

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2010年2月11日(11.02.2010)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2010/016611 A1

- (51) 国際特許分類:
C08B 15/05 (2006.01) C08K 3/00 (2006.01)
A61K 47/36 (2006.01) C08L 1/08 (2006.01)
A61L 31/00 (2006.01) C08L 5/00 (2006.01)
C08B 37/08 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2009/064211
- (22) 国際出願日: 2009年8月5日(05.08.2009)
- (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 2008-201906 2008年8月5日(05.08.2008) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 帝人株式会社(TEIJIN LIMITED) [JP/JP]; 〒5410054 大阪府大阪市中央区南本町一丁目6番7号 Osaka (JP).
- (72) 発明者: および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 兼子博章 (KANEKO, Hiroaki) [JP/JP]; 〒1910065 東京都日野市旭が丘四丁目3番2号帝人株式会社 東京研究センター内 Tokyo (JP). 伊東雅弥 (ITO, Masaya) [JP/JP]; 〒1910065 東京都日野市旭が丘四丁目3番2号帝人株式会社 東京研究センター内 Tokyo (JP). 遠藤信幸 (ENDO, Nobuyuki) [JP/JP]; 〒1910065 東京都日野市旭が丘四丁目3番2号帝人株式会社 東京研究センター内 Tokyo (JP). 田中大士 (TANAKA, Taishi) [JP/JP]; 〒1910065 東京都日野市旭が丘四丁目3番2号帝人株式会社 東京研究センター内 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 三原秀子 (MIHARA, Hideko); 〒1000013 東京都千代田区霞が関三丁目2番1号株式会社帝人知的財産センター内 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, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, 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, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, 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 (条約第21条(3))



WO 2010/016611 A1

(54) Title: HYDROGEL

(54) 発明の名称: ハイドロゲル

(57) Abstract: A hydrogel and a preparation method thereof, the hydrogel including a polysaccharide having, at the side chain, a carboxyl group to which an amphiphilic side chain is bonded, an inorganic ion other than a calcium ion, and water. The hydrogel has high viscoelasticity, is useful as a medical material for various purposes, and examples thereof include hydrogels that can be injected into a body using a tool such as a syringe.

(57) 要約: 側鎖にカルボキシル基を有する多糖類のカルボキシル基に両親媒性の側鎖が結合した多糖類と、カルシウムイオン以外の無機イオン類と、水とを含んでなるハイドロゲルおよびその調製方法。かかるゲルは、高粘弾性を有し、注射器などの器具を用いて体内への注入が可能なものを含み、各種医用材料として有用である。

明細書

発明の名称

ハイドロゲル

5

技術分野

本発明は、側鎖にカルボキシル基を有する多糖類のカルボキシル基に両親媒性の側鎖が結合した多糖類と、無機塩の水溶液よりなるゲルである。流動性および粘弾性に優れるため、医療材料などに利用される。

10

背景技術

多糖類の側鎖にさまざまな官能基を導入することにより、多糖類そのものの物性や多糖水溶液の流動性の改質、ハイドロゲルの形成など、その物性や形状を改良することが知られており、これまでに様々な多糖類誘導体やその改質方法が報告されている。それらの中には、側鎖にカルボキシル基を有する多糖類にリン脂質を結合した多糖類がある。

15

特開2006-296916号公報には、ヒアルロン酸とホスファチジルエタノールアミンの反応生成物よりなる癒着防止材が記載されている。また、WO2007/015579号明細書には、カルボキシメチルセルロースとホスファチジルエタノールアミンの反応生成物よりなる癒着防止材が記載されている。

20

しかし、いずれの文献も、本明細書で開示しているハイドロゲルについては記載されておらず、示唆もされていない。

無機イオン類によりゲル化する多糖類は知られているが、アルギン酸ナトリウムやペクチン水溶液のように2価カチオンたるカルシウムイオンでゲル化するものが知られているのみである。たしかに、カルシウムイオンでゲル化する多糖類はゲル形成能に優れている

ものの、カルシウムイオンが神経伝達をつかさどる因子であり、また血液凝固因子を活性化するなどの多くの生理作用を有するために、医療用ゲルとしての利用には制限がある。

これに対し、ナトリウムイオンのような1価のカチオンでゲル化する多糖類は知られていない。

5

発明の概要

発明が解決しようとする課題

本発明が解決しようとする課題は、カルシウムイオンを用いることなく、生体に用いるのに適した複素弾性率を有し、安全性や取り扱い性に優れたハイドロゲルを提供することである。

10

課題を解決するための手段

本発明の発明者らは、上記目的のもとで鋭意研究した結果、特定の多糖類誘導体であれば、カルシウムイオンを用いることなくゲル化できることを見出し、本発明を完成した。

15

すなわち、本発明は側鎖にカルボキシル基を有する多糖類のカルボキシル基に両親媒性の側鎖が結合した多糖類（以下、「成分1」ともいう）と、カルシウムイオン以外の無機イオン類（以下、「成分2」ともいう）と、水とを含んでなるハイドロゲルである。

また、本発明は成分1の水溶液と成分2の水溶液の2液から構成される、ハイドロゲル調製用キットである。

20

また、本発明は成分1の水溶液と成分2の水溶液を混合する工程を含む、ハイドロゲルの調製方法である。

さらに、本発明は成分1を成分2の水溶液に溶解する工程を含む、ハイドロゲルの調製方法である。

発明の効果

本発明のハイドロゲルは、高粘弾性のゲルであり、例えば注射器などを用いて注入できるインジェクタブルゲルとして用いられるなど、医用材料として好ましく用いられる。本発明のハイドロゲルは、カルシウムによらずにゲル化されている点で、生体内で用いるのに適している。

発明を実施するための形態

本発明のハイドロゲルにおける成分1は、側鎖にカルボキシル基を有する多糖類のカルボキシル基に両親媒性の側鎖が結合した多糖類である。

10 ここで、側鎖にカルボキシル基を有する多糖類とは、アルギン酸、ヒアルロン酸、ペクチンなどカルボキシル基を有する単糖類を主鎖に有する多糖類、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルキチン、カルボキシメチルプルラン、カルボキシメチルデキストラン、カルボキシメチルスターチ、カルボキシエチルセルロース、カルボキシメチルキトサンなどのカルボキシアルキル化多糖類、キトサンと無水コハク酸とが反応したN-サク
15 シニルキトサンなど多糖類と環状無水カルボン酸との反応物を挙げることができる。これらの多糖類のカルボキシル基は、ナトリウム、カリウム、リチウムなどのアルカリ金属類と塩を形成してもよい。

カルボキシアルキル化多糖類の場合、カルボキシアルキル基の置換度や置換位置については特に制限はないが、好ましくは置換度が0.6～1.0、置換位置はC-6位の1級
20 水酸基が置換されている誘導体である。

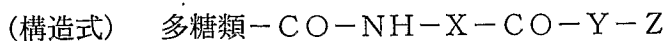
多糖類の分子量は特に制限はないが、重量平均分子量で1万～200万のものが好ましく、より好ましくは2万～150万、さらに好ましくは3万～100万である。

これら多糖類の中では、無機塩、とりわけナトリウム塩類と混合したときのゲル化しやすさから、カルボキシメチルセルロースやヒアルロン酸が好ましく用いられる。

カルボキシル基に結合する両親媒性の側鎖としては、親水性の官能基と疎水性の官能基の双方を有する官能基であれば特に制限はないが、好ましい例として、リン脂質の一種であるホスファチジルエタノールアミンの構造を有する側鎖を挙げる事ができる。特に、多糖類のカルボキシル基とホスファチジルエタノールアミンの1級のアミノ基とが直接アミド結合で結合しているものが好ましい。

ホスファチジルエタノールアミンの具体的な化合物としては、ジラウロイルホスファチジルエタノールアミン、ジミリストイルホスファチジルエタノールアミン、ジパルミトイルホスファチジルエタノールアミン、ジステアロイルホスファチジルエタノールアミン、ジアラキドイルホスファチジルエタノールアミン、ジベヘノイルホスファチジルエタノールアミン、ラウロオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ミリストオレオイルホスファチジルエタノールアミン、パルミトオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン、ジリノレオイルホスファチジルエタノールアミン、ジアラキドノイルホスファチジルエタノールアミン、ジドコサヘキサエノイルホスファチジルエタノールアミンを挙げることができるが、これらの中ではホスファチジルエタノールアミンジオレオイルが好ましく用いられる。

もう一つの好ましい両親媒性の側鎖としては、直鎖状で、以下の構造式のものを挙げる事ができる。



ここで、COは多糖類のカルボキシル基由来であり、
 Xは炭素数1～10の2価の炭化水素基であり、
 Yは両末端に酸素原子を有する2価のポリアルキレンオキシド類であり、
 Zは炭素数1から24の炭化水素基、もしくは $-\text{CO}-\text{R}^1$ (R^1 は炭素数1～23の炭化水素基)である。

式中のXは、炭素数1～10の2価の炭化水素基であり、具体的にはメチレン基、エチレン基、n-プロピレン基、イソプロピレン基、n-ブチレン基、イソブチレン基などが挙げられる。好ましくはメチレン基であり、この場合、カルボニル基とアミノ基に隣接するため、グリシンを用いた結合ユニットとなる。

5 Yは、両末端に酸素原子を有する2価のポリアルキレンオキシド類である。2価のポリアルキレンオキシド類とは、具体的にはポリエチレングリコール、ポリプロピレングリコール、ポリブチレングリコールなどで例示されるポリアルキレンエーテル類を意味する。両末端に酸素原子を有するとは、ポリアルキレンエーテルの両末端の水酸基が隣接する官能基との結合に関与している構造をいう。具体的には—(O—CH₂—CH₂(CH₃)—)
 10 _n—O—で表される1, 2-ポリプロピレングリコール類、—(O—CH₂—CH₂—CH₂—)
 —)_n—O—で表される1, 3-ポリプロピレングリコール類、—(O—CH₂—CH₂—)
_n—O—で表されるポリエチレングリコール類などが挙げられる。また、上記ポリエチレングリコールとポリプロピレングリコールとの共重合体、例えばPEO—PPOなどで表される共重合体であってもよい。ここでnは繰り返し単位数を表す。

15 これらの中では、ポリエチレングリコールを主たる繰り返し単位とする構造が好ましく、具体的にはポリエチレングリコールユニットが80モル%以上含み、より好ましくは90モル%以上含むものである。繰り返し単位数nは、好ましくは2～100の間であり、さらに好ましくは3～70である。

20 Zは、炭素数1から24の炭化水素基もしくは—CO—R¹（R¹は炭素数1～23の炭化水素基）である。

Zの炭素数1から24の炭化水素基としては、具体的にはメチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基、オクチル基、ノニル基、ラウリル基、ステアリル基などの直鎖状アルキル基、シクロヘキシル基、シクロペンチル基、シクロヘキシルノニル基、コレステリル基などの環状構造を有するアルキル基、オレイル基などの不飽和

アルキル基、フェニル基、ナフチル基、ベンジル基などの芳香族炭化水素基が例示できる。

これらの中ではステアリル基、オレイル基などが好ましい。

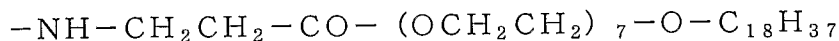
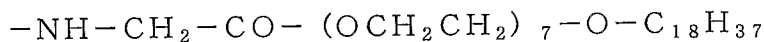
R¹は、炭素数1～23の炭化水素基である。

R¹の具体例としては、メチル基、エチル基、プロピル基、ブチル基、ペンチル基、ヘキシル基、オクチル基、ノニル基、ヘプタデカ基、ヘプタデセニル基、ラウリル基、ステア

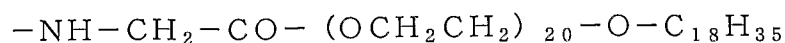
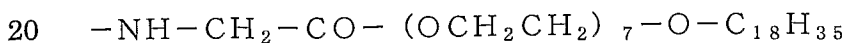
5 シル基などの直鎖状アルキル基、シクロヘキシル基、シクロペンチル基、シクロヘキシルノニル基、コレステリル基などの環状構造を有するアルキル基、オレイル基などの不飽和アルキル基、フェニル基、ナフチル基、ベンジル基などの芳香族炭化水素基が例示できる。これらの中ではヘプタデカ基、ヘプタデセニル基などが好ましい。

10 R¹が脂肪族アルキル基の場合、-CO-R¹は脂肪酸に由来するアシル基となる。その好ましい具体例としては、ラウロイル基、パルミトイル基、ステアロイル基、オレオイル基が挙げられる。R¹が芳香族基のときは、-CO-R¹は芳香族脂肪酸に由来するアシル基となり、その具体例としては、ベンゾイル基、ナフトイル基などを例示することができる。これらの中では、ステアロイル基、オレオイル基が好ましい。

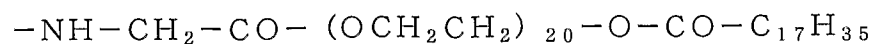
15 -NH-X-CO-Y-Zで表される両親媒性側鎖の好ましい例としては、以下のものを挙げる事ができる。



等の、親水部にポリエチレングリコール基、疎水部にアルキル基を有する側鎖化合物群；

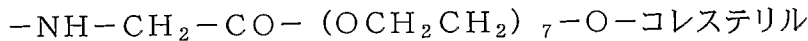


等の、親水部にポリエチレングリコール基、疎水部にアルケニル基を有する側鎖化合物群；



等の、親水部にポリエチレングリコール基、疎水部に直鎖状の脂肪酸エステルを有する側

鎖化合物群；



等の、親水部にポリエチレングリコール基、疎水部にコレステリル基を有する側鎖化合物群

- 5 多糖類のカルボキシル基と両親媒性側鎖との結合は、例えばカルボジイミド類などの縮合剤を用いて結合させることができる。カルボジイミド類としては、1-エチル-3-(ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミドやその塩酸塩、ジイソプロピルカルボジイミド、ジシクロヘキシルカルボジイミドやN-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2, 3-ジカルボキシイミドなどが挙げられる。これらの中では、1-エチル-3-(ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミドの塩酸塩を用いるのが好ましい。
- 10

- 多糖類のカルボキシル基を活性化するために、カルボキシル活性化剤が好ましく用いられる。カルボキシル活性化剤としては、N-ヒドロキシスクシンイミド、p-ニトロフェノール、N-ヒドロキシベンゾトリアゾール、N-ヒドロキシピペリジン、N-ヒドロキシスクシンアミド、2, 4, 5-トリクロロフェノール、N, N-ジメチルアミノピリジンなどが挙げられる。これらの中では、N-ヒドロキシベンゾトリアゾールが好ましい。
- 15

- 反応溶媒は水だけで実施しても、水と相溶する有機溶媒を混合してもよく、水と相溶しない有機溶媒を用いた2層系の反応で行ってもよい。水と相溶する有機溶媒としては、メタノール、エタノールなどのアルコール類やテトラヒドロフラン、ジオキサンなどの環状エーテル類、ポリエチレンオキシド化合物などのエーテル類、ジメチルホルムアミドやジメチルアセトアミドなどのアミド類、ピリジンやピペリジンなどのアミン類、ジメチルスルホキシドなどのジアルキルスルホン類、アセトンなどのケトン類を挙げることができる。好ましくは、水および水と相溶する有機溶媒を混合した均一な反応系で、カルボキシメチルセルロースとリン脂質との反応を行う。水と相溶する有機溶媒としてはテトラヒドロフランが好ましい。
- 20

カルボジイミドを用いる反応の温度は、好ましくは0～60℃である。副生成物を抑えるためには、反応を0～10℃に行うのがより好ましい。反応環境は弱酸性下が好ましく、さらに好ましくはpH6～7である。

5 両親媒性の側鎖がリン脂質の場合、その置換度は0.3～2.0モル%/糖残基であることが好ましい。これよりも置換度が低いとゲルとしての十分な粘弾性が得られず、これよりも高いと水に対して不溶性の固いゲルを形成しやすくなる。より好ましくは0.6～1.9、さらに好ましくは0.7～1.7モル%/糖残基である。

10 もっとも、かかる好適な置換度は、用いる多糖類の種類や分子量、カルボキシル基の置換度や置換位置、両親媒性側鎖の種類、カルシウムイオン以外の無機イオン類の組成や濃度、ハイドロゲルの最終濃度などにより変動しうる。しかし、置換度が高すぎれば不溶性の固いゲルを形成しやすくなることを念頭においた当業者であれば、後述する実施例での具体例を参考に、試行により、個別の条件における置換度の好適範囲を容易に決定することができよう。

15 成分1の水溶液を調製する場合、水100重量部に対し、好ましくは成分1を0.1～3.0重量部、より好ましくは0.3～2.0重量部、さらに好ましくは0.5～1.0重量部含む。

20 成分1に混在することがある成分としては、合成に用いた縮合剤類、縮合剤が所定の化学反応を経由することで生成するウレアなどの副産物類、カルボキシル活性化剤、未反応のアミン類、反応の各段階で混入する可能性のある異物、pHの調整に用いたイオン類などがあるが、これらの成分はいずれの化合物も、生体内に入れたときに異物反応として認識されない程度の含有量以下の低いレベルに抑えてあることが好ましい。もっとも、これらの成分が混在しているものも本発明の範囲に含まれる。

成分1の水溶液を調製する場合、かかる水溶液には所望により他の多糖類や水溶性の高

分子類、単糖やオリゴ糖類、アミノ酸類などを含んでいてもよい。さらには、所望により生理活性を有する低分子医薬品やペプチド類、タンパク質類を含んでいてもよい。

成分2の無機塩類はカチオン成分とアニオン成分の双方を含む塩であり、カチオン成分とアニオン成分は等モル含まれるものが好ましい。かかるカチオン成分としてはナトリウム、リチウム、カリウムなどのアルカリ金属類のイオン、アンモニウムイオンを挙げることができ、リン酸水素ナトリウムなどのように、プロトンを含む場合もある。これらの中では生体内に多く含まれるナトリウムイオンを有する塩が好ましく用いられる。

アニオン成分としては、特に制限はないが、塩化物イオンや臭化物イオンなどのハロゲンイオン、リン酸イオン、硫酸イオンなどのイオン類、酢酸、クエン酸、シュウ酸などのカルボン酸類のアニオンなどを挙げることができる。

成分2の無機塩類の具体例としては、塩化ナトリウム、フッ化ナトリウム、臭化ナトリウム、塩化カリウム、酢酸ナトリウム、リン酸水素1ナトリウム、リン酸水素2ナトリウム、リン酸ナトリウム、硫酸ナトリウム、クエン酸ナトリウム、シュウ酸ナトリウムなどのアルカリ金属塩類、酒石酸ナトリウム、酒石酸ナトリウムカリウム、炭酸水素ナトリウム、炭酸ナトリウム、炭酸カリウムなどを挙げることができる。

これらの塩類の中では、塩化ナトリウムが安全性の点から好ましい。塩化ナトリウムの濃度としては、0.1~10%の範囲がよいが、より好ましくは0.5~5%、さらに好ましくは1~3%である。

また、細胞の生存を維持させることを主たる目的とする場合は、生理的な塩濃度に調整されるようイオンの種類や量が選択される。この場合、生理的塩類溶液である生理的食塩水(0.9%NaCl水溶液)、リンガー液、ロック液などの組成や濃度を用いるのが好ましい。

成分2の水溶液には、さらに水溶性の高分子類を含むことが好ましい。かかる水溶性高分子類としては、固形物たる成分1、もしくは粘弾性を有する成分1の水溶液と混合する

際の混合のしやすさや、使用する際の使い勝手によって適当な粘度のものを選択することが好ましい。

かかる水溶性高分子の具体例としては、アルギン酸ナトリウム、ヒアルロン酸ナトリウム、ペクチン、カラギーナン、でんぷん、デキストリン、デキストラン、プルラン、ヘパ
5 リン、キトサンなどの水溶性多糖類、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルデ
キストリン、カルボキシメチルプルラン、カルボキシエチルセルロースなどの水溶性多糖
類誘導体、ゼラチン、コラーゲン、アルブミン、フィブリノーゲン、トロンピン、フィブ
ロインなどのタンパク質類、DNAやRNAなどの核酸類、ポリエチレングリコールおよ
びその共重合体、ポリビニルアルコールやその共重合体、ポリアリルアミンやその共重合
10 体などのポリカチオン類、ポリアクリル酸ナトリウムやその共重合体などのポリアニオン
類などの合成高分子を挙げることができる。

これらの中でも、医療材料としては、特にヒアルロン酸ナトリウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、ポリエチレングリコールやその共重合体が好ましく用いられる。

成分2の水溶液には、所望により他の単糖やオリゴ糖類、アミノ酸類などを含んでいて
15 もよい。さらには、所望により生理活性を有する低分子医薬品やペプチド類、タンパク質
類を含んでいてもよい。

本発明のハイドロゲルの好ましい複素弾性率としては、両親媒性の側鎖がリン脂質の場合、水中におけるポリマー濃度が1.0重量%、温度37℃の条件で、レオメーターとよ
ばれる動的粘弾性測定装置で角速度10rad/secにて測定したときに、20~10
20 00N/m²であり、より好ましくは25~500N/m²、さらに好ましくは30~20
0N/m²である。ここで複素弾性率とは、弾性体の応力とひずみの比を表す定数のことである。

本発明のハイドロゲルは2つの成分を混合することにより有意に粘弾性が高まるため、体内の特定の箇所
に留ませることが可能で、傷口の保護や、臓器間の物理的な隔離バリア

一の形成が期待できるものがある。

また、本発明のハイドロゲルには、それに薬物を含浸させることで、局所的なドラッグデリバリーシステムとなるものがある。

また、本発明のハイドロゲルは、生体内に注入すると、いずれは分解または吸収されて
5 しまう特性があり、外科手術時に用いる注入用ゲル材や再生医療の足場材料などに利用できるものがある。

本発明のハイドロゲルは、このほか医用材料を含めた医療用途、ヘアケア製品や肌の保湿剤などの日用品用途、化粧品用途などに使用できるものがある。

また、本発明のハイドロゲルには注射器を通して注入可能なものが含まれ、これは低侵
10 襲医療用途に用いることができる。特に再生医療のための細胞の担体、成長因子などの液性因子を保持・徐放する担体、医薬品として利用できる低分子化合物を保持・徐放する担体、癒着防止材やシーラントなどの医用材料として利用できるものがある。

さらには、細胞培養担体、微生物の培養担体、歯科用のインプラント材料などにも用いられるものがある。

15 本発明のハイドロゲルは、公知の滅菌方法で滅菌処理することができる。好ましい滅菌方法は、電子線照射やエチレンオキシドによるガス滅菌、高圧蒸気滅菌である。

なお、本発明のハイドロゲルに関して上述したこと、例えば好適な成分1や成分2、あるいはそれらの水溶液について述べたことは、本発明のキットや本発明方法においてもそのまま妥当する。

20 本発明には、上述した本発明のゲルの製造方法も含まれる。具体的には、成分1の水溶液と、成分2の水溶液を混合する工程を含む、ハイドロゲルの調製方法（製造方法1）であり、成分1を、成分2の水溶液に溶解する工程を含む、ハイドロゲルの調製方法（製造方法2）である。

製造方法1における成分1の水溶液は、上述したように、水溶性高分子等の他の成分を

含んでいてもよいが、イオンを含まない水に溶解したものでよい。

一方、製造方法2では成分1の固形物を成分2の水溶液に溶解することになるため、溶解速度の観点から、その形状の適正化を図ることが好ましい。例えば、成分1を粉状としてから溶解するなどである。

5

実施例

(1) 実施例に使用した材料は以下の通りである。

(i) CMCNa : カルボキシメチルセルロースナトリウム (第一工業製薬 (株) 製、セロゲンPM-250L、カルボキシメチル基の置換度; 0.73)、

10 (ii) CMCNa : カルボキシメチルセルロースナトリウム (第一工業製薬 (株) 製、P-603A、置換度0.69)、

(iii) CMCNa : カルボキシメチルセルロースナトリウム (日本製紙ケミカル (株) 製、置換度0.69)、

15 (iv) HANA : ヒアルロン酸ナトリウム (紀文フードケミファ (株) 製、FCH-80LE)、

(v) テトラヒドロフラン (和光純薬工業 (株) 製)、

(vi) 0.1M HCl (和光純薬工業 (株) 製)、

(vii) 0.1M NaOH (和光純薬工業 (株) 製)、

20 (viii) EDC : 1-Ethyl-3-[3-(dimethylamino)propyl]-carbodiimide·HCl ((株) 大阪合成有機化学研究所製)、

(ix) HOBt·H₂O : 1-Hydroxybenzotriazole, monohydrate ((株) 大阪合成有機化学研究所製)、

(x) DMT-MM : 4-(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジン-2-イル)-4-メチルモルホリニウムクロリド (国産化学 (株) 製)

(xi) L- α -ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン (COATSOME ME-8181、日本油脂 (株) 製)、

(xii) エタノール (和光純薬工業 (株) 製)、

(xiii) NaCl (和光純薬工業 (株) 製)、

5 (xiv) KCl (和光純薬工業 (株) 製)、

(xv) 注射用蒸留水 (大塚製薬 (株) 製)

(2) セルロース誘導体中のリン脂質含量の測定

セルロース誘導体中のリン脂質の割合は、バナドモリブデン酸吸光光度法による全リン含量の分析により求めた。

10

(3) ハイドロゲルの複素弾性率の測定

ハイドロゲルの複素弾性率は、動的粘弾性測定装置である Rheometer RFIII (TA Instrument) を使用し、37℃、角速度10rad/secで測定した。複素弾性率とは弾性体の応力とひずみの比を表す定数のことである。

15

実施例 1

CMCNa (第一工業製薬 (株) 製、PM-250L、置換度0.73) 1500mg
を水 300mLに溶解し、さらにテトラヒドロフラン 300mLを加えた。この溶液に、
L- α -ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン 709.7mg、縮合剤としてD
20 MT-MM 290.4mgを添加した後、終夜攪拌を行った。攪拌後、エタノール中に加え、沈殿させた。ろ過によりエタノールを除き、再度エタノールにて洗浄し、ろ物を真空乾燥することでセルロース誘導体を得て、そのリン脂質含量を測定した。リン脂質含量を用いて計算によりホスファチジルエタノールアミンの置換度を求めたところ、0.71m
o1%/糖残基であった。

得られたセルロース誘導体 20 mg を注射用蒸留水 1800 mg に溶解後、最終濃度が 0.9 % となるように 9 % NaCl を 200 mg 添加し、最終濃度 1.0 重量% のハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルは、容器を傾けても流れることはなかった。ハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $249.1 \pm 28.3 \text{ N/m}^2$ (平均値±標準偏差) であった。

比較例 1

9 % の NaCl の代わりに注射用蒸留水 200 mg を添加したこと以外、実施例 1 と同様の操作を行い、ハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルは、容器を傾けるとゆっくり流れ、液面が水平に移動する傾向が観察された。ハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $36.6 \pm 0.43 \text{ N/m}^2$ (平均値±標準偏差) であった。

実施例 2

セルロース誘導体 40 mg を注射用蒸留水 1800 mg に溶解後、最終濃度が 0.9 % となるように 9 % NaCl を 200 mg 添加し、最終濃度を 2.0 重量% にした以外、実施例 1 と同様の操作を行い、ハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $955.9 \pm 32.0 \text{ N/m}^2$ (平均値±標準偏差) であった。

実施例 3

L- α -ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン 1421.0 mg、縮合剤として DMT-MM 581.4 mg を反応系に添加した以外、実施例 1 と同様の方法でセルロース誘導体を得て、そのリン脂質含量を測定した。置換度は 2.2 mol % / 糖残基であった。

セルロース誘導体 20 mg を注射用蒸留水 1800 mg に溶解後、最終濃度が 0.9 %

となるように9%NaClを200mg添加し、最終濃度1.0重量%のハイドロゲルを調製した。その結果、水に対しても不溶であり、やや白濁した固いハイドロゲルが得られた。その複素弾性率は、ゲルが固く、レオメーターの測定表面とのすべりが大きいため正確な値は測定できなかった。

5

以上より、置換度が0.75mol%/糖残基程度のセルロース誘導体から調製されたハイドロゲルでは、生体内と同程度の0.9重量%となるようNaClを添加することで複素弾性率が著しく増加することが確認された。一方、置換度が2.2mol%/糖残基のセルロース誘導体から調製されたハイドロゲルでは、0.9重量%となるようNaCl

10 を添加することにより、水に対しても不溶性の固いゲルを得ることができた。以上の結果から、生体内と同程度の塩化ナトリウム濃度において固まる特性を有するハイドロゲルが得られたことがわかる。

実施例4

15 CMCNa（日本製紙ケミカル（株）製、F600MC、置換度0.69）3000mgを水600mLに溶解し、さらにテトラヒドロフラン600mLを加えた。この溶液に、L- α -ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン2839mg、縮合剤としてEDCを807mgと、HOBt \cdot H₂O643mgを添加した後、終夜攪拌を行った以外、実施例1と同様に合成した。得られた多糖誘導体のホスファチジルエタノールアミン

20 の置換度は0.8mol%/糖残基であった。

得られたセルロース誘導体20mgを注射用蒸留水1800mgに溶解後、最終濃度が0.9%となるように9%NaClを200mg添加し、最終濃度1.0重量%のハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルは、容器を傾けても流れることはなく、その複素弾性率は313.4N/m²であった。

比較例 2

9%のNaClの代わりに注射用蒸留水 200mgを添加した以外、実施例4と同様の操作を行い、ハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルの複素弾性率は121.3
5 N/m²であった。

実施例 5

9%NaClの水溶液中に、CMCNa（日本製紙ケミカル（株）製、F30MC）が
1.0重量%含まれている以外は、実施例4で得られた多糖類誘導体を用いて実施例4と
10 同様にハイドロゲル調製した。得られたハイドロゲルの複素弾性率は343.0N/m²で
あった。

実施例 6

9%NaClの水溶液中に、ポリエチレングリコール（和光純薬工業（株）製、分子量
15 2万）が3%含まれている以外は、実施例4で得られた多糖類誘導体を用いて実施例4と
同様にハイドロゲル調製した。得られたハイドロゲルの複素弾性率は393.6N/m²で
あった。

実施例 7

20 カルボキシメチルセルロースとして日本製紙ケミカル（株）製のF30MC（カルボキ
シメチル基の置換度0.69）を用いた以外は実施例1と同様に多糖類誘導体を合成した。
得られた多糖誘導体のホスファチジルエタノールアミンの置換度は、0.8mol%/糖
残基であった。

この多糖誘導体 20mgを注射用蒸留水 1800mgに溶解後、最終濃度が0.9%

となるように9%NaClを200mg添加し、最終濃度1.0重量%のハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルの複素弾性率は181N/m²であった。

実施例8

5 9%KClの水溶液を用いた以外は、実施例7と同様にハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルの複素弾性率は180N/m²であった。

比較例3

9%のNaClの代わりに注射用蒸留水200mgを添加した以外、実施例7と同様の
10 操作を行い、ハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、15.3N/m²であった。

実施例9

ヒアルロン酸ナトリウム（紀文フードケミファ（株）製、FCH-80LE）1500
15 mgを水300mLに溶解し、さらにテトラヒドロフラン300mlを加えた。この溶液に、L- α -ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン1113mg（0.01496mol）（HA-Naのカルボキシル基100当量に対し40当量）、EDC316mg（0.01645mol）、HOBt \cdot H₂O251.8mg（0.016456mol）
20 を75mLのテトラヒドロフラン/水=1/1に溶解したものを添加した後、終夜攪拌を行った。攪拌後、テトラヒドロフランを除去し、水のある程度蒸発させたところでエタノール中に加え、沈殿させた。ろ過によりエタノールを除き、再度エタノールにて洗浄し、ろ物を真空乾燥することでヒアルロン酸誘導体を得た。

得られたヒアルロン酸誘導体20mgを注射用蒸留水1800mgに溶解後、最終濃度が0.9%となるように9%NaClを200mg添加し、最終濃度1.0重量%のハ

イドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルは、容器を傾けても流れることはなかった。
ハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $139.4 \pm 16.4 \text{ N/m}^2$ (平均値±標準偏差)であった。

5 比較例 4

9%のNaClの代わりに注射用蒸留水 200mgを添加したこと以外、実施例9と同様の操作を行い、ハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $56.9 \pm 9.1 \text{ N/m}^2$ (平均値±標準偏差)

10 実施例 10

$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CO}-(\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2)_7-\text{O}-\text{C}_{18}\text{H}_{35}$ の合成

オレイルアルコールポリエチレングリコールエーテル ($\text{H}-(\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2)_7-\text{O}-\text{C}_{18}\text{H}_{35}$ 、和光純薬(株)製) 1mmolに対し、N-ブチルオキシカルボニルグリシン ($\text{Boc}-\text{Gly}-\text{OH}$ 、和光純薬(株)製) 1mmolをジクロロメタンに溶解し、縮
15 合剤としてジシクロヘキシルカルボジイミド (和光純薬(株)製) 1mmolを含むジクロロメタン溶液を室温で滴下した。反応液をろ過して副生成物であるジシクロヘキシルウレアを取り除き、濃縮、乾燥させ、アミノ基が保護された中間体 ($\text{Boc}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CO}-(\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}_2)_7-\text{O}-\text{C}_{18}\text{H}_{35}$)を得た。

この中間体に、1~2mL程度のトリフルオロ酢酸 (和光純薬(株)製)を加え、酸処
20 理による脱Boc反応を室温で2時間行った。反応の進行はTLCで確認した。反応液を減圧濃縮し、過剰のトリフルオロ酢酸を取り除き、目的物であるアミン化合物のトリフルオロ酢酸塩を得た。生成物は、 $^1\text{H-NMR}$ で確認した。

実施例 11

カルボキシメチルセルロース (CMC-Na) と、 $H_2N-CH_2-CO-(O-CH_2CH_2)_7-O-C_{18}H_{35}$ とのカップリング

CMC-Na (日本製紙ケミカル(株)製、F600MC、置換度0.69) 1500 mgを水 300 mlに溶解し、さらにテトラヒドロフラン 300 mlを加えて混合し、
5 均一な溶液を得た。この溶液に、実施例10で合成した $H_2N-CH_2-CO-(O-CH_2CH_2)_7-O-C_{18}H_{35}$ のトリフルオロ塩酸塩を、CMC-Naのカルボキシル基1当量に対して0.2当量を加え、混合した。

縮合剤としてDMT-MMを、 $H_2N-CH_2-CO-(O-CH_2CH_2)_7-O-C_{18}H_{35}$ に対して1.1当量、30 mlのテトラヒドロフラン/水=1/1に溶解し、反応系
10 に添加した後、終夜攪拌した。攪拌後、反応液をロータリーエバポレーターで濃縮することによりテトラヒドロフランを除去し、水を蒸発させ、全体量を約1/3にまで濃縮したところでエタノール中に反応溶液を加え、沈殿を形成させた。沈殿をろ別し、その沈殿物をエタノール中に懸濁させて24時間攪拌し、沈殿物を回収して真空乾燥することでセル
15 ロース誘導体を得た。得られたセルロース誘導体の元素分析を行い、炭素と窒素の比率から置換度を算出した。その結果、置換度は13 mol%/糖残基であった。

実施例12

実施例11で得られた誘導体 20 mgを注射用蒸留水 1800 mgに溶解後、最終濃度が0.9%となるように9% NaClを200 mg添加し、最終濃度1.0重量%のハ
20 イドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルは、容器を傾けても流れることはなかった。ハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $1448.4 N/m^2$ であった。

比較例5

9%のNaClの代わりに注射用蒸留水 200 mgを添加したこと以外、実施例12と

同様の操作を行い、ハイドロゲルを調製した。ハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、
729.7 N/m²であった。

実施例 13

5 CMCNa (第一工業製薬 (株) 製、P-603A、置換度0.69) 3000mgを
水 200mLに溶解し、さらにテトラヒドロフラン 200mLを加えた。この溶液に、
L- α -ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン 349mg、縮合剤としてDMT
-MM 646mgを添加した後、終夜攪拌を行った。攪拌後、エタノール中に加え、沈殿
10 させた。ろ過により、エタノールを除き、再度エタノールにて洗浄し、ろ物を真空乾燥す
ることセルロース誘導体を得て、そのリン脂質含量を測定した。リン脂質含量を用いて
計算によりホスファチジルエタノールアミンの置換度を求めたところ、1.31mol%
/糖残基であった。

得られたセルロース誘導体 30mgを注射用蒸留水 2700mgに溶解後、最終濃度
がNaCl : 0.8%、NaH₂PO₄ : 0.035%、Na₂HPO₄ : 0.128%とな
15 るように10倍濃度のPBS (-)水溶液 (NaCl : 8%、NaH₂PO₄ : 0.35%、
Na₂HPO₄ : 1.28%)を270mg添加し、最終濃度1.0重量%のハイドロゲル
を調製した。得られたハイドロゲルは、容器を傾けても流れることはなかった。ハイドロ
ゲルの複素弾性率を測定した結果、101.6 ± 3.4 N/m² (平均値 ± 標準偏差)であ
った。

20

実施例 14

実施例 13に記載の方法で合成したセルロース誘導体40mgをPBS (-)水溶液 (N
aCl : 0.8%、NaH₂PO₄ : 0.035%、Na₂HPO₄ : 0.128%) 396
0mgに溶解させ、最終濃度1.0重量%のハイドロゲルを調製した。得られたハイドロ

ゲルは、容器を傾けても流れることはなかった。ハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $70.9 \pm 1.5 \text{ N/m}^2$ (平均値±標準偏差)であった。

実施例 15

5 実施例 13 に記載の方法で合成したセルロース誘導体 30 mg を、リン酸水素ナトリウム水溶液 (0.17%) 2970 mg に溶解させ、最終濃度 1.0 重量% のハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルは、容器を傾けても流れることはなかった。ハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $16.9 \pm 0.4 \text{ N/m}^2$ (平均値±標準偏差)であった。

10

実施例 16

実施例 13 に記載の方法で合成したセルロース誘導体 30 mg を、リン酸水素ナトリウム (0.17%) と塩化ナトリウム (0.27%) の水溶液 2970 mg に溶解させ、最終濃度 1.0 重量% のハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルは、容器を傾けて
15 も流れることはなかった。ハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $72.7 \pm 4.1 \text{ N/m}^2$ (平均値±標準偏差)であった。

実施例 17

実施例 13 に記載の方法で合成したセルロース誘導体 30 mg を、リン酸水素ナトリウム (0.17%) と塩化ナトリウム (0.53%) の水溶液 2970 mg に溶解させ、最終濃度 1.0 重量% のハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルは、容器を傾けて
20 も流れることはなかった。ハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $91.5 \pm 0.5 \text{ N/m}^2$ (平均値±標準偏差)であった。

実施例 18

実施例 13 に記載の方法で合成したセルロース誘導体 30 mg を、リン酸水素ナトリウム (0.17%) と塩化ナトリウム (0.8%) の水溶液 2970 mg に溶解させ、最終濃度 1.0 重量% のハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルは、容器を傾けても
5 流れることはなかった。ハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $87.6 \pm 3.1 \text{ N/m}^2$ (平均値 \pm 標準偏差) であった。

比較例 6

実施例 13 に記載の方法で合成したセルロース誘導体 30 mg を、注射用蒸留水 2970 mg に溶解させ、最終濃度 1.0 重量% のハイドロゲルを調製した。得られたハイドロゲルは、容器を傾けるとゆっくり流れ、液面が水平に移動する傾向が観察された。ハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $15.0 \pm 0.14 \text{ N/m}^2$ (平均値 \pm 標準偏差) であった。

15 実施例 19

CMCNa (第一工業製薬 (株) 製、PM-250L、置換度 0.73) 3000 mg を水 600 mL に溶解し、さらにテトラヒドロフラン 600 mL を加えた。この溶液に、L- α -ジオレオイルホスファチジルエタノールアミン 1405 mg、縮合剤として DM T-MM 575 mg を添加した後、終夜攪拌を行った。攪拌後、テトラヒドロフランを減
20 圧留去し、残渣をエタノール中に加え、沈殿させた。ろ過により、エタノールを除き、再度エタノールにて洗浄し、ろ物を真空乾燥することでセルロース誘導体を得て、そのリン脂質含量を測定した。リン脂質含量を用いて計算によりホスファチジルエタノールアミンの置換度を求めたところ 0.78 mol% / 糖残基であった。

得られたセルロース誘導体 30 mg をエチレンオキサイドガス滅菌し、注射用蒸留水

5970 mg に溶解した（濃度 0.50 重量％）。この溶液 1075 mg に、次表の試薬を 1 リットルの蒸留水に溶解させた擬似体液のうち 359 mg を加えた。

試薬	NaCl	NaHCO ₃	KCl	K ₂ HPO ₄	MgCl ₂ · 6H ₂ O	1M-HCl	CaCl ₂	Na ₂ SO ₄	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂
量 [g]	7.996	0.350	0.224	0.174	0.305	40 mL	0.278	0.071	6.057

- 5 得られたハイドロゲルは、容器を傾けても流れることはなかった。ハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、 $23.8 \pm 3.3 \text{ N/m}^2$ （平均値±標準偏差）であった。

比較例 7

- 実施例 19 において、擬似体液を加える前のハイドロゲルの複素弾性率を測定した結果、
10 $14.8 \pm 3.2 \text{ N/m}^2$ （平均値±標準偏差）であった。

産業上の利用可能性

本発明は、例えば手術用の医療材料を供給する産業において利用できる。

請求の範囲

請求項 1

側鎖にカルボキシル基を有する多糖類のカルボキシル基に両親媒性の側鎖が結合した多糖類と、カルシウムイオン以外の無機イオン類と、水とを含んでなるハイドロゲル。

5

請求項 2

カルシウムイオン以外の無機イオン類が、少なくともナトリウムイオンを含むものである、請求項 1 に記載のゲル。

10 請求項 3

両親媒性の側鎖が結合した多糖類が、ホスファチジルエタノールアミンが結合した多糖類である、請求項 1 または 2 に記載のゲル。

請求項 4

15 両親媒性の側鎖が $-NH-X-CO-Y-Z$ である、請求項 1 または 2 に記載のゲル。

ここで、X は炭素数 1 ~ 10 の 2 価の炭化水素基であり、Y は両末端に酸素原子を有する 2 価のポリアルキレンオキド類であり、Z は炭素数 1 ~ 24 の炭化水素基もしくは $-CO-R^1$ (R^1 は炭素数 1 ~ 23 の炭化水素基である) である。

20 請求項 5

水溶性の高分子をさらに含む、請求項 1 から 4 のいずれかに記載のゲル。

請求項 6

カルボキシル基を有する多糖類がカルボキシメチルセルロースである請求項 1 から 5 の

いずれかに記載のゲル。

請求項 7

カルボキシル基を有する多糖類がヒアルロン酸である請求項 1 から 5 のいずれかに記載
5 のゲル。

請求項 8

ホスファチジルエタノールアミンの置換度が 0.3 ~ 2.0 モル% / 糖残基である請求
10 項 3 に記載のゲル。

請求項 9

側鎖にカルボキシル基を有する多糖類のカルボキシル基に両親媒性の側鎖が結合した多
糖類の水溶液と、カルシウムイオン以外の無機イオン類を含む水溶液の 2 液から構成され
る、ハイドロゲル調製用キット。

15

請求項 10

側鎖にカルボキシル基を有する多糖類のカルボキシル基に両親媒性の側鎖が結合した多
糖類の水溶液と、カルシウムイオン以外の無機イオン類の水溶液を混合する工程を含む、
ハイドロゲルの調製方法。

20

請求項 11

側鎖にカルボキシル基を有する多糖類のカルボキシル基に両親媒性の側鎖が結合した多
糖類を、カルシウムイオン以外の無機イオン類の水溶液に溶解する工程を含む、ハイドロ
ゲルの調製方法。

25

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/064211

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C08B15/05(2006.01)i, A61K47/36(2006.01)i, A61L31/00(2006.01)i, C08B37/08(2006.01)i, C08K3/00(2006.01)i, C08L1/08(2006.01)i, C08L5/00(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)

C08B15/05, A61K47/36, A61L31/00, C08B37/08, C08K3/00, C08L1/08, C08L5/00

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	1996-2009
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2009	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2009

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	JP 2006-296916 A (Teijin Ltd.), 02 November 2006 (02.11.2006), claims; examples (Family: none)	1-3, 7, 11 5-7
Y	JP 06-508169 A (Genzyme Corp.), 14 September 1994 (14.09.1994), claims; entire text & US 5017229 A & EP 1229050 A2 & WO 1992/020349 A1 & DE 69125609 D & JP 5-508161 A	5-7
Y	JP 2004-051531 A (Denki Kagaku Kogyo Kabushiki Kaisha), 19 February 2004 (19.02.2004), claims; entire text (Family: none)	5-7

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"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)

"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

"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

"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

"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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
17 November, 2009 (17.11.09)

Date of mailing of the international search report
24 November, 2009 (24.11.09)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/064211

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2007/015579 A1 (Teijin Ltd.), 08 February 2007 (08.02.2007), claims; entire text & EP 1911769 A1 & CA 2618253 A & KR 10-2008-0036597 A & CN 101238151 A	6
A	WO 2005/040224 A1 (Teijin Ltd.), 06 May 2005 (06.05.2005), claims; entire text & US 2008/0193538 A1 & EP 1681306 A1	1-3,5-7,11
A	JP 07-097401 A (Shiseido Co., Ltd.), 11 April 1995 (11.04.1995), claims; entire text (Family: none)	1-3,5-7,11
A	JP 01-301624 A (Nippon Zeon Co., Ltd.), 05 December 1989 (05.12.1989), claims; entire text (Family: none)	1-3,5-7,11
A	JP 2006-348071 A (Teijin Ltd.), 28 December 2006 (28.12.2006), claims; entire text (Family: none)	1-3,5-7,11
A	JP 56-084701 A (Kohjin Co., Ltd.), 10 July 1981 (10.07.1981), claims; entire text (Family: none)	1-3,5-7,11
A	JP 2002-529550 A (Aquisitio S.p.A.), 10 September 2002 (10.09.2002), claims; entire text & US 6831172 B1 & EP 1144459 A & WO 2000/027887 A2 & DE 69903351 T	1-3,5-7,11

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/064211

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.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

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:
See extra sheet.

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 additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
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.:
1-3, 5-7, 11

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the 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.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2009/064211

Continuation of Box No.III of continuation of first sheet (2)

The "hydrogel" claimed in claims 1-3 of the present application is not novel, as disclosed in Document 1 shown below. Therefore, these claims have no special technical feature.

Document 1: JP 2006-296916 A (Teijin Ltd.) 02 November 2006 (02.11.2006), claims, examples (family; none)

Therefore, it is not considered that the inventions of claims 1-11 share any common special technical feature, and it cannot be regarded that these inventions are so linked to one another as to form a single general inventive concept.

It is considered that the inventions of claims 1-11 include five groups of inventions in which the inventions in the individual groups are linked to one another through the special technical features stated below.

In this classification, the inventions of claims 1-3, which have no special technical feature, are classified into (Invention 1).

(Invention 1) The inventions of claims 1-3, parts of the inventions of claims 5-7 which are excluded from (Invention 2) stated below, and the invention of claim 11.

The inventions relating to the hydrogel which "additionally comprises a water-soluble polymer".

(Invention 2) The invention of claim 4 and parts of the inventions of claims 5-7 which refer to claim 4.

The inventions relating to the hydrogel wherein "the amphipathic side chain is -NH-X-CO-Y-Z".

(Invention 3) The invention of claim 8.

The invention relating to the hydrogel wherein "the degree of substitution of phosphatidylethanolamine is 0.3 to 2.0 mol%/sugar residue".

(Invention 4) The invention of claim 9.

The invention relating to "a kit for preparing a hydrogel".

(Invention 5) The invention of claim 10.

The invention relating to "a method for preparing a hydrogel, which involves a step of mixing an aqueous solution of a polysaccharide having a carboxyl group in a side chain and also having an amphipathic side chain bound to the carboxyl group with an aqueous solution of an inorganic ion other than a calcium ion".

With respect to the inventions which can be classified into multiple groups in the groups of inventions stated above, it is deemed that the inventions belong to the groups to which the inventions belong firstly.

The international search report was prepared on (Invention 1) stated above.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. C08B15/05(2006.01)i, A61K47/36(2006.01)i, A61L31/00(2006.01)i, C08B37/08(2006.01)i, C08K3/00(2006.01)i, C08L1/08(2006.01)i, C08L5/00(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. C08B15/05, A61K47/36, A61L31/00, C08B37/08, C08K3/00, C08L1/08, C08L5/00

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	1971-2009年
日本国実用新案登録公報	1996-2009年
日本国登録実用新案公報	1994-2009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)

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 請求項の番号
X Y	JP 2006-296916 A (帝人株式会社) 2006. 11. 02, 特許請求の範囲、 実施例 (ファミリーなし)	1-3, 7, 11 5-7
Y	JP 06-508169 A (ジェンザイム、コーポレーション) 1994. 09. 14, 特 許請求の範囲、全文 & US 5017229 A & EP 1229050 A2 & WO 1992/020349 A1 & DE 69125609 D & JP 5-508161 A	5-7
Y	JP 2004-051531 A (電気化学工業株式会社) 2004. 02. 19, 特許請求 の範囲、全文 (ファミリーなし)	5-7

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

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの
 「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
 「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)
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献
 「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
 「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
 「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
 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

17. 11. 2009

国際調査報告の発送日

24. 11. 2009

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)	4 J	9 2 8 6
阪野 誠司		
電話番号 03-3581-1101 内線		3 4 5 7

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 請求項の番号
Y	WO 2007/015579 A1 (帝人株式会社) 2007.02.08, 特許請求の範囲、 全文 & EP 1911769 A1 & CA 2618253 A & KR 10-2008-0036597 A & CN 101238151 A	6
A	WO 2005/040224 A1 (帝人株式会社) 2005.05.06, 特許請求の範囲、 全文 & US 2008/0193538 A1 & EP 1681306 A1	1-3, 5-7, 11
A	JP 07-097401 A (株式会社資生堂) 1995.04.11, 特許請求の範囲、 全文 (ファミリーなし)	1-3, 5-7, 11
A	JP 01-301624 A (日本ゼオン株式会社) 1989.12.05, 特許請求の範 囲、全文 (ファミリーなし)	1-3, 5-7, 11
A	JP 2006-348071 A (帝人株式会社) 2006.12.28, 特許請求の範囲、 全文 (ファミリーなし)	1-3, 5-7, 11
A	JP 56-084701 A (株式会社興人) 1981.07.10, 特許請求の範囲、全 文 (ファミリーなし)	1-3, 5-7, 11
A	JP 2002-529550 A (アクイジティオ ソチエタ ペル アツィオニ) 2002.09.10, 特許請求の範囲、全文 & US 6831172 B1 & EP 1144459 A & WO 2000/027887 A2 & DE 69903351 T	1-3, 5-7, 11

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. 請求項 _____ 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、

2. 請求項 _____ 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. 請求項 _____ 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。
特別ページを参照。

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項について作成した。
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項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項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項について作成した。

請求項 1-3, 5-7, 11

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はあったが、異議申立てはなかった。

本願請求項 1-3 に係る「ハイドロゲル」については、以下の文献 1 に記載されており、新規性が認められず、特別な技術的特徴を有しない。

文献 1 ; JP 2006-296916 A (帝人株式会社) 2006. 11. 02, 特許請求の範囲、実施例 (ファミリーなし)

したがって、請求項 1-11 に係る発明は、特別な技術的特徴を共有するものとはいえないから、これらの発明は単一の一般的発明概念を形成するように連関しているものとは認められない。

そして、請求項 1-11 に係る発明は、以下に示す各特別な技術的特徴で連関する 5 の発明が含まれるものと認められる。

なお、特別な技術的特徴を有しない請求項 1-3 に係る発明は、(発明 1) に区分する。

(発明 1) 請求項 1-3 に係る発明、請求項 5-7 に係る発明のうち下記 (発明 2) 以外の発明、並びに、請求項 11 に係る発明

「水溶性高分子をさらに含む」ハイドロゲルに係る発明。

(発明 2) 請求項 4 に係る発明、並びに、請求項 5-7 に係る発明のうち請求項 4 を引用する発明

「両親媒性の側鎖が $-NH-X-CO-Y-Z$ である」ハイドロゲルに係る発明。

(発明 3) 請求項 8 に係る発明

「ホスファチジルエタノールアミンの置換度が 0.3~2.0 モル%/糖残基である」ハイドロゲルに係る発明。

(発明 4) 請求項 9 に係る発明

「ハイドロゲル調製用キット」に係る発明。

(発明 5) 請求項 10 に係る発明

「側鎖にカルボキシル基を有する多糖類のカルボキシル基に両親媒性の側鎖が結合した多糖類の水溶液と、カルシウムイオン以外の無機イオン類の水溶液を混合する工程を含む、ハイドロゲルの調製方法」に係る発明。

ただし、上記発明区分の複数に区分され得る発明は、そのうち最初の区分に属するものとする。

なお、上記 (発明 1) について、国際調査報告書を作成した。