

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl⁷

A61K 31/715

[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 93109689.8

[45]授权公告日 2000 年 4 月 12 日

[11]授权公告号 CN 1051228C

[22]申请日 1990.2.23 [24]颁证日 2000.1.22

[21]申请号 93109689.8

分案原申请号 90100904.0

[30]优先权

[32]1989.2.24 [33]HU [31]891/89

[73]专利权人 格德昂·理查德化学工厂股份公司

地址 匈牙利布达佩斯

[72]发明人 科姆·博格 格泽苔卡斯纳吉

艾温·瑞斯 加诺斯·艾丽斯

戴拉·斯特夫格

艾瑟伯特·奈斯米利亚

艾斯万哥伯哈若特 艾斯万·瑞卡茨

勇屋水·科若里

威科托拉·娃科昂尼

[56]参考文献

WO88/07060 1988. 9.22 A61K31/725

WO88/07060 1988. 9.22 A61K31/725

审查员 姜 晖

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事
务所

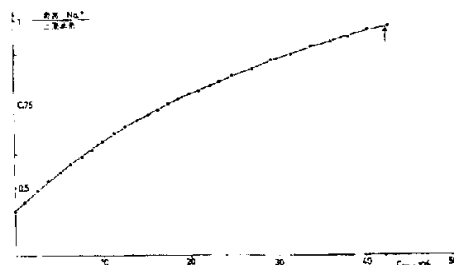
代理人 周中琦

权利要求书 1 页 说明书 34 页 附图页数 3 页

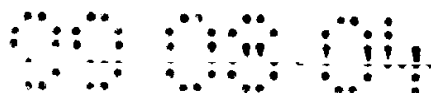
[54]发明名称 含透明质酸配合物的药物组合物的制备方法

[57]摘要

本发明涉及去质子化透明质酸和周期表第四周期 3d 金属离子的一些新颖的配合物,以及包含这些配合物作为活性成分或载体的组合物;还涉及上述新颖的配合物、包含这些配合物作为活性成分的组合物(药物组合物和美容组合物)的制备方法。在这些组合物中,最好使用透明质酸锌作为活性成分。



ISSN 1000-8427 4



权 利 要 求 书

1. 一种制备药物组合物的方法，该方法包括将作为活性成分的由去质子化的透明质酸和锌或钴离子组成的配合物，与一般使用的载体、稀释剂和选择性成分等渗化剂或其它添加剂加以混合或溶解，并且将其制成药物组合物，其中，所述配合物是用下述方法制备的：

a) 向透明质酸钠或透明质酸的其它碱金属盐、碱土金属盐或银盐的水溶液中，加入含有等当量锌或钴离子的卤化物的水溶液，或者

b) 将由透明质酸和季铵盐形成的处于水悬浮液中的配合物，溶解在一种复合溶剂中，所说复合溶剂含有锌或钴离子的水溶液和与水部分混溶的溶剂，然后

——按已知方式用链烷醇或链烷酮沉淀由去质子化的透明质酸与锌或钴离子形成的配合物，或者

——从所说溶液中分离所说沉淀物，然后必要时

——在温和条件下干燥所说沉淀物。

2. 一种直接制备含水药物组合物的方法，该方法包括向透明质酸钠的水溶液加入含有为达到等渗状态所需当量数或过量的氯化锌水溶液。

说 明 书

含透明质酸配合物的药物组合物的制备方法

本发明涉及去质子化的透明质酸与周期表第四周期的 3d 金属离子的新配合物以及含这些配合物作为活性成分的组合物。

本发明还涉及这些新配合物和含这些配合物作为活性成分的组合物的制备方法。

按照本发明方法的一种具体优选的实施方案，含有去质子化的透明质酸与周期表第四周期 3d 金属离子的新配合物的水溶液，直接由透明质酸钠水溶液制备。

本发明的新配合物主要包括透明质酸锌和钴。含有透明质酸锌和钴的组合物可以是药物（医疗）组合物、美容组合物和任意的其它组合物。含有本发明新配合物的组合物适于，例如加速上皮缺损体表面的上皮形成、治疗脚溃疡和褥疮（床溃疡）以及治疗基本上不愈合的伤口、烧伤、辐射创伤或热致创伤和治疗寻常座疮及聚合性座疮，此外还可以由于其它领域之中。

透明质酸是五十多年前已为人们所知的一种大分子物质，最初由 Meyer 等人报导在 < J. Biol. Chem. >, 107, 629 (1954) 和 < J. Biol. Chem. >, 114, 689 (1936) 上。结构测定是由 Weissman 等人完成的 | J. Am. Chem. Soc. 76, 1753

(1954))。透明质酸是高粘度的天然葡糖胺聚糖 (glucosaminoglycan), 其中含有交替存在的 β -1,3-葡糖酸和 β -1,4-葡糖胺部分, 其分子量介于50000 和几(8-13)百万之间。回收透明质酸是一项年代久远的工作, 超纯透明质酸的分离和应用载于例如4,141,973 和4,303,676 号美国专利说明书中和0,144,019 号欧洲专利说明书中。直到近年, 透明质酸以钠盐形式用于医疗之中, 主要用于眼科、外科和美容之中。透明质酸与碱金属、碱土金属、镁、铝、铵或取代的铵离子形成的盐, 可以用作促进药物吸收用的载体 (见904,547 号比利时专利)。透明质酸的重金属 (其中重金属是指周期表第5、6 和7 周期的元素以及镧系和锕系元素) 盐和其中的银盐被用作杀真菌剂, 而金盐用来治疗关节炎 (见WO87/05517)。

经各种结构分析法证实, 键合金属离子改变二级结构 (即透明质酸的构象) (W. T. Winter 和 A. Sutherland: J. Mol. Biol. 517, 761 (1977); J. K. Sheehan 和 E. D. T. Atkins: Int. J. Biol. Macromol. 5, 215 (1983); 以及 N. Figueroa 和 B. Chakrabarti: Biopolymers 17, 2415 (1978))。正如透明质酸的钾盐和钠盐的X射线对比研究所表明的那样, 甚至于某些类似性质的金属离子都能对分子结构的变化施加显著影响 (A. K. Mitra等: J. Macromol., Sci. Phys. 824, 1 和21 (1985))。对于透明质酸与带各种电荷的各类金属离子形成的化合物来说, 这种影响更显著。

在文献中未能找到与由透明质酸和周期表第四周期的3d金属离子所形成的配合物有关的文章;实际上按照对透明质酸

的硅胶柱色谱研究表明, 与肝素相反, 透明质酸结合锌离子不稳定 [R. F. Parish 和 W. R. Fair: *Biochem. J.* 193, 407-410 (1981)]。

尽管根据文献记载知透明质酸 (或其钠盐) 结合锌离子不稳定, 但是本发明人等却着手研究了透明质酸与周期表第四周期的3d金属离子 (其中, 主要是锌和钴离子) 之间反应的配位化学。既然透明质酸几乎均以钠盐形式出售, 因此透明质酸钠是所有含透明质酸盐体系的基础物质, 所以我们从钠离子与透明质酸盐之间的反应开始研究。为此, 用钠选择性玻璃电极测量透明质酸钠水溶液的游离钠离子活性。这些测量结果清楚地表明, 与透明质酸盐的羧酸盐基团一起等当量引入的60%以下的钠离子以游离离子形式存在于水溶液中, 而其余40%的钠离子与所说的透明质酸盐键合。

根据我们的测量结果, 被键合的钠离子量随钠离子浓度的增加而提高, 可以达到各种可得羧酸盐基计算值的50-55 %。由此证实, 透明质酸钠与盐的一般性质不同, 在水溶液中它不完全解离。

在我们的第二步研究之中, 使用氯化锌溶液和上面提到的钠离子选择电极滴定透明质酸钠水溶液, 以便查明该体系中游离钠离子的活度变化。反映此过程的特性曲线示于图1。从中可以看出, 在锌离子作用下原来与透明质酸盐键合的钠离子释出。根据这些测量结果, 即, 全部钠离子被等当量锌所释放, 此事实明确证明: 与钠离子相比, 锌离子与透明质酸盐的结合能力更强。因此, 关于透明质酸与锌离子不能结合的这种在先看法 [R. F. Parrish和W. R. Fair: *Biochem. J.* 193, 407 (1981)], 被实验所驳倒。

因而，本领域中普通技术人员迄今所持的看法，证明是不正确的。

由我们研究的上述讨论说明，通过等当量透明质酸钠和锌离子（氯化锌）在水溶液中相互反应，形成具有化学计算组成的透明质酸锌配合物。经过适当等渗作用之后，得到的溶液可以直接用于治疗目的，而且所说的锌化合物不一定在单独工序中制成固态。利用钴离子和其它3d金属离子所进行的初步试验，得到的结果类似。

然而，为了作特性鉴定制备了固态下的所说配合物，并且利用“扩展X射线吸收精细结构”（EXAFS）法测定了锌离子的正向环境。据认为在一级配位球中锌被四个氧原子包围。Zn-O键长为199微微米（pm），而距锌原子较长距离（241pm）内存在两个碳原子。

根据我们的实验，透明质酸锌显著不同于类似的铜配合物，后者包含四个平伏的Cu-O键和2个直立的Cu-O键，键长分别为194和234pm。铜原子和靠近的两个碳原子之间的距离为258pm。所说的钴配合物的结构与所说的锌配合物的相似，但与铜配合物不同。

因此，本发明涉及去质子化的透明质酸与周期表第四周期3d金属离子形成的配合物。

本发明还涉及含有透明质酸与周期表第四周期3d金属离子形成的配合物作为活性成分或载体的组合物，其中还选择性含有其它活性成分和/或添加剂。

另一方面，本发明提供制备本发明新配合物的方

法，其中包括：

a) 向透明质酸钠或其它透明质酸盐（碱金属盐、碱土金属盐或任选的银盐）水溶液中，加入含有等当量盐（优选周期表第四周期3d金属离子之一的氯化物）的水溶液；或者

b) 将透明质酸与季铵盐形成的配合物水悬浮液溶解在一种复合溶剂中，所说复合溶剂含有周期表第四周期3d金属离子的水溶液和与水部分混溶的溶剂（优选正丙醇）；然后

——按已知方法，用链烷醇或链烷酮沉淀由透明质酸和周期表第四周期3d金属离子形成的所说配合物，或者

——从所说的溶液中分离所说的沉淀物，然后在必要时，

——在温和条件下干燥该沉淀物。

基于上述内容，提出了一种制备分别含有透明质酸锌

配合物 或者周期表第四周期3d金属离子的类似配合物作为活性成分之水溶液的方法。这些溶液都是由所说金属离子和所说透明质酸盐成分直接反应制备的。这种制备方法不必事先将上面提到的活性成分以固态形式分离出来。在用本发明方法制成的溶液中，甚至于在等当量锌存在下，游离的（未键合的）透明质酸盐量都可忽略不计。在过量锌离子作用下，按化学计算量形成透明质酸锌

配合物。

按上述方式制备所说金属络合物期间，PH依然保持在5左右。当透明质酸盐溶液浓度为0.2(Wt./ Vol.)%时，PH为5.4；而当浓度为0.5(Wt./ Vol.)%时，PH为5。必要时，可以加入几滴乙酸钠等渗溶液来将后一体系的PH调节为5.5-5.6。

采用上面讨论的方法制备了含有透明质酸锌作为活性成分的二种溶液。

1. 用过量氯化锌制成等渗的透明质酸锌溶液。

鉴于游离的氯化锌也可以单独用于皮肤病学之中，因而利用过量的氯化锌将透明质酸锌溶液的渗透压调节到等渗值。这样得到的溶液根本不含游离的（锌未键合的）透明质酸盐，但是此体系中过量的氯化锌与透明质酸锌一起存在。

2. 用单糖或糖醇制成等渗的透明质酸锌溶液。

对于其中未指出透明质酸盐未键合的锌离子存在的医疗用途来说，用多元醇（糖醇，优选山梨糖醇）或者单糖或双糖（优选葡萄糖）将含有当量数与所说透明质酸盐相等的锌离子的溶液制成等渗的。后面的这些体系中游离锌离子和游离透明质酸盐含量，分别未达到总锌量和总透明质酸盐含量的5%。

使用本发明的配合物时，甚至可能需要无离子的混合物。也就是说，按照本发明上述方法制备的配合物，通常含有氯化钠或者由原始的透明质酸盐阳离子和3d金属盐阴离子形成的其它盐。

可以使用两种不同的具体方法制备由3d金属离子形成的无盐透明质酸配合物，这两种具体方法如下。

a) 将季铵盐溶液分批加入已知透明质酸盐（优选透明质酸钠）溶液中。经过充分纯化后，将沉淀的透明质酸季铵新缔合物在快速搅拌下溶解在复合溶剂中，所说的复合溶剂由周期表第四周期3d金属离子的水溶液和与水部分混溶的溶剂（优选正丁醇）组成。待两相分离后，用向水相中加入链烷醇或链烷酮的方法沉淀所说的透明

质酸盐缔合物，分出沉淀并且洗涤；或者

b) 搅拌下，将2-3 体积的C₁₋₃链烷醇或C₁₋₄链烷酮加到透明质酸锌溶液中，最好加到含有当量数与所说透明质酸盐相等的含氯化锌的未等渗化溶液中，然后将沉淀的透明质酸锌过滤和分别用沉淀用的链烷醇或链烷酮洗涤。必要时将透明质酸锌溶解在无离子水中并重复沉淀。

需要固态无离子透明质酸锌时，于温和条件下减压干燥所说沉淀。如果需要无离子的透明质酸锌溶液，最好将制备的无溶剂透明质酸锌溶解。使用这两种具体方法中任何一种方法，均得到无离子的固态或溶解产物，其纯度取决于原料透明质酸锌质量。

根据用于加速上皮缺损表面上皮形成的脚溃疡治疗情况示出了含有本发明透明质酸锌作为活性成分的组合物（实施例13）的临床药理研究结果。用含有透明质酸钠的组合物作对照。

对患有脚溃疡的8 或12名病人的12或14个溃疡分别进行了此试验。既按性别、年龄又按病情对此试验患者进行分组的，其分布如下。

活性成分	病人数	女	男	平均 年龄	治疗的溃疡数	溃疡*的特点		
						A	V	M
透明质酸钠	12	10	2	63.9	14	2	9	1
透明质酸钠	8	6	2	65.7	12	-	7	1

* A = 动脉 ; V = 静脉 ; M = 混合的

所说治疗是以这样方式完成的，即在治疗开始前，按溃疡的实际临床状态进行净化治疗。对几乎净化的或者观察到吸收显著减少的溃疡分别用透明质酸的锌盐或钠盐治疗。所说的治疗按下述方式每天进行一次：将组合物滴在已净化的溃疡表面上，滴药量应保证有一薄层药液湿润伤口表面。

组合物使用四周。将开始治疗日期和其后每周一次治疗的日期记入日期表中，并且拍下当日病人溃疡照片作证明资料。取渗液样品作细菌检查。

上皮缺损的情况和程度用下列符号和评分标记。

情况	程度

面积 (a)	
0	0
小于 10 cm^2	1
$10 \text{ cm}^2 \sim 25 \text{ cm}^2$	2
大于 25 cm^2	3
感染 (b)	
临床净化	0
感染 50%	1
感染 100 %	2

坏死 (c)

(仅在动脉溃疡病例中)

阴性	0
小于10%	1
10%~15%	2
100 %	3
无坏死	4

评 定

为了进行评定, 测定了每种情况的数值, 并且用下式算出一般严重程度评分值:

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

在图2 中给出了所说的临床药理试验结果。用透明质酸锌治疗的结果由用“×”标记的曲线说明, 而用透明质酸钠治疗的结果由用“口”标记的曲线说明, 这些曲线表示治疗效果与治疗周数的关系。纵坐标上的评分值, 表示用上式算出的一般严重程度的分数 (Index)。

图3 说明以初始评分值为100 %的相对评分值, 以对透明质酸锌和用作对照的透明质酸钠作更准确的对比。

用统计方法评价了相对评分值随周数(1-4) 的变化。对于用锌

和钠的透明质酸盐治疗经过1、2、3和4周后，发现溃疡减小的数目按相对评分值计分别小于90、80、70和60%。试验结果汇于表1之中。

表 1

组合物的活性成分	第一周		第二周		第三周		第四周	
	相对评分信分布							
	90 %		80 %		70 %		60 %	
透明质酸锌	小于	大于	小于	大于	小于	大于	小于	大于
	12	2	11	3	11	3	11	3
透明质酸钠	4	8	7	5	6	6	3	9

由表1 的结果可以说明，与用透明质酸钠（作为对照）得到的结果相比，透明质酸锌每周治疗都较好。

对在所说前提下得到的结果进行统计分析证明，与透明质酸钠相比，透明质酸锌组合物的优点是十分显著的（P 99%）。

在进一步统计处理时，研究了相对评分值与治疗时间之间的进一步关系。得到的结果列于表2 之中。

表 2

组合物的活性成分	溃疡的数目和评分值			
	大于 90 %	介于 90 和 70% 间	介于 70 和 50% 间	小于 50 %
第一周				
透明质酸锌	2	7	5	0
透明质酸钠	8	3	0	1
第二周				
透明质酸锌	0	6	7	1
透明质酸钠	4	3	5	0
第三周				
透明质酸锌	0	1	8	2
透明质酸钠	2	5	5	1
第四周				
透明质酸锌	2	1	7	3
透明质酸钠	1	5	3	3

表2 的数据同样证明了透明质酸锌的优点。更详细的统计分析说明, 显著性随治疗时间的延长而减小。

总之, 基于临床药理试验结果的评定可以证明, 即使在小数目溃疡的试验下均证明透明质酸锌的使用效果较好。这种优点特别在治疗初期得到证实。

本发明将由下列非限制性实施例得到更详细说明。

透明质酸 (HA) 中蛋白质含量用 O. H. Lowry 法 [J. Biol. Chem. 193, (1951)] 测定, 透明质酸盐粘度用 Ostwald 粘度计在生理盐溶液中于 25°C 下测定。外推至 “O” 浓度下的特性粘度值 ($\eta_{sp}^{c \rightarrow 0\%}$) 将在下面给出。用 Bitter 法 [Anal. Biochem. 4, 330 (1962)] 测定 HA 含量。

实施例1

透明质酸锌溶液的制备

将 40.18mg 透明质酸钠溶解在 20.0ml 二次蒸馏水中。因此透明质酸的初始浓度为 2.009mg/ml, 此溶液的摩尔浓度为 $4.24 \times 10^{-3} \text{ mol / 升}$ (Na 或透明质酸二聚物单元)。测量期间, 将浓度为 0.05154mol / 升的氯化锌溶液用微量滴定管加到反应混合物中。先分数次每次加入少量 (0.05ml) 所说溶液, 然后分数次每次加入较多

量(0.1-0.2ml) 溶液。用带数字显示的精密电位计以及钠离子选择电极和Ag-AgCl 电极测量所说溶液的电位变化。滴定持续到再加入滴定溶液后测出的电位值不变为止(滴定溶液是在与实际测量类似的条件下标定的)。

钠离子选择电极的选择性在 Zn^{+} 离子存在下也被观察到, 存在 Zn^{+} 是为了控制实际测量时由于向溶液中释出 Na^{+} 离子和不引入 Zn^{+} 引起的电位变化。在与上述条件相似的诸条件下, 用氯化锌滴定溶液滴定 2.00×10^{-3} M氯化钠溶液。当 Zn 浓度从0 增加到 4×10^{-3} mol/ 升时, 观察到电位大约增加2mV, 而实际测量证明在类似条件下变化约20m V。因此评价未遇到干扰。测量期间, 由测量数据算出钠离子活度的增加, 证实所说的锌缔合物定量形成。

氯化锌溶液的制备

由于含有准确浓度氯化锌的溶液不能用称量法直接制备, 所以首先制备接近所需浓度的溶液。制备此溶液时, 不应当用酸, 这样可能出现称量的氯化锌溶解不完全的现象。不溶残渣沉降后(大约30分钟), 将容量瓶充满至刻度, 用滤纸过滤。

用缓冲溶液10和埃铬黑T作指示剂, 铬合滴定滤液确定准确浓度。准确稀释此溶液, 以制备准确浓度为0.100mol/ 升的氯化锌溶液。

制备溶液用的透明酸钠的特性如下:

分子量 : 1850000 道尔顿

蛋白质含量 : 0.07wt%

紫外吸收 $A_{257}^{1\%}$: 0.133

$A_{280}^{1\%}$: 0.075

粘度 $(\eta)_{25^{\circ}\text{C}}^{0.7\%}$: 13.7dl/g

HA* 含量 : 98.12wt %

* HA = 透明质酸 (本文中用缩写词)

实施例2

治疗皮肤病用和美容用溶液的制备

将用无离子水制备的浓度为0.100mol/升的12.5ml氯化锌溶液, 加在100ml 容量瓶中称好的0.50克透明质酸钠中 (也可以使用其它浓度的氯化锌溶液, 但是氯化锌量应当相同)。让透明质酸锌溶胀12小时, 用无离子水稀释此溶液至刻度, 得到浓度为0.5 (wt/vol) %的透明质酸锌溶液。

用于制备上述溶液的透明质酸钠的特性如下:

粘度 $(\eta)_{25^{\circ}\text{C}}^{0.7\%}$: 16.5分升/克,

蛋白质含量 : 0.8wt%。

实施例3

注射液用透明质酸锌溶液的制备

在无菌条件下进行本实施例所述的各操作。

将用二次蒸馏水（注射用水，无热原，无菌）制备的浓度为0.100mol/升的5.0ml 氯化锌溶液加入称在100ml 容量瓶内的0.20克透明质酸钠（粉末状纯品）中，然后用二次蒸馏水将容积充满到50ml。使透明质酸钠溶胀过夜，然后振荡溶解，并用二次蒸馏水将溶液稀释到刻度。用膜滤器（0.45 μ 孔径）过滤得到的溶液，制得浓度为0.2（wt/vol）%的透明质酸锌溶液。

用于制备上述溶液的透明质酸钠的特性如下：

质量：无热原的灭菌粉末状纯品，

分子量：1850000，

蛋白质含量：0.07wt%，

紫外吸收 $A_{257}^{10\%} = 0.133$ ，

$A_{280}^{10\%} = 0.075$ ，

HA含量：98.12wt%，

粘度 $\eta_{sp}^{1\%} = 13.7$ 分升/克

实施例4

----- 无离子透明质酸锌溶液的制备 -----

搅拌下将600ml 分析纯乙醇加到按实施例2 制得的200ml 透明质酸锌（浓度为0.5wt/vol %）溶液中，沉淀的透明质酸锌用玻璃过滤器过滤后，用相同纯度的乙醇洗涤两次，每次用50ml乙醇，然后减压干燥。这样制出0.88克透明质酸锌，以它为原料按实施例2所述方式制备0.50(wt/vol)%的透明质酸锌溶液，制得的这种透明质酸锌溶液不含因透明质酸钠和氯化锌反应生成的氯化钠，因此它实际上是无离子的。

实施例5

----- 无离子透明质酸锌或其医疗用溶液的制备 -----

在无菌条件下进行本实施例所述的操作。

搅拌下，向按实施例3 制备的500ml 透明质酸锌溶液中，分批加入1500ml最纯的乙醇。加毕，搅拌此体系30分钟，透明质酸锌沉淀用玻璃过滤器过滤后，用最纯的乙醇洗涤三次，每次用100ml 乙醇，在温和及无菌条件下减压干燥。

实施例6

无离子的透明质酸锌的制备

搅拌下，向400ml 二次蒸馏水中含1克透明质酸钠的溶液内加入200ml 10wt%的Hyamine^R 1622 (Puriss) (苄基二甲基/-2-/2-对(1,1,3,3-四甲基丁基)苯氧基/乙氧基/乙基/氯化铵)。离心分离形成的沉淀(即透明质酸季铵缔合物)，用二次蒸馏水洗涤两次；每次用100ml 水，然后再次离心分离。将洗过的沉淀溶解在由400ml 2wt/vol %氯化锌水溶液(PH5.0-5.4)和400ml 正丁醇组成的复合溶剂中。待两相分离后，用膜滤器(孔径0.45 μ)过滤含溶解的透明质酸锌的水层，然后加入3 体积乙醇沉淀透明质酸锌，用玻璃过滤器过滤，乙醇洗涤，于温和条件下在氮气氛中干燥，得到0.82克透明质酸锌。

必要时，用制得的透明质酸锌作原料，按实施例4 所述方法进一步提纯后制成0.50(wt/vol)%的溶液。作原料用的透明质酸钠的特性如下：

粘度 $(\eta)_{25^{\circ}\text{C}}^{0.5\%}$: 16.5分升/克

蛋白质含量 : 0.18(wt/vol)%

也可以用由其它季铵盐生成的缔合物按上述方式制备透明质酸锌。可以用于此目的的季铵盐有：例如

a) 碳化四癸氧甲基-三甲基铵氯化物(carbotetradecyloxy-methyl-trimethylammonium) (参见匈牙利专利说明书

No.188,537),

b) N- 十六碳烷基吡啶氯盐(hexadecylpyridinium chloride),

c) N- 十六碳烷基吡啶氯盐(cetylpyridinium chloride),

d) 三甲基铵氯化物等等。

实施例7

透明质酸钴的制备

除了将透明质酸的季铵缔合物溶解在由2wt/vol % $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 水溶液和正丁醇组成的复合溶剂中之外, 按实施例6 所述的方法操作。

实施例8

制备含有0.50(wt./vol.)%透明质酸锌的水溶液并用氯化锌使

其具有等渗性

将大约50ml浓度为0.110mol/ 升氯化锌溶液加在100ml 容量瓶中的0.50克透明质酸钠中, 然后使之溶胀过夜。振荡溶解透明质酸钠, 容量瓶用浓度为0.110mol/ 升的氯化锌溶液充满至刻度。

所得溶液的渗透压，用相当的氯化钠浓度表示为0.1491mol/升，PH值为5.0。必要时，加入浓度为0.150mol/升的乙酸钠溶液2.00ml将PH值调到5.5-5.6。调节PH后，溶液的渗透压用相当的氯化钠浓度表示为0.1489。

以实施例3所述的特纯透明质酸钠作原料，用二次蒸馏水在无茵条件下制备透明质酸锌溶液，然后用膜滤器（孔径0.45 μ ）过滤此溶液。

所得到的溶液也可以用在注射组合物中。

实施例9

制备含有0.2wt/vol %透明质酸锌的水溶液并用氯化锌使其具

有等渗性

对于最终容积为100ml来说，称量0.20克透明质酸钠，并将其溶解在浓度为0.120mol/升的氯化锌溶液中。

按照实施例1溶解和制备准确浓度为0.120mol/升的氯化锌溶液（根据估计改变氯化锌用量）。

此溶液的渗透压，用相当的氯化钠浓度表示为0.154mol/升，PH值为5.3-5.4。

HA含量 : 1.96mg/ml

粘度 : 15.9 分升/克

蛋白质含量 : 0.015mg/ml

溶液的纯度* : $A_{660}^{1cm} = 0.015$

* 根据用1cm 液槽在660nm 下测得的吸收。

采用实施例2 所述特性的透明质酸钠制备此溶液, 并且首先用此溶液制备治疗皮肤病用和美容用组合物。

实施例10

制备含有0.50wt/vol%透明质酸锌的水溶液并用葡萄糖使其具

有等渗性

本实施例的溶液含有透明质酸钠和计算等当量的氯化锌。

将浓度为0.100mol/ 升的12.50ml 氯化锌溶液加入称有0.50克透明质酸钠的100ml 容量瓶中。(也可以用其它浓度的氯化锌, 但是氯化锌量应相同)。使透明质酸钠在用无离子水稀释至50ml的氯化锌溶液中溶胀12小时, 然后振荡溶解。接着加入24.50ml 1.00mol/升的葡萄糖溶液, 并用无离子水稀释到刻度。

此溶液的渗透压, 用相当的氯化钠浓度表示为0.1495mol/升, PH值为5.4, 总锌浓度为 1.25×10^{-2} mol/ 升。

此溶液用实施例2 所述特性的透明质酸钠制备, 并且首先用于制备治疗皮肤病组合物和美容组合物。

实施例11

制备含有0.2wt/vol %透明质酸锌的水溶液并用葡萄糖使其具

有等渗性

本实施例的溶液含有透明质酸钠和计算等当量的氯化锌。

将5.0ml 浓度为0.100mol/ 升的氯化锌溶液加入称有0.20克透明质酸钠的100ml 容量瓶中，然后用去离子水稀释到50ml。溶胀过夜后，振荡溶解透明质酸钠，加入27.0ml 1.00mol/ 升浓度的葡萄糖溶液，用无离子水充满容量瓶至刻度。

此溶液的渗透压用相当的氯化钠浓度表示为0.151mol/ 升，
PH值为5.6-5.7, 总锌浓度为 5×10^{-3} mol/ 升。

实施例12

制备含有0.5wt/vol %透明质酸锌的水溶液并用山梨糖醇使其

具有等渗性

以下所述的透明质酸锌溶液，在无菌条件下用蒸馏水和实施例

3 所述的特纯透明质酸钠制备。此溶液含有与透明质酸钠计算等当量的氯化锌。

除了用23.50ml 1.00mol/升浓度的山梨糖醇溶液(1升中含182.19克右旋山梨糖醇)代替葡萄糖溶液加到透明质酸锌溶液中之外,按实施例10所述的方法操作。

用膜滤器(孔径 0.45μ)过滤这样制备的溶液,此溶液可以用于包括注射组合物在内的各种场合。

此溶液的渗透压按相当的氯化钠浓度表示为0.1520mol/升,PH值为5.5,总锌浓度为 1.25×10^{-2} mol/升。

实施例13

制备含有0.2wt/vol %透明质酸锌的水溶液并用山梨糖醇使其

具有等渗性

本实施例所述的溶液含有与透明质酸钠计算等当量的氯化锌。

以下所述的透明质酸锌溶液,在无菌条件下用二次蒸馏水和实施例3 所述的特纯透明质酸钠制备。

按实施例12的方法操作,但是溶解0.2 克透明质酸钠,然后顺序加入5ml 0.100mol/升浓度的氯化锌溶液和26.50ml 1mol/升浓度的山梨糖醇溶液,最后将此溶液充满到100ml。用膜滤器(孔径 0.45μ)过滤如此制备的溶液。此溶液可以用于包括注射组合物在

内的任何用途。

此溶液的渗透压按相当的氯化钠浓度表示为0.1501 mol/升,
P H值为5.6,总锌浓度为 5×10^{-3} mol/升。

透明质酸盐含量: 2.03mg/ml,

粘度: 16.1分升/克,

蛋白质含量: 0.016mg/ml,

溶液纯度*: $A_{660}^{1\text{cm}} = 0.010$

* 根据用1cm 液槽在660nm 下测得的吸收。

实施例14-26

在下列实施例中,按照我们选择的制剂类型给出各种组合物
(药物组合物和美容组合物)的诸成分。具有等渗性透明质酸锌溶
液的制备载于前面的实施例之中。这里所述的“注射用蒸馏水”是
指在无菌条件下制备的二次蒸馏水。

I. 注射溶液

实施例14-17 的组合物用于经皮给药,而实施例18的组合物用
于经眼给药。在这些实施例中使用实施例3 所述的活性成分。

实施例14

透明质酸锌活性成分	2.0mg
山梨糖醇	48.3mg
用注射用蒸馏水制备的水溶液	
最终容积	1.0ml

实施例15

透明质酸锌活性成分	5.0mg
山梨糖醇	42.8mg
用注射用蒸馏水制备的水	
溶液最终容积	1.0ml

实施例16

透明质酸锌活性成分	2.0mg
对羟基苯甲酸丙酯	0.05mg
对羟基苯甲酸甲酯	0.5mg
葡萄糖	48.6mg
用注射用蒸馏水制备的水溶液	
最终容积	1.0ml

实施例17

透明质酸锌活性成分	5.0mg
对羟基苯甲酸丙酯	0.05mg
对羟基苯甲酸甲酯	0.5mg
葡萄糖	44.1mg
用注射用蒸馏水制备的水溶液	
最终容积	1.8ml

实施例18

透明质酸锌活性成分	10.0mg
山梨酸钾	1.0mg
山梨糖醇	41.0mg
葡萄糖	
用注射用蒸馏水制备的水溶液	
最终容积	1.0ml

实施例20-28 中所述的组合物主要用于治疗皮肤病用和美容用。在这些实施例中采用实施例2 所述的活性成分。

II. 局部用溶液

实施例19

透明质酸锌活性成分	5.0mg
山梨酸钾	1.0mg
乙酸钠	24.6mg
用蒸馏水制备的水溶液最终体积	1.0ml

实施例20

透明质酸锌活性成分	2.0mg
山梨酸钾	1.0mg
山梨糖醇	48.3mg
用蒸馏水制备的水溶液最终体积	1.0ml

III. 局部用凝胶体

实施例21

透明质酸锌活性成分	20.0mg
丙烯酸聚合物	200mg
30%的氢氧化钠	50mg
山梨酸钾	10mg
蒸馏水	至 10.0ml

实施例22

透明质酸锌活性成分	20.0mg
丙烯酸聚合物	50mg
30%的氢氧化钠	40mg
丙二醇	1500mg
山梨酸钾	10mg
蒸馏水	至 10.0ml

IV. 局部用霜剂和软膏

实施例23

透明质酸锌活性成分	50mg
山梨酸钾	10mg
软白蜂蜡	125mg
脱水山梨醇油酸酯	150mg
十六烷基十八烷醇	840mg
甘油单硬脂酸酯	1100mg
丙二醇	4750mg
蒸馏水	至 10 克

实施例24

透明质酸钴活性成分	50mg
山梨酸钾	10mg
软白蜂蜡	125mg
脱水山梨醇油酸酯	150mg
十六烷基十八烷醇	840mg

甘油单硬脂酸酯	1100mg
丙二醇	4750mg
蒸馏水	至 10 克

实施例25

透明质酸锌活性成分	50mg
2-苯氧基乙醇	100mg
月桂基磺酸钠	100mg
十六烷基十六烷酸酯	400mg
硬脂精	400mg
十八烷醇	450mg
十六烷醇	450mg
白凡士林	500mg
丙二醇	550mg
甘油	600mg
蒸馏水	至 10.0 克

实施例26

透明质酸钴活性成分	50mg
2-苯氧基乙醇	100mg
月桂基磺酸钠	100mg

十六烷基十六烷酸酯	400mg
硬脂精	400mg
十八烷醇	450mg
十六烷醇	450mg
白凡士林	500mg
丙二醇	550mg
甘油	600mg
蒸馏水	至 10 克

实施例27

透明质酸锌活性成分	50mg
微晶石蜡	250mg
丙二醇	500mg
山梨糖醇	400mg
羊毛蜡（乙酰化的）	500mg
白凡士林	至 10 克

V. 治疗脓性伤口和灼伤净化和结痂用组合物

实施例28

透明质酸锌活性成分	10mg
山梨酸钾	1.0mg
亲水胶体二氧化硅	50mg
山梨糖醇	至1 克。

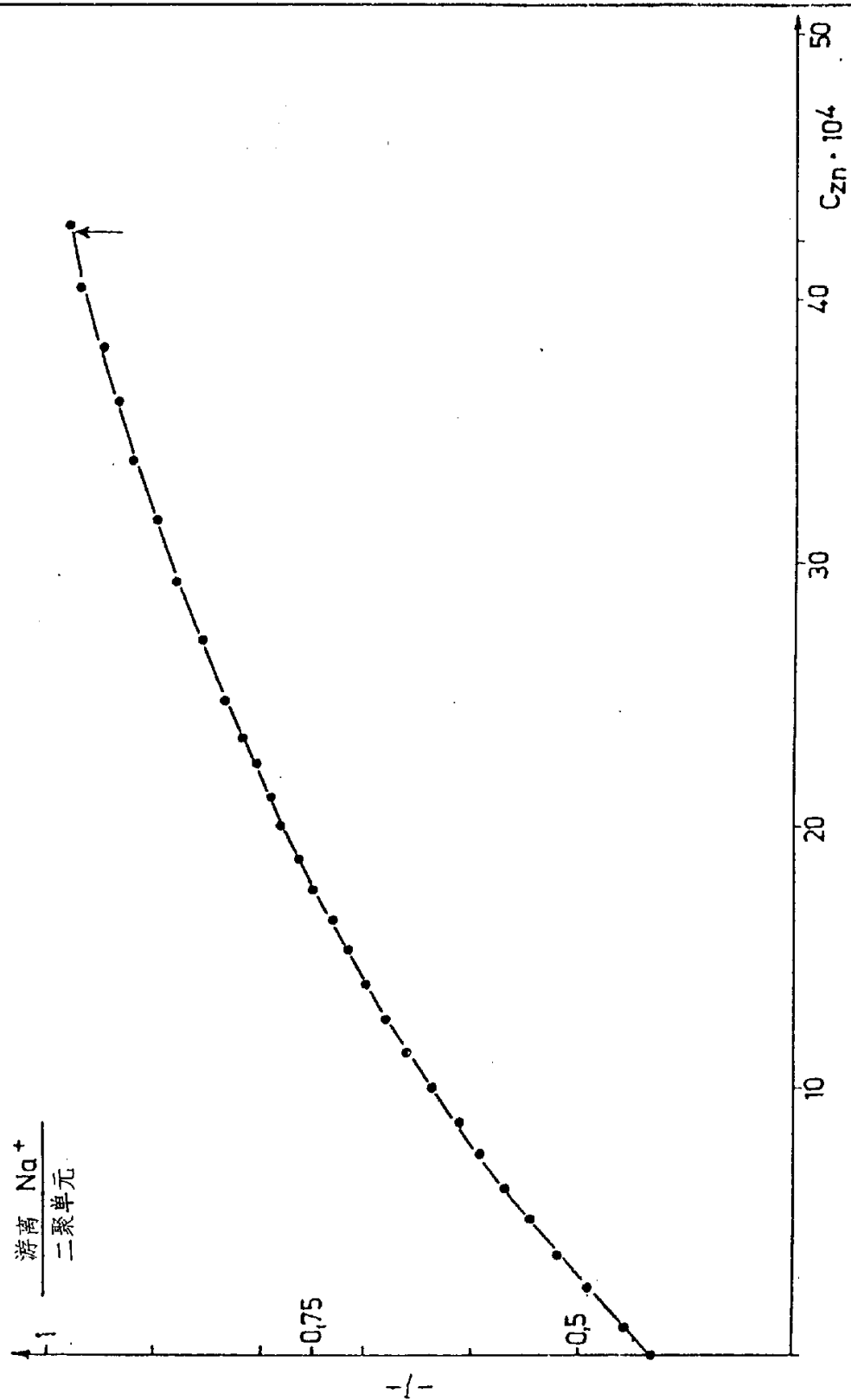


图 1

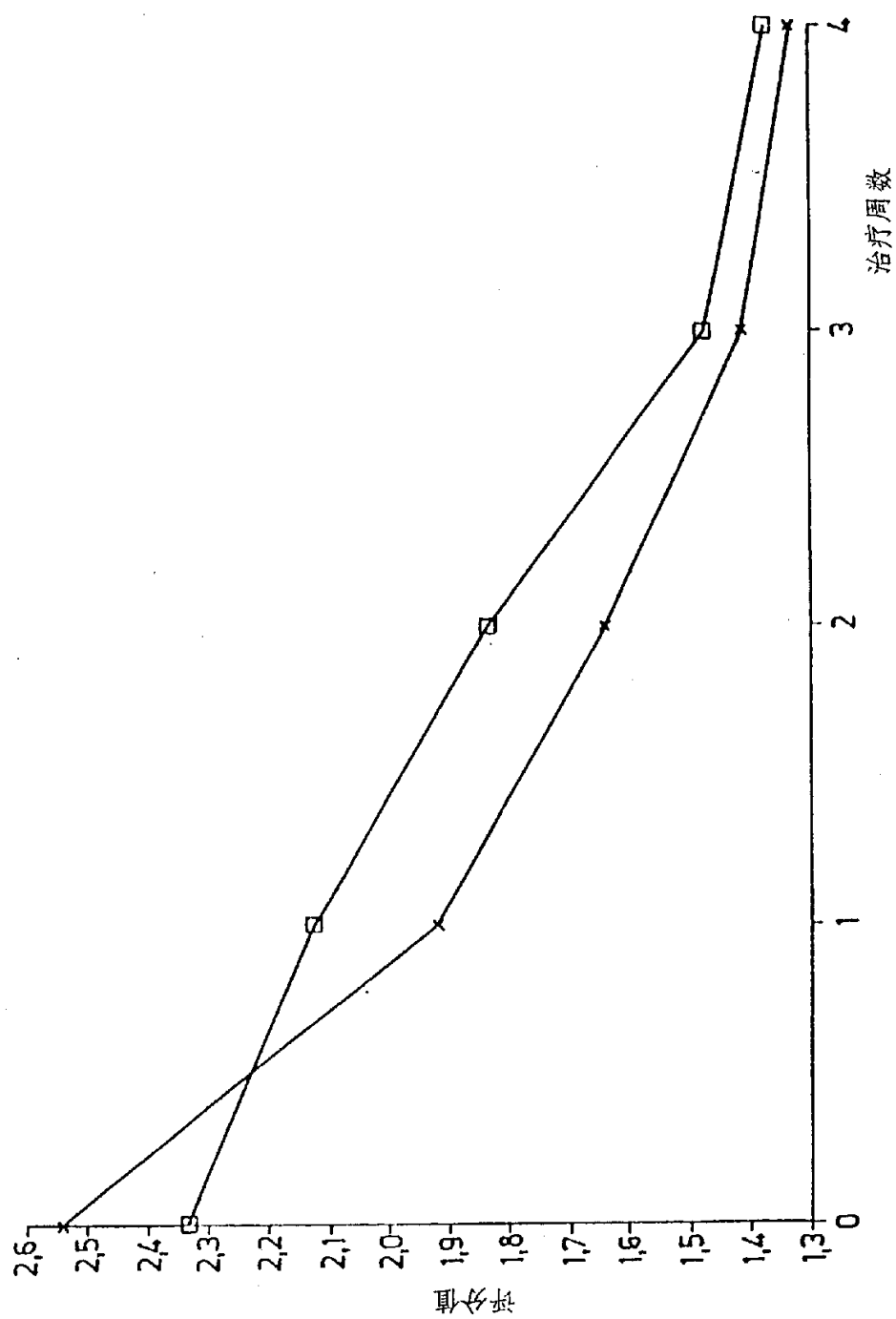


图. 2

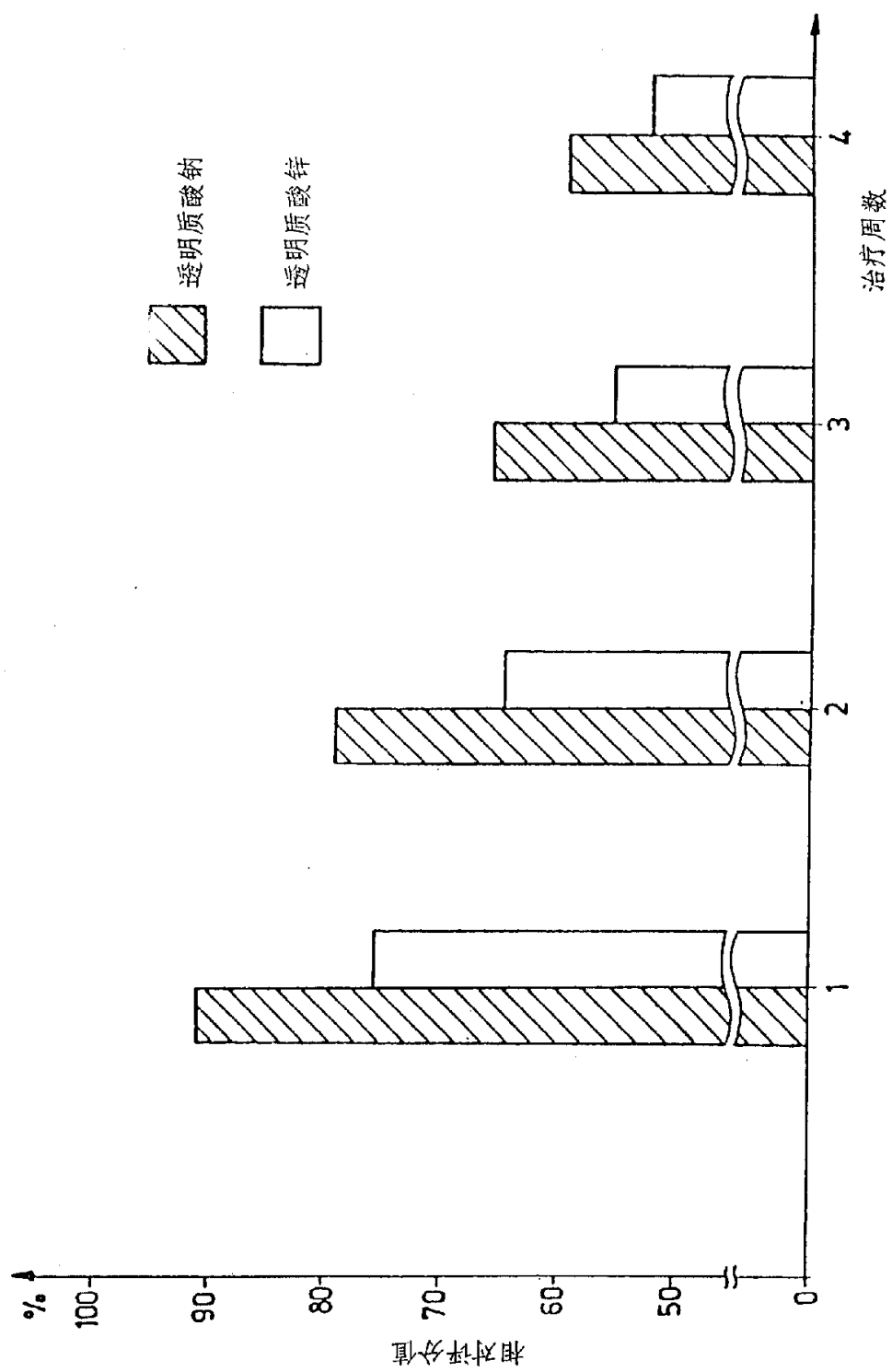


图. 3