(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116133702 A
(43)申请公布日 2023.05.16

(21)申请号 202180059981.5
(22)申请日 2021.07.30
(30)优先权数据
2020-130896 2020.07.31 JP
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.01.17
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2021/028275 2021.07.30
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/025229 JA 2022.02.03
(71)申请人 持田制药株式会社
地址 日本东京都
申请人 国立大学法人东京大学
(72)发明人 伊藤大知 太田诚一 长谷川洁
伊佐次三津子 田中大地
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 童春媛 庞立志
(51)Int.Cl.
A61L 31/04(2006.01)

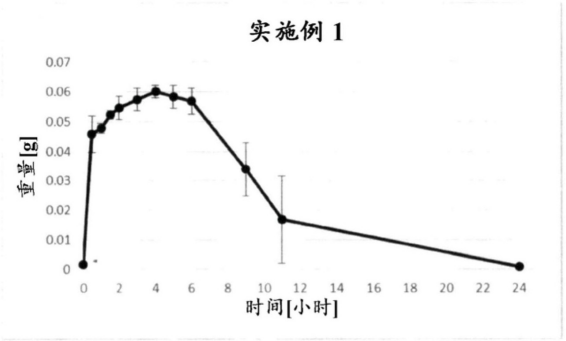
权利要求书2页 说明书25页 附图13页

(54)发明名称

防粘连用组合物

(57)摘要

需求防粘连效果高的防粘连材料。防粘连材料,所述材料是含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐的片状防粘连材料,其中,在进行溶解试验时满足以下的(1)和(2),所述溶解试验是将所述防粘连材料切割成直径8mm的近似圆形得到的样品隔着筛网静置在添加生理盐水直至琼脂的大致上表面的培养皿的琼脂上,以振幅25mm、振动数40次/分钟振动培养皿,在至少1个任意时间点测定样品重量:(1)样品重量达到低于0.01g所需时间为从试验开始起5小时以上且36小时以内,和(2)样品重量达到最大重量所需时间为从试验开始起10小时以内。



CN 116133702 A

1.防粘连材料，所述材料是含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐的片状防粘连材料，其中，

在进行溶解试验时，满足以下的(1)和(2)，所述溶解试验是将所述防粘连材料切割成直径8mm的近似圆形得到的样品隔着筛网静置在添加生理盐水直至琼脂的大致上表面的培养皿的琼脂上，以振幅25mm、振动数40次/分钟振动培养皿，在至少1个任意时间点测定样品重量：

(1)样品重量达到低于0.01g所需时间为从试验开始起5小时以上且36小时以内，和

(2)样品重量达到最大重量所需时间为从试验开始起10小时以内。

2.根据权利要求1所述的防粘连材料，其中，防粘连材料包含第1层和第2层。

3.根据权利要求1或2所述的防粘连材料，其中，海藻酸盐的总量换算成海藻酸钠的重量为1.4mg/cm^2以上且2.8mg/cm^2以下。

4.根据权利要求1～3中任一项所述的防粘连材料，其中，固化剂为钙离子化合物，钙总量换算成氯化钙的重量为0.14mg/cm^2以上且0.30mg/cm^2以下。

5.根据权利要求1～4中任一项所述的防粘连材料，其中，片状防粘连材料的厚度为100μm以上且500μm以下。

6.根据权利要求1～5中任一项所述的防粘连材料，其中，片状防粘连材料是经加压的制品。

7.根据权利要求2～6中任一项所述的防粘连材料，其中，第1层的溶解速度比第2层慢。

8.根据权利要求1所述的防粘连材料，其中，防粘连材料为单层。

9.根据权利要求1～8中任一项所述的防粘连材料的制造方法，所述方法包括以下的工序：

(1)使海藻酸的1价金属盐的水溶液利用固化剂固化(凝胶化)的工序；

(2)根据需要，将固化(凝胶化)的海藻酸的1价金属盐冷冻的工序；

(3)根据需要，在第1层之上，将海藻酸的1价金属盐的水溶液利用固化剂进行固化(凝胶化)而形成第2层的工序；

(4)根据需要，进一步重复(2)的工序、(3)的工序，形成第3层的工序；

(5)将所得的固化物(凝胶)冷冻干燥的工序。

10.根据权利要求9所述的制造方法，其中，所述海藻酸的1价金属盐至少含有100,000以上的重均分子量的海藻酸的1价金属盐。

11.防粘连方法，所述方法包括将防粘连材料应用于需要防粘连的对象，其中，所述防粘连材料是含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐的片状防粘连材料，

在对所述防粘连材料进行溶解试验时，满足以下的(1)和(2)，所述溶解试验是将所述防粘连材料切割成直径8mm的近似圆形得到的样品隔着筛网静置在添加生理盐水直至琼脂的大致上表面的培养皿的琼脂上，以振幅25mm、振动数40次/分钟振动培养皿，在至少1个任意时间点测定样品重量：

(1)样品重量达到低于0.01g所需时间为从试验开始起5小时以上且36小时以内，和

(2)样品重量达到最大重量所需时间为从试验开始起10小时以内。

12.用于在将防粘连材料应用于对象的创伤部的防粘连中使用的海藻酸盐，其中，所述防粘连材料是含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐的片状防粘连材料，

在对所述防粘连材料进行溶解试验时，满足以下的(1)和(2)，所述溶解试验是将所述防粘连材料切割成直径8mm的近似圆形得到的样品隔着筛网静置在添加生理盐水直至琼脂的大致上表面的培养皿的琼脂上，以振幅25mm、振动数40次/分钟振动培养皿，在至少1个任意时间点测定样品重量：

(1)样品重量达到低于0.01g所需时间为从试验开始起5小时以上且36小时以内，和

(2)样品重量达到最大重量所需时间为从试验开始起10小时以内。

防粘连用组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及防粘连材料及其制造方法。

背景技术

[0002] 粘连是指,应该彼此分离的组织的表面被纤维性的组织连接或融合的状态。粘连通过如下产生:伴随着外伤或炎症,在组织的表面产生包含纤维蛋白的渗出液,该渗出液机化而使组织表面连接或融合。外科手术中在组织的表面出现的外伤或因外伤而引起的炎症、和外科手术中组织表面干燥所致的炎症,成为产生粘连的原因。

[0003] 粘连有时可导致不孕、肠梗阻、慢性骨盆痛。另外,为了剥离外科手术后所产生的粘连,有时还需要进行再次的外科手术。例如,对于肝癌的复发例,多次手术是有效的,但可否应用再次手术的判断、治疗的风险、手术时的出血量、手术时间等,均大大地取决于前次手术术后的防粘连的情况。根据这些情况,有必要防粘连,为了防粘连,至今已经采取了各种手段。

[0004] 用于防粘连的此种手段的几种中,有设置在外伤或炎症部位与其相邻组织之间配置以防止组织的连接或融合的物理性屏障。作为此种物理性屏障,已知有片状的屏障等。

[0005] 具体而言,作为片状的屏障,有聚四氟乙烯(PTFE)膜(Preclude(商品名)(WL Gore and Associates,Inc.))、含有透明质酸(HA)和羧基甲基纤维素(CMC)的片(Seprafilm(商品名)(Genzyme GmbH))、再生氧化纤维素片(INTERCEED(商品名)(Johnson&Johnson))等。其中,PTFE膜是非生物降解性,因此存在残留于体内的问题。含有HA和CMC的片和再生氧化纤维素片,虽然是生物降解性,但完全无法防止如肝脏切除后所产生的粘连这样的重度粘连,在防粘连的效果方面仍存在改善的空间。

[0006] 在此,已知有:将选自胶原蛋白等蛋白质、或羧基甲基纤维素、透明质酸、海藻酸等多糖的生物体适合性的材料制成片状、粒子状,用作医疗用吸收物质、医疗用粘贴材料、防粘连材料、生物体组织补强材料等(专利文献1～6)。

[0007] 另外,在专利文献7和8中记载了防粘连材料,所述材料包含可应用于生物体的海绵状层合体,所述海绵状层合体包含:至少一部分用固化剂交联的、低内毒素海藻酸的1价金属盐的海绵状的第1层和第2层,第1层的海藻酸的1价金属盐的重均分子量高于第2层的海藻酸的1价金属盐的重均分子量。

[0008] 另外,在专利文献9中记载了包含海藻酸组合物和交联剂的用于术后防粘连的器件。

[0009] 现有技术文献

[0010] 专利文献

[0011] 专利文献1:日本特开昭48-79870号公报,

[0012] 专利文献2:日本特开2003-126235号公报,

[0013] 专利文献3:国际公开第2005/26214号,

[0014] 专利文献4:日本特开2011-25013号公报,

[0015] 专利文献5:日本特开2013-165884号公报,

[0016] 专利文献6:日本特表2016-502874号公报,

[0017] 专利文献7:国际公开第2018/012605号公报,

[0018] 专利文献8:国际公开第2019/138583号公报,

[0019] 专利文献9:美国公开第2012/0039959号公报。

发明内容

[0020] 发明所要解决的课题

[0021] 在此种情况下,需求新的防粘连材料。优选需求具有防粘连效果高、可抑制创伤部的粘连和新生粘连这两者、不会对应用的生物体产生不良影响、不会妨碍创伤部的愈合、还可用于肠道吻合等、在内窥镜手术中通过套管针容易应用、可调整粘贴位置而重新粘贴、适合于工业生产等中的至少一种性能的防粘连材料。

[0022] 解决课题的手段

[0023] 本发明人在基于假设了临床中的各种手术的动物的粘连模型中,对兼具膜(片)状防粘连材料的优点和喷雾(液体/凝胶/粉体)状防粘连材料的优点的防粘连材料反复深入研究,结果发现,在规定的溶解试验中满足特定的条件的防粘连材料不仅防止手术部位的粘连,而且在应用区域的广范围中具有稳定且优异的防粘连效果,适合于工业生产等,从而完成了本发明。

[0024] 本发明如下所示。

[0025] [1-1]防粘连材料,所述材料是含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐的片状防粘连材料,其中,

[0026] 在进行溶解试验时,满足以下的(1)和(2),所述溶解试验是将所述防粘连材料切割成直径8mm的近似圆形得到的样品隔着筛网静置在添加生理盐水直至琼脂的大致上表面的培养皿的琼脂上,以振幅25mm、振动数40次/分钟振动培养皿,在至少1个任意时间点测定样品重量:

[0027] (1)样品重量达到低于0.01g所需时间为从试验开始起5小时以上且36小时以内,和

[0028] (2)样品重量达到最大重量所需时间为从试验开始起10小时以内。

[0029] [1-2]根据[1-1]所述的防粘连材料,其中,防粘连材料包含第1层和第2层。

[0030] [1-3]根据[1-1]或[1-2]所述的防粘连材料,其中,海藻酸盐的总量换算成海藻酸钠的重量为1.4mg/cm^2以上且2.8mg/cm^2以下。

[0031] [1-4]根据[1-1]～[1-3]中任一项所述的防粘连材料,其中,固化剂为钙离子化合物,钙总量换算成氯化钙的重量为0.14mg/cm^2以上且0.30mg/cm^2以下。

[0032] [1-5]根据[1-1]～[1-4]中任一项所述的防粘连材料,其中,片状防粘连材料的厚度为100μm以上且500μm以下。

[0033] [1-6]根据[1-1]～[1-5]中任一项所述的防粘连材料,其中,片状防粘连材料是经加压的制品。

[0034] [1-7]根据[1-2]～[1-6]中任一项所述的防粘连材料,其中,第1层的溶解速度比第2层慢。

[0035] [1-8]根据[1-2]～[1-7]中任一项所述的防粘连材料，其中，每1cm^{2}的防粘连材料中含有的海藻酸盐的总量换算成海藻酸钠的重量为2.1mg～2.4mg，第2层(上层)/第1层(下层)的海藻酸盐的分配比为2～3，固化剂为钙离子化合物，每1cm^{2}的防粘连材料中含有的固化剂的总量换算成氯化钙的重量为0.24mg～0.27mg，第2层(上层)/第1层(下层)的固化剂的分配比为0.2～0.4。

[0036] [1-9]根据[1-1]所述的防粘连材料，其中，防粘连材料为单层。

[0037] [1-10]根据[1-1]～[1-9]中任一项所述的防粘连材料的制造方法，所述方法包括以下的工序：

[0038] (1)使海藻酸的1价金属盐的水溶液利用固化剂固化(凝胶化)的工序；

[0039] (2)根据需要，将固化(凝胶化)的海藻酸的1价金属盐冷冻的工序；

[0040] (3)根据需要，在第1层之上，将海藻酸的1价金属盐的水溶液利用固化剂进行固化(凝胶化)而形成第2层的工序；

[0041] (4)根据需要，进一步重复(2)的工序、(3)的工序，形成第3层的工序；

[0042] (5)将所得的固化物(凝胶)冷冻干燥的工序。

[0043] [1-11]根据[1-10]所述的制造方法，其中，所述海藻酸的1价金属盐至少含有100,000以上的重均分子量的海藻酸的1价金属盐。

[0044] [2-1]防粘连材料，所述材料是含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐的片状防粘连材料，其中，海藻酸盐的总量换算成海藻酸钠的重量为1.4mg/cm^{2}以上且2.8mg/cm^{2}以下。

[0045] [2-2]根据[2-1]所述的防粘连材料，其中，防粘连材料包含第1层和第2层。

[0046] [2-3]根据[2-1]或[2-2]所述的防粘连材料，其中，固化剂为钙离子化合物，钙总量换算成氯化钙的重量为0.14mg/cm^{2}以上且0.30mg以下/cm^2。

[0047] [2-4]根据[2-1]～[2-3]中任一项所述的防粘连材料，其中，片状防粘连材料的厚度为100μm以上且500μm以下。

[0048] [2-5]根据[2-1]～[2-4]中任一项所述的防粘连材料，其中，片状防粘连材料是经加压的制品。

[0049] [2-6]根据[2-2]～[2-5]中任一项所述的防粘连材料，其中，第1层的溶解速度比第2层慢。

[0050] [2-7]根据[2-2]～[2-6]中任一项所述的防粘连材料，其中，每1cm^{2}的防粘连材料中含有的海藻酸盐的总量换算成海藻酸钠的重量为2.1mg～2.4mg，第2层(上层)/第1层(下层)的海藻酸盐的分配比为2～3，固化剂为钙离子化合物，每1cm^{2}的防粘连材料中含有的固化剂的总量换算成氯化钙的重量为0.24mg～0.27mg，第2层(上层)/第1层(下层)的固化剂的分配比为0.2～0.4。

[0051] [2-8]根据[2-1]所述的防粘连材料，其中，防粘连材料为单层。

[0052] [2-9]根据[2-1]～[2-8]中任一项所述的防粘连材料的制造方法，所述方法包括以下的工序：

[0053] (1)使海藻酸的1价金属盐的水溶液利用固化剂固化(凝胶化)的工序；

[0054] (2)根据需要，将固化(凝胶化)的海藻酸的1价金属盐冷冻的工序；

[0055] (3)根据需要，在第1层之上，将海藻酸的1价金属盐的水溶液利用固化剂进行固化

(凝胶化)而形成第2层的工序;

[0056] (4)根据需要,进一步重复(2)的工序、(3)的工序,形成第3层的工序;

[0057] (5)将所得的固化物(凝胶)冷冻干燥的工序。

[0058] [2-10]根据[2-9]所述的制造方法,其中,所述海藻酸的1价金属盐至少含有100,000以上的重均分子量的海藻酸的1价金属盐。

[0059] [3-1]防粘连方法,所述方法包括将防粘连材料应用于需要防粘连的对象,其中,所述防粘连材料是含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐的片状防粘连材料,

[0060] 在对所述防粘连材料进行溶解试验时,满足以下的(1)和(2),所述溶解试验是将所述防粘连材料切割成直径8mm的近似圆形得到的样品隔着筛网静置在添加生理盐水直至琼脂的大致上表面的培养皿的琼脂上,以振幅25mm、振动数40次/分钟振动培养皿,在至少1个任意时间点测定样品重量:

[0061] (1)样品重量达到低于0.01g所需时间为从试验开始起5小时以上且36小时以内,和

[0062] (2)样品重量达到最大重量所需时间为从试验开始起10小时以内。

[0063] [3-1a]防粘连方法,所述方法包括将防粘连材料应用于需要防粘连的对象,其中,所述防粘连材料是含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐的片状防粘连材料,海藻酸盐的总量换算成海藻酸钠的重量为1.4mg/cm^{2}以上且2.8mg/cm^{2}以下。

[0064] [3-2]根据[3-1]或[3-1a]所述的防粘连方法,其中,防粘连材料包含第1层和第2层。

[0065] [3-3]根据[3-1]或[3-2]所述的防粘连方法,其中,海藻酸盐的总量换算成海藻酸钠的重量为1.4mg/cm^{2}以上且2.8mg/cm^{2}以下。

[0066] [3-4]根据[3-1]～[3-3]中任一项所述的防粘连方法,其中,固化剂为钙离子化合物,钙总量换算成氯化钙的重量为0.14mg/cm^{2}以上且0.30mg/cm^{2}以下。

[0067] [3-5]根据[3-1]～[3-4]中任一项所述的防粘连方法,其中,片状防粘连材料的厚度为100μm以上且500μm以下。

[0068] [3-6]根据[3-1]～[3-5]中任一项所述的防粘连方法,其中,片状防粘连材料是经加压的制品。

[0069] [3-7]根据[3-2]～[3-6]中任一项所述的防粘连方法,其中,第1层的溶解速度比第2层慢。

[0070] [3-8]根据[3-2]～[3-7]中任一项所述的防粘连方法,其中,每1cm^{2}的防粘连材料中含有的海藻酸盐的总量换算成海藻酸钠的重量为2.1mg～2.4mg,第2层(上层)/第1层(下层)的海藻酸盐的分配比为2～3,固化剂为钙离子化合物,每1cm^{2}的防粘连材料中含有的固化剂的总量换算成氯化钙的重量为0.24mg～0.27mg,第2层(上层)/第1层(下层)的固化剂的分配比为0.2～0.4。

[0071] [3-9]根据[3-1]或[3-1a]所述的防粘连方法,其中,防粘连材料为单层。

[0072] [4-1]用于在将防粘连材料应用于对象的创伤部的防粘连中使用的海藻酸盐,其中,所述防粘连材料是含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐的片状防粘连材料,

[0073] 在对所述防粘连材料进行溶解试验时,满足以下的(1)和(2),所述溶解试验是将所述防粘连材料切割成直径8mm的近似圆形得到的样品隔着筛网静置在添加生理盐水直至

琼脂的大致上表面的培养皿的琼脂上，以振幅25mm、振动数40次/分钟振动培养皿，在至少1个任意时间点测定样品重量：

[0074] (1)样品重量达到低于0.01g所需时间为从试验开始起5小时以上且36小时以内，和

[0075] (2)样品重量达到最大重量所需时间为从试验开始起10小时以内。

[0076] [4-1a]用于在将防粘连材料应用于对象的创伤部的防粘连中使用的海藻酸盐，其中，所述防粘连材料是含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐的片状防粘连材料，海藻酸盐的总量换算成海藻酸钠的重量为1.4mg/cm^2以上且2.8mg/cm^2以下。

[0077] [4-2]根据[4-1]或[4-1a]所述的海藻酸盐，其中，防粘连材料包含第1层和第2层。

[0078] [4-3]根据[4-1]或[4-2]中任一项所述的海藻酸盐，其中，海藻酸盐的总量换算成海藻酸钠的重量为1.4mg/cm^2以上且2.8mg/cm^2以下。

[0079] [4-4]根据[4-1]～[4-3]中任一项所述的海藻酸盐，其中，固化剂为钙离子化合物，钙总量换算成氯化钙的重量为0.14mg/cm^2以上且0.30mg/cm^2以下。

[0080] [4-5]根据[4-1]～[4-4]中任一项所述的海藻酸盐，其中，片状防粘连材料的厚度为100μm以上且500μm以下。

[0081] [4-6]根据[4-1]～[4-5]中任一项所述的海藻酸盐，其中，片状防粘连材料是经加压的制品。

[0082] [4-7]根据[4-2]～[4-6]中任一项所述的海藻酸盐，其中，第1层的溶解速度比第2层慢。

[0083] [4-8]根据[4-2]～[4-7]中任一项所述的海藻酸盐，其中，每1cm^2的防粘连材料中含有的海藻酸盐的总量换算成海藻酸钠的重量为2.1mg～2.4mg，第2层(上层)/第1层(下层)的海藻酸盐的分配比为2～3，固化剂为钙离子化合物，每1cm^2的防粘连材料中含有的固化剂的总量换算成氯化钙的重量为0.24mg～0.27mg，第2层(上层)/第1层(下层)的固化剂的分配比为0.2～0.4。

[0084] [4-9]根据[4-1]或[4-1a]所述的海藻酸盐，其中，防粘连材料为单层。

[0085] 发明的效果

[0086] 根据本发明，可提供新的防粘连材料。根据优选方案，可提供具有防粘连效果高、可抑制创伤部的粘连和新生粘连这两者、不会对应用的生物体产生不良影响、不会妨碍创伤部的愈合、还可用于肠道吻合等、在内窥镜手术中通过套管针容易应用、可调整粘贴位置而重新粘贴等中的至少一种性能的防粘连材料。

附图说明

[0087] [图1]是显示防粘连材料的一个实例的图。

[0088] [图2]是显示实施例1所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0089] [图3]是显示实施例2所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0090] [图4]是显示实施例3所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0091] [图5]是显示实施例4所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0092] [图6]是显示实施例5所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0093] [图7]是显示实施例6所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0094] [图8]是显示实施例7所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0095] [图9]是显示实施例8所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0096] [图10]是显示实施例9所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0097] [图11]是显示实施例10所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0098] [图12]是显示实施例11所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0099] [图13]是显示实施例12所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0100] [图14]是显示实施例13所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0101] [图15]是显示比较例1所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0102] [图16]是显示比较例2所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0103] [图17]是显示比较例3所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0104] [图18]是显示比较例4所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0105] [图19]是显示比较例5所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0106] [图20]是显示比较例6所涉及的防粘连材料的溶解试验的结果的曲线图。

[0107] [图21]是显示在大鼠肝脏切除模型中的粘连形成的评价的图(非离断面和离断面)。

[0108] [图22]是显示在小型猪脾脏/腹壁粘连模型中的粘连形成的评价的图(局部)。

[0109] [图23]是显示在小型猪脾脏/腹壁粘连模型中的粘连形成的评价的图(周边部)。

[0110] [图24]是显示在小型猪二期肝脏切除模型中的粘连形成的评价的图。

[0111] [图25]是显示在大鼠部分肝脏切除模型中的粘连形成的评价的图(等级)。

[0112] [图26]是显示在大鼠部分肝脏切除模型中的粘连形成的评价的图(广度)。

具体实施方式

[0113] 以下,对本发明详细地说明,但以下的实施方案是用于说明本发明的示例,本发明在不脱离其要旨的情况下能够以各种各样的方式实施。

[0114] 1.防粘连

[0115] “粘连”是指,应该彼此分离的组织的表面被纤维性的组织连接或融合的状态。粘连的原因在于,外科手术中在组织的表面出现的外伤或因外伤而引起的炎症、外科手术中组织表面干燥所致的炎症等。伴随这些外伤或炎症,在组织的表面产生包含纤维蛋白的渗出液,该渗出液机化而使组织表面连接或融合,由此形成粘连。

[0116] “防粘连”是指,使粘连的形成减少。防粘连未必需要完全防止粘连的形成,只要与不应用防粘连材料的情况的状态相比,可防止粘连的形成即可。即“防粘连”可理解为粘连的减轻,例如,只要选自粘连的频率、范围和程度的至少1种减轻即可。关于“防粘连”,例如,在进行实施例所记载的粘连的广度评价的情况下,与不应用防粘连材料的情况的平均粘连的广度相比,只要平均粘连的广度更低即可。“防粘连”优选为因外科手术而产生的粘连的防止,更优选为因外科手术而产生的腹膜粘连的防止。即,“防粘连”优选为术后的防粘连。

[0117] 另外,作为成为对象的粘连,有手术时的对象脏器的切除部位的粘连和新生粘连(与手术部位以外的周边、腹腔和体内的广泛部位的粘连)。

[0118] 2.防粘连材料

[0119] 在此,提供以下的防粘连材料。

[0120] 提供防粘连材料，所述材料是含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐的片状防粘连材料，其中，在对所述防粘连材料进行后述的溶解试验时，满足以下的(1)和(2)，所述溶解试验是将切割成直径8mm的近似圆形得到的重量约2mg的样品隔着筛网静置在添加生理盐水直至琼脂的大致上表面的培养皿的琼脂上，以振幅25mm、振动数40次/分钟振动培养皿，在至少1个任意时间点测定样品重量：

[0121] (1)样品重量达到低于0.01g所需时间为从试验开始起5小时以上且36小时以内，和

[0122] (2)样品重量达到最大重量所需时间为从试验开始起10小时以内。

[0123] 需说明的是，代替上述琼脂，也可使用天然或合成的具有水分保持能力的凝胶，例如明胶、洋菜(agar)等。

[0124] 防粘连材料的形状只要是片状则没有特别限定，可考虑所应用的表面的范围、形状、凹凸等适当选择。防粘连材料的形状例如可以是长方形(包含正方形)的平板状，或者可制成圆板状等形状。优选为长方形(包含正方形)的平板状或圆板状。为平板状或圆板状时，可根据所应用的表面的范围、形状、凹凸等进一步切割防粘连材料而应用于表面。

[0125] 防粘连材料可以是经加压的制品，优选是经加压的制品。具体而言，经加压的防粘连材料是通过对海绵状的材料进行加压而得到的。“海绵状”是指，具有多孔性的状态。通过将用固化剂固化的凝胶冷冻干燥，可得到具有多孔性的海绵状组合物。加压用手动来进行、或者通过用压机夹持层合体并加压来进行。通过对上述海绵状组合物进行加压(press)，孔被挤破，海绵状组合物变形，成为片状的组合物。加压对片状组合物的水分吸收和溶解时间产生影响。另外，通常所用的压缩、薄层化等工序也包含在此处所述的加压中。作为加压压力，例如可列举出1kPa～100MPa，可列举出更优选为10kPa～80MPa、进一步优选为100kPa～60Mpa。用手动的加压是隔着可以对层合体均匀地施加压力的方式用手按压的物体例如亚克力尺、亚克力板、玻璃板、金属板等进行的。另外，作为所用的压机，例如可列举出热压机(ASONE株式会社制AH-1T)。

[0126] 经加压的防粘连材料的高度(厚度)优选为100～500μm，更优选为150～450μm，进一步优选为200～400μm。

[0127] 进一步优选的方案的防粘连材料是长方形(包含正方形)的平板状且是这样的高度(厚度)，而且长和宽的长度分别为1mm～300mm×1mm～300mm，更优选为3mm～200mm×3mm～200mm，进一步优选为5mm～150mm×5mm～150mm。

[0128] 进一步优选的另一方案的防粘连材料是圆板状且是这样的高度(厚度)，而且直径为10mm～300mm，更优选为20mm～200mm，进一步优选为30mm～150mm。加压成片的材料也可被卷起或折叠，具有在卷起后也能够容易地复原成片状的适度的柔软度和复原力。

[0129] 需说明的是，在若干方案中，经加压的防粘连材料的厚度均匀。另外，在另外的若干方案中，厚度也可以不均匀，可以是一侧厚而另一侧薄的倾斜结构。另外，在本说明书中，将对含有海藻酸盐的海绵状组合物进行加压得到的制品也称为海藻酸片。

[0130] 防粘连材料含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐。优选防粘连材料含有海藻酸的1价金属盐。“固化剂”和“海藻酸的1价金属盐”如后所述。

[0131] 对防粘连材料的溶解试验进行详细叙述。

[0132] 防粘连材料在进行以下的溶解试验时满足规定的条件。

[0133] 在溶解试验中，使用培养皿、琼脂、生理盐水、样品、筛网和振动器(振动机)。培养皿只要是加入了琼脂和载有样品的筛网的培养皿则没有特别限定，例如可使用直径10cm的盘(产品代码:3020-100，IWAKI公司制)等。琼脂例如可使用用托盘使2％琼脂溶液固化而成的固化物，浓度可适当变更。另外，代替上述琼脂，可使用具有水分保持能力、形成一定强度的凝胶的天然或合成的物质，例如明胶、洋菜等。样品是通过将防粘连材料切割成直径8mm的近似圆形而得到的。样品的切割方法没有特别限定，例如可使用直径8mm的活检环锯，得到上述尺寸、形状的样品。

[0134] 将此时测定的样品重量作为测定开始时的样品重量。

[0135] 接着，将切成规定的尺寸(具体而言，为1cm×1cm的尺寸)的厚度0.7cm的琼脂在培养皿中静置，加入生理盐水。生理盐水的量设为，在将生理盐水加入培养皿时可到达琼脂的大致上表面的量。

[0136] 接着，在培养皿中加入的琼脂上静置载于筛网上的样品，安放在振动器(振动机)中开始振动。在此，有时将该振动开始称为“试验开始”。在此使用的筛网没有特别限定，例如可使用将细胞过滤网(100μm、FALCON公司)的侧面切掉而制作的筛网等。需说明的是，筛网的毛重预先用电子天平测定。

[0137] 振动机也没有特别限定，例如可示例出TRIPLE SHAKER NR-80(TAITEC公司制)等。通过以振幅25mm、振动数40次/分钟振动培养皿来进行振动。在此，由于生理盐水的水面与琼脂的上表面大致为相同的高度，所以在振动过程中生理盐水经常会落到样品上。在振动时的温度为室温下实施。

[0138] 接着，从试验开始起在至少1个任意时间点测定样品重量。然后，在目视确认测定样品完全溶解后，结束试验。在此，“至少1个任意时间点”例如是从试验开始起到测定样品完全溶解之间的任意的至少1个时间点，例如可列举出从试验开始起0.5小时、1小时、1.5小时、2小时、2.5小时、3小时、4小时、5小时、6小时、7小时、8小时、9小时、10小时、11小时、12小时、13小时、14小时、15小时、16小时、17小时、18小时、19小时、20小时、21小时、22小时、23小时、24小时、25小时、26小时、27小时、28小时、30小时、33小时、48小时、49小时、51小时、52小时、54小时、55小时、58小时、144小时和168小时中的至少1个任意时间点。

[0139] 样品重量的测定是每小时取出一次筛网，在擦拭水分后，使用电子天平测定的。测定重量后，将筛网放回到培养皿的琼脂上，添加规定量、例如200μL的生理盐水。

[0140] 更详细地说，溶解试验可通过后述的实施例所述的方法进行。

[0141] 防粘连材料在进行以上的溶解试验时，满足以下的(1)和(2)。

[0142] (1)样品重量达到低于0.01g所需时间为从试验开始起5小时以上且36小时以内，和

[0143] (2)样品重量达到最大重量所需时间为从试验开始起10小时以内。

[0144] 若干方案的防粘连材料，例如在人等对象的生物体内，吸收水分而溶胀，在溶解的同时，水分吸收量达到饱和状态，最终全部溶解。

[0145] 在此种情况下，上述(1)表示防粘连材料在生物体内达到完全溶解的时间不会过早，并且不会长时间持续残留在生物体内。

[0146] 另外，上述(2)表示防粘连材料在生物体内迅速吸水而溶胀。

[0147] 关于上述(1)，“5小时以上且36小时以内”例如可以是从试验开始起5～36小时、10

小时～30小时、12小时～24小时等。

[0148] 另外，关于上述(2)，“10小时以内”例如可以是10小时以内、9.5小时以内、9小时以内、8.5小时以内、8小时以内、7小时以内、6小时以内等。

[0149] 在此，上述(2)中的“样品重量达到最大重量所需时间”是比上述(1)中的“样品重量达到低于0.01g所需时间”短的时间。换言之，上述(1)中的“样品重量达到低于0.01g所需时间”是比上述(2)中的“样品重量达到最大重量所需时间”长的时间。

[0150] 需说明的是，在本说明书中，在数值范围中使用“～”的符号的情况下，指的是“下限值以上且上限值以下”，符号两端的数值包含在该范围内。

[0151] 为了使防粘连材料满足上述(1)和(2)，例如可列举出调整固化剂的总量、调整海藻酸的1价金属盐的总量、调整上层/下层的固化剂的分配比、调整上层/下层的海藻酸的1价金属盐的分配比、调整加压后的厚度等。

[0152] 关于调整固化剂的总量，例如，在使用钙离子化合物作为固化剂的情况下，通过使固化剂的量换算成氯化钙的重量为0.14mg/cm^2以上，可得到防止局部和新生粘连的效果，可满足(1)的条件。另外，通过使固化剂的量换算成氯化钙的重量为0.30mg/cm^2以下，在制造时可得到均质的防粘连材料，除了提高工业上的生产率以外，还可满足(1)和(2)的条件。

[0153] 关于调整海藻酸的1价金属盐的总量，例如，通过使海藻酸的1价金属盐的总量换算成海藻酸钠的重量为1.4mg/cm^2以上，可得到防止局部和新生粘连的效果，可满足(1)的条件(可使防粘连材料的溶解速度减慢到适当的速度)。另外，通过使海藻酸的1价金属盐的总量换算成海藻酸钠的重量为2.8mg/cm^2以下，除了可得到减少在生物体内的过度残留的防粘连材料以外，还可满足(1)的条件(可使防粘连材料的溶解速度加快到适当的速度)。

[0154] 关于调整上层/下层的固化剂的分配比，例如，通过使上层/下层的固化剂的分配比为0.1～1.2，可得到防止局部和新生粘连的效果。在本发明的若干方案中，作为上层/下层的固化剂的分配比，可优选地举出0.1～0.6，可更优选地举出0.2～0.4。

[0155] 关于调整上层/下层的海藻酸的1价金属盐的分配比，例如，通过使上层/下层的海藻酸的1价金属盐的分配比为1～3，可得到防止局部和新生粘连的效果。在本发明的若干方案中，作为上层/下层的海藻酸的1价金属盐的分配比，可优选地举出2～3，可更优选地举出3。

[0156] 关于调整加压后的厚度，例如，通过使加压后的厚度为100～500μm，能够在内窥镜手术下经由套管针插入等，可得到良好的操作性。另外，通过使加压后的厚度为上述范围，可满足(1)和(2)的条件。

[0157] 在固化剂为钙离子化合物的情况下，每72cm^2的防粘连材料中含有的固化剂的总量换算成氯化钙的重量，例如为10mg以上且低于22mg，优选为13mg～20mg，更优选为17mg～19mg。

[0158] 另外，在若干方案中，在固化剂为钙离子化合物的情况下，使每1cm^2的防粘连材料中含有的固化剂的总量例如为0.14mg～0.30mg，优选为0.18mg～0.28mg，更优选为0.24mg～0.27mg。

[0159] 需说明的是，“总量”可替换为“使用量”、“掺混量”和“添加量”。另外，“总量”是指，使防粘连材料的厚度为100～500μm时的量。

[0160] 防粘连材料可以是不具有层状结构的材料(单层)、具有层状结构的材料、或具有2

层以上的层合体的结构的材料。2层以上的层合体例如是2层、3层、4层或5层的层合体，优选为2层或3层的层合体，更优选为2层的层合体。在防粘连材料是层合体的情况下，可具有各层有清晰的界面的结构，或者，可具有各层没有清晰的界面的结构。

[0161] 将具有2层结构的防粘连材料的一个实例示出于图1中。防粘连材料1包含层合体4，所述层合体4包含第1层2和第2层3。层合体4是根据需要对海绵状层合体进行加压而得到的。第1层2和第2层3在加压前分别为海绵状。

[0162] “第1层”是在将层合体应用于对象时成为下层的层，即与对象的应该应用的组织表面接触之侧的层。“第2层”是将层合体应用于对象时成为上层的层、即不与对象的应该应用的组织表面接触之侧的层。就防粘连材料而言，“可应用于生物体”是指，可作为医疗材料配置于应该应用的组织表面。

[0163] 防粘连材料所用的可应用于生物体的层合体中，除了上述的第1层、第2层以外，还可具有包含任意成分的第3层。

[0164] 在若干方案中，包含可应用于生物体的层合体，所述层合体包含分别含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸的1价金属盐的第1层和第2层，第1层的溶解速度比第2层慢。为了使第1层的溶解速度比第2层的溶解速度慢，例如可列举出使第1层的海藻酸的1价金属盐的重均分子量比第2层高，通过变更固化剂的种类、变更固化剂的浓度等而使第1层的海藻酸的1价金属盐的交联度比第2层高等。

[0165] 在使第1层的海藻酸的1价金属盐的重均分子量比第2层高的情况下，使第1层和第2层中所用的海藻酸的1价金属盐的重均分子量分别例如为10,000～2,000,000和1,000～1,000,000。此种重均分子量是在脱交联处理、例如溶解在螯合剂溶液中后通过GPC-MALS法测定的。

[0166] 关于海藻酸的1价金属盐，也可组合使用多种重均分子量不同的海藻酸的1价金属盐。例如，可在第1层中组合使用具有10,000～2,000,000范围内的不同重均分子量的多种海藻酸的1价金属盐，和/或，在第2层中组合使用具有1,000～1,000,000范围内的不同重均分子量的多种海藻酸的1价金属盐。所组合的海藻酸的1价金属盐的数量没有特别限定，例如，每1层可以有2、3、4、5、6、7、8、9或10种以上。关于海藻酸的1价金属盐，可将重均分子量不同的不同种类的盐组合，也可将重均分子量不同的相同种类的盐组合。组合的比率也没有特别限定，例如在将2种盐组合的情况下，其比率可以是1:100～100:1、1:50～50:1、1:25～25:1、1:10～10:1、1:5～5:1、1:4～4:1、1:3～3:1、1:2～2:1、1:1等。

[0167] 在若干方案中，使每72cm^{2}的防粘连材料中含有的海藻酸的1价金属盐的总量换算成海藻酸钠的重量，例如为100mg～200mg，优选为120mg～180mg，更优选为150mg～170mg。

[0168] 另外，在另外的若干方案中，使每1cm^{2}的防粘连材料中含有的海藻酸的1价金属盐的总量换算成海藻酸钠的重量，例如为1.4mg～2.8mg，优选为1.7mg～2.5mg，更优选为2.1mg～2.4mg。

[0169] 在本发明的若干方案中，优选每1cm^{2}的防粘连材料中含有的海藻酸盐的总量换算成海藻酸钠的重量为2.1mg～2.4mg，第2层(或上层)/第1层(或下层)的海藻酸盐的分配比为2～3，固化剂为钙离子化合物，每1cm^{2}的防粘连材料中含有的固化剂的总量换算成氯化钙的重量为0.24mg～0.27mg，第2层(或上层)/第1层(或下层)的固化剂的分配比为0.2～0.4。

[0170] 在若干方案中，用于制造防粘连材料的海藻酸的1价金属盐至少含有100,000以上的重均分子量的海藻酸。由此，可提高防粘连材料的物理强度。

[0171] 优选方案的防粘连材料与Seprafilm(商品名)相比，柔软性高，不易破裂。

[0172] 3.海藻酸盐

[0173] 作为本发明的防粘连材料的原料使用的海藻酸盐是海藻酸的1价金属盐。

[0174] “海藻酸的1价金属盐”是通过将作为海藻酸的构成糖的甘露糖醛酸和/或古罗糖醛酸的6位羧酸的氢原子与Na^+或K^+等1价金属离子进行离子交换而形成的水溶性盐。作为海藻酸的1价金属盐，具体而言，可列举出海藻酸钠、海藻酸钾等，特别优选可由市售品获取的海藻酸钠。海藻酸的1价金属盐的溶液在与固化剂混合时形成凝胶。

[0175] 本发明中使用的“海藻酸”是生物降解性的高分子多糖类，是D-甘露糖醛酸(M)和L-古罗糖醛酸(G)这两种糖醛酸聚合成直链状所得的聚合物。更具体地说，是D-甘露糖醛酸的均聚物部分(MM部分)、L-古罗糖醛酸的均聚物部分(GG部分)、以及D-甘露糖醛酸和L-古罗糖醛酸无规排列而成的部分(MG部分)任意结合而成的嵌段共聚物。海藻酸的D-甘露糖醛酸和L-古罗糖醛酸的构成比(M/G比)主要根据海藻等的来源生物的种类而不同，还受该生物生长发育场所或季节的影响，在从M/G比为约0.4的高G型至M/G比为约5的高M型的高范围内。

[0176] 关于海藻酸类，在从褐藻类提取的初期通常分子量较大，但在用热干燥、纯化等的过程中，分子量逐渐变小。通过制造工序的温度等的条件管理、作为原料的褐藻类的选择、制造工序中的分子量的分级等的方法可制造分子量不同的海藻酸类。此外，通过与具有不同分子量的其它批次的海藻酸类混合，也可制成具有目标分子量的海藻酸类。

[0177] 本发明中所用的海藻酸的1价金属盐优选为经低内毒素处理而得的。低内毒素处理可通过公知的方法或仿照其的方法进行。例如，可通过下述的方法或仿照它们的方法实施：菅等人的纯化透明质酸钠的方法(例如，参照日本特开平9-324001号公报等)，吉田等人的纯化β1,3-葡聚糖的方法(例如，参照日本特开平8-269102号公报等)，William等人的纯化海藻酸盐、结冷胶等生物体高分子盐的方法(例如，参照日本特表2002-530440号公报等)，James等人的纯化多糖的方法(例如，参照国际公开第93/13136号小册子等)、Lewis等人的方法(例如，参照美国专利第5589591号说明书等)，Hermann Frank等人的纯化海藻酸盐的方法(例如，参照Appl Microbiol Biotechnol(1994)40:638-643等)等。本发明的低内毒素处理不限于这些，可通过洗涤、用滤器(除去内毒素的滤器或带电的滤器等)过滤、超滤、使用柱(内毒素吸附亲和柱、凝胶过滤柱、基于离子交换树脂的柱等)的纯化、吸附到疏水性物质、树脂或活性炭等、有机溶剂处理(用有机溶剂的提取、添加有机溶剂导致的析出/沉降等)、表面活性剂处理(例如，参照日本特开2005-036036号公报等)等公知的方法或者将它们适当组合来实施。在这些处理的工序中，也可适当组合离心分离等公知的方法。根据海藻酸的种类适当选择为宜。

[0178] 内毒素水平可通过公知的方法确认，例如可通过基于鲎试剂(LAL)的方法、使用Endospecy(注册商标)ES-24S试剂盒(生化学工业株式会社)的方法等进行测定。

[0179] 本发明所用的海藻酸的1价金属盐的内毒素的处理方法没有特别限定，但作为其结果，生物体内吸收性多糖类的内毒素含量在进行基于鲎试剂(LAL)的内毒素测定的情况下，优选为500内毒素单位(EU)/g以下，进一步优选为100EU/g以下，尤其优选为50EU/g以

下,特别优选为30EU/g以下。经低内毒素处理的海藻酸钠例如可由Sea Matrix(注册商标)(持田制药株式会社)、PRONOVA™ UP LVG(FMCBioPolymer)等市售品获取。另外,也可使用国际公开第2018/012605号公报和国际公开第2019/138583号公报所记载的作为低内毒素海藻酸钠的AL10、AL20、AL100和AL500。

[0180] 另外,在若干方案中,在将防粘连材料制成具有第1层和第2层的多层结构的情况下,第1层与第2层的海藻酸的1价金属盐的使用量之比(重量比)优选为1:20～20:1,更优选为1:5～5:1,进一步优选为1:3～3:1。

[0181] 需说明的是,在本说明书中,有时将“海藻酸或其盐”统称为“海藻酸”。

[0182] 4.固化剂(交联剂)

[0183] 防粘连材料含有至少一部分用固化剂交联的海藻酸盐。在防粘连材料具有多层结构的情况下,可以是若干层含有用固化剂交联的海藻酸盐,而其它层不含有用固化剂交联的海藻酸盐,或者可以是所有的层都含有用固化剂交联的海藻酸盐。在防粘连材料是具有第1层和第2层的2层结构的情况下,可以是第1层和第2层中的任一层含有用固化剂交联的海藻酸盐(即,第1层和第2层中的任一层可不含有用固化剂交联的海藻酸盐),或者可以是第1层和第2层这两层都含有用固化剂交联的海藻酸盐。

[0184] 固化剂是通过将海藻酸的1价金属盐的溶液交联而将海藻酸的1价金属盐固化的物质。关于固化剂,例如可列举出Ca^{2+}、Mg^{2+}、Ba^{2+}、Sr^{2+}、Zn^{2+}、Fe^{3+}等2价以上的金属离子化合物,分子内具有2～4个氨基的交联性试剂等。它们在与海藻酸形成盐的同时,形成离子交联。该交联是可逆的,例如可通过用EDTA等进行处理来脱交联。作为固化剂,更具体而言,作为2价以上的金属离子化合物,可列举出$CaCl_2$、$MgCl_2$、$CaSO_4$、$ZnCl_2$、$FeCl_3$、$BaCl_2$、$SrCl_2$等(优选为$CaCl_2$、$CaSO_4$、$ZnCl_2$、$SrCl_2$、$FeCl_3$、$BaCl_2$等);作为分子内具有2～4个氨基的交联性试剂,包含可在氮原子上具有赖氨酰(lysyl)基(-COCH(NH_2)-(CH_2)$_4$-NH_2)的二氨基链烷烃,即二氨基链烷烃及其氨基被赖氨酰基取代而形成赖氨酰基氨基的衍生物,具体而言,可列举出二氨基乙烷、二氨基丙烷、N-(赖氨酰基)-二氨基乙烷等。其中,防粘连材料优选含有包含$CaCl_2$作为2价以上的金属离子化合物的固化剂。

[0185] 关于固化剂的使用量,根据海藻酸的1价金属盐的使用量或分子量等适当调节为宜。关于固化剂的使用量,例如,若是氯化钙,则为1.26μmol/cm^2～2.70μmol/cm^2,优选为1.62μmol/cm^2～2.52μmol/cm^2,更优选为2.16μmol/cm^2～2.43μmol/cm^2。

[0186] 另外,在若干方案中,在将防粘连材料制成具有第1层和第2层的多层结构的情况下,第1层与第2层的固化剂的使用量之比(重量比)优选为1:10～10:1,更优选为1:5～5:1,进一步优选为1:3～3:1。

[0187] 另外,在若干方案中,在固化剂为钙离子化合物的情况下,海藻酸的1价金属盐的使用量与固化剂的总量之比(重量比)优选为1:20～20:1,更优选为1:16～16:1。

[0188] 5.防粘连材料的制造方法

[0189] 防粘连材料例如可经以下的工序进行制造。通过(1)和(5)的工序,可制造不具有层状结构的(单层)防粘连材料。另外,通过(1)、(2)、(3)和(5)的工序、或(1)、(3)和(5)的工序,可制造2层结构(层合结构)的防粘连材料,通过(1)、(2)、(3)、(4)和(5)的工序、或(1)、(3)、(4)和(5)的工序,可制造3层结构(层合结构)的防粘连材料。

[0190] (1)使海藻酸的1价金属盐的水溶液利用固化剂固化(凝胶化)的工序;

[0191] (2)根据需要,将固化(凝胶化)的海藻酸的1价金属盐冷冻的工序;

[0192] (3)根据需要,在第1层之上,将海藻酸的1价金属盐的水溶液利用固化剂进行固化(凝胶化)而形成第2层的工序;

[0193] (4)根据需要,进一步重复(2)的工序、(3)的工序,形成第3层的工序;

[0194] (5)将所得的固化物(凝胶)冷冻干燥的工序。

[0195] 具体而言,对具有2层结构的层合防粘连材料的制造方法进行说明。

[0196] 在上述工序(1)中,首先,准备海藻酸的1价金属盐(以下,称为"第1海藻酸盐")的溶液和固化剂的溶液。第1海藻酸盐的溶液和固化剂的溶液可通过公知的方法或仿照其的方法进行调制。溶剂只要是可应用于生物体的溶剂则没有特别限定,优选为水性溶剂,例如为纯化水、纯水(例如,蒸馏水、离子交换水)、Milli-Q水、生理盐水、磷酸缓冲生理盐水、DMSO等,更优选为纯水。优选使它们灭菌,优选经低内毒素处理。

[0197] 然后,通过将第1海藻酸盐的溶液和固化剂的溶液混合,可使第1海藻酸盐固化(凝胶化)。混合例如可用平板状的容器来进行。

[0198] 在上述工序(2)中,根据需要,使工序(1)中固化的第1海藻酸盐通过常规方法冷冻。通过在工序(3)之前进行一次冷冻,可减少第1层与第2层混合的比例。冷冻温度和时间例如为-20℃下4小时。

[0199] 上述工序(3)中,首先,准备海藻酸的1价金属盐(以下,称为"第2海藻酸盐")的溶液和固化剂的溶液。第2海藻酸盐的溶液和固化剂的溶液可通过公知的方法或仿照其的方法进行调制。溶剂与上述工序(1)中所说明的溶剂相同。

[0200] 然后,通过在第1层之上将第2海藻酸盐的溶液和固化剂的溶液混合,可使第2海藻酸盐固化(凝胶化)。

[0201] 在上述工序(5)中,将上述工序(3)中所得的层合体冷冻干燥。

[0202] 冷冻干燥可通过公知的方法进行。首先,将层合体冷冻,冷冻温度和时间例如为-20℃下4小时。干燥的条件可适当调节,也可设置一次干燥工序、二次干燥工序等。

[0203] 通过这些工序,可得到生物体可应用的防粘连材料,所述防粘连材料包含:含有第1海藻酸盐和固化剂的第1层,和含有第2海藻酸盐和固化剂的第2层。

[0204] 需说明的是,关于制作防粘连材料的下层(与生物体损伤部位粘附的层)和上层(体腔(腹腔等)侧)的顺序,将哪一层作为第1层,并首先使其凝胶化都可以。

[0205] 或者,通过使第1海藻酸盐固化并冷冻干燥来制造第1层,另行地通过使第2海藻酸盐固化并冷冻干燥来制造海第2层,并将所得的各层进行贴合,也可得到层合体。

[0206] 各工序的具体说明与上述的方法相同。

[0207] 在使第1海藻酸盐和第2海藻酸盐固化时,通过使用所期望的大小、高度(厚度)和形状的容器、模具、基板、多孔膜、无纺布、织物等,可得到所期望的大小、高度(厚度)和形状的防粘连材料。

[0208] 优选防粘连材料进一步进行灭菌处理。灭菌可列举出γ射线灭菌、电子射线灭菌、环氧乙烷气体灭菌、乙醇灭菌等,但不限于这些。更优选防粘连材料通过电子射线和/或γ射线照射进行灭菌处理。通过将高分子材料利用γ射线、电子射线等进行照射处理,可得到优选地控制了在生物体内的保留性的生物体适合性高的医用材料(例如,参照日本特开2000-237294号)。

[0209] 作为进行电子射线和/或γ射线灭菌时的照射条件，例如可列举出吸收剂量为10kGy～150kGy，可列举出更优选为20kGy～100kGy，可列举出进一步优选为40kGy～80kGy。作为进行电子射线和/或γ射线灭菌时的照射条件的另外的优选方案，例如可列举出吸收剂量为20kGy～80kGy、20kGy～60kGy、40kGy～60kGy等。相比γ射线灭菌，优选电子射线灭菌。

[0210] 这样制造的防粘连材料，作为加压前的海绵状层合体，例如对平板状的形状若用长×宽×高度(厚度)表示，则长和宽的长度没有特别限定，高度(厚度)优选为0.2mm～30mm，更优选为0.3mm～15mm，进一步优选为0.5mm～10mm。进一步优选为不仅是此种高度(厚度)，而且长和宽的长度分别为1mm～300mm×1mm～300mm，特别优选为3mm～200mm×3mm～200mm，进一步优选为5mm～150mm×5mm～150mm。

[0211] 在若干方案中，进一步包括将上述工序(5)等中所得的层合体进行加压的工序。加压用手动来进行，或者通过用压机夹持层合体并加压来进行。另外，通常所用的压缩、薄层化等工序也包含在本发明所述的加压中。作为加压压力，例如可列举出1kPa～100MPa，可举出更优选为10kPa～80MPa、进一步优选为100kPa～60Mpa。用手动的加压是隔着可以对层合体均匀地施加压力的方式用手按压的物体例如亚克力尺、亚克力板、玻璃板、金属板等进行的。另外，作为所用的压机，例如可列举出热压机(ASONE株式会社制AH-1T)。

[0212] 6.使用方法

[0213] 防粘连材料通过应用于需要防粘连的对象而使用。优选防粘连材料通常在应用部位滞留用以发挥防粘连效果所需要的1周左右后被吸收分解，最终在1～2个月左右被代谢/排泄而消失，因此安全性优异。

[0214] 防粘连材料可应用于创伤部的表面，例如与外科手术相关的组织表面。

[0215] “与外科手术相关的组织”是指，外科手术中表面受到外伤的组织、或外科手术中由于表面干燥而产生炎症或者有产生炎症之虞的组织。与外科手术相关的组织优选为腹膜所包裹的脏器(例如，胃、空肠、回肠、阑尾、结肠、肝脏、脾脏、十二指肠和胰腺)。本发明的优选方案的防粘连材料可有效地防止如肝脏切除后所产生的粘连那样的重度粘连。

[0216] 另外，“应用”是指，将防粘连材料置于创伤部的表面(例如，与外科手术相关的组织表面)。具体而言，将防粘连材料置于创伤部侧的表面(例如，与外科手术相关的组织的表面)，以使防粘连材料的第1层的表面与创伤部侧的表面(例如，组织的表面)接触，且使第2层的表面朝向与创伤部侧的表面(例如，组织的表面)的相反侧(例如，腹腔侧)。例如，在以第1层的重均分子量比第2层高的方式制造防粘连材料的第1层和第2层的情况下，防粘连材料的第1层的重均分子量较高，因此在组织的表面残留对防粘连足够的时间而不溶解，作为创伤面的物理性屏障发挥作用。另一方面，第2层的重均分子量较低，因此迅速溶解并扩展，发挥防止非创伤面粘连的作用。

[0217] 优选防粘连材料与Seprafilm(商品名)相比柔软性高、不易破裂。因此，在优选方案中，防粘连材料不受应用的组织表面规定，例如肠道吻合时也可卷绕于肠道而使用。另外，在另外的优选方案中，即使在使用内窥镜的外科手术时，也可从手术器具在对象中进出的通路容易地插入。在另外的优选方案中，防粘连材料可重新粘贴。

[0218] 另外，优选防粘连材料与INTERCEED(商品名)相比，防粘连对象广泛。

[0219] 优选防粘连材料根据要应用的表面的范围、形状、凹凸等准备适当大小的材料，应

用于应该防粘连的与外科手术相关的组织表面。“对象”是指，人或人以外的生物，例如鸡和非人哺乳动物(例如，牛、猴、猫、小鼠、大鼠、豚鼠、仓鼠、猪、狗、兔、绵羊和马)。

[0220] 防粘连材料优选为经加压的片状制品。通过制成经加压的片状，可紧凑地汇集，因此，例如在内窥镜手术中可经由套管针等将防粘连材料比较容易地应用于患部。而且，应用于患部的防粘连材料优选吸收存在于患部的水分或者应用于患部的水分而恢复厚度。

[0221] 优选防粘连材料与Seprafilm(商品名)或INTERCEED(商品名)同样，可在对象中安全地使用。

[0222] 应用于与外科手术相关的组织表面之后，通常无需将防粘连材料和与外科手术相关的组织表面缝合，但根据需要，也可将防粘连材料和与外科手术相关的组织表面缝合。

[0223] 另外，提供防粘连方法，所述方法包括将防粘连材料应用于需要防粘连的对象。具体的方法如上所述。

[0224] 另外，提供层合体用于制造防粘连材料的用途。具体的用途如上所述。

[0225] 此外，提供用于防粘连的层合体。具体的层合体如上所述。

[0226] 此外，提供用于在将防粘连材料应用于对象的创伤部的防粘连中使用的海藻酸盐。具体的海藻酸盐如上所述。

[0227] 7.并用药物

[0228] 在将本发明的防粘连材料应用于与外科手术相关的组织之前、或者同时、或者之后，可给予链霉素、青霉素、妥布霉素、阿米卡星、庆大霉素、新霉素和两性霉素B等抗生素，阿司匹林、非类固醇性解热镇痛剂(NSAID)、对乙酰氨基酚等抗炎药等并用药物。这些药剂可混入到本发明的防粘连材料中使用。

[0229] 防粘连材料为多孔性且还具有吸水能力，因此例如与无孔性的Seprafilm(商品名)相比，基于用时调节的药物负载是容易的。通过使药剂溶液含浸于海绵状的防粘连材料中并进行给予，在腹腔、胸腔、心腔等中，可同时达成防粘连和药物的局部持续释放。此外，通过将药物负载于溶解速度不同的层，还能够以快速的持续释放速度和缓慢的持续释放速度来持续释放药物。

[0230] 需说明的是，在本说明书中引用的所有出版物、例如现有技术文献和公开公报、专利公报及其它的专利文献，其整体在本说明书中以参照方式并入。

[0231] 通过以下的实施例进一步详细叙述本发明，但本发明不应理解为限于这些实施例。

[0232] 实施例

[0233] 实施例1:海藻酸片的制造

[0234] 如下制造后述各实施例中所使用的实施例1的海藻酸层合海绵状组合物(海藻酸片)。

[0235] [试剂]

[0236] 用于制造海藻酸片的各试剂如下所示。

[0237] 低内毒素海藻酸钠从持田制药株式会社获取。

[0238] • AL10:(批号8B19202)，内毒素量2EU/g。

[0239] • AL500:(批号9J02121)，内毒素量12EU/g。

[0240] 氯化钙从和光纯药工业株式会社获取(商品代码:036-00485)。

[0241] 大塚蒸馏水从株式会社大塚制药工厂获取(商品代码:035206903)。

[0242] [使用仪器]

[0243] 树脂制方形托盘(内尺寸W65mm×D65mm×H10mm)

[0244] 自动分注装置(Musashi Engineering,Inc.)

[0245] 真空冷冻干燥机(型号:DFM-10C-04,ULVAC,Inc.)

[0246] [调制程序]

[0247] (1)溶液的调制

[0248] 使AL500溶解于大塚蒸馏水中至浓度为0.33%,调制AL500溶液。同样地,使AL10溶解在大塚蒸馏水中至浓度为1%,调制AL10溶液。此外,使氯化钙溶解在大塚蒸馏水中,分别调制4.0mM和9.6mM的氯化钙水溶液。

[0249] (2)AL500层(下层)的调制

[0250] 将7.0mL的AL500溶液和7.0mL的4.0mM氯化钙水溶液用自动分注装置,边均匀混合边加入到树脂制方形托盘中。

[0251] (3)AL10层(上层)的层合

[0252] 将7.0mL的AL10溶液和7.0mL的9.6mM氯化钙水溶液用自动分注装置,边均匀混合边加到(2)中所制造的AL500层(下层)之上。

[0253] (4)海绵状组合物的制造

[0254] 将包含(3)中所制造的两层的树脂制方形托盘安放在冷冻干燥器中,通过常规方法进行冷冻干燥,得到目标海藻酸层合海绵状组合物。

[0255] 目标海藻酸层合海绵状组合物包含:含有AL500和氯化钙的海绵状的下层(即,第1层)和含有AL10和氯化钙的海绵状的上层(即,第2层)。海藻酸层合海绵状组合物是1边为约65mm、厚度为约3mm的四边形。海藻酸钠在上层和下层中的使用量的总计为约93mg/片(后述表1中所记载的每72cm^2的量为约160mg)。另外,海藻酸钠在上层和下层中的使用量之比(重量比)为3:1。此外,氯化钙在上层和下层中的使用量的总计为约10mg/片(后述表1中所记载的每72cm^2的量为约18mg)。

[0256] (5)重均分子量的测定

[0257] 对于作为制造原料使用的海藻酸钠,通过以下的GPC-MALS法测定重均分子量。

[0258] [前处理方法]

[0259] 在试样中加入洗脱液进行溶解后,经0.45μm膜滤器过滤,将滤液作为测定溶液。

[0260] [测定条件(折射率增量(dn/dc)测定)]

[0261] 示差折射率计:Optilab T-rEX

[0262] 测定波长:658nm

[0263] 测定温度:40℃

[0264] 溶剂:200mM硝酸钠水溶液

[0265] 试样浓度:0.5～2.5mg/mL(5种浓度)

[0266] [测定条件(绝对分子量分布测定)]

[0267] 柱:TSKgel GMPW-XL×2+G2500PW-XL(7.8mm I.D.×300mm×3根)

[0268] 洗脱液:200mM硝酸钠水溶液

[0269] 流量:1.0mL/分钟

[0270] 浓度:0.05%

[0271] 检测器:RI检测器、光散射检测器(MALS)

[0272] 柱温度:40℃

[0273] 注入量:200μL

[0274] [结果]

[0275] AL10:55,000

[0276] AL500:280,000

[0277] 另外,将依据上述工序(1)、(2)和(4)的方法制造的含有AL10的单层海绵状组合物和含有AL500的单层海绵状组合物进行电子射线灭菌后,溶解于EDTA(乙二胺四乙酸)溶液中,通过GPC-MALS法分别测定分子量。结果如下所示。

[0278] [结果]

[0279] (电子射线灭菌的照射剂量为20kGy的情况)

[0280] AL10:36,000

[0281] AL500:75,000

[0282] (电子射线灭菌的照射剂量为40kGy的情况)

[0283] AL10:27,000

[0284] AL500:45,000

[0285] (6)基于对海绵状组合物进行加压的海藻酸片的制造

[0286] 将上述(4)中所得的海绵状组合物安放在压机(ASONE株式会社制,制品名AH-1T)中。以10Mpa的压力在室温下对海绵状组合物进行加压,保持5分钟。使用电子射线,通过常规方法将加压后的海绵状组合物(海藻酸片)灭菌。所得的海藻酸片作为实施例1,用于后述各实验例。

[0287] 需说明的是,将包含实施例1的各实施例和比较例所涉及的海藻酸片的配方与实验例2-2的结果等一起示出于表1中。

[0288] 实施例2～6:海藻酸片的制造

[0289] 除了将氯化钙的使用量的总量和氯化钙的上层/下层的使用量之比变更为表1的配方以外,通过与实施例1的海藻酸片的制造同样的方法,制造实施例2～6的海藻酸片。所制造的各实施例的海藻酸片用于后述各实验例。

[0290] 实施例7～9:海藻酸片的制造

[0291] 除了使用实施例1中所使用的AL10作为上层所使用的海藻酸,使用实施例1中所使用的AL500作为下层所使用的海藻酸,将上层和下层的海藻酸钠的使用量的总量、海藻酸钠的上层/下层的使用量之比变更为表1的配方,以及将氯化钙的使用量的总量和氯化钙的上层/下层的使用量之比变更为表1的配方以外,通过与实施例1的海藻酸片的制造同样的方法,制造实施例7～9的海藻酸片。所制造的各实施例的海藻酸片用于后述各实验例。

[0292] 实施例10和11:海藻酸片的制造

[0293] 除了使用实施例1中所使用的AL500作为上层所使用的海藻酸(即,上层和下层均使用AL500),将上层和下层的海藻酸钠的使用量的总量、海藻酸钠的上层/下层的使用量之比变更为表1的配方,以及将氯化钙的使用量的总量和氯化钙的上层/下层的使用量之比变更为表1的配方以外,通过与实施例1的海藻酸片的制造同样的方法,制造实施例10和11的

海藻酸片。所制造的各实施例的海藻酸片用于后述各实验例。

[0294] 实施例12和13:海藻酸片的制造

[0295] 作为海藻酸,使用实施例1中所使用的AL10和实施例1中所使用的AL500,按照表1的配方,依据实施例1的方法调制AL10溶液和AL500溶液,并将两者均匀混合。另外,依据实施例1的方法,调制氯化钙水溶液。海藻酸钠的使用量的总量和氯化钙的使用量的总量如表1的配方所示,依据实施例1的海藻酸片的制造的[调制程序](1)、(2)和(4)的方法,制造实施例12和实施例13的海藻酸片(单层)。所制造的各实施例的海藻酸片用于后述各实验例。

[0296] 比较例1～4:海藻酸片的制造

[0297] 除了在表1所示的组合中,使用实施例1中所使用的AL10或AL500作为上层所使用的海藻酸和下层所使用的海藻酸,将上层和下层的海藻酸钠的使用量的总量、海藻酸钠的上层/下层的使用量之比变更为表1的配方,以及将氯化钙的使用量的总量和氯化钙的上层/下层的使用量之比变更为表1的配方以外,通过与实施例1的海藻酸片的制造同样的方法,制造比较例1～4的海藻酸片。所制造的各比较例的海藻酸片用于后述各实验例。

[0298] 比较例5和6:海藻酸片的制造

[0299] 除了在表1所示的组合中,将氯化钙的使用量的总量和氯化钙的上层/下层的使用量之比变更为表1的配方以外,通过与实施例1的海藻酸片的制造同样的方法,制造比较例5的海藻酸片。另外,除了将氯化钙的使用量的总量变更为表1的配方以外,通过与实施例12的海藻酸片的制造同样的方法,制造比较例6的海藻酸片。所制造的各比较例的海藻酸片用于后述各实验例。

[0300] 实验例1-1:海藻酸片的溶解试验(琼脂的制造)

[0301] 制造后述实验例1-2中所使用的琼脂。具体的方法如下所示。

[0302] [材料]

[0303] • 琼脂(粉末)(和光纯药公司制,商品代码:010-0875)

[0304] • 纯水

[0305] • 生理盐水(光制药株式会社制)

[0306] [使用仪器]

[0307] • 微波炉(日本电气株式会社制,MC-E2)

[0308] • 琼脂制造专用托盘(Gel Maker Set-L,Mupid公司制)

[0309] [程序]

[0310] 首先,在300mL烧杯中加入200mL的纯水、4g的粉末琼脂,以不突沸的方式用微波炉加热2～3分钟,使琼脂(粉末)溶解。接着,用搅拌器搅拌琼脂(粉末),将溶液倒入琼脂制造专用托盘中。然后,降低温度,在室温下静置至琼脂凝固。然后,将所制造的琼脂在生理盐水中浸泡1夜以上,使生理盐水浸透到琼脂中。

[0311] 实验例1-2:海藻酸片的溶解试验(半浸渍试验)

[0312] 使用作为实施例1～13和比较例1～6所制造的海藻酸片,实施溶解试验。具体的方法如下所示。

[0313] [材料]

[0314] • 实验例1-1中所制造的琼脂

[0315] • 作为实施例1～13和比较例1～6所制造的海藻酸片

[0316] • 生理盐水(光制药株式会社制)

[0317] [使用仪器]

[0318] • 直径8mm活检环锯(Kai medical公司BP-80F(商品名))

[0319] • 直径10cm的盘(IWAKI公司,商品代码:3020-100)

[0320] • 100μm细胞过滤网(FALCON公司)

[0321] • 电子天平(岛津制作所,AUW220D(商品名))

[0322] • 振动器(TAITEC公司,TRIPLE SHAKER NR-80(商品名))

[0323] [程序]

[0324] 首先,作为事前的准备,为了将细胞过滤网的底部用作筛网,所以将细胞过滤网的侧面切掉,测量重量。另外,用活检环锯剜出作为实施例1～13和比较例1～6所制造的海藻酸片,测量重量。进而,将实验例2-1中所制造的琼脂切成1cm×1cm(厚度0.7cm)的尺寸。

[0325] 接着,将切好的琼脂放入到直径10cm的盘中,注入28mL的生理盐水。在琼脂之上放置载有各海藻酸片样品的筛网,将10cm盘载于振动器上,在振动数40次/分钟、振幅25cm、室温下开始振动。

[0326] 然后,每隔一定时间从10cm盘中取出筛网,将干燥的纸质拭布(KimWipes(商品名),NIPPON PAPER CRECIA Co.,LTD.制)放在筛网之下,除去水分至目视无法确认到筛网上的水滴后测定重量,根据需要拍摄外观照片,放回到10cm盘中。另外,测定重量后,向10cm盘中添加200μm的生理盐水。然后,在筛网上的样品完全溶解的时间点结束溶解试验。

[0327] [结果]

[0328] 将作为实施例1～13和比较例1～6所制造的海藻酸片在各测定时间的重量变化示出于图2～图20中。如图2～图12所示,实施例1～11的样品均满足(1)和(2)的条件。另外,如图13和14所示,单层结构的实施例12和13也满足(1)和(2)的条件。

[0329] 需说明的是,使氯化钙的使用量的总量比比较例1更多的比较例5和6的样品,在实验例1-2的溶解试验中,不满足(1)的条件。具体而言,该样品的样品重量达到低于0.01g所需时间超过了从试验开始起36小时。

[0330] 需说明的是,使氯化钙的使用量的总量比表1所示的量更多的样品,在实验例1-2的溶解试验中,不满足(1)和(2)的条件。具体而言,该样品的样品重量达到低于0.01g所需时间超过了从试验开始起36小时,样品重量达到最大重量所需时间超过了从试验开始起10小时。

[0331] [表1]

[0332]

	Ca				Alg				Alg/Ca比	加压厚度(μm)	溶解性(1)	溶解性(2)
	上层(mg)	下层(mg)	总量(mg)/72cm^2	上层/下层比	上层(mg)	下层(mg)	总量(mg)/72cm^2	上层/下层比				
实施例1	5.3	12.7	18	0.4	AL10 120mg	AL500 40mg	160	3	8.9	300	○	○
实施例2	1.8	12.7	14.5	0.1	AL10 120mg	AL500 40mg	160	3	11	300	○	○
实施例3	9	9	18	1	AL10 120mg	AL500 40mg	160	3	8.9	300	○	○
实施例4	3.5	14.5	18	0.2	AL10 120mg	AL500 40mg	160	3	8.9	300	○	○
实施例5	1.7	14.5	16.2	0.1	AL10 120mg	AL500 40mg	160	3	9.9	300	○	○
实施例6	5.3	9	14.3	0.6	AL10 120mg	AL500 40mg	160	3	11	300	○	○
实施例7	5.3	12.7	18	0.4	AL10 120mg	AL500 60mg	180	2	10	300	○	○
实施例8	3.5	9	12.5	0.4	AL10 80mg	AL500 80mg	160	1	13	300	○	○
实施例9	9	9	18	1	AL10 80mg	AL500 32mg	112	2.5	6.2	100	○	○
实施例10	3	13.5	16.5	0.2	AL500 100mg	AL500 60mg	160	1.7	9.7	300	○	○
实施例11	1	9	10	0.1	AL500 80mg	AL500 80mg	160	1	16	300	○	○
实施例12	-	-	18	-	AL10 120mg + AL500 40mg		160	-	8.9	300	○	○
实施例13	-	-	12.5	-	AL10 120mg + AL500 40mg		160	-	13	300	○	○
比较例1	13	9	22	1.4	AL10 120mg	AL500 40mg	160	3	7.3	300	○	○
比较例2	1	3	4	0.3	AL10 120mg	AL500 40mg	160	3	40	300	×	○
比较例3	9	9	18	1	AL10 80mg	AL10 240mg	320	0.3	18	10	×	○
比较例4	9	9	18	1	AL10 40mg	AL500 40mg	80	1	4.4	10	×	○
比较例5	70	30	100	2.3	AL10 120mg	AL500 40mg	160	3	1.6	300	×	○
比较例6	-	-	100	-	AL10 120mg + AL500 40mg		160	-	1.6	300	×	○

[0333] 表1所记载的各实施例、比较例中的换算成氯化钙的重量的Ca含量、换算成海藻酸钠的重量的海藻酸含量记载了每72cm^{2}防粘连材料中含有的含量，防粘连材料的尺寸可通过变更试剂的量和托盘的尺寸来适当调整。

[0334] 实验例2:大鼠部分肝脏切除模型

[0335] 使用大鼠部分肝脏切除模型，对粘连的形成进行评价。大鼠部分肝脏切除模型是可高再现性地观察引起重度炎症、且具有高强度的粘连形成的模型(Shimizu A等人，(2014)Surg Today.(44):314-323)。具体而言，如下对粘连的形成进行评价。

[0336] [材料]

[0337] 如上所述地准备实施例1～3、6～11以及比较例5和6的样品。

[0338] 通过与上述比较例1～4同样的方法准备比较例A的样品。需说明的是，进行了溶解试验，结果比较例A的样品的样品重量达到低于0.01g所需时间为52～55小时之间，不满足

条件(1)。

[0339] 准备阳性对照组所使用的Seprafilm(商品名)。Seprafilm是将羧基甲基纤维素(CMC)与透明质酸混合而得的片状材料,自Genzyme GmbH获取。

[0340] [实验组]

[0341] 对照组(n=8):使用钳子和双极电刀,分别对肝脏左叶从前端起离断约2cm、宽约3cm,对肝脏中间叶(内侧右叶:分叶中的右侧)从前端起离断约1cm、宽约2cm,制作肝切除后粘连模型(无处置对照组)。

[0342] 阳性对照组(n=8):将2×2cm的Seprafilm作为防粘连材料应用。

[0343] 实施例1～3、6～11组(n=1～8):将2×2cm的各实施例的样品作为防粘连材料应用。

[0344] 比较例5～6组(n=1～8):将2×2cm的各比较例的样品作为防粘连材料应用。

[0345] 比较例A组:将比较例A的样品作为防粘连材料应用。

[0346] [程序]

[0347] 将三联麻醉药以2.5mL/kg的容量对大鼠进行背部皮下给药以全身麻醉。以约5cm的腹部正中切开进行剖腹,拉出肝脏,用钳子和双极电刀分别对肝脏左叶从前端起离断约2cm、宽约3cm,对肝脏中间叶(内侧右叶:分叶中的右侧)从前端起离断约1cm、宽约2cm,制作肝切除后粘连模型。把持肝脏时,使用环形镊子。在对照组中,此后立即关闭腹部结束处置。在应用防粘连材料的组中,在左叶离断面应用防粘连材料。将肝脏放回到原来的位置后,将腹壁与皮肤分二次缝合而关闭腹部。缝合腹壁时使用生物降解线,缝合皮肤时使用非吸收线。自关闭腹部起一周后,将三联麻醉药以2.5mL/kg的容量对大鼠进行背部皮下给药以全身麻醉后,切割颈动脉,通过放血使其安乐死。然后,再次剖腹,如下对粘连进行评价。

[0348] [粘连的评价]

[0349] 如下,进行粘连的评价。

[0350] (1)离断面

[0351] 对于上述[程序]所记载的肝左叶离断面,进行以下的评价。

[0352] 粘连广度

[0353] 在宽3cm的肝左叶离断面中,用尺子(标尺)测量形成有粘连的宽度,用长度(单位:mm)表示(因此,离断面的最大广度为30mm)。

[0354] (2)非离断面

[0355] 对于肝离断面以外、具体而言肝表面、大网膜、腹膜、小肠、正中创口下方等,进行以下的评价。非离断面的粘连成为新生粘连的指标。

[0356] 粘连广度

[0357] 关于肝离断面以外的部位,对于形成有粘连的组织部分,用尺子(标尺)测量其粘接的宽度,用长度(单位:mm)表示。部位不特定,将所见的形成有粘连的宽度的最大值记录为该试验动物的粘连广度。

[0358] [结果]

[0359] 将离断面和非离断面的粘连的评价结果一起示出于图21中。

[0360] 在离断面中,各实施例组均可见与对照组和阳性对照组同等的、或与对照组和阳性对照组相比粘连得到抑制的倾向。另外,各实施例组与比较例A组和比较例5～6组相比,

粘连得到抑制。

[0361] 在非离断面中，与对照组以及比较例A组和比较例5～6组相比，确认到各实施例组的显著的粘连抑制效果。另外，各实施例群可见与阳性对照组同等的、或与阳性对照组相比粘连得到抑制的倾向。

[0362] 实验例3：小型猪脾脏/腹壁粘连模型

[0363] 使用小型猪腹壁缺损粘连模型，对防粘连材料的粘连的形成进行了评价。小型猪是腹腔内的状态接近人的实验动物，腹壁缺损粘连模型是可高再现性地观察粘连的形成的模型。具体而言，如下对粘连的形成进行评价。

[0364] [材料]

[0365] 如上所述地准备实施例1、4和比较例1的样品。

[0366] 自Genzyme GmbH获取阳性对照组所使用的Seprafilm(商品名)。

[0367] [实验组]

[0368] 对照组(n＝6)：进行与下述程序相同的处置，不应用防粘连材料而关闭腹部，作为对照组(无处置对照组)。

[0369] 阳性对照组(n＝4)：将3片6×6cm的Seprafilm作为防粘连材料应用。

[0370] 实施例1、4组(n＝3～4)：将各实施例的样品(6×6cm，各3片)作为防粘连材料应用。

[0371] 比较例1组(n＝4)：将比较例1的样品(6×6cm，3片)作为防粘连材料应用。

[0372] [程序]

[0373] 将雌性小型猪(自Fuji Micra，Inc.购入，体重25.8～31.1kg)分入各组。进行了阿托品(0.05mg/kg)的前给药后，将盐酸氯胺酮(15mg/kg，Daiichi Sankyo Propharma Co.，Ltd.)和赛拉嗪(3mg/kg，Bayer Yakuhin，Ltd.)的混合液肌内给药来进行麻醉。根据需要在人工呼吸管理下(呼吸次数：10～15次/分钟和潮气量：5～15ml/kg/次)进行日本药局方(日本药典)异氟烷(Mylan Seiyaku，Ltd.)的吸入麻醉。载气为氧，在气化器中维持异氟烷为1～3％的浓度。用推子对术野的正中部的广范围进行剃毛，用微温水洗涤后，用消毒用酒精(和光纯药工业(株))和动物用Isodine液(Mundipharma K.K.，1mL中日本药局方聚维酮碘20mg)进行消毒。使用单极电刀等进行剖腹后，露出脾脏和胃并固定。用干板刷(dry-scrubber，已灭菌一次性刷)物理性地擦脾脏和胃的表面，对腹膜使用手术刀和剪子切除开放创口部的腹腔侧并剥离，以制作粘连模型。在与腹膜剥离部位相对的擦过部位及其附近粘附各1片的防粘连材料，确认不动后，将脏器放回到原来的位置，在腹膜切开部位正下方静置1片防粘连材料，将腹膜、肌层、皮下组织、皮肤缝合。

[0374] 在模型制作第7天，在氯胺酮麻醉下切割腋动/静脉进行放血处死。剖腹后，确认腹腔内的粘连，然后用数码相机对模型制作部位及其周围进行拍照。对于模型制作部位的粘连状态的评价以肉眼评分计，测定大小用于面积测定，用数码相机拍照作为记录。在脾脏和胃的擦过部位的模型制作面摘除粘连面和模型制作部位后，再次进行拍照。

[0375] [粘连的评价]

[0376] 如下所示，进行粘连的评价。

[0377] 肉眼观察粘连评分、粘连长度、粘连面积等，并拍照记录。

[0378] 粘连评分0：无粘连，指没有粘连的状态。

[0379] 粘连评分1:有粘连,可通过自重而剥离。指仅通过单手拿起脏器(翻动的程度)就使粘连剥离的状态。

[0380] 粘连评分2:有粘连,能够钝性剥离。指用双手拉伸粘连的两端而使粘连剥离的状态。

[0381] 粘连评分3:有粘连,不能钝性剥离。指用双手拉伸粘连的两端而使粘连剥离前组织受到损伤的状态(需要使用手术刀或剪子的状态)。

[0382] 测定各评分的粘连面积,比较评分1、评分2、评分3的粘连面积的总和。

[0383] [结果]

[0384] 将左右腹壁缺损部的评分1、评分2、评分3的粘连面积的总和的结果示出于图22中。

[0385] 如图22所示,实施例1组和实施例4组与对照组、阳性对照组、比较例1相比,防粘连材料的应用部位(局部)的粘连均得到抑制。由该结果可确认,本发明的防粘连材料即使在大型动物中也发挥优异的防粘连效果。

[0386] 另外,将医疗上成问题的牢固粘连的腹腔内整体的评分3的粘连的结果示出于图23中。

[0387] 如图23所示,实施例1组和实施例4组与对照组、阳性对照组、比较例1组相比,即使在防粘连材料的应用部位的周边部也均可显著抑制粘连。由该结果可确认,本发明的防粘连材料即使在大型动物中也发挥优异的防粘连效果。

[0388] 实验例4:小型猪二期肝切除模型

[0389] 使用小型猪二期肝切除模型,对粘连的形成进行评价。小型猪二期肝切除模型是可高再现性地观察引起重度炎症、且具有高强度的粘连形成的模型。具体而言,如下对粘连的形成进行评价。

[0390] [材料]

[0391] 如上所述地准备比较例3和4的样品。

[0392] 由Genzyme GmbH获取阳性对照组所使用的Seprafilm(商品名)。

[0393] [实验组]

[0394] 对照组(n=5):进行与下述程序同样的处置,不应用防粘连材料而关闭腹部,作为对照组(无处置对照组)。

[0395] 阳性对照组(n=5):将3片6×6cm的Seprafilm(1次量)作为防粘连材料应用2次。

[0396] 比较例3和4组(n=5):将比较例3和4的样品(6×6cm、3片、1次量)作为防粘连材料应用2次。

[0397] [程序]

[0398] 将雄性小型猪(自Fuji Micra,Inc.购入,体重22～28kg)分入各组。进行了阿托品(0.05mg/kg)的前给药后,将盐酸氯胺酮(15mg/kg,Daiichi Sankyo Propharma Co.,Ltd.)和赛拉嗪(3mg/kg,Bayer Yakuhin,Ltd.)的混合液肌内给药来进行麻醉。根据需要在人工呼吸管理下(呼吸次数:10～15次/分钟和潮气量:5～15ml/kg/次)进行日本药局方异氟烷(Mylan Seiyaku,Ltd.)的吸入麻醉。载气为氧,在气化器中维持异氟烷为1～3%的浓度。用推子对术野的正中部的广范围进行剃毛,用微温水洗涤后,用消毒用酒精(和光纯药工业(株))和动物用Isodine液(Mundipharma K.K.,1mL中日本药局方聚维酮碘20mg)进行消毒。

使用单极电刀等进行剖腹后，露出肝脏并固定。第1期(第1次剖腹时)部分切除左叶(LL)。第2期(第2次剖腹时)部分切除中叶(ML)。需说明的是，第1期以使肝脏的离断面为长径约8cm的方式进行切除，第2期以使离断面为长径约10cm的方式进行切除。离断结束后，在LL表面、ML表面、肝门部各粘贴1片(6×6cm)、共计3片(每1头108cm^2)的防粘连材料，将腹膜、肌层、皮下组织、皮肤缝合。

[0399] 第2期的肝部分切除、防粘连材料的粘贴与上述同样，从第1期起2周后进行。

[0400] 在模型制作第28天在氯胺酮麻醉下切割腋动/静脉进行放血处死。剖腹后，确认腹腔内的粘连，然后用数码相机对模型制作部位及其周围进行拍照。对于模型制作部位的粘连状态的评价以肉眼评分计，测定大小用于面积测定，用数码相机拍照作为记录。

[0401] [粘连的评价]

[0402] 与实验例3同样地进行粘连的评价。

[0403] [结果]

[0404] 将粘连的评价结果示出于图24中。

[0405] 如图24所示，比较例3组和比较例4组与对照组相比，粘连稍微得到抑制，但与阳性对照组相比粘连的范围扩大。由该结果可确认，在溶解试验中不满足(1)和/或(2)的防粘连材料在大型动物中的防粘连效果低。

[0406] 实验例5:大鼠部分肝切除模型

[0407] 依据实验例2，使用大鼠部分肝切除模型，对粘连的形成进行评价。

[0408] [材料]

[0409] 如上所述地准备实施例1、实施例12的样品。

[0410] 如上所述地准备阳性对照组所使用的2Seprafilm(商品名)。

[0411] [实验组]

[0412] 对照组(n＝8):使用钳子和双极电刀从肝脏左叶的前端起离断约2cm、宽约3cm，制作肝切除后粘连模型(无处置对照组)。

[0413] 阳性对照组(n＝8):将2×2cm的Seprafilm作为防粘连材料应用。

[0414] 实施例1、实施例12组(各n＝8):将2×2cm的各实施例的样品作为防粘连材料应用。

[0415] 实施例1(A):粘贴在离断面，

[0416] 实施例1(B):粘贴在离断面附近，

[0417] 实施例12(A):粘贴在离断面，

[0418] 实施例12(B):粘贴在离断面附近。

[0419] [程序]

[0420] 将三联麻醉药以2.5mL/kg的容量对大鼠背部皮下给药来进行全身麻醉。以约5cm的腹部正中切开进行剖腹，拉出肝脏，用钳子和双极电刀从肝脏左叶的前端起离断约2cm、宽约3cm，制作肝切除后粘连模型。把持肝脏时，使用环形镊子。在对照组中，此后立即关闭腹部结束处置。在应用防粘连材料的组中，在左叶离断面(阳性对照、实施例1(A)、实施例12(A))或左叶离断面的附近(实施例1(B)、实施例12(B))应用防粘连材料。将肝脏放回到原来的位置后，将腹壁与皮肤分二次缝合而关闭腹部。缝合腹壁时使用生物降解线，缝合皮肤时使用非吸收线。自关闭腹部起一周后，将三联麻醉药以2.5mL/kg的容量对大鼠背部皮下给

药来进行全身麻醉后，切割颈动脉，通过放血使其安乐死。然后，再次剖腹，如下对粘连进行评价。

[0421] [粘连的评价]

[0422] 如下，进行粘连的评价。

[0423] (1)离断面(基于粘连等级的粘连强度)

[0424] 粘连的评价通过目视来进行。对于肝离断面以外的部位，基于下述评分法记粘连评分。部位不特定，将所见的粘连评分的最大值作为该试验动物的粘连评分进行记录。

[0425] 粘连评分：

[0426] 等级0：完全观察不到粘连。

[0427] 等级1：通过自重而剥离的程度的粘连(生理性粘连)。

[0428] 等级2：通过镊子可剥离的粘连(钝性粘连)。

[0429] 等级3：若不使用剪刀、手术刀则无法剥离的粘连(锐性粘连)。

[0430] (2)离断面(广度)

[0431] 对于上述[程序]中所记载的肝左叶离断面，进行以下的评价。

[0432] 粘连广度

[0433] 在宽3cm的肝左叶离断面中，用尺子(标尺)测量形成有粘连的宽度，用长度(单位：mm)表示(因此，离断面的最大广度为30mm)。

[0434] [结果]

[0435] 对于粘连的评价结果，粘连强度示出于图25中，广度示出于图26中。

[0436] 如图25所示す，在对照组中，在全部实例中均确认到医疗上成问题的牢固粘连即等级3的粘连，与此相对，在实施例1(B)和实施例12(A)中，8例中的各1例为等级2的粘连，确认到粘连强度的降低倾向。可见特别显著的效果的是实施例1(A)，8例中的3例为等级0(完全观察不到粘连)，确认到粘连强度显著降低。

[0437] 如图26所示，在肝离断面粘贴样品的实施例1(A)和实施例12(A)中，可见肝离断面的粘连长度显著降低，确认到优异的防粘连效果。另外，在避开肝离断面而在其附近粘贴样品的实施例1(B)和实施例12(B)中，确认到与在肝离断面粘贴样品的情况相比，虽然防粘连效果稍微降低，但可得到与阳性对照同等程度的防粘连效果。

[0438] 由以上结果可确认，本发明的防粘连材料作为需要多次手术的肝癌等的手术时使用的防粘连材料，发挥优异的防粘连效果。另外，在担心离断面处胆汁漏的病例中，确认到通过避开离断面而粘贴在离断面附近，也可得到与阳性对照同等程度的防粘连效果。

[0439] 需说明的是，代替实施例12的样品，使用实施例13的样品进行试验的情况下，也可得到与实施例12的样品同样的结果。

[0440] 符号说明

[0441] 1 防粘连材料

[0442] 2 第1层

[0443] 3 第2层

[0444] 4 层合体

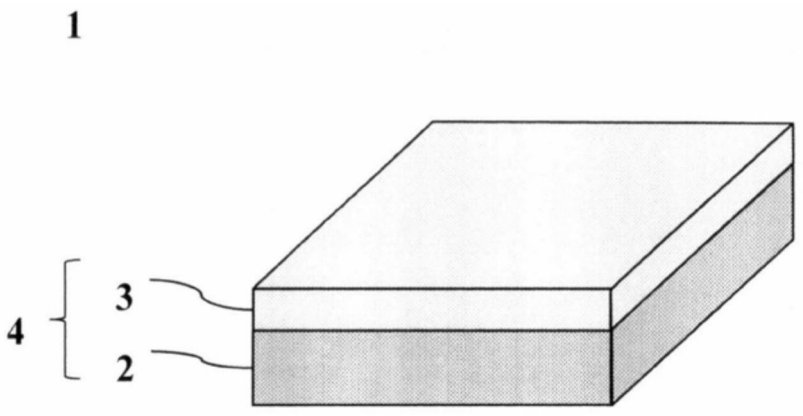

1
3
4
2

图1

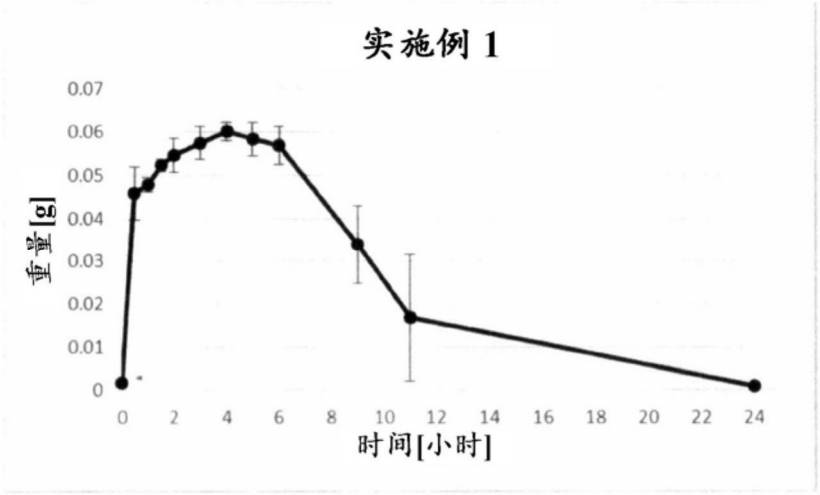

实施例 1
重量[g]
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24
时间[小时]

图2

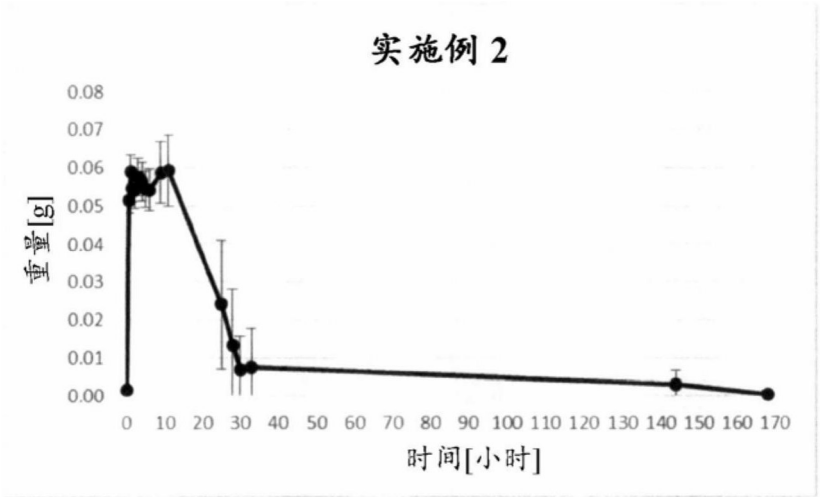

实施例 2
重量[g]
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
0 10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 170
时间[小时]

图3

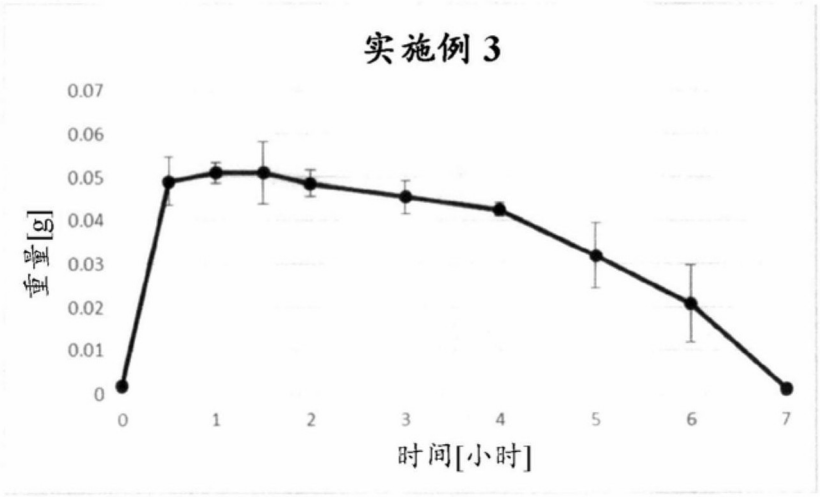

实施例 3
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
重量[g]
0
1
2
3
4
5
6
7
时间[小时]

图4

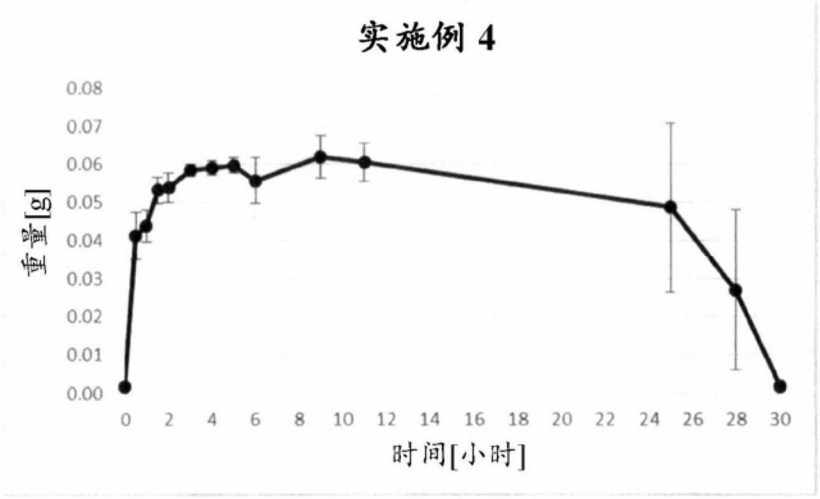

实施例 4
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
重量[g]
0
2
4
6
8
10
12
14
16
18
20
22
24
26
28
30
时间[小时]

图5

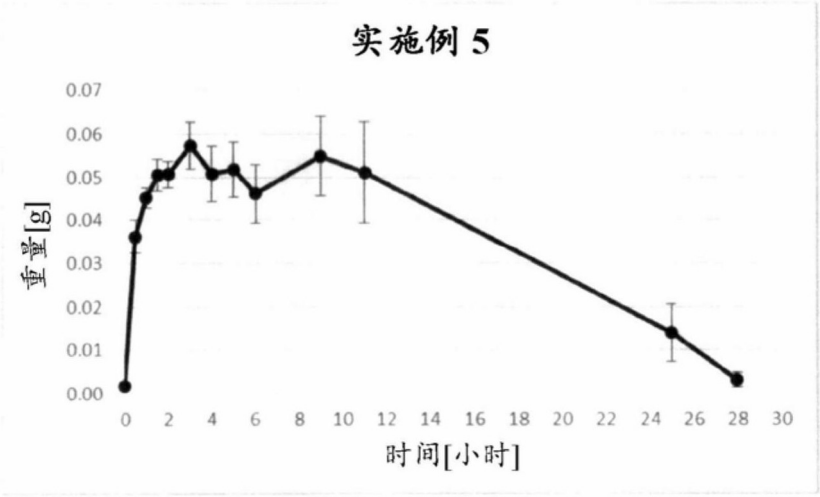

实施例 5
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0.00
[g]重量
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30
时间[小时]

图6

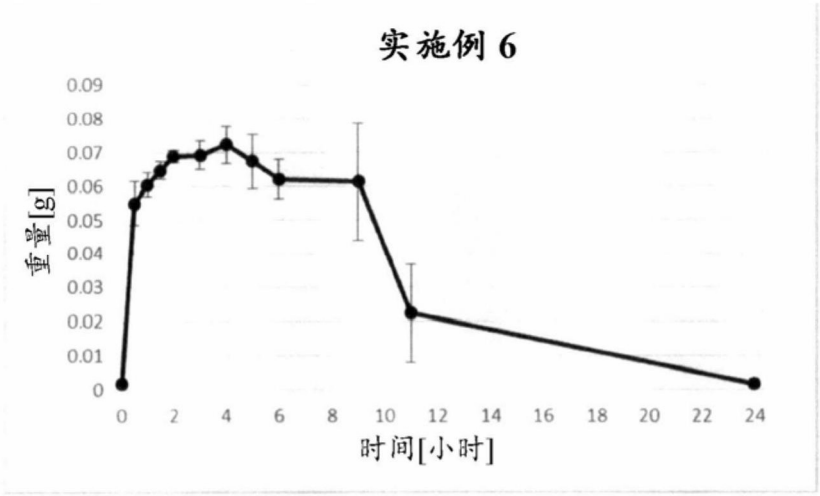

实施例 6
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
[g]重量
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24
时间[小时]

图7

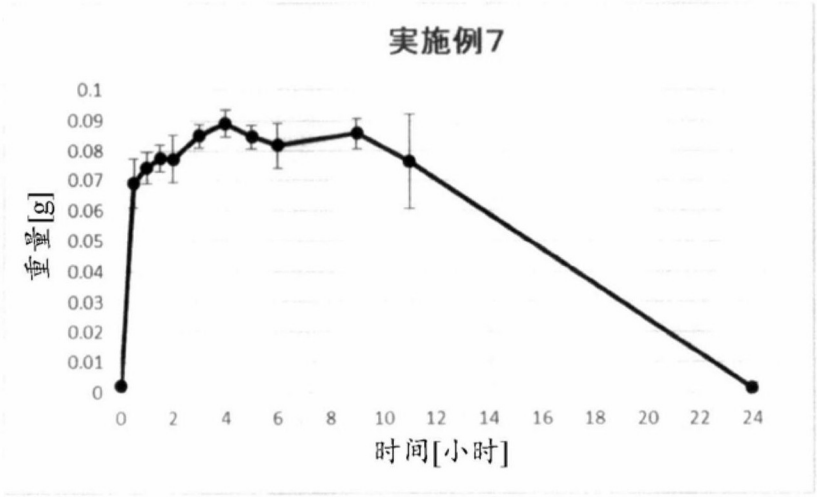

实施例7
0.1
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
[g]量事
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24
时间[小时]

图8

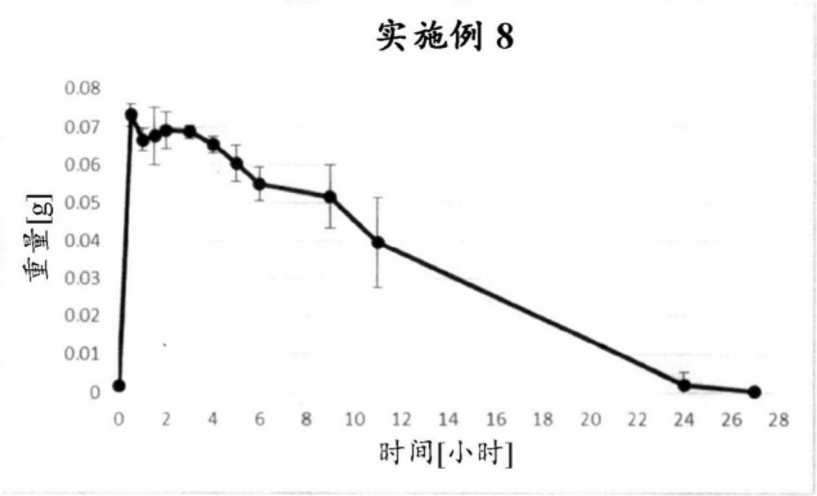

实施例 8
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
[g]量事
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28
时间[小时]

图9

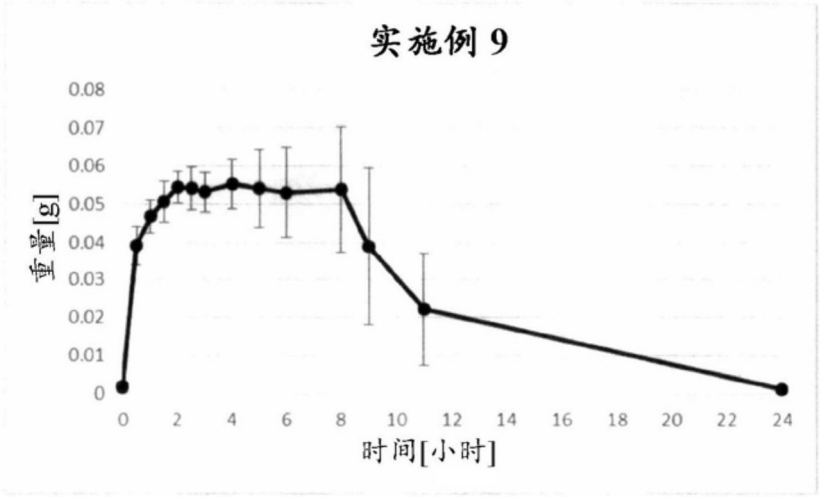

实施例 9
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
[g]量重
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24
时间[小时]

图10

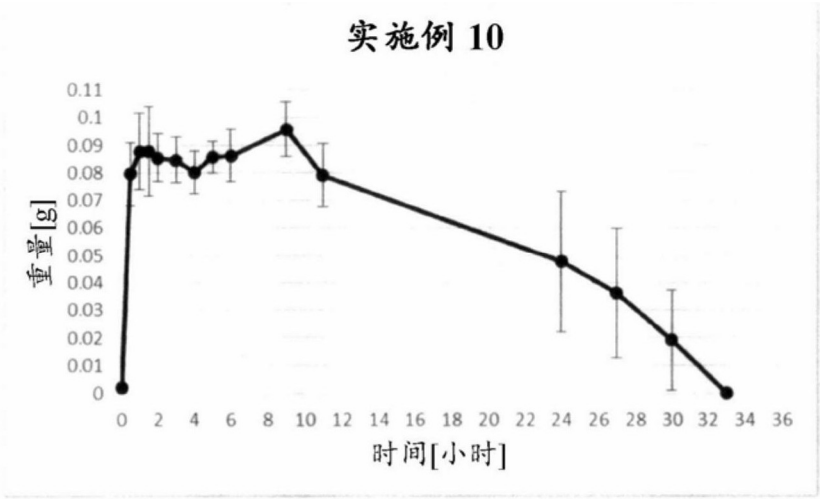

实施例 10
0.11
0.1
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
[g]量重
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36
时间[小时]

图11

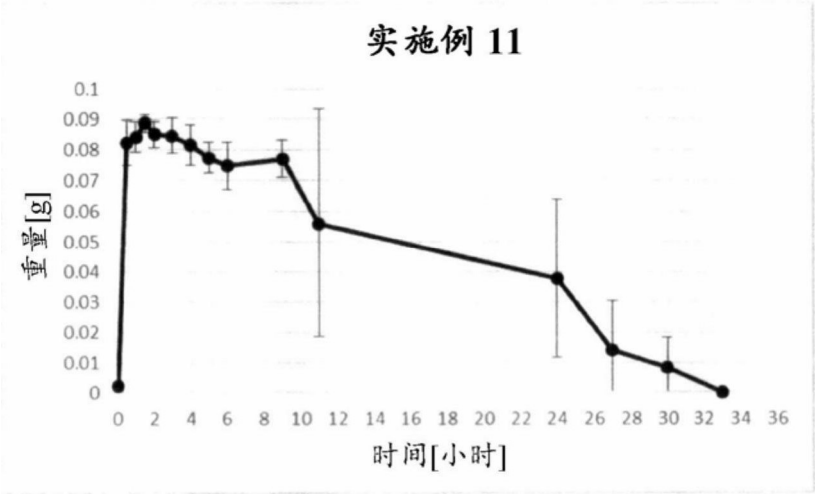

实施例 11
0.1
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
重量[g]
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 32 34 36
时间[小时]

图12

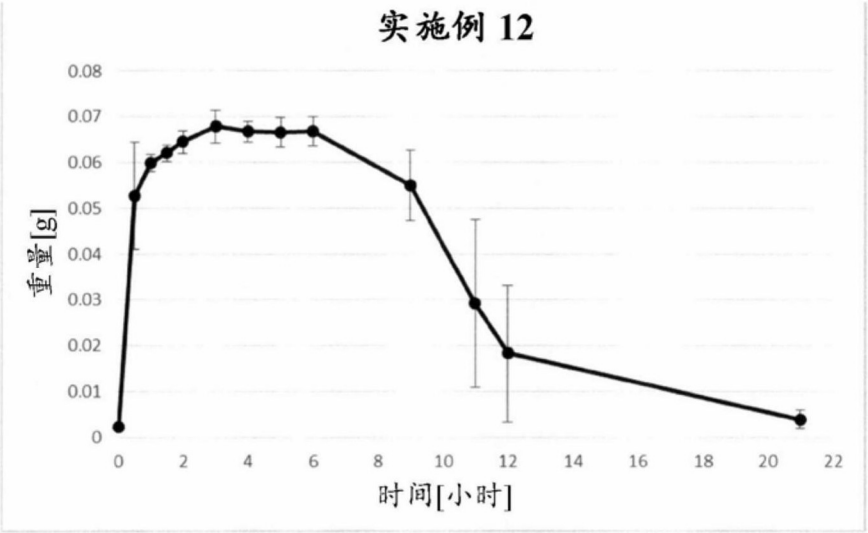

实施例 12
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
重量[g]
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22
时间[小时]

图13

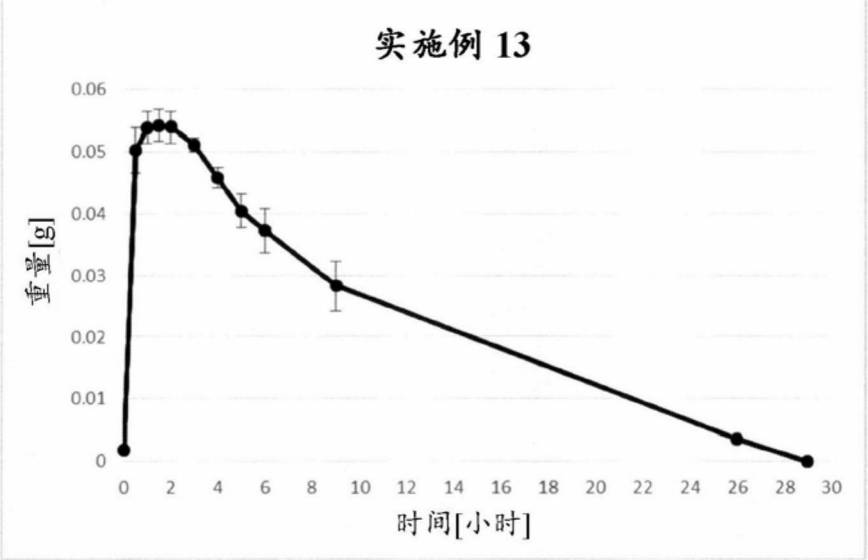

实施例 13
重量[g]
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30
时间[小时]

图14

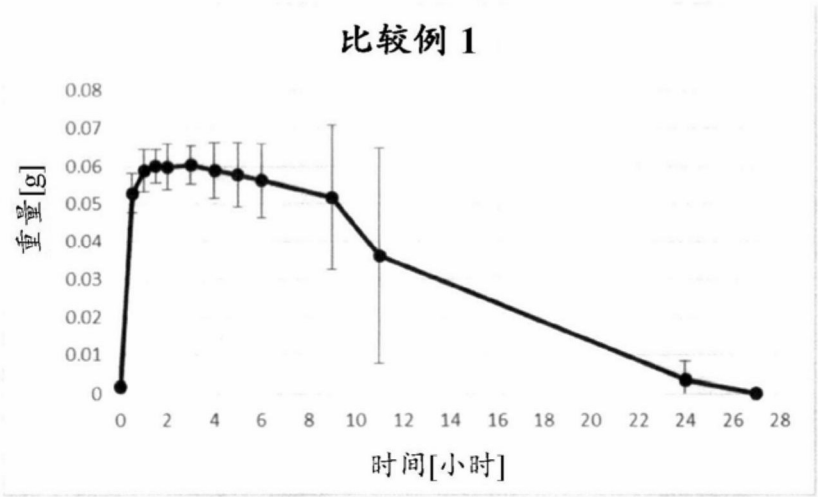

比较例 1
重量[g]
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28
时间[小时]

图15

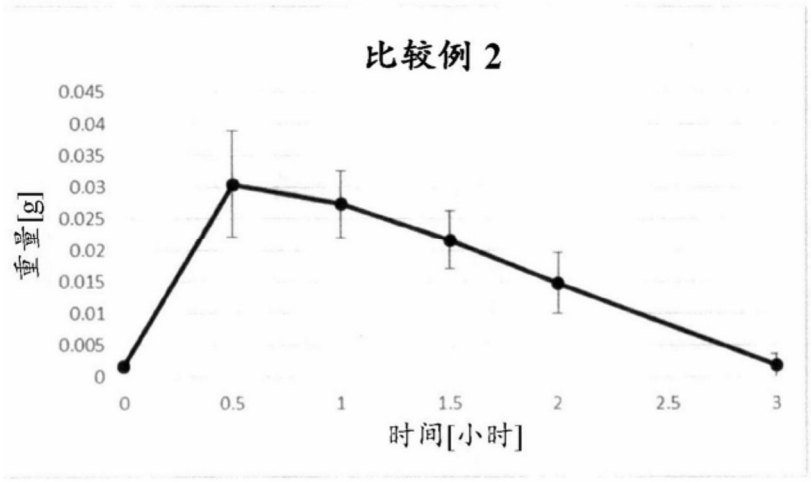

比较例 2
重量[g]
0.045
0.04
0.035
0.03
0.025
0.02
0.015
0.01
0.005
0
0
0.5
1
1.5
2
2.5
3
时间[小时]

图16

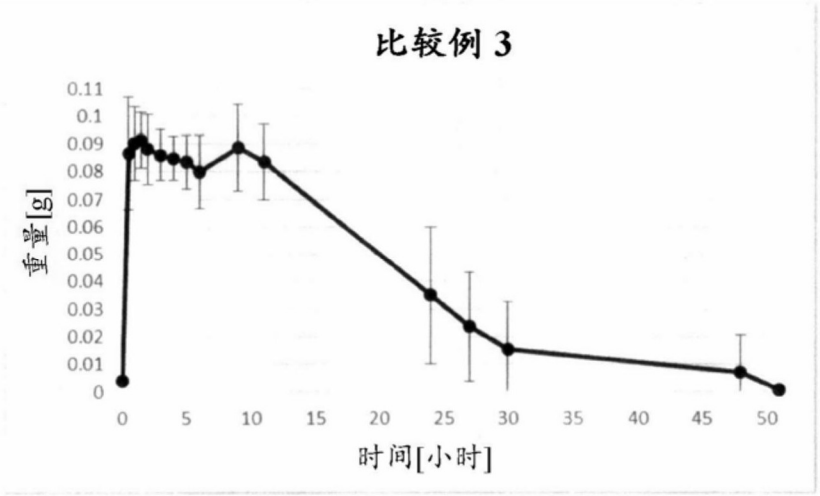

比较例 3
重量[g]
0.11
0.1
0.09
0.08
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
时间[小时]

图17

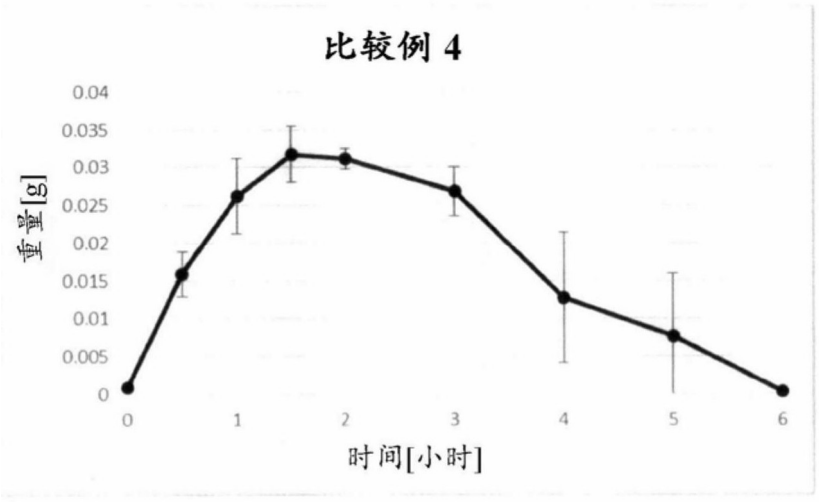

比较例 4
0.04
0.035
0.03
0.025
0.02
0.015
0.01
0.005
0
重量[g]
0
1
2
3
4
5
6
时间[小时]

图18

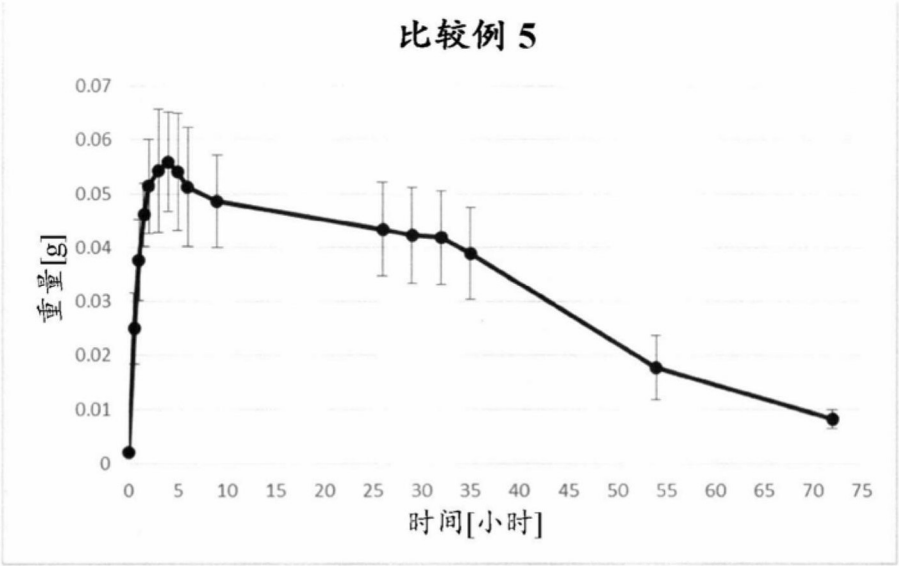

比较例 5
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
重量[g]
0
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65
70
75
时间[小时]

图19

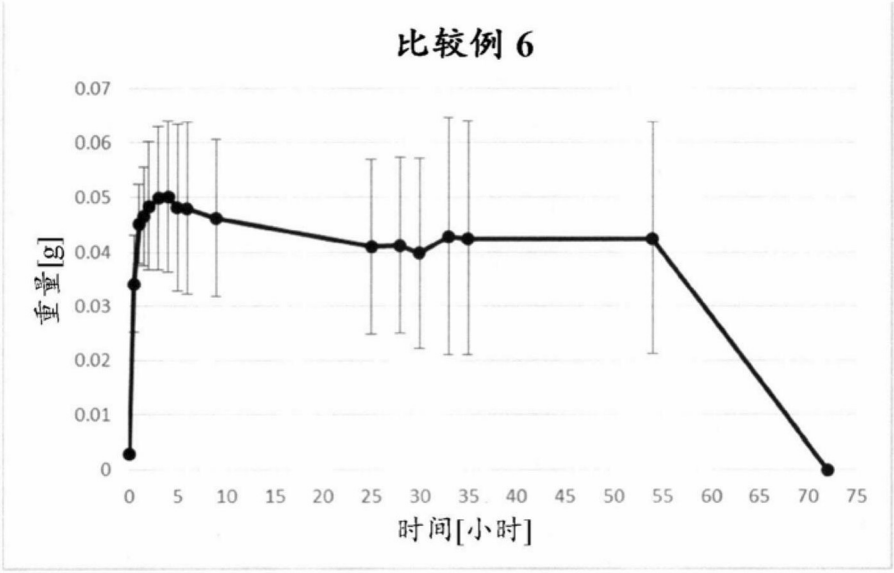

比较例 6
重量[g]
0.07
0.06
0.05
0.04
0.03
0.02
0.01
0
0 5 10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75
时间[小时]

图20

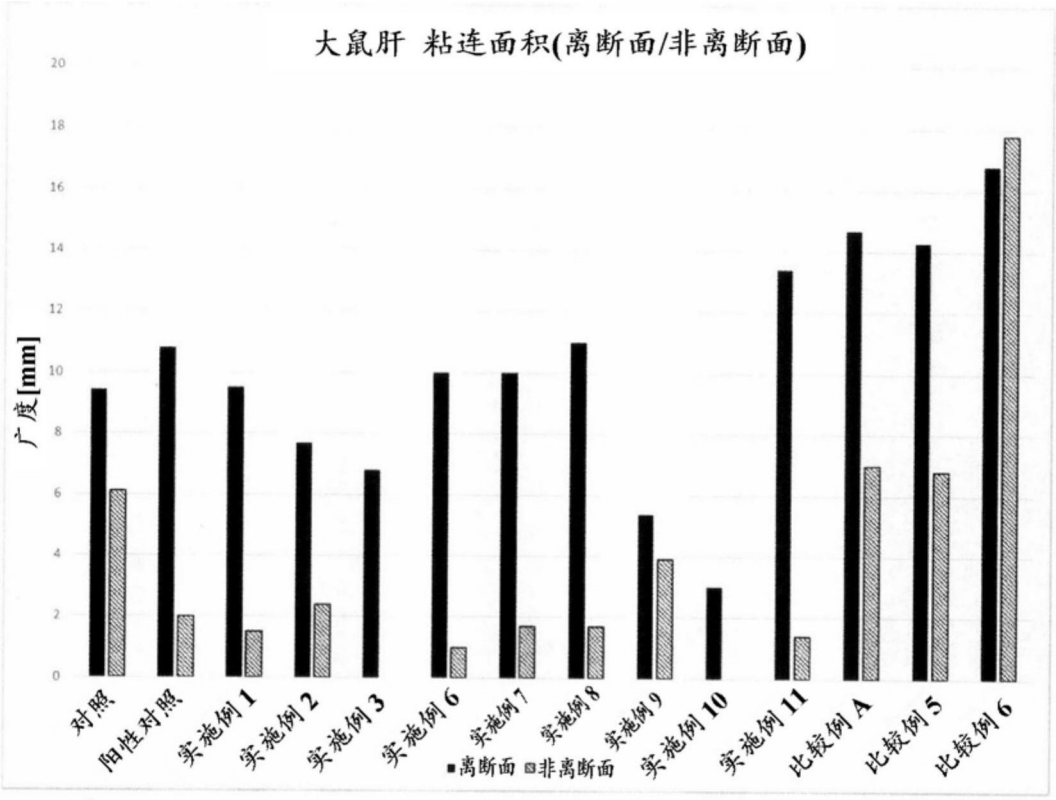

大鼠肝 粘连面积(离断面/非离断面)
广度[mm]
20
18
16
14
12
10
8
6
4
2
0
对照
阳性对照
实施例 1
实施例 2
实施例 3
实施例 6
实施例 7
实施例 8
实施例 9
实施例 10
实施例 11
比较例 A
比较例 5
比较例 6
离断面
非离断面

图21

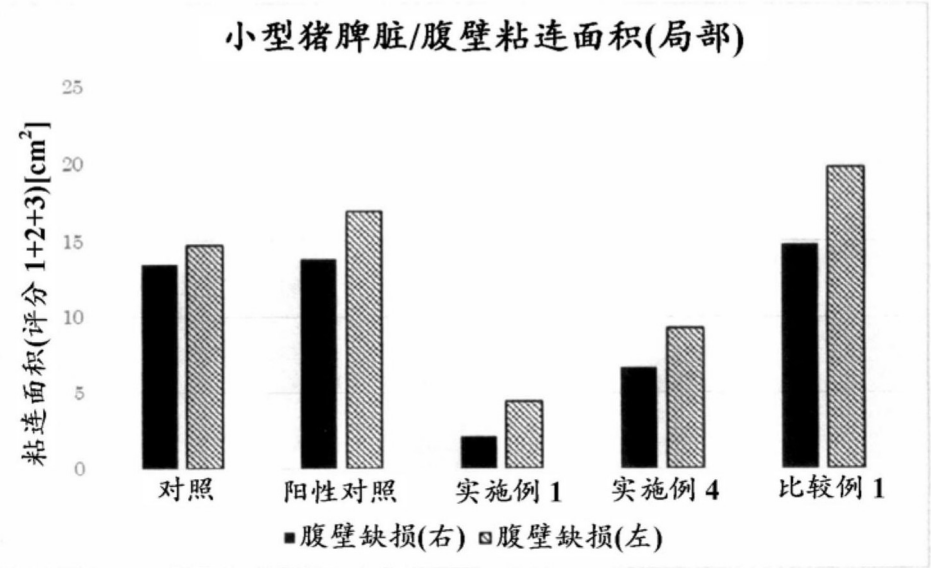

小型猪脾脏/腹壁粘连面积(局部)
粘连面积(评分 1+2+3)[cm²]
25
20
15
10
5
0
对照
阳性对照
实施例 1
实施例 4
比较例 1
腹壁缺损(右)
腹壁缺损(左)

图22

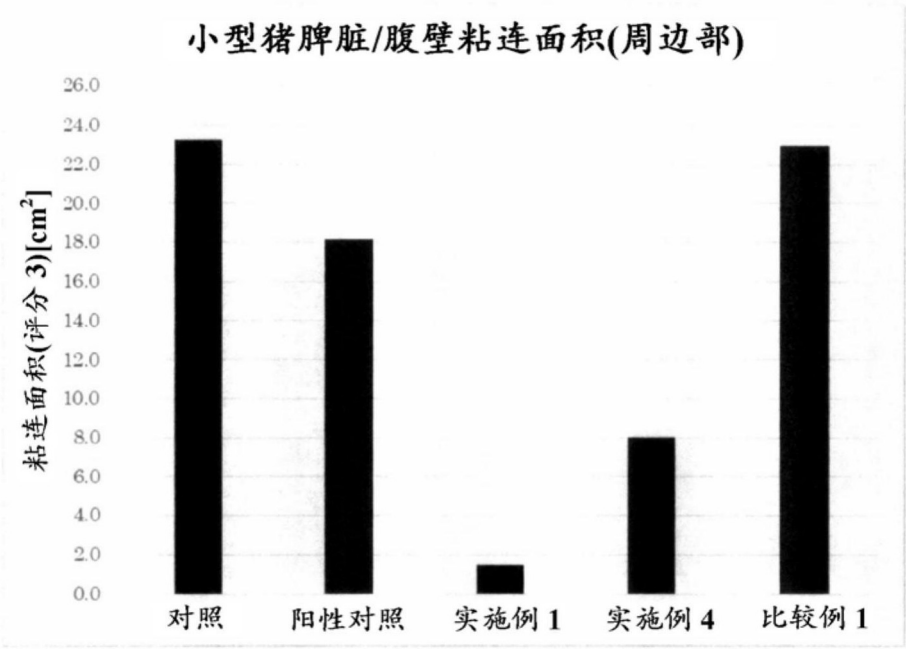

小型猪脾脏/腹壁粘连面积(周边部)
粘连面积(评分 3)[cm²]
26.0
24.0
22.0
20.0
18.0
16.0
14.0
12.0
10.0
8.0
6.0
4.0
2.0
0.0
对照
阳性对照
实施例 1
实施例 4
比较例 1

图23

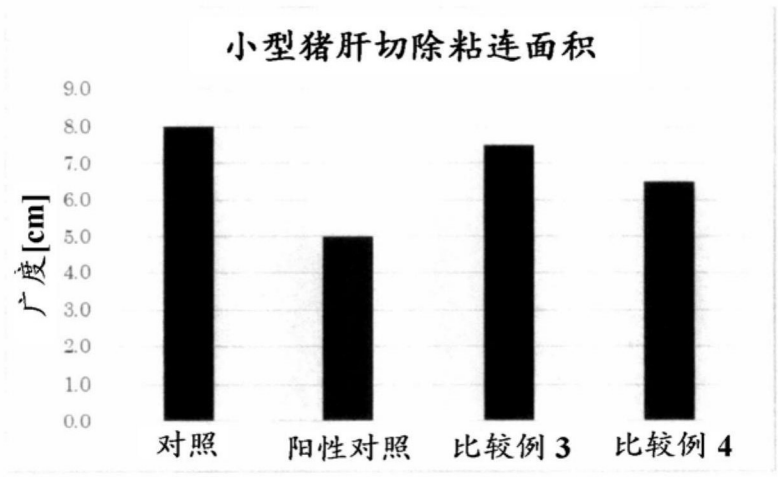

小型猪肝切除粘连面积
广度[cm]
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
对照
阳性对照
比较例 3
比较例 4

图24

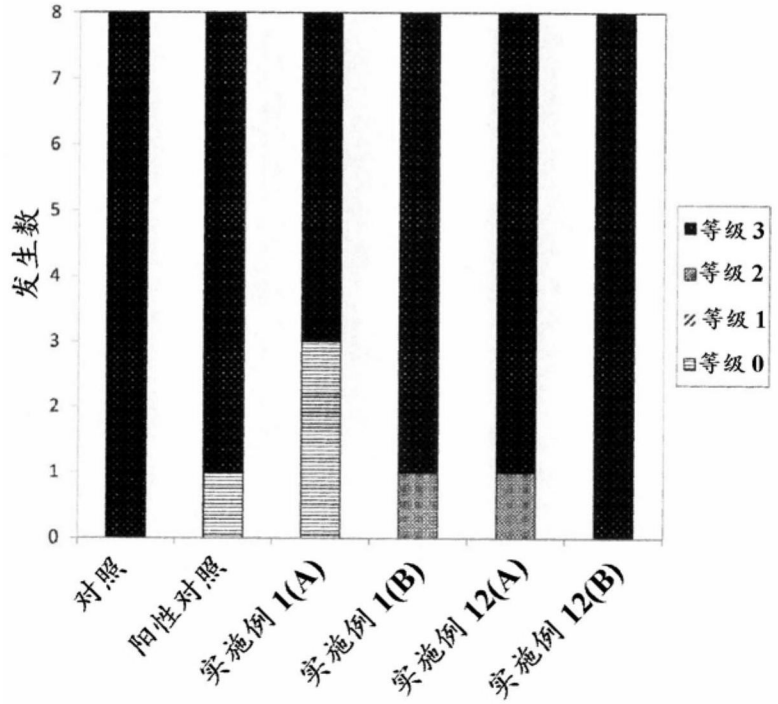

发生数
8
7
6
5
4
3
2
1
0
等级 3
等级 2
等级 1
等级 0
对照
阳性对照
实施例 1(A)
实施例 1(B)
实施例 12(A)
实施例 12(B)

图25

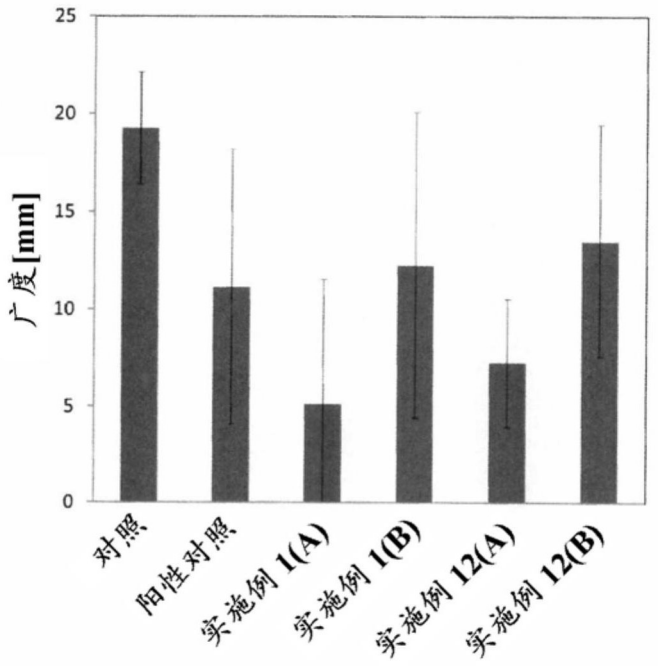


图26