

(19) 日本国特許庁(JP)

## 再公表特許(A1)

(11) 国際公開番号

W02012/070681

発行日 平成26年5月19日(2014.5.19)

(43) 国際公開日 平成24年5月31日(2012.5.31)

(51) Int.Cl. F I テーマコード(参考)  
**C08F 8/00 (2006.01)** C O 8 F 8/00 4 J 1 0 0

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 45 頁)

出願番号	特願2012-545819 (P2012-545819)	(71) 出願人	504145342 国立大学法人九州大学 福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号
(21) 国際出願番号	PCT/JP2011/077432	(71) 出願人	000003986 日産化学工業株式会社 東京都千代田区神田錦町3丁目7番地1
(22) 国際出願日	平成23年11月28日(2011.11.28)	(71) 出願人	301032942 独立行政法人放射線医学総合研究所 千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目9番1号
(31) 優先権主張番号	特願2010-264409 (P2010-264409)	(74) 代理人	100068618 弁理士 粁 経夫
(32) 優先日	平成22年11月26日(2010.11.26)	(74) 代理人	100104145 弁理士 宮崎 嘉夫
(33) 優先権主張国	日本国(JP)	(74) 代理人	100104385 弁理士 加藤 勉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 常磁性を有する水溶性ハイパーブランチポリマー

## (57) 【要約】

【課題】 十分な緩和能力を持つとともに、金属イオンの解離がなく生体安全性に優れ、適度な水溶性及び脂溶性を有し、広い臓器分布及び臓器への取り込み効果を有することで、幅広いターゲット臓器及び疾患の造影が可能な、新規なMRI造影剤に使用可能な水溶性ハイパーブランチポリマーを提供すること。

【解決手段】 分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーであって、そのグラフト鎖中に常磁性を発現する部位を有するセグメントAと、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基及びスルホ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの官能基を有するセグメントBとを有する、ハイパーブランチポリマー、並びに該ハイパーブランチを含むMRI造影剤。

【選択図】 図13

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーであって、そのグラフト鎖中に常磁性を発現する部位を有するセグメント A と、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基及びスルホ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの官能基を有するセグメント B とを有する、ハイパーブランチポリマー。

## 【請求項 2】

前記セグメント A が式 [ 1 ] で表され、かつ、前記セグメント B が式 [ 2 ] で表される、請求項 1 に記載のハイパーブランチポリマー。

## 【化 1】



10

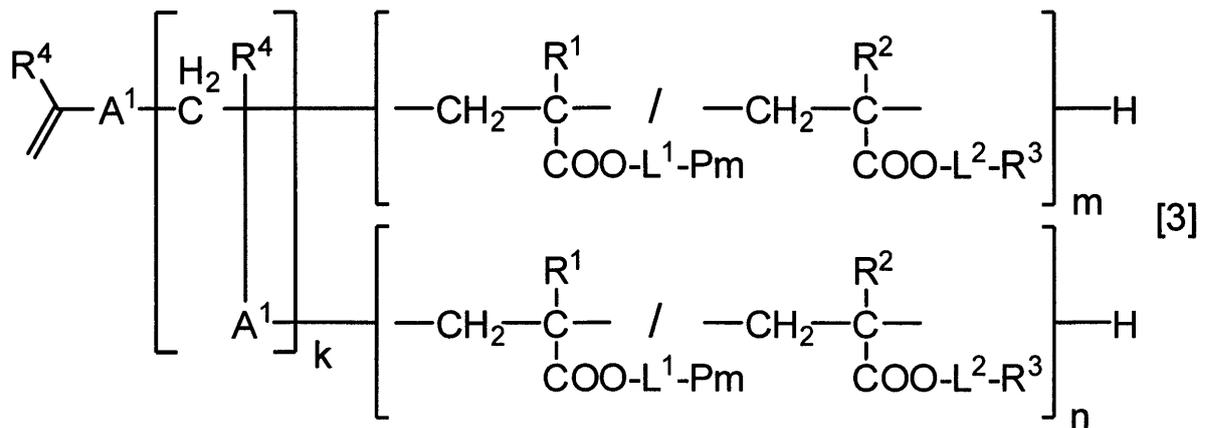
[ 式中、 $R^1$  及び  $R^2$  は、それぞれ独立して、水素原子又はメチル基を表し、 $L^1$  及び  $L^2$  は、それぞれ独立して、ヒドロキシ基で置換されていてもよい炭素原子数 1 乃至 6 のアルキレン基を表し、 $Pm$  は、 $L^1$  に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含む常磁性を発現する有機基又は常磁性を発現する有機金属錯体を有する基を表し、 $R^3$  は、 $L^2$  に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含み、かつ、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基及びスルホ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの官能基を有する有機基を表す。]

20

## 【請求項 3】

式 [ 3 ] で表される、請求項 2 に記載のハイパーブランチポリマー。

## 【化 2】



30

[ 式中、各  $R^4$  は、それぞれ独立して、水素原子又はメチル基を表し、各  $A^1$  は、それぞれ独立して、式 [ 4 ] 又は式 [ 5 ] で表される基を表し、 $k$  は、繰り返し単位構造の数であって、2 乃至 100, 000 の整数を表し、 $m$  及び  $n$  は、繰り返し単位構造の数であって、それぞれ独立して、1 乃至 100 の整数を表し、各  $R^1$ 、各  $R^2$ 、各  $R^3$ 、各  $L^1$ 、各  $L^2$  及び各  $Pm$  は、それぞれ独立して、前記と同じ意味を表す。]

40

## 【化 3】



[ 式中、 $A^2$  は、エーテル結合又はエステル結合を含んでいてもよい炭素原子数 1 乃至 3

50

0の直鎖状、分岐状又は環状のアルキレン基を表し、 $Y^1$ 、 $Y^2$ 、 $Y^3$ 及び $Y^4$ は、それぞれ独立して、水素原子、炭素原子数1乃至20のアルキル基、炭素原子数1乃至20のアルコキシ基、ハロゲン原子、シアノ基、カルボキシル基、アミノ基、ニトロ基又はヒドロキシ基を表す。]

【請求項4】

前記 $R^3$ がビス(2-ヒドロキシエチル)アミノ基を表す、請求項2又は請求項3に記載のハイパーブランチポリマー。

【請求項5】

前記Pmがマンガン-ポルフィリン錯体誘導体を表す、請求項2又は請求項3に記載のハイパーブランチポリマー。

【請求項6】

前記 $R^3$ がビス(2-ヒドロキシエチル)アミノ基を表し、かつ、前記Pmがマンガン-ポルフィリン錯体誘導体を表す、請求項2又は請求項3に記載のハイパーブランチポリマー。

【請求項7】

請求項1乃至請求項6のうち何れか一項に記載のハイパーブランチポリマーを含むMRI造影剤。

【請求項8】

消化管壁を造影することを特徴とする、請求項7に記載のMRI造影剤。

【請求項9】

腸管壁を造影することを特徴とする、請求項8に記載のMRI造影剤。

【請求項10】

請求項1乃至請求項6のうち何れか一項に記載のハイパーブランチポリマーを体内に投与することを特徴とする、MRI造影方法。

【請求項11】

消化管壁を造影することを特徴とする、請求項10に記載のMRI造影方法。

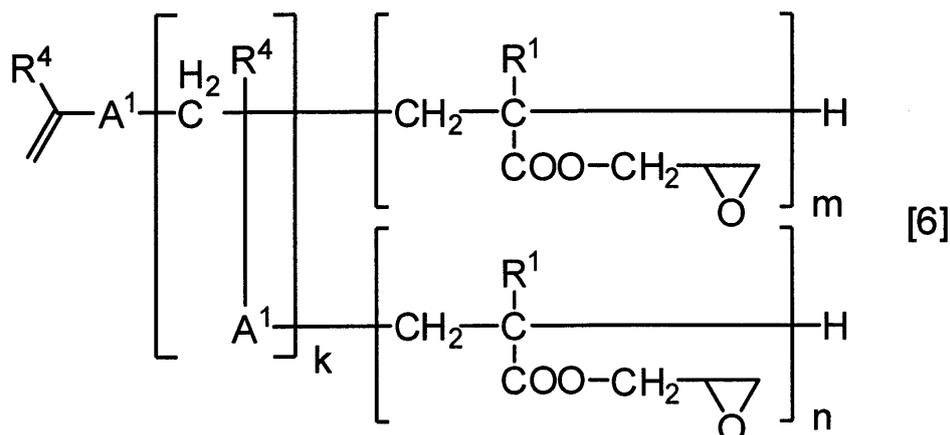
【請求項12】

腸管壁を造影することを特徴とする、請求項11に記載のMRI造影方法。

【請求項13】

式[6]で表される分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーと、Pm-H(ここでPmは、水素原子に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含む常磁性を発現する有機基又は常磁性を発現する有機金属錯体を有する基を表す。)、及び $R^3$ -H(ここで $R^3$ は、水素原子に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含み、かつ、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基及びスルホ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの官能基を有する有機基を表す。)を反応させることを特徴とする、式[7]で表されるハイパーブランチポリマーの製造方法。

【化4】



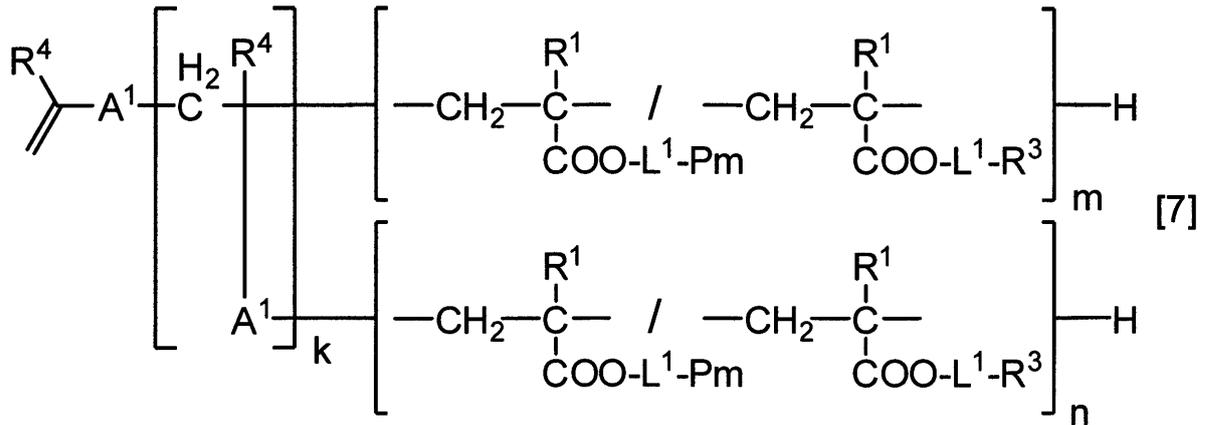
10

20

30

40

【化5】

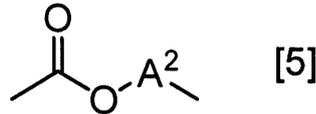
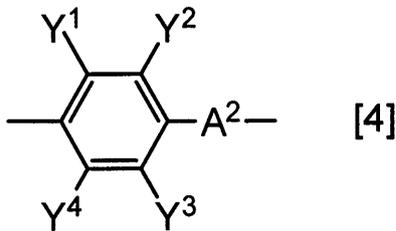


10

[式中、各 $R^1$ 及び各 $R^4$ は、それぞれ独立して、水素原子又はメチル基を表し、各 $R^3$ は、 $L^1$ に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含み、かつ、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基及びスルホ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの官能基を有する有機基を表し、 $L^1$ は、2-ヒドロキシプロピレン基を表し、各 $Pm$ は、 $L^1$ に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含む常磁性を発現する有機基又は常磁性を発現する有機金属錯体を表し、各 $A^1$ は、それぞれ独立して、式[4]又は式[5]で表される基を表し、 $k$ は、繰り返し単位構造の数であって、2乃至100,000の整数を表し、 $m$ 及び $n$ は、繰り返し単位構造の数であって、それぞれ独立して、1乃至100の整数を表す。]

20

【化6】



[式中、 $A^2$ は、エーテル結合又はエステル結合を含んでいてもよい炭素原子数1乃至30の直鎖状、分岐状又は環状のアルキレン基を表し、 $Y^1$ 、 $Y^2$ 、 $Y^3$ 及び $Y^4$ は、それぞれ独立して、水素原子、炭素原子数1乃至20のアルキル基、炭素原子数1乃至20のアルコキシ基、ハロゲン原子、シアノ基、カルボキシル基、アミノ基、ニトロ基又はヒドロキシ基を表す。]

30

【請求項14】

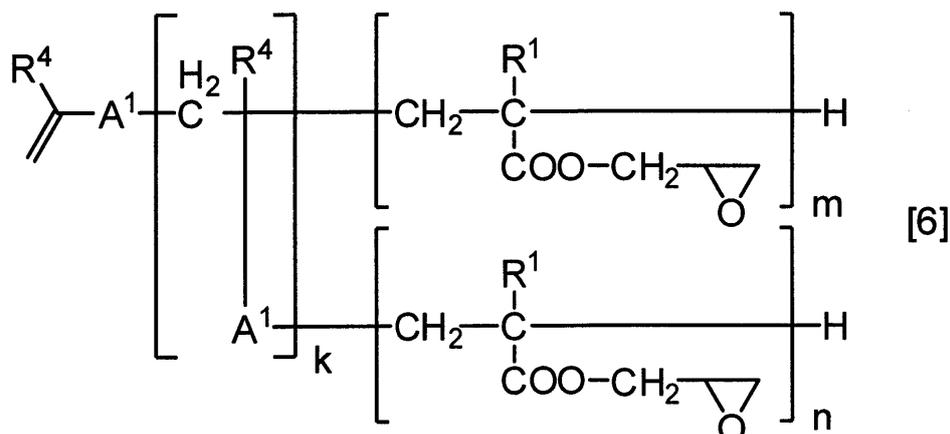
前記式[6]で表される分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーに、前記 $Pm-H$ 又は前記 $R^3-H$ を反応させた後、他方を反応させることを特徴とする、請求項13に記載の製造方法。

【請求項15】

式[6]で表される分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマー。

40

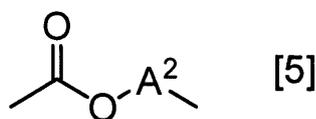
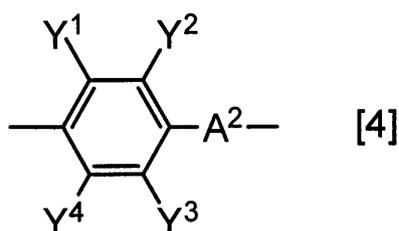
【化7】



10

[式中、各 $R^1$ 及び各 $R^4$ は、それぞれ独立して、水素原子又はメチル基を表し、各 $A^1$ は、それぞれ独立して、式[4]又は式[5]で表される基を表し、 $k$ は、繰り返し単位構造の数であって、2乃至100,000の整数を表し、 $m$ 及び $n$ は、繰り返し単位構造の数であって、それぞれ独立して、1乃至100の整数を表す。]

【化8】



20

[式中、 $A^2$ は、エーテル結合又はエステル結合を含んでもよい炭素原子数1乃至30の直鎖状、分岐状又は環状のアルキレン基を表し、 $Y^1$ 、 $Y^2$ 、 $Y^3$ 及び $Y^4$ は、それぞれ独立して、水素原子、炭素原子数1乃至20のアルキル基、炭素原子数1乃至20のアルコキシ基、ハロゲン原子、シアノ基、カルボキシ基、アミノ基、ニトロ基又はヒドロキシ基を表す。]

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、常磁性を有する新規な水溶性ハイパーランチポリマーに関する。

【背景技術】

【0002】

現在、臨床現場において使用されている磁気共鳴画像(MRI)法とは、水のプロトンの信号を画像化する技術であり、生体内に存在するプロトンの位置情報と周囲のコントラストを2次元で濃淡表示する技術である。プロトンの位置情報は、核磁気共鳴(NMR)内の静磁場を意図的に歪める傾斜磁場を用いることによって得られ、コントラストは水や脂質などのプロトンのNMR情報として得られるスピン密度、緩和時間、拡散速度、化学シフト、位相などによって決定される。特に緩和時間は、観測されるスピンを含む水分子と周辺分子の間の相対的な配置や運動によって変化し、周囲の組織の状態をよく反映することから、種々の診断において広く用いられている。

40

このMRI法に用いられるMRI造影剤は、生体組織中の水の緩和時間を変化させることにより、その分布量が異なる組織間にコントラストを付加する。すなわち造影剤は水プロトンの緩和時間の変化を通し間接的に検出される。

【0003】

上記MRI造影剤としては、ガドリニウムやマンガンを含有する $T_1$ 緩和造影剤や、酸化鉄を用いた $T_2$ 緩和造影剤が用いられており、これらの金属イオンと水プロトンの相互

50

作用により縦横の緩和が促進される。なお、これらの金属イオンは有毒である傾向があるため、生体組織が吸収する能力を低減させるために、実際には配位子によってキレート化されているものが使用される。しかしながら、このキレート化は金属イオンが有している緩和能力をも減少させ、造影剤としての効果を低減させることにもつながっている。そこで、分子サイズに応じた回転相関時間の増大による緩和能上昇効果（常磁性体緩和促進効果）を利用した造影剤（特許文献1）、超常磁性体の酸化鉄ナノ粒子をポリマーで複合化し平均粒子径が26nm程度のガン細胞選択性を有する造影剤（非特許文献1）、ポリマー主鎖構造からスパーサーアームを付与した巨大分子造影剤（特許文献2）などが報告されている。

#### 【発明の概要】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0004】

従来より広く使用されているMRI造影剤であるGd-DTPA（ジエチレントリアミン五酢酸）錯体は、水溶性を示す低分子化合物であるため、血流に乗って臓器・組織に広く分布できる。

しかしながらGd-DTPAは脂溶性が低いために肝臓などの臓器にはほとんど取り込まれず、また低分子化合物であることから、ガン細胞の造影については感度が低く、ターゲット臓器及び疾患によっては造影に限界がある。

また、ガン細胞などへの細胞選択性の付与を期待して平均粒子径の大きな化合物の検討がなされているものの、MRI造影剤として十分な水溶性を達成することは難しく、またそもそもガン細胞などへの選択性が期待できる平均粒子径の大きさを得るには合成上に課題があった。

#### 【0005】

このように、これまで提案された造影剤にあっては、その緩和能力、生体安全性、ターゲット臓器及び疾患の全てにおいて満足できるものではなく、さらなる性能の向上が望まれていた。

本発明は、上記の事情に鑑みなされたものであって、すなわち、十分な緩和能力を持つとともに、金属イオンの解離がなく生体安全性に優れ、適度な水溶性及び脂溶性を有し、広い臓器分布及び臓器への取り込み効果を有することで、幅広いターゲット臓器及び疾患の造影が可能で、新規なMRI造影剤に使用可能な水溶性ハイパーブランチポリマーの提供を課題とする。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0006】

本発明者らは、上記の課題を解決するために鋭意検討した結果、ハイパーブランチポリマーの末端に結合基を介して常磁性を発現する部位を結合させると共に、該末端に結合基を介して水溶性の部位を結合させることにより得られるコア-シェル型のハイパーブランチポリマーが、水溶性及び脂溶性のバランスに優れ、大きな常磁性体緩和促進効果を発現して高い緩和能を有する新規なMRI造影剤として有用であることを見だし、本発明を完成させた。

#### 【0007】

すなわち、本発明は、第1観点として、分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーであって、そのグラフト鎖中に常磁性を発現する部位を有するセグメントAと、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基及びスルホ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの官能基を有するセグメントBとを有する、ハイパーブランチポリマーに関する。

第2観点として、前記セグメントAが式[1]で表され、かつ、前記セグメントBが式[2]で表される、第1観点到記載のハイパーブランチポリマーに関する。

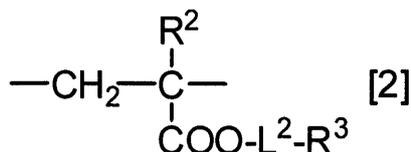
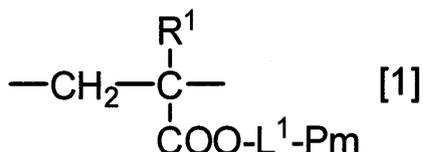
10

20

30

40

【化 1】

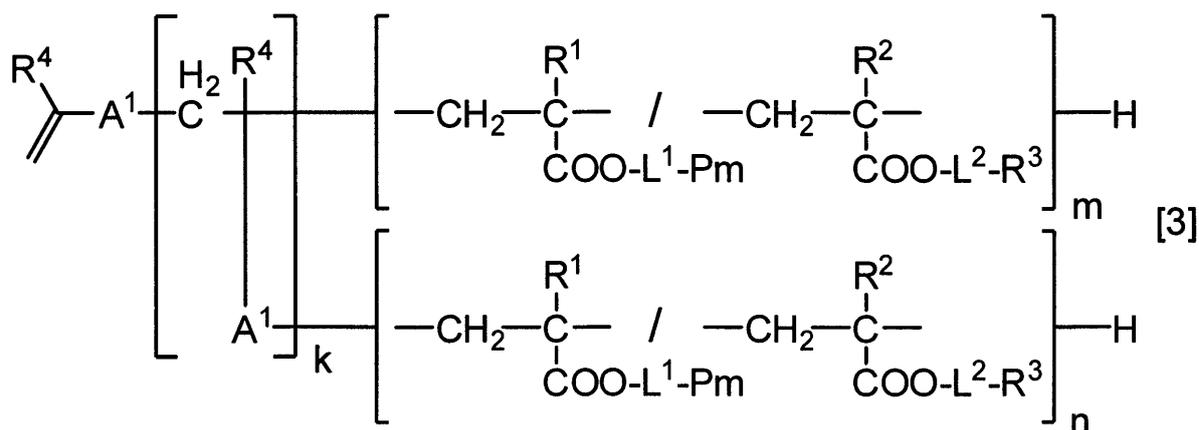


[式中、 $\text{R}^1$ 及び $\text{R}^2$ は、それぞれ独立して、水素原子又はメチル基を表し、 $\text{L}^1$ 及び $\text{L}^2$ は、それぞれ独立して、ヒドロキシ基で置換されていてもよい炭素原子数1乃至6のアルキレン基を表し、 $\text{Pm}$ は、 $\text{L}^1$ に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含む常磁性を発現する有機基又は常磁性を発現する有機金属錯体を有する基を表し、 $\text{R}^3$ は、 $\text{L}^2$ に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含み、かつ、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基及びスルホ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの官能基を有する有機基を表す。]

10

第3観点として、式[3]で表される、第2観点に記載のハイパーブランチポリマーに関する。

【化 2】

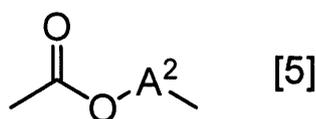
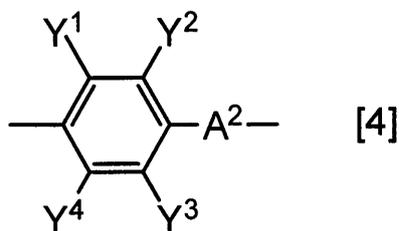


20

[式中、各 $\text{R}^4$ は、それぞれ独立して、水素原子又はメチル基を表し、各 $\text{A}^1$ は、それぞれ独立して、式[4]又は式[5]で表される基を表し、 $k$ は、繰り返し単位構造の数であって、2乃至100,000の整数を表し、 $m$ 及び $n$ は、繰り返し単位構造の数であって、それぞれ独立して、1乃至100の整数を表し、各 $\text{R}^1$ 、各 $\text{R}^2$ 、各 $\text{R}^3$ 、各 $\text{L}^1$ 、各 $\text{L}^2$ 及び各 $\text{Pm}$ は、それぞれ独立して、前記と同じ意味を表す。]

30

【化 3】



40

[式中、 $\text{A}^2$ は、エーテル結合又はエステル結合を含んでもよい炭素原子数1乃至30の直鎖状、分岐状又は環状のアルキレン基を表し、 $\text{Y}^1$ 、 $\text{Y}^2$ 、 $\text{Y}^3$ 及び $\text{Y}^4$ は、それぞれ独立して、水素原子、炭素原子数1乃至20のアルキル基、炭素原子数1乃至20のアルコキシ基、ハロゲン原子、シアノ基、カルボキシル基、アミノ基、ニトロ基又はヒドロキシ基を表す。]

第4観点として、前記 $\text{R}^3$ がビス(2-ヒドロキシエチル)アミノ基を表す、第2観点又は第3観点に記載のハイパーブランチポリマーに関する。

第5観点として、前記 $\text{Pm}$ がマンガン-ポルフィリン錯体誘導体を表す、第2観点又は第3観点に記載のハイパーブランチポリマーに関する。

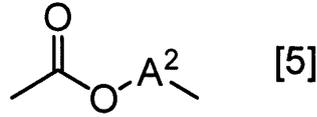
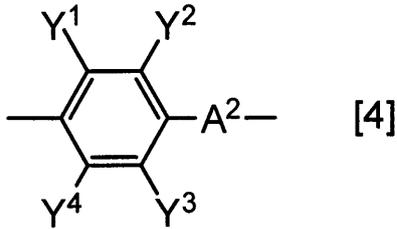
第6観点として、前記 $\text{R}^3$ がビス(2-ヒドロキシエチル)アミノ基を表し、かつ、前

50



機基を表し、 $L^1$ は、2-ヒドロキシプロピレン基を表し、各 $P_m$ は、 $L^1$ に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含む常磁性を発現する有機基又は常磁性を発現する有機金属錯体を表し、各 $A^1$ は、それぞれ独立して、式[4]又は式[5]で表される基を表し、 $k$ は、繰り返し単位構造の数であって、2乃至100,000の整数を表し、 $m$ 及び $n$ は、繰り返し単位構造の数であって、それぞれ独立して、1乃至100の整数を表す。]

【化6】



10

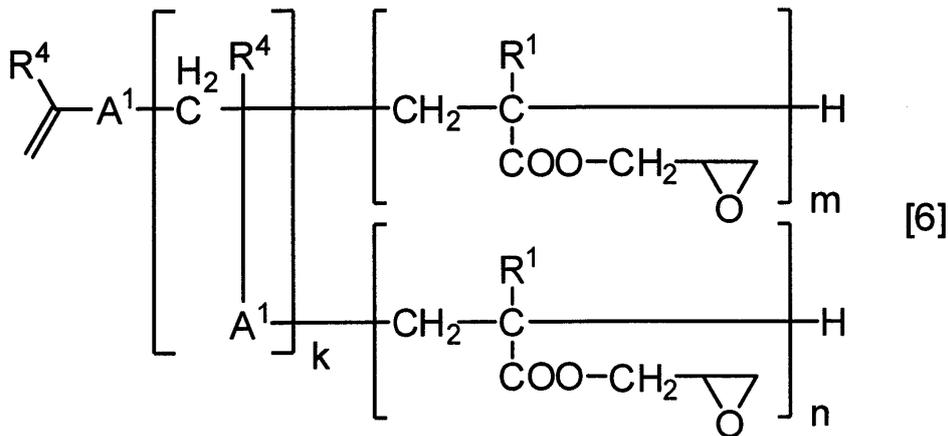
[式中、 $A^2$ は、エーテル結合又はエステル結合を含んでいてもよい炭素原子数1乃至30の直鎖状、分岐状又は環状のアルキレン基を表し、 $Y^1$ 、 $Y^2$ 、 $Y^3$ 及び $Y^4$ は、それぞれ独立して、水素原子、炭素原子数1乃至20のアルキル基、炭素原子数1乃至20のアルコキシ基、ハロゲン原子、シアノ基、カルボキシル基、アミノ基、ニトロ基又はヒドロキシ基を表す。]

第14観点として、前記式[6]で表される分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーに、前記 $P_m-H$ 又は前記 $R^3-H$ を反応させた後、他方を反応させることを特徴とする、第13観点到記載の製造方法に関する。

20

第15観点として、式[6]で表される分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーに関する。

【化7】

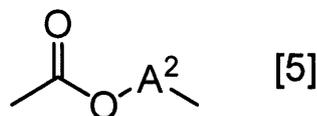
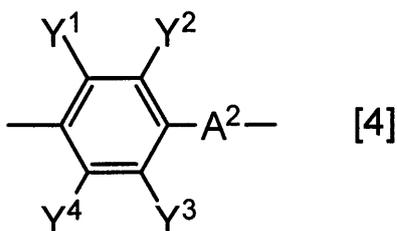


30

[式中、各 $R^1$ 及び各 $R^4$ は、それぞれ独立して、水素原子又はメチル基を表し、各 $A^1$ は、それぞれ独立して、式[4]又は式[5]で表される基を表し、 $k$ は、繰り返し単位構造の数であって、2乃至100,000の整数を表し、 $m$ 及び $n$ は、繰り返し単位構造の数であって、それぞれ独立して、1乃至100の整数を表す。]

40

【化8】



[式中、 $A^2$ は、エーテル結合又はエステル結合を含んでいてもよい炭素原子数1乃至30の直鎖状、分岐状又は環状のアルキレン基を表し、 $Y^1$ 、 $Y^2$ 、 $Y^3$ 及び $Y^4$ は、それぞれ

50

独立して、水素原子、炭素原子数 1 乃至 20 のアルキル基、炭素原子数 1 乃至 20 のアルコキシ基、ハロゲン原子、シアノ基、カルボキシル基、アミノ基、ニトロ基又はヒドロキシ基を表す。]

【発明の効果】

【0008】

本発明の常磁性を有する水溶性ハイパーブランチポリマーは、粒径の制御が容易であり、また水溶性の調整が容易である非イオン性の水溶性ポリマーである。

すなわち、本発明の水溶性ハイパーブランチポリマーは、大きな粒径を有し得且つ水溶性を有することから、ガン細胞に対する選択的なMRI造影剤としての応用が期待できる。

また本発明の水溶性ハイパーブランチポリマーは、大きな常磁性体緩和促進効果により高い緩和能を有する新規なMRI用造影剤として利用可能である。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】図1は、実施例1で合成した水素原子を分子末端に有するコア-シェル型ハイパーブランチポリマー(HPS200-PGMA8-H)の<sup>1</sup>H NMRスペクトルを示す図である。

【図2】図2は、実施例2で合成した水素原子を分子末端に有するコア-シェル型ハイパーブランチポリマー(HPS1000-PGMA15-H)の<sup>1</sup>H NMRスペクトルを示す図である。

【図3】図3は、実施例3で得られたHPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>/DEA、及び実施例4で得られたHPS1000-PGMA15-MnTPPS<sub>4</sub>/DEAの動的光散乱法による粒子径測定結果を示す図である。

【図4】図4は、実施例3で得られたHPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>/DEAの透過型電子顕微鏡写真を示す図である。

【図5】図5は、実施例4で得られたHPS1000-PGMA15-MnTPPS<sub>4</sub>/DEAの透過型電子顕微鏡写真を示す図である。

【図6】図6は、実施例3で得られたHPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>/DEA、及び実施例4で得られたHPS1000-PGMA15-MnTPPS<sub>4</sub>/DEAの、濃度-緩和時間T<sub>1</sub>の逆数の変化を示す図(緩和能r<sub>1</sub>)である。

【図7】図7は、実施例3で得られたHPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>/DEA、及び実施例4で得られたHPS1000-PGMA15-MnTPPS<sub>4</sub>/DEAの、濃度に対する緩和時間T<sub>2</sub>の逆数の変化を示す図(緩和能r<sub>2</sub>)である。

【図8】図8は、実施例8で得られたHPS200-PGMA8-TEMPO/DEAのESR測定結果を示す図である。

【図9】図9は、実施例8で得られたHPS200-PGMA8-TEMPO/DEAの動的光散乱法による粒子径測定結果を示す図である。

【図10】図10は、実施例8で得られたHPS200-PGMA8-TEMPO/DEAの温度に対する磁化率の変化を示す図である。

【図11】図11は、実施例12で得られたHPS200-PGMA8-GdDOTA/DEAの動的光散乱法による粒子径測定結果を示す図である。

【図12】図12は、実施例15のHPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>/DEAを用いたMRI造影試験で撮影したマウス下腹部の冠状断T1強調画像(投与前、及び投与直後から投与4時間後まで1時間ごと)を示す図である。

【図13】図13は、実施例15のHPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>/DEAを用いたMRI造影試験で撮影したマウス腹腔の水平断T1強調画像(投与前及び投与1時間後)を示す図である。

【図14】図14は、実施例15のHPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>/DEAを用いたMRI造影試験で撮影したマウス腹腔の三次元T1強調画像のボリュームレンダリング法による処理画像を示す図である。

10

20

30

40

50

【図15】図15は、実施例16のHPS1000-PGMA15-MnTPPS<sub>4</sub>/DEAを用いたMRI造影試験で撮影したマウス下腹部の冠状断T1強調画像（投与前、及び投与直後から投与4時間後まで1時間ごと）を示す図である。

【図16】図16は、比較例3のHPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>を用いたMRI造影試験で撮影したマウス下腹部の冠状断T1強調画像（投与前、及び投与直後から投与4時間後まで1時間ごと）を示す図である。

【図17】図17は、比較例3のHPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>を用いたMRI造影試験で撮影したマウス腹腔の水平断T1強調画像（投与前、投与直後及び投与1時間後）を示す図である。

【発明を実施するための形態】

10

【0010】

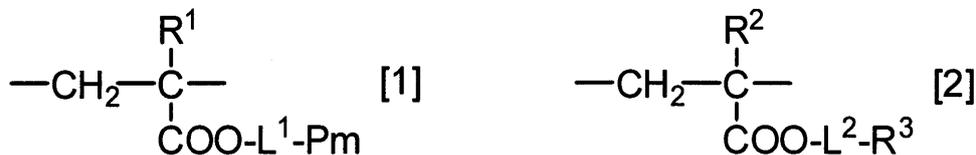
[常磁性を有する水溶性ハイパーランチポリマー]

本発明の常磁性を有する水溶性ハイパーランチポリマーは、分子末端にグラフト鎖を有するハイパーランチポリマーであって、そのグラフト鎖中に常磁性を発現する部位を有するセグメントAと、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基及びスルホ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの官能基を有するセグメントBとを有する、ハイパーランチポリマーを対象とするものである。

好ましくは、前記セグメントAは、下記式[1]で表されるものであり、かつ、前記セグメントBが下記式[2]で表されるものである。

【化9】

20



上記式中、R<sup>1</sup>及びR<sup>2</sup>は、それぞれ独立して、水素原子又はメチル基を表す。L<sup>1</sup>及びL<sup>2</sup>は、それぞれ独立して、ヒドロキシ基で置換されていてもよい炭素原子数1乃至6のアルキレン基を表す。Pmは、L<sup>1</sup>に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含む常磁性を発現する有機基又は常磁性を発現する有機金属錯体を有する基を表す。R<sup>3</sup>は、L<sup>2</sup>に結合する窒素原子又は酸素原子を含み、かつ、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基及びスルホ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの官能基を有する有機基を表す。

30

【0011】

上記L<sup>1</sup>又はL<sup>2</sup>におけるヒドロキシ基で置換されていてもよい炭素原子数1乃至6のアルキレン基としては、メチレン基、エチレン基、n-プロピレン基、2-ヒドロキシプロピレン基、n-ブチレン基、n-ヘキシレン基等が挙げられる。

好ましくはL<sup>1</sup>又はL<sup>2</sup>は2-ヒドロキシプロピレン基である。

【0012】

上記Pmは、L<sup>1</sup>に結合する側の末端に窒素原子又は酸素原子を含む基であり、例えば、L<sup>1</sup>に結合する側の末端に-N(H)-基、-O-基、-C(=O)O-基、又は-S(=O)<sub>2</sub>O-基を含む基である。

40

そして上記Pmにおける常磁性を発現する有機基又は常磁性を発現する有機金属錯体を有する基としては、常磁性金属と、ジエチレントリアミン五酢酸誘導体やポルフィリン誘導体等の配位子とからなるキレート錯体、或いは、ニトロキシル基等の有機ラジカル構造を分子内に有する化合物（例えば特許文献3参照）から誘導される基が挙げられる。

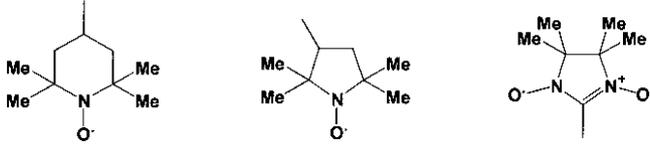
具体的には、前記キレート錯体としては、Gd-DTPA[ジエチレントリアミン五酢酸のガドリニウム錯体]、Gd-DOTA[1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン-1,4,7,10-四酢酸のガドリニウム錯体]、Gd-DTPA-BMA[ジエチレントリアミノ五酢酸ビスメチルアミドのガドリニウム錯体]や、Gd-HPDO3A{[10-(2-ヒドロキシプロピル)-1,4,7,10-テトラアザシクロドデカン]-1,4,7-三酢酸のガドリニウム錯体}などのガドリニウム錯体；マンガン-ポルフ

50

イリン誘導体錯体が挙げられる。

また、前記有機ラジカル構造としては以下の基を挙げることができる。

【化 1 0】



これらの基 P m の具体例の中でも、得られるハイパーブランチポリマーの水溶性や常磁性の観点から、特に P m がマンガン - ポルフィリン錯体誘導体由来する基を表すことが最も好ましい。

10

【 0 0 1 3】

上記 R<sup>3</sup> は、L<sup>2</sup> に結合する側の末端に窒素原子又は酸素原子を含む基であり、例えば、L<sup>2</sup> に結合する側の末端に - N ( H ) - 基、- O - 基、- C ( = O ) O - 基、又は - S ( = O )<sub>2</sub> O - 基を含む基である。そしてカルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基及びスルホ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの官能基を有する有機基を有する基である。

上記 R<sup>3</sup> の具体例としては、例えば、グルクツロン酸、ガラクツロン酸、ラクトビオン酸、ガラクトサミン等の糖誘導体の基の他、- O C ( = O ) - L<sub>3</sub> - C O O H、- O C ( = O ) - L<sub>3</sub> - N H<sub>2</sub>、- O C ( = O ) - L<sub>3</sub> - O H、- O C ( = O ) - L<sub>3</sub> - S O<sub>3</sub> H、- N H - L<sub>3</sub> - C O O H、- N H - L<sub>3</sub> - N H<sub>2</sub>、- N H - L<sub>3</sub> - O H、- N H - L<sub>3</sub> - S O<sub>3</sub> H、- N ( L<sub>3</sub> - C O O H )<sub>2</sub>、- N ( L<sub>3</sub> - N H<sub>2</sub> )<sub>2</sub>、- N ( L<sub>3</sub> - O H )<sub>2</sub>、- N ( L<sub>3</sub> - S O<sub>3</sub> H )<sub>2</sub>、- O - L<sub>3</sub> - C O O H、- O - L<sub>3</sub> - N H<sub>2</sub>、- O - L<sub>3</sub> - O H、- O - L<sub>3</sub> - S O<sub>3</sub> H、- O S ( O<sub>2</sub> ) - L<sub>3</sub> - C O O H、- O S ( O<sub>2</sub> ) - L<sub>3</sub> - N H<sub>2</sub>、- O S ( O<sub>2</sub> ) - L<sub>3</sub> - O H、- O S ( O<sub>2</sub> ) - L<sub>3</sub> - S O<sub>3</sub> H (ここで、L<sub>3</sub> としては、例えば、メチレン基、エチレン基、プロピレン基、- C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> O C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> -、- C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> N H C H<sub>2</sub> C H<sub>2</sub> - など) を表す。) などが挙げられる。中でも、R<sub>3</sub> がビス ( 2 - ヒドロキシエチル ) アミノ基を表すものであることが好ましい。

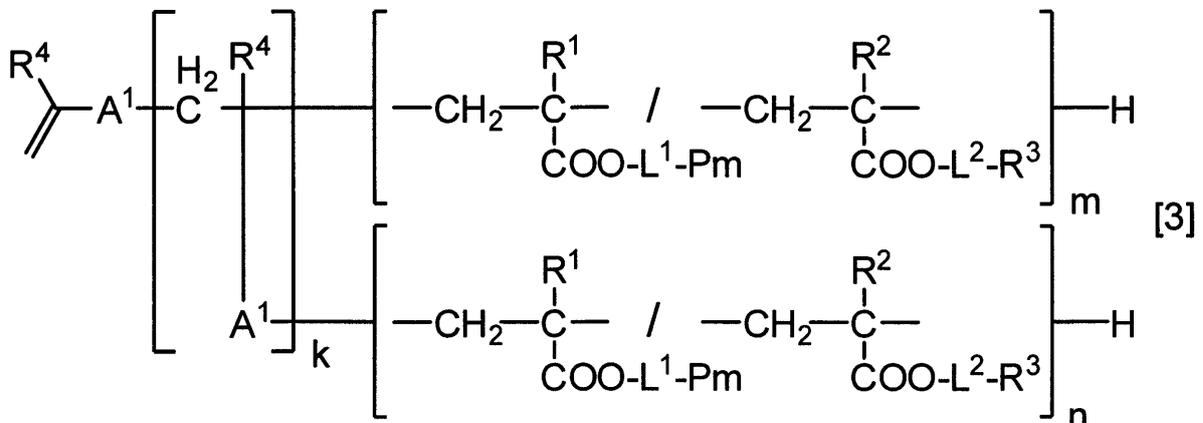
20

【 0 0 1 4】

好ましくは、本発明の常磁性を有する水溶性ハイパーブランチポリマーは、下記式 [ 3 ] で表されるものである。

30

【化 1 1】



40

上記式中、各 R<sup>4</sup> は、それぞれ独立して、水素原子又はメチル基を表す。また各 A<sup>1</sup> は、それぞれ独立して、下記式 [ 4 ] 又は式 [ 5 ] で表される基を表す。k は、繰り返し単位構造の数であって、2 乃至 1 0 0、0 0 0 の整数を表し、m 及び n は、繰り返し単位構造の数であって、それぞれ独立して、1 乃至 1 0 0 の整数を表す。

また各 R<sup>1</sup>、各 R<sup>2</sup>、各 R<sup>3</sup>、各 L<sup>1</sup>、各 L<sup>2</sup> 及び各 P m は、それぞれ独立して、前記式 [ 1 ] 又は [ 2 ] において定義したものと同一意味を表す。

50

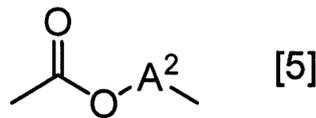
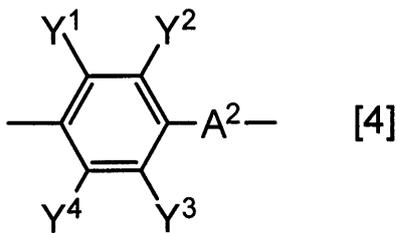
なお、上記式 [ 3 ] において、前記セグメント A に相当する式 [ 1 ] で表される構造と、前記セグメント B に相当する式 [ 2 ] で表される構造は、ランダム結合及びブロック結合のいずれで結合していてもよく、また、セグメント A 及びセグメント B 以外の構造を含んでいてもよい。また、グラフト鎖におけるセグメント A とセグメント B の順序は特に限定されず、ハイパーブランチポリマー側に結合する構造及び水素原子側に結合する構造はセグメント A、セグメント B、或いはその他の構造であってよい。

また、本発明の常磁性を有する水溶性ハイパーブランチポリマーにおいて、式 [ 1 ] で表される構造（セグメント A）と、式 [ 2 ] で表される構造（セグメント B）の含有割合は、モル比で 1 : 99 ~ 99 : 1、より好ましくは 10 : 90 ~ 90 : 10 の範囲であることが好ましい。

10

【 0 0 1 5 】

【 化 1 2 】



上記式中、 $A^2$  は、エーテル結合又はエステル結合を含んでいてもよい炭素原子数 1 乃至 30 の直鎖状、分岐状又は環状のアルキレン基を表し、 $Y^1$ 、 $Y^2$ 、 $Y^3$  及び  $Y^4$  は、それぞれ独立して、水素原子、炭素原子数 1 乃至 20 のアルキル基、炭素原子数 1 乃至 20 のアルコキシ基、ハロゲン原子、シアノ基、カルボキシル基、アミノ基、ニトロ基又はヒドロキシ基を表す。

20

【 0 0 1 6 】

上記  $A^2$  における直鎖状アルキレン基の具体例としては、メチレン基、エチレン基、 $n$ -プロピレン基、 $n$ -ブチレン基、 $n$ -ヘキシレン基等が挙げられる。また分枝状アルキレン基の具体例としては、イソプロピレン基、イソブチレン基、2-メチルプロピレン基等が挙げられる。

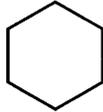
また環状アルキレン基としては、炭素数 3 乃至 30 の単環式、多環式、架橋環式の環状構造の脂環式脂肪族基が挙げられる。具体的には、炭素数 4 以上のモノシクロ、ビシクロ、トリシクロ、テトラシクロ、ペンタシクロ構造等を有する基を挙げることができる。以下に、脂環式脂肪族基における脂環式部分の構造例 ( a ) ないし ( s ) を示す。

30

## 【化 1 3】



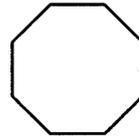
(a)



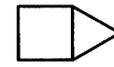
(b)



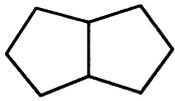
(c)



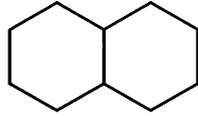
(d)



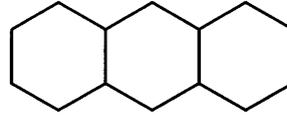
(e)



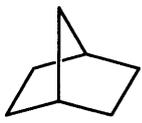
(f)



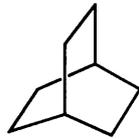
(g)



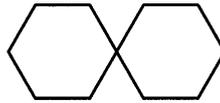
(h)



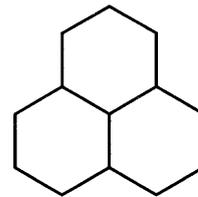
(i)



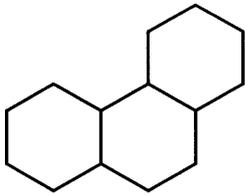
(j)



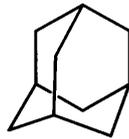
(k)



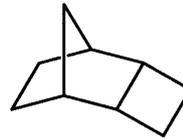
(l)



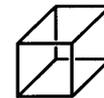
(m)



(n)



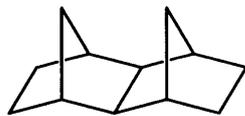
(o)



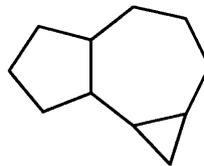
(p)



(q)



(r)



(s)

## 【0017】

上記 Y<sup>1</sup>、Y<sup>2</sup>、Y<sup>3</sup> 及び Y<sup>4</sup> における炭素原子数 1 乃至 20 のアルキル基としては、メチル基、エチル基、イソプロピル基、n - ペンチル基およびシクロヘキシル基等が挙げられる。

炭素原子数 1 乃至 20 のアルコキシ基としては、メトキシ基、エトキシ基、イソプロポキシ基、n - ペンチルオキシ基およびシクロヘキシルオキシ基等が挙げられる。

また、ハロゲン原子としてはフッ素原子、塩素原子、臭素原子およびヨウ素原子である。

これらのなかでも、上記 Y<sup>1</sup>、Y<sup>2</sup>、Y<sup>3</sup> 及び Y<sup>4</sup> としては、水素原子または炭素原子数 1 乃至 20 のアルキル基が好ましい。

## 【0018】

また、式 [ 3 ] 中の A<sup>1</sup> としては、下記式で表される構造であることが好ましい。

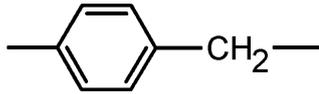
10

20

30

40

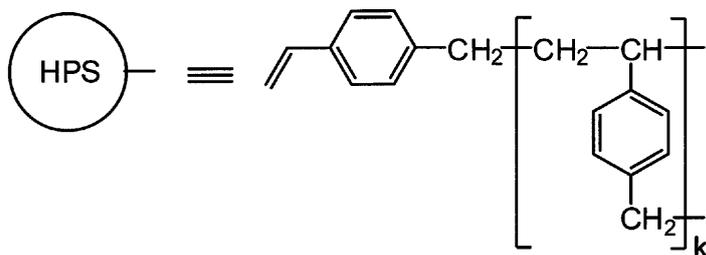
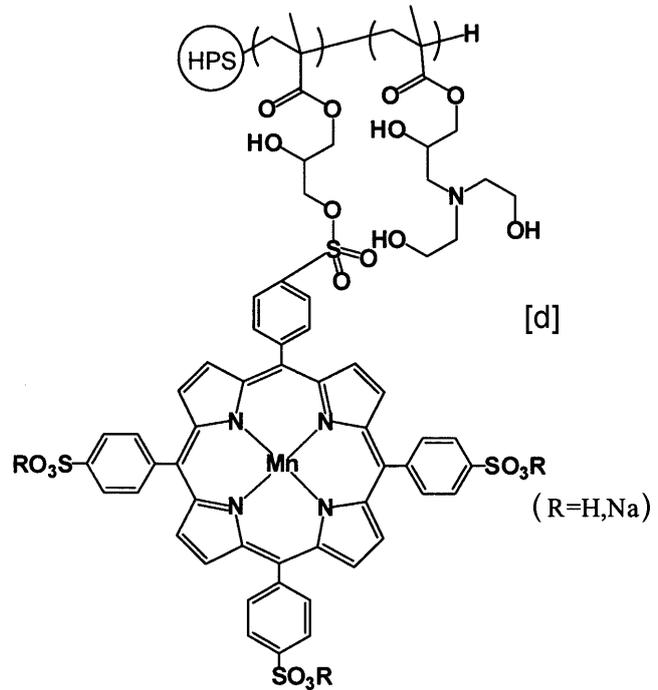
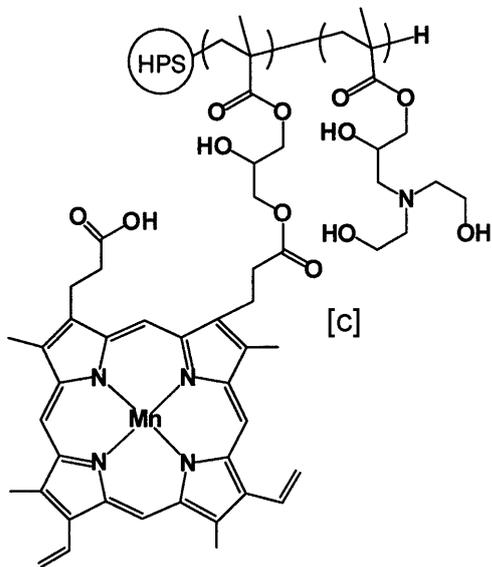
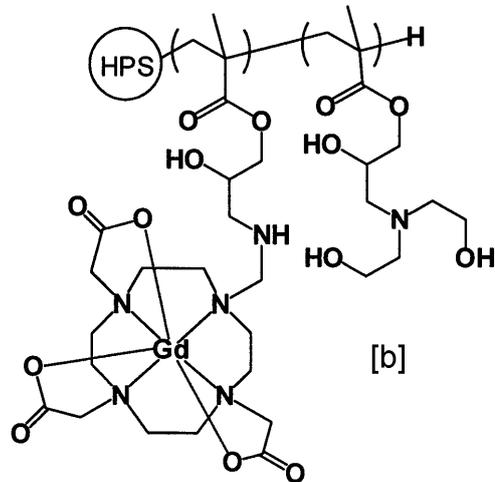
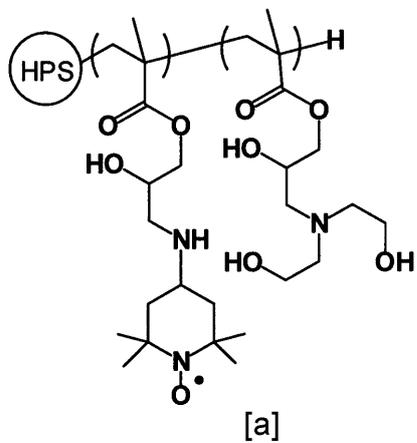
【化 1 4】



【 0 0 1 9】

従って、本発明の常磁性を有する水溶性ハイパーブランチポリマーとして、特に好ましいポリマーの具体例としては、例えば下記 [ a ] ~ [ d ] で表されるポリマーが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【化 1 5】



【 0 0 2 0】

なお、本発明の常磁性を有する水溶性ハイパーブランチポリマーにおけるゲル浸透クロ

10

20

30

40

50

マトグラフィーによるポリスチレン換算で測定される重量平均分子量 (Mw) は、1,000乃至1,000,000、好ましくは2,000乃至800,000である。また、分子末端のグラフト鎖を除外したハイパーブランチポリマー本体 (後述する式 [8] で表されるハイパーブランチポリマーに相当する) のゲル浸透クロマトグラフィーによるポリスチレン換算で測定される重量平均分子量 (Mw) は、1,000乃至400,000、好ましくは2,000乃至200,000である。

さらに、該常磁性を有する水溶性ハイパーブランチポリマーの一次粒子もしくは二次粒子の平均粒子径 (動的光散乱法による) は、好ましくは1nm以上1,000nm以下、さらに好ましくは5nm以上500nm以下である。

【0021】

10

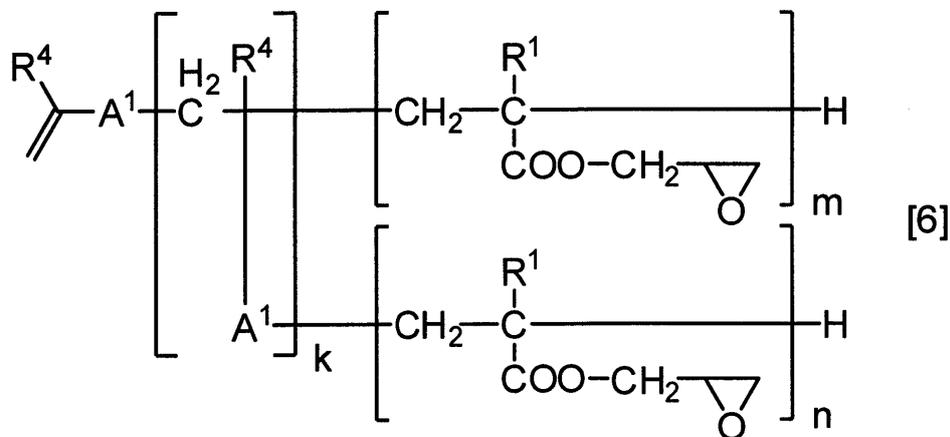
[常磁性を有する水溶性ハイパーブランチポリマーの製造方法]

本発明の常磁性を有する水溶性ハイパーブランチポリマーは、例えば以下の手順にて製造できる。

すなわち、下記式 [6] で表される分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーと、Pm-H (ここでPmは、水素原子に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含む常磁性を発現する有機基又は常磁性を発現する有機金属錯体を有する基を表す。)、及びR<sup>3</sup>-H (ここでR<sup>3</sup>は、水素原子に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含み、かつ、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基及びスルホ基からなる群から選ばれる少なくとも一つの官能基を有する有機基を表す。) を反応させることにより、下記式 [7] で表されるハイパーブランチポリマーを得ることができる。

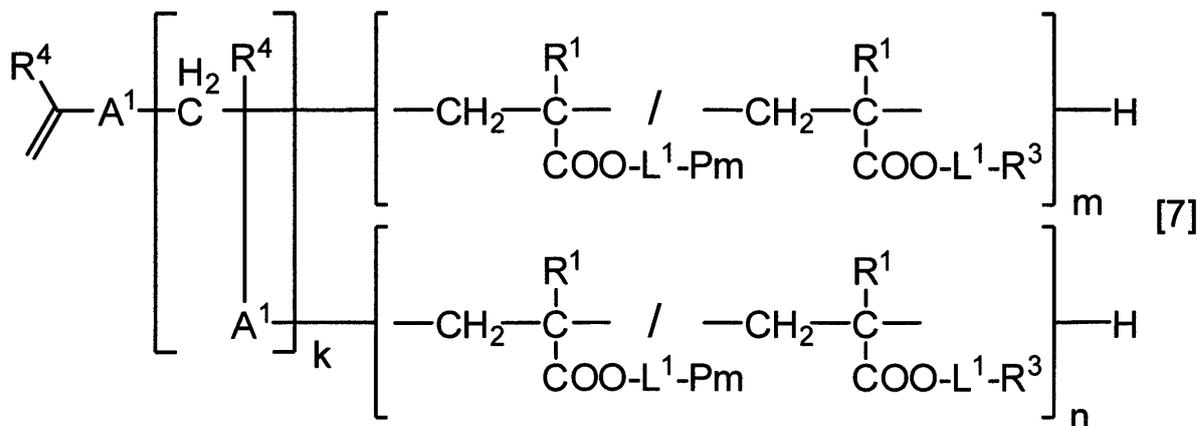
20

【化16】



30

【化17】



40

上記式 [6] 及び式 [7] 中、各R<sup>1</sup>及び各R<sup>4</sup>は、それぞれ独立して、水素原子又はメチル基を表す。

上記式 [7] 中、各R<sup>3</sup>は、L<sup>1</sup>に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含み、かつ、カルボキシル基、アミノ基、ヒドロキシ基及びスルホ基からなる群から選ばれる少なくとも

50

も一つの官能基を有する有機基を表し、 $L^1$ は、2-ヒドロキシプロピレン基を表し、各  $P_m$ は、 $L^1$ に結合する窒素原子又は酸素原子を末端に含む常磁性を発現する有機基又は常磁性を発現する有機金属錯体を表す。

また上記式 [ 6 ] 及び式 [ 7 ] 中、各  $A^1$ は、それぞれ独立して、前記式 [ 4 ] 又は前記式 [ 5 ] で表される基を表し、 $k$ は、繰り返し単位構造の数であって、2乃至100、000の整数を表し、 $m$ 及び $n$ は、繰り返し単位構造の数であって、それぞれ独立して、1乃至100の整数を表す。

なお、上記式 [ 7 ] において、前記セグメントAに相当する構造と、前記セグメントBに相当する構造は、ランダム結合及びブロック結合のいずれで結合していてもよく、また、セグメントA及びセグメントB以外の構造を含んでいてもよい。また、グラフト鎖におけるセグメントAとセグメントBの順序は特に限定されず、ハイパーブランチポリマー側に結合する構造及び水素原子側に結合する構造はセグメントA、セグメントB、或いはその他の構造であってよい。

#### 【 0 0 2 2 】

ここで、前記式 [ 6 ] で表される分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーに、 $P_m - H$ 又は $R^3 - H$ を反応させる順序は特に限定されておらず、 $P_m - H$ を先に反応させた後に $R^3 - H$ を反応させてもよいし、或いは、 $R^3 - H$ を先に反応させた後に $P_m - H$ を反応させてもよい。また、同時に反応させても良い。

#### 【 0 0 2 3 】

式 [ 6 ] で表される分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーに  $P_m - H$  及び  $R^3 - H$  を反応させる際に用いる溶媒は、これら各成分が溶解する溶媒であれば特に限定されず、例えばテトラヒドロフラン ( THF )、1, 4 - ジオキサン等のエーテル系溶媒；メチルイソブチルケトン ( MIBK )、シクロヘキサノン等のケトン系溶媒；クロロホルム、ジクロロメタン、1, 2 - ジクロロエタン等のハロゲン系溶媒；N, N - ジメチルホルムアミド ( DMF )、N - メチル - 2 - ピロリドン ( NMP ) 等のアミド系溶媒；ジメチルスルホキシド ( DMSO ) 等のスルホキシド系溶媒などを挙げるができる。なかでも、アミド系溶媒、スルホキシド系溶媒の使用が好ましい。

これら溶媒は、式 [ 6 ] で表される分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマー100質量部に対して10~10,000質量部の範囲で、好ましくは100~1,500質量部の範囲で使用する。

式 [ 6 ] で表される分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーと  $P_m - H$  又は  $R^3 - H$  との反応は、いずれも - 50 ~ 200、好ましくは20~100の温度範囲で実施され、通常、反応時間はいずれも1~48時間、好ましくは2~20時間である。

また、 $P_m - H$ と $R^3 - H$ の仕込み量は、通常モル比で100:1~1:1,000であるが、 $P_m - H$ と $R^3 - H$ を段階的に反応させる場合には、後に反応させる試剤は大過剰量用いても良い。

#### 【 0 0 2 4 】

[ 式 [ 6 ] で表されるハイパーブランチポリマー ]

本発明は、上記式 [ 6 ] で表される分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーもまた対象とするものである。

上記式 [ 6 ] で表されるハイパーブランチポリマーは、下記式 [ 8 ] で表されるジチオカルバメート基を分子末端に有するスチレン系ハイパーブランチポリマーに、(メタ)アクリル酸グリシジルを反応させた後、分子末端のジチオカルバメート基を還元して水素原子とする。

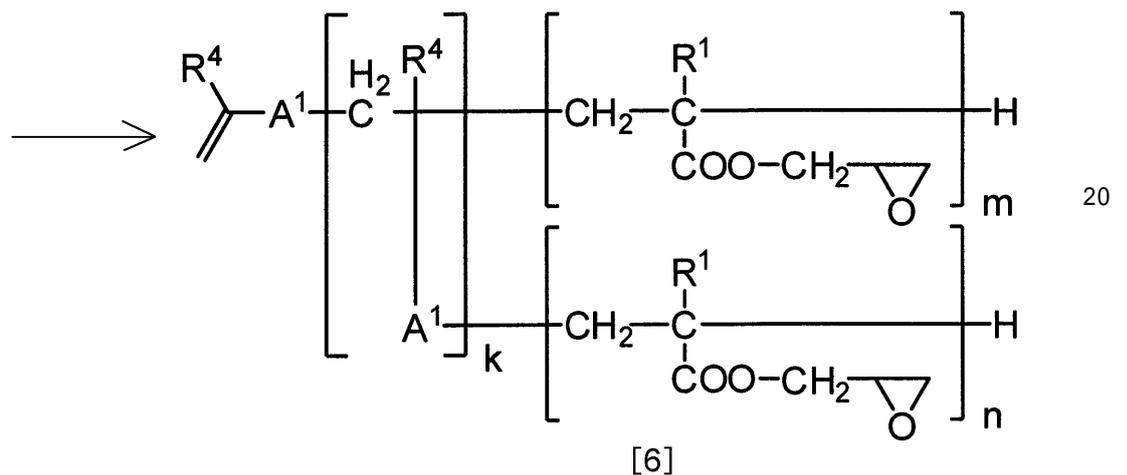
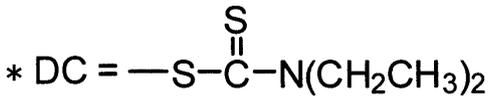
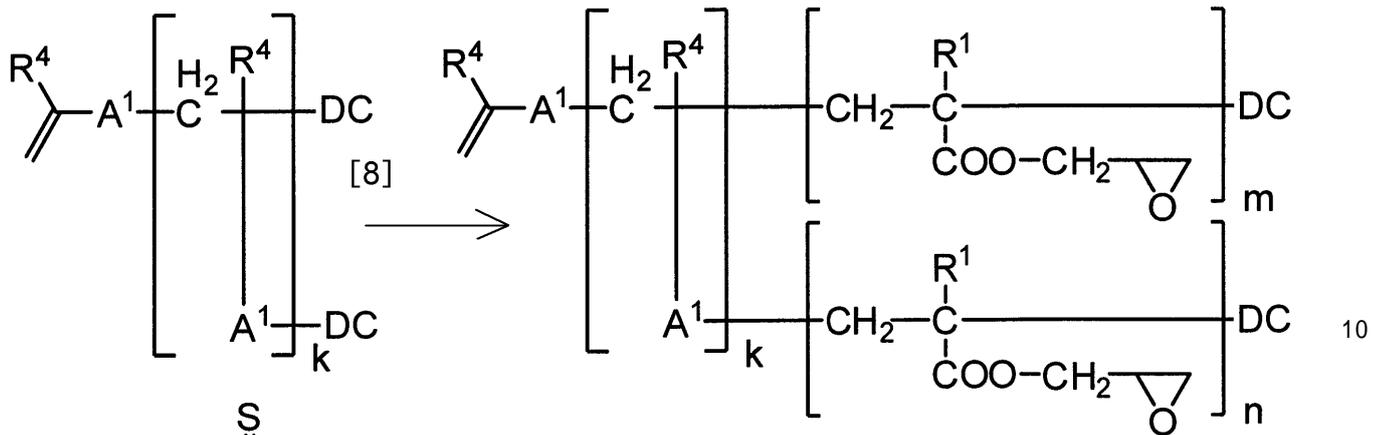
10

20

30

40

【化 18】



上記スキーム中、 $A^1$ 、 $R^1$ 、 $R^4$ 、 $k$ 、 $m$ 及び $n$ は式[6]において先に定義した通りの意味を表す。

【0025】

なお、分子末端にジチオカルバメート基を有する式[8]で表されるハイパーブランチポリマーは、ジチオカルバメート基を有するスチレン化合物の光重合による合成方法 (Koji Ishizu, Akihide Mori, *Macromol. Rapid Commun.* 21, 665-668 (2000)、Koji Ishizu, Akihide Mori, *Polymer International* 50, 906-910 (2001)、Koji Ishizu, Yoshihiro Ohta, Susumu Kawauchi, *Macromolecules Vol. 35, No. 9*, 3781-3784 (2002)) や、ジチオカルバメート基を有するアクリル化合物の光重合による合成方法 (Koji Ishizu, Takeshi Shibuya, Akihide Mori, *Polymer International* 51, 424-428 (2002)、Koji Ishizu, Takeshi Shibuya, Susumu Kawauchi, *Macromolecules Vol. 36, No. 10*, 3505-3510 (2002)、Koji Ishizu, Takeshi Shibuya, Jaebum Park, Satoshi Uchida, *Polymer International* 53, 259-265 (2004)) によって合成できる。

【0026】

式[8]で表されるスチレン系ハイパーブランチポリマーと(メタ)アクリル酸グリンジルの反応は、光重合又は熱重合のいずれでもよく、好ましくは光重合により反応させる。これら反応は特許文献4に記載されるような反応条件にて好適に実施できる。

具体的には、光重合・熱重合のいずれの場合においても、反応に使用する溶媒としては

、式 [ 8 ] で表されるハイパーブランチポリマー及び(メタ)アクリル酸グリシジルが溶解する溶媒であれば特に限定されずに使用でき、例えば非プロトン性極性有機溶媒類( N , N - ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、N , N - ジメチルアセトアミド、テトラメチルウレア、スルホラン、N - メチル - 2 - ピロリドン、1 , 3 - ジメチルイミダゾリジノン等)、エーテル類(ジイソプロピルエーテル、t - ブチルメチルエーテル、テトラヒドロフラン、ジオキサソラン等)、脂肪族炭化水素類(ヘキサソラン、シクロヘキサソラン、n - オクタソラン、n - デカソラン、デカリン、石油エーテル等)、芳香族炭化水素類(ベンゼン、クロロベンゼン、o - ジクロロベンゼン、ニトロベンゼン、トルエン、キシレン、メシチレン、テトラリン等)、ハロゲン化炭化水素類(クロロホルム、ジクロロメタン、1 , 2 - ジクロロエタン、四塩化炭素等)、ケトン類(アセトン、メチルエチルケトン、メチルブチルケトン、メチルイソブチルケトン、シクロヘキサソラン等)、アルコキシアルカン類(1 , 2 - ジメトキシエタン、1 , 2 - ジエトキシエタン、ジグリム等)、などが挙げられ、これらは単独で用いてもよく、2 種以上混合して用いてもよい。

光重合・熱重合のいずれの場合も、通常、窒素、アルゴン等の不活性ガスの雰囲気下、常圧又は加圧下において行うことができる。

重合温度は、光重合による反応の場合、通常 0 ~ 100 、好ましくは 20 ~ 50 である。また熱重合による反応の場合、重合温度は通常 50 ~ 250 、好ましくは 80 ~ 200 、さらに 100 ~ 150 であることが好ましい。

また光重合による反応の場合、光照射は低圧水銀ランプ、高圧水銀ランプ、超高圧水銀ランプ、キセノンランプ等の紫外線照射ランプを使用して、反応系の内部又は外部から照射することによって行なう。

またいずれの重合の場合も、(メタ)アクリル酸グリシジルの付加モル数(グラフト鎖の長さ)は反応時間に依存するため、目的とするグラフト鎖の長さにより反応時間を適宜選択することとなるが、通常、反応時間は 1 ~ 80 時間、好ましくは 2 ~ 10 時間である。

なお、上記式 [ 8 ] で表されるジチオカルバメート基を分子末端に有するスチレン系ハイパーブランチポリマーと、(メタ)アクリル酸グリシジルのモル比は、導入したいグラフト鎖の長さに応じて適宜選択されるが、例えば、(メタ)アクリル酸グリシジルのモル数 : 式 [ 8 ] で表されるハイパーブランチポリマーのジチオカルバメート基のモル数の比(モル比)が 1 : 1 乃至 1 , 000 : 1 であり、又は 1 : 1 乃至 100 : 1 である。

#### 【 0027 】

また還元の方法は、ジチオカルバメート基を水素原子に変換することができる方法であれば、特に制限はなく、例えば、水素、ヨウ化水素、硫化水素、水素化アルミニウムリチウム、水素化ホウ素ナトリウム、水素化トリブチルスズ、トリス(トリメチルシリル)シラン、チオグリコール酸等の公知の還元剤を用いて還元反応を行なうことができる。

具体的な還元の方法としては、有機溶媒溶液中、水素化トリブチルスズ等のラジカル反応条件での還元を使用される化合物を還元剤として使用し、光照射することによって行なう還元反応が好ましい。

#### 【 0028 】

上記還元剤の使用量は、ハイパーブランチポリマーに含まれるジチオカルバメート基の数に対して 1 乃至 20 倍モル当量、好ましくは 1 . 5 乃至 10 倍モル当量、より好ましくは 1 . 8 乃至 5 倍モル当量であればよい。反応開始前には反応系内の酸素を十分に除去する必要があり、窒素、アルゴンなどの不活性気体で系内を置換するとよい。還元反応の条件としては、反応時間 0 . 01 乃至 100 時間、反応温度 0 乃至 200 から、適宜選択される。好ましくは反応時間は 0 . 1 乃至 10 時間であり、反応温度は 20 乃至 100 である。

還元反応に使用する有機溶媒としては、前記のジチオカルバメート基を有するハイパーブランチポリマーと還元剤を溶解可能なものが好ましく、例えば、ベンゼン、トルエン、キシレン、エチルベンゼン等の芳香族炭化水素類、テトラヒドロフラン、ジエチルエーテル等のエーテル系化合物、アセトン、メチルエチルケトン、メチルイソブチルケトン、シ

クロヘキサノン等のケトン系化合物、ノルマルヘプタン、ノルマルヘキサン、シクロヘキサン等の脂肪族炭化水素類等が使用できる。これらの溶媒は一種を用いてもよいし、二種以上を混合して用いてもよい。

また光照射は、低圧水銀ランプ、高圧水銀ランプ、超高圧水銀ランプ、キセノンランプ等の紫外線照射ランプを使用して、反応系の内部又は外部から照射することによって行なうことができる。

こうして得られた上記式〔6〕で表される分子末端にグラフト鎖を有するハイパーブランチポリマーは、反応溶液中から溶媒留去又は固液分離により溶媒と分離することができる。また、反応溶液を貧溶媒中へ加えることによりハイパーブランチポリマーを沈殿させて回収することもできる。

#### 【0029】

##### [MRI造影剤]

本発明の常磁性を有する水溶性ハイパーブランチポリマーは、種々の分野への応用が期待されるが、中でも常磁性部位を高密度に担持できる性質や大きさから、高い常磁性体緩和促進効果とガン細胞選択性などを有することが期待され、MRI造影剤として有用である。

すなわち、本発明の常磁性を有する水溶性ハイパーブランチポリマーを含むMRI造影剤もまた本発明の対象である。

本発明のMRI造影剤は、通常注射用蒸留水、生理食塩水、リンゲル液等の溶媒に分散、懸濁又は溶解等の状態で用いられ、さらに必要に応じて、薬理的に許容され得る担体、賦形剤等の添加剤を含めることができる。

本発明の上記MRI造影剤は、細胞などに適用し得るほか、血管（静脈、動脈）内投与、経口投与、直腸内投与、腔内投与、リンパ管内投与、関節内投与等によって生体内に投与することができ、好ましくは、水剤、乳剤又は懸濁液等の形態で静脈内投与や経口投与によって投与する。

上記MRI造影剤に含められ得る添加剤としては、その投与形態、投与経路等によっても異なるが、具体的には、注射剤の場合には緩衝剤、抗菌剤、安定化剤、溶解補助剤、賦形剤等が単独又は組み合わせて用いられ、経口投与剤（具体的には水剤、シロップ剤、乳剤、懸濁液等）の場合、着色剤、保存剤、安定化剤、懸濁化剤、乳化剤、粘稠剤、甘味剤、芳香剤等が単独又は組み合わせて用いられる。各種添加剤は、通常当分野で用いられるものが使用される。

#### 【0030】

本発明の上記MRI造影剤は、従来のMRI用造影剤に準じて投与、造影することができる。また上記MRI造影剤は、ヒト以外にも各種動物用の造影剤としても好適に用いることができ、その投与形態、投与経路、投与量等は対象となる動物の体重や状態によって適宜選択する。

##### 【実施例】

#### 【0031】

以下、実施例を挙げて、本発明をより具体的に説明するが、本発明は下記の実施例に限定されるものではない。

なお、実施例において、試料の調製及び物性の分析に用いた装置及び条件は、以下の通りである。

#### 【0032】

##### (1) GPC (ゲル浸透クロマトグラフィー)

装置：東ソー(株)製 HLC-8320GPC

カラム：Shodex KF-804L、KF-805L

カラム温度：40

溶媒：THF

検出器：RI

##### (2) 動的光散乱光度計 (粒径測定、DLS解析とも)

10

20

30

40

50

装置：マルバーン社製 粒子径・ゼータ電位・分子量測定装置 ゼータサイザーナノシリーズ

(3)  $^1\text{H}$  NMR

装置：Bruker社製 AVANCE 500

(4) 光照射

装置：セン特殊光源(株)製 高圧水銀ランプ(100W) HL100C

(5) UV-vis スペクトル

装置：日本分光(株)製 V-570

(6) ESR スペクトル

装置：Bruker社製 ESP300

10

(7) ICP-OES (金属元素分析)

装置：セイコーインスツル(株)製 VISTA-PRO

(8) MRI 造影試験

装置：7テスラ水平型MRI装置 [磁石：ジャパン スーパーコンダクタ テクノロジー(株)製、コンソール：ブルカー・バイオスピ(株)製]

a) 二次元 T1 強調画像法 (スピンエコー法)

繰返し時間：520ms

エコー時間：9.6ms

マトリックス数：256 × 256

撮像視野：64 × 32 mm (水平断)、32 × 32 mm (冠状断)

20

スライス厚：0.5mm

脂肪抑制法、呼吸同期法

b) 三次元 T1 強調画像法 (高速スピンエコー法)

繰返し時間：500ms

エコー時間：9.5ms (実質的エコー時間：28.5ms)

マトリックス数：256 × 128 × 48

撮像視野：64 × 32 × 14.4mm

RARE factor：8

脂肪抑制法、呼吸同期法

【0033】

30

また、略記号は以下の意味を表す。

GMA：メタクリル酸グリシジル [東京化成工業(株)製]

DCDC：二硫化テトラエチルチウラム [和光純薬工業(株)製]

S-DC：N,N-ジエチルジチオカルバミルメチルスチレン

TPPS<sub>4</sub>Na：テトラフェニルポルフィリンテトラスルホン酸ナトリウム [東京化成工業(株)製]

DEA：ジエタノールアミン [アルドリッチ社製]

アミノTEMPO：4-アミノ-2,2,6,6-テトラメチルピペリジン 1-オキシル

MnPP：マンガンプロトポルフィリン [東京化成工業(株)製]

40

THF：テトラヒドロフラン

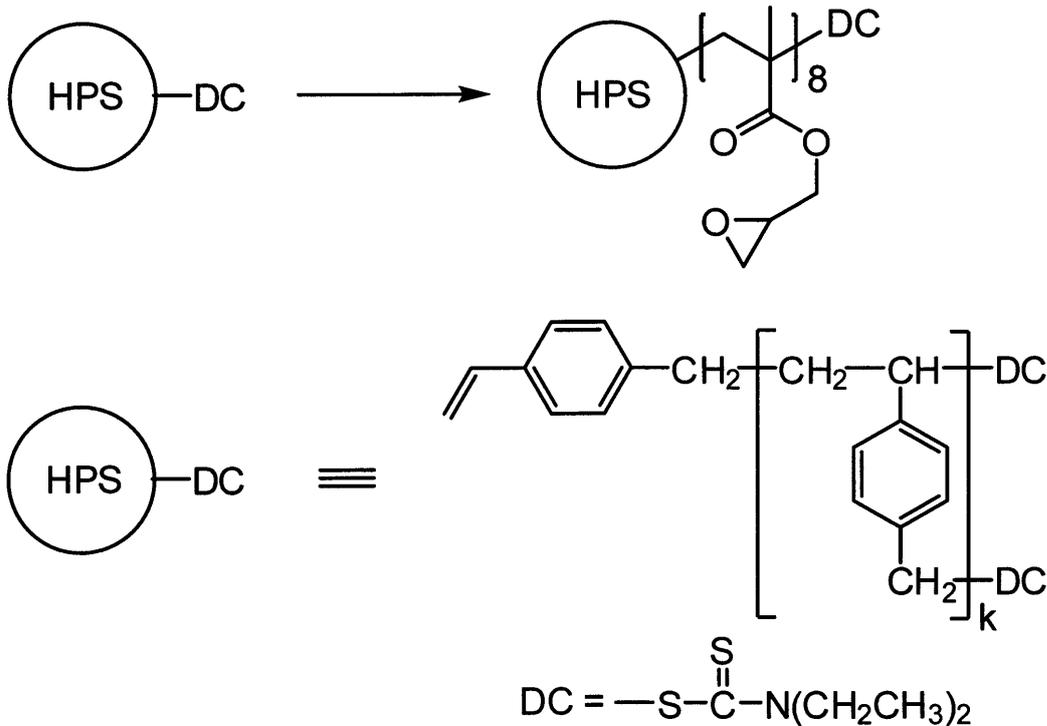
IPE：ジイソプロピルエーテル

DMSO：ジメチルスルホキシド

【0034】

[合成例1] ジチオカルバメート基を分子末端に有するコア-シェル型ハイパーブランチポリマー (HPS200-PGMA8-DC) の合成

## 【化19】



10

20

30

40

50

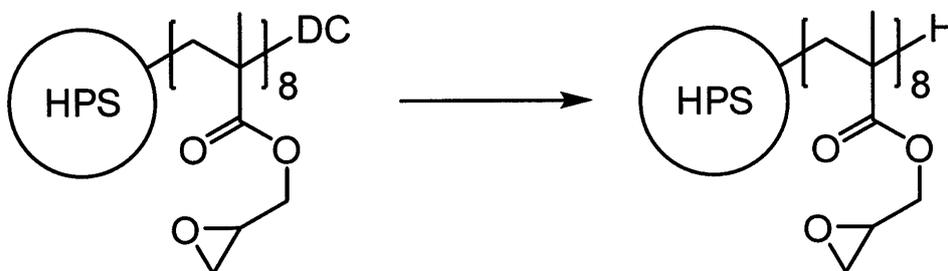
500 mLの光反応フラスコに、ジチオカルバメート基を分子末端に有するスチレン系ハイパーブランチポリマー〔日産化学工業（株）製 ハイパーテック（登録商標）HPS-200（Mw：23,000）〕2.67 g、GMA 71.1 g（500 mmol）、DCDC 2.97 g（10 mmol）及びTHF 290 gを投入し、攪拌して均一な溶液とした。窒素置換した後、攪拌しながら高圧水銀ランプで3時間照射し反応させた。その後、反応溶液をIPE 1.5 Lに添加してポリマーを沈殿させた。この沈殿物を減圧濾過し、真空乾燥して、目的物（HPS 200 - PGMA 8 - DC）31.6 gを得た。

得られた目的物のGPCによるポリスチレン換算で測定される重量平均分子量Mwは67,000、分散度：Mw（重量平均分子量）/ Mn（数平均分子量）は3.3であった。

## 【0035】

〔実施例1〕水素原子を分子末端に有するコア-シェル型ハイパーブランチポリマー（HPS 200 - PGMA 8 - H）の合成

## 【化20】



500 mLの光反応フラスコに、合成例1で得られたHPS 200 - PGMA 8 - DC 31.6 g、水素化トリブチルスズ〔アルドリッチ社製〕5.82 g（20 mmol）及びTHF 250 mLを投入し、攪拌して均一な溶液とした。窒素置換した後、攪拌しながら高圧水銀ランプで2時間照射し反応させた。その後、反応溶液をIPE 1.5 Lに添加してポリマーを沈殿させた。この沈殿物を減圧濾過し、真空乾燥して、目的物（HPS 200 - PGMA 8 - H）8.7 gを得た。

得られた目的物の<sup>1</sup>H NMRスペクトルを図1に示す。このスペクトルから算出したGMAの導入量は、ハイパーブランチポリマーの分子末端1つ当たり平均8分子（上記式の

[ ]で表される繰り返し単位の数：8に相当)であった。また、目的物のGPCによるポリスチレン換算で測定される重量平均分子量Mwは63,000、分散度：Mw(重量平均分子量)/Mn(数平均分子量)は3.0であった。DLS解析により得られた目的物の平均粒径は8.9nm(THF)であった。

【0036】

[合成例2]ジチオカルバメート基を分子末端に有するハイパーブランチポリマー(HPS1000)の合成

S-DCは公知の方法(例えば、国際公開第2010/101252号パンフレット記載の参考例1)に倣い、以下の手順にて合成した。

300mLの三口フラスコに、S-DC10.0g(38mmol)及びDCDC0.10g(0.34mmol)を投入し、窒素置換を行った後、攪拌しながら120℃で6時間加熱した。このときの反応液中の生成物のGPCによるポリスチレン換算で測定される重量平均分子量Mwは22,000であった。

次に、この反応液へS-DC10.0g(38mmol)及びDCDC0.10g(0.34mmol)を追加投入し、窒素置換を行った後、攪拌しながら120℃で8時間加熱した。このときの反応液中の生成物のGPCによるポリスチレン換算で測定される重量平均分子量Mwは23,000であった。

続けて、この反応液へS-DC10.0g(38mmol)及びDCDC0.10g(0.34mmol)をさらに追加投入し、窒素置換を行った後、攪拌しながら120℃で9時間加熱した。このときの反応液中の生成物のGPCによるポリスチレン換算で測定される重量平均分子量Mwは57,000であった。

最後に、この反応液へS-DC10.0g(38mmol)及びDCDC0.10g(0.34mmol)を追加投入し、窒素置換を行った後、攪拌しながら120℃で17時間加熱した。その後、反応液をTHF360gに溶解し、得られた溶液をメタノール2kgに添加してポリマーを沈殿させた。この沈殿物を減圧濾過し、同様にTHF及びメタノールを使用して再沈殿による精製を2回繰り返した。得られた沈殿物を減圧濾過し、真空乾燥して、目的物(HPS1000)24.0gを得た(収率60%)。

得られた目的物のGPCによるポリスチレン換算で測定される重量平均分子量Mwは100,000、分散度：Mw(重量平均分子量)/Mn(数平均分子量)は5.6であった。

【0037】

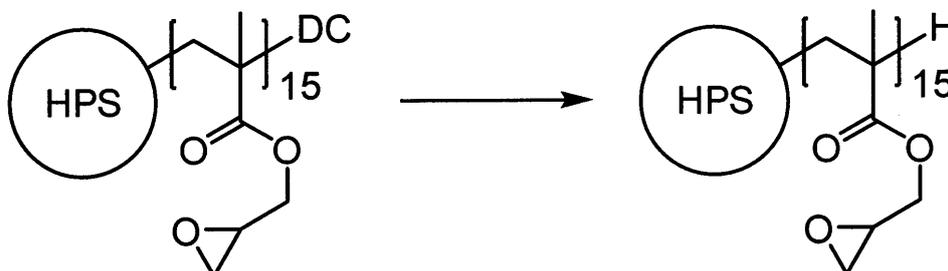
[合成例3]ジチオカルバメート基を分子末端に有するコア-シェル型ハイパーブランチポリマー(HPS1000-PGMA15-DC)の合成

500mLの光反応フラスコに、合成例2で得られたHPS1000 2.67g、GMA71.1g(500mmol)、DCDC2.97g(10mmol)及びTHF290gを投入し、攪拌して均一な溶液とした。窒素置換した後、攪拌しながら高圧水銀ランプで3時間照射し反応させた。反応溶液の<sup>1</sup>H NMRスペクトル測定により、目的の反応の進行を確認した。

【0038】

[実施例2]水素原子を分子末端に有するコア-シェル型ハイパーブランチポリマー(HPS1000-PGMA15-H)の合成

【化21】



10

20

30

40

50

合成例 3 で得られた反応溶液全量に、水素化トリブチルスズ [アルドリッチ社製] 5.82 g (20 mmol) を加えた。窒素置換した後、攪拌しながら高圧水銀ランプで 5 時間照射し反応させた。その後、反応溶液を IPE 1.5 L に添加してポリマーを沈殿させた。この沈殿物を減圧濾過し、真空乾燥して、目的物 (HPS 1000 - PGMA 15 - H) 18.6 g を得た。

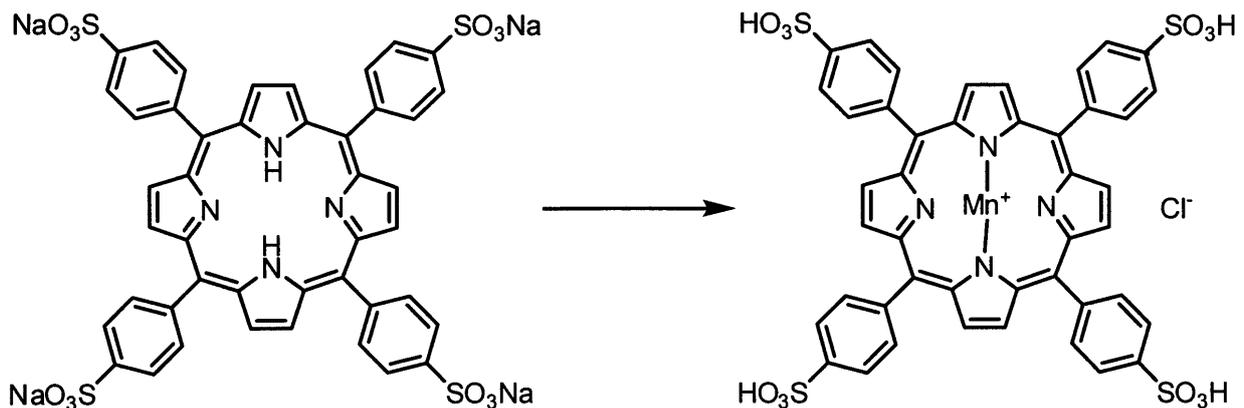
得られた目的物の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルを図 2 に示す。このスペクトルから算出した GMA の導入量は、ハイパーブランチポリマーの分子末端 1 つ当り平均 1.5 分子 (上記式の [ ] で表される繰り返し単位の数: 1.5 に相当) であった。また、目的物の GPC によるポリスチレン換算で測定される重量平均分子量  $M_w$  は 591,000、分散度:  $M_w$  (重量平均分子量) /  $M_n$  (数平均分子量) は 1.7 であった。DLS 解析により得られた目的物の平均粒径は 16.5 nm (THF) であった。

10

【0039】

[合成例 4] マンガン - ポルフィリン錯体 ( $\text{MnTPPS}_4$ ) の合成

【化 2 2】



20

$\text{MnTPPS}_4$  は、公知の方法 (例えば、Chinese Journal of Organic Chemistry, 29, 936 (2009)、Tetrahedron, 50, 8657 (1994)) に準じて、以下の手順にて合成した。

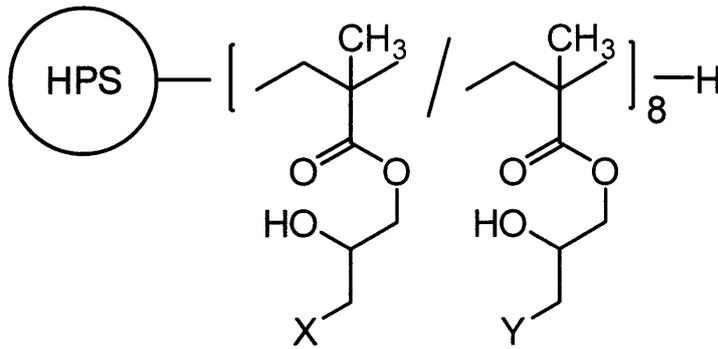
$\text{TPPS}_4\text{Na}$  0.50 g 及び酢酸マンガン四水和物 [ナカライテスク (株) 製] 1.19 g をメタノール 50 mL に溶解させ、7 時間加熱還流した。反応液を室温 (およそ 25 ) まで冷却後、酢酸 100 mL を加えたところ、粘着性の固体が析出した。上澄み液をデカンテーションで取り除いた後、残った粘着性固体を酢酸で洗浄し、水 200 g に溶解させた。この溶液に炭酸ナトリウムを添加し溶液の pH を 10 とした後、濃塩酸 15 g を加え茶緑色の沈殿物を得た。この沈殿物を減圧濾過し、真空乾燥して、目的物 ( $\text{MnTPPS}_4$ ) 0.45 g を得た (収率 93%)。

30

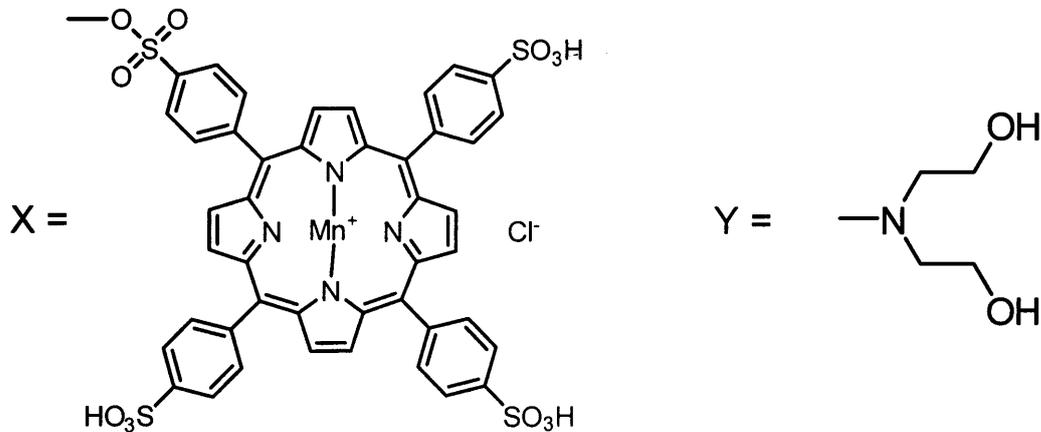
【0040】

[実施例 3] 常磁性コア - シェル型ハイパーブランチポリマー (HPS 200 - PGMA 8 -  $\text{MnTPPS}_4$  / DEA) の合成

【化 2 3】



10



20

※なお基Xに含まれる $-\text{SO}_3\text{H}$ 基はさらにHPS200-PGMA8-Hのグラフト鎖のグリシジル基と反応して他のグラフト鎖とも結合していてもよい

実施例1で得られたHPS200-PGMA8-H 0.4gと、合成例4で得られたMnTPPS<sub>4</sub> 0.52gとを、DMSO 480mLに溶解させた。この溶液を、60のオイルバス中で3時間攪拌した後、オイルバスを外し室温(およそ25)まで冷却した。この反応液へ、DEA 4.0gを滴下し、そのまま室温で15時間攪拌した。この反応液をジエチルエーテル2Lに添加して、粘着性の固体を析出させた。上澄み液をデカンテーションで取り除いた後、残った粘着性固体を減圧乾燥し、脱イオン水150gに溶解させた。この溶液を濾過して不溶物を除去し、得られた水溶液を凍結乾燥して、緑茶色粘着性固体の目的物(HPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>/DEA) 0.6gを得た(収率53%)。なお得られた目的物は、水に対する溶解度が10質量%以上であった。

30

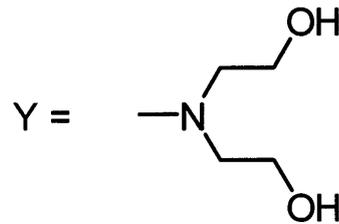
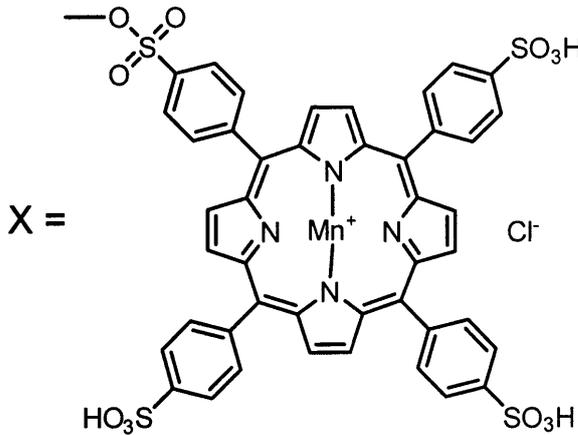
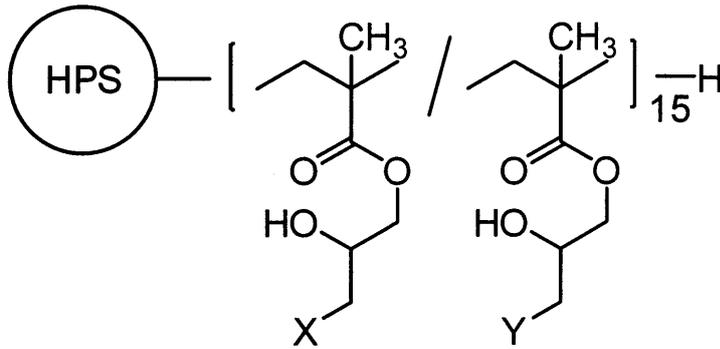
・UV-vis(H<sub>2</sub>O): max(nm) 380, 400, 468, 520, 568, 602

【0041】

[実施例4] 常磁性コア-シェル型ハイパーランチポリマー(HPS1000-PGMA15-MnTPPS<sub>4</sub>/DEA)の合成

40

## 【化 2 4】



※なお基Xに含まれる $-\text{SO}_3\text{H}$ 基はさらにHPS1000-PGMA15-Hのグラフト鎖のグリンジル基と

反応して他のグラフト鎖とも結合していてもよい

実施例 2 で得られた HPS 1000 - PGMA 15 - H 0.5 g と、合成例 4 で得られた  $\text{MnTPPS}_4$  0.68 g とを、DMSO 600 mL に溶解させた。この溶液を、60 のオイルバス中で 3 時間攪拌した後、オイルバスを外し室温（およそ 25 ）まで冷却した。この反応液へ、DEA 5.0 g を滴下し、そのまま室温で 15 時間攪拌した。この反応液をジエチルエーテル 2 L に添加して、粘着性の固体を析出させた。上澄み液をデカンテーションで取り除いた後、残った粘着性固体を減圧乾燥し、脱イオン水 200 g に溶解させた。この溶液を濾過して不溶物を除去し、得られた水溶液を凍結乾燥して、緑茶色粘着性固体の目的物（HPS 1000 - PGMA 15 -  $\text{MnTPPS}_4$  / DEA）0.6 g を得た（収率 41%）。

得られた目的物は、水に対する溶解度が 10 質量%であった。

・UV-vis ( $\text{H}_2\text{O}$ ) : max (nm) 380, 400, 468, 520, 568, 602

## 【0042】

[ 実施例 5 ] 粒子径測定

実施例 3 で得られた HPS 200 - PGMA 8 -  $\text{MnTPPS}_4$  / DEA、及び実施例 4 で得られた HPS 1000 - PGMA 15 -  $\text{MnTPPS}_4$  / DEA をそれぞれ脱イオン水に分散させ、0.02 mg/mL のサンプル 10 mL を調製した。このサンプル 1 mL を動的光散乱法により粒子径を測定した。得られた結果を図 3 に示す。各コア-シェル型ハイパーランチポリマーは、それぞれおよそ 85 nm（実施例 3）、およそ 200 nm（実施例 4）サイズを中心とした粒度分布を有する集合体を形成していることが確認された。

## 【0043】

[ 実施例 6 ] 透過型電子顕微鏡 (TEM) による観察

実施例 3 で得られた HPS 200 - PGMA 8 -  $\text{MnTPPS}_4$  / DEA、及び実施例 4 で得られた HPS 1000 - PGMA 15 -  $\text{MnTPPS}_4$  / DEA をそれぞれ脱イオ

10

20

30

40

50

ン水に分散させ、 $2\text{ mg/mL}$ のサンプル $10\text{ mL}$ を調製した。このサンプルを前処理したエラスチックカーボン支持膜〔応研商事（株）製（グリッドピッチ： $100\text{ }\mu\text{m}$ ）〕に $5\text{ }\mu\text{L}$ のせ、余分な溶液を濾紙で吸い取った。なお、支持膜の前処理として、電子顕微鏡用親水化処理装置〔日本電子（株）製 HDT-400〕を用いて放電処理を行った。

透過型電子顕微鏡（TEM）〔FEI社製 Tecnai20〕にて、加速電圧 $80\text{ kV}$ 、電流 $10\text{ A}$ の測定条件で、サンプルの形態観察を行った。それぞれ図4（実施例3）及び図5（実施例4）に示すような分散を持った集合体を形成していることが確認された（スケールバーはそれぞれ $100\text{ nm}$ を表す）。

#### 【0044】

##### [実施例7] 緩和時間の測定

実施例3で得られたHPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>/DEA、及び実施例4で得られたHPS1000-PGMA15-MnTPPS<sub>4</sub>/DEA、並びに参考例として合成例4で得られたMnTPPS<sub>4</sub>をそれぞれ脱イオン水に分散させ、ポルフィリン濃度が $0.05\sim 1.0\text{ mM}$ となる5つの異なる濃度サンプルを調製した。5つの各濃度のサンプル $0.3\text{ mL}$ と脱イオン水 $0.3\text{ mL}$ の計6サンプルを $10\text{ }\mu\text{L}$ のサンプル管にそれぞれ入れ、パルスNMR装置〔日本電子（株）製 JNM-MU25RAN（ $0.59\text{ T}$ 、 $25\text{ MHz}$ 、 $25\text{ }\mu\text{s}$ ）〕を用いて、各サンプルについての $T_1$ 緩和時間（縦緩和）及び $T_2$ 緩和時間（横緩和）を測定した。なお $T_1$ 緩和時間はInversion Recovery法により、 $T_2$ 緩和時間はCarr-Purcell-Meibuum-Gill（CPMG）法により測定した。

各測定法別に、縦軸に水の緩和時間（緩和時間 $T_1$ 又は $T_2$ の逆数）、横軸に濃度でプロットし、その傾きから緩和能 $r_1$ 、 $r_2$ （ $\text{mM}^{-1}\text{ s}^{-1}$ ）を算出した（図6：縦緩和、図7：横緩和）。これらの結果より、実施例3及び実施例4で得られた試料の緩和能 $r_1$ （図6）は、それぞれ $12\text{ mM}^{-1}\text{ s}^{-1}$ （実施例3）、 $16\text{ mM}^{-1}\text{ s}^{-1}$ （実施例4）という値を得た。また、実施例3及び実施例4で得られた試料の緩和能 $r_2$ （図7）は、それぞれ $15\text{ mM}^{-1}\text{ s}^{-1}$ （実施例3）、 $20\text{ mM}^{-1}\text{ s}^{-1}$ （実施例4）という値を得た。これらの値は、MnTPPS<sub>4</sub>（図6： $r_1=10.9\text{ mM}^{-1}\text{ s}^{-1}$ 、図7： $r_2=13.1\text{ mM}^{-1}\text{ s}^{-1}$ ）や従来市販されているMRI造影剤であるGd-DTPAの緩和能 $r_1=5.5\text{ mM}^{-1}\text{ s}^{-1}$ （ $0.59\text{ T}$ 、 $25\text{ MHz}$ 、 $25\text{ }\mu\text{s}$ ）と比べると、大きな値であり、HPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>/DEA（実施例3）及びHPS1000-PGMA15-MnTPPS<sub>4</sub>/DEA（実施例4）がMRI造影剤として臨床応用可能であることが確認された。

#### 【0045】

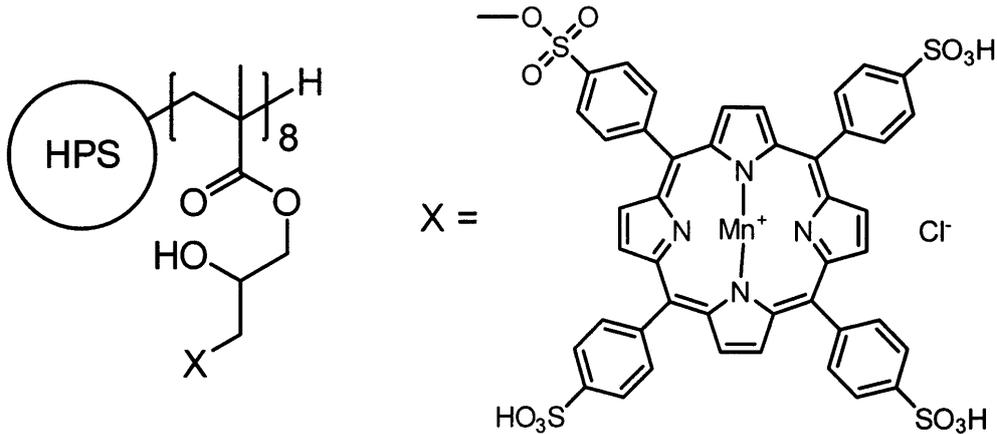
[比較例1] 常磁性コア-シェル型ハイパーランチポリマー（HPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>）の合成

10

20

30

## 【化25】



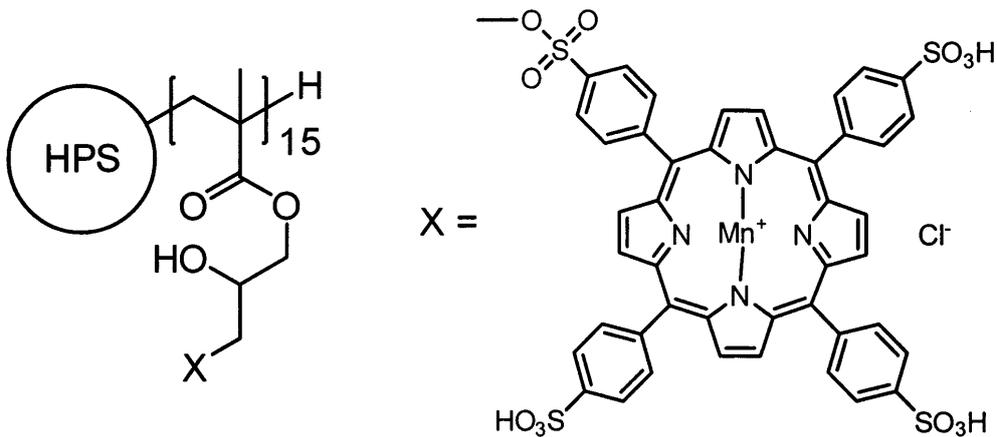
※なお基Xに含まれる $-\text{SO}_3\text{H}$ 基はさらにHPS200-PGMA8-Hのグラフト鎖のグリシジル基と反応して他のグラフト鎖とも結合していてもよい

実施例1で得られたHPS200-PGMA8-H0.1gと、合成例4で得られたMnTPPS<sub>4</sub>0.12gとを、DMSO90mLに溶解させた。この溶液を、60のオイルバス中で3時間攪拌した後、オイルバスを外し室温(およそ25)まで冷却した。この反応液をジエチルエーテル100mLに添加して、析出した固体を減圧濾過し、真空乾燥して、茶緑色粘着性固体の目的物(HPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>)0.2gを得た(収率91%)。得られた目的物は、水に対する溶解度が1質量%未満であり、本目的物をMRI造影剤として臨床応用するには水溶性に欠けるとする結果となった。

## 【0046】

[比較例2] 常磁性コア-シェル型ハイパーブランチポリマー(HPS1000-PGMA15-MnTPPS<sub>4</sub>)の合成

## 【化26】



※なお基Xに含まれる $-\text{SO}_3\text{H}$ 基はさらにHPS1000-PGMA15-Hのグラフト鎖のグリシジル基と反応して他のグラフト鎖とも結合していてもよい

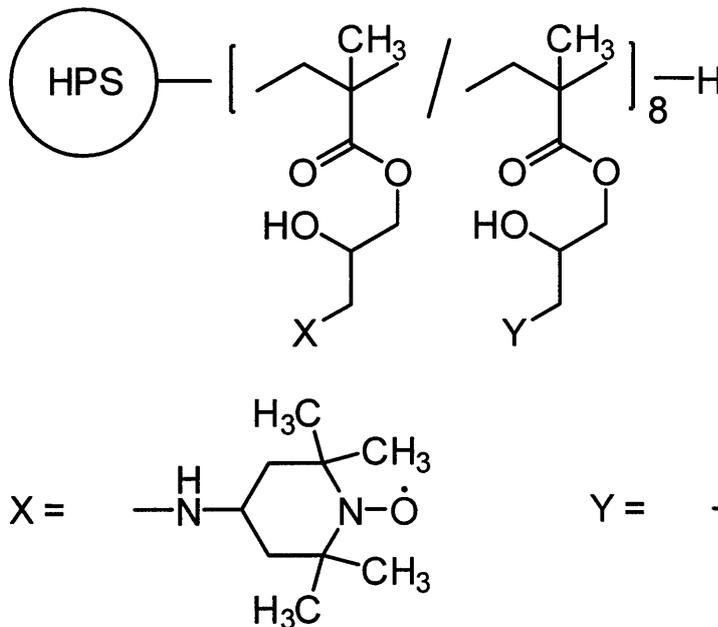
実施例2で得られたHPS1000-PGMA15-H0.05gと、合成例4で得られたMnTPPS<sub>4</sub>0.12gとを、DMSO100mLに溶解させた。この溶液を、60のオイルバス中で3時間攪拌した後、オイルバスを外し室温(およそ25)まで冷却した。この反応液をジエチルエーテル100mLに添加して、析出した固体を減圧濾過し、真空乾燥して、茶緑色粘着性固体の目的物(HPS1000-PGMA15-MnTPPS<sub>4</sub>)0.1gを得た(収率83%)。得られた目的物は、水に対する溶解度が1質量%未満であり、本目的物をMRI造影剤として臨床応用するには水溶性に欠けるとす

る結果となった。

【0047】

[実施例8] 常磁性コア-シェル型ハイパーブランチポリマー(HPS200-PGMA8-TEMPO/DEA)の合成

【化27】



実施例1で得られたHPS200-PGMA8-H0.5gと、公知の方法(例えば、Eur. J. Med. Chem., 24, 335 (1989))に従って合成したアミノTEMPO0.6gとを、DMSO15mLに溶解させた。この溶液を、70のオイルバス中で16時間攪拌した後、DEA4.0gを滴下し、さらに6時間攪拌した。その後、オイルバスを外し室温(およそ25)まで冷却した。この反応液をジエチルエーテル200mLに添加して、粘着性の固体を析出させた。上澄み液をデカンテーションで取り除いた後、残った粘着性固体を減圧乾燥し、脱イオン水100gに溶解させた。この溶液を濾過して不溶物を除去し、得られた水溶液を凍結乾燥して、赤色粘着性固体の目的物(HPS200-PGMA8-TEMPO/DEA)0.8gを得た(収率57%)。なお得られた目的物は、水に対する溶解度が1質量%であった。

30

・UV-vis(H<sub>2</sub>O): max(nm)440

また、目的物のGPC(カラム:TSK-GEL G600PWXL-CP + G3000PWXL-CP、溶離液:20mM硝酸ナトリウム水溶液、カラム温度:40、流速:1mL/分)によるプルラン換算で測定される重量平均分子量Mwは480,000であった。

【0048】

[実施例9] ESR測定

実施例8で得られたHPS200-PGMA8-TEMPO/DEAを脱イオン水に分散させ、1mg/mLのサンプルを調製し、XバンドのESRを測定した。得られた結果を図8に示す。

40

図8に示すように、ブロードニングを伴う超微細結合定数14ガウスを伴う3本線が確認されたことから、HPS200-PGMA8-TEMPO/DEAは、TEMPOラジカルを含有していることが確認された。

【0049】

[実施例10] 粒子径測定

実施例8で得られたHPS200-PGMA8-TEMPO/DEAを脱イオン水に分散させ、0.1mg/mLのサンプル10mLを調製した。このサンプル1mLを動的光散乱法により粒子径を測定した。得られた結果を図9に示す。

50

図9に示すように、HPS200-PGMA8-TEMPO/DEAは、およそ10nmサイズを中心とした粒度分布を有する集合体を形成していることが確認された。

【0050】

[実施例11] 磁化率測定

実施例8で得られたHPS200-PGMA8-TEMPO/DEA 55mgの磁化率の温度依存性を、SQUID磁束計[カンタム・デザイン社製 5000 Gauss外部磁場]を用いて測定した。得られた結果を図10に示す。図10中、測定結果を印にて、TEMPOラジカルを100%含有した場合の理論値を実線にて示す。

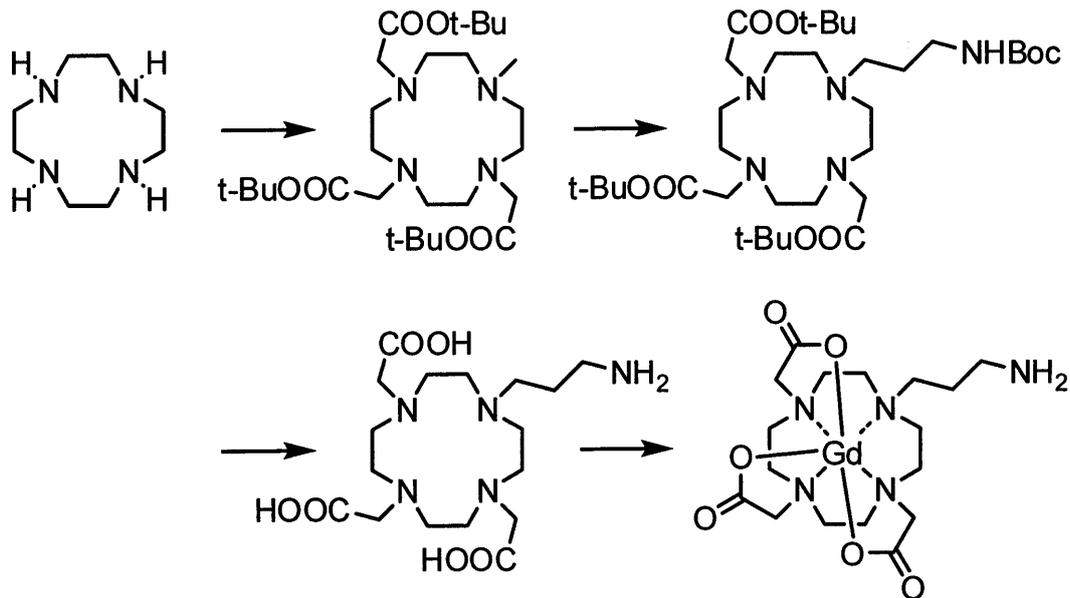
得られた磁化率の値から、55mgの試料中に13%のTEMPOラジカルが含まれていることが確認された。

10

【0051】

[合成例5] ガドリニウム-DOTA錯体(GdDOTA)の合成

【化28】



20

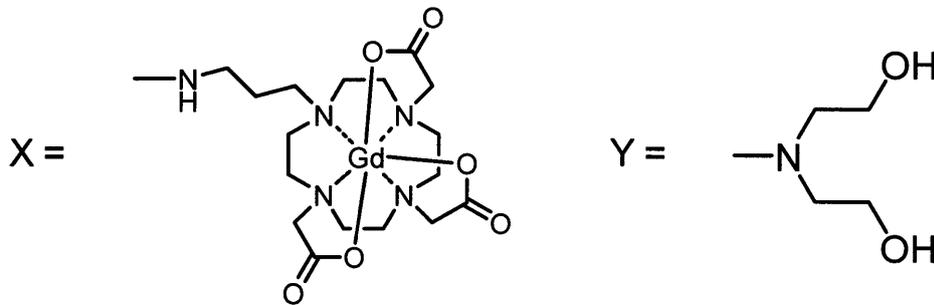
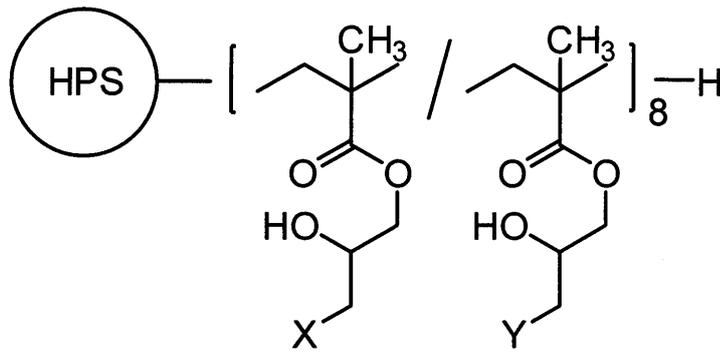
GdDOTAは、公知の方法(例えば、J. Am. Chem. Soc., 131, 8527 (2009)、Inorganic Chemistry, 47, 1370 (2008)、J. Am. Chem. Soc., 127, 12847 (2005)、Bioconjugate Chem., 17, 571 (2006))に従って合成した。

30

【0052】

[実施例12] 常磁性コア-シェル型ハイパーブランチポリマー(HPS200-PGMA8-GdDOTA/DEA)の合成

## 【化 2 9】



10

実施例 1 で得られた HPS 200 - PGMA 8 - H0 . 1 g と、合成例 5 で得られた Gd DOTA 0 . 2 g とを、DMSO 10 mL に溶解させた。この溶液を、この溶液を、70 のオイルバス中で 6 時間攪拌した後、DEA 1 . 0 g を滴下し、さらに 6 時間攪拌した。その後、オイルバスを外し、室温（およそ 25 ）まで冷却した。この反応液をジエチルエーテル 40 mL に添加して、粘着性の固体を析出させた。上澄み液をデカンテーションで取り除いた後、残った粘着性固体を減圧乾燥し、脱イオン水 5 g に溶解させた。この溶液を濾過して不溶物を除去し、得られた水溶液を凍結乾燥して、白色粘着性固体の目的物（HPS 200 - PGMA 8 - Gd DOTA / DEA）0 . 25 g を得た（収率 70 %）。

20

得られた目的物の元素分析から、HPS 200 - PGMA 8 - Gd DOTA / DEA のガドリニウムイオン含有率は 2 質量%であった。また、得られた目的物は、水に対する溶解度が 1 質量%であった。

30

## 【 0 0 5 3】

## [ 実施例 1 3 ] 粒子径測定

実施例 1 2 で得られた HPS 200 - PGMA 8 - Gd DOTA / DEA を脱イオン水に分散させ、0 . 1 mg / mL のサンプル 10 mL を調製した。このサンプル 1 mL を動的光散乱法により粒子径を測定した。得られた結果を図 1 1 に示す。

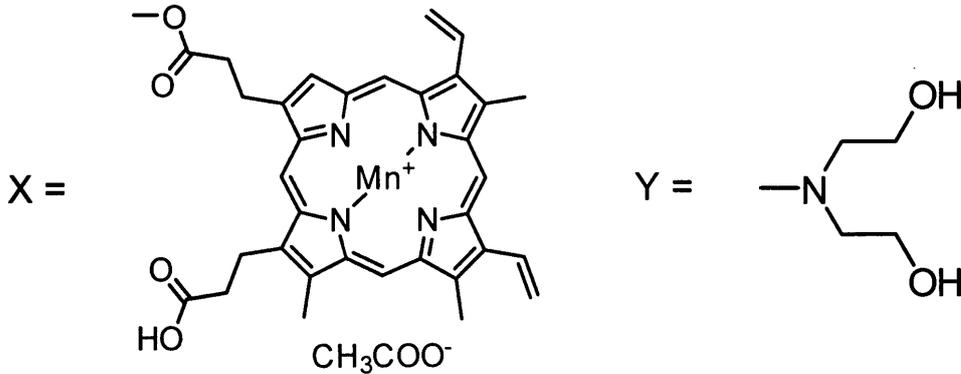
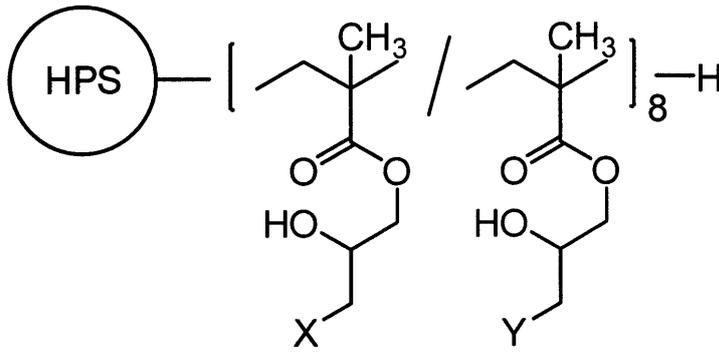
図 1 1 に示すように、HPS 200 - PGMA 8 - Gd DOTA / DEA は、およそ 10 nm サイズを中心とした粒度分布を有する集合体を形成していることが確認された。

## 【 0 0 5 4】

[ 実施例 1 4 ] 常磁性コア - シェル型ハイパーブランチポリマー（HPS 200 - PGMA 8 - Mn PP / DEA）の合成

40

【化 3 0】



※なお基Xに含まれるCOOH基はさらにHPS200-PGMA8-Hのグラフト鎖のグリシジル基と反応して他のグラフト鎖と結合していてもよい

実施例1で得られたHPS200-PGMA8-H0.03gと、MnPP0.12gとを、DMSO5mLに溶解させた。この溶液を、この溶液を、70のオイルバス中で6時間攪拌した後、DEA1.0gを滴下しさらに6時間攪拌した。その後、オイルバスを外し室温(およそ25)まで冷却した。この反応液をジエチルエーテル10mLに添加して、粘着性の固体を析出させた。上澄み液をデカンテーションで取り除いた後、残った粘着性固体を減圧乾燥し、脱イオン水50gに溶解させた。この溶液を濾過して不溶物を除去し、得られた水溶液を凍結乾燥して、緑色粘着性固体の目的物(HPS200-PGMA8-MnPP/DEA)0.1gを得た(収率59%)。なお得られた目的物は、水に対する溶解度が1質量%であった。

【0055】

[実施例15] HPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>/DEAを用いたMRI造影試験

実施例3に記載の方法で合成したHPS200-PGMA8-MnTPPS<sub>4</sub>/DEA5mgを生理食塩水200μLに溶解させ、造影剤溶液を調製した。

下腹部背側に両側性に大腸ガン(Colon-26)細胞を皮下移植した雌ヌードマウス[日本エスエルシー(株)製、BALB/c nude、投与時12週齢]の尾静脈に、造影剤投与用のポリエチレンチューブを留置した。このマウスを、イソフルラン麻酔下、MRI装置の送受信ボリュームコイル(内径35mm×長さ90mm)内に設置し、温風によりマウスの体温を37~37.5に維持した。

このマウスに、上述の造影剤溶液を投与し、投与前、及び投与直後から投与4時間後まで1時間ごとに撮像した。

マウス下腹部の冠状断T1強調画像(投与前、及び投与直後から投与4時間後まで1時間ごと)を図12に、マウス腹腔の水平断T1強調画像(投与前及び投与1時間後)を図13に、マウス腹腔の三次元T1強調画像のボリュームレンダリング法による処理画像を図14に、それぞれ示す。また、図12における各臓器や組織の筋肉に対する信号強度比を表1に示す。なお図12において、点線で囲われた部分が皮下移植した大腸ガン細胞を

示す。

【0056】

【表1】

表1

臓器/組織	投与前	投与直後	投与 1時間後	投与 2時間後	投与 3時間後	投与 4時間後
腫瘍	1.18	1.18	1.36	1.34	1.36	1.35
肝臓	1.13	1.59	1.57	1.45	1.66	1.93
腎臓	1.44	2.77	3.33	2.63	2.60	3.14
腸管	1.26	1.97	2.25	2.09	2.10	2.02

10

【0057】

表1及び図13に示したように、本発明の造影剤を使用した場合、腸管壁（消化管壁）で顕著な信号強度の上昇がみられ、腸管壁（消化管壁）を特異的に造影できることが確認された。さらに、図14に示したように、本発明の造影剤を使用し三次元MRI撮像と組み合わせることで、従来の診断方法にはない全身の消化管壁を特異的に可視化した三次元診断が可能になることが示唆された。

また、表1及び図12に示したように、腫瘍でも信号強度の上昇がみられ、腫瘍を造影できることが確認された。

20

なお、肝臓や腎臓における信号強度の上昇は、造影剤の排出によるものと考えられる。すなわち、該造影剤の排出経路としては、肝臓から胆汁、消化管へ排出される系と、腎臓から尿中に排出される系の両方が関与していることが示唆された。

【0058】

[実施例16] HPS1000 - PGMA15 - MnTPPS<sub>4</sub> / DEAを用いたMRI造影試験

実施例4に記載の方法で合成したHPS1000 - PGMA15 - MnTPPS<sub>4</sub> / DEA 4.5mgを生理食塩水120μLに溶解させ、造影剤溶液を調製した。

以降、実施例15と同様に操作した。

30

マウス下腹部の冠状断T1強調画像（投与前、及び投与直後から投与4時間後まで1時間ごと）を図15に示す。また、図15における腫瘍の筋肉に対する信号強度比を表2に示す。なお図15において、点線で囲われた部分が皮下移植した大腸ガン細胞を示す。

【0059】

【表2】

表2

臓器/組織	投与前	投与直後	投与 1時間後	投与 2時間後	投与 3時間後	投与 4時間後
腫瘍	1.06	1.16	1.26	1.34	1.40	1.48

40

【0060】

表2及び図15に示したように、該造影剤を使用した場合、腫瘍の辺縁部で信号強度の上昇がみられ、腫瘍を造影できることが確認された。

【0061】

[比較例3] HPS200 - PGMA8 - MnTPPS<sub>4</sub>を用いたMRI造影試験

比較例1に記載の方法で合成したHPS200 - PGMA8 - MnTPPS<sub>4</sub> 3mgを生理食塩水100μLに加え、溶解し切らないポリマーをフィルターで取り除き造影剤溶液を調製した。

以降、実施例15と同様に操作した。

50

マウス下腹部の冠状断 T1 強調画像（投与前、及び投与直後から投与 4 時間後まで 1 時間ごと）を図 16 に、マウス腹腔の水平断 T1 強調画像（投与前、投与直後及び投与 1 時間後）を図 17 に、それぞれ示す。また、図 16 における各臓器や組織の筋肉に対する信号強度比を表 3 に示す。なお図 16 において、点線で囲われた部分が皮下移植した大腸ガン細胞を示す。

【0062】

【表 3】

表3

臓器/組織	投与前	投与直後	投与 1 時間後	投与 2 時間後	投与 3 時間後	投与 4 時間後
腫瘍	1.16	1.36	1.33	1.36	1.32	1.40
肝臓	0.89	0.74	0.78	0.84	0.89	0.70
腎臓	1.13	1.95	2.07	2.09	2.04	1.98
腸管	1.60	1.46	1.42	1.52	1.47	1.50

10

【0063】

表 3 及び図 17 に示したように、該造影剤を使用した場合には、腸管壁（消化管壁）で顕著な信号強度の上昇は全く見られず、腸管壁（消化管壁）を造影できないことが確認された。

20

なお、腎臓における信号強度の上昇は、造影剤の排出によるものと考えられる。すなわち、該造影剤の排出経路としては、腎臓から尿中に排出される系が主要であることが示唆された。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0064】

【特許文献 1】米国特許第 4,822,594 号明細書

【特許文献 2】特表 1997-500365 号公報

【特許文献 3】国際公開第 2009/054455 号パンフレット

【特許文献 4】国際公開第 2010/101252 号パンフレット

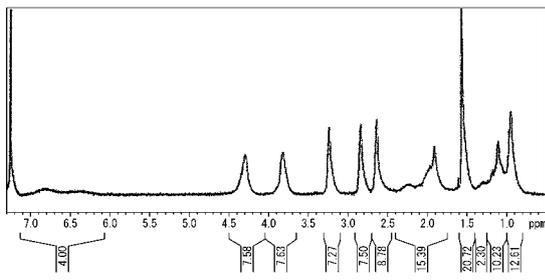
【非特許文献】

【0065】

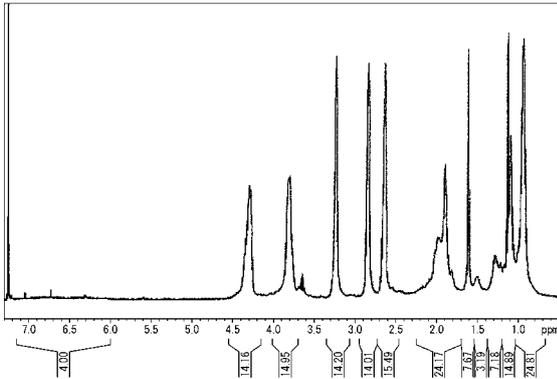
【非特許文献 1】J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(42), 12739-12745

30

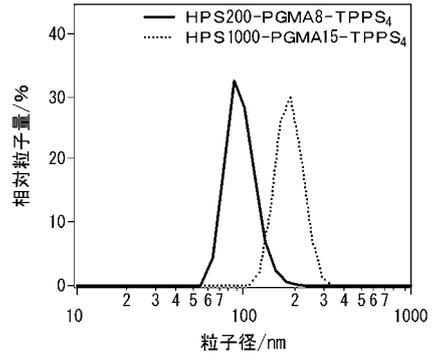
【 図 1 】



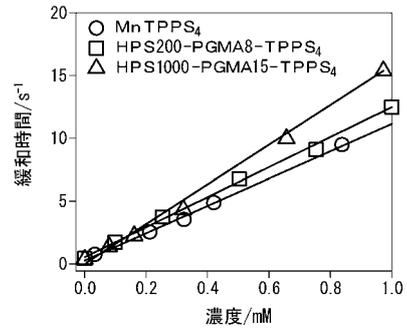
【 図 2 】



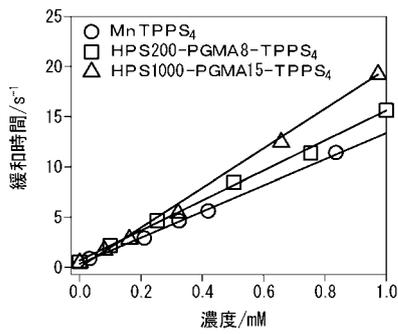
【 図 3 】



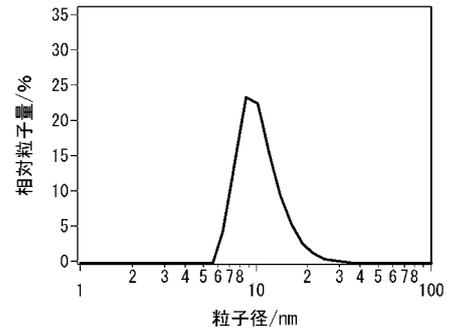
【 図 6 】



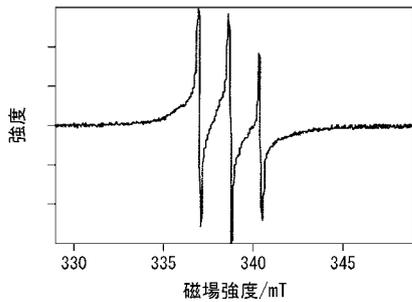
【 図 7 】



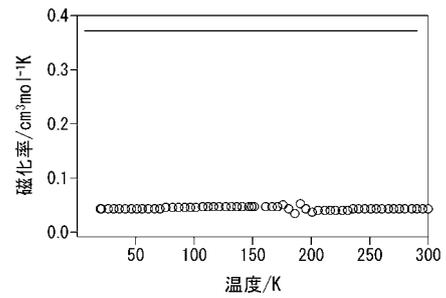
【 図 9 】



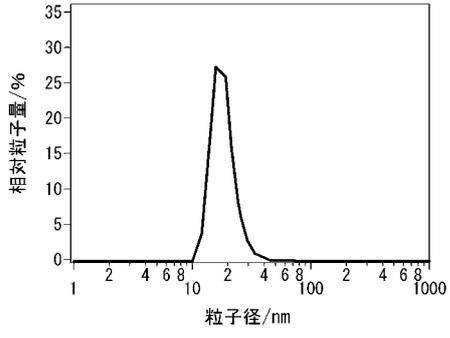
【 図 8 】



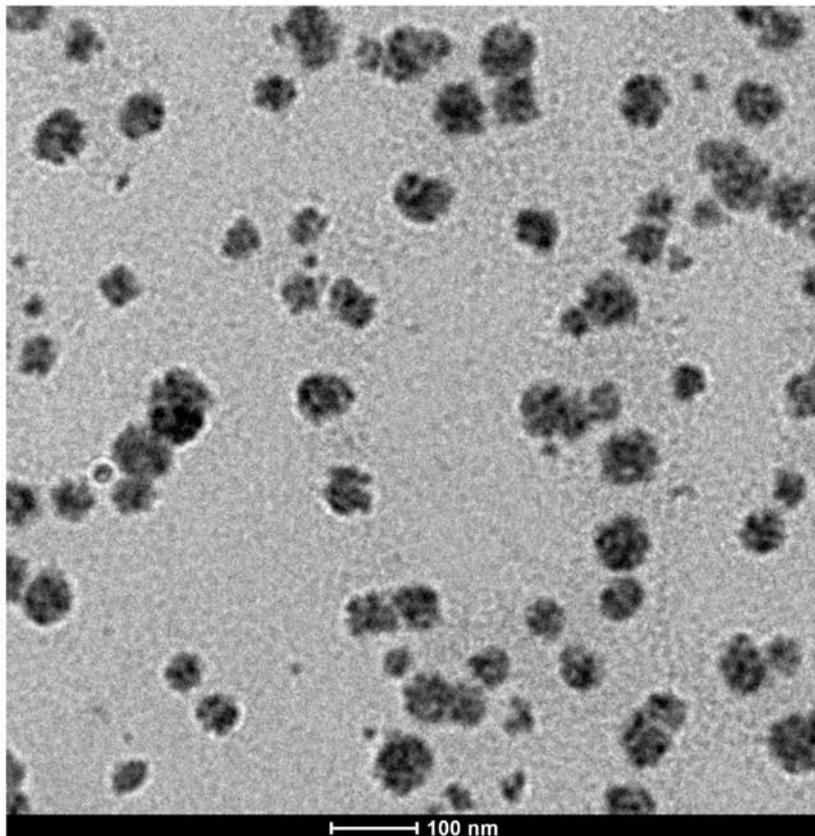
【 図 10 】



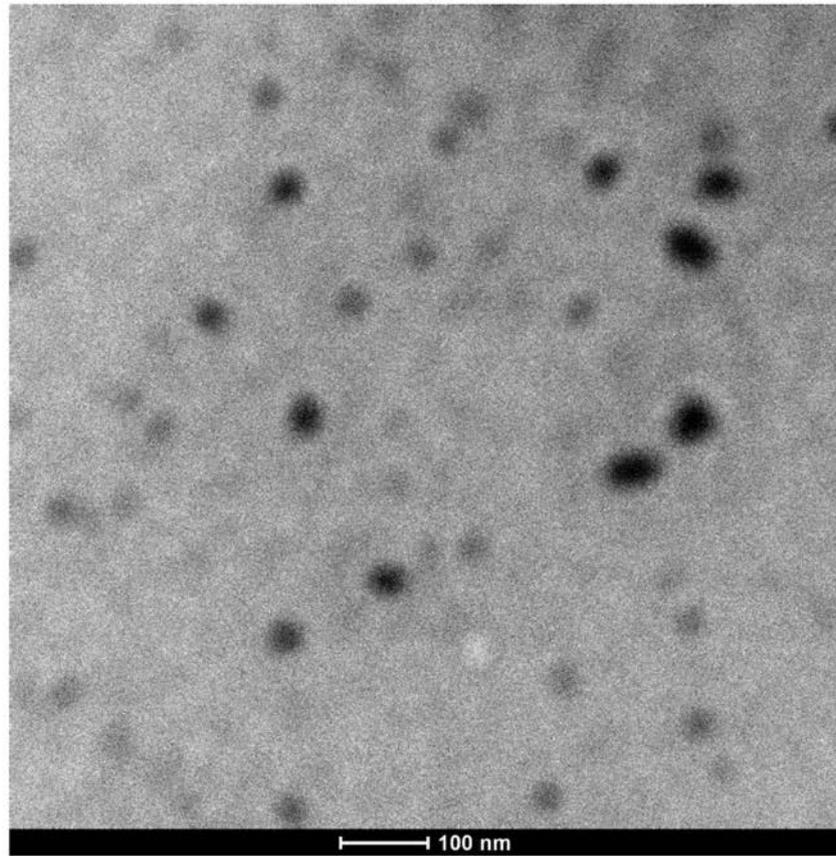
【 图 1 1 】



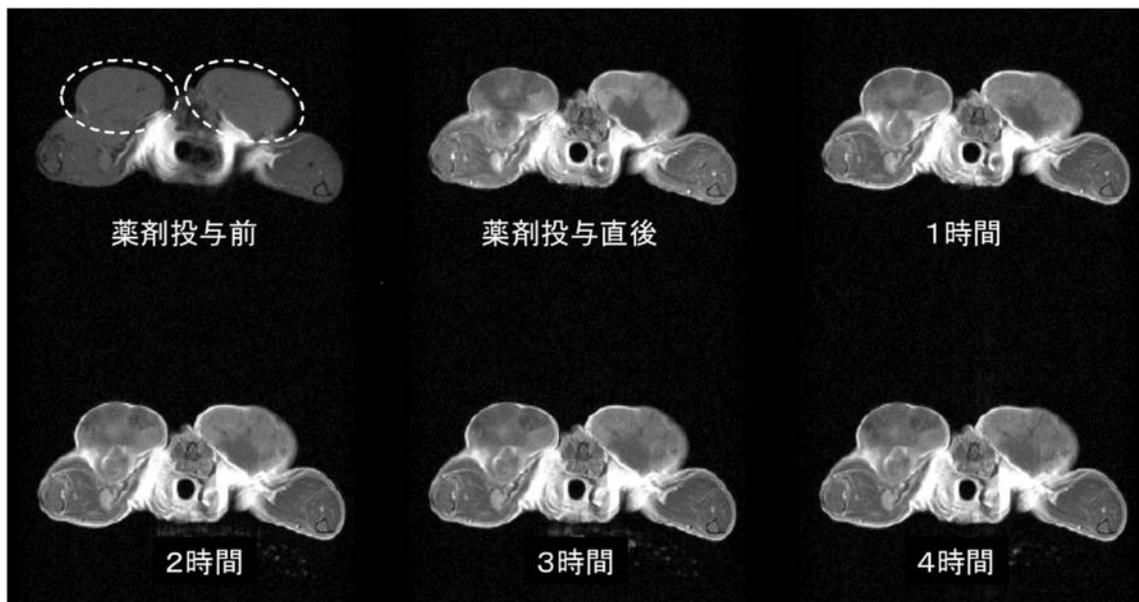
【 图 4 】



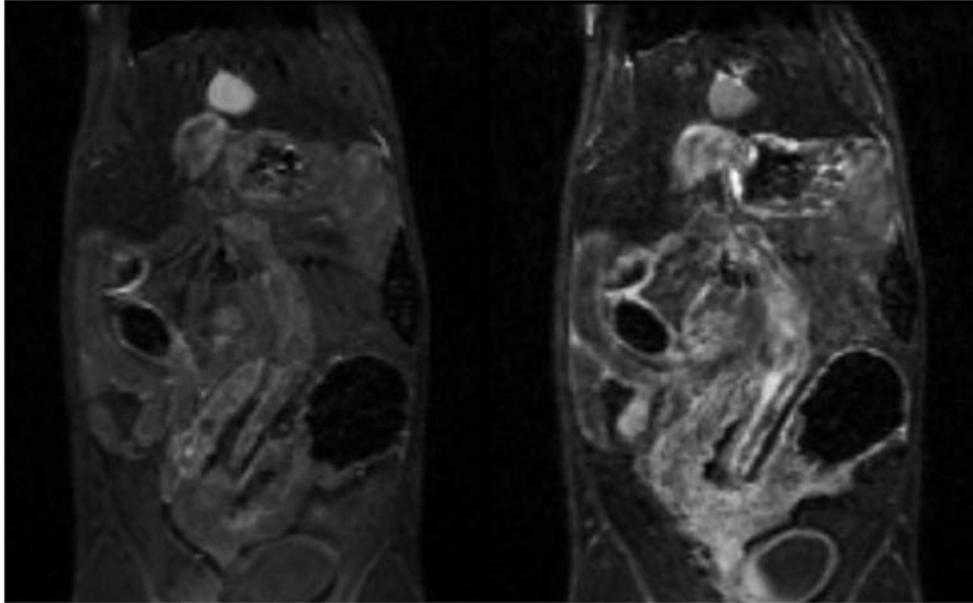
【 図 5 】



【 図 1 2 】



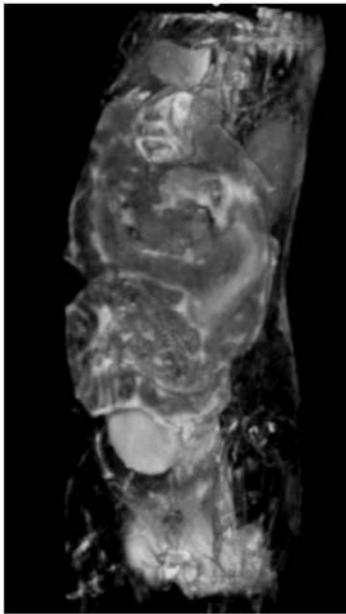
【 図 1 3 】



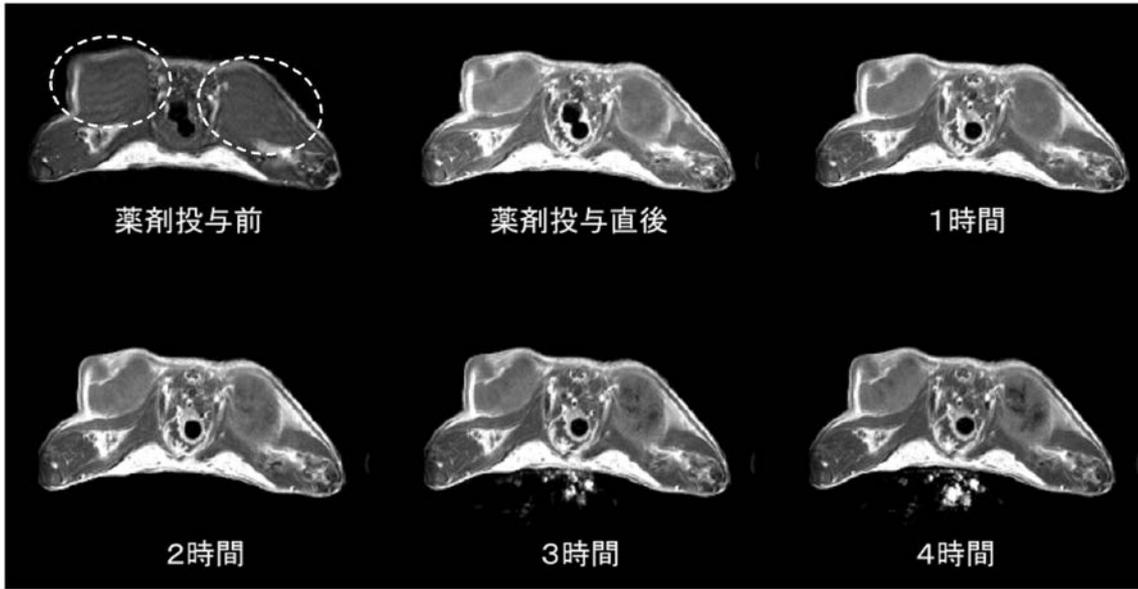
薬剤投与前

投与1時間後

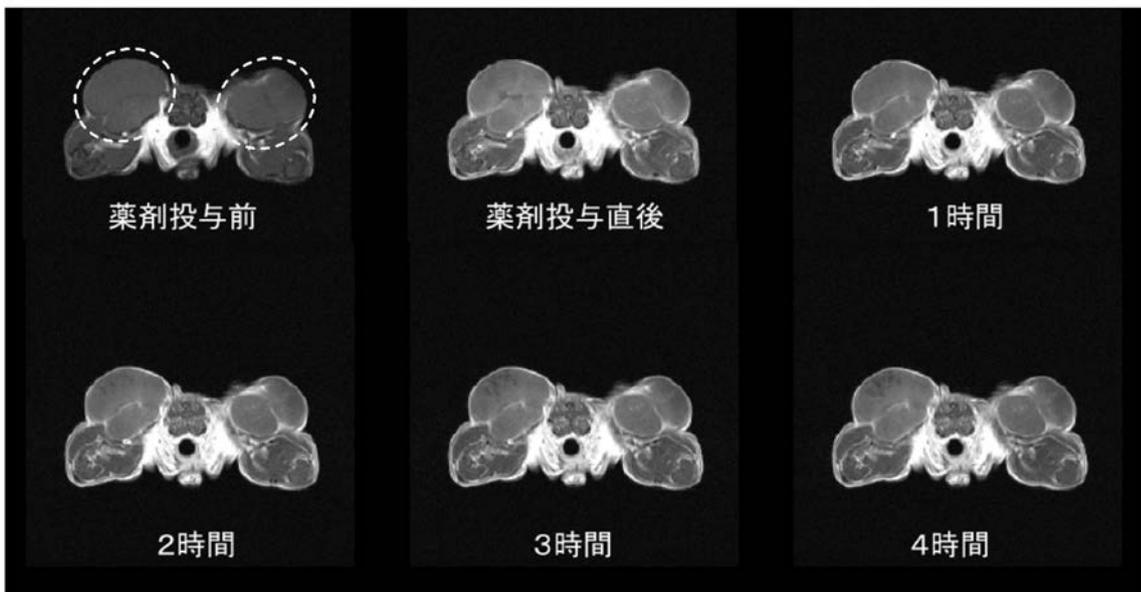
【 図 1 4 】



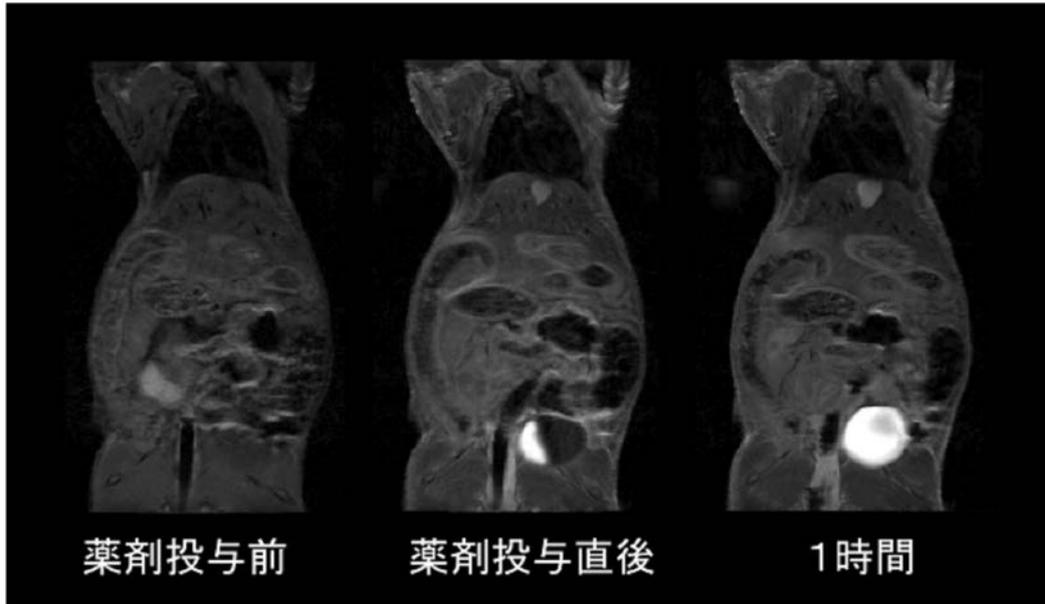
【 図 1 5 】



【 図 1 6 】



【 図 1 7 】



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/JP2011/077432
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> C08F8/00(2006.01)i, A61B5/055(2006.01)i, A61K49/00(2006.01)i  According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C08F8/00, A61B5/055, A61K49/00  Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2012 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2012 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2012  Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2008-539223 A (Koninklijke Philips Electronics N.V.), 13 November 2008 (13.11.2008), claims; examples & US 2008/0193384 A1 & EP 1881852 A & WO 2006/114738 A2 & DE 602006008604 D & CN 101166547 A & AT 439866 T	1-15
A	JP 2009-235372 A (Kyoto University, Canon Inc.), 15 October 2009 (15.10.2009), entire text & WO 2009/110523 A2	1-15
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "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) "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		"T" 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 "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 "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 "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 20 February, 2012 (20.02.12)		Date of mailing of the international search report 28 February, 2012 (28.02.12)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer  Telephone No.
Facsimile No.		

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2011/077432

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2009-221187 A (Kyoto University, Canon Inc.), 01 October 2009 (01.10.2009), entire text & US 2011/0028713 A1 & WO 2009/069833 A1	1-15
A	WO 2009/054455 A1 (Kyushu University, Nissan Chemical Industries, Ltd.), 30 April 2009 (30.04.2009), entire text & US 2010/0249350 A1	1-15
A	JP 2008-156402 A (Konica Minolta Holdings, Inc.), 10 July 2008 (10.07.2008), entire text (Family: none)	1-15

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JP2011/077432									
A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C08F8/00(2006.01)i, A61B5/055(2006.01)i, A61K49/00(2006.01)i											
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)) Int.Cl. C08F8/00, A61B5/055, A61K49/00											
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2012年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2012年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2012年</td> </tr> </table>				日本国実用新案公報	1922-1996年	日本国公開実用新案公報	1971-2012年	日本国実用新案登録公報	1996-2012年	日本国登録実用新案公報	1994-2012年
日本国実用新案公報	1922-1996年										
日本国公開実用新案公報	1971-2012年										
日本国実用新案登録公報	1996-2012年										
日本国登録実用新案公報	1994-2012年										
国際調査で使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)											
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	JP 2008-539223 A (コーニンクレッカ フィリップス エレクトロニクス エヌ ヴィ) 2008.11.13, [特許請求の範囲], [実施例] & US 2008/0193384 A1 & EP 1881852 A & WO 2006/114738 A2 & DE 602006008604 D & CN 101166547 A & AT 439866 T	1-15									
A	JP 2009-235372 A (国立大学法人京都大学、キヤノン株式会社) 2009.10.15, 全文 & WO 2009/110523 A2	1-15									
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> 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		の日の後に公表された文献									
「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの		「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矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの									
「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		「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									
「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)		「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									
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献		「&」同一パテントファミリー文献									
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願											
国際調査を完了した日 20.02.2012		国際調査報告の発送日 28.02.2012									
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 中島 芳人 電話番号 03-3581-1101 内線 3457	4 J 3236								

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP2011/077432

C (続き) . 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	JP 2009-221187 A (国立大学法人京都大学、キャノン株式会社) 2009.10.01, 全文 & US 2011/0028713 A1 & WO 2009/069833 A1	1-15
A	WO 2009/054455 A1 (国立大学法人九州大学、日産化学工業株式会社) 2009.04.30, 全文 & US 2010/0249350 A1	1-15
A	JP 2008-156402 A (コニカミノルタホールディングス株式会社) 2008.07.10, 全文 (ファミリーなし)	1-15

## フロントページの続き

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, T J, TM), EP(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, R O, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, H U, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI , NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN

(74) 代理人 100163360

弁理士 伴 知篤

(72) 発明者 古賀 登

福岡県福岡市東区箱崎六丁目 10 番 1 号 国立大学法人九州大学内

(72) 発明者 唐澤 悟

福岡県福岡市東区箱崎六丁目 10 番 1 号 国立大学法人九州大学内

(72) 発明者 薜 蕾

福岡県福岡市東区箱崎六丁目 10 番 1 号 国立大学法人九州大学内

(72) 発明者 青木 伊知男

千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目 9 番 1 号 独立行政法人放射線医学総合研究所内

(72) 発明者 柴田 さやか

千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目 9 番 1 号 独立行政法人放射線医学総合研究所内

(72) 発明者 佐賀 恒夫

千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目 9 番 1 号 独立行政法人放射線医学総合研究所内

(72) 発明者 平田 修

千葉県船橋市坪井西二丁目 10 番 1 号 日産化学工業株式会社物質科学研究所内

(72) 発明者 田中 章博

千葉県船橋市坪井西二丁目 10 番 1 号 日産化学工業株式会社物質科学研究所内

(72) 発明者 上杉 理

東京都千代田区神田錦町 3 丁目 7 番地 1 日産化学工業株式会社内

F ターム(参考) 4J100 AB07P AL08P AL10Q BA54P BC43P CA27 CA31 DA04 DA55 HA35

HC88 HD00 HE14 HG12 HG28 JA53

(注) この公表は、国際事務局(WIPO)により国際公開された公報を基に作成したものである。なおこの公表に係る日本語特許出願(日本語実用新案登録出願)の国際公開の効果は、特許法第184条の10第1項(実用新案法第48条の13第2項)により生ずるものであり、本掲載とは関係ありません。