

乳酸在调节促进组织增长制品中的应用

本申请要求享有于2022年01月11日向中国国家知识产权局提交的，专利申请号为202210028046.9，名称为“乳酸在调节促进组织增长制品中的应用”的在先申请的优先权。

技术领域

本发明涉及医药技术领域，具体地说，是乳酸在调节和/或促进组织增长、再生和愈合制品中的应用。

背景技术

聚左旋乳酸(Poly-L-lactic acid, PLLA)是20世纪90年代起迅速发展起来的一种可降解高分子材料，它是以乳酸为单体，经过催化聚合而成。PLLA在医疗领域较为广泛，与单纯的填充剂（如透明质酸、羟基磷灰石钙等）不同，PLLA是一种可以刺激皮下胶原蛋白生长的人工合成的真皮填充剂。传统观念认为PLLA可以引起一种异物巨细胞反应，从而逐渐生成胶原蛋白。而在我们的研究中发现，在PLLA降解过程中，PLLA的分子结构逐渐被破坏，缓慢水解成为乳酸，乳酸可诱导人体成纤维细胞增加胶原蛋白的生成，导致真皮内胶原纤维增加，产生填充修复效果。随着时间的增加，使真皮层增厚。填充部位的PLLA最终降解为二氧化碳和水，被新生胶原蛋白所取代，达到长期美容的效果。

然而，尚未发现PLLA和乳酸及其相关乳酸盐化合物在修复软骨、结缔组织、肌腱、筋膜等组织方面的应用。

发明内容

本发明的目的是提供乳酸及其类似物的新用途。本发明研究发现，乳酸及其类似物能够调节和促进组织再生、增长和愈合，能有效预防和治疗组织损伤的疾病。

本发明的目的之一，是提供乳酸及其类似物在制备调节和/或促进组织增长制品中的应用。

本发明的目的之二，是提供乳酸及其类似物在制备调节和/或促进组织再生制品中的应用。

本发明的目的之三，是提供乳酸及其类似物在制备促进组织愈合制品中的应用。

本发明的目的之四，是提供乳酸及其类似物在制备调节和/或促进组织再生和/或愈合的制品。

根据本发明的优选技术方案，所述组织选自富含胶原蛋白的组织，更优选，所述组织选自肌肉组织、结缔组织、肌腱、筋膜、骨、软骨、神经组织中的一个或多个；最优选地，所述组织选自肌纤维组织、肌腱、软骨、肌肉组织、结缔组织、骨、神经组织中的一个或多个。

根据本发明，所述乳酸及其类似物选自左旋乳酸类可降解聚合物、乳酸及其相关乳酸盐、乳酸类化合物、及上述物质与其他化合物的复合物中的一个或多个，优选乳酸。

根据本发明，所述乳酸盐是乳酸的一种化学衍生物，是当乳酸释放出氢离子后，同带正电的物质相结合所形成的盐，包括但不限于乳酸钠、乳酸钾、乳酸锂、乳酸钙、乳酸镁、乳酸亚铁、乳酸锌、乳酸铝、壳聚糖乳酸盐、常山酮乳酸盐、甲氧苄啶乳酸盐、1-乙基-3-甲基咪唑 L-(+)-乳酸盐、2-羟乙基-三甲基铵 L-(+)-乳酸盐、L-乳酸 四丁基铵盐中的一种或多种。

根据本发明，所述制品选自药物、试剂盒、保健品、医疗器械中的一个或多个。

本发明的目的之五，是提供乳酸及其类似物在制备预防和/或治疗组织损伤

的药物和/或医疗器械中的应用。

根据本发明的优选技术方案，所述组织损伤选自富含胶原蛋白的组织的损伤。更优选地，所述组织损伤选自骨、软骨、结缔组织、肌腱、筋膜、神经组织中的一个或多个的损伤，最优选地，所述组织损伤选自肌肉组织、肌腱、软骨、神经组织中的一个或多个的损伤。

根据本发明，所述乳酸及其类似物选自左旋乳酸类可降解聚合物、乳酸及其相关乳酸盐、乳酸类化合物、及上述物质与其他化合物的复合物中的一个或多个，优选乳酸。

在本申请优选的实施例中，乳酸及其类似物作为活性成分，优选，乳酸及其相关类似物作为唯一活性成分。

根据本发明，所述乳酸及其类似物能够促进细胞分泌胶原蛋白，为细胞活动提供能量。

在本发明优选的实施例中，所述乳酸及其类似物为注射剂。其中，所述乳酸及其类似物的用量为 25mmol/L-75mmol/L。

本发明的目的之六，是提供一种调节和/或促进组织和/或神经组织增长、再生和/或愈合的制品，所述制品是由乳酸及其类似物和可接受的载体制成，所述组织具有如上文所述的含义。

根据本发明，所述乳酸及其类似物选自左旋乳酸类可降解聚合物、乳酸及其相关乳酸盐、乳酸类化合物、及上述物质与其他化合物的复合物中的一个或多个；更优选地，选自乳酸。

根据本发明，所述制品选自药物、试剂盒、保健品、医疗器械中的一个或多个。

有益效果

本发明通过动物实验发现，乳酸及其类似物能够显著调节和促进组织增长、再生和愈合，特别是对于富含胶原蛋白的组织，进而能够用于制备预防和/或治

疗组织损伤的制品中，具有广阔的药用价值。

附图说明

图 1 为注射 25mmol/L 乳酸溶液对于动物肌肉组织再生能力的影响，实验小鼠右侧为实验侧（注射不同浓度乳酸溶液），左侧为对照侧（注射 0.9%氯化钠注射液）。

图 2 为注射 50mmol/L 乳酸溶液对于动物肌肉组织再生能力的影响。

图 3 为注射 25mmol/L 乳酸溶液对于动物肌腱增长的影响。

图 4 为注射 50mmol/L 乳酸溶液对于动物肌腱增长的影响。

图 5 为注射 75mmol/L 乳酸溶液对于动物肌腱增长的影响。

图 6 为注射 50mmol/L 乳酸溶液对于动物耳软骨增长的影响。

图 7 为坐骨神经功能指数实验结果。

具体实施方式

下文将结合具体实施例对本发明的技术方案做更进一步的详细说明。应当理解，下列实施例仅为示例性地说明和解释本发明，而不应被解释为对本发明保护范围的限制。凡基于本发明上述内容所实现的技术均涵盖在本发明旨在保护的范围内。

1.实验设计：

实验动物：选择体重为 $23\pm 4\text{g}$ 的雄性实验用小鼠分成若干组，每组10只。

实验部位：选取小鼠不同的组织部位进行试验，具体为肌肉——股直肌、肌腱——跟腱、软骨——耳软骨组织。

实验分组：①25mmol/L乳酸水溶液 ②50mmol/L乳酸水溶液

③75mmol/L乳酸水溶液 ④0.9%氯化钠注射液

实验操作：实验小鼠右侧为实验侧（注射不同浓度乳酸溶液），左侧为对

照侧（注射0.9%氯化钠注射液）。

实验在开始的1-7日每天在实验侧单点注射0.1ml对应的实验溶液，分别在术后3天、7天、14天每组处死3只小鼠，每只小鼠选取实验侧和对照侧进行固定、病理组织学检测。

2.检测方法：

1) 切取观察的组织，组织固定后进行天狼星红染色，观察注射溶液对各部位组织产生的影响。

2) 随机选取实验侧和对照侧进行切片，在100倍光学显微镜下测量各组织直径，通过下列公式计算实验侧与对照侧平均值：

$$\text{平均值} = (\text{①号动物3个测量值} + \text{②号动物3个测量值} + \text{③号动物3个测量值}) / 9$$

比较两侧直径，通过SSPS 21运算结果分析乳酸溶液对各组织部位的作用。

实施例1 乳酸对于动物肌肉组织再生能力的影响

1.实验结果：

(1) 注射25mmol/L乳酸溶液对动物肌肉组织的影响

表1 注射25mmol/L乳酸组与对照组测量数值比较

时间节点	组别	均值 (μm)	标准差
3天	实验组	64.130000	28.1741520
	对照组	48.577500	17.3497697
7天	实验组	79.656250	15.7917736
	对照组	74.009375	22.8216881
14天	实验组	123.815444*	23.8412513
	对照组	91.573000	29.2364346
21天	实验组	112.073333	25.5295526
	对照组	99.595667	14.2202132

如图1所示,注射25mmol/L乳酸水溶液组在植入后14天可见实验侧肌肉组织明显增粗,且肌肉组织排列紧密,说明乳酸有促进组织再生的作用。在100倍光学显微镜下测量肌肉组织数值如表1所示:在14天时实验侧与对照侧的实验检测数据达到差异显著($P < 0.05$)。

(2) 注射50mmol/L乳酸溶液对动物肌肉组织的影响

表2 注射50mmol/L乳酸组与对照组测量数值比较

时间节点	组别	均值 (μm)	标准差
3天	实验组	73.487222	12.3194157
	对照组	77.957889	27.9493057
7天	实验组	69.142125**	10.6455341
	对照组	55.104125	8.1572841
14天	实验组	119.458444*	26.2197044
	对照组	93.576556	16.2398784
21天	实验组	111.918667	29.0751940
	对照组	113.120500	20.4109819

如图2所示，注射50mmol/L乳酸水溶液组在植入7天时可见实验侧肌肉组织明显增粗。在100倍光学显微镜下测量肌肉组织数值如表2所示：在7天时实验侧与对照侧的实验数据差异极显著(P<0.01)，在14天时表现显著差异(P<0.05)。

2.结论

由上述实验结果可以看出，乳酸溶液对于动物肌肉组织再生有显著的，甚至是极显著的促进作用，注射25mmol/L乳酸水溶液组动物肌肉组织再生达到显著水平，注射50mmol/L乳酸水溶液组动物肌肉组织再生甚至达到极显著水平(P<0.01)的促进作用。

实施例2 乳酸对于动物肌腱增长的影响

1.实验结果：

(1) 注射25mmol/L乳酸溶液对动物肌腱组织的影响

表3 注射25mmol/L乳酸组与对照组测量数值比较

时间节点	组别	均值 (μm)	标准差
------	----	---------	-----

3天	实验组	853.862500*	140.4764074
	对照组	580.665000	92.6874726
7天	实验组	-	
	对照组	-	
14天	实验组	877.112833	213.7945231
	对照组	659.691167	154.6656364
21天	实验组	438.280500	51.0615770
	对照组	427.633500	17.6543350

如图3所示, 25mmol/L乳酸水溶液组在注射3天时可见实验侧跟腱明显增粗, 检测跟腱直径增大。在第7天检测时发现跟腱多处断裂, 因而无法进行测量。在100倍光学显微镜下测量肌腱数值如表3所示: 实验组初期跟腱增长迅速, 与对照组相比达到显著差异($P<0.05$)。

(2) 注射50mmol/L乳酸溶液对动物肌腱组织的影响

表4 注射50mmol/L乳酸组与对照组测量数值比较

时间节点	组别	均值 (μm)	标准差
3天	实验组	484.568000	184.0463325
	对照组	476.354500	60.5637965
7天	实验组	547.753000	95.7742615
	对照组	462.172250	94.4329544
14天	实验组	769.450833*	211.8286864
	对照组	525.717167	116.6757248
21天	实验组	543.914750	280.7437457
	对照组	523.303000	33.6015298

如图4所示, 50mmol/L乳酸水溶液组在第14天时实验侧跟腱明显增粗, 检测跟腱直径增大。在100倍光学显微镜下测量肌腱数值如表4所示: 实验组14天时与对照组达到显著差异($P<0.05$)。

(3) 注射75mmol/L乳酸溶液对动物肌腱组织的影响

表5 注射75mmol/L乳酸组与对照组测量数值比较

时间节点	组别	均值 (μm)	标准差
3天	实验组	970.857000*	216.6631746
	对照组	617.521000	57.9052828
7天	实验组	832.201500*	126.2168148
	对照组	514.630500	102.3021882
14天	实验组	578.193167	137.5548137
	对照组	509.734500	66.2128300
21天	实验组	970.090000*	47.5478919
	对照组	681.745500	207.6525129

如图5所示, 75mmol/L乳酸水溶液组在第3天、7天、21天时均可见实验侧明显增粗, 跟腱直径增大。在100倍光学显微镜下测量肌腱数值如表5所示: 实验组与对照组, 在第3天、7天、21天时均达到显著差异($P<0.05$)。

2. 结论:

从上述结果可以看出, 乳酸溶液对肌腱增长有显著的促进作用, 并且随着乳酸溶液浓度的增长促进肌腱增长持续的时间增长, 效果也显著。

实施例3 乳酸对动物耳软骨组织的影响

1.实验结果:

注射50mmol/L乳酸溶液对动物耳软骨组织的影响

表6 注射50mmol/L乳酸组与对照组测量数值比较

时间节点	组别	均值 (μm)	标准差
3天	实验组	158.793833	41.7279756
	对照组	144.868000	44.8437583
7天	实验组	237.264500	27.9173937
	对照组	214.423333	45.9045932
14天	实验组	170.348500	20.2403961
	对照组	214.531000	45.9785019
21天	实验组	253.531250*	16.5217714
	对照组	206.288750	21.8391701

如图6所示,注射50mmol/L乳酸水溶液组在植入第21天实验侧耳软骨横截面可见明显增厚。在100倍光学显微镜下测量耳软骨数值如表6所示:第21天实验侧与对照侧的实验检测数据差异显著($P < 0.05$)。

2.结论:

从上述结果可以看出,乳酸溶液对于动物的耳软骨组织也有明显促进增长。

实施例4 乳酸对动物神经组织的影响

1.实验设计:

实验动物:选择体重为30~35g的雄性实验用小鼠分成3组,每组26只。

实验部位:选取小鼠坐骨神经。

实验分组：①模型组（坐骨神经钳夹损伤）；②治疗组（坐骨神经钳夹损伤后，通过腹腔注射每次给予0.1ml的50mmol/L的乳酸水溶液）；③假手术组（仅游离坐骨神经）。

实验操作：治疗组连续给药14天，模型组、假手术组给予等量0.9%氯化钠注射液。

2.检测方法：

(1)分别在术后7天、14天，通过坐骨神经功能指数（SFI）对小鼠的坐骨神经功能经损伤后的功能恢复情况进行追踪评价。具体是：将小鼠双侧后足沾满墨水后在通道内留下脚印，对实验小鼠左损伤侧（E），右正常侧（N）足印进行测量，记录足印长度（PL）、第1足趾到第5足趾的距离（TS）、第2足趾到第4足趾的距离（IT）、代入公式计算，正常值为0，神经功能损伤后为负值，功能完全丧失为-100.公式如下：

$$SFI=109.5(ETS-NTS)/NTS-38.3(EPL-NPL)/NPL+13.3(EIT-NIT)/NIT-8.8$$

(2) 分别在术后3天、7天、14天，记录损伤侧足趾展开程度，评价等级分为0~3分，不展开为0分，完全展开为3分。

3.实验结果：

图7是坐骨神经功能指数的实验结果。结果显示，术后7天模型组和治疗组SFI评分明显低于假手术组。术后14天，治疗组的SFI评分明显升高，且差异具有统计学意义（ $P<0.01$ ），这表明给予乳酸溶液治疗后，坐骨神经功能恢复效果更好。表7的趾展实验结果表明，治疗组评分比模型组的评分具有明显升高的趋势，说明乳酸治疗能有效改善小鼠趾展功能。

表7 小鼠趾展实验评分结果

	3天	7天	10天	14天
假手术组	2.7±0.6	2.9±0.2	3.0±0.0	3.0±0.0
模型组	0±0.5	0.2±0.1	0.8±0.4	1.3±0.7
治疗组	0±0.4	0.9±0.6	2±0.3	2.5±0.5

2.结论:

从上述结果可以看出，乳酸溶液对于动物的坐骨神经也有明显促进增长。

综上，本发明通过动物实验证明了乳酸溶液对于动物的软组织、骨组织和神经组织，特别是肌肉、肌腱、软骨组织和坐骨神经组织增长与愈合均有显著的促进作用，能够有效预防、治疗和修复组织损伤疾病。

以上，对本发明的实施方式进行了说明。但是，本发明不限于上述实施方式。凡在本发明的精神和原则之内，所做的任何修改、等同替换、改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

权 利 要 求

1. 乳酸及其类似物在制备调节和/或促进组织增长、再生或愈合制品中的应用，其特征在于，所述组织选自富含胶原蛋白的组织。

2. 根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述组织选自肌肉组织、结缔组织、肌腱、筋膜、骨、软骨、神经组织中的至少一种；

优选地，所述组织选自肌腱、软骨、肌肉组织、结缔组织、骨、神经组织中的一个或多个；

所述乳酸及其类似物选自左旋乳酸类可降解聚合物、乳酸及其相关乳酸盐、乳酸类化合物、及上述物质与其他化合物的复合物中的一个或多个；

优选地，所述制品选自医用药物、试剂盒、保健品、医疗器械中的一个或多个。

3. 乳酸及其类似物在制备预防和/或治疗组织损伤的医用药物和/或医疗器械中的应用其特征在于，所述组织损伤选自富含胶原蛋白的组织的损伤；

优选地，所述组织损伤选自肌肉组织、结缔组织、肌腱、筋膜、骨、软骨、神经组织中的一个或多个的损伤；

最优选地，所述组织损伤选自肌腱、软骨、肌肉组织、结缔组织、骨、神经组织中的一个或多个的损伤。

4. 根据权利要求 3 所述的应用，其特征在于，所述乳酸及其类似物选自左旋乳酸类可降解聚合物、乳酸及其相关乳酸盐、乳酸类化合物、及上述物质与其他化合物的复合物中的一个或多个。

5. 根据权利要求 3 或 4 所述的应用，其特征在于，所述医用药物还包括药学上可接受的载体。

6. 根据权利要求 3-5 任一项所述的应用，其特征在于，所述乳酸及其类似物作为活性成分。

7. 根据权利要求 3-6 任一项所述的应用，其特征在于，所述乳酸及其类似

物作为唯一活性成分。

8. 根据权利要求 3-7 任一项所述的应用，其特征在于，所述乳酸及其类似物为注射剂。

9. 根据权利要求 3-8 任一项所述的应用，其特征在于，所述乳酸及其类似物的用量为 25mmol/L-75mmol/L。

10. 一种调节和/或促进组织和/或神经组织增长、再生和/或愈合的制品，其特征在于，所述制品是由乳酸及其类似物和可接受的载体制成；所述组织具有如权利要求 2 中所述的含义；优选地，所述乳酸及其类似物选自左旋乳酸类可降解聚合物、乳酸及其相关乳酸盐、乳酸类化合物、及上述物质与其他化合物的复合物中的一个或多个；所述制品选自药物、试剂盒、保健品、医疗器械中的一个或多个。