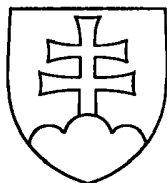


SLOVENSKÁ REPUBLIKA

(19)

SK



ÚRAD
PRIEMYSELNÉHO
VLASTNÍCTVA
SLOVENSKEJ REPUBLIKY

**ZVEREJNENÁ PRIHLÁŠKA
VYNÁLEZU**

- (22) Dátum podania: 22.02.90
(31) Číslo prioritnej prihlášky: 891/89
(32) Dátum priority: 24.02.89
(33) Krajina priority: HU
(40) Dátum zverejnenia: 02.12.98
(86) Číslo PCT:

(21) Číslo dokumentu:

857-90

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.⁶ :

**A 61K 31/715,
A 61K 33/30,
C 08B 37/08**

(71) Prihlasovateľ: **RICHTER GEDEON VEGYÉSZETI GYÁR R.T., Budapest, HU;**

(72) Pôvodca vynálezu: **Burger Kálmán, Dr., Budapest, HU;
Takácsi Nagy Géza, Dr., Budapest, HU;
Réthey Iván, Budapest, HU;
Illés János, Ing., Budapest, HU;
Stefkó Béla, Dr., Budapest, HU;
Neszmélyi Erzsébet, Ing., Budapest, HU;
Gebhardt István, Dr. Ing., Budapest, HU;
Rácz István, Dr., Budapest, HU;
Király Gyöngyvér, Budapest, HU;
Várkonyi Viktória, Dr., Budapest, HU;**

(54) Názov prihlášky vynálezu: **Asociáty deprotonovanej kyseliny hyalurónovej, spôsob ich prípravy, farmaceutický a kozmetický prostriedok s ich obsahom**

(57) Anotácia:

Asociáty deprotonovanej kyseliny hyalurónovej so zinočnatými alebo kobaltnatými iónmi sa pripravujú reakciou vodného roztoku obsahujúceho zinočnaté alebo kobaltnaté soli s vodným roztokom soli kyseliny hyalurónovej, alebo rozpustením asociátov kyseliny hyalurónovej s kvartérnou amóniovou soľou v dvojici rozpúšťadiel, ktorá obsahuje vodný roztok zinočnatého alebo kobaltnatého iónu a rozpúšťadlo čiastočne miešateľné s vodou, a nasledovným vyzrážaním. Farmaceutický a kozmetický prostriedok obsahujúci tieto asociáty ako účinnú zložku sa používa na urýchlenie epitelizácie povrchových epitelialnych efektov a podporu regenerácie kože.

Asociáty deprotonovanej kyseliny hyalurónovej, spôsob ich prípravy, farmaceutický a kozmetický prostriedok s ich obsahom

Oblasť techniky

Vynález sa týka asociátov (komplexov) deprotonovanej kyseliny hyalurónovej s 3-d kovovými iónmi zo 4. skupiny periodickej tabuľky prvkov, a prostriedkov, ktoré obsahujú tieto asociáty ako účinnú látku.

Vynález sa ďalej týka spôsobu prípravy týchto nových komplexov a prostriedkov, ktoré obsahujú tieto asociáty ako účinnú látku.

Podľa zvlášť výhodného uskutočnenia spôsobu podľa vynálezu, vodné roztoky, obsahujúce nové komplexy deprotonovanej kyseliny hyalurónovej s 3-d kovovými iónmi zo 4. skupiny periodickej tabuľky prvkov sa pripravujú priamo z vodného roztoku sodnej soli kyseliny hyalurónovej.

Doterajší stav techniky

Kyselina hyalurónová je makromolekulárna látka, ktorá je známa viac ako 50 rokov a ktorú prvýkrát popísal Meyer a kol. (J. Biol. Chem. 107, 629 (1954)); J. Biol. Chem. 114, 689 (1936). Stanovenie štruktúry vykonal Weissman a kol. (J. Am. Chem. Soc. 76, 1753 (1954)). Kyselina hyalurónová je vysoko viskózný prírodný glukozamínoglykan, ktorý obsahuje striedajúcu sa kyselinu β_{1-3} glukoronovú a β_{1-4} glukozamínové časti. Jej molekulová hmotnosť je medzi 50 000 a niekoľkými (8 až 13) miliónmi. Získanie kyseliny hyalurónovej je starou úlohou separácie, a použitie mimoriadne čistej kyseliny hyalurónovej je opísané napríklad v US patentových spisoch č. 4 141 973 a 4 303 676 a v európskej patentovej prihláške č. 0 144 019. Až do minulých rokov sa kyselina hyalurónová používala ako sodná soľ

napríklad v terapii, hlavne v oftalmológii, chirurgii a kozmetike. Soli kyseliny hyalurónovej vytvorenej s alkalickými iónmi, iónmi alkalických zemín, horečnatým, hlinitým, amonným alebo substituovaným amonným iónom môžu slúžiť ako nosiče, ktoré pôsobia ako promotory absorpcie liečív (viď napríklad belgický patentový spis č. 904 547). Soli kyseliny hyalurónovej s ťažkými kovmi (výraz "ťažký kov" znamená prvok z 5., 6. a 7. skupiny periodickej tabuľky prvkov, rovnako ako lantanidy a aktinidy) a strieborná soľ tejto kyseliny sa používa ako fungicídny prostriedok, zatiaľ čo zlatá soľ sa používa na ošetrovanie artritídy (viď publikovaná PCT patentová prihláška WO 87/05 517).

Rôznymi metódami objasňovania štruktúry bolo dokázané, že sekundárna štruktúra, t.j. konformácia kyseliny hyalurónovej, sa mení viazaním kovových iónov (viď V.T. Winter a A. Sruther : J. Mol. Biol. 517, 761 (1977); J.K. Sheehan a E.D.T. Atkins : Int. J. Biol. Macromol. 5, 215 (1983) a N. Figueroa a B. Chakrabarti: Biopolymers 17, 2415 (1978)). Významne meniace sa účinky na molekulovú štruktúru sa môžu uplatniť tiež kovovými iónmi podobného charakteru, ako ukazuje porovnávacia štúdia za použitia röntgenového žiarenia, uskutočňovaná na draselnej a sodnej soli kyseliny hyalurónovej (viď A. K. Mitra a kol. : J. Macromol., Sci. Phys. 824, 1 a 21 (1985)). Tu je uvedené mnoho hodnotných údajov pre zlúčeniny, ktoré sa vytvárajú z kyseliny hyalurónovej a kovových iónov rôzneho druhu, nesúce rôzny náboj.

V literatúre nie je možné nájsť žiadne údaje týkajúce sa komplexov kyseliny hyalurónovej s 3d kovovými iónmi 4. skupiny periodickej tabuľky prvkov. Vlastne podľa stanovenia gélovou filtračnou chromatografiou kyselina hyalurónová na rozdiel od h^eparínu, je použiteľná na viazanie zinočnatých iónov (R. F. Parish and W. R. Fair: Biochem. J. 193, 407 - 410 (1981)).

Hoci podľa údajov z literatúry kyselina hyalurónová (alebo jej sodná soľ) je schopná viazať zinočnaté ióny, autori tohto vynálezu skúsili stanoviť chemickú koordináciu zo vzájomnej reakcie medzi kyselinou hyalurónovou a 3d kovovými iónmi zo 4.

skupiny periodickej tabuľky prvkov a z nich najmä zinočnatými a kobaltnatými iónmi. Nakoľko kyselina hyalurónová je takmer výlučne na trhu dostupná vo forme svojej sodnej soli, a tak bázická látka zo všetkých systémov obsahuje hyaluronát, stanovenie autorov začalo interakciou sodných iónov a hyaluronátov. Na tento účel sa aktivita voľných iónov sodíka z vodných roztokov sodnej soli kyseliny hyalurónovej meria za použitia sodíkovej selektívnej sklenenej elektródy. Z týchto meraní nepochybne vyplynulo, že viac ako 60 % iónov sodíka zvedených ako ekvivalent spoločne s karboxyskupinami z hyaluronátu je prítomných ako voľné ióny vo vodných roztokoch, zatiaľ čo zvyšných 40 % je vo forme viazanej na hyaluronát.

Podľa meraní, uskutočnených autormi, pri vzrastajúcej koncentrácii iónov sodíka množstvo viazaných iónov sodíka môže vystúpiť na 50 až 55 % počítané na všetky odstupujúce karboxyskupiny. To bolo overené tým, že na rozdiel od všeobecných vlastností solí, sodná soľ kyseliny hyalurónovej nie je vo vodnom roztoku úplne disociovaná.

V nasledujúcom stupni skúšok, vykonaných autormi, sa vodný roztok sodnej soli kyseliny hyalurónovej titroval roztokom chloridu zinočnatého za použitia sodíkovej sklenenej selektívnej elektródy (iónovej), uvedenej vyššie pre nasledujúcu zmenu aktivity voľných iónov sodíka v systéme. Charakteristická krivka zachycujúca proces je uvedená na obr. 1. Je viditeľné, že ióny sodíka pôvodne viazané na hyaluronát, sa uvoľňujú účinkom zinočnatých iónov. Na základe výsledkov týchto meraní celková koncentrácia iónov sodíka je uvoľňovaná ekvivalentným množstvom zinku. Skutočnosť nedvojzmyselne ukazuje, že zinočnaté ióny sú silnejšie viazané k hyaluronátu ako ióny sodíka. Tak bol experimentálne vyvrátený skorší údaj, podľa ktorého kyselina hyalurónová nie je schopná viazať zinočnaté ióny (R.F. Parrish a W.E. Fair: Biochem. J. 193, 407 (1981)).

Tým sa až doteraz uznávané vedomosti odborníkov v odbore preukázali ako nesprávne.

Z pokusov urobených autormi vynálezu, opísaných vyššie, je zrejmé, že vzájomná reakcia ekvivaletného množstva sodnej soli kyseliny hyalurónovej a zinočnatých iónov (chloridu zinočnatého) vo vodnom roztoku tvorí asociovanú zinočnatú soľ kyseliny hyalurónovej so stechiometrickou kompozíciou. Po príslušnej izotonizácii získaný roztok sa priamo použije na terapeutické účely a zinočnatá zlúčenina sa nepripravuje v pevnom stave v oddelenom procese. Predbežné skúšky vykonané za použitia kobaltnatých iónov a iných 3d kovových iónov vedú k podobným výsledkom.

Napriek tomu však bol pripravený komplex v pevnom stave pre charakterizáciu a priamo pôsobenie zinočnatých iónov na okolie sa stanovuje metódou EXAFS ("Extended X-ray Absorption Fine Structure"). Bolo zistené, že atóm zinku je obklopený štyrmi atómami kyslíka v prvej koordinačnej sfére. Dĺžka väzby zinok-kyslík je 199 pm, zatiaľ čo dva atómy uhlíka sú prítomné v dlhšej vzdialenosti 241 pm od atómu zinku.

Podľa skúšok vykonaných autormi sa zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej významne odlišuje od analogického meďnatého komplexu, ktorý obsahuje štyri ekvitoriálne a dve oxialne väzby meď-kyslík s hodnotami 194 až 234 pm. Vzdialenosť medzi atómom meďi a najbližšími dvomi atómami uhlíka je 258 pm. Štruktúra kobaltového komplexu je podobná štruktúre zinočnatého komplexu, ale nepodobá sa meďnatému komplexu.

Podstata vynálezu

Ako bolo uvedené, tento vynález sa týka komplexov-asociátov deprotonovanej kyseliny hyalurónovej s 3d kovovými iónmi zo 4. skupiny periodickej tabuľky prvkov.

Vynález sa ďalej týka prostriedkov, obsahujúcich ako účinnú látku alebo nosič komplex (asociát) kyseliny hyalurónovej s 3d kovovými iónmi zo 4. skupiny periodickej tabuľky prvkov, prípadne

v zmesi s ďalšou účinnou látkou alebo inou účinnou prísadou a/alebo prísadami.

Ďalším znakom tohto vynálezu je spôsob výroby komplexov (asociátov) podľa vynálezu, ktorý spočíva v tom, že

a) vodný roztok obsahujúci ekvivaletné množstvo soli, s výhodou chloridu jedného z 3d kovových iónov 4. skupiny periodickej tabuľky prvkov, sa pridá k vodnému roztoku sodnej soli kyseliny hyalurónovej alebo inej soli (alkalickej soli, soli alkalickej zeminy, prípadne striebornej soli) kyseliny hyalurónovej, alebo

b) komplex (asociát) vzniknutý z kyseliny hyalurónovej s kvartérnou amóniovou soľou sa rozpustí na vodnú suspenziu v dvojici rozpúšťadiel, obsahujúcich vodný roztok 3d kovového iónu zo 4. skupiny periodickej tabuľky prvkov a rozpúšťadlo, ktoré je čiastočne miešateľné s vodou, výhodne n-butanol, potom

- sa vyzráža komplex (asociát), získaný z kyseliny hyaluronovej a 3d kovového iónu zo 4. skupiny periodickej tabuľky prvkov pôsobením alkanolu alebo alkanónu známym spôsobom, alebo

- sa oddelí zrazenina z roztoku, a potom ak je to žiadúce,
- sa vysuší pri miernych podmienkach.

Ak sa vychádza z vyššie uvedených údajov, spôsob bol vyvinutý pre výrobu vodných roztokov obsahujúcich ako účinnú látku komplex (asociát) zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej alebo podobný komplex z 3d kovového iónu 4. skupiny periodickej tabuľky prvkov. Tieto roztoky sa v každom prípade pripravujú priamou reakciou kovového iónu s hyalurátovou zložkou. Tento spôsob výroby nevyžaduje nutne predchádzajúce oddeľovanie účinných látok, uvedených vyššie, v pevnom stave. V pripravenom roztoku pri použití spôsobu podľa vynálezu je množstvo voľného (na kov neviazaného) hyaluronátu nepatrné i v prítomnosti ekvivalentného množstva zinku. Účinkom prebytku zinočnatých iónov

tvorba komplexu (asociátu) zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej prebieha kvantitatívne.

V priebehu prípravy kovových komplexov postupom uvedeným vyššie sa hodnota pH udržiava na hodnote asi 5. V prípade 0,2 % (hmotnosť/-objem) roztoku hyaluronátu hodnota pH dosahuje 5,4, zatiaľ čo v prípade 0,5 % (hmotnosť/objem) roztoku je hodnota pH 5. Ak je potrebné, hodnota pH tohto systému sa môže upraviť na 5,5 až 5,6 prídavkom niekoľkých kvapiek izotonického roztoku octanu sodného.

Roztoky dvoch druhov, obsahujúce zinočnatú soľ kyseliny hyalurónovej ako účinnú látku, sa pripravujú za použitia spôsobu opísaného vyššie.

1. Roztok zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej sa pripraví ako izotonický s prebytkom chloridu zinočnatého:

Je treba vziať do úvahy, že voľný chlorid zinočnatý sa sám môže taktiež s výhodou používať v derma^tológii. Osmotický tlak roztoku zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej sa upravuje na izotonickú hodnotu za použitia prebytku chloridu zinočnatého. Takto získaný roztok neobsahuje žiadny voľný (zinkom neviazaný) hyaluronát, ale celý prebytok chloridu zinočnatého je prítomný v systéme spolu so zinočnatou soľou kyseliny hyalurónovej.

2. Roztok zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej sa pripraví ako izotonický pôsobením monosacharidu alebo cukrového alkoholu:

Na terapeutické použitie, pri ktorom nie je prikázaná prítomnosť zinočnatých iónov, ktoré nie sú viazané na kyselinu hyalurónovú, sa roztok obsahujúci zinočnaté ióny v množstve ekvivalentnom hyaluronátu pripravuje ako izotonický za použitia viacmocného alkoholu (cukrového alkoholu, s výhodou sorbitolu), monosacharidu alebo disacharidu (s výhodou glukózy). Obsah voľných zinočnatých iónov a voľného hyaluronátu v týchto systémoch nepresahuje 5 % z celkového zinku alebo celkového obsahu hyaluronátu.

Počas použitia komplexov podľa vynálezu môžu byť prípadne požadované prostriedky zbavené iónov. Komplexy pripravené podľa vyššie opísaného postupu podľa vynálezu obvykle obsahujú chlorid sodný alebo inú soľ vzniknutú z katiónu východiskového hyaluronátu a aniónu 3d kovovej soli.

Na prípravu komplexu kyseliny hyalurónovej, zbavenej soli, s 3d kovovým iónom sa môžu použiť tieto dva rozdielne spôsoby :

a) Roztok kvartérnej amóniovej soli sa po častiach pridá k roztoku známeho hyaluronátu, s výhodou k sodnej soli kyseliny hyalurónovej. Po vyčistení sa vyzrážaný nový komplex kvartérnej amóniovej soli kyseliny hyalurónovej rozpustí za intenzívneho miešania v dvojici rozpúšťadiel, pozostávajúcich z vodného roztoku 3d kovového iónu 4. skupiny periodickej tabuľky prvkov a rozpúšťadla, ktoré je čiastočne miešateľné s vodou, s výhodou n-butanolu. Dve fázy sa dajú oddeliť, potom sa komplex hyaluronátu vyzráža pridaním alkanolu alebo alkanónu k vodnej fáze, zrazenina sa oddelí a premyje, alebo

b) po pridaní 2,0 až 3 objemu alkanolu s 1 až 3 atómami uhlíka alebo alkonónu s 3 alebo 4 atómami uhlíka za miešania k roztoku zinečnatej soli kyseliny hyaluronovej, účelne k neizotonizovanému roztoku, obsahujúcemu chlorid zinočnatý v množstve ekvivaletnom hyaluronátu, sa pripravená zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej sfiltruje a premyje alkanolom alebo alkanónom použitým na vyzrážanie. Ak je potrebné, zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej sa rozpustí vo vode zbavenej iónov a zráženie sa opakuje.

Ak je potrebná zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej, zbavená iónov, zrazenina sa vysuší pri zníženom tlaku za miernych podmienok. V prípade požiadavky na roztok zinečnatej soli kyseliny hyalurónovej zbavenej iónov, je výhodné rozpustiť zinočnatú soľ kyseliny hyalurónovej zbavenú rozpúšťadla. Podľa hociktorého z obidvoch variantov postupu, sa získa pevná látka bez iónov alebo rozpustený produkt s čistotou závislou od akosti

východiskovej zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej.

Výsledky klinicko farmakologických skúšok prostriedku (príklad 13), obsahujúceho ako účinnú látku zinočnatú soľ kyseliny hyalurónovej podľa tohto vynálezu, sú predvedené na použitom ošetrovaní bercovho vredu pre urýchľovanie epitalizácie povrchových epiteliálnych defektov. Na porovnanie sa použil prostriedok obsahujúci sodnú soľ kyseliny hyalurónovej.

Táto skúška sa vykonala na 12 alebo 14 vredoch u 8 alebo 12 pacientov trpiacich bercovými vredmi. Rozdelenie pacientov z oboch skupín podľa pohlavia a veku, rovnako ako povahy choroby, uvádza nasledujúca tabuľka.

Účinná látka	Počet pacientov	Ženy	Muži	Priemerný vek	Počet ošetrovaných vredov	Charakter vredov*		
						A	V	M
Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej	12	10	2	63,9	14	2	9	1
Sodná soľ kyseliny hyalurónovej	8	6	2	65,7	12	-	7	1

*A = arteriálny; V = venózný; M= zmiešaný

Ošetrovanie sa vykonáva tak, že pred začiatkom ošetrovania sa vykoná čistiaci terapia podľa skutočného klinického stavu vredu. Ošetrovanie zinočnatou alebo sodnou soľou kyseliny hyalurónovej začína na vredoch skoro vyčistených alebo v prípade,

keď sa pozoruje významné zmenšenie sorbcie. Ošetrovanie sa vykonáva jedenkrát denne tak, že prostriedok sa nakvapká na povrch vredu v množstve, ktoré zmáča povrch otvorenej rany v tenkej vrstve.

Prostriedok sa používa počas 4 týždňov. Na začiatku ošetrovania a potom jeden raz týždenne sa záznamový list doplní a vrede pacientov sa dokumentujú fotografiami. Odobrané vzorky sa podrobia bakteriologickému skúšanju.

Charakteristiky, rovnako ako závažnosť epiteliálnych poškodení sa označuje ďalej uvedenými symbolmi a stupnicami.

Charakteristické znaky	Vážnosť poškodenia
Plocha (a)	0
0	0
pod 10 cm ²	1
medzi 10 a 25 cm ²	2
nad 25 cm ²	3
Nákazlivosť (b)	
klinické čisté	0
pokryté na 50 %	1
pokryté na 100%	2
Nékroza (c)	
(iba v prípade arteriálneho vredu)	
negatívna	0
pod 10 %	1
medzi 10 a 15 %	2
100 %	3
bez nekrózy	4

Hodnotenie

Na vyhodnotenie sa stanovuje hodnota samostatných charakteristík a vypočíta sa hodnota všeobecnej vážnosti poškodenia podľa vzorca :

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

Výsledky klinických farmakologických skúšok ilustruje obr. 2. Výsledky ošetrovania zinočnatou soľou kyseliny hyalurónovej sú ukázané na krivke opatrenej krížikmi, zatiaľ čo ošetrovanie sodnou soľou kyseliny hyalurónovej je ilustrované na krivke označenej štvorčekmi, a to ako funkcia počtu týždňov ošetrovania. Stupnica hodnôt vymedzená na súradnici predstavuje všeobecne index ťažkostí (s), vypočítaný podľa vzorca uvedeného vyššie.

Na presnejšie porovnanie zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej so sodnou soľou kyseliny hyalurónovej, použitou ako porovnávací látka, sa relatívna stupnica hodnôt vzťahuje na východiskové stupnice hodnôt predstavujúce 100 %, ako je ilustrované na obr. 3.

Zmena relatívnej stupnice hodnôt sa štatisticky hodnotí ako funkcia počtu (1 až 4) týždňov. Pri ošetrovaní zinočnatou a sodnou soľou kyseliny hyalurónovej je po 1, 2, 3 a 4 týždňoch zistený pokles počtu vredov pod 90, 80, 70 a 60 % relatívnej stupnice hodnôt. Výsledky sú zhrnuté v tabuľke 1.

Tabuľka 1

Účinná látka	1.týždeň		2.týždeň		3.týždeň		4.týždeň	
	Distribúcia na relatívnej stupnici hodnôt							
	90%		80%		70%		60%	
	pod	nad	pod	nad	pod	nad	pod	nad
Zinočnatá soľ kyseliny hya- lurónovej	12	2	11	3	11	3	11	3
Sodná soľ kyseliny hya- lurónovej	4	8	7	5	6	6	3	9

Z tabuľky 1 môže byť zrejmé, že ošetrovanie zinočnatou soľou kyseliny hyalurónovej má veľmi malé výhody v porovnaní s výsledkami dosiahnutými so sodnou soľou kyseliny hyalurónovej, použitou na porovnanie.

Štatistická analýza odozvy dosiahnutej pre vyslovenú domnienku ukazuje, že výhoda prostriedku obsahujúceho zinočnatú soľ kyseliny hyalurónovej je vysoko významná (p 9 %), v porovnaní so sodnou soľou kyseliny hyalurónovej.

V ďalej uvádzanom štatistickom spracovaní je uvedená detailnejšia distribúcia relatívnej stupnice hodnôt ako funkcia času ošetrovania. Dosiahnuté výsledky sú zhrnuté v tabuľke 2.

Tabuľka 2

Učinná látka prostriedku	Počet a stupnica hodnôt vredov			
	nad 90 %	medzi 90 a 70 %	medzi 70 a 50 %	pod 50 %
1. týždeň				
zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej	2	7	5	0
sodná soľ kyseliny hyalurónovej	8	3	0	1
2. týždeň				
zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej	0	6	7	1
sodná soľ kyseliny hyalurónovej	4	3	5	0
3. týždeň				
zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej	0	1	8	2
sodná soľ kyseliny hyalurónovej	2	5	5	1
4. týždeň				
zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej	2	1	7	3
sodná soľ kyseliny hyalurónovej	1	5	3	3

Podobné údaje z tabuľky 2 podporujú názor na výhody zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej. Detailnejšie štatistické preskúmanie ukazuje významný pokles v závislosti od doby ošetrovania.

Súhrne uvedené, ohodnotenie klinicko farmakologických skúšok dokazuje vyššiu účinnosť zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej tiež pri nízkom počte vredov. Táto výhoda je hlavne podložená údajmi zo začiatočného obdobia ošetrovania.

Príklady uskutočnenia vynálezu

Vynález je podrobnejšie ilustrovaný príkladmi, ktorými nie je nijako obmedzený.

Obsah proteínu z hyaluronátu (HA) sa stanovuje použitím metódy, ktorú popísal O.H. Lowry (J. Biol. Chem. 133 (1951)), viskozita hyaluronátu sa meria Oswaldovým viskozimetrom vo fyziologickom roztoku chloridu sodného pri teplote 25 °C. Ďalej sú uvedené hodnoty vnútornej viskozity extrapolovanej na "nulovú" koncentráciu, t.j. $\left[\eta\right]_{25\text{ }^{\circ}\text{C}}^{c \rightarrow 0 \%}$. Obsah HA sa stanovuje použitím metódy, ktorú spracoval Bitter (Anal. Biochem. 4, 330 (1962)).

Príklad 1

Príprava roztoku zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej

40,18 mg sodnej soli kyseliny hyalurónovej sa rozpustí v 20,0 ml dvakrát destilovanej vody. Východisková koncentrácia kyseliny hyalurónovej je 2,009 mg/ml, ekvivalentná koncentrácia roztoku je $4,241 \times 10^{-3}$ mól/liter (Na^+ alebo dimérnych jednotiek kyseliny hyalurónovej). V priebehu merania sa k reakčnej zmesi pridáva mikrobyretou roztok chloridu zinočnatého s koncentráciou 0,05154 mól/liter. Roztok sa najskôr pridáva v malých podieloch (0,05 ml) a potom sa podiely zväčšia (na 0,1 až 0,2 ml). Zmena potenciálu v roztoku sa meria použitím presného potenciometra s digitálnym displejom a selektívnej sklenenej elektródy so

sodíkovými iónmi a striebro/chlorid striebornej elektródy. Titrácia pokračuje, až sa zmeraný potenciál už ďalej nemení prídavkom ďalšieho podielu titračného roztoku. (Meriaci systém je kalibrovaný v podmienkach analogických podmienkam pri praktickom meraní).

Selektivita selektívnej sklenenej elektródy so sodíkovými iónmi sa pozoruje tiež v prítomnosti zinočnatých iónov za účelom kontroly, či zmena potenciálu pri praktickom meraní je spôsobená uvoľňovaním iónov sodíka a od zinočnatých iónov, zavedených do roztoku. $2,00 \times 10^{-3}$ M roztok chloridu sodného sa titruje použitím titračného roztoku chloridu sodného pri podmienkach, ktoré sú podobné podmienkam uvedeným vyššie. Pri vzrastajúcej koncentrácii zinočnatých iónov od 0 do 4×10^{-3} mól/liter sa pozoruje vzrast potenciálu asi 2 mV, zatiaľ čo praktické meranie ukazuje zmenu asi 20 mV pri podobných podmienkach. Toto hodnotenie nie je na prekážku. V priebehu merania vzrast aktivity iónov sodíka vypočítaný z nameraných hodnôt je overený kvantitatívnou tvorbou zinočnatého komplexu.

Príprava roztoku chloridu zinočnatého:

Pretože roztok obsahujúci chlorid zinočnatý s presnou koncentraciou sa nemôže pripraviť priamym odvážením, najprv sa pripravuje roztok s približnou požadovanou koncentraciou. Pri príprave tohto roztoku by sa nemala použiť žiadna kyselina, pretože by sa mohlo stať, že by sa odvážený chlorid zinočnatý rozpustil neúplne. Po sedimentácii nerozpustného zostatku (asi za 30 minút) sa odmerná banka naplní po značku a roztok sa filtruje cez filtračný papier.

Presná koncentrácia filtrátu sa stanoví komplexometrickou titraciou použitím pufra 10 a eryochrómovej černe T ako indikátora. Roztok chloridu zinočnatého s presnou koncentraciou 0,100 mól/liter sa pripraví presným nariadením tohto roztoku.

Charakteristické vlastnosti sodnej soli kyseliny

hyalurónovej, použitej na prípravu roztoku, sú tieto :

molekulová hmotnosť	1 850 000 daltonov
obsah proteínov	0,07 % hmotnostných
1 %	
UF absorpcia A	0, 133
257	
1 %	0, 075
A	
280	
c→0 %	
viskozita [η]	
25 c	13,7 dl/g
obsah HA*	98,12 % hmotnostných

(HA* je skratka pre kyselinu hyalurónovú)

Príklad 2

Príprava roztoku na dermatologické a kozmetické použitie

12,5 ml roztoku chloridu zinočnatého s koncentráciou 0,100 ml/mól, pripraveného z vody zbavenej iónov, sa pridá k 0,50 g sodnej soli kyseliny hyalurónovej, odváženej do 100 ml odmernej banky. (Iné koncentrácie chloridu zinočnatého sa môžu taktiež použiť, ale množstvo chloridu zinočnatého by malo byť rovnaké). Sodná soľ kyseliny hyalurónovej sa nechá nabobtnať (počas 12 hodín) a roztok sa doplní po značku vodou, zbavenou iónov. Získa sa roztok zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej s koncentráciou 0,5 % (hmotnosť/objem).

Charakteristické vlastnosti sodnej soli kyseliny hyalurónovej, použitej na prípravu vyššie uvedeného roztoku sú tieto :

$c \rightarrow 0 \%$	
viskozita $[\eta]$	
25 c	16,5 dl/g
obsah proteínov	0,8 % hmotnostných

Príklad 3

Príprava zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej na použitie v roztokoch pre injekcie

Pracovné úkony opísané v tomto príklade sa uskutočňujú pri sterilných podmienkach.

5,0 ml roztoku chloridu zinočnatého s koncentráciou 0,100 mól/liter, pripraveného s dvojnásobne destilovanou vodou (používa sa sterilná voda pre injekcie, zbavená pyrogénov), sa pridá k 0,20 g sodnej soli kyseliny hyalurónovej (čistej kvality, vo forme prášku) odváženej do 100 ml objemovej banky. Potom sa objem doplní na 50 ml dvakrát destilovanou vodou. Sodná soľ kyseliny hyalurónovej sa nechá bobtnať cez noc, potom sa rozpustí trepaním a roztok sa doplní po značku dvojnásobne destilovanou vodou. Získaný roztok sa filtruje membrámovým filtrom (s veľkosťou pórov 0,45 μm). Získa sa tak 0,2 % (hmotnosť/objem) roztok zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej.

Charakteristické vlastnosti sodnej kyseliny hyalurónovej, použitej na prípravu vyššie uvedeného roztoku sú tieto :

akosť	čistý sterilný prášok bez pyrogénov
molekulová hmotnosť	1 850 000
obsah proteínov	0,7 % hmotnostných
1 %	
UF absorpcia A	0,133
257	
1 %	
A	0,075
280	

obsah HA	98,12 % hmotnostných
c→0 %	
viskozita [η]	
25 c	13,7 dl/g

Príklad 4

Príprava roztoku zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej bez iónu

600 ml etanolu analyticky čistej akosti sa pridá za miešania k 200 ml 0,50 % (hmotnosť/objem) roztoku zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej, získanému podľa príkladu 2. Vyzrážaná zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej sa filtruje cez sklenený filter, dvakrát premyje vždy 50 ml etanolu rovnakej kvality a potom vysuší pri zníženom tlaku. Získa sa 0,88 g zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej, ktorá sa použije na prípravu 0,50 % (hmotnosť / objem) roztoku zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej spôsobom opísaným v príklade 2. Získaný roztok zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej neobsahuje žiadny chlorid sodný vzniknutý reakciou medzi sodnou soľou kyseliny hyalurónovej a chloridom zinočnatým a tak je prakticky bez iónov.

Príklad 5

Príprava zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej zbavenej iónov alebo jej roztoku na terapeutické použitie

Pracovné úkony opísané v tomto príklade sa uskutočňujú v sterilných podmienkach.

1 500 ml etanolu (najčistejšej kvality) sa po častiach za miešania pridá k 500 ml roztoku zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej, pripravenému podľa príkladu 3. Po pridaní sa systém mieša 30 minút, zrazenina zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej sa filtruje cez sklenený filter, trikrát premyje vždy 100 ml etanolu (najčistejšej kvality) a vysuší pri zníženom tlaku, miernych podmienkach a v sterilnom prostredí.

Príklad 6

Príprava zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej bez iónov

200 ml 10% hmotnostného roztoku Hyamínu^R 1622 (čistého) (benzyldimetyl-[2-(2-p(1,1,3,3-tetrametylbutyl)fenoxy)etoxy]-etyl amóniumchloridu) sa pridá za miešania k roztoku obsahujúcemu 1 g sodnej kyseliny hyalurónovej v 400 ml dvakrát destilovanej vody. Vzniknutá zrazenina, t.j. kvartérna amóniová soľ kyseliny hyalurónovej, sa oddelí odstredovaním, dvakrát premyje vždy 100 ml dvojnásobne destilovanou vodou a znova sa odstredí. Premytá zrazenina sa rozpustí v dvojici rozpúšťadiel, ktorú tvorí 400 ml 2 % (hmotnosť/objem) roztoku chloridu zinočnatého (s hodnotou pH 5,0 až 5,4) a 400 ml n-butanolu. Systém sa potom nechá rozdeliť do dvoch fáz. Vodná fáza obsahujúca rozpustenú zinočnatú soľ kyseliny hyalurónovej sa filtruje membránovým filtrom (veľkosť pórov 0,45 µm), potom sa zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej vyzráža prídavkom 3 objemov etanolu, filtruje sa cez sklenený filter, premyje etanolom a vysuší v dusíkovej atmosfére pri miernych podmienkach. Získa sa 0,82 g zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej.

Ak je potrebné, 0,50 % (hmotnosť/objem) roztok sa pripraví zo získanej zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej a potom sa ďalej čistí, ako je opísané v príklade 4.

Charakteristické vlastnosti sodnej soli kyseliny hyalurónovej, použitej ako východiskovej látky, sú tieto :

$c \rightarrow 0$ %	
viskozita $[\eta]$	
25 c	16,5 dl/g
obsah proteínov	0,18 % (hmotnosť/objem)

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej sa môže pripraviť, ako je opísané vyššie, taktiež z komplexov vytvorených z iných kvartérnych amóniových solí. Kvartérne soli vhodné na tento účel sú :

- a) karbotetradecyloxymetyltrimetylamóniumchlorid (pozri maďarský patentový spis č. 188 537),
- b) hexadecylpyridíniumchlorid,
- c) cetylpyridíniumchlorid,
- d) trimetylamóniumchlorid a podobné.

Príklad 7

Príprava kobaltnatej soli kyseliny hyalurónovej

Postup opísaný v príklade 6 sa opakuje s tým rozdielom, že kvartérny amóniový komplex kyseliny hyalurónovej sa rozpustí v dvojici rozpúšťadiel pozostávajúcich z 2 % (hmotnosť/objem) vodného roztoku hexahydrátu chloridu kobaltnatého a n-butanolu.

Príklad 8

Príprava vodného roztoku obsahujúceho 0,50 % (hmotnosť/objem) zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej získaného izotonicky pôsobením chloridu zinočnatého.

Asi 50 ml roztoku chloridu zinočnatého s koncentráciou 0,110 mól/liter sa pridá k 0,50 g sodnej soli kyseliny hyalurónovej do 100 ml objemovej banky a potom sa nechá bobtnať celú noc. Potom sa sodná soľ kyseliny hyalurónovej rozpustí trepaním a banka sa doplní po značku roztokom chloridu zinočnatého s koncentráciou 0,110 mól/liter.

Osmotický tlak získaného roztoku je 0,1491 mól/liter, vyjadrené v ekvivalentnej koncentrácii chloridu sodného, hodnota pH je 5,0. Pokiaľ je potrebné, hodnota pH sa upraví na 5,5 až 5,6 prídavkom 2,00 ml roztoku chloridu sodného s koncentráciou 0,150 mól/liter. Po úprave hodnoty pH je osmotický tlak roztoku 0,1489, vyjadrené v ekvivaletnej koncentrácii chloridu sodného.

Roztok zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej sa pripraví z obzväšť čistej sodnej soli kyseliny hyalurónovej, ako je

opísané v príklade 3, a dvakrát destilovanej vody v aseptických podmienkach. Potom sa roztok filtruje membránovým filtrom (s veľkosťou pórov 0,45 μm).

Získaný roztok sa môže tiež použiť v prostriedkoch, určených pre injekcie.

Príklad 9

Príprava vodného roztoku obsahujúceho 0,2 % (hmotnosť/objem) zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej získaného izotonicky pôsobením chloridu zinočnatého

Pre konečný objem 100 ml sa odváži 0,20 g sodnej soli kyseliny hyalurónovej a rozpustí v roztoku chloridu zinočnatého s koncentráciou 0,12 mól/liter.

Rozpustenie a príprava roztoku zinočnatej soli s presnou koncentráciou 0,120 mól/liter sa vykonáva podľa príkladu 1 (pochopteľne pri zmene množstva chloridu zinočnatého).

Osmotický tlak roztoku je 0,154 mól/liter, vyjadrené v ekvivaletnej koncentrácii chloridu sodného, hodnota pH je 5,3 až 5,4.

obsah HA :	1,96 mg/ml
viskozita :	15,9 dl/g
obsah proteínov :	0,015 mg/ml
čistota roztoku * :	1cm
	$A_{660} = 0,015$

* vzťahnuté na absorbenciu zameranú pri 660 μm v 1 cm kyvete.

Roztok sa pripraví použitím sodnej soli kyseliny hyalurónovej v kvalite, ktorá je charakterizovaná v príklade 2, a použije sa predvšetkým na prípravu dermatologických a kozmetických prostriedkov.

Príklad 10

Príprava vodného roztoku obsahujúceho 0,50 % (hmotnosť/objem) zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej získaného izotonicky pôsobením glukózy.

Roztok z tohto príkladu obsahuje sodnú soľ kyseliny hyalurónovej a vypočítané množstvo chloridu zinočnatého.

12,50 ml roztoku chloridu zinočnatého s koncentráciou 0,100 mól/liter sa pridá k 0,50 g sodnej soli kyseliny hyalurónovej odváženej do 100 ml volumetrickej banky. (Iná koncentrácia chloridu zinočnatého sa môže taktiež použiť, ale množstvo chloridu zinočnatého by malo byť rovnaké). Sodná soľ kyseliny hyalurónovej sa nechá bobtnať počas 12 hodín v roztoku chloridu zinočnatého doplneného o 50 ml vody zbavenej iónov a potom sa rozpustí trepaním. Potom sa pridá 24,50 ml roztoku glukózy s koncentráciou 1,00 mól/liter a doplní po značku vodou zbavenou iónov.

Osmotický tlak roztoku je 0,1495 mól/liter vyjadrených v ekvivaletnej koncentrácii chloridu sodného, pH vykazuje hodnotu 5,4. Celková koncentrácia zinku je $1,25 \times 10^{-2}$ mól/liter.

Roztok sa pripravuje za použitia sodnej soli kyseliny hyalurónovej v akosti, ktorá je charakterizovaná v príklade 2 a používa sa predvšetkým na prípravu dermatologických a kozmetických prostriedkov.

Príklad 11

Príprava vodného roztoku obsahujúceho 0,23 % (hmotnosť/objem) zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej získaného izotonicky pôsobením glukózy.

Roztok z tohto príkladu obsahuje sodnú soľ kyseliny hyalurónovej a vypočítané množstvo chloridu zinočnatého.

5,0 ml roztoku chloridu zinočnatého s koncentráciou 0,100 mól/liter sa pridá k 0,20 g sodnej soli kyseliny hyalurónovej odváženej do 100 ml volumetrickej banky. Potom sa objem doplní na 50 ml deionizovanou vodou. Potom sa nechá bobtnať počas noci, sodná soľ kyseliny hyalurónovej sa rozpustí trepaním, pridá sa 27,0 roztoku glukózy s koncentráciou 1,00 mól/liter a banka sa doplní po značku vodou bez iónov.

Osmotický tlak roztoku je 0,151 mól/liter, vyjadrené v ekvivalentnej koncentrácii chloridu sodného, pH vykazuje hodnotu 5,6 až 5,7. Celková koncentrácia zinku je 5×10^{-3} mól/liter.

Príklad 12

Príprava vodného roztoku obsahujúceho 0,50 % (hmotnosť/objem) zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej získaného izotonicky pôsobením sorbitolu

Roztok zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej popísaný ďalej sa pripravuje v aseptických podmienkach zo sodnej soli kyseliny hyalurónovej so zvlášť vysokou čistotou, opísanej v príklade 3, a destilovanej vody. Roztok obsahuje chlorid zinočnatý v ekvivaletnom množstve vypočítanom pre sodnú soľ kyseliny hyalurónovej.

Postup opísaný v príklade 10 sa zopakuje s tým rozdielom, že sa namiesto roztoku glukózy k roztoku zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej pridá roztok sorbitolu s koncentráciou 1,00 mól/liter (182,19 g D- sorbitolu v 1 litri).

Roztok takto pripravený sa filtruje membránovým filtrom (s veľkosťou pórov 0,45). Tento roztok sa môže použiť na ľubovoľný účel, vrátane prostriedkov pre injekcie.

Osmotický tlak roztoku je 0,1520 mól/liter, vyjadrených v ekvivaletnej koncentrácii chloridu sodného, pH vykazuje hodnotu 5,5. Celkový obsah zinku je $1,25 \times 10^{-2}$ mól/liter.

Príklad 13

Príprava vodného roztoku obsahujúceho 0,2% (hmotnosť/objem) zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej získaného izotonicky pôsobením sorbitolu

Roztok opísaný v tomto príklade obsahuje chlorid zinočnatý v množstve ekvivalentom k vypočítanému množstvu sodnej soli kyseliny hyalurónovej.

Roztok zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej opísaný ďalej sa pripravuje v aseptických podmienkach zo sodnej soli kyseliny hyalurónovej so zvlášť vysokou čistotou, opísanej v príklade 3, a dvakrát destilovanej vody.

Postup opísaný v príklade 12 sa opakuje s tým rozdielom, že sa rozpustí 0,2 g sodnej soli kyseliny hyalurónovej, pridá sa 5 ml roztoku chloridu zinočnatého s koncentráciou 0,100 mól/liter a nakoniec sa roztok doplní na 100 ml. Takto pripravený roztok sa filtruje membránovým filtrom s veľkosťou pórov 0,45 μm . Tento roztok sa môže použiť na ľubolné účely, vrátane prostriedkov pre injekcie.

Osmotický tlak roztoku je 0,1501 mól/liter, vyjadrený v ekvivaletnej koncentrácii chloridu sodného, pH vykazuje hodnotu 5,6. Celkový obsah zinku je 5×10^{-3} mól/liter.

obsah hyaluronátu :	2,03 mg/ml
viskozita :	16,1 dl/g
obsah proteínov :	0,016 mg/ml
	1 cm
čistota roztoku* :	A = 0,010
	660

* vzťahnuté na absorbciu meranú pri 660 nm v 1 cm kvete.

Príklady 14 až 26

V nasledujúcich príkladoch zložky rôznych prostriedkov (farmaceutických a kozmetických) sú uvedené vo vzťahu k typom prostriedkov, ktoré vybrali autori tohto vynálezu. Príprava roztoku zinočnatej soli kyseliny hyalurónovej získanej izotonicky je opísaná v predchádzajúcich príkladoch. Výraz "destilovaná voda pre injekčné účely" označuje dvakrát destilovanú vodu pripravenú v aseptických podmienkach.

I. Roztoky pre injekcie

Prostriedky z príkladov 14 až 17 sa používajú na intrakutánne podávanie, zatiaľ čo prostriedok z príkladu 18 slúži na intraokulárne použitie. V týchto príkladoch sa používa účinná látka, ktorej kvalita je opísaná v príklade 3.

Príklad 14

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej	
ako účinná látka	2,0 mg
sorbitol	48,3 mg
konečný objem vodného roztoku	
pripraveného s destilovanou vodou	
na injekčné účely	1,0 ml

Príklad 15

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej,	
ako účinná látka	5,0 mg
sorbitol	42,8 mg
konečný objem vodného roztoku	
pripraveného s destilovanou vodou	
na injekčné účely	1,0 ml

Príklad 16

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej,	
ako účinná látka	2,0 mg
propyl-p-hydroxybenzoát	0,05 mg
metyl-p-hydroxybenzoát	0,5 mg
glukóza	48,6 mg

konečný objem vodného roztoku pripraveného s destilovanou vodou na injekčné účely	1,0 ml
---	--------

Príklad 17

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej ako účinná látka	5,0 mg
propyl-p-hydroxybenzoát	0,05 mg
metyl-p-hydroxybenzoát	0,5 mg
glukóza	44,1 mg
konečný objem vodného roztoku pripraveného s destilovanou vodou na injekčné účely	1,8 ml

Príklad 18

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej, ako účinná látka	10,0 mg
sorbitan draselný	1,0 mg
sorbitol	41,0 mg
konečný objem vodného roztoku pripraveného destilovanou vodou na injekčné účely	1,0 ml

Prostriedky opísané v príkladoch 20 až 28 sa používajú hlavne pre dermatologické a kozmetické účinky. V týchto príkladoch sa používa účinná látka v kvalite opísanej v príklade 2.

II. Roztoky na lokálne použitie

Príklad 19

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej ako účinná látka	5,0 mg
sorbitan draselný	1,0 mg
octan sodný	24,6 mg
konečný objem sodného roztoku pripraveného s destilovanou vodou	1,0 ml

Príklad 20

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej,

ako účinná látka	2,0	mg
------------------	-----	----

sorbitan draselný	1,0	mg
-------------------	-----	----

sorbitol	48,3	mg
----------	------	----

konečný objem vodného roztoku

pripraveného s destilovanou vodou	1,0	ml
-----------------------------------	-----	----

III. Gél na lokálne použitie

Príklad 21

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej,

ako účinná látka	20,0	mg
------------------	------	----

polymér kyseliny akrylovej	200	mg
----------------------------	-----	----

hydroxid sodný s koncentráciou 30 %	50	mg
-------------------------------------	----	----

sorbitan draselný	10	mg
-------------------	----	----

destilovaná voda do	10,0	mg
---------------------	------	----

Príklad 22

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej,

ako účinná látka	20,0	mg
------------------	------	----

polymér kyseliny akrylovej	50	mg
----------------------------	----	----

hydroxid sodný s koncentráciou 30 %	40	mg
-------------------------------------	----	----

propylénglykol	1500	mg
----------------	------	----

sorbitan draselný	10	mg
-------------------	----	----

destilovaná voda do	10	mg
---------------------	----	----

IV. Krémy a masti na lokálne použitie

Príklad 23

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej,

ako účinná látka	50	mg
------------------	----	----

sorbitan draselný	10	mg
-------------------	----	----

mäkký biely včelí vosk	125	mg
------------------------	-----	----

sorbitan oleát	150	mg
----------------	-----	----

cetylstearylalkohol	840	mg
---------------------	-----	----

glycerylmonostearát	1 100	mg
---------------------	-------	----

propylénglykol	4 750	mg
----------------	-------	----

destilovaná voda do	10	mg
---------------------	----	----

Príklad 24

Kobaltná soľ kyseliny hyalurónovej,

ako účinná látka	50	mg
sorbitan draselný	10	mg
mäkký biely včelí vosk	125	mg
sorbitan oleát	150	mg
cetylstearylalkohol	840	mg
glycerylmonostearát	1 100	mg
propylénglykol	4 750	mg
destilovaná voda do	10	g

Príklad 25

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej,

ako účinná látka	50	mg
2-fenoxyetanol	100	mg
laurylsulfát sodný	100	mg
cetylpalmitát	400	mg
stearín	400	mg
stearylalkohol	450	mg
cetylalkohol	450	mg
biela vazelína	500	mg
propylénglykol	550	mg
glycerol	600	mg
destilovaná voda do	10,0	g

Príklad 26

Kobaltnatá soľ kyseliny hyalurónovej,

ako účinná látka	50	mg
2-fenoxyetanol	100	mg
laurylsulfát sodný	100	mg
cetylpalmitát	400	mg
stearín	400	mg
stearylalkohol	450	mg
biela vazelína	500	mg
propylénglykol	550	mg
glycerol	600	mg
destilovaná voda do	10,0	mg

Príklad 27

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej,

ako účinná látka	50,0 mg
mikrokryštalický vosk	250 mg
propylénglykol	500 mg
sorbitol	400 mg
tuk z ovčej vlny (acetylovaný)	500 mg
biela vazelína do	10 g

V. Prostriedky na čistenie a hojenie hnisavých rán a popálenín

Príklad 28

Zinočnatá soľ kyseliny hyalurónovej,

ako účinná látka	10 mg
sorbitan draselný	1,0 mg
hydrofilný koloidný oxid kremičitý	50,0 mg
sorbitol do	1 g

Priemyselná využiteľnosť

Nové komplexy podľa tohto vynálezu zahrňujú hlavne zinočnatú a kobaltnatú soľ kyseliny hyalurónovej. Prostriedky obsahujúce tieto komplexy môžu byť farmaceutickými (terapeuticky účinnými) alebo kozmetickými prostriedkami, prípadne inými prostriedkami. Oblasťou naznačujúcou použitie prostriedkov, ktoré obsahujú nové komplexy podľa vynálezu, je napríklad urýchlenie epitelizácie epitaliálnych defektov na povrchu tela, pri hojení bercového vredu, dekubitálneho vredu (preležaním), hojenie doteraz nezhojiteľných rán, popálenín, poranení vyvolaných ožarovaním alebo teplom, avšak prostriedky sa môžu taktiež používať v iných oblastiach.

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Asociáty deprotonovanej kyseliny hyalurónovej so zinočnatými alebo kobaltnatými iónmi.

2. Farmaceutický prostriedok na urýchlenie epitelizácie povrchových epiteliálnych defektov, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že ako účinnú látku obsahuje asociát deprotonovanej kyseliny hyalurónovej so zinočnatými alebo kobaltnatými iónmi.

3. Kozmetický prostriedok s liečebným účinkom podporujúcim regeneráciu kože, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že ako účinnú látku obsahuje asociát deprotonovanej kyseliny hyalurónovej so zinočnatými alebo kobaltnatými iónmi.

4. Kozmetický prostriedok podľa nároku 3, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že ako účinnú látku obsahuje asociát deprotonovanej kyseliny hyalurónovej so zinočnatými iónmi, jedným alebo viacerými nosičmi a/alebo prídavnými látkami.

5. Spôsob výroby asociátov deprotonovanej kyseliny hyalurónovej so zinočnatými alebo kobaltnatými iónmi podľa nároku 1, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že

a) vodný roztok obsahujúci ekvivaletné množstvo soli zinočnatej alebo kobaltnatej soli, sa pridá k vodnému roztoku sodnej soli kyseliny hyalurónovej alebo inej soli kyseliny hyalurónovej, alebo

b) asociát vzniknutý z kyseliny hyalurónovej s kvartérnou amóniovou soľou sa rozpustí na vodnú suspenziu v dvojici rozpúšťadiel, obsahujúcej vodný roztok zinočnatého alebo kobaltnatého iónu a rozpúšťadlo, ktoré je čiastočne miešateľné s vodou, potom

- sa vyzráža asociát získaný z deprotonovanej kyseliny hyalurónovej a zinočnatého alebo kobaltnatého iónu pôsobením alkoholu alebo alkanónu známym spôsobom, alebo

- sa oddelí zrážaním z roztoku a potom, ak je to žiadúce,

- sa vysuší.

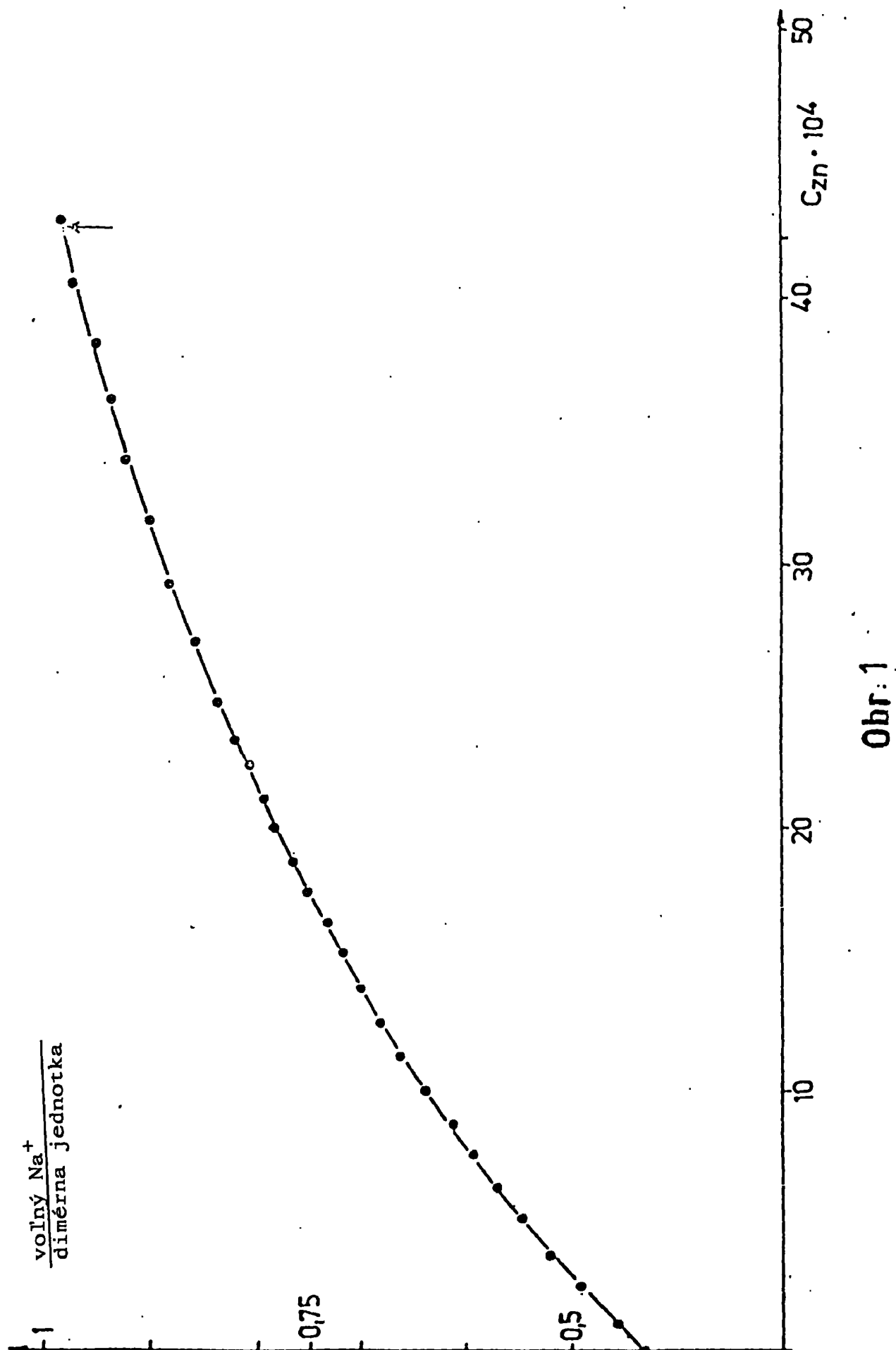
6. Spôsob podľa nároku 5, v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že sa v stupni

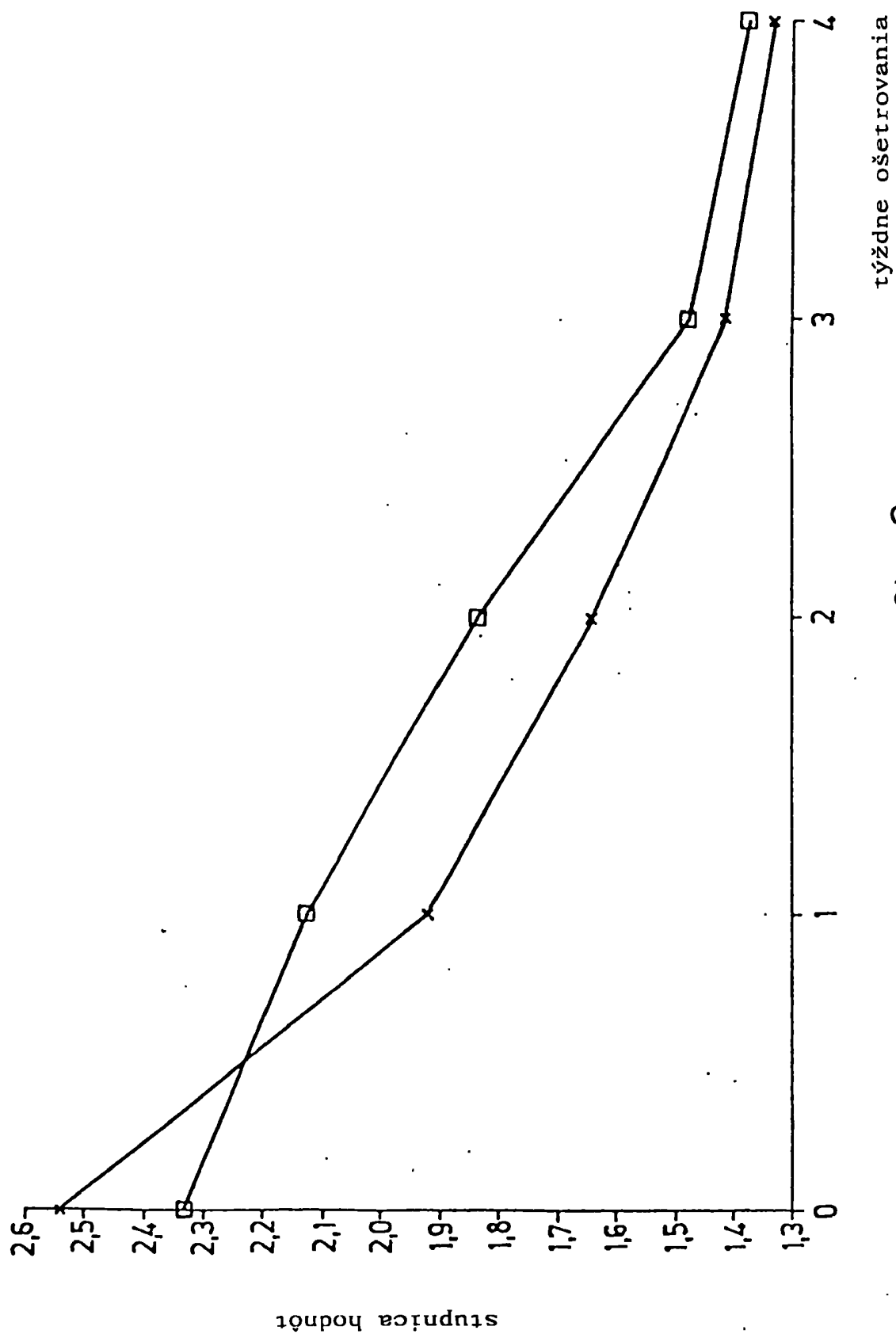
a) ako iná soľ kyseliny hyalurónovej použije jej alkalická soľ, a v stupni

b) ako rozpúšťadlo, ktoré je čiastočne miešateľné s vodou sa použije n-butanol.

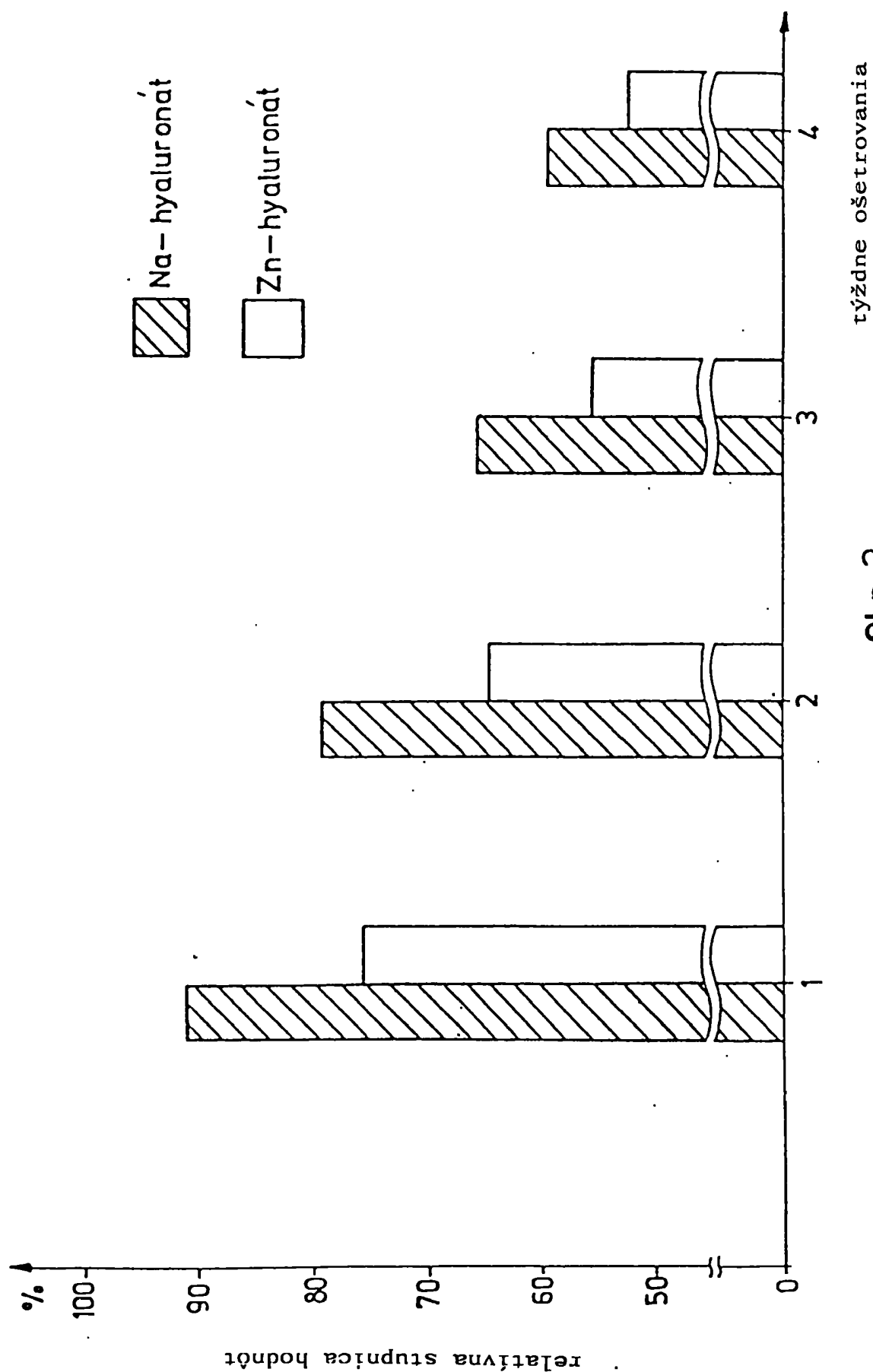
7. Spôsob priamej prípravy vodného prostriedku obsahujúceho zinočnatú soľ kyseliny hyalurónovej, ^{podľa nároku 1} v y z n a č u j ú c i s a t ý m, že vodný roztok obsahujúci chlorid zinočnatý sa pridá v ekvivaletnom množstve alebo v množstve prevyšujúcom ekvivaletné množstvo potrebné na dosiahnutie izotonického stavu k vodnému roztoku, ktorý obsahuje zinočnatú soľ kyseliny hyalurónovej.

PV 857-90
tlu





Obr. 2



Obr. 3