



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **98180** (13) **C2**
(51) МПК (2012.01)
C08B 37/00
A61K 8/73 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2010 07939	(72) Винахідник(и):	Боско Марко (ІТ),
(22) Дата подання заявки:	20.11.2008		Стукчі Лука (ІТ),
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	25.04.2012		Джіанні Ріта (ІТ),
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	MI2007A002237		Тревісан Антоніа (ІТ)
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	27.11.2007	(73) Власник(и):	СІГЕА С.Р.Л.,
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	ІТ		Area Science Park, Padriciano 99, I-34012 Trieste, Italy (IT)
(41) Публікація відомостей про заявку:	27.09.2010, Бюл.№ 18	(74) Представник:	Крилова Надія Іванівна, реєстр. №30
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	25.04.2012, Бюл.№ 8	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2005054297 A, 16.06.2005 US 2589226 A, 18.03.1952 GB 487020 A, 14.06.1938 WO03008457 A, 30.01.2003
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	РСТ/ЕР2008/009801, 20.11.2008		

(54) КИСЛОТНИЙ ПОЛІСАХАРИД, СПОСОБИ ЙОГО ОДЕРЖАННЯ, МІСЦЕВА КОМПОЗИЦІЯ ТА ЇЇ ЗАСТОСУВАННЯ

(57) Реферат:

Описано кислотні полісахариди, охарактеризовані присутністю спиртових груп, естерифікованих масляною та мурашиною кислотами.

UA 98180 C2

Заявлений винахід розкриває змішані масляно-мурашині естери кислотних полісахаридів та їх отримання способом, де форміат-естер бере початок з формаміду у присутності масляного ангідриду та основи, їх очищення та здобування діалізом та сушкою сублимацією, та їх застосування як речовини для надання еластичності та вологості для косметичного

застосування та захисту шкіри.

Беручи до уваги їх фізико-хімічні та біологічні характеристики, глікозаміноглікани (GAG) є важливими продуктами у заявці внаслідок вирішальної ролі, яку вони грають в окремих зонах організму людини, де вони є загалом наявними у формі протеогліканів. Вказані молекули є складними системами, де полісахаридні ланцюги можуть бути зв'язаними ковалентно або

нековалентно з білками. Вони виконують багато біологічних функцій, від регулювання води у тканинах, як модулятори дифузії іонів у зовнішньоклітинному матриксі, до регулювання моторики клітини та інших функцій, від залучення у репродуктивну систему до дії як каркасу підтримування.

GAG, що найбільш дослідженою та піддаваною хімічним модифікаціям, є гіалуронова кислота (HA).

Загалом, модифікації HA стосуються застосування нових похідних, головним чином у біомедичному сектор, як-то біоматеріали, з контрольованим вивільненням ліків, продукти, що підвищують в'язкість, пост-хірургічних анти-адгезійних пристроях, тощо. У косметичних засобах HA є головним чином застосовуваною як зволожувач у немодифікованій природній формі, охарактеризованій певними молекулярними масами.

Згідно з літературою, найбільші зусилля зараз сфокусовані на способах перехресного зв'язування HA для отримання нових біосумісних молекул з певними біологічними характеристиками (в'язко-еластичність); наприклад, EP 341745 описує продукти, отримані автоперехресним зв'язуванням HA для застосування у внутрішньосуглобовому лікуванні, підвищенням в'язкості, та також як пост-хірургічні антиадгезійні пристрої.

Інші патенти, як-то US 4582865 та US 4713488, заявляють вказані властивості, застосовуючи екзогенні молекули як агенти перехресного зв'язування.

Естерні похідні з карбоксилем є описаними у EP 216453 для застосування модифікованої HA в області біоматеріалів та матеріалів з контрольованим вивільненням ліків.

Набагато менше патентів стосуються гідроксил-естерів HA з органічними кислотами. Для прикладу, US 5679657 заявляє HA-ацетилат зі ступенем заміщення між 0,6 та 3,6, починаючи з HA з низькою в'язкістю та низькою молекулярною масою, для косметичного застосування як плівкотвірний агент, US 6017901 заявляє застосування похідних гемісукцинатного естеру HA для введення подальших негативних зарядів у полісахаридний ланцюг.

EP 941253 розкриває синтез похідних HA з масляним ангідридом в основному середовищі для отримання продуктів, естерифікованих на рівні гідроксильних функціональних груп.

Жодну функціоналізацію інших GAG для застосування у дерматологічній/косметичній області нами не виявлено. Одночасну присутність бутиратного та форміатного залишків як результату застосовуваного способу синтезу не описано у будь-як зі згаданих випадків.

Заявлений винахід стосується похідних кислотних полісахаридів, частково або повністю естерифікованих масляною та мурашиною кислотами на вільних гідроксильних групах кислотних полісахаридів, що належать до родини глікозаміногліканів (GAG), зокрема гіалуронової кислоти, хондроїтин сульфату, дерматан сульфату, гепаран сульфату та чератан сульфату. Заявлений винахід також стосується способу їх отримання.

Продукти згідно з винаходом є корисними у місцевих (косметичних або медичних) препаратах, що надають еластичності, вологості, тонування шкіри, активності проти старіння та проти вугрів, та як ад'юванти у лікуванні уражень шкіри, як-то запалення, виразки, та ппертермічні ураження, індуковані опромінюванням, як-то УФ, рентгено та гамма-промені.

Ступінь заміщення (DS) гідроксильних груп кожного з полісахаридних мономерів може варіювати, у випадку масляних естерів між 0,01 та 1*N, переважно між 0,01 та 0,2*N, де N - число вільних спиртових груп наявних у повторюваних ланках, тоді як ступінь естерифікації мурашиною кислотою гідроксильних груп полімеру є між 0,01 та 0,2.

Ступінь естерифікації, що є придатним для модулювання та відтворення, може варіювати, та залежить від характеристики вихідного полісахариду та умов реакцій, як-то стехіометричні співвідношення між полісахаридним субстратом, типом застосовуваної каталітичної основи, та масляним ангідридом.

Будь-які неестерифіковані карбоксильні функціональні групи можуть бути у формі кислоти або у формі солі з лужними металами, особливо натрієм.

Молекулярна маса кислотних полісахаридів є звичайно між 10^3 та 10^7 Да, якщо полісахарид є гіалуроновою кислотою, молекулярна маса є переважно між 10^4 та 10^6 Да.

У випадку гіалуронової кислоти, ступінь естерифікації масляною кислотою гідроксильних груп полімеру є переважно між 0,01 та 0,8, тоді як ступінь естерифікації мурашиною кислотою гідроксильних груп полімеру є між 0,01 та 0,20.

Варіюванням ступеню естерифікації індивідуальних компонентів, змінюють фізико-хімічні та реологічні характеристики похідних згідно з винаходом та їх можна застосовувати у місцевих композиціях для лікування як надання еластичності, вологості, тонування шкіри, агентів проти старіння, агентів проти вугрів або як ад'ювантів для лікування уражень шкіри, як-то запалення, виразки, поранення, дерматит та гіпертермія шкіри, спричинена опромінюванням.

Заявлений винахід також стосується способу отримання вказаних похідних.

Вказаний спосіб охоплює:

а) розчинення кислотного полісахариду у формі солі з натрієм або іншими лужними металами, нагріванням у формаміді, при температурах між 60 °C та 120 °C, а переважно 95 °C;

б) додавання масляного ангідриду до утвореного розчину, при кімнатній температурі, у присутності органічної основи;

с) розбавлення гомогенної, в'язкої реакційної суміш водним розчином NaCl та нейтралізування його до pH 6-7;

д) очищення розбавленої реакційної суміші діалізом або тангенційним фільтруванням;

е) заморожування очищеного розчину полісахариду та отримання продукту сушкою сублімацією або сушкою розпиленням;

Органічною основою є ароматична або аліфатична основа, що містить принаймні один атом тризаміщеного нітрогену, переважно диметиламінопіридин або триетиламін.

Одною з переваг сполук згідно з винаходом порівняно, наприклад з природною (немодифікованою) комерційною гіалуроновою кислотою є те, що присутність масляних та мурашиних естер-замісників модифікованого полімеру захищає проти ферментативного розкладання гіалуронідазами у тканинах. Вказану нову властивість сполуки згідно з винаходом ілюстровано нижченаведеним експериментом.

Комерційну сіль натрію HA та зразки отримані, як описано у прикладах 2 та 4, застосовують в експерименті.

Маточний розчин полісахариду (10 мг/мл) обережно перемішують протягом однієї години при 37 °C перед додаванням ферменту. Починаючи із вказаного розчину, отримують 10 мл розбавленого розчину (1 мг/мл), що містить 0,1 мг/мл ферменту (тестикулярна гіалуронідаза корів 1060 У/мг). Другий розбавлений розчин отримують з дозою ферменту у 10 разів нижче. Обидва розчини інкубують при 37 °C. Зразки 0,6 мл збирають з регулярними інтервалами та поміщають у водяну баню при 100 °C на 5 хвилин, фільтрують для усунення ферменту, а тоді заморожують.

Визначення розподілення середньозваженої молекулярної маси за допомогою HP-SEC-TDA-хроматографії

Зразки піддавали хроматографії з виключенням за розміром, застосовуючи комбінацію з чотирьох детекторів (розсіювання світла при 90° та 8°, індексу рефракції та віскозиметр). Обробка даних хроматограми дає визначення розподілення молекулярних мас.

Умови хроматографії

Прилади насос Viscotek, модель VE1121, двоканальний дегазатор, Gastorr 150.

Колонки 2 x GMPWXL колонки зі змішаним шаром, 7,8 мм ВД x 30 см, Viscotek, температура 40 °C

Мобільна фаза 0,1 M NaNO₃.

Швидкість потоку 0,6 мл/хвил.

Детектор Viscotek mod 302 TDA із індексатором рефракції, капілярним віскозиметр та вимірювання розсіювання світла при 90° та 8°, та температура 40 °C.

Уведений об'єм 100 мкл.

Фіг. 1 та Фіг. 2 показують значення молекулярної маси відносно зразків з розчинів полімеру інкубованих з ферментом з інтервалом 0-4 години. Зразки, що містять природну незаміщену гіалуронову кислоту дають більшу швидкість розкладання, ніж частково естерифіковані масляною/мурашиною кислотою згідно з винаходом. Ступінь деполімеризації, досягнута на плато, є також більшою для природного полімеру. Обидві дії модулюють ступенем заміщення у бутират/форміат-естерах.

Зі співвідношенням полімер фермент 10:1 (Фіг 1), сполука відносно прикладу 4 із високим ступенем естерифікації тримає швидкість полімеризації в кінці експерименту (4 годин) приблизно у 10 разів більше, ніж природного полімеру. Зі співвідношенням полімер фермент 100:1 (Фіг 2), сполуки згідно з винаходом не деполімеризуються усі, тоді як молекулярна маса природної HA зменшується приблизно на дві третини.

Оцінювання ефективності in vivo на здорових волонтерах

Естери кислотних полісахаридів згідно з винаходом показали потужне надання активності еластичності в експериментах, проведених in vivo на здорових волонтерах.

Приклад, що ілюструє винахід, нижченаведено.

5 Було отримано гель, що містить 0,1 % солі натрію змішаного бутират/форміат-естеру НА, отриманого як описано у прикладі 2, у деіонізованій воді (98,35 %), разом з наповнювачами, загусниками (0,5 %), та консервантами (1,05 %).

Гель того ж складу, що містить комерційну сіль натрію НА при тій же концентрації (0,1 %) та із тими ж наповнювачами, було застосовувано для порівняння.

10 Метою експерименту було оцінювання ефективності композиції гелю, що містить сполуку згідно з винаходом (група лікування А), у порівнянні із немодифікованою комерційною сіллю натрію НА, (група лікування В), з інструментальним вимірюванням зволоження та еластичності.

24 волонтерів (середній вік 49,8 років) наносили кожний продукт на половину обличчя двічі на добу, кожної доби, на чотири тижні.

15 На початку тесту (До) та в кінці чотирьох тижнів лікування (Чт), інструментальні вимірювання зволоження та еластичності шкіри у періокулярній зоні проводили на ділянках застосування. Волонтери повністю видаляли продукт промиванням водою за три годин перед інструментальним вимірюванням.

20 Рівень зволоження stratum corneum обличчя було виміряно корнеометром, прилад, що вимірює рівень зволоження поверхні шкіри, тоді як еластичність шкіри було виміряно еластометричним способом присмокування, застосовуючи прилад, що вимірює деформацію поверхні шкіри, коли вона всмоктується у вимірювальний зонд. Постійний негативний тиск 350 мбар було створено протягом 1 с зсередини зонду у контакті зі шкірою. Експеримент складався з трьох циклів присмокування/вивільнення, що вимірювали деформацію характеристик

25 еластичності шкіри, вказаних як параметр R2.

Результати отримані таким чином, підбиті у таблиці нижче:

Визначення біологічної еластичності (Параметр R2)

	До	Чт	Варіація	% Варіації	t-тест (До-Чт)
Група А	0,460	0,574	0,114	24,8	P<0,001
Група В	0,511	0,523	0,012	2,3	p>0,05

30 Дані, показані у таблиці вказують, що для препарату отриманого згідно з винаходом (Група А) було дуже значне збільшення параметру R2 (біологічна еластичність), тоді як продукт для порівняння (Група В) не виявив будь-якої значної дії на параметр R2.

35 Стосовно параметру зволоження, не було значної відмінності між моментами часу До та Чт для будь-якої груп лікування, цей результат є поясненням застосовуваним експериментальним протоколом, що планував промивання від препарату за три години перед інструментальними вимірюваннями.

Оцінювання пом'якшувальної дії на шкіру, піддану тепловому стресу опромінюванням

Вісім пацієнток, що потерпають від раку молочної залози, із середнім віком 52 роки, лікували радіотерапією.

40 Цикл лікування, що містить 15 обробок, полягав у застосування у сукупності дози 30 Грей.

Метою дослідження було оцінювання можливості виконання усіх потрібних циклів лікування, припустимості продукту, та його захисної ефективності.

45 Мазь, отриману як описано у прикладі 9 наносили на опромінену зону кожної доби, 3 рази на добу, при інтервалах 8 годин між нанесеннями, завжди починаючи за 2 годин перед лікуванням радіотерапією та продовжуючи протягом 5 діб після закінчення радіотерапії. Опромінену зону шкіри було оцінено на цьому етапі.

Усі пацієнтки були планомірно толерантними у циклі лікування (30 Грей), показуючи чудову захисну дію та припустимість застосовуваного препарату.

50 Ефективність лікування було також оцінено за балами несприятливої реакції на опромінену шкіру. Конкретно, були задані нижченаведені бали:

0 нема реакції

1 слабка еритема

2 помірна еритема

3 суворе еритема

55 4 десквамація

Одна пацієнтка 8 виявила десквамацію, 1 помірну еритему, 1 слабку еритему, та 5 не виявили реакції

На закінчення, це дослідження із препаратом крему згідно з винаходом показало гарну припустимість та чудову локальну захисну дію проти індукованого радіотерапією дерматиту.

Це ясно вказує, що похідні згідно з винаходом можна переважно застосовувати як активні інгредієнти місцевих композицій змішаними з дерматологічно прийнятними інертними носіями.

5 Похідні згідно з винаходом можуть бути наявними у межах 0,05-5 мас%. Придатні композиції охоплюють креми, мазі, гелі, гідрофільні рідини, водні або водно-спиртові лосьйони, емульсії олива у воді або вода в оливі Отримання змішаних масляних/мурашиних естерів кислотних полісахаридів є у нижченаведених прикладах.

10 Приклад 1: Синтез солі натрію масляного та мурашиного естеру гіалуронової кислоти (BUT07005)

5,00 г натрій гіалуронату з молекулярною масою приблизно 300 кДа розчиняють у 100 мл формаміду при 95 °С, під азотом та обережно перемішують протягом приблизно 1 години.

15 Утворений розчин полісахариду охолоджують при кімнатній температурі та 503,3 мг розчину 4-диметиламінопіридину у 5 мл формаміду додають краплями, при швидкості 1,67 мл/хвил Через 15 хвилин, 734 мкл масляного ангідриду додають та залишають реагувати протягом 40 хвилин Реакційну суміш, що є гомогенною та дуже в'язкою, переносять у 1,2 л 0,9 % NaCl (маса/об'єм).

Розчин фільтрують під зменшеним тиском через скляний фільтр, та тоді ще розбавляють 0,9 % розчином NaCl (маса/об'єм) до кінцевого об'єму 2,5 л.

20 Продукт очищають тангенційним фільтруванням через фільтр-мембрану з пористістю 10 кДа, спершу проти 0,9 % NaCl (маса/об'єм), а тоді вичерпно проти ультрачистої води.

Згодом, розчин заморожують, та продукт отримують сушкою сублімацією, отримують 4,03 г білого ліофілізату.

Ліофілізат аналізують за допомогою ^1H ЯМР.

25 Ступінь заміщення масляного естеру (C3 масл) 0,13, ступінь заміщення мурашиного естеру (C3 мураш): 0,07.

Приклад 2: Синтез солі натрію масляного та мурашиного естеру гіалуронової кислоти (BUT07002)

5,00 г натрій гіалуронату з молекулярною масою приблизно 300 кДа розчиняють у 100 мл формаміду при 95 °С, під азотом та обережно перемішують протягом приблизно 1 години.

30 Утворений розчин полісахариду охолоджують при кімнатній температурі, та розчин 0,76 г 4-диметиламінопіридину у 5 мл формаміду додають краплями, при швидкості 1,67 мл/хвил Через 15 хвилин, 1,0 мл масляного ангідриду додають та залишають реагувати протягом 40 хвилин Реакційну суміш, що є гомогенною та дуже в'язкою, переносять у 1,2 л 0,9 % NaCl (маса/об'єм).

35 Розчин фільтрують під зменшеним тиском через скляний фільтр, та тоді ще розбавляють 0,9 % розчином NaCl (маса/об'єм) до кінцевого об'єму 2,5 л.

Зразок очищають тангенційним фільтруванням через фільтр-мембрану з пористістю 10 кДа, спершу проти 0,9 % NaCl (маса/об'єм), а тоді вичерпно проти ультрачистої води.

Розчин полісахариду згодом заморожують, та продукт отримують сушкою сублімацією, отримують 4,90 г білого ліофілізату.

40 Ліофілізат аналізують за допомогою ^1H ЯМР.

Ступінь заміщення масляного естеру (C3 масл) 0,23, ступінь заміщення мурашиного естеру (C3 мураш): 0,07.

Приклад 3: Синтез солі натрію масляного та мурашиного естеру гіалуронової кислоти (BUT07004)

45 5,00 г натрій гіалуронату з молекулярною масою приблизно 300 кДа розчиняють у 100 мл формаміду при 95 °С, під азотом та обережно перемішують протягом приблизно 1 години.

50 Утворений розчин полісахариду охолоджують при кімнатній температурі, та розчин 1,26 г 4-диметиламінопіридину у 8 мл формаміду додають краплями при швидкості 1,67 мл/хвил Через 15 хвилин, 1,7 мл масляного ангідриду додають та залишають реагувати протягом 40 хвилин Реакційну суміш, що є гомогенною та дуже в'язкою, переносять у 1,2 л 0,9 % NaCl (маса/об'єм).

Розчин фільтрують під зменшеним тиском через скляний фільтр, та тоді ще розбавляють 0,9 % розчином NaCl (маса/об'єм) до кінцевого об'єму 2,5 л.

Зразок очищають тангенційним фільтруванням через фільтр-мембрану з пористістю 10 кДа, спершу проти 0,9 % NaCl (маса/об'єм), а тоді вичерпно проти ультрачистої води.

55 Розчин полісахариду згодом заморожують, та продукт отримують сушкою сублімацією, отримують 4,79 г білого ліофілізату.

Ліофілізат аналізують за допомогою ^1H ЯМР.

Ступінь заміщення масляного естеру (C3 масл): 0,6 ступінь заміщення мурашиного естеру (C3 мураш): 0,06.

Приклад 4: Синтез солі натрію масляного та мурашиного естеру гіалуронової кислоти (BUT07001)

5,00 г натрій гіалуронату з молекулярною масою приблизно 300 кДа розчиняють у 100 мл формаміду при 95 °С, під азотом та обережно перемішують протягом приблизно 1 години

5 Утворений розчин полісахариду охолоджують при кімнатній температурі, та розчин 1,67 г 4-диметиламінопіридину у 10 мл формаміду додають краплями, при швидкості 1,67 мл/хвил. Через 15 хвилин, 2,25 мл масляного ангідриду додають та залишають реагувати протягом 40 хвилин. Реакційну суміш, що є гомогенною та дуже в'язкою, переносять у 1,2 л 0,9 % NaCl (маса/об'єм).

10 Розчин фільтрують під зменшеним тиском через скляний фільтр, та тоді ще розбавляють 0,9 % розчином NaCl (маса/об'єм) до кінцевого об'єму 2,5 л.

Зразок тоді очищають тангенційним фільтруванням через фільтр-мембрану з пористістю 10 кДа, спершу проти 0,9 % NaCl (маса/об'єм), а тоді вичерпно проти демінералізованої води.

15 Розчин полісахариду згодом заморожують, та продукт отримують сушкою сублімацією, отримують 5,15 г білого люфілізату.

Люфілізат аналізують за допомогою ^1H ЯМР.

Ступінь заміщення масляного естеру (C3 масл) 0,69, ступінь заміщення мурашиного естеру (C3 мураш): 0,04.

20 Приклад 5: Синтез солі натрію масляного та мурашиного естеру гіалуронової кислоти (BUT07007)

23,00 г натрій гіалуронату з молекулярною масою приблизно 300 кДа розчиняють у 0,46 л формаміду при 95 °С, під азотом та обережно перемішують протягом приблизно 1 години.

25 Утворений розчин полісахариду охолоджують при кімнатній температурі та розчин 5,47 г 4-диметиламінопіридину у 20 мл формаміду додають краплями, при швидкості 2,0 мл/хвил. Через 15 хвилин, 7,3 мл масляного ангідриду додають та залишають реагувати протягом 40 хвилин. Реакційну суміш, що є гомогенною та дуже в'язкою переносять у 2,5 л 0,9 % NaCl (маса/об'єм).

Розчин фільтрують під зменшеним тиском через скляний фільтр, та тоді ще розбавляють 0,9 % розчином NaCl (маса/об'єм) до кінцевого об'єму 8,0 л.

30 Зразок очищають тангенційним фільтруванням через фільтр-мембрану з пористістю 10 кДа, спершу проти 0,9 % NaCl (маса/об'єм), а тоді вичерпно проти ультрачистої води.

Розчин полісахариду згодом заморожують, та продукт отримують сушкою сублімацією, 22,26 г білого люфілізату отримують

Люфілізат аналізують за допомогою ^1H ЯМР.

35 Ступінь заміщення масляного естеру (C3 масл) 0,41, ступінь заміщення мурашиного естеру (C3 мураш): 0,07

Приклад 6: Синтез солі натрію масляного та мурашиного естеру гіалуронової кислоти (BUT07008)

23,00 г натрій гіалуронату з молекулярною масою приблизно 300 кДа розчиняють у 0,46 л формаміду при 95 °С, під азотом та обережно перемішують протягом приблизно 1 години.

40 Утворений розчин полісахариду охолоджують при кімнатній температурі, та розчин 7,71 г 4-диметиламінопіридину у 35 мл формаміду додають краплями, при швидкості 3,5 мл/хвил. Через 15 хвилин, 10,3 мл масляного ангідриду додають та залишають реагувати протягом 40 хвилин. Реакційну суміш, що є гомогенною та дуже в'язкою, переносять у 7,0 л 0,9 % NaCl (маса/об'єм).

45 Розчин фільтрують під зменшеним тиском через скляний фільтр, та тоді ще розбавляють 0,9 % розчином NaCl (маса/об'єм) до кінцевого об'єму 8,0 л.

Зразок очищають тангенційним фільтруванням через фільтр-мембрану з пористістю 10 кДа, спершу проти 0,9 % NaCl (маса/об'єм), а тоді вичерпно проти ультрачистої води.

Розчин полісахариду згодом заморожують, та продукт отримують сушкою сублімацією, отримують 23,50 г білого люфілізату.

50 Люфілізат аналізують за допомогою ^1H ЯМР.

Ступінь заміщення масляного естеру (C3 масл) 0,54, ступінь заміщення мурашиного естеру (C3 мураш): 0,10.

Приклад 7: Синтез солі натрію масляного та мурашиного естеру гіалуронової кислоти (BUT07014)

55 150,00 г натрій гіалуронату з молекулярною масою приблизно 300 кДа розчиняють у 3 л формаміду при 95 °С, під азотом та обережно перемішують протягом 1 годин 45 хвилин.

Утворений розчин полісахариду охолоджують при кімнатній температурі, та розчин 32,00 г 4-диметиламінопіридину у 200 мл формаміду додають краплями, при швидкості 20,0 мл/хвил. Через 15 хвилин, 43,0 мл масляного ангідриду додають, та залишають реагувати протягом 45

хвилин Реакційну суміш, що є гомогенною та дуже в'язкою, переносять у 4,0 л ультрачистої води.

Розчин фільтрують під зменшеним тиском через скляний фільтр та тоді ще розбавляють ультрачистою водою до кінцевого об'єму 30,0 л.

5 Зразок тоді очищають тангенційним фільтруванням через фільтр-мембрану з пористістю 10 кДа, спершу проти 0,9 % NaCl (маса/об'єм), а тоді вичерпно проти ультрачистої води.

Розчин тоді стерилізують пропусканням під тиском (2 бар) через фільтр-мембрану 0,22 мкм, та згодом заморожують.

Продукт отримують сушкою сублімацією, з отриманням 140 г білого люфі лізату.

10 Люфілізат аналізують за допомогою ^1H ЯМР.

Ступінь заміщення масляного естеру (C3 масл) 0,32, ступінь заміщення мурашиного естеру (C3 мураш): 0,07

Приклад 8: Синтез солі натрію масляного та мурашиного естеру хондроїтин сульфату (BUT07015)

15 201,9 мг хондроїтин сульфату з молекулярною масою приблизно 20 кДа розчиняють у 1 мл формаміду при 95 °C, під азотом та обережно перемішують протягом приблизно 20 хвилин.

Утворений розчин полісахариду охолоджують до кімнатної температури та розчин 49,2 мг 4-диметиламінопіридину у 0,5 мл формаміду додають 65 мкл масляного ангідриду додають через 15 хвилин, та залишають реагувати протягом 40 хвилин.

20 Продукт отримують осадженням у 2 0 об'ємах ацетону, промивають 3 рази ацетоном та тоді сушать при низькому тиску.

Отримують 180,0 мг білого твердого продукту Зразок аналізують за допомогою ^1H ЯМР.

Ступінь заміщення масляного естеру (C3 масл) 0,50, ступінь заміщення мурашиного естеру (C3 мураш): 0,03.

25 Приклад 9: Отримання еластизованого О/В крему

Необмежувальний приклад винаходу, що ілюструє отримання композиції крему, що містить один з масляних/мурашиних естерів згідно з винаходом представлено нижче.

О/В композиція крему містить у прикладі 2 сполуку, описану як агент надання еластичності та вологості, при концентрації 0,1 %, відповідним чином змішану зі звичайними наповнювачами, застосовуваними у дерматологічних косметичних засобах, як-то емульгатори, загусники, оливи, зволожувачі, консерванти, тощо.

Коротше, процес йде як нижченаведено:

35 Приблизно 600 мл демінералізованої води (відповідні приблизно 60 мас% сукупної композиції) завантажують у турбоемульгатор, та попередньо розплавлену жирну фазу додають при перемішуванні при приблизно 70 °C Суміш емульгують, та охолоджують повільно до температури 35-40 °C Термолабільні та леткі компоненти додають при цій температурі, а потім сіль натрію масляного/мурашиного естеру НА, описану у прикладі 2, розчиняють у придатній кількості води Суміш повільно перемішують до досягнення температури 25-30 °C, та продукт тоді вивантажують у придатну посудину.

40 Результатом є крем з наступним складом (мас%):

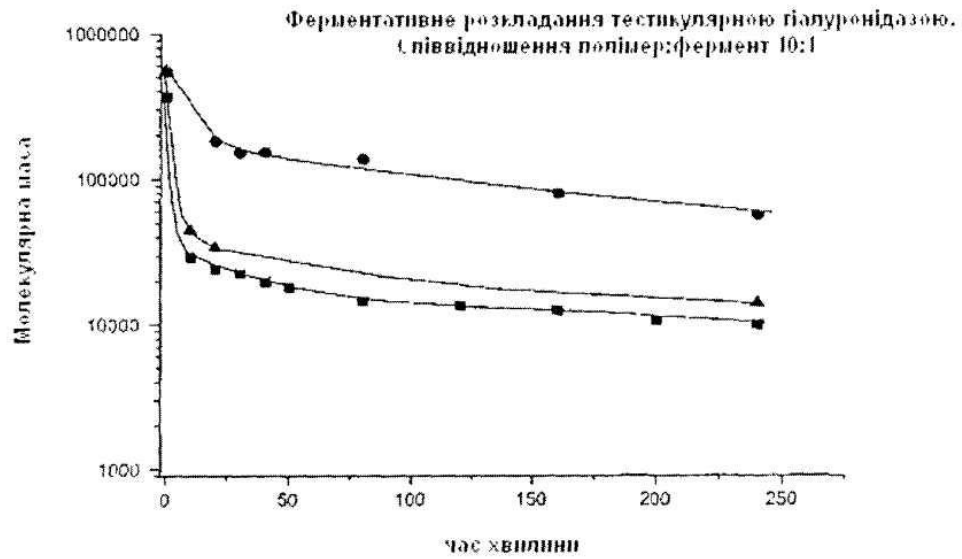
Сіль натрій масляного/мурашиного естеру НА (Приклад 2)	0,1
Олії (пальмітил/каприл-гліцериди-тригліцериди)	12
Неіонні емульгатори	6
Цетиловий спирт	2
Диметикон	4
MgAl силікат	2
Гліцерин	3
Ксилітол	2
Парабени	0,7
H ₂ O	до 100

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

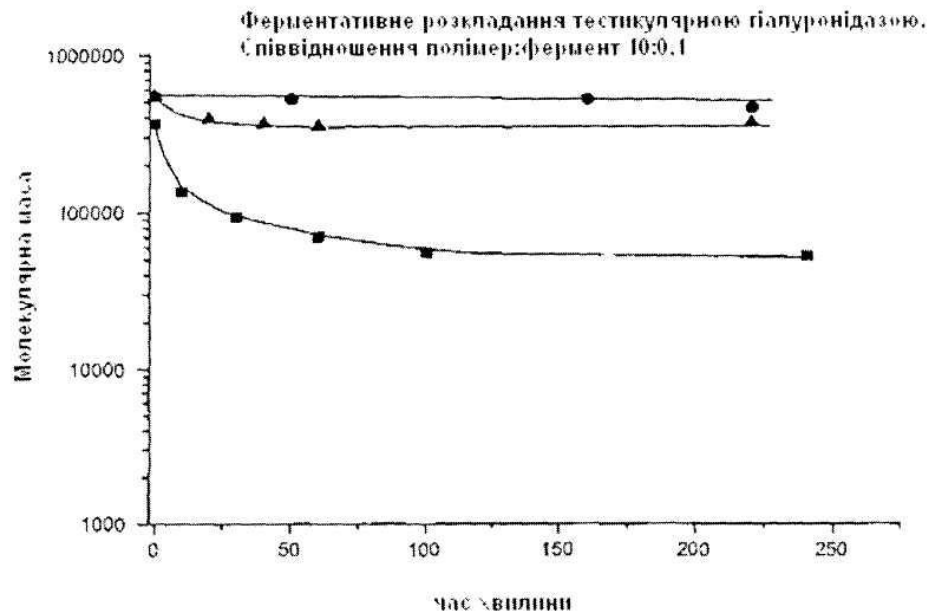
45 1. Кислотний полісахарид, вибраний з гіалуронової кислоти, хондроїтин сульфату, дерматан сульфату, гепаран сульфату та чератан сульфату, який **відрізняється** тим, що містить спиртові групи, естерифіковані масляною та мурашиною кислотами.

2. Кислотний полісахарид за п. 1, який **відрізняється** тим, що його карбоксильна група є у формі кислоти або у формі солі з лужними металами, зокрема натрієм.

3. Кислотний полісахарид за п. 1, який **відрізняється** тим, що його молекулярна маса є вибраною у межах 10^3 - 10^7 Да.
4. Кислотний полісахарид за п. 1, який **відрізняється** тим, що він є гіалуроновою кислотою з молекулярною масою 10^4 - 10^6 Да.
- 5 5. Кислотний полісахарид за п. 1, який **відрізняється** тим, що ступінь естерифікації масляною кислотою його гідроксильних груп є між 0,01 та $1 \cdot N$, де N є числом вільних спиртових груп у повторюваній ланці, тоді як ступінь естерифікації його гідроксильних груп мурашиною кислотою є між 0,01 та 0,20.
- 10 6. Кислотний полісахарид за п. 1, який **відрізняється** тим, що ступінь естерифікації його гідроксильних груп масляною кислотою є між 0,01 та $0,2 \cdot N$, де N є числом вільних спиртових груп у повторюваній ланці, тоді як ступінь естерифікації його гідроксильних груп мурашиною кислотою є між 0,01 та 0,20.
- 15 7. Кислотний полісахарид за п. 1, який **відрізняється** тим, що є гіалуроновою кислотою і ступінь естерифікації гідроксильних груп масляною кислотою є між 0,01 та 0,8, тоді як ступінь естерифікації гідроксильних груп мурашиною кислотою є між 0,01 та 0,20.
8. Спосіб одержання кислотних полісахаридів за пп. 1-7, що полягає у нижченаведеному:
 - а) розчинення кислотного полісахариду у формі солі з натрієм або іншими лужними металами нагріванням у формахміді;
 - б) додавання масляного ангідриду до утвореного розчину при кімнатній температурі у присутності органічної основи;
 - 20 в) розбавлення гомогенної, в'язкої реакційної суміші водним розчином NaCl та нейтралізування її до pH 6-7,5;
 - г) очищення розбавленої реакційної суміші діалізом або тангенційним фільтруванням;
 - е) заморожування очищеного розчину полісахариду та одержання продукту сушінням сублімацією або сушінням розпиленням.
- 25 9. Спосіб за п. 8, який **відрізняється** тим, що основою є ароматична або аліфатична органічна основа, що містить один атом тризаміщеного нітрогену, переважно диметиламінопіридин або триетиламін.
- 30 10. Спосіб за п. 8, який **відрізняється** тим, що температура розчинення полісахариду у формахміді є між 60 °C та 120 °C, а переважно 95 °C.
11. Спосіб одержання кислотних полісахаридів за п. 1 або 8, де форміат-естер одержують шляхом гідролізу формахмиду у присутності масляного ангідриду та основи.
12. Місцеводіюча композиція, що містить похідні кислотного полісахариду за пп. 1-7, та дерматологічно прийнятні інертні носії.
- 35 13. Місцеводіюча композиція за п. 12, яка **відрізняється** тим, що вона містить між 0,05 % та 5 % полісахаридної кислоти від маси композиції.
14. Місцеводіюча композиція за п. 12, яка **відрізняється** тим, що вибрана з групи: креми, мазі, гелі, гідрофільні рідини, водні або водно-спиртові лосьйони, емульсії олива/вода або вода/олива.
- 40 15. Застосування місцеводіючої композиції за пп. 12-14 для надання еластичності, вологості, тонування шкіри, як агенти проти старіння та проти вугрів.
16. Застосування місцеводіючої композиції за пп. 12-14 для допоміжного лікування уражень шкіри.
- 45 17. Застосування за п. 16, де ураженнями шкіри є запалення, хронічні виразки, поранення, atopічний або контактний дерматит, ознаки старіння або гіпертермія шкіри, спричинена опромінюванням.



Фіг. 1



Фіг. 2

НА: Комерційний зразок Мм = 300 кДа

- : НАВФ приклад 4. СЗ = 0,7 (масляна), 0,04 (мурашина)
- ▲ : НАВФ приклад 2: СЗ = 0,2 (масляна), 0,07 (мурашина)

Комп'ютерна верстка Г. Паяльніков

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601