



## (12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104125964 B

(45)授权公告日 2016.11.16

(21)申请号 201380009874.7

(22)申请日 2013.02.15

(65)同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 104125964 A

(43)申请公布日 2014.10.29

(30)优先权数据  
P201230247 2012.02.17 ES

(85)PCT国际申请进入国家阶段日  
2014.08.18

(86)PCT国际申请的申请数据  
PCT/EP2013/053087 2013.02.15

(87)PCT国际申请的公布数据  
W02013/121001 EN 2013.08.22

(73)专利权人 金弗莱克瑟有限公司  
地址 西班牙马塔罗

(72)发明人 弗郎西斯克·弗洛雷斯 艾 塞尔加多  
安东尼奥·弗朗西斯科·本尼特兹  
希门尼兹  
玛格丽塔·科斯塔 艾 里罗拉

罗杰·弗洛雷斯 艾 科斯塔  
拉伊娅·弗洛雷斯 艾 科斯塔

(74)专利代理机构 北京英赛嘉华知识产权代理  
有限责任公司 11204  
代理人 王达佐 安佳宁

(51)Int.Cl.  
C08B 37/00(2006.01)

(56)对比文件  
CN 1687141 A, 2005.10.26, 说明书第1页倒  
数第7行至第2页倒数第9行, 说明书第1页第2段.

CN 1995071 A, 2007.07.11, 说明书第1页倒  
数第1段, 说明书第2页第2段至第3页第5段.

CN 1673236 A, 2005.09.28, 说明书第1页倒  
数第1行至第2页倒数第5行.

US 2010/0317617 A1, 2010.12.16, 全文.

WO 87/05517 A1, 1987.09.24, 说明书第6页  
第1行至第7页第7行.

US 4746504, 1988.05.24, 说明书第3栏第  
36行至第4栏第55行.

US 3405120, 1968.10.08, 全文.

审查员 王春芬

权利要求书2页 说明书13页

### (54)发明名称

部分解聚的糖胺聚糖银盐和金盐

### (57)摘要

本发明涉及部分解聚的糖胺聚糖金属盐的制备方法,其中金属是金或银,包括下列步骤:a)用选自高锰酸钾、氢氧化钠和过氧化氢的解聚剂解聚高分子量的糖胺聚糖金属盐;其中金属不同于金或银;b)用过氧化氢漂白;以及c)金属离子交换。本发明还涉及可通过所述方法得到的部分解聚的糖胺聚糖金盐或银盐,它们的口服或局部药物组合物或化妆组合物,它们用于治疗 and/或预防创伤、伤痕、灼伤、微生物感染和皮肤的炎性过程的药物用途;以及它们的用于皮肤护理的化妆用途。

1. 部分解聚的糖胺聚糖金属盐的制备方法,其中所述金属是金或银,包括以下步骤:
  - a)用解聚剂解聚高分子量的糖胺聚糖金属盐;其中所述金属不同于金或银以及所述解聚剂为高锰酸钾;
  - a')用解聚剂解聚步骤a)中得到的产品,其中所述解聚剂为氢氧化钠;
  - a'')用解聚剂解聚步骤a')中得到的产品,其中所述解聚剂为过氧化氢;
  - b)用过氧化氢漂白在前述步骤中得到的产品;以及
  - c)通过使用金源或银源对前一步骤中得到的产品进行金或银的金属离子交换。
2. 如权利要求1所述的方法,其中所述高锰酸钾的量为所述高分子量的糖胺聚糖金属盐的重量的5-30重量%。
3. 如权利要求1所述的方法,其中使用高锰酸钾的解聚是在pH7-10和温度为60-95℃的条件下进行0.5-2小时的时间段。
4. 如权利要求1所述的方法,其中使用氢氧化钠的解聚是在氯化钠的存在下进行的,所述氯化钠的量为所述高分子量的糖胺聚糖金属盐的重量的10-20重量%。
5. 如权利要求1所述的方法,其中使用氢氧化钠的解聚是在温度为35-55℃和pH 8-11的条件下进行6-15小时的时间段。
6. 如权利要求1所述的方法,其中在使用过氧化氢的解聚步骤中,所述过氧化氢的量为所述高分子量的糖胺聚糖金属盐的重量的5-25重量%。
7. 如权利要求1所述的方法,其中使用过氧化氢的解聚是在温度为20-35℃和pH 9-11的条件下进行的。
8. 如权利要求1所述的方法,其中所述步骤b)的过氧化氢的量为所述高分子量的糖胺聚糖金属盐的重量的45-60重量%,且所述反应在pH 5.0-7.5下进行。
9. 如权利要求1所述的方法,其中所述步骤c)中金源或银源的量是相对于所述高分子量的糖胺聚糖金属盐的化学计量。
10. 部分解聚的糖胺聚糖金属盐,其中所述金属是金或银,其可通过权利要求1-9中任一权利要求所述的制备方法得到。
  11. 如权利要求10所述的糖胺聚糖金属盐,其中所述金属是银。
  12. 如权利要求10所述的糖胺聚糖金属盐,其中所述金属是金。
  13. 如权利要求10-12中任一权利要求所述的糖胺聚糖金属盐,其中所述糖胺聚糖选自硫酸软骨素、透明质酸、肝素、硫酸乙酰肝素、硫酸角质素和硫酸皮肤素。
  14. 如权利要求10所述的糖胺聚糖金属盐,其中所述金属是银,且所述糖胺聚糖选自硫酸软骨素和透明质酸。
  15. 如权利要求10所述的糖胺聚糖金属盐,其中所述金属是金,且所述糖胺聚糖选自硫酸软骨素和透明质酸。
16. 药物组合物或化妆组合物,其包含有效量的权利要求10-15中任一权利要求所述的部分解聚的糖胺聚糖金属盐以及一种或多种药物可接受的或化妆可接受的赋形剂或载体。
  17. 如权利要求16所述的药物组合物或化妆组合物,其为口服组合物。
  18. 如权利要求16所述的药物组合物或化妆组合物,其为局部组合物。
  19. 如权利要求18所述的药物组合物或化妆组合物,其为粉末或水凝胶形式。
  20. 如权利要求16-19中任一权利要求所述的药物组合物或化妆组合物,其还含有精氨酸。

酸。

21. 权利要求10-15中任一权利要求所述的部分解聚的糖胺聚糖金属盐在制备用于治疗创伤、伤痕和灼伤的药物中的用途。

22. 权利要求10-15中任一权利要求所述的部分解聚的糖胺聚糖金属盐在制备用于治疗和/或预防微生物感染和皮肤的炎性过程的药物中的用途。

23. 如权利要求22所述的用途,其中所述皮肤的炎性过程是粉刺或银屑病。

24. 权利要求10-15中任一权利要求所述的部分解聚的糖胺聚糖金属盐在制备用于皮肤护理的局部化妆组合物中的用途。

25. 如权利要求24所述的用途,其中所述皮肤护理包括改善至少一种下列症状:粗糙、脱屑、紧绷、干燥,皴裂、缺乏弹性以及老化。

## 部分解聚的糖胺聚糖银盐和金盐

[0001] 本发明涉及药物和化妆领域;特别地,其涉及部分解聚的糖胺聚糖金属盐。其还涉及制备所述盐的方法,以及含有它们的口服和局部的药物组合物和化妆组合物,以及它们的药物应用和化妆应用。

### 背景技术

[0002] 已知贵金属,特别是简单的银盐,作为抗微生物剂主要用于浅表感染,特别是病原体的预防和局部治疗。然而,由于其内在结构不稳定性和/或光敏性所导致的储存困难和/或颜色变暗,银盐的应用受到限制,颜色变暗是相当大的美学缺点并限制了其在化妆品和医药的应用。

[0003] 除了其它金属以外,银糖胺聚糖衍生物也是众所周知的。例如,文档US 2010317617描述了包含与糖胺聚糖或葡萄糖结合的银纳米颗粒的复合材料,其中所述的银纳米颗粒嵌入在周围的糖胺聚糖基质中。所述的纳米颗粒可通过局部应用于创伤或灼伤处而用作抗微生物剂,也可用于涂敷塑料、导管或手术器械。

[0004] 文档W0 8705517描述了透明质酸的重金属盐(包括银、金、铈和钨)在抑制微生物生长中的应用。

[0005] 最后,从文档CN 1687141中已知硫酸软骨素银可用于治疗灼伤。在此文档中描述的盐中的银含量为19-33%,钠含量低于0.5%,硝酸盐含量低于100ppm。此外,文档EP 1878754描述了肝素银盐的用途及其治疗灼伤的应用。在此文档中描述的盐中的银含量为25-45%,钠含量低于2.5%,硝酸盐含量低于0.1%。

[0006] 然而,先前文档中描述的糖胺聚糖的银和金的衍生物没有适当的光稳定性。因此,有必要发现稳定的且具有高抗微生物活性的衍生自糖胺聚糖的产品。

### [0007] 发明概述

[0008] 发明人发现,可通过包括化学解聚合步骤、漂白步骤和离子交换步骤的本发明方法得到的部分解聚的糖胺聚糖(GAG)金属盐显示出良好的抗微生物活性,且暴露于光时是稳定的,这与其它类似的高分子量的未解聚的盐不同。

[0009] 本发明的盐的稳定性的改进在实施例中得到了证实,其中通过本发明的方法制备的部分解聚的硫酸软骨素银的光稳定性与未解聚的硫酸软骨素银(例如在文档CN 1687141中所描述的)进行了比较。结果显示,当暴露于环境光下,与未解聚的产品不同,部分解聚的硫酸软骨素银是稳定的。

[0010] 此外,局部应用本发明的盐并不具有诸如硝酸银等其它已知银盐的副作用,此外,也可用于治疗先前存在的灼伤,如在实施例中所证实的。因此,当在皮肤上使用硝酸银产生刺激、瘙痒和灼热时,局部应用本发明的部分解聚的糖胺聚糖盐可用于治愈由硝酸银造成的灼伤。

[0011] 此外,本发明的部分解聚的糖胺聚糖盐还具有更低粘性的优势,特别是相对于未解聚的产品,因而能被更好地吸收。所述更好的吸收会使产品产生更大的功效,使得所需产品的剂量可以减少。

[0012] 本发明的部分解聚的糖胺聚糖盐可由其制备方法定义。盐及其制备方法均被认为是发明的一部分,并将在下文详细解释。

[0013] 因此,本发明的一方面涉及部分解聚的糖胺聚糖盐金属盐的制备方法,其中金属是金或银,所述方法包括下列步骤:

[0014] a)用选自高锰酸钾、氢氧化钠和过氧化氢的解聚剂解聚高分子量的糖胺聚糖金属盐;其中金属不同于金或银;

[0015] b)用过氧化氢漂白上一步中获得的产物;以及

[0016] c)通过使用金源或银源对上一步中获得的产品进行金或银的金属离子交换。

[0017] 起始的高分子量的糖胺聚糖金属盐可以是市售的,或通过有机组织的提取和纯化的方法得到,例如,从软骨组织中获得,其中能发现具有最高浓度的GAG。这些可以是牛、猪气管、鸡、鸭、牛或猪鼻子,牛肩胛骨、鸟腿、鲨鱼鳍-头-棘-尾,猪或牛肠粘膜(在肝素的情况下),鸡冠和猪皮。其它可能的GAG源是眼睛、血管、脐带等等。所述高分子量的糖胺聚糖金属盐的提取和纯化方法是本领域技术人员所公知的。

[0018] 高分子量的糖胺聚糖盐的金属不同于金和银,可以是钠、钾、钙、锌、镁、铁等等,优选钠。糖胺聚糖可以是硫酸软骨素、透明质酸、硫酸皮肤素、硫酸角质素、肝素或硫酸乙酰肝素,优选硫酸软骨素或透明质酸。在优选的实施方案中,高分子量的糖胺聚糖金属盐选自硫酸软骨素钠和透明质酸钠。

[0019] 表述“高分子量的糖胺聚糖”是指未经历任何解聚过程的纯化的糖胺聚糖。对于本发明的目的来说,表述“高分子量的糖胺聚糖”与“未解聚的糖胺聚糖”互换使用。

[0020] 高分子量的糖胺聚糖金属盐的分子量取决于糖胺聚糖的类型和所用金属的类型。例如,当起始的糖胺聚糖为硫酸软骨素时,未解聚的盐的分子量为10.000-50.000道尔顿;当起始的糖胺聚糖是透明质酸时,未解聚的盐的分子量为50.000-2.500.000道尔顿;当起始的糖胺聚糖是硫酸皮肤素时,未解聚的盐的分子量为20.000-30.000道尔顿;当起始的糖胺聚糖是硫酸角质素时,未解聚的盐的分子量为5.000-10.000道尔顿;以及当起始的糖胺聚糖是肝素或乙酰肝素时,未解聚的盐的分子量为3.000-30.000道尔顿。

[0021] 在优选的实施方案中,高分子量的糖胺聚糖金属盐是分子量为10.000-50.000道尔顿的硫酸软骨素钠盐或分子量为50.000-2.500.000道尔顿的透明质酸钠。

[0022] 发明的解聚方法包括至少一个解聚步骤,其中解聚剂选自高锰酸钾、氢氧化钠和过氧化氢;一个漂白步骤和一个金属离子交换步骤。这些步骤可以连续进行,或在每个步骤之后,任选地进行纯化步骤,该纯化步骤可以包括产物的分离。

[0023] 本发明的方法可以包括超过一个解聚步骤。特别地,其可以包括一个、两个或三个解聚步骤,其中每个解聚步骤的解聚剂选自高锰酸钾、氢氧化钠和过氧化氢,假如所述方法包括超过一个解聚步骤,则每个步骤中使用不同的解聚剂。

[0024] 因此,在特别的实施方案中,本发明的方法还包括步骤a')用选自高锰酸钾、氢氧化钠和过氧化氢的解聚剂解聚得自步骤a)的产品;前提是该解聚剂不同于步骤a)中使用的解聚剂。更特别地,本发明的方法还包括步骤a'')用选自高锰酸钾、氢氧化钠和过氧化氢的解聚剂解聚得自步骤a')的产品;前提是该解聚剂不同于步骤a)和a')中所用的解聚剂。

[0025] 优选地,步骤a)中的解聚剂是高锰酸钾;步骤a')中的解聚剂是氢氧化钠;以及步骤a'')中的解聚剂是过氧化氢。因此,在优选的实施方案中,本发明的方法包括如下步骤:

[0026] a)用高锰酸钾解聚高分子量的糖胺聚糖金属盐,其中金属不同于金或银;

[0027] a')用氢氧化钠解聚步骤a)中的产品;

[0028] a'')用过氧化氢解聚步骤a'')中的产品;

[0029] b)用过氧化氢漂白前述步骤中获得的产品;以及

[0030] c)通过使用金源或银源对前述步骤中获得的产品进行金或银的金属离子交换。

[0031] 包括上述三个步骤的解聚方法的优势在于使产品保持未解聚产品的性质,而不使产品退化,即,解聚的产品保持其性质,例如保湿和抗炎性质、伤口愈合、抗凝血、骨关节炎/骨质疏松的对症治疗,等等。

[0032] 虽然本发明特别地涉及包括上述三个步骤的化学解聚,但是解聚也可通过其它氧化方法或用各个糖胺聚糖的特异性酶来进行,所述特异性酶例如软骨素酶、透明质酸酶、肝素酶,等等。

[0033] 采用高锰酸钾的解聚步骤包括使高分子量的糖胺聚糖盐或部分解聚的糖胺聚糖盐在合适的溶剂中反应,其中金属不同于金或银,以及所述溶剂优选水。

[0034] 在优选的实施方案中,高锰酸钾的量为起始的未解聚的糖胺聚糖盐的重量的5-30重量%,更优选10-25重量%,更优选20重量%。在另一个优选的实施方案中,此反应在pH 7-10下进行,更优选pH 8-9,更优选pH 8.5。在另一个优选的实施方案中,反应通过加热进行,温度优选为60-95°C,更优选70-95°C,更优选80°C。在另一个优选的实施方案中,反应进行适当的时间段,优选进行0.5-2小时,更优选地进行1小时。

[0035] 任选地,采用高锰酸钾的解聚步骤之后得到的溶液可进行过滤以除去固体杂质。

[0036] 采用氢氧化钠的解聚步骤包括使高分子量的糖胺聚糖盐或部分解聚的糖胺聚糖盐在适当的溶剂中反应,所述溶剂优选为水。

[0037] 在特别的实施方案中,所用的氢氧化钠为水溶液,优选为30%(重量/体积)。在另一个优选的实施方案中,氢氧化钠的量是将pH值调节至8-11、更优选9-11时所需要的量。

[0038] 在优选的实施方案中,采用氢氧化钠的解聚步骤在无机盐的存在下进行,所述无机盐例如氯化钠或氯化钾。在更优选的实施方案中,无机盐是氯化钠。在更优选的实施方案中,氯化钠的量为起始的未解聚的糖胺聚糖盐的重量的10-20重量%,更优选13-17重量%,更优选15重量%。在另一个优选实施方案中,反应通过加热进行,温度优选为35-55°C,更优选40-50°C,更优选45°C。在另一个优选实施方案中,反应进行6-15小时,更优选10-12小时的时间段。

[0039] 采用过氧化氢解聚的步骤包括使高分子量的糖胺聚糖盐或部分解聚的糖胺聚糖盐在适当的溶剂中反应,所述溶剂优选为水。

[0040] 在优选的实施方案中,本发明的方法包括下列三个解聚步骤:a)用高锰酸钾解聚高分子量的糖胺聚糖金属盐,其中金属不同于金或银;a')用氢氧化钠解聚步骤a)的产品;以及a'')用过氧化氢解聚步骤a'')的产品。这些解聚步骤方法可在前述条件下进行。当步骤a)的产品未被分离出以及产品存在于溶液中时,步骤a')可在步骤a)的相同溶剂中进行,如果需要,则调节pH。当步骤a'')的产品未被分离出以及产品存在于溶液中时,步骤a'')可在步骤a'')的相同溶剂中进行,如果需要,则调节pH。

[0041] 在优选的实施方案中,解聚步骤中的过氧化氢的量为起始的未解聚的糖胺聚糖盐的重量的5-25重量%,更优选10-20重量%,更优选15重量%。在另一个优选的实施方案中,

此反应在pH 9-11下进行,更优选pH 10-11。在另一个优选的实施方案中,此反应在适当的温度下进行,优选为20-35℃,更优选为25-30℃。在特别的实施方案中,反应进行0.5-2小时、更优选1-2小时的时间段。

[0042] 在漂白步骤之前,可将步骤a)、a')或a'')的解聚产物任选地进行纯化。所述的纯化可以包括将先前步骤中得到的溶液进行过滤以除去固体杂质。另外地或可选择地,纯化可以包括用有机溶剂将产品进行沉淀并分离。在优选的实施方案中,沉淀在pH 5.0-7.5下进行,更优选地在pH 5.5-6.0下进行。可以通过加入酸来调节pH,例如,醋酸、盐酸或硫酸。有机溶剂可以为甲醇、乙醇、丙酮或它们的混合物,等等。部分解聚的糖胺聚糖金或银盐的分离可以通过,例如过滤、离心或倾析来完成。在特别的实施方案中,用于盐的沉淀的有机溶剂是乙醇或甲醇。

[0043] 通过将先前步骤得到的产品与过氧化氢在适当的溶剂中反应而进行漂白步骤,所述溶剂优选为水。当先前步骤中得到的产品未被分离出以及产品存在于溶液中时,步骤b)可在先前步骤的相同溶剂中进行,如果需要,则调节pH值。

[0044] 在优选的实施方案中,漂白步骤中过氧化氢的量为起始的未解聚的糖胺聚糖盐的重量的45-60重量%,更优选50-60重量%,更优选50重量%。在另一个优选的实施方案中,此反应在pH 5.0-7.5下进行,更优选在pH 5.5-6.0下进行。在特别的实施方案中,反应在适当的温度下进行,优选20-45℃,更优选30-45℃。在另一个特别的实施方案中,反应进行5-15分钟、更优选10-15分钟的时间段。

[0045] 离子交换步骤是通过在步骤b)中得到的产品与金源或银源在适当的溶剂中反应而进行的,所述溶剂优选为水。在优选的实施方案中,反应是在防止银或金氧化(例如,暴露于光下)的条件下进行的。当步骤b)中得到的产品未被分离出以及产品存在于溶液中时,步骤c)可在步骤b)的相同溶剂中进行。

[0046] 离子交换步骤可在溶液中进行,或通过使用离子交换树脂进行。在优选的实施方案中,离子交换在溶液中进行。任何的可溶于实施离子交换所用的溶剂中的金盐或银盐均可作为金源或银源。在特别的实施方案中,银盐是硝酸银,金盐是氯化金。在优选的实施方案中,用于实施离子交换的金源或银源的量是通过考虑起始的高分子量的糖胺聚糖盐中金属离子(例如,钠、钾、钙、镁或锌)的含量,以及用于步骤c)的金盐或银盐中金或银的含量来计算的。在优选的实施方案中,步骤c)中金源或银源的量是相对于高分子量的糖胺聚糖金属盐的化学计量。因此,在这种情况下,应当知道起始的高分子量的糖胺聚糖金属盐中的金属含量(%)。

[0047] 例如,在由含有6%钠的2.5g硫酸软骨素钠(Na CS)和硝酸银制备硫酸软骨素银(Ag CS)的情况中,应按照下列方式进行计算:

[0048] 所用的Na CS中的Na%:6%

[0049] 交换中所需的Ag%:6%

[0050] AgNO<sub>3</sub>中的Ag%:63%

$$[0051] \quad \frac{2.5 \text{ g (Na CS)} * 0.06 \text{ g (的 Na)}}{0.63 \text{ g}} = 0.24 \text{ g AgNO}_3$$

[0052] 以及,在由含有6%钠的2.5g硫酸软骨素钠(Na CS)和氯化金制备硫酸软骨素金

(Au CS)的情况下,应按照下列方式进行计算:

[0053] 交换中所需的Au%:6%

[0054] 氯化金中的Au%:49%

$$[0055] \quad \frac{2.5 \text{ g (Na CS)} * 0.06 \text{ g (的 Na)} = 0.31 \text{ g 氯化金}}{0.49 \text{ g}}$$

[0056] 在使用其它金盐或银盐或其它糖胺聚糖的情况下,应类似地进行计算。

[0057] 步骤c)的产品可任选地进行纯化。所述纯化可包括过滤步骤c)中得到的溶液以除去固体杂质。另外地或可选择地,纯化可以包括使用有机溶剂将产品进行沉淀和分离,如前所述。

[0058] 任选地,经纯化的步骤c)的产品可以在防止银或金氧化的条件下进行干燥并包装,例如,避免暴露于光的条件下。

[0059] 关于实施部分解聚的糖胺聚糖金盐或银盐的制备方法的具体条件,根据对本发明的描述以及本发明的实施例,技术人员能够知道如何调节所述方法的每一步的参数。

[0060] 此外,本发明还涉及可通过上述方法得到的产品。因此,本发明的另一方面涉及部分解聚的糖胺聚糖金属盐,其中所述金属是金或银,其通过包括先前定义的步骤a)、b)和c)的制备方法得到。

[0061] 本文中表述“可通过本发明的方法得到”的部分解聚的糖胺聚糖金属盐是用其制备方法来定义部分解聚的糖胺聚糖金属盐,并指可通过包括先前定义的步骤a)、b)和c)的制备方法得到的产品。对于本发明的目的来说,表述“可得到的(obtainable)”“得到的(obtained)”和类似的等价表述可以互换使用,且在任何情况下,表述“可得到的”涵盖了表述“得到的”。

[0062] 糖胺聚糖(GAGs)是含有重复的一个二糖单元的无分支的多糖,所述二糖包含酸性糖和氨基糖。氨基糖可以是D-葡萄糖胺(Glc)或D-半乳糖胺(Gal),其中氨基基团可被乙酰化(Nac),也可在4位或6位碳上或在未乙酰化的氮上携带有硫酸基团(sulfate group)。酸性糖可以是D-葡萄糖醛酸(GlcUA)、L-艾杜糖醛酸(IdUA)或半乳糖(Gal)。

[0063] 糖胺聚糖的实例包括硫酸软骨素、透明质酸、肝素、硫酸角质素、硫酸皮肤素和硫酸乙酰肝素。

[0064] 硫酸软骨素(CS)是包含N-乙酰半乳糖胺(GalNac)和葡萄糖醛酸(GlcUA)二糖的糖胺聚糖。N-乙酰半乳糖胺的4位和6位的羟基可被硫酸化,产生出两个同分异构体:4-硫酸软骨素和6-硫酸软骨素。

[0065] 透明质酸(HA)是包含N-乙酰葡萄糖胺(GlcNac)和葡萄糖醛酸(GlcUA)二糖的糖胺聚糖。

[0066] 肝素是包含葡萄糖醛酸(GlcUA)或L-艾杜糖醛酸(IdUA)和N-乙酰葡萄糖胺(GlcNac)二糖的糖胺聚糖。硫酸乙酰肝素包含类似于肝素的一个二糖重复单元,但其包含更多的N-乙酰基,更少的N-硫酸基以及更低度的O-硫酸基。

[0067] 硫酸角质素(KS)是包含半乳糖(Gal)和N-乙酰葡萄糖胺(GlcNac)二糖的糖胺聚糖。硫酸基的含量是可变的,在半乳糖的6位碳上和氨基己糖的6位碳上均可存在硫酸酯。已知有两种不同类型的角质素,即从角膜中分离出的硫酸角质素I以及从软骨中分离出的硫

酸角质素II。

[0068] 硫酸皮肤素(DS)是包含L-艾杜糖醛酸(IdUA)和N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)二糖的糖胺聚糖。

[0069] 本发明中所用的表述“部分解聚的糖胺聚糖”指已经了解聚过程的糖胺聚糖,使得由解聚引起的产物的分子量低于起始物的分子量。优选地,表述“部分解聚的糖胺聚糖”指已经了解聚过程的糖胺聚糖,所述解聚过程至少包括上述步骤a)。例如,就硫酸软骨素而言,高分子量的硫酸软骨素盐的分子量为10.000-50.000道尔顿,而根据起始化合物的分子量,并考虑到部分解聚的产物的分子量总是低于未解聚的产品的分子量,本发明的部分解聚的硫酸软骨素金盐或银盐的分子量为5.000-25.000道尔顿。就透明质酸而言,高分子量的透明质酸盐的分子量为50.000-2.500.000道尔顿,而根据起始化合物的分子量,并考虑到部分解聚的产物的分子量总是低于未解聚的产品的分子量,本发明的部分解聚的透明质酸金或透明质酸银的分子量为5.000-50.000道尔顿。

[0070] 在优选的实施方案中,部分解聚的糖胺聚糖金属盐的糖胺聚糖选自硫酸软骨素、透明质酸、肝素、硫酸乙酰肝素、硫酸角质素和硫酸皮肤素。在更优选的实施方案中,糖胺聚糖是硫酸软骨素或透明质酸。

[0071] 在优选的实施方案中,本发明涉及部分解聚的糖胺聚糖银盐。在更优选的实施方案中,糖胺聚糖选自硫酸软骨素、透明质酸、肝素、硫酸乙酰肝素、硫酸角质素和硫酸皮肤素。在还更优选的实施方案中,糖胺聚糖选自硫酸软骨素和透明质酸。

[0072] 在另一个优选的实施方案中,本发明涉及部分解聚的糖胺聚糖金盐。在更优选的实施方案中,糖胺聚糖选自硫酸软骨素、透明质酸、肝素、硫酸乙酰肝素、硫酸角质素,和硫酸皮肤素。在还更优选的实施方案中,糖胺聚糖选自硫酸软骨素和透明质酸。

[0073] 在另一个优选的实施方案中,在部分解聚的糖胺聚糖银盐中,银含量为2-10重量%。

[0074] 在另一个优选的实施方案中,在部分解聚的糖胺聚糖金盐中,金含量为2-8重量%。

[0075] 在另一个优选的实施方案中,本发明涉及硫酸软骨素银,其特征在于比旋光度为 $-12.0^{\circ}$ 至 $-30.0^{\circ}$ ;更优选为 $-12.0^{\circ}$ 至 $-20.0^{\circ}$ , $-20.0^{\circ}$ 至 $-30.0^{\circ}$ ,或 $-15.0^{\circ}$ 至 $-25.0^{\circ}$ ,银含量为6-10重量%,分子量为5.000-25.000道尔顿,当以1重量%溶于水时,pH为5.5-7.5。

[0076] 在另一个优选的实施方案中,本发明涉及硫酸软骨素金,其特征在于比旋光度为 $-12.0^{\circ}$ 至 $-30.0^{\circ}$ ;更优选为 $-12.0^{\circ}$ 至 $-20.0^{\circ}$ , $-20.0^{\circ}$ 至 $-30.0^{\circ}$ ,或 $-15.0^{\circ}$ 至 $-25.0^{\circ}$ ,金含量为6-10重量%,分子量为5.000-25.000道尔顿,当以1重量%溶于水时,pH为5.5-7.5。

[0077] 在另一个优选的实施方案中,本发明涉及透明质酸银,其特征在于银含量为2-8重量%,分子量为5.000-50.000道尔顿,当以1重量%溶于水时,pH为5.0-8.0。

[0078] 在另一个优选的实施方案中,本发明涉及透明质酸金,其特征在于金含量为2-8重量%,分子量为5.000-50.000道尔顿,当以1重量%溶于水时,pH为5.0-8.0。

[0079] 本发明的部分解聚的糖胺聚糖金属盐可以构成药物组合物或化妆组合物的一部分。因此,本发明的另一方面涉及包含有效量的如上定义的部分解聚的糖胺聚糖金属盐以及一种或多个药物可接受的或化妆可接受的赋形剂或载体的药物组合物或化妆组合物。

[0080] 在特别的实施方案中,本发明的药物组合物或化妆组合物是口服组合物。

[0081] 在优选的实施方案中,本发明的药物组合物或化妆组合物是局部组合物。

[0082] 在特别的实施方案中,组合物还包含精氨酸。在另一个特别的实施方案中,组合物由有效量的如上定义的部分解聚的糖胺聚糖金属盐以及一种或多种赋形剂或载体组成。在另一个特别的实施方案中,组合物由有效量的如上定义的部分解聚的糖胺聚糖金属盐和精氨酸以及一种或多种赋形剂或载体组成。

[0083] 本文所用表述“有效量”涉及在使用后能够提供化妆效果或治疗作用的产品量。提供治疗作用的有效量(此处也称为治疗有效量)是指当给药后,足以防止所针对的疾病的发展或足以将所针对的疾病的一种或多种症状缓解至一定程度的化合物的量。本发明的化合物的特别给药剂量可以根据具体情况而变化,包括给药的化合物、给药途径、所处理的具体情况以及类似的考虑。

[0084] 表述“药物可接受的赋形剂或载体”是指适于制备药用或医用的组合物的赋形剂或载体。就与药物组合物中的其它成分相容这一点来说,每一组分必须是药物可接受的。它还必须适于与人和动物的组织或器官接触使用,而没有过度的毒性、刺激性、变态反应、免疫原性或合理的风险/利益关系相一致的其它问题或并发症。

[0085] 表述“化妆可接受的赋形剂或载体”是指适于制备化妆用的组合物的赋形剂或载体。就与化妆组合物中的其它成分相容这一点来说,每一组分必须是化妆可接受的。它还必须适于与人和动物的组织或器官接触使用,而没有过度的毒性、刺激性、变态反应、免疫原性或合理的风险/效益关系相一致的其它问题或并发症。

[0086] 本发明的局部制剂可直接应用于皮肤上,或通过其它方法应用,例如封装在对温度和/或压力敏感的基质中、在膜中或在体液中可溶的固体介质中,等等。

[0087] 局部组合物的实例包括霜、凝胶、水凝胶、敷料、香波、染料、糊剂、膏、润发脂、粉末、液体或半液体制剂以及类似的组合物。所述组合物的应用可以通过气溶胶的方式进行,例如,用推进剂,或不用推进剂,如使用泵式喷雾器的情况,或以液滴、洗液的形式或作为半固体应用。此外,也可使用含有适当量的活性成分的膏药、绷带、纱布垫和类似覆盖物。在特别的实施方案中,局部组合物是粉末或水凝胶的形式。

[0088] 在特别的实施方案中,局部组合物是包含治疗有效量的如前述定义的部分解聚的糖胺聚糖金属盐,以及一种或多种药物可接受的赋形剂或载体的药物组合物。

[0089] 在另一个特别的实施方案中,局部组合物是包含有效量的如前述定义的部分解聚的糖胺聚糖金属盐,以及一种或多种化妆可接受的赋形剂或载体的化妆组合物。

[0090] 上述定义的局部组合物包含适于局部给药的药物的或化妆用的赋形剂或载体,包括保湿剂、润肤剂、乳化剂、增稠剂、湿润剂、pH调节剂、抗氧化剂、防腐剂,或它们的混合物。所用的赋形剂或载体对皮肤具有亲和性,耐受良好、稳定,并以适于提供所期望的应用一致性和方便性的量来使用。

[0091] 虽然发明特别地涉及局部和口服制剂,但是上述盐的其它应用也构成了本发明的一部分,例如口腔、耳、眼、眼科和注射给药。此外,本发明还涉及将上述的盐的组合物应用于医疗装置或掺入涂料组合物(coating composition)中。

[0092] 本发明的盐可用于治疗创伤、伤痕和灼伤。它们还可用于治疗或/或预防微生物感染和皮肤的炎性过程,例如,痤疮和银屑病。

[0093] 因此,本发明的另一方面涉及上述的部分解聚的糖胺聚糖金属盐在制备用于治疗

创伤、伤痕和灼伤的药物中的用途。所述方面也可以陈述为：用于治疗创伤、伤痕和灼伤的上述的部分解聚的糖胺聚糖金属盐。治疗创伤、疤痕和灼伤的方法也是本发明的一部分，所述方法包括对包括人在内的患者给予治疗有效量的上述的部分解聚的糖胺聚糖金属盐以及药物可接受的赋形剂和载体。

[0094] 本发明的另一方面涉及上述的部分解聚的糖胺聚糖金属盐在制备用于治疗 and/或预防微生物感染和皮肤的炎性过程的药物中的用途，所述皮肤的炎性过程包括痤疮和银屑病。所述方面也可以陈述为：用于治疗 and/或预防微生物感染和皮肤的炎性过程的上述的部分解聚的糖胺聚糖金属盐，所述皮肤的炎性过程包括痤疮和银屑病。治疗和/或预防微生物感染和包括痤疮和银屑病在内的皮肤的炎性过程的方法也是本发明的一部分，所述方法包括对包括人在内的患者给予治疗有效量的上述的部分解聚的糖胺聚糖金属盐以及药物可接受的赋形剂和载体。

[0095] 本发明的盐还可在化妆领域中用于皮肤护理，特别是作为保湿剂和皮肤再生剂。在特别的实施方案中，皮肤护理包括至少一种下列症状的改善：粗糙、脱屑、紧绷、皮肤干燥、皴裂、缺乏弹性以及老化。

[0096] 在特别的实施方案中，本发明的盐与精氨酸一起用于上述提到的药物用途和化妆用途。

[0097] 在通篇的说明书和权利要求书中，词语“包含”及其变体并非旨在排除其它技术特征、添加剂、组分或步骤。此外，词语“包含”涵盖了“由……组成”的情况。本发明的额外目的、优势和特征在阅读了说明书后对于本领域技术人员而言是显而易见的，或者可通过本发明的实践来了解。下列实施例以示例性说明的形式提供，它们并非旨在限制本发明。此外，本发明涵盖了本文所述的特别的和优选的实施方案的所有可能的组合。

## 实施例

[0098] 实施例1：部分解聚的硫酸软骨素银

[0099] 用KMnO<sub>4</sub>解聚

[0100] 将分子量为25,000至40,000道尔顿的硫酸软骨素钠(2.5g)在搅拌下溶于水中(25mL)。称量总体积，并用30%(重量/体积)NaOH将pH调至8.5。调节pH之后，将溶液加热至85℃的温度。在搅拌下缓慢加入KMnO<sub>4</sub>(相对于起始的糖胺聚糖的量的20重量%)。在此温度下继续搅拌1小时。将溶液通过0.8微米过滤器过滤。

[0101] 用NaOH解聚

[0102] 用30%NaOH(重量/体积)将前一步中得到的溶液的pH调节至11。称量所得到的溶液的体积，在搅拌下加入1.5%NaCl(相对于总体积)直至溶解。将温度调节至45℃。在此温度下继续搅拌12小时。

[0103] 用H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>解聚

[0104] 将前一步中得到的溶液冷却至25℃的温度，并称量总体积。经检验pH为10-11。在搅拌下缓慢加入1.5%(重量/体积)的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，相对于总体积。在此温度下继续搅拌1小时。将溶液通过0.8微米过滤器过滤。用醋酸将pH调节至6(滤液)。

[0105] 用溶剂沉淀

[0106] 称量上一步中得到的滤液的总体积。在搅拌下缓慢加入3倍体积的乙醇(相对于先

前称量的体积)。搅拌15分钟。停止搅拌,并静置3小时(直至完全沉淀)。

[0107] 漂白

[0108] 通过倾析将所得到的沉淀分离,以保证最大化地去除残留溶剂。当分离沉淀后,用与最初的溶解步骤中相同量的水将其溶解。搅拌直至其完全溶解。溶解后,在搅拌下缓慢加入30%(重量/体积) $H_2O_2$ 。加入的量为最初所用的糖胺聚糖的重量的50重量%(1.25g  $H_2O_2$ )。在室温下搅拌10分钟。

[0109] 与银盐的离子交换

[0110] 在搅拌下缓慢加入0.24g硝酸银。搅拌5分钟(直到完全溶解并均质化)

[0111] 用溶剂沉淀

[0112] 称量先前步骤中得到的溶液的总容积。在搅拌下缓慢加入3倍体积的乙醇(相对于先前称量的体积)。搅拌15分钟。停止搅拌,并静置3小时。

[0113] 脱水和干燥

[0114] 通过倾析将沉淀分离,以保证最大可能地去除残留溶剂。当分离沉淀后,向沉淀加入乙醇。要加入的量为:最初所用的糖胺聚糖的量 $\times 6$ =要加入的溶剂量。剧烈搅拌直至完全均质化。搅拌20分钟。停止搅拌,并静置2小时。通过倾析将沉淀分离,随后过滤,以保证最大化地去除残留溶剂。当分离沉淀后,向沉淀加入乙醇。加入的量为:最初所用的糖胺聚糖的量 $\times 6$ =加入的溶剂量。剧烈搅拌直至完全均质化。搅拌20分钟。停止搅拌,并至少静置2小时。通过过滤将沉淀分离。证实残留溶剂被最大化地去除。当分离沉淀后,在75°C的温度下将其置于烘箱中干燥,直至产物中的水分少于10%,将其包装在双层袋中。

[0115] 实施例2:部分解聚的透明质酸银

[0116] 通过与实施例1中所述方法类似的方法得到所需产品,以分子量大于1,000,000道尔顿的透明质酸钠(2g)在水(145mL)中的溶液为起始原料。在离子交换步骤中加入的量为0.13g硝酸银。

[0117] 实施例3:部分解聚的硫酸软骨素金

[0118] 通过与实施例1中所述方法类似的方法得到所需产品,以分子量为25,000至40,000道尔顿的硫酸软骨素钠(1g)在水(10mL)中的溶液为起始原料,并用氯化金(0.12g)代替硝酸银。

[0119] 实施例4:部分解聚的透明质酸金

[0120] 与实施例1中所述方法类似的方法得到所需产品通过,以分子量大于1,000,000道尔顿的透明质酸钠(2g)在水(145mL)中的溶液为起始原料,并用氯化金(0.16g)代替硝酸银。

[0121] 比较例5:部分解聚的硫酸软骨素银(漂白剂:焦亚硫酸钠)

[0122] 通过与实施例1中所述方法类似的方法得到所需产品,以1g分子量为25,000至40,000道尔顿的硫酸软骨素钠在水(10mL)中的溶液为起始原料,用焦亚硫酸钠(0.5g)代替漂白步骤中的过氧化氢。

[0123] 比较例6:部分解聚的硫酸软骨素银(漂白剂:硫代硫酸钠)

[0124] 通过与实施例1中所述方法类似的方法得到所需产品,以1g分子量为25,000至40,000道尔顿的硫酸软骨素钠在水(10mL)中的溶液为起始原料,用硫代硫酸钠(0.1g)代替漂白步骤中的过氧化氢。

[0125] 比较例7:部分解聚的硫酸软骨素银(无漂白步骤)

[0126] 通过与实施例1中所述方法类似的方法得到所需产品,但解聚步骤用H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>在pH 7的条件下进行,并不进行漂白步骤。

[0127] 比较例8:高分子量硫酸软骨素银

[0128] 在搅拌下,将分子量为25.000至40.000道尔顿的硫酸软骨素钠(1g)溶于水(10mL)中。称量总体积,并用30%(重量/体积)NaOH将pH调节至6。在搅拌下缓慢加入0.1g硝酸银。搅拌5分钟(直至完全溶解和均质化)。称量总体积。在搅拌下缓慢加入2倍体积的乙醇(相对于前一步称量的体积)。搅拌10分钟。停止搅拌,并静置3小时。

[0129] 比较例9:高分子量透明质酸银

[0130] 在搅拌下,将分子量大于1.000.000道尔顿的透明质酸钠(2g)溶于水(145mL)中。称量总体积,并用30%(重量/体积)NaOH将pH调节至6。在搅拌下缓慢加入0.1g硝酸银。搅拌5分钟(直至完全溶解和均质化)。称量总体积。在搅拌下缓慢加入2倍体积的乙醇(相对于前一步称量的体积)。搅拌10分钟。停止搅拌,并静置3小时。

[0131] 稳定性试验

[0132] 实施例1和比较例5-8中得到的沉淀的产品在暗处(在壁橱内)保存1小时。1小时后,对产品进行目视检查,并将产品在暗处保存。12小时后,再次对产品进行目视检查。然后将产品暴露于环境光下。5小时后,对产品进行目视检查。

[0133] 结果显示,对于实施例1(包括解聚步骤和用过氧化氢的漂白步骤)中的产品,在暗处储存1小时后和在暗处储存12小时后,其颜色均为白色,在暴露于环境光下5小时后,其颜色仍然保持白色。对于比较例5(包括解聚步骤和采用焦亚硫酸钠的漂白步骤)中的产品,在暗处保存1小时后颜色为微红色,在暗处保存12小时后颜色为微红色至黑色,在暴露于环境光下5小时后,其颜色为黑色。对于比较例6(包括解聚步骤和采用硫代硫酸钠的漂白步骤)中的产品,在暗处储存1小时后和在暗处储存12小时后,其颜色均为黑色,在暴露于环境光下5小时后,其颜色仍然保持黑色。对于比较例7(包括解聚步骤,但没有漂白步骤)中的产品,在暗处储存1小时后和在暗处储存12小时后,其颜色均为白色,但在暴露于环境光下5小时后,其颜色为暗红色。最后,对于比较例8(既不包括解聚步骤也不包括漂白步骤)中的产品,在暗处储存1小时后和在暗处储存12小时后,其颜色均为白色,但在暴露于环境光下5小时后,其颜色为暗红色。

[0134] 得到的结果说明,本发明的产品(实施例1)在稳定性方面具有重要的改善,因为其在暴露于环境光下5小时后保持稳定,特别是与CN1687141中描述的现有技术的产品(比较例8)相比。另一方面,还观察到当部分解聚的盐的制备方法中的任何条件(例如,当改变漂白剂或当没有进行漂白步骤时)发生变化时,最终产品在5小时的时段内对光就不稳定了。

[0135] 抗微生物活性的试验

[0136] 试验的目的是用微生物大肠杆菌和金黄色葡萄球菌来验证抗微生物活性。为此,分别制备了下列产品的水溶液:

[0137] -市售的海洋来源的硫酸软骨素钠,分子量为25.000至40.000道尔顿。欧洲药典(01/2009:2064)中所描述的产品(比较例10);

[0138] -高分子量的硫酸软骨素银(比较例8);

[0139] -部分解聚的硫酸软骨素银(实施例1);

- [0140] -高分子量的透明质酸银(比较例9);
- [0141] -部分解聚的透明质酸银(实施例2);
- [0142] -AgNO<sub>3</sub>(比较例11);
- [0143] -部分解聚的硫酸软骨素金(实施例3);
- [0144] -部分解聚的透明质酸金(实施例4);以及
- [0145] -1g市售的海洋来源的分子量为25.000至40.000道尔顿的硫酸软骨素钠和0.1g AgNO<sub>3</sub>的混合物(比较例12)。

[0146] 将源于硫酸软骨素的产品以10%(重量/体积)的浓度溶解。将源于透明质酸的产品以1.4%(重量/体积)的浓度溶解。对于其它的产品,加水直至完全溶解。

[0147] 将每一种产品以及对照(水)涂布于具有金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的平板上。在对于金黄色葡萄球菌和大肠杆菌的标准条件下孵育所述产品。结果以晕环或晕轮直径表示,结果如下:对于比较例10,大肠杆菌中为0,金黄色葡萄球菌中为0;对于比较例8,大肠杆菌中为7,金黄色葡萄球菌中为8;对于实施例1,大肠杆菌中为7,金黄色葡萄球菌中为6;对于比较例9,大肠杆菌中为8,金黄色葡萄球菌中为8;对于实施例2,大肠杆菌中为7,金黄色葡萄球菌中为6;对于比较例11,大肠杆菌中为8,金黄色葡萄球菌中为6;对于实施例3,大肠杆菌中为9,金黄色葡萄球菌中为8;对于对照,大肠杆菌中为0,金黄色葡萄球菌中为0;对于实施例4,大肠杆菌中为4,金黄色葡萄球菌中为6;对于比较例12,大肠杆菌中为7,金黄色葡萄球菌中为5。

[0148] 得到的结果证实了本发明的具有金(实施例3和4)和银(实施例1和2)的产品具有与硝酸银类似的抗微生物活性。

#### [0149] 毒理学的初步试验和对灼伤的有效性

[0150] 本试验的目的是评估毒性(局部)和对灼伤的有效性。通过目视检查和照片评价不同的产品可能造成的副作用,包括刺激、炎症和/或变黑。评价的产品如下:

[0151] -市售的海洋来源的硫酸软骨素钠,分子量为25.000至40.000道尔顿。欧洲药典(01/2009:2064)中所描述的产品(比较例10);

[0152] -部分解聚的硫酸软骨素银(实施例1);

[0153] -部分解聚的硫酸软骨素银溶于/混合于保湿霜中(实施例1c);

[0154] -部分解聚的透明质酸银(实施例2);

[0155] -AgNO<sub>3</sub>(比较例11);以及

[0156] -部分解聚的硫酸软骨素金(实施例3)。

[0157] 将源于硫酸软骨素的产品以10%(重量/体积)的浓度溶解于水中。将源于透明质酸的产品以1.4%(重量/体积)的浓度溶解。对于硝酸银,加水直至其完全溶解。实施例1c的产品与保湿霜混合。

[0158] 将所有的产品涂敷于“手臂的上部区域”(上二头肌)和腹部(肋部区域)。还将实施例1、2和3的产品涂敷于“手臂的下部区域”。涂敷后,以下列频率进行目视检查:10分钟、30分钟、60分钟、8小时、3天、4天、7天和9天。

[0159] 将经处理的区域暴露于不同类型的光下(太阳光、白炽灯泡、荧光)十分钟。在任何情况下都没有观察到变黑。腹部在十分钟后受保护而不再见光。“手臂的上部区域”继续暴露在光下直至8小时。“手臂的下部区域”继续暴露于环境光下。

[0160] 根据得到的结果,在比较例10的产品的应用中,在10分钟和30分钟时,在“手臂的上部区域”和腹部均观察到焦糖样外观。在对照中,试验进行60分钟、8小时、24小时、48小时、3天、4天、7天和9天后,在任何部位(“手臂的上部区域”/腹部)均未观察到任何相关的结果。

[0161] 在10分钟、30分钟、60分钟、8小时、24小时、48小时、3天、4天、7天和9天进行的任何观察中,在实施例1、1c、2和3的产品涂敷的任何区域中,实施例1、1c、2和3的产品的应用均没有显示出相关行为。

[0162] 在比较例11的产品的应用中,在10分钟和30分钟时,在“手臂的上部区域”和腹部均观察到刺激。在60分钟后,在涂敷产品的部位出现刺激、瘙痒和灼热。在8小时后,出现刺激、瘙痒、灼热和红晕或红圈。三天后,观察到灼伤的红圈的直径增大。此时,将实施例1的产品涂敷于腹部的灼伤部位,在随后的3天时间里,每天2次将实施例1的产品涂敷于灼伤部位。在第四天后,在“手臂的上部区域”观察到灼伤的红圈的直径增大,而在腹部用实施例1的产品治疗的灼伤部位几乎全部消失。在第7天后,在“手臂的上部区域”的灼伤的红圈的直径增大。此时,将实施例2的产品涂敷于“手臂的上部区域”的灼伤部位。每日3次将实施例2的产品涂敷于灼伤部位。在第9天后,用实施例2的产品治疗的“手臂的上部区域”的灼伤几乎完全消失。

[0163] 与得到的结果相一致,且与硝酸银不同,本发明的实施例1、1c、2和3的产品并没有变黑、刺激、瘙痒或炎症的问题。此外,用本发明的实施例1和2的产品进行的有效性测试证实了它们在具有灼伤或创伤的皮肤表面的治疗中提供了改善。

#### [0164] 急性口服毒性试验

[0165] 进行部分解聚的硫酸软骨素银(实施例1)的急性口服毒性试验,以评估口服毒性并进行相应的分类识别(GHS,全球化学品统一分类和标签制度)。研究根据OECD指南No.420(固定剂量)进行。据此指南判断的结果表明产品部分解聚的硫酸软骨素银的半数致死口服剂量(LD<sub>50</sub>)>2000/kg,在GHS分类(全球化学品统一分类和标签制度)中为第5类,即在低毒性组中。

#### [0166] 吸收试验

[0167] 进行本发明的解聚的化合物和未解聚的化合物的吸收比较试验。为了进行此试验,将部分解聚的硫酸软骨素银(实施例1)和高分子量的硫酸软骨素银(比较例8)以相同的浓度(10%,重量/体积)分别用水溶解。当产品完全溶解后,注意到实施例1的产品的粘度低于比较例8的产品的粘度。将每个产品取10mL置于纤维素纸上。注意到实施例1的产品比较例8的产品被更快速地吸收。考虑到,为了吸收的目的,在纤维素纸上的行为“可以被推断”至有机组织(皮肤),因此,根据此结果,可以得出结论:本发明的解聚的产品具有比未解聚的产品更好的吸收性。

#### [0168] 粘度试验

[0169] 此试验的目的是为了验证所得的部分解聚的产品的粘度低于起始产品(未解聚的产品)的粘度。所评价的产品如下:

[0170] -高分子量的硫酸软骨素银(比较例8);

[0171] -部分解聚的硫酸软骨素银(实施例1);

[0172] -高分子量的透明质酸银(比较例9)以及

- [0173] 一部分解聚的透明质酸银(实施例2)。
- [0174] 评价下列参数:溶解时间、外观(目视法)和位移时间。
- [0175] 在11.5厘米长及1厘米直径的试管中将0.01g的每一种产品分别溶于0.5mL蒸馏水中。当产品完全溶解后,颠倒试管的位置,以测定位移时间。
- [0176] 溶解对照:部分解聚的产品在小于10秒内溶解,而未解聚产品用时超过3分钟溶解。因此,得出结论:部分解聚的产品比未解聚的产品更快速地溶解,这使部分解聚的产品具有能够被更容易地应用和处理的优点。
- [0177] 外观对照:当颠倒试管的位置时(180°旋转),目视可见,部分解聚的产品的溶液的粘度明显低于未解聚的产品的溶液的粘度。
- [0178] 位移对照:当颠倒试管的位置时(180°旋转),测量位移时间,得到以下结果:比较例8的位移时间为30秒;实施例1的位移时间为1秒;比较例9的位移时间为5分钟;最后,实施例2的位移时间为1秒。
- [0179] 考虑到粘度和分子量之间的关系,因而以定性方式得出结论:部分解聚的产品的分子量大大低于未解聚的产品的分子量。用于测定糖胺聚糖的分子量的方法之一为确定特性粘度,并通过Mark-Houwink常数/比的方法测定分子量。
- [0180] 引用的参考文献
- [0181] -US 2010317617
- [0182] -CN 1687141
- [0183] -EP 1878754
- [0184] -WO 8705517