(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2015 年 10 月 8 日(08.10.2015)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2015/151952 A1

(51) 国際特許分類:
C08J 3/14 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 47/30 (2006.01)
A61K 49/00 (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01)
B82Y 40/00 (2011.01)
B01J 19/00 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2015/059077

(22) 国際出願日: 2015 年 3 月 25 日(25.03.2015)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願 2014-073069 2014 年 3 月 31 日(31.03.2014) JP

(71) 出願人: 株式会社 島津製作所(SHIMADZU CORPORATION) [JP/JP]; 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 Kyoto (JP).

(72) 発明者: 川辺 隆志(KAWABE, Takashi); 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP). 小関 英一(OZEKI, Eiichi); 〒6048511 京都府京都市中京区西ノ京桑原町１番地 株式会社島津製作所内 Kyoto (JP).

(74) 代理人: 岡田 正広(OKADA, Masahiro); 〒5400010 大阪府大阪市中央区材木町１番６号 第１２新興ビル１０階 岡田正広特許事務所 Osaka (JP).

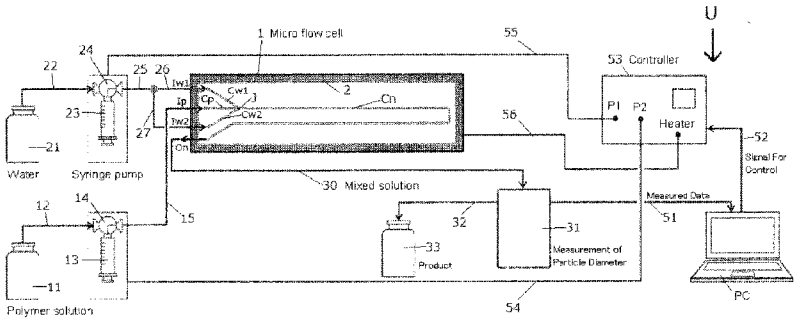
(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (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, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告（条約第 21 条(3)）

(54) **Title**: PROCESS FOR PRODUCING NANOPARTICLES

(54) 発明の名称 : ナノ粒子の製造方法



(57) **Abstract**: Provided is a process for producing nanoparticles having evenness of particle diameter. The process, which is for producing nanoparticles constituted of an amphipathic block polymer, involves: using a nanoparticle production device that comprises a polymer solution supply channel (Cp), aqueous-liquid supply channels (Cw1, Cw2), a junction (J) of the channels, a nanoparticle formation channel (Cn), and an outlet (On) for a nanoparticle-containing liquid to supply the polymer solution and the aqueous liquid to the junction (J); forming nanoparticles while bringing a laminar flow of the polymer solution and a laminar flow of the aqueous liquid into contact with each other; and obtaining a liquid containing formed nanoparticles from the outlet (On) for a nanoparticle-containing liquid. The process further involves determining a statistic of the particle diameter of the formed nanoparticles in a real-time mode and regulating the amount of the polymer solution to be supplied to the junction and/or the amount of the aqueous liquid to be supplied thereto, so that the statistic becomes a desired value, thereby regulating the particle diameter of the nanoparticles.

(57) 要約:

[続葉有]

WO 2015/151952 A1

均一粒径を有するナノ粒子の製造方法を提供する。両親媒性ブロックポリマーから構成されるナノ粒子の製造方法であって、ポリマー溶液供給流路Ｃｐと、水系液供給流路Ｃｗ１，Ｃｗ２と、前記流路の合流部Ｊと、ナノ粒子形成流路Ｃｎと、ナノ粒子含有液出口Ｏｎとを有するナノ粒子の製造装置を用いて、前記ポリマー溶液及び前記水系液を合流部Ｊに供給し、前記ポリマー溶液の層流と前記水系液の層流とを互いに接触させながら、ナノ粒子を形成し、前記ナノ粒子含有液出口Ｏｎから形成されたナノ粒子を含有する液を得ることを含み、且つ、前記形成されたナノ粒子の粒子径の統計量をリアルタイムで測定すると共に、当該統計量が目的とする値となるように、前記合流部への前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方を制御して、それによりナノ粒子の粒子径を制御することを含む。

明　細　書

発明の名称 ： ナノ粒子の製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、超分子化学、医工薬学連携領域、及びナノメディシンの分野に属する。本発明は、医薬品、農薬、化粧品、食品、エレクトロニクス（電池材料など）等に用いられる粒子径の小さな微粒子、例えば、ナノレベルの粒子径を有するナノ粒子の製造方法に関する。本発明で製造されるナノ粒子は、各種物質搬送用ナノキャリアとして用いることができる。

[0002] より詳しくは、本発明は、両親媒性ブロックポリマーからなるナノ粒子の製造方法に関し、前記ナノ粒子の用途及び目的に応じて、その粒子サイズが制御されたナノ粒子の連続的製造方法に関する。

背景技術

[0003] 腫瘍やその他の疾病を診断するために、分子イメージング技術が開発されている。分子イメージング技術としては、ポジトロン断層法ＰＥＴ(Positron Emission Tomography)、単一光子放射断層法ＳＰＥＣＴ(Single Photon Emission Computed Tomography)、磁気共鳴画像診断法ＭＲＩ(Magnetic Resonance Imaging)、及び蛍光イメージングなどが挙げられる。これらの各診断に適する、高い感度すなわち病変部位への高い集積選択性を有し、低侵襲性を有するプローブが求められている。

[0004] また、治療の方に目を向けると、早期治療後、及び外科的治療や放射線治療後の転移予防のためのがん治療においては、抗がん剤を用いた化学療法が行われる。抗がん剤は、正常組織へも大きな影響を与え副作用が問題となる。副作用の軽減のために種々の薬剤搬送システム（ＤＤＳ）が研究開発されている。この一つとして、がんの初期増殖時に顕著に見られる新生血管の特徴（ＥＰＲ効果：Enhanced Permeability and Retention Effect）を利用したナノ粒子をキャリアーとしたＤＤＳ抗がん剤の開発が注目され、種々のナノ粒子が検討されている。ＥＰＲ効果とは、血中に投与された粒径数十ｎｍ

～数百ｎｍ（例えば２０～２００ｎｍ程度）のナノ粒子が、透過性が異常に亢進した毛細血管系より漏出し、増殖の速い腫瘍組織の間質腔に、リンパ管が未発達なことも手伝って蓄積する現象である。

[0005] 特開平１１－３３５２６７号公報、特開２００３－２６８１２号公報、及び特開２００１－２２６２９４号公報には、水難溶性薬物を含有する高分子ミセルの製造方法が開示されている。特開２００１－２２６２９４号公報によれば、水難溶性薬物と、親水性セグメント及び疎水性セグメントを含んでなるブロック共重合体とを水非混和性有機溶媒で溶解して有機溶液を調製し、得られた有機溶液を水性媒体と混合して水中油（Ｏ／Ｗ）型エマルションを形成し、得られたエマルションから該有機溶媒を蒸発除去することによって該薬物が封入されたポリマーミセル溶液を形成し、そして必要により、得られたポリマーミセル溶液を超音波処理及び限外濾過処理して、水難溶性薬物が封入されたポリマーミセルを製造する方法が開示されている。しかしながら、同号公報によれば、透析処理により有機溶媒を除去し、その後、超音波処理を行うことにより粒子を微細化しており（いわゆるトップダウン方式）、工程が複雑である。また、超音波処理による粒子の微細化を行うと、精密な粒子サイズの制御は困難である。さらに、超音波処理により一旦作製された粒子が破壊され、粒子の内包薬物が漏洩する恐れがあるため、薬物内包量の制御も困難である。

[0006] 特開２０１２－２１３７４７号公報には、直径が５０～３００μｍの微小流路を有する流路部材と、粒子を分散又は溶解させた原料液を加圧して前記流路部材に圧送する加圧部と、前記流路部材を通過した原料液を導入して乾燥させる真空乾燥室とを備えた微粒子製造装置が開示されている。同号公報に開示の微粒子製造装置は、すでに形成されている粒子を圧送して微細化するものである（いわゆるトップダウン方式）。

[0007] 特開２００５－２４６２２７号公報には、超音波や圧力で破壊できる含気泡型のロイコ色素内包マイクロカプセルの製造方法が開示されている。製造されるマイクロカプセルの粒径はマイクロメーターサイズと大きいものであ

る（例えば、実施形態１において４μｍ[0021]、実施形態３において６μｍ[0033]）。ホモジナイザーを使用して、大きな粒径のものをマイクロメーターサイズに微細化する（いわゆるトップダウン方式）であるため、マイクロカプセル中のロイコ色素の内包量制御は困難である。

[0008] 特開２００９－２５６３２４号公報には、生理活性物質を含む揮発性有機酸水溶液または生理活性物質の揮発性有機酸溶液を、生分解性高分子を含む揮発性有機溶媒と混合してエマルジョンを作製する工程、及び得られたエマルジョンを負電荷を有するポリマーの水溶液と混合する工程を含む、生理活性物質含有微粒子の製造方法が開示されている。微粒子の粒子径に関する記載はない。

[0009] 特開２０１２－１７０８６１号公報には、少なくとも２つの入口Ｉ１～Ｉｎ（ｎ≧２）と、少なくとも１つの出口Ｏと、前記入口Ｉ１～Ｉｎにそれぞれ接続される入口流路Ｃ１～Ｃｎと、前記入口流路Ｃ１～Ｃｎが同時に又は段階的に合流することによって形成され、出口Ｏに接続される流路部分Ｊと、を有する流路構造Ｘに対して、前記入口Ｉ１からハイドロゲルの原料となるゾル溶液Ｚを、前記入口Ｉ２からゲル化剤溶液Ｇをそれぞれ連続的に導入し、前記流路部分Ｊにおいてゾル溶液Ｚを少なくとも部分的にゲル化させたファイバーを形成し、さらに、流路Ｘの内部あるいは外部において、ゾル溶液Ｚを少なくとも部分的にゲル化させたファイバーを液滴内に閉じ込めることによってファイバーを切断することで、非球形ハイドロゲル粒子を作製する、非球形ハイドロゲル粒子の合成方法が開示されている。同号公報によれば、ゾル溶液Ｚをゲル化剤溶液Ｇと共に連続的に導入し、前記合流後の流路部分Ｊにおいてゾル溶液Ｚをゲル化させたファイバーを形成する。ゲル化により形成されたファイバーを液滴内に閉じ込めることによってファイバーを切断し、非球形ハイドロゲル粒子を作製する。同号公報には、両親媒性ブロックポリマーの開示はなく、また、作製されるハイドロゲル粒子は、その直径が数μｍ～数ｃｍ程度([0021]）と非常に大きいものである。

[0010] 薬剤搬送システム（ＤＤＳ）に用いられるナノ粒子としては、例えば、特

開２００８－２４８１６号公報（米国特許出願公開ＵＳ２００８／００１９９０８）には、親水性ブロックと疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマーであって、前記親水性ブロックは、サルコシン単位を１０個以上有する親水性ポリペプチド鎖であり、前記疎水性ブロックは、アミノ酸単位及びヒドロキシル酸単位からなる群から選ばれる単位を必須構成単位として含み、且つ前記必須構成単位を５個以上有する疎水性分子鎖である両親媒性ブロックポリマーが開示され、前記両親媒性ブロックポリマーからなる粒径１０～５００ｎｍの分子集合体が開示されている。

[0011] 国際公開ＷＯ２００９／１４８１２１号公報及びバイオマテリアルズ（Biomaterials）、２００９年、第３０巻、ｐ．５１５６－５１６０には、疎水性ブロックがポリ乳酸鎖、親水性ブロックがポリサルコシン鎖である直鎖型の両親媒性ブロックポリマーが、水溶液中において自己組織化し、粒径が３０ｎｍ以上の高分子ミセル（ラクトソーム）を形成することが開示されている。ラクトソームは、高い血中滞留性を有するほか、それまでに既に開発されていた高分子ミセルと比べて肝臓への集積量が著しく減少することが分かっている。このラクトソームは、血中に滞留している粒子径が数十～数百ｎｍのナノ粒子が癌疾に溜まりやすいという性質（ＥＰＲ効果）を利用することによって、癌疾部位を標的とした分子イメージング又は薬剤搬送用のナノキャリアとして適用可能である。

[0012] 国際公開ＷＯ２０１２／１７６８８５公報には、サルコシンを含む分岐した親水性ブロックと、ポリ乳酸を有する疎水性ブロックとを有する分岐型の両親媒性ブロックポリマーが、水溶液中において自己組織化し、粒径が１０～５０ｎｍの高分子ミセル（ラクトソーム）を形成することが開示されている。

先行技術文献

特許文献

[0013] 特許文献1：特開平１１－３３５２６７号公報

特許文献2：特開２００３－２６８１２号公報

特許文献3：特開２００１－２２６２９４号公報

特許文献4：特開２０１２－２１３７４７号公報

特許文献5：特開２００５－２４６２２７号公報

特許文献6：特開２００９－２５６３２４号公報

特許文献7：特開２０１２－１７０８６１号公報

特許文献8：特開２００８－２４８１６号公報

特許文献9：米国特許出願公開ＵＳ２００８／００１９９０８

特許文献10：ＷＯ２００９／１４８１２１号公報

特許文献11：ＷＯ２０１２／１７６８８５公報

非特許文献

[0014] 非特許文献1：バイオマテリアルズ（Biomaterials）、２００９年、第３０巻、ｐ．５１５６－５１６０

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0015] 上記のＷＯ２００９／１４８１２１号公報、及びＷＯ２０１２／１７６８８５公報において、両親媒性ブロックポリマーからフィルム法によりナノ粒子が作製されている。フィルム法は、次の工程を含む。すなわち、容器（例えばガラス容器）中に、両親媒性ブロックポリマーを有機溶媒中に含む溶液を用意する工程、前記溶液から前記有機溶媒を除去し、前記容器の内壁に両親媒性ブロックポリマーを含むフィルムを得る工程、及び、前記容器中に水又は水溶液を加え、超音波処理を行い、前記フィルム状物質を粒子状の分子集合体に変換して分子集合体の分散液を得る工程を含む。さらに、フィルム法は、前記の分子集合体の分散液を凍結乾燥処理に供する工程を含んでも良い。フィルム法は、回分式であり、生産性の観点から好ましくはないし、バッチ間の粒径の制御には不向きである。

[0016] また、上記のＷＯ２００９／１４８１２１号公報、及びＷＯ２０１２／１７６８８５公報には、実際に行ったことは開示されていないが、インジェクション法によってナノ粒子を作製することも開示されている（ＷＯ２００９

／１４８１２１号公報の［０１４５］、ＷＯ２０１２／１７６８８５公報の［００８８］）。インジェクション法は、以下の工程を含む。すなわち、容器（例えば試験管など）中に、両親媒性ブロックポリマーを有機溶媒中に含む溶液を用意する工程、前記の溶液を水又は水溶液に分散させる工程、及び、有機溶媒を除去する工程が行われる。さらに、インジェクション法では、有機溶媒を除去する工程の前に、適宜精製処理工程を行ってもよい。開示されたインジェクション法は、回分式であり、生産性の観点から好ましくはないし、バッチ間の粒径の制御には不向きである。

[0017] また、一方で、所望のＥＰＲ効果を得るためには、例えば２０～２００ｎｍ程度の範囲の均一粒径を有するナノ粒子の作製が望まれる。さらに、ナノメディシン分野以外の分野においても、均一粒径を有するナノ粒子の作製が望まれる。

[0018] 本発明の目的は、均一粒径を有する両親媒性ブロックポリマーからなるナノ粒子の製造方法を提供することにある。

課題を解決するための手段

[0019] 本発明者らは、鋭意研究を行った結果、親水性ブロックと疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマー溶液の層流と、水系液の層流とを形成し、前記ポリマー溶液の層流と前記水系液の層流とを合流させてナノ粒子を形成させ、前記形成されたナノ粒子の粒子径をリアルタイムで測定し、測定された粒子径をナノ粒子形成工程の条件にフィードバックすることによって、２０～２００ｎｍ程度の範囲の均一粒径を有する両親媒性ブロックポリマーからなるナノ粒子を連続的に形成できることを見出し、本発明を完成するに至った。

[0020] 本発明は、以下の発明を含む。

（１） 親水性ブロックと疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマーから構成されるナノ粒子の製造方法であって、

ポリマー溶液供給流路と、

水系液供給流路と、

前記ポリマー溶液供給流路と前記水系液供給流路とが合流する合流部と、

前記合流部の下流側に位置するナノ粒子形成流路と、

前記ナノ粒子形成流路の下流端のナノ粒子含有液出口と、

を有するナノ粒子の製造装置を用いて、

前記両親媒性ブロックポリマー溶液を前記ポリマー溶液供給流路を介して前記合流部に供給すると共に、前記水系液を前記水系液供給流路を介して前記合流部に供給し、

前記合流部から前記ナノ粒子形成流路の下流側に向かって前記ポリマー溶液の層流と前記水系液の層流とを互いに接触させながら、両親媒性ブロックポリマーからなるナノ粒子を形成し、

前記ナノ粒子含有液出口から前記形成されたナノ粒子を含有する液を得る、

ことを含み、且つ、

前記形成されたナノ粒子の粒子径の統計量をリアルタイムで測定すると共に、当該統計量が目的とする値となるように、前記合流部への前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方を制御して、それによりナノ粒子の粒子径を制御することを含む、ナノ粒子の製造方法。

[0021] 前記合流部への前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方の制御とは、前記ポリマー溶液の供給量と前記水系液の供給量との比率を変化させること、及び／又は、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量のトータル流量を変化させることを意味する。

[0022] （２） 予め、

所定濃度の前記両親媒性ブロックポリマー溶液を調製し、

前記ナノ粒子の製造装置を用いて、

前記合流部への前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方を変化させて、それぞれの前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量条件下において前記両親媒性ブロックポリマーからなるナノ粒子を形成し、

前記形成されたナノ粒子の粒子径の統計量をそれぞれ測定し、

前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量と、前記ナノ粒子の粒子径の統計量との関係を求めておき、

その関係に基づいて、前記合流部への前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方を決定及び制御して、それによりナノ粒子の粒子径を制御する、上記（１）に記載のナノ粒子の製造方法。

[0023] （３） 前記両親媒性ブロックポリマー溶液の濃度を変化させて、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量と、前記ナノ粒子の粒子径の統計量との関係を予め求めておく、上記（２）に記載のナノ粒子の製造方法。

[0024] （４） 粒子径の測定を、静的光散乱法、動的光散乱法、又は多角度レーザー光散乱法により行う、上記（１）～（３）のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[0025] （５） 前記両親媒性ブロックポリマーは、アルキレンオキシド単位及び／又はサルコシン単位を有する親水性ブロックと、ヒドロキシ酸単位を有する疎水性ブロックとを有する、上記（１）～（４）のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[0026] （６） 前記両親媒性ブロックポリマーは、サルコシン単位を有する親水性ブロックと、乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有する、上記（１）～（５）のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[0027] （７） 前記親水性ブロックに含まれるサルコシン単位の合計は２～３００個である、上記（６）に記載のナノ粒子の製造方法。

[0028] （８） 前記疎水性ブロックに含まれる乳酸単位は５～４００個である、上記（６）又は（７）に記載のナノ粒子の製造方法。

[0029] （９） 形成されるナノ粒子の粒子径が１０～２００ｎｍである、上記（１）～（８）のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[0030] （１０） 形成されるナノ粒子の粒度分布は単峰性を示す、上記（１）～（９）のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[0031] （１１） 前記ポリマー溶液中に薬剤及び／又は標識剤を含有させて、薬剤

及び／又は標識剤を含有するナノ粒子を得る、上記（１）～（１０）のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[0032] （１２） 前記水系液中に、薬剤及び／又は標識剤を含有させて、薬剤及び／又は標識剤を含有するナノ粒子を得る、上記（１）～（１１）のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[0033] （１３） 親水性ブロックと疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマーから構成されるナノ粒子の製造装置であって、

ポリマー溶液供給流路と、

水系液供給流路と、

前記ポリマー溶液供給流路と前記水系液供給流路とが合流する合流部と、

前記合流部の下流側に位置するナノ粒子形成流路と、

前記ナノ粒子形成流路の下流端のナノ粒子含有液出口と、

前記ナノ粒子含有液出口から排出されるナノ粒子含有液中のナノ粒子の粒子径の統計量をリアルタイムで測定する粒子径測定装置と、

測定された粒子径の統計量に基づいて、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方を自動的に制御する制御ユニットと、

を有するナノ粒子の製造装置。

[0034] ・ 親水性ブロックと疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマーから構成されるナノ粒子の粒径制御方法であって、

ポリマー溶液供給流路と、

水系液供給流路と、

前記ポリマー溶液供給流路と前記水系液供給流路とが合流する合流部と、

前記合流部の下流側に位置するナノ粒子形成流路と、

前記ナノ粒子形成流路の下流端のナノ粒子含有液出口と、

を有するナノ粒子の製造装置を用いて、

前記両親媒性ブロックポリマー溶液を前記ポリマー溶液供給流路を介して前記合流部に供給すると共に、前記水系液を前記水系液供給流路を介して前記合流部に供給し、

前記合流部から前記ナノ粒子形成流路の下流側に向かって前記ポリマー溶液の層流と前記水系液の層流とを互いに接触させながら、両親媒性ブロックポリマーからなるナノ粒子を形成し、

前記ナノ粒子含有液出口から前記形成されたナノ粒子を含有する液を得る、

ことを含み、且つ、

前記形成されたナノ粒子の粒子径の統計量をリアルタイムで測定すると共に、当該統計量が目的とする値となるように、前記合流部への前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方を制御して、それによりナノ粒子の粒子径を制御することを含む、ナノ粒子の粒径制御方法。

[0035] ・ 予め、

所定濃度の前記両親媒性ブロックポリマー溶液を調製し、

前記ナノ粒子の製造装置を用いて、

前記合流部への前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方を変化させて、それぞれの前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量条件下において前記両親媒性ブロックポリマーからなるナノ粒子を形成し、

前記形成されたナノ粒子の粒子径の統計量をそれぞれ測定し、

前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量と、前記ナノ粒子の粒子径の統計量との関係を求めておき、

その関係に基づいて、前記合流部への前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方を決定及び制御して、それによりナノ粒子の粒子径を制御する、上記に記載のナノ粒子の粒径制御方法。

[0036] ・ 前記両親媒性ブロックポリマー溶液の濃度を変化させて、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量と、前記ナノ粒子の粒子径の統計量との関係を予め求めておく、上記に記載のナノ粒子の粒径制御方法。

[0037] ・ 粒子径の測定を、静的光散乱法、動的光散乱法、又は多角度レーザー光散乱法により行う、上記に記載のナノ粒子の粒径制御方法。

発明の効果

[0038] 本発明において、親水性ブロックと疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマー溶液の層流と、水系液の層流とを形成し、前記ポリマー溶液の層流と前記水系液の層流とを合流させてナノ粒子を形成させ、前記形成されたナノ粒子の粒子径をリアルタイムで測定し、測定された粒子径をナノ粒子形成工程の条件にフィードバックすることによって、再現性よくナノ粒子の粒子径を制御し、均一粒径を有する両親媒性ブロックポリマーからなるナノ粒子を安定して連続的に製造することができる。

[0039] 本発明において製造される両親媒性ブロックポリマーからなるナノ粒子は、２０～２００ｎｍ程度の範囲の均一粒径を有する（すなわち、粒度分布が単峰性を示す）ので、所望のＥＰＲ効果が得られる。そのため、前記ナノ粒子に標識剤を含有させると、分子イメージングシステムにおける有用な分子プローブとなる。さらに、前記ナノ粒子に薬剤を含有させると、薬剤搬送システム（ＤＤＳ）における有用なキャリアーとなる。

図面の簡単な説明

[0040] [図1]図１は、本発明におけるナノ粒子の製造装置の例を示す概略構成図である。

[図2]図２は、ポリマー溶液の供給量及び水系液の供給量のトータル流量［μＬ／ｍｉｎ］（横軸）に対する、ナノ粒子の平均粒子径［ｎｍ］の変化（左縦軸）及びＰｄｌ［－］の変化（右縦軸）を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0041] ［１．両親媒性ブロックポリマー］

本発明において、両親媒性ブロックポリマーは、親水性ブロックと疎水性ブロックとを有し、水系液（水又は水溶液）との接触により自己組織化してナノ粒子を形成し得るものであれば、特に限定されることなく用いることができる。ナノ粒子とは、サイズがナノオーダーの粒子であり、ミセル、ベシクル等の分子集合体が含まれる。

[0042] 例えば、アルキレンオキシド単位及び／又はサルコシン単位を有する親水

性ブロックと、ヒドロキシ酸単位を有する疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマーを用いることができる。アルキレンオキシド単位としては、エチレンオキシド単位、プロピレンオキシド単位等が挙げられる。エチレンオキシド単位の場合、親水性ブロックは、ＰＥＧ鎖を含むものとなる。ヒドロキシ酸単位としては、グリコール酸、乳酸、ヒドロキシ酪酸等が挙げられる。

[0043] 以下に、両親媒性ブロックポリマーの例として、サルコシン単位を有する親水性ブロックと、乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマーについて説明する。両親媒性ブロックポリマーは、直鎖型又は分岐型のいずれであってもよい。親水性ブロックと疎水性ブロックとは、リンカー部を介して結合している。

[0044] ［１－１．親水性ブロック］

本発明において、両親媒性ブロックポリマーの親水性ブロックが有する「親水性」という物性の具体的な程度としては、特に限定されるものではないが、少なくとも、親水性ブロックの全体が、後述の疎水性ブロックとしてのポリ乳酸鎖に対して相対的に親水性が強い性質をいう。或いは、親水性ブロックが疎水性ブロックとコポリマーを形成することによって、コポリマー分子全体として両親媒性を実現することが可能となる程度の親水性をいう。さらに或いは、両親媒性ブロックポリマーが溶媒中で自己組織化して、自己集合体、特に粒子状の自己集合体を形成することが可能となる程度の親水性をいう。

[0045] 本発明において、両親媒性ブロックポリマーは、親水性ブロックにおいて直鎖構造を有していてもよいし、分岐した構造を有していてもよい。分岐構造の場合には、親水性ブロックの分岐それぞれにサルコシンが含まれる。

[0046] 親水性ブロックにおいて、構成単位の種類及び比率は、ブロック全体が上述したような親水性となるように、当業者によって適宜決定されるものである。例えば、前記親水性ブロックに含まれるサルコシン単位の合計は２～３００個である。具体的には、直鎖型の場合、サルコシン単位の合計は、例え

ば、１０～３００、２０～２００、又は２０～１００程度でありうる。構成単位数が上記範囲を超えると、分子集合体を形成した場合に、形成された分子集合体の安定性を欠く傾向にある。上記範囲を下回ると、両親媒性ブロックポリマーとしての体をなさないか、又は、分子集合体の形成自体が困難となる傾向にある。

[0047] 分岐型の場合、分岐全てに含まれるサルコシン単位の合計は、例えば、２～２００、２～１００、又は２～１０個でありうる。あるいは、複数の親水性ブロック全てに含まれるサルコシン単位の合計は、例えば、３０～２００、又は５０～１００個でありうる。１つの分岐当たりのサルコシン単位数の平均は、例えば、１～６０、１～３０、１～１０、又は１～６でありうる。すなわち、親水性ブロックそれぞれは、サルコシン又はポリサルコシン鎖を含んで構成されることができる。構成単位数が上記範囲を超えると、分子集合体を形成した場合に、形成された分子集合体の安定性を欠く傾向にある。上記範囲を下回ると、両親媒性ブロックポリマーとしての体をなさないか、又は、分子集合体の形成自体が困難となる傾向にある。

[0048] 分岐型の場合、親水性ブロックにおける分岐は２以上であればよいが、分子集合体を形成する際に粒子形状のミセルを効率的に得る観点から、好ましくは３以上である。親水性ブロックにおける分岐の数の上限は特に限定されるものではないが、例えば２７である。特に、本発明においては、親水性ブロックの分岐の数が３であることが好ましい。分岐構造は、当業者が適宜設計できる。

[0049] サルコシン（すなわちＮ－メチルグリシン）は水溶性が高く、また、サルコシンのポリマーはＮ置換アミドを有することから通常のアミド基に比べてシス－トランス異性化が可能であり、さらに、Ｃα炭素まわりの立体障害が少ないことから、高い柔軟性を有するものである。このような構造を構成ブロックとして用いることは、当該ブロックに高い親水性の基本特性、又は、高い親水性と高い柔軟性とを併せ持つ基本特性が備わる点で非常に有用である。

[0050] さらに、親水性ブロックは、末端（すなわちリンカー部と反対側の末端）に親水性基（例えば水酸基に代表される）を有していることが好ましい。

[0051] なお、ポリサルコシン鎖においては、全てのサルコシン単位が連続していてもよいし、非連続であってもかまわないが、当該ポリペプチド鎖全体として上述の基本特性を損なわないように分子設計されたものであることが好ましい。

[0052] ［１－２．疎水性ブロック］

本発明において、疎水性ブロックが有する「疎水性」という物性の具体的な程度としては、特に限定されるものではないが、少なくとも、疎水性ブロックが、上記の親水性ブロックの全体に対して相対的に疎水性が強い領域であり、当該親水性ブロックとコポリマーを形成することによって、コポリマー分子全体として両親媒性を実現することが可能となる程度の疎水性を有していれば良い。或いは、当該両親媒性ブロックポリマーが溶媒中で自己組織化して、自己集合体、好ましくは粒子状の自己集合体を形成することが可能となる程度の疎水性を有していれば良い。

[0053] １本の両親媒性ブロックポリマー中に存在する疎水性ブロックは分岐していなくともよいし、分岐していてもよい。しかしながら、疎水性ブロックは分岐していない方が、疎水性コア部に対して、親水性分岐型シェル部の稠密度が増すので、より小さい粒径の安定したコア／シェル型分子集合体を形成し易いと考えられる。

[0054] 本発明において、疎水性ブロックは、ポリ乳酸鎖（ＰＬＡ）を含むものである。疎水性ブロックにおいて構成単位の種類及び比率は、ブロック全体が上述したような疎水性となるように、当業者によって適宜決定されるものである。例えば、前記疎水性ブロックに含まれる乳酸単位は５～４００個である。具体的には、例えば疎水性ブロックが分岐していない場合、乳酸単位の数は、例えば５～１００、１５～６０個、又は２５～４５個でありうる。疎水性ブロックが分岐している場合は、分岐全てに含まれる乳酸単位の数の合計が、例えば１０～４００、好ましくは２０～２００個でありうる。この場

合、１つの分岐当たりの乳酸単位数の平均は、例えば、５～１００、好ましくは１０～１００個である。

[0055] 構成単位数が上記範囲を上回ると、分子集合体を形成した場合に、当該形成された分子集合体の安定性を欠く傾向にある。構成単位数が上記範囲を下回ると、分子集合体の形成自体が困難となる傾向にある。

[0056] 疎水性ブロックが分岐する場合、分岐の数は特に限定されないが、分子集合体を形成する際に粒子形状のミセルを効率的に得る観点から、例えば、親水性ブロックにおける分岐数以下とすることができる。

[0057] ポリ乳酸は、以下の基本特性を有する。

ポリ乳酸は、優れた生体適合性及び安定性を有するものである。このため、このようなポリ乳酸を構成ブロックとした両親媒性物質から得られる分子集合体は、生体、特に人体への応用性という点で非常に有用である。

また、ポリ乳酸は、優れた生分解性を有することから代謝が早く、生体内においてがん組織以外への組織への集積性が低い。このため、このようなポリ乳酸を構成ブロックとした両親媒性物質から得られる分子集合体は、がん組織への特異的な集積性という点で非常に有用である。

そして、ポリ乳酸は、低沸点溶媒への溶解性に優れるものであることから、このようなポリ乳酸を構成ブロックとした両親媒性物質から分子集合体を得る際に、有害な高沸点溶媒の使用を回避することが可能である。このため、このような分子集合体は、生体への安全性という点で非常に有用である。

[0058] なお、疎水性ブロックを構成するポリ乳酸鎖（ＰＬＡ）においては、全ての乳酸単位が連続していてもよいし、非連続であってもかまわないが、疎水性ブロック全体として上述の基本特性を損なわないように分子設計されたものであることが好ましい。

[0059] 疎水性ブロックを構成するポリ乳酸鎖（ＰＬＡ）は、Ｌ－乳酸単位から構成されているポリＬ－乳酸鎖（ＰＬＬＡ）か、又は、Ｄ－乳酸単位から構成されているポリＤ－乳酸鎖（ＰＤＬＡ）のいずれであってもよい。また、Ｌ－乳酸単位とＤ－乳酸単位との両者から構成されていてもよい。この場合に

おいて、Ｌ－乳酸単位とＤ－乳酸単位とは、交互配列、ブロック配列、又はランダム配列のいずれであってもよい。

[0060] ［１－３．サルコシン単位数の乳酸単位数に対する比］

両親媒性ブロックポリマーにおいて、サルコシン単位数（すなわち、親水性ブロックに含まれるサルコシン単位の数、又は、親水性ブロックが分岐している場合には分岐全てに含まれるサルコシン単位の数の合計）をN^Sとし、ポリ乳酸単位数（すなわち、疎水性ブロックに含まれる乳酸単位の数、又は、疎水性ブロックが分岐している場合には分岐全てに含まれる乳酸単位数の合計）をN^Lとすると、それらの比N^S/N^Lは、例えば０．０５～５又は０．０５～４でありうる。さらに好ましくは、N^S/N^Lは、０．０５以上１．８未満、例えば０．０５以上１．７以下、０．０５以上１．６７以下、０．１以上１．７以下、又は０．１以上１．６７以下であってよい。

[0061] ［１－４．ポリマー構造］

親水性ブロックと疎水性ブロックとを連結するリンカー部位の構造は、化学的に許容可能な構造であれば特に限定されるものではない。当業者が適宜分子設計できる。

[0062] 分岐構造の場合、例えば、親水性ブロック側の分枝の数が２である場合は、ポリ乳酸鎖を含む分子鎖のリンカー部位にある１つのＮ原子から、ポリサルコシン鎖を含む２本の分子鎖が分岐しうる。言い換えれば、ポリ乳酸鎖に直接的又は間接的に結合しているＮ原子が、直接的又は間接的に２本のポリサルコシン鎖に結合していることができる。

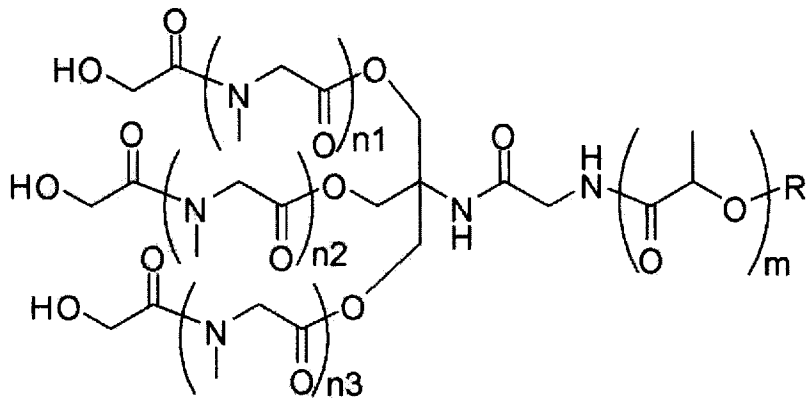
[0063] また例えば、親水性ブロック側の分枝の数が３である場合は、ポリ乳酸鎖を含む分子鎖のリンカー部位にある１つのＣ原子から、ポリサルコシン鎖を含む３本の分子鎖が分岐しうる。言い換えれば、ポリ乳酸鎖に直接的又は間接的に結合しているＣ原子が、直接的又は間接的に３本のポリサルコシン鎖に結合していることができる。リンカー部位にある１つのＰ原子やＳｉ原子から分岐している場合や、両親媒性ブロックポリマー分子全体が四級アンモニウム分子を形成している場合も同様である。

[0064] 親水性ブロック側の分枝の数が３を超える場合は、分枝がさらなる分岐構造を有するように分子設計されることができる。

[0065] 疎水性ブロック側も分岐している場合についても、上記と同様の観点で分子設計されることができる。

[0066] 下記式（I）に、親水性ブロック側の分岐の数が３、疎水性ブロック側の分岐なしである場合の分岐型両親媒性ブロックポリマーの好ましい構造を示す。

[0067] [化1]



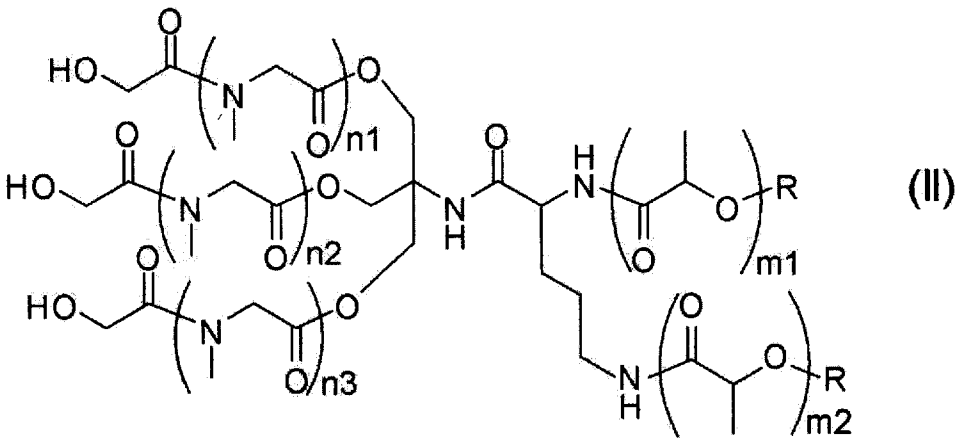
(I)

[0068] 式（I）中、ｎ１、ｎ２及びｎ３は、それらの合計が３～２００となる数、ｍは５～１００の数を表し、Ｒは、水素原子又は有機基を表す。有機基の炭素数は、１～２０でありうる。具体的には、アルキル基やアルキルカルボニル基などが挙げられる。

[0069] 下記式（II）に、親水性ブロック側の分岐の数が３、疎水性ブロック側の分岐が２である場合の分岐型両親媒性ブロックポリマーの好ましい構造を示す。

[0070]

[化2]



(II)

[0071] 式（II）中、ｎ１、ｎ２及びｎ３、並びにＲは、式（I）における場合と同じである。ｍ１及びｍ２は、それらの合計が１０～４００となる数を表す。

[0072] ［１－５．両親媒性ブロックポリマーの合成法］

直鎖型両親媒性ブロックポリマーの合成は、当業者が適宜行うことができる。例えば、疎水性ブロック部（ポリ乳酸部）の合成を行うと共に、ポリ乳酸鎖の一端に、親水性ブロック部（ポリサルコシン部）を連結するリンカーとなり得る官能基（例えば、アミノ基）を導入する。次に、このアミノ基にポリサルコシンを導入するとよい。

[0073] 分岐型両親媒性ブロックポリマーの合成においては、疎水性ブロック部（ポリ乳酸部）の合成、親水性ブロック部（サルコシン部又はポリサルコシン部）の合成、及びそれらブロックを連結するリンカー部の合成がなされる。

[0074] 例えば、サルコシン又はポリサルコシン鎖とポリ乳酸鎖とを連結させるリンカー試薬を合成し、それを開始剤として、サルコシン部位の付加又はポリサルコシン部位の重合反応による伸長及びポリ乳酸部位の重合反応により伸長させることによって、分岐型両親媒性ブロックポリマーを合成することができる。

[0075] また例えば、サルコシンをリンカー試薬に付加させた後に、又は、ポリサルコシン鎖を親水性ブロックとして予め重合反応により調製し、リンカー試薬に付加させた後に、ポリ乳酸鎖を伸長させることによって、分岐型両親媒

性ブロックポリマーを合成することができる。

[0076] さらに例えば、ポリサルコシン又はポリサルコシン鎖及びポリ乳酸鎖の両方をそれぞれ親水性ブロック及び疎水性ブロックとして予め用意しておき、別途合成されたリンカー試薬を用いてそれらブロックを連結させることによって、分岐型両親媒性ブロックポリマーを合成することができる。

[0077] リンカー試薬の構造は、乳酸モノマー（乳酸やラクチド）又はポリ乳酸鎖と結合可能な官能基（例えば、水酸基、アミノ基等）を１個又は所望の疎水性ブロック側分岐数に相当する数だけ有し、且つ、サルコシンモノマー（例えばサルコシンやＮ－カルボキシサルコシン無水物）又はポリサルコシンと結合可能な官能基（例えばアミノ基）を所望の親水性ブロック側分岐数に相当する数だけ有することができる。この場合、リンカー試薬において、サルコシンモノマー又はポリサルコシンと結合可能な官能基のそれぞれが可能な限り同様の反応性を有するように、当業者によって適宜分子設計がなされる。

[0078] 乳酸モノマー又はポリ乳酸鎖と結合可能な官能基と、サルコシンモノマー又はポリサルコシンと結合可能な官能基とは、それぞれ保護基によって保護されうる。この場合、それぞれの保護基としては、必要に応じて選択的に脱離させることが可能なものが当業者によって適宜選択される。例えば、親水性ブロック側分岐数が３である分岐型両親媒性ブロックポリマーを合成する場合のリンカー試薬は、例えばトリスヒドロキシメチルアミノメタン（Tris）構造を元に調製することができる。

[0079] さらに、疎水性ブロック側を分岐させる場合は、例えば上記のトリスヒドロキシメチルアミノメタン構造にさらに分岐点を増やした構造を元に調製することができる。さらに分岐点を増やした構造は、トリスヒドロキシメチルアミノメタンに、ポリ乳酸鎖と結合可能な官能基として例えばアミノ基を側鎖に有するアミノ酸（具体例として、リジン及びオルニチンが挙げられる）の、すべてのアミノ基が保護されているアミノ酸誘導体を付加し、その後脱保護することによって得ることができる。脱保護してフリーになったアミノ

基に対して、さらに同様のアミノ酸誘導体を付加することによって、分岐点を増やしていくことができる。

[0080] ポリサルコシン鎖及びポリ乳酸鎖の合成方法は、リンカー試薬における官能基に応じて当業者が適宜決定することができるものであり、公知のペプチド合成法及びポリエステル合成法から選択されてよい。

ペプチド合成は、例えば、リンカー試薬におけるアミノ基などの塩基性基を開始剤として、Ｎ－カルボキシサルコシン無水物(サルコシンＮＣＡ)を開環重合することなどによって行うことが好ましい。

ポリエステル合成は、例えば、リンカー試薬におけるアミノ基などの塩基性基を開始剤として、ラクチドを開環重合することなどによって行うことが好ましい。

[0081] なお、分岐数が上記具体例と異なる分岐型両親媒性ブロックポリマーを合成する場合は、有機化学的観点から当業者が種々の変更を適宜加えることによって調製することができる。

[0082] ポリサルコシン鎖及びポリ乳酸鎖の鎖長の調整は、重合反応における開始剤とモノマーとの仕込み比を調整することによって行うことができる。また、鎖長は、例えば^{1}ＨＮＭＲによって確認することができる。

[0083] ［２．分子集合体］

本発明において、親水性ブロックと疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマーの凝集により、或いは自己集合的な配向により、サイズがナノオーダーであるミセル、多重ミセル、ベシクル等の分子集合体（ナノ粒子）が形成される。

[0084] 以下に、両親媒性ブロックポリマーの例として、サルコシン単位を有する親水性ブロックと、乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマーを用いた場合について説明する。

[0085] 本発明において、分子集合体（ラクトソーム）は、上記の直鎖型又は分岐型両親媒性ポリマーの凝集により、或いは自己集合的な配向により成り立つ構造体である。本発明は、内側（コア部）が疎水性ブロック、外側（シェル

部）が親水性ブロックとなるように構成されたミセル形状の分子集合体であることが実用性の観点から好ましい。本発明の分子集合体は、適切な金属イオンを含有することによって、分子イメージングにおけるプローブとして、あるいは薬剤搬送システムにおける製剤として有用な構造体となる。

[0086] 分岐型両親媒性ブロックポリマーは、分岐鎖としての複数のポリサルコシン鎖の存在により、直鎖型両親媒性ブロックポリマーに比べて親水性部位の分子断面積が大きくなる。このため、分岐型両親媒性ブロックポリマーから形成された分子集合体は、粒子としての安定性に優れている。さらにこの粒子は大きな曲率を備えることができる。このことから、分岐型ブロックポリマーからなる分子集合体は、粒子の小型化が可能になるという基本的特徴を有する。

[0087] また、分岐型両親媒性ブロックポリマーから構成される分子集合体は、分岐鎖としての複数のポリサルコシン鎖の存在により、直鎖型のラクトソームに比べて表面における親水性基の密度が高く、疎水性部位の露出が少ないという基本的特徴を有する。

[0088] 両親媒性ブロックポリマーを溶解させるための有機溶媒としては、例えばトリフルオロエタノール、エタノール、ヘキサフルオロイソプロパノール、ジメチルスルホキシド、ジメチルホルムアミドなどが用いられる。また、水系液は水又は水溶液を意味している。蒸留水、注射用蒸留水、生理食塩水、緩衝液などが用いられる。

[0089] ［３．分子集合体の作製］

親水性ブロックと疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマーから構成される分子集合体（ナノ粒子）の製造について図面を参照して説明する。

[0090] 図１は、本発明におけるナノ粒子の製造装置の例を示す概略構成図である。図１において、ナノ粒子の製造装置は、

ポリマー溶液供給流路Ｃｐと、

水系液供給流路Ｃｗ1，Ｃｗ2と、

前記ポリマー溶液供給流路Ｃｐと前記水系液供給流路Ｃｗ1，Ｃｗ2とが合流する合流部Ｊと、

前記合流部Ｊの下流側に位置するナノ粒子形成流路Ｃｎと、

前記ナノ粒子形成流路Ｃｎの下流端のナノ粒子含有液出口Ｏｎと、

前記ナノ粒子含有液出口Ｏｎから排出されるナノ粒子含有液中のナノ粒子の粒子径の統計量をリアルタイムで測定する粒子径測定装置３１と、

測定された粒子径の統計量に基づいて、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方を自動的に制御する制御ユニットＵと、

を有する。

[0091] 図１に例示されるように、前記製造装置の構成要素として、

ポリマー溶液入口Ｉｐと、前記ポリマー溶液入口Ｉｐに接続したポリマー溶液供給流路Ｃｐと、

水系液入口Ｉｗ1，Ｉｗ2と、前記水系液入口Ｉｗ1，Ｉｗ2にそれぞれ接続した水系液供給流路Ｃｗ1，Ｃｗ2と、

前記ポリマー溶液供給流路Ｃｐと前記水系液供給流路Ｃｗ1，Ｃｗ2とが合流する合流部Ｊと、

前記合流部Ｊの下流側に位置するナノ粒子形成流路Ｃｎと、

前記ナノ粒子形成流路Ｃｎの下流端のナノ粒子含有液出口Ｏｎと、

を有するマイクロフローセル１を用いるとよい。マイクロフローセル１は、ヒーター２及び熱電対を具備して、温度調節が可能となされている。マイクロフローセル１としては、種々のものが入手可能である。

[0092] 図１において、前記製造装置は、ポリマー溶液供給のために、ポリマー溶液タンク１１と、シリンジポンプ１３を備え且つ前記タンク１１から管路１２で接続された三方弁１４と、三方弁１４から伸びて前記マイクロフローセル１のポリマー溶液入口Ｉｐに接続されている管路１５とを有している。

[0093] また、前記製造装置は、水系液供給のために、水系液タンク２１と、シリンジポンプ２３を備え且つ前記タンク２１から管路２２で接続された三方弁２４と、三方弁２４から伸びた管路２５と、前記管路２５から２つに分岐し

て伸びて前記マイクロフローセル１の水系液入口Ｉｗ1，Ｉｗ2にそれぞれ接続されている管路２６，２７とを有している。

[0094] 前記製造装置において、粒子径測定装置３１は、前記ナノ粒子含有液出口Ｏｎから伸びた管路３０に接続されている。粒子径測定装置３１は、静的光散乱法、動的光散乱法、又は多角度レーザー光散乱法に基づく装置であってもよいが、通常、測定用フローセルを有するものであり、ナノ粒子含有液が測定用フローセルを通過する間にナノ粒子の粒子径がリアルタイムで測定される。動的光散乱法を利用した粒子径計測装置としては、例えば、Malvern Zetasizer nano等、静的光散乱法を利用した粒子径計測装置としては、例えば、島津SALD-7100等、多角度レーザー光散乱法を利用した粒子径計測装置としては、例えば、Wyatt Technology社のDAWN HELEOS等を利用することができる。前記製造装置は、粒子径測定装置３１から出たナノ粒子含有液を管路３２を介して回収するタンク３３を有している。

[0095] 前記製造装置において、制御ユニットＵは、前記粒子径測定装置３１で測定された粒子径データが入力５１され、予め求められた前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量と前記ナノ粒子の粒子径との関係に基づいて、測定された粒子径が目的とする値となるように前記合流部Ｊへの前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量を決定及び制御するコンピュータＰＣと、前記コンピュータＰＣから出力された制御信号５２に基づいて、前記マイクロフローセル１の温度調節５６，２を行い且つ前記合流部Ｊへの前記ポリマー溶液の供給量Ｐ２，５４及び前記水系液の供給量Ｐ１，５５を制御するコントローラ５３とを有している。前記ポリマー溶液の供給量の調節は、前記シリンジポンプ１３及び前記三方弁１４によって行われる。前記水系液の供給量の調節は、前記シリンジポンプ２３及び前記三方弁２４によって行われる。図１に例示の装置においては、水系液の供給量は２つの水系液供給流路Ｃｗ1，Ｃｗ２に分配される。

[0096] このような製造装置を用いて、予め、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量（すなわち、前記ポリマー溶液の供給量と前記水系液の供給

量との比率、及び／又は、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量のトータル流量）と、前記ナノ粒子の粒子径との関係を求めておく。

[0097] 所定濃度の前記両親媒性ブロックポリマー溶液を調製し、所定温度にて、前記合流部Ｊへの前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量を変化させて、それぞれの前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量条件下において前記両親媒性ブロックポリマーからなるナノ粒子を形成する。そして、前記形成されたナノ粒子の粒子径をそれぞれ測定する。この際の粒子径の測定は、必ずしもリアルタイムで行う必要はない。得られたデータから、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量と前記ナノ粒子の粒子径との関係を求めることができる。

[0098] また、前記両親媒性ブロックポリマー溶液の濃度を変化させると、異なる前記両親媒性ブロックポリマー溶液の濃度における、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量と前記ナノ粒子の粒子径との関係を求めることができる。さらに、ナノ粒子形成温度を変化させると、異なる温度における、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量と前記ナノ粒子の粒子径との関係を求めることができる。

[0099] 求められた前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量と前記ナノ粒子の粒子径との関係をコンピュータＰＣに入力しておく。そうすることにより、実際の連続製造において、測定された粒子径が目的とする値となるように、コンピュータＰＣが、前記合流部Ｊへの前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量を決定及び制御する。目的とする均一粒径の単分散性の（Ｐｄｌ値の小さい）ナノ粒子が連続的に製造される。なお、Ｐｄｌは、多分散性指数（polydispersity index）であり、Ｐｄｌ値が小さいほど、粒子径分布の幅が小さい。

[0100] 本発明において、例えば１０～２００ｎｍの範囲の均一な粒子径を有する分子集合体（ナノ粒子）を製造することができる。ここで「粒子径」とは、粒子分布で最も出現頻度の高い粒径、すなわち中心粒径をいう。しかしながら、単分散性のものであるので平均粒子径で表してもよい。本発明のナノ粒

子の大きさを測定するための方法は特に限定されるものではなく、当業者によって適宜選択されるものである。例えば、透過型電子顕微鏡（Transmission Electron Microscope;ＴＥＭ）又は原子間力顕微鏡（Atomic Force Microscope;ＡＦＭ）による観察法や、静的光散乱法、動的光散乱（Dynamic Light Scattering;ＤＬＳ）法などが挙げられる。ＤＬＳ法においては、溶液中でブラウン運動している粒子の移動拡散係数を測定する。本明細書の実施例においては、動的光散乱法を用いている。

[0101] ナノ粒子の粒子径は、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方（すなわち、前記ポリマー溶液の供給量と前記水系液の供給量との比率、及び／又は、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量のトータル流量）を変化させることにより制御することができる。実施例において示されるように、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量のトータル流量を大きくすることにより、ナノ粒子の粒子径は小さくなり、且つＰｄＩ値も小さくなる。前記ポリマー溶液の供給量と前記水系液の供給量との比率については、前記水系液の供給量の比率を高くすることによって、一般に、ナノ粒子の粒子径は小さくなり、且つＰｄＩ値も小さくなる。

[0102] また、両親媒性ブロックポリマーにおける親水性ブロックが分岐構造であれば、それらから構成される粒子の粒子径は直鎖型のものに比べて小さくなる。例えば、ラクトソームの場合には、直鎖型ポリマーからなる粒子の粒子径は２０～２００ｎｍ程度、好ましくは２５～４０ｎｍ程度をとり得るのに対して、分岐型ポリマーからなる粒子の粒子径は１０～３０ｎｍ程度をとり得る。直鎖型ポリマーと分岐型ポリマーとを併用して、その比率を変化させることによって、さらに粒子径を制御できる。粒子径が小さい（例えば５０ｎｍ以下）ものほど、生体内に投与した場合にＥＰＲ効果が得られやすい。

[0103] 回収されたナノ粒子含有液３３について適宜、後処理を行うとよい。後処理工程としては、有機溶媒を除去する工程が行われる。さらに、有機溶媒を除去する工程の前に、適宜精製処理工程を行ってもよい。精製処理としては

、例えばゲルろ過クロマトグラフィー、フィルタリング、超遠心などの処理を行うことができる。このようにして、ナノ粒子の溶液ないしは分散液を得ることができる。

[0104] 得られたナノ粒子の溶液ないしは分散液を凍結乾燥処理しても良い。凍結乾燥処理の方法としては公知の方法を特に限定されることなく用いることができる。たとえば、上記のようにして得られたナノ粒子の溶液ないしは分散液を液体窒素などによって凍結させ、減圧下で昇華させることによって行うことができる。これにより、分子集合体の凍結乾燥処理物が得られる。すなわち、分子集合体を凍結乾燥処理物として保存することが可能になる。必要に応じ、この凍結乾燥物に水又は水溶液を加えて、分子集合体の分散液を得ることによって、分子集合体を使用に供することができる。水又は水溶液としては特に限定されることなく、生化学的、薬学的に許容することができるものを当業者が適宜選択すればよい。例えば、注射用蒸留水、生理食塩水、緩衝液などが挙げられる。

[0105] ［４．薬剤搬送システム・分子イメージング］

本発明において、ナノ粒子を作製するに際して、前記ポリマー溶液中に薬剤及び／又は標識剤を含有させて、薬剤及び／又は標識剤を含有するナノ粒子を得ることができる。この場合、薬剤及び／又は標識剤は、有機溶剤に対して溶解性を有するものである。また、ナノ粒子を作製するに際して、前記水系液中に、薬剤及び／又は標識剤を含有させて、薬剤及び／又は標識剤を含有するナノ粒子を得ることができる。この場合、薬剤及び／又は標識剤は、水に対して溶解性を有するものである。薬剤及び／又は標識剤については、当業者が、目的に応じて適宜選択するとよい。

[0106] ［４－１．分子集合体の投与対象］

本発明において、薬剤搬送システム及び分子イメージングは、上記の分子集合体を生体内に投与することを含む。分子集合体を投与される生体としては特に限定されないが、ヒト又は非ヒト動物でありうる。非ヒト動物としては特に限定されないが、ヒト以外の哺乳類、より具体的には、霊長類、齧歯

類（マウス、ラットなど）、ウサギ、イヌ、ネコ、ブタ、ウシ、ヒツジ、及びウマなどが挙げられる。

[0107] 本発明の方法において用いられる分子集合体は、血管病変部位（例えば、悪性腫瘍部位、炎症部位、動脈硬化部位、血管新生部位など）への特異的集積性に優れたものである。本発明分子集合体は、ＥＰＲ（enhanced permeability and retention）効果によりこれらの部位の組織へ集積するため、その集積性は血管病変部位の組織の種類によらない。本発明の蛍光プローブの投与ターゲットとしてはがんであることが好ましい。投与ターゲットとなりうるがんは多岐に亘る。例えば、肝臓がん、すい臓がん、肺がん、子宮頸がん、乳がん、大腸がんなどが挙げられる。

[0108] ［４－２．投与］

生体内への投与の方法としては特に限定されず、当業者が適宜決定することができる。従って、投与の方法としては、全身投与及び局所投与とを問わない。すなわち、分子プローブの投与は、注射（針有型、針無型）、内服、外用のいずれの方法によっても行うことができる。

[0109] ［４－３．分子集合体の検出］

本発明において、分子イメージングにおいては、投与された分子集合体に由来するシグナルを検出する工程を含む。投与された分子集合体を検出することによって、体外から投与ターゲットの様子（特にがんなどの組織の位置・大きさ）を観測することができる。検出方法としては、投与された分子集合体を可視化させることができるあらゆる手段を用いることができる。検出手段としては、分子集合体が有する標識剤の種類に応じて、当業者が適宜決定することができる。

[0110] 投与から検出開始までの時間は、当業者が適宜決定することができる。例えば、投与後１～２４時間とすることができる。腫瘍部及び腫瘍部以外へのラクトソーム集積量や集積量の時間変化を検出手段により調べる。

[0111] なお、分子集合体の検出は、正確性の観点から、生体の一方向からではなく、複数の方向からの測定によって行うことが好ましい。具体的には、少な

くとも３方向、より好ましくは少なくとも５方向からの測定を行うと良い。５方向からの測定を行う場合は、例えば、左右両腹側から、左右両体側から、及び背中側からの測定を行うことができる。

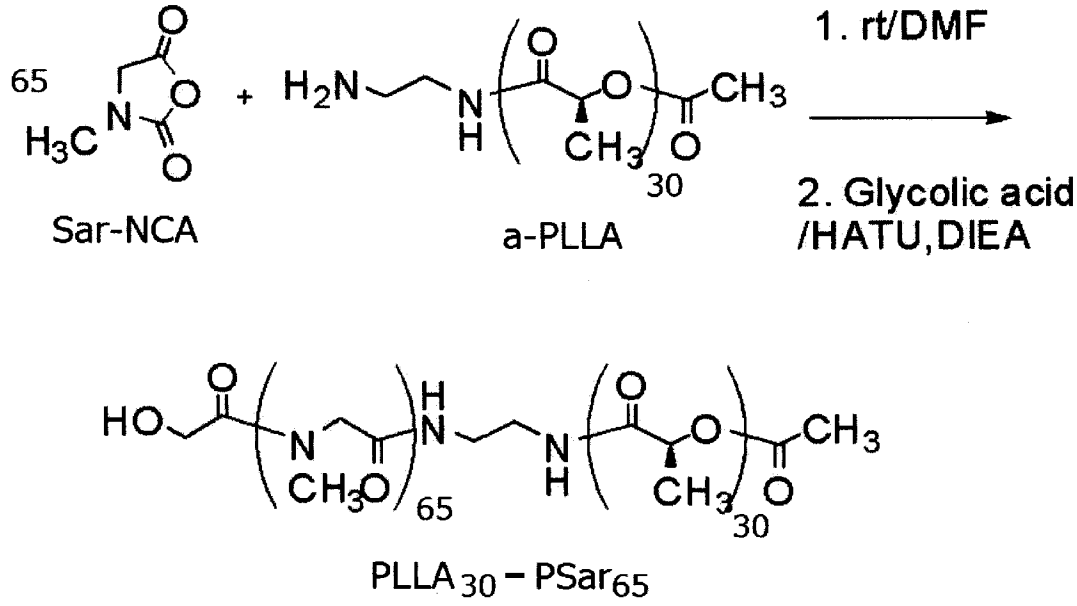
実施例

[0112] 以下に本発明をより詳細に説明するために実施例を示すが、本発明はこれら実施例に限定されるものではない。

[0113] ［直鎖型両親媒性ブロックポリマー（$PLLA_{30}$-$PSar_{65}$）］

実施例において、サルコシン単位６５個からなる親水性ブロックとＬ－乳酸単位３０個からなる疎水性ブロックとを有する直鎖型両親媒性ブロックポリマー（$PLLA_{30}$-$PSar_{65}$）を用いた。ポリマーの合成は、ＷＯ２００９／１４８１２１号公報、ＷＯ２０１２／１７６８８５公報に記載の方法を参照して、サルコシン－ＮＣＡ(Sar-NCA)とアミノ化ポリＬ－乳酸(a-PLLA)とから、グリコール酸、Ｏ－（ベンゾトリアゾル－１－イル）－Ｎ，Ｎ，Ｎ’，Ｎ’－テトラメチルウロニウムヘキサフルオロリン酸塩（HATU）及びＮ，Ｎ－ジイソプロピルエチルアミン（DIEA）を用いて行った。

[0114] [化3]



[0115] ［実施例１］

図１に示した装置を用いて、直鎖型両親媒性ブロックポリマー（$PLLA_{30}$-$PSar_{65}$）から次のようにしてナノ粒子を作製し、粒子径制御を行った。

[0116] 図１において、マイクロフローセル１としてチップ型ミキサー（英国Dolomite社製、Micromixer Chip Part No. 3000144)を用いた。粒子径測定装置３１としては、動的光散乱法を利用したMalvern Zetasizer nanoを用いた。水２１としては、Ｍｉｌｌｉ－Ｑを使用した。ポリマー溶液１１としては、両親媒性ブロックポリマー（$PLLA_{30}$-$PSar_{65}$）をＮ，Ｎ－ジメチルホルムアミド（ＤＭＦ）に１０ｍｇ／ｍＬの濃度で溶解させ、オイルバスにより６０℃で３０ｍｉｎ撹拌し、室温まで降温したものを使用した。

[0117] まず、コンピュータＰＣからコントローラ５３に信号５２を送り、コントローラ５３は信号５２に基づいて三方弁１４，２４、シリンジポンプ１３，２３、及びヒータ２を調節し、水２１及びポリマー溶液１１の送液流量を設定し、マイクロフローセル１内のポリマー溶液供給流路Ｃｐと水系液供給流路Ｃｗ1，Ｃｗ2との合流部Ｊ、及びナノ粒子形成流路Ｃｎの温度を設定した。

[0118] 次に、設定された条件で水２１及びポリマー溶液１１を合流部Ｊにおいて混合し、合流部Ｊからナノ粒子形成流路Ｃｎを通過する間にナノ粒子を形成した。出口Ｏｎから出たナノ粒子含有液を管路３０を介して粒子径測定装置３１の測定用フローセルに送り、ナノ粒子の粒子径を測定し、その後、ナノ粒子含有液を管路３２を介してタンク３３に回収した。粒子径測定結果をコンピュータＰＣに保存した。

[0119] 水２１及びポリマー溶液１１について上記とは異なる送液流量、及び温度条件を改めて再設定し、上記と同様の操作を行った。このようにして、複数の異なる流量、及び温度条件下でそれぞれ、ナノ粒子形成と粒子径測定を実行し、各設定流量、及び設定温度に対する粒子径変化の情報をコンピュータＰＣ内に蓄積した。これら得られたデータから、水２１及びポリマー溶液１１流量、および温度に対する粒子径依存性を定式化（関数化）し、あらかじめコンピュータＰＣ内に関数を導入した。

[0120] 実際に目的の粒子径のナノ粒子を連続的に形成するに当たり、目的の粒子径をコンピュータＰＣに入力しておく。コンピュータＰＣが前記関数から水２１及びポリマー溶液１１についての最適の送液流量、及び温度条件を計算し、且つ粒子径測定装置３１がリアルタイムで粒子径を測定して、測定された粒子径をコンピュータＰＣにフィードバックすることにより、ナノ粒子の粒子径を均一になるように自動的に制御することができる。このようにして、これら一連の処理により、ナノ粒子の連続的製造において、効率的で再現性の高い粒子径制御が可能となる。

[0121] 水２１及びポリマー溶液１１のトータルTotal流量Ｆ（水+原料ポリマー流量）の制御により平均粒子径（ｎｍ）を制御した結果を図２に示す。ナノ粒子製造を行った条件は、以下の通りである。

[0122] 原料ポリマー：$PLLA_{30}$-$PSar_{65}$

溶媒：ＤＭＦ（Ｎ，Ｎ－ジメチルホルムアミド）

ポリマー濃度：１０ｍｇ／ｍＬ

混合比：蒸留水／原料ポリマー溶液＝９／１（ＦＲＰ＝９／１）

トータル流量Ｆ：１，０００μＬ／ｍｉｎ～４，０００μＬ／ｍｉｎ

ナノ粒子への内包物：なし

温度：２９３Ｋ

粒子径測定法：動的光散乱法（ＤＬＳ：Malvern Zetasizer-nano）

[0123] [表1]

POINT	Z-Average[nm]	PdI[-]
A	35.2	0.23
B	31.6	0.18
C	28.6	0.11
D	27.0	0.09

[0124] 図２は、ポリマー溶液の供給量及び水系液の供給量のトータル流量Ｆ［μＬ／ｍｉｎ］（横軸）に対する、ナノ粒子の平均粒子径［ｎｍ］の変化（左縦軸）及びＰｄｌ［－］の変化（右縦軸）を示すグラフである。

[0125] 図２中に示されているように、ナノ粒子の平均粒子径y_1［ｎｍ］は、トータル流量ｘ［μＬ／ｍｉｎ］の関数として、

y_1＝５Ｅ-０７x^2－０．００５２ｘ＋３９．９３２

として表された。

[0126] また、ナノ粒子のＰｄｌ値y_2［ｎｍ］は、トータル流量ｘ［μＬ／ｍｉｎ］の関数として、

y_2＝１Ｅ-１１x^3－８Ｅ-０８x^2＋０．０００１ｘ＋０．１８５４

として表された。

[0127] 上記実施例より、ナノ粒子の平均粒子径、及びＰｄｌ値はトータル流量Ｆに依存して変化し、流量Ｆ（ｘ）との関係はそれぞれ２次、及び３次の近似式で記述されることがわかる。このように、得られる平均粒子径をトータル流量Ｆの関数として求めておくことにより、設定すべきトータル流量をＦを、目的とする平均粒子径から自動的に計算することができ、粒子径制御が可能となる。

[0128] 上記実施例では、粒子径の統計量としてＤＬＳにより測定した平均粒子径を用いたが、必ずしも平均粒子径である必要はなく、ある瞬間に測定された単一の粒子の粒子径であってもよく、複数の粒子の粒子径をヒストグラムで表した場合のピークの粒子径であってもよい。その他、作製された粒子の物理的な大きさが反映された統計量である限りにおいて、粒子径の統計量を種々変更することができる。

符号の説明

[0129] １：マイクロフローセル

２：ヒーター

Ｊ：合流部

Ｃｐ：ポリマー溶液供給流路

Ｃｗ1，Ｃｗ2：水系液供給流路

Ｃｎ：ナノ粒子形成流路

Ｏｎ：ナノ粒子含有液出口

１１：ポリマー溶液タンク

１３：シリンジポンプ

１４：三方弁

２１：水系液タンク

２３：シリンジポンプ

２４：三方弁

３１：粒子径測定装置

Ｕ：制御ユニット

ＰＣ：コンピュータ

５３：コントローラ

請求の範囲

[請求項1] 親水性ブロックと疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマーから構成されるナノ粒子の製造方法であって、

ポリマー溶液供給流路と、

水系液供給流路と、

前記ポリマー溶液供給流路と前記水系液供給流路とが合流する合流部と、

前記合流部の下流側に位置するナノ粒子形成流路と、

前記ナノ粒子形成流路の下流端のナノ粒子含有液出口と、

を有するナノ粒子の製造装置を用いて、

前記両親媒性ブロックポリマー溶液を前記ポリマー溶液供給流路を介して前記合流部に供給すると共に、前記水系液を前記水系液供給流路を介して前記合流部に供給し、

前記合流部から前記ナノ粒子形成流路の下流側に向かって前記ポリマー溶液の層流と前記水系液の層流とを互いに接触させながら、両親媒性ブロックポリマーからなるナノ粒子を形成し、

前記ナノ粒子含有液出口から前記形成されたナノ粒子を含有する液を得る、

ことを含み、且つ、

前記形成されたナノ粒子の粒子径の統計量をリアルタイムで測定すると共に、当該統計量が目的とする値となるように、前記合流部への前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方を制御して、それによりナノ粒子の粒子径を制御することを含む、ナノ粒子の製造方法。

[請求項2] 予め、

所定濃度の前記両親媒性ブロックポリマー溶液を調製し、

前記ナノ粒子の製造装置を用いて、

前記合流部への前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量

の少なくとも一方を変化させて、それぞれの前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量条件下において前記両親媒性ブロックポリマーからなるナノ粒子を形成し、

前記形成されたナノ粒子の粒子径の統計量をそれぞれ測定し、

前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量と、前記ナノ粒子の粒子径の統計量との関係を求めておき、

その関係に基づいて、前記合流部への前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方を決定及び制御して、それによりナノ粒子の粒子径を制御する、請求項１に記載のナノ粒子の製造方法。

[請求項3] 前記両親媒性ブロックポリマー溶液の濃度を変化させて、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量と、前記ナノ粒子の粒子径の統計量との関係を予め求めておく、請求項２に記載のナノ粒子の製造方法。

[請求項4] 粒子径の測定を、静的光散乱法、動的光散乱法、又は多角度レーザー光散乱法により行う、請求項１～３のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[請求項5] 前記両親媒性ブロックポリマーは、アルキレンオキシド単位及び／又はサルコシン単位を有する親水性ブロックと、ヒドロキシ酸単位を有する疎水性ブロックとを有する、請求項１～４のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[請求項6] 前記両親媒性ブロックポリマーは、サルコシン単位を有する親水性ブロックと、乳酸単位を有する疎水性ブロックとを有する、請求項１～５のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[請求項7] 前記親水性ブロックに含まれるサルコシン単位の合計は２～３００個である、請求項６に記載のナノ粒子の製造方法。

[請求項8] 前記疎水性ブロックに含まれる乳酸単位は５～４００個である、請求項６又は７に記載のナノ粒子の製造方法。

[請求項9] 形成されるナノ粒子の粒子径が１０～２００ｎｍである、請求項１～８のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[請求項10] 形成されるナノ粒子の粒度分布は単峰性を示す、請求項１～９のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[請求項11] 前記ポリマー溶液中に薬剤及び／又は標識剤を含有させて、薬剤及び／又は標識剤を含有するナノ粒子を得る、請求項１～１０のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[請求項12] 前記水系液中に、薬剤及び／又は標識剤を含有させて、薬剤及び／又は標識剤を含有するナノ粒子を得る、請求項１～１１のいずれかに記載のナノ粒子の製造方法。

[請求項13] 親水性ブロックと疎水性ブロックとを有する両親媒性ブロックポリマーから構成されるナノ粒子の製造装置であって、

ポリマー溶液供給流路と、

水系液供給流路と、

前記ポリマー溶液供給流路と前記水系液供給流路とが合流する合流部と、

前記合流部の下流側に位置するナノ粒子形成流路と、

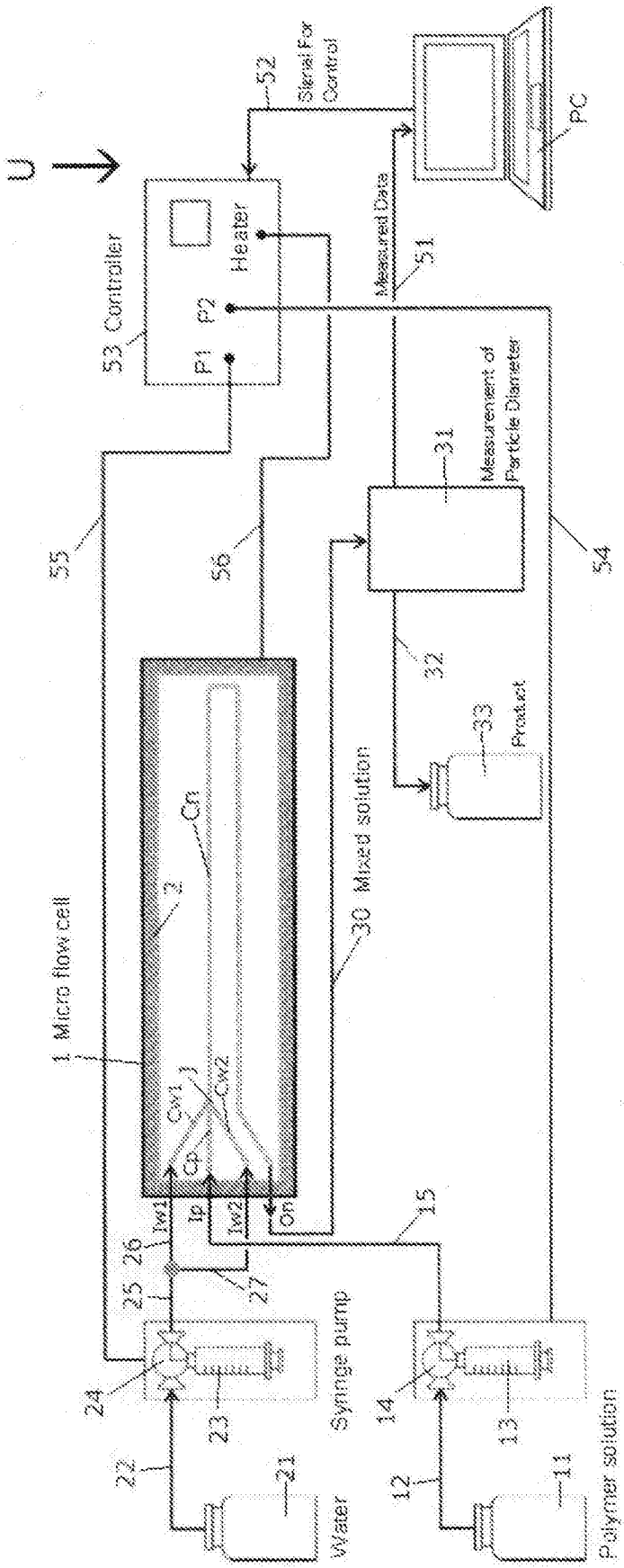
前記ナノ粒子形成流路の下流端のナノ粒子含有液出口と、

前記ナノ粒子含有液出口から排出されるナノ粒子含有液中のナノ粒子の粒子径の統計量をリアルタイムで測定する粒子径測定装置と、

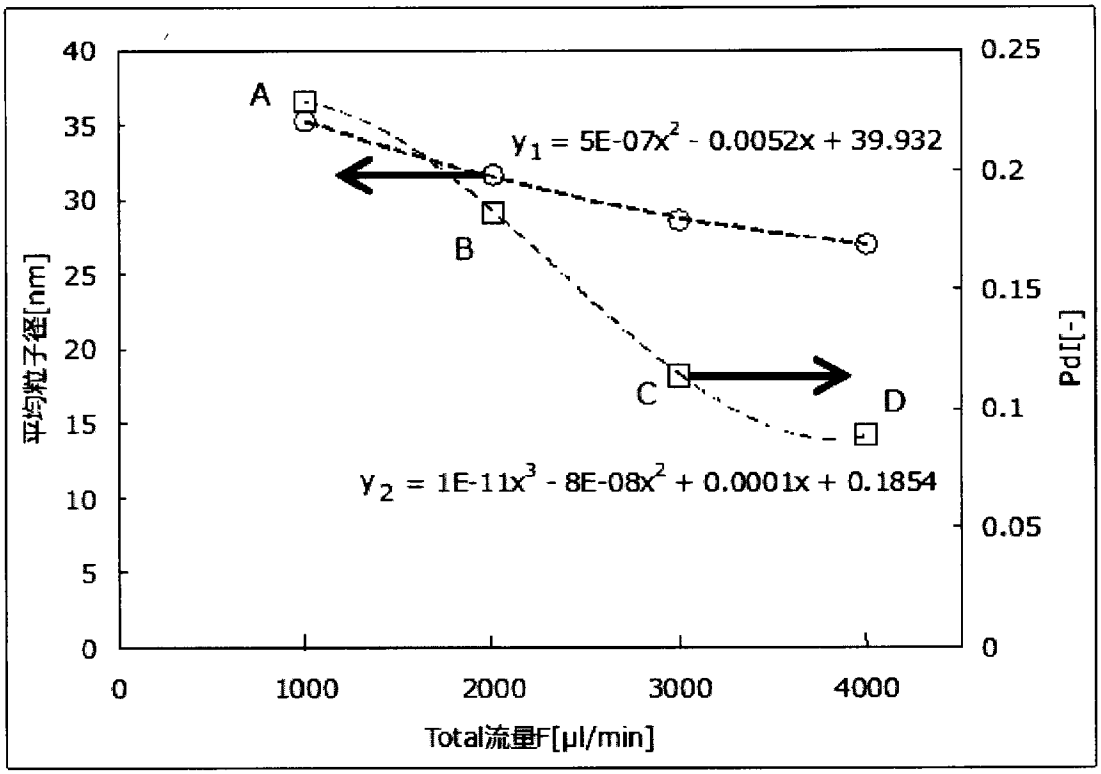
測定された粒子径の統計量に基づいて、前記ポリマー溶液の供給量及び前記水系液の供給量の少なくとも一方を自動的に制御する制御ユニットと、

を有するナノ粒子の製造装置。

[図1]


U
52 Signal For Control
PC
53 Controller
Heater
P2
P1
Measured Data
51
31 Measurement of Particle Diameter
55
56
54
32
33 Product
30 Mixed solution
1 Micro flow cell
2
Cn
Cw1
Cw2
Cp
Iw1
Ip
Iw2
On
15
26
25
27
24
23
Syringe pump
14
13
22
21
Water
12
11
Polymer solution

[図2]


40
35
30
25
20
15
10
5
0
0
1000
2000
3000
4000
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
A
B
C
D
$y_1 = 5E\text{-}07x^2 - 0.0052x + 39.932$
$y_2 = 1E\text{-}11x^3 - 8E\text{-}08x^2 + 0.0001x + 0.1854$
平均粒子径[nm]
PdI[-]
Total流量F[μl/min]

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2015/059077

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C08J3/14(2006.01)i, *A61K9/14*(2006.01)i, *A61K47/30*(2006.01)i, *A61K49/00*(2006.01)i, *B82Y5/00*(2011.01)i, *B82Y40/00*(2011.01)i, *B01J19/00*(2006.01)n

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

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C08J3/00-3/28, A61K9/00-9/72, 47/00-47/48, 49/00-49/22, B82Y5/00, 40/00, B01J19/00-19/32

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2015
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2015 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2015

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2012/176885 A1 (Shimadzu Corp. et al.), 27 December 2012 (27.12.2012), claims; paragraphs [0060] to [0064], [0081] to [0088]; examples; drawings & CN 103635514 A & EP 2725053 A1 & US 2014/0127132 A1	1-13
Y	JP 2008-239902 A (Fujifilm Corp.), 09 October 2008 (09.10.2008), claims; paragraphs [0044], [0127]; examples; drawings (Family: none)	1-13

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

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of 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	Date of mailing of the international search report
22 June 2015 (22.06.15)	30 June 2015 (30.06.15)
Name and mailing address of the ISA/ Japan Patent Office 3-4-3,Kasumigaseki,Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915,Japan	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2015/059077

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	JP 2014-156555 A (Shimadzu Corp.), 28 August 2014 (28.08.2014), claims; paragraphs [0103] to [0106]; examples; drawings (Family: none)	1-13

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１５／０５９０７７

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C08J3/14(2006.01)i, A61K9/14(2006.01)i, A61K47/30(2006.01)i, A61K49/00(2006.01)i, B82Y5/00(2011.01)i, B82Y40/00(2011.01)i, B01J19/00(2006.01)n

Ｂ．　調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C08J3/00-3/28, A61K9/00-9/72,47/00-47/48,49/00-49/22, B82Y5/00,40/00, B01J19/00-19/32

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０１５年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１５年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１５年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

Ｃ．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	WO 2012/176885 A1（株式会社島津製作所　外１名） 2012.12.27, 請求の範囲, [0060]-[0064], [0081]-[0088], 実施例, 図面 & CN 103635514 A & EP 2725053 A1 & US 2014/0127132 A1	１－１３
Y	JP 2008-239902 A（富士フイルム株式会社） 2008.10.09, 特許請求の範囲, [0044], [0127], 実施例, 図面 （ファミリーなし）	１－１３

☑　Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☐　パテントファミリーに関する別紙を参照。

＊　引用文献のカテゴリー
「Ａ」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「Ｅ」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「Ｌ」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
「Ｏ」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「Ｐ」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
「Ｔ」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「Ｘ」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Ｙ」特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「＆」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
２２．０６．２０１５	３０．０６．２０１５

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
郵便番号１００－８９１５
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

特許庁審査官（権限のある職員）　４Ｆ　９２８０
山　本　　昌　広
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４３０

Ｃ（続き）．　関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー＊	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Ｐ，Ｘ	JP 2014-156555 A（株式会社島津製作所） 2014.08.28，特許請求の範囲，[0103]-[0106]，実施例，図面 （ファミリーなし）	１－１３