



УКРАЇНА

(19) UA (11) 39174 (13) C2

(51) 7 C08B37/08, A61K31/73

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) АСОЦІАТИ ДЕПРОТОНОВАНОЇ ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ, СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ АСОЦІАТИВ ДЕПРОТОНОВАНОЇ ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ, ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ ТА СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ФАРМАЦЕВТИЧНОЇ КОМПОЗИЦІЇ

(21) 94061636

(22) 20.02.1990

(24) 15.06.2001

(31) 891/89

(32) 24.02.1989

(33) HU

(86) PCT/HU90/00013, 20.02.1990

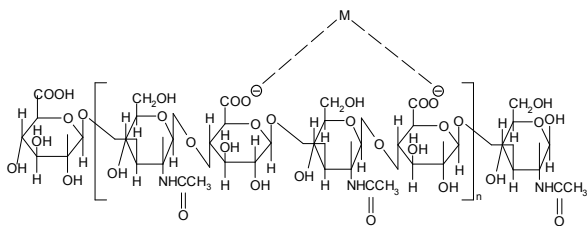
(46) 15.06.2001, Бюл. № 5, 2001 р.

(72) Бургер Кальман, HU, Надь Геза Такачі, HU, Ретеі Іван, HU, Іллеш Янош, HU, Штефко Бела, HU, Несмелы Ержебет, HU, Гебхардт Іштван, HU, Рац Іштван, HU, Кірай Арпадне, HU, Варkony Вікторія, HU

(73) КЕМІКАЛ БОКС ОФ ГЕДЕОН РІХТЕР ЛТД, HU

(56) 1. R.F. Parish, Biochem. J., 193, p. 407-410, 1981.

2. Заявка PCT 87/05517, кл. A61K43/00, 1987.

(57) 1. Ассоциаты депротонированной гиалуроновой кислоты с ионами  $Zn^{2+}$  или  $Co^{2+}$  общей структурной формулыгде M - это  $Zn^{2+}$  или  $Co^{2+}$ ,

для использования в получении терапевтических или косметических средств.

2. Ассоциаты по п.1, **отличающиеся** тем, что имеют приведенную вязкость при 25°C 13,7 - 16,5 дл/г, УФ абсорбцию при 257 нм (1%) -0,133, УФ абсорбцию при 280 нм (1%), равную 0,075.3. Способ получения ассоциатов депротонированной гиалуроновой кислоты с ионами  $Zn^{2+}$  или  $Co^{2+}$  по п.1, заключающийся в том, что водный раствор галогенида цинка или кобальта добавляют к щелочной соли гиалуроновой кислоты или ее водному раствору при эквимольном соотношении реагентов с последующим осаждением ассоциата с применением алканоло или алканона и отделением осадка от раствора.4. Способ получения ассоциатов депротонированной гиалуроновой кислоты с ионами  $Zn^{2+}$  или  $Co^{2+}$  по п.1, заключающийся в том, что четвертичную аммониевую соль гиалуроновой кислоты добавляют к смеси, содержащей эквимольное количество водных растворов галогенида цинка или кобальта и бутанол, и удаляют водный слой после разделения реакционной массы.5. Способ по п. 4, **отличающийся** тем, что используют водные растворы галогенидов цинка или кобальта и бутанол в равных объемах.6. Фармацевтическая композиция, содержащая эффективное количество производного гиалуроновой кислоты, фармацевтически приемлемый носитель и целевые добавки, **отличающаяся** тем, что в качестве производного гиалуроновой кислоты композиция содержит ассоциат депротонированной гиалуроновой кислоты с ионами  $Zn^{2+}$  или  $Co^{2+}$  по п.1.7. Способ получения фармацевтической композиции путем смешивания эффективного количества производного гиалуроновой кислоты, фармацевтически приемлемого носителя и целевых добавок, **отличающийся** тем, что в качестве производного гиалуроновой кислоты используют ассоциат депротонированной гиалуроновой кислоты с ионами  $Zn^{2+}$  или  $Co^{2+}$  по п.1.

Изобретение относится к новым ассоциатам депротонированной гиалуроновой кислоты с ионами  $Zn^{2+}$  или  $Co^{2+}$ , способу ее получения, а также к фармацевтической композиции, содержащей ассоциаты депротонированной гиалуроновой кислоты и способу ее получения.

Композиции, содержащие новые ассоциаты, могут использоваться в качестве фармацевтических (терапевтических) или косметических средств. Область применения композиций, содержащих новые ассоциаты, в соответствии с настоящим изобретением, распространяются, например, на уско-

рение процесса эпителизации участков тела, заживление бедренных язв, пролежней, главным образом незаживающих ран, ожогов, последствий радиации и теплового воздействия, воспалений сальной железы, а также они применяются и в других областях.

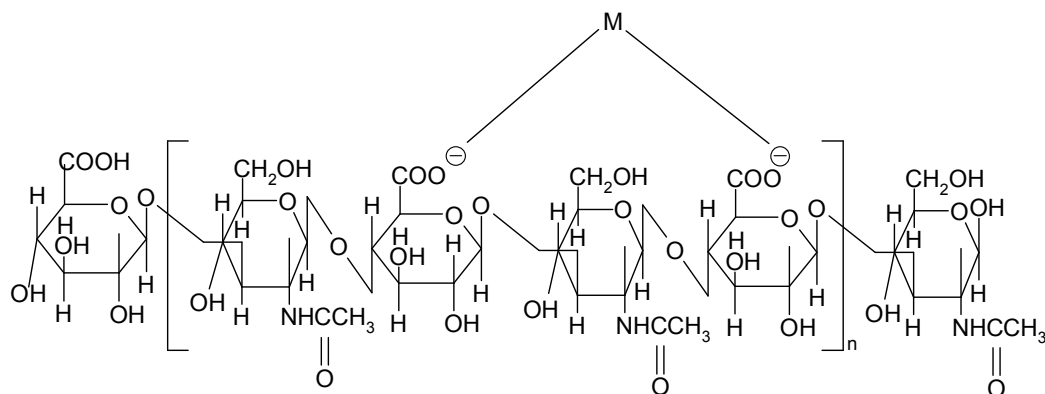
Гиалуроновая кислота представляет собой макромолекулу. Она получена более пятидесяти лет назад и впервые описана Мейером (J. Biol. Chem. 107, 629 (1954); J. Biol. Chem. 114, 689 (1936)). Гиалуроновая кислота представляет собой природный гликозамингликан высокой вязкости, содержащий глюкуроновую кислоту и  $\beta_{1-4}$  глюкозамин с изменяющимся соотношением компонентов; ее молекулярный вес находится в пределах от 50 тыс. до нескольких (от 8 до 13) млн. Известно выделение и применение сверхчистой гиалуроновой кислоты (патенты США № 4141973 и 4303676 и ЕПВ № 0144019). Известна натриевая соль гиалуроновой кислоты, которую используют в офтальмологии, хирургии и косметологии. Соли гиалуроновой кислоты, содержащие ионы щелочных и щелочноземельных металлов, магния, алюминия, аммония или производных аммония, используют также в качестве носителей, промотирующих абсорбцию лекарств. Соли тяжелых металлов гиалуроновой кислоты и соли серебра используют в качестве фунгицидных веществ, тогда как соли золота применяют для лечения артрита (РСТ № 87/05517).

В соответствии с литературными данными, гиалуроновая кислота (или ее натриевая соль) не связывает ионы цинка. (R.F. Pazich, Biochem. I. 193, 407-410, 1981). Таким образом, в промышленном производстве гиалуроновую кислоту выпускают практически только в виде ее натриевой соли, данная соль является основным веществом, содержащим гиалуронат. Исследования показали, что не более 60% ионов натрия, введенных в эквивалентном соотношении вместе с карбоксилатными группами гиалуроната, присутствует в водных растворах в виде свободных ионов, тогда как оставшиеся 40% образуют связь с гиалуронатом.

В соответствии с измерениями было определено, что путем увеличения концентрации ионов натрия количество химически связанных ионов натрия может быть увеличено до 50–55% в расчете на все карбоксилатные группы. Таким образом, выявлено, что, несмотря на общие характеристики всех солей, гиалуронат натрия не полностью диссоциирует в водном растворе.

Задачей настоящего изобретения является создание новых ассоциатов гиалуроновой кислоты с ионами  $Zn^{2+}$  или  $Co^{2+}$  и фармацевтической композиции на их основе, обладающей высокой активностью, а также разработка способов их получения.

Поставленная задача достигается новыми ассоциатами гиалуроновой кислоты с ионами  $Zn^{2+}$  или  $Co^{2+}$  общей формулы.



$M - Zn^{2+}$  или  $Co^{2+}$ , где  $n = 125-3750$ .  $MM = 100.000-3.000.000$

Предпочтительны ассоциаты с приведенной вязкостью при 25°C 13,7–16,5 дл/г, УФ абсорбцией при 257 нм (1%) 0,133, УФ абсорбцией при 280 нм (1%) 0,075.

Новые ассоциаты гиалуроновой кислоты с ионами  $Zn^{2+}$  или  $Co^{2+}$  получают путем добавления водного раствора галогенида цинка или кобальта к щелочной соли гиалуроновой кислоты или ее водному раствору при эквимольном соотношении реагентов с последующим осаждением ассоциата с применением алканол или алканона и отделением осадка от раствора.

Предпочтительно добавляют четвертичную аммониевую соль, а в качестве спирта используют бутанол. При этом используют равные объемы водных растворов галогенидов цинка или кобальта и бутанола. Путем смешения эффективного количества ассоциатов гиалуроновой кислоты с ионами  $Zn^{2+}$  и  $Co^{2+}$  с фармацевтически приемлемым носителем получают фармацевтическую компози-

цию, более эффективную, чем фармацевтическая композиция, содержащая натриевую соль гиалуроновой кислоты.

При получении ассоциатов металлов способом, указанным выше, pH раствора остается равным 5. В случае 0,2 вес/об % раствора гиалуроната pH достигает величины 5,4, тогда как в случае 0,5 вес/об % раствора pH равно 5. При необходимости pH последнего раствора можно довести от 5,5 до 5,6 путем добавления нескольких капель изотонического раствора ацетата натрия.

Растворы двух видов, содержащие гиалуронат цинка в качестве активного компонента, могут быть получены способом, указанным выше.

1. Изотонический раствор гиалуроната цинка получают путем добавления избытка хлорида цинка.

С учетом того, что свободный хлорид цинка может быть использован в дерматологии, осмотическое давление раствора гиалуроната цинка доводят до изотонического давления с помощью хлорида цинка. Раствор, полученный таким обра-

зом, не содержит свободный (не связанный с цинком) гиалуронат вообще, но в системе вместе с гиалуронатом цинка присутствует избыток хлорида цинка.

2. Изотонический раствор гиалуроната цинка получают путем добавления моносахарида или сахарного спирта.

Для терапевтических целей, когда присутствие ионов цинка, не связанных с гиалуронатом, не оговаривается, изотонический раствор, содержащий ионы цинка в количестве, эквивалентном гиалуронату, получают с применением многоатомного спирта (сахарного спирта, преимущественно сорбитола) или моно- или дисахарида (преимущественно глюкозы). Содержание свободного иона цинка и свободного гиалуроната в данной системе не достигает 5% от общего содержания цинка или гиалуроната, соответственно.

В процессе использования ассоциатов в соответствии с изобретением со временем могут понадобиться соединения, содержащие свободные ионы. То есть ассоциаты, полученные способом, указанным выше, обычно содержат хлорид натрия или другую соль, образованную из катиона исходного гиалуроната и аниона соли 3 d металла.

Когда необходимо получить твердый гиалуронат цинка, содержащий свободные ионы, осадок высушивают под давлением в мягких условиях. В случае, если требуется раствор гиалуроната цинка, содержащий свободные ионы, предпочтительно растворить гиалуронат цинка, полученный из растворителя. В соответствии с любым из обоих вариантов способа твердое или растворенное вещество, содержащее свободные ионы, получают с произвольной чистотой, зависящей от качества исходного гиалуроната цинка.

Результаты клинико-фармакологических исследований соединения (пример 13), содержащего в качестве активного компонента гиалуронат цинка в соответствии с изобретением, поясняются на примере лечения бедренной язвы при использовании соединения для эпителизации поверхностей тела, лишенных эпителия. Соединение, содержащее гиалуронат натрия, используют в качестве контрольного образца.

Настоящее исследование проведено на 12 или 14 образцах соответственно на 8–12 пациентах, страдающих бедренной язвой. Распределение пациентов обеих групп в соответствии с полом и возрастом, а также природой болезни приведено в табл. 1.

Лечение предусматривает предварительную терапевтическую обработку в соответствии с клиническим состоянием язвы. Лечение с помощью гиалуроната цинка или натрия, соответственно, начинают на обработанных язвах или язвах со значительно сокращенными рубцами. Лечение проводят ежедневно таким образом, что один раз в день на поверхность, пораженную язвой, наносят тонкий слой смачивающего рану лекарства.

Соединение используют в течение четырех недель. В начале лечения и затем раз в неделю заполняют листок записи результатов лечения и делают фотоснимки участков кожи пациента, пораженных язвой. Проводят бактериологический анализ образца.

Характеристики и степень поражения эпителия приведены в табл. 2.

Для оценки определяют значения отдельных характеристик и общую степень поражения рассчитывают с помощью следующей формулы:

$$S = \sqrt{a \times b \times c}.$$

Изобретение поясняется фиг. 1–3.

Результаты клинико-фармакологических исследований иллюстрируются на фиг. 2. Результаты лечения с помощью гиалуроната цинка показаны на кривой, отмеченной крестиками, а – с помощью гиалуроната натрия – на кривой, отмеченной квадратиками, как функции от числа недель, в течение которых проводят лечение. Величина степени поражения показана на ординате, представляющей собой общий показатель поражения, рассчитываемый по указанной выше формуле.

Для наиболее правильного сравнения гиалуроната натрия и гиалуроната цинка на фиг. 3 приводятся относительные значения степени поражения при 100% соотношении с исходными значениями степени поражения.

Изменение относительных значений статистически оценено как функция от числа (от 1 до 4) недель. При лечении с помощью гиалуроната цинка и натрия исследовано число язв, уменьшившихся до 90%, 80%, 70% и 60% от относительного значения степени поражения после 1, 2, 3 и 4 недель, соответственно. Результаты суммированы в табл. 3.

В соответствии с данными табл. 3 может быть установлено, что лечение с помощью гиалуроната цинка каждую неделю было более эффективно по сравнению с результатами, полученными с помощью гиалуроната натрия, используемого в качестве контрольного вещества.

Статистический анализ полученных данных показывает, что преимущественно фармацевтической композиции, содержащей гиалуронат цинка, было значительным (р. 99%) по сравнению с гиалуронатом натрия.

При дальнейших статистических разработках было исследовано более подробное распределение относительных значений степени поражения как функции времени лечения. Полученные результаты суммированы в табл. 4.

Данные табл. 4 подтверждают преимущество использования гиалуроната цинка. Более подробные статистические исследования указывают на значительное уменьшение степени поражения, зависящее от времени лечения.

Таким образом, при оценке клинико-фармакологических исследований высокая эффективность использования гиалуроната цинка может быть доказана даже на примере небольшого числа язв; это преимущество может быть особенно выражено на начальной стадии лечения.

Содержание протеина в гиалуронате (НА) определяют методом О.Н. Lowry. (I. Biol. Chem 193 (1951)); вязкость гиалуроната измеряют вискозиметром Оствальда в физиологическом соляном растворе при 25°C. Значение характеристической вязкости, экстраполированное до "0" концентрации, т.е.  $\eta_{25^\circ\text{C}} \rightarrow 0\%$  приведено ниже. Содержа-

ние НА определяют методом Виттера (Anal. Biochem. 4, 330 (1962)).

#### Пример 1.

Получение раствора гиалурата цинка.

40,18 мг гиалурата натрия растворяют в 20,0 мл дважды дистиллированной воды. Таким образом исходная концентрация гиалуроновой кислоты составляет 2,009 мг/мл, эквивалентная концентрация раствора –  $4,241 \cdot 10^{-3}$  моль/литр ( $\text{Na}^+$  или димер гиалуроновой кислоты). В ходе измерений раствор хлорида цинка концентрацией 0,05154 моль/литр добавляют в реакционную смесь через микробюретку. Сначала раствор добавляют маленькими порциями (0,05 мл), а затем большими (от 0,1 до 0,2 мл). Изменение потенциала раствора измеряют с помощью точного потенциометра с цифровой индикацией натриевого ион-селективного стеклянного электрода и серебряного электрода. Титрование продолжают до тех пор, пока измеряемый потенциал не будет изменяться при добавлении следующей порции раствора для титрования (измерительная система откалибрована в условиях, аналогичных практическим методам измерений).

Избирательное действие ион-селективного электрода наблюдалось также в присутствии ионов  $\text{Zn}^{2+}$  с целью контроля за изменением потенциала в практических измерениях, вызванных наличием свободных ионов  $\text{Na}^+$ , но не  $\text{Zn}^{2+}$ , вводимых в раствор. Раствор хлорида натрия концентрацией  $2,00 \cdot 10^{-3}$  М оттитрован с помощью раствора хлорида цинка в условиях, аналогичных вышеописанным. При возрастании концентрации  $\text{Zn}^{2+}$  от 0 до  $4 \cdot 10^{-3}$  моль/метр рост потенциала составляет 2 мВ, тогда как практические измерения в аналогичных условиях показывают изменение потенциала на 20 мВ. Таким образом, оценка не вызывает затруднений. В ходе измерений увеличение активности ионов натрия, рассчитываемое на основе данных измерений, обнаруживает количественное образование ассоциата цинка.

Получение раствора хлорида цинка.

Так как раствор, содержащий хлорид цинка точной концентрации, не может быть получен непосредственным взвешиванием, сначала получают раствор с приблизительно желаемой концентрацией. Для приготовления данного раствора не нужно использовать кислоту, поэтому может случиться так, что взвешиваемый хлорид цинка будет растворен не полностью. После седиментации нерастворимого осадка (около 30 минут) мерную колбу наполняют до отметки и раствор отфильтровывают через фильтровальную бумагу.

Точную концентрацию фильтрата определяют путем комплексометрического титрования с использованием буфера 10 и черного Т индикатора эриохрома. Раствор хлорида цинка точной концентрации 0,100 моль/л получают путем точного разбавления этого раствора.

Характеристики гиалуроната натрия, используемого для получения раствора:

|                              |             |
|------------------------------|-------------|
| Молекулярный вес             | 1850000     |
| Содержание протеина          | 0,07 вес. % |
| УФ-абсорбция $A_{257}^{1\%}$ | 0,133       |
| $A_{280}^{1\%}$              | 0,075       |

Вязкость  $[\eta]_c \xrightarrow{25^\circ\text{C}} 0\%$  13,7 дл/г

Содержание  $\text{HA}^x$  98,12 вес. %.

$\text{HA}^x$  = гиалуроновая кислота (указанное выше сокращение).

#### Пример 2.

Получение раствора для дерматологических и косметологических целей.

12,5 мл раствора хлорида цинка концентрацией 0,100 моль/л, полученного вместе со свободной водой, добавляют к 0,50 г взвешенного гиалуроната в 100-мм мерную колбу (хлорид цинка другой концентрации может быть использован, но его количество должно оставаться прежним). Гиалуронат натрия выдерживают для набухания (12 часов) в растворе, наполненном до отметки свободной водой, с целью получения раствора гиалуроната цинка 0,5 вес./об. %.

Характеристики гиалуроната натрия, используемого для получения вышеуказанного раствора:

Вязкость

$[\eta]_c \xrightarrow{25^\circ\text{C}} 0\%$  : 16,5 дл/г 16,5 дл/г

Содержание протеина 0,8 вес. %.

#### Пример 3.

Получение раствора гиалуроната цинка для использования в качестве инъекционного раствора.

Процесс, описанный в данном примере, должен быть проведен в стерильных условиях.

0,5 мл раствора хлорида цинка концентрацией 0,100 моль/л получают вместе с дважды дистиллированной водой (вода для инъекций, пирогенных препаратов стерильная) добавляют к 0,20 г гиалуроната натрия (в виде чистого порошка), взвешенного в 100-мл мерной колбе. Затем объем доводится дважды дистиллированной водой до 50 мл. Всю ночь гиалуронат натрия выдерживают для набухания, затем растворяют при встряхивании и доводят раствор до отметки дважды дистиллированной водой. Полученный раствор отфильтровывают через мембранный фильтр (0,45 мкм размер пор) для получения 0,2 вес./об. % раствора гиалуроната цинка.

Характеристики гиалуроната натрия, используемого для получения вышеуказанного раствора.

Качество: чистый, свободный от пирогенных веществ стерильный порошок. Молекулярный вес: 1850000. Содержание протеина: 0,07 вес. %.

УФ-абсорбция  $A_{257}^{1\%}$  : 0,133

$A_{258}^{1\%}$  : 0,075

Содержание НА: 98,12 вес. %. Вязкость

$[\eta]_c \xrightarrow{25^\circ\text{C}} 0\%$  : 13,7 дл/г

#### Пример 4.

Получение раствора гиалуроната цинка со свободными ионами

600 мл этанола для аналитических целей добавляют при перемешивании к 200 мл 0,50 вес./об. % раствора гиалуроната цинка, полученного в соответствии с примером 2. Осажденный гиалуронат цинка отфильтровывают на стеклянном фильтре. Дважды промывают 50 мл этанола того же качества и затем высушивают при пониженном

давлении. Таким образом, получают 0,88 г гиалуроната цинка, который используют для приготовления 0,50 вес/об.% раствора гиалуроната цинка способом, указанным в примере 2. Полученный раствор гиалуроната цинка не содержит хлорид натрия, образующегося в результате реакции между гиалуронатом натрия и хлоридом цинка; таким образом, он содержит практически свободные ионы.

VV адсорбция  $A_{257}^{1\%} = 0,145$

$A_{280}^{1\%} = 0,105$

Содержание ионов  $Zn^{2+}$  : 8,37 % вес.

EXAFS данные:

длина химической связи Zn-O – 119 в минутах;

ту;

длина химической связи Zn-C – 241 в минутах.

ту.

#### Пример 5.

Получение гиалуроната цинка со свободными ионами или его раствора для терапевтических целей.

Способ, описанный в этом примере, осуществляют в стерильных условиях.

1500 мл этанола (высокой чистоты) порционно добавляют к 500 мл раствора гиалуроната цинка, полученного в соответствии с примером 3 при перемешивании. После добавления смесь встряхивают в течение 30 минут, осажденный гиалуронат цинка отфильтровывают на стеклянном фильтре, трижды промывают, используя до 100 мл этанола (высокой чистоты), и высушивают при пониженном давлении в стерильных и мягких условиях.

Установленные физические свойства полученного гиалуроната цинка идентичны представленному в примере 4.

#### Примеры 6–9.

Способ проводят аналогично описанному в примере 5, молекулярная масса используемого гиалуроната натрия, данные Уфадс вязкости представлены в табл. 5:

100000,  
250000,  
500000,  
3000000.

#### Примеры 10–11.

Способ проводят аналогично описанному в примере 5, но раствор гиалуроната цинка осаждается 2000 мл ацетона (пример 10) или 4000 мл метанола (пример 11) соответственно.

#### Пример 12.

Получение гиалуроната цинка со свободными ионами.

200 мл 10 вес.% раствора гиамин<sup>R</sup> 1622 (бензилдиметил/-2/-2-р-(1,1,3,3-тетраметилбутил) фенокси/этоксид/хлорид аммония) добавляют при перемешивании в раствор, содержащий 1 г гиалуроната натрия в 400 мл дважды дистиллированной воды. Образовавшийся осадок, т.е. ассоциат четвертичного аммония гиалуроновой кислоты, выделяют центрифугированием, дважды промывают, используя по 100 мл дистиллированной воды и снова центрифугируют. Промытый осадок растворяют в смеси растворителей, состоящей из 400 мл 2 вес/об.% хлорида цинка в водном растворе (pH от 5,0 до 5,4) и 400 мл н-бутанола. После

выдерживания до образования двух фаз водный слой, содержащий растворенный гиалуронат цинка, отфильтровывают через мембранный фильтр (0,45 мкм размер поры), затем гиалуронат цинка осаждают путем добавления трех объемных частей этанола, отфильтровывают на стеклянном фильтре, промывают этанолом и высушивают в атмосфере азота в мягких условиях до получения 0,82 г гиалуроната цинка.

При необходимости 0,50 вес/об.% раствор получают из полученного гиалуроната цинка, который в дальнейшем очищают способом, указанным в примере 4. Характеристики гиалуроната натрия, используемого в качестве исходного вещества.

Вязкость  $[\eta]_{25^\circ C} \rightarrow 0\% : 16,5 \text{ дЛ/г}$

Содержание протеина 0,18 вес/об.%.

Гиалуронат цинка может быть получен вышеуказанным способом из ассоциатов, образованных из других солей четвертичного аммония. Четвертичные соли, необходимые для этой цели:

- а) хлорид карботетрадецилксиметил – триметиламмоний (см. описание изобретения к патенту Венгрии № 188 537);
- б) хлорид гексадецилпиридина,
- с) хлорид цетилпиридина,
- д) хлорид триметиламмония и подобные соединения.

#### Пример 13.

Получение гиалуроната кобальта соответствует способу, указанному в примере 6, за исключением того, что ассоциат гиалуроновой кислоты четвертичного аммония растворяют в смеси растворителей, состоящей из 2 вес/об.% хлорида кобальта (П) · 6H<sub>2</sub>O водного раствора и н-бутанола.

#### Пример 14.

Получение водного раствора, содержащего 0,50 вес/об.% гиалуроната цинка, и изотонического раствора с помощью хлорида цинка.

Около 50 мл раствора хлорида цинка концентрацией 0,110 моль/л добавляют к 0,50 г гиалуроната натрия в 100 мл мерную колбу и оставляют на всю ночь для набухания. Затем гиалуронат натрия растворяют при встряхивании и колбу заполняют до отметки раствором хлорида цинка концентрацией 0,110 моль/л.

Осмотическое давление полученного раствора составляет 0,1491 моль/л, величина pH равна 5,0. При необходимости величину pH доводят до 5,5–5,6 путем добавления 2,00 мл раствора ацетата натрия концентрацией 0,150 моль/л. После достижения данного значения pH осмотическое давление раствора становится равным 0,1489.

Раствор гиалуроната цинка получают из особенно чистого гиалуроната натрия, описанного в примере 3, вместе с дважды дистиллированной водой в стерильных условиях. Затем раствор отфильтровывают через мембранный фильтр (0,45 мкм размер поры).

Полученный раствор может быть также использован в качестве вещества для инъекций.

#### Пример 15.

Получение водного раствора, содержащего 0,2 вес/об.% гиалуроната цинка, и получение изотонического раствора с применением хлорида цинка.

Для получения конечного объема 100 мл взвешивают 0,20 г гиалуроната натрия и растворяют в растворе хлорида цинка концентрацией 0,120 моль/л.

Растворение и получение раствора хлорида цинка концентрацией 0,120 моль/л проводят способом, приведенным в примере 1 (путем изменения количества хлорида цинка).

Осмотическое давление раствора равно 0,154 моль/л, что эквивалентно концентрации хлорида натрия; pH равно от 5,3 до 5,4.

|                     |             |
|---------------------|-------------|
| Содержание НА       | 1,96 мг/мл  |
| Вязкость            | 15,9 дл/г   |
| Содержание протеина | 0,015 мг/мл |

Чистота раствора<sup>x</sup>  $A_{660}^{1\text{см}} = 0,015$

(<sup>x</sup> На основании измерения спектральной поглощательной способности при 160 нм с применением 1 см кюветы).

Раствор получают с помощью гиалуроната натрия, описанного в примере 2, и прежде всего используют для приготовления веществ, применяемых в дерматологии и косметологии.

#### Пример 16.

Получение водного раствора, содержащего 0,50 вес/об.% гиалуроната, и получение изотонического раствора с применением глюкозы.

Раствор содержит гиалуронат натрия и расчетное эквивалентное количество хлорида цинка.

12,50 мл раствора хлорида натрия концентрацией 0,100 моль/л добавляют к 0,50 г гиалуроната натрия, взвешенного в 100 мл мерной колбе (хлорид цинка другой концентрации может быть также использован, но количество хлорида цинка должно оставаться прежним). Гиалуронат натрия выдерживают в течение 12 часов для набухания в растворе хлорида цинка, доведенного до 50 мл свободной водой, затем растворяют при встряхивании. Затем добавляют 24,50 мл раствора глюкозы концентрацией 1,00 моль/л и доводят до отметки свободной водой.

Осмотическое давление раствора 0,1495 моль/л эквивалентно концентрации хлорида натрия; значение pH равно 5,4. Общая концентрация цинка =  $1,25 \cdot 10^{-2}$  моль/л.

Раствор получают с помощью гиалуроната натрия, описанного в примере 2, и прежде всего используют для приготовления веществ, применяемых в дерматологии и косметологии.

#### Пример 17.

Получение водного раствора, содержащего 0,2 вес/об.% гиалуроната цинка, и получение изотонического раствора с применением глюкозы.

Раствор содержит гиалуронат натрия и расчетное эквивалентное количество хлорида цинка.

5,0 мл раствора хлорида цинка концентрацией 0,100 моль/л добавляют к 0,20 г гиалуроната натрия, взвешенного в 100 мл мерной колбе, затем объем доводят до 50 мл с помощью деионизированной воды. После набухания в течение ночи гиалуронат натрия растворяют при встряхивании, добавляют 27,0 мл раствора глюкозы концентрацией 1,00 моль/л и колбу наполняют до отметки свободной водой.

Осмотическое давление раствора 0,151 моль/л эквивалентно концентрации хлорида нат-

рия; значение pH равно от 5,6 до 5,7. Общая концентрация цинка =  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л.

#### Пример 18.

Получение водного раствора, содержащего 0,5 вес/об.% гиалуроната цинка, и получение изотонического раствора с применением сорбитола.

Раствор гиалуроната цинка получают в стерильных условиях из гиалуроната натрия высокой чистоты, описанного в примере 3, и дистиллированной воды. Раствор содержит эквивалентное количество хлорида цинка, рассчитанное на гиалуронат натрия.

Способ получения проводят аналогично примеру 10, за исключением того, что вместо раствора глюкозы 23,50 мл раствора сорбитола концентрацией 1,00 моль/л (182,19 г D-сорбитола в 1 л) добавляют в раствор гиалуроната цинка.

Полученный раствор отфильтровывают через мембранный фильтр (0,45 мкм размер пор). Этот раствор может быть использован для любых целей, кроме инъекций.

Осмотическое давление раствора 0,1520 моль/л эквивалентно концентрации хлорида натрия, значение pH равно 5,5; общая концентрация цинка =  $1,25 \cdot 10^{-2}$  моль/л.

#### Пример 19.

Получение водного раствора, содержащего 0,2 вес/об.% гиалуроната цинка, и получение изотонического раствора с применением сорбитола.

Раствор содержит эквивалентное количество хлорида цинка, рассчитанное на гиалуронат натрия.

Раствор гиалуроната цинка получают в стерильных условиях из гиалуроната натрия высокой чистоты, как указано в примере 3, вместе с дважды дистиллированной водой.

Процесс получения проводят способом, описанным в примере 12, за исключением того, что 0,2 г гиалуроната натрия растворяют в 5 мл раствора хлорида цинка концентрацией 0,100 моль/л, затем добавляют 26,50 мл раствора сорбитола концентрацией 1 моль/л и доводят раствор до 100 мл. Полученный раствор отфильтровывают через мембранный фильтр (0,45 мкм размер поры). Этот раствор может быть использован для любых целей, кроме инъекций.

Осмотическое давление раствора 0,1501 моль/л эквивалентно концентрации хлорида натрия; значение pH равно 5,6; общая концентрация цинка =  $5 \cdot 10^{-3}$  моль/л.

Содержание гиалуроната 2,03 мг/мл

Вязкость 16,1 дл/г

Содержание протеина 0,016 мг/мл

Чистота раствора<sup>x</sup>  $A_{660}^{1\text{см}} = 0,010$

(<sup>x</sup> На основании измерения спектральной поглощательной способности при 160 нм с применением 1 см кюветы).

#### Примеры 20–32.

В следующих примерах компоненты различных веществ (для фармакологии и косметологии) приведены в соответствии с рецептурой, выбранной нами. Получение изотонических растворов гиалуроната цинка описано в приведенных выше примерах. Здесь термин "дистиллированная вода для инъекций" соответствует дважды дистиллированной воде, полученной в стерильных условиях.

Все примеры получены простым смешиванием компонентов.

1. Инъекционные растворы.

Вещества, приведенные в примерах 14–17, используют для внутрикожных инъекций, а в примере 13 – для внутриглазных инъекций. Активный компонент, описание которого приведено в примере 3, используют в данных примерах.

**Пример 20.**

|   |         |
|---|---------|
| Активный компонент гиалуроната цинка  | 2,0 мг  |
| Сорбитол  | 48,3 мг |
| Конечный объем водного раствора, полученный с помощью дистиллированной воды, для инъекций | 1,0 мл. |

**Пример 21.**

|   |         |
|---|---------|
| Активный компонент гиалуроната цинка  | 5,0 мл  |
| Сорбитол  | 42,8 мг |
| Конечный объем водного раствора, полученный с помощью дистиллированной воды, для инъекций | 1,0 мл. |

**Пример 22.**

|   |          |
|---|----------|
| Активный компонент гиалуроната цинка  | 2,0 мг   |
| Пропил-пара-гидроксibenзоат   | 0,05 мг  |
| Метил-пара-гидроксibenзоат  | 0,5 мг   |
| Глюкоза   | 48,6 мг. |
| Конечный объем водного раствора, полученный с помощью дистиллированной воды, для инъекций | 1,0 мл.  |

**Пример 23.**

|   |          |
|---|----------|
| Активный компонент гиалуроната цинка  | 5,0 мг   |
| Пропил-пара-гидроксibenзоат   | 0,05 мг  |
| Метил-пара-гидроксibenзоат  | 0,5 мг   |
| Глюкоза   | 44,1 мг. |
| Конечный объем водного раствора, полученный с помощью дистиллированной воды, для инъекций | 1,0 мл.  |

**Пример 24.**

|   |         |
|---|---------|
| Активный компонент гиалуроната цинка  | 10,0 мг |
| Сорбат калия  | 1,0 мг  |
| Сорбитол  | 41,0 мг |
| Конечный объем водного раствора, полученный с помощью дистиллированной воды, для инъекций | 1,0 мл. |

Вещества, приведенные в примерах 20–28, используются в основном в дерматологии и косметологии. Активный компонент, приведенный в примере 2, используют в данных примерах.

II. Растворы для местного применения.

**Пример 25.**

|   |         |
|---|---------|
| Активный компонент гиалуроната цинка  | 5,0 мг  |
| Сорбат калия  | 1,0 мг  |
| Ацетат натрия   | 24,6 мг |
| Конечный объем водного раствора, полученный с помощью дистиллированной воды | 1,0 мл  |

**Пример 26.**

|   |         |
|---|---------|
| Активный компонент гиалуроната цинка  | 2,0 мг  |
| Сорбат калия  | 1,0 мг  |
| Сорбитол  | 48,3 мг |
| Конечный объем водного раствора, полученный с помощью дистиллированной воды | 1,0 мл  |

III. Гели для местного применения.

**Пример 27.**

|                                      |            |
|--------------------------------------|------------|
| Активный компонент гиалуроната цинка | 20,0 мг    |
| Полимеризат акриловой кислоты        | 200 мг     |
| Гидроксид натрия 30% концентрации    | 50 мг      |
| Сорбат калия                         | 10 мг      |
| Дистиллированная вода                | до 10,0 мг |

**Пример 28.**

|                                      |            |
|--------------------------------------|------------|
| Активный компонент гиалуроната цинка | 20,0 мг    |
| Полимеризат акриловой кислоты        | 50 мг      |
| Гидроксид натрия 30% концентрации    | 40 мг      |
| Пропиленгликоль                      | 1500 мг    |
| Сорбат калия                         | 10 мг      |
| Дистиллированная вода                | до 10,0 мг |

IV. Пасты и мази для местного применения.

**Пример 29.**

|                                      |         |
|--------------------------------------|---------|
| Активный компонент гиалуроната цинка | 50 мг   |
| Сорбат калия                         | 10 мг   |
| Мягкий белый воск                    | 125 мг  |
| Сорбитанолеат                        | 150 мг  |
| Цетиловый стеариловый спирт          | 840 мг  |
| Глицеринмоноостеарат                 | 1100 мг |
| Пропиленгликоль                      | 4750 мг |
| Дистиллированная вода                | до 10 г |

**Пример 30.**

|   |         |
|---|---------|
| Активный компонент гиалуроната кобальта | 50 мг   |
| Сорбат калия                            | 10 мг   |
| Мягкий белый воск                       | 125 мг  |
| Сорбитанолеат                           | 150 мг  |
| Цетиловый стеариловый спирт             | 840 мг  |
| Глицеринмоноостеарат                    | 1100 мг |
| Пропиленгликоль                         | 4750 мг |
| Дистиллированная вода                   | до 10 г |

**Пример 31.**

|                                      |           |
|--------------------------------------|-----------|
| Активный компонент гиалуроната цинка | 50 мг     |
| 2-феноксиэтанол                      | 100 мг    |
| Лаурилсульфат натрия                 | 100 мг    |
| Цетилпальмитат                       | 400 мг    |
| Стеарин                              | 400 мг    |
| Стеариновый спирт                    | 450 мг    |
| Цитиловый спирт                      | 450 мг    |
| Белый вазелин                        | 500 мг    |
| Пропиленгликоль                      | 550 мг    |
| Глицерин                             | 600 мг    |
| Дистиллированная вода                | до 10,0 г |

**Пример 32.**

|                       |         |
|-----------------------|---------|
| Активный компонент    |         |
| гиалуроната кобальта  | 50 мг   |
| 2-феноксиэтанол       | 100 мл  |
| Лаурилсульфат натрия  | 100 мг  |
| Цетилпальмитат        | 400 мг  |
| Стеарин               | 400 мг  |
| Стеариновый спирт     | 450 мг  |
| Цетиловый спирт       | 450 мг  |
| Белый вазелин         | 500 мг  |
| Пропиленгликоль       | 550 мг  |
| Глицерин              | 600 мг  |
| Дистиллированная вода | до 10 г |

**Пример 33.**

|                    |         |
|--------------------|---------|
| Активный компонент |         |
| гиалуроната цинка  | 50,0 мг |

**Микрокристаллический**

|                 |         |
|-----------------|---------|
| парафин         | 250 мг  |
| Пропиленгликоль | 500 мг  |
| Сорбитол        | 400 мг  |
| Животный воск   |         |
| (ацетилованный) | 500 мг  |
| Белый вазелин   | до 10 г |

V. Вещества для дезинфекции и рубцевания  
гнойных ран и ожогов.

**Пример 34.**

|                         |         |
|-------------------------|---------|
| Активный компонент      |         |
| гиалуроната цинка       | 10 мг   |
| Сорбат калия            | 1,0 мг  |
| Гидрофильный коллоидный |         |
| диоксид кремния         | 50 мг   |
| Сорбитол                | до 1 г. |

Таблица 1

| Активный             | № пациен-<br>тов | Женщи-<br>ны | Мужчи-<br>ны | Средний<br>возраст | №<br>вылечен-<br>ных | Характер язвы* |   |   |
|----------------------|------------------|--------------|--------------|--------------------|----------------------|----------------|---|---|
|                      |                  |              |              |                    |                      | A              | V | M |
| Гиалуронат<br>цинка  | 12               | 10           | 2            | 63,9               | 14                   | 2              | 9 | 1 |
| Гиалуронат<br>натрия | 8                | 6            | 2            | 65,7               | 12                   | –              | 7 | 1 |

\*A – артериальная; V – венозная; M – смешанная.

Таблица 2

| Характеристики                                    | Степень поражения |
|---|-------------------|
| Участок A   |                   |
| 0   | 0                 |
| Менее 10 см <sup>2</sup>                          | 1                 |
| Между 10 см <sup>2</sup> и 25 см <sup>2</sup>     | 2                 |
| Более 25 см <sup>2</sup>                          | 3                 |
| Инифицированность (в)                             |                   |
| Клинически чистый                                 | 0                 |
| Покрытый на 50%                                   | 1                 |
| Покрытый на 100%                                  | 2                 |
| Некроз (с)  |                   |
| (только в случае артериальной язвы) отрицательный | 0                 |
| ниже 10%  | 1                 |
| Между 10% и 15%                                   | 2                 |
| 100%  | 3                 |
| Отсутствие некроза                                | 4                 |

Таблица 3

| Пример | Молекулярная<br>масса | УФ абсорбция        | Содержание<br>Zn-ион | Вязкость |                 |
|--------|-----------------------|---------------------|----------------------|----------|-----------------|
|        |                       | A <sub>257</sub> 1% | A <sub>280</sub> 1%  | % вес    | 25°C (дл/г) [η] |
| 6      | 100000                | 0,104               | 0,051                | 8,31     | 2,8             |
| 7      | 250000                | 0,125               | 0,083                | 8,02     | 5,8             |
| 8      | 500000                | 0,137               | 0,095                | 8,50     | 9,6             |
| 9      | 3000000               | 0,161               | 0,110                | 8,22     | 38,3            |

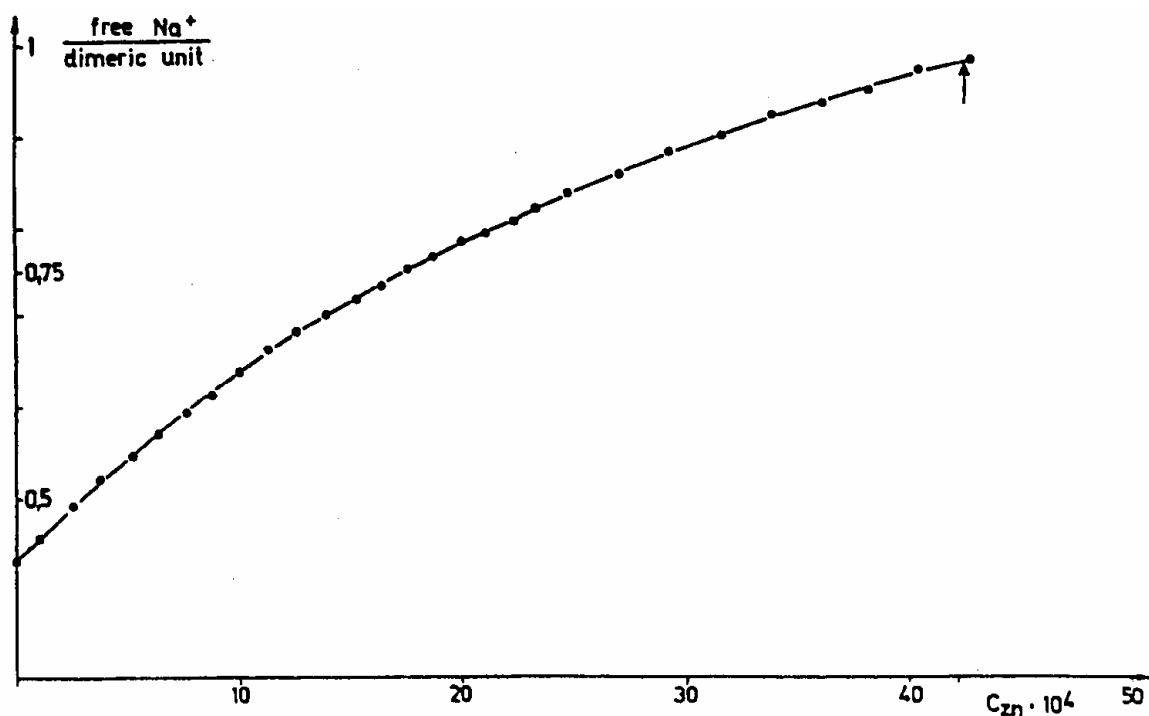


Таблица 4

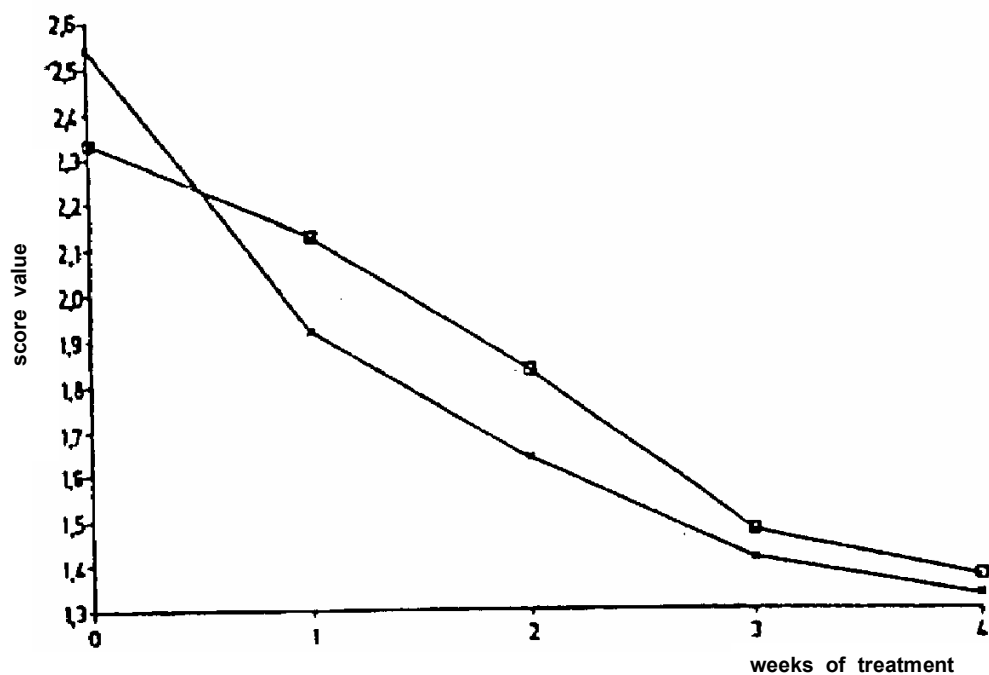
| Активный компонент соединения | 1-ая неделя   |      | 2-ая неделя |      | 3-я неделя |      | 4-ая неделя |      |
|-------------------------------|---|------|-------------|------|------------|------|-------------|------|
|                               | Распространение относительного значения степени поражения |      |             |      |            |      |             |      |
|                               | 90%   |      | 80%         |      | 70%        |      | 60%         |      |
|                               | ниже  | выше | ниже        | выше | ниже       | выше | ниже        | выше |
| Гиалуронат цинка              | 12  | 2    | 11          | 3    | 11         | 3    | 11          | 3    |
| Гиалуронат натрия             | 4   | 8    | 7           | 5    | 6          | 6    | 3           | 9    |

Таблица 5

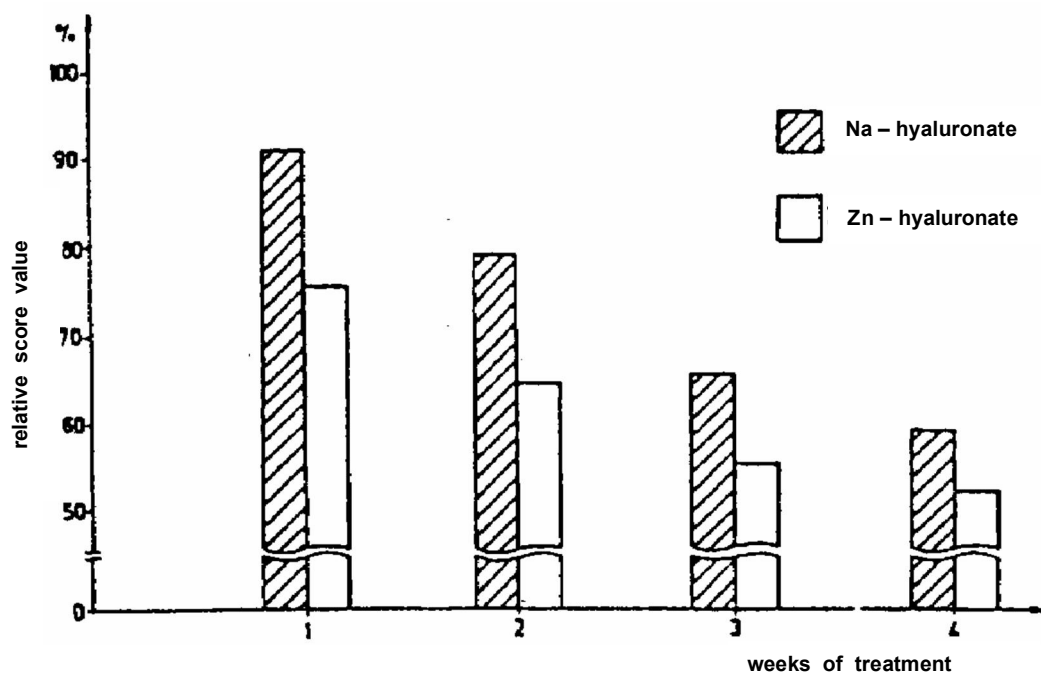
| Активный компонент соединения | Число и значение степени поражения язвой |                |                |          |
|-------------------------------|--|----------------|----------------|----------|
|                               | выше 90%                                 | между 90 и 70% | между 70 и 50% | ниже 50% |
| 1-я неделя                    |  |                |                |          |
| Гиалуронат цинка              | 2  | 7              | 5              | 0        |
| Гиалуронат натрия             | 8  | 3              | 0              | 1        |
| 2-я неделя                    |  |                |                |          |
| Гиалуронат цинка              | 0  | 6              | 7              | 1        |
| Гиалуронат натрия             | 4  | 3              | 5              | 0        |
| 3-я неделя                    |  |                |                |          |
| Гиалуронат цинка              | 0  | 1              | 8              | 2        |
| Гиалуронат натрия             | 2  | 5              | 5              | 1        |
| 4-я неделя                    |  |                |                |          |
| Гиалуронат цинка              | 2  | 1              | 7              | 3        |
| Гиалуронат натрия             | 1  | 5              | 3              | 3        |



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3

Тираж 50 экз.

Відкрите акціонерне товариство «Патент»  
 Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101  
 (03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03