



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101993503 B

(45) 授权公告日 2013.07.10

(21) 申请号 200910194660.7

(22) 申请日 2009.08.27

(73) 专利权人 上海佰加壹医药有限公司

地址 201908 上海市宝山区罗新路 50 号

(72) 发明人 马贤鹏 李建勇 陈亮 黄宇

(74) 专利代理机构 上海天翔知识产权代理有限公司 31224

代理人 陈学雯

(51) Int. Cl.

C08B 37/08 (2006.01)

(56) 对比文件

US 4784990, 1988.11.15,

CN 101045754 A, 2007.10.03,

郭学平等. 透明质酸的生产. 《药物生物技术》. 2000, 第 7 卷 (第 1 期), 第 61-64 页.

审查员 高晓薇

权利要求书1页 说明书6页

(54) 发明名称

一种粉末状透明质酸钠的制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种粉末状透明质酸钠的制备方法。在乙醇醇沉透明质酸钠的步骤中,先将乙醇与透明质酸钠溶液混匀,再将氯化钠溶液缓慢滴加至上述溶液中,边滴加边搅拌,即可制得粉末状透明质酸钠。利用本方法制备粉末状透明质酸钠,可大大缩短制备时间,从而降低生产过程中的能耗,降低成本,而且可降低制备无菌透明质酸钠染菌的风险,特别适合工业化大生产。

1. 一种无菌的粉末状透明质酸钠的制备方法,包括以下步骤:对含有透明质酸钠的药液进行 CPC 络合沉淀;收集络合沉淀物,加入氯化钠的醇溶液进行解离;用活性炭和硅藻土对解离液进行吸附;过滤得到透明质酸钠中间品;醇沉;干燥后获得无菌的粉末状透明质酸钠,其特征在于,

所述醇沉透明质酸的步骤中,将过滤制得的透明质酸钠中间品溶解于醇沉罐中,在搅拌状态下,直接加入 2 倍药液体积的乙醇与透明质酸钠药液混匀,再将药液重量的 1% ~ 3% 的氯化钠配制成溶液后缓慢滴加至透明质酸钠溶液与乙醇的混合液中,边滴加边搅拌,即可制得粉末状透明质酸钠;

所述粉末状透明质酸钠采用过滤洗涤干燥机进行母液过滤;

经过母液过滤后的粉末状透明质酸钠加入乙醇进行搅拌脱水;

搅拌脱水后将粉末状透明质酸钠抽干,经过过滤洗涤干燥机抽真空干燥工艺,制得无菌的粉末状透明质酸钠。

2. 根据权利要求 1 所述的无菌的粉末状透明质酸钠的制备方法,其特征在于,所述醇沉步骤采用 2 倍体积的 95% 乙醇与透明质酸钠溶液混匀,再取透明质酸钠溶液重量的 1% ~ 3% 的氯化钠,加水溶解制成氯化钠与水的比例为 1 :3 (g/ml) 的氯化钠溶液,将所述氯化钠溶液缓慢滴加至透明质酸钠溶液与乙醇的混合液中,边滴加边搅拌。

3. 根据权利要求 1 所述的无菌的粉末状透明质酸钠的制备方法,其特征在于,所述搅拌脱水步骤反复 2 ~ 4 次。

4. 根据权利要求 2 所述的无菌的粉末状透明质酸钠的制备方法,其特征在于,所述加入乙醇的方式为直接一次性加入。

5. 根据权利要求 2 所述的无菌的粉末状透明质酸钠的制备方法,其特征在于,所述氯化钠溶液缓慢滴加的速度为 40ml/ 分钟 ~ 60ml/ 分钟。

一种粉末状透明质酸钠的制备方法

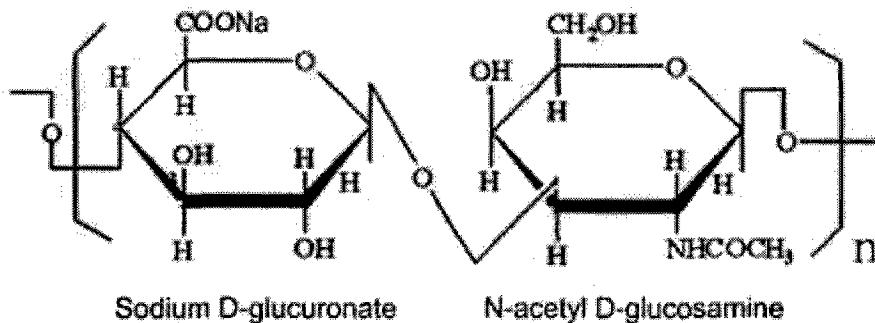
技术领域

[0001] 本发明涉及一种透明质酸钠的制备方法,尤其涉及一种粉末状透明质酸钠的制备方法。

背景技术

[0002] 透明质酸 (Hyaluronic acid, 简称 HA), 是由 $(1 \rightarrow 3)$ -2-乙酰氨基-2-脱氧- β -D-葡萄糖- $(1 \rightarrow 4)$ -O- β -D-葡萄糖醛酸双糖重复单位所组成的直链多聚糖, 分子式为 $(C_{14}H_{21}NO_{11})_n$, 依据组织来源不同, 分子量变化范围为 $2 \times 10^5 \sim 7 \times 10^6$, 双糖单位数为 300 ~ 11000 对。

[0003]



[0004] 商品透明质酸一般为钠盐形式,为白纤维状或粉末状固体,有较强的吸湿性,溶于水,不溶于有机溶剂。透明质酸钠的大分子网状结构通过与 H_2O 形成氢键结合大量的水,在体内具有构成多种基质、调节渗透压、调控大分子物质的转运、在细胞周围形成物理屏障以及调节细胞功能等作用。透明质酸钠可作为眼科手术辅助用药及变形性膝关节病和肩关节周围炎的辅助治疗,还在组织生成、创伤愈合、肿瘤入侵和调节细胞功能诸方面具有重要的生理功能。

[0005] 纤维状透明质酸钠在生产过程中,虽然较易制得,但其在醇沉过程中可包裹杂质,且在制剂过程中纤维状透明质酸钠原料溶解时间较长,延长了生产周期,从而增加了生产成本,从外观性状来看,粉末状比起纤维状透明质酸钠更容易运输和贮存。所以,在透明质酸钠纯化技术中,寻求简易的制备粉末状透明质酸钠的新方法,成为技术攻关领域关注的重点。

[0006] 在以往的公开的文献中,对于制备粉末状透明质酸钠的工艺,包括以下步骤:对含有透明质酸钠的药液进行 CPC 络合沉淀;收集络合沉淀物,加入氯化钠的醇溶液进行解离;用活性炭和硅藻土对解离液进行吸附;过滤;醇沉;干燥后获得目标产物,即透明质酸钠。

[0007] 现有文献报道制备透明质酸钠的方法的醇沉工艺主要有两种:

[0008] 一、如果将含有氯化钠的透明质酸钠溶液加入乙醇中搅拌,只能得到纤维状的透明质酸钠,但纤维状透明质酸钠难溶解;

[0009] 二、如果先加氯化钠再缓慢滴加乙醇能得到粉末状透明质酸钠,醇沉步骤均是往含有 2% 氯化钠的透明质酸钠溶液中,缓慢滴加 2 倍体积的 95% 乙醇,边滴加边搅拌。这种

工艺方法有诸多缺点：

[0010] 1 由于滴加乙醇的量为透明质酸钠溶液体积的 2 倍，量比较大，滴加起来非常耗时，从而大大增加了生产成本。

[0011] 2. 滴加乙醇时，必须不断的搅拌，且要有一定的力度，若搅拌不均匀或乙醇滴在壁上、搅拌轴上，造成局部乙醇浓度过高，均可导致形成纤维状透明质酸钠，因此对于生产设备和操作过程的要求比较高，既增加了成本，又得不到理想的粉末状透明质酸钠性状。

[0012] 3. 由于滴加乙醇的时间比较长，就会增加无菌透明质酸钠原料药染菌的风险。

发明内容

[0013] 本发明所解决的技术问题，克服了上述生产粉末状透明质酸钠工艺方法的不足，提供一种减少生产时间，降低生产成本，提高粉末状透明质酸钠的质量，降低生产过程风险的方法。该发明适用于透明质酸钠鸡冠提取法和细菌发酵法的生产过程，特别适合工业化大生产。

[0014] 本发明所需要解决的术问题，可以通过以下技术方案来实现：

[0015] 一种粉末状透明质酸钠的制备方法，包括以下步骤：对含有透明质酸钠的药液进行 CPC 络合沉淀；收集络合沉淀物，加入氯化钠的醇溶液进行解离；用活性炭和硅藻土对解离液进行吸附；过滤得到透明质酸钠中间品；醇沉、洗涤；干燥后获得粉末状透明质酸钠，其特征在于，

[0016] 所述醇沉透明质酸钠的步骤中，将过滤制得的透明质酸钠中间品溶解于醇沉罐中，在搅拌状态下，直接加入 2 倍药液体积的乙醇与透明质酸钠药液混匀，再将药液重量的 1%～3% 的氯化钠配制成溶液后缓慢滴加至透明质酸钠溶液与乙醇的混合液中，边滴加边搅拌，即可制得粉末状透明质酸钠；

[0017] 所述粉末状透明质酸钠采用过滤洗涤干燥机进行母液过滤，洗涤和干燥；

[0018] 经过母液过滤后的粉末状透明质酸钠加入乙醇进行搅拌脱水；

[0019] 搅拌脱水后将粉末状透明质酸钠抽干，经过过滤洗涤干燥机抽真空干燥等工艺后，最终制得无菌的粉末状透明质酸钠。

[0020] 所述醇沉步骤采用 2 倍药液体积的 95% 乙醇与透明质酸钠溶液混匀，再取透明质酸钠溶液重量的 1%～3% 的氯化钠，加水溶解制成氯化钠与水的比例为 1：3(g/ml) 的氯化钠溶液，将所述氯化钠溶液缓慢滴加至透明质酸钠溶液与乙醇的混合液中，边滴加边搅拌。

[0021] 所述醇沉步骤加入氯化钠的作用是使透明质酸钠在一定的盐离子浓度下沉淀出来。因为透明质酸钠不溶于有机溶剂，只有在一定的盐离子浓度溶液中才能产生沉淀分离出来。氯化钠与透明质酸钠药液重量比是 1%～3% 最佳。如果盐离子浓度太低影响收率；盐离子强度太高，杂质增多。

[0022] 所述搅拌脱水步骤反复 2～4 次。

[0023] 所述加入乙醇的方式为直接一次性加入。

[0024] 所述氯化钠溶液缓慢滴加的速度为 40ml/分钟～60ml/分钟。

[0025] 本发明的有益效果：

[0026] 1 由于滴加氯化钠的量为透明质酸钠溶液量的 1%～3%，滴加时间大大缩短，从

而降低了生产成本。

[0027] 2. 现有技术滴加乙醇时,必须不断的搅拌,且要有一定的力度,若搅拌不均匀或乙醇滴在壁上、搅拌轴上,造成局部乙醇浓度过高,均可导致形成纤维状透明质酸钠,因此对于生产设备和操作过程的要求比较高,既增加了成本又得不到理想的粉末状透明质酸钠性状。而本发明往含有乙醇的药液中滴加氯化钠溶液,可有效避免这些缺点。

[0028] 3. 克服了现有技术由于滴加乙醇的时间比较长,增加无菌透明质酸钠原料药染菌的风险;本发明滴加氯化钠量少,滴加时间少,降低了透明质酸钠染菌的风险。

具体实施方式

[0029] 为了使本发明的技术手段、创作特征、达成目的与功效易于明白了解,下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。

[0030] 实施例 1

[0031] 在鸡冠提取法制备透明质酸钠最后醇沉步骤中,将上工序制得的透明质酸钠中间品 50 克加入 10L 的水中搅拌溶解得到透明质酸钠溶液。取 20L 的 95% 乙醇,搅拌状态下加入到透明质酸钠溶液中混匀。取 100 克的氯化钠加 300 毫升的水溶解后,以 40ml/ 分钟速度缓慢滴加至上述混合溶液中,此过程中需要不停的搅拌。粉末状透明质酸钠醇沉出来后,将其抽取到过滤洗涤干燥机中,过滤完母液后,再加入约 10L 的 95% 乙醇将其搅拌脱水 5 分钟,如此反复三次。脱水完毕后,将粉末抽干,使其在真空压力为 0.08MPa 下,温度为 40 ~ 50℃ 左右干燥约 4 ~ 6 小时,最终得粉末状透明质酸钠。

[0032] 实施例 2

[0033] 在细菌发酵法制备透明质酸钠纯化生产过程的最后醇沉步骤中,将上工序制得的透明质酸钠中间品 50 克加入 10L 的水中搅拌溶解得到透明质酸钠溶液。取 20L 的 95% 乙醇,搅拌状态下加入到透明质酸钠溶液中混匀。取 200 克的氯化钠加 600 毫升的水溶解后,以 50ml/ 分钟速度缓慢滴加至上述混合溶液中,此过程中需要不停的搅拌。粉末状透明质酸钠醇沉出来后,将其抽取到过滤洗涤干燥机中,过滤完母液后,再加入约 10L 的 95% 乙醇将其搅拌脱水 5 分钟,如此反复三次。脱水完毕后,将粉末抽干,使其在真空压力为 0.08MPa 下,温度为 40 ~ 50℃ 左右干燥约 4 ~ 6 小时,最终得粉末状透明质酸钠。

[0034] 实施例 3

[0035] 在鸡冠提取法制备透明质酸钠最后醇沉步骤中,将上工序制得的透明质酸钠中间品 50 克加入 10L 的水中搅拌溶解得到透明质酸钠溶液。取 20L 的 95% 乙醇,搅拌状态下加入到透明质酸钠溶液中混匀。取 300 克的氯化钠加 900 毫升的水溶解后,以 60ml/ 分钟速度缓慢滴加至上述混合溶液中,此过程中需要不停的搅拌。粉末状透明质酸钠醇沉出来后,将其抽取到过滤洗涤干燥机中,过滤完母液后,再加入约 10L 的 95% 乙醇将其搅拌脱水 5 分钟,如此反复三次。脱水完毕后,将粉末抽干,使其在真空压力为 0.08MPa 下,温度为 40 ~ 50℃ 左右干燥约 4 ~ 6 小时,最终得粉末状透明质酸钠。

[0036] 对照例 1 在鸡冠提取法制备透明质酸钠最后醇沉步骤中,将上工序制得的透明质酸钠中间品 50 克加入 9.4L 的水中搅拌溶解得到透明质酸钠溶液,取 100 克的氯化钠加 300 毫升的水溶解后,与上述溶液搅拌均匀。取 20L 的 95% 乙醇,搅拌状态下缓慢滴加到透明质酸钠溶液中,此过程中需要不停的搅拌。粉末状透明质酸钠醇沉出来后,将其抽取到过滤

洗涤干燥机中,过滤完母液后,再加入约 10L 的 95% 乙醇将其搅拌脱水 5 分钟,如此反复三次。脱水完毕后,将粉末抽干,使其在真空压力为 0.08MPa 下,温度为 40~50℃ 左右干燥约 4~6 小时,最终得粉末状透明质酸钠。

[0037] 对照例 2 在鸡冠提取法制备透明质酸钠最后醇沉步骤中,将上工序制得的透明质酸钠中间品 50 克加入 9.4L 的水中搅拌溶解得到透明质酸钠溶液,取 200 克的氯化钠加 600 毫升的水溶解后,与上述溶液搅拌均匀。取 20L 的 95% 乙醇,搅拌状态下缓慢滴加到透明质酸钠溶液中,此过程中需要不停的搅拌。粉末状透明质酸钠醇沉出来后,将其抽取到过滤洗涤干燥机中,过滤完母液后,再加入约 10L 的 95% 乙醇将其搅拌脱水 5 分钟,如此反复三次。脱水完毕后,将粉末抽干,使其在真空压力为 0.08MPa 下,温度为 40~50℃ 左右干燥约 4~6 小时,最终得粉末状透明质酸钠。

[0038] 对照例 3 在鸡冠提取法制备透明质酸钠最后醇沉步骤中,将上工序制得的透明质酸钠中间品 50 克加入 9.4L 的水中搅拌溶解得到透明质酸钠溶液,取 300 克的氯化钠加 900 毫升的水溶解后,与上述溶液搅拌均匀。取 20L 的 95% 乙醇,搅拌状态下缓慢滴加到透明质酸钠溶液中,此过程中需要不停的搅拌。粉末状透明质酸钠醇沉出来后,将其抽取到过滤洗涤干燥机中,过滤完母液后,再加入约 10L 的 95% 乙醇将其搅拌脱水 5 分钟,如此反复三次。脱水完毕后,将粉末抽干,使其在真空压力为 0.08MPa 下,温度为 40~50℃ 左右干燥约 4~6 小时,最终得粉末状透明质酸钠。

[0039] 对粉末状透明质酸钠制备进行平行实验完成的 3 批样品,观察各批性状及测得收率结果见下表 1:

[0040] 表 1 制备粉末状透明质酸钠的性状和收率

[0041]

批次	滴加液体			成品性状	收率 (%)
	名称	体积 (ml)	滴加时间(min)		
实施例 1	药液重量 1%的氯化钠溶液	300	7.5	白色松散的粉末状固体，无结块，性状正常	83
实施例 2	药液重量 2%的氯化钠溶液	600	12	白色松散的粉末状固体，无结块，性状正常	85
实施例 3	药液重量 3%的氯化钠溶液	900	15	白色松散的粉末状固体，无结块，性状正常	87
对照例 1	药液 2 倍体积的 95%乙醇	20000	240	白色松散的粉末状固体，无结块，性状正常	82
对照例 2	药液 2 倍体积的 95%乙醇	20000	210	白色松散的粉末状固体，无结块，性状正常	80
对照例 3	药液 2 倍体积的 95%乙醇	20000	235	白色松散的粉末状固体，无结块，性状正常	81

[0042] 如上述粉末状透明质酸钠检测数据表所示,仅仅以最终成品的性状为主要考察目标来看,三批成品的性状及收率都比较稳定,符合医用级透明质酸钠的标准。但从滴加时间来看,本发明方法所用时间非常短。

[0043] 现有文献报道制备粉末状透明质酸钠的方法的醇沉工艺主要有两种:一、如果将含有氯化钠的透明质酸钠溶液加入乙醇中搅拌,只能得到纤维状的透明质酸钠,但纤维状 HA 难溶解;二、如果先加氯化钠再缓慢滴加乙醇能得到粉末状透明质酸,但这样生产成本高,容易染菌。

[0044] 本发明的创新点在于最后一步醇沉工艺步骤的与以往含有氯化钠的透明质酸钠溶液中直接缓慢滴加 2 倍体积的 95%乙醇的工艺是不同的。而本发明的关键点是先直接将药液与乙醇溶液混匀而不产生沉淀,再滴加氯化钠溶液,也能得到粉末状透明质酸。该技术方案不仅能避免第一点难溶解问题,也能避免第二点中缺陷。

[0045] 本发明不但可以制得粉末状的透明质酸钠,其创新点在于制备粉末状透明质酸钠加入氯化钠的顺序和加入乙醇的方式不一样。

[0046] 现有技术,滴加乙醇的量为透明质酸钠溶液体积的 2 倍,本发明滴加氯化钠溶液的量为透明质酸钠溶液量的 1%~3%,滴加时间大大缩短,从而降低了生产成本。按照同样的药液体积来看,此方法需要滴加的氯化钠液体体积仅仅为原方法乙醇的 3% (600ml/20L),大大缩短了生产时间,从而节约了能耗,降低了成本。

[0047] 现有技术滴加乙醇时,必须不断的搅拌,且要有一定的力度,若搅拌不均匀或乙醇滴在壁上、搅拌轴上,造成局部乙醇浓度过高,均可导致形成纤维状透明质酸钠,因此对

于生产设备和操作过程的要求比较高,既增加了成本又得不到理想的粉末状透明质酸钠性状。本发明滴加氯化钠则克服了这个缺陷。

[0048] 由于本发明需要滴加的氯化钠液体体积仅仅为原方法乙醇的 3% (600ml/20L) ,大大缩短了生产时间的同时,并且降低了无菌透明质酸钠原料药染菌的风险。

[0049] 以上显示和描述了本发明的基本原理、主要特征和本发明的优点。本行业的技术人员应该了解,本发明不受上述实施例的限制,上述实施例和说明书中描述的只是说明本发明的原理,在不脱离本发明精神和范围的前提下本发明还会有各种变化和改进,这些变化和改进都落入要求保护的本发明范围内。本发明要求保护范围由所附的权利要求书及其等同物界定。