

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6325446号
(P6325446)

(45) 発行日 平成30年5月16日 (2018. 5. 16)

(24) 登録日 平成30年4月20日 (2018. 4. 20)

(51) Int. Cl.

F I

B O 1 J 20/04 (2006. 01)

B O 1 J 20/04 A

B O 1 J 20/02 (2006. 01)

B O 1 J 20/04 C

C O 1 B 25/32 (2006. 01)

B O 1 J 20/02 A

A 6 1 K 47/04 (2006. 01)

C O 1 B 25/32 R

A 6 1 K 9/51 (2006. 01)

A 6 1 K 47/04

請求項の数 6 (全 9 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2014-536577 (P2014-536577)

(86) (22) 出願日 平成25年9月4日 (2013. 9. 4)

(86) 国際出願番号 PCT/JP2013/005243

(87) 国際公開番号 W02014/045534

(87) 国際公開日 平成26年3月27日 (2014. 3. 27)

審査請求日 平成28年7月5日 (2016. 7. 5)

(31) 優先権主張番号 特願2012-203966 (P2012-203966)

(32) 優先日 平成24年9月18日 (2012. 9. 18)

(33) 優先権主張国 日本国 (JP)

(73) 特許権者 000001133

株式会社小糸製作所

東京都港区高輪4丁目8番3号

(74) 代理人 100105924

弁理士 森下 賢樹

(74) 代理人 100109047

弁理士 村田 雄祐

(74) 代理人 100109081

弁理士 三木 友由

(72) 発明者 榎本 公典

静岡県静岡市清水区北脇500番地 株式

会社小糸製作所静岡工場内

(72) 発明者 大長 久芳

静岡県静岡市清水区北脇500番地 株式

会社小糸製作所静岡工場内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 吸着方法およびドラッグデリバリー用担持体

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

チューブ状のアパタイト結晶を用いて物質を吸着する吸着方法であって、

前記アパタイト結晶として、一般式が $M^2_5(PO_4)_3X$ (M^2 は2価のアルカリ土類金属及びEuからなる群より選ばれる少なくとも1種の元素、XはC1を示す。) で表される単結晶を用いることを特徴とする吸着方法。

【請求項 2】

前記アパタイト結晶として、外形が六角柱であり、六角柱の上面または下面に形成されている穴の開口部の形状が六角形である結晶を用いることを特徴とする請求項1に記載の吸着方法。

【請求項 3】

前記チューブ状のアパタイト結晶の内径が10nmから10μmであることを特徴とする請求項1または2に記載の吸着方法。

【請求項 4】

チューブ状のアパタイト結晶と、前記アパタイト結晶に担持された薬剤と、を有し、

前記アパタイト結晶は、一般式が $M^2_5(PO_4)_3X$ (M^2 は2価のアルカリ土類金属及びEuからなる群より選ばれる少なくとも1種の元素、XはC1を示す。) で表される単結晶であることを特徴とするドラッグデリバリー用担持体。

【請求項 5】

前記薬剤は、前記チューブ状のアパタイト結晶の内部に担持されていることを特徴とす

る請求項 4 に記載のドラッグデリバリー用担持体。

【請求項 6】

前記チューブ状のアパタイト結晶の内径が $10\text{ nm} \sim 50\text{ }\mu\text{m}$ であることを特徴とする請求項 4 または 5 に記載のドラッグデリバリー用担持体。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、機能性材料として広範囲な分野に適用可能な結晶性のアパタイトに関する。

【背景技術】

【0002】

ハイドロキシアパタイトがタンパク質やアミノ酸に対する吸着能を持つことが知られている。そこで、この性質を利用してタンパク質やアミノ酸の分離や精製にアパタイト系吸着剤を利用する技術が考案されている（例えば、特許文献 1 ～ 3 参照。）。 10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献 1】特開平 9 - 169794 号公報

【特許文献 2】特開 2005 - 313150 号公報

【特許文献 3】特開 2006 - 239660 号公報

【発明の概要】 20

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

しかしながら、従来のアパタイト結晶は、針状や板状、棒状などの形態であり、吸着能の観点からは更なる改善の余地がある。

【0005】

本発明はこうした状況に鑑みてなされたものであり、その目的とするところは、吸着能を高めた新たな吸着方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0006】

上記課題を解決するために、本発明のある態様の吸着方法は、チューブ状のアパタイト結晶を用いて物質を吸着する。 30

【0007】

この態様によると、アパタイト結晶がチューブ状のため、従来の針状や板状のアパタイト結晶と比較して、比表面積が大きくなり、物質の吸着能が高まる。そのため、このようなチューブ状のアパタイト結晶を用いることで、より多くの物質を吸着することができる。

【0008】

アパタイト結晶として、一般式が $M^{2+}_5(PO_4)_3X$ (M^{2+} は 2 価のアルカリ土類金属及び Eu からなる群より選ばれる少なくとも 1 種の元素、X はハロゲン元素及び OH からなる群より選ばれる少なくとも 1 種の元素または分子を示す。) で表される単結晶を用いてもよい。 40

【0009】

物質としてタンパク質またはアミノ酸を吸着する場合に、一般式が $M^{2+}_5(PO_4)_3OH$ (M^{2+} は 2 価のアルカリ土類金属及び Eu からなる群より選ばれる少なくとも 1 種の元素を示す。) で表される単結晶を用いてもよい。これにより、生体高分子、例えば、タンパク質やアミノ酸等をより効率よく吸着できる。

【0010】

アパタイト結晶として、外形が六角柱であり、六角柱の上面または下面に形成されている穴の開口部の形状が六角形である結晶を用いてもよい。これにより、比表面積が大きな単結晶として比較的製造が容易な六角形のチューブ状の単結晶を用いることができる。 50

【0011】

チューブ状のアパタイト結晶の内径が10nmから10μmであってもよい。これにより、アパタイト結晶の穴の中にタンパク質やアミノ酸を適切に吸着することができる。

【0012】

本発明の別の態様は、吸着分離方法である。この方法は、チューブ状のアパタイト結晶を用いてタンパク質またはアミノ酸を吸着する工程と、タンパク質またはアミノ酸が吸着したアパタイト結晶を塩化物水溶液に接触させ、吸着していたタンパク質またはアミノ酸を選択的に分離する工程と、を含む。

【0013】

この態様によると、タンパク質やアミノ酸を含む混合物からタンパク質やアミノ酸を選択的に分離できる。

10

【0014】

なお、以上の構成要素の任意の組合せ、本発明の表現を方法、装置、システム、などの間で変換したものもまた、本発明の態様として有効である。

【発明の効果】

【0015】

本発明によれば、より多くの物質を吸着できる。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】本実施の形態に係るチューブ状のアパタイト単結晶の構造を示す模式図である。

20

【図2】実施例及び比較例に係るドラッグデリバリー用担持体を用いた薬剤徐放試験の結果を示すグラフである。

【発明を実施するための形態】

【0017】

以下、本発明を実施するための形態について詳細に説明する。

【0018】

〔アパタイト結晶〕

本実施の形態の吸着方法に好適なアパタイト結晶は、その形態がチューブ状のアパタイト単結晶である。このアパタイト結晶は、一般式が $M^{2+}_5(PO_4)_3X$ (M^{2+} は2価のアルカリ土類金属及びEuからなる群より選ばれる少なくとも1種の元素、Xはハロゲン元素及びOHからなる群より選ばれる少なくとも1種の元素または分子を示す。)で表される。アルカリ土類金属は、例えば、Ca、Sr、Ba、Ra、Mg、Beである。また、ハロゲン元素は、例えば、F、Cl、Br、Iである。

30

【0019】

〔チューブ状のアパタイト単結晶の製造方法〕

以下に、アパタイトのチューブ状の単結晶の製造方法について各実施例を参照して説明する。

【0020】

(実施例1)

はじめに、 $CaHPO_4$ 、 $CaCO_3$ 、 $CaCl_2$ を、Ca:P:Clのモル比が5:3:1となるように計量し、均一混合する。その後、塩素アパタイト濃度が0.15mol%となるようにNaClを追加し、混合物を白金のつぼ中で800~1100℃まで昇温速度100~500℃/hで昇温させ、合成温度800~1100℃で48時間合成した後、降温速度5~300℃/hで800~1100℃から500℃まで降温させ、その後は自然冷却で常温まで冷却する。焼成後、温純水(約80℃)で丹念に洗浄し、塩素アパタイト単結晶を取り出す。

40

【0021】

そして、塩素アパタイト単結晶(20mg)を炉内で900~1300℃に加熱し、炉内に水蒸気を通じて2週間程度かけて反応させ、ハイドロキシアパタイト(水酸アパタイト)単結晶に変換する。

50

【 0 0 2 2 】

(実施例 2)

塩素アパタイト単結晶を得るところまでは、実施例 1 と同様の方法で作成する。次に、塩素アパタイト単結晶 (2 0 m g) を 6 . 2 5 (m o l / L) の水酸化カリウム (K O H) 水溶液 (4 0 μ l) とともに、白金カプセル (2 . 6 m m φ、長さ 3 . 3 m m) 中に入れ溶封する。水熱処理は、テストチューブ型オートクレーブで圧力媒体として水を用い、1 0 0 M P a の条件下で行う。昇温速度は毎分 2 0 とし、処理温度は 4 0 0 で行い、処理時間は 4 8 時間一定とする。これによりハイドロキシアパタイト単結晶を得る。

【 0 0 2 3 】

[アパタイトの結晶構造]

アパタイトは六方晶系に属するイオン結晶であり、単結晶は六角柱状となることが多い。図 1 は、本実施の形態に係るチューブ状のアパタイト単結晶の構造を示す模式図である。図 1 に示すように、本実施の形態に係るアパタイト単結晶は、チューブ状であり、外形が六角柱である。また、六角柱の上面または下面に形成されている穴の開口部の形状が六角形である。そのため、チューブの外壁の厚みがほぼ一様になっている。また、六角柱に形成されている穴は貫通しているとよい。

【 0 0 2 4 】

このようなチューブ状のアパタイト結晶は、従来の針状のアパタイト結晶と比較すると、比表面積が (c m ² / g) 1 . 5 ~ 4 倍程度と大きい。このように、比表面積が大きな単結晶として比較的製造が容易な六角形のチューブ状の単結晶を用いるとよい。これにより、後述する吸着方法の際に、吸着対象である物質を含む流体を効率よく結晶表面に触れさせることができる。

【 0 0 2 5 】

このようなチューブ状単結晶を吸着剤として用いる場合、その用途に応じて様々な大きさや形態のものを適宜使用しうる。例えば、チューブ状単結晶の開口部の穴の内径 R 1 は、1 0 n m ~ 6 0 μ m 程度である。また、チューブ状単結晶の直径 (外径 R 2) は、2 0 n m ~ 1 0 0 μ m 程度である。また、チューブ状単結晶は、長手方向の長さ L が 5 0 n m ~ 4 m m 程度である。

【 0 0 2 6 】

[物質の吸着方法]

次に、前述のチューブ状のアパタイト結晶を用いて物質を吸着する方法について詳述する。

【 0 0 2 7 】

本実施の形態に係る吸着方法では、前述のチューブ状のアパタイト結晶をカラムに充填し、そこに吸着対象の物質を含む流体 (液体) を通過させることで、対象となる物質を吸着する。

【 0 0 2 8 】

このように吸着剤をカラムに充填して用いる場合、比表面積を大きくするために粒子径が小さいものを選択すると、目詰まりが起きやすく通液性を確保できないことがある。一方、通液性を確保するために粒子径の大きい吸着剤を用いると、比表面積が小さくなり、全体の吸着能が低下する。

【 0 0 2 9 】

これに対して、本実施の形態に係る吸着方法は、チューブ状のアパタイト結晶を吸着剤として用いている。そのため、この吸着剤のカラムへの充填率を高めても、中空部分 (貫通孔) を液体が通ること、高い通液性を確保できる。また、アパタイト結晶がチューブ状のため、従来の針状や板状のアパタイト結晶と比較して、比表面積が大きくなり、物質の吸着能が高まる。そのため、このようなチューブ状のアパタイト結晶を用いることで、通液性を低下させずに比表面積を大きくでき、より多くの物質を吸着することができる。

【 0 0 3 0 】

[タンパク質等の吸着方法]

次に、アパタイトの一つであるハイドロキシアパタイトを用いてタンパク質やアミノ酸等を吸着する場合について説明する。

【0031】

吸着物質としてタンパク質またはアミノ酸を吸着する場合、アパタイトの中で一般式が $M^2_5(PO_4)_3OH$ (M^2 は2価のアルカリ土類金属及びEuからなる群より選ばれる少なくとも1種の元素を示す。) で表される単結晶を用いるとよい。これにより、生体高分子、例えば、タンパク質やアミノ酸等をより効率よく吸着できる。

【0032】

これは以下の理由による。ハイドロキシアパタイトは、前述のように結晶構造が六方晶系であり、その単結晶は六角柱状である。六角柱状の単結晶は、図1に示すように、側面10に相当する6つのa面と、上面12、下面14に相当するc面とを有する。a面には、正の電荷を帯びたカルシウムイオンにより構成される吸着サイトが多く存在し、c面には、負の電荷を帯びたリン酸イオンにより構成される吸着サイトが多く存在する。そのため、カルボキシル基やリン酸基などを多く有している酸性のタンパク質やアミノ酸等はa面に吸着されやすい。

【0033】

本実施の形態に係るチューブ状のハイドロキシアパタイト結晶は、六角柱状の6つの側面10以外に、貫通孔の内壁として6つの内側面16を有しており、この内側面16もa面に相当する。そのため、チューブ状のアパタイト結晶は、従来の針状や板状のアパタイト結晶と比較して、比表面積が大きいだけでなく、a面が占める割合も大きい。したがって、本実施の形態に係るチューブ状のハイドロキシアパタイト結晶を用いる吸着方法は、タンパク質やアミノ酸等に対する吸着能を更に高められる。

【0034】

なお、一般的なタンパク質(例えば、アミノ酸574個からなるヘモグロビン)は直径が5nm程度であることから、タンパク質を吸着する吸着剤としては、内径が10nm~10μm程度のチューブ状のハイドロキシアパタイト結晶が好ましい。一方、一般的なアミノ酸分子の平均直径は0.5nm程度であることから、アミノ酸を吸着する吸着剤としては、タンパク質を吸着する吸着剤よりも内径が小さく、10nm~1μm程度のチューブ状のハイドロキシアパタイト結晶が好ましい。これにより、アパタイト結晶の穴の中にタンパク質やアミノ酸を適切に吸着することができる。

【0035】

[重金属等の吸着方法]

ハイドロキシアパタイトは、重金属(鉛、カドミウム、水銀等)やフッ素、アルデヒド類の吸着能力を持つ。また、重金属の吸着能はアパタイトのイオン交換能に由来し、Ca²⁺イオンの多いa面が優位になる。ハイドロキシアパタイトは、鉛、水銀などの重金属と、構造中のカルシウムイオンとの置換により重金属等を吸着する。そのため、チューブの内壁面にCa²⁺イオンの多いa面を有する前述のチューブ状のハイドロキシアパタイト結晶は、従来の針状のアパタイト結晶を用いた吸着剤よりも重金属等の吸着に対して有利になる。また、本実施の形態に係るチューブ状のハイドロキシアパタイト結晶は、熱的に安定であり、アルデヒド類を吸着させても、60~80℃の加熱において吸着成分が離脱しない。

【0036】

[脂質等の吸着方法]

ハイドロキシアパタイトは、脂質や過酸化脂質、糖に対しても高い吸着能を持つ。これは、脂質や糖は負に帯電していることから、正に帯電しているa面に優先して吸着するためと考えられる。そのため、チューブの内壁面にCa²⁺イオンの多いa面を有する前述のチューブ状のハイドロキシアパタイト結晶は、従来の針状のアパタイト結晶を用いた吸着剤よりも脂質や等の吸着に対して有利になる。

【0037】

[吸着分離方法]

本実施の形態に係る別の態様は、吸着分離方法である。この方法は、前述のチューブ状のアパタイト結晶を用いてタンパク質またはアミノ酸を吸着する工程と、タンパク質またはアミノ酸が吸着したアパタイト結晶を塩化物（例えばNaCl）水溶液に接触させ、吸着していたタンパク質またはアミノ酸を選択的に分離する工程と、を含む。これにより、タンパク質やアミノ酸を含む混合物からタンパク質やアミノ酸を選択的に分離できる。

【0038】

〔ドラッグデリバリーシステム〕

本実施の形態に係る更に別の態様は、ドラッグデリバリーシステムとして利用できる薬剤担持体である。この薬剤担持体は、上述のチューブ状のアパタイト結晶の吸着作用を利用し、アパタイト結晶に薬剤を担持させることで実現される。ドラッグデリバリーシステムに利用する薬剤担持体として求められる性能として、主として（１）多量の薬剤を担持できる、（２）薬剤の徐放性がある、といった２点が望まれる。

【0039】

例えば、骨などに対するドラッグデリバリーシステムとして用いる担持体は生体材料アパタイトが好ましいが、形状は球形か柱状（中実）のものしか知られていなかったため、担持量や徐放性の観点から改善の余地があった。しかしながら、発明者らの鋭意検討により、上述のチューブ状のアパタイト結晶を実現するに至り、ドラッグデリバリーシステムへの適用が可能となった。

【0040】

ドラッグデリバリーシステムの担持体として、前述の一般式が $M^{2+}_5(PO_4)_3X$ で表されるチューブ状のアパタイト結晶が挙げられる。チューブ状のアパタイト結晶からなる担持体の大きさは、例えば、外径が20nm～50μm、内径が10nm～50μm、長さが50nm～50μmである。そして、担持体は、所定の成分、例えば、活性作用物質を吸着（吸収）・保持した状態で、体内に輸送され、所望の部位に対して物質を放出する。

【0041】

生体材料であるアパタイト結晶による薬剤の保持・吸着特性は、種々の物質の親和性によって高めることができる。例えば、アパタイト結晶は、水、荷電子、脂質、タンパク質、核酸などと結合する能力を有する。この性能により、薬剤を担持することができる。また、多量の薬剤を担持させるためには、担持体の比表面積が大きいことが望ましい。

【0042】

そのため、チューブ状アパタイト結晶は好適であり、より好ましくはチューブ径（内径）を小さくした方がよい。また、薬剤の徐放性を考えると、薬剤を粒子表面に担持するよりは、チューブ内部に担持した方がよい。これにより、チューブ状のアパタイト結晶は、従来の中実のアパタイト粒子と比較して、比表面積が1.5～4倍になり、薬剤の吸着性能も1.5～4倍向上することになる。以上の観点から、チューブ状の生体材料アパタイト結晶をドラッグデリバリーシステムに用いると効果的である。

【0043】

薬物を担持させるアパタイト結晶は、そのサイズを調製することで、（a）剤形的には、経口、静脈注、皮下注、経肺、経鼻に有効に利用し得る。また、（b）機能的には、薬物を肝臓、肺又は炎症部位等へ選択的にデリバリーするとともに、薬物の放出制御の改善等に有効に利用し得る。

【0044】

次に、アパタイト結晶による薬剤担持性能の評価について説明する。実施例は、前述の実施例1と同じ方法で作成されたチューブ状のアパタイト結晶をドラッグデリバリー用担持体として使用したもの、比較例は、従来の針状アパタイト結晶をドラッグデリバリー用担持体として使用したものである。実施例に係るチューブ状のアパタイト結晶は、長さ200μm、外径が40μm、内径が20μmである。

【0045】

また、比較例に係る針状アパタイト単結晶は、以下の方法で作成した。はじめに、0 .

10

20

30

40

50

3 mol/Lの水酸化カルシウム懸濁液に、0.5 mol/Lのリン酸水溶液を滴下し、単結晶が生成するよう留意しながらpHを5～9に調整することにより、単結晶沈殿物を得た。この沈殿物を1200℃で48時間成長させることにより、長さ200 μm、外径40 μmの針状のハイドロキシアパタイト単結晶を得た。

【0046】

そして、実施例のチューブ状アパタイト結晶10 mgに対してアセトニトリル1 mlを加えた混合物に、超音波（周波数28 kHz、出力100 W）振動を5分間加え、懸濁液とした。同様に、比較例の針状アパタイト結晶10 mgに対してアセトニトリル1 mlを加えた混合物に、超音波（周波数28 kHz、出力100 W）振動を5分間加え、懸濁液とした。

10

【0047】

次に、各懸濁液を遠心分離（9000×g、20分間）し、上清を更に0.22 μmのフィルターでろ過し、高速液体クロマトグラフィー用サンプルとした。高速液体クロマトグラフィー分析より、比較例に係る担持体10 mg中に医薬品有効成分であるイトラコナゾールが0.80 mg、実施例に係る担持体10 mg中に医薬品有効成分であるイトラコナゾールが1.40 mg、含有されていることを確認した。つまり、比較例に係る担持体の吸着率は8.0%、実施例に係る担持体の吸着率は14.0%である。

【0048】

次に、薬剤徐放試験について説明する。図2は、実施例及び比較例に係るドラッグデリバリー用担持体を用いた薬剤徐放試験の結果を示すグラフである。薬剤徐放試験は、薬剤を担持したドラッグデリバリー用担持体を、37℃、0.1 mgリン酸バッファ中（pH 7.4）に配置し、1日毎にバッファ液をサンプリングすることで行われる。サンプリングしたバッファ液を高速液体クロマトグラフィーを用いて分析し、ドラッグデリバリー用担持体から放出されたイトラコナゾールの累計放出量を算出する。

20

【0049】

図2に示すように、比較例に係るドラッグデリバリー用担持体の場合、4日までは1日あたりの放出量が多いものの、それ以降は放出量が急減する。一方、実施例に係るドラッグデリバリー用担持体の場合、20日まで安定した徐放性が実現されている。したがって、実施例に係るドラッグデリバリー用担持体は、長期にわたって薬剤を所望の患部に安定的に付与することが可能となる。

30

【0050】

以上、本発明を上述の実施の形態を参照して説明したが、本発明は上述の実施の形態に限定されるものではなく、実施の形態の構成を適宜組み合わせたものや置換したものについても本発明に含まれるものである。また、当業者の知識に基づいて実施の形態における組合せや処理の順番を適宜組み替えることや各種の設計変更等の変形を実施の形態に対して加えることも可能であり、そのような変形が加えられた実施の形態も本発明の範囲に含まれる。

【符号の説明】

【0051】

R1 内径、 R2 外径、 10 側面、 12 上面、 14 下面、 16 内側面。

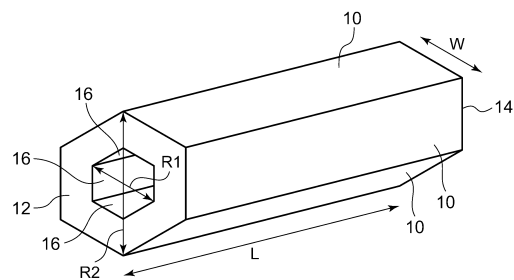
40

【産業上の利用可能性】

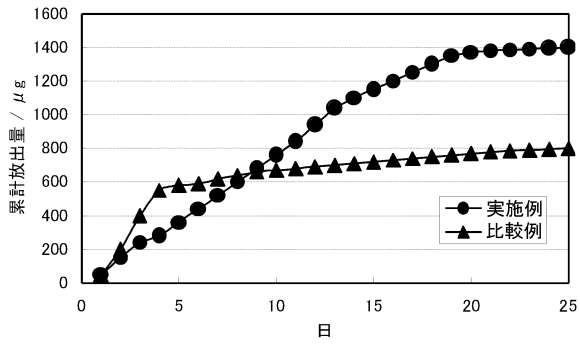
【0052】

本発明は、機能性材料として広範囲な分野に利用できる。

【図 1】



【図 2】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
A 6 1 K 9/52 (2006.01) A 6 1 K 9/51
A 6 1 K 9/52

(72)発明者 四ノ宮 裕
静岡県静岡市清水区北脇500番地 株式会社小糸製作所静岡工場内

審査官 松村 真里

(56)参考文献 特開2011-011971(JP,A)
特表2010-510963(JP,A)
特開2008-056513(JP,A)
特開平07-196305(JP,A)
特開2000-271488(JP,A)
国際公開第2013/153749(WO,A1)
国際公開第2015/001734(WO,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl.,DB名)
B01J 20/00-20/34
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)