



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104109252 A

(43) 申请公布日 2014. 10. 22

(21) 申请号 201410163492. 6

(22) 申请日 2014. 04. 22

(30) 优先权数据

2013-089142 2013. 04. 22 JP

2013-089143 2013. 04. 22 JP

(71) 申请人 日东电工株式会社

地址 日本大阪

(72) 发明人 菅原晋仁 三浦智惠子 须藤伦子

中川雅央 吉川利之

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限

责任公司 11219

代理人 杨海荣 穆德骏

(51) Int. Cl.

C08J 3/24 (2006. 01)

C08J 3/28 (2006. 01)

C08L 89/00 (2006. 01)

A61K 47/42 (2006. 01)

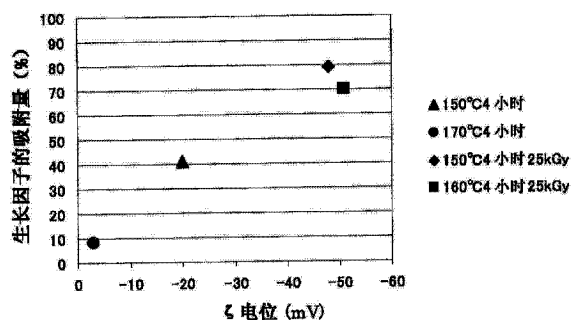
权利要求书1页 说明书10页 附图1页

(54) 发明名称

交联明胶载体和使用其用于控制释放生理活性物质的载体

(57) 摘要

本发明涉及交联明胶载体和使用其用于控制释放生理活性物质的载体。本发明涉及一种交联明胶载体,其中交联明胶的表面带有负电荷、并且在乙醇中的 ζ 电位是 -3 至 -50mV ;和一种用于控制释放生理活性物质的载体,其包含:所述交联明胶载体;和被吸附并且保持在所述交联明胶载体上和/或内的生理活性物质。



1. 一种交联明胶载体,其中交联明胶的表面带有负电荷、并且在乙醇中的 ζ 电位是 -3 至 -50mV。

2. 根据权利要求 1 所述的交联明胶载体,其中所述交联明胶是热交联的。

3. 根据权利要求 2 所述的交联明胶载体,其中所述交联明胶进一步经历了分解处理。

4. 根据权利要求 3 所述的交联明胶载体,其中所述分解处理是 γ 射线照射处理。

5. 根据权利要求 3 所述的交联明胶载体,其中所述交联明胶载体中水溶性物质的含量在所述分解处理之前是 15 至 50 重量%并且在所述分解处理之后增加到 25 至 75 重量%。

6. 根据权利要求 1 所述的交联明胶载体,其中所述交联明胶载体是具有很孔结构的单个粒子或其粒子聚集体。

7. 一种用于控制释放生理活性物质的载体,其包含:

根据权利要求 1 所述的交联明胶载体;和

被吸附并且保持在所述交联明胶载体上和 / 或内的生理活性物质。

交联明胶载体和使用其用于控制释放生理活性物质的载体

技术领域

[0001] 本发明涉及一种交联明胶载体,和一种使用其用于控制释放生理活性物质的载体。具体来说,本发明涉及一种交联明胶载体,其具有负电荷 ζ 电位,其中由粒子等形成的交联明胶的表面电荷是 -3 至 -50mV ;尤其是由粒子等形成的交联明胶载体,其中将水溶性物质的含量控制至特定范围;和一种用于控制释放生理活性物质的载体,其中生理活性物质被吸附并且保持在所述载体上。

背景技术

[0002] 明胶是通过用酸或碱处理动物来源的胶原并随后提取而获得的蛋白质,并且是用于各种领域中的熟知材料,例如用作食品领域如果冻、药物领域等中的胶凝剂,且还用于工业用途如胶粘剂领域和膜领域。在这些各种用途中,医疗用途中所用的高度纯化的明胶和胶原也列在日本药典中,并且已经被广泛用作注射制剂的添加剂和用于产品如用于肝癌的栓塞材料、用于止血的海绵材料和用于经口给用的胶囊材料中。

[0003] 如上所述,因为从构成生物组织的胶原中提取明胶,所以明胶是在生物相容性和生物降解性方面极其优异的材料。此外,明胶通常具有相对容易溶解于水和温水中的性质,并且通过对明胶进行交联处理而实现不溶化并控制不溶程度,具有在向活体给用时可以控制明胶的生物降解时间的性质。因此,当生理活性物质如药物被预先吸附至交联且不溶化的明胶时,在向活体给用的情况下,生理活性物质可以随着明胶因生物降解而溶解从而逐渐被释放,从而使得可以发挥在一定时间周期内控制释放生理活性物质的作用。

[0004] 专利文献 1 公开了一种发明,其中使得作为生物相容物质的明胶为水不溶性的,并且将其转变成多孔粒子;并且描述了所述粒子可用于栓塞治疗并且可用作医疗制剂的载体。即,将该水不溶化的多孔粒子在其多孔部分中浸渗并保持有生理盐水或药物等的溶液。然而,因为浸渗和保持是在其多孔部分中实现的,所以例如当改变孔径和孔隙率时,其吸附量在很大程度上发生变化,从而使得存在难以控制吸附量的问题。

[0005] 专利文献 1:日本特许第 3879018 号公报

发明内容

[0006] 通常,在生理活性物质如药物被预先吸附至交联明胶并且用生理盐水等悬浮之后,向活体给用明胶以实现控制释放生理活性物质的情况下,根据生理活性物质的处方和治疗目的而控制和调节交联明胶中的生理活性物质的吸附量是重要的。

[0007] 然而,当交联明胶载体不具有治疗等所必要的生理活性物质的吸附量时,出现以下问题:即使向活体给用载体,也不能发挥有效的治疗效果,以及在期望时间周期内不能实现控制释放生理活性物质。

[0008] 作为制备能够调节活体内的生物降解时间的交联明胶、并且对影响生理活性物质的吸附量的原因进行研究以解决以上问题的结果,本发明人已经发现,交联明胶的表面电荷显著影响吸附量,并且交联明胶中水溶性物质的含量强烈影响吸附量。因此,本发明人完

成了本发明。

[0009] 即,本发明提供了一种交联明胶载体,其中交联明胶的表面带有负电荷、并且在乙醇中的 ζ 电位是 -3 至 -50mV。

[0010] 特别地,交联明胶优选不是经历用一般化学交联剂等进行的化学交联处理的交联明胶,而是通过加热处理物理交联的交联明胶。更优选的是通过在交联处理之后进一步进行 γ 射线照射处理而经历分解处理的交联明胶。

[0011] 此外,优选的是,所述交联明胶载体中水溶性物质的含量在所述分解处理之前是 15 至 50 重量%并且在所述分解处理之后增加到 25 至 75 重量%。另外,优选的是,所述交联明胶载体是具有无孔结构的单个粒子或其粒子聚集体。

[0012] 此外,本发明可以提供一种用于控制释放生理活性物质的载体,其通过将生理活性物质吸附并且保持在上述交联明胶载体上和 / 或内从而在控制释放的能力方面优异。

[0013] 本发明的交联明胶载体通过将表面电荷控制为负电荷、具体地将在乙醇中的 ζ 电位控制为 -3 至 -50mV 的范围,从而发挥可以准确调节生理活性物质的吸附、保持量的效果。因此,通过使交联明胶载体的表面电荷在特定 ζ 电位范围内变动,可以获得用于控制释放的载体,其实现了控制释放生理活性物质、从而发挥期望的治疗效果。

[0014] 此外,本发明的交联明胶载体通过控制在分解处理之前与之后交联明胶载体中水溶性物质的含量以增加特定范围的量,从而发挥可以准确调节生理活性物质的吸附、保持量的效果。即,因为将在分解处理之前与之后交联明胶载体中水溶性物质的量控制并变动以使其在特定范围中,所以可获得用于控制释放的载体,其实现了控制释放生理活性物质、从而发挥期望的治疗效果。

附图说明

[0015] 图 1 是显示在实施例 1 ~ 3 中和比较例 1 中各自获得的交联明胶载体的表面电荷 (ζ 电位) 与作为生理活性物质的生长因子的吸附率之间的关系的图。

[0016] 图 2 是显示在各实验例中获得的交联明胶载体中水溶性物质的量与作为生理活性物质的生长因子的吸附量之间的关系的图。

具体实施方式

[0017] 关于本发明中所用的明胶,其种类(来源)没有特别限制。举例来说,可以使用源自牛骨、牛皮、猪骨、猪皮等的明胶。

[0018] 本发明的交联明胶载体是通过对成形为粒子的明胶进行交联处理以在水性溶剂不溶化而获得的交联明胶载体,并且优选是不经历一般使用的以交联剂进行的化学交联处理、而是理想地经历通过加热处理进行的热交联的交联明胶载体。即,在进行用交联剂进行的化学交联处理的情况下,存在交联剂的反应产物或交联剂的残渣结合至明胶的可能性。在将由此获得的交联明胶载体用于活体中的情况下,应小心地研究各种毒性等,并且对可用交联剂产生限制。

[0019] 另一方面,在通过加热处理进行热交联的情况下,不存在如上述的任何担忧,并且与用交联剂进行的交联处理相比是在温和的条件下进行交联处理,从而使得影响生物降解性的明胶的交联度的调节变得相对容易。因此,在如本发明中那样通过热交联制备交联明

胶载体的情况下,因为可以根据预期目的而控制交联度,所以可以容易地控制完全溶解于水溶液中或血管内的时间(生物降解时间等)。

[0020] 为了获得呈粒子形状的本发明的交联明胶载体,首先,可以通过已知造粒方法如W/O分散法、微反应器法、喷雾干燥法、喷雾冷冻干燥法或粉碎法来制造粒子形状的明胶载体。

[0021] 然后,将所得明胶载体先借助于干燥方法如吹干、风干、真空干燥或冷冻干燥来干燥,随后在100~200℃、优选120~180℃的温度范围下加热干燥2~48小时、优选2~8小时,由此进行热交联以得到本发明的交联明胶载体。然而,在不在静置下加热干燥而是在搅拌或旋转条件下加热干燥的情况下,优选在150~170℃±5℃的温度范围下进行热处理约3~5小时。在这种情况下,干燥可以在常压下进行,但因为明胶是固有地水溶性的并且容易受空气中的氧、水分等影响,所以在真空下加热处理对于以良好的再现性进行均匀的热交联来说是优选的。本发明中的“在真空下”是指当将绝对真空看作是0kPa时可以通过一般的真空干燥机实现的10kPa以下的压力条件。

[0022] 此外,本发明中的交联明胶载体还可以通过在进行如上所述的交联处理之后进行分解处理来获得。在由此经历分解处理的交联明胶载体中,因为载体表面上的负电荷可以通过分解处理而进一步增加,所以可以将可有效吸附生理活性物质的载体表面上的 ζ 电位控制为-3至-50mV范围内的期望值,因而所述载体是优选的。此外,通过在明胶经交联处理所得的水不溶化与水不溶化的明胶经分解处理所得的水中再溶化之间保持平衡,可以控制生理活性物质的吸附量。

[0023] 作为本发明中的分解处理,可以提及通过用包括 γ 射线的射线照射、用电子束照射等进行的分解处理。优选地,实际上期望使用还可以用作产品包装之后的最终灭菌处理的 γ 射线。 γ 射线的照射量优选是约10至约50kGy,但鉴于控制交联明胶载体表面上的 ζ 电位和分解经水不溶化的交联明胶以使其确实地可溶于水,作为灭菌操作也可以充分适应的25至50kGy的照射量是进一步优选的。

[0024] 在如上获得的本发明的交联明胶载体中,载体内部的结构没有特别限制,但优选的是,可以通过控制交联处理或分解处理而容易地控制表面 ζ 电位并且容易地控制水溶性物质的含量。当考虑这点时,在多孔结构情形下的控制变得困难,因为孔部的表面积的控制也是必要的,因而其优选是具有无孔结构的粒子,并且进一步优选地具有无孔结构的单个粒子或通过聚集其多个粒子而获得的粒子聚集体是期望的。

[0025] 即,当载体是具有多孔结构的粒子时,比表面积变大,并且粒子内部的多孔部分中的表面电荷也影响本发明的效果,使得作为交联明胶载体的期望表面 ζ 电位变得难以控制,并且生理活性物质的吸附量(保持量)倾向于难以设定为期望值。此外,当载体是具有多孔结构的粒子时,因为孔部内的表面部分也通过分解处理而影响水溶性,并且还由于对孔部的毛细管现象而发生生理活性物质的物理吸附,所以对本发明的效果即生理活性物质的吸附性控制造成大的影响,并且因此存在难以以良好的再现性确实地获得期望效果的倾向。因此,为了确实发挥本发明的效果,优选使用具有无孔结构的明胶粒子。

[0026] 此外,在所得交联明胶载体中,从将 ζ 电位控制在本发明的范围内以使得可控制生理活性物质的吸附量的观点来看,期望的是,干燥状态下交联明胶的单个粒子的平均粒径是5至50 μm 、优选5至25 μm 。当平均粒径小于5 μm 时,因为粒子太小,所以在将其引

入到活体中的情况下生物降解性增加,难以充分发挥本发明的效果。因此,为进行进一步交联则需要苛刻的交联条件,并且 ζ 电位转移到中性侧,从而使得存在无法充分获得本发明的效果的倾向。另一方面,在平均粒径超过 $50\ \mu\text{m}$ 的情况下,粒子内部的电荷也会影响本发明的效果,从而使得倾向于难以控制 ζ 电位以发挥作为交联明胶载体的本发明效果,因此所述情况是不优选的。

[0027] 然而,从在整个明胶粒子上均匀地进行交联处理和分解处理的观点来看,期望的是,干燥状态下交联明胶载体的单个粒子的平均粒径是 25 至 $2,000\ \mu\text{m}$ 、优选 60 至 $1,700\ \mu\text{m}$ 。在平均粒径小于 $25\ \mu\text{m}$ 的情况下,因为粒子小,所以水溶性物质的量的调节变得困难,以及例如,在将本发明的交联明胶载体引入到活体中的情况下,存在生物降解性过度增加并且本发明的效果难以充分发挥的倾向。在这方面,当旨在进行进一步交联以降低生物降解性时,则需要苛刻的交联条件,从而使得即使当进行分解处理时,也不能获得充分量的水溶性物质。结果,无法充分获得本发明的效果。另一方面,在平均粒径超过 $2,000\ \mu\text{m}$ 的情况下,难以在整个明胶粒子上进行均匀交联处理,且分解处理也仅在表面层部分上部分实现。结果,生物降解性的控制变得难以进行,并且存在对本发明的效果发挥不良影响的倾向,从而使得所述情况是不优选的。

[0028] 顺便提及,本发明中的交联明胶载体不仅可以是如上所述的交联明胶的单个粒子,而且可以通过聚集其多个粒子而获得的粒子聚集体,并且在这种情况下平均粒径可以是 25 至 $2,000\ \mu\text{m}$ 、优选 50 至 $1,700\ \mu\text{m}$ 、进一步优选约 60 至约 $200\ \mu\text{m}$ 。

[0029] 在如上获得的本发明的交联明胶载体中,为了控制如后文提及的生理活性物质的吸附量,重要的是,在乙醇中测定 ζ 电位的情况下,所述值落在 -3 至 -50mV 的范围内。优选地,优选将所述值控制为 -10 至 -40mV 的范围。当 ζ 电位超过 -3mV 时,所得交联明胶载体接近于电中性状态,吸附生理活性物质的性能减弱,并且由此存在无法获得充分吸附性的情况。另一方面,当电位小于 -50mV 时,所得交联明胶载体的 ζ 电位的控制变得不稳定,存在难以获得具有稳定性能的交联明胶载体的倾向,结果,存在被吸附并且保持的生理活性物质所具有的目的效果不能得到充分发挥的情况。

[0030] 如下测定本发明中的 ζ 电位。在称量干燥后的粒子状交联明胶载体以使其为 1mg/ml 之后,利用 10ml 乙醇(特级试剂)对其进行悬浮,并且将悬浮液用特级试剂的乙醇稀释 100 倍。随后,将在 25°C 下使用 ζ 电位测定装置对所得经稀释的悬浮液测定的值看作本发明中的 ζ 电位。作为 ζ 电位测定装置,可以使用市售装置如 ζ 电位·粒度分布测定装置(由贝克曼库尔特公司(Beckman Coulter, Inc.)制造,商品名:DelsaNano)、 ζ 电位·粒径测定系统(由大塚电子株式会社(Otsuka Electronics Co., Ltd.)制造,商品名:ELSZ-1000ZS)、 ζ 电位测定装置(由马尔文公司(Malvern Company)制造,商品名:Zetasizer Nano)、超声粒度分布· ζ 电位测定装置(由Nihon Rufuto Co., Ltd. 制造,商品名:DT1202)、用于表面分析的 ζ 电位测定装置(由安东帕有限公司(Anton Paar GmbH)制造,商品名:SurPASS)等。作为这些装置的测定原理,采用激光多普勒多点检测电泳法、激光多普勒法(动态电泳光散射法)、相位分析光散射法、超声振荡电流法、流动电位·流动电流测定法等,但可以使用任何原理。

[0031] 优选的是,本发明的交联明胶载体是如上所述在对明胶载体进行交联处理之后经历分解处理的交联明胶载体,并且是其中在分解处理之前将交联明胶载体中水溶性物质的

含量控制为 15 至 50 重量%并且在分解处理之后将交联明胶载体中水溶性物质的含量控制为 25 至 75 重量%的交联明胶载体。在这方面,还可以通过仅进行交联处理而不进行分解处理而使得水溶性物质存在,从而将水溶性物质的含量控制为 25 至 75 重量%的范围。然而,这种情况下的水溶性物质不是通过分解处理形成的水溶性物质,而是低分子量明胶的不参与交联处理的残余部分,并且因此不能充分发挥本发明的效果。因此,在本发明中,在分解处理之前与之后控制水溶性物质的含量是重要的。顺便提及,关于本发明中的水溶性物质,其主要成分是明胶但不限于此,并且是指当在 30℃ 下在静置下将交联明胶载体在纯化水中浸渍 6 小时时溶出到纯化水中的任何水溶性物质。

[0032] 即,在本发明中,通过明胶的交联而使明胶分子之间和分子中发生交联,并且此后通过对所得交联明胶进行分解处理,不是交联断开而是交联明胶分子被切断,从而使得经历交联处理的明胶分子链切断为小段。结果,据推测,通过在明胶分子链的分解端部产生发挥水溶性的官能团如羧基,显示水溶性的分子增加,即使其源自交联明胶。此外,据推测,通过交联明胶载体中水溶性明胶的增加,由此生理活性物质与水溶性物质之间发生置换,从而可增加吸附量。

[0033] 在本发明中明胶载体中水溶性物质的含量在交联处理之后(在分解处理之前)小于 15 重量%的情况下,因为已经发生过度交联处理,所以生物降解性显著降低,即使当进行分解处理时也不能充分调节生物降解性。因此,存在不能获得充分控制释放生理活性物质的能力的可能性。另一方面,在超过 50 重量%的情况下,通过交联处理实现的水不溶化变得不充分,并且生物降解性过度增加。此外,因为生物降解性倾向于通过分解处理而增加,所以存在可以实现生理活性物质的控制释放的期间过度缩短的倾向。另外,明胶载体在使用时的制备时溶解于稀释介质如生理盐水中,并且因此存在不能获得期望效果的担忧。

[0034] 此外,在明胶载体中水溶性物质的含量在分解处理之后小于 25 重量%的情况下,作为归因于最终获得的交联明胶载体中的过度交联而致疏水性增加的结果,生理活性物质的吸附性能减弱,以及生物降解速率减慢,从而倾向于难以发生控制释放生理活性物质以发挥期望效果。另一方面,当水溶性物质的含量超过 75 重量%时,在将载体给用到活体中以作为在其上吸附有生理活性物质的控制释放载体的情况下,存在生物降解速率加速并且不发挥控制释放的能力的倾向。

[0035] 本发明的交联明胶载体可以提供一种用于控制释放生理活性物质的载体,其使得可通过利用被控制为特定 ζ 电位范围的其表面负电荷、并控制水溶性物质的含量,来控制被吸附并且保持的生理活性物质的量,并且发挥期望效果。本发明中所用的生理活性物质没有特别限制,但例如可以使用用于通过给用到体内而治疗各种疾病的目的的各种药物、以干扰素和白介素为代表的细胞因子、各种生长因子(增殖因子)等。

[0036] 以上用于控制释放生理活性物质的载体是其中生理活性物质被吸附并且保持在载体表面上和/或载体内、并且通过给用到活体中来实现控制释放被吸附并且保持的生理活性物质以发挥期望效果的载体。给用到活体中的方法的实例包括:将载体悬浮并且分散于溶剂如生理盐水中,随后将该悬浮且分散的产物肌肉注射到活体的局部部位中以逐渐实现控制释放药物的方法;注射并且给用到疾病的患部附近的血管中以栓塞血管,从而在栓塞之后实现控制释放所吸附的生理活性物质的方法等。在进行这些给用方法的情况下,除了用于注射的注射器之外,还可以使用已知装置如导管。

[0037] 作为制备本发明的用于控制释放生理活性物质的载体的方法,举例来说,可以将交联明胶载体与生理活性物质一起分散并且填充到注射器中并且使其被吸附。此外,可以使用如下实施方式,如预先将交联明胶载体单独填充到注射器中并且在使用时将生理盐水吸入到注射器中以分散交联明胶载体的情况;或者将交联明胶载体填充到小瓶中,在使用时投入生理盐水以分散交联明胶载体并且将分散液吸入到注射器中的情况,即所谓的使用时制备。

[0038] 顺便提及,给用到活体中的交联明胶载体在活体中逐渐生物降解时实现控制释放被吸附并且保持的生理活性物质。可以通过控制获得交联明胶载体的交联条件来调节生物降解时间,结果,可以对控制释放生理活性物质的时间进行控制。具体来说,在肌肉内将控制释放时间设定为约2周的情况下,在使明胶交联的步骤中的加热条件优选是100~180℃和1~24小时。顺便提及,在交联步骤中,因为进行加热操作,所以在存在交联明胶载体被氧化和变性的担忧的情况下,为了抑制氧的影响,优选在减压下或在惰性气体氛围下进行交联步骤。

[0039] 实施例

[0040] 以下将参考实施例更具体地描述本发明。然而,本发明不应被解释为限于实施例的描述,并且可以在不背离技术理念的范围内作出各种修改。

[0041] < 实施例 1>

[0042] 在40℃下将5g明胶(源自猪皮,凝胶强度:100g(根据JIS K6503))溶解于100ml水中之后,将其填充到塑料容器中。使明胶水溶液在2~10℃的温度下静置17小时以实现凝胶化并随后在-80℃下冷冻。然后,将冷冻的明胶在10kPa以下的真空下在冷冻干燥机中干燥,从而获得片状产物。将产物在粉碎机中粉碎,并且使用25μm、63μm和1,700μm的筛调节粒径,从而获得平均粒径是25μm以下和63~1,700μm的明胶粉碎粒子。

[0043] 接着,在150℃(±5℃)下在真空(5kPa以下)下在小型滚筒(drum)真空干燥机(由爱知电机株式会社(Aichi Electric Co., Ltd.)制造,商品名:BHR-0.5型)中在以每分钟18次的速率旋转的状态下对各明胶粒子进行加热处理4小时,以获得本发明的交联明胶载体。

[0044] < 实施例 2>

[0045] 以与实施例1中相同的方式获得交联明胶载体,不同之处在于,在实施例2中在170℃(±5℃)下进行加热处理4小时。

[0046] < 实施例 3>

[0047] 在空气中在常压下将实施例1中获得的交联明胶载体放在塑料容器中并且用铝包装之后,将其用25kGy γ射线照射以获得经历了分解处理的交联明胶载体。

[0048] < 比较例 1>

[0049] 以与实施例1和3中相同的方式获得经历了γ射线照射处理(分解处理)的交联明胶载体,不同之处在于,在比较例1中将加热处理的温度变为160℃(±5℃)。

[0050] 在以上实施例和比较例中获得的交联明胶载体中,将平均粒径是25μm以下的交联明胶载体用于ζ电位测定,并且将平均粒径是63~1,700μm的交联明胶载体用于测定生理活性物质的吸附量。将结果显示在表1和图1中。顺便提及,在测定吸附量的操作中,在将交联明胶载体用生理活性物质浸渗之后,将载体悬浮于生理盐水中,将不被吸附在交

联明胶载体中的部分以上清液形式回收,并且将其用作测定溶液。为了避免细粉末混入到测定溶液中,将平均粒径是 $63 \sim 1,700 \mu\text{m}$ 的交联明胶用于测定吸附量。

[0051] 通过以下方法测定作为以上实施例和比较例的产物的交联明胶载体各自的 ζ 电位和生理活性物质的吸附量。

[0052] <测定 ζ 电位>

[0053] 使作为以上实施例和比较例的产物的交联明胶载体各自呈干燥状态,并且在称量平均粒径是 $25 \mu\text{m}$ 以下的交联明胶载体以使其为 1mg/ml 之后,将其用乙醇(特级试剂)稀释 100 倍并且悬浮。在 25°C 下使用 ζ 电位·粒度分布测定装置(由贝克曼库尔特公司制造,商品名:DeIsaNano)对所得悬浮液进行测定。

[0054] <测定生理活性物质的吸附量>

[0055] 使用分子量是约 17,000 的生长因子和分子量是 319.85 的颜料(亚甲基蓝)作为生理活性物质,如下测定交联明胶载体中的吸附量。

[0056] <测定生长因子的吸附量>

[0057] 将作为生理活性物质的生长因子溶解于生理盐水中以使得浓度是 0.14mg/ml ,从而制备生理活性物质水溶液。对于校准曲线,将生理活性物质水溶液稀释为浓度是 0.028mg/ml 、 0.056mg/ml 、 0.084mg/ml 、 0.11mg/ml 和 0.14mg/ml 。

[0058] 为了测定作为生理活性物质的生长因子的吸附量,各自以 0.025g 的量称量作为实施例和比较例的产物的交联明胶载体。然后,将浓度是 0.14mg/ml 的生理活性物质水溶液以各自 0.35ml 的量添加到交联明胶载体中,并且使整体在 40°C 下静置 1 小时,从而使得水溶液尽可能地遍布于交联明胶载体上。此后,添加 0.65ml 生理盐水,将上清液通过滤纸过滤,并且在高效液相色谱上测定上清液的吸光度。根据预先制作的校准曲线,确定上清液中生理活性物质的浓度,并且通过将初始的生理活性物质的添加量看作 100% 来计算吸附率。

[0059] <测定颜料(亚甲基蓝)的吸附量>

[0060] 将作为生理活性物质的亚甲基蓝溶解于纯化水中以使得浓度是 0.5 重量%,从而制备生理活性物质水溶液。对于校准曲线,将生理活性物质水溶液稀释以使得浓度是 0.00005 重量%、0.00025 重量%、0.00050 重量%和 0.00075 重量%。

[0061] 为了测定作为生理活性物质的颜料的吸附量,各自称量 0.04g 的量作为实施例和比较例的产物的交联明胶载体。然后,将浓度是 0.05 重量%的生理活性物质水溶液以各自 0.5ml 的量添加到交联明胶载体中,并且使整体在室温下静置 1 小时,从而使得水溶液尽可能地遍布于交联明胶载体上。此后,添加 4.5ml 纯化水,将上清液通过滤纸过滤,并且在吸光度测定装置上测定上清液的吸光度。根据预先制作的校准曲线,确定上清液中生理活性物质的浓度,并且通过将初始的生理活性物质的添加量看作 100% 来计算吸附率。

[0062] [表 1]

[0063]		实施例1	实施例2	实施例3	比较例1
	交联温度 (°C)	150	170	150	160
	交联时间 (小时)	4	4	4	4
	γ 射线的照射量 (kGy)	0	0	25	25
	ζ 电位 (mV)	-20	-3	-48	-51
	生长因子的吸附量 (%)	41.3	7.9	79.3	69.3
	亚甲基蓝的吸附量 (%)	93.7	98.5	76.5	93.8

[0064] 如由表 1 和图 1 中的结果显而易见,应理解,当交联明胶载体表面的 ζ 电位落在 -3 至 -50mV 的范围内时,生理活性物质的吸附率(吸附量)根据 ζ 电位的增加和减小而有规律地变化。因此,显而易见的是,根据被吸附并且保持在交联明胶载体上和/或内的生理活性物质的目的,可以通过改变交联明胶载体表面的 ζ 电位来发挥期望的效果。

[0065] 顺便提及,为了获得在乙醇中的 ζ 电位大于 -3mV 的交联明胶载体,要将在明胶载体交联时的加热温度控制为 180°C 以上,但明胶载体的黄化变得严重,因此该载体不适用于作为本发明用途的栓塞用途和用于控制释放生理活性物质的用途。另一方面,在其中在乙醇中的 ζ 电位小于 -50mV 的比较例 1 的产物中,与实施例 3 的产物相比,生理活性物质的吸附量减小,从而使得不可能获得充分满足本发明的交联明胶载体性能的交联明胶载体。

[0066] < 实施例 4 ~ 18 >

[0067] 在空气中在常压下将在实施例 1 中筛选后经历了交联处理的平均粒径是 63 ~ 1,700 μm 的交联明胶载体填充到塑料容器中并且将容器用铝包装之后,对其进行 γ 射线照射以获得经历了分解处理的交联明胶载体。

[0068] 将热交联的条件和 γ 射线照射的条件显示在表 2 中。

[0069] 对于如上所述获得的经历了分解处理的交联明胶载体来说,通过以下方法测定载体中水溶性物质的含量和生理活性物质的吸附量,并且将测定结果显示在表 2 和图 2 中。顺便提及,在测定水溶性物质的含量和生理活性物质的吸附量时,为了避免细粉末混入到测定溶液中,使用平均粒径是 63 ~ 1,700 μm 的交联明胶。

[0070] < 测定水溶性物质的含量 >

[0071] 以 0.04g 的量称量干燥状态下的各交联明胶载体,并且在向其中添加 5ml 纯化水之后,使整体在 30°C 下静置 6 小时。在经过静置 6 小时之后,通过孔径是 10 μm 的滤纸进行自然过滤,滤纸的重量预先已经进行了测定,并且将滤纸上的残余固体物质用 2 ~ 3ml 纯化水洗涤。在将滤纸和残余固体物质干燥和称重之后,将滤纸和残余固体物质的重量从试验之前的交联明胶载体和滤纸的重量中减去,并且在将试验之前的交联明胶载体看作 100 重量%的情况下根据下式计算水溶性物质。

[0072] 水溶性物质的量 (%) = {1 - (试验之后干燥的残余固体物质的重量) / (试验之前交联明胶载体的重量)} $\times$ 100

[0073] < 测定生理活性物质的吸附量、测定生长因子的吸附量和测定颜料(亚甲基蓝)的吸附量 >

[0074] 以如上所述相同的方式进行测定。

[0075] [表 2]

[0076]

编号		交联温度 (℃)	交联 时间 (小时)	γ 射线的 照射量 (kGy)	水溶性物 质的量 (重量%)	生长因子 的吸附量 (重量%)	颜料的 吸附量 (重量%)
实 施 例	4	150	4	0	42	46.2	93.7
	5	150	4	25	62	81.7	76.5
	6	150	4	50	73	88.8	69.2
	7	160	4	0	29	33.3	97.8
	8	160	4	25	39	74.2	93.8
	9	160	4	50	46	85.7	90.0
	10	160	8	0	19	24.4	98.4
	11	160	8	25	26	58.7	96.1
	12	160	8	50	33	78.3	94.2
	13	170	2	0	17	25.0	98.1
	14	170	2	25	37	67.6	95.4
	15	170	2	50	32	81.4	92.5
	16	170	4	0	22	20.7	98.5
	17	170	4	25	30	22.8	96.7
	18	170	4	50	33	21.9	95.5

[0077] 根据表 2 和图 2 中的结果,显而易见的是,通过 γ 射线照射而使交联明胶载体中水溶性物质的含量增加,且作为生理活性物质的生长因子的吸附量倾向于增加。此外,如图 2 显而易见,当交联明胶载体中水溶性物质的含量在分解处理之后落在 25 至 75 重量%的范围内时,生理活性物质的吸附量倾向于随着交联明胶载体中水溶性物质的增加而增加。然而,当含量超过 75 重量%时,因为吸附量达到接近于 100%,所以应理解,并不预期吸附量有大的变化。

[0078] 顺便提及,在表 2 的实施例 16 ~ 18 中,尽管水溶性物质的量因 γ 射线照射的有无和照射量的变化而改变,但生长因子的吸附量并无多大变化。认为原因如下:因为在 170℃ 下进行热交联 4 小时因此与其他实施例的产物相比更紧密地实现交联,所以尽管形成水溶性物质,但即使当交联明胶通过用 γ 射线照射而分解时,水溶性物质对生理活性物质的吸附的影响也减小。因此,应理解,在苛刻交联条件下获得的这种交联明胶载体对于制备其中生理活性物质的吸附量被抑制的控制释放用载体的情况是有效的。

[0079] 此外,与具有相对高分子量的生长因子相比,关于具有极小分子量的颜料的吸附

量,因为其短时间内被吸附到交联明胶载体,所以与生长因子的吸附相比,其吸附量太大,从而使得在实施例的各产物中没有出现差异。这在即使当条件改变时水溶性物质的量的变化也小的实施例 7 ~ 18 的情况下是显著的。顺便提及,在其中水溶性物质的量相对大并且其变化也大的实施例 4 ~ 7 中,在测定颜料的吸附量时,被吸附到水溶性物质的颜料与水溶性物质一起溶出并且转移到纯化水中,从而使得吸附量的测定结果的变化变大。

[0080] 如上述,在将交联明胶载体用作用于控制释放生理活性物质的载体的情况下,显而易见的是,通过使明胶热交联并且进一步将水溶性物质的含量在分解处理之后控制为 25 至 75 重量%,对吸附量的控制变得可能,结果,控制释放的时间和控制释放生理活性物质的量变得可以调节。

[0081] 本申请基于 2013 年 4 月 22 日提交的日本专利申请第 2013-089142 号和 2013 年 4 月 22 日提交的日本专利申请第 2013-089143 号,其全部内容以引用的方式并入本文中。

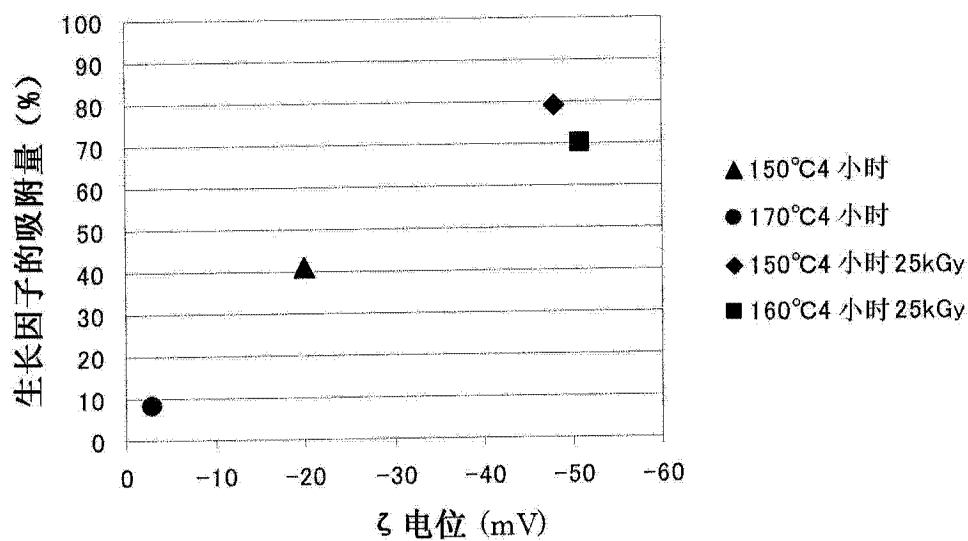


图 1

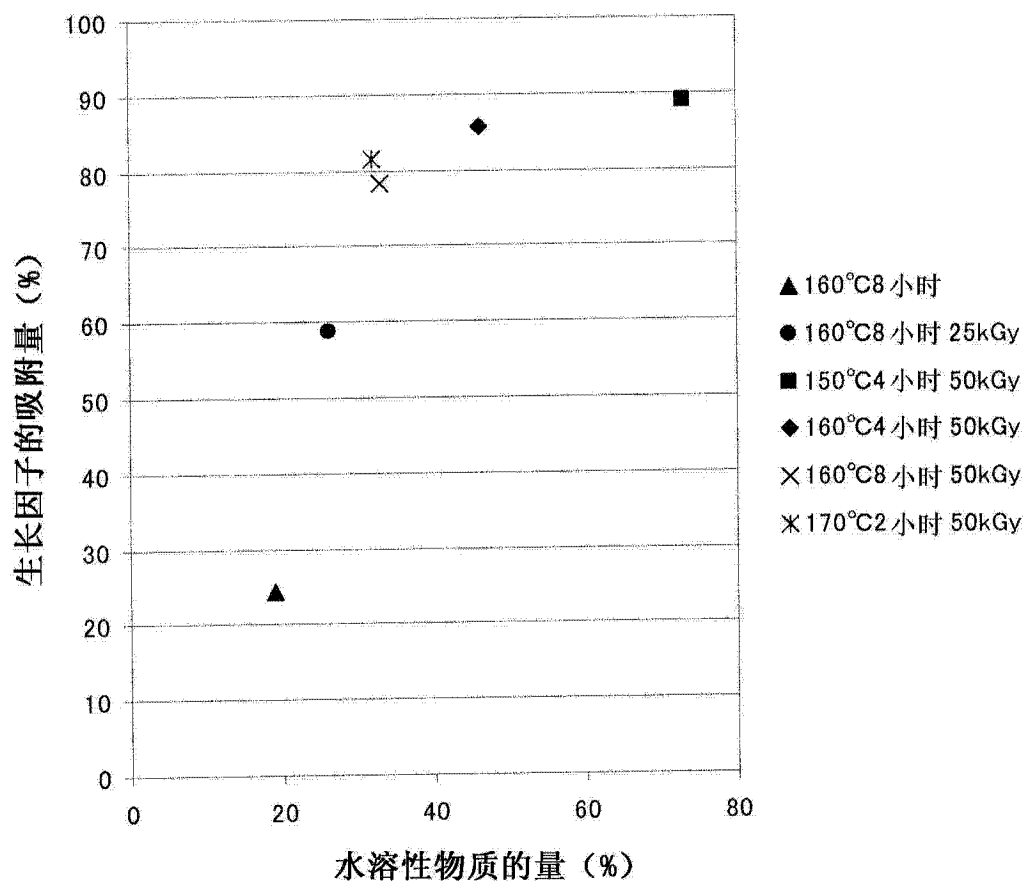


图 2