

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2007年1月11日 (11.01.2007)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2007/004675 A1

- (51) 国際特許分類:
A61K 47/48 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61K 31/192 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2006/313412
- (22) 国際出願日: 2006年7月5日 (05.07.2006)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2005-198176 2005年7月6日 (06.07.2005) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 生化学工業株式会社 (SEIKAGAKU CORPORATION) [JP/JP]; 〒1000005 東京都千代田区丸の内一丁目6番1号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 宮本 建司 (MIYAMOTO, Kenji) [JP/JP]; 〒2070021 東京都東大和市立野三丁目1253 生化学工業株式会社 中央研究所内 Tokyo (JP). 安田 洋祐 (YASUDA, Yousuke) [JP/JP]; 〒2070021 東京都東大和市立野三丁目1253 生化学工業株式会社 中央研究所内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 多田 公子, 外 (TADA, Kimiko et al.); 〒1000013 東京都千代田区霞が関3丁目6番15号 グローリアビル9F Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: DRUG-CONTAINING PHOTOCROSSLINKED HYALURONIC ACID DERIVATIVE GEL

(54) 発明の名称: 薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル

(57) Abstract: A drug-containing photocrosslinked hyaluronic acid derivative gel which is a photocrosslinked hyaluronic acid gel containing a drug introduced through covalent bonding and has such properties that the gel can be pressed out from an injecting device. The drug-containing photocrosslinked hyaluronic acid derivative gel can be pressed out, for example, through a 20-25 gauge injection needle at a pressure of 0.5-5 kg/cm².

(57) 要約: 薬剤を共有結合により導入した光架橋ヒアルロン酸ゲルであって、注入具より押し出し可能な性状である薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。該薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルは、例えば、20~25ゲージの注射針により、0.5~5 kg/cm²の圧力で押し出し可能である。



WO 2007/004675 A1

明 細 書

薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル

技術分野

[0001] 本発明は、光架橋ヒアルロン酸に薬剤が共有結合により導入された薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルに関する。また本発明は、薬剤と光反応性基が導入された薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体に関する。

背景技術

[0002] 疾患部位に注射器などの注入用具で直接投与することが可能で、十分な量の薬剤を保持することができ、また疾患部位に滞留して薬剤を長期間にわたって放出することができる徐放性を有し、かつ生体に対して安全なドラッグデリバリーシステム(以下、DDSとも言う)が利用可能であれば、変形性関節症、慢性関節リウマチなどの整形外科的疾患、腫瘍などの治療に極めて有用である。

[0003] ヒアルロン酸(以下、HAとも言う)やグリコサミノグリカン(以下、GAGとも言う)などの生体由来の多糖類は生体適合性が高く、これまでこれらの多糖類を利用したDDSが種々提案されてきた。

[0004] 例えば、架橋したヒアルロン酸に薬剤を混合したり、水和させたりすることにより、架橋体中に薬剤を包括させた物質を、DDSの基材や徐放用製剤として用いる試みがなされ、報告されている(特許文献1など)。これらにおいては、架橋したHAあるいは架橋したGAGと薬剤とがイオンの作用により複合体を形成しており、薬剤を保持する力は弱く、生体内に投与すると薬剤が短時間で放出されてしまう欠点があり、薬剤を徐放する用途や薬剤を目的患部まで輸送させるためのDDS用途に関し、十分な効果が得られなかった。

[0005] これに対し、上記のような多糖類に共有結合により薬剤を結合した材料も提案されており、HAのカルボキシ基にエステル結合により薬剤を結合したHA誘導体(特許文献2)、架橋したアルギン酸ゲルなどにスペーサーとペプチド分解性基を介して薬剤を共有結合により結合した高分子ゲル(特許文献3)、HAあるいは架橋HAなどのHA誘導体にスペーサーを介し共有結合で薬剤を結合したHA誘導体(特許文献4)

などがこれまで提案されている。

[0006] しかしながら、通常、高分子の多糖やHAに薬剤などの疎水性の高い物質を共有結合により導入すると、生成物の溶解性は大幅に低下し、不溶化あるいは半不溶化することが常識であり、薬剤を多く導入するほど、生成物の不溶化傾向は高まり、注射器などから注入できる性状のものを得ることは不可能になる。上記特許文献2では、薬剤を導入したHA誘導体については薬剤の導入、内部エステル化に使用されるHAのカルボキシ基の量からみて親水性の保持を前提としていない。特許文献3の高分子ゲルは水性液体により膨潤するものであって、注射器などにより注入できるものではなく、薬剤を導入した生成物はシート、フィルムなどの形態とされるものである。特許文献4には薬剤を導入した生成物の性状についての記載はないが、実施例においては溶解性に関与するカルボキシル基への結合による導入率が低く設定されている。

[0007] 上記のように、関節、臓器などの疾患部位に注射器などの注入用具で直接局所に投与することが可能で、十分な量の薬剤を保持することができ、疾患部位に滞留して薬剤を長期間にわたって放出することができる徐放性を有するという条件のいずれをも満たす、HAをベースとするDDSは知られていなかった。

一方、本発明者らはこれまでに親水性の高いヒアルロン酸ゲルとして、光架橋基を利用した光架橋ヒアルロン酸を提案している(特許文献5)。

特許文献1:特許第3107488号公報

特許文献2:WO89/10941公報

特許文献3:米国特許第5, 770, 229号明細書

特許文献4:WO99/59603公報

特許文献5:米国特許第6, 602, 859号明細書

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0008] 本発明は、疾患部位に注射器などの注入用具で直接投与することが可能であり、そのようにして直接投与することにより投与又は疾患部位において十分な量の薬剤を保持することができ、投与又は疾患部位に滞留することにより薬剤を長期間にわた

って放出することができる薬剤徐放性を有し、かつ生体に対して安全なドラッグデリバリーシステムを提供することを目的とする。また本発明は、上記のようなドラッグデリバリーシステムの製造に有用な中間体を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0009] 本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意検討した結果、光架橋基を利用した光架橋ヒアルロン酸に薬剤を導入することにより上記条件を満たすDDSとしての薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルを提供できることを見出し、さらに薬剤導入のための諸条件を検討し、本発明を完成させるに至った。

すなわち、本発明は、以下の(1)～(31)に関する。

- [0010] (1) 薬剤を共有結合により導入した光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルであって、注入具より押し出し可能な性状である薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- (2) 「ヒアルロン酸」に「光反応性基」と「薬剤」とがスペーサーを介して共有結合によりそれぞれ結合している(1)に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- (3) 20～25ゲージの注射針により、 $0.5\sim 5\text{kg}/\text{cm}^2$ の圧力で押し出し可能である(1)または(2)に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- (4) 「光反応性基」が、ケイ皮酸誘導体またはアミノケイ皮酸誘導体からなることを特徴とする(1)～(3)の何れか1つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- (5) 「薬剤」が、カルボキシル基あるいは水酸基と結合できる官能基を有する物質であることを特徴とする(1)～(4)の何れか1つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [0011] (6) 「スペーサー」が、カルボン酸、水酸基およびアミノ基から選択される官能基を2個以上有する化合物の残基であることを特徴とする(5)に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- (7) 「薬剤」が、非ステロイド性抗炎症剤、抗リウマチ剤、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、ステロイド剤および抗癌剤から選択される(1)～(6)の何れか1つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- (8) 「薬剤」が、非ステロイド性抗炎症剤または抗リウマチ剤であることを特徴とする(7)に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。

(9) 「光反応性基」および「薬剤」が、ヒアルロン酸のカルボキシル基にそれぞれ結合されていることを特徴とする(1)～(8)の何れか1つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。

(10) 「光反応性基」又は「光反応性基を結合しているスペーサー」がアミド結合にてヒアルロン酸のカルボキシル基に結合されていることを特徴とする上記(1)～(9)のいずれか1つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。

[0012] (11) 「薬剤」がエステル結合又はアミド結合にて直接ヒアルロン酸のカルボキシル基に結合されていることを特徴とする上記(1)～(10)の何れか一つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。

(12) 「薬剤」がエステル結合にて「スペーサー」と結合し、当該薬剤結合スペーサーがアミド結合にてヒアルロン酸のカルボキシル基に結合されていることを特徴とする上記(1)～(10)の何れか一つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。

(13) 「光反応性基」および「薬剤」を合わせた導入率が、ヒアルロン酸の繰り返し二糖単位モル数に対して10～45モル%である(1)～(12)の何れか1つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。

(14) 製造工程において、光架橋の前にアルカリ処理することにより得られうる(1)～(13)の何れか1つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。

(15) 「ヒアルロン酸」に「光反応性基」と「薬剤」とがそれぞれ共有結合にて結合しており、水性媒体に対し可溶性であることを特徴とする薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体。

[0013] (16) 「ヒアルロン酸」に「光反応性基」と「薬剤」とがスペーサーを介して共有結合によりそれぞれ結合している(15)に記載の薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体。

(17) 製造工程において、ヒアルロン酸への光反応性基及び／又は薬剤の導入後のいずれかの段階でアルカリ処理することにより得られうる(15)または(16)記載の薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体。

(18) (15)～(17)の何れか1つに記載の薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体の水性溶液に、紫外線を照射させて得られうる薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。

(19) 紫外線を照射後、滅菌することにより得られうる(18)記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。

(20) (1)～(11)、(18)および(19)の何れか一つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルが注入具に充填され、ガスケットで密封された薬剤封入注入具。

[0014] (21) 滅菌に供された(20)記載の薬剤封入注入具。

(22) (1)～(11)、(18)および(19)の何れか一つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルを含む医薬。

(23) (1)～(11)、(18)および(19)の何れか一つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルを含む局所投与用製剤。

(24) (1)～(11)、(18)および(19)の何れか一つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルを含む関節症治療剤。

(25) (1)～(11)、(18)および(19)の何れか一つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルを含む、ヒアルロン酸に導入した薬剤を徐放する性質を有することを特徴とする薬剤徐放用製剤。

[0015] (26) カルボン酸、水酸基およびアミノ基から選択される反応性基を2個以上有するスペーサーと薬剤が共有結合により結合している薬剤誘導体。

(27) 薬剤が、非ステロイド性抗炎症剤、抗リウマチ剤、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、ステロイド剤および抗癌剤から選択される(26)記載の薬剤誘導体。

(28) 「ヒアルロン酸」に「光反応性基」と「薬剤」とを、スペーサーを介し、あるいは介さずにそれぞれ共有結合により結合させて薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を得た後、該誘導体の水性溶液に紫外線を照射することを特徴とする注入可能な薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルの製造方法。

(29) (15)～(17)の何れか一つに記載の薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を水性媒体に溶解させて溶液を調製し、当該溶液に紫外線を照射する工程を含むことを特徴とする注入可能な薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルの製造方法。

(30) (1)～(11)、(18)および(19)の何れか一つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルを直接患部に投与することを特徴とする薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルの薬剤徐放性剤としての使用。

(31) (1)～(11)、(18)および(19)の何れか一つに記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルが、該ゲルを押し出すことが可能な注入具に充填されたヒアルロン酸誘導体注入用キット

発明の効果

- [0016] 本発明により、関節、臓器などの疾患部位に注射器などの注入用具で直接局所に投与することが可能で、そのようにして直接投与することにより投与又は疾患部位において十分な量の薬剤を保持することができ、投与または疾患部位に滞留することにより薬剤を長期間にわたって放出することができる薬剤徐放性を有し、かつ生体に対して安全なドラッグデリバリーシステムとしての薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルが提供される。本発明の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル(以下、「薬剤導入HA-gel」ともいう)は、注射器などの注入用具で患部に直接投与することが可能であり、投与部位での薬剤の放出がコントロールされ、薬剤の徐放が可能となる。また、本発明の薬剤導入HA-gelは、その具体的な構成要素の選択次第で、湿熱滅菌などの常法による滅菌が可能であるため、医薬用途に非常に有用である。
- [0017] 注入具により押し出し可能な本発明の薬剤導入HA-gelを用いることにより、薬剤を局所投与用製剤として患部に直接投与することができるのみならず、薬剤を選択することにより様々な適用に応用できる。例えば、非ステロイド性抗炎症剤(NSAIDs)や抗リウマチ薬(DMARD)を薬剤として用いた薬剤導入HA-gelを、変形性膝関節症や慢性リウマチのような慢性関節炎患者の膝関節腔内に直接投与すれば、長期に渡り薬剤導入HA-gelが膝関節腔内あるいは滑膜組織内に留まることにより薬剤が患部に徐々に放出されるため、慢性的な膝関節症の患者の痛みを長期に渡り軽減することができる。また、例えば制癌剤、抗癌剤等を導入薬剤として使用した場合、癌組織に対し直接制癌剤導入光架橋ヒアルロン酸ゲルを投与することにより、他の正常な臓器に悪影響を及ぼすことなく必要箇所のみで制癌剤を徐放させることができ、また長期に渡る副作用を伴う制癌剤の服用という苦痛から患者を解放することもできる。
- [0018] DDSの基本概念として薬剤を基材に包括させ、必要なところまで運び(デリバリー)、必要箇所(患部)で放出するという機能を有するということがあるが、生体内には様

々な防御作用や障害があり、実際このような概念のDDS剤を投与しても目的患部に達する前に消失したり、失活したり、さらには目的患部に辿り着いても薬剤が放出されなかったりするものがほとんどである。これに対し、本発明の薬剤導入HA-gelは注入具により押し出し可能であるため、関節等への局所投与が可能であり、しかも基材の光架橋ヒアルロン酸ゲル自体の安全性が高いため、生体内に長く留まっても悪影響を及ぼさないという性質を有する。この様な性質を利用し、薬剤を迂遠な経路によりデリバリーさせることなく目的患部に直接投与(インジェクト)し、目的患部で該ゲルを滞留させ、そして徐々に薬剤を放出させるという有効な方法による治療を可能とする。

- [0019] 上記の方法によれば、生体内の機能を使って薬剤をデリバリーさせるのではなく直接患部に薬剤導入HA-gelを投与するため、確実に患部に薬剤を到達させることができ、しかも患部に対し基材をアンカーとして留まることができるため、その場から確実に薬剤を長期に渡り徐放することができることという利点が得られる。

発明を実施するための最良の形態

- [0020] 以下、本発明を詳細に説明する。

本発明の薬剤導入HA-gelは、ヒアルロン酸鎖間又はヒアルロン酸分子内に光架橋基を介して共有結合で結合して形成された架橋構造を有する架橋ヒアルロン酸であって、さらに薬剤あるいはその誘導体を直接あるいはスペーサーを介してヒアルロン酸の官能基との共有結合により保持しているものである。本発明の薬剤導入HA-gelは、ヒアルロン酸に光架橋基、および薬剤もしくはその誘導体を同時にあるいは逐次導入して薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を形成し、該薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を光架橋することにより製造される。

- [0021] 本発明の薬剤導入HA-gelに使用されるヒアルロン酸は、グルクロン酸とN-アセチルグルコサミンとからなる二糖単位の重合体であるが、本発明におけるヒアルロン酸は、本発明の効果を阻害しない範囲において、その誘導体も含み、そのような誘導体の例としては、例えば、還元末端を有しているヒアルロン酸誘導体、ヒアルロン酸中の水酸基が部分的にアセチル化されているアセチル化ヒアルロン酸などが挙げられる。

[0022] ヒアルロン酸の由来は特に限定されず、鶏冠、臍帯などの動物由来のヒアルロン酸、ヒアルロン酸を産生する微生物を用いたり、遺伝子工学的に製造されたヒアルロン酸、及び、化学合成的に製造されたヒアルロン酸等をいずれも使用することができる。特に、高純度に精製され、医薬として混入が許されない物質を実質的に含まないものが好ましい。

ヒアルロン酸の分子量は特に限定されないが、重量平均分子量として、例えば10,000~5,000,000であり、好ましくは100,000~3,000,000であり、特に好ましくは600,000~1,500,000である。

[0023] ちなみに、本発明の効果は、GAGの中でも、高分子であるヒアルロン酸については、より有利に発揮される。すなわち、上述の様に、多糖が高分子物質であるほど、疎水性の高い物質が導入された多糖誘導体の溶解性はより大きく低下し、不溶化することが常識であり、また高分子であるヒアルロン酸の方が光架橋反応によりゲル化しやすい。よって、本発明を適用することにより得られる、薬剤などの疎水性の高い物質の導入による不溶化を軽減し、注射器などから注入できる性状を維持し得るという効果は、高分子であるヒアルロン酸についてより意義の高いものとなる。

[0024] 本発明に使用するヒアルロン酸は、塩を形成していない遊離状態のものでもよく、また薬学的に許容され得る塩の形態のものでもよい。ヒアルロン酸の薬学的に許容され得る塩としては、例えばナトリウム塩、カリウム塩などのアルカリ金属イオン塩、マグネシウム塩、カルシウム塩などのアルカリ土類金属イオン塩、アンモニウム塩等の無機塩基との塩、ジエタノールアミン塩、シクロヘキシルアミン塩、アミノ酸塩等の有機塩基が挙げられる。生体への親和性が特に高いことから、ヒアルロン酸塩はアルカリ金属イオンとの塩が好ましく、ナトリウムイオンとの塩が特に好ましい。

[0025] 本発明の薬剤導入HA-gelの基材となる光架橋ヒアルロン酸の架橋基としては光反応性架橋基(光反応性基)を使用する。

[0026] 光反応性基は、光(紫外線)照射によって光二量化反応または光重合反応を生じる化合物の残基であって、ヒアルロン酸上で光反応性基として光照射によってヒアルロン酸分子間や分子内にて架橋する化合物の残基であれば特に限定されないが、そのような化合物としては共役二重結合を有するオレフィン系化合物が好ましい。具体

例としては、ケイ皮酸、置換ケイ皮酸、アクリル酸、マレイン酸、フマル酸、ソルビン酸、クマリン、チミンなどが挙げられる。これらの中では、光によりシクロブタン環を形成可能なビニレン基を有するものが好ましく、光反応性および安全性の面からケイ皮酸および置換ケイ皮酸が好ましい。置換ケイ皮酸の例としては、ケイ皮酸のベンゼン環上の任意の1または2個の水素が低級アルキル基(例えば、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、*t*-ブチルなど)、低級アルコキシ基(例えば、メキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシ、ブトキシなど)、アミノ基、水酸基などで置換された置換ケイ皮酸が挙げられる。置換ケイ皮酸としては、アミノケイ皮酸が好ましく、*p*-アミノケイ皮酸が特に好ましい。

[0027] 光反応性基は、ヒアルロン酸のカルボキシル基または水酸基と共有結合により結合される。結合様式は本発明の目的が達成される限り特に限定されないが、エステル結合またはアミド結合が好ましく、アミド結合が最も好ましい。光反応性基は、ヒアルロン酸に直接結合されてもよいが、光反応性を向上し、光架橋反応を容易にしたり、多糖に光反応性基を導入する反応を容易にする等の面から、スペーサーを介してヒアルロン酸に結合されることが好ましい。従って、ケイ皮酸または置換ケイ皮酸にスペーサーが結合した誘導体(スペーサー誘導体)の残基が光反応性基として最も好ましい。

[0028] 上記のようなスペーサーとなる化合物は、光反応性基及びヒアルロン酸と結合できる様な官能基を二つ以上有する化合物であれば特に限定されないが、好ましくはカルボン酸、水酸基およびアミノ基から選択される官能基を2個以上有する化合物であり、好ましい例としては、例えば、アミノアルコール($\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ ($n=1\sim 18$)、 $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_m-\text{O}-\text{H}$ ($m=2\sim 9$)など)、ジアミン($\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_1-\text{NH}_2$ ($1=2\sim 10$)など)、ジオール($\text{HO}-(\text{CH}_2)_k-\text{OH}$ ($k=2\sim 10$)など)、アミノ酸($\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{R}-\text{COOH}$ (R :アミノ酸側鎖)、 $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_j-\text{COOH}$ ($j=2\sim 18$))およびペプチドなどが挙げられる。

[0029] 上記のようなスペーサーを構成する化合物をヒアルロン酸に結合し、その後光反応性基を構成する化合物を結合してもよいが、スペーサーを構成する化合物と光反応性基を構成する化合物とを先に結合し、得られた化合物をヒアルロン酸に結合するこ

とが、製造の容易さから好ましい。上記のようなスペーサーを構成する化合物と光反応性基を構成する化合物を結合して得られる化合物の好ましい例としては、例えば、ケイ皮酸のカルボキシル基にアミノアルコールがエステル結合したケイ皮酸アミノアルキル誘導体 ($\text{Ph}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-\text{O}-(\text{CH}_2)_n-\text{NH}_2$ 、 $\text{Ph}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-\text{O}-(\text{OCH}_2)_m-\text{NH}_2$ (n, m は上記と同じ、 Ph はフェニル基を表す) など)、ケイ皮酸のカルボキシル基にアミノアルコールがアミド結合したケイ皮酸アミド誘導体 ($\text{Ph}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ 、 $\text{Ph}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_m-\text{OH}$ (n, m は上記と同じ、 Ph はフェニル基を表す) など)、ケイ皮酸のカルボキシル基にジアミンがアミド結合により結合されたケイ皮酸アミド誘導体 ($\text{Ph}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_1-\text{NH}_2$ ($1, \text{Ph}$ は上記と同じ) など)、ケイ皮酸のカルボキシル基にジオールがエステル結合により結合されたケイ皮酸エステル誘導体 ($\text{Ph}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-\text{O}-(\text{CH}_2)_k-\text{OH}$ (k, Ph は上記と同じ) など)、アミノ酸あるいはペプチドを置換ケイ皮酸(アミノケイ皮酸)にアミド結合により結合した誘導体 ($\text{HOOC}-\text{CH}=\text{CH}-\text{Ph}-\text{NH}-\text{CO}-\text{CHR}-\text{NH}_2$ (R, Ph は上記と同じ) など)などが挙げられ、ケイ皮酸のカルボキシル基にアミノアルコールがエステル結合により結合された誘導体(ケイ皮酸アミノアルキル)、ケイ皮酸のカルボキシル基にアミノアルコールがアミド結合したケイ皮酸アミド誘導体が好ましい。アミノアルコールは上記一般式 $\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_n-\text{OH}$ で表されるものが好ましく、 n は2~18であり、好ましくは2~6であり、より好ましくは2~4である。スペーサーを構成する化合物の好ましい例としては、アミノエタノール、アミノプロパノール及びアミノブタノール等が挙げられる。

[0030] ヒアルロン酸における、光反応性基又は光反応性基が結合したスペーサー誘導体との結合部位(ヒアルロン酸の官能基)は、水酸基又はカルボキシル基が挙げられるが、光反応性基又はスペーサー誘導体の導入反応の容易性からカルボキシル基の方が好ましい。

[0031] また、スペーサーを構成する化合物と光反応性基を構成する化合物との結合様式、およびスペーサーを構成する化合物とヒアルロン酸との結合様式の組み合わせは特に限定されず、任意の組み合わせの結合を採用することができる。例えば、光反応性基としてケイ皮酸を、スペーサーとしてアミノアルコールを用いた場合には、ケイ

皮酸のカルボキシル基とアミノアルコールとがエステル結合し、アミノアルコールのアミノ基とヒアルロン酸のカルボキシル基がアミド結合することによって、スペーサーを介し光反応性基がヒアルロン酸に結合してもよく、あるいは、ケイ皮酸のカルボキシル基にアミノアルコールがアミド結合し、アミノアルコールの水酸基とヒアルロン酸のカルボキシル基とがエステル結合することによって、スペーサーを介し光反応性基がヒアルロン酸に結合されてもよい。

[0032] 本発明の薬剤導入HA-gelに導入される薬剤は、ヒアルロン酸のカルボキシル基あるいは水酸基に結合するための官能基を有し、ヒアルロン酸に共有結合により直接導入できる薬剤、あるいは、ヒアルロン酸のカルボキシル基あるいは水酸基に結合できる官能基を有するスペーサーを介して結合することができる薬剤であれば特に限定されない。カルボキシル基あるいは水酸基と結合できる官能基を有する物質であることが好ましい。

[0033] 本発明の薬剤導入HA-gelに導入される薬剤の例としては、サリチル酸系非ステロイド性抗炎症剤(サリチル酸、サザピリン、アスピリン、ジフルニサル、サリチルアミドなど)、フェナム酸系非ステロイド性抗炎症剤(フルフェナム酸、フルフェナム酸アルミニウム、メフェナム酸、フロクタフェニン、トルフェナム酸など)、アリーール酢酸系非ステロイド性抗炎症剤(フェルビナク、ジクロフェナク、トルメチンナトリウム、スリンダク、フェンブフェン、インドメタシン、インドメタシンファルネシル、アセメタシン、マレイン酸プログルメタシン、アンフェナクナトリウム、ナブメトン、モフェゾラク、エトドラク、アルクロフェナクなど)、プロピオン酸系非ステロイド性抗炎症剤(イブプロフェン、フルルビプロフェン、ケトプロフェン、ナプロキセン、プラノプロフェン、フェノプロフェン、チアプロフェン酸、オキサプロジン、ロキソプロフェンナトリウム、アルミノプロフェン、ザルトプロフェン、チアプロフェン酸など)、ピラゾロン系非ステロイド性抗炎症剤(ケトフェニルブタゾンなど)、オキシカム系非ステロイド性抗炎症剤(ピロキシカム、テノキシカム、アンピロキシカムなど)、その他の非ステロイド性抗炎症剤(塩酸チアラミド、塩酸チノリジン、塩酸ベンジダミン、エピリゾール、エモルファゾン、トルメチン、ジフルニサル、アセトアミノフェン、フロクタフェニン、チノリジンなど)などの非ステロイド性抗炎症剤(NSAIDs);シクロオキシゲナーゼ-2阻害薬;ペニシラミン、ロベンザリット二ナトリウム、オー

ラノフィン、ブシラミン、アクタリット、サラゾスルファピリジン、金チオリンゴ酸ナトリウム、クロロキン、TNF α 受容体制剤、ミゾリビン、シクロスポリン、メトトレキセート、レフルノミド、アザチオプリン、抗TNF α 抗体、抗IL-6受容体抗体、抗CD4抗体、IL-1受容体アンタゴニスト、抗CD52抗体、p38MAPキナーゼ阻害薬、ICE阻害薬、TACE阻害薬などの抗リウマチ薬(DMARD); 酢酸コルチゾン、ヒドロコルチゾン、プレドニゾン、メチルプレドニゾン、トリアムシフロン、トリアムシフロンアセトニド、デキサメタゾン、パルミチン酸デキサメタゾン、ベタメタゾン、酢酸パラメタゾン、酢酸ハロプレドロン、ファルネシル酸プレドニゾン、酢酸テトラコサクチドなどのステロイド剤; 塩酸プロカイン、塩酸テトラカイン、塩酸リドカインなどの局所麻酔薬; ヒドロキサム酸などのマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)阻害剤; キサンチン類縁薬(テオフィリンなど)、抗アレルギー薬(フェキソキナジン、エピナスタチン、セチリジン、ケトチフェン、クロモグリク酸ナトリウム、ペミロラストなど)、抗ヒスタミン薬(フェキソキナジン、セチリジンなど)などのアレルギー性疾患治療薬; イリノテカン、5-フルオロウラシルなどの抗癌剤などが挙げられるが、これらに限定されるものではない。好ましい薬剤としては、非ステロイド性抗炎症剤、抗リウマチ剤、MMP阻害剤、ステロイド剤、抗癌剤が挙げられ、中でも非ステロイド性抗炎症剤、抗リウマチ剤、抗癌剤が好ましく挙げられる。

[0034] ヒアルロン酸にスペーサーを介して薬剤を導入する場合は、該スペーサーを構成する化合物は、ヒアルロン酸と結合する官能基および薬剤と結合する官能基をそれぞれ有するものであり、これら官能基を複数有していてもよい。該スペーサーの官能基は、ヒアルロン酸および薬剤との結合様式により種々選択できるが、該スペーサーとヒアルロン酸および薬剤との結合様式は好ましくはエステル結合またはアミド結合である。またスペーサーを構成する化合物と薬剤との結合様式、およびスペーサーを構成する化合物とヒアルロン酸との結合様式の組み合わせは特に限定されず、任意の組み合わせの結合を採用することができる。

[0035] 例えば、ヒアルロン酸のカルボキシル基とアミド結合でスペーサーを導入する場合、アミノ基を有しているスペーサーを選択し、ヒアルロン酸のカルボキシル基あるいは水酸基とエステル結合でスペーサーを導入する場合には、水酸基あるいはカルボキシル基を有しているスペーサーを選択することができる。薬剤とスペーサーとの結合につ

いても同様であり、例えば、水酸基やカルボキシル基を有している薬剤の場合、カルボキシル基や水酸基を有するスペーサーを選択すればエステル結合により、アミノ基を有するスペーサーを選択すればアミド結合により薬剤を導入できる。

[0036] また、生体内に薬剤導入HA-gelを注入する場合、より好ましくは、生体内で薬剤がヒアルロン酸鎖より徐々に遊離し放出されることが求められる。光架橋ヒアルロン酸誘導体の分解に合わせて徐々に薬剤が放出されることが考えられるが、特に、薬剤とスペーサーとの結合部分が生分解されることが望ましい。薬剤とスペーサーとの間の結合様式を変えることにより、生分解への耐性を変えることができ、それにより徐放速度をコントロールすることも可能となる。例えば生体内で起こる加水分解を考えた場合、エステル結合はアミド結合に較べ分解を受けやすい。このためヒアルロン酸とアミド結合し、薬剤とエステル結合するスペーサーを選択する場合、生体内に注入した薬剤導入HA-gelは、加水分解により、ヒアルロン酸鎖より薬剤を遊離しやすくなる。同様に、ヒアルロン酸に直接薬剤を導入する場合には、エステル結合にてヒアルロン酸に薬剤を導入する方が、生体内での加水分解を考慮すると好ましい。

[0037] 本発明の薬剤導入HA-gelにおいて薬剤とヒアルロン酸との結合に使用されるスペーサーは上記のような点を考慮して選択することができ、薬剤とヒアルロン酸とを結合でき、本発明の目的を達成し得る限り特に限定されない。スペーサーを構成する化合物の好ましい例などについては上述の光反応性基の導入について記載したものが同様に挙げられ、アミノアルコールがより好ましく、例えば、アミノエタノール、アミノプロパノール及びアミノブタノール等が挙げられる。

[0038] 上記のようなスペーサーを構成する化合物は、光反応性基の導入と同様に、先にヒアルロン酸にスペーサーを結合し、その後、スペーサーを結合したヒアルロン酸に薬剤を結合してもよいが、スペーサーを構成する化合物と薬剤との結合物を先に合成し、得られた化合物をヒアルロン酸に結合することが、製造の容易さから好ましい。

[0039] また、ヒアルロン酸における、薬剤又はスペーサーとの結合部位(ヒアルロン酸の官能基)についても、光反応性基の導入と同様に、水酸基であってもよいが、薬剤又はスペーサーの導入反応の容易性からカルボキシル基の方が好ましい。

なお、以下の記載において、ヒアルロン酸への光反応性基および薬剤の導入につ

いて、直接であるか、あるいはスペーサーを介するか明記してない場合には、基本的に何れでも構わないものとする。つまり、光反応性基および薬剤は、各々スペーサー部分を有する光反応性基誘導体およびスペーサー部分を有する薬剤誘導体も包含する。

[0040] 本発明の薬剤導入HA-gelの製造においては、まず中間生成物として光反応性基および薬剤がヒアルロン酸に導入された、水性媒体に可溶な薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を調製し、次いで、該薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体水溶液に光照射し、架橋させることにより製造することができる。中間生成物である水溶性の薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体は、ヒアルロン酸に光反応性基および／又は薬剤を導入した後、アルカリ処理することにより製造することができる。

[0041] ヒアルロン酸に薬剤および光反応性基を導入するにあたっては、ヒアルロン酸に光反応性基を導入した後に薬剤を導入する方法、薬剤を導入した後に光反応性基を導入する方法、あるいは薬剤および光反応性基を同時に導入する方法の何れも使用することができる。薬剤あるいは光反応性基何れか一方を先に導入する場合、薬剤あるいは光反応性基を導入した後、後処理して単離し、改めて他方を導入する方法、あるいは、1ポットの反応でどちらか一方から順次導入する方法の何れも使用することができる。前者の方法の場合、工程上での手間や時間を要するものの薬剤および光反応性基の導入率を精度よくコントロールできるメリットがあり、後者の方法の場合、反応上の手間や時間を要せず効率的に目的物を得ることができるというメリットがある。

[0042] 上記の通り、光反応性基あるいは薬剤は、ヒアルロン酸のカルボキシル基あるいは水酸基のいずれにも結合できるが、官能基の持つ反応性からカルボキシル基に結合する方が容易であり好ましい。このような結合を達成する方法としては、例えば、水溶性カルボジイミド(例えば、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDCI·HCl)、1-シクロヘキシル-3-(2-モルホリノエチル)カルボジイミド-N-メチル-*p*-トルエンスルホネート、1-シクロヘキシル-3-(2-モルホリノエチル)カルボジイミド塩酸塩など)等の水溶性の縮合剤を使用する方法、N-ヒドロキシコハク酸イミド(HOSu)やN-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)等の縮合補助剤と上

記の縮合剤とを使用する方法、活性エステル法、酸無水物法などが挙げられる。これらの中では、水性媒体の存在下の反応として、水溶性の縮合剤を使用する方法または反応補助剤と水溶性の縮合剤とを使用する方法が好ましい。特に副反応の抑制という観点から反応補助剤と水溶性の縮合剤とを使用する方法がより好ましい。水性媒体としては、水の単独溶媒の他、水と水可溶性有機溶媒、例えば、ジオキサン、ジメチルホルムアミド(DMF)、アセトン、アルコール(メタノール、エタノール等)等との混合溶媒が挙げられる。上記の通り、ヒアルロン酸のカルボキシル基と光反応性基または薬剤とは、エステル結合またはアミド結合で結合されることが好ましい。

[0043] 本発明の薬剤導入HA-gelにおいては、ヒアルロン酸への光反応性基および薬剤の導入率は、薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体の水性媒体への可溶性が保持され、さらにそれを光架橋して得られる薬剤導入HA-gelが注入具により押し出し可能な性状を保持する限り特に制限されない。言い換えればそれらの条件が満たされるように導入率を選択する必要がある。

[0044] 本明細書において導入率とは、ヒアルロン酸二糖単位あたりに対する薬剤または光反応性基の導入割合(百分率)を示す。例えば、ヒアルロン酸のカルボキシル基に薬剤を導入する場合において、薬剤の導入率10%とは、当該ヒアルロン酸鎖の二糖単位100個に10個の割合で薬剤が導入されていることを示す。勿論、隣り合う二糖単位各々のカルボキシル基にそれぞれ薬剤が置換されていても構わない。

[0045] 光反応性基および薬剤の導入率は、縮合剤、縮合補助剤、光反応性基および薬剤の投入量、反応溶媒、反応温度等の反応条件を変えることにより調整することができ、その後の架橋反応での光反応性基の必要量、あるいは生体に投与するときの薬剤の患部における必要量あるいは徐放効率などを考慮して光反応性基および薬剤の適当な導入率を決定する。

[0046] ヒアルロン酸の繰り返し二糖単位モル数に対して、薬剤の導入率は、通常1~60モル%であり、好ましくは5~30モル%であり、より好ましくは5~25モル%であり、特に好ましくは7~20モル%である。光反応性基の導入率は、通常5~50モル%であり、好ましくは5~30モル%であり、より好ましくは5~20モル%であり、特に好ましくは8~20モル%である。さらに、光反応性基と薬剤を合わせた総導入率は、通常6~60

モル%であり、好ましくは10~50モル%であり、より好ましくは10~45モル%であり、特に好ましくは15~40モル%である。これらの範囲において光反応性基と薬剤がそれぞれ適性な比率で導入されることがより望ましい。光反応性基および薬剤の導入量は、例えば吸光度の測定やHPLC、NMR等の方法で測定することができる。

[0047] 上記のようにして製造された薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体をさらにアルカリにより処理することが好ましい。導入反応後の反応溶液をアルカリ性とするアルカリ処理は、該溶液がアルカリ性となる処理である限り特に限定されない。

具体的には有機塩基又は無機塩基の何れかを該溶液に添加する方法がアルカリ処理として例示されるが、その後の処理等を考慮すると無機塩基の方が好ましい。更には、無機塩基の中にあっても水酸化ナトリウムのような強塩基より、炭酸水素ナトリウムや炭酸ナトリウムのような弱塩基の方が、ヒアルロン酸や薬剤に影響を及ぼすおそれが低いことから望ましい。ここでのアルカリ処理のpH条件は7.2~11、好ましくは7.5~10が例示される。

[0048] アルカリ処理の処理時間は、ヒアルロン酸の低分子化に影響を及ぼさなければ特に限定されないが、2~12時間、好ましくは2~6時間が挙げられ、当該時間処理すればヒアルロン酸に影響を与えず可溶性の薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を得ることができる。

[0049] つまり一例としては、薬剤および光反応性基をヒアルロン酸に導入した後の反応液に炭酸水素ナトリウム等の弱アルカリを加え、数時間攪拌処理した後、エタノール沈殿、乾燥等の後処理をすることにより可溶性の薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を得ることができる。

[0050] 通常、ヒアルロン酸のカルボキシル基に上記のような光反応性基および薬剤が導入されると、該カルボキシル基はアミド結合あるいはエステル結合への置換反応によりその親水性が低下することになるが、上記アルカリ処理を行うことにより、光反応性基および薬剤の導入量、特に薬剤の導入量を従来技術では見られなかった大きな量としても、薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体は水性媒体への可溶性を維持する(原料ヒアルロン酸と同等の可溶性を保持する)ことが可能となる。

[0051] 上記のようにして製造された薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体に光を照射し、

架橋させることにより本発明の薬剤導入HA-gelを製造することができる。つまり、上記のようにして製造された薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を単離して水性媒体に溶解して水溶液とした後、当該水溶液を光照射に供して架橋させる。溶液に用いる水性媒体は、生体に対し影響を及ぼさず、さらに後工程の光架橋反応に影響を及ぼさないものであれば特に制限はないが、生理食塩水やリン酸緩衝生理食塩水が望ましい。上記水溶液における薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体の濃度は、注入具で押し出し可能な性状の薬剤導入HA-gelを得るためには重量%で通常0.1%~10%であり、0.5%~3%がより好ましく、0.5%~1.5%がさらに好ましい。

[0052] 上記のように薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を中間生成物として単離することのメリットの一つとして、薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を緩衝液等の水系溶媒に溶解することにより一旦均一な水溶液の状態を形成し、この状態で光照射、架橋することにより、含水状態、すなわち多くの水分子がヒアルロン酸鎖に水和した状態で架橋することが可能であり、これにより最終的に注入具で押し出し可能な性状のゲルが形成される。また、製造上のメリットとして、該中間生成物で一旦精製、単離するため、未反応物や縮合剤等の不純物の除去が可能であること、さらに該薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体が水性媒体に可溶であるため、水溶液とした後、該水溶液を濾過することにより滅菌、除菌あるいは異物の除去が可能となることがある。

[0053] 薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体水溶液への光照射は、どのような形態で行ってもよいが、ガラスシリンジに薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体水性溶液を充填した後、光照射するのが望ましい。例えば、光反応性基としてケイ皮酸誘導体を用いた場合、光照射後、ケイ皮酸同士が二量体を形成することによりヒアルロン酸鎖同士が架橋構造を取ることになる。光源として高圧水銀ランプ、メタルハライドランプ等の紫外線ランプを用いた場合、ガラスシリンジを用いるとガラス自体がヒアルロン酸に対し悪影響を及ぼす波長をカットし、光反応に必要な波長を透過させるカットフィルターの働きをする。

[0054] 上記薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体水溶液に光照射して架橋した薬剤導入HA-gelは、水分子を含有、包括したまま架橋するため、ゲル状の構造を取ることとなり、これらは注射針などから押し出し可能な性質を有する。

[0055] 本発明において「注入具より押し出し可能な」性状とは、本発明の薬剤導入HA-gelを充填した通常使用される医療用の注射器に装着された注射針などから、機械による加圧ではなく、ヒト(一般成人)の通常の手操作により得られる程度の加圧によっても、本発明の薬剤導入HA-gelを押し出すことができ、生体などの対象物に注入可能である性質をいう。より具体的には、例えば、25℃付近の室温において、20(外径0.90mm、内径0.66mm)～27(外径0.40mm、内径0.22mm)ゲージ、好ましくは20～25(外径0.50mm、内径0.32mm)ゲージ、更に好ましくは23(外径0.65mm、内径0.40mm)～25ゲージの注射針を装着した注射器から、0.5～5kg/cm²、好ましくは0.5～2kg/cm²程度の圧力により押し出し可能な性質をいう。勿論、上記定義における圧力を得るための加圧は、機械による加圧でも、ヒトによる手操作による加圧でも構わない。また、通常使用される医療用の注射器としては、医療や生物実験等で用いられている注射器が挙げられるが、例えば、直径14mm、シリンジ長さ58mmで、5ml容量(例えば、テルモ社製5mlシリンジ)の注射器が挙げられる。例えば、この注射器に上記注射針(例えば、20～25ゲージ)を装着し、充填されている本発明の薬剤導入HA-gelを5ml分押し出すには、上記圧力(例えば0.5～5kg/cm²)によると、1秒～5分かかる。薬剤導入HA-gelの「注入具より押し出し可能な」性状は、必ずしも薬剤導入HA-gelの粘度と厳密に対応するものではない。しかし、薬剤導入HA-gelの粘度を本発明における「注入具より押し出し可能な」性状のひとつの目安として考えると、当該性状は、回転粘度計により、標準コーン(1° 34', 1rpm)を使用して、20℃で測定した粘度として、好ましくは1～50Pa・s、より好ましくは3～40Pa・s、さらに好ましくは3～35Pa・s程度に対応する。

本発明の薬剤導入HA-gelは、上記特性により、注入や注射により薬剤導入HA-gelを対象物(生体等)に投与する局所投与用製剤や非経口投与用製剤とすることができる。

更に、本発明は、薬剤導入HA-gelが注入具内に充填され、ガスケットで密封された注入具や、当該注入具と薬剤押し出用プランジャー等を具備したキット等の提供も可能である。

例えば、NSAIDs導入HA-gelを局所投与用製剤として用いた場合、消化器系に

よる代謝や消化器管への副作用を回避することができ、より効率良い、かつ安全性の高い治療効果が期待できる。

- [0056] このような架橋されている薬剤導入HA-gelの生体内での残留性は、架橋することにより薬剤を導入したヒアルロン酸よりさらに長くなり、また架橋の程度(架橋率)を変えることによりその残留性をコントロールできる。
- [0057] 薬剤は光架橋ヒアルロン酸に共有結合で導入されているため、投与直後に薬剤が急激に放出されることはなく、基材となる光架橋ヒアルロン酸の分解あるいは、光架橋ヒアルロン酸と薬剤との結合の解離に伴い徐放される。そのため、残留性の高いつまり架橋率の高い薬剤導入HA-gelを調製することにより徐放期間を延長できる。
- [0058] 本発明の薬剤導入HA-gelは、投与部位に滞留して薬剤を長期にわたり放出する薬剤徐放性を有する担体としての作用を示すだけでなく、例えば、関節疾患における部位に投与した場合には、ヒアルロン酸が本質的に有する潤滑作用も同時に期待することができる。
- [0059] 上記の通り、本発明の薬剤導入HA-gelを製造するための中間生成物である薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体が水溶性となり、また薬剤導入HA-gelが注入具から押し出し可能な性状とするためには、薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体をアルカリ処理して得る他に、主としてヒアルロン酸の分子量、光反応性基および薬剤の種類、導入率、薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を架橋する際の水溶液におけるその濃度などを適切に選択することも必要であり、望む性状を有するものを製造することができる。従って、本発明の薬剤導入HA-gelの具体的な構成を決定するにあたっては、必要とされる薬剤に対し、これらの要素を適切に選択すればよい。このような観点から、本発明の薬剤導入HA-gelの具体的な態様として以下のようなもの((1)~(14))挙げられる。ただし本発明はこれらに限定されるものではない。
- [0060] (1)ヒアルロン酸の分子量が10,000~5,000,000であり、光反応性基の導入率がヒアルロン酸二糖単位に対して(以下も同じ)5~50モル%であり、薬剤の導入率が1~60モル%であり、光反応性基および薬剤の導入率の合計が6~60モル%である本発明の薬剤導入HA-gel。
- (2)ヒアルロン酸の分子量が10,000~3,000,000であり、光反応性基の導入率が5~3

0モル%であり、薬剤の導入率が5～30モル%であり、光反応性基および薬剤の導入率の合計が10～50モル%である本発明の薬剤導入HA-gel。

(3)ヒアルロン酸の分子量が600,000～1,500,000であり、光反応性基の導入率が5～20%であり、薬剤の導入率が5～25%であり、光反応性基および薬剤の導入率の合計が10～45%である本発明の薬剤導入HA-gel。

[0061] (4)ヒアルロン酸の分子量が600,000～1,500,000であり、光反応性基の導入率が5～20モル%であり、薬剤の導入率が5～25モル%であり、光反応性基および薬剤の導入率の合計が10～45モル%であり、薬剤の分子量が100～500である本発明の薬剤導入HA-gel。

(5)ヒアルロン酸の分子量が800,000～1,200,000であり、光反応性基の導入率が5～20%であり、薬剤の導入率が5～25%であり、光反応性基および薬剤の導入率の合計が10～45%である本発明の薬剤導入HA-gel。

(6)薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体の溶液の濃度を0.5～3重量%として光架橋して得られうる上記(3)～(5)の本発明の薬剤導入HA-gel。

[0062] (7)ヒアルロン酸の分子量が800,000～1,200,000であり、光反応性基の導入率が8～20モル%であり、薬剤の導入率が7～20モル%であり、光反応性基および薬剤の導入率の合計が15～40モル%であり、薬剤がNSAIDs、DMARDから選択される薬剤である本発明の薬剤導入HA-gel。

(8)ヒアルロン酸の分子量が800,000～1,200,000であり、光反応性基の導入率が8～20モル%であり、薬剤の導入率が7～20モル%であり、光反応性基および薬剤の導入率の合計が15～40モル%であり、薬剤が抗癌剤である本発明の薬剤導入HA-gel。

(9)ヒアルロン酸の分子量が800,000～1,200,000であり、光反応性基の導入率が8～20モル%あり、薬剤の導入率が7～20モル%であり、光反応性基および薬剤の導入率の合計が15～40モル%であり、薬剤がナプロキセン、イブプロフェン、フルルビプロフェン、フェルビナク、ジクロフェナク、エトドラクおよびアクタリットから選択される薬剤である本発明の薬剤導入HA-gel。

[0063] (10)薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体の溶液の濃度を0.5～1.5重量%とし

て光架橋して得られうる上記(7)～(9)の本発明の薬剤導入HA-gel。

(11) スペーサーに光反応性基(光架橋基)がエステル結合により結合し、当該光反応性基(光架橋基)結合スペーサーがヒアルロン酸のカルボキシル基にアミド結合にて結合しており、スペーサーに薬剤がエステル結合により結合し、当該薬剤結合スペーサーがヒアルロン酸のカルボキシル基にアミド結合にて結合している本発明の薬剤導入HA-gel。

(12) スペーサーがアミノアルコールであり、光反応性基がケイ皮酸または置換ケイ皮酸である上記(11)の本発明の薬剤導入HA-gel。

[0064] (13) スペーサーがアミノエタノール、アミノプロパノール及びアミノブタノールから選択されるアミノアルコールであり、光反応性基がケイ皮酸またはアミノケイ皮酸であり、ヒアルロン酸の分子量が800,000～1,200,000であり、光反応性基の導入率が5～20%であり、薬剤の導入率が5～25%であり、光反応性基および薬剤の導入率の合計が10～45%である上記(11)の本発明の薬剤導入HA-gel。

(14) 薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体の溶液濃度を0.5～1.5重量%として光架橋して得られうる上記(13)の本発明の薬剤導入HA-gel。

実施例

[0065] 以下、実施例によりさらに本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

[0066] (調製例1) t-ブトキシカルボニル-アミノプロパノール(Boc-アミノプロパノール)の合成

アミノプロパノール1.542g(20.5mmol)をジクロロメタン10mLに溶解し、氷冷下で、ジ-*t*-ブチルジカルボネート(Boc₂O)4.484g(20.5mmol)/ジクロロメタン溶液10mLをゆっくり滴下した。その後、反応液を室温に戻し、2時間40分攪拌し、原料の消失を薄層クロマトグラフィー(以下、TLCとも言う)で確認した後、ジクロロメタンを減圧留去した。反応は定量的に進行し、収量3.92gのオイル状のBoc-アミノプロパノールを得た。構造は¹H-NMR(CDCl₃)により同定した。

[0067] ¹H-NMR(500MHz, CDCl₃) δ(ppm): 1.46(9H, s, Boc), 1.66(2H, quant, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 3.27(3H, m, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 3.66(2H, m, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 4

.91 (1H, br, CH_2OH)

[0068] (調製例2) ケイ皮酸アミノプロピル塩酸塩の合成

t-ブトキシカルボニル-アミノプロパノール1.21g (6.9mmol) にクロロホルム6mLを加え、氷冷下、トリエチルアミン956 μL (6.9mmol)、ケイ皮酸クロリド1.15g (6.9mmol)、4-ジメチルアミノピリジン253mg (2.1mmol) を順次加えた。室温で20分間攪拌した後、この反応液に酢酸エチルを加え、5%クエン酸水溶液で2回、水、5%炭酸水素ナトリウム水溶液で2回、水、飽和食塩水で分液洗浄した後、有機相を無水硫酸ナトリウムで乾燥した。該硫酸ナトリウムを濾取し、濾液を減圧濃縮した後、析出した白色固体をヘキサンで洗浄、減圧乾燥し、化合物(1-1)を1.38g (収率65%) 得た。次いで、化合物(1-1) 860mg (2.8mmol) に4M塩化水素/ジオキサン溶液6mLを氷冷下に加え35分室温で攪拌した。減圧乾燥し、白色結晶としてケイ皮酸アミノプロピル塩酸塩を得た。収率76%。

[0069] (実施例1) ケイ皮酸アミノプロピル導入ヒアルロン酸ナトリウム(以下、光反応性HAとも言う)の合成

重量平均分子量90万のヒアルロン酸ナトリウム1.0g (2.5mmol/二糖単位(二糖単位としてのモル数(以下同様)。以下、このヒアルロン酸ナトリウムをHAとも言う。)) を水115mL/ジオキサン144mLに溶解させた後、N-ヒドロキシコハク酸イミド(以下、HOSuとも言う。) 172mg/水5mL、水溶性カルボジイミド塩酸塩(以下、WSCl \cdot HClとも言う。) 143mg/水5mL、ケイ皮酸アミノプロピル塩酸塩181mg/水5mLを順次加え、3時間30分攪拌し反応させた。続いて、反応液に7.5%炭酸水素ナトリウム水溶液10mLを加え、2時間50分攪拌した後、酢酸214mg/水2mLを加え中和し、次いで、塩化ナトリウム1gを加え攪拌した。エタノール500mLを加え沈殿させ、得られた沈殿物にエタノール150mLを加え2回デカンテーションした後、95%エタノールで2回洗浄し、40°Cで一晩減圧乾燥し、白色個体の1.0gのケイ皮酸アミノプロピル導入HA(光反応性HA)を得た。ケイ皮酸の導入率は16.2%であった。

[0070] (実施例2) ナプロキセン導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲルの合成

(1) アミノプロピル-ナプロキセン(エステル)塩酸塩の合成

調製例1で得られたBoc-アミノプロパノール350mg (2mmol) とナプロキセン462

mg (2mmol) をジクロロメタン2mLに溶解し、氷冷下でN,N-ジメチルアミノピリジン (以下、DMAPとも言う) 48mg (0.4mmol)、WSCI・HCl 422mg (2.2mmol) / ジクロロメタン2mLを順次添加した。反応液を室温に戻し、4時間50分攪拌した後、ジクロロメタンを減圧留去し、さらに酢酸エチルを加え、5%クエン酸で2回、水と5%炭酸水素ナトリウムで2回、さらに水と飽和食塩水で順次分液洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後、酢酸エチルを減圧留去し、白色結晶のBoc-アミノプロピル-ナプロキセン720mg (収率93%)を得た。構造は、 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) により同定した。

[0071] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.42 (9H, s, Boc), 1.58 (3H, d, $-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)-$), 1.75 (2H, quant, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.07 (2H, m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.85 (1H, q, $-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)-$), 3.91 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 4.13 (2H, m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 4.63 (1H, br, $-\text{NHCH}_2-$), 7.09-7.75 (6H, m, Aromatic H)

[0072] 得られたBoc-アミノプロピル-ナプロキセン684mg (1.76mmol) をジクロロメタン1mLに溶解し、氷冷下で4N塩酸/酢酸エチル2mL (渡辺化学工業(株)製) を加えて、氷冷下で20分間攪拌し、その後、室温で1時間攪拌した。Boc-アミノプロピル-ナプロキセンの消失をTLCにより確認した後、反応液にジエチルエーテルを加え3回デカンテーションした。次いで、減圧乾燥し、アミノプロピル-ナプロキセン(エステル)塩酸塩を得た(収量564mg)。構造は $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) により同定した。

[0073] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{CD}_3\text{OD}$) δ (ppm): 1.57 (3H, d, $-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)-$), 2.02 (2H, quant, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 2.88 (2H, m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.87 (1H, q, $-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)-$), 3.90 (3H, s, $-\text{OCH}_3$), 4.17 (2H, m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 7.08-7.73 (6H, m, Aromatic H), 8.10 (br, $\text{H}_3\text{N}^+\text{CH}_2-$)

[0074] (2) ナプロキセン導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲル(ナプロキセン導入光架橋HAゲル)の合成

実施例1で得られたケイ皮酸アミノプロピル導入HA(光反応性HA) 100mg (0.25mmol/二糖単位) を、水11.5mL/ジオキササン11.5mLの溶液に溶解させた後、1mol/LのHOSu 0.1mL、0.5mol/LのWSCI・HCl 0.1mL、および、上記(1)で得られた0.5mol/Lのアミノプロピル-ナプロキセン(エステル)塩酸塩0.1mLを

順次加え、一昼夜攪拌し反応させた。反応液に5%炭酸水素ナトリウム水溶液1.5mLを加え、4時間攪拌した。次いで、50%酢酸43 μ Lを加え中和し、その後、塩化ナトリウム620mgを加え攪拌した。エタノール50mLを加え沈殿させ、80%エタノールで2回、エタノールで2回、ジエチルエーテルで1回洗浄し、一晚減圧乾燥し、83mgのナプロキセン導入光反応性HAの白色固体を得た。ナプロキセンの導入率は9.3%であった。

[0075] 得られたナプロキセン導入光反応性HA(光反応性基:ケイ皮酸)の1%リン酸緩衝生理的食塩水溶液を調製し、5mLガラスシリンジに充填した。充填されたシリンジに、3kwメタルハライドランプにより光照射し、ナプロキセン導入光架橋HAゲルを得た。さらに、ナプロキセン導入光架橋HAゲルが充填されたシリンジについて121 $^{\circ}$ C、20分間の熱処理を行った。回転粘度計を用いて、20 $^{\circ}$ Cにて粘度を測定したところ、標準コーン(1 $^{\circ}$ 34', 1rpm)で34.7Pa \cdot sであった。

[0076] (実施例3)イブプロフェン導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲルの合成

(1)アミノプロピル-イブプロフェン(エステル)塩酸塩の合成

調製例1で得られたBoc-アミノプロパノール352mg(2mmol)とイブプロフェン412mg(2mmol)をジクロロメタン2mLに溶解し、氷冷下でDMAP48mg(0.4mmol)、WSCI \cdot HCl423mg(2.2mmol)/ジクロロメタン2mLを順次添加した。反応液を室温に戻し、一昼夜攪拌した。さらに、酢酸エチルを加え、実施例2(1)と同様の方法で分液洗浄および脱水乾燥した後、酢酸エチルを減圧留去し、Boc-アミノプロピル-イブプロフェン665mg(収率91%)を得た。構造は、 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3)により同定した。

[0077] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ (ppm): 0.88 (6H, d, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.44 (9H, s, Boc), 1.49 (3H, d, $-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)-$), 1.75 (2H, m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 1.85 (1H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)$), 2.45 (2H, d, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)$), 3.05 (2H, m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.69 (1H, q, $-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)-$), 4.13 (2H, t, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 4.63 (1H, br, $-\text{NHCH}_2-$), 7.07-7.21 (4H, m, Aromatic H)

[0078] 得られたBoc-アミノプロピル-イブプロフェン636mg(1.75mmol)をジクロロメタン1mLに溶解し、氷冷下で4N塩酸/酢酸エチル4mLを加えて、氷冷下で10分間

攪拌し、その後、室温で3時間攪拌した。Boc-アミノプロピル-イブプロフェンの消失をTLCにより確認した後、反応液にジエチルエーテルを加え3回デカンテーションした。次いで、減圧乾燥し、アミノプロピル-イブプロフェン(エステル)塩酸塩を得た(収量406mg、収率77%)。構造は $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3)により同定した。

[0079] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ (ppm): 0.89 (6H, d, $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.47 (3H, d, $-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)-$), 1.83 (1H, m, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.08 (2H, quant, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 2.44 (2H, d, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3.01 (2H, t, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.71 (1H, q, $-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)-$), 4.11-4.27 (2H, m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 7.06-7.20 (4H, m, Aromatic H), 8.25 (br, $\text{H}_3\text{N}^+\text{CH}_2-$)

[0080] (2)イブプロフェン導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲル(イブプロフェン導入光架橋HAゲル)の合成

実施例1で得られたケイ皮酸アミノプロピル導入HA(光反応性HA)100mg(0.25mmol/二糖単位)と上記(1)で得られた0.5mol/Lのアミノプロピル-イブプロフェン(エステル)塩酸塩0.1mLを用い、実施例2(2)と同様の手順により85mgのイブプロフェン導入光反応性HAの白色固体を得た。イブプロフェンの導入率は9.1%であった。

[0081] 得られたイブプロフェン導入光反応性HAの1%リン酸緩衝生理的食塩水溶液を調製し、実施例2(2)と同様の方法により光照射を行い、イブプロフェン導入光架橋HAゲルを得、さらに、121°C、20分の熱処理を行った。回転粘度計を用いて、20°Cで粘度を測定したところ、標準コーン(1° 34', 1rpm)で13.1Pa·sであった。

[0082] (実施例4)フルルビプロフェン導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲルの合成

(1)アミノプロピル-フルルビプロフェン(エステル)塩酸塩の合成

調製例1で得られたBoc-アミノプロパノール352mg(2mmol)とフルルビプロフェン489g(2mmol)をジクロロメタン2mLに溶解し、実施例3(1)と同様の手順により、Boc-アミノプロピル-フルルビプロフェン753mg(収率94%)を得た。構造は、 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3)により同定した。

[0083] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.26 (9H, s, Boc), 1.54 (3H, d, $-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)-$), 1.80 (2H, quant, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.13 (2H, m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.76

(1H, q, $-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)-$), 4.15 (2H, m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 4.66 (1H, br, $-\text{NHC}$
 H_2-), 7.10–7.55 (9H, m, Aromatic H)

[0084] 上記で得られたBoc-アミノプロピル-フルルビプロフェン720mg (1.79mmol) をジクロロメタン1mLに溶解し、氷冷下で4N塩酸/酢酸エチル4mLを加えて、氷冷下で3分間攪拌し、その後、室温で3時間10分攪拌した。Boc-アミノプロピル-フルルビプロフェンの消失をTLCにより確認した後、反応液にジエチルエーテルを加え2回デカンテーションした。次いで、減圧乾燥し、アミノプロピル-フルルビプロフェン(エステル)塩酸塩を得た(収量352mg、収率94%)。構造は $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3)により同定した。

[0085] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.51 (3H, d, $-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)-$), 2.10 (2H, quat, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.05 (2H, t, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 3.76 (1H, q, $-\text{OCOCH}(\text{CH}_3)-$), 4.13–4.29 (2H, m, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 7.07–7.53 (9H, m, Aromatic H), 8.27 (br, $\text{H}_2\text{N}^+\text{CH}_2-$)

[0086] (2)フルルビプロフェン導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲル(フルルビプロフェン導入光架橋HAゲル)の合成

実施例1で得られたケイ皮酸アミノプロピル導入HA(光反応性HA)200mg (0.5mmol/二糖単位)を水23mL/ジオキサン23mLに溶解させた後、1mol/LのHOSu0.2mL、0.5mol/LのWSCl \cdot HCl0.2mL、および、上記(1)で得られた0.5mol/Lのアミノプロピル-フルルビプロフェン(エステル)塩酸塩0.2mLを順次加え、一昼夜攪拌し反応させた。反応液に5%炭酸水素ナトリウム水溶液1.5mLを加え、4時間攪拌した。次いで、50%酢酸43 μ Lを加え中和し、その後、塩化ナトリウム1.2gを加え攪拌した。エタノール100mLを加え沈殿させ、80%エタノールで2回、エタノールで2回、ジエチルエーテルで1回洗浄し、一晚減圧乾燥し、204mgのフルルビプロフェン導入光反応性HAを得た。フルルビプロフェンの導入率は9.3%であった。

[0087] 得られたフルルビプロフェン導入光反応性HAの1%リン酸緩衝生理的食塩水溶液を調製し、実施例2(2)と同様の方法により光照射を行い、フルルビプロフェン導入光架橋HAゲルを得、さらに、121 $^{\circ}\text{C}$ 、20分の熱処理を行った。回転粘度計を用いて、

20°Cで粘度を測定したところ、標準コーン(1° 34', 1rpm)で21. 2Pa・sであった。

[0088] (実施例5)フェルビナク導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲルの合成

(1)アミノプロピル-フェルビナク(エステル)塩酸塩の合成

調製例1で得られたBoc-アミノプロパノール2. 04mmol、フェルビナク2. 04mmolおよびDMAPO. 41mmolをジオキサン7mlに溶解させた後、氷冷下で、WSCI・HCl2. 35mmol/ジオキサン:ジクロロメタン(3:4)溶液7mLを加えた。さらに、ジメチルホルムアミド(以下、DMFとも言う)3mlを添加し、反応液を澄明とした後、室温に戻し、一昼夜攪拌した。酢酸エチルを加え、5%クエン酸水溶液、5%炭酸水素ナトリウム水溶液、飽和食塩水により順次分液洗浄を行った。硫酸ナトリウムで脱水乾燥した後、溶媒を減圧留去した。得られた残渣をシリカゲルクロマトグラフィー(展開溶媒(ヘキサン:酢酸エチル=3:1の0. 5%トリメチルアミン溶液))により精製し、Boc-アミノプロピル-フェルビナク623mg(収率83%)を得た。構造は、 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3)により同定した。

[0089] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, CDCl_3) δ (ppm): 1.44 (9H, s, Boc), 1.80-1.85 (2H, m, BocHN CH_2 CH_2 CH_2 O-), 3.15-3.19 (2H, m, BocHN CH_2 CH_2 CH_2 O-), 3.67 (2H, s, Ph CH_2 -), 4.18 (2H, t, BocHN CH_2 CH_2 CH_2 O-), 4.67 (1H, s, NH), 7.34-7.59 (9H, m, Aromatic)

[0090] 得られたBoc-アミノプロピル-フェルビナク1. 69mmolをジクロロメタン1mLに溶解し、氷冷下で4N塩酸/酢酸エチル3mLを加えた後、室温で2時間攪拌した。Boc-アミノプロピル-フェルビナクの消失をTLCにより確認した後、反応液にジエチルエーテルを加え、生じた沈殿を遠心分離した。得られた沈殿をジエチルエーテルにより3回デカンテーションした後、減圧乾燥し、アミノプロピル-フェルビナク(エステル)塩酸塩を得た(収量511. 7mg、収率99%)。構造は $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3)により同定した。

[0091] $^1\text{H-NMR}$ (500MHz, $\text{CDCl}_3:\text{CD}_3\text{OD}=1:1$) δ (ppm): 1.98-2.04 (2H, m, H NCH_2 CH_2 CH_2 H_2 O-), 2.95 (2H, t, H NCH_2 CH_2 CH_2 O-), 3.73 (2H, s, -Ph CH_2 -), 4.23 (2H, t, H NCH_2 CH_2 CH_2 O-), 7.33-7.59 (9H, m, Aromatic)

[0092] (2)フェルビナク導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲル(フェルビナク導入光架橋HAゲル)の合成

実施例1で得られたケイ皮酸アミノプロピル導入HA(光反応性HA)100mg(0.25mmol/二糖単位)を、水11.5mL/ジオキサン11.5mLに溶解させた後、HOSu(0.1mmol)/水0.1mL、WSCl \cdot HCl(0.05mmol)/水0.1mL、および、上記(1)で得られたアミノプロピルーフェルビナク(エステル)塩酸塩(0.05mmol)/水:ジオキサン(1:1)溶液2mLを順次加え、一昼夜攪拌し反応させた。反応液に5%炭酸水素ナトリウム水溶液1.5mLを加え、4時間攪拌した。次いで、50%酢酸43 μ Lを加え中和し、その後、塩化ナトリウム600mgを加え攪拌した。エタノール90mLを加え沈殿させ、80%エタノールで2回、エタノールで2回、ジエチルエーテルで1回洗浄し、室温で一晩減圧乾燥し、94mgのフェルビナク導入光反応性HAの白色固体を得た。フェルビナクの導入率は10.8%であった。

[0093] 得られたフェルビナク導入光反応性HAの1%リン酸緩衝生理的食塩水溶液を調製し、実施例2(2)と同様の方法で光照射し、フェルビナク導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲルを得、さらに、121 $^{\circ}$ C、20分の熱処理を行った。回転粘度計を用いて、20 $^{\circ}$ Cにて粘度を測定したところ、標準コーン(1 $^{\circ}$ 34', 1rpm)で7.32Pa \cdot sであった。

[0094] (実施例6)ジクロフェナク導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲルの合成

(1)アミノプロピルージクロフェナク(エステル)塩酸塩の合成

調製例1で得られたBoc-アミノプロパノール135.8mg(0.775mmol)をジクロロメタン1mLに溶解し、予めH-フォームとしたジクロフェナク229.6mg(0.775mmol)/ジクロロメタン溶液4mL、DMAP 18.9mg(0.155mmol)/ジクロロメタン溶液1mL、DMF 0.5mLを順次加え、氷冷下でWSCl \cdot HCl 191.4mg(0.998mmol)/ジクロロメタン溶液2mLを加えて徐々に室温としながら7時間攪拌した。さらに反応液を氷冷し、予めH-フォームとしたジクロフェナク91.9mg(0.310mmol)/ジクロロメタン溶液1mL、DMAP 7.5mg(0.061mmol)、WSCl \cdot HCl 70.9mg(0.370mmol)/ジクロロメタン溶液1mLを順次加えて徐々に室温としながら11時間攪拌した。さらに反応液を氷冷し、予めH-フォームとしたジクロフェナク91.8mg(0.310mmol)/ジクロロメタン溶液1mL、WSCl \cdot HCl 70.4mg(0.367mmol)/ジクロロメタン溶液1mLを順次加えて徐々に室温としながら5時間攪拌した。さらに反応液を氷冷し、予めH-フォームとしたジクロフェナク91.9mg(0.310mmol)/ジクロロメタ

ン溶液1mL、WSCI・HCl 70.7mg(0.369mmol)/ジクロロメタン溶液1mLを順次加えて徐々に室温としながら5時間攪拌した。さらに反応液を氷冷し、予めH-フォームとしたジクロフェナク91.7mg(0.310mmol)/ジクロロメタン溶液1mL、WSCI・HCl 71.6mg(0.374mmol)/ジクロロメタン溶液1mLを順次加えて徐々に室温としながら14時間攪拌した。

[0095] さらに反応液を氷冷し、予めH-フォームとしたジクロフェナク92.0mg(0.311mmol)/ジクロロメタン溶液1mL、WSCI・HCl 72.0mg(0.376mmol)/ジクロロメタン溶液1mLを順次加えて徐々に室温としながら6時間攪拌した。。酢酸エチルを加え、5%クエン酸水溶液で2回、5%重曹水で2回、飽和食塩水で順次分液洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水後、酢酸エチルを減圧留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(展開溶媒:ヘキサン:酢酸エチル(7:1)の0.5%トリエチルアミン溶液)で精製し、標記化合物を280.2mg(80%)得た。構造は¹H-NMRにより同定した。

[0096] ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.44 (9H, s, Boc), 1.85 (2H, quant, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 3.16 (2H, q, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 3.82 (2H, s, Ph-CH₂-CO), 4.22 (2H, t, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 4.68 (1H, s, NH), 6.54-7.35 (8H, m, Aromatic H, NH)

[0097] 得られたBoc-アミノプロピル-ジクロフェナク1019mgをジクロロメタン2mLに溶解し、氷冷下で4N塩酸/酢酸エチル8mLを加えて3時間攪拌した。ジエチルエーテル150mLを加えて沈殿させ、沈殿を減圧乾燥し、アミノプロピル-ジクロフェナク(エステル)塩酸塩を791mg(90%)得た。構造は¹H-NMRにより同定した。

¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ (ppm): 2.13 (2H, quant, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 3.08 (2H, t, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 3.84 (2H, s, Ph-CH₂-CO), 4.25 (2H, t, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 6.52-7.33 (8H, m, Aromatic H, NH)

[0098] (2)ジクロフェナク導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲル(ジクロフェナク導入光架橋HAゲル)の合成

実施例1で得られたケイ皮酸アミノプロピル導入HA(光反応性HA) 110mg (0.28mmol/二糖単位)を水12.7mL/ジオキサン12.7mLに溶解させた後、HOSu(0.11mmol)/水0.11mL、WSCI・HCl(0.055mmol)/水0.11mL、実施例6(1)で得られたアミノプロピル-ジクロフェナク(エステル)塩酸塩(0.055mmol)/水:ジオキサン(1:1)溶液2mLを順次

加え、一昼夜攪拌し反応させた。反応液に5%炭酸水素ナトリウム水溶液1.65mLを加え、4時間攪拌した。反応液に50%酢酸47 μ Lを加え中和後、塩化ナトリウム660mgを加えて攪拌した。エタノール90mlを加えて沈殿させ、沈殿物を80%エタノールで2回、エタノールで2回、ジエチルエーテルで洗浄し、室温により一晩減圧乾燥した。111mgのジクロフェナク導入光反応性HAの白色固体を得た。¹H-NMRによるジクロフェナクの導入率は13.6%だった。

[0099] 上記で得られたジクロフェナク導入光反応性HAの1%リン酸緩衝生理的食塩水溶液を調製し、実施例2(2)と同様な方法で光照射し、ジクロフェナク導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲルを得た。

[0100] (実施例7) エトドラク導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲルの合成

(1) アミノプロピルーエトドラク(エステル)塩酸塩の合成

調製例1で得られたBoc-アミノプロパノール178.8mg(1.02mmol)、エトドラク293.8mg(1.02mmol)およびDMAP 23.8mg(0.20mmol)をジクロロメタン4mLに溶解し、氷冷下でWSCI \cdot HCl 233.8mg(1.22mmol)/ジクロロメタン溶液2mLを加えて徐々に室温としながら一昼夜攪拌した。さらに氷冷下でWSCI \cdot HCl 68.8mg(0.36mmol)/ジクロロメタン溶液2mLを加えて徐々に室温としながら80分間攪拌した。酢酸エチルを加え、5%クエン酸水溶液で2回、5%重曹水で2回、飽和食塩水で順次分液洗浄した。硫酸ナトリウムで脱水後、酢酸エチルを減圧留去した。残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(展開溶媒:ヘキサン:酢酸エチル(3:1)の0.5%トリエチルアミン溶液)で精製し、Boc-アミノプロピルーエトドラク436.3mg(収率96%)を得た。構造は¹H-NMRにより同定した。

[0101] ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.83 (3H, t, -CH₂CH₃), 1.37 (3H, t, -CH₂CH₃), 1.43 (9H, s, Boc), 1.79 (2H, quant, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 3.14 (2H, q, -NHCH₂CH₂O-), 4.10-4.22 (2H, m, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 4.63 (1H, s, NH), 7.00-7.37 (3H, m, Aromatic H), 8.97 (1H, s, NH)

[0102] 上記で得られたBoc-アミノプロピルーエトドラク421.5mg(0.948mmol)をジクロロメタン1mLに溶解し、氷冷下で4N塩酸/酢酸エチル3mLを加えて3時間攪拌した。ジエチルエーテル、ヘキサンを加えて沈殿させ、沈殿を減圧乾燥した。沈殿をシリカゲルカ

ラムクロマトグラフィー(展開溶媒:クロロホルム:メタノール(3:1)の0.5%トリエチルアミン溶液)で精製し、アミノプロピルーエトドラク(エステル)塩酸塩を197.6mg(55%)得た。構造は¹H-NMRにより同定した。

[0103] ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ (ppm): 0.81 (3H, t, -CH₂CH₃), 1.35 (3H, t, -CH₂CH₃), 1.92-2.17 (4H, m, -CH₂CH₃, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 4.12 (1H, quant, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 4.20 (1H, quant, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 6.99-7.35 (3H, m, Aromatic H), 8.99 (1H, s, NH)

[0104] (2)エトドラク導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲル(エトドラク導入光架橋HAゲル)の合成

実施例1で得られたケイ皮酸アミノプロピル導入HA89.2mg (0.223mmol/二糖単位)を水10.3mL/ジオキサン10.3mLに溶解させた後、HOSu(0.0892mmol)/水0.1mL、WSCl·HCl(0.0446mmol)/水0.1mL、実施例7(1)で得られたアミノプロピルーエトドラク(エステル)塩酸塩(0.0446mmol)/水:ジオキサン(1:1)溶液2mLを順次加え、一昼夜攪拌し反応させた。反応液に5%炭酸水素ナトリウム水溶液1.34mLを加え、4時間攪拌した。反応液に50%酢酸38 μLを加え中和後、塩化ナトリウム540mgを加えて攪拌した。エタノール90mlを加えて沈殿させ、沈殿物を80%エタノールで2回、エタノールで2回、ジエチルエーテルで洗浄し、室温で一晩減圧乾燥した。80mgのエトドラク導入光反応性HA(白色固体)を得た。HPLCにより測定したエトドラクの導入率は7.7%であった。

[0105] 上記で得られたエトドラク導入光反応性HAの1%リン酸緩衝生理的食塩水溶液を調製し、実施例2(2)と同様の方法で光照射し、エトドラク導入光架橋HAゲルを得、さらに121°C、20分の熱処理を実施した。回転粘度計を用いて、20°Cにて粘度を測定したところ、標準コーン(1° 34', 1rpm)で12.7Pa·sであった。

[0106] (実施例8)アクタリット導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲルの合成

(1)アミノプロピルーアクタリット(エステル)塩酸塩(抗リウマチ薬)の合成

調製例1で得られたBoc-アミノプロパノール123.1mg(0.703mmol)、をジクロロメタン2mLに溶解し、アクタリット136.0mg(0.704mmol)/DMF溶液1mLを加え、氷冷下でDMA P 17.1mg(0.140mmol)、WSCl·HCl 175.4mg(0.915mmol)を順次加えて徐々に室温と

しながら一昼夜攪拌し反応させた。反応液に酢酸エチルを加え、実施例5(1)と同様の方法で分液洗浄、脱水乾燥した後、溶媒を留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製した。シリカゲルクロマトグラフィーの展開溶媒には、ヘキサン:酢酸エチル(1:2)の0.5%トリエチルアミン溶液を用いた。アミノプロピル-アクタリット(エステル)塩酸塩を203.1mg(83%)得た。構造は¹H-NMRにより同定した。

[0107] ¹H-NMR (500MHz, CDCl₃) δ (ppm): 1.44 (9H, s, Boc), 1.80 (2H, quant, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 2.18 (3H, s, NAc), 3.14 (2H, q, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 3.59 (2H, s, Ph-CH₂-CO), 4.15 (2H, t, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 4.66 (1H, s, NH), 7.13 (1H, s, NH), 7.23 (2H, d, Aromatic H), 7.46 (2H, d, Aromatic H)

[0108] 得られたBoc-アミノプロピル-アクタリット201.3mg(0.574mmol)をジクロロメタン2mLに溶解し、氷冷下で4N塩酸/酢酸エチル3mLを加えて3時間攪拌した。ジエチルエーテルを加えて沈殿させ、沈殿をジエチルエーテルで2回洗浄後、減圧乾燥し、アミノプロピル-アクタリット(エステル)塩酸塩161.3mg(98%)得た。構造は¹H-NMRにより同定した。

[0109] ¹H-NMR (500MHz, CD₃OD) δ (ppm): 1.94-1.99 (2H, m, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 2.11 (3H, s, NAc), 2.94 (2H, t, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 3.63 (2H, s, Ph-CH₂-CO), 4.19 (2H, t, -NHCH₂CH₂CH₂O-), 7.22-7.51 (4H, m, Aromatic H)

[0110] (2)アクタリット導入光架橋ヒアルロン酸ナトリウムゲル(アクタリット導入光架橋HAゲル)の合成

[0111] 実施例1で得られたケイ皮酸アミノプロピル導入HA(光反応性HA)100mg(0.25mmol/二糖単位)を水11.5mL/ジオキサン11.5mLに溶解させた後、HOSu(0.2mmol)/水0.1mL、WSCl·HCl(0.1mmol)/水0.1mL、上記(1)で得られたアミノプロピル-アクタリット(エステル)塩酸塩(0.1mmol)/水:ジオキサン(1:1)溶液2mLを順次加え、一昼夜攪拌し反応させた。反応液に5%炭酸水素ナトリウム水溶液1.5mLを加え、5時間10分攪拌した。実施例5(2)と同様の方法で、反応液を中和後、エタノールで沈殿させ、沈殿物を洗浄、減圧乾燥し、100mgのアクタリット導入光反応性HAの白色固体を得た。HPLCにより測定したアクタリットの導入率は15.6%だった。

[0112] 得られたアクタリット導入光反応性HAの1%リン酸緩衝生理的食塩水溶液を調製

し、実施例2(2)と同様の方法で光照射し、アクタリット導入光架橋HAゲルを得、さらに121°C、20分の熱処理を実施した。回転粘度計を用いて、20°Cにて粘度を測定したところ、標準コーン(1° 34'、1rpm)で10.8Pa・sであった。

[0113] (実施例9) ケイ皮酸アミノプロピル塩酸塩およびアミノプロピルフェルビナク(エステル)塩酸塩を同時添加するフェルビナク導入光架橋HAゲルの合成

重量平均分子量80万のヒアルロン酸100mg (0.25mmol/二糖単位)を水11.25mL/ジオキサン11.25mLに溶解させた後、HOSu(0.275mmol)/水0.1mL、WSCl・HCl(0.1375mmol)/水0.1mLを加え、さらに、実施例5(1)で得られたアミノプロピルフェルビナク(エステル)塩酸塩(0.05mmol)と調製例2で得られたケイ皮酸アミノプロピル塩酸塩(0.0875mmol)/水:ジオキサン(1:1)溶液2mLを同時に添加し一昼夜攪拌し反応させた。実施例5(2)と同様の手順により、反応液に5%炭酸水素ナトリウム水溶液1.5mLを加え4時間攪拌し、次いで、反応液を中和させた後、エタノールにより沈殿させ、沈殿物を洗浄、減圧乾燥して、92mgのフェルビナク導入光反応性HAの白色固体を得た。HPLCにより測定したフェルビナクの導入率は8.7%、trans-ケイ皮酸の導入率は13.3%だった。

[0114] 得られたフェルビナク導入光反応性HAの1%リン酸緩衝生理的食塩水溶液を調製し、実施例2(2)と同様の方法で光照射し、フェルビナク導入光架橋HAゲルを得、次いで、熱処理を行った。回転粘度計を用いて、20°Cにて粘度を測定したところ、標準コーン(1° 34'、1rpm)で12.1Pa・sであった。

[0115] 上記結果より、ケイ皮酸アミノプロピル塩酸塩およびアミノプロピルフェルビナク(エステル)塩酸塩を同時に導入して製造した薬剤導入光反応性ヒアルロン酸もゲル化できることが明らかになった。

[0116] (実施例10) アミノプロピルフェルビナク導入ヒアルロン酸ナトリウムへのケイ皮酸アミノプロピル塩酸塩添加によるフェルビナク導入光架橋HAゲルの合成

(1) フェルビナク導入ヒアルロン酸ナトリウム(フェルビナク導入HA)

重量平均分子量80万のヒアルロン酸500mg (1.25mmol/二糖単位)を水56.3mL/ジオキサン56.3mLに溶解させた後、HOSu(0.5mmol)/水0.5mL、WSCl・HCl(0.25mmol)/水0.5mL、実施例5(1)で得られたアミノプロピルフェルビナク(エステル)塩酸塩(0.

25mmol)/水:ジオキサン(1:1)溶液5mLを順次加え、一昼夜攪拌し反応させた。反応液に5%炭酸水素ナトリウム水溶液7.5mLを加え、4時間攪拌した。反応液に50%酢酸215 μ Lを加え中和後、塩化ナトリウム3gを加えて攪拌した。エタノール500mlを加えて沈殿させ、沈殿物を80%エタノールで2回、エタノールで2回、ジエチルエーテルで順次洗浄し、室温で一晩減圧乾燥した。489mgのフェルビナク導入HAの白色固体を得た。HPLCにより測定したフェルビナクの導入率は7.6%だった。

[0117] (2)フェルビナク導入光架橋HAゲル

実施例10(1)で得られたフェルビナク導入HA100mg (0.25mmol/二糖単位)を水11.25mL/ジオキサン11.25mLに溶解させた後、HOSu(0.2mmol)/水0.2mL、WSCl \cdot HCl(0.1mmol)/水0.2mL、実施例2で製造したケイ皮酸アミノプロピル塩酸塩(0.1mmol)/水:ジオキサン(1:1)溶液2mLを順次加え、一昼夜攪拌し反応させた。反応液に5%炭酸水素ナトリウム水溶液1.5mLを加え、4時間攪拌した。次いで、実施例5(2)と同様の手順により、反応液を中和後エタノールにより沈殿させ、沈殿物を洗浄、減圧乾燥して、85mgのフェルビナク導入光反応性HAの白色固体を得た。HPLCにより測定したtrans-ケイ皮酸の導入率は14.8%だった。

[0118] 得られたフェルビナク導入光反応性HAの1%リン酸緩衝生理的食塩水溶液を調製し、実施例2(2)と同様の方法で光照射し、フェルビナク導入光架橋HAゲルを得、その後、121 $^{\circ}$ C、20分の熱処理を行った。回転粘度計を用いて、20 $^{\circ}$ Cにて粘度を測定したところ、標準コーン(1 $^{\circ}$ 34', 1rpm)で27.08Pa \cdot sであった。

[0119] (実施例11)アミノプロピルフェルビナク(エステル)塩酸塩およびケイ皮酸アミノプロピル塩酸塩の逐次添加によるフェルビナク導入光架橋HAゲルの合成

重量平均分子量80万のヒアルロン酸100mg (0.25mmol/二糖単位)を水11.25mL/ジオキサン11.25mLに溶解させた後、HOSu(0.1mmol)/水0.1mL、WSCl \cdot HCl(0.05mmol)/水0.1mL、実施例5(1)で得られたアミノプロピルフェルビナク(エステル)塩酸塩(0.05mmol)/水:ジオキサン(1:1)溶液2mLを順次加え、6時間攪拌した。さらに、HOSu(0.2mmol)/水0.2mL、WSCl \cdot HCl(0.1mmol)/水0.2mL、ケイ皮酸アミノプロピル塩酸塩(0.1mmol)/水:ジオキサン(1:1)溶液2mLを順次加え、一昼夜攪拌し反応させた。反応液に5%炭酸水素ナトリウム水溶液1.5mLを加え、5時間30分攪拌した。反応液に50%

酢酸43 μ Lを加え中和後、塩化ナトリウム0.6gを加えて攪拌した。エタノール100mlを加えて沈殿させ、沈殿物を80%エタノールで2回、エタノールで2回、ジエチルエーテルで順次洗浄し、室温で一晩減圧乾燥した。90mgのフェルビナク導入光反応性HAの白色固体を得た。HPLCにより測定したフェルビナクおよびtrans-ケイ皮酸の導入率は11.4および13.9%だった。

[0120] 得られたフェルビナク導入光反応性HAの1%リン酸緩衝生理的食塩水溶液を調製し、実施例2(2)と同様の方法で光照射し、フェルビナク導入光架橋HAゲルを得、その後、121°C、20分の熱処理を行った。回転粘度計を用いて、20°Cにて粘度を測定したところ、標準コーン(1° 34', 1rpm)で12.95Pa·sであった。

[0121] (実施例12) ケイ皮酸アミノプロピル塩酸塩およびアミノプロピルフェルビナク(エステル)塩酸塩の逐次添加によるフェルビナク導入光架橋HAゲルの合成

重量平均分子量80万のヒアルロン酸100mg (0.25mmol/二糖単位)を水11.25mL/ジオキサン11.25mLに溶解させた後、HOSu(0.2mmol)/水0.2mL、WSCl·HCl(0.1mmol)/水0.2mL、ケイ皮酸アミノプロピル塩酸塩(0.1mmol)/水:ジオキサン(1:1)溶液2mLを順次加え、6時間攪拌した。さらに、HOSu(0.1mmol)/水0.1mL、WSCl·HCl(0.05mmol)/水0.1mL、実施例5(1)で得られたアミノプロピルフェルビナク(エステル)塩酸塩(0.05mmol)/水:ジオキサン(1:1)溶液2mLを順次加え、一昼夜攪拌し反応させた。実施例11と同様の手順により、反応液に5%炭酸水素ナトリウム水溶液1.5mLを加え5時間30分攪拌した後、反応液を中和し、エタノールで沈殿させ、沈殿物を洗浄、減圧乾燥した。89mgのフェルビナク導入光反応性HAの白色固体を得た。HPLCにより測定したtrans-ケイ皮酸およびフェルビナクの導入率は18.2および5.7%だった。

[0122] 得られたフェルビナク導入光反応性HAの1%リン酸緩衝生理的食塩水溶液を調製し、実施例2(2)と同様の方法で光照射しフェルビナク導入光架橋HAゲルを得、その後、121°C、20分の熱処理を行った。回転粘度計を用いて、20°Cにて粘度を測定したところ、標準コーン(1° 34', 1rpm)で22.58Pa·sであった。

[0123] (実施例13)

上記実施例2~5、実施例7~9の計7種類の薬剤導入架橋HAゲルの粘度、性状および23Gの注射針からの押出具合を調べた。評価は、以下の基準に従い実施し

た。

[0124] [性状]

注射針先からの押出状態：下記「押出具合」の試験において押し出し可能な被検物質について、下方約45度に傾けた23Gの注射針からゆっくりと押し出した時に針先に保形性を有する固まりができるものを(O)、できないものを(X)とした。

[押出具合]

○：押出易

×：押出難

[0125] 尚、押出具合の基準としては、制限圧力(0.5~5kg/cm²)範囲内で、5ml容量のシリンジ内に充填したゲル(2ml~5ml)が、23ゲージの注射針を通して全て押出される場合を、押出易(O)とした。また、同様の操作により、例えば不溶物による詰まり等によりシリンジ内に充填したゲルが全て押出されない場合を、押出難(X)とした。

結果を下記表に示す。

[0126] [表1]

実施例	導入薬剤	ケイ皮酸導入率(%)	薬剤導入率(%)	粘度	押出状態	押出具合
2	ナブ [®] ロキセン	16.2	9.3	34.7	○	○
3	イブ [®] プロフェン	16.2	9.1	13.1	○	○
4	フルビ [®] プロフェン	16.2	9.3	21.2	○	○
5	フェルビ [®] ナク	16.2	10.8	7.32	×	○
7	エト [®] ラカ	16.2	7.7	12.7	○	○
8	アクトリット	16.2	15.6	10.8	○	○
9	フェルビ [®] ナク	13.3	8.7	12.1	△	○

請求の範囲

- [1] 薬剤を共有結合により導入した光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルであって、注入具より押し出し可能な性状である薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [2] 「ヒアルロン酸」に「光反応性基」と「薬剤」とがスペーサーを介して共有結合によりそれぞれ結合している請求項1に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [3] 20～25ゲージの注射針により、0.5～5kg/cm²の圧力で押し出し可能である請求項1または2に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [4] 「光反応性基」が、ケイ皮酸誘導体またはアミノケイ皮酸誘導体からなることを特徴とする請求項1～3の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [5] 「薬剤」が、カルボキシル基あるいは水酸基と結合できる官能基を有する物質であることを特徴とする請求項1～4の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [6] 「スペーサー」が、カルボン酸、水酸基およびアミノ基から選択される官能基を2個以上有する化合物の残基であることを特徴とする請求項5記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [7] 「薬剤」が、非ステロイド性抗炎症剤、抗リウマチ剤、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、ステロイド剤および抗癌剤から選択される請求項1～6の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [8] 「薬剤」が、非ステロイド性抗炎症剤または抗リウマチ剤であることを特徴とする請求項7に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [9] 「光反応性基」および「薬剤」が、ヒアルロン酸のカルボキシル基にそれぞれ結合されていることを特徴とする請求項1～8の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [10] 「光反応性基」又は「光反応性基を結合しているスペーサー」が、アミド結合にてヒアルロン酸のカルボキシル基に結合されていることを特徴とする請求項1～9の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [11] 「薬剤」がエステル結合又はアミド結合にて直接ヒアルロン酸のカルボキシル基に結合されていることを特徴とする請求項1～10の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋

ヒアルロン酸誘導体ゲル。

- [12] 「薬剤」がエステル結合にて「スペーサー」と結合し、当該薬剤結合スペーサーがアミド結合にてヒアルロン酸のカルボキシル基に結合されていることを特徴とする請求項1～10の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [13] 「光反応性基」および「薬剤」を合わせた導入率が、ヒアルロン酸の繰り返し二糖単位モル数に対して10～45モル%である請求項1～12の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [14] 製造工程において、光架橋の前にアルカリ処理することにより得られうる請求項1～13の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [15] 「ヒアルロン酸」に「光反応性基」と「薬剤」とがそれぞれ共有結合にて結合しており、水性媒体に対し可溶性であることを特徴とする薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体。
- [16] 「ヒアルロン酸」に「光反応性基」と「薬剤」とがスペーサーを介して共有結合によりそれぞれ結合している請求項15に記載の薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体。
- [17] 製造工程において、ヒアルロン酸への光反応性基及び／又は薬剤の導入後のいずれかの段階でアルカリ処理することにより得られうる請求項15または16に記載の薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体。
- [18] 請求項15～17の何れか一項に記載の薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体の水性溶液に、紫外線を照射させて得られうる薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [19] 紫外線を照射後、滅菌することにより得られうる請求項18記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。
- [20] 請求項1～11、請求項18および19の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルが注入具に充填され、ガスケットで密封された薬剤封入注入具。
- [21] 滅菌に供された請求項20記載の薬剤封入注入具。
- [22] 請求項1～11、請求項18および19の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルを含む医薬。
- [23] 請求項1～11、請求項18および19の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲル。

- ン酸誘導体ゲルを含む局所投与用製剤。
- [24] 請求項1～11、請求項18および19の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルを含む関節症治療剤。
- [25] 請求項1～11、請求項18および19の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルを含む、ヒアルロン酸に導入した薬剤を徐放する性質を有することを特徴とする薬剤徐放用製剤。
- [26] カルボン酸、水酸基およびアミノ基から選択される反応性基を2個以上有するスペーサーと薬剤が共有結合により結合している薬剤誘導体。
- [27] 薬剤が、非ステロイド性抗炎症剤、抗リウマチ剤、マトリックスメタロプロテアーゼ阻害剤、ステロイド剤および抗癌剤から選択される請求項26記載の薬剤誘導体。
- [28] 「ヒアルロン酸」に「光反応性基」と「薬剤」とを、スペーサーを介しあるいは介さずにそれぞれ共有結合により結合させて薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を得た後、該誘導体の水性溶液に紫外線を照射することを特徴とする注入可能な薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルの製造方法。
- [29] 請求項15～17の何れか一項に記載の薬剤導入光反応性ヒアルロン酸誘導体を水性媒体に溶解させて溶液を調製し、当該溶液に紫外線を照射する工程を含むことを特徴とする注入可能な薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルの製造方法。
- [30] 請求項1～11、請求項18および19の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルを直接患部に投与することを特徴とする薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルの薬剤徐放性剤としての使用。
- [31] 請求項1～11、請求項18および19の何れか一項に記載の薬剤導入光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルが、該ゲルを押し出すことが可能な注入具に充填されたヒアルロン酸誘導体注入用キット。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/313412

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K47/48(2006.01) i, A61K31/192(2006.01) i, A61P29/00(2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K47/48, A61K31/192, A61P29/00

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	1996-2006
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2006	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2006

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

Caplus (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 11-512778 A (Seikagaku Corp.), 02 November, 1999 (02.11.99), Full text; particularly, Claims; page 22, line 27 to page 23, line 12	1, 3-5, 9-11, 13-15, 17-23, 25, 28, 29, 31
Y	& WO 97/18244 A1 & EP 861270 A1 & US 6031017 A & AU 9675872 A & NO 9802212 A & CN 1207744 A & KR 99067621 A	2, 6-8, 12, 16, 24
X	JP 2001-329002 A (Denki Kagaku Kogyo Kabushiki Kaisha), 27 November, 2001 (27.11.01), Full text; particularly, Claims; Par. Nos. [0005], [0011], [0032], [0034] (Family: none)	1, 3-5, 9-11, 13-15, 17-23, 25, 28, 29, 31
Y		2, 6-8, 12, 16, 24

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 14 August, 2006 (14.08.06)	Date of mailing of the international search report 29 August, 2006 (29.08.06)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/313412

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	WO 99/59603 A1 (Chugai Pharmaceutical Co., Ltd.), 25 November, 1999 (25.11.99), Full text; particularly, Claims; page 15, lines 16 to 20 & EP 1082963 A1 & AU 9938490 A & KR 2001025040 A	26,27 2,6-8,12,16, 24
X Y	WO 2004/035629 A2 (FIDIA FARMACEUTICI S.p.A.), 29 April, 2004 (29.04.04), Full text; particularly, Claims; pages 31 to 32 & JP 2006-504747 A & EP 1560854 A2 & AU 2003267441 A1 & BR 200315431 A & NO 200502399 A	26,27 2,6-8,12,16, 24
X Y	WO 97/46261 A1 (Daiichi Pharmaceutical Co., Ltd.), 11 December, 1997 (11.12.97), Full text; particularly, Claims; page 11, lines 1 to 11 & EP 955064 A1 & US 6291671 B1 & AU 9729788 A & NO 9805667 A & CN 1227500 A & KR 2000016371 A & TW 409058 A	26,27 2,6-8,12,16, 24
A	EP 713859 A2 (SEIKAGAKU KOGYO KABUSHIKI KAISHA), 29 May, 1996 (29.05.96), Full text & JP 08-143604 A & JP 09-087236 A & US 6025444 A & US 6107410 A & AU 9537931 A & CA 2162957 A & CN 1133834 A & CN 1245812 A	1-29,31
A	JP 06-073102 A (Seikagaku Corp.), 15 March, 1994 (15.03.94), Full text & EP 554898 A2 & US 5462976 A & US 5763504 A & AU 9332878 A & CA 2088831 A & TW 222644 A & CN 1075970 A	1-29,31
A	JP 09-188705 A (Seikagaku Corp.), 22 July, 1997 (22.07.97), Full text (Family: none)	1-29,31
P,X P,A	WO 2005/066214 A1 (Seikagaku Corp.), 21 July, 2005 (21.07.05), Full text (Family: none)	26,27 1-25,28,29, 31

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/313412

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 30
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claim 30 pertains to methods for treatment of the human body by therapy and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under the provisions of the PCT Rule 39.1(iv), to search.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. The subject matter of claims 1-25, 28, 29, and 31 pertains to a photocrosslinked hyaluronic acid derivative gel containing a drug introduced through covalent bonding.

2. The subject matter of claims 26 and 27 pertains to a drug derivative comprising a drug and, bonded thereto by covalent bonding, a spacer having two or more reactive groups selected among carboxy, hydroxy, and amino.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest
the

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, payment of a protest fee..
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
 Int.Cl. A61K47/48(2006.01)i, A61K31/192(2006.01)i, A61P29/00(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. A61K47/48, A61K31/192, A61P29/00

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
 日本国実用新案公報 1922-1996年
 日本国公開実用新案公報 1971-2006年
 日本国実用新案登録公報 1996-2006年
 日本国登録実用新案公報 1994-2006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)
 CAplus(STN)

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 請求の範囲の番号
X	JP 11-512778 A (生化学工業株式会社) 1999. 11. 02, 全文、特に、特許請求の範囲、第 22 頁第 27 行-第 23 頁第 12 行 & WO 97/18244 A1 & EP 861270 A1 & US 6031017 A & AU 9675872 A & NO 9802212 A & CN 1207744 A	1, 3-5, 9-11, 13-15, 17-23, 25, 28, 29, 31
Y	& KR 99067621 A	2, 6-8, 12, 16, 24

C 欄の続きにも文献が列挙されている。 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 14. 08. 2006	国際調査報告の発送日 29. 08. 2006
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/J P) 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) 新 留 素 子 電話番号 03-3581-1101 内線 3492

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 請求の範囲の番号
X Y	JP 2001-329002 A (電気化学工業株式会社) 2001. 11. 27, 全文、特に特許請求の範囲、【0005】、【0011】、【0032】、【0034】段落 (ファミリーなし)	1, 3-5, 9-11, 13-15, 17-23, 25, 28, 29, 31 2, 6-8, 12, 16, 24
X Y	WO 99/59603 A1 (中外製薬株式会社) 1999. 11. 25, 全文、特に、特許請求の範囲、第 15 頁第 16 行-第 20 行 & EP 1082963 A1 & AU 9938490 A & KR 2001025040 A	26, 27 2, 6-8, 12, 16, 24
X Y	WO 2004/035629 A2 (FIDIA FARMACEUTICI S. P. A.) 2004. 04. 29, 全文、特に、Claims、pages 31-32 & JP 2006-504747 A & EP 1560854 A2 & AU 2003267441 A1 & BR 200315431 A & NO 200502399 A	26, 27 2, 6-8, 12, 16, 24
X Y	WO 97/46261 A1 (第一製薬株式会社) 1997. 12. 11, 全文、特に、特許請求の範囲、第 11 頁第 1-11 行 & EP 955064 A1 & US 6291671 B1 & AU 9729788 A & NO 9805667 A & CN 1227500 A & KR 2000016371 A & TW 409058 A	26, 27 2, 6-8, 12, 16, 24
A	EP 713859 A2 (SEIKAGAKU KOGYO KABUSHIKI KAISYA) 1996. 05. 29, 全文 & JP 08-143604 A & JP 09-087236 A & US 6025444 A & US 6107410 A & AU 9537931 A & CA 2162957 A & CN 1133834 A & CN 1245812 A	1-29, 31
A	JP 06-073102 A (生化学工業株式会社) 1994. 03. 15, 全文 & EP 554898 A2 & US 5462976 A & US 5763504 A & AU 9332878 A & CA 2088831 A & TW 222644 A & CN 1075970 A	1-29, 31
A	JP 09-188705 A (生化学工業株式会社) 1997. 07. 22, 全文 (ファミリーなし)	1-29, 31
P X P A	WO 2005/066214 A1 (生化学工業株式会社) 2005. 07. 21, 全文 (ファミリーなし)	26, 27 1-25, 28, 29, 31

第II欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. 請求の範囲 30 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、請求の範囲30は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT規則39.1(iv)の規定により、国際調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第III欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. 請求の範囲1-25, 28, 29, 31に係る発明は、薬剤を共有結合により導入した光架橋ヒアルロン酸誘導体ゲルに関するものである。

2. 請求の範囲26, 27に係る発明は、カルボン酸、水酸基およびアミノ基から選択される反応性基を2個以上有するスペーサーと薬剤が共有結合により結合している薬剤誘導体に関するものである。

1. 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- 追加調査手数料及び、該当する場合には、異議申立手数料の納付と共に、出願人から異議申立てがあった。
- 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあったが、異議申立手数料が納付命令書に示した期間内に支払われなかった。
- 追加調査手数料の納付を伴う異議申立てがなかった。