

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7674529号
(P7674529)

(45)発行日 令和7年5月9日(2025.5.9)

(24)登録日 令和7年4月28日(2025.4.28)

(51)国際特許分類		F I	
C 0 8 B	37/08 (2006.01)	C 0 8 B	37/08 Z
A 6 1 K	31/728(2006.01)	A 6 1 K	31/728
A 6 1 L	27/20 (2006.01)	A 6 1 L	27/20
A 6 1 L	27/54 (2006.01)	A 6 1 L	27/54
A 6 1 P	19/02 (2006.01)	A 6 1 P	19/02
請求項の数 10 (全15頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2023-577285(P2023-577285)	(73)特許権者	513243723
(86)(22)出願日	令和4年6月15日(2022.6.15)		メディトックス インク .
(65)公表番号	特表2024-521484(P2024-521484 A)		大韓民国 2 8 1 2 6 チュンチョンブク
(43)公表日	令和6年5月31日(2024.5.31)		- ド , チョンジュ - シ , チョンウォン
(86)国際出願番号	PCT/KR2022/008447		- グ , オチャン - ウブ , カクーリ 1 -
(87)国際公開番号	WO2022/265380	(74)代理人	ギル 7 8
(87)国際公開日	令和4年12月22日(2022.12.22)		110002077
審査請求日	令和6年1月15日(2024.1.15)		園田・小林弁理士法人
(31)優先権主張番号	10-2021-0078632	(72)発明者	リム , チョン ス
(32)優先日	令和3年6月17日(2021.6.17)		大韓民国 3 0 0 9 2 セジョン - シ ,
(33)優先権主張国・地域又は機関	韓国(KR)	(72)発明者	ヘミル 3 - ロ 9 0 , 2 0 2 - 6 0 3
			ヤン , ヨン チョル
			大韓民国 2 8 1 6 4 チュンチョンブッ
			- ト , チョンジュ - シ , フンドッ - ク
			, オソン - ウッ , ボンサン 1 - ギル ,
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ヒアルロン酸架橋体、及びそれを含む充填剤組成物

(57)【特許請求の範囲】

- 【請求項 1】
- 臨界変形率 (critical strain) が 1 0 % ないし 3 0 % であり、膨潤度 (swelling degree) が 4 0 % ないし 6 0 % であり、平均粒度が 5 0 μ m ないし 1 5 0 μ m の範囲であり、弾性係数 (G ') が 4 0 0 P a ないし 2 , 0 0 0 P a で あり、ヒアルロン酸架橋体。
- 【請求項 2】
- 圧縮力が 1 5 N ・ s ないし 1 0 0 N ・ s である、請求項 1 に記載のヒアルロン酸架橋体。
- 【請求項 3】
- 二官能性エポキシ基を有する架橋剤に架橋されたものである、請求項 1 に記載のヒアルロン酸架橋体。
- 【請求項 4】
- 前記二官能性エポキシ基を有する架橋剤は、 1 , 4 - ブタンジオールジグリシジルエーテル、ポリ (エチレングリコール) ジグリシジルエーテル、ポリ (プロピレングリコール) ジグリシジルエーテル、ポリ (テトラメチレングリコール) ジグリシジルエーテル、ポリグリセロールポリグリシジルエーテル、グリセロールジグリシジルエーテル、トリエチレングリシジルエーテル、トリメチロールプロパントリグリシジルエーテル、エチレングリシジルエーテル、ネオペンチルグリコールジグリシジルエーテル及び 1 , 6 - ヘキサジオールジグリシジルエーテルによってなる群のうちから選択された 1 以上である、請求項 3 に記載のヒアルロン酸架橋体。
- 【請求項 5】

請求項 1 ないし 4 のうちいずれか 1 項に記載のヒアルロン酸架橋体を含む、充填剤組成物。

【請求項 6】

ヒアルロン酸架橋体の濃度が 10 mg / mL ないし 30 mg / mL である、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 7】

架橋されていないヒアルロン酸を追加して含まないものである、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 8】

局所麻酔剤をさらに含むものである、請求項 5 に記載の組成物。

10

【請求項 9】

注射器に充填されているものである、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 10】

顔面部成形、しわ改善、顔面輪郭術、胸成形、胸拡大術、性器拡大、亀頭拡大、尿失禁治療及び関節炎治療によってなる群のうちから選択された 1 以上の用途に使用するためのものである、請求項 5 に記載の組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ヒアルロン酸架橋体、及びそれを含む充填剤組成物に係り、さらに具体的には、高い凝集力及び粘着力を有しながら、膨潤現象が低減されたヒアルロン酸架橋体、及びそれを含む充填剤組成物に関する。

20

【背景技術】

【0002】

ヒアルロン酸 (HA) は、一般的に、高い平均分子量を有する線形多糖類である。ヒアルロン酸は、D - グルクロン酸と N - アセチル - D - グルコサミンとの重合体であり、負電荷を帯びる。ヒアルロン酸は、主に、細胞外基質及び細胞間基質で発見されるが、細胞内にも存在する。そのように、ヒアルロン酸は、身体内にすでに存在する物質であるために、生体適合性を有し、架橋剤などを利用し、架橋されたヒアルロン酸ヒドロゲルを製造しやすいという特性も有している。従って、架橋されたヒアルロン酸を利用したフィラ製品が、GaldermaにおいてRestylane製品として、1990年代に市場にお目見えさせた後、全世界的に汎用されている。

30

【0003】

現在、フィラとして使用されるヒアルロン酸ゲルは、天然ヒアルロン酸を、架橋反応を介し、ネットワークとして化学的に架橋させることによって製造される。天然ヒアルロン酸と、特定の一部架橋されたヒアルロン酸は、それらが水に完全に溶解されるまで、水を吸収するが、架橋されたヒアルロン酸ゲルは、典型的に、それらが飽和されるまで、一定量の水を吸収し、それにより、限定された膨潤度 (swelling degree) を有する。

【0004】

なお、架橋されたヒアルロン酸ゲルを利用したフィラ製品は、単一相 (monophasic) または二性相 (biphasic) を有するものに区分されうる。単一相の架橋されたヒアルロン酸ゲルは、粘性係数 (viscous modulus) が高く、弾性係数 (elastic modulus) が低い。二性相の架橋されたヒアルロン酸ゲルは、粘性係数が低く、弾性係数が高い。単一相架橋されたヒアルロン酸ゲルと二性相架橋されたヒアルロン酸ゲルは、体内においても、異なる特性を有する。例えば、弾性係数が低く、粘性係数が高い単一相架橋されたヒアルロン酸ゲルの場合、凝集力にすぐれ、注入された部位において、離脱される可能性が低い。追加して、水を吸収することができる特性を有しているために、体内においても、続けて周辺の水分を吸収しようとする性質を有する。それにより、単一相架橋されたヒアルロン酸ゲルは、一般的に、体内注入時、注入初期段階に注入された本来の形態を維持することができず、既存に注入された体積に比べ、体積が増大するという短所がある。それと反

40

50

対に、弾性係数は高いが、粘性係数が低い二性相架橋されたヒアルロン酸ゲルは、注入された形態を、小さい体積変化で長期間維持することができるが、注入された部位において、容易に離脱されたり、注入部位に満遍なく分布することができなかつたりする特性を有している。

【 0 0 0 5 】

なお、ヒアルロン酸フィラ施術後、膨潤現象 (swelling) が生じうるが、それは、体内に注入されたヒアルロン酸ゲル成分が、注入部位の周辺組織から体液を吸収し、注入された部位及び周辺部位が腫れる現象を称する。そのような膨潤現象は、注入部位が腫れ上がるという点において、フィラ施術の有り勝ちな副作用のうち一つであり、吸収された水により、ヒアルロン酸ゲルの粘性、弾性及び強度が低下され、フィラの注入効果を落とすという点において、望ましくない現象である。

10

【 0 0 0 6 】

従って、体内注入時、適する粘弾性、及びゲルの強度を維持しながら、注入時、体内において膨潤現象が少ないヒアルロン酸フィラを求める要求が残っている。

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 7 】

本開示内容の一目的は、臨界変形率が 1 0 % ないし 1 0 0 % であり、膨潤度 (swelling degree) が 1 % ないし 1 0 0 % であるヒアルロン酸架橋体を提供することである。

【 0 0 0 8 】

本開示内容の他の目的は、前記ヒアルロン酸架橋体を含む充填剤組成物を提供することである。

20

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 9 】

本開示内容の一態様は、臨界変形率が 1 0 % ないし 1 0 0 % であり、膨潤度 (swelling degree) が 1 % ないし 1 0 0 % であるヒアルロン酸架橋体を提供する。

【 0 0 1 0 】

具体例において、ヒアルロン酸架橋体は、平均粒度が 5 0 μ m ないし 1 5 0 μ m 範囲でもある。

【 0 0 1 1 】

具体例において、ヒアルロン酸架橋体は、弾性係数 (G') が 4 0 0 P a ないし 2 , 0 0 0 P a でもある。

30

【 0 0 1 2 】

具体例において、ヒアルロン酸架橋体は、粘性係数 (G'') が 1 0 0 P a ないし 6 0 0 P a でもある。

【 0 0 1 3 】

具体例において、ヒアルロン酸架橋体は、圧縮力が 1 5 N $\cdot$ s ないし 1 0 0 N $\cdot$ s でもある。

【 0 0 1 4 】

具体例において、ヒアルロン酸架橋体は、注入力が 1 N ないし 5 0 N でもある。

40

【 0 0 1 5 】

具体例において、ヒアルロン酸架橋体は、二官能性エポキシ基を有する架橋剤に架橋される。前記二官能性エポキシ基を有する架橋剤は、1 , 4 - ブタンジオールジグリシジルエーテル、ポリ (エチレングリコール) ジグリシジルエーテル、ポリ (プロピレングリコール) ジグリシジルエーテル、ポリ (テトラメチレングリコール) ジグリシジルエーテル、ポリグリセロールポリグリシジルエーテル、グリセロールジグリシジルエーテル、トリエチレンジグリシジルエーテル、トリメチロールプロパントリグリシジルエーテル、エチレンジグリシジルエーテル、ネオペンチルグリコールジグリシジルエーテル及び 1 , 6 - ヘキサジオールジグリシジルエーテルによってなる群のうちから選択された 1 以上のものでもある。

50

【 0 0 1 6 】

本開示内容の他の態様は、前記ヒアルロン酸架橋体を含む充填剤組成物を提供する。

【 0 0 1 7 】

具体例において、充填剤組成物中のヒアルロン酸架橋体濃度は、 10 mg/mL ないし 30 mg/mL でもある。

【 0 0 1 8 】

具体例において、充填剤組成物は、架橋されていないヒアルロン酸を追加して含まないのである。

【 0 0 1 9 】

具体例において、充填剤組成物は、局所麻酔剤をさらに含むものでもある。

10

【 0 0 2 0 】

具体例において、充填剤組成物は、注射器に充填されてもいる。

【 0 0 2 1 】

具体例において、充填剤組成物は、顔面部成形、しわ改善、顔面輪郭術、胸成形、胸拡大術、性器拡大、亀頭拡大、尿失禁治療及び関節炎治療によってなる群のうちから選択された1以上の用途に使用されうる。

【 発明の効果 】

【 0 0 2 2 】

本開示内容による架橋されたヒアルロン酸ゲルは、高い凝集力及び粘着力を有するので、注入部位からの離脱なしに、完全に維持されると共に、注入後、膨潤現象が低減されることを特徴とする。

20

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 3 】

【 図 1 】 架橋されたヒアルロン酸試料を無毛マウスに注入した後、注入されたヒアルロン酸ゲルの体積を、注入後、経時的に示した図面である。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 4 】

本開示内容は、一般的に、臨界変形率 (critical strain) が 10% ないし 100% であり、膨潤度 (swelling degree) が 1% ないし 100% であるヒアルロン酸架橋体を提供する。

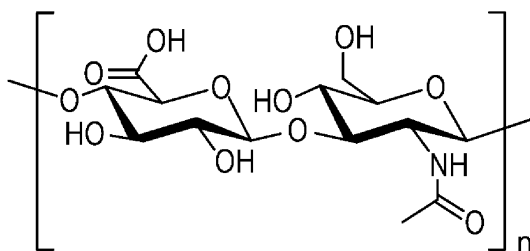
30

【 0 0 2 5 】

本明細書において用語「ヒアルロン酸 (hyaluronic acid)」は、式1の化学式を有するヒアルロナン (hyaluronan)、ヒアルロネート (hyaluronate)、またはその薬剤学的に許容可能な塩を示す：

【 0 0 2 6 】

【 化 1 】



40

式1でnは、繰り返し単位 (repeating unit) 数である。前記ヒアルロン酸は、任意の起源に由来するものでもある。該ヒアルロン酸は、例えば、動物または非動物体に由来するものでもある。前記ヒアルロン酸は、またバクテリアに由来するものでもある。前記バクテリアは、ストレプトコッカス (Streptococcus) 属由来のものでもある。前記ストレプトコッカス (Streptococcus) 属バクテリアは、Streptococcus equi、S. pyogenes またはS. zooepidemicusでもある。前記ヒアルロン酸は、また商業的に購入されたもの

50

でもある。

【0027】

前記ヒアルロン酸の分子量は、1,000,000 Da ないし 2,500,000 Da、例えば、1,000,000 Da ないし 2,000,000 Da、1,500,000 Da ないし 2,500,000 Da、または 1,500,000 Da ないし 2,000,000 Da でもある。

【0028】

前記ヒアルロン酸の極限粘度 (intrinsic viscosity) は、 $1.0 \text{ m}^3 / \text{kg}$ ないし $5.0 \text{ m}^3 / \text{kg}$ 、例えば、 $1.5 \text{ m}^3 / \text{kg}$ ないし $4.0 \text{ m}^3 / \text{kg}$ 、 $2.5 \text{ m}^3 / \text{kg}$ ないし $4.0 \text{ m}^3 / \text{kg}$ 、 $2.5 \text{ m}^3 / \text{kg}$ ないし $3.5 \text{ m}^3 / \text{kg}$ 、または $2.5 \text{ m}^3 / \text{kg}$ ないし $3.0 \text{ m}^3 / \text{kg}$ でもある。

10

【0029】

本明細書において用語「ヒアルロン酸架橋体」は、架橋されたヒアルロン酸を意味するものであり、「ヒアルロン酸架橋体」、「架橋されたヒアルロン酸」、「架橋ヒアルロン酸」は、相互交換可能に使用される。

【0030】

本明細書において用語「膨潤 (swelling)」は、架橋されたヒアルロン酸ゲルが水を吸収して膨れる現象を称する。

【0031】

本明細書において用語「膨潤度 (swelling degree)」は、架橋されたヒアルロン酸を水に浸漬させたとき、膨潤される以前対比の、完全に膨潤された架橋されたヒアルロン酸ゲル重量の比率を称する。該膨潤度は、例えば、下記測定方法セクションに記載された算式によって得られる。

20

【0032】

本明細書において用語「臨界変形率 (critical strain)」は、剪断変形率を物質に加えたとき、線形粘弾性的 (linear viscoelastic) 性質を含む物質内部構造の破壊を起こすのに必要な変形率値を確認する測定指標である。一般的に、架橋されたヒアルロン酸ゲルの場合、架橋されたヒアルロン酸ゲル、または架橋されたヒアルロン酸ゲルと溶液とからなっており、それら内部には、水素結合、共有結合、ファンデルワールス結合及び物理的結合などによる多様な内部相互作用力が存在する。該内部相互作用は、ゲル・ゲル間、ゲル・溶液間または溶液・溶液間の相互作用に分類され、溶液の場合、分子の流動性が、ゲルに比べて高く、接触面積が、ゲルに比べて小さいために、相互作用の大きさは、ゲル・ゲル > ゲル・溶液 > 溶液・溶液と見ることができる。ゲル・ゲル形態だけ存在する単一相の場合、比較的高い相互作用を有するので、さらに高い変形率において、内部構造が破壊されると予想されうる。なお、二性相の場合、ゲルと溶液とが共に存在する形態であるので、ゲル・ゲル相互作用は減ることになり、一方、ゲル・溶液相互作用及び溶液・溶液相互作用がさらに大きくなるために、内部構造の相互作用の総合が、単一相と比較したとき、小さくなると予想されるので、さらに低い変形率において、内部構造が破壊されると予想されうる。

30

【0033】

また、類似している現状の結果として、一般的な単一相フィラ製品の場合、凝集力が強い特性を有することになり、二性相フィラ製品の場合、凝集力が、単一相フィラ対比で、相対的に弱い形態を示すと予想されうる。凝集力特性は、生体内において、いかにどの注入物が良好に塊になっているかということに係わる予想指標として使用されうる特性である。それを検証するために、二性相フィラ製品と、単一相フィラ製品との凝集力程度を測定する指標である粘着力数値で比較した結果、単一相製品が二性相製品に比べ、高い粘着力数値を示しているということを確認した。

40

【0034】

本開示内容の一樣相によるヒアルロン酸架橋体は、従来の単一相ヒアルロン酸フィラのように、高い臨界変形率を有する一方、膨潤度が低いという点において、予期されえない

50

特性を示すものである。また、本開示内容のヒアルロン酸架橋体は、従来の単一相フィラと類似する程度に、高い凝集力、及び高い粘着力を有するので、注入部位において、容易に離脱されないと共に、高い弾性係数（ G' ）により、注入された形態を長期間維持することができるということを特徴とする。

【0035】

本開示内容によるヒアルロン酸架橋体は、(i) 臨界変形率が、10%ないし100%、例えば、10%ないし50%、10%ないし30%、または10%ないし40%、例えば、10%ないし50%、例えば、10%ないし30%でありながら、膨潤度が、1%ないし100%、例えば、1%ないし90%、1%ないし80%、1%ないし70%、1%ないし60%、1%ないし50%、10%ないし60%、20%ないし60%、30%ないし60%、40%ないし60%、40%ないし50%、50%ないし60%でもある。

10

【0036】

前記ヒアルロン酸架橋体は、(ii) 平均粒度（ μm ）が、50 μm ないし150 μm 、例えば、60 μm ないし150 μm 、70 μm ないし150 μm 、80 μm ないし150 μm 、90 μm ないし150 μm 、60 μm ないし140 μm 、60 μm ないし130 μm 、60 μm ないし120 μm 、60 μm ないし100 μm でもある。

【0037】

前記ヒアルロン酸架橋体は、(iii) 弾性係数（ G' ）が、400Paないし2,000Pa、例えば、500Paないし1,900Pa、600Paないし1,800Pa、または600Paないし1,700Paでもある。

20

【0038】

前記ヒアルロン酸架橋体は、(iv) 粘性係数（ G'' ）が、100Paないし600Pa、例えば、120Paないし500Pa、150Paないし450Pa、または160Paないし350Paでもある。

【0039】

前記ヒアルロン酸架橋体は、(v) 圧縮力（compression）が、15N・sないし100N・s、例えば、20N・sないし90N・s、25N・sないし80N・s、または30N・sないし75N・sでもある。

【0040】

前記ヒアルロン酸架橋体は、(vi) 注入力が、1Nないし50N、例えば、3Nないし45N、4Nないし40N、または7Nないし35Nでもある。

30

【0041】

一具体例において、前記ヒアルロン酸架橋体は、前記(i)の要件を充足させながら、前述の(ii)ないし(vi)の要件のうち、1、2、3、4または5の要件を充足させるものでもある。

【0042】

本開示内容によるヒアルロン酸架橋体は、例えば、以下の段階を含む工程によって製造されたものでもあるが、それらに制限されるものではない：

(a) アルカリ水溶液に溶解されたヒアルロン酸に架橋剤を添加して架橋結合を行う段階；

40

(b) 架橋されたゲルに対し、透析、洗浄及び／または膨脹を進める段階；

(c) 粉碎する段階；及び

(d) 注射器に充填する段階。

【0043】

前記工程段階において、段階(b)ないし段階(d)の順序は、変更されうるか、あるいは2回以上繰り返されうる。例えば、粉碎段階は、(c)段階以外に、段階(a)と段階(b)との間に追加して実施されうるか、ただ(c)段階でのみ実施されうるか、あるいは(c)段階の代わりに、段階(a)と段階(b)とにおいてのみ実施されうる。

【0044】

また、前述の段階(a)ないし段階(d)以外に、他の追加段階、例えば、下記のような

50

な麻酔剤を添加する段階、及び／または高温蒸気滅菌を実施する段階を追加して含むものでもある。例えば、該麻酔剤を添加する段階が、前記段階（b）と段階（c）との間、または前述の段階（c）と段階（d）との間に追加されうる。高温蒸気滅菌を実施する段階は、前述の段階（c）と段階（d）との間、または段階（d）以後に追加されうる。

【0045】

前記段階（a）において、アルカリ水溶液は、NaOH、KOH、望ましくは、NaOH水溶液でもあるが、それに制限されるものではない。NaOH水溶液が使用される場合、濃度は、0.1%（w/w）ないし2.5%（w/w）、例えば、0.1%（w/w）ないし2.0%（w/w）、または0.5%（w/w）ないし1.0%（w/w）でもある。

10

【0046】

また、前記アルカリ水溶液に溶解されたヒアルロン酸の濃度は、10%（w/w）ないし25%（w/w）、例えば、10%（w/w）ないし20%（w/w）、または10%（w/w）ないし15%（w/w）でもある。

【0047】

前記段階（a）において、架橋剤は、多官能基を有するものでもある。前記架橋剤は、二官能性エポキシ基を有するものでもある。前記二官能性エポキシ基を有する架橋剤は、1,4-ブタンジオールジグリシジルエーテル、ポリ（エチレングリコール）ジグリシジルエーテル、ポリ（プロピレングリコール）ジグリシジルエーテル、ポリ（テトラメチレングリコール）ジグリシジルエーテル、ポリグリセロールポリグリシジルエーテル、グリセロールジグリシジルエーテル、トリエチレンジグリシジルエーテル、トリメチロールプロパントリグリシジルエーテル、エチレンジグリシジルエーテル、ネオペンチルグリコールジグリシジルエーテル及び1,6-ヘキサジオールジグリシジルエーテルによってなる群のうちから選択された1以上のものでもある。

20

【0048】

また、前記架橋反応は、常温以上、例えば、20℃ないし40℃、25℃ないし40℃、または30℃ないし40℃でもあり、反応時間は、24時間以下、例えば、10時間ないし24時間、15時間ないし24時間、または15時間ないし20時間でもある。

【0049】

前記段階（b）において、透析は、透析膜または透析容器において、架橋されたゲルを、所定の緩衝溶液、例えば、NaCl溶液、KOH溶液、PBS溶液などを含む透析溶液と共に混合して透析し、洗浄し、透析を経たゲルを膨脹させる段階を称する。前記一連の透析段階、洗浄段階及び膨脹段階は、2回以上繰り返されうる。前記一連の透析段階、洗浄段階及び膨脹段階を介し、未反応架橋剤が除去され、かつ／あるいは架橋されたゲルのpH及び／または浸透圧が調節されうる。

30

【0050】

前記段階（c）において、粉碎は、粉碎器を利用し、1,000ないし10,000rpm、例えば、2,000ないし9,000rpm、3,000ないし8,000rpm、4,000ないし7,000rpm、5,000ないし9,000rpm、または5,000ないし8,000rpmで、60秒以上、例えば、60秒ないし100秒、70秒ないし120秒、80秒ないし140秒、90秒ないし160秒、100秒ないし180秒、120秒ないし240秒間行われうる。

40

【0051】

他の態様は、前述のヒアルロン酸架橋体を含む充填剤（filler）組成物を提供する。

【0052】

前記組成物において、前記架橋されたヒアルロン酸ゲルの最終濃度は、10mg/ml以上、15mg/ml以上、18mg/ml以上、または19mg/ml以上でもある。例えば、前記架橋されたヒアルロン酸の濃度は、10mg/mlないし30mg/ml、12mg/mlないし28mg/ml、14mg/mlないし26mg/ml、16mg/mlないし24mg/ml、16mg/mlないし20mg/ml、または約18mg

50

/ ml でもある。

【 0 0 5 3 】

前記組成物は、架橋されていないヒアルロン酸を追加して含まないものでもある。架橋されていないヒアルロン酸を「追加して含む」というのは、ヒアルロン酸架橋体に、架橋されていないヒアルロン酸を人為的にさらに添加することを意味するものであり、架橋されていないヒアルロン酸を追加して含まないというのは、ヒアルロン酸架橋体に、架橋されていないヒアルロン酸を人為的にさらに添加しないということの意味する。

【 0 0 5 4 】

前記組成物は、麻酔剤をさらに含むものでもある。前記麻酔剤は、局所麻酔剤でもある。前記麻酔剤は、アンブカイン (ambucaine)、アモラノン (amolanone)、アミロカイン (amylocaine)、ベノキシネート (benoxinate)、ベンゾカイン (benzocaine)、ベトキシカイン (betoxycaïne)、ビフェナミン (biphenamine)、ブピバカイン (bupivacaine)、ブタカイン (butacaine)、ブタムベン (butamben)、ブタニリカイン (butanilicaine)、ブテタミン (butethamine)、ブトキシカイン (butoxycaïne)、カルチカイン (carticaine)、クロロプロカイン (chloroprocaine)、コカエチレン (cocaethylene)、コカイン (cocaine)、シクロメチカイン (cyclomethycaine)、ジブカイン (dibucaïne)、ジメチソキン (dimethisoquin)、ジメトカイン (dimethocaine)、ジペロドン (diperodon)、ジサイクロニン (dicyclonine)、エクゴニジン (ecgonidine)、エクゴニン (ecgonine)、エチルクロライド (ethyl chloride)、エチドカイン (etidocaine)、 β -ユーカイン (beta-eucaine)、ユープロシン (euprocine)、フェナルコミン (fenalcomine)、フォルモカイン (formocaine)、ヘキシルカイン (hexylcaine)、ヒドロキシテトラカイン (hydroxytetracaine)、イソブチル p-アミノベンゾエート (isobutyl p-aminobenzoate)、ロイシノカインメシレート (leucinecaine mesylate)、レボキサドロール (levoxadrol)、リドカイン (lidocaine)、メピバカイン (mepivacaine)、メプリルカイン (meprylcaine)、メタブトキシカイン (metabutoxycaïne)、メチルクロライド (methyl chloride)、ミルテカイン (myrtecaine)、ネパイン (naepaine)、オクタカイン (octacaine)、オルトカイン (orthocaine)、オキセサゼイン (oxethazaine)、パレトキシカイン (parethoxycaïne)、フェナカイン (phenacaine)、フェノール (phenol)、ピペロカイン (piperocaine)、ピリドカイン (piridocaine)、ポリドカノール (polidocanol)、プラモキシン (pramoxine)、フリロカイン (prilocaine)、プロカイン (procaine)、プロパノカイン (propanocaine)、プロパラカイン (proparacaine)、プロピボカイン (propipocaine)、プロボキシカイン (propoxycaïne)、シュードココカイン (psuedococaine)、ピロカイン (pyrrocaine)、ロピバカイン (ropivacaine)、サリチルアルコール (salicyl alcohol)、テトラカイン (tetracaine)、トリカイン (tolycaine)、トリメカイン (trimecaine)、ゾラミン (zolamine)、及びそれらの塩によってなる群のうちから選択されるもののうち 1 種以上でもあるが、それに制限されるものではない。

【 0 0 5 5 】

前記組成物は、タンパク質、ヒアルロン酸と異なるグリコサミノグリカン及びヒドロキシプロピルメチルセルロースによって構成された群のうちから選択された薬剤学的に活性である物質は、含まないものでもある。

【 0 0 5 6 】

前記組成物は、注射器に充填されているものでもある。

【 0 0 5 7 】

前記組成物は、個体において、組織修復のために使用されるものでもある。

【 0 0 5 8 】

前記組成物において、前記個体は、哺乳動物でもある。前記哺乳動物は、ヒト、犬、猫、牛、豚、ラットまたは羊でもある。

【 0 0 5 9 】

前記組成物は、顔面部成形、しわ改善、顔面輪郭術、胸成形、胸拡大術、性器拡大、亀

10

20

30

40

50

頭拡大、尿失禁治療及び関節炎治療によってなる群のうちから選択された1以上の用途に使用するためのものでもある。

【0060】

前記組成物は、薬剤学的に許容可能な担体、賦形剤及び希釈剤をさらに含むものでもある。前記担体は、例えば、水またはバッファを含むものでもある。前記バッファは、溶液のpHが、前記組成物の成分の添加と共に、ほとんど変化しないようにするものでもある。前記組成物は、水性液体組成物でもある。前記組成物は、水性緩衝された組成物でもある。前記水性緩衝された組成物のpHは、生理的pH範囲、例えば、約6.0から8.0までの間でもある。前記pHは、HCl、Na₂CO₃またはNaOHのような適切な酸または塩基を添加することによって調整されうる。一具体例において、前記水性緩衝された組成物は、リン酸緩衝食塩水(PBS: phosphate buffered saline)を含むものでもある。他の具体例において、前記水性緩衝された組成物は、トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン(Tris)を含むものでもある。一部具体例において、塩化ナトリウム、塩化カルシウム及び塩化カリウムのような、追加的な溶質(solute)がオスモル濃度(osmolality)及びイオン濃度を調整するために添加されうる。

10

【0061】

前記組成物は、滅菌されたものでもある。

【0062】

前記組成物は、容器に含まれたものでもある。前記容器は、注射器でもある。前記組成物は、使用前、事前に注射器に充填されたものでもある。前記組成物は、事前充填された注射器に投与されるものでもある。

20

【0063】

他の態様は、前述の組成物を含む装置を提供する。前記装置は、事前充填された注射器でもある。前記装置は、滅菌されたものでもある。

【0064】

他の態様は、前述の事前充填された注射器を含むキットを提供する。前記キットは、前記組成物を投与することに係わる情報を含むマニュアルを含むものでもある。

【0065】

他の態様は、治療学的に有効量の前述の組成物を個体に投与する段階を含む、個体の組織を充填する方法を提供する。前記方法は、個体組織の増強、修復または強化、あるいは体腔の充填のためのものでもある。この観点において、体積増強(volume augmentation)は、フィラ組成物を形成する成分による体積が長く持続される増加でもある。前記フィラ組成物を形成する成分は、迅速な拡散を経ないものでもある。前記方法において、「組成物」及び「個体」については、前述の通りである。前記投与は、真皮内のような皮膚、または関節腔内に投与することでもある。前記方法において、前記投与は、注射器、例えば、事前充填された注射器を介し、皮膚、例えば、真皮内に投与することでもある。前記方法において、前記投与は、1回当たり0.1ないし50ml、0.5ないし30ml、0.5ないし20ml、0.5ないし15ml、または0.8ないし12mlを投与するものでもある。前記方法において、前記投与は、前記組成物を3ヵ月以上の期間当たり1回、4ヵ月以上の期間当たり1回、5ヵ月以上の期間当たり1回、6ヵ月以上の期間当たり1回、12ヵ月以上の期間当たり1回、または18ヵ月以上の期間当たり1回投与するものでもある。

30

40

【0066】

以下、本発明について、実施例を介してさらに詳細に説明する。しかしながら、それら実施例は、本発明について例示的に説明するためのものであり、本発明の範囲は、それら実施例に限定されるものではない。

【0067】

実施例

測定方法

(1) 臨界変形率(critical strain)測定方法

50

臨界変形率は、変形スウィープテスト (strain-sweep test) によって測定した。具体的には、DHR - 2 レオメータ機器 (TA Instruments社) を駆動させた。該変形スウィープテストは、機器温度を 25 に設定し、直径 25 mm ジオメトリを装着させ、補正 (calibration) を行った。適量の試料を、前記機器のペルチェプレート上部と下部ジオメトリとの間の中央に積載した。試料は、不足しないように、十分な量を過積載 (over-loading) させ、ジオメトリ下部面積外の残余物を削り取っても、該ジオメトリの横面及び上面に付かないほどの適量を積載させた。該ジオメトリを、設定した間隔まで下げた後、該試料が該ジオメトリ下に良好に満たされているか否かということを確認した後、該ジオメトリの外にある残余試料を削り出して除去した (trimming)。その後、該ジオメトリを利用し、該試料に、0.1 ~ 1,000 % までの変形 (strain) を加えたとき、各変形率で測定される弾性係数値を測定した。該レオメータで測定された測定値の中から、変形率 % (strain (%)) と弾性係数 (Pa : storage modulus) との値を取り、GraphPad Software社のGraphPad Prism (Prism8, version 8.4.3 (686)) を使用し、プログラムにおいて内蔵されたtransform機能でもって、変形率 % (strain (%)) 値を $\log(\text{strain}(\%))$ に変換し、得られた値において、最小値の変形率 % (strain (%)) を容易に確認するために、プログラムに内蔵されたsmooth機能でもって、 $\log(\text{strain}(\%))$ 値に対する弾性係数 (Pa : storage modulus) の変化量に対するsmoothなグラフを算出した後、transform機能でもって、 $\log(\text{strain}(\%))$ を取る前の値である変形率 % (strain (%)) に変換した。前記過程で得られたデータから、変形率 % (strain (%)) による弾性係数 (Pa : storage modulus) 値の変化量を確認することができ、このとき、最小弾性係数値の変形率 % (strain (%)) を臨界変形率と定義した。

【0068】

(2) 膨潤度測定方法

Conical tube にヒアルロン酸ゲルを添加して秤量し、初期重量を記録した。前記Conical tube に PBS 溶液 (pH 7.4) を 5.0 mL 添加し、1 分間渦巻き (vortex) を進行させ、均質に混合した後、完全に密封し、室温で 24 時間インキュベーションし、ヒアルロン酸ゲルを膨潤させた。続けて、前記Conical tube 内の膨潤されたヒアルロン酸ゲルに、Alcian Blue solution を 200 μ L 添加し、1 分間の渦巻き (vortex) 後、室温で 30 分間インキュベーションし、ヒアルロン酸ゲルを染色した。それを 14,000 g で 4 で 10 分間遠心分離し、ヒアルロン酸ゲルを沈澱させた後、上澄み液をピペットで用心深く除去した。続けて、前記ヒアルロン酸ゲルの染料を除去するために、PBS 溶液 (pH 7.4) を 5.0 mL 添加し、1 分間の渦巻き (vortex) 後、さらに 14,000 g で 4 で 10 分間遠心分離した。上澄み液をピペットで用心深く除去した後、PBS 添加及び遠心分離の手続きを追加して 2 回さらに遂行した。そのように得られた膨潤されたヒアルロン酸ゲルを秤量し、以下の算式により膨潤度を計算した：

$$\text{膨潤度}(\%) = \frac{\text{膨潤されたヒアルロン酸ゲル重量} - \text{膨潤前ヒアルロン酸ゲル重量}}{\text{膨潤前ヒアルロン酸ゲル重量}} \times 100$$

(3) 平均粒度測定方法

平均粒度測定は、Microtrac社のParticle Size Analyzer S3500を利用して行う。平均粒度測定は、溶媒に試料を添加して行い、レーザ回折分析法を利用して行い。該溶媒は、蒸留水を利用して測定する。遂行前、試料投入口を十分に該蒸留水を利用して洗浄した後、該蒸留水の屈折率、及び該試料の屈折率を、それぞれ 1.33、1.37 として入力し、該試料の類型を、透明であって不規則な形態を有する粒子として設定する。測定前、機器試料投入口に蒸留水を満たした後、該試料をチューブなどに投入した後、過量の蒸留水を入れて希釈した後、ボルテックス (vortex) などを利用し、該試料を十分に分散させた後、機器に投入して測定を実施する。測定結果値のうち、平均粒度サイズ (D50) をデータとして使用した。

【0069】

(4) 粘弾性測定方法

DHR - 2 レオメータ機器 (TA Instruments) を駆動させた。粘弾性テストは、機器温度を 25 に設定し、直径 40 mm ジオメトリを装着させ、補正を行った。適量の試料を、前記機器のペルチェプレート上部と下部ジオメトリとの間の中央に積載させた。該試料が不足しないように、十分な量を過積載させ、該ジオメトリの横面及び上面に付かないほどの適量を積載させた。該ジオメトリを、設定した間隔まで下げた後、該ジオメトリ下に試料が満たされているか否かということを確認した後、該ジオメトリの外にある残余試料を削り出して除去した。その後、該ジオメトリを、一定変形率でもって、特定周波数 (frequency) により、周期的に剪断変形率 (shear strain) を試料に加え、そこから得られる弾性率 (modulus) 値において、約 0.1 Hz 周波数時の保存弾性率 (storage modulus) 値及び損失弾性率 (loss modulus) 値をそれぞれ弾性及び粘性と定義した。

10

【0070】

(5) 粘着力測定方法

粘着力は、下記のように測定した。DHR - 2 レオメータ機器 (TA Instruments) を駆動させた。粘着力テストは、機器温度を 25 に設定し、直径 40 mm ジオメトリを装着させ、補正を行った。適量の試料を、前記機器のペルチェプレート上部と下部ジオメトリとの間の中央に積載させた。試料が不足しないように、十分な量を過積載させ、該ジオメトリの横面及び上面に付かないほどの適量を積載させた。該ジオメトリを、設定した間隔まで下げた後、該ジオメトリ下に試料が良好に満たされているか否かということを確認した後、該ジオメトリの外にある残余試料を削り出して除去した。その後、ジオメトリギャップを 1,000 μm 高さにし、下部ペルチェプレートから、垂直軸方向に 100.0 $\mu\text{m/s}$ の一定速度で 180 秒間引き寄せるとき、該ジオメトリにかかる力を測定した。該ジオメトリと該ペルチェプレートとの間にある試料が有している粘着力により、初期試料が落ちる瞬間最大力が測定されることになり、当該力を粘着力と定義した。

20

【0071】

(6) 圧縮力測定方法

DHR - 2 レオメータ機器 (TA Instruments) を駆動させた。圧縮力テストは、機器温度を 25 に設定し、直径 25 mm ジオメトリを装着させ、補正を行った。1 mL ほどの試料を、前記機器のペルチェプレート上部と下部ジオメトリとの間の中央に積載させた。該ジオメトリを、設定した間隔まで下げた後、該ジオメトリを遅い速度で回転させ、該試料が、ジオメトリ基準で真ん中に来ることができるよう調節した。その後、13.3 $\mu\text{m/s}$ の一定速度でもって、2,500 μm で 900 μm 位置になるまで、該ジオメトリを下に下げながら、該ジオメトリに加えられる力を測定した。圧縮力は、試験開始から最後まで測定された力を Y 軸にし、動いた時間を X 軸にしてグラフを描いたとき、グラフの積分値であるグラフ下の面積値に該当する値を圧縮力と定義した。

30

【0072】

(7) 注入力測定方法

注入力測定は、Mecmesin の Multitest 2.5-i Universal Testing Machine を使用して測定した。機器に加えられる力を測定するロードセル (load cell) は、注入力測定範囲より高い許容値を有する適切なロードセルを装着させて使用した。該機器ロードセルの下部分に、試料が入っている注射器において、当該注射器に、注射針を結合させた。該注射器には、終端部分が平たい押し棒を置き、該ロードセルが力を加えるとき、一定に力が加えられようようにした。該ロードセル部分が該押し棒終端部分に着く直前まで、距離を調節した後、12 mm/min の速度で、該ロードセルを利用して該押し棒部分を押し、加えられる力を測定した。測定値の初期部分及び終端部分の場合、該試料が注射針に流れ込むときに生じる圧力値が、注射器を入れ込むときに掛かる圧力より低い。また、注入物の注入がほぼ完了したときには、該試料がないにもかかわらず、続けて力を加える場合が生じ、そのときには、加えられる力が、該試料の注入力とは関係ない力である。従って、該試料が注射針に流れる部分、及び注入がほぼ完了した部分に該当する値を除いて測定される値、すなわち、初期注入力値及び末期注入力値を除いた注射器充填液の中間部分で測定した注入力値の平均を注入力として定義した。

40

50

【 0 0 7 3 】

実施例 1 及び 2：架橋されたヒアルロン酸の製造

臨界変形率が 1 0 % ないし 1 0 0 % であり、膨潤度が 1 % ないし 1 0 0 % であるヒアルロン酸架橋体を、次のように製造した。

【 0 0 7 4 】

まず、1 % (w / w) N a O H 溶液を製造した。製造された 1 % N a O H 溶液に、5 g のヒアルロン酸ナトリウム (I V 2 . 2 ないし 3 . 0) を、1 3 . 0 0 % (w / w) になるように混合させた後で攪拌し、十分に溶解させた。ここで、「I V」は、極限粘度 (intrinsic viscosity) を示す。前記溶液に、0 . 6 3 0 g のブタンジオールジグリシジルエーテル (B D D E : butanediol diglycidyl ether) (Sigma - Aldrich) を添加し、追加して攪拌し、良好に混ぜた後で取り出し、4 0 で 1 6 時間ないし 2 0 時間、架橋反応を進め、架橋されたヒアルロン酸ゲルを製造した。

10

【 0 0 7 5 】

次に、得られた架橋されたゲルを透析膜に入れた後で密封し、1 m o l / k g N a C l 水溶液及び 1 x P B S 水溶液を、透析溶液にして透析を進め、未反応架橋剤を除去した。該透析を完了した後、最初に投入したヒアルロン酸ナトリウムの重量でもって損失率を勘案し、除去された最終ヒアルロン酸ナトリウムの濃度が 1 8 m g / m L になるように、1 x P B S を利用し、含量補正を進めた。このとき、リドカイン塩酸塩水和物の場合、3 m g / m L になるように含量補正を進めた。その結果、架橋されたヒアルロン酸が 1 8 m g / m L ほど含有され、リドカインが 3 m g / m L ほど含有された P B S 溶液を製造した。製造された架橋されたヒアルロン酸含有溶液を、ミキサ器 (Retsch GM-200) を利用し、8 , 0 0 0 r p m で 1 8 0 秒間粉碎を進めた。その後、該粉碎が完了された架橋されたヒアルロン酸含有溶液 1 m l を、ガラス注射器に充填を実施した後、高温蒸気滅菌を実施した。そのような過程を介して得られた物質を、実施例 1 と指定した。

20

【 0 0 7 6 】

実施例 2 の場合、架橋されたヒアルロン酸含有溶液を、ミキサ器 (Retsch GM-200) を利用し、5 , 0 0 0 r p m で 7 5 秒間粉碎を進めたことを除いては、実施例 1 と同一に製造した。

【 0 0 7 7 】

比較例 1

比較例 1 は、架橋されたヒアルロン酸含有溶液を、ミキサ器 (Retsch GM-200) を利用し、2 , 0 0 0 r p m で 1 8 0 秒間粉碎を進めたことを除いては、実施例 1 と同一に製造した。

30

【 0 0 7 8 】

比較例 2 及び比較例 3

比較例 2 として、単一相架橋されたヒアルロン酸である Allergan 社の Juvederm Voluma Lidocaine を使用し、比較例 3 として、二性相架橋されたヒアルロン酸である Galderma 社の Restylane Lyft Lidocaine を使用した。

【 0 0 7 9 】

実験例 1：架橋されたヒアルロン酸ゲルの物理的特性測定

40

架橋ヒアルロン酸ゲルの物理的特性を、前記実施例の測定方法 (1) ないし (7) に記載された方法によって測定し、その結果を下記表 1 に示した。

【 0 0 8 0 】

【表 1】

名称	臨界 変形率 (%)	膨潤度 (%)	平均粒度 (μm)	G' (Pa)	粘着力 (N)	圧縮力 (Ns)	注入力(N)	架橋度 (%)
実施例1	26.01	56.30	66.0	611	6.27	50.09	16 (27G1/2")	4.1
実施例2	14.69	49.40	113.3	622	6.07	49.12	18 (27G1/2")	4.13
比較例1	4.49	67.10	261.6	824	4.82	47.08	11 (27G1/2")	3.89
比較例2	54.96	126.1	660.7	227	5.11	45.60	8(27G)	2.08
比較例3	6.53	N/A (測定 不可)	809.0	743	2.42	22.18	19(29G)	0.16

表 1 に示されているように、実施例 1 及び実施例 2 は、従来の単一相架橋されたヒアルロン酸フィラである比較例 2 (Juvederm Voluma L (Allergan)) に比べ、膨潤度が顕著に低下したということを確認することができる。従来の二性相架橋されたヒアルロン酸フィラである比較例 3 (Restylane Lyft L (Galderma)) の場合、膨潤度測定時、架橋されたヒアルロン酸ゲルと、溶液が分離されないという問題により、膨潤度を測定することができなかった。

【0081】

前記表 1 の物理的特性の結果を総合すれば、実施例 1 及び実施例 2 は、従来の単一相フィラと類似した圧縮力及び粘着力を有し、注入部位において、離脱される可能性が低いと共に、膨潤度が低く、体内注入時、膨潤現象が顕著に低減されるということを知ることができる。また、高い弾性係数 (G') を有するという事実から、注入された形態を長期間維持することができることを知ることができる。

【0082】

実験例 2：架橋されたヒアルロン酸を動物に適用するとき、上昇及び体積増大の影響測定：上昇及び体積増大の試験 (lifting and volumizing test)

無毛マウス (SKH1-hr) 6 週齢の雌 (20 ± 3 g) 52 匹を、オリエントバイオ (大韓民国) から入手し、約 1 週以上順化させた。前記順化されたマウスに、ケタミン (100 mg/kg) とロブリン (10 mg/kg) との混合麻酔剤を腹腔内注射し、麻酔をかけた後、背側部位 (dorsal region site) に、前述の実施例 1 ないし 2、及び比較例 1 ないし 3 をガラス注射器を使用し、それぞれ 0.1 mL ずつ皮下に注入した。注入後、指定された日付により、個体の体重を測定した。注入部位については、Primos 5.8E (Canfield Scientific Inc, NJ, 米国) を利用し、注入部位の高さ、注入物の最大長、及び体積を測定した。同時に、注入部位を肉眼観察し、写真撮影を行った。

【0083】

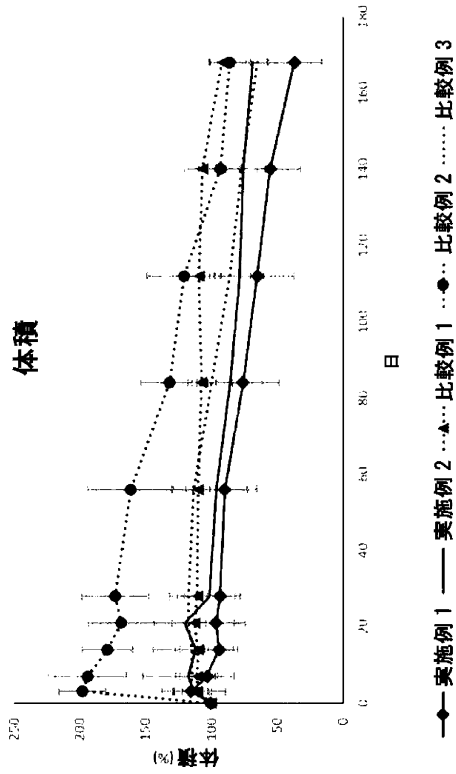
図 1 は、ヒアルロン酸ゲルを皮内に注入した後、42 週まで体積変化を観察したものである。図 1 に示されているように、従来の単一相の架橋されたヒアルロン酸ゲルである比較例 1 の場合、注入初期の体積が大きく増大し (初期注入体積対比で、約 100% 増加)、経時的に、体積が大きく低減されるところに比し、実施例 1 及び実施例 2 は、注入初期対比で、体積変化が少ないか、あるいはほとんどないということを知ることができた (初期注入体積対比で、約 10% 増加)。また、実施例 1 及び実施例 2 は、24 週が経過する間、体積損失が相対的に少ないということを確認することができる。

【0084】

総合すれば、実施例 1 及び実施例 2 は、注入後、初期段階に膨潤現象が少なく、注入時、本来の体積を維持することができ、注入後 24 週までの体積変化が少ないということを確認し、生体内持続性及び生体適合性にすぐれるということを確認した。

【図面】
【図 1】

【図 1】



10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類 F I
A 6 1 P 13/00 (2006.01) A 6 1 P 13/00

6 - 1 2 , 3 0 1

(72)発明者 リー , チャン フン
大韓民国 2 8 1 2 3 チュンチョンブツ - ト , チョンジュ - シ , チョンウォン - グ , オチャン
- ウッ , オチャンジュンガン - ロ 1 0 5 , 9 0 7 - 1 0 3

審査官 堀 洋樹

(56)参考文献 国際公開第 2 0 2 0 / 1 1 6 9 9 9 (W O , A 1)
国際公開第 2 0 2 0 / 1 9 4 2 9 4 (W O , A 1)
国際公開第 2 0 2 1 / 0 7 5 9 6 3 (W O , A 1)
特開平 0 5 - 1 4 0 2 0 1 (J P , A)

(58)調査した分野 (Int.Cl. , D B 名)
C 0 8 B
A 6 1 K
A 6 1 L