



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109395678 A

(43)申请公布日 2019.03.01

(21)申请号 201811582346.1

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2014.02.28

*B01J 13/20*(2006.01)

(30)优先权数据

*B01J 13/14*(2006.01)

2013-041186 2013.03.01 JP

*A61K 9/50*(2006.01)

2013-176068 2013.08.27 JP

(62)分案原申请数据

201480012267.0 2014.02.28

(71)申请人 国立研究开发法人科学技术振兴机构

地址 日本埼玉县

(72)发明人 片冈一则 岸村显广 安乐泰孝  
后藤晃范

(74)专利代理机构 上海弼兴律师事务所 31283  
代理人 薛琦

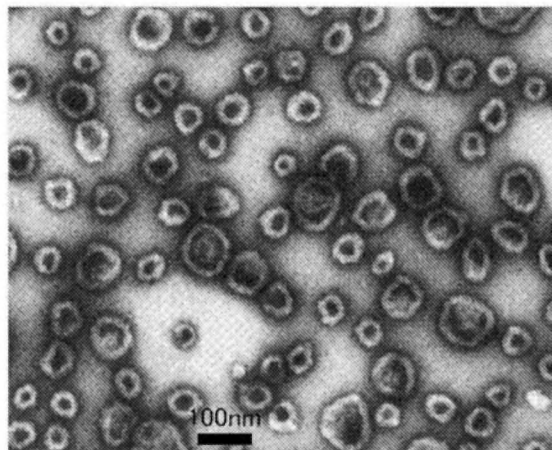
权利要求书1页 说明书65页 附图36页

(54)发明名称

物质包封微囊及其制备方法

(57)摘要

本发明提供了将相比于现有的高浓度的物质封入的物质包封微囊的单分散体。通过将由第1和/或第2聚合物交联的预定聚合物形成的交联微囊的单分散体,在水性介质中和含有目标物质的混合液混合,在交联微囊中包封目标物质。其中,所述的第1聚合物为具有不带电亲水性嵌段以及第1带电嵌段的嵌段聚合物,和所述的第2聚合物具有带与第1带电聚合物相反电荷的嵌段。



(尺寸: 97.2nm, PDI:0.087)

1. 一种吸附材料包封微囊,其特征在于,  
其包括由包含作为具有不带电亲水性嵌段以及第1带电嵌段的嵌段聚合物的第1聚合物,以及,具有带所述第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的第2聚合物的膜形成的微囊,和该微囊中包封的吸附材料颗粒,所述第1以及第2聚合物的至少一方吸附于所述吸附材料颗粒。
2. 根据权利要求1中所述的吸附材料包封微囊,其特征在于,所述第1和/或第2聚合物是交联的。
3. 根据权利要求1中所述的吸附材料包封微囊,其特征在于,所述吸附材料颗粒是二氧化硅粒子。
4. 根据权利要求1中所述的吸附材料包封微囊,其特征在于,所述吸附材料颗粒的平均粒径为40nm~10 $\mu$ m。
5. 根据权利要求1中所述的吸附材料包封微囊,其特征在于,对所述吸附材料颗粒进行表面处理。
6. 根据权利要求1中所述的吸附材料包封微囊,其特征在于,所述吸附材料颗粒能够吸附小分子化合物。
7. 一种吸附材料包封微囊的制造方法,其特征在于,  
在由膜形成的微囊上包封有吸附材料颗粒;其中所述膜含有作为具有不带电亲水性嵌段和第1带电嵌段的嵌段共聚物的第1聚合物,以及具有带与所述第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的第2聚合物;  
含有:
  - (a) 将所述第1和第2聚合物的一方与所述吸附材料颗粒混合,吸附于所述吸附材料颗粒的工序;
  - (b) 将所述工序(a)的混合物与所述第1或第2聚合物的另一方继续混合,在所述吸附材料颗粒的周围形成由含有第1和第2聚合物的膜形成的微囊,制作吸附材料包封微囊的工序。
8. 根据权利要求7中所述的方法,其特征在于,该方法还包括  
(c):交联所述工序(b)的微囊中的所述第1和/或所述第2聚合物的工序。
9. 根据权利要求7中所述的方法,其特征在于,所述吸附材料颗粒是二氧化硅颗粒。
10. 根据权利要求7中所述的方法,其特征在于,所述吸附材料颗粒的平均粒径为40nm~10 $\mu$ m。
11. 根据权利要求7中所述的方法,其特征在于,该方法还包括对所述吸附材料颗粒进行表面处理的工序。
12. 根据权利要求7中所述的方法,其特征在于,小分子化合物吸附于所述吸附材料颗粒上。
13. 一种权利要求1~6任一项中所述的微囊的药物传递系统。

## 物质包封微囊及其制备方法

[0001] 本申请为中国专利申请CN201480012267.0的分案申请,其申请日为2014年2月28日,发明名称为“物质包封微囊及其制备方法”。

### 技术领域

[0002] 本发明涉及新型物质包封微囊及其制备方法。

### 背景技术

[0003] 众所周知,通过使一级结构被精密控制的高分子自组装,可以形成并获得微囊。由于这样的微囊能够多样化的分子设计,同时有呈现高分子固有性质之外新性能的可能性,因此研究了作为药物传递系统(Drug Delivery System:DDS)的载体、生物材料·功能材料等的使用。

[0004] 在专利文献1(日本特开平8-188541号公报)中,根据本发明人等的一部分人,公开了:具有不带电链段和带电链段的嵌段共聚物自组装而形成的静电结合型高分子胶束药物载体。

[0005] 在非专利文献1(Schlaad H.et al.,Macromolecules,2003,36(5),1417-1420)中,公开了:由聚(1,2-丁二烯)嵌段和聚(甲基丙烯酸铯)嵌段形成的嵌段共聚物与由聚苯乙烯嵌段和聚(1-甲基-4-乙烯基吡啶碘化物)嵌段形成的嵌段共聚物自组装而形成的被称为聚合物囊泡的微囊。

[0006] 在专利文献2(国际公开第2006/118260号小册子)中,根据本发明人等的一部分人,公开了:具有不带电亲水性链段和阳离子性链段的第1嵌段共聚物(例如PEG-聚阳离子等),与具有不带电荷的亲水性链段和阴离子段的第2嵌段共聚物(如PEG-聚阴离子等)自组装而形成的微囊。

[0007] 在非专利文献2(Anraku Y.et al.,J.Am.Chem.Soc.,2010,132(5),1631-1636)中,根据本发明者等的一部分人,公开了:具有不带电亲水性链段和带电链段的嵌段共聚物(例如PEG-聚阳离子等),和带与所述带电链段相反电荷的共聚物(如聚阴离子等)自组装而形成的微囊。

[0008] 通常认为由高分子的自组装而得到的所述各种微囊利用其空隙部包含、负载各种物质。(关于概论,参照非专利文献3(H.Nyin et al.Soft Matter,2006,2,940-949)以及非专利文献4(“脂质体应用的新开展”、秋吉一成等主编、NTS、2005年))。

[0009] 作为制备在空隙部中包封物质的微囊(以下有表示为“物质包封微囊”的情况)的方法,其代表为:将应该包封的物质(以下有表示为“被包封物质”的情况)与成为膜构成要素的高分子,或预先形成的高分子膜共同混合,经自组装,同时进行微囊的形成和向空隙部中的物质的封入的方法(以下有表示为“同时混合法”的场合)。作为具体例,可以列举出乳液聚合法(参照非专利文献5(F.Szoka,Jr et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1978 75(9)4194-4198))、脂质有机溶液滴落法(参照非专利文献6(Batzri,S.et al.,Biochim.Biophys Acta 1973,298,1015-1019))等。

[0010] 但是,在同时混合法中,有被包封物质的存在对由自组装而形成的微囊造成影响、阻碍微囊形成的情况,或即使微囊形成但在空隙部未包封物质的情况。此外,成膜时使用的有害有机溶剂的场合较多,也存在过程变得复杂,同时存在由有机溶剂造成的被包封物质易受损伤的问题。进而,难以形成具有均一的粒径、结构的微囊,为了确保这样的均一的粒径、结构不得不增加其他的工序,也有过程容易变得复杂的问题。因此,本方法通用性差,作为制造各种物质的包封微囊的方法没有实用性。

[0011] 另一方面,作为主要在向中空粒子中包封物质中使用的方法,存在将被包封物质导入现有中空粒子的空隙部之后,使其包封、负载的方法(以下有表示为[后负载法]的场合)(参照非专利文献7(W.Tong et al.J.Phys.Chem.B,2005,109,13159-13165)),也考虑将这样的方法应用于微囊。

[0012] 但是,在将后负载法应用于微囊的情况下,需要设法穿越空微囊的膜,将被包封物质导入空隙部。例如,可以想到将空微囊溶胀,使膜松弛,从产生的膜的间隙将被包封的物质渗透地导入空隙部后,使膜收缩并防止被包封物质脱落的方法,或在空微囊上形成孔,通过该孔将被包封物质导入空隙部后,封锁该孔并防止被包封物质脱落的方法等,然而任意一个都是极其复杂的,对于实用化非常地不利。此外,考虑在封入或负载被包封物质时,造成现有空微囊的粒径、结构紊乱的可能性高,非常没有实用性。

[0013] 另外,关于脂质体等的脂质双层膜微囊,也报告了在脂质双层膜上嵌入通道蛋白等的方法(参照非专利文献8(Ranquin A,Versees W,Miere W,Steyaert J,Gelder PV.Therapeutic Nanoreactors:Combining Chemistry and Biology in a Novel Triblock Copolymer Drug Delivery System.Nano Lett.2005;5:2220-4)),然而过程仍然是极其复杂的,而且通用性极低,还是没有实用性。

[0014] 针对以上的背景技术,本发明者等提出了极其意外的见解:通过在空微囊应包封的目标物质存在下,在水性介质中混合同时具有膜和由膜包围形成的空隙部的空微囊的方法(相当上述“后负载法”),且通过第1及第2聚合物的自组装,能够简便且效率地制备在空隙部(内水相)中包封了目标物质的物质包封微囊,其中,所述膜为包含作为具有不带电亲水性嵌段以及第1带电嵌段的嵌段共聚物的第1聚合物,和具有带与第1电荷性嵌段相反电荷的第2电荷性嵌段的第2聚合物,并进行了专利申请(专利文献3:国际公开第2011/145745号小册子)。

[0015] 现有技术文献

[0016] 专利文献

[0017] 专利文献1:日本特开平8-188541号公报

[0018] 专利文献2:国际公开第2006/118260号小册子

[0019] 专利文献3:国际公开第2011/145745号小册子

[0020] 非专利文献

[0021] 非专利文献:1Schlaad H.et al.,Macromolecules,2003,36(5),1417-1420

[0022] 非专利文献:2Anraku Y.et al.,J.Am.Chem.Soc.,2010,132(5),1631-1636

[0023] 非专利文献:3H.Nyin et al.Soft Matter,2006,2,940-949

[0024] 非专利文献:4“脂质体应用的新开展”、秋吉一成、辻井薰主编、NTS、2005年非专利文献:5F.Szoka,Jr.et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1978 75(9)4194-4198

[0025] 非专利文献:6Batzri,S.et al.,Biochim.Biophys Acta 1973,298,1015-1019非专利文献:7W.Tong et al.,J.Phys.Chem.B,2005,109,13159-13165

[0026] 非专利文献:8Ranquin A et al.,Nano Lett.2005,5:2220-4

## 发明内容

[0027] 发明要解决的课题

[0028] 然而,在后负载法等现有方法中,水性介质中存在的目标物质的浓度超过一定浓度时,对于空微囊的单分散体,由于在维持其单分散性的同时,不能封入目标物质,因此形成的物质包封微囊成为多分散体。

[0029] 此外,由于目标物质向空微囊的封入,作为依赖于水性介质中存在的目标物质的浓度的概率事件而产生,在后负载法等现有方法,难以控制封入量地向空微囊中封入两种以上的目标物质。

[0030] 此外,通过现有方法制备的静电相互作用型微囊,在可包封物质的尺寸方面具有限制。具体而言,被包封物质的直径的上限,最大限定为2~30nm程度,无法获得包封更大尺寸(例如,超过30nm)粒子的微囊。此外,由于通常的静电相互作用型微囊具有半透膜的性质,即使被包封物质的直径的下限限定为数千分子量的程度,也极其难以对具有更小分子量的小分子化合物进行包封。

[0031] 此外,现有的静电相互作用型微囊的物质包封率,虽然也取决于被包封物质的物理化学性质,但是受微囊和被包封物质混合时的溶液中的浓度对应的概率论的水平限制,因此极其难以以更高效率地向微囊中包封物质。特别是,在相对于微囊的被包封物质的尺寸比较大的情况下(例如对直径100nm程度的微囊包封10nm(十分之一)以上的直径的粒子的场合),包封率极其低,通常具有不仅大量的被包封物质未被包封剩余下来,而且空的微囊大量地残留的问题。

[0032] 此外,在通过现有的方法制备的静电相互作用型微囊中,由于是通过微囊(或成为其构成要素的聚合物)和被包封物质在水性介质中混合,将被包封物质包封到微囊中,因此,极其难以将对于水溶性介质溶解性低的物质(低水溶性物质)有效地包封在微囊中。

[0033] 此处,本发明的第一目的在于提供一种物质包封微囊的制造方法,即,封入了与现有方法相比高浓度(例如,在后负载法中阻碍物质包封微囊的单分散集合体形成的浓度)的目标物质的物质包封微囊的单分散集合体,以及,在水性介质中存在的目标物质的浓度即使为高浓度(例如,在后负载法中阻碍物质包封微囊的单分散体形成的浓度),也可以形成物质包封微囊的单分散集合体。

[0034] 此外,本发明的第二目的在于提供一种物质包封微囊的制造方法,即将2种以上的目标物质控制其封入量地封入的物质包封微囊,以及,能够将2种以上物质控制封入量地封入方法。

[0035] 此外,本发明的第三目的在于提供一种物质包封微囊的制备方法,即在通过高分子的自组装的静电相互作用型微囊中,与以往相比,能够有效地包封较大直径的粒子或较小型的小分子化合物,或与现有相比,能够提高物质的包封率。

[0036] 此外,本发明的第四目的在于提供一种物质包封微囊的制造方法,即在通过高分子自组装的静电相互作用型微囊中,能够有效地将在水性介质中不溶性或低水溶性的物质

包封在微囊中。

[0037] 解决课题的手段

[0038] 本发明的主旨如下。

[0039] [1]一种所述物质包封交联微囊的单分散体，

[0040] 是含有交联膜和所述交联膜包围成的内水相的并且在所述内水相中包封有目标物质的物质包封交联微囊的单分散体，

[0041] 其中所述交联膜包含作为具有不带电亲水性嵌段和第1带电嵌段的嵌段共聚物的第1聚合物，以及具有带与所述第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的第2聚合物，并且由所述第1和/或第2聚合物交联而成；

[0042] 所述内水相中含有的目标物质的浓度为，

[0043] 在所述第1和/或第2聚合物未交联以及所述目标物质未包封下，将与所述物质包封交联微囊的单分散体不同的空的非交联微囊的单分散体、混合在含有与所述物质包封交联微囊的内水相同浓度的所述目标物质、以及水性介质的混合液中的情况下，

[0044] 阻碍包封所述目标物质的物质包封非交联微囊的单分散体的形成的浓度。

[0045] [2]根据上述[1]中记载的物质包封交联微囊的单分散体，具有0.2以下的多分散指数。

[0046] [3]根据上述[1]或[2]中记载的物质包封交联微囊的单分散体，所述目标物质的重均分子量为10000~40000，所述内水相中含有的所述目标物质的浓度超过5mg/mL。

[0047] [4]根据上述[3]中记载的物质包封交联微囊的单分散体，所述第1和/或所述第2聚合物，是通过选自由阳离子基团间形成的交联键、阴离子基团间形成的交联键、以及阳离子基团和阳离子基团间形成的交联键的组成的组的1种或2种以上的交联键交联而成，所述交联键的形成比例为所述交联膜中含有的阳离子基团和/或阴离子基团的总摩尔数的35%以上。

[0048] [5]一种所述物质包封交联微囊，

[0049] 是含有交联膜和由所述交联膜包围成的内水相的并且在所述内水相中包封有第1目标物质和比所述第1目标物质分子量小的第2目标物质的物质包封交联微囊，

[0050] 所述第1目标物质，相比所述第2目标物质不存在且包含在所述内水相的场合是稳定的。

[0051] 其中所述交联膜包含作为具有不带电亲水性嵌段和第1带电嵌段的嵌段共聚物的第1聚合物，以及具有带与所述第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的第2聚合物，并且由所述第1和/或第2聚合物交联而成；

[0052] [6]根据上述[5]中记载的物质包封交联微囊，所述第2目标物质是群集剂。

[0053] [7]一种物质包封微囊的制备方法，

[0054] 包含将空的交联微囊的单分散体、混合在含有所述目标物质、以及水性介质的混合液，形成物质包封交联微囊的单分散体的工艺；其中所述空的交联微囊的单分散体含有交联膜和所述交联膜包围成的内水相，并且在所述内水相中未包封有目标物质；所述交联膜包含作为具有不带电亲水性嵌段和第1带电嵌段的嵌段共聚物的第1聚合物，以及具有带与所述第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的第2聚合物，并且由所述第1和/或第2聚合物交联而成；

[0055] 其中所述物质包封交联微囊的单分散体包含含有所述第1和所述第2聚合物的且由所述第1和/或所述第2聚合物交联而成的交联膜,和由所述交联膜包围成的内水相,并在所述内水相中包封有所述目标物质。

[0056] [8]根据上述[7]中记载的方法,所述空的交联微囊的单分散体、所述物质包封交联微囊的单分散体、所述空的非交联微囊的单分散体、以及所述物质包封非交联微囊的单分散体具有0.2以下的多分散指数。

[0057] [9]根据上述[7]或[8]中记载的方法,所述目标物质的重均分子量为10000~40000,所述混合液中含有的所述目标物质的浓度为超过5mg/mL。

[0058] [10]根据上述[9]中记载的方法,所述空的交联微囊以及所述物质包封微囊中,所述第1和/或所述第2聚合物,通过选自由阳离子基团间形成交联键、阴离子基团间形成交联键、以及阳离子基团和阳离子基团间形成交联键组成的组中的1种或2种以上的交联键交联而成,形成的所述交联键的比例为,所述交联膜中含有的阳离子基团和/或阴离子基团的总摩尔数的35%以上。

[0059] [11]根据上述[7]~[10]任一项中记载的方法,还包括使所述物质包封交联微囊的单分散体和能与所述第1和/或所述第2聚合物反应得到的交联剂进行反应的工艺。

[0060] [12]一种物质包封微囊的制备方法,

[0061] 包含将含有第1物质包封交联微囊,混合在含有比所述第1目标物质分子量小的第2目标物质、以及水性介质的混合液中,并形成所述第2物质包封交联微囊的工艺;

[0062] 其中所述第1物质包封交联微囊含有交联膜、和所述交联膜包围成的内水相,并在所述内水相中包封有第1目标物质,所述交联膜包含作为具有不带电亲水性嵌段和第1带电嵌段的嵌段共聚物的第1聚合物,以及具有带与所述第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的第2聚合物,并且由所述第1和/或第2聚合物交联而成;

[0063] 其中所述第2物质包封交联微囊包含含有所述第1和第2聚合物的并由所述第1和/或所述第2聚合物交联而成的交联膜,以及所述交联膜包围成的内水相,在所述内水相中包封有所述第1和第2目标物质。

[0064] [13]根据上述[12]中记载的方法,所述第1物质包封交联微囊是其单分散体,所述第2物质包封交联微囊是其单分散体。

[0065] [14]根据上述[13]中记载的方法,所述混合液中含有的所述第2目标物质的浓度为,

[0066] 在所述第1和/或第2聚合物未交联的情况下,将与所述第1物质包封交联微囊的单分散体不同的第1物质包封非交联微囊的单分散体,混合在所述混合液中的情况下,

[0067] 阻碍包封有所述第1以及所述第2目标物质的物质包封非交联微囊的单分散体形成的浓度。

[0068] [15]根据上述[12]~[14]任一项中记载的方法,

[0069] 还包括将空的交联微囊,混合在含有所述第1目标物质、以及水性介质的混合液中,根据需要,使其与能够和所述第1和/或所述第2聚合物反应的交联剂反应,形成所述第1物质包封交联微囊的工艺;

[0070] 其中所述空的交联微囊含有交联膜、和所述交联膜包围成的内水相,在所述内水相中未包封有所述第1和所述第2的目标物质的任一项;



[0071] 其中所述交联膜含有所述第1和所述第2的聚合物,由所述第1和/或第2的聚合物交联而成。

[0072] [16]根据上述[15]中记载的方法,所述空的交联微囊是其单分散体,所述第1物质包封交联微囊是其单分散体。

[0073] [17]根据上述[16]中记载的方法,所述混合液中含有的所述第1目标物质的浓度为,

[0074] 在所述第1和/或第2聚合物未交联的情况下,将与所述空的包封交联微囊的单分散体不同的空的包封非交联微囊的单分散体混合在所述混合液中的情况下,

[0075] 阻碍包封有所述第1目标物质的物质包封非交联微囊的单分散体形成的浓度。

[0076] [18]根据上述[12]~[17]任一项记载的方法,所述第2目标物质为群集剂。

[0077] [19]一种吸附材料包封微囊,

[0078] 包括由包含作为具有不带电亲水性嵌段以及第1带电嵌段的嵌段聚合物的第1聚合物,以及,具有带所述第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的第2聚合物的膜形成的微囊,和该微囊中包封的吸附材料颗粒,所述第1以及第2聚合物的至少一方吸附于所述所述吸附材料颗粒。

[0079] [20]根据上述[19]中记载的吸附材料包封微囊,所述第1和/或第2聚合物是交联的。

[0080] [21]根据上述[19]或[20]中记载的吸附材料包封微囊,所述吸附材料颗粒是二氧化硅粒子。

[0081] [22]根据上述[19]~[21]任一项中记载的吸附材料包封微囊,所述吸附材料颗粒的平均粒径为40nm~10 $\mu$ m。

[0082] [23]根据上述[19]~[22]任一项中记载的吸附材料包封微囊,对所述吸附材料颗粒进行表面处理。

[0083] [24]根据上述[19]~[23]任一项中记载的吸附材料包封微囊,所述吸附材料颗粒能够吸附小分子化合物。

[0084] [25]一种吸附材料包封微囊的制造方法,

[0085] 在由膜形成的微囊上包封有吸附材料颗粒;其中所述膜含有作为具有不带电亲水性嵌段和第1带电嵌段的嵌段共聚物的第1聚合物,以及具有带与所述第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的第2聚合物;

[0086] 含有:

[0087] (a)将所述第1和第2聚合物的一方与所述吸附材料颗粒混合,吸附于所述吸附材料颗粒的工序;

[0088] (b)将所述工序(a)的混合物与所述第1或第2聚合物的另一方继续混合,在所述吸附材料颗粒的周围形成由含有第1和第2聚合物的膜形成的微囊,制作吸附材料包封微囊的工序。

[0089] [26]根据上述[25]中记载的方法,还包括

[0090] (c):交联所述工序(b)的微囊中的所述第1和/或所述第2聚合物的工序。

[0091] [27]根据上述[25]或[26]中记载的方法,所述吸附材料颗粒是二氧化硅颗粒。

[0092] [28]根据上述[25]~[27]任一项中记载的方法,所述吸附材料颗粒的平均粒径为



40nm~10 $\mu$ m。

[0093] [29]根据上述[25]~[28]任一项中记载的方法,还包括对所述吸附材料颗粒进行表面处理的工序。

[0094] [30]根据上述[25]~[29]任一项中记载的方法,小分子化合物能吸附于所述吸附材料颗粒。

[0095] [31]一种物质包封微囊的制备方法,

[0096] 在由膜形成的微囊上包封有目标物质,其中所述膜含有作为具有不带电亲水性嵌段和第1带电嵌段的嵌段共聚物的第1聚合物,以及具有带与所述第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的第2聚合物;

[0097] 含有:

[0098] (a)能够将相比所述目标物质水溶性高的前体转换为所述目标物质的酶,包封在含有所述第1以及第2聚合物的膜形成的微囊中,准备酶包封微囊的工艺,以及,

[0099] (b)相比于所述前驱体,对于目标物质低溶解性的条件下,所述前体向所述酶包封微囊内渗透,通过所述酶,所述前体向所述目标物质转换,所述目标物质析出,包封在所述酶包封微囊,制备物质包封微囊的工艺。

[0100] [32]根据上述[31]中记载的方法,在所述工艺(b)中,通过将所述酶包封微囊和前体的水溶液混合,使所述前体向所述酶包封微囊内渗透。

[0101] [33]根据上述[32]中记载的方法,在所述工艺(b)之前,还包括交联所述酶包封微囊的所述第1和/或所述第2聚合物的工艺。

[0102] [34]一种物质包封微囊,其是通过上述[31]~[33]任一项中记载的方法而制备。

[0103] [35]一种低水溶性物质包封微囊,

[0104] 从比所述目标物质水溶性高的前体转变得到的低水溶性物质与能将所述前体转变成所述低水溶性物质的酶一起被包封于由膜形成的微囊中,

[0105] 其中所述膜含有作为具有不带电亲水性嵌段和第1带电嵌段的嵌段共聚物的第1聚合物,以及具有带与所述第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的第2聚合物。

[0106] [36]根据上述[34]或[35]中记载的低水溶性物质包封微囊,所述低水溶性物质在以相对于内水相的超过所述低水溶性物质的溶解度的浓度下包封。

[0107] [37]根据上述[34]~[36]任一项中记载的低水溶性物质包封微囊,所述第1和/或所述第2聚合物是交联的。

[0108] [38]一种含有上述[1]~[4]任一项中记载的微囊的单分散体,和/或,上述[5]、[6]、[19]~[22]以及[34]~[37]任一项中记载的微囊的药物传递系统。

[0109] [39]一种用于将药物递送至对象的方法,包括,

[0110] (a)在由膜形成的微囊中,包封能够将所述药物的前体转换为所述药物的酶的酶包封微囊的准备工序,其中所述膜含有作为具有不带电亲水性嵌段和第1带电嵌段的嵌段共聚物的第1聚合物,以及具有带与所述第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的第2聚合物,以及,

[0111] (b)在对象特定的部位,使所述前驱体向所述酶包封微囊内渗透,通过所述酶,将所述前驱体转换为所述药物,形成所述药物的工序。

[0112] [40]根据上述[39]中记载的方法,相比于所述药物所述前驱体的水溶性低,所述

步骤(b)中,相比于所述前驱体在所述药物表现出相对低的溶解性的条件下,所述前体向所述酶包封微囊内渗透。

[0113] [41]根据上述[39]或[40]中记载的方法,所述工序(b)中,还包括使所述药物析出并包封在所述酶包封微囊中,形成药物包封微囊的工序。

[0114] 发明的效果

[0115] 根据本发明,第一,提供了一种物质包封微囊的制备方法,与现有方法相比,可以形成高浓度(例如,在后负载法中阻碍物质包封微囊的单分散体形成的浓度)的目标物质封入的物质包封微囊的单分散体,以及,即使在水性介质中存在的目标物资的浓度为高浓度(例如,在后负载法中阻碍物质包封微囊的单分散体形成的浓度),也可以形成物质包封微囊的单分散体。

[0116] 根据本发明,第二,提供了一种物质包封微囊的制备方法,能将2种以上目标物质控制其封入量地封入的物质包封微囊,以及,能够将2种以上物质控制封入量地封入。

[0117] 根据本发明,第三,提供了一种方法,在提供了包封相对于微囊大小比较大的吸附材料颗粒,具有从所未有的新构造的物质包封微囊(吸附材料包封微囊),同时使极其效率地制备这种的吸附材料包封微囊称为可能。

[0118] 根据本发明,第四,可以效率地制备在现有方法中难以包封水溶性低的目标物质的微囊。

## 附图说明

[0119] [图1]图1(a)以及(b)为用于说明本发明的方法的图。

[0120] [图2]图2为用于说明空微囊结构的图。

[0121] [图3]图3(a)以及(b)为用于说明空微囊的膜结构的一种方式图。

[0122] [图4]图4(a)以及(b)为用于说明空微囊的膜结构的其他方式图。

[0123] [图5A]图5A为表示实施例I-1制得的FITC-Dex40k包封交联微囊的透射电子显微镜(TEM)的图像的图。

[0124] [图5B]图5B为表示对比例I-1(同时混合法)制得的FITC-Dex40k包封非交联微囊的透射电子显微镜(TEM)的图像的图。

[0125] [图5C]图5C为表示对比例I-2(后负载法)制得的FITC-Dex40k包封非交联微囊的透射电子显微镜(TEM)的图像的图。

[0126] [图6]图6为表示为了确认封入在微囊内部的FITC-Dex40k释药行为而实施的GPC(凝胶渗透色谱法)的测试结果的图。

[0127] [图7]图7(a)为表示空微囊的GPC测试结果的图,图7(b)为表示实施例I-2制得的精制后的细胞色素c包封交联微囊的GPC测试结果的图。

[0128] [图8]图8(a)为表示实施例I-2制得的细胞色素c包封交联微囊的吸收光谱的图,图8(b)为表示实施例I-2制得的细胞色素c以及FITC-Dex4k包封交联微囊的吸收光谱的图。

[0129] [图9]图9为表示圆二色谱的测试结果的图。

[0130] [图10(A)]图10(A)为表示实施例I-3以及对比例I-3制得的微囊基于AlPcS2a吸收色的比色实验的结果的图。

[0131] [图10(B)]图10(B)为表示实施例I-3以及对比例I-3制得的微囊的吸收光谱的图。

- [0132] [图11]图11为表示添加5mM、10mM或20mM的NaCl后微囊的透射电子显微镜(TEM)图像的图。
- [0133] [图12]图12为表示实施例I-4制得的CD封入交联微囊的透射电子显微镜(TEM)图像的图。
- [0134] [图13]图13为表示实施例I-4制得的CD封入交联微囊中从5-FC到5-FU的转变速度的图表。
- [0135] [图14]图14为表示实施例I-4制得的CD封入交联微囊中从5-FC到5-FU的转变酶活性的稳定性的图表。
- [0136] [图15]图15(a)~(d)为表示使用了实施例I-4制得的CD封入交联微囊的治疗所产生的肿瘤生长抑制效果的图表。
- [0137] [图16]图16(a)~(d)为表示使用了实施例I-4制得的CD封入交联微囊的治疗所产生的副作用(体重减少)得图表。
- [0138] [图17]图17(a)~(d)为表示使用了实施例I-4制得的CD封入交联微囊的治疗所产生的生存数的图表。
- [0139] [图18]图18为表示实施例I-4制得的CD封入交联微囊的血中滞留性的图表。
- [0140] [图19]图19为表示含有实施例II-1制得的MSN包封交联微囊的溶液的粒径分布的图表。
- [0141] [图20]图20为实施例II-1制得的MSN包封交联微囊的TEM照片。
- [0142] [图21]图21为实施例II-1制得的MSN包封交联微囊的毛细管电泳的色谱图。
- [0143] [图22]图22为包含表示实施例II-2制得的MSN包封交联微囊溶液的粒径分布的图表。
- [0144] [图23]图23为实施例II-2制得的MSN包封交联微囊的TEM照片。
- [0145] [图24]图24为实施例II-2制得的MSN包封交联微囊的毛细管电泳的色谱图。
- [0146] [图25]图25为表示含有参考例II-1制得的MSN包封交联微囊的溶液的粒径分布的图表。
- [0147] [图26]图26为参考例II-1制得的MSN包封交联微囊的TEM照片。
- [0148] [图27]图27为参考例II-1制得的MSN包封交联微囊的毛细管电泳的色谱图。
- [0149] [图28]图28(a)为实施例II-3A中使用的未处理MSN包封微囊的TEM照片,图28(b)为实施例II-3A制得的胺化MSN包封微囊的TEM照片。
- [0150] [图29]图29(a)为实施例II-3B中使用的未处理MSN包封微囊的TEM照片,图29(b)为实施例II-3B制得的磺酰化MSN包封微囊的TEM照片。
- [0151] [图30]图30为实施例II-3B中使用的未处理MSN包封微囊以及制得的磺酰化MSN包封微囊的X射线分析光谱。
- [0152] [图31]图31为表示实施例II-4A制得的孟加拉玫瑰红吸附胺化MSN包封微囊中玫瑰红的释放特性的图表。
- [0153] [图32]图32为表示实施例II-4B制得的吉西他滨吸附磺酰化MSN包封微囊中吉西他滨的释放特性的图表。
- [0154] [图33]图33(a)以及(b)为表示实施例II-4B制得的吉西他滨吸附磺酰化MSN包封微囊的对于A549细胞的细胞摄取特性的图表。图33(a)表示在不存在台盼蓝时全细胞内Cy3

荧光量的测试结果,图33 (b) 表示存在台盼蓝染色时活细胞内Cy3荧光量的测试结果。

[0155] [图34]图33 (a) 以及 (b) 为表示实施例II-4B制得的吉西他滨吸附磺酰化MSN包封微囊的对于A549细胞的细胞杀伤效果的图表。图34 (a) 表示培养48小时后的结果,图34 (b) 表示培养72小时后的结果。

[0156] [图35]图35 (a) 以及 (b) 为通过实施例II-4B制得的吉西他滨吸附磺酰化MSN包封微囊的对于C26细胞的细胞摄取特性图。图35 (a) 表示在不存在台盼蓝时全细胞内Cy3荧光量的测试结果,图35 (b) 表示存在台盼蓝染色时活细胞内Cy3荧光量的测试结果。

[0157] [图36]图36 (a) 以及 (b) 为表示实施例II-4B制得的吉西他滨吸附磺酰化MSN包封微囊的对于C26细胞的细胞杀伤效果的图表。图36 (a) 表示培养48小时后的结果,图36 (b) 表示培养72小时后的结果。

[0158] [图37]图37 (a) 以及 (b) 为表示使用实施例II-4B制得的吉西他滨吸附磺酰化MSN包封微囊的肿瘤治疗效果的图表。(a) 表示肿瘤增大抑制效果,(b) 表示副作用(体重减少)降低效果。

[0159] [图38]图38为表示实施例II-4B制得的吉西他滨吸附磺酰化MSN包封微囊的血中滞留性的图表。

[0160] [图39]图39为表示实施例II-4B制得的吉西他滨吸附磺酰化MSN包封微囊的肿瘤累积性的图表。

[0161] [图40]图40为表示含有实施例III-1制得的 $\beta$ -半乳糖苷酶包封交联微囊溶液的粒径分布的图表。

[0162] [图41]图41为表示含有实施例III-1制得的靛蓝染料包封微囊溶液的粒径分布的图表。

[0163] [图42]图42为实施例III-1制得的靛蓝染料包封微囊TEM照片。

[0164] [图43]图43为实施例III-1制得的靛蓝染料包封微囊的高分辨率的TEM照片。

[0165] [图44]图44为表示含有比较例III-1制得的交联空微囊溶液的粒径分布的图表。

[0166] [图45]图45为表示含有比较例III-1制得的靛蓝染料产生后的空微囊溶液的粒径分布的图表。

[0167] [图46]图46为表示比较例III-1制得的靛蓝染料产生后的空微囊的TEM照片。

## 具体实施方式

[0168] 以下根据具体的实施方式对本发明进行详细地说明。但本发明绝不受限于以下的实施方式,能在适宜变更的基础上进行实施。

[0169] [A] 定义

[0170] 本说明书中所谓的微囊,是指具有单层结构的膜,和由所述膜包围成的空隙部(内水相)的基本结构体。

[0171] 本发明中,基团的名称或作为其一部分的“烷基”表示一价的脂肪族饱和烃基。除非另有说明,烷基可以是链状、环状,也可以是链状和环状的结合。链状烷基可以是直链状也可以是支链状。环状烷基可以是单环式也可以是复环式,复环式的情况可以是连接环、缩合环、螺环。

[0172] 本说明书中的基团的名称或作为其一部分的“烷氧基”表示所述的烷基与二价的

氧原子的一方的结合成键而形成的基团。

[0173] 本说明书中的基团的名称或作为其一部分的“芳基”表示一价的芳香族烃基。除非另有说明，芳基可以使单环式也可以是复环式，在复环式的情况下可以是连接环、缩合环，也可以是螺环。

[0174] 本说明书中的基团碳原子数表示为例如“C<sub>1-12</sub>烷基”的方式。在这里，“C<sub>1-12</sub>”意味着该烷基的碳原子数为1~12个。

[0175] 本说明书中的“卤素原子”意味着氟原子、氯原子、溴原子、或碘原子。

[0176] 本说明书中的有的基团“可以被取代”意味着该基团具有的1个或2个以上的氢原子可以被1个或2个以上的取代基(2个以上时可以相同也可以不同)取代。取代基的最大数与该基团具有的结构以及能够取代的氢原子数有关，若是本领域技术人员能够容易地确定。

[0177] 本说明书中的“取代基”，除非另有说明，可以选自由卤素原子、芳基、羟基、氨基、羧基、氰基、甲酰基、二甲基缩醛甲酰基、二乙基缩醛甲酰基、C<sub>1-6</sub>烷氧羰基、C<sub>2-7</sub>酰胺基、硅氧基、三-(C<sub>1-6</sub>烷基)硅氧基(其中C<sub>1-6</sub>烷基可以相同也可以不同)以及甲硅烷氨基组成的组。

[0178] 本说明书中的有关各种微囊使用的用语“单分散体”意味着粒径分布狭窄的微囊集合体。粒径分布的宽窄，优选基于多分散指数(polydispersity index:PDI)判断，单分散体具有优选0.2以下，更优选0.15以下，进一步优选0.1以下的分散指数。

[0179] 本说明书中的有关各种微囊使用的用语“多分散指数”意味着表示粒径分布广度的无量纲指标，用语“平均粒径”意味着依据散射光强度基准的调和平均粒径(直径)。多分散指数以及平均粒径都是通过动态光散射法(dynamic light scattering)测定。动态光散射法能够依据JISZ8826:2005(粒径分析-光子相关光谱法(Particle size analysis-Photon correlation spectroscopy))实施。JISZ8826:2005由于是对应于稀颗粒浓度分散液体的标准，为了实现即使在高浓度样品中也能够测定其多分散指数以及平均粒径，在JISZ8826:2005上可以增加适当的变更。例如，能够采用后向散射检测替代侧向散射检测。通过采用后向散射检测，能够排除或降低多重散射的影响，据此，即使是在高浓度的样品中，也能够测定其多分散指数以及平均粒径。作为通过动态光散射法用于测定多分散指数以及平均粒径的市售设备可以列出例如Malvern社制Zetasizer Nano-ZS。该设备采用后向散射检测，在低浓度~高浓度的广泛浓度范围的样品中，能够测定其多分散指数以及平均粒径。

[0180] [B]物质包封微囊及其制备方法

[0181] 首先，对作为本发明基础的物质包封微囊以及制备方法进行说明。有关本发明的各微囊及其制备方法的特征，将在章[C]~[E]中重新说明，但关于这些章中没有特别注明的事项，适用本章的记载。

[0182] [B1:物质包封微囊的制备方法]

[0183] 如上所述，作为物质包封微囊的主要的制备方法可以列出，(i)将被包封物质、成为膜构成要素的高分子、或预先形成的高分子膜一同混合，同时进行通过自组装的微囊的形成和将物质封入空隙部的方法(同时混合法)和，(ii)将预先形成的空微囊和被包封物质混合，向空微囊的空隙部中导入被包封物质，从而进行包封、负载的方法(后负载法)。

[0184] 本发明中，有关各个微囊的制备条件，除非另有说明，能够使用含有同时混合法或

后负载法的任意方法。但是,作为本发明人等开发的方法的后负载法(详细参照上述专利文献3(国际公开第2011/145745号公报))具有,能以简便的方法有效地将包封物质导入微囊内,导入前后也几乎不损害微囊的结构,而且能够包封在同时混合法中包封困难的带电荷物质等的种种优点,因此是令人满意的。

[0185] 下面,有关物质包封微囊的制备方法,将后负载法作为前提进行说明,但本发明中,物质包封微囊的制备方法并不限于后负载法,在不违反后述的各物质包封微囊的特征的限制下,能够使用包含同时混合法的其他任意的的方法。此外,在使用后负载法以外的方法向微囊中包封物质的情况下,作为其具体的条件,能够比照适用后述的后负载法的条件。例如,在同时混合法的情况下,除了并不按照后负载法预先制备空微囊,将作为空微囊的材料聚合物等与被包封物质一同混合以外,基本上可以使用和后负载法相同的条件。

[0186] (B1-1:后负载法的概要)

[0187] 关于后负载法的概要,下面使用图1进行说明。然而,图1是模型图,本发明并不限定于图1。

[0188] 如图1(a)所示,准备具有由膜1a包围了的空隙部1b的特定构造的空微囊,将其和被包封物质9一同在水性介质中混合。据此,如图1(b)所示,被包封物质9穿过空微囊1的膜1a被导入到空隙部1b中,制得被包封物质9被包封在空隙部1b中的物质包封微囊1'。

[0189] 以下,对后负载法进行详细叙述,在章节中对空微囊及被包封物质的详细情况进行重新叙述,此处对其他的条件及顺序进行说明。

[0190] (B1-2:空微囊以及被包封物质的混合)

[0191] 后负载法包含空微囊以及将被包封物质在水性介质中混合的工序(应当指出,此处具有将成为混合对象的在水性介质中含有空微囊以及被包封物质的液体,此后称为“混合对象液”的情况)。

[0192] 进行混合的方法没有特别的限制,在水性介质中施加外力的方法进行。即,排除了将空微囊以及被包封物质添加到水性介质中静置,使其自然扩散混合的方法(此后有称为“静置、扩散混合”的场合)。作为在水性介质中施加外力的混合方法的例子,可以列出搅拌、振荡、冲击等。

[0193] 作为搅拌的方法的例子,可以列出,将含有混合对象液的容器通过涡流混合器等回旋搅拌的方法,或将溶液通过搅拌翼等直接搅拌的方法等。

[0194] 作为振荡的方法的例子,可以列出,将含有对象混合液的容器通过振荡器等振荡的方法。

[0195] 作为冲击的方法的例子,可以列出,对混合对象液通过超声波照射等含有振动的各种给与冲击的方法。

[0196] 通过这样的混合,物质被包封在微囊空隙部中,可以制备物质包封微囊。

[0197] 通过混合形成物质包封微囊的原因不明确,但通过向水性介质施加外力,剪切应力作用到空微囊上(因此,可以将在水性介质中施加外力的混合称为剪切应力下的混合)。通过这样的剪切应力,空微囊的结构被扰乱,分解成大致均匀的小聚集体,可以认为在这些小聚集体再次自组装微囊均匀地再生的同时,水性介质中存在的被包封物质在微囊再生时,被包封在微囊内(这样的机制也可以在后述的参考例中推测,确认通过混合分解成的微囊小聚集体)。这是在通常状态下难以发生的现象,利用了这样现象的后负载法可以说是极

其新颖的。

[0198] 混合的条件没有限制,但若考虑到上述的机制,优选在在水性介质中空微囊的结构被充分地扰乱的同时,扰乱后微囊的结构能够再生的程度的条件。一般以力作用于混合对象液全体的程度进行混合即可,优选以混合对象液全体成为大致均匀的程度进行混合。

[0199] 具体的混合条件因混合方法而不同,例如,在搅拌的情况下,最好以一般500rpm以上,优选1000rpm以上,另外,一般10000rpm以下,优选5000rpm以下的转速来进行。若转速过低,会有难以形成均质的物质包封微囊的情况。若转速过高,会有损伤、破坏微囊或被包封物质的情况。

[0200] 此外,通过涡流混合器的搅拌时间,因转速而不同,一般为60秒以上,优选为120秒以上,另外,一般为10分钟以内,优选为5分钟以内。当搅拌时间过短时,会有难以形成均质的物质包封微囊的情况。当搅拌时间过长时,会有损伤、破坏微囊或被包封物质的情况。

[0201] 作为使用其他的混合方法(通过搅拌翼的搅拌、通过振荡器的振荡、通过超声波照射的冲击等)的情况的具体的条件,将根据涡流混合器的搅拌在上述的转速以及搅拌时间下进行并获得的同等程度的力作用于混合对象液的方式,适宜地调整条件即可。

[0202] 另外,还是考虑到上述的机制时,优选在混合对象液混合后,经过一定程度的时间静置混合对象液,确保微囊均匀再生的时间。这样的静置时间没有限制,例如设为1分钟以上,优选设为3分钟以上。

[0203] 应当指出,物质包封在微囊空隙部中,可以通过荧光相关光谱法(Fluorescence Correlation Spectroscopy:FCS)的扩散系数(diffusioncoefficient)变化的检出、尺寸排阻色谱的分离、透射电子显微镜的直接观察等的方法进行确认。在荧光相关光谱法的扩散系数的测定的情况下,作为被包封物质使用荧光材料,通过测定荧光材料的扩散系数的变化,可以确认被包封物质在微囊中聚集(即制得物质包封微囊)

[0204] (B1-3:混合相关的其他条件)

[0205] 一般,在水性介质中调制含有空微囊以及被包封物质的液体(混合对象液),进行上述的混合。

[0206] 水性介质(水性溶剂)的种类没有限制。优选为水,但在不发生对空微囊的结构达到从好的影响到意想不到的影响,妨碍被包封物质向内部导入的范围内,也可以使用在水中混合其他成分的溶剂(例如生理盐水、水性缓冲液、水和水溶性有机溶剂的混合溶剂等)。作为水性缓冲液可以列出10mM HEPES缓冲液等。作为水溶性有机溶剂可以列出甲醇或乙醇等的醇类、丙酮等的酮类、氯仿等的含氯有机溶剂、二甲醚等的醚系有机溶剂、乙酸乙酯等的酯系有机溶剂等。

[0207] 被混液的调制顺序也是任意的,如后所述,一般,由于将空微囊在水性介质中调制,最好向调制后的空微囊含有液加入被包封物质,进行混合。被包封物质可以直接加入到空微囊含有液中,也可以以水性溶剂中的溶液或悬浊液的形态加入。

[0208] 被混合液中的空微囊以及被包封物质的各自浓度也没有特别的限制,考虑空微囊的结构、被包封物质的种类、与空微囊对应的被包封物质的所期望的包封率等条件决定即可。

[0209] 但是,从提高向空微囊的被包封物质的包封效率的观点来看,将对应水性介质的空微囊的浓度优选设为一般0.1mg/mL以上,中等1mg/mL以上,另外,一般100mg/mL以下,中



等10mg/mL以下。特别地,当空微囊的浓度过低时,会有物质包封微囊未形成的情况。应当指出的是,由于可以想到制得的物质包封微囊的粒径依赖于空微囊的浓度,因此空微囊的浓度应该根据所期望的物质包封微囊的粒径而决定。

[0210] 此外,与水性介质对应的被包封物质的浓度,根据被包封物质的性质而不同,但优选设为一般0.1mg/mL以上,中等1mg/mL以上,另外,一般100mg/mL以下,中等10mg/mL以下。特别地,当空微囊的浓度过低时,会有物质包封微囊未形成的情况。

[0211] 被混合液的pH也没有特别的限制,可以考虑空微囊的结构、被包封物质的种类、被混合液中的空微囊以及被包封物质的各自浓度等条件进行适当地调整,但优选为pH5以上,更优选为pH6.5以上,另外,优选为pH9以下,更优选为pH7.5以下。pH的调制通过使用作为溶剂的缓冲液,能够容易地进行。调整被混合液pH使用,有利于保持空微囊的结构并有效地将被包封物质包封在空微囊中。

[0212] 被混合液的离子强度,能够在不破坏空微囊的结构、阻碍被包封物质包封在空微囊中的范围内进行适当调整,但优选为0mM以上,更优选为10mM以上,另外,优选为200mM以下,更优选为50mM以下。

[0213] 被混合液的混合时的温度,在不发生破坏空微囊的结构、阻碍被包封物质包封在空微囊中的范围内没有限制,但优选为10℃以上,更优选为20℃以上,另外,优选为80℃以下,更优选为50℃以下。

[0214] 混合后,可以将形成的物质包封微囊立刻应用于所期望的用途,但为了平衡系统,也可以设立静置混合液的时间。静置混合液的时间,因物质包封微囊的形成效率等条件而不同,优选为50小时以下,更优选为30小时以下。但是,如后所述,在不使用交联剂的情况下,由于形成的物质包封微囊的直径具有随时间增加的倾向,也有优选不设立在微囊均匀再生所需时间以上的静置时间的情况。

[0215] 在使用交联剂的情况下,在含有形成的物质包封微囊的混合液中,加入交联剂进行混合即可。交联剂可以直接添加,也可以调制含有交联剂的水性溶液,将其添加。调制交联剂的水性溶液的水性溶剂、pH、温度、离子强度等调制条件,和被混合液相关的前述条件相同。

[0216] 此外,也可以适当添加另外的透析、稀释、浓缩、搅拌等操作。

[0217] [B2:空微囊]

[0218] (B2-1:空微囊的结构)

[0219] 在后负载法中,使用具有膜和由所述膜包围域的孔隙部的微囊作为空微囊,其中所述膜由具有不带电亲水性嵌段以及第1带电嵌段的嵌段聚合物的第1聚合物,和具有带与前述第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的第2聚合物形成。

[0220] 有关空微囊结构的例子,参照图2~4进行说明。应当指出,图2~4都是模型图,本发明并不限于这些图。

[0221] 图2为微囊1的局部剖视图。如图2所示,微囊1具有膜1a,和通过膜1a包围成的空隙部1b。

[0222] 图3(a)为与本发明一种方式有关的微囊1的膜1a的局部剖面放大图。如图3(a)所示的膜1a具有由外层1a<sub>o</sub>、中间层1a<sub>m</sub>以及内层1a<sub>i</sub>形成的三层结构,主要由第1聚合物2和第2聚合物3形成。

[0223] 图3 (b) 为图3 (a) 中所示的第1聚合物2以及第2聚合物3的放大图。如图3 (b) 所示, 第1聚合物2为具有不带电亲水性嵌段2a和第1带电嵌段2b的嵌段聚合物, 第2聚合物3为带与第1带电嵌段2b相反电荷的第2带电嵌段3形成的聚合物。因此, 如图3 (a) 所示, 优选不带电亲水性嵌段2a形成膜1a的外层1a<sub>o</sub>, 第1带电嵌段2b和第2带电嵌段3静电耦合形成中间层1a<sub>m</sub>。而且优选主要由不带电亲水性嵌段2a形成膜1a的内层1a<sub>i</sub>。

[0224] 图4 (a) 为与本发明别的方式有关的微囊1的膜1a的局部剖面放大图。图4 (a) 所示的膜1a也具有由外层1a<sub>o</sub>、中间层1a<sub>m</sub>以及内层1a<sub>i</sub>形成的三层结构, 主要由第1聚合物2和第2聚合物3' 形成。

[0225] 图4 (b) 为图4 (a) 中所示的第1聚合物2以及第2聚合物3' 的放大图。如图4 (b) 所示, 第1聚合物2为具有不带电亲水性嵌段2a和第1带电嵌段2b的嵌段共聚物, 第2聚合物3' 为由不带电亲水性嵌段3a和带与第1带电嵌段2b相反电荷的第2带电嵌段3b形成的聚合物。因此, 如图4 (a) 所示, 优选不带电亲水性嵌段2a、3a的一方或两方形成膜1a的外层1a<sub>o</sub>, 第1带电嵌段2b和第2带电嵌段3b静电耦合形成中间层1a<sub>m</sub>。而且优选主要由不带电亲水性嵌段2a、3a的一方或两方形成膜1a的内层1a<sub>i</sub>。

[0226] 虽然没有理论上的束缚, 但由第1聚合物2以及第2聚合物3、3' 形成微囊1的机制可以如下考虑。即, 图3 (b)、图4 (b) 中所示的第1聚合物2以及第2聚合物3、3' 在放置在能够发生电荷相互作用的系统中时, 自组装, 如图3 (a)、图4 (a) 所示, 在带有相互相反电荷的第1带电嵌段2b以及第2带电嵌段3、3b通过静电耦合形成中间层1a<sub>m</sub>的同时, 在其外侧配置不带电亲水性嵌段2a、3a并形成外层1a<sub>o</sub>。另外, 优选在中间层1a<sub>m</sub>的内侧中也主要配置不带电亲水性嵌段2a、3a并形成内层1a<sub>i</sub>。这样形成如图3 (a)、图4 (a) 所示的三层结构的膜1a, 其结果, 可以认为形成如图2所示的微囊1。

[0227] 应该指出, 微囊1的膜1a可以仅由第1聚合物2以及第2聚合物3、3' 形成, 也可以在保持以上结构梗概的限制下, 含有其他的成分。其他成分没有限制, 但可以列出例如, 交联剂, 带电聚合物、带电分子等。有关交联剂在后文中详细叙述。

[0228] 此外, 如后所述微囊1一般在水性介质中调制, 此外, 由于膜1a的内层1a<sub>i</sub>主要由不带电亲水性嵌段2a、3a构成, 在微囊1的空隙部1b通常存在水性介质 (因此本说明书中有将空隙部1b表示为“内水相”的情况)。但是, 空隙部1b中也可以存在其他的物质。

[0229] 微囊1的形状没有限制, 通常为球形或大致球形。

[0230] 微囊1的粒径根据第1聚合物2以及第2聚合物3、3' 的种类及量比、交联剂的有无、微囊1的周边环境 (水性介质的种类) 等而不同, 但优选为10nm以上, 更优选为50nm以上, 另外, 优选为1000nm以下, 更优选为400nm以下。

[0231] 微囊1的膜1a的膜的厚度根据第1聚合物2以及第2聚合物3、3' 的种类及量比、交联剂的有无、微囊1的周边环境 (水性介质的种类) 等而不同, 但优选为5nm以上, 更优选为10nm以上, 另外, 优选为30nm以下, 更优选为15nm以下。

[0232] (B2-2: 第1以及第2聚合物)

[0233] 后负载法中使用的空微囊具有由第1聚合物以及第2聚合物构成的膜。

[0234] 第1聚合物为具有不带电亲水性嵌段和第1带电嵌段的嵌段共聚物。第1聚合物可以仅为1个种类, 也可以并用2种以上任意组合及比例。

[0235] 第2聚合物为具有带与第1带电嵌段相反电荷的第2带电嵌段的聚合物。可以是仅

由第2带电嵌段形成的聚合物,也可以是具有除第2带电嵌段以外不带电亲水性嵌段的嵌段共聚物。第2聚合物可以是仅为1个种类,也可以并用2种以上任意组合和比例。在2种以上的情况下,也可以并用仅由第2带电嵌段形成的第2聚合物,和具有除了第2带电嵌段以外不带电亲水性嵌段的第2聚合物。

[0236] 第1聚合物以及第2聚合物,除了各种前述的嵌段以外,也可以具有其他嵌段。

[0237] (B2-2a:不带电亲水性嵌段)

[0238] 第1聚合物具有不带电亲水性嵌段。另外,第2聚合物也可以具有不带电亲水性嵌段。

[0239] 不带电亲水性嵌段为具有不带电且亲水性的性质的聚合物嵌段。这里,“不带电”是指,嵌段整体上为中性。作为例子,可以列出嵌段没有正负电荷的情况。另外,即使在嵌段在分子内具有正负电荷的情况下、局部的实际电荷密度高、如果嵌段整体上电荷被中和到不妨碍通过自组装的形成微囊的程度,也还当作“不带电”。另外,“亲水性”是指针对水性介质表现出溶解性。

[0240] 不带电亲水性嵌段的种类没有限制。可以是单一的重复单元形成的嵌段,也可以是含有任意组合及比例两种以上的重复单元的嵌段。作为不带电亲水性嵌段的具体例子可以列出,聚亚烷基二醇、聚(2-恶唑啉)、多糖、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、聚丙烯酰胺、聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯、聚(2-甲基丙烯酰氧乙基磷酸胆碱)、等电点为在7附近的多肽、蛋白质及它们的衍生物等。其中,优选聚亚烷基二醇、聚(2-恶唑啉)、特别优选聚亚烷基二醇。作为聚亚烷基二醇可以列出聚乙二醇、聚丙二醇等,优选聚乙二醇。

[0241] 不带电亲水性嵌段的分子量没有限制,从促进第1聚合物和第2聚合物的自组装化、有效地制备均质的微囊的观点出发,优选具有规定的范围内的分子量。具体的分子量范围根据不带电亲水性嵌段的种类、和带电嵌段的组合等而不同,但在使用聚乙二醇作为不带电亲水性嵌段的情况下,其分子量(Mw)优选为500以上,更优选为1000以上,另外,优选为15000以下,更优选为5000以下的范围。不带电亲水性嵌段的重复单元数也没有限制,但一般,不带电亲水性嵌段的分子量以满足所述的分子量范围的方式,根据其重复单元的种类而决定。

[0242] 通过使用满足所述条件的不带电亲水性嵌段,能够防止第1聚合物及第2聚合物的水溶液中的缔合、沉淀而稳定化,能够有效地构建微囊。

[0243] (B2-2b:带电嵌段)

[0244] 第1聚合物具有的第1带电嵌段第2聚合物具有的第2带电嵌段为带有相反电荷的带电嵌段。即,若第1带电嵌段为阳离子性嵌段,则第2带电嵌段为阴离子性嵌段,若第1带电嵌段为阴离子性嵌段,则第2带电嵌段为阳离子性嵌段。

[0245] (B2-2b-1:阳离子性嵌段)

[0246] 阳离子性嵌段为具有阳离子基团,表现出阳离子性(阳离子性)的聚合物嵌段。但是,阳离子性嵌段在不妨碍第1聚合物和第2聚合物的通过自组装的微囊的形成的范围内,也可以具有一些阴离子基团。

[0247] 阳离子性嵌段的种类也没有限制。可以由单一重复单元形成的嵌段,也可以是含有任意组合及比例两种以上的重复单元的嵌段。作为阳离子性嵌段,优选多胺,特别优选侧链上具有氨基的聚氨基酸或其衍生物。作为侧链上具有氨基的聚氨基酸或其衍生物,可

以列出,聚天冬氨酸、聚谷氨酸、聚赖氨酸、聚精氨酸、聚组氨酸、以及它们的衍生物等,特别地优选聚天冬氨酸衍生物及聚谷氨酸衍生物。

[0248] 阳离子性嵌段的分子量也没有限制,从促进第1聚合物和第2聚合物自组装化、有效地制备均质的微囊的观点出发,优选具有规定的范围内的分子量。阳离子性嵌段的重复单元数也没有限制,一般,以阳离子性嵌段的分子量满足规定范围的方式,根据其重复单元的种类而决定。具体而言,在使用聚天冬氨酸衍生物为阳离子性嵌段的情况下,其重复单元数优选为10以上,更优选为50以上,另外,优选为200以下,更优选为100以下的范围。

[0249] 通过使用满足所述条件的阳离子性嵌段,能够防止第1聚合物及第2聚合物的水溶液中的缔合、沉淀而稳定化,能够有效地构建微囊。

[0250] (B2-2b-2:阴离子性嵌段)

[0251] 阴离子性嵌段为具有阴离子基团,表现出阴离子性(阴离子性)的聚合物嵌段。但是,阴离子性嵌段在不妨碍第1聚合物和第2聚合物通过自组装的微囊的形成的范围内,也可以具有一些阳离子基团。

[0252] 阴离子性嵌段的种类也没有限制。可以由单一重复单元形成的嵌段,也可以是含有任意组合及比例两种以上的重复单元的嵌段。作为阴离子性嵌段,优选聚羧酸、聚磺酸、多聚磷酸(核酸)等、特别优选侧链上具有羧基的聚氨基酸或其衍生物、核酸。

[0253] 作为侧链上具有羧基的聚氨基酸或其衍生物可以列出,聚天冬氨酸、聚谷氨酸、向所述的聚阳离子中侧链上具有氨基的聚氨基酸或其衍生物的氨基使用适当量的乌头酸酐和柠康酸酐制得的聚羧酸、以及它们的衍生物等,特别优选聚天冬氨酸、聚谷氨酸。

[0254] 作为核酸,可以列出单链或双链的DNA或RNA。核酸可以是基于微囊用途的功能性核酸。作为功能性核酸可以列出,siRNA、miRNA(微型RNA)、反义RNA、反义DNA、核酶、DNA酶等。它们基于微囊的用途进行选择。例如,在将微囊用作RNAi用的DDS的情况下,使用siRNA作为核酸。另外,核酸可以是进行修饰过的核算。作为修饰后核酸的例子,可以列出,面向微囊稳定化等用途,结合胆固醇或维生素E等疏水性基团的核酸。

[0255] 阴离子性嵌段的分子量没有限制,从促进第1聚合物和第2聚合物自组装化、有效地制备均质的微囊的观点出发,优选具有规定的范围内的分子量。阴离子性嵌段的重复单元数也没有限制,一般,以阴离子性嵌段的分子量满足规定的范围的方式,根据其重复单元的种类而决定。具体而言,在使用聚羧酸、聚磺酸、或核酸作为阴离子性嵌段的情况下,其重复单元数优选为10以上,更优选为50以上,另外,优选为200以下,更优选为100以下的范围。

[0256] 通过使用满足所述条件的阴离子性嵌段,能够防止第1聚合物及第2聚合物的水溶液中的缔合、沉淀而稳定化,能够有效地构建微囊。

[0257] (B2-2c:不带电亲水性嵌段和带电嵌段的组合)

[0258] 第1聚合物具有不带电亲水性嵌段和第1带电嵌段的组合,另外,在第2聚合物具有除了第2带电嵌段以外不带电亲水性嵌段的情况下不带电亲水性嵌段和第2带电嵌段的组合,都没有限制,可以为任意的不带电亲水性嵌段和任意的带电嵌段能够组合(应该指出,下面的记载中,有第1带电嵌段以及第2带电嵌段一起表示为“带电嵌段”的情况)。

[0259] 不带电亲水性嵌段以及带电嵌段的个数也是任意的,各自可以为一个也可以为两个以上,在两个以上的情况下,可以相互相同,也可以不同。

[0260] 不带电亲水性嵌段以及带电嵌段的结合方式也没有限制,可以直接结合,也可以