

公 告 本

申請日期	86.12.31
案 號	86120026
類 別	A61L5/02

A4
C4

455492

(以上各欄由本局填註)

發 明 專 利 說 明 書

一、發明 名稱	中 文	生物可吸收之藻朊酸鹽衍生物
	英 文	Bioresorbable alginate derivatives
二、發明 創作人	姓 名	1. 杜彼得 (Peter J. DOYLE) 2. 哈威森 (Wilson HARVEY) 3. 史瑞格 (Reginald L. STILWELL)
	國 籍	1. 2. 英國、3. 美國籍
	住、居所	1. 英國克萊邁城杜利區柯維街22號 22 The Cleaves, Tullibody, Clackmannanshire FK10 2XD, United Kingdom 2. 英國史泰理城格根區葛畢街23號 23 The Glebe, Gargunnoch, Stirling FK8 3AX, United Kingdom 3. 美國德州安利頓市歐利街600號 600 Oakland Hills Drive, Arlington TX 76018, USA
三、申請人	姓 名 (名稱)	英商壯生和壯生醫藥有限公司 Johnson & Johnson Medical Ltd.
	國 籍	英國籍
	住、居所 (事務所)	英國愛丁堡城女王街六八一七三號 Erskine House, 68-73 Queen Street, Edinburgh EH2 4NH, United Kingdom
	代 表 人 姓 名	潘瑞克 (Frederick Charles PLATT)

裝

訂

線

(由本局填寫)

承辦人代碼：
大 類：
I P C 分類：

A6
B6

本案已向：

英 國 (地 區) 申請專利，申請日期：1996年12月20日 案號：9626466.8 ， ☐ 有 ☒ 無主張優先權

有關微生物已寄存於：

，寄存日期：

，寄存號碼：

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁各欄)

裝

訂

線

經濟部中央標準局員工消費合作社印製

五、發明說明(1)

本發明關於，生物可吸收之藻朓酸鹽衍生物，及其製造方法。本發明亦關於，此類生物可吸收之藻朓酸鹽衍生物用於醫藥組合物，特別是包紮繃帶、植入物及外科彌補物方面之用途。

藻朓酸鹽為具有如圖 1 中所示結構之 D-甘露糖醛酸(MA)與 L-葡萄糖醛酸(GA)之直線型二元共聚物。該聚合物係藉由醚鍵聯，將 MA 與 GA 糖殘基之 1-與 4-位置連結而建構得。藻朓酸鹽係從海洋褐藻分離得，且此類天然藻朓酸鹽通常包含，富含 MA 單位、富含 GA 單位及含 MA 與 GA 單位之混合序列的區段。市售可得之此類藻朓酸鹽，代表性地含有 45%之 MA。

藻朓酸鹽可以藻朓酸、各種鹽類、及各種酯類衍生物如丙二醇藻朓酸鹽之形式獲得。藻朓酸鹽與單價陽離子如鈉所形成之鹽類，通常可溶於水中。藻朓酸鹽與二價或三價陽離子，如鈣或鋅所形成之鹽類，通常不可溶於水中。因此可藉由改變混合型藻朓酸鹽鈉/鈣鹽類中之鈉/鈣比例，而廣範圍調控藻朓酸鹽組合物之可溶度。市售可得之藻朓酸鹽產物，通常係由此類混合型鹽類所形成。

藻朓酸鹽產物現已長期用於傷口癒合領域中，特別是作為用於腔室創傷或用於治療燒傷之包紮材料。藻朓酸鹽材料係以註冊商標 KALTOSTAT (Britcaire 股份有限公司)、SORBSAN (Pharma-Plast 股份有限公司)及 ALGOSTERIL (Johnson 與 Johnson)販售。此等產品可以許多種形式取得，包括繩索或布墊。此等材料具有高度吸收

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

泉

五、發明說明(2)

性，為生物可相容且價格便宜。

雖然藻朊酸鹽具有用於治療腔室創傷及燒傷之良好性質，然而，當更換繃帶時必須注意，要確定無任何東西殘留在傷口中。藻朊酸鹽並非生物可吸收性，但的確容易成為碎片。若其殘留於傷口內，則藻朊酸鹽之片段將導致肉芽腫形成。因此需要以食鹽水溶液徹底清洗傷口，以確定無殘餘之藻朊酸鹽剩下。

亦已顯示，藻朊酸鹽具有良好的止血性質，但由於彼等不為可吸收，故必須於傷口癒合之前將其清除，此無可避免地限制其在此應用上之可用性。

於是，有需要可呈現藻朊酸鹽之優點，且亦為生物可吸收之改良材料，尤其供用於傷口繃帶及止血的應用上。

長久以來已知，纖維素可藉由暴露於氧化劑，例如四氧化二氮（如 US-A-3122479 中所述）而成為生物可吸收性。所成之經氧化再生性纖維素(ORC)可以，供用作為一種可吸收性止血藥之註冊商標 SURGICEL 的織品形式使用。ORC 亦可以供用作為一種黏連屏障之註冊商標 INTERCEED 使用。ORC 之生物可吸收特徵，據認為係由於位於纖維素殘基上之第一級羥基，氧化成羧酸酯基所致。

US-A-4543410 描述呈纖維織品及多孔海綿形式之吸收性、互相密合、具彈性之結構，其包含水不可溶、環經氧化之纖維素鹼類。據稱，纖維素鹼類之環氧化作用，可將位於纖維素中脫水葡萄糖單位之 2、3 與 6 位置上的羥

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

泉

五、發明說明 (3)

基，視所使用之特定氧化劑，而選擇性地轉化成為羧基。據稱，四氧化二氮將位於 6 位置上的羥基轉化成為羧基，而產生該鹼之單-羧基形式（當形成 ORC 時）。過碘酸會將介於 2 與 3 位置間之環打開，並將位於 2 與 3 位置上的羥基轉化成為醛基。可將所成之二氧化物，進一步以氯或四氧化二氮氧化，而產生該鹼之二羧基或三羧基形式。據稱，因環氧化作用而具有羧基含量大於 15% 之，環經氧化纖維素鹼類海綿，為止血性且為生物可吸收。亦揭示澱粉之環氧化作用。

現已發現，藻朓酸鹽與氧化劑如四氧化二氮，所進行之環氧化作用產生，生物可吸收之經氧化藻朓酸鹽衍生物。此結果令人驚訝，因為組成藻朓酸鹽分子之糖殘基，已於以四氧化二氮處理之前，於 6 位置上完全經氧化成為羧酸酯。

因此，本發明提供一種經氧化之藻朓酸鹽。

較佳地，藻朓酸鹽之至少部份 MA 與/或 GA 糖殘基，業已於 2-或 3-位置上經氧化。此類氧化作用可藉由將第二級醇基氧化成為酮基，而無環開啟作用之下發生，或其可伴隨環開啟作用，成為二醛或二羧酸酯衍生物而發生。更佳地，藻朓酸鹽中至少 0.2% 之糖殘基，業已於 2-或 3-位置上經氧化，且仍更佳地，有至少 1.0% 之糖殘基業經過此類氧化。

較佳地，藻朓酸鹽殘基之氧化作用，業已伴隨環開啟作用，成為二羧酸衍生物而發生。結果，根據本發明之經

（請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁）

裝

訂

線

五、發明說明(4)

氧化藻朊酸鹽，較佳地具有羧酸酯含量，大於起始藻朊酸之含量。較佳地，該羧酸酯含量增加至少1%，且更佳地，相對於所對應之未經氧化物質，其羧酸酯基團數目增加至少2%。羧酸酯含量係如下測定得：

將經氧化藻朊酸鹽之樣本(約0.2克)溶於0.5M氫氧化鈉(5毫升)中，並將兩滴0.1%酚酞指示劑溶液加入。將過量之氫氧化鈉以0.1M HCl反滴定，直到達酚酞終點(紅色轉至透明)。藉由以0.1M HCl滴定5毫升0.1M氫氧化鈉，而測定得空白值。對於羧基含量之值(百分率以重量計)，係使用下列方程式計算得：

$$C = \frac{4.5 \times (B-S) \times M}{W}$$

其中：

C=羧基含量百分率

B=用於滴定空白組之標準HCl的體積(毫升)

S=用於滴定樣本組之標準HCl的體積(毫升)

M=標準HCl的莫耳濃度

W=樣本之乾重(克)

(4.5=羧基之毫當量重×100)

經氧化之藻朊酸鹽於哺乳動物體中，為更加生物可吸收且生物可同化的。較佳地，該經氧化之藻朊酸鹽當植入哺乳動物體中時，為完全可吸收。

根據本發明之經氧化藻朊酸鹽衍生物，具有實質上與天然藻朊酸鹽相似之溶解特性。尤其，可藉由改變鈉與鈣

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (5)

陽離子之比例，而改變經氧化藻朮酸鹽之可溶度。較佳地，根據本發明之經氧化藻朮酸鹽實質上於水中為不可溶。此意味，根據本發明之經氧化藻朮酸鹽較佳地為一種，該經氧化藻朮酸鹽與二價或三價陽離子，例如鈣或鋅離子所成之鹽類。

較佳地，根據本發明之經氧化藻朮酸鹽具有，平均分子量範圍介於 10,000 至 1,000,000，更佳地介於 50,000 至 400,000 之重量。

本發明亦提供，包含根據本發明之經氧化藻朮酸鹽的醫藥組合物。本發明亦提供，包含根據本發明之經氧化藻朮酸鹽的包紮繃帶、外科植入物及人工彌補物，以及此類經氧化之藻朮酸鹽用於製備包紮繃帶、植入物及外科彌補物之用途。

於另一層面，本發明提供用以治療哺乳動物中創傷之方法，其包含將含有如前文所定義之，經氧化藻朮酸鹽的繃帶包覆至傷口。

於另一層面，本發明提供用以製備經氧化藻朮酸鹽的方法，其包含：將藻朮酸鹽與氧化劑接觸，以使該藻朮酸鹽氧化；隨後將該經氧化的藻朮酸鹽分離並清洗。較佳地，該氧化劑包含存於惰性溶劑中之四氧化二氮。然而可使用其他氧化劑，例如氯、臭氧或過碘酸。較佳地，該藻朮酸鹽於該接觸步驟之前、期間及之後為固態。例如，起始藻朮酸鹽可為藻朮酸鈣泡沫、織布或蓬鬆織品。

現將伴隨引述所附之相關圖示，進一步以實施例之方

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(6)

式，描述本發明之特別具體實施例，其中：

圖 1 列示，於進行氧化作用前藻朊酸鹽之，甘露糖醛酸與葡萄糖醛酸建構區段的結構；

圖 2 列示，經氧化藻朊酸鹽培育於血清中達 48 小時之分解產物的離子-交換層析圖；及

圖 3 列示，未經氧化藻朊酸鹽培育於血清中達 48 小時之比較性離子-交換層析圖。

實施例 1

一種根據本發明之經氧化藻朊酸衍生物，係以如下製備得。

將 20 克藻朊酸 (Sigma 化學公司) 懸浮於 150 克氟碳溶劑 (溶劑 FC77，由 3M 公司提供) 中。將 20 克液態四氧化二氮小心地溶於 50 克相同之經氟化溶劑中，並於室溫下緩慢地歷時 2 小時，加至該藻朊酸鹽懸浮液中。令混合物於室溫下反應再 4 小時，將所成之漿液輕傾倒入裝備有孔玻璃料之布赫納漏斗中，並收集經氧化之藻朊酸鹽。然後將經氧化之藻朊酸於 90% 異丙醇中漂洗 4 次，及於 100% 異丙醇中漂洗兩次，接著於空氣中吹乾。

將經氧化之藻朊酸藉由與 12 克溶於 200 毫升蒸餾水中之醋酸鈉反應，而轉化成為其鈉鹽。將該經氧化藻朊酸之鈉鹽，藉由將過量氯化鈣添加至該經氧化之藻朊酸鈉溶液中，而再沈澱呈鈣鹽。經由離心收集該藻朊酸鈣，於蒸餾水中充分漂洗，並予以風乾。

所成之物質為稍灰白色粉末，其可溶於 0.5 莫耳體積

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(7)

之氫氧化鈉溶液中。

實施例 2

實施例 1 中所製備得之經氧化藻朮酸，於培育在血清中時的分解情形，經研究如下。

將實施例 1 中所製備及敘述之經氧化藻朮酸樣本，以 10 毫克/毫升之濃度加至血清中，並將使用 0.5M NaOH 將 pH 值調整至 7.4。然後將該分散液於 37°C 下培育 48 小時。於培育後，將樣本通過 0.2 微米濾器。然後將 10 毫升該濾液溶液之樣本，注射入裝備以 Carbpac VA 1 離子交換管柱(25 公分×4 毫米)，及 Carbpac PA 1 防護管柱(5 公分×4 毫米)之 Dionex(註冊商標)500 離子交換層析術系統中。流動相如下：溶析劑 A-超純水；溶析劑 B- 200 mN 氫氧化鈉；及溶析劑 C- 2 M 醋酸鈉。

溶液梯度程式如下：

最初- 100% B；0-20 分鐘- 86% A，10% B，4% C；20-70 分鐘-從 86% A，10% B，4% C 至 40% A，10% B，50% C；70-80 分鐘- 100% B。

將樣本注射 15 分鐘進入運行，並從樣本注射當時開始收集數據，直到運行終止。

於圖 2 中所示之層析圖譜呈現出，介於 10 分鐘與 50 分鐘之間有許多溶析高峰，其對應於該已於血清中進行分解之，經氧化藻朮酸的各種片段。標示出對應於甘露糖醛酸之高峰（其係經與所添加純甘露糖醛酸之比較性運行而鑑定得）。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明(8)

此實施例說明，於 37°C 下，經氧化之藻朮酸於血清中進行分解，而成為許多可溶性組成分。

實施例 3 (比較性)

確切重複實施例 2 之實驗程序，惟以未經氧化之藻朮酸替代經氧化之藻朮酸。所得之層析圖譜列示於圖 3 中。可得知，藻朮酸之層析圖譜實質上無，在經氧化藻朮酸中所觀察到之，分解產物的溶析高峰。此與該項未經氧化之藻朮酸，於活體內不會進行分解成為可溶性組成分，之臨床觀察結果相符。

實施例 4

如實施例 1 所述製備得經氧化藻朮酸之樣本，惟改變於四氧化二氮溶液中所進行之氧化作用時間。然後經由如上所述之滴定作用，測定經氧化藻朮酸之羧酸酯含量。結果如下：

氧化作用時間 (小時)	羧酸酯含量 (重量%)
0 (比較組)	23.12
2	23.15
4	23.51
20	24.90
72	27.25

因此可得知，形成新羧酸酯基團之氧化程度，隨著時間而增加。亦可得知，欲於四小時之後製造生物可吸收性藻朮酸鹽，相對上需要較少的額外羧酸酯基團，例如約為 1.5% (以原有羧酸酯基團為基準)。

五、發明說明(9)

實施例 5

如實施例 1 所述製備得之經氧化藻朮酸的性質，係藉由熱重分析術及差式掃描熱量測定法(DSC)，於空氣中從 30°C 至 200°C，於每分鐘 10°C 下進行研究。TGA 之結果如下：

<u>氧化作用時間(小時)</u>	<u>重量流失(%)</u>
0(比較組)	16.98%
20	25.09%
72	38.31%

此外，經氧化之樣本顯示出高於 100°C 之明顯內熱，且顏色轉變成黑色。

以上具體實施例業僅以實施例之方式敘述。許多落於所附屬申請專利範圍內之其他具體實施例，對習於該項技藝人士而言將係顯而易知。

實施例 6

經氧化藻朮酸鹽的活體內性質，經研究如下：

(1) 比較性藻朮酸鹽墊塊之製備

將藻朮酸鈣(0.5 克)與藻朮酸鈉(1 克)置於 100 毫升蒸餾水中均質化，並倒入 10 公分×10 公分培養皿中。將溶液冷凍，凍乾並將所成之墊塊切成 1×0.5 公分方塊。將此等以 γ -照射滅菌。

(2) 經氧化藻朮酸鹽墊塊之製備

將如實施例 1 中所述製備得之經氧化藻朮酸鈣(0.5 克)與經氧化藻朮酸鈉(1 克)，置於 100 毫升蒸餾水中均質化，

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

線

五、發明說明 (10)

並倒入 10 公分×10 公分培養皿中。將溶液冷凍，凍乾並將所成之墊塊切成 1×0.5 公分方塊。將此等以 γ -照射滅菌。

(3) 活體內研究

於該項研究中使用十二隻 Sprague Dawley 大鼠。於標準操作條件下，將各種材料之兩片墊塊，以皮下植入於各大鼠之腹部表面上。於植入作用後第 3、7 及 14 天，將四隻大鼠犧牲。於此時將藻朊酸鹽墊塊與，上層皮層及下層肌肉一起完全取出。將樣本於甲醛中固定，並經處理用於例行組織學。儘可能於接近墊塊之中央處，製得藻朊酸鹽墊塊之切片。將此等以 H&E 或 Masson's Trichrome 染色，並置於光學顯微鏡下檢視。於各切片中所出現嗜中性白血球之數目，係用作為發炎反應強度之指標。

經氧化藻朊酸鹽墊塊經發現以，較從正常藻朊酸鹽所製得者更快之速率吸收。經氧化藻朊酸鹽墊塊亦經發現，當與正常材料比較時，可誘發經減低之發炎反應。

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

泉

四、中文發明摘要 (發明之名稱: 生物可吸收之藻朊酸鹽衍生物)

本發明提供，其為生物可吸收之經氧化藻朊酸鹽。該等經氧化藻朊酸鹽係藉由將藻朊酸鹽與四氧化二氮或類似物，進行受控氧化作用而製備得。本發明亦提供包含該等經氧化藻朊酸鹽衍生物之醫藥組合物、包紮繃帶、外科植入物及人工彌補物。

英文發明摘要 (發明之名稱: BIORESORBABLE ALGINATE DERIVATIVES)

The invention provides oxidized alginates that are bioresorbable. The oxidized alginates are prepared by controlled oxidation of alginates with dinitrogen tetroxide or the like. The invention also provides pharmaceutical compositions, wound dressings, surgical implants and prostheses comprising the oxidized alginate derivatives.

六、申請專利範圍

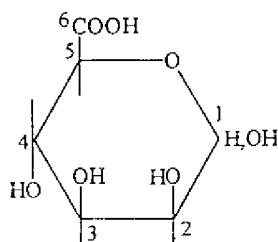
修正之申請專利範圍中文本 - 附件一

Amended Claims in Chinese - Encl. I

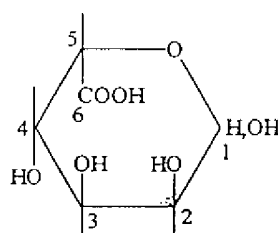
(89年6月1日送呈)

(Submitted on June 1, 2000)

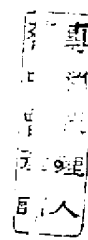
1. 一種經氧化之藻朊酸鹽，該藻朊酸鹽在氧化前為具有下列結構之 D-甘露糖醛酸與 L-葡萄糖醛酸之直線型二元共聚物：



D-甘露糖醛酸



L-葡萄糖醛酸



2. 根據申請專利範圍第 1 項之經氧化藻朊酸鹽，其中該藻朊酸鹽之至少部份糖殘基，業已於 2-或 3-位置上經氧化。
3. 根據申請專利範圍第 2 項之經氧化藻朊酸鹽，其中該藻朊酸鹽之至少 0.1% 糖殘基，業已於 2-或 3-位置上經氧化。
4. 根據申請專利範圍第 1 項之經氧化藻朊酸鹽，其中該藻朊酸鹽之至少 1.0% 糖殘基，業已於 2-或 3-位置上經氧化。
5. 根據申請專利範圍第 1 至 4 項中任一項之經氧化藻朊酸鹽，其中該氧化作用已伴隨環開啟作用而發生。
6. 根據申請專利範圍第 1 至 4 項中任一項之經氧化藻朊酸鹽，其中該羧酸酯含量相對於所對應之未經氧化藻朊酸鹽，增加至少 1%。
7. 根據申請專利範圍第 1 至 4 項中任一項之經氧化藻朊

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

3/8

六、申請專利範圍

- 酸鹽，其當植入哺乳動物體中時，為完全可吸收。
8. 根據申請專利範圍第 1 至 4 項中任一項之經氧化藻朊酸鹽，其實質上於水中為不可溶。
 9. 根據申請專利範圍第 1 至 4 項中任一項之經氧化藻朊酸鹽，其具有平均分子量範圍介於 10,000 至 1,000,000 之重量。
 10. 一種用作為或用於包紮繃帶、植入物及外科彌補物之醫藥組合物，其包含根據申請專利範圍第 1 至第 9 項中任一項之經氧化藻朊酸鹽。
 11. 一種製備經氧化藻朊酸鹽的方法，其包含：將藻朊酸鹽與氧化劑接觸，以使該藻朊酸鹽氧化；隨後將該經氧化的藻朊酸鹽分離並清洗。
 12. 根據申請專利範圍第 11 項之方法，其中該氧化劑包含存於惰性溶劑中之 N_2O_4 。
 13. 根據申請專利範圍第 11 或 12 項之方法，其中該藻朊酸鹽於該接觸步驟之前、期間及之後為固態。

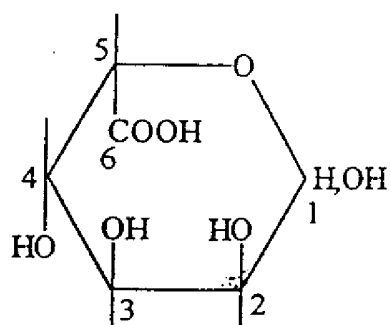
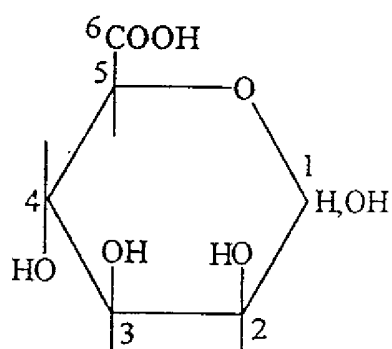
(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

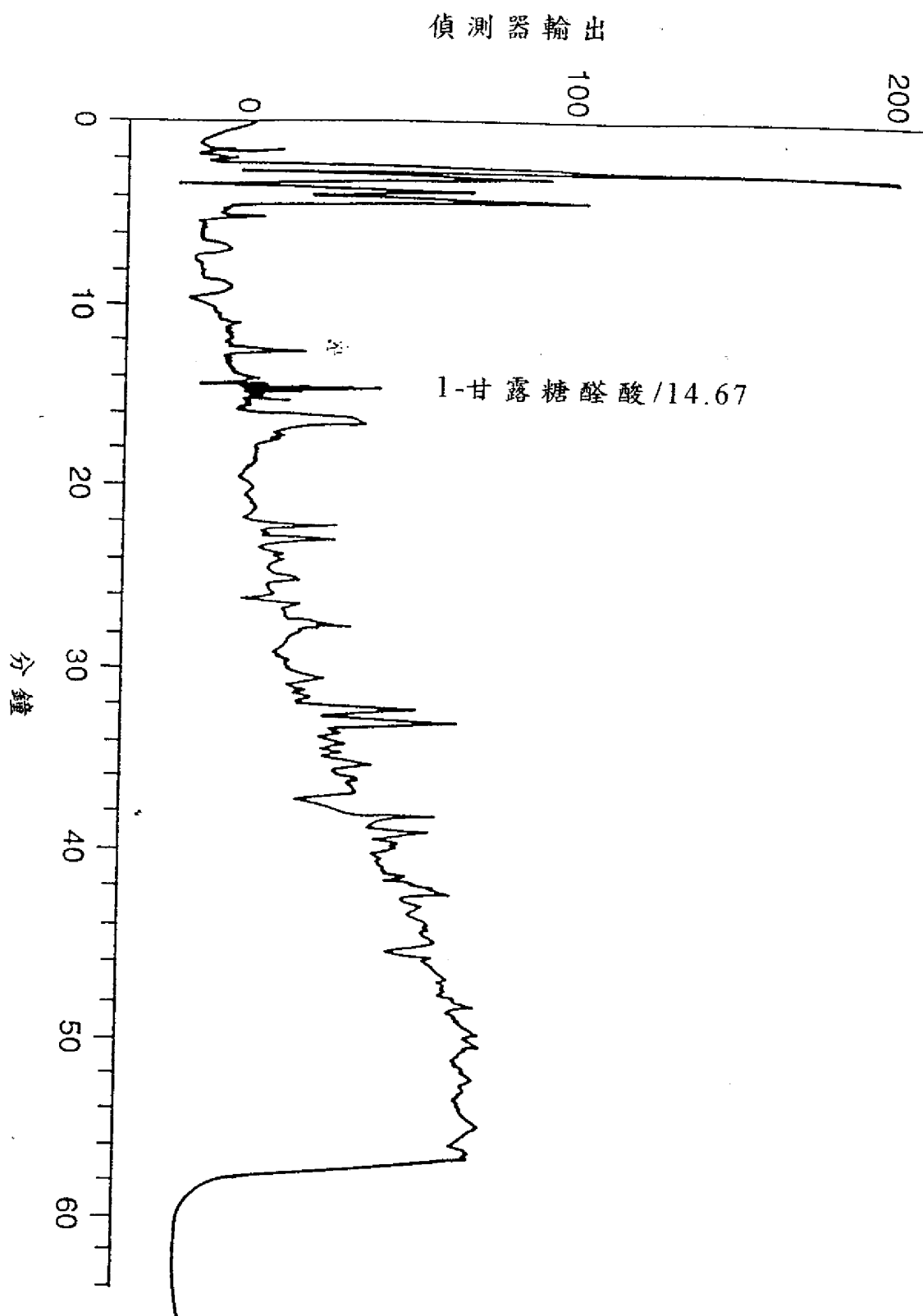
裝

訂

線

圖 1





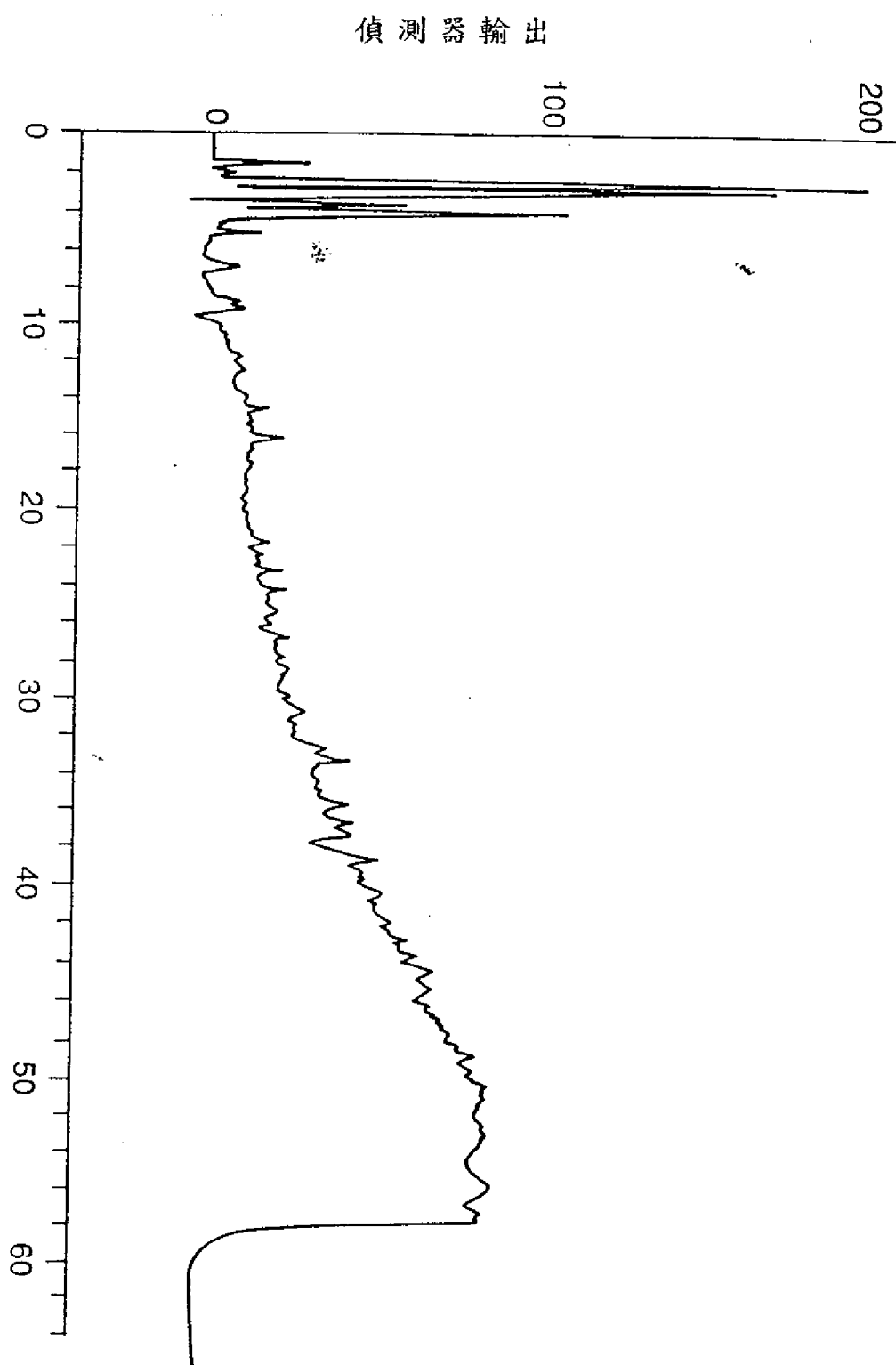


圖 3

六、申請專利範圍

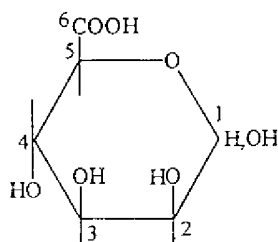
修正之申請專利範圍中文本 - 附件一

Amended Claims in Chinese - Encl. I

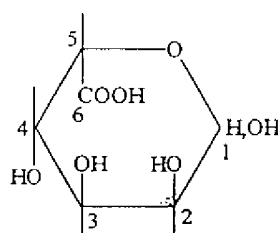
(89 年 6 月 1 日 送呈)

(Submitted on June 1, 2000)

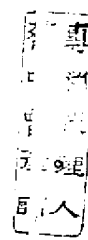
1. 一種經氧化之藻朊酸鹽，該藻朊酸鹽在氧化前為具有下列結構之 D-甘露糖醛酸與 L-葡萄糖醛酸之直線型二元共聚物：



D-甘露糖醛酸



L-葡萄糖醛酸



2. 根據申請專利範圍第 1 項之經氧化藻朊酸鹽，其中該藻朊酸鹽之至少部份糖殘基，業已於 2-或 3-位置上經氧化。
3. 根據申請專利範圍第 2 項之經氧化藻朊酸鹽，其中該藻朊酸鹽之至少 0.1% 糖殘基，業已於 2-或 3-位置上經氧化。
4. 根據申請專利範圍第 1 項之經氧化藻朊酸鹽，其中該藻朊酸鹽之至少 1.0% 糖殘基，業已於 2-或 3-位置上經氧化。
5. 根據申請專利範圍第 1 至 4 項中任一項之經氧化藻朊酸鹽，其中該氧化作用已伴隨環開啟作用而發生。
6. 根據申請專利範圍第 1 至 4 項中任一項之經氧化藻朊酸鹽，其中該羧酸酯含量相對於所對應之未經氧化藻朊酸鹽，增加至少 1%。
7. 根據申請專利範圍第 1 至 4 項中任一項之經氧化藻朊

(請先閱讀背面之注意事項再填寫本頁)

裝

訂

3/8