

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201900124** (13) **A1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**(43) Дата публикации заявки  
**2020.09.30**(22) Дата подачи заявки  
**2019.03.05**(51) Int. Cl. **C08B 37/08** (2006.01)  
**A61K 31/722** (2006.01)  
**A61K 9/08** (2006.01)  
**A61L 15/28** (2006.01)  
**A61P 7/04** (2006.01)(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МОДИФИЦИРОВАННОГО ХИТОЗАНА, РАСТВОР ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА (ВАРИАНТЫ), СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА, ГЕМОСТАТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ (ВАРИАНТЫ)**(96) **2019000010 (RU) 2019.03.05**(71) Заявитель:  
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ  
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ  
"ИНМЕД" (RU)**(72) Изобретатель:  
**Анфёрова Марьяна Сергеевна,  
Бражникова Евгения Николаевна,  
Внучкин Александр Васильевич,  
Забивалова Наталья Михайловна,  
Кривошеин Антон Евгеньевич,  
Олифер Олеся Юрьевна (RU)**(74) Представитель:  
**Кашина Н.И. (RU)**

(57) Изобретение относится к области медицины, в частности к медицинским изделиям, содержащим хитозан, а именно к модифицированному хитозану, способу его получения, а также к гемостатическим средствам на основе модифицированного хитозана и способам получения гемостатических средств. Способ получения модифицированного хитозана, в ходе которого к водному раствору хитозана добавляют уксусную кислоту, добавляют хлорангидрид, включающий 10-18 атомов углерода, проводят высаживание раствором гидроксида натрия до получения значения pH образующейся суспензии 7,5-8,0, перемешивают реакционную смесь до окончания реакции и заканчивают реакцию при значениях pH 10,0-12,0, далее проводят промывку реакционной массы водным раствором органического спирта и высушивают полученный осадок. Модифицированный хитозан включает углеводородный радикал жирной кислоты, включающий 10-18 атомов углерода и связанный с полимерной цепью через аминогруппы вдоль основной макроцепи. Раствор для получения гемостатического материала содержит вышеприведенный модифицированный хитозан и растворитель, включающий смесь органической кислоты и воды, мас.%. модифицированный хитозан - 0,5-3,5; органическая кислота - 0,5-3,0; вода - 90,0-99,0; при этом удельная электропроводность ( $\kappa$ ) раствора составляет 1,5-2,8 мСм/см, нулевая динамическая вязкость ( $\eta$ ) - 0,030-0,150 Па·с. Способ получения гемостатического материала из вышеприведенного раствора, в ходе которого готовят путем растворения модифицированного хитозана раствор с нулевой динамической вязкостью ( $\eta$ ) от 0,030 до 0,150 Па·с и pH от 3 до 5 в растворителе, затем охлаждают раствор в кюветах при температуре -45-60°C и давлении до 0,5 мБар и далее подогревают до достижения образцами в кюветах температуры 20-30°C. Гемостатический материал, полученный вышеприведенным способом, включает модифицированный хитозан, содержащий углеводородный радикал жирной кислоты, включающий 10-18 атомов углерода и связанный с полимерной цепью через аминогруппы вдоль основной макроцепи. Гемостатический материал выполнен в виде губки и обладает следующими свойствами: pH водной вытяжки - 5,0-6,5, пористость - 92-97%. Раствор для получения гемостатического материала содержит вышеприведенный модифицированный хитозан и растворитель, включающий смесь органической кислоты и воды. В растворе компоненты присутствуют при следующих соотношениях, мас.%. модифицированный хитозан - 2,0-7,0, органическая кислота - 20-60, вода - 36,0-90,0, пластифицирующая добавка - 0,05-0,5, при этом удельная электропроводность ( $\kappa$ ) раствора составляет 4,0-5,0 мСм/см, нулевая динамическая вязкость ( $\eta$ ) - 0,1-0,4 Па·с, поверхностное натяжение - 40-50 мН/м. Способ получения гемостатического материала из вышеприведенного раствора, в ходе которого готовят формовочный раствор с удельной электропроводностью 4,0-5,0 мСм/м, поверхностным натяжением 40-50 мН/м и нулевой динамической вязкостью 0,1-0,4 Па·с путем растворения модифицированного хитозана в водно-кислотном растворителе, затем проводят электроформование (ЭФ) нановолокон модифицированного хитозана с их последующей хаотичной укладкой на подложку при напряжении электростатического поля 90-110 кВ, влажности воздуха в камере ЭФ 25-35%, температуре воздуха в камере ЭФ 20-25°C и расстоянии между электродами 120-170 мм. Гемостатический материал, полученный вышеприведенным способом,

**201900124 A1**

**201900124**

**A1**

включает модифицированный хитозан, содержащий углеводородный радикал жирной кислоты, включающий 10-18 атомов углерода и связанный с полимерной цепью через аминогруппы вдоль основной макроцепи. Гемостатический материал выполнен в виде нетканого материала и обладает следующими свойствами: рН водной вытяжки - 5,0-6,5, поверхностная плотность - 5-10 г/м<sup>2</sup>. Технический результат заключается в повышении гемостатических свойств получаемых продуктов.

201900124 A1

201900124 A1

---

**Способ получения модифицированного хитозана, раствор для получения гемостатического материала (варианты), способы получения гемостатического материала, гемостатический материал (варианты)**

Изобретение относится к области медицины, в частности к медицинским изделиям, содержащим хитозан, а именно к модифицированному хитозану, способу его получения, а также к гемостатическим средствам на основе модифицированного хитозана и способам получения гемостатических средств.

Известно гемостатическое средство на основе модифицированного хитозана [1], которое включает гемостатический агент О,О'-дипальмитоилхитозан или его соль и одно или несколько биоадгезивных нейтральных веществ.

Недостатком приведенного технического решения является относительно низкие гемостатические свойства. Это обусловлено высокой молекулярной массой полимера, которая приводит к значительному снижению его растворимости. Также к недостаткам способа можно отнести многостадийность процесса получения О,О'-дипальмитоилхитозана, так как О-ацилирование хитозана предполагает проведение предварительной стадии «защиты аминогрупп», далее осуществляется стадия О-ацилирования, что усложняет реализацию технологического процесса.

Известен способ получения ацилированных производных хитозана [2], в ходе которого 5 г хитозана растворяют в 0,12 М водном растворе уксусной кислоты при комнатной температуре. После полного растворения хитозана доводят рН раствора до значения 7,2 медленным добавлением 0,1 н раствора NaOH при интенсивном перемешивании, в результате чего образуется суспензия полимера в воде, а объем смеси возрастает до примерно 900 мл. Реакция N-ацилирования осуществляется за счет добавления пальмитоилхлорида к доведенному дистиллированной водой до объема 1 л раствору полимера в количестве 10-20 мл для получения различных степеней замещения. После 4-6 часов реакцию массу нейтрализуют до значений рН = 6,8-7,0 и осаждают ацетоном. Осадок отфильтровывают и промывают три раза на фильтре избытком горячего метанола (50-60 °С). В конце продукт высушивают чистым ацетоном для обеспечения надлежащего качества порошка полимера.

Недостатком вышеприведенного способа является высокая токсичность применяемых реагентов, а именно ацетона (взрывопожароопасен), используемого для осаждения реакционной массы, а также большого количества метанола (яд) для промывки осадка и удаления побочных продуктов реакции. Кроме того, неконтролируемые значения рН в ходе реакции приводят к низкой селективности реакции, так как большая часть

пальмитоилхлорида гидролизуется с образованием пальмитиновой кислоты, которую полностью удалить из полимера только после промывки большим избытком горячего метанола. Синтез направлен на получение модифицированного хитозана с высокими степенями ацилирования (от 28% и выше), что ведет к потере растворимости синтезированного продукта, что в свою очередь необходимо для получения из него таблетированных форм с контролируемым высвобождением лекарственных средств.

Известно гемостатическое средство на основе модифицированного хитозана и способ его получения [3]. В ходе способа 2 г хитозана растворяют в 100 мл 0,2 М уксусной кислоты и перемешивают в течение 30 минут. Затем раствор фильтруют с помощью вакуумного фильтра, после чего к раствору отфильтрованного хитозана добавляют 100 мл этанола. Далее к полученному раствору медленно добавляют раствор додекальдегида в этаноле. Затем к полученному раствору добавляют 780 мг цианоборгидрида натрия, растворенного в 10 мл этанола. Раствор цианоборгидрида натрия в этаноле добавляют еще дважды в течение 2 часов и затем полученную смесь перемешивают в течение 24 часов и затем осаждают полученный модифицированный хитозан путем добавления по каплям 0,2 М гидроксида натрия. Гемостатическое средство содержит хитозан и заместитель, связанный с полимерной цепью хитозана через аминокруппы вдоль основной макроцепи. В качестве заместителя может быть использован альдегид или кетон.

Недостатком данного способа является его сложность и высокая токсичность побочного продукта. Это обусловлено использованием цианоборгидрида натрия (токсичен и пожароопасен), при реакции с которым образуется цианид натрия, требующий тщательного удаления из готового продукта и усложняющий утилизацию сточных вод. Кроме того, в данной реакции предусмотрено добавление цианоборгидрида натрия в большом избытке по отношению к хитозану (1 моль хитозана к 3 молям цианоборгидрида натрия) независимо от степени замещения продукта.

Известен раствор для получения материала на основе хитозана, способ получения гемостатического материала из этого раствора (варианты) и медицинское изделие с использованием волокон на основе хитозана [4]. Описан раствор для получения материала на основе хитозана, способы получения гемостатического материала из этого раствора и медицинское изделие с использованием волокон на основе хитозана. Раствор состоит из следующих компонентов в соотношении от общего количества раствора, масс. %: сухой хитозан (со степенью деацетилирования - не менее 80%) 4-8 по сухому веществу, водный раствор полимера или смеси полимеров 1-10 по сухому веществу, водный раствор органической кислоты или смесь органических кислот (в концентрации 50-80%) -

остальное. Способ получения гемостатического материала из водно-кислотного раствора, состоящего из полиэлектролитного комплекса хитозана и водорастворимого полимера, включает электрохимическую обработку раствора хитозана в электрическом поле с токопроводящей подложкой. При электроформовании получают нановолокна с диаметром 80-120 нм за счет применения вязкотекучего раствора с характеристиками: вязкость - 1,4-2,5 Па·с, поверхностное натяжение - 31-35 мН/м и электропроводность не более 2,3 мСм/см. Способ позволяет получить более тонкое по диаметру хитозановое волокно. Кроме того, в приведенном документе раскрыта возможность получения гемостатической губки путем лиофильной сушки, которая в общем виде включает стадии приготовления раствора с его последующим охлаждением и подогрева полученных образцов [5].

Таким образом, вышеприведенные технические решения приняты за прототипы заявляемого способа модификации хитозана, модифицированного хитозана, раствора для получения гемостатического материала (варианты), способов получения гемостатического материала и гемостатического материала (варианты).

Недостатками прототипа являются относительно низкие гемостатические свойства полученного гемостатического материала. Это обусловлено использованием в качестве основного действующего вещества нативного хитозана, который обладает относительно низкими гемостатическими свойствами относительно модифицированных форм.

Техническая проблема заключалась в необходимости разработки технологии получения гемостатического материала с повышенными гемостатическими свойствами целевого продукта и низкой токсичностью побочных продуктов.

Технический результат заключается в повышении гемостатических свойств получаемых продуктов.

Технический результат достигается тем, что в способе получения модифицированного хитозана, в ходе которого к водному раствору хитозана добавляют уксусную кислоту, затем проводят осаждение хитозана раствором гидроксида натрия, после чего добавляют модифицирующий агент и осуществляют перемешивание реакционной массы, далее выполняют промывку реакционной массы водным раствором органического спирта и высушивают полученный осадок, согласно изобретению проводят высаживание раствором гидроксида натрия до получения значения pH образующейся суспензии 7,5 – 8,0 после добавления ацилирующего агента, перемешивают реакционную смесь до окончания реакции и заканчивают реакцию при значениях pH 10,0 – 12,0, а в качестве ацилирующего агента используют хлорангидрид, включающий 10 – 18 атомов углерода.

Технический результат также достигается тем, что модифицированный хитозан, включающий заместитель, связанный с полимерной цепью через аминогруппы вдоль основной макроцепи, согласно изобретению в качестве заместителя содержит углеводородный радикал жирной кислоты, включающий 10 – 18 атомов углерода.

Технический результат также достигается тем, что в растворе для получения гемостатического материала, содержащем вышеприведенный модифицированный хитозан и растворитель, включающий смесь органической кислоты и воды, согласно изобретению компоненты присутствуют при следующих соотношениях, мас. %:

модифицированный хитозан	0,5 – 3,5
органическая кислота	0,5 – 3,0
вода	90,0 – 99,0

при этом удельная электропроводность ( $\kappa$ ) раствора составляет 1,5 – 2,8 мСм/см, нулевая динамическая вязкость ( $\eta$ ) 0,030 – 0,150 Па·с.

Технический результат также достигается тем, что в способе получения гемостатического материала из вышеприведенного раствора, в ходе которого готовят раствор путем растворения модифицированного хитозана в растворителе, затем охлаждают раствор в кюветах и далее подогревают полученные образцы, согласно изобретению используют раствор с нулевой динамической вязкостью  $\eta$  от 0,030 до 0,150 Па·с и рН от 3 до 5, который охлаждают при температуре -45 – -60 °С и давлении до 0,5 мБар, подогрев проводят до достижения образцами в кюветах температуры 20 – 30 °С.

Технический результат также достигается тем, в гемостатическом материале, полученном вышеприведенным способом, включающем модифицированный хитозан и выполненный в виде пористой губки, согласно изобретению модифицированный хитозан содержит углеводородный радикал жирной кислоты, включающий 10 – 18 атомов углерода, связанный с полимерной цепью через аминогруппы вдоль основной макроцепи, при этом гемостатический материал обладает следующими свойствами: рН водной вытяжки 5,0-6,5, пористость 92-97%.

Технический результат также достигается тем, что в растворе для получения гемостатического материала, содержащем вышеприведенный модифицированный хитозан и растворитель, включающий смесь органической кислоты и воды, согласно изобретению компоненты присутствуют при следующих соотношениях, мас. %:

модифицированный хитозан	2,0 – 7,0
органическая кислота	20 – 60
вода	36,0 – 90,0
пластифицирующая добавка	0,05 – 0,5

при этом удельная электропроводность ( $\kappa$ ) раствора составляет 4,0 – 5,0 мСм/см, нулевая динамическая вязкость ( $\eta$ ) 0,1 – 0,4 Па·с, поверхностное натяжение 40-50 мН/м.

Технический результат также достигается тем, что в способе получения гемостатического материала из вышеприведенного раствора, в ходе которого готовят формовочный раствор путем растворения модифицированного хитозана в воднокислотном растворителе, затем проводят электроформование (ЭФ) нановолокон модифицированного хитозана с их последующей хаотичной укладкой на подложку, согласно изобретению готовят раствор с удельной электропроводностью 4,0 – 5,0 мСм/м, поверхностным натяжением 40 – 50 мН/м и нулевой динамической вязкостью 0,1 – 0,4 Па·с, а ЭФ осуществляют при напряжении электростатического поля 90 – 110 кВ, влажности воздуха в камере ЭФ 25 – 35%, температуре воздуха в камере ЭФ 20 – 25 °С и расстоянии между электродами 120 – 170 мм.

Технический результат также достигается тем, что в гемостатическом материале, полученном вышеприведенным способом, включающем модифицированный хитозан и выполненном в виде нетканого материала, отличающийся тем, что модифицированный хитозан содержит углеводородный радикал жирной кислоты, включающий 10 – 18 атомов углерода, связанный с полимерной цепью через аминогруппы вдоль основной макроцепи, при этом гемостатический материал обладает следующими свойствами: рН водной вытяжки 5,0-6,5, поверхностная плотность 5-10 г/м<sup>2</sup>.

Согласно настоящему изобретению способ получения модифицированного хитозана, включает приготовление 1-3 мас % раствора хитозана с молекулярной массой 30-150 кДа в 1-2 мас.% водном растворе уксусной кислоты с последующим высаживанием 0,1-0,5 н раствором гидроксида натрия и доведением значения рН образующейся суспензии до значения 7,5-8,0 на первой стадии процесса, смешение полученной на первой стадии суспензии хитозана с хлорангидридом жирной кислоты (количество молей хлорангидрида жирной кислоты варьируется в зависимости от необходимой степени ацилирования) и выдерживание реакционной массы в течение 2 часов при интенсивном перемешивании, доведение значения рН до 10-12, фильтрование полученного осадка, промывку водным раствором этанола или н-пропанола, или изопропанола, или бутанола или 2-бутанола, или изобутанола, или третичного бутилового спирта и последующим фильтрованием на третьей стадии. Затем полимер высушивают под остаточным давлением до 10 мБар при температуре от 50 до 55°С в течение 10-16 часов. На основе полученного таким образом модифицированного хитозана со степенью ацилирования  $S_{ac}$  от 2,0 до 10,0% могут быть изготовлены: губка, нетканый материал и другие формы гемостатических веществ.

Стоит отметить, что при осуществлении способа получения модифицированного хитозана поддержание значения pH реакционной смеси во время реакции 7,5 – 8,0 позволяет снизить гидролиз хлорангидрида и повысить селективность реакции с повышением выхода и однородности целевого продукта. Доведение pH реакционной смеси по окончании реакции до значений 10,0 – 12,0 способствует проведению полного осаждения полимера. Использование в качестве ацилирующего агента хлорангидрида, включающего 10 – 18 атомов углерода, позволяет повысить гемостатическую эффективность получаемого изделия. Так, использование в качестве заместителя углеводородного радикала жирной кислоты, включающего 10 – 18 атомов углерода, обусловлено высокими гидрофобными свойствами данного радикала и его сродством к мембранам клеток крови, что положительно влияет на эффективность гемостатического средства. Радикалы, включающие менее 10 атомов углерода, обладают низкой гидрофобностью и не способны внедряться в клеточные мембраны, что значительно снижает эффективность гемостатического средства [6, 7, 8]. При использовании радикала, включающего более 18 атомов углерода, резко снижается растворимость ацилированного хитозана и растет вязкость его растворов, что не позволяет получить гемостатическое средство.

Для получения гемостатического материала на основе модифицированного хитозана в виде пористой губки готовят раствор, который содержит модифицированный хитозан, органическую кислоту, воду и наночастицы. Для получения оптимального количественного состава раствора были приготовлены 5 растворов с различным содержанием основных компонентов и измерены их физико-химические свойства.

Таблица 1 – Исследование влияния содержания компонентов раствора на физико-химические свойства раствора

№ п/п	Модифицированный хитозан	Органическая кислота	Вода	Наночастицы	Динамическая вязкость, $\eta_0$	Удельная электропроводность, $\kappa$	Внешний вид губки
	мас.%	мас.%	мас.%	мас %	Па·с	мСм/см	
1	0,25	1,25	98,5	$10^{-3}$	0,02	1,4	хрупкая
2	0,50	1,0	98,5	$10^{-3}$	0,03	1,5	эластичная
3	2,00	1,0	97,0	$10^{-3}$	0,09	1,8	эластичная
4	3,50	1,0	95,15	0,35	0,14	1,95	эластичная
5	4,00	1,0	94,6	0,4	0,25	1,98	жесткая, хрупкая

Результаты измерений показывают, что растворы под №№ 1 и 5 не пригодны для дальнейшего получения эффективного гемостатического материала в виде губки, так как при определенных физико-химических параметрах раствора, которые лежат вне перечисленных диапазонов состава растворов, губки теряют эластичность и становятся

жесткими и хрупкими, что приводит к нарушению целостности губки (из-за недостаточной концентрации полимера или высокой вязкости раствора). При этом использование растворов под №№ 2, 3 и 4 обеспечивает получение гемостатического материала в виде эластичной пористой губки, что доказывают результаты измерений: динамической вязкости, удельной электропроводности, визуальной оценки губки.

При этом в способе получения гемостатического материала путем лиофильной сушки используется раствор, удельная электропроводность ( $\kappa$ ) которого составляет 1,5 – 2,8 мСм/см при нулевой динамической вязкости ( $\eta$ ) в диапазоне 0,030 – 0,150 Па·с.

В ходе способа получения гемостатического материала в виде пористой губки вышеприведенный раствор (удельная электропроводность ( $\kappa$ ) 1,5 – 2,8 мСм/см, нулевая динамическая вязкость ( $\eta$ ) 0,030 – 0,150 Па·с) готовили путем диспергирования полученного модифицированного хитозана в дистиллированной воде при перемешивании с последующим добавлением органической кислоты. Полученный раствор разливали в кюветы, которые далее загружали в сушильную камеру лиофилизатора для охлаждения раствора до -45 – -60 °С при давлении до 0,5 мБар. После этого растворы выдерживают около 24 ч. Затем подогревают полученные образцы в кюветах до 20 – 30 °С.

Охлаждение раствора в кюветах до температуры -45 – -60 °С и давлении до 0,5 мБар, а также подогрев полученных образцов в кюветах до 20 – 30 °С обеспечивает получение гемостатической губки с пористостью 92-97% и остаточным количеством воды 18-24%. В случае выхода за перечисленные температурные диапазоны гемостатический материал в виде пористой губки получается хрупким и непригодным для использования.

Полученный вышеприведенным способом гемостатический материал в виде пористой губки обладает следующими свойствами: рН водной вытяжки 5,0 – 6,5, пористость 92 – 97%. Значение рН водной вытяжки в диапазоне 5,0 – 6,5 является важным для получения эффективного гемостатического средства, так как обуславливает отсутствие раздражающего действия на рану и кожный покров вокруг раны.

Для получения гемостатического материала на основе модифицированного хитозана в виде нетканого материала готовят раствор, который содержит модифицированный хитозан, органическую кислоту, воду и пластифицирующую добавку. Для получения оптимального количественного состава раствора были приготовлены 5 растворов с различным содержанием основных компонентов и измерены: динамическая вязкость, удельная электропроводность, а также проанализированы снимки сканирующей электронной микроскопии нетканого материала.

Таблица 2 – Исследование влияния количественного раствора на физико-химические свойства раствора

№ п/п	Модифицированный хитозан	Органическая кислота	Наночастицы	Вода	Пластифицирующая добавка	Динамическая вязкость, $\eta_0$	Удельная электропроводность, $\kappa$	Примечание
	мас. %	мас. %	мас. %	мас. %	масс. %	Па·с	мСм/см	
1	1,0	10	-	88,96	0,04	0,08	3,8	по результатам СЭМ-много дефектов, диаметр нановолокон 50 нм
2	2,0	30		67,5	0,5	0,30	4,4	
3	3,4	20	0,4	76,4	0,34	0,35	4,5	
4	7,0	30	-	64,5	0,5	0,38	4,6	
5	8,0	20	-	71,0	1,0	0,95	3,85	вязкий раствор, не формуется

Результаты измерений показывают, что растворы под №№ 1 и 5 не пригодны для дальнейшего получения эффективного гемостатического материала, так как низкая вязкость и низкая удельная электропроводность формовочного раствора №1 не позволяет получить бездефектные волокна, высокая вязкость формовочного раствора №5 не позволяет осуществить процесс ЭФ. При этом растворы под №№ 2, 3 и 4 подходят для использования в способе получения гемостатического материала в виде бездефектного нетканого материала, состоящего из нановолокон, что доказывают результаты измерений: динамической вязкости, удельной электропроводности, снимки электронной микроскопии.

В то же время, для способа получения гемостатического материала в виде нетканого материала путем ЭФ используется раствор, удельная электропроводность ( $\kappa$ ) которого составляет 4,0 – 5,0 мСм/см при нулевой динамической вязкости ( $\eta$ ) в диапазоне 0,1 – 0,4 Па·с и поверхностном натяжении равном 40-50 мН/м.

В ходе способа получения гемостатического материала в виде нетканого материала вышеприведенный раствор (удельная электропроводность ( $\kappa$ ) которого составляет 4,0 – 5,0 мСм/см при нулевой динамической вязкости ( $\eta$ ) в диапазоне 0,1 – 0,4 Па·с и поверхностном натяжении равном 40-50 мН/м) готовили путем растворения модифицированного хитозана в водно-кислотном растворителе. Затем проводили ЭФ нановолокон модифицированного хитозана с их последующей хаотичной укладкой на

подложку. При этом ЭФ осуществляли при напряжении электростатического поля 90 – 110 кВ, влажности воздуха в камере ЭФ 25 – 35%, температуре воздуха в камере ЭФ 20 – 25 °С и расстоянии между электродами 120 – 170 мм.

Напряжение электростатического поля в диапазоне 90 – 110 кВ, влажность воздуха в камере ЭФ 25 – 35%, температура воздуха в камере ЭФ в пределах 20 – 25 °С и расстояние между электродами 120 – 170 мм в совокупности позволяют получить бездефектные нановолокна диаметром 100-500 нм.

Полученный таким образом нетканый материал обладает следующими свойствами: рН водной вытяжки 5,0 – 6,5, поверхностная плотность 5 – 10 г/м<sup>2</sup>. Такой диапазон параметров поверхностной плотности обусловлен тем, что нетканый материал, используемый в качестве гемостатического средства, должен быть достаточно прочным и эластичным, а при значении поверхностной плотности ниже 5 г/м<sup>2</sup>, материал теряет свои прочностные свойства, в то же время при значении выше 10 г/м<sup>2</sup> материал теряет эластичность.

Для доклинического исследования эффективности заявляемого гемостатического материала (варианты) выбраны полимеры с различной молекулярной массой (от 30 до 150 кДа) и степенью N-ацелирования (0-7,5%), полученные с помощью заявляемого способа (способ получения модифицированного хитозана). Исследование выполнено при использовании образцов следующего состава: хитозан с молекулярной массой от 30 до 150 кДа; модифицированный хитозан с молекулярной массой от 30 до 150 кДа и степенью ацелирования от 2,0 до 7,5%, полученный с помощью заявляемого способа.

Методом сублимации раствора полимера (хитозана) были изготовлены гемостатические средства в виде губок (образцы №1-4), а методом ЭФ был получен нетканый материал (образцы № 5-8). При этом образец №1 в виде губки и образец №5 в виде нетканого материала были изготовлены из немодифицированного хитозана, а остальные, соответственно, из N-ацелированного. Кроме того, образец №5 соответствовал гемостатическому материалу по прототипу [4].

В качестве образца сравнения было взято гемостатическое средство «Тахокомб» (Такеда Австрия ГмбХ, Австрия).

Полный перечень экспериментальных групп приведен в таблице 3.

Таблица 3 – Перечень экспериментальных групп для сравнительного изучения гемостатической активности на кроликах при паренхиматозном кровотечении

№ п/п	Название образца	Вариант исполнения	Состав образца
1	Образец №1	Губка	Хитозан, Сац=0%
2	Образец №2	Губка	N-ацелированный хитозан, Сац=2,5%
3	Образец №3	Губка	N-ацелированный хитозан, Сац=5,0%

4	Образец №4	Губка	N-ацелированный хитозан, Сац=7,5%
5	Образец №5	Нетканый материал	Хитозан, Сац=0%
6	Образец №6	Нетканый материал	N-ацелированный хитозан, Сац=2,5 %
7	Образец №7	Нетканый материал	N-ацелированный хитозан, Сац=5,0 %
8	Образец 8	Нетканый материал	N-ацелированный хитозан, Сац=7,5 %
9	Тахокомб	Губка	Коллаген, фибриноген, тромбин
10	Медицинская марля	Тканый материал	Целлюлоза

Выполнение доклинического исследования осуществляли в соответствии с российским Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств [9]. Исследование выполнялось на самцах кролика (вес 3,5-4 кг на момент операции). Для каждого образца изделия количество животных (кроликов) в группе составляет 6 особей (всего 78 особей). У наркотизированных тиопенталом натрия животных выполняли срединную лапаротомию для обеспечения доступа к печени. К печени плотно прижимали специальное приспособление – стальной ограничитель с круглым отверстием в центре, диаметром 13 мм, производили резекцию выступившей части печени хирургическими ножницами. Срезанный сегмент в вертикальной проекции имел вид круга или эллипса, его размеры и форма должны быть постоянны (площадь около 1,5 см<sup>2</sup>, глубина около 0,3 см). Остановку развившегося капиллярно-паренхиматозного кровотечения выполняли путем нанесения на рану образца гемостатического изделия (линейные размеры не менее 2x2 см). Время остановки кровотечения определяли по секундомеру. На второй доле печени так же производили резекцию, остановку кровотечения проводили марлевым тампоном. В конце эксперимента измеряли массу излившейся крови (кровопотерю). Метод определения кровопотери основан на определении веса истеченной крови при экспериментальном моделировании кровоточащей раны. Полученные в результате исследования времени остановки кровотечения и объема кровопотери для различных гемостатических изделий приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Время кровотечения и объем кровопотери при паренхиматозном печеночном кровотечении у кроликов

№ группы	Название образца/группы	Время остановки кровотечения (образец), с	Объем кровопотери (образец), мл	Время остановки кровотечения (марля), с	Объем кровопотери (марля), мл
1 (n=6)	Образец № 1	112,0±30,8	1,30±0,66	207,0±30,2	2,97±0,61
2 (n=6)	Образец № 2	146,2±49,2	1,14±0,70 <sup>!</sup>	215,3±45,0	2,97±0,99
3 (n=6)	Образец №3	112,2±21,4	0,82±0,33 <sup>!</sup>	181,7±39,5	3,11±1,36
4 (n=6)	Образец №4	75,3±9,0*.*	0,31±0,12*. <sup>!</sup>	129,7±14,8	2,33±0,55
5 (n=6)	Образец №5	142,0±11,5	1,04±0,23 <sup>!</sup>	210,0±32,8	2,61±1,00
6 (n=5)	Образец №6	188,0±44,3	1,62±0,32 <sup>!</sup>	174,0±20,1	2,07±0,50

№ группы	Название образца/группы	Время остановки кровотечения (образец), с	Объем кровопотери (образец), мл	Время остановки кровотечения (марля), с	Объем кровопотери (марля), мл
7 (n=6)	Образец № 7	105,7±23,2	0,92±0,32*. <sup>1</sup>	144,3±22,0	2,27±0,48
8 (n=6)	Образец №8	126,8±19,8	1,02±0,20 <sup>1</sup>	155,7±15,0	2,07±0,36
9 (n=6)	Тахокомб	164,7±21,8	1,21±0,45 <sup>1</sup>	196,7±25,6	2,34±0,47
10 (n=6)	Свободное кровотечение	167,8±43,1	3,90±0,93	141,0±22,1	3,23±0,81

Примечание – \* – Достоверные отличия от группы «Марля» (p<0,05); – \*\* – Достоверные отличия от группы «Тахокомб» (p<0,05); – <sup>1</sup> – Достоверные отличия от группы СК (p<0,05);

При оценке гемостатической активности образцов установлено, что все материалы обладают хорошей адгезионной способностью, а образцы №1-4 дополнительно обладают высокой гигроскопичностью. При оценке объема кровопотери отмечено, что образцы 1-8 значительно уменьшали объем кровопотери в сравнении с объемом спонтанно останавливающегося кровотечения – группа №10 (далее – СК). Так, объем кровопотери при использовании Образцов №1-8 составил 0,31±0,12 мл – 1,62±0,32 мл, что соответствовало 8–42% и статистически значимо отличалось от величины СК (3,90±0,93 мл).

Препарат сравнения «Тахокомб» был сопоставим по интенсивности кровотечения (1,21±0,45мл) с образцами гемостатического материала и статистически значимо отличался от СК. Сравнительный анализ показал, что объем кровопотери для образцов в виде варианта исполнения «губка», был наименьшим у образца №4 – 0,31±0,12 мл и статистически значимо отличался на 87% от объема кровопотери при наложении марли и на 92% от СК. В серии экспериментов с использованием образцов в виде нетканого материала (образцы №5-8) объем кровопотери был наименьшим у образца №7 0,92±0,32 мл, что было статистически значимо ниже, чем при наложении марли (на 59%) и при свободном кровотечении (на 76%). Время кровотечения при использовании в качестве гемостатического материала образцов №1-8 было сопоставимо с препаратом сравнения «Тахокомб» (75,3±9,0 – 188,0±44,3 и 164,7±21,8 с соответственно). У образца №4 минимальное время контакта (75,3±9,0 с) было статистически достоверно ниже на 55% чем у «Тахокомба» и СК (p<0,05).

Таким образом, проведенные исследования показали, что исследуемые образцы №1-8 обладают выраженной гемостатической активностью, значительно уменьшая время кровотечения и объем кровопотери при моделировании раны паренхиматозного органа. Гемостатическая активность исследуемых образцов изделий местных гемостатических материалов сопоставима с образцом сравнения «Тахокомб». Сравнительная оценка

гемостатической активности показала, что образец №4 (вариант исполнения в виде губки, Сац 7,5 %) обладающий наибольшей степенью ацилирования среди образцов №1-4 наиболее эффективен по всем исследованным показателям. При этом образцы №2-4 и №6-8, соответствующие заявляемому гемостатическому материалу (варианты) показали значительно большую эффективность, чем образец №5, соответствующий материалу по прототипу [4].

Заявляемое изобретение поясняется примерами.

Пример 1.

10 г хитозана (молекулярная масса 120-140 кДа) диспергировали в 992 мл дистиллированной воды при перемешивании верхнеприводной мешалкой (500-600 об/мин). К полученной суспензии добавляли 9,5 мл ледяной уксусной кислоты и оставляли перемешиваться в течение двух часов до полного растворения хитозана. К полученному раствору по каплям приливали 600 мл 0,2 н раствора NaOH в течение 30 минут. Затем доводили pH получившейся суспензии хитозана до значения 7,9, приливая 0,2 н раствор NaOH. Далее добавляли в реакционную массу 0,92 г пальмитилхлорида (C16H31OCl), растворенного в 10 мл хлористого метилена.

Значение pH реакционной массы поддерживали в интервале 7,5-8,0, периодически прикапывая 0,2 н раствора NaOH.

Через два часа реакция была закончена. Значение pH реакционной массы доводили до 10 для полного высаживания хитозана. Полученный полимер отфильтровывали на бумажном фильтре, промывая дистиллированной водой до нейтрального значения pH. Затем промывали полимер раствором этанола для удаления остатков жирных кислот.

Полученный таким образом модифицированный хитозан высушивали под остаточным давлением 4 мБар, при температуре 50°C в течение 12 часов. Степень замещения составляла 2,5%.

Пример 2.

20 г хитозана (молекулярная масса 30-50 кДа) диспергировали в 992 мл дистиллированной воды при перемешивании верхнеприводной мешалкой (500-600 об/мин). К полученной суспензии добавляли 9,5 мл ледяной уксусной кислоты и оставляли перемешиваться в течение двух часов до полного растворения хитозана. К полученному раствору по каплям приливали 600 мл 0,2 н раствора NaOH в течение 30 минут. Затем доводили pH получившейся суспензии хитозана до значения 7,9 приливая 0,2 н раствор NaOH. Затем добавляли в реакционную массу 2,34 г пальмитилхлорида (C16H31OCl), растворенного в 20 мл хлористого метилена.

Значение pH реакционной массы поддерживали в интервале 7,5-8,0 периодически прикапывая 0,2 н раствора NaOH.

Через два часа реакция была закончена. Значение pH реакционной массы доводили до 11 для полного высаживания хитозана. Полученный полимер отфильтровывали на бумажном фильтре, промывая дистиллированной водой до нейтрального значения pH. Далее полимер промывали несколько раз растворами изопропанола объемом 300 мл каждый для удаления остатков жирных кислот.

Полученный таким образом модифицированный хитозан высушивали под остаточным давлением 5 мБар, при температуре 50 °С в течение 13 часов. Степень замещения составляла 7,5%.

#### Пример 3.

Навеску 2,17 г хитозана (молекулярная масса 120-140 кДа) растворяли при перемешивании в 0,1 М растворе уксусной кислоты в течение часа при перемешивании. Далее по каплям добавляли 120 мл 0,2 н раствора NaOH. Затем доводили pH получившейся суспензии до значения 8,0. Добавляли в реакционную массу 0,142 г миристилхлорида (C<sub>14</sub>H<sub>27</sub>ClO), растворенного в 15 мл хлористого метилена. Значение pH реакционной массы поддерживали в интервале 7,5-8,0 периодически прикапывая 0,2 н раствора NaOH.

Через два часа реакция была закончена. Значение pH реакционной массы доводили до 11 для полного высаживания хитозана. Полимер промывали несколько раз растворами этанола объемом 100 мл каждый для удаления остатков жирных кислот. Полученный осадок модифицированного хитозана высушивали в шкафу при температуре 55°С, давление 5 мБар в течение 16 часов. Степень замещения составляла 5,0%.

#### Пример 4.

10 грамм порошкообразного хитозана, модифицированного по примеру 1 диспергировали в 939 мл дистиллированной воды при перемешивании верхнеприводной мешалкой (500-600 об/мин). Снижали обороты мешалки до 200-300 об/мин, к полученной суспензии приливали 9,4 мл химически чистой ледяной уксусной кислоты и оставляли перемешиваться в течение двух часов до полного растворения хитозана.

Получен раствор со следующим содержанием компонентов, мас. %:

Модифицированный хитозан	1,04
Органическая кислота	1,0
Вода	97,96

Раствор разливали в кюветы. Кюветы загружали в сушильную камеру лиофилизатора, предварительно охлажденную до  $-55^{\circ}\text{C}$ . Процесс вели в течение 24 часов до достижения лиофилизуемыми образцами температуры  $20^{\circ}\text{C}$ .

Полученные таким образом гемостатические губки имели следующие характеристики: Сац=2,5%, пористость 95%, влажность 18%, рН водной вытяжки =5,4.

Пример 5.

10 грамм порошкообразного хитозана, модифицированного по примеру 3 диспергировали в 990,6 мл дистиллированной воды при перемешивании верхнеприводной мешалкой (500-600 об/мин). Снижали обороты мешалки до 200-300 об/мин, к полученной суспензии приливали 9,4 мл химически чистой ледяной уксусной кислоты и оставляли перемешиваться в течение двух часов до полного растворения хитозана.

Получен раствор со следующим содержанием компонентов, мас. %:

Модифицированный хитозан	0,98
Органическая кислота	0,93
Вода	98,1

Раствор, разливали в кюветы. Кюветы загружали в сушильную камеру лиофилизатора предварительно охлажденную до  $-60^{\circ}\text{C}$ . Процесс вели в течение 24 часов до достижения лиофилизуемыми образцами температуры  $20^{\circ}\text{C}$ .

Полученные таким образом гемостатические губки имели следующие характеристики: Сац=5,0%, пористость 97%, влажность 16%, рН водной вытяжки =5,2.

Пример 6.

10 грамм порошкообразного хитозана, модифицированного по примеру 1 диспергировали в 939 мл дистиллированной воды при перемешивании верхнеприводной мешалкой (500-600 об/мин). Снижали обороты мешалки до 200-300 об/мин, к полученной суспензии приливали 9,4 мл химически чистой ледяной уксусной кислоты и оставляли перемешиваться в течение двух часов до полного растворения хитозана.

В раствор хитозана при перемешивании (500-600 об/мин) одновременно вводили 50 мл 2 мас.% раствора наночастиц хитина (нановискеров). Полученный раствор оставляли перемешиваться в течение 30 минут.

Получен раствор со следующим содержанием компонентов, мас. %:

Модифицированный хитозан	0,99
Органическая кислота	0,93
Вода	97,98
Наночастицы	0,1

Раствор разливали в кюветы, которые загружали в сушильную камеру лиофилизатора, предварительно охлажденную до  $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Процесс вели в течение 26 часов до достижения лиофилизируемыми образцами температуры  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Полученные таким образом гемостатические губки имели следующие характеристики: Сац=2,5, пористость 92%, влажность 18%, рН водной вытяжки 5,2.

Пример 7.

5 грамм порошкообразного хитозана, модифицированного по примеру 2 (Сац = 7,5 %) диспергировали в 66,2 мл дистиллированной воды при перемешивании магнитной мешалкой (500-600 об/мин) при комнатной температуре. Снижали обороты мешалки до 200-300 об/мин, к полученной суспензии приливали 28,3 мл химически чистой ледяной уксусной кислоты и оставляли перемешиваться в течение двух часов до полного растворения хитозана. В результате получен раствор со следующим соотношением компонентном, мас. %:

модифицированный хитозан	4,3
органическая кислота	24,3
вода	71,0
пластифицирующая добавка	0,43

Приготовленный раствор хитозана смешивали с 16,7 мл раствора полиэтиленоксида (далее по тексту – «ПЭО») при непрерывном перемешивании, после чего полученный рабочий раствор оставляли перемешиваться в течение 2 часов.

Рабочий раствор использовали для ЭФ слоя нановолокон на поверхности силиконизированной бумаги.

Рабочий режим устройства:

- влажность воздуха 35 %;
- температура воздуха  $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- напряжение на электродах 94 кВ;
- скорость движения подложки 30 мм/мин;
- расстояние между электродами 170 мм;
- скорость движения каретки 300 мм/с.

В результате получен гемостатический материал, состоящий из слоя нановолокон N-ацелированного хитозана, нанесенных на силиконизированную бумагу. Поверхностная плотность изделия составила  $7,1\text{ г/м}^2$ .

Пример 8.

5 грамм порошкообразного хитозана, модифицированного по примеру 2 (Сац = 7,5 %) диспергировали в 66,2 мл дистиллированной воды при перемешивании магнитной

мешалкой (500-600 об/мин) при комнатной температуре. Снижали обороты мешалки до 200-300 об/мин, к полученной суспензии приливали 28,3 мл химически чистой ледяной уксусной кислоты и оставляли перемешиваться в течение двух часов до полного растворения хитозана. Приготовленный раствор хитозана смешивали с 16,7 мл раствора ПЭО при непрерывном перемешивании, после чего полученный рабочий раствор оставляли перемешиваться в течение 2 часов.

В результате получен раствор со следующим соотношением компонентном, мас. %:

модифицированный хитозан	4,3
органическая кислота	24,3
вода	71,0
пластифицирующая добавка	0,43

Рабочий раствор использовали для электроформования слоя нановолокон на поверхности силиконизированной бумаги.

Рабочий режим устройства:

- влажность воздуха 35 %;
- температура воздуха 22 °С;
- напряжение на электродах 94 кВ;
- скорость движения подложки 25 мм/мин;
- расстояние между электродами 120 мм;
- скорость движения каретки 300 мм/с.

В результате получен гемостатический материал, состоящий из слоя нановолокон ацилированного хитозана, нанесенных на силиконизированную бумагу. Поверхностная плотность изделия составила 9,6 г/м<sup>2</sup>.

Пример 9.

5 грамм порошкообразного хитозана, модифицированного по примеру 3 (Сац = 5,0 %) диспергировали в 66,2 мл дистиллированной воды при перемешивании магнитной мешалкой (500-600 об/мин) при комнатной температуре. Снижали обороты мешалки до 200-300 об/мин, к полученной суспензии приливали 28,3 мл химически чистой ледяной уксусной кислоты и оставляли перемешиваться в течение двух часов до полного растворения хитозана. Приготовленный раствор хитозана смешивали с 16,7 мл раствора ПЭО при непрерывном перемешивании, после чего полученный рабочий раствор оставляли перемешиваться в течение 2 часов.

В результате получен раствор со следующим соотношением компонентном, мас. %:

модифицированный хитозан	4,3
органическая кислота	24,3

вода	71,0
пластифицирующая добавка	0,43

Рабочий раствор использовали для ЭФ слоя нановолокон на поверхности пергаментной бумаги.

Рабочий режим устройства:

- влажность воздуха 35 %;
- температура воздуха 22 °С;
- напряжение на электродах 100 кВ;
- скорость движения подложки 25 мм/мин;
- расстояние между электродами 160 мм;
- скорость движения каретки 320 мм/с.

В результате получен гемостатический материал, состоящий из слоя нановолокон ацилированного хитозана, нанесенных на силиконизированную бумагу. Поверхностная плотность изделия составила 8,1 г/м<sup>2</sup>.

Пример 10

5 грамм порошкообразного хитозана, модифицированного по примеру 2 (Сац = 7,5 %) диспергировали в 66,2 мл дистиллированной воды при перемешивании магнитной мешалкой (500-600 об/мин) при комнатной температуре. Снижали обороты мешалки до 200-300 об/мин, к полученной суспензии приливали 28,3 мл химически чистой ледяной уксусной кислоты и оставляли перемешиваться в течение двух часов до полного растворения хитозана. В раствор хитозана при перемешивании (500-600 об/мин) одновременно вводили 0,0215 г порошкообразного препарата высокодисперсного серебра (наночастицы серебра). Полученный раствор оставляли перемешиваться в течение 30 минут.

Приготовленный раствор хитозана смешивали с 16,7 мл раствора ПЭО при непрерывном перемешивании, после чего полученный рабочий раствор оставляли перемешиваться в течение 2 часов.

В результате получен раствор со следующим соотношением компонентов, мас %

Модифицированный хитозан	4,3
Органическая кислота	24,4
Вода	70,9
Пластифицирующая добавка	0,43
Наночастицы	0,001

Рабочий раствор использовали для электроформования слоя нановолокон на поверхности силиконизированной бумаги.

Рабочий режим устройства:

- влажность воздуха 35 %;
- температура воздуха 22 °С;
- напряжение на электродах 94 кВ;
- скорость движения подложки 30 мм/мин;
- расстояние между электродами 170 мм;
- скорость движения каретки 320 мм/с.

В результате получен гемостатический материал, состоящий из слоя нановолокон N-ацелированного хитозана, нанесенных на силиконизированную бумагу. Удельный вес изделия составил 7,4 г/м<sup>2</sup>.

Пример 11

5 грамм порошкообразного ацелированного хитозана, по примеру 2 (Сац = 7,5 %) диспергировали в 66,2 мл дистиллированной воды при перемешивании магнитной мешалкой (500-600 об/мин) при комнатной температуре. Снижали обороты мешалки до 200-300 об/мин, к полученной суспензии приливали 28,3 мл химически чистой ледяной уксусной кислоты и оставляли перемешиваться в течение двух часов до полного растворения хитозана.

В раствор хитозана при перемешивании (500-600 об/мин) одновременно вводили 30 мл 2 % мас. раствора наночастиц хитина. Полученный раствор оставляли перемешиваться в течение 30 минут.

Приготовленный раствор хитозана смешивали с 16 мл раствора ПЭО при непрерывном перемешивании, после чего полученный рабочий раствор оставляли перемешиваться в течение 2 часов.

В результате получен раствор со следующим соотношением компонентов, мас. %:

Модифицированный хитозан	3,4
Органическая кислота	20
Вода	76,4
Пластифицирующая добавка	0,34
Наночастицы	0,4

Раствор использовали для формования слоя нановолокон на поверхности силиконизированной бумаги.

Рабочий режим устройства:

- влажность воздуха 35 %;
- температура воздуха 22 °С;
- напряжение на электродах 94 кВ соответственно;

- скорость движения подложки 30 мм/мин;
- расстояние между электродами 170 мм;
- скорость движения каретки 320 мм/с.

В результате получен гемостатический материал, состоящий из слоя нановолокон N-ацилированного хитозана, нанесенных на силиконизированную бумагу. Удельный вес изделия составил 8,2 г/м<sup>2</sup>.

#### Список источников

1. Гемостатический материал, гемостатическое средство и перевязочный материал на его основе: патент № 2635465, Российская Федерация, заявка № RU2016133016, заявл. 10.08.2016, опубл. 13.11.2017.
2. Canh Le Tien N-acylated chitosan<sup>^</sup> hydrophobic matrices for controlled drug release / Canh Le Tien et al // Journal of Controlled Release. – 2003. – 93. – PP 81-93.
3. Многофункциональная биосовместимая полимерная матрица, используемая в качестве кровоостанавливающего средства и системы для поврежденных тканей и клеток: патент № 8932260, Соединенные Штаты Америки, заявка № US20070969721, заявл. 04.09.2007, опубл. 05.03.2009.
4. Раствор для получения материала на основе хитозана, способ получения гемостатического материала из этого раствора (варианты) и медицинское изделие с использованием волокон на основе хитозана: патент 2487701, Российская Федерация: заявка № RU2011131959, заявл. 26.07.2011, опубл. 20.07.2013.
5. Способ лиофильной сушки биопрепарата: патент 2111426, Российская Федерация: заявка № RU 95118775, заявл. 03.11.1995, опубл. 20.05.1998.
6. A self-assembling hydrophobically modified chitosan capable of reversible hemostatic action / Matthew B. Dowling, Rakesh Kumar, Mark A. Keibler [et al.] // Biomaterials. – 2011. – Vol. 32. – P. 3351-3357;
7. Hydrophobically-modified chitosan foam: description and hemostatic efficacy / Matthew B. Dowling, William Smith, Peter Balogh [et al.] // Journal of surgical research. – 2015. – Vol. 193. – P. 316-323.
8. Determination of efficacy of novel modified chitosan sponge dressing in a lethal arterial injury model in swine / Gerard P. De Castro, Matthew B. Dowling, Michael Kilbourne [et al.] // J Trauma. – 2011. – Vol. 72. – P. 899-907;
9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. — 944 с.

### Формула изобретения

1. Способ получения модифицированного хитозана, в ходе которого к водному раствору хитозана добавляют уксусную кислоту, затем проводят осаждение хитозана раствором гидроксида натрия, после чего добавляют модифицирующий агент и осуществляют перемешивание реакционной массы, далее выполняют промывку реакционной массы водным раствором органического спирта и высушивают полученный осадок, **отличающийся тем, что** проводят высаживание раствором гидроксида натрия до получения значения рН образующейся суспензии 7,5 – 8,0 после добавления ацилирующего агента, перемешивают реакционную смесь до окончания реакции и заканчивают реакцию при значениях рН 10,0 – 12,0, а в качестве ацилирующего агента используют хлорангидрид, включающий 10 – 18 атомов углерода.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что полученный осадок высушивают при температуре 50 – 55 °С.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что полученный осадок высушивают при давлении не выше 10 мБар.

4. Модифицированный хитозан, полученный способом по п.1, включающий заместитель, связанный с полимерной цепью через аминогруппы вдоль основной макроцепи, **отличающийся тем, что** в качестве заместителя содержит углеводородный радикал жирной кислоты, включающий 10 – 18 атомов углерода.

5. Раствор для получения гемостатического материала, содержащий хитозан по п.4 и растворитель, включающий смесь органической кислоты и воды, **отличающейся тем, что** компоненты присутствуют при следующих соотношениях, мас. %:

модифицированный хитозан	0,5 – 3,5
органическая кислота	0,5 – 3,0
вода	90,0 – 99,0

при этом удельная электропроводность ( $\kappa$ ) раствора составляет 1,5 – 2,8 мСм/см, нулевая динамическая вязкость ( $\eta$ ) 0,030 – 0,150 Па·с.

6. Раствор по п.5, отличающийся тем, что дополнительно содержит наночастицы серебра.

7. Раствор по п.5, отличающийся тем, что дополнительно содержит наночастицы хитина.

8. Раствор по п.5, отличающийся тем, что в качестве органической кислоты содержит уксусную кислоту.

9. Способ получения гемостатического материала из раствора по п.5, в ходе которого готовят раствор путем растворения модифицированного хитозана в растворителе, затем охлаждают раствор в кюветах и далее подогревают полученные образцы, **отличающийся тем, что** используют раствор с нулевой динамической вязкостью  $\eta$  от 0,030 до 0,150 Па·с и рН от 3 до 5, который охлаждают при температуре -45 – -60 °С и давлении до 0,5 мБар, подогрев проводят до достижения образцами в кюветах температуры 20 – 30 °С.

10. Способ по п.9, отличающийся тем, что полученные образцы представляют собой гемостатический материал в виде пористой губки.

11. Гемостатический материал, полученный способом по п.9, включающий модифицированный хитозан и выполненный в виде пористой губки, **отличающийся тем, что** модифицированный хитозан содержит углеводородный радикал жирной кислоты, включающий 10 – 18 атомов углерода, связанный с полимерной цепью через аминогруппы вдоль основной макроцепи, при этом гемостатический материал обладает следующими свойствами: рН водной вытяжки 5,0 – 6,5, пористость 92 – 97%.

12. Раствор для получения гемостатического материала, содержащий хитозан по п.4 и растворитель, включающий смесь органической кислоты и воды, **отличающейся тем, что** компоненты присутствуют при следующих соотношениях, мас. %:

модифицированный хитозан	2,0 – 7,0
органическая кислота	20 – 60
вода	36,0 – 90,0
пластифицирующая добавка	0,05-0,5

при этом удельная электропроводность ( $\kappa$ ) раствора составляет 4,0 – 5,0 мСм/см, нулевая динамическая вязкость ( $\eta$ ) 0,1 – 0,4 Па·с, поверхностное натяжение 40 – 50 мН/м.

13. Раствор по п.12, отличающейся тем, что в качестве органической кислоты содержит уксусную кислоту.

14. Раствор по п.12, отличающейся тем, что в качестве пластифицирующей добавки содержит полиэтиленоксид.

15. Раствор для осуществления способа по п.12, отличающейся тем, что в качестве пластифицирующей добавки содержит поливиниловый спирт.

16. Раствор для осуществления способа по п.12, отличающейся тем, что дополнительно содержит высокодисперсное серебро (наночастицы серебра).

17. Раствор для осуществления способа по п.12, отличающейся тем, что дополнительно наночастицы хитина.

18. Способ получения гемостатического материала из раствора по п.12, в ходе которого готовят формовочный раствор путем растворения модифицированного хитозана в водно-кислотном растворителе, затем проводят электроформование нановолокон модифицированного хитозана с их последующей хаотичной укладкой на подложку, отличающийся тем, что готовят раствор с удельной электропроводностью 4,0 – 5,0 мСм/м, поверхностным натяжением 40 – 50 мН/м и нулевой динамической вязкостью 0,1 – 0,4 Па·с, а электроформование осуществляют при напряжении электростатического поля 90 – 110 кВ, влажности воздуха в камере электроформования 25 – 35%, температуре воздуха в камере электроформования 20 – 25 °С и расстоянии между электродами 120 – 170 мм.

19. Способ по п.18, отличающийся тем, что в качестве подложки используют силиконизированную пергаментную бумагу.

20. Способ по п.18, отличающийся тем, что в качестве подложки используют нетканый материал.

21. Гемостатический материал, полученный способом по п.18, включающий модифицированный хитозан и выполненный в виде нетканого материала, отличающийся тем, что модифицированный хитозан содержит углеводородный радикал жирной кислоты, включающий 10 – 18 атомов углерода, связанный с полимерной цепью через аминогруппы вдоль основной макроцепи, при этом гемостатический материал обладает следующими свойствами: рН водной вытяжки 5,0 – 6,5, поверхностная плотность 5 – 10 г/м<sup>2</sup>.

## ЕВРАЗИЙСКОЕ ПАТЕНТНОЕ ВЕДОМСТВО

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ  
ПОИСКЕ(статья 15(3) ЕАПК и правило 42  
Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

201900124

Дата подачи: 05/03/2019

Дата испрашиваемого приоритета:

Название изобретения: СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МОДИФИЦИРОВАННОГО ХИТОЗАНА, РАСТВОР ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА (ВАРИАНТЫ), СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА, ГЕМОСТАТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ (ВАРИАНТЫ)

Заявитель: ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ "ИНМЕД"

 Некоторые пункты формулы не подлежат поиску (см. раздел I дополнительного листа). Единство изобретения не соблюдено (см. раздел II дополнительного листа)

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ: C08B 37/08 (01/01/2006) A61P 7/04 (01/01/2006)  
 A61K 31/722 (01/01/2006)  
 A61K 9/08 (01/01/2006)  
 A61L 15/28 (01/01/2006)

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

## Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Минимум просмотренной документации (система классификации и индексы МПК) C08B 37/08, A61K 31/722, A61K 9/08, A61K 47/36, A61L 15/28, A61P 7/04, B28B 1/00, D01D 5/00, D01F 4/00

Другая проверенная документация в той мере, в какой она включена в область поиска:

## В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X	PUSHPIKA KATUGAMPOLA et al. Rheological behavior and thermal stability of palmitoyl chitosan varying the degree of substitution. International Journal of Pharmaceutical Science Invention. ISSN (Online): 2319-6718, ISSN (Print): 2319-670X, Volume 3 Issue 11, November 2014, pp.24-32. Найдено в <a href="http://www.ijpsi.org">www.ijpsi.org</a> , реферат, стр.24-25, схемы 1 и 2	4
A	Стр.25-26, раздел 2.2 Palmitoyl chitosan preparation	1-3,5-21
X	PUSHPIKA KATUGAMPOLA et al. Rheology and Thermal Studies of Stearoyl Chitosan Varying the Degree of Substitution. IOSR Journal of Polymer and Textile Engineering. e-ISSN: 2348-019X, p-ISSN: 2348-0181, Volume 4 Issue 1, Jan.-Feb. 2017, pp.22-29. Найдено в <a href="http://www.iosrjournals.org">www.iosrjournals.org</a> , реферат, стр.22, схема 1	4
A	Стр.24, раздел 2.3 Preparation of stearoyl chitosan	1-3,5-21

 последующие документы указаны в продолжении графы В данные о патентах-аналогах указаны в приложении

\* Особые категории ссылочных документов:

"А" документ, определяющий общий уровень техники  
"Е" более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

"О" документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"Р" документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета

"D" документ, приведенный в евразийской заявке

"Т" более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

"Х" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности  
"У" документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

"&amp;" документ, являющийся патентом-аналогом

"L" документ, приведенный в других целях

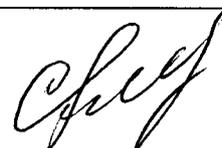
Дата действительного завершения патентного поиска: 15/05/2019

Уполномоченное лицо:

Главный эксперт  
Отдела химии и медицины

С.С. Мигаль

Телефон: +7(495)411-61-60\*338



## ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

Номер евразийской заявки:

201900124

ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ ( продолжение графы В )		
Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X	US 2015/0151005 A1 (CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (FR)) 04.06.2015, [0095]-[0100], стр.7 N-oleyl-chitosan	4
A	[0603]-[0606], [0067], [0074]	1-3,5-21
A	RU 2172325 C2 (МАЕВ С.П.), 20.08.2001	1-21
A	JPH 06237769 A (FUJI SPINNING CO LTD et al.), 30.08.1994, реферат, [0017], [0032]-[0032]	1-21
A, D	RU 2487701 C2 (ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ «ИНМЕД» (RU)) 20.07.2013, реферат, формула, стр.6,7, примеры 1-13, стр.14 стр.30 – стр.15, табл.6	1-21
A	RU 2522216 C1 (АФАНАСОВ И.М., ПЕРМИНОВ Д.В.) 10.07.2014, стр.5-6, примеры	1-21
A	WO 2009/049565 A2 (ELMARCO, s.r.o. [CZ/CZ]) 23.04.2009, стр.7-10, формула	1-21