



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 113648459 A

(43) 申请公布日 2021.11.16

(21) 申请号	202110975571.7	A61L 27/00 (2006.01)
(22) 申请日	2014.07.29	A61L 27/50 (2006.01)
(30) 优先权数据		A61L 27/54 (2006.01)
	13/954,360 2013.07.30 US	A61K 31/728 (2006.01)
		A61K 9/06 (2006.01)
(62) 分案原申请数据		A61P 17/00 (2006.01)
	201480054186.7 2014.07.29	A61P 17/18 (2006.01)
(71) 申请人	泰奥赛恩公司	A61P 1/02 (2006.01)
地址	瑞士日内瓦	A61K 31/445 (2006.01)
(72) 发明人	弗朗索瓦·鲍登 史蒂芬·默尼耶	
(74) 专利代理机构	北京品源专利代理有限公司	
	11332	
代理人	刘明海 宁涛	
(51) Int.Cl.		
	A61L 27/20 (2006.01)	
	A61L 27/52 (2006.01)	

权利要求书1页 说明书15页

(54) 发明名称

包含透明质酸和甲哌卡因的组合物

(57) 摘要

一种方法,至少包括通过注射给需要其的患者施用:(a)至少有效量的透明质酸或其盐;和(b)至少有效量的甲哌卡因或其盐作为麻醉剂,所述甲哌卡因在所述透明质酸之前施用或与所述透明质酸同时施用。

1. 一种制备无菌和可注射的组合物的方法,所述方法至少包括以下步骤:

a) 提供透明质酸或其盐的至少一种凝胶,所述透明质酸选自于交联的透明质酸形式、非交联的透明质酸形式和它们的混合物;

b) 向所述透明质酸的凝胶加入至少甲哌卡因盐酸盐作为麻醉剂;和

c) 在高压锅内高于121℃的温度下将步骤b)中获得的混合物灭菌以获得>15的灭菌值(F0)。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述透明质酸具有50000至10000000道尔顿的平均分子量。

3. 根据权利要求1所述的方法,其中所述步骤a)的交联的透明质酸预先使用有效量的至少一种交联剂从非交联的透明质酸的交联获得,所述交联剂选自由以下组成的组:1,4-丁二醇二缩水甘油醚(BDDE)、1,4-双(2,3-环氧丙氧基)丁烷、1,4-双缩水甘油醚氧丁烷、1,2-双(2,3-环氧丙氧基)乙烯和1-(2,3-环氧丙基)-2,3-环氧环己烷、内源多胺以及它们的混合物。

4. 根据权利要求1所述的方法,其中所述方法包括在灭菌前在输送设备中包装步骤b)中获得的混合物。

5. 根据权利要求1所述的方法,其中将步骤b)中获得的混合物灭菌在高至140℃的温度下进行。

6. 在包含有效量的至少透明质酸或其盐的经灭菌和可注射的第一组合物中的甲哌卡因盐酸盐用于限制由灭菌产生的所述组合物的G'损失的用途,

其中所述第一组合物在其不经灭菌的形式与灭菌形式之间的G'损失低于与所述第一组合物具有相同组成但包含利多卡而非甲哌卡因盐酸盐的第二组合物,所述灭菌在高压锅内高于121℃的温度下进行以获得>15的灭菌值(F0)。

7. 经灭菌和可注射的第一组合物,包含有效量的至少透明质酸或其盐并包括相对于所述组合物的总重量0.05至3重量%有效量的至少甲哌卡因盐酸盐作为麻醉剂,其中所述第一组合物在其不经灭菌的形式与灭菌形式之间的G'损失低于与所述第一组合物具有相同组成但包含利多卡而非甲哌卡因盐酸盐的第二组合物,所述灭菌在高压锅内高于121℃的温度下进行以获得>15的灭菌值(F0)。

包含透明质酸和甲哌卡因的组合物

[0001] 本案是申请日为2014年07月29日,题为《包含透明质酸和甲哌卡因的组合物》的中国发明专利申请201480054186.7的分案申请。

技术领域

[0002] 本发明涉及包含透明质酸或其盐的无菌且可注射的组合物领域,尤其是软组织填充物组合物,用于特别是增强和/或修复软组织,包括牙周组织,尤其用于治疗角蛋白材料如皮肤的缺陷和瑕疵。本发明还涉及相关的方法。

背景技术

[0003] 已经努力开发对纠正皮肤缺陷,如疤痕和皱纹或对增强受试者的组织有用的组合物,以改善皮肤,特别是面部皮肤的外观。纠正这样的缺陷所用的主要方法涉及向临近目的或所需组织增强的皮肤的真皮皮层中注射填充物组合物。

[0004] 透明质酸是细胞外基质(ECM)的主要组分。因此,主要在皮肤上发现大量的透明质酸。它也是关节软骨基质的主要生理学上的组分且在滑液中尤其丰富。

[0005] 因此,透明质酸,其酸或盐形式,是主要用作用于组织工程应用,特别是用于真皮组织或其他软组织像牙龈组织的增强的可注射填充物材料的生物材料。

[0006] 透明质酸是由D-葡萄糖醛酸和N-乙酰基-D-葡萄糖胺重复单元组成的线性非硫酸化的糖胺聚糖(Tammi R.,Agren UM.,Tuhkanen AL.,Tammi M.Hyaluronan metabolism in skin.Progress in Histochemistry&Cytochemistry 29(2):1.-81,1994)。

[0007] 在皮肤中,透明质酸主要是由真皮成纤维细胞和表皮角质形成细胞合成(Tammi R.,同上所引)。凭借其残基带有负电荷,透明质酸充当水泵用于保持皮肤的弹性。

[0008] 另外,ECM是对组织具有结构性和调节作用的动态结构。ECM由胶原蛋白和弹性蛋白,还有基本物质,主要是水、矿物质和蛋白聚糖组成。该基质赋予皮肤充盈和坚实、弹性和色泽的机械性能。

[0009] 关于皮肤,则发现,随着年龄的增长,透明质酸的量和它的聚合度减小,导致保留在结缔组织量中水的量的下降。

[0010] 同时,ECM组分主要被称为基质金属蛋白酶或MMP的内肽酶型酶降解。

[0011] 最后,细胞防御的减小增加由外部应力如氧化应激引起的损伤和失调。

[0012] 然后皮肤经历老化过程,导致角质物质的,特别是皮肤的缺陷和瑕疵的外观。

[0013] 在皱纹填充物,主要由透明质酸组成的凝胶的领域,出现化学交联的情况下,在旁侧皮内注射填充凹陷乳房。交联能增加皮肤内产品的持久性。这样的基于透明质酸的凝胶,如有必要的话交联的,通过由真空皮肤皱纹产生的填充物的机械作用使得皱纹减少。

[0014] 然而,已知这样的凝胶的注射往往使患者产生疼痛感,如果凝胶是高粘性和/或弹性的,则这种感觉进一步加剧。

[0015] 现在,为了克服这个技术问题,在局部麻醉剂下可使用基于透明质酸的主要填充物,以确保更大的患者舒适度。该局部麻醉剂仅为利多卡因,剂量约0.3%。

[0016] 然而,已知利多卡因考虑到其血管舒张性质可能显示的缺点指由患者体内的过快吸收和有时加剧血肿的发生,为了明显的美感原因,血肿是尽可能避免的。克服上述问题的一种解决方案可包括施用与血管收缩剂,尤其是肾上腺素相关的利多卡因(J.Endod.2013年5月;39(5):597-9)。然而,血管收缩剂像肾上腺素的存在,可能需要添加防腐剂,防腐剂对患者并不总是惰性的,可能导致过敏。

[0017] 因此,仍然需要开发主要由透明质酸组成的凝胶,产生化学交联的情况,它克服了上述在注射过程中对患者的疼痛感的技术问题且也不涉及任何过敏问题,也不加剧血肿的发生。

发明内容

[0018] 根据第一方面,本发明涉及一种方法,至少包括通过注射施用给需要其的患者:

[0019] (a) 至少有效量的透明质酸或其盐;和

[0020] (b) 至少有效量的甲哌卡因或其盐作为麻醉剂,

[0021] 所述甲哌卡因在透明质酸之前施用或与透明质酸同时施用。

[0022] 根据特定的方面,本发明的方法旨在软组织增强。

[0023] 目标组织可以是皮肤,但也可以是牙龈组织。

[0024] 尤其是,本发明的方法可以有效地(i)用于预防和/或治疗皮肤的表面外观。

[0025] 因此,本发明的方法可有利地(ii)用于预防和/或治疗随时间而老化的和/或由外部因素如压力、空气污染、烟草或长时间暴露于紫外线(UV)照射导致的皮肤症状,(iii)预防和/或治疗皮肤损伤的表面外观,(iv)防止和/或治疗皮肤损伤的粘弹性或生物力学性能和/或(v)用于长期填充皮肤的体积缺陷,特别是填充皱纹。

[0026] 此外,本发明的方法还可有利地用于治疗例如随着牙齿损失、年龄增加、牙周病和失调、牙周创伤和牙齿植入后发生的牙龈结构和外形和骨组织中缺陷的部位和缺陷,用于增强牙齿修复术的配合和功能,包括但不限于植入物、牙冠、桥托...

[0027] 根据另一个实施方案,本发明的方法还可有用的用于软骨再生。

[0028] 根据另一个实施方案,本发明的方法可以用作治疗关节炎。

[0029] 最后,透明质酸是类似于位于眼睛中的天然流体的粘稠透明液体。因此,已经提出在手术过程中保持眼睛流体体积。因此,本发明的方法在大多数的眼科眼内手术中也是有用的,包括白内障摘出术、人工晶体(IOL)插入和去除、角膜手术、青光眼手术、创伤手术、眼整形手术和眼肌手术。

[0030] 根据第二方面,本发明涉及无菌和可注射的组合物,尤其是软组织填充物组合物,其包含有效量的至少透明质酸或其盐和包含有效量的至少甲哌卡因或其盐作为麻醉剂。

[0031] 最后,根据另一个方面,本发明涉及制备无菌和可注射的组合物,尤其是软组织填充物组合物,所述方法至少包括以下步骤:

[0032] a) 提供透明质酸或其盐的至少一种凝胶,所述透明质酸选自于交联的透明质酸形式、非交联的透明质酸形式和它们的混合物;

[0033] b) 向所述透明质酸的凝胶加入至少甲哌卡因或其盐作为麻醉剂;和

[0034] c) 将步骤b)中获得的混合物灭菌。

具体实施方式

[0035] 根据第一方面,本发明涉及一种方法,至少包括通过注射施用给需要其的患者:

[0036] (a) 至少有效量的透明质酸或其盐;和

[0037] (b) 至少有效量的甲哌卡因或其盐作为麻醉剂,

[0038] 所述甲哌卡因在透明质酸之前施用或与透明质酸同时施用。

[0039] 本发明人确实已经发现,根据本发明的方法可构成目前方法可行的替代,尤其用于预防和/或治疗皮肤的表面外观,其考虑施用透明质酸与利多卡因而且(i)用于治疗牙龈结构和外形和骨组织中缺陷的部位和缺陷,(ii)用于眼科眼内手术,(iii)用于软骨的再生和(iv)用于治疗关节炎。

[0040] 首先,与利多卡因相比,甲哌卡因相比于利多卡因不显示显著的血管舒张性质。

[0041] 此外,甲哌卡因具有7,6的pKa,而利多卡因具有7,9的pKa。因此,甲哌卡因具有比利多卡因更低的pKa,它显示更好的脂溶性,这提高了其通过脂质屏障的扩散。因此,由于这样的事实,甲哌卡因可能比利多卡因更快地被吸收,因此,甲哌卡因适合于更好地防止在注射过程中的疼痛感。

[0042] 但是,最重要的是,本发明人已出乎意料地观察到,根据本发明的填充物组合物,即包括甲哌卡因作为麻醉剂,可以在不显著影响透明质酸凝胶稳定性的情况下进行灭菌。

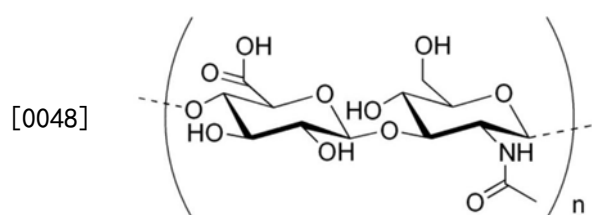
[0043] 确实已知,透明质酸的凝胶对于如用于其灭菌所需的热处理特别敏感,在如麻醉剂的其它材料的存在下可增加该低稳定性。出乎意料的是,使用与利多卡因相当的甲哌卡因显著降低这种不希望的现象,如在下面的实施例1和2中所示的。此外,本发明人已经表明,根据本发明的组合物还符合时间上稳定性方面的要求,如下面实施例3中所示的。

[0044] 根据本发明人,包含透明质酸的软组织填充物组合物内的这些上述有利效果的表现形式是未知的。

[0045] 优选地,透明质酸或其盐与甲哌卡因或其盐同时施用。

[0046] 优选地,通过注射施用是表皮内和/或皮内和/或皮下注射。然而,它还可通过牙龈、关节和眼内途径施用。

[0047] 透明质酸



[0049] 如上述的透明质酸(也称为透明质酸或透明质酸盐)是由D-葡糖醛酸和N-乙酰基-D-葡萄糖胺重复单元组成的线性非硫酸化的糖胺聚糖(Tammi R., Agren UM., Tuhkanen AL., Tammi M. Hyaluronan metabolism in skin. Progress in Histochemistry & Cytochemistry 29(2):1.-81, 1994)。

[0050] 在皮肤中,透明质酸主要是由真皮成纤维细胞和表皮角质形成细胞合成(Tammi R., 同上所引)。凭借其残基带有负电荷,透明质酸充当水泵用于保持皮肤的弹性。

[0051] 如上述的,本发明考虑施用透明质酸本身及其盐。

[0052] 因此,根据本发明的透明质酸可以尤其选自生理学上可接受的盐如钠盐、钾盐、锌

盐、银盐以及它们的混合物,优选钠盐。

[0053] 优选地,根据本发明的透明质酸具有高的平均分子量,优选范围为50 000至10 000 000道尔顿,优选为500 000至4 000 000道尔顿。

[0054] 透明质酸的一种特别优选的盐是透明质酸钠(NaHA)。

[0055] 如上述的,透明质酸通过注射有效量而施用。

[0056] 透明质酸的“有效量”是获得所需的技术效果的适当量,尤其是在皮肤的表面外观上具有明显结果。特别是,透明质酸的有效量是透明质酸用于良好的填充皮肤的体积缺陷,特别是填充皱纹的适当量。

[0057] 调整的透明质酸的量在本领域技术人员的能力之内。

[0058] 有利的是,根据本发明的方法中的透明质酸或其盐以溶液存在。

[0059] 在这方面,相对于含有透明质酸或其盐的所述溶液的总重量,透明质酸的有效量的范围可为0.1至5重量%,优选为1至3重量%。

[0060] 根据一个具体的实施方案,透明质酸可以以未交联的形式存在。

[0061] 对于本发明的目的,术语“未交联的”或“非交联的”在本发明的上下文中理解是指未交联或轻微交联的透明质酸的凝胶,即具有移相角 δ (在1Hz的动态流变学的条件下测得)的凝胶,当经受1帕以上的应力时,移相角 δ 大于 40° 。

[0062] 根据另一个具体的实施方案,透明质酸可以以交联的形式存在。

[0063] 根据另一个具体的实施方案,透明质酸可以以交联的和非交联的形式存在。

[0064] 在这点上,“交联的透明质酸/非交联的透明质酸”重量比优选大于1。

[0065] 根据一个具体的实施方案,包含透明质酸且打算施用的溶液可包括:

[0066] -50重量%至99重量%,更优选70重量%至95%的以交联的凝胶形式存在的透明质酸,

[0067] -1重量%至50重量%,优选5重量%至30重量%以游离形式存在的透明质酸或其生理学上可接受的盐,

[0068] 交联的透明质酸凝胶的重量和游离的透明质酸的重量比是1:1至1:0.02。

[0069] 当透明质酸是交联的时,所述交联的透明质酸优选具有0.1%至20%,优选0.4%至10%的改性度。

[0070] “改性度”在本发明的意义上是指,附着于透明质酸上交联剂的摩尔数和形成所述交联的透明质酸凝胶的透明质酸的摩尔数之间的比。这个值可以由交联的凝胶的NMR分析 ^1D ^1H 测量。

[0071] “透明质酸的摩尔数”是指透明质酸的重复二糖单元的摩尔数,二糖单元由通过交替的 β -1,4和 β -1,3糖苷键连接在一起的D-葡萄糖醛酸和D-N-乙酰葡萄糖胺组成。

[0072] 该改性度可以是尤其如下文公开的理解。

[0073] 因此,透明质酸改性度的表征通过NMR光谱进行(分光计BrukerAvance1,在400MHz(^1H)下操作)。

[0074] 对于BDDE,通过积分存在于透明质酸中的 ^1H NMR N-乙酰基的信号($\delta \approx 2\text{ppm}$)和存在于交联剂中的信号(两- CH_2 -基, $\delta \approx 1.6\text{ppm}$)获得改性度。这两个信号(交联剂/NaHA)的积分比与校正连接到每个信号上的质子数之后的改性度有关:

$$[0075] \quad \text{改性度} = \frac{\left[\frac{\text{Integral } \delta_{H1.6}}{4} \right]}{\left[\frac{\text{Integral } \delta_{H2.0}}{3} \right]}$$

[0076] 交联剂

[0077] 术语“交联剂”理解为是指能够诱导透明质酸的各种链之间的交联的任何化合物。

[0078] 该交联剂的选择显然在本领域技术人员的能力之内。

[0079] 根据本发明的交联剂可以选自于双官能或多官能环氧交联剂以及多胺例如像己二胺(HMDA)或内源多胺。

[0080] 本发明意义上的“内源多胺”是指天然存在于生物体,特别是人体中的多胺。作为内源多胺的代表,可特别提到的是在真核生物动物中引用的那些,如腐胺(或1,4-丁二胺),亚精胺(或1,8-二氨基-5-氮杂辛烷)和精胺(1,12二氨基-5,9-二氮杂十二烷),优选精胺。

[0081] 尤其是,根据本发明的交联剂可以优选选自由1,4-丁二醇二缩水甘油醚(BDDE)、1,4-双(2,3-环氧丙氧基)丁烷、1,4-双缩水甘油醚氧丁烷、1,2-双(2,3-环氧丙氧基)乙烯和1-(2,3-环氧丙基)-2,3-环氧环己烷、内源多胺以及它们的混合物组成的组。

[0082] 优选地,根据本发明的交联剂为1,4-丁二醇二缩水甘油醚(BDDE)。

[0083] 在其中交联剂是多胺,并且尤其是内源多胺的具体的实施方案中,与透明质酸的偶联反应可以在存在至少一种活化剂的情况下,以及由至少一个辅助偶联引起的情况下进行。

[0084] 在这方面,活化剂可以选自于水溶性碳二亚胺,如1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺(EDC)、1-乙基-3-(3-25三甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸盐(ETC)、1-环己基-3-(2-吗啉乙基)碳二亚胺(CMC)和它们的盐以及它们的混合物,优选代表是EDC。

[0085] 关于偶联辅助,当它存在时,它可以选自于N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)、N-羟基苯并三唑(HOBt)、3,4-二氢-3-羟基-4-氧代-1,2,3-苯并三唑(HOObt)、1-羟基-7-氮杂苯并三唑(HAT)和N-羟基磺基琥珀酰亚胺(磺基NHS)以及它们的混合物,优选代表是HOBt。

[0086] 交联剂以有效量施用。

[0087] 交联剂的“有效量”是获得适当的透明质酸交联度的适当量。

[0088] 调整交联剂的量在本领域技术人员的能力之内。

[0089] 有利的是,相对于透明质酸或其盐的总重量,交联剂的有效量的范围可以为0.05%至15%。

[0090] 有利的是,当透明质酸是交联的时,且当交联剂是BDDE时,nBDDE/n透明质酸的摩尔比的量为0.01至0.5,优选为0.04至0.25。

[0091] 麻醉剂

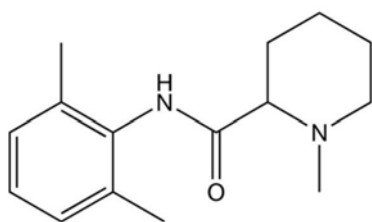
[0092] 根据本发明的麻醉剂具有特殊的优点,减少或消除在注射过程和/或之后由患者经历的疼痛感。

[0093] 此外,根据本发明的麻醉剂在与根据本发明的组合物中使用的其它化合物,尤其是与透明质酸不引起不兼容风险的化合物中选择。

[0094] 如上述的,根据本发明的麻醉剂是甲哌卡因,或其盐。

[0095] 甲哌卡因是氨基酸家族中的局部麻醉剂,具有式(I)结构:

[0096]



(I)

[0097] 甲哌卡因特别是由公司Cook-Waite以名称**Carbocaine®**出售。

[0098] 甲哌卡因是具有良好的稳定性的分子。其主要降解产物是2,6-二甲基苯胺。甲哌卡因是含有手性中心(不对称碳)的分子。因此,存在R和S对映体。在下面的实施例中,它被认为是两种形式的甲哌卡因的外消旋混合物。

[0099] 优选的是,甲哌卡因是盐的形式,尤其是甲哌卡因的盐是甲哌卡因盐酸盐。

[0100] 如上述的,甲哌卡因或其盐通过注射以有效量施用。

[0101] 甲哌卡因或其盐的“有效量”是有效地降低或消除注射过程和/或之后由患者经历的疼痛感的适当量。

[0102] 调整甲哌卡因或其盐的量在本领域技术人员的能力之内。

[0103] 有利的是,根据本发明的方法中的甲哌卡因或其盐以溶液存在。

[0104] 在这方面,相对于包含所述甲哌卡因或其盐的溶液的重量,甲哌卡因或其盐的有效量为0.05至3重量%。

[0105] 所述方法还可以包括施用,联合甲哌卡因产生的情况,不同于甲哌卡因的至少一种另外的麻醉剂或其盐。

[0106] 该另外的麻醉剂尤其可选自于氨布卡因、阿莫拉酮、阿米卡因、奥布卡因、苯佐卡因、贝托卡因、苯柳胺酯(biphénamine)、布比卡因、布他卡因、氨苯丁酯、布坦卡因、丁胺卡因、丁氧卡因(**butoxycaine**)、卡替卡因、氯普鲁卡因、可卡乙碱、可卡因、环美卡因、二丁卡因、diméthysouquine、二甲卡因、地哌冬、dycyclonine、脱水芽子碱、芽子碱、氯乙烷、依替卡因、β-优卡因、尤普罗辛非那可明、甲醛卡因(**formocaine**)、海克卡因、羟丁卡因、异丁基对氨基苯甲酸、亮氨卡因甲磺酸盐、左沙屈尔、利多卡因、美普卡因、美布卡因、氯甲烷、麦替卡因、纳衣卡因、奥他卡因、奥索卡因、奥昔卡因、对乙氧卡因、非那、苯酚、哌罗卡因、匹多卡因、聚多卡醇、丙吗卡因、丙胺卡因、普鲁卡因、丙泮卡因、丙美卡因、丙哌卡因、丙氧卡因、假可卡因、吡咯卡因、罗哌卡因、水杨醇、丁卡因、托利卡因、三甲卡因、佐拉敏、或其盐以及它们的混合物。

[0107] 优选地,该另外的麻醉剂是利多卡因或其盐。

[0108] 根据第一实施方案,另外的麻醉剂在透明质酸和甲哌卡因或其盐之前单独施用。

[0109] 根据第二实施方案,另外的麻醉剂在透明质酸或其盐之前与甲哌卡因或其盐一起施用。

[0110] 根据第三个实施方案,另外的麻醉剂与甲哌卡因或其盐和透明质酸或其盐一起施用。

[0111] 在其中两个麻醉剂均包含在同一组合物中的具体实施方案中,它们在其中可以以“甲哌卡因/利多卡因”1:1的比,优选1:0.1的比存在。

[0112] 平衡盐溶液

[0113] 根据一个具体实施方案,根据本发明的方法还可以至少包括通过注射向患者施用(c)至少一种平衡盐溶液的步骤,与所述透明质酸和/或甲哌卡因,优选与甲哌卡因同时。

[0114] 该平衡盐溶液的施用特别有趣的在于,它使得注射疼痛更加降低(见Farley J.S.et al.,Regional Anesthesia A.,1994,Vol.19:48)。

[0115] 优选地,所述平衡盐溶液是磷酸盐缓冲盐水,和更特别是磷酸盐缓冲的盐水和特别是 $\text{KH}_2\text{PO}_4/\text{K}_2\text{HPO}_4$ 盐水缓冲液。

[0116] 根据一个具体的实施方案,所述平衡盐溶液可进一步包含至少一种选自由以下组成的组的化合物: α -硫辛酸;N-乙酰基-L-半胱氨酸;还原谷胱甘肽;氨基酸如L-精氨酸、L-异亮氨酸、L-亮氨酸、一水合L-赖氨酸、甘氨酸、L-缬氨酸、L-苏氨酸、L-脯氨酸;盐酸吡哆醇;脱水醋酸锌;五水合硫酸铜及其混合物。

[0117] 根据本发明的组合物

[0118] 如上述的,本发明还涉及一种无菌和可注射的组合物,特别是软组织填充物组合物,其包含有效量的至少透明质酸或其盐和包含有效量的至少甲哌卡因或其盐作为麻醉剂。

[0119] 在本发明的意义上的“消毒”是指能够保证根据本发明的组合物中考虑的化合物用于施用途(如上述的,特别是进入或通过皮肤)的安全要求的环境。事实上,由于显而易见的原因,至关重要的是,根据本发明的组合物是不含任何能够在宿主生物体引发不希望的副反应的污染物体。

[0120] 透明质酸、交联剂和麻醉剂是如上述的那些。

[0121] 关于透明质酸,相对于所述组合物的总重量,根据本发明的组合物可以包含0.1至5重量%,优选1至3重量%的透明质酸。

[0122] 根据一个具体的实施方案,如上述的,透明质酸可以以交联和非交联形式存在。

[0123] 在这方面,“交联的透明质酸/非交联的透明质酸”比优选大于1。

[0124] 尤其是,根据本发明的组合物可以包含:

[0125] -50重量%至99重量%,更优选70重量%至95重量%以交联的凝胶形式存在的透明质酸,

[0126] -1重量%至50重量%,优选5重量%至30重量%以非交联形式存在的透明质酸,

[0127] 交联的透明质酸凝胶的重量与非交联的透明质酸的重量之间的比为1:1至1:0.02。

[0128] 关于麻醉剂,根据本发明的组合物可包含0.01重量%至5重量%,优选0.05重量%至3重量%的麻醉剂,基于所述组合物的总重量。

[0129] 根据其注射特征,根据本发明的组合物必要地包含生理学上可接受的介质。

[0130] “生理学上可接受的介质”是指没有毒性且与如本发明中所考虑的组合物注射和/或应用兼容的介质。

[0131] 所述组合物可包含一种溶剂或生理学上可接受的溶剂的混合物。

[0132] 所述组合物可包含生理学上可接受的含水性介质。

[0133] 作为适用于本发明的水性介质,可以是例如提及的水。

[0134] 如适合于制备根据本发明的组合物的等渗剂,可以提及的是糖和氯化钠。

[0135] 根据一个具体的实施方案,根据本发明的组合物可进一步包含至少一种平衡盐溶

液,如上述的。

[0136] 根据一个具体的实施方案,根据本发明的组合物可进一步包括至少一种选自由以下组成的组的化合物: α -硫辛酸;N-乙酰基-L-半胱氨酸;还原谷胱甘肽;氨基酸如L-精氨酸、L-异亮氨酸、L-亮氨酸、一水合L-赖氨酸、甘氨酸、L-缬氨酸、L-苏氨酸、L-脯氨酸;盐酸吡哆醇;脱水醋酸锌;五水合硫酸铜及其混合物。

[0137] 根据本发明的组合物除了上述的化合物外还可包含与在软组织填充物组合物领域中使用的组分兼容的至少一种另外的化合物。

[0138] 在这方面,可在根据本发明的组合物中施用的另外的化合物可选自于铜盐、 α -硫辛酸、乙酰化的半胱氨酸的衍生物和其混合物。

[0139] 这些另外的化合物的量取决于所讨论的化合物的性质,所期望的效果,和根据本发明的组合物的目标。

[0140] 这些参数属于本领域的普通技术。

[0141] 还包含至少一种铜盐的组合物基于所述组合物的总重量可以优选地包含0.1至50ppm的量的所述铜盐。

[0142] 还包含至少一种 α -硫辛酸的组合物基于所述组合物的总重量优选地包含0.5至10 000ppm的量的所述 α -硫辛酸,优选5至100ppm的 α -硫辛酸。

[0143] 还包含至少一种乙酰化的半胱氨酸的衍生物的组合物基于所述组合物的总重量优选地包含0.5至10 000ppm的所述乙酰化的半胱氨酸的衍生物。

[0144] 其他可在本发明中使用的另外的化合物中,可提及的是抗氧化剂、氨基酸、维生素、矿物质、核酸、辅酶、肾上腺的衍生物以及它们的混合物,所述另外的化合物是不同于上面所示的那些。

[0145] 作为抗氧化剂,可提及的是谷胱甘肽、鞣花酸、精胺、白藜芦醇、视黄醇、L-肉碱、多元醇、多酚、黄酮醇、茶黄素、儿茶素、咖啡因、泛醌醇、泛醌以及它们的混合物。

[0146] 作为氨基酸,可提及的是精氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、甘氨酸、缬氨酸、苏氨酸、脯氨酸、甲硫氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、色氨酸以及它们的混合物。

[0147] 作为维生素和它们的衍生物,可以提及的是维生素E、A、C、B,特别是维生素B6、B8、B4、B5、B9、B7、B12和较佳的吡哆醇。

[0148] 作为矿物质,可以提及的特别是由锌盐、镁盐、钙盐、钾盐、锰盐、钠盐、以及它们的混合物组成。

[0149] 作为核酸,可以提及的特别是腺苷、胞苷、鸟苷、胸苷、细胞因子(cytodine)的衍生物以及它们的混合物。

[0150] 作为辅酶,可以列举的是辅酶Q10、辅酶A、NAD、NADP以及它们的混合物。

[0151] 作为肾上腺素衍生物,可以提及的是肾上腺素、去甲肾上腺素。

[0152] 此外,根据本发明的组合物可进一步包括本技术领域通常使用的任何赋形剂,诸如例如生理学上的浓度的单-和/或二水合磷酸二氢钠和氯化钠。

[0153] 另外的活性剂和/或赋形剂的量当然取决于所讨论的化合物的性质,预期的效果和根据本发明的组合物的目的。

[0154] 根据一个具体的实施方案,根据本发明的组合物当在1Hz下测量时,可以具有约5Pa*s至约450Pa*s的复数粘度 η^* 。

[0155] 根据一个具体的实施方案,由交联的透明质酸组成的根据本发明的组合物可具有200至2000Pa.s,优选1000至1800Pa.s的粘度。

[0156] 根据本发明的组合物的粘弹性可以用具有锥体/板几何结构(1° 锥角/35毫米直径的板)的流变仪(尤其是Haake RS6000)测量。应力为5Pa下进行应变扫描,和测量弹性模量 G' (以Pa计)和移相角 δ (以 $^\circ$ 计)。

[0157] 制备根据本发明的无菌和可注射的组合物的方法

[0158] 如上述的,本发明还涉及一种制备无菌和可注射的组合物,特别是软组织填充物组合物,所述方法至少包括以下步骤:

[0159] a) 提供透明质酸或其盐的至少一种凝胶,所述透明质酸选自于交联的透明质酸形式、非交联的透明质酸形式和它们的混合物;

[0160] b) 向所述透明质酸的凝胶加入至少甲哌卡因或其盐作为麻醉剂;和

[0161] c) 将步骤b)中获得的混合物灭菌。

[0162] 根据优选的实施方案,甲哌卡因或其盐被加入到透明质酸的可注射形式。

[0163] 换言之,在步骤a)中所考虑的透明质酸的凝胶,已表现出一定浓度的透明质酸,交联剂残留,如果存在,和与可注射应用兼容的生理学的和/或pH条件,特别是在上面考虑的应用领域中。

[0164] 这样,显著降低了通过施加如上述定义的额外的纯化步骤影响透明质酸和甲哌卡因混合物中透明质酸的稳定性的风险。

[0165] 混合物有利地仅经历一个灭菌步骤。该步骤优选在以其输送设备(通常是注射器,如下文中定义的)中已经包装的混合物上进行。

[0166] 有利的是,灭菌步骤可以通过热装置进行。

[0167] 有利的是,灭菌在120至140 $^\circ$ C的温度下进行。

[0168] 特别是,灭菌步骤可以在 $T^\circ\text{C} \geq 121^\circ\text{C}$ 高压锅内进行(湿热),获得 $F_0 > 15$ (灭菌值)。

[0169] 在这方面,如上述的,根据本发明的组合物特别有利的在于,它对该灭菌步骤显示非常有趣的高电阻。

[0170] 事实上,如在实施例1和2中所示的,对于根据本发明的组合物由灭菌产生的 G' 的损失低于含有多利多卡因而不是甲哌卡因的组合物。

[0171] 根据一个具体的实施方案,根据本发明的透明质酸的凝胶的制备方法可以进一步包括步骤d),由如下组成:加入不同于甲哌卡因或其盐的另外的麻醉剂或其盐,如上述的,优选利多卡因或其盐,所述步骤d)在步骤b)之前,同时和/或之后进行。

[0172] 当步骤a)中考虑的凝胶包含交联的透明质酸形式时,该后者可预先从未交联的透明质酸的形式获得。

[0173] 该网状可通过使用至少一种交联剂的常规方式进行,如上述的。

[0174] 待交联的包含交联剂和透明质酸的含水混合物有利地在进行交联之前均匀化。

[0175] 该操作的目的尤其是为含水介质中透明质酸或其盐的完全水合和均匀化,从而有助于优化预期的透明质酸凝胶的性能。当透明质酸具有高的分子量时,该均匀化步骤更加重要,因为这样的化合物的水合易于导致形成高粘度溶液,其内常常观察到团聚的出现。

[0176] 该操作的目的也是为了使混合物内的交联剂完全均匀化,以便随后保证均匀交联反应。

[0177] 当得到的溶液被均匀地着色,没有团聚,且具有均匀的粘度时,均匀化被认为是令人满意的。均匀化可有利地在温和的操作条件下进行,以防止透明质酸链的降解。

[0178] 该均匀化步骤的持续时间取决于透明质酸或其盐的性质,特别是其分子量和浓度,取决于含水介质内的操作条件和取决于所用的均匀化设备,通常地允许温和的机械搅拌的设备。

[0179] 优选地,均匀化步骤可以发生在小于200分钟,优选小于150分钟,甚至15至100分钟的时间内。

[0180] 交联反应的目的是创建透明质酸链之间的桥梁,使得可能从粘稠溶液得到稠密的固体三维网络。

[0181] 为了促进交联反应所采用的具体条件可取决于透明质酸的分子量,取决于含水介质和取决于交联剂的性质。一般来说,该网状可通过使如上述的包含非交联的透明质酸和至少一种交联剂与触发元素或刺激物接触而实现,诸如例如通过加热或暴露于UV,或甚至通过使混合物与催化剂型的材料接触。

[0182] 这样的触发元素的选择属于本领域技术人员的一般知识。

[0183] 在本发明的情况下,该触发元素有利地代表是施加到“非交联的透明质酸/含水介质/交联剂”混合物上的温度的增加。

[0184] 交联反应特别适宜的温度为35℃至60℃,优选45℃至55℃,且更好地是48℃至52℃。

[0185] 交联程度还取决于交联时间和施加到“非交联的透明质酸/含水介质/交联剂”混合物上的温度。时间越长,交联程度越高,然而不超过透明质酸无降解风险的最佳效果。

[0186] 因此,在35℃至60℃的温度下,交联反应可进行30至300分钟,优选100至200分钟,且更好地是150至190分钟的时间。

[0187] 优选地,调整交联条件以获得使交联的透明质酸凝胶以粘的,粘弹性凝胶,甚至是固体凝胶形成的交联程度。

[0188] 停止交联反应需要将交联的凝胶或,在交联过程中,甚至是含有它的容器,暴露于适合于停止交联的条件或暴露于能够停止各种透明质酸链之间形成键的条件。

[0189] 例如,在将用于刺激交联过程的热条件方面,交联可以被停止:

[0190] -通过简单地将容器从恒温浴去除并冷却至室温;

[0191] -通过将容器置于冷水浴中,优选地在低于室温的温度下,直至所述容器内的温度接近室温;或甚至

[0192] -通过从所述容器提取出凝胶。

[0193] 根据一个具体的实施方案,均匀化和交联可以在至少部分地由可变形壁划定的密封腔内进行,优选在可变形的袋内做,其至少手动触诊地可变形,如尤其在WO 2010/131175中描述的。

[0194] 在交联步骤结束时所获得的凝胶通常不能直接注射,特别是因为它的高透明质酸浓度和/或可能存在的交联剂残留,或因为与上面考虑的应用领域中的用于不兼容的其生理学上的和/或pH条件。

[0195] 此外,一些凝胶可能尤其具有如向患者注射时太高的刚度。因此,可以进行本领域技术人员已知的一些另外的步骤以获得可注射的水凝胶。尤其是,需要中和和扩展该凝胶

的步骤,以便赋予它其植入物质量。然后拉伸和水合透明质酸网络的链,同时pH值被调整为皮肤的pH值。

[0196] 根据本领域技术人员的实际知识,还可进行保护和再稠密化凝胶的步骤进一步提高植入物的质量。该凝胶必须是通过在与那些注射的介质相当量的盐存在下生理学地配制的。

[0197] 为了甚至更高的纯度,还可进行另外的纯化步骤。

[0198] 有利的是,在可注射的透明质酸的该制备过程结束,就在如上述的灭菌步骤之前时加入甲哌卡因或其盐,及另外的麻醉剂(出现的情况)。

[0199] 根据一个具体的实施方案,可使用加入的甲哌卡因和可选的另外的麻醉剂的水凝胶以在可控大气条件下填充注射器,所述注射器然后可能经历灭菌步骤,优选热灭菌步骤,如上面定义的。

[0200] 组合物的施用

[0201] 可以使用任何本领域已知方法注射根据本发明的组合物。

[0202] 特别是,本发明的组合物可以通过适用于表皮内和/或皮内和/或皮下的注射设备施用。

[0203] 本发明的组合物还可通过适用于牙龈、关节和/或眼内区域的注射设备施用。

[0204] 注射设备,尤其是当本发明组合物通过适用于表皮内和/或皮内和/或皮下的注射设备施用时,可以选自于注射器、一套微量注射器、激光设备、液压设备、注射枪、无针注射设备、具有微针的针筒。

[0205] 优选地,注射设备可以选自于注射器或一套微量注射器。

[0206] 在另一个实施方案中,注射设备能适应美塑疗法技术。

[0207] 美塑疗法是通过表皮内和/或皮内和/或皮下活性产品的治疗技术。

[0208] 根据本发明的表皮内和/或皮内和/或皮下施用是在表皮区、真皮表皮或真皮中注入本发明的组合物。

[0209] 注射设备可以包括任何常规施用的注射如皮下注射针或插管。

[0210] 根据本发明的针或插管可以具有18至34G,优选25至32G的直径,和4至70mm,优选4至25mm的不同长度。

[0211] 针或插管优选是一次性的。

[0212] 有利的是,针或插管与注射器或其他能够通过针或插管递送所述可注射的组合物的设备相连。根据一个实施方案,导管可以插入在针/插管和注射器之间。

[0213] 在已知的方式中,注射器可以由执业医师或由注射器固定器作为注射针手动操作。

[0214] 在整个说明书中,包括权利要求书,表述“包含一个”应被理解为与“包含至少一个”同义,除非另有明确说明。

[0215] 表述“…至…”“范围从…到…”应被理解为指包括极限值,除非另有说明。实施例:

[0216] 材料和方法:

[0217] 本文对组合物的粘弹性的测量定义后的程序适用于以下实施例。

[0218] 组合物的粘弹性可以用具有锥体/板几何结构(1°锥角/35mm直径的板)的流变仪(尤其是Haake RS6000)测量。应力为5Pa下进行应变扫描,和测量弹性模量G' (以Pa计)和移

相角 δ (以 $^{\circ}$ 计)。

[0219] 实施例1:使用非交联的透明质酸制备根据本发明的组合物的程序和关于其对灭菌的稳定性的分析

[0220] 混合3g透明质酸(1.5MDa,)和197g磷酸盐缓冲液(如在FR 2 979 539中定义的)。

[0221] 制备程序如下:

[0222] 1.在密封容器(Nalgene罐)中室温下三维均匀化混合物“透明质酸+磷酸盐缓冲液”至少20小时;

[0223] 2.将得到的非交联的凝胶分离为2等值部分(以下称为部分A1和A2);

[0224] 3.对于部分A1,加入甲哌卡因(磷酸盐缓冲液中30重量%)的溶液的凝胶1重量%和0.4重量%的1%的NaOH溶液;或

[0225] 4.对于部分A2,加入利多卡因(磷酸盐缓冲液中30重量%)的溶液的凝胶1重量%和0.4重量%的1%的NaOH溶液;和

[0226] 5.均匀化,包装在1mL注射用注射器中并灭菌($F_0 > 15$)。

[0227] 结果:

[0228] 下表给出所得的水凝胶的弹性模量 G' (以Pa计)和挤压力 F (N)的值。

<u>部分 A1</u>		动态振荡流变		在 12.5 mm/min 下 $F(N)$
		$F=5\text{ Hz}$	$F=1\text{ Hz}$	Ser Schott 1 mL
		G' (Pa)	G' (Pa)	针 TSK HPC 30 G : 120347
甲哌卡因 0.3 %	非灭菌的	103.3	36.3	9
	灭菌的	45.0	9.6	9
	灭菌损失 (以%计)	<u>56.4</u>	<u>73.5</u>	

[0230] 按如下计算对于 G' 在 $F=5\text{Hz}$ 下的灭菌损失:

[0231] $(103.3-45.0)/103.3=\underline{56.4}(\text{en}\%)$

<u>部分 A2</u>		动态振荡流变		在 12.5 mm/min 下 $F(N)$
		$F=5\text{ Hz}$	$F=1\text{ Hz}$	Ser Schott 1 mL
		<u>G' (Pa)</u>	<u>G' (Pa)</u>	针 TSK HPC 30 G : <u>120347</u>
利多卡因 0.3 %	非灭菌的	105.9	37.4	9
	灭菌的	36.7	7.0	9
	灭菌损失	<u>65.4</u>	<u>81.2</u>	

[0233]		(以%计)			
--------	--	-------	--	--	--

[0234] 根据上述情况,因此显示,使用甲哌卡因相比于使用利多卡因的包含未交联的透明质酸的组合物对灭菌步骤的稳定性至少相当。

[0235] 用甲哌卡因的结果甚至显著更好。

[0236] 实施例2:使用交联的和非交联的透明质酸制备根据本发明的组合物的程序和关于其对灭菌的稳定性的分析

[0237] 使用8g透明质酸(4MDa),58.7g 1%的氢氧化钠(NaOH)和0.6g丁二醇二缩水甘油醚(BDDE)。在52℃下由引发剂引发交联反应反应3小时。

[0238] 制备程序如下:

[0239] 1.在密封且可变形的容器中(如在专利申请W0 2010/131175中考虑的袋)室温下在约1H30过程中均匀化混合物“透明质酸+NaOH 1%”以得到完全均匀的粘稠溶液;

[0240] 2.向容器中加入交联剂(BDDE),在室温下再均匀化大约20min;

[0241] 3.在52℃下培养含有“透明质酸/氢氧化钠1%/BDDE”的粘稠溶液的容器3小时以引发交联步骤;

[0242] 4.在磷酸盐缓冲液(如FR 2 979 539中定义的)中中和、溶胀、均匀化所得固体(交联的透明质酸的溶液),并加入含有4g的HA4MDa和668g补充磷酸盐缓冲液的非交联的凝胶,以获得具有11mg/g透明质酸的水凝胶,pH约为中性;

[0243] 5.在48小时内通过透析纯化,然后在罐均匀化中收集纯化的凝胶;

[0244] 6.筛分全部凝胶(230μm)

[0245] 7.将收集的凝胶分离成两部分(部分B1和B2);

[0246] 8.并入甲哌卡因(介质磷酸盐缓冲液中30重量%)的溶液的凝胶1重量%和0.4重量%的1%的NaOH溶液(=部分B1);

[0247] 9.并入利多卡因(介质磷酸盐缓冲液中30重量%)的溶液的凝胶1重量%和0.4重量%的1%的NaOH溶液(=部分B2);

[0248] 10.均匀化,包装在1mL注射用注射器中并灭菌。

[0249] 结果:

[0250] 下表给出所得的水凝胶的弹性模量G' (以Pa计)和挤压力F(N)的值。

[0251]

部分 B1		动态振荡流变	在 12.5 mm/min 下 F (N)
		F= 1 Hz	Ser Schott 1 mL
		G' (Pa)	针 TSK HPC 30 G : 120347
甲哌卡 因 0.3 %	非灭菌的	20.4	10
	灭菌的	8.1	10
	灭菌损失 (以% 计)	60.3	

[0252]

部分 B2		动态振荡流变	在 12.5 mm/min 下 F (N)
		F= 1 Hz	Ser Schott 1 mL
		G' (Pa)	针 TSK HPC 30 G : 120347
利多卡 因 0.3 %	非灭菌的	19.2	10
	灭菌的	6.2	10
	灭菌损失 (以% 计)	<u>67.6</u>	

[0253] 如实施例1所示的计算灭菌损失。

[0254] 根据上述情况,因此显示,使用甲哌卡因相比于使用利多卡因的包含交联和未交联的透明质酸的组合物对灭菌步骤的稳定性至少相当。

[0255] 用甲哌卡因的结果甚至更好。

[0256] 实施例3:使用交联的和非交联的透明质酸制备根据本发明的组合物的程序和关于其随时间的稳定性的分析

[0257] 混合10g透明质酸(1.5MDa,) ,73g 1%的氢氧化钠(NaOH)和0.9g丁二醇二缩水甘油醚(BDDE)。然后,在52℃下由引发剂引发交联反应反应3小时。

[0258] 制备程序如下:

[0259] 1.在密封且可变形的容器中(袋)室温下均匀化混合物“透明质酸+NaOH1%”持续约1H30以得到完全均匀的粘稠溶液;

[0260] 2.向容器中加入交联剂(BDDE),且在室温下进一步均匀化大约20min;

[0261] 3.在52℃下培养含有“透明质酸/氢氧化钠1%/BDDE”的粘稠溶液的容器3小时以引发交联步骤；

[0262] 4.在含有2g非交联的透明质酸(1.5MDa)的磷酸盐缓冲液中中和、溶胀、均匀化所得固体(交联的透明质酸的溶液),以获得pH接近中性的25mg/g透明质酸的水凝胶；

[0263] 5.通过透析纯化(在48小时内),然后在脱气装置/均匀化中收集纯化的凝胶；

[0264] 6.并入甲哌卡因(磷酸盐缓冲液介质中30重量%)的溶液的凝胶1重量%和0.4重量%的1%的NaOH溶液；

[0265] 7.均匀化,脱气,包装在1mL注射用注射器中并灭菌(F0>15)。

[0266] 结果：

[0267] 下表给出移相角 δ (°)和挤压力的值。

[0268]	分析	流变振幅扫描（锥体/板）	挤压力，用针 TSK 30G1/2 测量	pH
		δ （°）在 5 Pa 和 1Hz 下测量	F(N), 在 12.5 mm/min	
[0269]			下	
	T0	17.8 ± 2.0	24.2 ± 2.5	7.1
	T0 + 19 月	19.1 ± 2.0	23.1 ± 2.5	7.1

[0270] 得到的凝胶制造日19个月后的结果与最初获得的相当,从而表明凝胶的稳定性。