくとも約134、少なくとも約135、少なくとも約136、少なくとも約137、少なくとも約138、少なくとも約139、少なくとも約140、または少なくとも約141である、項目4に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目6)

前記nが、約80～約90、約90～約100、約100～約110、約110～約120、約120～約130、約140～約150、または約150～約160である、項目4に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目7)

前記水溶性ポリマーが、直鎖状、分枝鎖状、または樹枝状である、項目1～6のいずれか1項に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目8)

前記カチオン性キャリア部分が、1つ以上の塩基性アミノ酸を含む、項目1～7のいずれか1項に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目9)

前記カチオン性キャリア部分が、少なくとも3つ、少なくとも4つ、少なくとも5つ、少なくとも6つ、少なくとも7つ、少なくとも8つ、少なくとも9つ、少なくとも10、少なくとも11、少なくとも12、少なくとも13、少なくとも14、少なくとも15、少なくとも16、少なくとも17、少なくとも18、少なくとも19、少なくとも20、少なくとも21、少なくとも22、少なくとも23、少なくとも24、少なくとも25、少なくとも26、少なくとも27、少なくとも28、少なくとも29、少なくとも30、少なくとも31、少なくとも32、少なくとも33、少なくとも34、少なくとも35、少なくとも36、少なくとも37、少なくとも38、少なくとも39、少なくとも40、

10

20

30

40

50

少なくとも４１、少なくとも４２、少なくとも４３、少なくとも４４、少なくとも４５、  
少なくとも４６、少なくとも４７、少なくとも４８、少なくとも４９、少なくとも５０、  
少なくとも５１、少なくとも５２、少なくとも５３、少なくとも５４、少なくとも５５、  
少なくとも５６、少なくとも５７、少なくとも５８、少なくとも５９、少なくとも６０、  
少なくとも６１、少なくとも６２、少なくとも６３、少なくとも６４、少なくとも６５、  
少なくとも６６、少なくとも６７、少なくとも６８、少なくとも６９、少なくとも７０、  
少なくとも７１、少なくとも７２、少なくとも７３、少なくとも７４、少なくとも７５、  
少なくとも７６、少なくとも７７、少なくとも７８、少なくとも７９、または少なくとも  
８０の塩基性アミノ酸を含む、項目８に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目１０)

前記カチオン性キャリア部分が、少なくとも６０、少なくとも約７０、少なくとも約８  
０、少なくとも約９０、少なくとも約１００、少なくとも約１１０、少なくとも約１２０  
、少なくとも約１３０、少なくとも約１４０、または少なくとも約１５０の塩基性アミノ  
酸を含む、項目８に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目１１)

前記カチオン性キャリア部分が、約３０～約５０の塩基性アミノ酸を含む、項目９に記  
載のカチオン性キャリアユニット。

(項目１２)

前記カチオン性キャリア部分が、約６０～約１００、例えば、約７０～約９０、例えば  
、約８０の塩基性アミノ酸を含む、項目１０に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目１３)

前記塩基性アミノ酸が、アルギニン、リジン、ヒスチジン、またはそれらの任意の組み  
合わせを含む、項目９～１２のいずれか１項に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目１４)

前記カチオン性キャリア部分が、約４０のリジンモノマーを含む、項目１～１３のいず  
れか１項に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目１５)

前記カチオン性キャリア部分が、約７０、約７５、約８０、または約８５のリジンモノ  
マーを含む、項目１～１３のいずれか１項に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目１６)

前記アジュバント部分が、免疫反応、炎症反応、及び／または組織微小環境を調節する  
ことができる、項目１～１５のいずれか１項に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目１７)

前記アジュバント部分が、免疫反応を調節することができる、項目１６に記載のカチオ  
ン性キャリアユニット。

(項目１８)

前記アジュバント部分が、腫瘍を有する対象における腫瘍微小環境を調節することがで  
きる、項目１６に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目１９)

前記アジュバント部分が、前記腫瘍微小環境における低酸素状態を阻害または低減する  
ことができる、項目１６に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目２０)

前記アジュバント部分が、イミダゾール誘導体、アミノ酸、ビタミン、またはそれらの  
任意の組み合わせを含む、項目１７～１８のいずれか１項に記載のカチオン性キャリアユ  
ニット。

(項目２１)

前記アジュバント部分が、次式を含み、

10

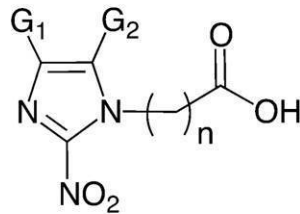
20

30

40

50

## 【化 3 3】



10

式中、G 1 及び G 2 の各々が、H、芳香環、もしくは 1 ～ 1 0 アルキルであるか、または G 1 及び G 2 がともに芳香環を形成し、n が 1 ～ 1 0 である、項目 2 0 に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目 2 2)

前記アジュバント部分がニトロイミダゾールを含む、項目 2 1 に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目 2 3)

前記アジュバント部分が、メトロニダゾール、チニダゾール、ニモラゾール、ジメトリダゾール、プレトマニド、オルニダゾール、メガゾール、アザニダゾール、ベンズニダゾール、またはそれらの任意の組み合わせを含む、項目 2 2 に記載のカチオン性キャリアユニット。

20

(項目 2 4)

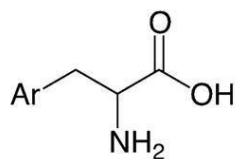
前記アジュバント部分がアミノ酸を含む、項目 1 6 に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目 2 5)

前記アジュバント部分が、次式を含み、

## 【化 3 4】

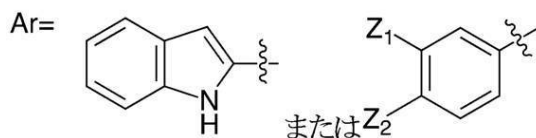
30



式中、A r が、

## 【化 3 5】

40



であり、

Z 1 及び Z 2 の各々が、H または OH である、項目 1 6 に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目 2 6)

50

前記アジュバント部分が、炎症反応を阻害または低減することができる、項目 16 に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目 27)

前記アジュバント部分がビタミンである、項目 26 に記載のカチオン性キャリアユニット。

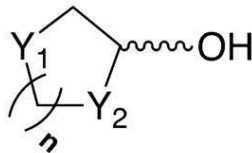
(項目 28)

前記ビタミンが、環式環または環式ヘテロ原子環及びカルボキシル基またはヒドロキシル基を含む、項目 27 に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目 29)

前記ビタミンが、次式を含み、

【化 36】



式中、Y1 及び Y2 の各々が、C、N、O、または S であり、n が 1 または 2 である、項目 28 に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目 30)

前記ビタミンが、ビタミン A、ビタミン B1、ビタミン B2、ビタミン B3、ビタミン B6、ビタミン B7、ビタミン B9、ビタミン B12、ビタミン C、ビタミン D2、ビタミン D3、ビタミン E、ビタミン M、ビタミン H、及びそれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、項目 27 ~ 29 のいずれか 1 項に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目 31)

前記ビタミンがビタミン B3 である、項目 30 に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目 32)

前記アジュバント部分が、少なくとも約 2 つ、少なくとも約 3 つ、少なくとも約 4 つ、少なくとも約 5 つ、少なくとも約 6 つ、少なくとも約 7 つ、少なくとも約 8 つ、少なくとも約 9 つ、少なくとも約 10、少なくとも約 11、少なくとも約 12、少なくとも約 13、少なくとも約 14、少なくとも約 15、少なくとも約 16、少なくとも約 17、少なくとも約 18、少なくとも約 19、または少なくとも約 20 のビタミン B3 を含む、項目 1 ~ 31 のいずれか 1 項に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目 33)

前記アジュバント部分が、少なくとも約 20、少なくとも約 21、少なくとも約 22、少なくとも約 23、少なくとも約 24、少なくとも約 25、少なくとも約 26、少なくとも約 27、少なくとも約 28、少なくとも約 29、少なくとも約 30、少なくとも約 31、少なくとも約 32、少なくとも約 33、少なくとも約 34、少なくとも約 35、少なくとも約 36、少なくとも約 37、少なくとも約 38、少なくとも約 39、または少なくとも約 40 のビタミン B3 を含む、項目 1 ~ 31 のいずれか 1 項に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目 34)

前記アジュバント部分が、約 10 のビタミン B3、約 20 のビタミン B3、約 30 のビタミン B3、約 40 のビタミン B3、または約 50 のビタミン B3 を含む、項目 32 または 33 に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目 35)

約 120 ~ 約 130 の PEG ユニットを有する水溶性バイオポリマー部分、約 30 ~ 約

10

20

30

40

50

40のリジンを有するポリリジンを含むカチオン性キャリア部分、及び約5～約10のビタミンB3を有するアジュバント部分を含む、項目1～34のいずれか1項に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目36)

約120～約130のPEGユニットを有する水溶性バイオポリマー部分、約70～約90のリジン、例えば、約80のリジンを有するポリリジンを含むカチオン性キャリア部分、及び約20～約40のビタミンB3、例えば、約30のビタミンB3を有するアジュバント部分を含む、項目1～34のいずれか1項に記載のカチオン性キャリアユニット。

(項目37)

イオン結合により前記カチオン性キャリアユニットと相互作用するアニオン性ペイロードをさらに含む、項目1～36のいずれか1項に記載のカチオン性キャリアユニット。

10

(項目38)

項目1～37のいずれか1項に記載のカチオン性キャリアユニット及びアニオン性ペイロードを含むミセルであって、前記カチオン性キャリア複合体の前記カチオン性キャリア部分及び前記アニオン性ペイロードが互いに会合している、前記ミセル。

(項目39)

前記会合が共有結合である、項目38に記載のミセル。

(項目40)

前記会合が非共有結合である、項目38に記載のミセル。

(項目41)

20

前記会合がイオン結合である、項目40に記載のミセル。

(項目42)

項目1～36のいずれか1項に記載のカチオン性キャリアユニット、前記カチオン性キャリアユニットの前記カチオン性キャリア部分の正電荷が、溶液中でアニオン性ペイロードと混合される場合に、ミセルを形成するのに十分であり、前記溶液中の前記カチオン性キャリアユニットの前記カチオン性キャリア部分の正電荷及び前記アニオン性ペイロードの負電荷の全体的イオン比率が約1:1である、項目38～41のいずれか1項に記載のミセル。

(項目43)

項目1～36のいずれか1項に記載のカチオン性キャリアユニット、前記カチオン性キャリアユニットの前記カチオン性キャリア部分の正電荷が、溶液中でアニオン性ペイロードと混合される場合に、ミセルを形成するのに十分であり、前記溶液中の前記カチオン性キャリアユニットの前記カチオン性キャリア部分の正電荷及び前記アニオン性ペイロードの負電荷の全体的イオン比率が約1:3～約3:1である、項目38～41のいずれか1項に記載のミセル。

30

(項目44)

前記カチオン性キャリアユニットが、DNアーゼ及び/またはRNアーゼによる分解から前記アニオン性ペイロードを保護することができる、項目38～43のいずれか1項に記載のミセル。

(項目45)

40

前記アニオン性ペイロードが、共有結合により前記カチオン性キャリアユニットにコンジュゲートされていない、及び/または前記アニオン性ペイロードが、イオン相互作用によってのみ前記カチオン性キャリアユニットの前記カチオン性キャリア部分と相互作用する、項目38～44のいずれか1項に記載のミセル。

(項目46)

前記アニオン性ペイロードの半減期が、ミセルに取り込まれていない遊離アニオン性ペイロードの半減期と比較して延長される、項目38～45のいずれか1項に記載のミセル。

(項目47)

前記ミセルにおける前記カチオン性キャリアユニットの前記カチオン性キャリア部分の正電荷及び前記アニオン性ペイロードの負電荷が、約2:1、約1.9:1、約1.8:

50



1、約1.7:1、約1.6:1、約1.5:1、約1.4:1、約1.3:1、約1.2:1、約1:1、約1:1.1、約1:1.2、約1:1.3、約1:1.4、約1:1.5、約1:1.6、約1:1.7、約1:1.8、約1:1.9、または約1:2のイオン比率である、項目36~46のいずれか1項に記載のミセル。

(項目48)

前記ミセルにおける前記カチオン性キャリアユニットの前記カチオン性キャリア部分の正電荷及び前記アニオン性ペイロードの負電荷が、約3:1、約2.9:1、約2.8:1、約2.7:1、約2.6:1、約2.5:1、約2.4:1、約2.3:1、約2.2:1、約2.1:1、約1:2.1、約1:2.2、約1:2.3、約1:2.4、約1:2.5、約1:2.6、約1:2.7、約1:2.8、約1:2.9、または約1:3のイオン比率である、項目36~46のいずれか1項に記載のミセル。

10

(項目49)

前記ミセルにおける前記カチオン性キャリアユニットの前記カチオン性キャリア部分の正電荷及び前記アニオン性ペイロードの負電荷が、1:1の電荷比率である、項目48に記載のミセル。

(項目50)

前記ミセルの直径が、約1nm~100nm、約10nm~約100nm、約10nm~約90nm、約10nm~約80nm、約10nm~約70nm、約20nm~約100nm、約20nm~約90nm、約20nm~約80nm、約20nm~約70nm、約30nm~約100nm、約30nm~約90nm、約30nm~約80nm、約30nm~約70nm、約40nm~約100nm、約40nm~約90nm、約40nm~約80nm、または約40nm~約70nmである、項目38~49のいずれか1項に記載のミセル。

20

(項目51)

前記アニオン性ペイロードが核酸を含む、項目38~50のいずれか1項に記載のミセル。

(項目52)

前記核酸が、mRNA、miRNA、miRNAスポンジ、タフデコイmiRNA、antimiR、低分子RNA、rRNA、siRNA、shRNA、gDNA、cDNA、pDNA、PNA、BNA、アンチセンスオリゴヌクレオチド(ASO)、アプタマー、環状ジヌクレオチド、またはそれらの任意の組み合わせを含む、項目51に記載のミセル。

30

(項目53)

前記核酸が少なくとも1つのヌクレオシドアナログを含む、項目1~52のいずれか1項に記載のミセル。

(項目54)

前記ヌクレオシドアナログが、ロックド核酸(LNA); 2'-O-アルキルRNA; 2'-アミノDNA; 2'-フルオロDNA; アラビノ核酸(ANA); 2'-フルオロANA; ヘキシトール核酸(HNA)、インターカレーティング核酸(INA)、拘束エチルヌクレオシド(cEt)、2'-O-メチル核酸(2'-OMe)、2'-O-メトキシエチル核酸(2'-MOE)、またはそれらの任意の組み合わせを含む、項目53に記載のミセル。

40

(項目55)

前記核酸が、5~30ヌクレオチド長を有するヌクレオチド配列を含む、項目51~54のいずれか1項に記載のミセル。

(項目56)

前記ヌクレオチド配列が、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、または26ヌクレオチド長である、項目55に記載のミセル。

(項目57)

50

前記ヌクレオチド配列が、ホスホジエステル結合、リン酸トリエステル結合、メチルホスホン酸結合、ホスホロアミダート結合、ホスホロチオエート結合、及びそれらの組み合わせを含む骨格を有する、項目 5 5 または 5 6 に記載のミセル。

(項目 5 8)

前記カチオン性キャリアユニットが、任意選択的にリンカーにより前記水溶性ポリマーに連結されている標的化部分をさらに含む、項目 3 8 ~ 5 7 のいずれか 1 項に記載のミセル。

(項目 5 9)

前記標的化部分が、組織を標的とすることができる、項目 5 8 に記載のミセル。

(項目 6 0)

前記組織が、肝臓、脳、腎臓、肺、卵巣、膵臓、甲状腺、胸部、胃、またはそれらの任意の組み合わせである、項目 5 9 に記載のミセル。

(項目 6 1)

前記組織ががん組織である、項目 5 9 に記載のミセル。

(項目 6 2)

前記組織が肝臓である、項目 5 9 に記載のミセル。

(項目 6 3)

前記標的化部分がコレステロールを含む、項目 6 2 に記載のミセル。

(項目 6 4)

前記組織が膵臓である、項目 5 9 に記載のミセル。

(項目 6 5)

前記標的化部分が、インテグリンを標的とするリガンドを含む、項目 5 9 に記載のミセル。

(項目 6 6)

前記標的化部分が中枢神経系を標的とする、項目 5 9 に記載のミセル。

(項目 6 7)

前記標的化部分が、大型中性アミノ酸輸送体 1 (LAT1) により輸送されることができる、項目 6 6 に記載のミセル。

(項目 6 8)

前記標的化部分がアミノ酸である、項目 6 7 に記載のミセル。

(項目 6 9)

前記標的化部分が分枝鎖または芳香族アミノ酸を含む、項目 6 8 に記載のミセル。

(項目 7 0)

前記アミノ酸が、バリン、ロイシン、及び / またはイソロイシンである、項目 6 8 に記載のミセル。

(項目 7 1)

前記アミノ酸が、トリプトファン及び / またはチロシンである、項目 6 8 に記載のミセル。

(項目 7 2)

項目 1 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載のカチオン性キャリアユニット及び負に荷電した分子を含む組成物。

(項目 7 3)

項目 1 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載のカチオン性キャリアユニット、項目 7 2 に記載の組成物、または項目 3 8 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載のミセル、及び薬学的に許容されるキャリアを含む医薬組成物。

(項目 7 4)

前記カチオン性キャリアユニットを合成することを含む、項目 1 ~ 3 7 のいずれか 1 項に記載のカチオン性キャリアユニットを調製する方法。

(項目 7 5)

溶液中で前記カチオン性キャリアユニットを前記負に荷電した分子と、1 : 1 のイオン

10

20

30

40

50

比率で混合することを含む、項目 3 8 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載のミセルを調製する方法。

(項目 7 6)

溶液中で前記カチオン性キャリアユニットを前記負に荷電した分子と、約 1 : 3 ~ 約 3 : 1 のイオン比率で混合することを含む、項目 3 8 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載のミセルを調製する方法。

(項目 7 7)

前記ミセルを精製することをさらに含む、項目 7 6 に記載の方法。

(項目 7 8)

疾患または状態を処置することを、それを必要とする対象において行う方法であって、項目 3 8 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載のミセルを前記対象に投与することを含む、前記方法。

10

(項目 7 9)

前記ミセルの核の前記アニオン性ペイロードが、ミセルに組み込まれていない対応するアニオン性ペイロードより長い半減期を示す、項目 7 8 に記載の方法。

(項目 8 0)

前記対象が哺乳動物である、項目 7 8 または 7 9 に記載の方法。

(項目 8 1)

がんを処置することを、それを必要とする対象において行う方法であって、治療上有効量の項目 3 8 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載のミセルを前記対象に投与することを含む、前記方法。

20

(項目 8 2)

前記がんが、神経膠腫、乳癌、膵臓癌、肝臓癌、皮膚癌、または子宮頸癌である、項目 8 1 に記載の方法。

(項目 8 3)

前記膵臓癌が膵臓腺癌である、項目 8 2 に記載の方法。

(項目 8 4)

神経変性疾患に罹患している対象における炎症を低減する方法であって、治療上有効量の項目 3 8 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載のミセルを前記対象に投与することを含む、前記方法。

30

(項目 8 5)

神経変性疾患に罹患している対象において神経形成を回復させる、及び / または誘発する方法であって、治療上有効量の項目 3 8 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載のミセルを前記対象に投与することを含む、前記方法。

(項目 8 6)

神経変性疾患に罹患している対象の認知機能を改善する方法であって、治療上有効量の項目 3 8 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載のミセルを前記対象に投与することを含む、前記方法。

(項目 8 7)

前記神経変性疾患がアルツハイマー病である、項目 8 4 ~ 8 6 のいずれか 1 項に記載の方法。

40

(項目 8 8)

アルツハイマー病に罹患している対象におけるアミロイドプラーク負荷を低減する方法であって、治療上有効量の項目 3 8 ~ 7 1 のいずれか 1 項に記載のミセルを前記対象に投与することを含む、前記方法。

(項目 8 9)

前記ミセルが、LAT1 を標的とするカチオン性キャリアユニット、及び配列番号 1 8 のアンチセンスオリゴヌクレオチド、またはその断片、バリエーション、もしくは誘導体を含むペイロードを含む、項目 8 4 ~ 8 8 のいずれか 1 項に記載の方法。

(項目 9 0)

50

前記断片が、配列番号 18 の 14、15、16、17、18、19、20、または 21 個の連続ヌクレオチドを含む、項目 89 に記載の方法。

(項目 91)

前記バリエーションが、配列番号 18 に対する少なくとも 70% の配列同一性を有する、項目 89 に記載の方法。

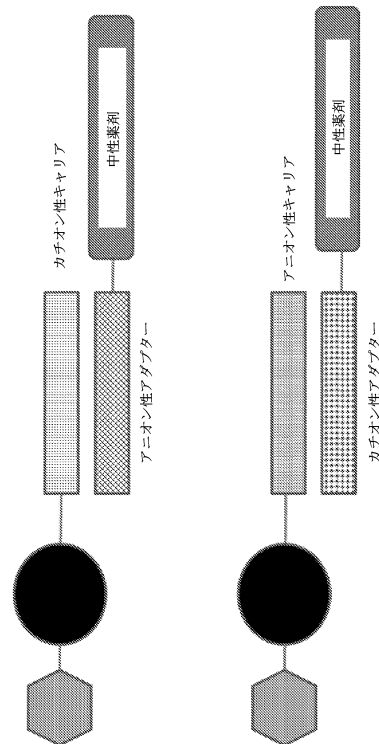
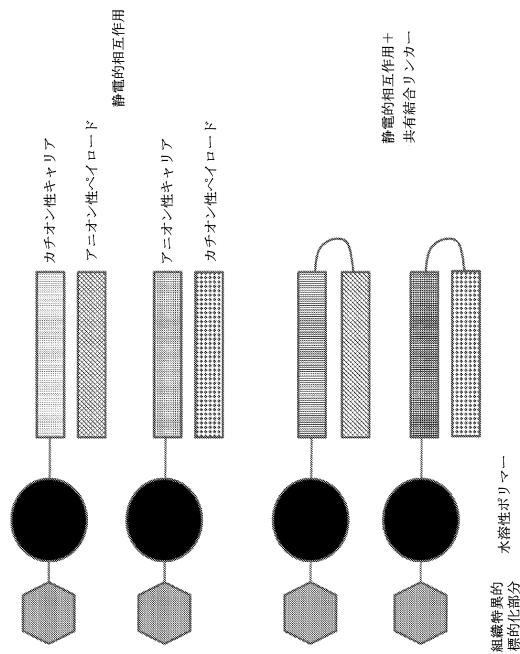
(項目 92)

前記誘導体が、少なくとも 1 つの糖修飾及び / または少なくとも 1 つの骨格修飾を含む、項目 89 に記載の方法。

【図面】

【図 1】

【図 2】



10

20

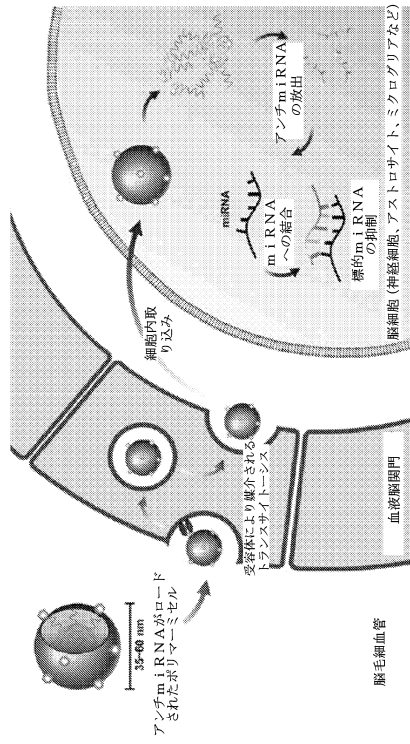
30

40

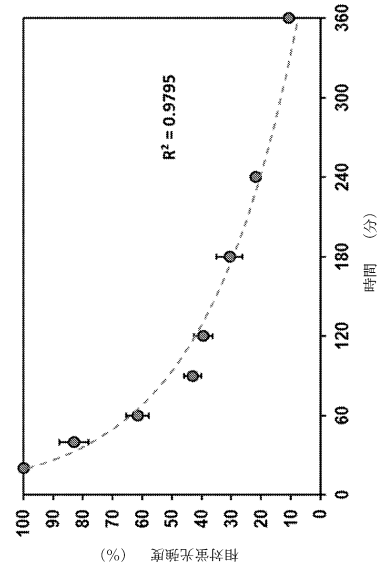
50



【圖 7】



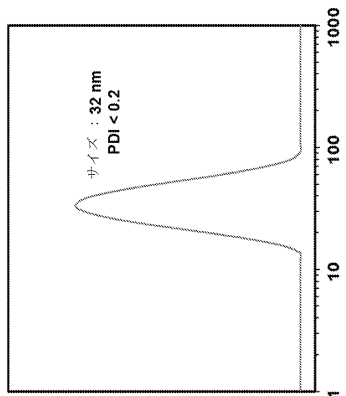
【 図 8 】



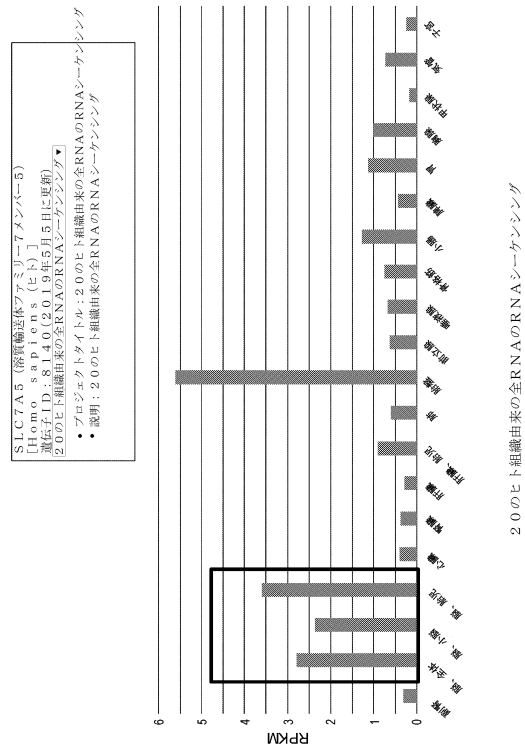
10

20

【 図 9 】



【 図 1 0 】



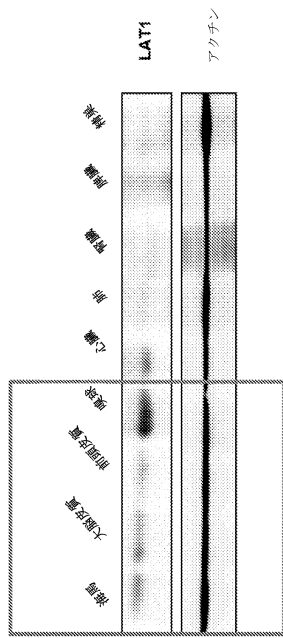
20のヒト組織由来の全RNAのRNAシーケンシング

30

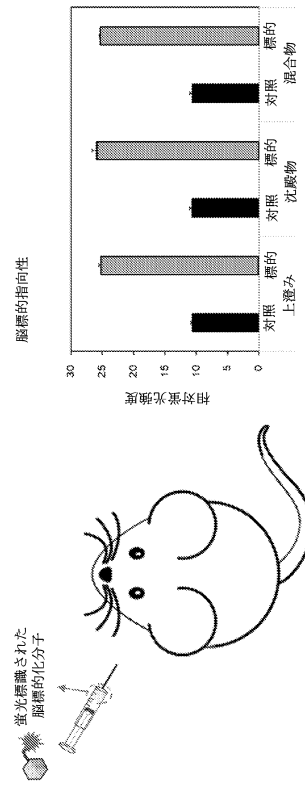
40

50

【図 1 1】



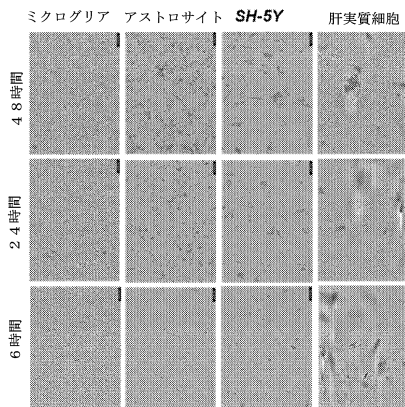
【図 1 2】



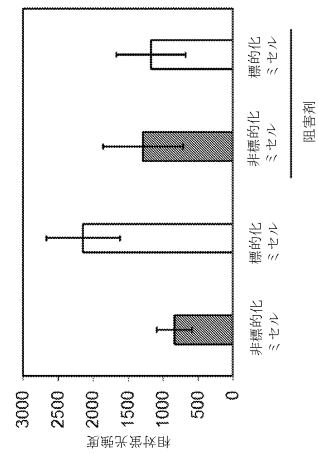
10

20

【図 1 3】



【図 1 4】

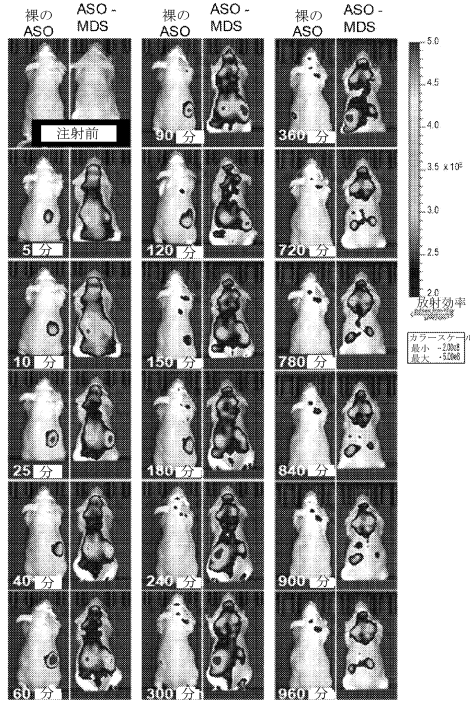


30

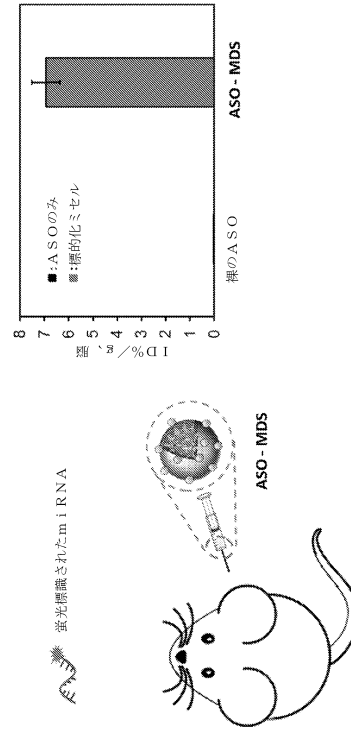
40

50

【図 15】



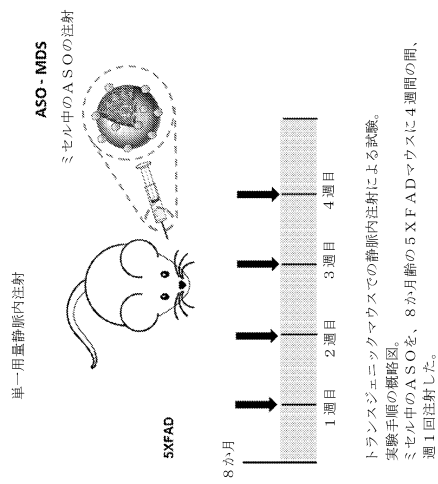
【図 16】



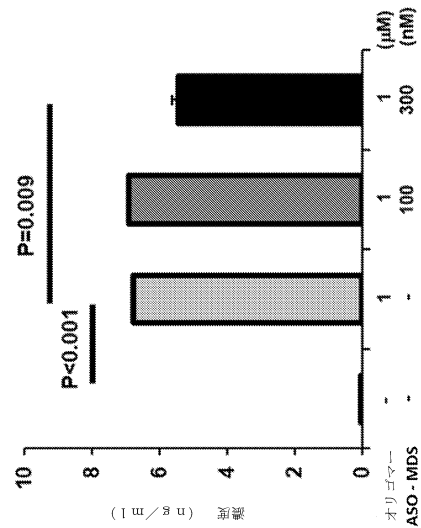
10

20

【図 17】



【図 18 A】



30

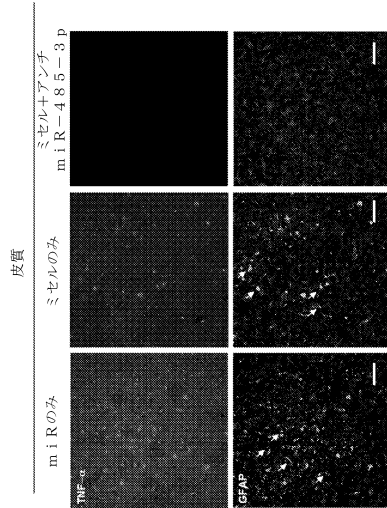
40

50

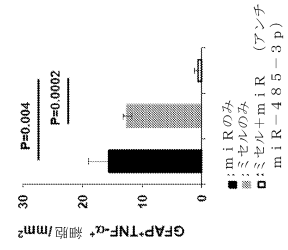




【図 20 A】

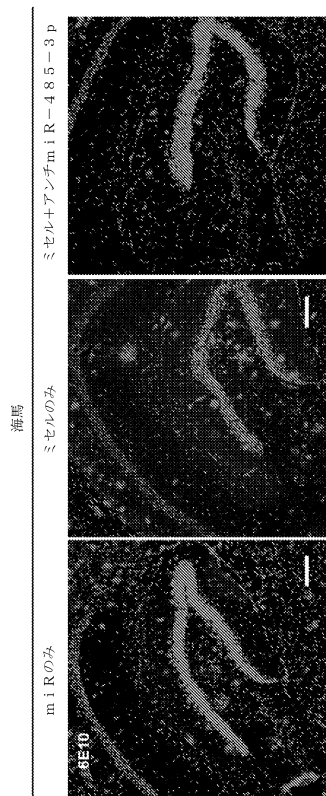


【図 20 B】

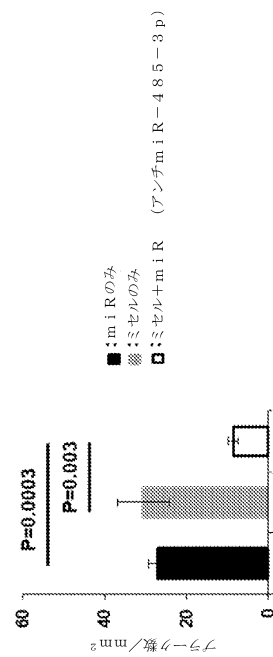


10

【図 21 A】



【図 21 B】



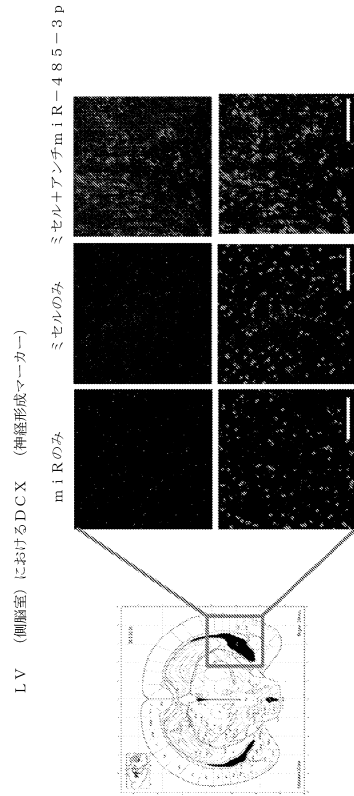
20

30

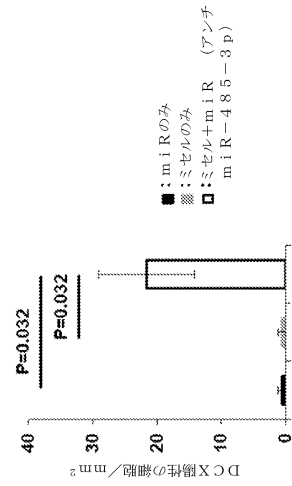
40

50

【図 2 2 A】



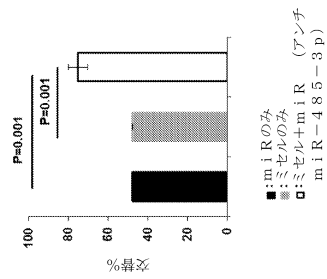
【図 2 2 B】



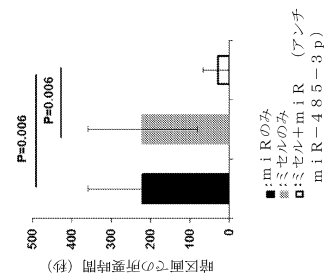
10

20

【図 2 3 A】



【図 2 3 B】

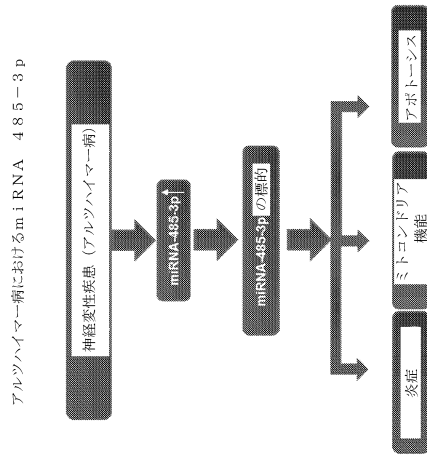


30

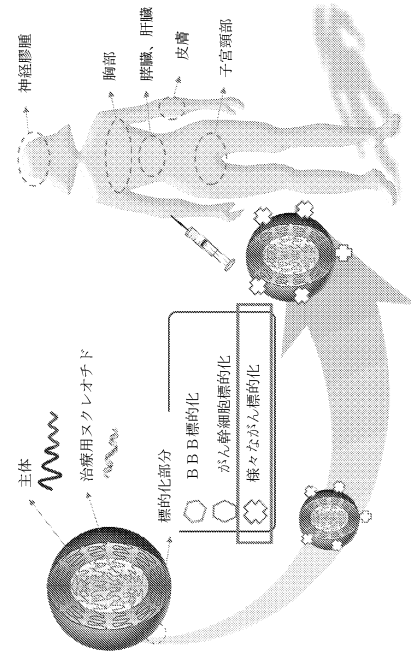
40

50

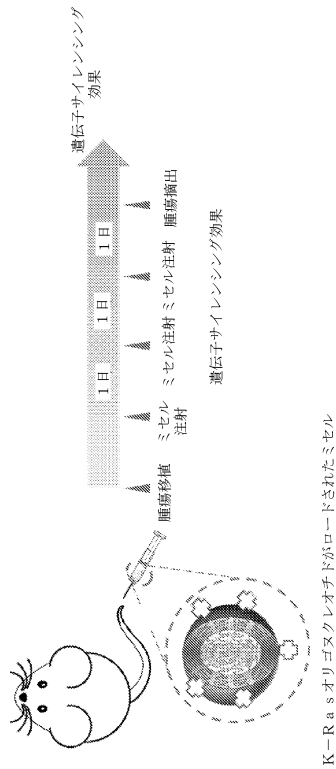
【図 24】



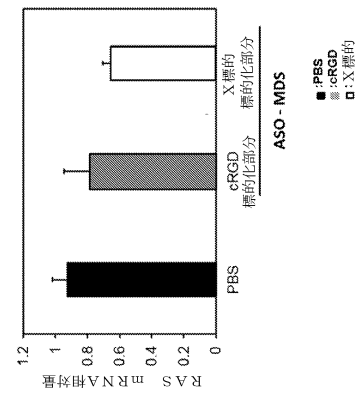
【図 25】



【図 26A】



【図 26B】



10

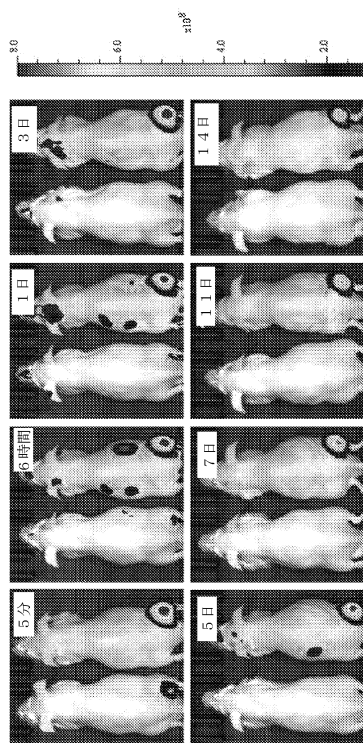
20

30

40

50

【図 27】



【配列表】

0007665540000001.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	31/7105(2006.01)	A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	31/7115(2006.01)	A 6 1 K	31/7115	
A 6 1 K	31/7125(2006.01)	A 6 1 K	31/7125	
A 6 1 K	31/712(2006.01)	A 6 1 K	31/712	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 K	31/4164(2006.01)	A 6 1 K	31/4164	
A 6 1 K	31/455(2006.01)	A 6 1 K	31/455	
A 6 1 K	31/405(2006.01)	A 6 1 K	31/405	
A 6 1 K	31/198(2006.01)	A 6 1 K	31/198	
A 6 1 K	31/506(2006.01)	A 6 1 K	31/506	
A 6 1 K	31/5377(2006.01)	A 6 1 K	31/5377	
A 6 1 K	31/5365(2006.01)	A 6 1 K	31/5365	
C 1 2 N	15/88 (2006.01)	C 1 2 N	15/88	Z Z N A
C 1 2 N	15/11 (2006.01)	C 1 2 N	15/11	Z

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

## (74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

## (72)発明者 リュ, ジン - ヒョブ

大韓民国 3 4 1 4 1 テジョン, ユソン - グ, クアハク - ロ, 1 2 5, クリップ, ベンチャー - ドン, 2 エフ - 2 1 6

## (72)発明者 リム, ユ ナ

大韓民国 3 4 1 4 1 テジョン, ユソン - グ, クアハク - ロ, 1 2 5, クリップ, ベンチャー - ドン, 2 エフ - 2 1 6

## (72)発明者 ミン, ヒュン ス

大韓民国 3 4 1 4 1 テジョン, ユソン - グ, クアハク - ロ, 1 2 5, クリップ, ベンチャー - ドン, 2 エフ - 2 1 6

## (72)発明者 コ, ハン ソク

大韓民国 3 4 1 4 1 テジョン, ユソン - グ, クアハク - ロ, 1 2 5, クリップ, ベンチャー - ドン, 2 エフ - 2 1 6

## (72)発明者 キム, デ フン

大韓民国 3 4 1 4 1 テジョン, ユソン - グ, クアハク - ロ, 1 2 5, クリップ, ベンチャー - ドン, 2 エフ - 2 1 6

## (72)発明者 チョ, ヒョン - ジョン

大韓民国 3 4 1 4 1 テジョン, ユソン - グ, クアハク - ロ, 1 2 5, クリップ, ベンチャー - ドン, 2 エフ - 2 1 6

審査官 石井 裕美子

## (56)参考文献 国際公開第 2 0 1 8 / 0 5 3 3 1 6 ( W O , A 1 )

特表平 0 5 - 5 0 8 8 7 9 ( J P , A )

ACS Omega, 2019年04月, Vol.4, pp.6443-6451

Chem. Commun., 2008年, Vol.48, pp.6570-6572

## (58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

A 6 1 K 9 / 0 0 - 9 / 7 2

A 6 1 K 4 7 / 0 0 - 4 7 / 6 9

A 6 1 K 4 5 / 0 0 - 4 5 / 0 8

A 6 1 K 3 1 / 0 0 - 3 1 / 8 0

A 6 1 P 1 / 0 0 - 4 3 / 0 0

C 1 2 N 1 5 / 0 0 - 1 5 / 9 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )

---

C A p l u s / R E G I S T R Y / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T  
N )