



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公告本

(11) 證書號數：TW I605834 B

(45) 公告日：中華民國 106 (2017) 年 11 月 21 日

(21) 申請案號：102121431

(22) 申請日：中華民國 102 (2013) 年 06 月 17 日

(51) Int. Cl. : A61K8/73 (2006.01)

A61Q19/00 (2006.01)

(30) 優先權：2012/06/15 美國

61/660,269

2012/07/04 歐洲專利局

12 004 962.2

2013/02/26 歐洲專利局

13 000 961.6

(71) 申請人：梅茲製藥有限兩合公司 (德國) MERZ PHARMA GMBH & CO. KGAA (DE)
德國

(72) 發明人：巴格 海克 BARG, DR. HEIKO (DE)；費德瑞奇 約瑟孚 FRIEDRICH, DR. JOSEF (DE)；立貝瑞 渥福岡 LIEBETRAU, DR. WOLFGANG (DE)；佛德斯 羅伯 VOIGTS, ROBERT G. (US)；立門 廷史蒂芬 LIGMAN, TIM STEPHEN (US)

(74) 代理人：祁明輝；林素華；涂綺玲

(56) 參考文獻：

EXTRACELLULAR MATRIX, edited by Susan Hawkes and John Wang, 1982
ACADEMIC PRESS, p. 73

J Drugs Dermatol., 2012 Jan; 11(1 Suppl):s5-8 之摘要

Emervel, 2011

審查人員：俞樹生

申請專利範圍項數：17 項 圖式數：0 共 54 頁

(54) 名稱

透明質酸組成物的製造方法

METHOD OF PREPARING A COMPOSITION BASED ON HYALURONIC ACID

(57) 摘要

一種組成物的製造方法，此組成物包括一交聯的第一聚合物與水，可選擇地包括一第二聚合物，第二聚合物可為交聯或非交聯，其中第一與第二聚合物係選自一多醣體，此製造方法至少包括步驟(i)至(iv)：(i)交聯一混合物，此混合物包括第一聚合物與水；(ii)接續步驟(i)之交聯步驟後，停止交聯；(iii)可選擇地將步驟(ii)之產物與第二聚合物混合；(iv)將步驟(ii)或步驟(iii)所得的產物進行透析。

The invention relates to a method of preparing a composition, the composition comprising a crosslinked first polymer, optionally a second polymer, which may be crosslinked or non-crosslinked, and water, wherein the first and the second polymer are selected from a polysaccharide, comprising at least steps (i) to (iv): (i) crosslinking a mixture comprising the first polymer and water; (ii) subsequent to the crosslinking in step (i), terminating the crosslinking; (iii) optionally blending the product obtained in step (ii) with the second polymer; (iv) subjecting the product obtained in step (iii) to dialysis.

發明摘要

修正	本	年	月	日
補充	106	9	21	

※ 申請案號：102121431

※ 申請日：102. 6. 17

※IPC 分類：A61K 8/73 (2006.01)
A61Q 19/00 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

透明質酸組成物的製造方法 / METHOD OF PREPARING A
COMPOSITION BASED ON HYALURONIC ACID

【中文】

一種組成物的製造方法，此組成物包括一交聯的第一聚合物與水，可選擇地包括一第二聚合物，第二聚合物可為交聯或非交聯，其中第一與第二聚合物係選自一多醣體，此製造方法至少包括步驟(i)至(iv)：

- (i) 交聯一混合物，此混合物包括第一聚合物與水；
- (ii) 接續步驟(i)之交聯步驟後，停止交聯；
- (iii) 可選擇地將步驟(ii)之產物與第二聚合物混合；
- (iv) 將步驟(ii)或步驟(iii)所得的產物進行透析。

【英文】

The invention relates to a method of preparing a composition, the composition comprising a crosslinked first polymer, optionally a second polymer, which may be crosslinked or non-crosslinked, and water, wherein the first and the second polymer are selected from a polysaccharide, comprising at least steps (i) to (iv):

- (i) crosslinking a mixture comprising the first polymer and

water;

(ii) subsequent to the crosslinking in step (i), terminating the crosslinking;

(iii) optionally blending the product obtained in step (ii) with the second polymer;

(iv) subjecting the product obtained in step (iii) to dialysis.

【代表圖】

【本案指定代表圖】：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

修正
本 年 月 日
補充 106. 9. 21

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

透明質酸組成物的製造方法 / METHOD OF PREPARING A
COMPOSITION BASED ON HYALURONIC ACID

【技術領域】

【0001】 本發明是有關於一種例如是凝膠的多醣體透明質酸之組成物、包含注射器與此組成物之套件與應用此組成物作為皮膚科填料的製造方法。

【先前技術】

【0002】 一般來說，例如是水溶膠 (hydrogel) 的多醣體 (polysaccharide) 凝膠與水常用以作為皮膚科填料。此類凝膠一般係於一水性介質中將個別的多醣體進行化學交聯來製備。合適的多醣體例如是透明質酸 (hyaluronic acid)，其為與生物體相同或類似的組成物，舉例來說，透明質酸為皮膚的主要成分，可用於進行組織修復 (tissue repair)。因此，可將副作用減到最低且作為安全的應用。

【0003】 專利編號 EP 1,818,344 之文件係有關於製備交聯透明質酸凝膠的製程，包括攪拌與混合一混合物，此混合物包括 10 w/v% 或更多的透明質酸、交聯劑與酸性或鹼性條件下的水。

【0004】 專利編號 EP 2,054,039 (WO 2008/018796) 之文件係有關於一種黏彈性 (viscoelastic) 水溶膠組成物，此組成物包或

一第一微粒與一第二微粒，第一微粒與第二微粒可透過立體結構彼此產生交互作用，其中第一微粒包括一交聯的第一親水性聚合物，第一微粒包括具有第一旋光（chiral）區域的第一寡聚物（oligomer）或共寡聚物的外部接枝（graft），第一旋光區域包括第一旋光單體。而第二微粒包括一交聯的第二親水性聚合物，第二微粒包括具有第二旋光區域的第二寡聚物或共寡聚物的外部接枝，第二旋光區域包括第二旋光單體，第二旋光單體與第一旋光單體之旋光性相反，其中第一旋光單體與第二旋光單體彼此非共價（non-covalently）地進行交互作用。親水性聚合物可為透明質酸。

【0005】 專利編號 EP 2,178,923 (WO 2009/018076)之文件係有關於一種製備交聯透明質酸的製程，此製程包括將透明質酸與具有聚乙二醇（polyethylene glycol）之交聯劑接觸。

【0006】 專利編號 WO 2011/119468 之文件係有關於一種用於軟組織增益（soft tissue augmentation）的水溶膠，此水溶膠包括一種具有零長度交聯部分（zero-length cross-linked moieties）的交聯生物相容性（biocompatible）聚合物，以及可選擇地具有至少一種其他併入交聯生物相容性聚合物的活性成分。

【0007】 專利編號 EP 2,152,329 (WO 2008/068297)文件係有關於一種植入物，此植入物可以一單相（single-type）水溶膠型態進行皮下（subcutaneously）或皮膚內（intradermally）注射，單相水溶膠包括由交聯的透明質酸與其中一種生理上可接受的

鹽類所組成的凝膠。

【0008】 專利編號 EP 2,170,961 (WO 2009/021526)文件係有關於一種用於醫學美容 (aesthetics medicine) 與整型外科 (orthopedic) 的透明質酸分散液，其中分散相包括由交聯的透明質酸所組成的例子，連續相實質上包括線狀 (linear) 透明質酸。

【0009】 專利編號 EP 1,699,500 (WO 2005/067994)文件係關於一種透明質酸組成物，包括交聯、不溶於水、含水的透明質酸凝膠粒子。此組成物可用於組織增益，並用於一種穩定交聯的透明質酸的方法，包括將不溶於水、脫水交聯的透明質酸與生理上相容的水溶液進行水合，水溶液包括局部麻醉劑 (local anesthetic)，其中穩定組成物的儲存模數 (storage modulus) G' 值至少約為非穩定組合物的儲存模數 G' 值的 110%，用以穩定的透明質酸組成。

【0010】 專利編號 WO 2010/015900 文件係關於軟組織填充劑 (soft tissue filler)，舉例來說，具有透明質酸與藥學上可接受的鹽類的真皮 (dermal) 與皮下 (subdermal) 填充劑，其中此透明質酸組成物可包括至少一種治療上有效量的麻醉劑，例如利多卡因 (lidocaine)。包括利多卡因的透明膠質組成物將較於包括利多卡因的傳統組成物具有更高的穩定性，舉例來說，當此組成物用於消毒技術或當其需存放一段長久的時間，包括利多卡因的透明膠質組成物具有更高的穩定性。此專利文件也提供製造與準備此透明質酸組成物的方法與製程。

【0011】 專利編號 FR 919,999 文件係關於一種化妝品組成物或藥學組成物，此組成物包括透明質酸與二價陽離子（divalent cation）。此組成物可用於治療皺紋。

【0012】 專利編號 EP 2,254,584 (WO 2009/098127)文件係關於生物相容性可注射產品，此產品可釋放鋅及/或至少一種以鋅型式存在的醣類鹽類至組合物中，此組合物包括上述產品，且用以填充或增加生物組織的容量或取代或補充生物流體（biological fluid）。

【0013】 專利編號 EP 2,155,212 (WO 2008/139122)文件係關於透明質酸與至少一透明質酸分解抑制劑的關連，用於人類皮膚科與整形外科。

【0014】 專利編號 EP 0839159 B1 文件揭露一種製備交聯生物相容性多醣體凝膠組成物的製程。此製程包括在多功能交聯劑中交聯一多醣體，其中形成了一種具黏彈性（viscoelastic）的凝膠。

【0015】 專利文件 EP 1,711,552 B1 文件係關於一種製造生物相容性交聯凝膠的方法，此方法包括交聯一生物相容性聚合物，以非交聯聚合物稀釋交聯聚合物，以及停止交聯反應。

【0016】 專利編號 EP 0466300 B1 文件係關於一種製備生物相容黏彈性凝膠漿的方法，使方法包括混合生物相容性凝膠，此生物相容性凝膠包括具有一第二聚合物的交聯透明質酸，舉例來說可用以形成一兩相混合物與凝膠。

【發明內容】

【0017】 本發明係有關於一種像是凝膠的組合物的製造方法，此凝膠係為一多醣體凝膠，可用作皮膚科填料，其中此組成物具有相當好的穩定性，舉例來說在應用此組成物後不會改變其性質，尤其是其黏彈性質，且可依照皮膚病（dermatological）的不同需求，以訂製（tailor-made）的方式進行調整。此外，此凝膠與皮膚組織具有良好的相容性。

【0018】 尤其，根據本發明之第一方面，提出一種組成物的製造方法，此組成物包括一交聯的第一聚合物與水，可選擇地包括一第二聚合物，第二聚合物可為交聯或非交聯，其中第一與第二聚合物係選自一多醣體，此製造方法至少包括步驟(i)至(iv)：

- (i) 交聯一混合物，此混合物包括第一聚合物與水；
- (ii) 接續步驟(i)之交聯步驟後，停止交聯；
- (iii) 可選擇地將步驟(ii)之產物與第二聚合物混合；
- (iv) 將步驟(ii)或步驟(iii)所得的產物進行透析。

【0019】 在一實施例中，第二聚合物的存在是必要的。在此實施例中，需要將步驟(ii)所得的產物混合步驟(iii)的第二聚合物。

【0020】 在一實施例中，第二聚合物的存在並非必要。在此實施例中，不需要將步驟(ii)所得的產物混合步驟(iii)的第二聚合物。

【0021】 在一實施例中，第二聚合物可與第一聚合物相同。

【0022】 在一實施例中，第二聚合物可與第一聚合物不同。

【0023】 在一實施例中，第一聚合物為交聯且第二聚合物為非交聯。

【0024】 在一實施例中，第一聚合物與第二聚合物為一透明質酸與一透明質酸鹽類。

【0025】 在一實施例中，第一聚合物與第二聚合物為一透明質酸或一透明質酸鹽類。

【0026】 在一實施例中，透明質酸鹽類為一鈉鹽。

【0027】 在一實施例中，步驟(i)的第一聚合物的分子量介於 1.5 至小於 3.5 MDa、2.0 至小於 3.5 MDa 或 2.5 至小於 3.0 MDa 的範圍。

【0028】 在一實施例中，步驟(iii)的第二聚合物的分子量至少 3.0 MDa 或至少 3.5 MDa。

【0029】 在一實施例中，第二聚合物之重量少於第一聚合物之重量的 5%或少於第一聚合物之重量的 4%，例如介於 0.01 至 5%或 0.1 至 4%的範圍，或者介於 0.1 至 2.5%、0.2 至 2.0%或 0.5 至 1.5%的範圍。

【0030】 在一實施例中，依據本發明之方法在步驟(iv)之後更包括步驟(v)：

(v) 混合一麻醉劑或一抗心律不整藥物至步驟(iv)所得的產物，抗心律不整藥物例如是利多卡因、鹽酸利多卡因、鹽酸利多卡因單水合物或丁卡因。

【0031】 在一實施例中，依據本發明之方法在步驟(iv)或步驟

(v)之後更包括步驟(vi)：

(vi) 填充步驟(iv)或步驟(v)的產物至一注射器並消毒。

【0032】 在一實施例中，步驟(i)之混合物更包括為一鹼性磷酸鹽緩衝溶液。

【0033】 在一實施例中，第二聚合物係由步驟(iii)中以一磷酸鹽緩衝溶液的型態所提供。

【0034】 在一實施例中，步驟(v)之麻醉劑與抗心律不整藥物，例如是利多卡因或丁卡因係一磷酸鹽緩衝溶液的型態所提供。

【0035】 在一實施例中，依據本發明之方法在步驟(i)的溫度介於攝氏 0 至 40 度的範圍，例如是介於攝氏 15 至 40 度、25 至 35 度、25 至 30 度或 30 至 35 度的範圍。

【0036】 在一實施例中，依據本發明之方法在步驟(ii)的溫度介於攝氏 0 至 30 度的範圍，例如是介於攝氏 0 至 10 度或 3 至 7 度的範圍。

【0037】 在一實施例中，依據本發明之方法在步驟(iii)的溫度介於攝氏 0 至 30 度的範圍，例如是介於攝氏 0 至 10 度或 3 至 7 度的範圍。

【0038】 在一實施例中，依據本發明之方法在步驟(iv)的溫度介於攝氏 0 至 30 度的範圍，例如是介於攝氏 0 至 10 度或 3 至 7 度的範圍。

【0039】 在一實施例中，在步驟(i)可使用二縮水甘油基醚作

為交聯劑。

【0040】 在一實施例中，在步驟(i)可使用 1,4-丁二醇二縮水甘油醚作為交聯劑。

【0041】 在一實施例中，步驟(ii)包括步驟(ii.1)與步驟(ii.2)：

(ii.1) 將在步驟(i)中得到的交聯產物置入一種酸中；

(ii.2) 擠出在步驟(ii.1)中得到的產物；或

擠出在步驟(ii.1)中得到的產物通過一篩子；或

擠出在步驟(ii.1)中得到的產物通過具有篩孔尺寸介於 500 至 600 μm 範圍的一篩子。

【0042】 在一實施例中，透析步驟(iv)更包括步驟(iv.1)至步驟(iv.3)：

(iv.1) 擠出步驟(iii)所得的產物通過一第一篩子，接著擠出來自第一篩子的擠出物通過一第二篩子，其中第二篩子的篩孔尺寸小於第一篩子的篩孔尺寸；或者

擠出步驟(iii)所得的產物通過一第一篩子，接著擠出來自第一篩子的擠出物通過一第二篩子，接著擠出來自第二篩子的擠出物通過一第三篩子，其中第二篩子的篩孔尺寸小於第一篩子的篩孔尺寸，且第三篩子的篩孔尺寸小於第二篩子的篩孔尺寸；

(iv.2) 填充由步驟(iv.1)所得的產物至一透析膜；

(iv.3) 將步驟(iv.2)所得被填充的透析膜置入一透析溶液。

【0043】 在一實施例中，透析步驟(iv)更包括步驟(iv.1)至步驟(iv.3)：

(iv.1) 擠出步驟(iii)所得的產物使其通過一第一篩子，第一篩子的篩孔尺寸介於 325 至 425 μm 的範圍；接著擠出來自第一篩子的擠出物使其通過一第二篩子，第二篩子的篩孔尺寸介於 175 至 225 μm 的範圍；接著擠出來自第二篩子的擠出物使其通過一第三篩子，第三篩子的篩孔尺寸介於 110 至 170 μm 的範圍；

(iv.2) 填充由步驟(iv.1)所得的產物至一透析膜，透析膜之截留分子量介於 12,000 至 14,000 Da 的範圍；

(iv.3) 將步驟(iv.2)所得被填充的透析膜置入一透析溶液。

【0044】 上述任一實施例可結合選自上述實施例中的其他實施例至少其中之一。

【0045】 根據本發明的第二方面，提出一種組成物，例如是凝膠，此組成物包括一交聯的第一聚合物與水，以及可選擇地包括一第二聚合物，第二聚合物可為交聯或非交聯，其中第一聚合物與第二聚合物係選自一多醣體，此組成物可由依據本發明第一方面的方法，或者依據第一方面之方法的任一實施例或第一方面所定義之至少兩個實施例的其中任一的方法所製成。

【0046】 根據本發明之第三方面，提出一種套件，此套件包括一注射器與本發明第二方面之組成物，或者包括一注射器與依據本發明第一方面之方法製備之組成物。

【0047】 根據本發明之第四方面，係有關於本發明第二方面之組成物的使用方式，或者依據本發明第一方面之方法製備之組成物在化妝品上的應用。

【0048】 在一實施例中，此組成物係作為皮膚科填料。

【0049】 根據本發明之第五方面，係有關於一種依據本發明第二方面之組成物，例如是凝膠，作為藥劑的使用。

【0050】 為了對本發明之上述及其他方面有更佳的瞭解，下文特舉實施例作詳細說明如下：

【圖式簡單說明】

【0051】

無。

【實施方式】

【0052】 根據本發明的第一方面，係有關於一種組成物的製造方法，此組成物包括一交聯的第一聚合物與水，可選擇地包括一第二聚合物，第二聚合物可為交聯或非交聯，其中第一與第二聚合物係選自一多醣體 (polysaccharide)，此製造方法至少包括步驟(i)至(iv)：

- (i) 交聯一混合物，此混合物包括第一聚合物與水；
- (ii) 接續步驟(i)之交聯步驟後，停止交聯；
- (iii) 可選擇地將步驟(ii)之產物與第二聚合物混合；
- (iv) 將步驟(ii)或步驟(iii)所得的產物進行透析 (dialysis)。

【0053】 在此所述之「組成物」包括一產物，此產物包括交聯的第一聚合物與水，以及可選擇地包括第二聚合物，第二聚合物可為交聯或非交聯。

【0054】 在一實施例中，組成物為一凝膠 (gel)，例如是一水溶膠 (hydrogel)。在此所述之「凝膠」包括一產物，此產物具有黏性 (viscous)

與彈性 (elastic)。因此，此凝膠包含一黏彈性 (viscoelastic) 產物。在一般大眾科學中，凝膠的特徵有時被認為是像果凍的材料。凝膠可黏彈性可由凝膠的損耗模數 (loss modulus) 與儲存模數 (storage modulus) 來決定。

【0055】 損耗模數 G'' 與儲存模數 G' 的的比值可以損耗因數 (loss factor) $\tan\delta = G'' / G'$ 來表示。損耗因數越高，此產物的性質就越接近牛頓流體 (Newtonian flow)。產物的黏度 (viscosity) 可以 η^* 來表示。在本技術領域中已有合適的方法用以決定 $\tan\delta$ 與 η^* 。

【0056】 在本發明之方法中，組成物或依據本發明例如是凝膠的組成物必須使用多醣體 (polysaccharide) 作為第一聚合物，且若使用第二聚合物，則以多醣體作為第二聚合物。

【0057】 在此所述的「多醣體」包括由碳水化合物 (carbohydrate) 分子所組成或藉由糖苷鍵 (glycosidic bond) 接合在一起的重複的單體單元。一般來說，多醣體包含多於十個單醣 (monosaccharide) 單元。多醣體可例如是澱粉 (starch)、糖原 (glycogen)、纖維素 (cellulose)、甲殼素 (chitin)、透明質酸 (hyaluronic acid) 或其混合物。

【0058】 在一實施例中，多醣體為一透明酸質，透明酸值可由例如是透明酸質的鈉鹽 (sodium salt) 所提供。也可由酸類與其鹽類 (例如是其鈉鹽) 的混合物所提供。

【0059】 因此，在此所述之「透明質酸 (hyaluronic acid)」也可記為同義的「hyaluronan」或「hyaluronate」。於後文中，透明質酸可縮寫記作“HA”。

【0060】 透明質酸為一種雙糖類 (disaccharide) 非交聯聚合物。在其長鏈上可具有超過 25,000 個雙糖單元。透明質酸的分子量可介於 5,000 至

20,000,000 Da 的範圍。

【0061】 透明質酸在本領域中具有公認的意義。在商業上可得到依不同分子量與/或不同分子量分配之等級的透明質酸。當作為依據本發明之方法的步驟(i)的起始材料 (starting material) 時，透明質酸係為非交聯型態。

步驟(i)

【0062】 步驟(i)需要交聯一混合物，此混合物包括第一聚合物與水。

【0063】 在此所述之「交聯」包括藉由一化學鍵或多種化學鍵，聯結至少兩種不一樣的多醣體聚合物鏈。其結果使得第一聚合物的分子量增加，也因而增加其黏性與/或彈性。

【0064】 在一實施例中，交聯步驟係透過一交聯劑進行。

【0065】 在本領域中已知用於例如是透明質酸之多醣體交聯的交聯劑。

【0066】 在一實施例中，一種環氧化物結構 (epoxide-structure) 的交聯劑可用於本發明之方法。

【0067】 在一實施例中，二縮水甘油基醚 (diglycidyl ether) 可用於交聯步驟。

【0068】 在一實施例中，1,4-丁二醇二縮水甘油醚 (1,4-butanediol diglycidylether, BDDE) 可用於交聯步驟。此化合物在商業上可取得。

【0069】 在一實施例中，交聯劑的量值可為 5 至 15% (交聯劑體積/透明質酸重量)，例如是 6 至 14% (v/w) 或 7 至 12% (v/w)。

【0070】 在一實施例中，在此依據步驟(i)之交聯反應時的溫度係被控制的。

【0071】 在一實施例中，依據步驟(i)之交聯反應的溫度在攝氏 0 至 40 度的範圍。

【0072】 在另一實施例中，依據步驟(i)之交聯反應的溫度在攝氏 15 至 40 度的範圍。

【0073】 在一實施例中，依據步驟(i)之交聯反應的溫度在攝氏 25 至 35 度的範圍。

【0074】 在一實施例中，依據步驟(i)之交聯反應的溫度在攝氏 25 至 30 度的範圍。

【0075】 在另一實施例中，依據步驟(i)之交聯反應的溫度控制在攝氏 30 至 35 度或高於攝氏 30 度至 35 度的範圍。

【0076】 此溫度或溫度範圍可確保同質 (homogenous) 交聯且盡可能避免非同質 (inhomogeneous) 粒子可產生。此外，在一實施例中，控制溫度可依據發明訂製調整組成物的黏彈性。

【0077】 在一實施例中，若依據步驟(i)交聯步驟係在一較高的溫度下進行，例如是高於攝氏 30 度至 35 度的範圍，其產生的像是凝膠之組成物的黏彈性，相較於在攝氏 25 度至 30 度之較低的溫度範圍進行交聯產生的組成物更高 (intense)。此差異可作為決定依照本領域習知方法所製之組成物的儲存模數與耗損模數的特性。因此，在一實施例中，在步驟(i)中適當地選擇反應溫度，可使其產生例如是凝膠的組成物具有不同的黏彈性。

【0078】 在此所述之「混合物」包括兩種或多種物質的結合，這些物質彼此混合但並未具有化學鍵結。因此，此處之混合物表示多醣類之第一聚合物與水的物理混合。混合物可為溶液 (solution)、懸浮液 (suspension)

或膠體 (colloid) 的型態。

【0079】 第一聚合物，例如像是透明質酸的第一多醣類，一般來說其分子量(Mw)介於 1.0 至 4.0 MDa、介於 1.5 至 3.5 MDa 或 1.5 至小於 3.5 MDa 的範圍。這些分子量係關於其個別交聯之前的分子量。

【0080】 在一實施例中，第一多醣類的分子量介於 2.5 至小於 3.0 MDa 的範圍，同樣地，此分子量係為交聯之前的分子量。

【0081】 水可以管路水 (pipe water)、蒸餾水 (distilled water) 或去離子水 (deionised water) 的形式提供。

【0082】 在一實施例中，用於步驟(i)的混合物可額外包括一緩衝溶液 (buffer solution)。

【0083】 在一實施例中，緩衝溶液為一磷酸鹽 (phosphate) 緩衝溶液。

【0084】 在一實施例中，磷酸鹽緩衝溶液是由氯化鈉 (sodium chloride)、氫二鈉無水磷酸鈉 (dibasic anhydrous sodium phosphate)，磷酸二氫鈉二水合物 (monobasic sodium phosphate dihydrate) 和水所製成。

【0085】 在一實施例中，緩衝溶液為一鹼性緩衝溶液。

【0086】 在一實施例中，緩衝溶液的 pH 值介於 6.8 至 7.6、7.0 至 7.4 或 7.1 至 7.3 的範圍。

【0087】 在一實施例中，依據本發明之方法製成的最終組成物的 pH 值範圍可調整為介於 6.5 至 7.5 的範圍，例如是 6.7 至 7.2、6.8 至 7.1 或 6.8 至 6.9 的範圍。這樣的 pH 值可支持組成物對皮膚組織的相容性。在一實施例中，為了調整 pH 值，可使用緩衝溶液。

【0088】 在一實施例中，步驟(i)可被混合第一聚合物、水、交聯劑與可選擇地混合緩衝溶液，與攪拌此混合物持續一預定時間所影響，其中溫度可被控制不超過預設的設定點。

步驟(ii)

【0089】 步驟(ii)需要停止步驟(i)中的交聯反應。

【0090】 依據步驟(ii)停止交聯反應係為必要的，由於在交聯反應中可能形成其他組成物或凝膠具有過高的黏性或黏性與彈性，以至於無法合適地應用於皮膚科填料。若凝膠中含有會影響交聯的化合物，例如是步驟(i)中使用的交聯劑，則組成物或凝膠的黏性或黏彈性就不會維持不變 (constant)。

【0091】 基本上，每一化合物皆可與交聯劑進行反應，因此鈍化此些化合物係被用於停止交聯反應。

【0092】 因此，在一實施例中，環氧化物 (epoxide) 型態的交聯劑係被用於步驟(i)中，可透過其他化合物停止交聯反應，此化合物可打開 (cleave) 環氧化物的部分，使得在多醣體無法再與合適的基團進行交聯。

【0093】 在一實施例中，可透過一種酸打開環氧化物而停止步驟(i)中的交聯反應。有機酸或非有機酸皆可用於停止交聯反應。

【0094】 在一實施例中，係使用一種非有機酸，例如是鹽酸 (hydrochloric acid)。

【0095】 用於停止交聯反應的化合物可提供於一緩衝溶液中，例如是步驟(i)中使用的緩衝溶液。

【0096】 這樣的溶液可被稱為「淬火溶液 (quench solution)」。

是說，依據步驟(ii)之停止交聯反應可透過對依據(i)所得到的交聯混合物進行淬火。

【0097】 在一實施例中，依據步驟(ii)之停止交聯反應的溫度介於攝氏 0 度至 30 度的範圍。

【0098】 在另一實施例中，依據步驟(ii)之停止交聯反應的溫度被控制在不超過攝氏 20 度或 15 度。

【0099】 在一實施例中，依據步驟(ii)之停止交聯反應的溫度介於攝氏 0 至 10 度或 3 至 7 度的範圍，例如是攝氏 5 度。

【0100】 依據步驟(ii)之停止交聯反應可藉由加入其他的化合物以停止步驟(i)之混合物的交聯反應，且例如是進行攪拌持續一預定時間。

【0101】 在本發明之方法中，停止交聯反應是相當重要的，因為這會影響到形成的組成物或凝膠是否具有有良好的穩定性，穩定性例如是在應用此組成物或凝膠後，其性質（尤其是其黏彈性）不會改變，舉例來說應用於皮膚組織的皮膚科填料。

【0102】 在一實施例中，停止交聯反應也可藉由在步驟(ii)中擠出（extruding）在步驟(i)中得到的產物而完成，例如將此產物通過篩子。不被理論所限制下，一般認為在擠出過程中提供高的剪力（shear force），使得交聯劑與用於停止組成物或凝膠進行交聯反應的化合物完全地混合。因此，交聯劑完全地或近乎完全地鈍化，可防止進一步的交聯與非期望的分子量與黏性與/或黏彈性的增加。

【0103】 在此所述之「擠出通過篩子」包括例如是「穿過篩子」、「擠壓通過篩子」、「直接通過篩子」或「過濾」。

【0104】 因此，在一實施例中，步驟(ii)包括步驟(ii.1)：

- (i) (ii.1) 擠出在步驟(i)中得到的交聯產物。

【0105】 在另一實施例中，步驟(ii)包括步驟(ii.1)與(ii.2)：

- (i) (ii.1) 將在步驟(i)中得到的交聯產物置入一種酸中。
- (ii) (ii.2) 擠出在步驟(ii.1)中得到的產物；或擠出在步驟(ii.1)中得到的產物通過篩子。

【0106】 在另一實施例中，步驟(ii)包括步驟(ii.1)與(ii.2)：

- (i) (ii.1) 將在步驟(i)中得到的交聯產物置入一種酸中。
- (ii) (ii.2) 擠出在步驟(ii.1)中得到的產物；或擠出在步驟(ii.1)中得到的產物通過篩子；或擠出在步驟(ii.1)中得到的產物通過具有篩孔尺寸介於 500 至 600 μm 範圍的篩子。

【0107】 在一實施例中，在步驟(ii.2)中使用之篩子的篩孔尺寸大約為 560 μm ，例如是 558.8 μm (0.022")。

【0108】 步驟(iii)

【0109】 可選擇地步驟(iii)需要將步驟(ii)中得到的產物與第二聚合物混合。

【0110】 在一實施例中，第二聚合物的存在並非必要，因此步驟(iii)在步驟(i)至(iv)之系列反應中可以省略。

【0111】 在另一實施例中，第二聚合物的存在是必要的，因此步驟(iii)在步驟(i)至(iv)之系列反應中需要被執行。

【0112】 在此所述的「混合」包括將步驟(ii)所得的交聯聚合物與步驟(iii)使用的第二聚合物混合，其中得到的混合物包括交聯的第一聚合物與

第二聚合物，此混合物可被交聯，然而，也可以非交聯的型態存在，此混合物係關於第一與第二聚合物而具有不同的物理性質。

【0113】 第二聚合物也可為一多醣體。第二聚合物可與第一聚合物相同或不同。

【0114】 因此，在一實施例中，第二聚合物可為與步驟(i)中之第一聚合物相同的透明質酸，或者可為與步驟(i)中不同的透明質酸。

【0115】 在一實施例中，第一聚合物與第二聚合物具有相同的分子量。在另一實施例中，第一聚合物與第二聚合物的分子量彼此不同。在此所述之第二聚合物的「分子量」表示在混合之前的聚合物個別的分子量，且可選擇地交聯此第二聚合物。

【0116】 在一實施例中，第二聚合物之分子量至少為 3.0 MDa，或至少為 3.5 MDa，或至少為 4.5 MDa。

【0117】 在一實施例中，第二聚合物之分子量至少為 3.0 MDa，其中分子量上限分別為 20 MDa、10 MDa、8 MDa、6 MDa 或 4 MDa。

【0118】 在一實施例中，第二聚合物之分子量至少為 3.5 MDa，其中分子量上限分別為 20 MDa、10 MDa、8 MDa、6 MDa 或 4 MDa。

【0119】 在一實施例中，第二聚合物之分子量至少為 4.0 MDa，其中分子量上限分別為 20 MDa、10 MDa、8 MDa、6 MDa 或 4 MDa。

【0120】 在一實施例中，第二聚合物係由一緩衝液或提供，例如是步驟(i)或步驟(ii)中所使用的緩衝液。

【0121】 在一實施例中，依據步驟(iii)之混合的溫度介於攝氏 0 至 40 度或 0 至 30 度的範圍。

【0122】 在另一實施例中，步驟(iii)的溫度被控制在例如不超過攝氏20度或15度。

【0123】 在一實施例中，依據步驟(iii)之混合係透過攪拌交聯產物與第二聚合物，其中交聯反應在步驟(ii)中已被停止。

【0124】 在一實施例中，第二聚合物之重量少於第一聚合物之重量的5%或少於第一聚合物之重量的4%，例如介於0.01至5%或0.1至4%的範圍，或者介於0.1至2.5%、0.2至2.0%或0.5至1.5%的範圍。

【0125】 在一實施例中，步驟(iii)可依據目標組成物或凝膠之黏性或彈性調整其性質，使其必須能用於皮膚科填料。這些性質可藉由選擇在步驟(i)中合適的溫度範圍與/或步驟(iii)中第一與第二聚合物的重量比與/或步驟(i)中交聯劑的使用量以及可選擇地使用第二聚合物，假設第二聚合物係應用於步驟(iii)且以一交聯形式使用於其中。

【0126】 此外，在步驟(iii)中，若進行篩選 (sieving) 步驟，則使用第二聚合物可增進組成物通過篩子的流動性 (flowability)。接著，一般來說需要較低的壓出力 (extrusion force) 用以擠出組成物通過篩子，或者通過篩子的組成物不具有第二聚合物。此外，使用非交聯的第二聚合物可有效地增進依據本發明之組成物通過一注射器 (syringe) 之針頭的流動性，注射器在化妝品應用中係用以提供組成物。因此，可使用較少的力將組成物擠出通過針頭。

【0127】 步驟(iv)

【0128】 步驟(iv)需要將步驟(ii)或(iii)所得的產物進行透析 (dialysis)。

【0129】 在一實施例中，此步驟係用以移除來自步驟(iii)中所得之凝膠所產生無關的 (extraneous) 化合物或粒子。無關的化合物或粒子可能對例如是凝膠的組成物之物理性質有負面的影響，且/或使組成物或凝膠對於皮膚組織的相容性產生不利的影響。因此，在一實施例中，步驟(iv)作為當本發明之組成物注射進入皮膚組織時，降低或避免發炎反應 (inflammatory reaction) 的步驟。

【0130】 在另一實施例中，此步驟係用以調整步驟(ii)或步驟(iii)所得之凝膠的膨脹 (swelling)。

【0131】 在此所述之「膨脹」或「膨脹力 (swellability)」包括凝膠的含水量。

【0132】 在一實施例中，當執行步驟(iv)時，步驟(iii)所得的凝膠係膨脹，舉例來說，在透析過程中，含水量佔凝膠總重自 5% 升至 25%，例如是自 6% 升至 23%、自 7% 升至 22% 或者自 9% 升至 21%。

【0133】 在另一實施例中，膨脹或膨脹力自 7% 升至 18%，或自 8% 升至 15%。

【0134】 在一實施例中，這樣的膨脹或膨脹力造成一膨脹壓力，舉例來說，當注入皮膚組織且此皮膚組織暴露於擠壓力時，使得透明質酸承受擠壓力 (compressive force)，舉例來說，當注入皮膚組織且此皮膚組織暴露於擠壓力時，透明質酸承受擠壓力。

【0135】 在一實施例中，步驟(iv)作為用以移除來自步驟(ii)或步驟(iii)中所得之凝膠所產生無關的化合物或粒子，且用以調整驟(ii)或步驟(iii)中所得之凝膠的膨脹。

【0136】 因此，步驟(iv)相較於本領域中的其他產物，提供了進一步改進的透明質酸組成物。

【0137】 因此，除了步驟(ii)（停止交聯反應）外，步驟(iv)（透析）在依據本發明製備例如是凝膠的組成物的系列步驟中也是必要的反應步驟。尤其，依據本發明之系列反應中，步驟(ii)與步驟(iv)提供了例如是凝膠的組成物具有的性質，此性質應能解決所提出的問題。

【0138】 在一實施例中，係使用一透析膜（dialysis membrane）進行透析，此透析膜具有一特定的截留分子量（molecular weight cut off）。此透析膜可於商業上取得。

【0139】 在此所述之「截留分子量（MWCO）」代表用於透析之薄膜所保留一定比例之溶質中的最低分子量（Daltons）溶質，或者代表被禁止從薄膜擴散之一定比例的分析物的分子量。

【0140】 商業上可取得的透析膜一般具有的截留分子量介於1,000至100,000 Da 的範圍。

【0141】 在一實施例中，使用的透析膜具有的截留分子量介於12,000至14,000 Da 的範圍。

【0142】 在一實施例中，係使用一包括緩衝液的透析溶液進行透析。

【0143】 在一實施例中，緩衝液為步驟(i)、步驟(ii)或步驟(iii)所使用的緩衝溶液。

【0144】 在一實施例中，步驟(iv)之透析的溫度介於攝氏0至30度的範圍。

【0145】 在另一實施例中，步驟(iv)之溫度被控制在不超過攝氏20

度或 15 度。

【0146】 在一實施例中，步驟(iv)之溫度介於攝氏 0 至 10 度，或 3 至 7 度的範圍，例如是攝氏 5 度。

【0147】 在一實施例中，依據本發明之方法在步驟(i)的溫度介於攝氏 25 至 30 度，在步驟(ii)至(iv)的溫度介於攝氏 0 至 10 度；或者，依據本發明之方法在步驟(i)的溫度介於攝氏 25 至 30 度，在步驟(ii)至(iv)的溫度介於攝氏 3 至 7 度，例如是攝氏 5 度。

【0148】 在一實施例中，在將步驟(iii)所得的產物進行透析之前，可將此產物進行一篩選步驟或多個篩選步驟，用以進一步地均勻化 (homogenize) 此產物，並移除非均勻的粒子或者可能對於作為皮膚科填料有不好影響的粒子。

【0149】 在一實施例中，步驟(iv)之透析包括步驟(iv.1)至步驟(iv.3)：

(i) (iv.1) 擠出步驟(ii)或步驟(iii)所得的產物使其通過一第一篩子，接著擠出來自第一篩子的擠出物使其通過一第二篩子，其中第二篩子的篩孔尺寸小於第一篩子的篩孔尺寸；或者

(ii) 擠出步驟(ii)或步驟(iii)所得的產物使其通過一第一篩子，接著擠出來自第一篩子的擠出物使其通過一第二篩子，接著擠出來自第二篩子的擠出物使其通過一第三篩子，其中第二篩子的篩孔尺寸小於第一篩子的篩孔尺寸，且第三篩子的篩孔尺寸小於第二篩子的篩孔尺寸；

(iii) (iv.2) 填充由步驟(iv.1)所得的產物至一透析膜；

(iv) (iv.3) 將步驟(iv.2)所得被填充的透析膜置入一透析溶液。

【0150】 在透析步驟前所使用的篩子可進一步支持透析步驟的效

率。選擇合適之篩子的篩孔尺寸可進一步地支持移除無關的化合物或粒子，例如是對產物的均勻性有負面影響的粒子。因此，在一實施例中，依據本發明方法所使用的一篩選步驟或多個篩選步驟可用來作為準備粒子均勻的組成物，舉例來說，一種包括第一聚合物與水，以及可選擇地包括第二聚合物之特定均勻粒子的凝膠。均勻性是依據本發明之方法所得的組成物所希望得到的性質，且均勻性可支持並改進特定的應用，例如是組成物在化妝品或醫藥上的應用。

【0151】 在一實施例中，步驟(iv)之透析包括步驟(iv.1)至步驟(iv.3)：

(i) (iv.1) 擠出步驟(ii)或步驟(iii)所得的產物使其通過一第一篩子，第一篩子的篩孔尺寸介於 325 至 425 μm 的範圍；接著擠出來自第一篩子的擠出物使其通過一第二篩子，第二篩子的篩孔尺寸介於 175 至 225 μm 的範圍；接著擠出來自第二篩子的擠出物使其通過一第三篩子，第三篩子的篩孔尺寸介於 110 至 170 μm 的範圍；

(ii) (iv.2) 填充由步驟(iv.1)所得的產物至一透析膜，透析膜之截留分子量介於 12,000 至 14,000 Da 的範圍；

(iii) (iv.3) 將步驟(iv.2)所得被填充的透析膜置入一透析溶液。

【0152】 在一實施例中，將步驟(ii)或步驟(iii)所得的產物擠出通過一第一篩子，第一篩子的篩孔尺寸約為 380 μm ，例如是 381 μm (0.015")，接著通過一第二篩子，第二篩子的篩孔尺寸約為 200 μm ，例如是 203.2 μm (0.008")，接著通過一第三篩子，第三篩子的篩孔尺寸約為 140 μm ，例如是 139.7 μm (0.0055")，之後進入透析膜。被填充的透析膜或薄膜接著被放置於一容器中，此容器包含一合適的透析溶液，例如是根據本發明之第一

方面之步驟(1)所使用的緩衝溶液。

【0153】 在一實施例中，若步驟(iii)之混合執行於步驟(ii)之後與步驟(iv)之透析之前，步驟(iii)可促進在步驟(iv)之後，依據步驟(iv.1)執行的篩選步驟。

【0154】 在一實施例中，透析係藉由攪拌容器內的內容物執行。在一實施例中，透析溶液可與一新的透析溶液進行交換一次或至少兩次。在一實施例中，交換的時間間隔介於 8 至 18 小時或 10 至 14 小時的範圍，例如是 12 ± 2 小時。在一實施例中，依據步驟(iv)之透析可持續進行 30 至 45 小時或 35 至 39 小時，例如是 37 ± 2 小時。

【0155】 在一實施例中，步驟(iv)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 0.9 的範圍，例如是介於 0.1 至 0.5 或 0.2 至 0.4 的範圍。

【0156】 在另一實施例中，步驟(iv)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 3.5 的範圍。

【0157】 在一實施例中，步驟(iv)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 η^* 介於 2,000 mPa*s 至 200,000 mPa*s 的範圍，其中 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 0.9 的範圍，例如是介於 0.1 至 0.5 或 0.2 至 0.4 的範圍。

【0158】 在一實施例中，步驟(iv)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 3.5 的範圍。在一實施例中，對應的黏性 η^* 介於 2,500 mPa*s 至 145,000 mPa*s，或介於 4,000 mPa*s 至 145,000 mPa*s 的範圍。

【0159】 在一實施例中，步驟(iv)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝

氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 3.5 的範圍。在一實施例中，步驟 (iv) 所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 0.25 的範圍。

【0160】 步驟(v)

【0161】 雖然本發明之組成物可盡可能地避免產生對皮膚有害的反應，在一實施例中，如果需要也可添加一局部麻醉劑 (local anesthetic) 與/或抗心律不整 (anti-arrhythmic) 藥物於依據本發明之步驟(iv)所得之組成物或凝膠中。當本發明之組成物或凝膠注射進皮膚組織時，此藥物可舒緩因為皮膚發炎所造成的癢、灼熱感與疼痛。

【0162】 在本領域中已有合適的藥物。

【0163】 在一實施例中，利多卡因 (lidocaine) 可作為局部麻醉劑與/或抗心律不整藥物。此藥物已知被應用於牙科用注射麻醉劑或小型外科手術的局部麻醉劑。

【0164】 在一實施例中，利多卡因係以鹽類的型態被使用，例如是鹽酸與/或以水合物的型態被使用，例如是單水合物。

【0165】 因此，在此所述之「利多卡因」包括其鹽類與水合物。

【0166】 在一實施例中，利多卡因的用量為組成物或凝膠之重量的 0 至 1 wt% 或 0 至 0.5 wt% 的範圍。

【0167】 在一實施例中，此用量介於 0.3 至 0.35 wt% 的範圍。

【0168】 在一實施例中，此用量為 0.3 wt% 或 0.35 wt%。

【0169】 在另一實施例中，可使用丁卡因 (tetracaine)。在此所述之「丁卡因」包括其鹽類與水合物。丁卡因可與利多卡因具有相同的用量。

【0170】 在另一實施例中，可使用丁卡因可與利多卡因的混合物。

【0171】 因此，在一實施例中，依據本發明之方法在步驟(iv)之後更包括步驟(v)：

(i) (v) 混合 (admixing) 一麻醉劑或一抗心律不整藥物，或一麻醉劑與一抗心律不整藥物至步驟(iv)所得的產物。

【0172】 在一實施例中，依據本發明之方法在步驟(iv)之後更包括步驟(v)：

(i) (v) 混合利多卡因或鹽酸利多卡因或鹽酸利多卡因單水合物至步驟(iv)所得的產物；或者混合丁卡因至步驟(iv)所得的產物；或者混合利多卡因與丁卡因至步驟(iv)所得的產物。

【0173】 在一實施例中，步驟(v)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 0.9 的範圍，例如是介於 0.1 至 0.5 或 0.2 至 0.4 的範圍。

【0174】 在另一實施例中，步驟(v)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 3.5 或 0.15 至 3.4 的範圍。

【0175】 在一實施例中，步驟(v)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 η^* 介於 2,000 mPa*s 至 200,000 mPa*s 的範圍，其中 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 0.9 的範圍，例如是介於 0.1 至 0.5 或 0.2 至 0.4 的範圍。

【0176】 在一實施例中，步驟(v)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 3.5 的範圍。在一實施例中，對應的黏性 η^* 介於 2,500 mPa*s 至 145,000 mPa*s，或介於 4,000 mPa*s 至 145,000 mPa*s 的範圍。

【0177】 在一實施例中，步驟(v)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 3.5 的範圍。在一實施例中，步驟(iv)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 0.25 的範圍。

【0178】 在一實施例中，步驟(v)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 3.5 的範圍。在一實施例中，對應的黏性 η^* 介於 2,000 mPa*s 至 150,000 mPa*s 的範圍。在一實施例中，步驟(iv)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.15 至 3.5 的範圍。在一實施例中，對應的黏性 η^* 介於 2,500 mPa*s 至 145,000 mPa*s 或 4,000 mPa*s 至 145,000 mPa*s 的範圍。

【0179】 在一實施例中，步驟(v)所得之組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.15 至 0.25 的範圍。在一實施例中，對應的黏性 η^* 介於 15,000 mPa*s 至 28,000 mPa*s 的範圍。

【0180】 步驟(vi)

【0181】 最後，在一實施例中，由步驟(iv)或步驟(v)所得的產物可填充至注射器 (syringe)。這是由於依據本發明之方法所得的產物之應用需進行注射。

【0182】 在一實施例中，由步驟(iv)或步驟(v)所得的產物填充至注射器並消毒 (sterilized)。

【0183】 因此，在一實施例中，依據本發明之方法在步驟(iv)或步驟(v)之後更包括步驟(vi)：

(i) (vi) 填充步驟(iv)或步驟(v)的產物至一注射器並消毒此產物。

【0184】 在一實施例中，由步驟(iv)或步驟(v)所得的產物被擠出至注射器，填充此注射器。

【0185】 可藉由本領域中已知的方法完成消毒。在此所述之「消毒」包括任一用於消除、移除或殺死所有型態之微生物的方式，微生物包括存在於注射器之表面與/或依據本發明之方法產生的組成物或凝膠中的傳染性媒介 (transmissible agent) (例如是真菌、細菌、病毒、孢子等型態)。可使用本領域中已知的方法進行消毒，例如提供熱、化學品、輻射、高壓或過濾或將上述方式適當的組合進行。

【0186】 在一實施例中，消毒步驟可在步驟(vi)之填充步驟前進行，例如將步驟(iv)或步驟(v)所得的組成物或凝膠與注射器分別獨立進行消毒。

【0187】 在另一實施例中，消毒步驟可在步驟(vi)之填充步驟過程中進行。

【0188】 在另一實施例中，消毒步驟可在步驟(vi)之填充步驟後進行。

【0189】 在一實施例中，透明質酸在最終組成物 (例如是凝膠) 中的總含量，佔最終組成物的總重量介於 1 至 5% 的範圍。在另一實施例中，透明質酸在最終組成物中的總含量，佔最終組成物的總重量介於 1.5 至 4% 或 2 至 2.5% 的範圍。

【0190】 在一實施例中，步驟(iv)、步驟(v)或步驟(vi)所得的產物，係為一等張 (isotonic)、無菌 (sterile)、具有黏彈性的組成物，例如是凝膠。此組成物或凝膠可注射且作為增加皮膚組織體積的植入物 (implant)，例如可以增大皮膚組織。

【0191】 在一實施例中，步驟(iv)、步驟(v)或步驟(vi)所得的產物，

係為一等張、無菌、具有黏彈性的可注射凝膠或植入物，用以增加例如是皮膚組織，或者用以修正中度或深度的皺紋。

【0192】 在一實施例中，皮膚組織包括或者為唇部組織。

【0193】 在另一實施例中，皮膚組織包括或者為減少嚴重面部皺紋或皺摺，例如是鼻唇溝（nasolabial fold）的皮膚組織。

【0194】 在一實施例中，依據本發明之第一方面所製成的組成物，係為一種安全且有效、具生物相容性、非免疫性（non-immunogenic）的組成物，容易分配與保存，且不需進行過敏測試（allergy testing）。此外，當應用至皮膚組織時，此組成物具有可接受的持久性。在一實施例中，當應用至皮膚組織時，依據本發明之方法所製備的組成物具有相當長時間的穩定週期。

【0195】 因此，在一實施例中，本發明係有關於一種依據第一方面製備組成物的方法，或者依據第一方面之方法的任一實施例或第一方面所定義之至少兩個實施例的其中任一，其中步驟(iii)所得的組成物在步驟(iv)中被透析，使其 pH 值介於 6.5 至 7.5 的範圍，如是介於 6.7 至 7.2、6.8 至 7.1 或 6.8 至 6.9 的範圍。

【0196】 在一實施例中，本發明係有關於一種依據第一方面製備組成物的方法，或者依據第一方面之方法的任一實施例或第一方面所定義之至少兩個實施例的其中任一，其中步驟(iii)所得的凝膠在步驟(iv)中被透析，使其膨脹力介於凝膠總重量的 5 至 25%的範圍，例如是 6 至 23%、7 至 22% 或 9 至 21%的範圍。

【0197】 在一實施例中，本發明係有關於一種依據第一方面製備組成

物的方法，或者依據第一方面之方法的任一實施例或第一方面所定義之至少兩個實施例的其中任一，其中步驟(iv)或步驟(v)所得的組成物，在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 0.9 的範圍且/或其黏性 η^* 介於 2,000 mPa*s 至 200,000 mPa*s 的範圍；或者此組成物在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 3.5 的範圍且/或其黏性 η^* 介於 2,000 mPa*s 至 150,000 mPa*s 的範圍；或者步驟(iv)或步驟(v)所得的組成物在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.15 至 3.5 的範圍且/或其黏性 η^* 介於 2,100 mPa*s 至 145,000 mPa*s、2,500 mPa*s 至 145,000 mPa*s 或 4,000 mPa*s 至 145,000 mPa*s 的範圍；或者步驟(iv)或步驟(v)所得的組成物在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 0.25 的範圍且/或其黏性 η^* 介於 15,000 mPa*s 至 28,000 mPa*s 的範圍；或者步驟(iv)或步驟(v)所得的組成物在 0.7 Hz 頻率與攝氏 30 度的條件下測得的 $\tan\delta$ 介於 0.1 至 0.25 的範圍且/或其黏性 η^* 介於 22,000 mPa*s 至 28,000 mPa*s 的範圍。

【0198】 在一實施例中，本發明係有關於一種依據第一方面製備組成物的方法，或者依據第一方面之方法的任一實施例或第一方面所定義之至少兩個實施例的其中任一，其中當注射進入皮膚組織時，此組成物係可呈現穩定狀態至少三個月，例如至少四個月、五個月或六個月。

【0199】 在一實施例中，本發明係有關於一種依據第一方面製備組成物的方法，或者依據第一方面之方法的任一實施例或第一方面所定義之至少兩個實施例的其中任一，其中當注射進皮膚組織時，所述的麻醉劑與/或抗心律不整藥物，例如是步驟(v)中的利多卡因、丁卡因或利多卡因與丁卡

因被釋放，且此組成物係為無菌的。

【0200】 在一實施例中，本發明係有關於一種依據第一方面製備組成物的方法，或者依據第一方面之方法的任一實施例或第一方面所定義之至少兩個實施例的其中任一，其中透明質酸佔最終組成物（例如是凝膠）的總含量，佔最終組成物的總重量介於 1 至 5%的範圍，例如是 1.5 至 4%或 2 至 2.5%的範圍。

【0201】 在一實施例中，本發明係有關於一種依據第一方面製備組成物的方法，或者依據第一方面之方法的任一實施例或第一方面所定義之至少兩個實施例的其中任一，其中當注射進入皮膚組織時，此組成物不會刺激（irritate）皮膚組織。

【0202】 在一實施例中，本發明係有關於一種依據第一方面製備組成物的方法，或者依據第一方面之方法的任一實施例或第一方面所定義之至少兩個實施例的其中任一，其中當此組成物為一凝膠狀態時，係作為可注射組織填充物。

【0203】 在一實施例中，本發明係有關於一種依據第一方面製備組成物的方法，或者依據第一方面之方法的任一實施例或第一方面所定義之至少兩個實施例的其中任一，其中透明質酸，或透明質酸與麻醉劑與/或抗心律不整藥物，係為此組成物唯一的活性成分（active ingredient）。

【0204】 根據本發明的第二方面，係有關於一種組成物，例如是凝膠，此組成物包括一交聯的第一聚合物與水，以及可選擇地包括一第二聚合物，第二聚合物可為交聯或非交聯，其中第一聚合物與第二聚合物係選自一多醣體，例如是透明質酸。

【0205】 在一實施例中，例如是凝膠的組合物包括一交聯的第一聚合物與水，以及可選擇地包括一第二聚合物，第二聚合物可為交聯或非交聯，其中第一聚合物與第二聚合物係選自一多醣體，此組成物可由依據本發明第一方面的方法，或者依據第一方面之方法的任一實施例或第一方面所定義之至少兩個實施例的其中任一的方法所製成。

【0206】 在一實施例中，例如是一凝膠的組成物，係由一交聯的第一聚合物與水，以及可選擇的一交聯或非交聯第二聚合物與麻醉劑與/或抗心律不整藥物所組成，其中第一聚合物與第二聚合物係選自一多醣體，此組成物可由依據本發明第一方面的方法，或者依據第一方面之方法的任一實施例或第一方面所定義之至少兩個實施例的其中任一的方法所製成。

【0207】 根據本發明的第三方面，係有關於一種套件 (kit)，此套件包括一注射器與本發明第二方面之組成物 (例如是凝膠)，或者包括一注射器與依據本發明第一方面之方法製備之組成物 (例如是凝膠)。

【0208】 根據本發明的第四方面，係有關於本發明第二方面之組成物 (例如是凝膠) 的使用方式，或者依據本發明第一方面之方法製備之組成物 (例如是凝膠) 在化妝品上的應用。

【0209】 在一實施例中，此組成物 (例如是凝膠) 係作為皮膚科填料 (dermatological filler)。

【0210】 在此所述之「皮膚科填料」表示依據本發明所製備的組成物 (例如是凝膠) 適用於增加皮膚組織的體積，例如是增大皮膚組織。

【0211】 在一實施例中，組成物 (例如是凝膠) 利用於增大皮膚組織，例如增大臉部皮膚組織與/或修正中度或深度的皺紋。

【0212】 在一實施例中，組成物為一可注射組成物，例如當應用此組成物時係將其注射進入皮膚組織當中。

【0213】 根據本發明的另一方面，依據本發明第二方面的組成物可做為一藥學組成物（pharmaceutical composition）或位於一藥學組成物當中。

【0214】 在一實施例中，組成物係用於醫藥用途，需要基於透明凝膠的組成物之應用，例如是凝膠。

【0215】 因此，根據本發明之第五方面，係有關於一種依據本發明第二方面之組成物（例如是凝膠）作為藥劑（medicament）的使用。

【0216】 根據本發明之第六方面，係有關於一種製備組成物的方法，此組成物例如是一凝膠，且此組成物包括一交聯的第一聚合物與水，以及可選擇地包括一第二聚合物，第二聚合物可為交聯或非交聯，其中第一聚合物與第二聚合物係選自一多醣體，此方法包括至少一第一篩選（sieving）步驟(a)。

【0217】 在此所述之「篩選步驟」包括將一交聯的聚合物與水擠出通過一篩子，交聯的聚合物例如是一交聯的透明質酸。

【0218】 在一實施例中，「篩選步驟」包括將依據本發明第一方面之步驟(i)至步驟(vi)其中之任一所得的產物擠出通過篩子。所述之「擠出通過篩子」包括例如是本發明第一方面所述之「穿過篩子」、「擠壓通過篩子」、「直接通過篩子」或「過濾」。

【0219】 「篩子」包括「過濾器」。

【0220】 「篩子」或「過濾器」包括任何具有孔隙（pore）或孔洞（hole），可讓液體穿過的裝置，其中液體中的粒子可被移除或被剪切為適

合通過篩子或過濾器的孔隙。因此，在一實施例中，粒子經由篩選或過濾重新調整其大小。篩子可為金屬線網或纖維（例如是塑膠纖維）的型態。在本領域中已知有合適的篩子作為篩選與過濾用。

【0221】 在一實施例中，此方法包括至少一第二篩選步驟(b)。

【0222】 在另一實施例中，此方法除了第一篩選步驟(a)與第二篩選步驟(b)，更包括至少一第三篩選步驟(c)。

【0223】 在另一實施例中，此方法除了第一篩選步驟(a)、第二篩選步驟(b)與第三篩選步驟(c)，更包括至少一個再一篩選步驟，或至少二個再一篩選步驟，或至少三個再一篩選步驟，或至少四個再一篩選步驟。

【0224】 在一實施例中，第二篩選步驟(b)係使用一第二篩子進行，第二篩子的篩孔尺寸，相較於第一篩選步驟(a)使用的一第一篩子的篩孔尺寸小。

【0225】 在另一實施例中，第三篩選步驟(c)係使用一第三篩子進行，第三篩子的篩孔尺寸，相較於第二篩選步驟(b)使用的第二篩子的篩孔尺寸小。

【0226】 在另一實施例中，第三篩選步驟(c)係使用一第三篩子進行，第三篩子的篩孔尺寸，相較於第二篩選步驟(b)使用的第二篩子的篩孔尺寸小，且第二篩子的篩孔尺寸，相較於第一篩選步驟(a)使用的一第一篩子的篩孔尺寸小。

【0227】 在又一實施例中，每一後續步驟使用之篩子的篩孔尺寸，相較於前面步驟所使用之篩子的篩孔尺寸為小。

【0228】 在一實施例中，第一篩子的篩孔尺寸介於 200 至 600 μm 的

範圍。

【0229】 在另一實施例中，第一篩子的篩孔尺寸介於 200 至 600 μm 的範圍；且第二篩子的篩孔尺寸介於 100 至 400 μm 的範圍。

【0230】 在又一實施例中，第一篩子的篩孔尺寸介於 200 至 600 μm 的範圍；第二篩子的篩孔尺寸介於 100 至 400 μm 的範圍；且第三篩子的篩孔尺寸介於 50 至 300 μm 的範圍。

【0231】 在一實施例中，第一篩子的篩孔尺寸介於 300 至 500 μm 的範圍。

【0232】 在另一實施例中，第一篩子的篩孔尺寸介於 300 至 500 μm 的範圍；且第二篩子的篩孔尺寸介於 100 至 300 μm 的範圍。

【0233】 在又一實施例中，第一篩子的篩孔尺寸介於 300 至 500 μm 的範圍；第二篩子的篩孔尺寸介於 100 至 300 μm 的範圍；且第三篩子的篩孔尺寸介於 50 至 200 μm 的範圍。

【0234】 在一實施例中，第一篩子的篩孔尺寸介於 325 至 425 μm 的範圍。

【0235】 在另一實施例中，第一篩子的篩孔尺寸介於 325 至 425 μm 的範圍；且第二篩子的篩孔尺寸介於 175 至 225 μm 的範圍。

【0236】 在又一實施例中，第一篩子的篩孔尺寸介於 325 至 425 μm 的範圍；第二篩子的篩孔尺寸介於 175 至 225 μm 的範圍；且第三篩子的篩孔尺寸介於 110 至 170 μm 的範圍。

【0237】 在一實施例中，依據本發明之篩選步驟(a)、(b)或(c)至少其中之一之篩選步驟，係在溫度介於攝氏 5 至 30 度的條件下進行，例如是介

於攝氏 5 至 20 度、5 至 20 度、5 至 15 度或 5 至 10 度的範圍。

【0238】 在一實施例中，在第一篩選步驟(a)之前或之後，或者第二篩選步驟(b)之前或之後，或者第三篩選步驟(c)之前或之後，此方法包括下列依據本發明第一方面所定義之步驟(i)至(vi)至少其中之一。

【0239】 因此，在本發明之第六方面的一實施例中，在第一篩選步驟(a)之前或之後，或者第二篩選步驟(b)之前或之後，或者第三篩選步驟(c)之前或之後，此方法包括下列步驟(i)至(vi)至少其中之一：

- (i) 交聯一混合物，此混合物包括第一聚合物與水；
- (ii) 接續步驟(i)之交聯步驟後，停止交聯；
- (iii) 可選擇地將步驟(ii)之產物與第二聚合物混合；
- (iv) 將步驟(ii)或步驟(iii)所得的產物進行透析；
- (v) 混合一麻醉劑與/或一抗心律不整藥物至步驟(iv)所得的產物，抗心律不整藥物例如是利多卡因、鹽酸利多卡因、鹽酸利多卡因單水合物、丁卡因、或利多卡因與丁卡因；
- (vi) 填充步驟(v)的產物至一注射器並消毒此產物。

【0240】 在另一實施例中，在第一篩選步驟(a)之前或之後，或者第二篩選步驟(b)之前或之後，或者第三篩選步驟(c)之前或之後，此方法包括下列步驟(i)至(vi)至少其中之一：

- (i) 交聯一混合物，此混合物包括第一聚合物與水；
- (ii) 接續步驟(i)之交聯步驟後，停止交聯；
- (iii) 可選擇地將步驟(ii)之產物與第二聚合物混合；
- (iv) 將步驟(i)、步驟(ii)或步驟(iii)所得的產物進行透析；

(v) 混合一麻醉劑與/或一抗心律不整藥物至步驟(i)、步驟(ii)、步驟(iii)或步驟(iv)所得的產物，抗心律不整藥物例如是利多卡因、鹽酸利多卡因、鹽酸利多卡因單水合物、丁卡因、或利多卡因與丁卡因；

(vi) 填充步驟(i)、步驟(ii)、步驟(iii)、步驟(iv)或步驟(v)的產物至一注射器並消毒此產物。

【0241】 在一實施例中，第一篩選步驟(a)係接續步驟(i)後進行。

【0242】 在另一實施例中，第一篩選步驟(a)與第二篩選步驟(b)係接續步驟(i)後進行。

【0243】 在又一實施例中，第一篩選步驟(a)、第二篩選步驟(b)與第三篩選步驟(c)係接續步驟(i)後進行。

【0244】 在一實施例中，第一篩選步驟(a)係接續步驟(ii)後進行。

【0245】 在另一實施例中，第一篩選步驟(a)與第二篩選步驟(b)係接續步驟(ii)後進行。

【0246】 在又一實施例中，第一篩選步驟(a)、第二篩選步驟(b)與第三篩選步驟(c)係接續步驟(ii)後進行。

【0247】 在一實施例中，第一篩選步驟(a)係接續步驟(iii)後進行。

【0248】 在另一實施例中，第一篩選步驟(a)與第二篩選步驟(b)係接續步驟(iii)後進行。

【0249】 在又一實施例中，第一篩選步驟(a)、第二篩選步驟(b)與第三篩選步驟(c)係接續步驟(iii)後進行。

【0250】 在一實施例中，第一篩選步驟(a)係接續步驟(iv)後進行。

【0251】 在另一實施例中，第一篩選步驟(a)與第二篩選步驟(b)係接

續步驟(iv)後進行。

【0252】 在又一實施例中，第一篩選步驟(a)、第二篩選步驟(b)與第三篩選步驟(c)係接續步驟(iv)後進行。

【0253】 在一實施例中，第一篩選步驟(a)係接續步驟(v)後進行。

【0254】 在另一實施例中，第一篩選步驟(a)與第二篩選步驟(b)係接續步驟(v)後進行。

【0255】 在又一實施例中，第一篩選步驟(a)、第二篩選步驟(b)與第三篩選步驟(c)係接續步驟(v)後進行。

【0256】 篩子的使用可支持移除無關的化合物或粒子，例如是對產物的均勻性有負面影響的凝膠粒子，或者藉由提供剪力協助重新調整粒子的大小，使其可通過篩子的孔隙。因此，在一實施例中，依據本發明方法所使用的一篩選步驟或多個篩選步驟可用來作為準備粒子均勻的組成物，舉例來說，一種包括第一聚合物與水，以及可選擇地包括第二聚合物之特定均勻粒子的凝膠。均勻性是依據本發明之方法所得的組成物所希望得到的性質，且均勻性可支持並改進特定的應用，例如是組成物在化妝品或醫藥上的應用。

【0257】 依據本發明之第七方面，係有關於一種例如是凝膠的組成物，此組成物包括一交聯的第一聚合物與水，以及可選擇地包括一第二聚合物，第二聚合物為交聯或非交聯，其中第一聚合物與第二聚合物係選自一多醣體，此組成物可由依據本發明第六方面的方法，或者依據第六方面之方法的任一實施例或第六方面所定義之至少兩個實施例的其中任一的方法所製成。

【0258】 根據本發明的第八方面，係有關於一種套件，此套件包括一注射器與本發明第六方面之組成物，或者包括一注射器與依據第六方面之方法的任一實施例或第六方面所定義之至少兩個實施例的其中任一的方法所製成之組成物；或者一種包括一注射器與本發明第七方面所定義之組成物。

【0259】 根據本發明的第九方面，係有關於一種依據第六方面之方法的任一實施例或第六方面所定義之至少兩個實施例的其中任一的方法所製成之組成物的應用；或者本發明第七方面所定義之組成物作為化妝品應用；或者作為皮膚科填料。

【0260】 依據本發明之第十方面，係有關於一種例如是凝膠的組成物，此組成物包括一交聯的第一聚合物與水，以及可選擇地包括一第二聚合物，第二聚合物為交聯或非交聯，其中第一聚合物與第二聚合物係選自一多醣體，此組成物可由依據本發明第六方面的方法，或者依據第六方面之方法的任一實施例或第六方面所定義之至少兩個實施例的其中任一的方法所製成，並且作為一藥劑。

【0261】 依據本發明之第十一方面，係有關於在製備一組成物時使用至少一篩子或至少一篩選步驟，此組成物包括一交聯的透明質酸與水。

【0262】 在一實施例中，係使用至少兩個篩子或至少兩個篩選步驟。

【0263】 在另一實施例中，係使用至少三個篩子或至少三個篩選步驟。

【0264】 實施例 1

【0265】 製備緩衝溶液

【0266】 將氯化鈉 (sodium chloride)、氫二鈉無水磷酸鈉 (dibasic anhydrous sodium phosphate)、磷酸二氫鈉二水合物 (monobasic sodium phosphate dihydrate) 與水，製成一緩衝溶液，其方法系將上述鹽類溶於水中。

【0267】 在緩衝溶液中製備透明質酸

【0268】 在製備完成緩衝溶液後，將透明質酸鈉 (sodium hyaluronate) 與部分緩衝溶液加入夸脫攪拌鉢 (quart mixing bowl)，透明質酸鈉的分子量為 2.5 MDa 至少於 3.0 MDa 的範圍。在攪拌鉢之加熱套設定溫度 (jacket setpoint) 為攝氏 50 度的條件下，使用攪拌器以 250 rpm 的轉速將內容物持續混合 2.0 至 2.5 小時。混合之後，將內容物冷卻至攝氏 5 至 7 度。

【0269】 加入鹼性溶液

【0270】 藉由溶解上述緩衝溶液中的氫氧化鈉，製備一第一鹼性溶液。接著，藉由溶解上述緩衝溶液中的氫氧化鈉，製備一第二鹼性溶液。接著，第一緩衝溶液加入攪拌鉢之內容物中，並在加熱套設定溫度為攝氏 5 度與 250 rpm 之轉速的條件下，將內容物持續 30 至 40 分鐘。

【0271】 交聯反映[步驟(i)]

【0272】 藉由將 1,4-丁二醇二縮水甘油醚 (BDDE) 加入部分第二鹼性溶液中，以製備交聯溶液。將此包括交聯劑 BDDE 的鹼性溶液加入攪拌鉢之內容物中，並在加熱套溫度設定為攝氏 5 度與 500 rpm 之轉速的條件下，將內容物持續混合 10 至 15 分鐘。接著將混合速度降至 100 rpm 且加熱套溫度設定為攝氏 30 度。當溫度到達攝氏 28 度後，停止混合，並將內容物靜置約 3 小時。

【0273】 製備一淬火溶液 (quench solution) 以停止交聯反應

【0274】 將 1m 的鹽酸溶液加入部分的緩衝溶液中，以製備一淬火溶液。

【0275】 淬火反應[步驟(ii)]

【0276】 將加熱套溫度設定為攝氏 5 度並將淬火溶液加入攪拌鉢得內容物中。接著將此內容物以 500 rpm 的轉速持續混合 10 至 15 分鐘。

【0277】 交聯之透明質酸的製程

【0278】 在步驟(ii)中形成的聚合物接著被切成片段，可形成塊狀 (chunk) 或條狀 (strip) 物。此塊狀或條狀物的大小可為 1.27 公分 x 1.27 公分 x 1.27 公分 (0.5 英吋 x 0.5 英吋 x 0.5 英吋) 或更小。此塊狀或條狀物接著在加熱套溫度設定為攝氏 5 度並以 150 rpm 的轉速持續混合 2.5 至 3.0 小時。在混合之後，將混合的產物擠出通過 558.8 μm (0.022") 的篩孔並放回攪拌鉢中，再以加熱套溫度設定為攝氏 5 度且 150 rpm 的轉速持續混合 2.0 至 2.5 小時。

【0279】 提供第二聚合物

【0280】 將具有分子量 $M_w \geq 3.0 \text{ MDa}$ 的透明質酸 (鈉鹽) 加入部分緩衝溶液中。此內容物係以吊式混合器 (overhead mixer) 持續混合一小段時間。

【0281】 製備凝膠[步驟(iii)]

【0282】 將緩衝溶液中部分的第二聚合物 (1% w/w) 加入夸脫攪拌鉢中。此內容物係以 250 rpm 的轉速持續混合 1 至 5 分鐘。

【0283】 透析反應[步驟(iv)]

【0284】 將具有截留分子量為 12,000 至 14,000 Da 的透析膜水合 (hydrate) 至無菌的水中。接著，步驟(iii)中所得的凝膠被擠出通過一具有篩孔尺寸約為 380 μm ，例如是 381 μm (0.015")的篩子，接著通過一具有篩孔尺寸約為 200 μm ，例如是 203.2 μm (0.008")的篩子，接著通過一具有篩孔尺寸約為 140 μm ，例如是 139.7 μm (0.0055")的篩子，再進入透析模中。此透析膜被填充且具有一有效長度 (effective length) 約為 20.3 公分 (8 英吋) 以及一總長度 (overall length) 約為 25.4 公分 (10 英吋)。透析膜接著被放入包含上述緩衝溶液的容器中。此容器被冷卻至攝氏 5 度並攪拌其內容物。透析容易以 12 ± 2 小時的時間間隔進行兩次交換。此透析程序係持續 37 ± 2 小時。

【0285】 擠出步驟(iv)所得的產物[步驟(vi)]

【0286】 在透析膜與結合、混合並兩次擠出通過篩孔尺寸約為 140 μm ，例如是 139.7 μm (0.0055")的篩子後，接著在真空環境下進一步持續混合 30 至 40 分鐘。將產物擠出至注射器並進行蒸氣消毒 (steam sterilize)。

【0287】 在步驟(iv)後所得並於步驟(vi)後包含於注射器中的產物係為一等張、無菌、具有黏彈性的注射凝膠。此凝膠可作為一植入物，此植入物適用於增加例如是臉部之皮膚組織的體積，舉例來說用以增大皮膚組織與/或修正皮膚上中度或深度的皺紋。

【0288】 實施例 2

【0289】 本實施例係依據實施例 1 的反應進行，其不同之處在於交聯步驟(i)：

【0290】 交聯溶液係由將 1,4-丁二醇二縮水甘油醚 (BDDE) 加入部

分第二鹼性溶液所配置。包括交聯劑 BDDE 的鹼性溶液加入攪拌鉢的內容物中，並以加熱套設定溫度為攝氏 5 度及 500 rpm 之轉速持續混合 10 至 15 分鐘。接著將混合速度調降至 100 rpm 且改變加熱套設定溫度為攝氏 33.33 度。當到達攝氏 31.33 度後，停止混合，並將內容物靜置約 3 小時。

【0291】 在步驟(iv)後所得並於步驟(vi)後包含於注射器中的產物係為一等張、無菌、具有黏彈性的注射凝膠。此凝膠可作為一植入物，此植入物適用於增加例如是臉部之皮膚組織的體積，舉例來說用以增大皮膚組織與/或修正皮膚上中度或深度的皺紋。此凝膠相較於依據實施例 1 所製備的凝膠具有更高的彈性與黏性。

【0292】 實施例 3

【0293】 本實施例係依據實施例 1 的反應進行，其不同之處在於加入一麻醉劑或例如是利多卡因的抗心律不整藥物於步驟(iii)所得的產物中：

【0294】 加入利多卡因[步驟(v)]

【0295】 將一利多卡因硫酸單水合物 (lidocaine HCl monohydrate) 溶解於緩衝溶液中，並將其加入由步驟(iii)所得包含 0.35 wt%之凝膠的透析膜中。此內容物可被兩次擠出通過篩孔尺寸約為 140 μ m，例如是 139.7 μ m (0.0055")的篩子，接著在真空中持續混合 30 至 40 分鐘。

【0296】 在步驟(v)後所得並於步驟(vi)後包含於注射器中的產物係為一等張、無菌、具有黏彈性的注射凝膠。此凝膠可作為一植入物，此植入物適用於增加例如是臉部之皮膚組織的體積，舉例來說用以增大皮膚組織與/或修正皮膚上中度或深度的皺紋。

【0297】 實施例 4

【0298】 本實施例係依據實施例 1 的反應進行，其不同之處在於交聯步驟(i)：

【0299】 交聯溶液係由將 1,4-丁二醇二縮水甘油醚 (BDDE) 加入部分第二鹼性溶液所配置。包括交聯劑 BDDE 的鹼性溶液加入攪拌鉢的內容物中，並以加熱套設定溫度為攝氏 5 度及 500 rpm 之轉速持續混合 10 至 15 分鐘。接著將混合速度調降至 100 rpm 且改變加熱套設定溫度為攝氏 27 度。當到達攝氏 25 度後，停止混合，並將內容物靜置約 3 小時。

【0300】 在步驟(iv)後所得並於步驟(vi)後包含於注射器中的產物係為一等張、無菌、具有黏彈性的注射凝膠。此凝膠可作為一植入物，此植入物適用於增加例如是臉部之皮膚組織的體積，舉例來說用以增大皮膚組織與/或修正皮膚上中度或深度的皺紋。此凝膠相較於依據實施例 1 所製備的凝膠具有更高的彈性與黏性。

【0301】 實施例 5

【0302】 本實施例係依據實施例 1 的反應進行，其不同之處在於交聯步驟(i)與混合步驟(iii)：

【0303】 交聯溶液係由將 1,4-丁二醇二縮水甘油醚 (BDDE) 加入部分第二鹼性溶液所配置。包括交聯劑 BDDE 的鹼性溶液加入攪拌鉢的內容物中，並以加熱套設定溫度為攝氏 5 度及 500 rpm 之轉速持續混合 10 至 15 分鐘。接著將混合速度調降至 100 rpm 且改變加熱套設定溫度為攝氏 30 度。當到達攝氏 27 度後，停止混合，並將內容物靜置約 3 小時。

【0304】 提供第二聚合物

【0305】 將具有分子量 $M_w \geq 3.0$ MDa 的透明質酸 (鈉鹽) 加入部分

緩衝溶液中。此內容物係以吊式混合器持續混合一小段時間。

【0306】 製備凝膠[步驟(iii)]

【0307】 將緩衝溶液中部分的第二聚合物（3% w/w）加入夸脫攪拌鉢中。此內容物係以 250 rpm 的轉速持續混合 1 至 5 分鐘。

【0308】 在步驟(iv)後所得並於步驟(vi)後包含於注射器中的產物係為一等張、無菌、具有黏彈性的注射凝膠。此凝膠可作為一植入物，此植入物適用於增加例如是臉部之皮膚組織的體積，舉例來說用以增大皮膚組織與/或修正皮膚上中度或深度的皺紋。

【0309】 實施例 6

【0310】 本實施例係依據實施例 1 的反應進行，其不同之處在於交聯步驟(i)與混合步驟(iii)：

【0311】 交聯溶液係由將 1,4-丁二醇二縮水甘油醚（BDDE）加入部分第二鹼性溶液所配置。包括交聯劑 BDDE 的鹼性溶液加入攪拌鉢的內容物中，並以加熱套設定溫度為攝氏 5 度及 500 rpm 之轉速持續混合 10 至 15 分鐘。接著將混合速度調降至 100 rpm 且改變加熱套設定溫度為攝氏 25 度。當到達攝氏 22 度後，停止混合，並將內容物靜置約 3 小時。

【0312】 提供第二聚合物

【0313】 將具有分子量 $M_w \geq 3.0$ MDa 的透明質酸（鈉鹽）加入部分緩衝溶液中。此內容物係以吊式混合器持續混合一小段時間。接著，將部分步驟(i)中使用的交聯溶液加入緩衝溶液內的第二聚合物中。

【0314】 製備凝膠[步驟(iii)]

【0315】 將緩衝溶液中部分的第二聚合物（1% w/w）加入夸脫攪拌

鉢中。此內容物係以 250 rpm 的轉速持續混合 1 至 5 分鐘。

【0316】 在步驟(iv)後所得並於步驟(vi)後包含於注射器中的產物係為一等張、無菌、具有黏彈性的注射凝膠。此凝膠可作為一植入物，此植入物適用於增加例如是臉部之皮膚組織的體積，舉例來說用以增大皮膚組織與/或修正皮膚上中度或深度的皺紋。

【0317】 實施例 7

【0318】 本實施例係依據實施例 2 的反應進行，其不同之處在於加入一麻醉劑或例如是利多卡因的抗心律不整藥物於步驟(iii)所得的產物中：

【0319】 加入利多卡因[步驟(v)]

【0320】 將一利多卡因硫酸單水合物溶解於緩衝溶液中，並將其加入由步驟(iii)所得包含 0.35 wt%之凝膠的透析膜中。此內容物可被兩次擠出通過篩孔尺寸約為 140 μ m，例如是 139.7 μ m (0.0055")的篩子，接著在真空中持續混合 30 至 40 分鐘。

【0321】 在步驟(v)後所得並於步驟(vi)後包含於注射器中的產物係為一等張、無菌、具有黏彈性的注射凝膠。此凝膠可作為一植入物，此植入物適用於增加例如是臉部之皮膚組織的體積，舉例來說用以增大皮膚組織與/或修正皮膚上中度或深度的皺紋。

【0322】 實施例 8

【0323】 本實施例係依據實施例 1 的反應進行，其不同之處在於省略混合步驟(ii)之後的步驟(iii)。

【0324】 在步驟(iv)後所得並於步驟(vi)後包含於注射器中的產物係為一等張、無菌、具有黏彈性的注射凝膠。此凝膠可作為一植入物，此植

人物適用於增加例如是臉部之皮膚組織的體積，舉例來說用以增大皮膚組織與/或修正皮膚上中度或深度的皺紋。

【0325】 實施例 9 至 14

【0326】 本實施例係依據實施例 2 至 7 的反應進行，其不同之處在於省略混合步驟(ii)之後的步驟(iii)。

【0327】 在步驟(iv)後所得並於步驟(vi)後包含於注射器中的產物係為一等張、無菌、具有黏彈性的注射凝膠。此凝膠可作為一植入物，此植入物適用於增加例如是臉部之皮膚組織的體積，舉例來說用以增大皮膚組織與/或修正皮膚上中度或深度的皺紋。

【0328】 綜上所述，雖然本發明已以實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明。本發明所屬技術領域中具有通常知識者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作各種之更動與潤飾。因此，本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

【符號說明】

無。

公告本

106年 09月 21日 修正替換頁

申請專利範圍

修正
本 年 月 日
補充 106. 9. 21

1. 一種組成物的製造方法，該組成物包括一交聯的第一聚合物與水，可選擇地包括一第二聚合物，該第二聚合物為交聯或非交聯，其中該第一聚合物與該第二聚合物係選自一多醣體，該製造方法至少包括步驟(i)、步驟(ii)與步驟(iv)，或者包括步驟(i)至(iv)：

(i) 交聯一混合物，該混合物包括該第一聚合物與水，其中該第一聚合物具有 1.0 MDa 至 4.0 MDa 的分子量，並使用 1,4-丁二醇二縮水甘油醚(BDDE)作為交聯劑；

(ii) 接續該步驟(i)之交聯步驟後，停止交聯；

(iii) 可選擇地將該步驟(ii)之產物與該第二聚合物混合；

(iv) 將該步驟(ii)或該步驟(iii)所得的產物進行透析；

其中該透析步驟(iv)包括步驟(iv.1)至步驟(iv.3)：

(iv.1) 擠出該步驟(ii)或該步驟(iii)所得的產物通過該第一篩子，接著擠出來自該第一篩子的擠出物通過該第二篩子，其中該第二篩子的篩孔尺寸小於該第一篩子的篩孔尺寸，該第一篩子具有介於 200 μm 至 600 μm 之範圍的篩孔尺寸，該第二篩子具有介於 100 μm 至 400 μm 之範圍的篩孔尺寸；或者

擠出該步驟(ii)或該步驟(iii)所得的產物通過該第一篩子，接著擠出來自該第一篩子的擠出物通過該第二篩子，接著擠出來自該第二篩子的擠出物通過一第三篩子，其中該第二篩子的篩孔尺寸小於該第一篩子的篩孔尺寸，該第三篩子的篩孔尺寸小於該第

二篩子的篩孔尺寸，該第一篩子具有介於 200 μm 至 600 μm 之範圍的篩孔尺寸，該第二篩子具有介於 100 μm 至 400 μm 之範圍的篩孔尺寸，該第三篩子具有介於 50 μm 至 300 μm 之範圍的篩孔尺寸；

(iv.2) 填充由該步驟(iv.1)所得的產物至一透析膜；

(iv.3) 將該步驟(iv.2)所得被填充的該透析膜置入一透析溶液。

2. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中該第一聚合物與該第二聚合物彼此相同或彼此不同。

3. 如申請專利範圍第 1 或 2 項所述之製造方法，其中該第二聚合物為非交聯。

4. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中該第一聚合物與該第二聚合物係選自一透明酸質與/或該透明酸質的鈉鹽。

5. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中在該步驟(i)中使用的該第一聚合物的分子量介於 2.5 MDa 至小於 3.0 MDa 的範圍。

6. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中在該步驟(iii)中使用的該第二聚合物的分子量至少為 3.0 MDa。

7. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中該第二聚合物之重量少於該第一聚合物之重量的 5%，或少於該第一聚合物之重量的 4%。

8. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中該第二聚合

物之重量介於該第一聚合物之重量的 0.01 至 5% 或 0.1 至 4% 的範圍，或者介於該第一聚合物之重量的介於 0.1 至 2.5%、0.2 至 2.0% 或 0.5 至 1.5% 的範圍。

9. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，更包括步驟(v)：

(v) 混合一麻醉劑與/或一抗心律不整藥物至該步驟(iv)所得的產物。

10. 如申請專利範圍第 9 項所述之製造方法，其中該麻醉劑為利多卡因、鹽酸利多卡因、鹽酸利多卡因單水合物、丁卡因、或利多卡因與丁卡因。

11. 如申請專利範圍第 9 項所述之製造方法，更包括步驟(vi)：

(vi) 填充該步驟(v)的產物至一注射器並消毒該步驟(v)的產物。

12. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，更包括以下步驟：

填充該步驟(iv)的產物至一注射器並消毒該步驟(iv)的產物。

13. 如申請專利範圍第 1 項所述之製造方法，其中該步驟(ii)包括步驟(ii.1)，或步驟(ii.1)與步驟(ii.2)：

(ii.1) 將在該步驟(i)中得到的交聯產物置入一種酸中；

(ii.2) 擠出在該步驟(ii.1)中得到的產物；或

擠出在該步驟(ii.1)中得到的產物通過一篩子；或

擠出在該步驟(ii.1)中得到的產物通過具有篩孔尺寸介於 500

至 600 μ m 範圍的一篩子。

14. 一種組成物，包括一交聯的第一聚合物與水，以及可選擇地包括一第二聚合物，該第二聚合物可為交聯或非交聯，其中該第一聚合物與該第二聚合物係選自一多醣體，且該組成物係依據申請專利範圍第 1~13 項之任一項的製造方法所製成。

15. 一種套件，包括一注射器與依據申請專利範圍第 1~13 項之任一項的製造方法所製成之組成物；或者包括一注射器與依據申請專利範圍第 14 項之組成物。

16. 一種依據申請專利範圍第 1~13 項之任一項的製造方法所製成之組成物的使用方式，或者依據申請專利範圍第 14 項之組成物的使用方式，係應用於化妝品，或作為皮膚科填料。

17. 一種組成物，包括一交聯的第一聚合物與水，以及可選擇地包括一第二聚合物，該第二聚合物可為交聯或非交聯，其中該第一聚合物與該第二聚合物係選自一多醣體，該組成物係依據申請專利範圍第 1~13 項之任一項的製造方法所製成，並用以作為藥劑。