

Изобретение относится к области химии, в частности к способам получения высокомолекулярных соединений, а также к области медицины, а именно к способам получения лекарственных препаратов, которые могут быть использованы при ускорении процесса эпителизации участков тела - для заживления бедренных язв или пролежней, в том числе незаживающих язв, ожогов, последствий радиации и теплового воздействия.

Известны способы получения гиалуроната натрия (натриевой соли гиалуроновой кислоты), которую применяют в терапии, главным образом в офтальмологии, хирургии и косметологии; солей гиалуроновой кислоты, содержащих ионы щелочных и щелочноземельных металлов, магния, алюминия, аммония или производных аммония, которые используют в качестве носителей, промотирующих абсорбцию лекарств; солей тяжелых металлов гиалуроновой кислоты (к "тяжелым металлам" относят элементы 5, 6 и 7 - го периодов Периодической системы химических элементов, а также лантаноиды и актиноиды) и солей серебра вместе с ними, применяемых в качестве фунгицидных средств, и солей золота, применяемых при лечении артрита [1].

В литературе нельзя найти никаких ссылок, относящихся к ассоциатам (комплексам) гиалуроновой кислоты, содержащей ионы 3d металлов четвертого периода Периодической системы химических элементов. Действительно, в соответствии с данными хроматографического анализа при фильтрации геля гиалуроновая кислота (или ее натриевая соль) не может связывать ионы цинка в отличие от гепарина.

В основу изобретения поставлена задача создания способа получения активной композиции на основе новых ассоциатов (комплексов) гиалуроновой кислоты с ионами 3d металлов четвертого периода Периодической системы химических элементов.

Поставленная задача решается тем, что в способе получения биологически активной композиции путем смешения фармацевтически эффективного количества металлсодержащего производного гиалуроновой кислоты с целевыми добавками согласно изобретению в качестве металлсодержащего производного гиалуроновой кислоты используют ее ассоциаты с ионами кобальта или цинка.

Исследование химических процессов взаимодействия между гиалуроновой кислотой и ионами 3d четвертого периода Периодической системы химических элементов, включающей в себя, главным образом, ионы цинка и кобальта.

Так как в промышленном производстве гиалуроновую кислоту выпускают практически только в виде ее натриевой соли, данная соль является основным веществом, содержащим гиалуронат. Поэтому исследования начали с изучения процесса взаимодействия ионов натрия и гиалуроната. С этой целью активность свободных ионов натрия из водных растворов гиалуроната натрия была определена с помощью стеклянного натрий-селективного электрода. В соответствии с данными исследований было однозначно установлено, что не более чем 60% ионов натрия, введенных в эквивалентном соотношении вместе с карбоксилатными группами гиалуроната, присутствуют 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, было выявлено, что, несмотря на общие характеристики всех солей, гиалуронат натрия не полностью диссоциирует в водном растворе.

На следующей стадии исследований водный раствор гиалуроната натрия был оттитрован раствором хлорида цинка при использовании натриевого ион-селективного электрода, упомянутого выше при описании определения изменения активности свободных ионов натрия в системе. Химически связанные с гиалуронатом ионы натрия освобождаются под действием ионов цинка. В соответствии с результатами измерений общая концентрация ионов натрия освобождается за счет эквивалентного количества цинка - факт, определенно доказывающий, что ионы цинка образуют с гиалуронатом более прочную связь, чем ионы натрия. Таким образом, более раннее утверждение о том, что гиалуроновая кислота не может связывать ионы цинка, было экспериментально опровергнуто.

В соответствии с данными проведенных исследований становится ясно, что, благодаря взаимодействию эквивалентных количеств гиалуроната натрия и ионов цинка (хлорида цинка) в водном растворе, образуется ассоциат гиалуроната цинка стехиометрического состава. После соответствующей изотонизации полученный раствор может непосредственно использоваться в терапевтических целях и соединение цинка в твердом состоянии не нужно получать отдельным способом. Осуществление предварительных исследований с применением ионов кобальта и других ионов 3d металлов приводит к аналогичным результатам.

Был получен комплекс в твердом состоянии для изучения свойств соединения и непосредственное окружение ионов цинка было исследовано методом получения тонких структур при поглощении рентгеновских лучей. Было установлено, что цинк окружен четырьмя атомами углерода во внутренней координационной сфере. Длина связи Zn-O равна 199 p.m., тогда как два атома углерода находятся на расстоянии 241 p.m. от атома цинка.

В соответствии с исследованиями гиалуронат цинка значительно отличается от аналогичного комплекса меди, который содержит четыре экваториальные и две осевые связи Cu-O длиной 194 и 234 p.m. соответственно. Расстояние между атомом меди и двумя углеводородными атомами равно 258 p.m. Структура комплекса кобальта подобна структуре комплекса цинка, а не меди.

При необходимости указанные ассоциаты Co и Zn могут быть использованы в составе с другими активными компонентами и/или добавками.

Входящие в состав композиции ассоциаты (комплексы) получают следующим образом:

а) добавление водного раствора, содержащего эквивалентное количество соли, предпочтительно хлорида Co или Zn, в водный раствор гиалуроната натрия или другой соли (соли щелочного или щелочно-земельного металла, при желании соли серебра) гиалуроната; или

б) растворение ассоциата, образованного из гиалуроната кислоты вместе с солью четвертичного аммония в водной суспензии, в смеси растворителей, содержащих водные растворы иона Co или Zn и растворитель, частично смешиваемый с водой, предпочтительно Н-бутанол, затем

- осаждение ассоциата (комплекса), полученного из гиалуроновой кислоты с ионом Co или Zn известным

способом с применением алканоло или алканона, или

- выделение осадка из раствора и затем (при желании)
- высушивание в мягких условиях.

В процессе получения ассоциатов металлов способом, указанным выше, pH остается равным 5. В случае 0,2вес./об.% раствора гиалуроната pH достигает величины 5,4, тогда как, в случае 0,5вес./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.

Изотонический раствор гиалуроната цинка получают путем добавления избытка хлорида цинка.

1. С учетом того, что свободный хлорид цинка может быть использован в дерматологии, осмотическое давление раствора гиалуроната цинка было доведено до изотонического давления с помощью хлорида цинка. Раствор, полученный таким образом, 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 моносахарида (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, т.е. ассоциаты, полученные способом, указанным выше, обычно содержат хлорид натрия или другую соль, образованную из катиона исходного гиалуроната и аниона соли 3d металла.

Два различных варианта способа могут быть использованы для получения ассоциата гиалуроновой кислоты, не содержащего соль, образованную с помощью иона Co или Zn. Это осуществляется следующим образом:

а) раствор соли четвертичного аммония порционно добавляют в известный раствор гиалуроната, предпочтительно гиалуроната натрия. После очистки новый осажденный ассоциат соли четвертичного аммония растворяют при интенсивном перемешивании в смеси двух растворителей, состоящих из водного раствора иона Co или Zn и растворителя, частично смешивающегося с водой, предпочтительно н-бутанола. Две фазы можно разделить, затем ассоциат гиалуроната осаждают путем добавления алканоло или алканона в водную фазу. Осадок отделяют и промывают, или

б) после добавления от 2,0 до 3,0 объемов C₁-C₃ алканоло или C₃-C₄ алканона при перемешивании к раствору гиалуроната цинка, соответствующему неизотонизированному раствору, содержащему хлорид цинка, в количестве, эквивалентном гиалуронату, осажденный гиалуронат цинка отфильтровывают и промывают с помощью алканоло или алканона, соответственно использованному для осаждения. При необходимости гиалуронат цинка растворяют в свободной воде и повторяют процесс осаждения.

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 процесса твердое или растворенное вещество, содержащее свободные ионы, получают с произвольной чистотой, зависящей от качества исходного гиалуроната цинка.

Изобретение более подробно иллюстрируется нижеследующими примерами.

Вязкость гиалуроната была измерена вискозиметром Оствальда в физиологическом соляном растворе при 20°C. Значение характеристической вязкости, экстраполированное до "0" концентрации, т.е. $[\eta]C \rightarrow 0\%$, приведено ниже.

25°C

Пример 1. Приготовление раствора гиалуроната цинка.

40,18мг гиалурата натрия растворяют в 20,0мл дважды дистиллированной воды. Таким образом, исходная концентрация гиалуроновой кислоты составляет 2,009мг/мл, эквивалентная концентрации раствора $4,241 \times 10^{-3}$ моль/литр (Na⁺ или димер гиалуроновой кислоты). В ходе измерений раствор хлорида цинка концентрацией 0,05154моль/литр добавляют в реакционную смесь через микробюретку. Сначала раствор добавляют маленькими порциями (0,05мл), а затем большими (от 0,1 до 0,2мл). 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 была откалибрована в условиях, аналогичных практическим методам измерений).

Избирательное действие ион-селективного электрода наблюдалось также в присутствии Z_n²⁺ с целью контроля за изменением потенциала в практических измерениях, вызванных наличием свободных ионов Na⁺, но не Z_n²⁺, вводимых в раствор. Раствор хлорида натрия концентрацией $2,00 \times 10^{-3}$ М был оттитрован с помощью раствора хлорида цинка в условиях, аналогичных выше описанным. При возрастании концентрации Z_n²⁺ от 0 до 4×10^{-3} моль/метр рост потенциала составил 2мВ, тогда как практические измерения в аналогичных условиях показали изменение потенциала на 20мВ. Таким образом, оценка не вызывает затруднений. В ходе измерений увеличение активности ионов натрия, рассчитываемое на основе данных измерений, обнаруживает количественное образование ассоциата цинка.

Приготовление раствора хлорида цинка.

Так как раствор, содержащий хлорид цинка точной концентрации, не может быть получен непосредственно 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 30мин) 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 0,100моль/л получают путем точного разбавления этого раствора.

Характеристики гиалуроната натрия, используемого для получения раствора:

Молекулярный вес	1850000
Содержание протеина	0,07вес. %
Уф-адсорбция $A_{257}^{1\%}$	0,133
$A_{280}^{1\%}$	0,075
Вязкость $[\eta]C \rightarrow 0\%$	13,7дл/г
25°C	
Содержание HA^x	98,12вес. %

HA^x - гиалуриновая кислота (указанное выше сокращение).

Пример 2. Получение раствора для дерматологических и косметологических целей.

12,5мл раствора хлорида цинка концентрацией 0,100моль/л, полученного вместе со свободной водой, добавляют к 0,50г взвешенного гиалуроната в 100мл 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 0,5вес./об. %.

Характеристики гиалуроната натрия, используемого для получения вышеуказанного раствора.

Вязкость $[\eta]C \rightarrow 0\%$	16,5дл/г
25°C	
Содержание протеина	0,8вес. %

Пример 3. Получение раствора гиалуроната цинка для использования в качестве инъекционного раствора.

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

0,5мл раствора хлорида цинка концентрацией 0,100моль/л получают вместе с дважды дистиллированной водой (вода для инъекций, пирогенных препаратов, стерильная), добавляют к 0,20г гиалуроната натрия (в виде чистого порошка), взвешенного в 100мл мерной колбе. Затем объем доводится дважды дистиллированной водой до 50мл. 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 (0,45μ размер пор) для получения 0,2вес./об. % раствора гиалуроната цинка.

Характеристика гиалуроната натрия, используемого для получения вышеуказанного раствора:

Качество: чистый, свободный от пирогенных веществ, стерильный порошок.

Молекулярный вес	1850000
Содержание протеина	0,07вес. %
Уф-адсорбция $A_{257}^{1\%}$	0,133
$A_{280}^{1\%}$	0,075
Содержание HA	98,12вес. %
Вязкость $[\eta]C \rightarrow 0\%$	13,7дл/г
25°C	

Пример 4. Получение раствора гиалуроната цинка со свободными ионами.

600мл этанола для аналитических целей добавляют при перемешивании к 200мл 0,50вес. % раствора гиалуроната цинка, полученного в соответствии с примером 2. Осажденный гиалуронат цинка отфильтровывают на стеклянном фильтре. Дважды промывают 50мл этанола того же качества и затем высушивают при пониженном давлении. Таким образом получают 0,88г гиалуроната цинка, который используют для приготовления 0,50вес./об. % раствора гиалуроната цинка способом, указанным в примере 2. Полученный раствор гиалуроната цинка не содержит хлорид натрия, образующийся в результате реакции между гиалуронатом натрия и хлоридом цинка: таким образом, он содержит практически свободные ионы.

Пример 5. Получение гиалуроната цинка со свободными ионами или его раствора для терапевтических целей.

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

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

Пример 6. Получение гиалуроната цинка со свободными ионами.

200мл 10вес. % раствора тиамин[®] 1622 (бензилдиметил)-2/-2-р-(1,1,3,3-тетраметилбутил)фенокси/этоксид/хлорид аммония) добавляют при перемешивании в раствор, содержащий 1г гиалуроната натрия в 400мл дважды дистиллированной воды. Образовавшийся осадок, т.е. ассоциат четвертичного аммония гиалуриновой кислоты, выделяют центрифугированием, дважды промывают, используя по 100мл дистиллированной воды, и снова центрифугируют. Промытый осадок растворяют в смеси растворителей, состоящей из 400мл 2вес./об. % хлорида цинка в водном растворе (рН от 5,0 до 5,4) и 400мл н-бутанола. После выдерживания до образования двух фаз водный слой, содержащий растворенный гиалуронат цинка, отфильтровывают через мембранный фильтр (0,45μ 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 0,82г гиалуроната цинка.

При необходимости 0,50вес./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 $[\eta]_{C \rightarrow 0\%}$ 16,5дл/г
25°С

Содержание протеина 0,18вес./об. %

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

а) хлоридкарботетрадецилклоксиметил-триметиламмоний

б) хлорид гексадецилпиридина

в) хлорид цетилпиридина

г) хлорид триметиламмония и подобные соединения.

Пример 7. Получение гиалуроната кобальта соответствует способу, указанному в примере 6, за исключением того, что ассоциат гиалуроновой кислоты четвертичного аммония растворяют в смеси растворителей, состоящей из 2вес./об. % хлорида кобальта (II) в H_2O водного раствора и н-бутанола.

Пример 8. Получение водного раствора, содержащего 0,50вес./об. % гиалуроната цинка и изотонического раствора с помощью хлорида цинка.

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

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

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

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

Пример 9. Получение водного раствора, содержащего 0,2вес./об. % гиалуроната цинка, и получение изотонического раствора с применением хлорида цинка.

Для получения конечного объема 100мл взвешивают 10,20г гиалуроната натрия и растворяют в растворе хлорида цинка концентрацией 0,120моль/л.

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

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

Содержание ПА 1,96мг/мл

Вязкость 15,9дл/г

Содержание протеина 0,015мг/мл

Чистота раствора^х A_{600}^{1cm} 0,015мг/мл -

(^хНа основании измерения спектральной поглощательной способности при 160нм с применением 1см кюветы).

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

Пример 10. Получение водного раствора, содержащего 0,50вес./об. % гиалуроната, и получение изотонического раствора с применением глюкозы.

Раствор содержит гиалуронат натрия и расчетное эквивалентное количество хлорида цинка.

12,50мл раствора хлорида натрия концентрацией 0,100моль/л добавляют к 0,50г гиалуроната натрия, взвешенного в 100мл 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 50мл свободной водой, затем растворяют при встряхивании. Потом добавляют 24,50мл раствора глюкозы концентрацией 1,00моль/л и доводят до отметки свободной водой.

Осмотическое давление раствора 0,1495моль/л эквивалентно концентрации хлорида натрия, значение рН равно 5,4.

Общая концентрация цинка равна $1,25 \times 10^{-2}$ 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 11. Получение водного раствора, содержащего 0,2вес. % гиалуроната цинка, и получение изотонического раствора с применением глюкозы.

Раствор содержит гиалуронат натрия и расчетное эквивалентное количество хлорида цинка.

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

Осмотическое давление раствора 0,151моль/л эквивалентно концентрации хлорида натрия, значение рН равно от 5,6 до 5,7. Общая концентрация цинка = $5 \times 0,10^{-3}$ моль/л.

Пример 12. Получение водного раствора, содержащего 0,5вес./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 эквивалентные количества хлорида цинка, рассчитанные на гиалуронат натрия.

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

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

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

Пример 13. Получение водного раствора, содержащего 0,2вес./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 0,2г гиалуроната натрия растворяют в 5мл раствора хлорида цинка концентрацией 0,100моль/л, затем добавляют 26,50мл раствора сорбитола концентрацией 1моль/л и доводят раствор до 100мл. Полученный раствор отфильтровывают через мембранный фильтр (0,45μ размер поры). Этот раствор может быть использован для любых целей, кроме инъекций.

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

Содержание гиалуроната 2,03мг/мл

Вязкость 16,1дл/г

Содержание протеина 0,016мг/мл

Чистота раствора^x A₆₀₀^{1см} 0,01

(^x На основании измерения спектральной поглощательной способности при 160нм с применением 1см кюветы).

Примеры 14 - 26. 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.

I. Инъекционные растворы

Вещества, приведенные в примерах 14 - 17, используют для внутрикожных инъекций, а в примере 18 - для внутриглазных инъекций. Активный компонент, описание которого приведено в примере 3, используют в данных примерах.

Пример 14.

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

Пример 15.

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

Пример 16.

Активный компонент гиалуроната цинка	2,0мг
Пропил-пара-гидрокси-бензоат	0,05мг
Метал-пара-гидрокси-бензоат	0,5мг
Глюкоза	48,6мг
Конечный объем водного раствора, полученного с помощью дистиллированной воды, для инъекций	1,0мл

Пример 17.

Активный компонент гиалуроната цинка	5,0мг
Пропил-пара-гидрокси-бензоат	0,05мг
Метал-пара-гидрокси-бензоат	0,5мг
Глюкоза	44,1мг
Конечный объем водного раствора, полученного с помощью дистиллированной воды, для инъекций	1,0мл

Пример 18.

Активный компонент гиалуроната	
цинка	10,0мг
Сорбат калия	1,0мг
Сорбитол	41,0мг
Конечный объем водного раствора, полученный с помощью дистиллированной воды, для инъекций	1,0мл
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 19.	
Активный компонент гиалуроната	
цинка	5,0мг
Сорбат калия	1,0мг
Ацетат натрия	24,6мг
Конечный объем водного раствора, полученный с помощью дистиллированной воды	1,0мл
Пример 20.	
Активный компонент гиалуроната	
цинка	2,0мг
Сорбат калия	1,0мг
Сорбитол	48,3мг
Конечный объем водного раствора, полученный с помощью дистиллированной воды	1,0мл
III. Гели для местного применения	
Пример 21.	
Активный компонент гиалуроната	
цинка	20,0мг
Полимеризат акриловой кислоты	200мг
Гидроксид натрия 30% концентрации	50мг
Сорбат калия	10мг
Дистиллированная вода	До 10,0мг
Пример 22.	
Активный компонент гиалуроната	
цинка	20,0мг
Полимеризат акриловой кислоты	50мг
Гидроксид натрия 30% концентрации	40мг
Пропиленгликоль	1500мг
Сорбат калия	10мг
Дистиллированная вода	До 10,0мг
IV. Пасты и мази для местного применения	
Пример 23.	
Активный компонент гиалуроната	
цинка	50мг
Сорбат калия	10мг
Мягкий белый воск	125мг
Сорбитанолеат	150мг
Цетиловый стеариловый спирт	840мг
Глицеринмоноостеарат	1100мг
Пропиленгликоль	4750мг
Дистиллированная вода	До 10г
Пример 24.	
Активный компонент гиалуроната	
кобальта	50мг
Сорбат калия	10мг
Мягкий белый воск	125мг
Сорбинатолеат	150мг
Цетиловый стеариловый спирт	840мг
Глицеринмоноостеарат	1100мг
Пропиленгликоль	4750мг
Дистиллированная вода	До 10г
Пример 25.	
Активный компонент гиалуроната	
цинка	50мг
2-Феноксизтинол	100мг

Лаурилсульфат натрия	100мг
Цетилпальмитат	400мг
Стеарин	400мг
Стеариновый спирт	450мг
Цетиловый спирт	450мг
Белый вазелин	500мг
Пропиленгликоль	550мг
Глицерин	600мг
Дистиллированная вода	До 10,0г

Пример 26.

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

Пример 27.

Активный компонент гиалуроната	
цинка	50,0мг
Микрокристаллический парафин	250мг
Пропиленгликоль	500мг
Сорбитол	400мг
Животный воск (ацетилованный)	500мг
Белый вазелин	До 10г

V. Вещества для дезинфекции и рубцевания гнойных ран и ожогов

Пример 28.

Активный компонент гиалуроната	
цинка	10мг
Сорбат калия	1,0мг
Гидрофильный коллоидный диоксид	
кремния	50мг
Сорбитол	До 1,0г

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, было использовано в качестве контрольного образца.

Настоящее исследование было проведено на 12 или 14 образцах соответственно с помощью 8 - 12 пациентов, страдающих бедренной язвой. Распределение пациентов обеих групп в соответствии с полом и возрастом, а также природой болезни было следующим.

Активный компонент	№ пац.	Жен-щины	Муж-чины	Ср. воз-раст	N вылеч.	Характер язвы *		
						A	V	M
Гиалуронат цинка	12	10	2	69,9	14	2	9	1
Гиалуронат натрия	8	6	2	65,7	12	—	7	1

A - артериальная, V - венозная, M - смешанная

Лечение было предусмотрено таким образом, что предварительно проводилась терапевтическая обработка в соответствии с клиническим состоянием язвы. Лечение с помощью гиалуроната цинка или натрия, соответственно, было начато на обработанных язвах или язвах со значительно сокращенными рубцами. Лечение проводилось ежедневно таким образом, что один раз в день на поверхность, пораженную язвой, наносился тонкий слой смачивающего рану лекарства.

Соединение использовалось в течение четырех недель. В начале лечения и затем раз в неделю заполнялся листок записи результатов лечения и делались фотоснимки участков кожи пациента, пораженных язвой. Проводился бактериологический анализ образца.

Характеристики и степень поражения эпителия были отмечены с помощью нижеследующих обозначений и записей.

Характеристики	Степень поражения
Участок(а)	

О	0
Менее 10см ²	1
Между 10 и 25см ²	2
Более 25см ²	3
Инфицированность (б)	
Клинически чистый	0
Покрытый на 50%	1
Покрытый на 100%	2
Некроз(в)	
(только в случае	
артериальной язвы)	
отрицательный	0
ниже 10%	1
между 10 и 15%	2
100%	3
Отсутствие некроза	4

Для оценки были определены значения отдельных характеристик, общая степень поражения была рассчитана с помощью следующей формулы:

$$S = \sqrt{a \cdot b \cdot c}$$

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

В соответствии с приведенными данными 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 показал, что преимущество соединения гиалуроната цинка было значительно (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 ниже.

Эти данные тоже подтверждают преимущество использования гиалуроната цинка. Более подробные статистические исследования указывают на значительное уменьшение степени поражения, зависящее от времени лечения.

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

Источники информации

1. РСТ 87/05517, кл. А61К43/00, опубл. 1987.

Т а б л и ц а 1

Активный компонент	1-я неделя		2-я неделя		3-я неделя		4-я неделя	
	Распространение относительно значения степени пораж.							
	90%		80%		70%		60%	
	ниже	выше	ниже	выше	выше	выше	ниже	выше
Глиалуронат цинка	12	2	11	3	11	3	11	3
Глиалуронат натрия	4	8	7	5	6	6	3	9

Т а б л и ц а 2

Активный компонент	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