(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7589416号
(P7589416)

(45)発行日　令和6年11月26日(2024.11.26)

(24)登録日　令和6年11月18日(2024.11.18)

(51)国際特許分類

A61L 31/06 (2006.01)	A61L	31/06		
A61L 31/04 (2006.01)	A61L	31/04	120	
A61L 31/14 (2006.01)	A61L	31/14	500	
A61L 15/16 (2006.01)	A61L	15/16	100	
A61L 15/42 (2006.01)	A61L	15/42	100	

FI

請求項の数　18　（全34頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2021-577001(P2021-577001)
(86)(22)出願日　令和2年7月9日(2020.7.9)
(65)公表番号　特表2022-540341(P2022-540341A)
(43)公表日　令和4年9月15日(2022.9.15)
(86)国際出願番号　PCT/EP2020/069441
(87)国際公開番号　WO2021/009013
(87)国際公開日　令和3年1月21日(2021.1.21)
審査請求日　令和5年5月25日(2023.5.25)
(31)優先権主張番号　19186036.0
(32)優先日　令和1年7月12日(2019.7.12)
(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
(31)優先権主張番号　20151779.4
(32)優先日　令和2年1月14日(2020.1.14)
最終頁に続く

(73)特許権者　517112672
ガット テクノロジーズ ビー．ブイ．
ＧＡＴＴ ＴＥＣＨＮＯＬＯＧＩＥＳ Ｂ．Ｖ．
オランダ，６５３４ エーティー ネイメーヘン，トランシストルヴェーク ５
(74)代理人　100088605
弁理士　加藤 公延
(74)代理人　100130384
弁理士　大島 孝文
(72)発明者　ケーレヴェール，アブラハム ライニール
オランダ王国，６５３４ エーティー ネイメーヘン，トランシストルヴェーク ５
(72)発明者　フェリックス ラナオ，ロサ ピラール
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　生体適合性の可撓性止血シート

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

生体適合性の可撓性の止血シートであって、

三次元の相互接続した間隙空間を含む耐水性の粘着性の繊維状担体構造体であって、前記繊維状担体構造体が、反応性求核性基を担持する求核性ポリマーを含有する繊維を含む、耐水性の粘着性繊維状担体構造体、並びに

前記間隙空間内に分布されている、少なくとも３個の反応性求電子性基を担持する水溶性求電子性ポリマーを含む複数の反応性ポリマー粒子であって、前記反応性求電子性基が、共有結合の形成下で、組織及び血液中のアミン基並びに前記求核性ポリマーの前記反応性求核性基と反応することができ、前記反応性ポリマー粒子が０．５～１００μｍの範囲の直径を有し、且つ前記繊維状担体構造体の少なくとも３重量％の量で存在する、反応性ポリマー粒子

を含み、

前記水溶性求電子性ポリマーがポリオキサゾリンであり、

前記反応性求電子性基がスクシンイミジルエステルである、止血シート。

【請求項２】

前記繊維状担体構造体の前記繊維が１～５００μｍの平均直径を有する、請求項１に記載の止血シート。

【請求項３】

前記繊維状担体構造体が、フェルト構造体、織物構造体又は編物構造体である、請求項

１又は２に記載の止血シート。
【請求項４】
前記反応性ポリマー粒子が、少なくとも１０ｗｔ．％の前記水溶性求電子性ポリマーを含有する、請求項１～３のいずれか一項に記載の止血シート。
【請求項５】
前記反応性ポリマー粒子が、（ｉ）前記水溶性求電子性ポリマーを含有する求電子性粒子、及び（ｉｉ）求核性架橋剤を含有する求核性粒子を含む粒子凝集物である、請求項１～４のいずれか一項に記載の止血シート。
【請求項６】
前記求電子性粒子が、少なくとも３０ｗｔ．％の前記水溶性求電子性ポリマーを含有する、請求項５に記載の止血シート。
【請求項７】
前記求核性粒子が、少なくとも３０ｗｔ．％の前記求核性架橋剤を含有する、請求項５又は６に記載の止血シート。
【請求項８】
前記反応性ポリマー粒子が、以下の組成：
（ａ） 少なくとも３個の前記反応性求電子性基を担持する５０～９５ｗｔ．％の前記水溶性求電子性ポリマー、
（ｂ） ５～５０ｗｔ．％の前記求核性架橋剤、
（ｃ） ０～５０ｗｔ．％の多糖
を有し、成分（ａ）～（ｃ）を合わせた組合せが、前記反応性ポリマー粒子の少なくとも８０ｗｔ．％を構成する、請求項５～７のいずれか一項に記載の止血シート。
【請求項９】
前記反応性ポリマー粒子が、前記水溶性求電子性ポリマーによって提供される前記反応性求電子性基の総数と前記求核性架橋剤によって提供される前記反応性求核性基の総数の間の比が２５：１～１：１の範囲にあるような量で、前記水溶性求電子性ポリマー及び前記求核性架橋剤を含有する、請求項５～８のいずれか一項に記載の止血シート。
【請求項１０】
前記求核性ポリマーが、タンパク質、キトサン、前記反応性求核性基を担持する合成ポリマー、前記反応性求核性基を担持する炭水化物ポリマー及びこれらの組合せから選択される、請求項１～９のいずれか一項に記載の止血シート。
【請求項１１】
前記求核性ポリマーが、ゼラチン、コラーゲン、キトサン及びこれらの組合せから選択される、請求項１０に記載の止血シート。
【請求項１２】
前記求核性ポリマーがゼラチンである、請求項１１に記載の止血シート。
【請求項１３】
前記求核性ポリマーが架橋ゼラチンである、請求項１１に記載の止血シート。
【請求項１４】
前記繊維状担体構造体が、少なくとも５０ｗｔ．％の前記求核性ポリマーを含む、請求項１～１３のいずれか一項に記載の止血シート。
【請求項１５】
２５～２００ｍｇ／ｃｍ^{3}の非圧縮密度を有する、請求項１～１４のいずれか一項に記載の止血シート。
【請求項１６】
請求項１～１５のいずれか一項に記載の１つ又は複数の止血シートを含有する、封止包装体。
【請求項１７】
止血シートを調製する方法であって、前記方法が、
請求項１～３及び１０～１４のいずれか一項に記載の耐水性の接着性繊維状担体構造体

のシートを用意するステップ、
請求項１～９のいずれか一項に記載の反応性ポリマー粒子を用意するステップ、並びに
前記繊維状担体構造体の前記間隙空間内に前記反応性ポリマー粒子を分布させるステップ
を含む、方法。
【請求項１８】
分布された前記反応性ポリマー粒子を含む前記繊維状担体構造体を多湿雰囲気に曝露し、前記繊維中の前記反応性求核性基を前記反応性ポリマー粒子中の前記反応性求電子性基と反応させる、請求項１７に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【０００１】
［発明の技術分野］
本発明は、外科手技中の失血を最小化するために好適に使用することができる、生体適合性の可撓性止血シートに関する。この止血シートは、
三次元の相互接続した間隙空間を含む耐水性の粘着性繊維状担体構造体であって、前記繊維状担体構造体が、反応性求核性基を担持する求核性ポリマーを含有する繊維を含む、耐水性の粘着性繊維状担体構造体、並びに
間隙空間内に分布されている、少なくとも３個の反応性求電子性基を担持する水溶性求電子性ポリマーを含む反応性ポリマー粒子であって、前記反応性求電子性基が、共有結合の形成下で、組織及び血液中のアミン基並びに求核性ポリマーの反応性求核性基と反応することができる、反応性ポリマー粒子
を含む。
【０００２】
［発明の背景］
実質組織に対する外科手技中の主な課題の１つは、出血の制御を達成することである。縫合制御、電気焼灼及び超音波封止は、例えば肝臓又は腎臓の手術中に不十分であることが多い。結果として、肝臓切除又は腎部分切除などの手技には、出血を制御するための代替的手法が必要である。この目的のために、広範な局所的止血製品が開発されており、臨床的に入手可能である。
【０００３】
Ｌｅｗｉｓら（Ｃｏｎｔｒｏｌ ｏｆ ｂｌｅｅｄｉｎｇ ｉｎ ｓｕｒｇｉｃａｌ ｐｒｏｃｅｄｕｒｅｓ：ｃｒｉｔｉｃａｌ ａｐｐｒａｉｓａｌ ｏｆ ＨＥＭＯＰＡＴＣＨ（Ｓｅａｌｉｎｇ Ｈｅｍｏｓｔａｔ）、Ｄｏｖｅ Ｐｒｅｓｓ Ｊｏｕｒｎａｌ：Ｍｅｄｉｃａｌ Ｄｅｖｉｃｅｓ Ｅｖｉｄｅｎｃｅ ａｎｄ Ｒｅｓｅａｒｃｈ、２０１５年１２月２２日、１～９）は、合成のタンパク質反応性モノマー及びコラーゲン下地から構成される止血パッド（ＨＥＭＯＰＡＴＣＨ）について記載している。活性側は、タンパク質反応性モノマー：Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド官能化ポリエチレングリコール（ＮＨＳ－ＰＥＧ）で覆われている。ＮＨＳ－ＰＥＧは、コラーゲンパッドを組織に迅速に付着させ、止血を促進及び維持する。
【０００４】
Ｓｃｈｕｈｍａｃｈｅｒら（Ｓａｆｅｔｙ ａｎｄ ｅｆｆｅｃｔｉｖｅｎｅｓｓ ｏｆ ａ ｓｙｎｔｈｅｔｉｃ ｈｅｍｏｓｔａｔｉｃ ｐａｔｃｈ ｆｏｒ ｉｎｔｒａｏｐｅｒａｔｉｖｅ ｓｏｆｔ ｔｉｓｓｕｅ ｂｌｅｅｄｉｎｇ、Ｍｅｄ Ｄｅｖｉｃｅｓ（Ａｕｃｋｌ）．２０１５；８：１６７～１７４）は、吸収性下地材、酸化セルロール及びポリエチレングリコールヒドロゲルから構成される止血パッチ（ヴェリセット（Ｖｅｒｉｓｅｔ）（商標））について記載している。ヴェリセット（商標）止血パッチは、ポリエチレングリコール側が出血部位に貼り付けられる、即時使用可能なパッチとして提供される。
【０００５】
Ｂｏｅｒｍａｎら（Ｎｅｘｔ Ｇｅｎｅｒａｔｉｏｎ Ｈｅｍｏｓｔａｔｉｃ Ｍａｔｅｒｉａｌｓ Ｂａｓｅｄ ｏｎ ＮＨＳ－Ｅｓｔｅｒ Ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌｉｚｅｄ Ｐｏｌｙ（２－ｏｘａｚｏｌｉｎｅ）ｓ、Ｂｉｏｍａｃｒｏｍｏｌｅｃｕｌｅｓ（２０１７

）、１８、２５２９～２５３８）は、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミドエステル（ＮＨＳ）－官能性ポリ（２－オキサゾリン）（ＮＨＳ－ＰＯｘ）をゼラチンパッチにコーティングすることによって得られる合成の非生物活性止血製品について記載しており、これはポリマー、宿主の血液タンパク質、ゼラチン、及び組織の間の共有結合性架橋の形成によって作用して創傷部位を封止し、外科手術中の失血を防止する。

【０００６】

米国特許出願公開第２０１０／０２３３２４６号は、２成分反応性ポリエチレングリコール粉末を含浸させたコラーゲンスポンジ又はシートを含む生体適合性ポリマーデバイスであって、前記反応性粉末が、求核性基を有する第１のポリエチレングリコール及び求電子性基を有する第２のポリエチレングリコールを含み、ポリエチレングリコール粉末が、乾燥状態で非反応性のままである生体適合性ポリマーデバイスについて記載している。

【０００７】

国際公開第２０１０／０５９２８０号は、無水繊維状シートであって、求電子性基又は求核性基を含有する繊維状ポリマーの第１の成分、及び前記シートが生物学的組織と接触している水性媒体に曝露される際、第１の成分と架橋し、生物学的組織に接着性の架橋ヒドロゲルを形成することができる第２の成分を含み、

ａ）第２の成分が、第１の成分の繊維状ポリマーと同じ若しくは異なる骨格構造を有し、第１の成分が求核性基を含有する場合、求電子性基を含有するか、又は第１の成分が求電子性基を含有する場合、求核性基を含有する繊維状ポリマーであり、

ｂ）第２の成分が第１の成分の繊維状ポリマー上のコーティングであり、前記コーティングが、第１の成分が求核性基を含有する場合、求電子性基を含有するか、若しくは第１の成分が求電子性基を含有する場合、求核性基を含有するか、又は

ｃ）第２の成分が、第１の成分の繊維状ポリマーの間隙内に分散及び捕捉された乾燥粉末であり、前記粉末が、第１の成分が求核性基を含有する場合、求電子性基を含有するか、若しくは第１の成分が求電子性基を含有する場合、求核性基を含有する、無水繊維状シートについて記載している。

【０００８】

米国特許出願公開第２０１１／０２５０２５７号は、無水繊維状シートであって、求電子性基又は求核性基を含有する繊維状ポリマーの第１の成分、及び前記シートが生物学的組織と接触している水性媒体に曝露される際、第１の成分と架橋し、生物学的組織に接着性の架橋ヒドロゲルを形成することができる第２の成分を含み、第２の成分が、第１の成分が求核性基を含有する場合、求電子性基を含有するか、若しくは第１の成分が求電子性基を含有する場合、求核性基を含有する繊維状ポリマーであるか、又は第２の成分が第１の成分の繊維状ポリマー上のコーティングであり、前記コーティングが、第１の成分が求核性基を含有する場合、求電子性基を含有するか、若しくは第１の成分が求電子性基を含有する場合、求核性基を含有するか、又は第２の成分が、第１の成分の繊維状ポリマーの間隙内に分散及び捕捉された乾燥粉末であり、前記粉末が、第１の成分が求核性基を含有する場合、求電子性基を含有するか、若しくは第１の成分が求電子性基を含有する場合、求核性基を含有する、無水繊維状シートについて記載している。

【０００９】

国際公開第２０１１／１２４６４０号は、

ａ）乾燥形態の生体材料のマトリックスを含むスポンジを用意するステップ、

ｂ）１種の反応性ポリマー材料を乾燥粉末の形態で用意するステップ、

ｃ）ｂ）の材料が前記スポンジの少なくとも１つの表面に存在するようにａ）とｂ）とを接触させるステップ、及び

ｄ）ｂ）の材料をａ）のスポンジに固着させるステップ

を含む、止血スポンジの製造方法について記載している。

固着は、十分に長時間溶融させることによって達成することができる。

【００１０】

国際公開第２０１２／０５７６２８号は、求電子的に活性化されたポリオキサゾリン（

ＥＬ－ＰＯｘ）の乾燥物を少なくとも１重量％含む、組織接着性の医療製品であって、前記ＥＬ－ＰＯｘが、少なくとも１個のペンダント求電子性基を含む少なくとも２個の反応性求電子性基を含む、組織接着性の医療製品について記載している。ＥＬ－ＰＯｘの他に、医療製品は、求核的に活性化されたポリオキサゾリン（ＮＵ－ＰＯｘ）を含有してもよい。組織接着性製品の例として、接着性組織テープ、組織封止剤、止血多孔質材及びインプラントが挙げられる。

【００１１】

国際公開第２０１６／０５６９０１号は、コーティングメッシュ、コーティングフォーム又はコーティング粉末から選択される接着性止血製品であって、前記止血製品が、

少なくとも５ｖｏｌ．％の多孔性を有し、反応性求核性基を含有する求核性ポリマーを含む外面を含む多孔質固体基材、及び

固体基材の少なくとも一部を覆う接着性コーティングであって、前記コーティングが、求電子的に活性化されたポリオキサゾリン（ＥＬ－ＰＯｘ）を含み、前記ＥＬ－ＰＯｘが、平均少なくとも１個の反応性求電子性基を含有するコーティング

を含む、接着性止血製品について記載している。

接着性止血製品は、多孔質固体基材を用意するステップ、基材をＥＬ－ＰＯｘ及び溶媒を含むコーティング液でコーティングするステップ、並びに溶媒を除去するステップを含む方法によって生成される。

【００１２】

［発明の概要］

本発明者らは、腹腔鏡下外科手技中の失血の防止に特に好適な、生体適合性の可撓性止血シートを開発した。

【００１３】

本発明による止血シートは、宿主の血液タンパク質及び組織、並びに繊維状担体構造体中の反応性求核性基と共有結合することができる反応性求電子性ポリマーを含む小粒子を保持し、それにより止血及び／又は組織接着を誘導する、耐水性の接着性繊維状担体構造体を含む。したがって、本発明の一態様は、生体適合性の可撓性止血シートであって、

三次元の相互接続した間隙空間を含む耐水性の粘着性繊維状担体構造体であり、前記繊維状担体構造体が、反応性求核性基を担持する求核性ポリマーを含有する繊維を含む、耐水性の粘着性繊維状担体構造体、並びに

間隙空間内に分布されている、少なくとも３個の反応性求電子性基を担持する水溶性求電子性ポリマーを含む複数の反応性ポリマー粒子であり、反応性求電子性基が、共有結合の形成下で、組織及び血液中のアミン基並びに求核性ポリマーの反応性求核性基と反応することができ、前記反応性ポリマー粒子が０．５～１００μｍの範囲の直径を有し、且つ繊維状担体構造体の少なくとも３重量％の量で存在する、反応性ポリマー粒子

を含む、生体適合性の可撓性止血シートに関する。

【００１４】

本発明の止血シートは、血液が間隙空間に浸透しうるとすぐに血液を吸収する、耐水性の粘着性繊維状担体構造体を含む。この繊維状担体構造体には、反応性ポリマー粒子を容易に含浸させることができる。液体による含浸とは異なり、そのような乾式含浸は、担体構造体の構造的一体性又は機械的特性に影響を及ぼさない。本発明の止血シートによって血液が吸収されると、シート内の反応性ポリマー粒子が血液によって「湿潤」されるとすぐに溶解し始め、それにより求電子性ポリマーが、血液及び組織中の反応性求核性基と繊維状担体構造体中の反応性求核性基の両方と反応することが可能になり、それによりいずれも止血に寄与する血液凝固及び組織封止が誘導される。

【００１５】

本発明者らは理論に束縛されることを望まないが、本発明の止血シートの有利な特性は、反応性ポリマー粒子が繊維状担体構造体全体に分布され、最小限の屈曲摩擦を生じること、及び粒径が小さいため、これらの反応性ポリマー粒子が血液又は他の水性体液と接触すると急速に溶解することに起因する可能性があると考えられる。したがって、シートを

創傷部位に貼り付けると、一方では反応性求電子性ポリマーと、他方では血液タンパク質、組織と繊維状担体構造体との間に急速な共有結合性架橋が生じ、それによりゲルが形成され、ゲルが創傷表面を封止して出血を停止させ、さらに繊維状シートの組織への強力な接着をもたらすことができる。耐水性繊維状担体構造体は、貼付中及び後に機械的強度をもたらし、過剰な膨張を防止する。

【００１６】

その可撓性のために、本発明の止血シートは、不規則な形状の出血部位に好適に貼付可能である。止血シートは、既に貼り付けられたシートが出血を完全に停止させない場合、層状に貼り付けられてもよい。

【００１７】

本発明の別の態様は、止血シートを調製する方法であって、前記方法が、

上記で定義された耐水性の接着性繊維状担体構造体のシートを用意するステップ、

上記で定義された反応性ポリマー粒子を用意するステップ、及び

繊維状担体構造体の間隙空間内に反応性ポリマー粒子を分布させるステップ

を含む、方法に関する。

【００１８】

［発明の詳細な説明］

したがって、本発明の一態様は、生体適合性の可撓性止血シートであって、

三次元の相互接続した間隙空間を含む耐水性の粘着性繊維状担体構造体であり、前記繊維状担体構造体が、反応性求核性基を担持する求核性ポリマーを含有する繊維を含む、耐水性の粘着性繊維状担体構造体、並びに

間隙空間内に分布されている、少なくとも３個の反応性求電子性基を担持する水溶性求電子性ポリマーを含む複数の反応性ポリマー粒子であり、反応性求電子性基が、共有結合の形成下で、組織及び血液中のアミン基並びに求核性ポリマーの反応性求核性基と反応することができ、前記反応性ポリマー粒子が０．５～１００μｍの範囲の直径を有し、且つ繊維状担体構造体の少なくとも３重量％の量で存在する、反応性ポリマー粒子

を含む、生体適合性の可撓性止血シートに関する。

【００１９】

本明細書で使用される「止血シート」という用語は、別段指示されない限り、損傷組織からの出血を停止させる能力を有するシートを指す。本発明の止血シートは、血液をゲルに変える及び／又は創傷部位を閉じるシールを形成することによって止血を達成してもよい。

【００２０】

本明細書で使用される「組織接着性」という用語は、シートと組織の間の共有結合の形成により、止血シートが組織に密着する能力を指す。これらの共有結合の形成には、典型的に水の存在が必要である。

【００２１】

繊維状担体構造体に関連して本明細書で使用される「耐水性」という用語は、この構造体が水溶性でなく、且つ中性のｐＨ条件（ｐＨ７）及び３７℃の温度で水中で崩壊し、コロイド分散液を形成しないことを意味する。

【００２２】

本明細書で使用される「間隙空間」という用語は、繊維状担体構造体内の空隙（「空の」）空間を指す。繊維状担体構造体内の間隙空間は、反応性ポリマー粒子の構造体への導入を可能にする。血液及び他の体液も間隙空間に入ることができ、それにより反応性ポリマー粒子内の水溶性求電子性ポリマーの溶解が可能になる。

【００２３】

０．５～１００μｍの範囲の直径を有する反応性ポリマー粒子の濃度は、繊維状担体構造体それ自体の、すなわち反応性ポリマー粒子を除く重量％で表される。

【００２４】

本発明によって用いられる「反応性求電子性基を担持する水溶性求電子性ポリマー」は

、共有結合の形成下で、組織及び血液中のアミン基と反応できる少なくとも３個の反応性基を担持する。この水溶性求電子性ポリマーは、少なくとも１ｋＤａの分子量、及び少なくとも５０ｇ／Ｌの２０℃の蒸留水への溶解度を有する。

【００２５】

本明細書で使用される「吸水能」という用語は、止血シートが吸水する能力の尺度である。吸水能は、乾燥シートの試料を秤量し（重量＝W_d）、その後試料を蒸留水（３７℃）に４５分間浸漬させることによって決定される。次に、試料を水から取り出し、基材の外側に密着した水を除去した後、試料を再び秤量する（重量＝W_w）。吸水能＝１００％×（W_w－W_d）／W_dである。吸水能は、基材の多孔性、及び基材が水の存在下で膨張する能力の指標である。

【００２６】

本明細書で使用される「コラーゲン」という用語は、動物の身体における種々の結合組織の細胞外空間内の主な構造タンパク質を指す。コラーゲンは、特徴的な３本のポリペプチド鎖の三重らせんを形成する。石灰化の程度に応じて、コラーゲン組織は強固である（骨）か、又は柔軟である（腱）か、又は強固から柔軟までの勾配を有する（軟骨）かのいずれかでありうる。別段指示されない限り、「コラーゲン」という用語は、ゼラチン以外の変性コラーゲンも包含する。

【００２７】

本明細書で使用される「ゼラチン」という用語は、家畜のウシ、ニワトリ、ブタ及び魚などの動物の皮膚、骨及び結合組織から抽出されるコラーゲンの部分加水分解によって生成される、ペプチドとタンパク質の混合物を指す。加水分解の間に、個々のコラーゲンストランド間の天然の分子結合が、より容易に再構成する形態へと分解される。

【００２８】

本明細書で使用される「ポリオキサゾリン」という用語は、ポリ（Ｎ－アシルアルキレンイミン）又はポリ（アロイルアルキレンイミン）を指し、さらにＰＯｘと称される。ＰＯｘの例は、ポリ（２－エチル－２－オキサゾリン）である。「ポリオキサゾリン」という用語は、ＰＯｘのコポリマーも包含する。

【００２９】

反応性ポリマー粒子は、粒子密度が担体構造体全体で実質的に同じであるという意味で、繊維状担体構造体の間隙空間内に均質に分布される場合がある。反応性ポリマー粒子は、担体構造体全体に不均一に分布される場合もある。例えば、止血シートが、繊維状担体構造体の薄層及び反応性ポリマー粒子の層の積層体の形態で調製される場合、シート内の反応性ポリマー粒子の密度は変動してもよい。特定の用途では、例えば反応性粒子の密度が、出血創傷に貼り付けられることが意図されるシートの側面付近で最も低く、シートの反対側面付近で最も高いという点で、反応性ポリマー粒子の密度が勾配を示すと有利である場合がある。

【００３０】

反応性ポリマー粒子の直径分布は、好適にはＳｔａｉｎｌｅｓｓ　Ｓｔｅｅｌ　Ｓａｍｐｌｅ　Ｄｉｓｐｅｒｓｉｏｎ　Ｕｎｉｔとの組合せのＭａｌｖｅｒｎ　Ｍａｓｔｅｒｓｉｚｅｒ　２０００を使用するレーザー回折によって決定されてもよい。試料分散ユニットにおよそ１２０ｍｌのシクロヘキサンを充填し、ユニットを１８００ｒｐｍの撹拌速度で５～１０分間安定させ、その後バックグラウンド測定（ブランク測定）を行う。試料管を振盪し、２０回水平に回転させる。次に、シクロヘキサンを含有する試料分散ユニットに約５０ｍｇを分散させる。試料を分散ユニットに導入したら、すべての粒子が適正に分散されることを保証するために、試料を１８００ｒｐｍで１分３０秒撹拌し、その後測定を行う。分散された粒子に超音波処理は実施されない。平均粒径は、Ｄ［４，３］、体積加重平均直径（$\Sigma n_i D_i^4$）／（$\Sigma n_i D_i^3$）として表される。

【００３１】

特に好ましい実施形態では、米国特許出願公開第２０１１／０２５０２５７号に記載される繊維状組織封止剤とは異なり、本発明の止血シートは、ヒドロゲル、すなわち実質的

な量の水を吸収し、弾性ゲルを形成できる水膨張性ポリマーマトリックスを形成しない。

【００３２】

特に好ましい実施形態によると、本発明の止血シートは生体吸収性である、つまり担体構造体、反応性ポリマー粒子、及び止血シートの任意の他の成分は、最終的に身体に吸収される。担体構造体及び反応性ポリマー粒子の吸収には、典型的に含有されるポリマーの化学分解（例えば、加水分解）が必要である。

【００３３】

ヒトの身体による止血シートの完全な生体吸収は、典型的に１～１０週間、好ましくは２～８週間で達成される。

【００３４】

本発明の止血シートは、典型的に０．５～２５mmの非圧縮平均厚さを有する。より好ましくは、非圧縮平均厚さは、１～１０mmの範囲、最も好ましくは１．５～５mmの範囲である。

【００３５】

止血シートの寸法は、好ましくはシートの上部及び下部が、それぞれ少なくとも２cm^2、より好ましくは少なくとも１０cm^2、最も好ましくは２５～５０cm^2の表面積を有するようなものである。典型的に、シートは長方形の形状であり、長さ２５～２００mm及び幅２５～２００mmである。

【００３６】

止血シートは、好ましくは２００mg／cm^3未満、より好ましくは１５０mg／cm^3未満、最も好ましくは１０～１００mg／cm^3の非圧縮密度を有する。

【００３７】

本発明の一実施形態では、反応性ポリマー粒子は、繊維状担体構造体の間隙空間内に均質に分布される。本発明の別の実施形態では、止血シートは、交互の繊維状担体構造体の層及び反応性ポリマー粒子の層を含む積層体である。後者の実施形態では、反応性ポリマー粒子は、好ましくは反応性ポリマー粒子の層を分離させる繊維状担体構造体の層に入っている。

【００３８】

本発明の止血シートは、好ましくは本質的に無水である。典型的に、止血シートは、５ｗｔ．％以下、より好ましくは２ｗｔ．％以下、最も好ましくは１ｗｔ．％以下の水分含有量を有する。

【００３９】

止血シートの吸水能は、好ましくは少なくとも５０％であり、より好ましくは１００％～８００％の範囲、最も好ましくは２００％～５００％の範囲にある。

【００４０】

本発明の止血シートは、好ましくは滅菌である。

【００４１】

止血シート中の反応性ポリマー粒子は、好ましくはカルボン酸エステル、スルホン酸エステル、ホスホン酸エステル、ペンタフルオロフェニルエステル、ｐ－ニトロフェニルエステル、ｐ－ニトロチオフェニルエステル、酸ハロゲン化物基、無水物、ケトン、アルデヒド、イソシアネート、チオイソシアネート、イソシアノ、エポキシド、活性化ヒドロキシル基、オレフィン、グリシジルエーテル、カルボキシル、スクシンイミジルエステル、スルホスクシンイミジルエステル、マレイミド（マレイミジル）、エテンスルホニル、イミドエステル、アセトアセテート、ハロアセタール、オルトピリジルジスルフィド、ジヒドロキシフェニル誘導体、ビニル、アクリレート、アクリルアミド、ヨードアセトアミド及びこれらの組合せから選択される反応性求電子性基を担持する水溶性求電子性ポリマーを含む。より好ましくは、反応性求電子性基は、カルボン酸エステル、スルホン酸エステル、ホスホン酸エステル、ペンタフルオロフェニルエステル、ｐ－ニトロフェニルエステル、ｐ－ニトロチオフェニルエステル、酸ハロゲン化物基、無水物（ａｎｈｙｉｎｉｄｒｉｄｅｓ）、ケトン、アルデヒド、イソシアネート、チオイソシアネート、イソシアノ、

エポキシド、活性化ヒドロキシル基、グリシジルエーテル、カルボキシル、スクシンイミジルエステル、スルホスクシンイミジルエステル、イミドエステル、ジヒドロキシフェニル誘導体及びこれらの組合せから選択される。さらにより好ましくは、反応性求電子性基は、ハロアセタール、オルトピリジルジスルフィド、マレイミド、ビニルスルホン、ジヒドロキシフェニル誘導体、ビニル、アクリレート、アクリルアミド、ヨードアセトアミド、スクシンイミジルエステル及びこれらの組合せから選択される。最も好ましくは、反応性求電子性基は、マレイミド、ビニル、アクリレート、アクリルアミド、スクシンイミジルエステル、スルホスクシンイミジルエステル及びこれらの組合せから選択される。

【００４２】

利用されてもよいスクシンイミジルエステルの例として、スクシンイミジルグルタレート、スクシンイミジルプロピオネート、スクシンイミジルスクシンアミド、スクシンイミジルカーボネート、ジスクシンイミジルスベレート、ビス（スルホスクシンイミジル）スベレート、ジチオビス（スクシンイミジルプロピオネート）、ビス（２－スクシンイミドオキシカルボニルオキシ）エチルスルホン、３、３’－ジチオビス（スルホスクシンイミジル－プロピオネート）、スクシンイミジルカルバメート、スルホスクシンイミジル（４－ヨードアセチル）アミノベンゾエート、ビス（スルホスクシンイミジル）スベレート、スルホスクシンイミジル－４－（Ｎ－マレイミドメチル）－シクロヘキサン－１－カルボキシレート、ジチオビス－スルホスクシンイミジルプロピオネート、ジスルホ－スクシンイミジルタータレート；ビス［２－（スルホ－スクシンイミジルオキシカルボニルオキシエチルスルホン）］、エチレングリコールビス（スルホスクシンイミジルスクシネート）（ｓｕｌｆｏｓｕｃｃｉｎｉｍｉｃｌｙｌｓｕｃｃｉｎａｔｅ）、ジチオビス－（スクシンイミジルプロピオネート）が挙げられる。

【００４３】

利用されてもよいジヒドロキシフェニル誘導体の例として、ジヒドロキシフェニルアラニン、３，４－ジヒドロキシフェニルアラニン（ＤＯＰＡ）、ドパミン、３，４－ジヒドロキシヒドロケイ皮酸（ｄｉｈｙｄｒｏｘｙｈｙｄｒｏｃｃｉｎａｍｉｃ　ａｃｉｄ）（ＤＯＨＡ）、ノルエピネフリン、エピネフリン、及びカテコールが挙げられる。

【００４４】

本発明の止血シートにおける繊維状担体構造体の使用は、反応性ポリマー粒子が、この担体構造体全体に困難なく均質に分布できるという利点をもたらす。そのような均質な分布は、例えば発泡担体構造体で達成することははるかに困難である。

【００４５】

繊維状担体構造体の繊維は、好ましくは１～５００μｍ、より好ましくは２～３００μｍ、最も好ましくは５～２００μｍの平均直径を有する。繊維の平均直径は、好適には顕微鏡を使用して決定することができる。

【００４６】

典型的に、繊維状担体構造体の繊維の少なくとも５０ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも８０ｗｔ．％が、１～３００μｍの直径及び少なくとも１ｍｍの長さを有する。

【００４７】

好ましくは、繊維状担体構造体の繊維の少なくとも５０ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも８０ｗｔ．％が、少なくとも１０００のアスペクト比（長さの直径に対する比）を有する。

【００４８】

本発明によって利用される繊維状担体構造体は、好ましくはフェルト構造体、織物構造体又は編物構造体である。最も好ましくは、繊維状担体構造体はフェルト構造体である。ここで、「フェルト構造体」という用語は、繊維にマット加工を施してまとめてプレスし、粘着性材料を形成することによって生成される構造体を指す。

【００４９】

特定の好ましい実施形態によると、繊維状担体構造体は生分解性である。

【００５０】

繊維状担体構造体に含有される求核性ポリマーは、担体構造体に含有される繊維全体に均質に分布されてもよく、又は外部コーティング層として適用されてもよい。担体構造体に求核性ポリマーが存在することにより、止血シートの接着特性と止血特性の両方が改善される。

【００５１】

好ましくは、繊維状担体構造体の繊維は、少なくとも５ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも１０ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも５０ｗｔ．％の求核性ポリマーを含有する。最も好ましくは、繊維は前記求核性ポリマーからなる。

【００５２】

担体構造体の繊維に含有される求核性ポリマーは、典型的に少なくとも２個の反応性求核性基、より好ましくは少なくとも５個の反応性求核性基、さらにより好ましくは少なくとも１０個の反応性求核性基、最も好ましくは少なくとも２０個の反応性求核性基を含有する。

【００５３】

これらの反応性求核性基は、好ましくはアミン基、チオール基、ホスフィン基及びこれらの組合せから選択される。より好ましくは、これらの反応性求核性基は、アミン基、チオール基及びこれらの組合せから選択される。最も好ましくは、反応性求核性基はアミン基である。これらのアミン基は、好ましくは第一級アミン基、第二級アミン基及びこれらの組合せから選択される。

【００５４】

繊維状担体構造体の繊維中の求核性ポリマーは、好ましくは少なくとも１ｗｔ．％、より好ましくは５～１０ｗｔ．％、最も好ましくは１５～２５ｗｔ．％の窒素含有量を有する。

【００５５】

求核性ポリマーは、好ましくはタンパク質、キトサン、反応性求核性基を担持する合成ポリマー、反応性求核性基を担持する炭水化物ポリマー及びこれらの組合せから選択される。より好ましくは、求核性ポリマーは、ゼラチン、コラーゲン、キトサン及びこれらの組合せから選択される。さらにより好ましくは、求核性ポリマーはゼラチン、最も好ましくは架橋ゼラチンである。

【００５６】

キトサンは、キチン（ポリ－Ｎ－アセチル－Ｄ－グルコサミン）の生分解性の、非毒性の複雑な炭水化物誘導体であり、天然に存在する物質である。キトサンは、キチンの脱アセチル化形態である。本発明によって適用されるキトサンは、好ましくは脱アセチル化度が７０％より高い。

【００５７】

繊維状担体構造体は、反応性求核性基を担持する求核性ポリマーを含有する繊維を、好ましくは少なくとも５０ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも８０ｗｔ．％、最も好ましくは少なくとも９０ｗｔ．％含む。

【００５８】

好ましい実施形態では、繊維状担体構造体は、反応性求核性基を担持する求核性ポリマーを少なくとも５０ｗｔ．％含有する繊維を少なくとも５０ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも８０ｗｔ．％、最も好ましくは少なくとも９０ｗｔ．％含む。

【００５９】

特に好ましい実施形態によると、繊維状担体構造体は、ゼラチン、コラーゲン又はキトサンから作製される繊維を少なくとも５０ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも８０ｗｔ．％、最も好ましくは少なくとも９０ｗｔ．％含む。

【００６０】

好ましいコラーゲンは、テロペプチド領域を有さない（「アテロペプチドコラーゲン」）。本発明によって利用されるコラーゲンは、好ましくはミクロフィブリル状コラーゲン、Ｉ型コラーゲン、ＩＩＩ型コラーゲン、又はＩ型コラーゲンとＩＩＩ型コラーゲンの組

合せなどの合成ヒトコラーゲンの群から選択される。熱、放射、又はグルタルアルデヒドなどの化学剤を使用して架橋されたコラーゲンも使用することができる。

【００６１】

好ましい実施形態によると、繊維状担体構造体中の繊維は、少なくとも５０ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも８０ｗｔ．％、最も好ましくは少なくとも９０ｗｔ．％のゼラチンを含む。繊維中のゼラチンは、好ましくは２００以上のブルーム強度を有する。

【００６２】

特に有利な実施形態では、繊維状担体構造体は、少なくとも５０ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも８０ｗｔ．％、最も好ましくは少なくとも９０ｗｔ．％の部分的に架橋されたゼラチンを含む。部分的に架橋されたゼラチンを使用することにより、繊維状担体構造体が体温で十分に安定且つ可撓性であり、さらに繊維状担体構造体の膨張によって閉気孔繊維状ゲル構造の形成が生じないという利点がもたらされる。

【００６３】

本発明の止血シートの調製において、反応性ポリマー粒子の求電子性ポリマー中の反応性求電子性基の一部を、求核性ポリマーの反応性求核性基と反応させることが有利である場合がある。これにより、反応性ポリマー粒子が繊維状担体構造体内に有効に固着することができる。

【００６４】

好ましい実施形態によると、繊維状担体構造体の繊維中の求核性ポリマーの反応性求核性基はアミン基を含み、反応性ポリマー粒子中の求電子性ポリマーの反応性求電子性基は、カルボン酸エステル、スルホン酸エステル、ホスホン酸エステル、ペンタフルオロフェニルエステル、ｐ－ニトロフェニルエステル、ｐ－ニトロチオフェニルエステル、酸ハロゲン化物基、無水物、ケトン、アルデヒド、イソシアネート、チオイソシアネート、イソシアノ、エポキシド、活性化ヒドロキシル基、グリシジルエーテル、カルボキシル、スクシンイミジルエステル、スルホスクシンイミジルエステル、イミドエステル、ジヒドロキシフェニル誘導体及びこれらの組合せから選択される。

【００６５】

別の好ましい実施形態によると、求核性ポリマーの反応性求核性基はチオール基を含み、反応性ポリマー粒子中の求電子性ポリマーの反応性求電子性基は、ハロアセタール、オルトピリジルジスルフィド、マレイミド、ビニルスルホン、ジヒドロキシフェニル誘導体、ビニル、アクリレート、アクリルアミド、ヨードアセトアミド、スクシンイミジルエステル、スルホスクシンイミジルエステル及びこれらの組合せから選択される。より好ましくは、反応性求電子性基は、スクシンイミジルエステル、スルホスクシンイミジルエステル、ハロアセタール、マレイミド又はジヒドロキシフェニル誘導体及びこれらの組合せから選択される。最も好ましくは、反応性求電子性基は、マレイミド又はジヒドロキシフェニル誘導体及びこれらの組合せから選択される。

【００６６】

本発明の好ましい実施形態では、繊維状担体構造体は、酸化再生セルロースを含まない。

【００６７】

好ましい繊維状担体構造体は、空気透過性が少なくとも０．１Ｌ／分×ｃｍ^2、より好ましくは少なくとも０．５Ｌ／分×ｃｍ^{2}である開気孔構造を有する。

【００６８】

空気透過性は、ＥＮ　ＩＳＯ　９２３７：１９９５（繊維－布の空気透過性の決定）によって決定される。

【００６９】

繊維状担体構造体中の繊維は、エレクトロスピニング、エレクトロブローンスピニング、及び高速回転噴霧器スピニングなどの当技術分野で公知の方法によって生成されてもよい。高速回転噴霧器スピニングによる繊維状担体構造体の生成は、米国特許出願公開第２０１５／００１０６１２号に記載される。繊維状担体構造体として、市販の止血繊維状シートを使用することもできる。好適な市販品の例は、ジェリータ　タフト－ＩＴ（ＧＥＬ

ＩＴＡ　ＴＵＦＴ－ＩＴ）（登録商標）（前Ｇｅｌｉｔａ　Ｍｅｄｉｃａｌ）である。

【００７０】

反応性ポリマー粒子は、好ましくは繊維状担体構造体の５～９０重量％、より好ましくは１０～８０重量％、さらにより好ましくは２０～７５重量％、最も好ましくは５０～７０重量％の量で本発明の止血シート中に存在する。

【００７１】

反応性ポリマー粒子は、好ましくは少なくとも１０ｗｔ．％の水溶性求電子性ポリマーを含有する。より好ましくは、反応性ポリマー粒子は、少なくとも５０ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも９０ｗｔ．％の水溶性求電子性ポリマーを含有する。

【００７２】

繊維状担体構造体の間隙空間内に分布される反応性ポリマー粒子は、好ましくは２～７５μｍの範囲、より好ましくは１～５０μｍの範囲、最も好ましくは１～２５μｍの範囲の体積加重平均粒径を有する。

【００７３】

本発明の反応性ポリマー粒子は、種々の方法、例えば摩砕によって、ポリマー溶液を噴霧乾燥することによって、凍結乾燥によって、ポリマー溶融物を噴霧冷却することによって、粉末混合物を造粒することによって、又は流動床コーティングによって調製されてもよい。

【００７４】

水溶性求電子性ポリマーは、典型的に少なくとも２ｋＤａ、より好ましくは少なくとも５ｋＤａ、最も好ましくは１０～１００ｋＤａの分子量を有する。

【００７５】

水溶性求電子性ポリマーは、少なくとも１００ｇ／Ｌ、より好ましくは少なくとも２００ｇ／Ｌの２０℃の蒸留水への溶解度を有する。

【００７６】

本発明によって利用される水溶性求電子性ポリマーは、好ましくは少なくとも４個の反応性求電子性基、より好ましくは少なくとも８個の反応性求電子性基、さらにより好ましくは少なくとも１６個の反応性求電子性基、最も好ましくは少なくとも３２個の反応性求電子性基を含有する。

【００７７】

反応性ポリマー粒子中に存在する水溶性求電子性ポリマーは、好ましくはポリオキサゾリン、ポリエチレングリコール、ポリビニルピロリドン、ポリウレタン（例えば、国際公開第２０１７／１７１５５１号に記載される）及びこれらの組合せから選択される。さらにより好ましくは、求電子性ポリマーは、ポリオキサゾリン、ポリエチレングリコール及びこれらの組合せから選択される。最も好ましくは、求電子性ポリマーはポリオキサゾリンである。

【００７８】

反応性求電子性基を含むポリオキサゾリンは、繰り返し単位が以下の式（Ｉ）：

$(CHR^1)_mNCOR^2$

（式中、R^2及びR^1のそれぞれは、Ｈ、任意選択で置換された$C_{1～22}$アルキル、任意選択で置換されたシクロアルキル、任意選択で置換されたアラルキル、任意選択で置換されたアリールから独立的に選択され、ｍは２又は３である）

によって表されるポリオキサゾリンに由来することが好ましい。

【００７９】

好ましくは、式（Ｉ）のR^1及びR^2は、Ｈ及び$C_{1～8}$アルキル、さらにより好ましくはＨ及び$C_{1～4}$アルキルから選択される。R^1は、最も好ましくはＨである。式（Ｉ）の整数ｍは、好ましくは２に等しい。

【００８０】

好ましい実施形態によると、ポリオキサゾリンはポリマーであり、さらにより好ましくは２－アルキル－２－オキサゾリンのホモポリマーであり、前記２－アルキル－２－オキ

サゾリンは、２－メチル－２－オキサゾリン、２－エチル－２－オキサゾリン、２－プロピル－２－オキサゾリン、２－ブチル－２－オキサゾリン及びこれらの組合せから選択される。好ましくは、ポリオキサゾリンは、２－プロピル－２－オキサゾリン又は２－エチル－オキサゾリンのホモポリマーである。最も好ましくは、ポリオキサゾリンは、２－エチル－オキサゾリンのホモポリマーである。

【００８１】

特定の好ましい実施形態によると、水溶性求電子性ポリマーは、少なくとも２０個のオキサゾリン単位、より好ましくは少なくとも３０個のオキサゾリン単位、最も好ましくは少なくとも８０個のオキサゾリン単位を含む。求電子性ポリマーは、好ましくはオキサゾリン残基あたり平均少なくとも０．０５個の反応性求電子性基を含む。さらにより好ましくは、求電子性ポリマーは、オキサゾリン残基あたり平均少なくとも０．１個の反応性求電子性基を含む。最も好ましくは、求電子性ポリマーは、オキサゾリン残基あたり平均０．１２～０．５個の反応性求電子性基を含む。

【００８２】

水溶性求電子性ポリマーは、典型的に平均少なくとも１０個、より好ましくは少なくとも２０個の反応性求電子性基を担持する。

【００８３】

ポリオキサゾリンは、その側鎖（ペンダント反応性求電子性基）、その末端又は両方に反応性求電子性基を担持してもよい。

【００８４】

本発明によって利用されるポリオキサゾリンは、有利には１又は複数のペンダント反応性求電子性基を含有する。典型的に、ポリオキサゾリンは、モノマーあたり０．０３～０．５個のペンダント反応性求電子性基、より好ましくはモノマーあたり０．０４～０．３５個のペンダント反応性求電子性基、さらにより好ましくはモノマー当たり０．０５～０．２５個のペンダント反応性求電子性基を含有する。

【００８５】

本発明によって適用される反応性求電子性基を含むポリエチレングリコール（ＰＥＧ）は、好ましくは少なくとも３つのアーム、より好ましくは少なくとも４つのアームを含む、反応性求電子性基で末端化されたマルチアームＰＥＧ又は星型ＰＥＧである。

【００８６】

水溶性求電子性ポリマーの他に、反応性ポリマー粒子は、好適にはデキストラン、アルギネート、酸化セルロース（酸化再生セルロース（ＯＲＣ）を含む）、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ヒアルロン酸、及びこれらの組合せから選択される多糖を含有してもよい。好ましくは、そのような多糖は、少なくとも１５ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも２５ｗｔ．％、最も好ましくは少なくとも５０ｗｔ．％の濃度で反応性ポリマー粒子に含有される。特定の好ましい実施形態では、反応性ポリマー粒子は、少なくとも２５ｗｔ．％、最も好ましくは少なくとも５０ｗｔ．％のＯＲＣを含有する。

【００８７】

本発明の有利な実施形態では、水溶性求電子性ポリマーの他に、反応性ポリマー粒子は、共有結合の形成下で他の水溶性ポリマーの反応性求電子性基と反応できる少なくとも２個の反応性求核性基を含有する求核性架橋剤、及び任意選択で１種又は複数の多糖を追加的に含有する。求核性架橋剤を導入することにより、血液、又はより重要なことに比較的少量の求核性タンパク質を含有する体液（例えば、肝胆汁）がシートに入る際に、水溶性求電子性ポリマーが求核性架橋剤と反応するため、シートの止血及び接着特性が改善される場合があるという利点がもたらされる。この架橋反応は、血液又は体液の流れを固定するヒドロゲルの形成につながり、ヒドロゲル中の反応性求電子性基と組織中のアミン／チオール基との間に共有結合が形成されることにより、このヒドロゲルが組織に張り付く。水溶性求電子性ポリマーと求核性架橋剤を単一の粒子内で組み合わせることにより、これらの２種の反応性成分が止血シート全体に均質に分布できること、輸送及び取扱い時に分

離が生じないこと、並びに粒子が血液又は水性体液と接触した際に、これらの成分が即座に互いに反応できることが保証される。

【００８８】

反応性求電子性基を担持する水溶性ポリマーと求核性架橋剤の組合せを含有する反応性ポリマー粒子、すなわち反応性ハイブリッド粒子は、好ましくは減圧下の湿式造粒及びそれに続く乾燥によって生成されてもよい。造粒液体は、造粒中に、水溶性求電子性ポリマーと求核性架橋剤との間にあまり又は全く反応が生じないように選択されるべきである。これは、例えば、これら２種の成分のうちの少なくとも１種が不溶性である造粒液体を利用することによって達成することができる。最も好ましくは、反応性求電子性基を担持する水溶性ポリマーが造粒液体中で不溶性である。

【００８９】

特に好ましい実施形態によると、反応性ポリマー粒子は、（ｉ）水溶性求電子性ポリマーを含有する求電子性粒子、及び（ｉｉ）求核性架橋剤を含有する求核性粒子を含む粒子凝集物である。

【００９０】

求電子性粒子は、好ましくは少なくとも３０ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも５０ｗｔ．％、最も好ましくは少なくとも８０ｗｔ．％の水溶性求電子性ポリマーを含有する。

【００９１】

求核性粒子は、好ましくは少なくとも３０ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも５０ｗｔ．％、最も好ましくは少なくとも８０ｗｔ．％の求核性架橋剤を含有する。

【００９２】

典型的に、この実施形態による反応性ハイブリッド粒子は、以下の組成：

（ａ）少なくとも３個の反応性求電子性基を担持する５０～９５ｗｔ．％の水溶性求電子性ポリマー、

（ｂ）５～５０ｗｔ．％の求核性架橋剤、

（ｃ）０～５０ｗｔ．％の多糖

を有し、成分（ａ）～（ｃ）を合わせた組合せは、反応性ポリマー粒子の少なくとも８０ｗｔ．％、より好ましくは少なくとも９０ｗｔ．％を構成する。特に好ましい実施形態によると、この実施形態で利用される反応性求電子性基を担持する水溶性求電子性ポリマーは、ポリオキサゾリン（ＥＬ－ＰＯｘ）である。

【００９３】

反応性ポリマー粒子は、好ましくは水溶性求電子性ポリマーによって提供される反応性求電子性基の総数と、求核性架橋剤によって提供される反応性求核性基の総数の間の比が２５：１～１：１の範囲、より好ましくは１８：１～２：１の範囲、最も好ましくは１２：１～２．５：１の範囲にあるような量で、水溶性求電子性ポリマー及び求核性架橋剤を含有する。

【００９４】

求核性架橋剤は、好ましくは少なくとも３個の反応性求核性基、より好ましくは少なくとも５個の反応性求核性基、さらにより好ましくは少なくとも１０個の反応性求核性基、最も好ましくは少なくとも２０個の反応性求核性基を含有する。

【００９５】

求核性架橋剤の反応性求核性基は、好ましくはアミン基、チオール基、ホスフィン基及びこれらの組合せから選択され、より好ましくはアミン基、チオール基及びこれらの組合せから選択される。最も好ましくは、これらの反応性求核性基はアミン基である。好ましい実施形態によると、求核性架橋剤中に存在する反応性求核性基は、第一級アミン基である。

【００９６】

求核性架橋剤は、好ましくは少なくとも１ｗｔ．％、より好ましくは５～１０ｗｔ．％、最も好ましくは１５～２５ｗｔ．％の窒素含有量を有する。

【００９７】

本発明の一実施形態では、求核性架橋剤は１，０００ｇ／ｍｏｌ未満、より好ましくは７００ｇ／ｍｏｌ未満、最も好ましくは４００ｇ／ｍｏｌ未満の分子量を有する低分子量ポリアミンである。好適な低分子量ポリアミンの例として、ジリジン；トリリジン；テトラリジン；ペンタリジン；ジシステイン；トリシステイン；テトラシステイン；ペンタシステイン；リジン、オルニチン、システイン、アルギニン及びこれらの組合せ、並びに他のアミノ酸残基から選択される２個以上のアミノ酸残基を含むオリゴペプチド；スペルミン；トリス（アミノメチル）アミン；アルギニン並びにこれらの組合せが挙げられる。

【００９８】

本発明の別の実施形態によると、求核性架橋剤は、求核的に活性化されたＰＯｘ（ＮＵ－ＰＯｘ）；アミン官能化ポリエチレングリコール、キトサン；キトサン誘導体（例えば、国際公開第２００９／０２８９６５号に記載されるジカルボキシ誘導体化キトサンポリマー）；ポリエチレンイミン；ポリビニルアミン；ポリアリルアミン；アミン官能化ポリ（メタ）アクリレート；アミン官能性部分を含有する糖類、例えばアミノグリコシド；リジン、オルニチン、システイン、アルギニン及びこれらの組合せから選択される２個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド、並びにこれらの組合せの群から選択される高分子量（＞１，０００ｇ／ｍｏｌ）ポリアミンである。天然源又は組換え体のアルブミンは、ポリペプチドとして好適に利用できるポリペプチドの例である。４，６－二置換デオキシストレプトアミン（カナマイシンＡ、アミカシン、トブラマイシン、ジベカシン、ゲンタマイシン、シソマイシン、ネチルマイシン）、４，５－二置換デオキシストレプトアミン（ネオマイシンＢ、Ｃ及びネオマイシンＥ（パロモマイシン））並びに非デオキシストレプトアミンアミノグリコシド、例えばストレプトマイシンが、利用できるアミノグリコシドの例である。最も好ましくは、高分子量ポリアミンはＮＵ－ＰＯｘである。

【００９９】

本発明のさらに別の実施形態では、反応性ポリマー粒子で利用される求核性架橋剤は、１，０００ｇ／ｍｏｌ未満、より好ましくは７００ｇ／ｍｏｌ未満、最も好ましくは４００ｇ／ｍｏｌ未満の分子量を有する２個以上のチオール基を含む低分子量ポリチオールである。さらにより好ましくは、求核性架橋剤は、トリメルカプトプロパン、エタンジチオール、プロパンジチオール、２－メルカプトエチルエーテル、２，２’－（エチレンジオキシ）ジエタンチオール、テトラ（エチレングリコール）ジチオール、ペンタ（エチレングリコール）ジチオール、ヘキサエチレングリコールジチオール；チオール変性ペンタエリスリトール、ジペンタエリスリトール、トリメチロールプロパン又はジトリメチロールプロパン；少なくとも２個のシステイン単位を含有するオリゴペプチドの群から選択される。

【０１００】

本発明のさらに別の実施形態によると、反応性ポリマー粒子で利用される求核性架橋剤は、少なくとも２個のチオール基を含むＮＵ－ＰＯｘ；チオール官能化ポリ（メタ）アクリレート；チオール官能性部分を含有する多糖類、２個以上のチオール基を含むポリペプチドの群から選択される高分子量（＞１，０００ｇ／ｍｏｌ）ポリチオールである。

【０１０１】

好ましくは、求核性架橋剤は、求核的に活性化されたＰＯｘ（ＮＵ－ＰＯｘ）；アミン官能化ポリエチレングリコール、キトサン；キトサン誘導体、ポリエチレンイミン；ポリビニルアミン；ポリアリルアミン；アミン官能化ポリ（メタ）アクリレート；アミン官能性部分を含有する糖類；リジン、オルニチン、システイン、アルギニン及びこれらの組合せから選択される２個以上のアミノ酸残基を含むポリペプチド並びにこれらの組合せの群から選択される高分子量ポリアミンである。より好ましくは、求核性架橋剤は、ＮＵ－ＰＯｘ；アミン官能化ポリエチレングリコール；ゼラチン、コラーゲン及びこれらの組合せから選択される。最も好ましくは、高分子量ポリアミンはＮＵ－ＰＯｘである。

【０１０２】

高分子量ポリアミンは、好ましくは３個以上のアミン基、より好ましくは１０個以上のアミン基、最も好ましくは２０個以上のアミン基を含む。

【０１０３】

本発明の特に好ましい実施形態では、反応性ポリマー粒子は、５０～９５ｗｔ．％のＥＬ－ＰＯｘ及び５～５０ｗｔ．％のＮＵ－ＰＯｘ、より好ましくは６０～９０ｗｔ．％のＥＬ－ＰＯｘ及び１０～４０ｗｔ．％のＮＵ－ＰＯｘ、最も好ましくは７０～８５ｗｔ．％のＥＬ－ＰＯｘ及び１５～３０ｗｔ．％のＮＵ－ＰＯｘを含有する。

【０１０４】

別の有利な実施形態によると、反応性ポリマー粒子は、乾燥緩衝系を含有する。好ましくは、緩衝系は、７～１１の範囲、より好ましくは８～１０の範囲の緩衝ｐＨを有する。

【０１０５】

好ましくは、緩衝系は、少なくとも１０ｍｍｏｌ．ｌ$^{-1}$．ｐＨ$^{-1}$の緩衝能を有する。より好ましくは、緩衝能は少なくとも２５ｍｍｏｌ．ｌ$^{-1}$．ｐＨ$^{-1}$であり、最も好ましくは、緩衝能は少なくとも５０ｍｍｏｌ．ｌ$^{-1}$．ｐＨ$^{-1}$である。

【０１０６】

本発明者らは、１～２０ｗｔ．％、より好ましくは２．５～１５ｗｔ．％、最も好ましくは５～１０ｗｔ．％の非反応性非イオン性ポリマーを含有する反応性ポリマー粒子を利用することにより、特に望ましい接着特性を有する止血シートが得られる場合があることを予想外に発見した。この非反応性非イオン性ポリマーは、反応性求電子性基又は反応性求核性基を含有しない。

【０１０７】

非常に好ましい実施形態では、反応性ポリマー粒子は、非反応性非イオン性ポリマーでコーティングされる。

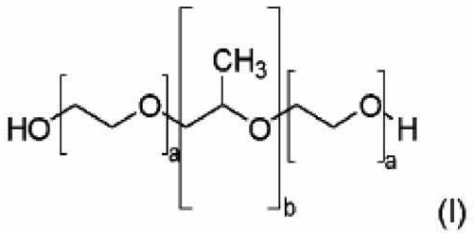
【０１０８】

非反応性非イオン性ポリマーは、好ましくは４０～７０℃の範囲、より好ましくは４５～６５℃の範囲、最も好ましくは５０～６０℃の範囲の融点を有する。ここで、融点は、ポリマーが完全に溶融する温度を指す。

【０１０９】

本発明の反応性ポリマー粒子に好適に適用可能な非反応性非イオン性ポリマーの例として、ポロキサマー、ポリエチレングリコール及びこれらの組合せが挙げられる。ポロキサマーは、ポリオキシエチレン（ポリ（エチレンオキシド））の２つの親水性鎖が隣接したポリオキシプロピレン（ポリ（プロピレンオキシド））の中央の疎水性鎖から構成される非イオン性トリブロックコポリマーであり、式（Ｉ）

【化１】



(I)

（式中、ａは１０～１１０の整数であり、ｂは２０～６０の整数である）

によって表される。ａが８０でありｂが２７であるとき、このポリマーはポロキサマー１８８として公知である。本発明で有用な他の公知のポロキサマーは、ポロキサマー２３７（ａ＝６４及びｂ＝３７）、ポロキサマー３３８（ａ＝１４１及びｂ＝４４）及びポロキサマー４０７（ａ＝１０１及びｂ＝５６）である。公知であり、本発明で有用でありうるさらなるポロキサマーとして、ポロキサマー１０８、ポロキサマー１８２、ポロキサマー１８３、ポロキサマー２１２、ポロキサマー２１７、ポロキサマー２３８、ポロキサマー２８８、ポロキサマー３３１、ポロキサマー３３８及びポロキサマー３３５が挙げられる。

【０１１０】

特に好ましい実施形態によると、非反応性非イオン性ポリマーは、ポロキサマー、さらにより好ましくは２，０００～１８，０００の平均分子質量を有するポロキサマー、最も

好ましくは７，０００～１０，０００の平均分子質量を有するポロキサマーである。粒子凝集物に適用されるポロキサマーは、好ましくは室温で固体である。

【０１１１】

本発明の別の態様は、本発明による１つ又は複数の止血シートを含有する封止包装体に関する。

【０１１２】

本発明のさらに別の態様は、止血シートを調製する方法であって、前記方法が、

上記で定義された耐水性の接着性繊維状担体構造体のシートを用意するステップ、

上記で定義された反応性ポリマー粒子を用意するステップ、及び

繊維状担体構造体の間隙空間内に反応性ポリマー粒子を分布させるステップ

を含む、方法に関する。

【０１１３】

反応性ポリマー粒子は、乾式方法又は湿式方法を使用して間隙空間内に分布されてもよく、乾式方法が好ましい。乾式方法では、反応性ポリマー粒子が粉末の形態で適用され、この粉末が乾燥形態で間隙空間を通して分散される。

【０１１４】

この乾式方法の１つの好ましい実施形態によると、反応性ポリマー粒子は、繊維状担体構造体のシートを振盪する又は振動させることによって繊維状担体構造体の間隙空間内に分布される。

【０１１５】

乾式方法の別の実施形態によると、止血シートは、

ａ）繊維状担体構造体のシートを用意するステップ、

ｂ）反応性ポリマー粒子の層を繊維状担体構造体のシートに堆積させるステップ、

ｃ）繊維状担体構造体の別のシートを反応性ポリマー粒子の層に重ねるステップ、並びに任意選択でステップｂ）及びｃ）を１又は複数回繰り返すステップ

を含む積層方法によって調製される。

【０１１６】

そのようにして得られた積層体内の反応性ポリマー粒子の分布は、積層体を振盪する又は振動させることによって促進されてもよい。

【０１１７】

反応性ポリマー粒子を分布させる湿式方法では、低沸点有機液体中の反応性ポリマー粒子の分散液を使用して繊維状担体構造体を含浸した後、好ましくは減圧下で低沸点有機液体を蒸発させる。典型的に、低沸点有機液体は、大気圧で１５０℃未満、より好ましくは９８℃未満、最も好ましくは８０℃未満の沸点を有する。

【０１１８】

好ましくは、本発明の方法において、分布された反応性ポリマー粒子を含有する担体構造体は、少なくとも５分間にわたって水溶性求電子性ポリマーのガラス温度よりも高温に加熱される。このようにしてポリマー粒子を加熱することにより、粒子が粘性になり、繊維状担体構造体に接着する。典型的に、ポリマー粒子は、少なくとも１５分間にわたって少なくとも４０℃、より好ましくは５０～８０℃の温度に加熱される。

【０１１９】

代替的に、反応性ポリマー粒子は、分布された反応性ポリマー粒子を含有する繊維状担体構造体を多湿雰囲気に曝露し、反応性ポリマー粒子中の反応性求電子性基の一部を前述の繊維中の反応性求核性基と反応させることにより、繊維状担体構造体に単純に接着されてもよい。

【０１２０】

本発明の方法は、好ましくは止血シートの滅菌を含む。止血シートは、無菌包装の前に滅菌されてもよい。代替的に、シートは、封止包装内で滅菌されてもよい。

【０１２１】

本発明は、以下の非限定的な実施例によってさらに例示される。

【実施例】
【０１２２】
概して、乾燥後の残留含水量（乾燥粉末、造粒物及び／又は粘着性繊維状担体構造体中の）が明示されない場合は常に、レベルは２．０％ｗ／ｗ未満である。
【０１２３】
（ＮＨＳ－ＰＯｘの調製）
２０％ＮＨＳエステル基を含有するＮＨＳ側鎖活性化ポリ［２－（エチル／ヒドロキシ－エチル－アミド－エチル／ＮＨＳ－エステル－エチル－エステル－エチル－アミド－エチル）－２－オキサゾリン］ターポリマー（＝ＥＬ－ＰＯｘ、２０％ＮＨＳ）を、以下のように合成した：
ポリ［２－（エチル／メトキシ－カルボニル－エチル）－２－オキサゾリン］コポリマー（ＤＰ＝＋／－１００）を、６０％　２－エチル－２－オキサゾリン（ＥｔＯｘ）及び４０％　２－メトキシカルボニル－エチル－２－オキサゾリン（ＭｅｓｔＯｘ）を使用してＣＲＯＰによって合成した。４０％　２－メトキシカルボニル－エチル基（^{1}Ｈ－ＮＭＲ）を含有する統計的コポリマーが得られた。
第二に、４０％　２－メトキシカルボニル－エチル基を含有するポリマーをエタノールアミンと反応させ、４０％　２－ヒドロキシ－エチル－アミド－エチル基（^{1}Ｈ－ＮＭＲ）を有するコポリマーを得た。その後、２－ヒドロキシ－エチル－アミド－エチル基の半分を無水コハク酸と反応させ、^{1}Ｈ－ＮＭＲによって６０％　２－エチル基、２０％　２－ヒドロキシ－エチル－アミド－エチル基及び２０％　２－カルボキシ－エチル－エステル－エチル－アミド－エチル基を有するターポリマーを得た。
最後に、２－カルボキシ－エチル－エステル－エチル－アミド－エチル基を、Ｎ－ヒドロキシスクシンイミド（ＮＨＳ）及びジイソプロピルカルボジイミド（ＤＩＣ）によって活性化し、ＥＬ－ＰＯｘ、２０％ＮＨＳを得た。^{1}Ｈ－ＮＭＲによると、ＮＨＳ－ＰＯｘは２０％ＮＨＳ－エステル基を含有していた。ＮＨＳ－ＰＯｘを２～８℃の間で水中に溶解し（３００ｍＬ中６０ｇ）、マイナス８０℃で３０分間冷却して凍結乾燥した。そのようにして得られた凍結乾燥粉末を、Ｒｏｔａｖａｐ中４０℃で、Ｋａｒｌ　Ｆｉｓｃｈｅｒ滴定によって決定される水分含有量が０．８％ｗ／ｗ未満になるまで乾燥した。この乾燥（白色）粉末を、ボールミル（Ｒｅｔｃｈ　ＭＭ４００）を使用して平均粒径が４０μｍ以下（Ｄ［４，３］）になるまで粉砕し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。
【０１２４】
（ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末の染色）
２０ｇのＮＨＳ－ＰＯｘ粉末を水に溶解し、高速分散装置（Ｕｌｔｒａ－Ｔｕｒｒａｘ、ＩＫＡ）を使用して５０ｍｇのＢｒｉｌｌｉａｎｔ　Ｂｌｕｅ　ＦＣＦ（Ｓｉｇｍａ　Ａｌｄｒｉｃｈ）と混合した。混合（２分）直後、溶液を－７８℃で凍結し、その後一晩凍結乾燥した。そのようにして得られた凍結乾燥粉末を、Ｒｏｔａｖａｐ中４０℃で、Ｋａｒｌ　Ｆｉｓｃｈｅｒ滴定によって決定される残留水分含有量が０．８％ｗ／ｗ未満になるまで乾燥した。次に、乾燥（青色）粉末を、ボールミル（Ｒｅｔｃｈ　ＭＭ４００）を使用して平均粒径が４０μｍ以下（Ｄ［４，３］）の青色染色ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末になるまで粉砕し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。
【０１２５】
（ＮＵ－ＰＯｘの調製）
アルキル側鎖にエチル及びアミン基を含有するポリオキサゾリンを、ＥｔＯｘ及びＭｅｓｔＯｘのＣＲＯＰ、並びにそれに続くエチレンジアミンでのメチルエステル側鎖のアミド化によって合成し、ポリ（２－エチル／アミノエチルアミドエチル－２－オキサゾリン）コポリマー（ＮＵ－ＰＯｘ）を得た。^{1}Ｈ－ＮＭＲによると、ＮＵ－ＰＯｘは１０％NH_2を含有していた。ＮＵ－ＰＯｘを２～８℃の間で水中に溶解し（３００ｍＬ中６０ｇ）、マイナス８０℃で３０分間冷却して凍結乾燥した。そのようにして得られた凍結乾燥粉末を、Ｒｏｔａｖａｐ中４０℃で、Ｋａｒｌ　Ｆｉｓｃｈｅｒ滴定によって決定される水分含有量が０．８％ｗ／ｗ未満になるまで乾燥した。この乾燥粉末を、平均粒径が１０

０μｍ以下（Ｄ［４，３］）になるまで卓上粉砕機で粉砕し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１２６】

（反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／Ｐ１８８顆粒の調製）

ＮＨＳ－ＰＯｘを、高せん断混合機中Ｐ１８８粉末とともに６５℃で１０分間加熱し、その後周囲条件まで冷却することにより、１．５、２．５又は３．５ｗｔ．％のＰｌｕｒｏｎｉｃ　Ｐ１８８を含有するＰ１８８コーティング反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ造粒物を調製した。コーティング造粒物を、ボールミル（Ｒｅｔｃｈ　ＭＭ４００）を使用して平均粒径が４０μｍ以下（Ｄ［４，３］）になるまで粉砕し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１２７】

そのようにして得られた造粒物の粒径分布は、およそ９０ｖｏｌ．％＜８０μｍ、５０ｖｏｌ．％＜４０μｍ及び１０ｖｏｌ．％＜１０μｍであった。

【０１２８】

^{1}Ｈ－ＮＭＲ分光法を使用し、ＮＨＳ－ＰＯｘ／Ｐ１８８（２．５％）造粒物を分析した。１５ｍｇの造粒物を１ｍＬのジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）に溶解した。溶液をＮＭＲ管に移し、^{1}Ｈ－ＮＭＲスペクトルを記録した。得られたスペクトルから、ＮＨＳ－ＰＯｘに結合したＮＨＳの量を計算することができる。造粒物中のＮＨＳ－ＰＯｘに結合したＮＨＳの量は、ＮＨＳ－ＰＯｘ出発材料に比べて１０１パーセントと計算され、造粒中に崩壊又は架橋が生じないことを示す。

【０１２９】

ＮＨＳ－ＰＯｘ／Ｐ１８８造粒物を、サイズ排除クロマトグラフィーによってさらに分析した。５ｍｇの造粒物を、ＳＥＣ分析の溶離液である５０ｍＭの塩化リチウムを含有するＮ，Ｎ－ジメチルアセトアミド（２．５０ｍＬ）に溶解した。ＳＥＣをポリ（メチルメタクリレート）標準に対して測定し、得られたサイズ排除クロマトグラムからM_n、M_w及びＰＤＩを決定した。ＰＤＩは１．５以下であり、造粒中に架橋が生じなかったことを示す。

【０１３０】

（反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／炭酸塩顆粒の調製）

２５．３１グラムの炭酸ナトリウム及び２０．０６グラムの炭酸水素ナトリウムを３５０ｍＬの超純水に溶解し、次いで液体窒素で瞬間凍結して凍結乾燥することにより、炭酸ナトリウムと炭酸水素ナトリウムの１：１モル／モル混合物を調製した。得られた粉末を減圧下で乾燥し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１３１】

２５．２８グラムのＮＨＳ－ＰＯｘを、高せん断混合機を使用して均質な粉末が得られるまで、１．７５グラムの炭酸ナトリウム／炭酸水素ナトリウム混合物及び０．８０ｍＬのイソプロピルアルコール（ＩＰＡ）と混合した。

【０１３２】

混合後、湿潤造粒物を、ＩＰＡ含有量が０．１％ｗ／ｗ未満になるまで減圧下で乾燥した。乾燥した造粒物を、平均粒径が２５μｍ以下になるまでコーヒーグラインダーで摩砕し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１３３】

（反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／Ｐ１８８／炭酸塩顆粒の調製）

ＮＨＳ－ＰＯｘ／炭酸塩造粒物を、Ｐ１８８粉末とともに高せん断混合機中６５℃で１０分間加熱し、その後周囲条件まで冷却することにより、１．５、２．５又は３．５ｗｔ．％のＰｌｕｒｏｎｉｃ　Ｐ１８８を含有するＰ１８８コーティング反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／炭酸塩造粒物を調製した。コーティング造粒物を、ボールミル（Ｒｅｔｃｈ　ＭＭ４００）を使用して平均粒径が４０μｍ以下（Ｄ［４，３］）になるまで粉砕し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１３４】

そのようにして得られた造粒物の粒径分布は、およそ９０ｖｏｌ．％＜２０μｍ、７０ｖｏｌ．％＜１０μｍ及び４０ｖｏｌ．％＜５μｍであった。

【０１３５】

（反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ顆粒の調製（ＩＰＡ造粒））

青色又は白色（非染色）ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末を、高せん断混合機中で約１～２％ｗ／ｗのＩＰＡを含有する均質な雪状粉末が得られるまで、イソプロピルアルコール（ＩＰＡ）で湿潤させた。この後、ＮＵ－ＰＯｘ粉末を添加して混合した。湿潤された青色ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末を、１：０．６のモル比でＮＵ－ＰＯｘ粉末と混合し、前記モル比は、ＮＨＳ－ＰＯｘによって提供されるＮＨＳ基の数のＮＵ－ＰＯｘによって提供されるアミン基の数に対する比を指す。湿潤された非染色ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末も、ＮＵ－ＰＯｘ粉末と他のモル比（１：０．８；１：１及び１：１．２）で混合した。

【０１３６】

混合後、^{1}Ｈ－ＮＭＲによって決定されるＩＰＡ含有量が０．１％ｗ／ｗ未満になるまで、湿潤造粒物を減圧下で乾燥した。乾燥した造粒物を、ボールミル（Ｒｅｔｃｈ　ＭＭ４００）を使用して平均粒径が５０μｍ以下（Ｄ［４，３］）になるまで粉砕し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１３７】

そのようにして得られた造粒物の粒径分布は、およそ９０ｖｏｌ．％＜９０μｍ、５０ｖｏｌ．％＜４５μｍ及び１０ｖｏｌ．％＜１５μｍであった。

【０１３８】

^{1}Ｈ－ＮＭＲ分光法を使用し、ＮＨＳ－ＰＯＸ／ＮＵ－ＰＯｘ造粒物（１：１）を分析した。２５ｍｇの造粒物を、２０分間超音波処理することによってトリフルオロ酢酸（０．２０ｍＬ）に溶解した。造粒物の完全な溶解後、試料を、内部標準としてマレイン酸（２．５ｍｇ／ｍＬ）を含有する重水素化ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）（０．８０ｍＬ）で希釈し、ＮＭＲ管に移し、^{1}Ｈ－ＮＭＲスペクトルを記録した。得られたスペクトルから、造粒物中に存在するＮＨＳ及びアミン基のモル比とともに、ＮＨＳ－ＰＯｘに結合したＮＨＳの量を計算することができる。造粒物中のＮＨＳ－ＰＯｘに結合したＮＨＳの量は、ＮＨＳ－ＰＯｘ出発材料に結合したＮＨＳの量と同等であり、造粒中に崩壊又は架橋が生じないことを示す。

【０１３９】

ＮＭＲ試料における全ポリマー回収率、すなわち、ＮＨＳ－ＰＯｘとＮＵ－ＰＯｘの組合せを、既知の量の内部標準（マレイン酸）、並びに異なる濃度のＮＨＳ－ＰＯｘ及びＮＵ－ＰＯｘの記録された^{1}Ｈ－ＮＭＲスペクトルから作成した検量線を使用して決定した。全ポリマー回収率は９９パーセントと測定され、不溶性の架橋材料が形成されなかったことを示す。

【０１４０】

ＮＨＳ－ＰＯＸ／ＮＵ－ＰＯｘ造粒物（１：１）を、サイズ排除クロマトグラフィーによってさらに分析した。２０ｍｇの造粒物を、無水酢酸（１．００ｍＬ）で５０℃で１時間処理した。次に、メタノール（２．００ｍＬ）を添加し、混合物を５０℃でさらに１時間撹拌した。アリコート（０．７５ｍＬ）を取り、すべての揮発物を減圧下で除去した。試料を、ＳＥＣ分析の溶離液である５０ｍＭの塩化リチウムを含有するＮ，Ｎ－ジメチルアセトアミド（２．５０ｍＬ）に溶解した。ＳＥＣをポリ（メチルメタクリレート）標準に対して測定し、得られたサイズ排除クロマトグラムからM_{n}、M_{w}及びＰＤＩを決定した。ＰＤＩは１．５以下であり、造粒中に架橋が生じなかったことを示す。このサイズ排除クロマトグラフィー方法の分析検証により、０．０５ｍｏｌ％のレベルのＮＨＳ－ＰＯｘとＮＵ－ＰＯｘの意図的な架橋によってＰＤＩが２．５より高くまで増加したことが示された。

【０１４１】

（反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ顆粒の調製（アセトン造粒））

青色又は白色（非染色）ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末を、高せん断混合機中で約１～２％ｗ／ｗ

のアセトンを含有する均質な雪状粉末が得られるまで、アセトンで湿潤させた。この後、ＮＵ－ＰＯｘ粉末を添加して混合した。湿潤された青色ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末を、１：０．２０のモル比でＮＵ－ＰＯｘ粉末と混合し、前記モル比は、ＮＨＳ－ＰＯｘによって提供されるＮＨＳ基の数のＮＵ－ＰＯｘによって提供されるアミン基の数に対する比を指す。湿潤された非染色ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末も、ＮＵ－ＰＯｘ粉末と他のモル比（１：０．１０及び１：０．４０）で混合した。

【０１４２】

混合後、^{1}Ｈ－ＮＭＲによって決定されるアセトン含有量が０．１％ｗ／ｗ未満になるまで、湿潤造粒物を減圧下で乾燥した。乾燥した造粒物をＵｌｔｒａ　Ｃｅｎｔｒｉｆｕｇａｌ　Ｍｉｌｌ（Ｒｅｔｃｈ　ＺＭ２００）を使用して粉砕し、６３μｍのメッシュサイズの試験ふるいでふるい分けした。ふるいを通った造粒物画分を収集し、平均粒径は５０μｍ以下（Ｄ［４，３］）であった。造粒物をａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１４３】

そのようにして得られた造粒物の粒径分布は、およそ９０ｖｏｌ．％＜９０μｍ、５０ｖｏｌ．％＜４５μｍ及び１０ｖｏｌ．％＜１５μｍであった。

【０１４４】

^{1}Ｈ－ＮＭＲ分光法を使用し、ＮＨＳ－ＰＯＸ／ＮＵ－ＰＯｘ造粒物（１：０．２０）を分析した。２５ｍｇの造粒物を、２０分間超音波処理することによってトリフルオロ酢酸（０．２０ｍＬ）に溶解した。造粒物の完全な溶解後、試料を、内部標準としてマレイン酸（２．５ｍｇ／ｍＬ）を含有する重水素化ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）（０．８０ｍＬ）で希釈し、ＮＭＲ管に移し、^{1}Ｈ－ＮＭＲスペクトルを記録した。得られたスペクトルから、造粒物中に存在するＮＨＳ及びアミン基のモル比とともに、ＮＨＳ－ＰＯｘに結合したＮＨＳの量を計算することができる。造粒物中のＮＨＳ－ＰＯｘに結合したＮＨＳの量は、ＮＨＳ－ＰＯｘ出発材料に結合したＮＨＳの量と同等であり、造粒中に崩壊又は架橋が生じないことを示す。

【０１４５】

ＮＭＲ試料における全ポリマー回収率、すなわち、ＮＨＳ－ＰＯｘとＮＵ－ＰＯｘの組合せを、既知の量の内部標準（マレイン酸）、並びに異なる濃度のＮＨＳ－ＰＯｘ及びＮＵ－ＰＯｘの記録された^{1}Ｈ－ＮＭＲスペクトルから作成した検量線を使用して決定した。全ポリマー回収率は９９パーセントと測定され、不溶性の架橋材料が形成されなかったことを示す。

【０１４６】

ＮＨＳ－ＰＯＸ／ＮＵ－ＰＯｘ造粒物（１：０．２０）を、サイズ排除クロマトグラフィーによってさらに分析した。２０ｍｇの造粒物を、無水酢酸（１．００ｍＬ）で５０℃で１時間処理した。次に、メタノール（２．００ｍＬ）を添加し、混合物を５０℃でさらに１時間撹拌した。アリコート（０．７５ｍＬ）を取り、すべての揮発物を減圧下で除去した。試料を、ＳＥＣ分析の溶離液である５０ｍＭの塩化リチウムを含有するＮ，Ｎ－ジメチルアセトアミド（２．５０ｍＬ）に溶解した。ＳＥＣをポリ（メチルメタクリレート）標準に対して測定し、得られたサイズ排除クロマトグラムからM_{n}、M_{w}及びＰＤＩを決定した。ＰＤＩは１．５以下であり、造粒中に架橋が生じなかったことを示す。

【０１４７】

（反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ／Ｐ１８８顆粒の調製）

反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ顆粒を前述の通り調製した。次に、ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ造粒物を、Ｐ１８８粉末とともに高せん断混合機中６５℃で１０分間加熱し、その後周囲条件まで冷却することにより、２．５％ｗ／ｗのＰ１８８でコーティングされた反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ造粒物を調製した。コーティング造粒物を、ボールミル（Ｒｅｔｃｈ　ＭＭ４００）を使用して平均粒径が４０μｍ以下（Ｄ［４，３］）になるまで粉砕し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１４８】

そのようにして得られた造粒物の粒径分布は、およそ９０ｖｏｌ．％＜８０μｍ、５０

ｖｏｌ．％＜４０μｍ及び１０ｖｏｌ．％＜１０μｍであった。
【０１４９】
^{1}Ｈ－ＮＭＲ分光法を使用し、ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ／Ｐ１８８造粒物を分析した。２５ｍｇの粉末を、２０分間超音波処理することによってトリフルオロ酢酸（０．２０ｍＬ）に溶解した。造粒物の完全な溶解後、試料を重水素化ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ－ｄ$_{6}$）（０．８０ｍＬ）で希釈し、ＮＭＲ管に移し、^{1}Ｈ－ＮＭＲスペクトルを記録した。得られたスペクトルから、未反応ＮＨＳの量は、ＮＨＳ－ＰＯｘと比べて９８パーセントと計算された。
【０１５０】
ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ／Ｐ１８８造粒物を、サイズ排除クロマトグラフィーによってさらに分析した。２０ｍｇの造粒物を、無水酢酸（１．００ｍＬ）で５０℃で１時間処理した。次に、メタノール（２．００ｍＬ）を添加し、混合物を５０℃でさらに１時間撹拌した。アリコート（０．７５ｍＬ）を取り、すべての揮発物を減圧下で除去した。試料を、ＳＥＣ分析の溶離液である５０ｍＭの塩化リチウムを含有するＮ，Ｎ－ジメチルアセトアミド（２．５０ｍＬ）に溶解した。ＳＥＣをポリ（メチルメタクリレート）標準に対して測定し、得られたサイズ排除クロマトグラムからM_{n}、M_{w}及びＰＤＩを決定した。ＰＤＩは１．５以下であり、造粒中に架橋が生じなかったことを示す。
【０１５１】
（還元架橋ゼラチン（ＲＸＬ）の調製）
２つの手順によって還元架橋ゼラチン（ＲＸＬ）を調製した：
１２グラムのゼラチン粉末（ジェリーターＳＰＯＮ（Ｇｅｌｉｔａ－ＳＰＯＮ）（登録商標）、Ｇｅｌｉｔａ　Ｍｅｄｉｃａｌ　ＧｍｂＨ）を、４０℃で２時間撹拌することによって０．１モルの水酸化ナトリウム水溶液３５０ｍＬに溶解した。透明な溶液を得た後、混合物を周囲温度まで冷却し、１．０モルの塩酸水溶液３２．５ｍＬを添加することにより、ｐＨを７に調整した。液体窒素を使用して溶液を瞬間凍結し、一晩凍結乾燥させた。次に、粉末をコーヒーグラインダーで摩砕し、減圧下で乾燥させ、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。以下、この還元架橋ゼラチンをＲＸＬ－ＬＳ（低塩分）と呼ぶ。
１２グラムのゼラチン粉末（ジェリーターＳＰＯＮ（登録商標）、Ｇｅｌｉｔａ　Ｍｅｄｉｃａｌ　ＧｍｂＨ）を、４０℃で１０分間撹拌することによって１．０モルの水酸化ナトリウム水溶液３６０ｍＬに溶解した。得られた透明な溶液を周囲温度まで冷却し、濃縮塩酸溶液（３７％ｗ／ｗ）３０ｍＬを添加することにより、ｐＨを７に減少させた。液体窒素を使用して溶液を瞬間凍結し、一晩凍結乾燥させた。次に、粉末をコーヒーグラインダーで摩砕し、減圧下で乾燥させ、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。以下、この還元架橋ゼラチンをＲＸＬ－ＨＳ（高塩分）と呼ぶ。
【０１５２】
（反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＲＸＬ顆粒（低塩分及び高塩分）の調製）
反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＲＸＬ顆粒を以下の通り調製した：５ｇの青色ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末を、高せん断混合機中で約１～２％ｗ／ｗのＩＰＡを含有する均質な雪状粉末が得られるまで、ＩＰＡで湿潤させた。この後、５ｇのＲＸＬ－ＬＳ又はＲＸＬ－ＨＳ粉末を添加して混合した。混合後、^{1}Ｈ－ＮＭＲによって決定されるＩＰＡ含有量が０．１％ｗ／ｗ未満になるまで、湿潤造粒物を減圧下で乾燥した。乾燥した造粒物を、平均粒径が９０μｍ以下（Ｄ［４，３］）になるまでコーヒーグラインダーで摩砕し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。
【０１５３】
そのようにして得られた造粒物の粒径分布は、およそ９０ｖｏｌ．％＜１９０μｍ、５０ｖｏｌ．％＜６０μｍ及び１０ｖｏｌ．％＜１５μｍであった。
【０１５４】
ＲＸＬを含有する造粒物を^{1}Ｈ－ＮＭＲ分光分析によって分析した。この目的のために、５％（ｖ／ｖ）酢酸を含有する重水素化クロロホルム（ＣＤＣｌ３）（１．０ｍＬ）を、２５ｍｇの造粒物に添加した。試料を２０分間超音波処理することにより、ＮＨＳ－Ｐ

Ｏｘを選択的に抽出した。分散液を０．２２μｍフィルターに通し、ＮＭＲ管に移して^{1}Ｈ－ＮＭＲスペクトルを記録した。得られたスペクトルから、未反応ＮＨＳ量は、ＮＨＳ－ＰＯｘと比べて９８パーセントと計算された。

【０１５５】

ＮＭＲ試料におけるＮＨＳ－ＰＯｘの回収率を、トリメチルシランを内部標準として、並びに異なる濃度のＮＨＳ－ＰＯｘの^{1}Ｈ－ＮＭＲスペクトルから作成した検量線を使用して決定した。全ＮＨＳ－ＰＯｘ回収率は１００パーセントと測定され、不溶性の架橋材料が形成されなかったことを示す。

【０１５６】

ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＲＸＬ造粒物を、サイズ排除クロマトグラフィーによってさらに分析した。このために、^{1}Ｈ－ＮＭＲ分光分析に使用された溶液からアリコート（０．１５ｍＬ）を取り出した。この溶液を、ＳＥＣ分析の溶離液である５０ｍＭの塩化リチウムを含有するＮ，Ｎ－ジメチルアセトアミド（１．００ｍＬ）で希釈した。ＳＥＣをポリ（メチルメタクリレート）標準に対して測定し、得られたサイズ排除クロマトグラムからM_n、M_w及びＰＤＩを決定した。ＰＤＩは１．５以下であり、ここでも造粒中に架橋が生じなかったことが示される。

【０１５７】

（炭酸塩を含有する反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＲＸＬ顆粒の調製）

まず、２５．３１ｇの炭酸ナトリウム及び２０．０６ｇの炭酸水素ナトリウムを３５０ｍＬの超純水に溶解することにより、炭酸ナトリウムと炭酸水素ナトリウムの１：１モル／モル混合物を調製した。溶液を液体窒素で瞬間凍結し、凍結乾燥した。得られた粉末を減圧下で乾燥し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１５８】

ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＲＸＬ／炭酸塩顆粒を以下の通り調製した：高せん断混合機を使用し、５ｇのＲＸＬ－ＬＳ又はＲＸＬ－ＨＳと０．１７８ｇの炭酸ナトリウム／炭酸水素ナトリウムを混合した。次に、約１～２％ｗ／ｗのＩＰＡを含有する５ｇの青色ＮＨＳ－ＰＯｘを添加し、均質な粉末が得られるまで混合した。混合後、^{1}Ｈ－ＮＭＲによって決定されるＩＰＡ含有量が０．１％ｗ／ｗ未満になるまで、湿潤造粒物を減圧下で乾燥した。乾燥した造粒物を、平均粒径が１００μｍ以下（Ｄ［４，３］）になるまでコーヒーグラインダーで摩砕し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１５９】

（反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＨ２－ＰＥＧ顆粒の調製）

ＮＨＳ－ＰＯｘ（６，９ｇ）を、高せん断混合機中で約１～２％ｗ／ｗのＩＰＡを含有する均質な雪状粉末が得られるまで、ＩＰＡで湿潤させた。次に、８．１ｇのアミン－ＰＥＧ－アミン、２アーム、ＭＷ２ｋ（前Ｃｒｅａｔｉｖｅ ＰＥＧＷｏｒｋｓ）を添加した（モル比１：１．１６であり、前記モル比は、ＮＨＳ－ＰＯｘによって提供されるＮＨＳ基の数のＰＥＧ－アミンによって提供されるアミン基の数に対する比を指す）。^{1}Ｈ－ＮＭＲによって決定されるＩＰＡ含有量が０．１％ｗ／ｗ未満になるまで、形成された造粒物を減圧下で乾燥した。乾燥した造粒物を、平均粒径が１００μｍ以下（Ｄ［４，３］）になるまでコーヒーグラインダーで摩砕し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１６０】

^{1}Ｈ－ＮＭＲ分光法を使用し、ＮＨＳ－ＰＯＸ／ＮＨ２－ＰＥＧ造粒物を分析した。２５ｍｇの造粒物を、２０分間超音波処理することによってトリフルオロ酢酸（０．２０ｍＬ）に溶解した。造粒物の完全な溶解後、試料を重水素化ジメチルスルホキシド（ＤＭＳＯ－d_6）（０．８０ｍＬ）で希釈し、ＮＭＲ管に移し、^{1}Ｈ－ＮＭＲスペクトルを記録した。得られたスペクトルから、未反応ＮＨＳの量は、ＮＨＳ－ＰＯｘと比べて９７パーセントと計算された。

【０１６１】

ＮＨＳ－ＰＯＸ／ＮＨ２－ＰＥＧ造粒物を、サイズ排除クロマトグラフィーによってさらに分析した。２０ｍｇの造粒物を、無水酢酸（１．００ｍＬ）で５０℃で１時間処理し

た。次に、メタノール（２．００ｍＬ）を添加し、混合物を５０℃でさらに１時間撹拌した。アリコート（０．７５ｍＬ）を取り、すべての揮発物を減圧下で除去した。

【０１６２】

試料を、ＳＥＣ分析の溶離液である５０ｍＭの塩化リチウムを含有するＮ，Ｎ－ジメチルアセトアミド（２．５０ｍＬ）に溶解した。ＳＥＣをポリ（メチルメタクリレート）標準に対して測定し、得られたサイズ排除クロマトグラムからM_n、M_w及びＰＤＩを決定した。ＰＤＩは１．５以下であり、造粒中に架橋が生じなかったことを示す。

【０１６３】

（反応性ＮＨＳ－ＰＥＧ／ＮＵ－ＰＯｘ顆粒の調製）

１．０７グラムのＮＨＳ－ＰＥＧ　４アーム　ＭＷ１０ｋ（前Ｃｒｅａｔｉｖｅ　ＰＥＧ　Ｗｏｒｋｓ）及び０．４６グラムのＮＵ－ＰＯｘを、乳棒及び乳鉢を使用して５０μＬのジエチルエーテルと十分に混合した。均質な混合物の形成後、これを減圧下で乾燥してａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１６４】

（反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ジェリータ　Ｓｐｏｎ顆粒の調製）

０．２％ｗ／ｗ未満の水分含有量を有する事前乾燥されたゼラチン粉末（ジェリータ－ＳＰＯＮ（登録商標）、前Ｇｅｌｉｔａ　Ｍｅｄｉｃａｌ　ＧｍｂＨ）７．０１ｇを、２０，０００ｒｐｍで動作する高せん断混合機を使用してジクロロメタン（２００ｍＬ）に２０分間分散させた。次に、ＮＨＳ－ＰＯｘ（７．０２ｇ）を添加し、５分間撹拌を続けた。ＮＨＳ－ＰＯｘは溶解しなかった。すべての揮発物を減圧下で懸濁液から除去した。得られた粉末を、平均粒径が９５μｍ以下（Ｄ［４，３］）になるまでコーヒーグラインダーを使用して摩砕し、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止し、減圧下でさらに乾燥させ、ａｌｕ－ａｌｕバッグで真空封止した。

【０１６５】

そのようにして得られた造粒物の粒径分布は、およそ９０ｖｏｌ．％＜１９０μｍ、５０ｖｏｌ．％＜８０μｍ及び１０ｖｏｌ．％＜１５μｍであった。

【０１６６】

造粒物を^{1}Ｈ－ＮＭＲ分光分析によって分析した。この目的のために、５％（ｖ／ｖ）酢酸を含有する重水素化クロロホルム（$CDCl_3$）（１．０ｍＬ）を２５ｍｇの造粒物に添加した。試料を２０分間超音波処理することにより、ＮＨＳ－ＰＯｘを選択的に抽出した。分散液を０．２２μｍフィルターに通し、ＮＭＲ管に移して^{1}Ｈ－ＮＭＲスペクトルを記録した。得られたスペクトルから、未反応ＮＨＳの量は、ＮＨＳ－ＰＯｘと比べて９７パーセントと計算された。

【０１６７】

造粒物をサイズ排除クロマトグラフィー（ＳＥＣ）分析によってさらに分析した。上述の濾過されたＮＨＳ－ＰＯｘ抽出物のアリコート（０．１５ｍＬ）を、ＳＥＣ分析の溶離液である５０ｍＭの塩化リチウムを含有するＮ，Ｎ－ジメチルアセトアミド（１．００ｍＬ）で希釈した。

【０１６８】

試料をＳＥＣによってポリ（メチルメタクリレート）標準に対して分析したところ、ＰＤＩは１．４５であり、架橋が生じなかったことを示す。

【０１６９】

（粘着性繊維状担体構造体）

本発明による組織接着性シートの調製において繊維状担体構造体として使用するために、以下の市販の止血製品を選択した：

ジェリータ　タフト－Ｉｔ（登録商標）：８層の還元架橋ゲルフォーム繊維からなる粘着性繊維状担体構造体。それぞれ約２ｍｍ厚の８つの層は、寸法が５０ｍｍ×７５ｍｍである。ジェリータ　タフト－Ｉｔ（登録商標）の水分含有量は、１５％以下である。製品を真空オーブン中４０℃で数時間乾燥させ、水分含有量を２．０％ｗ／ｗ以下（重量測定によって決定される）まで低減させた後、凝集粒子を含浸させた。

【０１７０】
（出血実験）
標準化されたｅｘ－ｖｉｖｏ及びｉｎ－ｖｉｖｏブタ出血モデルを使用して止血有効性を評価した。すべてのモデルは、ヘパリンを使用して凝血時間を延長させ、活性化凝固時間（ＡＣＴ）を約２～３倍にした。
【０１７１】
ｅｘ－ｖｉｖｏモデル：
実際のｉｎ－ｖｉｖｏ環境を可能な限り厳密に模倣するために、　殺場からのヘパリン処置された新鮮な血液で灌流された新鮮な肝臓を有する、生きたｅｘ－ｖｉｖｏブタモデル。肝臓を灌流機に取り付け、灌流機によって酸素化、血液のｐＨ、温度及び血圧を生体境界内に維持する。２つの肝臓及び１０リットルのヘパリン処置された血液（５０００単位／Ｌ）を　殺場で収集する。肝臓は氷上で、血液は周囲温度で輸送する。収集後２時間以内に、肝臓を病変について検査し、これを手袋及びシアノアクリレート糊で閉じる。
灌流パラメータ：流量６００ｍｌ／分、圧力１０～１２ｍｍＨｇ、温度３７℃（＋／－１℃）、カルボゲン　１分に０．２５リットル
平坦な丸形回転擦過ツールを用いて肝臓表面に円形の出血創傷（直径８ｍｍ）を作成し、パンチされた出血部の深さが常に３ｍｍになるようにゴムアンレーを用いる。
肝臓が適正に灌流されたら（色及び温度を点検する）、以下の手順に従って試料を試験する：試料を適切なサイズ（２．７×２．７ｃｍ）に切断する；カメラをオンにする；カメラで部位数を確認する；８ｍｍの生検をパンチする；生検を切断除去する；ガーゼで血液を出血部から除去する（２ｘ）；事前に秤量されたガーゼで血液を３０秒間収集する；出血をスコア付けする（２名の研究者によって）；
事前に湿潤されたガーゼ（食塩水）によって試料を出血部に置き、わずかな圧力で１分間抑える；５分間観察し（接着及び止血を点検し、スコア付けする）、３０分後に繰り返す。
【０１７２】
ｉｎ　ｖｉｖｏモデル：
麻酔したブタ（家畜ブタ、雄、体重範囲：４０ｋｇ、成体）で標準化組合せ貫通脾臓破裂を引き起こす。脾臓及び他の臓器にアクセスするため、正中線開腹術を行う。メスを使用し、ｎ＝３（Ｓ１．．．Ｓ３）の被膜下標準化病変（１０ｍｍ×１０ｍｍ）を作製する。止血製品を、事前に湿潤されたガーゼ（食塩水）によって穏やかな圧力で貼り付け、１分間抑える。製品の貼付後、止血までの時間（ＴＴＨ）を評価する。ＴＴＨがゼロに等しい場合、１分の押圧後に止血が既に達成されていることを意味する。
【０１７３】
パッチのスコア付けシステム：凝固
＋＋＋＋　タンポナーデ直後に達成
＋＋＋　タンポナーデ後＜１０秒で達成
＋＋　タンポナーデ後＜３０秒で達成
＋　タンポナーデ後３分以内に達成
＋／－　３分後に達成、第２のタンポナーデを適用
－　達成されず
【０１７４】
パッチのスコア付けシステム：貼付の１０分後
＋＋＋＋　非常に強力な接着（除去時にパッチが破損する）
＋＋＋　強力な接着（除去時にパッチが破損する）
＋＋　強力な接着（パッチは破損することなく除去可能）
＋　中等度の接着（パッチは破損することなく除去可能）
＋／－　軽度の接着（パッチは破損することなく除去可能）
－　達成されず
【０１７５】

［実施例１］
〔担体構造体への染色ポリマー粒子の含浸〕
Ｖｉｂｒａｔｏｒｙ Ｓｉｅｖｅ Ｓｈａｋｅｒ ＡＳ ３００（Ｒｅｔｓｃｈ）を、それぞれ５分間の連続した２つの期間にわたって操作し、染色ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末を異なる担体構造体に導入した。生成後、１ｇのシリカを含有するａｌｕ－ａｌｕパウチに止血パッチを装填し、真空封止した。
【０１７６】
上述の振盪機を使用し、青色ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末を３種の異なる担体構造体に導入した：
ゼラチンフォーム（ジェリータ ラピッド（Ｇｅｌｉｔａ Ｒａｐｉｄ）（登録商標）、Ｇｅｌｉｔａ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｇｅｒｍａｎｙ）、スポンジ
コラーゲンフォーム（サージコル（Ｓｕｒｇｉｃｏｌｌ）（登録商標）、ＭＢＰ、ドイツ）、スポンジ
繊維状担体構造体（ジェリータ タフト－Ｉｔ（登録商標）、Ｇｅｌｉｔａ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｇｅｒｍａｎｙ））
振盪処理後、青色ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末は、ゼラチンフォーム又はコラーゲンフォームにほとんど浸透しなかったことが見出された。フォームをメスで切断すると、深部の含浸が生じなかったことが明白であった。
【０１７７】
それに対し、振盪処理により、青色ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末は繊維状担体構造体全体に均質に分散した。
【０１７８】
［実施例２］
〔担体構造体への反応性ポリマー粒子及び造粒物の含浸〕
機械振盪プロセスにより、ジェリータ タフト－Ｉｔ（登録商標）（およそ０．７１グラム）にＮＨＳ－ＰＯｘ粉末及びＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ（１：０．６）造粒物をそれぞれ含浸させた。塗料振盪機を使用し（Ｃｏｌｌｏｍｉｘ ＧｍｂＨのＶＩＢＡ ＰＲＯ Ｖ）、染色粉末（およそ０．７５グラム）をパッチに導入した。担体構造体を含むアレイのホルダーを機械にクランプした。アレイを垂直に振動させた。
【０１７９】
含浸させた試料をＰＭＭＡプレートに置いてオーブンに入れ、そこで試料を異なる熱処理に供した。粉末の固着を評価するために、試料を白色ＰＭＭＡプレート上で２回動かした。青色粉末が放出されない場合、結果を固着したとみなした。結果を表１に示す。
【０１８０】
【表１】
表１

温度(℃)	時間(分)	固着
70	15	固着なし
70	30	固着なし
70	60	固着なし
70	300	固着なし
75	15	半固着
75	30	半固着
80	15	固着
80	30	固着
85	15	固着

【０１８１】
ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末を含浸させた試料とＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ造粒物を含浸させた試料の間で、固着結果の差は観察されなかった。

【０１８２】
反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末とＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ造粒物は、いずれも吸湿性である。周囲温度及び４０％より低い相対湿度（ＲＨ）で、曝露の３０分以内に繊維状担体構造体に再現性よく含浸させることができる。しかし、例えばＲＨ７５％及び２５℃で含浸を行う場合、粒子／顆粒は数分以内に粘性になり、再現不可能な不均質な含浸特性がもたらされる。
【０１８３】
［実施例３］
止血パッチ（ジェリータ　タフト－Ｉｔ（登録商標）；５０×７５ｍｍ、およそ０．７グラム）に、「ガラガラ鳴る」タイプの空気振盪エンジンによって動かされるばね上懸架装置でパッチを振盪することにより、１ｇの青色ＮＨＳ－ＰＯｘを含浸させた。エンジンは、６バール、１４６Ｈｚ及び８３０Ｎの遠心力で操作されるＮＴＰ２５Ｂ＋Ｃ（Ｎｅｔｔｅｒ　Ｖｉｂｒａｔｉｏｎ　ＧｍｂＨ）であった。それぞれ１０秒の１０回のサイクルを使用し、染色ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末を分散させた。生成後、１ｇのシリカを含有するａｌｕ－ａｌｕパウチに止血パッチを装填し、真空封止した。
【０１８４】
パッチを２ｃｍ×２ｃｍ片に切断し、ｅｘ　ｖｉｖｏ肝臓灌流モデルで三連で試験した。止血までの時間（ＴＴＨ）は０分（１分の押圧後）であり、３０分の観察時間の間に再出血は観察されなかった。パッチは、非常に良好な接着特性を示した。パッチを粉々に破損させることなく除去することは不可能であった。加えて、パッチは高い可撓性及び屈曲特性を有することが見出された。
【０１８５】
さらに、パッチをｉｎ　ｖｉｖｏブタヘパリン処置モデルで評価した。パッチは、高い止血有効性を示し、優れた接着特性を有することが見出された。活動性出血は、種々の臓器：脾臓、肝臓及び腎臓の切除において効率的に停止された。ｅｘ－ｖｉｖｏ及びｉｎ－ｖｉｖｏの結果の概要を表２に示す。
【０１８６】
【表２】
表２

臓器	*ex-vivo*		*in-vivo*	
	止血能	接着特性	止血能	接着特性
肝臓	+++	+++	+++	+++
脾臓	NA	NA	+++	+++
腎臓	NA	NA	+++	++

【０１８７】
［実施例４］
止血パッチ（ジェリータ　タフト－Ｉｔ（登録商標）；５０×７５ｍｍ、およそ０．７１グラム）に、反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ（１：０．６）造粒物を前述の通り含浸させた。１グラムの造粒物を、実施例３に記載の通りパッチ全体に分布させた。次に、１ｇのシリカを含有するａｌｕ－ａｌｕパウチに止血パッチを装填し、真空封止した。
【０１８８】
パッチを２ｃｍ×２ｃｍ片に切断し、ｅｘ　ｖｉｖｏ肝臓灌流モデルで三連で試験した。止血までの時間（ＴＴＨ）は０（１分の押圧後）であり、３０分の観察時間の間に再出血は観察されなかった。パッチはまた、高い可撓性及び屈曲特性を有することが見出された。
【０１８９】
さらに、パッチをｉｎ　ｖｉｖｏブタヘパリン処置モデルで評価した。パッチは、非常に良好な凝固及び接着特性を有することが見出された。活動性出血は、種々の臓器：脾臓

、肝臓及び腎臓の切除において効率的に停止された。結果の概要を表３に示す。

【０１９０】

【表３】

表３

臓器	*ex-vivo*		*in-vivo*	
	止血能	接着特性	止血能	接着特性
肝臓	++++	+++	++++	+++
脾臓	NA	NA	++++	+++
腎臓	NA	NA	++++	+++

【０１９１】

［実施例５］

ジェリータ タフト－Ｉｔ（登録商標）（５０×７５mm、およそ０．７ｇ）に、異なる反応性ポリマー粉末を含浸させた。そのようにして得られたパッチの止血特性を、本明細書で以前に記載されたようにｅｘ－ｖｉｖｏ及びｉｎ－ｖｉｖｏブタ出血モデルで試験した。

【０１９２】

空気振盪デバイスを使用し、繊維状担体構造体に１．４ｇの粉末を含浸させた。繊維状担体のシートを垂直に振動させた。ロングストローク型エンジン（ＮＴＫ ２５ ＡＬ Ｌ、前Ｎｅｔｔｅｒ Ｖｉｂｒａｔｉｏｎ ＧｍｂＨ）を、６バール、１１Ｈｚ及び３０mmの振幅で操作した。１５秒の４サイクルを使用し、シートに粉末を分散させた。造粒物がシートの全厚にわたって分布された。シート表面全体の分布も均質であった。

【０１９３】

９種の異なる反応性ポリマー粉末を試験した。これらの粉末は、ＮＨＳ－ＰＯｘの形態の、又は前ＮＯＦ Ａｍｅｒｉｃａ ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎのペンタエリスリトールポリ（エチレングリコール）エーテルテトラスクシンイミジルグルタレート（ＮＨＳ－ＰＥＧ）の形態の反応性求電子性基を担持する水溶性ポリマーを含有した。反応性ポリマー粉末の一部は、ＮＨＳ－ＰＯｘ又はＮＨＳ－ＰＥＧの他に、ＮＨＳ－ＰＯｘ及びＮＨＳ－ＰＥＧの反応性ＮＨＳ基と反応できる反応性求核性基を担持するポリマーを含有する造粒物であった。これらの造粒物の調製は、本明細書で以前に記載されている。

【０１９４】

試験された造粒物を以下に列挙する：

ＮＨＳ－ＰＯｘ／Ｐ１８８

ＮＨＳ－ＰＯｘ／炭酸塩

ＮＨＳ－ＰＯｘ／ジェリータ Ｓｐｏｎ

ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＨ２－ＰＥＧ

ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＲＸＬ（高塩分）

ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＲＸＬ（低塩分）

炭酸塩を含有するＮＨＳ－ＰＯｘ／ＲＸＬ（高塩分）

ＮＨＳ－ＰＥＧ／ＲＸＬ（低塩分）

ＮＨＳ－ＰＥＧ／ＮＵ－ＰＯｘ

試験した繊維状担体構造体と反応性ポリマー粉末の異なる組合せを表４に示す。

【０１９５】

【表４】

表４

パッチ	求電子性ポリマー	求核性ポリマー	炭酸塩	Pluronic P188
1	NHS-POx			X
2	NHS-POx		X	
3	NHS-POx	Gelita Spon		
4	NHS-POx	NH_2-PEG		
5	NHS-POx	RXL-HS		
6	NHS-POx	RXL-LS		
7	NHS-POx	RXL-HS	X	
8	NHS-PEG	RXL-LS		
9	NHS-PEG	NU-POx		

【０１９６】

ｅｘ－ｖｉｖｏ及びｉｎ－ｖｉｖｏブタ出血モデルにおいて、これらのパッチによって得られた結果を表５に要約する。

【０１９７】

【表５】

表５

パッチ	*ex vivo* 凝固	*ex vivo* 接着	*in vivo* 凝固	*in vivo* 接着
1	+++	+++	+++	+++
2	+++	+++	+++	+++
3	++++	++	++++	++
4	n.a.	n.a.	+	+
5	n.a.	n.a.	+	+
6	n.a.	n.a.	+	+
7	n.a.	n.a.	+	+
8	n.a.	n.a.	+	+
9	n.a.	n.a.	++	+

【０１９８】

［実施例６］

止血パッチ（ジェリータ　タフト－Ｉｔ（登録商標）；５０×７５ｍｍ、およそ０．７ｇ）に、ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ／Ｐ１８８　２．５％を含浸させた。１グラムの造粒物を、実施例２に記載の通りパッチ全体に分布させた。次に、１ｇのシリカを含有するａｌｕ－ａｌｕパウチに止血パッチを装填し、真空封止した。

【０１９９】

パッチをｉｎ　ｖｉｖｏブタヘパリン処置モデルで評価した。パッチは、非常に良好な凝固及び十分な接着特性を有することが見出された。接着特性が低減したことにより、Ｐ１８８を含まない同一のパッチとは対照的に、パッチを１枚で除去することが可能であった。活動性出血は、種々の臓器：脾臓、肝臓及び腎臓の切除において効率的に停止された。結果の概要を表６に示す。

【０２００】

【表６】
表６

臓器	*in-vivo* 凝固	接着特性
肝臓	++++	++
脾臓	++++	++
腎臓	++++	++

【０２０１】
［実施例７］
止血パッチ（ジェリータ　タフト－Ｉｔ（登録商標）；５０×７５ｍｍ、およそ０．７ｇ）に、ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ又は１．５％、２．５％若しくは３．５％のＰｌｕｒｏｎｉｃ　Ｐ１８８をそれぞれ含有するＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ／Ｐ１８８を含浸させた。１グラムの造粒物を、実施例２に記載の通りパッチ全体に分布させた。次に、１ｇのシリカを含有するａｌｕ－ａｌｕパウチに止血パッチを装填し、真空封止した。
【０２０２】
パッチを、ｉｎ　ｖｉｖｏブタヘパリン処置モデルにおいて脾臓切除（動脈出血）で評価した。結果を表７に要約する。
【０２０３】
【表７】
表７

%P188	*in-vivo* 凝固	接着特性
0	+++	++++
1.5	+++	+++
2.5	+++	++
3.5	+++	++

【０２０４】
ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ／Ｐ１８８を含有するパッチは、ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘを含有するパッチよりも、貼付後に「１枚で」除去するのが容易であった。
【０２０５】
［実施例８］
実験を行い、止血パッチのｉｎ－ｖｉｖｏでの性能に対する反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ造粒物のＮＵ－ＰＯｘ含有量の効果を決定した。
【０２０６】
（含浸方法）
止血パッチ（ジェリータ　タフト－Ｉｔ（登録商標）；５０×７５ｍｍ、およそ０．７ｇ）に、１：０．１０、１：０．２０及び１：０．４０のモル比でのアセトン造粒によって作製された反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ顆粒を含浸させ、前記モル比は、ＮＨＳ－ＰＯｘによって提供されるＮＨＳ基の数のＮＵ－ＰＯｘによって提供されるアミン基の数に対する比を指す。同じ止血パッチに、反応性ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末も含浸させた。
【０２０７】
Ｆｉｂｒｏｌｉｎｅ　ＳＬ－Ｐｒｅｇ実験室機械を使用し、１グラムの造粒物／粉末をパッチ全体に分布させた。次に、止血パッチを固着させ、乾燥させ、１ｇのシリカを含有するａｌｕ－ａｌｕパウチに装填し、真空封止した。
【０２０８】
機械
Ｆｉｂｒｏｌｉｎｅ　ＳＬ－Ｐｒｅｇ実験室機械は、最大２００Ｈｚの周波数で最大４

０ｋＶの電圧を最大６０秒間の期間印加することにより、電極間で粒子を動かす。２つの電極プレートは、約５０×４０ｃｍのサイズである。上プレートを接地させる。

【０２０９】

以下の標準設定を使用した：４０ｋＶ、１００Ｈｚ、２０秒。

【０２１０】

アレイ

３Ｄ印刷ＰＭＭＡアレイを下電極プレートに取り付けた後、粉末を重力法によってアレイに注入した。掻取りカートン又は金属スパチュラを使用し、アレイに反応性ポリマー粉末を充填した。アレイは５０×７５×４ｍｍであり、２２×３３＝７２６個の正方形ウェル（各ウェルの内のり寸法：２×２×２ｍｍ）を含有していた。７２６個のウェルの合計体積は、およそ５．８ｍＬであった。

【０２１１】

スペーサ

スペーサマスクをアレイの上に配置した。スペーサを使用すると、交番電界に供した際に粒子の上下移動が可能になる。スペーサが使用されない場合、担体への浸透及びそこを通る分布が制限される。タフト－ＩＴの場合、これは３ｍｍのマスクであった。これにより、電極の距離は３＋４ｍｍ＝７ｍｍになる。

【０２１２】

ＮＨＳ－ＰＯｘ：ＮＵ－ＰＯｘ造粒物（０、１０、２０及び４０パーセントのＮＵ－ＰＯｘからのアミン基、パーセンテージはＮＨＳ－ＰＯｘによって提供されるＮＨＳ基の数に基づいて計算される）又はＮＨＳ－ＰＯｘ粉末を含有する止血パッチのｉｎ　ｖｉｖｏでの性能を、非ヘパリン処置ｉｎ－ｖｉｖｏブタモデルで評価した。試験されたパッチの詳細を表８に示す。

【０２１３】

【表８】

表８

パッチ	アミンのモル%	NHS-POx : NU-POx (g/g)	パッチ中の造粒物グラム
1	10	1:0.12	1
2	20	1:0.25	1
3	40	1:0.48	1
4	0	1:0	1

【０２１４】

（ｉｎ　ｖｉｖｏ試験）

成体雌家畜ブタ（４０～５０ｋｇ）に試験を行った。抗凝固剤は適用しなかった。パッチ性能を脾臓と肝臓の両方で試験した。脾臓又は肝臓の位置を特定し、試験期間の経過とともに必要に応じて表出させ、食塩水で浸したスポンジで覆うことによりそれらの天然の湿度を維持した。

【０２１５】

異なる種類の損傷を作成した：

肝臓：擦傷、生検パンチ及び切除傷

脾臓：切除傷

【０２１６】

適切にサイズ調整された肝実質の部分を擦過／パンチし、中等度から重度の出血を引き起こした。外科用メス及び１×１ｃｍ２の鋳型によって肝臓の擦傷を作成し、８ｍｍの円形生検パンチを使用して円形パンチを作成した。肝臓及び脾臓の切除傷は、外科用ナイフを使用して作成した。

【０２１７】

組織の切除又は乱切の直後にパッチを貼り付けた：

生検パンチ及び擦傷に対して２×２ｃｍ片
切除傷に対して完全な７．５×５ｃｍのパッチ
【０２１８】
試験パッチを出血組織に貼り付け、食塩溶液で事前に湿潤されたガーゼを使用して圧迫することによって穏やかにプレスした。タンポナーデは、最初に１０秒間の期間、次に３０秒間の間隔をおき、合計５分間まで適用した。
【０２１９】
含浸されていないタフト－ＩＴパッチを基準として使用した（タフト－ＩＴと呼ぶ）。
【０２２０】
ｉｎ　ｖｉｖｏ試験の結果を表９に要約する。
【０２２１】
【表９】
表９

	止血までの平均時間(秒単位)			
	肝臓擦傷	肝臓パンチ	肝臓切除傷	脾臓切除傷
パッチ１	10	10	10	10
パッチ２	10	10	10	10
パッチ３	10	10	10	80
パッチ４	10	80	75	165
TUFT-IT	135	165	210	225

【０２２２】
パッチ１～４は非常に強力な組織接着を示した一方、タフト－ＩＴパッチでは軽度の接着しか観察されなかった。
【０２２３】
パッチ１及び２は、貼付後にごくわずかな膨張しか示さなかった。パッチ３～４は、より大きな、しかし依然として許容可能な膨張を示した。
【０２２４】
（実施例９）
止血パッチ（ジェリータ　タフト－Ｉｔ（登録商標）；５０×７５ｍｍ、およそ０．７ｇ）に、ＮＨＳ－ＰＯｘの溶液、ＮＨＳ－ＰＯｘ粉末、又はＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ造粒物のいずれかを含浸させた。使用したＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ造粒物は、１：０．２０のモル比でのアセトン造粒によって作製された（実施例８を参照されたい）。
【０２２５】
ＮＨＳ－ＰＯｘをイソプロピルアルコールとジクロロメタンの１：１混合物（２００ｇ／Ｌ）に溶解することにより、ＮＨＳ－ＰＯｘを含有する噴霧溶液を調製した。実験室ガラス噴霧器及び加圧空気を使用し、この噴霧溶液５ｍＬを１回の噴霧サイクルでパッチに含浸させた。このようにして送達されたＮＨＳ－ＰＯｘの全量は、パッチあたり１グラムであった。含浸後、パッチを４０℃のオーブン内で２時間乾燥させ、その後乾燥器で２日間保管した後、１ｇのシリカを含有するａｌｕ－ａｌｕパウチに装填して真空封止した。
【０２２６】
さらに、実施例８に記載の手順を使用し、１グラムのＮＨＳ－ＰＯｘ粉末又は１グラムのＮＨＳ－ＰＯｘ／ＮＵ－ＰＯｘ造粒物をパッチに含浸させた。
【０２２７】
そのように調製されたパッチの性能を、ｅｘ　ｖｉｖｏ肝臓灌流モデルで、軽度（＜２０ｍＬ／分）及び重度の出血（＞５０ｍＬ／分）の条件下で三連で試験した。平坦な丸形回転擦過ツールを用いて肝臓表面に円形の出血創傷（直径８ｍｍ）を作成し、パンチされた出血部の深さが常に３ｍｍになるようにゴムアンレーを用いた。結果を表１０に示す。
【０２２８】

【表１０】

表 10

含浸の種類	*ex-vivo*			
	軽度の出血		*重度の出血*	
	止血能	接着特性	止血能	接着特性
NHS-POx/NU-POx 造粒物	++++	++++	++++	++++
NHS-POx 粉末	+++	++++	+	++++
NHS-POx 溶液	-	+/-	試験せず	試験せず

フロントページの続き

(51)国際特許分類　　ＦＩ
Ａ６１Ｌ　15/64　(2006.01)　　Ａ６１Ｌ　15/64　１００

(33)優先権主張国・地域又は機関
欧州特許庁(EP)
オランダ王国，６５３４ エーティー ネイメーヘン，トランシストルヴェーク ５
(72)発明者　オプステーン，ヨースト
オランダ王国，６５３４ エーティー ネイメーヘン，トランシストルヴェーク ５
(72)発明者　ベンダー，ヨハネス キャスパー マティアス エリザベス
オランダ王国，６５３４ エーティー ネイメーヘン，トランシストルヴェーク ５
審査官　金子 亜希
(56)参考文献　特表２０１２－５０９１３９（ＪＰ，Ａ）
特表２０１７－５３１４８８（ＪＰ，Ａ）
特表２０１４－５３３９８８（ＪＰ，Ａ）
特表２０１４－５０３０１７（ＪＰ，Ａ）
特表２０１５－５１１５０７（ＪＰ，Ａ）
特表２０１３－５２３２９６（ＪＰ，Ａ）
特表２０１０－５２０３７７（ＪＰ，Ａ）
米国特許出願公開第２０１６／０２５００１３（ＵＳ，Ａ１）
米国特許出願公開第２０１０／０２３３２４６（ＵＳ，Ａ１）
(58)調査した分野　(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｌ　３１／００－３１／１８
Ａ６１Ｌ　１５／００－１５／６４
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＣＡｐｌｕｓ／ＲＥＧＩＳＴＲＹ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ（ＳＴＮ）