

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7198210号
(P7198210)

(45)発行日 令和4年12月28日(2022.12.28)

(24)登録日 令和4年12月20日(2022.12.20)

(51)国際特許分類	F I		
C 0 7 H 7/033(2006.01)	C 0 7 H 7/033	C S P	
C 0 7 D 249/04 (2006.01)	C 0 7 D 249/04	5 0 2	
C 0 8 F 20/60 (2006.01)	C 0 8 F 20/60		
C 0 8 B 37/04 (2006.01)	C 0 8 B 37/04		
A 6 1 K 9/06 (2006.01)	A 6 1 K 9/06		
請求項の数 19 (全122頁) 最終頁に続く			

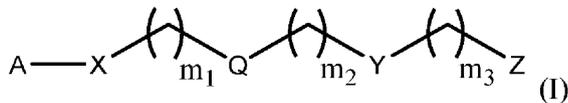
(21)出願番号	特願2019-540665(P2019-540665)	(73)特許権者	508057896 コーネル・ユニバーシティー CORNELL UNIVERSITY アメリカ合衆国14850ニューヨーク 州イサカ、バイン・トゥリー・ロード3 95番、スウィート310
(86)(22)出願日	平成30年1月27日(2018.1.27)	(74)代理人	100102978 弁理士 清水 初志
(65)公表番号	特表2020-506919(P2020-506919 A)	(74)代理人	100102118 弁理士 春名 雅夫
(43)公表日	令和2年3月5日(2020.3.5)	(74)代理人	100160923 弁理士 山口 裕孝
(86)国際出願番号	PCT/US2018/015613	(74)代理人	100119507 弁理士 刑部 俊
(87)国際公開番号	WO2018/140834	(74)代理人	100142929
(87)国際公開日	平成30年8月2日(2018.8.2)		
審査請求日	令和3年1月26日(2021.1.26)		
(31)優先権主張番号	62/451,629		
(32)優先日	平成29年1月27日(2017.1.27)		
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		
最終頁に続く			

(54)【発明の名称】 両性イオン性改変ポリマーおよびヒドロゲル

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】

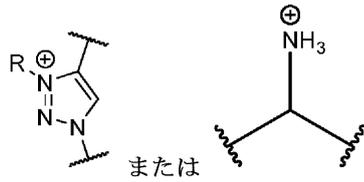
式(I)：



のモノマーであって、
式中、

- Aは、サッカリド含有単位およびポリビニルアルコール含有単位から選択され；
- Xは、O、NH、NR'、C(O)、およびC₁~20アルキレンからなる群から選択され、ここで、C₁~20アルキレンは、OH、ハロゲン、シアノ、-CF₃、およびC₁~6アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回置換されていてよく；
- Qは、存在しないか、またはリンカーであり；
- Yは、

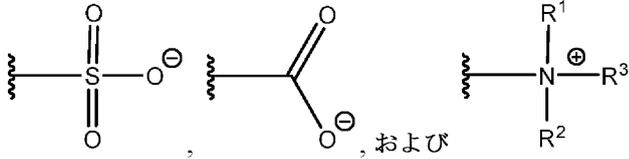
10



または

であり；

Z は、



10

からなる群から選択され；

m_1 は、0 ~ 50 であり；

m_2 は、0 ~ 50 であり；

m_3 は、0 ~ 50 であり；

R は、 C_{1-20} アルキルであり；

R' は、 $-\text{C}(\text{O})-\text{C}_{1-6}$ アルケンであり；

R^1 は、 C_{1-20} アルキルであり；

R^2 は、 C_{1-20} アルキルであり；

R^3 は、 C_{1-20} アルキルである、

前記モノマー。

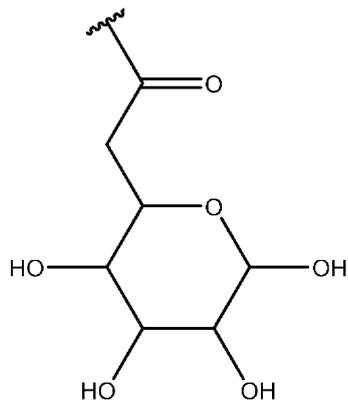
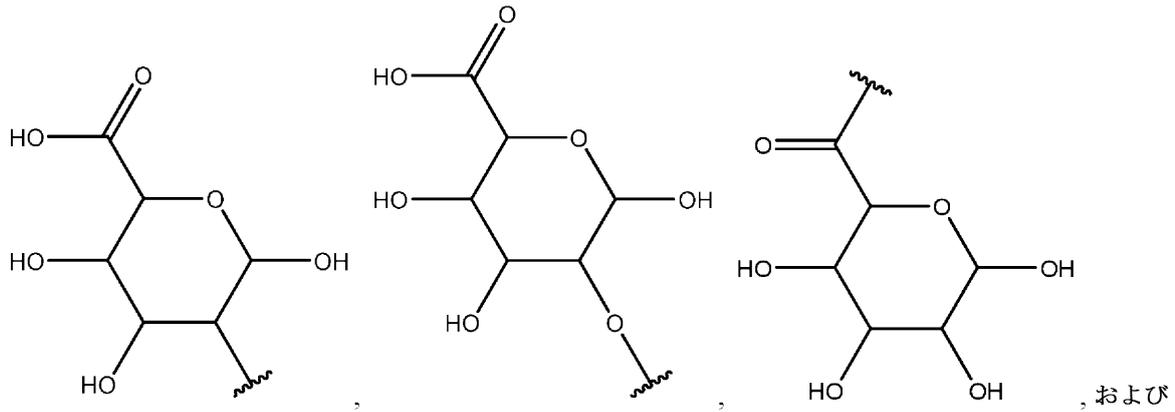
【請求項 2】

(a) A が、単糖、二糖、三糖、およびオリゴ糖からなる群から選択され、
 または、A が、置換または非置換のヘキソース、ヘキスロース、ヘキサロン酸、ペントース、ペンツロース、およびペンツロン酸からなる群から選択される単糖であり、
 または、A が、

30

40

50



からなる群から選択され、

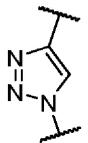


が、A から X への結合点である；および/または

(b) Q が、存在しており、C₁~20 アルキレン、C₃~20 シクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、ヘテロシクレン、-O-C₁~20 アルキレン、ポリ(エチレングリコール)、およびポリペプチドからなる群から選択され；ここで、C₁~20 アルキレン、C₃~20 シクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、ヘテロシクリレン、または-O-C₁~20 アルキレンは、-OH、ハロゲン、シアノ、-CF₃、C₁~6 アルキル、および C₁~6 アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回置換されていてよく；C₁~20 アルキレンは、酸素、窒素、硫黄、および窒素からなる群から選択される1以上のヘテロ原子によって中断されていてよく、

または、Q がヘテロアリーレンであり、

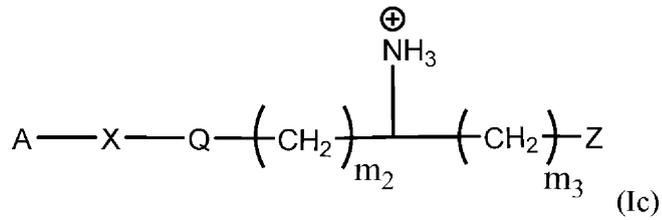
または、Q が



である、請求項1に記載のモノマー。

【請求項3】

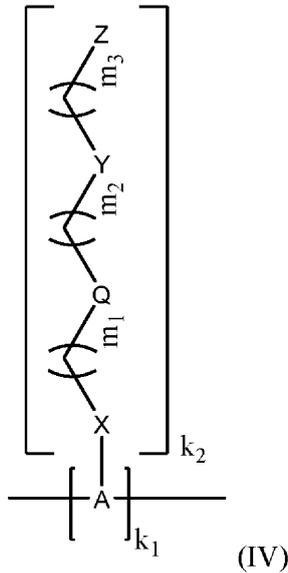
式(Ic)：



を有する、請求項 1 または 2 に記載のモノマー。

【請求項 4】

式 (IV) :



10

20

のポリマーであって、
式中、

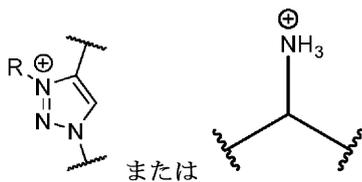
A は、該ポリマーの各モノマー単位について、サッカリド含有単位およびポリビニルアルコール含有単位から独立して選択され；

30

X は、O、NH、NR'、C(O)、および C₁~20 アルキレンからなる群から選択され、ここで、C₁~20 アルキレンは、OH、ハロゲン、シアノ、-CF₃、および C₁~6 アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって 1~20 回置換されていてもよく；

Q は、存在しないか、またはリンカーであり；

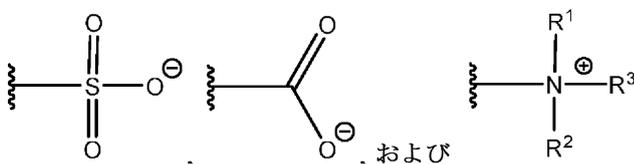
Y は、



40

であり；

Z は、



50

からなる群から選択され；

m_1 は、0 ~ 50 であり；

m_2 は、0 ~ 50 であり；

m_3 は、0 ~ 50 であり；

R は、C₁ ~ 20 アルキルであり；

R' は、-C(O)-C₁ ~ 6 アルケンであり；

R¹ は、C₁ ~ 20 アルキルであり；

R² は、C₁ ~ 20 アルキルであり；

R³ は、C₁ ~ 20 アルキルであり

k_1 は、任意の整数であり；

k_2 は、各モノマー単位について 0 または 1 から独立して選択されるが、ただし、少なくとも 1 つの k_2 が 1 であり；

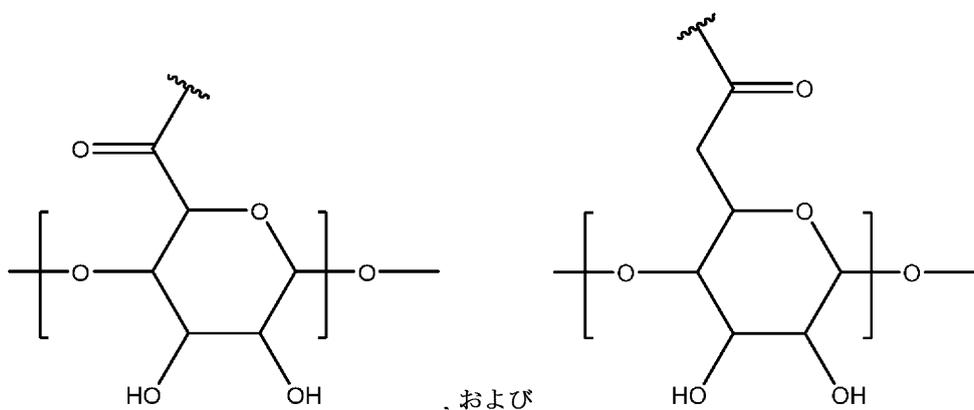
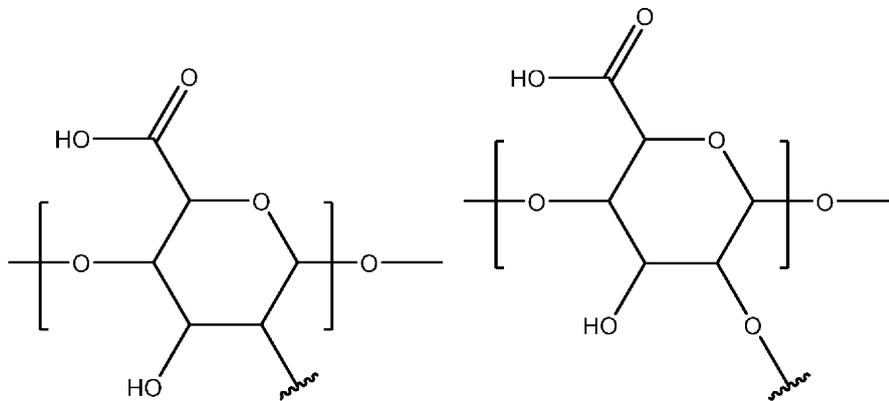
ポリマーの前記モノマー単位は、同じまたは異なっている、
前記ポリマー。

【請求項 5】

(a) A が、単糖、二糖、またはオリゴ糖含有単位から各出現において独立して選択されるサッカリドであり、

または、A が、置換または非置換のヘキソース、ヘキスロース、ヘキスロン酸、ペントース、ペンツロース、およびペンツロン酸からなる群から選択される単糖であり、

または、A が、



からなる群から選択され、



が、A から X への結合点である；および/または

(b) Q が、存在しており、C₁ ~ 20 アルキレン、C₃ ~ 20 シクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、ヘテロシクレン、-O-C₁ ~ 20 アルキレン、ポリ(エチレ

10

20

30

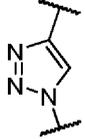
40

50

ングリコール)、およびポリペプチドからなる群から選択され;ここで、 C_{1-20} アルキレン、 C_{3-20} シクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、ヘテロシクリレン、または $-O-C_{1-20}$ アルキレンは、 $-OH$ 、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、 C_{1-6} アルキル、および C_{1-6} アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回置換されていてもよく; C_{1-20} アルキレンは、酸素、窒素、硫黄、および窒素からなる群から選択される1以上のヘテロ原子によって中断されていてもよく、

または、Qがヘテロアリーレンであり、

または、Qが

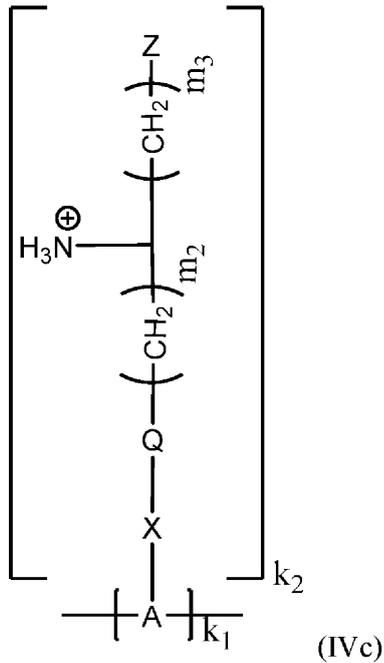


10

である、請求項4に記載のポリマー。

【請求項6】

式(IVc)：



20

30

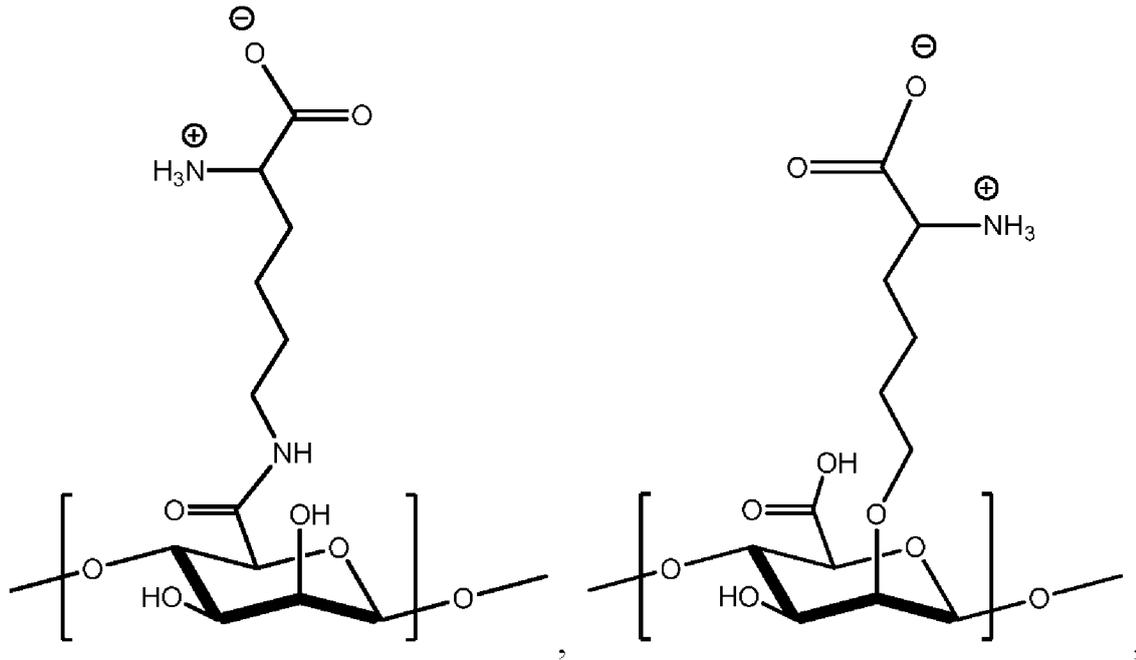
を有する、請求項4または5に記載のポリマー。

【請求項7】

ポリマーの1以上のモノマー単位が、

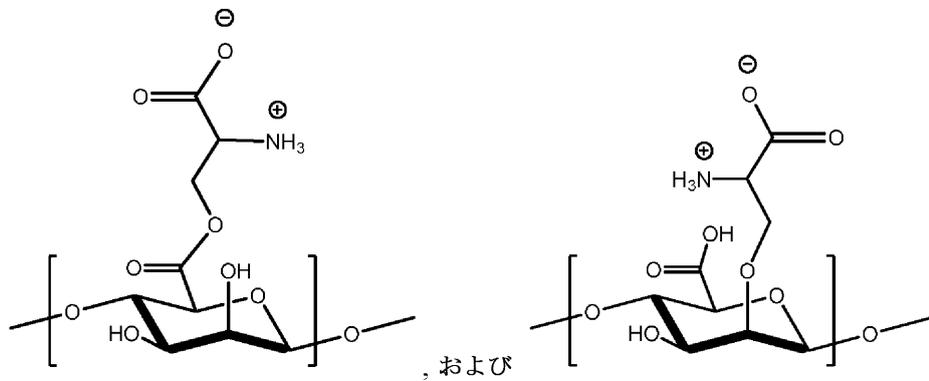
40

50



10

20



30

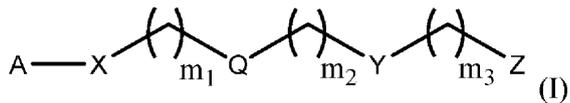
からなる群から独立して選択される、請求項 4 ~ 6 のいずれか一項に記載のポリマー。

【請求項 8】

2 以上の異なるモノマー単位を含む、および/または k_1 が 5 ~ 10, 000 である、請求項 4 ~ 7 のいずれか一項に記載のポリマー。

【請求項 9】

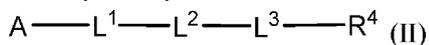
式 (I) :



40

の 1 以上のモノマー単位を含み、

式 (II) :



の 1 以上のモノマー単位をさらに含み、

式中、

L^1 は、O、NH、NR'、C(O)、および $C_1 \sim 20$ アルキレンからなる群から選択され、ここで、 $C_1 \sim 20$ アルキレンは、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および $C_1 \sim 6$ アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって 1

50

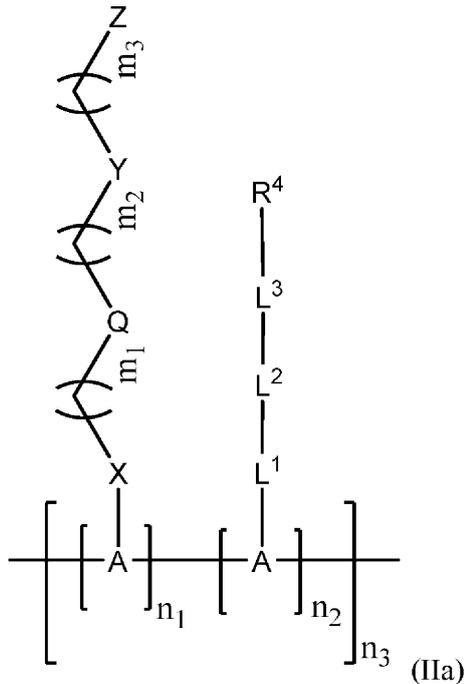
~ 20 回置換されていてもよく；

L^2 は、存在しないか、または C_{1-20} アルキレンであり、ここで、 C_{1-20} アルキレンは、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および C_{1-6} アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって 1 ~ 20 回置換されていてもよく；

L^3 は、 C_{1-20} アルキレン、 C_{1-20} アルケニレン、 C_{3-12} シクロアルケニレン、およびアリーレンからなる群から選択され、ここで、アリーレンは、ヘテロアリーレンおよびヘテロシクリレンからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって 1 ~ 3 回置換されていてもよく；

R^4 は、H、SH、 N_3 、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-20} アルケニル、 C_{2-20} アルキニル、 C_{3-12} シクロアルケニル、 C_{3-12} シクロアルキニル、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルからなる群から選択され、ここで、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-20} アルケニル、 C_{2-20} アルキニル、 C_{3-12} シクロアルケニル、 C_{3-12} シクロアルキニル、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルは、H、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および C_{1-6} アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって 1 ~ 3 回置換されていてもよく、

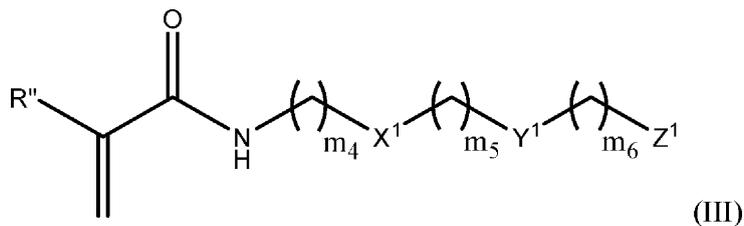
または、式 (IIa)：



を有し、式中、 n_1 、 n_2 、および n_3 は任意の整数である、請求項 4 ~ 8 のいずれか一項に記載のポリマー。

【請求項 10】

式 (III) のモノマー：



式中

X^1 は、存在しないか、または

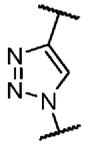
10

20

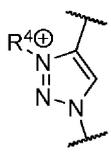
30

40

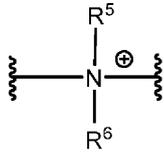
50



であり；
Y¹は

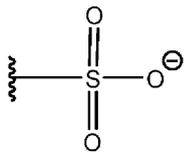


または

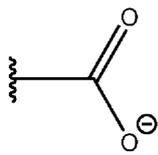


10

であり；
Z¹は



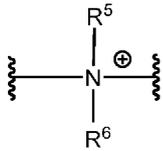
または



であり；

- m₄は、1～50であり；
- m₅は、0～10であり；
- m₆は、1～50であり；
- R^{''}は、HまたはC₁～6アルキルであり；
- R⁴は、C₁～20アルキルであり；
- R⁵は、C₁～20アルキルであり；
- R⁶は、C₁～20アルキルである、

ただし、X¹が存在しないとき、Y¹は



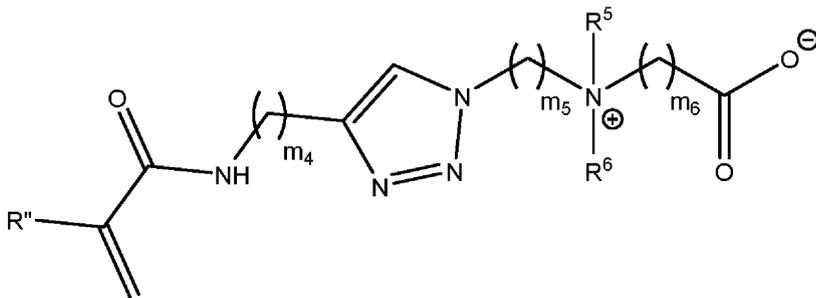
20

30

ではない。

【請求項11】

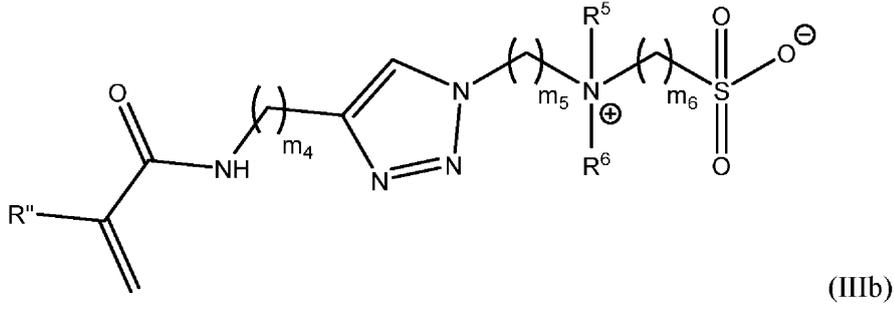
式(IIIa)、式(IIIb)または式(IIIc)：



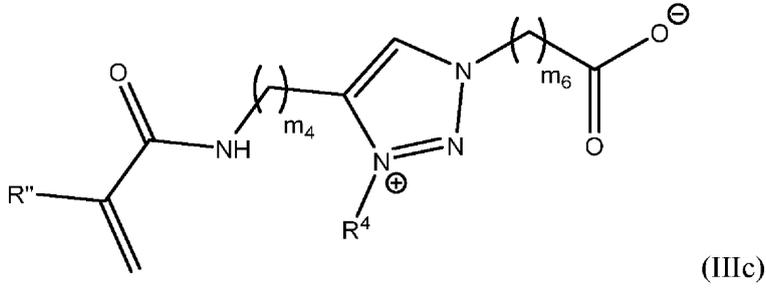
40

(IIIa)

50



10

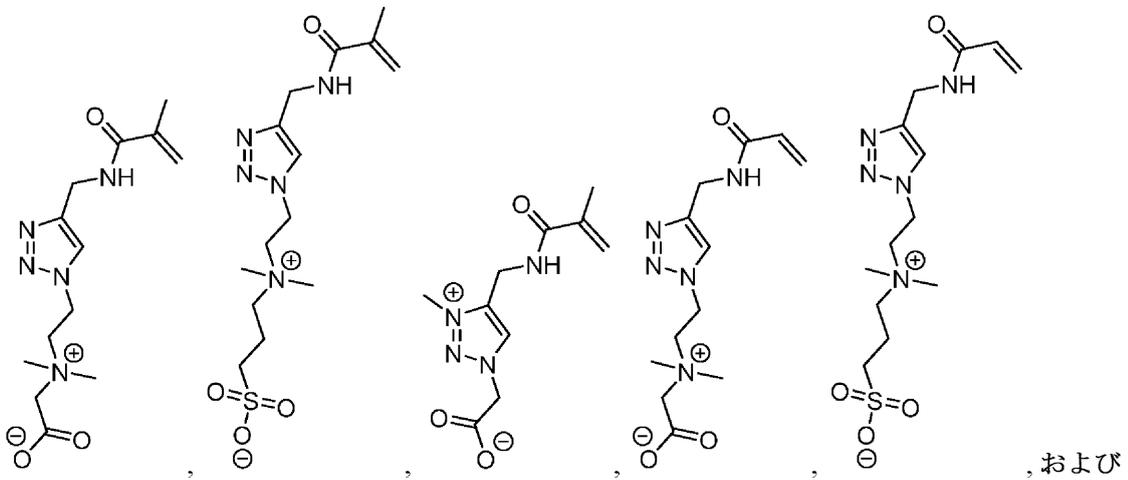


を有する、請求項 1.0 に記載のモノマー。

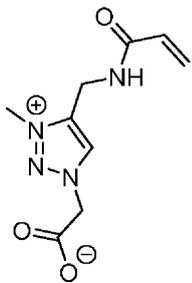
20

【請求項 1.2】

以下：



30



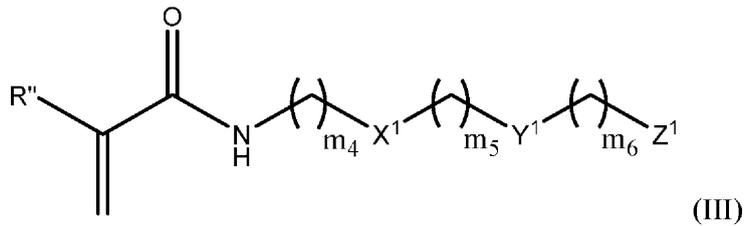
40

からなる群から選択される、請求項 1.0 に記載のモノマー。

【請求項 1.3】

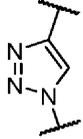
式 (III) の架橋モノマーを含むポリマー：

50



式中

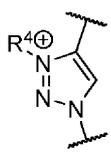
X^1 は、存在しないか、または



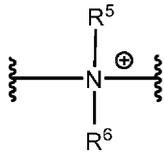
10

であり；

Y^1 は



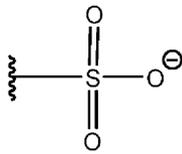
または



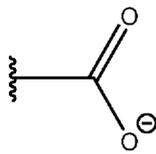
20

であり；

Z^1 は



または



であり；

m_4 は、1～50であり；

m_5 は、0～10であり；

m_6 は、1～50であり；

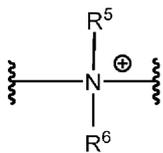
R'' は、Hまたは C_1 ～ C_6 アルキルであり；

R^4 は、 C_1 ～ C_{20} アルキルであり；

R^5 は、 C_1 ～ C_{20} アルキルであり；

R^6 は、 C_1 ～ C_{20} アルキルである、

ただし、 X^1 が存在しないとき、 Y^1 は



40

ではない。

【請求項14】

前記モノマーが、カルボキシベタインジアクリルアミド架橋剤(CBAAx)によって架橋されている、および/または

(i) 前記架橋モノマーが同じであるか、もしくは

(ii) 前記架橋モノマーが異なる、

請求項13に記載のポリマー。

【請求項15】

50

請求項 4 ~ 9、13 および 14 のいずれか一項に記載のポリマーを含む、ヒドロゲル。

【請求項 16】

請求項 15 に記載のヒドロゲルと
該ヒドロゲル中に封入された治療剤と
を含む、カプセル。

【請求項 17】

(a) 前記治療剤が細胞調製物を含む、
または、前記治療剤が、前記ヒドロゲル中に封入された細胞調製物から放出される作用物
質である、
または、前記治療剤が細胞調製物を含み、該細胞調製物が豚島の調製物を含む；および/ま
たは

10

(b) 前記治療剤が、治療用のタンパク質、ペプチド、抗体またはその結合断片、抗体
模倣薬、核酸、小分子、ホルモン、成長因子、血管新生因子、サイトカイン、抗炎症薬、
およびこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、
請求項 16 に記載のカプセル。

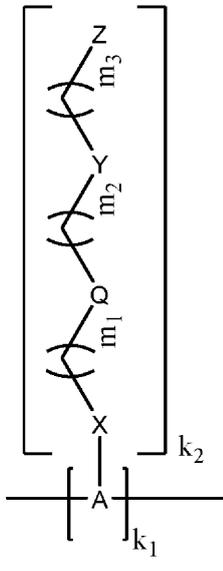
【請求項 18】

糖尿病の処置のための薬剤の製造のための、請求項 16 または 17 に記載のカプセルの
使用。

【請求項 19】

式 (IV) :

20



30

のポリマーであって、
式中、

A は、該ポリマーの各モノマー単位について、サッカリド含有単位およびポリビニルアル
コール含有単位から独立して選択され；

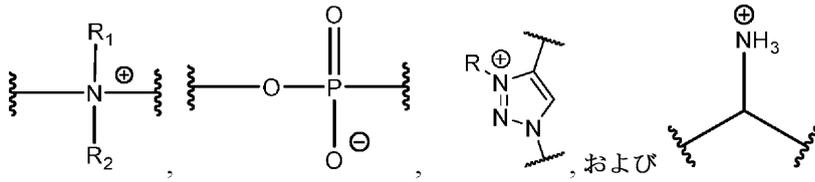
40

X は、O、NH、NR'、C(O)、および C₁ ~ 20 アルキレンからなる群から選択され
、ここで、C₁ ~ 20 アルキレンは、OH、ハロゲン、シアノ、-CF₃、および C₁ ~ 6
アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって 1 ~ 2
0 回置換されていてよく；

Q は、リンカーであり；

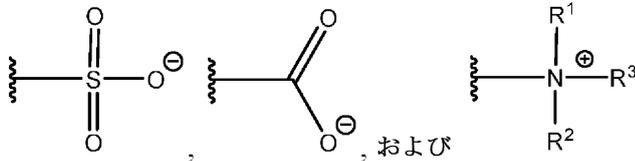
Y は、

50



からなる群から選択され；

Zは、



10

からなる群から選択され；

m_1 は、0～50であり；

m_2 は、0～50であり；

m_3 は、0～50であり；

Rは、C₁～20アルキルであり；

R'は、-C(O)-C₁～6アルケンであり；

20

R¹は、C₁～20アルキルであり；

R²は、C₁～20アルキルであり；

R³は、C₁～20アルキルであり

k_1 は、任意の整数であり；

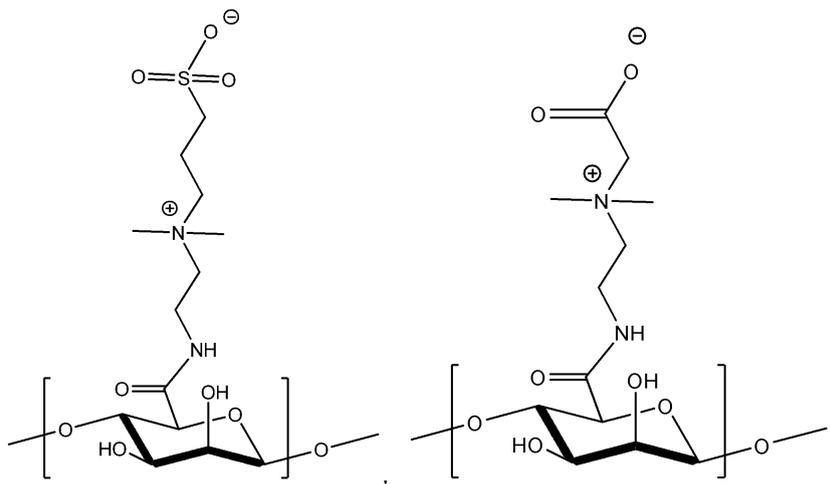
k_2 は、各モノマー単位について0または1から独立して選択されるが、ただし、少なくとも1つの k_2 が1であり；

ポリマーの前記モノマー単位は、同じまたは異なっており、かつ、

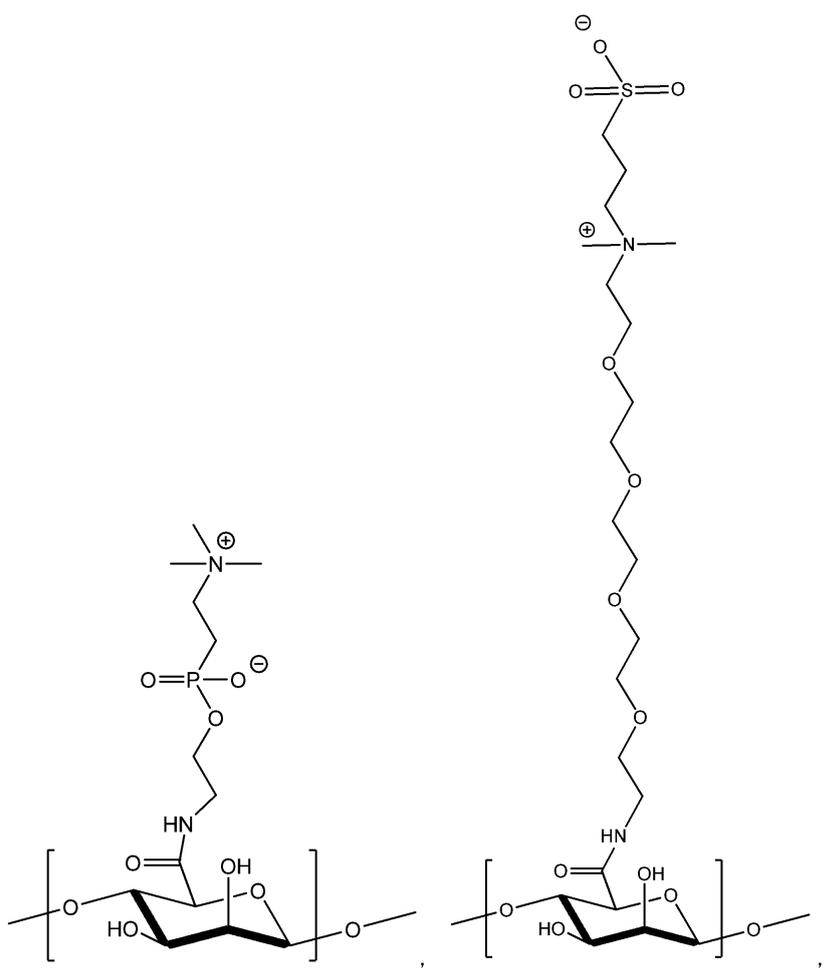
30

40

50



10

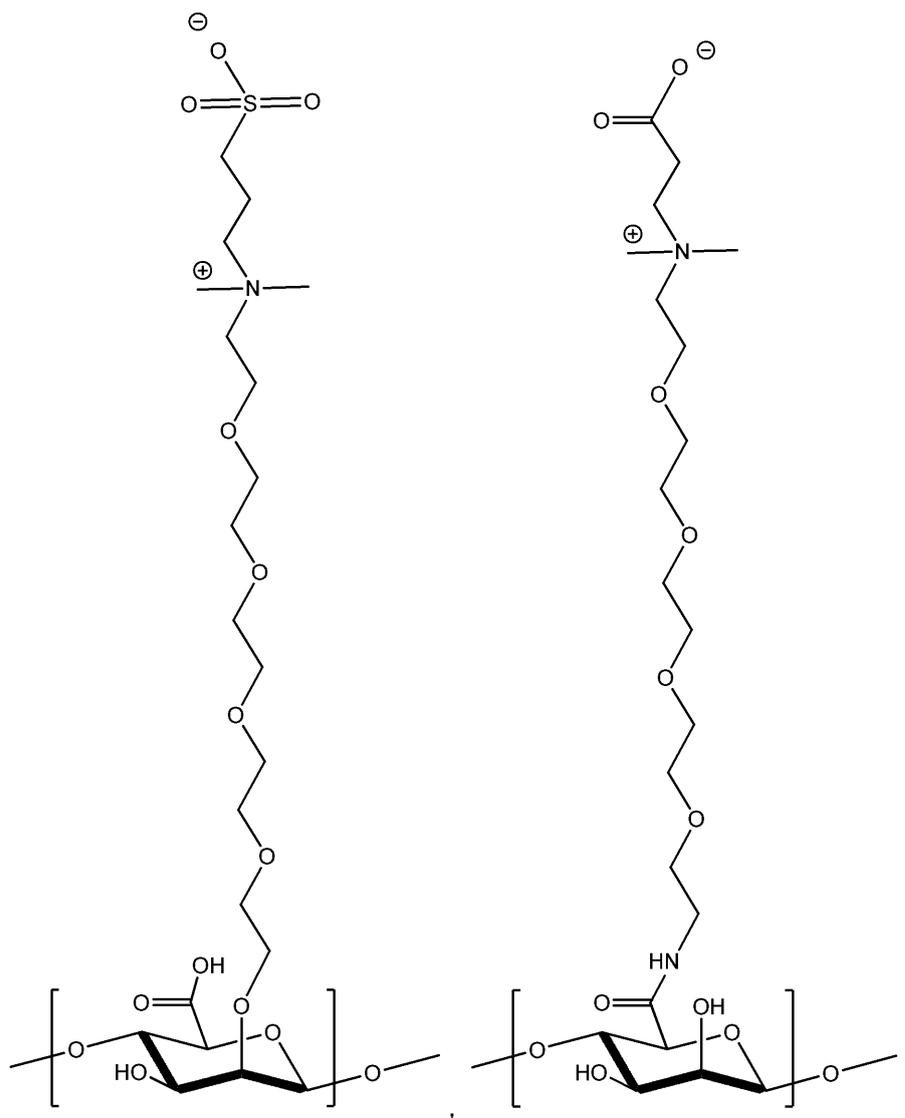


20

30

40

50



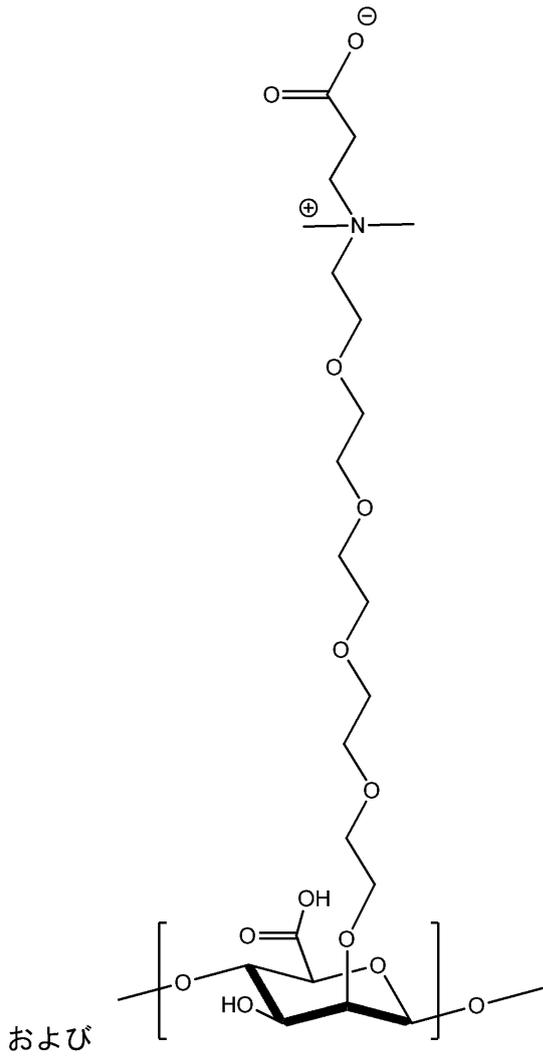
10

20

30

40

50



10

20

30

からなる群から選択される、前記ポリマー。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

この出願は、全体が参照により本明細書に組み込まれる、2017年1月27日に提出された米国仮特許出願第62/451,629号の利益を主張する。

【0002】

発明の分野

本発明は、両性イオン性モノマー、ポリマー、およびヒドロゲル、ならびに、生体材料をコーティングおよび/またはカプセル化するためのこれらの使用に関する。

40

【背景技術】

【0003】

発明の背景

多くの進歩した治療的細胞処置が近年開発されているが、1型糖尿病(T1D)は、依然として、世界中で100万を超える人々を襲って世界的に蔓延している。ランゲルハンス島移植は、T1Dの処置の代替かつ有望なアプローチとして考えられてきた。しかし、病院での膵島移植は、ドナー膵島の不足および長期の免疫抑制という2つの主な障壁によって制限される。近年、ヒト幹細胞由来のベータ細胞が開発されており、インスリン産生細胞の制限されない供給を生じさせる経路を提供している。そのため、膵島をカプセル化

50

してかかる腓島を宿主免疫反応から効果的に保護する新規の材料または医療デバイスの開発が重要な要求となっている。

【0004】

埋め込まれた生体材料の性能は、多くの場合、密なコラーゲン性カプセルの形成に続いて医療デバイスの不具合を引き起こす異物反応(FBR)によって妨げられる。埋め込まれた材料への非特異的なタンパク質吸着が、異物反応の最初の工程であると考えられる。付着防止材料、すなわちタンパク質吸着および細胞接着に抵抗性の高い表面の組み込みは、FBRおよびその後の線維性カプセルの形成を抑制することが予期される。近年、カルボキシベタイン、スルホベタイン、およびホスホリルコリンの両性イオンを持つ両性イオン性ポリマーの使用が、これらのポリマーの超低付着特性に起因して多くの注目を集めている(Jiang et al., "Ultralow Fouling, Functionalizable, and Hydrolyzable Zwitterionic Materials and Their Derivatives for Biological Applications", *Advanced Materials* 22(9): 920-932 (2010) (非特許文献1))。例えば、両性イオン性ポリ(カルボキシベタインメタクリレート)(PCBMA)は、マウスにおいて皮下埋め込み後少なくとも3ヶ月間カプセルの形成に抵抗することが示されている(Zhang et al., "Zwitterionic Hydrogels Implanted in Mice Resist the Foreign-Body Reaction", *Nature Biotechnology* 31(6): 553-556 (2013) (非特許文献2))。しかし、両性イオン性材料のゲル化に関連する厳しい条件、例えば、UV照射およびフリーラジカル生成は、カプセル化細胞に大きな損害を与え、細胞カプセル化のためのこれらの材料の適用を制限し得る。

【0005】

天然由来の材料であるアルギン酸塩は、大部分においてその穏やかなゲル化および低い毒性に起因して、組織再生、薬物送達および細胞カプセル化を含めた多数の用途での使用の可能性も示している(Drury et al., "The Tensile Properties of Alginate Hydrogels", *Biomaterials* 25(16): 3187-3199 (2004) (非特許文献3))。しかし、アルギン酸塩は、細胞または異種ドナー組織のカプセル化によって悪化する線維化反応を生じさせる。アルギン酸塩表面における線維性組織は、カプセル化細胞への栄養素および酸素の拡散を中断して、細胞壊死を引き起こす。そのため、FBRを生じさせず、かつ、カプセル化細胞または組織の健康を促進するポリマー材料が当該分野において必要とされている。

【0006】

本発明は、当該分野におけるこれらおよび他の欠陥を克服することを対象とする。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0007】

【文献】Jiang et al., "Ultralow Fouling, Functionalizable, and Hydrolyzable Zwitterionic Materials and Their Derivatives for Biological Applications", *Advanced Materials* 22(9): 920-932 (2010)

Zhang et al., "Zwitterionic Hydrogels Implanted in Mice Resist the Foreign-Body Reaction", *Nature Biotechnology* 31(6): 553-556 (2013)

Drury et al., "The Tensile Properties of Alginate Hydrogels", *Biomaterials* 25(16): 3187-3199 (2004)

10

20

30

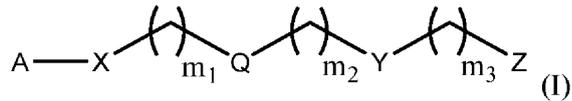
40

50

【発明の概要】

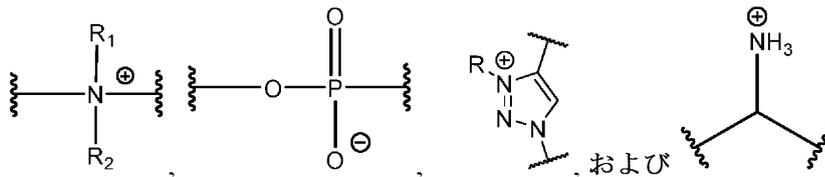
【0008】

本発明の第1態様は、式(I)：

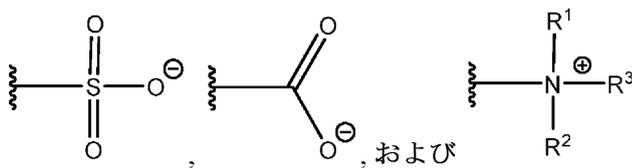


のモノマーであって、
式中

Aは、サッカリド含有単位およびポリビニルアルコール含有単位から選択され；
Xは、O、NH、NR'、C(O)、およびC₁~20アルキレンからなる群から選択され、ここで、C₁~20アルキレンが、OH、ハロゲン、シアノ、-CF₃、およびC₁~6アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回任意選択的に置換されており；
Qは、存在しないか、またはリンカーであり；
Yは、



からなる群から選択され；
Zは、



からなる群から選択され；
m₁は、0~50であり；
m₂は、0~50であり；
m₃は、0~50であり；
Rは、C₁~20アルキルであり；
R'は、-C(O)-C₁~6アルケンであり；
R¹は、C₁~20アルキルであり；
R²は、C₁~20アルキルであり；
R³は、C₁~20アルキルである；

上記モノマーに関する。

【0009】

本発明の別の態様は、式(IV)：

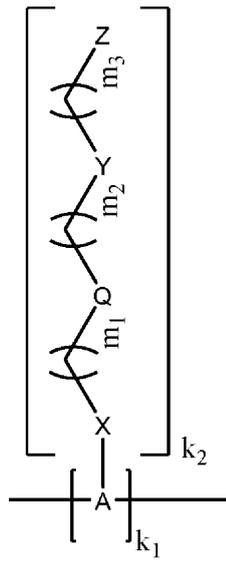
10

20

30

40

50



10

のポリマーであって、
式中

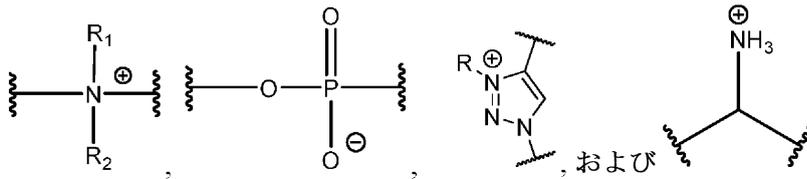
Aは、ポリマーの各モノマー単位について、サッカリド含有単位およびポリビニルアルコール含有単位から独立して選択され；

20

Xは、O、NH、NR'、C(O)、およびC₁~20アルキレンからなる群から選択され、ここで、C₁~20アルキレンが、OH、ハロゲン、シアノ、-CF₃、およびC₁~6アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回任意選択的に置換されており；

Qは、存在しないか、またはリンカーであり；

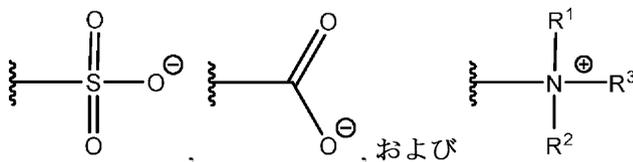
Yは、



30

からなる群から選択され；

Zは、



40

からなる群から選択され；

m₁は、0~50であり；

m₂は、0~50であり；

m₃は、0~50であり；

Rは、C₁~20アルキルであり；

R'は、-C(O)-C₁~6アルケンであり；

R¹は、C₁~20アルキルであり；

R²は、C₁~20アルキルであり；

R³は、C₁~20アルキルであり、

k₁は、任意の整数であり；

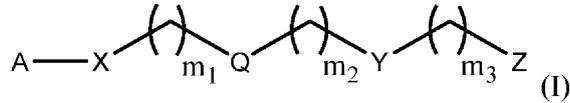
50

k_2 は、各モノマー単位について 0 または 1 から独立して選択されるが、ただし、少なくとも 1 つの k_2 が 1 であり；

ポリマーのモノマー単位は、同じまたは異なっている；
上記ポリマーに関する。

【0010】

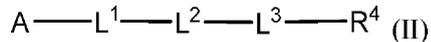
本発明の別の態様は、ポリマーであって、式 (I)：



10

の 1 以上のモノマーを含み、

式 (II)：



の 1 以上のモノマーをさらに含み、式中

L^1 は、O、NH、NR'、C(O)、および $C_1 \sim 20$ アルキレンからなる群から選択され、ここで、 $C_1 \sim 20$ アルキレンが、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および $C_1 \sim 6$ アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって 1 ~ 20 回任意選択的に置換されており；

L^2 は、存在しないか、または、 $C_1 \sim 20$ アルキレンであり、ここで、 $C_1 \sim 20$ アルキレンが、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および $C_1 \sim 6$ アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって 1 ~ 20 回任意選択的に置換されており；

20

L^3 は、 $C_1 \sim 20$ アルキレン、 $C_1 \sim 20$ アルケニレン、 $C_3 \sim 12$ シクロアルケニレン、およびアリーレンからなる群から選択され、ここで、アリーレンが、ヘテロアリーレンおよびヘテロシクリレンからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって 1 ~ 3 回任意選択的に置換されており；

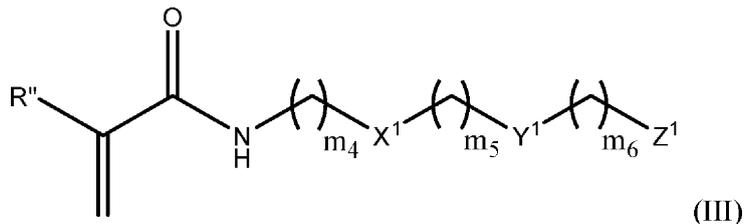
R^4 は、H、SH、N₃、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 20$ アルケニル、 $C_2 \sim 20$ アルキニル、 $C_3 \sim 12$ シクロアルケニル、 $C_3 \sim 12$ シクロアルキニル、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルからなる群から選択され、ここで、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 20$ アルケニル、 $C_2 \sim 20$ アルキニル、 $C_3 \sim 12$ シクロアルケニル、 $C_3 \sim 12$ シクロアルキニル、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルが、H、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および $C_1 \sim 6$ アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって 1 ~ 3 回任意選択的に置換されている；

30

上記ポリマーに関する。

【0011】

本発明の別の態様は、式 (III)：



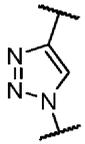
40

のモノマーであって、

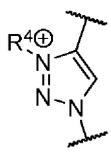
式中

X^1 は、存在しないか、または

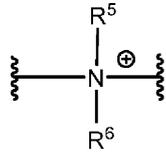
50



であり；
Y¹は

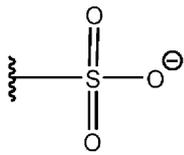


または

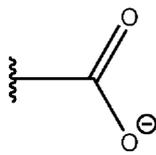


10

であり；
Z¹は



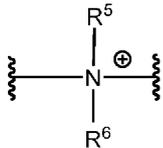
または



であり；

- m₄は、1～50であり；
- m₅は、0～10であり；
- m₆は、1～50であり；
- R^{''}は、HまたはC₁～6アルキルであり；
- R⁴は、C₁～20アルキルであり；
- R⁵は、C₁～20アルキルであり；
- R⁶は、C₁～20アルキルである、

ただし、X¹が存在しないとき、Y¹は



20

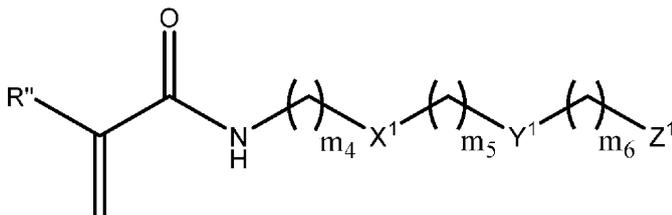
30

ではない；

上記モノマーに関する。

【0012】

本発明のさらに別の態様は、式(III)：



(III)

40

の架橋モノマーを含むポリマーネットワークに関する。

【0013】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されているポリマー、本明細書に記載されているポリマーネットワーク、またはこれらの任意の組み合わせのうちいずれか1つを含むヒドロゲルに関する。

【0014】

50

本発明の別の態様は、本発明のヒドロゲルおよび当該ヒドロゲル中に封入された治療剤を含むカプセルに関する。

【0015】

本発明の別の態様は、治療剤を対象に送達する方法を対象とする。この方法は、ヒドロゲルと本明細書に記載されているヒドロゲルによって封入された治療剤とを含むカプセルを対象に投与することを含む。

【0016】

本発明のさらなる態様は、糖尿病対象を処置する方法を対象とする。この方法は、本明細書に記載されている治療剤を含むカプセルを、糖尿病を有する対象に埋め込むことを含む。

10

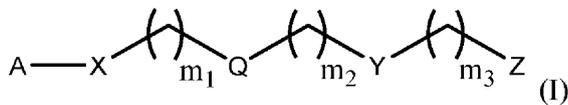
【0017】

超低付着性の両性イオン性基、例えばスルホベタインおよびカルボキシベタインによって化学的に改変された、本明細書に記載のアルギン酸塩および他のポリマーは、優れた生体適合性を示す。両性イオン性部位は、優れた長期生体適合性をアルギン酸塩に与えかつ線維化反応を抑制した一方で、アルギン酸塩骨格は、穏やかなゲル化条件下で架橋可能なままである。これらの材料は、アルギン酸塩およびヒドロゲルを使用する他の生物学的用途と同様に細胞カプセル化および埋め込みに特に好適である。本件は、1型糖尿病処置のための膵島カプセル化などの領域において適用可能性を有する両性イオン系アルギン酸塩共役体を開発する初めての研究である。

[本発明1001]

20

式(I):



のモノマーであって、

式中、

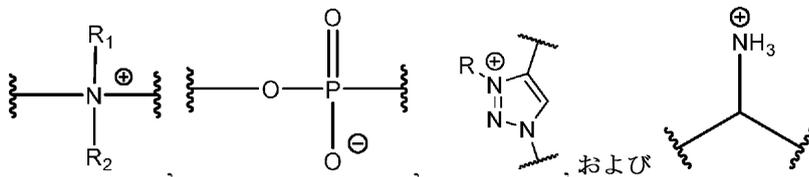
Aは、サッカリド含有単位およびポリビニルアルコール含有単位から選択され；

Xは、O、NH、NR'、C(O)、およびC₁-20アルキレンからなる群から選択され、ここで、C₁-20アルキレンは、OH、ハロゲン、シアノ、-CF₃、およびC₁-6アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回任意選択的に置換されており；

30

Qは、存在しないか、またはリンカーであり；

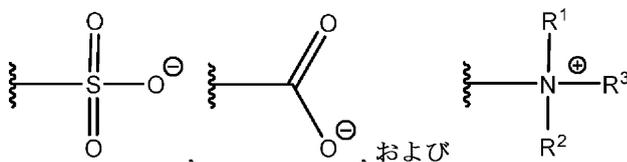
Yは、



40

からなる群から選択され；

Zは、



からなる群から選択され；

m₁は、0~50であり；

50

m₂は、0~50であり；
m₃は、0~50であり；
Rは、C₁~20アルキルであり；
R'は、-C(O)-q~6アルケンであり；
R¹は、C₁~20アルキルであり；
R²は、C₁~20アルキルであり；
R³は、C₁~20アルキルである、
前記モノマー。

[本発明1002]

Aが、単糖、二糖、三糖、およびオリゴ糖からなる群から選択される、本発明1001のモノマー。

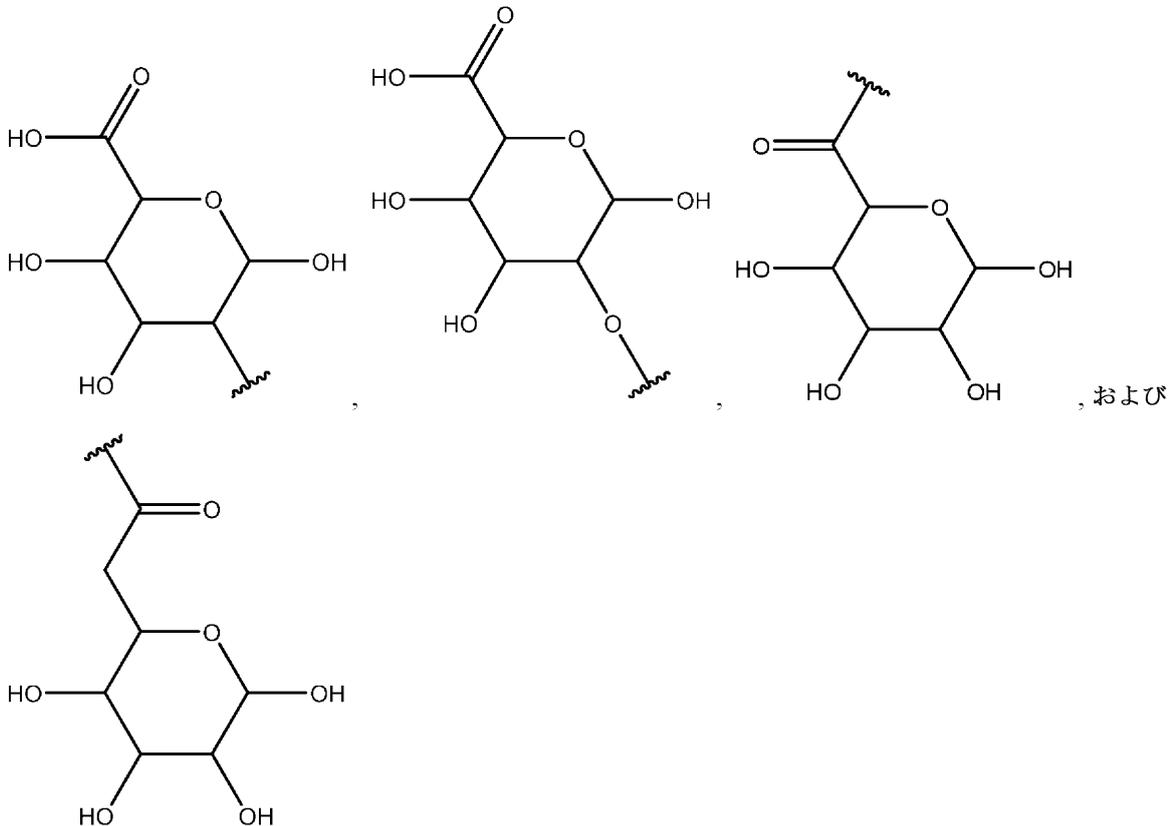
10

[本発明1003]

Aが、置換または非置換のヘキソース、ヘキスロース、ヘキスロン酸、ペントース、ペンツロース、およびペンツロン酸からなる群から選択される単糖である、本発明1001のモノマー。

[本発明1004]

Aが、



20

30

からなる群から選択され、



40

が、AからXへの結合点である、本発明1001のモノマー。

[本発明1005]

Qが、存在しており、C₁~20アルキレン、C₃~20シクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、ヘテロシクレン、-O-C₁~20アルキレン、ポリ(エチレングリコール)、およびポリペプチドからなる群から選択され；ここで、C₁~20アルキレン、C₃~20シクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、ヘテロシクリレン、または-O-

50

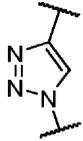
C₁~20アルキレンは、-OH、ハロゲン、シアノ、-CF₃、C₁~6アルキル、およびC₁~6アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回任意選択的に置換されており；C₁~20アルキレンは、酸素、窒素、硫黄、および窒素からなる群から選択される1以上のヘテロ原子によって任意選択的に中断されている、本発明1001のモノマー。

[本発明1006]

Qがヘテロアリーレンである、本発明1001のモノマー。

[本発明1007]

Qが

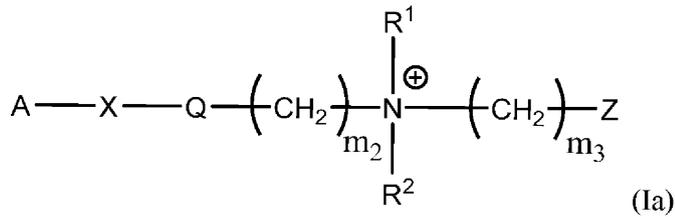


10

である、本発明1001のモノマー。

[本発明1008]

式(I a)：

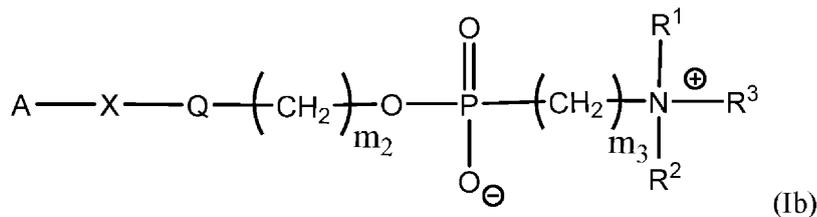


20

を有する、本発明1001のモノマー。

[本発明1009]

式(I b)：

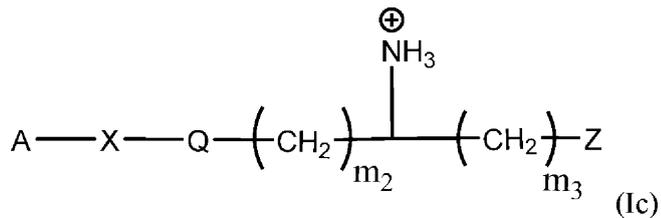


30

を有する、本発明1001のモノマー。

[本発明1010]

式(I c)：



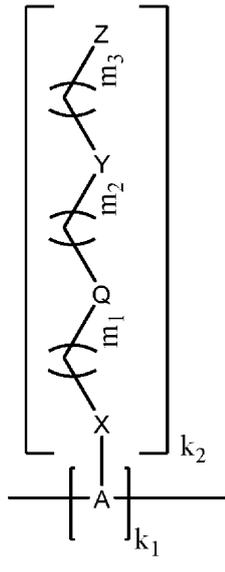
40

を有する、本発明1001のモノマー。

[本発明1011]

式(I v)：

50



10

のポリマーであって、
式中、

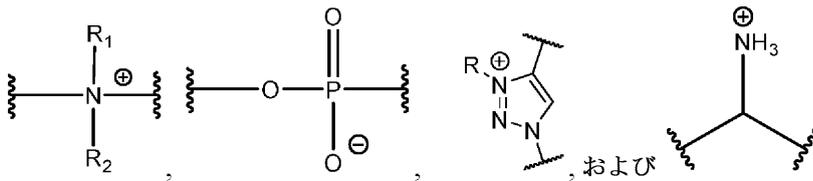
Aは、該ポリマーの各モノマー単位について、サッカリド含有単位およびポリビニルアルコール含有単位から独立して選択され；

20

Xは、O、NH、NR'、C(O)、およびG~20アルキレンからなる群から選択され、ここで、C1~20アルキレンは、OH、ハロゲン、シアノ、-CF3、およびC1~6アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回任意選択的に置換されており；

Qは、存在しないか、またはリンカーであり；

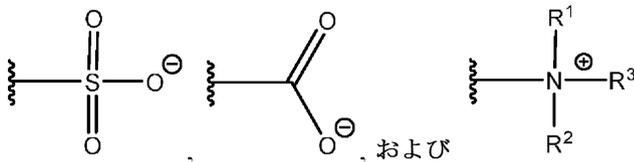
Yは、



30

からなる群から選択され；

Zは、



40

からなる群から選択され；

m1は、0~50であり；

m2は、0~50であり；

m3は、0~50であり；

Rは、C1~20アルキルであり；

R'は、-C(O)-G~6アルケンであり；

R1は、C1~20アルキルであり；

R2は、C1~20アルキルであり；

R3は、C1~20アルキルであり

k1は、任意の整数であり；

50

k₂は、各モノマー単位について0または1から独立して選択されるが、ただし、少なくとも1つのk₂が1であり；

ポリマーの前記モノマー単位は、同じまたは異なっている、前記ポリマー。

[本発明1012]

Aが、単糖、二糖、またはオリゴ糖含有単位から各出現において独立して選択されるサッカリドである、本発明1011のポリマー。

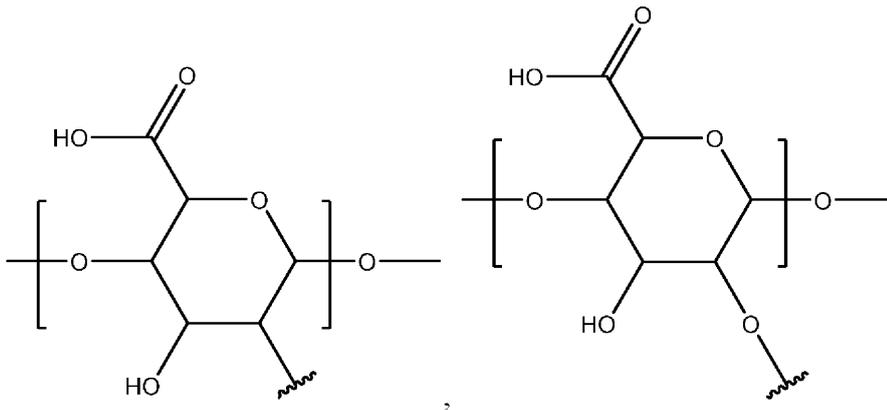
[本発明1013]

Aが、置換または非置換のヘキソース、ヘキスロース、ヘキサロン酸、ペントース、ペンツロース、およびペンツロン酸からなる群から選択される単糖である、本発明1011のポリマー。

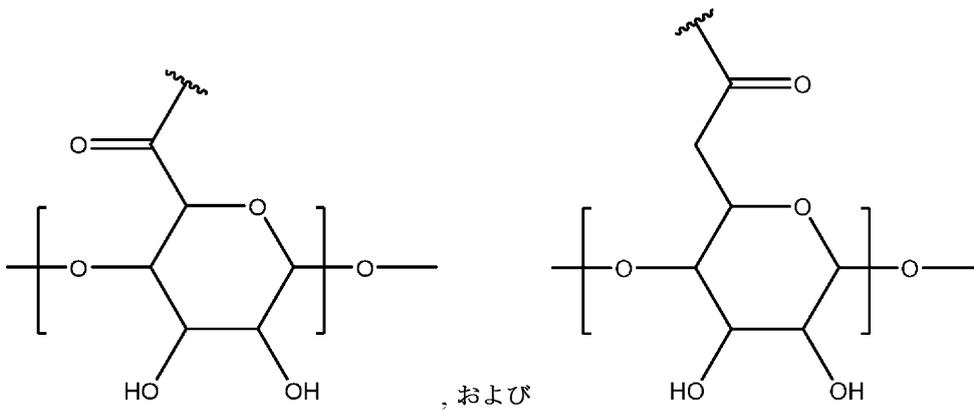
10

[本発明1014]

Aが、



20



30

からなる群から選択され、



40

が、AからXへの結合点である、本発明1011のポリマー。

[本発明1015]

Qが、存在しており、C₁₋₂₀アルキレン、C₃₋₂₀シクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、ヘテロシクレン、-O-C₁₋₂₀アルキレン、ポリ(エチレングリコール)、およびポリペプチドからなる群から選択され；ここで、C₁₋₂₀アルキレン、C₃₋₂₀シクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、ヘテロシクリレン、または-O-C₁₋₂₀アルキレンは、-OH、ハロゲン、シアノ、-CF₃、C₁₋₆アルキル、およびC₁₋₆アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回任意選択的に置換されており；C₁₋₂₀アルキレンは、酸素、窒素、硫黄、および窒素からなる群から選択される1以上のヘテロ原子によって任意選択的に中断されている

50

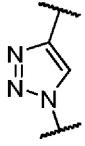
本発明1011のポリマー。

[本発明1016]

Qがヘテロアリーレンである、本発明1011のポリマー。

[本発明1017]

Qが



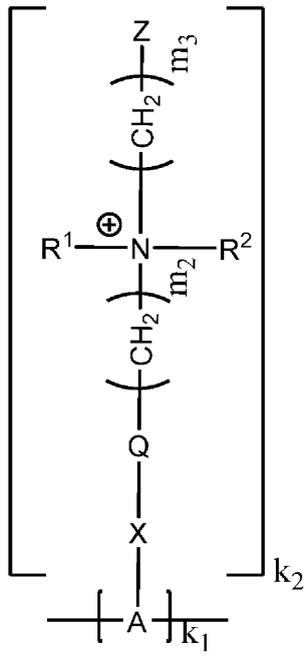
である、本発明1011のポリマー。

[本発明1018]

k₁が5~10,000である、本発明1011のポリマー。

[本発明1019]

式(IVa)：



(IVa)

を有する、本発明1011のポリマー。

[本発明1020]

式(IVb)：

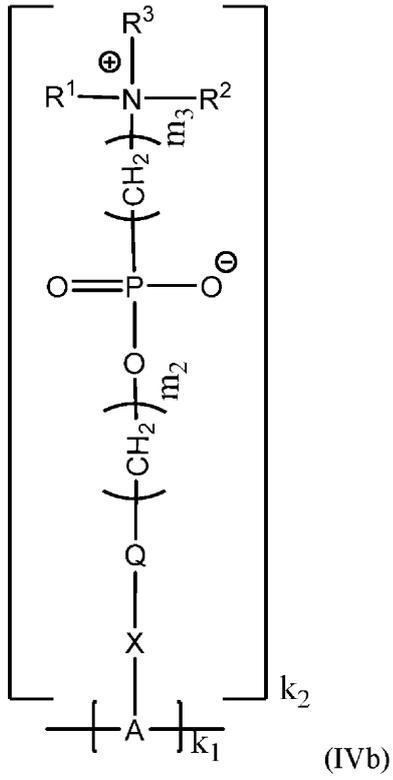
10

20

30

40

50



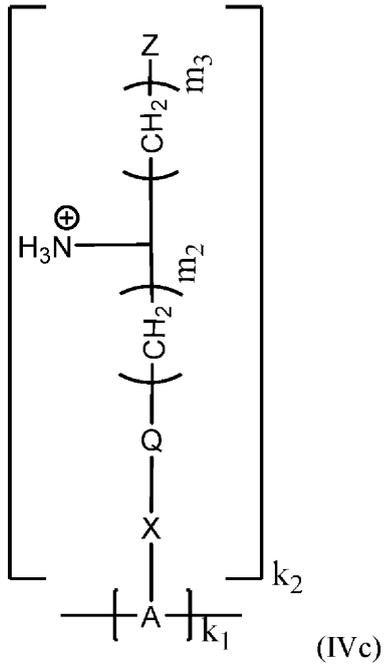
10

20

を有する、本発明1011のポリマー。

[本発明1021]

式(IVc)：



30

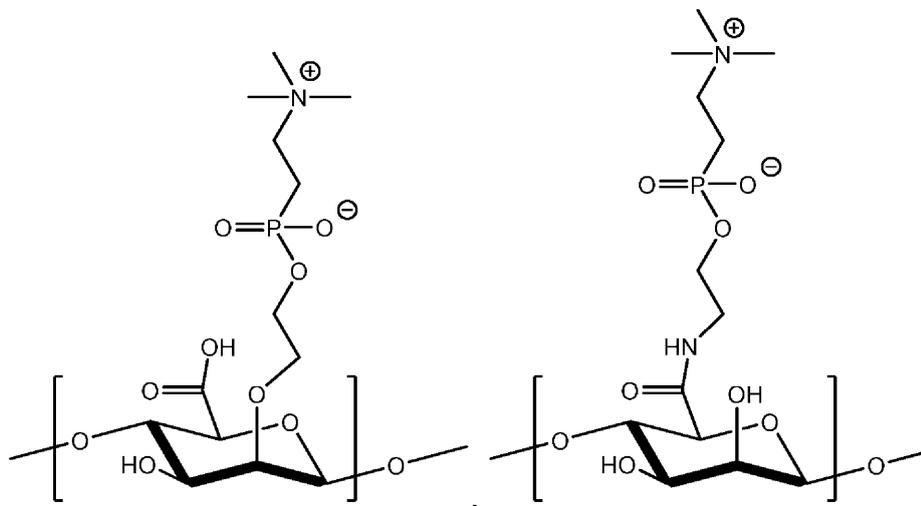
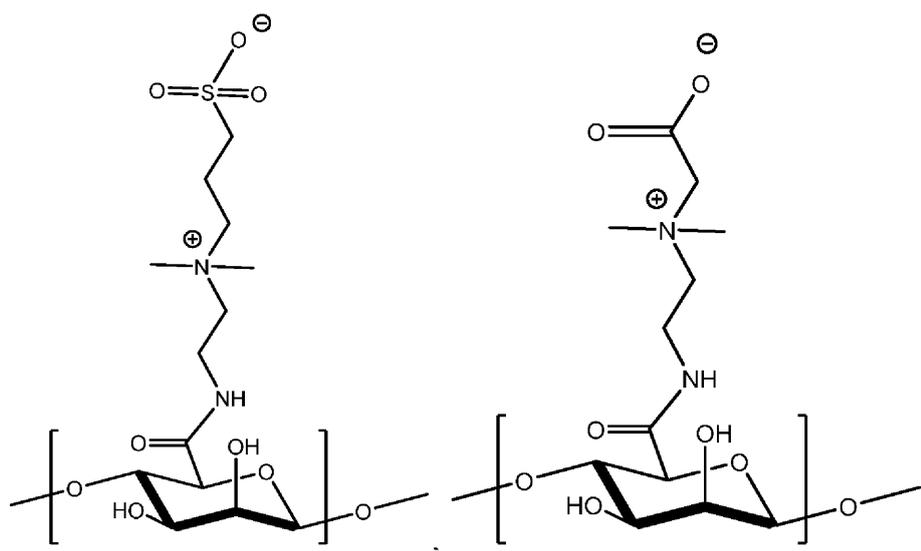
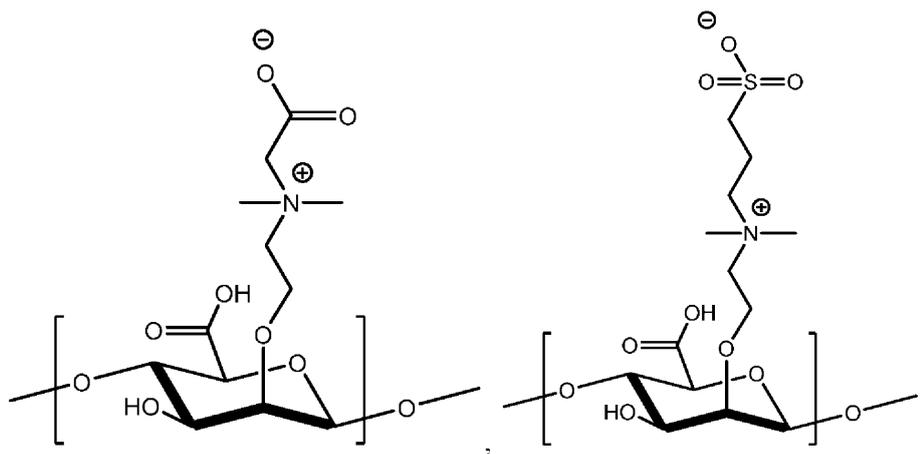
40

を有する、本発明1011のポリマー。

[本発明1022]

ポリマーの1以上のモノマー単位が、

50



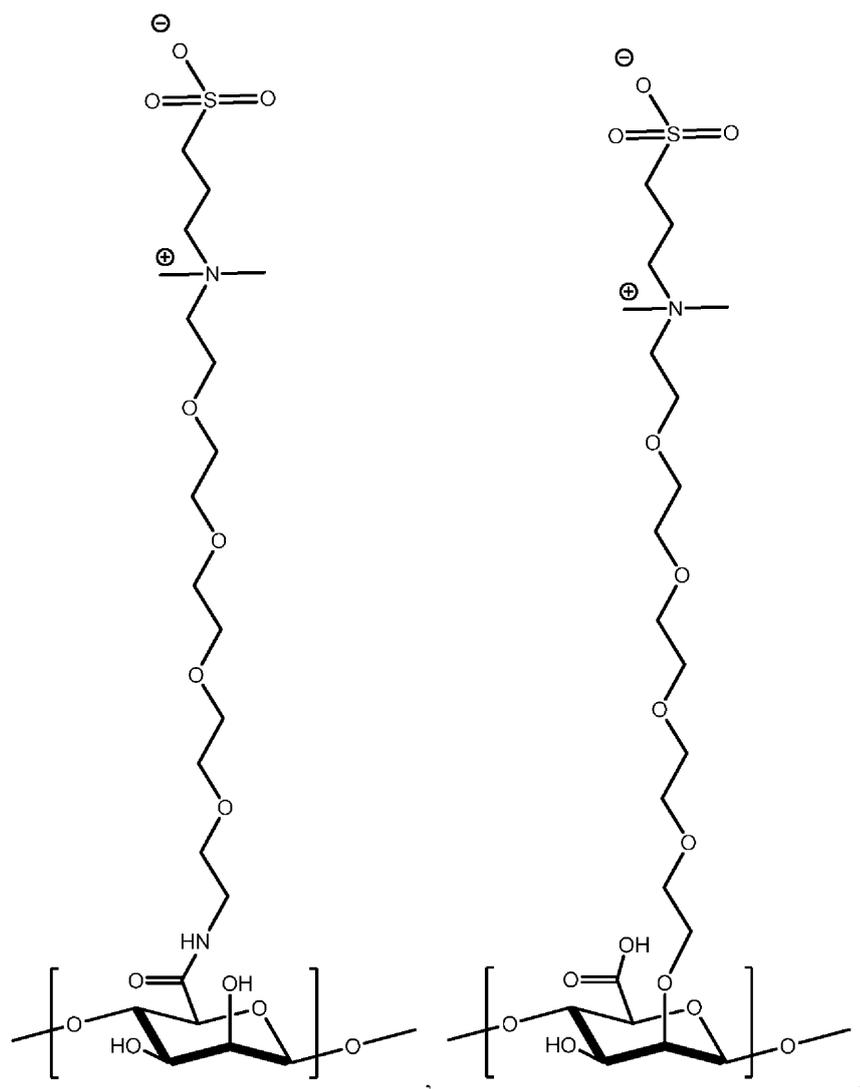
10

20

30

40

50



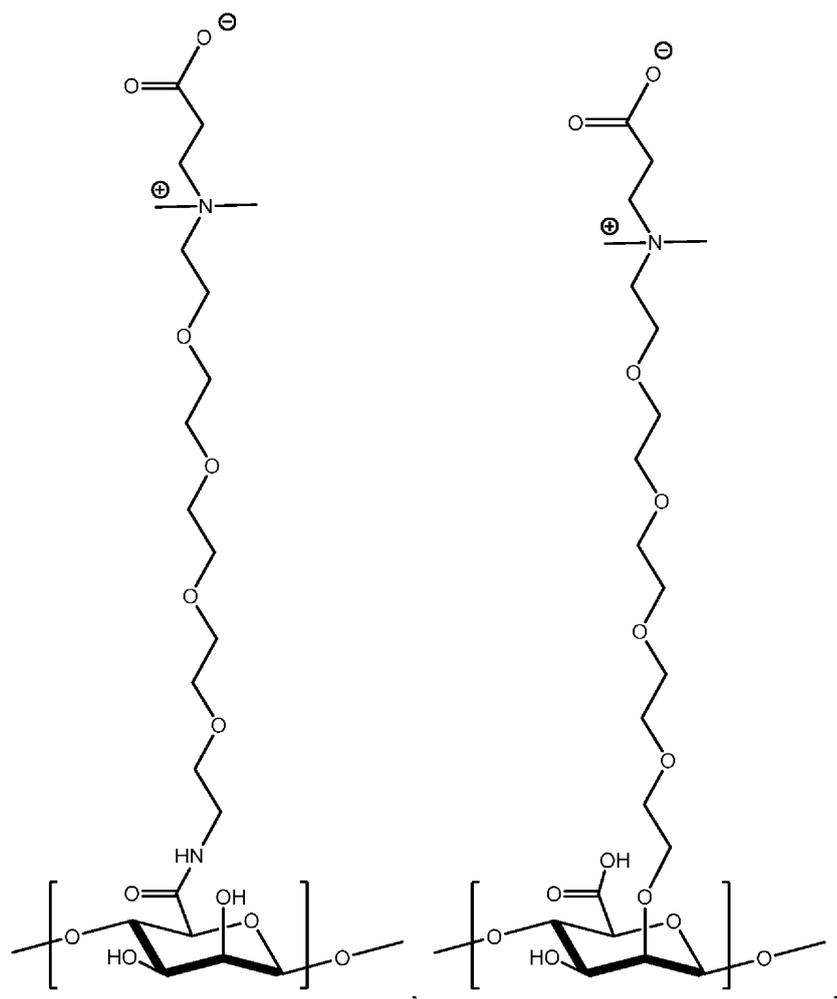
10

20

30

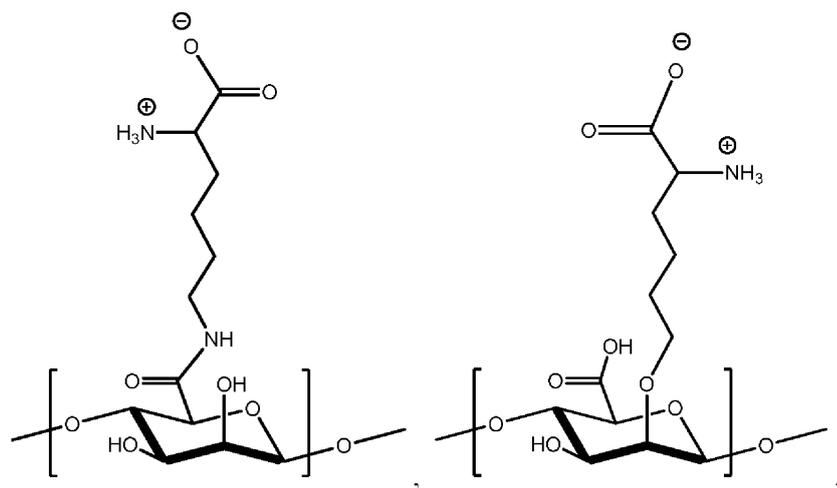
40

50



10

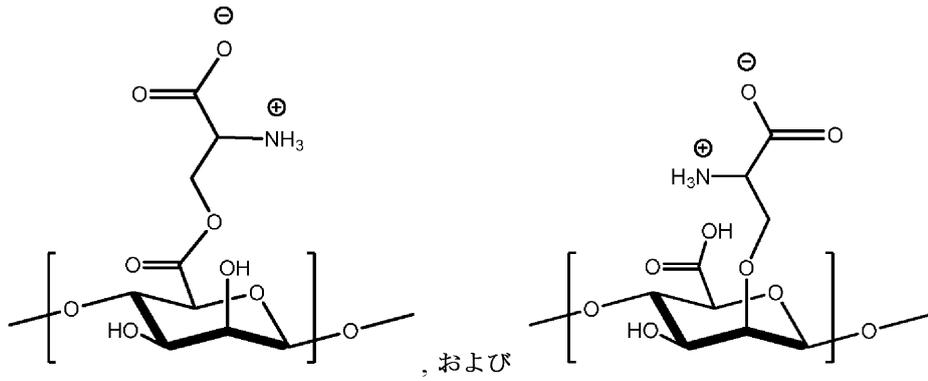
20



30

40

50



10

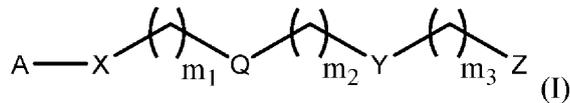
からなる群から独立して選択される、本発明1011のポリマー。

[本発明1023]

2以上の異なるモノマー単位を含む、本発明1011のポリマー。

[本発明1024]

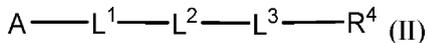
式(I)：



20

の1以上のモノマー単位を含み、

式(II)：



の1以上のモノマー単位をさらに含み、

式中、

L^1 は、O、NH、NR'、C(O)、および C_{1-20} アルキレンからなる群から選択され、ここで、 C_{1-20} アルキレンは、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および C_{1-6} アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回任意選択的に置換されており；

30

L^2 は、存在しないか、または C_{1-20} アルキレンであり、ここで、 C_{1-20} アルキレンは、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および C_{1-6} アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回任意選択的に置換されており；

L^3 は、 C_{1-20} アルキレン、 C_{1-20} アルケニレン、 C_{3-12} シクロアルケニレン、およびアリーレンからなる群から選択され、ここで、アリーレンは、ヘテロアリーレンおよびヘテロシクリレンからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~3回任意選択的に置換されており；

R^4 は、H、SH、 N_3 、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-20} アルケニル、 C_{2-20} アルキニル、 C_{3-12} シクロアルケニル、 C_{3-12} シクロアルキニル、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルからなる群から選択され、ここで、 C_{1-6} アルキル、 C_{2-20} アルケニル、 C_{2-20} アルキニル、 C_{3-12} シクロアルケニル、 C_{3-12} シクロアルキニル、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルは、H、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および C_{1-6} アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~3回任意選択的に置換されている、

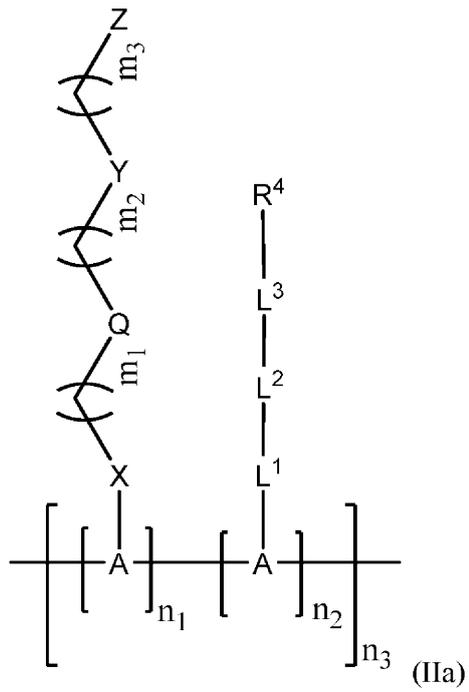
40

本発明1011のポリマー。

[本発明1025]

式(IIa)：

50



を有し、

式中、 n_1 、 n_2 、および n_3 は任意の整数である、
本発明1024のポリマー。

[本発明1026]

以下：

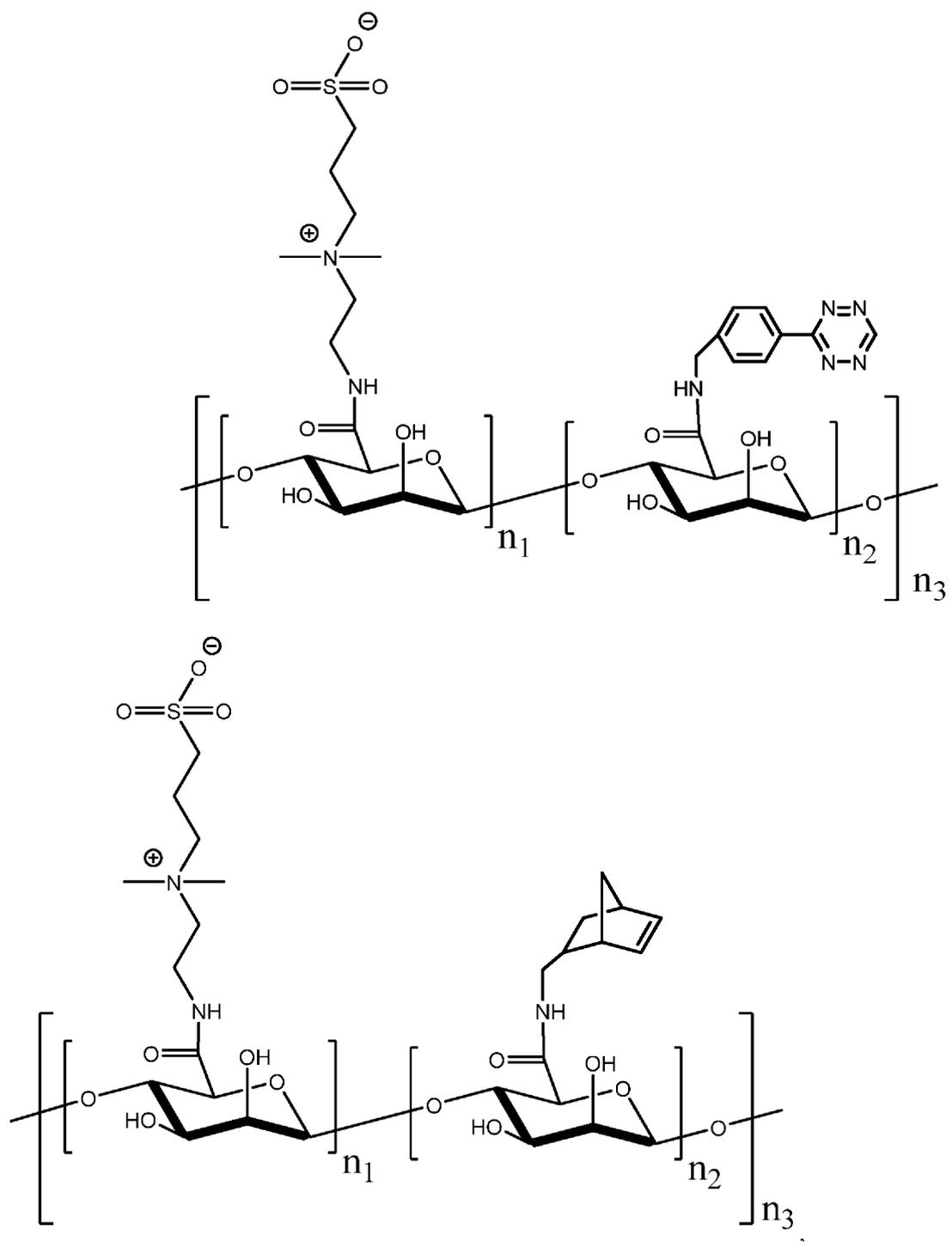
10

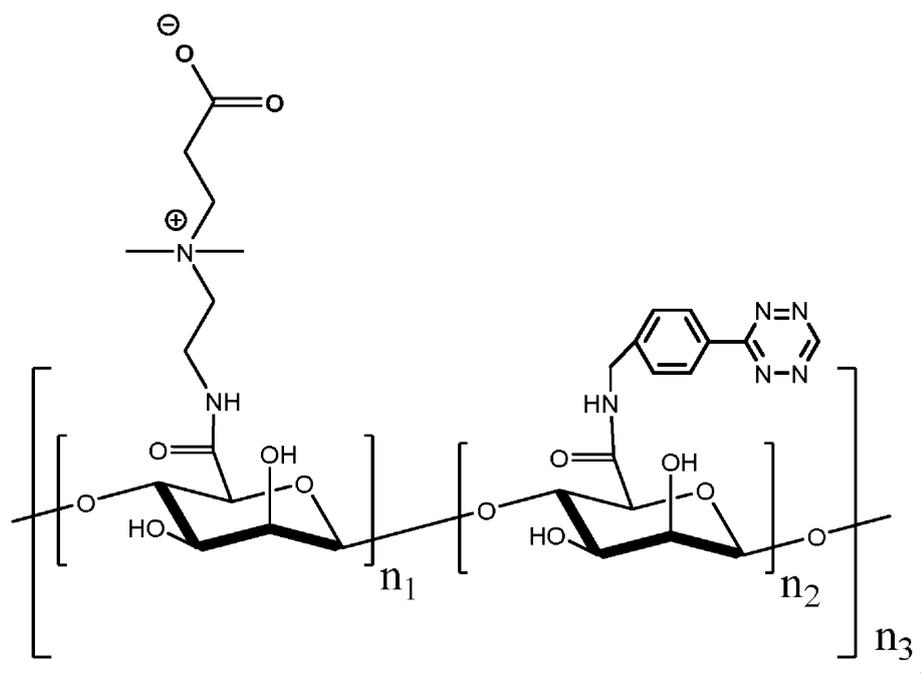
20

30

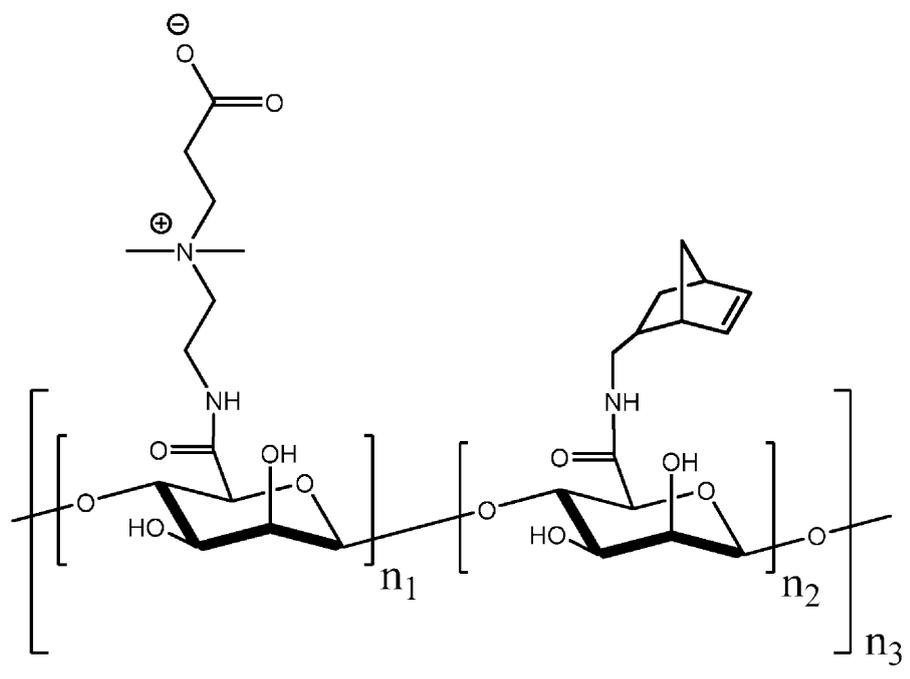
40

50





10

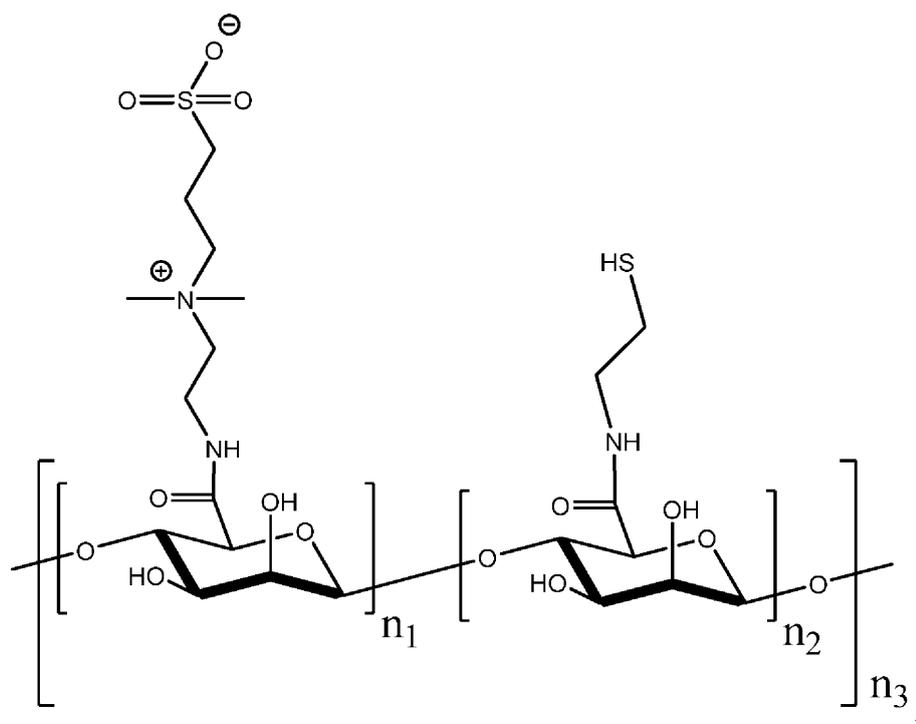


20

30

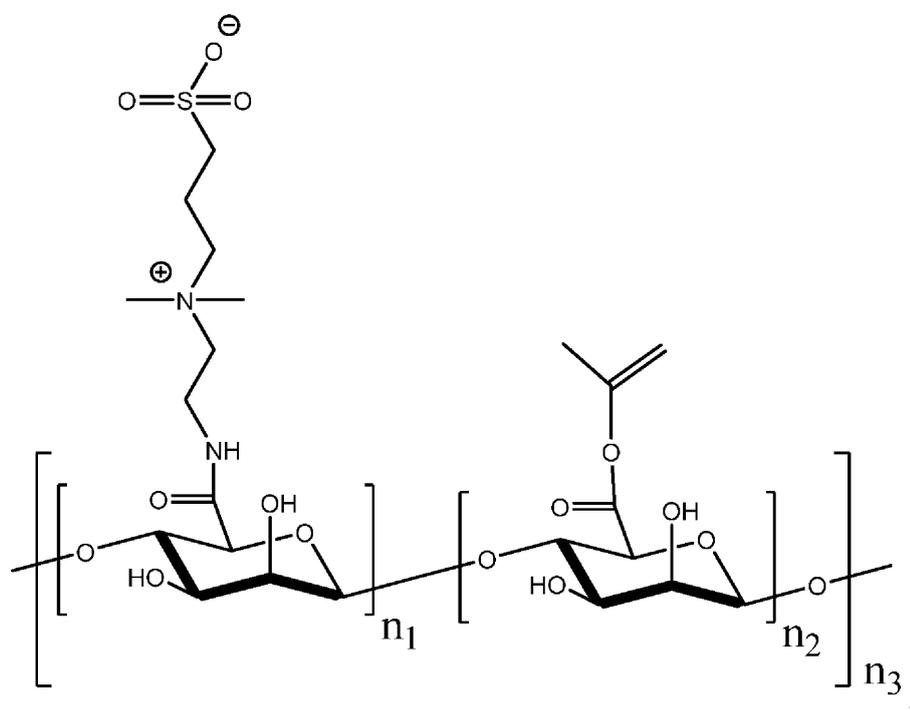
40

50



10

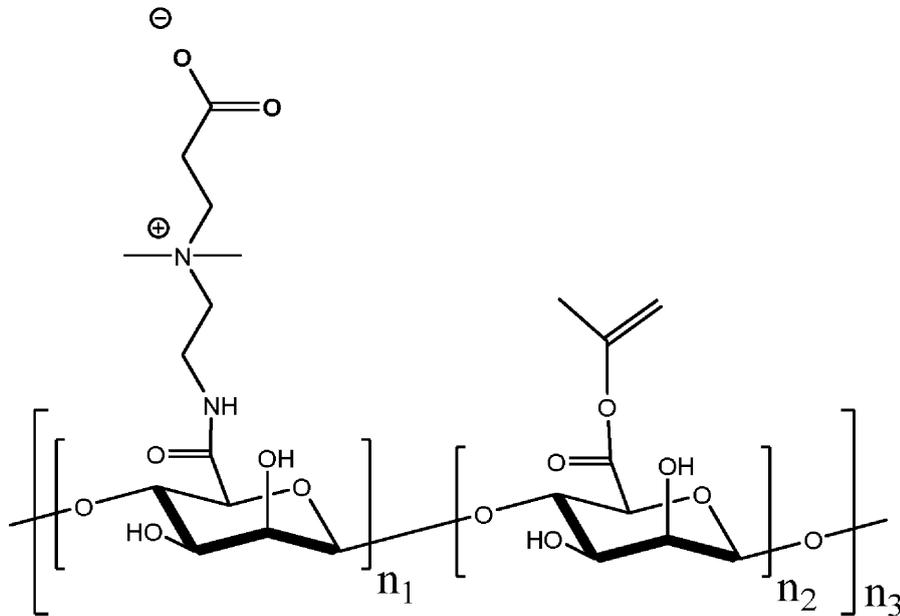
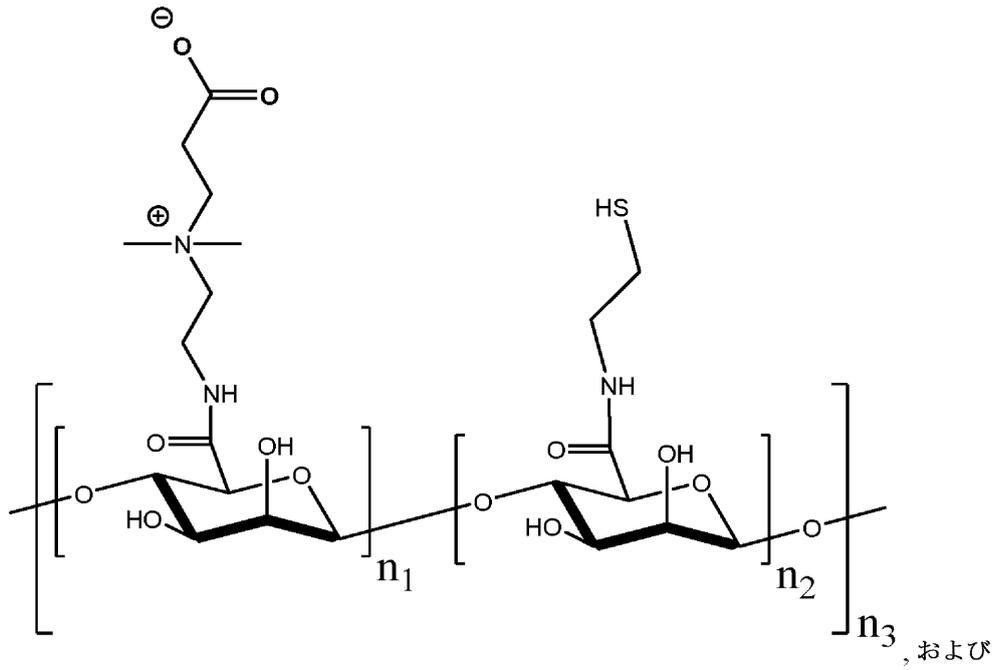
20



30

40

50



からなる群から選択され、
 式中、 n_1 、 n_2 、および n_3 が任意の整数である、
 本発明1025のポリマー。

[本発明1027]

n_1 、 n_2 、および n_3 のそれぞれが、5～10,000の整数から独立して選択される、本発明1025のポリマー。

[本発明1028]

本発明1011～1027のポリマーのいずれか1つを含む、ヒドロゲル。

[本発明1029]

本発明1028のヒドロゲルと
 該ヒドロゲル中に封入された治療剤と
 を含む、カプセル。

[本発明1030]

前記治療剤が細胞調製物を含む、本発明1029のカプセル。

10

20

30

40

50

[本発明1031]

前記ヒドロゲル中に封入された細胞調製物をさらに含み、
前記治療剤が、該細胞調製物から放出される作用物質である、
本発明1029のカプセル。

[本発明1032]

前記細胞調製物が豚島の調製物を含む、本発明1031のカプセル。

[本発明1033]

前記治療剤が、治療用のタンパク質、ペプチド、抗体またはその結合断片、抗体模倣薬、
核酸、小分子、ホルモン、成長因子、血管新生因子、サイトカイン、抗炎症薬、および
これらの任意の組み合わせからなる群から選択される、本発明1029のカプセル。

10

[本発明1034]

本発明1029のカプセルを対象に投与する工程を含む、治療剤を対象に送達する方法。

[本発明1035]

前記投与する工程が、前記カプセルを前記対象に埋め込むことを含む、本発明1034の方
法。

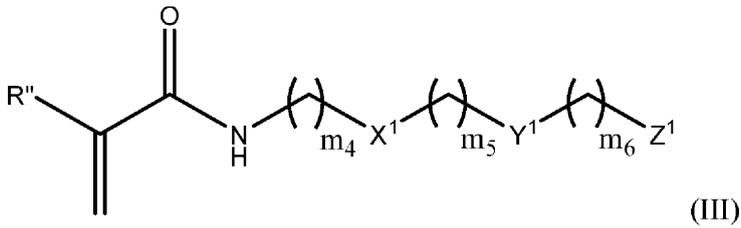
[本発明1036]

本発明1032のカプセルを、糖尿病を有する対象に埋め込む工程を含む、糖尿病対象を処
置する方法。

[本発明1037]

式(III)：

20

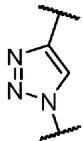


のモノマーであって、

式中、

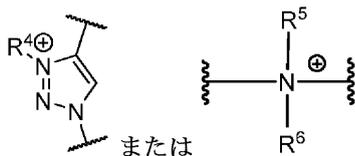
X¹は、存在しないか、または

30



であり；

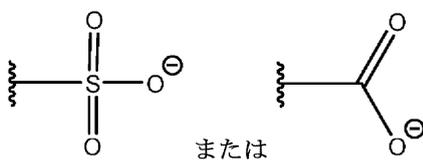
Y¹は



40

であり；

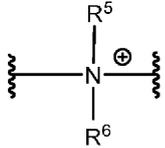
Z¹は



であり；

50

m_4 は、1～50であり；
 m_5 は、0～10であり；
 m_6 は、1～50であり；
 R'' は、HまたはC₁～6アルキルであり；
 R^4 は、C₁～20アルキルであり；
 R^5 は、C₁～20アルキルであり；
 R^6 は、C₁～20アルキルであり、
 ただし、X¹が存在しないとき、Y¹は

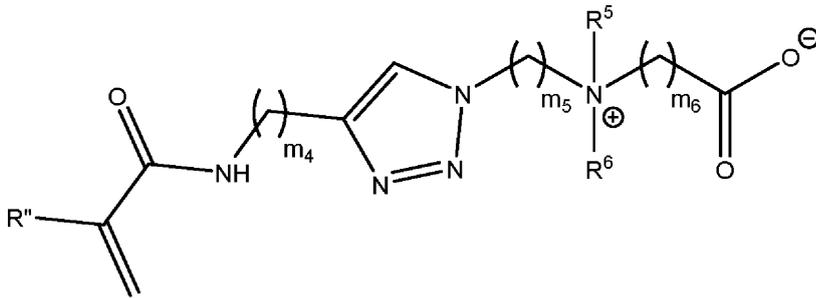


10

ではない、
 前記モノマー。

[本発明1038]

式(IIIa)：



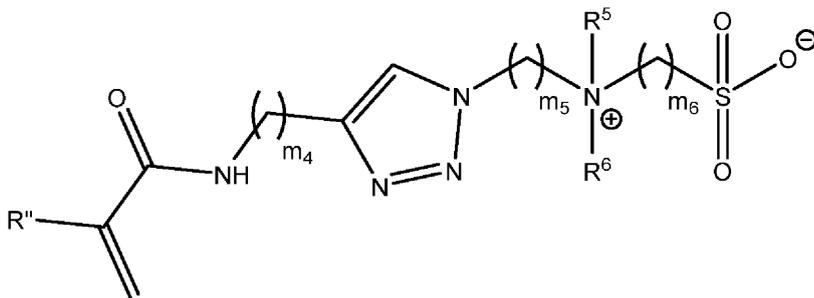
20

(IIIa)

を有する、本発明1037のモノマー。

[本発明1039]

式(IIIb)：



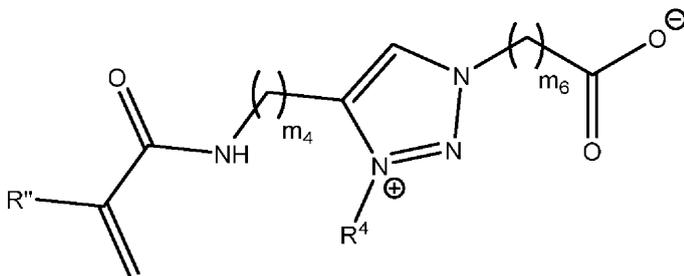
30

(IIIb)

を有する、本発明1037のモノマー。

[本発明1040]

式(IIIc)：



40

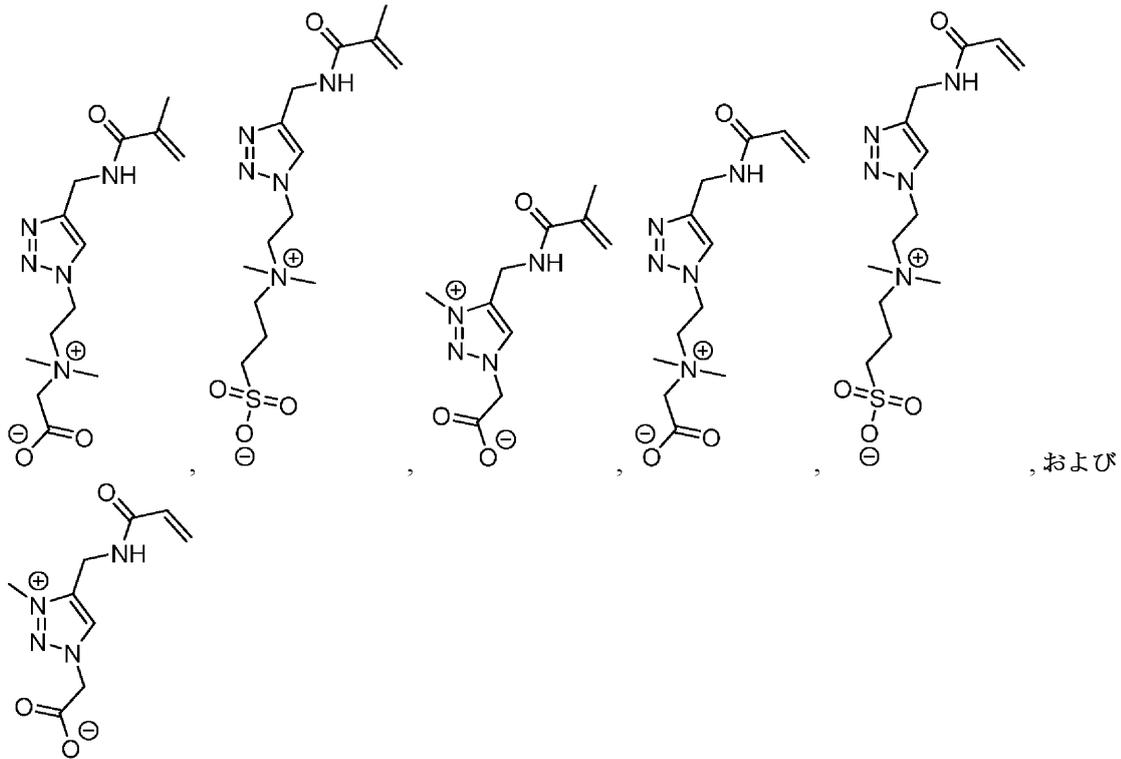
(IIIc)

50

を有する、本発明1037のモノマー。

[本発明1041]

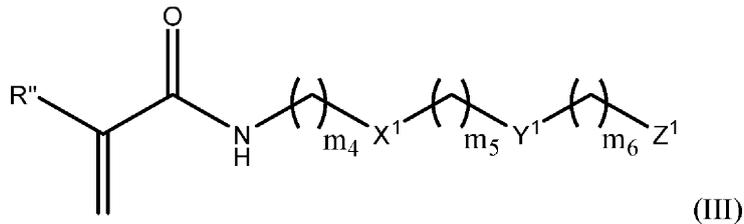
以下：



からなる群から選択される、本発明1037のモノマー。

[本発明1042]

式(III)：



の架橋モノマーを含む、ポリマーネットワーク。

[本発明1043]

ネットワークの前記架橋モノマーが同じである、本発明1042のポリマーネットワーク。

[本発明1044]

ネットワークの前記架橋モノマーが異なる、本発明1042のポリマーネットワーク。

[本発明1045]

前記モノマーが、カルボキシベタインジアクリルアミド架橋剤(CBAAX)によって架橋されている、本発明1042のポリマーネットワーク。

[本発明1046]

本発明1042のポリマーネットワークを含む、ヒドロゲル。

[本発明1047]

本発明1046のヒドロゲルと
該ヒドロゲル中に封入された治療剤と
を含む、カプセル。

[本発明1048]

前記治療剤が細胞調製物を含む、本発明1047のカプセル。

10

20

30

40

50

[本発明1049]

前記ヒドロゲル中に封入された細胞調製物をさらに含み、
前記治療剤が、該細胞調製物から放出される作用物質である、
本発明1047のカプセル。

[本発明1050]

前記細胞調製物が腫瘍の調製物を含む、本発明1049のカプセル。

[本発明1051]

前記治療剤が、治療用のタンパク質、ペプチド、抗体またはその結合断片、抗体模倣薬、核酸、小分子、ホルモン、成長因子、血管新生因子、サイトカイン、抗炎症薬、およびこれらの任意の組み合わせからなる群から選択される、本発明1047のカプセル。

10

[本発明1052]

本発明1047のカプセルを対象に投与する工程を含む、治療剤を対象に送達する方法。

[本発明1053]

前記投与する工程が、前記カプセルを前記対象に埋め込むことを含む、本発明1052の方法。

[本発明1054]

本発明1050のカプセルを、糖尿病を有する対象に埋め込む工程を含む、糖尿病対象を処置する方法。

【図面の簡単な説明】**【0018】**

【図1】 A～Bは、スルホベタイン-NH₂ (A) およびカルボキシベタイン-NH₂ (B) モノマーの¹H NMRスペクトルを示す。

20

【図2】 A～Bは、本明細書に記載されているスルホベタイン系アルギン酸塩共役体の合成および特徴付けを示す。Aは、スルホベタイン系アルギン酸塩共役体の合成経路を示す。Bは、D₂O中でのアルギン酸塩、スルホベタイン系アルギン酸塩共役体、およびスルホベタイン-NH₂モノマーの¹H NMRスペクトルを示す。

【図3】 A～Bは、明細書に記載されているカルボキシベタイン系アルギン酸塩共役体の合成および特徴付けを示す。Aは、カルボキシベタイン系アルギン酸塩共役体の合成経路を示す。Bは、D₂O中でのアルギン酸塩、カルボキシベタイン系アルギン酸塩共役体、およびカルボキシベタイン-NH₂モノマーの¹H NMRスペクトルを示す。

30

【図4】 C57BL/6Jマウスにおける腹腔内埋め込みの14日後の線維症がほとんどない3種のスルホベタイン改変アルギン酸塩マイクロカプセル (SB-VLG、SB-SLG20、およびSB-SLG100) を示す画像である。腹腔内空間において2週間後に取り出したマイクロカプセルの暗視野位相コントラスト画像は、SB-アルギン酸塩マイクロカプセルにおいて、SLG20非改変対照マイクロカプセルにおけるものよりもかなり少ない線維症を示す。SLG20、VLG、SLG100は、異なる分子量を有するアルギン酸塩である。スケールバー、2000 μm; n = 5; 各画像が、1匹のマウスを表す。

【図5】 C57BL/6Jマウスにおける腹腔内埋め込みの100日後の線維症がほとんどないスルホベタイン (SB) 改変アルギン酸塩 (SB-SLG20) マイクロカプセルを示す。腹腔内空間において100日後に取り出したマイクロカプセルの暗視野位相コントラスト画像は、SB改変マイクロカプセル (最終行の画像) において、SLG20対照マイクロカプセル (1行目の画像) におけるものよりもかなり少ない線維症を示す。スケールバー、2000 μm; 各画像が、1匹のマウスを表す、n = 4。

40

【図6】 C57BL/6Jマウスにおける腹腔内埋め込みの180日後の線維症がほとんどないSB-SLG20マイクロカプセルを示す。腹腔内空間において180日後に取り出したマイクロカプセルの暗視野位相コントラスト画像は、SB改変マイクロカプセルにおいて、SLG20対照マイクロカプセルにおけるものよりもかなり少ない線維症を示す。スケールバー、2000 μm; 各画像が、1匹のマウスを表す、n = 7。

【図7】 C57BL/6Jマウスにおける腹腔内埋め込みの180日後に取り出したSB

50

- S L G 2 0 (下の2行)およびS L G 2 0 (上の2行)マイクロカプセルの画像を示す。
n = 7。カプセルの白色部分は、線維症を示す。

【図8】C 5 7 B L / 6 Jマウスにおける腹腔内埋め込みの30日後の線維症がほとんどないエチレン-グリコールS Bマイクロカプセルの暗視野位相コントラスト画像を示す。
スケールバー、2 0 0 0 μm ; n = 5。

【図9-1】S B - S L G 2 0カプセル中に封入されたラット膵島が、S L G 2 0対照群と比較して、S T Z処置糖尿病C 5 7 B L / 6 Jマウスにおいて長期の正常血糖値を維持したことを示す。Aは、1 0 0 0 μm S B - S L G 2 0マイクロカプセル中に封入されたラット膵島の代表的な暗視野位相コントラスト画像である。スケールバー、5 0 0 μm 。
Bは、3ヶ月の埋め込み研究からのマウスの血中グルコース濃度を示すグラフである(処置群当たりn = 3マウス)。

10

【図9-2】S B - S L G 2 0カプセル中に封入されたラット膵島が、S L G 2 0対照群と比較して、S T Z処置糖尿病C 5 7 B L / 6 Jマウスにおいて長期の正常血糖値を維持したことを示す。Cは、代表的な暗視野位相コントラスト画像(スケールバー、2 0 0 0 μm)であり、Dは、埋め込みの90日後に取り出した膵島含有S L G 2 0マイクロカプセルのH & E染色断面画像である。カプセルの白色部分は、線維症の存在を示す。Eは、代表的な暗視野位相コントラスト画像(スケールバー、2 0 0 0 μm)であり、Fは、埋め込みの90日後に取り出した膵島含有S B - S L G 2 0マイクロカプセルのH & E染色断面画像である。カプセルにおける線維症の非存在、およびカプセル内の多数の膵島に注意されたい。Gは、取り出したS B - S L G 2 0マイクロカプセルにおける膵島の免疫組織化学的染色(D A P I)を示す画像である。インスリンもまた、染色によって可視化された;スケールバー、5 0 μm 。

20

【図10】4 0 0 M H z、C D C l₃における生成物1 0 aの¹H NMRスペクトルを示す。

【図11】4 0 0 M H z、C D C l₃における生成物1 5 aの¹H NMRスペクトルを示す。

【図12】4 0 0 M H z、C D C l₃における生成物1 6 aの¹H NMRスペクトルを示す。

【図13】4 0 0 M H z、D₂Oにおける生成物1 7 aの¹H NMRスペクトルを示す。

【図14】4 0 0 M H z、D₂Oにおけるq T R - C Bの¹H NMRスペクトルを示す。

30

【図15】4 0 0 M H z、D₂Oにおける生成物9 aの¹H NMRスペクトルを示す。

【図16】4 0 0 M H z、D₂Oにおける生成物1 1 aの¹H NMRスペクトルを示す。

【図17】4 0 0 M H z、D₂OにおけるT R - C Bの¹H NMRスペクトルを示す。

【図18】4 0 0 M H z、C D C l₃における生成物1 2 aの¹H NMRスペクトルを示す。

【図19】4 0 0 M H z、D₂OにおけるT R - S Bの¹H NMRスペクトルを示す。

【図20A】q T R - C Bの合成および特徴付けを示す。Aは、q T R - C Bの化学構造を示す。

【図20B】q T R - C Bの合成および特徴付けを示す。Bは、q T R - C Bの合成経路を示す。

40

【図20C】q T R - C Bの合成および特徴付けを示す。Cは、P (q T R - C B) グラフト化または金のみ(b a r e g o l d)の表面における1 m g / m Lのフィブリノゲン(F g)または非希釈ヒト血漿からのタンパク質吸着を示す典型的な表面プラズモン共鳴(S P R) センサーグラムを示す。15分の時点での線は、上から下へ、凡例と同じ順序である。

【図20D】q T R - C Bの合成および特徴付けを示す。Dは、P (q T R - C B) ヒドロゲルの画像である。

【図21】A ~ Eは、P (q T R - C B) ヒドロゲルの機械的特性を示す。Aは、エネルギー散逸のための起こり得るメカニズムとしてのトリアゾール環間での - スタッキングを示す概略図である。Bは、屈曲試験の際のポリ(カルボキシペタイン)(P C B) お

50

よび P (q T R - C B) ヒドロゲルの画像を示す。C は、引張試験における P C B および P (q T R - C B) ヒドロゲルに関する応力ひずみ曲線を示すグラフである。D は、圧縮試験における P C B および P (q T R - C B) ヒドロゲルに関する応力ひずみ曲線を示すグラフである。E は、P (q T R - C B) ヒドロゲルに関する 10 の連続的な負荷非負荷サイクルの応力ひずみ曲線を示すグラフである。

【図 2 2】A ~ B は、P (q T R - C B) ヒドロゲルのインビトロ特徴付けを示す。A は、組織培養ポリスチレン (T C P S)、ポリ (2 - ヒドロキシエチルメタクリレート) (P H E M A)、P C B、および P (q T R - C B) ヒドロゲル表面 (スケールバー : 100 μ m) における 3 日間の培養後の N I H / 3 T 3 細胞の蛍光顕微鏡画像、ならびに細胞密度の定量化 (平均 ± 標準偏差 ; n = 5 ; *、p < 0 . 05 ; n s、有意差なし) を示す。B は、種々の表面において培養されたマクロファージからの T N F - および I L 10 分泌の定量化を示すグラフである (平均 ± 標準偏差 ; n = 6 ; *、p < 0 . 05 ; n s、有意差なし)。左から右への各グラフの各条件におけるバーの順番 : T C P S、P H E M A、P C B、P (q T R - C B)。

10

【図 2 3】A ~ E は、P (T R - C B) および P (T R - S B) ヒドロゲルの合成ならびにこれらの機械的特性の特徴付けを示す。A は、T R - C B および T R - S B モノマーへの合成経路を示す。B は、屈曲試験の際の P (T R - C B) および P (T R - S B) ヒドロゲルの画像を示す。C は、P (T R - S B) ヒドロゲルの伸長を示す。D は、引張試験における P C B、P (T R - C B)、および P (T R - S B) ヒドロゲルに関する応力ひずみ曲線を示すグラフである。E は、圧縮試験における P C B、P (T R - C B)、および P (T R - S B) ヒドロゲルに関する応力ひずみ曲線を示すグラフである。

20

【図 2 4 A】免疫応答性マウスにおける種々のヒドロゲルへの異物反応 (F B R) の特徴付けを示す。A は、皮下埋め込み後の示された時点で取り出した異なるヒドロゲルの代表的なマッソントリクローム染色画像を示す。ブルー染色は、埋め込み物を包囲している線維症またはコラーゲン沈着を示す (スケールバー : 100 μ m ; アスタリスク記号は、埋め込まれたヒドロゲルの場所を示す)。

【図 2 4 B】免疫応答性マウスにおける種々のヒドロゲルへの異物反応 (F B R) の特徴付けを示す。B は、埋め込み物の周囲のコラーゲン密度の定量化を示すグラフである (n = 5)。

【図 2 5】P (T R - C B) および P (T R - S B) ヒドロゲル表面における 3 日間の培養後に付着した N I H / 3 T 3 細胞の蛍光顕微鏡画像を示す (スケールバー : 100 μ m)。

30

【図 2 6】皮下埋め込みの 1 ヶ月後の免疫応答性マウスにおける種々のヒドロゲルへの F B R の特徴付けを示す。A (左) は、P C B ヒドロゲルの代表的なマッソントリクローム染色画像を示す (ブルー染色は、埋め込み物を包囲している線維症またはコラーゲン沈着を示す ; スケールバー : 100 μ m ; アスタリスク記号は、埋め込まれたヒドロゲルの場所を示す)。A (右) のグラフは、埋め込み物の周囲のコラーゲン密度の定量化を示す。B (左) は、P C B ヒドロゲルの代表的な C D 31 免疫染色画像を示す (血管は暗緑色に染色され、核は青色に染色される ; スケールバー : 50 μ m ; アスタリスク記号は、埋め込まれたヒドロゲルの場所を示し、破線は、線維層と皮膚組織との間の境界を示す)。B (右) のグラフは、埋め込み物の周囲の血管密度の定量化を示す。全てのデータは、平均値 ± 標準偏差として提示されている (ヒドロゲルの種類当たり 5 匹のマウス) ; *、P < 0 . 05 ; n s、有意差なし。

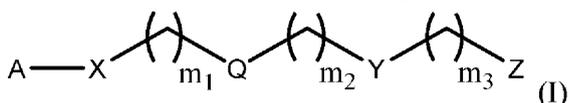
40

【発明を実施するための形態】

【0019】

発明の詳細な説明

本発明の一態様は、式 (I) :



50

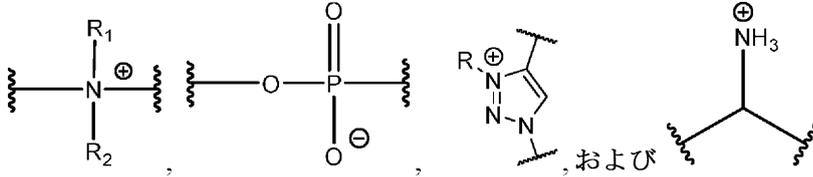
のモノマーであって、
式中

Aは、サッカリド含有単位およびポリビニルアルコール含有単位から選択され；

Xは、O、NH、NR'、C(O)、およびC₁~20アルキレンからなる群から選択され、ここで、C₁~20アルキレンが、OH、ハロゲン、シアノ、-CF₃、およびC₁~6アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回任意選択的に置換されており；

Qは、任意選択的であり、存在するとき、リンカーであり；

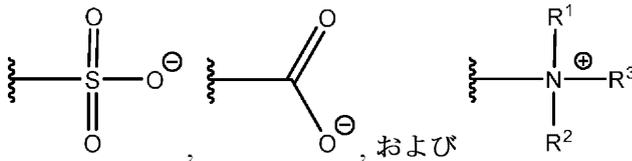
Yは、



10

からなる群から選択され；

Zは、



20

からなる群から選択され；

m₁は、0~50であり；

m₂は、0~50であり；

m₃は、0~50であり；

Rは、C₁~20アルキルであり；

R'は、-C(O)-C₁~6アルケンであり；

R¹は、C₁~20アルキルであり；

R²は、C₁~20アルキルであり；

R³は、C₁~20アルキルである；

上記モノマーに関する。

【0020】

一実施形態において、Qは、本発明のモノマーにおいて存在していない。別の実施形態において、Qは、本発明のモノマーにおいてリンカーとして存在する。Qは、任意の個数の炭素原子、1~30個の炭素原子、1~20個の炭素原子、または1~14個の炭素原子を含有しており、また、線状、分岐、または環状の構造形式で窒素、硫黄、または窒素などの1以上のヘテロ原子を任意選択的に含んでいる有機グルーピングである。代表的なQグルーピングは、C₁~20アルキレン、置換C₁~20アルキレン、フェノキシ、置換フェノキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、C₃~20シクロアルキレン、置換C₃~20シクロアルキレン、C₃~20シクロアルケニレン、置換C₃~20シクロアルケニレン、C₈~20シクロアルキニレン、置換C₈~20シクロアルキニレン、ヘテロシクリレン、置換ヘテロシクリレン、アリーレン、置換アリーレン、トリアゾール、ポリ(エチレングリコール)、またはポリペプチド部位である。

40

【0021】

一実施形態において、Qは、C₁~20アルキレン、C₃~20シクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、ヘテロシクリレン、-O-C₁~20アルキレン、ポリ(エチレングリコール)、およびポリペプチドからなる群から選択され、ここで、C₁~20アルキレン、C₃~20シクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、ヘテロシクリレン、

50

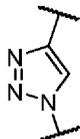
または - O - C₁ ~ 20 アルキレンが、- OH、ハロゲン、シアノ、- CF₃、C₁ ~ 6 アルキル、および C₁ ~ 6 アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって 1 ~ 20 回任意選択的に置換されており、C₁ ~ 20 アルキレンが、酸素、窒素、硫黄、または窒素からなる群から選択される 1 以上のヘテロ原子によって任意選択的に中断されている。

【0022】

別の実施形態において、Q は、ヘテロアリーレンである。

【0023】

さらに別の実施形態において、Q は



10

である。

【0024】

上記で使用されているように、本明細書における説明を通して、以下の用語は、別途示さない限り、以下の意味を有することが理解されよう。本明細書において別途定義されていないとき、本明細書において使用されている全ての技術的および科学的用語は、この技術が属する分野における当業者によって一般的に理解されているものと同じ意味を有する。本明細書における用語について複数の定義がある場合においては、別途記述されていない限り、このセクションにおけるものが優先される。

20

【0025】

「アルキル」という用語は、別途特定されない限り、直鎖であっても分岐鎖であってもよく、鎖において約 1 ~ 約 20 (例えば、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20) 個の炭素原子を有する脂肪族炭化水素基を意味する。分岐鎖は、1 以上の低級アルキル基、例えば、メチル、エチル、またはプロピルが、線状アルキル鎖に結合していることを意味する。例示的なアルキル基として、メチル、エチル、n - プロピル、i - プロピル、n - ブチル、t - ブチル、n - ペンチル、および 3 - ペンチルが挙げられる。

30

【0026】

「アルキレン」という用語は、アルキル基からの水素原子の除去によって得られる基を意味する。アルキレンは、二価の直鎖または分岐鎖アルカン基である。アルキレンの非限定例として、メチレンおよびエチレンが挙げられる。

【0027】

「アルケニル」という用語は、炭素 - 炭素二重結合を含有していて、直鎖であっても分岐鎖であってもよい、鎖において約 2 ~ 約 20 (例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20) 個の炭素原子を有する脂肪族炭化水素基を意味する。好ましいアルケニル基は、鎖において 2 ~ 約 6 (例えば、2、3、4、5、6) 個の炭素原子を有する。例示的なアルケニル基として、エチニル、プロペニル、n - ブテニル、および i - ブテニルが挙げられる。アルケニレンは、二価の直鎖または分岐鎖アルケン基である。

40

【0028】

「アルキニル」という用語は、炭素 - 炭素三重結合を含有していて、直鎖であっても分岐鎖であってもよい、鎖において約 2 ~ 約 20 (例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20) 個の炭素原子を有する脂肪族炭化水素基を意味する。好ましいアルキニル基は、鎖において 2 ~ 約 6 (例えば、2、3、4、5、6) 個の炭素原子を有する。例示的なアルキニル基として、エチニル、プロピニル、n - ブチニル、2 - ブチニル、3 - メチルブチニル、および n - ペンチニルが挙げられる。アルキニレンは、二価の直鎖または分岐鎖アルキンである。

50

【0029】

「シクロアルキル」という用語は、3～20（例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20）個の炭素原子を含有してよい非芳香族飽和単または多環式環系を指す。例示的なシクロアルキル基として、限定されることなく、シクロプロピル、シクロブチル、シクロペンチル、シクロヘキシルが挙げられる。

【0030】

「シクロアルキレン」という用語は、シクロアルキル基からの水素原子の除去によって得られる基を意味する。シクロアルキレンの非限定例として、シクロブチレンおよびシクロプロピレンが挙げられる。

10

【0031】

「シクロアルケニル」という用語は、3～12（例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、または12）個の炭素原子を含有してよく、また、少なくとも1つの二重結合を含む非芳香族不飽和単または多環式環系を指す。例示的なシクロアルケニル基として、限定されることなく、シクロプロベニル、シクロブテニル、シクロペンテニル、シクロヘキセニルが挙げられる。シクロアルケニレンは、二価の直鎖または分岐鎖シクロアルケン基である。

【0032】

「シクロアルキニル」という用語は、8～12個の炭素原子を含有してよく、また、少なくとも1つの三重結合を含む非芳香族不飽和単または多環式環系を指す。例示的なシクロアルキニル基として、限定されることなく、シクロノニンおよびシクロオクチンが挙げられる。シクロアルキニレンは、二価の直鎖または分岐鎖シクロアルキン基である。

20

【0033】

本明細書において使用されているとき、「ヘテロシクリル」という用語は、炭素原子、ならびに、窒素、酸素、硫黄、およびケイ素からなる群から選択される1～5（例えば、1、2、3、4、または5）個のヘテロ原子からなる安定な3～18員（例えば、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、または18員）環系を指す。ヘテロシクリルは、縮合、橋かけ、またはスピロ環系を含んでいてよい単環式または多環式環系であってよく；ヘテロシクリル中の窒素、炭素、硫黄、またはケイ素原子は、任意選択的に酸化されていてよく；窒素原子は、任意選択的に4級化されていてよく；環は、部分または完全飽和であってよい。代表的な単環式ヘテロシクリルとして、ピペリジン、ピペラジン、ピリミジン、モルホリン、チオモルホリン、ピロリジン、テトラヒドロフラン、ピラン、テトラヒドロピラン、オキセタンなどが挙げられる。代表的な多環式ヘテロシクリルとして、インドール、イソインドール、インドリジン、キノリン、イソキノリン、プリン、カルバゾール、ジベンゾフラン、クロメン、キサンテンなどが挙げられる。

30

【0034】

「ヘテロシクリレン」という用語は、ヘテロシクリル基からの水素原子の除去によって得られる基を意味する。ヘテロシクリレンの非限定例として、ピペリジレン、ピロリジニレン、ピペラジニレン、モルホリニレン、チオモルホリニレン、チアゾリジニレン、1,4-ジオキサニレン、テトラヒドロフラニレンおよびテトラヒドロチオフェニレンが挙げられる。

40

【0035】

本明細書において使用されているとき、「アリール」という用語は、6～19（例えば、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、または19）個の炭素原子を含有する芳香族単環式または多環式環系であって、任意選択的に置換されていてよい上記環系を指す。本発明のアリール基として、限定されないが、フェニル、ナフチル、アズレニル、フェナントレニル、アントラセニル、フルオレニル、ピレニル、トリフェニレニル、クリセニル、およびナфтаセニルなどの基が挙げられる。

【0036】

50

「アリーレン」という用語は、アリール基からの水素原子の除去によって得られる基を意味する。アリーレンの非限定例として、フェニレンおよびナフタレンが挙げられる。

【0037】

本明細書において使用されているとき、「ヘテロアリール」は、炭素原子、ならびに、窒素、酸素、硫黄、およびケイ素からなる群から選択される1～5（例えば、1、2、3、4、または5）個のヘテロ原子からなる芳香族環ラジカルを指す。ヘテロアリール基の例として、限定されることなく、ピロリル、ピラゾリル、イミダゾリル、トリアゾリル、フリル、チオフェニル、オキサゾリル、イソオキサゾリル、チアゾリル、イソチアゾリル、オキジアザゾリル、チアジアゾリル、ピリジル、ピラジニル、ピリミジニル、ピリダジニル、トリアジニル、チエノピロリル、フロピロリル、インドリル、アザインドリル、イソインドリル、インドリニル、インドリジニル、インダゾリル、ベンズイミダゾリル、イミダゾピリジニル、ベンゾトリアゾリル、ベンズオキサゾリル、ベンズオキサジアゾリル、ベンゾチアゾリル、ピラゾロピリジニル、トリアゾロピリジニル、チエノピリジニル、ベンゾチアジアゾリル、ベンゾフリル、ベンゾチオフェニル、キノリニル、イソキノリニル、テトラヒドロキノリル、テトラヒドロイソキノリル、シンノリニル、キナゾリニル、キノリジリニル、フタラジニル、ベンゾトリアジニル、クロメニル、ナフチリジニル、アクリジニル、フェナンジニル、フェノチアジニル、フェノキサジニル、プテリジニル、およびプリニルが挙げられる。さらなるヘテロアリールは、COMPREHENSIVE HETEROCYCLIC CHEMISTRY: THE STRUCTURE, REACTIONS, SYNTHESIS AND USE OF HETEROCYCLIC COMPOUNDS (Katritzky et al. eds., 1984)に記載されており、全体が参照により本明細書に組み込まれる。

【0038】

「ヘテロアリーレン」という用語は、ヘテロアリール基からの水素原子の除去によって得られる基を意味する。ヘテロアリーレンの非限定例として、ピリジレン、ピラジニレン、フラニレン、チエニレンおよびピリミジニレンが挙げられる。

【0039】

「任意選択的に置換されている」という用語は、基が、当該基の各置換可能な原子において置換基を有してよいことを示すのに使用される（単一の原子において1を超える置換基を含む）、ただし、表記されている原子の通常の価数を超えないこと、および各置換基の同一性が他から独立していることを条件とする。各残基において最大で3個のH原子が、アルキル、ハロゲン、ハロアルキル、ヒドロキシ、低級アルコキシ、カルボキシ、カルボアルコキシ（アルコキシカルボニルとも称される）、カルボキサミド（アルキルアミノカルボニルとも称される）、シアノ、カルボニル、ニトロ、アミノ、アルキルアミノ、ジアルキルアミノ、メルカプト、アルキルチオ、スルホキシド、スルホン、アシルアミノ、アミジノ、フェニル、ベンジル、ヘテロアリール、フェノキシ、ベンジルオキシ、またはヘテロアリールオキシによって置き換えられている。「非置換」の原子は、その価数によって決定される全ての水素原子を持っている。置換基がケトであるとき（すなわち、=O）、原子上の2個の水素が置き換えられている。置換基および/または変数の組み合わせは、かかる組み合わせが安定な化合物を結果として生じるときのみ許容され；「安定な化合物」または「安定な構造」とは、反応混合物から有用な純度の程度までの単離および有効な治療剤への製剤化に耐え抜くのに十分に堅牢である化合物が意図される。

【0040】

「置換されている」または「置換」という用語は、表記されている原子上の1以上の水素が、示唆されている基からの選択によって置き換えられていることを意味するが、ただし、表記されている原子の通常の価数を超えないことを条件とする。「非置換」の原子は、その価数によって決定される全ての水素原子を持っている。置換基がオキソであるとき（すなわち、=O）、原子上の2個の水素が置き換えられている。置換基および/または変数の組み合わせは、かかる組み合わせが安定な化合物を結果として生じるときのみ許容される。「安定な化合物」とは、反応混合物から有用な純度の程度までの単離および有効

10

20

30

40

50

な治療剤への製剤化に耐え抜くのに十分に堅牢である化合物が意図される。例示的な置換基として、限定されることなく、オキソ、チオ（すなわち、 $=S$ ）、ニトロ、シアノ、ハロ、OH、 NH_2 、 $C_1 - C_6$ アルキル、 $C_1 - C_6$ アルコキシ、 $C_2 - C_6$ アルケニル、 $C_2 - C_6$ アルキニル、 $C_3 - C_6$ シクロアルキル、 $C_4 - C_7$ シクロアルキルアルキル、単環式アリール、単環式ヘテロアリール、多環式アリール、および多環式ヘテロアリールが挙げられる。

【0041】

「単環式」という用語は、1つの環を有する分子構造を示す。

【0042】

「多環式」という用語は、限定されないが、縮合、橋かけ、またはスピロ環を含めた2以上の環を有する分子構造を示す。

10

【0043】

「ハロゲン」という用語は、フッ素、塩素、臭素、またはヨウ素を意味する。

【0044】

「シアノ」という用語は、以下に示すシアノ基

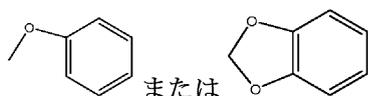


を意味する。

【0045】

20

「アルコキシ」という用語は、酸素を通して親構造に結合している、直鎖、分岐鎖、または環状構成およびこれらの組み合わせのうちの1～8個の炭素原子からの基を意味する。例として、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、シクロプロピルオキシ、シクロヘキシルオキシなどが挙げられる。低級アルコキシは、1～4個の炭素を含有する基を指す。本特許出願の目的で、アルコキシにはまた、メチレンジオキシおよびエチレンジオキシも含まれ、これらにおいて、各酸素原子が、原子、鎖、または環に結合しており、これらから、メチレンジオキシまたはエチレンジオキシ基が、環を形成するようにペンダント状になっている。そのため、例えば、アルコキシによって置換されているフェニルは、例えば、



30

であってよい。

【0046】

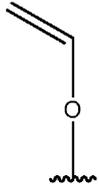
本明細書に記載されているモノマーおよび化合物は、1以上の不斉中心を含有してよく、したがって、エナンチオマー、ジアステレオマー、および他の立体異性体形態を生じてよい。各キラル中心は、絶対立体化学の観点で、(R)-または(S)-と定義され得る。本発明は、ラセミおよび光学的に純粋な形態を含めた、全てのかかる可能な異性体、ならびにこれらの混合物を含むことが意図される。光学的に活性な(R)-および(S)-、(-)-および(+)-、または(D)-および(L)-異性体は、キラルシントームもしくはキラル試薬を使用して調製されてよく、または従来技術を使用して分割されてよい。本明細書に記載されている化合物が、オレフィン性二重結合、または幾何学的非対称の他の中心を含有しているとき、別途特定されない限り、当該化合物は、EおよびZの両方の幾何学的異性体を含むことが意図される。同様に、全ての互変異性体形態もまた含まれることが意図される。

40

【0047】

本明細書において言及されているとき、「ポリビニルアルコール含有単位」は、 $CH_2 = CH(OH)$ または

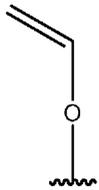
50



の化学式を含む単位であり、式中、



は、A から X への結合点であり、
 $\text{CH}_2 = \text{CH}(\text{OH})$ および



は、任意選択的に置換されていてよい。

【0048】

本明細書において使用されているとき、「サッカリド含有単位」は、サッカリドを含めた任意の化学単位、特に、単糖、二糖、またはオリゴ糖を含めた化学単位である。

【0049】

単糖は、 $(\text{CH}_2\text{O})_n$ ：式中、 $n \geq 3$ ；の一般構造を有するポリヒドロキシアルコールのアルデヒドまたはケトン誘導体である。単糖は、限定されることなく、デキストロ(D-)またはレボ(L)形態の、置換または非置換のトリオース、トリウロース、テトロース、テツロース(tetulose)、ペントース、ペンツロース、ペンツロン酸、ヘキソース、ヘキスロース、ヘキスロン酸、ヘプトース、ヘプツロース、またはヘプツロン酸であり得る。例示的な単糖として、限定されることなく、置換または非置換の、エリスロース、トレオース、リボース、アラビノース、キシロース、リキソース、アロース、アルトロース、グルコース、マンノース、グロース、イドース、ガラクトース、タロース、フコース、フルクトース、エリトルロース、リブロース、キシルロース、プシコース、ソルボース、タガトース、およびこれらの誘導体、例えば、アルドン酸およびウロン酸(例えば、グルコン酸、マンヌロン酸、グルクロン酸、ガラクツロン酸、マンヌロン酸、キシルロン酸)、デオキシ糖(例えば、デオキシリボース、ラムノース、およびフコース)、ならびにアミノ糖(例えば、グルコサミン、ガラクトサミン、N-アセチルムラミン酸)などが挙げられる。本明細書に記載されているモノマーおよびポリマーにおける使用に好適な他の単糖は、当該分野において周知である。

【0050】

二糖は、グリコシド結合によって共に連結されている2つの単糖を含み、オリゴ糖は、グリコシド結合によって共に連結されている、2を超える、通常は3~10の単糖を含む。本明細書に記載されているモノマーおよびポリマーの二糖またはオリゴ糖含有単位は、1種類、または1を超える種類の単糖を含んでいてよい。例示的な二糖として、限定されることなく、スクロース、ラクトース、マルトース、トレハロース、セロビオース、イソマルトース、マルチトールなどが挙げられる。例示的なオリゴ糖として、限定されることなく、フルクト-オリゴ糖、ガラクト-オリゴ糖、グルコ-オリゴ糖、ラフィノースなどが挙げられる。

【0051】

一実施形態において、本明細書に記載されているモノマーのサッカリド含有単位は、以下：

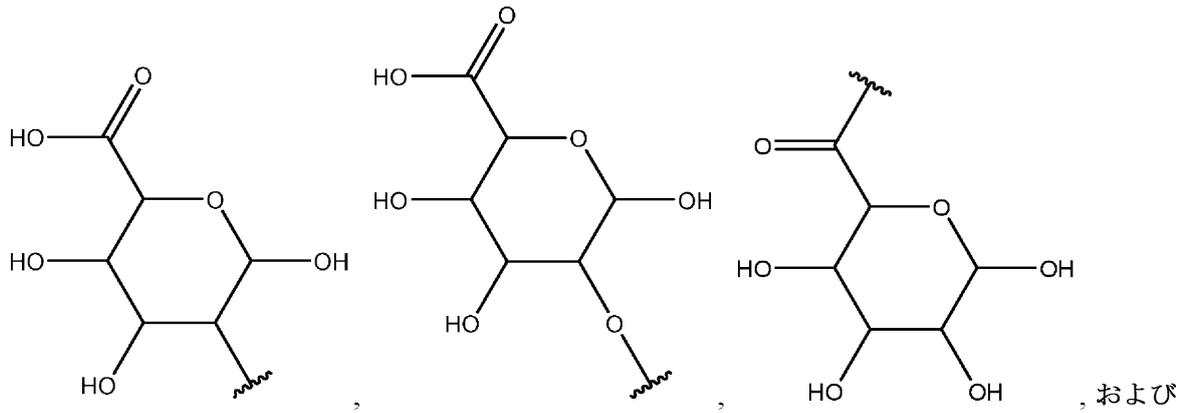
10

20

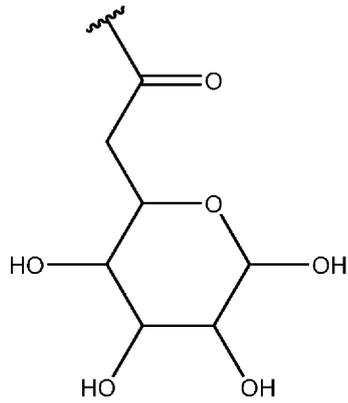
30

40

50



10



20

から選択されるマンヌロン酸塩またはグルロン酸塩であり、ここで、

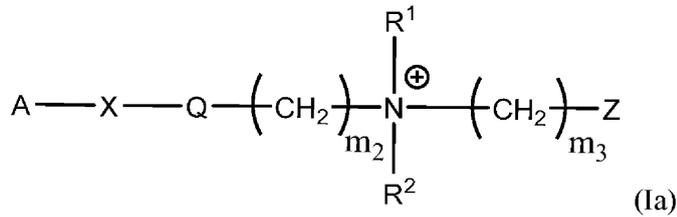


は、A から X への結合点である。

【0052】

一実施形態において、本発明のモノマーは、式 (I a) :

30

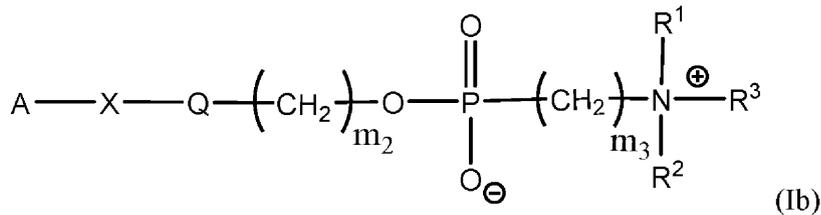


を有する。

【0053】

一実施形態において、本発明のモノマーは、式 (I b) :

40

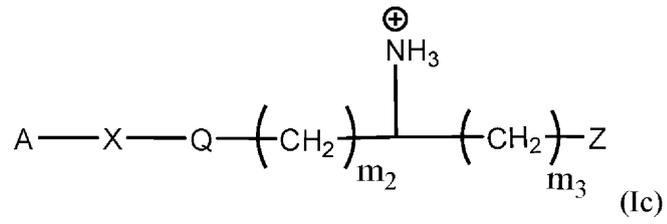


を有する。

【0054】

別の実施形態において、本発明のモノマーは、式 (I c) :

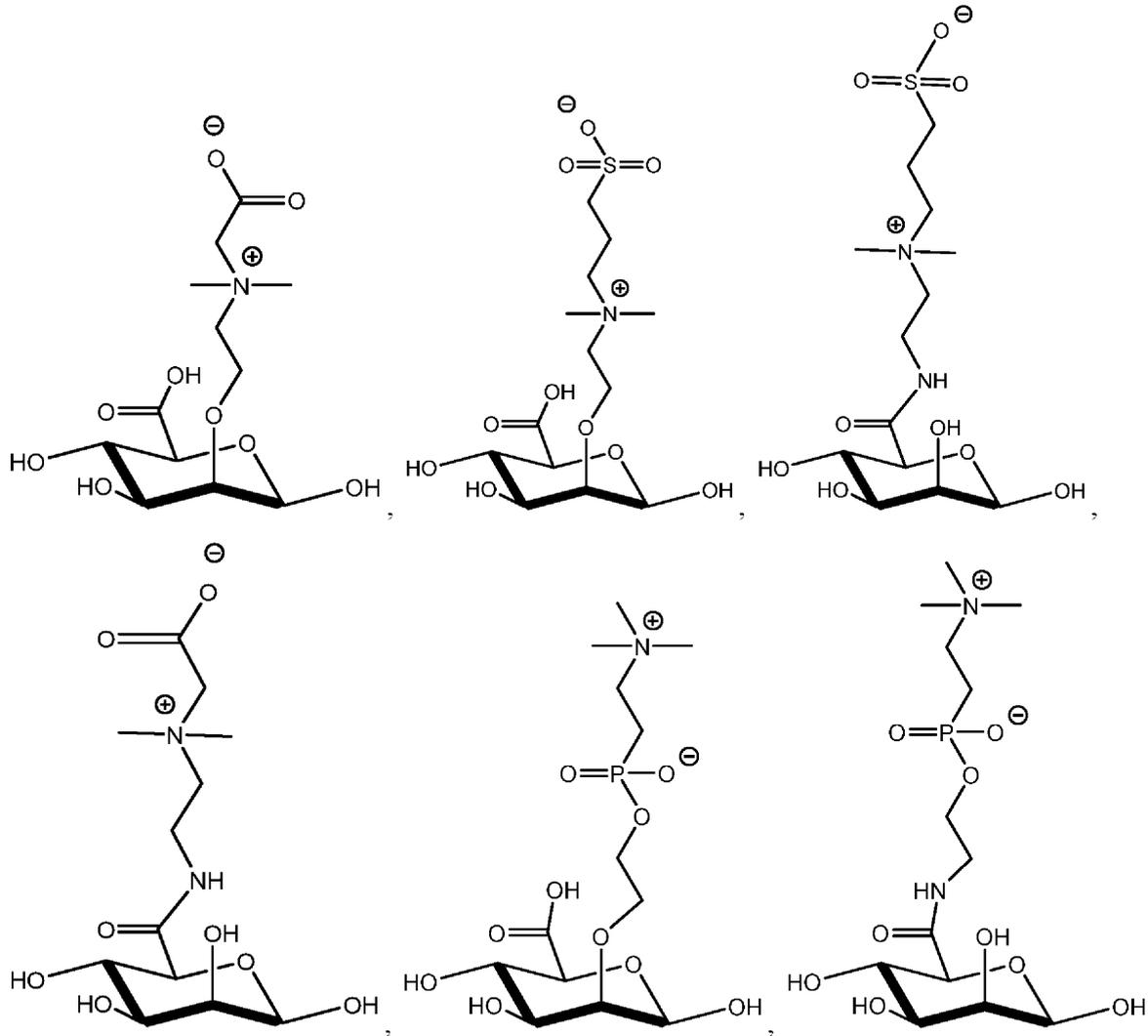
50



を有する。

【 0 0 5 5 】

別の実施形態において、本発明のモノマーは：



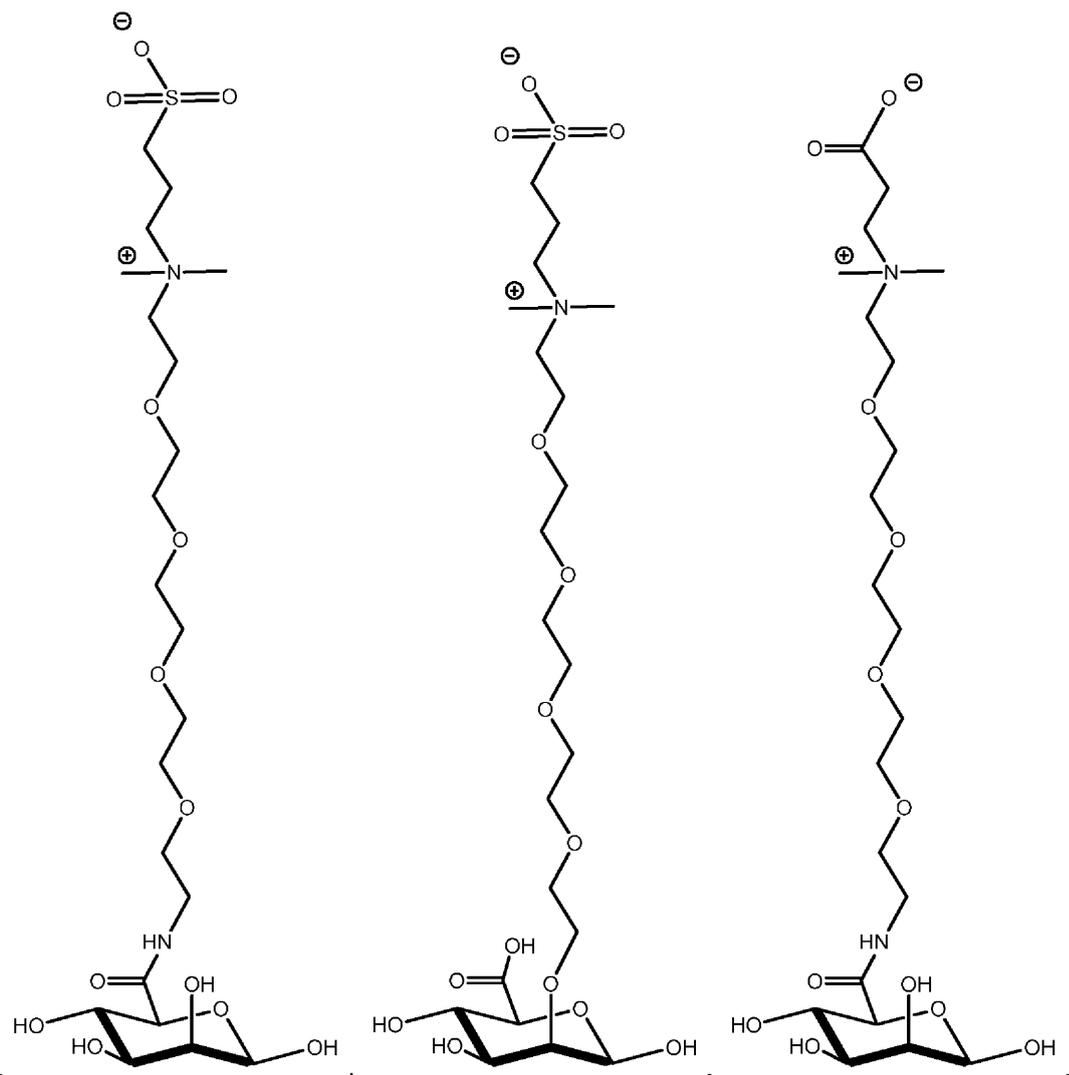
10

20

30

40

50



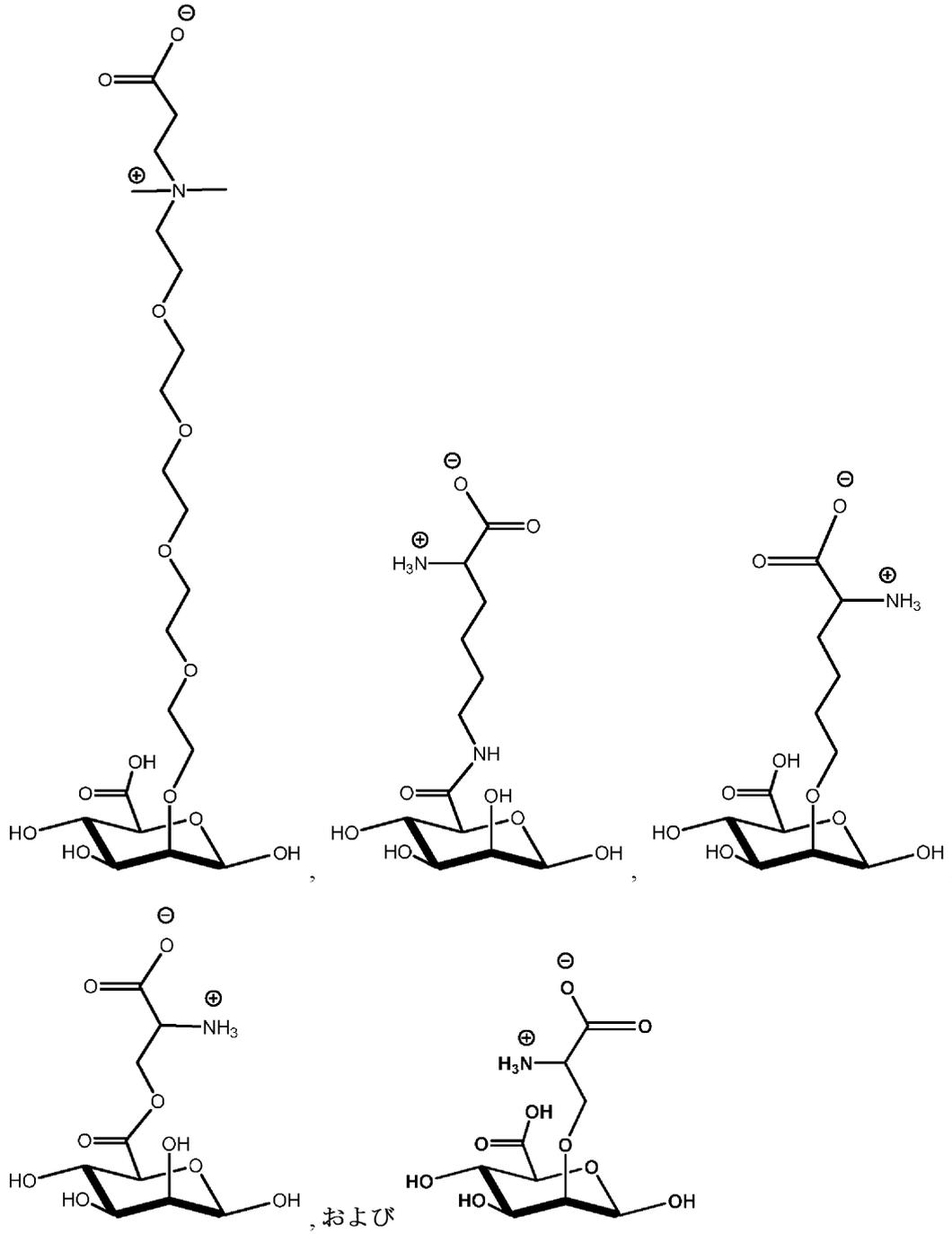
10

20

30

40

50



10

20

30

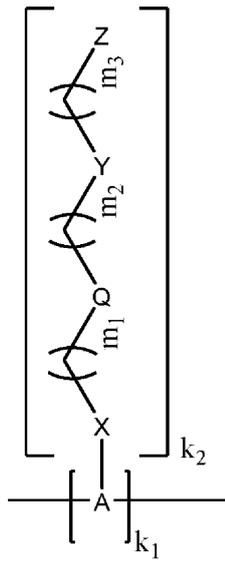
からなる群から選択される式を有する。

【 0 0 5 6 】

本発明の別の態様は、式 (I V) :

40

50



10

のポリマーであって、
式中

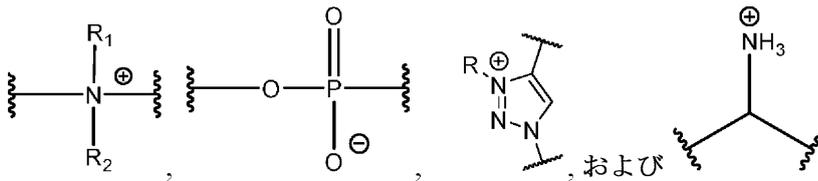
Aは、ポリマーの各モノマー単位について、サッカリド含有単位およびポリビニルアルコール含有単位から独立して選択され；

20

Xは、O、NH、NR'、C(O)、および $C_1 \sim 20$ アルキレンからなる群から選択され、ここで、 $C_1 \sim 20$ アルキレンが、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および $C_1 \sim 6$ アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回任意選択的に置換されており；

Qは、存在しないか、またはリンカーであり；

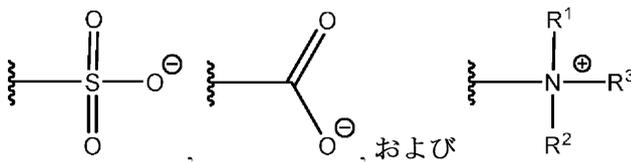
Yは、



30

からなる群から選択され；

Zは、



40

からなる群から選択され；

m_1 は、0~50であり；

m_2 は、0~50であり；

m_3 は、0~50であり；

Rは、 $C_1 \sim 20$ アルキルであり；

R'は、 $-C(O)-C_1 \sim 6$ アルケンであり；

R^1 は、 $C_1 \sim 20$ アルキルであり；

R^2 は、 $C_1 \sim 20$ アルキルであり；

R^3 は、 $C_1 \sim 20$ アルキルであり、

k_1 は、任意の整数であり；

50

k_2 は、各モノマー単位について 0 または 1 から独立して選択されるが、ただし、少なくとも 1 つの k_2 が 1 であり；

ポリマーのモノマー単位は、同じまたは異なっている；

上記ポリマーを対象とする。

【0057】

一実施形態において、Q は、ポリマーのモノマー単位において存在していない。別の実施形態において、Q は、ポリマーのモノマー単位のリンカーとして存在している。Q は、任意の個数の炭素原子、1 ~ 30 個の炭素原子、1 ~ 20 個の炭素原子、または 1 ~ 14 個の炭素原子を含有しており、また、線状、分岐、または環状の構造形式で窒素、硫黄、または窒素などの 1 以上のヘテロ原子を任意選択的に含んでいる有機グルーピングである。代表的な Q グルーピングは、 C_{1-20} アルキレン、置換 C_{1-20} アルキレン、フェノキシ、置換フェノキシ、アルコキシ、置換アルコキシ、 C_{3-20} シクロアルキレン、置換 C_{3-20} シクロアルキレン、 C_{3-20} シクロアルケニレン、置換 C_{3-20} シクロアルケニレン、 C_{8-20} シクロアルキニレン、置換 C_{8-20} シクロアルキニレン、ヘテロシクリレン、置換ヘテロシクリレン、アリーレン、置換アリーレン、トリアゾール、ポリ(エチレングリコール)、またはポリペプチド部位である。

10

【0058】

一実施形態において、Q は、 C_{1-20} アルキレン、 C_{3-20} シクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、ヘテロシクリレン、 $-O-C_{1-20}$ アルキレン、ポリ(エチレングリコール)、およびポリペプチドからなる群から選択され、ここで、 C_{1-20} アルキレン、 C_{3-20} シクロアルキレン、アリーレン、ヘテロアリーレン、ヘテロシクリレン、または $-O-C_{1-20}$ アルキレンが、 $-OH$ 、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、 C_{1-6} アルキル、および C_{1-6} アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって 1 ~ 20 回任意選択的に置換されており、 C_{1-20} アルキレンが、酸素、窒素、硫黄、または窒素からなる群から選択される 1 以上のヘテロ原子によって任意選択的に中断されている。

20

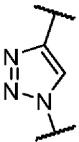
【0059】

別の実施形態において、Q は、ヘテロアリーレンである。

【0060】

さらに別の実施形態において、Q は

30



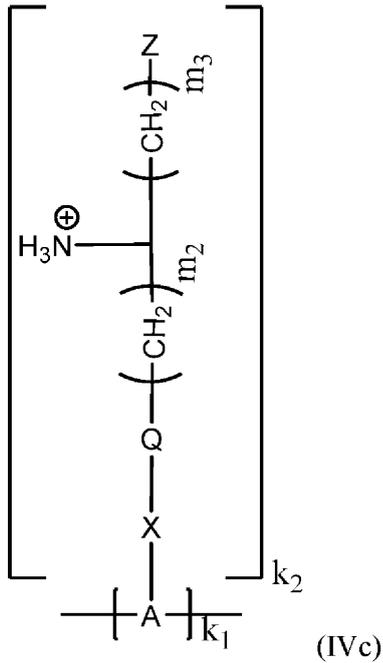
である。

【0061】

一実施形態において、本発明のポリマーは、式 (IVa) :

40

50



10

を有する。

20

【0064】

「ポリマー」は、本明細書において言及されているとき、共につながれて鎖分子を形成している一連の規則的に繰り返されている化学単位、すなわち、モノマー単位を含む高分子である。繰り返されているモノマーは、同じ種類からなっている場合、限定数の異なる種類からなっている場合もよい。本明細書に記載されているポリマー中のモノマー単位数は、いずれの整数であってもよい。一実施形態において、ポリマー中のモノマー単位数 (k_1) は、約5～約1,000単位、約5～約10,000単位、または約5～約100,000単位である。

【0065】

ポリマーのモノマーは、化学鎖を形成するとき、末端間で共につながれていても、より複雑な形式でつながれていてもよい。本明細書に記載されているポリマーは、ホモポリマー、すなわち、唯一種類の繰り返しモノマー単位を含むポリマーであっても、コポリマー、すなわち、1を超える種類の繰り返しモノマー単位を含むポリマーであってもよい。本開示のコポリマーには、交互ポリマー、周期ポリマー、ランダムポリマー、およびブロックポリマーが含まれる。本明細書に記載されているポリマーには、星型ポリマー、ブラシ型ポリマーおよびくし型ポリマーを含めた、線状ポリマーおよび分岐鎖ポリマーが含まれる。

30

【0066】

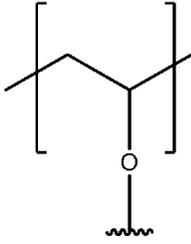
一実施形態において、本明細書に記載されているポリマーは、式IVの各場合におけるAがポリビニルアルコール含有単位であるポリビニルアルコール含有ポリマー（すなわち、ポリマーがポリビニルアルコール骨格を有する）である。

40

【0067】

本明細書において言及されているとき、「ポリビニルアルコール含有単位」は、 $-CH_2CH(OH)-$ または

50

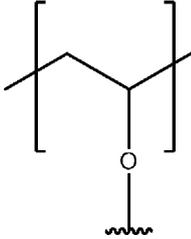


の化学式を含む単位であり、式中、



10

は、A から X への結合点であり、 $-CH_2CH(OH)-$ および



20

は、任意選択的に置換されていてよい。

【0068】

別の実施形態において、本明細書に記載されているポリマーは、サッカリド含有ポリマー（すなわち、ポリマーはサッカリド骨格を有する）である。この実施形態において、式IVのAは、サッカリド含有単位である。上記に記載されているように、サッカリド含有単位は、サッカリドを含む任意の化学単位、特に、単糖、二糖、またはオリゴ糖を含む化学単位である。この実施形態によると、Aは、単糖、二糖、およびオリゴ糖から各出現において独立して選択される。例示的なサッカリドは上記に記載されている。

【0069】

一実施形態において、本明細書に記載されているポリマーは、本明細書に記載されているモノマー単位を含有する1種類の単糖を含むホモポリマーである。別の実施形態において、ホモポリマーは、本明細書に記載されているモノマー単位を含有する1種類の二糖を含む。別の実施形態において、ホモポリマーは、本明細書に記載されているモノマー単位を含有する1種類のオリゴ糖を含む。

30

【0070】

別の実施形態において、上記ポリマーは、2以上の異なるモノマー単位を含有するコポリマーである。一実施形態において、上記コポリマーは、本明細書に記載されているモノマー単位を含有する2以上の異なる単糖を含む。別の実施形態において、上記コポリマーは、モノマー単位を含有する2以上の異なる二糖を含む。別の実施形態において、上記コポリマーは、モノマー単位を含有する2以上の異なるオリゴ糖を含む。別の実施形態において、上記コポリマーは、2以上の異なるモノマー単位を含み、各モノマー単位は、モノマー単位を含有する単糖、二糖、およびオリゴ糖から独立して選択される。

40

【0071】

一実施形態において、本発明のポリマーは、改変サッカリドポリマーである。多糖または糖鎖ポリマーとしても知られているサッカリドポリマーは、グルコシド連結によって共に連結されている1以上のサッカリドの繰り返しモノマー単位を含むポリマーである。サッカリドポリマーは、とりわけ、例えば、限定されることなく、アルギン酸塩、ヒアルロン酸、キチン、セルロース、デンプン、アガロース、デキストラン、カラギーナン、グアー、コンドロイチン、デキストランを含めて、当該分野において周知である。そのため、

50

本発明の改変サッカリドポリマーは、式 I V の A が公知のサッカリドポリマーのモノマーサッカリド単位または単糖単位であり、かつ 1 以上のモノマー単位の k_2 が 1 であるポリマーである。

【 0 0 7 2 】

したがって、一実施形態において、本発明のポリマーは、改変セルロースポリマーである。この実施形態によると、式 I V の A は、改変セルロースポリマーまたはその誘導体（例えば、改変アルキルセルロース、ヒドロキシアルキルセルロース、カルボキシアルキルセルロースもしくはセルロースエステル）を形成するためのグルコース単位または置換グルコース単位を含む。

【 0 0 7 3 】

別の実施形態において、本発明のポリマーは、改変デキストランポリマーである。この実施形態によると、式 I V の A は、改変デキストランポリマーを形成する D - グルコピラノシル単位である。

【 0 0 7 4 】

別の実施形態において、本発明のポリマーは、改変アガロースポリマーである。この実施形態によると、式 I V の A は、交互であり、改変アガロースポリマーを形成する D - ガラクトースおよび 3 , 6 - アンヒドロ - L - ガラクトピラノースから選択される。

【 0 0 7 5 】

別の実施形態において、本発明のポリマーは、改変キトサンポリマーである。当該実施形態によると、式 I V の A は、改変キトサンポリマーを形成する D - グルコサミンおよび N - アセチル - D - グルコサミンから独立して選択される。

【 0 0 7 6 】

別の実施形態において、本発明のポリマーは、改変カラギーナンポリマーである。この実施形態によると、式 I V の A は、交互であり、改変カラギーナンポリマーを形成するガラクトースおよび 3 , 6 アンヒドロガラクトースから選択される。

【 0 0 7 7 】

別の実施形態において、本発明のポリマーは、改変ヒアルロナンポリマーである。この実施形態によると、式 I V の A は、交互であり、改変ヒアルロナンポリマーを形成するグルクロン酸および N - アセチル - D - グルコサミンから選択される。

【 0 0 7 8 】

別の実施形態において、本発明のポリマーは、改変コンドロイチンポリマーである。この実施形態によると、式 I V の A は、交互であり、改変コンドロイチン硫酸塩ポリマーを形成するグルクロン酸および N - アセチルガラクトサミンから選択される。

【 0 0 7 9 】

別の実施形態において、本発明のポリマーは、改変デキストランポリマーである。この実施形態によると、式 I V の A は、交互であり、改変デキストラン硫酸塩ポリマーを形成するイズロン酸および N - アセチルガラクトサミンから選択される。

【 0 0 8 0 】

別の実施形態において、本発明のポリマーは、グアーポリマーである。この実施形態によると、式 I V の A は、改変グアーポリマーを形成するガラクトースおよびマンノースから独立して選択される。

【 0 0 8 1 】

一実施形態において、本開示のポリマーは、改変アルギン酸塩ポリマーである。アルギン酸塩は、(1 - 4) 連結 - D - マンヌロン酸塩および - L - グルロン酸塩のホモポリマーブロックによる線状コポリマーである。この実施形態によると、式 I V における各出現における A は、 - D - マンヌロン酸塩および - L - グルロン酸塩から選択される。一実施形態において、上記ポリマーは、マンヌロン酸塩含有モノマー単位のホモポリマーブロックを含む。別の実施形態において、上記ポリマーは、グルロン酸塩含有モノマー単位のホモポリマーブロックを含む。別の実施形態において、上記ポリマーは、交互のマンヌロン酸塩およびグルロン酸塩含有モノマー単位、またはマンヌロン酸塩およびグルロ

10

20

30

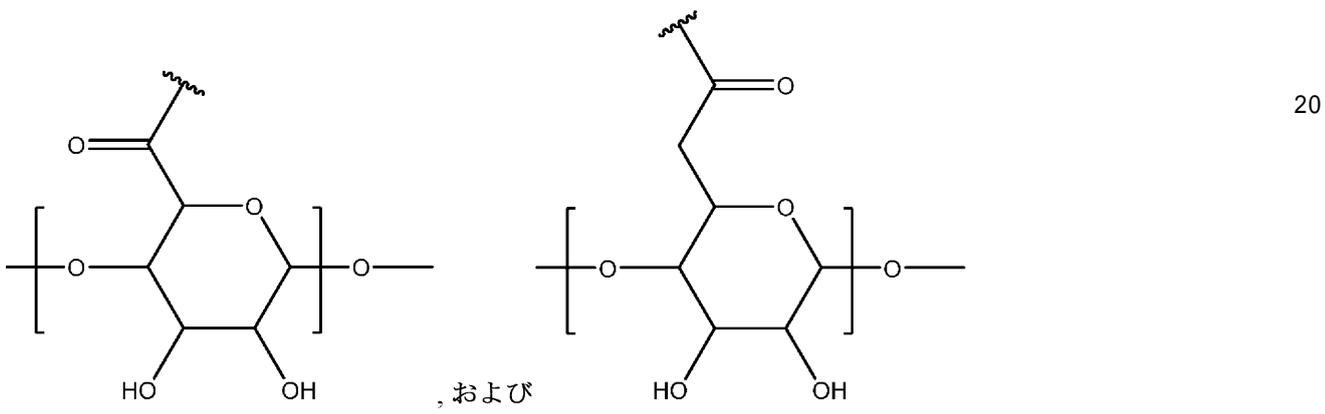
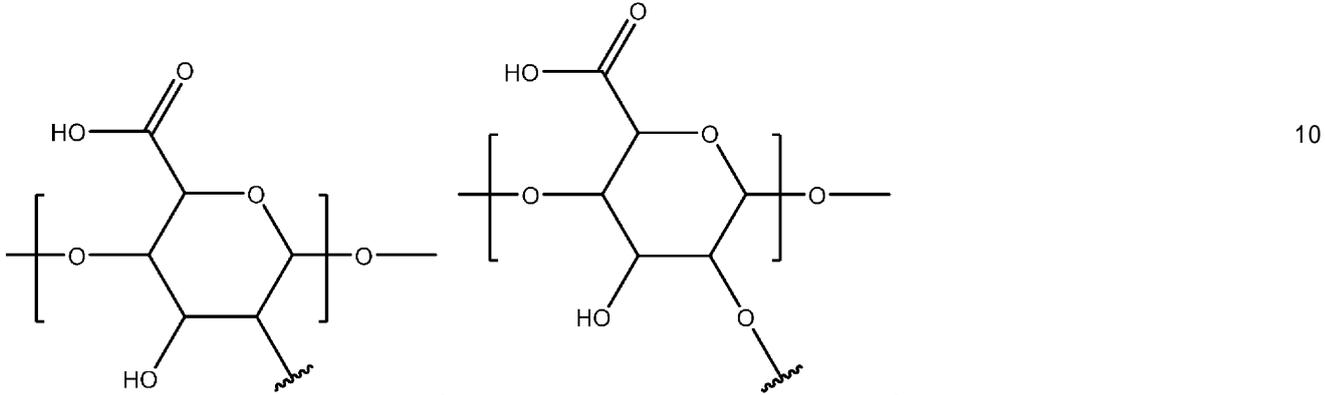
40

50

ン酸塩含有モノマー単位の交互ブロックを含む。一実施形態において、本発明のポリマーにおけるグルロン酸塩に対するマンヌロン酸塩の比は、約 1 である。別の実施形態において、グルロン酸塩に対するマンヌロン酸塩の比は、1 超である。別の実施形態において、グルロン酸塩に対するマンヌロン酸塩の比は、1 未満である。

【 0 0 8 2 】

本発明のこの態様によると、本開示の例示的なアルギニン酸塩ポリマーは、A が



から各出現において選択される、モノマー単位を含み、ここで、
30

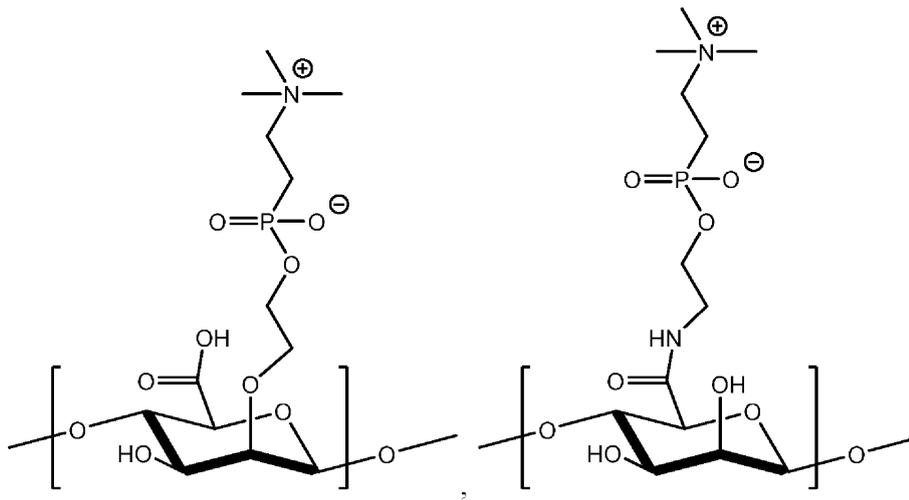
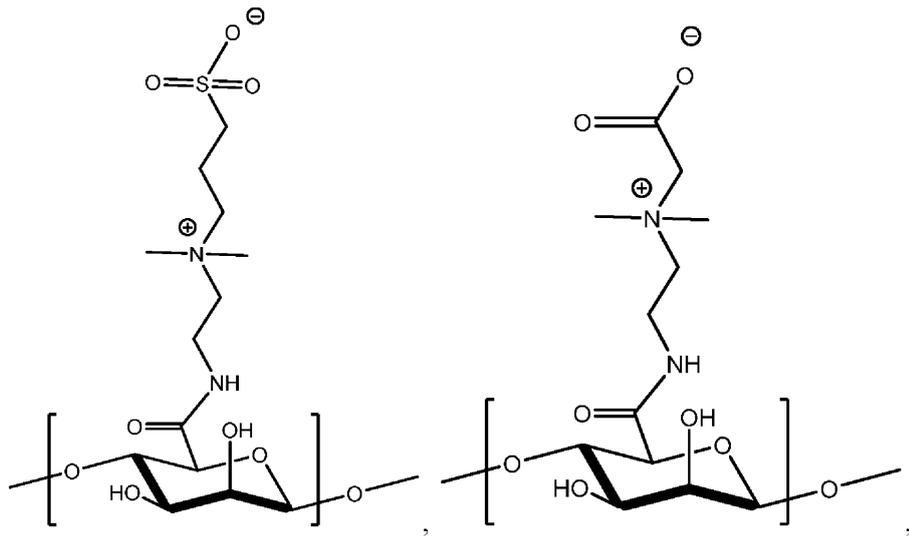
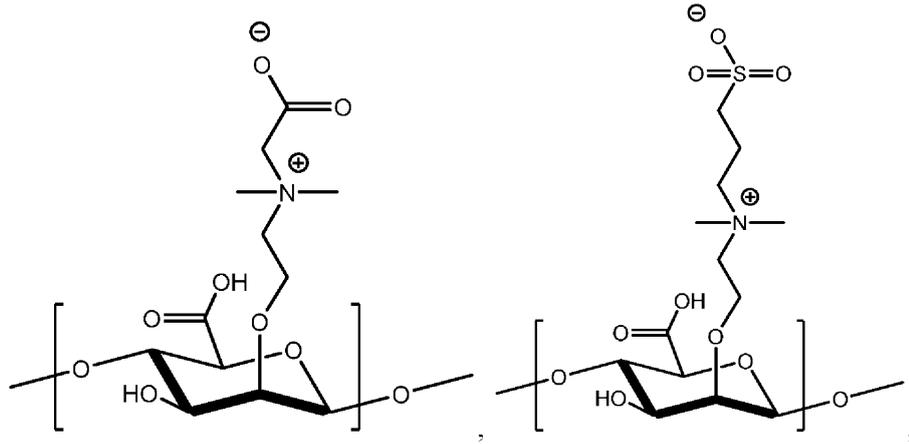
は、A から X への結合点である。

【 0 0 8 3 】

本発明の例示的な改変アルギニン酸塩ポリマーは、以下：

40

50



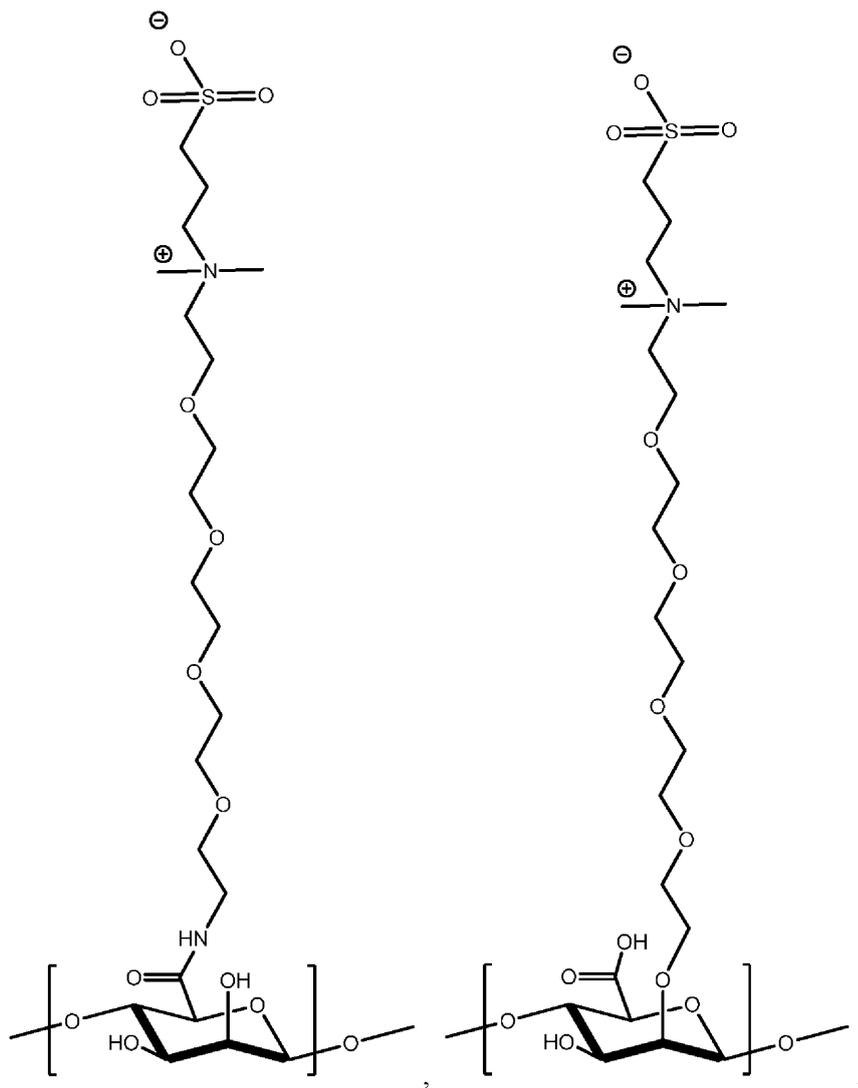
10

20

30

40

50



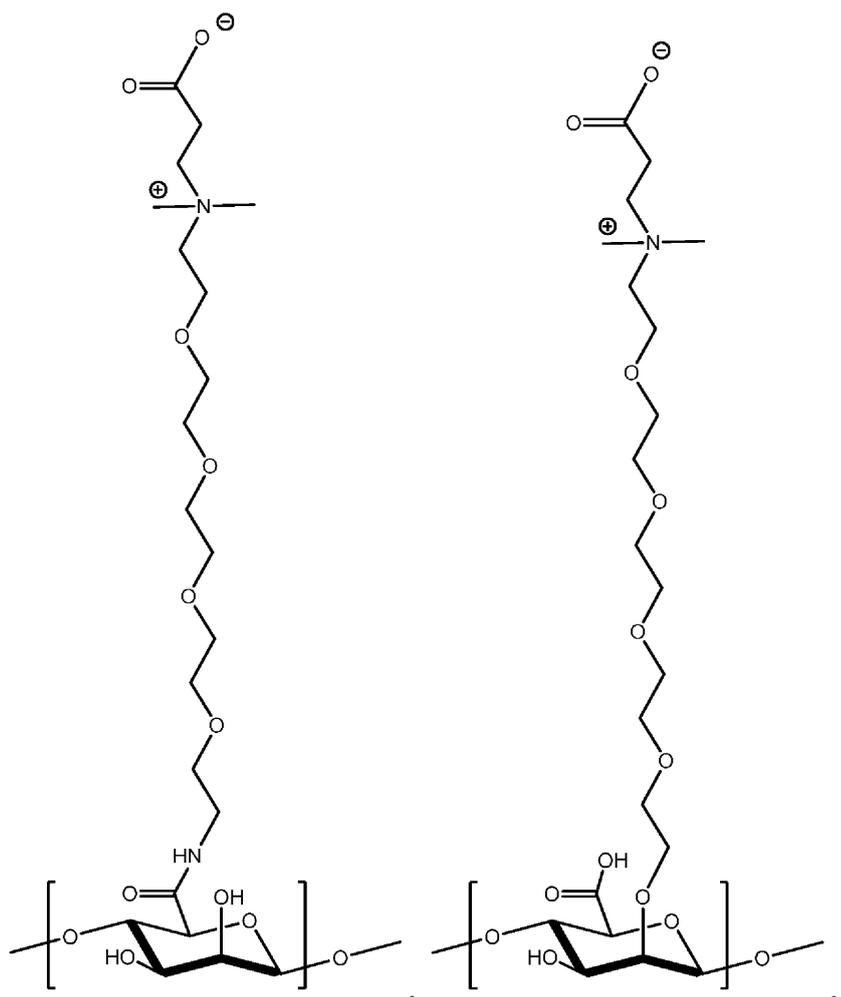
10

20

30

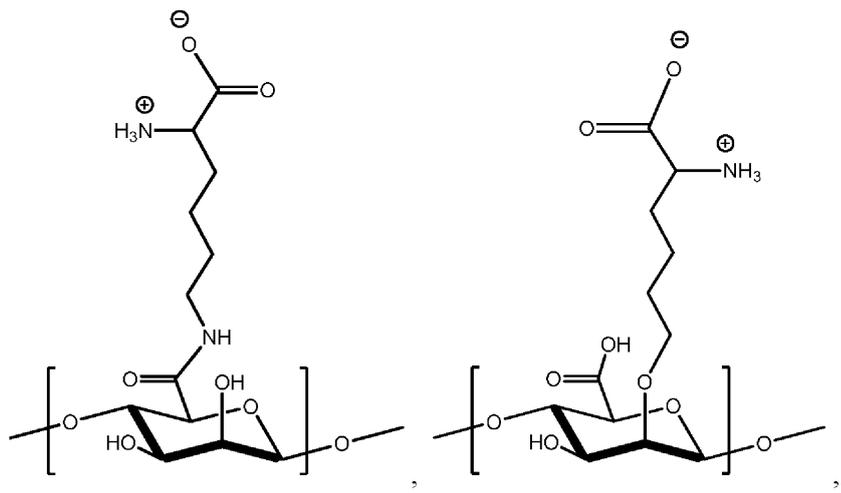
40

50



10

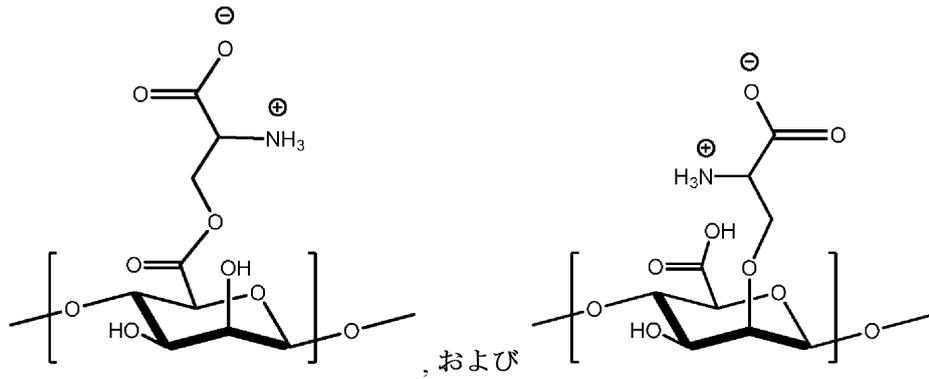
20



30

40

50



10

から各出現において独立して選択されるモノマー単位を含む。

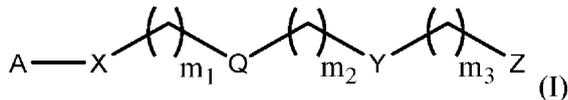
【0084】

本発明のこの態様によると、式IVのポリマーの k_2 は、各モノマー単位について0または1から独立して選択されるが、ただし、少なくとも1つの k_2 が1であることとする。一実施形態において、 k_2 は、本明細書に記載されているポリマーのモノマー単位の少なくとも1%で1である。別の実施形態において、 k_2 は、本明細書に記載されているポリマーのモノマー単位の少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%またはそれより多くで1である。一実施形態において、 k_2 は、本

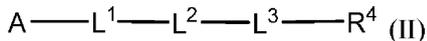
20

【0085】

本発明の別の態様は、式(I)：



の1以上のモノマーを含み、式(II)：



30

の1以上のモノマーをさらに含み、式中、

L^1 は、O、NH、NR'、C(O)、および $C_1 \sim 20$ アルキレンであり、ここで、 $C_1 \sim 20$ アルキレンが、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および $C_1 \sim 6$ アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回任意選択的に置換されており；

L^2 は、存在しないか、または、 $C_1 \sim 20$ アルキレンであり、ここで、 $C_1 \sim 20$ アルキレンが、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および $C_1 \sim 6$ アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~20回任意選択的に置換されており；

L^3 は、 $C_1 \sim 20$ アルキレン、 $C_1 \sim 20$ アルケニレン、 $C_3 \sim 12$ シクロアルケニレン、およびアリーレンからなる群から選択され、ここで、アリーレンが、ヘテロアリーレンおよびヘテロシクリレンからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~3回任意選択的に置換されており；

40

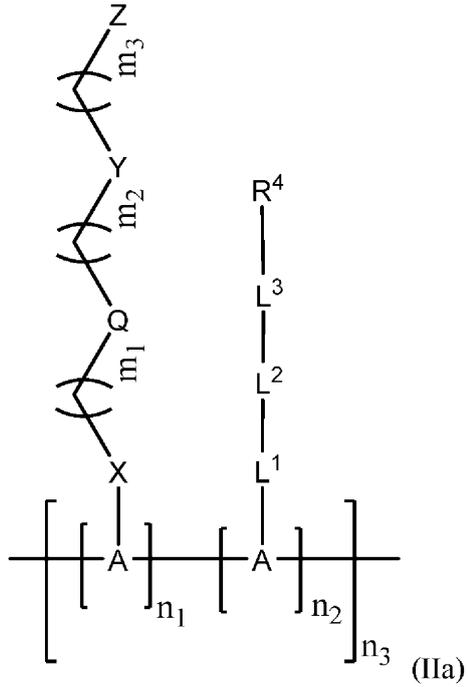
R^4 は、H、SH、N₃、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 20$ アルケニル、 $C_2 \sim 20$ アルキニル、 $C_3 \sim 12$ シクロアルケニル、 $C_3 \sim 12$ シクロアルキニル、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルからなる群から選択され、ここで、 $C_1 \sim 6$ アルキル、 $C_2 \sim 20$ アルケニル、 $C_2 \sim 20$ アルキニル、 $C_3 \sim 12$ シクロアルケニル、 $C_3 \sim 12$ シクロアルキニル、ヘテロアリール、およびヘテロシクリルが、H、OH、ハロゲン、シアノ、 $-CF_3$ 、および $C_1 \sim 6$ アルコキシからなる群からその各出現において独立して選択される置換基によって1~3回任意選択的に置換されている；

50

ポリマーに関する。

【0086】

本発明のこの態様の一実施形態において、上記ポリマーは、式(IIa)：



を有し、式中、 n_1 、 n_2 および n_3 は、任意の整数である。

【0087】

一実施形態において、 n_1 、 n_2 および n_3 は、それぞれ、1~10、000の整数から独立して選択される。

【0088】

本開示のこの態様による例示的なポリマーとして、限定されることなく、以下のポリマーが挙げられ、

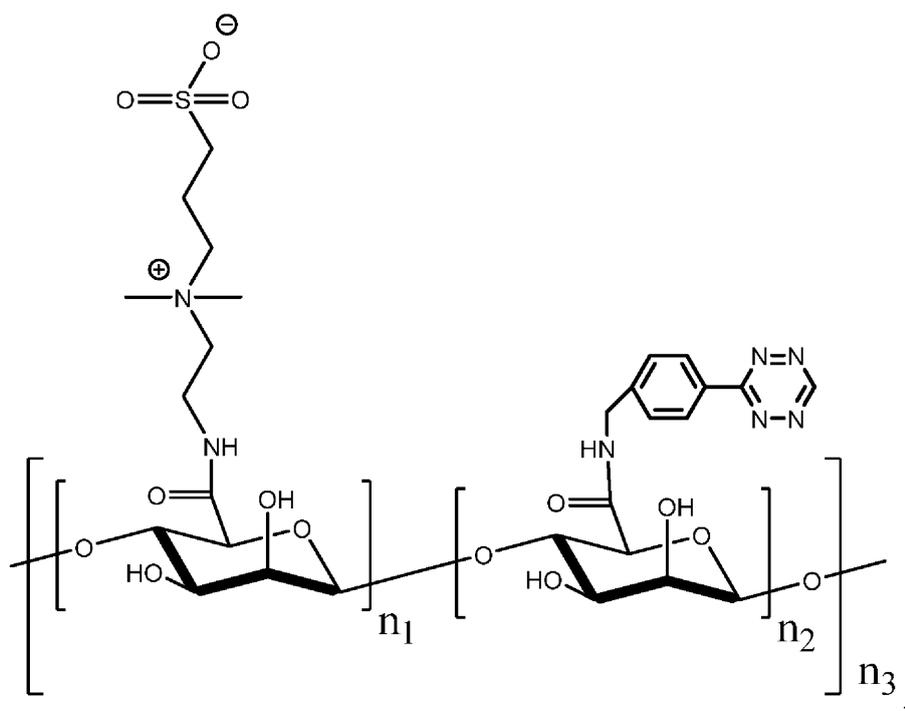
10

20

30

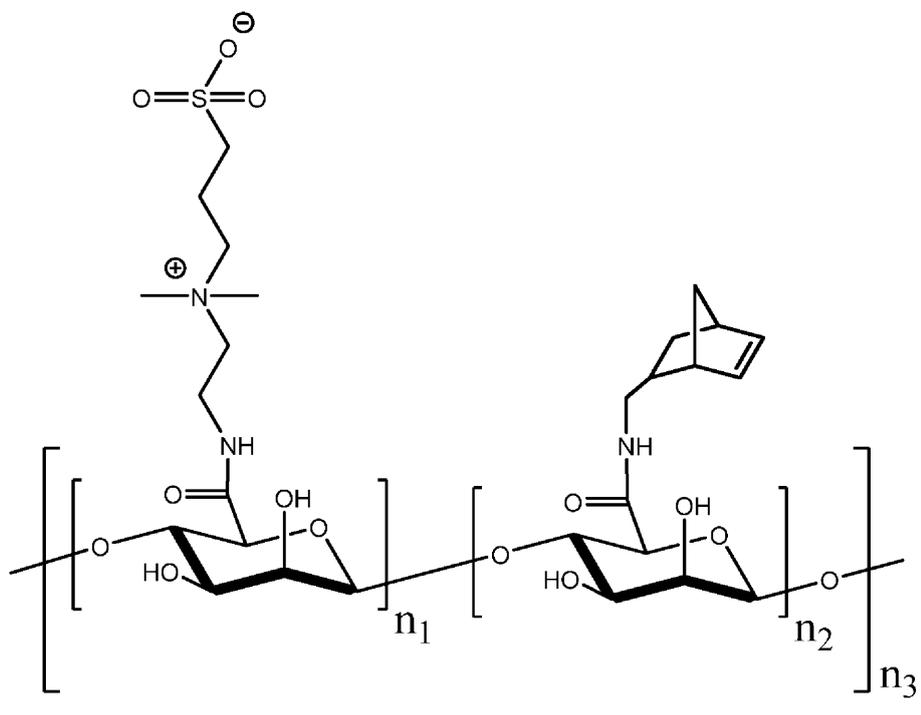
40

50



10

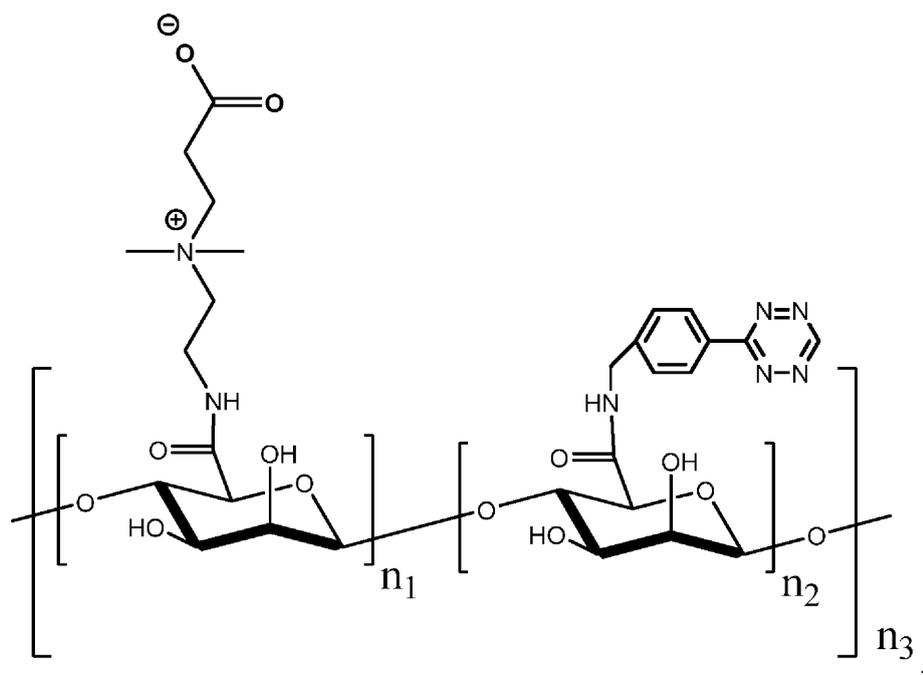
20



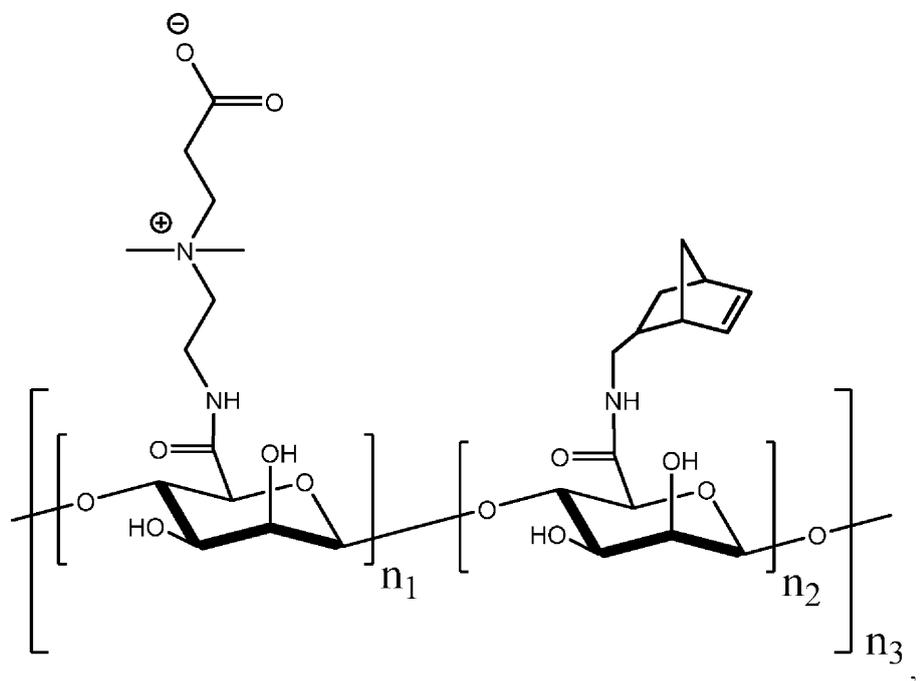
30

40

50



10

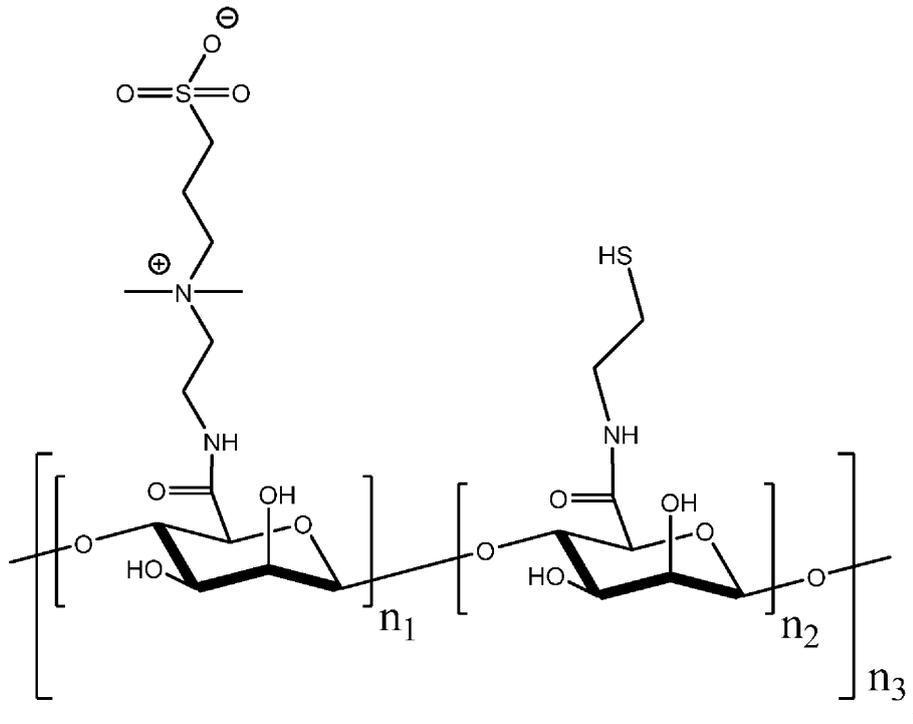


20

30

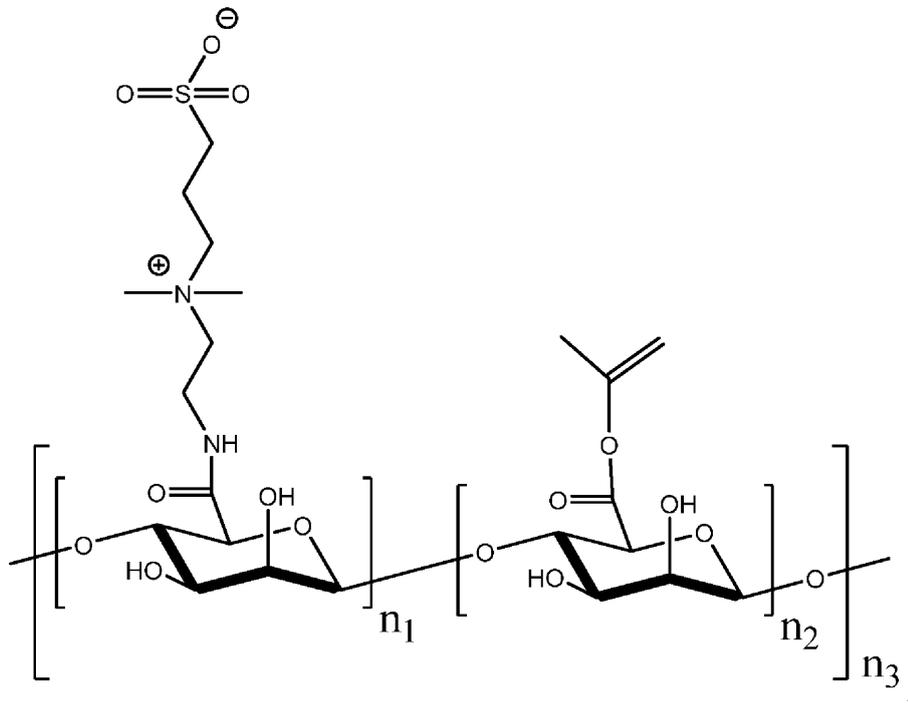
40

50



10

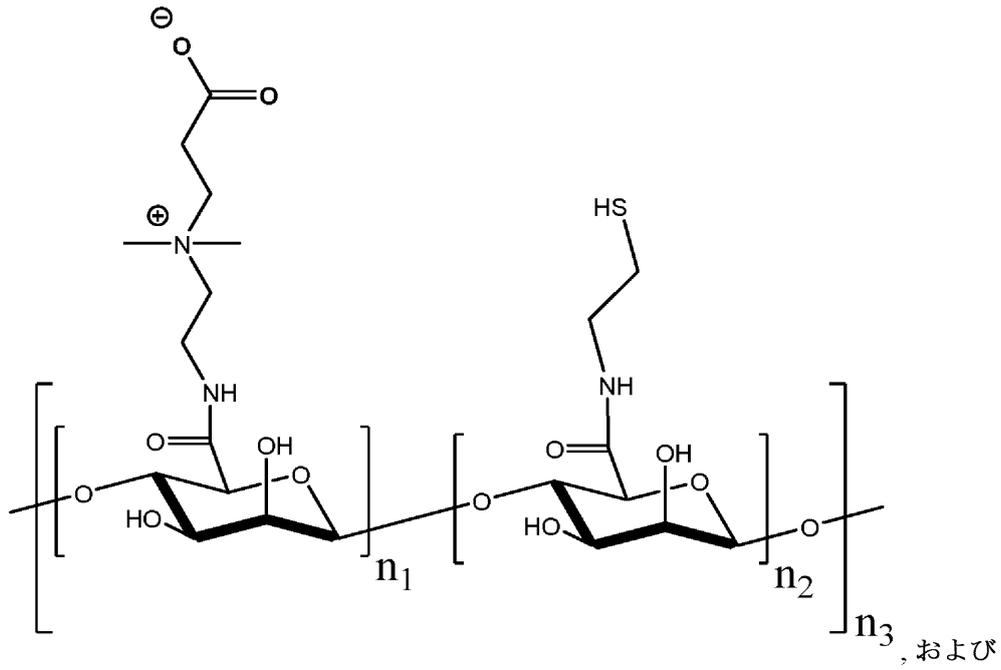
20



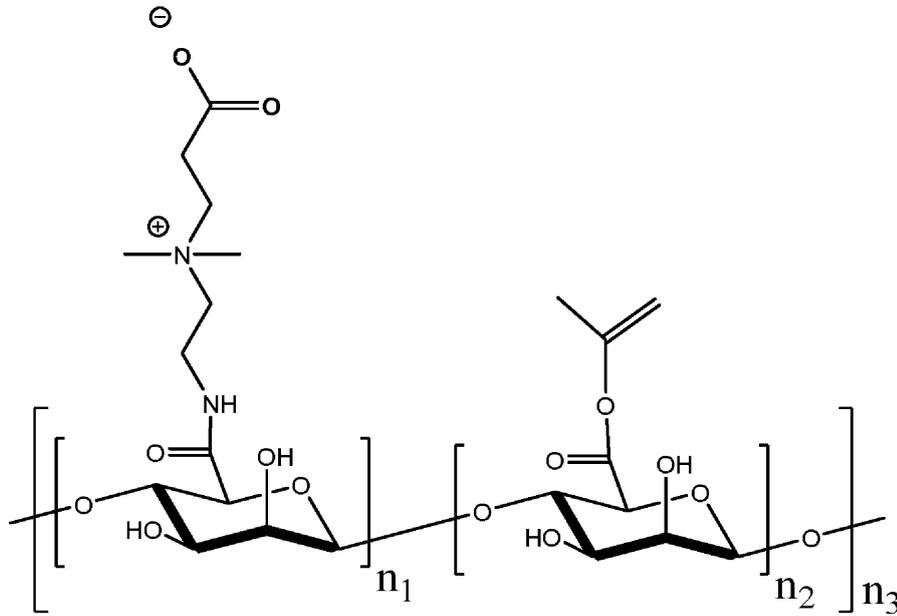
30

40

50



10



20

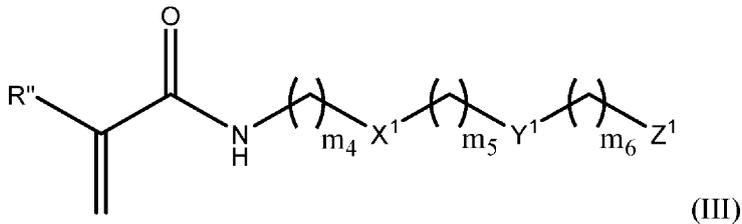
30

式中、 n_1 、 n_2 および n_3 は、任意の整数である。一実施形態において、 n_1 、 n_2 および n_3 は、それぞれ、1~10、000の整数から独立して選択される。

【0089】

本発明の別の態様は、式(III)：

40

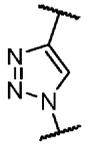


(III)

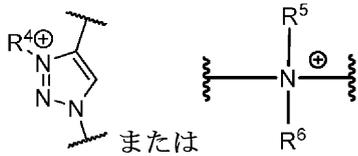
のモノマーであって、
式中

X^1 は、存在しないか、または

50

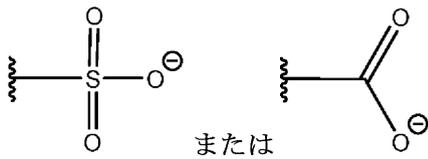


であり；
Y¹は



10

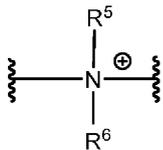
であり；
Z¹は



であり；

- m₄は、1～50であり；
- m₅は、0～10であり；
- m₆は、1～50であり；
- R³は、HまたはC₁～6アルキルであり；
- R⁴は、C₁～20アルキルであり；
- R⁵は、C₁～20アルキルであり；
- R⁶は、C₁～20アルキルである、

ただし、X¹が存在しないとき、Y¹は



20

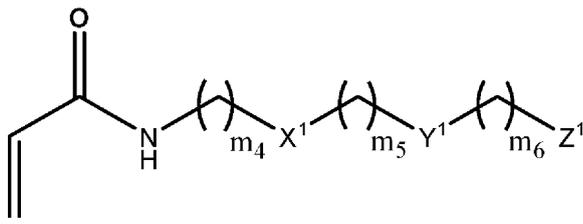
30

ではない；

上記モノマーに関する。

【0090】

－実施形態において、式(III)のモノマーは、式(III')：



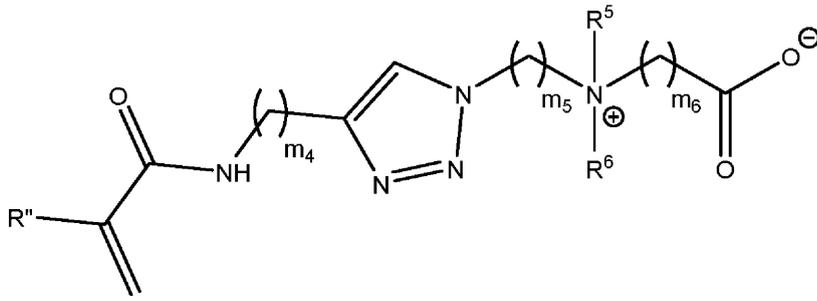
40

を有する。

【0091】

－実施形態において、式(III)のモノマーは、式(IIIa)：

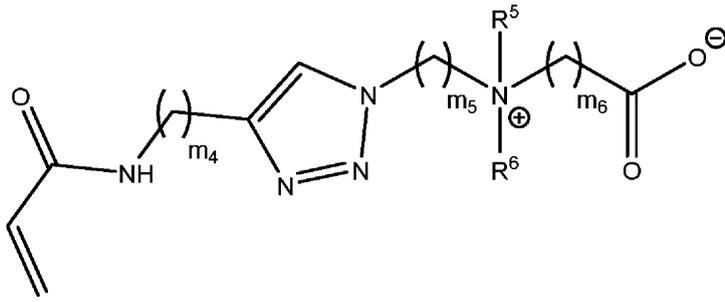
50



を有する。

【0092】

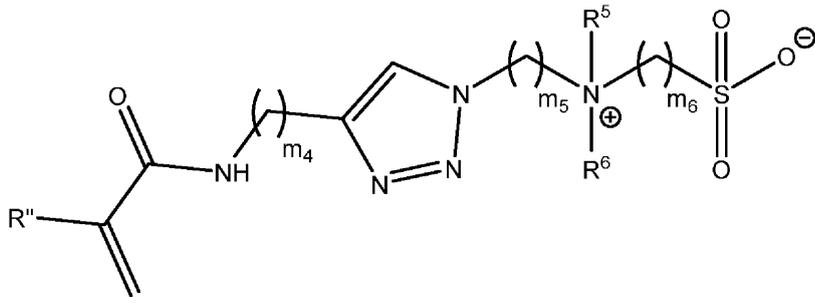
一実施形態において、式(III)のモノマーは、式(IIIa'):



を有する。

【0093】

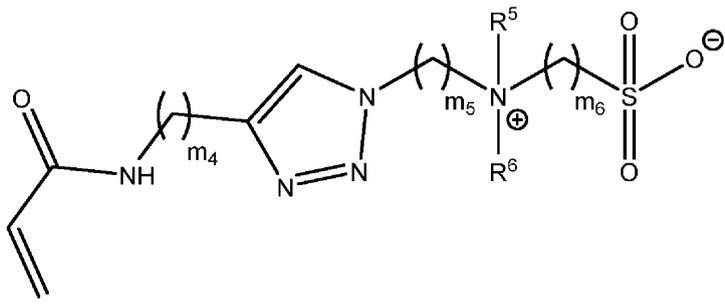
別の実施形態において、式(III)のモノマーは、式(IIIb):



を有する。

【0094】

別の実施形態において、式(III)のモノマーは、式(IIIb'):



を有する。

【0095】

別の実施形態において、式(III)のモノマーは、式(IIIc):

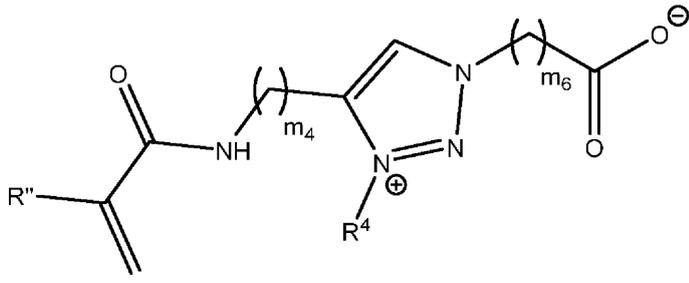
10

20

30

40

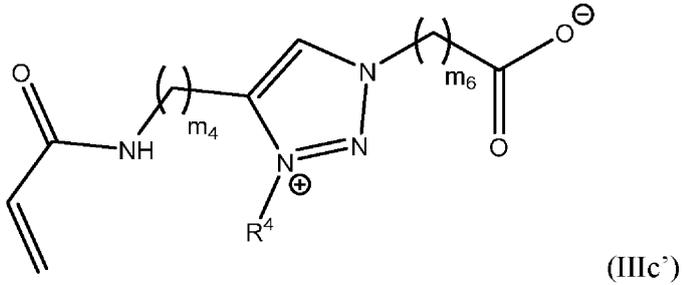
50



を有する。

【0096】

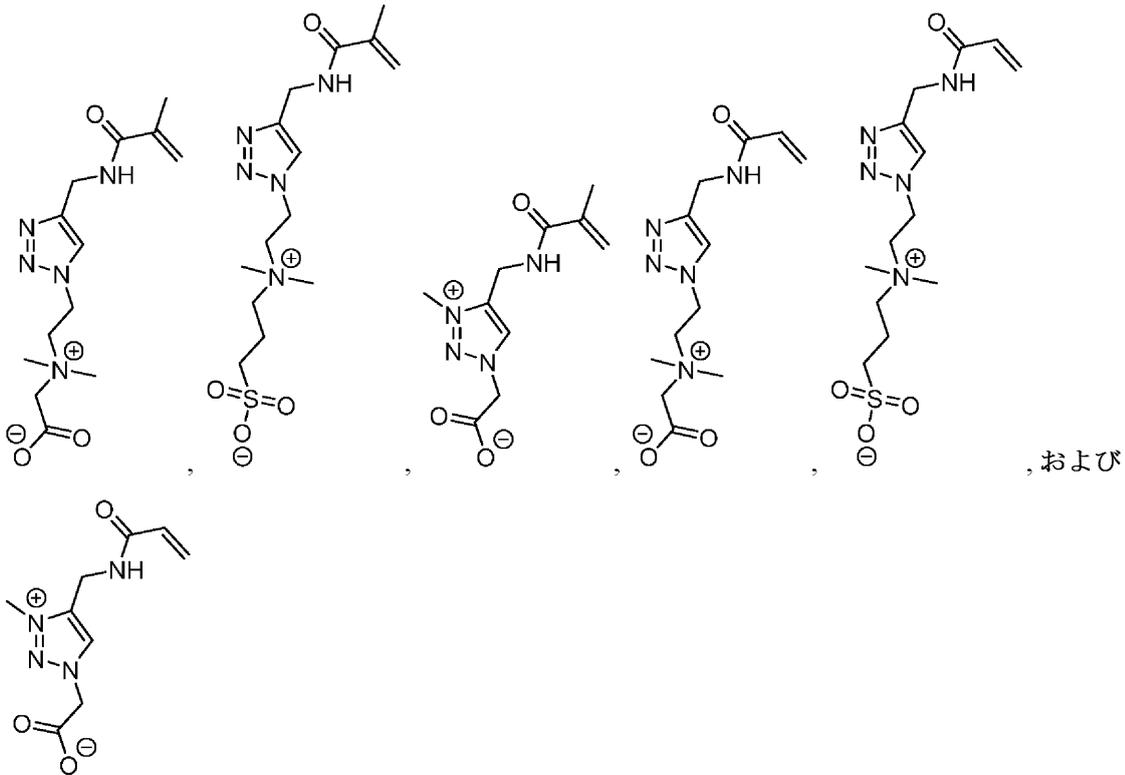
別の実施形態において、式(III)のモノマーは、式(IIIc'):



を有する。

【0097】

別の実施形態において、式(III)の例示的なモノマーは



からなる群から選択される。

【0098】

本発明の別の態様は、式(III):

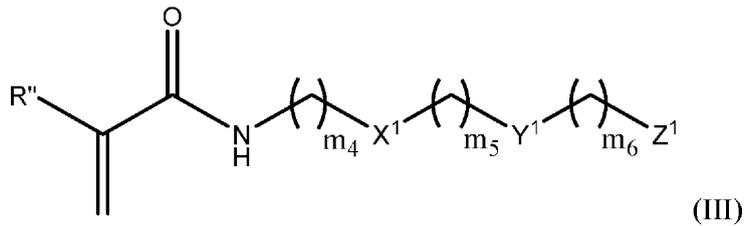
10

20

30

40

50



の架橋モノマーのポリマーネットワークに関する。

【0099】

一実施形態において、上記ネットワークは、式(III)の1種類のモノマーを含むホモポリマーネットワークである。別の実施形態において、上記ネットワークは、式(III)の2以上の異なるモノマーを含むヘテロポリマー性である。

10

【0100】

この実施形態によると、モノマーのポリマーネットワークは、架橋剤を使用して形成され、ネットワークのモノマーは、架橋剤を介して共に連結される。一実施形態において、架橋剤は、両性イオン性架橋剤である。両性イオン性架橋剤は、式IIIのモノマーおよびコモノマーと共重合されて、本発明の架橋ポリマーネットワークを与え得る。本発明によって使用され得る好適な架橋剤には、二官能性両性イオン性カルボキシベタインジアクリルアミド架橋剤(CBAAx)、ならびに、全体が参照により本明細書に組み込まれる、Jiang et al. の米国特許出願公開公報第20170009069号に開示されているいずれかの両性イオン性架橋剤が含まれる。

20

【0101】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されているポリマー(すなわち、式IVのポリマー)のうちのいずれか1以上、式IIIのいずれか1以上のモノマー、本明細書に記載されているポリマーネットワークのうちのいずれか1以上、またはこれらの任意の組み合わせを含むヒドロゲルに関する。本明細書に記載されている好ましいヒドロゲルは、両性イオン性ヒドロゲルである。

【0102】

本発明のヒドロゲルは、ホモポリマーヒドロゲル、コポリマーヒドロゲル、またはマルチポリマーヒドロゲルであり得る。一実施形態において、ヒドロゲルは、本明細書に記載されている1種類のポリマーを含む。別の実施形態において、ヒドロゲルは、本明細書に記載されている2以上の異なる種類のポリマーを含む。別の実施形態において、ヒドロゲルは、式IIIの単一種類のモノマーからできている。別の実施形態において、ヒドロゲルは、式IIIの2以上の異なる種類のモノマーを含む。別の実施形態において、ヒドロゲルは、式IIIの単一種類のモノマーを含むポリマーネットワークからできている。別の実施形態において、ヒドロゲルは、式IIIの1以上の異なる種類のモノマーを含むポリマーネットワークからできている。

30

【0103】

一実施形態において、ヒドロゲルは、サッカリドヒドロゲル、すなわち、本明細書に記載されているサッカリド含有ポリマーを含むヒドロゲルである。別の実施形態において、ヒドロゲルは、アルギン酸塩ヒドロゲル、すなわち、本明細書に記載されている改変アルギン酸塩ポリマーを含むヒドロゲルである。

40

【0104】

本発明のヒドロゲルは、当業者に公知でありかつ本明細書における実施例に記載されている従来の方法を使用して形成される。例えば、ヒドロゲルのポリマーとモノマーとの間の架橋は、化学架橋反応、電離放射線、または物理的相互作用を介して形成され得る。

【0105】

一実施形態において、ヒドロゲルは、クリック化学を使用して形成される。クリック化学は、収率が高く、範囲が広く、クロマトグラフィを用いずに除去され得る副生成物のみを作り出し、立体特異的であり、実施が容易であり、また、容易に除去可能または無害な

50

溶媒中で行われ得る、2つの化合物を共にカップリングするのに使用される化学反応を包含する。これらの基準を満たす反応の例として、エポキシドおよびアジリジンの求核的開環、ヒドラゾンおよび複素環の形成を含めた非アルドール型カルボニル反応、マイケル付加を含めた炭素-炭素多重結合への付加、ならびに付加環化反応、例えば、1,3-双極性付加環化反応(すなわち、ヒュスゲン付加環化反応)が挙げられる。例えば、Moses and Moorhouse, Chem Soc. Rev., 36:1249-1262(2007); Kolb and Sharpless, Drug Discovery Today, 8(24):1128-1137(2003); および Kolb et al., Angew. Chem. Int. Ed. 40:2004-2021(2001)を参照されたい、これらは、全体が参照により本明細書に組み込まれる。

10

【0106】

一実施形態において、ヒドロゲルは、アルケンと、ポリマーのテトラジン置換基との間の反応によって形成される。別の実施形態において、ヒドロゲルは、ノルボルネンとポリマーのテトラジン置換基との間の反応によって形成される。

【0107】

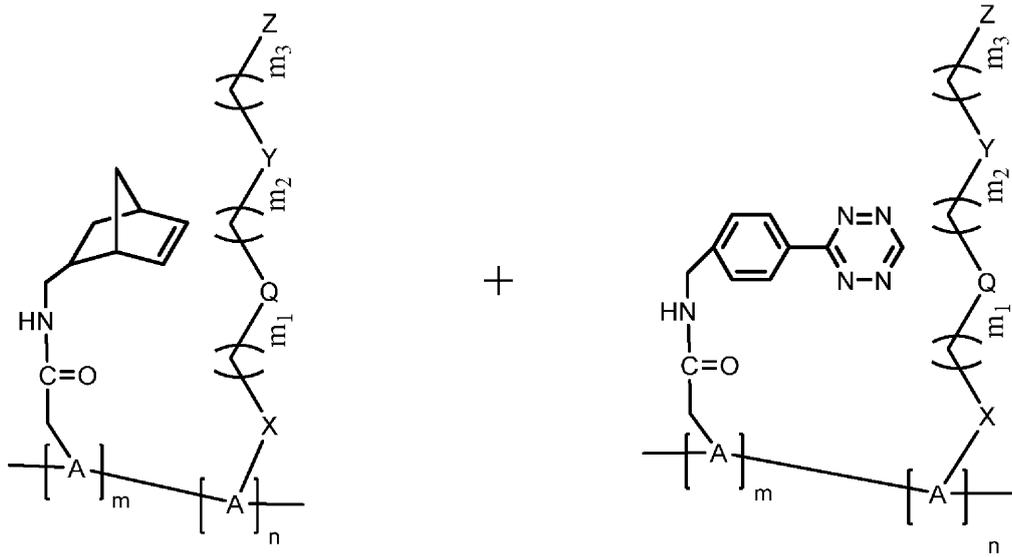
本発明によるヒドロゲルは、スキームAおよびBに従って調製され得る。
スキームA

20

30

40

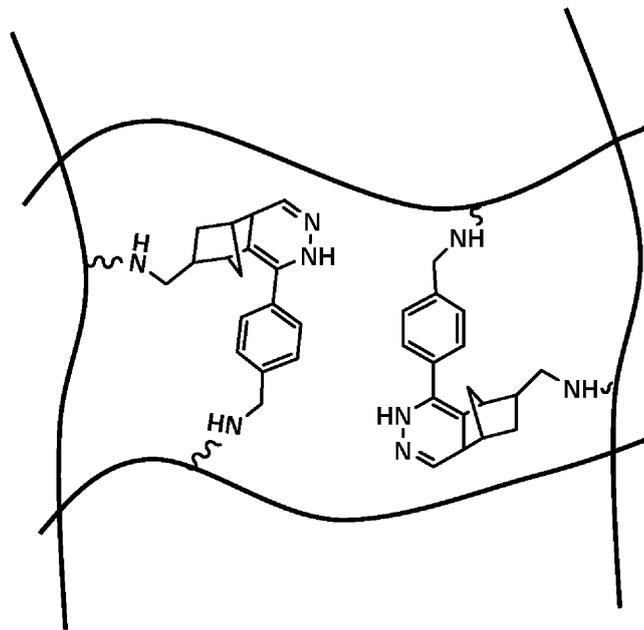
50



10



20

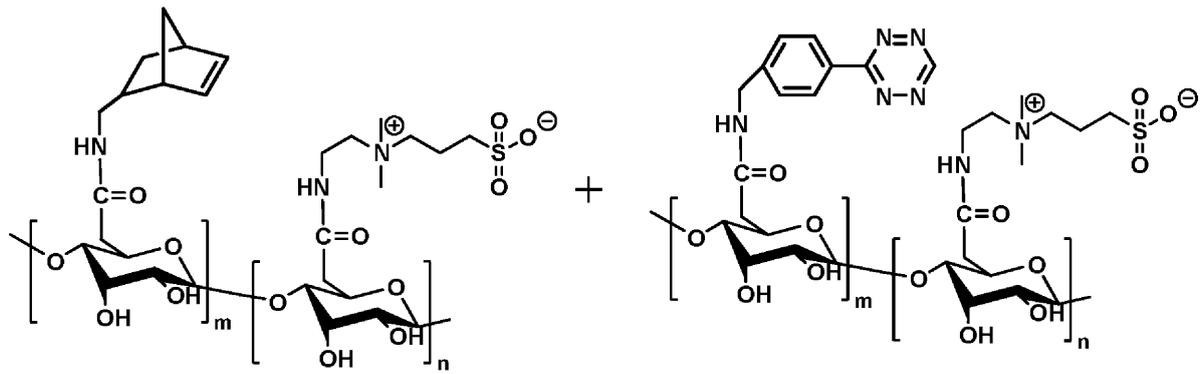


30

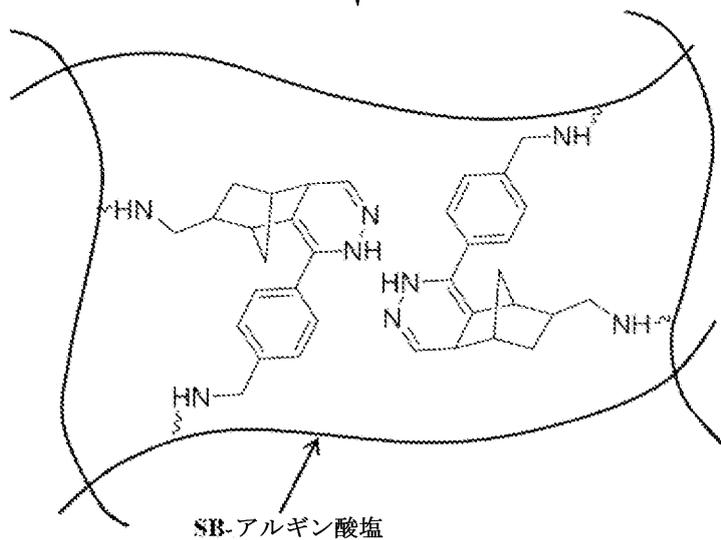
【 0 1 0 8 】
スキーム B

40

50



10



20

【0109】

本発明の別の態様は、本発明のヒドロゲルおよび当該ヒドロゲル中に封入された治療剤を含むカプセルに関する。

【0110】

「カプセル」は、本明細書において使用されているとき、約150 μ m～約5cmの平均径を有する粒子を指す。一実施形態において、本発明のカプセルは、約150 μ m～約8mmの平均径を有する。「マイクロカプセル」は、本明細書において言及されているとき、約150 μ m～約1000 μ mの平均径を有する。カプセルまたはマイクロカプセルは、本明細書に記載されているポリマー、ポリマーマトリクス、またはヒドロゲルから形成される。カプセルは、1以上のポリマーシェル、1以上の架橋ヒドロゲル層、架橋ヒドロゲルコーティング、またはこれらの組み合わせによって包囲されている架橋ヒドロゲルコアを含んでいてもよい。カプセルは、治療剤の細胞カプセル化またはカプセル化に好ましい形状であってもよい。有用な形状には、球形、球形状、回転楕円体、回転楕円体形状、楕円体、楕円体形状、スタジアム型(stadiumoids)、スタジアム形状、ディスク、ディスク形状、円筒、円筒形状、棒、棒形状、立方体、立方体形状、直方体、直方体形状、環状体、環状体形状、ならびに平面および局面が含まれる。

40

【0111】

細胞カプセル化に使用されるとき、カプセルは、架橋ヒドロゲルに分散された1以上の細胞を含有することにより、当該細胞を「カプセル化」することができる。細胞の生存に必要なカプセルに入る分子の比率、ならびにカプセル膜から出る治療薬および老廃物の比

50

率は、カプセル透過性を調節することによって選択され得る。カプセル透過性はまた、カプセル内に免疫細胞、抗体、およびサイトカインが入ることを制限するように変更され得る。一般に、ヒドロゲルカプセルを形成する公知の方法は、カプセル内に免疫細胞、抗体、およびサイトカインが入ることが制限されたカプセルを製造し得る。細胞の種類が異なると代謝性要求も異なるため、カプセルの透過性は、ヒドロゲル中にカプセル化された細胞の種類に基づいて最適化され得る。カプセルの直径は、細胞カプセルに対しての免疫反応ならびにカプセル膜を横断する物質輸送の両方に影響する重要な因子である。

【0112】

治療剤は、例えば、限定されることなく、治療用のタンパク質、ペプチド、抗体またはその断片、抗体模倣薬、ならびに他の結合分子、核酸、小分子、ホルモン、成長因子、血管新生因子、サイトカイン、および抗炎症薬を含めた任意の生物学的に反応性の薬剤であり得る。

10

【0113】

本明細書に記載されているカプセルおよびマイクロカプセルを使用して送達され得る薬物（または治療剤）の種類は多く、これらには、100ダルトン～約1,000ダルトンのサイズ範囲の低分子量化合物、ならびに、約1,000ダルトン～約100,000ダルトンおよびこれを超えるサイズ範囲のより高分子の薬物、例えば、ペプチドおよびタンパク質薬物の両方が含まれる。本明細書に記載されているポリマーおよびヒドロゲルからできているカプセルは、例えば、マイクログラム/日、ナノグラム/日、およびピコグラム/日の範囲でさえある比較的低い有効用量を有する薬物を送達するのに特に適している。

20

【0114】

対象における埋め込みの際の送達のためのカプセル内に含有されていてよいタンパク質および/またはペプチド治療剤には、限定されることなく、ペプチドホルモン、例えば、インスリン、グルカゴン、副甲状腺ホルモン、カルシトニン、パゾプレッシン、レニン、プロラクチン、成長ホルモン、絨毛性性腺刺激ホルモン、卵胞刺激ホルモン、甲状腺刺激ホルモン、および黄体形成ホルモンを含めた性腺刺激ホルモン；生理活性酵素、例えば、トランスフェラーゼ、ヒドロラーゼ、リアーゼ、イソメラーゼ、ホスファターゼ、グリコシダーゼ、スーパーオキシドジスムターゼ、凝固第V因子、プラスミノゲン活性化因子；ならびにタンパク質因子、例えば、上皮成長因子、インスリン様成長因子、腫瘍壊死因子、形質転換成長因子、線維芽細胞成長因子、血小板由来成長因子、エリスロポエチン、コロニー刺激因子、骨形成タンパク質、インターロイキン、およびインターフェロンを含めた他の治療剤が挙げられる。ピンラスチン、ピンクリスチン、タキソールなどの植物生成物を含めた、多糖、核酸ポリマー、および治療的二次代謝産物を特に含めた非タンパク質高分子なども、本システムを使用して送達されてよい。低分子量化合物も送達されてよい。

30

【0115】

一実施形態において、治療剤は、組織から生成および/または分泌もしくは放出された生物剤、および/または、本明細書に記載されているカプセル内に封入されたもしくは該カプセル内にある細胞の調製物である。該細胞は、単一細胞および/または細胞クラスターの形態であってよい天然に存在する細胞または遺伝子組み換え細胞を含んでいてよい。一実施形態において、カプセル内の細胞は、疾患または状態の処置に有用である1以上の生物学的因子を分泌する。これらの因子は、細胞から分泌され、カプセルのヒドロゲルまたはポリマー層から放出され、それを必要とする周囲の標的細胞、組織または器官に送達されまたは拡散する。好適な細胞として、限定されることなく、平滑筋細胞、心筋細胞、血小板、上皮細胞、内皮細胞、尿路上皮細胞、線維芽細胞、胎児線維芽細胞、筋芽細胞、軟骨細胞、軟骨芽細胞、骨芽細胞、破骨細胞、ケラチノサイト、肝細胞、胆管細胞、膵島細胞、甲状腺、副甲状腺、副腎、視床下部、下垂体、卵巣、精巣、唾液腺細胞、含脂肪細胞、間葉系幹細胞、神経細胞、内皮前駆細胞、造血細胞、胎児幹細胞、人工多能性幹細胞、またはかかる幹細胞に由来する細胞を含めた幹細胞からなる群から選択される1以上の種類の細胞が挙げられる。好適な細胞として、異種、自己、または同種異系細胞が挙げら

40

50

れる。細胞は、初代細胞、または、対象から得られた細胞の培養および増殖に由来する細胞であり得る。細胞はまた、不死化細胞であってもよい。

【0116】

一実施形態において、上記細胞は、インスリン分泌細胞である。インスリン分泌細胞は、インスリンを産生する、好ましくはグルコースレベルに応答する細胞である。インスリン分泌細胞には、膵島細胞、幹細胞に由来するインスリン産生細胞、およびインスリンを産生するように遺伝子組み換えされた細胞が含まれる。一実施形態において、上記細胞は、哺乳類インスリン分泌細胞である。一実施形態において、上記細胞は、ヒトインスリン分泌細胞である。一実施形態において、上記細胞は、ヒト膵島細胞である。膵島細胞は、哺乳類膵臓に由来する内分泌細胞である。膵島細胞には、グルカゴンを分泌するアルファ細胞、インスリンおよびアミリンを分泌するベータ細胞、ソマトスタチンを分泌するデルタ細胞、膵臓ポリペプチドを分泌するPP細胞、またはグレリンを分泌するイプシロン細胞が含まれる。当該用語には、これらの細胞の均一および不均一な集団が含まれる。好ましい実施形態において、膵島細胞の集団は、少なくともベータ細胞を含有する。

10

【0117】

本明細書に記載されているカプセルへの封入に好適である膵島細胞を単離する方法は、当該分野において公知である。例えば、Field et al., Transplantation 61:1554 (1996); Linetsky et al., Diabetes 46:1120 (1997)を参照されたい、これらは、全体が参照により本明細書に組み込まれる。新しい膵臓組織は、細分化、引裂、粉碎および/またはコラゲナーゼ消化によって分割され得る。膵島は、次いで、洗浄、濾過、遠心分離、または収集手順によって汚染細胞および材料から単離され得る。膵島細胞を単離および精製するための方法および装置は、Langleyへの米国特許第5,447,863号、Scharp et al.への米国特許第5,322,790号、Langleyへの米国特許第5,273,904号、およびScharp et al.への米国特許第4,868,121号に記載されており、これらは、全体が参照により本明細書に組み込まれる。単離された膵臓細胞は、当該分野において公知である、膵島細胞を培養する任意の好適な方法を使用して、ヒドロゲルカプセルへの包含の前に任意選択的に培養され得る。例えば、全体が参照により本明細書に組み込まれる、Brothersへの米国特許第5,821,121号を参照されたい。単離された細胞は、抗原成分を排除するのを助ける条件下で培地において培養されてよい。インスリン産生細胞はまた、幹細胞および細胞株にも由来し得、インスリンを産生するように遺伝子組み換えされた細胞であり得る。例えば、Goldmanへの米国特許出願公開公報第20040005301号およびFirpoへの米国特許第9,624,472号を参照されたい、これらは、全体が参照により本明細書に組み込まれる。

20

30

【0118】

上記に記述されているように、好適な細胞には、前駆および/または幹細胞が含まれる。好適な幹細胞は、多能性、多分化能、少能性、もしくは単能性細胞または細胞集団であってよく、これらには、胎児幹細胞、胚盤葉上層細胞、原始外胚葉細胞、および始原生殖細胞が含まれる。別の実施形態において、好適な幹細胞にはまた、非多能性細胞由来の多能性幹細胞である人工多能性幹(iPS)細胞も含まれる。Zhou et al., Cell Stem Cell 4:381-384 (2009); Yu et al., Science 324(5928):797-801 (2009); Yu et al., Science 318(5858):1917-20 (2007); Takahashi et al., Cell 131:861-72 (2007); および Takahashi and Yamanaka, Cell 126:663-76 (2006)を参照されたい、これらは、全体が参照により本明細書に組み込まれる。この実施形態によると、カプセルは、対象の治療剤を産生および放出することが可能である所望の細胞集団への幹細胞分化を促進するのに好適な成長および分化因子をさらに含んでいてよい。

40

【0119】

50

本明細書に記載されているカプセルへの封入に好適な細胞は、所望の細胞を生成することが可能であるいずれの動物に由来していてもよい。細胞を採取する動物は、脊椎動物または無脊椎動物、哺乳類または非哺乳類、ヒトまたは非ヒトであってよい。動物源の例として、限定されないが、霊長類、齧歯類、イヌ科動物、ネコ科動物、ウマ、ウシ、またはブタが挙げられる。細胞は、初代細胞調製物または不死化細胞調製物から得られても、これを含んでいてもよい。カプセル化細胞は、埋め込み物レシピエントと同じ種から、または埋め込み物レシピエントと異なる種から単離され得る。

【0120】

いくつかの実施形態において、本明細書に記載されているカプセルは、およそ 1×10^5 または 1×10^6 細胞 / ml ~ 約 1×10^{10} 細胞 / mL 以上の間の細胞密度を含む。一実施形態において、カプセルの細胞保持容量は、少なくとも部分的に、カプセルのサイズを基準としている。一実施形態において、カプセル膜は、ヒドロゲル中の細胞がカプセルから放出することを妨げる。細胞は、細胞がカプセル内に導入される / されたときに、またはインピボで機能細胞にさらに成長または成熟する必要がある前駆細胞の埋め込みなど、細胞がカプセルにおいて完全に成長および / または成熟したときに発現する機能の少なくとも約 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99% または 100% を表す機能性を有して、カプセルにおいて、少なくとも 1 ヶ月、2 ヶ月、3 ヶ月、4 ヶ月、5 ヶ月、6 ヶ月、7 ヶ月、8 ヶ月、9 ヶ月、10 ヶ月、11 ヶ月、12 ヶ月または 1 年以上インピボで生存することが可能である。いくつかの実施形態において、系における細胞または細胞調製物は、インピボでの系の埋め込みの際に細胞密度および / または細胞機能を増加させるカプセル内で拡大する。

【0121】

カプセルが細胞または細胞調製物を含有するとき、さらなる細胞特異的成長および / または分化因子が、細胞成長、分化、および生存を高めるヒドロゲルまたはポリマー溶液に添加されてよい。これらの因子には、サプリメント（例えば、グルタミン、非必須アミノ酸）、成長因子（例えば、上皮成長因子、線維芽細胞成長因子、形質転換成長因子 / 骨形成タンパク質、血小板由来成長因子、インスリン成長因子、サイトカイン）、細胞外マトリクスタンパク質（例えば、フィブロネクチン、ラミニン、ヘパリン、コラーゲン、グリコサミノグリカン、プロテオグリカン、エラスチン、キチン誘導体、フィブリン、およびフィブリノゲン）、血管新生因子（例えば、FGF、bFGF、酸FGF（aFGF）、FGF-2、FGF-4、EGF、PDGF、TGF-β、アンジオポエチン-1、アンジオポエチン-2、胎盤成長因子（PLGF）、VEGF、およびPMA（ホルボール12-ミリストート13-アセート））、ならびにシグナル伝達因子および / または転写因子が含まれる。

【0122】

本発明の別の態様は、治療剤を対象に送達する方法を対象とする。この方法は、ヒドロゲルと、当該ヒドロゲルに封入された治療剤とを含むカプセルを対象に投与することを含む。

【0123】

本明細書に記載されているカプセルは、対象への生物学的活性物質（複数可）の連続供給を必要とする種々の疾患および状態を処置するのに用いられ得る。カプセルは、生物学的活性剤および / または細胞の均一または不均一混合物または対象の 1 以上の生物学的活性物質を産生する細胞を含有してよい。生物学的活性剤および / または細胞は、カプセルのヒドロゲル層内に完全に封入されている。かかる半透過性外層は、対象のカプセル化された生物学的活性物質（例えば、糖尿病を処置する場合には、インスリン、グルカゴン、膵臓ポリペプチドなど）が系から排出されることを可能にし、これにより、活性物質が、系の外にありかつレシピエント対象の体内にある標的細胞に利用できるようになる。一実施形態において、カプセル膜は、対象に自然に存在する栄養素が当該膜を通過して必

10

20

30

40

50

須栄養素をヒドロゲルに存在する細胞に提供することを可能にする半透過性膜である。同時に、かかる半透過性膜は、レシピエント対象の細胞、より詳細にはこれらの免疫系細胞がカプセルを通過して該カプセル内を通り、系内の細胞に損害を与えることを防止する。例えば、糖尿病の場合、このアプローチは、グルコースおよび酸素（例えば、体内に含有されている）が、カプセルのインスリン産生細胞を刺激することにより、宿主免疫系細胞が埋め込まれた細胞を認識して破壊することを防止しながら体によって必要とされるインスリンをリアルタイムで放出することを可能にし得る。

【0124】

本発明の別の態様は、糖尿病対象を処置する方法を対象とする。この方法は、糖尿病を有する対象を選択することと、ヒドロゲルおよびヒドロゲルによって封入された治療剤を含むカプセルを対象に埋め込むこととを含む。この実施形態によると、カプセルは、ヒドロゲル中に封入されたインスリン分泌細胞の調製物を含有し、対象に送達される治療剤は、インスリンである。

10

【0125】

本発明のこの態様の一実施形態によると、糖尿病を有する対象は、1型糖尿病（若年性糖尿病とも呼ばれる）を有する。別の実施形態において、上記対象は、2型糖尿病を有する。別の実施形態において、上記対象は、若年発症成人型糖尿病（MODY）を有する。

【0126】

カプセルは、対象に手術によって埋め込まれ得る。一実施形態において、カプセルは、低侵襲手術手技、例えば、腹腔鏡を使用して埋め込まれる。カプセルは、送達される治療剤、処置される状態、および送達の標的である組織または器官に応じて、経皮、皮下、腹腔内、胸腔内、筋肉内、関節内、眼内、または大脳内に埋め込まれ得る。

20

【0127】

本発明によるカプセルによる処置に適している対象には、哺乳動物（例えば、ヒト、ウマ、ブタ、ウサギ、イヌ、ヒツジ、ヤギ、非ヒト霊長類、ウシ、ネコ、モルモットまたは齧歯類）、魚類、鳥類、は虫類、および両生類が含まれる。当該用語は、特定の年齢または性別を表してはいない。そのため、雄または雌にかかわらず、成体および新生対象、ならびに胎児がカバーされることが意図される。いくつかの実施形態において、対象は、疾患または障害に悩まされている。「対象」という用語には、ヒトおよび獣医学的对象が含まれる。

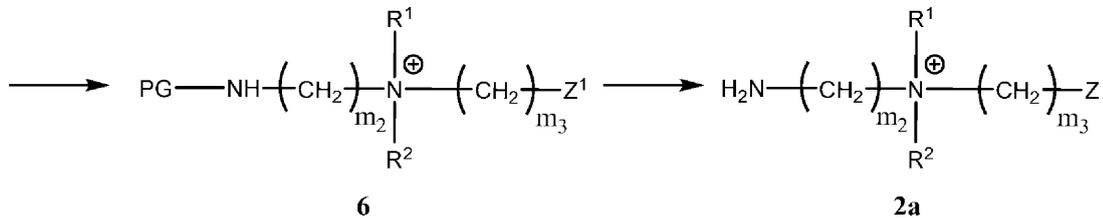
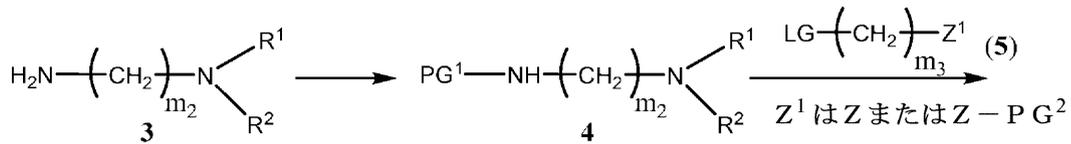
30

【0128】

本発明の別の態様は、本明細書に記載されているポリマー、ポリマーネットワーク、およびヒドロゲルによってコーティングされた表面を対象とする。ポリマー、ポリマーネットワーク、およびヒドロゲルは、例えば医療デバイスを含めた種々のデバイスの表面をコーティングして、生体適合性、非線維性、および非付着表面を提供するのに有利に使用され得る。したがって、別の態様において、本発明は、本発明の1以上のポリマー、ポリマーネットワーク、またはヒドロゲルが適用された（例えば、コーティングされた、共有結合的にカップリングされた、イオンの会合された、疎水的に会合された）表面（すなわち、1以上の表面）を有するデバイスおよび材料を提供する。本明細書に記載されているポリマーおよびポリマーネットワークによって有利に処理またはコーティングされているよい代表的なデバイスおよび担体には：本明細書に記載されているポリマーまたはポリマーネットワークによって処理された、これを含むように改変された、またはこれを組み込んだ表面を有する粒子（例えば、ナノ粒子）；本明細書に記載されているポリマーまたはポリマーネットワークによって処理された、これを含むように改変された、またはこれを組み込んだ表面を有する薬物担体；本明細書に記載されているポリマーまたはポリマーネットワークによって処理された、これを含むように改変された、またはこれを組み込んだ表面を有する非ウイルス遺伝子送達系；本明細書に記載されているポリマーまたはポリマーネットワークによって処理された、これを含むように改変された、またはこれを組み込んだ

40

50



【0133】

アミン(3)は、好適な保護基を使用して保護され得る。化合物(5)によって保護されたアミン(4)のカップリングにより、化合物(6)が形成される。カップリング反応は、種々の溶媒中、例えば、アセトニトリル、メタノール、エタノール、塩化メチレン(CH_2Cl_2)、テトラヒドロフラン(THF)、ジメチルホルムアミド(DMF)、もしくは他のかかる溶媒中、またはかかる溶媒の混合物中で実施され得る。カップリングプロセスの際、化合物5における非析出カルボン酸は、所望により後に選択的に除去され得る好適な保護基によって保護され得る。これらの基ならびにそれらの選択および化学の詳細な説明は、全体が参照により本明細書に組み込まれる“*The Peptides, Vol. 3*”, Gross and Meinenhofer, Eds., Academic Press, New York, 1981に含まれている。そのため、アミノ基に有用な保護基は、ベンジルオキシカルボニル(Cbz)、t-ブチルオキシカルボニル(t-BOC)、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル(Troc)、t-アミルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-(トリクロロシリル)エトキシカルボニル、9-フルオレニルメトキシカルボニル(Fmoc)、フタロイル、アセチル(Ac)、ホルミル、トリフルオロアセチルなどである。保護基の除去により、化合物(2a)の形成に至る。

【0134】

本発明の別の態様は、式(III)のモノマーを合成する方法に関する。これらのモノマーは、以下に概説するスキーム3~5に従って調製され得る。

スキーム3

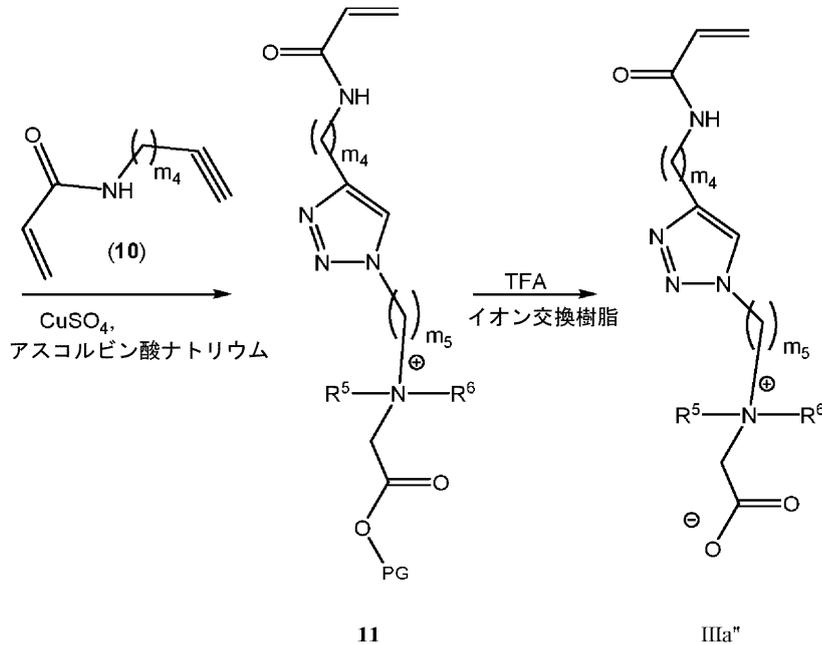
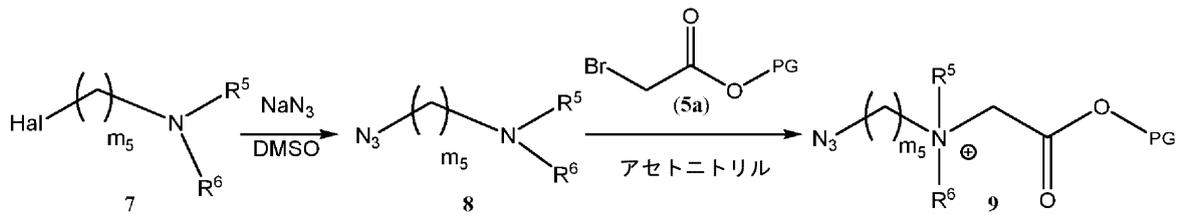
10

20

30

40

50



【 0 1 3 5 】

化合物(7)とアジ化ナトリウムとの間の反応により、アジド(8)が形成される。当該反応は、種々の溶媒中、例えばジメチルスルホキシド(DMSO)、メタノール、エタノール、ジメチルホルムアミド(DMF)、もしくは他のかかる溶媒中、またはかかる溶媒の混合物中で実施され得る。アジド(8)と化合物(5a)との間の反応により、化合物(9)が形成される。当該反応は、種々の溶媒中、例えば、アセトニトリル、メタノール、エタノール、塩化メチレン(CH₂Cl₂)、テトラヒドロフラン(THF)、ジメチルホルムアミド(DMF)、もしくは他のかかる溶媒中、またはかかる溶媒の混合物中で実施され得る。このプロセスの際、化合物5aにおける非析出カルボン酸は、所望により後に選択的に除去され得る好適な保護基によって保護され得る。これらの基ならびにそれらの選択および化学の詳細な説明は、全体が参照により本明細書に組み込まれる“*The Peptides, Vol. 3*”, Gross and Meinenhofer, Eds., Academic Press, New York, 1981に含まれている。そのため、アミノ基に有用な保護基は、ベンジルオキシカルボニル(Cbz)、t-ブチルオキシカルボニル(t-BOC)、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル(Troc)、t-アミルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-(トリクロロシリル)エトキシカルボニル、9-フルオレニルメトキシカルボニル(Fmoc)、フタロイル、アセチル(Ac)、ホルミル、トリフルオロアセチルなどである。

【 0 1 3 6 】

アジド(9)とアルキン(10)との間の反応により、トリアゾール(11)が形成される。当該反応は、種々の溶媒中、例えばジメチルスルホキシド(DMSO)、メタノール、エタノール、ジメチルホルムアミド(DMF)、もしくは他のかかる溶媒中、またはかかる溶媒の混合物中で実施され得る。保護基の除去により、化合物(IIIa')の形成に至る。

10

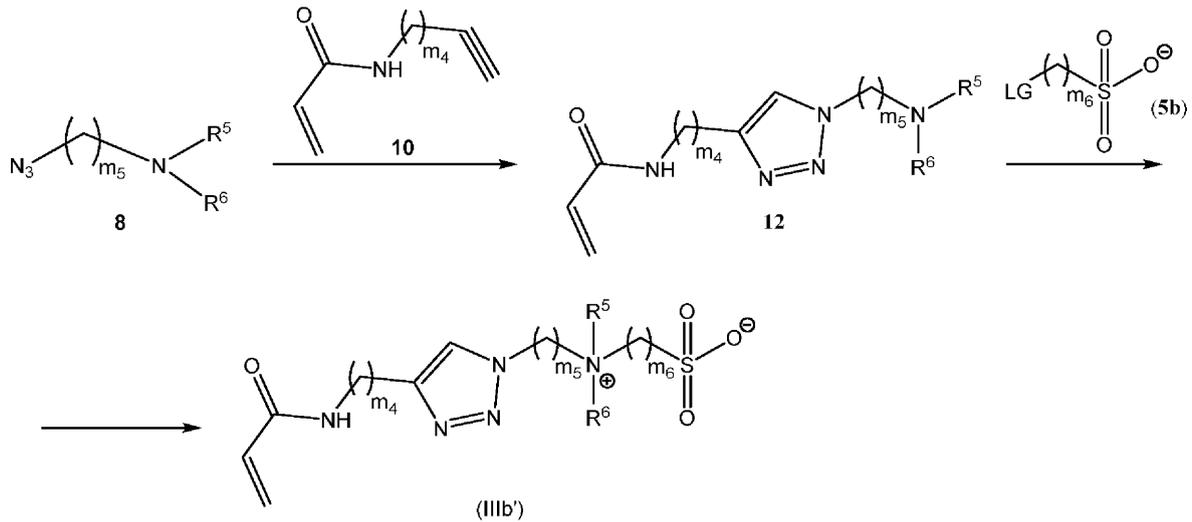
20

30

40

50

スキーム 4



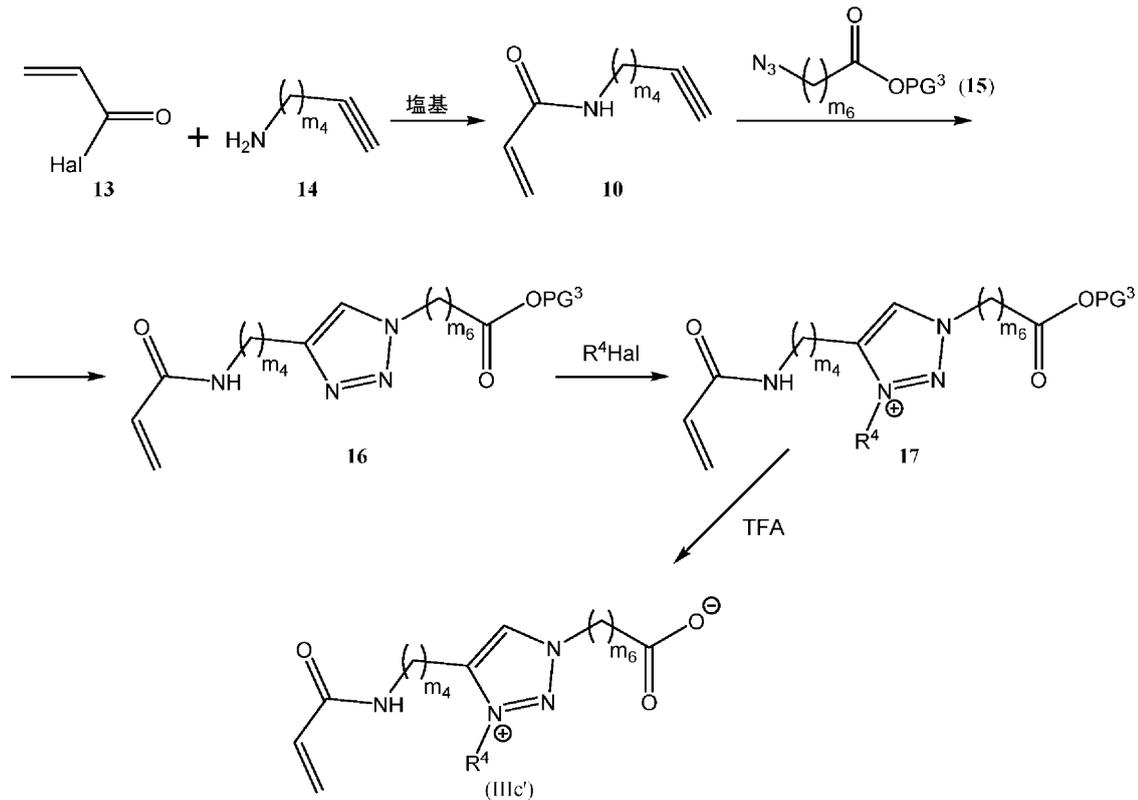
10

【0137】

アジド(8)とアルキン(10)との間の反応により、トリアゾール(12)が形成される。当該反応は、種々の溶媒中、例えば、アセトニトリル、メタノール、エタノール、塩化メチレン(CH_2Cl_2)、テトラヒドロフラン(THF)、ジメチルホルムアミド(DMF)、もしくは他のかかる溶媒中、またはかかる溶媒の混合物中で実施され得る。アジド(12)と化合物(5b)との間の反応により、モノマー(IIIb')が形成される。当該反応は、種々の溶媒中、例えば、アセトニトリル、メタノール、エタノール、塩化メチレン(CH_2Cl_2)、テトラヒドロフラン(THF)、ジメチルホルムアミド(DMF)、もしくは他のかかる溶媒中、またはかかる溶媒の混合物中で実施され得る。

20

スキーム 5



30

40

【0138】

アルキン(10)は、塩基の存在下で化合物(13)をアルキン(14)と反応させる

50

ことによって調製され得る。この反応は、種々の溶媒中、例えば、アセトニトリル、メタノール、エタノール、塩化メチレン (CH_2Cl_2)、テトラヒドロフラン (THF)、ジメチルホルムアミド (DMF)、もしくは他のかかる溶媒中、またはかかる溶媒の混合物中で実施され得る。アルキン (10) とアジド (15) との間の反応により、トリアゾール (16) が形成される。このプロセスの際、化合物 5 a における非析出カルボン酸は、所望により後に選択的に除去され得る好適な保護基によって保護され得る。これらの基ならびにそれらの選択および化学の詳細な説明は、全体が参照により本明細書に組み込まれる "The Peptides, Vol. 3", Gross and Meinenhofer, Eds., Academic Press, New York, 1981 に含まれている。そのため、アミノ基に有用な保護基は、ベンジルオキシカルボニル (Cbz)、t-ブチルオキシカルボニル (t-BOC)、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル (Troc)、t-アミルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-(トリクロロシリル)エトキシカルボニル、9-フルオレニルメトキシカルボニル (Fmoc)、フタロイル、アセチル (Ac)、ホルミル、トリフルオロアセチルなどである。当該反応は、種々の溶媒中、例えば、アセトニトリル、メタノール、エタノール、塩化メチレン (CH_2Cl_2)、テトラヒドロフラン (THF)、ジメチルホルムアミド (DMF)、もしくは他のかかる溶媒中、またはかかる溶媒の混合物中で実施され得る。このプロセスの際、化合物 15 における非析出カルボン酸は、所望により後に選択的に除去され得る好適な保護基によって保護され得る。これらの基ならびにそれらの選択および化学の詳細な説明は、全体が参照により本明細書に組み込まれる "The Peptide

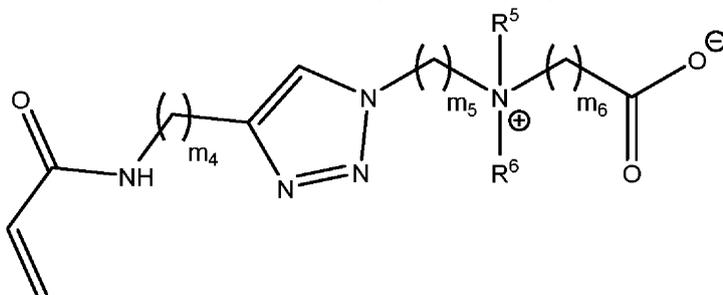
10

20

30

【0139】

本発明の別の態様は、式 (IIIa') :



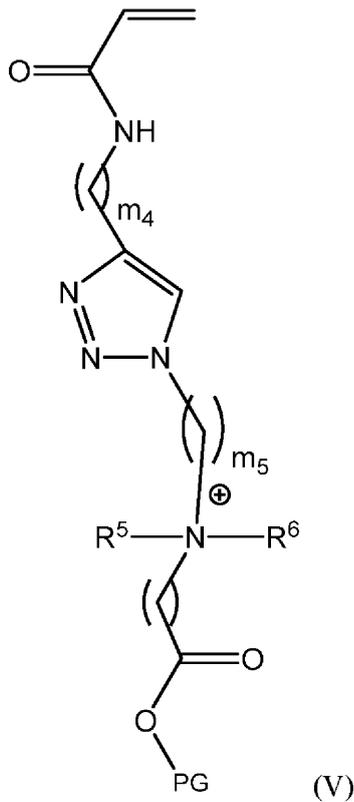
(IIIa')

40

のモノマーの調製のためのプロセスに関し、式中

- m_4 は、1 ~ 50 であり ;
 - m_5 は、0 ~ 10 であり ;
 - m_6 は、1 ~ 50 であり ;
 - R^5 は、 C_{1-20} アルキルであり ;
 - R^6 は、 C_{1-20} アルキルである。
- このプロセスは、式 (V) :

50



10

20

(式中、PGは好適な保護基である)の化合物を提供することと式(V)の化合物から式(III a')のモノマーを形成することを含む。

【0140】

いずれの好適な保護基(PG)が使用されてもよい。これらの基ならびにそれらの選択および化学の詳細な説明は、全体が参照により本明細書に組み込まれる“*The Peptides, Vol. 3*”, Gross and Meinenhofer, Eds., Academic Press, New York, 1981に含まれている。

30

【0141】

一実施形態において、PGは、t-ブチルオキシカルボニル(t-BOC)、9-フルオレニルメトキシカルボニル(Fmoc)、ベンジルオキシカルボニル(Cbz)、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル(Troc)、t-アミルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-(トリクロロシリル)エトキシカルボニル、フタロイル、アセチル(Ac)、ホルミル、およびトリフルオロアセチルからなる群から選択される。

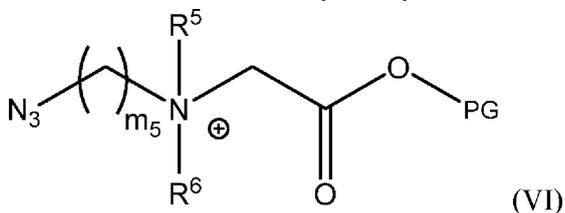
【0142】

一実施形態は、式(III a')のモノマーを形成することが、式(V)の化合物を好適な保護基除去剤と反応させることを含む、式(III a')のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

40

【0143】

別の実施形態は、式(VI)：



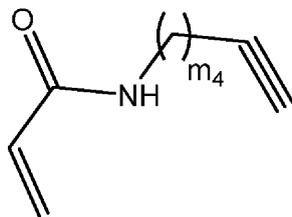
(VI)

50

の化合物を提供することと、
式(VI)の化合物から式(V)の化合物を形成することと
をさらに含む、式(IIIIa')のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0144】

さらなる実施形態は、式(V)の化合物を形成することが、式(VI)の化合物を、式(VII)：



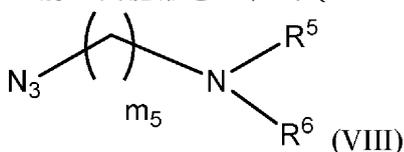
(VII)

10

の化合物と、式(V)の化合物を生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式(IIIIa')のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0145】

別の実施形態は、式(VIII)：



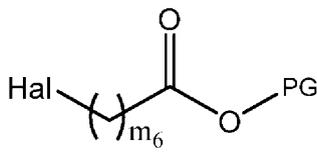
(VIII)

20

の化合物を提供することと、
式(VIII)の化合物から式(VI)の化合物を形成することと
をさらに含む、式(IIIIa')のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0146】

さらなる実施形態は、式(VI)の化合物を形成することが、式(VIII)の化合物を、式(IX)：



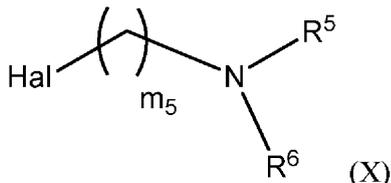
(IX)

30

(式中、Halはハロゲンである)の化合物と、式(VI)の化合物を生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式(IIIIa')のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0147】

さらに別の実施形態は、式(X)：



(X)

40

の化合物を提供することと、
式(X)の化合物から式(VIII)の化合物を形成することと
をさらに含む、式(IIIIa')のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0148】

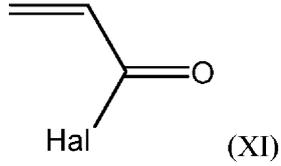
さらなる実施形態は、式(VIII)の化合物を形成することが、式(X)の化合物を金属アジド(MN₃) (式中、Mは任意の好適な金属である)と、式(VIII)の化合

50

物を生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式 (I I I a ') のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【 0 1 4 9 】

さらに別の実施形態は、式 (X I) :



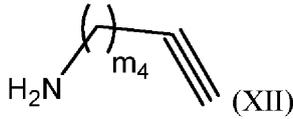
10

の化合物を提供することと、

式 (X I) の化合物から式 (V I I) の化合物を形成することと
をさらに含む、式 (I I I a ') のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【 0 1 5 0 】

さらなる実施形態は、式 (V I I) の化合物を形成することが、式 (X I) の化合物を、式 (X I I) :

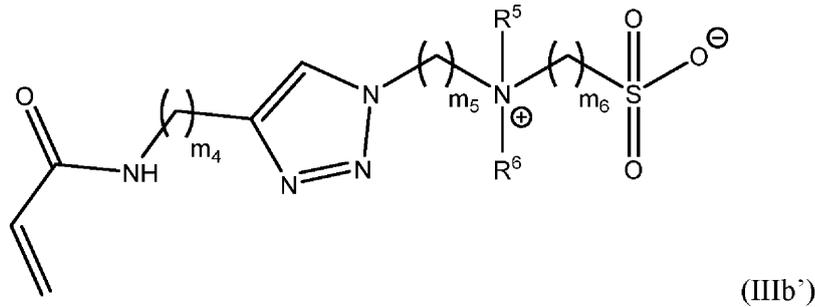


20

の化合物と、式 (V I I) の化合物を生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式 (I I I a ') のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【 0 1 5 1 】

本発明の別の態様は、式 (I I I b ') :



30

のモノマーの調製のためのプロセスに関し、式中

m_4 は、1 ~ 50 であり；

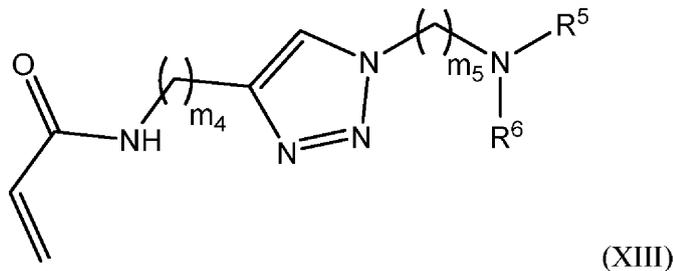
m_5 は、0 ~ 10 であり；

m_6 は、1 ~ 50 であり；

R^5 は、 C_{1-20} アルキルであり；

R^6 は、 C_{1-20} アルキルである。

このプロセスは、式 (X I I I) :



40

の化合物を提供することと

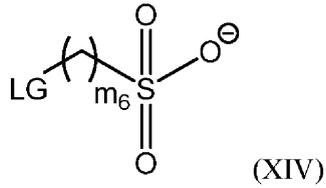
式 (X I I I) の化合物から式 (I I I b ') のモノマーを形成することと

50

を含む。

【0152】

一実施形態は、式(IIIb')のモノマーを形成することが、式(XIII)の化合物を、式(XIV)：

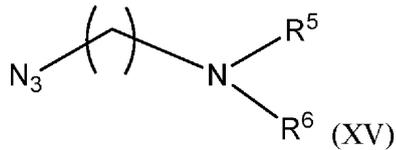


10

の化合物と、式(IIIb')のモノマーを生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式(IIIb')のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0153】

別の実施形態は、式(XV)：

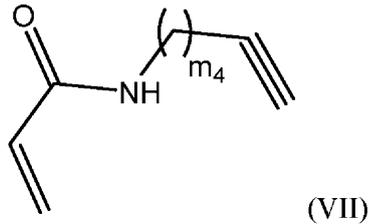


の化合物を提供することと、

式(XV)の化合物から式(XIII)の化合物を形成することとをさらに含む、式(IIIb')のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0154】

さらなる実施形態は、式(XIII)の化合物を形成することが、式(XV)の化合物を、式(VII)：

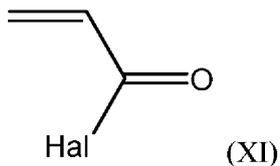


30

の化合物と、式(XIII)の化合物を生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式(IIIb')のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0155】

さらに別の実施形態は、式(XI)：



40

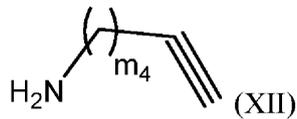
の化合物を提供することと

式(XI)の化合物から式(VII)の化合物を形成することとをさらに含む、式(IIIb')のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0156】

さらなる実施形態は、式(VII)の化合物を形成することが、式(XI)の化合物を、式(XII)：

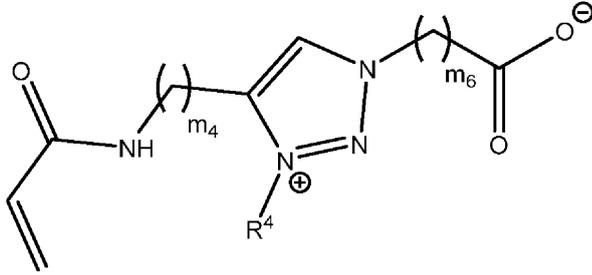
50



の化合物と、式 (V I I) の化合物を生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式 (I I I b') のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0157】

本発明の別の態様は、式 (I I I c') :



10

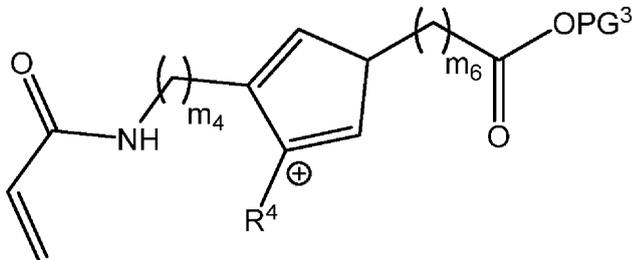
のモノマーの調製のためのプロセスに関し、式中

m_4 は、1 ~ 50 であり ;

m_6 は、1 ~ 50 であり ;

R^4 は、 C_{1-20} アルキルである。

このプロセスは、式 (X V I) :



20

(式中、PG は好適な保護基である) の化合物を提供することと、

式 (X V I) の化合物から式 (I I I c') のモノマーを形成することとを含む。

【0158】

いずれの好適な保護基 (PG) が使用されてもよい。これらの基ならびにそれらの選択および化学の詳細な説明は、全体が参照により本明細書に組み込まれる "The Peptides, Vol. 3", Gross and Meinenhofer, Eds., Academic Press, New York, 1981 に含まれている。

【0159】

一実施形態において、PG は、*t*-ブチルオキシカルボニル (*t*-BOC)、9-フルオレニルメトキシカルボニル (Fmoc)、ベンジルオキシカルボニル (Cbz)、2, 2, 2-トリクロロエトキシカルボニル (Troc)、*t*-アミルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-(トリクロロシリル)エトキシカルボニル、フタロイル、アセチル (Ac)、ホルミル、およびトリフルオロアセチルからなる群から選択される。

30

40

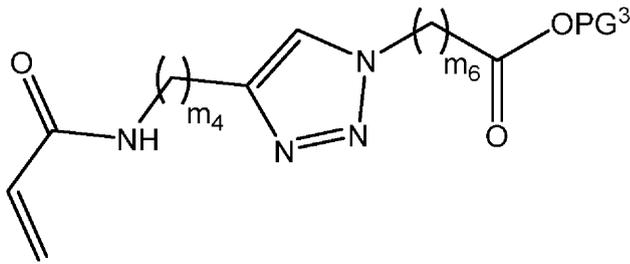
【0160】

一実施形態は、式 (I I I c') のモノマーを形成することが、式 (X V I) の化合物を好適な保護基除去剤と反応させることを含む、式 (I I I c') のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0161】

50

別の実施形態は、式 (XVII) :



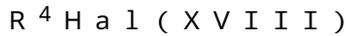
の化合物を提供することと、

10

式 (XVII) の化合物から式 (XVI) の化合物を形成することと
をさらに含む、式 (IIIc') のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0162】

さらなる実施形態は、式 (XVI) の化合物を形成することが、式 (XVII) の化合物を式 (XVIII) :

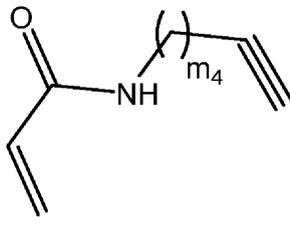


の化合物と、式 (XVI) の化合物を生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式 (IIIc') のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0163】

別の実施形態は、式 (VII) :

20



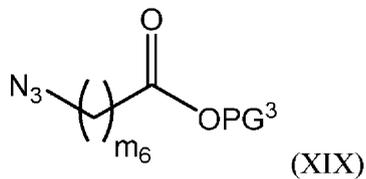
の化合物を提供することと

式 (VII) の化合物から式 (XVII) の化合物を形成することと
をさらに含む、式 (IIIc') のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

30

【0164】

さらなる実施形態は、式 (XVII) の化合物を形成することが、式 (VII) の化合物を、式 (XIX) :

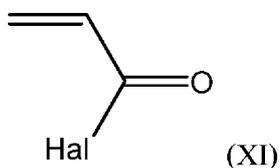


の化合物と、式 (XVII) の化合物を生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式 (IIIc') のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

40

【0165】

さらに別の実施形態は、式 (XI) :



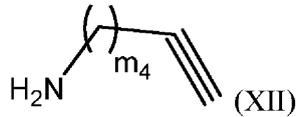
の化合物を提供することと

50

式 (X I) の化合物から式 (V I I) の化合物を形成することと
をさらに含む、式 (I I I c') のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0166】

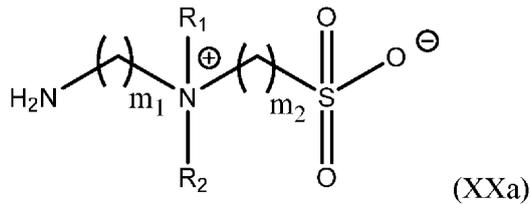
さらなる実施形態は、式 (V I I) の化合物を形成することが、式 (X I) の化合物を、式 (X I I) :



の化合物と、式 (V I I) の化合物を生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式 (I I I c') のモノマーの調製のためのプロセスに関する。

【0167】

本発明の別の態様は、式 (X X a) :



の化合物の調製のためのプロセスに関し、式中

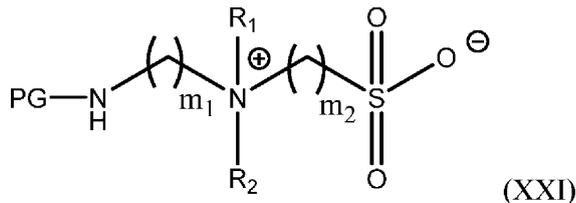
m_1 は、1 ~ 50 であり；

m_2 は、1 ~ 10 であり；

R_1 は、 C_{1-20} アルキルであり；

R_2 は、 C_{1-20} アルキルである。

このプロセスは、式 (X X I) :



(式中、PG は好適な保護基である) の化合物を提供することと

式 (X X I) の化合物から式 (X X a) の化合物を形成することと
を含む。

【0168】

いずれの好適な保護基 (PG) が使用されてもよい。これらの基ならびにそれらの選択および化学の詳細な説明は、全体が参照により本明細書に組み込まれる "The Peptides, Vol. 3", Gross and Meinenhofer, Eds., Academic Press, New York, 1981 に含まれている。

【0169】

一実施形態において、PG は、*t*-ブチルオキシカルボニル (*t*-BOC)、9-フルオレニルメトキシカルボニル (Fmoc)、ベンジルオキシカルボニル (Cbz)、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル (Troc)、*t*-アミルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-(トリクロロシリル)エトキシカルボニル、フタロイル、アセチル (Ac)、ホルミル、およびトリフルオロアセチルからなる群から選択される。

【0170】

一実施形態は、式 (X X a) の化合物を形成することが、式 (X X I) の化合物を好適

10

20

30

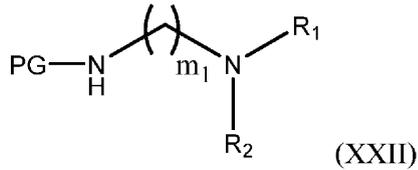
40

50

な保護基除去剤と反応させることを含む、式 (X X a) の化合物の調製のためのプロセスに関する。

【 0 1 7 1 】

別の実施形態は、式 (X X I I) :



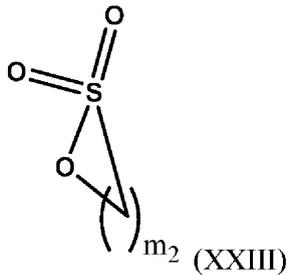
10

の化合物を提供することと

式 (X X I I) の化合物から式 (X X I) の化合物を形成することとをさらに含む、式 (X X a) の化合物の調製のためのプロセスに関する。

【 0 1 7 2 】

さらなる実施形態は、式 (X X I) の化合物を形成することが、式 (X X I I) の化合物を、式 (X X I I I) :

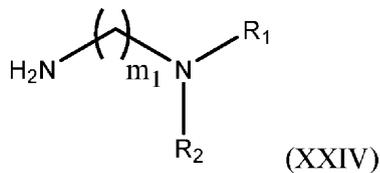


20

の化合物と、式 (X X I) の化合物を生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式 (X X a) の化合物の調製のためのプロセスに関する。

【 0 1 7 3 】

さらに別の実施形態は、式 (X X I V) :



30

の化合物を提供することと

式 (X X I V) の化合物から式 (X X I I) の化合物を形成することとをさらに含む、式 (X X a) の化合物の調製のためのプロセスに関する。

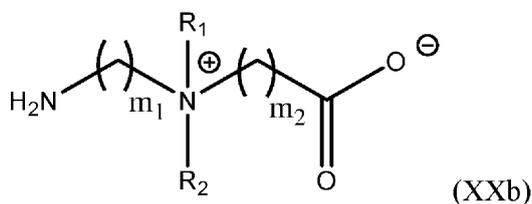
【 0 1 7 4 】

さらなる実施形態は、式 (X X I I) の化合物を形成することが、式 (X X I V) の化合物を好適な保護基導入剤と、式 (X X I I) の化合物を生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式 (X X a) の化合物の調製のためのプロセスに関する。

40

【 0 1 7 5 】

本発明の別の態様は、式 (X X b) :



50

の化合物の調製のためのプロセスに関し、式中

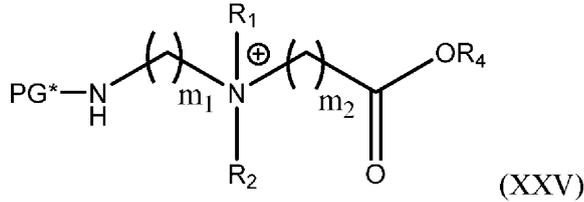
m_1 は、1 ~ 50 であり；

m_2 は、1 ~ 10 であり；

R_1 は、 $C_1 \sim 20$ アルキルであり；

R_2 は、 $C_1 \sim 20$ アルキルである。

このプロセスは、式 (XXV)：



10

(式中、 PG^* は好適な保護基であり、 R_4 は $C_1 \sim 6$ アルキルである) の化合物を提供することと

式 (XXV) の化合物から式 (XXb) の化合物を形成することとを含む。

【0176】

いずれの好適な保護基 (PG^*) が使用されてもよい。これらの基ならびにそれらの選択および化学の詳細な説明は、全体が参照により本明細書に組み込まれる “The Peptides, Vol. 3”, Gross and Meinenhofer, Eds., Academic Press, New York, 1981 に含まれている。

20

【0177】

一実施形態において、 PG^* は、*t*-ブチルオキシカルボニル (*t*-BOC)、9-フルオレニルメトキシカルボニル (Fmoc)、ベンジルオキシカルボニル (Cbz)、2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル (Troc)、*t*-アミルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、2-(トリクロロシリル)エトキシカルボニル、フタロイル、アセチル (Ac)、ホルミル、およびトリフルオロアセチルからなる群から選択される。

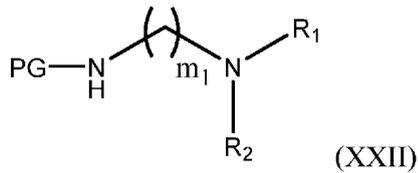
【0178】

別の実施形態は、式 (XXb) の化合物を形成することが、式 (XXV) の化合物を好適な保護基除去剤と反応させることを含む、式 (XXb) の化合物の調製のためのプロセスに関する。

30

【0179】

別の実施形態は、式 (XXII)：



40

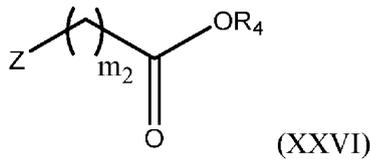
の化合物を提供することと

式 (XXII) の化合物から式 (XXV) の化合物を形成することとをさらに含む、式 (XXb) の化合物の調製のためのプロセスに関する。

【0180】

別の実施形態は、式 (XXV) の化合物を形成することが、式 (XXII) の化合物を、式 (XXVI)：

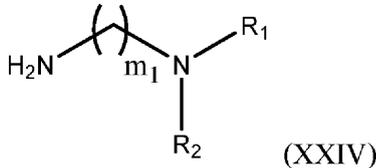
50



(式中、Zはハロゲンである)の化合物と反応させることを含む、式(XXb)の化合物の調製のためのプロセスに関する。

【0181】

さらに別の実施形態は、式(XXIV)：



10

の化合物を提供することと

式(XXIV)の化合物から式(XXII)の化合物を形成することとをさらに含む、式(XXb)の化合物の調製のためのプロセスに関する。

【0182】

さらなる実施形態は、式(XXII)の化合物を形成することが、式(XXIV)の化合物を好適な保護基導入剤と、式(XXII)の化合物を生成するのに有効な条件下で反応させることを含む、式(XXb)の化合物の調製のためのプロセスに関する。

20

【実施例】

【0183】

実施例1~6の材料

重炭酸ジ-tert-ブチル、トリエチルアミン、N,N-ジメチルエチレンジアミン、塩化バリウム、硫酸マグネシウム、塩化マグネシウム六水和物、HEPES緩衝液、ジエチルエーテル、エチルアルコール、アセトニトリル、およびジクロロメタン(DCM)を、Sigma-Aldrichから得た。2-クロロ-4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン(CDMT)、N-メチルモルホリン(NMM)、1,3-プロパンスルトン、およびトリフルオロ酢酸(TFA)をAlfa Aesarから購入した。VLVG(>60%G、25kDa MW)、SLG20(>60%G、75-220kDa MW)、およびSLG100(>60%G、200-300kDa MW)を含めた全てのアルギン酸ナトリウムをFMC BioPolymer Co.(Philadelphia, PA)から購入した。シアノ官能化シリカをSilicycleから購入した。

30

【0184】

免疫応答性雄性C57BL/6マウスをJackson Labから得、スプラーグドリーラットを、Charles River Laboratoriesから得た。全ての動物の手技は、Cornell Institutional Animal Care and Use Committeeによって承認されたものであった。

40

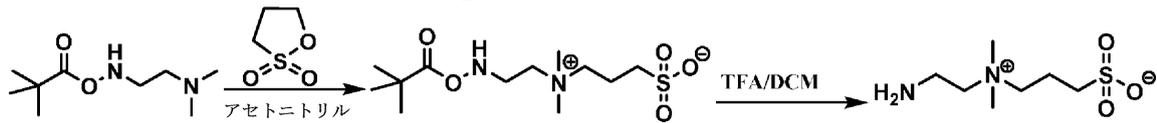
【0185】

実施例1-両性イオン性スルホベタイン系およびカルボキシベタイン系アルギン酸塩共役体の合成

重炭酸ジ-tert-ブチル(10.0g、45.8mmol)およびトリエチルアミン(12.8mL、91.6mmol)を、N,N-ジメチルエチレンジアミン(4.04g、45.8mmol)のエチルアルコール(150mL)溶液に0で0.5時間にわたって滴加した。混合物を0で1時間、次いで室温で18時間攪拌した。白色析出物を濾去し、濾液を蒸発させて残渣を得た。残渣をジクロロメタン(150mL)に溶解し、溶液を水で連続的に洗浄した。有機層を無水硫酸マグネシウム上で乾燥させ、蒸発させて、N,N-ジメチル-2-((ピバロイルオキシ)アミノ)エタン-1-アミンを得た。

50

【 0 1 8 6 】

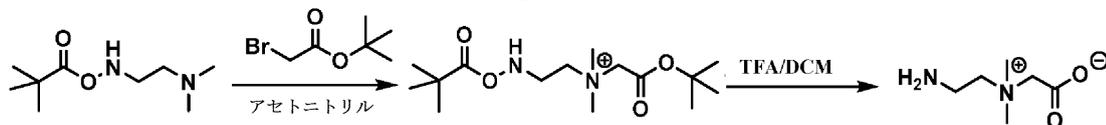
実施例 2 - スルホベタイン - NH₂ 材料の合成

N, N - ジメチル - 2 - ((ピバロイルオキシ) アミノ) エタン - 1 - アミン (40 . 0 m m o l) 、 1 , 3 - プロパンスルトン (4 . 9 g 、 40 . 0 m m o l) 、 およびアセトニトリル (150 m L) を、250 m L の丸底フラスコに添加した。混合物を、窒素雰囲気下、40 で48時間撹拌した。反応後、溶媒をロータリーエバポレータによって除去した。生成物を無水ジエチルエーテルによって析出させ、無水ジエチルエーテルで洗浄して、白色粉末を得た。最後に、10.0 g の得られた生成物を20 m L のトリフルオロ酢酸 (T F A) および20 m L のジクロロメタンの混合物によって室温で一晩処理し、ロータリーエバポレータによって濃縮し、無水ジエチルエーテル中で析出させて、白色粉末 (スルホベタイン - NH₂ 材料) を得た。

¹H NMR (D₂O, 400 MHz): δ 3.70 (t, 2H), 3.54 (m, 4H), 3.20 (s, 6H), 2.97 (t, 2H), 2.24 (m, 2H)

10

【 0 1 8 7 】

実施例 3 - カルボキシベタイン - NH₂ 材料の合成

N, N - ジメチル - 2 - ((ピバロイルオキシ) アミノ) エタン - 1 - アミン (40 . 0 m m o l) 、 プロモ酢酸 tert - ブチル (40 . 0 m m o l) 、 およびアセトニトリル (150 m L) を、250 m L の丸底フラスコに添加した。混合物を、窒素雰囲気下、40 で48時間撹拌した。反応後、溶媒をロータリーエバポレータによって除去した。生成物を無水ジエチルエーテルによって析出させ、無水ジエチルエーテルで洗浄して、白色粉末を得た。最後に、10.0 g の得られた生成物を40 m L のトリフルオロ酢酸 (T F A) および40 m L のジクロロメタンの混合物によって室温で一晩処理し、ロータリーエバポレータによって濃縮し、無水ジエチルエーテル中で析出させて、白色粉末 (カルボキシベタイン - NH₂ 材料) を得た。

¹H NMR (D₂O, 400 MHz): δ 4.31 (s, 2H), 3.99 (m, 2H), 3.55 (m, 2H), 3.36 (s, 6H)

20

30

【 0 1 8 8 】

実施例 4 - スルホベタイン系およびカルボキシベタイン系アルギン酸塩の共役

V L V G アルギン酸塩 (0 . 5 g) を40 m l の混合物溶媒 (30 m l の D I 水および10 m l のアセトニトリル) に溶解した。2 - クロロ - 4 , 6 - ジメトキシ - 1 , 3 , 5 - トリアジン (C D M T) (225 m g) および N - メチルモルホリン (N M M) (280 μ l) を添加した。次いで、0.84 g のスルホベタイン - NH₂ 材料を10 m l の D I 水に溶解し、混合物中に添加した。反応物を55 で一晩撹拌した。溶媒を減圧下で除去し、固体生成物を D I 水に再溶解した。溶液を、シアノ官能化シリカパッドを通して濾過した。これを次いで D I 水中の10,000 M W C O 膜に3日間透析した。最後に、水を減圧下で除去し、スルホベタイン改変アルギン酸塩を得た。カルボキシベタイン改変アルギン酸塩を、スルホベタイン改変アルギン酸塩の手順と同様の手順を使用して合成した。

【 0 1 8 9 】

実施例 5 - 両性イオン性スルホベタイン系アルギン酸塩マイクロカプセルの調製

アルギン酸塩溶液を調製するために、2% (w / v) アルギン酸塩 (V L V G 、 S L G 20 、 または S L G 100) を0.8% (w / v) N a C l 溶液に溶解した。2% (w /

40

50

v) スルホベタイン系アルギン酸塩共役体を 0.8% (w/v) NaCl 溶液に溶解した。80% (体積基準) のスルホベタイン系アルギン酸塩共役体および 20% (体積基準) の SLG100 の混合物をブレンドしてスルホベタイン - アルギン酸塩 (または SA) 溶液を得た。

【0190】

全ての緩衝液を使用前に滅菌し、アルギン酸塩溶液を、0.2 μm フィルタを通して濾過によって滅菌した。アルギン酸塩ヒドロゲルマイクロカプセルを、エレクトロスプレー法を介して調製した。簡潔には、高電圧発電機を、先が尖っていないニードルに接続した。このニードルを、鉛直に配向されたシリンジポンプにクリップ留めされた 3 ml のシリンジに取り付けた。アルギン酸塩溶液を、シリンジポンプによって、20 mM 塩化バリウム溶液を含有する無菌の下塗りされた皿にポンピングした。アルギン酸塩マイクロカプセルを形成した後、これらを収集し、次いで、調製した緩衝液 (NaCl 15.43 g、KCl 0.70 g、MgCl₂ · 6H₂O 0.49 g、2 L の DI 水中 50 ml の HEPES (1 M) 緩衝液溶液) で 3 回洗浄した。アルギン酸塩カプセルを 4 で一晩放置した。カプセルを、最後に、0.8% 生理食塩水で 2 回洗浄し、使用前に 4 に保った。

10

【0191】

実施例 6 - アルギン酸塩マイクロカプセルの埋め込み

マウスに酸素中 3% のイソフルランを使用して麻酔をし、手技を通して同じレートで維持した。マウスの腹部の毛を剃り、ベタジンおよびイソプロピルアルコールによって交互に洗浄して、無菌野を作り出した後に手術野に移した。腹部の正中線に沿って約 0.5 m の切り込みを作製し、鈍的切開を使用して腹膜を曝した。腹膜を次いで鉗子でつかみ、0.5 ~ 1 mm の切り込みを白線に沿って作製した。約 300 μl の容積のマイクロカプセルを次いで無菌ピペット内に投入し、切り込みを通して腹腔内に埋め込んだ。

20

【0192】

マイクロカプセルの位相差画像を、EVOS AMF 4300 画像システムを使用して撮像した。

【0193】

実施例 1 ~ 6 の結果および考察

両性イオン性の群の中でも、スルホベタインおよびカルボキシベタインを例として選択した。これらの両性イオン性材料は、優れた付着防止特性を示すことがこれまでに示されている (Zhang et al., "Superlow Fouling Sulfobetaine and Carboxybetaine Polymers on Glass Slides", Langmuir 22 (24): 10072 - 10077 (2006)、全体が参照により本明細書に組み込まれる)。スルホベタイン - NH₂ およびカルボキシベタイン - NH₂ モノマーをスキーム 6 に従って合成した。モノマーの構造を核磁気共鳴 (NMR) によって確認し、対応するプロトンの化学シフトを図 1 A ~ B においてマーキングした。

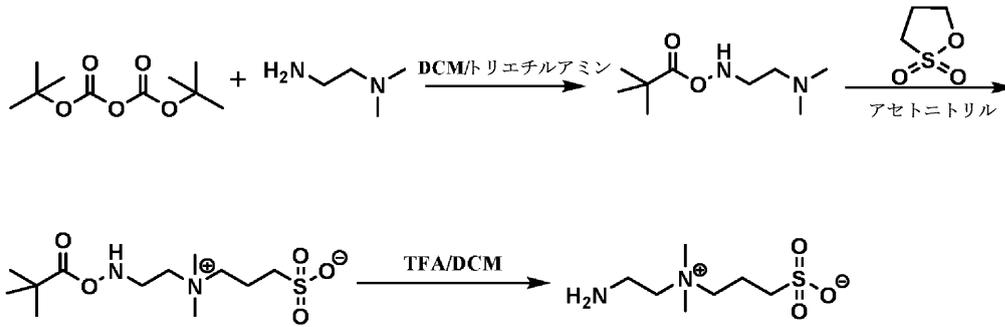
30

スキーム 6

40

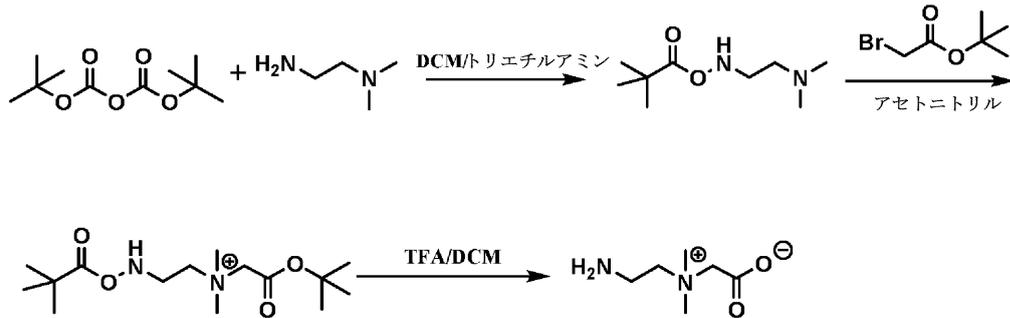
50

(a)

スルホベタイン-NH₂モノマー

10

(b)

カルボキシベタイン-NH₂モノマー

20

【0194】

スルホベタイン-NH₂およびカルボキシベタイン-NH₂モノマーを、N,N-ジメチルエチレンジアミンおよび(a)プロパンスルホンまたは(b)プロモ酢酸tert-ブチルのいずれかを使用して調製した。

【0195】

アルギン酸塩を改変するために、低分子量(MW)のVLVGアルギン酸塩を出発物質として使用した。2-クロロ-4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン(CDMT)およびN-メチルモルホリン(NMM)をカップリング試薬として使用して、図2Aに示すように、トリアジン系カップリング反応を介してアルギン酸塩をスルホベタイン-NH₂と共役させた。スルホベタイン系アルギン酸塩共役体を¹H NMRスペクトルによって特徴付けした(図2B)。スルホベタイン-NH₂セグメントの特徴ピークは以下の通りである: 3.20 ppmにおけるピークは、スルホベタインペンダント基における第4級アミンに結合した2つのメチル基における6つのプロトンに起因する。結果は、スルホベタイン-NH₂がアルギン酸塩に成功裏に共役したことを示唆している。出発アルギン酸塩の約30.5%の改変を、NMRデータ分析によって確認した。カルボキシベタイン系アルギン酸塩を図3Aに示すように調製した。カルボキシベタイン系アルギン酸塩について、図3Bにおける3.25 ppmの特徴ピークは、カルボキシベタインペンダント基における第4級アミンに結合した2つのメチル基における6つのプロトンに起因し、改変度は約35.6%である。

30

40

【0196】

ヒドロゲルマイクロカプセルは、細胞カプセル化、培養、および埋め込みに広範に使用されているため、スルホベタイン系アルギン酸塩共役体のマイクロカプセルは、架橋剤として塩化バリウムを使用したエレクトロスプレーによって製造したが、長期インビボ安定性を有することがこれまでに実証されている他の多価イオン、例えば、Ca²⁺、Sr²⁺を使用することもできる。SAマイクロカプセルへの異物反応を、対照としてSLG20

50

アルギン酸塩を用いて、埋め込み後 14 日間、C57BL/6J マウスの腹腔内空間において評価した。

【0197】

マイクロカプセル表面における白色部分（図 4、1 行目の画像）は、線維性沈着を示しており、したがって、対照マイクロカプセル（SLG20）は、実質的な線維症を誘発した。対照的に、スルホベタイン改変 VLVG（SB - VLVG）マイクロカプセルにおいては線維性沈着がほとんど存在しなかった（図 4、上から 2 行目の画像）。さらに、スルホベタイン改変 SLG20（SB - SLG20）およびスルホベタイン改変 SLG100（SB - SLG100）マイクロカプセルもまた、線維症をほとんど示さなかった（図 4、それぞれ、上から 3 および 4 行目の画像）。これらの結果は、SB 改変アルギン酸塩マイクロカプセルが、アルギン酸塩の種類にかかわらず、異物反応を効果的にかつ再現性よく軽減したことを示唆した。

10

【0198】

長期での異物反応への SB 改変アルギン酸塩の影響を調査するために、SB - SLG20 マイクロカプセルを免疫応答性 C57BL/6J マウスの腹腔内空間内に埋め込み、100 日後に採取した。取り出した SLG20 マイクロカプセルの暗視野位相差顕微鏡検査により、広範な線維性沈着が示された（図 5、上の行の画像）一方で、SB - SLG20 ミクロ球では、かなり低いレベルの線維性沈着が示された（図 5、下の行の画像）。さらに、取り出した SLG20 マイクロカプセルのいくつかは、共にさらに凝集しており、重度の線維症の兆候であった（図 5、上の行、左から 3 番目の画像）。

20

【0199】

SB 改変アルギン酸塩の性能をさらに評価するために、SB - SLG20 マイクロカプセルを、C57BL/6J において 180 日の埋め込み後に試験した。図 6 に示すように、取り出し後の SB - SLG20 マイクロカプセルでは、線維性沈着がほとんど見られなかった（図 6、上 2 行の画像）が、従来の SLG20 マイクロカプセル表面においては実質的な線維症が観察された（図 6、下 2 行の画像）。図 7 は、各皿において取り出した多数のマイクロカプセルを示す。マイクロカプセル表面における白色部分は、線維性沈着を示した。明らかに、SLG20 マイクロカプセルにおいて大部分で示された白色部分が重度の線維症を示しており（図 7、上 2 行）；SB - SLG20 マイクロカプセルについてのこの白色部分の非存在は、線維症がほとんどないことを示した（図 7、下 2 行）。この結果は、SB 改変アルギン酸塩が、180 日の大幅により長い期間で C57BL/6J マウスの腹腔内空間における異物反応を実質的に低減したことを示唆した。

30

【0200】

別の種類のスルホベタイン改変アルギン酸塩：エチレン - グリコール SB アルギン酸塩も設計および開発した。エチレン - グリコール SB - SLG20 マイクロカプセルへの異物反応を、埋め込み後 30 日間、C57BL/6J マウス間の腹腔内空間において評価した。取り出し後、エチレン - グリコール SB - SLG20 マイクロカプセル（図 8）は透明であり、線維症がほとんどないことを示した。

【0201】

総合すると、両性イオン性改変アルギン酸塩は、異物反応を効果的にかつ再現性よく軽減することが可能であった。このことは、生物付着を低減しかつアルギン酸塩の生体適合性を改善する両性イオン性スルホベタイン基に起因し得る。この両性イオン性スルホベタイン系アルギン酸塩共役体は、1 型糖尿病（TD1）に関する長期糖尿病の補正をサポートする膵島カプセル化に適用可能である。

40

【0202】

両性イオン性改変アルギン酸塩、例えば、SB - SLG20 が、C57BL/6J マウスにおける線維症に抵抗することを確認した後、糖尿病の処置のための細胞カプセル化媒体としてのその治療的可能性を調査した。カプセル化したラット膵島をストレプトゾトシン（STZ） - 誘発 C57BL/6 糖尿病マウスの腹腔に移植し、正常血糖値を回復させる能力について 90 日間評価した。ラット膵島を、異物反応を遮断するバリアとしての 1

50

000 μm SB-SLG20マイクロカプセルによって、または対照としてのSLG20マイクロカプセルに封入した(図9A)。マウスの血中グルコース(BG)レベルは、移植後数日で正常な血糖範囲($\text{BG} < 200 \text{mg/dL}$)に減少した(図9B)。しかし、SLG20マイクロカプセル中に封入されたラット膵島が移植されたマウスは、血糖制御のより短い持続期間を示し、45日間を超えて正常血糖値を維持することができなかったが、SB-SLG20マイクロカプセル中に封入されたラット膵島が移植されたマウスは、マイクロカプセルが取り出される前の3ヶ月間にわたって治癒されたままであった。

【0203】

白色部分が、取り出したSLG20マイクロカプセルにおいて大部分で示され(図9C)、これは、重度の線維症を示唆した。これを、H&E染色組織学的分析も使用して確認した(図9D)。組織片のH&E染色の結果は、SLG20が、埋め込み物の周囲に高い線維性沈着を伴うマイクロカプセルを生じたことを示した。対照的に、取り出した、ラット膵島を封入したSB-SLG20マイクロカプセル(図9E~F)は、線維沈着をほとんど示さなかった。取り出し後のマイクロカプセルにおいて観察された多数のラット膵島も存在した。重要なことに、これらの膵島は、取り出したSB-SLG20マイクロカプセル中の膵島におけるポジティブインスリン染色によって示されるように(図9G)、3ヶ月の埋め込み後にも依然として機能的であった。総合すると、カプセル化されたラット膵島は、FBRを効果的に軽減することが可能である両性イオン性改変アルギン酸塩を使用して、T1DにおいてSTZ処置C57BL/6Jマウスにおいて長期の血糖補正(90日間)を達成することができた。

【0204】

超生体適合性の両性イオン性改変アルギン酸塩を設計および合成した。スルホベタイン-NH₂、エチレングリコールスルホベタイン-NH₂、およびカルボキシベタイン-NH₂を成功裏に合成し、その後、アルギン酸塩に共役させた。スルホベタイン改変アルギン酸塩をC57BL/6マウスにおいて試験したところ、非改変対照アルギン酸塩と比較して、異物反応を効果的に軽減した。SB改変アルギン酸塩の治療的可能性を、ラット膵島を使用して、1型糖尿病マウスモデルを通して実証した。SB-SLG20カプセル化膵島細胞は、免疫応答性糖尿病C57BL/6Jマウスにおいて長期の血糖補正を提供することが可能であることが証明された。この両性イオン性改変アルギン酸塩は、T1Dおよび潜在的には他の疾患のための細胞カプセル化の橋渡しに寄与し得ることが判明した。

【0205】

実施例7~16の材料

プリパルギルアミン、塩化アクリロイル、アジ化ナトリウム、アスコルビン酸ナトリウム、硫酸銅五水和物、ヨードメタン、トリフルオロ酢酸(TFA)、2-クロロ-N,N-ジメチルエチルアミン塩酸塩、1,3-プロパンスルホン、2-ヒドロキシエチルメタクリレート(HEMA)、2-ヒドロキシ-2-メチルプロピオフェノン、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)、ジクロロメタン(DCM)、ジメチルスルホキシド(DMSO)、アセトニトリル、ヘキサミン、酢酸エチル、ジエチルエーテル、およびエチルアルコールをSigma-Aldrichから購入した。プロモ酢酸tert-ブチルおよびイオン交換樹脂(Amberlyst A-26、OH形態)をAlfa Aesarから得た。qTR-CB、TR-CB、およびTR-SBモノマーの合成の手順を以下に記載する。カルボキシベタインメタクリレート(CB)(Yang et al., "Pursuing "Zero" Protein Adsorption of Poly(carboxybetaine) from Undiluted Blood Serum and Plasma", *Langmuir* 25(19):11911-11916(2009)、全体が参照により本明細書に組み込まれる)およびカルボキシベタインジアクリルアミド(CBAAX)(Zhang et al., "Zwitterionic gel Encapsulation Promotes Protein Stability, Enhances Pharmacokinetics, and Reduces Immunogenicity", *Proceedings of the National Academ*

10

20

30

40

50

y of Sciences 112(39):12046-12051(2015)、全体が参照により本明細書に組み込まれる)を、これまでに報告されている方法を使用して合成した。

【0206】

実施例7 - ヒドロゲル調製

TR - ZWヒドロゲルを、UV照射によって開始されるラジカル重合を介して調製した。ヒドロゲル溶液は、1 mLのDI水、600 mgのモノマー、4% CBAAX架橋剤(モノマーのモルパーセント)、および3.5 mgの2-ヒドロキシ-2-メチルプロピオフェノン光開始剤からなった。得られた溶液を1対のスライドガラス間にキャストし、2 mm厚のポリ(テトラフルオロエチレン)(PTFE)スペーサによって分離し、UV(365 nm)下で45分間重合した。PHEMAおよびPCBヒドロゲルを、同様の手順を使用して調製した。調製後、全てのヒドロゲルサンプルを無菌のPBS緩衝液中で平衡化し、PBS緩衝液溶液を、5日間、1日に少なくとも3回変更した。埋め込みでは、ヒドロゲルを打ち抜いて6 mmの直径を有するディスクにし、これを使用前に無菌のPBS中4 で保存した。

10

【0207】

実施例8 - タンパク質吸着アッセイ

P(qTR - CB)ポリマーブラシを、これまで報告されている手順に従って、金コーティングされた表面プラズモン共鳴(SPR)センサーチップ上にグラフト化した(Zhang et al., "Zwitterionic Hydrogels: an in vivo Implantation Study", Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition 20(13):1845-1859(2009)、全体が参照により本明細書に組み込まれる)。P(qTR - CB)グラフト化された金表面におけるタンパク質吸着を、4チャンネルのSPRセンサーを使用して評価した。まず、PBS緩衝液をチャンネルに10分間流入してベースラインを構築した。次いで、1 mg/mLのフィブリノゲン溶液または100%のヒト血漿を10分間チャンネルに流通させ、続いて、PBS緩衝液で洗浄して、未結合タンパク質分子を除去した。吸着したタンパク質の量を、吸着前および吸着後のベースライン間の波長シフトの変化によって最終的に定量化した。750 nmにおける1 nmのSPR波長シフトは、15 ng/cm²のタンパク質表面被覆率に相当した(Liu et al., "Amino Acid-Based Zwitterionic Poly(Serine Methacrylate) as an Antifouling Material", Biomacromolecules 14(1):226-231(2012)、全体が参照により本明細書に組み込まれる)。P(TR - CB)およびP(TR - SB)表面におけるタンパク質吸着を、同じ手順を使用して評価した。

20

30

【0208】

実施例9 - 細胞接着アッセイ

NIH/3T3細胞を、37 °Cにおいて5% CO₂で、加湿されたインキュベータにおいて培養した。培地は、ダルベッコ改変イーグル培地(DMEM)、10%胎児ウシ血清(FBS)、および2%ペニシリンストレプトマイシンから構成された。直径6 mmのヒドロゲルディスクを12ウェルプレート内に個々に置き、無菌のPBS緩衝液で3回洗浄した。細胞懸濁液(2 mL)(濃度: 10⁵細胞/mL)を次いで各ウェルに移し、これらのヒドロゲルとともに37 °Cで3日間インキュベートした。インキュベーション後、ヒドロゲルを、各ウェルに無菌のPBSを含む新たな12ウェルプレートに移した。LIVE/DEADアッセイ溶液を各ウェルに添加し、30分間インキュベートした。これらのヒドロゲルを、EVOS AMF 4300画像システムを使用することによって最終的に撮像した。

40

【0209】

実施例10 - 引張および圧縮試験

ヒドロゲルサンプルの引張試験をTA Instrument DMA Q800動的機

50

機械的熱分析 (DMTA) において実施した。全ての平衡化したヒドロゲルサンプルを長さ 25 mm、幅 6 mm、厚さ 2 ~ 3 mm の矩形に切断した。ヒドロゲルサンプルを破壊するまで 5 mm 分⁻¹ の割合で伸長させた。ヒドロゲルサンプルの圧縮試験および負荷除荷試験を、100 N ロードセルによる Instron 5965 において行った。圧縮試験では、直径 6 mm (PBS 緩衝液中で平衡化したとき約 2 ~ 3 mm の厚さ) の各ヒドロゲルディスクを破壊するまで 1 mm 分⁻¹ の割合で圧縮した。ヒドロゲルの形状回復特性を 0 ~ 65 % の歪み範囲において 1 mm 分⁻¹ の一定のレートで 10 の連続的な負荷除荷サイクルによって評価した。全てのサンプルを室温で測定した。

【0210】

実施例 11 - サイトカイン分泌

骨髄由来マクロファージ (BMDM) を組織培養プレートまたは種々のヒドロゲル表面に 10⁶ 細胞 / cm² の細胞密度で播種し、異なる組み合わせ: 0.3 ng / mL リポ多糖 (LPS) (Sigma-Aldrich)、1.0 ng / mL IFN (R&D Systems, Minneapolis, MN)、2.0 ng / mL IL-4 (Invitrogen)、および 2.0 ng / mL IL-13 (Invitrogen) によって刺激した。36 時間の刺激後、上清を収集し、製造者の指示 (BioLegend, San Diego, CA) に従って ELISA (酵素結合免疫吸着検査法) によって TNF- α および IL-10 の分泌について分析した。

【0211】

実施例 12 - ヒドロゲル埋め込みおよび組織学的分析

全ての動物プロトコルは、Cornell Institutional Animal Care and Use Committee によって承認されたものであった。8 週齢の免疫応答性雄性 C57BL/6 マウスを Jackson Laboratory から得た。平衡化したヒドロゲルディスクを、マウスに、1、2、および 3 ヶ月間、それぞれ、皮下に埋め込んだ。各マウスについて、異なるモノマーから作製したヒドロゲルディスクをマウスの背部に埋め込み、種々のヒドロゲルサンプルの部位を、埋め込み位置の影響を排除するために変更した。各実験の最後に、マウスを CO₂ 窒息によって安楽死させた。ヒドロゲルディスクを周囲の組織と一緒に切断し、10% 中和緩衝ホルマリンで固定した。パラフィンワックスに包埋した後、サンプルを薄片化し、Cornell Histology Core Facility によるマッソントリクロームによって染色した。染色された組織学的スライドを、Aperio CS2 ScanScope (Leica Biosystems, Nusslock GmbH) を使用して走査した。青色画素密度を、Image J ソフトウェアを使用して測定した。コラーゲン密度を、全ての分析された薄片から求めた平均最大青色画素密度の百分率として定量化した。各サンプルについて、3 つの無作為な領域を組織 - ヒドロゲル界面から 60 μ m 以内の各固定距離 (例えば 0 ~ 10 μ m; 10 ~ 20 μ m; など) において分析した。サンプルサイズは n = 5 であった。

【0212】

ヒドロゲルにおける血管形成を評価するために、パラフィン包埋薄片を、内皮細胞バイオマーカーである一次ヤギ抗マウス CD31 (R&D Systems, dilution 1:200) を使用して染色した。この研究において、二次抗体として Alexa Fluor 488 ロバ抗ヤギ (Life Technologies, 希釈 1:500) を使用した。各ヒドロゲルディスクの異なる位置における 2 つの染色薄片を使用し、5 つの異なる領域を各薄片についてランダムに試験した。血管の密度を、カプセル面積に正規化した血管フィーチャの数をカウントすることによって定量化した。サンプルサイズは n = 5 であった。

【0213】

実施例 13 - 統計分析

全てのデータを平均値 \pm 標準偏差として提示する。p 値が 0.05 未満であるとき、差を統計的に有意であるとみなした。全ての統計分析に学生 t 検定を使用した。

10

20

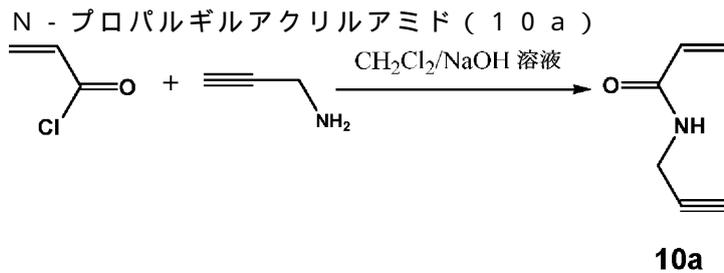
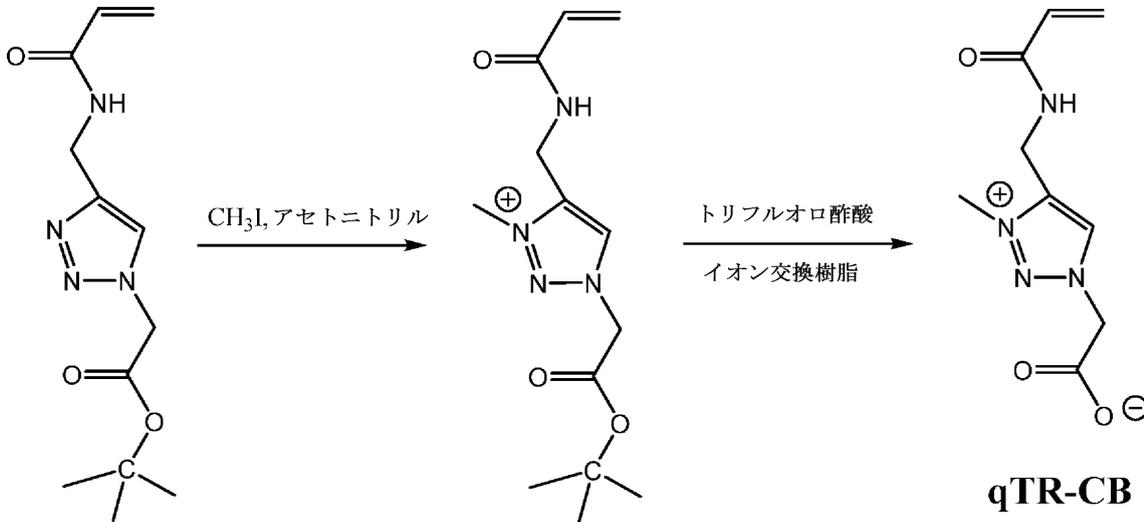
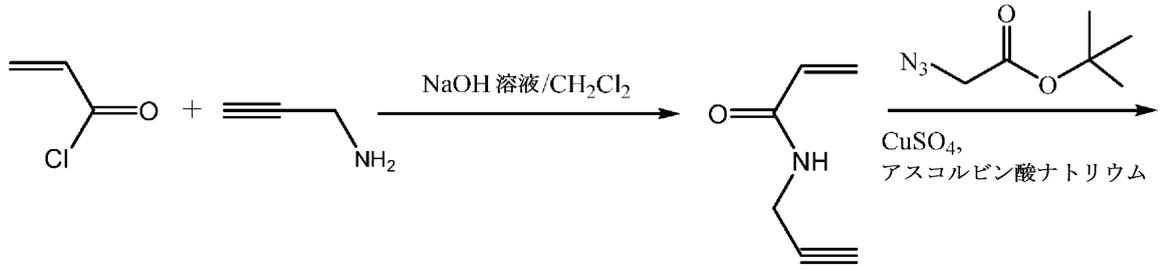
30

40

50

【0214】

実施例14 - qTR-CBモノマーの合成



プロパルギルアミン (3.3 g、60 mmol) を 150 mL の DCM に 0 で溶解した。水性 NaOH (1.5 M、100 mL) を次いで溶液中に添加した。塩化アクリロイル (14.9 g、165 mmol) をより濃厚なジクロロメタン層に 30 分かけて滴加して、橙黄色溶液を結果として生じた。混合物を 0 で 1 時間、次いで室温で 18 時間攪拌した。得られた溶液を水で連続的に洗浄した。有機層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥し、蒸発させて黄色油を得た。生成物 N - プロパルギルアクリルアミド (4.2 g、64%) をシリカゲルカラムクロマトグラフィ (溶出液: 酢酸エチル/ヘキサン、1:1、v/v) によって淡黄色固体として得た。

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 6.32

(dd, 1H), 6.13 (dd, 1H), 5.68 (dd, 1H), 4.12 (m, 2H), 2.23 (m, 1H) (図 10). ¹³C NMR

(CDCl₃, 400 MHz): 165.4, 130.1, 127.2, 79.3, 71.6, 29.2

【0215】

2 - アジド酢酸 tert - ブチル (15a)

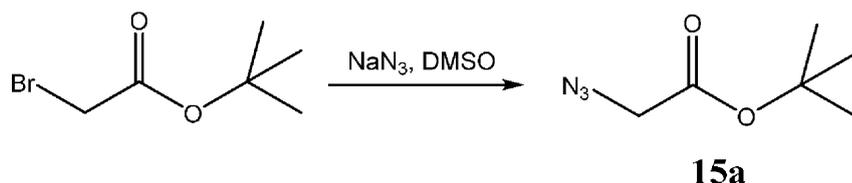
10

20

30

40

50



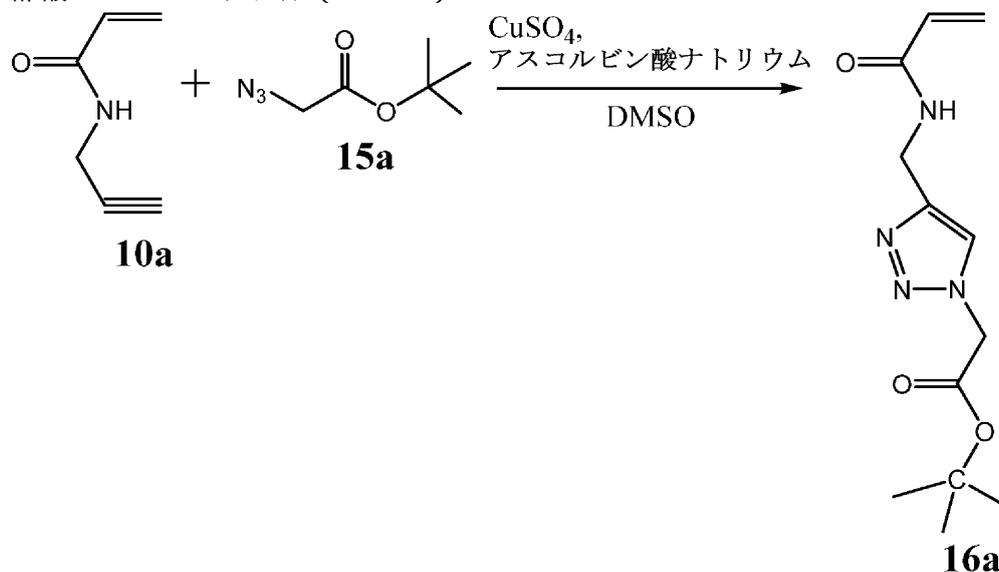
ブロモ酢酸 *tert*-ブチル (15.6 g、80 mmol) を 100 mL の DMSO に室温で溶解した。アジ化ナトリウム (NaN_3) (6.5 g、100 mmol) を溶液にゆっくり添加し、70 °C で一晩撹拌した。水 (150 mL) を添加して反応をクエンチし、水層を 3 × 200 mL の無水ジエチルエーテルで抽出した。合わせた有機相を塩水によって連続的に洗浄し、無水硫酸ナトリウム上で乾燥させた。有機溶媒を減圧下で除去し、2-アジド酢酸 *tert*-ブチルの生成物 (14.2 g、90%) を得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 3.74 (s, 2H), 1.49 (s, 9H) (図

11). $^{13}\text{C NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): 167.3, 82.9, 50.8, 27.9

【0216】

2-(4-(アクリルアミドメチル)-1H-1,2,3-トリアゾール-1-イル)酢酸 *tert*-ブチル (16a)



生成物 10a (4.2 g、38.4 mmol)、生成物 15a (6.1 g、38.4 mmol)、アスコルビン酸ナトリウム (0.76 g、3.8 mmol)、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.96 g、3.8 mmol)、および 100 mL の DMSO の混合物を、250 mL の丸底フラスコに添加した。混合物を、窒素雰囲気下、60 °C で 48 時間撹拌した。150 mL の水を添加して反応をクエンチした。次いで、得られた溶液を酢酸エチルで 3 回抽出した。合わせた有機層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥し、溶媒を減圧下で除去して、粗生成物を得た。生成物 16a (8.0 g、78%) をシリカゲルカラムクロマトグラフィ (溶出液: 酢酸エチル) によってさらに精製した。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7.68 (s, 1H), 6.27 (dd,

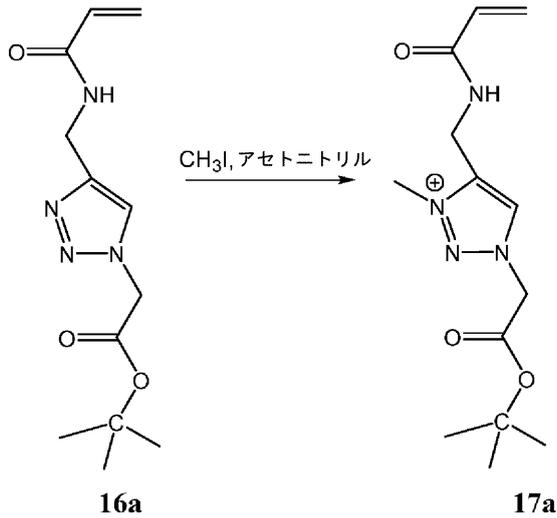
1H), 6.13 (dd, 1H), 5.63 (dd, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.57 (m, 2H), 1.45 (s, 9H) (図 12). ^{13}C

NMR (CDCl_3 , 400 MHz): 165.5, 165.1, 144.7, 130.4, 126.4, 123.9, 83.6, 51.3, 34.5, 27.7

【0217】

4-(アクリルアミドメチル)-1-(2-(*tert*-ブトキシ)-2-オキソエチ

ル) - 3 - メチル - 1 H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 3 - イウム (1 7 a)



10

生成物 16 a (8 . 0 g 、 3 0 m m o l) 、 ヨードメタン (2 5 . 6 g 、 1 8 0 m m o l) 、 およびアセトニトリル (1 5 0 m L) を、 2 5 0 m L の丸底フラスコに添加した。混合物を、窒素雰囲気下、60 で48時間攪拌した。反応後、溶媒をロータリーエボレータによって除去した。得られた生成物を無水ジエチルエーテルによって析出させ、無水ジエチルエーテルで洗浄して、生成物 17 a の黄褐色の粉末 (7 . 5 g 、 6 1 %) を得た。

20

$^1\text{H NMR}$ (D_2O , 400 MHz): δ 8.58

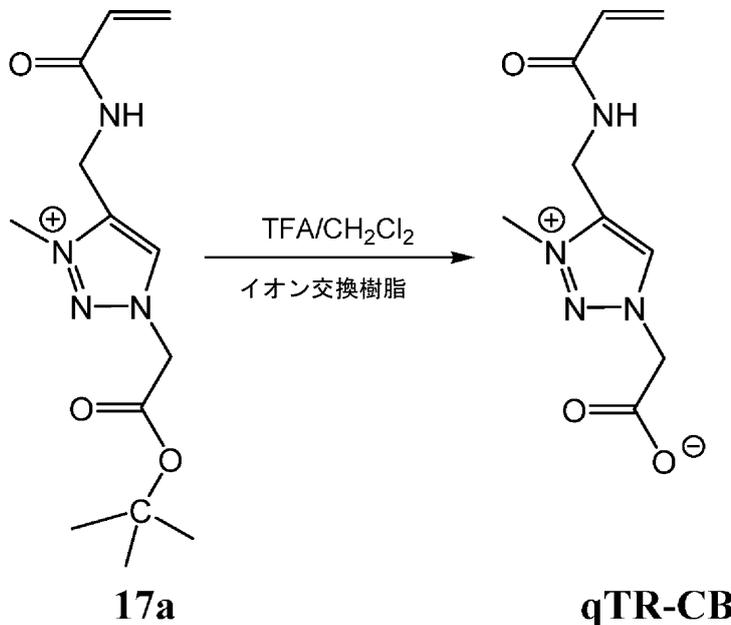
(s, 1H), 6.26 (dd, 2H), 5.83 (dd, 1H), 5.48 (s, 2H), 4.74 (s, 2H), 4.34 (s, 3H), 1.47 (s, 9H) (図

13). $^{13}\text{C NMR}$ (D_2O , 400 MHz): 168.7, 164.8, 141.0, 129.0, 128.9, 128.7, 86.3, 54.2, 38.0, 32.2, 27.0

【 0 2 1 8 】

4 級化トリアゾールカルボキシベタインアクリラート (q T R - C B)

30



40

得られた生成物 17 a (7 . 5 g) を 1 5 m L のトリフルオロ酢酸 (T F A) および 1 5 m L の D C M の混合物によって室温で一晩処理し、ロータリーエボレータによって濃

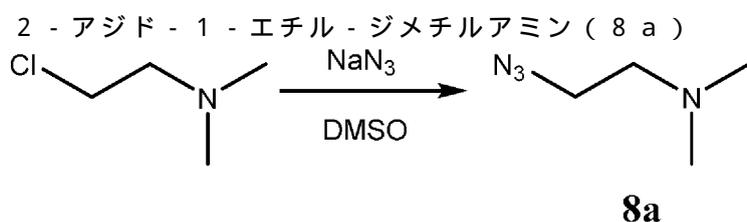
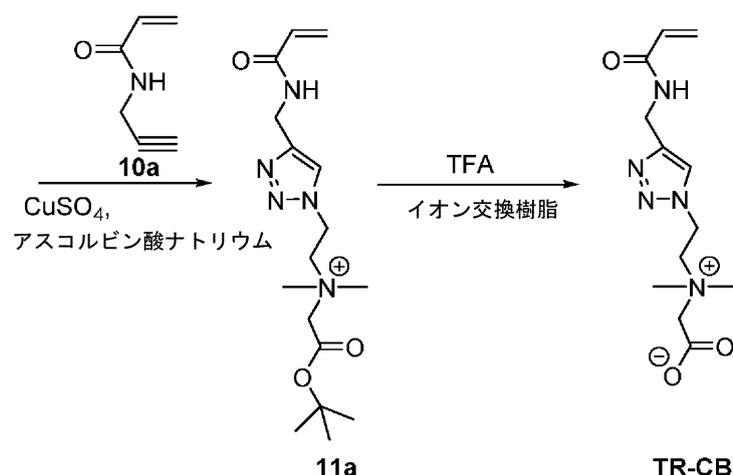
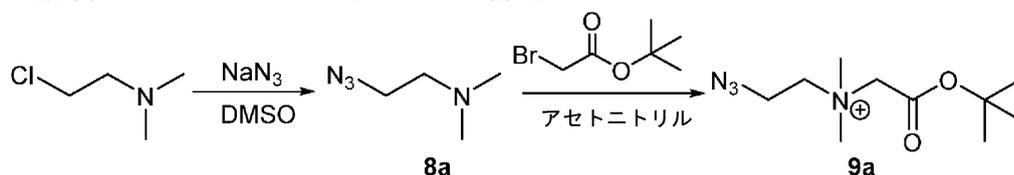
50

縮し、無水ジエチルエーテル中で析出させ、メタノールに溶解した。イオン交換樹脂（A m b e r l y s t A 2 6、O H形態）をこれに添加し、完全に中和した。残渣を水に溶解し、凍結乾燥機によって凍結乾燥して、生成物 q T R - C B（2.2 g、54%）を得た。

$^1\text{H NMR}$ (D_2O , 400 MHz): δ 8.49 (s, 1H), 6.28 (dd, 2H), 5.82 (dd, 1H), 5.22 (s, 2H), 4.74 (s, 2H), 4.30 (s, 3H) (図 14). $^{13}\text{C NMR}$ (D_2O , 400 MHz): 170.0, 168.7, 140.6, 130.0, 128.9, 128.6, 55.6, 37.6, 32.1

【 0 2 1 9 】

実施例 15 - T R - C B モノマーの合成



NaN_3 (13.7 g、210 mmol) を、2-クロロ-N,N-ジメチルエチルアミン塩酸塩 (10.0 g、70 mmol) の 100 mL の水の溶液に添加し、反応混合物を 70 に一晩加熱した。溶液を 4 M NaOH 溶液によって塩基性化し、無水ジエチルエーテルで 3 回抽出した。得られた溶液を MgSO_4 上で乾燥させ、濃縮して、揮発性の無色油 (5.9 g、74%) を得た。

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 3.31 (t, 2H), 2.45 (t, 2H), 2.21 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$)

【 0 2 2 0 】

N - (2 - アジドエチル) - 2 - (tert - ブトキシ) - N , N - ジメチル - 2 - オキソエタン - 1 - アミニウム (9 a)

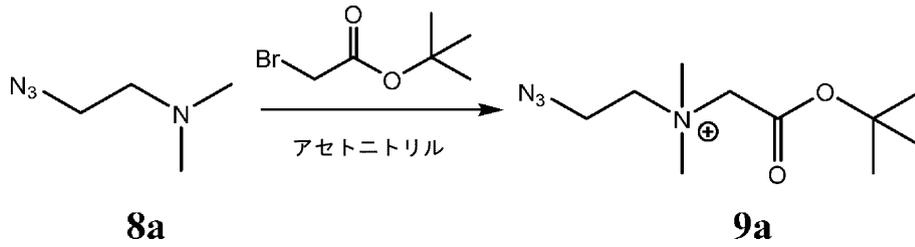
10

20

30

40

50



生成物 8 a (5 . 9 g 、 5 2 m m o l) 、 プロモ酢酸 tert - ブチル (1 2 . 7 g 、 6 5 m m o l) 、 およびアセトニトリル (1 0 0 m L) を、 2 5 0 m L の丸底フラスコに添加した。混合物を、窒素雰囲気下、6 0 °C で 2 4 時間攪拌した。反応後、溶媒をロータリーエバポレータによって除去した。生成物 9 a を無水ジエチルエーテルによって析出させ、無水ジエチルエーテルで洗浄して、白色粉末 (1 2 . 6 、 7 9 %) を得た。

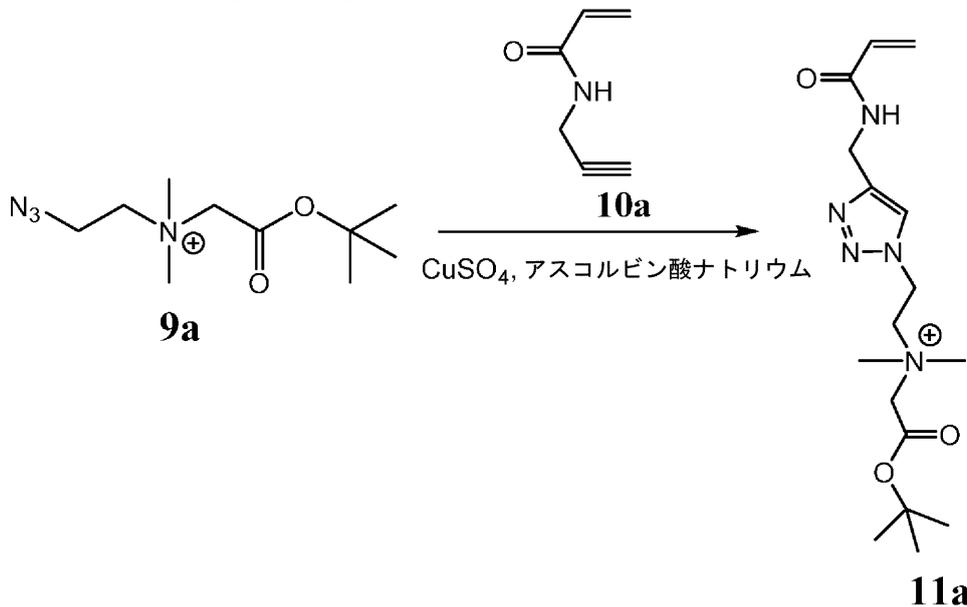
$^1\text{H NMR}$ (D_2O , 400 MHz): δ 4.29 (s,

2H), 3.98 (t, 2H), 3.83 (t, 2H), 3.34 (s, 6H), 1.53 (s, 9H) (図 15). $^{13}\text{C NMR}$ (D_2O , 400

MHz): δ 164.0, 86.3, 62.6, 62.1, 52.9, 44.7, 27.2

【 0 2 2 1 】

N - (2 - (4 - (アクリルアミドメチル) - 1 H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 1 - イル) エチル) - 2 - (tert - ブトキシ) - N , N - ジメチル - 2 - オキソエタン - 1 - アミニウム (1 1 a)



生成物 1 0 a (4 . 9 g 、 4 5 . 1 m m o l) 、 生成物 9 a (1 2 . 6 g 、 4 1 . 0 m m o l) 、 アスコルビン酸ナトリウム (0 . 8 g 、 4 m m o l) 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1 . 0 g 、 4 m m o l) 、 および 1 0 0 m L のメタノールの混合物を、 2 5 0 m L の丸底フラスコに添加した。混合物を、窒素雰囲気下、6 0 °C で 4 8 時間攪拌した。反応後、溶媒をロータリーエバポレータによって除去し、粗生成物を無水ジエチルエーテルによって析出させた。生成物 1 1 a (1 1 . 7 g 、 6 8 %) をシリカゲルカラムクロマトグラフィ (溶出液 : メタノール) によってさらに精製した。

10

20

30

40

50

^1H NMR (D_2O , 400

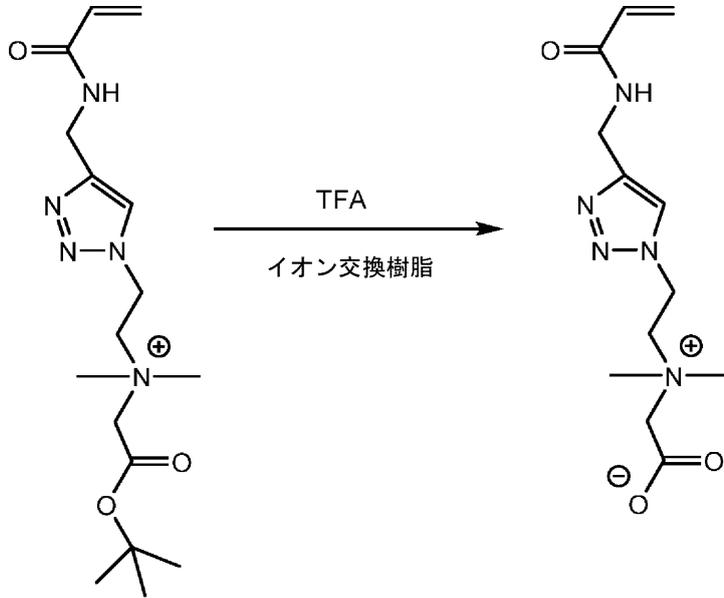
MHz): δ 8.11 (s, 1H), 6.24 (dd, 2H), 5.75 (dd, 1H), 5.07 (t, 2H), 4.58 (s, 2H), 4.28(m, 4H), 3.34

(s, 6H), 1.44 (s, 9H) (図 16). ^{13}C NMR (D_2O , 400 MHz): 168.1, 163.3, 145.4, 129.3, 127.4,

124.7, 86.6, 62.3, 62.1, 52.7, 48.8, 44.0, 34.3, 27.1

【 0 2 2 2 】

トリアゾールカルボキシベタインアクリラート (T R - C B)



11a

TR-CB

得られた生成物 11 a (8 . 0 g) を 1 6 m L の T F A および 1 6 m L の D C M の混合
物によって室温で一晩処理し、ロータリーエバポレータによって濃縮し、無水ジエチルエ
ーテル中で析出させ、メタノールに溶解した。イオン交換樹脂 (A m b e r l y s t A
2 6 、 O H 形態) を次いでこれに添加し、完全に中和した。得られた溶液を中性アルミナ
カラムに添加し、残りの銅イオンを除去した。生成物 T R - C B (3 . 1 g 、 5 7 %) を
、メタノール溶媒を除去した後に収集した。

^1H NMR (D_2O , 400 MHz): δ 8.02 (s, 1H), 6.22 (dd,

2H), 5.75 (dd, 1H), 4.98 (t, 2H), 4.51 (s, 2H), 4.24 (t, 2H), 3.89 (s, 2H), 3.24 (s, 6H) (図 17).

^{13}C NMR (D_2O , 400 MHz): 168.3, 168.1, 145.1, 129.5, 127.7, 124.2, 63.9, 61.3, 51.9, 44.0, 34.3

【 0 2 2 3 】

実施例 1 6 - T R - S B モノマーの合成

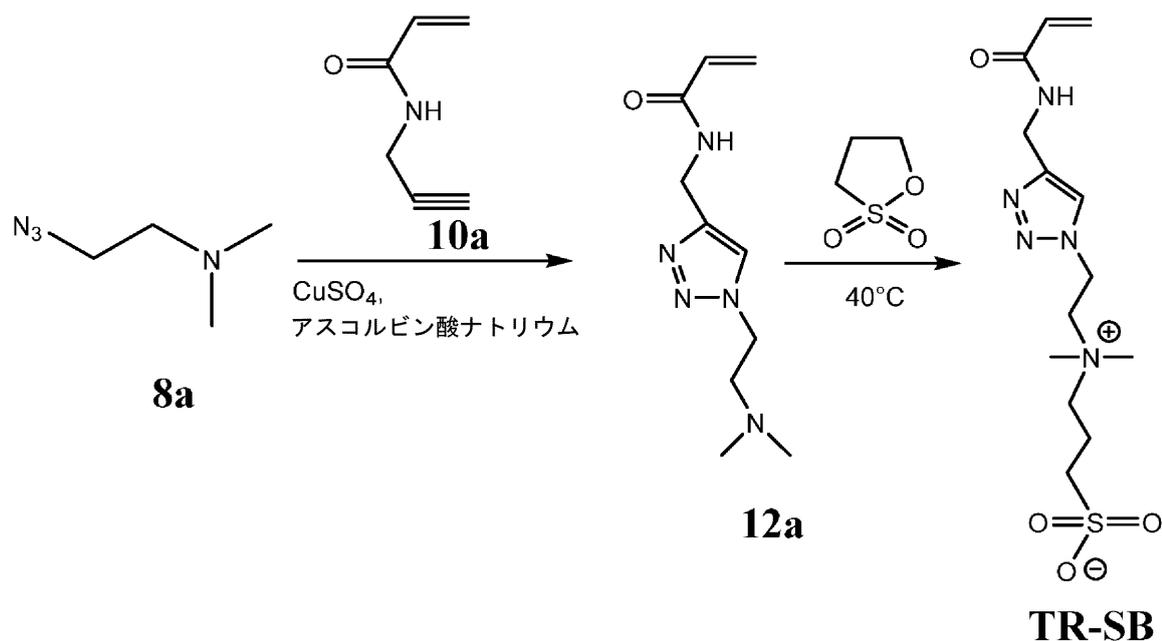
10

20

30

40

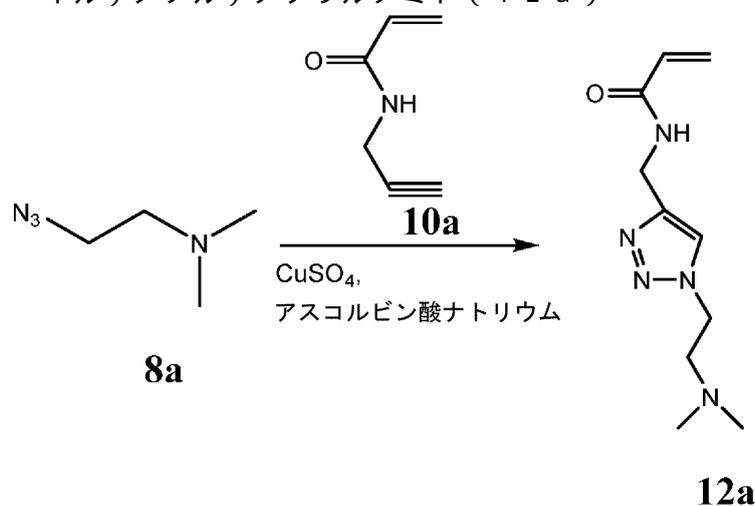
50



10

N - ((1 - (2 - (ジメチルアミノ) エチル) - 1 H - 1 , 2 , 3 - トリアゾール - 4 - イル) メチル) アクリルアミド (1 2 a)

20



30

生成物 1 0 a (4 . 9 g 、 4 5 . 1 m m o l) 、 生成物 8 a (4 . 7 g 、 4 0 m m o l) 、 アスコルビン酸ナトリウム (0 . 8 g 、 4 m m o l) 、 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (1 . 0 g 、 4 m m o l) 、 および 1 0 0 m L のメタノール混合物を、 2 5 0 m L の丸底フラスコに添加した。混合物を、窒素雰囲気下、 6 0 で 4 8 時間攪拌した。反応後、溶媒をロータリーエバポレータによって除去した。生成物 1 2 a (8 . 0 g 、 7 8 %) をシリカゲルカラムクロマトグラフィ (溶出液 : 酢酸エチル / メタノール、 1 : 1、 v / v) によってさらに精製した。

40

1H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): δ 7.68 (s, 1H), 7.24(s, 1H), 6.19

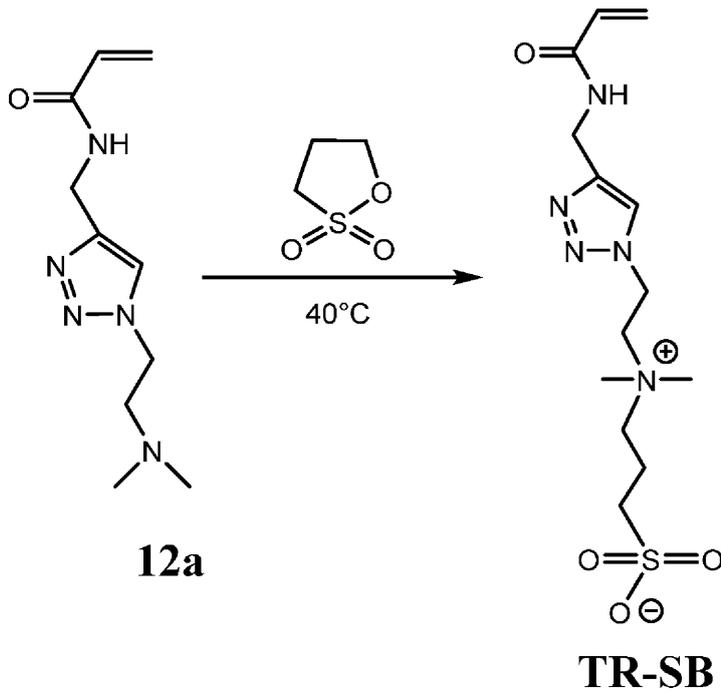
(dd, 2H), 5.60 (dd, 1H), 4.54 (m, 2H), 4.38 (m, 2H), 2.71 (m, 2H), 2.23 (s, 6H) (図18). ^{13}C

NMR ($CDCl_3$, 400 MHz): 165.6, 144.3, 130.6, 126.7, 122.9, 58.7, 48.2, 45.4, 34.8

【 0 2 2 4 】

トリアゾールスルホベタインアクリラート (T R - S B)

50



10

50 mLの無水アセトン中の生成物12a(4.5 g、20 mmol)を室温で撹拌した。1,3-プロパンスルトン(20 mmol、2.4 g)を溶液に滴加した。反応混合物を、窒素雰囲気下、40℃に6時間加熱した。析出物を収集し、無水アセトンで洗浄して、白色粉末(TR-SB)(2.8 g、41%)を得た。

20

$^1\text{H NMR}$ (D_2O , 400 MHz): δ 8.06 (s, 1H), 6.26 (dd, 2H), 5.79 (dd, 1H), 5.02 (m, 2H), 4.55 (s, 2H), 4.01 (m, 2H), 3.53 (m, 2H), 3.17 (s, 6H), 2.90 (m, 2H), 2.18 (m, 2H) (図19). $^{13}\text{C NMR}$ (D_2O , 400 MHz): 168.4, 145.2, 129.5, 127.7, 124.2, 63.0, 61.6, 51.1, 46.9, 43.7, 34.3, 18.1

【0225】

実施例7～16の結果および考察

30

新規の両性イオン性モノマーqTR-CBを設計した(図20A)。このモノマーは、改変アルギン酸塩の抗線維性特性において重要な役割をしかつエネルギー散逸-スタッキングを形成するトリアゾール部位を含む。図20Bに示すように、qTR-CBの合成は、いくつかの工程を含んだ。まず、デュアル反応性アルキンおよびビニル基を有するN-プロパルギルアクリルアミドを開発した。次いで、アルキン基をその後アジド-アルキンヒュスゲン環化付加化学を通してトリアゾール基に変換し、続いて、後に4級化した。最後に、qTR-CBモノマーを、カルボン酸の保護基の除去後に得た。qTR-CBモノマーの化学構造を $^1\text{H NMR}$ (図17)および $^{13}\text{C NMR}$ によって確認した。

【0226】

埋め込み物表面における非特異的タンパク質吸着は、異物反応における最初の重要な工程であるとされる。qTR-CBが抗生物付着性でありかつ非特異的タンパク質吸着に耐性があるか否かを決定するために、金表面を、表面開始光イニフィータ介在重合を使用してP(qTR-CB)によってグラフト化した。P(qTR-CB)のタンパク質耐性を、単一のタンパク質溶液および非希釈ヒト血漿を使用して表面プラズモン共鳴(SPR)を介して評価した。図20Cは、P(qTR-CB)グラフト化された表面および金のみ表面におけるタンパク質吸着の典型的なSPRセンサーグラムを示す。1 mg/mLのフィブリノゲン(Fg)溶液から、金のみ表面およびP(qTR-CB)グラフト化表面が、それぞれ、 337.5 ± 36.1 および $0.6 \pm 0.3 \text{ ng/cm}^2$ の吸着を有した。非希釈ヒト血漿から、タンパク質吸着は、これら2つの表面について、それぞれ、 211.6 ± 10.3 および $3.1 \pm 1.8 \text{ ng/cm}^2$ であった。明らかに、P(qTR

40

50

- C B) グラフト化表面は、金のみの表面と比較して、非特異的タンパク質吸着に対してかなり抵抗性であった。P (q T R - C B) グラフト化表面におけるタンパク質吸着値が、超低付着材料の基準 (5 n g / c m ² 未満の吸着フィブリノゲン) をはるかに下回ったことに注意されるべきである。これらのデータは、トリアゾール基の組み込みが、両性イオン性または抗汚染特性を変化させなかったことを示唆している。P (q T R - C B) ヒドロゲル (図 2 0 D) を、次いで、光開始重合を介して二官能性両性イオン性カルボキシベタインジアクリルアミド架橋剤 (C B A A X) によって q T R - C B モノマーを架橋することによって調製した。

【 0 2 2 7 】

P (q T R - C B) ヒドロゲルを、比較的脆性または弱いことが知られている現状の両性イオン性ヒドロゲルが直面している機械的特性の課題に対処するように設計した (Ch in et al . , “ Additive Manufacturing of Hydrogel - Based Materials for Next - Generation Implantable Medical Devices ” , Science Robotics 2 (2) : eaah6451 (2017) ; Lynn et al . , “ Characterization of the in Vitro Macrophage Response and in Vivo Host Response to Poly (Ethylene Glycol) - Based Hydrogels ” , Journal of Biomedical Materials Research Part A 93 (3) : 941 - 953 (2010) 、これらは、全体が参照によりここで本明細書に組み込まれる) 。堅牢な機械的特性は、取り扱い、埋め込み、および任意の将来の臨床応用にかなり望ましい。P (q T R - C B) ヒドロゲル内でのトリアゾール環間での可逆的なスタッキング (図 2 1 A) は、負荷下でエネルギーを散逸させて、ヒドロゲルをより弾力的にする。トリアゾール環の組み込みが機械的特性を実際に改善するか否かを決定するために、P (q T R - C B) および従来の P C B ヒドロゲルを、いくつかの機械的試験において比較した。まず、耐屈曲特性を定量的に試験した。図 2 1 B に示すように、P (q T R - C B) ヒドロゲルは、破砕またはいずれの損傷もなく 1 8 0 度に近い完全な屈曲が可能であり、繰り返しの屈曲にさえも従動可能であった。対照的に、従来の P C B ヒドロゲルは、小さな角度の屈曲によってさえも破砕した。次いで、より定量的な引張および圧縮試験を実施した。引張試験では、P (q T R - C B) ヒドロゲルは、7 1 % に近い破断歪みを有したが、P C B ヒドロゲルは 1 1 % しか伸長することができなかった (図 2 1 C) 。このことは、破断歪みの 6 . 5 倍の増加を表した。圧縮試験 (図 2 1 D) では、P (q T R - C B) ヒドロゲルが 8 0 % の圧縮を持続したが、P C B ヒドロゲルは 4 8 % しか圧縮することができず、これは以前の研究と一致していた (Merino et al . , “ Nanocomposite Hydrogels : 3D Polymer - Nanoparticle Synergies for On - Demand Drug Delivery ” , ACS nano 9 (5) : 4686 - 4697 (2015) 、全体が参照により本明細書に組み込まれる) 。P (q T R - C B) ヒドロゲルの弾力性をさらに実証するために、圧縮負荷除荷試験を実施した。図 2 1 E に示すように、P (q T R - C B) ヒドロゲルは、いずれのクラックもなく少なくとも 1 0 サイクルで 6 5 % の圧縮に耐え、その元の形状を維持した。各サイクルにおいて観察されたヒステリシスループは、おそらくトリアゾール基間のスタッキングに起因するエネルギー散逸機構があったことを示唆しているようであり、仮説が確認された。

【 0 2 2 8 】

次いで、P (q T R - C B) ヒドロゲルにおける細胞接着およびマクロファージ活性化をインビトロで調査した。細胞接着に抵抗するヒドロゲルが、多くの生物医学的応用に望ましい。P (q T R - C B) ヒドロゲルにおける細胞接着を、その表面において N I H / 3 T 3 線維芽細胞を 3 日間培養することによって研究した。比較のために、P H E M A および P C B ヒドロゲルならびに組織培養ポリスチレン (T C P S) を対照として使用した。図 2 2 A は、細胞が迅速に付着し、増殖し、T C P S 表面上にコンフルエントな層を形

10

20

30

40

50

成したが、P (q T R - C B)、P H E M A、およびP C Bヒドロゲル表面においては細胞がほとんど観察されなかったことを示しており、これは、P (q T R - C B)ヒドロゲルがP H E M AおよびP C Bと同様に挙動したことを示唆した。マクロファージ活性化を次いで調査した。F B Rの重要な構成要素としてのマクロファージは、炎症誘発または治癒促進プロセスを制御する。炎症誘発性マクロファージは、炎症細胞のさらなる動員および活性化を誘発させる炎症性サイトカイン、例えば、腫瘍壊死因子 - (T N F -) を分泌するが、治癒促進性マクロファージは、血管形成および組織修復を容易にする抗炎症性サイトカイン、例えば、インターロイキン (I L - 1 0) を産生する。生体材料がどのようにマクロファージ表現型を制御するかを理解することが、その生物医学的応用にとって重要である。図 2 2 B に示すように、T N F - および I L - 1 0 の分泌のレベルは、刺激なしでは全てのヒドロゲルについてほとんど検出不可能であった。炎症誘発性マクロファージ表現型を誘発することが知られていたり多糖 / インターフェロンガンマ (L P S / I F N) の刺激により、P C B および P (q T R - C B) ヒドロゲルにおける細胞は、P H E M A ヒドロゲルまたは T C P S において培養されたものと比較したときに、より低いレベルの T N F - を分泌した。治癒促進性マクロファージ表現型を促進することが知られていた L P S / I L - 4 / I L - 1 3 の刺激により、P C B および P (q T R - C B) ヒドロゲルにおける細胞は、P H E M A ヒドロゲルにおけるものと比較したとき、I L - 1 0 の分泌が向上した。総合すると、これらの結果は、P (q T R - C B) ヒドロゲルが炎症の活性化を抑制し、治癒促進性マクロファージ表現型を促進したことを示した。

【 0 2 2 9 】

P (q T R - C B) から得られた結果に促され、もう 2 つの架橋可能なトリアゾール含有両性イオン性モノマー、T R - C B および T R - S B を設計した (図 2 3 A および 図 2 5)。これらのモノマーからのヒドロゲルを作製し、マウスにおいて F B R について試験した。T R - C B または T R - S B モノマーの合成経路を図 2 3 A に示し、化学構造を ¹ H N M R (図 1 7 および 1 9) ならびに ^{1 3} C N M R によって確認した。トリアゾール部位が 4 級化されている q T R - C B と比較して、T R - C B および T R - S B モノマーは、元の非改変トリアゾール基を有している。P (T R - C B) および P (T R - S B) ヒドロゲルの機械的特性を評価した。図 2 3 B に示すように、P (T R - C B) および P (T R - S B) ヒドロゲルは、P (q T R - C B) ヒドロゲルと同様に繰り返しの屈曲に耐えることができた。両方のヒドロゲルがかなり弾力性であった (図 2 3 C ~ 2 3 E)。特に P (T R - S B) ヒドロゲル (図 2 3 C ~ 2 3 D) では、引張歪みが 2 1 8 % と高かったが、今日までに報告されている両性イオン性ヒドロゲルについての最大引張歪みはたったの 6 5 % である (L y n n e t a l . , “ C h a r a c t e r i z a t i o n o f t h e i n V i t r o M a c r o p h a g e R e s p o n s e a n d i n V i v o H o s t R e s p o n s e t o P o l y (E t h y l e n e G l y c o l) B a s e d H y d r o g e l s ” , J o u r n a l o f B i o m e d i c a l M a t e r i a l s R e s e a r c h P a r t A 9 3 (3) : 9 4 1 - 9 5 3 (2 0 1 0)、全体が参照により本明細書に組み込まれる)。これは、両性イオン性ヒドロゲルの分野における劇的な改善である。P C B ヒドロゲルと比較したとき、P (T R - C B) および P (T R - S B) ヒドロゲルの破断歪みは、それぞれ、9 倍および 2 0 倍高かった。P (T R - C B) および P (T R - S B) ヒドロゲルが P (q T R - C B) よりも弾力性であったことにも注意されるべきである。このことは、q T R - C B トリアゾール環における正電荷の位置に起因し得る。電荷間の静電反発力は、スタッキング相互作用を減衰し得る。圧縮試験では (図 2 3 E)、P (T R - C B) および P (T R - S B) ヒドロゲルの両方が高い圧縮歪みを有した (それぞれ 7 9 % および 8 3 %)。これらの T R - Z W ヒドロゲルは、堅牢な機械的特性を有する第 1 のクラスの両性イオン性ヒドロゲルを表している。

【 0 2 3 0 】

これらの新しい T R - Z W ヒドロゲル (P (q T R - C B)、P (T R - C B)、および P (T R - S B)) が耐 F B R 特性を有するか否かを調査するために、これらを免疫応

答性 C 5 7 B L / 6 マウスにおいて皮下に埋め込んだ。今日まで、F B R は、なお、埋め込み材料およびデバイスの性能および寿命が大きな懸念である。F B R を軽減しつつ機械的に堅牢である新規の材料の開発が非常に必要とされている。本願において、埋め込み後の選択された時点（1、2、および3ヶ月）での埋め込み物へのF B R を評価した。一般的に使用されているP H E M A ヒドロゲルを対照として選択した。各時点において、ヒドロゲルサンプルを取り出し、マッソントリクローム染色を使用しての埋め込み物の周囲の線維症、ならびにC D 3 1 染色を使用しての血管形成を含めてF B R を試験した。1ヶ月で、全てのT R - Z W ヒドロゲルは、その周囲に、淡青色によって示されるように、緩やかなコラーゲン層を有したが（図24A）、P H E M A ヒドロゲルは、かなり濃厚なコラーゲン沈着を有したことが観察された。P（T R - S B）ヒドロゲルは、特に低い密度の

10

【0231】

T R - Z W ヒドロゲルを以前に報告されているP C B ヒドロゲルと比較したとき（J i a n g e t a l . , “ C l i c k H y d r o g e l s , M i c r o g e l s a n d N a n o g e l s : E m e r g i n g P l a t f o r m s f o r D r u g D e l i v e r y a n d T i s s u e E n g i n e e r i n g ” , B i o m a t e r i a l s 3 5 (1 8) : 4 9 6 9 - 4 9 8 5 (2 0 1 4) ; L e e e t a l . , “ L i g h t - T r i g g e r e d i n V i v o A c t i v a t i o n o f A d h e s i v e P e p t i d e s R e g u l a t e s C e l l A d h e s i o n , I n f l a m m a t i o n a n d V a s c u l a r i z a t i o n o f B i o m a t e r i a l s ” , N a t u r e M a t e r i a l s 1 4 (3) : 3 5 2 - 3 6 0 (2 0 1 5)、これらは、全体が参照によりここで本明細書に組み込まれる）、T R - Z W ヒドロゲルについてのコラーゲン沈着の密度および血管の数がP C B のそれら（J i a n g e t a l . , “ C l i c k H y d r o g e l s , M i c r o g e l s a n d N a n o g e l s : E m e r g i n g P l a t f o r m s f o r D r u g D e l i v e r y a n d T i s s u e E n g i n e e r i n g ” , B i o m a t e r i a l s 3 5 (1 8) : 4 9 6 9 - 4 9 8 5 (2 0 1 4)、全体が参照により本明細書に組み込まれる）に匹敵するかまたはさらにより良好であったことが見出された（図26A～26B）。疎水性部位が両性イオン性材料に組み込まれていると、付着防止特性または生体適合性が損なわれるということが一般に考えられている。疎水性部位としてのトリアゾール基は、その付着防止特性に実際に影響した。例えば、P（q T R - C B）、P（T R - C B）、およびP（T R - S B）表面についての血漿吸着の量は、それぞれ 3.1 ± 1.8 、 6.4 ± 2.5 、および 10.9 ± 3.2 ng/cm²（表1）であったが、P C B 表面は、血漿から < 0.3 ng/cm²のタンパク質しか吸着しなかったことが報告された。しかし、T R - Z W ヒドロゲルのインビボ生体適合性または耐F B R 特性は影響されなかった。トリアゾール基は、本明細書において、両性イオン性部位に加えて、線維化反応を軽減する役割をする。トリアゾール基を含有する化学改変アルギン酸塩は、線維化反応を効果的に軽減することが可能であることが報告された（D e s a i e t a l . , “ V e r s a t i l e C l i c k A l g i n a t e H y d r o g e l s C r o s s l i n k e d v i a T e t r a z i n e - N o r b o r n e n e C h e m i s t r y ” , B i o m a t e r i a l s 5 0 : 3 0 - 3 7 (2 0 1 5)、全体が参照により本明細書に組み込まれる）。T R - Z W ヒドロゲルの耐F B R 特性もまた、マクロファージ活性化データと一致していた（図22B）。こうして、今日までに開発されている両性イオン性ヒドロゲルと同様の耐F B R 特性を示すが、これらよりもかなり機械的に堅牢な、新しいクラスのヒドロゲルが開発された。

20

30

40

【0232】

（表1）S P R によって測定したタンパク質吸着（非希釈ヒト血漿）

50

表面質量 (ng/cm ²)	表面			
	金のみ	P(qTR-CB)	P(TR-CB)	P(TR-SB)
	211.6 ± 10.3	3.1 ± 1.8	6.4 ± 2.5	10.9 ± 3.2

3つの測定値の平均値および標準偏差

【0233】

まとめると、機械的に堅牢でありかつ耐FBR性である新しいクラスのトリアゾール - 両性イオン性ヒドロゲルを設計および合成した。典型的には弱いまたは脆性である従来の両性イオン性ヒドロゲルと比較して、これらの新規のTR-ZWヒドロゲルは、より高い伸長性を含めた高い弾力性およびより良好な耐圧縮性または耐屈曲性を示した。これらのヒドロゲルは、両性イオン性材料に期待される付着防止特性を保持した。より重要なことには、免疫応答性マウスにおける皮下埋め込みの際に、TR-ZWヒドロゲルが線維症を軽減し、血管形成を促進した。機械的特性および耐FBR特性の組み合わせは、多くの生物医学的応用、例えば、いずれもが長期の機能および性能のために材料安定性および体との一体化を必要とする細胞カプセル化および埋め込み物の改変にかなり望ましい。

10

【0234】

好ましい実施形態を本明細書において詳細に表示および記載したが、種々の変更、追加、置換などが、本発明の精神から逸脱することなくなされ得ること、および、これらが、したがって、以下に続く特許請求の範囲において定義されているように本発明の範囲内であるとされることが当業者に明らかであろう。

20

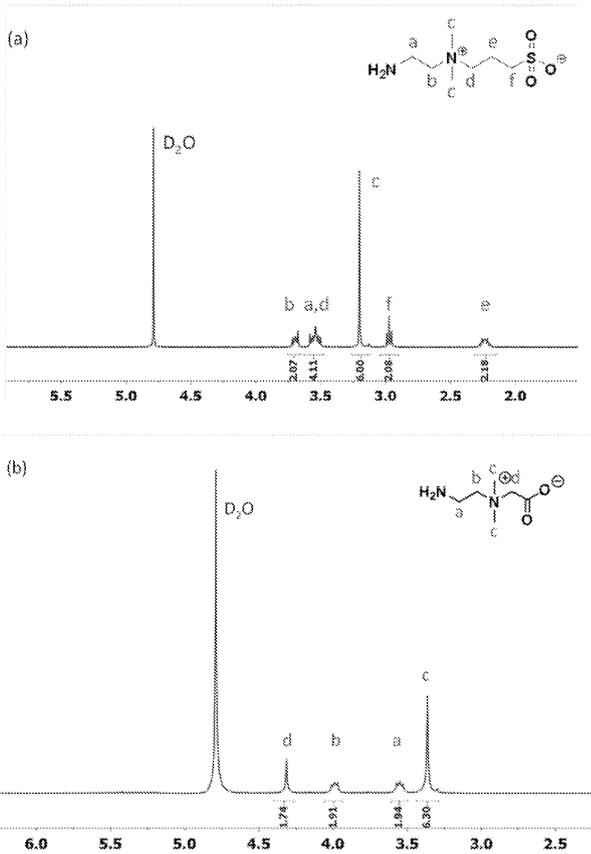
30

40

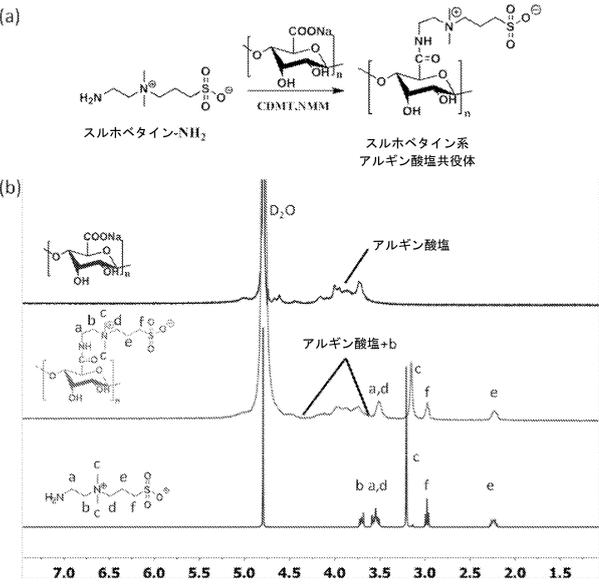
50

【図面】

【図 1】



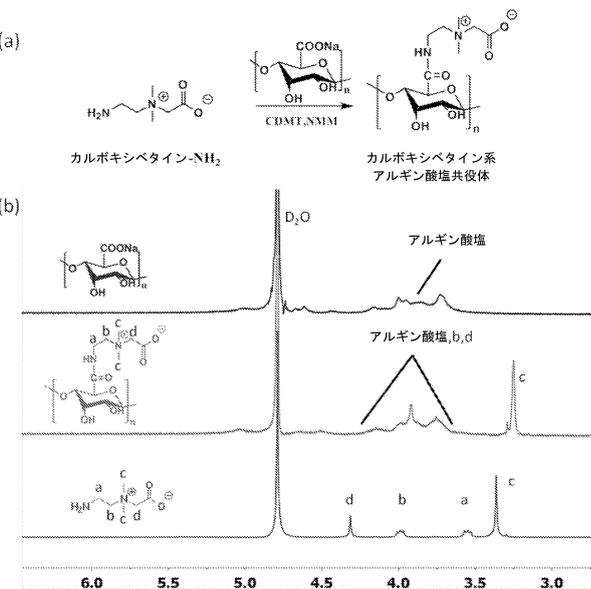
【図 2】



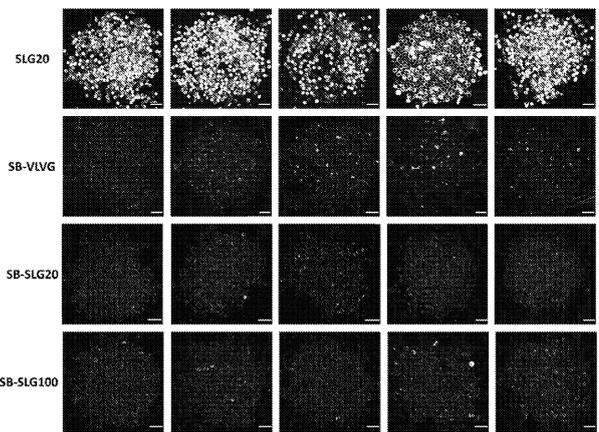
10

20

【図 3】



【図 4】

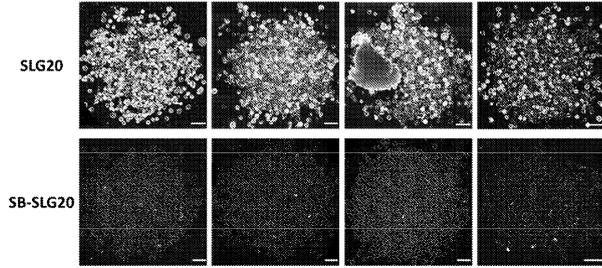


30

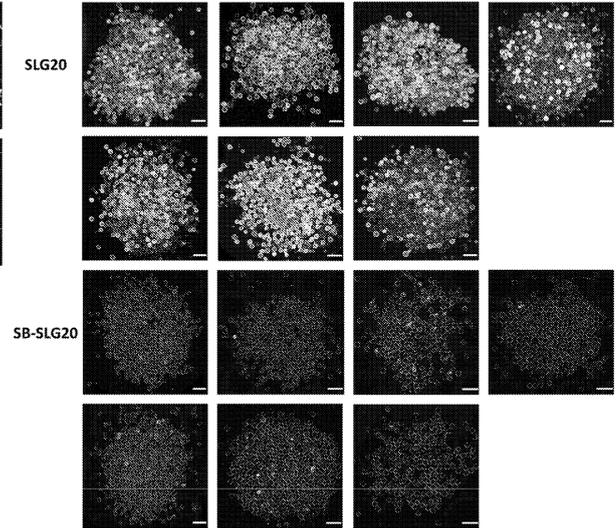
40

50

【 5 】

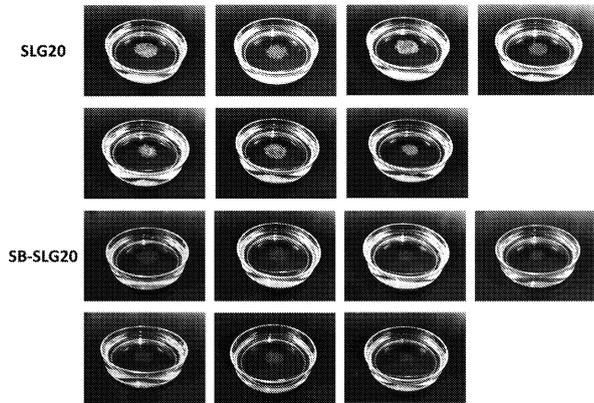


【 6 】

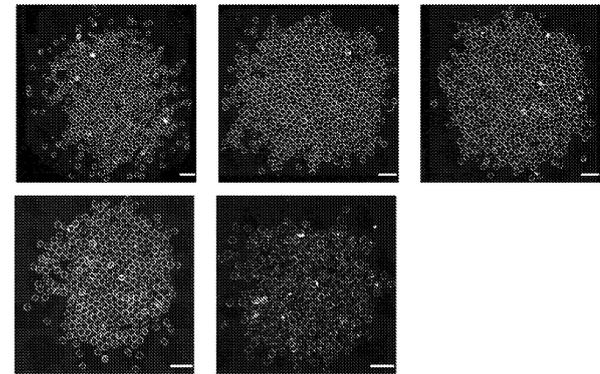


10

【 7 】



【 8 】



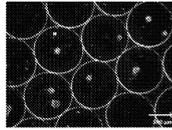
20

30

40

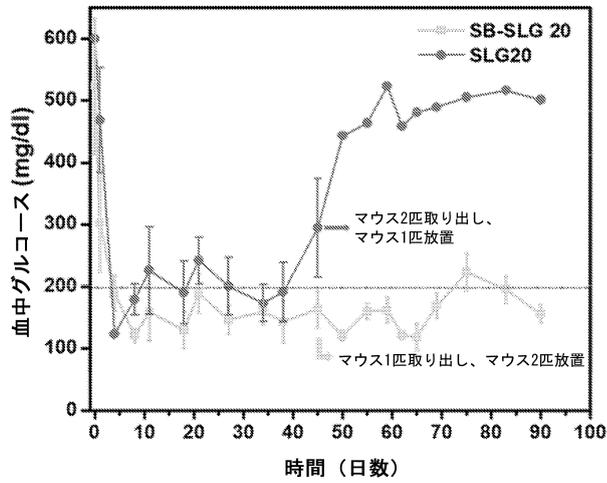
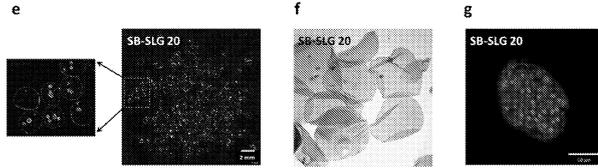
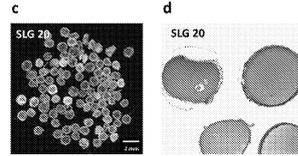
50

【 図 9 - 1 】



A

【 図 9 - 2 】

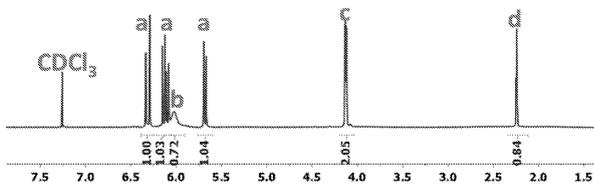
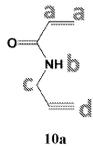


B

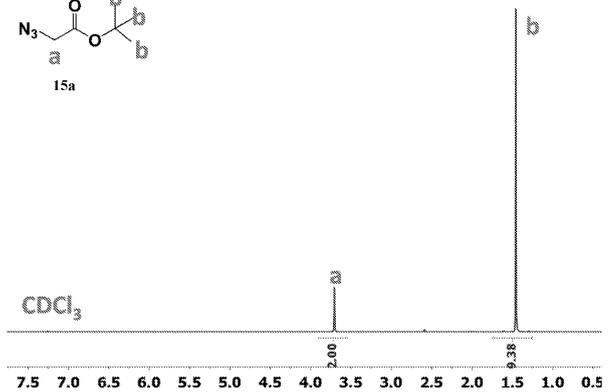
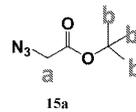
10

20

【 図 10 】



【 図 11 】

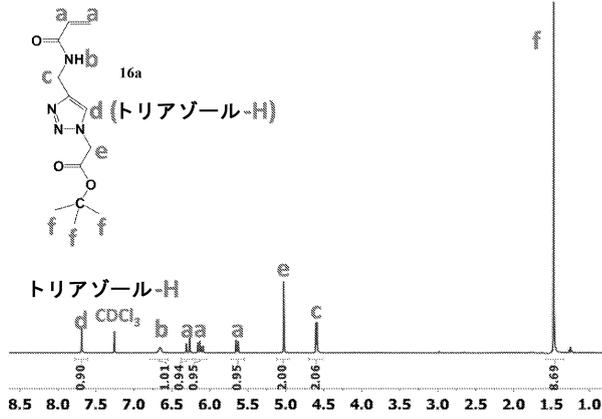


30

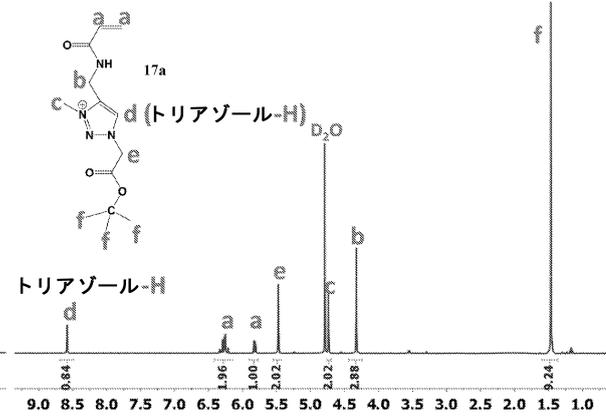
40

50

【 図 1 2 】

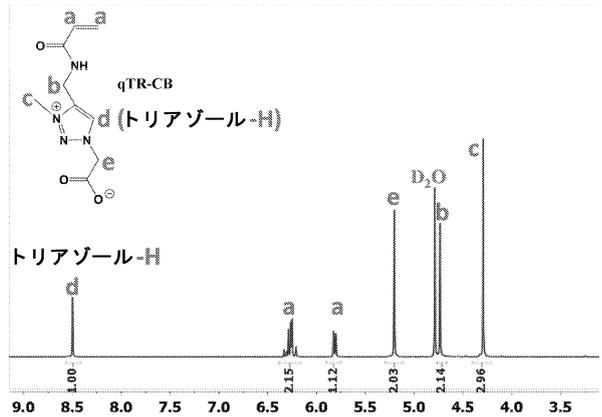


【 図 1 3 】

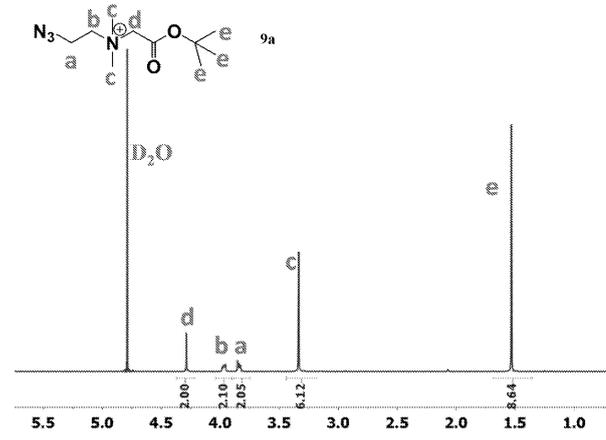


10

【 図 1 4 】



【 図 1 5 】



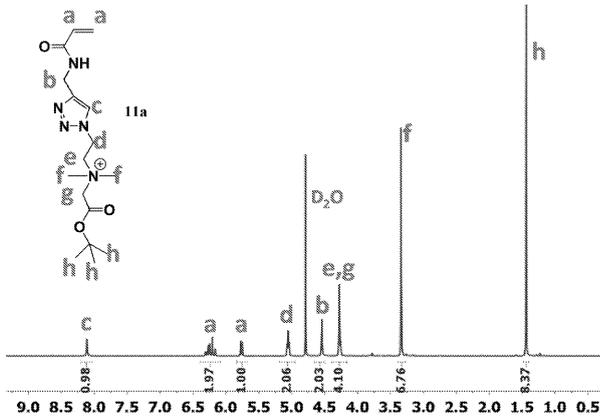
20

30

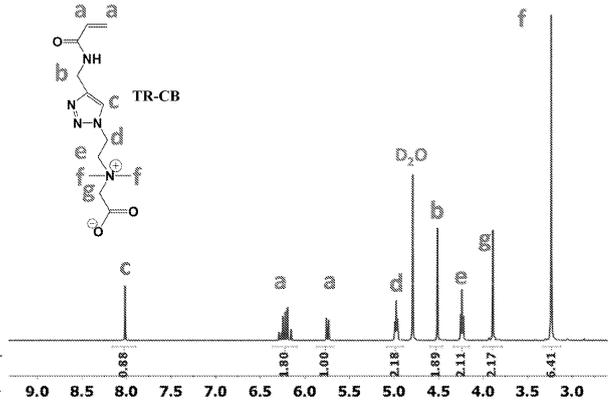
40

50

【図 16】

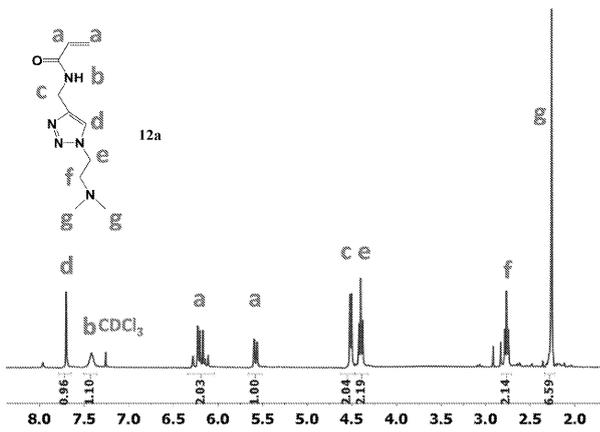


【図 17】

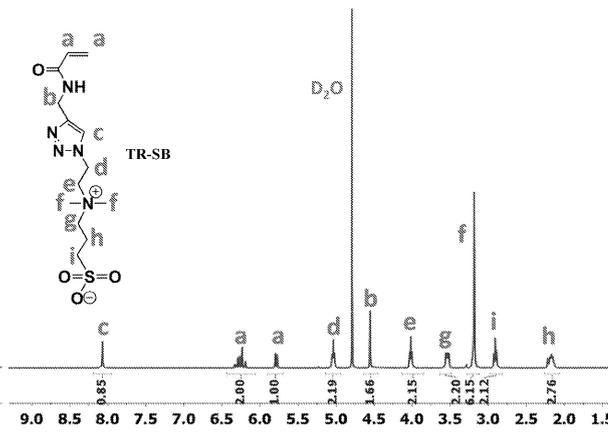


10

【図 18】

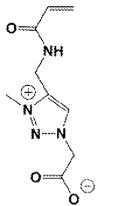


【図 19】

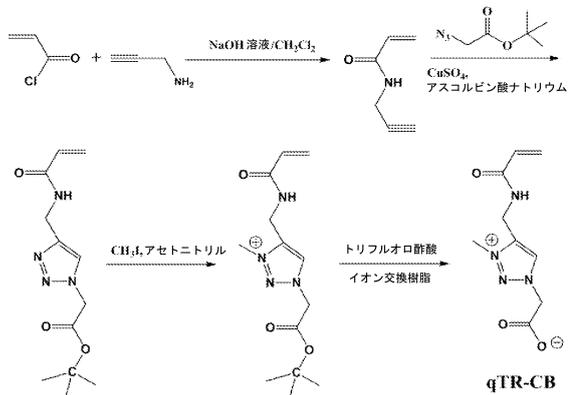


20

【図 20 A】



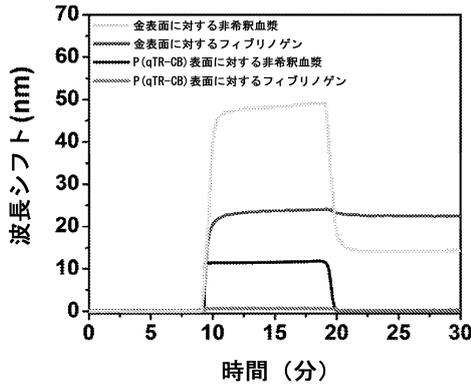
【図 20 B】



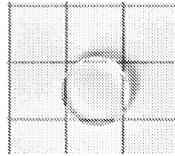
30

40

【図 20 C】

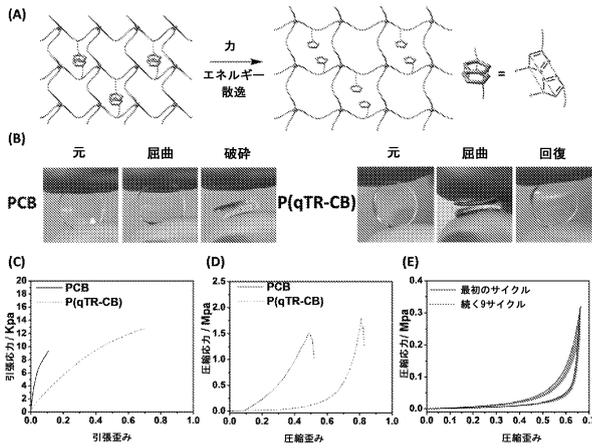


【図 20 D】

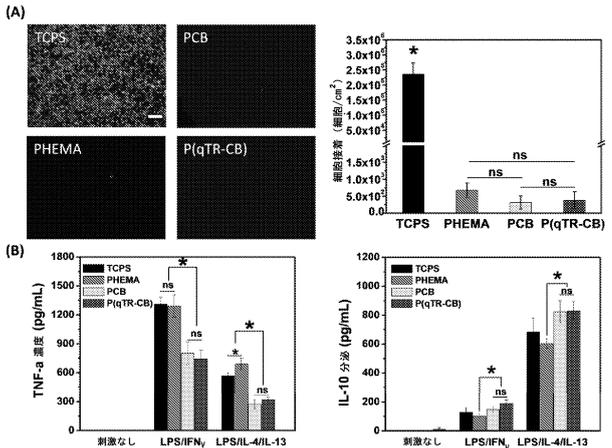


10

【図 21】

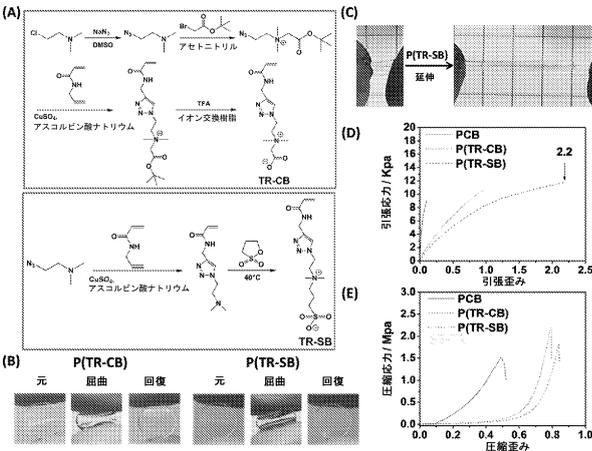


【図 22】

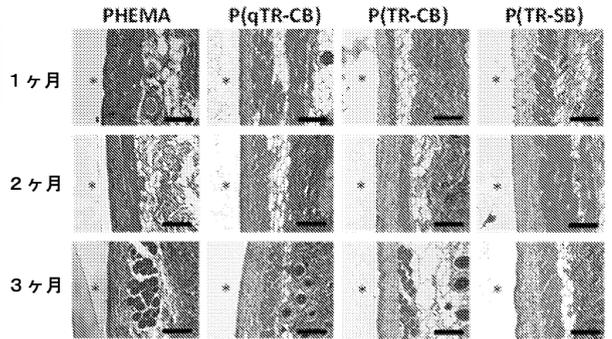


20

【図 23】



【図 24 A】

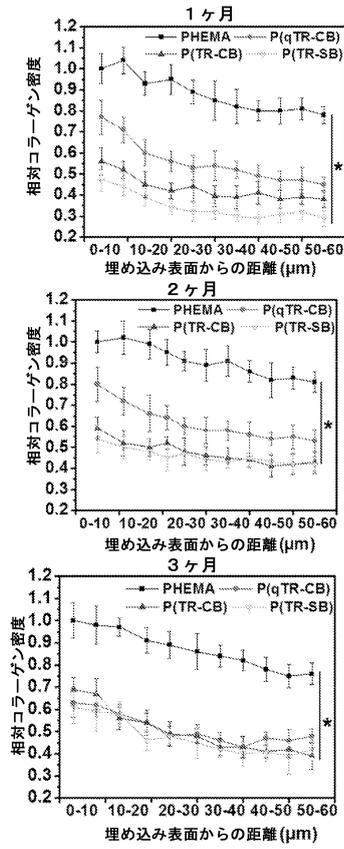


30

40

50

【 図 2 4 B 】



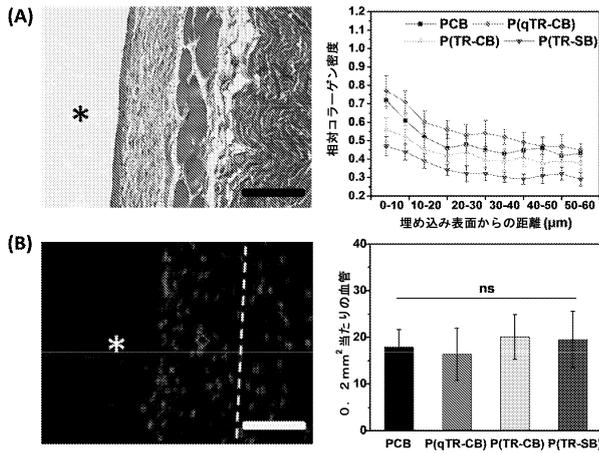
【 図 2 5 】



10

20

【 図 2 6 】



30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

A 6 1 K	47/36	(2006.01)	F I	A 6 1 K	47/36
A 6 1 K	47/32	(2006.01)		A 6 1 K	47/32
A 6 1 K	9/48	(2006.01)		A 6 1 K	9/48
A 6 1 P	3/10	(2006.01)		A 6 1 P	3/10

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 マ ミンリン

アメリカ合衆国 1 4 8 5 3 ニューヨーク州 イサカ コーネル ユニバーシティー ライリー - ロ
ップ ホール 3 2 2

(72)発明者 リュー チンセン

アメリカ合衆国 1 4 8 5 3 ニューヨーク州 イサカ コーネル ユニバーシティー ライリー - ロ
ップ ホール 1 4 5

審査官 小森 潔

(56)参考文献 国際公開第 2 0 1 5 / 0 5 7 6 4 5 (W O , A 1)

国際公開第 2 0 1 6 / 1 3 8 5 2 8 (W O , A 1)

特開 2 0 1 2 - 0 3 1 4 0 0 (J P , A)

特表 2 0 0 9 - 5 1 4 8 0 7 (J P , A)

特開平 0 5 - 1 4 8 2 8 8 (J P , A)

米国特許第 0 2 7 4 4 1 3 0 (U S , A)

特表 2 0 0 1 - 5 1 0 8 1 1 (J P , A)

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)

C 0 7 D

C 0 7 H

C A p l u s / R E G I S T R Y (S T N)