

(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2014-528411  
(P2014-528411A)

(43) 公表日 平成26年10月27日(2014.10.27)

(51) Int.Cl.

**A61K 47/48 (2006.01)**  
**A61K 9/127 (2006.01)**  
**A61K 9/51 (2006.01)**  
**A61K 47/34 (2006.01)**  
**A61K 47/42 (2006.01)**

F 1

A 6 1 K 47/48  
A 6 1 K 9/127  
A 6 1 K 9/51  
A 6 1 K 47/34  
A 6 1 K 47/42

テーマコード(参考)

4 C 076  
4 C 084  
4 C 085  
4 C 086  
4 C 206

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 53 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願2014-533335 (P2014-533335)

(86) (22) 出願日

平成24年9月27日 (2012.9.27)

(85) 翻訳文提出日

平成26年5月20日 (2014.5.20)

(86) 國際出願番号

PCT/US2012/057642

(87) 國際公開番号

W02013/049405

(87) 國際公開日

平成25年4月4日 (2013.4.4)

(31) 優先権主張番号

61/541,797

(32) 優先日

平成23年9月30日 (2011.9.30)

(33) 優先権主張国

米国(US)

(71) 出願人

595181003  
マリンクロッド エルエルシー  
アメリカ合衆国 ミズーリ 63042,  
セント ルイス, マクドネル ブール  
バード 675

(74) 代理人

100107489  
弁理士 大塙 竹志  
ロジャーズ, トーマス エドワード  
アメリカ合衆国 ミズーリ 63021,  
ボルウイン, トロゴ クリーク ド  
ライブ 755

F ターム(参考) 4C076 AA19 AA65 AA95 CC27 DD27  
DD29 DD63 EE01 EE06 EE23  
EE24 EE30 EE41 EE51 EE59  
FF31

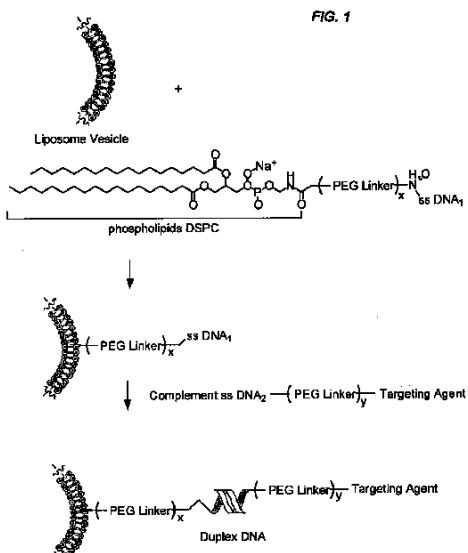
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】相補的オリゴヌクレオチドリンカーを用いる標的化ナノ粒子の遠隔アセンブリ

## (57) 【要約】

本発明は、標的化送達組成物、および被験体の病態の処置および診断におけるそれらの使用方法を提供する。標的化送達組成物の成分は、オリゴヌクレオチド間の二重鎖形成によって組み合わせられる。本発明の一態様では、標的化送達組成物は、治療剤もしくは診断剤またはこれらとの組み合わせを含むナノ粒子と、式 : A - ( L<sup>1</sup> )<sub>x</sub> - C<sup>1</sup> を有する誘導体化結合成分と、式 : C<sup>2</sup> - ( L<sup>2</sup> )<sub>y</sub> - T を有する標的化成分とを含むことができる。別の態様では、標的化送達組成物は、式 : D T - ( L<sup>1</sup> )<sub>x</sub> - C<sup>1</sup> を有する診断用または治療用成分と、式 : C<sup>2</sup> - ( L<sup>2</sup> )<sub>y</sub> - T を有する標的化成分とを含むことができる。

FIG. 1



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

標的化治療または診断用送達組成物であって、

(a) 治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせを含む、ナノ粒子；

(b) 式：

$A - (L^1)_x - C^1$

を有する誘導体化結合成分；および

(c) 式：

$C^2 - (L^2)_y - T$

を有する標的化成分

(式中、

A は、結合成分であり；

$L^1$  および  $L^2$  はそれぞれ、親水性非免疫原性水溶性連結基であり；

$C^1$  は、別のメンバー  $C^2$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり；

T は、標的化剤であり；

下付き文字 x および y はそれぞれ、独立して、0 または 1 であるが、x および y の少なくとも 1 つは、0 以外であり；

前記誘導体化結合成分の部分 A は、前記ナノ粒子に結合している) を含む、標的化治療または診断用送達組成物。

10

20

20

30

30

40

50

## 【請求項 2】

前記ナノ粒子が、リポソーム、ミセル、リボタンパク質、脂質コーティングバブル、プロックコポリマーミセル、ポリマーソーム、ニオソーム、酸化鉄粒子、シリカ粒子、デンドリマー、および量子ドットからなる群より選択される、請求項 1 に記載の送達組成物。

## 【請求項 3】

前記ナノ粒子が、SUV、LUV および MLV からなる群より選択されるリポソームである、請求項 1 に記載の送達組成物。

## 【請求項 4】

前記治療剤または前記診断剤が、前記ナノ粒子内に包埋されているか、前記ナノ粒子内に封入されているか、または前記ナノ粒子に係留されている、請求項 1 に記載の送達組成物。

## 【請求項 5】

前記結合成分が、前記ナノ粒子に共有結合するための官能基を含む、請求項 1 に記載の送達組成物。

## 【請求項 6】

前記結合成分が脂質である、請求項 1 に記載の送達組成物。

## 【請求項 7】

前記脂質が、リン脂質、糖脂質、スフィンゴ脂質またはコレステロールである、請求項 6 に記載の送達組成物。

## 【請求項 8】

前記誘導体化結合成分の部分 A が、前記ナノ粒子の脂質二重層部分内に存在し、場合により前記ナノ粒子がリポソームである、請求項 6 に記載の送達組成物。

## 【請求項 9】

$L^1$  および  $L^2$  がそれぞれ、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリカルボキシラート、多糖およびデキストランからなる群より独立して選択される親水性非免疫原性水溶性連結基である、請求項 1 に記載の送達組成物。

## 【請求項 10】

$C^1$  および  $C^2$  が、核酸 8 ~ 50 個の長さのオリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり、 $C^1$  が、核酸 8 ~ 30 個の長さの配列にわたって  $C^2$  と少なくとも 70 % 相補的であり、場合により  $C^1$  または  $C^2$  の 1 つが、 $C^1$  と  $C^2$  との間に共有結合を提

供する連結部分を含むように改変されている、請求項 1 に記載の送達組成物。

【請求項 1 1】

$C^1$  および  $C^2$  が、約 40 ~ 約 60 の融解温度で変性する、請求項 1 に記載の送達組成物。

【請求項 1 2】

$C^1$  および  $C^2$  が核酸 8 ~ 50 個の長さであり、 $C^1$  が  $C^2$  と少なくとも 70 % 相補的である、請求項 1 に記載の送達組成物。

【請求項 1 3】

T がアブタマーである、請求項 1 に記載の送達組成物。

【請求項 1 4】

T が、MUC-1、EGFR、FOL1R、クローディン4、MUC-4、CXCR4、CCR7、ソマトスタチン受容体4、Erbb-B2(赤芽球性白血病癌遺伝子ホモログ2)受容体、CD44受容体、VEGF受容体-2キナーゼ、およびヌクレオリンからなる群より選択される受容体上に存在する部位を標的とするアブタマーである、請求項 1 に記載の送達組成物。

10

【請求項 1 5】

下付き文字 x および y がそれぞれ 1 である、請求項 1 に記載の送達組成物。

【請求項 1 6】

x が 0 であり、y が 1 である、請求項 1 に記載の送達組成物。

20

【請求項 1 7】

x が 1 であり、y が 0 である、請求項 1 に記載の送達組成物。

【請求項 1 8】

前記治療剤が、ドキソルビシン、シスプラチニン、オキサリプラチニン、カルボプラチニン、5-フルオロウラシル、ゲムシタビン(gemcitabine)およびタキサンからなる群より選択される抗がん剤である、請求項 1 に記載の送達組成物。

【請求項 1 9】

前記診断剤が、放射性作用物質、蛍光剤または造影剤である、請求項 1 に記載の送達組成物。

【請求項 2 0】

前記診断剤が、 $^{111}\text{In}$ -DTPA、 $^{99}\text{mTc}(\text{CO})_3$ -DTPA、および  $^{99}\text{mTc}(\text{CO})_3$ -ENPy2からなる群より選択される放射性作用物質である、請求項 1 に記載の送達組成物。

30

【請求項 2 1】

前記診断剤が蛍光剤である、請求項 1 に記載の送達組成物。

【請求項 2 2】

前記診断剤がMR剤またはX線造影剤である、請求項 1 に記載の送達組成物。

【請求項 2 3】

標的化送達組成物であって、

(a) 式 :

$\text{DT} - (\text{L}^1)_x - \text{C}^1$

40

を有する診断用または治療用成分；

(b) 式 :

$\text{C}^2 - (\text{L}^2)_y - \text{T}$

を有する標的化成分

(式中、

DT は、治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせであり；

$\text{L}^1$  および  $\text{L}^2$  はそれぞれ、親水性非免疫原性水溶性連結基であり；

$\text{C}^1$  は、別のメンバー  $\text{C}^2$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $\text{C}^1$  および  $\text{C}^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり；

T は、標的化剤であり；

50

下付き文字  $x$  および  $y$  はそれぞれ、独立して、0 または 1 であるが、 $x$  および  $y$  の少なくとも 1 つは、0 以外である) を含む、標的化送達組成物。

**【請求項 2 4】**

下付き文字  $x$  および  $y$  がそれぞれ 1 である、請求項 2 3 に記載の送達組成物。

**【請求項 2 5】**

$x$  が 0 であり、 $y$  が 1 である、請求項 2 3 に記載の送達組成物。

**【請求項 2 6】**

$x$  が 1 であり、 $y$  が 0 である、請求項 2 3 に記載の送達組成物。

**【請求項 2 7】**

標的化治療または診断用送達組成物であって、

10

(a) ナノ粒子；

(b) 式：

$A - (L^1)_x - C^1$

を有する誘導体化結合成分；および

(c) 式：

$C^2 - (L^2)_y - DT$

を有する診断用または治療用成分

(式中、

$A$  は、結合成分であり；

$L^1$  および  $L^2$  はそれぞれ、親水性非免疫原性水溶性連結基であり；

20

$C^1$  は、別のメンバー  $C^2$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり；

$DT$  は、治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせであり；

下付き文字  $x$  および  $y$  はそれぞれ、独立して、0 または 1 であるが、 $x$  および  $y$  の少なくとも 1 つは、0 以外であり；

前記誘導体化結合成分の部分  $A$  は、前記ナノ粒子に結合している) を含む、標的化治療または診断用送達組成物。

**【請求項 2 8】**

式：

$A - (L^1) - C^1$

30

(式中、

$A$  は、結合成分であり；

$L^1$  は、親水性非免疫原性水溶性連結基であり；

$C^1$  は、別のメンバー  $C^2$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体である) を有する、誘導体化結合成分。

**【請求項 2 9】**

前記結合成分が、ナノ粒子に共有結合するための官能基を含む、請求項 2 8 に記載の誘導体化結合成分。

**【請求項 3 0】**

前記結合成分が脂質である、請求項 2 8 に記載の誘導体化結合成分。

40

**【請求項 3 1】**

前記結合成分が、リン脂質、糖脂質、スフィンゴ脂質またはコレステロールである、請求項 3 0 に記載の誘導体化結合成分。

**【請求項 3 2】**

前記親水性非免疫原性水溶性連結基が、ポリエチレンジリコール、ポリプロピレンジリコール、ポリビニルアルコール、ポリカルボキシラート、多糖およびデキストランからなる群より選択される、請求項 2 8 に記載の誘導体化結合成分。

**【請求項 3 3】**

$C^1$  および  $C^2$  が少なくとも 70 % 相補的である、請求項 2 8 に記載の誘導体化結合成分

50

。

**【請求項 3 4】**

$C^1$  および  $C^2$  が、核酸 8 ~ 50 個の長さであり、 $C^1$  が、8 ~ 30 個の核酸の配列にわたって  $C^2$  と少なくとも 70 % 相補的であり、場合により  $C^1$  または  $C^2$  の 1 つが、 $C^1$  と  $C^2$  との間に共有結合を提供する連結部分を含むように改変されている、請求項 2 8 に記載の誘導体化結合成分。

**【請求項 3 5】**

$C^1$  および  $C^2$  が、少なくとも 70 % 相補的であるように選択される非天然配列を有する、請求項 2 8 に記載の誘導体化結合成分。

**【請求項 3 6】**

$C^1$  および  $C^2$  の少なくとも 1 つが *in vitro* で合成される、請求項 2 8 に記載の誘導体化結合成分。

**【請求項 3 7】**

式：

$$(D T) - (L^1) - C^1$$

(式中、

DT は、治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせであり；

$L^1$  は、親水性非免疫原性水溶性連結基であり；

$C^1$  は、別のメンバー  $C^2$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体である) を有する、診断用または治療用成分。

**【請求項 3 8】**

前記診断剤が、放射性作用物質、蛍光剤または造影剤である、請求項 3 7 に記載の診断用または治療用成分。

**【請求項 3 9】**

前記診断剤が、 $^{111}\text{In}$  - DTPA、 $^{99}\text{mTc}(\text{CO})_3$  - DTPA、および  $^{99}\text{mTc}(\text{CO})_3$  - ENPy 2 からなる群より選択される放射性作用物質である、請求項 3 7 に記載の診断用または治療用成分。

**【請求項 4 0】**

前記診断剤が蛍光剤である、請求項 3 7 に記載の診断用または治療用成分。

**【請求項 4 1】**

前記診断剤が MR 剤または X 線造影剤である、請求項 3 7 に記載の診断用または治療用成分。

**【請求項 4 2】**

前記治療剤が、ドキソルビシン、シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチン、5 - フルオロウラシル、ゲムシタビン (gemcitabine) およびタキサンからなる群より選択される、請求項 3 7 に記載の診断用または治療用成分。

**【請求項 4 3】**

式：

$$C^2 - (L^2) - T$$

(式中、

$L^2$  は、親水性非免疫原性水溶性連結基であり；

$C^2$  は、別のメンバー  $C^1$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり；

T は、標的化剤である) を有する、標的化成分。

**【請求項 4 4】**

$C^1$  および  $C^2$  が少なくとも 70 % 相補的である、請求項 4 3 に記載の標的化成分。

**【請求項 4 5】**

T がアプタマーである、請求項 4 3 に記載の標的化成分。

**【請求項 4 6】**

10

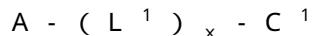
20

30

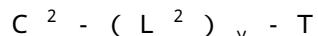
40

50

標的化治療または診断用送達組成物を調製する方法であって、式：



を有する誘導体化結合成分を、式：



を有する標的化成分と、二重鎖が  $C^1$  と  $C^2$  との間に形成されるのに十分な条件下で接触させること

(式中、

$A$  は、結合成分であり；

$L^1$  および  $L^2$  はそれぞれ、親水性非免疫原性水溶性連結基であり；

$C^1$  は、別のメンバー  $C^2$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  10  
は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり；

$T$  は、標的化剤であり；

下付き文字  $x$  および  $y$  はそれぞれ、独立して、0 または 1 であるが、 $x$  および  $y$  の少なくとも 1 つは、0 以外であり；

前記誘導体化結合成分の部分  $A$  は、ナノ粒子に結合している)  
を含む、方法。

#### 【請求項 4 7】

標的化送達組成物を調製する方法であって、式：



を有する診断用または治療用成分を、式：



を有する標的化成分と、二重鎖が  $C^1$  と  $C^2$  との間に形成されるのに十分な条件下で接触させること

(式中、

$D T$  は、治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせであり；

$L^1$  および  $L^2$  はそれぞれ、親水性非免疫原性水溶性連結基であり；

$C^1$  は、別のメンバー  $C^2$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  20  
は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり；

$T$  は、標的化剤であり；

下付き文字  $x$  および  $y$  はそれぞれ、独立して、0 または 1 であるが、 $x$  および  $y$  の少なくとも 1 つは、0 以外である)

を含む、方法。

#### 【請求項 4 8】

被験体におけるがん状態を処置または診断するための方法であって、前記方法は、請求項 1 に記載の標的化送達組成物を前記被験体に投与することを含み、前記治療または診断剤が前記状態を処置または診断するのに十分である、方法。

#### 【請求項 4 9】

前記標的化剤が、MUC-1、EGFR、FOL1R、クローディン4、MUC-4、CXCR4、CCR7、ソマトスタチン受容体4、Erbb-B2(赤芽球性白血病癌遺伝子ホモログ2)受容体、CD44受容体、VEGF受容体-2キナーゼ、およびヌクレオリンからなる群より選択される受容体上に存在する部位を標的とするアプタマーである、請求項 4 8 40  
に記載の方法。

#### 【請求項 5 0】

前記ナノ粒子が、ドキソルビシン、シスプラチン、オキサリプラチン、カルボプラチン、5-フルオロウラシル、ゲムシタビン(gemcitabine)およびタキサンからなる群より選択される抗がん剤を封入するリポソームである、請求項 4 8 に記載の方法。

#### 【請求項 5 1】

$C^1$  および  $C^2$  がそれぞれ、12~25 個の核酸を有するオリゴヌクレオチドであり、90 %を超えて相補的である、請求項 4 8 に記載の方法。

#### 【請求項 5 2】

標的化治療的処置についての被験体の適性を判定する方法であって、前記方法が、請求項1に記載の標的化送達組成物を前記被験体に投与すること、および前記被験体をイメージングして診断剤を検出することを含み、前記ナノ粒子が前記診断剤を含む、方法。

#### 【請求項53】

被験体におけるがん状態を処置または診断するための方法であって、前記方法が、請求項37に記載の標的化送達組成物を前記被験体に投与することを含み、前記治療または診断剤が前記状態を処置または診断するのに十分である、方法。

#### 【請求項54】

標的化治療的処置についての被験体の適性を判定する方法であって、前記方法が、請求項37に記載の標的化送達組成物を前記被験体に投与すること、および前記被験体をイメージングして前記診断剤を検出することを含み、前記診断剤が連結基に直接結合している、方法。

10

#### 【発明の詳細な説明】

##### 【技術分野】

##### 【0001】

関連出願への相互参照

本出願は、2011年9月30日に出願された米国仮特許出願第61/541,797号の利益を主張し、この米国仮特許出願第61/541,797号の全内容が、本明細書において参考として援用される。

##### 【0002】

20

政府支援の研究開発下でなされた発明に対する権利に関する陳述  
該当なし。

##### 【0003】

コンパクトディスクで提出した「配列表」、表、またはコンピュータプログラムを列挙している付録への参照  
該当なし。

##### 【背景技術】

##### 【0004】

発明の背景

がんは、あらゆる年齢の人々が罹患し得る疾患の一種である。したがって、患者のがんを処置または診断することができる治療法を提供しようとする多大な努力がなされている。最近、体内におけるナノ粒子の標的化送達が、薬物送達および画像診断技術の新たな手段の候補として議論されている。残念なことに、がんを有効に処置または診断することができるナノ粒子系製品の作製には、障害が依然として存在している。したがって、がんを処置または診断し、患者の個別介護を容易にする方法を提供することができる新たな標的化送達法の必要性がある。

30

##### 【発明の概要】

##### 【課題を解決するための手段】

##### 【0005】

発明の簡単な要旨

本発明は、標的化送達組成物、および被験体の病態（例えば、がん状態）の処置および診断におけるそれらの使用方法を提供する。

40

##### 【0006】

本発明の一態様では、標的化送達組成物は、治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせを含むナノ粒子と、式： $A - (L^1)_x - C^1$  を有する誘導体化結合成分と、式： $C^2 - (L^2)_y - T$  を有する標的化成分と（これらはそれぞれ、以下により詳細に記載される）を含むことができる。別の態様では、標的化送達組成物は、式： $D T - (L^1)_x - C^1$  を有する診断用または治療用成分と、式： $C^2 - (L^2)_y - T$  を有する標的化成分（これらはそれぞれ、以下により詳細に記載される）を含むことができる。

##### 【0007】

50

標的化送達組成物、ならびにこのような組成物の作製方法および使用方法は、多数の独自の観点を薬物送達および画像診断の領域に提供する。例えば、標的化送達組成物のある特定の成分（例えば、ナノ粒子および結合成分）を様々なプロセスによって組み合わせてから標的化成分を追加して、最終的なアセンブリを形成することができる。本明細書において記載される二重鎖形成技術は、これらの利点を提供することができる。ある特定の場合では、これらの利点はまた、被験体の状態を処置および／または診断するためのより個別的な方法を提供するのに使用することができる（例えば、標的化送達組成物は、個別的な医療法の向上を提供することができる）。

#### 【0008】

本明細書の他の部分および図面を参照することによって、本発明の本質および利点についてのさらなる理解を実現することができる。10

#### 【図面の簡単な説明】

#### 【0009】

【図1】図1は、本発明の例示的な実施形態にしたがう標的化送達組成物の構造を図示する。

#### 【0010】

【図2】図2は、本発明の例示的な実施形態にしたがう架橋反応を図示する。

#### 【発明を実施するための形態】

#### 【0011】

##### 発明の詳細な説明

I. 定義20

本明細書において使用される場合、用語「標的化送達組成物」は、全般的に、被験体における病態を処置および／または診断するのに使用され得る組成物を指す。いくつかの実施形態では、本発明の標的化送達組成物としては、本明細書において記載されるナノ粒子、誘導体化結合成分および標的化成分を含むことができる「標的化治療または標的化診断用送達組成物」を挙げることができる。他の実施形態では、本発明の標的化送達組成物は、診断用または治療用成分および標的化成分を含むことができる。本発明の組成物は、治療用組成物として、診断用組成物として、または治療用組成物および診断用組成物の両方として使用することができる。ある特定の実施形態では、該組成物は、本明細書においてさらに記載されるように、被験体または試験試料内の特定の標的に標的化することができる。30

#### 【0012】

本明細書において使用される場合、用語「ナノ粒子」は、様々なサイズ、形状、種類、および用途の粒子を指し、これらは、本明細書においてさらに記載される。当業者によつて認識されるように、ナノ粒子の特性、例えば、サイズは、ナノ粒子の種類および／または用途、ならびに当技術分野において一般に周知の他の要因に依存し得る。一般に、ナノ粒子は、約1nm～約1000nmのサイズの範囲であり得る。他の実施形態では、ナノ粒子は、約10nm～約200nmのサイズの範囲であり得る。さらに他の実施形態では、ナノ粒子は、約50nm～約150nmのサイズの範囲であり得る。ある特定の実施形態では、ナノ粒子は、腎排泄限界よりサイズが大きく、例えば、直径が約6nmより大きい。他の実施形態では、ナノ粒子は、肝臓による血流からのクリアランスを回避するのに十分小さく、例えば、直径が1000nmより小さい。ナノ粒子としては、球体、円錐体、スフェロイド、および当技術分野において一般に公知の他の形状を挙げることができる。ナノ粒子は、中空（例えば、コアの外側が中実（solid）で、コアの内側が中空）でもよいし中実でもよく、中空層と中実層または様々な中実層とで多層化されていてもよい。例えば、ナノ粒子は、中実コア領域および中実外側封入領域を含むことができ、これらの両方を架橋することができる。ナノ粒子は、脂質、ポリマー、磁性材料、またはシリカ、および酸化鉄などの金属材料などを含む様々な物質の中の1つの物質または任意の組み合わせから構成され得る。脂質としては、脂肪、ワックス、ステロール、コレステロール、コレステロール誘導体、脂溶性ビタミン、モノグリセリド、ジグリセリド、リン脂質40

、スフィンゴ脂質、糖脂質、カチオン性脂質またはアニオン性脂質、誘導体化脂質、およびカルジオリピンなどを挙げることができる。ポリマーとしては、一般にプロックコポリマー、ポリ(乳酸)、ポリ(乳酸-co-グリコール酸)、ポリエチレングリコール、アクリル酸ポリマー、カチオン性ポリマー、ならびにナノ粒子を作製するのに使用するための当技術分野において公知の他のポリマーを挙げることができる。いくつかの実施形態では、ポリマーは、生分解性および/または生体適合性であり得る。ナノ粒子としては、リポソーム、ミセル、リポタンパク質、脂質コーティングバブル、プロックコポリマーミセル、ポリマーソーム、ニオソーム、量子ドット、酸化鉄粒子、デンドリマー、またはシリカ粒子を挙げができる。ある特定の実施形態では、脂質単層または脂質二重層は、脂質によってコーティングされ得る材料から構成されるナノ粒子、例えば、ポリマーナノ粒子を完全または部分的にコーティングすることができる。いくつかの実施形態では、リポソームとしては、多層ベシクル(MLV)、大単層ベシクル(LUV)、および小単層ベシクル(SUV)を挙げができる。

10

## 【0013】

本明細書において使用される場合、用語「治療剤」は、有効量で存在する場合、それを必要とする被験体に所望の治療効果を生じさせる化合物または分子を指す。本発明は、本明細書においてさらに記載されるように、広い範囲の治療剤、および標的化送達組成物と併せたこれらの使用を意図する。

20

## 【0014】

本明細書において使用される場合、用語「診断剤」は、被験体または試験試料中に検出することができる成分を指し、本明細書においてさらに記載される。

30

## 【0015】

本明細書において使用される場合、用語「結合成分」は、本明細書においてさらに記載されるように、式A-(L<sup>1</sup>)<sub>x</sub>-C<sup>1</sup>を有する誘導体化結合成分の部分Aを指す。本発明の結合成分は、ナノ粒子に(共有または非共有)結合することができる。ある特定の実施形態では、結合成分は、ナノ粒子の任意の部分(表面または内部領域を含む)に共有結合することができる。共有結合は、当技術分野において一般に公知の連結化学反応(限定されないが、本明細書においてさらに記載されるものを含む)を使用して達成することができる。他の実施形態では、非共有相互作用としては、親和性相互作用、金属配位、物理吸着、疎水性相互作用、ファンデルワールス相互作用、水素結合相互作用、磁気相互作用、静電相互作用、双極子間相互作用、抗体結合相互作用などを挙げることができる。いくつかの実施形態では、結合成分は、ナノ粒子の脂質二重層部分内に存在することができ、ある特定の実施形態では、ナノ粒子は、リポソームである。例えば、結合成分は、脂質二重層の疎水性および/または親水性領域と部分的または全体的に相互作用する脂質であり得る。

30

## 【0016】

本明細書において使用される場合、用語「誘導体化」は、特定の目的で改変されているかまたはその目的に適合させられている分子の誘導体型を指す。例えば、本発明の誘導体化結合成分は、該結合成分が親水性非免疫原性水溶性連結基(これは、その次にオリゴヌクレオチド、例えばC<sup>1</sup>に共有結合することができる)で誘導体化されるように、式A-(L<sup>1</sup>)-C<sup>1</sup>を有することができる。

40

## 【0017】

本明細書において使用される場合、用語「標的化成分」は、本明細書においてさらに記載されるように、式C<sup>2</sup>-(L<sup>2</sup>)<sub>y</sub>-Tを有する標的化送達組成物の成分を指す。ある特定の実施形態では、本発明の標的化成分は、特定の標的、例えばがん細胞上の標的、エピトープ、組織部位または受容体部位に結合することができる。

50

## 【0018】

本明細書において使用される場合、用語「標的化剤」は、標的に対して特異的である分子を指す。ある特定の実施形態では、標的化剤としては、標的リガンドの低分子模倣体(例えば、ペプチド模倣リガンド)、標的リガンド(例えば、RGDペプチド含有ペプチド

、もしくは葉酸アミド)、または特定の標的に特異的な抗体もしくは抗体断片を挙げることができる。標的化剤は、疾患の特定の発症段階と関連し得る器官、組織、細胞、細胞外マトリックス成分、および/または細胞内コンパートメントにおける標的を含む多種多様な標的に結合することができる。いくつかの実施形態では、標的には、がん細胞、特にがん幹細胞を挙げができる。標的には、細胞表面の抗原、またはがん細胞に存在するかもしくは正常組織と比較してがん細胞ではより優勢な抗原である腫瘍マーカーをさらに挙げができる。ある特定の実施形態では、標的化剤としては、葉酸誘導体、B-12誘導体、インテグリンRGDペプチド、RGD模倣体、NGR誘導体、ソマトスタチン受容体に結合するソマトスタチン誘導体またはペプチド、例えば、オクトレオチドおよびオクトレオテートなどをさらに挙げができる。いくつかの実施形態では、標的化剤は、核酸(例えば、DNAまたはRNA)またはペプチドから構成され、特定の標的に結合するアプタマーであり得る。標的化剤は、受容体標的、特に、腫瘍に関連して発現される受容体標的に特異的または非特異的に結合するように設計することができる。受容体標的の例としては、限定されないが、MUC-1、EGFR、クローディン4、MUC-4、CXCR4、CCR7、FOL1R、ソマトスタチン受容体4、Erbb-2(赤芽球性白血病発癌遺伝子相同体2)受容体、CD44受容体、およびVEGF受容体-2キナーゼが挙げられる。

10

## 【0019】

本明細書において使用される場合、用語「親水性非免疫原性水溶性連結基」は、成分のある部分と同じ成分の別の部分に連結する分子を指す。連結基は、本明細書においてさらに記載され、L<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>が挙げられる。

20

## 【0020】

本明細書において使用される場合、用語「オリゴヌクレオチド」は、全般的に、ヌクレオチド鎖を指し、1ヌクレオチドよりも多いヌクレオチドの任意のヌクレオチド鎖を挙げができる。オリゴヌクレオチドとしては、例えば、8~20個の核酸の短いヌクレオチド配列を挙げができる。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、核酸約2~約100個の長さ、核酸約2~約50個の長さ、核酸約8~約50個の長さ、核酸約8~約40個の長さ、核酸約10~約30個の長さ、または核酸約20~約30個の長さの範囲であり得る。オリゴヌクレオチドとしては、例えば、天然塩基(例えば、アデニン、グアニン、チミン、ウラシルおよびシトシン)を挙げができる。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド配列は、天然のものでもよいし、非天然のものでもよい。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、二重鎖を形成することができ、DNAまたはRNAのいずれかであり得る。

30

## 【0021】

本明細書において使用される場合、用語「オリゴヌクレオチド模倣体」は、DNAまたはRNAを模倣することができる分子を指す。オリゴヌクレオチド模倣体としては、人工模倣体または非天然模倣体、例えばペプチド核酸(PNA)および他のホスホロチオエート類似体を挙げができる。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド模倣体は、オリゴヌクレオチド模倣体同士で(例えば、PNA/PNA)またはオリゴヌクレオチドと(例えば、PNA/DNAまたはPNA/RNA)二重鎖を形成することができる。ある特定の実施形態では、ユニバーサル塩基および/または修飾塩基を使用することができる。

40

## 【0022】

本明細書において使用される場合、用語「連結部分」は、典型的には共有結合によって2つ以上のオリゴヌクレオチド同士を連結することができる化学基を指す。例えば、本発明のある特定の実施形態では、ヌクレオチド対は、ある特定の条件下で一緒に架橋(例えば、光架橋、または塩基触媒架橋もしくは酸触媒架橋)され得る。オリゴヌクレオチド間(between)またはオリゴヌクレオチド間(among)を架橋するための方法は周知であり、例えば、Webb, Thomas R., Matteucci, Mark D., Nucleic Acids Research (1986) 14 (19), 76

50

61-7674に記載されている。

**【0023】**

本明細書において使用される場合、用語「ステルス剤」は、ナノ粒子の表面特性を改変することができる分子を指し、本明細書においてさらに記載される。

**【0024】**

本明細書において使用される場合、用語「に包埋された」は、ナノ粒子の表面の、またはその表面の近傍の薬剤の位置を指す。ナノ粒子に包埋された薬剤は、例えば、リポソームの二重層膜内に位置してもよいし、ナノ粒子の外側ポリマーシェル内に、そのシェル内に含まれるように位置してもよい。

**【0025】**

本明細書において使用される場合、用語「に封入された」は、ナノ粒子の内側に囲い込まれているかまたは完全に含まれている薬剤の位置を指す。リポソームの場合、例えば、治療剤および／または診断剤を、リポソームの水性内部に存在するように封入することができる。次いで、リポソームを不安定化するか、または封入された薬剤の放出を他の方法で生じさせることを目的とするある特定の条件によって、このような封入された薬剤の放出を誘発することができる。

**【0026】**

本明細書において使用される場合、用語「に係留された」は、成分の1つまたは複数が空間内で自由に動き回ることができるような、ある成分の別の成分への結合を指す。ある特定の例示的な実施形態では、結合成分を、ナノ粒子周囲の溶液中で自由に動き回るようナノ粒子に係留することができる。いくつかの実施形態では、結合成分は、ナノ粒子の表面に係留され、表面から離れて伸長することができる。

**【0027】**

本明細書において使用される場合、用語「共有結合するための官能基」は、第1の分子を第2の分子上の別の官能基（または、第1の分子上の別の部位）に共有結合させるのに使用することができる第1の分子の部分を指す。官能基は当技術分野において周知であり、限定されないが、アミノ、ヒドロキシル、カルボン酸、アミド、アジド、-ハロケトン、-不飽和ケトン、アルキン、ジエン、エナミン、マレイミド基、チオールなどを挙げることができる。

**【0028】**

本明細書において使用される場合、用語「脂質」は脂質分子を指し、脂肪、ワックス、ステロール、コレステロール、コレステロール誘導体、脂溶性ビタミン、モノグリセリド、ジグリセリド、リン脂質、スフィンゴ脂質、糖脂質、カチオン性脂質またはアニオン性脂質、および誘導体化脂質などを挙げることができる。脂質は、ミセル、単層、および二重層膜を形成することができる。ある特定の実施形態では、脂質は、リポソームに自己組織化することができる。他の実施形態では、脂質は、単層または二重層としてナノ粒子の表面を覆うことができる。

**【0029】**

本明細書において使用される場合、用語「アプタマー」は、特定の標的に結合する核酸またはペプチド分子を指す。DNAアプタマーまたはRNAアプタマーとしては、限定されないが、天然のものでもよいし非天然のものでもよい短いオリゴヌクレオチド配列を挙げることができ、SELEX（指数関数的富化によるリガンドの系統的進化）などのin vitro選択プロセスを使用して選択することができる。SELEXは、例えば、米国特許第5,270,163号明細書および米国特許第5,475,096号明細書（これらは、参考として本明細書に援用される）に記載されている。他の選択プロセスとしては、MonoLex（商標）技術（Aptares AGの單一ラウンドアプタマー単離法；例えば、米国特許出願公開第20090269752号明細書に記載されている）、in vivo選択プロセス、またはこれらの組み合わせをさらに挙げができる。本発明に使用するためのアプタマーは、限定されないが、MUC-1、EGFR、クローディン4、MUC-4、CXCR4、CCR7、FOL1R、ソマトスタチン受容体4、

10

20

30

40

50

Erb-B2(赤芽球性白血病発癌遺伝子相同体2)受容体、CD44受容体、VEGF受容体-2キナーゼ、およびヌクレオリンを含む様々な標的に結合するように設計することができる。

### 【0030】

本明細書において使用される場合、用語「選択的結合ペア」は、互いに対して、典型的には特異的な様式で結合する、一対の分子(例えば、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体)を指す。ある特定の実施形態では、選択的結合ペアは、他のもの(例えば、別のオリゴヌクレオチドメンバー)よりも1つまたは複数のDNA配列に対して結合選択性を有する一方のオリゴヌクレオチドメンバーを含むことができる。所定のオリゴヌクレオチドについては、非配列特異的(検出可能な選択性を有しない)なものから、配列選択的なもの、完全な配列特異性(すなわち、すべての候補配列の中で単一の配列のみを認識)にまで及ぶ様々なDNA配列に対する差次的親和性のスペクトルがある。結合ペアの選択特性は、融解温度、または2つの結合ペアメンバー間の相補性などの様々な方法で説明することができる。ある特定の実施形態では、選択的結合ペアとしては、本明細書においてさらに記載されるように、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>が挙げられる。

### 【0031】

本明細書において使用される場合、用語「相補的」は、オリゴヌクレオチド鎖間の塩基対合の量を指す。ある特定の実施形態では、2つのオリゴヌクレオチド間の相補性の量は、パーセンテージで表すことができる。例えば、塩基対合が、第1および第2のオリゴヌクレオチド鎖に沿って連続する各ヌクレオチド間で形成される場合、第1のオリゴヌクレオチド鎖は、第2のオリゴヌクレオチド鎖と完全に相補的(すなわち、100%相補的)である。いくつかの実施形態では、完全長または部分長のオリゴヌクレオチド鎖は、別のオリゴヌクレオチド鎖と相補的(例えば、完全に相補的)であろう。相補的オリゴヌクレオチド鎖は、異なる長さでもよいし、同じ長さでもよい。ある特定の実施形態では、本発明のオリゴヌクレオチドは、少なくとも70%相補的であり得る。例えば、70%相補的な2つのオリゴヌクレオチドは、例えば、7個のオリゴヌクレオチドが塩基対合を形成し、3個が塩基対合を形成しない10ヌクレオチドの長さを有することができる。別の実施形態では、オリゴヌクレオチドは、80%を超えて相補的でもよいし、90%を超えて相補的でもよいし、95%を超えて相補的でもよい。用語「パーセント同一性」はまた、最大一致について比較およびアライメントする場合に、同じものであるか、または特定割合の同じヌクレオチドもしくはアミノ酸残基を有する2つ以上の核酸またはポリペプチド配列に関連して使用することができる。パーセント同一性を決定するには、配列を最適な比較目的でアライメントする(例えば、第2のアミノ酸または核酸配列と最適にアライメントするために、第1のアミノ酸または核酸配列の配列中にギャップを導入することができる)。次いで、対応するアミノ酸位置またはヌクレオチド位置のアミノ酸残基またはヌクレオチドを比較する。第1の配列の位置が、第2の配列の対応する位置と同じアミノ酸残基またはヌクレオチドによって占められている場合、それら分子は、その位置において同一である。2つの配列間のパーセント同一性は、それらの配列が共有する同一位置の数の関数である(すなわち、%同一性 = 同一位置の数 / 位置(例えば、重複している位置)の総数 × 100)。

### 【0032】

本明細書において使用される場合、用語「二重鎖が形成されるのに十分な条件」は、オリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションを可能にする条件を指す。あるオリゴヌクレオチドおよび別のオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションは、適切なハイブリダイゼーション条件を選択することによって達成することができる。ある特定の実施形態では、ハイブリダイゼーション条件としては、二重鎖をオリゴヌクレオチド間またはオリゴヌクレオチド模倣体間で形成するのに十分な条件を挙げることができる。例えば、安定かつ検出可能なハイブリッドが特定のオリゴヌクレオチド間ににおいてのみ形成するように、オリゴヌクレオチド：オリゴヌクレオチドハイブリッドの安定性は、典型的には、アッセイおよび洗浄条件に適合するものを選択する。異なるアッセイパラメータの1つ以上の操作

10

20

30

40

50

は、特定のハイブリダイゼーションアッセイの厳密な感度および特異性を決定する。より具体的には、DNA、RNA、PNA、またはDNA、RNAおよびPNAの組み合わせの相補的塩基間のハイブリダイゼーションは、温度、塩濃度、静電強度、およびバッファー組成などで変化する多種多様な条件下で起こる。これらの条件およびそれらを適用するための方法の例は、例えば、*Tijssen, Hybridization with Nucleic Acid Probes, Vol. 24, Elsevier Science (1993)*に記載されている。ハイブリダイゼーションは、一般に、ハイブリダイゼーションされる配列の性質およびその長さに応じて、約0～約70で、約1分間～約1時間の期間にわたって行う。しかしながら、ハイブリダイゼーションは、反応条件に応じて、数秒または数時間で起り得ると認識されている。

10

### 【0033】

本明細書において使用される場合、用語「非天然」は、自然状態では天然に存在しない配列または分子を指す。非天然配列は、試験試料または処置を受けている被験体中に存在する他の天然に存在するオリゴヌクレオチド配列と結合することを許さないように、2つの選択的結合ペア間ににおいてのみ特異的結合を提供するのに使用することができる。

### 【0034】

本明細書において使用される場合、用語「被験体」は、寿命の任意の段階にある任意の哺乳動物、特にヒトを指す。

### 【0035】

本明細書において使用される場合、用語「投与する」、「投与された」、または「投与すること」は、本発明の標的化送達組成物を投与する方法を指す。本発明の標的化送達組成物は、局所投与、非経口投与、静脈内投与、皮内投与、筋肉内投与、結腸投与、直腸投与、または腹腔内投与を含む様々な方法で投与することができる。非経口投与、経口投与、および静脈内投与は、好みの投与方法である。標的化送達組成物は、組成物または製剤の一部として投与することもできる。

20

### 【0036】

本明細書において使用される場合、状態、疾患、障害、または症候を「処置する」または状態、疾患、障害、または症候の「処置」という用語は、(i)疾患、障害、または症候を阻害すること、すなわち、その発達を停止すること、および(ii)疾患、障害、または症候を軽減すること、すなわち、疾患、障害、または症候の後退を引き起こすことを包含する。当技術分野において公知であるように、全身送達対局所送達、年齢、体重、全体的な健康、性別、食事、投与時間、薬物相互作用、および状態の重症度についての調整が必要であり得、当業者による通常の実験によって確認することができる。

30

### 【0037】

本明細書において使用される場合、用語「製剤」は、被験体に投与するための成分の混合物を指す。例えば、関節内（関節内）経路、静脈内経路、筋肉内経路、腫瘍内経路、皮内経路、腹腔内経路、ならびに皮下経路などによる非経口投与に適切な製剤は、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、および製剤を意図されたレシピエントの血液と等張性にする溶質を含有することができる水性および非水性の等張性滅菌注射液剤、ならびに懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤、および保存剤を含むことができる水性滅菌懸濁剤および非水性滅菌懸濁剤を含む。注射液剤および懸濁剤は、滅菌粉末、顆粒、および錠剤からも調製することができる。標的化送達組成物の製剤は、単位用量または複数回用量の密閉容器、例えば、アンプルおよびバイアルで提供することができる。標的化送達組成物は、単独でまたは他の適切な成分と組み合わせて、口または鼻部を通じた吸入を介して投与されるエアロゾル製剤（すなわち、これらは、「噴霧する」ことができる）にすることができる。エアロゾル製剤は、加圧された許容され得る噴霧剤、例えば、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、および窒素などの中に入れることができる。直腸投与に適切な製剤としては、例えば、坐剤基剤とともに有効量の標的化送達組成物を含む坐剤が挙げられる。適切な坐剤基剤としては、天然または合成のトリグリセリドまたはパラフィン炭化水素が挙げられる。加えて、標的化送達組成物と、基剤（例えば、液体トリグリセリド、ポリエチレングリコ

40

50

ール、およびパラフィン炭化水素が挙げられる)との組み合わせを含有するゼラチン直腸カプセルを使用することも可能である。ある特定の実施形態では、製剤は、局所投与することもできるし、点眼剤の形態で投与することもできる。

### 【0038】

#### 本発明の実施形態

##### I I . 概要

本発明は、標的化送達組成物、および被験体の病態の処置および診断におけるそれらの使用方法を提供する。開示される組成物および方法は、現存のアプローチを超える多数の有益な特徴を提供する。例えば、本発明の標的化送達組成物および方法は、被験体の病態を処置および/または診断することができる個別医療アプローチに使用することができる。例えば、標的化送達組成物の成分間の二重鎖結合は、標的化送達組成物を集合させる方法をさらに自由に定義することを可能にする独自の利点を提供する。

10

### 【0039】

#### I I I . 標的化送達組成物

##### A . ナノ粒子を含む標的化送達組成物

一態様では、本発明の標的化送達組成物は、標的化治療または診断用送達組成物であって、(a)治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせを含むナノ粒子；(b)式： $A - (L^1)_x - C^1$ を有する誘導体化結合成分；および(c)式： $C^2 - (L^2)_y - T$ を有する標的化成分(式中、Aは、結合成分であり； $L^1$ および $L^2$ はそれぞれ、親水性非免疫原性水溶性連結基であり； $C^1$ は、別のメンバー $C^2$ との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$ および $C^2$ は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり；Tは、標的化剤であり；下付き文字xおよびyはそれぞれ、独立して、0または1であるが、xおよびyの少なくとも1つは、0以外であり；前記誘導体化結合成分の部分Aは、前記ナノ粒子に結合している)を含む標的化治療または診断用送達組成物を含むことができる。

20

### 【0040】

図1は、本発明の例示的な実施形態にしたがって、標的化送達組成物の一般構造を示す。脂質二重層膜を示すリポソームの一部が提供されている。誘導体化結合成分は、1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(DSPE)である脂質結合成分Aから構成され得る。脂質結合成分は、ポリエチレングリコール(PEG)リンカーと共有結合することができ、これを一本鎖DNA( $C^1$ )と共有結合させることができる。標的化成分は、 $C^1$ と相補的な一本鎖DNA( $C_2$ )であって、PEGリンカーに共有結合しており、このPEGリンカーが標的化剤にさらに共有結合している一本鎖DNA( $C_2$ )から構成され得る。標的化送達組成物は、その脂質末端がリポソームの脂質二重層と会合している誘導体化結合成分であって、標的化剤の一本鎖DNA( $C_2$ )が誘導体化結合成分の一本鎖DNA( $C^1$ )とハイブリダイズしている誘導体化結合成分から構成され得る。

30

### 【0041】

#### ナノ粒子

多種多様なナノ粒子を、標的化送達組成物の構築に使用することができる。当業者によって認識されているように、ナノ粒子の特性、例えば、サイズは、ナノ粒子の種類および/または用途、ならびに当技術分野において一般に周知の他の要因に依存し得る。適切な粒子は、球体、スフェロイド、平型、板形状、管、立方体、直平行六面体、長円形、橢円、円柱、円錐体または角錐であり得る。適切なナノ粒子は、最大寸法(例えば、直径)のサイズが約1nm～約1000nm、約50nm～約200nm、および約50nm～約150nmの範囲であり得る。

40

### 【0042】

適切なナノ粒子は、当技術分野において一般に公知の様々な材料で作製することができる。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、脂質、ポリマー、またはシリカおよび酸化鉄などの金属材料などを含む1つの物質または様々な物質の任意の組み合わせを含むことが

50

できる。ナノ粒子の例としては、限定されないが、リポソーム、ミセル、リボタンパク質、脂質コーティングバブル、ブロックコポリマーミセル、ポリマーソーム、ニオソーム、酸化鉄粒子、シリカ粒子、デンドリマー、または量子ドットを挙げることができる。

#### 【0043】

いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、飽和脂質または不飽和脂質から部分的または完全に構成されるリポソームである。適切な脂質としては、限定されないが、脂肪、ワックス、ステロール、コレステロール、コレステロール誘導体、脂溶性ビタミン、モノグリセリド、ジグリセリド、リン脂質、スフィンゴ脂質、糖脂質、および誘導体化脂質などを挙げることができる。いくつかの実施形態では、適切な脂質としては、両親媒性脂質、中性脂質、非カチオン性脂質、アニオン性脂質、カチオン性脂質、または疎水性脂質を挙げることができる。ある特定の実施形態では、脂質としては、細胞膜に典型的に存在する脂質、例えばリン脂質および/またはスフィンゴ脂質を挙げができる。適切なリン脂質としては、限定されないが、ホスファチジルコリン( P C )、ホスファチジン酸( P A )、ホスファチジルエタノールアミン( P E )、ホスファチジルグリセロール( P G )、ホスファチジルセリン( P S )、およびホスファチジルイノシトール( P I )が挙げられる。適切なスフィンゴ脂質としては、限定されないが、スフィンゴシン、セラミド、スフィンゴミエリン、セレブロシド、スルファチド、ガングリオシド、およびフィトスフィンゴシンが挙げられる。他の適切な脂質としては、脂質抽出物、例えば、卵 P C 、心臓抽出物、脳抽出物、肝臓抽出物、およびダイズ P C を挙げができる。いくつかの実施形態では、ダイズ P C としては、ヒドロダイズ P C ( H y d r o S o y P C ) ( H S P C )を挙げができる。カチオン性脂質としては、限定されないが、N , N - ジオレオイル - N , N - ジメチルアンモニウムクロリド( D O D A C )、N , N - ジステアリル - N , N - ジメチルアンモニウムプロミド( D D A B )、N - ( 1 - ( 2 , 3 - ジオレオイルオキシ ) プロピル ) - N , N , N - トリメチルアンモニウムクロリド( D O T A P )、N - ( 1 - ( 2 , 3 - ジオレイルオキシ ) プロピル ) - N , N , N - トリメチルアンモニウムクロリド( D O T M A )、およびN , N - ジメチル - 2 , 3 - ジオレイルオキシ ) プロピルアミン( D O D M A )が挙げられる。非カチオン性脂質としては、限定されないが、ジミリストイルホスファチジルコリン( D M P C )、ジステアロイルホスファチジルコリン( D S P C )、ジオレオイルホスファチジルコリン( D O P C )、ジパルミトイールホスファチジルコリン( D P P C )、ジミリストイルホスファチジルグリセロール( D M P G )、ジステアロイルホスファチジルグリセロール( D S P G )、ジオレオイルホスファチジルグリセロール( D O P G )、ジパルミトイールホスファチジルグリセロール( D P P G )、ジミリストイルホスファチジルセリン( D M P S )、ジステアロイルホスファチジルセリン( D S P S )、ジオレオイルホスファチジルセリン( D O P S )、ジパルミトイールホスファチジルセリン( D P P S )、ジオレオイルホスファチジルセリン( D O P E )、パルミトイールオレオイルホスファチジルコリン( P O P C )、パルミトイールオレオイル - ホスファチジルエタノールアミン( P O P E )、およびジオレオイル - ホスファチジルエタノールアミン 4 - ( N - マレイミドメチル ) - シクロヘキサン - 1 - カルボキシラート( D O P E - m a l )、ジパルミトイールホスファチジルエタノールアミン( D P P E )、ジミリストイルホスホエタノールアミン( D M P E )、ジステアロイル - ホスファチジル - エタノールアミン( D S P E )、16 - O - モノメチル P E 、16 - O - ジメチル P E 、18 - 1 - トランス P E 、1 - ステアロイル - 2 - オレオイル - ホスファチジルエタノールアミン( p h o s p h a t i d y e t h a n o l a m i n e ) ( S O P E )、1 , 2 - ジエライドイル - s n - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン( p h o p h o e t h a n o l a m i n e ) ( トランス D O P E )、およびカルジオリピンが挙げられる。ある特定の実施形態では、脂質としては、P E G 化脂質などの誘導体化脂質を挙げができる。誘導体化脂質としては、例えば、D S P E - P E G 2 0 0 0 、コレステロール - P E G 2 0 0 0 、D S P E - ポリグリセロール、または当技術分野において一般に周知の他の誘導体を挙げができる。

#### 【0044】

10

20

30

40

50

脂質の任意の組み合わせを、リポソームなどのナノ粒子を構築するのに使用することができる。ある特定の実施形態では、リポソームなどの標的化送達組成物の脂質組成は、リポソームの特性、例えば、漏出速度、安定性、粒子サイズ、ゼータ電位、タンパク質結合性、in vivo循環、および/または腫瘍、肝臓、および脾臓などの組織への蓄積に影響を与えるように調整することができる。例えば、DSPCおよび/またはコレステロールを使用して、リポソームからの漏出を減少させることができる。DSPGおよび/またはDOTAPなどの負または正に荷電した脂質は、リポソームの表面電荷に影響を与えるように含めることができる。いくつかの実施形態では、リポソームは、約10種類以下の脂質、または約5種類以下の脂質、または約3種類以下の脂質を含むことができる。いくつかの実施形態では、存在する特定の種類の脂質のモル百分率(mol%)は、典型的には、リポソームなどのナノ粒子中に存在する総脂質の約0%~約10%、約10%~約30%、約30%~約50%、約50%~約70%、約70%~約90%、約90%~100%を含む。本明細書において記載される脂質はリポソームに含めることもできるし、または該脂質は、ポリマーナノ粒子などの本発明のナノ粒子をコーティングするのに使用することもできる。コーティングは、ナノ粒子を部分的または完全に囲むものでもよく、単層および/または二重層を含むことができる。一実施形態では、リポソームは、約50.6mol%のHSPC、約44.3mol%のコレステロール、および約5.1mol%のDスペ-P EG 2000から構成され得る。

10

20

30

40

## 【0045】

他の実施形態では、ナノ粒子の一部または全部は、ポリマー、例えば、ブロックコポリマー、またはナノ粒子を作製するための技術分野で公知の他のポリマーを含むことができる。いくつかの実施形態では、ポリマーは、生分解性および/または生体適合性であり得る。適切なポリマーとしては、限定されないが、ポリエチレン、ポリカーボネート、ポリ酸無水物、ポリヒドロキシ酸、ポリプロピルフルマレート(polypropylfumurate)、ポリカプロラクトン、ポリアミド、ポリアセタール、ポリエーテル、ポリエステル、ポリ(オルトエスチル)、ポリシアノアクリレート、ポリビニルアルコール、ポリウレタン、ポリホスファゼン、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリシアノアクリレート、ポリ尿素、ポリスチレン、ポリアミン、およびこれらの組み合わせを挙げることができる。いくつかの実施形態では、例示的な粒子としては、シェル架橋クネデル(shell cross-linked knedel)を挙げることができ、これは、以下の参考文献：Beckerら、米国特許出願第11/250830号明細書；Thurmond, K. B.ら、J. Am. Chem. Soc., 119(28)6656-6665(1997)；Woolley, K. L. , Chem. Eur. J., 3(9):1397-1399(1997)；Woolley, K. L. , J. Polym. Sci.: Part A: Polymer Chem., 38:1397-1407(2000)にさらに記載されている。他の実施形態では、適切な粒子としては、ポリ(乳酸co-グリコール酸)(PLGA)を挙げができる(Fu, K.ら、Pharm. Res., 27:100-106(2000))。

50

## 【0046】

さらに他の実施形態では、ナノ粒子は、シリカおよび酸化鉄などの本質的に金属である材料から部分的または完全に構成され得る。いくつかの実施形態では、シリカ粒子は、中空、多孔質、および/またはメソポーラスであり得る(Slowing, I. I.ら、Adv. Drug Deliv. Rev., 60(11):1278-1288(2008))。酸化鉄粒子または量子ドットも使用することができ、当技術分野において周知である(van Vlerken, L. E. & Amiji, M. M. , Expert Opin. Drug Deliv., 3(2):205-216(2006))。ナノ粒子としては、限定されないが、ウイルス粒子およびセラミック粒子も挙げられる。

## 【0047】

## 誘導体化結合成分

ある特定の実施形態では、本発明の標的化送達組成物はまた、式：A-(L<sup>1</sup>)<sub>x</sub>-C

50

<sup>1</sup> を有する誘導体化結合成分を含むことができる。結合成分Aは、誘導体化結合成分をナノ粒子に結合させるのに使用することができる。結合成分は、ナノ粒子上（例えば、ナノ粒子の表面上）の任意の位置に結合することができる。結合成分は、共有結合および／または非共有結合を含む様々な方法によって、ナノ粒子に結合することができる。以下にさらに記載されるように、誘導体化結合成分はまた、連結基L<sup>1</sup>および選択的結合ペアのメンバーC<sup>1</sup>を含むことができる。

#### 【0048】

ある特定の実施形態では、結合成分Aは、ナノ粒子上に存在する反応基に結合成分を共有結合させるのに使用され得る官能基を含むことができる。官能基は、例えば、結合成分の末端位置などの結合成分のどこにでも位置することができる。多種多様な官能基が当技術分野において一般に公知であり、いくつかのクラスの反応、例えば、限定されないが、求核置換（例えば、アミンおよびアルコールのハロゲン化アシルまたは活性エステルとの反応）、求電子置換（例えば、エナミン反応）、ならびに炭素-炭素および炭素-ヘテロ原子多重結合への付加（例えば、マイケル反応またはディールス-アルダー付加）の下で反応することができる。これらのおよび他の有用な反応は、例えばMarch, Advanced Organic Chemistry, 3rd Ed., John Wiley & Sons, New York, 1985；およびHermannson, Biocoujugate Techniques, Academic Press, San Diego, 1996で考察されている。適切な官能基としては、例えば、(a) 限定されないが、N-ヒドロキシスクシンイミドエステル、N-ヒドロキシベンズトリアゾールエステル、酸ハロゲン化物、アシルイミダゾール、チオエステル、p-ニトロフェニルエステル、アルキル、アルケニル、アルキニル、および芳香族エステルを含むカルボキシル基およびこれらの種々の誘導体；(b) エステル、エーテル、アルデヒドなどに変換することができるヒドロキシル基；(c) ハロアルキル基であって、ハロゲン化物を、求核基、例えば、アミン、カルボキシラートアニオン、チオールアニオン、カルボアニオン、またはアルコキシドイオンなどで、後に置き換えることができ、それにより、ハロゲン原子の部位において新しい基の共有結合をもたらすハロアルキル基；(d) 例えば、マレイミド基などの、ディールス-アルダー反応に関与することができるジエノフィル基；(e) 例えば、イミン、ヒドラゾン、セミカルバゾン、もしくはオキシムなどのカルボニル誘導体の形成を介して、またはグリニヤール付加もしくはアルキルリチウム付加などの機序を介して後続の誘導体化が可能であるようなアルデヒド基またはケトン基；(f) 例えば、スルホニアミドを形成するためのアミンとの後続の反応のためのハロゲン化スルホニル基；(g) ジスルフィドに変換することができるか、またはハロゲン化アシルと反応することができるチオール基；(h) 例えば、アシル化、アルキル化、または酸化され得るアミン基またはスルフヒドリル基；(i) 例えば、付加環化、アシル化、マイケル付加などを起こすことができるアルケン；ならびに(j) 例えば、アミンおよびヒドロキシル化合物と反応することができるエポキシドを挙げることができる。いくつかの実施形態では、クリック化学ベースのプラットフォームを用いて、ナノ粒子に結合成分を結合させることができる(Kolb, H. C.ら, M. G. Finn and K. B. Sharpless, Angew. Chem. Int'l. Ed. 40 (11): 2004-2021 (2001))。いくつかの実施形態では、結合成分は、1つの官能基、またはナノ粒子との複数の共有結合をもたらす複数の官能基を含むことができる。

#### 【0049】

表1は、本発明に使用され得る官能基のさらなる非限定的かつ代表的なリストを提供する。

表1. 共役化学反応についての例示的な官能基のペア

【表1】

官能基:	反応相手:
ケトン基およびアルデヒド基	アミノ、ヒドラジドおよびアミノオキシ
イミド	アミノ、ヒドラジドおよびアミノオキシ
シアノ	ヒドロキシ
アルキル化剤(ハロアルキル基およびマレイミド 誘導体など)	チオール、アミノ、ヒドラジド、アミノオキシ
カルボキシル基(活性化カルボキシル基を含む)	アミノ、ヒドロキシル、ヒドラジド、アミノオキシ
活性化スルホニル基(スルホニルクロリドなど)	アミノ、ヒドロキシル、ヒドラジド、アミノオキシ
スルフヒドリル	スルフヒドリル
His-タグ(6-Hisタグ付きペプチドまたは タンパク質など)	ニッケルトリロ酢酸

10

20

30

40

50

## 【0050】

他の実施形態では、結合成分は、非共有結合性の相互作用によってナノ粒子に結合させることができ、これらとしては、限定されないが、親和性相互作用、金属配位、物理的吸着、疎水性相互作用、ファンデルワールス相互作用、水素結合相互作用、磁気相互作用、静電相互作用、双極子-双極子相互作用、抗体結合相互作用、および相補性DNA同士間のハイブリダイゼーション相互作用などを挙げることができる。いくつかの実施形態では、結合成分は、ナノ粒子の脂質二重層部分に存在してもよく、この場合、ある特定の実施形態では、ナノ粒子はリポソームである。例えば、結合成分は、脂質二重層の疎水性領域および/または親水性領域と部分的または完全に相互作用する脂質であり得る。いくつかの実施形態では、結合成分は、ナノ粒子との非共有結合性相互作用を可能にする1つの基を含むことができるが、複数の基も意図される。例えば、複数のイオン電荷を使用することによって、結合成分とナノ粒子との間の十分な非共有結合性相互作用を生じさせることができる。代替の実施形態では、結合成分は、複数の脂質が、リポソームの二重層膜、またはナノ粒子上にコーティングされた二重層もしくは単層と相互作用するように、複数の脂質を含むことができる。ある特定の実施形態では、周囲の溶液の条件を改変して非共有結合性相互作用を破壊し、それにより、ナノ粒子から結合成分を解離させることができる。

## 【0051】

## 連結基

連結基は、本発明の標的化送達組成物の別の特徴である。当業者であれば、様々な連結基が当技術分野において公知であり、例えば、以下の参考文献: Hermanson, G. T., *Bioconjugate Techniques*, 2<sup>nd</sup> Ed., Academic Press, Inc. (2008) 中に見出され得ることを認識することができる。本発明の連結基は、成分の異なる部分間に間隔を提供するなど、さらなる特性を組成物に提供するのに使用することができる。例えば、結合成分は、選択的結合ペアのメンバー(例えば、C<sup>1</sup>)から離れて位置することができる。この間隔を使用して、例えば、選択的結合ペアのメンバー間の結合を容易にすることができます。あるいは、さらなる間隔を

使用して、例えば、標的化剤が標的に結合する場合に、ナノ粒子によって引き起こされる立体障害問題を克服することができる。いくつかの実施形態では、連結基は、標的化送達組成物の物理的特性を変化させる（例えば、成分の親水特性または疎水特性を改変する）のに使用することができる。

#### 【0052】

ある群の実施形態では、誘導体化結合成分および標的化成分は、それぞれL<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>などの親水性非免疫原性水溶性連結基を含むことができる。誘導体化結合成分の場合、親水性非免疫原性水溶性連結基は、結合成分Aを選択的結合ペアのメンバー（例えば、C<sup>1</sup>）に連結する。標的化成分の場合、親水性非免疫原性水溶性連結基は、標的化剤を選択的結合ペアのメンバー（例えば、C<sup>2</sup>）に連結させる。親水性非免疫原性水溶性連結基としては、限定されないが、ポリアルキレングリコール、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリカルボキシラート、多糖およびデキストランを挙げることができる。連結基候補のリストは、米国特許出願公開第20090149643号明細書にさらに記載されている。ある特定の実施形態では、ポリエチレングリコール（PEG）連結基としては、エチレンオキシドのオリゴマーまたはポリマーを挙げることができる。本発明は、当技術分野において一般に公知のPEGおよびその誘導体の使用を意図する。例えば、ポリエチレングリコール連結基は直鎖状でもよいし分枝鎖状でもよく、分枝鎖状のPEG分子は、中核から生じるさらなるPEG分子を有することができ、および/または複数のPEG分子は、ポリマー骨格にグラフトすることができる。ポリエチレングリコール連結基は、誘導体化することができる。ポリエチレングリコール連結基は低分子量でもよいし高分子量でもよく、例えば、PEG<sub>500</sub>、PEG<sub>2000</sub>、PEG<sub>3400</sub>、PEG<sub>5000</sub>、PEG<sub>10000</sub>、またはPEG<sub>20000</sub>（数字、例えば500は、平均分子量を示す）を挙げることができる。ある特定の実施形態では、PEG連結基としては、多分散および/または単分散PEGを挙げることができる。

10

20

30

40

50

#### 【0053】

誘導体化結合成分または標的化成分中に存在する親水性非免疫原性水溶性連結基（例えば、L<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>）の数は、それぞれ下付き文字xおよびyによって示すことができる。本発明では、種々の組み合わせが連結基に有用である。いくつかの実施形態では、下付き文字xおよびyはそれぞれ、独立して、0または1であり得る。他の実施形態では、xおよびyの少なくとも1つは、0以外である。さらに他の実施形態では、xは0でもよいし、yは1でもよい。

#### 【0054】

##### ステルス剤

いくつかの実施形態では、本発明の標的化送達組成物は、少なくとも1つのステルス剤を含むことができる。ステルス剤は、ナノ粒子が互いにおよび血液細胞または血管壁に結合するのを防ぐことができる。ある特定の実施形態では、ステルスナノ粒子、例えばステルスリポソームは、ナノ粒子が被験体に投与される場合に、免疫原性および/または反応原性を減少させることができる。ステルス剤はまた、被験体内のナノ粒子の血液循環時間を増加させることができる。いくつかの実施形態では、ナノ粒子は、例えば、ナノ粒子がステルス剤から部分的もしくは完全に構成されるか、またはナノ粒子がステルス剤でコーティングされるように、ステルス剤を含むことができる。本発明に使用するためのステルス剤としては、当技術分野において一般に周知のものを挙げることができる。適切なステルス剤としては、限定されないが、デンドリマー、ポリアルキレンオキシド、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール、ポリカルボキシラート、多糖、および/またはヒドロキシアルキルデンプンを挙げることができる。結合成分に関して上に記載したように、ステルス剤は、共有結合および/または非共有結合を介して、本明細書において記載されるホスホン酸化合物に結合することができる。例えば、いくつかの実施形態では、本明細書において記載されるホスホン酸化合物へのステルス剤の結合は、ステルス剤の末端官能基（例えば、アミノ基）と、官能基（例えば、カルボキシル基）を末端に有する連結基との間の反応を伴うことができる。

## 【0055】

ある特定の実施形態では、ステルス剤としては、ポリアルキレンオキシド、例えば「ポリエチレングリコール」を挙げることができ、これは当技術分野において周知であり、一般に、エチレンオキシドのオリゴマーまたはポリマーを指す。ポリエチレングリコール(PEG)は直鎖でもよいし分枝鎖状でもよく、分枝鎖状のPEG分子は、中核から生じるさらなるPEG分子を有することができ、そして/または複数のPEG分子は、ポリマー骨格にグラフトすることができる。当技術分野において理解されているように、ポリエチレングリコールは、ある分子量分布で生産することができ、これを使用してPEGの種類を特定することができる。例えば、PEG<sub>500</sub>は、当技術分野において一般に公知の方法によって測定した場合に約500g/molの平均分子量を有するPEG分子の分布によって特定される。あるいは、PEGは、以下の式：H-[O-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>]<sub>n</sub>-OH(式中、nは、このポリマーに存在するモノマーの数である(例えば、nは、1~200の範囲であり得る))によって表すことができる。例えば、PEG<sub>100</sub>の分布では、nが2に等しいPEGポリマーを挙げることができる。別の場合では、PEG<sub>1000</sub>としては、nが24に等しいPEG分子を挙げることができる。あるいは、PEG<sub>5000</sub>としては、nが114に等しいPEG分子を挙げることができる。いくつかの実施形態では、上に示したように、PEGは、-OH基に代えてメチル基を末端に有することができる。

10

## 【0056】

ある特定の実施形態では、PEGとしては、低分子量または高分子量のPEG、例えばPEG<sub>100</sub>、PEG<sub>500</sub>、PEG<sub>1000</sub>、PEG<sub>2000</sub>、PEG<sub>3400</sub>、PEG<sub>5000</sub>、PEG<sub>10000</sub>、またはPEG<sub>20000</sub>を挙げることができる。いくつかの実施形態では、PEGは、PEG<sub>100</sub>~PEG<sub>10000</sub>、またはPEG<sub>1000</sub>~PEG<sub>10000</sub>、またはPEG<sub>10000</sub>~PEG<sub>5000</sub>の範囲であり得る。ある特定の実施形態では、ステルス剤は、PEG<sub>500</sub>、PEG<sub>1000</sub>、PEG<sub>2000</sub>、またはPEG<sub>5000</sub>であり得る。ある特定の実施形態では、PEGは、アミン、メチルエーテル、アルコール、またはカルボン酸を末端に有することができる。ある特定の実施形態では、ステルス剤としては、それぞれが連結基で互いに連結された少なくとも2つのPEG分子を挙げることができる。連結基としては、上記のもの、例えばアミド結合(amide linkage)を挙げることができる。いくつかの実施形態では、PEG化脂質は、ナノ粒子、例えばリポソームの二重層に、ナノ粒子を「ステルス」にするのに十分な量で存在し、ここで、ステルスナノ粒子は、減少した免疫原性を示す。

20

30

40

## 【0057】

## 治療剤

本発明の標的化治療または診断用送達組成物に使用されるナノ粒子は、治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせを含む。治療剤および/または診断剤は、ナノ粒子内、前記ナノ粒子上、または前記ナノ粒子周囲のどこにでも存在することができる。いくつかの実施形態では、治療剤および/または診断剤は、ナノ粒子内に包埋するか、ナノ粒子内に封入するか、またはナノ粒子に係留することができる。ある特定の実施形態では、ナノ粒子はリポソームであり、診断および/または治療剤は、前記リポソーム内に封入されている。

40

## 【0058】

本発明に使用される治療剤は、被験体における状態を処置するように向けられた任意の剤を含むことができる。一般に、限定されないが、United States Pharmacopeia(U.S.P.) , Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th ed., McGraw Hill, 2005; Katzung, Ed., Basic and Clinical Pharmacology, McGraw-Hill / Appleton & Lange, 11th ed., September 21, 2009; Physician's Desk Reference, PDR Ne

50

etwork, 64th ed. 2010; The Merck Manual of Diagnosis and Therapy, Merck, 18th ed., 2006; または、動物の場合には、The Merck Veterinary Manual, 10th ed., Kahn Ed., Merck, 2010(これらの文献はすべて、参考として本明細書に援用される)に列挙されている剤を含む当技術分野において公知の任意の治療剤を使用することができる。

#### 【0059】

治療剤は、処置されることが所望される疾患の種類に応じて選択することができる。例えば、ある特定の種類のがんまたは腫瘍、例えば、がん、肉腫、白血病、リンパ腫、骨髄腫、および中枢神経系がん、ならびに 固形腫瘍および混合腫瘍は、同じまたは場合により異なる治療剤の投与を伴い得る。ある特定の実施形態では、被験体におけるがん状態を処置するかまたは該がん状態に影響を与えるように治療剤を送達することができ、治療剤としては、化学療法剤、例えば、アルキル化剤、代謝拮抗剤、アントラサイクリン、アルカロイド、トボイソメラーゼ阻害剤、および他の抗がん剤を挙げることができる。いくつかの実施形態では、上記薬剤としては、アンチセンス剤、マイクロRNA剤および/または siRNA剤を挙げることができる。

#### 【0060】

いくつかの実施形態では、治療剤としては、限定されないが、アバスチン、ドキソルビシン、シスプラチニン、オキサリプラチニン、カルボプラチニン、5 - フルオロウラシル、ゲムシタビン(gemcitabine)、またはタキサン、例えば、パクリタキセルおよびドセタキセルを含む抗がん剤または細胞傷害剤を挙げることができる。さらなる抗がん剤としては、限定されないが、20 - epi - 1, 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、アコダゾール塩酸塩、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、全ての - 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(amidox)、アミホスチン、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、新脈管形成阻害剤、アンタゴニストD、アンタゴニストG、アンタレリクス(antarelix)、アントラマイシン、; 抗背側形態形成タンパク質 - 1 (anti-dorsalizing morphogenetic protein - 1)、抗エストロゲン剤、アンチネオプラスチック、アンチセンスオリゴヌクレオチド、アフィディコリングリシネット、アポトーシス遺伝子モジュレーター、アポトーシス制御因子、アプリン酸、ARA - CDP - DL - PTB A、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、アゼテバ、アゾトマイシン、バッカチンII誘導体、バラノール、バチマstatt、ベンゾクロリン、ベンゾデバ、ベンゾイルスタウロスピリン、ベータラクタム誘導体、-アレチン、ベタクラマイシンB、ベツリン酸、BFGF阻害剤、ビカルタミド、ビサントレン、ビサントレン塩酸塩、ビスマジリジニルスペルミン、ビスマフィド、ジメシリ酸ビスマフィド、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、ブレキナルナトリウム、プロピリミン、ブドチタン、ブスルファン、ブチオニンスルホキシイミン、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、カナリアポックスIL - 2、カペシタピン、カラセミド、カルベチマー、カルボプラチニン、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、カルムスチン、cam 700、軟骨由来阻害因子、カルビシン塩酸塩、カルゼレシン、カゼインキナーゼ阻害剤、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、クロラムブシリ、クロリン、クロロキノキサリンスルホニアミド、シカプロスト、シロレマイシン、シスプラチニン、cis - ポルフィリン、クラドリビン、クロミフェン類似体、クロトリマゾール、コリスマ

10

20

30

40

50

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似体、コナゲニン、クランベシジン816 (crambe scidin 816)、クリスナトール、メシリ酸クリスナトール、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、シクロペントアントラキノン、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ェート、細胞溶解因子、シトスタチン、ダカルバジン、ダクリキシマブ、ダクチノマイシン、ダウノルビシン塩酸塩、デシタビン、デヒドロジデムニンB、デスロレリン、デキシホスファミド、デキソルマプラチン、デクスラゾキサン、デクスペラパミル、デザグアニン、メシリ酸デザグアニン、ジアジコン、ジデムニンB、ジドックス、ジエチルノルスペルミン、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、ドキソルビシン塩酸塩、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、ズアゾマイシン (duazomycin)、デュオカルマイシンSA、エブセレン、エコムスチン、エダトレキサート、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、エピルビシン塩酸塩、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似体、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ニシン、フルオロウラシル、フルオロシタビン、ホルフェニメクス、フォルメスタン、ホスキドン、ホストリエシン、ホストリエシンナトリウム、ホテムスチン、ガドリニ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、ゼラチナーゼ阻害剤、ゲムシタビン、塩酸ゲムシタビン、グルタチオン阻害剤、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、イホスファミド、イルモホシン、イロマstattt、イミダゾアクリドン、イミキモド、免疫賦活ペプチド、インスリン様増殖因子-1受容体阻害剤、インターフェロンアゴニスト、インターフェロンアルファ-2A、インターフェロンアルファ-2B、インターフェロンアルファ-N1、インターフェロンアルファ-N3、インターフェロンベータ-I A、インターフェロンガンマ-I B、インターフェロン、インターロイキン、イオベンギングアン、ヨードドキソルビシン、イプロプラチン、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トリアセテート、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、レプトルスタチン、レトロゾール、白血病抑制因子、白血球アルファインターフェロン、酢酸ロイプロリド、ロイプロリド/エストロゲン/プロゲステロン、リュープロレリン、レバミゾール、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、リッソクリナミド7 (lissoclinamide 7)、ロバプラチン、ロンブリシン (lombrecine)、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 (lurtotecan)、ルテチウムテキサフィリン、リソフィリン、溶解性ペプチド、メイタンシン (maitansine)、マンノスタチンA、マリマstattt、マソプロコール、マスピノ、マトリライシン阻害剤、マトリックスマタロプロテイナーゼ阻害剤、メイタンシン、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、メルカブトプリン、メテレリン、メチオニナーゼ、メトトレキセート、メトレキセートナトリウム、メトクロプラミド、メトプリン、メツレデバ、微細藻類プロテインキナーゼC阻害剤、MIF阻害剤、ミフェプリストン、ミルテ  
10  
20  
30  
40  
50

ホシン、ミリモスチム、ミスマッチニ本鎖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、マイトイシン、マイトイシン類似体、ミトナフィド、ミトスペル、ミトタン、マイトイ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、ヒト緘毛性ゴナドトロピン、モノホスホリル脂質a / ミオバクテリウム細胞壁SK、モピダモール、多剤耐性遺伝子阻害剤、多発性腫瘍抑制因子1に基づく療法、マスター抗がん剤、ミカペルオキシド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、ナグレスチブ、ナロキソン / ペンタゾシン、ナバピン、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、窒素酸化物抗酸化剤、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、06-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、オナブリストン、オンダンセトロン、オラシン、経口サイトカイン誘導物質、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、パルミトイールリゾキシン、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、パゼリップチン、ペグアスパラガーゼ、ペルデシン、ペリオマイシン、ペニタムスチン、ペントサンポリサルフェートナトリウム、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、フェニルアセテート、ホスファターゼ阻害剤、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、プラスミノーゲンアクチベーターインヒビター、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、ポルフィミーナトリウム、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、プロスタグラニンJ2、前立腺がん抗アンドロゲン剤、プロテアソーム阻害剤、プロテインAに基づく免疫モジュレーター、プロテインキナーゼC阻害剤、タンパク質チロシンホスファターゼ阻害剤、プリンヌクレオシドホスホリラーゼ阻害剤、ピューロマイシン、塩酸ピューロマイシン、ブルプリン、ピラゾフリン、ピラゾロアクリジン、ビリドキシリ化ヘモグロビンポリオキシエチレンコンジュゲート、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トランスフェラーゼ阻害剤、RAS阻害剤、RAS-GAP阻害剤、脱メチル化レトリプチン、レニウムRE186エチドロネート、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、サントピン、sarco-nu、サルコフィトールA、サルグラモスチム、SDI-1模倣体、セムスチン、老化由来阻害因子1 (senescence derived inhibitor 1)、センスオリゴヌクレオチド、シグナル伝達阻害剤、シグナル伝達モジュレーター、シムトラゼン、単鎖抗原結合タンパク質、シゾフィラン (size of furan)、ソブゾキサン、ボロカブティトナトリウム、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、スバルホス酸ナトリウム、スバルホス酸、スバルソマイシン、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ponギスタチン1、スクアラミン、幹細胞阻害剤、幹細胞分裂阻害剤、スチピアミド、ストレプトニグリン、ストレプトゾシン、ストロメライシン阻害剤、スルフィノシン、スロフェヌル、超活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、タリムスチム、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、テロメラーゼ阻害剤、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、テトラゾミニン、タリプラスチン、サリドマイド、チアミプリン、チオコラリ

10

20

30

40

50

ン、チオグアニン、チオテバ、トロンボポエチン、トロンボポエチン模倣体、チマルファシン、サイモポ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、塩酸トポテカン、トブセンチン、トレミフェン、クエン酸トレミフェン、全能性幹細胞因子、翻訳阻害剤、酢酸トレストロン、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、トリメトレキセート、グルクロン酸トリメトレキセート、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、チロシンキナーゼ阻害剤、チロホスチン (tyrophostin)、UBC 阻害剤、ウベニメクス、ウラシルマスター、ウレデバ、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、バブレオチド、バリオリンB、ベラレソール、ベラミン、ベルジン、ベルテボルフィン、硫酸ビンプラスチック、硫酸ビンクリスチン、ビンデシン、硫酸ビンデシン、硫酸ビネビジン、硫酸ビングリシネット、硫酸ビンロイロシン、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、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、ジラスコルブ、ジノスタチ、ジノスタチスチマラマー、またはゾルビシン塩酸塩を挙げることができる。10

#### 【0061】

いくつかの実施形態では、治療剤は、2つ以上の治療剤の投与を含む薬剤カクテルの一部であり得る。例えば、シスプラチンおよびオキサリプラチンの両方を有するリポソームを投与することができる。加えて、治療剤は、免疫刺激アジュバント、例えば、アルミニウムゲルもしくはアルミニウム塩のアジュバント（例えば、リン酸アルミニウム（aluminum phosphate）または水酸化アルミニウム）、リン酸カルシウム、エンドトキシン、およびトール様受容体アジュバントなどの前、それらの後、またはそれらとともに送達することができる。20

#### 【0062】

本発明の治療剤は、治療用途に使用するための放射性核種も含むことができる。例えば、<sup>111</sup>Inなどのオージェ電子のエミッターを、ジエチレントリアミン五酢酸(DTPA)または<sup>1,4,7,10</sup>-テトラアザシクロドデカン-<sup>1,4,7,10</sup>-四酢酸(DOTA)などのキレートと結合させて、処置に使用するべき標的化送達組成物、例えばリポソームに含めることができる。他の適切な放射性核種および/または放射性核種-キレートの結合としては、限定されないが、ベータ放射性核種(<sup>177</sup>Lu、<sup>153</sup>Sr、<sup>88/90</sup>Y)とDOTA、<sup>64</sup>Cu-TETA、<sup>188/186</sup>Re(CO)<sub>3</sub>-IDA；<sup>188/186</sup>Re(CO)トリアミン（環状または直鎖状）、<sup>188/186</sup>Re(CO)<sub>3</sub>-Enpy2、および<sup>188/186</sup>Re(CO)<sub>3</sub>-DTPAを挙げることができる。30

#### 【0063】

上記のように、本発明に使用される治療剤は、ナノ粒子に包埋するか、ナノ粒子に封入するか、またはナノ粒子に係留するなどの様々な方法でナノ粒子に結合させることができる。治療剤の充填は、例えば、以下の参考文献：de Villiers, M. M.ら、Eds., Nanotechnology in Drug Delivery, Springer (2009)；Gregoriadis, G., Ed., Liposome Technology: Entrapment of drugs and other materials into liposomes, CRC Press (2006)に開示されている当技術分野において公知の様々な方法によって行うことができる。一実施形態群では、1つまたは複数の治療剤をリポソームに充填することができる。リポソームの充填は、例えば、能動的または受動的に行うことができる。例えば、治療剤がリポソーム内に封入されるように、溶液中のリポソームの自己組織化プロセスの間に治療剤を含めることができる。ある特定の実施形態では、治療剤は、リポソーム二重層に、または多重膜リポソームの複数の層内に包埋することもできる。代替の実施形態では、治療剤は、リポソームに能動的に充填することができる。例えば、治療剤を含有する溶液に対して二重層膜を透過性にするような条件（例えば、エレクトロポレーション）にリポソームを4050

曝露し、それにより、治療剤がリポソームの内部体積に入ることを可能にすることができます。

#### 【0064】

##### 診断剤

本発明に使用される診断剤は、例えば、以下の参考文献：Armstrongら、Diagnostic Imaging, 5<sup>th</sup> Ed., Blackwell Publishing (2004)；Torchilin, V. P., Ed., Targeted Delivery of Imaging Agents, CRC Press (1995)；Vallabhajosula, S., Molecular Imaging: Radiopharmaceuticals for PET and SPECT, Springer (2009)に示されている当技術分野において公知の任意の診断剤を挙げることができる。診断剤は、限定されないが、放射シグナル、放射性シグナル、エコー源性シグナル、光学シグナル、蛍光シグナル、吸収シグナル、磁気シグナル、または断層撮影シグナルを含む検出可能なシグナルを提供および/または増強する薬剤を含む様々な方法によって検出することができる。診断剤をイメージングするための技術としては、限定されないが、単光子放出コンピュータ断層撮影 (SPECT)、磁気共鳴イメージング (MRI)、光学的イメージング、ポジトロン放出断層撮影 (PET)、コンピュータ断層撮影 (CT)、X線イメージング、および 線イメージングなどを挙げることができる。

#### 【0065】

いくつかの実施形態では、診断剤は、例えば、様々な画像診断技術に使用される金属イオンに結合するキレーターを含むことができる。例示的なキレーターとしては、限定されないが、エチレンジアミン四酢酸 (EDTA)、[4-(1,4,8,11-テトラアザシクロヘキサンジアミン四酢酸 (CDTA)、エチレンビス(オキシエチレンニトリロ)四酢酸 (EGTA)、ジエチレントリアミン五酢酸 (DTPA)、クエン酸、ヒドロキシエチルエチレンジアミン三酢酸 (HEDTA)、イミノ二酢酸 (IDA)、トリエチレンテトラアミン六酢酸 (TTA)、1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-テトラ(メチレンホスホン酸) (DOTP)、1,4,8,11-テトラアザシクロドデカン-1,4,8,11-四酢酸 (TETA)、1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸 (DOTA)、およびこれらの誘導体が挙げられる。

#### 【0066】

放射性同位体は、本明細書において記載される診断剤のいくつかに組み込むことができ、放射性同位体としては、線、ポジトロン、粒子および粒子、ならびにX線を放出する放射性核種を挙げることができる。適切な放射性核種としては、限定されないが、<sup>2</sup>  
<sup>25</sup>Ac、<sup>72</sup>As、<sup>211</sup>At、<sup>11</sup>B、<sup>128</sup>Ba、<sup>212</sup>Bi、<sup>75</sup>Br、<sup>77</sup>Br、<sup>14</sup>C、<sup>109</sup>Cd、<sup>62</sup>Cu、<sup>64</sup>Cu、<sup>67</sup>Cu、<sup>18</sup>F、<sup>67</sup>Ga、<sup>68</sup>Ga、<sup>3</sup>H、<sup>123</sup>I、<sup>125</sup>I、<sup>130</sup>I、<sup>131</sup>I、<sup>111</sup>In、<sup>177</sup>Lu、<sup>13</sup>N、<sup>15</sup>O、<sup>32</sup>P、<sup>33</sup>P、<sup>212</sup>Pb、<sup>103</sup>Pd、<sup>186</sup>Re、<sup>188</sup>Re、<sup>47</sup>Sc、<sup>153</sup>Sm、<sup>89</sup>Sr、<sup>99m</sup>Tc、<sup>88</sup>Yおよび<sup>90</sup>Yが挙げられる。ある特定の実施形態では、放射性作用物質としては、<sup>111</sup>In-DTPA、<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-DTPA、<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-ENPy2、<sup>62/64/67</sup>Cu-TETA、<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>-IDA、および<sup>99m</sup>Tc(CO)<sub>3</sub>トリアミン(環状または直鎖状)を挙げることができる。他の実施形態では、作用物質としては、<sup>111</sup>In、<sup>177</sup>Lu、<sup>153</sup>Sm、<sup>88/90</sup>Y、<sup>62/64/67</sup>Cu、または<sup>67/68</sup>Gaを含むDOTAおよびその種々の類似体を挙げができる。いくつかの実施形態では、リポソームは、例えば、以下の参考文献：Phillipsら、Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology, 1(1):69-83(2008)；Torchilin, V. P. & Weissig, V., Eds. Liposomes 2nd Ed.: OX

10

20

30

40

50

ford Univ. Press (2003); Elbayoumi, T. A. & Torchilin, V. P., Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging 33: 1196 - 1205 (2006); Mougin-Degraef, Mら, Int'l J. Pharmaceutics 344: 110 - 117 (2007) に示されているようなキレートに結合した脂質、例えば DTPA - 脂質を組み込むことによって放射標識することができる。

### 【0067】

他の実施形態では、診断剤としては、光学剤、例えば、蛍光剤、リン光剤、および化学発光剤などを挙げることができる。多数の剤（例えば、色素、プローブ、標識、または指示薬）が当技術分野において公知であり、本発明に使用することができる。（例えば、Invitrogen, The Handbook - A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies, Tenth Edition (2005) を参照のこと）。蛍光剤としては、様々な有機および／もしくは無機の低分子、または様々な蛍光タンパク質、およびこれらの誘導体を挙げることができる。例えば、蛍光剤としては、限定されないが、シアニン、フタロシアニン、ポルフィリン、インドシアニン、ローダミン、フェノキサジン、フェニルキサンテン、フェノチアジン、フェノセレナジン、フルオレセイン、ベンゾポルフィリン、スクアライン、ジピロロピリミドン、テトラセン、キノリン、ピラジン、コリン、クロコニウム、アクリドン、フェナントリジン、ローダミン、アクリジン、アントラキノン、カルコゲノピリリウム類似体、クロリン、ナフタロシアニン、メチン色素、インドレニウム色素、アゾ化合物、アズレン、アザアズレン、トリフェニルメタン色素、インドール、ベンゾインドール、インドカルボシアニン、ベンゾインドカルボシアニン、および 4,4'-ジフルオロ-4-ボラ-3a,4a-ジアザ-s-インダセンの一般構造を有する BODIPY（商標）誘導体、ならびに／またはこれらの任意のコンジュゲートおよび／もしくは誘導体を挙げができる。使用され得る他の剤としては、限定されないが、例えば、フルオレセイン、フルオレセイン-ポリアスパラギン酸コンジュゲート、フルオレセイン-ポリグルタミン酸コンジュゲート、フルオレセイン-ポリアルギニンコンジュゲート、インドシアニングリーン、インドシアニン-ドデカアスパラギン酸コンジュゲート、インドシアニン-ポリアスパラギン酸コンジュゲート、イソスルファンブルー、インドールジスルホネート、ベンゾインドールジスルホネート、ビス(エチルカルボキシメチル)インドシアニン、ビス(ベンチルカルボキシメチル)インドシアニン、ポリヒドロキシンドールスルホネート、ポリヒドロキシベンゾインドールスルホネート、リジッドヘテロ原子インドールスルホネート(rigid heteroatomic indole sulfonate)、インドシアニンビスプロパン酸、インドシアニンビスヘキサン酸、3,6-ジシアノ-2,5-[ (N,N,N',N')-テトラキス(カルボキシメチル)アミノ]ピラジン、3,6-[ (N,N,N',N')-テトラキス(2-ヒドロキシエチル)アミノ]ピラジン-2,5-ジカルボン酸、3,6-ビス(N-アザテジノ)ピラジン-2,5-ジカルボン酸、3,6-ビス(N-ピペラジノ)ピラジン-2,5-ジカルボン酸、3,6-ビス(N-チオモルホリノ)ピラジン-2,5-ジカルボン酸、3,6-ビス(N-チオモルホリノ)ピラジン-2,5-ジカルボン酸 S-オキシド、2,5-ジシアノ-3,6-ビス(N-チオモルホリノ)ピラジン S,S-ジオキシド、インドカルボシアニンテトラスルホネート、クロロインドカルボシアニン、および 3,6-ジアミノピラジン-2,5-ジカルボン酸が挙げられる。

### 【0068】

当業者であれば、使用される特定の光学剤が、励起に使用される波長、皮膚組織下の深さ、当技術分野において一般に周知の他の要因に依存し得ることを認識する。例えば、光学剤についての最適な吸収極大または、励起極大は、使用される剤に応じて変化し得るが、一般に、本発明の光学剤は、電磁スペクトルの紫外(UV)、可視、または赤外(IR)範囲の光を吸収するか、またはこれらの光によって励起される。イメージングについて

10

20

30

40

50

は、近IRで吸収および放出する色素（約700～900nm、例えば、インドシアニン）が好ましい。内視鏡的方法を使用する局所視覚化については、可視範囲で吸収する任意の色素が適切である。

#### 【0069】

いくつかの実施形態では、本発明のプロセスにおいて使用される非イオン化放射線は、約350nm～約1200nmの波長の範囲であり得る。例示的な一実施形態では、蛍光剤は、電磁スペクトルの可視部分の青色範囲の波長（約430nm～約500nm）を有する光によって励起することができ、電磁スペクトルの可視部分の緑色範囲の波長（約520nm～約565nm）で発光する。例えば、フルオレセイン色素は、約488nmの波長を有する光で励起することができ、約520nmの発光波長を有する。別の例として、3,6-ジアミノピラジン-2,5-ジカルボン酸は、約470nmの波長を有する光で励起することができ、約532nmの波長で蛍光を発する。別の実施形態では、光学剤の励起波長および発光波長は、電磁スペクトルの近赤外範囲に入り得る。例えば、インドシアニングリーンなどのインドシアニン色素は、約780nmの波長を有する光で励起することができ、約830nmの発光波長を有する。

10

#### 【0070】

さらに他の実施形態では、診断剤は、限定されないが、例えば、超常磁性酸化鉄（SPIO）、およびガドリニウムまたはマンガンの錯体などを含む当技術分野において一般に周知の造影剤を含むことができる。（例えば、Armstrongら、Diagnostic Imaging, 5<sup>th</sup> Ed., Blackwell Publishing (2004) を参照のこと）。いくつかの実施形態では、診断剤は、磁気共鳴（MR）イメージング剤を含むことができる。例示的な磁気共鳴剤としては、限定されないが、常磁性剤、および超常磁性剤などが挙げられる。例示的な常磁性剤としては、限定されないが、ガドベンテト酸、ガドテル酸、ガドジアミド、ガドリニウム、ガドテリドール、マンガホジビル、ガドベルセタミド、クエン酸第二鉄アンモニウム、ガドベン酸、ガドブトロール、またはガドキセト酸を挙げることができる。超常磁性剤としては、限定されないが、超常磁性酸化鉄およびフェリステンを挙げることができる。ある特定の実施形態では、診断剤は、例えば、以下の参考文献：H. S. Thomsen, R. N. Muller and R. F. Mattrey, Eds., Trends in Contrast Media, (Berlin: Springer-Verlag, 1999); P. Dawson, D. Cosgrove and R. Grainger, Eds., Textbook of Contrast Media (ISIS Medical Media 1999); Torchilin, V. P., Curr. Pharm. Biotech. 1: 183-215 (2000); Bogdanov, A. Aら、Adv. Drug Del. Rev. 37: 279-293 (1999); Sachse, Aら、Investigative Radiology 32(1): 44-50 (1997) に示されているX線造影剤を挙げるができる。X線造影剤の例としては、限定されないが、イオパミドール、イオメプロール、イオヘキソール、イオペントール、イオプロミド、イオシミド、イオベルソール、イオトロラン、イオタスル、イオジキサノール、イオデシモール、イオグルカミド、イオグルニド、イオグラミド、イオサルコール、イオキシラン、イオパミロン、メトリザミド、イオビトリドール、およびイオシメノールが挙げられる。ある特定の実施形態では、X線造影剤としては、イオパミドール、イオメプロール、イオプロミド、イオヘキソール、イオペントール、イオベルソール、イオビトリドール、イオジキサノール、イオトロラン、およびイオシメノールを挙げることができる。

20

30

40

#### 【0071】

上記治療剤と同様に、診断剤は、例えば、ナノ粒子に包埋され、ナノ粒子に封入され、またはナノ粒子に係留される工程を含む様々な方法でナノ粒子に結合させることができる。同様に、診断剤の充填は、例えば、以下の参考文献：de Villiers, M. Mら、Eds., Nanotechnology in Drug Delivery, Springer (2009); Gregoriadis, G., Ed., Liposom

50

e Technology : Entrapment of drugs and other materials into liposomes, CRC Press (2006) に開示されている当技術分野において公知の様々な方法によって行うことができる。

### 【0072】

#### 選択的結合ペア

本明細書において提供されるように、本発明の選択的結合ペアは、互いに対して典型的には特異的様式で結合する一対の分子（例えば、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体）を含む。ある特定の実施形態では、選択的結合ペアは、他のもの（例えば、別のオリゴヌクレオチドメンバー）よりも単一または複数のDNA配列に対して結合選択性を有する一方のオリゴヌクレオチドメンバーを含むことができる。所定のオリゴヌクレオチドについて、非配列特異的（検出可能な選択性を有しない）なものから、配列選択性的なもの、完全な配列特異性（すなわち、すべての候補配列の中で単一の配列のみを認識）にまで及ぶ様々なDNA配列に対する差次的親和性のスペクトルがある。本発明では、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>は、選択的結合ペアのメンバーである。ある特定の例示的な実施形態では、C<sup>1</sup>は、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>がオリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり得るような、別のメンバーC<sup>2</sup>との選択的結合ペアの一方のメンバーであり得る。ある特定の実施形態では、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>としては、互いにハイブリダイズするが、被験体中に存在するいかなるヌクレオチド配列にもハイブリダイズしないヌクレオチド配列を挙げることができる。いくつかの実施形態では、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>は、C<sup>1</sup>および/またはC<sup>2</sup>と、被験体中に存在する別の分子との間で競合結合が起こらないように、本発明の標的化送達組成物の一部として被験体に投与することができる。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド配列は、天然に存在しない配列（すなわち、非天然配列）であり得る。

10

20

30

40

### 【0073】

C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>などの選択的結合メンバーは、広範囲の長さにわたるオリゴヌクレオチドまたはおよび/またはオリゴヌクレオチド模倣体を含むことができる。例えば、オリゴヌクレオチドおよび/またはオリゴヌクレオチド模倣体は、2～100単位の長さの範囲であり得る。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチドは、核酸約2～約100個の長さ、核酸約2～約50個の長さ、核酸約8～約50個の長さ、核酸約8～約40個の長さ、核酸約10～約30個の長さ、または核酸約20～約30個の長さの範囲であり得る。

### 【0074】

全般的に、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>はそれぞれ、治療または診断を受けている被験体における標的化送達組成物の送達および輸送に適切な条件下で安定な二重鎖を形成するオリゴヌクレオチドを含むことができる。結合ペアの選択特性は、融解温度、または2つの結合ペアメンバー間の相補性などの様々な方法で説明することができる。一本鎖オリゴヌクレオチドは、相補的配列を有する一本鎖オリゴヌクレオチドと接触すると、二重鎖DNAを容易に形成することが周知である。いくつかの実施形態では、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>はそれぞれ、約95%を超えて相補的、約90%を超えて相補的、約85%を超えて相補的、約80%を超えて相補的、約75%を超えて相補的、約70%を超えて相補的、約60%を超えて相補的、または約50%を超えて相補的であり得る相補的オリゴヌクレオチド配列を含むことができる。ある特定の実施形態では、C<sup>1</sup>またはC<sup>2</sup>は、互いより長くてもよいし、同じ長さでもよい。C<sup>1</sup>はまた、C<sup>2</sup>の一部に沿って相補的でもよく、またはその逆も同様である。例えば、C<sup>1</sup>は、C<sup>2</sup>の一部と少なくとも60%相補的、少なくとも70%相補的、少なくとも80%相補的、もしくは少なくとも90%相補的でもよく、またはその逆も同様である。一実施形態では、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>は核酸40個の長さでもよく、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>は、核酸約8～約30個の長さである部分にわたって少なくとも70%相補的である。さらに別の実施形態では、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>は、12～25個の核酸を有するオリゴヌクレオチドであって、90%を超えて相補的なオリゴヌクレオチドを含むことができる。

### 【0075】

50

二重鎖DNAの安定性および2つの配列間の融解温度を予測する方法は、周知である（例えば、Breslauer, K. Jら、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, 3746 - 3750 (1986), Owczarzy Rら、Biopolymers 44, 217 - 239 (1997) ; Sugimoto Nら、Biochemistry 34, 11211 - 11216 (1995) ; Owczarzy Rら、Biochemistry 43, 3537 - 3554 (2004) に記載されている）。したがって、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>の配列は、一部の場合では予め決定することができる特定の条件下で、2つのメンバーを互いに対し選択的に結合させる方法で構築することができる。いくつかの実施形態では、本発明に使用される選択的結合ペアは、処置されている被験体の体温を超える融解温度を有する配列を包含する。ある特定の実施形態では、融解温度は、少なくとも約37超、少なくとも約38超、少なくとも約39超、少なくとも約40超、または少なくとも約41超であり得る。他の実施形態では、選択的結合ペアの融解温度は、約37～約41、約40～50、または約40～約60の範囲であり得る。さらに他の実施形態では、選択的結合ペアは、被験体の体温を少なくとも1、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4、少なくとも5、少なくとも10、または少なくとも20超える融解温度を有するように予め設計することができる。当業者であれば、本発明の特定用途に特化したある特定の融解温度を有する特定の配列を予測することを認識するであろう。

10

## 【0076】

選択的結合ペアのメンバーはまた、互いに対し選択的に結合することができるオリゴヌクレオチド模倣体を含むことができる。いくつかの実施形態では、オリゴヌクレオチド模倣体は、オリゴヌクレオチド模倣体同士で（例えば、PNA/PNA）またはオリゴヌクレオチド（例えば、PNA/DNAまたはPNA/RNA）と二重鎖を形成することができる。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド模倣体および/またはオリゴヌクレオチドは、ワトソン-クリックの水素結合ルール以外の相互作用を介してハイブリダイズすることができ、溶液中で安定な二重鎖を形成することができる（例えば、Egholmら、Nature 365: 566 - 568 (1993) を参照のこと）。

20

## 【0077】

さらに別の実施形態では、標的化送達組成物は、よりロバストになるように改変することができる。例えば、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>などの選択的結合ペアのメンバーがハイブリダイズした後、当技術分野において公知の様々な方法によって、DNA、RNAおよび/またはPNAの2本の相補鎖をさらに架橋することができる（例えば、Webb, Thomas R., Matteucci, Mark D., Nucleic Acids Research (1986) 14 (19), 7661 - 7674 を参照のこと）。当業者であれば、様々な架橋剤を使用することができること、および様々な化学反応（例えば、光架橋または化学架橋）を用いることができることを認識するであろう。加えて、オリゴヌクレオチドへの共有結合および/またはオリゴヌクレオチドの合成の最中などのいくつかの方法で、様々な連結部分をオリゴヌクレオチドに結合させることができる。ある特定の実施形態では、二重鎖の安定性は、オリゴヌクレオチド鎖間に共有結合架橋を形成することができる少なくとも1つの連結部分を組み込むことによって増加させることができる。例えば、図2に示されているように、一方のオリゴヌクレオチド鎖（例えば、C<sup>1</sup>などの選択的結合ペアのメンバー）中の3-デオキシリジンは、相補的オリゴヌクレオチド配列（C<sup>2</sup>などの選択的結合ペアの他のメンバー）中に存在するグアニン（G）と向かい合ってハイブリダイズすることができるように、配列中に配置することができる。それにより、架橋は、共有結合架橋した二重鎖ペアの形成をもたらす。

30

## 【0078】

## 標的化成分

本発明の標的化送達組成物はまた、式：C<sup>2</sup> - (L<sup>2</sup>)<sub>y</sub> - Tを有する標的化成分を含む。連結基L<sup>2</sup>および選択的結合ペアのメンバーC<sup>2</sup>は、上により詳細に記載されている。下付き文字yは、全般的に、0または1である。

40

50

## 【0079】

本発明の標的化送達組成物はまた、標的化剤Tを含む。全般的に、本発明の標的化剤は、器官、組織、細胞、細胞外マトリックス、または細胞内領域に関連した標的などの、対象とする任意の標的に結合することができる。ある特定の実施形態では、標的は、がん状態などの特定の病態に関連し得る。あるいは、標的化成分は、例えば、細胞、組織、および/または被験体の特定の疾患および/または特定の状態を示す標的を有することができる1つまたは複数の特定の種類の細胞を標的にすることができます。いくつかの実施形態では、標的化成分は、受容体などの唯一の標的に特異的であり得る。適切な標的としては、限定されないが、DNA、RNAなどの核酸、またはこれらの改変誘導体を挙げることができる。適切な標的としては、限定されないが、タンパク質、例えば、細胞外タンパク質、受容体、細胞表面受容体、腫瘍マーカー、膜貫通タンパク質、酵素、または抗体も挙げることができる。適切な標的としては、例えば、細胞表面に存在し得る单糖、二糖、または多糖などの炭水化物を挙げることができます。ある特定の実施形態では、適切な標的としては、MUC-1およびMUC-4などのムチン、EGFRなどの増殖因子受容体、クローディン4、ヌクレオリンなどの核小体リンタンパク質、CCR7などのケモカイン受容体、ソマトスタチン受容体4、Erbb-B2(赤芽球性白血病発癌遺伝子相同体2)受容体、CD44受容体、ならびにVEGF受容体-2キナーゼなどの受容体を挙げることができます。

10

## 【0080】

ある特定の実施形態では、標的化剤としては、標的リガンドの低分子模倣体(例えば、ペプチド模倣リガンド)、標的リガンド(例えば、RGDペプチド含有ペプチド、もしくは葉酸アミド)、または特定の標的に特異的な抗体もしくは抗体断片を挙げることができます。いくつかの実施形態では、標的化剤としては、葉酸誘導体、B-12誘導体、インテグリンRGDペプチド、NGR誘導体、およびソマトスタチン受容体に結合するソマトスタチン誘導体またはペプチド、例えば、オクトレオチドおよびオクトレオテートなどをさらに挙げることができます。

20

## 【0081】

本発明の標的化剤としては、アプタマーも挙げることができます。アプタマーは、対象とする標的に結合する(associate)または結合する(bind)ように設計することができます。アプタマーは、例えば、DNA、RNA、および/またはペプチドから構成され得、アプタマーの特定の側面は、当技術分野において周知である。(例えば、Kussmann, S., Ed., The Aptamer Handbook, Wiley-VCH (2006); Nissenbaum, E.T., Trends in Biotech. 26(8):442-449 (2008)を参照のこと)。本発明では、適切なアプタマーは、直鎖状であっても、環化されていてもよく、約150塩基未満(すなわち、約150mer未満)を有するオリゴヌクレオチドを含むことができる。アプタマーは、約100塩基~約150塩基または約80塩基~約120塩基の長さの範囲であり得る。ある特定の実施形態では、アプタマーは、約12塩基~約40塩基、約12塩基~約25塩基、約18塩基~約30塩基、または約15塩基~約50塩基の範囲であり得る。アプタマーは、適切な標的(これは病態で存在または発現しており、限定されないが、本明細書において言及される標的部位を含む)とともに使用するために開発することができます。

30

## 【0082】

B. 連結基に直接結合した診断および/または治療剤を含む標的化送達組成物

別の態様では、本発明は、診断および/または治療剤が連結基に直接結合している標的化送達組成物を提供する。一実施形態では、本発明の標的化送達組成物は、標的化送達組成物であって、(a)式: DT - (L<sup>1</sup>)<sub>x</sub> - C<sup>1</sup>を有する診断用または治療用成分;(b)式: C<sup>2</sup> - (L<sup>2</sup>)<sub>y</sub> - Tを有する標的化成分(式中、DTは、治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせであり; L<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>はそれぞれ、親水性非免疫原性水溶性連結基であり; C<sup>1</sup>は、別のメンバーC<sup>2</sup>との選択的結合ペアの一方のメンバーであり

40

50

、 $C^1$  および  $C^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり； $T$  は、標的化剤であり；下付き文字  $x$  および  $y$  はそれぞれ、独立して、0 または 1 であるが、 $x$  および  $y$  の少なくとも 1 つは、0 以外である) を含む標的化送達組成物を含む。

### 【0083】

別の実施形態では、本発明は、標的化治療または診断用送達組成物であって、(a) ナノ粒子；(b) 式： $A - (L^1)_x - C^1$  を有する誘導体化結合成分；および(c) 式： $C^2 - (L^2)_y - DT$  を有する診断用または治療用成分(式中、 $A$  は、結合成分であり； $L^1$  および  $L^2$  はそれぞれ、親水性非免疫原性水溶性連結基であり； $C^1$  は、別のメンバー  $C^2$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり； $DT$  は、治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせであり；下付き文字  $x$  および  $y$  はそれぞれ、独立して、0 または 1 であるが、 $x$  および  $y$  の少なくとも 1 つは、0 以外であり；前記誘導体化結合成分の部分  $A$  は、該ナノ粒子に結合している) を含む標的化治療または診断用送達組成物を提供する。

### 【0084】

一般に、当業者であれば、ナノ粒子を含む上記標的化送達組成物についての選択された実施形態は、診断および/または治療剤が連結基に直接結合している標的化送達組成物についての本明細書において開示される実施形態に同様に適用することができますことを認識するであろう。診断および/または治療剤を連結基に結合するための方法は、当技術分野において周知であり、典型的には、上により詳細に記載した共有結合である。当業者であれば、官能基および/または二官能性リンカー(それぞれ上により詳細に記載した)は、例えば、 $DT$  を連結基( $L^1$  または  $L^2$ ) に結合させるのに使用することができますことを認識するであろう。加えて、 $DT$  は、上記治療剤および/または診断剤のいずれかを含むことができ、ナノ粒子を必要とせずに治療剤および/または診断剤を被験体に直接提供する。同様に、標的化成分は、上記ナノ粒子系標的化送達組成物に使用される標的化成分と同じものでもよい。また、 $C^1$  および  $C^2$  などの選択的結合ペアのメンバーは、ナノ粒子を含む標的化送達組成物に関して上に記載したものと同じものである。

### 【0085】

#### C. 標的化送達組成物の個々の成分

さらに別の態様では、本発明は、本明細書において開示される標的化送達組成物の個々の成分を提供する。特に、本発明は、式： $A - (L^1) - C^1$ (式中、 $A$  は、結合成分であり； $L^1$  は、親水性非免疫原性水溶性連結基であり； $C^1$  は、別のメンバー  $C^2$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体である) を有する誘導体化結合成分を含む。

### 【0086】

さらに別の態様では、本発明は、式： $C^2 - (L^2) - T$ (式中、 $L^2$  は、親水性非免疫原性水溶性連結基であり； $C^2$  は、別のメンバー  $C^1$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり； $T$  は、標的化剤である) を有する標的化成分を含む。

### 【0087】

さらに別の態様では、本発明は、式： $(DT) - (L^1) - C^1$ (式中、 $DT$  は、治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせであり； $L^1$  は、親水性非免疫原性水溶性連結基であり； $C^1$  は、別のメンバー  $C^2$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体である) を有する診断用または治療用成分を含む。

### 【0088】

当業者であれば、標的化送達組成物の成分はそれぞれ、同様に、上記具体的な各実施形態を含むことを認識するであろう。

### 【0089】

#### I V . 標的化送達組成物および成分を調製する方法

##### A . ナノ粒子を含む標的化送達組成物

10

20

30

40

50

本発明の標的化送達組成物は、様々な方法で生産することができる。一態様では、本発明の標的化送達組成物は、標的化治療または診断用送達組成物を調製する方法であって、式：A - (L<sup>1</sup>)<sub>x</sub> - C<sup>1</sup>を有する誘導体化結合成分を、式：C<sup>2</sup> - (L<sup>2</sup>)<sub>y</sub> - Tを有する標的化成分と、Aをナノ粒子に結合させるのに十分な条件下で接触させること（式中、Aは、誘導体化結合成分をナノ粒子に結合させるための結合成分であり；L<sup>1</sup>およびL<sup>2</sup>はそれぞれ、親水性非免疫原性水溶性連結基であり；C<sup>1</sup>は、別のメンバーC<sup>2</sup>との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、C<sup>1</sup>およびC<sup>2</sup>は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり；Tは、標的化剤であり；下付き文字xおよびyはそれぞれ、独立して、0または1であるが、xおよびyの少なくとも1つは、0以外であり；前記誘導体化結合成分の部分Aは、ナノ粒子に結合している）を含む方法を使用して調製することができる；続いて、ナノ粒子 - A - (L<sup>1</sup>)<sub>x</sub> - C<sup>1</sup>コンジュゲートを、標的化成分と、二重鎖がC<sup>1</sup>とC<sup>2</sup>との間に形成されるのに十分な条件下で接触させる。

10

## 【0090】

全般的に、本発明の標的化送達組成物は、一工程でまたは段階的な方法（これは、任意の順序で行うことができる）で集合させることができる。例えば、誘導体化結合成分を、治療剤および/または診断剤を含むナノ粒子に結合することができる。次いで、選択的結合ペアのメンバー間のハイブリダイゼーションによって、標的化成分を標的化送達組成物に追加することができる。代替の実施形態では、すべての成分（例えば、ナノ粒子、誘導体化結合成分および標的化成分）を1つに合わせて、溶液中で共に自己集合することができる。ある特定の実施形態では、ナノ粒子はリポソームを含むことができ、該リポソームの形成中に誘導体化結合成分を含めることができる。標的化成分は、誘導体化結合成分を用いたリポソーム形成後に追加することができる。あるいは、リポソームの自己集合プロセス中に標的化成分を含めて、自己集合後に完全な標的化送達組成物を形成することができる。

20

## 【0091】

## ナノ粒子

ナノ粒子を、当技術分野において一般に公知の様々な方法によって生成することができ、このようなナノ粒子を作製する方法は、所望される特定のナノ粒子に依存し得る。当技術分野において利用可能な任意の測定技術を使用して、標的化送達組成物およびナノ粒子の特性を決定することができる。例えば、動的光散乱、X線光電子顕微鏡法、粉末X線回折、走査電子顕微鏡法（SEM）、透過型電子顕微鏡法（TEM）、および原子間力顕微鏡法（AFM）などの技術を使用して、ナノ粒子および/または標的化送達組成物の平均サイズおよび分散度を決定することができる。

30

## 【0092】

本発明の標的化送達組成物に使用されるリポソームを、当技術分野において一般に周知の様々な技術を使用して作製することができる。（例えば、Williams, A. P., Liposomes: A Practical Approach, 2<sup>nd</sup> Edition, Oxford Univ. Press (2003); Lasic, D. D., Liposomes in Gene Delivery, CRC Press LLC (1997)を参照のこと）。例えば、リポソームは、限定されないが、例えば、押し出し、攪拌、超音波処理、逆相蒸発、水溶液中の自己組織化、電極ベースの形成技術、およびマイクロフルイディック指向型形成技術（microfluidic directed formation techniques）などの技術によって生成することができる。ある特定の実施形態では、大单層ベシクル（LUV）および/または小单層ベシクル（SUV）を含むことができる、多層および/または单層であるリポソームを生成するための方法を使用することができる。溶液中のリポソームの自己組織化と同様に、ミセルは、両親媒性分子が、ミセルを形成するのに十分な溶液条件下で溶解される場合にミセルを形成するように、当技術分野において一般に周知の技術を使用して生成することができる。脂質コーティングバブルおよびリポタンパク質も、当技術分野において公知の方法を使用して構築することができる（例えば、Farook, U., J. R. Soc. Inte

40

50

rface, 6(32):271-277(2009); Lackoら、Lipoprotein Nanoparticles as Delivery Vehicles for Anti-Cancer Agents in Nanotechnology for Cancer Therapy, CRC Press(2007)を参考のこと)。

#### 【0093】

本発明に使用され得るポリマーナノ粒子を作製する方法は、当技術分野において一般に周知である(例えば、Sigmund, Wら、Eds., Particulate Systems in Nano- and Biotechnologies, CRC Press LLC(2009); Karnikら、Nano Lett., 8(9):2906-2912(2008)を参考のこと)。例えば、ブロックコポリマーが溶液中で自己組織化してポリマーソームおよび/またはブロックコポリマーミセルを形成することができるよう、当技術分野において公知の合成方法を使用して、ブロックコポリマーを作製することができる。ニオソームは、当技術分野において公知であり、様々な技術および組成物を使用して作製することができる(Baillie A. Jら、J. Pharm. Pharmacol., 38:502-505(1988))。磁性粒子および/または金属粒子は、当技術分野において公知の任意の方法、例えば、共沈、熱分解、およびマイクロエマルジョンを使用して構築することができる。(Nagarajan, R. & Hattton, T. A., Eds., Nanoparticles Synthesis, Stabilization, Passivation, and Functionalization, Oxford Univ. Press(2008)も参考のこと)。量子ドットまたは半導体ナノ結晶は、コロイド合成技術などの当技術分野において公知の任意の方法を使用して合成することができる。一般に、量子ドットは、セレン化カドミウム、硫化カドミウム、ヒ化インジウム、およびリン化インジウムなどを含む半導体材料などの様々な材料から構成され得る。

#### 【0094】

##### 誘導体化結合成分

本発明の誘導体化結合成分は、化学合成の分野において一般に公知の方法を使用して製造することができる。例えば、誘導体化結合成分のオリゴヌクレオチドおよび/またはオリゴヌクレオチド模倣体部分(例えば、C<sup>1</sup>)は、誘導体化結合成分の他の部分とは別の反応合成で生産することができる。オリゴヌクレオチド合成は、当技術分野において公知の様々な方法を使用して実施することができ、オリゴヌクレオチドの長さに依存し得る。より短いオリゴヌクレオチド、例えば20~30ヌクレオチドの場合、ホスホルアミダイト合成を使用することができる。より長いオリゴヌクレオチド、例えば5000ヌクレオチドの場合、例えば、Smithら、PNAS, 100(26):15440-15445(2003)に記載されているように、従来のクローニング技術を使用して、オリゴヌクレオチドを作製することができる。当技術分野において一般に周知の方法を使用して、ヌクレオチド生成物を単離することができる。続いて、本明細書において記載されるように、当技術分野において公知の様々な連結化学反応を使用して、合成したオリゴヌクレオチドおよび/またはオリゴヌクレオチド模倣体(例えば、C<sup>1</sup>)を親水性非免疫原性水溶性連結基の3'または5'末端に共有結合させることができる。ある特定の実施形態では、オリゴヌクレオチド(例えば、C<sup>1</sup>)を親水性非免疫原性水溶性連結基の末端に結合させる。代替の態様では、部分A、すなわち結合成分を親水性非免疫原性水溶性連結基(例えば、L<sup>1</sup>)に結合させることができ、次いで、結合成分と反対側の連結基の末端上に、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体を合成することができる。

#### 【0095】

一態様では、当技術分野において公知の従来の化学反応を使用して、親水性非免疫原性水溶性連結基をリン脂質(例えば、ジステアロイルホスホエタノールアミン)に結合させることができる。次いで、上記技術を使用して、選択的結合ペアのメンバーの末端(例えば、オリゴヌクレオチドレプリゼント(C<sup>1</sup>で表す)の3'または5'末端)をポリエチ

レングリコール基の他の末端に結合させることができる。他の実施形態では、親水性非免疫原性水溶性連結基を用いずに、選択的結合ペアのメンバー C<sup>1</sup> を結合成分に直接結合させることができる。

#### 【0096】

##### 標的化成分

本発明の標的化成分は、誘導体化結合成分について上に開示したのと同様の方法を使用して構築することができる。選択的結合ペアのメンバー（例えば、C<sup>2</sup>）は、上記オリゴヌクレオチド合成技術を使用して別個に合成することができる。次いで、選択的結合ペアのメンバーを親水性非免疫原性水溶性連結基（例えば、L<sup>2</sup>）の一方の末端に結合させることができる。続いて、あるいは選択的結合ペアのメンバーを結合させる前に、標的化剤を親水性非免疫原性水溶性連結基の反対側の末端に結合させることができる。ある特定の実施形態では、選択的結合ペアのメンバーまたは標的化剤に結合させる前に、当技術分野において一般に公知の方法を使用して、親水性非免疫原性水溶性連結基を合成することができる。

10

#### 【0097】

当業者によって認識されているように、標的化剤の特徴に依存し得る様々な方法によって、本発明の標的化剤を親水性非免疫原性水溶性連結基に結合させることができる。例えば、標的化剤がペプチド、ヌクレオチド、および炭水化物などから構成される場合、合成反応は異なり得る。

20

#### 【0098】

ある特定の実施形態では、標的化剤は、アプタマーを含むことができる。特定の標的用のアプタマーを、当技術分野において公知の技術、例えば、限定されないが、SELLEX（指數関数的富化によるリガンドの系統的進化）もしくはMonolex（商標）技術（AptaRes AGの1ラウンドのアプタマー単離手順）などのin vitro選択法、in vivo選択法、またはこれらの組み合わせを使用して同定することができる。（例えば、Ellington, A. D. & Szostak, J. W., Nature 346 (6287) : 818 - 22 ; Bockら、Nature 355 (6360) : 564 - 6 (1992) を参照のこと）。いくつかの実施形態では、本明細書において開示されるように、上記方法を使用して、対象とする特定の標的部位に結合させるのに使用され得る特定のDNA配列またはRNA配列を同定することができる。特定のアプタマーの配列が一旦同定されたら、ホスホロアミダイト合成などの当技術分野において公知の様々な方法でアプタマーを構築することができる。ペプチドアプタマーについては、様々な同定技術および製造技術を使用することができる（例えば、Collas, P., J. B. Biol. 7: 2 (2008) ; Woodman, R.ら、J. Mol. Biol. 352 (5) : 1118 - 33 (2005) を参照のこと）。選択的結合ペアのメンバーの結合に関して上に記載した反応順序と同様に、標的化成分の親水性非免疫原性水溶性連結基をアプタマーの3'または5'末端と反応させることができる。いくつかの実施形態では、選択的結合ペアのメンバー（例えば、C<sup>2</sup>）を親水性非免疫原性水溶性連結基の他の末端と反応させた後に、アプタマーを親水性非免疫原性水溶性連結基に結合させることができる。他の実施形態では、最初にアプタマーを結合させ、続いて選択的結合ペアのメンバーを結合させて、標的化成分を形成することができる。代替の実施形態では、1つの核酸を標的化成分の親水性非免疫原性水溶性連結基の末端に同時に付加させることによって、アプタマーを連続合成することができる。さらに他の実施形態では、選択的結合ペアのメンバーおよび標的化剤（例えば、アプタマー）を同じ反応容器に入れて、標的化成分をオールインワンステップで形成することができる。

30

#### 【0099】

##### B. 連結基に直接結合した診断および/または治療剤を含む標的化送達組成物

連結基に直接結合した診断および/または治療剤を含む標的化送達組成物は、様々な方法によって生産することができる。一態様では、標的化送達組成物は、標的化送達組成物を調製する方法であって、式：DT - (L<sup>1</sup>)<sub>x</sub> - C<sup>1</sup> を有する診断用または治療用成分

40

50

を、式： $C^2 - (L^2)_y - T$  を有する標的化成分と、二重鎖が  $C^1$  と  $C^2$  との間に形成されるのに十分な条件下で接触させること（式中、DTは、治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせであり； $L^1$  および  $L^2$  はそれぞれ、親水性非免疫原性水溶性連結基であり； $C^1$  は、別のメンバー  $C^2$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり；Tは、標的化剤であり；下付き文字xおよびyはそれぞれ、独立して、0または1であるが、xおよびyの少なくとも1つは、0以外である）を含む方法を使用して生産することができる。

### 【0100】

別の態様では、本発明の標的化送達組成物は、標的化治療または診断用送達組成物を調製する方法であって、式： $A - (L^1)_x - C^1$  を有する誘導体化結合成分を、式： $C^2 - (L^2)_y - DT$  を有する診断用または治療用成分と、Aをナノ粒子に結合させるのに十分な条件下で接触させること（式中、Aは、結合成分であり； $L^1$  および  $L^2$  はそれぞれ、親水性非免疫原性水溶性連結基であり； $C^1$  は、別のメンバー  $C^2$  との選択的結合ペアの一方のメンバーであり、 $C^1$  および  $C^2$  は、オリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド模倣体であり；DTは、治療剤もしくは診断剤またはこれらの組み合わせであり；下付き文字xおよびyはそれぞれ、独立して、0または1であるが、xおよびyの少なくとも1つは、0以外であり；前記誘導体化結合成分の部分Aは、前記ナノ粒子に結合している）と；続いて、ナノ粒子-A- $(L^1)_x - C^1$  コンジュゲートを、診断用または治療用成分と、二重鎖が  $C^1$  と  $C^2$  との間に形成されるのに十分な条件下で接触させることを含む方法を使用して調製することができる。他の順序の工程を使用して、連結基に直接結合した診断および/または治療剤を含む標的化送達組成物を調製することができると認識されよう。

10

20

30

40

### 【0101】

#### 診断用または治療用成分

式  $DT - (L^1)_x - (C^1)$  を有する診断用または治療用成分は、当技術分野において一般に周知の方法を使用して調製することができる。ある特定の実施形態では、キレート剤を親水性非免疫原性水溶性連結基に結合させることができ、次いで、標的化剤を該連結基の他の末端に結合させることができる。次いで、放射性同位体をキレート剤とで複合体を形成させることができる。しかしながら、本発明は、コンジュゲートを作製するためのいくつかの工程順序を企図する。いくつかの実施形態では、ある特定の工程を反対にすることができる。例えば、キレート剤を放射性同位体と組み合わせて診断用成分を形成することができ、次いで、従来の化学反応を使用して、親水性非免疫原性水溶性連結基とさらに反応させることができる。次いで、本明細書において記載されるように、選択的結合ペアのメンバー ( $C^1$ ) を親水性非免疫原性水溶性連結基に結合させることができる。さらに別の態様では、本明細書において記載されるように、治療剤を親水性非免疫原性水溶性連結基に結合させることができ、選択的結合ペアのメンバー ( $C^1$ ) を該連結基の反対側の末端に結合させることができる。当業者であれば、診断および/または治療成分は、上に示した例以外のいくつかの異なる方法で構築することができることを認識するであろう。加えて、診断用または治療用成分の作製は、使用される特定の診断および/または治療剤に依存し得る。

30

### 【0102】

#### I V . 標的化送達組成物を投与する方法

本明細書において記載されるように、本発明の標的化送達組成物および方法は、被験体に関連する任意の疾患、障害、および/または状態を処置および/または診断するのに使用することができる。一実施形態では、本発明の方法は、被験体におけるがん状態を処置または診断するための方法であって、該方法が、ナノ粒子を含む本発明の標的化送達組成物を前記被験体に投与することを含み、治療または診断剤が該状態を処置または診断するのに十分である、方法を含む。ある特定の実施形態では、がん状態としては、本発明の標的化送達組成物の標的化剤が標的とする受容体を十分に発現する（例えば、細胞表面上または血管系に）がんを挙げることができる。

50

**【 0 1 0 3 】**

別の実施形態では、本発明の方法は、標的化治療的処置についての被験体の適性を判定する方法であって、該方法は、ナノ粒子を含む標的化送達組成物を前記被験体に投与すること、および前記被験体をイメージングして診断剤を検出することを含み、該ナノ粒子が該診断剤を含む、方法を含む。

**【 0 1 0 4 】**

さらに別の実施形態では、本発明の方法は、被験体におけるがん状態を処置または診断するための方法であって、該方法は、連結基に直接結合した診断および/または治療剤を含む本発明の標的化送達組成物を該被験体に投与することを含み、該治療または診断剤が該状態を処置または診断するのに十分である、方法を含む。

10

**【 0 1 0 5 】**

さらに別の実施形態では、本発明の方法は、標的化治療的処置についての被験体の適性を判定する方法であって、連結基に直接結合した診断剤を含む本発明の標的化送達組成物を前記被験体に投与すること、および前記被験体をイメージングして前記診断剤を検出することを含む方法を含む。

**【 0 1 0 6 】****投与**

いくつかの実施形態では、本発明は、標的化送達組成物および生理学的に（すなわち、薬学的に）許容され得るキャリアを含むことができる。本明細書において使用される場合、用語「キャリア」は、治療剤などの薬物のための希釈剤またはビヒクルとして使用される典型的には不活性の物質を指す。この用語は、組成物に粘着性の品質を付与する典型的には不活性の物質も包含する。典型的には、生理学的に許容され得るキャリアは、液体形態で存在する。液体キャリアの例としては、生理食塩水、リン酸塩緩衝液、通常の緩衝食塩水（135～150 mM の NaCl）、水、緩衝水、0.4% 食塩水、0.3% グリシン、および安定性を増強するための糖タンパク質（例えば、アルブミン、リボタンパク質、グロブリンなど）などが挙げられる。生理学的に許容され得るキャリアは、投与される特定の組成物によって、ならびに組成物を投与するのに使用される特定の方法によって部分的には決定されるので、本発明の医薬組成物の多種多様な適切な製剤が存在する（例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17<sup>th</sup> ed., 1989 を参照のこと）。

20

**【 0 1 0 7 】**

本発明の組成物は、慣例的な周知の滅菌技術によって滅菌してもよいし、滅菌条件下で生成してもよい。水溶液は、使用のためにパッケージされ得るか、または無菌条件下でろ過し、凍結乾燥することができ、その凍結乾燥調製物は、投与前に滅菌水溶液と合わされる。組成物は、生理的条件に近づけるために、必要に応じて薬学的に許容され得る補助物質、例えば、pH 調整剤および緩衝剤、張度調整剤、および湿潤剤など、例えば、酢酸ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム、モノラウリン酸ソルビタン、およびオレイン酸トリエタノールアミンを含有することができる。糖（例えば、凍結乾燥標的化送達組成物のための安定剤）も、組成物を安定化させるために含めることができる。

30

**【 0 1 0 8 】**

選択された標的化送達組成物は、単独でまたは他の適切な成分と組み合わせて、吸入を介して投与されるエアロゾル製剤（すなわち、これらは、「噴霧する」ことができる）にすることができる。エアロゾル製剤は、加圧された許容され得る噴霧剤、例えば、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、および窒素などの中に入れることができる。

40

**【 0 1 0 9 】**

直腸投与に適切な製剤としては、例えば、坐剤基剤とともに有効量のパッケージされた標的化送達組成物を含む坐剤が挙げられる。適切な坐剤基剤としては、天然または合成のトリグリセリドまたはパラフィン炭化水素が挙げられる。加えて、選択された標的化送達組成物と、例えば、液体トリグリセリド、ポリエチレンギリコール、およびパラフィン炭

50

化水素を含む基剤との組み合わせを含有するゼラチン直腸カプセルを使用することも可能である。

#### 【0110】

例えば、関節内（関節内）経路、静脈内経路、筋肉内経路、腫瘍内経路、皮内経路、腹腔内経路、ならびに皮下経路などによる非経口投与に適切な製剤は、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、および製剤を意図されたレシピエントの血液と等張性にする溶質を含有することができる水性および非水性の等張性滅菌注射液剤、ならびに懸濁化剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤、および保存剤を含むことができる水性および非水性滅菌懸濁液を包含する。注射液剤および懸濁剤は、滅菌粉末、顆粒、および錠剤からも調製することができる。本発明の実施において、組成物は、例えば、静脈内注入によって、局所に、腹腔内に、囊内に、または髄腔内に投与することができる。非経口投与および静脈内投与は、好ましい投与方法である。標的化送達組成物の製剤は、単位用量または複数回用量の密閉容器、例えば、アンプルおよびバイアルで提供することができる。

10

#### 【0111】

医薬調製物は、好ましくは、単位剤形である。このような形態では、調製物は、適切な量の活性成分、例えば、標的化送達組成物を含有する単位用量にさらに小分けされる。単位剤形は、パッケージされた調製物とすることができます、パッケージは、別々の量の調製物を含有する。組成物は、所望により、他の適合した治療剤も含有することができる。

#### 【0112】

がんを処置するための治療用途において、本発明の医薬組成物に用いられる治療および/または診断剤を含む標的化送達組成物は、毎日約0.001mg/kg～約1000mg/kgの初期投与量で投与することができる。約0.01mg/kg～約500mg/kg、または約0.1mg/kg～約200mg/kg、または約1mg/kg～約100mg/kg、または約10mg/kg～約50mg/kgの1日量範囲を使用することができる。しかしながら、投与量は、患者の要求事項、処置される状態の重症度、および使用される標的化送達組成物に応じて変更することができる。例えば、投与量は、特定の患者において診断されたがんの種類および病期を考慮して経験的に決定することができる。患者に投与される用量は、本発明との関連において、経時的に患者における有益な治療応答に影響を与えるのに十分であるべきである。用量のサイズはまた、特定の患者における特定の標的化送達組成物の投与に付随する、あらゆる有害な副作用の存在、性質、および程度によって決定される。特定の状況に適切な投与量を決定することは、従事者の技量の範囲内である。全般的に、処置は、標的化送達組成物の最適用量未満であるより少ない投与量で開始する。その後、投与量は、状況下で最適の効果に到達するまで、少しづつ増加させる。便宜上、所望により、総1日投与量を分割して、1日の間に一部ずつ投与することができる。

20

30

#### 【0113】

いくつかの実施形態では、本発明の標的化送達組成物は、疾患、障害、および/または状態を診断するのに使用することができる。いくつかの実施形態では、標的化送達組成物は、被験体におけるがん状態、例えば、肺がん、乳がん、膵がん、前立腺がん、子宮頸がん、卵巣がん、結腸がん、肝がん、および食道がんなどを診断するのに使用することができる。いくつかの実施形態では、病態を診断する方法は、標的化送達組成物を使用して、被験体の体内の腫瘍を物理的に検出および/または位置決定する工程を含むことができる。例えば、腫瘍は、本発明の標的化送達組成物の標的化剤が標的とする受容体を十分に発現する（例えば、細胞表面に、または血管系に）がんに関するものであり得る。いくつかの実施形態では、標的化送達組成物は、がん以外の疾患、例えば、増殖性疾患、心血管疾患、胃腸疾患、尿生殖器疾患、神経疾患、筋骨格疾患、血液系疾患、炎症疾患、自己免疫疾患、および関節リウマチなどを診断するのにも使用することができる。

40

#### 【0114】

本明細書において開示されるように、本発明の標的化送達組成物は、本質的に検出可能な特性を有する診断剤を含むことができる。被験体における診断剤の検出において、標的

50

化送達組成物、または標的化送達組成物である部分を有する粒子の集団を、被験体に投与することができる。次いで、診断剤をイメージングするための技術、例えば、単光子放出コンピュータ断層撮影（SPECT）、磁気共鳴イメージング（MRI）、光学的イメージング、ポジトロン放出断層撮影（PET）、コンピュータ断層撮影（CT）、X線イメージング、および 線イメージングなどを使用して被験体をイメージングすることができる。本明細書において記載されるイメージング技術はいずれも、他のイメージング技術を組み合わせて使用することができる。いくつかの実施形態では、イメージングのための放射性同位体を粒子に組み込むことにより、被験体において標的化送達組成物を  $i \in v_i v_o$  で追跡することが可能になる。例えば、標的化送達組成物の生体分布および / または排出を測定し、必要に応じて患者の処置を変更するのに使用することができる。例えば、患者の処置および / または診断を最適化するのに、より多くのまたはより少ない標的化送達組成物が必要となる場合がある。

10

#### 【0115】

##### 標的化送達

ある特定の実施形態では、本発明の標的化送達組成物は、治療または診断剤を標的化様式で放出するように被験体に送達することができる。例えば、標的化送達組成物が被験体における標的に送達され得ると、次いで、ナノ粒子などの標的化送達組成物に包埋されたか、該標的化送達組成物に封入されたか、または該標的化送達組成物に係留された治療剤が、標的近傍の溶液条件に基づいて送達され得る。例えば、pH、および塩濃度などの溶液条件は、治療剤が標的近傍の領域に短期間または長期間にわたる放出を誘発することができる。あるいは、酵素は、標的化送達組成物から治療または診断剤を切断することによって、放出を開始することができる。いくつかの実施形態では、標的化送達組成物は、エンドサイトーシスによって細胞の内部領域に送達され、場合によりその後にリソームなどの細胞の内部コンパートメント内で分解され得る。当業者であれば、治療または診断剤の標的化送達が、当技術分野において一般に公知の様々な方法を使用して行うことができるこ

20

#### 【0116】

##### キット

本発明はまた、病態を処置および / または診断するために、被験体に標的化送達組成物を投与するためのキットを提供する。このようなキットは、典型的には、がん状態などの病態を処置および / または診断するのに必要な2つ以上の構成要素を含む。構成要素としては、本発明の標的化送達組成物、試薬、容器、および / または器材（equipment）を挙げることができる。いくつかの実施形態では、キットにおける容器は、使用前に放射標識される放射性薬品を含む標的化送達組成物を含有することができる。キットは、標的化送達組成物を投与するのに必要な反応構成要素（reaction component）またはバッファーのいずれかをさらに含むことができる。さらに、標的化送達組成物を凍結乾燥形態にして、次いで投与前に再構成することができる。

30

#### 【0117】

ある特定の実施形態では、本発明のキットは、患者の病態を処置および / または診断するのに使用される1つまたは複数の構成要素を含むことができるパッケージングアセンブリを含むことができる。例えば、パッケージングアセンブリは、本明細書において記載される標的化送達組成物の少なくとも1つを収容する容器を含むことができる。個別の容器は、患者への投与前に標的化送達組成物と混合することができる他の賦形剤または剤を含むことができる。いくつかの実施形態では、医師は、特定の患者に必要な処置または診断に応じて、ある特定の構成要素および / またはパッケージングアセンブリを混合することおよび適合させることができあり得る。

40

#### 【0118】

本明細書において記載される実施形態は、例示目的のためのものにすぎず、当業者であれば、それらを踏まえて種々の改変または変更が示唆されるであろうし、該改変または変更は、本出願の精神および範囲、ならびに添付の特許請求の範囲内に含まれると理解され

50

よう。本明細書において引用されるすべての刊行物、特許、および特許出願は、あらゆる目的でその全体が参考として本明細書に組み込まれる。

**【実施例】**

**【0119】**

以下の実施例では、本明細書において記載される誘導体化結合成分、診断用成分および標的化成分を作製する方法についての実施形態の例を説明する。実施例では、結合成分は、親水性非免疫原性水溶性連結基を介して第1のオリゴヌクレオチドに結合した脂質を含む。加えて、診断用成分は、第1のオリゴヌクレオチドと相補的な第2のオリゴヌクレオチドに連結基を介して結合した蛍光剤の形態で提供される。標的化成分は、オリゴヌクレオチドに連結したペプチド標的化剤、およびオリゴヌクレオチドに連結したアプタマー標的化剤を含む。ある特定の実施例では、誘導体化結合成分をリポソームに組み込み、次いで、選択的結合ペア間のハイブリダイゼーションを介して診断用成分または標的化成分に結合させることができる。当業者であれば、実施例に記載される方法は、本明細書において記載される他の誘導体化結合成分、標的化成分、および診断用または治療用成分について同様であり得ることを認識するであろう。

10

**【0120】**

**実施例1**

5'-D S P E - P E G (3400) - S - C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> - V E G F オリゴヌクレオチド類似体1の調製

20

**【0121】**

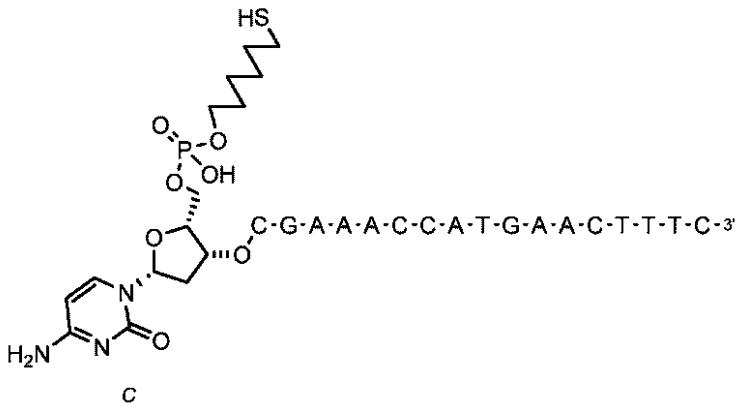
以下の工程によって、5'-D S P E - P E G (3400) - S - C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> - V E G F オリゴヌクレオチド類似体1を調製した。

30

**【0122】**

工程1：V E G F オリゴヌクレオチド類似体1の調製

**【化1】**



**【0123】**

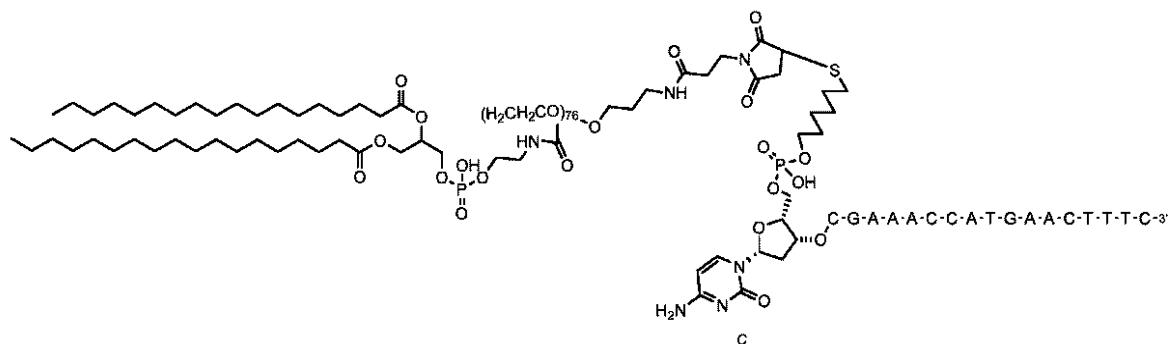
市販の固体支持オリゴヌクレオチド合成技術を使用して、市販の保護ヌクレオシドおよび適切に保護された6-ヒドロキシヘキサンチオール類似体から、すぐ上に示したV E G F オリゴヌクレオチド類似体1を調製した。続いて、支持体から切断し、逆相精製して、実質的に純粋な形態で3'-遊離チオールとして5'-V E G F オリゴヌクレオチド類似体1を得た。

40

**【0124】**

工程2：5'-D S P E - P E G (3400) - S - C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> - V E G F オリゴヌクレオチド類似体1の調製

## 【化2】



## 【0125】

(すぐ上に示した) 5' - D S P E - P E G (3400) - S - C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> - V E G F オリゴヌクレオチド類似体1を生産するために、適切な溶媒中で、工程1の生成物をD S P E - P E G 3400 - マレイミドと反応させた。適切な水：アセトニトリル勾配を使用する逆相クロマトグラフィーの後、標題化合物V E G F オリゴヌクレオチド類似体1-3 - (3 - (5 - ヒドロキシペンチルチオ) - 2 , 5 - ジオキソピロリジン - 1 - イル) プロパンアミド - P E G 3400 - D S P E コンジュゲートを実質的に純粋な形態で単離した。

## 【0126】

20

## 実施例2

5' - (6 - F A M ) - V E G F オリゴヌクレオチド類似体2の調製

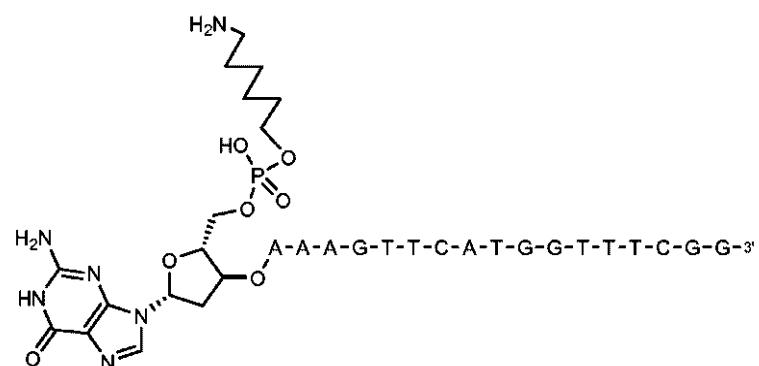
## 【0127】

以下の工程によって、5' - (6 - F A M (フルオレセインアミダイト)) - V E G F オリゴヌクレオチド類似体2を調製した。

## 【0128】

工程1：V E G F オリゴヌクレオチド類似体2の調製

## 【化3】



## 【0129】

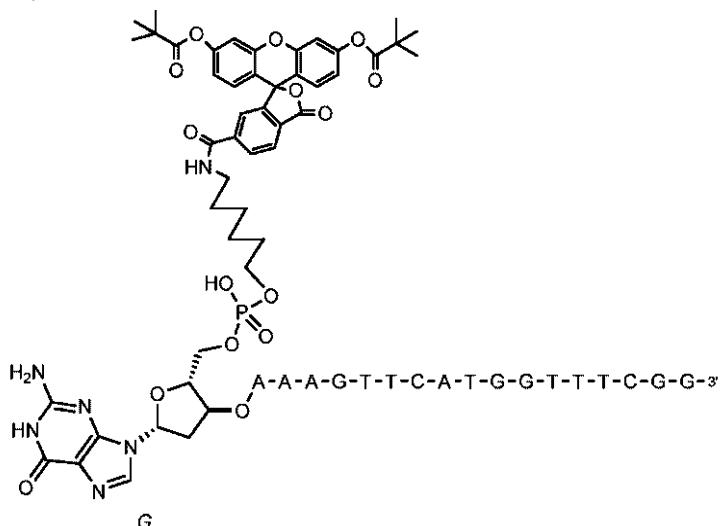
市販の固体支持オリゴヌクレオチド合成技術を使用して、市販の保護ヌクレオシドおよび6 - アミノヘキサノールから、すぐ上に示したV E G F オリゴヌクレオチド類似体2を調製した。続いて、支持体から切断し、逆相精製して、実質的に純粋な形態でV E G F オリゴヌクレオチド類似体2を得た。

40

## 【0130】

工程2：5' - (6 - F A M ) - V E G F オリゴヌクレオチド類似体2の調製

## 【化4】



10

## 【0131】

5'-(6-FAM)-VEGFオリゴヌクレオチド類似体2を生産するために、適切な溶媒中で、工程1の生成物をカルボキシフルオレセインNHSエステルと反応させた。適切な水：アセトニトリル勾配を使用する逆相クロマトグラフィーの後、標題化合物5'-(6-FAM)-VEGFオリゴヌクレオチド類似体2を単離した。

20

## 【0132】

## 実施例3

## 単層リポソームの調製

## 【0133】

モル比55:45の1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-ホスホコリン一水和物(DSPC)：コレステロール(Chol)から、リポソーム組成物を作製した。丸底フラスコ中で、この脂質混合物(40mg)をクロロホルム：メタノール(3:1 v/v)に溶解させた。回転蒸発を使用して窒素下で有機溶媒を蒸発させたところ、フラスコの壁に沿ってリン脂質薄膜が形成した。完全真空下の真空オープン内にフラスコを室温で一晩置くことによって、残った溶媒を除去した。硫酸アンモニウム溶液(250mM硫酸アンモニウム溶液、1mL)を丸底フラスコに加え、ロータリーエバポレーター(rotovap)によって60(真空なし)で30分間、またはすべての材料が溶解するまでフラスコを回転させることによって、得られた脂質膜を水和させた。硫酸アンモニウム溶液(9mL)を加えることによって、得られた溶液を希釈した。Lipexステンレス鋼押出機を使用して孔径800、400および100nmのポリカーボネートフィルタに通して、多層ベシクルを押し出した。光散乱実験を使用して、リポソームの平均サイズおよびサイズ分布を評価したが、全般的に、この手順では、呼び径100nmのリポソームが生産される。

30

## 【0134】

## 実施例4

5'-DSP-E-P EG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGFオリゴヌクレオチド類似体1を実施例3で調製したリポソームに熱挿入して、PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF1リポソームを生産する。

40

## 【0135】

以下の手順を使用して、5'-DSP-E-P EG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGFオリゴヌクレオチド類似体1を実施例3で形成したリポソームに挿入することができる。実施例3で調製した最終押出リポソーム溶液を穏やかに攪拌しながら65に加熱する。5'-DSP-E-P EG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF1(分子量(MW)9972.0、4.0mg、2.0モルパーセント)を硫酸アンモニウム溶液(250mM硫酸アンモニウム溶液、1mL)に溶解させ、リポソーム溶液に添加する。この時点

50

で、この溶液を 55℃ に冷却し、反応をこの温度で少なくとも 30 分間行う。反応混合物を室温 (RT) に冷却し、光散乱技術によって粒径を決定する。

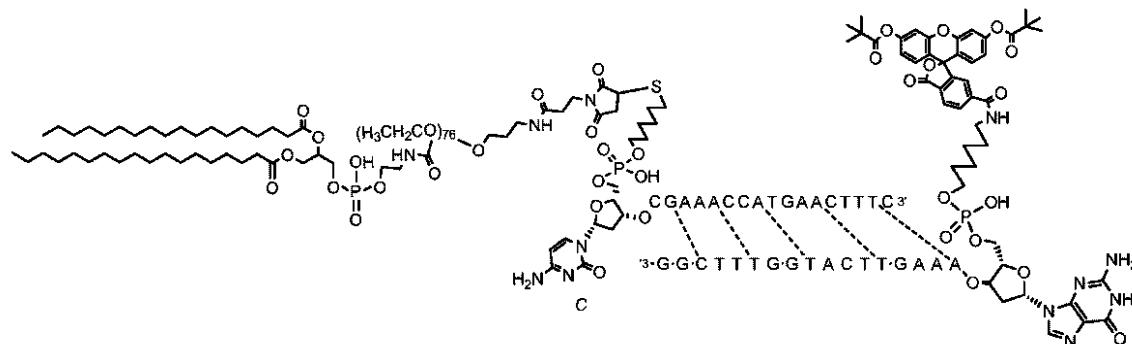
#### 【0136】

出発材料を含まないリポソーム結合 5'-DSPE-PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF1を得るために、溶離液として PBS を使用して (2 mL 分画)、反応混合物をセファロース CL-4B カラム (0.05 × 12 in, GE Healthcare, PBS を使用して前平衡化) に通す。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を使用して、所望のリポソーム生成物を決定し、同様の画分を合わせる。

#### 【0137】

実施例 5  
PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF オリゴヌクレオチド類似体 1 リポソームによる 5'-(6-FAM)-VEGF オリゴヌクレオチド類似体 2 の捕捉

#### 【化5】



#### 【0138】

実施例 3 からの、PBS 中の PEG(3400)-S-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>-VEGF オリゴヌクレオチド類似体 1 リポソーム (2 mL) に、5'-(6-FAM)-VEGF オリゴヌクレオチド類似体 2 の PBS 溶液 (1 mg, 2 × 10<sup>-7</sup> モル、1 mL 中) を室温 (RT) でかき混ぜながら添加する。15 分後、ハイブリダイゼーション反応は本質的には完了しているはずであり、実施例 4 のようにセファロースカラムクロマトグラフィーによって、二重鎖 DNA コンジュゲートを含有するリポソームを、未反応の一本鎖 DNA 出発材料から分離する。蛍光検出を使用する HPLC による分析により、ds-DNA 結合フルオレセインの存在を確認する。

#### 【0139】

実施例 6  
VEGF オリゴヌクレオチド類似体 2, N-スクシニル-tyr-3-Oクトレオタートの調製

#### 【0140】

以下の工程を使用して、VEGF オリゴヌクレオチド類似体 2, N-スクシニル-tyr-3-Oクトレオタートを調製した。

#### 【0141】

工程 1 : N-スクシニル-Tyr-3-Oクトレオタートの調製

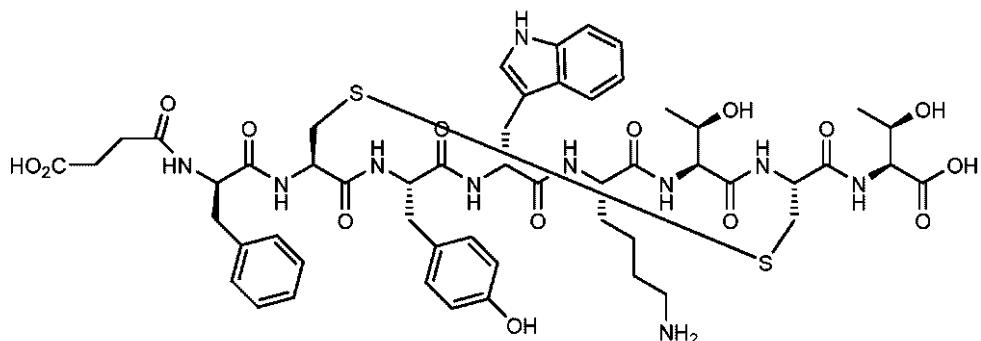
10

20

30

40

## 【化6】



10

(2S, 3R)-2-((4R, 7S, 10S, 13R, 16S, 19R)-13-((1H-インドール-3-イル)メチル)-10-(4-アミノブチル)-19-((R)-2-(3-カルボキシプロパンアミド)-3-フェニルプロパンアミド)-16-(4-ヒドロキシベンジル)-7-((R)-1-ヒドロキシエチル)-6, 9, 12, 15, 18-ペントオキソ-1, 2-ジチア-5, 8, 11, 14, 17-ペントアザシクロイコサン-4-カルボキシアミド)-3-ヒドロキシブタン酸

## 【0142】

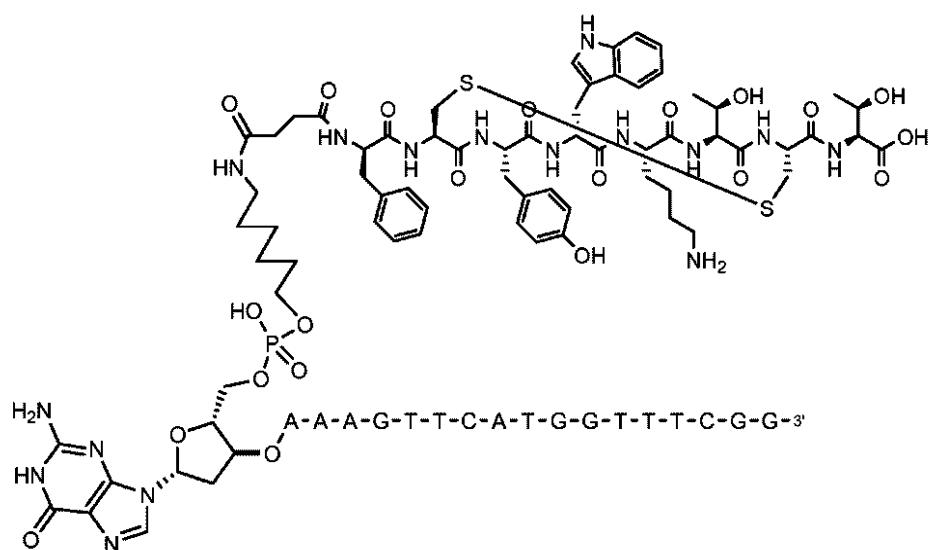
各工程で長いカップリング時間を使用する標準的な固体支持ペプチド F M O C 合成技術を使用して、すぐ上に示した N - スクシニル - T y r - 3 - オクトレオタートを調製した。ペプチド合成が完了した後、C y s A c m 保護基を除去し、適切な溶媒系を使用して T I ( I I I ) ( T F A )<sub>3</sub> の環化を行った。残った保護基を除去し、T F A によって樹脂からペプチドを切断した。逆相 H P L C ( C 1 8 ) により、実質的に純粋な所望の生成物が示され ( U V および補正 M S による 1 ピーク)、この生成物を凍結乾燥し、さらに精製せずに使用した。

20

## 【0143】

工程 2 : V E G F オリゴヌクレオチド類似体 2 , N - スクシニル - t y r - 3 - オクトレオタートの調製

## 【化7】



30

40

## 【0144】

適切な溶媒中で、工程 2 の生成物をペプチドカップリング剤 T B T U と反応させ、活性エステルに変換した。同じかまたは類似の溶媒に溶解させた V E G F オリゴヌクレオチド類似体 2 ( 実施例 2 の工程 1 の生成物 ) にこの混合物を追加して、反応させることができる。逆相 H P L C による精製により、所望の生成物である実質的に純粋な V E G F オリゴヌクレオチド類似体 2 , N - スクシニル - t y r - 3 - オクトレオタートが得られる。

## 【0145】

実施例 7

50

P E G ( 3 4 0 0 ) - S - C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> - V E G F オリゴヌクレオチド類似体 1 リポソームによる V E G F オリゴヌクレオチド類似体 2 , N - スクシニル - t r y - 3 - オクトレオタートの捕捉

【 0 1 4 6 】

5' - ( 6 - F A M ) - V E G F オリゴヌクレオチド類似体 2 を V E G F オリゴヌクレオチド類似体 2 , N - スクシニル - t y r - 3 - オクトレオタートに替える以外は、実質的には実施例 5 の分量および条件を使用して、実施例 4 のコンジュゲート D S P E P E G ( 3 4 0 0 ) V E G F オリゴヌクレオチド類似体 1 を含有およびディスプレイするリポソームを処理することができる。表面上にディスプレイされた t y r - 3 - オクトレオタートの捕捉により、二重の二本鎖 V E G F D N A を含有するリポソームを生産する。

10

【 0 1 4 7 】

実施例 8

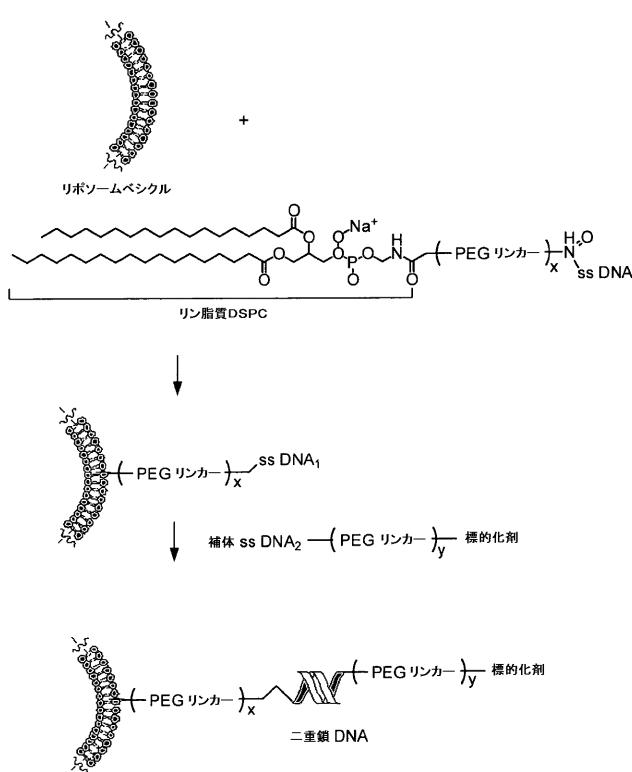
実質的には実施例 6 および実施例 7 に概説した手順を使用して、 V E G F オリゴヌクレオチド類似体 1 配列を含む成分を、 V E G F オリゴヌクレオチド類似体 2 配列を含む成分にハイブリダイズさせることができる。例えば、連結基を介してアプタマーオリゴヌクレオチドに連結した V E G F オリゴヌクレオチド類似体 2 配列を合成し、液体クロマトグラフ精製技術を使用して精製することができる。アプタマーは、 R N A 系アプタマー、 D N A 系アプタマーまたは R N A - D N A 組み合わせ系アプタマーであり得る。次いで、実施例 4 に記載したのと同様の方法でリポソームによって、精製した V E G F オリゴヌクレオチド類似体 2 配列 - 連結基 - アプタマーを捕捉することができる。

20

【 0 1 4 8 】

5' - ( 6 - F A M - V E G F オリゴヌクレオチド類似体 2 を、アプタマーオリゴヌクレオチドに連結した V E G F オリゴヌクレオチド類似体 2 配列に替える以外は、実質的には実施例 5 に概説した手順を使用して、精製後に、リポソーム表面上にディスプレイされたアプタマーの捕捉により、二重の二本鎖 V E G F D N A を含有するリポソームを得る。

【図1】



【図2】

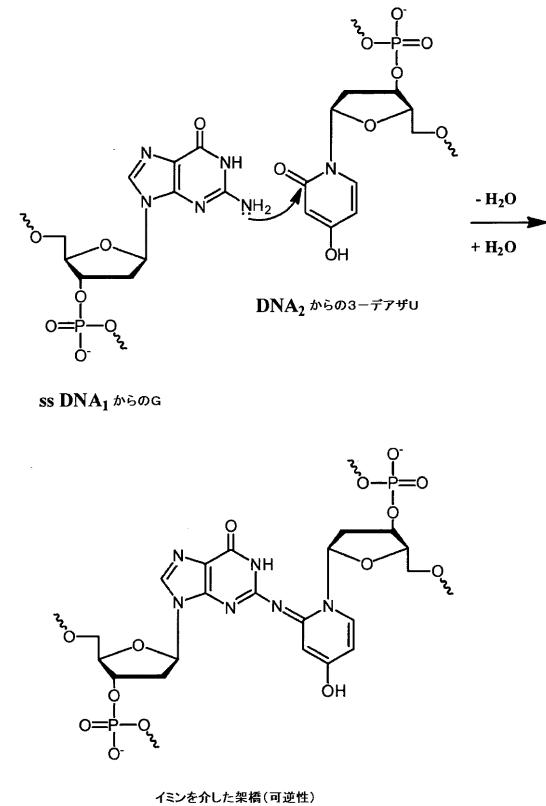


FIG. 1

FIG. 2

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No PCT/US2012/057642						
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> INV. A61K47/48      A61K49/00      A61K9/127 ADD.								
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC								
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K								
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched								
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE								
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Category*</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th style="text-align: left; padding: 2px;">Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 2px;">X</td> <td style="padding: 2px; vertical-align: top;">         YU MI KYUNG ET AL: "Image-guided prostate cancer therapy using aptamer-functionalized thermally cross-linked superparamagnetic iron oxide nanoparticles.",          SMALL (WEINHEIM AN DER BERGSTRASSE, GERMANY) 8 AUG 2011,          vol. 7, no. 15, 8 August 2011 (2011-08-08),          , pages 2241-2249, XP002691949,          ISSN: 1613-6829          abstract          page 2242, right-hand column, paragraph 1          scheme 1          -----          -/-/       </td> <td style="padding: 2px; vertical-align: top;">         1,2,4,5,          10-19,          21-29,          33-38,          40-54       </td> </tr> </tbody> </table>			Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	X	YU MI KYUNG ET AL: "Image-guided prostate cancer therapy using aptamer-functionalized thermally cross-linked superparamagnetic iron oxide nanoparticles.", SMALL (WEINHEIM AN DER BERGSTRASSE, GERMANY) 8 AUG 2011, vol. 7, no. 15, 8 August 2011 (2011-08-08), , pages 2241-2249, XP002691949, ISSN: 1613-6829 abstract page 2242, right-hand column, paragraph 1 scheme 1 ----- -/-/	1,2,4,5, 10-19, 21-29, 33-38, 40-54
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.						
X	YU MI KYUNG ET AL: "Image-guided prostate cancer therapy using aptamer-functionalized thermally cross-linked superparamagnetic iron oxide nanoparticles.", SMALL (WEINHEIM AN DER BERGSTRASSE, GERMANY) 8 AUG 2011, vol. 7, no. 15, 8 August 2011 (2011-08-08), , pages 2241-2249, XP002691949, ISSN: 1613-6829 abstract page 2242, right-hand column, paragraph 1 scheme 1 ----- -/-/	1,2,4,5, 10-19, 21-29, 33-38, 40-54						
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> 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 another 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  12 February 2013	Date of mailing of the international search report  20/02/2013							
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.O. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Authorized officer  Villard, Anne-Laure							

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2012/057642
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SHOHDA KOH-ICHIROH ET AL: "Direct visualization of DNA duplex formation on the surface of a giant liposome.", CHEMBIOCHEM : A EUROPEAN JOURNAL OF CHEMICAL BIOLOGY 4 AUG 2003, vol. 4, no. 8, 4 August 2003 (2003-08-04), pages 778-781, XP002691950, ISSN: 1439-4227 scheme 1 figure 2 page 779, left-hand column, paragraph 3 - right-hand column -----	1-12, 15-17, 19, 21-38, 40,41, 43,44, 46,47
X	KATIE A EDWARDS ET AL: "Optimization of DNA-tagged dye-encapsulating liposomes for lateral-flow assays based on sandwich hybridization", ANALYTICAL AND BIOANALYTICAL CHEMISTRY, SPRINGER, BERLIN, DE, vol. 386, no. 5, 31 August 2006 (2006-08-31), pages 1335-1343, XP019441147, ISSN: 1618-2650, DOI: 10.1007/S00216-006-0705-X page 1336; figures 1a,1b page 1337; table 1 page 1337, left-hand column, paragraph 2 - page 1338, left-hand column, paragraph 1 -----	1-12, 15-17, 19, 21-38, 40,41, 43,44, 46,47
X	ZEHUI CAO ET AL: "Reversible Cell-Specific Drug Delivery with Aptamer-Functionalized Liposomes", ANGEWANDTE CHEMIE INTERNATIONAL EDITION, vol. 48, no. 35, 17 August 2009 (2009-08-17), pages 6494-6498, XP55017032, ISSN: 1433-7851, DOI: 10.1002/anie.200901452 page 6495, left-hand column, line 4 - right-hand column page 6496, right-hand column, paragraph 2 - page 6497, right-hand column -----	1-8, 10-19, 21-31, 33-38, 40-50,53
A	BATES P J ET AL: "Discovery and development of the G-rich oligonucleotide AS1411 as a novel treatment for cancer", EXPERIMENTAL AND MOLECULAR PATHOLOGY, ACADEMIC PRESS, US, vol. 86, no. 3, 1 June 2009 (2009-06-01), pages 151-164, XP026096499, ISSN: 0014-4800, DOI: 10.1016/J.YEXMP.2009.01.004 [retrieved on 2009-01-20] abstract -----	1-8, 10-19, 21-31, 33-38, 40-50,53
1	-/-	

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2012/057642
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ZHANG LIANGFANG ET AL: "Co-delivery of hydrophobic and hydrophilic drugs from nanoparticle-aptamer bioconjugates", CHEMMEDCHEM, vol. 2, no. 9, September 2007 (2007-09), pages 1268-1271, XP002691951, ISSN: 1860-7179 page 1268, right-hand column, lines 8-10 figure 1 -----	1,2,4,5, 9-13, 15-19, 21-29, 32-38, 40-48, 50,51,53
A	VAISHALI BAGALKOT ET AL: "An Aptamer-Doxorubicin Physical Conjugate as a Novel Targeted Drug-Delivery Platform", ANGEWANDTE CHEMIE. INTERNATIONAL EDITION, WILEY VCH VERLAG, WEINHEIM, vol. 45, no. 48, 13 November 2006 (2006-11-13), pages 8145-8152, XP008147346, ISSN: 1433-7851, DOI: 10.1002/anie.200602251 figure 1b -----	1,2,4,5, 9-13, 15-19, 21-29, 32-38, 40-48, 50,51,53
X	WILLIS M C ET AL: "LIPOSOME-ANCHORED VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR APTAMERS", BIOCONJUGATE CHEMISTRY, ACS, WASHINGTON, DC, US, vol. 9, no. 5, 1 September 1998 (1998-09-01), pages 573-582, XP000778000, ISSN: 1043-1802, DOI: 10.1021/BC980002X abstract page 576, left-hand column, paragraph 2 figures 1,2 page 581, left-hand column, last paragraph -----	1-17,19, 22-38, 41, 43-50,53
A	GREEN L S ET AL: "NUCLEASE-RESISTANT NUCLEIC ACID LIGANDS TO VASCULAR PERMEABILITY FACTOR/VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR", CHEMISTRY AND BIOLOGY, CURRENT BIOLOGY, LONDON, GB, vol. 2, no. 10, 1 October 1995 (1995-10-01), pages 683-695, XP001084803, ISSN: 1074-5521, DOI: 10.1016/1074-5521(95)90032-2 figure 7 -----	1-17,19, 22-38, 41, 43-50,53
		-/-

1

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/US2012/057642
---

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	HUAIZHI KANG ET AL: "A liposome-based nanostructure for aptamer directed delivery", CHEMICAL COMMUNICATIONS, vol. 46, no. 2, 1 January 2010 (2010-01-01), page 249, XP055016964, ISSN: 1359-7345, DOI: 10.1039/b916911c the whole document -----	1-19, 21-38, 40-50, 52-54
Y	ESPINOLA L G ET AL: "Radiolabeled liposomes as metabolic and scanning tracers in mice. II. In-111 oxine compared with Tc-99m DTPA, entrapped in multilamellar vesicles", JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE, SOCIETY OF NUCLEAR MEDICINE, RESTON, VA, US, vol. 20, no. 5, 1 January 1979 (1979-01-01), pages 434-440, XP002667657, ISSN: 0161-5505 abstract -----	20
X	HICKE B J ET AL: "Tumor targeting by an aptamer", JOURNAL OF NUCLEAR MEDICINE, SOCIETY OF NUCLEAR MEDICINE, RESTON, VA, US, vol. 47, no. 4, 1 April 2006 (2006-04-01), pages 668-678, XP002457606, ISSN: 0161-5505 abstract page 671; figure 1 -----	23-26, 28,29, 32-41, 43-45, 47,48, 51-54
X	US 2004/110296 A1 (VARGESE CHANDRA [US] ET AL) 10 June 2004 (2004-06-10) paragraphs [0066], [0653] example 12 figures 10,17,18,32 -----	23-26, 28-38, 41,43, 44,47, 53,54
X	WO 96/13522 A1 (BURSTEIN LAB INC [US]) 9 May 1996 (1996-05-09) claims pages 34-35, paragraph 5.8 -----	23-26, 28,29, 33-38, 40,41, 43,44,47
		-/-

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No PCT/US2012/057642
---

**C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X, P	WO 2012/040524 A1 (MALLINCKRODT LLC [US]; TRAWICK BOBBY N [US]; OSIEK TODD A [US]; WHEATL) 29 March 2012 (2012-03-29)  paragraph [0096] figure 3 claims -----	1-9, 11-33, 35-50, 52-54

1

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/US2012/057642

**Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)**

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:
  - a. (means)  
 on paper  
 in electronic form
  - b. (time)  
 in the international application as filed  
 together with the international application in electronic form  
 subsequently to this Authority for the purpose of search
2.  In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International application No
PCT/US2012/057642

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)		Publication date
US 2004110296	A1	10-06-2004	US	2004110296 A1		10-06-2004
			US	2011124853 A1		26-05-2011
-----						
WO 9613522	A1	09-05-1996	AU	4197396 A		23-05-1996
			CA	2203875 A1		09-05-1996
			EP	0789715 A1		20-08-1997
			JP	H10508304 A		18-08-1998
			US	5718915 A		17-02-1998
			WO	9613522 A1		09-05-1996
-----						
WO 2012040524	A1	29-03-2012	US	2012082616 A1		05-04-2012
			WO	2012040524 A1		29-03-2012
-----						

## フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 47/02	(2006.01)	A 6 1 K 47/02
A 6 1 K 47/04	(2006.01)	A 6 1 K 47/04
A 6 1 K 47/44	(2006.01)	A 6 1 K 47/44
A 6 1 K 47/24	(2006.01)	A 6 1 K 47/24
A 6 1 K 47/28	(2006.01)	A 6 1 K 47/28
A 6 1 K 47/36	(2006.01)	A 6 1 K 47/36
A 6 1 P 35/00	(2006.01)	A 6 1 P 35/00
A 6 1 P 35/02	(2006.01)	A 6 1 P 35/02
A 6 1 P 43/00	(2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 1 1
A 6 1 K 47/32	(2006.01)	A 6 1 K 47/32
A 6 1 K 51/00	(2006.01)	A 6 1 K 49/02
A 6 1 K 49/04	(2006.01)	A 6 1 K 49/02 B
A 6 1 K 49/00	(2006.01)	A 6 1 K 49/04
A 6 1 K 33/24	(2006.01)	A 6 1 K 49/00 C
A 6 1 K 31/282	(2006.01)	A 6 1 K 33/24
A 6 1 K 31/337	(2006.01)	A 6 1 K 31/282
A 6 1 K 31/7068	(2006.01)	A 6 1 K 31/337
A 6 1 K 31/513	(2006.01)	A 6 1 K 31/7068
A 6 1 K 31/704	(2006.01)	A 6 1 K 31/513
A 6 1 K 45/00	(2006.01)	A 6 1 K 31/704
		A 6 1 K 45/00

(81) 指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,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,R,S,SE,SI,SK,SM,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,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,D0,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC

F ターム(参考) 4C084 AA17 MA05 NA13 ZB262 ZB272  
 4C085 HH01 HH03 HH05 HH07 HH11 KA27 KA29 KB09 KB15 LL18  
 4C086 AA01 AA02 BA02 BC43 EA10 EA17 HA12 MA01 MA04 NA13  
 ZB26 ZB27  
 4C206 AA01 AA02 JB16 MA01 MA04 NA13 ZB26 ZB27