

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6420817号
(P6420817)

(45) 発行日 平成30年11月7日(2018.11.7)

(24) 登録日 平成30年10月19日(2018.10.19)

(51) Int. Cl.	F I	
CO8F 8/30 (2006.01)	CO8F 8/30	
A61K 9/16 (2006.01)	A61K 9/16	
A61K 47/32 (2006.01)	A61K 47/32	
A61K 49/04 (2006.01)	A61K 49/04	
CO8F 16/00 (2006.01)	CO8F 16/00	510
請求項の数 35 (全 21 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2016-502420 (P2016-502420)
 (86) (22) 出願日 平成26年3月14日 (2014. 3. 14)
 (65) 公表番号 特表2016-515158 (P2016-515158A)
 (43) 公表日 平成28年5月26日 (2016. 5. 26)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/027395
 (87) 国際公開番号 W02014/152488
 (87) 国際公開日 平成26年9月25日 (2014. 9. 25)
 審査請求日 平成29年3月13日 (2017. 3. 13)
 (31) 優先権主張番号 61/790, 373
 (32) 優先日 平成25年3月15日 (2013. 3. 15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(73) 特許権者 303039785
 バイオコンパティブルズ ユーケー リミ
 テッド
 英国・サリー州 ジーユー9 8キューエ
 ル・ファーナム・ウェイドン レーン・フ
 ァーナム ビジネス パーク・チャップマ
 ン ハウス

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 結像可能な塞栓性微小球

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

架橋したポリビニルアルコール (PVA) であるポリマーで予め形成されたヒドロゲルビーズ上の官能基を含み、

前記ヒドロゲルビーズは、カルボニルジイミダゾール又はカルボジイミドとの求核置換反応に対して活性化されており、

少なくともイミダゾール又はジイミド官能基に対して反応性を有する芳香族ヨウ素含有化合物と共有結合された放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 2】

前記ヒドロゲルは、1, 2 - ジオール及び / 又は 1, 3 - ジオールの構造を含有するポリマー骨格を有することにより、アクリル系モノマーと架橋できる、
 請求項 1 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 3】

前記アクリル系モノマーは、2 - アクリルアミド - 2 - メチルプロパンスルホン酸 (AMPS) である、
 請求項 2 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 4】

予め形成されたヒドロゲルビーズの上及び / 又は内のヒドロキシ部分は、カルボニルジイミダゾールと反応することで活性化される

請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

10

20

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズを作製する方法であって、前記方法は、

- (i) ヒドロゲルビーズを、膨潤したまで、有機溶媒に浮遊させるステップと、
- (i i) 触媒量の塩基の存在下で、かつ無水条件で、カルボニルジイミダゾール又はカルボジイミドを溶媒中の膨潤ビーズの懸濁液に添加することにより、活性化を実現するステップとを含み、

前記方法は、求核置換に対してヒドロゲルビーズを活性化する方法。

【請求項 6】

(i i i) 前記活性化ビーズをろ過しかつ有機溶媒で洗浄することにより、精製活性化ビーズを提供するステップ、をさらに含む、
請求項 5 に記載の方法。

10

【請求項 7】

活性化ビーズのイミダゾール又はジイミド官能基に対して反応性を有するヨウ素化合物と結合した請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズを含む、
放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 8】

前記ヨウ素化合物は、ヨウ素化アルコール類、ヨウ素化アミン類又はヨウ素化カルボン酸類である、
請求項 7 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

20

【請求項 9】

前記ヨウ素化合物はヨウ素化アルコール類である、
請求項 7 又は 8 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 10】

前記ヨウ素化アルコール類は、トリヨードベンジルアルコール又はトリヨードフェニルアルコールである、
請求項 9 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 11】

前記ヨウ素化合物は、2, 3, 5 - トリヨードベンジルアルコールである、
請求項 9 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

30

【請求項 12】

請求項 1 ~ 4 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズを含み、かつ少なくとも二つの炭素原子を有する脂肪族炭素鎖を含む末端双官能リンカーでそのイミド又はイミダゾール官能基に結合された、
放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 13】

末端双官能リンカーの二つの官能基はイミド又はイミダゾールと反応する、
請求項 12 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 14】

前記双官能リンカーの前記官能基又は反応性部分は、アミン、カルボン酸及びアルコールのうち 1 種又は複数種を含む、
請求項 12 又は 13 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

40

【請求項 15】

前記双官能リンカーはジアミノアルカンである、
請求項 12 ~ 14 のいずれか 1 項に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 16】

双官能リンカーは、一般式 $H_2N(CH_2)_nNH_2$ を有し、ここで、 n は 2 ~ 20 のいずれの数字も含む、
請求項 15 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

50

【請求項 17】

n は 2 ~ 10 個の炭素原子である、
請求項 15 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 18】

n は 2 ~ 4 個の炭素原子である、
請求項 15 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 19】

請求項 12 ~ 18 のいずれか 1 項に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズを含み、
かつ前記双官能リンカーでヨウ素化化合物に共有結合された、
放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

10

【請求項 20】

前記ヨウ素化化合物は、ヨウ素化アルコール類、ヨウ素化アミン類又はヨウ素化カルボン酸類である、
請求項 19 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 21】

前記ヨウ素化化合物は、2, 3, 5 - トリヨウ化安息香酸である、
請求項 19 又は 20 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 22】

前記ヨウ素含有化合物は、ヨウ素化ベンジルアルコール又はヨウ素化フェニルアルコール、又はヨウ素化安息香酸である、
請求項 1 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

20

【請求項 23】

前記ヨウ素含有化合物は、2, 3, 5 - トリヨウ化安息香酸である、
請求項 22 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 24】

前記ヒドロゲルビーズは、アルコール性ヒドロキシル置換基又はそのアシル化誘導体を有するポリマーで予め形成された、
請求項 22 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 25】

前記ヒドロゲルビーズは、エチレン性不飽和ポリビニルアルコールマクロマとエチレン性不飽和モノマを共重合して形成された、架橋したポリビニルアルコールで予め形成された、
請求項 22 ~ 24 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

30

【請求項 26】

前記エチレン性不飽和ポリビニルアルコールマクロマは、環状アセタール結合により隣接する水酸基からの酸素原子と接続されるペンダントエチレン性基を含み、前記隣接する水酸基は、N - アクリルアミノアセトアルデヒドジメチルアセタールの反応により形成される、
請求項 22 ~ 25 のいずれか 1 項に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 27】

ヒドロゲルは、2 - アクリルアミド - 2 - メチルプロパンスルホン酸ナトリウム塩と共重合した、N - ホルミルメチルアクリルアミドと部分アセタール化したポリビニルアルコールを含む、
請求項 22 ~ 26 のいずれか 1 項に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

40

【請求項 28】

前記ビーズに吸収された薬理活性剤を含む、
請求項 1 ~ 4 及び 7 ~ 27 のいずれか 1 項に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 29】

前記薬理活性ビーズは、抗血管新生薬物又は化学療法薬である、
請求項 28 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

50

【請求項 3 0】

請求項 1 ~ 4 及び 7 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズを含む、
血管化組織の塞栓用組成物。

【請求項 3 1】

前記血管化組織は、増殖性組織又は固形腫瘍である、
請求項 3 0 に記載の血管化組織の塞栓用組成物。

【請求項 3 2】

前記固形腫瘍は、肝細胞癌である、
請求項 3 1 に記載の血管化組織の塞栓用組成物。

10

【請求項 3 3】

請求項 1 ~ 4 及び 7 ~ 2 9 のいずれか 1 項に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズを含み、X 線で前記ビーズの組織での存在を検出することによる塞栓形成術の監視用放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 3 4】

前記薬理活性ビーズが化学療法薬であり、前記化学療法薬がドキソルビシンである、
請求項 2 8 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

【請求項 3 5】

前記活性化ヒドロゲルビーズの大きさ範囲が $70 \mu\text{m} \sim 700 \mu\text{m}$ である、
請求項 1 に記載の放射線不透過性のヒドロゲルビーズ。

20

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、結像可能な塞栓性微小球に関し、特に放射線不透過性の、つまり放射線、例えば X 線を阻止するか又は減衰する性質を有する微小球に関する。前記微小球は、特に有用な放射線特性を有し、かつ医療処置中にリアルタイム又は準リアルタイムな X 線写真を強調するために用いられる。前記結像可能な微小球は、特に血管の塞栓に用いられ、付加的な造影剤を付加する必要がない。また、前記結像可能な微小球は、特に化学塞栓形成術に用いられるように、治療剤を担持して塞栓点で局所的薬物送達を提供することができる。

30

【背景技術】

【0002】

塞栓性微小球（又はビーズ）は、様々な用途、例えば、血管及びその他の脈管例えば卵管を塞ぐ用途、動脈瘤嚢を充填する用途、動脈密封剤とする用途、及び穿刺密封剤とする用途に用いられる。多くの原因から血管の塞栓を行い、例を挙げると、例えば肝臓において腫瘍への血流を減少させ腫瘍の萎縮を促進し、子宮筋腫の血流を減少させ子宮筋腫の萎縮を誘発し、血管奇形、例えば動静脈奇形（AVM）と動静脈瘻（AVF）を治療し、エンドリークを動脈瘤嚢に密封し、止血不能を終止し、或いは、手術前出血を和らげる。

【0003】

化学塞栓又は化学塞栓療法とは、機械的阻止と、治療剤、通常化学治療薬物の高度局所化の原位置送達の組合せを提供することをいう。固形腫瘍の治療中で、化学治療剤は塞栓の補助物を担当する。薬物を腫瘍に直接送達するとともに、前記薬物に対する全身曝露を最も低下させるため、これは特別に有利となる。

40

【0004】

化学塞栓が生存率を改善する面で有効であることは証明されているが、前記形成術の欠点の一つとしては、標的部位への正確な送達を確保するように薬物を担持した微小球の投与をリアルタイムに可視化することは困難である。塞栓粒子を可視化する能力は、塞栓の血管部位への注射と沈着を監視することに対して重要であるだけでなく、臨床的フォローアップを行うことにより、塞栓の作用を監視し、塞栓と薬物を所望の位置に保持することを確保し、リスクにある領域を鑑別してさらなる治療に用いられることに、非常に有用と

50

なる。

【 0 0 0 5 】

放射線不透過性は、通常、本質的に放射線不透過性の塞栓材料を用いることにより、或いは、非放射線不透過性の塞栓粒子と放射線不透過性の材料を混合することにより提供される。

【 0 0 0 6 】

ヨウ素化ポリビニルアルコール (I - P V A) は、粘性液体状の放射線不透過性の塞栓材料であり、前記材料は、水性条件で、例えば生体内に会う条件で沈着する。しかし、沈着性液体で塞栓形成を行うことは再現不可能であり、かつ標的領域以外の望まれていない位置で常に沈着が発生するリスクが存在している。

10

【 0 0 0 7 】

造影剤は、本質的に放射線不透過性である。一般的な造影剤は、ヨード化ケシ油エチルエステル、例えばEthiodol (登録商標) (Guerbet Joint Stock社、フランス ; E Uで商品名Lipiodol (登録商標) で販売する)。Ethiodolは、約 4 0 % のヨウ素化ケシ油 (4 0 重量 % のヨウ素) からなるヨード化油性 X 線造影媒体である。

【 0 0 0 8 】

Ethiodol (登録商標) は、直接的に塞栓剤として用いられる。ヨード化ケシ油エチルエステルは、その粘性特性のために毛細血管床に蓄積して血流を和らげる傾向がある。そのため、それは「微小塞栓」として記述されている。しかし、このような応用は、F D Aにより禁止され、かつ、いずれの場合でも、再現可能なレベルの塞栓を提供できない。その結果、通常、ヨード化ケシ油エチルエステルを用いて塞栓形成を行った後、粒子又は微小球を用いて一般的な塞栓形成を行う。

20

【 0 0 0 9 】

しかし、造影剤、例えばEthiodol (登録商標) は、一般的に塞栓粒子と混合することにより注射可能な組成物に放射線不透過性を付与する。しかし、このような組成物は、塞栓粒子の水性懸濁液と油性造影剤の物理的性質が異なるため安定していない。これは、注射可能な組成物を注射する直前に調製する必要があることを意味する。しかし、投与された後でも、塞栓粒子ではなく、造影剤が可視的であり、かつ造影剤と塞栓粒子は、組織中の同じ位置に存在しなくてもよい。

【 0 0 1 0 】

E P 1 8 1 0 6 9 8 には、放射線を透過しないように P V A ヒドロゲル塞栓ビーズでヨード化油を担持した、安定した放射線不透過性の塞栓ビーズを形成する方法が記載されている。E P 1 8 1 0 6 9 8 に記載の方法では、いずれの過剰の付加的な微粒子を担持した液体から油を担持したビーズを回収する前にも、前記ビーズが乾燥であるか又は乾燥されてヨード化油を担持し、前記ビーズを水性貯蔵液体において膨潤させて少なくとも 9 0 の温度まで加熱することにより前記ビーズを殺菌するように要求されている。

30

【 0 0 1 1 】

E P 1 8 1 0 6 9 8 の方法では、必要なステップは、水の存在下で加熱プロセスで最終的な産物を殺菌する。圧力下で少なくとも 9 0 の、適当に上昇した温度まで加熱し、好ましくは 1 0 0 超の温度まで加熱することにより、殺菌を施す。放射線不透過性の油は、好ましい減圧殺菌の条件下で約 1 2 0 の温度で悪影響を受けないことが開示されている。しかし、この方法では、造影剤のビーズからの溶出の制御を提供しないだけでなく、造影剤の薬物の担持と溶出に対する影響も考慮されていない。

40

【 0 0 1 2 】

W O 2 0 1 1 / 1 1 0 5 8 9 には、エステル結合によりヨードベンゾイルクロリドをポリ (ビニルアルコール) にグラフト化してヨウ素化ポリ (ビニルアルコール) を合成することが記載されている。このポリマーは放射線不透過性であると証明されているが、水不溶性ポリマーが発生し、前記水不溶性ポリマーは、次に、常に所望の塞栓性質を有するヒドロゲル微小球を生成するための油中水重合プロセスで、微小球に形成されない。同公開には、微小球が記載されているが、例えばどのようにこの目的を達成するかに関する開示

50

内容が含まれていない。出願人は、この方式で出発材料のPVAポリマーをヨウ素化してヨウ素化ポリマーを生成しているが、得られたヨウ素化ポリマーの疎水性のため、前記ヨウ素化ポリマーが油中水重合で微小球に形成されないことを発見した。

【0013】

Mawadら (Biomacromolecules 2008、9、263-268) は、ポリマーが放射線不透過性を有するように共有結合性のヨウ素を前記ポリマーの骨格に導入する、PVAに基づく分解可能なヒドロゲルの化学修飾も記述している。PVA上の0.5%のペンダントアルコール基を4-ヨードベンゾイルクロリドと反応させることによりヨウ素を導入する。得られたポリマーは、生分解性であり、沈着により塞栓を形成し、かつ微小球に形成されない。

【0014】

そのため、塞栓ビーズの塞栓形成効率及び再現可能性と造影剤例えばヨード化ケン油エチルエステルの放射線不透過性を組み合わせた放射線不透過性の塞栓を必要とすることが明らかである。放射線不透過性(又は放射線濃度)は、ハウズフィールド尺度で定量化でき、ハウズフィールド尺度の原理は、X線コンピュータ断層撮影(CTスキャン)応用のコアとなる。ハウズフィールド尺度で、蒸留水は0ハウズフィールド単位(HU)の値を有するが、空気は-1000HUと指定されている。良好な放射線不透過性に加え、このような塞栓ビーズは、理想的に有効な薬物担持と溶出を行うことができる性質を有することにより、化学塞栓形成術を確実に監視することができる。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0015】

【特許文献1】欧州特許出願公開第1810698号明細書

【特許文献2】国際公開第2011/110589号

【非特許文献】

【0016】

【非特許文献1】Mawadら (Biomacromolecules 2008、9、263-268)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0017】

本出願人は、比較的単純な化学方法を用いることにより、予め形成されたヒドロゲル微小球を後処理して永久に放射線不透過性を有しているが、前記微小球が非常に塞栓形成に適するための物理的性質(つまり大きさ、球形、高含水量、膨潤可能性及び圧縮可能性)に悪影響を与えないことを確定している。放射線不透過性の微小球は、それらを形成するための非放射線不透過性のビーズと同一又はそれよりよい薬物担持と溶出の性質を有する。前記微小球の放射線不透過性は、永久的であるか又は時間が十分に長くなることにより、臨床的フォローアップの期間で監視を行うことを許可する。予め形成されたビーズの後処理は、同一の製造方式が放射線不透過性のビーズと非放射線不透過性のビーズに適用され、かつ後処理の前に大きさの選択又は篩い分けを行うことで特定の大きさ又は大きさ範囲のビーズだけが放射線不透過性を有することにより、製造期間の柔軟性の度合いを提供する。

【課題を解決するための手段】

【0018】

そのため、第1の形態では、本発明は、カルボニルジイミダゾール又はカルボジイミドとの求核置換反応に対して活性化された活性化ヒドロゲルビーズを提供する。活性化ビーズは、予め形成されたヒドロゲルビーズがカルボニルジイミダゾール、カルボニルジイミダゾール類似体又はカルボジイミドとの反応により活性化されたことを特徴とする。

【0019】

カルボニルジイミダゾールとカルボニルジイミダゾール類似体は、N-アシルイミダゾールで、公認した試薬であり、カルボジイミドと同じように、従来ではカルボン酸、アミン及びアルコール類との特異的結合及び実際の結合を提供するものである。カルボジイミ

10

20

30

40

50

ド（又はメタンジイミン）は、式 $RN=C=NR$ からなる官能基を含む。代表的なカルボジイミドは、 N, N' -ジイソプロピルカルボジイミド（“DIC”）、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（“EDC”又は“EDAC”）、 N', N' -ジシクロヘキシルカルボジイミド（“DCC”）を含む。カルボニルジイミダゾールは、カルボジイミドの代替試薬であり、それらが感湿性を有するが、類似機能を実行する。カルボニルジイミダゾール類似体は、文献において伝えられているように、カルボニルジイミダゾール変異体（Beyerman, H.C., Recl., Trav. Chim. Pays-Bas (1961) 80, 1372）及びその他の変異体（Armstrong, A. In Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis, Paquette, L. A., 編集; Wiley: Chichester, UK, (1995); 第1010頁）を含む。

10

【0020】

ここで用いられるヒドロゲルとは、それ自身の質量に対して極大量の水を吸収できる架橋親水性ポリマー鎖の超吸水性ネットワークをいう。ヒドロゲルには最高99.9%の水を含有することができる。代表的なヒドロゲルは、ポリヒドロキシポリマー例えばビニルアルコールポリマー、ポリアクリレートポリマー例えばポリアクリル酸又はポリメタクリル酸、及びこれらのポリマーのうちいずれか1種の共重合体である。

【0021】

ヒドロゲルビーズの活性化は、緩いヒドロゲルネットワーク全体におけるペンダントカルボン酸、アミン又はヒドロキシ部分と求核攻撃に対してヒドロゲルポリマーを活性化する活性化剤とを反応させて発生したと認められている。

20

【0022】

具体的には、ポリヒドロキシポリマー例えばポリビニルアルコール（PVA）又はビニルアルコール共重合体で製造されたヒドロゲルビーズは、特に有用であり、かつポリマーネットワークのペンダントヒドロキシ部分と活性化剤例えばカルボニルジイミダゾールとを反応させて活性化されやすい。1,2-ジオール及び/又は1,3-ジオール構造を含有するポリマー骨格を有する変性PVAヒドロゲルは、前記ジオール基がアクリル系モノマー及び類似モノマーと架橋して良好な塞栓形成性質を有する高含水量の圧縮可能な微小球を提供するため、特に有用である。この種類の特に好ましいポリマーヒドロゲルは、アクリル系モノマー例えば2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸（AMPS）と共重合したアクリルアミドPVA（N-ホルミルメチルアクリルアミドと部分アセ

30

【0023】

タール化したポリビニルアルコール）である。このようなPVA-AMPSヒドロゲルビーズは市販されている（Bead Block（登録商標）、LC BeadTM、DC Bead（登録商標）Biocompatibles UK Ltd）。

活性化ビーズは、予め形成されたビーズを膨潤したまでにそれらを適当な有機溶媒中に懸濁させて製造される。極性非プロトン溶媒、例えばジメチルスルホキシド（DMSO）、テトラヒドロフラン（THF）、酢酸エチル（EtOAc）、アセトン（ $CH_3-C(=O)-CH_3$ ）、ジメチルホルムアミド（DMF）及びアセトニトリル（MeCN）は、適当な溶媒である。DMSOは、そのヒドロゲルビーズを膨潤させる能力と、その広範囲の有機溶媒と水での混合可能性のため、特に好ましい。次に、触媒量の塩基の存在下で、かつ無水条件で、活性化剤、例えばカルボニルジイミダゾールを溶媒中の膨潤ビーズの懸濁液に添加することにより、活性化を実現する。塩基は、通常、中強度（共役酸のpKaが約10-13である）を有し、かつ適当な塩基は、有機化学者に周知し、かつ様々なピリジン、アミン、含窒素複素環、トリエチルアミン、 N, N -ジイソプロピルエチルアミン、DMAE等を含む。通常、微加熱（30-80）で24時間反応し、これは、変化により反応時間を変更できるが、本分野において一般的である。反応を完了した後、活性化ビーズを簡単にろ過しかつ有機溶媒で洗浄することにより、精製活性化ビーズを提供することができる。

40

【0024】

活性化ビーズは、求核置換反応を行いやすいため、安定的で特に有用であり、制御可能

50

な方式で前記ビーズを官能基化してそのネットワーク全体内に共有結合し放射線不透過性の材料を有するヒドロゲルビーズを提供することにより、ビーズ全体が放射線不透過性を有する。

【0025】

そのため、本発明の第2の形態では、前記活性化ビーズのイミダゾール又はジイミド官能基に対して反応性を有するヨウ素化化合物と結合した請求項1～5のいずれか1項に記載の活性化ヒドロゲルビーズを含み、前記ヨウ素化化合物が放射線不透過性のヒドロゲルビーズを提供する。前記放射線不透過性のヒドロゲルビーズは、前記活性化ヒドロゲルビーズをヨウ素化有機材料と反応させて形成される。この方式では、前記ビーズは、ヒドロゲルビーズのポリマーネットワークに共有結合したヨウ素化化合物を含む。通常、ヨウ素化材料は、ヨウ素化アリール化合物であるが、活性化ビーズのイミダゾール又はジイミド官能基（選択された活性化化学方法により適切に決められる）に対して反応性を有するいずれのヨウ素化化合物も適当である。

10

【0026】

そのため、ヨウ素化アルコール類、ヨウ素化アミン類又はヨウ素化カルボン酸類は、活性化ビーズに放射線不透過性を有させるためのすべての適当な反応物である。利用可能なヨウ素化度合いが比較的高くなるとともに、活性化ビーズに対して適当な反応性のレベルを保持するため、ヨウ素化アルコール類、特にヨウ素化アリールアルコール類、例えばトリヨードベンジルアルコール又はトリヨードフェニルアルコールは、特に適当である。

【0027】

特に好ましい実施の形態では、放射線不透過性のヒドロゲルビーズは、2, 3, 5 - トリヨードベンジルアルコールと結合した上述のような活性化PVA又はPVA - AMPSヒドロゲルである。この方式で修飾されたビーズは、良好な放射線不透過性のレベルを有するとともに、物理的性質、例えば大きさ、圧縮可能性及び薬物担持効率を保持することにより、化学塞栓に用いられる。

20

【0028】

活性化ビーズとヨウ素化材料との反応は、特に有用であり、前記ビーズが活性化された直後に単一の反応容器において実施されるか、或いは、上述のように製造された活性化ビーズがろ過されて溶媒で洗浄された直後に適当な無水溶媒において塩基の存在下でヨウ素化材料、例えばトリヨードベンジルアルコールが含まれている容器に添加する。上述のように、反応は、通常、攪拌下で微温（30 - 80）で24時間又はそれより短い時間実行される。得られた放射線不透過性のビーズは、安定的でろ過し溶媒で洗浄されることにより分離される。前記ビーズは、ヒドロゲルビーズの特性を保持し、かつ反応溶媒を水に交換でき、その後、前記ビーズは、その特徴的な大量の水又は注射用水を吸収する。

30

【0029】

第2の形態で製造された放射線不透過性のビーズの大きさは、出発材料の活性化ステップにおいて活性化された、予め形成されたビーズの大きさ又は大きさ範囲を選択することで制御され、かつ得られた放射線不透過性のビーズの大きさは、反応した後に小さくなる可能性があるが、顕著に変更しない。しかし、必要であれば、得られた放射線不透過性のビーズを篩い分けるか又は選択的にろ過することにより、より狭い大きさ範囲を選択することができる。この方式では、塞栓形成術に直接的に用いられるか、或いは、化学治療薬物、例えばドキソルピシン、イリノテカン、エピルピシン等を担持した、正確に校正された放射線不透過性のビーズを提供する。

40

【0030】

しかし、当業者にとって明らかなように、活性化ヒドロゲルビーズを製造したら、主に非反応性のポリマーネットワークにおいて高選択性を得ることにより、他の化学方法で放射線不透過性のヨウ素化化合物を前記ヒドロゲルネットワークに共有結合する方式を調整し制御することができる。例えば、活性化ビーズは、さらに官能基化することにより、標準的なカルボジイミド又はカルボニルジイミダゾールで求核置換して得られるような化学性質以外の化学性質を得ることができる。例えば、反応性スパーサ又はリンカー分子を前

50

記活性化ヒドロゲルビーズにグラフト化することができ、その前提として、それらは活性化ビーズと活性化イミド又はイミダゾール官能基を反応させるための少なくとも一つの官能性（つまり官能基）を有する。その後、前記スペーサ又はリンカー分子は、前記ビーズが放射線不透過性を有するようにさらに反応させるための第2の官能性を有する。本発明人は、例えば前記活性化ビーズの直接反応を妨げる立体障害をもたらすビーズの化学性質を調整する面で特に有用であると発見した。

【0031】

そのため、第3の形態では、本発明は、前記活性化ヒドロゲルビーズを含むとともに、少なくとも二つの炭素原子を有する脂肪族炭素鎖を含む双官能リンカーでそのイミド又はイミダゾール官能基に結合された反応性ヒドロゲルビーズを提供する。双官能リンカーの官能基は、好ましくは前記リンカーの末端に位置しているが、これは必要ではない。双官能リンカーは、前記リンカーの一つの官能基が活性化ビーズに属する必要があるが、かつ好ましくは二つの官能基がいずれもイミド又はイミダゾールと反応することによりさらに反応できることを特徴とする。そのため、前記反応性ヒドロゲルビーズは、上述のように製造された活性化ヒドロゲルビーズを少なくとも二つの炭素原子を有する脂肪族炭素鎖を含む双官能リンカーと簡単に反応させて形成され、二つの官能基がいずれもイミド及び/又はイミダゾールと反応できる。好ましい構造では、前記リンカーの官能基が分子の末端に位置している。

【0032】

活性化方策をさらに利用する能力を保持するために、双官能リンカーの官能性又は反応性部分は、便利にアミン、カルボン酸及びアルコールのうち一つ又は複数を含む。好ましい実施の形態では、二つの部分が同一であり、特に好ましくは、双官能リンカーは一般式 $H_2N(CH_2)_nNH_2$ のジアミノアルカン化合物であり、ここで、 n は 2 ~ 20 のいずれの数字も含む。好ましくは、脂肪族炭素鎖における炭素原子数は、2 ~ 10 個の炭素原子であり、理想的には 2 ~ 4 個の炭素原子である。

【0033】

第3の形態の特定な実施の形態では、前記反応性ヒドロゲルビーズを含むとともに、その双官能リンカーでヨウ素化合物に共有結合した放射線不透過性のヒドロゲルビーズを提供する。便利には、前記放射線不透過性のヒドロゲルビーズは、反応性ヒドロゲルビーズをさらなる活性化し（つまり前記リンカーの反応性末端が前記ビーズに共有結合した）、かつ次にヨウ素化合物と反応させることで前記ビーズが放射線不透過性を有することにより形成される。この方式で、同一の活性化化学方法は、二回利用可能であり、すなわち、まず双官能リンカーとの反応により、予め形成されたヒドロゲルビーズを活性化し、次に、ヨウ素化合物との反応により、前記双官能リンカーの末端を活性化する。さらに好ましくは、双官能リンカーは、脂肪族ジアミノアルカンリンカー、例えば 1, 3 - ジアミノプロパンである。末端アミンを活性化した後、前記ビーズは、そのリンカーによりヨウ素化アルコール、アミン又はカルボン酸と反応する。この実施の形態では、好ましくは、ヨウ素化材料は、ヨウ素化ベンジルアルコール又はヨウ素化フェニルアルコール、又はヨウ素化安息香酸、例えば 2, 3, 5 - トリヨウ化安息香酸である。2, 3, 5 - トリヨウ化安息香酸は、この実施の形態で特に好ましい。

【0034】

非反応性の塞栓のヒドロゲルビーズに対して活性化を行う化学方法では、本発明人は、予め形成されたヒドロゲルビーズ上の官能基をヨウ素含有化合物と反応させることを特徴とする放射線不透過性のヒドロゲルビーズを製造する。前記ヨウ素含有化合物は、適切にヨウ素化ベンジルアルコール又はヨウ素化フェニルアルコール、又はヨウ素化安息香酸、例えば 2, 3, 5 - トリヨウ化安息香酸である。前記化学方法は、架橋したポリビニルアルコールから予め形成されたヒドロゲルビーズに対して特に良好に作用する。このような架橋したPVAの特定な例は、WO 2004/071495に記載されており、この特許文献には、それ自身がエチレン性不飽和ポリビニルアルコールマクロマをエチレン性不飽和モノマと共重合して形成される、架橋したポリビニルアルコールから形成されたヒド

10

20

30

40

50

ロゲルビーズが記載されている。前記マクロマは、環状アセタール結合により隣接する水酸基からの酸素原子と接続されるペンダントエチレン性基を含み、前記隣接する水酸基は N - アクリルアミノアセトアルデヒド・ジメチルアセタールの反応により形成され、かつ前記エチレン性不飽和モノマは、2 - アクリルアミド - 2 メチルプロパンスルホン酸ナトリウム塩である。この段落に記載の放射線不透過性のビーズは、本発明の第 4 の形態を形成する。

【 0 0 3 5 】

第 5 の形態では、本発明は、前記ビーズに吸収された薬理活性剤を含む上述のような放射線不透過性のヒドロゲルビーズを提供する。好ましくは、前記薬理活性ビーズは、本分野で周知のような抗血管新生薬又は化学療法薬である。特に適当な薬物類別は、アントラサイクリン系薬剤、例えばドキソルピシン、ダウノルピシン、エピルピシン及びイダルピシン、カンプトテシン及びカンプトテシン類似体、例えばイリノテカンである。その他の特に適当な薬物は、ラパマイシン、パクリタキセル、イブプロフェン、シスプラチン、スニチニブ、アンギオスタチン K 1 - 3、アレステン、DL - a - ジフルオロメチル - オルニチン、フマギリン、ゲニステイン、スタウロスポリン、サリドマイド、タムスタチン、アキシチニブ、ボルテゾミブ、ボスチニブ、ゲフィチニブ、パゾパニブ、セマキサニブ、ソラフェニブ、バンデタニブ、パタラニブ、カネルチニブ、ドビチニブ、ダサチニブ、エルロチニブ、イマチニブ、ラパチニブ、マシチニブ、ムブリチニブ、レスタウルチニブ、パゾパニブ、タンデュチニブ及びビスモデギブを含む。

【 0 0 3 6 】

前記放射線不透過性のビーズは、特に塞栓又は化学塞栓形成術に用いられる。そのため、第 6 の形態では、本発明は、患者へ本明細書に記載の放射線不透過性のビーズを投与することにより固形腫瘍を塞栓する治療方法を提供する。

【 0 0 3 7 】

前記ビーズの本質的な放射線不透過性の性質は、臨床医師が前記ビーズの投与期間と投与後にそれを確実に結像できることを意味し、画像は、不均一な造影剤ではなく、前記ビーズ自身を代表している。特定な実施の形態では、放射線不透過性のビーズを、従来の造影剤例えばヨード化ケシ油エチルエステルをさらに含む組成物において調製して投与する。この実施の形態は、二つの分離した放射線不透過性の材料の組合せにより臨床医師に前記組成物と前記組成物内の塞栓ビーズとの間のさらなる弁別度を与えたので、有利となる。そのため、本発明の他の形態では、患者の血管に上述のような放射線不透過性のヒドロゲルビーズを投与するとともに、X 線で前記ビーズの組織での存在を検出することにより、塞栓形成術を監視する方法を提供する。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 3 8 】

以下、図面を参照しながら例を挙げて本発明を説明する。

【 図 1 】 図 1 は、(A) 活性化前の予め形成されたヒドロゲルビーズと (B) 実施例 2 に記載の反応により製造された結像可能なビーズの大きさと外形を示す。

【 図 2 】 図 2 は、実施例 1 の反応により製造された結像可能なビーズの臨床 CT、(A) とマイクロ CT 画像 (B) を示す。

【 図 3 】 図 3 A は、実施例 5 において製造された結像可能なビーズの光学顕微鏡観察像を示す。図 3 B は、実施例 6 に記載のドキソルピシンを担持した後の同一のビーズを示す。

【 図 4 】 図 4 A は、実施例 5 (A) において 3 . 1 %、6 . 2 % 及び 1 2 . 5 % のビーズ充填体積に従って製造された放射線不透過性のビーズの臨床 CT マイクロ写真を示す。図 4 B は、アガロースファントムにおいて 3 . 1 % のビーズ体積を充填したマイクロ CT 画像を示す。図 4 C は、ドキソルピシン塩酸塩を担持した同一のビーズ体積のマイクロ CT 画像を示す。

【 図 5 】 図 5 は、実施例 8 に記載の反応によりヨウ素化した後に篩い分けた 1 0 0 - 3 0 0 μ m ビーズの顕微鏡写真を示す。

【 図 6 】 図 6 は、実施例 8 に従って製造された、(A) 7 0 - 1 5 0 μ m、(B) 1 0

10

20

30

40

50

0 - 300 μm、(C) 300 - 500 μm及び(D) 500 - 700 μm大きさ範囲を有するヨウ素化ビーズのマイクロCT画像を示す。

【発明を実施するための形態】

【0039】

実施例に用いられる材料及び方法

材料

WO 2004/071495の実施例1に記載のようにスルホン酸塩で変性したポリビニルアルコールAMP S微小球(LC/DC-BeadTM, Biocomaptibles UK Ltd)を製造する。無水ジメチルスルホキシド(DMSO)、1,1'-カルボニルジイミダゾール(CDI)、2,3,5-トリヨードベンジルアルコール、2,3,5-トリヨウ化安息香酸、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド(DIC)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール水和物(HOBT)、4-(ジメチルアミノ)ピリジン(DMAP)、1,3-ジアミノプロパン、トリエチルアミン(Et₃N)及び無水ジクロロメタン(DCM)は、Sigma Aldrichから購入した。ドキシソルピシン(Dox)は、Bedford Laboratoriesから入手した。脱イオン水(DI水)は、Millipore purification systemから入手した。

【0040】

一般的な方法

PVA-AMP Sヒドロゲルビーズの形成

【0041】

微小球合成の第1の段階は、広く用いられる水溶性ポリマーPVAからネルフィルコンB-重合可能なマクロマを製造することに関する。モヴィオール8-88ポリ(ビニルアルコール)(PVA)粉末(88%加水分解され、12%のアセテート含有量で、平均分子量が約67で000Dである)(150g)(Clariant, Charlotte, NC USA)を2lのガラス反応容器に添加する。ゆるやかな攪拌下で1000mlの水を添加し、かつ前記攪拌を400rpmに増大させる。PVAの完全な溶解を確保するために、温度を99±9に上昇させて2-3時間保持する。室温まで冷却した後、N-アクリロイルアミノアセトアルデヒド(NAAADA)(Ciba Vision, Germany)(2.49g又は0.104mmo1/gのPVA)をPVA溶液に混入した後、濃塩酸(100ml)を添加し、前記濃塩酸は、エステル交換反応により、添加されたNAAADAをPVAに接触反応させる。前記反応は、室温で6-7時間行い、その後、2.5Mの水酸化ナトリウム溶液でpH7.4まで中和して終止される。分画分子量が3000の孔径を有する0.1m²セルロース膜が積み重ねられたステンレス鋼ペリコン2ミニホルダー(Millipore Corporation, Bedford, MA USA)でダイアフィルトレーションを行うことにより、得られた塩化ナトリウムとすべての未反応NAAADAを除去する。完了後、大割球(macromere)溶液を、粘度が25で1700-3400cPの20-23%固体に濃縮する。

【0042】

懸濁重合によりヒドロゲル微小球を合成し、変性PVAマクロマを含む水相を、2-アクリルアミド-2-メチルプロパンスルホン酸(AMP S)を含む不溶解性有機相に添加して高速に混合することにより、水相を分散して液滴を形成し、前記液滴の大きさ及び安定性は、攪拌速度、粘度、水相/有機相の比率、前記相の間の界面エネルギーに影響する安定剤及び界面活性剤の利用により制御される。得られたヒドロゲル微小球は、ろ過及び洗浄により回収され、かつ篩い分けて特定な大きさ範囲を提供する。別に説明しない限り、予め形成されたヒドロゲルビーズの直径は、300-500μmである。

【0043】

顕微鏡観察による結像可能なビーズの評価

合成とドキシソルピシン担持の各ステップの期間におけるビーズの大きさと外形をチェンバースライド(Electron Microscopy Sciences; ~150μlビーズとDI水の懸濁液)において検査し結像する。カラーCCDカメラ(Axiovision, Zeiss)を搭載した正立顕微鏡(Zeiss, Axio Imager.M1, Thornwood, NY)には、5x対物レンズで明視野像を取得する。

10

20

30

40

50

【0044】

ファントムの製造

放射線不透過性を評価するために、ビーズを生体内応用に関するビーズ濃度（ビーズ体積百分率）でアガロースマトリックスに浮遊させる。1%のアガロース混合物を同体積の脱イオン水のビーズ懸濁液に添加して様々な濃度（ビーズ体積百分率が0%、3.1%、6.2%及び12.5%の範囲にある）を有するビーズ含有アガロースファントム（0.5% w/v）を製造する。アガロースを（氷上に）緩やかにゲル化しながら前記溶液を混合することにより、ビーズが均一に分布する。ビーズの体積百分率は、重力によるビーズ充填体積だけに起因し、充填されたビーズ間の水溶液又は変更したビーズ充填効率を考慮しない。

10

【0045】

臨床CTによる結像可能なビーズの生体外評価

ヨウ素を結合した造影剤の放射線不透過性の微小球内の分布を臨床256スライスCT（Philips, Andover, MA）に結像することにより、465 mA sの管電流、80 keVの管電圧、1 mmの厚さ、0.5 mm積み重ねの設定での総合減衰を確定する。OsiriXで所定のファントムの中間スライスにおける80 mm²の矩形領域の平均減衰を測定する。

【0046】

マイクロCTによる結像可能なビーズの生体外評価

SkyScan 1172高解像度マイクロCT（Skyscan, Konitch, BE）で結像可能なビーズを含むファントムのマイクロCT結像と分析を行うことにより、各単一のビーズの放射線不透過性とヨウ素のビーズ内での分布を評価する。0.5 mmのアルミニウムフィルタにより、放射線不透過性の微小球は、5 μmの解像度、78 kV、127マイクロアンペアで結像する。単一のビーズの平均減衰を測定するとともに、それを平均値と標準誤差（n = 10）として報告する。

20

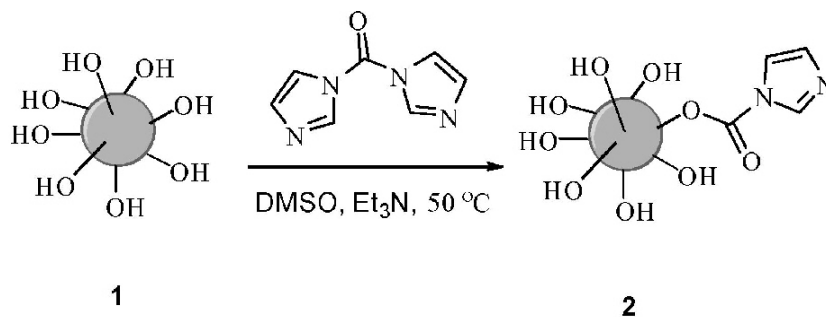
【実施例】

【0047】

実施例1：2, 3, 5 - トリヨードベンジルアルコールを予め形成されたPVA-AMPSヒドロゲル塞栓ビーズに結合することにより結像可能な塞栓ビーズを製造する

【0048】

【化1】



形態 I

40

【0049】

DMSO（3 X 5 ml）で予め形成されたPVA系ヒドロゲル塞栓ビーズ[形態1, 1で記載される]（200 mg）を洗浄し、かつ50 で前記ビーズをDMSO（20 ml）において30分間膨潤する。50 で触媒量のトリエチルアミン（0.12当量）の存在下で、浮遊したビーズとカルボニルジイミダゾール（CDI）（800 mg）（CDI：OHが約1.2：1である）を24時間攪拌して前記ビーズを活性化することにより、活性化ビーズを形成する（形態II）。反応混合物を室温まで冷却するとともに、DMSOとDCM（1：1）の混合剤で高速に洗浄し、かつ最終的にDMSOだけで洗浄することにより、活性化ビーズを提供する[2]。非常に緩やかな条件で、CDIで前記ビーズ

50

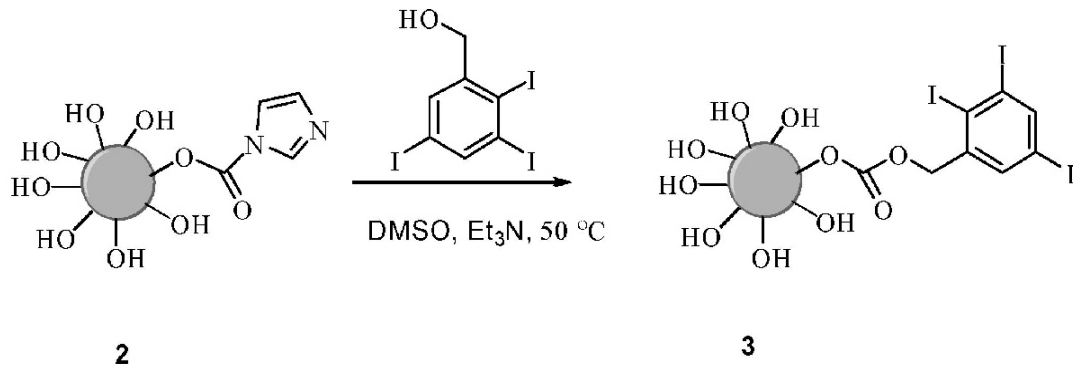
を成功して活性化する。前記ビーズを、さらなる利用のために DMSO に貯蔵する。

【0050】

実施例 2 : 2, 3, 5 - トリヨードベンジルアルコールを活性化 PVA - AMP S ヒドロゲル塞栓ビーズに直接結合することにより結像可能な塞栓ビーズを製造する

【0051】

【化 2】



10

形態II

【0052】

実施例 1 に従って活性化ビーズを製造する。活性化ビーズを直ちに 2, 3, 5 - トリヨードベンジルアルコール (971.7 mg) の DMSO (10 ml) 溶液を収納した反応フラスコに移転するとともに、50 で 24 時間攪拌する (形態 II)。得られた産物を室温まで冷却し、かつまず DMSO : DCM (1 : 1) で、次に DMSO だけで十分に洗浄する。最後に、DMSO と DI 水を (連続的な攪拌で) 交換し、かつ食塩水と DI 水で結像可能なビーズを連続的に十分に洗浄する。さらに分析するまで、洗浄した結像可能なビーズを DI 水に浮遊させる。前記ビーズは 2, 3, 5 - トリヨードベンジルアルコールと成功して結合した (形態 II に記載されるようになる)。図 1 に示すように、予め形成されたヒドロゲルビーズ (活性化の前) と、2, 3, 5 - トリヨードベンジルアルコールを結合したビーズ (結像可能なビーズ) の顕微鏡画像の比較により、結像可能なビーズの大きさが僅かに低下することを示し、かつ、光学顕微鏡で前記ビーズを容易に観察できる。

20

30

【0053】

実施例 3 - 結像可能なヒドロゲルビーズの放射線不透過性の評価

臨床 CT とマイクロ CT において、実施例 2 に従って製造された結像可能なビーズの放射線不透過性を評価し、かつ二つの放射線撮影技術で前記粒子を可視化する。臨床 CT では、アガロースファントムにおける各所定の体積の結像可能なビーズの放射線不透過性に基づいて可視化する。3.1% の結像可能なビーズ充填体積は、 26 ± 15 HU (ハウンスフィールド単位) の平均減衰を示し、かつ、結像可能なビーズ充填体積がそれぞれ 6.2% と 12.5% に増大すると、平均減衰はそれぞれ 41 ± 16 HU と 74 ± 25 HU に増大する。マイクロ CT では、単一の粒子は、 952.3 ± 93.9 HU ($n = 10$) の平均減衰を示す。画像は図 2 に示される。

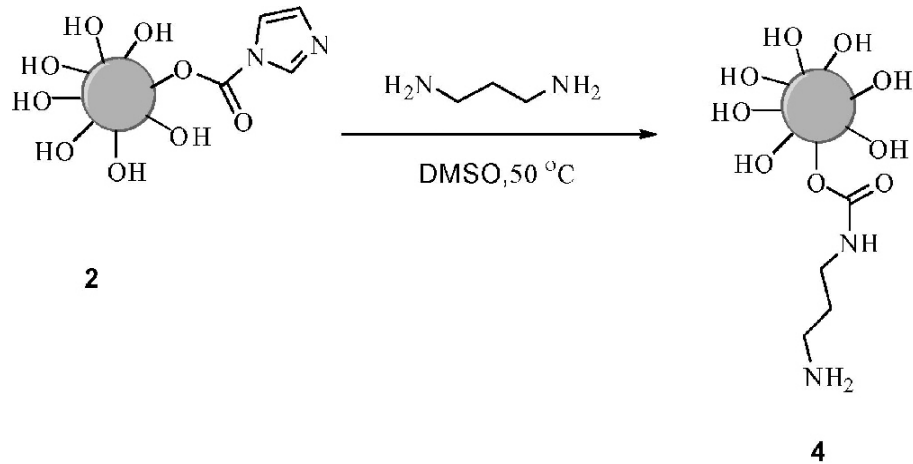
40

【0054】

実施例 4 : アミノ基反応性活性化ヒドロゲルビーズの製造

【0055】

【化3】



10

形態III

【0056】

実施例1に従って製造された活性化ビーズは、50 で24時間混合することにより、ジアミノアルカンリンカー1,3-ジアミノプロパンと反応する(形態III)。反応を完了した後、反応混合物を冷却し、かつまずDMSO:DCM(1:1)で、次にDMSOで十分に洗浄することにより、アミノ基反応性ヒドロゲルビーズを得る(形態IIIにおいて[4]と記載される)。前記アミノ基反応性ビーズは、陽性ニンヒドリン反応を与えて、末端第1級アミン基の存在を確認する。

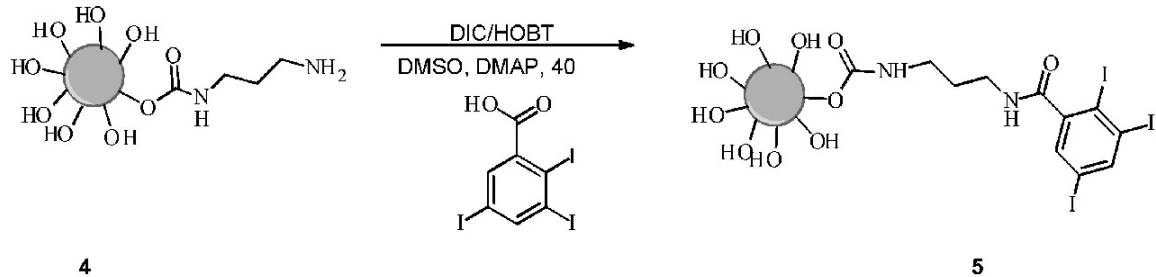
20

【0057】

実施例5:反応性ヒドロゲルビーズで結像可能なヒドロゲルビーズを製造する

【0058】

【化4】



30

形態IV

【0059】

室温でN,N'-ジイソプロピルカルボジイミド(DIC)(604.5mg)、HOBT(634.2mg)及びDMAP(586.4mg)を用いて、2,3,5-トリオウ化安息香酸(2.4g)のDMSO(20ml)溶液を30分間活性化し、かつ実施例4[4]において製造されたアミノ基反応性ビーズを添加する(形態IV)。40 で得られた反応混合物を3日攪拌する。冷却後、DMSO/DCMとDMSOで結像可能なビーズ[5]を十分に洗浄し、最後に、溶媒を脱イオン水と交換する。図3には、放射線透過性のビーズの光学顕微鏡観察像を示す。

40

【0060】

実施例6:ドキシソルピシンを結像可能なビーズに担持する

先に伝えられている方法(Lewis, A. L.ら. Journal of Materials Science-Materials in Medicine 2007, 18, 1691)によれば、ドキシソルピシンを実施例5に従って製造された結像可能なビーズに担持する。簡単に言えば、DI水で十分に洗浄したビーズ250μlを0.5mlのDox(20mg/ml)溶液に浸入するとともに、室温で3hr振る。図3Bにおける光学顕微鏡観察像から見えるように、ドキシソルピシンを担持した放射線

50

不透過性のビーズは、ドキシソルピシンを担持したヒドロゲルの特徴的赤色の外形を呈し、かつ大きさが僅かに低下するようである。

【0061】

実施例7：結像可能なビーズと薬物を担持した結像可能なビーズの放射線不透過性

臨床CTとマイクロCTでは、実施例6と7において製造されたビーズの放射線不透過性又は放射線濃度を評価し、二つの技術では、二組のビーズはいずれも放射線不透過性であり、かつ二つの放射線撮影技術で容易に可視化できることを確認した。臨床CTでは、各所定の体積のビーズの放射線不透過性に基づいて可視化する。3.1%のビーズ充填体積は、 129 ± 33 HUの平均放射線不透過性を示し、かつ、ビーズ充填体積がそれぞれ6.2%と12.5%に増大すると、平均放射線不透過性はそれぞれ 269 ± 53 HUと 444 ± 83 HUに増大する。これは図4Aに示される。マイクロCTでは、単一の「空白」ビーズとドキシソルピシンを担持したビーズは、それぞれ 7903.99 ± 804 HU ($n=10$)と 11873.96 ± 706.12 の平均減衰を示す。これらは、それぞれ図4Bと4Cに示される。

10

【0062】

実施例8：ヨウ素化安息香酸の活性化により放射線不透過性のヒドロゲルビーズを製造する

反応容器には、攪拌によりアセトンで乾燥された10gのPVAビーズと200mLの無水DMSOを50で30min混合する。次に、窒素雰囲気中で41.6gの1,1'-カルボニルジイミダゾール(CDI)と4.1mLのトリエチルアミンをビーズ懸濁液に添加する。反応を完了した後、温度を約22の室温に低下させる。次に、200mLの無水ジエチルエーテルを反応混合物に添加するとともに、10min攪拌した後、溶媒を除去する。次に、DMSOとジエチルエーテル(1:1、v/v)の混合溶媒で活性化ビーズを三回洗浄する。活性化ビーズの元素分析により、CDI活性化によるOHの転化が約30%であると確認された。

20

【0063】

次に、双官能リンカーを活性化ビーズにグラフト化する。50で活性化ビーズを200mLの無水DMSOに浮遊させ、かつ18.5gの1,3-ジアミノプロパンをビーズ懸濁液に添加する。反応を完了した後、反応容器を室温まで冷却し、かつジエチルエーテルとDMSOの混合物で、得られたビーズを三回洗浄した後、溶媒を除去する。

30

【0064】

最後のステップでは、活性化ビーズとの反応に対してトリヨウ化安息香酸を活性化し、丸底フラスコには40gの2,3,5-トリヨウ化安息香酸(TIBA)(濃度がビーズ上の1/3の出発材料のOHに等しい)を100mLの無水DMSOに溶解する。次に、13gのCDI粉末を転化することにより前記化合物を活性化して、CO₂の安定した放出(室温で)が発生し、約30min乃至60min攪拌した後、溶液が混濁し粘くなる。次に、混合物を活性化ビーズの100mLのDMSO懸濁液に添加する。50で、遮光しながら懸濁液を24hr攪拌する。最後に、ジエチルエーテルとDMSOの混合物と脱イオン水で前記ビーズを洗浄する。

40

【0065】

得られたビーズの篩い分け後の光学顕微鏡画像は図5に示される。ビーズファントムのマイクロCT画像は図6に示される。元素分析により、真空で乾燥されたビーズのヨウ素含有量が42-45%であると確定された。表1には、測定されたビーズの固形分、ヨウ素含有量及び特徴的パラメータが示される。

【0066】

実施例9：温度の活性化化学に対する作用

比較として、本実施例は、すべての三つのステップでは70の反応温度を用い、第3のステップではビーズ上の出発材料のOHに等しい2/3TIBAを用いたことを除き、すべての面で実施例8と一致している。これらのより高い温度条件下で、前記ビーズは、より強い茶色を呈する。乾燥されたビーズのヨウ素含有量は、表1にリストされ、僅かに

50

低い結合効率を示す。前記ビーズをさらに121 で20min 高圧殺菌し、かつ殺菌した後に損傷/分解が観察されない。

【0067】

実施例10：放射線不透過性のビーズの薬物担持効率

時々攪拌しながら2.87mlのドキシルピシン溶液(24.4mg/ml)を1mlのビーズ(篩い分けを行い、100-300 μ m)に添加して、実施例9で製造されたビーズの薬物担持能力をテストする。24hrの後、483nmのUVで溶液中の残したドキシルピシンを測定し、かつ担持歩留まりを99.6%と計算した。

【0068】

実施例11：ビーズのカルボジイミド結合

本実施例は、第3のステップではTIBAと反応性(アミノ基に接続された)ビーズとの反応において代替カップリング剤N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド(DIC)を用いたことを除き、すべての面で実施例9と同じである。この場合にビーズ上の出発材料のOHに等しいDICとTIBAを用いる。元素分析により、最終的に乾燥されたビーズのヨウ素含有量が17.7%であると確認され、実施例8と9に観察された結合効率より低いことを証明した。

【0069】

表1：実施例8と9で製造された放射線不透過性のビーズのヨウ素含有量と放射線濃度

【0070】

【表1】

実施例番号/ビーズの大きさ(μ m)	固形分(%)	ヨウ素含有量(%)	マイクロCT減衰(HU)	
4	70-150 μ m	27.2	41.9	9758 \pm 1476
	100-300 μ m	24.8	44.3	8037 \pm 1142
	300-500 μ m	23.7	45.1	8243 \pm 1240
	500-700 μ m	23.0	45.6	7326 \pm 773
5	70-150 μ m	37.8	32.4	-
	100-300 μ m	34.1	38.5	-
	300-500 μ m	32.0	40.1	-

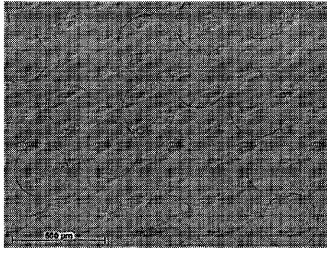
10

20

30

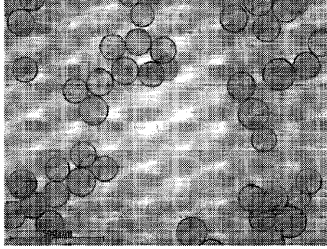
【 図 1 A 】

Figure 1A



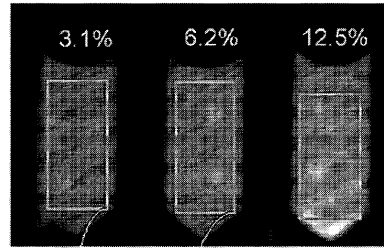
【 図 1 B 】

Figure 1B



【 図 2 A 】

Figure 2A



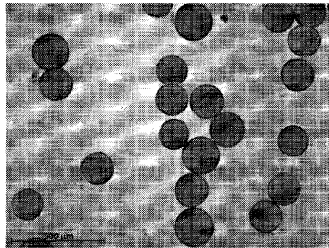
【 図 2 B 】

Figure 2B



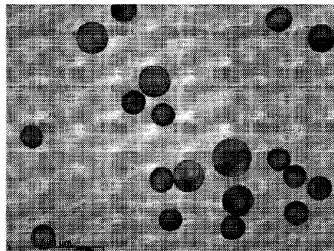
【 図 3 A 】

Figure 3A



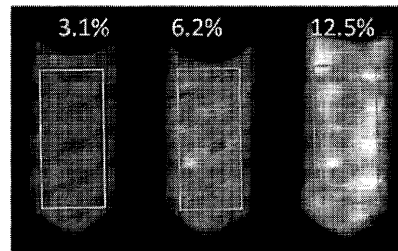
【 図 3 B 】

Figure 3B



【 図 4 A 】

Figure 4A



【 図 4 B 】

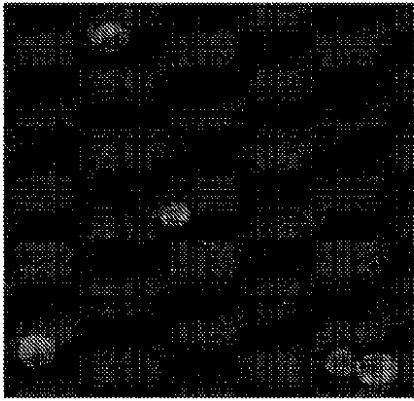


Figure 4B

【 図 4 C 】

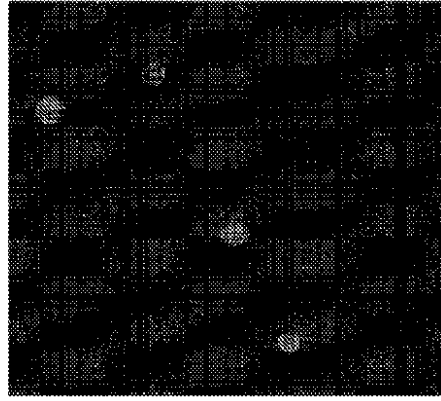
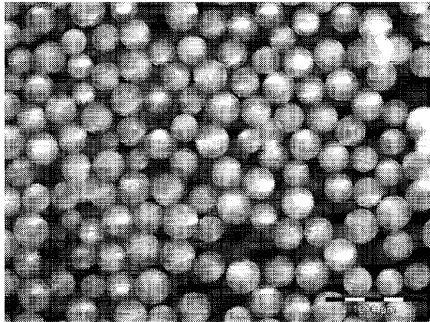


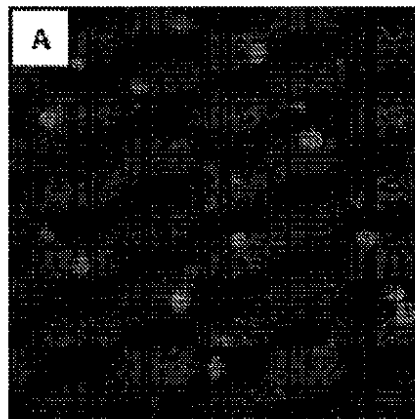
Figure 4C

【 図 5 】

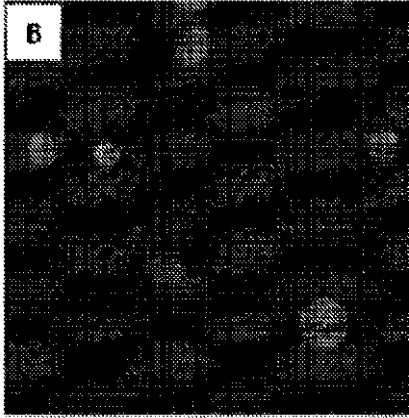
Figure 5



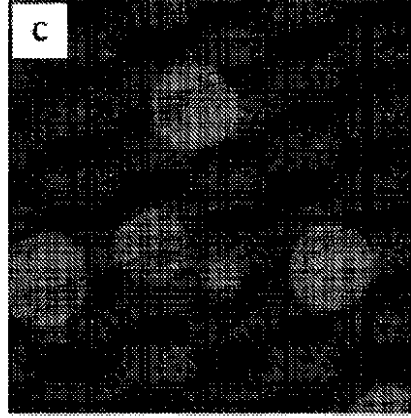
【 図 6 A 】



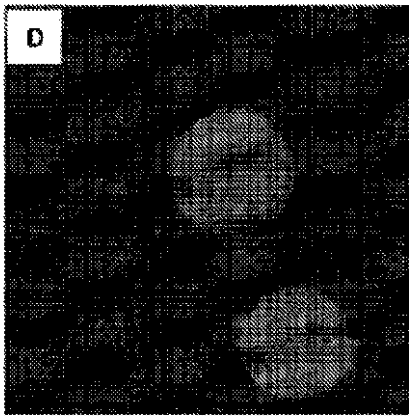
【 6 B】



【 6 C】



【 6 D】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
 C 0 8 F 216/38 (2006.01) C 0 8 F 216/38

(73)特許権者 506035429

ザ ユナイテッド ステイツ オブ アメリカ, アズ レプリゼンティッド バイ ザ ナショナル
 インスティテューツ オブ ヘルス, ア コンポーネント オブ ザ ユナイテッド ステイツ
 デPARTMENT オブ ヘルス アンド ヒューマン サービス
 アメリカ合衆国, メリーランド州 20892-7660, ベセスダ, エグゼクティブ ブールバ
 ード 6011, スイート 325, エムエスシー 7660, オフィス オブ テクノロジー
 トランスファー, ナショナル インスティテューツ オブ ヘルス

(74)代理人 100079108

弁理士 稲葉 良幸

(74)代理人 100109346

弁理士 大貫 敏史

(74)代理人 100117189

弁理士 江口 昭彦

(74)代理人 100134120

弁理士 内藤 和彦

(72)発明者 ドレハー, マシュー, アール.

アメリカ合衆国, ペンシルベニア州 19428, ウエスト コンショホッケン, バー ハーバー
 ドライブ 300, ファイブ タワーブリッジ, スイート 800, ビーティージー インタ
 ナショナル インコーポレイテッド

(72)発明者 ウッド, ブラッドフォード, ジェイ.

アメリカ合衆国, メリーランド州 20827, ベセスダ, ピーオー ボックス 34587

(72)発明者 ネグシー, アエレ, エイチ.

アメリカ合衆国, メリーランド州 20892, ベセスダ, ロックビル パイク 9000, ビル
 ディング 10 ルーム ナンバー1E又306

(72)発明者 ルイス, アンドリュー, レナード

イギリス国, サリー州 ジーユー9 8キューエル ファーンハム, ウェイドン レーン, ファ
 ーンハム ビジネス パーク, チャップマン ハウス

(72)発明者 タン, イーキン

イギリス国, サリー州 ジーユー9 エスキューエル ファーンハム, ウェイドン レーン, ファ
 ーンハム ビジネス パーク, チャップマン ハウス, バイオコンパティブルズ ユーケー リミ
 テッド

審査官 三原 健治

(56)参考文献 特表2012-510535(JP, A)

国際公開第2011/084465(WO, A1)

特表2003-527402(JP, A)

特表2010-502814(JP, A)

特開2006-298904(JP, A)

特表平06-506230(JP, A)

国際公開第2008/059835(WO, A1)

特表2006-515358(JP, A)

特表2004-532182(JP, A)

J.Mater.Sci.: Mater.Med., 2015, Vol.26, No.198, p.1-10

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

C 0 8 F

A 6 1 K

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 / W P I D S (S T N)