

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4130926号
(P4130926)

(45) 発行日 平成20年8月13日(2008.8.13)

(24) 登録日 平成20年6月6日(2008.6.6)

(51) Int.Cl.		F I	
A 6 1 K 49/00	(2006.01)	A 6 1 K 49/00	C
A 6 1 K 9/50	(2006.01)	A 6 1 K 9/50	
A 6 1 K 47/30	(2006.01)	A 6 1 K 47/30	
A 6 1 K 47/34	(2006.01)	A 6 1 K 47/34	
A 6 1 K 47/02	(2006.01)	A 6 1 K 47/02	

請求項の数 14 (全 11 頁)

(21) 出願番号	特願平8-527287	(73) 特許権者	アルライズ バイオシステムズ ゲゼルシ ャフト ミット ベシュレンクテル ハフ ツング
(86) (22) 出願日	平成8年3月14日(1996.3.14)		ドイツ連邦共和国, 13125 ベルリ ン, ロバート-ロッスルーシュトラッ セ 10
(65) 公表番号	特表平11-501647	(74) 代理人	弁理士 青木 篤
(43) 公表日	平成11年2月9日(1999.2.9)	(74) 代理人	弁理士 石田 敬
(86) 国際出願番号	PCT/EP1996/001108	(74) 代理人	弁理士 古賀 哲次
(87) 国際公開番号	W01996/028192	(74) 代理人	弁理士 渡邊 陽一
(87) 国際公開日	平成8年9月19日(1996.9.19)		
審査請求日	平成15年2月25日(2003.2.25)		
(31) 優先権主張番号	19510690.3		
(32) 優先日	平成7年3月14日(1995.3.14)		
(33) 優先権主張国	ドイツ(DE)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 微粒子、超音波診断のためのそれを含む媒体並びに前記粒子及び媒体を製造するための方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

超音波診断に用いるための気体含有微粒子であって、該粒子の壁材料が、直鎖もしくは星形ポリエチレングリコールとの - , - もしくは - ヒドロキシカルボン酸のポリエステルブロックコポリマーから作られることを特徴とする気体含有微粒子。

【請求項2】

前記直鎖もしくは星形ポリエチレングリコールとの - , - もしくは - ヒドロキシカルボン酸のポリエステルのブロックコポリマーに、液晶化合物が添加されることを特徴とする請求項1に記載の気体含有微粒子。

【請求項3】

前記壁材料が、

トリメチレンカーボネートとのグリコリドコポリマー、
トリメチレンカーボネート、テトラメチレングリコリド、 - バレロラクトンもしくは
- カプロラクトンとのラクチドコポリマー、又は
直鎖もしくは星形ポリエチレングリコールとのヒドロキシカルボン酸のポリエステルの
ブロックコポリマー、ポリラクチド(PLA)/ポリエチレングリコール(PEG)AB-ブロック
コポリマー、PLA/PEG/PLA ABAブロックコポリマー、S(3)-PEG-PLAブロックコポリマ
ーもしくはS(4)-PEG-PLAブロックコポリマー

から作られることを特徴とする請求項1又は2に記載の気体含有微粒子。

【請求項4】

液晶化合物として、ポリオキシエチレントリメチロール - プロパンジステアレート、ポリオキシエチレングリセリルジステアレート、ポリオキシエチレンジステアレート、ポリオキシエチレンステアリルエーテルステアレート、ポリオキシエチレンラウリルエーテルステアレート、モノオキシエチレントリメチロールプロパントリステアレート又はポリオキシエチレングリセリルトリステアレートが含まれることを特徴とする請求項 2 に記載の気体含有微粒子。

【請求項 5】

液晶化合物の割合が 0 ~ 30 重量 % であることを特徴とする請求項 4 に記載の気体含有微粒子。

【請求項 6】

気体として、窒素、希ガス、一酸化二窒素、二酸化炭素、ハロゲン化炭化水素、飽和もしくは不飽和炭化水素、二酸化窒素及び / 又はアンモニアを含むことを特徴とする請求項 1 ~ 5 のいずれかに記載の気体含有微粒子。

【請求項 7】

壁材料が直鎖もしくは星形ポリエチレングリコールとの - , - もしくは - ヒドロキシカルボン酸のポリエステルのブロックコポリマー及び必要に応じて液晶化合物から作られた超音波診断のための気体含有微粒子を製造するための方法であって、要求されるポリマー、必要に応じて液晶化合物及び必要に応じて表面活性物質を、その少なくとも 1 つの溶媒が容易に水と混和することができる有機溶媒又は溶媒混合物中に溶かし、次にその溶液に気体含有過フッ化化合物又は水を体温において分散させて、その分散液を攪拌機構を用いて表面活性物質を含む水中に分散し、そして気体中にポンピングして真空を適用することにより溶媒を除去し、そして最後に得られた懸濁液を適切な医薬として許容される凍結乾燥保護物質と混合して凍結乾燥することを特徴とする方法。

【請求項 8】

表面活性物質として、ポロキサマーもしくはポロキサミン、ポリエチレングリコールアルキルエーテル、ポリソルベート、サッカロースエステル、サッカリドエステル、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、脂肪アルコールポリグリコシド、Chaps (3 - [(3 - コールアミドプロピル) ジメチルアンモニオ] - 1 - プロパンスルホネート) , Chapso (3 - [(3 - コールアミドプロピル) ジメチルアンモニオ] - 2 - ヒドロキシ - 1 - プロパンスルホネート) 、 デシル - D - グリコピラノシド、デシル - D - マルトピラノシド、ドデシル - D - マルトピラノシド、オレイン酸ナトリウム、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール又はそれらの混合物の群からの物質が用いられることを特徴とする請求項 7 に記載の方法。

【請求項 9】

過フッ化化合物として、ペルフルオロペンタン、ペルフルオロヘキサン、ペルフルオロ - 1 , 3 - ジメチルシクロヘキサン、ペルフルオロシクロヘキサン、ペルフルオロデカリン及び / 又はペルフルオロエーテルが用いられることを特徴とする請求項 7 又は 8 に記載の方法。

【請求項 10】

壁材料が直鎖もしくは星形ポリエチレングリコールとの - , - もしくは - ヒドロキシカルボン酸のポリエステルのブロックコポリマーから作られた超音波診断のための気体含有微粒子を製造するための方法であって、要求されるポリマー及び必要に応じてアミノ酸を少なくとも 1 の有機溶媒に溶かし、そしてその溶液を、超臨界ガスで満たされ又はそれが流れるカラム内にノズルを通して噴霧し、それにより溶媒が超臨界ガスにより取り込まれることを特徴とする方法。

【請求項 11】

超臨界ガスとして、一酸化二窒素、二酸化炭素、ハロゲン化炭化水素、飽和もしくは不飽和炭化水素、二酸化窒素及び / 又はアンモニアが用いられることを特徴とする請求項 10 に記載の方法。

【請求項 12】

10

20

30

40

50

アミノ酸として、L-リシン、L-フェニルアラニン、L-トリプトファン又はD, L-フェニルアラニンが用いられることを特徴とする請求項10又は11に記載の方法。

【請求項13】

ポリマーのための有機溶媒として、ジクロロメタン、アセトン、酢酸エチル、酢酸メチル、トリアセチン、クエン酸トリエチル、乳酸エチル、酢酸イソプロピル、ギ酸プロピル、ギ酸ブチル、ギ酸エチル、及びノ又は乳酸メチルが用いられることを特徴とする請求項7～12のいずれかに記載の方法。

【請求項14】

超音波診断のための造影剤を製造するための方法であって、請求項1～6のいずれかに記載の微粒子を、医薬として適合可能な懸濁媒体に懸濁することを特徴とする方法。

10

【発明の詳細な説明】

本発明は、請求項の記載を特徴とするもの、即ち超音波診断のための気体含有微粒子であって、その壁材料が直鎖もしくは星形ポリエチレングリコールとの、もしくは-ヒドロキシカルボン酸のポリエステルブロックコポリマー及び必要に応じて液晶から、又は、-もしくは-ヒドロキシカルボン酸のポリエステル及び液晶から作られることを特徴とする微粒子、超音波診断のためのこれらの粒子を含む媒体、並びに該媒体及び粒子を製造するための方法に関する。

超音波診断は、困難のない単純な取扱いのため医学において極めて広範囲に用いられている。超音波は、異なるタイプの組織のインターフェースにおいて反射される。この場合に作られるエコーシグナルは電氣的に増強され、視覚化される。

20

超音波を用いる血管及び内部器官の視覚化は、一般に、その中に存在する血流の視覚化を許容しない。液体、特に血液は、周囲の領域と比較して、密度及び圧縮率の差がある場合にのみ超音波コントラストを作る。医学の超音波診断においては、例えば気体を含み又は気体を作り出す物質は、気体と周囲の血液との間のインピーダンスの差が液体又は固体と血液とのそれよりかなり大きいので、造影剤として用いられる〔Levine, R. A., J. Am. Coll. Cardiol. 3(1989)28; Machi, I. J. CV 11(1983)3〕。

Roelandtら〔Ultrasound Med. Biol. 8(1982)471～492〕は、心臓のエコーコントラストが細かい気泡を含む溶液の末梢の注入により達成され得ることを記載する。これらの気泡は、例えば振とうし、他に攪拌し又は二酸化炭素を添加することによって、生理的に適合可能な溶液中で作られる。しかしながらそれらは数又はサイズに関して標準化されておらず、不十分にのみ再現され得る。また、それらは、それらの役立つ寿命が短いので、一般に安定でない。ほとんどの場合のそれらの平均直径は、それらが左心・肝臓・腎臓又は脾臓のような器官を後に造影すると共に、肺の毛細管を通過することができないように、赤血球の径を超える。更に、それらは、形成された超音波エコーが泡形成、融合、溶解のような互いから分離することができないいくつかの過程からなるので、定量に適さない。これにより、例えばこれらの超音波造影剤の助けにより、心筋層中の造影剤の跡を測定することにより遷移時間に基づく情報を得ることができない。このため、その散乱因子が十分な安定性を有する造影剤が必要とされる。

30

EP0131540は、糖による気泡の安定化を記載する。これは、コントラスト効果の再現性及び均一性を改善するが、これらの気泡は肺を通過して生き残らない。

40

EP0122624及び0123235は、糖、糖アルコール、及び塩の気泡安定化効果が表面活性物質の添加によって改良されることを記載する。肺の毛管の通過並びに大腿動脈血管及び肝臓又は脾臓のような種々の器官を視覚化する可能性は、これらの超音波造影剤で供される。しかしながらこの場合、気泡は細胞細胞により吸収されないため、コントラスト効果は脈管腔に限定される。

長期間体内で変化しない超音波造影剤は記載されていない。静脈内投与後の選択的濃縮による十分なシグナル強度での器官の視覚化又は定量は、これらの媒体では可能でない。

例えば超音波造影剤として空気のような気体の被包がEP0224934に記載される。この場合に用いられる壁材料は、変性により生ずる細胞毒性効果も伴い得る蛋白質、特に周知であるアレルギー特性を有するヒト血清アルブミンからなる。

50

特許EP0327490は、生分解性合成材料に基づく超音波診断のための気体状微粒子を記載する。生分解性ポリマー、例えば - , - 又は - ヒドロキシカルボン酸も開示される。それから調製される造影剤調製物の診断作用はそれゆえ全ての場合に満足いかない。開示されるいずれの超音波造影剤でも機能的分析は可能でない。それゆえ本発明の目的は、先行技術の欠点を克服するそれから調製される化合物及び媒体を思い出すことである。

この目的は本発明により達成される。

その壁材料が直鎖もしくは星形ポリエチレングリコールとの - , - もしくは - ヒドロキシカルボン酸のポリエステルブロックコポリマー並びに必要に応じて液晶から、又は - , - もしくは - ヒドロキシカルボン酸のポリエステル並びに液晶から作られる気体含有微粒子が、超音波造影剤として極めて十分に適していることが見いだされた。

10

本発明により用いられ得るブロックコポリマーとしては、以下の例を挙げる事ができる：

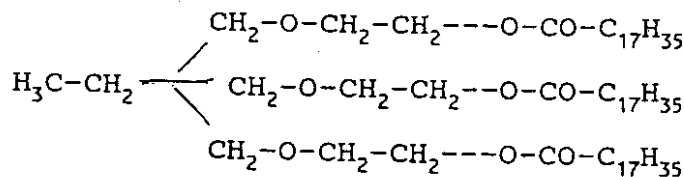
トリメチレンカーボネート(TMC)とのグリコリドコポリマー(PGA)もしくはトリメチレンカーボネートとのラクチドコポリマー(PLA)、テトラメチレングリコリド、 - パレロラクトン, - カプロラクトン又は例えばPLA/PEG AB - ブロックコポリマー、PLA/PEG/PLA ABA - ブロックコポリマー、S(3) - PEG-PLAブロックコポリマー、S(4) - PEG-PLAブロックコポリマーのような直鎖もしくは星形ポリエチレングリコール(PEG又はS - PEG)とのヒドロキシカルボン酸のポリエステルのブロックコポリマー。

ポリマー壁材料中に任意に含まれる液体 - 結晶性構成物としては、以下の例を挙げる事ができる：

20

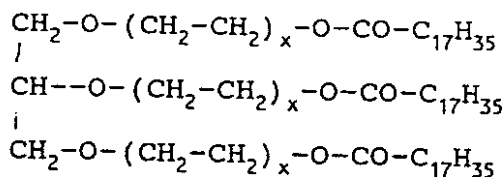
ポリオキシエチレントリメチロールプロパンジステアレート(PTDS)、ポリオキシエチレングリセリルジステアレート(PGDS)、ポリオキシエチレンジステアレート(PDS)、ポリオキシエチレンステアリルエステルステアレート(PSES)、ポリホキシエチレンラウリルエーテルステアレート(PLES)、モノオキシエチレントリメチロールプロパントリスステアレート(MTTS*)及びポリオキシエチレングリセリルトリスステアレート(PGTS*)〔上述の液体 - 結晶性化合物は、Nihon Emulsion Co. Ltd. (Tokyo)から注文できる〕。

*MTTS



30

*PGTS



その壁材料が液晶を含む本発明による微粒子は、好ましくは機能分析に用いることができる。これにより、その液晶は温度の関数としてその凝集状態を変化させる。対応する温度において、これは、超音波のエコーの消滅を導く被包された気体が逃げ出し得るような粒子シェルの破壊を導く。相転移温度は、かなりの数の市販の液晶について周知であり、製造元のデータから得ることができる。更に、血液中の微粒子の保持時間は、必要に応じて液体 - 結晶性化合物に添加される量により調節することができる。本発明による微粒子中の結晶の割合は0 ~ 30重量%である。

40

粒子内に含まれる気体としては、空気、窒素、希ガス、一酸化二窒素、二酸化炭素、八口ゲン化炭化水素、飽和もしくは不飽和炭化水素、二酸化窒素及び/又はアンモニアが用いられる。

本発明の他の態様は、直鎖もしくは星形ポリエチレングリコールとの - , - もしくは

50

- ヒドロキシカルボン酸のポリエステルのブロックコポリマー及び必要に応じて液晶に基づく微粒子の製造のため、並びに - , - もしくは - ヒドロキシカルボン酸及び液晶に基づく微粒子の製造のための方法に関する。

このような粒子は、任意に液体 - 結晶性化合物及び任意に表面活性物質を、その少なくとも1つの溶媒が直ちに水和して溶ける有機溶媒又は溶媒混合物中に混合し、次に液体過フッ化化合物又は水をこの溶液に分散させ、そして次にこの分散液を、それによりその溶媒が気体中にくみ上げて真空を適用することにより除去される攪拌メカニズムにより表面活性物質を含む水中に分散されることにより得ることができる。この場合、最初の水及び液体過フッ化化合物を含む粒子が沈殿析出する。次に粒子を含む懸濁液は、それにより粒子中に含まれる液体が逃げるように適切な医薬として許容される凍結保護剤と混合されて凍結乾燥され、凍結乾燥装置が、要求される気体（一般に滅菌した空気）でエレーションされた後、置換される。乾燥時間によって、必要に応じて少量の液体（水又は過フッ化化合物）が粒子内の蒸気として残る。

ポリマーのための有機溶媒又は溶媒混合物としては、ジクロロメタン、アセトン、酢酸エチル、酢酸メチル、トリアセチン、クエン酸トリエチル、乳酸エチル、酢酸イソプロピル、ギ酸プロピル、ギ酸ブチル、ギ酸エチル及びノ又は乳酸メチルが好ましくは用いられる。

過フッ化化合物としては、好ましくはペルフルオロペンタン、ペルフルオロヘキサン、ペルフルオロ - 1 , 3 - ジメチルシクロヘキサン、ペルフルオロシクロヘキサン、ペルフルオロデカリン又はペルフルオロエーテルが用いられる。

表面活性物質（界面活性剤）としては、ポロキサマーもしくはポロキサミン、ポリエチレングリコールアルキルエーテル、ポリソルベート、サッカロースエステル(Sisterna The Netherlands)、サッカリドエステル〔Ryoto糖エステル(Tokyo)〕、ゼラチン、ポリビニルピロリドン、脂肪アルコールポリグリコシド、Chaps(Serva) , chap(Calbiochem) , Chapso(Calbiochem)、デシル - - D - グリコピラノシド、デシル - - D - マルトピラノシド、ドデシル - - D - マルトピラノシド、オレイン酸ナトリウム、ポリエチレングリコール、ポリビニルアルコール又はそれらの混合物の群からの物質が用いられる。

他の方法は、要求されるポリマー及び任意にアミノ酸を少なくとも1つの有機溶媒中に溶かし、この溶液を、それによりその溶媒が超臨界の気体により取り込まれるように、超臨界の気体が満たされ又はそれが流れるカラム内にノズルを通して噴霧されることからなる。

好ましくは、この方法の変形において、各々の場合に用いられる溶解されたポリマー（ポリエステル）中の界面活性剤のかわりにアミノ酸が供される。アミノ酸として、好ましくは、L - リシン、L - フェニルアラニン、L - トリプトファン及びD , L - フェニルアラニンが用いられる。

過フッ化化合物の添加はこの場合必要ない。

溶媒又は溶媒混合物として、上述の溶媒が適している。

超臨界気体としては、一酸化二窒素、二酸化炭素、ハロゲン化炭化水素、飽和もしくは不飽和炭化水素、二酸化窒素及びノ又はアンモニアが用いられるが、二酸化炭素が好ましい。超臨界気体は、必要に応じて例えばエタノールのような低級アルコール、エステル又は窒素のような気体のような10%までの添加物を含むことができる。

結果として生ずる粒子の大きさは、注入ノズルのタイプ、大きさ及び形状、カラム内の作動圧及び温度により制御され得る。静脈内投与された超音波造影剤のために必要な粒径（10µm未満）は、90~100bar、好ましくは94~96barの間の作動圧及び36 °の温度で0.5mmのノズル径の10°の噴霧角のノズルを用いることによって得ることができる。

本発明の他の態様は、本発明による気体含有微粒子を含む超音波診断のための造影剤に関する。

これらの媒体は、医薬として許容される懸濁媒体中に再懸濁された乾燥微粒子により作ることができる。

医薬として許容される懸濁媒体としては、例えば水(p.i.)、1以上の無機塩の水溶液、例

10

20

30

40

50

えば生理電界質溶液及び緩衝液、例えばタイロド溶液、グルコースもしくはラクトースのようなモノもしくはジサッカリドの水溶液、例えばポリソルベートもしくはポリサッカリドの群からの表面活性物質を更に任意に有するマンニトールのような糖アルコール、ポリビニルピロリドン、ポリエチレングリコール、サッカロースモノー及びジエステルもしくはポロキサマーもしくはポロキサミンの群からの物質又はそれらの混合物及び/又はグリセリンのような生理的に適合する多価アルコールが適する。しかしながら、注入目的のために適した水が好ましい。

投与の信頼性を増加させるために、懸濁液は注入直前にろ過することができる。

直鎖もしくは星形ポリエチレングリコールとの、 C_{12} - もしくは C_{18} - ヒドロキシカルボン酸のポリエステルブロックコポリマー及び任意に液晶に基づくか又は C_{12} - もしくは C_{18} - ヒドロキシカルボン酸のポリエステル及び液晶に基づく本発明による微粒子、並びにそれらから調製される造影剤は、近年の超音波造影剤に求められる全ての要求に合致する。その媒体内に含まれる粒子は、以下の利点により区別される：

- ・それは生体内で迅速に分解され、
- ・デグラデーション産物は毒物学的に無害であり、
- ・それらは血液循環内に十分な長期間、循環し、
- ・それらは超音波診断の全てのモード、特に非線形的効果を用いることができるモードにも用いることができ、
- ・それらは十分に許容され、
- ・それらは均一な制御可能を大きさの分布を示し、
- ・それらは製造するのが容易であり、
- ・それらは肺を通過して生き残るのに十分に安定であるので、左心を造影するのにも適しており、そして
- ・それらは網内細胞系により取り込まれるので、肺臓及び脾臓を造影するのにも適している。

更に、粒子及びそれから作られた造影剤調製物は、アレルギーの可能性を有さずに十分に許容され、水性媒体中で凝集しない。更に、その粒子シェルが液体 - 結晶性化合物を含む本発明による微粒子は、機能的分析に適する。

以下の記載は本願に用いられる略語の概要である。

PLAはポリラクチドを意味し、

PGAはポリグリコリドを意味し、

TMCはトリメチレンカーボネートを意味し、

Sは星を意味し、

S(X)はXの部分からなる枝を有する星を意味し、これにより3-X分枝における分枝点は窒素原子であり、そして4-X分枝における分枝点はアンモニウム(N⁺)イオン又は炭素原子であり、

AB又はABAは、モノマー構造要素の配列をいう。

以下の実施例は、これらの実施例に限定することを意図するわけではなく、本発明の目的物のより詳細な説明のために用いられる。

実施例 1

K. J. Zhuら [Journal of Applied Polymer Science Vol. 39(1990)1-9又はJournal of Polymer Science(Part A: Polymer Letters)Vol. 24(1986)331-337]、D. Shiao-Guang Huら [Polymer Bulletin 30, (1993)669-676] 又はX. M. Dengら [Journal of Polymer Science(Part C: Polymer Letters)Vol. 28(1990)411-416] により記載されるように製造され得るポリラクチド及びポリエチレングリコールのジブロックコポリマー(PLA 9600 / PEG 2100) 3 gをメチレンクロライド/アセトン(容量比50:50) 40ml中に溶かす。ペルフルオロペンタン10mlをUltraturraxを用いてポリマー溶液中に2分間(10,000rpm)分散させる。その作られたエマルジョン(0/0)を、機械攪拌メカニズム(Dispermat-FT, VMA-Getzmann GmbH)を用いて、0に温度平衡化された1%ゼラチン溶液400ml中に30分間(1,000 rpm)、分散させる。そのエマルジョン(0/0/w)を、攪拌メカニズム(300rpm)を備え

10

20

30

40

50

た21の3つ首フラスコ内に移し、その溶媒を、N₂中にポンピングすることにより20で3時間、そして真空により25で3時間、除去する。次にその懸濁液を凍結保護剤と混合して凍結乾燥する。

水で再懸濁された凍結乾燥物は、0.1~4 μmの径を有する超音波活性微粒子を含んでいる。粒径の測定は、Coulter Electronics GmbH CompanyからのLS-130で行う。

実施例 2

1%ゼラチン溶液を0.2%ゼラチン溶液により置換し、ジブロックコポリマーをポリラクチド及びポリエチレングリコールのトリブロックコポリマー(ABA)により置換して実施例1の通りに手順を行う。このブロックポリマーは、H. R. Kricheldorfら〔Makromol. Chem. 194(1993)463〕, Li Youxinら〔Journal of Controlled Release, 27(1993)247~257〕に記載されるように得ることができる。

10

水で再懸濁された凍結乾燥物は、直径0.1~4 μmの超音波活性微粒子を含んでいる。

実施例 3

1%ゼラチン溶液を0.1%ゼラチン溶液により置換し、ジブロックコポリマーを星形ポリエチレングリコール-ホリラクチドコポリマー(S(3)PEG-PLA)により置換して、実施例1の通りに手順を行う。このポリマーは、K. J. Zhu〔Journal of Polymer Science(Part A: Polymer Chemistry)Vol. 27(1989)2151~2159〕に記載されるように得ることができる。

水で再懸濁された凍結乾燥物は、直径0.1~2 μmの超音波活性微粒子を含んでいる。

実施例 4

ジブロックコポリマーをトリブロックコポリマーPLA-S(3)-PEG-PLAにより置換して実施例1の通り手順を行う。このポリマーは、K. J. Zhu〔Journal of Polymer Science: Part A Polymer Chemistry, Vol. 27(1989)2151~2159〕により記載される通りに作ることができる。

20

水で再懸濁した凍結乾燥物は、直径0.1~5 μmの超音波活性微粒子を含んでいる。

実施例 5

ジブロックコポリマーを星形ポリエチレングリコール-ポリラクチド(S(4)-PEG-PLA)により置換して、実施例1の通りに手順を行う。このポリマーは、K. J. Zhu〔Journal of Polymer Science: Part A Polymer Chemistry, Vol. 27(1989)2151~2159〕により記載される通り作ることができる。

30

水で再懸濁された凍結乾燥物は、0.1~2 μmの直径の超音波活性微粒子を含んでいる。

実施例 6

ジブロックコポリマーをトリブロックコポリマー(PLA-S(4)-PEG-PLA)により置換して、実施例1の通りに手順を行う。このポリマーは、K. J. Zhu〔Journal of Polymer Science: Part A Polymer Chemistry, Vol. 27(1989)2151~2159〕により記載される通りに作ることができる。

水で再懸濁した凍結乾燥物は、直径0.1~4 μmの超音波活性微粒子を含んでいる。

実施例 7

ジブロックコポリマーに加えて、メチレンクロライド/アセトン溶液中に300mgの液晶MTTS〔Nihon Emulsion Co. Ltd(Tokyo)〕も溶かして、実施例1の通りに手順を行う。

40

水で再懸濁された凍結乾燥物は、直径0.3~7 μmの超音波活性微粒子を含んでいる。

実施例 8

ジブロックコポリマーに加えて、700mgの液晶PGTS〔Nihon Emulsion Co. Ltd(Tokyo)〕もメチレンクロライド/アセトン溶液に溶かして、実施例1の通りに手順を行う。

水で再懸濁した凍結乾燥物は、直径0.3~7 μmの超音波活性微粒子を含んでいる。

実施例 9

0.375gのL-リシン(Aldrich)を25mlの氷酢酸(Merck)中に溶かし、75mlのジクロロメタン(Merck)中に溶かされた2.5g(PLA-PEG)

(Böhringer Ingelheim)

と混合する。その組み合わせられた溶液を、図1に示される装置で更に処理する。

50

その組み合わされた溶液を最初にタンク(17)に加え、そして、ユニットを保管ボトルからバルブ(2)及びライン(30)を通して気体で満たす。往復運動ポンプ(16)を用いて、ライン(52)を通して熱交換器(15)、ライン(54)、バルブ(20)及び最終ライン(55)に流した後、タンク(17)からノズル(118)に溶液を供給する。94~96barの圧力において、コポリマーを含む溶液を、慣用的な一部品ノズル(118)〔Schlick 121 Vタイプ〕によりカラム(12)内に噴霧し、同時に超臨界状態のCO₂を90bar/36及び平行流において8.9kg/hのスループットで入口(8)を通してカラムを通して注ぐ。そのノズルは直径0.5mmを有し、その噴霧角は10°である。

その溶媒についての超臨界CO₂の高アフィニティーに対応して、溶媒を最初に形成された液滴から除去する。球形の固体ポリマー粒子が残る。

溶媒交換したCO₂を精製して再生することに基づくが、もはや粒子の製造を行わない更なるステップを用いる。CO₂の作業は次のように行うことができる。溶媒を交換した気体を2つの磁気バルブ(7及び9)により制御されたライン(42)及び(40)を通してカラムの端から流し、60barまで上昇させる。そのバルブを、時間単位当りにカラム内に流れる液体化ガスの量が、カラムの作動圧を維持して流れ得るようにスイッチする。60barまでの上昇により冷却され、溶媒が交換されたCO₂を21に温度平衡化された分離器(10)内にライン(62)により注ぐ。ここでその溶媒混合物はこれらの条件下で強く消滅された溶解度のためCO₂に分離する。溶媒混合物がそれから除去されたCO₂を、圧力及び温度を上昇させること(3及び4)によりライン(64及び32)を用いて超臨界状態(90bar, 36)にもどし、そして更に作られた粒子を乾燥させるため、ライン(34)、液体化ガスポンプ(4)、ライン(36)、熱交換器(5)、ライン(38)を通して、入口(8)を通してカラムに再び供給する。

分離器(10)内で分離された溶媒混合物の除去を、分離器(10)をバルブ(6)及び(13)によりその循環から分離した後及び大気圧への減圧をバルブ(72)を通して行った後に行う。

リザーバー内に含まれる溶解されたポリマーの全量を噴霧した後(圧力に依存する時間、20~50分間)、溶媒ラジカルがもはや分離器(10)中に回収され得ないまで、CO₂をカラムを通して流す。

乾燥過程を終えた後、カラムへのCO₂の流れを止め、カラム上バルブ(11)及び(14)を大気圧まで減圧し、そして粒子を下側カラム端(19)で除去する。

直径1~10µmの超音波活性気体状微粒子を得る。

実施例10~16

更なる微粒子の生産を実施例9と同様に行う。各々の場合に用いたポリマー及び更なるデータを表1に概説する。

全ての場合、超音波活性気体含有微粒子を得る。得られた粒子は滅菌状態であり、溶媒残物、重合化触媒又はイニシエーター分子を含まない。それらは1~10µmの均一な粒径分布を有する。

ポリマーは、各々の場合、75mlのジクロロメタン(Merck)及び25mlの氷酢酸中に溶かし、そして各々の量のアミノ酸を加える。D, L-フェニルアラニンは、適切には、50mlまでのエタノール(Merck)中に更に溶解される。

10

20

30

40

表 1

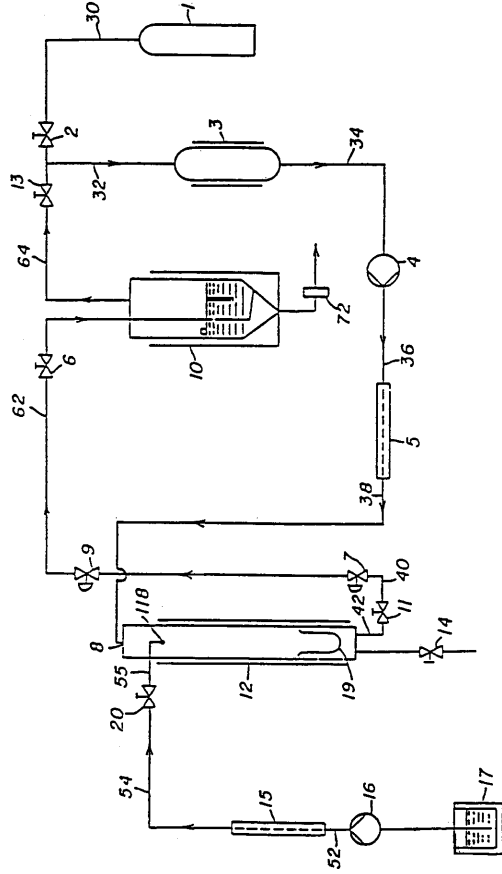
テスト番号	ポリマー	ポリマーの重量部〔g〕	アミノ酸	アミノ酸の重量部〔g〕
10	ポリ-(D,L-ラクチド-コトリメチルカーボネート)	2.0	L-リシン	0.3
11	ポリ-(D,L-ラクチド-コグリコリド)-PEG-ブロックポリマー	1.0	L-フェニルアラニン	0.15
12	ポリ-PLA-PEG-PLA-ブロックポリマー	2.0	D,L-フェニルアラニン	0.3
13	S(3)-PEG-PLA-星形ブロックコポリマー	2.2	L-トリプトファン	0.35
14	S(4)-PEG-PLA-星形ブロックコポリマー	3.0	L-リシン	0.25
15	PLA-S(4)-PEG-PLA-星形ブロックコポリマー	2.0	L-リシン	0.2
16	PLA-S(3)-PEG-PLA-星形ブロックコポリマー	2.0	L-リシン	0.15

10

20

30

【 図 1 】
Figur 1



フロントページの続き

(74)代理人

弁理士 中村 和美

(72)発明者 ルスリンク, ゲオルク

ドイツ連邦共和国, デー - 1 3 4 6 5 ベルリン, オラニーンブルガー ファウセ 6 0 ツェー

(72)発明者 アルバイラーク, ツェラル

ドイツ連邦共和国, デー - 1 0 9 9 9 ベルリン, パウル - リンケ - ユーフアル 4 2 / 4 3

(72)発明者 ローテ, マティアス

ドイツ連邦共和国, デー - 1 2 0 9 9 ベルリン, リンクバーンシュトラッセ 7 2

審査官 横井 宏理

(56)参考文献 特表平 7 - 5 0 7 7 8 0 (J P , A)

特表平 3 - 5 0 3 6 3 4 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

A61K 49/00

A61K 9/00 - 50

A61K 47/00 - 34

WPI

MEDLINE(STN)

CA(STN)

EMBASE(STN)

BIOSIS(STN)

JMEDPlus(JDream2)

JST7580(JDream2)

JSTPlus(JDream2)