

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷



[12] 发明专利说明书

[21] ZL 专利号 00134412.9

C07K 14/435

C07K 4/12

C07K 1/12

A61K 7/04

A61K 7/06

A61K 7/48

A61K 38/04

[45] 授权公告日 2005 年 5 月 18 日

[11] 授权公告号 CN 1202130C

[22] 申请日 2000.10.13 [21] 申请号 00134412.9

[30] 优先权

[32] 1999.10.15 [33] FR [31] 9913062

[71] 专利权人 爱克希莫尔公司

地址 摩纳哥摩纳哥

共同专利权人 玛丽-克里斯廷·塞甘

让·格伊恩

[72] 发明人 玛丽-克里斯廷·塞甘 让·格伊恩

审查员 彭郁葱

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所

代理人 陈文平

A61P 19/10

A61P 9/10

权利要求书 1 页 说明书 7 页

[54] 发明名称 呈固态、稳定和浓缩形式的基于可生物吸收原硅酸的络合物及其制备方法

[57] 摘要

本发明涉及一种基于可生物吸收的原硅酸的络合物，和一种制备所说的络合物的方法。在此络合物中，原硅酸与多肽络合，且络合物是固体的、稳定的和浓缩的形式。本发明也涉及含有所说的络合物的化妆品或药物组合物以及营养增补剂。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1.含可生物吸收的原硅酸的络合物，其中原硅酸与一种动物或植物来源的蛋白质水解物络合，且其中所述络合物中硅含量为最多10%。

2.根据权利要求1的络合物，其中所说的蛋白水解物是一种胶原水解产物。

3.根据权利要求2的络合物，其中胶原水解产物是猪胶原或鱼胶原水解产物。

4.制备权利要求1-3之一的络合物的方法，其包括下列步骤：

-将多肽溶于1体积的蒸馏水中

-调节pH为2至4之间

-以1/4 - 1体积的比例，在搅拌下加入乙醇，

-逐滴地加入原硅酸的可水解前体—四烷氧基硅烷，

-不断搅拌该混合物直到该前体完全水解，

-蒸发掉醇和水。

5.根据权利要求4的方法，其中四烷氧基硅烷是四乙氧基硅烷。

6.根据权利要求4的方法，其中所述多肽和原硅酸与水及醇的重量比例是1/4.9。

7.根据权利要求4的方法，其中所述多肽和原硅酸与水及醇的重量比例是1/4.3。

8.化妆品或药物组合物，其包括任何适当的赋形剂和一种权利要求1的含可生物吸收的原硅酸的络合物。

9.营养增补剂，其包括任何适当的饮食赋形剂和一种权利要求1的含可生物吸收的原硅酸的络合物。

呈固态、稳定和浓缩形式的基于可生物吸收 原硅酸的络合物及其制备方法

本发明涉及一种呈固态、稳定和浓缩形式的基于可生物吸收原硅酸的络合物及其制备方法。

硅是生命的必需元素。它即具有作为结缔组织基质中存在的蛋白质-葡糖胺聚糖络合物组分的结构作用,又具有在人体生长和骨生成中的新陈代谢作用(硅有利于骨骼的矿化作用)。因此,硅对于骨骼和结缔组织的正常发育来说是必需的。

还证明原硅酸 $\text{Si}(\text{OH})_4$ 形式的硅对 Al^{3+} 离子具有高亲合力,并有利于 Al^{3+} 的消除。因此,它可以减小铝对骨骼和脑的毒性作用,特别是在神经退化疾病例如阿耳茨海默氏病中。

这些资料提示在生长期过程中、或特别是病理状态时准时补充硅可能是非常有用的。

然而,同样重要的是防止硅缺乏:对人体进行的一些研究表明在皮肤和动脉壁上硅随年龄而减少,这基本上是因为随着时间的推移硅的胃肠吸收降低。

硅新陈代谢的主要问题是由于它难以吸收。虽然硅是一种非常丰富的元素,但它天然是以不溶于水的无机物形式存在(结晶的氧化物(二氧化硅和硅酸盐)或无定形的(粘土、蛋白石, …)),其都不是生物能吸收的硅源。

同样地,在我们的食物中所存在的硅,即主要是以硅铝酸盐或二氧化硅形式出现,生物可利用性差。纯化和精炼蔬菜产品(饮食的谷类和纤维是硅的主要来源)的现行技术,势必除去富硅的部分(外壳),进一步减少了这种供给。

现在似乎承认了生物活性的硅必须是水溶性的,而且溶解度取决于硅原子上自由的OH基团(甲硅烷醇官能团)的数量。在血液和血管外的液体中,生理学上硅以原硅酸的水合形式($\text{Si}(\text{OH})_4$)存在,其与生物体的

pH无关，而且几乎完全是以它的自由形式存在。而且，研究已经表明：只有单体的或低聚的（极轻微地聚合的）原硅酸能通过肠屏障（P. Creach, J. Adrian, Méd. et Nut. 1990, 26 (2), 73 - 90）。

硅原子上游离OH基团的存在还与它的生物学作用紧密地相关。的确，这些甲硅烷醇官能团可以与酰胺、水、醇类、酮、酯…形成共价键或氢键。因此，在生物介基中，其可以与膜磷脂、蛋白质、葡糖胺聚糖和多糖形成键合。

所以，需要考虑以硅酸形式或尽可能类似的形式供给硅。

溶液中单体的原硅酸直到浓度大约为 $10^{-4} \text{ Mol. l}^{-1}$ 是相对稳定的；但是，当浓度增加时， Si(OH)_4 分子结合形成原硅酸的低聚物和聚合物（形成硅氧烷键 Si-O-Si ），最后形成水溶性小的或不溶于水的胶体溶液或硅凝胶，其硅的生物可利用性是很弱的。以极稀的稳定的溶液形式供给原硅酸不适于日常的硅补充，并特别导致在营养品或饮食、化妆品或治疗组合物中也不可能包含足够高数量的硅。

现在已有作为生物活性和浓缩的硅源的具有多个自由羟基的有机硅化合物，它们可以溶液的形式或固态形式存在（专利EP - 0 289 366和FR 2 761 074）。

还有更浓的原硅酸溶液，其中通过强酸性的pH使原硅酸化学稳定，其通过水解硅氧烷键 Si-O-Si 阻止了聚合（专利JP 58176115）。

专利WO 95/21124也提出通过稳定剂稳定的原硅酸的浓缩制剂。虽然在溶液中的原硅酸和胆碱之间生成络合物，但是只有维持强酸性的pH才能获得完全令人满意的稳定性。

这样的酸性溶液不能提供最佳的吸收，因为在摄取的过程中，不能保持pH条件（生理pH）。一大部分原硅酸在被吸收以前聚合。

在医学研究的范围内，还利用胶态硅酸的局部施用与口服相结合，以便改善老化的皮肤、脆性的头发和易损坏的指甲（Lassus A., Journal of International Medical Research, 1993, 21, 209 - 215）。然而，这种形式的生物可利用性是很弱的，因为存在许多硅氧烷键。

这就是为什么本发明的目的是提供能吸收、浓缩和稳定的原硅酸形式。

而且，为了能口服吸收，原硅酸必须在不同的生理pH范围内，也就是说在酸性、中性的或弱碱性介质中是可溶的和化学上稳定的。因此本发明的另一个目的是获得在这些不同的pH条件下稳定的原硅酸。

最后，另外一个目的是获得可以掺入饮食、化妆品或治疗剂组合物中的固态物，且可以掺入营养增补剂中，其是用于口服的非水形式的胶囊剂、粒剂或片剂。

通过与原硅酸形成氢键将原硅酸与作为稳定剂的多肽络合可以达到这些目的。这就防止了形成硅氧烷键Si-O-Si和原硅酸聚合。

因此获得了在摄入后被溶解在生物液体中并形成能吸收和生物活性的可溶原硅酸（单体的或低聚的）的稳定固态（粉末）原硅酸。

除该浓缩的固体形式具有极好的稳定性外，本发明的一个重要特征是其经过胃肠道时能够保持稳定的能力，而不管有利于其聚合的各种生理pH的存在。

用硅和多肽之间存在特别强的相互作用可以解释这一点。当溶解时，仍然有在多肽链和硅原子携带的羟基官能团之间的络合物；络合物的内聚性与形成弱键（氢键）的官能团及可能与多肽链的结构组织有关。

应当注意在制备持续释放形式的药物方面已将具有药理学活性的一些肽与含有硅的天然无机物、或基于硅酸的合成无机物结合（专利号BE 778239）。这些硅化合物的共同特征是形成适合作为肽载体的胶态悬浮体；显然在这些专利中解决的技术问题和本发明的没有任何关系。

本发明的主题是提供一种基于可生物吸收的原硅酸的络合物，其特征在于原硅酸与多肽络合，且为固态、稳定和浓缩的形式。

本发明的主题还是提供一种制备基于原硅酸的所说络合物的方法，其包括下列步骤：

- 将多肽溶于1体积的蒸馏水中
- 调节pH为2和4之间
- 以1/4 - 1体积的比例，在搅拌条件下加入溶于水的醇优选乙醇，
- 逐滴地加入原硅酸的可水解前体，优选四烷氧基硅烷，
- 不断搅拌该混合物直到该前体完全水解
- 蒸发掉醇和水。

从而获得原硅酸-多肽络合物，其是粉状形式的、浅色的固体，含硅量最高可达10%。含硅量优选为1到5%。

按照本发明一种有利的实施方案，多肽是一种动物或植物来源的蛋白质的水解产物。

事实上，强水解后获得的多肽显示最适合于实现本发明的目的。

高分子量的多肽，特别是某些蛋白质，好象并非好的稳定剂。这可能解释为这些蛋白的三级结构不利于与原硅酸的稳定排列。

按照本发明的优选方案，多肽是一种胶原水解产物，例如猪胶原或鱼胶原。

事实上，在来自动物的蛋白质水解物中，胶原水解产物是特别适合的，因为胶原具有有利于与原硅酸形成络合物的结构。

此外，在体内硅会强有力地与胶原结合（Carlisle EM, The Science of Total Environment, 1988,73卷, 95 - 106）。

最后，本发明的另一个目的是提供一种化妆品或药物组合物以及营养增补剂，其含有任何合适的赋形剂和一种这样的络合物。

在很多这些组合物和营养增补剂的应用中，可能提到：硅缺乏，对于孕妇，成长期的孩子或老年人（其吸收硅的能力降低）需要大量提供硅，及对皮肤、头发、指甲的组织结合、再生和强化时，或预防和治疗疾病例如骨质疏松症或动脉粥样硬化时。

下列实施例意在是举例说明，并不是限制本发明。

实施例1: 用猪源水解营养凝胶制备硅含量1.5%的原硅酸粉末。

在搅拌条件下将90克猪的蛋白质水解物溶解于250毫升的蒸馏水中。用6 N的盐酸溶液调整pH为3到4之间。然后在搅拌下慢慢地加入270毫升的无水乙醇。获得均匀的橙黄色溶液，其有非常浅的乳色。

然后，在搅拌下将四乙氧基硅烷（11.25克）逐滴地加入到混合物中。

不断搅拌该溶液直到该前体完全水解。

在减压下蒸发掉醇和水。

获得92克粉状的、浅色的（淡黄的）固体，其残余水量大约为5.5%。

实施例2: 用小麦的蛋白质水解物制备原硅酸粉末。

在搅拌下将180克小麦的蛋白质水解物溶解于500克蒸馏水中。加入400

毫升无水乙醇。用稀盐酸溶液酸化该混合物。

然后在搅拌下将23克四乙氧基硅烷逐滴地加入到该混合物中。持续搅拌该溶液直到四乙氧基硅烷完全水解。

然后在减压下通过蒸馏除去乙醇和水。

获得浅色的固体，其可以被粉碎获得一种能完全溶于水中的粉末，其含硅含量大约为2.5%。

实施例3: 稳定性研究

在37°C (+3°C)下在胃的pH(1.2)和肠的pH(7.5)下用含硅量为0.075%的水溶液进行这些研究。稳定性标准是硅的溶解度。

	pH1.2	pH7.5
在t0时可溶Si含量(克/千克)	0.75	0.75
在t+8小时时可溶Si含量(克/千克)	0.75	0.6
在t+24小时时可溶Si含量(克/千克)	0.7	0.45

实施例 4: 对十二指肠的扩散试验

测量和比较十二指肠壁水平的水溶液中的(含Si 0.6%)各种形式的硅的吸收量: 通过溶解胶原多肽来稳定化的原硅酸粉末获得的一种溶液, 含有未稳定化的原硅酸的溶液和硅酸钠溶液。

通过戊巴比妥二钠的心内注射处死Sprague Dawley大鼠。在注射以后, 很快使每个鼠的十二指肠取出、清空并用NaCl 溶液(0.9%)洗涤。在注射大约正好1毫升的硅溶液以后, 用棉线结扎该器官并放入10毫升37°C的等渗缓冲溶液中。在不同的研究时间内, 抽取1毫升的等渗缓冲溶液作为样品并过滤。

通过原子吸收技术评价可溶硅的浓度。

将十二指肠的硅溶液调节到pH = 8.5。

结果:

络合的原硅酸		硅酸钠		未稳定化的原硅酸	
时间(分钟)	已扩散硅的%	时间(分钟)	已扩散硅的%	时间(分钟)	已扩散硅的%
0	0	0	0	0	0
23	1.55	24	0.83	24	0.67
31	2.07	28	0.91	28	0.99
39	2.59			34	1
53	3.5	52	1.38	48	1.16
57	3.76	56	1.47	56	1.54
		60	1.55	60	1.75
65	4.28	66	1.67	68	1.86
73	5.8	70	1.75	70	2.08
74	4.87	74	1.83	74	2.13
82	5.39	86	2.07	85	2.54
90	6.2	90	2.15	90	2.67

这些结果表明与多肽络合的原硅酸的扩散为未稳定化原硅酸的两倍，为硅酸钠的三倍（后两者仅有微弱的扩散）。

只有络合形式的扩散，并因此被吸收。

这证实了生物可吸收的原硅酸应可溶于水并在组织pH下是稳定的。

实施例5：用于改善表皮组织、头发和指甲的生长的营养增补剂，其为用于可饮溶液的粉末。

植物蛋白质	90克
维生素E	100毫克
铁	60毫克
锌	14毫克
镁	450毫克
络合的原硅酸粉末形式的硅（含硅1.5%）	70毫克
赋形剂（碳酸氢钠、蔗糖）	qsp 100 g

该增补剂是7克一小袋的粉末，其可形成为可饮的溶液。剂量是1小袋

/天，即含硅1.5%的粉状原硅酸络合物形式的5毫克的硅摄取量（相当于0.33克络合物）。

实施例6：用于下肢的骨质疏松症、关节病、动脉硬化的治疗剂组合物。

络合的原硅酸粉末形式的硅（含硅1.5%）	750毫克
乳糖	qsp 100 g

此组合物是每个0.33克的胶囊剂，即2.47毫克1.5%原硅酸络合物形式的硅（等于0.165克的络合物）。推荐每日服用2个胶囊。