

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載

【部門区分】第3部門第3区分

【発行日】平成22年11月25日(2010.11.25)

【公表番号】特表2010-506974(P2010-506974A)

【公表日】平成22年3月4日(2010.3.4)

【年通号数】公開・登録公報2010-009

【出願番号】特願2009-532540(P2009-532540)

【国際特許分類】

C 0 8 J	3/12	(2006.01)
A 6 1 K	47/32	(2006.01)
A 6 1 K	45/00	(2006.01)
A 6 1 K	35/12	(2006.01)
A 6 1 K	35/14	(2006.01)
A 6 1 K	38/00	(2006.01)
A 6 1 K	31/715	(2006.01)
A 6 1 L	15/44	(2006.01)
A 6 1 K	47/42	(2006.01)
A 6 1 K	47/36	(2006.01)
A 6 1 K	38/27	(2006.01)
A 6 1 K	31/167	(2006.01)
A 6 1 K	31/7048	(2006.01)
A 6 1 K	31/65	(2006.01)
A 6 1 K	31/496	(2006.01)
A 6 1 P	17/02	(2006.01)
A 6 1 P	35/00	(2006.01)
A 6 1 P	29/00	(2006.01)
A 6 1 P	31/00	(2006.01)
A 6 1 P	27/02	(2006.01)
A 6 1 K	9/14	(2006.01)

【F I】

C 0 8 J	3/12	C E Y Z
A 6 1 K	47/32	
A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	35/12	
A 6 1 K	35/14	C
A 6 1 K	37/02	
A 6 1 K	31/715	
A 6 1 L	15/03	
A 6 1 K	47/42	
A 6 1 K	47/36	
A 6 1 K	37/36	
A 6 1 K	31/167	
A 6 1 K	31/7048	
A 6 1 K	31/65	
A 6 1 K	31/496	
A 6 1 P	17/02	
A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	29/00	
A 6 1 P	31/00	

A 6 1 P 27/02
A 6 1 K 9/14

【誤訳訂正書】

【提出日】平成22年10月8日(2010.10.8)

【誤訳訂正1】

【訂正対象書類名】特許請求の範囲

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

ポリマーナノ粒子の乾燥粉末を調製するための方法であって、該方法は、

a) 極性液体又は少なくとも1種が極性である2種以上の混和性液体の混合液中の、少なくとも1種が2-アルケン酸、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ジヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸(1C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル又は2-アルケン酸ビニルエポキシ(1C乃至4C)アルキルである、有効量の1種のモノマー又は2種以上のモノマー及び有効量の界面活性剤を重合して複数種のポリマーナノ粒子の懸濁液を作製し、該ポリマーナノ粒子は平均直径が 1×10^{-6} m未満であるものとし、並びに

b) 該懸濁液から凝集させないように該液体を除去して該乾燥粉末中に残留する液体の量が重量で10%未満(但し、この百分率は該乾燥粉末の総重量に対するものである)となるようにすること

を含む方法。

【請求項2】

該ポリマーナノ粒子の平均直径が約1ナノメートル乃至約1マイクロメートル又は約20乃至約800ナノメートルであるか、並びに/或いはほぼ同じか又は異なる平均直径を有し、一種以上のモノマーから形成され、そして多分散性が狭いか又は広い請求項1の方法。

【請求項3】

工程a)が

1種以上の第1の作動物質を有効量で添加して第1作動物質含有液体を得、重合後、該第1作動物質含有液体の一部は該ポリマーナノ粒子によって封入されるものとすることをさらに含み、

工程b)が

1種以上の第2の作動物質を有効量で工程b)によって調製された該乾燥粉末に添加し、乾式混合して第2作動物質含有乾燥粉末を得、該第1作動物質は該第2作動物質と同一でも異なっていてもよいものとすることをさらに含む

請求項1または2の方法。

【請求項4】

工程a)が

1種の極性液体又は極性液体の混合液(但し、該1種の極性液体又は該2種以上の極性液体の少なくとも1種は1個以上のヒドロキシ基を含むものとする)中に1種のモノマー又は2種以上の異なるモノマー(但し、該1種のモノマー又は該2種以上のモノマーの少なくとも1種は1個以上のヒドロキシ及び/又は1個以上のエステル基を含むものとする)を含む重合系に0.01乃至10モルパーセントの界面活性剤を添加して該モノマーを重合することにより複数種のポリマーナノ粒子を形成し、該添加は架橋剤の非存在下に行うものとすることを含む請求項1~3のいずれか1項の方法。

【請求項5】

該モノマーが、2-アルケン酸、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ジヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸(1C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル及び2-アルケン酸ビニルエポキシ(1C乃至4C)アルキル並びにこれらの2種以上の組合せからなる群から選ばれる請求項1～4のいずれか1項の方法。

【請求項6】

該液体が水、メタノール、エタノール、イソプロピルアルコール、エチレングリコール、ジエチレングリコール、トリエチレングリコール、ポリエチレングリコール200乃至600、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、1,4-ブタンジオール、2,3-ブタンジオール、1,6-ヘキサンジオール、2,5-ヘキサンジオール、エチレングリコールモノメチルエーテル、エチレングリコールモノエチルエーテル、メチルセロソルブエーテル、モノ酢酸エチレングリコール、プロピレングリコールモノメチルエーテル、グリセリン、モノ酢酸グリセロール、クエン酸トリ(2-ヒドロキシエチル)、シウ酸ジ(ヒドロキシプロピル)、グリセリルジアセテート及びモノ酪酸グリセリルからなる群から選ばれる請求項1～5のいずれか1項の方法。

【請求項7】

工程a)が約0.1乃至約15%モルパーセントの架橋剤を添加することをさらに含む請求項1～6のいずれか1項の方法。

【請求項8】

該工程a)が重合前の該極性液体に有効封入量の1種以上の作動物質を添加して作動物質含有ポリマーナノ粒子を得ることをさらに含む請求項1～7のいずれか1項の方法。

【請求項9】

有効量の抗生物質化合物を重合前の該極性液体及び/又は工程b)によって調製された乾燥粉末に添加し、乾式混合することをさらに含む請求項1～8のいずれか1項の方法。

【請求項10】

該工程a)が

1種以上の第1の作動物質を有効量で添加して第1作動物質含有液体を得、重合後、該第1作動物質含有液体の一部は該ポリマーナノ粒子によって封入されるものとすることをさらに含み、

工程b)が

1種以上の第2の作動物質を有効量で工程b)によって調製された該乾燥粉末に添加し、乾式混合して第2作動物質含有乾燥粉末を得、該第1作動物質は該第2作動物質と同一でも異なっていてもよいものとすることをさらに含む

請求項1～9のいずれか1項の方法。

【請求項11】

工程b)が

1種以上の作動物質を該乾燥粉末に添加、混合して作動物質/乾燥粉末複合材料を得ることをさらに含む請求項1～10のいずれか1項の方法。

【請求項12】

該作動物質が、同一であっても異なっていてもよい1種以上の生物医学的作用物質を含み、該生物医学的作用物質が1種以上の組織・成長スキャフォールド材料；細胞又は血小板；1種以上の医薬品；1種以上の医薬用として許容可能な賦形剤；ペプチド、蛋白質；多糖；創傷の治療に有用である医薬品；癌の治療に有用である医薬品；抗生物質；疼痛の治療に有用である医薬品；感染の治療に有用である医薬品；眼疾患の治療に有用である医薬品；コラーゲン；ヒアルロン酸；増殖因子；エリスロマイシン；ドキシサイクリン；リファンピン；V E G F ポリペプチド；P D G F ポリペプチド；およびリドカインからなる群から選ばれる請求項10または11の方法。

【請求項 1 3】

該医薬用として許容可能な賦形剤が水溶性増量剤である請求項12の方法。

【請求項 1 4】

前記液体が噴霧乾燥又は凍結乾燥を含む過程によって除去される請求項1～13のいずれか1項の方法。

【請求項 1 5】

請求項1～14のいずれか1項に記載の方法によって調製される乾燥粉末。

【請求項 1 6】

湿性創傷部位をインサイツで治療するための医薬の調製における請求項15の乾燥粉末の使用。

【誤訳訂正 2】

【訂正対象書類名】明細書

【訂正対象項目名】全文

【訂正方法】変更

【訂正の内容】**【発明の詳細な説明】**

【発明の名称】インサイツで形成されるヒドロゲル創傷包帯および生体材料ならびにそれらの使用

【技術分野】**【0001】**

本発明は有機化学、物理化学、ポリマー化学、薬化学、医学及び材料科学の分野に関する。

【背景技術】**【0002】**

創傷包帯の主要機能は、最適な治癒環境をもたらすことにある。全ての創傷に適切な包帯はなく、創傷包帯の選択はその原因、感染の有無、創傷の種類及び大きさ、創傷の治癒段階、費用並びに患者の認容性によって決まる（非特許文献1）。Lawrence（非特許文献2）によれば、包帯材料は滅菌されていて、強く、吸収性で、保護性があり、安価であると共に、身体の外形に適合するべきである。それは、毒性がなく、低アレルギー性で、創傷に流入する恐れのある微粒子状材料を含むべきではない。また、それは、創傷に粘着させることなく除去することが容易であり、患者、看護スタッフなどに受け入れられる外観を有するべきである。

【0003】

創傷包帯は一次又は二次のいずれかに分類することができる。一次包帯は、直接創傷を覆うものである。これによって保護、支持及び吸収が提供され、乾燥及び感染が防止され、二次包帯の粘着性ベースとしての機能が果たされる。二次包帯では更なる支持、吸収、保護、圧迫及び閉鎖が提供される。二次包帯は圧迫包帯として機能する場合が多い。

【0004】

局所療法の基本的な目標は、組織に酸素及び血行を適切に供給し、回復期創傷を遮断、保護し、過剰な浸出液を除去して臨床感染をなくし、清潔で湿性の環境を維持し、完全な創傷閉鎖を得ることにあるが、こうした目標を達成するのに利用可能な多種多様な包帯がある。創傷が治癒段階を通じて経過するにつれて、いくつかの異なる種類の製品が必要となり得る。これらの製品としては、創傷を覆うゲルを形成するアルギネート、創傷部位を洗滌する洗浄剤、細胞移動を促進する非接着性被覆材コラーゲン、自己融解創面切除を促進する複合材料及び酵素創面切除用品、創傷内死腔を満たす浸出液吸収剤及び発泡体、感染を治療し抑制する薬物添加したガーゼ製品、痛みを低減し自己融解創面切除を促進するヒドロコロイド及びヒドロゲル、排液を捕集し収容するためのポーチ、皮膚シーラント並びに摩擦を減らし自己融解創面切除を促進する透明フィルムが挙げられる（非特許文献3）。これらの製品は種々の異なる段階の創傷の治療における特性を有するが、その全てに限界がある。例えば、アルギネートは創傷床の乾燥の原因になり得、悪臭を放ち得、第三

度熱傷及び外科的移植に対して乾燥焼痂存在下の使用は禁忌である。また、コラーゲン包帯は第三度熱傷及び壊死性の傷に使用することは禁忌である。ワセリンを含浸させることにより非接着性にされたガーゼ包帯は、取り外す際に新たな皮膚を引き剥がし、糸くずを創傷内に残す傾向をなしていいる。さらに、これは非吸収性である。ヒドロコロイド包帯は取り外すのが難しく、通常、この包帯の下に悪臭を放つ黄褐色の排膿液が溜まる。発泡体は、浸出液のない創傷又は乾燥焼痂を有する創傷には推奨されない。現在のヒドロゲル包帯は他の製品に比し、多くの利点を有するが、大量（80乃至90%）の水分を含むため、非吸収性であり、浸出液の多い創傷に用いることは推奨されず、かつ、単独で使用する場合、創傷に細菌が入るのを防げない。

【0005】

この概説は創傷及び各種治療法に関して示したものであり、ポリマーヒドロゲルについて詳細に説明することも、本発明がヒドロゲル創傷包帯及び生体材料に関連するので重要である。

【0006】

ゲルは液体を吸収して、非ゼロ剪断弾性率を有する安定で、通常柔らかくしなやかな組成物を形成する三次元のポリマー網目である。ゲルに吸収された液体が水である場合、このゲルはヒドロゲルと呼ばれる。水はヒドロゲルの大きな重量百分率を占めることができる。このことと、多くのヒドロゲル形成ポリマーが生物学的に不活性であるという事実によってヒドロゲルは多種多様な生物医学的用途において特に有用となっている。

【0007】

例えば、ヒドロゲルはソフトコンタクトレンズに広く用いられている。また、これは、ゲルマトリックスから放出されて治癒過程を促進することができる薬剤の含有の有無に関係なく、熱傷及び創傷包帯としても用いられている（例えば、特許文献1及び特許文献2参照）。ヒドロゲルは血液フィルタなどの医療用具の表面のぬれ性を改善する被覆剤として用いられてきた（特許文献3）。また、これは生物活性物質の持続放出のためのデバイスとしても利用してきた。例えば、特許文献4に親水性リザーバー型薬物送達デバイスを調製する方法が開示されている。この'515号特許では、ヒドロゲル皮下インプラントの水分含量を変えることによりその透過係数に直接影響を及ぼすことによって薬物放出速度を制御することができることを開示している。

【0008】

上記の応用の全てにおいて、ゲル又はヒドロゲルはバルク形態である、即ち、認識できる規則的な内部構造を持たない材料の形のない塊である。バルクヒドロゲルは、水が吸収されねばならない表面積に対して内部の容積が大きいために膨潤速度が遅い。さらに、吸収された水に溶解もしくは懸濁された物質は、これがゲルの表面に達するために移動しなければならない距離に応じた速度でゲルから拡散することになる。即ち、ヒドロゲルの表面近くの分子は急速に逸散するのに対し、マトリックス内より深くにある分子はゲルの外表面に到達するのにはるかに長い時間を要することになる。この状況は粒子状ゲルを用いることによってある程度改善することができる。各粒子が十分に小さければ、粒子内に分散した物質は表面に拡散し、ほぼ同時に放出されることになる。

【0009】

粒子状ゲルは、直接又は逆相乳化重合などの多くの手順によって形成させることができ（非特許文献4）、或いはこれは、バルクゲルから、このゲルを乾燥させた後、得られるキセロゲルを所望の大きさの粒子に粉碎することによって作製することができる。次いで、この粒子を再溶媒和化して粒子状ゲルを形成させることができる。こうした手段によって大きさが直径でマイクロ（ 10^{-6} ）メートル（m）乃至ナノ（ 10^{-9} m）の範囲の粒子を作製することができる。こうした大きさの範囲の粒子によって封入された物質の分子は全て粒子の外表面に達するための移動距離がほぼ同じであり、ほぼゼロ次放出速度を示すことになる。しかしながら、微粒子ゲルには問題がある。例えば、選択された標的部位への粒子の散布及びその部位における局在化を制御することが困難である。さらに、バルクヒドロゲルは形状維持性にすることにより種々の医学的用途において生

体材料として有用となっているが、現在入手可能な微粒子ゲルはそうしたものにできていない。

【0010】

同時係属の特許文献5にヒドロゲル粒子から形成され、従ってバルクヒドロゲルの形状維持性と粒子状ゲルの物質放出制御性とを併せ持つ形状維持性凝集体が開示されている。この'548出願には、ヒドロゲル粒子の水又は他の極性液体懸濁液を調製し、粒子が非共有結合物理的力によって結合された形状維持性凝集体として合体するまでその懸濁液を濃縮することを含む、形状維持性凝集体の形成方法が開示されている。このような物理的力としては疎水性／親水性相互作用及び水素結合が挙げられるが、これらに限定されるものではない。本発明のデバイスは、例えば、薬物送達インプラント、軟骨又は骨修復のための組織スキヤフォールド並びに成形可能薬物溶出性コンタクトレンズ及びカテーテルとして特に有用である。

【0011】

同時係属の特許文献6に、凝集体の形状が適用部位の形状によって決定されるように、インサイツ(in situ)で形状保持性凝集体を形成する方法が開示されている。凝集体の形成は、ゲル粒子の分散状態の維持を可能にするゼータ電位の絶対値を有するゲル粒子が極性液体、好ましくは水に分散された懸濁液を、そのゲル粒子のゼータ電位絶対値が低下する受入媒体中に導入することによって達成される。こうしたゲル粒子は、疎水性-親水性相互作用及び水素結合を含む非共有結合物理的力によって結合された形状維持性凝集体として合体する。用途としては、関節再建、創傷修復、インサイツで形成される薬物送達インプラント、美容整形及び再建手術などの生物医学的用途が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0012】

【特許文献1】米国特許第3,063,685号明細書

【特許文献2】米国特許第4,272,518号明細書

【特許文献3】米国特許第5,582,794号明細書

【特許文献4】米国特許第5,292,515号明細書

【特許文献5】米国特許出願公開第US2004/0086548号明細書

【特許文献6】米国特許出願公開第US2005/0118270号明細書

【非特許文献】

【0013】

【非特許文献1】Findlay D., Aust. Physician, 1994年; 23(5): p. 824-839

【非特許文献2】Lawrence, J.C., Injury, 1982年; 13: p. 500-512

【非特許文献3】Robert G. Smith, Wound Care Product Selection, U.S. Pharmacist, 4/2003

【非特許文献4】Landfester, et al., Macromolecules, 2000, 33: 2370

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0014】

発明の開示

本出願人らは、インサイツで直接創傷面において、及び他の用途のために包帯を形成し、インビボで湿体組織内部又はその表面において生体材料を形成する一体型形状適合性及び形状維持性凝集体について開示する。前者の用途では、上記ヒドロゲルナノ粒子粉末は、水分及び血清、フィブリン、白血球などの他の生体化合物で実質的に構成されている創傷からの血液又は浸出液を利用し、この極性液体を吸収し、疎水性-親水性相互作用及び

水素結合を含む非共有結合物理的力によって結合された、ナノ粒子と創傷液とがぎっしり詰まった網目状に合体する。これらの凝集体包帯は、水素結合など（これに限定されない）強い粒子間引力及び粒子と粒子間隙の液体との間の水素結合によってその特徴的な創傷適合性及び形状維持性を実現する。こうした凝集体包帯は創傷の治癒段階において一体型フィルムとして完全な状態を維持し、創傷がもはや湿性ではなく治癒が生じた場合にはがれ落ちる。後者の用途では、上記粉末はインビボで任意の体液を利用して前述と同じ力により結合された形状維持性凝集体生体材料を形成する。以下の説明では主にインサイツで形成される創傷包帯に焦点を当てるが、これによって幅広い医学的用途のためにインビボで形成させる生体材料に同じ性質を持たせ得ることが実現される。

【0015】

こうした包帯及び生体材料の1つの重要な特徴は、種々の生物学的作用物質及び／又は医薬品を、上記ナノ粒子粉末と活性物質又はその組合せとを混合し、直接創傷部位にこの混合物を適用するか又はインビボで湿体組織の内部又は表面にこの混合物を置くことによって容易に取り込ませることができることである。次いで、得られた包帯によって下にある創傷床に長期間治療用化合物が持続性に送達され、創傷の治療、管理及び最終的な治癒が促進され、及び／又は痛みが緩和される。熱傷、皮膚剥離、皮膚提供部位、パンチ生検、褥瘡、血管潰瘍など種々の浸出液のある創傷に対して治療的活性化合物を含有するか、含有しない保護的、非閉塞性、生体適合性、形状適合性、形状維持性包帯をインサイツで形成させることができることは、創傷の治療及び管理における主な前進である。こうした包帯は、創傷包帯が発揮すべきである理想的な属性の全てを有している、即ち、これらの非閉鎖性包帯がナノ粒子及び創傷浸出液で構成されているため多孔性であるので、下の組織に適切な酸素を供給し、外部の細菌から創傷を保護し、包帯の形成に際し創傷浸出液を利用することにより感染の可能性を排除し、これらがヒドロゲルであるので清潔で湿润な環境を維持し、完全な創傷閉鎖を達成する。

【0016】

従って、本発明は、極性液体又は少なくとも1種が極性である2種以上の混和性液体の混合液中の、有効量の、少なくとも1種が2-アルケン酸、2-アルケン酸ヒドロキシ（2C乃至4C）アルキル、2-アルケン酸ジヒドロキシ（2C乃至4C）アルキル、2-アルケン酸ヒドロキシ（2C乃至4C）アルコキシ（2C乃至4C）アルキル、2-アルケン酸（1C乃至4C）アルコキシ（2C乃至4C）アルコキシ（2C乃至4C）アルキル又は2-アルケン酸ビシリルエポキシ（1C乃至4C）アルキルである1種のモノマー又は2種以上のモノマー及び有効量の界面活性剤を重合して複数種のポリマーナノ粒子の懸濁液を作製し、上記ポリマーナノ粒子は平均直径が 1×10^{-6} m未満であるものとし、次いで、上記懸濁液から上記液体（類）を除去して上記乾燥粉末中に残留する液体（類）の量が重量で10%未満（但し、この百分率はこの乾燥粉末の総重量に対するものである）となるようにすることによる方法により調製されるポリマーナノ粒子の乾燥粉末を提供する。

【0017】

別の態様において、本発明は上記乾燥粉末を湿性創傷部位に適用することによりこの湿性創傷部位にインサイツで形状適合性、形状維持性凝集体包帯を形成させる方法を提供する。

【0018】

別の態様において、本発明は湿体組織に上記乾燥粉末を適用することによりこの湿体組織の内部又は表面にインビボで形状適合性、形状維持性凝集体生体材料を形成させる方法を提供する。

【0019】

別の態様において、本発明は、創傷の治療方法であって、有効量の上記乾燥粉末を適用することを含む方法を提供する。

本発明の好ましい実施形態では、例えば以下が提供される：

（項目1）

極性液体又は少なくとも 1 種が極性である 2 種以上の混和性液体の混合液中の、少なくとも 1 種が 2 - アルケン酸、2 - アルケン酸ヒドロキシ(2 C 乃至 4 C)アルキル、2 - アルケン酸ジヒドロキシ(2 C 乃至 4 C)アルキル、2 - アルケン酸ヒドロキシ(2 C 乃至 4 C)アルコキシ(2 C 乃至 4 C)アルキル、2 - アルケン酸(1 C 乃至 4 C)アルコキシ(2 C 乃至 4 C)アルコキシ(2 C 乃至 4 C)アルキル又は 2 - アルケン酸ビシニルエポキシ(1 C 乃至 4 C)アルキルである、有効量の 1 種のモノマー又は 2 種以上のモノマー及び有効量の界面活性剤を重合して複数種のポリマーナノ粒子の懸濁液を作製し、該ポリマーナノ粒子は平均直径が 1×10^{-6} m 未満であるものとし、並びに

該懸濁液から該液体を除去して該乾燥粉末中に残留する液体の量が重量で 10 % 未満(但し、この百分率は該乾燥粉末の総重量に対するものである)となるようにすることを含む方法により調製されるポリマーナノ粒子の乾燥粉末。

(項目 2)

該ポリマーナノ粒子の平均直径が約 1 ナノメートル乃至約 1 マイクロメートルである項目 1 の乾燥粉末。

(項目 3)

該ポリマーナノ粒子の平均直径が約 20 乃至約 800 ナノメートルである項目 1 の乾燥粉末。

(項目 4)

該懸濁液中の該ポリマーナノ粒子の濃度が 5 乃至 20 % である場合、該懸濁液中の該ポリマーナノ粒子が集合体として存在する項目 1 の乾燥粉末。

(項目 5)

該ポリマーナノ粒子がほぼ同じ平均直径を有し、1 種以上のモノマーから形成され、多分散性が狭い項目 1 の乾燥粉末。

(項目 6)

該ポリマーナノ粒子が異なる平均直径を有し、1 種以上のモノマーから形成され、多分散性が狭い項目 1 の乾燥粉末。

(項目 7)

該ポリマーナノ粒子が 1 種以上のモノマーから形成され、多分散性が広い項目 1 の乾燥粉末。

(項目 8)

工程 a) が

1 種以上の第 1 の作動物質を有効量で添加して第 1 作動物質含有液体を得、重合後、該第 1 作動物質含有液体の一部は該ポリマーナノ粒子によって封入されるものとすることをさらに含み、

工程 b) が

1 種以上の第 2 の作動物質を有効量で該乾燥ポリマーナノ粒子に添加し、乾式混合して第 2 作動物質含有微粒子粉末を得、該第 1 作動物質は該第 2 作動物質と同一でも異なっていてもよいものとすることをさらに含む

項目 1 の乾燥粉末。

(項目 9)

工程 a) が

1 種の極性液体又は極性液体の混合液(但し、該 1 種の極性液体又は該 2 種以上の極性液体の少なくとも 1 種は 1 個以上のヒドロキシ基を含むものとする)中に 1 種のモノマー又は 2 種以上の異なるモノマー(但し、該 1 種のモノマー又は該 2 種以上のモノマーの少なくとも 1 種は 1 個以上のヒドロキシ及び / 又は 1 個以上のエステル基を含むものとする)を含む重合系に 0.01 乃至 10 モルパーセントの界面活性剤を添加して該モノマーを重合することにより複数種のポリマーナノ粒子を形成し、該添加は架橋剤の非存在下に行うものとすることを含む項目 1 の乾燥粉末。

(項目 10)

該モノマーが、2 - アルケン酸、2 - アルケン酸ヒドロキシ(2 C 乃至 4 C)アルキル

、2-アルケン酸ジヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸(1C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル及び2-アルケン酸ビシニルエポキシ(1C乃至4C)アルキル並びにこれらの2種以上の組合せからなる群から選ばれる項目9の乾燥粉末。

(項目11)

該モノマーが、アクリル酸、メタクリル酸、アクリル酸2-ヒドロキシエチル、メタクリル酸2-ヒドロキシエチル、モノアクリル酸ジエチレングリコール、モノメタクリル酸ジエチレングリコール、アクリル酸2-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸2-ヒドロキシプロピル、アクリル酸3-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸3-ヒドロキシプロピル、モノアクリル酸ジプロピレングリコール、モノメタクリル酸ジプロピレングリコール、メタクリル酸2,3-ジヒドロキシプロピル、アクリル酸グリシジル、メタクリル酸グリシジル及びこれらの2種以上の組合せからなる群から選ばれる項目10の乾燥粉末。

(項目12)

該モノマーがメタクリル酸、メタクリル酸2-ヒドロキシエチル、メタクリル酸2-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸3-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸グリセロール及びこれらの2種以上の組合せからなる群から選ばれる項目11の乾燥粉末。

(項目13)

液体が(1C乃至10C)アルコール、(2C乃至8C)ポリオール、(2C乃至8C)ポリオールの(1C乃至4C)アルキルエーテル、(2C乃至8C)ポリオールの(1C乃至4C)酸エステル、ヒドロキシ末端ポリエチレンオキサイド、ポリアルキレングリコール、及びモノ-,ジ-又はトリカルボン酸のヒドロキシ(2C乃至4C)アルキルエステルからなる群から選ばれる項目12の乾燥粉末。

(項目14)

該液体が水、メタノール、エタノール、イソプロピルアルコール、エチレングリコール、ジエチレングリコール、トリエチレングリコール、ポリエチレングリコール200乃至600、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、1,4-ブタンジオール、2,3-ブタンジオール、1,6-ヘキサンジオール、2,5-ヘキサンジオール、エチレングリコールモノメチルエーテル、エチレングリコールモノエチルエーテル、メチルセロソルブエーテル、モノ酢酸エチレングリコール、プロピレングリコールモノメチルエーテル、グリセリン、モノ酢酸グリセロール、クエン酸トリ(2-ヒドロキシエチル)、シウ酸ジ(ヒドロキシプロピル)、グリセリルジアセテート及びモノ酪酸グリセリルからなる群から選ばれる項目13の乾燥粉末。

(項目15)

該液体が水である項目14の乾燥粉末。

(項目16)

工程a)が約0.1乃至約15%モルパーセントの架橋剤を添加することをさらに含む項目1の乾燥粉末。

(項目17)

該架橋剤がジアクリル酸エチレングリコール、ジメタクリル酸エチレングリコール、ジメタクリル酸1,4-ジヒドロキシブタン、ジメタクリル酸ジエチレングリコール、ジメタクリル酸プロピレングリコール、ジメタクリル酸ジエチレングリコール、ジメタクリル酸ジプロピレングリコール、ジアクリル酸ジエチレングリコール、ジアクリル酸ジプロピレングリコール、ジビニルベンゼン、ジビニルトルエン、酒石酸ジアリル、リンゴ酸ジアリル、酒石酸ジビニル、トリアリルメラミン、N,N'-メチレンビスアクリルアミド、マレイン酸ジアリル、ジビニルエーテル、クエン酸1,3-ジアリル2-(2-ヒドロキシエチル)、クエン酸ビニルアリル、マレイン酸アリルビニル、イタコン酸ジアリル、イタコン酸ジ(2-ヒドロキシエチル)、ジビニルスルホン、ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアリルトリアジン、亜リン酸トリアリル、ベンゼンホスホン酸ジアリル、アコニット酸トリアリル、シトラコン酸ジビニル、トリメタクリル酸トリメチロールプロパン及びフ

マル酸ジアリルからなる群から選ばれる項目 16 の乾燥粉末。

(項目 18)

該架橋ポリマーナノ粒子が約 3,000 乃至約 2,000,000 の平均分子量を有する項目 17 の乾燥粉末。

(項目 19)

該工程 a) が該極性液体に有効封入量の 1 種以上の作動物質を添加した後に重合して作動物質含有ポリマーナノ粒子を得ることをさらに含む項目 9 の乾燥粉末。

(項目 20)

該有効量の該作動物質含有ポリマーナノ粒子が約 0.1 乃至約 90 重量パーセントの作動物質含有液体を封入する項目 19 の乾燥粉末。

(項目 21)

該工程 a) が

1 種以上の第 1 の作動物質を有効量で添加して第 1 作動物質含有液体を得、重合後、該第 1 作動物質含有液体の一部は該ポリマーナノ粒子によって封入されるものとすることをさらに含み、

工程 b) が

1 種以上の第 2 の作動物質を有効量で該乾燥ポリマーナノ粒子に添加し、乾式混合して第 2 作動物質含有微粒子粉末を得、該第 1 作動物質は該第 2 作動物質と同一でも異なっていてもよいものとすることをさらに含む

項目 9 の乾燥粉末。

(項目 22)

0.1 乃至 90 重量パーセントの該第 1 作動物質が該複数種のポリマーナノ粒子によつて封入され、そして

0.1 乃至 90 重量パーセントの前記第 2 作動物質が該ナノ粒子間に取り込まれる

項目 21 の乾燥粉末。

(項目 23)

工程 b) が

1 種以上の作動物質を前記乾燥粉末に添加、混合して作動物質 / 微粒子粉末複合材料を得ること

をさらに含む項目 1 の乾燥粉末。

(項目 24)

該作動物質 / 微粒子粉末複合材料が、約 1 乃至約 90 重量パーセントの作動物質を含有する項目 23 の乾燥粉末。

(項目 25)

該作動物質が、同一であっても異なっていてもよい 1 種以上の生物医学的作用物質を含む項目 20 の乾燥粉末。

(項目 26)

該生物医学的作用物質が 1 種以上の組織 - 成長スキャフォールド材料を含む項目 25 の乾燥粉末。

(項目 27)

1 種以上の該生物医学的作用物質が細胞又は血小板を含む項目 25 の乾燥粉末。

(項目 28)

1 種以上の該生物医学的作用物質が 1 種以上の医薬品を含む項目 25 の乾燥粉末。

(項目 29)

該医薬品が 1 種以上の医薬用として許容可能な賦形剤を含む項目 28 の乾燥粉末。

(項目 30)

該医薬品がペプチド、蛋白質又は多糖を含む項目 28 の乾燥粉末。

(項目 31)

該医薬品が創傷の治療に有用である項目 30 の乾燥粉末。

(項目 32)

該医薬品が癌の治療に有用である項目 28 の乾燥粉末。

(項目 33)

該医薬品が疼痛の治療に有用である項目 28 の乾燥粉末。

(項目 34)

該医薬品が感染の治療に有用である項目 28 の乾燥粉末。

(項目 35)

該医薬品が眼疾患の治療に有用である項目 28 の乾燥粉末。

(項目 36)

該医薬品が増殖因子である項目 28 の乾燥粉末。

(項目 37)

1種以上の医薬用として許容可能な賦形剤をさらに含む項目 1 の乾燥粉末。

(項目 38)

1種以上の医薬用として許容可能な賦形剤が該乾燥粉末の約 1 乃至約 50 重量パーセントである項目 37 の乾燥粉末。

(項目 39)

該医薬用として許容可能な賦形剤が水溶性增量剤である項目 37 の乾燥粉末。

(項目 40)

湿性創傷部位にインサイツで形状適合性、形状維持性凝集体包帯を形成させる方法であって、該湿性創傷部位に項目 1 の乾燥粉末を適用することを含む方法。

(項目 41)

湿体組織内部又は湿体組織上にインビボで形状適合性、形状維持性凝集体生体材料を形成させる方法であって、該湿体組織上に項目 1 の乾燥粉末を適用することを含む方法。

(項目 42)

創傷の治療方法であって、有効量の項目 1 の乾燥粉末を適用することを含む方法。

(項目 43)

該乾燥粉末が有効量の 1種以上の組織・成長スキャフォールド材料をさらに含む項目 42 の方法。

(項目 44)

該乾燥粉末が有効量のコラーゲンをさらに含む項目 43 の方法。

(項目 45)

該乾燥粉末が有効量のヒアルロン酸をさらに含む項目 43 の方法。

(項目 46)

該乾燥粉末が有効量の医薬品をさらに含む項目 42 の方法。

(項目 47)

該医薬品が創傷治療、癌治療、疼痛治療、眼疾患治療に有用な医薬品、増殖因子及び抗生物質である医薬品からなる群から選ばれる項目 46 の方法。

(項目 48)

該医薬品がリドカインである項目 47 の方法。

(項目 49)

該医薬品がエリスロマイシンである項目 47 の方法。

(項目 50)

該医薬品類がドキシサイクリン及びリファンピンである項目 47 の方法。

(項目 51)

該医薬品類が VEGF ポリペプチド及び / 又は PDGF ポリペプチドを含む項目 47 の方法。

【図面の簡単な説明】

【0020】

【図 1】ヒドロゲルナノ粒子粉末、リン酸緩衝生理食塩水に適用されたこの粉末及びこの粉末が水和した後に得られた凝集体フィルムを示す写真である。

【図 2】リン酸緩衝生理食塩水に適用された 500 mg のナノ粒子粉末から形成された凝

集団の相対質量及び一定の温度及び湿度におけるその凝集体の経時的な質量変化を示すプロットである。これらの凝集体は異なる化学組成を有した。

【図3】pHEMA及びHEMAとGMAとのコポリマーから構成されるナノ粒子凝集体熱傷包帯からのリドカインの放出を示すプロットである。

【図4】pHEMA及びHEMAとGMAとのコポリマーから構成されるナノ粒子凝集体熱傷包帯からのエリスロマイシンの放出を示すプロットである。

【図5】異なる直径を有するpHEMA及びpHPMA粒子の混合物から構成されるナノ粒子粉末からの1,10-フェナントロリンの放出を示すプロットである。

【図6】ドキシサイクリン及びリファンピンを含有させたナノ粒子凝集体によるペトリ皿上の黄色ブドウ球菌の抑制を示す。

【図7】抗生素質を何も含有しない对照ナノ粒子凝集体によるペトリ皿上の黄色ブドウ球菌の抑制を示す。

【図8】ドキシサイクリン及びリファンピンを含有させたナノ粒子凝集体による菌株綠膿菌、黄色ブドウ球菌及び大便連鎖球菌の抑制を市販の銀系抗生素質含浸包帯との比較での経時的なプロットを示す。

【図9】ブタのモデルの全層創傷に適用されているナノ粒子粉末を示す。

【図10】ブタモデルの皮膚移植片提供部位に適用したナノ粒子粉末及び市販ヒドロゲル包帯を経時的治癒とともに示す。

【図11】血小板由来増殖因子を含有するナノ粒子凝集体及び増殖因子を含有しない对照凝集体で治療された創傷の組織構造を示す。

【図12】血管内皮増殖因子を含有するナノ粒子凝集体及び増殖因子を含有しない对照凝集体で治療された創傷の組織構造を示す。

【図13】血小板由来増殖因子と血管内皮増殖因子との組合せを含有するナノ粒子凝集体及び増殖因子を含有しない对照凝集体で治療された創傷の組織像を示す。

【発明を実施するための形態】

【0021】

表1は、コポリマーからなるヒドロゲルナノ粒子を形成させるために用いた質量及びミリモル単位のHEMA及びHPMAモノマーの比率を示す。

【0022】

表2は、コポリマーからなるヒドロゲルナノ粒子を形成させるために用いたHEMA及びGMAモノマーの比率を示す。

【0023】

表3は、種々の化学組成を有するナノ粒子で形成された凝集体の相対的伸び及び破断張力(tension at failure)を示す。

【0024】

表4は、1,1-フェナントロリンの制御放出のための異なる化学組成を有するナノ粒子の混合物の凝集体を形成させるのに用いたナノ粒子の大きさを示す。

【0025】

発明を実施するための形態

定義

本明細書で用いている「含む(comprising)」という用語は、その組成物及び方法には列挙された要素が含まれるが、他の要素も除外されないことを意味するものである。組成物及び方法を定義するために用いる場合の「本質的に～からなる(consisting essentially of)」は、その組合せに本質的に重要な他の要素を除外することを意味するものとする。従って、本質的に本明細書で定義した要素からなる組成物では、その単離及び精製方法からの微量混入物並びにリン酸緩衝生理食塩水、防腐剤などの医薬用として許容可能な担体は除外されることになる。「からなる(consisting of)」とは、他の成分及び本発明の組成物を投与する実質的な方法工程の僅少を超える要素を除外することを意味するものとする。これらの移行部の用語(transition term)のそれぞれによって限定される実施態様は本発明の範

囲内にある。

【0026】

範囲を含むすべての数字表示、例えば、pH、温度、時間、濃度及び分子量は、0.1ずつ(+)又は(-)に変動する近似値である。従って、必ずしも明確には記載されていないが、すべての数字表示には「約」という用語が前に付くことを理解すべきである。また、必ずしも明確には記載されていないが、本明細書に記載した試薬は単に例示的なものであること、及びそのようなものの均等物は当該分野では公知であることを理解すべきである。

【0027】

本明細書で用いている「ゲル」という用語は、それ自体特定の液体に不溶性であるが、その液体を大量に吸収し保持することにより安定で、多くの場合柔らかくてしなやかであるが、常に程度の差こそあれ形状維持性である構造を形成することができる三次元ポリマー構造のことを意味する。上記液体が水である場合、このゲルはヒドロゲルと称する。特に明確に断らない限り、「ゲル」という用語は、本願全体を通して、水以外の液体を吸収したポリマー構造及び水を吸収したポリマー構造の両方を指して用いるが、このポリマー構造が単に「ゲル」であるのかそれとも「ヒドロゲル」であるのかは文脈から当業者には容易に理解されよう。

【0028】

本明細書で用いている「極性液体」という用語は、化学分野の当業者に一般に理解されている意味を有する。つまり、極性液体とは、電子がその分子の原子間で不均一に分布し、従って電気双極子を生じる液体である。極性であるためには、分子は、その分子内に他の原子よりも電気陰性の原子を少なくとも1個含有していなければならない。極性液体の例としては、酸素原子が部分負電荷を有し、水素原子が部分正電荷を有する水、及びO-H部分が同様に分極されるアルコールが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0029】

本明細書で用いている「ゲル粒子」は、不連続形状、通常球状又は実質的にそうであるが必ずしもそうとは限らない微量又は超微量のゲルのことを意味する。本明細書で用いている「ゲル粒子」は、親水性 / 疎水性相互作用、水素結合などの非共有結合物理的力によって結合された個々の粒子の小さな集合体であって、これを含有するゲル粒子懸濁液（懸濁系）の安定性又は本発明の方法におけるこのナノ粒子粉末の働きに悪影響を与えない集合体を包含する。この集合体は、懸濁時及びナノ粒子分離のための乾燥段階におけるゲル粒子の濃度変化から生じる。即ち、濃度が高くなるほど、個々の粒子が、非共有結合力によって合体するのに十分互いに接近する可能性は高くなる。

【0030】

本明細書で用いている「懸濁液」とは、固体をこの固体が可溶性でない液体に均一に分布させた安定な分散液のことをいう。この液体に界面活性剤を添加して分散液の安定化を補うことができる。本明細書で用いている「懸濁系」とは、本発明のゲル粒子が上記の分散させる固体である懸濁液のことをいう。「安定な」とは、上記固体が、限定されない例として挙げられる遠心分離又は濾過などの外部からの妨害的な力を受けない限り、少なくとも24時間均一に分散された状態を維持することを意味する。

【0031】

本明細書で用いている「界面活性剤」は、化学分野の当業者に一般に理解されている意味を有する。即ち、界面活性剤とは、電荷が陰イオン性、陽イオン性、双性イオン性、両性又は中性であってもよく、これが溶解される液体の表面張力を低下させるか、2液体間もしくは液体と固体との間の界面張力を低下させる可溶性化合物である。

【0032】

本明細書で用いている「形状適合性及び形状維持性凝集体」という用語は、限定されない例として挙げられる親水性 / 疎水性相互作用及び水素結合などの粒子間及び粒子 - 液体間の力によって結合された多数のゲル粒子から構成される、湿性創傷面にインサイツで形

成された構造又は湿体組織の表面もしくは内部にインビボで形成された生体材料であって、その構造が、水和された状態を維持している限り、いつまでも維持されるものを意味する。

【0033】

本明細書で用いている「モノマー」という用語は、化学分野の当業者に理解されている意味を有する。即ち、モノマーとは、それ自体の繰り返し単位の高分子、即ち、ポリマーを形成することができる低分子化合物である。2種以上の異なるモノマーが反応することによって、これらのモノマーがそれぞれ多数回繰り返されるポリマーを形成することもあり、このポリマーは、2種以上のモノマーで構成されているという事実を反映させてコポリマーと呼ばれる。

【0034】

本明細書で用いている、本発明のゲル粒子を説明するために用いている場合の「大きさ」という用語は、基本的に球状の粒子について、当然この粒子の容積に直接関係する直径によって表されるその容積を意味する。複数のゲル粒子に言及する場合、大きさは、複数種のそうした粒子について、それらの平均直径によって表されるそれらの平均容積に関係する。

【0035】

本明細書で用いている「多分散性 (polydispersity)」という用語は、懸濁系における上記粒子の大きさの範囲のことを指す。「狭い多分散性」とは、直径で表される個々の粒子の大きさが懸濁系においてこれらの粒子の平均直径から10%以下外れる懸濁系のことを指す。懸濁系における2種以上の複数種の粒子がいずれも狭い多分散性を有すると記載されている場合、その意味は、2組の異なる粒子が存在し、各組の粒子の直径がその組の粒子の平均直径から10%以下だけ逸脱すると共にこれら2つの平均値ははっきりと異なるということである。そのような懸濁系の1つの例を挙げれば、各粒子の直径が20nm±10%である第1の組の粒子及び各粒子の直径が40nm±10%である第2の組の粒子を含む系があるが、これに限定されるものではない。

【0036】

本明細書で用いている「広い多分散性」という用語は、ある組の個々の粒子の大きさがその組の粒子の平均の大きさから10%を超えて逸脱する懸濁系のことを指す。

【0037】

本明細書で用いている「複数」という用語は、単に、1を超える数、即ち、2以上を意味する。

【0038】

本明細書で用いている「化学組成」とは、これが本発明のゲル粒子に関する場合、重合することにより上記粒子のポリマー鎖が得られるモノマーの化学組成、2種以上のモノマーを用いて上記粒子のポリマー鎖を調製する場合には各種モノマーの化学組成及び比率、及び／又は粒子鎖を相互に連結させるために用いられる任意の架橋剤（類）の化学組成及び量のことを指す。

【0039】

本明細書で用いている「粒子鎖」とは、单一のポリマー分子、又はこの鎖が存在する上記系が架橋剤を含有する場合には2個以上の相互に連結させたポリマー分子を意味する。架橋されるポリマー鎖の平均数及び特定のゲル粒子内の任意の2本のポリマー鎖間の平均架橋数はこの系中の架橋剤の量及びポリマー鎖の濃度によって決まることになる。

【0040】

本明細書で用いている「作動物質」とは、ゲル粒子に封入させた(occluded)、又は本発明の形状維持性凝集体包帯もしくは生体材料中に取り込ませた(entrapped
ped)任意の物質のことを指す。作動物質の例としては、生物医学的作用物質及び医薬品、遺伝子、蛋白質、ペプチド、多糖、増殖因子(成長因子)(growth factor)、モノクロナール抗体、断片化抗体、抗原、ポリペプチド、DNA、RNA、リボザイムなどの生物活性物質が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0041】

本明細書で用いている「医薬品（pharmaceutical agent）」という語句は、薬として用いられる低分子及び高分子化合物の両方を意味する。前者には抗生素、化学療法剤（特に、白金化合物及びタキソールとその誘導体）、鎮痛剤、抗うつ剤、抗アレルギー剤、アンチアリシクス（anti-arrythmics）、抗炎症性化合物、中枢神経系興奮薬、鎮静剤、抗コリン作用剤、抗動脈硬化剤などがあるが、これに限定されるものではない。高分子化合物としては、モノクロナール抗体（mAb）、Fab、蛋白質、ペプチド、細胞、抗原、核酸、酵素、増殖因子が挙げられるが、これらに限定されるものではない。医薬品は局所又は全身性使用を目的とすることができる。

【0042】

本明細書で用いている「ヒドロキシ」は-OH基を意味している。

【0043】

本明細書で用いている「アルキル」という用語は、直鎖又は分枝鎖の飽和脂肪族炭化水素、即ち、炭素及び水素のみからなる化合物のことを指す。炭素原子を何個含有するかという点から観たアルキルの大きさは式（“a”C乃至“b”C）アルキル（式中、a及びbは整数である）によって示される。例えば、（1C乃至4C）アルキルとは、1、2、3又は4個の炭素原子からなる直鎖又は分枝鎖のアルキルを意味する。アルキル基は置換されていても置換されていなくてもよい。

【0044】

本明細書で用いている「アルコキシ」という用語は、基-O-アルキル（但し、アルキルは本明細書で定義したとおりである）のことを指す。炭素原子を何個含有するかという点から観たアルコキシの大きさは式（“a”C乃至“b”C）アルコキシ（式中、a及びbは整数である）によって示される。例えば、（1C乃至4C）アルコキシとは、1、2、3又は4個の炭素原子からなる直鎖又は分枝鎖の-O-アルキルを意味する。アルコキシ基は置換されていても置換されていなくてもよい。

【0045】

本明細書で用いている「エステル」とは、基-C(=O)O-アルキル（但し、アルキルは本明細書で定義したとおりである）のことを指す。

【0046】

本明細書で用いている「エーテル」とは、基アルキル-O-アルキル（但し、アルキルは本明細書で定義したとおりである）のことを指す。

【0047】

本明細書で用いている「2-アルケン酸」とは、基(R¹)(R²)C=C(R³)-C(=O)OH（但し、R¹、R²、R³はそれぞれ独立に水素及びアルキル（但し、アルキルは本明細書で定義したとおりである）から選ばれる）のことを指す。これらの2-アルケン酸は、例えば、アクリル酸、メタクリル酸などによって例示される。

【0048】

本明細書で用いている「2-アルケン酸エステル」とは、基(R¹)(R²)C=C(R³)-C(=O)O-アルキル（但し、R¹、R²、R³はそれぞれ独立に水素及びアルキル（但し、アルキルは本明細書で定義したとおりである）から選ばれる）のことを指す。

【0049】

本明細書で用いている「ヒドロゲルナノ粒子間の間隙」又は「ナノ粒子間」という語句は、基本的に球状のゲル粒子同士が、本発明の形状維持性凝集体包帯を形成する際にこれらの周縁で接触する場合に生じる空間のことを指す。これらの間隙の容積は、これらの球体が狭い多分散性を有し、最密充填配置で詰まっている場合、球体の平均半径の0.414倍と近似することができる。

【0050】

本明細書で用いている「架橋剤」とは、ポリマー鎖の官能基と共有結合を形成することにより三次元構造をもたらすことができる2、3又は4官能性化学物質のことを指す。

【0051】

「水素結合」とは、高度に電気陰性の原子に共有結合した水素分子と少なくとも1対の孤立電子対を有する別の電気陰性原子との間の静電引力を意味する。水素結合の強度約23kJ(キロジュール)mol⁻¹は、共有結合の強度約500kJmol⁻¹とファンデルワールス引力の強度約1.3kJmol⁻¹との間にある。水素結合はこれを形成することができる組成物の物理的特性に著しい影響を与える。例えば、エタノールは、非共有電子対(即ち、孤立電子対)をも有する酸素原子に共有結合した水素原子を有し、従って、エタノールはこれ自体と水素結合することができる。エタノールは78の沸点を有する。一般に、分子量が同様である化合物同士は同様な沸点を有すると考えられている。しかしながら、エタノールと正確に同じ分子量を有するが、それ自体の分子間で水素結合を形成することができないジメチルエーテルの沸点は-24であり、エタノールよりもほぼ100度低い。エタノール分子間に存在する水素結合によってエタノールはあたかも大幅により大きな分子量を有するかのように挙動する。

【0052】

本明細書で用いている「賦形剤」とは、医薬組成物に添加してその投与を容易にするための不活性物質を意味する。賦形剤の例としては、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、各種糖、各種澱粉、水溶性ポリマー、セルロース誘導体、ゼラチン、植物油及びポリエチレングリコールが挙げられるが、これらに限定されるものではない。「医薬用として許容可能な賦形剤」とは、生体に対して著しい刺激を引き起こさず、投与化合物の生物活性及び特性を無効にしない賦形剤を意味する。

【0053】

本明細書で用いている「～の治療に有用な」という語句は、医薬品が、適応となる疾患の病因因子を直接又は間接的に抑制し、好ましくは消滅又は不活化させ、或いはその疾患の症状を少なくとも改善し、好ましくは除去することが知られていることを意味する。創傷治癒に関しては、医薬品が創傷閉鎖までの期間を少なくとも短縮することが知られていることである。

【0054】

本明細書で用いている「癌」という用語は、悪性新生物のことを指し、この悪性新生物は、次には分裂可能な細胞から構成されるほとんど全ての組織において生じ得る多くのグループの疾患に関する。癌の基本的な特性は、増殖及び機能に対する制御の低下の形で現われる伝播性細胞異常であり、この異常により浸潤性増殖及び転移を介して宿主に深刻な生命にかかる影響がもたらされる。

【0055】

本明細書で用いている「眼疾患」とは、目が適切に機能しないことにより視覚が冒される疾患を意味する。眼疾患の例としては、緑内障、黄斑変性症、糖尿病性網膜症及び白内障が挙げられるが、これらに限定されるものではない。眼疾患の治療に有用な医薬品の例としては、抗炎症剤、抗生物質、抗菌剤及び眼圧低下剤が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0056】

本明細書で用いている「感染」とは、限定されない例として挙げられる細菌、ウイルス、ブリオン、真菌、アメーバ、原生動物などの微生物により引き起こされる病状のことを指す。感染の治療に有用な医薬品の例としては、抗菌剤、抗生物質及び静菌剤が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0057】

本発明の形状維持性凝集体包帯又は生体材料を、本明細書の開示内容を利用して操作することにより、上記疾患のいずれかの治療及び/又は予防に有効であると当業者に現在知られている、又は知られるようになる可能性があるほとんど全ての医薬品を封入及び/又は取り込ませることが可能になり、このような医薬品は全て本発明の範囲内にある。

【0058】

本明細書で用いている「約」という用語は、この用語で修飾された値の±15%を意味

する。

【0059】

本明細書で用いている「インไซツ(i n s i t u)」という用語は、哺乳動物、特にヒトの体の表面又は内部の適所に直接創傷包帯を形成する過程又は手順のことを指す。

【0060】

本明細書で用いている「生体材料」という用語は、哺乳動物、特にヒトの湿性創傷組織にインビボでヒドロゲルナノ粒子粉末を導入した場合に形成される形状維持性及び形状適合性材料のことを指す。

【0061】

本明細書で用いている「親水性／疎水性相互作用」という用語は、親水性化合物又は化合物の親水性領域が他の親水性化合物又は化合物の親水性領域と結合しやすくし、疎水性化合物又は化合物の疎水性領域が他の疎水性化合物又は化合物の疎水性領域と結合しやすくする物理的力による化学物質の分子間又は分子内結合のことを指す。

【0062】

本明細書で用いている「封入する(o c c l u d e)」という用語は、化学分野の当業者に一般に理解されている意味を有する、即ち、ある期間にわたって物質を吸収し、保持することを意味する。本発明に関しては、物質は、本発明のゲル粒子によってその形成過程で吸収させ保持させる、即ち、封入させることができる。

【0063】

本明細書で用いている「取り込ませた(e n t r a p p e d)」という用語は、本発明の形状維持性凝集体包帯又は生体材料を構成するゲル粒子間の間隙に物質をある期間保持させることを意味する。

【0064】

本明細書で用いている「平均分子量」という用語は、本発明の個々のポリマー鎖又は架橋ポリマー鎖の重量のことを指す。本発明では、平均分子量はレーザ光散乱検出法を用い、ゲル透過クロマトグラフィーにより求める。

【0065】

本明細書で用いている「増殖因子」とは、細胞表面の増殖因子受容体に結合した時に細胞が大型化し、分裂するのを促進する特定のポリペプチドのことを指す。増殖因子受容体は各増殖因子に特異的であるため、特定の増殖因子に対する的確な受容体を発現する細胞のみがその増殖因子によって刺激されることになる。増殖因子の例としては、血管内皮増殖因子(V E G F : v a s c u l a r e n d o t h e l i a l g r o w t h f a c t o r)、インシュリン様増殖因子(I G F : i n s u l i n - l i k e g r o w t h f a c t o r)、纖維芽細胞増殖因子(F G F : f i b r o b l a s t g r o w t h f a c t o r)、上皮増殖因子(E G F : e p i d e r m a l g r o w t h f a c t o r)、肝細胞増殖因子(H G F : h e p a t o c y t e g r o w t h f a c t o r)及び血小板由来増殖因子(P D G F : p l a t e l e t - d e r i v e d g r o w t h f a c t o r)が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0066】

本明細書で用いている「組織スキヤフォールド」とは、外傷又は疾患により欠損した組織を再生するために細胞が付着して増殖し得る骨組みとしてインビボで用いられる高度に多孔性で人工的な三次元細胞外マトリックスを意味する。

【0067】

本明細書で用いている「湿性創傷」とは、血液又は浸出液であり得る流体(f l u i d)が創傷部位から出ている任意の創傷のことを指す。

【0068】

本明細書で用いている「体液」とは、哺乳動物、好ましくはヒトの体組織に存在する任意の液体のことを指す。

【0069】

本明細書で用いている「浸出液」とは、水分及び白血球、フィブリン、血清などの他の

生物学的材料から実質的に構成されている、創傷部位に存在する流体のことを指す。

【0070】

本明細書で用いている「作動物質／粒子状粉末複合材料」とは、前記ナノ粒子乾燥粉末と任意の作動物質及び／又は医薬用賦形剤との混合物のことを指す。

実施態様

本発明はポリマーナノ粒子の乾燥粉末；湿性創傷部位にインサイツで形状適合性、形状維持性凝集体包帯を形成する方法；湿体組織の内部又は表面にインビボで形状適合性、形状維持性凝集体生体材料を形成する方法；及び創傷の治療における上記乾燥粉末の使用を提供する。これらに加え更なる実施態様についても以下で詳細に説明する。

【0071】

一実施態様において、本発明は、極性液体又は少なくとも1種が極性である2種以上の混和性液体の混合液中の、有効量の、少なくとも1種が2-アルケン酸、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ジヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸(1C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル又は2-アルケン酸ビニルエポキシ(1C乃至4C)アルキルである1種のモノマー又は2種以上のモノマー及び有効量の界面活性剤を重合して平均直径が 1×10^{-6} m未満である複数種のポリマーナノ粒子の懸濁液を作製することによって調製されるポリマーナノ粒子の乾燥粉末を提供する。重合後、乾燥粉末中に残留する上記液体(類)の量が重量で10%未満(但し、この百分率はこの乾燥粉末の総重量に対するものである)となるように上記懸濁液からこの液体(類)を除去する。

【0072】

一部の実施態様では、上述の方法のゲル粒子は平均直径が約1ナノメートル乃至約1マイクロメートルであるが、他の実施態様では、こうしたゲル粒子の平均直径は約20乃至約800ナノメートルである。別の実施態様では、上記ゲル粒子の平均直径は約100乃至約700ナノメートル、或いは約40乃至約300ナノメートル、或いは約100乃至約800ナノメートル、或いは約300乃至約800ナノメートル、或いは約600乃至約800ナノメートル、或いは約50乃至約700ナノメートルである。さらに別の実施態様では、上記ゲル粒子の平均直径は約35ナノメートル超であり、又はさらに55ナノメートル、又はさらに約75ナノメートル超、又はさらに約100ナノメートル超、又はさらに約150ナノメートル超、又はさらに約200ナノメートル超、又はさらに約250ナノメートル超、300ナノメートル、又はさらに約350ナノメートル超、又はさらに約400ナノメートル超である。

【0073】

一部の実施態様では、上述の方法のゲル粒子は平均直径がほぼ同じであり、1種以上のモノマーから形成され、狭い多分散性を有する。一部の実施態様では、上述の方法の複数種のゲル粒子は集合体形成をもたらす5乃至20%の範囲の濃度にある。本発明の範囲内の別の濃度としては、約5乃至10%、或いは約5乃至15%、或いは約10乃至20%、或いは約15乃至20%、或いは約10乃至15%、或いは約6乃至19%、或いは約7乃至18%の範囲が挙げられ、これらはいずれも集合体形成をもたらす。一部の実施態様では、上述の方法の複数種のゲル粒子は平均直径が異なり、1種以上のモノマーから形成され、狭い多分散性を有するが、他の実施態様では、広い多分散性を有する。

【0074】

別の実施態様として、上記乾燥粉末は、1種以上の第1の作動物質を有効量で添加して第1作動物質含有液体を得、重合後、この第1作動物質含有液体の一部はポリマーナノ粒子によって封入されるものとし、次いで1種以上の第2の作動物質を有効量で上記乾燥ポリマーナノ粒子に添加し、乾式混合して第2作動物質含有粒子状粉末を得、上記第1作動物質(類)は上記第2作動物質(類)と同一でも異なっていてもよいものとすることによって得られる。

【0075】

別の実施態様として、上記乾燥粉末は、1種の極性液体又は極性液体類の混合液（但し、この1種の極性液体又は2種以上の極性液体の少なくとも1種は1個以上のヒドロキシ基を含むものとする）中に1種のモノマー又は2種以上の異なるモノマー類（但し、この1種のモノマー又は2種以上のモノマーの少なくとも1種は1個以上のヒドロキシ基及び/又は1個以上のエステル基を含むものとする）を含む重合系に0.01乃至10モルパーセントの界面活性剤を添加してこのモノマー（類）を重合することにより各粒子が複数種のポリマー鎖を含む複数種のポリマーナノ粒子を形成し、上記添加は架橋剤の非存在下に行い、得られる非架橋ポリマー又はコポリマーは水不溶性であるが、水膨潤性であるものとし、上記ナノ粒子を乾燥して乾燥粉末を得ることによって得られる。別の実施態様として、上記界面活性剤の有効量は約0.01重量パーセント乃至約0.1重量パーセント、或いは約0.01重量パーセント乃至約0.2重量パーセント、或いは約0.01重量パーセント乃至約0.3重量パーセント、或いは約0.01重量パーセント乃至約0.4重量パーセント、或いは約0.1重量パーセント乃至約1.0重量パーセント、或いは約0.1重量パーセント乃至約3.0重量パーセント、或いは約0.1重量パーセント乃至約5.0重量パーセント、或いは約0.1重量パーセント乃至約7.0重量パーセント、或いは約0.1重量パーセント乃至約9.0重量パーセント、或いは約0.02重量パーセント乃至約9.5重量パーセントである。

【0076】

別の実施態様において、上記方法のモノマー（類）は、2-アルケン酸、2-アルケン酸ヒドロキシ（2C乃至4C）アルキル、2-アルケン酸ジヒドロキシ（2C乃至4C）アルキル、2-アルケン酸ヒドロキシ（2C乃至4C）アルコキシ（2C乃至4C）アルキル、2-アルケン酸（1C乃至4C）アルコキシ（2C乃至4C）アルコキシ（2C乃至4C）アルキル及び2-アルケン酸ビニルエポキシ（1C乃至4C）アルキル並びにこれらの2種以上の組合せからなる群から選ばれる。別の実施態様では、上記モノマー（類）は、アクリル酸、メタクリル酸、アクリル酸2-ヒドロキシエチル、メタクリル酸2-ヒドロキシエチル、モノアクリル酸ジエチレングリコール、モノメタクリル酸ジエチレングリコール、アクリル酸2-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸2-ヒドロキシプロピル、アクリル酸3-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸3-ヒドロキシプロピル、モノアクリル酸ジプロピレングリコール、モノメタクリル酸ジプロピレングリコール、メタクリル酸2,3-ジヒドロキシプロピル、アクリル酸グリシジル、メタクリル酸グリシジル及びこれらの2種以上の組合せからなる群から選ばれる。別の実施態様では、上記モノマー（類）は、メタクリル酸、メタクリル酸2-ヒドロキシエチル、メタクリル酸2-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸3-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸グリセロール及びこれらの2種以上の組合せを含む群から選ばれる。

【0077】

別の実施態様において、上記方法の液体（類）は、水（1C乃至10C）アルコール類、（2C乃至8C）ポリオール類、（2C乃至8C）ポリオールの（1C乃至4C）アルキルエーテル類、（2C乃至8C）ポリオールの（1C乃至4C）酸エステル類、ヒドロキシ末端ポリエチレンオキサイド類、ポリアルキレングリコール類、及びモノ-，ジ-又はトリカルボン酸のヒドロキシ（2C乃至4C）アルキルエステル類からなる群から選ばれる。別の実施態様では、上記液体（類）は、水、メタノール、エタノール、イソプロピルアルコール、エチレングリコール、ジエチレングリコール、トリエチレングリコール、ポリエチレングリコール200乃至600、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、1,4-ブタンジオール、2,3-ブタンジオール、1,6-ヘキサンジオール、2,5-ヘキサンジオール、エチレングリコールモノメチルエーテル、エチレングリコールモノエチルエーテル、メチルセロソルブエーテル、モノ酢酸エチレングリコール、プロピレングリコールモノメチルエーテル、グリセリン、モノ酢酸グリセロール、クエン酸トリ（2-ヒドロキシエチル）、シュウ酸ジ（ヒドロキシプロピル）、グリセリルジアセテート及びモノ酪酸グリセリルからなる群から選ばれる。特定の実施態様において上記液体は水である。

【0078】

別の実施態様において、上記乾燥粉末は、1種の極性液体又は極性液体類の混合液（但し、この1種の極性液体又は2種以上の極性液体の少なくとも1種は1個以上のヒドロキシ基を含むものとする）中に1種のモノマー又は2種以上の異なるモノマー類（但し、この1種のモノマー又は2種以上のモノマーの少なくとも1種は1個以上のヒドロキシ基及び/又は1個以上のエステル基を含むものとする）を含む重合系に0.01乃至10モルパーセントの界面活性剤を添加し；この重合系に0.01乃至10モルパーセントの界面活性剤を添加し；このモノマー（類）を重合して各粒子が複数種のポリマー鎖を含む複数種のゲルナノ粒子を形成することにより、得られる非架橋ポリマー又はコポリマーを水不溶性であるが、水膨潤性とし、上記ナノ粒子を乾燥して乾燥粉末を得ることを含む方法であって、さらに約0.1乃至約15%モルパーセントの架橋剤を上記重合系に添加することにより上記ポリマー鎖を架橋させることを含む方法によって得られる。この架橋剤は、ジアクリル酸エチレングリコール、ジメタクリル酸エチレングリコール、ジメタクリル酸1,4-ジヒドロキシブタン、ジメタクリル酸ジエチレングリコール、ジメタクリル酸プロピレングリコール、ジメタクリル酸ジエチレングリコール、ジメタクリル酸ジプロピレングリコール、ジアクリル酸ジエチレングリコール、ジアクリル酸ジプロピレングリコール、ジビニルベンゼン、ジビニルトルエン、酒石酸ジアリル、リンゴ酸ジアリル、酒石酸ジビニル、トリアリルメラミン、N,N'-メチレンビスアクリルアミド、マレイン酸ジアリル、ジビニルエーテル、クエン酸1,3-ジアリル2-(2-ヒドロキシエチル)、クエン酸ビニルアリル、マレイン酸アリルビニル、イタコン酸ジアリル、イタコン酸ジ(2-ヒドロキシエチル)、ジビニルスルホン、ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアリルトリアジン、亜リン酸トリアリル、ベンゼンホスホン酸ジアリル、アコニット酸トリアリル、シトラコン酸ジビニル、トリメタクリル酸トリメチロールプロパン及びフマル酸ジアリルからなる群から選ばれる。

【0079】

別の実施態様において、上記架橋ポリマー鎖は平均分子量が約3,000乃至約2,000,000である。別の実施態様では、上記架橋ポリマー鎖の平均分子量は約3,000乃至約200,000、或いは約3,000乃至約20,000、或いは約30,000乃至約2,000,000、或いは約300,000乃至約2,000,000、或いは約100,000乃至約1,000,000、或いは約50,000乃至約1,500,000である。

【0080】

別の実施態様において、上述の方法はさらに、重合の前に、上記重合系の極性液体（類）に有効封入量の1種以上の作動物質（類）を添加することを含む。別の実施態様において、上記有効量の作動物質含有ゲルナノ粒子は約0.1乃至約90重量パーセントの作動物質（類）含有液体を封入する。別の実施態様では、上記有効量の作動物質含有ゲル粒子は、約1乃至約90重量パーセント、或いは約10乃至約90重量パーセント、或いは約0.1乃至約70重量パーセント、或いは約0.1乃至約50重量パーセント、或いは約0.1乃至約20重量パーセント、或いは約10乃至約50重量パーセントの作動物質含有液体を封入する。

【0081】

別の実施態様において、上記方法は、上記重合系に有効量の1種以上の第1の作動物質（類）を添加して第1作動物質含有液体を得、重合後、この第1作動物質含有液体の一部はポリマーナノ粒子によって封入されるものとし、次いで有効量の1種以上の第2の作動物質（類）を上記粒子状粉末に添加し、乾式混合して第2作動物質含有粒子状粉末を得、上記第1作動物質（類）は上記第2作動物質（類）と同一でも異なっていてもよいものとすることを含む。別の実施態様では、0.1乃至90重量パーセントの上記第1作動物質（類）は上記複数種のヒドロゲル粒子によって封入させ、0.1乃至90重量パーセントの上記第2作動物質（類）はこうしたナノ粒子間に取り込ませる。

【0082】

別の実施態様において、1種以上の作動物質(類)を上記乾燥粉末に添加、混合して作動物質(類) / 粒子状粉末複合材料を得る。別の実施態様では、この作動物質(類) / 粒子状粉末複合材料は約1乃至約90重量パーセントの作動物質(類)を含有する。

【0083】

別の実施態様において、上記作動物質(類)は、同一であっても異なっていてもよい1種以上の生物医学的作用物質(類)を含む。別の実施態様では、この生物医学的作用物質(類)は、細胞、血小板又は1種以上の組織・成長スキャフォールド材料を含む。別の実施態様では、1種以上の生物医学的作用物質は1種以上の医薬品(類)を含む。別の実施態様では、この医薬品(類)は1種以上の医薬用として許容可能な賦形剤をさらに含む。別の実施態様では、この医薬品(類)はペプチド、蛋白質又は多糖を含む。別の実施態様では、この医薬品(類)は創傷、癌、疼痛、感染又は眼疾患の治療に有用なものである。別の実施態様では、この医薬品(類)は増殖因子である。

【0084】

別の実施態様において、上記方法はさらに、上記乾燥粉末に1種以上の医薬用として許容可能な賦形剤を添加することを含む。一実施態様において、1種以上の医薬用として許容可能な賦形剤はこの乾燥粉末の約1乃至約50重量パーセントである。別の実施態様では、1種以上の医薬用として許容可能な賦形剤はこの乾燥粉末の約10乃至約50重量パーセント、或いは約20乃至約50重量パーセント、或いは約30乃至約50重量パーセント、或いは約40乃至約50重量パーセント、或いは約1.0乃至約40重量パーセント、或いは約1.0乃至約30重量パーセント、或いは約1.0乃至約20重量パーセント、或いは約1.0乃至約10重量パーセント、或いは約5.0乃至約45重量パーセントである。

【0085】

別の実施態様において、上記医薬用として許容可能な賦形剤(類)は水溶性增量材(類)である。

【0086】

また、本発明は、ポリマーナノ粒子の乾燥粉末を湿性創傷部位に適用することによりこの湿性創傷部位にインサイツで形状適合性、形状維持性凝集体包帯を形成させる方法であって、この乾燥粉末が平均直径 1×10^{-6} m未満の複数種のゲル粒子を含むものとし、これらのゲル粒子が、極性液体中又は少なくとも1種が極性である2種以上の混和性液体の混合液中の、有効量の、少なくとも1種が2-アルケン酸、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ジヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸(1C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル又は2-アルケン酸ビシニルエポキシ(1C乃至4C)アルキルである1種のモノマー又は2種以上のモノマー及び上記複数種のゲル粒子を安定化するための有効量の界面活性剤を重合して得られる有効量の複数種のポリマー鎖を含むものとする方法を提供する。

【0087】

別の実施態様では、本発明は、ポリマーナノ粒子の乾燥粉末を湿体組織に適用することによりこの湿体組織の内部又は表面にインピボで形状適合性、形状維持性凝集体生体材料を形成させる方法であって、この乾燥粉末が平均直径 1×10^{-6} m未満の複数種のゲル粒子を含むものとし、これらのゲル粒子が、極性液体又は少なくとも1種が極性である2種以上の混和性液体の混合液中の、有効量の、少なくとも1種が2-アルケン酸、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ジヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸(1C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル又は2-アルケン酸ビシニルエポキシ(1C乃至4C)アルキルである1種のモノマー又は2種以上のモノマー及び上記複数種のゲル粒子を安定化するための有効量の界面活性剤を重合して得られる有効量の複数種のポリマー鎖を含むものとする方法を提供する。請求項41 上記ポリマーナノ粒子は体液を吸収し、親水性/疎水性

粒子相互作用及び粒子と粒子間隙の体液との間の水素結合を含む非共有結合力によって結合されて合体し形状適合性生体材料になる。

【 0 0 8 8 】

本発明の組成物は、極性液体又は少なくとも1種が極性である2種以上の混和性液体の混合液中の、有効量の、少なくとも1種が2-アルケン酸、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ジヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸(1C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル又は2-アルケン酸ビニルエポキシ(1C乃至4C)アルキルである1種のモノマー又は2種以上のモノマー及び有効量の界面活性剤を重合し、ポリマーナノ粒子に残留する液体の量が10%w/w未満となるように液体類を除去するため凍結乾燥することを含む方法によって調製したポリマーナノ粒子の乾燥粉末を適用することにより創傷を治療するのに有用である。別の実施態様では、この乾燥粉末はさらに、1種以上の組織・成長スキヤフォールド材料又は医薬品(類)を含む。別の実施態様では、この乾燥粉末はさらに、コラーゲン、ヒアルロン酸、創傷治療、癌治療、疼痛治療もしくは眼疾患治療に有用な医薬品(類)又は増殖因子及び抗生物質である医薬品(類)を含む。別の実施態様では、この医薬品はリドカイン、エリスロマイシン、ドキシサイクリン又はリファンピンである。別の実施態様では、この医薬品類はVEGF及びPDGFポリペプチドである。

【 0 0 8 9 】

本発明の創傷包帯及び生体材料は、先ず、液体又は極性の混和性液体類の混合液を含む懸濁系中の特定のモノマー類及び離散的なゲルナノ粒子をもたらす界面活性剤を重合し、次いで、得られた粒子を精製、単離、乾燥して湿性創傷に適用することにより一体型、形状適合性及び形状維持性である包帯をインサイツで形成させることによって形成することができる。こうしたヒドロゲルナノ粒子の独特的の化学的及び物理的性質によって創傷から血液又は浸出液の一部が吸収され、これによって、これらは合体し、一体型包帯として結合される。即ち、本発明の粒子は、主として水、白血球、フィブリン及び他の生体化合物である血液、浸出液などの極性液体にさらされると、この液体の一部を吸収して合体し、例えば、限定されない例として挙げられる疎水性-親水性相互作用及び水素結合などの強力な粒子間及び粒子-液体間相互作用によって結合される。この水素結合については、本発明のゲル粒子を構成するポリマー鎖を作製するのに用いられた上記モノマー類の少なくとも1種は1個以上のヒドロキシ基及び/又は1個以上のエステル基を含まねばならないという事実によるものである。さらに、吸収されない浸出液の一部は上記合体後の粒子間の隙間に取り込まれたままであり、この浸出液は、極性材料であるので、上記粒子とこの浸出液との間に強力な水素結合が生じる。乾燥ナノ粒子粉末を用いてインサイツで創傷包帯を形成するための重要な要件は、その創傷部位が湿性でなければならないこと、即ち、創傷液が存在しなければならないことであり、そうでなければ、インサイツで粒子の凝集体を生じさせることができない。

【 0 0 9 0 】

しかしながら、湿性でないか放出する浸出液量が極めて少ない体組織面に、薬剤含有の有無にかかわらず、形状維持性凝集体創傷包帯を形成させることも可能である。この場合、先に引用した米国特許出願公開第U.S.2004/0086548A1号の記載及び本発明の開示内容の記載に基づいて、上記乾燥ナノ粒子粉末を極性液体又はその混合液と混合し、直ちに体組織に適用する。こうしたナノ粒子は、先に説明した強力な粒子-粒子及び粒子-液体間相互作用によって合体し、形状維持性及び形状適合性凝集体包帯になる。こうした種類の包帯を利用するための唯一の要件は、上記極性溶媒又はその混合液が安全で毒性がなく、局所及び全身性の適用がFDAによって承認されていることである。

【 0 0 9 1 】

さらに、上記乾燥ナノ粒子粉末と極性の可塑化用液体又はその混合液との混合物に揮発性溶媒を添加し、これらの成分をホモゲナイズし、溶媒の蒸発を防ぐためのシール可能な容器に得られた混合物を包装することもできる。浸出液のない創傷表面又は完全な状態の

皮膚にこれを適用すると、その揮発性溶媒が蒸発して適用部位に形状維持性凝集体包帯が残る。

【0092】

上記ゲルナノ粒子は、重合により、架橋型であろうとなからうと、水不溶性で水素結合可能なポリマーが得られるモノマーから一般に選ばれる1種以上のモノマーからなる重合系で調製する。この能力を有するモノマーの一般的クラスとしては、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ジヒドロキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸ヒドロキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル、2-アルケン酸(1C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルコキシ(2C乃至4C)アルキル及び2-アルケン酸ビニルエボキシ(1C乃至4C)アルキル並びにこれらの組合せが挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0093】

上記モノマーとしては、アクリル酸2-ヒドロキシエチル、メタクリル酸2-ヒドロキシエチル、モノアクリル酸ジエチレングリコール、モノメタクリル酸ジエチレングリコール、アクリル酸2-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸2-ヒドロキシプロピル、アクリル酸3-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸3-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸グリセロール、モノメタクリル酸ジプロピレングリコール、モノアクリル酸ジプロピレングリコール、モノアクリル酸グリシジル、メタクリル酸2,3-ジヒドロキシプロピル及びこれらの混合物が挙げられる。特定のモノマーとしては、メタクリル酸2-ヒドロキシエチル(HEMA)、メタクリル酸2-ヒドロキシプロピル、メタクリル酸3-ヒドロキシプロピル及びメタクリル酸グリセロールがある。

【0094】

水素結合することができないコモノマーを上記重合系に添加して、得られるゲル粒子の物理的特性および化学的特性を変えることができる。上記モノマーと組み合わせて用いることができるコモノマーの例としては、アクリルアミド、N-メチルメタクリルアミド、N,N-ジメタクリルアミド、メチルビニルピロリドン、メタクリル酸N,N-ジメチルアミノエチル及びアクリル酸N,N-ジメチルアミノエチルが挙げられるが、これらに限定されるものではない。所望であれば、限定されない例として挙げられるアクリル酸、メタクリル酸などの水素結合することができる他のコモノマーをまた上記重合系に添加して、得られるゲルナノ粒子のイオン性特性及びpHを変えることもできる。

【0095】

さらに、限定されない例として挙げられる酪酸メチル、酢酸ブチルなどで例示されるアルカン酸アルキルなどの非重合性添加剤を上記重合反応に添加して、得られるゲル粒子の物理的特性および化学的特性をさらに変えることができる。

【0096】

また、架橋剤を上記重合系に添加して、得られるゲル粒子の三次元構造を強化することもできる。この架橋剤は非分解性のものとすることができます、例えば、ジアクリル酸又はジメタクリル酸エチレングリコール、ジメタクリル酸1,4-ブチレン、ジメタクリル酸ジエチレングリコール、ジメタクリル酸プロピレングリコール、ジメタクリル酸ジエチレングリコール、ジメタクリル酸ジプロピレングリコール、ジアクリル酸ジエチレングリコール、ジアクリル酸ジプロピレングリコール、ジビニルベンゼン、ジビニルトルエン、トリアリルメラミン、N,N'-メチレンビスアクリルアミド、マレイン酸ジアリル、ジビニルエーテル、クエン酸ジアリルモノエチレングリコール、クエン酸ビニルアリル、マレイン酸アリルビニル、ジビニルスルホン、ヘキサヒドロ-1,3,5-トリアリルトリアジン、亜リン酸トリアリル、ベンゼンホスホン酸ジアリル、無水マレイン酸とトリエチレングリコールとのポリエステル、アコニット酸ジアリル、シトラコン酸ジビニル、トリメタクリル酸トリメチロールプロパン及びフマル酸ジアリルが挙げられるが、これらに限定されるものではない。他の非分解性架橋剤については本明細書の開示内容から当業者にはあきらかであろうし、それらは本発明の範囲内にある。

【0097】

上記のインサイツで形成される創傷包帯凝集体を構成する個々のゲル粒子を構成するポリマーの化学組成は安定であり、広範囲の環境又は生理条件下で容易には劣化しない。このインサイツで形成される凝集体包帯は、創傷が治癒し、及び／又は創傷が乾ききるまで適所にとどまる。一方、インビボで形成される凝集体包帯及び／又は生体材料は、特定の適用に基づいて、これらが制御可能な仕方で選ばれた条件下に強度又は一体性を失うように設計することができる。例えば、適切な添加剤類を選択することによって、この添加剤（類）は、各種環境及び／又は生理条件にさらされると構造、組成及び／又は反応性を変化させるので、得られる凝集体包帯がより多孔性となるように形成されている状態の凝集体マトリックスに取り込ませることができるが、これに限定されるものではない。

【0098】

本発明の重合系に用いる液体が水である場合、上記粒子はヒドロゲル粒子である。

【0099】

本発明の重合系に特定の有機液体類を用いることもできる。一般に、これらの沸点は約60超、或いは約80、100、120、140、160、180超又は約200である必要がある。現在、使用することができる有機液体は、限定されない例として挙げられるエチレングリコール、プロピレングリコール、ジプロピレングリコール、ブタンジオール-1,3、ブタンジオール-1,4、ヘキサンジオール-2,5、2-メチル-2,4-ペンタンジオール、ヘプタンジオール-2,4、2-エチル-1,3-ヘキサンジオール、ジエチレングリコール、トリエチレングリコール、テトラエチレングリコール並びに最大約2,000、好ましくは最大約1,600の分子量を有する高級ポリエチレングリコール及び他の水溶性オキシアルキレンホモポリマー及びコポリマーなどの生物学的に不活性で毒性のない極性の水混和性有機液体である。例えば、平均分子量200乃至1,000のエチレンオキシドのヒドロキシ末端ポリマー、最大約1,500、好ましくは最大約1,000の分子量を有する水溶性オキシエチレンオキシプロピレンポリオール（特に、グリコール）ポリマー、モノアセチン、グリセリン、クエン酸トリ（ヒドロキシエチル）、エチレングリコールモノメチルエーテル、シュウ酸ジ（ヒドロキシプロピル）、酢酸ヒドロキシプロピル、三酢酸グリセリン、グリセリルトリブチレート、液体ソルビトールエチレンオキシド付加物、液体グリセリンエチレンオキシド付加物、ジエチレングリコールモノエチルエーテル及び二酢酸エチレングリコールを用いることができるが、これらに限定されるものではない。

【0100】

本発明の一実施態様において、 10^{-9} メートル乃至 10^{-6} mの範囲の呼び寸法を有するヒドロゲル粒子は、界面活性剤を含有する水中でレドックス、フリーラジカル又は光によって開始される重合を行うことによって作製される。このようにして、多分散性の比較的狭い粒子を作製することができる。特定の用途のために、例えば、限定されない例として挙げられる長期間にわたる生物活性物質の放出が所望される場合には、インサイツで形成される薬物添加創傷包帯又はインビボで生成される治療的生体材料を構成する多分散性の広い粒子を作製及び単離することが有利であり得る。

【0101】

一方、目的が薬物の連続放出ではなく逐次放出又は別々の時間におけるバースト放出である場合には、大きさが異なるが、各大きさ内の多分散性が狭い2群以上の粒子を用いることができる。例えば、限定されないが、大きさが異なるが、多分散性が狭いゲル粒子は、特定の生物活性物質を含有する別々の重合系で本明細書に記載した技術を用いて形成することができる。次いで、この物質を含有するこれらの粒子を、単離及び乾燥後に、单一の粉末として結合させて創傷に適用することにより薬物添加形状維持性包帯を作製することができる。

【0102】

粒子の大きさが異なるために、上記生物活性物質は別々の時間にバースト放出されることになる。同様に、同じ技術を用いるものの上記重合系のうちの一方に第1の生物活性物質、第二の重合系に別の生物活性物質を添加することによって、別々の時間に特定の活性

物質を放出する、即ち、逐次放出する粒子が得られる。

【0103】

また、単離、乾燥したナノ粒子をこうした各種活性物質と混合することによっても本発明に記載の創傷包帯及び生体材料に生物活性物質を導入することができる。湿性創傷に適用した後、この包帯がインサイツで形成され、活性物質（類）の一部が包帯を構成する粒子間の隙間に取り込まれる。こうした活性物質は長時間にわたってこの包帯から放出されて創傷治癒を促進し、その放出速度は、包帯を構成するナノ粒子の大きさの他に、活性物質の分子量、水溶性などの物理的性質によって影響を受けることになる。例えば、活性物質が他の生物活性化合物と組み合わせて、又は組み合わせずに封入されている各種の大きな乾燥ナノ粒子を用い、これらを粉末状に混合して創傷に適用することによって、各種薬物添加包帯及び／又は生体材料を作製することができることは当業者には明らかであり、このような包帯は全て本発明の開示内容の範囲内にある。

【0104】

多くの要因が本発明の凝集体の化学的特性及び物理的特性に影響する。その1つは、個々のヒドロゲルナノ粒子を形成するのに用いられるポリマーの分子量である。低分子量ポリマーからなるヒドロゲル粒子は安定で強い凝集体創傷包帯をインサイツで形成しないのが一般的であることが分かっている。従って、本発明では高分子量ポリマーを用いる。架橋剤を用いると低分子量ポリマーに関連する問題の一部を改善することができるが、架橋剤を過剰に用いるのは有害であり得る。ヒドロゲル粒子が大量の架橋剤を含有する場合、及び／又は架橋剤が高度に疎水性である場合、得られるポリマー網目では血液又は浸出液の最適な吸収及び封入ができなくなり、余り望ましくない創傷包帯が生じ得る。従って、本発明のゲル粒子を構成するポリマーは、分子量が約3,000乃至約2,000,000Daの範囲である。これは、適切な市販モノマーを選択することによって、又は目的とする分子量範囲のポリマーが得られる重合系を用いることによって、又は重合系に架橋剤を含ませて短いポリマー鎖を結合させ、目的とする分子量範囲に到達することによって達成することができる。

【0105】

また、粒子の大きさも凝集体創傷包帯の特性に影響する。一般に、ゲル粒子が小さいほど表面積のために液体は容易に、かつ速く吸収されて閉じ込められ、より弾力性のある包帯マトリックスが得られることになることが決定されている。この場合も平均直径が約1乃至約1,000nm或いは約10乃至約800nmの範囲にあることにより特徴付けられる大きさのゲル粒子を用いることができる。

【0106】

架橋剤を用いる場合、その化学組成及び使用量、即ち、得られる架橋密度が先に説明したような粒子の特性に影響し、その結果、形成される創傷包帯の特性に影響を与えることになる。例えば、架橋剤が多くなるとより大きな分子量のポリマー鎖が得られることになるが、ヒドロゲルナノ粒子全体にわたって多すぎる疎水性特性及び過剰な疎水性ドメインが生じることにより、例えば、限定されない例として挙げられる疎水性・親水性相互作用、水素結合などの重要な強い粒子間及び粒子・液体間相互作用が、創傷面にインサイツで作製される創傷包帯又はインビボで形成される生体材料の形成過程で生じるのが妨害される可能性もある。本発明のゲル粒子を調製するのに用いる架橋剤の量は、好ましくはモノマーの約0.001乃至約10、より好ましくは約0.1乃至約2モルパーセントの範囲にある。

【0107】

単離された乾燥ナノ粒子粉末中に存在する界面活性剤の化学組成及び量は、極性液体にさらされた時の凝集速度及び得られる本発明の凝集体創傷包帯の物理的特性及び化学的特性に影響を及ぼす。単離過程では、こうした粒子が乾燥サイクル中に濃縮されるので、粒子の自己会合を防止するために特定量の界面活性剤が必要となる。しかしながら、界面活性剤が多すぎると、乾燥粒子が血液、創傷浸出液又は他の極性液体にさらされた時に最適な創傷包帯凝集体を形成するのが妨害されることになる。上記ナノ粒子状粉末中に存在す

る界面活性剤量はこのナノ粒子粉末の約0.1乃至6重量パーセントの範囲にあるのが好ましい。また、こうしたゲルナノ粒子に対して実施する単離及び乾燥工程は、粒子が濃縮して自己会合するのを防止し、又はできるだけ少なくし、その時点で強力な粒子・粒子及び粒子・液体間相互作用が粒子の合体を防止する界面活性剤の固有の能力に打ち勝つようなものでなければならないことに留意することも重要である。噴霧乾燥、凍結乾燥などの単離・乾燥方法を用いるのに対して、直接蒸発法は、自己会合が広範に生じ、得られる乾燥粉末が湿性創傷部位への適用時にインサイツで存続可能な包帯を形成しないので、用いない。自己会合ができるだけ抑えられ、又は防止される限り、他の単離・乾燥方法を用いることができるることは当業者には明らかである。言うまでもなく、上述の各種パラメータは相互依存の関係にある。

【0108】

本発明の一実施態様において、ヒドロゲルナノ粒子は界面活性剤を含有する水中で非イオン性モノマーを重合することによって作製する。ヒドロゲル粒子の懸濁液は、未反応モノマー及び他の不純物を除去するために処理する。こうした粒子は単離・乾燥され、粒子状粉末はインビボで創傷又は体組織に適用され、一部の浸出液、血液又は他の体液を吸収して合体し、形状維持性、形状適合性創傷包帯又は生体材料になる。この包帯は、限定されない例として挙げられる疎水性・親水性相互作用、水素結合などの強力な粒子間及び粒子・液体間相互作用によって一体性及び形状維持性を維持する。即ち、よりイオン強度の高い媒質、例えば、PBS、血清、創傷浸出液又は他の体液中に上記ナノ粒子ヒドロゲル粉末を適用することによって、こうした粒子は自己集合してコンパクトで弾力性のある形状維持性凝集体包帯になる。一実施態様において、この媒質はインビボ、即ち、体組織であり、上記形状維持性凝集体は上記粉末が適用される体の領域の形状をとり、これを維持する。上記媒質がエキソビボである場合、これをさらに、限定されない例として所望の形状に加圧造形、押し出し成形又は成形することができ、凝集体が水和状態に維持されている限り、この形状は維持されることになる。

【0109】

本発明の凝集体創傷包帯には、限定されない例として挙げられる創傷部位などの所定の部位への生物活性物質又は物質類の送達を含む多くの用途がある。その対象は、爬虫類、哺乳動物、鳥類などの動物への薬剤の送達を伴う獣医学とすることができる。特に、その対象は、患者に医薬品を制御して標的に向けて送達することを必要とするヒトとすることができる。

【0110】

本発明の別の実施態様は、重合の前に重合系に生物活性作用物質を溶解又は懸濁することを伴うものである。重合反応が進行し、ヒドロゲルナノ粒子が形成されるにつれて、この生物活性作用物質を含有する液体が形成されつつある粒子によって封入される。次いで、粒子を処理して過剰のモノマー及び界面活性剤を除去する時に、未封入の生物活性作用物質を除去する。次に、生物活性物質含有粒子の懸濁液を単離して乾燥することによりナノ粒子粉末を作製する。この乾燥工程は、限定されない例として挙げられる噴霧乾燥及び凍結乾燥を含む従来の手段により行う。次いで、粉末はエキソビボ又はインビボで導入することができ、後者の場合では、導入は、好ましくはこの粉末を創傷部位に適用することによって行い、その部位で粒子が合体して形状維持性、形状適合性凝集体薬物添加包帯が形成される。

【0111】

封入されなかった生物活性作用物質を過剰のモノマー及び界面活性剤と共に懸濁系から除去し、封入生物活性作用物質含有ナノ粒子を単離・乾燥し、次いで、全く異なる生物活性物質を、インサイツで創傷包帯を形成させる前のナノ粒子粉末に添加することによって凝集体形成過程で後者の物質を取り込ませることも本発明の実施態様である。この凝集体内の間隙に取り込ませた物質は、通常、上記粒子により封入させた物質とは極めて異なる速度で放出されることになる。このようにして、広範囲の送達速度を達成することができる。また、創傷包帯凝集体を構成する個々のヒドロゲル粒子の化学組成及び粒径を変える

ことによって送達プロフィールの多様性を実現することもできる。

【0112】

上記生体材料凝集体をインビボで作製する場合、生物活性物質の種類及び大きさ、凝集体形成の速度などの物理的特性に応じて、特定量のこの生物活性物質を上記粒子間の隙間に取り込ませることになる。凝集体形成の速度は、ゲルナノ粒子の粒径及び組成、乾燥ナノ粒子粉末中に存在する界面活性剤又は界面活性剤類の組合せの種類及び量、この粉末が適用される極性媒質並びにこの媒質の温度の関数である。

【0113】

本発明の乾燥ゲルナノ粒子には、上記の物質の他に、他の水溶性物質を添加して、媒質中への導入時に形成される形状維持性凝集体の凝集及び速度を変えることができ、従って、上記の取り込まれる活性作用物質の量及びその後の放出速度をさらに制御することができる。さらに、こうした水溶性賦形剤を用いることによって、インサイツで形成される創傷包帯の経時的な多孔性を変えることができる。何故なら、上記賦形剤は、創傷浸出液又は血液にさらされると、上記凝集体から溶け去るからである。上記の手順を1つ以上用いると、広範な生物活性作用物質について0次又は少なくとも擬0次放出速度を達成できるはずである。

【0114】

ゲル粒子により封入され、又は本発明の形状維持性凝集体包帯もしくは生体材料に取り込まれることができる作用物質の種類及び量は種々の要因によって決まる。何よりもまず、この作用物質は、その大きさ、表面電荷、極性、立体相互作用などのため、離散的ゲル粒子の形成又は創傷などの媒質中への導入後のこれらのゲル粒子の合体による形状維持性凝集体の形成に妨害するはずがなく、これらはいずれも本発明の目的にそぐわないことになる。上記が問題でないことが分かれば、ヒドロゲル粒子の大きさは、この粒子内に取り込まれ得る物質の量に最も直接的に影響を及ぼすことになる。上記粒子自体の大きさは封入され得る作用物質の最大量を決定することになるのに対し、上記粒子の多分散性はインサイツで形成される凝集体包帯の孔隙の大きさに影響することになる。個々の抗生物質分子、抗菌剤、鎮痛剤などの比較的小さな作用物質は小さいナノゲル粒子に封入させ、こうした小さいゲル粒子から形成される凝集体に容易に取り込ませることができると、モノクロナル抗体、蛋白質、ペプチド、多糖、その他高分子などのかなり大きな作用物質はこうしたナノ粒子内に封入するのが困難であり得、はるかに大きな粒子からなる凝集体包帯及び/又はこれらの物質を効率的に取り込ませるための広い多分散性を必要とすることになる。

【0115】

本明細書の方法を用いて、送達速度の厳密な制御を達成することができる。即ち、大きさ及び化学組成が異なるゲル粒子に特定の作用物質を詰め込むことができ、この作用物質を種々の時間枠にわたって放出させることができる。さらに、この物質の一部はゲル粒子に封入させることができ、一部は形状維持性創傷包帯凝集体の粒子間隙に取り込ませてさらに送達の柔軟性を得ることができる。

【0116】

上記方法を用いて、各種の作用物質、通常は配合禁忌の作用物質同士でさえ本発明のゲル粒子中に詰め込み、順次に、又は同時に放出させることができる。順次に放出させると、配合禁忌の作用物質同士の遭遇が防止されることになる。同時に放出させると、結合させると強力な薬物を形成する2種以上の活性がないか低い生物活性作用物質の送達が可能となる。このようにして、ナノ粒子が血液又は浸出液と結合し、合体して創傷部位にこれらの前駆体を含有する凝集体が形成されるまで、活性種の形成を延期させることにより下の創傷床への活性体の放出を延長させることができる。

【0117】

本発明の別の態様では、2種以上の異なる大きさの、互いに対する多分散性が狭いゲル粒子を用いて本発明の形状維持性創傷包帯凝集体を形成させる。物質の取り込み効率及びその後の放出速度は、単一の大きさで多分散性の狭い粒子を用いて形成させた凝集体のそ

れらとはかなり異なるはずである。如何なる特定の理論にもとらわれることなく、これは、取り込まれることになる物質の存在下の凝集過程で、創傷包帯凝集体を構成する粒子間の間隙が混合多分散性粒子によってより効率的に充填されるという可能性に起因し得ると考えられる。以下の実施例から、所与の大きさの特定の作用物質の場合、凝集体を構成する粒子の大きさ及び大きさの比は形成されつつある凝集体の作用物質取り込み効率及びその後のその放出速度に格段の影響を与えることが論証される。このアプローチを用い、特定の物質の放出速度を調整することにより適切な粒子の大きさ及び大きさの比を用いて擬0次速度に近づけることができる。

【0118】

従って、本発明は、具体的には、生物活性作用物質の送達に関して、最も具体的には、医薬品の送達に関して、インไซツで形成される創傷包帯のための極めて用途の広い物質送達プラットホームを提供する。特定の実施態様では、抗生物質、鎮痛剤、増殖因子又は血管シグナル伝達物質を取り込ませた、又は取り込ませていない、褥瘡性潰瘍、血管潰瘍、第2度、3度及び4度熱傷及び皮膚提供部位用の創傷包帯を、湿性創傷及び皮膚提供部位の内部又は表面へ上記ナノ粒子粉末を導入することによってインサイツで直接創傷部位に形成できる。医薬品又は医薬品類の組合せは、長時間にわたって連続的に、又は特定の時間間隔でバースト状に、2種以上の作用物質がこれらを含有する凝集体包帯が所望の標的部位に形成された後にのみ相乗的に相互作用することができるよう所定の遅延時間後に同時に、又はある作用物質が次の作用物質が放出される前に標的部位に作用することができるよう、もしくは2種以上の作用物質が相乗的に相互作用することができるよう順次に送達することができる。

【0119】

本発明の別の態様は、体液へナノ粒子粉末を導入することによりインサイツで形成される形状維持性凝集体材料の、組織スキヤフォールディングなどの整形外科用途に用いるのに有用な生体材料としての使用である。本発明の形状維持性及び形状適合性凝集体のマクロ多孔性構造によって、実質的な内方成長を可能にするはずである組織が得られ、これは通常のマクロ多孔性バルクヒドロゲルには存在しない性質である。さらに、本発明の凝集体は、通常のバルクヒドロゲルのものに比し著しく向上した弾性率、剛性率、体積弾性率などの物理的性質を示す。本発明の方法の考えられる整形外科用途としては、軟骨及び骨の修復、半月板の修復／置換、人工脊椎円板、人工腱及び韌帯並びに骨補填材が挙げられるが、これらに限定されるものではない。

【0120】

本発明の凝集体材料の形状維持特性並びにそのインサイツでの被形成能及び水分保持能からインビポでの他の多くの用途が示唆される。例えば、薬物添加又は非薬物添加凝集体をソフトコンタクトレンズに成形することができる。重症眼疾患を治療するための柔らかくてしなやかな生体適合性薬物送達デバイスを、眼用医薬品を封入又は取り込ませたヒドロゲルナノ粒子粉末を眼の奥に設置することによってインサイツで形成させることができる。また、骨成長因子を粒子に封入させた、又は形成されつつある凝集体に取り込ませるナノ粒子粉末を導入することによって、歯周ポケット内に形状維持性凝集体を形成させることができる。この凝集体の内部には、骨成長因子の制御放出によって骨の再生が促進されつつある間、抗生物質の持続放出によって感染を抑制するために抗生物質を封入又は取り込ませることもできる。新たに加わった利点として、この柔らかい生体適合性形状維持性凝集体は、その固有の柔らかさ及びなじみやすさのため、その部位に快適性をもたらすことになる。

【0121】

本発明の方法により作製される本発明の凝集体は、生物医学的作用物質以外の多数の材料の担体として用いることができる。例えば、金属又は金属イオンを上記ゲル粒子に封入するか、その凝集体に取り込ませるか、又はこれらの両方を行うことができるが、これらに限定されるものではない。こうした金属及び／又はイオンは、創傷治癒の電気的促進におけるような他の用途を有し得る凝集体に、各種程度の伝導性及び放射線不透過性を付与

することになる。

【0122】

本発明の形状維持性、形状適合性凝集体創傷包帯及び生体材料のこれら及び他の多くの用途は、本明細書の開示内容から当業者に明瞭に理解されよう。このような用途は本発明の範囲内にある。

【実施例】

【0123】

(実施例1)

H E M A を用いたヒドロゲルナノ粒子の合成

攪拌棒を備えた 5 0 0 m L メジウム瓶にメタクリル酸ヒドロキシエチル (H E M A) モノマー 4 . 5 2 g (3 4 . 8 ミリモル) 、ジメタクリル酸エチレングリコール (E G D M) 7 7 . 7 4 m g (0 . 4 2 8 ミリモル) 、ドデシル硫酸ナトリウム (S D S) 0 . 2 1 2 3 g (0 . 6 3 4 ミリモル) 及びミリ Q H₂O 2 4 0 m L を入れた。この瓶をスパージキャップ (s p a r g i n g c a p) で閉め、攪拌しながら室温で 1 時間 N₂ パージした。次に、0 . 1 6 6 g の過硫酸カリウム (K₂S₂O₈) を 2 1 m L のミリ Q H₂O に溶かし、攪拌しながら上記メジウム瓶に添加した。この瓶を 4 0 °C の水浴に移し、1 2 時間その温度に保った。得られたヒドロゲル粒子懸濁液の色はオパール青であった。この粒子を動的光散乱により分析し、図 1 に示したように、その平均半径は 3 6 . 5 n m であることが分かった。この粒子をタンジェント流ろ過により精製し、懸濁水溶液として貯蔵した。数ヶ月にわたってフロキュレーションを認めなかつた。

(実施例2)

H P M A を用いたヒドロゲルナノ粒子の合成

攪拌棒を備えた 1 5 0 m L メジウム瓶にメタクリル酸ヒドロキシプロピル (H P M A) モノマー 2 . 5 3 2 g (1 7 . 5 ミリモル) 、ジメタクリル酸エチレングリコール (E G D M) 架橋剤 5 2 . 7 3 m g (0 . 2 6 6 ミリモル) 、ドデシル硫酸ナトリウム (S D S) 1 0 7 . 6 m g (0 . 3 7 3 0 ミリモル) 及び窒素脱気ミリ Q H₂O 1 1 8 m L を入れた。この瓶を閉めて攪拌することにより澄明な液を形成させた。別のバイアルにおいて 8 3 m g の K₂S₂O₈ を 2 m L のミリ Q H₂O に溶かし、攪拌しながら上記メジウム瓶に添加した。この澄明な液の入ったメジウム瓶を 4 0 °C の水浴に移し、1 2 時間一定温度に保つた。得られたヒドロゲルナノ粒子懸濁液の色はオパール青であった。この粒子をレーザー光散乱により分析し、その平均粒径は 2 1 . 3 n m 、粒径範囲は 1 4 n m 乃至 4 1 n m であることが分かった。この懸濁液は質量で約 1 % の固体ポリマーを含有した。現在に至るまで、このヒドロゲルナノ粒子懸濁液は、室温で 2 年間、耐フロキュレーション性又は耐凝集性を示した。

(実施例3)

H E M A 及び H P M A を用いたヒドロゲルナノ粒子コポリマーの合成

H E M A モノマー及び H P M A モノマーを用い、実施例 1 の合成方法によりコポリマーナノ粒子を作製した。表 1 に 1 5 0 m L メジウム瓶に添加したモノマーの相対質量及びミリモルを示した。

【0124】

【表1】

表1

試料	質量 HEMA	ミリモル HEMA	質量 HPMA	ミリモル HPMA
95:5 pHEMA:HPMA	4.30 g	33.06	0.251 g	1.74
90:10 pHEMA:HPMA	4.07 g	31.32	0.501 g	3.48
85:15 pHEMA:HPMA	3.85 g	29.58	0.752 g	5.22
75:25 pHEMA:HPMA	3.40 g	26.10	1.25 g	8.70
50:50 pHEMA:HPMA	2.26 g	17.40	2.51 g	17.40

次に、各メジウム瓶に 52.73 mg (0.266 ミリモル) の E G D M 、 107.6 mg (0.3730 ミリモル) のドデシル硫酸ナトリウム (S D S) 及び 118 mL の窒素脱気ミリ Q H₂O を入れた。これらの瓶に蓋をして、室温で 30 分間攪拌した。5 個の別々のバイアルにおいて、83 mg の K₂S₂O₈ を 2 mL のミリ Q H₂O にそれぞれ溶かし、攪拌しながら各メジウム瓶に添加した。この澄明な液の入ったメジウム瓶を 40 の水浴に移し、12 時間一定温度に保った。得られたヒドロゲルナノ粒子懸濁液の色はオパール青であった。

（実施例4）

G M A を用いたヒドロゲルナノ粒子の合成

攪拌棒を備えた 2,000 mL メジウム瓶にメタクリル酸グリセロール (G M A) モノマー - 44.5 g (277 ミリモル) 、ジメタクリル酸エチレングリコール (E G D M) 架橋剤 92 mg (0.464 ミリモル) 、ドデシル硫酸ナトリウム (S D S) 2.04 g (0.3730 ミリモル) 及び窒素脱気ミリ Q H₂O 118 mL を入れた。この瓶を閉めて攪拌することにより澄明な液を形成させた。別のバイアルにおいて 83 mg の K₂S₂O₈ を 2 mL のミリ Q H₂O に溶かし、攪拌しながら上記メジウム瓶に添加した。この澄明な液の入ったメジウム瓶を 40 の水浴に移し、12 時間一定温度に保った。得られたヒドロゲルナノ粒子懸濁液の色はオパール青であった。この粒子をレーザー光散乱により分析し、その平均粒径は 21.3 nm 、粒径範囲は 14 nm 乃至 41 nm であることが分かった。この懸濁液は質量で約 1 % の固体ポリマーを含有した。現在に至るまで、このヒドロゲルナノ粒子懸濁液は、室温で 2 年間、耐フロキュレーション性又は耐凝集性を示した。

【0125】

（実施例5）

H E M A 及び G M A を用いたヒドロゲルナノ粒子コポリマーの合成

H E M A 及びメタクリル酸グリセロールモノマーを用い、上記の合成方法によりナノ粒子を作製した。表 2 に 2,000 mL メジウム瓶に添加したモノマーの相対質量及びミリモルを示した。

【0126】

【表2】

表2

試料	質量 HEMA	ミリモル HEMA	質量 GMA	ミリモル GMA
90:10 pHEMA:GMA	40.0 g	307.36	4.47 g	27.78
75:25 pHEMA:GMA	33.35	256.30	11.11 g	69.46

次に、各メジウム瓶に 80 mg (0.404 ミリモル) の EGD M 架橋剤、20.4 g (7.09 ミリモル) のドデシル硫酸ナトリウム (SDS) 及び 2,000 mL の窒素脱氣ミリ Q H₂O を入れた。これらの瓶を閉めて攪拌することにより透明な液を形成させた。2つの別々のバイアルにおいて、1.44 g (6.31 ミリモル) の (NH₄)₂S₂O₈ を 20 mL のミリ Q H₂O に溶かし、攪拌しながら 2,000 mL のメジウム瓶に添加した。これらの透明な液の入ったメジウム瓶を 50 °C の水浴に移し、12 時間一定温度に保った。得られたヒドロゲルナノ粒子懸濁液の色はオパール青であった。この粒子をレーザー光散乱により分析し、表4に平均粒径及び粒径範囲を示した。

(実施例6)

ナノ粒子懸濁液の凍結乾燥

実施例1乃至5のナノ粒子懸濁液を -80 °C で凍結した。得られた固体の懸濁物を VITRIS 凍結乾燥装置において室温で真空下に乾燥して白色粉末を得た。この粉末を粉碎するか篩過して大きさの均一な粒子を作製した。粉碎した粉末の密度は約 200 mg / mL であり、篩過した粒子の密度は約 120 mg / mL であった。得られた粒子は室温で 6 ヶ月間外観又はかさ密度に変化もなく安定な粉末としてとどまった。

(実施例7)

乾燥ナノ粒子粉末の再分散

実施例6の凍結乾燥粉末を各種溶媒にさらして粉碎又は篩過により得られた粉末が懸濁液として再分散させることができるか否かを調べた。その結果、以下の溶媒で粒子を再分散させることができた。水、エタノール、メタノール、イソプロパノール及びブタノール。ヘキサン又は酢酸エチルのような非極性溶媒ではこの粉末を再分散させることはできず、この凍結乾燥粉末と混合すると、湿った粉末の不溶性の塊が形成された。

(実施例8)

PBS 中におけるポリHEMAナノ粒子粉末の凝集

実施例6で得られたポリメタクリル酸 2 - ヒドロキシエチル凍結乾燥粉末を生理的な pH 及びイオン強度のリン酸緩衝生理食塩水に添加した。その結果、数秒以内に、粉末は合体して一体型の強い凝集体フィルムを形成した。図1に、ナノ粒子粉末、リン酸緩衝生理食塩水にさらした粉末及びその結果形成された凝集体の写真を示した。

(実施例9)

PBS によるコポリマーナノ粒子粉末の水和及び凝集後の水分損失速度

化学組成の異なる数種のナノ粒子粉末をリン酸緩衝生理食塩水にさらした。図2に、その結果得られた種々の比率のHEMAモノマー、メタクリル酸グリセロール及びメタクリル酸ヒドロキシプロピルを含むこれらのコポリマー凝集体の水分損失についてプロットした結果を示した。

【0127】

図2中、各プロットは、500 mg の粉末を用い、pH 7.4 のリン酸緩衝生理食塩水で形成させたヒドロゲルナノ粒子凝集体の平均重量を示す。各凝集体は重量を測定した後、戻し、37 °C の環境室内で乾燥させた。このプロットから、GMAを含有する凝集体材料は、HEMA又はHPMAよりも高い固有の親水性を有するために、初期の水吸着量が

最も高いことが分かる。しかしながら、経時的な水分損失はこうした凝集体でより急速である。pHEMA : HPMA のコポリマーは初期の溶液吸着量は比較的低いが、同様に急速に水分質量を失うことはない。

(実施例 10)

ナノ粒子粉末及び PBS から形成された各種凝集体フィルムのレオロジーデータ

下記の表 3 に各種ナノ粒子凝集体の相対弾性を示した。ある実験において、粉末及び PBS から形成後の水和されているナノ粒子凝集体に、1 mm / 秒の速度で凝集体を動かす Duofield 張力計を用いて張力をかけた。凝集体を、大きさ 1 mm × 2 mm のネットを有する長さ 1 cm の犬用骨 (dogbone) 形状に切断した。凝集体を破断するまで延伸し、最大破断張力を 3 回の反復試験で観察、記録した。

【0128】

【表 3】

表 3

試料	伸長 (mm) (StDev)	破断張力 (g) (StDev)
pHEMA	54 mm (3.54)	0.58 g (1.21)
90:10 pHEMA:GMA	98 mm (4.32)	0.12 g (1.13)
pHPMA	6 mm (2.17)	5.9 g (1.98)
90:10 pHMA:GMA	69 mm (7.83)	0.19 g (3.34)
95:5 pHEMA:HPMA	46 mm (8.21)	0.71 g (1.31)
90:10 pHEMA:HPMA	41 mm (3.59)	1.3 g (2.91)
85:15 pHEMA:HPMA	38 mm (3.42)	2.7 g (1.83)
75:25 pHEMA:HPMA	22 mm (4.31)	3.8 g (1.95)
50:50 pHEMA:HPMA	11 mm (3.11)	5.1 g (0.61)

上記データの一般的な傾向が示すように、GMA を含有する材料は合体して、弾性は高いが、伸長下の破断強度が極めて低い凝集体を形成する。GMA の比率が高くなる (15 % 以上) と、極めて弾力性があるが、構造的完全性が低い凝集体が得られた。即ち、こうした材料は作動装置の限界を超えて伸長したが、圧力の急激な変化が物質の破碎及び破断をもたらした。HEMA にコモノマー HPMA を添加すると、より強く、弾力性の少ない材料が得られ、この材料では pHEMA の弾性の一部が維持されたが、疎水性のより高い HPMA コモノマーが増加するにつれて、破断強度が上昇した。この弾性の低下は、凝集体が形成される時の粉末による PBS の吸収及び吸着量が減少するためである。

(実施例 11)

生物活性化合物とナノ粒子粉末との乾式混合による薬物添加生体材料の作製

ポリHEMA ナノ粒子粉末及び HEMA / GMA コポリマーナノ粒子粉末をリドカイン又はエリスロマイシン粉末と乾式混合し、PBS にさらすと、凝集体が形成され、この凝集体を構成する粒子間に上記活性化合物が閉じ込められた。その結果、この活性化合物は、粒子の大きさ、凝集体を構成するポリマー又はコポリマーナノ粒子の親水性 / 疎水性及び使用生物活性化合物の物理的性質に応じて制御された速度で放出される。図 3 及び 4 に示したように、その放出速度を調整することによって長時間にわたって特定レベルの活性化合物を供給することができる。図 3 は 3 種の凝集体からのリドカインの放出を示し、図 4 はエリスロマイシンの放出を示す。

【0129】

図 3 及び図 4 から、組成が同一の凝集体の場合でも、閉じ込められ、その後放出される分子が異なる放出プロファイルを示すことがあることが分かる。これは、凝集体を構成するナノ粒子間に取り込まれる分子の物理的性質及びこの凝集体の親水性 / 疎水性によるものである。例えば、比較的疎水性のリドカイン分子は、コポリマーナノ粒子粉末中の親水性のメタクリル酸グリセロールコモノマーの量が増加するにつれて、ますます遅い速度で

放出され、エリスロマイシンの速度は、これがより親水性の活性化合物であることから、増大する。

(実施例 1 2)

P H E M A / P H P M A ナノ粒子凝集体における 1 , 1 0 フェナントロリンの取り込み
メタロプロテアーゼ中の金属に配位結合して酵素反応速度を抑制する疎水性プロテアーゼ阻害剤である 1 , 1 0 フェナントロリンを H E M A 及び H P M A ナノ粒子粉末の混合物を含むナノ粒子凝集体中に取り込ませた。メタロプロテアーゼの有効濃度は 0 . 1 m m o l / L であり、これは 5 1 0 n m で最大吸収を示す U V - V i s 吸収スペクトルを有する (M c C a r t y 、 R . E . A n a l y t i c a l B i o c h e m . 、 2 0 5 、 p . 3 7 1 - 3 7 2 、 1 9 9 2 年) 。 1 m g の 1 , 1 0 フェナントロリンを 1 0 0 m g のヒドロゲルナノ粒子粉末と共に粉碎し、これを 1 0 0 m L のリン酸緩衝生理食塩水に添加してそれぞれの凝集体を作製することにより、放出制御実験を行った。これらの凝集体を 1 0 0 m L の P B S に移し、 3 7 ° の水浴に入れた。 P B S 中に溶出する 1 , 1 0 フェナントロリンの量は種々の時間間隔で分光光度的に測定した。ポリ H E M A ナノ粒子及び p H P M A ナノ粒子はそれぞれ、以下の表 4 に示す各種平均直径のものを作製した。

【 0 1 3 0 】

【 表 4 】

表 4

試料	直径
pHEMA (A)	100 nm
pHEMA (B)	42 nm
pHPMA (A)	96 nm
pHPMA (B)	38 nm

これらの粒子は p H E M A : p H P M A の重量比 8 5 : 1 5 で混合し、得られた混合粉末を 1 , 1 0 フェナントロリンと共に粉碎して粉末 1 0 0 m g 当たり 1 , 1 0 フェナントロリン 1 ミリグラムを含有する複合材料を形成させた。

【 0 1 3 1 】

図 5 にナノ粒子の混合物を含む凝集体生体材料からの 1 , 1 0 フェナントロリンのインピトロにおける放出を示した。このグラフから、異なる大きさ及び化学組成のナノ粒子を用いてナノ粒子凝集体からの 1 , 1 0 フェナントロリンの放出を調節することにより 1 日から 1 3 日までの期間において制御された用量を得ることが可能であることが分かる。

(実施例 1 3)

インビボにおける殺菌試験

熱傷部位に通常見出される感染細菌の培養液においてナノ粒子凝集体からのドキシサイクリン及びリファンピンの制御放出の効果を調べる試験をデザインした。最初に、これら薬剤の制御放出が 1 4 日の期間にわたって殺菌効果を発揮するのに十分であるかどうかを調べる試験をデザインした。持続感染をシミュレートするために、黄色ブドウ球菌、腸球菌及びシュードモナス菌の 3 種の細菌をそれぞれ別々の寒天プレート上で平板培養した。 3 m g のドキシサイクリン及び 1 . 5 m g のリファンピンを含有する 1 5 0 m g のナノ粒子凝集体を、これらの抗生物質とナノ粒子粉末とを乾式混合し、次いでこの粉末に 5 m L のリン酸緩衝生理食塩水を添加することによって調製した。この完全な状態の凝集体は 5 分間形成させた。この凝集体を各皿の細菌コロニーへ注意深く移し、下記に示したように、阻止帯を写真撮影した。 2 4 時間毎に、新鮮な細菌コロニーをインキュベートし、同凝集体をこの新たなプレートに移し、抗生物質含有包帯による阻止を経時的に調べた。この抗生物質を制御放出するナノ粒子凝集体を市販の放出制御のない銀含浸抗菌性包帯と比較した。

【 0 1 3 2 】

調査における試験細菌：

黄色ブドウ球菌 ATCC 25923 (S Aと称する)

綠膿菌 ATCC 27853 (P sと称する)

大便連鎖球菌 ATCC 51299 (E Fと称する)

使用材料：

ディスクディフュージョン感受性試験で用いるBBLプロンプト・イノキュレーション

・システム (Prompt Inoculation System)

ミュラー ヒントン (Mueller Hinton) 寒天

プロトコル：20mmパンチ (punch) のアクアセル (AquaCell) Ag 市販包帯又は上記の両活性薬剤含有凝集体を上記接種済ディスクの表面に載せる。各それぞれの包帯を試験期間の間、24時間毎に新たに接種したディスクに移し、阻止帯を観察する。この試験では、細菌阻止は、6時間インキュベートしたコロニーを含む新たなプレートについて24時間で形成されるディスク周囲の阻止帯で判定した。それぞれについての全体の阻止にはアクアセル材又は凝集体包帯のうちのいずれか20mmディスクを含めた。個別の菌株を接種したミュラー ヒントン寒天で試料を試験した（細菌を適切な 1.5×10^8 コロニー形成単位 / mL (CFU/mL) に希釀するのにBBLプロンプト法を用いた）。各細菌の阻止に関するプロットを図8に示した。

【0133】

以上の試験から、凝集体包帯材料によって18乃至21日間にわたって黄色ブドウ球菌、綠膿菌及び大便連鎖球菌の阻止が得られることが分かる。市販の1%銀含浸ヒドロゲルガーゼの包帯では、同じこれらの菌種に対して10乃至12日間の阻止が得られる。

(実施例14)

創傷治癒試験

図9の画像は、治癒過程の異なる時点での中間層 (partial thickness) (深さ2cm) である異なる直径 (それぞれ2cm、4cm及び6cm) の創傷に適用した非薬物添加ナノ粒子粉末 (ポリHEMAナノ粒子85%とポリHPMAナノ粒子15%との混合物) を示す。この粉末は直接創傷に適用され、浸出液を利用して凝集体包帯を形成する。

【0134】

この試験では、ナノ粒子粉末を浸出液のある創傷表面に適用し、所定の位置に押し付けた。二次包帯は適用しなかった。ケア用市販ヒドロゲル包帯の定番ものは創傷表面に適用した後、二次包帯と毎日の交換が必要であった。ナノ粒子凝集体包帯では、創傷治癒の過程で包帯交換の必要はなく、縁部の発赤、TNF-レベルの上昇などの炎症の形跡は認められなかった。

【0135】

また、上記の包帯は、ブタの動物モデルの皮膚移植片提供部位にも適用した。図10は、ブタの皮膚移植片提供部位に凝集体包帯を形成させた後7日間かけた治癒結果をアクアセルとの比較で示したものである。

【0136】

図10から、上記凝集体材料は、市販の包帯と同等以上の治癒が得られたので皮膚移植片提供部位の有効な包帯として用い得ることが分かる。

(実施例15)

ナノ粒子粉末による増殖因子の取り込み及び創傷治癒モデルにおける増殖因子放出包帯の適用

85:15 pHEMA : pH PMA ナノ粒子を含むヒドロゲルナノ粒子粉末を増殖因子である血管内皮増殖因子 (VEGF) 及び血小板由来増殖因子 (PDGF) と混合し、創傷に適用した。粉末は以下の通り、調製した。

【0137】

A. 85:15 pHEMA : pH PMA ナノ粒子を水に懸濁した懸濁液 105mL を VEGF 蛋白質 5マイクログラムと混合した。この懸濁液を十分に混合して確実に均一

化した後、凍結乾燥して 2 g の粉末を得、これを各 5 , 400 ミリグラムの部分に分割した。各部分は 1 マイクログラムの VEGF を含有した。

【 0138 】

B . 85 : 15 pH EMA : pH PMA ナノ粒子を水に懸濁した懸濁液 105 mL を PDGF 蛋白質 20 マイクログラムと混合した。この懸濁液を十分に混合して確実に均一化した後、凍結乾燥して 2 g の粉末を得、これを各 5 , 400 ミリグラムの部分に分割した。各部分は 4 マイクログラムの PDGF 蛋白質を含有した。

【 0139 】

C . 85 : 15 pH EMA : pH PMA ナノ粒子を水に懸濁した懸濁液 105 mL を VEGF 蛋白質 5 マイクログラム及び PDGF 蛋白質 20 マイクログラムと混合した。この懸濁液を十分に混合して確実に均一化した後、凍結乾燥して 2 g の粉末を得、これを各 5 , 400 ミリグラムの部分に分割した。各部分は 1 マイクログラムの VEGF 及び 4 マイクログラムの PDGF 蛋白質を含有した。

【 0140 】

1 インチ × 1 インチの全層創傷をブタに 4 創傷 × 4 創傷の格子状に計 16 個形成した。各創傷を以下の 4 種の包帯のうちの 1 種で覆った。

【 0141 】

包帯 400 ミリグラム当たり 1 マイクログラムの VEGF を含有するナノ粒子粉末
包帯 400 ミリグラム当たり 4 マイクログラムの PDGF を含有するナノ粒子粉末
包帯 400 ミリグラム当たり 1 マイクログラムの VEGF 及び 4 マイクログラムの PDGF を含有するナノ粒子粉末
増殖因子を含有しない対照ナノ粒子粉末

上記創傷は二次包帯で覆わなかった。各創傷部位から 2 、 7 、 14 及び 21 日目に生検材料を採取し、試料を組織像に関して検討した。

【 0142 】

対照及び PDGF 処置創傷の組織像を図 11 に示した。図に示した組織画像において、右側の生検材料は活性増殖因子を含有しない対照包帯で処置した創傷からのものである。左側の生検材料は PDGF 封入ナノ粒子凝集体包帯で処置した創傷からのものである。

【 0143 】

いずれの生検材料も 7 日目のものである。対照では、創傷床は 7 日ではずっと深く、肉芽形成はかなり少なくしか認められなかった。さらに、PDGF を入れた創傷では線維芽細胞の動員が増大した。創傷領域は各組織画像内の囲い枠で示されているのに対し、各画像の右側は生検時に創傷の周囲で切除された健康な組織を示す。同様な結果は 14 及び 21 日目でも認められ、肉芽が著しく増加した。

【 0144 】

対照及び VEGF 処置創傷の組織像を図 12 に示した。図に示した組織画像において、右側の生検材料は活性増殖因子を含有しない対照包帯で処置した創傷からのものである。左側の生検材料は VEGF 封入ナノ粒子凝集体包帯で処置した創傷からのものである。包帯は、包帯 1 グラム当たり 1 マイクログラムの VEGF を含有した。いずれの生検材料も 7 日目のものである。

【 0145 】

対照では、創傷は 7 日ではずっと深く、肉芽形成はかなり少なくしか認められない。これに対し、VEGF 処置した創傷では創傷床内の血管の格段の増加が認められる。創傷領域は各組織画像内の囲い枠で示されているのに対し、各画像の右側は生検時に創傷の周囲で切除された健康な組織を示す。

【 0146 】

対照並びに VEGF 及び PDGF の組合せで処置した創傷の組織像を図 13 に示した。図に示した組織画像において、右側の生検材料は活性増殖因子を含有しない対照包帯で処置した創傷からのものである。左側の生検材料は PDGF 及び VEGF の組合せを封入したナノ粒子凝集体包帯で処置した創傷からのものである。いずれの生検材料も 7 日目のも

のである。

【0147】

対照では、創傷床は7日ではずっと深く、肉芽形成はかなり少なくしか認められなかつた。さらに、創傷床内の血管の格段の増加及び創傷縁内のレット(rhett)形成の増大が認められた。創傷領域は各組織画像内の囲い枠で示されているのに対し、各画像の右側は生検時に創傷の周囲で切除された健康な組織を示す。以上の実験から、ナノ粒子粉末に増殖因子又はその組合せを取り込ませることが創傷治癒において著しい影響を示し得ることは明らかである。

(実施例16)

浸出液のない皮膚表面におけるインサイツでのナノ粒子凝集体包帯の作製

ナノ粒子粉末、エタノール及びポリエチレングリコール400を含む流動性ゲル製剤を以下の通り作製した。

【0148】

実施例1に従って作製したある量のpHEMAナノ粒子懸濁液を実施例2に従って作製したある量のpHPMAナノ粒子懸濁液と混合して、この混合懸濁液がpHEMA85%及びpHPMA15%となるようにする。この混合懸濁液を凍結乾燥し、得られた粉末を、ブラシをかけて150ミクロンの篩いを通して、貯蔵のため袋に入れる。

【0149】

篩過したナノ粒子粉末1.15gを100mlのビーカーに入れ、1gのPEG400、3gのエタノール及び0.10gの脱イオン水の混合液をこの粉末が入っているビーカーに注ぎ入れる。上記の液体とこの粉末を十分混合し、最初にペーストを形成させる。このペーストは30秒以内に粘着性ゲルに変化する。このゲルを貯蔵のためヒートシール可能な分配管に入れる。

【0150】

完全な状態の皮膚に適用すると、アルコールが蒸発して後に、全てのこぼこな表面に適合し、下の皮膚に密に粘着する可塑性包帯凝集体が残る。

【0151】

本発明について上記実施態様と併せて記載したが、前述の記載及び実施例は本発明を例示することを意図したものであり、本発明の範囲を限定するものではないことが理解されるべきである。本発明の範囲内の他の態様、利点及び変更があり得ることは、本発明が属する分野の当業者には明らかであろう。