

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】令和 1 年 8 月 29 日 (2019.8.29)

【公表番号】特表 2018-521083 (P2018-521083A)

【公表日】平成 30 年 8 月 2 日 (2018.8.2)

【年通号数】公開・登録公報 2018-029

【出願番号】特願 2018-503253 (P2018-503253)

【国際特許分類】

A 6 1 K 31/7088 (2006.01)

A 6 1 K 48/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 K 31/7105 (2006.01)

A 6 1 K 31/713 (2006.01)

A 6 1 K 9/19 (2006.01)

A 6 1 K 47/36 (2006.01)

A 6 1 K 47/40 (2006.01)

A 6 1 K 47/28 (2006.01)

A 6 1 K 47/26 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 31/7088

A 6 1 K 48/00

A 6 1 P 35/00

A 6 1 K 31/7105

A 6 1 K 31/713

A 6 1 K 9/19

A 6 1 K 47/36

A 6 1 K 47/40

A 6 1 K 47/28

A 6 1 K 47/26

【手続補正書】

【提出日】令和 1 年 7 月 18 日 (2019.7.18)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

1 以上の核酸活性剤を含む脂質ナノ粒子の固体の凍結乾燥物を作製するための組成物であって、

薬学的に許容可能な溶液における脂質ナノ粒子の水性懸濁液、ここで、脂質ナノ粒子は 1 以上の核酸活性剤を封入する；

デキストリン化合物；および

サッカライド糖化合物

を含む、前記組成物。

【請求項 2】

デキストリンおよび糖化合物の総量が、組成物の 2 % ~ 20 % (w / v) である、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 3】

デキストリン化合物が、デキストリンおよび糖化合物の総量の 40% ~ 70% (w/v) である、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 4】

デキストリン化合物が、デキストリンおよび糖化合物の総量の 40% ~ 55% (w/v) である、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 5】

デキストリン化合物が、デキストリンおよび糖化合物の総量の 40% ~ 45% (w/v) である、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 6】

組成物の凍結乾燥および再構成時、ナノ粒子の平均的な大きさの変化が、元の組成物におけるそれらの大きさの 10% 以内である、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 7】

組成物の凍結乾燥、保存および再構成時、ナノ粒子の平均的な大きさの変化が、元の組成物におけるそれらの大きさの 10% 以内である、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 8】

凍結乾燥された組成物が、5 で少なくとも 1 ヶ月間保存される、請求項 7 に記載の組成物。

## 【請求項 9】

凍結乾燥された組成物が、-20 で少なくとも 1 ヶ月間保存される、請求項 7 に記載の組成物。

## 【請求項 10】

ナノ粒子が、45 nm ~ 110 nm の平均的な直径を有する、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 11】

核酸活性剤の濃度が、1 mg/mL ~ 10 mg/mL である、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 12】

脂質ナノ粒子が、化合物 A6、化合物 A9、化合物 AA、化合物 AB、化合物 C2、化合物 F5、化合物 F7、化合物 C24、および HEDC から選択される化合物を含む、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 13】

1 以上の核酸活性剤が、RNA 干渉を仲介することが可能な RNAi 分子である、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 14】

RNAi 分子が、siRNA、shRNA、ddRNA、piRNA、または rasiRNA である、請求項 13 に記載の組成物。

## 【請求項 15】

1 以上の核酸活性剤が、miRNA、アンチセンス RNA、プラスミド、ハイブリッドオリゴヌクレオチド、またはアプタマーである、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 16】

薬学的に許容可能な溶液が、HEPES 緩衝液、リン酸緩衝液、クエン酸緩衝液、またはトリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを含有する緩衝液である、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 17】

デキストリン化合物がシクロデキストリンである、請求項 1 に記載の組成物。

## 【請求項 18】

シクロデキストリン化合物が、スルホアルキル、ベンゼンスルホアルキル、アセトアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシアルキルスクシナート、ヒドロキシアルキルマロナート、ヒドロキシアルキルグルタレート、ヒドロキシアルキルアジパート、ヒドロキシ

アルキル、ヒドロキシアルキルマレアート、ヒドロキシアルキルオキサレート、ヒドロキシアルキルフマレート、ヒドロキシアルキルシトラート、ヒドロキシアルキルタルトラート、ヒドロキシアルキルマラート、またはヒドロキシアルキルシトラコナート基で置換された 1 以上の 2, 3 および 6 ヒドロキシル位置を有する、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 19】

シクロデキストリン化合物が、(2-ヒドロキシプロピル)-シクロデキストリン、2-ヒドロキシプロピル-シクロデキストリンスクシナート、(2-ヒドロキシプロピル)-シクロデキストリン、または 2-ヒドロキシプロピル-シクロデキストリンスクシナートである、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 20】

シクロデキストリン化合物が、スルホブチルエーテル-シクロデキストリンまたはスルホブチルエーテル-シクロデキストリンである、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 21】

シクロデキストリン化合物が、メチル-シクロデキストリンまたはメチル-シクロデキストリンである、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 22】

シクロデキストリン化合物が、ポリマー鎖またはネットワークに結合されている、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 23】

シクロデキストリン化合物が吸着化合物を含む、請求項 17 に記載の組成物。

【請求項 24】

吸着化合物が、コレステロール、ラノステロール、ジモステロール、ジモステノール、デスモステロール、ステイグマスタノール、ジヒドロラノステロール、7-デヒドロコレステロール、PEG 化コレステロール、コレステリルアセタート、コレステリルアラキドナート、コレステリルブチラート、コレステリルヘキサノアート、コレステリルミリスタート、コレステリルパルミタート、コレステリルベヘナート、コレステリルステアラート、コレステリルカプリラート、コレステリル n-デカノアート、コレステリルドデカノアート、コレステリルネルボナート、コレステリルペラルゴナート、コレステリル n-バレラート、コレステリルオレアート、コレステリルエライダート、コレステリルエルカート、コレステリルヘプタノアート、コレステリルリノレライダート、コレステリルリノレアート、ベータ-シトステロール、カンベステロール、エルゴステロール、ブラッシカステロール、デルタ-7-スチグマステロール、およびデルタ-7-アベナステロールから選択される、請求項 23 に記載の組成物。

【請求項 25】

サッカライド糖化合物が、モノサッカライドまたはジサッカライド糖化合物である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 26】

糖化合物が、スクロース、ラクトース、ラクツロース、マルトース、トレハロース、セロビオース、コウジビオース、サケビオース、イソマルトース、ソホロース、ラミナリビオース、ゲンチオビオース、ツラノース、マルツロース、イソマルツロース、ゲンチオビウロース、マンノビオース、メリビオース、メリビウロース、およびキシロビオースから選択される、請求項 25 に記載の組成物。

【請求項 27】

請求項 1 ~ 26 のいずれか一項に記載の組成物を凍結乾燥することを含む、1 以上の核酸活性剤の固体の凍結乾燥物を作製するためのプロセス。

【請求項 28】

請求項 27 に記載のプロセスによって作製された、固体の凍結乾燥物。

【請求項 29】

請求項 27 に記載の固体の凍結乾燥物を再構成することを含む、製剤を作製するためのプロセス。

## 【請求項 3 0】

請求項 2 9 に記載のプロセスによって作製された、製剤。

## 【請求項 3 1】

脂質ナノ粒子を合成すること、ここで脂質ナノ粒子は 1 以上の核酸活性剤を封入する；  
薬学的に許容可能な溶液における脂質ナノ粒子の水性懸濁液を提供すること；  
デキストリン化合物を脂質ナノ粒子を含有する溶液に加えること；  
サッカライド糖化合物を脂質ナノ粒子を含有する溶液に加えること；  
脂質ナノ粒子を含有する溶液を凍結乾燥し、それによって固体の凍結乾燥物を形成することを含む、固体の凍結乾燥物を作製するためのプロセス。

## 【請求項 3 2】

デキストリンおよびサッカライド糖化合物の総量が、脂質ナノ粒子を含有する溶液の 2 % ~ 2 0 % ( w / v ) である、請求項 3 1 に記載のプロセス。

## 【請求項 3 3】

デキストリン化合物が、デキストリンおよびサッカライド糖化合物の総量の 4 0 % ~ 7 0 % ( w / v ) である、請求項 3 1 に記載のプロセス。

## 【請求項 3 4】

デキストリン化合物が、デキストリンおよびサッカライド糖化合物の総量の 4 0 % ~ 5 5 % ( w / v ) である、請求項 3 1 に記載のプロセス。

## 【請求項 3 5】

デキストリン化合物が、デキストリンおよびサッカライド糖化合物の総量の 4 0 % ~ 4 5 % ( w / v ) である、請求項 3 1 に記載のプロセス。

## 【請求項 3 6】

ナノ粒子が 4 5 n m ~ 1 1 0 n m の平均的な直径を有する、請求項 3 1 に記載のプロセス。

## 【請求項 3 7】

核酸活性剤の濃度が 1 m g / m L ~ 1 0 m g / m L である、請求項 3 1 に記載のプロセス。

## 【請求項 3 8】

1 以上の核酸活性剤が、RNA 干渉を仲介することが可能な RNA i 分子である、請求項 3 1 に記載のプロセス。

## 【請求項 3 9】

デキストリン化合物がシクロデキストリンである、請求項 3 1 に記載のプロセス。

## 【請求項 4 0】

シクロデキストリン化合物が、スルホアルキル、ベンゼンスルホアルキル、アセトアルキル、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシアルキルスクシナート、ヒドロキシアルキルマロナート、ヒドロキシアルキルグルタラート、ヒドロキシアルキルアジパート、ヒドロキシアルキル、ヒドロキシアルキルマレアート、ヒドロキシアルキルオキサラート、ヒドロキシアルキルフマラート、ヒドロキシアルキルシトラート、ヒドロキシアルキルタルトラート、ヒドロキシアルキルマラート、またはヒドロキシアルキルシトラコナート基で置換された 1 以上の 2 , 3 および 6 ヒドロキシル位置を有する、請求項 3 9 に記載のプロセス。

## 【請求項 4 1】

シクロデキストリン化合物が、( 2 - ヒドロキシプロピル ) - - シクロデキストリン、2 - ヒドロキシプロピル - - シクロデキストリンスクシナート、( 2 - ヒドロキシプロピル ) - - シクロデキストリン、または 2 - ヒドロキシプロピル - - シクロデキストリンスクシナートである、請求項 3 9 に記載のプロセス。

## 【請求項 4 2】

シクロデキストリン化合物が、スルホブチルエーテル - シクロデキストリンまたはスルホブチルエーテル - シクロデキストリンである、請求項 3 9 に記載のプロセス。

## 【請求項 4 3】

シクロデキストリン化合物が、メチル - - シクロデキストリンまたはメチル - - シクロデキストリンである、請求項 3 9 に記載のプロセス。

【請求項 4 4】

シクロデキストリン化合物が吸着化合物を含む、請求項 3 9 に記載のプロセス。

【請求項 4 5】

サッカライド糖化合物が、モノサッカライドまたはジサッカライド糖化合物である、請求項 3 1 に記載のプロセス。

【請求項 4 6】

組成物の凍結乾燥および再構成時、0.2 μm 超の大きさを有する凝集粒子が、0.001 % (w/v) 未満である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4 7】

核酸製剤が、6 カ月の保存期間後に再構成され、少なくとも 80 % の活性を保持する、請求項 7 に記載の組成物。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0008

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0008】

デキストリンおよび糖化合物の総量が、組成物の 2 % ~ 20 % (w/v) である、上記の組成物。

デキストリン化合物が、デキストリンおよび糖化合物の総量の 40 % ~ 70 % (w/v) である、上記の組成物。

デキストリン化合物が、デキストリンおよび糖化合物の総量の 40 % ~ 55 % (w/v) である、上記の組成物。

デキストリン化合物が、デキストリンおよび糖化合物の総量の 40 % ~ 45 % (w/v) である、上記の組成物。

組成物の凍結乾燥および再構成時、ナノ粒子の平均的な大きさの変化が、元の組成物におけるそれらの大きさの 10 % 以内である、上記の組成物。

組成物の凍結乾燥、保存および再構成時、ナノ粒子の平均的な大きさの変化が、元の組成物におけるそれらの大きさの 10 % 以内である、上記の組成物。

【手続補正 3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0016

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0016】

再構成時、ナノ粒子の平均的な大きさの変化が、合成されたときのそれらの大きさの 10 % 以内である、上記のプロセス。

凍結乾燥物を再構成前に保存することをさらに含む、上記のプロセス。

凍結乾燥物の保存および再構成時、ナノ粒子の平均的な大きさの変化が、合成されたときのそれらの大きさの 10 % 以内である、上記のプロセス。

凍結乾燥物が 5 で少なくとも 1 ヶ月間保存される、上記のプロセス。

凍結乾燥物が -20 で少なくとも 1 ヶ月間保存される、上記のプロセス。

ナノ粒子が 45 nm ~ 110 nm の平均的な直径を有する、上記のプロセス。

核酸活性剤の濃度が 1 mg/mL ~ 10 mg/mL である、上記のプロセス。

【手続補正 4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0030

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0030】

いくつかの態様において、デキストリン化合物は、保護剤組成物におけるデキストリンおよび糖化合物の総量の40%～70%(w/v)であり得る。一定の態様において、デキストリン化合物は、保護剤組成物におけるデキストリンおよび糖化合物の総量の40%～55%(w/v)であり得る。さらなる態様において、デキストリン化合物は、保護剤組成物におけるデキストリンおよび糖化合物の総量の40%～45%(w/v)であり得る。これらの組成物は、再構成されたナノ粒子懸濁液の予想外に有利な特性(例えば、ナノ粒子の大きさまたは活性のわずかな変化)を提供し得る。

いくつかの側面において、ナノ粒子の保護された懸濁液の凍結乾燥および再構成時、ナノ粒子の平均的な大きさの変化は、凍結乾燥前の元の組成物におけるそれらの大きさの10%以内であり得る。一定の側面において、ナノ粒子の保護された懸濁液の凍結乾燥および再構成時、ナノ粒子の平均的な大きさの変化は、凍結乾燥前の元の組成物におけるそれらの大きさの5%以内であり得る。

## 【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0048

【補正方法】変更

## 【補正の内容】

## 【0048】

一定の側面において、再構成された核酸製剤は低減されたサイトカイン活性化を有し得る。

追加の側面において、核酸製剤は6ヶ月の保存時間後に再構成され、核酸剤の80%の活性を保持し得る。

いくつかの態様において、核酸製剤は6ヶ月の保存時間後に再構成され得、脂質ナノ粒子の平均的な粒子の大きさは凍結乾燥前の125%未満であり得る。

一定の態様において、核酸製剤は24ヶ月の保存時間後に再構成され、核酸剤の90%の活性を保持し得る

さらなる態様において、核酸製剤は24ヶ月の保存時間後に再構成され得、脂質ナノ粒子の平均的な粒子の大きさは凍結乾燥前の25%超未満であり得る。

## 【手続補正6】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0061

【補正方法】変更

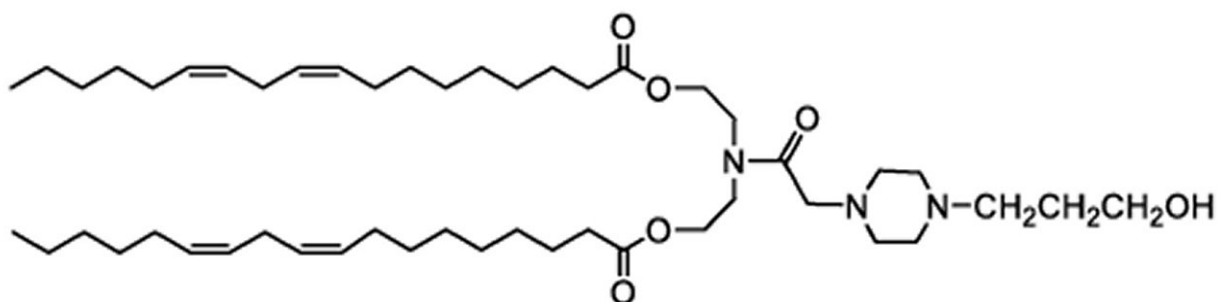
## 【補正の内容】

## 【0061】

イオン化可能脂質の例は、以下の化合物を含む：

((2-(4-(2-ヒドロキシエチル)ピペラジン-1-イル)アセチル)アザンジイル)ビス(エタン-2,1-ジイル)(9Z,9'Z,12Z,12'Z)-ビス(オクタデカ-9,12-ジエノアート)である、化合物A A

## 【化7】



## 【手続補正7】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0062

【補正方法】変更

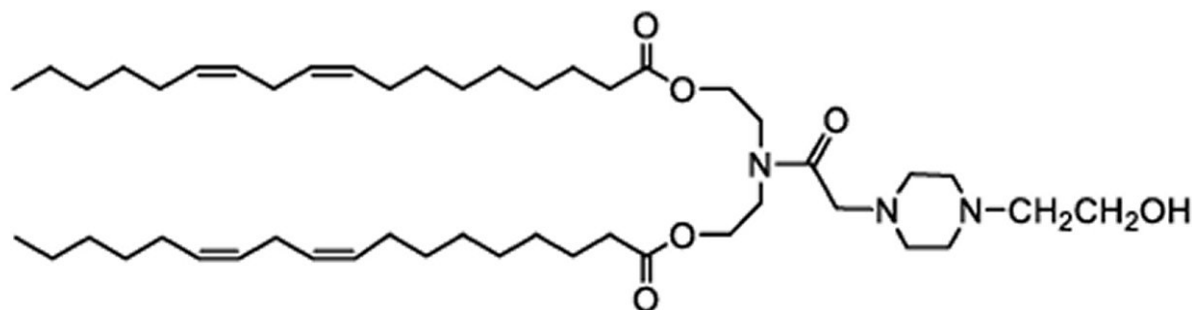
【補正の内容】

【0062】

イオン化可能脂質の例は、以下の化合物を含む：

( ( 2 - ( 4 - ( 2 - ヒドロキシエチル ) ピペラジン - 1 - イル ) アセチル ) アザンジイル ) ビス ( エタン - 2 , 1 - ジイル ) ( 9 Z , 9 ' Z , 1 2 Z , 1 2 ' Z ) - ビス ( オクタデカ - 9 , 1 2 - ジエノアート ) である、化合物 A B

【化 8】



【手続補正 8】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0069

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0069】

#### 安定剤脂質

安定剤脂質の例は、双性イオン性脂質を含む。

安定剤脂質の例は、リン脂質などの化合物を含む。

リン脂質の例は、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジイルノシトール、ホスファチジン酸、パルミトイルオレオイルホスファチジルコリン、リソホスファチジルコリン、リソホスファチジルエタノールアミン、ジパルミトイルホスファチジルコリン、ジオレオイルホスファチジルコリン、ジステアロイルホスファチジルコリンおよびジリノレオイルホスファチジルコリンを含む。

安定剤脂質の例は、ホスファチジルエタノールアミン化合物およびホスファチジルコリン化合物を含む。

安定剤脂質の例は、1, 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン ( D O P C ) を含む。

安定剤脂質の例は、ジフィタノイルホスファチジルエタノールアミン ( D P h P E ) および 1, 2 - ジフィタノイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン ( D P h P C ) を含む。

【手続補正 9】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0113

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0113】

ナノ粒子処方物を、スクロースおよび ( 2 - ヒドロキシプロピル ) - - シクロデキストリンを含有する保護剤組成物で凍結乾燥した。総保護剤含量は 1 0 % ~ 1 2 . 5 % 、または 1 0 % ~ 1 5 % ( w / v ) であった。( 2 - ヒドロキシプロピル ) - - シクロデキストリンの含量は 4 0 % ( w / v ) 、スクロースは 6 0 % であった。シクロデキストリン

はCAVITRON W7 HP5 PHARMAシクロデキストリンであった。

バイアルを表 7 に示す温度で 4 週間保存した。保存および再構成の後、表 7 に示すように、ナノ粒子の平均的な大きさ ( P S、Z - 平均 ) は驚くほどに安定であった。

表 7 に示されるように、s i R N A ナノ粒子の大きさは、元の組成物におけるそれらの大きさの 4 % 以内であった。

【手続補正 1 0】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0 1 1 6

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0 1 1 6】

ナノ粒子製剤を、スクロースおよび ( 2 - ヒドロキシプロピル ) - - シクロデキストリンを含有する保護剤組成物で凍結乾燥させた。総保護剤含量は 1 0 % ~ 1 2 . 5 %、または 1 0 % ~ 1 5 % ( w / v ) であった。( 2 - ヒドロキシプロピル ) - - シクロデキストリンの含量は 4 0 % ( w / v )、スクロースは 6 0 % であった。シクロデキストリンは、CAVITRON W7 HP7 PHARMAシクロデキストリンであった。

バイアルを表 8 に示す温度で 4 週間保存した。保存および再構成後、表 8 に示すように、ナノ粒子の平均的な大きさ ( P S、Z - 平均 ) は驚くほどに安定であった。

表 8 に示すように、s i R N A ナノ粒子の大きさは、元の組成物のそれらの大きさの 5 % 以内であった。