



(51) МПК
A61K 47/38 (2006.01)
A61P 7/04 (2006.01)
A61K 31/197 (2006.01)
A61K 38/43 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2013118524/15, 23.04.2013

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 23.04.2013

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 23.04.2013

(45) Опубликовано: 20.07.2014 Бюл. № 20

(56) Список документов, цитированных в отчете о
 поиске: RU 2331443 C2, 20.08.2008. RU
 2242987 C1, 27. 12. 2004. SU 725289 A1,
 31.07.1975. RU 2198684 C2, 20.02.2003. US
 5773418 A1, 30.06.1998

Адрес для переписки:

105118, Москва, ул. Кирпичная, 6, ОАО
 "НИИТМ"

(72) Автор(ы):

Филатов Владимир Николаевич (RU),
 Медушева Елена Олеговна (RU),
 Рыльцев Владимир Валентинович (RU),
 Кулагина Алла Семеновна (RU),
 Денисов Валерий Васильевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ОАО "Научно-исследовательский институт
 текстильных материалов" (ОАО "НИИТМ")
 (RU)

(54) **БИОДЕГРАДИРУЕМОЕ ГЕМОСТАТИЧЕСКОЕ ЛЕКАРСТВЕННОЕ СРЕДСТВО ДЛЯ
 ОСТАНОВКИ КАПИЛЛЯРНЫХ И ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ КРОВОТЕЧЕНИЙ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к фармацевтической промышленности, в частности представляет собой биodeградируемое гемостатическое лекарственное средство для остановки кровотечений. При

использовании получаемого гемостатического средства заявленным способом скорость остановки кровотечений составляет 45±2 секунды. 3 з.п. ф-лы, 2 табл.

RU 2 522 879 C1

RU 2 522 879 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
A61K 47/38 (2006.01)
A61P 7/04 (2006.01)
A61K 31/197 (2006.01)
A61K 38/43 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: **2013118524/15, 23.04.2013**

(24) Effective date for property rights:
23.04.2013

Priority:

(22) Date of filing: **23.04.2013**

(45) Date of publication: **20.07.2014** Bull. № 20

Mail address:

105118, Moskva, ul. Kirpichnaja, 6, OAO "NIITM"

(72) Inventor(s):

**Filatov Vladimir Nikolaevich (RU),
Medusheva Elena Olegovna (RU),
Ryltsev Vladimir Valentinovich (RU),
Kulagina Alla Semenovna (RU),
Denisov Valerij Vasil'evich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**OAO "Nauchno-issledovatel'skij institut
tekstil'nykh materialov" (OAO "NIITM") (RU)**

(54) **BIODEGRADABLE HAEMOSTATIC THERAPEUTIC AGENT FOR CONTROL OF CAPILLARY AND PARENCHYMATOUS BLEEDINGS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention represents a biodegradable haemostatic therapeutic agent for bleeding. Using the prepared haemostatic agent according to the declared

method provides a rate of control of bleeding making 45 ± 2 seconds.

EFFECT: higher rate of control of bleeding.
4 cl, 2 tbl

RU 2 522 879 C 1

RU 2 522 879 C 1

Изобретение относится к фармации, конкретно к способам получения кровоостанавливающих (гемостатических) препаратов на основе частично окисленной целлюлозы.

Упомянутые выше препараты известны. Так, в заявке ЕПВ №1153620 описана препятствующая бактериальному инфицированию раны кровоостанавливающая повязка из окисленной целлюлозы SURGICEL (фирма «Джонсон и Джонсон»), содержащая от 1 до 10000 миллионных долей ионов железа (3+), а из заявки ЕПВ №0468114 известен растворимый гемостатический материал в форме полотна из целлюлозы, подвергнутой окислению монохлоруксусной кислотой и гипохлоритом натрия для введения карбоксильных групп СООН.

В заявке ЕПВ №0659440 описан способ получения гемостатика на основе окисленной целлюлозы, содержащего 0,5-4,0% кальция, а также тромбин, фибриноген и/или антифибринолитик. К недостаткам известного способа следует отнести использование целлюлозы, мягкая степень окисления которой, с превращением СН₂ОН-групп в карбоксильные (СООН), не позволяет получать материал, обеспечивающий возможность прочного связывания с ним ингредиентов: только ионы Са²⁺ связаны с СООН-группами ионными силами, в то время как остальные компоненты оказываются в виде физической (механической) смеси. Кроме того, такие материалы лишь с трудом поддаются дальнейшему измельчению, например, в порошок.

Известен способ получения вещества, обладающего кровоостанавливающим действием, который включает смешивание в водной среде носителя - частично окисленной целлюлозы до диальдегидцеллюлозы (ДАЦ) - с факторами свертывания крови, например, тромбином и фибриногеном, к названным веществам дополнительно прибавляют желатин, ε-аминокапроновую кислоту и лизоцим, а в качестве частично окисленной целлюлозы используют диальдегидцеллюлозу в форме полотна, имеющую степень окисления, т.е. содержание альдегидных групп, от 4 до 6%, при следующих соотношениях между компонентами:

диальдегидцеллюлоза	1 г
фибриноген	18/22 мг
желатин	27/33 мг
ε-аминокапроновая кислота	45/55 мг
лизоцим	9,5/10,5 мг
тромбин	350 ед.
вода	6,5 мл

Компоненты выдерживают до полного ковалентного связывания лекарственных средств с диальдегидцеллюлозой с последующим высушиванием и размалыванием в порошок. С целью предупреждения взаимодействия тромбина и фибриногена процесс получения препарата ведут в две стадии. Отдельно готовят раствор фибриногена, ε-аминокапроновой кислоты и половинного от общего количества желатины в половинном от общего количества воды и раствор тромбина, лизоцима и оставшегося количества желатины в оставшемся количестве воды, в полученных растворах выдерживают в течение 3-4-часов по половинному количеству диальдегидцеллюлозы, полупродукты отжимают, высушивают на воздухе и подвергают совместному размолу. См., например, патент РФ №2235539, 2003 (аналог).

Указанное техническое решение не лишено недостатков. Во-первых, препараты крови - тромбин и фибриноген - очень дороги и дефицитны. Кроме того, все больше пациентов в мире отказываются от применения препаратов, полученных из органов и тканей животных или донорской крови. Во-вторых, чтобы избежать взаимодействия в

водном растворе тромбина и фибриногена их иммобилизацию ведут отдельно, потом сушат полотна и ведут совместный размол до порошка. Это усложняет и удорожает процесс. Время остановки кровотечений этим препаратом в эксперименте составило 110 сек.

5 Известен текстильный материал для остановки кровотечений и способ его получения следующего состава:

ДАЦ со степенью окисления $6,5 \pm 0,33$ - 1 г
 желатиноль - 60 ± 3 мг (0,75 мл 8% раствора)
 ε-аминокапроновая кислота - $5 \pm 0,25$ мг

10 лизоцим - $5 \pm 0,25$ мг

вода - 5,75 мл

Время остановки кровотечения при испытании на группе добровольцев из 25 человек с колотыми, резаными ранами, пулевыми и минно-осколочными ранениями и др. травмах, сопровождавшихся местными кровотечениями, составило 60 ± 3 сек (см., например, патент РФ №2380117, 2007 (прототип).

15 Израильский аналог отличается от предыдущего тем, что в качестве гемостатического ингредиента в нем используют или ε-аминокапроновую кислоту или транексамовую кислоту, являющиеся структурными аналогами, в одинаковых количествах. Время остановки кровотечений материалами одинаково и не отличается от Российского прототипа (см., например, State of Israel Patent Office, Sertificate of Patent №178867, 2006 (аналог).

Известное решение не лишено недостатков. Увеличение степени окисления ДАЦ до 6,5% не привело к изменению скорости остановки кровотечений. На этом основании авторами был сделан вывод о том, что 6,5% окисления достаточно, чтобы связать альдегидные группы компонентов (а все компоненты двух последних рецептов имеют свободные аминогруппы) с ДАЦ ковалентными химическими азометиновыми связями. Поэтому окислять целлюлозу до ДАЦ со степенью выше 6,5% нерационально. Однако дальнейшие углубленные исследования показали несостоятельность такого вывода. Были изготовлены образцы гемостатических материалов на ДАЦ со степенями окисления 12, 15 и 21%, содержащие гемостатические компоненты в следующих соотношениях:

ДАЦ со степенями окисления 12, 15 и 21% - 1 г

желатиноль - 60 ± 3 мг

лизоцим - $5 \pm 0,25$ мг

35 ε-аминокапроновая кислота - $50 \pm 0,25$ мг

транексамовая кислота - $5 \pm 0,25$ мг

Время остановки кровотечений во всех случаях составило 45 ± 2 сек. Сравнительная характеристика гемостатических материалов и их связь со степенью окисления ДАЦ и составом приведены в таблице 1.

40

Таблица 1				
Гемостатические свойства материалов				
Степень окисления, %	Факторы свертывания крови, мг на 1 г ДАЦ	Константа скорости гид-ролитической дистрикции	Время остановки крово-течения, сек	Время полной ре-зорбции, суток
45 По патенту РФ №2235539 4-6%	фибриноген 18-22 желатин 27-23 аминокапроновая кислота 45-55 лизоцим 9,5-10,5 тромбин 350 ед.	$18 \times 10^{-5} \text{ мин}^{-1}$	110	20
По патенту РФ №23 80117 6,5	желатиноль 60 аминокапроновая кислота 50	$21 \times 10^{-5} \text{ мин}^{-1}$	60 ± 3	15

	лизоцим 5			
По патенту Израиля	тот же или с заменой	$21 \times 10^{-5} \text{ мин}^{-1}$	60 ± 3	15

№178867 6,5	аминокапроновой кислоты на транскапроновую в том же количестве			
По предлагаемому у решению 12	аминокапроновая кислота вводится в количестве 50 мг/г, лизоцим - 5 мг/г	$33 \times 10^{-5} \text{ мин}^{-1}$	45 ± 2	10
18	тот же	$39 \times 10^{-5} \text{ мин}^{-1}$	45 ± 2	8

На этом основании был сделан окончательный вывод о том, что степени окисления ДАЦ 12% достаточно, чтобы связать все аминокислотные компоненты с ДАЦ ковалентными связями. Избыточная степень окисления нерациональна. Может показаться, что дальнейшее увеличение степени окисления и количества гемостатических компонентов приведет к дальнейшему сокращению времени остановки кровотечений. Однако имеется серьезное ограничение степени окисления ДАЦ.

С увеличением степени окисления диальдегидцеллюлозы (ДАЦ) и ее белковых производных возрастает скорость их гидролитической деструкции. При этом белки диффундируют в водную среду не в виде нативных веществ, а в виде конъюгатов с олигомерами ДАЦ, что делает их более устойчивыми к инактивирующим факторам (тепло, pH среды, ингибиторы) по сравнению с нативными биологически активными веществами (БАВ), т.е. проявляют пролонгированное специфическое действие. Кинетика гидролитической деструкции описывается полупологарифмической анаморфозой и в логарифмических координатах представляет собой прямую линию, тангенс угла наклона которой количественно выражает константу скорости гидролитической деструкции, как константу скорости реакции первого порядка.

Зная эти константы, легко вычислить время полураспада препарата по формуле

$$K = 0,69/T/2, \text{ где}$$

K - константа скорости деструкции,

T/2 - время полураспада препарата.

При прочих равных условиях степень и скорость гидролитической деструкции резко возрастает с увеличением pH среды.

На основании изложенного выше можно выделить и обозначить следующие признаки новизны изделия:

1. При увеличении степени окисления ДАЦ резко уменьшается ее механическая прочность. Данные об этом приведены в таблице 2.

Таблица 2		
Влияние степени окисления медицинской марли до ДАЦ на прочностные характеристики материала		
Степень окисления, %	Разрывная нагрузка (по основе), даН	Сохранение разрывной нагрузки, %
-	33,4	100,0
3,0	22,0	65,2
5,0	21,6	64,6
8,0	20,5	61,4
12,0	18,3	56,6
15,0	16,2	49,0
26,0	45,0	45,0

Увеличение степени окисления свыше 12% вызывает падение механической прочности ДАЦ более чем на 50%.

2. Для полного ковалентного связывания аминокислотных гемостатического и бактерицидного компонентов необходима степень окисления ДАЦ, подбираемая экспериментально. Увеличение степени окисления, сверх необходимой, не ведет к усилению гемостатического эффекта, но приводит к увеличению константы скорости

гидролитической деструкции, что может отрицательно сказаться на механической прочности материала и скорости его резорбции, а значит и повышенной нагрузке на защитные системы, ответственные за выведение продуктов деструкции из организма.

3. Иммобилизация на 1 г ДАЦ со степенью окисления 12% выбранных гемостатического и бактерицидного средств в следующих количествах:

ε - аминокaproновая кислота - 50 мг/г

лизоцим - 5 мг/г

обеспечивает высокую скорость остановки кровотечений и длительное сохранение стерильности материала.

4. После изготовления тканого полотна, т.е. после его окисления и иммобилизации на нем кровоостанавливающих компонентов на специальном оборудовании (мельнице супертонкого помола) микроволокна ДАЦ (порошок) с размерами частиц от 20 до 50 мкм.

5. Время гидролитической деструкции полученного таким образом порошкообразного гемостатического средства составляет не более 10 суток.

Впервые в мире система ДАЦ со степенью окисления 12% с соиммобилизованными на ней лекарственными средствами сама получает эти свойства.

Время остановки кровотечения составляет не более 45 секунд.

Следовательно, предлагаемое техническое решение соответствует всем требованиям, предъявляемым к изобретению: новизна, полезность и уровень техники. Новизна состоит, во-первых, в том, что для иммобилизации гемостатических средств в качестве носителя используют ДАЦ со степенью окисления 12%. Во-вторых, в качестве специфического гемостатического средства используют ε-аминокaproновую кислоту (без желатиноля).

Очевидна полезность: скорость остановки кровотечения сокращается на 25% по сравнению с российским патентом, превышающим по своим показателям лучшие зарубежные образцы.

И, наконец, уровень техники. Статус лекарственного средства, на нее оформляется фармакопейная статья и другие документы, необходимые для включения ее в фармакопею РФ.

Изобретение иллюстрируется примерами его осуществления.

Пример 1.

В реактор заливают 3,3 л дистиллированной воды, включают мешалку и добавляют 280 г йодной кислоты. Во второй реактор заливают то же количество дистиллированной воды и добавляют при перемешивании 46,7 г едкого натра. Оба раствора перемешивают до полного растворения кислоты и щелочи в течение 5-15 мин. Затем раствор щелочи приливают при перемешивании к раствору кислоты в течение 3-6 мин. В полученный раствор перйодата натрия помещают 1 кг медицинской хлопчатобумажной марли в виде полотна и выдерживают при комнатной температуре в темноте в течение 14 часов. После активации полотно отжимают, промывают 4 раза по 10 л дистиллированной водой, снова отжимают и высушивают на воздухе в темноте до остаточной влажности не более 10% при комнатной температуре. Степень окисления марли составляет 12%.

Пример 2.

В 6,6 л дистиллированной воды растворяют 150 г ε-аминокaproновой кислоты, 15 г лизоцима и помещают в раствор 1 кг ДАЦ со степенью окисления 12%, выдерживают в течение 3 часов при комнатной температуре в темноте, отжимают, высушивают на воздухе в темноте до остаточной влажности не более 10% и измельчают.

В экспериментальных условиях у взрослых кроликов вызывали кровотечение при

внутривенном введении 500 ЕД гепарина и 250 ЕД фибринолизина. Механическим путем кровотечение останавливалось через 20-30 мин.

Под тиопенталовым наркозом поверхностным иссечением фрагмента печени размером 1,4 см² вызывали кровотечение, на рану накладывали гемостатическую салфетку, отмечая остановку кровотечения через 45 сек.

Формула изобретения

1. Биodeградируемое гемостатическое лекарственное средство для остановки капиллярных и паренхиматозных кровотечений в форме микроволокна, состоящего из диальдегидцеллюлозы с химически иммобилизованными на ней фактором свертывания крови эпсилонаминокапроновой кислотой и бактериолитическим ферментом лизоцимом, отличающееся тем, что в качестве частично окисленной целлюлозы оно содержит диальдегидцеллюлозу со степенью окисления 12%.

2. Биodeградируемое гемостатическое лекарственное средство по п.1, отличающееся тем, что размеры частиц его микроволокнистой формы из частично окисленной целлюлозы с иммобилизованными на нее компонентами находятся в пределах от 20 до 50 мкм.

3. Биodeградируемое гемостатическое лекарственное средство по п.1, отличающееся тем, что время полной гидролитической деструкции полной биodeградации составляет не более 10 суток.

4. Биodeградируемое гемостатическое лекарственное средство по п.1, отличающееся тем, что время остановки кровотечения с его помощью составляет не более 45 секунд.