

發明專利說明書

PD1072946

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：96134346

※申請日期：96.9.14

※IPC 分類：

一、發明名稱：(中文/英文)

基材及其製法

SUBSTRATE AND MANUFACTURING METHOD THEREOF

二、申請人：(共 1 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

東麗股份有限公司(東レ株式会社)

TORAY INDUSTRIES, INC.

代表人：(中文/英文)

榊原定征 / SAKAKIBARA, SADAYUKI

住居所或營業所地址：(中文/英文)

日本國東京都中央區日本橋室町 2 丁目 1 番 1 號

1-1, Nihonbashi-Muromachi 2-chome, Chuo-ku, Tokyo, Japan

國籍：(中文/英文)

日本/Japan

三、發明人：(共 4 人)

姓名：(中文/英文)

1. 坂口博一 / SAKAGUCHI, HIROKAZU

2. 高橋博 / TAKAHASHI, HIROSHI

3. 上野良之 / UENO, YOSHIYUKI

4. 菅谷博之 / SUGAYA, HIROYUKI

國 籍：(中文/英文)

1.~4.日本/Japan

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項☐第一款或☐第二款規定之事實，其事實發生日期為： 年 月 日。

☒ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號 順序註記】

☒ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

- | | | |
|------|------------|----------------|
| 1.日本 | 2006年9月15日 | 特願 2006-250459 |
| 2.日本 | 2007年2月28日 | 特願 2007-048839 |

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號 順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料 【格式請依：寄存機構、日期、號碼 順序註記】

國外生物材料 【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼 順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

五、中文發明摘要：

本發明係相關於一種含有具血液抗凝固活性的化合物和親水性高分子化合物，且該具有血液抗凝固活性的化合物的洗脫量低於 $0.6 \mu\text{g/ml}$ 之基材，亦相關於一種在使具有血液抗凝固活性的化合物和親水性化合物與基材接觸之狀態下，照射放射線後，洗淨未反應的化合物之基材的製法。

六、英文發明摘要：

The present invention relates to a substrate characterized by containing compound having blood anti-coagulation activity and hydrophilic polymer compound, and elution content of said compound having blood anti-coagulation activity is $0.6 \mu\text{g/ml}$ or less, and the present invention also relates to a manufacturing method of substrate characterized in that after radiating radiation under the state of contacting compound having blood anti-coagulation activity and hydrophilic polymer compound with substrate, washing unreacted compound.

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：無。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

無。

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無。

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明係關於適合用於醫療領域之基材及其表面改質技術。

【先前技術】

血液係具備當與異物接觸時使凝固系活性化而形成血栓之性質。若血栓形成於人造腎臟等血液體外循環的管路或透析器內等時，則循環壓力上昇，不僅終導致無法循環，且部分形成的血栓進入體內造成血管阻塞的危險。因此，血液體外循環係必須在體外循環時，於血液中添加血液抗凝固活性（以下稱為抗凝固能）物質，係一般普遍之方法。抗凝固能物質係一般使用價格低廉的肝素。惟無法使用於由肝素引發的血小板減少症（以下稱為 HIT）之病患和手術後等有出血之病患，取而代之需使用甲磺醯酸萘莫司他（nafamostat mesilate）和甲磺醯酸加貝酯（gabexate）等昂貴的抗凝固劑，造成醫療費用高額化之問題（參考非專利文獻 1、2、3）。

至今，於材料表面賦與抗凝固能而可降低抗凝固劑的用量，或可用於不添加抗凝固劑的條件之抗凝固能材料之研究正進行。亦即，使抗凝固能物質等固定化於材料表面之材料，最致力研究於肝素化材料。使肝素固定化於材料之方法，主要方法為藉由利用導入材料的銨鹽等正電荷和肝素的負電荷之離子鍵者（參考非專利文獻 4）。惟，此時因肝素易於洗脫，故不適用於 HIT 的病患，且抗凝固能降

低。因此，提議數個藉由共價鍵的肝素固定化解決該洗脫問題之方法。第一藉由有機化學而形成共價鍵之肝素固定化方法，惟有化學反應時降低抗凝固能之困擾（參考專利文獻 1）。第二使用離子射線束和雷射光來抑制抗凝固能的降低，以共價鍵使肝素固定化於材料之方法，惟因使用離子射線束和雷射光，於中空絲內表面等射線束的陰部位不易固定化（參考專利文獻 2）。

肝素本身的抗凝固能非常低，與抗凝血酶 III（以下稱為 ATIII）鍵結則具有高抗凝固能。亦即，有對缺乏 ATIII 的血液之抗凝固能不足的問題點（參考非專利文獻 2）。

針對肝素固定化材料的問題點，亦研究使肝素之外的具抗凝固能的化合物固定化之材料（參考專利文獻 3）。惟，不易只於具抗凝固能的化合物抑制血小板附著，發生血小板血栓之問題。且因具抗凝固能化合物由基材洗脫之問題，故無任何提議。

近年，利用放射線使肝素之外的具抗凝固能化合物固定化之研究正進行（參考專利文獻 4）。依據該方法，可抑制因放射線照射而導致抗凝固能的降低，且可相當程度地減少具抗凝固能化合物由基材洗脫之現象，惟只使具抗凝固能化合物固定化之方法，雖然可抑制內因系的血液凝固反應，但是難以控制血小板附著之抑制，無法具有充分的抗凝固能。此處未考量放射線照射時之未反應物，尚無法充分地降低具抗凝固能化合物由基材的洗脫。

【專利文獻 1】

特表 2003-507082 號公報

【專利文獻 2】

特開 2001-213984 號公報

【專利文獻 3】

特表 2004-525888 號公報

【專利文獻 4】

特開 2006-291193 號公報

【非專利文獻 1】

太田和夫,「人造腎臟之實際(改訂第4版)」,南江堂,1993年,pp158-164

【非專利文獻 2】

阿岸鐵三等,「透析入門」,秀潤社,1994年,pp170-182

【非專利文獻 3】

American journal of hematology, 2006 81 (1) , pp.36-44

【非專利文獻 4】

Journal Biomedical Materials Research. 1998 39, pp.86-91

【發明內容】

〔解決發明之課題〕

本發明的目的係考量上述問題,提供一種賦與抗凝固能宜為抗凝血酶活性及血小板附著抑制能的血液適合性優異之基材,和該基材之製法,且可降低具抗凝固能化合物及親水性高分子化合物之洗脫量。

〔解決課題之方法〕

為要達成上述目的,本發明係包括下述幾項。

1. 一種基材，其特徵係含有具血液抗凝固活性的化合物和親水性高分子化合物，且該具有血液抗凝固活性的化合物之洗脫量低於 $0.6 \mu\text{g/ml}$ 。
2. 如第 1 項之基材，其係於基材表面含有 1ng/cm^2 以上的該具血液抗凝固活性之化合物。
3. 如第 1 或第 2 項之基材，其中該具血液抗凝固活性的化合物具有抗凝血酶活性，且凝血酶吸附量為 1.0ng/cm^2 以上。
4. 一種基材之製法，其特徵係在使具有血液抗凝固活性的化合物和親水性化合物與基材接觸之狀態下，照射放射線後，洗淨未反應之化合物。
5. 如第 4 項之基材之製法，其係在使具有血液抗凝固活性的化合物和親水性高分子化合物與基材接觸之狀態下，照射放射線後，以界面活性劑洗淨。

〔發明之效果〕

依據本發明，藉由將具有抗凝固能化合物和親水性高分子化合物導入基材表面，可賦與基材表面非常高的抗凝固能。其結果，即使在使血液和材料接觸之用途，亦可降低體外循環時添加於血液的抗凝固劑之用量，或因亦可不使用該類抗凝固劑，故降低對抗凝固劑的副作用等危險，因此可預期減少醫療費用之負擔額。

依據本發明之製法，於有機溶劑的存在下，使具有抗凝固能的化合物及親水性高分子化合物與基材接觸的狀態下照射放射線，更藉由洗淨未反應物，維持具抗凝固能的

化合物之活性，並於基材表面使進行放射線接枝聚合，亦可降低具有導入於基材表面的抗凝固能的化合物之洗脫危險。

〔實施發明之最佳型態〕

本發明的基材係含有具抗凝固能的化合物和親水性高分子化合物。於基材表面只導入具有抗凝固能的化合物時，可抑制凝固因素引發的血液凝固反應之活性化，惟因無法抑制血小板凝聚，在與血液接觸之用途，無法完全地抑制血栓的形成和血小板附著於基材。另一方面，於基材表面只導入親水性高分子化合物時，可抑制血小板凝聚，惟因無法抑制凝固因素引發的活性化，和上述相同，無法完全地抑制血栓的形成等。亦即，只單一地增加一種化合物的量，無法解決本發明的課題。惟，本發明藉由使具有抗凝固能的化合物及親水性高分子化合物一同含於基材，首先成為可抑制複數的凝固反應，可製得強抗凝固能材料。此外，本發明中，具有抗凝固能的化合物洗脫於血液中後，因具有延長凝固時間的效果和可能引發副作用，亦考量具有抗凝固能的化合物的洗脫，藉由降低洗脫量至低於 $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ ，宜低於 $0.8\text{ }\mu\text{g/ml}$ ，尤宜低於 $0.6\text{ }\mu\text{g/ml}$ ，可降低具抗凝固能化合物引發的副作用或導入基材之量，可達成安全且低成本，並可解決本發明之課題。

本發明中，於基材表面含有具抗凝固能的化合物和親水性高分子化合物之基材，係於基材的表面存在具有抗凝固能的化合物和親水性高分子化合物之基材。對於基材具

抗凝固能的化合物和親水性高分子化合物係可直接鍵結或非如此。惟直接鍵結者因這些化合物不易由基材表面脫離，可持續效果，及可期望降低這些化合物的洗脫現象，故較適當。此時的鍵結例如共價鍵、離子鍵、氫鍵、配位鍵、疏水性相互作用等化學鍵，宜為共價鍵乃因為較強固的鍵結。又，亦可組合複數該類鍵結。使具有抗凝固能的化合物和親水性高分子化合物共價鍵結於基材表面亦即接枝之方法，例如利用親核取代反應等有機化學之方法和藉由照射電離放射線之放射線化學方法等。其中宜為放射線化學方法，係因少產生反應副生成物，且藉著適當地選擇放射線的種類和線量，亦可同時實施基材的滅菌。具有抗凝固能的化合物和親水性高分子化合物係可同時處理或個別處理。親水性高分子化合物亦可於製造基材時與原料捏合，成為基材的一成分，惟依據基材的種類，可能破壞基材的機械或化學物性（例如強度和脆性、表面電荷、表面濕潤性等）。因此，此時亦可藉由使基材表面與含有該親水性高分子化合物的水溶液等接觸等方法，導入基材表面並固定。利用該導入固定方法，因不須選擇基材的種類而加廣適用範圍，不僅可於廣泛的領域活用本發明之效果，因可容易地更改親水性高分子化合物的種類，使成為因應用途而最適用化，由機能性和生產成本之觀點，此乃更適當。

確認洗脫物之方法無特別之限制，舉出以下列重點來測定之方法為例。例如使用 HaemoSys 公司製的 ECA-T 套件為試藥，使用 TECO Medical Instruments Production 公

司製的 COATRONM1 (code 80 800 000) 為裝置。每 1cm^2 的與血液或生物成分、生物組織接觸之面積 (中空絲時作為與血液接觸的系內表面積) (以下稱為面積 A)，以 $160\ \mu\text{l}$ 的人類血漿來清洗 4 小時。採取 $80\ \mu\text{l}$ 的洗淨後的人類血漿，添加 $20\ \mu\text{l}$ 的蒸餾水。以此溶液作為試驗溶液。調製試驗溶液後，隨即將 $100\ \mu\text{l}$ 的 ECA prothrombin buffer、 $30\ \mu\text{l}$ 試驗溶液、 $25\ \mu\text{l}$ 的 ECA-T substrate 混合，保溫於 37°C 的溫度 60 秒鐘後，設置於裝置。並於其中添加 $50\ \mu\text{l}$ 的 ECA ecarin reagent 後實施測定。預先以相同步驟測定由 $20\ \mu\text{l}$ 調製成任一濃度的具有抗凝固能化合物的水溶液或對照的蒸餾水和 $80\ \mu\text{l}$ 人類血漿而成之混合溶液，其結果使用為檢量線，由校正曲線算出的具有抗凝固能化合物之量作為洗脫量。

基材表面的具有抗凝固能的化合物之量，係因應其抗凝固能強度而適度地改變，惟若過少則有抗凝固能效果低之問題，故以面積 A 為基準，宜為 $0.1\text{ng}/\text{cm}^2$ 以上，尤宜 $0.5\text{ng}/\text{cm}^2$ 以上，更宜為 $1\text{ng}/\text{cm}^2$ 以上，最宜為 $50\text{ng}/\text{cm}^2$ 以上。另一方面，具有抗凝固能的化合物之量若過多，則增加成本且發生洗脫現象，故宜為 $100\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以下，尤宜 $10\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以下，更宜為 $1\ \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 以下。基材表面的具有抗凝固能的化合物之量，係依據下述方法而測定。亦即，以相對於基材具有抗凝固能的化合物之添加量為基本，減去後續的工程例如主要的步驟係洗淨步驟，使不固定在基材的未反應物去除的步驟中所去除之量，藉此而求得，惟不受限於此。亦可在其次記載的測定凝血酶的吸附量時，由

預先製作的具有抗凝固能的化合物和凝血酶吸附量之校正曲線而算出。

具有抗凝固能化合物係宜為具有抗凝血酶活性者。本發明中的具有抗凝血酶活性之化合物，係指抑制血液中的凝固相關物質亦即凝血酶的活性之化合物。凝血酶之吸附量係使用酵素免疫測定法（ELISA 法）來測定，惟不受限於此。詳細的實驗方法係如後所述，惟本發明的基材吸附凝血酶之量，以面積 A 為基準，係宜為 0.5 ng/cm^2 以上，尤宜 1.0 ng/cm^2 以上。

親水性高分子化合物之量過少，則抑制血小板的附著效果。本發明的基材之表面親水性高分子量宜為 20 重量% 以上。表面親水性高分子量係定義為以在基材表面的親水性高分子的單體單位之重量（單體單位的莫耳數 $\times$ 單體單位的分子量）為（A），以在基材表面的構成基材的高分子的單體單位之重量（單體單位的莫耳數 $\times$ 單體單位的分子量）為（B）時，以 $A/(A+B)$ 表示之比率。表面親水性高分子量係一表示基材表面的親水性程度之參數。

表面親水高分子量係藉由只於基材表面亦即由表面至深度 10nm 左右，以 X 線光電子分光法（ESCA）（相對於 X 線的入射角的檢測器之角度為 90 度）而測得。亦即由依據 ESCA 的測定而得的基材的處理前後的 C1s、O1s 光譜之面積強度變化而求得。表面親水性高分子量宜為 20 重量% 以上，尤宜 32 重量% 以上。表面親水性高分子量若低於 20 重量%，則抑制蛋白質等有機物或生物成分的附著之效果

降低。

本發明的基材之人類血小板附著數為 10 個 / ($4.3 \times 10^3 \mu m^2$) 以下。血小板附著數係使基材和血液接觸 1 小時時，以附著於基材表面的血小板數，作為基材表面每 $4.3 \times 10^3 \mu m^2$ 的數而求得之值。血小板附著量之測定法，例如將試驗品放入添加肝素的人類血液中，於 $37^\circ C$ 振盪 1 小時後，以生理食鹽水洗淨，於戊二醛水溶液固定血液成分，緩和地清洗及乾燥（實施減壓乾燥，直至乾燥 1 小時前後的重量變化率為 2% 以內為止進行乾燥）後，置於掃描型電子顯微鏡，以 1500 倍率觀察試驗品表面，計算 1 視野中 ($4.3 \times 10^3 \mu m^2$) 的血小板數，以在試驗品中央附近相異的 10 視野的血小板數之平均值作為血小板附著數（個 / $4.3 \times 10^3 \mu m^2$ ）之方法。人類血小板附著量若超過 10 個 / ($4.3 \times 10^3 \mu m^2$)，則血液適合性不足，且抑制蛋白質等有機物或生體成分的附著之效果不佳。

本發明的基材，係宜於實施血液凝固試驗時，使血液凝固時間延長為 10 秒以上。血液凝固時間的測定，係可使用索諾柯羅特（美國賽鹽克公司製血液凝固-血小板機能分析裝置）而實施，惟不受限於此。添加生理食鹽水於其中，使基材的濃度成為 $100 \mu g/ml$ ，添加 $342 \mu l$ 的人類血液和 $14.8 \mu l$ 的葡糖酸鈣注射液（大日本住友製藥製），使用 SonACT 套件，使用索諾柯羅特的裝置內程式亦即 ACT 程式來測定。血液凝固的延長時間宜為 10 秒以上，尤宜 15 秒以上。

使用於本發明的具有抗凝固能的化合物之一例，係以胺基酸為構成要素之化合物。胺基酸係於側鏈具有各種官能基，因其本身具有活性且可與活性基鍵結，故較適用。以胺基酸為構成要素之化合物係指含有構成蛋白質的 α -胺基酸之化合物，例如僅由蛋白質或胜肽等胺基酸構成者、糖蛋白質、胺基酸配位化合物及胺醯基腺苷酸等胺基酸和胺基酸以外的物質構成者。

血液與異物接觸後，使凝固系成分活性化，而形成血栓。人造腎臟等血液體外循環中，若在管路內或透析器內等形成血栓，則血液的循環壓力上昇，不僅將無法循環，且部分形成的血栓進入體內，造成阻塞血管之危險。因此，血液體外循環時，必須於體外循環的血液中添加具有抗凝固能的化合物。惟，將具有抗凝固能的化合物添加在剛手術後的患者或合併消化管出血的患者等的血中後，將伴隨出血。因此，藉由使具有抗凝固能的化合物固定化於使用在體外循環的基材的表面，即使在體外循環的血液上不添加具有抗凝固能的化合物，亦可抑制血液凝固。

具有抗凝固能的化合物係指於血液中添加該化合物使其濃度為 $10\mu\text{g/mL}$ 時，與未添加的血液比較，凝血酶原時間乃延長30%以上之化合物。凝血酶原時間之測定係可依據下述文獻所記載之方法實施。

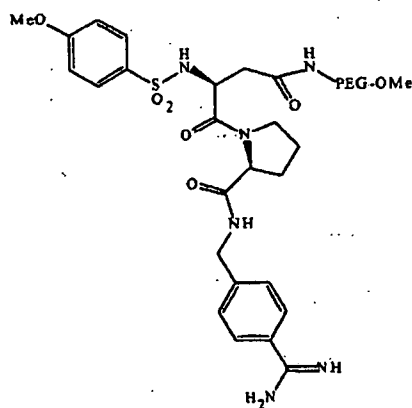
金井正光等，「臨床檢查法提要 改訂第30版」，金原出版，1993年，pp.416-418

亦即具體而言，將1體積的3.2%檸檬酸鈉和9體積的

血液混合，將分取的 0.1mL 檸檬酸血漿取至小試驗管（內徑 8mm, 長度 7.5cm），放入 37℃ 的恆溫水槽加熱約 3 分鐘。之後，添加 0.2mL 的保溫於同溫度的組織促凝血酶原激酶鈣試藥並同時地開始秒計時，又輕輕地振盪小試管後，靜置並使之傾斜，並一邊測定血纖維蛋白析出為止之時間。

使用於本發明的具有抗凝固能化合物，例如肝素、甲磺酸酯、檸檬酸鈉、草酸鈣、 α 1 抗胰蛋白酶、 α 2 巨球蛋白、C1 抑制劑、血栓調節蛋白及蛋白質 C 等。具有抗凝固能的化合物中，有藉由抑制凝血的活性而具有強力的血液抗凝固作用之化合物，亦即具有抗凝血酶活性之化合物。

於超純水具有抗凝血酶活性之化合物，例如下述通式



（式中，PEG係表示為數量平均分子量 2000 的聚乙二醇（以下稱為 PEG）殘基，Me 係甲基。）表示的 4-甲氧基-苯磺醯基-Asn (PEG2000-OMe)-Pro-4-脒基苄基醯胺（以下簡稱為化合物 A）、ATIII 及水蛭素等。

具有抗凝固能的化合物係如上述化合物 A 般含有高分子鏈部位時，可於其高分子鏈部位與基材鍵結，因可抑制

由抗凝固能部位與基材鍵結而引發的活性降低而較適當。本發明中的高分子鏈部位係指具有特定的化學構造的重複單位以共價鍵連結之分子鏈且分子量 1000 以上者。相關的高分子鏈部位，例如 PEG 殘基、聚乙烯吡咯啉酮（以下稱為 PVP）殘基、聚丙二醇（以下稱為 PPG）殘基、聚乙烯醇（以下稱為 PVA）殘基及其任一共聚物之殘基等親水性高分子鏈。具有該類親水性高分子鏈之化合物，係因具抗凝固能化合物的水溶性不易降低，且市面有販售具有胺基或羧基之衍生物，將之導入高分子鏈部位來製造具有抗凝固能的化合物之方法較容易，故特別適用。

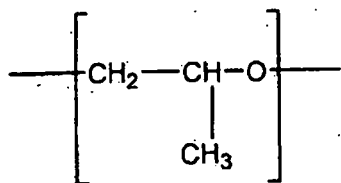
本發明中親水性高分子化合物，係指可溶於水的高分子化合物及即使不溶於水而以靜電相互作用或氫鍵與水分子微弱的相互作用之高分子化合物。高分子化合物係指數量平均分子量為 1000 以上之化合物。親水性高分子化合物之例，例如 PVA、PVP、PEG、PPG、聚醚和聚矽氧烷而成之物質、聚乙烯亞胺、聚烯丙胺、聚乙烯胺、聚醋酸乙烯、聚丙烯酸、聚丙烯醯胺等、或這些高分子的單體和其他單體之共聚物或接枝體等，惟不受限於此。其中，宜為含有至少一個選自聚醚和聚矽氧烷而成之物質、PVA、聚醚、PVP 者，尤宜聚醚和聚矽氧烷而成之物質和 PVA，乃因其親水化的效果高。聚醚和聚矽氧烷而成之物質係指聚醚和聚矽氧烷之共聚物、聚合物配位體、聚合物摻合物等。其中宜為共聚物，乃因其水溶性高可實施藉由水溶液之接枝處理，可降低在放射線照射設施內對溶劑的引火或發火之

危險。聚醚/聚矽氧烷共聚物係由聚醚單位和聚矽氧烷單位而成，其共聚形態可為無規共聚物、嵌段共聚物或接枝共聚物，亦可為其混合物。

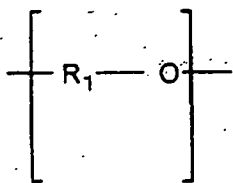
聚醚係適用 PPG 或 PEG，惟因 PPG 較 PEG 疏水性高，與基材間可具有更強疏水性相互作用，例如放射線接枝時，因可有效地使由聚醚和聚矽氧烷而成的物質接枝於基材，故較適用。惟，聚醚中的 PPG 之含率若增加過多，因對於該共聚物的水之溶解性降低，故 PPG 的含率宜為 5mol% 以上，尤宜 10mol% 以上，更宜為 20mol% 以上。另一方面，宜為 90mol% 以下，尤宜 80mol% 以下，更宜為 60mol% 以上。本發明中 PPG 的含率 (mol%) 係依據通式 (1) 而算出。

$$P = 100 \times (a) / (b) \quad \text{式 (1)}$$

上式中，P 係 PPG 的含率 (mol%)，(a) 係聚醚中的 PPG 單位數，(b) 係聚醚中的醚單位數。聚醚中的 PPG 單位係指下述化學式表示的結構。



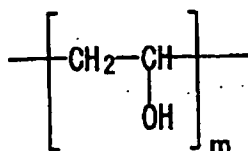
聚醚中的醚單位係指下述化學式表示的結構。



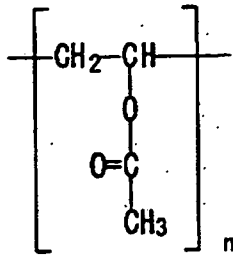
上式的 R_1 係碳數 6 以下的烷基。PPG 含率係可以核磁共振分光法（以下稱為 $^1\text{H-NMR}$ ）等來測定。

聚醚亦可經共聚，聚醚中的 PPG 的其他共聚成分，考量取得容易度等，宜使用 PEG。由 PEG 和 PPG 而成的物質中，在不影響其效果的範圍內，亦可含有其他共聚成分等。

使用為具有抗凝固能化合物的高分子鏈部位之 PVA，又使用為親水性高分子化合物的 PVA，宜為低皂化度的 PVA，係因使基材親水化之效果更佳。皂化度係指在通式（4）所求得之數值。惟皂化度若過低，因對水的溶解性明顯降低，故水溶液不易對基材實施表面處理。因此，皂化度宜為 50mol% 以上，尤宜 74mol% 以上，更宜為 78mol% 以上。相反地，即使皂化度過高，對水的溶解性降低，溶解時必須加熱等，而降低生產性故不適用。因此皂化度宜為 99.9mol% 以下，尤宜 95mol% 以下，更宜為 90mol% 以下。



式（2）



式 (3)

$$(k) = (m) / ((n) + (m)) \times 100 \quad \text{式 (4)}$$

式 (4) 中的記號如下。

(k): 皂化度

(m): PVA 中式 (2) 表示的單體重複單位數

(n): PVA 中式 (3) 表示的單體重複單位數

本發明的基材之製法中，採用使具有抗凝固能的化合物及親水性高分子化合物與基材接觸之狀態下，照射放射線之方法。理想的本發明的基材之製法，係於有機溶劑存在下，使這些化合物與基材接觸之狀態下照射放射線之方法。

使用於本發明的放射線係指高能量的粒子線及電磁波，該類放射線例如 α 線、 β 線、 γ 線、X 線、紫外線、電子線及中子線等。這些放射線中，考量能量特別高又效率佳可改良基材之觀點，尤宜 γ 線和電子線。 γ 線、X 線及電子線，因藉由控制其線量亦可同時實施滅菌，故適用於醫療材料等基材之改良。

對基材照射放射線時，放射線的線量少時，基材中的

吸收線量發生雜亂等，不易於控制線量。因此，放射線的線量宜為 1kGy 以上，尤宜 5kGy 以上。使用於醫療材料等的基材，改良的同時亦實施滅菌時，放射線的線量宜為 10kGy 以上，尤宜 20kGy 以上。惟，照射過剩的線量之放射線將導致基材劣化，故放射線的線量宜為 5000kGy 以下，尤宜 1000kGy 以下，更宜為 100kGy 以下。

具有抗凝固能的化合物係因放射線照射而降低其活性時，可預防因有機溶劑引發的活性降低。亦即，係因在有機溶劑的存在下，將放射線照射在與具有血液抗凝固活性的化合物接觸之基材。

適用於本發明的有機溶劑，例如含有羥基之溶劑。羥基係使由放射線照射而發生的自由基安定化之效果佳，且為非離子性的官能基，與具有強表面電荷的化合物之相互作用小，且氧化還原力亦小，化合物少發生變性。特別是 2 級及 3 級的羥基，係因使自由基安定化之效果佳，本發明中使用至少含有 1 個 2 級或 3 級的羥基之有機溶劑，例如甘油或丙二醇（以下稱為 PG）或異丙醇（以下稱為 IPA）、2-丁醇、2,3-丁二醇及 1,3-丁二醇等。惟，EG 或乙醇般只含有 1 級的羥基之有機溶劑，因使自由基安定化之效果不佳，因乙醇般高引火性的溶劑之含率高則危險，故不含於本發明的有機溶劑。本發明的化合物之滅菌方法使用於醫療材料或內藏這些的醫療用具之製造時，因必須考量其安全性，宜使用低毒性之非水溶劑。

有機溶劑水溶液中水分率之上限為 90vol%，若超過

90vol%，則有機溶劑的自由基安定化之效果不佳。在90vol%以下的範圍內，水分率宜多。另一方面，水分率低時，使用於例如醫療用具等時，除了擔心洗淨後的有機溶劑殘留對生物體適合性產生影響之外，認為例如使用於放射線接枝時將降低接枝效率。因此，水分量宜為總溶劑量的25vol%以上，尤宜50vol%以上。

本發明中，溶解對放射線不安定的化合物，係指該化合物溶解於有機溶劑水溶液而成均勻混合物，亦即溶液。又，分散對放射線不安定的化合物，係指該化合物分散於有機溶劑水溶液中。化合物在有機溶劑中的濃度無特別的限制，依據化合物若濃度過濃，則發生化合物間的交聯反應並凝膠化，因而失去化合物原本的物性，故有機溶劑的水溶液中，化合物之濃度宜為50重量%以下，尤宜30重量%以下，更宜為20重量%以下。

本發明中的水分率係下式所定義者。

$$\left(\text{不安定於放射線的化合物及溶解及/或分散該化合物之有機溶劑水溶液中所含的水的體積} \right) / \left(\text{對放射線不安定的化合物及溶解及/或分散該化合物之有機溶劑水溶液的體積} \right) \times 100 (\%)$$

於有機溶劑的存在下，使具有抗凝固能的化合物接觸於基材之方法，例如使具有血液抗凝固活性的化合物溶解或分散於有機溶劑，將基材浸漬於製得的液體並塗布於基材之方法。在此，溶解具有抗凝固能的化合物，係指該化合物溶解於溶劑而成均勻混合物，亦即溶液。又，分散具

有抗凝固能的化合物，係指該化合物分散於膠質或膠粒狀態等溶劑中。具有抗凝固能的化合物不易溶解於目標有機溶劑時，亦可使溶解於對具有抗凝固能的化合物係高溶解度的溶劑之溶液與基材接觸後，將該溶劑更換為目標有機溶劑。此時溶解具有抗凝固能的化合物之溶劑，亦可為水等無機溶劑。亦即，使基材與將具有抗凝固能的化合物溶解於水之溶液接觸後，將水更換為有機溶劑，再照射放射線於基材。

本發明亦可預先將具有抗凝固能的化合物塗布或吸附於基材，將附著化合物的基材浸漬於有機溶劑。

本發明中，含有具有抗凝固能的化合物和親水性高分子化合物之緩衝液，係即使添加少量的酸或鹼，或濃度發生些微變化，亦不使 pH 發生變化之溶液，例如磷酸緩衝液、三羥甲基胺甲烷（以下稱為 Tris）緩衝液、二（2-羥乙基）亞胺三（羥甲基）甲烷（以下稱為 Bis-Tris）緩衝液、醋酸緩衝液、檸檬酸緩衝液及硼酸緩衝液等。其中，宜為磷酸緩衝液、Tris 緩衝液及 Bis-Tris 緩衝液，係因於中性或酸性範圍具有緩衝作用，且時常添加為具有生理活性的化合物之溶劑。惟，在低於 pH3 般強酸性條件下或 pH10 以上般強鹼性條件下，具有生理活性的化合物中，部分分子結構發生變化，因物理機能、化學機能或生物機能發生變化，或例如創製接枝固定化材料時材料原有的性能降低，緩衝範圍係 pH3 以上，宜為 pH5 以上。且上限係低於 pH10，宜為 pH8 以下。PH 之測定係使用玻璃電極法，惟

不受限於此，亦可為以相同精度來測定者。含有使用於本發明的緩衝液之溶液，係指含有上述緩衝液的水溶液或其他溶劑、溶液之溶液，含有緩衝液之溶液整體，非指超過上述緩衝液的 pH 的範圍而變動者，宜為緩衝液的 pH 不變動者。

本發明中，使具有血液抗凝固活性的化合物和親水性高分子化合物與基材接觸時，亦可併用抗氧化劑。抗氧化劑係捕捉因放射線照射而發生的羥自由基，因具有可抑制具抗凝固能的化合物變性之效果。抗氧化劑係指含有具備易於供應電子給其他分子的性質的分子之化合物，惟，基材或具有血液抗凝固活性的化合物、親水性高分子化合物，係具有抑制因放射線而發生的變性之性質。

抗氧化劑例如維生素 C 等水溶性維生素類、多酚類、亞硫酸氫鈉、焦亞硫酸鈉、連二硫酸鈉等無機鹽類、尿酸、半胱氨酸及谷甘氨酸等，惟不受限於此。這類抗氧化劑可單獨或混合 2 種以上而使用。

本發明的基材使用於醫療用具時，因必須考量其安全性，故使用低毒性的抗氧化劑。抗氧化劑的濃度係依據含有的抗氧化劑之種類或放射線之照射線量等而異，以適當、最合適的濃度而使用即可。

於基材表面賦與具有抗凝固能的化合物和親水性高分子化合物後，因該化合物的洗脫量減少，故可於照射放射線之前或之後、或前後二者，洗淨基材。特別是照射放射線後，因具有抗凝固能的化合物和親水性高分子化合物於

基材表面共價鍵結，即使過多的清洗，過多地去除具有抗凝固能的化合物和親水性高分子化合物之危險性低。更因藉由洗淨可去除未反應物或副生成物，特別可安心地用於醫療用途。於洗淨時可使用水、生理食鹽水、pH 緩衝液或有機溶劑。界面活性劑的溶液之洗淨效果佳。

本發明的界面活性劑係指一般的界面活性劑，對水具有強表面活性，分子內同時具有親水性部位和疏水性（親油性）部位之物質。界面活性劑中的離子系界面活性劑，係於使用具有離子性官能基的基材或親水性高分子化合物時，可能藉由靜電的相互作用，使界面活性劑鍵結，而使表面的物性發生變化。因此，宜使用非離子性的界面活性劑。非離子系界面活性劑中，尤宜聚環氧乙烷烷基苯醚和聚環氧乙烷烷基醚，係因洗淨效果優異。

本發明中，界面活性劑大多為固體或黏性的液體，使用於洗淨時，從使用性的觀點宜為溶液之狀態。溶液之濃度若過低，則不具充分的洗淨效果，相反地若過高，不僅生產成本高，且導致基材變性。因此界面活性劑水溶液之濃度，宜為 0.001 重量% 以上，尤宜 0.005 重量% 以上，更宜為 0.01 重量% 以上。另一方面，上限濃度宜為 20 重量% 以下，尤宜 10 重量% 以下之範圍，更宜為 5 重量% 以下之範圍。

基材的洗淨方法，係使基材與界面活性劑或添加界面活性劑的溶液等洗淨劑接觸，使剩餘的具有抗凝固能的化合物及親水性高分子化合物溶脫之方法。例如，使洗淨液

以規定的流量流通在規定的方向之洗淨方法，係最有效率且可充分洗淨。洗淨方法亦可採用將基材浸漬於界面活性劑之方法。例如血液淨化用組件的充填液，亦可使用界面活性劑或添加界面活性劑的溶液。使界面活性劑或添加界面活性劑的溶液在規定的方向流通於基材時，可循環著基材周圍，惟再使用具有抗凝固能的化合物及親水性高分子化合物等已溶脫之界面活性劑，將降低洗淨效率。以規定的流量流通洗淨液實施洗淨時之流量，若過少則不具充分的洗淨效果。流量若過多則延長洗淨時間而降低生產性。因此，各基材表面積的流量宜為 0.5L/m^2 以上，尤宜 1L/m^2 以上，更宜為 3L/m^2 以上。另一方面，流量的上限宜為 300L/m^2 以下，尤宜 200L/m^2 以下，更宜為 100L/m^2 以下。

以界面活性劑洗淨基材後，更以水或生理食鹽水洗淨，藉此可預防界面活性劑殘留於基材。在此，以水或生理食鹽水洗淨係指個別使用二者而洗淨。

藉由在照射放射線前實施洗淨，可減少未接枝的具血液抗凝固活性的化合物及親水性高分子化合物之量，可減少放射線照射後的洗淨量。

使用於本發明的基材，宜使用高分子材料。構成高分子材料的高分子化合物之例，例如聚甲基丙烯酸甲酯（以下稱為 PMMA）等聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯酸酯、聚丙烯、聚乙烯、聚氯乙烯、聚氯亞乙烯、聚氟亞乙烯、聚醋酸乙烯酯、聚碳酸酯、纖維素、乙酸纖維素、三乙酸纖維素、聚丙烯腈、聚醯胺、聚砜（以下稱為 PSf），聚醚砜、聚苯

乙烯、聚酯及聚胺甲酸酯等，惟不限於此。

本發明的基材適用於醫療用的基材。醫療用基材之例，例如人造血管、導尿管、血袋、隱形眼鏡、人造晶體 (intraocular lens) 及手術用輔助器具等，亦包括內藏於生物成分分離用組件或血液淨化用組件等的分離膜或吸附劑等。本發明中，生物成分分離用組件係指藉由過濾、透析、吸附等分離生物物質，而回收一部分之組件，不受限於醫療用基材。血液淨化用組件係指使血液循環於體外時，具有藉由吸附或過濾、擴散來去除血中的廢棄物或有害物質的機能之組件，具體而言，例如人造腎臟和之前或之後的管柱、外毒素吸附管柱等。

內藏於血液淨化用組件的分離膜之形態，係無特別的限制，可使用平膜或中空絲等形態。通常，中空絲的每處理液量之表面積較大，且壓力損失亦小，故可最有效率地使用本發明之方法。為要加大每處理液量的膜表面積，中空絲內徑宜小，宜為 $1000\ \mu\text{m}$ 以下，尤宜 $500\ \mu\text{m}$ 以下。另一方面，平膜係易於製膜且製作成本低廉係其優點。該類膜的材料例如至少 1 種以上選自纖維素、乙酸纖維素、聚碳酸酯、PSf、聚醚砜、PMMA 等聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯酸酯、聚醯胺、聚氟亞乙烯、聚丙烯腈、聚酯、聚胺甲酸酯、聚苯乙烯、聚乙烯、聚丙烯及其衍生物所成之群組。其中 PMMA 係可與 PEG 等親水性高分子化合物進行氫鍵結，使這些親水性高分子化合物經由放射線等，以共價鍵結固定化於基材表面時，可有效地固定化，係理想的材料。

近年，常用於透析器等的 PSf 係因分離特性良好，亦為理想的材料。

本發明中的生物成分係指來自生物體的細胞、蛋白質、核酸、糖、脂質及其複合體。又，培養於生物體外的細胞或基因重組蛋白質等亦屬於生物成分。本發明的基材係適用於處理生物成分中的血液成分，亦即血球或血小板等細胞或血漿蛋白質等血漿成分的情形。

以下，舉出實施例來說明本發明的基材和其製法，惟本發明不受限於這些實施例。

【實施例】

(豬體外循環試驗)

(1) 預備循環管路

使用人造腎臟用血液管路 (Toray·Medical (股) 販賣「人造腎臟用血液管路 H-102-KTS」)，裝設於壓力測定用管路和血液泵 ((股) Med tech 製「Med tech 流動管路 LF-300」)。

預備 1L 的生理食鹽水 (大塚製藥工廠製)，以 100ml/min 的流量流動於人造腎臟組件血液側，實施 5 分鐘清洗。其次，將來自血液出口側的血液孔 (port) 之管路連接於透析液入口側的透析液孔，連續地以 100ml/min 的流量流動於人造腎臟組件透析液側，實施 10 分鐘清洗。無法充分去除氣泡等時，以蓋子栓入透析液側，以 100ml/min 流動於血液側，使生理食鹽水循環。

(2) 豬的預備及試驗操作

於試驗前測定使用的豬之體重。豬係使用體重 11.5kg

以上、13.5kg 以下的範圍之迷你豬。相對於體重每 1kg，給予 40mg 戊巴比妥鈉麻醉(大日本製藥(股)公司製「Nembutal 注射液」)於腹腔內。確認呈麻醉狀態，以仰躺姿勢固定於手術台上。以理髮推刀剃除頸部(兩腳內側)的毛。以消毒用乙醇、優碘液(明治製菓股份公司製「Isodine」)實施消毒後，切開頸動靜脈(大腿動靜脈)使之露出，分別於動靜脈插入體外循環用導尿管((股)Terumo 公司製「原子靜脈導尿管(8Fr)」)並固定之。導尿管內係以 10ml 的注射器充填肝素生理食鹽水(5IU/ml)並栓住。肝素僅使用於插入導尿管時的導尿管內之充填液。

(3) 開始體外循環

將血液管路的血液入口側(A 側)連接器與動脈的導尿管連接，將已裝設的人造腎臟組件內的血液側之充填液(生理食鹽水)更換成血液。此時血液管路的血液出口側(V 側)係呈開放狀態。更換結束時同時停止泵，將 V 側的連接器與靜脈測的導尿管連接。再度使泵運作(快速地實施泵停止後再啟動。泵停止時間約為 10 秒)，並開始循環。血液循環流量設定於 200ml/min。循環開始 5 分鐘後的採血結束後，使透析液側的泵運作，開始進行透析。以補液用泵實施調節，使體外循環中的血細胞比容值為 $38 \pm 6\%$ 以內。

(4) 測定

血液循環壓的測定，係於血液泵和血液入口側血液孔之間的管路設置壓力計，分別於(3)的循環開始後

1,5,15,30,60,120,180,240 分鐘後，記錄其壓力。

(中空絲組件 (組件 (0)) 之製作)

將 5 重量份的 iso-PMMA 和 20 重量份的 syn-PMMA 添加於 75 重量份的二甲基亞砷，於 110℃ 攪拌 8 小時而製得製膜原液。由銳孔型雙重圓筒型模頭噴出該製膜原液，使通過於 300mm 空氣中後，導入於 100% 水的凝固浴中而製得中空絲。此時，內部注入氣體係使用乾燥氮氣。製得的中空絲的內徑為 0.2mm，膜厚度為 0.03mm。

第 1 圖係表示中空絲組件之概略側面圖。如上述般，使 11000 條預備的 PMMA 中空絲 4 成束，以胺甲酸酯系膠黏劑 5 將兩末端固定於組件盒 3，使中空絲 4 的中空部位不阻塞，作成第 1 圖所示結構之中空絲組件。有效膜面積為 1.3m^2 。與一般的中空絲型透析器相同，具有 2 個連通於中空絲的內側的孔（血液孔 1）和 2 個連通於外側的孔（透析液孔 2）。於蒸餾水中洗淨該中空絲組件的中空絲及組件內部，製得中空絲組件（組件 (0)）。

(調製緩衝液)

pH5 的緩衝液係將 Bis-Tris（同仁化學製）和氯化鈉（Sigma Aldrich 公司製）溶解於超純水，使二者的最終濃度分別為 0.05M、0.1M，邊滴下 6 當量鹽酸（Sigma Aldrich 公司製）邊調製成 pH5。pH 的測定係採用玻璃電極法，使用 HORIBA 製 pH 測量器 Kastani LAB F-22 而測定。其結果 pH 為 5。亦調製醋酸緩衝液作為其他的 pH5 的緩衝液。將醋酸和醋酸鈉溶解於超純水而調製（最終濃度分別為 0.05M、

0.1M)。以和上述相同方法測定 pH 之結果係 5.0。

pH7.8 和 10 的緩衝液係將 Tris(片山化學股份公司製)和氯化鈉 (Sigma Aldrich 公司製) 溶解於超純水，使二者的最終濃度分別為 0.05M、0.1M，邊滴下 6 當量鹽酸 (Sigma Aldrich 公司製) 邊調製成各自的 pH。PH 的測定係使用和 pH5 的緩衝液相同之方法。結果 pH 分別為 7.8、10.0。

(實施例 1)

調製一溶液 A，係於 pH7.8 的 Tris 緩衝液中溶解化合物 A 和聚醚及聚矽氧烷之共聚物 (信越化學工業股份公司製 F-3031 (lot.410104)) 即化合物 B，使其濃度如表 1 所示，使用泵以 160ml/min 的流量，使 0.5L 溶液 A 由組件 (0) 的中空絲 4 內側的一方的血液孔 1 進入，經由中空絲 4 內部而從另一血液孔 1 流出，通過管路 (圖無顯示) 進入血液孔 1' 側的透析液孔 2' 而到另一透析液孔 2 (以下將該順序稱為「順序 1」)，實施 15 分鐘循環。之後，藉由泵以 100mL/min 的流速，使生理食鹽水由中空絲 4 內側的一方的血液孔 1 進入而到透析液孔 2' 並流通 75 分鐘，而得組件 (1)。

藉由組件 (1) 實施豬體外循環實驗。循環壓力的實驗結果如表 2 所示。循環開始後至 240 分鐘為止無明顯的壓力上昇。

(實施例 2)

除了溶解化合物 A、化合物 B、IPA (Aldrich 公司製 code10982-7) 使其濃度如表 1 所示之外，以和實施例 1 相

同條件調製溶液 B，使用泵以 500ml/min 的流速，使 2L 的溶液 B 於組件（0）依據順序 1 循環 15 分鐘。其次，密栓 4 處的孔，於該狀態下照射 γ 線。 γ 線的吸收線量為 26kGy。以下述方式洗淨該組件的內部。亦即，使用泵並依據順序 1，使 5L 的 25℃ 之 0.025 體積% 之聚環氧乙烷辛基苯醚（（以下稱為 TritonX-100）Sigma Aldrich 公司製 Code30-5140-5）水溶液以 500mL/min 的流速流通，實施 4 小時循環洗淨後，再使 5L 的 0.025 體積% 的 TritonX-100 水溶液同樣地實施 4 小時洗淨。之後，使用泵使 50L 的 25℃ 超純水以 500mL/min 的流速，依據順序 1 循環並洗淨。接著，藉由泵以 100mL/min 的流速，使生理食鹽水由中空絲 4 內側的一方的血液孔 1 進入而到透析液孔 2' 並流通 75 分鐘，而得組件（2）。

藉由組件（2）實施豬體外循環實驗。實驗結果如表 2 所示。循環開始後至 240 分鐘為止無明顯的壓力上昇。

（比較例 1）

除了實施例 1 的溶液 A 中的化合物 B 之濃度為 0 重量 ppm 之外，以和實施例 1 相同的方法而得組件（3）。藉由組件（3）實施豬體外循環實驗。實驗結果如表 2 所示。循環開始 60 分鐘後循環壓力上升，240 分鐘後上升至 49.3kPa。

（比較例 2）

藉由組件（0）實施豬體外循環實驗。實驗結果如表 2 所示。循環開始 60 分鐘後循環壓力上升，155 分鐘後上升至 65.1kPa。之後隨即無法循環且泵停止。

【表 1】

	IPA 濃度 (體積%)	化合物 A 濃度 (重量 ppm)	化合物 B 濃度 (重量 ppm)
實施例 1	無	30	30
實施例 2	10	100	100
比較例 1	無	30	0
比較例 2	無	0	0

【表 2】

循環時間 (分鐘)	實施例 1	實施例 2	比較例 1	比較例 2
1	23.5	27.5	30.9	25.9
5	21.6	27.3	28.0	28.0
15	22.4	27.5	26.8	29.5
30	26.3	27.7	27.9	31.6
60	23.6	27.9	28.5	30.4
120	23.7	29.1	38.7	36.7
180	24.8	30.1	46.7	¹⁾ 65.1
240	25.1	30.3	49.3	—

(單位：kPa)

1) 循環時間 155 分鐘之值

(實施例 3)

(1) 製作載體

調製 18 重量份 PSf (Teijin Arnoco 公司製 "Udel" P-3500)、6 重量份 PVP (BASF 公司製 K90)、3 重量份 PVP (BASF 公司製 K30)、72 重量份 N,N-二甲基乙醯胺 (以下稱為 DMAc) 及 1 重量份水之溶液。之後, 將上述溶液塗布於從二側夾著厚度 0.1mm 的間隔板之玻璃板上, 以刮片延展成膜之後, 隨即將玻璃板浸漬於調製成 52 重量份 DMAc、48 重量份水之溶液中, 使膜凝固並藉由玻璃板而層離, 作為載體。一系列的操作均在 50℃ 實施。

(2) 化合物 A、化合物 B 固定化處理方法

調製和實施例 2 相同的溶液 B, 注入 15ml 離心管 (IWAKI 製) 每管 5ml。將 (1) 作成的載體使面與面不重疊而成圓狀地插入離心管。使載體浸漬於溶液 B 之狀態, 將離心管直立並照射 γ 線。此時 γ 線的照射量為 25kGy。以界面活性劑即 0.025 體積% 的 TritonX-100 水溶液洗淨放射線照射後的載體, 以超純水洗淨後, 以生理食鹽水洗淨直至界面活性劑完全無泡沫出現。

(3) 評估方法

於 24 孔 (well) 的多孔板 (Sumitomo Bakelite 製) 之各孔, 添加 1ml 生理食鹽水。將上述 (2) 經處理的載體切成 1cm 正方, 每 1 孔 1 枚共放入 3 枚。其次, 將載體移至空的孔後, 隨即自志願者採取人的全血液, 各添加 1ml 該人的全血液, 並振盪之。經過規定的時間即血中浸漬時間 (因

有個體差別故不統一規定，預備無載體唯有血液的孔，明顯地出現黏性之時間即作為血中浸漬時間）後取出載體，使用新生理食鹽水徐緩地洗淨 2 回。以眼觀察洗淨後的載體，從血塊的黏附程度以 5 階段評估凝固度並算出平均值。平均值係小數點第 1 位四捨五入。凝固度係表示為 1（完全無血塊黏附）～3（載體面積的約一半黏附血塊）～5（整體皆有血塊黏附）。得分 2 係表示血塊的黏附約為載體面積的四分之一，得分 4 係表示載體面積的約四分之三有血塊黏附。若任一得分均無法表示該血塊的黏附狀態時，以最接近其狀態之狀態的得分來判斷各載體的得分。結果其得分為 1。

（比較例 3）

於實施例 3 的（2）中，除了化合物 A 不實施固定化處理之外，於完全與實施例 3 相同的條件下製作載體，和實施例 3 的（3）相同地評估之結果，得分為 4。

（比較例 4）

於實施例 3 的（2）中，除了化合物 B 不實施固定化處理之外，於完全與實施例 3 相同的條件下製作載體，和實施例 3 的（3）相同地評估之結果，得分為 3。

（比較例 5）

於實施例 3 的（2）中，除了化合物 A、化合物 B 二者不實施固定化處理之外，於完全與實施例 3 相同的條件下製作載體，和實施例 3 的（3）相同地評估之結果，得分為 5。

(抗凝血酶活性值的測定)

表示抗凝血酶的活性之指標，係使用放射線照射後的抗凝血酶活性值之殘留率。抗凝血酶活性值之測定係使用 HaemoSys 公司製的 ECA-T 套件作為試藥，使用 TECO Medical Instrumemts Production 公司製的 COATRON M1 (code 80 800 000) 作為裝置。首先，於 $80\mu\text{l}$ 人類血漿 (Cosmo Bio 公司售 Human Plasma 12271210, lot.16878) 中，添加 $20\mu\text{l}$ 的測定對象溶液並攪拌之。以該溶液為試驗品溶液。試驗品溶液係於冰浴中冷卻，直至測定前。將 $100\mu\text{l}$ 的 ECA prothrombin buffer(凝血素緩衝液)、 $30\mu\text{l}$ 試驗品溶液、 $25\mu\text{l}$ 的 ECA-T substrate(基體)混合，保溫於 37°C 的恆溫 60 秒，並設置於裝置。於其中添加 $50\mu\text{l}$ 的 ECA ecarin reagent 進行測定。對使用作為空白的測定對象溶液的超純水所調製之試驗品進行測定。殘留率係依下式 (1) 而求得。

$$A = 100 \times (B - D) / (C - D)$$

上述式 (1) 中記號之定義係如下所示。

- A : 抗凝血酶活性殘留率 (%)
- B : 照射放射線之後的試驗品測定值 (sec.)
- C : 照射放射線之前的試驗品測定值 (sec.)
- D : 空白測定值 (sec.)

(參考例 1 ~ 3)

於超純水中溶解 IPA (Sigma Aldrich 公司製) 使成表 3 所示的濃度，調製 IPA 水溶液。於該水溶液溶解化合物 A 使其濃度為 5000 重量 ppm，調製水溶液並照射 γ 線。 γ 線

的吸收線量為 25kGy。測定放射線照射前後的各水溶液之抗凝血酶活性值，由上式（1）計算抗凝血酶活性值之殘留率，結果如表 3 所示。

（參考例 4）

除了使用甘油（Sigma Aldrich 公司製）取代 IPA，使其濃度如表 3 所示般調製甘油水溶液之外，和參考例 1 相同條件下進行實驗，計算抗凝血酶活性值之殘留率，結果如表 3 所示。

（參考例 5）

除了使用 PG（和光純藥工業股份公司製）取代 IPA，使其濃度如表 3 所示般調製 PG 水溶液之外，和參考例 1 相同條件下進行實驗，計算抗凝血酶活性值之殘留率，結果如表 3 所示。

（比較參考例 1）

除了將使用於實施例 1 的化合物 A 溶解於超純水，調製濃度為 5000 重量 ppm 的化合物 A 水溶液之外，和參考例 1 相同條件下進行實驗，計算抗凝血酶活性值之殘留率，結果如表 3 所示。

（比較參考例 2）

除了使用 EG（Sigma Aldrich 公司製）取代 IPA，使其濃度如表 3 所示般調製 EG 水溶液之外，和參考例 1 相同條件下進行實驗，計算抗凝血酶活性值之殘留率，結果如表 3 所示。

（比較參考例 3）

除了使用 PEG (Nacalai tesque 公司製) 取代 IPA , 使其濃度如表 3 所示般調製 PEG 水溶液之外 , 和參考例 1 相同條件下進行實驗 , 計算抗凝血酶活性值之殘留率 , 結果如表 3 所示。

【表 3】

	有機溶劑	有機溶劑濃度 (體積%)	抗凝血酶活性殘留率 (%)
參考例 1	IPA	75	79.4
參考例 2	IPA	50	61.4
參考例 3	IPA	10	33
參考例 4	甘油	50	53.8
參考例 5	PG	10	64
比較參考例 1	—	0	0
比較參考例 1	EG	50	8.3
比較參考例 1	PG	50	6.9

(實施例 4)

將化合物 A 溶解於超純水 , 調製濃度為 5000 重量 ppm 的化合物 A 水溶液。將該化合物 A 水溶液、超純水、IPA、2 倍濃度的 pH5 的 Bis-Tris 緩衝液混合, 使成表 4 所示的濃度。照射 γ 線於該化合物 A 緩衝液。此時的 γ 線的吸收線量為 25kGy。測定放射線照射前後的各個化合物 A 緩衝液之抗凝血酶活性值, 由上式 (1) 計算抗凝血酶活性值之殘留率。其結果, IPA 分率為 0.1、1、10、50 體積% 時的抗凝血酶活性值之殘留率各如表 4 所示。

(實施例 5)

以和實施例 4 相同的方法調製化合物 A 水溶液。將該化合物 A 水溶液、超純水、IPA、2 倍濃度的 pH5 的醋酸緩衝液混合，使成表 4 所示的濃度。以和實施例 4 相同的方法照射 γ 線於該緩衝液。測定放射線照射前後的化合物 A 緩衝液之抗凝血酶活性值，由上式 (1) 計算抗凝血酶活性值之殘留率。其結果，IPA 分率為 0.1、1、10、50 體積 % 時的抗凝血酶活性值之殘留率各如表 4 所示。

(實施例 6)

以和實施例 4 相同的方法調製化合物 A 水溶液。將該化合物 A 水溶液、超純水、IPA、2 倍濃度的 pH7.8 的 Tris 緩衝液混合，使成表 4 所示的濃度。以和實施例 4 相同的方法照射 γ 線於該緩衝液。測定放射線照射前後的各個化合物 A 緩衝液之抗凝血酶活性值，由上式 (1) 計算抗凝血酶活性值之殘留率。其結果，IPA 分率為 0.1、1、10、50 % 時的抗凝血酶殘留率各如表 4 所示。

(比較例 6)

以和實施例 4 相同的方法調製化合物 A 水溶液。將該化合物 A 水溶液、超純水、IPA、2 倍濃度的 pH10 的 Tris 緩衝液混合，使成表 4 所示的濃度。以和實施例 4 相同的方法照射 γ 線於該緩衝液。測定放射線照射前後的各個化合物 A 緩衝液之抗凝血酶活性值，由上式 (1) 計算抗凝血酶活性值之殘留率。其結果，IPA 分率為 0.1、1、10、50 % 時的抗凝血酶殘留率各如表 4 所示。

【 表 4 】

	pH	緩衝液	IPA 濃度 (體積%)	抗凝血酶活性殘留率 (%)
實施例 4	5	Bis-Tris	0.1	15.3
			1	19.4
			10	37.8
			50	76.8
實施例 5	5	醋酸	0.1	0
			1	2.0
			10	6.5
			50	52.1
實施例 6	7.8	Tris	0.1	12.9
			1	13.6
			10	17.6
			50	66.4
比較例 6	10	Tris	0.1	2.1
			1	2.4
			10	1.5
			50	4.8

[PMMA 中空絲迷你組件之製作方法]

於下述的方法中，以上述組件（0）的製作方法將 50 條預備的 PMMA 中空絲束緊。注意不使中空絲的中空部分阻塞，以環氧系膠黏劑將二末端固定於組件盒，製作如第 2 圖的迷你組件（第 2 圖）（該操作稱為順序 2）。該迷你組件的直徑約為 7mm，長度約為 12cm，和一般的中空絲型透

析器相同，具有 2 個連通於中空絲內側的孔（血液孔）和 2 個連通於外側的孔（透析液孔）。於蒸餾水中洗淨該迷你組件的中空絲及組件內部。

[PSf 中空絲迷你組件之製作方法]

將 18 重量份 PSf（Solvay 公司製 Udel（註冊商標）P-3500）及 9 重量份 PVP（BASF 公司製 K30）添加於 72 重量份 DMAc 及 1 重量份水的混合溶劑中，於 90℃ 加熱 14 小時並溶解，製得製膜原液。由環狀裂縫部位的外徑 0.3mm、內徑 0.2mm 的銳孔型雙重圓筒型模頭之外側管噴出該製膜原液。同樣地由內側管噴出作為芯液由 58 重量份 DMAc 及 42 重量份水而成之溶液。使噴出的製膜原液通過由模頭至凝固浴面在空氣中的 350mm 後，導入於 100% 水的凝固浴中而製得中空絲膜。預備 50 條依此製得的 PSf 中空絲並束緊，依據順序 2 製作迷你組件。該迷你組件的外尺寸及孔係與上述 PMMA 中空絲迷你組件相同。於蒸餾水中洗淨該迷你組件的中空絲膜及組件內部。

[洗脫物之確認方法]

依據下述方法確認血液中的洗脫物。亦即，將具有抗凝血酶活性的化合物 A 溶解於蒸餾水，調製規定濃度的化合物 A 水溶液，使規定的流量流入迷你組件並照射 γ 線。使化合物 A 水溶液流入迷你組件時的具體順序係如後述的各實施例、比較例。第 3 圖所示係化合物 A 水溶液的流動管路之概略系統圖。

第 3 圖中，將內徑 0.8mm、長度 52cm 的矽膠管 7 連接

於迷你組件 6 單側的血液孔，於管路途中設置蠕動泵 8 和壓力計 11 (Keyence 公司製 AP-32A)。另一邊的血液孔則連接內徑 0.8mm、長度 16cm 的矽膠管。兩矽膠管的不與血液孔連接之另一頭則插入 BECTON DICKINSON 公司製 5ml 聚苯乙烯圓形管 9 (Code: 352054)，製作循環管路。

其次，實施各實施例、比較例的洗淨方法後，使用上述管路，以下述方法實施血液循環實驗。亦即，由上述聚苯乙烯圓形管 9 加入 5ml 人類血漿 (第 2 圖中的 10)，將矽膠管插入血液孔，藉由蠕動泵 8 以 0.5ml/min 輸送，丟棄最初 2 分鐘的量之後循環 4 小時。於 ECA-Tkit 中測定循環後的血漿中的洗脫化合物 A 之濃度。

(實施例 7)

藉由蠕動泵以 0.7ml/min 的流速將 5.8ml 含有化合物 A 及化合物 B 的水溶液 (濃度各為 6ppm，唯此時 Tris 緩衝液的 pH 為 8.0) 由 PMMA 中空絲迷你組件的一邊的血液孔導入，流至另一血液孔，丟棄最初 1.4ml 之後循環 15 分鐘。接著，以 0.46ml/min 的流速將生理食鹽水由 PMMA 中空絲迷你組件的一邊的血液孔導入，經過中空絲內，從另一血液孔排出，藉著矽膠管導入該血液孔側的透析液孔，由另一透析液孔以 37 分鐘排出。藉由蠕動泵以 0.7ml/min 的流速將 5.8ml 的 6 重量 ppm 化合物 A 水溶液由 PMMA 中空絲迷你組件的一邊的血液孔導入，經過中空絲分離膜內，從另一血液孔排出，藉著上述矽膠管導入該血液孔側的透析液孔，由另一透析液孔排出。以生理食鹽水洗淨後，使 4

處的孔呈緊閉的狀態下照射 γ 線。此時 γ 線的吸收線量為 25kGy。使用蠕動泵使溫度 25℃ 的 0.025 重量 % 的 TritonX-100 水溶液以流速 10ml/min 流動於該迷你組件的中空絲分離膜及組件內部，清洗 4 小時。使用新調製的 TritonX-100 水溶液，以相同條件再度清洗 4 小時。之後，使用蠕動泵使溫度 25℃ 的蒸餾水及生理食鹽水各 30ml，以流速 10ml/min 流動於該迷你組件的中空絲分離膜及組件內部並洗淨，製得中空絲迷你組件（以下簡稱為迷你組件（1））。蒸餾水洗淨和生理食鹽水洗淨非同時進行。

測定迷你組件（1）的化合物 A 之洗脫量，結果為 0 μ g/ml。

（實施例 8）

藉由蠕動泵以 1ml/min 的流速將 30ml 含有化合物 A 及化合物 B 的水溶液（濃度各為 100ppm）由 PSf 中空絲迷你組件的一邊的血液孔導入，流至另一血液孔，循環 15 分鐘。接著，使 30ml 新調製的含有化合物 A 及化合物 B 之水溶液（濃度各為 100ppm）經過中空絲內，從另一血液孔排出，藉著矽膠管進入血液孔側的透析液孔，流至另一透析液孔，使之循環 15 分鐘。之後，以和實施例 7 相同條件照射 γ 線。其次，以和實施例 7 相同方法、條件，洗淨該迷你組件的中空絲及組件內部，製得迷你組件（2）。

測定迷你組件（2）的化合物 A 之洗脫量，結果為 0 μ g/ml。

（比較例 7）

除了不照射 γ 線之外，以和實施例 7 中照射 γ 線之前相同的方法來製造迷你組件 (3)。

測定迷你組件 (3) 的化合物 A 之洗脫量，結果為 $3.5 \mu\text{g/ml}$ 。

(比較例 8)

藉由蠕動泵以 1ml/min 的流速將 15ml 含有化合物 A 及化合物 B 的水溶液 (濃度各為 100ppm) 由 PSf 中空絲迷你組件的一邊的血液孔導入，以和實施例 8 相同的方法流動並循環。之後，以和實施例 7 相同條件照射 γ 線。使用蠕動泵使溫度 25°C 的蒸餾水以流速 10ml/min 流動，清洗該迷你組件的中空絲及組件內部 2 小時。之後，使用蠕動泵使 300ml 溫度 25°C 的生理食鹽水以流速 10ml/min ，清洗該迷你組件的中空絲及組件內部，製得迷你組件 (4)。

測定迷你組件 (4) 的化合物 A 之洗脫量，結果為 $4.7 \mu\text{g/ml}$ 。

[凝血酶吸附量之測定]

製作迷你組件 (1) 和未處理的 PMMA 中空絲迷你組件，與無第 2 圖的壓力計 11 之管路同樣地設定。以流速 0.5ml/min 輸送生理食鹽水，去除氣泡後，將 5ml 蛋白質水溶液 (使凝血酶 (Haematologic Technologies Inc. 製 HCT-0020 Lot T0326-1MG) 和牛胎兒血清白蛋白 (BSA (SIGMA 製 A-7906 (Lot # 41K1270))) 溶解於生理食鹽水，使各自的最終濃度為 $0.35, 75 \mu\text{g/ml}$ ，調製成總體積為 27ml) 輸送至榮研試管 1 號。將輸送開始後最初 1.8ml 丟棄，並循環 4

小時。回收循環後的血漿作為試驗品，以下述技巧利用 ELISA 法測定凝血酶。

1 次抗體係將抗凝血酶抗體 (Haematologic Technologies Inc. 製 AHT-5020 LotS0429-01MG) 溶解於溶液 (9.6g 的 PBS (－) 日水製藥製 05913 (Lot137311) 混合於 1L 蒸餾水)，調製成 0.1ng/ml 的濃度。於 96 孔 ELISA 用平板 (Sumitomo Bakelite 製 MS-8596F) 的各孔中，添加 100 μ l 該溶液，在室溫下靜置 60 分鐘。於 ELISA 中，以一般方法進行除液，於各孔中添加 400 μ l 遮斷液 (將 0.25g 的 BSA 溶解於 PBS (－)，調製成 0.5 重量% 的濃度)，靜置 20 分鐘。以 PBS (－)-T (將 810ml 的 PBS (－) 和 405 μ l 的 Tween-20 (和光製 162-21112 (LotASP7153) 混合) 清洗 4 次。接著，將調製成校正曲線用濃度的標準凝血酶 (Haematologic Technologies Inc. 製 HCT-0020 LotT0326-1MG) 添加於試驗品或稀釋液 (將 0.125g 的 BSA 溶解於 50ml 的 PBS (－)-T 而調製)，各孔各 100 μ l，徐徐地震盪 60 分鐘。之後，以 PBS- (－) T 清洗 6 次。又 2 次抗體係將稀釋 5000 倍的抗凝血酶 HRP 標示抗體 (Affinity Biologicals Inc. 製 SAHT-HRP LotAB46-67R2) 溶液添加於稀釋液，各孔各 100 μ l，於室溫下徐徐地震盪 30 分鐘後，以 PBS- (－) T 清洗 6 次。之後，於各孔添加 100 μ l 的 TMB one solution (Promega 製 G7431 (Lot18729904))，徐徐震盪 10 分鐘，於各孔添加 1N 鹽酸 (林純藥製 420-00055)，使反應結束。反應結束後，隨即使用微板測試器 (TOSOH 製 MPR-A4iII)，測定波長

450nm 時的吸光度（參考波長為 600nm）。

（實施例 9）

測定迷你組件（1）的凝血酶之吸附量，結果為 $4.0\text{ng}/\text{cm}^2$ 。

（比較例 9）

測定未處理的 PMMA 中空絲迷你組件的凝血酶之吸附量，結果為 $0.5\text{ng}/\text{cm}^2$ 。

【圖式簡單說明】

【第 1 圖】第 1 圖係表示本發明的實施例 1 和 2 及比較例 1 和 2 的中空絲組件之概略側面圖。

【第 2 圖】第 2 圖係表示本發明的實施例 12～14 及比較例 10～12 的中空絲迷你組件之概略側面圖。

【第 3 圖】第 3 圖係表示使用於本發明的實施例 12～14 及比較例 10～12 的循環試驗的管路之概略系統圖。

【元件符號說明】

- | | |
|--------|-----------------|
| 1 及 1' | 血液孔 |
| 2 及 2' | 透析液孔 |
| 3 | 組件盒 |
| 4 | 中空絲 |
| 5 | 膠黏劑 |
| 6 | 迷你組件 |
| 7 | 矽管 |
| 8 | 蠕動泵 |
| 9 | 聚苯乙烯圓形管或榮研管 1 號 |
| 10 | 血漿或蛋白質溶液 |
| 11 | 壓力計 |

公告本

2014 年 6 月 13 日修正

十、申請專利範圍：

修正
103年6月13日補充

P1~3

1. 一種基材，其特徵係含有：包含血液抗凝固活性部位及高分子鏈部位之具血液抗凝固活性的化合物、和含有至少 1 種選自由聚乙烯醇、聚醚、聚乙烯吡咯啉酮、及由聚醚和聚矽氧烷而成的物質所成之群組的親水性高分子化合物，且該具血液抗凝固活性的化合物之洗脫量低於 $0.6 \mu\text{g/ml}$ ，並且該親水性高分子化合物在基材表面之含量係 20 重量% 以上。
2. 如申請專利範圍第 1 項之基材，其係於基材表面含有 1ng/cm^2 以上的該具血液抗凝固活性之化合物。
3. 如申請專利範圍第 1 項之基材，其中該具血液抗凝固活性的化合物具有抗凝血酶活性，且凝固酶吸附量為 1.0ng/cm^2 以上。
4. 如申請專利範圍第 1 項之基材，其係血小板附著數為 10 個 / ($4.3 \times 10^3 \mu\text{m}^2$) 以下，實施血液凝固試驗時，使血液凝固時間延長為 10 秒以上。
5. 如申請專利範圍第 1 項之基材，其中該高分子鏈部位係具有親水性。
6. 如申請專利範圍第 5 項之基材，其中該高分子鏈部位係含有選自聚乙二醇殘基、聚乙烯吡咯啉酮殘基、聚丙二醇殘基、聚乙烯醇殘基及該等任一共聚物之殘基之至少一者。
7. 如申請專利範圍第 6 項之基材，其中該聚乙烯醇係含有皂化度為 50mol% 以上、99.9mol% 以下之物質。

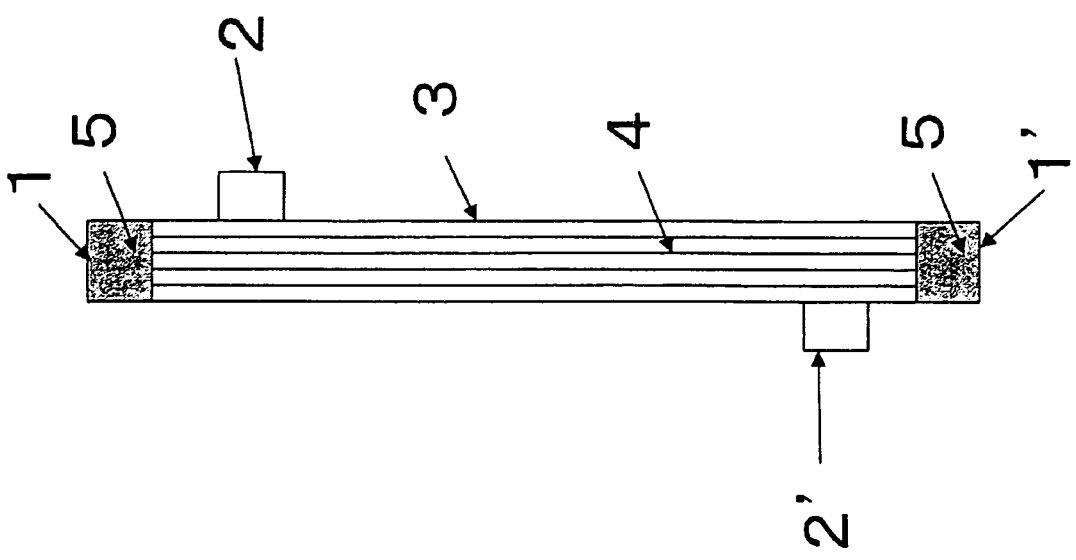
- 8.如申請專利範圍第 5 項之基材，其中該具血液抗凝固活性的化合物係 4-甲氧基-苯磺醯基-Asn (PEG2000-Ome)-Pro-4-脒基苄醯胺。
- 9.如申請專利範圍第 1 項之基材，其中該由聚醚和聚矽氧烷而成之物質係聚醚/聚矽氧烷共聚物。
- 10.如申請專利範圍第 1 或 9 項之基材，其中該聚醚係由聚乙二醇和聚丙二醇而成。
- 11.如申請專利範圍第 9 項之基材，其中該聚醚/聚矽氧烷共聚物中，聚丙二醇之含量係 5mol% 以上、90mol% 以下。
- 12.一種如申請專利範圍第 1 項之基材之製法，其係包含在使具血液抗凝固活性的化合物和親水性高分子化合物與基材接觸之狀態下照射 1~5000kGy 之線量的放射線的步驟、在照射該放射線後洗淨未反應之化合物的步驟，該具血液抗凝固活性的化合物包含血液抗凝固活性部位及高分子鏈部位，該親水性高分子化合物含有至少 1 種選自由聚乙烯醇、聚醚、聚乙烯吡咯啉酮、及由聚醚和聚矽氧烷而成的物質所成之群組。
- 13.如申請專利範圍第 12 項之基材之製法，其在照射該放射線後，進一步包含以界面活性劑洗淨的步驟。
- 14.如申請專利範圍第 12 項之基材之製法，其進一步包含在照射該放射線時，於包含符合下述條件 A 和 B 的有機溶劑水溶液之狀態下，照射放射線的步驟：
A：含水量為 25vol% 以上、90vol% 以下
B：含有至少一個為 2 級或 3 級的羥基。

15. 如申請專利範圍第 12 項之基材之製法，其進一步包含在照射該放射線時，於包含具有 pH3 以上、低於 pH10 的緩衝液的溶液之狀態下，照射放射線的步驟。

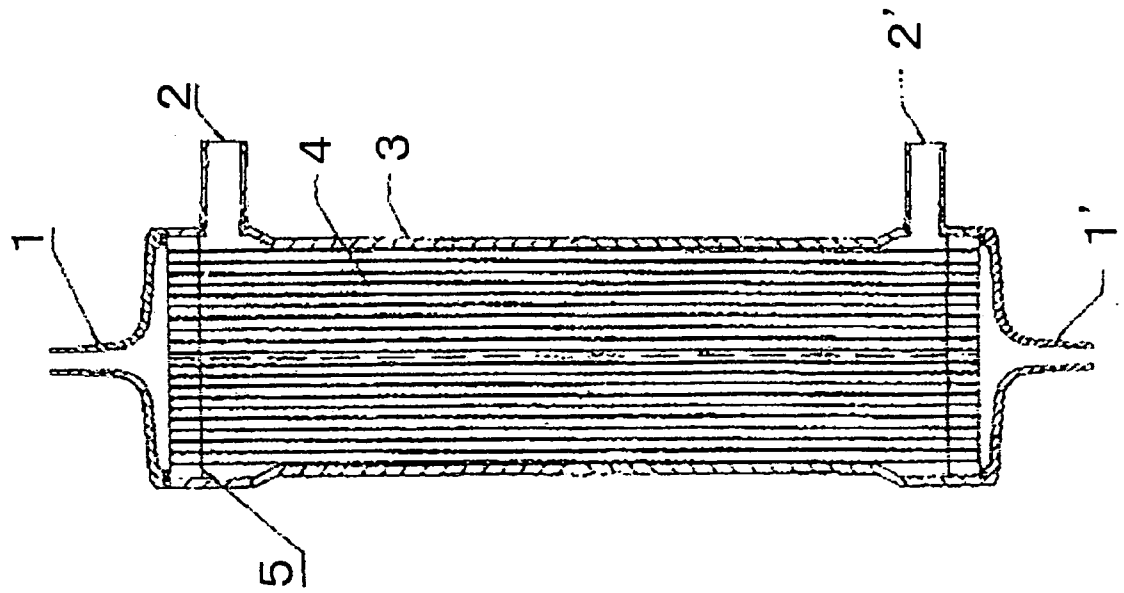
十一、圖式：

公告本

第 2 圖



第 1 圖



公告本

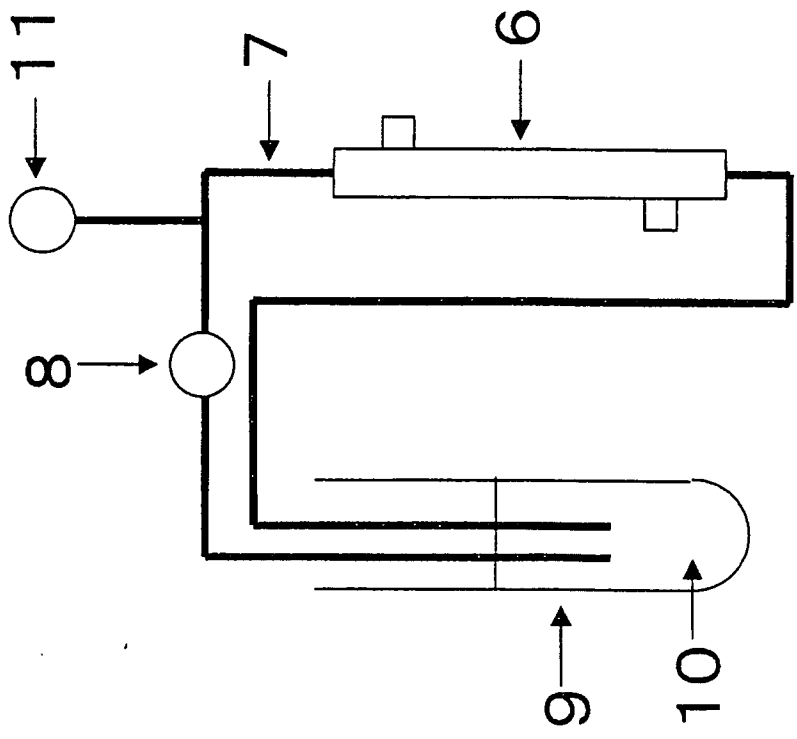


圖 3 第