



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本

(11)公開編號：TW 201517920 A

(43)公開日：中華民國 104 (2015) 年 05 月 16 日

(21)申請案號：103114560

(22)申請日：中華民國 103 (2014) 年 04 月 22 日

(51)Int. Cl. : A61K47/42 (2006.01)

A61L27/22 (2006.01)

(30)優先權：2013/04/22 日本

2013-089142

2013/04/22 日本

2013-089143

(71)申請人：日東電工股份有限公司 (日本) NITTO DENKO CORPORATION (JP)

日本

(72)發明人：菅原晉仁 SUGAWARA, SHINJI (JP)；三浦智惠子 MIURA, CHIEKO (JP)；須藤倫子 SUDO, TOMOKO (JP)；中川雅應 NAKAGAWA, MASAO (JP)；吉川利之 YOSHIKAWA, TOSHIYUKI (JP)

(74)代理人：陳長文

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：7 項 圖式數：2 共 21 頁

(54)名稱

交聯明膠撐體及使用其之生理活性物質控制釋放用撐體

CROSSLINKED GELATIN SUPPORT AND SUPPORT FOR CONTROLLED RELEASE OF
PHYSIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCE USING THE SAME

(57)摘要

本發明係關於交聯明膠撐體，其中交聯明膠之表面帶負電荷且在乙醇中具有-3mV至-50mV之 ζ 電位；及生理活性物質控制釋放用撐體。此生理活性物質控制釋放用撐體包括：該交聯明膠撐體；及吸附並保留在該交聯明膠撐體上及/或其內部之生理活性物質。

The present invention relates to a crosslinked gelatin support, in which a surface of a crosslinked gelatin is negatively charged and has a zeta potential in ethanol of from -3 to -50 mV, and a support for controlled release of a physiologically active substance, including: the crosslinked gelatin support; and a physiologically active substance adsorbed and retained on and/or inside the crosslinked gelatin support.

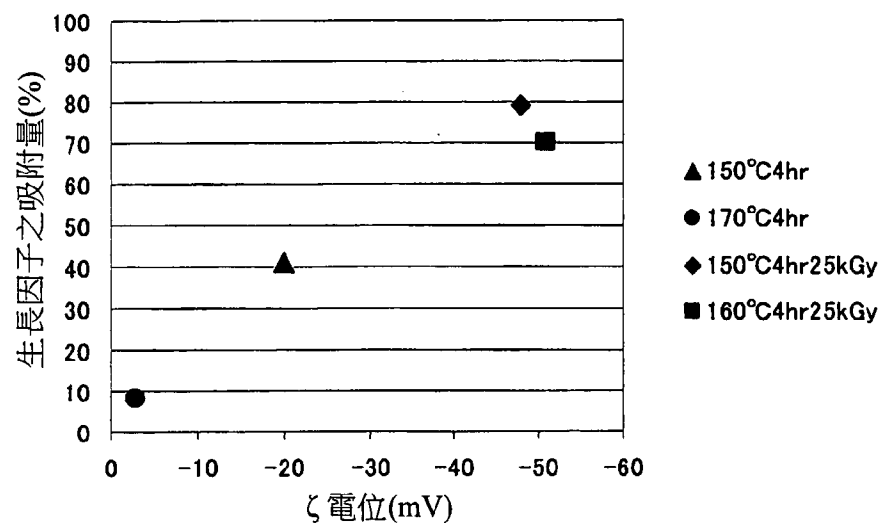


圖 1

發明摘要

※ 申請案號：103/114560

※ 申請日：103. 4. 22

※IPC 分類：A61K 47/42 (2006.01)

A61L 27/12 (2006.01)

【發明名稱】

交聯明膠撐體及使用其之生理活性物質控制釋放用撐體

CROSSLINKED GELATIN SUPPORT AND SUPPORT FOR

CONTROLLED RELEASE OF PHYSIOLOGICALLY ACTIVE

SUBSTANCE USING THE SAME

【中文】

本發明係關於交聯明膠撐體，其中交聯明膠之表面帶負電荷且在乙醇中具有-3 mV至-50 mV之 ζ 電位；及生理活性物質控制釋放用撐體。此生理活性物質控制釋放用撐體包括：該交聯明膠撐體；及吸附並保留在該交聯明膠撐體上及/或其內部之生理活性物質。

【英文】

The present invention relates to a crosslinked gelatin support, in which a surface of a crosslinked gelatin is negatively charged and has a zeta potential in ethanol of from -3 to -50 mV, and a support for controlled release of a physiologically active substance, including: the crosslinked gelatin support; and a physiologically active substance adsorbed and retained on and/or inside the crosslinked gelatin support.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：第（1）圖。

【本代表圖之符號簡單說明】：

無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：

無

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】

交聯明膠撐體及使用其之生理活性物質控制釋放用撐體
CROSSLINKED GELATIN SUPPORT AND SUPPORT FOR
CONTROLLED RELEASE OF PHYSIOLOGICALLY ACTIVE
SUBSTANCE USING THE SAME

【技術領域】

本發明係關於交聯明膠撐體及使用其之生理活性物質控制釋放用撐體。具體而言，本發明係關於具有負電荷 ζ 電位之交聯明膠撐體，其中由粒子或諸如此類形成之交聯明膠之表面電荷為-3 mV至-50 mV；特定而言由粒子或諸如此類形成之交聯明膠撐體，其中水溶性物質之含量係控制至具體範圍；及生理活性物質控制釋放用撐體，其中生理活性物質係吸附並保留在該撐體上。

【先前技術】

明膠係藉由用酸或鹼處理動物源膠原及後續萃取獲得之蛋白質，且係用於各種領域(例如在諸如膠、醫藥領域及諸如此類等食品領域中用作膠凝劑且亦用於諸如黏著劑及膜領域等工業用途)之熟悉材料。在該等各種用途中，用於醫學用途之高度純化之明膠及膠原係列示於日本藥典(Japanese Pharmacopoeia)中且已廣泛用作用於注射製劑之添加劑並用於諸如用於肝癌之栓塞材料、用於止血之海綿材料及用於經口投與之膠囊材料等產品。

如上文所提及，由於明膠係自構成生物組織之膠原萃取，故明膠係生物相容性及生物可降解性極其優良之材料。此外，明膠通常具有相對容易溶解於水及溫水中之性質，且藉由使明膠進行交聯處理從

而達成不溶解化並控制不溶解化程度，具有在將明膠投與給活體時可控制其生物降解時間之性質。因此，當使諸如藥物等生理活性物質預先吸附至經交聯及不溶解化之明膠時，在將其投與給活體之情形下，生理活性物質可藉由生物降解隨著明膠之溶解逐漸釋放，以使得可呈現經某一段時間控制釋放生理活性物質之作用。

專利文件1揭示使作為生物相容性物質之明膠水不可溶並轉化成多孔粒子且其中闡述該粒子可用於栓塞處理並用作醫學製劑用之撐體之發明。換言之，將水不溶解化之多孔粒子與生理鹽水或溶液醫藥或諸如此類一起浸漬於其多孔部分中並使其保留。然而，由於在其多孔部分中達成浸漬及保留，故(例如)當孔徑及孔隙度改變時，在很大程度上改變其吸附量，從而使得存在難以控制吸附量之問題。

專利文件1：日本專利第3879018號。

【發明內容】

通常，在使諸如藥物等生理活性物質預先吸附至交聯明膠並經生理鹽水或諸如此類懸浮後將明膠投與給活體以達成生理活性物質之控制釋放之情形下，控制並調節交聯明膠中生理活性物質之吸附量變得甚為重要，此取決於生理活性物質之處方及治療目的。

然而，當交聯明膠撐體不具有療法或諸如此類所必須之生理活性物質吸附量時，會產生即使將撐體投與給活體亦不能呈現有效治療效應且亦經期望時間不能達成生理活性物質之控制釋放的問題。

由於製備能夠調節在活體中之生物降解時間之交聯明膠並調查影響生理活性物質吸附量之原因以解決以上問題，本發明者已發現，交聯明膠之表面電荷顯著影響吸附量且交聯明膠中水溶性物質之含量強烈影響吸附量。因此，其已實現本發明。

換言之，本發明提供交聯明膠撐體，其中交聯明膠表面帶負電荷且在乙醇中具有-3 mV至-50 mV之 ζ 電位。

特定而言，交聯明膠較佳不為經受利用常見化學交聯劑或諸如此類之化學交聯處理者，而為藉由熱處理經物理交聯者。更佳者為經受藉由在交聯處理後進一步實施 γ 射線輻照處理之分解處理者。

此外，在分解處理之前交聯明膠撐體中水溶性物質之含量較佳為15重量%至50重量%並在分解處理之後增加至25重量%至75重量%。另外，交聯明膠撐體較佳為具有非多孔性結構之單一粒子或其粒子聚集體。

此外，本發明可提供生理活性物質控制釋放用撐體，藉由將生理活性物質吸附並保留於上文所提及交聯明膠撐體上及/或其內部，其控制釋放能力優良。

本發明之交聯明膠撐體呈現如下效應：生理活性物質之經吸附並保留之量可藉由將表面電荷控制為負電荷、具體而言將在乙醇中之 ζ 電位控制至-3 mV至-50 mV之範圍來準確調節。因此，藉由在具體 ζ 電位範圍內改變交聯明膠撐體之表面電荷，可獲得控制釋放用撐體，其達成生理活性物質之控制釋放以呈現期望治療效應。

此外，本發明之交聯明膠撐體呈現如下效應：生理活性物質之經吸附並保留量可藉由控制在分解處理之前及之後交聯明膠撐體中水溶性物質之含量以在具體範圍中增加該含量來準確調節。換言之，由於交聯明膠撐體中水溶性物質之量係經控制並改變以在分解處理之前及之後處於具體範圍中，故可獲得控制釋放用撐體，其達成生理活性物質之控制釋放以呈現期望治療效應。

【圖式簡單說明】

圖1係顯示在實例1至3及比較實例1中之每一實例中所獲得之交聯明膠撐體之表面電荷(ζ 電位)與作為生理活性物質之生長因子之吸附率之間之關係的圖表。

圖2係顯示在每一實驗實例中所獲得之交聯明膠撐體中之水溶性

物質之量與作為生理活性物質之生長因子之吸附量之間之關係的圖表。

【實施方式】

關於欲用於本發明之明膠，未特別限制其種類(來源)。例如，可使用源自牛骨、牛皮、豬骨、豬皮及諸如此類之各種明膠。

本發明之交聯明膠撐體為藉由使成形為粒子之明膠進行交聯處理以對水性溶劑不溶解化所獲得者，且較佳為不經受利用交聯劑之常用化學交聯處理但期望經受藉由加熱處理之熱交聯者。換言之，在利用交聯劑實施化學交聯處理之情形下，可使交聯劑之反應產物或殘餘交聯劑接合至明膠。在活體中使用由此獲得之交聯明膠撐體之情形下，應仔細調查各種種類之毒性及諸如此類且可用交聯劑存在限制。

另一方面，在藉由加熱處理實施熱交聯之情形下，如與利用交聯劑之交聯處理相比，不存在如以上之任何問題且在溫和條件下實施交聯處理，以使得影響生物可降解性之明膠交聯程度之調節變得相對容易。因此，在如本發明一樣藉由熱交聯製備交聯明膠撐體之情形下，由於可視預期目的控制交聯程度，故可容易控制於水溶液或血管中完全溶解之時間(生物降解時間或諸如此類)。

為獲得呈粒子形狀之本發明交聯明膠撐體，首先，可藉由已知製粒方法製得粒子形明膠撐體，例如W/O分散方法、微型反應器方法、噴霧乾燥方法、噴霧冷凍乾燥方法或磨碎方法。

然後，藉助乾燥方法(例如吹乾、風乾、真空乾燥或冷凍乾燥)將所得明膠撐體乾燥一次，且隨後在100℃至200℃、較佳120℃至180℃之溫度範圍下加熱並乾燥2小時至48小時、較佳2小時至8小時，其中實施熱交聯從而產生本發明之交聯明膠撐體。然而，在不在靜置下加熱並乾燥但在攪拌或旋轉條件下加熱並乾燥之情形下，較佳在150℃至170℃±5℃之溫度範圍下實施加熱處理約3小時至5小時。在此情況

下，可在標準壓力下實施乾燥，但由於明膠本質上為水溶性且容易受空氣中之氧、水分及諸如此類影響，故在真空下之加熱處理對於以良好再現性實施均勻熱交聯係較佳的。「在真空下」在本發明中意指在絕對真空視為0 kPa時可藉由常用真空乾燥機達成之10 kPa或更小之壓力條件。

此外，本發明中之交聯明膠撐體亦可藉由在實施上文所闡述交聯處理後實施分解處理來獲得。在由此經受分解處理之交聯明膠撐體中，由於撐體表面上之負電荷可藉由分解處理進一步增加，故撐體表面上有效吸附生理活性物質之 ζ 電位可控制至-3 mV至-50 mV範圍內之期望值，從而使得該撐體較佳。此外，藉由在利用交聯處理之明膠水不溶解化與利用分解處理之水不溶解化明膠於水中之再溶解化之間保持平衡，可控制生理活性物質之吸附量。

至於本發明中之分解處理，可提及的是藉由利用包括 γ 射線之輻射之輻照、利用電子束之輻照或諸如此類之分解處理。較佳地，實際上期望使用亦可用作在產品包裝後之最後滅菌處理之 γ 射線。 γ 射線之輻照量較佳為約10 kGy至50 kGy，但考慮到控制交聯明膠撐體表面上之 ζ 電位及分解水不溶解化交聯明膠以使其確定具有水溶性，亦可作為滅菌操作而充分調整之在25 kGy至50 kGy範圍內之輻照量進一步較佳。

在如上文所獲得之本發明之交聯明膠撐體中，並不特別限制撐體內部結構，但較佳的是表面 ζ 電位可容易控制且水溶性物質之含量可容易藉由控制交聯處理或分解處理來控制。在考慮到該點時，由於控制孔隙部分處之表面積亦為必需，因此在多孔結構中進行控制變得困難，因此其較佳為具有非多孔性結構之粒子，且進一步較佳的是具有非多孔性結構之單一粒子或藉由聚集其複數個粒子所獲得之粒子聚集體。

換言之，當撐體為具有多孔結構之粒子時，比表面積變得較大且粒子內部之多孔部分中之表面電荷亦影響本發明效應，從而使得作為交聯明膠撐體之期望表面 ζ 電位變得難以控制且生理活性物質之吸附量(保留量)往往難以設定至期望值。此外，當撐體為具有多孔結構之粒子時，由於孔隙部分中之表面部分亦藉由分解處理影響水溶性且亦由於孔隙部分之毛細管現象而發生生理活性物質之物理吸附，故對本發明效應(即生理活性物質之吸附力控制)發揮較大影響且因此存在難以獲得確定具有良好再現性之期望效應之傾向。因此，為了確定呈現本發明效應，較佳使用具有非多孔性結構之明膠粒子。

此外，在所得交聯明膠撐體中，自將 ζ 電位控制在本發明範圍內以使得控制生理活性物質之吸附量成為可能之角度來看，期望乾燥狀態下之交聯明膠之單一粒子之平均粒徑為5 μm 至50 μm 、較佳5 μm 至25 μm 。當平均粒徑小於5 μm 時，由於粒子過小，故在將其引入活體中之情形下生物可降解性增加且本發明效應難以充分呈現。因此，需要用於實施進一步交聯之苛刻交聯條件且將 ζ 電位轉移至中性側，從而使得存在不能充分獲得本發明效應之傾向。另一方面，在平均粒徑超過50 μm 之情形下，粒子內部之電荷亦影響本發明效應，且往往難以控制 ζ 電位來呈現本發明作為交聯明膠撐體之效應，從而使得該情形並不佳。

然而，自在整個明膠粒子上均一地實施交聯處理及分解處理之角度來看，期望乾燥狀態下之交聯明膠撐體之單一粒子之平均粒徑為25 μm 至2,000 μm 、較佳60 μm 至1,700 μm 。在平均粒徑小於25 μm 之情形下，由於粒子較小，故水溶性物質之量之調節變得困難且亦(例如)在將本發明之交聯明膠撐體引入活體中之情形下存在生物可降解性過度增加且本發明效應難以充分呈現之傾向。就此而言，當進一步交聯意欲出於降低生物可降解性之目的實施時，需要嚴苛交聯條件，

從而使得甚至當實施分解處理時，亦不能獲得足量之水溶性物質。因此，未能充分獲得本發明效應。另一方面，在平均粒徑超過 $2,000\ \mu\text{m}$ 之情形下，難以在整個明膠粒子上實施均一交聯處理且亦單獨在表面層部分上部分實現分解處理。因此，生物可降解性之控制變得難以實施且存在對本發明效應產生不利影響之傾向，從而使得該情形並不佳。

附帶而言，本發明中之交聯明膠撐體可不僅為上文所闡述交聯明膠之單一粒子且亦為藉由聚集其複數個粒子所獲得之粒子聚集體，且此情形中之平均粒徑可為 $25\ \mu\text{m}$ 至 $2,000\ \mu\text{m}$ 、較佳 $50\ \mu\text{m}$ 至 $1,700\ \mu\text{m}$ 、進一步較佳約 $60\ \mu\text{m}$ 至約 $200\ \mu\text{m}$ 。

在如上文所獲得之本發明交聯明膠撐體中，對於控制稍後所提及之生理活性物質之吸附量而言，重要的係，在 ζ 電位係於乙醇中之度量之情形下，該值屬於 $-3\ \text{mV}$ 至 $-50\ \text{mV}$ 範圍內。較佳地，該值較佳控制至 $-10\ \text{mV}$ 至 $-40\ \text{mV}$ 範圍內。當 ζ 電位超過 $-3\ \text{mV}$ 時，所得交聯明膠撐體在電子上接近中性狀態，吸附生理活性物質之性能變弱，且因此存在未獲得足夠吸附力之情形。另一方面，當電位小於 $-50\ \text{mV}$ 時，所得交聯明膠撐體之 ζ 電位之控制變得不穩定，存在難以獲得具有穩定性能之交聯明膠撐體之傾向，且因此，存在不能充分呈現所吸附並保留之生理活性物質所具有之目標效應之情形。

本發明中之 ζ 電位係如以下來量測。在經乾燥微粒交聯明膠撐體經稱重為 $1\ \text{mg/ml}$ 後，利用 $10\ \text{ml}$ 之乙醇(特級試劑)使其懸浮，且利用特級試劑乙醇將該懸浮液稀釋100倍。然後，將在 25°C 下使用 ζ 電位量測裝置針對所得經稀釋懸浮液所量測之值視為本發明之 ζ 電位。作為 ζ 電位量測裝置，可利用市售裝置，例如 ζ 電位-粒子大小分佈量測裝置(由Beckman Coulter公司製造，商標名：DelsaNano)、 ζ 電位-粒徑量測系統(由Otsuka Electronics有限公司製造，商標名：ELSZ-1000ZS)、 ζ

電位量測裝置(由Malvern公司製造，商標名：Zetasizer Nano)、超音波粒子大小分佈- ζ 電位量測裝置(由Nihon Rufuto有限公司製造，商標名：DT1202)、用於表面分析之 ζ 電位量測裝置(由Anton Paar GmbH製造，商標名：SurPASS)及諸如此類。作為該等裝置之量測原則，採用雷射都蔔勒(Doppler)多點式檢測電泳方法、雷射都蔔勒方法(動態電泳光散射方法)、相位分析光散射方法、超音波振盪電流法、流動電位-流動電流量測方法及諸如此類，但可使用任何原則。

較佳地，本發明之交聯明膠撐體為在明膠撐體經受如上文所提及之交聯處理後經受分解處理者且為者其中將在分解處理之前交聯明膠撐體中之水溶性物質含量控制至15重量%至50重量%其將在分解處理之後交聯明膠撐體中之水溶性物質含量控制至25重量%至75重量%。就此而言，可藉由單獨實施交聯處理而不實施分解處理使得存在水溶性物質，從而使得水溶性物質含量控制在25重量%至75重量%範圍內。然而，在此情形中之水溶性物質並非藉由分解處理所形成之水溶性物質，而係交聯處理中所涉及之低分子量明膠之殘餘部分，且因此不能充分呈現本發明效應。因此，在本發明中，控制在分解處理之前及之後水溶性物質之含量甚為重要。附帶而言，關於本發明中之水溶性物質，其主要組份為明膠，但不限於其，且意指當將交聯明膠撐體浸漬於純化水中在30°C下靜置6小時時任何溶析至純化水中之水溶性物質。

換言之，在本發明中，藉助明膠交聯在明膠分子間及在分子中發生交聯，且其後，藉由分解處理所得交聯明膠，不斷開交聯但裂解交聯明膠分子，從而使得將明膠之經受交聯處理之分子鏈裂解成小片。因此，據推測顯示水溶性之分子增加，即使其係藉由在明膠分子鏈之分解端部分處生成呈現水溶性之官能團(例如羧基)而自交聯明膠衍生。此外，據推測可藉由增加交聯明膠撐體中之水溶性明膠以用生

理活性物質置換水溶性物質來增加吸附量。

在本發明中在交聯處理之後(在分解處理之前)明膠撐體中之水溶性物質含量小於15重量%之情形下，由於已發生過度交聯處理，故生物可降解性顯著降低，甚至當實施分解處理時亦不能充分調節生物可降解性。因此，可能不能獲得足以控制釋放生理活性物質之能力。另一方面，在超過50重量%之情形下，藉由交聯處理之水不溶解化變得不足且生物可降解性過度增加。此外，由於生物可降解性往往藉由分解處理來增強，故存在可達成生理活性物質控制釋放之期限過度縮短之傾向。而且，在使用時之準備中將明膠撐體溶解於稀釋介質(例如生理鹽水)中，且因此存在不能獲得期望效應之問題。

此外，在分解處理後明膠撐體中之水溶性物質含量小於25重量%之情形下，由於因最後獲得之交聯明膠撐體中之過度交聯而增加之疏水性，生理活性物質之吸附性能變弱且生物降解速率亦延遲，從而使得往往難以控制釋放生理活性物質以呈現期望效應。另一方面，當水溶性物質之含量超過75重量%時，在將該撐體作為其上含有所吸附之生理活性物質之控制釋放用撐體投與至活體中之情形下，存在生物降解速率固定且未呈現控制釋放能力之傾向。

本發明之交聯明膠撐體可提供生理活性物質控制釋放用撐體，其容許藉由利用其控制至具體 ζ 電位範圍之表面負電荷並控制水溶性物質之含量來控制欲吸附並保留之生理活性物質之量並呈現期望效應。並不特別限制欲用於本發明之生理活性物質，但(例如)可使用出於藉由投與至體內來治療各種疾病之目的使用之各種藥物、由干擾素及白介素代表之細胞因子、各種生長因子(增殖因子)及諸如此類。

以上生理活性物質控制釋放用撐體為其中生理活性物質吸附並保留在表面上及/或撐體內並藉由投與至活體內達成經吸附並保留之生理活性物質之控制釋放以呈現期望效應者。投與至活體內之方法之

實例包括將撐體懸浮並分散於諸如生理鹽水等溶劑中且隨後將經懸浮並分散者經肌內注射於活體局部部分中以逐漸達成藥物控制釋放的方法、注射並投與至疾病患部附近之血管中以栓塞該血管以達成所吸附生理活性物質在栓塞後之控制釋放的方法及諸如此類。在實施該等投與方法之情形下，除注射用之注射器以外可使用諸如導管等已知裝置。

作為製備本發明中生理活性物質控制釋放用撐體之方法，例如，可將交聯明膠撐體分散並與生理活性物質一起填充至注射器中並吸附。此外，可採用諸如以下等實施例：其中將交聯明膠撐體預先單獨填充至注射器中並在使用時將生理鹽水吸入注射器中以分散交聯明膠撐體的情形，或其中將交聯明膠撐體填充至小瓶中，在使用時裝填生理鹽水以分散交聯明膠撐體並將該分散液吸入注射器中(即所謂使用時之準備)的情形。

附帶而言，投與至活體中之交聯明膠撐體達成經吸附並保留之生理活性物質隨著其在活體中逐漸生物降解之控制釋放。生物降解時間可藉由控制獲得交聯明膠撐體之交聯條件來調節，且因此，可控制生理活性物質控制釋放之時間。具體而言，在將在肌肉中控制釋放之時間設定為2週之情形下，交聯明膠步驟中之加熱條件較佳為100℃至180℃及1小時至24小時。附帶而言，在交聯步驟中，由於實施加熱操作，故在存在交聯明膠撐體氧化並變性之問題之情形下，較佳在減壓下或在用於阻抑氧氣影響之惰性氣體氛圍中實施交聯步驟。

實例

以下將參照實例更具體地闡述本發明。然而，本發明不應理解為限於實例之闡述且可在不背離技術理念之範圍內進行各種修改。

<實例1>

在40℃下將5 g明膠(源自豬皮，膠強度：100 g (參照JIS K6503))

溶解於100 ml水之後，將其填充至塑膠容器中。使得水性明膠溶液在2°C至10°C之溫度下靜置17小時以達成膠凝化，且隨後冷凍在-80°C下去。然後，在10 kPa或更小之真空下在冷凍乾燥機中乾燥冷凍物以獲得片形產物。在軋碎機中軋碎該產物，且使用25 μm 、63 μm 及1,700 μm 之篩調整粒徑以獲得具有25 μm 或更小及63 μm 至1,700 μm 之平均粒徑之明膠軋碎粒子。

接著，使每一明膠粒子在150°C ($\pm 5^\circ\text{C}$)下在旋轉狀態下以18次/分鐘之速率在真空(5 kPa或更小)下在小型鼓真空乾燥機(由Aichi Electric有限公司製造，商標名：BHR-0.5型)中經受加熱處理4小時以獲得本發明之交聯明膠撐體。

<實例2>

以與實例1相同之方式獲得交聯明膠撐體，惟在實例2中在170°C ($\pm 5^\circ\text{C}$)下實施加熱處理4小時。

<實例3>

在標準壓力及空氣下將實例1中所獲得之交聯明膠撐置於塑膠容器中並利用鋁包裝後，利用25 kGy之 γ 射線對其進行輻照以獲得經受分解處理之交聯明膠撐體。

<比較實例1>

以與實例1及3相同之方式獲得經受 γ 射線輻照處理(分解處理)之交聯明膠撐體，惟在比較實例1中將加熱處理之溫度改為160°C ($\pm 5^\circ\text{C}$)。

在以上實例及比較實例中所獲得之交聯明膠撐體中，具有25 μm 或更小之平均粒徑之彼等係用於 ζ 電位量測且具有63 μm 至1,700 μm 之平均粒徑之彼等係用於量測生理活性物質吸附量。結果顯示於表1及圖1中。附帶而言，在用於量測吸附量之操作中，在將交聯明膠撐體經生理活性物質浸漬後，將該撐體懸浮於生理鹽水中，將未吸附於交

聯明膠撐體中之部分以上清液形式進行回收，且將其用作用於量測之溶液。為避免將微細粉末混合至用於量測之溶液中，使用具有63 μm 至1,700 μm 之平均粒徑之交聯明膠來量測吸附量。

藉由以下方法量測每一作為實例及比較實例之以上產物之交聯明膠撐體之 ζ 電位及生理活性物質吸附量。

< ζ 電位之量測>

使每一作為實例及比較實例之以上產物之交聯明膠撐體處於乾燥狀態，且在具有25 μm 或更小之平均粒徑者經稱重為1 mg/ml後，利用乙醇(特級試劑)將其稀釋100倍並懸浮。在25°C下使用 ζ 電位-粒子大小分佈量測裝置(由Beckman Coulter公司製造，商標名：DelsaNano)量測所得懸浮液。

<生理活性物質吸附量之量測>

使用具有約17,000之分子量之生長因子及具有319.85之分子量之顏料(亞甲藍)作為生理活性物質，如以下量測交聯明膠撐體中之吸附量。

<生長因子吸附量之量測>

將作為生理活性物質之生長因子溶解於生理鹽水中以達0.14 mg/ml之濃度，從而製備生理活性物質水溶液。就校準曲線，稀釋該生理活性物質水溶液以達0.028 mg/ml、0.056 mg/ml、0.084 mg/ml、0.11 mg/ml及0.14 mg/ml之濃度。

對於作為生理活性物質之生長因子之吸附量之量測，以各自0.025 g之量稱取每一作為實例及比較實例之產物之交聯明膠撐體。然後，將具有0.14 mg/ml之濃度之生理活性物質水溶液以各自量0.35 ml添加至交聯明膠撐體中，並使該整體在40°C下靜置1小時，從而使得水溶液儘可能地擴散遍及交聯明膠撐體。其後，添加0.65 ml生理鹽水，藉助濾紙過濾上清液，且在高效液相層析上量測上清液之吸光

度。自預先製備之校準曲線，測定上清液中之生理活性物質之濃度，且計算吸附率，其中取所添加生理活性物質之初始量為100%。

<顏料(亞甲藍)之吸附量之量測>

將作為生理活性物質之亞甲藍溶解於純化水中以達0.5重量%之濃度，從而製備生理活性物質水溶液。就校準曲線，稀釋該生理活性物質水溶液以達0.00005重量%、0.00025重量%、0.00050重量%及0.00075重量%之濃度。

對於作為生理活性物質之顏料之吸附量之量測，以各自0.04 g之量稱取每一作為實例及比較實例之產物之交聯明膠撐體。然後，將具有0.05重量%之濃度之生理活性物質水溶液添加至交聯明膠撐體中且各自量為0.5 ml，且使該整體在室溫下靜置1小時，從而使得水溶液儘可能地擴散遍及交聯明膠撐體。其後，添加4.5 ml純化水，藉助濾紙過濾上清液，且在吸光度量測裝置上量測上清液之吸光度。自預先製備之校準曲線，測定上清液中之生理活性物質之濃度，且計算吸附率，其中取所添加生理活性物質之初始量為100%。

[表1]

	實例1	實例 2	實例 3	比較實例1
交聯溫度(°C)	150	170	150	160
交聯時間(hr.)	4	4	4	4
γ射線之輻照量(kGy)	0	0	25	25
ζ電位(mV)	-20	-3	-48	-51
生長因子之吸附量(%)	41.3	7.9	79.3	69.3
亞甲藍之吸附量(%)	93.7	98.5	76.5	93.8

根據表1及圖1中之結果顯而易見，應瞭解，當交聯明膠撐體表面之ζ電位降至-3 mV至-50 mV範圍內時，生理活性物質之吸附率(吸

附量)根據 ζ 電位之增加及降低而有規律地改變。因此，顯然，可藉由視欲吸附並保留在交聯明膠撐體上及/或其內部之生理活性物質之目的改變交聯明膠撐體表面之 ζ 電位來呈現期望效應。

附帶而言，為獲得在乙醇中具有超過-3 mV之 ζ 電位之交聯明膠撐體，將在使明膠撐體交聯時之加熱溫度控制至180°C或更高，但明膠撐體之黃化變得嚴重且因此該撐體不適於作為本發明用途之栓塞用途及生理活性物質控制釋放之用途。另一方面，在其中在乙醇中之 ζ 電位小於-50 mV之比較實例1產物中，生理活性物質之吸附量與實例3之產物相比有所降低，從而使得不可能獲得充分滿足本發明交聯明膠撐體之性能之交聯明膠撐體。

<實例4至18>

在標準壓力及空氣下將在實例1中篩分後經受交聯處理之具有63 μm 至1,700 μm 之平均粒徑之交聯明膠撐體填充至塑膠容器中並用鋁包裝該容器後，使其經受 γ 射線輻照以獲得經受分解處理之交聯明膠撐體。

用於熱交聯之條件及用於 γ 射線輻照之條件顯示於表2中。

對於如上文所提及獲得之經受分解處理之交聯明膠撐體，藉由以下方法量測該撐體中之水溶性物質含量及生理活性物質之吸附量且量測結果顯示於表2及圖2中。附帶而言，在水溶性物質之含量及生理活性物質之吸附量之量測中，為避免將精細粉末混合至用於量測之溶液中，使用具有63 μm 至1,700 μm 之平均粒徑之交聯明膠。

<水溶性物質之含量之量測>

以0.04 g之量稱取每一乾燥狀態下之交聯明膠撐體，且在將5 ml純化水添加至其中後，使該整體在30°C下靜置6小時。在靜置6小時後，藉助具有10 μm 之孔徑之濾紙實施自然過濾，該濾紙之重量已預先量測，且利用2 ml至3 ml之純化水洗滌濾紙上之殘餘固體物質。在

將濾紙及殘餘固體物質乾燥並稱重後，將濾紙及殘餘固體物質之重量自交聯明膠撐體及濾紙在測試之前之重量減去，且根據以下等式計算水溶性物質，其中取在測試之前之交聯明膠撐體為100重量%。

水溶性物質之量(%) = {1-(在測試之後乾燥之殘餘固體物質之重量)/(交聯明膠撐體在測試之前之重量)}×100

<生理活性物質之吸附量之量測、生長因子之吸附量之量測及顏料(亞甲藍)之吸附量之量測>

以與上文所提及相同之方式實施量測。

[表2]

編號		交聯溫度 (°C)	交聯時間 (hr.)	γ射線之輻 照量 (kGy)	水溶性物 質之量(重 量%)	生長因子 之吸附量 (重量%)	顏料之吸 附量 (重量%)
實例	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

自表2及圖2中之結果，顯然，交聯明膠撐體中之水溶性物質含

量因 γ 射線輻照而增加且作為生理活性物質之生長因子之吸附量亦往往增加。此外，自圖2顯而易見，當在分解處理後交聯明膠撐體中之水溶性物質含量降至25重量%至75重量%範圍內時，生理活性物質之吸附量往往隨著交聯明膠撐體中之水溶性物質增加而增加。然而，當含量超過75重量%時，由於吸附量達到接近於100%，故應理解預期吸附量無較大變化。

附帶而言，在表2中之實例16至18中，儘管水溶性物質之量因 γ 射線輻照之存在或不存在及輻照量之變化而改變，但生長因子之吸附量並未因此而改變。認為原因係如以下：由於在170°C下實施熱交聯4小時且因此與其他實例之產物相比更緊固地達成交聯，故甚至當交聯明膠藉由利用 γ 射線之輻照分解時，形成水溶性物質但水溶性物質對生理活性物質之吸附之影響降低。自該原因，應理解，此一在嚴苛交聯條件下獲得之交聯明膠撐體對於製備其中生理活性物質之吸附量受到阻抑之控制釋放用撐體之情形係有效的。

此外，如與具有相對較高分子量之生長因子相比，關於具有極小分子量之顏料之吸附量，由於其吸附至交聯明膠撐體之時間較短，故其吸附量與生長因子之吸附相比過大，從而使得在實例之個別產物之間似乎無差異。此在甚至當改變條件時水溶性物質之量之變化亦較小之實例7至18之情形中係顯著的。附帶而言，在其中水溶性物質之量相對較大且其變化亦較大之實例4至7中，使吸附至水溶性物質之顏料溶析並在量測顏料之吸附量時與水溶性物質一起轉移至純化水中，從而使得吸附量之量測變化變得較大。

如上所述，在使用交聯明膠撐體作為生理活性物質控制釋放用撐體之情形下，顯然，吸附量之控制因熱交聯明膠並進一步將在分解處理後水溶性物質之含量控制至25重量%至75重量%而變得有可能，且因此，調節生理活性物質控制釋放之時間及控制釋放之量變得有可

能。

本申請案係基於2013年4月22日申請之日本專利申請案第2013-089142號及2013年4月22日申請之第2013-089143號，其全部內容以引用的方式併入本文中。

【符號說明】

無

申請專利範圍

1. 一種交聯明膠撐體，其中交聯明膠之表面帶負電荷且在乙醇中具有-3 mV至-50 mV之 ζ 電位。
2. 如請求項1之交聯明膠撐體，其中該交聯明膠係經熱交聯。
3. 如請求項2之交聯明膠撐體，其中該交聯明膠係進一步經受分解處理。
4. 如請求項3之交聯明膠撐體，其中該分解處理為 γ 射線輻照處理。
5. 如請求項3之交聯明膠撐體，其中在該分解處理之前該交聯明膠撐體中之水溶性物質之含量為15重量%至50重量%並在該分解處理之後增加至25重量%至75重量%。
6. 如請求項1之交聯明膠撐體，其中該交聯明膠撐體係具有非多孔性結構之單一粒子或其粒子聚集體。
7. 一種生理活性物質控制釋放用撐體，其包含：
如請求項1之交聯明膠撐體；及
吸附並保留在該交聯明膠撐體上及/或其內部之生理活性物質。

圖式

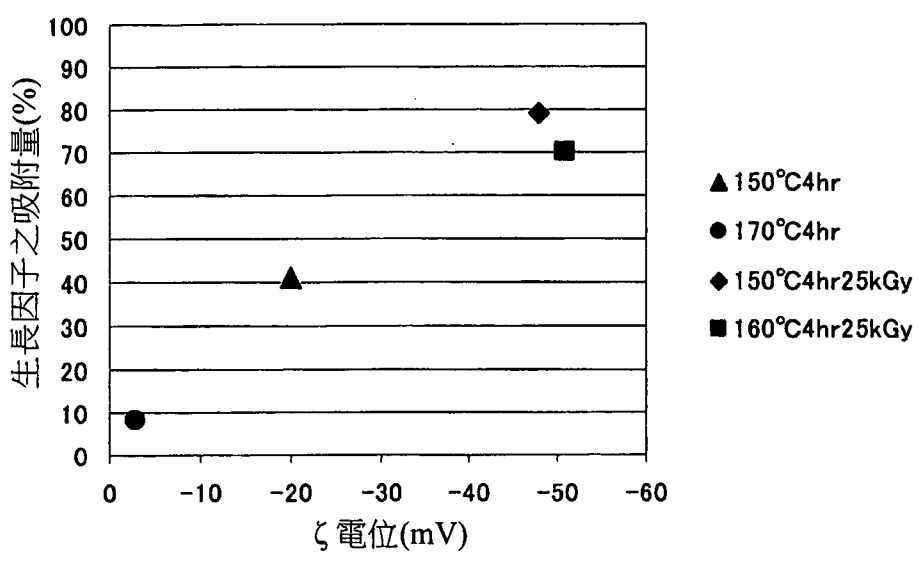


圖 1

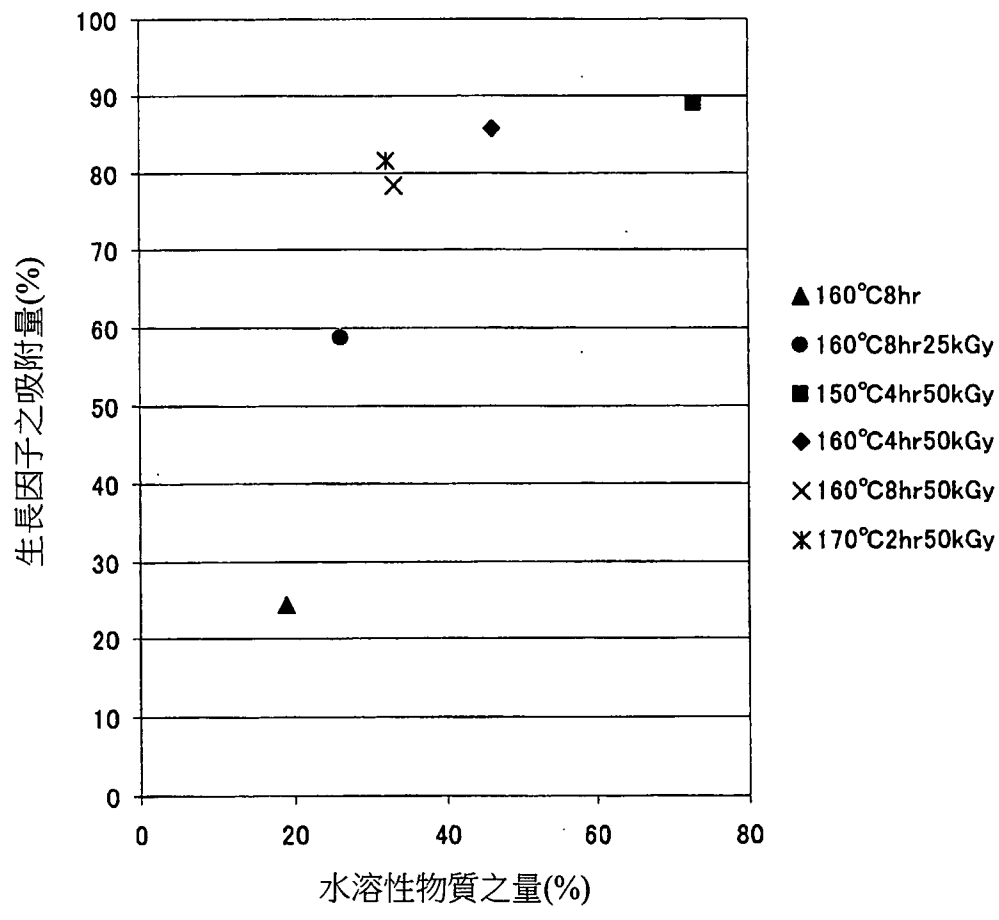


圖 2

