



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104072814 A

(43) 申请公布日 2014. 10. 01

(21) 申请号 201310631346. 7

(22) 申请日 2013. 11. 29

(30) 优先权数据

10-2013-0032956 2013. 03. 27 KR

(71) 申请人 株式会社 LG 生命科学

地址 韩国首尔市

(72) 发明人 李骏豪 李忠 李翰承

(74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司

公司 31266

代理人 须一平 崔佳佳

(51) Int. Cl.

C08L 5/08(2006. 01)

C08K 5/1515(2006. 01)

C08J 3/24(2006. 01)

权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

用于制备粘弹性交联透明质酸的组合物和利用该组合物制得的交联透明质酸

(57) 摘要

本发明涉及一种用于制备粘弹性交联透明质酸的组合物, 以及使用该组合物制得的交联透明质酸, 更具体地, 涉及一种用于制备粘弹性交联透明质酸的组合物以及用该组合物制得的交联透明质酸, 所述组合物包含浓度为 15-25wt% 的透明质酸碱性水溶液和交联剂, 所述组合物在频率为 0. 02 - 1Hz 下的 Tan δ 值为 0. 5 - 1. 5。

1. 一种用于制备交联透明质酸的组合物,包含浓度为 15-25wt% 的透明质酸碱性水溶液和交联剂,所述组合物在频率 0.02 — 1Hz 下的 $\text{Tan } \delta$ 值为 0.5-1.5。
2. 权利要求 1 所述的用于制备交联透明质酸的组合物,其特征在于,0.02Hz 频率下的 $\text{Tan } \delta$ 值为 0.5 — 1.5。
3. 权利要求 1 所述的用于制备交联透明质酸的组合物,其特征在于,所述透明质酸的分子量为 100,000 — 5,000,000。
4. 权利要求 1 所述的用于制备交联透明质酸的组合物,其特征在于,所述碱性水溶液为 NaOH 溶液。
5. 权利要求 1 所述的用于制备交联透明质酸的组合物,其特征在于,所述交联剂为 1,4-丁二醇二缩水甘油醚。
6. 一种交联透明质酸的制备方法,包括:
步骤 1:通过使得权利要求 1-5 中任一项所述的用于制备交联透明质酸的组合物交联来制取透明质酸;和
步骤 2:通过清洗和研磨所述交联透明质酸使天然化并制取交联透明质酸浆料。
7. 权利要求 6 所述的方法,其特征在于,还包括在步骤 1 之后,通过粉碎所述交联透明质酸,用盐水清洗和使之溶胀,然后研磨来制取交联透明质酸浆料(步骤 2)。

用于制备粘弹性交联透明质酸的组合物和利用该组合物制得的交联透明质酸

技术领域

[0001] 本发明涉及用于制备粘弹性交联透明质酸的组合物,以及使用所述组合物制得的具有单相和双相特征的交联透明质酸,更具体地,涉及用于制备粘弹性交联透明质酸的组合物,其包含浓度为 15-25wt% 的透明质酸碱性水溶液和交联剂,其在频率 0.02 - 1Hz 下的 Tan δ 值为 0.5 - 1.5,本发明还涉及使用该组合物制得的具有单相和双相特征的交联透明质酸。

背景技术

[0002] 透明质酸是一种生物高分子物质。因其生物相容性和弹粘性,它被广泛用于医学、保健和美容等用途。然而,单一的透明质酸在体内或在酸性或碱性条件下极易分解,从而限制了其应用。因此,人们试图开发出一种结构稳定的透明质酸衍生物 (Laurent, T. C. 《透明质酸及其衍生物化学、生物学和医学应用》"The chemistry, biology and medical applications of hyaluronan and its derivatives" 波特兰出版社有限公司 (Portland Press Ltd.), 伦敦, 1998)。

[0003] 就常规的交联透明质酸制备方法而言,如美国专利公开号 2003/0148995 公开了在碱存在下,使用相对过量的多功能环氧化物交联剂,使浓度为 12.8% 的透明质酸进行反应从而形成凝胶的方法。

[0004] 此外,韩国专利公开号 10-2009-0085102 公开了一种嵌入物,其通过将甘露醇作为抗氧化剂加入交联透明质酸和游离透明质酸的混合物中,通过皮内或皮下注射具有抑制 MMP 表达和组织重建的效果的。在此例中,虽然在交联透明质酸中混合额外的游离透明质酸能抑制 MMP 表达,从而提高可用性,但仍很难期待游离透明质酸在组织维持和重建中会发挥作用,因为游离透明质酸具有易为酶反应所分解的不足之处。

[0005] 将常规技术结合起来,在所公开的使用许多种交联剂或通过各种不同制备工艺的交联透明质酸制备方法中,并未提到同时显示粘性和弹性特征并对酶具有耐受性的交联产品。此外,许多现有的制备方法并不适用于大规模生产。

[0006] 在此技术背景下,本发明的发明人通过调整用于制备粘弹性交联透明质酸的组合物而制备了一种用于制备粘弹性交联透明质酸的组合物,所述组合物以浓度为 15-25wt% 的透明质酸碱性水溶液和交联剂的混合物形式提供,在交联反应前,其在频率范围为 0.02-1Hz 时的 Tan δ 值为 0.5-1.5,经鉴定,通过交联用于制备交联透明质酸的该组合物可制备具有粘性和弹性特征的交联透明质酸,从而完成本发明。

发明内容

[0007] 本发明的一个目的在于提供一种用于制备粘弹性交联透明质酸的组合物。

[0008] 本发明的另一个目的在于提供用上述组合物制得的具有单相和双相特征的交联透明质酸。

[0009] 本发明的另一个目的在于提供使用上述组合物制得的具有单相和双相特征的交联透明质酸的制备方法。

[0010] 技术方案

[0011] 为了解决所述问题,本发明提供了一种用于制备交联透明质酸的组合物,其包含浓度为 15-25wt% 的透明质酸碱性水溶液以及交联剂,其在频率范围为 0.02-1Hz 下具有 0.5-1.5 的 $\tan \delta$ 值。

[0012] 本发明特征在于,一种用于制备交联透明质酸的组合物,其以浓度为 15-25wt% 的透明质酸碱性水溶液和交联剂的混合物形式提供,在进行交联反应之前,其在频率范围为 0.02-1Hz 下具有 0.5-1.5 的 $\tan \delta$ 值。

[0013] 优选地,所述组合物在频率为 0.02Hz 下具有 0.5-1.5 的 $\tan \delta$ 值。

[0014] 本发明提供一种在频率范围为 0.02-1Hz 下具有 0.5-1.5 的 $\tan \delta$ 值的组合物作为用于制备交联透明质酸的组合物,通过该组合物本发明可以制备同时表现出粘性和弹性特征的粘弹性交联透明质酸。

[0015] 在本发明的实施例中,在制备在频率为 0.02Hz 下 $\tan \delta$ 值为 0.7、0.97 或 1.39 的组合物后,在一段时间内观察其流变学特性,结果显示该组合物具有优异的粘弹性(实施例 1-3,图 1)。

[0016] 此外,使用本发明的用于制备交联透明质酸的组合物,可以制备粘弹性交联透明质酸,其对酶具有稳定性,还具有优良的组织重建性以及持久性。

[0017] 本文所用的术语“透明质酸”指所有的透明质酸本身、透明质酸盐、或上述物质的组合。所述透明质酸盐包括无机盐,例如透明质酸钠、透明质酸钾、透明质酸钙、透明质酸镁、透明质酸锌、透明质酸钴,以及有机盐,例如透明质酸四丁基铵。在本发明中,利用的透明质酸可以是单独的透明质酸本身,或单独的其盐;使用的透明质酸本身或其盐可以是两种或多种透明质酸本身或其盐的组合。

[0018] 在本发明中,所述的透明质酸分子量可为 100,000 - 5,000,000。

[0019] 在本发明中,所述碱性水溶液可以是 NaOH 溶液,但不限于此。于此,NaOH 溶液可以 0.25N - 5N 的浓度进行使用。

[0020] 在本发明中,所述交联剂可以是 1,4-丁二醇二缩水甘油醚,但并不限于此。

[0021] 此外,本发明提供了通过交联用于制备交联透明质酸的组合物所制得的交联透明质酸,所述组合物包含浓度为 15-25wt% 的透明质酸碱性水溶液以及交联剂,其在频率范围为 0.02-1Hz 下的 $\tan \delta$ 值为 0.5-1.5。

[0022] 在本发明中,如上文所述,通过交联在特定的频率范围内具有特定 $\tan \delta$ 值范围的组合物制得交联透明质酸后可以制得具有单相和双相特征的交联透明质酸。

[0023] 另言之,在本发明中,最终的交联透明质酸包含单相和双相特征。同时,最终的交联透明质酸对酶具有稳定性,还具有优异的组织重组性以及耐久性。

[0024] 在本发明的实施例中,研究了交联 $\tan \delta$ 值 0.97 的混合物获得的交联透明质酸的酶耐受性,结果显示对透明质酸酶具有优异的耐受。

[0025] 此外,本发明提供了交联透明质酸的制备方法,包括:

[0026] 1) 通过交联用于制备交联透明质酸的组合物制得交联透明质酸,所述组合物包含浓度为 15-25wt% 的透明质酸碱性水溶液和交联剂,其在 0.02-1 Hz 下的 $\tan \delta$ 值为

0.5-1.5(步骤1)。

[0027] 优选地,本发明的交联透明质酸的制备方法可包括在步骤1后粉碎所述交联透明质酸,用盐水清洗并溶胀,然后研磨来制得交联透明质酸浆料(步骤2)。

[0028] 通过交联用于制备交联透明质酸的组合物制得交联透明质酸的步骤1是通过交联在特定频率范围内具有特定 $\text{Tan } \delta$ 值范围的,用于制备交联透明质酸的组合物而制得原始粘弹性交联透明质酸的步骤,其中,所述组合物包含浓度为15-25wt%的透明质酸碱性水溶液以及交联剂,并在频率为0.02-1Hz下其 $\text{Tan } \delta$ 值为0.5-1.5。

[0029] 在本发明的交联透明质酸制备方法中,具有许多特征的交联透明质酸可通过在原料的混合过程中诱导接枝制得,而非对于一部分通过诱导透明质酸降解而对于其它部分诱导交联反应来制备,这是本发明最为重要的工艺之一。

[0030] 为了诱导上述反应,透明质酸的浓度以及所述混合物的 $\text{Tan } \delta$ 值范围可能是重要的。

[0031] 首先,用于交联反应的透明质酸碱性水溶液的浓度需要调节至15-25wt%浓度范围。如果透明质酸碱性水溶液的浓度小于10wt%,透明质酸分子链的游离程度增加并形成具粘性的交联产品,而若高于25wt%,粘弹性很高但生物相容性低,就可能对人体造成副作用。

[0032] 此外,在混合原料时可以通过在异相条件下进行混合和反应来完成上述反应。可以先混合碱性溶液和透明质酸,再加入交联剂来诱导异相混合。可以通过粘弹性液体的 $\text{Tan } \delta$ 值来测定混合物的均一性,可以通过控制 $\text{Tan } \delta$ 值来确定溶出度,因为接近1的 $\text{Tan } \delta$ 值表明其为一种溶液,而接近0的值表明其为弹性体。

[0033] 在本发明中,可以通过使用用于制备交联透明质酸的组合物来制备同时具有粘性和弹性的交联透明质酸,其中 $\text{Tan } \delta$ 值调节至在频率0.02-1Hz下其范围为0.5-1.5。本发明的交联透明质酸可以是可注射形式,因为,如上所述,其同时具有粘性以及弹性,且具有优异的稳定性和组织重组性等优势,而无需额外的聚合物。

[0034] 此外,在本发明中,通过调控混合碱性溶液和透明质酸期间混合摩擦热所致的温度升高可最大程度降低透明质酸遇碱性溶液的分解。因此,所述温度优选10-50°C,更优选地为20-40°C,最优选地为25-35°C。

[0035] 粉碎所述交联透明质酸,用盐水清洗并溶胀,然后研磨制得交联透明质酸浆料的步骤2是通过后处理交联透明质酸制备最终交联透明质酸的步骤。

[0036] 在本发明中,如上述制得的最终交联透明质酸具有单相和双相特征。此外,交联透明质酸终产物对酶具有稳定性,还具有优良的组织重建能力和耐久性。

[0037] 发明效果

[0038] 本发明通过制备用于制备粘弹性交联透明质酸的组合物来制备同时具有粘性和弹性特征的粘弹性交联透明质酸,所述组合物在频率为0.02-1Hz下具有 $\text{Tan } \delta$ 值为0.5-1.5。此外,本发明的优点在于通过使用用于制备交联透明质酸的组合物制备的粘弹性交联透明质酸对酶具有稳定性,还具有优良的组织重建能力和耐久性等。

附图说明

[0039] 图1显示了用流变仪测得的,依据用于制备交联透明质酸的组合物的反应时间的流变学特性检测结果。在图1中,红点表示实施例1,蓝点表示实施例2,黄点表示实施例

3, 绿点表示对照组。

[0040] 图 2 显示了在实施例 5 和对比例 1 中由透明质酸酶分解交联透明质酸期间粘弹性变化的检测结果。在图 2 中, 蓝点表示实施例 5 的交联透明质酸, 红点表示对比例 1 的交联透明质酸。

具体实施方式

[0041] 本发明通过下文中的实施例进行更详细地描述。然而, 以下实施例仅用于阐释而非限制要求保护的本发明。

[0042] 实施例 1-3: 制备用于制备交联透明质酸的组合物以及依照反应时间研究其流变学特性

[0043] 透明质酸 1g(分子量: 约 3 百万道尔顿, 制造商: LG 生命科学 (LG Life Sciences)) 溶解于 0.25N 的 NaOH 溶液, 浓度为 20wt%, 并且对粉末进行预混合以免吹散。施加染料来确定混合程度, 向混合均匀的混合物中加入 1, 4- 丁二醇二缩水甘油醚作为交联剂, 而后制备得到 0.02Hz 下混合状态的 $\text{Tan } \delta$ 值为 0.7(实施例 1)、0.97(实施例 2) 或 1.39(实施例 3) 的混合物。使用流变仪 (MCR301, Anton paar) 观察依据反应时间的混物流变学特性。作为对照, 在加入交联剂前的未反应混合物用作对照组。

[0044] 结果显示于图 1。

[0045] 图 1 显示了, 当 0.02Hz 下混合物的 $\text{Tan } \delta$ 值为 0.7, 0.97 或 1.39 时, 反应物的粘度随时间的变化范围在 4 千万—150 千万 cP 间, 这显示了在该交联混合物中一些物质随着时间而产生分解和交联。

[0046] 对比例 1: 制备具单相特征的交联透明质酸

[0047] 透明质酸(分子量: 约 3 百万道尔顿, 制造商: LG 生命科学) 溶解于 0.25N 的 NaOH 溶液中, 浓度为 10wt%, 加入 1, 4- 丁二醇二缩水甘油醚作为交联剂, 然后混合。混合完成后, 所述混合物放入温度恒定的水浴中, 并通过交联反应制得胶块, 而后用缓冲液清洗并使之溶胀。

[0048] 实施例 4-6: 制备具有单相和双相特征性的交联透明质酸

[0049] 通过交联实施例 1-3 制得的混合物制取交联透明质酸, 将其粉碎至适合大小、用盐水清洗并使之溶胀。使用研磨装置进行研磨后制得交联透明质酸。

[0050] 实验性实施例 1: 研究本发明的具有单相和双相特征的交联透明质酸的粘弹性

[0051] 对对比例 1、实施例 4—6 的交联透明质酸进行灭菌后, 获得在 0.02Hz 频率下的粘弹性数值, 然后进行 $\text{Tan } \delta$ 值分析。

[0052] 结果显示于表 1。

[0053] 表 1

[0054]

灭菌后的粘弹性	$\text{Tan } \delta$	% 粘着性	% 弹性	相
实施例 4	0.34	108.8	74.7	双相
实施例 5	0.20	116.9	83.1	双相
实施例 6	0.27	113.6	78.8	双相
对比例 1	0.40	101.78	71.1	单相

[0055] 表 1 显示了本发明的交联透明质酸具有卓越的粘着性, 其对应于粘度, 以及较对

比例 1 更优越的弹性,证实了本发明的交联透明质酸具有优越的粘弹性。此外,虽然对比例 1 中的交联透明质酸具有单相特征,本发明的交联透明质酸显示具有双相特征。

[0056] 实验性实施例 2: 研究本发明的交联透明质酸对酶的耐受性

[0057] 实施例 5 和对比例 1 的交联透明质酸在粉碎后最终进行灭菌,以 0.6g 置于 Eppendorf 离心管中,并加入 6 μ l 的 500U/mL 透明质酸酶,混合均匀,然后使用流变仪对粘弹性进行测量。

[0058] 其结果显示于图 2。

[0059] 图 2 显示了与对比例 1 相比,本发明的交联透明质酸具有卓越的粘弹性,即便在透明质酸酶的处理下,从而证实了本发明的交联透明质酸对该酶具有优异的耐受性。

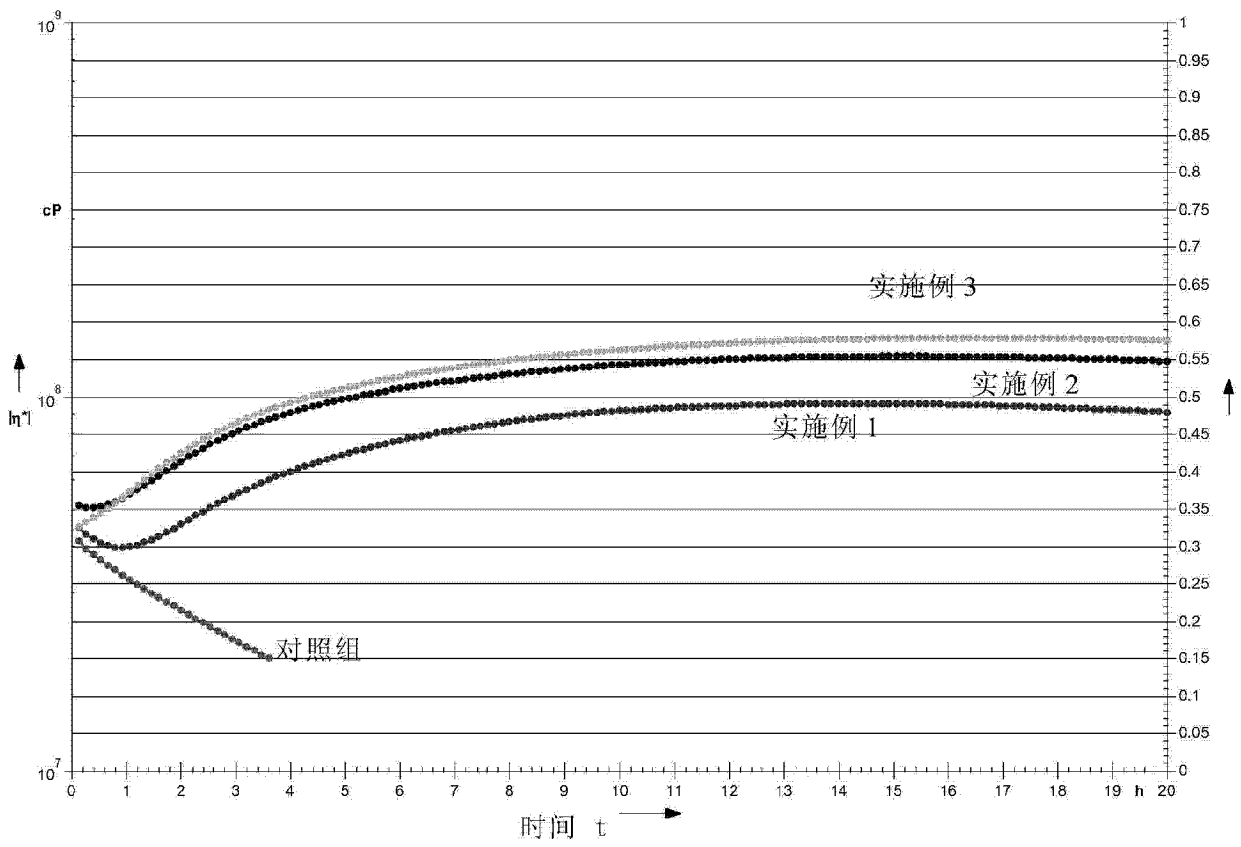


图 1

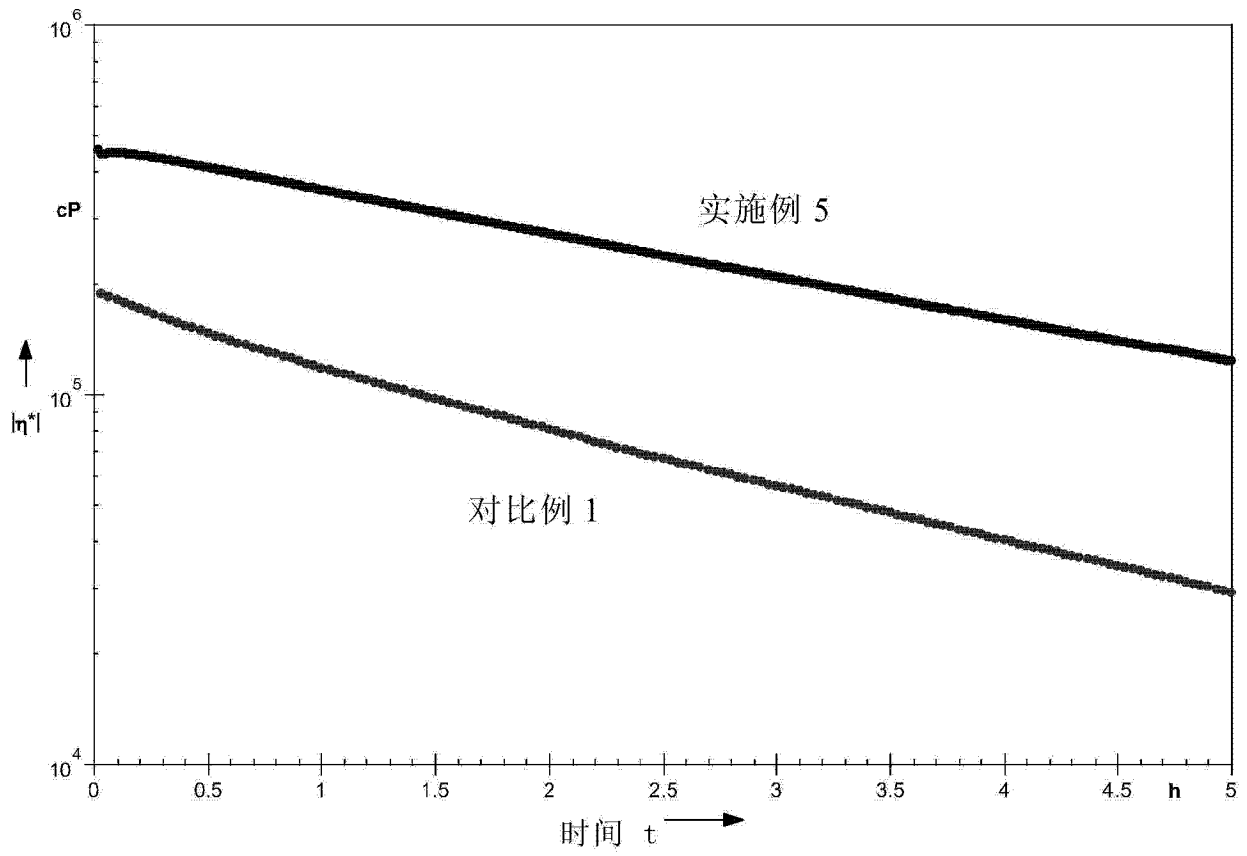


图 2