

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2020年6月11日(11.06.2020)



(10) 国際公開番号

WO 2020/116635 A1

(51) 国際特許分類:

A61P 35/00 (2006.01) *A61K 47/59* (2017.01)
A61K 9/10 (2006.01) *A61K 47/69* (2017.01)
A61K 9/14 (2006.01) *A61K 38/12* (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2019/047900

(22) 国際出願日: 2019年12月6日(06.12.2019)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:

特願 2018-229598 2018年12月7日(07.12.2018) JP

(71) 出願人: 国立大学法人 東京大学 (THE UNIVERSITY OF TOKYO) [JP/JP]; 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: カブラル オラシオ (CABRAL, Horacio); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 宮崎 拓也 (MIYAZAKI, Takuya); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). ファン ジョージ (HUANG, George); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP).

タオ アンキ (TAO, Anqi); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP). 立原 義弘 (TACHIYARA, Yoshihiro); 〒1138654 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内 Tokyo (JP).

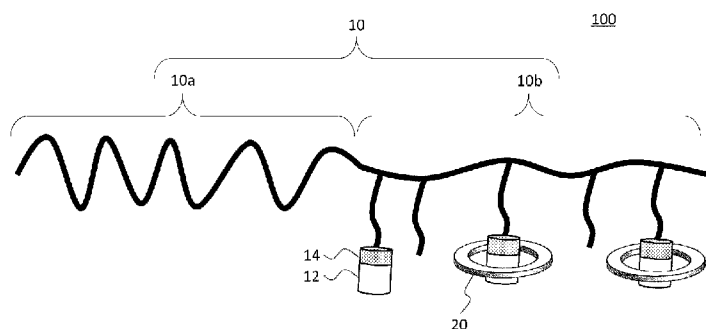
(74) 代理人: 靱 井 孝 文 (MOMII, Takafumi); 〒5300004 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目4番4号 アクア堂島東館7階 Osaka (JP).

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

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM,

(54) Title: DELIVERY OF CYCLIC COMPOUND BY USING CARRIER

(54) 発明の名称: 輸送担体を用いた環状化合物の送達



(57) Abstract: The present invention provides a drug delivery system for delivering a cyclic compound to target cells or tissue while suppressing the pharmacological activity. Provided is a complex of a cyclic compound and a carrier having a shaft portion for holding the cyclic compound, wherein the complex is formed through inclusion of the shaft portion in the cyclic compound.

(57) 要約: 本発明は、環状化合物を、その薬理活性を抑制しつつ、目的の細胞又は組織まで送達する薬物送達システムを提供する。本発明によれば、環状化合物と該環状化合物を担持するための軸部を有する輸送担体との複合体であって、該軸部が該環状化合物に包接されることによって複合体化している、複合体が提供される。

[続葉有]



WO 2020/116635 A1

ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類：

- 一 国際調査報告（条約第21条(3)）

明 細 書

発明の名称： 輸送担体を用いた環状化合物の送達

技術分野

[0001] 本発明は、環状化合物と該環状化合物を担持するための軸部を有する輸送担体との複合体に関する。

背景技術

[0002] 従来、薬物の徐放、血中安定性の向上、可溶化、副作用の低減等を目的として、種々の薬物送達システム（DDS）が開発されている（例えば、特許文献1、2）。

[0003] また近年、タンパク質に結合して不活性化する阻害能を有する環状化合物が薬物として研究されている。環状化合物は、直鎖状化合物と比べて立体的に構造が決定されることから、タンパク質の結合部位に作用しやすく、その結果、タンパク質に対する高い選択性及び阻害能を示すとの報告がなされている（非特許文献1）。また、環状化合物は、一般に、低分子薬物と生体分子薬物との中間である500～2000の分子量を有し、低分子薬物の特徴である膜透過性及び生体分子薬物であるタンパク質の選択的結合性の2つを併せ持つことから、広い適用範囲が期待される。その一方で、環状化合物は水に難溶であり、また、従来の輸送担体との結合に適した官能基を有さない場合が多い。

[0004] よって、環状化合物を可溶化し、非共有結合によりその薬理活性を抑制しつつ、目的の細胞又は組織まで送達する薬物送達システムの開発が求められている。

先行技術文献

特許文献

[0005] 特許文献1：WO2006/085664 A1

特許文献2：WO2009/157279

非特許文献

[0006] 非特許文献1: F. Albericio, et al. Future Med. Chem., 4 (2012) 1527-1531

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0007] 本発明は、上記課題を解決するためになされたものであり、その主たる目的は、環状化合物を、その薬理活性を抑制しつつ、目的の細胞又は組織まで送達する薬物送達システムを提供することにある。

課題を解決するための手段

[0008] 本発明の1つの局面によれば、環状化合物と該環状化合物を担持するための軸部を有する輸送担体との複合体であって、該軸部が該環状化合物に包接されることによって複合体化している、複合体が提供される。

1つの実施形態においては、上記輸送担体が、側鎖を有するポリマーであり、少なくとも1つの側鎖が、上記軸部を有する。

1つの実施形態においては、上記ポリマーが、親水性ポリマーセグメントと疎水性ポリマーセグメントとを有し、該疎水性ポリマーセグメントの側鎖が、上記軸部を有する。

1つの実施形態においては、上記軸部と上記ポリマー主鎖との間に、生体内で開裂し得る結合が存在している。

1つの実施形態においては、上記輸送担体が、上記軸部と、その両端に配置されて上記環状化合物が上記軸部から脱離することを防止する蓋部と、を有する。

1つの実施形態においては、上記蓋部が、親水性ポリマーを含む。

1つの実施形態においては、上記軸部と上記蓋部との間に、生体内で開裂し得る結合が存在している。

1つの実施形態においては、上記軸部が、ヒドララジン、ジヒドララジン、1-ナフチルヒドララジンおよびジエチレントリアミンから選択される少なくとも1種の残基である。

1つの実施形態においては、上記環状化合物が、バリノマイシン、バシト

ラシンおよびエリスロマイシンから選択される少なくとも1種である。

本発明の別の局面によれば、上記複合体を含む、ポリマー粒子組成物が提供される。

発明の効果

[0009] 本発明においては、環状化合物を担持するための軸部を有する輸送担体を用い、環状化合物に該軸部を包接させて複合体化することによって、環状化合物を、その薬理活性を抑制しつつ、目的の細胞又は組織まで送達することができる。

図面の簡単な説明

[0010] [図1]第1の実施形態における複合体を説明するイメージ図である。

[図2]第2の実施形態における複合体を説明するイメージ図である。

[図3A]¹H-NMRによるバリノマイシンとヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図3B]¹H-NMRによるバリノマイシンとヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図3C]¹H-NMRによるバリノマイシンとヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図3D]¹H-NMRによるバリノマイシンとヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図3E]¹H-NMRによるバリノマイシンとヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図4]バリノマイシン内包高分子ミセルの安定性試験の結果を示すグラフである。

[図5]バリノマイシン内包高分子ミセルのバリノマイシン放出率の評価結果を示すグラフである。

[図6]バリノマイシン内包高分子ミセルの血中滞留性及び組織透過性の評価結果を示すグラフである。

[図7]バリノマイシン内包高分子ミセルの生体内分布の評価結果を示すグラフ

である。

[図8]バリノマイシン内包高分子ミセルの抗腫瘍効果の評価結果を示すグラフである。

[図9]培養細胞に対するuHGCの毒性試験の結果を示すグラフである。

[図10A] $^1\text{H-NMR}$ によるエリスロマイシンとジエチレントリアミンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図10B] $^1\text{H-NMR}$ によるエリスロマイシンとジエチレントリアミンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図10C] $^1\text{H-NMR}$ によるエリスロマイシンとジエチレントリアミンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図10D] $^1\text{H-NMR}$ によるエリスロマイシンとジエチレントリアミンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図10E] $^1\text{H-NMR}$ によるエリスロマイシンとジエチレントリアミンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図11A] $^1\text{H-NMR}$ によるバシトラシンとジヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図11B] $^1\text{H-NMR}$ によるバシトラシンとジヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図11C] $^1\text{H-NMR}$ によるバシトラシンとジヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図11D] $^1\text{H-NMR}$ によるバシトラシンとジヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図11E] $^1\text{H-NMR}$ によるバシトラシンとジヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図12A] $^1\text{H-NMR}$ によるバシトラシンと1-ナフチルヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図12B] $^1\text{H-NMR}$ によるバシトラシンと1-ナフチルヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図12C]¹H-NMRによるバシトラシンと1-ナフチルヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図12D]¹H-NMRによるバシトラシンと1-ナフチルヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図12E]¹H-NMRによるバシトラシンと1-ナフチルヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図13A]¹H-NMRによるバシトラシンとジエチレントリアミンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図13B]¹H-NMRによるバシトラシンとジエチレントリアミンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図13C]¹H-NMRによるバシトラシンとジエチレントリアミンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図13D]¹H-NMRによるバシトラシンとジエチレントリアミンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図13E]¹H-NMRによるバシトラシンとジエチレントリアミンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図13F]¹H-NMRによるバシトラシンとジエチレントリアミンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図14A]¹H-NMRによるバリノマイシンとジヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図14B]¹H-NMRによるバリノマイシンとジヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図14C]¹H-NMRによるバリノマイシンとジヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図14D]¹H-NMRによるバリノマイシンとジヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

[図14E]¹H-NMRによるバリノマイシンとジヒドララジンのホストゲスト相互作用の評価結果を示すチャートである。

発明を実施するための形態

[0011] 以下、本発明の好ましい実施形態について説明するが、本発明はこれらの実施形態には限定されない。また、各実施形態は、適宜組み合わせることができる。

[0012] A. 複合体

本発明の1つの実施形態による複合体は、環状化合物と該環状化合物を担持するための軸部を有する輸送担体との複合体であって、該軸部が該環状化合物に包接されることによって複合体化している。

[0013] A-1. 第1の実施形態における複合体

図1は、本発明の第1の実施形態における複合体を説明するイメージ図である。図1に示されるとおり、複合体100は、側鎖に軸部12を有するポリマー（輸送担体）10と環状化合物20との複合体であり、環状化合物20が軸部12を包接することによって両者が複合体化している。

[0014] 上記複合体100において、1分子のポリマー10に担持される環状化合物20の分子数は、例えば1～200、好ましくは5～100、より好ましくは10～60であり得る。

[0015] なお、上記図示例においては、ポリマー10は、親水性ポリマーセグメント10aと疎水性ポリマーセグメント10bとを有するブロックコポリマーであり、疎水性ポリマーセグメント10bのみが側鎖に軸部12を有するが、本発明は、当該実施形態に限定されない。例えば、側鎖に軸部を有するポリマーセグメント（例えば、後述する疎水性ポリマーセグメント）のみからなるポリマーを輸送担体として用いてもよい。

[0016] また、上記図示例においては、軸部12とポリマー主鎖との間に、生体内で開裂し得る結合14が存在しているが、本発明は、当該実施形態に限定されない。具体的には、軸部は、生体内で開裂し得る結合を介して又は介することなく側鎖に導入されることができる。

[0017] 上記図示例の複合体においては、ポリマーの側鎖末端に設けられた軸部を環状化合物が包接している。このような構成を有する複合体によれば、従来

のDDSへの適用が困難であった環状化合物を、その薬理活性を抑制しつつ、目的の細胞又は組織まで送達することができる。さらに、ポリマーとして、親水性ポリマーセグメントと疎水性ポリマーセグメントとを有するブロックコポリマーを用いることにより、極性媒体中で、薬物を担持する疎水性ポリマーセグメントを内側に向け、親水性ポリマーセグメントを外側に向けた高分子ミセル (Polymeric micelles) を形成し得る。このような構成を有する高分子ミセルは、生体適合性及び血中安定性に優れることから、DDSとして有用である。

[0018] A-1-1. 環状化合物

上記環状化合物としては、所望の薬理活性を有する任意の適切な化合物が用いられ得る。環状化合物が有する環は、軸部を包接し得る寸法と形状を有し、例えば8員以上、好ましくは10員以上、より好ましくは12員以上、さらに好ましくは16員～50員の単素環又は複素環であり得る。複素環が含むヘテロ原子は、例えば酸素又は窒素であり得る。これらのヘテロ原子は、軸部との間で非共有結合的な相互作用（例えば、水素結合、配位結合、イオン結合、ファンデルワールス力、 XH/π 相互作用 ($X=C, N, O$) 等) を発揮する観点から、有用である。

[0019] 上記環状化合物の具体例としては、バリノマイシン、アウレオバシジンA、HUN-7293、ノナクチン、ラパマイシン、タクロリムス、エリスロマイシン、クラリスロマイシン、ロキシスロマイシン、アジスロマイシン、ジョサマイシン、ロキタマイシン、キタサマイシン、アセチルスピラマイシン、テリスロマイシン、リンコマイシン、クリンダマイシン、リファブチン、リファンピシン、リファペンチン、リファキシミン、タクロリムス、ピメクロリムス、パクリチニブ、テムシロリムス、ゾタロリムス、エベロリムス、リファラジル、リダフォロリムス、テリスロマイシン、シメプレビル、ダノプレビル、バニプレビル等のマクロライド；シクロスポリン、ミクロシスチン、バシトラシン、ボクロスポリン、リノプリスチン、フロプリスチン等の環状ポリペプチド；クラウンエーテル；ポルフィリン；シアノスター、シ

クロデキストリン等が挙げられる。環状化合物は、１種のみを単独で用いてもよく、２種以上を組み合わせ用いてもよい。

[0020] A-1-2. 側鎖に軸部を有するポリマー

上記側鎖に軸部を有するポリマーとしては、任意の適切なポリマーが用いられ得る。上記ポリマーが、親水性ポリマーセグメントと疎水性ポリマーセグメントとが直列に連結されたブロックコポリマーである場合、親水性ポリマーセグメントを構成するポリマーとしては、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリ（２-オキサゾリン）、ポリサッカライド、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリアクリルアミド、ポリメタクリルアミド、ポリアクリル酸エステル、ポリメタクリル酸エステル等が挙げられ、ポリエチレングリコールが好ましく用いられ得る。親水性ポリマーセグメントは、直鎖状であってもよく、分岐鎖状であってもよい。

[0021] 上記親水性ポリマーセグメントを構成するポリマーにおけるモノマー単位の繰り返し数（分岐鎖の場合は、各鎖における繰り返し数）は、例えば２０～２０，０００であり得る。

[0022] 疎水性ポリマーセグメントを構成するポリマーとしては、ブロックコポリマーが極性溶媒中で親水性ポリマーセグメントを外側に向け、疎水性ポリマーセグメントを内側に向けた状態のミセルを形成可能な程度に親水性ポリマーセグメントよりも低い親水性度を有するポリマーが選択される。このようなポリマーとしては、例えば、ポリグリコール酸（PGA）、ポリ乳酸（PLA）及びその共重合体（PLGA）、ポリアミノ酸、ポリエーテル等が挙げられる。なかでも、ポリアミノ酸が好ましく用いられ得る。

[0023] 上記ポリアミノ酸としては、ポリ（アスパラギン酸）及び／又はその誘導体（例えば、ポリ（アルキルアスパルテート）、ポリ（アリアルアスパルテート）、ポリ（アラルキルアスパルテート）、及びこれらとポリ（アスパラギン酸）とのコポリマー等）、ポリ（グルタミン酸）及び／又はその誘導体（例えば、ポリ（アルキルグルタメート）、ポリ（アリアルグルタメート）、ポリ（アラルキルグルタミド）、及びこれらとポリ（グルタミン酸）との

コポリマー)並びにポリ(リジン)及び／又はその誘導体であって、少なくとも1つの側鎖に軸部が導入されているものが挙げられる。

[0024] 疎水性ポリマーセグメントを構成するポリマーがポリアミノ酸である場合、アミノ酸残基の繰り返し数は、例えば5～300であり、好ましくは10～250であり、より好ましくは20～200である。また、軸部の導入率(軸部を有する側鎖の数／疎水性ポリマーセグメント中の側鎖の総数×100)は、例えば5%～100%、好ましくは10%～90%、より好ましくは30%～70%であり得る。

[0025] 1分子のポリマーが有する軸部の数は、1以上であり、好ましくは5以上、より好ましくは10以上、さらに好ましくは15～150、さらにより好ましくは20～100である。

[0026] 上記軸部は、環状化合物によって包接される部分であり、環状化合物の環内に包接され得る寸法と形状とを有する。好ましくは、軸部は、環状化合物と非共有結合的に、例えば、疎水性相互作用や水素結合等により、相互作用し得る基をさらに有する。当該軸部と環状化合物との非共有結合的な相互作用は、いわゆるホストゲスト相互作用とも称され得る。軸部は、環状化合物の環の大きさ、環内の電氣的雰囲気等に対応した構造を有し、環状化合物に分子認識され得る。

[0027] 上記軸部は、代表的には、軸部を有する化合物とポリマー側鎖との反応により、ポリマー側鎖に導入される。軸部を有する化合物としては、軸部及びポリマー側鎖との反応に利用可能な官能基を有する化合物が選択される。

[0028] ホストゲスト相互作用に着目して軸部を有する化合物(ゲスト分子)を決定する方法の一例を以下に説明する。

[ゲスト分子の決定方法]

(工程1) 送達対象の環状化合物(ホスト分子)の構造を解析する(例:化学構造、立体構造、環の大きさ等)。

(工程2) ゲスト分子候補を探索する(条件:化学構造、立体構造、分子の大きさ、分子内に窒素原子のような非共有電子対をもつドナー原子があるこ

と、ポリマー側鎖に導入するための官能基を有すること、等）。

（工程3）分子モデリングプログラム「Maestro」（Schrodinger社製）等を用いて、ゲスト分子が宿主分子内に入るかどうか検討する。

（工程4）実際に、水または有機溶媒においてゲスト分子（またはゲスト分子がコンジュゲートされたポリマー）と宿主分子を単純混合することにより宿主ゲスト相互作用を起こし、安定化する宿主ゲスト複合体の組み合わせを見つける。

[0029] 上記安定化する宿主ゲスト複合体を形成する組み合わせは、例えば、以下の工程AおよびBを含む方法によって決定することができる。

（工程A）互いに分子認識する官能基が存在することを¹H-NMRスペクトルにおけるピークシフトにより確認する。

（工程B）結合定数（K）をUVスペクトルから算出し、結合定数の大きい組み合わせ（例えば、結合定数（会合定数）が、 $10\text{M}^{-1}\sim 1000\text{M}^{-1}$ である組み合わせ、また例えば $10\text{M}^{-1}\sim 100\text{M}^{-1}$ である組み合わせ）を探索する。

[0030] なお、上記では、軸部を有する化合物（ゲスト分子）の決定方法として、分子モデリングプログラム「Maestro」（Schrodinger社製）を用いた方法を例示したが、当該方法に限定されず、宿主ゲスト化学に基づく種々の分子認識技術、分子設計技術等を利用して目的の環状化合物（宿主分子）に包接され得る軸部を有する化合物（ゲスト分子）を決定することができる。

[0031] ホストゲスト相互作用によって包接体を形成可能な環状化合物と軸部（軸部を有する化合物）との組合せとしては、バリノマイシンとヒドララジン、バリノマイシンとジヒドララジン、シクロスポリンとジヒドララジン、エリスロマイシンとヒドララジン、ロルラチニブとヒドララジン、 β -ベンジル- γ -アスパラギン酸とリファンピシン、1,5-ジアミノペンタンとエリスロマイシン、ジアミノペンタンとロルラチニブ、ジエチレントリアミンと

バリノマイシン、ジエチレントリアミンとリファンピシン、ジエチレントリアミンとエリスロマイシン、バシトラシンとジエチレントリアミン、バシトラシンとジヒドララジン、バシトラシンと1-ナフチルヒドララジン等が挙げられる。

[0032] 上記軸部は、好ましくは生体内で開裂し得る結合を介して上記側鎖の末端に導入される。生体内で開裂し得る結合としては、DDSにおいて利用可能な任意の適切な化学結合が採用され得る。このような結合の代表例としては、ジスルフィド結合、アセタール結合、ケタール結合、ヒドラゾン結合、エノールエーテル結合、エノールエステル結合、アミド結合、イミン結合、イミニウム結合、エナミン結合、シリルエーテル結合、シラザン結合、シリルエノールエーテル結合、ジオール結合、ジアゾ結合、エステル結合、スルホン結合、及びケイ素-炭素結合が挙げられる。好ましくは、ジスルフィド結合、アセタール結合、ヒドラゾン結合である。

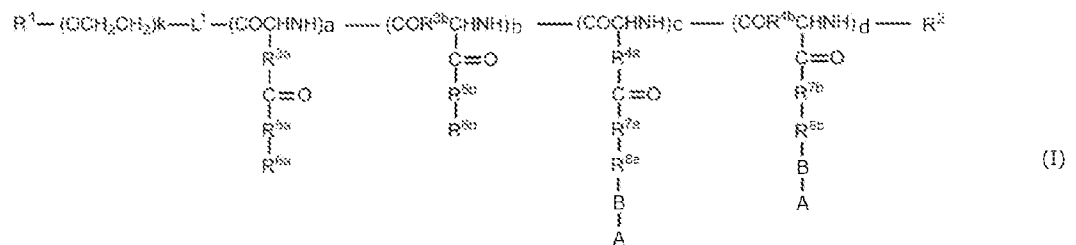
[0033] 上記ジスルフィド結合 ($-S-S-$) は、還元的環境下において容易に開裂する。このような特性を利用することにより、細胞への効率的な薬物送達を達成することができる。具体的には、生体内においては、グルタチオンの濃度差に起因して、細胞外では非還元的環境であり (約 $10 \mu M$)、細胞内では還元的環境である (約 $10 mM$)。したがって、上記複合体は、細胞に達するまでは環状化合物に軸部を包接させた形態を維持することができ、細胞に取り込まれた後は、ジスルフィド結合におけるイオウ原子間の結合が開裂することにより、軸部と環状化合物との包接体を細胞内にスムーズかつ効率的に放出することができる。その後、細胞内において当該包接体から軸部が脱離することにより、環状化合物がその薬理活性を発揮することができる。

[0034] 上記アセタール結合及びヒドラゾン結合は、細胞内外のpHの差により容易に開裂する。具体的には、生体内においては、細胞外のpHは約7であるのに対し、細胞内後期エンドソーム内のpHは4~5である。アセタール結合及びヒドラゾン結合は、細胞外では結合を維持し、細胞内後期エンドソーム

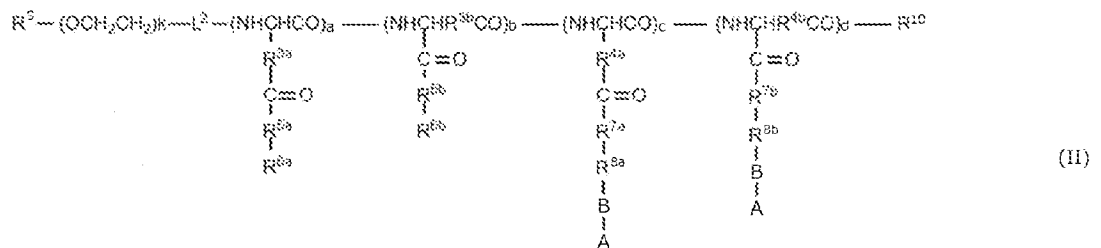
ム内では容易に開裂する。その結果、ジスルフィド結合の場合と同様に、上記複合体は、細胞に達するまでは環状化合物に軸部を包接させた形態を維持することができ、細胞に取り込まれた後は、軸部と環状化合物との包接体を細胞内にスムーズかつ効率的に放出することができる。

[0035] 上記ポリマー複合体の具体例を以下の式 (I) 又は (I') に示す。

[化1]



[化2]



(式 (I) 又は (I')) 中、

R^1 及び R^2 は、相互に独立して、水素原子あるいは未置換もしくは置換された炭素数 1 ～ 12 の直鎖又は分枝状のアルキル基を表し、

R^3 は、水素原子、未置換又は置換された直鎖もしくは分枝の炭素数 1 ～ 12 のアルキル基あるいは未置換又は置換された直鎖もしくは分枝の炭素数 1 ～ 24 のアルキルカルボニル基を表し、

R^{3a} 、 R^{3b} 、 R^{4a} 及び R^{4b} は、相互に独立して、メチレン基又はエチレン基を表し、

R^{5a} 、 R^{5b} 、 R^{7a} 及び R^{7b} は、相互に独立して、 $-O-$ 又は $NH-$ を表し、

R^{6a} 及び R^{6b} は、相互に独立して、水素原子又は疎水性有機基を表し、

R^{8a} 及び R^{8b} は、相互に独立して、直鎖もしくは分枝の炭素数 1 ～ 12 の

アルキレン基、炭素数 6 ～ 12 のアリーレン基又はこれらの組合せからなる基を表し、

R^{10} は、水酸基、オキシベンジル基、 $-O-R^{10a}$ 又は $-NH-R^{10b}$ 基を表し、ここで R^{10a} 又は R^{10b} はそれぞれ独立して、未置換又は置換された直鎖もしくは分枝の炭素数 1 ～ 12 アルキル基を表し、

L^1 及び L^2 はそれぞれ独立して、二価の連結基を表し、

B は、生体内で開裂し得る結合を表し、

A は、軸部を表し、

k は、20 ～ 20,000 の整数を表し、

a、b、c 及び d は、それぞれ独立して、0 ～ 300 の整数であり、

ただし、 $5 \leq a + b + c + d \leq 300$ の関係を満たし、

$1 \leq c + d$ の関係を満たし、

上記各アミノ酸繰り返し単位の結合順は任意であり、

R^{6a} 、 R^{6b} 、 R^{8a} 及び R^{8b} は、ポリマー分子内のアミノ酸繰り返し単位毎に任意に選択可能である。）

[0036] 上記 R^1 、 R^2 、 R^9 、 R^{10a} 及び R^{10b} の基で定義する、炭素数 1 ～ 12 の直鎖又は分枝状のアルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、*n*-プロピル基、イソプロピル基、*n*-ブチル基、*sec*-ブチル基、*tert*-ブチル基、*n*-ヘキシル基、デシル基、及びウンデシル基等を挙げることができる。

[0037] R^2 の基で定義する、炭素数 1 ～ 24 の直鎖又は分枝状のアルキルカルボニル基の内の炭素数 1 ～ 12 の直鎖又は分枝状のアルキル部分は上述した例示を参考にでき、炭素数 13 以上のアルキル部分は、例えば、トリデシル基、テトラデシル基、ペンタデシル基、ノナデシル基、ドコサニル基及びテトラコシル基等を挙げることができる。

[0038] 上記アルキル基又はアルキル部分について、「置換された」場合の置換基としては、限定されるものでないが、 C_{1-6} アルコキシ基、アリーールオキシ基、アリーール C_{1-3} オキシ基、シアノ基、カルボキシ基、アミノ基、 C_{1-6} ア

ルコキシカルボニル基、 C_{2-7} アシルアミド基、トリ- C_{1-6} アルキルシロキシ基、シロキシ基、シリルアミノ基を示すか、又はアセタール化ホルミル基、ホルミル基、塩素又はフッ素等のハロゲン原子を挙げることができる。ここで、例えば、 C_{1-6} のごとき表示は、炭素数1～6を意味する。

[0039] 上記 R^1 及び R^9 の基は、標的結合部位を含む基によって置換されていてもよい。標的結合部位を親水性ポリマーセグメントの末端に導入することにより、標的となる所望の部位への到達性を向上できる。標的結合部位を含む基としては、標的となる組織に対する指向性又は機能性を有する限りにおいて任意の適切な基であり得、例えば、抗体もしくはその断片、又はその他の機能性もしくは標的指向性を有するタンパク質、ペプチド、アプタマー、ラクトース等の糖、葉酸といった生理活性物質及びその誘導体に由来する基であり得る。

[0040] 上記 R^{6a} 及び R^{6b} の基で定義する疎水性有機基は、例えば、炭素数6～27の飽和もしくは不飽和の直鎖又は分枝状の脂肪族炭化水素基、炭素数6～27のアリール基又はアラルキル基、あるいはステロールに由来する残基である。疎水性有機基の代表例としては、ベンジル基又はフェニル基が挙げられる。

[0041] 上記 R^{8a} 及び R^{8b} の基で定義する直鎖もしくは分枝の炭素数1～12のアルキレン基、炭素数6～12のアリーレン基又はこれらの組合せからなる基としては、例えば、 C_{1-10} アルキレン基、 C_{6-12} アリーレン基、 C_{1-6} アルキレン- C_{6-12} アリーレン基又は C_{1-6} アルキレン- C_{6-12} アリーレン- C_{1-6} アルキレン基、好ましくは C_{1-8} アルキレン基、 C_{6-10} アリーレン基、 C_{1-4} アルキレン- C_{6-10} アリーレン基又は C_{1-4} アルキレン- C_{6-10} アリーレン- C_{1-4} アルキレン基が挙げられる。

[0042] 上記 L^1 は、例えば、 $-NH-$ 、 $-O-$ 、 $-O-L^{1a}-NH-$ 、 $-CO-$ 、 $-CH_2-$ 、及び $O-L^{1a}-S-L^{1a}-NH-$ （ここで、 L^{1a} は独立して炭素数1～6のアルキレン基である）から選ばれる連結基であり得る。

[0043] 上記 L^2 は、例えば、 $-OCO-L^{2a}-CO-$ 、及び $NHCO-L^{2a}-CO$

ー（ただし、 L^{2a} は炭素数1～6のアルキレン基である）から選ばれる連結基であり得る。

[0044] 上記Bは、好ましくはアセタール結合、ヒドラゾン結合又はジスルフィド結合であり、より好ましくはヒドラゾン結合である。

[0045] 各アミノ酸残基の繰り返し数を表すa、b、c及びdは、それぞれ独立して好ましくは0～200の整数、より好ましくは0～100の整数である。また、ポリアミノ酸の重合度（ $a + b + c + d$ ）は、好ましくは10～250の整数、より好ましくは20～200の整数である。また、軸部を有する側鎖の総数（ $c + d$ ）は、好ましくは5以上、より好ましくは10以上、さらに好ましくは15～150、さらにより好ましくは20～100である。

[0046] エチレングリコールの繰り返し数を表すkは、好ましくは50～2,000、より好ましくは100～1,000の整数を表す。

[0047] 上記式（I）又は（I'）に示されるポリマーは、任意の適切な方法によって合成され得る。一例として、少なくとも1つの側鎖にヒドラゾン結合を介して軸部が導入されたポリエチレングリコールーポリ（ベンジルアスパルテート）ブロックコポリマーの合成方法を以下に説明する。最初に、末端に一級アミノ基を有するポリエチレングリコールを開始剤として、 β -ベンジル- α -アスパルテート-N-カルボン酸無水物を重合させてポリエチレングリコールーポリ（ β -ベンジル- α -アスパルテート）ブロックコポリマーを合成する。次いで、ヒドロキシル基又はアミノ基とカルボニル基とを有する化合物を用いてエステル交換又はアミノリシスを行って、側鎖にカルボニル基を導入する。代替的に、ヒドロキシル基又はアミノ基とアセタール基とを有する化合物を用いてエステル交換又はアミノリシスを行い、次いで、酸触媒下でアセタール基をカルボニル基に変換してもよい。その後、当該カルボニル基と軸部を有する化合物としてのヒドラジン誘導体とを反応させる。これにより、少なくとも1つの側鎖にヒドラゾン結合を介して軸部が導入されたブロックコポリマーが得られ得る。

[0048] A-1-3. 複合体の調製方法

上記複合体は、例えば、上記側鎖に軸部を有するポリマーに該ポリマーを溶解可能な水溶性有機溶媒を加えて溶解後、環状化合物を添加し、次いで、水又は緩衝液等の水性媒体に対して透析することによって調製することができる。ここで、水溶性有機溶媒としては、メタノール、エタノール、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド等が挙げられる。側鎖に軸部を有するポリマーと環状化合物との混合割合は、目的に応じて適切に設定され得る。該混合割合は、例えば、Jobsonplot法を用いて軸部と環状化合物とが効率よく複合体を形成し得る割合に設定され得る。混合物中における軸部に対する環状化合物のモル比は、例えば軸部のモルを1とすると0.1～5.0、好ましくは0.2～2.0となるように設定され得る。

[0049] 上記調製方法における環状化合物の担持割合（1分子のポリマーに担持される環状化合物の分子数／1分子のポリマー中の軸部の数×100）は、例えば10%以上、好ましくは20%以上、より好ましくは40%～100%であり得る。

[0050] A-2. 第2の実施形態における複合体

図2は、本発明の第2の実施形態における複合体を説明するイメージ図である。図2に示されるとおり、複合体200は、軸部32とその両端側に配置された蓋部34a、34bとを有する輸送担体30と、環状化合物20と、の複合体であり、環状化合物20が軸部32を包接するとともに、蓋部34a、34bが環状化合物20の軸部32からの脱離を防止することによって両者が複合体化している。

[0051] 上記複合体200において、1分子の輸送担体30に担持される環状化合物20の分子数は、1又は2以上であってよい。

[0052] 上記図示例においては、軸部32と蓋部34aとの間及び軸部32と蓋部34bとの間にそれぞれ、生体内で開裂し得る結合36a、36bが存在しているが、本発明は、当該実施形態に限定されない。例えば、いずれか一方の軸部と蓋部との間にのみ生体内で開裂し得る結合が存在していてもよい。

あるいは、蓋部は、生体内で開裂し得る結合を介することなく直接軸部と結合していてもよい。

[0053] 第2の実施形態における複合体においては、軸部を環状化合物が包接し、当該環状化合物の軸部からの脱離を蓋部が防止することができる。このような構成を有する複合体によれば、従来のDDSへの適用が困難であった環状化合物を、その薬理活性を抑制しつつ、目的の細胞又は組織まで送達することができる。また、このような構成を有する複合体によれば、嵩高い蓋部を採用することにより、二次会合してミセル等の凝集体を構成することなく、複合体単体で血中に安定的に存在することができ、その小さいサイズに起因して、優れた組織浸透性を示すことが期待される。なお、第2の実施形態における複合体において、環状化合物による軸部の包接は、第1の実施形態における複合体と同様に、環状化合物をホスト分子とし、軸部をゲスト分子とするホストゲスト相互作用を利用して行われ得る。

[0054] A-2-1. 環状化合物

上記環状化合物としては、A-1-1項に記載の環状化合物が挙げられる。

[0055] A-2-2. 輸送担体

上記輸送担体は、軸部と、好ましくはその両端に直接又は生体内で開裂し得る結合を介して結合された蓋部とを有する。

[0056] 蓋部は、環状化合物が軸部から脱離することを防止可能な程度の嵩高さを有することが好ましい。蓋部を構成する材料としては、ポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリ(2-オキサゾリン)、ポリサッカライド、ポリビニルアルコール、ポリビニルピロリドン、ポリアクリルアミド、ポリメタクリルアミド、ポリアクリル酸エステル、ポリメタクリル酸エステル等の親水性ポリマーが挙げられる。なかでも、生体適合性に優れること、極性溶媒中における分子鎖の広がり大きいこと等の観点から、ポリエチレングリコールが好ましく用いられ得る。親水性ポリマーは、直鎖状であってもよく、分岐鎖状であってもよい。

[0057] 上記親水性ポリマーセグメントを構成するポリマーにおけるモノマー単位の繰り返し数（分岐鎖の場合は、各鎖における繰り返し数）は、例えば20～20,000、好ましくは200～2,000、より好ましくは400～1,000である。

[0058] 上記軸部は、環状化合物によって包接される部分であり、環状化合物の環内に包接され得る寸法と形状を有する。好ましくは、軸部は、環状化合物と非共有結合的に、例えば、疎水性相互作用や水素結合等により、相互作用し得る基をさらに有する。当該軸部と環状化合物との非共有結合的な相互作用は、いわゆるホストゲスト相互作用とも称され得る。軸部は、環状化合物の環の大きさ、環内の電氣的雰囲気等に対応した構造を有し、環状化合物に分子認識され得る。

[0059] 上記軸部は、代表的には、軸部を有する化合物と蓋部を構成する材料（例えば、上記親水性ポリマー）との反応により輸送担体に導入される。軸部を有する化合物としては、軸部及び軸部を介在する2か所に蓋部を構成する材料との反応に利用可能な官能基を有する化合物が選択される。軸部を有する化合物を決定する方法としては、A-1-2項で記載した方法と同様の方法を用いることができる。

[0060] 上記生体内で開裂し得る結合については、A-1-2項で記載したとおりである。

[0061] A-2-3. 複合体の調製方法

上記複合体は、任意の適切な方法によって調製され得る。例えば、軸部とその両末端にヒドラゾン結合を介して結合しているポリエチレングリコールとを有する輸送担体と、環状化合物と、の複合体は、水溶性有機溶媒に、環状化合物と、片末端にアルデヒド基を有するポリエチレングリコールと、軸部を有する化合物としてのジヒドラジン化合物とを添加及び混合して反応させた後、水又は緩衝液等の水性媒体に対して透析することによって調製することができる。上記水溶性有機溶媒としては、メタノール、エタノール、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、N,N-ジメチルホルムアミド、N

, N-ジメチルアセトアミド等が挙げられる。上記軸部を有する化合物と環状化合物とポリエチレングリコールとの混合割合は、目的に応じて適切に設定され得る。該混合割合は、例えば、混合物中における軸部を有する化合物に対する環状化合物のモル比が軸部のモルを1とすると0.1～5.0、好ましくは0.2～2.0となるように、また、軸部を有する化合物に対するポリエチレングリコールのモル比が1.0～5.0、好ましくは1.0～2.0となるように、設定され得る。

[0062] B. ポリマー粒子組成物

本発明の1つの実施形態によるポリマー粒子組成物は、上記A-1項に記載の複合体を含む。上記複合体は、極性媒体中で会合して好適にポリマー粒子を形成し得る。例えば、複合体を形成する輸送担体が、親水性ポリマーセグメントと疎水性ポリマーセグメントとを有するブロックコポリマーである場合、当該複合体は、環状化合物を担持する疎水性ポリマーセグメントを内側に向け、親水性ポリマーセグメントを外側に向けた高分子ミセルを形成し得る。なお、本発明においては、複数の複合体が粒子状に集合した集合体も粒子に含めるものとし、このような集合体もポリマー粒子と称する。

[0063] 上記ポリマー粒子の平均粒子径は、例えば1000nm以下、好ましくは400nm以下、200nm以下、150nm以下、100nm以下又は80nm以下であり、例えば20nm以上又は30nm以上である。当該粒子の平均粒子径は、市販の動的光散乱(DLS)測定装置を用いて測定することができる。

[0064] 上記ポリマー粒子組成物は、本発明の効果が得られる範囲において、A-1項に記載の複合体に加えて他のポリマーを含み得る。このような他のポリマーとしては、例えば、親水性ポリマーセグメントと疎水性ポリマーセグメントとを有するブロックコポリマーが挙げられる。このようなブロックコポリマーは、極性媒体中で好適に会合して安定なポリマー粒子（例えば、高分子ミセル）を形成し得るので、これらを共存させることにより安定性に優れたポリマー粒子組成物が得られ得る。このような効果は親水性ポリマー鎖セ

グメントを有さないポリマーを輸送担体として用いた複合体を含むポリマー粒子組成物において、特に好適に奏され得る。上記他のブロックコポリマーとしては、例えばWO2007/099660、WO2007/099661、WO2010/093036、WO2012/096399、WO2014/133172、WO2015/170757等に記載のポリマーが挙げられる。

[0065] 上記ポリマー粒子組成物は、任意の適切な方法によって調製され得る。例えば、側鎖に軸部を有するポリマーと環状化合物と任意成分である上記他のポリマーとを、水溶性有機溶媒に添加及び混合して会合させた後、水又は緩衝液等の水性媒体に対して透析することによって調製することができる。上記水溶性有機溶媒としては、メタノール、エタノール、アセトニトリル、ジメチルスルホキシド、N,N-ジメチルホルムアミド、N,N-ジメチルアセトアミド等が挙げられる。

[0066] C. 使用方法

上記A項に記載の複合体及びB項に記載のポリマー粒子組成物は、担持する環状化合物を用いた処置を必要とする個体に対して投与される。投与対象の個体としては、例えばヒト又はヒト以外の哺乳動物が挙げられる。投与方法は、好ましくは非経口投与であり、皮下投与、筋肉内投与、静脈内投与、腹腔内投与、髄腔内投与等が例示できる。

実施例

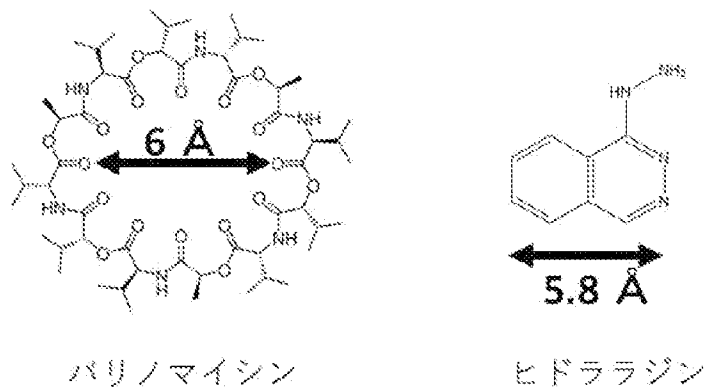
[0067] 以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、本発明はこれら実施例によって限定されるものではない。

[0068] [実験例1] $^1\text{H-NMR}$ によるバリノマイシン (Val) とヒドララジン (Hyd) の相互作用の評価

環状化合物として、Valを選択し、分子モデリングプログラム「Maestro」(Schrodinger社製)を用いてその構造を解析したところ、環の径は6 Åであった。分子径が6 Å未満であること、分子内に窒素原子のような非共有電子対をもつドナー原子があること、疎水性相互作用の

ための疎水性官能基があること、ポリマー側鎖にpH応答性の官能基を介して導入するための1級アミンを有することを条件として、Valとホストゲスト相互作用を生じ得るゲスト分子（軸部）候補を探索したところ、Hydが選択された。

[化3]



[0069] 次いで、以下のようにして、ValとHydの相互作用を評価した。Val（10 mg/mL）とHyd（1.44 mg/mL）を重DMSO中で混合し、¹H-NMRにより化学シフトを測定し、各ピークを帰属させた。コントロールとしてバリノマイシン（10 mg/mL）単体とヒドララジン（1.44 mg/mL）単体の化学シフトもそれぞれ測定し、各ピークを帰属させた。さらに、バリノマイシン単体の場合とヒドララジンと共存している場合との比較において、化学シフトが変化したものについては、その変化量を求めた。結果を図3A－3E及び表1に示す。

[0070]

[表1]

帰属ピーク	ppm	Δ ppm
(-NH-) (Val) (左)	8.4	+0.0100
(-NH-) (Val) (右)	7.9	+0.0054
- CH-(CH ₃) ₂	2.1	+0.0049
(-O-CH(C=O)-) (HyV)	4.7	+0.0045
(-CH-) (Val) (左)	4.4	-0.0043
Methyl groups(Lac)	1.1	+0.0035
CH (C=O) (Lac)	5.1	+0.0031
(-CH-) (Val) (右)	4.3	+0.0031
Isopropyl groups	0.9	± 0

[0071] 表1に示されるとおり、バリノマイシンが単体で存在している場合とヒドララジンと共存している場合とでは0 ppm～0.01 ppmの化学シフト変化がみられた。このことから、バリノマイシンがヒドララジンによって影響を受けており、バリノマイシンとヒドララジンとが相互作用していることがわかる。また、化合物間の近接したプロトンを検出するROESY (Rotating frame nuclear Overhauser effect spectroscopy) 測定を行ったところ、バリノマイシンのアミンの水素とヒドララジンのベンゼン環の水素が近接していることによる交差したピークが見られた。

[0072] [実験例2] UV-Vis法によるValとHydの混合比の最適化

Val (10 mg/mL) と Hyd (1.44 mg/mL) をアセトニトリルに溶解し、種々の混合比 ([Val] : [Hyd] = 9 : 1、8 : 2、7 : 3、6 : 4、5 : 5、4 : 6、3 : 7、2 : 8、1 : 9) で混合した。その後、UV-Vis法による溶液のスペクトルを測定し、272 nmにおける吸光度からJob plot法によりValとHydとが最も効率的に相互作用する混合比を決定した。具体的には、溶液の吸光度とコントロール溶液 (バリノマイシン溶液) の吸光度の差分をとり、溶液中のバリノマイシンのモル分率をかけたものが最大値になる時のモル分率を計算した。その結果、ValとHydとが最も効率的に相互作用する混合比 ([Val] :

[Hyd]) は、1 : 1.22 であった。

- [0073] [実験例3] poly(ethylene glycol)-poly(β -benzyl-L-aspartate) (PEG-PBLA) の合成
PEG-NH₂ (PEG分子量: 12 kDa) をジクロロメタン (DCM、66 mg/mL) に溶解し、DCM/N,N-ジメチルホルムアミド (DMF) 混合溶媒 ([DCM] / [DMF] = 10、66 mg/mL) に溶解した β -ベンジル-L-アスパラギン酸-N-カルボン酸無水物 (BLA-NCA、60 当量) を添加した。35℃で3日間の反応後、反応溶液をジエチルエーテルに添加し、減圧乾燥によりPEG-PBLA (PBLA重合度: 40) を得た。重DMSO中での¹H-NMRから、収率は68%であった。

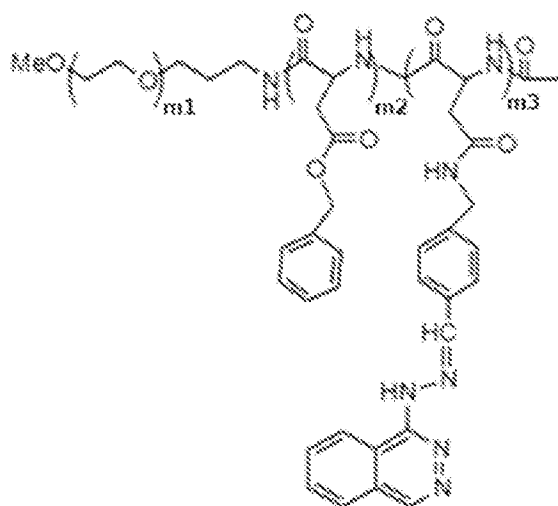
- [0074] [実験例4] PEG-PBLA-Acetyl (PEG-PBLA-Ac) の合成
PEG-PBLAをDMF (10 mg/mL) に溶解し、N,N-ジメチル-4-アミノピリジン (DMAP、10 当量)、トリエチルアミン (TEA、1 当量)、無水酢酸 (10 当量) を添加した。室温で3時間の反応後、反応溶液をジエチルエーテルに添加し、減圧乾燥によりPEG-PBLA-Acを得た。重DMSO中での¹H-NMRから、収率は81%であった。

- [0075] [実験例5] PEG-poly(aspartate-benzyl aldehyde) (PEG-P(Asp-BA)) の合成
PEG-PBLA-AcをDMF (60 mg/mL) に溶解し、4,4-ジメトキシメチルフェニルメタンアミンを添加した。35℃で4日間の反応後、反応溶液に1M HCl溶液 (100 μ L) を添加し、室温で1時間反応した。その後、反応溶液を純水に対して透析 (MWCO: 6,000-8,000) し、凍結乾燥によりPEG-P(Asp-BA)を得た。重DMSO中での¹H-NMRから、BAの導入率は63%であった。

- [0076] [実験例6] PEG-poly(Asp-benzyl hydralazine) (PEG-P(Asp-BH)) の合成

PEG-P (Asp-BA) を DMSO (20 mg/mL) に溶解し、トリエチルアミン (170 当量) 及び Hyd (170 当量) を添加した。35 °C で 4 日間の反応後、反応溶液をメタノールに対して透析 (MWCO : 6, 000 - 8, 000) し、減圧乾燥及び凍結乾燥により、以下に示す PEG-P (Asp-BH) を得た。重 DMSO 中での $^1\text{H-NMR}$ から、Hyd の導入率は 63 % であった。

[化4]



(式中、 $m2 = 15$ 、 $m3 = 25$)

[0077] [実験例7] PEG-P (Asp-aliphatic ketone) (PEG-P (Asp-AK)) の合成

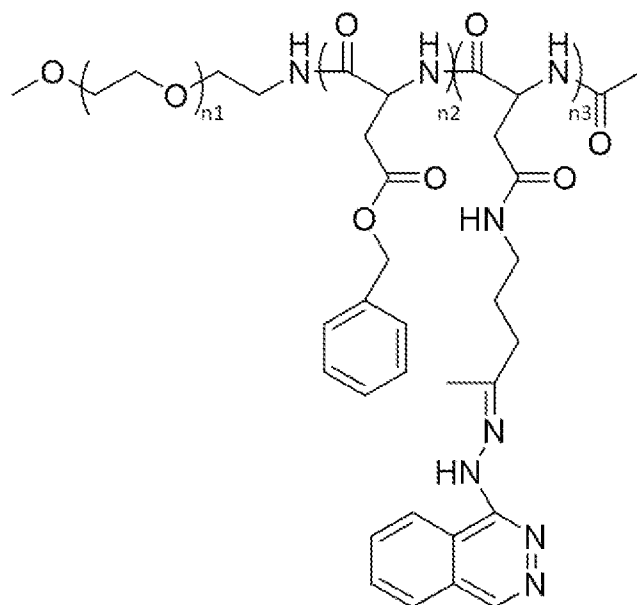
PEG-PBLA-Ac を DMF (60 mg/mL) に溶解し、4, 4-ジメトキシペンタン-1-アミンを添加した。35 °C で 4 日間の反応後、反応溶液に 1 M HCl 溶液 (100 μL) を添加し、室温で 1 時間反応した。その後、反応溶液を純水に対して透析 (MWCO : 6, 000 - 8, 000) し、凍結乾燥により PEG-P (Asp-AK) を得た。重 DMSO 中での $^1\text{H-NMR}$ から、AK の導入率は 87 % であった。

[0078] [実験例8] PEG-P (Asp-aliphatic hydrazide)

i n e) (PEG-P (Asp-AH)) の合成

PEG-P (Asp-AK) をDMSO (20mg/mL) に溶解し、トリエチルアミン (170当量) 及びHyd (170当量) を添加した。35℃で4日間の反応後、反応溶液をメタノールに対して透析 (MWCO: 6,000-8,000) し、減圧乾燥及び凍結乾燥により、以下に示すPEG-P (Asp-AH) を得た。重DMSO中での¹H-NMRから、AHの導入率は88%であった。

[化5]



(式中、 $n_2 = 10$ 、 $n_3 = 28$)

[0079] [実験例9] Val 内包高分子ミセルの調製

PEG-PBLA、PEG-P (Asp-BH) 又はPEG-P (Asp-AH) をN, N-ジメチルアセトアミド (DMAc、0.5mg/mL) に溶解し、Val ([Val] / [AH] = 0、0.3、0.5、1.0又は [Val] / [BH] = 0、0.25、0.75) を添加した。室温で24時間攪拌後、10mMリン酸緩衝液 (pH8.0) に対して透析 (MWCO: 6,000-8,000) し、フィルターにより精製した。得られた高

分子ミセルの粒径及び多分散度を動的光散乱（DLS）法により評価した。
結果を表2に示す。

[0080] [実験例10] Val 内包高分子ミセルの薬物担持量の評価

実験例9で得られた高分子ミセル溶液（1 mL、0.5 mg/mL）からミセルを凍結乾燥により回収し、アセトニトリル（0.5 mg/mL）に溶解した。30分間の超音波破碎後、溶液をジエチルエーテルに添加し、濾液の減圧乾燥によりValを得た。次いで、PEG-P（Asp-BH）を用いた高分子ミセル試料については、 $^1\text{H-NMR}$ によって薬物担持量（ポリマー1 mgあたりのVal 担持量（mg））を算出した。一方、PEG-P（Asp-AH）を用いた高分子ミセル試料については、アセトニトリル中での220 nmにおけるUVの吸光度から薬物担持量（ポリマー1 mgあたりのVal 担持量（mg））を算出した。また、ミセル調製時のValの添加量に対するポリマーに担持されたValの量の割合を薬物担持効率（%）として算出した。結果を表2に示す。

[0081] [表2]

	Val 等量	粒径 (d,nm)	PDI	薬物担持量 (Val %mg/ Polymer mg)	薬物担持効率 (%)
PEG- P (Asp-AH)	0	61	0.13	0	-
	0.3	55	0.14	7.0	19
	0.5	53	0.23	7.4	12
	1.0	51	0.23	4.5	4.0
PEG- P (Asp-BH)	0	47	0.06	0	-
	0.25	45	0.06	2	-
	0.75	48	0.1	5	-

[0082] 表2に示されるとおり、Val 内包高分子ミセルは、粒径45 nm～60 nm程度の単峰性の粒子であった。また、0.3等量のValを添加した高分子ミセルが最も効率よくValを担持していることが確認された。一方で

、H y d 残基を側鎖構造に有さないP E G－P B L Aから調製したミセル（ $[V a l] / [A s p] = 0.3 : 1$ ）においては、バリノマイシンの内包が確認されなかった。このことから、H y d 残基とバリノマイシンの相互作用によるミセルへの内包が示唆された。

[0083] [実験例 1 1] 生理条件下におけるV a l 内包高分子ミセルの安定性試験

P E G－P（A s p－B H）に対して0.3等量のV a lを添加して調製したV a l 内包高分子ミセル溶液（1 m g / m L）を10 m Mリン酸緩衝液（p H 7.4、5.5、3.0）に対して透析（M W C O : 3, 500）し、各時間（1、3、6、24時間後）におけるポリマー由来の散乱強度をD L S法により測定した。結果を図4に示す。

[0084] 図4に示されるとおり、V a l 内包高分子ミセルは、p H 7.4及びp H 5.5の条件下で高い安定性を示した。

[0085] [実験例 1 2] V a l 内包高分子ミセルのV a l 放出率の評価

P E G－P（A s p－A H）に対して0.3等量のV a lを添加して調製したV a l 内包高分子ミセル溶液（2 m L、0.5 m g / m L）を10 m Mリン酸緩衝液（p H 7.4、5.0）に対して透析（M W C O : 3, 500）し、各時間（1、3、6、24時間後）における外液中のV a l 量をH P L C法により測定した。ミセルに担持されたV a l 量に対する外液中に放出されたV a l 量の割合を放出率として算出した。結果を図5に示す。

[0086] 図5に示されるとおり、V a l 内包高分子ミセル溶液は、生理的p H（7.4）においてV a lを安定に担持する一方で、エンドソーム内p H（5.0）でV a lを放出した。

[0087] [実験例 1 3] 培養細胞に対するV a l 内包高分子ミセルの毒性試験

ヒトすい臓がん細胞（B x P C 3細胞、P a n c－1細胞、M i a P a C a細胞）を96ウェルプレートに播種（5,000 c e l l s / w e l l）した。24時間後にP E G－P（A s p－B H）に対して0.3等量のV a lを添加して調製したV a l 内包高分子ミセル溶液又はV a l単体を種々のV a l濃度となるように添加した。48時間後にP B Sにより細胞を洗浄し

、培地を添加した。その後、Cell Counting Kit-8 (CK-8、 $10\mu\text{L}/\text{well}$) を培地に添加し、30分後に450nmにおけるUVの吸光度を測定した。薬物の代わりにバッファーのみを添加した群を100%、無細胞群を0%として、吸光度から細胞生存率を算出し、 IC_{50} (Val濃度) を求めた。結果を表3に示す。

[0088] [表3]

細胞	薬物	IC_{50} (nM)
BxPC3	Val単体	12.5
	Val内包高分子ミセル	155
PANC-1	Val単体	8.3
	Val内包高分子ミセル	140
MiaPaCa	Val単体	23.2
	Val内包高分子ミセル	134

[0089] 表3に示されるとおり、Valを高分子ミセルに内包することにより、バリノマイシンの放出が制御され、その毒性が抑制されたことがわかる。

[0090] [実験例14] Val内包高分子ミセルの血中滞留性及び組織透過性の評価
Cy5により蛍光標識したPEG-P(Asp-BH)-Cy5と0.3等量のValを用いて調製したVal内包高分子ミセル溶液を皮下腫瘍モデルマウス(BxPC3)の尾静脈から静脈投与し(Valの投与量: $1.5\text{mg}/\text{kg}$)、生体共焦点レーザー顕微鏡(IV-CLSM)法により静脈及び腫瘍組織における蛍光強度を測定した。ミセル投与前の蛍光強度を0、投与直後の蛍光強度を100として、血中滞留性を評価した。結果を図6に示す。

[0091] 図6に示されるとおり、Val内包高分子ミセルは高い血中安定性を示し、時間の経過とともに組織に浸透していくことがわかる。

[0092] [実験例15] Val内包高分子ミセルの生体内分布の評価

Cy5により蛍光標識したPEG-P(Asp-BH)-Cy5と0.3等量のValを用いて調製したVal内包高分子ミセル溶液を皮下腫瘍モデルマウス(BxPC3)の尾静脈から静脈投与し(Valの投与量: 1.5

mg/kg)、IV-CLSM法により腫瘍内の蛍光強度を経時的に観察した。また、投与24時間後に臓器（肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺）及び腫瘍を摘出し、回収した臓器及び腫瘍内の蛍光強度をIVIS法により測定した。腫瘍内の経時的な蛍光強度を図7（a）に示し、回収した臓器及び腫瘍内の蛍光強度を図7（b）に示す。

[0093] 図7（a）に示されるとおり、Val内包高分子ミセルは経時的に腫瘍内に集積していくことがわかる。また、図7（b）に示されるとおり、投与24時間後において、腫瘍へのミセルの集積が確認された。

[0094] [実験例16] 担がんマウスに対するVal内包高分子ミセルの抗腫瘍効果の評価

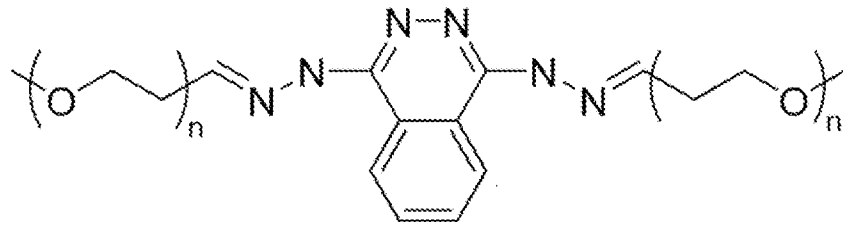
PEG-P(Asp-BH)を用いて調製したVal内包高分子ミセル溶液（Valの投与量：1.5mg/kg）、バリノマイシン溶液（1.5mg/kg）、ゲムシタビン溶液（80mg/kg）を、0日目、2日目及び4日目に皮下腫瘍モデルマウス（BxPC3）の尾静脈から静脈投与（バリノマイシン溶液のみ腹腔内投与）し、各時間後における腫瘍のサイズ及びマウスの体重を測定した（n=4）。結果を図8に示す。

[0095] 図8に示されるとおり、Val内包高分子ミセル溶液投与群では、コントロール群（生理食塩水投与群）及びゲムシタビン溶液投与群に比べて腫瘍の増大が顕著に抑制されていた一方で、体重の大きな変化は認められなかった。なお、バリノマイシン溶液投与群はすべて、初回投与後24時間以内に死亡した。

[0096] [実験例17] ユニットホストゲスト複合体（uHGC）の調製

ValをDMSO（10mg/mL）に溶解し、2kDaのPEG-CHO（10当量）及びジヒドララジン（5当量）を添加した。室温で24時間反応後、メタノールに対して透析（MWCO：1,000）し、減圧乾燥により以下に示す輸送担体とValとの複合体（uHGC）を得た。重DMSO中での¹H-NMRから、Val導入率（Hyd量に対する輸送担体に担持されたValの量の割合）を算出したところ、63%であった。

[化6]



[0097] [実験例18] 培養細胞に対するuHGCの毒性試験

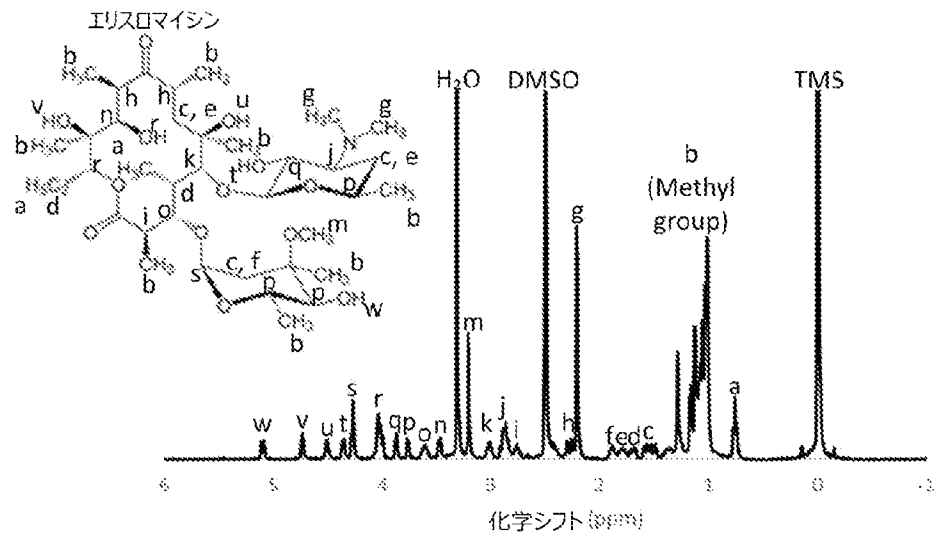
ヒトすい臓がん細胞（B x P C 3細胞）を96ウェルプレートに播種（5, 000 cells/well）し、24時間後にuHGCを添加した。48時間後にPBSにより細胞を洗浄し、培地を添加した。その後、Cell Counting Kit-8（CCK-8、10 μ L/well）を培地に添加し、30分後に450nmにおけるUVの吸光度を測定した。バッファーのみを添加した群を100%、無細胞群を0%として、吸光度から細胞生存率を算出した。結果を図9に示す。

[0098] 図9に示されるとおり、uHGC添加群は1 μ MのVal濃度で約70%の細胞生存率を示し、このことから、複合体化することによってValの毒性を抑制できることがわかる。一方で、高濃度のuHGCの添加により細胞生存率の低下がみられたことから、内包されたバリノマイシンの放出による細胞死の誘導が示唆された。

[0099] [実験例19] ホスト-ゲスト相互作用を生じる組み合わせの検証1

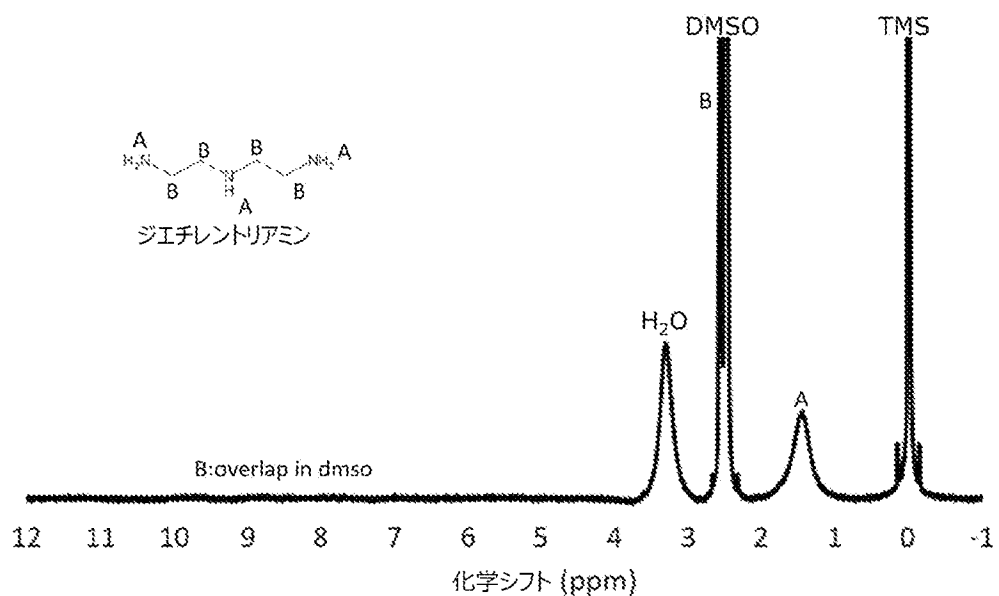
環状化合物として、エリスロマイシンを選択した。エリスロマイシンの化学構造および¹H-NMR測定結果を以下に示す。

[化7]



[0100] エリスロマイシンの環の径は3 Åであるため、分子径が3 Å未満であること、および、エリスロマイシンの分子内に窒素原子のような非共有電子対をもつドナー原子があることを条件として、エリスロマイシンとホストゲスト相互作用を生じ得るゲスト分子（軸部）候補を探索したところ、ジエチレントリアミン（DET）が選択された。DETの化学構造および¹H-NMR測定結果を以下に示す。

[化8]



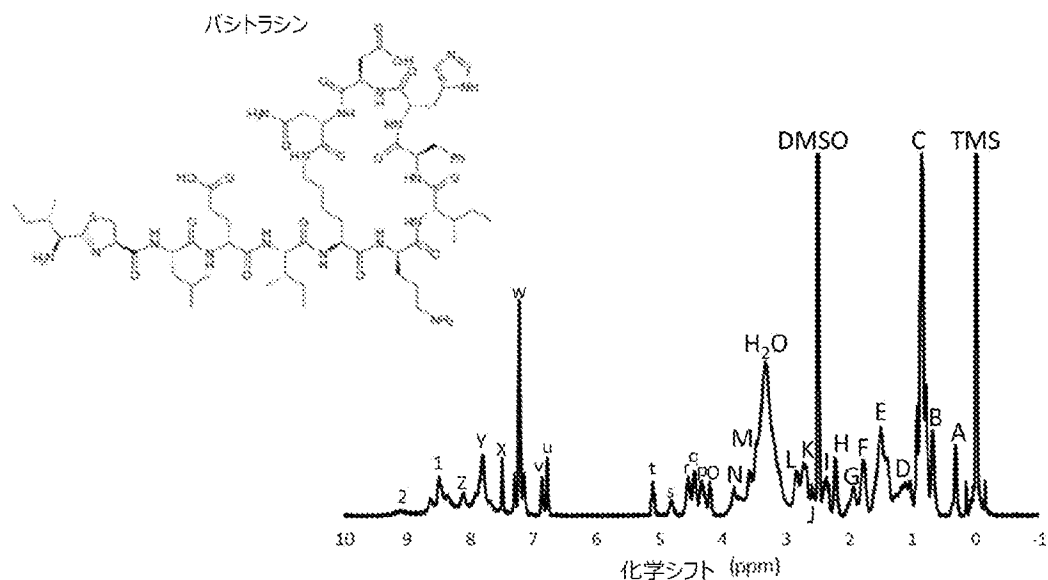
[0101] 次いで、以下のようにして、エリスロマイシンとDETの相互作用を評価した。エリスロマイシン（10 mg/mL）とDET（1.41 mg/mL）を重DMSO中で混合し、 ^1H -NMRにより化学シフトを測定し、各ピークを帰属させた。コントロールとしてエリスロマイシン（10 mg/mL）単体とDET（1.41 mg/mL）単体の化学シフトもそれぞれ測定し、各ピークを帰属させた。結果を図10A～10Eに示す。

[0102] 図10A～10Eに示されるとおり、DETと共存している場合には、エリスロマイシンの環内の化学シフトに変化が生じており、このことから、DETがエリスロマイシンの環構造に分子間相互作用を及ぼしていることが分かる。

[0103] [実験例20] ホスト-ゲスト相互作用を生じる組み合わせの検証2

環状化合物として、バシトラシンを選択した。バシトラシンの化学構造および ^1H -NMR測定結果を以下に示す。

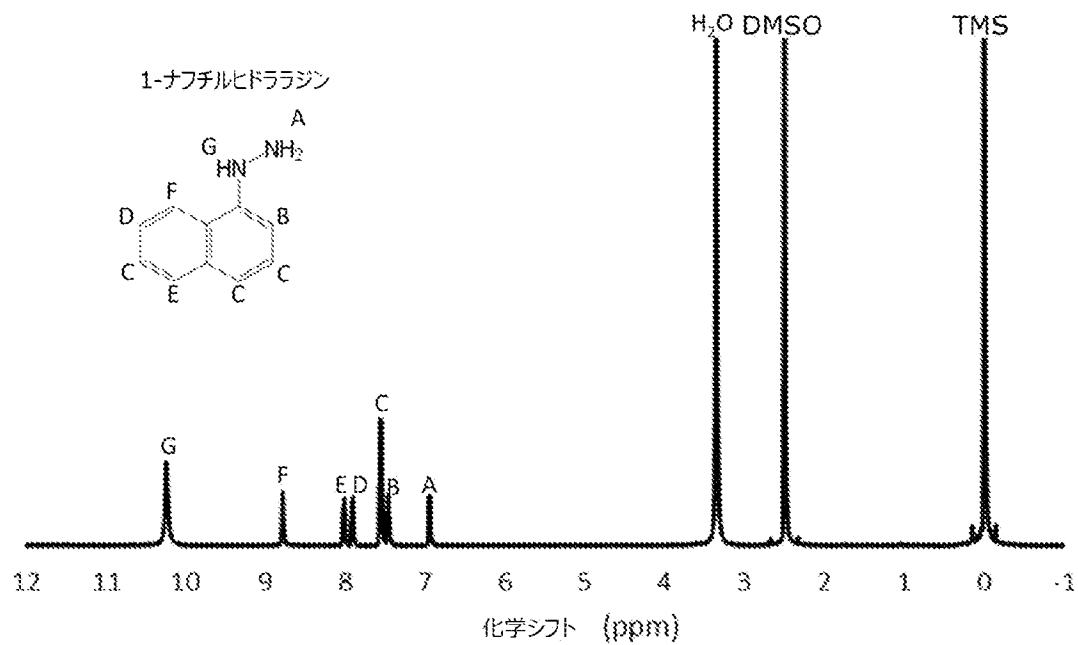
[化9]



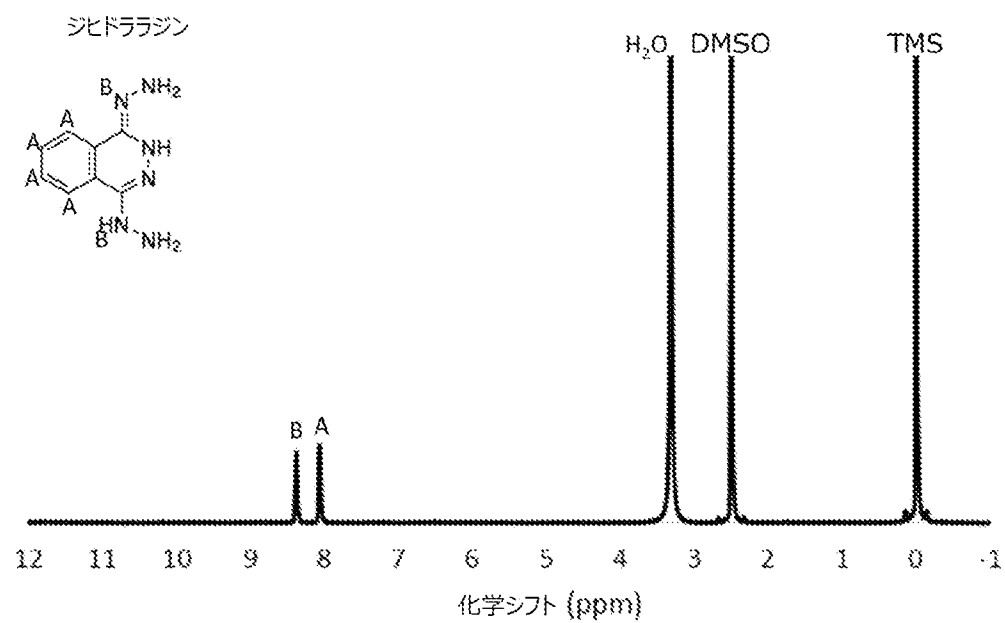
[0104] バシトラシンの環の径は8 Åであるため、分子径が8 Å未満であること、および、分子内に窒素原子のような非共有電子対をもつドナー原子があることを条件として、バシトラシンとホストゲスト相互作用を生じ得るゲスト分子（軸部）候補を探索したところ、ジヒドララジン、1-ナフチルヒドララ

ジン、D E Tが選択された。ジヒドララジンおよび1-ナフチルヒドララジンの化学構造ならびに ^1H -NMR測定結果を以下に示す。

[化10]



[化11]



[0105] 次いで、実験例 19 と同様にして、バシトラシンとジヒドララジン、1-ナフチルヒドララジンまたはDETとの相互作用を、 ^1H -NMR測定における化学シフトの変化に基づいて評価した。結果をそれぞれ、図11A~11E、図12A~12Eおよび図13A~13Fに示す。

[0106] 図11A~11E、図12A~12Eおよび図13A~13Fに示されるとおり、ジヒドララジン、1-ナフチルヒドララジンまたはDETと共存している場合には、バシトラシンの環内の化学シフトに変化が生じており、このことから、ジヒドララジン、1-ナフチルヒドララジンまたはDETがバシトラシンの環構造に分子間相互作用を及ぼしていることが分かる。

[0107] [実験例21] Valとジヒドララジン間のホスト-ゲスト相互作用の検証
Val (10 mg/mL) とジヒドララジン (2.6 mg/mL) を重DMSO中で混合し、 ^1H -NMRにより化学シフトを測定し、各ピークを帰属させた。コントロールとしてVal (10 mg/mL) 単体とジヒドララジン (2.6 mg/mL) 単体の化学シフトもそれぞれ測定し、各ピークを帰属させた。結果を図14A~14Eに示す。

[0108] 図14A~14Eに示されるとおり、ジヒドララジンと共存している場合にはヒドララジンと共存している場合と同様に、Valの水素のピークに変化が生じており、このことから、Valとヒドララジンとの間に分子間相互作用が生じていることが分かる。

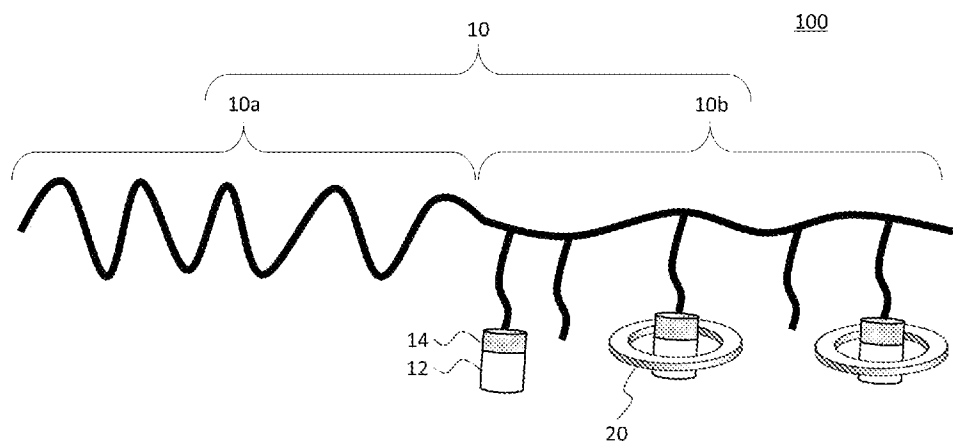
産業上の利用可能性

[0109] 本発明は、例えば、DDS分野において好適に用いられ得る。

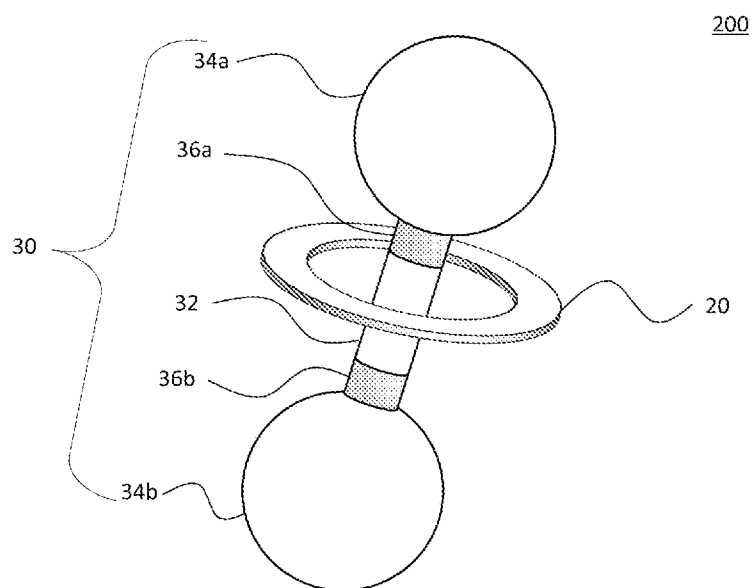
請求の範囲

- [請求項1] 環状化合物と該環状化合物を担持するための軸部を有する輸送担体との複合体であって、
該軸部が該環状化合物に包接されることによって複合体化している、複合体。
- [請求項2] 前記輸送担体が、側鎖を有するポリマーであり、
少なくとも1つの側鎖が、前記軸部を有する、請求項1に記載の複合体。
- [請求項3] 前記ポリマーが、親水性ポリマーセグメントと疎水性ポリマーセグメントとを有し、
該疎水性ポリマーセグメントの側鎖が、前記軸部を有する、請求項2に記載の複合体。
- [請求項4] 前記軸部と前記ポリマー主鎖との間に、生体内で開裂し得る結合が存在している、請求項2又は3に記載の複合体。
- [請求項5] 前記輸送担体が、前記軸部と、その両端に配置されて前記環状化合物が前記軸部から脱離することを防止する蓋部と、を有する、請求項1に記載の複合体。
- [請求項6] 前記蓋部が、親水性ポリマーを含む、請求項5に記載の複合体。
- [請求項7] 前記軸部と前記蓋部との間に、生体内で開裂し得る結合が存在している、請求項5又は6に記載の複合体。
- [請求項8] 前記軸部が、ヒドララジン、ジヒドララジン、1-ナフチルヒドララジンおよびジエチレントリアミンから選択される少なくとも1種の残基である、請求項1から7のいずれかに記載の複合体。
- [請求項9] 前記環状化合物が、バリノマイシン、バシトラシンおよびエリスロマイシンから選択される少なくとも1種である、請求項1から8のいずれかに記載の複合体。
- [請求項10] 請求項2から4のいずれかに記載の複合体を含む、ポリマー粒子組成物。

[図1]



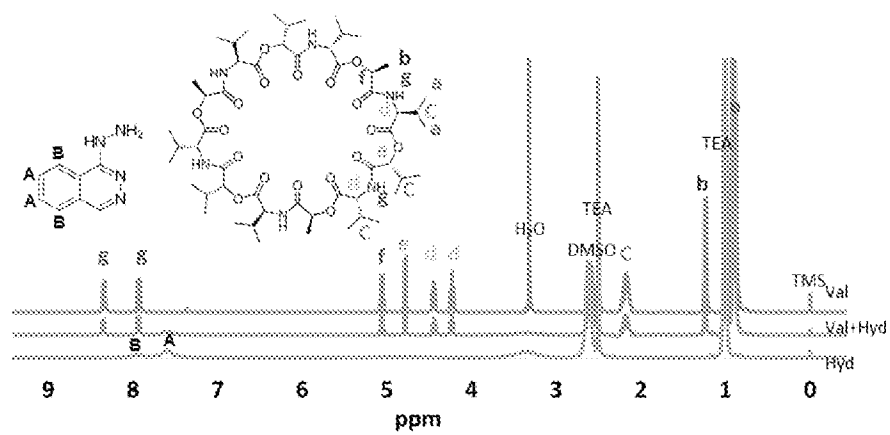
[図2]



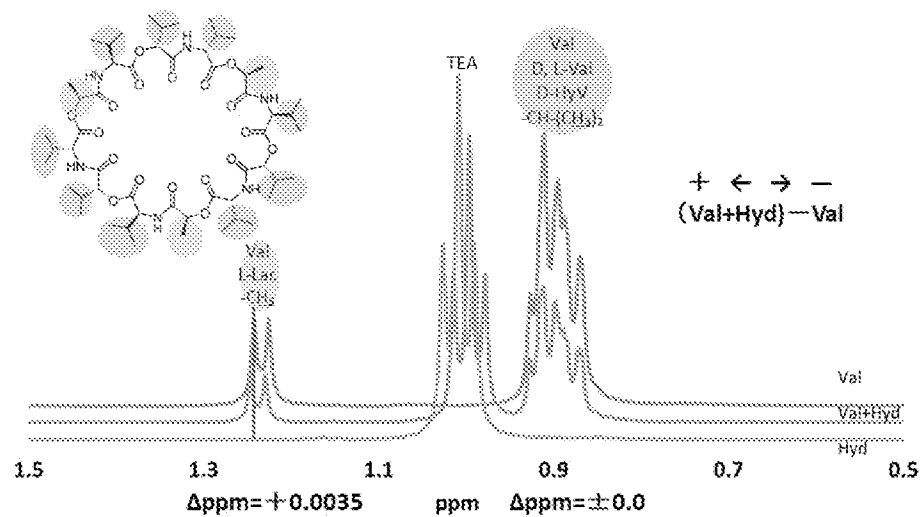
[図3A]

Val:Hyd= 1:0, 1:1, 0:1

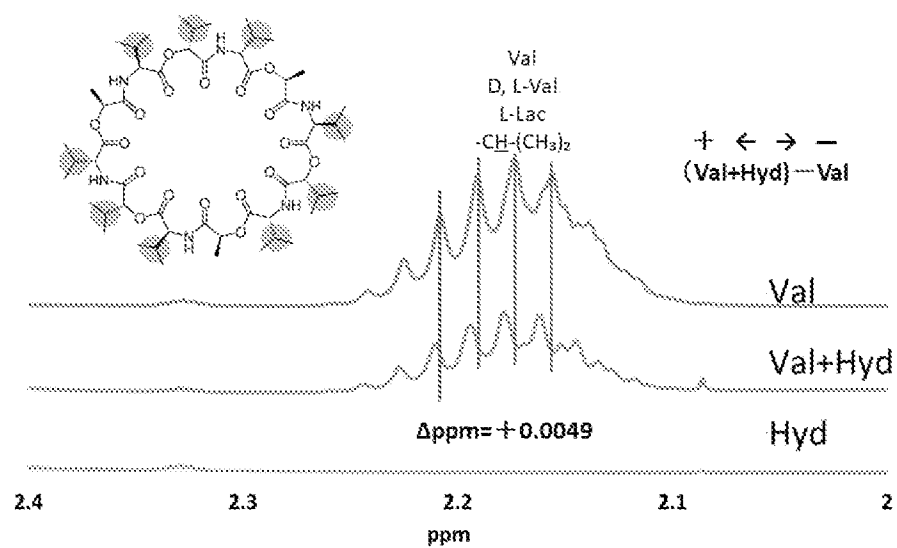
積算回数:128回 測定温度:25°C 測定溶媒:DMSO-d₆



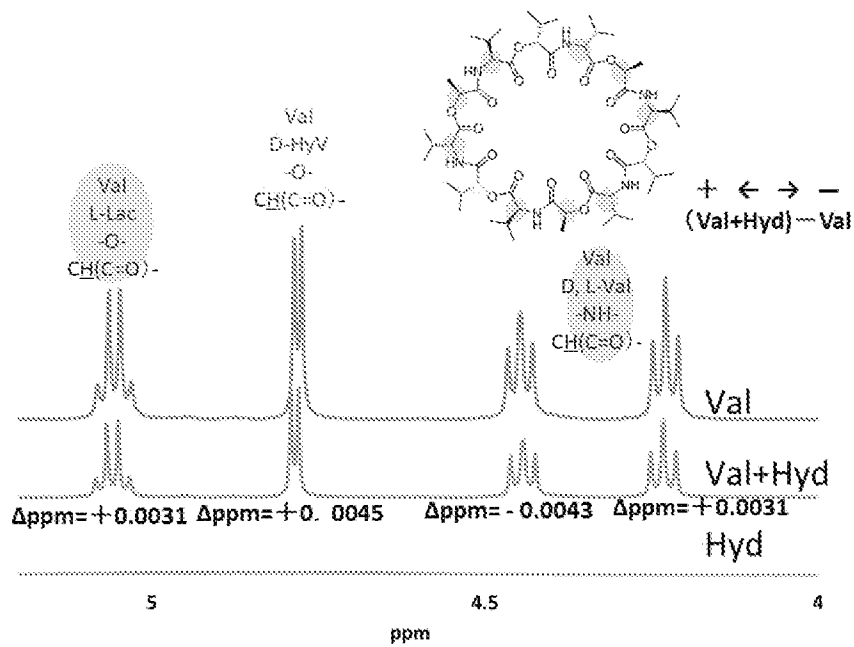
[図3B]



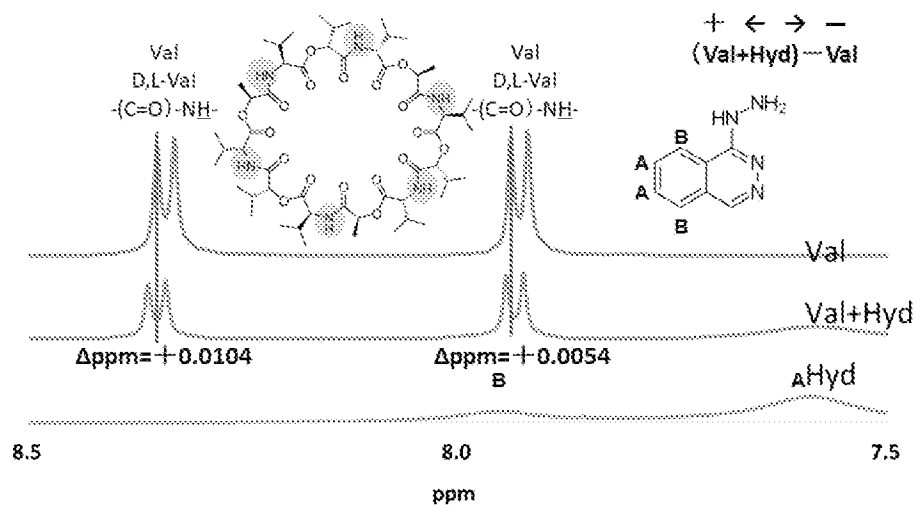
[図3C]



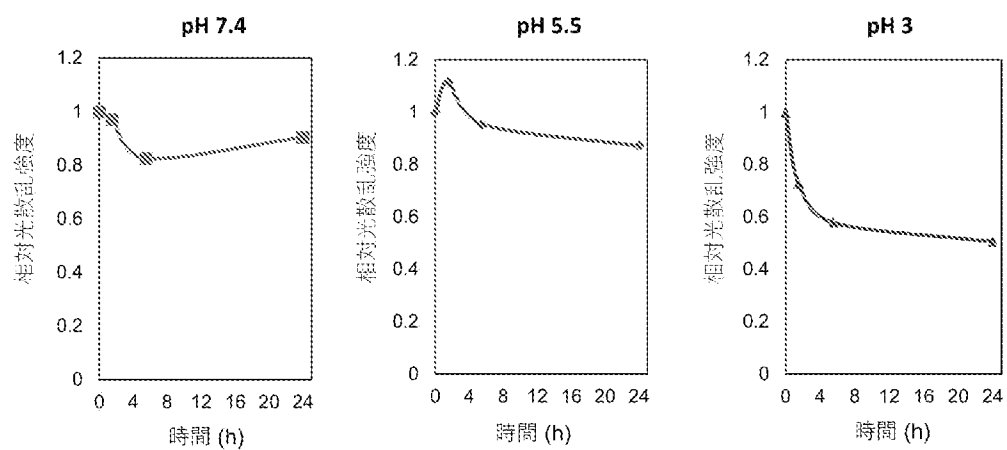
[図3D]



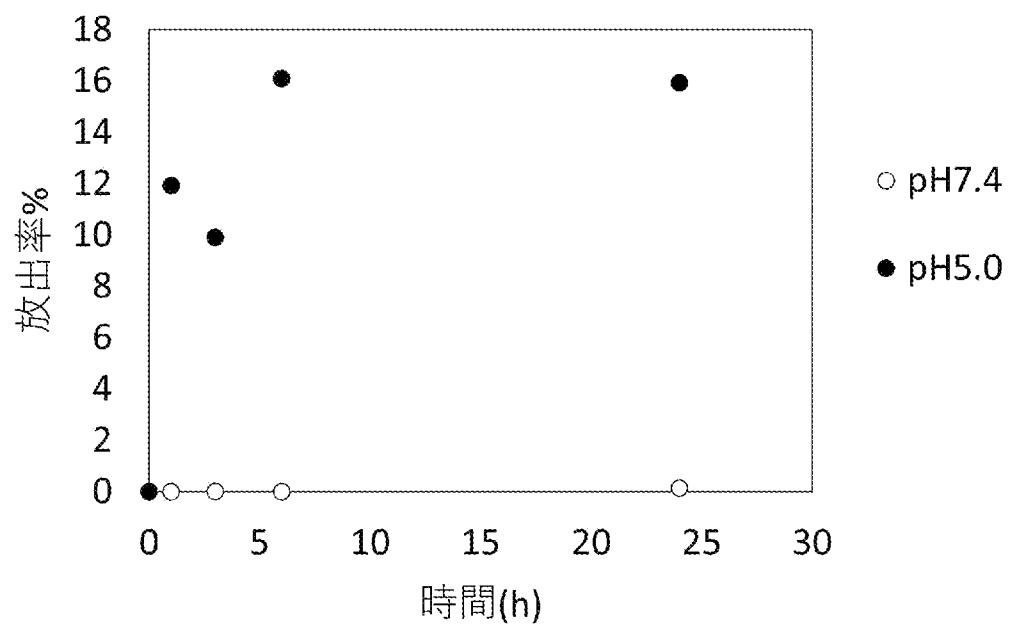
[図3E]



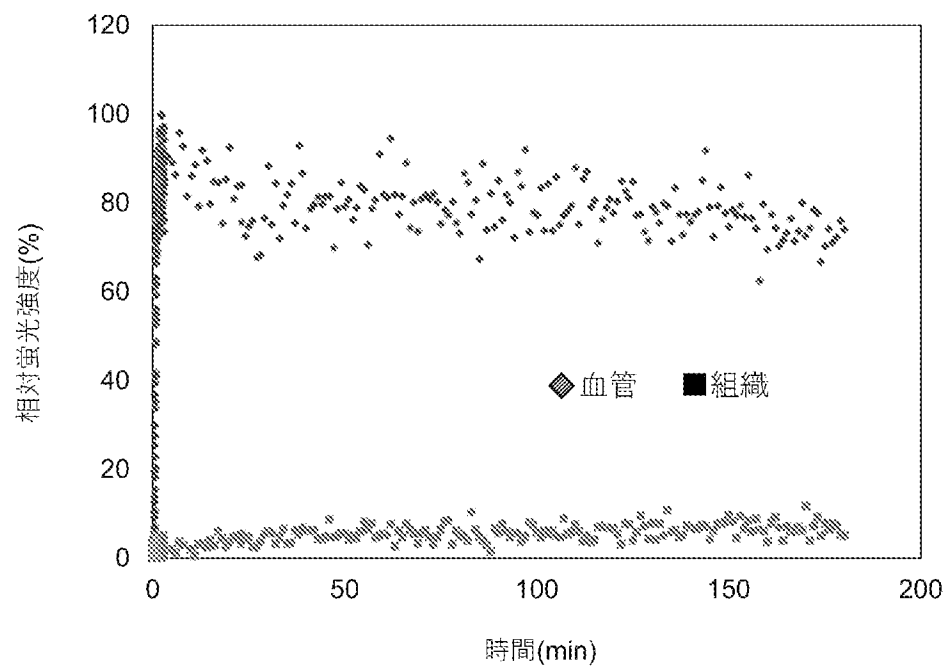
[図4]



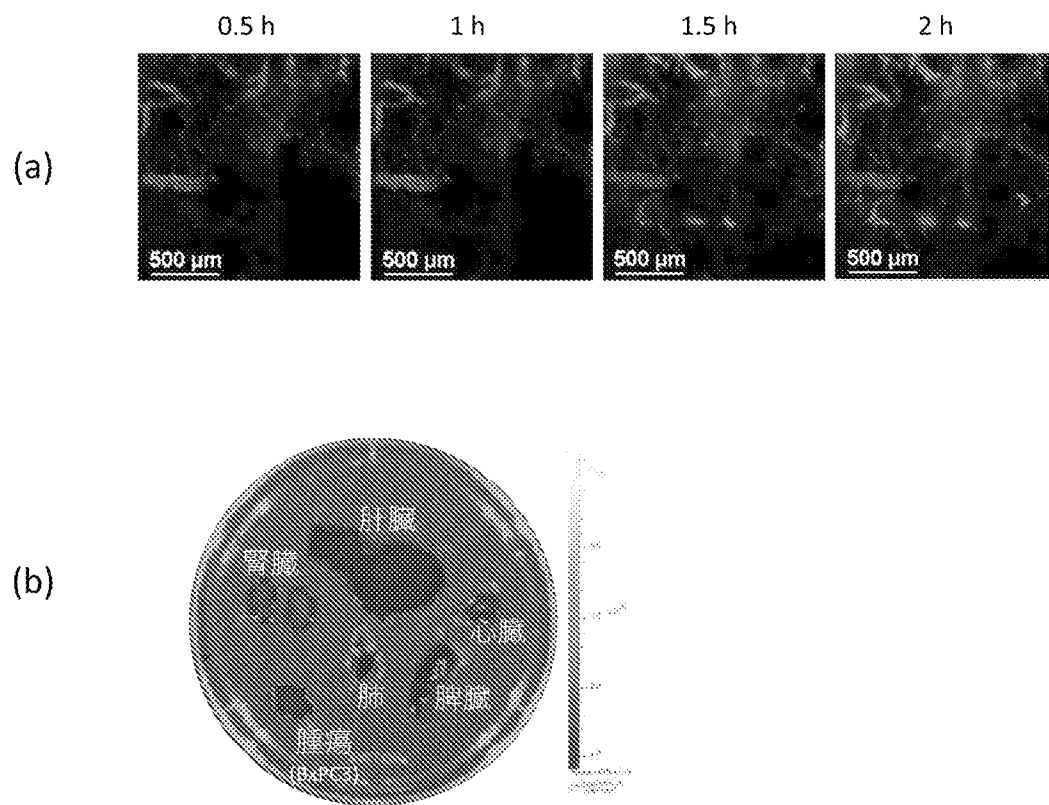
[図5]



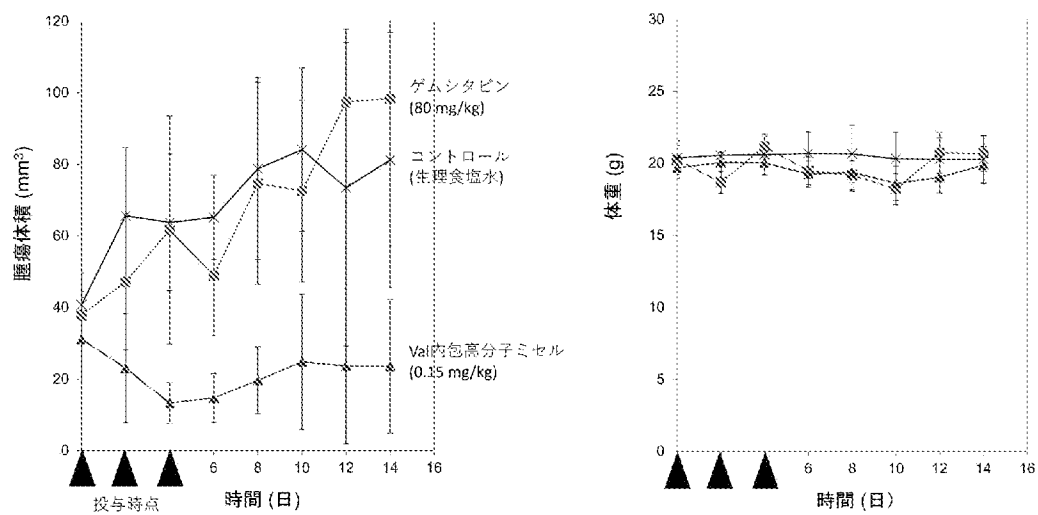
[図6]



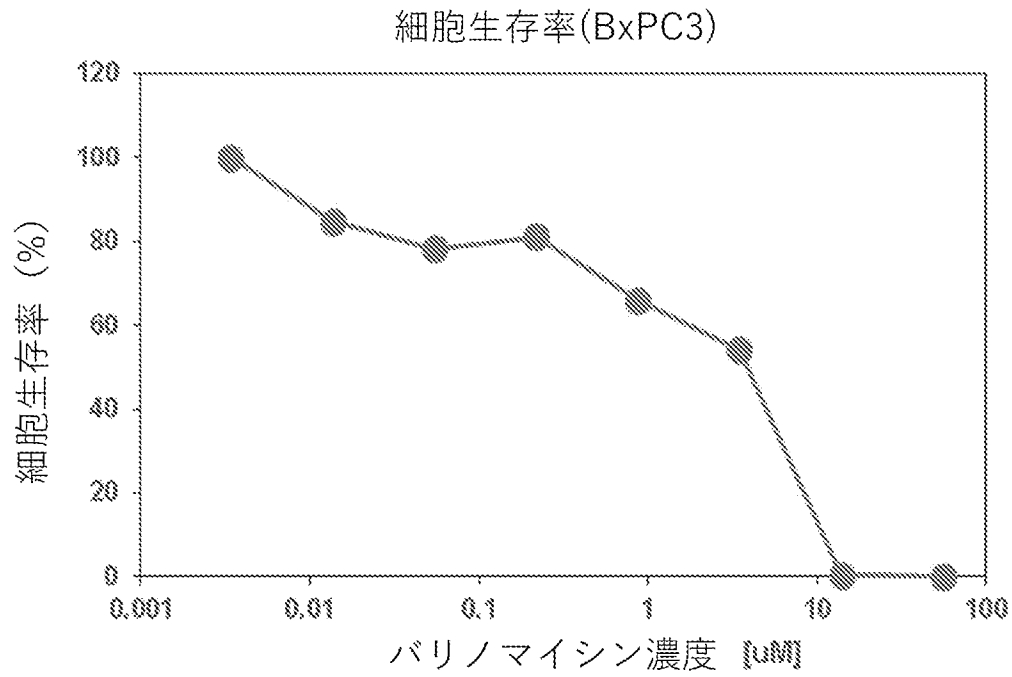
[図7]



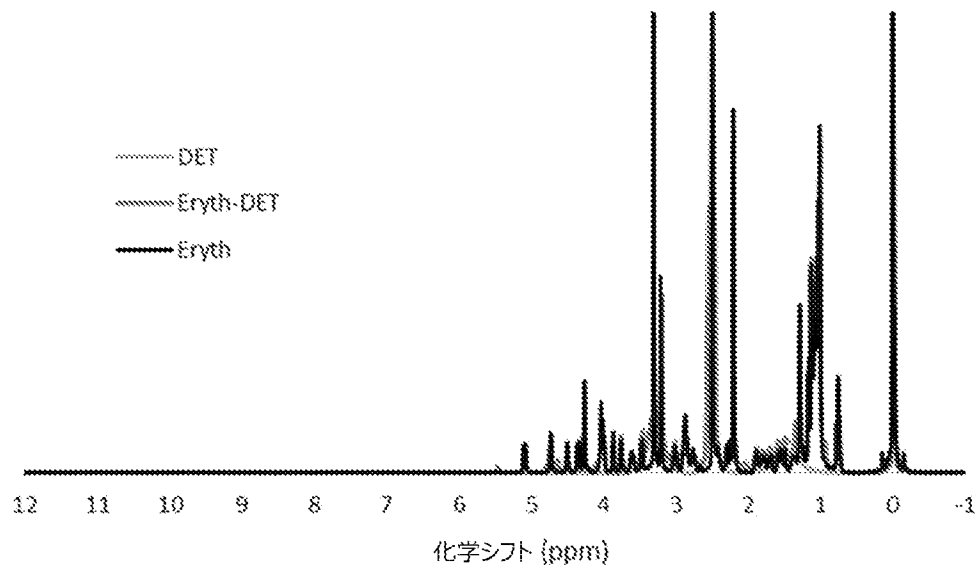
[図8]



[図9]

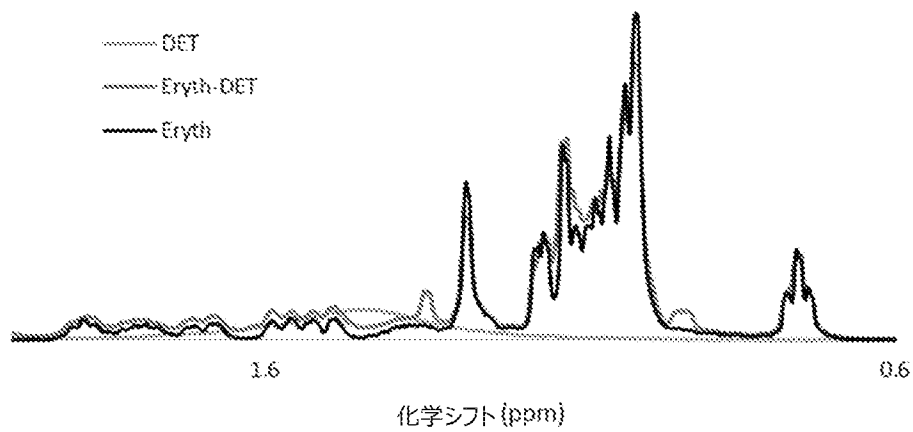


[図10A]



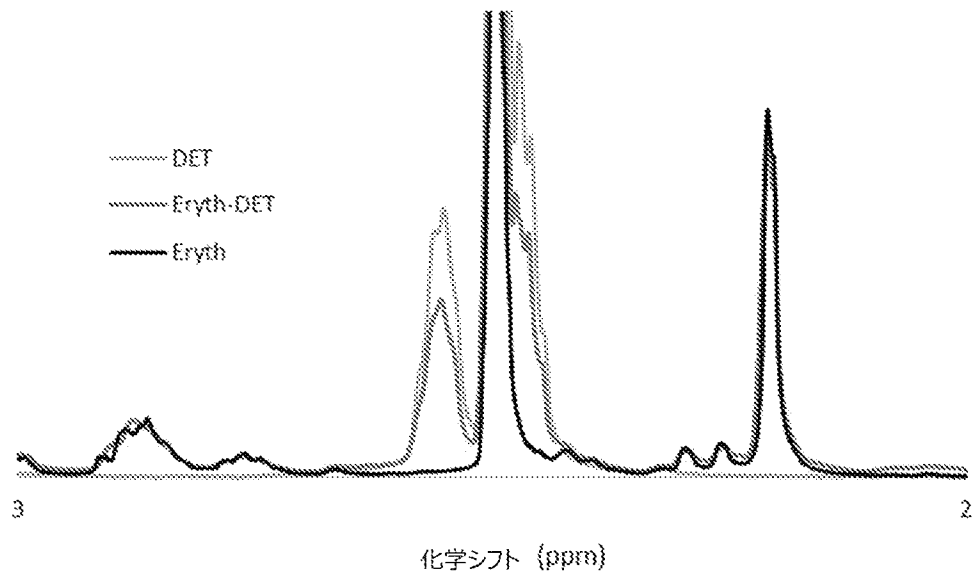
エリスロマイシン (Eryth) とジェチレントリアミン (DET) を混合した場合での
¹H-NMR測定結果の全体図

[図10B]



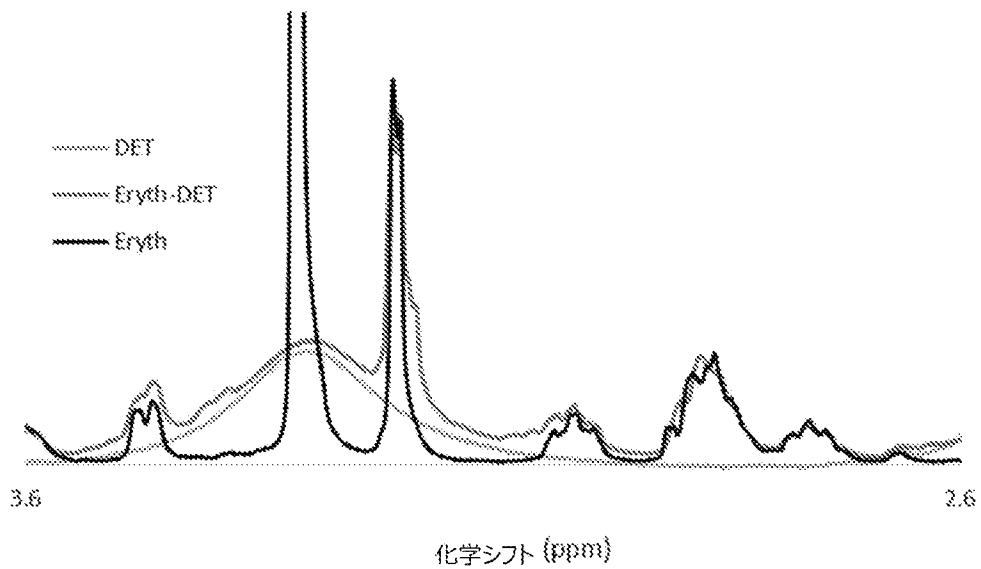
エリスロマイシン (Eryth) とジエチレントリアミン (DET) を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (0.6 – 1.9 ppm)

[図10C]



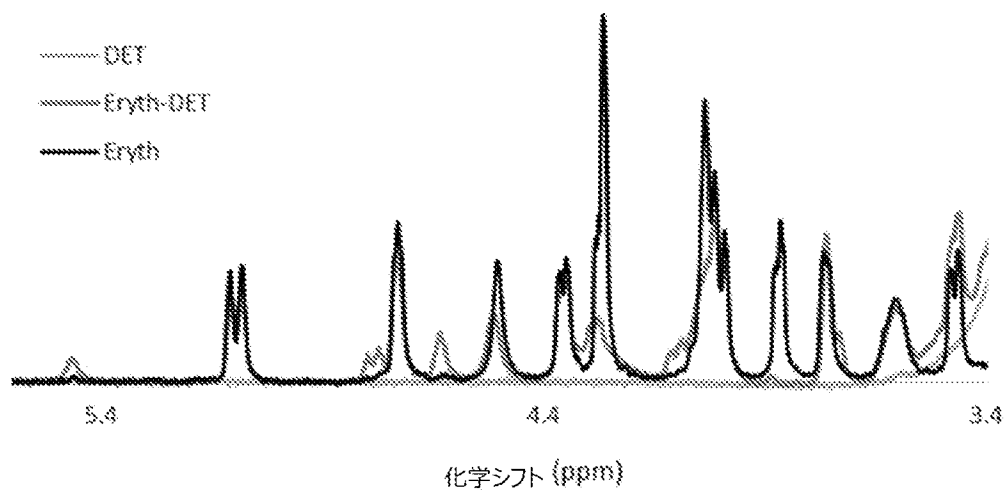
エリスロマイシン (Eryth) とジエチレントリアミン (DET) を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (2.0 – 3.0 ppm)

[図10D]



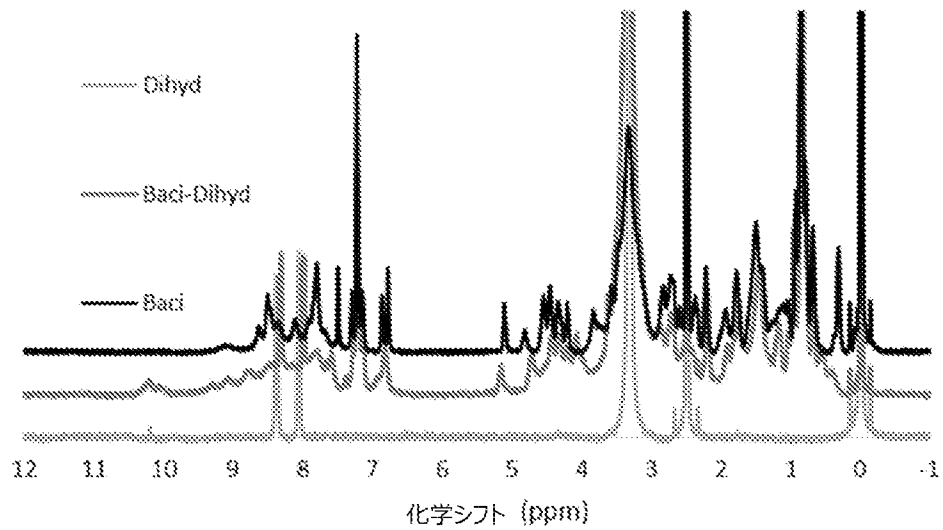
エリスロマイシン (Eryth) とジエチレントリアミン (DET) を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (2.6 – 3.6 ppm)

[図10E]



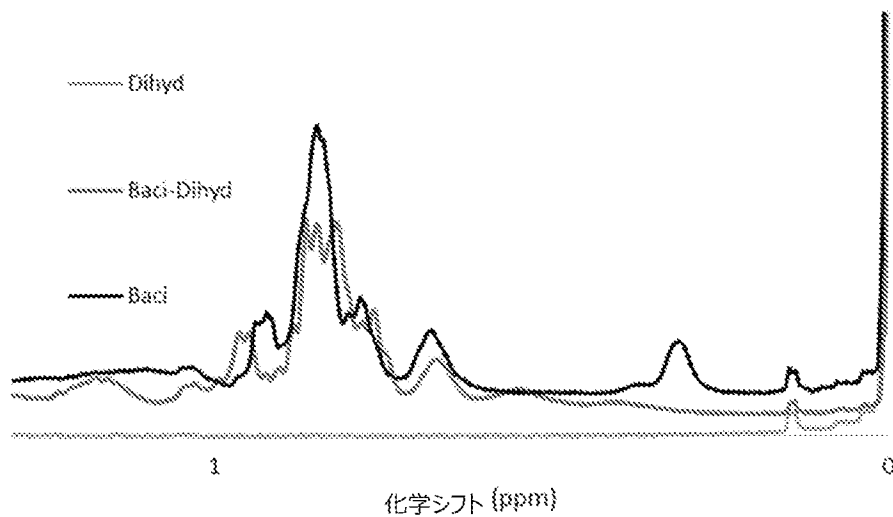
エリスロマイシン (Eryth) とジエチレントリアミン (DET) を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (3.4 – 5.4 ppm)

[図11A]



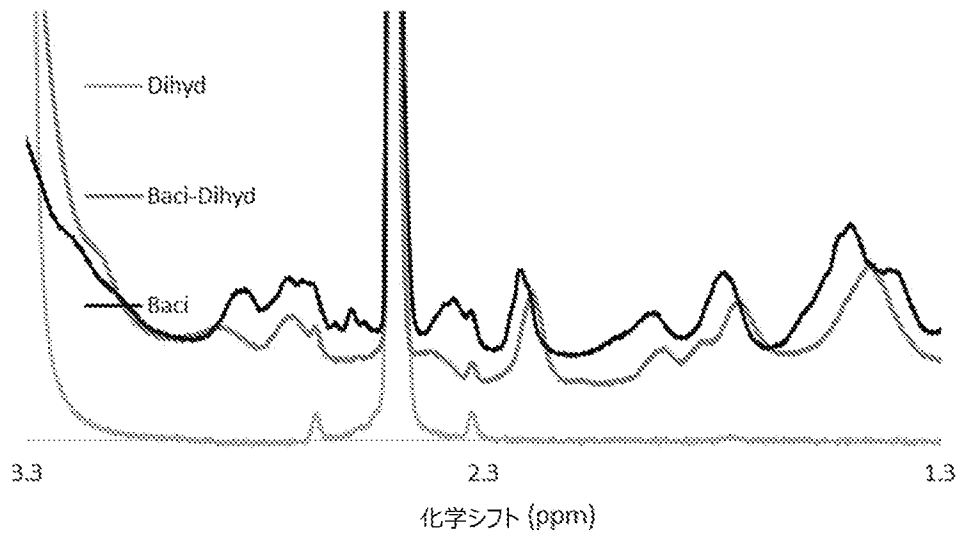
バシトラシン(Baci)とジヒドララジン(Dihyd)を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の全体図

[図11B]



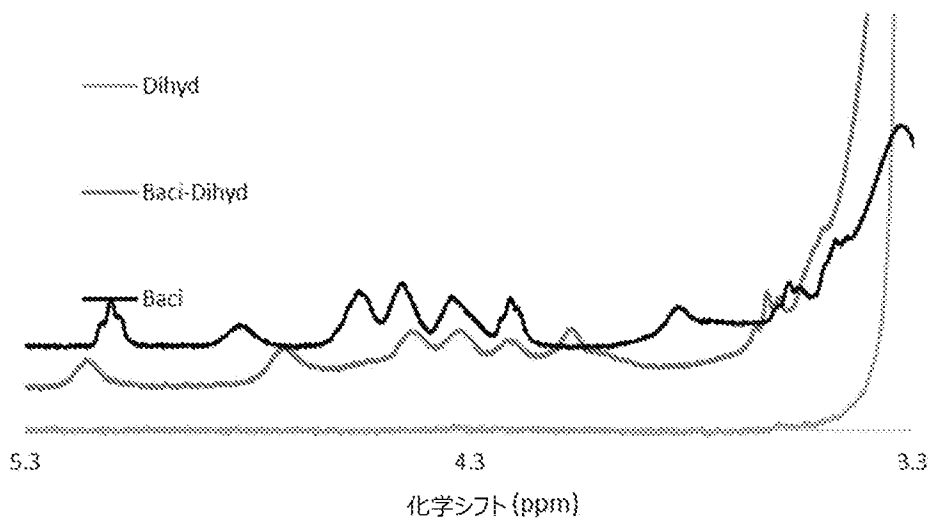
バシトラシン(Baci)とジヒドララジン(Dihyd)を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (0 - 1.6 ppm)

[図11C]



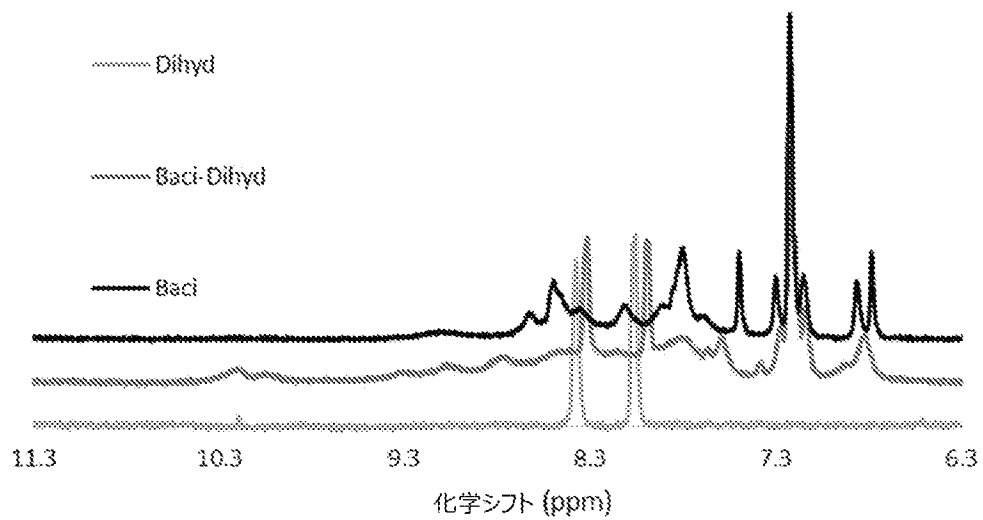
バシトラシン(Baci)とジヒドラジン(Dihyd)を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (1.3 – 3.3 ppm)

[図11D]



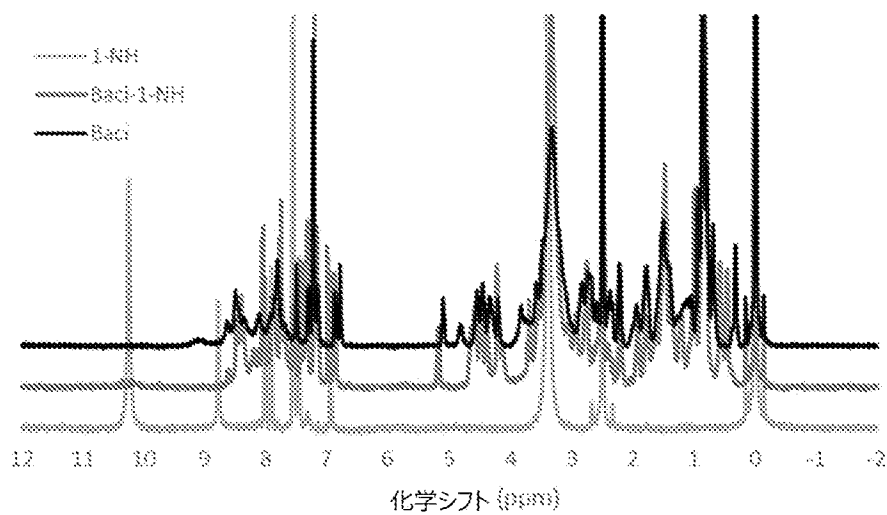
バシトラシン(Baci)とジヒドラジン(Dihyd)を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (3.3 – 5.3 ppm)

[図11E]



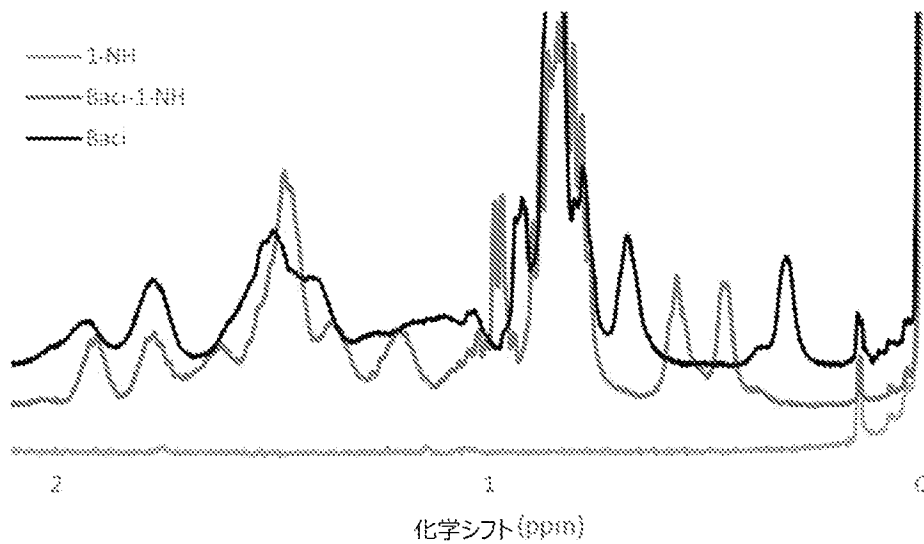
バシトラシン (Baci) とジヒドララジン (Dihyd) を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (6.3 – 11.3 ppm)

[図12A]



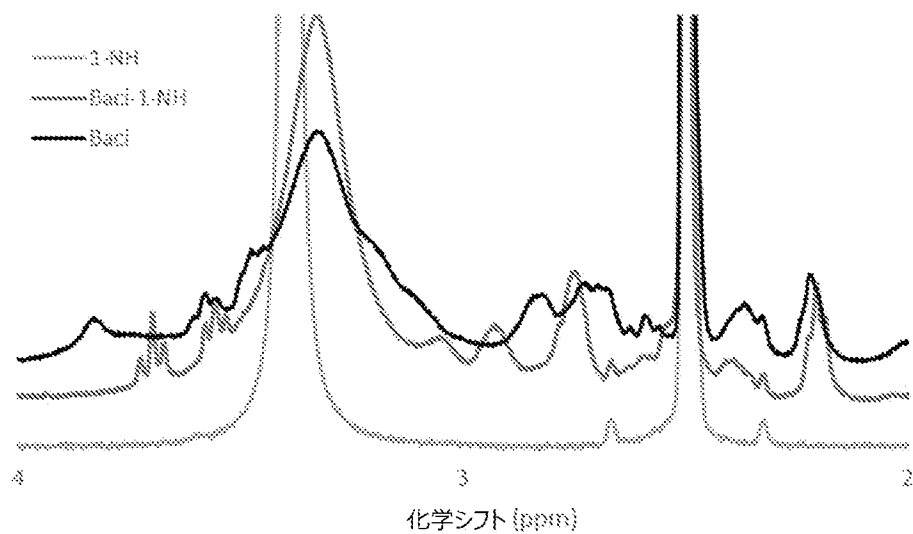
バシトラシン (Baci) と1-ナフチルヒドララジン (1-NH) を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の全体図

[図12B]



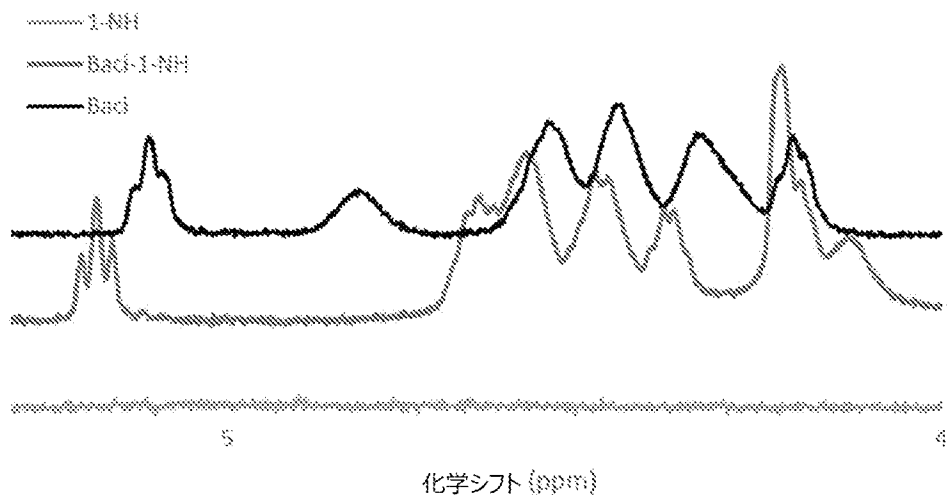
バシトラシン(Baci)と1-ナフチルヒドラジン(1-NH)を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (0 - 2.1 ppm)

[図12C]



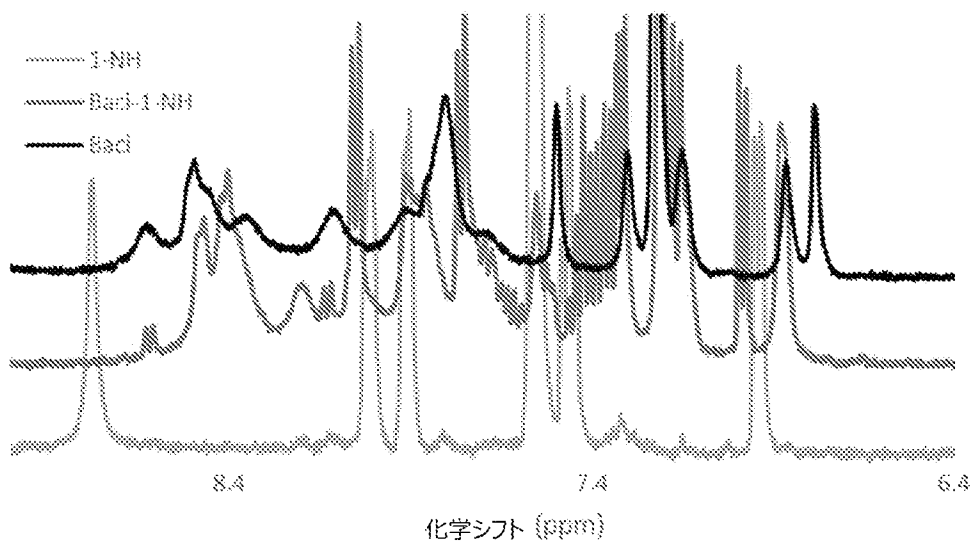
バシトラシン(Baci)と1-ナフチルヒドラジン(1-NH)を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (2.0 - 4.0 ppm)

[図12D]



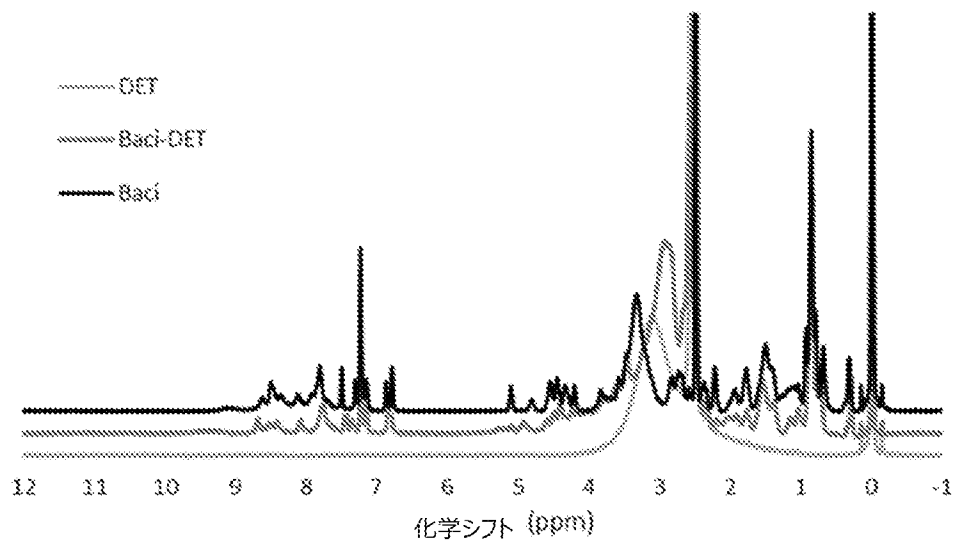
バシトラシン (Baci) と 1-ナフチルヒドラジン (1-NH) を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (4.0 – 5.5 ppm)

[図12E]



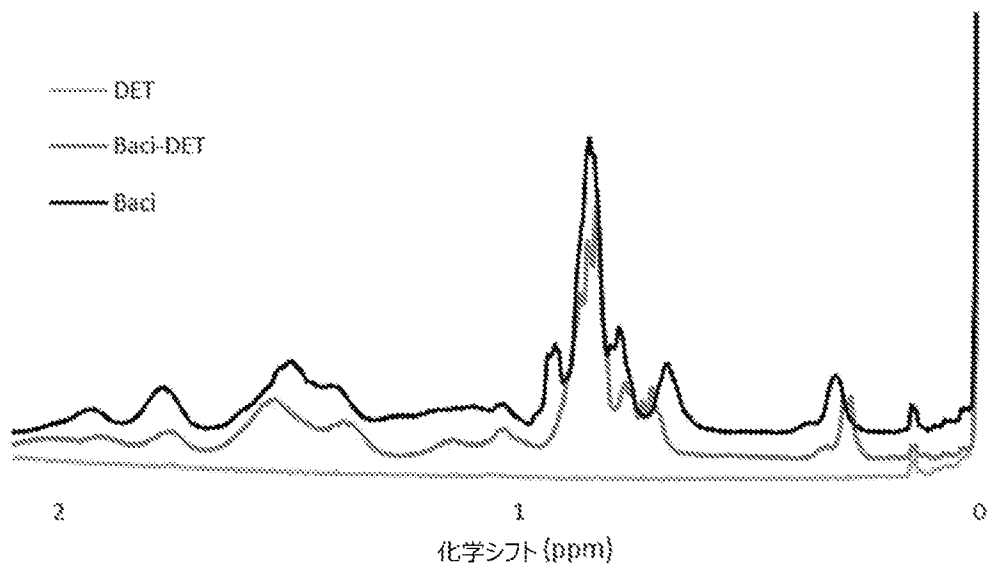
バシトラシン (Baci) と 1-ナフチルヒドラジン (1-NH) を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (6.4 – 9.0 ppm)

[図13A]



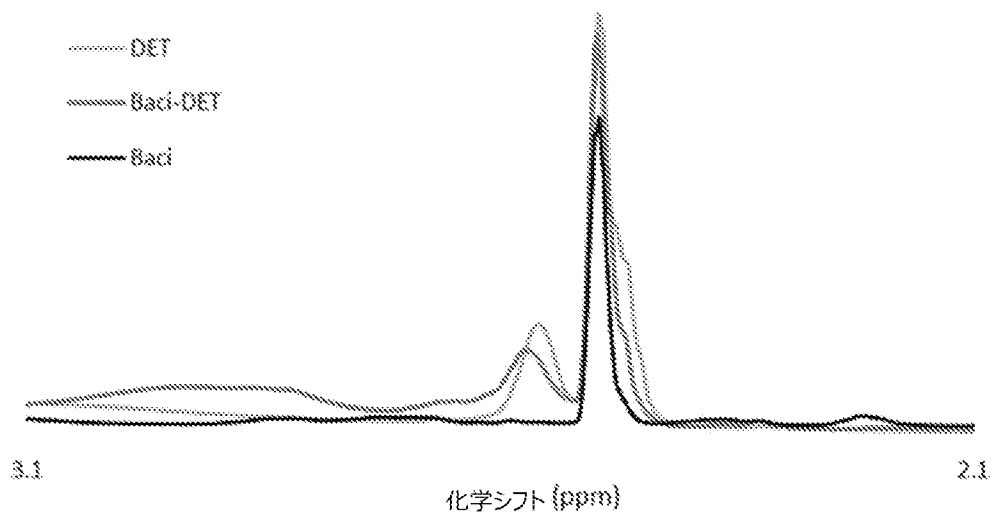
バシトラシン(Baci)とジエチレントリアミン(DET)を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の全体図

[図13B]



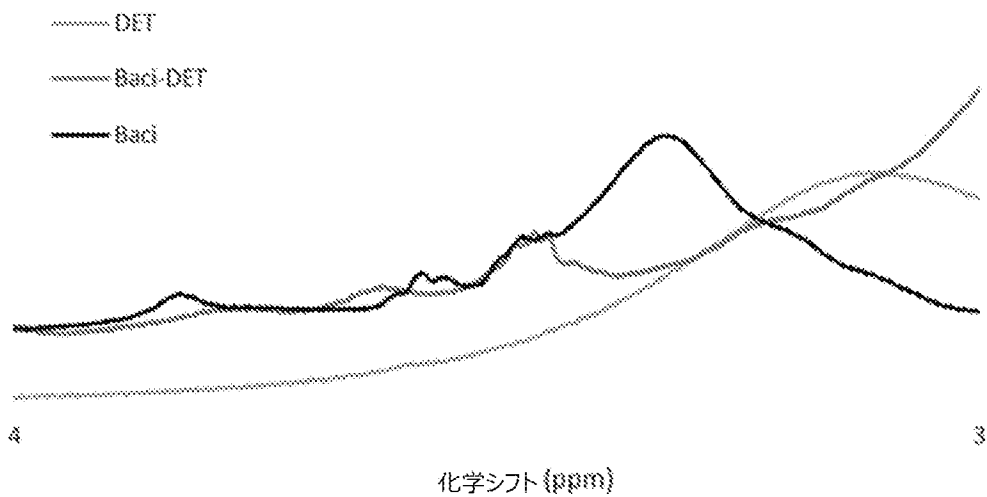
バシトラシン(Baci)とジエチレントリアミン(DET)を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (0.0-2.1 ppm)

[図13C]



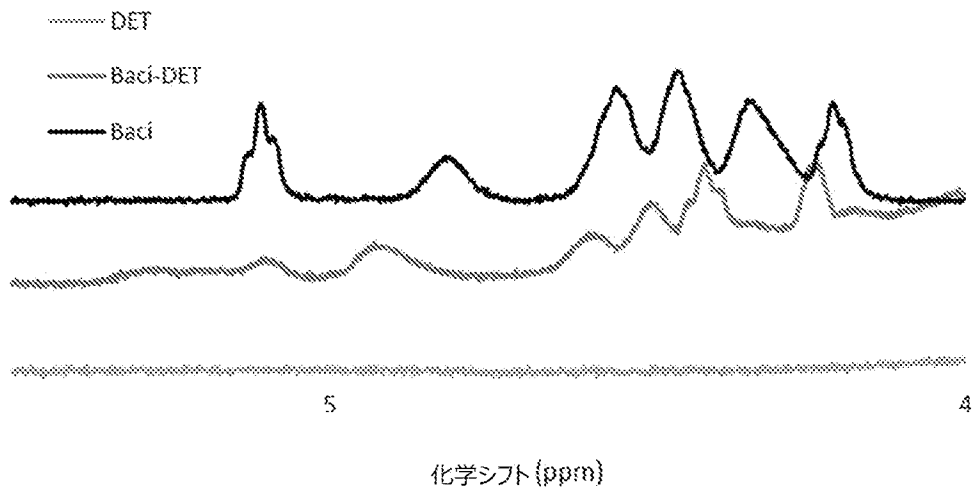
バシトラシン (Baci) とジエチレントリアミン (DET) を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (2.1 – 3.1 ppm)

[図13D]



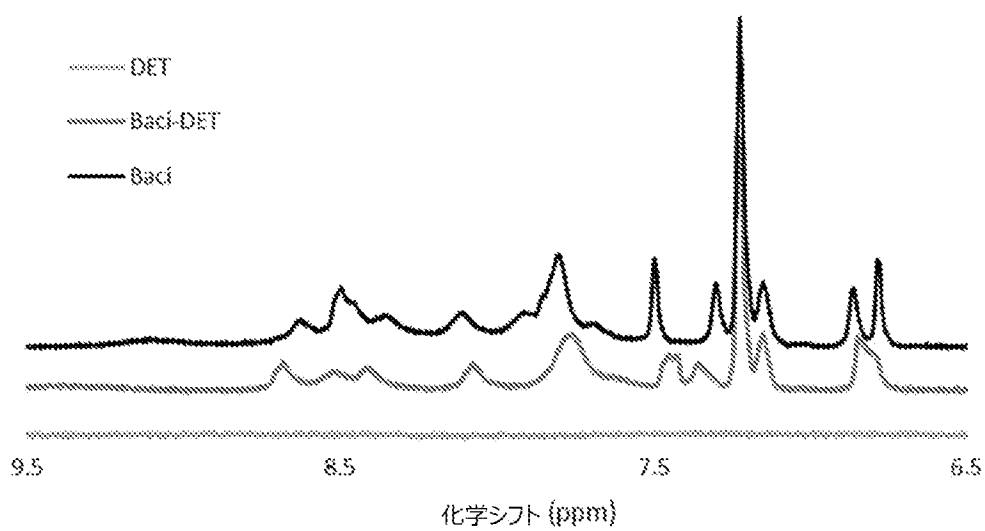
バシトラシン (Baci) とジエチレントリアミン (DET) を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (3.0 – 4.0 ppm)

[図13E]



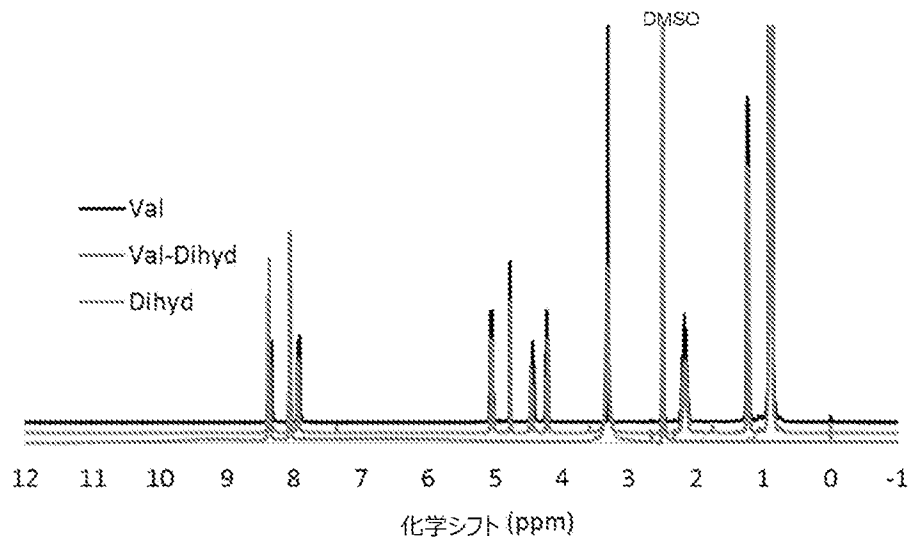
バシトラシン(Baci)とジエチレントリアミン(DET)を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (4.0 – 5.5 ppm)

[図13F]



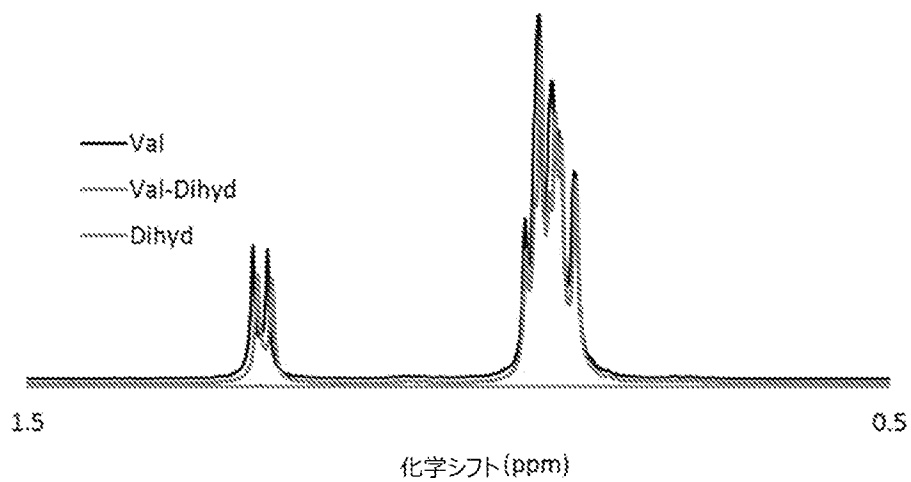
バシトラシン(Baci)とジエチレントリアミン(DET)を混合した場合での
 ^1H -NMR測定結果の拡大図 (6.5 – 9.5 ppm)

[図14A]



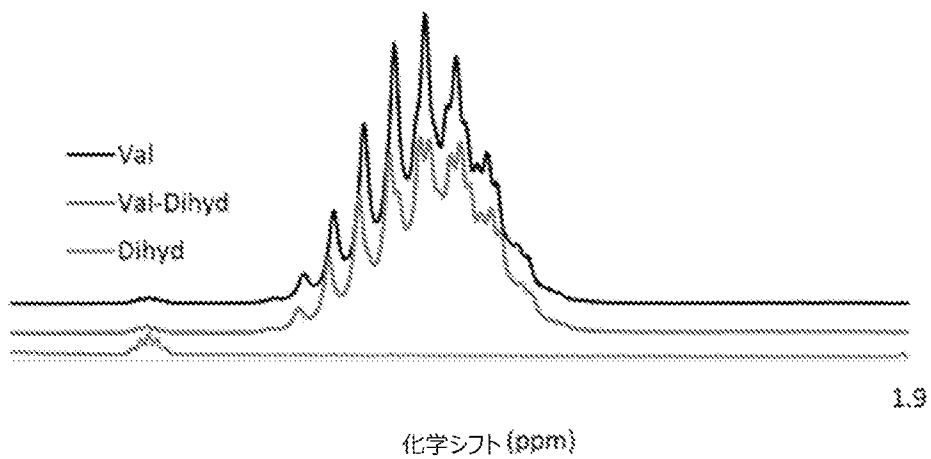
バリノマイシン (Val) とジヒドララジン(Dihyd)を混合した場合での
 ^1H -NMRの測定結果の全体図

[図14B]



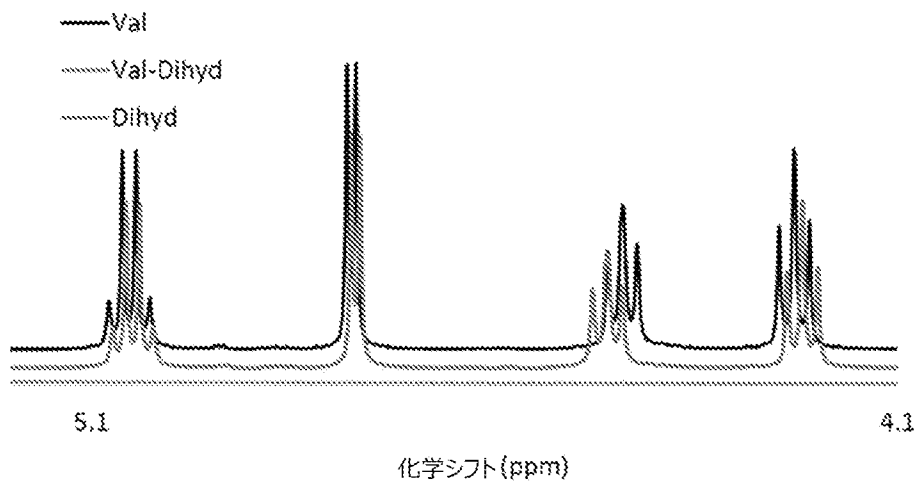
バリノマイシン (Val) とジヒドララジン(Dihyd)を混合した場合での
 ^1H -NMRの測定結果の拡大図 (0.5 - 1.5 ppm)

[図14C]



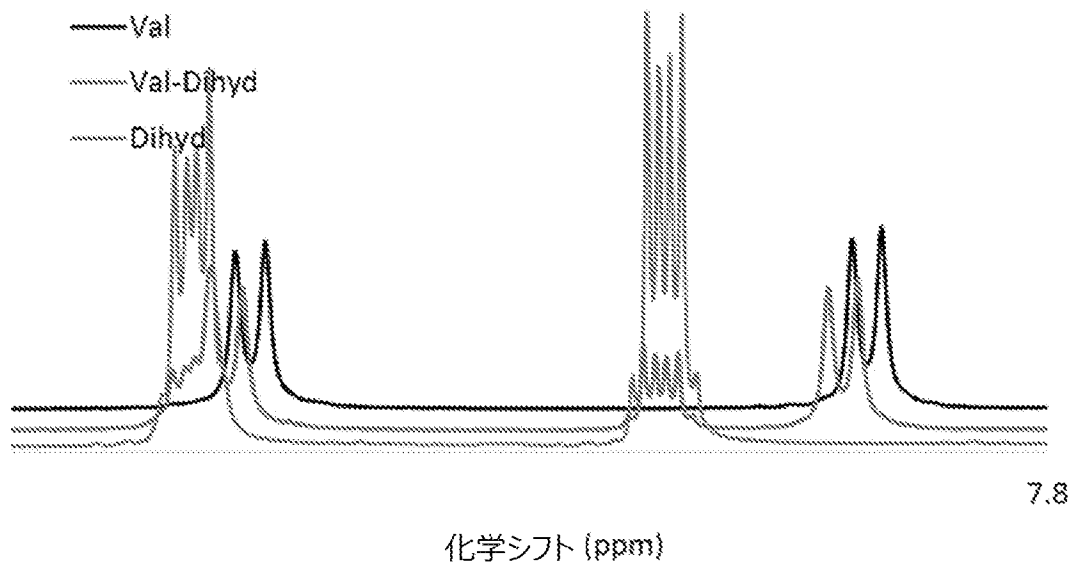
バリノマイシン (Val) とジヒドララジン (Dihyd) を混合した場合での
 ^1H -NMRの測定結果の拡大図 (1.9 – 2.3 ppm)

[図14D]



バリノマイシン (Val) とジヒドララジン (Dihyd) を混合した場合での
 ^1H -NMRの測定結果の拡大図 (4.1 – 5.3 ppm)

[図14E]



バリノマイシン (Val) とジヒドララジン(Dihyd)を混合した場合での
 ^1H -NMRの測定結果の拡大図 (7.8 – 8.3 ppm)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2019/047900

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61P 35/00(2006.01)i; A61K 9/10(2006.01)i; A61K 9/14(2006.01)i; A61K 47/59(2017.01)i; A61K 47/69(2017.01)i; A61K 38/12(2006.01)i
FI: A61K47/59; A61K38/12; A61K9/14; A61P35/00; A61K9/10; A61K47/69
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61P35/00; A61K9/10; A61K9/14; A61K47/59; A61K47/69; A61K38/12

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971-2020
Registered utility model specifications of Japan	1996-2020
Published registered utility model applications of Japan	1994-2020

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ZENG, San et al., "Trilayer micelles for combination delivery of rapamycin and si RNA targeting Y-box binding protein-1(siYB-1)", Biomaterials, 2013, vol. 34, pp. 6882-6892, entire text	1-10
A	CN 106943603 A (SUN YAT-SEN UNIVERSITY) 14.07.2017 (2017-07-14) entire text	1-10
A	JP 2013-543880 A (SIGMOID PHARMA LIMITED) 09.12.2013 (2013-12-09) entire text	1-10
A	WO 2011/105402 A1 (NANOCARRIER CO., LTD.) 01.09.2011 (2011-09-01) entire text	1-10
A	WO 2015/075942 A1 (THE UNIVERSITY OF TOKYO) 28.05.2015 (2015-05-28) entire text	1-10

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

* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
03 February 2020 (03.02.2020)

Date of mailing of the international search report
03 March 2020 (03.03.2020)

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2019/047900

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
CN 106943603 A	14 Jul. 2017	(Family: none)	
JP 2013-543880 A	09 Dec. 2013	US 2013/0243873 A1 entire text	
WO 2011/105402 A1	01 Sep. 2011	WO 2012/069658 A2 US 2012/0149649 A1 entire text	
WO 2015/075942 A1	28 May 2015	US 2016/0287714 A1 entire text	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） A61P 35/00(2006.01)i; A61K 9/10(2006.01)i; A61K 9/14(2006.01)i; A61K 47/59(2017.01)i; A61K 47/69(2017.01)i; A61K 38/12(2006.01)i FI: A61K47/59; A61K38/12; A61K9/14; A61P35/00; A61K9/10; A61K47/69		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） A61P35/00; A61K9/10; A61K9/14; A61K47/59; A61K47/69; A61K38/12		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2020年 日本国実用新案登録公報 1996-2020年 日本国登録実用新案公報 1994-2020年		
国際調査で利用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CAlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS (STN)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	ZENG San et al., Trilayer micelles for combination delivery of rapamycin and si RNA targeting Y-box binding protein-1(siYB-1), Biomaterials, 2013, Vol.34, pp.6882-6892 全文	1-10
A	CN 106943603 A (中山大学) 14.07.2017 (2017-07-14) 全文	1-10
A	JP 2013-543880 A (シグモイド・ファーマ・リミテッド) 09.12.2013 (2013-12-09) 全文	1-10
A	WO 2011/105402 A1 (ナノキャリア株式会社) 01.09.2011 (2011-09-01) 全文	1-10
A	WO 2015/075942 A1 (国立大学法人 東京大学) 28.05.2015 (2015-05-28) 全文	1-10
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献 “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 03.02.2020		国際調査報告の発送日 03.03.2020
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		権限のある職員（特許庁審査官） 磯部 洋一郎 4C 4432 電話番号 03-3581-1101 内線 3452

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2019/047900

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
CN	106943603	A	14.07.2017	(ファミリーなし)	
JP	2013-543880	A	09.12.2013	US 2013/0243873	A1
				全文	
				WO 2012/069658	A2
WO	2011/105402	A1	01.09.2011	US 2012/0149649	A1
				全文	
WO	2015/075942	A1	28.05.2015	US 2016/0287714	A1
				全文	