



〔12〕发明专利申请审定说明书

〔11〕CN 85 1 02921 B

CN 85 1 02921 B

〔44〕审定公告日 1988年6月8日

〔21〕申请号 85 1 02921

〔22〕申请日 85.4.9

〔71〕申请人 菲地亚有限公司

地 址 意大利阿巴诺特尔梅

〔72〕发明人 弗朗西斯科·戴拉·瓦莱

西尔瓦娜·洛伦兹 奥里略·罗密欧

〔74〕专利代理机构 上海专利事务所

代理人 沈兆南

〔54〕发明名称 制备具有药物作用的透明质酸组份
及含该组份的药物的方法

〔57〕摘要

获得透明质酸的两种可供药用的组份。第一种组份的分子量在50,000至100,000之间,其可用于创伤愈合。第二种组份的分子量在500,000至730,000之间,可用于眼球内和关节腔内注射。透明质酸组份还可用作眼药的载体,能提供与角膜上皮相容的配方,且可提高这些药物在体内的作用。

881B00672/04-23

权 利 要 求 书

1. 纯化透明质酸混合物以除去炎性物质的纯化方法, 包括从可得的含有透明质酸的初始物质中提炼透明质酸的混合物, 其特征在于

使该透明质酸混合物进行酶解,

使该酶解后的透明质酸混合物进行分子过滤, 所进行的分子过滤是用分子量排除限度约为30,000的膜来排除分子量小于30,000的分子, 从而得到平均分子量从30,000至730,000之间的基本上不含分子量小于30,000透明质酸的、基本纯净、无发炎作用的透明质酸组份。

2. 按照权利要求1的方法, 其进一步特征在于, 其中所说的酶解是用木瓜酶(Papain)进行的。

3. 按照权利要求1或2的方法, 其进一步特征在于, 用分子量排除限度约为30,000的膜进行分子过滤之后, 收集保留在所说膜上的混合物, 从而得到的是基本上不含分子量小于30,000的、其平均分子量为从250,000至350,000的第一透明质酸组份产品。

4. 按照权利要求3的方法, 其进一步特征在于, 对所说的第一透明质酸组份用分子量排除限度约为200,000的膜进一步进行超微分子过滤, 以排除分子量大于200,000的分子, 继续超微过滤, 直到所进行超微过滤的组份体积减少到初始体积的10%, 然后收集通过了该膜的混合物, 从而得到的是具有平均分子量从50,000至100,000的第二透明质酸组份产品。

5. 按照权利要求4的方法, 其进一步特征在于, 收集用该分子量排除限度约为200,000的膜进行超微过滤步骤之后保留在膜上的混合物, 从而得到的是具有平均分子量从500,000至730,000的第三透明质酸组份产品。

6. 制备基本纯净、无发炎作用的透明质酸组份的方法, 包括从可得的含有透明质酸的初始物质中提炼透明质酸的混合物, 其特征在于:

使该透明质酸混合物进行酶解,

使该酶解后的透明质酸混合物进行分子过滤, 所进行的分子过滤是用分子量排除限度约为30,000的膜来排除分子量小于30,000的分子, 从而制得平均分子量从30,000至730,000之间的基本不含分子量小于30,000透明质酸的、基本纯净、无发炎作用

的透明质酸组份。

7. 按照权利要求6的方法, 其进一步特征在于, 其中所说的酶解是用木瓜酶(Papain)进行的。

8. 按照权利要求6或7的方法, 其进一步特征在于, 用分子量排除限度约为30,000的膜进行分子过滤之后, 收集保留在所说膜上的混合物, 从而得到的是基本不含分子量小于30,000的、平均分子量从250,000至350,000的第一透明质酸组份产品。

9. 按照权利要求8的方法, 其进一步特征在于, 对所说的第一透明质酸组份用分子量排除限度约为200,000的膜进一步进行超微分子过滤, 以排除分子量大于200,000的分子, 继续超微过滤, 直到所进行超微过滤的组份体积减少到初始体积的10%, 然后收集通过了该膜的混合物, 从而得到的是具有平均分子量从50,000至100,000的第二透明质酸组份产品。

10. 按照权利要求9的方法, 其进一步特征在于, 收集用该分子量排除限度约为200,000的膜进行超微过滤步骤之后保留在膜上的混合物, 从而得到的是具有平均分子量从500,000至730,000的第三透明质酸组份产品。

本发明是关于透明质酸的特殊分子量组分(以下称为“HA”), 它有治疗作用, 且应用时不发炎。

本发明的HA组份之一能用于促进创口愈合, 而另一种HA组份能用于眼球内代替球内液, 或用于治疗受伤骨关节内注射。HA组份还被发现能作为眼科药物的载体提供适合于角膜上皮的配方并提高眼科药物的作用。

透明质酸是天然存在的异多醣体, 含有D-葡萄糖及N-乙酰-D-葡萄糖胺的改性残余物。HA是高分子量的线性聚合物, 通常分子量约高达800万至1300万, 存在于细胞膜(cell coats)、脊椎动物的结缔组织的细胞外基质、关节的滑囊液、眼球内液、人脐带组织及雄鸡的鸡冠中。

以前关于HA用途的研究包括在巴拉士(Balazs)的工作中, 美国专利号4,141,973, 指出HA组份可用于代替眼球内液以及有其他治疗应用。该专利是指向于平均分子量大于750,000的, 最好是大于1,200,000的HA组份。Balazs特别指出平均分子量低于750,000的HA组份由于它的发炎作用而没

有治疗用途。Balazs弃去了那些低分子量的H A组份。结果使得从源组织取得的有效H A总量的约90%被抛弃了,结果只用上了有效H A的一小部分(约10%)。

与Balazs所指出的相反,本申请人发现低分子量的H A组份确有有用的药物作用。这样,按照本发明,从各种来源取得的H A约可利用80%,特别是,本申请人发现了H A的一种组份可用于刺激创口愈合,而另一种H A组份则可用于眼内注射以代替眼球内液以及治疗受伤关节时用作关节内注射。

图1示本发明人鉴别出的透明质酸的各种组份。

如上所述,以前关于H A的研究,例如Balazs的专利,是指向于利用平均分子量大于750,000的高分子组成。本申请人分离并特别鉴定了H A的二种新组份,一种具有低分子量而另一种具有中等度平均分子量,它们被认为基本纯净,因为它们纯度高而且没有发炎作用。这些H A的新组份可以从各种含有能萃取出透明质酸的结缔组织制得。本发明特定的组份,可按分子筛滤技术辨别分离出来。

本申请人分离出的第一种组份称为海拉斯汀(HYALASTINE),具有平均分子量约50,000到约100,000。这种HYALASTINE组份被肯定能适合于兽用及人用治疗,因为它有创口愈合作用。本申请人分离得到的第二种组份称为海勒克汀(HYALECTIN),具有平均分子量约500,000到约730,000。这种HYALECTIN组份适用于眼科手术作为眼球内液的代用品,以及作兽用及人用治疗关节的外伤性和变性疾病。HYALASTINE可皮内注射给药,或局部涂敷以愈合创口。另一方面HYALECTIN则适合作眼球及关节内注射。

本申请人曾对各种H A组份做过详细研究,采用比以往更为精确的方法,特别确定了治疗上有用的H A组份及炎性和无用的H A组份。作为这些研究结果,本申请人确定并研究了H A组份的两个特性,即:细胞动迁作用(cell mobilization)和内生粘滞性(intrinsic viscosity)。动物的创口愈合过程受细胞动迁作用所促进,特别是成纤维细胞的动迁作用。另一方面,细胞动迁作用或增生作用(即有丝分裂)在眼球内手术时应应避免。这在作视网膜剥离的矫正手术中特别确实,因为,在视网膜剥离中愈合速度增加会引起有害影响。

内生粘滞性在决定利用H A组份时也是应考虑的重要因素。具有高度内生粘滞性的组份用于外科,

治疗外伤性和变性关节疾病,以及用于替代眼球内液。另一方面,当组份被用作促进创口愈合的药物时,则高粘滞性是不受欢迎的特性。事实上,用作创口愈合的组份应具有低粘滞性,以便在实际应用中更使用更方便。

本申请人鉴别的HYALASTINE组份已被确定具有良好的动迁性或细胞增生作用和低粘滞性诸特点。因而HYALASTINE具有适于作创口愈合材料的必需的特点。这些特点使因而HYALASTINE不宜用于眼球内或关节内注射治疗。

本申请人鉴别出的HYALECTIN组份被确定具有微小的细胞动迁性和增生作用,而与此同时却具有高粘滞性。这些特性因而使得HYALECTIN组份可用作眼球内注射及关节内注射治疗。但是,相反地HYALECTIN对创口愈合的治疗却无用,因为这组份没有细胞动迁作用。

在分离有用的透明质酸组份时取得没有发炎作用的那些组份也同样重要。上述Balazs的专利指出为了要得到无发炎作用的透明质酸组份,只能利用平均分子量大于750,000的组份。因此,Balazs把平均分子量小于750,000的组份,由于它们有发炎作用而抛弃不用。与Balazs所指出的相反,本申请人发现,被Balazs认为低于平均分子量750,000的组份的发炎作用,实际上是由于平均分子量低于30,000的杂质所致。因此,本发明提供了一种方法,用它排除掉分子量低于30,000的发炎组份,该方法包括一系列分子筛技术及化学方法。

用本发明的方法,可获得无发炎作用的透明质酸的各种有用组份,合并起来考虑,它们占了从特定的源物质取得的全部透明质酸的总量的80%。这占有效透明质酸80%的产量,是混合组份,是HYALECTIN和HYALASTINE的组合物,其平均分子量从约250,000到约350,000。分得更细来说,所得到的HYALECTIN组份约占从源组织中取得的H A的30%,所得到的HYALASTINE约占从源组织中取得的H A的80%,这个因素是对上述Balazs专利的方法的重大改进,因为本发明人发现显著增加的有效透明质酸数量对制药是有益的。由于只利用平均分子量大于750,000的组份,Balazs的方法只能得到原来自动物器官的透明质酸量的10%,而抛弃了约90%的所得到的透明质酸。而按照本发明,透明质酸总萃取量的利用率大为增加。

下列的表 1 示各种透明质酸组份萃取相应产量的比较:

表 1			
透明质酸的 类型	每100克新鲜 组织的克数	%	参考文献
雄鸡鸡冠的 透明质酸总量	0.8	100	Swarr D. A. 1968 Biophys. Biochim. Acta 156. 17-29
HA (Balazs)	0.08	10	美国专利4, 141, 973号
HYALECTIN [*]	0.6	80	本发明
HYALASTINE			
HYALECTIN	0.2	30	本发明
HYALASTINE	0.4	50	本发明
发炎组份	0.16	20	本发明

图 1 以图形表示本申请人分离出的各种 HA 组份。图 1 的钟形曲线(实线)表示取自原始组织的 HA 组份的近似分布。图 1 的“B”区表示由 Balazs 鉴别出的属美国专利 4, 141, 973 号可用作药物的部分。图 1 中“A”区、I 和 II 是由本申请人鉴别出的组份。A 区是具有平均分子量低于 30,000 的发炎组份。I 区是 HYALASTINE 组份。II 区是 HYALECTIN 组份。从这图能看出 Balazs 方法抛弃了大部分能有效萃取的透明质酸, 因为他排斥了平均分子量低于 750,000 的 HA 组份。本发明则相反, 可让大部分可得到的 HA 作药物之用, 因为曾被先前研究者注意到的各种 HA 萃取物中, 平均分子量小于 30,000 的低分子量透明质酸才引起发炎作用。申请人发现, 如果根据各别的治疗应用, 按本发明所指示的那样来分离, 事实上大部分的有效 HA 能被用于治疗目的。Balazs 的专利特别指出只能用有效 HA 的 10%, 而本发明则可让约 80% 有效 HA 组份能使用, 既可以 HYALASTINE 组份的形式应用于创口愈合, 也可以 HYALECTIN 的形式应用于眼球内及关节内, 还可以 HYALASTINE 和 HYALECTIN 结合的形式应用于创口愈合。

本申请人也研究了所鉴别出组份的化学和物理的特性。这些特性现被总结在表 2 之中。

例 1 制取无发炎作用的混合 HYALASTINE 和 HYALECTIN 组份的方法:

取新鲜的或冷冻的母鸡鸡冠(3000克)放在绞碎机中绞碎。然后放在机械匀化器机中仔细混匀。把所得到的浆放在 AISI316 不锈钢容器或玻璃容器中, 加 10 份容积无水丙酮。全部内容以 50g/分钟的速度摇动 6 小时, 放置、分离 12 小时, 然后吸出丙酮弃去。

重复本萃取过程直到弃去的丙酮已达正确的湿度水平卡尔-费歇尔法(Karl-Fischer)。

然后把所得物质用离心法沉淀。以合适的温度真空干燥 5-8 小时, 用本法, 从母鸡鸡冠约可制得 500-600 克干粉。

然后以 300 克干粉用 0.2 克木瓜酶经过适量盐酸半胱氨酸作为磷酸盐缓冲的缓冲液作酶解。然后把这混合物在 60-65℃ 恒温下以 60 g/分钟的速度摇动 24 小时。整体冷却至 25℃, 加 60 克赛里脱 Celite (R), 并持续摇动一小时。(关于“木瓜酶”见 32 页表 9)。

将得到的混合物过滤, 直到得到澄清液为止。然后, 用分子排除限度为 30,000 的膜, 对这种澄清液进行分子超微过滤, 使分子量大于 30,000 的分子保留在滤膜上, 这时, 不断往制品中加蒸馏水, 约原体积五至六份的量, 进行超微过滤五六次之后停止加蒸馏水, 继续超微过滤直到制品减少成原体积的三分之一。

加氯化钠于残渣中使成为 0.1M, 把温度升到 50℃, 在制品以 60 g/分钟摇动时加进氯化十六烷吡啶 45 克。这混合物经 60 分钟的摇动后, 再加进 50 克赛里脱(R)(Celite(R))。在摇动时, 本品的温度降至 25℃, 形成的沉淀物以离心法收集。把这样所得的沉淀物悬浮于含 0.05% 氯化十六烷吡啶的 0.01 M 氯化钠溶液(5 公斤)中。在 50℃ 下再摇动 60 分钟。降温至 25℃, 把沉淀物离心。

然后重复水洗三次, 最后沉淀物聚集进含 0.05% 氯化十六烷吡啶的 0.05M 氯化钠溶液 3 公斤的容器里。再以 60 g/分钟的速度摇动 60 分钟, 保持恒温 25℃ 2 小时, 用离心法弃去油状浮液。

用含 0.05% 氯化十六烷吡啶的 0.1M 氯化钠溶液重复本步骤数次, 混合物经离心沉淀, 弃去上浮液。让沉淀物在含 0.05% 氯化十六烷吡啶的 0.30M 氯化钠溶液(3 公斤)中散开。摇动这混合物, 把沉淀物和澄清液二者都收集起来。沉淀物重复再加三次萃取, 每次用 0.5 公斤同样的水溶液。

最后,清除沉淀物残渣、澄清液都集中于一个容器中。摇动时液温升至50℃。这液体再加进氯化钠使成为0.23M。加进1克氯化十六烷吡啶,持续摇动12小时。冷却这混合物至25℃,然后过滤,首先经赛力脱(Celite)(R)包过滤,然后经一过滤器(1微米)过滤。

把所得的混合物再进一步经分子排除限度为30,000的膜,作分子性超微过滤,加进0.33M氯化钠溶液使超微过滤3份原容积的量。停止加进氯化钠溶液,液体容积减少至原有容积的四分之一。

这样浓缩的溶液,在25℃温度下,用三份容积的乙醇(95%)经摇动(60g/分钟)使沉淀。以离心法收集沉淀物,弃去上浮液。把沉淀物溶于1公斤0.1M的氯化钠溶液中,用三倍容积的95%乙醇重复这沉淀步骤。

收集及洗涤沉淀物,先用75%乙醇(三次),再用纯乙醇(三次),第三步用纯丙酮(三次)。

这样得到的产品HYALASTINE* HYALECTIN组份具有的平均分子量为250,000到350,000之间。

透明质酸的产量等于原来的新鲜组织的0.6%。

例2 从根据例1的方法制得的混合物中制取HYALASTINE组份的方法:

把依例1说明的方法制得的混合物,溶解于无致热原的蒸馏水中,比例为10毫克产品比1毫升水。这样得到的溶液,经分子排除限度为200,000的膜,用浓缩技术进行分子超微过滤,不在膜上加上。在经过排除限度为200,000的分子将不能通过,而较小的分子则可随水透过滤膜。在过滤过程中,滤膜上方的部分不加水;所以,这部分容积将减小,同时分子量超过200,000的分子的浓度将增加。再作超微过滤,直到滤膜上部的容积减小至初始容积的10%,加入二份无致热原的双蒸馏水后再把溶液超微过滤,直到其容积减为三分之一。这项操作再需重复两次。

通过滤膜的溶液,用氯化钠使成为1.0M,再用95%乙醇四份沉淀。沉淀物用75%乙醇洗三次,然后真空干燥。

这样取得的产品(HYALASTINE组份)具有的平均分子量为50,000至100,000之间。

透明质酸的产量等于原来新鲜组织的0.4%。

例3 制取HYALECTIN组份的方法

将从例2说明的分子排除限度为200,0000的超

微过滤膜上收集进容器的浓缩溶液,加水冲淡,直至得到含5毫克/毫升浓度的透明质酸溶液,以基于葡萄糖醛酸测定的定量分析法测定。

用氯化钠成0.1M,使这溶液,然后加4份95%乙醇使之沉淀。把沉淀物用75%乙醇洗涤三次,然后真空干燥。

这样制得的产品(HYALECTIN组份)具有的平均分子量为500,000至730,000之间。这相当于一个特殊的透明质酸组份,它是高纯度的,分子键长度界限约为2,500—3,500个葡萄糖单元的组份。

透明质酸产量等于原来新鲜组织的0.2%。

生物学和药理学作用的评价

1. 透明质酸组份的细胞动迁性生物学作用:

本方法,包括测定在培养基中的成纤维细胞的脱离作用,用作评价HA组份的细胞动迁作用的方法。

把鼠BALB 373系细胞培养在杜尔贝可(Dulbecco)氏改良伊尔氏(Eagle)培养基中,添加10%小牛血清、青霉素(250单位/毫升)和链霉素(0.25毫克/毫升),在37℃湿润的5%CO₂,95%空气中孵育。为了实验目的,细胞按常规地被接种于直径为60毫米的塑料组织培养碟中(6×10⁶个细胞/碟)。

轻轻倾出融合的373系细胞单层,再加进含2.0毫克/毫升各种HA组份的新鲜培养液。用显微镜定时观察细胞的脱离现象,并以枯尔脱(Coulter)计数器统计动迁的细胞。

脱离现象测定:为了测量脱离现象的动力学(Kinetics),把细胞接种进塑料碟培养24小时。过了这时间后,轻轻倾出培养液,加入含有2.0毫克/毫升HA的新鲜培养液。每24小时轻轻移注二只碟,一碟是测试培养碟,另一碟是对照培养碟;两者的上浮液中的细胞及互联的细胞均以枯尔脱(Coulter)计数器计数。

表3报告了用上述例1—3中制备的组份中进行试验所取得的结果。

表3中报告的数据表明,HYALASTINE组份显示了高度的细胞动迁作用,从而使这组份用于创口愈合的应用。当把HYALASTINE制成的药品施用于受伤组织区域时,它的细胞动迁作用会刺激新生细胞的移动和增生。

相反地,HYALECTIN组份却极少显示有细胞动迁作用,所以对创口的愈合无用。然而HYALECTIN由于

它的平均分子量高和固有的粘滞性,还用于眼球和关节内注射,而缺少细胞动迁作用却正是HYALECTIN组份的重要特性,这使得它对眼球内和关节内注射特别有用。

2. 透明质酸组份的生物学的发炎作用:

为对这作出评价,则用在兔眼内施药后对入侵细胞计数方法。

方法:

本测验要使用 5 只新西兰或加利福尼亚种兔子,体重约 2 公斤,并验证视力完好。以肉眼检查兔子的眼外部炎症过程,以眼底镜检查眼内部,如果眼底是清晰可见并正常,则可进行试验。

对选用的动物,滴入几滴合适的眼用无菌麻醉剂作局部麻醉;也可滴入几滴眼科用的阿托品溶液。

试验要在无菌条件下进行。用力压出眼球,以便能作注射,在离角膜缘约 5—6 毫米穿过巩膜,用 26 号针头,注射 100 微升溶液于玻璃体腔的中心部。另一只眼作为对照。在处理过的眼中滴进二滴抗生素液,再把该动物单独存放一笼。

过 50—60 小时后,试验继续进行。用选用动物时检查眼睛的方法检查眼睛。注射喷多黉尔(Pentothal)杀死该动物,然后,首先用胰岛素注射针筒及 26 号针头收集眼房水(约 0.2 毫升),再挖出眼球,除去异物,用生理盐水冲洗,用吸水纸吸干,切开放在培养皿上,分离玻璃体的主要部分并用灭菌针筒(约 0.7 毫升)收集它。把玻璃体放置在小号聚乙烯试管中,再加进 50 微升透明质酶(100 单位 NF/毫升),再把这混合液置 37℃ 温度下 3 小时以使液体变得稀薄些。

在显微镜下,于勃克(Burker)室中,用位相反差法(120×)作白血球计数。每份试样需作一系列计数,计算出平均值,以每 mm³ 有多少个白血球数来表示其结果。

在下列情况时,将认为试验属阳性:

- 1) 受检眼球无受损迹象,而且
- 2) 在 5 只处理过的眼中,至少要有 4 只其平均白血球数不超过 200/mm³,而在每只对照组的眼中,其平均白血球数不超过 50/mm³。

表 4 报告了这个评价得出的结果,它使用了上述例 1—3 中制备的 HA 组份

表 4
发炎作用研究的结果

组份	入侵细胞数
对照组	25
HYALASTINE*	
HYALECTIN	32
HYALASTINE	20
HYALECTIN	22
发炎组份(平均分子量 30,000)	150
由母鸡鸡冠所得透明质酸总量	120

(参考 Swann D. A. 1968, B. B. A. 156, 17—29)

表 4 报告的结果表明, HYALASTINE* HYALECTIN 各组份没有显示出比对照组为高的发炎作用,而 HYALASTINE 和 HYALECTIN 相结合的组份则显示出比对照组稍微高的发炎作用。因此, HYALASTINE 和 HYALECTIN 组份都是有用的药物,未显示出不希望有的发炎副作用。这些结果也更进一步肯定了本申请人的发现,即,小于 30,000 的平均分子量低的 HA 组份是 HA 制品发炎作用的原因。按照施旺(Swann)写的文献中的方法(Swann D. A. 1968, B. B. A. 156, 17—29)从母鸡鸡冠制得的透明质酸显示出明显的发炎作用的。

这样已显示出平均分子量约为 50,000 至 100,000 的 HYALASTINE 组份表现出高度的细胞动迁作用,因而,应用于创口愈合就非常有用,它也未表现出不希望有的炎症反应。平均分子量约为 500,000 至 730,000 的 HYALECTIN 组份已显示出由于它的高分子量和固有的粘滞性而对眼球和关节内注射很有用。同时,它未刺激细胞动迁作用,引起药物应用时都应避免的有害的副作用—炎症反应。

准确地说, HYALASTINE 组份已被认为作为创口愈合制品是很有用的,因为它有下列特点:

1. 本制品能使愈合时间明显地缩短,与惯常的疗法相比,患处迅速清洁,溃疡边缘整齐,肉芽组织发育旺盛,大吞噬细胞和成纤维细胞的细胞动迁活跃,早期得到上皮化。

2. 本制品使较严重病例增加其对再造外科(Re-constructive Surgery)适应。

3. 无蟹状疙瘩或牵引疤痕形成,结疤组织的最终再造形能得到良好的美容和功能效果。

HYALASTINE 制品被发现可用于治疗各种创伤,包括褥疮,营养性溃疡,烧伤,顽固性创伤,外伤

性溃疡，静脉曲张和静脉血染色的静脉炎后溃疡，放射性坏死，皮损，植皮和单纯疱疹引起的皮损。对这些创口愈合治疗时，HYALASTINE制品或它的钠盐，能以各种方法给药。例如，用纱布垫塞，乳膏，喷撒或皮内注射，如以乳膏或置于纱布垫塞上作局部应用，则最好把HYALASTINE与一种乳化剂结合起来，乳化剂从暴露区吸收分泌物而使透明质酸发挥极好的扩散作用。也可与一种斥水扩散剂结合起来，以易于更换创口敷料。

HYALECTIN组份被发现特别适用于马的治疗，特别是赛马，它们患有关节疾病和由急性或慢性外伤引起的、传染性的、或关节内反复注射皮质激素引起的疾病。用HYALECTIN能治疗的特殊的病例包括有或无炎症征象的骨关节炎，急性或慢性滑膜炎，关节软骨的变性病变，及干性关节炎。这些病患的最常见的症状通常是疼痛，关节功能受损和关节弯曲不便。本发明的HYALECTIN组份被发现对这种病马，与传统治疗相比，能促使愈合时间明显缩短，促使早期和持续关节功能改善，减轻疼痛及跛行。这些临床上优越的效果据信是由滑囊液的粘滞伸缩性正常化及关节软骨的组织修补过程激活作用所引起的。

此外，HYALECTIN组份可促进上述一切优越效果而无局部及/或全身毒性作用。反复使用HYALECTIN也未产生有过敏反应的证据，也没有任何有害的或延续性的影响。

上述说明表明HYALASTINE和HYALECTIN组份有良好的药物应用作用。下述的实例被介绍作为实例之目的，只是说明HA组份实际用作体内用药时可能使用的各种药物制品。

A. 创口愈合用的制品

例4，皮内注射用安瓿—每安瓿含：

—HYALASTINE钠盐	4毫克
—氯化钠	16毫克
—注射用水 适量加至	2毫升

例5，皮内注射用安瓿—每安瓿含：

—HYALASTINE钾盐	5毫克
—氯化钠	8毫克
—注射用水 适量加至	1毫升

例6，局部应用喷涂小瓶—每瓶含：

—HYALASTINE钠盐	20毫克
—氯化钠	80毫克

—注射用水 适量加至 10毫升

例7，局部应用喷涂小瓶—每瓶含：

—HYALASTINE钾盐	30毫克
—甘露醇	100毫克
—注射用水 适量加至	10毫升

例8，局部应用乳膏—每管乳膏含：

—HYALASTINE钾盐	25毫克
—单脂酸聚乙炔甘油400	1000毫克
—赛替尔(Cetiol)(油酸癸酯)500毫克	
—兰乃脱(Lanette) SX(十六烷脂酒精+月桂基硫酸9:1)	150毫克
—甘油	200毫克
—山梨醇	150毫克
—去氢醋酸钠	10毫克
—对位—氧苯甲酸盐	7.5毫克
—对位—氧苯丙酸盐	5毫克
—双蒸馏水 适量加至	10克

例9，局部应用乳膏—每管乳膏含：

—HYALASTINE钠盐	30毫克
—石蜡油膏	3毫克
—单脂酸聚乙炔甘油400	1000毫克
—赛替尔(Cetiol)(油酸癸酯)500毫克	
—兰乃脱(Lanette) SX(十六烷脂酒精+月桂基硫酸9:1)	150毫克
—甘油	200毫克
—山梨醇	150毫克
—去氢醋酸钠	10毫克
—对位—氧苯甲酸盐	7.5毫克
—对位—氧苯丙酸盐	5毫克
—双蒸馏水 适量加至	10克

例10，局部应用加药纱布塞填—每块

塞填10×10公分，含：

—HYALASTINE钠盐	3毫克
—甘油	1克
—聚乙炔甘油	2克
—双蒸馏水 适量加至	3克

例11，局部应用加药纱布塞填—每块

塞填15×15公分，含：

—HYALASTINE钾盐	6毫克
—石蜡油膏	0.5毫克
—甘油	1克
—聚乙炔甘油	2克

13

- 双蒸馏水 适量加至 3 毫升
- 例12. 创口愈合用干粉—每克干粉含:
- HYALASTINE钠盐 10毫克
- 甘露醇 0.75克
- 甘氨酸 0.24克

B. 眼球内用制品

- 例13. 1 毫升装小瓶—每小瓶含:
- HYALECTIN钠盐 10毫克
- 氯化钠 8 毫克
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.25毫克
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 3 毫克
- 注射用水 适量加至 1 毫升

- 例14. 5 毫升装小瓶—每小瓶含:
- HYALECTIN钾盐 60毫克
- 甘露醇 50毫克
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.25毫克
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 15毫克
- 注射用水 适量加至 5 毫升

- 例15. 预装注射筒—每注射筒含:
- HYALECTIN钠盐 40毫克
- 氯化钠 16毫克
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.8毫克
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 8.16毫克
- 注射用水 适量加至 2 毫升

C. 关节内用制品

- 例16. 2 毫升装小瓶—每小瓶含:
- HYALECTIN钠盐 40毫克
- 氯化钠 16毫克
- 注射用水 适量加至 2 毫升

- 例17. 4 毫升装小瓶—每小瓶含:
- HYALECTIN钠盐 60毫克
- 甘露醇 35毫克
- 甘·氨酸 10毫克
- 注射用水 适量加至 4 毫升

- 例18. 预装注射筒—每个注射筒含:
- HYALECTIN钠盐 25毫克
- 氯化钠 12毫克
- 甘露醇 10毫克
- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.5毫克
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 6 毫克
- 注射用水 适量加至 2 毫升

虽然上述制品是作为实例来说明,值得注意的

14

是,由本发明人发现的HYALASTINE和HYALECTIN组份或其钠盐或钾盐能和其他可药用的载体、稀释剂、赋形剂结合使用,制备其他药物配方。可视配方之不同用途而改变剂量。

用于创口愈合, HYALASTINE组份的制品,可按上述配剂形式之一用于受损的皮肤区域,即,可用乳膏或喷涂剂或纱布塞填,或干粉剂或作皮内注射。

用于关节内, HYALECTIN制品通常以每个关节用 2 毫升的剂量用药,可用上述现成的小瓶或预装的注射筒。

在一个附加研究中,曾调查过作为各种分子载体的透明质酸的能力和效率,特别是,用作眼科药的载体,要保证完美的耐受性和对角膜上皮的适用性(即,没有致敏现象)。透明质酸被认为作眼药载体是特别意义的。如前所述,HA是存在于各种结缔组织和生物性液体(例如滑囊液、特别是玻璃体)中的葡萄糖氨基糖(glycosaminoglycan),因为它的化学和物理性质和它的惊人的粘滞伸缩特性,它在生物性液体中能起结构和生物学上极其重要的作用。

因此,进行了研究以调查各种分子量的HA的用途,特别是HYALASTINE和HYALECTIN组份和它们的混合物,以制备成不同的药物形式,例如,眼药水、凝胶、乳膏、嵌入剂或干粉剂。所以,研究各种形式的眼药是为了对这个生物性高聚合物的各种组份在作为载体时的潜在用途取得广泛的了解。

以下报道的实验,目的在于,确定透明质酸作为赋形剂的各种配方是否能提高附于载体的药物的生物使用价值,抑或能与附于载体的药物,特别是有眼科效用的药物,结合而产生协同作用。

在兔眼上曾用过四种不同类型和作用的药物,来研究作为载体HA的这些潜在能力。所用的药为:硝酸毛果芸香碱,氟羟强的松龙、表皮生长因子(EGF)及一种抗生素,例如,链霉素和庆大霉素。这些药物都已知有缩瞳、消炎、愈合和抗菌效能。再者,对附载于透明质酸上的抗生素—链霉素的作用估价是非常重要的。因为它是眼球感染时使用最广的抗生素之一。

研究过的实验模型和做过的实验如下:

1) 兔眼中附载于透明质酸的硝酸毛果芸香碱的缩瞳作用;

2) 右旋酞酐致炎的兔眼模型中附载于透明质酸的氟羟强的松龙的消炎作用;

3) 在兔眼角膜的上皮损害模型上附载于透明质酸的表皮生长因子(EGF)的愈合作用;

4) 琼脂板附载于透明质酸的链霉素对枯草杆菌(*Bacillus Subtilis* 6633)的抗菌作用。

1. 附载于透明质酸中的硝酸毛果芸香碱的缩瞳作用。

材料

在各种硝酸毛果芸香碱配方中, 用下列材料作为毛果芸香碱的赋形剂:

- 透明质酸钠盐, HYALASTINE组份, (分子量约100,000),

浓度为10毫克/毫升及20毫克/毫升;

- 透明质酸钠盐, HYALECTIN组份, (分子量500,000-730,000), 浓度为10毫克/毫升及20毫克/毫升;

- 5%聚乙烯酒精, 作为比较性眼用赋形剂。

制备硝酸毛果芸香碱的各种2%配方(滴眼剂或凝胶), 加进两种不同的HA钠盐组分作载体, 浓度为10毫克/毫升及20毫克/毫升。

制备下列溶液:

配方1-生理盐水和硝酸毛果芸香碱($PiNO_3$) (2%), 用作参照。

配方2- $PiNO_3$ 溶液(2%), 载附于5%聚乙烯酒精(用作参照)。

配方3- $PiNO_3$ 溶液(2%), 载附于HYALASTINE组份钠盐(10毫克/毫升)。

配方4- $PiNO_3$ 溶液(2%), 载附于HYALASTINE组份钠盐(20毫克/毫升)。

配方5- $PiNO_3$ 溶液(2%), 载附于HYALECTIN组份钠盐(10毫克/毫升)。

配方6- $PiNO_3$ 溶液(2%), 载附于HYALECTIN组份钠盐20毫克/毫升)。

方法

用新西兰白兔(2-2.5公斤), 以微型注射器(101)(注: 原文如此)把要试验的配方液滴入一只眼睛; 另一只眼作为参照用。间隔适当的时间, 测量各只兔眼瞳孔直径, 每种溶液至少在8只兔子上试验。每只眼处理不超过三次, 每次处理之间至少要有个星期的间歇期。

测得的参数

为了及时测定缩瞳作用曲线, 间隔不同的时间测量了瞳孔的直径。下列作用参数是从缩瞳/时间

图连续计算出来的:

I_{max} = 处理眼和参照眼的瞳孔直径的最大差距数。

高峰时间 = 达到 I_{max} 所要的时间。

持续期 = 保持基础情况的时间。

高原期 = 完全缩瞳的时期。

AUC = 缩瞳/时间曲线之下的区域。

结果

表5报道了试验的结果。从所有试验溶液得出一条缩瞳作用时间曲线, 由此确定出各种参数的数据。从这些数据能够看出, 把透明质酸加进2%硝酸毛果芸香碱溶液中去, 可引起药物的缩瞳作用增加。实际上, 这药物的生物有效性可达含2%硝酸毛果芸香碱(配方1)水溶液的生物有效性的2.7倍。

也应当指出, 与硝酸毛果芸香碱溶液附载于聚乙烯酒精(配方2)相反, 如果以10及20毫克/毫升两种浓度的透明质酸的HYALECTIN组份作为载体(配方5-6)则其作用从统计上看也大为增加。

把透明质酸当载体用特别有意义, 因为, 当硝酸毛果芸香碱用它为载体时, 其缩瞳作用会维持更久, 就是说, 含透明质酸的配方(配方6)把瞳孔直径恢复到基础情况的所需时间, 与毛果芸香碱单体与生理盐水一起的配方(配方1)的所需时间相比较, 则前者高达190分钟, 后者则为110分钟。

II. 载附于透明质酸的氟羟强的松龙的消炎作用材料

用下列各项:

- 透明质酸钠盐溶液-HYALECTIN组份, 分子量500,000和730,000之间, 10毫克/毫升于生理盐水中;

- 氟羟强的松龙溶液(10%于生理盐水中)。

方法

用雄性的新西兰兔子(平均体重1.6公斤)做本实验。在五天适应期后, 给兔子眼球内注射右旋糖酐(10%0.1毫升)引起眼球内炎症。用4%诺维西拿(Novesina)作局部麻醉下, 对两眼施药, 把注射针头插入眼前房4毫米, 距角膜缘2毫米。本试验要做10只动物。

治疗

每只动物的左右双眼均施治疗, 滴药3滴, 一日三次, 总共6天, 用下列药品:

- 氟羟强的松龙溶液(10%于生理盐水)滴入左眼(LE);

—透明质酸钠盐溶液, HYALECTIN组份, (10毫克/毫升+氟羟强的松龙(10%)滴入右眼(RE)。

参数

用裂隙灯分期观察兔眼, 以评价对由右旋酞酐引致炎症反应的消炎作用。间隔期为: 0, 1小时, 3小时, 24小时, 48小时, 3天, 4天, 5天和6天。

在间隔期内作眼检查, 可评价下列观察:

—角膜和结膜的情况, 因有可能出现充血、水肿, 特别要对虹膜观察, 因它对眼球内注射发炎剂后出现的炎症过程通常很敏感;

—丁达尔(Tyndall)效应, 其中若出现或多或少强烈的阴影("云雾")就说明在前房中已存在微粒(炎症)成份。

观察的结果, 以"主观记分"(从0到3)来表示所见作用的程度等级。

结果

从表6中所报告的结果可以见到, 施用氟羟强的松龙对虹膜有消炎作用, 使前房中的不透明部消失(丁达尔(Tyndall)效应)。炎症过程自第1至第3小时最明显, 直到第3天至第4天逐步减轻, 直到恢复几乎正常状态, 至第6天眼睛才完全澄清透明。相反地, 把透明质酸钠盐、HYALECTIN组份、与氟羟强的松龙一起施用, 可使上述单独施用氟羟强的松龙相应时日里观察到的眼球内炎症减轻。就是说, 虹膜的炎症过程和前房的不透明部在第24小时即见减退, 48小时内逐步减轻, 而自第4天起炎症反应可完全消失。

在眼球内注射右旋酞酐后, 结膜及角膜基本上没有明显的反应可观察到。

因此, 氟羟强的松龙与透明质酸组分同时使用, 结果是可提高药物的作用, 兔眼能更迅速痊愈即为证明。

Ⅲ. 附载于透明质酸的EGF的愈合作用

材料

用下列各项:

配方A—EGF(表皮生长因子), 溶于生理盐水(0.5毫克/5毫升)

配方B—透明质酸钠盐, HYALASTINE组份, (分子量约100,000)溶于生理盐水(10毫克/毫升)。

方法

在新西兰白兔上(平均体重1.8公斤)进行实验。经约5天适应期之后, 在用诺维西拿(Novesina)

(4%)作局部麻醉的合适条件下造成角膜上皮损伤。用带锐缘的凹形玻璃柱($\phi 3\text{mm}$)在单只眼的视觉带, 刺划一周, 造成损伤。

治疗

动物分成小组, 每组5只, 从结膜滴注作如下药物治疗:

组别	治疗
组1(对照组)	生理盐水
组2	EGF溶液(配方A)
组3	透明质酸钠盐溶液, HYALASTINE组份

+ EGF溶液—配方A + 配方B以1:1比例结合成为配方C。

在右眼(RE)作治疗, 用结膜滴注法每8小时2滴, 总共施药三次。

参数

评价角膜上皮痊愈的方法是, 在刺划后的不同间歇期间对眼观察, 并以裂隙灯拍照记录: 0, 8小时, 16小时, 24小时, 32小时, 40小时, 和48小时。

结果

表7报告了眼科检查1, 证明对照组(组1)在损伤后48小时已完全达到治愈(5/5动物), 在用EGF治疗的动物组(组2)刺划后, 早在24小时即出现有显著效验的愈合过程(4/5动物)。在用包括透明质酸钠盐, HYALASTINE组份+EGF的配方C的一组(组3), 刺划后早在16小时全部动物的愈合过程就完成了(5/5)。

这些结果表明, 利用HYALASTINE透明质酸组份作为EGF的载体, 能因促使更迅速有效地愈合角膜损伤而加速痊愈过程。

表 7

角膜上皮损伤的愈合

组别	治疗	刺划后小时数				
		0	8	16	24	48
1	生理盐水	+	+	+	+	-
		+	+	+	+	-
		+	+	+	+	-
		+	+	+	+	-
		+	+	+	+	-

19

2	EGF (配方A)	+	+	+	-	-
		+	+	+	-	-
		+	+	+	-	-
		+	+	+	+	-
		+	+	+	-	-
3	透明质酸 + EGF	+	+	-	-	-
		+	+	-	-	-
		+	+	-	-	-
		+	+	-	-	-
		+	+	-	-	-

+ = 未痊愈的眼

- = 已痊愈的眼

IV. 载附于透明质酸的庆大霉素的抗菌作用材料

使用了下列材料:

- 溶于生理盐水的庆大霉素 (50 毫克/毫升)

- 透明质酸钠盐, HYALECTIN 组份 (2 毫克/毫升)

方法

在 11 只兔子的双眼眼球内注射经过滴定的绿脓杆菌, (*Pseudomonas aeruginosa* 菌) (0.1 毫升) 悬浮液, 引起化脓性炎症, 对那些有化脓性炎症的兔子, 把透明质酸, HYALECTIN 组份, 和庆大霉素一起滴入右眼, 而向左眼施用以缓冲生理盐水为载体的庆大霉素。在注射感染剂后立即开始治疗 (每 6 小时 3 滴), 且继续下去直到感染消失。在裂隙灯下每天观察兔眼。

结果

用庆大霉素与透明质酸结合的治疗结果, 比单用抗生素使化脓性感染消失更快。从表 8 中的数据可以清楚地看到这个结论。

表 8

附载于透明质酸 HYALECTINE 组份的庆大霉素对眼球内化脓性炎症的疗效

治疗	炎症开始后的日数						
	1	2	3	4	5	6	7
庆大霉素+缓冲生理盐水载体	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	36.3 100
庆大霉素+透明质酸 HYALECTIN 组份	0.0	0.0	9.0	27.2	72.7	100	100

数值以百分比表示 (炎症治愈眼睛数比治疗过的眼睛数)。

20

+ = 对缓冲载体的重要差异 [小于 0.05, 弗歇 (Fisher) 精密 T-试验]

根据本发明, 能附载于 HA 组份的眼药其它样品, (不仅于此) 如下:

抗菌素: 氯霉素、新霉素、金霉素、粘霉素和多粘菌素、杆菌肽、霉菌素

激素: 去甲睾丸素和硫酸去甲睾丸素

麻醉药 (局部): 汉诺克新盐 (henoxinate) 及其盐酸盐

抗病毒药: 碘去氧腺嘌呤、碘去氧胞嘧啶

消炎药: 地塞米松及其磷酸盐

血管加压药:

及血管收缩药: 交感酚及新交感酚

基于从上述实验得到的结果, 可以结论, 透明质酸钠盐 (HYALASTINE 和 HYALECTIN 两种组份) 溶液能作为眼药的载体, 而且对具有不同的生物学作用的各类药物都有效。例如, 包括抗青光眼药如硝酸毛果芸香碱, 抗过敏和消炎药如地塞米松, 用于促进眼组织愈合的促组织愈合和促细胞增生药, 如 EGF, 抗生素如链霉素和庆大霉素, 它们各自的缩瞳、消炎、愈合及抗菌作用前已报道, 凡此种种药物均可有效地利用 HA 作为载体施用。

附载于各种分子量透明质酸组份的眼药配方, 被证实可完全被用药者耐受, 并适用于角膜上皮而不会引起过敏现象。

从数据也可观察到这个生物学的产品—透明质酸, 是如何的一种有效载体, 它能在体内提高附载药物的生物有效性, 并加强其药理作用。把透明质酸组份作为药物载体来用, 其特别的效果是:

- 增加了硝酸毛果芸香碱的缩瞳作用, 用时又延长了药物作用时间。

- 在对右旋酞酐引致的眼球内炎症上, 可增加地塞米松的抗炎作用, 并与单独使用地塞米松相比较, 能在更短的时间内使炎症过程减退,

- 在对角膜损害治疗上, 对上皮生长因子 (EGF) 的保护作用能增加明显的协同作用, 并与单独使用 EGF 后所需的复元时间相比较, 它能减少愈合所需时间;

- 能增加抗生素如, 庆大霉素在体内的生物学作用。

这种生物高聚合物透明质酸能作为如此多样特性和作用的药物载体, 由此结果, 可推论出它作为

许许多多其他眼药载体的潜在可能性。

下面报告的是不同眼药配方的各种例子，形式可以是粉剂、滴眼剂、凝胶、乳膏、或插嵌剂，它们都以只使用透明质酸的各种组份HYALASTINE和HYALECTIN为赋形剂：

例19, 可以当做“人造眼泪”的滴眼剂，含有：

- 透明质酸钠盐，HYALECTIN组份 10毫克
- 以磷酸盐缓冲的生理盐水 pH 7.6M 10毫升

例20, 可以当做“人造眼泪”的滴眼剂，含有：

- 透明质酸钠盐，HYALECTIN组份 20毫克
- 以磷酸盐缓冲的生理盐水 pH 7.6M 10毫升

例21, 含 E G F 的凝胶，每100克含有：

- 透明质酸钠盐 HYALASTINE组份 55克
- 透明质酸钠盐 HYALECTIN组份 30克
- E G F 0.5克
- 双蒸馏水 23.5克

例22, 加硝酸毛果芸香碱的100毫克插嵌剂，含有：

- 透明质酸钠盐HYALASTINE组份 100毫克
- 硝酸毛果芸香碱 2毫克

例23, 含链霉素的局部应用的粉剂，每100克含有：

- 透明质酸钠盐HYALECTINE组份 70克
- 透明质酸钠盐，HYALECTIN组份 28.5克
- 链霉素 1.5克

虽然以上制品只是作举例说明用，要注意的是药物配方可用透明质酸组份，特别是，HYALASTIN或HYALECTINE组份或HYALECTIN/HYALASTINE结合的组份，或其钾盐或钠盐，加上其他有效药物来制备，各种剂量要视配方的特征用途而定。

透明质酸，特别是基本上纯净的HYALECTIN和HYALASTINE组分，已显示出是一种有效的载体或赋形剂，能与各种眼科用药相结合。以HA组份作为药物载体的药物成份之所以特别有用，是因为HA组份对眼有高水平的耐受性，而且与角膜上皮高度相容。使用HA组份，还提供了真正提高眼药在体内的生物作用手段。使用特殊的HYALECTIN和HYALASTINEHA组份之所以更有用并且重要，是因为这些组分施用在眼上时，不引起令人失望的炎性副作用。

表 2 化学的和物理的特性						
组份	分子量	分子量	20%浓度时的动态粘滞性	干粉的透明质酸滴度百分比	蛋白质如牛型蛋白含量	含硫粘多糖类的含量
HYALASTINE		100m	P. S.			
+HYALECTIN	250,000-350,000(浓度 1 %W/V)			>96%注:	<0.5%	<1 %
HYALASTINE		600m	P. S.			

	50,000-100,000	(浓度 5 %W/V)		>96%	<0.5%	<1%
HYALASTINE		170m	P. S.			
	500,000-730,000	(浓度 1 %W/V)		>96%	<0.5%	<1%

所例数值代表在水被排除后的HA滴度。例如,96%滴度就是代表在排除水后,粉末含4%杂质和96%透明质酸。

表 3 动迁作用的研究结果			
组份	浓度(毫克/毫升)	与对照组相比较得出的脱离细胞数	有效性%(与对照组相比较)
对照组		2×10^6	75
HYALECTIN+	2	3.5×10^6	
HUALASTINE			
HYALECTIN	2	2.1×10^6	5
HYALASTINE	2	5×10^6	150

表 5: 含透明质酸的眼药载体的生物学作用(注)

配方	载体	I max' 毫米 ($\pm$ LF95%)	高峰时间 (分钟)	持续时间 (分钟)	高原期 (分钟)	AUC平方厘米 ($\pm$ LF95%)	相对 AUC
1	生理盐水	1.93 ± 0.35	20	110	—	117 ± 28	1
2	5%聚乙烯酒精	2.33 ± 0.28	20	140	—	192 ± 32	1.64
3	HYALASTINE(10mg/ml)	2.50 ± 0.42	20	120	—	240 ± 40	2.05
4	HYALASTINE(20mg/ml)	2.58 ± 0.38	30	150	—	208 ± 41	1.78
5	HYALECTIN(10mg/ml)	2.50 ± 0.38	15	170	—	242 ± 48	2.06
6	HYALECTIN(20mg/ml)	2.70 ± 0.38	20	190	45	320 ± 45	2.73

注: 所报告的值代表8趟的平均值

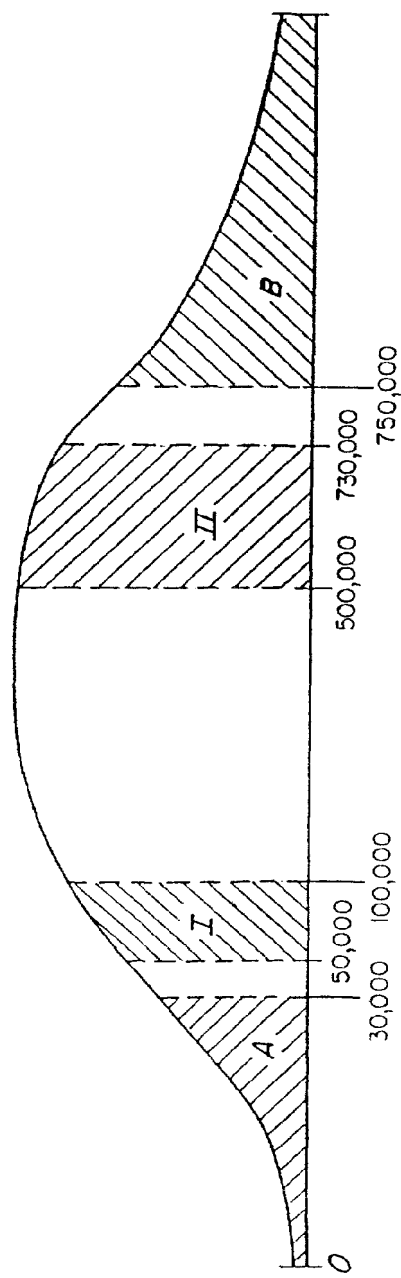
表 6
透明质酸和氟羟强的松龙结合使用对于右旋酞酐引致的眼球内炎症的疗效
观 察 间 歇 期

0		1 小时		3 小时		2 4 小时		4 8 小时		3 天		4 天		5 天		6 天	
评价分(注)																	
左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼	左眼	右眼
结膜	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
角膜	0.0	0.0	1.0	0.2	0.0	0.7	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
丁达尔																	
(Tynda	0.0	0.0	1.0	0.2	3.0	3.0	3.0	2.1	3.0	1.2	3.0	0.2	2.2	0.0	1.2	0.0	0.4
11)效应																	
虹膜	0.0	0.0	0.5	0.7	2.7	2.7	3.0	2.5	3.0	1.2	3.0	0.4	2.4	0.0	1.5	0.0	0.5
L E = 左眼。用氟羟强的松龙治疗。																	
R E = 右眼。用氟羟强的松龙和HYALECTIN治疗。																	
注：每一数值是在总共七只动物上观察了七次的平均数,以主观记分用 0 到 3 表示所观察到的作用程度等级。																	

表 9 木瓜酶的主要性状

英文名	分子量	性 状	用 途
Papain 或 papayotin 或 Vegetable Pepsin 等等	解酞酶类第一个被识别出来的酶就是木瓜酶。其分子是由折叠的212留数的多肽链组成。分子量约为23,400	白色或灰色稍有吸湿性的粉末； U A m a x : 278nm 1 % (A 25.0) 1 c m 不完全溶于水或甘油：几乎不溶于大部分有机溶剂；木瓜酶目前一般用以指的是粗制的干燥乳液或者结晶的解酞酶。	医疗范畴属于：酶 Enzyme。用于在腐烂或感染的伤口中防止粘附；内服用作蛋白质消化剂或驱虫剂等。

审定号 85 1 02921
Int.Cl.⁴ A61K 31/725
审定公告日 1988年6月8日



透明质酸的平均分子量