

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6789960号
(P6789960)

(45) 発行日 令和2年11月25日(2020.11.25)

(24) 登録日 令和2年11月6日(2020.11.6)

(51) Int. Cl.	F 1	
A 6 1 K 9/127	(2006.01)	A 6 1 K 9/127
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 9/14	(2006.01)	A 6 1 K 9/14
A 6 1 K 9/52	(2006.01)	A 6 1 K 9/52

請求項の数 18 (全 19 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2017-546031 (P2017-546031)	(73) 特許権者	520061804 キュラディグム・エスアエス CURADIGM SAS フランス国、エフ-75012 パリ、リ ュ・ドゥ・ワティニー 60
(86) (22) 出願日	平成27年11月24日(2015.11.24)	(74) 代理人	110001508 特許業務法人 津国
(65) 公表番号	特表2017-538783 (P2017-538783A)	(72) 発明者	ジェルマン, マチュー フランス国、エフ-94500 シャンピ ニー・シュル・マルヌ、アヴニュ・マルク ス・ドルモワ 3、アントレ・4
(43) 公表日	平成29年12月28日(2017.12.28)	(72) 発明者	メイル, マリー-エディット フランス国、エフ-94160 サン・マ ンデ、スクワール・ニュンジュセ 3
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/077425		
(87) 国際公開番号	W02016/083333		
(87) 国際公開日	平成28年6月2日(2016.6.2)		
審査請求日	平成30年11月13日(2018.11.13)		
(31) 優先権主張番号	14306875.7		
(32) 優先日	平成26年11月25日(2014.11.25)		
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁 (EP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 医薬組成物、その調製及び使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

(i) 少なくとも1つの生体適合性脂質系ナノ粒子及び(ii) 少なくとも1つの医薬化合物を含む少なくとも1つの担体の組み合わせを特徴とする、治療的、予防的又は診断的方法において使用するための医薬であって、該生体適合性脂質系ナノ粒子の最長の寸法は100nmと300nmとの間であり、該生体適合性脂質系ナノ粒子の表面電荷の絶対値は少なくとも|10mV|であり、該電荷は負電荷であり、そして、該担体の表面は、デキストラン、ポリシアル酸(PSA)、ヒアルロン酸、キトサン、ヘパリン、ポリビニルピロリドン(PVP)、ポリビニルアルコール(PVA)、ポリアクリルアミド、ポリ(エチレングリコール)(PEG)及びPEG系コポリマーから選択されるポリマーがないか又はこれらに曝されていなく、該治療的、予防的又は診断的方法は、少なくとも1つの医薬化合物を含む該少なくとも1つの担体を被験体に投与する工程と、該少なくとも1つの生体適合性脂質系ナノ粒子を投与する別個の工程とを含み、該少なくとも1つの生体適合性脂質系ナノ粒子は、少なくとも1つの医薬化合物を含む該少なくとも1つの担体の前又は後の5分超と7.2時間との間で該被験体に投与され、そして該生体適合性脂質系ナノ粒子は医薬化合物として使用されない、医薬。

【請求項2】

前記ナノ粒子が、|10mV|を超える表面電荷の絶対値を有しており、該電荷が負電荷である、請求項1記載の医薬。

【請求項3】

前記ナノ粒子の最長の寸法が、145 nmと230 nmとの間である、請求項1又は2記載の医薬。

【請求項4】

前記ナノ粒子が、更に、生体適合性コーティングで覆われている、請求項1～3のいずれか一項記載の医薬。

【請求項5】

前記担体が、プレーン担体である、請求項1記載の医薬。

【請求項6】

前記担体が、中空担体である、請求項1記載の医薬。

【請求項7】

前記担体の表面には、いかなるポリエチレングリコール(PEG)ポリマーもない、請求項1～6のいずれか一項記載の医薬。

【請求項8】

前記担体が、リポソームである、請求項1～7のいずれか一項記載の医薬。

【請求項9】

前記リポソームが、以下：

ジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)62%mol、水素添加ダイズホスファチジルコリン(HSPC)22%mol及びコレステロール(Chol)16%mol；

ジパルミトイルホスファチジルコリン(DPPC)90%mol及びモノパルミトイルホスファチジルコリン(MPPC)10%mol；又は

モル比3：1における1-パルミトイル-2オレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン(POPC)及び1,2-ジオレオイル-sn-グリセロ-3-ホスホエタノールアミン(DOPE)、並びに等量の-(3'-O-コレステリルオキシカルボニル)--(N-エチルモルホリン)-スクシンアミド(MoChol)及びコレステリルヘミスクシナート(CHEMS)；

を含む、請求項8記載の医薬。

【請求項10】

いかなる生体適合性ナノ粒子及び/又は担体も存在しないで前記化合物の標準的な治療用量によりもたらされる治療上の有益性及び毒性と比較した場合、前記少なくとも1つの生体適合性脂質系ナノ粒子及び該医薬化合物を含む前記少なくとも1つの担体の併用投与が、前記被験体に対して、低減される毒性について該医薬化合物の治療上の有益性を維持するか、或いは、同等の又は低減される毒性について該医薬化合物の治療上の有益性を増大する、請求項1～9のいずれか一項記載の医薬。

【請求項11】

前記少なくとも1つの生体適合性脂質系ナノ粒子及び前記医薬化合物を含む前記少なくとも1つの担体の併用投与が、該化合物の標準的な治療用量と比較した場合に該投与される医薬化合物の治療用量を少なくとも10%低減することを可能にしつつも、前記被験体に対して、同等の毒性又は低減される毒性について同じ治療上の有益性を維持するか、或いは、いかなる生体適合性ナノ粒子及び/又は担体も存在しない該被験体に対して、同等の又は低減される毒性について治療上の有益性を増大する、請求項1～10のいずれか一項記載の医薬。

【請求項12】

前記ナノ粒子が、それを投与した後、1時間～6週間以内に、それが投与された被験体から消失する、請求項1～11のいずれか一項記載の医薬。

【請求項13】

前記医薬化合物が、低分子化合物である、請求項1～12のいずれか一項記載の医薬。

【請求項14】

前記医薬化合物が、標的化された低分子化合物、細胞傷害性の化合物及び遷移金属の配位錯体から選択される、請求項1～13のいずれか一項記載の医薬。

【請求項15】

10

20

30

40

50

前記医薬化合物が、前記担体に封入されているか、該担体に含浸されているか又は該担体に結合されている、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項記載の医薬。

【請求項 16】

前記医薬化合物が、時間的に制御された拡散、担体のエロージョン及び/又は担体の分解によって前記担体から放出される、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項記載の医薬。

【請求項 17】

前記医薬化合物が、細胞内の又は細胞外の刺激に反応して前記担体から放出される、請求項 1 ~ 15 のいずれか一項記載の医薬。

【請求項 18】

前記担体が電磁放射線、超音波又は磁場に曝されたときに、前記医薬化合物が該担体から放出される、請求項 1 ~ 14 のいずれか一項記載の医薬。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、(i) 少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子と(ii) 少なくとも1つの目的の化合物(典型的には少なくとも1つの医薬化合物)を含む少なくとも1つの担体との組み合わせを含む、そのような少なくとも1つの目的の化合物を必要とする被験体に投与されるための医薬組成物であって、当該少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子の及び少なくとも1つの目的の化合物を含む当該少なくとも1つの担体の組み合わせが、当該目的の化合物の効率を高める、医薬組成物に関する。当該生体適合性ナノ粒子の最長の寸法は、典型的には約4nmと約500nmとの間であり、そしてその表面電荷の絶対値は、少なくとも10mV(|10mV|)である。当該担体には、いかなる表面立体的安定化剤(surface sterically stabilizing agent)もない。

20

【0002】

本発明はまた、目的の化合物をこれを必要とする被験体に投与するために使用するためのそのような組成物であって、一方の少なくとも1つのナノ粒子と他方の当該目的の化合物を含む少なくとも1つの担体とが、好ましくは当該被験体に逐次的に、典型的には互いから5分超と約72時間との間で投与されるべき、組成物に関する。

【0003】

30

標準的な医薬用量(典型的には、いかなる生体適合性ナノ粒子及び/又は担体も存在しない)で投与される際の当該化合物によりもたらされる医薬上の有益性及び毒性と比較した場合、被験体への少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子の及び目的の化合物を含む少なくとも1つの担体の併用(典型的には逐次的)投与は、当該被験体においてその低減される毒性について当該目的の化合物の医薬上の(即ち、治療上の、予防上の又は診断上の)有益性を維持するか、或いは、同等の又は低減される毒性について医薬上の有益性を増大する。

【0004】

本発明の医薬組成物は、典型的には、化合物の標準的な医薬用量(典型的にはいかなる生体適合性ナノ粒子及び/又は担体も存在しない)と比較した場合、投与される化合物の医薬用量を少なくとも10%低減することを可能にしつつも、被験体に対して、同等の毒性(好ましくは低減される毒性)について同じ医薬上の有益性を維持するか、或いは、被験体に対して、同等の又は低減される毒性について医薬上の有益性を増大する。

40

【背景技術】

【0005】

背景

より安全でより効率的な方法で治療の及び診断の剤を患者に送達させるためのナノテクノロジーの使用は、過去数十年の間に当該分野における関心の高まりを導いてきた。その生体分布プロファイルの制御により薬物の治療効果を最大にすることが意図された、薬物送達システム、典型的にはリポソーム、エマルジョン又はミセルのような担体が出現した

50

。これらのシステムは、難溶性薬物を封入するか、薬物を破壊又は排出から保護するか、並びに / 或いは薬物の血液循環及び分布を改変する可能性を提供する。

【 0 0 0 6 】

第 1 世代の薬物送達システム (D D S) で観察された迅速な血液クリアランス (単核食細胞系 (M P S) によるそれらの捕捉に起因する) により、第 2 世代の D D S (その表面に結合される場合に D D S に「ステルス」特性を付与するように選択された立体的安定化剤によって改変された表面を提示する) の開発が促された。これらの剤は、典型的には、ポリエチレングリコール (P E G) ポリマー等の可撓性及び / 又は親水性ポリマーであり、そして典型的にはわずかに負の又は正の表面電荷を付与され得る。立体の安定化は、D D S の表面の血液成分への非特異的な結合を妨げ、そして単核食細胞系 (M P S) の細胞によるインピボでのその迅速な取り込み及びクリアランスを低減して、D D S の血液循環時間を延長する (非特許文献 1) 。長期循環性リポソームのナノ粒子医薬送達システム (nanoparticulate pharmaceutical drug delivery systems) (N D D S) は、最も頻りに研究されているタイプの N D D S である ; しかし、それらの生体内分布を変化させるために、合成両親媒性ポリマーもまた、他のタイプの N D D S を立体的に安定化させるために使用されている (非特許文献 2) 。

10

【 0 0 0 7 】

治療上の化合物をその標的部位に送達させるために有益であると考えられた、この血液循環時間の増加 (即ち、血中輸送の増強) にもかかわらず、可撓性及び / 又は親水性ポリマーコーティング (典型的には P E G コーティング) は、医薬化合物の細胞内送達 (即ち、その標的部位での化合物の放出) を損なうことが判明し、これは最終的に送達システムの活性を失う結果となった。この制限を克服する方法は、開裂可能な P E G 系を用いることである。しかしながら、このような担体の設計における複雑さが増すことにより、担体表面特性の再現性に難点が生じ、バッチ間の許容できない変動性を結果的に起こし得る。更に、これら「ステルス」D D S の曝露の延長は、より有害な事象に関連している。DOXL (ドキソルピシンを含む P E G 化リポソーム製剤) は、例えば、手足症候群又は粘膜炎のような重篤な有害事象を生じることが判明した。リポソームの親水性コーティングは、恐らく掌の及び足底のエクリン汗腺におけるこれらの蓄積を促すことが疑われた (非特許文献 3) 。

20

【 0 0 0 8 】

特許文献 1 は、気体が充填されたマイクロビシクル (典型的には、少なくとも 0 . 5 μ m のサイズを有する) とマイクロビシクルに会合する成分 (約 1 0 0 nm 未満のサイズを有する) とを含む集合体に関する。得られた集合体は、診断的に及び / 又は治療的に活性化製剤において医薬の活性成分として使用される。2 つの成分 (即ち、気体が充填されたマイクロビシクルと当該マイクロビシクルに会合する成分) は、典型的には、標的化した超音波イメージングを含む超音波造影イメージング、超音波によって媒介される (ultrasound-mediated) 薬物送達及び他のイメージング技術の分野において、イメージングを増強するために、同時に投与される。

30

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

40

【 0 0 0 9 】

【 特許文献 1 】 国際公開第 2 0 0 5 / 0 6 3 3 0 5 号

【 非特許文献 】

【 0 0 1 0 】

【 非特許文献 1 】 Jain K.R. and Stylianopoulos T. Delivering nanomedicine to solid tumors. Nature Reviews. Clinical Oncology 2010, 7, 653-664

【 非特許文献 2 】 Torchilin V.P. Multifunctional, stimuli-sensitive nanoparticulate systems for drug delivery. Nature Reviews. Drug Discovery 2014, 13, 813-827

【 非特許文献 3 】 Pegylated liposomal doxorubicin-related palmar-plantar erythrodysesthesia (' hand-foot ' syndrome). D. Lorusso et al. Annals of Oncology. 2007;

50

18, 1159-1164

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

先行技術から明らかなとおり、そして医療上の長期的な必要性にもかかわらず、医薬化合物（治療上の、予防上の及び診断上の化合物を含む）をこれらの標的部位に安全かつ効率的に送達させることは、依然として懸念事項である。医薬化合物が、所望の診断上の、治療上の又は予防上の効果を得るために必要かつ十分な量で被験体におけるその標的部位に到達するように、化合物の有効性及び安全性（即ち、言い換えれば、医薬化合物の輸送及び放出）を改善することは、明らかに必要である。

10

【課題を解決するための手段】

【0012】

詳細な説明

本発明は、治療の、予防の又は診断の状況におけるその意図された用途が何であれ、目的の化合物（本明細書中では単に「化合物」としても特定される）の効率を最適化することを可能にする。（i）少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子の及び（ii）少なくとも1つの目的の化合物を含む少なくとも1つの担体の組み合わせである、本明細書中に記載の組成物は、少なくとも1つの目的の化合物の薬物動態パラメータを最適化し、そして結果として、例えば、それらの許容できない毒性が原因で他の方法では開発できなかったであろう医薬化合物の開発を、ここに可能とする。典型的には、生体適合性ナノ粒子は、医薬化合物等として（即ち、治療上の、予防上の又は診断上の化合物として）使用されない。

20

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】いかなる表面立体的安定化剤もない、少なくとも1つの目的の化合物を含む担体の略図。担体は、プレーン担体（a、b）又は中空（hollow）担体（c、d）であり得る。目的の化合物は、典型的には捕捉又は含浸されている（a、c）か、或いはリンカーの補助を有してか又はいかなるリンカーも存在せずに担体に接合（結合）されている（b、d）。

【図2】a）少なくとも1つの目的の化合物を含む担体の略図。担体の表面は立体的安定化剤により修飾されている。b）（i）少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子の及び（ii）少なくとも1つの目的の化合物を含む少なくとも1つの担体（担体には、いかなる立体的安定化剤もない）の組み合わせを含む、本発明による医薬組成物の略図。

30

【図3】L-グルタミン酸N-(3-カルボキシ-1-オキソプロピル)-1,5-ジヘキサデシルエステル(SA-脂質)の化学式。

【発明を実施するための形態】

【0014】

本発明の典型的な組成物（本明細書中では一般に「医薬組成物」として特定される）は、（i）少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子と（ii）少なくとも1つの化合物（「目的の化合物」）を含む少なくとも1つの担体との組み合わせを含む組成物であって、当該生体適合性ナノ粒子の最長の又は最大の寸法は、典型的には約4nmと約500nmとの間であり、当該生体適合性ナノ粒子の表面電荷の絶対値は少なくとも10mVであり、そして当該担体には、いかなる表面立体的安定化剤もない（即ち、可撓性及び/又は親水性ポリマーを欠いている）、好ましくは当該担体の表面に対してわずかに負の又は正の電荷を帯びる親水性ポリマー（PEG等）を欠いている、組成物である。

40

【0015】

典型的には、（少なくとも1つの）生体適合性ナノ粒子と少なくとも1つの目的の化合物を含む（少なくとも1つの）担体との間の比は、0.1/1と1000/1との間又は0.5/1と1000/1との間、好ましくは0.5/1と500/1との間、更に好ましくは0.5/1と300/1との間である。

【0016】

50

用語「約」及び「およそ」とは、値（例えば、ナノ粒子のサイズ又は時間の間隔等）に関連する場合、示された値との差異（それは、当業者に小さな差異であると理解されるであろう）が、それが関連する対象事項（subject-matter）の特性に実質的に影響を与えず、そして、対象事項が、依然として請求項に係る発明の要旨（spirit）内にあることを示す。

【0017】

本発明の好ましい対象（objet）は、（i）少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子の及び（ii）少なくとも1つの目的の化合物（典型的には少なくとも1つの医薬化合物）を含む少なくとも1つの担体の組み合わせを含む、少なくとも1つの目的の化合物をこれを必要とする被験体において投与するために使用する医薬組成物であって、当該生体適合性ナノ粒子の最長の又は最大の寸法は、約4nmと約500nmとの間であり、当該生体適合性ナノ粒子の表面電荷の絶対値は少なくとも10mV（|10mV|）であり、そして当該担体には、いかなる表面立体的安定化剤もないで、一方の当該少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子と他方の当該少なくとも1つの目的の化合物を含む当該少なくとも1つの担体とが、好ましくは当該少なくとも1つの目的の化合物を必要とする被験体において、別々に（典型的には互いから5分超と約72時間との間で）投与されるものであり、そして当該生体適合性ナノ粒子は医薬化合物等として使用されない、医薬組成物である。

【0018】

化合物の標準的な医薬用量（典型的には、いかなる生体適合性ナノ粒子及び/又は担体も存在しない）によりもたらされる医薬上の有益性及び毒性と比較した場合、本発明の組成物を通じた、少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子の及び目的の化合物を含む少なくとも1つの担体の被験体への併用（典型的には逐次的な）投与は、典型的には、被験体に対して、その低減される毒性について化合物の同じ医薬上の（即ち、治療上の、予防上の又は診断上の）有益性を可能にする（維持する）か、或いは、被験体に対して、その同等の又は低減される毒性について化合物の医薬上の有益性を増大する。

【0019】

本発明の医薬組成物は、化合物の標準的な医薬用量（典型的にはいかなる生体適合性ナノ粒子及び/又は担体も存在しない）と比較した場合、投与される医薬（即ち、治療上の、予防上の又は診断上の）化合物の用量を少なくとも10%、好ましくは少なくとも15%低減することを典型的には可能にしつつも、（i）被験体に対して、同等の毒性（好ましくは低減される毒性）について同じ医薬上の有益性を維持するか、或いは、（ii）被験体に対して、同等の又は低減される毒性について医薬上の有益性を増大する。

【0020】

生体適合性ナノ粒子

粒子の形状は、その「生体適合性」に影響を及ぼし得るため、かなり均質な形状を有する粒子が本明細書中では好ましい。したがって、薬物動態的な理由から、本質的に球形の/円形の又は卵形の形状であるナノ粒子が好ましい。また、このような形状は、ナノ粒子が細胞と相互作用したり、又は細胞に取り込まれたりするのに好都合である。球形の/円形の形状が特に好ましい。

【0021】

本発明の要旨において、用語「ナノ粒子」とは、ナノメートル範囲のサイズ、典型的には約1nmと約500nmとの間、好ましくは約4nmと約500nmとの間、約4と約400nmとの間、約30nmと約300nmとの間、約20nmと約300nmとの間、約10nmと約300nmとの間、例えば、約4nmと約100nmとの間、例えば、約10nmと、15nmと又は20nmと約100nmとの間、又は約100nmと約500nmとの間、典型的には約100nmと約300nmとの間のサイズを有する生成物、特に合成生成物を指す。

【0022】

本明細書中の用語「ナノ粒子のサイズ」、「ナノ粒子の最大のサイズ」及び「ナノ粒子の最長のサイズ」とは、球形の/円形の又は卵形の形状である場合、典型的には「ナノ粒子の最長の又は最大の寸法」又は「ナノ粒子の直径」のことを指す。

【0023】

透過型電子顕微鏡 (TEM) 又は Cryo-TEM は、ナノ粒子のサイズを測定するために使用され得る。同様に、動的光散乱法 (DLS) は、溶液中のナノ粒子の流体力学的直径 (hydrodynamic diameter) を測定するために使用され得る。これら2つの方法は、更に、サイズを確認するために、DLS によって測定されたナノ粒子の流体力学的直径と、TEM 又は Cryo-TEM によって測定されたナノ粒子のサイズとを比較するように交互に使用され得る。好ましい方法は DLS (International Standard ISO22412 Particle Size Analysis - Dynamic Light Scattering, International Organisation for Standardisation (ISO) 2008を参照) である。

【0024】

本発明の状況において使用可能とするために、生体適合性ナノ粒子の絶対的な静電気の表面電荷 (本明細書中では「電荷」又は「表面電荷」としても特定される) は、 $|10\text{ mV}|$ (絶対値) よりも高い。ナノ粒子の表面電荷は、ナノ粒子濃度 0.2 と 10 g/L との間で、 $\text{pH} 6$ と 8 との間で、そして典型的には水性媒体中の電解質濃度 0.001 と 0.2 M との間 (例えば、 0.01 M 又は 0.15 M) で、典型的には水性媒体中におけるゼータ電位測定により決定される。

【0025】

典型的には、本発明の生体適合性ナノ粒子は、少なくとも $|10\text{ mV}|$ (即ち、 -10 mV 未満又は $+10\text{ mV}$ を超える)、例えば、 -12 mV 又は -15 mV と -20 mV との間未満の、或いは $+12\text{ mV}$ 又は $+15\text{ mV}$ と $+20\text{ mV}$ との間を超える (典型的には -15 mV 未満又は $+15\text{ mV}$ を超える) 電子の表面電荷を有する。好ましくは、本発明の生体適合性ナノ粒子は、 10 mV を超える電子の表面電荷の絶対値 (「表面電荷の絶対値」) を有し、当該電荷は、更により好ましくは、負電荷である。

【0026】

ナノ粒子の複合特性、サイズ及び表面電荷によって、ナノ粒子の血液循環の短縮及び肝臓への血管外漏出が可能になる。したがって、本発明の生体適合性ナノ粒子と目的の化合物を含む担体とを逐次的に投与することにより、2つの化合物の (即ち、生体適合性ナノ粒子と目的の化合物を含む担体との) 共循環 (co-circulation) が無くなることか又は限定的に共循環することが達成される。したがって、当該化合物の標準的な医薬用量 (典型的には、いかなる生体適合性ナノ粒子及び/又は担体も存在しない) によりもたらされる医薬上の有益性及び毒性と比較した場合、当該生体適合性ナノ粒子の複合特性、サイズ及び表面電荷は、当該目的の化合物を安全に使用することを可能にしつつも、当該被験体に対して、低減される毒性について化合物の同じ医薬上の (即ち、治療上の、予防上の又は診断上の) 有益性を可能にする (維持する) か、或いは言い換えれば、当該被験体に対して、同等の又は低減される毒性 (好ましくは低減される毒性) について当該化合物の医薬上の有益性を増大する。

【0027】

それが荷電している限り、本発明の状況において使用可能なナノ粒子は、有機物又は無機物のいずれかであり得る。更に、有機ナノ粒子と無機ナノ粒子との混合物が使用され得る。

【0028】

有機物の場合、このナノ粒子は、固体-脂質 (solid-lipid) ナノ粒子のような脂質系ナノ粒子 (グリセロ脂質、リン脂質、ステロール脂質等)、タンパク質系ナノ粒子 (本明細書中では「タンパク質-ナノ粒子」としても特定される) (例えば、アルブミン)、ポリマー系ナノ粒子 (「ポリマー性ナノ粒子」)、コポリマー系ナノ粒子 (「コポリマー性ナノ粒子」)、炭素系ナノ粒子、ウイルス様ナノ粒子 (例えば、ウイルスベクター) であり得る。

【0029】

有機ナノ粒子は更に、ナノスフィア (プレーンナノ粒子) 又はナノカプセル (中空ナノ粒子) (例えば、リポソーム、ゲル、ヒドロゲル、ミセル、 dendrimer 等) であり得る

10

20

30

40

50

。本明細書中に記載の有機ナノ粒子の混合物も使用され得る。

【0030】

ポリマー又はコポリマーは、天然の又は合成の由来であり得る。

【0031】

本発明の状況において有機ナノ粒子を調製するために使用可能な合成の（人工の）及び天然のポリマー又はコポリマーの例は、ポリ乳酸（PLA）、ポリ（ラクチド-コ-グリコール）酸（PLGA）、ポリエチレングリコール（PEG）、ポリグルクチン、ポリラクチド、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、ポリプロピレングリコール、ポリソルベート、ポリビニルアルコール、ポリアクリルアミド、ポリメタクリル酸メチル、ポリシアノアクリル酸アルキル、ポリ乳酸-コ-グリコール酸、ポリ（アミドアミン）、ポリ（エチレンイミン）、アルギン酸塩、セルロース及びセルロース誘導体のポリマー、コラーゲン、ヒアルロン酸、ポリグルタミン酸（PGA）、アクチン、多糖並びにゼラチンから選択され得る。

10

【0032】

無機物の場合、及びその最長の寸法が典型的には約10nm未満、例えば、約8nm未満、約7nm未満（典型的には約7nmと約4nmとの間（例えば、約6nm未満、約5nm未満又は約4nm未満）が含まれる）である場合、ナノ粒子は、任意の無機材料からできていてもよい。無機材料は、例えば、ランタニドを含む、メンデレーエフの周期表の第3、4、5、6周期に由来する金属元素を含み得る。当該ナノ粒子の最長の寸法が典型的には約10nm未満である場合、当該ナノ粒子は、集合してより大きな構造になり得る。より大きな構造になるナノ粒子の集合は、典型的には、ナノ粒子と生体適合性ポリマー、タンパク質等との間の相互作用によって誘発される。より大きな構造はまた、担体（典型的にはゼラチン構造（本明細書中では「ゼラチンナノ粒子」としても特定される）のようなプレーン担体又はリポソーム等の中空担体）にナノ粒子を捕捉することにより得られ得る。インビボにおける投与後、これらのより大きな構造が更に当該ナノ粒子を放出するように、当業者に設計され得る。

20

【0033】

無機物の場合、及びナノ粒子の最長の寸法が典型的には少なくとも10nm（典型的には10nmと500nmとの間）である場合、当該ナノ粒子は、（i）例えばMg、Ca、Ba及びSrから選択される1つ以上の二価の金属元素、（ii）例えばFe及びAlから選択される1つ以上の三価の金属元素、並びに（iii）Siを含む1つ以上の四価の金属元素の少なくとも1つを含み得るか、又は、これらであり得る。

30

【0034】

特定の実施態様において、ナノ粒子の無機材料は、（i）例えばMg、Ca、Ba及びSrから選択される1つ以上の二価の金属元素、（ii）例えばFe及びAlから選択される1つ以上の三価の金属元素、並びに（iii）Siを含む1つ以上の四価の金属元素から選択される。

【0035】

更なる特定の実施態様において、ナノ粒子の無機材料は、炭酸カルシウム（CaCO₃）、炭酸マグネシウム（MgCO₃）、水酸化マグネシウム（Mg(OH)₂）、水酸化鉄（Fe(OH)₂）、オキシ水酸化鉄（FeOOH）、酸化鉄（Fe₃O₄又はFe₂O₃）、酸化アルミニウム（Al₂O₃）、水酸化アルミニウム（Al(OH)₃）、オキシ水酸化アルミニウム（AlOOH）及び酸化ケイ素（SiO₂）から選択される。

40

【0036】

本明細書中に記載の組成物に使用されるナノ粒子は、生体適合性（即ち、生体組織と適合性がある）であるべきである。そのため、その組成により要求される場合、使用可能とするために、当該ナノ粒子は生体適合性材料でコーティングされるべきである。そのため、本発明の特定の実施態様において、本明細書中に言及されるナノ粒子は、生体適合性コーティングで覆われる。

【0037】

50

生体適合性材料は、生物学的な標的との相互作用を可能にする剤であり得る。このような剤は、典型的には、ナノ粒子の絶対的な電荷が少なくとも10mVである場合に当該ナノ粒子の表面上に正の又は負の電荷をもたらす。

【0038】

ナノ粒子の表面上に正電荷を形成する剤は、例えば、アミノプロピルトリエトキシシラン(aminopropyltriethoxysilane)及びポリリジンから選択され得る。ナノ粒子の表面上に負電荷を形成する剤は、例えば、リン酸塩(例えば、ポリリン酸塩、メタリン酸塩、ピロリン酸塩等)、カルボン酸塩(例えば、クエン酸塩又はジカルボン酸、特にコハク酸)及び硫酸塩から選択され得る。

【0039】

特定の実施態様において、ナノ粒子の絶対的な電荷が少なくとも10mV(|10mV|)である限り、当該ナノ粒子は、立体基(steric group)を提示する剤(そのような剤は、本明細書中では「表面立体的安定化剤」としても特定される)を含む生体適合性材料でコーティングされ得る。

【0040】

このような立体基を提示する剤は、例えば、ポリエチレングリコール(PEG); ポリエチレンオキシド; ポリビニルアルコール; ポリアクリレート; ポリアクリルアミド(ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)); ポリカルバミド; バイオポリマー; 多糖(例えば、デキストラン、キシラン及びセルロース); コラーゲン; 双性イオン性(swittonic)化合物(例えば、ポリスルホベタイン); 等から選択され得る。

【0041】

生体適合性コーティングは、有利には「完全コーティング」(完全な単層)であってもよい。これは、非常に高密度の生体適合性分子の存在が、ナノ粒子の表面全体に適切な電荷を生成することを意味する。

【0042】

生体適合性コーティングは、更に、標識剤、典型的には標準的なイメージング装置を使用して色の可視化を可能にする剤を含み得る。

【0043】

化合物の標準的な医薬(典型的には治療)用量(典型的には、いかなる生体適合性ナノ粒子及び/又は担体も存在しない)によりもたらされる医薬上の有益性及び毒性と比較した場合、少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子と少なくとも1つの目的の化合物を含む少なくとも1つの担体とを合わせた併用投与は、典型的には当該目的の化合物を必要とする被験体において互いから5分超と約72時間との間で投与される場合、当該被験体に対して、低減される毒性について当該目的の化合物の医薬上の(即ち、治療上の、予防上の又は診断上の)、典型的には治療上の有益性を維持するか、或いは、同等の又は低減される毒性について当該目的の化合物の医薬上の有益性を増大する。

【0044】

特定の実施態様において、当該化合物の標準的な治療用量(典型的には、いかなる生体適合性ナノ粒子及び/又は担体も存在しない)と比較した場合、少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子の及び少なくとも1つの目的の化合物を含む少なくとも1つの担体の併用投与は、典型的には当該少なくとも1つの目的の化合物を必要とする被験体において互いから5分超と約72時間との間で投与される場合、投与される当該化合物の治療用量を少なくとも10%、好ましくは少なくとも15%低減することを可能にしつつも、当該被験体に対して、化合物の同等の又は低減される毒性(好ましくは低減される毒性)について同じ治療上の有益性を維持するか; 或いは、当該被験体に対して、化合物の同等の又は低減される毒性について治療上の有益性を増大する。

【0045】

特定の実施態様において、少なくとも1つのナノ粒子は、幾つかの担体、典型的には少なくとも2つの担体(担体のそれぞれが少なくとも1つの目的の化合物を含む)と共に投与される。第1の担体中に存在する目的の化合物は、第2の担体中又は異なる担体中に存

10

20

30

40

50

在するものと同一であっても異なってもよい。

【0046】

ナノ粒子は、目的の化合物を必要とする被験体にそれを投与した後、典型的には1時間～6週間以内に（例えば、1ヶ月（4週間））、1時間～1ヶ月以内に（例えば、1時間と3週間との間又は1時間と2週間との間、或いは1時間と1週間との間）、それが投与された被験体から好ましくは消失する。

【0047】

ナノ粒子（存在する場合、その生体適合性コーティングを含む）を構成する材料は、当該ナノ粒子の生体内持続性（biopersistence）（即ち、被験体内での持続性）を決定する上で重要である。ナノ粒子は、生分解性（例えば、PLGA又はPLAのような生分解性ポリマーによって構成されている場合）及び/又は溶解性（例えば、酸化鉄）であるか、或いは非生分解性及び非溶解性であるとみなされ得る。生分解性の及び溶解性のナノ粒子は、非生分解性の及び/又は非溶解性のナノ粒子よりも迅速に被験体から消失する。

【0048】

目的の化合物

少なくとも1つの目的の化合物として（典型的には、少なくとも1つの目的の医薬化合物として）、本教示により様々な分子又は剤が使用され得る。この化合物は、既に説明したとおりの治療上の、予防上の又は診断上の化合物であり得る。これは有機化合物又は無機化合物であり得る。

【0049】

「目的の化合物」として使用可能な化合物の例は、典型的には、低分子、細胞傷害性の化合物及び遷移金属の配位錯体から選択される。本発明の状況において、低分子とは 10^{-9} mオーダーのサイズの低分子量（ < 900 ダルトン）有機化合物である。ほとんどの薬物は低分子である。

【0050】

特定の実施態様において、本発明の状況において使用される目的の化合物は、標的化される低分子である。標的化される低分子は、一般的に、悪性細胞内で変異しているか、過剰発現しているか、又は他の点で重要なタンパク質（ガン治療の状況において有望な標的）における酵素ドメインを阻害する。標的化される低分子は、細胞分裂（例えば、オーロラキナーゼ阻害剤又はサイクリン依存性キナーゼ阻害剤）、或いは他の生物学的機序（例えば、タンパク質の代謝回転又はクロマチン修飾（例えば、ヒストンデアセチラーゼ阻害剤））を標的とする分子を含む。

【0051】

標的化される低分子の例は、イマチニブ、ラパマイシン、ゲフィチニブ、エルロチニブ、ソラフェニブ、スニチニブ、ニロチニブ、ダサチニブ、ラパチニブ、ボルテゾミブ、アトルバスタチン等である。

【0052】

別の特定の実施態様において、本発明の状況において使用される目的の化合物は、細胞傷害性の化合物、例えば、化学療法剤である。細胞傷害性の化合物は、例えば、アントラサイクリン（例えば、ドキソルピシン、ダウノルピシン等）；アルキル化剤（例えば、メルファラン又はテモゾロミド）のようなDNA修飾剤；及び明確化された生理学的機序（例えば、微小管の重合（例えば、タキソール）又は代謝物の合成（例えば、メトトレキサート））を非常に正確に妨害する薬物から選択され得る。特定の実施態様において、細胞傷害性の化合物は、活性化可能な細胞傷害性の化合物である。フォトフリン（Photofrin）（典型的には光線力学療法（PDT）の状況において使用される）は、このような活性化可能な細胞傷害性の化合物の一例である。フォトフリンは、その治療効果を生じさせるためにレーザー光源によって活性化される。

【0053】

別の特定の実施態様において、本発明の状況において使用される目的の化合物は、遷移金属の配位錯体である。遷移金属の配位錯体は、幅広い配位数及び配位構造、到達可能な

10

20

30

40

50

酸化還元状態、配位子置換の熱力学的な及び反応速度論的な「調整能力 (tune-ability)」、並びに広範な構造多様性を含む、より一般的な有機系薬物に勝る有望な利点を提供する。金属系物質は、細胞の標的分子と相互作用して、生化学的機能に影響を与え、その結果、悪性細胞が破壊される。遷移金属の配位錯体は、典型的には、DNA構造に作用する細胞傷害性剤 (例えば、白金の配位錯体: シスプラチン、カルボプラチン、オキサリプラチン (oxaloplatin) 又はルテニウム、或いは金の配位錯体) である。

【0054】

担体

少なくとも1つの目的の化合物は、当業者には既知の手段により、担体に封入されているか又は担体に含浸されているか、或いはこのような担体に接合 (結合) している。少なくとも1つの目的の化合物を含む担体の略図は、図1に提示される。

10

【0055】

担体は有機担体であり得る。有機担体は、典型的には脂質性担体 (例えば、グリセロ脂質、リン脂質、ステロール等); ポリマー性担体; コポリマー性担体; 炭素質の担体; 及びウイルス様担体 (例えば、ウイルスベクター) から選択される。

【0056】

担体を構成するポリマー又はコポリマーは、天然の又は合成の由来であり得る。当該担体を調製するために本発明の状況において使用可能な合成の (人工の) 及び天然のポリマー又はコポリマーの例は、ポリ乳酸 (PLA)、ポリ (ラクチド - コ - グリコール) 酸 (PLGA)、ポリ (グルタミン酸) (PGA)、ポリ (カプロラクトン) (PCL)、ポリ (アミノ酸)、ポリグラクチン、ポリラクチド、ポリオキシエチレン脂肪酸エステル、ポリソルベート、ポリビニルアルコール、ポリアクリルアミド、ポリメタクリル酸メチル、ポリシアノアクリル酸アルキル、ポリ乳酸 - コ - グリコール酸、ポリ (アミドアミン)、ポリ (エチレンイミン)、アルギン酸塩、セルロース及びセルロース誘導体のポリマー、コラーゲン、ヒアルロン酸、アクチン、多糖並びにゼラチンから選択され得る。

20

【0057】

担体は無機担体であり得る。当該無機担体は、典型的にはナノ粒子である。

【0058】

ナノ粒子は、典型的には金属のナノ粒子、金属酸化物のナノ粒子及びこれらの混合物から選択される。

30

【0059】

担体は、ナノスフィア (プレーンナノ粒子) のようなプレーン担体又はナノカプセル (中空ナノ粒子) のような中空担体であり得る。

【0060】

好ましい担体は、例えば、リポソーム、ミセル、ポリマー性 (又は「ポリマー」) 担体、ヒドロゲル、 dendrimer、ゲル、コポリマー性担体、タンパク質担体及び本明細書中に定義される無機担体から選択される。

【0061】

本発明の担体の表面には、典型的には、そして好ましくは、いかなる表面立体的安定化剤もない (即ち、言い換えれば、欠いているか又は曝されていない)、即ち、いかなる親水性及び/又は可撓性ポリマーもない。例えば、本発明の担体には、デキストラン、ポリシアル酸 (PSA)、ヒアルロン酸、キトサン、ヘパリン、ポリビニルピロリドン (PVP)、ポリビニルアルコール (PVA)、ポリアクリルアミド、ポリ (エチレングリコール) (PEG) 及びPEG系コポリマー (例えば、ポロキサマー、ポロキサミン又はポリソルベート) から選択されるポリマーがないか、又はこれらに曝されていない。好ましくは、本発明の担体には、担体の表面にわずかに負の又は正の表面電荷をもたらすいかなる親水性ポリマー (例えば、ポリ (エチレングリコール) (PEG) 若しくはPEG系コポリマー、ポリビニルアルコール (PVA) 又はポリビニルピロリドン (PVP)) もない。

40

【0062】

50

本発明の医薬組成物（図 2 b 参照）は有利には、表面立体的安定化剤（図 2 a）（典型的には、親水性及び可撓性ポリマー、更に特には、担体の表面にわずかに負の又は正の表面電荷（このように負に又は正に荷電した表面は当業者には中性と考えられる）をもたらす親水性ポリマー（例えば、ポリエチレングリコールポリマー）等）を含むか又はこれに曝されている既存の担体（又は薬物送達システム）に置き換えることができる。

【 0 0 6 3 】

本発明の医薬組成物は、標準的な医薬用量（典型的には、いかなるナノ粒子及び／又は担体も存在しない）で投与される際の当該化合物によりもたらされる医薬上の有益性及び毒性と比較した場合、当該被験体におけるその低減される毒性について目的の化合物の医薬上の（即ち、治療上の、予防上の又は診断上の）有益性を維持するか、或いは、同等の又は低減される毒性についてその医薬上の有益性を増大する。

10

【 0 0 6 4 】

本発明の医薬組成物は、化合物の標準的な医薬用量（典型的には、いかなるナノ粒子及び／又は担体も存在しない）と比較した場合、典型的には、投与される化合物の医薬用量を少なくとも 1 0 % 低減することを可能にしつつも、被験体に対して、同等の毒性（好ましくは低減される毒性）について同じ医薬上の有益性を維持するか、或いは、被験体に対して、同等の又は低減される毒性について医薬上の有益性を増大する。

【 0 0 6 5 】

担体は、好ましくは制御された方法で目的の化合物を放出することを可能にする。当該担体は、典型的には、所定の又は調節可能な速度で或いは外部刺激に反応して、当該目的の化合物を放出するように設計され得る。

20

【 0 0 6 6 】

特定の実施態様において、担体は、典型的には時間的に制御された（temporal-controlled）放出によるか、担体からの目的の化合物の拡散によるか、担体のエロージョン（erosion）によるか及び／又は担体の分解により、当該目的の化合物の放出を可能にする。

【 0 0 6 7 】

別の特定の実施態様において、担体は、細胞内での又は細胞外での活性化により（即ち、細胞内又は細胞外刺激（例えば、pH変動又は酵素の作用）に反応して）、目的の化合物の放出を可能にする。

【 0 0 6 8 】

別の特定の実施態様において、担体は、外部刺激に反応しての目的の化合物の放出を可能にする。外部刺激の例は、電磁放射線（例えば、X線、ガンマ線のような電離放射線、或いはUV、可視光又は赤外線のような非電離放射線）、超音波及び磁場である。医薬化合物は、例えば、当該担体が電磁放射線、超音波及び磁場から選択される外部刺激に曝される場合、当該担体から放出される。

30

【 0 0 6 9 】

いかなる表面立体的安定化剤もない担体は、例えば、ジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）62%mol、水素添加ダイズホスファチジルコリン（HSPC）22%mol及びコレステロール（Chol）16%mol、又はジパルミトイルホスファチジルコリン（DPPC）90%mol及びモノパルミトイルホスファチジルコリン（MPPC）10%molを含む、膜の相転移温度（37 と 45 との間が含まれる）を有するリポソームであり得る。

40

【 0 0 7 0 】

いかなる表面立体的安定化剤もない担体はまた、例えば、剪断応力に感受性の 1, 3 - ジアミドリン脂質のような合成リン脂質を含むリポソームであり得る。

【 0 0 7 1 】

いかなる表面立体的安定化剤もない担体はまた、例えば、pH又は温度刺激によりそのコンフォメーション（ヘリックスからシートに）を変化させるペプチドを含むリポソームであり得る。

【 0 0 7 2 】

50

いかなる表面立体的安定化剤もない担体はまた、例えば、モル比 3 : 1 における 1 - パルミトイル - 2 オレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン (P O P C) 及び 1 , 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン (D O P E)、並びに等量の弱カチオン性の及び弱アニオン性の両親媒性物質 (両方ともコレステロール、 - (3 ' - O - コレステリルオキシカルボニル) - - (N - エチルモルホリン) - スクシニアミド (M o C h o l) 及びコレステリルヘミスクシナート (C H E M S) から誘導される) を含む、両性のリポソームであり得る。

【 0 0 7 3 】

本発明の医薬組成物 (少なくとも 1 つの生体適合性ナノ粒子と少なくとも 1 つの目的の化合物を含む少なくとも 1 つの担体との組み合わせにより定義される) は、多くの分野、特にヒトの医療又は獣医学において使用され得る。この組成物は、典型的には、その年齢又は性別がどうであれ、動物において、好ましくは哺乳動物において、更に好ましくはヒトにおいて使用するためのものである。

10

【 0 0 7 4 】

本発明の医薬組成物は、心血管疾患、中枢神経系 (C N S) 疾患、消化管疾患、遺伝性障害、血液障害、ホルモン障害、免疫異常、感染性疾患、代謝異常、筋骨格障害、ガン、呼吸器疾患及び中毒等から選択される疾患又は障害を、予防或いは処置するために使用され得る。好ましい実施態様において、医薬組成物は、心血管疾患、CNS 疾患、ガン、感染性疾患及び代謝異常から選択される疾患又は障害を、予防或いは処置するために使用するためのものである。

20

【 0 0 7 5 】

本発明の状況において、少なくとも 1 つのナノ粒子と目的の化合物を含む少なくとも 1 つの担体とは、当該化合物の医薬上の有効性を最適化するために、有利には当該目的の化合物を必要とする被験体において、互いから 5 分超と約 7 2 時間との間で、典型的には 5 分超と約 2 4 時間との間で、好ましくは 5 分超又は 3 0 分超と約 1 2 時間との間で、投与されるべきである。

【 0 0 7 6 】

本発明において、少なくとも 1 つのナノ粒子と目的の化合物を含む少なくとも 1 つの担体とが、有利には当該目的の化合物を必要とする被験体において、互いから 5 分超と約 7 2 時間との間で投与される場合、少なくとも 1 つの生体適合性ナノ粒子の表面電荷の絶対値は、少なくとも 1 0 mV (| 1 0 mV |) である。

30

【 0 0 7 7 】

本発明の特定の実施態様において、少なくとも 1 つのナノ粒子と目的の化合物を含む少なくとも 1 つの担体とが、有利には当該目的の化合物を必要とする被験体において、互いから 5 分超と約 2 4 時間との間で投与される場合、少なくとも 1 つの生体適合性ナノ粒子の表面電荷の絶対値は、有利には少なくとも 1 5 mV (| 1 5 mV |) である。

【 0 0 7 8 】

本発明の別の特定の実施態様において、少なくとも 1 つのナノ粒子と目的の化合物を含む少なくとも 1 つの担体とが、有利には当該目的の化合物を必要とする被験体において、互いから 5 分超と約 1 2 時間との間で投与される場合、少なくとも 1 つの生体適合性ナノ粒子の表面電荷の絶対値は、有利には少なくとも 2 0 mV (| 2 0 mV |) である。

40

【 0 0 7 9 】

また、本明細書中に記載されているのは、本明細書中に言及されるような疾患に、罹りやすい疑いがあるか、又は罹患している疑いがある被験体を、予防或いは処置する方法であって、当該被験体に本発明の医薬組成物、典型的には本明細書中に記載の少なくとも 1 つの生体適合性ナノ粒子と少なくとも 1 つの目的の化合物を含む少なくとも 1 つの担体とを投与することを含む、方法である。当該少なくとも 1 つの生体適合性ナノ粒子と当該化合物を含む当該少なくとも 1 つの担体とは、別々に (典型的には 5 分超と約 7 2 時間との間の間隔で) 投与される限り、当該少なくとも 1 つのナノ粒子又は目的の化合物を含む少なくとも 1 つの担体のいずれも、最初に当該被験体に投与され得る。当該少なくとも 1 つ

50

のナノ粒子又は目的の化合物を含む少なくとも1つの担体の投与は、それぞれの単回投与であっても、それぞれの反復投与（例えば、それぞれの数回の逐次的投与）であってもよい。当該生体適合性ナノ粒子を1回投与し、目的の化合物を含む当該少なくとも1つの担体を1回を超えて投与してもよく、そして、逆の場合も同じである。

【0080】

特定の実施態様において、少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子は、目的の化合物を含む少なくとも1つの担体を数回投与することを含むプロトコールの開始時に少なくとも投与される（即ち、当該少なくとも1つの担体の少なくとも最初の投与時に、及びその投与前又は後に）。

【0081】

別の特定の実施態様において、生体適合性ナノ粒子は、目的の化合物を含む少なくとも1つの担体を数回投与することを含むプロトコールの開始時には投与されず、そして当該少なくとも1つの担体の2回目又は3回目の投与前に及びその投与前又は後には、投与されない。

【0082】

また、これら最後の2つの実施態様の状況において、少なくとも1つの生体適合性ナノ粒子は、少なくとも1つの担体の引き続いての投与の一部又は全ての期間中に、目的の化合物を含む少なくとも1つの担体と一緒に（既に説明したとおり前又は後に）投与され得る。

【0083】

本発明の医薬組成物の生体適合性ナノ粒子は、静脈内（IV）、動脈内、腹腔内経路、皮内経路、気道（吸入）、筋肉内経路及び/又は経口経路（per os）のような任意の経路により投与され得る。好ましい投与経路は、静脈内経路である。

【0084】

本発明の医薬組成物の目的の化合物を含む担体は、皮下経路、静脈内（IV）経路、皮内経路、動脈内経路、気道（吸入）、腹腔内経路、筋肉内経路、経口経路（per os）及び前述した経路の中の幾つかの異なる経路から選択される任意の経路により投与され得る。適切な経路は、検出、予防又は処置すべき、疾患或いは障害に応じて専門家により選択される。

【0085】

以下の実施例は、その範囲を限定することなく本発明を説明する。

【実施例】

【0086】

実施例1：生体適合性ナノ粒子としてのリポソームの合成1

脂質性フィルム再水和法（re-hydration method）を用いてリポソームを調製する：

a) 脂質をクロロホルム中に可溶化する。クロロホルムを窒素流下で最終的にエバポレートする。脂質の濃度が5 mMになるように、HEPES 20 mM及びNaCl 140 mM（pH 7.4）による脂質性フィルムの再水和を50 で実施する。

荷電したリポソームを調製するために以下の脂質性組成物を使用した。DPPC（ジパルミトイルホスファチジルコリン）：86 %mol；MPPC（モノパルミトイルホスファチジルコリン）：10 %mol；DSPC-PEG（ジステアリルホスファチジエタノールアミン-[メトキシ（ポリエチレングリコール（PolyEthyleneGlycol））-2000]）：4 %mol。

b) 次に、サンプルを液体窒素中に、そして50 に調節した水浴中に続けて漬けることにより、凍結・融解サイクルを6回実施する。

c) サーモバレル押出機（thermobarrel extruder）（LIPEX（商標）Extruder、Northern Lipids）を使用して、温度及び圧力の制御下でリポソームのサイズを校正した。全ての場合において、押出加工（extrusion）は50 で10 barの圧力下で実施した。

633 nm HeNeレーザーを備えるZetasizer NanoZS（Malvern instrument）を用いた動的光散乱法（DLS）（90 の角度で）によって、このように調製されたリポソーム

10

20

30

40

50

ムのサイズ分布を決定した。リポソーム懸濁液を H E P E S 20mM 及び N a C l 140mM (p H 7.4) 中に 100 倍希釈した。リポソームサイズ (即ち、流体力学的直径) は約 170nm (強度による分布) に等しく、多分散指数 (P D I) は約 0.1 に等しかった。

当業者によって理解されるとおり、選択された脂質組成物により所望の表面電荷が得られ、その値は、Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) を用いたゼータ電位測定により確認される。

リポソームを水に 100 倍希釈して、得られた懸濁液の p H を p H 7.4 に調整した。リポソームの表面電荷は、p H 7.4 で約 -14mV に等しかった。

【 0087 】

実施例 2 : 生体適合性ナノ粒子としてのリポソームの合成 2

脂質フィルム再水和法を用いてリポソームを調製する :

a) 脂質をクロロホルム中に可溶化する。クロロホルムを窒素流下で最終的にエバポレートする。脂質濃度が 25mM になるように、H E P E S 20mM 及び N a C l 140mM (p H 7.4) による脂質性フィルムの再水和を 65 で実施する。

リポソームを調製するために以下の脂質組成物を使用した。7 : 2 : 1 のモル比での D S P C (ジステアロイルホスファチジルコリン) : D S P G (ジステアロイルホスファチジルグリセロール) : C H O L (コレステロール) 。

b) 次に、サンプルを液体窒素中に、そして 65 に調節した水浴中に続けて漬けることにより、凍結・融解サイクルを 6 回実施する。

c) サーモバレル押出機 (LIPEX (商標) Extruder、Northern Lipids) を使用して、温度及び圧力の制御下でリポソームのサイズを校正した。最初に、5bar で孔径 0.45 μ m のポリエーテルスルホン (P E S) 膜へ 5 回通し、次に 10bar で孔径 0.22 μ m の P E S 膜に 10 回通し、そして最後に 15bar で孔径 0.1 μ m のポリフッ化ビニリデン (P V D F) 膜に 10 回通すことを行った。

633nm H e N e レーザーを備える Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) を用いた動的光散乱法 (D L S) (90 の角度で) によって、このように調製されたリポソームのサイズ分布を決定した。リポソーム懸濁液を H E P E S 20mM 及び N a C l 140mM (p H 7.4) 中に 100 倍希釈した。リポソームサイズ (即ち、流体力学的直径) は約 145nm (強度による分布) に等しく、多分散指数 (P D I) は約 0.1 に等しかった。

選択された脂質組成物により所望の表面電荷 (典型的には -10mV 未満) が得られ、その値は、Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) を用いたゼータ電位測定により確認される。

【 0088 】

実施例 3 : 単独での同じ用量の目的の化合物と比較した場合、本発明の医薬組成物に含まれる目的の化合物を被験体に投与した後に有効性の改善及び / 又は毒性の低減を可能にする方法。

(i) 少なくとも 1 つの生体適合性ナノ粒子の及び (ii) ドキソルビシンを含む少なくとも 1 つの担体の組み合わせを含む請求項 1 記載の医薬組成物を、MDA-MB-231-lucD3H2LN 異種移植腫瘍を有するヌードマウスに以下のように投与する :

a) - Dox-NP (登録商標) (ドキソルビシンの P E G 化リポソーム製剤) をヌードマウスの第 1 群に (静脈内注射により) 投与する ;

- ドキソルビシンをヌードマウスの第 2 群に (静脈内注射により) 投与する ;

- 生体適合性ナノ粒子をヌードマウスの第 3 群に (静脈内注射により) 投与する ;

- 生体適合性ナノ粒子をヌードマウスの第 4 群に (静脈内注射により) 投与し、生体適合性ナノ粒子をヌードマウスの第 4 群に投与した後の 5 分超と 72 時間との間で、ドキソルビシンを含む担体 (ここで、担体には、いかなる立体的安定化剤もない) を当該ヌードマウスの第 4 群に (静脈内注射により) 投与する ;

b) Dox-NP (登録商標) (第 1 群)、ドキソルビシン (第 2 群)、生体適合性ナノ粒子

10

20

30

40

50

(第3群)及び医薬組成物(第4群)を投与した後のヌードマウスにおいて、任意の毒性の臨床徴候を評価する；そして

c) Dox-NP(登録商標)(第1群)、ドキシソルピシン(第2群)、生体適合性ナノ粒子(第3群)及び医薬組成物(第4群)を投与した後に腫瘍再増殖の遅延を測定する。

【0089】

実施例4：生体適合性ナノ粒子としてのリポソームの合成3

脂質フィルム再水和法を用いてリポソームを調製する：

a) 脂質をクロロホルム中に可溶化する。クロロホルムを窒素流下で最終的にエバポレートすることにより、Pyrexチューブの壁上に脂質性フィルムを形成する。脂質濃度が50mMになるように、HEPES 25mM及びNaCl 150mM(pH 7.4)による脂質フィルムの再水和を60で実施する。

荷電したリポソームを調製するために以下の脂質組成物を使用した。DPPC(ジパルミトイルホスファチジルコリン) 58%mol；HSPC(水素添加ダイズホスファチジルコリン) 21%mol；CHOL(コレステロール) 16%mol；POPS(1-パルミトイル-2-オレオイルホスファチジルセリン) 5%mol。

b) 次に、サンプルを液体窒素中に、そして60に調節した水浴中に続けて漬けることにより、凍結・融解サイクルを6回実施する。凍結・融解の3サイクル毎に及び押出加工直前に、リポソーム溶液の超音波処理を30秒間実施する。

c) サーマレル押出機(LIPEX(商標) Extruder、Northern Lipids)を使用して、温度及び圧力の制御下でリポソームのサイズを較正する。押出加工は60で実施する。100barの圧力下で孔径0.1µmのポリフッ化ビニリデン(PVDF)膜に10回通すことを行った。

633nm HeNeレーザーを備えるZetasizer NanoZS(Malvern instrument)を用いた動的光散乱法(DLS)(173の角度で)によって、このように調製されたリポソームのサイズ分布を決定する。リポソーム溶液をHEPES 25mM及びNaCl 150mM(pH 7.4)中に200倍希釈する。リポソームサイズ(即ち、流体力学的直径)は約170nm(強度による分布)に等しく、多分散指数(PdI)は約0.2に等しい。

当業者によって理解されるとおり、選択された脂質組成物により所望の表面電荷が得られ、その値は、Zetasizer NanoZS(Malvern instrument)を用いたゼータ電位測定により確認される。リポソームを1mMの塩化ナトリウム溶液中に200倍希釈して、溶液のpHをpH 7に調整する。リポソームの表面電荷は、pH 7、NaCl 1mMで約-40mVに等しい。

リポソーム溶液の最終脂質濃度を比色アッセイ(Bartlett法)により測定する。この方法は、リン脂質の酸分解による総リンの決定に基づく。放出される無機リン酸は、モリブデン酸アンモニウムと反応し、複合体が強い青色を呈する。脂質濃度は、約50mMに等しい。

【0090】

実施例5：生体適合性ナノ粒子としてのリポソームの合成4

脂質性フィルム再水和法を用いてリポソームを調製する：

a) 脂質をクロロホルム中に可溶化する。クロロホルムを窒素流下で最終的にエバポレートすることにより、Pyrexチューブの壁上に脂質性フィルムを形成する。脂質濃度が50mMになるように、HEPES 25mM及びNaCl 150mM(pH 7.4)による脂質性フィルムの再水和を60で実施する。

荷電したリポソームを調製するために以下の脂質組成物を使用した。DPPC(ジパルミトイルホスファチジルコリン) 45.15%mol；CHOL(コレステロール) 45.15%mol；DSPE-PEG(ジステアрилホスファチジルエタノールアミン-[メトキシ(ポリエチレングリコール)-2000]) 0.60%mol；L-グルタミン酸N-(3-カルボキシ-1-オキソプロピル)-1,5-ジヘキサデシルエステル(SA-脂質) 9.10%mol。SA-脂質は、リポソーム表面にCOOH基をもたらす。

b) 次に、サンプルを液体窒素中に、そして60に調節した水浴中に続けて漬けるこ

とにより、凍結・融解サイクルを6回実施する。

c) サーマバレル押出機 (LIPEX (商標) Extruder、Northern Lipids) を使用して、温度及び圧力の制御下でリポソームのサイズを較正する。押出加工は60 で実施する。3 barの圧力下で孔径0.45 μmのポリフッ化ビニリデン (PVDF) 膜に7回通し、そして10 barの圧力下で孔径0.22 μmのポリフッ化ビニリデン (PVDF) 膜に10回通すことを行った。633 nm HeNeレーザーを備えたZetasizer NanoZS (Malvern instrument) を用いた動的光散乱法 (DLS) (173 の角度で) によって、このように調製されたリポソームのサイズ分布を決定する。リポソーム溶液をHEPES 25 mM及びNaCl 150 mM (pH 7.4) 中に200倍希釈する。リポソームサイズ (即ち、流体力学的直径) は約230 nm (強度による分布) に等しく、多分散指数 (PDI) は約0.2に等しい。

10

当業者によって理解されるとおり、選択された脂質組成物により所望の表面電荷が得られ、その値は、Zetasizer NanoZS (Malvern instrument) を用いたゼータ電位測定により確認される。リポソーム溶液を1 mMの塩化ナトリウム溶液中に200倍希釈して、溶液のpHをpH 7に調整する。リポソームの表面電荷は、pH 7、NaCl 1 mMで約-60 mVに等しい。

リポソーム溶液の最終脂質濃度を比色アッセイ (Bartlett法) により測定する。この方法は、リン脂質の酸分解による総リンの決定に基づく。放出される無機リン酸は、モリブデン酸アンモニウムと反応し、複合体が強い青色を呈する。脂質濃度は、約50 mMに等しい。

20

【0091】

実施例6：生体適合性ナノ粒子としてのリポソームの合成5

脂質性フィルム再水和法を用いてリポソームを調製する：

a) 脂質をクロロホルム中に可溶化する。クロロホルムを窒素流下で最終的にエバポレートすることにより、Pyrexチューブの壁上に脂質性フィルムを形成する。HEPES 25 mM及びNaCl 150 mM (pH 7.4) での脂質性フィルムの再水和を60 で実施して、脂質濃度は50 mMである。荷電したリポソームを調製するために以下の脂質組成物を使用した。DSPC (1, 2 - ジステアロイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホコリン) 60 % mol、CHOL (コレステロール) 35 % mol; 及びスクシニルPE (1, 2 - ジオレオイル - sn - グリセロ - 3 - ホスホエタノールアミン - N - スクシニル) 5 % mol。

30

b) 次に、サンプルを液体窒素中に、そして60 に調節した水浴中に続けて漬けることにより、凍結・融解サイクルを6回実施する。凍結・融解の3サイクル毎に及び押出加工直前に、リポソーム溶液の超音波処理を30秒間実施する。

c) サーマバレル押出機 (LIPEX (商標) Extruder、Northern Lipids) を使用して、温度及び圧力の制御下でリポソームのサイズを較正する。押出加工は60 で実施する。12 barの圧力下で孔径0.22 μmのポリフッ化ビニリデン (PVDF) 膜に12回通すことを行った。

d) スクシニルPEリポソームとp - アミノフェニル - D - マンノピラノシド (MAN) との複合化：

カルボジイミドカップリングを用いて、スクシニルPEリポソーム表面をマンノース由来のリガンドであるp - アミノフェニル - D - マンノピラノシド (MAN) で修飾することにより、マンノース複合リポソームに発展させる。MANは、そのアミノ基により、予め形成されたスクシニルPEリポソームの表面上に存在するスクシニルPEのカルボン酸基に共有結合する。簡単に述べると、予め形成されたスクシニルPEリポソーム溶液に、EDC (1 - エチル - 3 - [3 - ジメチルアミノプロピル]カルボジイミド塩酸塩) (スクシニルPE / EDC 1 : 10 モル比) 及びN - ヒドロキシスクシンイミド (NHS) (NHS / EDC 1 : 2.5 モル比) を加える。次に、懸濁液のpHをNaOH 1 Mで6に調整して、得られた懸濁液を室温で15分間攪拌する。続いて、溶液のpHをNaOH 1 Mで7に調整して、MAN水溶液を当該溶液に加える (スクシニルPE / MAN モル比1 : 2)。NaOH 1 Mを用いてpHを7に再調整して、懸濁液を室温で更に2

40

50

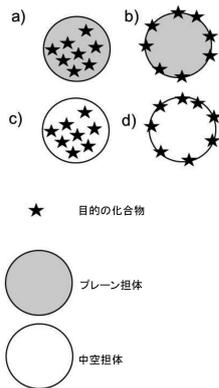
時間攪拌する。50 kDaセルロース膜を用いて(×500; ×500; ×500)の希釈率で3工程の透析を行うことにより、過剰の未結合のMAN、EDC及びNHS分子を除去する。

注目すべきことに、透析により希釈が可能であるため、リポソーム溶液は、Vivaspin濃縮機での膜限外濾過(カットオフ300 kDaのポリエチレンスルホン(PES)膜を用いる)を用いて遠心分離(典型的にはSigma 3-15K遠心分離機(5 ; 1, 200 rpm))によって濃縮され得る。

633 nm HeNeレーザーを備えるZetasizer NanoZS(Malvern instrument)を用いた動的光散乱法(DLS)(173°の角度で)によって、このように調製されたリポソームのサイズ分布を決定する。リポソーム溶液をHEPES 25 mM及びNaCl 150 mM(pH 7.4)中に200倍希釈する。リポソームサイズ(即ち、流体力学的直径)は約230 nm(強度による分布)であり、多分散指数(PDI)はおよそ0.2である。当業者によって理解されるとおり、選択された脂質組成物により所望の表面電荷が得られ、その値は、Zetasizer NanoZS(Malvern instrument)を用いたゼータ電位測定により確認される。リポソーム溶液を1 mMの塩化ナトリウム溶液(pH 7)中に200倍希釈する。リポソームの表面電荷は、NaCl 1 mM、pH 7でおおよそ-70 mVである。リポソーム溶液の最終脂質濃度を比色アッセイ(Bartlett法)により測定する。この方法は、リン脂質の酸分解による総リンの決定に基づく。放出される無機リン酸は、モリブデン酸アンモニウムと反応し、複合体が強い青色を呈する。脂質濃度は、約50 mMに等しい。

10

【図1】



【図3】

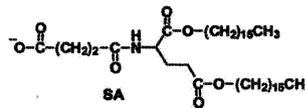
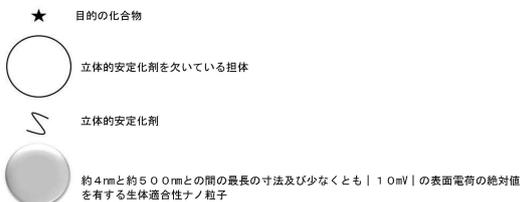
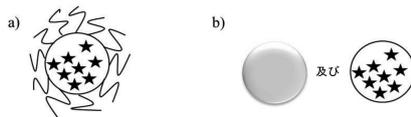


FIGURE 3

【図2】



フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I
A 6 1 K 9/51 (2006.01)		A 6 1 K 9/51
A 6 1 K 31/704 (2006.01)		A 6 1 K 31/704
A 6 1 P 35/00 (2006.01)		A 6 1 P 35/00

(72)発明者 ポティエ, アニエス
フランス国、エフ - 7 5 0 0 6 パリ、リュ・サント - パーヴ 6

(72)発明者 レヴィ, ローラン
フランス国、エフ - 7 5 0 1 4 パリ、ブルヴァール・ラスパイユ 2 4 6

審査官 渡邊 潤也

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 4 / 1 9 1 5 6 9 (W O , A 1)
特表 2 0 0 7 - 5 2 3 0 9 0 (J P , A)
Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology , 1 9 8 0 年 8 月 , 29(2)
, p.349-360
Biomaterials , 英国 , 2 0 1 0 年 , 31 , p.3657-3666

(58)調査した分野(Int.Cl. , D B 名)
A 6 1 K 9 / 0 0
A 6 1 K 4 7 / 0 0
J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 (J D r e a m I I I)
C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S (S T N)