(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 119213060 A
(43)申请公布日 2024.12.27

(21)申请号 202380039911.2
(22)申请日 2023.03.24
(30)优先权数据
2022-067148 2022.04.14 JP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.11.12
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2023/011719 2023.03.24
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/199723 JA 2023.10.19
(71)申请人 国立研究开发法人量子科学技术研究开发机构
地址 日本千叶县
(72)发明人 长田健介 力山和晃 住吉晃 青木伊知男 宫田完二郎 内藤瑞绵贯裕介
(74)专利代理机构 北京信诺创成知识产权代理有限公司 11728
专利代理师 王庆云 尹吉伟
(51)Int.Cl.
C08G 81/00(2006.01)
A61K 9/08(2006.01)
A61K 47/34(2017.01)
A61K 47/38(2006.01)
A61K 47/32(2006.01)
A61K 45/00(2006.01)
A61K 49/14(2006.01)
A61K 49/12(2006.01)
A61K 49/00(2006.01)
B82Y 5/00(2011.01)

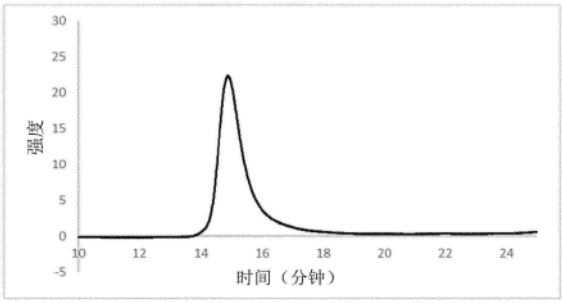
权利要求书2页 说明书14页 附图6页

(54)发明名称

单一高分子颗粒、活性分子复合物、单一高分子颗粒的制造方法、肿瘤尺寸的计测方法、肿瘤内微细结构的计测方法、生物体组织的成像方法、药物递送体系、造影剂试剂盒

(57)摘要

本发明课题在于提供流体力学直径得以了更准确控制的单一高分子颗粒、活性分子复合物、单一高分子颗粒制造方法以及生物体组织成像方法。为解决上述课题，提供一种单一高分子颗粒，其特征在于各个颗粒由单一高分子形成且分子量分布M_w/M_n为1.5以下。由此能够获得流体力学直径得以了准确控制的颗粒。单一高分子优选是由单一的亲水性高分子A构成的结构物，或者是在由单一的亲水性高分子A构成的主链上结合有1个以上的作为侧链的亲水性高分子B而成的结构物。



CN 119213060 A

1.一种单一高分子颗粒,其特征在于,

各个颗粒由单一高分子形成,

所述单一高分子的分子量分布M_w/M_n为1.5以下。

2.根据权利要求1所述的单一高分子颗粒,其特征在于,

所述单一高分子是由单一的亲水性高分子A构成的结构物,或者是在由单一的亲水性高分子A构成的主链上结合有1个以上的作为侧链的亲水性高分子B而成的结构物。

3.根据权利要求1或2所述的单一高分子颗粒,其特征在于,

所述亲水性高分子A为多肽、多糖、乙烯系高分子、聚醚系高分子、聚酯系高分子、或聚噁唑啉。

4.根据权利要求1~3中任一项所述的单一高分子颗粒,其特征在于,

所述亲水性高分子B为聚亚烷基二醇、聚乙烯醇、聚乙烯基吡咯烷酮、聚甲基丙烯酸羟乙酯、聚丙烯酸2-甲氧基乙酯、聚噁唑啉、羧甲基纤维素、甲基纤维素、羟乙基纤维素、或羧基乙烯基聚合物。

5.根据权利要求1~4中任一项所述的单一高分子颗粒,其特征在于,

与所述亲水性高分子A结合的作为侧链的亲水性高分子B的数量为1条以上且100条以下。

6.根据权利要求1~5中任一项所述的单一高分子颗粒,其特征在于,

所述单一高分子的分子量为10kDa以上且1500kDa以下。

7.根据权利要求1~6中任一项所述的单一高分子颗粒,其特征在于,

所述亲水性高分子A为聚天冬氨酸,

所述亲水性高分子B为聚乙二醇。

8.一种活性分子复合物,其特征在于,

由活性分子与权利要求1~7中任一项所述的单一高分子颗粒结合而成。

9.根据权利要求8所述的活性分子复合物,其特征在于,

所述活性分子是抗体药物、核酸药物、低分子药物、放射性药剂、造影剂、或发色团。

10.一种单一高分子颗粒的制造方法,包括以下步骤:

(i)通过以α-氨基酸-N-羧酸酐为原料的开环聚合反应来合成直链状的亲水性高分子A的步骤;

(ii)将亲水性高分子B与所述亲水性高分子A的反应位点结合的步骤。

11.一种肿瘤尺寸的计测方法,其特征在于,

使用权利要求1~7中任一项所述的单一高分子颗粒、或者权利要求8或9所述的活性分子复合物来计测肿瘤的尺寸。

12.一种肿瘤内微细结构的计测方法,其特征在于,

使用权利要求1~7中任一项所述的单一高分子颗粒、或者权利要求8或9所述的活性分子复合物来计测肿瘤内微细结构。

13.一种生物体组织的成像方法,其特征在于,

其中使用权利要求1~7中任一项所述的单一高分子颗粒、或者权利要求8或9所述的活性分子复合物。

14.根据权利要求13所述的生物体组织的成像方法,其特征在于,

所述生物体组织是肿瘤。

15.一种药物递送体系,其特征在于,

将权利要求1～7中任一项所述的单一高分子颗粒、或者权利要求8或9所述的活性分子复合物输送至生物体内的目标位置。

16.一种造影剂试剂盒,其特征在于,

包含多种不同尺寸的权利要求8或9所述的活性分子复合物。

单一高分子颗粒、活性分子复合物、单一高分子颗粒的制造方法、肿瘤尺寸的计测方法、肿瘤内微细结构的计测方法、生物体组织的成像方法、药物递送体系、造影剂试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及流体力学直径得以了准确控制的颗粒。更具体地,本发明涉及:由单一高分子构成的单一高分子颗粒、活性分子复合物、单一高分子颗粒的制造方法、肿瘤尺寸的计测方法、肿瘤内微细结构的计测方法、生物体组织的成像方法、药物递送体系、以及造影剂试剂盒。

背景技术

[0002] 例如抗癌剂、造影剂、核酸药物等低分子药物在投药于血中时,由于其单独分子的尺寸为5nm以下而会迅速从肾脏排出,因此难以递送至靶部位。另外,已知低分子药物由于分子尺寸小而会引起从血管的滤出,从而对周围组织造成影响。

[0003] 对于这些情况,通过将低分子与高分子进行结合、集聚或与脂质进行集聚合来增加表观分子量,能避免从肾脏的排出、从血管的滤出,从而促进分子到达靶部分。像这样通过控制药物的分子量来控制其在体内的动态的技术称为被动靶向技术,其作为DDS(药物递送体系)技术的一个领域正得到积极研究。

[0004] 例如在专利文献1中,记载了一种使用了含有亲水性聚合物链段的高分子胶束的核磁共振造影剂。该技术中,通过使用高分子胶束来控制亲水性低分子即造影剂的分子量,由此有效地向靶部位递送。

[0005] 另外,在非专利文献1中,记载了由嵌段共聚物构成的胶束很有可能作为一种纳米级介质来控制药物、蛋白质或核酸等生物活性剂的分布和功能,从而有效地克服生物学上的技术屏障。

[0006] (现有技术文献)

[0007] 专利文献1:国际公布第2006/003731号

[0008] 非专利文献1:Horacio Cabral等,Chem.Rev.2018,118,6844-6892

发明内容

[0009] (发明所要解决的问题)

[0010] 然而,在专利文献1的技术中,由于高分子胶束是由多数的高分子形成的集合体,因此难以准确地控制颗粒的分子量,从而各颗粒的尺寸存在偏差。因此难以准确控制颗粒在体内的动态。另外,非专利文献1的技术也同样难以准确控制各个颗粒的尺寸。

[0011] 另外,由于上述技术中采用的各高分子胶束是由多数的高分子形成的集合体,因此其流体力学直径一般较大,为30nm～80nm左右,因此在技术层面上难以缩小颗粒的流体力学直径。

[0012] 本发明的课题在于提供:流体力学直径得以了更准确控制的单一高分子颗粒、活性分子复合物、单一高分子颗粒的制造方法、肿瘤尺寸的计测方法、肿瘤内微细结构的计测

方法、生物体组织的成像方法、药物递送体系、以及造影剂试剂盒。

[0013] (用以解决课题的技术手段)

[0014] 本发明人就上述课题进行了深入研究,结果发现,通过使用由单一高分子构成且分子量分布为1.5以下的单一高分子颗粒,就能够实现流体力学直径得以了准确控制的颗粒。从而完成了本发明。

[0015] 即,本发明提供以下的[1]~[16]的方案。

[0016] [1]一种单一高分子颗粒,其特征在于,各个颗粒由单一高分子形成,所述单一高分子的分子量分布M_w/M_n为1.5以下。

[0017] 由此,能够获得流体力学直径得以了准确控制的颗粒。

[0018] [2]·根据[1]所述的单一高分子颗粒,其特征在于,所述单一高分子是由单一的亲水性高分子A构成的结构物,或者是在由单一的亲水性高分子A构成的主链上结合有1个以上的作为侧链的亲水性高分子B而成的结构物。

[0019] 由此,能够获得流体力学直径得以了更准确控制的颗粒。

[0020] [3]根据[1]或[2]所述的单一高分子颗粒,其特征在于,所述亲水性高分子A为多肽、多糖、乙烯系高分子、聚醚系高分子、聚酯系高分子、或聚噁唑啉。

[0021] 由此,能够容易地控制单一高分子的分子量,其结果是能控制单一高分子颗粒的流体力学直径。

[0022] [4]根据[1]~[3]中任一项所述的单一高分子颗粒,其特征在于,所述亲水性高分子B为聚亚烷基二醇、聚乙烯醇、聚乙烯基吡咯烷酮、聚甲基丙烯酸羟乙酯、聚丙烯酸2-甲氧基乙酯、聚噁唑啉、羧甲基纤维素、甲基纤维素、羟乙基纤维素、或羧基乙烯基聚合物。

[0023] 由此,能够容易地控制单一高分子的分子量,其结果是能够控制单一高分子颗粒的流体力学直径。

[0024] [5]根据[1]~[4]中任一项所述的单一高分子颗粒,其特征在于,与所述亲水性高分子A结合的作为侧链的亲水性高分子B的数量为1条以上且100条以下。

[0025] 由此,能够获得流体力学直径得以了更准确控制的颗粒。

[0026] [6]根据[1]~[5]中任一项所述的单一高分子颗粒,其特征在于,所述单一高分子的分子量为10kDa以上且1500kDa以下。

[0027] 由此,能够获得流体力学直径得以了更准确控制的颗粒。

[0028] [7]根据[1]~[6]中任一项所述的单一高分子颗粒,其特征在于,所述亲水性高分子A为聚天冬氨酸,所述亲水性高分子B为聚乙二醇。

[0029] 由此,能够获得流体力学直径得以了更准确控制的颗粒。

[0030] [8]一种活性分子复合物,其特征在于,由活性分子与[1]~[6]中任一项所述的单一高分子颗粒结合而成。

[0031] 由此,能够实现一种在生物体内的动态得以了控制的活性分子复合物。

[0032] [9]根据[8]所述的活性分子复合物,其特征在于,所述活性分子是抗体药物、核酸药物、低分子药物、放射性药剂、造影剂、或发色团。

[0033] 由此,能够获得在生物体内的动态得以了控制的由抗体药物、核酸药物、低分子药物、放射性药剂、造影剂或发色团与单一高分子颗粒构成的复合物。

[0034] [10]一种单一高分子颗粒的制造方法,包括以下步骤:(i)通过以α-氨基酸-N-羧

酸酐为原料的开环聚合反应来合成直链状的亲水性高分子A的步骤;(ii)将亲水性高分子B与所述亲水性高分子A的反应位点结合的步骤。

[0035] 由此,能够获得流体力学直径得以了准确控制的颗粒。

[0036] [11]一种肿瘤尺寸的计测方法,其特征在于,使用[1]~[7]中任一项所述的单一高分子颗粒、或者[8]或[9]所述的活性分子复合物来计测肿瘤的尺寸。

[0037] 由此,能够计测肿瘤的尺寸。

[0038] [12]一种肿瘤内微细结构的计测方法,其特征在于,使用[1]~[7]中任一项所述的单一高分子颗粒、或者[8]或[9]所述的活性分子复合物来计测肿瘤内微细结构。

[0039] 由此,能够计测肿瘤内微细结构。

[0040] [13]一种生物体组织的成像方法,其中使用[1]~[7]中任一项所述的单一高分子颗粒、或者[8]或[9]所述的活性分子复合物。

[0041] 由此,能够更准确地对生物体组织进行成像。

[0042] [14]根据[13]所述的生物体组织的成像方法,其中,所述生物体组织是肿瘤。

[0043] 由此,能够更准确地对肿瘤进行成像。

[0044] [15]一种药物递送体系,其将[1]~[7]中任一项所述的单一高分子颗粒、或者[8]或[9]所述的活性分子复合物输送至生物体内的目标位置。

[0045] 由此,能够将单一高分子颗粒等输送到生物体内的目标位置。

[0046] [16]一种造影剂试剂盒,其包含[8]或[9]所述的活性分子复合物当中的、尺寸不同的活性分子复合物。

[0047] 由此,能够更准确地了解生物体组织的微细结构。

[0048] (发明效果)

[0049] 根据本发明,能够提供:流体力学直径得以了更准确控制的单一高分子颗粒、活性分子复合物、单一高分子颗粒的制造方法、肿瘤尺寸的计测方法、肿瘤内微细结构的计测方法、生物体组织的成像方法、药物递送体系、以及造影剂试剂盒。

附图说明

[0050] 图1示出了通过GPC法对合成出的PBLA的分子量分布进行解析的结果。

[0051] 图2示出了通过GPC法对合成出的PAsp-g-PEG2000、PAsp-g-PEG5000、PAsp-g-PEG12000、PAsp-g-PEG20000进行分析的结果。

[0052] 图3示出了流体力学直径得以了控制的单一高分子颗粒的合成结果。

[0053] 图4示出了单一高分子颗粒的血中滞留试验结果。

[0054] 图5示出了单一高分子颗粒的流体力学直径以及其静脉投药后在体内的动态。

[0055] 图6示出了与本发明的单一高分子颗粒结合了的造影剂以及以往造影剂的弛豫测定结果。

[0056] 图7示出了利用本发明的活性分子复合物(造影剂)获得的图像。

[0057] 图8示出了利用以往造影剂获得的图像。

[0058] 图9示出了利用与本发明的单一高分子颗粒结合了的造影剂获得的图像。

具体实施方式

[0059] 以下,详细说明本发明涉及的单一高分子颗粒、活性分子复合物、单一高分子颗粒制造方法、以及生物体组织成像方法的实施方式。

[0060] 这里,关于实施方式中所描述的单一高分子颗粒、活性分子复合物、单一高分子颗粒制造方法、以及生物体组织成像方法,它们仅是为了说明本发明而举出的例子,本发明并不限定于此。

[0061] [定义]

[0062] 本说明书中,“高分子”是指分子量较大的分子,其为由小分子量分子得到的实质性或概念性单元经多次重复而成的结构,也称聚合物分子。这样的高分子可大致分类成生物体高分子和合成高分子。作为具体的生物体高分子,例如可举出由氨基酸单元形成的多肽、由单糖单元形成的多糖、由核酸单元形成的多核苷酸。关于具体的合成高分子,可以举出由多元羧酸单元与多元醇单元形成的聚酯系高分子、乙烯基(CH_2=CH-)经聚合而得的高分子即乙烯系高分子、主链具有醚键(-C-O-C-)的高分子即醚系高分子、由多元羧酸单元与多胺单元形成的聚酰胺等。

[0063] 本说明书中,“单一高分子”是指,除了由多个分子通过氢键、疏水键或范德华力等而成的复合物之外的、通过共价性键而结合成的单一高分子。“单一高分子颗粒”是指如下状态:各个单一高分子在水性溶剂中不会二次缔合到分子内而是分散在水性溶剂中,从而在水性溶剂中表现为颗粒的性状。本发明的单一高分子颗粒并不包括诸如胶束这类由多个高分子形成的复合物。另外,关于无特别注释的“单一高分子颗粒”的记载,其指由单一高分子形成的颗粒。需要说明的是,单一高分子的分子量分布M_w/M_n的记载,其表示由同一制造方法等得到的各个实质相同的单一高分子颗粒的集合的分子量分布。

[0064] 本说明书中,“生物相容性”是指,与生物体组织或器官具有亲和性而不产生异物反应或排斥反应等的性质。本发明主要以在生物体内的使用为目的,因此作为上述高分子,优选采用具有生物体相容性的高分子。

[0065] 本说明书中,“分子量”是指,以TOF-MS法测得的分子量、或以NMR法通过末端基质子来计算测得的分子量、或者以这两种手法算出的分子量。

[0066] 本说明书中,“数均分子量(M_n)”是指,合成出的高分子的集合中所含的高分子的、根据高分子平均每1根的分子量(算术平均)所算出的分子量。数均分子量通过GPC(凝胶渗透色谱法)法求出。

[0067] 本说明书中,“重均分子量(M_w)”是基于重量分数来算出的平均分子量,是不以聚合物的根数而是以“重量分子量×根数”为指标的平均值。重均分子量通过GPC法求出。

[0068] 本说明书中,“分子量分布”指高分子的分子量及聚合度的分布程度,即偏差程度,其通过GPC法求出。分子量分布以重均分子量M_w与数均分子量M_n的比率(M_w/M_n)值来表示。在分子量分布为1.0~1.5的情况下,判断为实质上的单分散。分子量分布通过GPC法求出。

[0069] 本说明书中,“流体力学直径”是指根据颗粒的运动速度来推定的颗粒尺寸。流体力学直径d可以通过采用荧光相关光谱法来测定扩散时间并采用爱因斯坦-斯托克斯关系式(下记数学式(1))来算出。本说明书中,“流体力学直径”与“颗粒尺寸”用作同样含义。

[0070] $d=kT/3\pi\eta_0 D$数学式(1)

[0071] (k:玻尔兹曼常数,T:绝对温度,η:溶剂粘度,D:平移扩散系数)

[0072] [单一高分子颗粒]

[0073] 本发明的单一高分子颗粒的特征在于,各个颗粒由单一高分子形成,分子量分布M_w/M_n为1.5以下。由此能够获得流体力学直径得以了准确控制的颗粒。

[0074] 视生物体中摄入的颗粒的尺寸,生物体中存在控制颗粒在生物体内的动态的机制,例如存在使一定尺寸以下的颗粒穿行但阻止超过一定尺寸的颗粒穿行的机制。而通过使用本发明的单一高分子颗粒,能按照目的来准确控制颗粒在体内的动态。通过使用本发明的单一高分子颗粒,能够实现在例如以下用途等上的利用:造影剂的用途;调整本发明的单一高分子颗粒的尺寸来防止单一高分子从血管漏出的用途;促进肾排出以尽早从生物体内排出的用途;避开肾排出以实现生物体内滞留的用途;用作能够递送至组织深部的单一高分子颗粒的用途;用来对生物体组织进行成像的用途;用来计测生物体组织的尺寸或描绘微细结构的用途;与药物结合了的具有合适的流体力学直径或尺寸的单一高分子颗粒或活性分子复合物在治疗上的用途;将活性分子复合物输送至生物体内目标位置的用途。

[0075] 关于上述利用的例子,可举出以下具体例。

[0076] •能够将造影剂中使用的Gd离子与颗粒结合,从而有效地仅向靶部位递送,由此避免因从血管的滤出而造成的影响、对脑等其他组织部位造成的毒性。

[0077] •能够制备可开肾排出且具有特定尺寸(数nm~数十nm)的颗粒,该颗粒通过该特定尺寸而能够递送到凭以往胶束等的尺寸(数十nm~数百nm)所不能递送到达的炎症部位或癌组织深部。

[0078] •能够使用尺寸得到了准确控制的颗粒来描绘组织的微细结构,并根据该结果,将与药物结合了的具有合适尺寸的颗粒(活性分子复合物)运用到治疗上,从而实现有效的治疗。

[0079] 本发明的单一高分子颗粒的分子量分布为1.5以下。上限值优选为1.4以下,更优选为1.3以下,进一步优选为1.2以下。通过使单一高分子颗粒的分子量分布在上述范围内,能够得到流体力学直径得以了更准确控制的颗粒。

[0080] 本发明的单一高分子颗粒的流体力学直径视单一高分子颗粒的用途而不同,但例如可为1~100nm。单一高分子颗粒的流体力学直径可以通过控制单一高分子的分子量来控制。如后所述,单一高分子的分子量可以通过控制亲水性高分子A及亲水性高分子B的分子量、和/或亲水性高分子B的结合数量来控制。

[0081] 另外,在上述的单一高分子颗粒的用途例中,本发明的单一高分子颗粒若是例如用作造影剂,则其流体力学直径优选为0.5nm以上,更优选为1nm以上。

[0082] 若是在防止从血管漏出的用途上的利用,则其流体力学直径优选为2nm以上,更优选为3nm以上。

[0083] 另外,若是在使肾排出以尽早从生物体内排出的用途上的利用,则其流体力学直径优选小于5nm。

[0084] 另外,若是在避开肾排出以使单一高分子颗粒滞留在生物体内的用途上的利用,则其流体力学直径优选为5nm以上,更优选为6nm以上。

[0085] 另外,若是用作能够递送至组织深部的单一高分子颗粒,则优选更小的直径,优选为100nm以下,更优选为30nm以下。

[0086] 单一高分子颗粒可以制备成包含多个单一高分子颗粒的单一高分子颗粒组合物。

单一高分子颗粒组合物通常包括用同一制造方法等得到的单一高分子颗粒的集合、优选各个实质相同的单一高分子颗粒的集合。单一高分子颗粒组合物的分子量分布M_w/M_n代表单一高分子颗粒组合物中的单一高分子颗粒的分子量分布。单一高分子颗粒组合物中的各构成要素所涉及的优选范围与单一高分子颗粒所涉及的优选范围同样。

[0087] 以下,首先对构成单一高分子颗粒的各成分进行详细说明。

[0088] (单一高分子)

[0089] 本发明的单一高分子颗粒由单一高分子形成。单一高分子优选是主要由亲水性单元形成的高分子,更优选是仅由亲水性单元形成的高分子。单一高分子优选不具有疏水性单元。另外,单一高分子优选具有如下性质:分子相互间不会二次缔合,从而在水性溶剂中以单一高分子链的方式存在。

[0090] 单一高分子没有特别限制,可以是仅由单一的亲水性高分子A构成的结构物,或者是单一的亲水性高分子A上结合了1个以上的作为侧链的亲水性高分子B而成的结构物。从以更宽广的范围来准确设定分子尺寸的观点看,在单一的亲水性高分子A上结合了1个以上的作为侧链的亲水性高分子B而成的结构物为优选。

[0091] 所述单一高分子若是在由单一的亲水性高分子A构成的主链上结合有1个以上的作为侧链的亲水性高分子B而成的结构物,则所述亲水性高分子B优选具有特定的分子量。关于单一高分子的结构,例如具有接枝共聚物的结构,该接枝共聚物是以1根高分子为基干并在该基干上接枝其他种类高分子而成的聚合物。

[0092] 单一高分子的分子量按照单一高分子颗粒的使用目的合适设定,优选为1~2000kDa。作为下限值,更优选为2kDa以上,进一步优选为5kDa以上。作为上限值,优选为1750kDa以下,更优选为1500kDa以下。通过控制单一高分子的分子量,能够控制单一高分子颗粒的流体力学直径。

[0093] 关于单一高分子的分子量的控制方法的具体例子,例如可以举出以下方法等:通过接枝共聚合成、活性聚合或开环聚合来得到分子量分布窄的高分子,或者在制得后通过分馏来得到具有合适分子量的分馏物。

[0094] <亲水性高分子A>

[0095] 亲水性高分子A形成单一高分子的主链。亲水性高分子A例如具有直链状或分枝状的构造。优选具有直链状的构造。亲水性高分子A没有特别限制,但优选为主要由直链状构造构成的高分子,更优选为仅由直链状构造构成的高分子。作为具体的亲水性高分子A,其只要是亲水性高分子,则没有特别限制,优选是生物相容性高分子。作为这样的生物相容性高分子,例如可以举出多肽、多糖、乙烯系高分子、聚醚系高分子、聚酯系高分子、聚噁唑啉、多核苷酸等。其中,从分子量的控制容易性的观点看,优选为多肽或聚氨基酸,更优选为聚天冬氨酸、聚谷氨酸、聚赖氨酸。

[0096] 亲水性高分子A的分子量分布没有特别限制,但优选为1.5以下。作为上限值,更优选为1.4以下,进一步优选为1.3以下,更进一步优选为1.2以下。通过使亲水性高分子A的分子量分布在上述范围,能够更好地控制单一高分子颗粒的分子量分布。由于单一高分子颗粒的分子量分布较大地受到单一高分子主链即亲水性高分子A的分子量分布的影响,因此亲水性高分子A的分子量分布的控制很重要。

[0097] 亲水性高分子A的分子量没有特别限制,例如为1~100kDa。作为下限值,优选为

1kDa以上,更优选为2kDa以上。作为上限值,优选为80kDa以下,50kDa以下。

[0098] 从分子量的控制容易性的观点看,亲水性高分子A特别优选为:通过以α-氨基酸-N-羧酸酐为原料的开环聚合反应所合成的多肽。

[0099] <亲水性高分子B>

[0100] 亲水性高分子B作为侧链来与由亲水性高分子A构成的主链结合。亲水性高分子B的分子量分布优选为1.5以下,更优选为1.4以下,进一步优选为1.3以下,更进一步优选为1.2以下,特别优选为1.1以下。亲水性高分子B与亲水性高分子A中存在的某反应位点进行结合。

[0101] 作为具体的亲水性高分子B,其只要是亲水性高分子,则没有特别限制,优选是亲水性的生物相容性高分子。例如可以举出聚亚烷基二醇(例如碳原子数2～4)、聚乙烯醇(PVA)、聚乙烯基吡咯烷酮、聚甲基丙烯酸羟乙酯(PHEMA)、聚丙烯酸2-甲氧基乙酯(PMEA)、聚噁唑啉、羧甲基纤维素、甲基纤维素、羟乙基纤维素、羧基乙烯基聚合物等。其中,从分子量的控制容易性的观点看,优选聚乙二醇(PEG)。作为具体的聚乙二醇,例如可以举出PEG500、PEG2000、PEG5000、PEG10000、PEG20000、PEG40000、PEG80000等。

[0102] 亲水性高分子B的分子量没有特别限制,例如为0.01～1000kDa。作为下限值,优选为0.02kDa以上,更优选为0.05kDa以上,进一步优选为0.1kDa以上。作为上限值,优选为500kDa以下,更优选为200kDa以下,进一步优选为100kDa以下。

[0103] 与单一的亲水性高分子A结合的亲水性高分子B的数量没有特别限制,例如为0～200根。作为下限值,优选为0根以上,更优选为1根以上,进一步优选为3根以上。作为上限值,优选为150根以下,更优选为100根以下,进一步优选为50根以下。

[0104] [活性分子复合物]

[0105] 本发明的活性分子复合物是,将活性分子与上述的单一高分子颗粒结合而成的产物。由此,能够实现一种在生物体内的动态得以了控制的活性分子复合物。作为活性分子的结合方式,可举出共价键或离子键等。此结合方式也包括了造影剂等中所用的金属离子相对于单一高分子中螯合形成用官能团的配位。螯合形成用官能团是指,具有持孤电子对的元素(N、O、P、S等)从而该孤电子对的电子供于金属离子来形成牢固配位键的官能团。

[0106] (活性分子)

[0107] 作为活性分子,没有特别限制,可以采用在医药品、诊断药等领域中通常使用的活性分子,优选为抗体药物、低分子药物、核酸药物、放射性药剂、造影剂或发色团。

[0108] 作为抗体药物,没有特别限制,可以举出将低分子药物等药剂与相对于疾病相关分子特异性结合的抗体进行结合而成的药物,例如有以癌症或自身免疫疾病为对象的药物。

[0109] 作为用于抗体药物的抗体,没有特别限制,可以采用多克隆抗体、单克隆抗体、及它们的片段(例如,Fab、F(ab)2等)中的任一种。另外,免疫球蛋白的类别和亚类没有特别限定。另外,也可采用通过噬菌体展示法等而从抗体库中选择的抗体,还可以采用以往公知的抗体。

[0110] 作为低分子药物,没有特别限制,其主要是分子量为500以下的合成化学物质,例如可以举出抗癌剂等。

[0111] 作为核酸药物,没有特别限制,可以举出由DNA、RNA或其衍生物形成的多核苷酸或

寡核苷酸等。多核苷酸可以是单链或双链。多核苷酸可以是编码或不编码蛋白质的序列。

[0112] 作为放射性药剂,可以举出锝(^{99m}Tc)、铊(^{201}Tl)、镓(^{67}Ga)以及铟(^{111}In)、氟(^{18}F)等。在将放射性药剂用作活性分子的情况下,能通过PET(正电子断层摄影术)或SPECT(单光子发射断层摄影术)来对活性分子复合物进行成像。

[0113] 作为造影剂,可以举出钆、锰、铁、碘等。在将造影剂用作活性分子的情况下,能将活性分子复合物用于MRI(核磁共振成像法)摄像。

[0114] 作为发色团,例如可以举出异硫氰酸荧光素(FITC)。

[0115] [单一高分子颗粒的制造方法]

[0116] 本发明的单一高分子颗粒的制造方法没有特别限制,可以举出通过氨基酸与羧酸之间的缩聚来进行的合成、肽固相合成法等。在通过氨基酸与羧酸之间的缩聚来进行的合成中,优选以α-氨基酸-N-羧酸酐为原料的开环聚合反应。

[0117] 以α-氨基酸-N-羧酸酐为原料的开环聚合反应的特征在于包括以下步骤。

[0118] (i)通过以α-氨基酸-N-羧酸酐为原料的开环聚合反应,来合成直链状的亲水性高分子A的步骤。

[0119] (ii)将亲水性高分子B与所述亲水性高分子A的反应位点结合的步骤。

[0120] 通过本发明的单一高分子颗粒的制造方法,能容易地制造流体力学直径得以了更准确控制且分子量分布低的颗粒。另外,通过更严格地对制造方法的各个阶段进行控制,能够以1nm单位来调节所要制造的颗粒的流体力学直径,从而能制造具有宽广的分子量范围的单一高分子颗粒。

[0121] 步骤(i)是,通过以α-氨基酸-N-羧酸酐(也称“α-氨基酸-NCA”)为原料的开环聚合反应来合成直链状的亲水性高分子A的步骤。作为原料,可以采用α-氨基酸-N-羧酸酐或其衍生物。在氨基酸的侧链具有高反应性的官能团的情况下,从抑制副反应的观点看,该官能团优选经过了保护基的修饰。作为具体的高反应性官能团,可以举出羧基等。作为这样的具有保护基的原料,可以举出α-氨基酸-N-羧酸酐的苄酯等。

[0122] 步骤(ii)是,将作为侧链的亲水性高分子B与由所述亲水性高分子A形成的主链的反应位点结合的步骤。作为这样的反应位点,没有特别限制,优选是高反应性官能团,具体可以举出羧基等。

[0123] [生物体组织的成像方法]

[0124] 本发明的生物体组织的成像方法的特征在于,使用上述本发明的单一高分子颗粒或活性分子复合物。由此,通过对生物体组织进行摄像,能够得到更详细的组织结构信息。

[0125] 另外,通过使用尺寸即流体力学直径得以了准确控制的单一高分子颗粒等来对生物体组织进行摄像,能够描绘出组织的微细结构。同时,还可获得何种流体力学直径或尺寸能够实现向组织深部渗透的有关信息。通过基于这些结果来采用具有合适的流体力学直径或尺寸的药物,或者通过将与药物结合了的单一高分子颗粒或活性分子复合物运用到治疗上,便能实现更有效的治疗。

[0126] [肿瘤尺寸的计测方法]

[0127] 本发明的肿瘤尺寸的计测方法中,采用多种不同的尺寸即流体力学直径的单一高分子颗粒或活性分子复合物。通过采用被控制成2种以上不同流体力学直径的多种的单一高分子颗粒,来对肿瘤进行成像,能够描绘出肿瘤组织的微细结构,并且能获得何种流体力

学直径或尺寸能够实现向组织深部渗透的有关信息。此外,通过按照这些结果来采用具有合适的流体力学直径或尺寸的药物,或者将与药物结合了的单一高分子颗粒或活性分子复合物运用到治疗上,便能实现更有效的肿瘤治疗。

[0128] [肿瘤内微细结构的计测方法]

[0129] 本发明的肿瘤内微细结构的计测方法的特征在于,使用单一高分子颗粒或活性分子复合物来计测肿瘤内微细结构。在微细结构的计测方法中,不仅能够计测肿瘤整体的尺寸,还能够根据单一高分子是否能穿行的信息来计测肿瘤内微细结构。另外,按照这些结果来选择具有合适的流体力学直径或尺寸的药物,便能进行有效的治疗。

[0130] [药物递送体系]

[0131] 本发明的药物递送体系的特征在于,将单一高分子颗粒或活性分子复合物输送到生物体内的目标位置。如上所述,视生物体中摄入的颗粒的尺寸,生物体中存在控制颗粒在生物体内的动态的机制,例如存在使一定尺寸以下的颗粒穿行但阻止超过一定尺寸的颗粒穿行的机制。通过控制本发明的单一高分子颗粒的尺寸,本发明的药物递送体系能按照目的来准确控制颗粒在体内的动态。

[0132] [造影剂试剂盒]

[0133] 本发明的造影剂试剂盒的特征在于,包含多种不同的尺寸即流体力学直径的活性分子复合物。通过采用被控制成2种以上不同流体力学直径的多种的单一高分子颗粒,能获得何种流体力学直径或尺寸能够实现向组织深部渗透的有关信息。另外,按照这些结果来采用具有合适的流体力学直径或尺寸的药物,便能实现有效的治疗。

[0134] 〔实施例〕

[0135] 以下,对本发明的实施例进行说明,但本发明并不仅限于这些实施例,能在本发明的技术思想范围内可以进行各种变形。

[0136] (原材料)

[0137] 下述实施例中所用的原料如表1所示。这里,关于原材料中的正丁胺、N,N-二甲基甲酰胺、二氯甲烷,使用的是通过氢化钙蒸馏后的原材料。

[0138] [表1]

[0139]

化合物名(产品名)	制造、销售者
正丁胺	富士胶片和光纯药株式会社
N,N-二甲基甲酰胺	富士胶片和光纯药株式会社
二氯甲烷	富士胶片和光纯药株式会社
β-苄基-L-天冬氨酸N-羧酸酐	中央化成品株式会社
甲氧基PEG2000(MEPA-20H)	日油株式会社
甲氧基PEG5000(MEPA-50H)	日油株式会社
甲氧基PEG12000(MEPA-12T)	日油株式会社
甲氧基PEG20000(MEPA-20T)	日油株式会社
1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐	富士胶片和光纯药株式会社
N-羟基琥珀酰亚胺	富士胶片和光纯药株式会社
二乙醚	富士胶片和光纯药株式会社
乙腈	富士胶片和光纯药株式会社

氢氧化钠	富士胶片和光纯药株式会社
叠氮基-PEG4-胺	東京化成工业株式会社
碳酸氢钠	富士胶片和光纯药株式会社
Sulfo-Cy5-DBCO	Lumiprobe公司
D-PBS(-)	富士胶片和光纯药株式会社

[0140] 1.实验1合成由聚天冬氨酸构成的主链

[0141] (1)聚天冬氨酸(PAsp)的合成

[0142] 通过以下的步骤,合成了由聚天冬氨酸(PAsp)构成的主链。

[0143] 将1000mg的β-苄基-L-天冬氨酸N-羧酸酐(NCA-BLA)称取到圆底烧瓶中,并使其溶解在了10mL的N,N-二甲基甲酰胺(DMF)中。在另一个圆底烧瓶中,加入了用二氯甲烷将正丁胺稀释100倍而得的稀释溶液360μL、以及10mL的DMF,并混合。在该正丁胺溶液中将NCA-BLA溶液全部加入,并在35℃下搅拌了5天。这里,上述所有的反应均是在氩气气氛下进行的,所用的有机溶剂均是经蒸馏后使用的。反应后,将反应液滴加到400mL的二乙醚中,从而使聚天冬氨酸-β-苄酯(PBLA)沉淀。然后,通过抽滤回收了沉淀物,并进行了减压干燥。对于得到的PBLA,通过GPC法进行分子量分布的解析,并通过NMR法测定了分子量和聚合度。测定结果如表2所示。

[0144] [表2]

[0145]

	分子量(kDa)	分子量分布(M_w/M_n)	聚合度
PBLA	13.5	1.170	117

[0146] 接着,将100mg的PBLA悬浮于4mL的乙腈中后,添加4.9mL的0.5M氢氧化钠水溶液,在室温下反应过夜,由此将苄基从PBLA脱保护。然后,向透析膜(截留分子量:6000～8000)加入了反应液,作为外液,用纯水透析了2次,又用0.01M盐酸透析了2次,再用纯水透析了2次(每次2小时以上),通过冷冻干燥,得到了聚天冬氨酸(PAsp)。

[0147] (2)向聚天冬氨酸的侧链羧酸基导入叠氮基

[0148] 为了通过荧光相关光谱法来测定流体力学直径,按照以下步骤,向PAsp的侧链羧酸基导入了叠氮基。

[0149] 称取聚天冬氨酸10mg,将其添加于2.5mL的50mM碳酸氢钠来溶解。接着,添加了用DMF调整到了30μM浓度的叠氮基-PEG4-胺289.6μL,再添加了27mg的1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(EDC),在室温下搅拌了3小时。然后,向透析膜(截留分子量:6000～8000)加入了反应液,作为外液,用纯水透析了2次,又用0.01M盐酸透析了2次,再用纯水透析了2次(每次2小时以上),通过冷冻干燥,得到了侧链上导入有一部分叠氮基的聚天冬氨酸(PAsp(N_3))。得到的PAsp(N_3)的叠氮基的导入率通过NMR法来算出。实验结果如表3所示。

[0150] [表3]

[0151]

	叠氮基的导入率(%)	叠氮基的导入数
Pasp(N_3)	11%	13

[0152] 2.实验2合成单一高分子

[0153] (1)向PAsp(N_3)导入侧链(侧链:PEG2000、PEG5000、PEG12000)

[0154] 按照以下步骤,向由PAsp(N_3)构成的主链导入PEG2000、PEG5000及PEG12000中的

任意者来作为侧链,由此制造了单一高分子。

[0155] 分别称取2mg的在实验1中合成的PAsp(N_3)并将其溶解在了1mL的DMF中。在其他样品瓶中,将甲氧基PEG2000、甲氧基PEG5000、甲氧基PEG12000以达到50mg/mL浓度的方式溶解于DMF中,将该溶液以相对于PAsp(N_3)的羧基为2当量的方式添加至PAsp(N_3)溶液中。接着,以相对于PAsp(N_3)的羧基为5当量的方式添加了EDC,搅拌了3小时。采用GPC法,测定了各PEG的峰面积相较于初始值的减少量,由此算出了向PAsp(N_3)导入的PEG的根数。

[0156] GPC的结果示于表4。这里,以下将接枝有PEG侧链的PAsp写作PAsp-g-PEGXX("XX"代表PEG侧链的分子量)。

[0157] (2)向PAsp(N_3)导入侧链(侧链:PEG20000)

[0158] 按照以下步骤,向由PAsp(N_3)构成的主链导入作为侧链的PEG20000,PEG20000,由此制造了单一高分子。

[0159] 分别称取2mg的PAsp(N_3)并将其溶解在了1mL的DMF中。在其他样品瓶中,将PEG20000以达到50mg/mL浓度的方式溶解于DMF中,将该溶液以相对于PAsp(N_3)的羧基为2当量的方式添加至PAsp(N_3)溶液中。接着,以相对于PAsp(N_3)的羧基为1.2当量的方式添加了以25mg/mL浓度溶解在DMF中的NHS,然后以相对于PAsp(N_3)的羧基为0.95当量的方式加入了EDC,搅拌了3小时。采用GPC法,测定了各PEG的峰面积相较于初始值的减少量,由此算出了向PAsp(N_3)导入的PEG的根数。测定结果如表4所示。

[0160] [表4]

[0161]

	侧链的导入根数
PAsp-g-PEG2000	80
PAsp-g-PEG5000	74
PAsp-g-PEG12000	60
PAsp-g-PEG20000	66

[0162] 合成了各PAsp-g-PEG后,为了除去未反应的PEG,通过GPC来进行了分留,然后向透析膜(截留分子量:6000~8000)加入了反应液,作为外液,用10mM磷酸缓冲液透析了3次,再用纯水透析了3次,通过冷冻干燥得到了PAsp-g-PEG粉体。

[0163] (3)向各PAsp-g-PEG导入荧光色素(该操作供后述荧光相关光谱法下的尺寸测定(以及体内的动态的测定)所用,并非必须)。

[0164] 为了通过荧光相关光谱法来进行尺寸测定,按照以下步骤,向各PAsp-g-PEG导入了荧光色素(sulfo-Cy5-DBCO)。

[0165] 将PAsp-g-PEG以达到25mg/mL浓度的方式溶解在了纯水中。将sulfo-Cy5-DBCO以达到25mg/mL浓度的方式溶解至DMSO中,并加入了相对于PAsp-g-PEG的侧链的叠氮基为1当量的sulfo-Cy5-DBCO。将混合好的溶液在-20℃下冷冻后又将其在+4℃的冰箱内融解,该操作反复了3次。然后,为了除去未反应的sulfo-Cy5-DBCO,用PD-10管柱进行了提纯,通过冷冻干燥来回收了产物。

[0166] 3.实验3测定PAsp-g-PEG的物性

[0167] (1)各PAsp-g-PEG的流体力学直径的评价

[0168] 用D-PBS(-),将标记有Sulfo-Cy5的各PAsp-g-PEG稀释至2nM,采用荧光相关光谱法测定了扩散时间,并且用爱因斯坦-斯托克斯关系式算出了流体力学直径。其中,将Cy5用

作了扩散系数计算上的标准物质。荧光相关光谱法的测定结果示于表5。

[0169] (2)各PAsp-g-PEG的分子量

[0170] 在由NMR测定法测得的主链分子量的基础上,按照侧链的导入根数,加算了由TOF-MS法测得的PEG分子量,将算出的值作为了单一高分子整体的分子量。结果示于表5。

[0171] (3)各PAsp-g-PEG的分子量分布的测定

[0172] 通过GPC(凝胶渗透色谱法)测定了各PAsp-g-PEG的分子量分布(Mw/Mn)。试验结果如表5和图2所示。

[0173] [表5]

[0174]

	分子量(kDa)	分子量分布(M_w/M_n)	平均流体力学直径(nm)
PAsp-g-$PEG_{2,000}$	176.9	1.181	11.0±0.3
PAsp-g-$PEG_{5,000}$	384.2	1.190	15.0±0.3
PAsp-g-$PEG_{12,000}$	735.4	1.268	21.8±0.9
PAsp-g-$PEG_{20,000}$	1339.7	1.270	31.7±1.9

[0175] 如以上实验结果所示,合成出了分子量分布窄且流体力学直径得以了控制的单一高分子。在分子量分布数据以及图2所示的GPC结果中也得到了单一的峰,这表明各PAsp-g-PEG的分子量分布较窄。

[0176] 4.实验4血中滞留性的评价

[0177] 合成了分子量被控制在10kDa～750kDa的单一高分子,并采用由合成的单一高分子所构成的单一高分子颗粒来评价了血中滞留性。

[0178] 合成了聚L-天冬氨酸,并按照与上述实验1～3同样的步骤,合成了在聚L-天冬氨酸上以任意数量结合有分子量2000的PEG的单一高分子。其分子量是通过结合的PEG的根数来控制的。评价了流体力学直径,以及采用经荧光标记化后的高分子来评价了血中滞留性。

[0179] 如图3所示可知,通过调整分子量,能够获得流体力学直径被以1nm单位精准控制在4～25nm范围内的一系列高分子。

[0180] 如图4所示,根据血中滞留试验的结果可知,流体力学直径6nm的高分子很快就会从血中消失,而流体力学直径19nm以上的高分子表现出血中半衰期为4天的长期血中滞留性。

[0181] 5.实验5采用肌营养不良模型小鼠来评价单一高分子颗粒在体内的动态

[0182] 向肌营养不良模型小鼠,静脉投药了经荧光标记化后的单一高分子颗粒,并于48小时后评价了体内分布情况。关于单一高分子颗粒,使用了实验4中合成的具有4nm、10nm、13nm、15nm、22nm流体力学直径的各颗粒,并将之与实验1、2同样地进行了荧光标记化。尤其关于流体力学直径为4nm的单一高分子颗粒,其由于具有与siRNA同等的流体力学直径,因此作为核酸药物模型来进行了评价。实验结果如图5和表6所示。

[0183] [表6]

[0184] 单位:剂量%/g

[0185]

	脾脏	肾脏	肝脏	心脏	横膈膜	骨骼肌	血液
4nm	0.504±0.434	33.947±7.698	8.384±0.987	0.387±0.128	0.468±0.105	0.290±0.152	(-0.711)±0.027
10nm	6.331±1.428	2.062±0.314	6.023±0.841	1.724±0.103	0.788±0.127	3.249±1.202	6.022±0.841
13nm	8.576±0.922	1.432±0.424	4.423±0.186	1.675±0.286	0.932±0.119	3.447±1.097	14.540±2.954
15nm	9.776±4.879	1.253±0.470	5.504±0.927	2.316±0.176	1.035±0.189	2.699±0.303	19.463±0.388

22nm	11.966±1.954	1.075±0.093	4.206±1.148	0.912±0.187	0.663±0.219	1.979±0.144	17.073±2.949

[0186] ※平均值±SD

[0187] 如图5、表6所示,当尺寸(流体力学直径)与核酸药物同等时,向肾脏的聚集量在肾排出上游处较大,而与此相比,10nm以上的高分子向肾脏的聚集有大幅降低。另外,10nm以上的高分子体向作为靶的肌肉组织的聚集量有所增大,可见高分子缀合物的效果良好。

[0188] 6.实验6肠癌皮下移植模型小鼠的癌造影效果的评价

[0189] 向实验4中合成的具有12nm流体力学直径的单一高分子结合了DOTA络合物以及载持了Gd。评价了其在0.47T下的弛豫,并与临床常用的Gd造影剂Magnescope(Gd-DOTA)的弛豫进行了比较。对肠癌皮下移植模型小鼠进行了静脉投药,以1T-MRI来评价了癌造影效果。实验结果如表7和图7、8所示。另外,对于每种造影剂,分析了其对癌的造影效果与其对肌肉的造影效果之间的比值(Tumor/muscle ratio;肿瘤/肌肉比),结果如表6所示。

[0190] [表7]

[0191]

	$r_1(mM^{-1}\cdot sec^{-1})$	$r_2(mM^{-1}\cdot sec^{-1})$	r_1/r_2
Magnescope	3.72	4.68	0.795
单一高分子造影剂	9.56	10.5	0.903

[0192] 根据表7所示的弛豫测定结果可知,实现了高于Magnescope的弛豫(r_1)、以及较高的阳性效果(r_1/r_2)。关于癌造影效果,如图7、8所示,现有的Magnescope的造影效果非常有限,而单一高分子造影剂实现了癌造影强度的增强以及癌全体的造影。另外,在用单一高分子造影剂进行了造影的24小时后,观察到更高的造影效果(Tumor/muscle ratio为1.5左右)。

[0193] 7.实验7侧链导入根数和高分子颗粒的分子量及造影效果的评价

[0194] 遵循实验2,将PEG2000以不同浓度来与PAsp主链反应,合成了侧链导入根数为2~18的5种带有PEG侧链的高分子。遵循实验3来测定了分子量。

[0195] 接着,向这些高分子附加了DOTA络合物以及载持了Gd。与实验6同样地,评价了它们在0.47T下的弛豫,并与临床常用的Gd造影剂Magnescope(Gd-DOTA)的弛豫进行了比较。结果示于表8。

[0196] [表8]

[0197]

物料	分子量	PEG 导入根数	DOTA 络合物导入根数	弛豫		阳性效果
	(k Da)	Asp-g-PEG	Asp-g-DOTA	$r_1(mM^{-1}\cdot sec^{-1})$	$r_2(mM^{-1}\cdot sec^{-1})$	r_1/r_2
接枝物 A	28.7	2	19	26.0	27.0	0.96
接枝物 B	36.1	5	21	26.2	27.1	0.97
接枝物 C	34.4	7	12	31.8	32.9	0.97
接枝物 D	43.2	10	16	25.6	28.7	0.89
接枝物 E	66.1	18	26	21.9	23.6	0.93
Magnescope				3.72	4.68	0.80

[0198] 根据表8所示的弛豫测定结果可知,通过恰当选择侧链及其导入根数、以及分子量,实现了相较于目前临床采用的Magnescope大幅提高了5.9~8.5倍的弛豫以及迄今未发现的0.97这一极高的阳性效果(r_1/r_2)。通过适当的分子设计,起到了造影时能获得更高对比度并能以更少投药量获得同程度的对比度的效果。

[0199] 8.实验8癌微细结构的精准MRI图像的获取

[0200] 采用实验6中所用的流体力学直径12nm的载持了Gd络合物的单一高分子颗粒,评价了其对患者来源肿瘤(PDX)模型(肠癌皮下移植模型小鼠)的癌造影效果。

[0201] 实验中,对PDX肠癌皮下移植模型小鼠进行了静脉投药,于24小时后评价了癌造影效果。

[0202] 如图9所示,在使用与流体力学直径12nm的单一高分子颗粒结合了的造影剂来进行MRI摄像的情况下,显示出了造影剂多量存在的部位和不存在造影剂的部位。这说明存在流体力学直径12nm的单一高分子颗粒能够浸入的部位和不能浸入的部位,这可以认为其反映出了癌微细结构。图中箭头表示造影剂尤其更多存在的高信号部位(白色部位)。

[0203] 上述结果说明能通过改变高分子造影剂的尺寸来将之用作标尺,从而测定微细结构(癌组织内的空隙)。这意味者能够区分地使用与测得的微细结构相应的尺寸的纳米药物。

[0204] 这表示本发明的单一高分子颗粒的技术使得与各种癌症最适的尺寸的纳米药物的选择成为了可能。

[0205] (产业上的可利用性)

[0206] 本发明的组合物能够用来提供:流体力学直径得以了更准确控制的单一高分子颗粒、活性分子复合物、单一高分子颗粒的制造方法、以及生物体组织的成像方法。

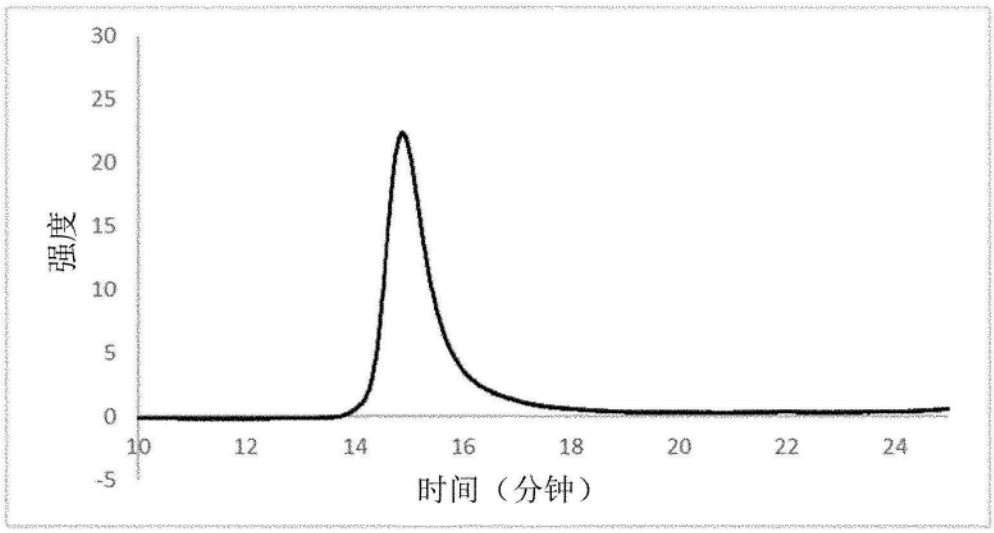


图1

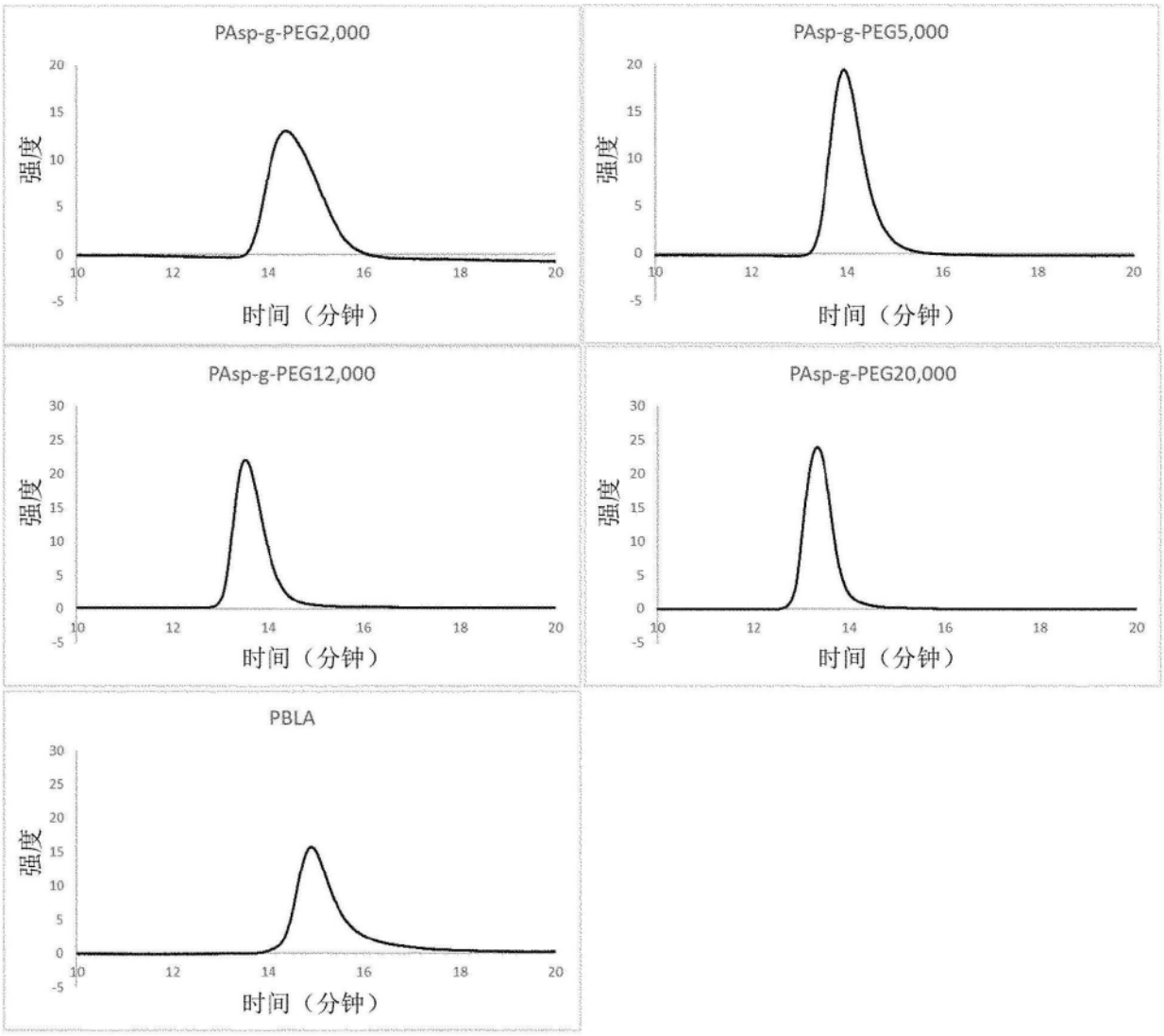

PAsp-g-PEG2,000
PAsp-g-PEG5,000
PAsp-g-PEG12,000
PAsp-g-PEG20,000
PBLA
强度
时间（分钟）

图2

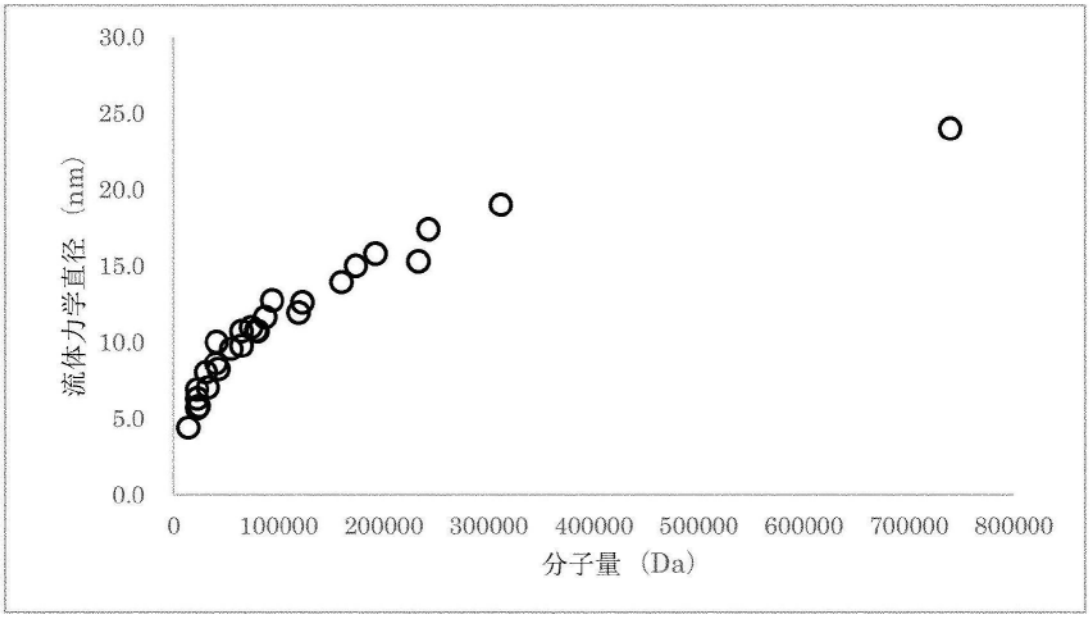

30.0
25.0
20.0
15.0
10.0
5.0
0.0
流体力学直径（nm）
0
100000
200000
300000
400000
500000
600000
700000
800000
分子量（Da）

图3

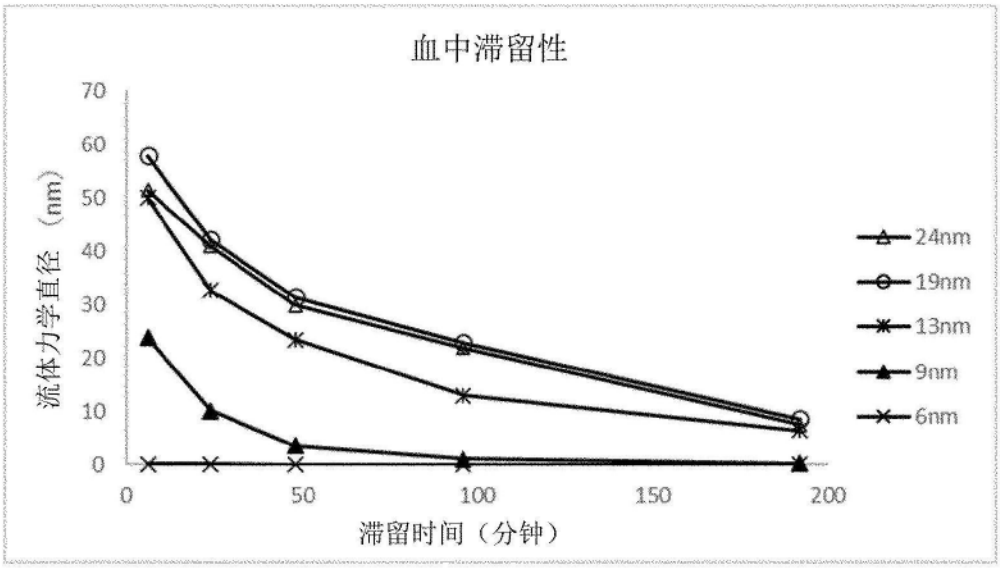

血中滞留性
70
60
50
40
30
20
10
0
流体力学直径（nm）
0
50
100
150
200
滞留时间（分钟）
24nm
19nm
13nm
9nm
6nm

图4

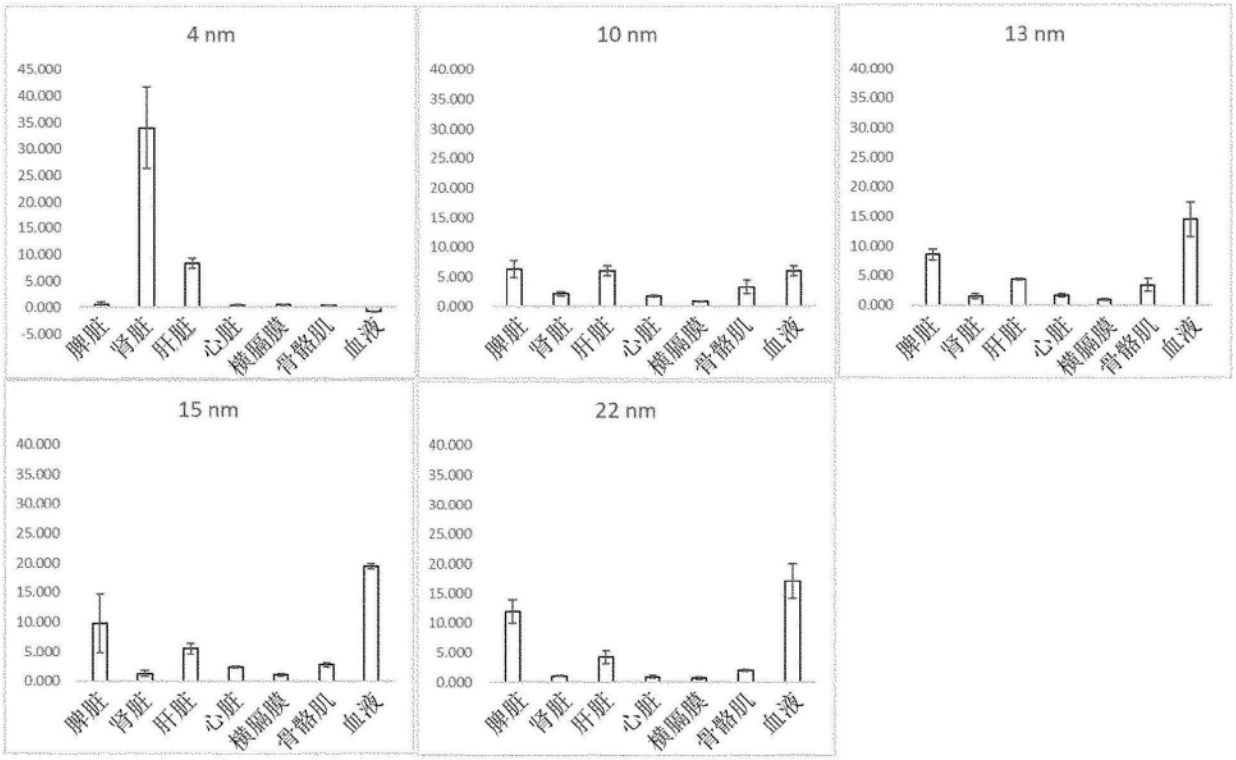

4 nm
10 nm
13 nm
15 nm
22 nm
脾脏
肾脏
肝脏
心脏
横膈膜
骨骼肌
血液

图5

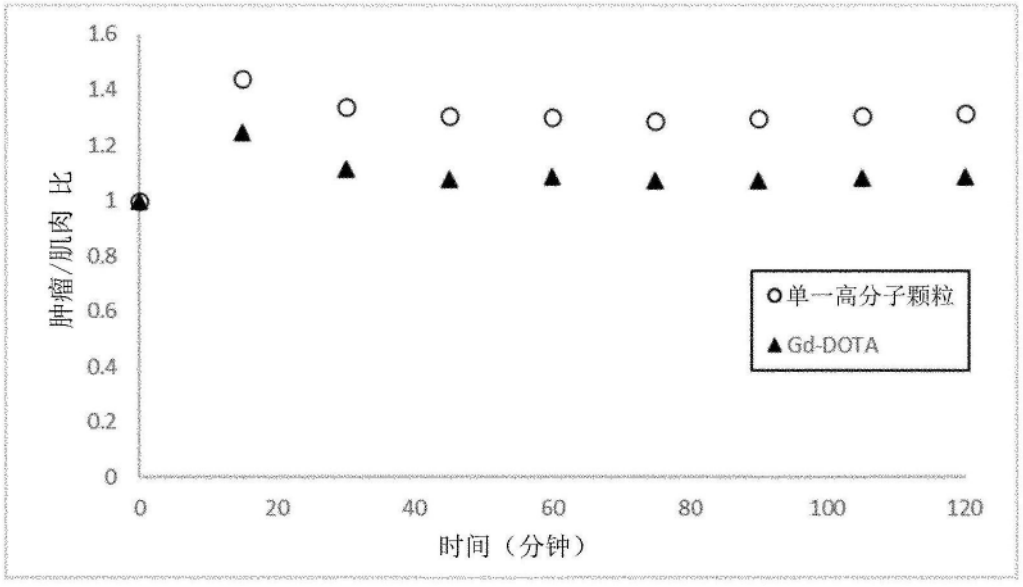

肿瘤/肌肉 比
时间（分钟）
单一高分子颗粒
Gd-DOTA

图6

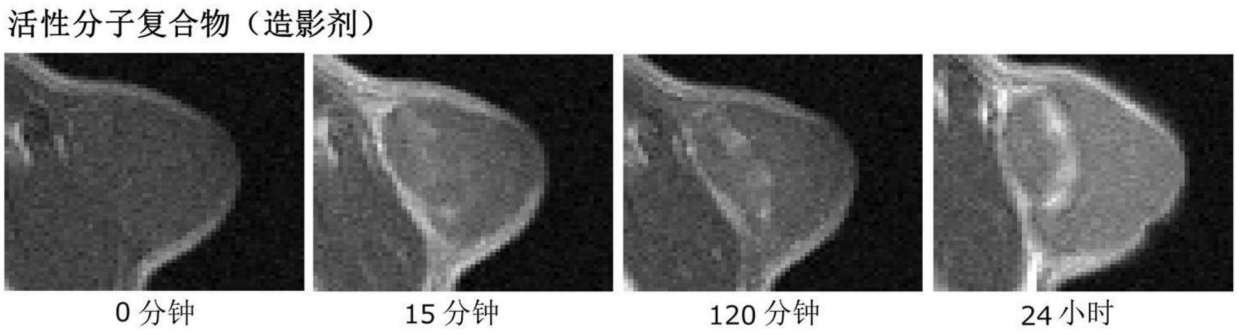

活性分子复合物（造影剂）
0 分钟
15 分钟
120 分钟
24 小时

图7

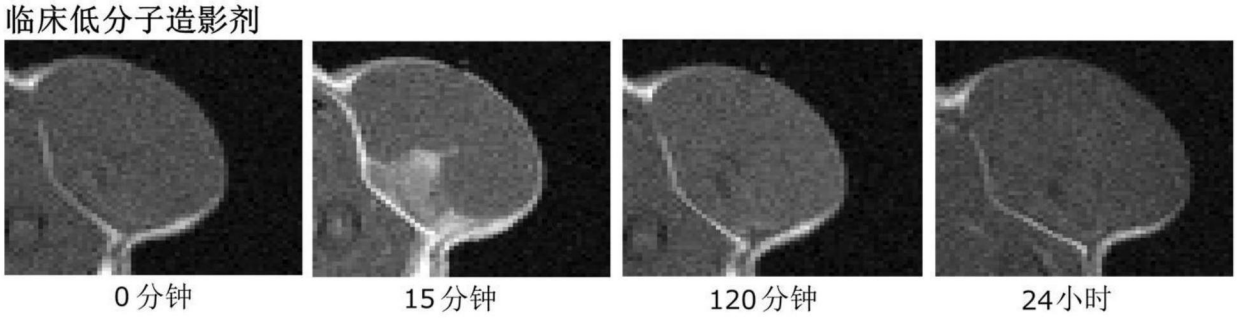

临床低分子造影剂
0 分钟
15 分钟
120 分钟
24 小时

图8

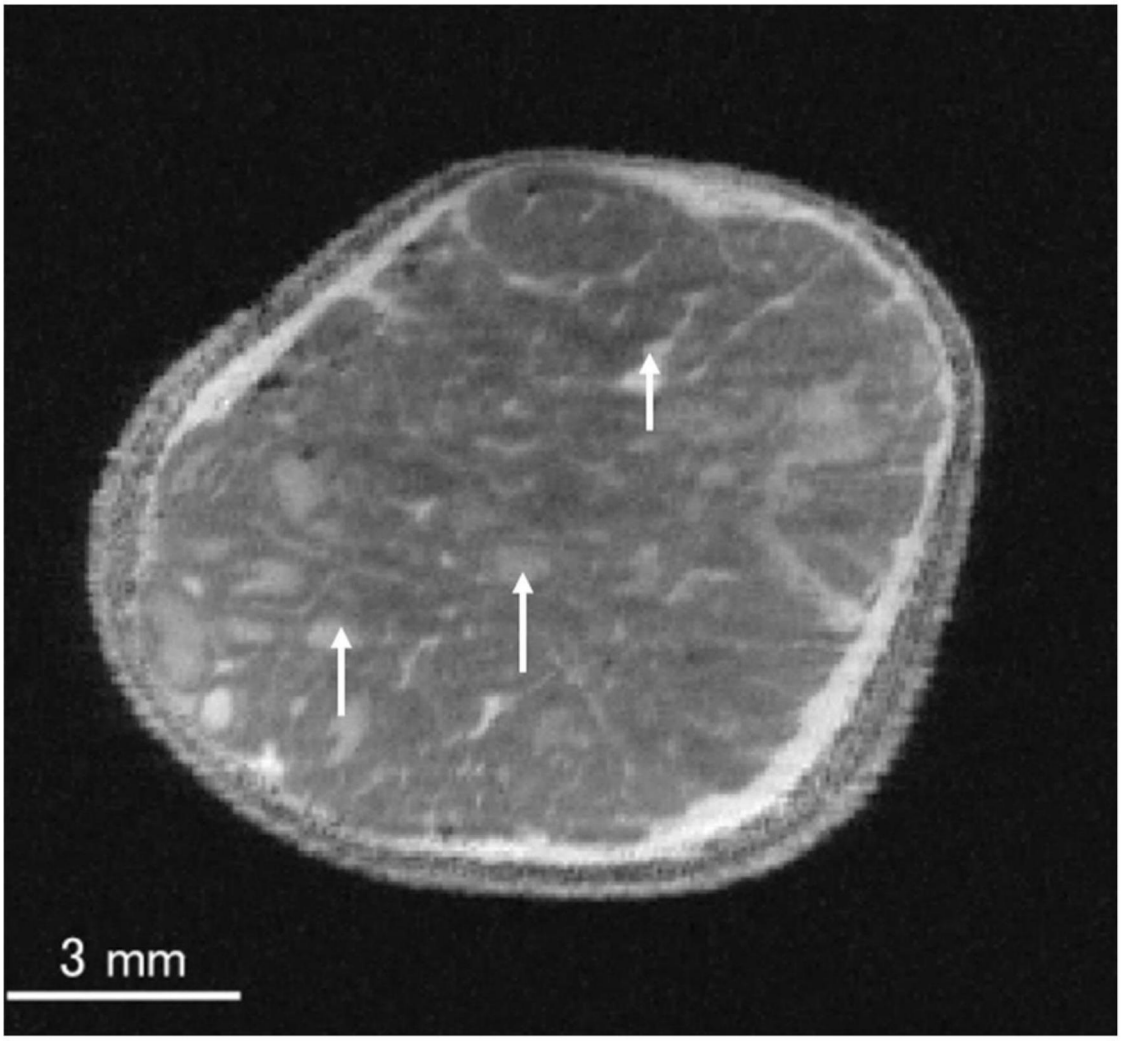


图9