(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2011-525180
(P2011-525180A)
(43)公表日　平成23年9月15日(2011.9.15)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 47/34	(2006.01)	A61K	47/34	4C076
A61K 47/48	(2006.01)	A61K	47/48	4C084
A61K 9/51	(2006.01)	A61K	9/51	
A61K 45/00	(2006.01)	A61K	45/00	
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	35/00	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 56 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2011-514761 (P2011-514761)
(86)(22)出願日　平成21年6月16日(2009.6.16)
(85)翻訳文提出日　平成23年2月4日(2011.2.4)
(86)国際出願番号　PCT/US2009/047554
(87)国際公開番号　WO2010/005740
(87)国際公開日　平成22年1月14日(2010.1.14)
(31)優先権主張番号　61/061,712
(32)優先日　平成20年6月16日(2008.6.16)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　510083773
バインド　バイオサイエンシズ　インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　マサチューセッツ州　ケンブリッジ　シドニー　ストリート　６４
(74)代理人　100068526
弁理士　田村　恭生
(74)代理人　100100158
弁理士　鮫島　睦
(74)代理人　100138900
弁理士　新田　昌宏
(74)代理人　100162684
弁理士　呉　英燦

最終頁に続く

(54)【発明の名称】治療的標的化ナノ粒子の製作に用いるためのジブロックコポリマーで官能化された標的薬の製造方法

(57)【要約】
本発明は、ジブロックコポリマーの合成のためのマクロイニシエーターとして予め官能化されたポリ(エチレングリコール)(ＰＥＧとも呼ばれる)を用いるナノ粒子の製造方法を提供する。これらのジブロックコポリマーは、その末端に標的薬を有するポリ(エチレングリコール)ブロックおよび第２の生体適合性および生物分解性の疎水性ポリマーブロック(たとえば、ポリ(エステル)など)を含む。ポリ(エチレングリコール)は、をのα末端に共有的に結合した標的部分(薬)およびそのω末端に存在する重合開始官能基(たとえば、ヒドロキシル基など)を有するヘテロ二官能性である。開環重合から、治療用ナノ粒子に標的化能力を与えるのに用いられる所望のポリ(エステル)－ポリ(エチレングリコール)ポリマーが得られる。この「からの重合」アプローチは、標的薬の官能基の反応性が保護基を用いてマスキングされている、標的薬の前駆体を用いるのが典型的である。標的薬がその天然の非保護体のままである、ポリ(エチレングリコール)－標的薬複合体を利用した、「へのカップリング」もまた記載されている。この方法は、対象の標的薬内に典型的に見出される官能基への交差反応性を示さない「直交性」化学を用いる。また、本発明は、さまざまな疾患の治療における、開示する方法にしたがって製造されたナノ粒子ならびにその使用を提供する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
1．標的薬を提供し；
官能化ポリ(エチレングリコール)(PEG)ポリマーを提供し；
標的薬リガンドを提供し；
官能化ポリ(エチレングリコール)ポリマーを標的薬と反応させて、標的薬-PEGポリマー複合体を形成し；次いで
標的薬-PEGポリマー複合体を第２のポリマーおよび治療薬と混合して、ナノ粒子を形成すること；
を含むナノ粒子の製造方法。
【請求項２】
ポリ(エチレングリコール)が、ヘテロ二官能性であり、該標的薬が、該ポリ(エチレングリコール)のα末端に共有的に結合し、少なくとも１つの重合開始官能基が、該ポリ(エチレングリコール)のω末端に存在する、請求項１に記載の方法。
【請求項３】
該少なくとも１つの重合開始官能基が、遊離ω末端にあるヒドロキシル(-OH)基またはアミン(-NH_2)基である、請求項２に記載の方法。
【請求項４】
第２のポリマーが、２つ以上のポリマーの混合物を含み、そして、該ポリ(エチレングリコール)の遊離ω末端に存在する官能基を反応させる少なくとも１つの官能基を含み、該２つ以上のポリマーの混合物の該少なくとも１つの官能基が、ヒドロキシル基、NHS基またはアミン基である、請求項１、２または３に記載の方法。
【請求項５】
第２のポリマーまたはコポリマーが、ヒドロキシル基、NHS基またはアミン基から選ばれる少なくとも１つの官能基を含むポリエステルコポリマーであり、該ポリ(エチレングリコール)の遊離ω末端に存在する官能基を反応させるポリエステルコポリマーである、請求項１に記載の方法。
【請求項６】
第２のポリマーまたはコポリマーが、ヒドロキシル基、NHS基またはアミン基から選ばれる少なくとも１つの官能基を含むポリエステルコポリマーであり、該ポリ(エチレングリコール)の遊離ω末端に存在する官能基を反応させるポリエステルコポリマーである、請求項４に記載の方法。
【請求項７】
該ポリエステルコポリマーが、ヘテロポリマーまたはホモポリマーを含む、請求項６に記載の方法。
【請求項８】
該ヘテロポリマーが、乳酸およびグリコール酸ユニットまたはポリ(乳酸－グリコール酸)コポリマーおよびポリ(ラクチド－グリコリド)コポリマーユニット(PLGA)を含み；ならびに該ホモポリマーが、グリコール酸ユニット(PGA)、乳酸ユニット(PLA)、ポリ-L-乳酸ユニット、ポリ-D-乳酸ユニット、ポリ-D,L-乳酸ユニット、ポリ-L-ラクチドユニット、ポリ-D-ラクチドユニットまたはポリ-D,L-ラクチドユニットを含む、請求項６に記載の方法。
【請求項９】
該ポリエステルコポリマーが、ポリヒドロキシ酸；PEG化ポリマーおよびラクチドユニットとグリコリドユニットのコポリマー、PEG化PLA、PEG化PGA、PEG化PLGA、ポリ無水物、ポリ(オルトエステル)、PEG化ポリ(オルトエステル)、ポリ(カプロラクトン)、PEG化ポリ(カプロラクトン)、ポリリシン、PEG化ポリリシン、ポリ(エチレンイミン)、PEG化ポリ(エチレンイミン)、ポリ(L-ラクチド－L-リシン)コポリマー、ポリ(セリンエステル)、ポリ(4-ヒドロキシ-L-プロリンエステル)、ポリ[a-(4-アミノブチル)-L-グリコール酸]またはその誘導体から選ばれる、請求項６に記載の方法。

【請求項１０】
該標的薬上の遊離カルボン酸基または遊離ヒドロキシル基が、官能化ポリ(エチレングリコール)ポリマーを標的薬と反応させて標的薬-PEGポリマー複合体を形成する前に保護される、請求項１に記載の方法。
【請求項１１】
該第２のポリマーの該官能基が、該標的薬-PEG複合体上のヒドロキシル基またはカルボン酸基と反応するアミン基である、請求項４に記載の方法。
【請求項１２】
該第２のポリマーの該官能基が、該標的薬-PEG複合体上のアミン基と反応するヒドロキシル基またはNHS基である、請求項４に記載の方法。
【請求項１３】
該第２のポリマーまたは該コポリマーの該官能基が、該標的薬-PEG複合体上のヒドロキシル基またはカルボン酸基と反応するアミン基である、請求項６に記載の方法。
【請求項１４】
該第２のポリマーまたは該コポリマーの該官能基が、該標的薬-PEG複合体上のアミン基と反応するNHSまたはヒドロキシル基である、請求項６に記載の方法。
【請求項１５】
該第２のポリマーが、少なくとも２つの同一または異なるポリマーでありうるポリマーの混合物であり、該少なくとも２つポリマーの１番目が、官能基として少なくとも１つのヒドロキシル基またはNHS基を含み、該少なくとも２つのポリマーの２番目が、官能基として少なくとも１つのアミン基を含む、請求項１～１４に記載の方法。
【請求項１６】
該治療薬が、抗生物質、抗ガン剤、抗ウイルス薬、抗炎症薬、診断薬、ワクチン抗原または栄養補助食品である、請求項１～１５に記載の方法。
【請求項１７】
該治療薬が、ペニシリン、アミノペニシリン、ペニシリナーゼインヒビターおよび／または抗菌薬と併用するペニシリン、セファロスポリン、セファマイシン、カルバペネム、フルオロキノロン、テトラサイクリン、マクロライド、アミノグリコシド、エリスロマイシン、亜鉛バシトラシン、ポリミキシン、硫酸ポリミキシンB、ネオマイシン、ゲンタマイシン、トブラマイシン、グラミシジン、シプロフロキサシン、トリメトプリム、オフロキサシン、レボフロキサシン、ガチフロキサシン、モキシフロキサシン、ノルフロキサシン、スルファセタミドナトリウム、クラロラムフェニコール、テトラサイクリン、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、硫酸トリメトプリム、バシトラシン、コルチコステロイド、メドリゾン、プレドニゾロン、酢酸プレドニゾロン、リン酸プレドニゾロンナトリウム、フルオロメトロン、デキサメタゾン、リン酸デキサメタゾンナトリウム、ベタメタゾン、フルオロメタゾン、アンタゾリン、酢酸フルオロメトロン、リメキソロン、エタボン酸ロテプレドノール、ジクロフェナク(ジクロフェナクナトリウム)、ケトロラク、ケトロラクトロメタミン、ヒドロコルチゾン、ブロムフェナク、フルルビプロフェン、アンタゾリン、キシロメタゾリン、クロモリンナトリウム、ロドキサミドトロメタミン、オロパタジンHCl、ネドクロミルナトリウム、フマル酸ケトチフェン、レボカバスチンHCL、アゼラスチンHCL、ペミロラスト(ペミロラストカリウム)、エピナスチンHCL、ナファゾリンHCL、エメダスチン、アンタゾリン、フェニラミン、クロモグリク酸ナトリウム、N-アセチル-アスパルチルグルタミン酸、アンレキサノクス、5-フルオロウラシル(5-FU)、CPT-11、10-ヒドロキシ-7-エチルカンプトテシン(SN38)、S-Iカペシタビン、フトラフール、5'デオキシフルオロウリジン、UFT、エニルウラシル、デオキシシチジン、5-アザシトシン、5-アザデオキシシトシン、アロプリノール、2-クロロアデノシン、アミノプテリン、メチレン-10-デアザアミノプテリン(MDAM)、オキサプラチン、ピコプラチン、テトラプラチン、サトラプラチン、白金-DACH、オルマプラチン、CI-973、JM-216およびその類縁体、9-アミノカンプトテシン、10,11-メチレンジオキシカンプトテシン、カレニテシン、9-ニトロカンプトテシン、TAS 103、L-フェニルアラニン・マスタード、イフォスファミドメ

フォスファミド、トロフォスファミド・カルムスチン、エポチロンA-E、トムデックス、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、カレニテシン、アシクロビル、バラシクロビル、ガンシクロビル、アマンタジン、リマンタジン、ラミブジン、ジドブジン、ベバシズマブ、トラスツズマブ、リツキシマブ、20-epi-1α、25 ジヒドロキシビタミンD3、4-イポメアノール、5-エチニルウラシル、9-ジヒドロタキソール、アビラテロン、アシビシン、アクラルビシン、塩酸アコダゾール、アクロニン、アシルフルベン、アデシペノール、アドゼレシン、アルデスロイキン、すべてのtkアンタゴニスト、アルトレタミン、アンバムスチン、アンボマイシン、酢酸アメタントロン、アミドックス、アミフォスチン、アミノグルテチミド、アミノレブリン酸、アムルビシン、アムサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アンドログラホリド、血管形成インヒビター、アンタゴニストD、アンタゴニストG、アンタレリックス、アントラマイシン、抗背側化形態形成タンパク質－１、抗エストロゲン、抗新生物薬、アンチセンスオリゴヌクレオチド、グリシン酸アフィジコリン、アポトーシス遺伝子モジュレーター、アポトーシス調節因子、アプリン酸、ARA-CDP-DL-PTBA、アルギニンデアミナーゼ、アスパラギナーゼ、アスペルリン、アスラクリン、アタメスタン、アトリムスチン、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキシナスタチン3、アザシチジン、アザセトロン、アザトキシン、アザチロシン、アゼテパ、アゾトマイシン、バッカチンIII誘導体、バラノール、バチマスタット、ベンゾクロリン、ベンゾデパ、ベンゾイルスタウロスポリン、βラクタム誘導体、βアレチン、βクラマイシンB、ベツリン酸、BFGFインヒビター、ビカルタミド、ビサントレン、塩酸ビサントレン、ビザズイジニルスペルミン、ビスナフィド、ジメシル酸ビスナフィド、ビストラテンA、ビゼレシン、ブレオマイシン、硫酸ブレオマイシン、BRC/ABLアンタゴニスト、ブレフレート、ブレキナールナトリウム、ブロピリミン、ブドチタン、ブスルファン、ブチオニンスルホキシミン、カクチノマイシン、カルシポトリオール、カルホスチンC、カルステロン、カンプトテシン誘導体、カナリポックスIL-2、カペシタビン、カラセライド、カルベチマー、カルボプラチン、カルボキサミド-アミノ-トリアゾール、カルボキシアミドトリアゾール、カレストM3、カルムチン、アーン700、軟骨由来インヒビター、塩酸カルビシン、カルゼレシン、カゼインキナーゼインヒビター、カスタノスペルミン、セクロピンB、セデフィンゴール、セトロレリクス、クロラムブシル、クロリン、クロロキノキサリンスルホンアミド、シカプロスト、シロレマイシン、シスプラチン、cis-ポルフィリン、クラドリビン、クロミフェン類縁体、クロトリマゾール、コリスマイシンA、コリスマイシンB、コンブレタスタチンA4、コンブレタスタチン類縁体、コナゲニン、クランベスシジン816、クリスナトール、メシル酸クリスナトール、クリプトフィシン8、クリプトフィシンA誘導体、キュラシンA、シクロペンタントラキノン、シクロホスファミド、シクロプラタム、シペマイシン、シタラビン、シタラビンオクホスファート、細胞溶解因子、サイトスタチン、デカルバジン、ダクリキシマブ、ダクチノマイシン、塩酸ダウノルビシン、デシタビン、デヒドロジデミンB、デスロレリン、デキシフォスファミド、デキソルマプラチン、デクスラゾキサン、デクスベラパミル、デザグアニン、メシル酸デザグアニン、ジアジクオン、ジデミンB、ジドックス、ジエチヒオルスペルミン、ジヒドロ-5-アザシチジン、ジオキサマイシン、ジフェニルスピロムスチン、ドセタキセル、ドコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、塩酸ドキソルビシン、ドロロキシフェン、クエン酸ドロロキシフェン、プロピオン酸ドロモスタノロン、ドロナビノール、デュアゾマイシン、デュオカマイシンSA、エブセレン、エコムスチン、エダトレキセート、エデルホシン、エドレコロマブ、エフロミチン、塩酸エフロミチン、エレメン、エルサルミトルシン、エミテフル、エンロプラチン、エンプロメート、エピプロピジン、エピルビシン、塩酸エピルビシン、エプリステリド、エルブロゾール、赤血球遺伝子療法ベクターシステム、塩酸エソルビシン、エストラムスチン、エストラムスチン類縁体、リン酸エストラムスチンナトリウム、エストロゲンアゴニスト、エストロゲンアンタゴニスト、エタニダゾール、エトポシド、リン酸エトポシド、エトプリン、エキセメスタン、ファドロゾール、塩酸ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステリド、フラボピリドール、フレゼラスチン、フロクスウリジン、フルアステロン、フルダラ

ビン、リン酸フルダラビン、塩酸フルオロダウノルビシン、フルオロウラシル、フルロシタビン、フォルフェニメックス、フォルメスタン、フォスキドン、フォストリエシン、フォストリエシンナトリウム、フォテムスチン、ガドリウムテキサフィリン、硝酸ガリウム、ガロシタビン、ガニレリクス、ゼラチナーゼインヒビター、ゲムシタビン、塩酸ゲムシタビン、グルタチオンインヒビター、ヘプスルファム、ヘレグリン、ヘキサメチレンビスアセトアミド、ヒドロキシウレア、ヒペリシン、イバンドロン酸、イダルビシン、塩酸イダルビシン、イドキシフェン、イドラマントン、イフォスファミド、イルモフォスチン、イロマスタット、イミダゾアクリドン、イミキモド、免疫刺激ペプチド、インスリン様成長因子-1受容体インヒビター、インターフェロンアゴニスト、インターフェロンα-2A、インターフェロンα-2B、インターフェロンα-N1、インターフェロンα-N3、インターフェロンβ-IA、インターフェロンγ-IB、インターフェロン、インターロイキン、イオベングアン、ヨードドキソルビシン、イプロプラツム、イリノテカン、塩酸イリノテカン、イロプラクト、イルソグラジン、イソベンガゾール、イソホモハリコンドリンB、イタセトロン、ジャスプラキノリド、カハラリドF、ラメラリン-N三酢酸、ランレオチド、酢酸ランレオチド、レイナマイシン、レノグラスチム、硫酸レンチナン、レプトールスタチン、レトロゾール、白血病抑制因子、白血球αインターフェロン、酢酸リュープロリド、リュープロリド／エストロゲン／プロゲステロン、リュープロレリン、レバミソール、リアロゾール、塩酸リアロゾール、直鎖ポリアミン類似体、親油性二糖ペプチド、親油性白金化合物、リソクリナミド、ロバプラチン、ロンブリシン、ロメトレキソール、ロメトレキソールナトリウム、ロムスチン、ロニダミン、ロソキサントロン、塩酸ロソキサントロン、ロバスタチン、ロキソリビン、ルルトテカン、ルテチウムテキサフィリン、リソフィリン、細胞溶解性ペプチド、マイタンシン、マンノスタチンA、マリマスタット、マソプロコール、マスピン、マトリリシンインヒビター、マトリックスメタロプロテイナーゼインヒビター、マイタンシン、塩酸メクロレタミン、酢酸メゲストロール、酢酸メレンゲストロール、メルファラン、メノガリル、メルバロン、メルカプトプリン、メテレリン、メチオニナーゼ、メトトレキサート、メトトレキサートナトリウム、メトクロプラミド、メトプリン、メツレデパ、微細藻類プロテインキナーゼCインヒビター、MIFインヒビター、ミフェプリストン、ミルテホシン、ミリモスチム、ミスマッチ二本鎖RNA、ミチンドミド、ミトカルシン、ミトクロミン、ミトギリン、ミトグアゾン、ミトラクトール、ミトマルシン、ミトマイシン、ミトマイシン類似体、ミトナフィド、ミトスペル、ミトタン、ミトトキシン線維芽細胞増殖因子-サポリン、ミトキサントロン、塩酸ミトキサントロン、モファロテン、モルグラモスチム、モノクローナル抗体、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、モノホスホリルリピドA／ミオバクテリウム細胞壁SK、モピダモール、多剤耐性遺伝子インヒビター、マスタード系抗癌剤、マイカペルオキシドB、マイコバクテリア細胞壁抽出物、ミコフェノール酸、ミリアポロン、N-アセチルジナリン、ナファレリン、ナグレスチップ、ナロキソン／ペンタゾシン、ナパビン、ナフテルピン、ナルトグラスチム、ネダプラチン、ネモルビシン、ネリドロン酸、中性エンドペプチダーゼ、ニルタミド、ニサマイシン、一酸化窒素モジュレーター、ニトロキシド抗酸化剤、ニトルリン、ノコダゾール、ノガラマイシン、Ｎ－置換ベンズアミド、O6-ベンジルグアニン、オクトレオチド、オキセノン、オリゴヌクレオチド、オナプリストン、オンダンセトロン、オラシン、経口サイトカイン誘導薬、オルマプラチン、オサテロン、オキサリプラチン、オキサウノマイシン、オキシスラン、パクリタキセル、パクリタキセル類似体、パクリタキセル誘導体、パラウアミン、パルミトイルリゾキシン、パミドロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、パラバクチン、パゼリプチン、ペガスパルガーゼ、ペルデシン、ペリオマイシン、ペンタムスチン、ペントサンポリ硫酸ナトリウム、ペントスタチン、ペントロゾール、硫酸ペプロマイシン、ペルフルブロン、ペルホスファミド、ペリリルアルコール、フェナジノマイシン、酢酸フェニル、ホスファターゼインヒビター、ピシバニール、塩酸ピロカルピン、ピポブロマン、ピポスルファン、ピラルビシン、ピリトレキシム、塩酸ピロキサントロン、プラセチンA、プラセチンB、プラスミノーゲン活性化因子インヒビター、白金錯体、白金化合物、白金-トリアミン錯体、プリカマイシン、プロメスタン、ポルフィマーナトリウ

ム、ポルフィロマイシン、プレドニムスチン、塩酸プロカルバジン、プロピルビスアクリドン、プロスタグランジンJ2、前立腺ガン抗アンドロゲン、プロテアソームインヒビター、プロテインAに基づく免疫調節因子、プロテインキナーゼCインヒビター、タンパク質チロシンホスファターゼインヒビター、プリンヌクレオシドホスホリラーゼインヒビター、プロマイシン、塩酸プロマイシン、プルプリン、ピラゾロアクリジン、ピリドキシル化ヘモグロビンポリオキシエチレン抱合体、RAFアンタゴニスト、ラルチトレキセド、ラモセトロン、RASファルネシルタンパク質転移酵素インヒビター、RASインヒビター、RAS-GAPインヒビター、脱メチル化レテリプチン、エチドロン酸レニウムRe186、リゾキシン、リボプリン、リボザイム、RIIレチナミド、RNAi、ログレチミド、ロヒツキン、ロムルチド、ロキニメクス、ルビギノンB1、ルボキシル、サフィンゴール、塩酸サフィンゴール、サイントピン、SarCNU、サルコフィトールA、サルグラモスチム、Sdi 1模倣薬、セムスチン、老化由来インヒビター1、センスオリゴヌクレオチド、シグナル伝達インヒビター、シグナル伝達調節因子、シムトラゼン、一本鎖抗原結合タンパク質、シゾフィラン、ソブゾキサン、ボロカプタートナトリウム、フェニル酢酸ナトリウム、ソルベロール、ソマトメジン結合タンパク質、ソネルミン、スパルホサートナトリウム、スパルホス酸、スピカマイシンD、塩酸スピロゲルマニウム、スピロムスチン、スピロプラチン、スプレノペンチン、スポンジスタチン1、スクアラミン、幹細胞インヒビター、幹細胞分裂インヒビター、スチピアミド、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ストロメライシンインヒビター、スルフィノシン、スロフェヌル、超反応性血管作用性腸ペプチドアンタゴニスト、スラジスタ、スラミン、スワインソニン、合成グリコサミノグリカン、タリソマイシン、タリムスチン、タモキシフェンメチオジド、タウロムスチン、タザロテン、テコガランナトリウム、テガフル、テルラピリリウム、テロメラーゼインヒビター、塩酸テロキサントロン、テモポルフィン、テモゾロミド、テニポシド、テロキシロン、テストラクトン、テトラクロロデカオキシド、テトラゾミン、タリブラスチン、タリドミド、チアミプリン、チオコラリン、チオグアニン、チオテパ、トロンボポエチン、トロンボポエチン模倣薬、チマルファシン、チモポイエチン受容体アゴニスト、チモトリナン、甲状腺刺激ホルモン、チアゾフリン、スズエチルエチオプルプリン、チラパザミン、二塩化チタノセン、塩酸トプテカン、トプセンチン、トレミフェン、クエン酸トレミフェン、全能幹細胞因子、翻訳インヒビター、酢酸テストステロン、トレチノイン、トリアセチルウリジン、トリシリビン、リン酸トリシリビン、トリメトレキサート、グルクロン酸トリメトレキサート、トリプトレリン、トロピセトロン、塩酸ツブロゾール、ツロステリド、チロシンキナーゼインヒビター、チルホスチン、UBCインヒビター、ウベニメクス、ウラシルマスタード、ウレデパ、尿生殖洞-由来増殖阻害因子、ウロキナーゼ受容体アンタゴニスト、バプレオチド、バリオリンB、ベラレソール、ベラミン、ベルジン、ベルテポルフィン、硫酸ビンブラスチン、硫酸ビンクリスチン、ビンデシン、硫酸ビンデシン、硫酸ビネピジン、硫酸ビングリシネート、硫酸ビンリューロシン、ビノレルビン、酒石酸ビノレルビン、硫酸ビンロシジン、ビンキサルチン、硫酸ビンゾリジン、ビタキシン、ボロゾール、ザノテロン、ゼニプラチン、ジラスコルブ、ジノスタチン、ジノスタチンスチマラマーまたは塩酸ゾルビシン、siRNAまたはそのいずれかの組み合わせである、請求項１６に記載の方法。

【請求項１８】

該少なくとも１つの標的薬が、上皮増殖因子受容体(EGFR)、ソマトスタチン受容体(SSTR)、インスリン様成長因子受容体、葉酸受容体、HER2受容体、インターロイキン13受容体、ガストリン放出ペプチド受容体、CD30、血管作動性腸管ペプチド受容体、ガストリン受容体、前立腺特異的抗原および／またはエストロゲン受容体に結合する抗体、PMSAリガンドおよびポリペプチドから選ばれる、請求項１～１７に記載の方法。

【請求項１９】

該方法が、水性媒体中で行われる、請求項１～１８に記載の方法。

【請求項２０】

該方法が、有機溶媒中で行われる、請求項１～１８に記載の方法。

【請求項２１】
請求項１～２０に記載の方法にしたがって製造されるナノ粒子。
【請求項２２】
請求項２１に記載のナノ粒子および医薬的に許容しうる担体を含む組成物。
【請求項２３】
疾患を治療するのに十分な量で患者に請求項２１に記載のナノ粒子を投与することを含む、該疾患の治療方法。
【請求項２４】
該疾患が、肺ガン、乳ガン、前立腺ガン、頭頸部ガン、卵巣ガン、皮膚ガン、精巣ガン、膵臓ガン、食道ガン、結腸直腸ガン、腎臓ガン、子宮頸ガン、消化管ガン、ウイルス感染、細菌感染または炎症から選ばれる、請求項２３に記載の方法。
【請求項２５】
ポリ(エチレングリコール)ポリマーのα末端に共有的に結合する標的薬および該ポリ(エチレングリコール)のω末端に存在する官能基を介して該ポリ(エチレングリコール)ポリマーに共有的に結合する少なくとも１つの第２のポリマーを含む、請求項１～１９に記載の方法にしがっって製造されるポリマー。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
(原文に記載なし)
【背景技術】
【０００２】
有効成分の放出が制御された、患者へのドラッグデリバリーは、数十年間にわたって活発な研究領域であり、ポリマー科学における多くの近年の開発によって刺激されている。さらに、制御放出ポリマーシステムは、他のドラッグデリバリー方法よりも、長期間にわたって最適レンジで薬物レベルを提供するように設計することができ、したがって、薬物の効能が増加され、患者のコンプライアンスに関連する問題が最小化される。
【０００３】
生物分解性粒子が、小分子薬物、タンパク質およびペプチド薬、ならびに核酸の投与に用いる持続放出性ビヒクルとして開発されている。薬物は、典型的に、生物分解性および生体適合性のポリマーマトリックス内に封入される。ポリマーが分解され、および／または、薬物がポリマーから拡散するので、薬物は、体内に放出される。
【０００４】
標的化されない身体の組織に存在する薬物の量を減少させるので、標的化制御放出ポリマーシステム(たとえば、特定の組織または細胞への標的化あるいは正常な組織ではない特定の疾患組織への標的化など)が望ましい。周囲組織を殺すことなく薬物の細胞毒性用量が標的細胞にデリバリーされるのが望ましいガンなどの状態を治療場合に、このことは特に重要である。したがって、患者における副作用を減少させると同時に、ガンなどの疾患を治療するための治療レベルの薬物をデリバリーすることができるデリバリーシステムを開発する必要性がある。
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００５】
(発明の簡単な説明)
本発明は、ジブロックコポリマーの合成のためのマクロイニシエーターとして予め官能化されたポリ(エチレングリコール)(ＰＥＧとも呼ばれる)を用いるナノ粒子の製造方法を提供する。これらのジブロックコポリマーは、その末端に標的薬を有する官能性PEGポリマーブロックおよび第２の生体適合性および生物分解性の疎水性ポリマーブロック(たとえば、ポリ(エステル)など)を含む。ポリ(エチレングリコール)は、そのα末端に共有的に結合した標的部分(薬)およびそのω末端に存在する重合開始官能基(たとえば、ヒドロ

キシル基など)を有するヘテロ二官能性である。別法として、ポリ(エチレングリコール)は、そのα末端における標的化薬、および反応性末端基によって順に官能化されるポリ(エステル)に共有結合しうる官能基によって官能化される。例として、アミノ末端化PEGおよびカルボン酸末端化ポリ(エステル)またはアジド末端化PEGおよびアルキン末端化ポリ(エステル)が挙げられる。また、本発明は、さまざまな疾患の治療における、開示する方法にしたがって製造されたナノ粒子ならびにその使用を提供する。

【課題を解決するための手段】

【０００６】

(発明の詳細な記載)

本発明は、ジブロックコポリマーの合成のためのマクロイニシエーターとして予め官能化されたポリ(エチレングリコール)(ＰＥＧとも呼ばれる)を用いるナノ粒子の製造方法を提供する。これらのジブロックコポリマーは、生物活性ポリ(エチレングリコール)ブロックおよび第２の生体適合性および生物分解性の疎水性ポリマーブロック(たとえば、ポリ(エステル)など)を含む。ポリ(エチレングリコール)は、そのα末端に共有的に結合した標的部分(薬)およびそのω末端に存在する重合開始官能基(たとえば、ヒドロキシル基など)を有するヘテロ二官能性である。

【０００７】

本発明はまた、その溶解度を改良し、潜在的副反応を回避するTAが結合するポリ(エチレングリコール)ポリマーの合成における、標的薬(TA)の誘導体(たとえば、カルボン酸またはその他の官能基などの官能基が保護されている類縁体など)の使用を提供する。保護された標的薬(PRO-TA)が、α末端においてPEGポリマーにカップリングした後、官能化されたPEG(HO-PEG-TA-PRO)が、ポリ(エステル)ブロックを合成するためのマクロイニシエーターとして利用される。たとえば、ラクチド、グリコチドまたはカプロラクトンなどの環状ラクトンモノマーの混合物に、HO-PEG-TA-PROを加え、混合物を加熱して溶融状態にする。次いで、モノマー／イニシエーター溶融物に、スズ(II) 2-エチルヘキサノエートなどの重合触媒を加える。エーテル／ヘキサン(70/30)などの非溶媒混合物に沈澱させることによって、得られるポリマーを未反応モノマーおよび重合触媒から精製し、傾斜して回収し、次いで、真空乾燥する。続いて、保護官能基を脱保護することによって、元の化学的に活性な官能基(たとえば、カルボン酸など)を回復することができる。このアプローチは、所望の重合反応が効率的に進行するのを可能にし、その天然の非保護体における標的化部分での重合触媒と官能基の間の副反応を回避する。このような副反応は、所望の線状ポリ(エステル)ポリマーよりもむしろ架橋不溶性ゲルの形成をもたらす。また、該ポリ(エステル)の組成および分子量を、モノマー溶融物およびモノマーに対するHO-PEG-TA(PRO)のモル比を制御することによって、望みの通りに調整することができる。さらに、保護された標的化部分は、非保護類縁体と比べて、広範囲の有機溶媒に溶解しやすい。このことは、標的化部分が、高度のポリマー末端基官能化をもって、ポリ(エチレングリコール)にカップリングするのを可能にする。さまざまな標的薬官能基のための保護基の非限定的例は、以下の通りである：

官能基	保護基
アルコール	アルキルアリルカーボネート、Alloc-OR
アルコール	メチルエーテル
アルコール	メチルエーテル
アルコール	メチルエーテル
アルコール	アリルベンジルカーボネート、$ROCO_2Bn$
フェノール	アリルカーボネートｅ
フェノール	メチルエーテル
フェノール	ベンジルオキシメチルエーテル -BOM
フェノール	メトキシエトキシメチルエーテル -MEMエーテル
チオール	S-p-メトキシベンジルチオエーテル
チオール	S-トリフェニルメチルチオエーテル(Tr-SR)
チオール	4-メトキシトリチル(Mtt-SR)
チオール	S-t-ブチルチオエーテル
チオール	S-[トリカルボニル[1,2,3,4,5,η]-2,4-ジシクロヘキサジエン-1-イル]-鉄(1+)チオエーテル
アミン	N-アリルアミン
アミン	N-ベンジルアミン
アミン	アリルカルバメート(Alloc-NR_2)
アミン	ベンジルカルバメート－ベンジルオキシカルボニル(CBz)
アミン	p-メトキシベンジルカルバメート－Moz
アミン	p-ニトロベンジルカルバメート -PNZ
カルボン酸	アリルエステル
カルボン酸	プロパルギルエステル
カルボン酸	ベンジルエステル－RCO_2Bn

【０００８】

また、本発明は、水性条件下でのポリ(エチレングリコール)への非保護標的化部分の効率的なカップリング方法を提供する。このアプローチにおいて、反応媒体のpHは、所望の生成物の収量を最大化するように用いられる。本発明のこの態様の利点は、標的化剤(TA)の高い水溶性の利用に関する。たとえば、α-アジド-ω-カルボン酸 ポリ(エチレングリコール)(N_3-PEG-CO_2H)の酸性末端基は、ジクロロメタンなどの無水有機溶媒条件下でのN-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)およびエチル ジメチルアミノプロピルカルボジイミド塩酸塩(EDC)またはジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)との反応によるスクシンイミドエステル(N_3-PEG-COSu)への変換によって最初に活性化される。活性化されたポリ(エチレングリコール)(N_3-PEG-COSu)は、エーテル－ヘキサン(70/30)などの無水非溶媒への沈澱によって小分子試薬から実質的に精製される。アミン官能基標的薬(H_2N-TA)の非保護体は、重炭酸緩衝液(pH＝9.7)に溶解され、次いで、水酸化ナトリウム水溶液を用いて、7.4までpHを下げられる。活性化された酸(N_3-PEG-COSu)は、DI水に溶解され、大モル過剰のH_2N-TA溶液に滴下される。N_3-PEG-COSuのスクシンイミドエステルは、pH＝5.5－6にて安定であり、H_2N-TAとのアミド結合形成反応は、pH＝7.4条件下で効率的である。この方策は、大過剰のアミン官能基標的化部分も存在する場合に、N_3-PEG-COSuをpH＝7.4のみに曝露する。したがって、塩基性条件へN_3-PEG-COSuの曝露を最小化しながらの所望のPEG-標的薬抱合体(N_3-PEG-TA)への変換は、スクシンイミドエステルの加水分解を回避させる。続いて、N_3-PEG-TAは、ジメチルホルムアミド(DMF)またはジメチルスルホキシド(DMSO)などの有機溶媒中、従来のクリック化学条件下で銅触媒を用いてアルキン末端ポリ(エステル)にカップリングする。アルキン末端ポリ(エステル)は、たとえば、重合開始剤としてプロパギ

ルアルコールおよび重合触媒としてスズ(II) 2-エチルヘキサノエートなどを用いるラクチドおよびグリコリドモノマーの開環重合によって製造される。

【０００９】

一例として、標的化部分／剤は、粒子を標的化するか、または被験者の特定の場所における粒子の局在化を引き起こし、その結果、生物活性剤／治療薬が標的部位にデリバリーされる。１つの実施態様において、薬物または治療薬は、粒子から制御放出様式で放出され、特定の標的部位と相互作用することができる。用語「制御放出」(およびその変形(たとえば、「制御放出システム」という文脈において))は、一般に、制御可能な速度、間隔および／または量での選択された部位における治療薬(たとえば、薬物など)の放出を包含することを意味する。「制御放出」は、実質的に連続的なデリバリー、パターン化されたデリバリー(たとえば、規則的または不規則な間隔によって中断される一定期間にわたる断続的なデリバリーなど)または相対的に短い期間(たとえば、2,3秒または分など)にわたる所定の個別的な量としての選択された治療薬の１回投与(ボーラス)のデリバリー(またはそのさまざまな組み合わせ)を包含するが、必ずしもこれらに限定されるものではない。

【００１０】

本発明のナノ粒子の製造に用いることができる第２の生体適合性および生物分解性の疎水性ポリマーブロックの例は、ポリエステルでありうる。本発明のナノ粒子の製造に用いるのに適したポリエステルの例として、(乳酸－グリコール酸)コポリマーおよび(ラクチド－グリコリド)コポリマーなどの本明細書において集合的に「PLGA」と呼ばれる、乳酸およびグリコール酸ユニットを含むコポリマー；および本明細書において集合的に「PGA」と呼ばれる、グリコール酸ユニットを含むホモポリマーならびにL-乳酸重合体、D-乳酸重合体、D,L-乳酸重合体、L-ラクチド重合体、D-ラクチド重合体およびD,L-ラクチド重合体などの本明細書において集合的に「PLA」と呼ばれる、乳酸ユニットが挙げられる。いくつかの実施態様において、ポリエステルの例として、たとえば、ポリヒドロキシ酸；PEG化ポリマーならびにラクチドおよびグリコリドのコポリマー(たとえば、PEG化PLA、PEG化PGA、PEG化PLGAおよびその誘導体)などが挙げられる。いくつかの実施態様において、ポリエステルの例として、たとえば、ポリ無水物、ポリ(オルトエステル) PEG化ポリ(オルトエステル)、ポリ(カプロラクトン)、PEG化ポリ(カプロラクトン)、(L-ラクチド－L-リシン)コポリマー、ポリ(セリンエステル)、ポリ(4-ヒドロキシ-L-プロリンエステル)、ポリ[a-(4-アミノブチル)-L-グリコール酸]およびその誘導体などが挙げられる。

【００１１】

本発明のナノ粒子の製造に用いる第２の生体適合性および生物分解性の疎水性ポリマーブロック(たとえば、ポリエステルなど)は、ポリ(エチレングリコール)のω末端と反応する官能基を含むことができる。このような官能基の非限定的例として、アミン、ヒドロキシル基、カルボン酸基、NHS基、アルキン基またはアジド基が挙げられるが、これらに限定されるものではない。第２の生体適合性および生物分解性の疎水性ポリマーブロック官能基がポリ(エチレングリコール) ポリマーのω末端にて反応する基は、以下の表に提供される。

ポリエステル官能基	ポリ(エチレングリコール)のω末端における反応基
N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)	アミン
アミン	ヒドロキシル、カルボン酸
ヒドロキシル	アミン
カルボン酸	アミン
アルキン	アジド

【００１２】

本明細書に開示する標的薬は、標的部分に抱合するポリマーを生成するために、ポリマー(たとえば、PEGなど)のα末端と反応しうる官能基を含み得るか、または含むように修

飾され得る。官能基は、アミノ、ヒドロキシ、アジド、アルキンおよびチオなどの、ポリマー(たとえば、PEGなど)と共有結合を作り出すのに用いることができるいずれかの部分を含む。たとえば、標的薬は、標的薬に直接結合するか、またはアルキルもしくはフェニルなどのさらなる基を介して結合するNH_2、SHまたはOHで置換され得る。非限定的例において、アニリン、アルキル-NH_2(たとえば、$(CH_2)_{1-6}NH_2$)、またはアルキル-SH(たとえば、$(CH_2)_{1-6}NH_2$)を用いて、遊離のNH_2およびSH基を介して標的薬をポリマーに連結させて、共有結合を形成することができる。

【００１３】

官能化PEGポリマー(そのα末端に１つ以上の標的薬およびω末端に反応性官能基を含むPEGポリマー)および第２の生体適合性および生物分解性の疎水性ポリマーの抱合は、官能化PEGポリマーのω末端における官能基および第２の生体適合性および生物分解性の疎水性ポリマーに存在する反応基を介して、当業界に公知の方法にしたがって行うことができる。たとえば、EDC-NHS化学(1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩およびN-ヒドロキシスクシンイミド)またはマレイミドもしくはカルボン酸が関与する反応を用いることができる。ポリ(エステル-エーテル)を形成するためのポリ(エステル)およびポリ(エーテル)の抱合は、ジクロロメタン、アセトニトリル、クロロホルム、ジメチルホルムアミド、テトラヒドロフラン、アセトンなどの有機溶媒(これらに限定されるものではない)中で行うことができる。特定の反応条件は、１つ以上のルーチン実験を用いて、当業者によって決定されうる。

【００１４】

官能化PEGポリマー(そのα末端に１つ以上の標的薬およびω末端に反応性官能基を含むPEGポリマー)および第２の生体適合性および生物分解性の疎水性ポリマーの抱合は、EDC-NHS化学を形成するアミド結合に対して直交する化学を用いて行うことができる。このような方法として、「クリック」化学技法が挙げられる。たとえば、アルキン末端ポリ(エステル)を、そのα末端にTAを有し、そのω末端にアルキン反応性アジド部分を有するヘテロ二官能性ポリ(エチレングリコール)と反応させることができる。ポリ(エステル-エーテル)を形成するためのポリ(エステル)およびポリ(エーテル)の抱合は、ジクロロメタン、アセトニトリル、クロロホルム、ジメチルホルムアミド、テトラヒドロフラン、アセトンなどの有機溶媒(これらに限定されるものではない)中で行うことができる。硫酸銅などの従来の「クリック」化学触媒を用いてもよい。

【００１５】

別の実施態様において、抱合反応は、カルボン酸官能基(たとえば、ポリ(エステル-エーテル)化合物など)を含むポリマーと、アミンを含むポリマーまたはその他の部分(標的化部分)とを反応させることによって行ってもよい。たとえば、低分子量PSMAリガンドなどの標的化部分を、アミンと反応させて、アミン含有部分を形成してもよく、次いで、ポリマーのカルボン酸と抱合させることができる。このような反応は、単一ステップ反応として起こり、すなわち、抱合が、N-ヒドロキシスクシンイミドまたはマレイミドなどの中間体を用いることなく行われる。アミン含有部分とカルボン酸末端ポリマー(ポリ(エステル-エーテル)化合物など)との間の抱合反応は、いくつかの実施態様において、ジクロロメタン、アセトニトリル、クロロホルム、テトラヒドロフラン、アセトン、ホルムアミド、ジメチルホルムアミド、ピリジン、ジオキサンまたはジメチルスルホキシドなどの有機溶媒(これらに限定されるものではない)に溶解したアミン含有部分を、カルボン酸末端ポリマー溶液に加えることによって達成される。カルボン酸末端ポリマーは、ジクロロメタン、アセトニトリル、クロロホルム、ジメチルホルムアミド、テトラヒドロフランまたはアセトンなどの有機溶媒(これらに限定されるものではない)内に含まれる。アミン含有部分とカルボン酸末端ポリマーとの間の反応は、いくつかの実施態様において、自発的に起こる。非抱合反応物は、このような反応の後で洗い流すことができ、ポリマーは、たとえば、エチルエーテル、ヘキサン、メタノールまたはエタノールなどの溶媒に沈澱させることができる。

【００１６】

本発明のもう1つの態様は、前述したポリマー抱合体を含む粒子に関する。粒子は、実質的に球形状(すなわち、粒子は一般的に球形に見える)であるか、または非球形状であってもよい。たとえば、粒子は、膨潤または収縮して、非球形状であってもよい。いくつかの場合、粒子は、ポリマーブレンドであってもよい。たとえば、ポリマーブレンドは、標的化部分(すなわち、低分子量PSMAリガンド)を含む第１のPEGポリマーおよび生体適合性ポリマー(たとえば、標的化部分を欠いているなど)を含む第２のポリマーを含むように形成されてもよい。最終ポリマーにおける第１および第２ポリマーの比率を制御することによって、最終ポリマーにおける標的化部分の濃度および位置を、いずれかの適当な程度に、容易に制御することができる。

【００１７】

上述したように、いくつかの実施態様において、ポリマーは、PLGAであってもよい。PLGAは、乳酸およびグリコール酸の生体適合性および生物分解性コポリマーであり、さまざまなPLGAは、乳酸：グリコール酸の比率によって特徴付けられる。乳酸は、L-乳酸、D-乳酸またはD,L-乳酸でありうる。PLGAの比率は、乳酸-グリコール酸比を変えることによって調節することができる。いくつかの実施態様において、本発明に用いられるPLGAは、約85：15、約75：25、約60：40、約50：50、約40：60、約25：75または約15：85という乳酸：グリコール酸比によって特徴付けられる。

【００１８】

特定の実施態様において、ナノ粒子のポリマー(たとえば、PLGAブロックコポリマーまたはPLGA-PEGブロックコポリマー)における乳酸：グリコール酸モノマーの比率を最適化することによって、水取り込み、治療薬放出(たとえば、「制御放出」)およびポリマー分解速度などのナノ粒子パラメーターを最適化することができる。さらに他の実施態様は、１つ以上のアクリルポリマーであってもよいポリマーを提供する。特定の実施態様において、アクリルポリマーとして、たとえば、コポリマー、メチルメタクリレートコポリマー、エトキシエチルメタクリレート、シアノエチルメタクリレート、アミノアルキルメタクリレートコポリマー、メタクリル酸アルキルアミドコポリマー、ポリ(メチルメタクリレート)、アミノアルキルメタクリレートコポリマー、グリシジルメタクリレートコポリマー、ポリシアノアクリレートおよびその１つ以上の組み合わせが挙げられる。

【００１９】

いくつかの実施態様において、ポリマーは、カチオン性ポリマーである。一般に、カチオン性ポリマーは、核酸(たとえば、DNA、RNAまたはその誘導体など)の負に荷電したストランドを濃縮および／または保護することができる。ポリ(リシン)(Zaunerら.、1998、Adv. Drug Del. Rev.、30：97；and Kabanovら、1995、Bioconjugate Chem.、6：7)、ポリ(エチレンイミン)(PEI；Boussifら、1995、Proc. Natl. Acad. Sci.、USA、1995、92：7297)およびポリ(アミドアミン)デンドリマー(Kukowska-Latalloら、1996、Proc. Natl. Acad. Sci.、USA、93：4897；Tangら、1996、Bioconjugate Chem.、7：703；およびHaenslerら、1993、Bioconjugate Chem.、4：372)などのアミン含有ポリマーは、生理的pHにおいて正に荷電しており、核酸とイオン対を形成し、さまざまな細胞株においてトランスフェクションを媒介する。

【００２０】

さらに他の実施態様において、ポリマーは、カチオン性側鎖を有する分解性ポリエステルでありうる(Putnamら、1999、Macromolecules、32：3658；Barreraら、1993、J. Am. Chem. Soc.、115：11010；Urnら、1999、J. Am. Chem. Soc.、121：5633；およびZhouら、1990、Macromolecules、23：3399)。コポリマーに疎水性特性を与えるポリマー骨格への疎水性コモノマー(たとえば、ラクチド、グリコリド、カプロラクトンまたはアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシンまたはフェニルアラニンなどの疎水性アミノ酸)のある程度の組み込みは、粒子コア内にいくらかのカチオンの性質をもつナノ粒子の形成を可能にする。このことが、続いて、siRNAなどの薬物のナノ粒子コアへの封入を可能にする。これらのポリエステルの例として、(L-ラクチド－L-リシン)コポリマー(Barreraら、1993、J. Am. Chem. Soc.、115：11010)、ポリ(セリンエステル)(Zhouら、1990、Macromolecu

les、23：3399)、ポリ(4-ヒドロキシ-L-プロリンエステル)(Putnamら、1999、Macromolecules、32：3658；およびLimら、1999、J. Am. Chem. Soc.、121：5633)が挙げられる。ポリ(4-ヒドロキシ-L-プロリンエステル)が、静電相互作用を介してプラスミドDNAを濃縮し、遺伝子導入を媒介することが実証された(Putnamら、1999、Macromolecules、32：3658；およびLimら、1999、J. Am. Chem. Soc.、121：5633)。これらの新規なポリマーは、ポリ(リシン)およびPEIよりも毒性が低く、非毒性の代謝物へと分解する。

【００２１】

特定の実施態様において、本発明のナノ粒子のポリマーの分子量は、たとえば、前立腺ガンなどのガンの効果的な治療のために最適化される。たとえば、該ポリマーの分子量は、ナノ粒子分解速度(特に、生物分解性ポリマーの分子量が調節される場合)、溶解度、吸水および薬物放出動態(たとえば、「制御放出」など)に影響を及ぼす。さらなる例として、該ポリマーの分子量を、処置される被験者において妥当な期間(2、3時間～1-2週間、3-4週間、5-6週間、7-8週間などの範囲)内にナノ粒子が生物分解するように調節することができる。PEGおよびPLGAのコポリマーを含むナノ粒子の特定の実施態様において、PEGは、1,000-20,000 Da(たとえば、5,000-20,000、たとえば、10,000-20,000)の分子量を有し、いくつかの実施態様において、5000 Daの分子量を有し、PLGAは、5,000-100,000 Da(たとえば、20,000-70,000、たとえば、20,000-50,000)の分子量を有し、またはいくつかの実施態様において、15,000-30,000 Daの分子量を有する。

【００２２】

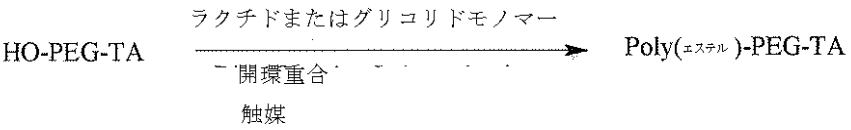
本明細書に開示するナノ粒子は、被験者のさまざまな疾患および障害の治療に用いることができる。被験者は、ヒトまたは非ヒト動物であってよい。被験者の例として、イヌ、ネコ、ウマ、ロバ、ウサギ、ウシ、ブタ、ヒツジ、ヤギ、ラット、マウス、モルモット、ハムスター、霊長類、ヒトなどの哺乳類、が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【００２３】

本発明は、１つ以上の標的薬および／または１つ以上の生物活性部分／治療薬を含むナノ粒子の多くの製造方法を提供する。本発明のさまざまな態様において、官能化標的薬抱合ジブロックコポリマーは、ポリ(エチレングリコール)のω末端から、生体適合性および生物分解性の疎水性ポリマー(ポリ(エステル)など)の重合を開始することによって合成される。反応工程式１は、そのα末端にヒドロキシル官能基を有し、そのω末端に標的薬(TA)を有するポリ(エチレングリコール)などのこの製造過程を説明する。このヒドロキシル末端からのポリ(エステル)ブロックの重合により、そのPEG末端にTAを有する所望のジブロックコポリマーが得られる。

【００２４】

【化１】



PEG＝ポリ（エチレングリコール）
TA＝標的薬
ポリ（エステル）として、ポリ（D,L-ラクチド）、ポリ（L-ラクチド）、（D,L-ラクチド－グリコリド）共重合体が挙げられる。

反応工程式１．そのPEG末端に標的薬（TA）を有するポリ（エステル）-ブロック－ポリ（エチレングリコールの合成方法

【００２５】

別法として、そのポリ(エチレングリコール)末端に標的薬(TA)を有するジブロックコポ

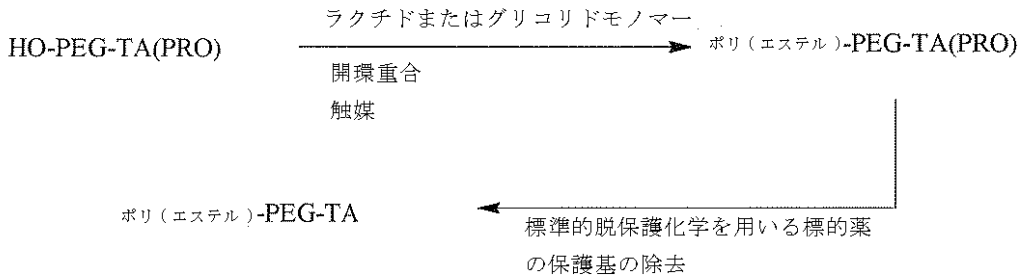
リマーを、適当に保護された形体の標的薬(TA-PRO)を、ポリ(エチレングリコール)ポリマーに抱合させることによって製造してもよく(HO-PEG-TA(PRO)が得られる)、続いて、このマクロイニシエーターを、ラクチド、グリコリドまたはその混合物などの環状ラクトンモノマーの開環重合に用いる。標準的脱保護法を用いる標的薬の保護基の除去は、所望のポリ(エステル)-ブロック-PEG-TAを提供する(反応工程式２を参照)。

【００２６】

別法として、官能性ジブロックコポリマー(ポリ(エステル)-PEG-TA)を、標的化PEG-TAを予め製造したポリ(エステル)に共有カップリングさせることによって製造してもよい。たとえば、カルボン酸末端(ラクチド－グリコリド)コポリマー(ポリ(エステル)-CO_2H)およびそのα末端に標的薬を有し、そのω末端に酸反応性アミノ官能基を有するポリ(エチレングリコール)(H_2N-PEG-TA)を有機溶媒条件下で反応させてもよい。

【００２７】

【化２】



PEG＝ポリ（エチレングリコール）
TA＝標的薬
TA(PRO)＝標的薬の保護体
ポリ（エステル）として、ポリ（D,L-ラクチド）、ポリ（L-ラクチド）、（D,L-ラクチド－グリコリド）共重合体が挙げられる。

反応工程式２．環状ラクトンモノマーの開環重合においてマクロイニシエーターとして保護形体の標的薬（HO-PEG-TA(PRO)）を用いる、そのPEG末端に標的薬（TA）を有するポリ（エステル）-ブロック－ポリ（エチレングリコールの合成方法

【００２８】

標的薬(TA)は、アミドまたは尿素結合のいずれかによって共有的に結合した個々の天然または非天然アミノ酸または２つ以上のアミノ酸残基の組み合わせを含んでもよい。TAはまた、核酸を含んでもよい。このように、TAは、カルボン酸、アミン、チオール、アルコール、フェノール、グアニジン、プリン(アデニン、グアニンなど)、ピリミジン(シトシン、ウラシル、チミンなど)を含む官能基を有する側鎖部分を含んでもよい。TAが、開環重合を開始する官能基(アルコール、フェノール、アミンまたはチオールなど)であるか、または反応して重合触媒を構造的に変更する官能基であるか(グアニジン、ジペプチドまたはポリペプチドであるTAが、そのC末端にグルタミン酸残基、または重合触媒に結合することができる尿素結合を有する場合に見出される1,5-ペンタジオン酸部分など)、のいずれかであってよい官能基を含む場合、反応工程式１の方法よりも、反応工程式２の方法が好ましい。

【００２９】

本発明はまた、ヘテロ二官能性ポリ(エチレングリコール)および標的薬(TA)の共有抱合体の合成方法について記述する。本明細書は、そのα末端にヒドロキシル基を有し、そのω末端にカルボン酸、アルデヒド、アジド、アルキン、マレイミド基などの反応性官能基を有するポリ(エチレングリコール)(PEG)について記述する。このようなヘテロ二官能性PEGを、アミン、チオール、アルキンまたはアジド部分を有するTAと反応させて、PEGおよ

びTAの共有抱合体(HO-PEG-TA)を得てもよい。好ましい反応性部分として、アミドまたは第２級アミンなどの天然の結合が得られるアミンとカルボン酸およびアミンとアルデヒドが挙げられる。反応工程式３は、このような共有抱合体を可能にする化学的合成法を提供する。

【００３０】

【化３】



PEG＝ポリ（エチレングリコール）
TA＝標的薬
TA(PRO)＝標的薬の保護体
X＝カルボン酸、アルデヒド、マレイミド、アジドまたはアルキン
Y＝アミン、チオール、アジドまたはアルキン

Y-TAは、標的薬が、Xと望ましくない副反応を起こすかまたは開環重合を開始する能力があるか、あるいは重合触媒と望ましくない副反応を起こす能力がある官能基を含まない場合に用いる。

Y-TA(PRO)は、標的薬が、Y-TAの使用のための上記の化学構造要件を満たす場合に用いる。

複合化学は、たとえば、エチル ジメチルアミノプロピルカルボジイミド(EDC)および／または N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)などを用いるスクシンイミジルエステルへの酸活性化、次いで、アミド化反応；アルデヒドおよびアミンが関与する還元的アルキル化、および続いての、たとえば、シアノ水素化ホウ素ナトリウムなどを用いる還元；たとえば、銅触媒などを用いるアジドおよびアルキン部分が関与するクリック化学；適当な第２級メルカプタンを得るためのチオール－マレイミド化学を含む。

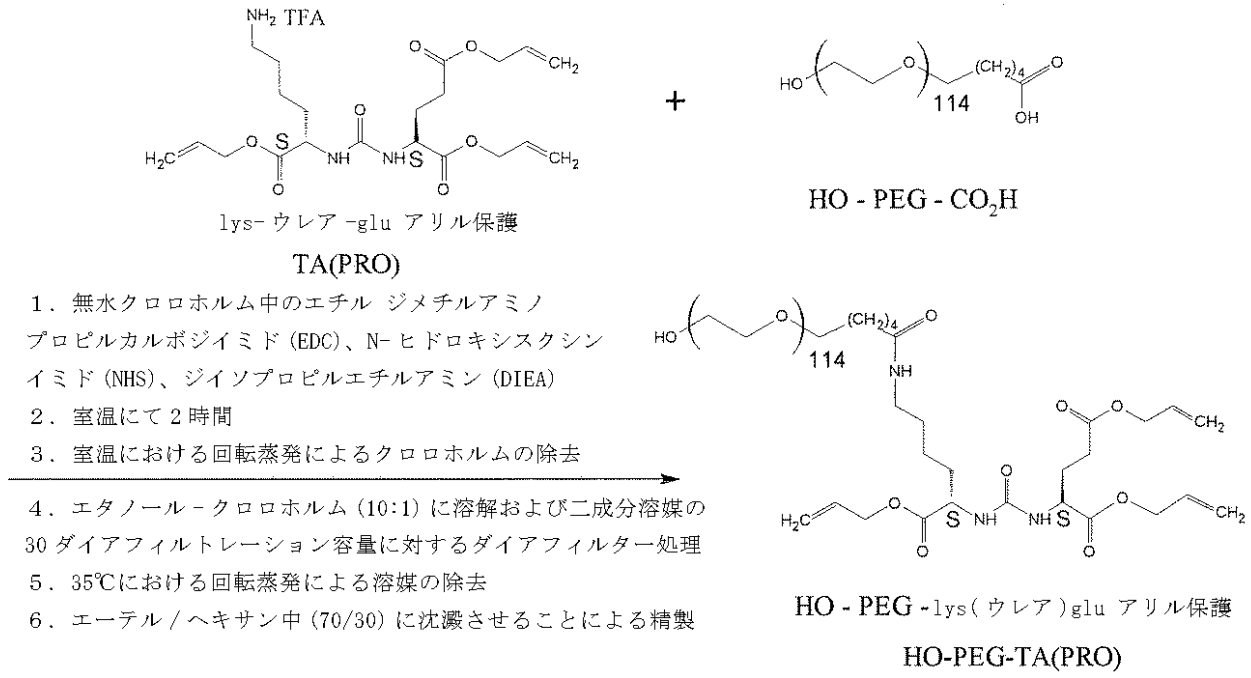
反応工程式３．ポリ（エチレングリコール）および標的薬(TA)またはその保護類縁体(TA-PRO)の共有複合体の合成法

【００３１】

本発明はまた、TA(PRO)のアミン部分とPEGの酸末端との好ましいアミド化反応を用いる、無水有機溶媒条件下でのHO-PEG-TA(PRO)複合体の合成方法について記述する。反応工程式４は、アリル保護リシン-ウレア-グルタミン酸(lys-ウレア-glu)標的薬にHO-PEG-CO_2Hを共有結合させるのに用いる方法を説明する。lys-ウレア-glu標的薬のアリル保護類縁体の使用は、EDC/NHS酸活性化化学に最適な有機溶媒(ジクロロメタンなど)へのその溶解度を改善する。無水有機溶媒条件下でのアミド化反応は、高い抱合効率の達成を可能にし、HO-PEG-lys-ウレア-glu(アリル保護)における80%を超える末端基官能化が得られる。さらに、アリル保護lys-ウレア-glu(TA(PRO))は、好ましい重合触媒(スズ(II) 2-エチルヘキサノエート)を用いる、望ましくない副反応を起こさないラクトンモノマーの開環重合を可能にする。

【００３２】

【化４】



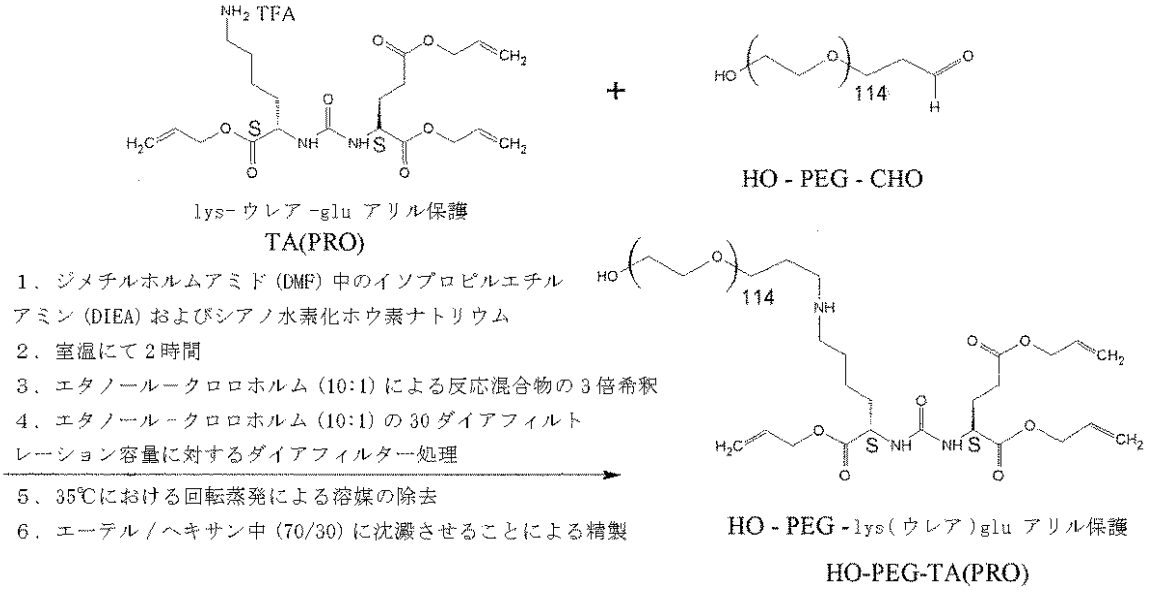
反応工程式４．EDC/NHS PEG酸末端の活性化およびTA(PRO)のアミン部分との反応を用いるHO-PEG-lys-ウレア-glu(アリル保護)の複合体の合成

【００３３】

本発明はまた、TA(PRO)のアミン部分とPEGのアルデヒド末端との還元的アルキル化反応を用いる、有機溶媒条件下でのHO-PEG-TA(PRO)抱合体の合成方法について記述する。反応工程式５は、アリル保護リシン-ウレア-グルタミン酸(TA(PRO))にHO-PEG-CHOを共有抱合させるのに用いる方法を説明する。lys-ウレア-glu標的部分のアリル保護類縁体の使用は、還元的アルキル化化学に適した有機溶媒(ジクロロメタン、ジメチルホルムアミドなど)へのその溶解度を改善する。有機溶媒条件下での還元的アルキル化は、高い抱合効率の達成を可能にし、HO-PEG-lys-ウレア-glu(アリル保護)における80%を超える末端基官能化が得られる。

【００３４】

【化５】



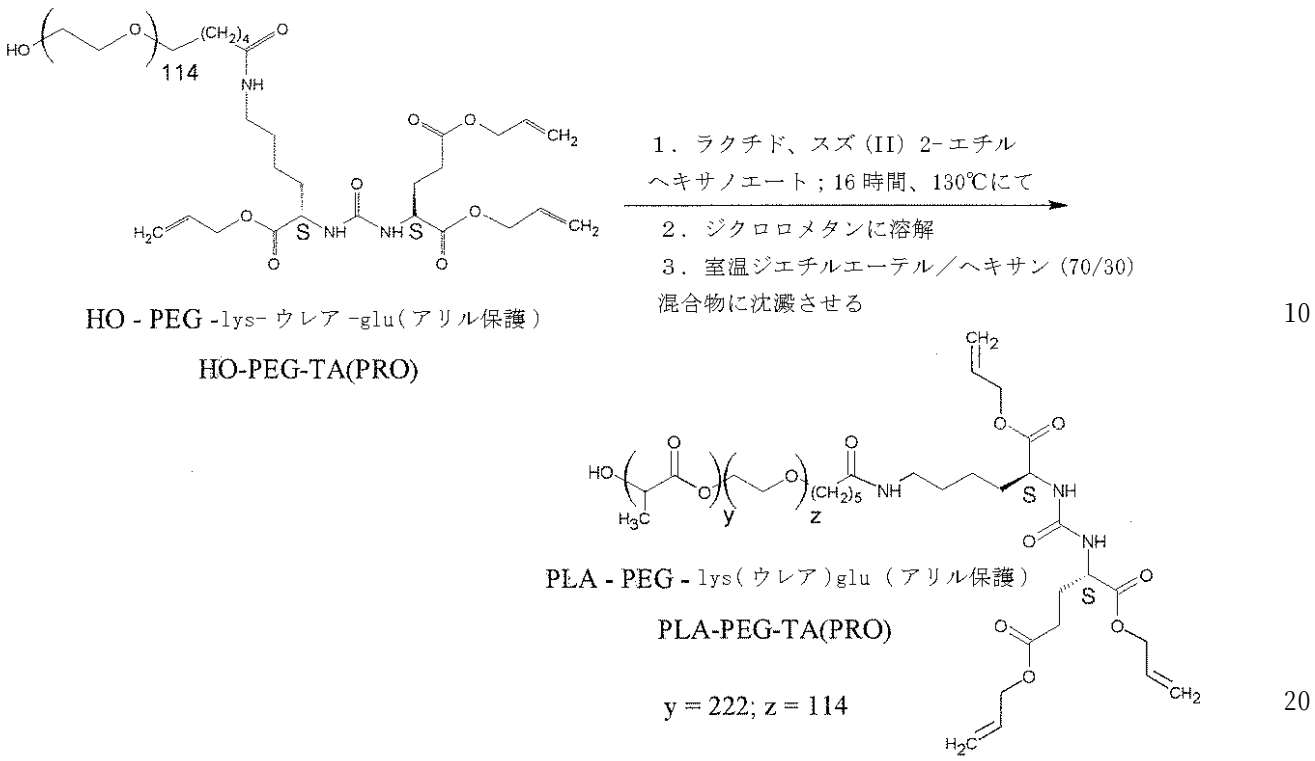
反応工程式５．保護された標的薬(TA(PRO))のアミン部分およびPEGのアルデヒド末端が関与する還元的アミノ化を用いる、有機溶媒条件下でのHO-PEG-lys-ウレア-glu(アリル保護)複合体の合成

【００３５】

本発明はまた、モノマー溶融条件下、130℃にて、マクロイニシエーターとしてHO-PEG-lys(ウレア)glu(アリル保護)(HO-PEG-TA(PRO))抱合体、重合触媒としてスズ(II) 2-エチルヘキサノエートを用いる環状ラクトンモノマーの開環重合(反応工程式６)について記述する。この方法は、「からの重合」アプローチとも呼ばれる。たとえば、このような重合によって得られるポリ(D,L-ラクチド)-ブロック-ポリ(エチレングリコール)-lys-ウレア-glu(アリル保護)は、次いで、有機塩基(モルホリン)および触媒としてテトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)を用いるアリル保護基の除去によってポリ(D,L-ラクチド)-ブロック-ポリ(エチレングリコール)-lys-ウレア-gluに変換される(反応工程式７)。脱保護反応条件は、モルホリン、パラジウム触媒のモル当量およびブロックコポリマーのモル質量(サイズ排除クロマトグラフィーおよび希釈液粘度測定法によって決定)における測定可能な減少を生じさせずにアリル保護基の定量的除去(＞98%、NMR分光法によって決定)を可能にする反応時間に関して最適化される。

【００３６】

【化６】



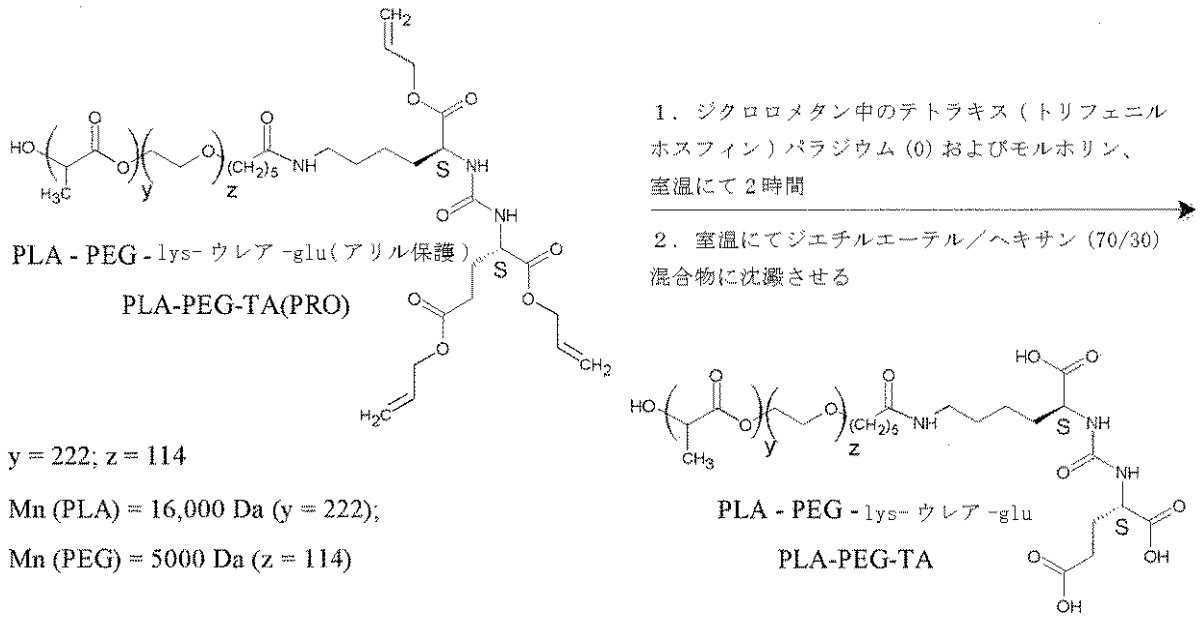
反応工程式６．モノマー溶融条件下、130℃にて、マクロイニシエーターとしてHO-PEG-lys（ウレア）glu（アリル保護）複合体、重合触媒としてスズ（II）2-エチルヘキサノエートを用いる環状ラクトンモノマーの開環重合によるポリ（D,L-ラクチド）-b-PEG-lys-ウレア-glu（アリル保護）複合体の合成

【００３７】

本願はまた、官能化ジブロックコポリマー PLA-PEG-lys-ウレア-glu(PLA-PEG-TA)からの残留パラジウムの除去について記述する。反応工程式８は、パラジウム汚染物質を取り除くために用いるいくつかの市販の樹脂の化学構造を示す。パラジウム除去ステップにおけるポリマー収量の損失を最小限に抑えてPLA-PEG-lys-ウレア-gluサンプルからパラジウムを除去するには、トリメルカプトトリアジド(TMT)官能性樹脂が好ましい。収量の損失は、TMT以外のパラジウム結合部分で官能化された樹脂が用いられる場合に見られる。これは、パラジウム結合部分結合樹脂とPLA-PEG-TA中のTAとの相互作用によるものである。

【００３８】

【化７】



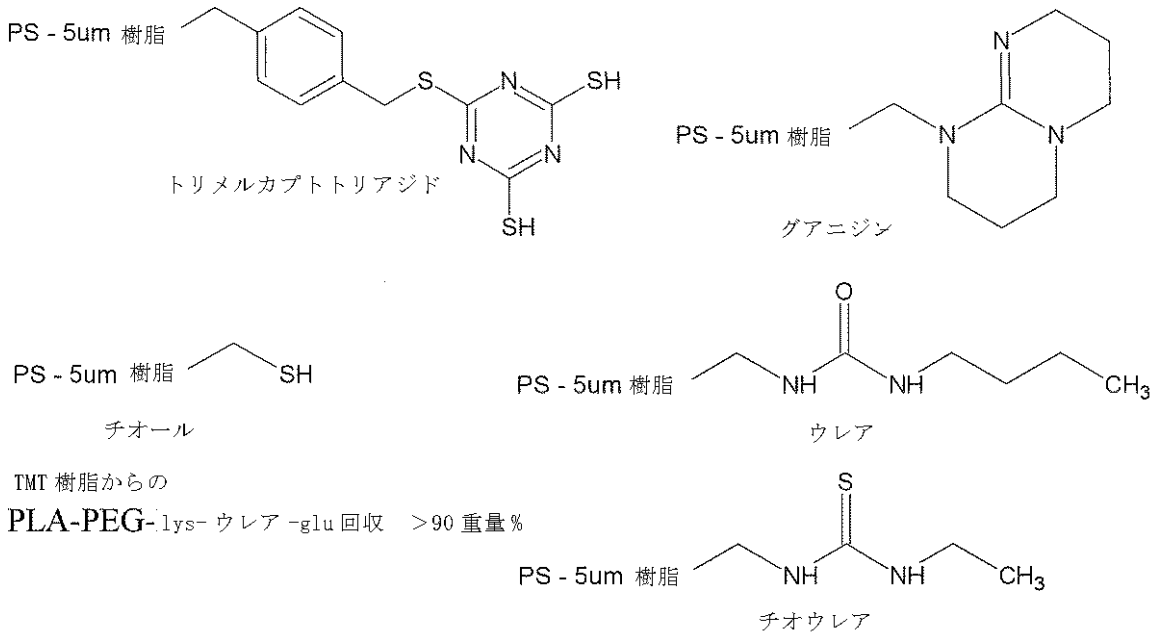
反応工程式７．モルホリン／ジクロロメタン溶液中のテトラキス（トリフェニルホスフィン）パラジウム（0）触媒を用いる、PLA-PEG-lys- ウレア -glu(PLA-PEG-TA) へのポリ（D,L- ラクチド）-b-PEG-lys- ウレア -glu（アリル保護）複合体(PLA-PEG-TA(PRO)）の変換

【００３９】

本願はまた、水溶液条件下での天然の非保護体での標的薬(TA)のヘテロ二官能性ポリ(エチレングリコール)への共有抱合について記述する。この方法は、lys-ウレア-gluまたは他のペプチドベース標的化リガンドなどの標的化部分の溶解度の高さを利用する。PEG-lys-ウレア-glu抱合体の溶解度特性は、ポリ(エチレングリコール)ポリマーによって支配される。したがって、lys-ウレア-gluとは違って、PEG-lys-ウレア-gluは、ジクロロメタン、ジメチルホルムアミド、テトラヒドロフラン、クロロホルムまたはジメチルスルホキシドなどの(これらに限定されるものではない)通例の有機溶媒に可溶である。これは、末端官能性ポリ(エステル)へのPEG-lys-ウレア-glu抱合体の共有カップリングを可能にして、PEG複合前のlys-ウレア-gluが不溶性であるか、またはやや溶けにくい有機溶媒条件下で所望のポリ(エステル)-PEG-lys-ウレア-glu(ポリ(エステル)-PEG-TA)が得られる。このアプローチは、「へのカップリング」アプローチとも呼ばれる。通例の溶媒における末端官能性ポリ(エステル)およびPEG-lys-ウレア-gluの完全な溶解は、高収量で所望のポリ(エステル)-PEG-TA官能性ブロックコポリマーを得るには極めて重要である。

【００４０】

【化８】



反応工程式８．市販のパラジウム除去樹脂の化学構造、PLA-PEG-lys- ウレア -glu からのパラジウム除去のための好ましい官能性は、トリメルカプトトリアジド（TMT）である

【００４１】

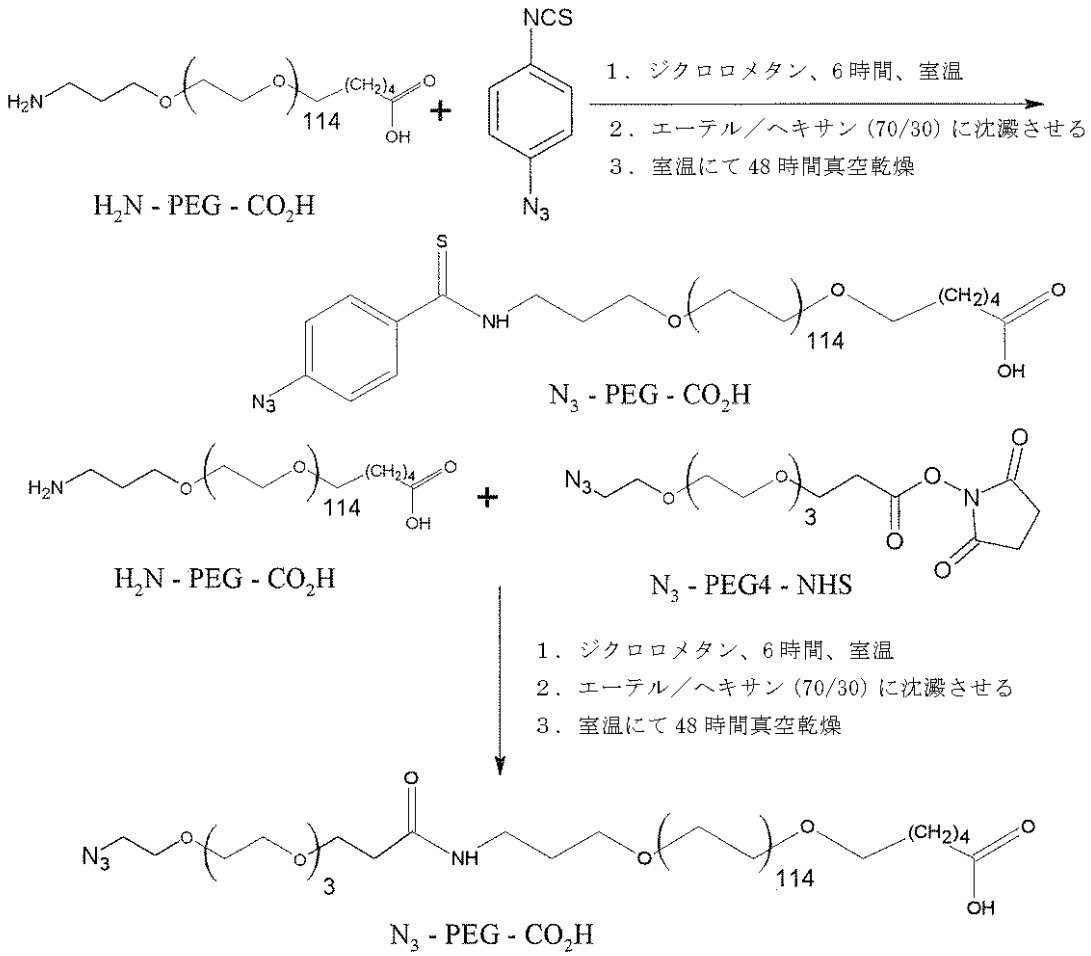
PEG-lys-ウレア-gluは、lys-ウレア-gluのカルボン酸部分により、副反応なしで進行する化学を用いて、末端官能性ポリ(エステル)に共有的にカップリングする。たとえば、α-アジド-ω-カルボン酸は、このようなPEGのカルボキシ末端とアミノ部分との反応によって、lys-ウレア-gluのアミノ部分に抱合することができる。

【００４２】

標的薬官能性PEGである、α-アジド-ω-(lys-ウレア-glu)ポリエチレングリコールは、標準的抱合法を用いるα-アミノ-ω-カルボキシ-ポリ(エチレングリコール)およびたとえば、4-アジドフェニル イソチオシアネート、O-(2-アジドエチル)-O-[2-ジグリコリル-アミノ)エチル]ヘプタエチレングリコールまたはアジド-PEG4-NHSなどの市販の出発物質からのα-アジド-ω-カルボキシポリエチレングリコール(N_3-PEG-CO_2H)などのヘテロ二官能性前駆体の合成によって製造することができる(反応工程式９)。次いで、ヘテロ二官能性ポリマーであるN_3-PEG-CO_2Hを、水性条件下、反応工程式１０に説明する方法を用いて、lys-ウレア-gluのアミン官能基と反応させる。

【００４３】

【化９】



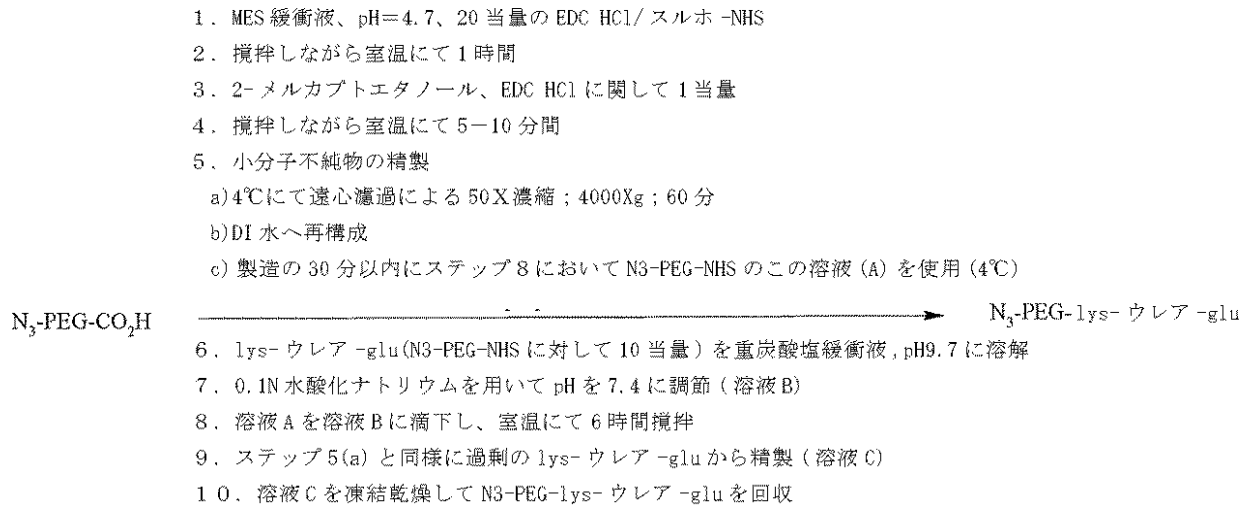
反応工程式９．従来の化学技術を用いる市販の出発物質からのN3-PEG-CO2Hの合成

【００４４】

別法として、有機溶解性エチルジメチルアミノプロピルカルボジイミド(EDC)、N-ヒドロキシスクシンイミド(NHS)およびジイソプロピルエチルアミン(DIEA)を用いる、ジクロロメタンなどの無水有機溶媒条件下でのN_3-PEG-CO_2Hのカルボキシ末端の活性化によってN_3-PEG-NHSを製造し、次いで、無水エーテル/ヘキサン(70/30)への沈澱によって精製することができる。次いで、濾過によって活性化ポリマー(N_3-PEG-NHS)を回収し、真空乾燥し、乾燥窒素下の乾燥環境にて保管(1ppmの水、乾燥グローブボックス内で48時間)した後、－20℃にて保管する。次いで、この方法によって製造されるN_3-PEG-NHSを用いて、反応工程式１０のステップ６～１０に概略するとおり、N_3-PEG-lys-ウレア-gluを製造する。

【００４５】

【化１０】



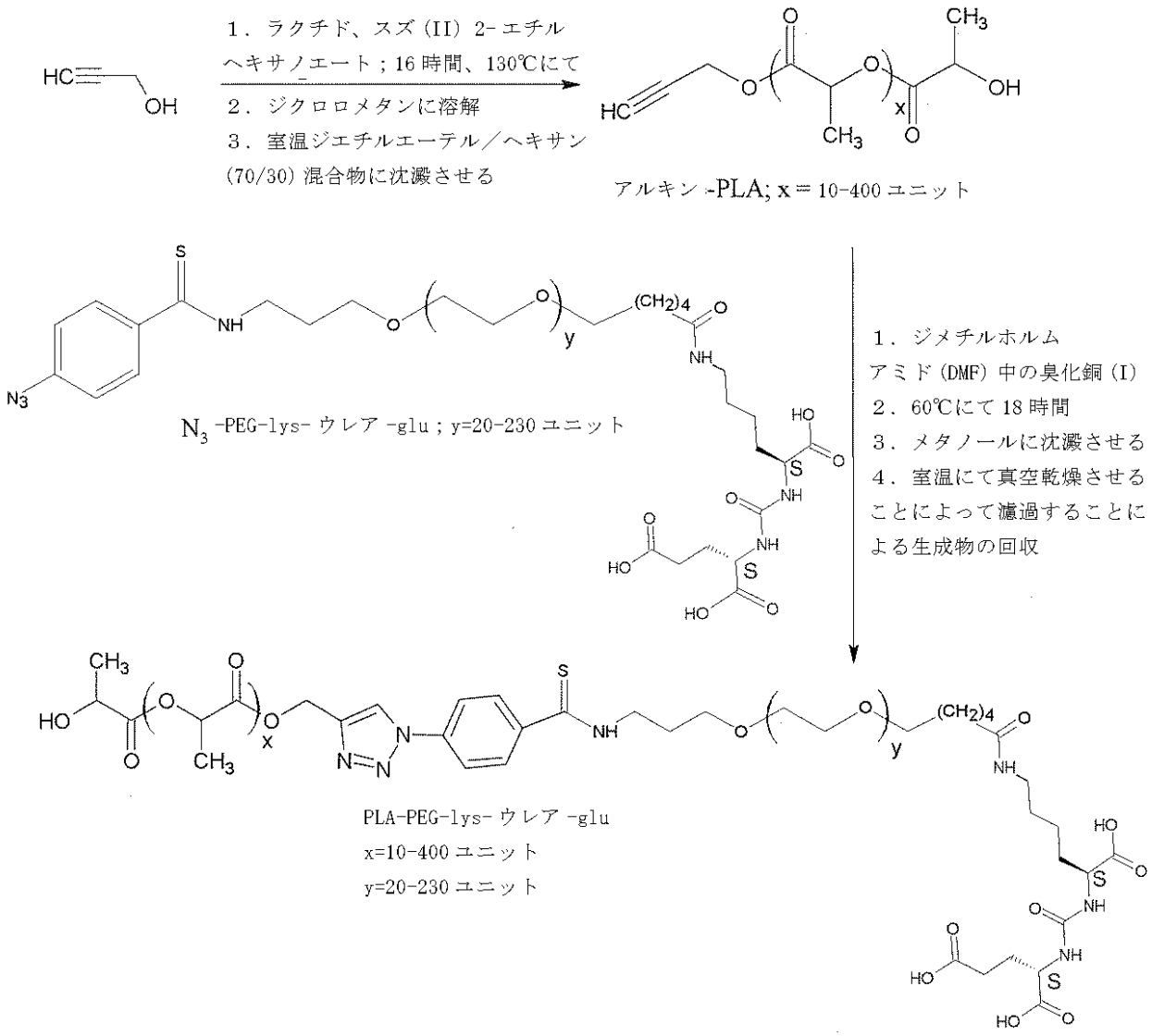
反応工程式１０．所望の生成物の収量を最大にするためのpH調節を用いる、N3-PEG-CO2Hからの水性条件下でのN3-PEG-lys-ウレア-gluの合成

【００４６】

上述したとおり、本願はまた、たとえば、ジメチルホルムアミド(DMF)などの有機溶媒条件下で硫酸銅触媒を用いるなどの十分に確率された「クリック」化学技術を用いる、そのα末端にアルキン部分を有し、そのω末端にヒドロキシ末端を有する末端官能性ポリ(エステル)へのN_3-PEG-lys-ウレア-gluの共有カップリングについて記述する(反応工程式１１)。lys-ウレア-gluのカルボン酸官能基は、ポリ(エステル)のアルキン官能基に対して反応性ではないので、この「クリック」化学法は、特に有用である。このような直交性化学は、可能な副反応を排除し、ポリ(エステル)-アルキンとN_3-PEG-lys-ウレア-gluとが長時間反応するのをを可能にする。さらに、たとえば、ポリ(エステル)-NHSなどを用いるアミド化化学とは違って、「クリック」化学は、感湿性ではなく、したがって、＞80%の末端官能化を提供する許容できる程度の共有的抱合を確実にすることにとって、無水条件の必要性は、極めて重要とはならない。

【００４７】

【化１１】



反応工程式１１．60℃にて臭化銅（I）触媒を用いるジメチルホルムアミド中のアルキン-PLAへのN3-PEG-lys-ウレア-gluの共有結合によるPLA-PEG-lys-ウレア-gluの合成

【００４８】

反応工程式６および７における「からの重合」アプローチは、以下の利点を有する：

１．開環重合におけるHO-PEG-TA(PRO)の使用は、TA重合触媒の官能基またはモノマーの間に交差反応性のないことを確実にし、それによって重合中の制御の喪失および汚染副産物が回避される。

２．副反応がないことは、ポリ(エステル)-PEG-TA(PRO)の分子量および組成の優れた制御を可能にする。

３．供給モノマーの組成および開始剤のモノマーに対する比率の調節は、広範囲の所望の組成および分子量のポリ(エステル)ブロックの合成を可能にする。ポリ(エステル)に対するPEGの比率もまた、容易に変えることができる。

４．PLA-PEG-TA(PRO)は、クロロホルム-d、DMSO-d6、DMF-d7またはTHF-d4などのNMR分光法に用いる通例の重水素で置換された有機溶媒に可溶である。このことは、ポリ(エステル)-PEG-TA(PRO)上のTA(PRO)末端基の程度ならびに絶対数平均分子量(M_n)などの極めて重要なポリマーの特徴に関する定量的情報を提供するポリ(エステル)-PEG-TA(PRO)のNMR分析を可能にする。提供されるポリ(エステル)-PEG-TAの相対的モル質量(たとえば、サイズ排除クロマトグラフィーまたは固有粘度などによって決定される)は、その保護された

前駆体(ポリ(エステル)-PEG-TA(PRO))のものに相当し、ポリ(エステル)-PEG-TA(PRO)の絶対M_n(NMR分光法によって決定される)は、前駆体のものと等しいとみなされる。このことは、ポリマーの特性の正確な決定を可能にする。

５．絶対M_nおよびTA末端基官能化の程度などのポリ(エステル)-PEG-TAの特性の正確な決定は、ポリ(エステル)-PEG-TAから製造されるナノ粒子の標的化特性を制御することにとって極めて重要である。このようなナノ粒子は、既知量のこの官能性ポリマー(ポリ(エステル)-PEG-TA)を非官能性ポリマー(ポリ(エステル)-PEG)と混合して、治療用ナノ粒子内の標的薬の程度を制御することによって製造される。

【００４９】

反応工程式６および７の「からの重合」アプローチは、以下の欠点を有する：

１．それは、保護されるTAの官能基を必要とする。このことは、TAが、開環重合を妨害する側鎖部分を含んでいる２つ以上アミノ酸残基または核酸に基づいている場合に、高価な、および／または、得るのが困難である出発物質の使用を必要とするかもしれない。

２．それは、所望のポリ(エステル)-PEG-TAを得るためのTA(PRO)の保護基の除去を必要とする。脱保護反応は、最終生成物から除去される必要がある重金属触媒の使用を必要とするかもしれない。このことは、医薬的に許容しうる純度のポリマー材料を提供するように十分な効率で達成するのが場合によっては困難であるかもしれない過程に、精製ステップを追加する。

【００５０】

「へのカップリング」アプローチは、以下の利点を有する：

１．それは、標的薬(TA(PRO))の高価な保護された類縁体を必要としない。

２．それは、所望のポリ(エステル)-PEG-TA ポリマーを得るためのTA(PRO)の脱保護を必要とせず、そのため、上述したような伴う欠点が回避される。

【００５１】

「へのカップリング」アプローチは、以下の欠点を有する：

１．それは、予め作成された末端官能性ポリ(エステル)を、PEG-TAに結合させることに依存しており、したがって、ポリ(エステル)の組成および分子量の制御は、カップリング反応にに先立って、さまざまな所望の特性をもつポリ(エステル)の合成を必要とする。

２．末端官能性ポリ(エステル)およびPEG-TAなどの高分子のカップリングは、ポリマーの拡散特性が乏しいために遅く、許容しうるカップリング効率(＞80%)を確実にするために、高濃度の試薬を用いての長い反応時間を必要とする。

３．この方法では、ポリ(エステル)-PEG-TAが得られる。末端基としてTAを有するジブロックコポリマーは、ポリ(エステル)-PEGポリマーおよびTAの溶解度特性が異なるために、NMR分光法によって分析するのが困難である。したがって、NMR分光法などの従来の方法を用いる末端基官能性および絶対M_nの定量的分析は、困難である。

【００５２】

「からの重合」および「へのカップリング」アプローチの利点および欠点を考慮して、TA(PRO)が高価である、および／または、得るのが困難であるか、または脱保護条件が困難であるか、またはそれが最終生成物を不可逆的に汚染する場合にのみ、後者が前者よりも好ましい。そうでなければ、多種多様のポリマー構造および組成へのアクセスが容易であること、ならびに、ポリ(エステル)-PEG-TA(PRO)、したがって、ポリマー構造の等価性が他の非絶対的であるが信頼できる分析方法によって確立されうる場合の最終生成物(ポリ(エステル)-PEG-TA)の解析評価が容易であることから、「からの重合」アプローチが好ましい。

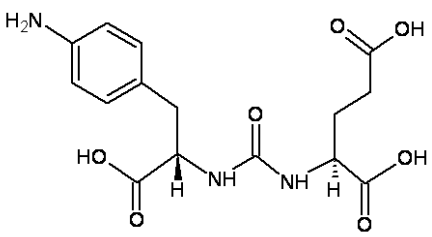
【００５３】

水性媒体中のポリ(エステル)-PEG-X ジブロックコポリマーの自己集合により、疎水性コアおよび親水性ポリ(エチレングリコール)コロナ(外側)を含むナノ粒子が得られる。疎水性コアは、生物活性／治療剤を有し、親水性コロナには、ナノ粒子表面上に標的薬が存在し、標的薬と標的部位に発現される対応する作用物質との相互作用を介して、標的部位(たとえば、罹患組織)にナノ粒子が選択的に結合するのを可能にする。

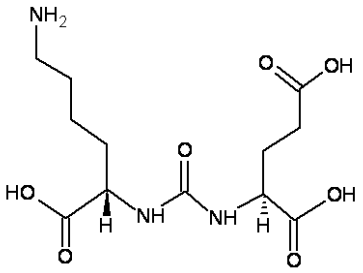
【００５４】

使用する略称の化学構造は、以下の通りである。

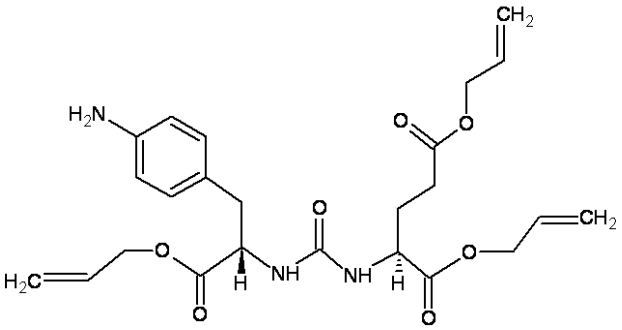
【化１２】



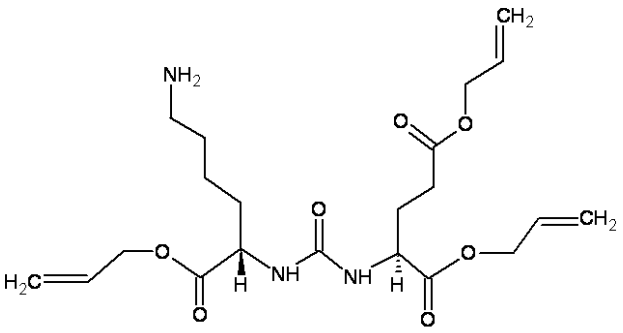
GL 1



GL 2

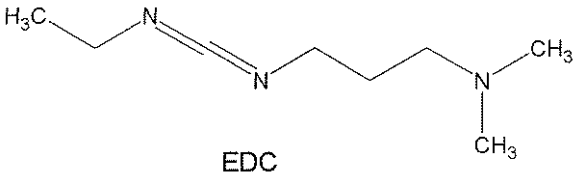


GL 1P

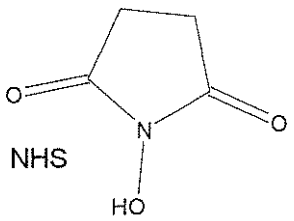


GL 2P

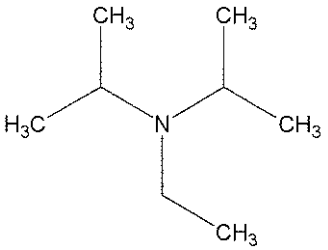
【化１３】



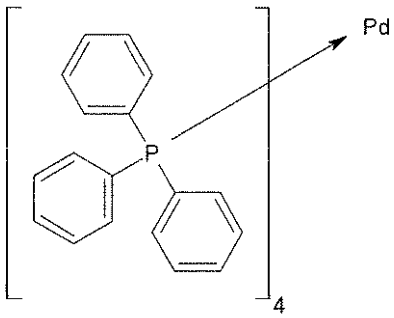
EDC



NHS



DIEA



Pd 触媒

【００５５】

生物活性部分／治療薬

上述したように、治療薬(生物活性部分)を、水性媒体または有機溶媒中で疎水性ナノ粒子コアに組み込むことができ、次いで、ナノ粒子を精製することができる。生物活性剤(治療薬)として、治療薬(たとえば、抗ガン剤など)、診断薬(たとえば、造影剤；放射性核種；および蛍光性、発光性および磁性部分など)、予防薬(たとえば、ワクチンなど)および／または栄養補助薬(たとえば、ビタミン、ミネラルなど)が挙げられるが、これらに限定されるものではない。本明細書に記載するように、生物活性剤は、本明細書に開示する

ように、個体に投与されてよい。本発明にしたがってデリバリーされる治療薬の例として、小分子(たとえば、細胞毒性薬など)、核酸(たとえば、siRNA、RNAiおよびmircoRNA剤)、タンパク質(たとえば、抗体など)、ペプチド、脂質、炭水化物、ホルモン、金属、b放射性元素および化合物、薬物、ワクチン、免疫剤など、および／またはその組み合わせが挙げられるが、これらに限定されるものではない。いくつかの実施態様において、デリバリーされる作用物質は、ガン(たとえば、前立腺ガンなど)の治療に有用な作用物質である。

【００５６】

本発明方法にしたがって作成されたナノ粒子内にデリバリーされうる治療薬の例として、ペニシリン、アミノペニシリン、ペニシリナーゼインヒビターおよび／または抗菌薬と併用するペニシリン、セファロスポリン、セファマイシンおよびカルバペネム、フルオロキノロン、テトラサイクリン、マクロライドおよびアミノグリコシドなどの作用物質が挙げられるが、これらに限定されるものではない。特定の例として、エリスロマイシン、亜鉛バシトラシン、ポリミキシン、硫酸ポリミキシンB、ネオマイシン、ゲンタマイシン、トブラマイシン、グラミシジン、シプロフロキサシン、トリメトプリム、オフロキサシン、レボフロキサシン、ガチフロキサシン、モキシフロキサシン、ノルフロキサシン、スルファセタミドナトリウム、クラロラムフェニコール、テトラサイクリン、アジスロマイシン、クラリスロマイシン、硫酸トリメトプリムおよびバシトラシンが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【００５７】

開示するナノ粒子に封入するのに適したさらに他の治療薬は、非ステロイド性(NSAID)およびステロイド性抗炎症薬(一般に、抗炎症薬と呼ばれる(COX-1およびCOX-2インヒビターの両方を含む))である。例として、コルチコステロイド、メドリゾン、プレドニゾロン、酢酸プレドニゾロン、リン酸プレドニゾロンナトリウム、フルオロメトロン、デキサメタゾン、リン酸デキサメタゾンナトリウム、ベタメタゾン、フルオロメタゾン、アンタゾリン、酢酸フルオロメトロン、リメキソロン、エタボン酸ロテプレドノール、ジクロフェナク(ジクロフェナクナトリウム)、ケトロラク、ケトロラクトロメタミン、ヒドロコルチゾン、ブロムフェナク、フルルビプロフェン、アンタゾリンおよびキシロメタゾリンが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【００５８】

本明細書に開示するナノ粒子に組み込むことができる他の治療薬として、抗ヒスタミン、肥満細胞安定剤およびその他の抗アレルギー薬が挙げられる。例として、クロモリンナトリウム、ロドキサミドトロメタミン、オロパタジンHCl、ネドクロミルナトリウム、フマル酸ケトチフェン、レボカバスチンHCL、アゼラスチンHCL、ペミロラスト(ペミロラストカリウム)、エピナスチンHCL、ナファゾリンHCL、エメダスチン、アンタゾリン、フェニラミン、クロモグリク酸ナトリウム、N-アセチル-アスパルチルグルタミン酸およびアンレキサノクスが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【００５９】

ナノ粒子に組み込むための潜在的に適した治療薬の他の非限定的例として、5-フルオロウラシル(5-FU)、CPT-11、10-ヒドロキシ-7-エチルカンプトテシン(SN38)、S-Iカペシタビン、フトラフール、5'デオキシフルオロウリジン、UFT、エニルウラシル、デオキシシチジン、5-アザシトシン、5-アザデオキシシトシン、アロプリノール、2-クロロアデノシン、アミノプテリン、メチレン-10-デアザアミノプテリン(MDAM)、オキサプラチン、ピコプラチン、テトラプラチン、サトラプラチン、白金-DACH、オルマプラチン、CI-973、JM-216およびその類縁体、9-アミノカンプトテシン、10,11-メチレンジオキシカンプトテシン、カレニテシン、9-ニトロカンプトテシン、TAS 103、L-フェニルアラニン・マスタード、イフォスファミドメフォスファミド、トロフォスファミド・カルムスチン、エポチロンA-E、トムデックス、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、カレニテシン、アシクロビル、バラシクロビル、ガンシクロビル、アマンタジン、リマンタジン、ラミブジン、ジドブジン、ベバシズマブ、トラスツズマブ、リツキシマブ、20-epi-1α、25 ジヒドロキ

シビタミンD3、4-イポメアノール、5-エチニルウラシル、9-ジヒドロタキソール、アビラテロン、アシビシン、アクラルビシン、塩酸アコダゾール、アクロニン、アシルフルベン、アデシペノール、アドゼレシン、アルデスロイキン、すべてのtkアンタゴニスト、アルトレタミン、アンバムスチン、アンボマイシン、酢酸アメタントロン、アミドックス、アミフォスチン、アミノグルテチミド、アミノレブリン酸、アムルビシン、アムサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アンドログラホリド、血管形成インヒビター、アンタゴニストD、アンタゴニストG、アンタレリックス、アントラマイシン、抗背側化形態形成タンパク質－１、抗エストロゲン、抗新生物薬、アンチセンスオリゴヌクレオチド、グリシン酸アフィジコリン、アポトーシス遺伝子モジュレーター、アポトーシス調節因子、アプリン酸、ARA-CDP-DL-PTBA、アルギニンデアミナーゼ、アスパラギナーゼ、アスペルリン、アスラクリン、アタメスタン、アトリムスチン、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキシナスタチン3、アザシチジン、アザセトロン、アザトキシン、アザチロシン、アゼテパ、アゾトマイシン、バッカチンIII誘導体、バラノール、バチマスタット、ベンゾクロリン、ベンゾデパ、ベンゾイルスタウロスポリン、βラクタム誘導体、βアレチン、βクラマイシンB、ベツリン酸、BFGFインヒビター、ビカルタミド、ビサントレン、塩酸ビサントレン、ビザズイジニルスペルミン(bisazuidinylspermine)、ビスナフィド、ジメシル酸ビスナフィド、ビストラテンA、ビゼレシン、ブレオマイシン、硫酸ブレオマイシン、BRC/ABLアンタゴニスト、ブレフレート、ブレキナールナトリウム、ブロピリミン、ブドチタン、ブスルファン、ブチオニンスルホキシミン、カクチノマイシン、カルシポトリオール、カルホスチンC、カルステロン、カンプトテシン誘導体、カナリポックスIL-2、カペシタビン、カラセライド(caraceraide)、カルベチマー、カルボプラチン、カルボキサミド-アミノ-トリアゾール、カルボキシアミドトリアゾール、カレスト(carest)M3、カルムチン、アーン700、軟骨由来インヒビター、塩酸カルビシン、カルゼレシン、カゼインキナーゼインヒビター、カスタノスペルミン、セクロピンB、セデフィンゴール、セトロレリクス、クロラムブシル、クロリン、クロロキノキサリンスルホンアミド、シカプロスト、シロレマイシン、シスプラチン、cis-ポルフィリン、クラドリビン、クロミフェン類縁体、クロトリマゾール、コリスマイシンA、コリスマイシンB、コンブレタスタチンA4、コンブレタスタチン類縁体、コナゲニン、クランベスシジン816、クリスナトール、メシル酸クリスナトール、クリプトフィシン8、クリプトフィシンA誘導体、キュラシンA、シクロペンタントラキノン、シクロホスファミド、シクロプラタム、シペマイシン、シタラビン、シタラビンオクホスファート、細胞溶解因子、サイトスタチン、デカルバジン、ダクリキシマブ、ダクチノマイシン、塩酸ダウノルビシン、デシタビン、デヒドロジデミンB、デスロレリン、デキシフォスファミド、デキソルマプラチン、デクスラゾキサン、デクスベラパミル、デザグアニン、メシル酸デザグアニン、ジアジクオン、ジデミンB、ジドックス、ジエチヒオルスペルミン(diethyhiorspermine)、ジヒドロ-5-アザシチジン、ジオキサマイシン、ジフェニルスピロムスチン、ドセタキセル、ドコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、塩酸ドキソルビシン、ドロロキシフェン、クエン酸ドロロキシフェン、プロピオン酸ドロモスタノロン、ドロナビノール、デュアゾマイシン、デュオカマイシンSA、エブセレン、エコムスチン、エダトレキセート、エデルホシン、エドレコロマブ、エフロミチン、塩酸エフロミチン、エレメン、エルサルミトルシン、エミテフル、エンロプラチン、エンプロメート、エピプロピジン、エピルビシン、塩酸エピルビシン、エプリステリド、エルブロゾール、赤血球遺伝子療法ベクターシステム、塩酸エソルビシン、エストラムスチン、エストラムスチン類縁体、リン酸エストラムスチンナトリウム、エストロゲンアゴニスト、エストロゲンアンタゴニスト、エタニダゾール、エトポシド、リン酸エトポシド、エトプリン、エキセメスタン、ファドロゾール、塩酸ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステリド、フラボピリドール、フレゼラスチン、フロクスウリジン、フルアステロン、フルダラビン、リン酸フルダラビン、塩酸フルオロダウノルビシン、フルオロウラシル、フルロシタビン、フォルフェニメックス、フォルメスタン、フォスキドン、フォストリエシン、フォストリエシンナトリウム、フォテムスチン、ガドリウムテキサフィリン、硝酸ガリウ

ム、ガロシタビン、ガニレリクス、ゼラチナーゼインヒビター、ゲムシタビン、塩酸ゲムシタビン、グルタチオンインヒビター、ヘプスルファム、ヘレグリン、ヘキサメチレンビスアセトアミド、ヒドロキシウレア、ヒペリシン、イバンドロン酸、イダルビシン、塩酸イダルビシン、イドキシフェン、イドラマントン、イフォスファミド、イルモフォスチン、イロマスタット、イミダゾアクリドン、イミキモド、免疫刺激ペプチド、インスリン様成長因子-1受容体インヒビター、インターフェロンアゴニスト、インターフェロンα-2A、インターフェロンα-2B、インターフェロンα-Nl、インターフェロンα-N3、インターフェロンβ-IA、インターフェロンγ-IB、インターフェロン、インターロイキン、イオベングアン、ヨードドキソルビシン、イプロプラツム(iproplatm)、イリノテカン、塩酸イリノテカン、イロプラクト、イルソグラジン、イソベンガゾール、イソホモハリコンドリンB、イタセトロン、ジャスプラキノリド、カハラリドF、ラメラリン-N三酢酸、ランレオチド、酢酸ランレオチド、レイナマイシン、レノグラスチム、硫酸レンチナン、レプトールスタチン、レトロゾール、白血病抑制因子、白血球αインターフェロン、酢酸リュープロリド、リュープロリド／エストロゲン／プロゲステロン、リュープロレリン、レバミソール、リアロゾール、塩酸リアロゾール、直鎖ポリアミン類似体、親油性二糖ペプチド、親油性白金化合物、リソクリナミド、ロバプラチン、ロンブリシン、ロメトレキソール、ロメトレキソールナトリウム、ロムスチン、ロニダミン、ロソキサントロン、塩酸ロソキサントロン、ロバスタチン、ロキソリビン、ルルトテカン、ルテチウムテキサフィリン、リソフィリン、細胞溶解性ペプチド、マイタンシン（maitansine）、マンノスタチンA、マリマスタット、マソプロコール、マスピン、マトリリシンインヒビター、マトリックスメタロプロテイナーゼインヒビター、マイタンシン（maytansine）、塩酸メクロレタミン、酢酸メゲストロール、酢酸メレンゲストロール、メルファラン、メノガリル、メルバロン、メルカプトプリン、メテレリン、メチオニナーゼ、メトトレキサート、メトトレキサートナトリウム、メトクロプラミド、メトプリン、メツレデパ、微細藻類プロテインキナーゼCインヒビター、MIFインヒビター、ミフェプリストン、ミルテホシン、ミリモスチム、ミスマッチ二本鎖RNA、ミチンドミド、ミトカルシン、ミトクロミン、ミトギリン、ミトグアゾン、ミトラクトール、ミトマルシン、ミトマイシン、ミトマイシン類似体、ミトナフィド、ミトスペル、ミトタン、ミトトキシン線維芽細胞増殖因子-サポリン、ミトキサントロン、塩酸ミトキサントロン、モファロテン、モルグラモスチム、モノクローナル抗体、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、モノホスホリルリピドA／ミオバクテリウム細胞壁SK、モピダモール、多剤耐性遺伝子インヒビター、多腫瘍サプレッサー１に基づく療法、マスタード系抗癌剤、マイカペルオキシドB、マイコバクテリア細胞壁抽出物、ミコフェノール酸、ミリアポロン、N-アセチルジナリン、ナファレリン、ナグレスチップ、ナロキソン／ペンタゾシン、ナパビン、ナフテルピン、ナルトグラスチム、ネダプラチン、ネモルビシン、ネリドロン酸、中性エンドペプチダーゼ、ニルタミド、ニサマイシン、一酸化窒素モジュレーター、ニトロキシド抗酸化剤、ニトルリン、ノコダゾール、ノガラマイシン、Ｎ－置換ベンズアミド、O6-ベンジルグアニン、オクトレオチド、オキセノン、オリゴヌクレオチド、オナプリストン、オンダンセトロン、オラシン、経口サイトカイン誘導薬、オルマプラチン、オサテロン、オキサリプラチン、オキサウノマイシン、オキシスラン、パクリタキセル、パクリタキセル類似体、パクリタキセル誘導体、パラウアミン、パルミトイルリゾキシン、パミドロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、パラバクチン、パゼリプチン、ペガスパルガーゼ、ペルデシン、ペリオマイシン、ペンタムスチン、ペントサンポリ硫酸ナトリウム、ペントスタチン、ペントロゾール、硫酸ペプロマイシン、ペルフルブロン、ペルホスファミド、ペリリルアルコール、フェナジノマイシン、酢酸フェニル、ホスファターゼインヒビター、ピシバニール、塩酸ピロカルピン、ピポブロマン、ピポスルファン、ピラルビシン、ピリトレキシム、塩酸ピロキサントロンン、プラセチンA、プラセチンB、プラスミノーゲン活性化因子インヒビター、白金錯体、白金化合物、白金-トリアミン錯体、プリカマイシン、プロメスタン、ポルフィマーナトリウム、ポルフィロマイシン、プレドニムスチン、塩酸プロカルバジン、プロピルビスアクリドン、プロスタグランジンJ2、前立腺ガン抗アンドロゲン、プロテアソームインヒビター、プロ

テインAに基づく免疫調節因子、プロテインキナーゼCイソヒビター、タンパク質チロシンホスファターゼイソヒビター、プリンヌクレオシドホスホリラーゼイソヒビター、プロマイシン、塩酸プロマイシン、プルプリン、ピラゾロアクリジン、ピリドキシル化ヘモグロビンポリオキシエチレン抱合体、RAFアンタゴニスト、ラルチトレキセド、ラモセトロン、RASファルネシルタンパク質転移酵素イソヒビター、RASイソヒビター、RAS-GAPイソヒビター、脱メチル化レテリプチン、エチドロン酸レニウムRe186、リゾキシン、リボプリン、リボザイム、RIIレチナミド、RNAi、ログレチミド、ロヒツキン、ロムルチド、ロキニメクス、ルビギノンB1、ルボキシル、サフィンゴール、塩酸サフィンゴール、サイントピン、SarCNU、サルコフィトールA、サルグラモスチム、Sdi 1模倣薬、セムスチン、老化由来イソヒビター1、センスオリゴヌクレオチド、シグナル伝達イソヒビター、シグナル伝達調節因子、シムトラゼン、一本鎖抗原結合タンパク質、シゾフィラン、ソブゾキサン、ボロカプタートナトリウム、フェニル酢酸ナトリウム、ソルベロール、ソマトメジン結合タンパク質、ソネルミン、スパルホサートナトリウム、スパルホス酸、スピカマイシンD、塩酸スピロゲルマニウム、スピロムスチン、スピロプラチン、スプレノペンチン、スポンジスタチン1、スクアラミン、幹細胞イソヒビター、幹細胞分裂イソヒビター、スチピアミド、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ストロメライシンイソヒビター、スルフィノシン、スロフェヌル、超反応性
血管作用性腸ペプチドアンタゴニスト、スラジスタ、スラミン、スワインソニン、合成グリコサミノグリカン、タリソマイシン、タリムスチン、タモキシフェンメチオジド、タウロムスチン、タザロテン、テコガランナトリウム、テガフル、テルラピリリウム、テロメラーゼイソヒビター、塩酸テロキサントロン、テモポルフィン、テモゾロミド、テニポシド、テロキシロン、テストラクトン、テトラクロロデカオキシド、テトラゾミン、タリブラスチン、タリドミド、チアミプリン、チオコラリン、チオグアニン、チオテパ、トロンボポエチン、トロンボポエチン模倣薬、チマルファシン、チモポイエチン受容体アゴニスト、チモトリナン、甲状腺刺激ホルモン、チアゾフリン、スズエチルエチオプルプリン、チラパザミン、二塩化チタノセン、塩酸トプテカン、トプセンチン、トレミフェン、クエン酸トレミフェン、全能幹細胞因子、翻訳イソヒビター、酢酸テストステロン、トレチノイン、トリアセチルウリジン、トリシリビン、リン酸トリシリビン、トリメトレキサート、グルクロン酸トリメトレキサート、トリプトレリン、トロピセトロン、塩酸ツブロゾール、ツロステリド、チロシンキナーゼイソヒビター、チルホスチン、UBCイソヒビター、ウベニメクス、ウラシルマスタード、ウレデパ、尿生殖洞-由来増殖阻害因子、ウロキナーゼ受容体アンタゴニスト、バプレオチド、バリオリンB、ベラレソール、ベラミン、ベルジン、ベルテポルフィン、硫酸ビンブラスチン、硫酸ビンクリスチン、ビンデシン、硫酸ビンデシン、硫酸ビネピジン、硫酸ビングリシネート、硫酸ビンリューロシン、ビノレルビン、酒石酸ビノレルビン、硫酸ビンロシジン、ビンキサルチン、硫酸ビンゾリジン、ビタキシン、ボロゾール、ザノテロン、ゼニプラチン、ジラスコルブ、ジノスタチン、ジノスタチンスチマラマーまたは塩酸ゾルビシンおよびその組み合わせなどの抗ガン剤が挙げられる。

【００６０】

１つの実施態様において、本発明のナノ粒子は、治療薬としてsiRNAを含むことができる。siRNA分子が、約10～50以上のヌクレオチドの長さを有するのが好ましい。siRNA分子が、約15～45ヌクレオチドの長さを有するのがより好ましい。siRNA分子が、約19～40ヌクレオチドの長さを有するのがよりさらに好ましい。siRNA分子が、約21～23ヌクレオチドの長さを有するのがなおよりさらに好ましい。本発明のsiRNAが、標的mRNAに対してRNAiを媒介するのが好ましい。すべての残基が標的分子中の残基に対して相補的であるように、siRNA分子を設計することができる。別法として、１つ以上の置換基を分子内に作成して、安定性を増大させるか、および／または、該分子の処理活性を強化することができる。置換は、鎖内に作成することができるか、または該鎖の末端の残基に作成することができる。

【００６１】

開示するナノ粒子において治療薬として用いるsiRNAを修飾して、インビボまたはインビトロのいずれかにおける安定性を改善することができる。安定性を強化するために、3'-残基を分解に対して安定化させてもよく、たとえば、プリンヌクレオチド、特に、アデノシンまたはグアノシンヌクレオチドからなるように、該残基を選択してもよい。別法として、修飾類縁体によるピリミジンヌクレオチドの置換、たとえば、2'-デオキシチミジンによるウリジンの置換は、容認され、RNA妨害の効率に影響を及ぼさない。たとえば、2'ヒドロキシルの不在は、siRNAのヌクレアーゼ耐性を有意に強化する。

【００６２】

アムビオン・インコーポレオテッｄｐ(オースチン、TX)およびMITのホワイトヘッド・インスティチュート・オブ・バイオメディカル・リサーチ(ケンブリッジ、MA)から入手しうるものなどの市販の設計ツールおよびキットにより、siRNAを設計および製造することができる。例として、所望のmRNA配列を、センスおよびアンチセンス標的鎖配列を生成する配列プログラムに入れることができる。次いで、これらの配列を、センスおよびアンチセンスsiRNAオリゴヌクレオチドテンプレートを決定するプログラムに入れることができる。このプログラムは、たとえば、ヘアピンインサートまたはT1プロモーター配列などを加えるのに用いることもできる。次いで、キットを利用して、発現カセットを構築することもできる。

【００６３】

さまざまな実施態様において、siRNAは、インビボ、インサイチュおよびインビトロで合成される。内因性RNAポリメラーゼは、インビボまたはインサイチュの転写を媒介することができ、あるいはクローン化RNAポリメラーゼは、インビボまたはインビトロの転写に用いることができる。インビボのトランスジーンまたは発現構築物からの転写のために、調節領域（たとえば、プロモーター、エンハンサー、サイレンサー、スプライスドナーおよびアクセプター、ポリアデニル化など）を用いて、siRNAを転写することができる。阻害は、臓器、組織または細胞型における特異的転写；環境条件の刺激（たとえば、感染、ストレス、温度、化学誘導物質など）；および／または発達段階もしくは年齢における転写を工作することによって標的化される。組換え構築物からのsiRNAを発現するトランスジェニック微生物は、接合子、胚幹細胞または適当な生物から誘導されたその他の多能性細胞に構築物を導入することによって産生されうる。

【００６４】

１つの実施態様において、siRNA分子は、少なくとも１つの細胞タンパク質（たとえば、核タンパク質、細胞質タンパク質、膜貫通タンパク質または膜結合タンパク質など）をコードするmRNAを標的とする。もう１つの実施態様において、siRNA分子は、１つ以上の細胞外タンパク質（たとえば、細胞外マトリックスタンパク質または分泌タンパク質など）をコードするmRNAを標的とする。このように、標的mRNAは、発生関連タンパク質(たとえば、接着分子、サイクリンキナーゼインヒビター、Wntファミリーのメンバー、Paxファミリーのメンバー、Winged ヘリックスファミリーのメンバー、Hoxファミリーのメンバー、サイトカイン/リンホカインおよびその受容体、増殖/分化因子およびその受容体、神経伝達物質およびその受容体など)；腫瘍遺伝子をコードするタンパク質(たとえば、ABLI、BCLI、BCL2、BCL6、CBFA2、CBL、CSFIR、ERBA、ERBB、EBRB2、ERBB2、ERBB3、ETSI、ETSI、ETV6、FGR、FOS、FYN、HCR、HRAS、JUN、KRAS、LCK、LYN、MDM2、MLL、MYB、MYC、MYCLI、MYCN、NRAS、PIM 1、PML、RET、SRC、TALI、TCL3およびYESなど)；腫瘍抑制タンパク質(たとえば、APC、BRCA1、BRCA2、MADH4、MCC、NF 1、NF2、RB 1、TP53またはWTIなど)；および酵素(たとえば、ACCシンターゼおよびオキシダーゼ、ACPデサチュラーゼおよびヒドロキシラーゼ、ADPグルコースピロホスホリラーゼ、アセチラーゼおよびデアセチラーゼ、ATPアーゼ、アルコールデヒドロゲナーゼ、アミラーゼ、アミログルコシダーゼ、カタラーゼ、セルラーゼ、カルコンシンターゼ、キチナーゼ、シクロオキシゲナーゼ、デカルボキシラーゼ、デキストリナーゼ、DNAおよびRNAポリメラーゼ、ガラクトシダーゼ、グルカナーゼ、グルコースオキシダーゼ、顆粒結合デンプン合成酵素、GTPアーゼ、ヘリカーゼ、ヘミセルラーゼ、インテグラーゼ、イヌリナーゼ、インベルターゼ、イソメラー

ゼ、キナーゼ、ラクターゼ、リパーゼ、リポキシゲナーゼ、リゾチーム、ノパリン合成酵素、オクトピン合成酵素、ペクチンエステラーゼ、ペルオキシダーゼ、ホスファターゼ、ホスホリパーゼ、ホスホリラーゼ、フィターゼ、植物成長調節因子合成酵素、ポリガラクツロナーゼ、プロテイナーゼおよびペプチダーゼ、プルラナーゼ、レコンビナーゼ、逆転写酵素、RUBISCO、トポイソメラーゼまたはキシラナーゼなど)をコードすることができる。標的mRNAは、腫瘍増殖(血管新生を含む)または転移活性もしくは潜在力(たとえば、細胞表面受容体およびそのリガンドなど)に関与するタンパク質をコードすることもできる。標的mRNAは、１つ以上の分泌タンパク質、細胞周期制御タンパク質、遺伝子調節タンパク質、アポトーシス調節タンパク質または免疫応答、炎症、補体カスケードもしくは血液凝固系に関与するタンパク質をコードすることもできる。siRNA構築物が設計することができる標的mRNAのさらなる例として、c-myc、c-myb、mdm2、PKA-I(I型プロテインキナーゼA)、Ras、c-Rafキナーゼ、CDC25ホスファターゼ、サイクリン、サイクリン依存性キナーゼ(cdks)、テロメラーゼ、PDGF/sisおよびmosが挙げられる。siRNAは、たとえばBcr/Abl融合腫瘍遺伝子などの、染色体転座によって生じる融合遺伝子によってコードされるmRNAを標的化するのに用いることもできる。siRNAは、サイクリン依存性キナーゼ、増殖性細胞核抗原(PCNA)、形質転換成長因子β(TGF-β)、核因子κB(NF-κB)、E2F、HER-2/neu、PKA、TGF-α、EGFR、TGF-β、IGFIR、P12、MDM2、VEGF、MDR、トランスフェリン、フェリチン、フェリチン受容体、トランスフェリン受容体、IRE、C-fos、HSP27、メタロチオネインなどのタンパク質をコードするmRNAに対しても標的化されうる。

【００６５】

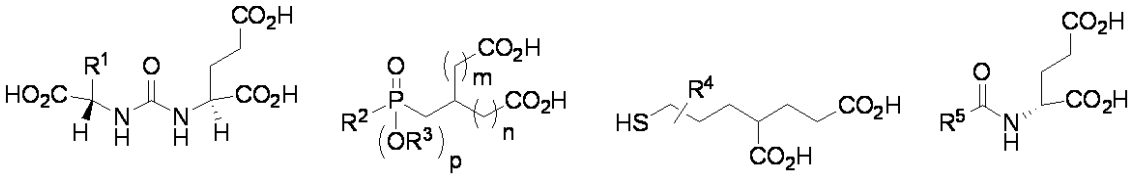
標的薬

上述したように、本発明によって製造されるナノ粒子は、官能化PEG部分を介して１つ以上の標的薬を組み込むことができる。適当な標的薬として、たとえば、通例、腫瘍またはガン細胞によって過剰発現されるポリペプチドに結合する抗体およびポリペプチドなどが挙げられる。このようなポリペプチドの限定されない例は、上皮成長因子受容体(EGFR)、ソマトスタチン受容体(SSTR)、インスリン様成長因子受容体、葉酸受容体、HER2受容体、インターロイキン13受容体、ガストリン放出ペプチド受容体、CD30、血管作動性腸管ペプチド受容体、ガストリン受容体、前立腺特異抗原およびエストロゲン受容体である。

【００６６】

官能化PEGを介して開示するナノ粒子にカップリングさせるのに適した標的薬のもう１つの例は、小分子リガンドである。このような小分子リガンドを用いて、特定の標的タンパク質を発現するガンを標的化することができる。たとえば、前立腺特異的膜抗原(PSMA)を発現する腫瘍またはガン(前立腺ガン、非小細胞肺ガン、結腸直腸癌およびグリア芽腫、ならびに腫瘍新生血管においてPSMAを発現している固形腫瘍などが挙げられるが、これらに限定されるものではない)については、PSMAリガンドを用いることができる。いくつかの実施態様において、低分子量PSMAリガンドは、式I、II、IIIまたはIV：

【化１４】



I　II　III　IV

［式中、mおよびnは、それぞれ独立して、0、1、2または3であり；

pは、0または1であり；

R^1、R^2、R^4およびR^5は、それぞれ独立して、置換または非置換アルキル(たとえば、C_{1-10}-アルキル、C_{1-6}-アルキルまたはC_{1-4}-アルキルなど)、置換または非置換アリール(たとえば、フェニルまたはピリジルなど)およびそのいずれかの組み合わせから選ばれ；および

R^3は、HまたはC_{1-6}-アルキル(たとえば、CH_3など)である］

の化合物およびそのエナンチオマー、立体異性体、回転異性体、互変異性体、ジアステレオマーまたはそのラセミ化合物である。

【００６７】

式I、II、IIIおよびIVの化合物にとって、R^1、R^2、R^4およびR^5は、ナノ粒子のPEG部分内のナノ粒子への結合点を構成する。結合点は、共有結合、イオン結合、水素結合、化学吸着および物理吸着などの吸着によって形成される結合、ファンデルワールス結合から形成される結合、または分散力から形成される結合によって形成される。たとえば、もしR^1、R^2、R^4またはR^5が、アニリンまたはC_{1-6}-アルキル-NH_2基と定義されるならば、これらの官能基のいずれかの水素(たとえば、アミノ水素など)は、低分子量PSMAリガンドがポリマーマトリックス(たとえば、ポリマーマトリックスのPEGブロックなど)に共有的に結合するように除去されうる。本明細書で用いる用語「共有結合」は、少なくとも１対の電子を共有することによって形成される２つの原子の間の結合を意味する。

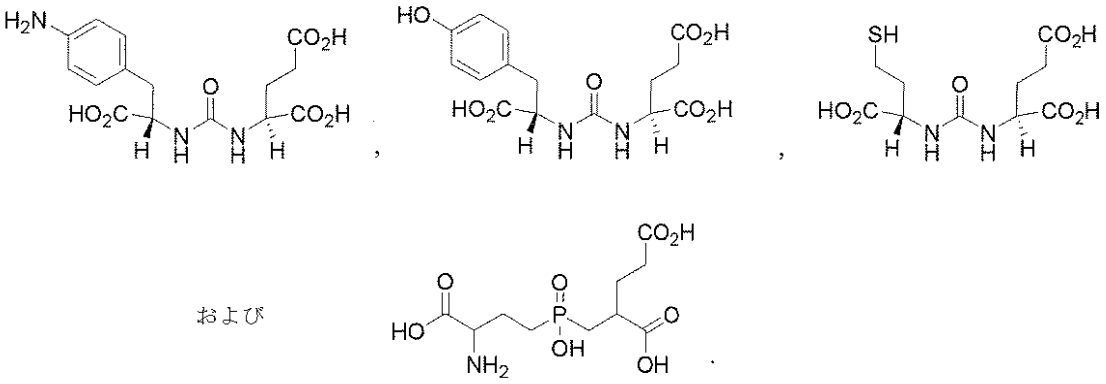
【００６８】

式I、II、IIIまたはIVの特定の実施態様において、R^1、R^2、R^4およびR^5は、それぞれ独立して、C_{1-6}-アルキルもしくやフェニル、またはC_{1-6}-アルキルもしくはフェニルのいずれかの組み合わせであり、H、SH、NH_2またはCO_2Hで独立して１回以上置換される(ここで、アルキル基は、N(H)、SまたはOによって中断されてもよい)。もう１つの実施態様において、R^1、R^2、R^4およびR^5は、それぞれ独立して、CH_2-Ph、$(CH_2)_2$-SH、CH_2-SH、$(CH_2)_2C(H)(NH_2)CO_2H$、$CH_2C(H)(NH_2)CO_2H$、$CH(NH_2)CH_2CO_2H$、$(CH_2)_2C(H)(SH)CO_2H$、CH_2-N(H)-Ph、O-CH_2-PhまたはO-$(CH_2)_2$-Phであり、ここで、各Phは、OH、NH_2、CO_2HまたはSHで独立して１回以上置換されてもよい。これらの式にとって、NH_2、OHまたはSH基は、ナノ粒子への共有結合点としての機能を果たす(たとえば、-N(H)-PEG、-O-PEGまたは-S-PEGなど)。

【００６９】

さらにもう１つの実施態様において、低分子量PSMAリガンドは、式：

【化１５】



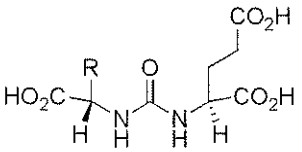
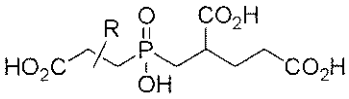
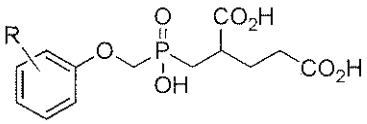
および

の化合物およびそのエナンチオマー、立体異性体、回転異性体、互変異性体、ジアステレオマーまたはそのラセミ化合物から選ばれ、ここで、NH_2、OHまたはSH基は、ナノ粒子への共有結合点としての機能を果たす(たとえば、-N(H)-PEG、-O-PEGまたは-S-PEGなど)。

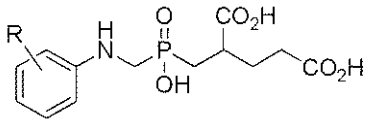
【００７０】

もう１つの実施態様において、低分子量PSMAリガンドは、式：

【化１６】


,

,


および

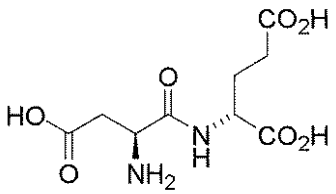
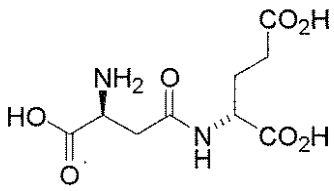
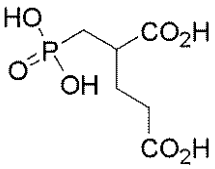

,

［式中、Rは、独立して、NH_2、SH、OHまたはCO_2Hで置換されるNH_2、SH、OH、CO_2H、C_{1-6}-アルキル、NH_2、SH、OHまたはCO_2Hおよびで置換されるフェニルから選ばれる］
の化合物およびそのエナンチオマー、立体異性体、回転異性体、互変異性体、ジアステレオマーまたはそのラセミ化合物から選ばれ、ここで、Rは、ナノ粒子への共有結合点としての機能を果たす(たとえば、-N(H)-PEG、-S-PEG、-O-PEGまたはCO_2-PEGなど)。

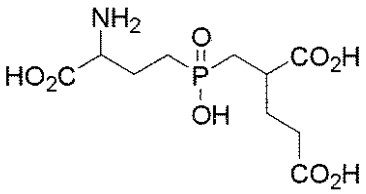
【００７１】

もう１つの実施態様において、低分子量PSMAリガンドは、式：

【化１７】


,

,

,

および

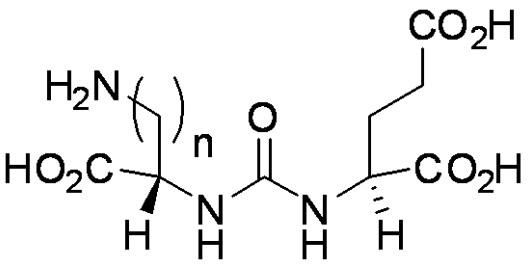

,

の化合物およびそのエナンチオマー、立体異性体、回転異性体、互変異性体、ジアステレオマーまたはそのラセミ化合物から選ばれ、ここで、NH_2またはCO_2H基は、ナノ粒子への共有結合点としての機能を果たす(たとえば、-N(H)-PEGまたはCO_2-PEGなど)。これらの化合物は、NH_2、SH、OHまたはCO_2Hで置換されるNH_2、SH、OH、CO_2H、C_{1-6}-アルキル、またはNH_2、SH、OHまたはCO_2Hで置換されるフェニルでさらに置換されてもよく、ここで、これらの官能基は、ナノ粒子への共有結合点としての機能も果たす。

【００７２】

もう１つの実施態様において、低分子量PSMAリガンドは、式：

【化１８】



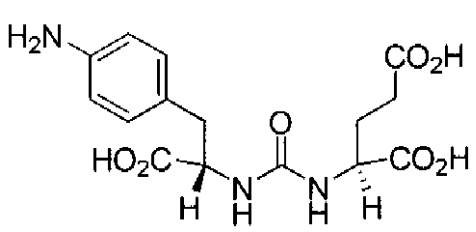
［式中、nは、1、2、3、4、5または6である］
の化合物およびそのエナンチオマー、立体異性体、回転異性体、互変異性体、ジアステレオマーまたはそのラセミ化合物である。このリガンドにとって、NH_2基は、ナノ粒子への

共有結合点としての機能を果たす(たとえば、-N(H)-PEGなど)。

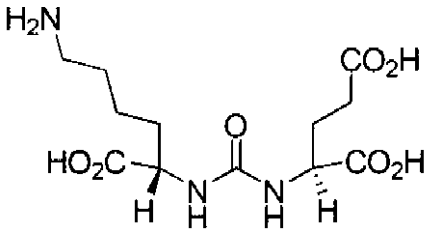
【００７３】

さらにもう１つの実施態様において、低分子量PSMAリガンドは、式：

【化１９】



または

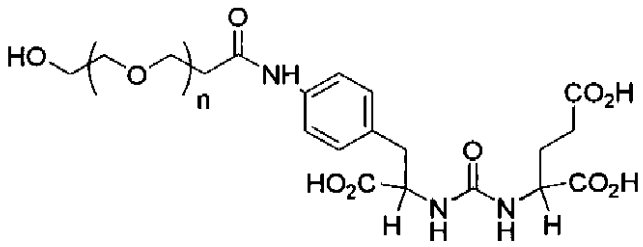


の化合物およびそのエナンチオマー、立体異性体、回転異性体、互変異性体、ジアステレオマーまたはそのラセミ化合物である。特に、ブチル-アミン化合物は、特に、ベンゼン環が無いと言う理由から、合成の容易さという利点を有する。さらに、理論に束縛されるものではないが、ブチル-アミン化合物は、おそらく天然に存在する分子に分解し、それによって毒性の懸念を最小化するだろう。

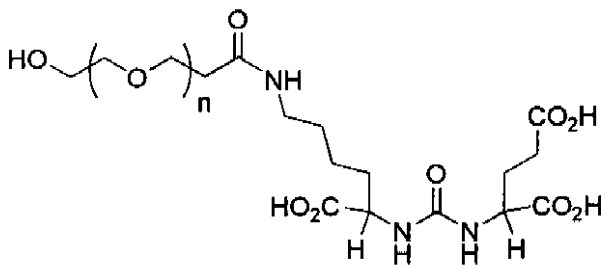
【００７４】

これらのリガンドにとって、NH_2基は、ナノ粒子への共有結合点としての機能を果たす(たとえば、-N(H)-PEGなど)。したがって、本発明は、たとえば、

【化２０】



または



［式中、nは、20～1720である］

などの、化合物のアミン置換基が、ポリ(エチレングリコール)に共有的に抱合する、上記の低分子量PSMAリガンドを提供する。

【００７５】

上述したように、本発明のもう１つの態様は、標的薬および／または生物活性部分／治療薬に複合したPEGポリマーを提供する。

【００７６】

ナノ粒子組成物およびその使用

開示の方法にしたがって製造されたナノ粒子は、単独または組成物として投与されることができる。ナノ粒子が組成物として投与される場合、組成物は、医薬(たとえば、生理学的に許容しうる)組成物でありうる。組成物は、担体(たとえば、医薬的または生理学的に許容しうる担体など)およびナノ粒子を含む。どのような適当な担体(たとえば、水、生

理食塩水およびPBSなど)でも本発明に用いることができ、そのような担体は、当業者で公知である。担体の選択は、1つには、組成物が投与されるべき特定の部位および組成物を投与するのに用いる特定の方法によって決定される。適当な担体ならびに本発明組成物に用いるのに適した他の成分は、当業界で公知である(たとえば、Remington's Pharmaceutical Sciences、17版(マック・パブリッシング・カンパニー、フィラデルフィア、Pa.：1985)など)。さらに、組成物は、抗ガン／化学療法薬などのさらなる活性剤を含むことができる。

【００７７】

ナノ粒子およびその組成物は、特定の障害および疾患を治療または予防するために患者に投与することができる。本発明にしたがって治療されうる疾患または障害の非限定的例として、肺ガン、乳ガン、前立腺ガン、頭頸部ガン、卵巣ガン、皮膚ガン、精巣ガン、膵臓ガン、食道ガン、結腸直腸ガン、腎臓ガン、子宮頸ガン、消化管ガンなどのガンおよびその組み合わせが挙げられる。ナノ粒子またはその組成物は、治療有効量で患者に投与されるのが好ましい。

【００７８】

治療有効量は、特定の疾患または障害を治療または予防するために必要なナノ粒子の量を意味する。たとえば、本明細書に開示するナノ粒子を用いて、腫瘍の増殖を阻害する、腫瘍またはガン細胞の増殖、浸潤または転移を阻害または低下する、腫瘍またはガンの増殖を遅延化させる、または腫瘍の大きさを減少させることができる。

【００７９】

どのような投与経路でも、ナノ粒子を患者にデリバリーするのに用いることができる。適当な投与経路として、筋肉内注射、経皮投与、吸入、組織(たとえば、腫瘍／ガン組織など)への局所適用、腫瘍内投与および非経口投与(たとえば、静脈内、腹膜、動脈内、皮下、直腸または膣内投与など)が挙げられる。適切な投与経路は、当業者によって容易に決定されうる。

【００８０】

上述したように、ナノ粒子を含む組成物は、ガン、特に前立腺特異的膜抗原(PSMA)を発現するガンの１つ以上の症状の治療または予防または改善に有用でありうる。これらのガンとして、前立腺ガン、非小細胞肺ガン、結腸直腸癌および腫瘍新生血管においてPSMAを発現している固形腫瘍が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【００８１】

さまざまな非限定的実施態様として、以下のものが挙げられる：

1．標的薬を提供し；

官能化ポリ(エチレングリコール)(PEG)ポリマーを提供し；

標的薬リガンドを提供し；

官能化ポリ(エチレングリコール)ポリマーを標的薬と反応させて、標的薬-PEGポリマー複合体を形成し；次いで

標的薬-PEGポリマー複合体を第２のポリマーおよび治療薬と混合して、ナノ粒子を形成すること；

［ここで、PEGポリマーは、1,000-20,000 Da(たとえば、5,000-20,000、たとえば、10,000-20,000)、いくつかの特定の実施態様において、5000 Daの分子量を有し；第２のポリマーは、5,000-100,000 Da(たとえば、20,000-70,000、たとえば、20,000-50,000)またはいくつかの特定の実施態様において、15,000-30,000 Daの分子量を有する］

を含むナノ粒子の製造方法。

2．ポリ(エチレングリコール)が、ヘテロ二官能性であり、該標的薬が、該ポリ(エチレングリコール)のα末端に共有的に結合し、少なくとも１つの重合開始官能基が、該ポリ(エチレングリコール)のω末端に存在する、実施態様１に記載の方法。

3．該少なくとも１つの重合開始官能基が、遊離ω末端にあるヒドロキシル(-OH)基またはアミン($-NH_2$)基である、実施態様２に記載の方法。

4．第２のポリマーが、２つ以上のポリマーの混合物を含み、そして、該ポリ(エチレン

グリコール)の遊離ω末端に存在する官能基を反応させる少なくとも１つの官能基を含み、該２つ以上のポリマーの混合物の該少なくとも１つの官能基が、ヒドロキシル基、NHS基またはアミン基である、実施態様１、２または３に記載の方法。

５．第２のポリマーまたはコポリマーが、ヒドロキシル基、NHS基またはアミン基から選ばれる少なくとも１つの官能基を含むポリエステルコポリマーであり、該ポリ(エチレングリコール)の遊離ω末端に存在する官能基を反応させるポリエステルコポリマーである、実施態様１に記載の方法。

６．第２のポリマーまたはコポリマーが、ヒドロキシル基、NHS基またはアミン基から選ばれる少なくとも１つの官能基を含むポリエステルコポリマーであり、該ポリ(エチレングリコール)の遊離ω末端に存在する官能基を反応させるポリエステルコポリマーである、実施態様４に記載の方法。

７．該ポリエステルコポリマーが、ヘテロポリマーまたはホモポリマーを含む、実施態様６に記載の方法。

８．該ヘテロポリマーが、乳酸およびグリコール酸ユニットまたはポリ(乳酸－グリコール酸)コポリマーおよびポリ(ラクチド－グリコリド)コポリマーユニット(PLGA)を含み；ならびに該ホモポリマーが、グリコール酸ユニット(PGA)、乳酸ユニット(PLA)、ポリ-L-乳酸ユニット、ポリ-D-乳酸ユニット、ポリ-D,L-乳酸ユニット、ポリ-L-ラクチドユニット、ポリ-D-ラクチドユニットまたはポリ-D,L-ラクチドユニットを含む、実施態様６に記載の方法。

９．該ポリエステルコポリマーが、ポリヒドロキシ酸；PEG化ポリマーおよびラクチドユニットとグリコリドユニットのコポリマー、PEG化PLA、PEG化PGA、PEG化PLGA、ポリ無水物、ポリ(オルトエステル)、PEG化ポリ(オルトエステル)、ポリ(カプロラクトン)、PEG化ポリ(カプロラクトン)、ポリリシン、PEG化ポリリシン、ポリ(エチレンイミン)、PEG化ポリ(エチレンイミン)、ポリ(L-ラクチド－L-リシン)コポリマー、ポリ(セリンエステル)、ポリ(4-ヒドロキシ-L-プロリンエステル)、ポリ[a-(4-アミノブチル)-L-グリコール酸]またはその誘導体から選ばれる、実施態様６に記載の方法。

１０．該標的薬上の遊離カルボン酸基または遊離ヒドロキシル基が、官能化ポリ(エチレングリコール)ポリマーを標的薬と反応させて標的薬-PEGポリマー複合体を形成する前に保護される、実施態様１に記載の方法。

１１．該第２のポリマーの該官能基が、該標的薬-PEG複合体上のヒドロキシル基またはカルボン酸基と反応するアミン基である、実施態様４に記載の方法。

１２．該第２のポリマーの該官能基が、該標的薬-PEG複合体上のアミン基と反応するヒドロキシル基またはNHS基である、実施態様４に記載の方法。

１３．該第２のポリマーまたは該コポリマーの該官能基が、該標的薬-PEG複合体上のヒドロキシル基またはカルボン酸基と反応するアミン基である、実施態様６に記載の方法。

１４．該第２のポリマーまたは該コポリマーの該官能基が、該標的薬-PEG複合体上のアミン基と反応するNHSまたはヒドロキシル基である、実施態様６に記載の方法。

１５．該第２のポリマーが、少なくとも２つの同一または異なるポリマーでありうるポリマーの混合物であり、該少なくとも２つポリマーの１番目が、官能基として少なくとも１つのヒドロキシル基またはNHS基を含み、該少なくとも２つのポリマーの２番目が、官能基として少なくとも１つのアミン基を含む、実施態様１～１４に記載の方法。

１６．該治療薬が、抗生物質、抗ガン剤、抗ウイルス薬、抗炎症薬、診断薬、ワクチン抗原または栄養補助食品である、実施態様１～１５に記載の方法。

１７．該治療薬が、ペニシリン、アミノペニシリン、ペニシリナーゼインヒビターおよび／または抗菌薬と併用するペニシリン、セファロスポリン、セファマイシン、カルバペネム、フルオロキノロン、テトラサイクリン、マクロライド、アミノグリコシド、エリスロマイシン、亜鉛バシトラシン、ポリミキシン、硫酸ポリミキシンB、ネオマイシン、ゲンタマイシン、トブラマイシン、グラミシジン、シプロフロキサシン、トリメトプリム、オフロキサシン、レボフロキサシン、ガチフロキサシン、モキシフロキサシン、ノルフロキサシン、スルファセタミドナトリウム、クラロラムフェニコール、テトラサイクリン、ア

ジスロマイシン、クラリスロマイシン、硫酸トリメトプリム、バシトラシン、コルチコステロイド、メドリゾン、プレドニゾロン、酢酸プレドニゾロン、リン酸プレドニゾロンナトリウム、フルオロメトロン、デキサメタゾン、リン酸デキサメタゾンナトリウム、ベタメタゾン、フルオロメタゾン、アンタゾリン、酢酸フルオロメトロン、リメキソロン、エタボン酸ロテプレドノール、ジクロフェナク(ジクロフェナクナトリウム)、ケトロラク、ケトロラクトロメタミン、ヒドロコルチゾン、ブロムフェナク、フルルビプロフェン、アンタゾリン、キシロメタゾリン、クロモリンナトリウム、ロドキサミドトロメタミン、オロパタジンHCl、ネドクロミルナトリウム、フマル酸ケトチフェン、レボカバスチンHCL、アゼラスチンHCL、ペミロラスト(ペミロラストカリウム)、エピナスチンHCL、ナファゾリンHCL、エメダスチン、アンタゾリン、フェニラミン、クロモグリク酸ナトリウム、N-アセチル-アスパルチルグルタミン酸、アンレキサノクス、5-フルオロウラシル(5-FU)、CPT-11、10-ヒドロキシ-7-エチルカンプトテシン(SN38)、S-Iカペシタビン、フトラフール、5'デオキシフルオロウリジン、UFT、エニルウラシル、デオキシシチジン、5-アザシトシン、5-アザデオキシシトシン、アロプリノール、2-クロロアデノシン、アミノプテリン、メチレン-10-デアザアミノプテリン(MDAM)、オキサプラチン、ピコプラチン、テトラプラチン、サトラプラチン、白金-DACH、オルマプラチン、CI-973、JM-216およびその類縁体、9-アミノカンプトテシン、10,11-メチレンジオキシカンプトテシン、カレニテシン、9-ニトロカンプトテシン、TAS 103、L-フェニルアラニン・マスタード、イフォスファミドメフォスファミド、トロフォスファミド・カルムスチン、エポチロンA-E、トムデックス、6-メルカプトプリン、6-チオグアニン、カレニテシン、アシクロビル、バラシクロビル、ガンシクロビル、アマンタジン、リマンタジン、ラミブジン、ジドブジン、ベバシズマブ、トラスツズマブ、リツキシマブ、20-epi-1α、25 ジヒドロキシビタミンD3、4-イポメアノール、5-エチニルウラシル、9-ジヒドロタキソール、アビラテロン、アシビシン、アクラルビシン、塩酸アコダゾール、アクロニン、アシルフルベン、アデシペノール、アドゼレシン、アルデスロイキン、すべてのtkアンタゴニスト、アルトレタミン、アンバムスチン、アンボマイシン、酢酸アメタントロン、アミドックス、アミフォスチン、アミノグルテチミド、アミノレブリン酸、アムルビシン、アムサクリン、アナグレリド、アナストロゾール、アンドログラホリド、血管形成インヒビター、アンタゴニストD、アンタゴニストG、アンタレリックス、アントラマイシン、抗背側化形態形成タンパク質－１、抗エストロゲン、抗新生物薬、アンチセンスオリゴヌクレオチド、グリシン酸アフィジコリン、アポトーシス遺伝子モジュレーター、アポトーシス調節因子、アプリン酸、ARA-CDP-DL-PTBA、アルギニンデアミナーゼ、アスパラギナーゼ、アスペルリン、アスラクリン、アタメスタン、アトリムスチン、アキシナスタチン1、アキシナスタチン2、アキシナスタチン3、アザシチジン、アザセトロン、アザトキシン、アザチロシン、アゼテパ、アゾトマイシン、バッカチンIII誘導体、バラノール、バチマスタット、ベンゾクロリン、ベンゾデパ、ベンゾイルスタウロスポリン、βラクタム誘導体、βアレチン、βクラマイシンB、ベツリン酸、BFGFインヒビター、ビカルタミド、ビサントレン、塩酸ビサントレン、ビザズイジニルスペルミン(bisazuidinylspermine)、ビスナフィド、ジメシル酸ビスナフィド、ビストラテンA、ビゼレシン、ブレオマイシン、硫酸ブレオマイシン、BRC/ABLアンタゴニスト、ブレフレート、ブレキナールナトリウム、ブロピリミン、ブドチタン、ブスルファン、ブチオニンスルホキシミン、カクチノマイシン、カルシポトリオール、カルホスチンC、カルステロン、カンプトテシン誘導体、カナリポックスIL-2、カペシタビン、カラセライド(caraceraide)、カルベチマー、カルボプラチン、カルボキサミド-アミノ-トリアゾール、カルボキシアミドトリアゾール、カレスト(carest)M3、カルムチン、アーン700、軟骨由来インヒビター、塩酸カルビシン、カルゼレシン、カゼインキナーゼインヒビター、カスタノスペルミン、セクロピンB、セデフィンゴール、セトロレリクス、クロラムブシル、クロリン、クロロキノキサリンスルホンアミド、シカプロスト、シロレマイシン、シスプラチン、cis-ポルフィリン、クラドリビン、クロミフェン類縁体、クロトリマゾール、コリスマイシンA、コリスマイシンB、コンブレタスタチンA4、コンブレタスタチン類縁体、コナゲニン、クランベスシジン816、クリスナトール、メシル酸クリスナ

トール、クリプトフィシン8、クリプトフィシンA誘導体、キュラシンA、シクロペンタントラキノン、シクロホスファミド、シクロプラタム、シペマイシン、シタラビン、シタラビンオクホスファート、細胞溶解因子、サイトスタチン、デカルバジン、ダクリキシマブ、ダクチノマイシン、塩酸ダウノルビシン、デシタビン、デヒドロジデミンB、デスロレリン、デキシフォスファミド、デキソルマプラチン、デクスラゾキサン、デクスベラパミル、デザグアニン、メシル酸デザグアニン、ジアジクオン、ジデミンB、ジドックス、ジエチヒオルスペルミン(diethyhiorspermine)、ジヒドロ-5-アザシチジン、ジオキサマイシン、ジフェニルスピロムスチン、ドセタキセル、ドコサノール、ドラセトロン、ドキシフルリジン、ドキソルビシン、塩酸ドキソルビシン、ドロロキシフェン、クエン酸ドロロキシフェン、プロピオン酸ドロモスタノロン、ドロナビノール、デュアゾマイシン、デュオカマイシンSA、エブセレン、エコムスチン、エダトレキセート、エデルホシン、エドレコロマブ、エフロミチン、塩酸エフロミチン、エレメン、エルサルミトルシン、エミテフル、エンロプラチン、エンプロメート、エピプロピジン、エピルビシン、塩酸エピルビシン、エプリステリド、エルブロゾール、赤血球遺伝子療法ベクターシステム、塩酸エソルビシン、エストラムスチン、エストラムスチン類縁体、リン酸エストラムスチンナトリウム、エストロゲンアゴニスト、エストロゲンアンタゴニスト、エタニダゾール、エトポシド、リン酸エトポシド、エトプリン、エキセメスタン、ファドロゾール、塩酸ファドロゾール、ファザラビン、フェンレチニド、フィルグラスチム、フィナステリド、フラボピリドール、フレゼラスチン、フロクスウリジン、フルアステロン、フルダラビン、リン酸フルダラビン、塩酸フルオロダウノルビシン、フルオロウラシル、フルロシタビン、フォルフェニメックス、フォルメスタン、フォスキドン、フォストリエシン、フォストリエシンナトリウム、フォテムスチン、ガドリウムテキサフィリン、硝酸ガリウム、ガロシタビン、ガニレリクス、ゼラチナーゼインヒビター、ゲムシタビン、塩酸ゲムシタビン、グルタチオンインヒビター、ヘプスルファム、ヘレグリン、ヘキサメチレンビスアセトアミド、ヒドロキシウレア、ヒペリシン、イバンドロン酸、イダルビシン、塩酸イダルビシン、イドキシフェン、イドラマントン、イフォスファミド、イルモフォスチン、イロマスタット、イミダゾアクリドン、イミキモド、免疫刺激ペプチド、インスリン様成長因子-1受容体インヒビター、インターフェロンアゴニスト、インターフェロンα-2A、インターフェロンα-2B、インターフェロンα-Nl、インターフェロンα-N3、インターフェロンβ-IA、インターフェロンγ-IB、インターフェロン、インターロイキン、イオベングアン、ヨードドキソルビシン、イプロプラツム(iproplatm)、イリノテカン、塩酸イリノテカン、イロプラクト、イルソグラジン、イソベンガゾール、イソホモハリコンドリンB、イタセトロン、ジャスプラキノリド、カハラリドF、ラメラリン-N三酢酸、ランレオチド、酢酸ランレオチド、レイナマイシン、レノグラスチム、硫酸レンチナン、レプトールスタチン、レトロゾール、白血病抑制因子、白血球αインターフェロン、酢酸リュープロリド、リュープロリド／エストロゲン／プロゲステロン、リュープロレリン、レバミソール、リアロゾール、塩酸リアロゾール、直鎖ポリアミン類似体、親油性二糖ペプチド、親油性白金化合物、リソクリナミド、ロバプラチン、ロンブリシン、ロメトレキソール、ロメトレキソールナトリウム、ロムスチン、ロニダミン、ロソキサントロン、塩酸ロソキサントロン、ロバスタチン、ロキソリビン、ルルトテカン、ルテチウムテキサフィリン、リソフィリン、細胞溶解性ペプチド、マイタンシン、マンノスタチンA、マリマスタット、マソプロコール、マスピン、マトリリシンインヒビター、マトリックスメタロプロテイナーゼインヒビター、マイタンシン（maytansine）、塩酸メクロレタミン、酢酸メゲストロール、酢酸メレンゲストロール、メルファラン、メノガリル、メルバロン、メルカプトプリン、メテレリン、メチオニナーゼ、メトトレキサート、メトトレキサートナトリウム、メトクロプラミド、メトプリン、メツレデパ、微細藻類プロテインキナーゼＣインヒビター、MIFインヒビター、ミフェプリストン、ミルテホシン、ミリモスチム、ミスマッチ二本鎖RNA、ミチンドミド、ミトカルシン、ミトクロミン、ミトギリン、ミトグアゾン、ミトラクトール、ミトマルシン、ミトマイシン、ミトマイシン類似体、ミトナフィド、ミトスペル、ミトタン、ミトトキシン線維芽細胞増殖因子-サポリン、ミトキサントロン、塩酸ミトキサン

トロン、モファロテン、モルグラモスチム、モノクローナル抗体、ヒト絨毛性ゴナドトロピン、モノホスホリルリピドA／ミオバクテリウム細胞壁SK、モピダモール、多剤耐性遺伝子インヒビター、マスタード系抗癌剤、マイカペルオキシドB、マイコバクテリア細胞壁抽出物、ミコフェノール酸、ミリアポロン、N-アセチルジナリン、ナファレリン、ナグレスチップ、ナロキソン／ペンタゾシン、ナパビン、ナフテルピン、ナルトグラスチム、ネダプラチン、ネモルビシン、ネリドロン酸、中性エンドペプチダーゼ、ニルタミド、ニサマイシン、一酸化窒素モジュレーター、ニトロキシド抗酸化剤、ニトルリン、ノコダゾール、ノガラマイシン、Ｎ－置換ベンズアミド、O6-ベンジルグアニン、オクトレオチド、オキセノン、オリゴヌクレオチド、オナプリストン、オンダンセトロン、オラシン、経口サイトカイン誘導薬、オルマプラチン、オサテロン、オキサリプラチン、オキサウノマイシン、オキシスラン、パクリタキセル、パクリタキセル類似体、パクリタキセル誘導体、パラウアミン、パルミトイルリゾキシン、パミドロン酸、パナキシトリオール、パノミフェン、パラバクチン、パゼリプチン、ペガスパルガーゼ、ペルデシン、ペリオマイシン、ペンタムスチン、ペントサンポリ硫酸ナトリウム、ペントスタチン、ペントロゾール、硫酸ペプロマイシン、ペルフルブロン、ペルホスファミド、ペリリルアルコール、フェナジノマイシン、酢酸フェニル、ホスファターゼインヒビター、ピシバニール、塩酸ピロカルピン、ピポブロマン、ピポスルファン、ピラルビシン、ピリトレキシム、塩酸ピロキサントロンン、プラセチンA、プラセチンB、プラスミノーゲン活性化因子インヒビター、白金錯体、白金化合物、白金-トリアミン錯体、プリカマイシン、プロメスタン、ポルフィマーナトリウム、ポルフィロマイシン、プレドニムスチン、塩酸プロカルバジン、プロピルビスアクリドン、プロスタグランジンJ2、前立腺ガン抗アンドロゲン、プロテアソームインヒビター、プロテインAに基づく免疫
調節因子、プロテインキナーゼCインヒビター、タンパク質チロシンホスファターゼインヒビター、プリンヌクレオシドホスホリラーゼインヒビター、プロマイシン、塩酸プロマイシン、プルプリン、ピラゾロアクリジン、ピリドキシル化ヘモグロビンポリオキシエチレン抱合体、RAFアンタゴニスト、ラルチトレキセド、ラモセトロン、RASファルネシルタンパク質転移酵素インヒビター、RASインヒビター、RAS-GAPインヒビター、脱メチル化レテリプチン、エチドロン酸レニウムRe186、リゾキシン、リボプリン、リボザイム、RIIレチナミド、RNAi、ログレチミド、ロヒツキン、ロムルチド、ロキニメクス、ルビギノンB1、ルボキシル、サフィンゴール、塩酸サフィンゴール、サイントピン、SarCNU、サルコフィトールA、サルグラモスチム、Sdi 1模倣薬、セムスチン、老化由来インヒビター1、センスオリゴヌクレオチド、シグナル伝達インヒビター、シグナル伝達調節因子、シムトラゼン、一本鎖抗原結合タンパク質、シゾフィラン、ソブゾキサン、ボロカプタートナトリウム、フェニル酢酸ナトリウム、ソルベロール、ソマトメジン結合タンパク質、ソネルミン、スパルホサートナトリウム、スパルホス酸、スピカマイシンD、塩酸スピロゲルマニウム、スピロムスチン、スピロプラチン、スプレノペンチン、スポンジスタチン1、スクアラミン、幹細胞インヒビター、幹細胞分裂インヒビター、スチピアミド、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ストロメライシンインヒビター、スルフィノシン、スロフェヌル、超反応性血管作用性腸ペプチドアンタゴニスト、スラジスタ、スラミン、スワインソニン、合成グリコサミノグリカン、タリソマイシン、タリムスチン、タモキシフェンメチオジド、タウロムスチン、タザロテン、テコガランナトリウム、テガフル、テルラピリリウム、テロメラーゼインヒビター、塩酸テロキサントロン、テモポルフィン、テモゾロミド、テニポシド、テロキシロン、テストラクトン、テトラクロロデカオキシド、テトラゾミン、タリブラスチン、タリドミド、チアミプリン、チオコラリン、チオグアニン、チオテパ、トロンボポエチン、トロンボポエチン模倣薬、チマルファシン、チモポイエチン受容体アゴニスト、チモトリナン、甲状腺刺激ホルモン、チアゾフリン、スズエチルエチオプルプリン、チラパザミン、二塩化チタノセン、塩酸トプテカン、トプセンチン、トレミフェン、クエン酸トレミフェン、全能幹細胞因子、翻訳インヒビター、酢酸テストステロン、トレチノイン、トリアセチルウリジン、トリシリビン、リン酸トリシリビン、トリメトレキサート、グルクロン酸トリメトレキサート、トリプトレリン、トロピセトロン、

塩酸ツブロゾール、ツロステリド、チロシンキナーゼインヒビター、チルホスチン、UBCインヒビター、ウベニメクス、ウラシルマスタード、ウレデパ、尿生殖洞-由来増殖阻害因子、ウロキナーゼ受容体アンタゴニスト、バプレオチド、バリオリンB、ベラレソール、ベラミン、ベルジン、ベルテポルフィン、硫酸ビンブラスチン、硫酸ビンクリスチン、ビンデシン、硫酸ビンデシン、硫酸ビネピジン、硫酸ビングリシネート、硫酸ビンリューロシン、ビノレルビン、酒石酸ビノレルビン、硫酸ビンロシジン、ビンキサルチン、硫酸ビンゾリジン、ビタキシン、ボロゾール、ザノテロン、ゼニプラチン、ジラスコルブ、ジノスタチン、ジノスタチンスチマラマーまたは塩酸ゾルビシン、siRNAまたはそのいずれかの組み合わせである、実施態様１６に記載の方法。

18．該少なくとも１つの標的薬が、上皮増殖因子受容体(EGFR)、ソマトスタチン受容体(SSTR)、インスリン様成長因子受容体、葉酸受容体、HER2受容体、インターロイキン13受容体、ガストリン放出ペプチド受容体、CD30、血管作動性腸管ペプチド受容体、ガストリン受容体、前立腺特異的抗原および／またはエストロゲン受容体に結合する抗体、PMSAリガンドおよびポリペプチドから選ばれる、実施態様１～１７に記載の方法。

19．該方法が、水性媒体中で行われる、実施態様１～１８に記載の方法。

20．該方法が、有機溶媒中で行われる、実施態様１～１８に記載の方法。

21．実施態様１～２０に記載の方法にしたがって製造されるナノ粒子。

22．実施態様２１に記載のナノ粒子および医薬的に許容しうる担体を含む組成物。

23．疾患を治療するのに十分な量で患者に実施態様２１に記載のナノ粒子を投与することを含む、該疾患の治療方法。

24．該疾患が、肺ガン、乳ガン、前立腺ガン、頭頸部ガン、卵巣ガン、皮膚ガン、精巣ガン、膵臓ガン、食道ガン、結腸直腸ガン、腎臓ガン、子宮頸ガン、消化管ガン、ウイルス感染、細菌感染または炎症から選ばれる、実施態様２３に記載の方法。

25．ポリ(エチレングリコール)ポリマーのα末端に共有的に結合する標的薬および該ポリ(エチレングリコール)のω末端に存在する官能基を介して該ポリ(エチレングリコール)ポリマーに共有的に結合する少なくとも１つの第２のポリマーを含む、実施態様１～１９に記載の方法にしがっって製造されるポリマー。

【図面の簡単な説明】

【００８２】

【図１Ａ－Ｃ】HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)のプロトンNMRスペクトル、ロット番号11-189-1および11-176-1。図1A：HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護) ロット番号11-176-1。lys-ウレア-glu(保護)含量計算に用いる1H NMRスペクトル拡大#1(%lys-ウレア-glu(保護)末端官能化＝[Int. δ1.95-2.1]*2/[Int. δ2.15-2.3] * 100%＝[2 * 10847/25777]*100＝84%)。図1B：HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護) ロット番号11-176-1；1H NMRスペクトル拡大#2。図1C：HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護) ロット番号11-176-1；1H NMRスペクトル拡大#3。

【００８３】

【図２Ａ－Ｂ】HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)のサイズ排除クロマトグラム(SEC)、ロット番号11-189-1(図2B)および11-176-1(図2A)。SEC条件： 検出器：屈折率検出(RI)；RI 検出器温度＝35℃ カラム：ウォーター・スチラゲル(連続して、HR1、100－5000 Da；HR3、500－30000 Da；HR4、5000－600,000 Da)。 カラム温度＝30℃； 移動相：クロロホルム；流速：1 mL/分 サンプル濃度＝10 mg/mL、注入量＝50 uL(11-176-1)および100 uL(下記のクロマトグラムの説明において、44-44-6で符号化される11-189-1)； 狭い分散のポリ(エチレングリコール)スタンダード(ポリマー Standards Service USA、ウォリック、ロード・アイランド)と比較して、数および重量平均分子量(M_nおよびM_w)および多分散性(M_w/M_n)を得た。較正のために、四次多項式フィット(R^2＝0.99957；標準誤差＝0.02)を用いた。11-176-1(図2A)および11-189-1(図2B) SECクロマトグラム。

【００８４】

【図３Ａ－Ｆ】PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)のプロトンNMRスペクトル、ロット番号11-187-1、11-188-1および11-198-1。NMR計器：Bruker 400MHzNMR実験パラメーター：溶媒：$CDCl_3$；パルス幅：7.5 u秒；パルス遅延：5 秒；走査の数：128図3A：PLA-PEG-lys-ウレ

ア-glu(保護)、ロット番号11-187-1；PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の絶対数平均モル質量(Mn)の測定に用いるラクチドメチンおよびアリル末端基ピークを示す1H NMRスペクトル拡大#1。PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の絶対数平均モル質量(M_n)の測定方法：M_n(PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)＝M_n(PEG-lys-ウレア-glu(保護)＋(ラクチド繰り返しユニットのモル質量*((Int. δ5.1ppm－5.3ppm)*3)/(Int.δ5.85ppm－5.95ppm)＝5000＋((72*10,000)*3)/143)＝20,105 Da。図3B：PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)、ロット番号11-187-1；PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)のPEGピークおよびラクチドメチルピークを示す1H NMRスペクトル拡大#2。図3C：PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)、ロット番号11-188-1；PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の絶対数平均モル質量(Mn)の測定に用いるラクチドメチンおよびアリル末端基ピークを示す1H NMRスペクトル拡大#1。PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の絶対数平均モル質量(M_n)の測定方法：M_n(PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)＝M_n(PEG-lys-ウレア-glu(保護)＋(ラクチド繰り返しユニットのモル質量*((Int. δ5.1ppm－5.3ppm)*3)/(Int.δ5.85ppm－5.95ppm)＝5000＋((72*10,000)*3)/137)＝20,766 Da。図3D：PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)、ロット番号11-188-1；PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)のPEGピークおよびラクチドメチルピークを示す1H NMRスペクトル拡大#2。図3E：PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)、ロット番号11-198-1；PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の絶対数平均モル質量(Mn)の測定に用いるラクチドメチンおよびアリル末端基ピークを示す1H NMRスペクトル拡大#1。PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の絶対数平均モル質量(M_n)の測定方法：M_n(PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)＝M_n(PEG-lys-ウレア-glu(保護)＋(ラクチド繰り返しユニットのモル質量*((Int. δ5.1ppm－5.3ppm)*3)/(Int.δ5.85ppm－5.95ppm)＝5000＋((72*10,000)*3)/156)＝18,846 Da。図3F：PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)、ロット番号11-198-1；PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)のPEGピークおよびラクチドメチルピークを示す1H NMRスペクトル拡大#2。

【００８５】

【図４】HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)のサイズ排除クロマトグラム(SEC)、ロット番号11-189-1(SEC分析のための標識44-44-6)および11-176-1。サイズ排除クロマトグラフィー条件：　検出器：屈折率検出(RI)；RI 検出器温度＝35℃　カラム：ウォーター・スチラゲル(連続して、HR1、100－5000 Da；HR3、500－30000 Da；HR4、5000－600,000 Da)。カラム温度＝30℃；移動相：クロロホルム；流速：1 mL/分　サンプル濃度＝10 mg/mL、注入量＝20 uL；　狭い分散のポリ(エチレングリコール)スタンダード(ポリマー Standards Service USA、ウォリック、ロード・アイランド)と比較して、数および重量平均分子量(M_nおよびM_w)および多分散性(M_w/M_n)を得た。較正のために、四次多項式フィット(R^2＝0.99927；標準誤差＝0.0008)を用いた。1

【図５Ａ－Ｅ】脱保護の効率および1H NMR分光法による粗PLA-PEG-lys-ウレア-glu(パラジウム除去前)のモル質量の評価　NMR計器：Bruker 400MHz　NMR実験パラメーター：溶媒：$CDCl_3$；パルス幅：7.5 u秒；パルス遅延：5 秒；走査の数：128　図5A：粗PLA-PEG-lys-ウレア-glu ロット番号11-190-1；a)ラクチドメチンピーク、b)テトラキス(トリフェニル-ホスフィン)パラジウム(0)の芳香族プロトンのピーク、およびc)保護基の定量的除去を示す残留アリルピーク(δ 5.85－5.95)の不在を示す1H NMRスペクトル拡大#1。図5B：粗PLA-PEG-lys-ウレア-glu ロット番号11-190-1；PEGおよびラクチドメチルピークを示す1H NMRスペクトル拡大#2。図5C：粗PLA-PEG-lys-ウレア-glu ロット番号11-191-1；a)ラクチドメチンピーク、b)テトラキス(トリフェニル-ホスフィン)パラジウム(0)の芳香族プロトンのピーク、およびc)保護基の＞96%除去を示す＜3%(PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)前駆体と比べて)の残留アリルピーク(δ 5.85－5.95)；を示す1H NMRスペクトル拡大#1。図5D：粗PLA-PEG-lys-ウレア-glu ロット番号11-191-1；PEGおよびラクチドメチルピークを示す1H NMRスペクトル拡大#2。図5E：粗PLA-PEG-lys-ウレア-glu ロット番号11-199-1；a)ラクチドメチンピーク、b)保護基の定量的除去を示す残留アリルピーク(δ 5.85－5.95)の不在；を示す1H NMRスペクトル拡大#1。図5F：粗PLA-PEG-lys-ウレア-glu ロット番号11-199-1；PEGおよびラクチドメチルピークを示す1H NMRスペクトル拡大#2。

【図６Ａ－Ｂ】1H NMR分光法による精製PLA-PEG-lys-ウレア-gluのモル質量およびPEGフ

ラクション。 NMR計器：Bruker 400MHz NMR実験パラメーター： 溶媒：$CDCl_3$；パルス幅：7.5 u秒；パルス遅延：5 秒；走査の数：128 図6A：PLA-PEG-lys-ウレア-glu ロット番号44-49-1；a)ラクチドメチンピーク、b)保護基の定量的除去を示す残留アリルピーク(δ 5.85－5.95)の不在；を示す1H NMRスペクトル拡大#1。図6B：精製PLA-PEG-lys-ウレア-glu ロット番号44-49-1；PEGおよびラクチドメチルピークを示す1H NMRスペクトル拡大#2。

【図７】固有粘度測定によるPLA-PEG-lys-ウレア-gluおよび保護前駆体PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の分子量。

【図８】ICP分光法によって測定される粗(パラジウム除去前)PLA-PEG-lys-ウレア-glu ロット番号44-48-1(サンプルコード11-204-1)および精製(パラジウム除去後)PLA-PEG-lys-ウレア-glu ロット番号44-49-1(サンプルコード11-204-2)におけるパラジウム含量。

【発明を実施するための形態】

【００８６】

本明細書に記載する実施例および実施態様は、説明のためのみであり、それらを踏まえたさまざまな修正もしくは変更が、当業者に示唆され、それらは本願および請求の範囲の精神および権限内に包含されるべきであることを理解すべきである。さらに、本明細書に開示するいずれかの発明またはその実施態様のいずれかの要素または限定は、本明細書に開示するいずれかの他の発明または実施態様のいずれかおよび／または全ての他の要素または限定(個別またはいずれかの組み合わせ)と組み合わせることができる。

【実施例１】

【００８７】

HO-PEG-CO_2Hへのlys-ウレア-glu(保護)の共有的抱合によるHO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の合成

HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の合成および精製に用いた材料は、α-ヒドロキシエチル-ω-カルボキシペンチル、ポリ(エチレングリコール)(平均分子量＝5 Kg/mol、末端活性＝98%)(HO-PEG-CO_2H、NOF・アメリカ・コーポレーション、ホワイト・プレーンズ、ニューヨーク)；ジプロプ-2-エン-1-イル N-{[6-アンモニオ-1-オキソ-1-(プロプ-2-エン-1-イル)ヘキサン-2-イル]カルボニル}グルタメート トリフルオロアセテート(lys-ウレア-glu(保護)、オーガニックス、ウォバーン、MA)；N-(3-ジメチルアミノプロピル)-N'-エチルカルボジイミド(≧97.0%)(EDC、シグマ-アルドリッチ)；N-エチル ジ-イソプロピルアミン(99.5%)(DIEA、シグマ-アルドリッチ)；N-ヒドロキシスクシンイミド(98%)(NHS、シグマ-アルドリッチ)；クロロホルム(無水、≧99%) シグマ-アルドリッチ)；エタノール(無水、≧99.5%)(シグマ-アルドリッチ)であった。

【００８８】

HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)のインプロセス特性評価および検査に用いた器具は、プロトンNMR分光分析用のBruker 400 MHz 核磁気共鳴分光計；真空雰囲気乾燥窒素グローブボックス(＜1ppm 水)；Edwards RV5真空ポンプおよび真空乾燥用VWRオーブン；蠕動ポンプベースの限外濾過/ダイアフィルトレーション(UFDF)システム(マスターソン)、再生セルロース膜フィルター(ミリポア、表面積＝0.1 m^2、MWCO 3 kDa)および拡張PTFEチューブ(ケム－シュア)；回転蒸発器(ブチ)；ミリポア 2L 真空濾過アセンブリおよびミリポア 0.2 um フルオロポア(PTFE)膜フィルター；屈折率検出器およびウォーターズHR1、HR3およびHR4カラム(7.8 X 300 mm、分子量範囲はそれぞれ100－5000 Da、500－30,000 Da、5000－600,000 Da)を備えたウォーターズサイズ排除クロマトグラフィーシステムであった。数および重量平均モル質量は、ピークモル質量(Mp＝960、1400、4290、7130、12900、20600 Da)のショーデックス・スタンダード(川崎、日本)製のポリ(エチレングリコール)較正基準を用いて測定した。

【００８９】

実験手順：すべての試薬(HO-PEG-CO_2H、lys-ウレア-glu(保護)、EDC、NHS、DIEAおよび無水クロロホルム)を乾燥窒素グローブボックスに移し、次いで、アルゴン下、室温にて、秤量するか、または20 mLの反応バイアルに移した(容積測定ピペットまたはマイクロリ

ッターシリンジを使用)。無水クロロホルム(5 mL)中のHO-PEG-CO_2H(1 g、0.2 mmol)の溶液に、NHS(230 mg、2 mmol)を加えた(溶液A)。GL2P(1.106 g、2 mmol)を無水クロロホルム(5 mL)に溶解し、次いで、この溶液に、EDC(354 uL、2mmol)およびDIEA(685 uL、4 mmol)を加えた(溶液B)。溶液Bを溶液Aに加え、反応バイアル(溶液AB)をアルゴン下で閉じた。次いで、溶液ABを換気式ドラフトに移し、暗所(反応バイアルをアルミホイルで包んだ)で室温にて2時間磁気撹拌した。溶液ABをエタノール(100 mL)で希釈し、エタノール/クロロホルム(10：1)の溶媒組成物を得た(溶液C)。1/4回転ボールバルブを適切に調節することによって提供される流速800 mL/分および背圧30－40 psiで、エタノール/クロロホルム(9：1容積)の二成分溶媒混合物の29ダイアフィルトレーション容量(1.5L)に対して、溶液Cをダイアフィルトレーションした。これらのUFDF条件下、浸透流速は、約5 mL/分である。35℃での回転蒸発によって未透過溶液(溶液CR)から溶媒を移動し、次いで、室温にて18時間真空乾燥して、粗生成物(770mg、70%)を得た。7.7 mLのクロロホルムに粗生成物を溶解した(100 mg/mL、溶液D)。撹拌しながら、150 mlのエーテル/ヘキサン(70/30)沈澱剤に溶液Dを滴下した。ミリポア真空濾過装置にて0.2ミクロンの膜フィルターを用いる濾過によって、沈澱した生成物を回収した。室温にて24時間真空乾燥して残留溶媒を除去することによって精製生成物HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)(白色粉末、700 mg、91%)を得た。

【実施例２】

【００９０】

lys-ウレア-glu標的薬を有するPEGの末端官能化mol%およびそのモル質量を決定するためのHO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の特性評価

以下の機器パラメーターを用いるD_2O中の1H NMRによって、HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の特性を確認した：NMR磁場強度＝400 MHz；走査の数＝128；パルス遅延＝5秒；パルス幅＝7μ秒。NMRピーク帰属は、以下の通りである：アリル sp^2 CH(3H 多重線、5.9－6.03ppm)、アリル sp^2 CH_2(6H、２つの重複二重線、5.27－5.4ppm)、アリル sp^3 CH_2(6H、２つの重複二重線、4.6－4.7ppm)、PEG末端CH_2-OH(2H 三重線、3.85－3.92ppm)、PEGエチレンオキサイド CH_2(M_n=5 KDaに基づいておよそ408H、一重戦 3.7ppm)、PEG末端CH_2 イプシロン～CONH-lys-ウレア-glu(2H 三重線、3.5－3.55ppm)、リシン CH_2 イプシロン C(2H ２つの三重線、3.05－3.14ppmおよび3.15－3.22ppm)、PEG末端CH_2 α～CONH-lys-ウレア-gluおよびPEG末端CH_2 α～未カップリングPEGのCOOH(2H 多重線、2.15－2.3ppm)、グルタミン酸 CH_2 γ C(２つの2H 重複三重線 2.5－2.6ppm)、グルタミン酸 CH_2 β C(２つの1H 多重線、1.8－2.1ppm)、リシン CH_2 β C(1H 多重線、1.67－1.8ppm)。1.3および1.67ppmの間の重複多重線は、(a)リシン CH_2 β C(1H)、(b)リシン CH_2 γ C(2H)、(c)リシン CH_2 デルタ C(2H)、(d)PEG末端CH_2のβおよびδからCONH-lys-ウレア-glu(それぞれ2H)、(e)PEG末端CH_2 γ～CONH-lys-ウレア-glu(2H)に割り当てた。1.95－2.1ppmの間のリガンド多重線と2.15－2.3ppmの間のPEG多重線の比率を用いて、HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)生成物へのLys-ウレア-glu組み込みを評価し、HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)抱合体へのlys-ウレア-glu(保護)の82%の組み込みを得た。

【００９１】

HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)、ロット番号11-189-1および11-176-1のプロトンNMRスペクトルについては図1を参照。

【００９２】

屈折率検出および溶離溶媒としてクロロホルムを用いるサイズ排除クロマトグラフィーによって、HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の分子量を決定した。カラム温度＝30℃、RI 検出器温度＝35℃、サンプル濃度＝10 mg/mL、注入量＝10 uL。狭い分散のポリ(エチレングリコール)スタンダード(ポリマー・スタンダード・サービスUSA、ウォリック、ロード・アイランド)と比較して、数および重量平均分子量(M_nおよびM_w)および多分散性(M_w/M_n)を得た。四次多項式フィット(R^2＝0.99957；標準誤差＝0.02)により、HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)について、Mn＝5200 Da；Mw＝5700 Da；Mw/Mn＝1.1を得た。

【００９３】

HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)、ロット番号11-189-1(SEC分析のために44-44-6とラベル

)および11-176-1のサイズ排除クロマトグラム(SEC)については図2を参照。

【実施例３】

【００９４】

マクロイニシエーターとしてHO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)を用い、重合触媒としてスズ(II) 2-エチルヘキサノエートを用いるD,L-ラクチドの開環重合によるPLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の合成

PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の合成に用いた材料は、実施例１に記載のとおり合成されたHO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)；スズ(II) 2-エチルヘキサノエート(95%)($Sn(Oct)_2$、シグマ-アルドリッチ)；D,L-ラクチド(≧99.5%、Altasorb、ピードモント、SC)；重合反応において無水ヘキサン(95% DriSolv、EMD)および検査沈澱のためにヘキサン(Chromasolv.、≧95%、シグマ)；ジエチルエーテル(≧99.0%、シグマ)であった。

【００９５】

PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)のインプロセス特性評価および反応／検査に用いた器具類は、スペクトラル・データ・サービス(シャンペーン、IL)製のプロトンNMR分光分析用Bruker 400 MHz核磁気共鳴分光計；真空雰囲気乾燥窒素グローブボックス(＜1ppm 水)；多位置撹拌プレートおよび固体温度コントローラー(IKAマルチ・ステア・プレートおよびフィードバックループを備えた温度コントローラー)を備えた12-プレース・パラレル反応回転台(Brinkmann-Hiedolph)；テフロン止水栓サイドアームを備えたシュレンク反応管であった。Edwards RV5真空ポンプおよび真空乾燥用VWRオーブン；；回転蒸発器(ブチ)；屈折率検出器およびウォーターズHR1、HR3およびHR4カラム(7.8 X 300 mm、分子量範囲はそれぞれ100－5000 Da、500－30,000 Da、5000－600,000 Da)を備えたウォーターズサイズ排除クロマトグラフィーシステム。数および重量平均モル質量は、ピークモル質量(Mp＝1200、3900、12800、31,400、55,100および197,000 Da)のショーデックス・スタンダード(川崎、日本)製のポリ(スチレン)較正基準を用いて測定した。

【００９６】

実験手順：すべての試薬(HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)、$Sn(Oct)_2$、d,l-ラクチド、無水ヘキサン)を乾燥アルゴングローブボックスに移し、次いで、室温にて、乾燥窒素下で操作した。HO-PEG-lys-ウレア-glu(200mg、4 X 10^{-2}mmol)およびラクチド(800mg、5.55mmol)を秤量して反応管(適当な大きさの磁気撹拌棒を含む)に入れ、乾燥アルゴン下で隔壁シールした(混合物A)。$Sn(Oct)_2$(250mg)を秤量して、6mLのガラスバイアルに入れ、無水ヘキサン(2.5mL)に溶解して、100 mg/mLの溶液(B)を得て乾燥窒素下で隔壁シールした。混合物Aを換気ドラフトに移し、アルゴンガス吸気口として8インチ針を備えたアルゴンガスマニホールドを用いて乾燥アルゴンを室温にて1時間連続的に流して乾燥させた。アルゴンガス排気口となるように、シュレンク反応管サイドアームをシリコーンオイルバブラーに連結した。次いで、アルゴンガスマニホールドからの吸入アルゴン流を停止し、テフロン栓を用いてシュレンク反応管を通るサイドアームガス排気を停止することによってシュレンク反応管を密封した。密封したシュレンク反応管を130℃のシリコーンオイルバスに置き、磁気撹拌して、無色のラクチドモノマー溶解物を得た。隔壁シールを介して500uLシリンジで溶液B(80 uL)を導入した。反応混合物(C)を130℃にて16時間撹拌した。反応混合物Cを室温に冷却し、空気中でシュレンク管を開け、室温にて1時間ボルテックスすることによって、5 mLのジクロロメタンにポリマーペレットを溶解した(溶液D)。溶液Dを20mLのガラスバイアルに移し、2 X 2.5mLの新鮮なジクロロメタンでシュレンク管をすすいだ。洗液を溶液Dと合わせる。このわずかに不透明の溶液を、0.45ミクロンPTFEシリンジフィルターを用いて濾過して、透明無色の溶液を得た(溶液E)。室温にて撹拌しながら、ジエチルエーテル/ヘキサン(70/30)(200 mL)に溶液Eを滴下した。濁った沈澱を室温にて2時間撹拌して、ポリマーを凝固させ、ビーカーの底に落ち着かせた。透明な上清をデカントし、スパチュラを用いて、粘着性のポリマー生成物(700mg、70%)をガラスバイアルに移し、次いで、室温にて18時間真空乾燥した。

【実施例４】

【００９７】

lys-ウレア-glu標的薬を有するPEGの末端官能化mol%およびそのモル質量を決定するためのPLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の特性評価

以下の機器パラメーターを用いるクロロホルム-d中の1H NMRによって、PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の特性を確認した：NMR磁場強度＝400 MHz；走査の数＝128；パルス遅延＝5秒；パルス幅＝7μ秒。NMRピーク帰属は、以下の通りである：ラクチドメチン CH(1H 多重線、5.1－5.3ppm)、ラクチドメチル CH_3(3H 多重線、1.45－1.65)、PEGエチレンオキサイド CH_2(M_n=5 KDaに基づいておよそ408H、一重戦 3.55－3.8)、アリル sp^2 CH(3H 多重線、5.8－6.0ppm)。PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の数平均モル質量(Mn)は、PEG：ポリ(d,l-ラクチド)比を用いるプロトンNMR分光分析によって決定した。アリル sp^2 CH(3H 多重線、5.8－6.0ppm)ピークおよびラクチドメチン CH(1H 多重線、5.1－5.3ppm)ピークの強度を比較して、M_n(PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)＝20,100 Daが得られ、PEGのM_n＝5 Kg/molが仮定された。

【００９８】

PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)、ロット番号11-187-1、11-188-1および11-198-1のプロトンNMRスペクトルについては図3を参照。

【００９９】

PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の分子量は、屈折率検出および溶離溶媒としてクロロホルムを用いるサイズ排除クロマトグラフィーによっても決定した。カラム温度＝30℃、RI検出器温度＝35℃、サンプル濃度＝10 mg/mL、注入量＝10 uL。狭い分散のポリスチレンスタンダード(Shodex Standards、川崎、日本)と比較して、M_nおよびM_wを得た。四次多項式フィット(R^2＝0.999977；標準誤差＝0.009)により、PLA-PEG-PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)について、M_n＝20700 Da；M_w＝25400 Da；Mw/Mn＝1.23 for を得た。

【０１００】

HO-PEG-lys-ウレア-glu(保護)、ロット番号11-189-1(labeled 44-44-6 for SEC分析)および11-176-1のサイズ排除クロマトグラフィーについては図4を参照

【実施例５】

【０１０１】

テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)を用いる、PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)のアリル保護基の除去によるPLA-PEG-lys-ウレア-gluの合成

PLA-PEG-lys-ウレア-gluの合成のための材料は、PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)であり、実施例３の記載にしたがって合成した。

テトラキス(トリフェニルホスフィン)パラジウム(0)(99%)(Pd-テトラキス、シグマ)；モルホリン(99.5%、シグマ)；ジクロロメタン(無水、≧99.8%、シグマ)；ジエチルエーテル(≧99.0%、シグマ)；ヘキサン(Chromasolv.、≧95%、シグマ)。

【０１０２】

検査手順およびインプロセス特性評価に用いた器具類は、プロトンNMR分光分析用のBruker 400 MHz 核磁気共鳴分光計；Edwards RV5真空ポンプおよび真空乾燥用VWRオーブン；回転蒸発器(ブチ)であった。

【０１０３】

実験手順：周囲空気中、PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)(1000mg、4.76 X 10^{-2}mmol)を、無水ジクロロメタン(4 mL)に溶解した(溶液A)。また周囲空気中、Pd-テトラキス(55mg、4.76 X 10^{-2}mmol)を、無水ジクロロメタン(4 mL)に溶解した(溶液B)。溶液Aにモルホリン(41.5mgまたは45.2uL、0.476 mmol)を加え、次いで、溶液Bの溶液Aへの添加を迅速に行った。ジクロロメタン(2 mL)を用いて溶液Bのバイアルをすすぎ、このすすぎ液を溶液Aと合わせて、反応混合物(C)へのPd-テトラキスの定量的移動を確実にする。閉鎖された暗所(反応バイアルをアルミホイルで包んだ)で、室温にて2時間、混合物Cを撹拌した。反応混合物Cを空気中で開け、室温にて撹拌しながら、ジエチルエーテル/ヘキサン(70/30、(v/v))(200 mL)に滴下した。得られるポリマー懸濁液を室温にて2時間撹拌して、凝固させ、ビーカーの底に落ち着かせた。透明な上清をデカントし、スパチュラを用いて、粘着性ポリマーをガラスバイアルに移した。PLA-PEG-lys-ウレア-glu(800mg、80%)生成物を室温に

て18時間真空乾燥した。

【実施例６】

【０１０４】

トリメルカプトトリアジド官能性パラジウム捕捉樹脂を用いるPLA-PEG-lys-ウレア-gluからのパラジウムの除去

PLA-PEG-lys-ウレア-glu(1050mg)をジクロロメタン(30 mL)に溶解して、35 mg/mLの溶液を得た。パラジウム捕捉樹脂(TMT、60 mLカラム中5g)をジクロロメタン(10 mL)で溶媒和し、PLA-PEG-lys-ウレア-glu溶液(30 mL)を加えた。溶離液を重力下で集め、カラムをさらなるジクロロメタン(40 mL)ですすいだ。主溶離液画分およびすすぎ溶離液画分を合わせ、溶媒を回転蒸発により除去して、ポリマーを回収した。次いで、ポリマーをジクロロメタン(10.5 mL、100 mg/mL溶液)に溶解し、70/30 エーテル/ヘキサン(210 mL)に滴下した。得られるポリマー懸濁液を室温にて2時間撹拌して、凝固させ、ビーカーの底に落ち着かせた。透明な上清をデカントし、スパチュラを用いて、粘着性PLA-PEG-lys-ウレア-gluポリマーをガラスバイアルに移した(940mg、90%)。

【実施例７】

【０１０５】

脱保護の効率、モル質量および残留パラジウム含量を決定するためのPLA-PEG-lys-ウレア-gluの特性評価

以下の機器パラメーターを用いるクロロホルム-d中の1H NMRによって、PLA-PEG-lys-ウレア-gluの特性を確認した：NMR磁場強度＝400 MHz；走査の数＝128；パルス遅延＝5秒；パルス幅＝7μ秒。NMRピーク帰属は、以下の通りである：ラクチドメチン CH(1H 多重線、5.1－5.3ppm)、ラクチドメチル CH_3(3H 多重線、1.45－1.7)、PEGエチレンオキサイド CH_2(M_n=5 KDaに基づいておよそ408H、一重戦 3.55－3.8)、残留アリル sp^2 CH(3H 多重線、5.8－6.0ppm)。

【０１０６】

脱保護の効率はまた、NMRによって、95%(アリル除去)と決定された。これは、生成物であるPLA-PEG-lys-ウレア-glu中の残留アリルピークのスペクトルの強度と出発物質(PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護))中の対応するピークの強度の比率を用いて計算された。

【０１０７】

PLA-PEG-lys-ウレア-gluの数平均モル質量(M_n)を、PEG：ポリ(d,l-ラクチド)比を用いるNMRによって評価した。PEGエチレンオキサイド CH_2(408H、一重戦 3.55－3.8)ピークおよびラクチドメチン CH(1H 多重線、5.1－5.3ppm)ピークの強度を比較して、M_n(PLA-PEG-lys-ウレア-glu)＝21,400 Daが得られ、PEGのM_n＝5 Kg/molが仮定された。

【０１０８】

ICP分光分析によって生成物であるPLA-PEG-lys-ウレア-glu中のパラジウム含量が決定され、＜5ppmであることがわかった。

【０１０９】

ジメチルスルホキシドおよびクロロホルム(それぞれ、0.309 dL/gおよび0.198 dL/g)中の固有粘度(IV)の測定によって、PLA-PEG-lys-ウレア-gluのモル質量を評価した。保護前駆体であるPLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)のI.V.をジメチルスルホキシド(0.217 dL/g)中で決定した。0.217 dL～0.198 dL/gの粘度における小さな降下は、アリル保護前駆体と比べてlys-ウレア-gluがより強い極性をもつという性質の結果としてのポリマー溶媒相互作用における差異に起因するかもしれない。

【０１１０】

粗(パラジウム除去前)PLA-PEG-lys-ウレア-glu、ロット番号11-187-1、11-188-1および11-198-1のプロトンNMRスペクトルについては図5を参照。

精製(パラジウム除去後)PLA-PEG-lys-ウレア-glu、ロット番号44-49-1のプロトンNMRスペクトルについては図6を参照。

精製(パラジウム除去後)PLA-PEG-lys-ウレア-glu、ロット番号44-49-1および保護前駆体PLA-PEG-lys-ウレア-glu(保護)の固有粘度については図7を参照。

ICP分光分析によって決定された粗(パラジウム除去前)PLA-PEG-lys-ウレア-glu、ロット番号44-48-1(サンプルコード11-204-1)および精製(パラジウム除去後) PLA-PEG-lys-ウレア-glu、ロット番号44-49-1(サンプルコード11-204-2)におけるパラジウム含量については図8を参照。

【図１Ａ】

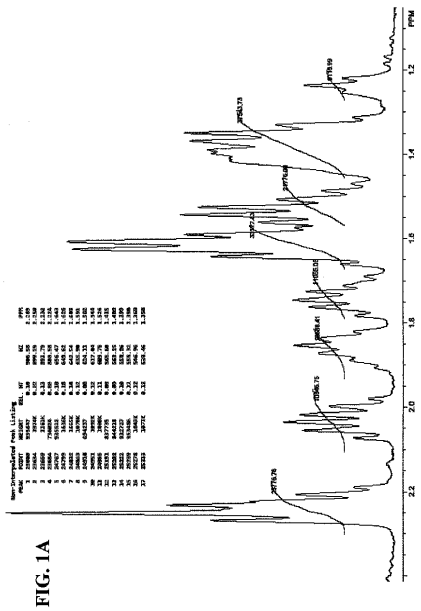


FIG. 1A

【図１Ｂ】

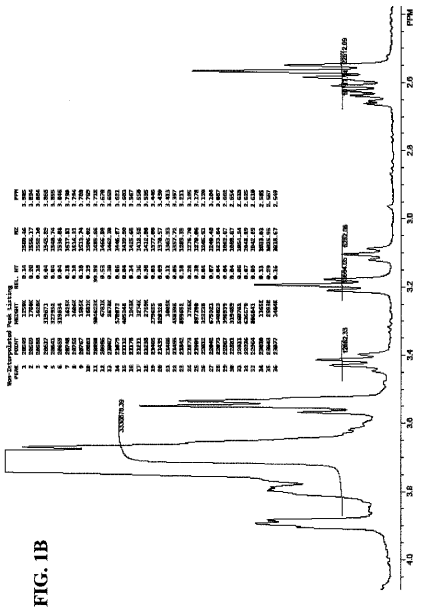


FIG. 1B

【図１Ｃ】

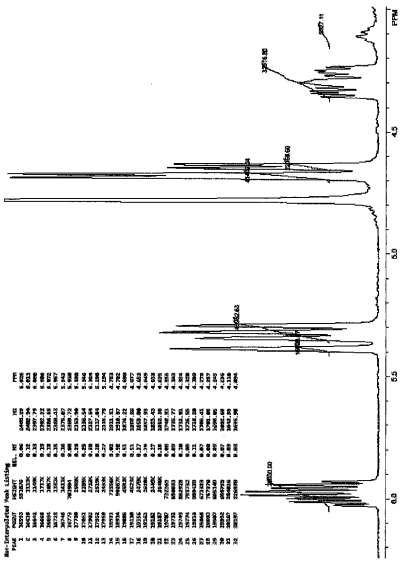
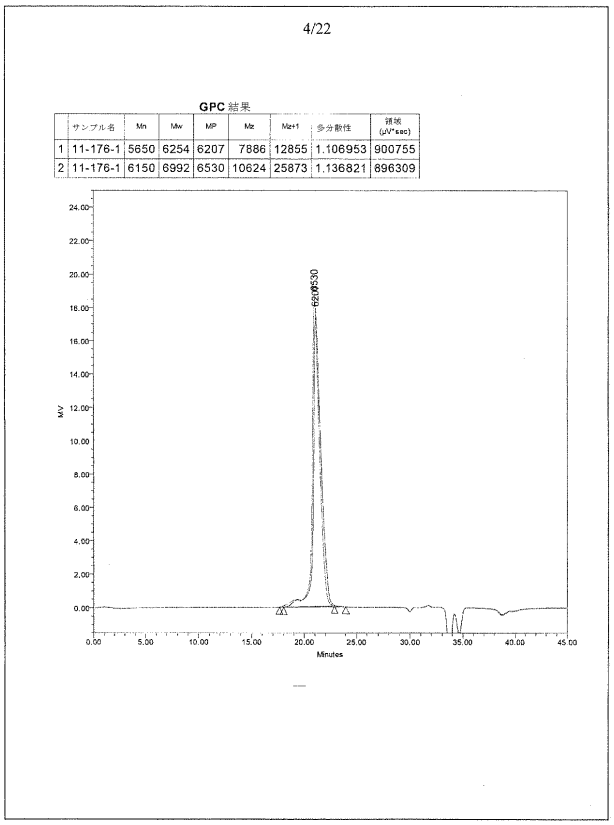


FIG. 1C

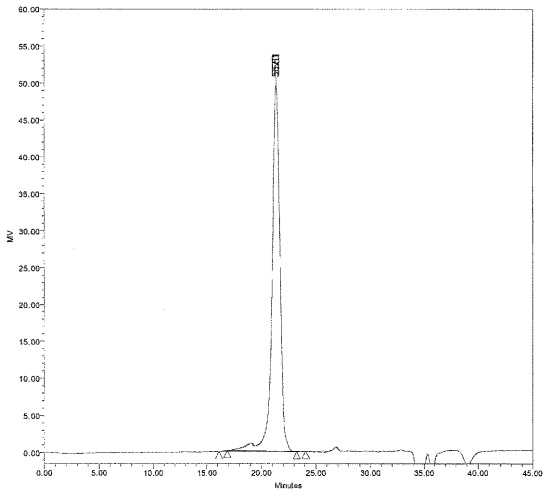
【図２Ａ】



【図２Ｂ】

GPC結果

	サンプル名	Mn	Mw	MP	Mz	Mz+1	多分散性	領域 (μV*sec)
1	44-44-6	5744	6987	5561	21172	124257	1.216394	2481892
2	44-44-6	5772	8347	5570	151210	1125097	1.445918	2499828



【図３Ａ】

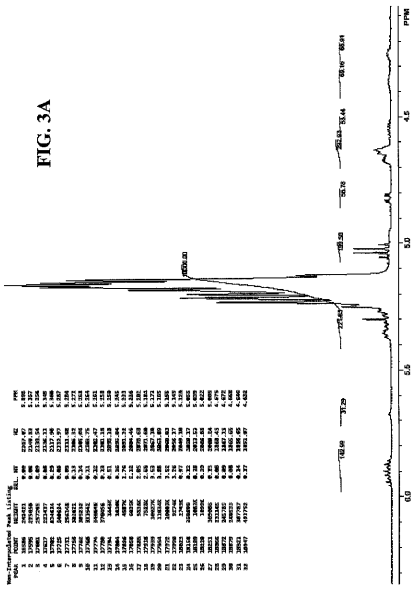


FIG. 3A

【図３Ｂ】

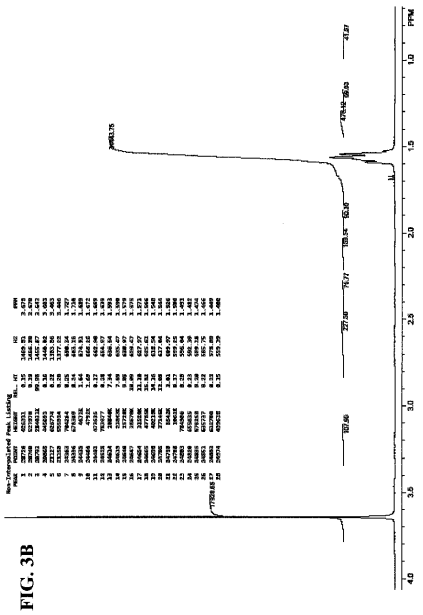


FIG. 3B

【図３Ｃ】

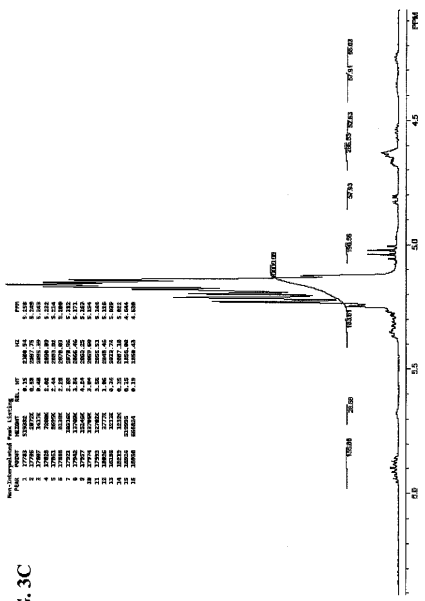


FIG. 3C

【図３Ｄ】

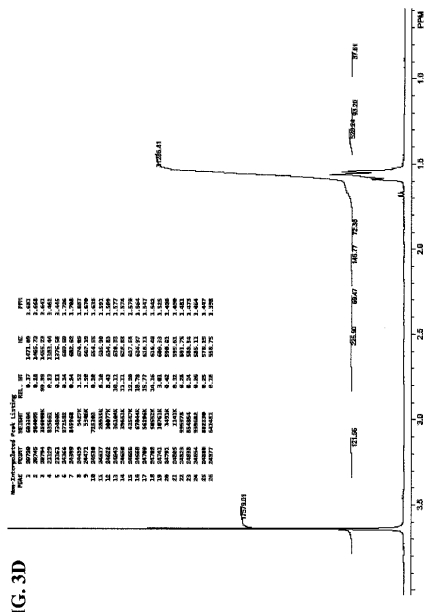


FIG. 3D

【図３Ｅ】

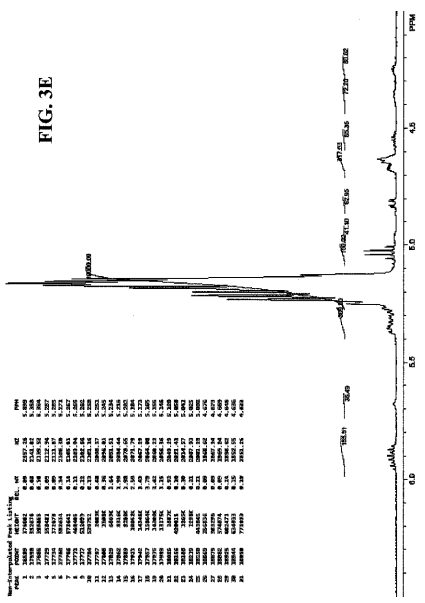


FIG. 3E

【図３Ｆ】

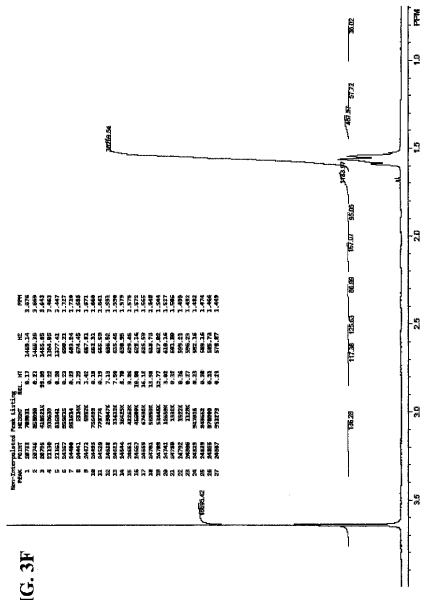
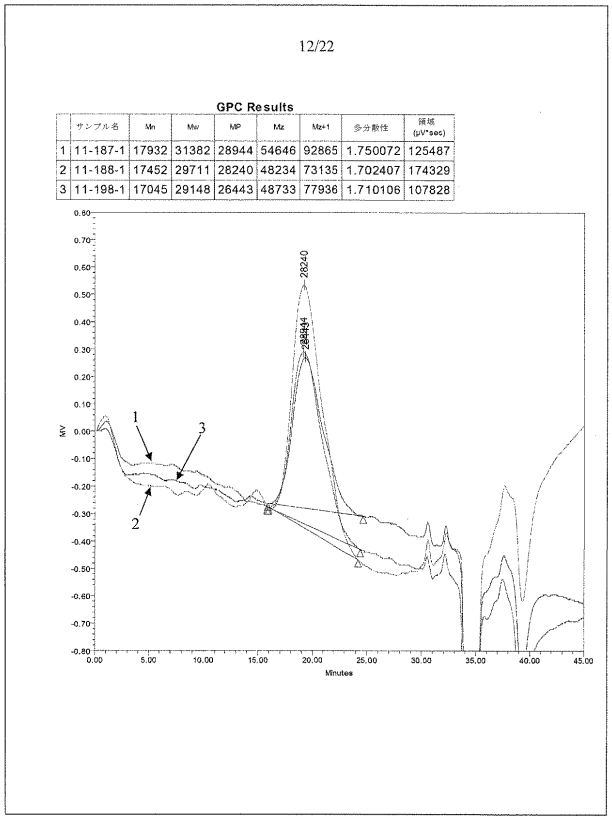


FIG. 3F

【図４】



	サンプル名	Mn	Mw	MP	Mz	Mz+1	多分散性	面積 (μV*sec)
1	11-187-1	17932	31382	28944	54646	92865	1.750072	125487
2	11-188-1	17452	29711	28240	48234	73135	1.702407	174329
3	11-198-1	17045	29148	26443	48733	77936	1.710106	107828

【図５Ａ】

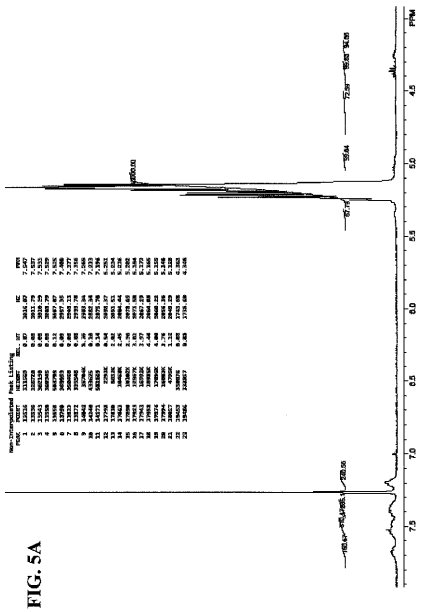


FIG. 5A

【図５Ｂ】

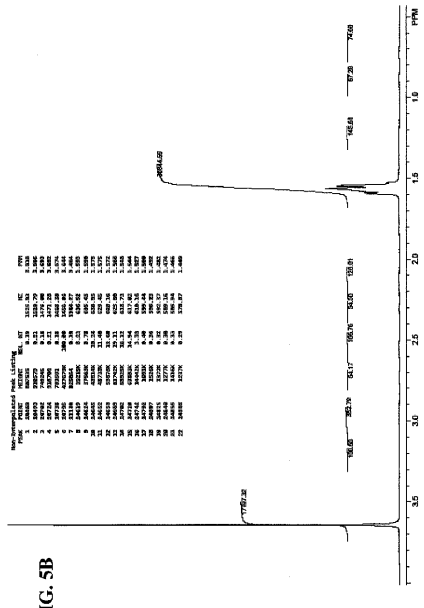


FIG. 5B

【図５Ｃ】

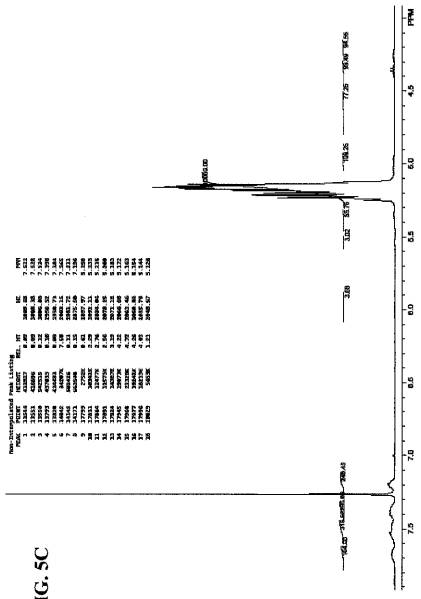


FIG. 5C

【図５Ｄ】

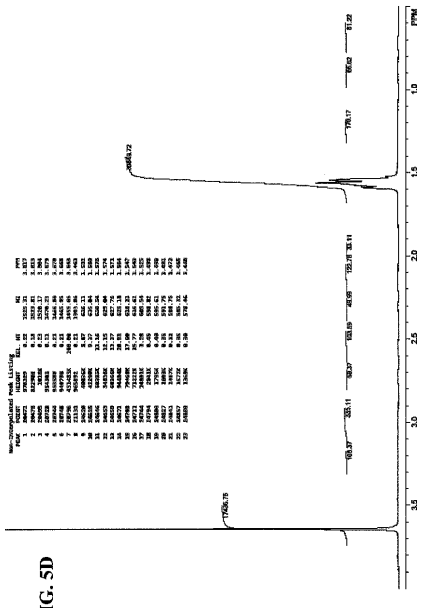


FIG. 5D

【図５Ｅ】

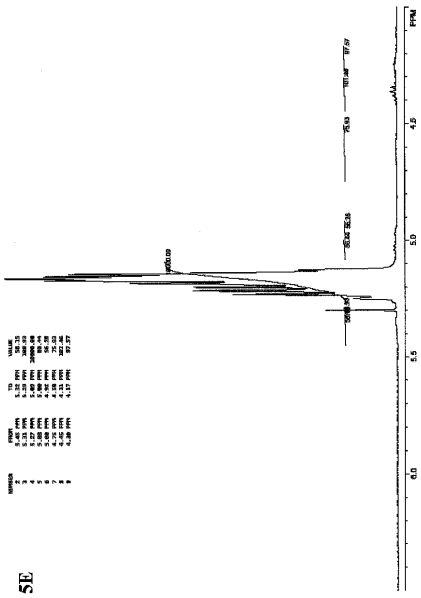


FIG. 5E

【図５Ｆ】

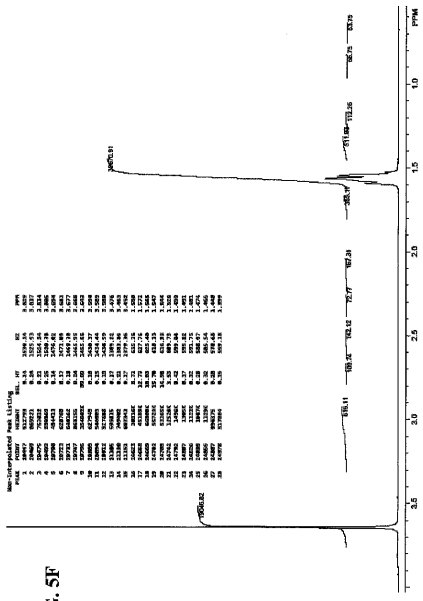
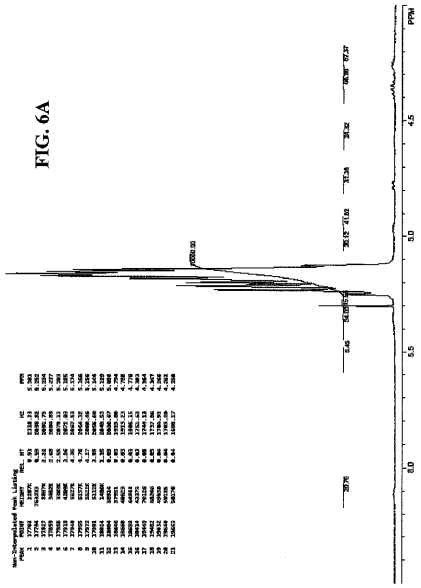
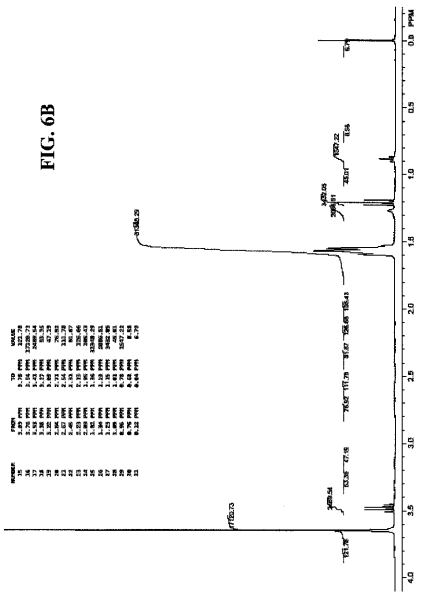


FIG. 5F

【図６Ａ】



【図６Ｂ】



【図７】

サンプル	サンプルの説明	ポリマー	ポリマー	固有粘度		平均	標準
コードノロット		IV分析	濃度	試験 1	試験 2	IV	偏差
		における溶媒	g/dL	dL/g	dL/g	dL/g	
11-196-6	PLA-PEG-lys-ウレア-glu(protected)	DMSO	0.1	0.229	0.205	0.217	0.016
44-49-1	PLA-PEG-lys-ウレア-glu	DMSO	0.1	0.198	0.198	0.198	0
44-49-1	PLA-PEG-lys-ウレア-glu	クロロホルム	0.1	0.303	0.314	0.309	0.008

【図８】

サンプル ID	LAB ID	分析	結果		繰り返しの結果		
11-204-1	G-8391	パラジウム	3780	ppm	3880	ppm	
11-204-2	G-8392	パラジウム	3.8	ppm	2.7	ppm	

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/047554

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 9/16(2006.01)i, A61K 47/34(2006.01)i, A61P 35/00(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K 9/16; A61K 47/34, A61P 35/00, A61K 38/18; A61K 39/395; A61K 9/14; A61K 9/50; C07K 16/46

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models since 1975.
Japanese utility models and applications for utility models since 1975.

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS(KIPO internal), PubMed, JPO, USPTO, Google & Keywords: PEG, nanoparticle, targeting agent

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2005-0266067 A1 (SHILADITYA SENGUPTA et al.) 01 December 2005 See Abstract, Claims 66,71	1-14
A	US 2005-0042298 A1 (WILLIAM, M. PARDRIDGE et al.) 24 February 2005 See Abstract, Paragraph [0022], Claims 1-4,6,42-44	1-14
A	US 2002-0197261 A1 (CHUN LI et al.) 26 December 2002 See Abstract, Claims 1-4,12,15,22,61	1-14

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents,such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 JANUARY 2010 (18.01.2010)	**18 JANUARY 2010 (18.01.2010)**

Name and mailing address of the ISA/KR
Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea
Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer
Kim, Moon kyoung
Telephone No. 82-42-481-5610

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2008)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/047554

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 23-24
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 23-24 pertain to methods for treatment of the human body by therapy, as well as diagnostic methods, and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under Article 17(2)(a)(i) of PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.

2. ☒ Claims Nos.: 17,22-24
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
Claims 17,22-24 refer to claims which are not searchable due to not being drafted in accordance with the third sentence of Rule 6.4(a). As a result these claims are too unclear to make meaningful search possible.

3. ☒ Claims Nos.: 15,16,18-21,25
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required addtional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2009/047554

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2005-0266067 A1	01.12.2005	AU 2005-219413 A1	15.09.2005
		CA 2558263-A1	15.09.2005
		CN 101031287 A	05.09.2007
		EP 1722762 A2	22.11.2006
		JP 2007-526322 T	13.09.2007
		US 2007-0053845 A1	08.03.2007
		US 2007-053845 A1	08.03.2007
		WO 2005-084710 A2	15.09.2005
		WO 2005-084710 A3	13.07.2006
		WO 2005-084710 B1	14.09.2006
		WO 2008-014478 A2	31.01.2008
US 2005-0042298 A1	24.02.2005	None	
US 2002-0197261 A1	26.12.2002	WO 2002-087497 A2	07.11.2002

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
Ａ６１Ｐ　31/12	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/12	
Ａ６１Ｐ　31/04	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	31/04	
Ａ６１Ｐ　29/00	*(2006.01)*	Ａ６１Ｐ	29/00	

(81)指定国　AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）
１．テフロン

(72)発明者　ミール・エム・アリ
アメリカ合衆国０１８０１マサチューセッツ州ウォバーン、アパートメント３２０５、シダー・ストリート５３番
(72)発明者　ジェフ・ハーカチ
アメリカ合衆国０２４２１マサチューセッツ州レキシントン、ワシントン・ストリート２１番
(72)発明者　スティーブン・イー・ゼイル
アメリカ合衆国０１７４８マサチューセッツ州ホプキントン、ワン・ノークロス・ロード
(72)発明者　ルイス・アルバレス・デ・シエンフエゴス
スペイン１８００９グラナダ、カリェ・ベレン・エネ１２番

Ｆターム(参考)　4C076 AA65　AA94　AA95　EE23M EE24M EE59M FF31
4C084 AA17　MA05　NA12　NA13　ZB112 ZB262 ZB332 ZB352