РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 756 316** (13) **C1**

(51) МПК
A61K 9/14 (2006.01)
A61K 31/785 (2006.01)
A61K 31/717 (2006.01)
A61K 31/718 (2006.01)
A61P 7/04 (2006.01)
(52) СПК
A61K 9/14 *(2021.05)*
A61K 31/785 *(2021.05)*
A61K 31/718 *(2021.05)*
A61K 31/717 *(2021.05)*
A61P 7/04 *(2021.05)*

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 10.10.2021)
Пошлина: Установленный срок для уплаты пошлины за 3 год: с 16.06.2021 по 15.06.2022. При уплате пошлины за 3 год в дополнительный 6-месячный срок с 16.06.2022 по 15.12.2022 размер пошлины увеличивается на 50%.

(21)(22) Заявка: **2020120570, 15.06.2020**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
15.06.2020

Дата регистрации:
29.09.2021

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **15.06.2020**

(45) Опубликовано: **29.09.2021** Бюл. № **28**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **RU 2696575 C2, 05.08.2019. RU 2665950 C2, 05.09.2018. RU 2563279 C2, 20.09.2015. US 8575132 B2, 2013.11.05. Cheng, W. et al., Preparation and characterization of oxidized regenerated cellulose film for hemostasis and the effect of blood on its surface. Cellulose, 2013, 20(5), 2547-2558, найдено онлайн, найдено в Интернете: https://www.springerprofessional.de/en/preparation-and-characterization-of-oxidized-regenerated-cellulo/7009580. Yuanfeng Pan, cationic Polymers with Tailored Structures for Rendering Polysaccharide-Based Materials Antimicrobial: An Overview Polymers (Basel). 2019 Aug; 11(8): 1283, найдено онлайн, найдено в Интернете: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31374864/.**

Адрес для переписки:
670013, Респ. Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40в, стр. 1, ВСГУТУ, зав. ОСИ Потапкиной В.О.

(72) Автор(ы):
Могнонов Дмитрий Маркович (RU),
Лебедева Светлана Николаевна (RU),
Жамсаранова Сэсэгма Дашиевна (RU),
Морозов Сергей Владимирович (RU),
Родионов Владимир Иванович (RU),
Очиров Олег Сергеевич (RU),
Аюрова Оксана Жимбеевна (RU),
Черняк Елена Ильинична (RU),
Стельмах Сергей Александрович (RU),
Ткачёва Наталья Ивановна (RU),
Григорьева Мария Николаевна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Байкальский институт природопользования Сибирского отделения Российской академии наук (БИП СО РАН) (RU),
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления" (RU),
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН) (RU)

(54) Местное гемостатическое антибактериальное средство, способ его получения и медицинское изделие на его основе

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к гемостатическому антибактериальному средству, содержащему модифицированные природные полисахариды, связанные с полигуанидингидрохлоридом, обладающим антибактериальными свойствами, к способам получения средства и медицинских

изделий на его основе, способам его применения. Техническим результатом предлагаемого изобретения является получение устойчивого супрамолекулярного комплекса способом иммобилизации полигуанидингидрохлорида на окисленной целлюлозе или окисленном крахмале, обладающего эффективным гемостатическим и бактерицидным действием. 4 н.п. ф-лы, 6 пр., 3 табл.

Изобретение относится к медицине, а именно к гемостатическому антибактериальному средству, содержащему модифицированные природные полисахариды, связанные с биоцидным веществом, способам его получения, а также к изделиям медицинского назначения, использующим полисахариды, связанные с антибактериальными соединениями. Предназначено для остановки кровотечений, возникающих при травматических повреждениях органов и во время хирургических операций.

Предлагаемое средство может использоваться для остановки локальных кровотечений, полученных при огнестрельных, осколочных, ножевых ранениях во время военных конфликтов, автомобильных авариях, природных и техногенных катастрофах. Своевременная, действенная остановка кровотечения на догоспитальном этапе - один из основных вопросов военно-полевой и неотложной медицины.

Кровотечения, возникающие во время хирургических операций, и внутрибольничная инфекция в послеоперационном периоде - одни из самых актуальных проблем в хирургии. По данным мировой литературы кровотечение увеличивает сроки госпитализации в среднем на 4 дня, а стоимость лечения на 20%.

Существующие на сегодняшний день методы борьбы с кровотечением имеют ряд существенных недостатков: диатермоэлектрокоагуляция приводит к ожогу тканей, системное переливание компонентов крови может сопровождаться инфекционными и иммунными осложнениями, а местные кровоостанавливающие средства не в полном объеме удовлетворяют требованиям хирургов.

Известны гемостатические материалы на основе фибрина, которые ввиду своего животного происхождения могут привести к возникновению анафилактической реакции на их использование (Beierlein W., Scheule A.H., Dietrich W., Ziemer G. «Forty years of clinical aprotirin use: a review of 124 hypersensitivity reaction» // Ann. Thorac. Surg. 2005, 19, P. 741-748).

Побочные эффекты от воздействия известных гемостатических материалов на основе коллагена встречаются редко и чаще всего включают аллергические реакции, образование спаек и ингибирование заживления послеоперационных ран. Костный воск представляет материал, который трудно адсорбируется организмом. В экспериментах различными авторами было выяснено, что костный воск является одним из факторов риска возникновения стернальной инфекции, и его использование ингибирует регенерацию тканей (Wellsz T., Armstrong J.K., Cambidge J., et. al. «The effect of a soluble polymer and bone wax on sternal healing in an animal model» // Ann. Thorac. Surg, 2005, 85, P. 1776-80).

Не менее остро стоит проблема профилактики внутрибольничных инфекций. Так, в США по оценкам центра контроля и профилактики заболеваний зафиксировано около 1,7 млн. случаев внутрибольничных инфекций, вызванных всеми типами микроорганизмов, приводящих или сопутствующих 9900 смертям ежегодно. В Европе, по результатам проведенных госпитальных исследований, смертность от внутрибольничных инфекций составляет около 25 ООО случаев в год. Не менее актуальной является проблема реинфицирования раневых поверхностей госпитальными штаммами с рук медицинского персонала, постельного белья, шовного и перевязочного материала в группах больных в отделениях интенсивной терапии и др. В условиях строгого контроля за внутрибольничной инфекцией гнойные осложнения в области хирургического разреза регистрируются в 33-38%.

Эффективное решение проблемы кровотечений, возникающих при травматических повреждениях органов и во время хирургических операций, и присоединения внутрибольничной инфекции в послеоперационном периоде состоит в том, чтобы одновременно для остановки кровотечений применять комбинацию кровоостанавливающих и антисептических средств.

В известном изобретении предложена гемостатическая губка на основе коллагена и гидроксиапатита в качестве лекарственного средства, которая может дополнительно содержать гентамицин или линкомицин (см. патент RU 2034572, A61L 15/32, A61L 15/44, 03.11.1992).

Недостатком данной композиции является использование антибиотиков гентамицина или линкомицина, которые не эффективны в отношении частых возбудителей внутрибольничных инфекций, таких как MRSA (Staphylococcusaureus),

MRSE (Staphylococcusepidermidis), резистентных к ампициллину и аминогликозидам, антибиотикорезистентный пневмококк (S.pheumoniae).

Известно использование гемостатической марли на основе окисленной целлюлозы и антибиотика ванкомицина в виде «сэндвича»: порошок ванкомицина помещают между двумя слоями окисленной целлюлозы в виде марли (Kauko M., Liman T., Topsu S. «Alow-Costand Simple Method to Stop Intraoperative Leakage-Type Bleeding: Use of the Vancomycin-Oxidized Regenerated Cellulose (ORC) Sandwich» // Journal of Investigative Surgery, 2006, 19, N5, P. 323-327).

Недостатками данного метода являются длительность остановки кровотечения и неравномерность распределения антибиотика ванкомицина по поверхности гемостатической марли, что повышает риск развития инфекции и воспаления.

Известна противомикробная композиция, содержащая комплекс окисленной регенерированной целлюлозы, ковалентно связанной с гентамицином, который обладает потенциальной нефротоксичностью, ототоксичностью и может вызвать нервно-мышечную блокаду (см. патент RU 2465917, A61K 41/48, A61P 31/00, опубл. 10.11.2012, бюл. №31).

Недостатком композиции является низкая эффективность против частых возбудителей внутрибольничных инфекций, таких как MRSA, MRSE, энтерококки, резистентных к ампициллину и аминогликозидам.

Наиболее близким по технической сущности к предлагаемому изобретению является гемостатическое антибактериальное средство, представляющее собой супрамолекулярный комплекс в виде порошка, содержащего окисленную порошковую целлюлозу и ванкомицин, связанные посредством нековалентных межмолекулярных водородных связей. Средство предназначено для остановки кровотечений в хирургии, а также для оказания местного антисептического действия и регенерации поврежденных тканей (см. патент RU 2665950, A61P 7/04, A61P 31/04, A61K 31/7036, A61K 38/04, A61K 47/38, A61K 9/14, опубл. 05.09.2018, бюл. №25).

Недостатком данной композиции является использование антибиотиков, так как в связи с ростом устойчивых штаммов микроорганизмов, вызывающих внутрибольничные инфекции, в их отношении сохраняет активность ограниченное количество антибиотиков. Кроме того, применение тех или иных антибиотиков для этиотропной терапии требует длительного предварительного выделения возбудителя инфекции к определению его чувствительности к антибиотикам.

Также наиболее близким по технической сущности к предлагаемому изобретению является местное гемостатическое антибактериальное средство для остановки массивных кровотечений, содержащее соль хитозана и полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, ковалентно сшитые полифункциональным соединением из ряда глицидиловых эфиров. Средство обладает высокой сорбционной способностью по крови, коротким временем наступления гемостаза и высокой антимикробной активностью (см. патент RU 2519220, A61K 31/722, A61K 31/155, A61L 15/22, A61L 26/00, A61P 7/04, опубл. 10.06.2014, бюл. №16).

Недостатком данного средства является использование хитозана, получение которого из сырьевых источников отличается длительностью и дороговизной. Кроме того, для полной резорбции хитозана необходимо достаточно продолжительное время.

Задачей изобретения является получение эффективного кровоостанавливающего средства, обладающего бактерицидными свойствами, включающего полигуанидингидрохлорид и природный модифицированный полисахарид на основе целлюлозы или крахмала, создание гемостатического антибактериального средства для оказания первой и экстренной медицинской помощи при открытых ранениях и оперативных вмешательствах на паренхиматозных органах и кровеносных сосудах, которое может применяться в виде порошка, раствора, гранул или таблеток.

Техническим результатом предлагаемого изобретения является получение устойчивого супрамолекулярного комплекса способом иммобилизации полигуанидингидрохлорида на природных модифицированных полисахаридах. Преимуществами использования модифицированных полисахаридов для создания гемостатического средства являются их высокая сорбционная способность по крови, небольшое время наступления гемостаза, быстрая резорбция, антимикробный эффект в отношении широкого ряда патогенных организмов за счет низкого pH, создаваемого карбоксильными группами, а также доступность и дешевизна сырьевой базы.

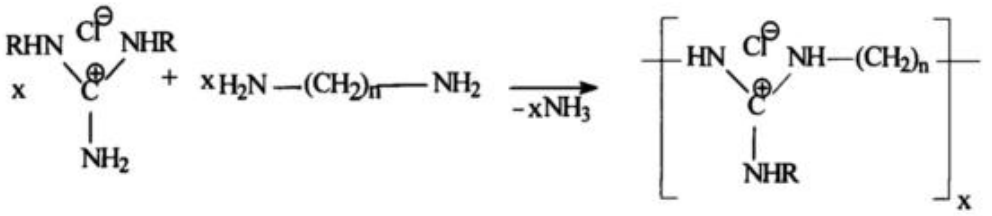
Вводимый в композицию гемостатического средства полигуанидингидрохлорид проявляет антибактериальное действие и обладает такими свойствами, как нетоксичность, биосовместимость и биоразлагаемость.

Таким образом, гемостатическое антибактериальное средство обладает эффективным гемостатическим и бактерицидным действием, исключает

инфекционное осложнение в послеоперационный период, вызванное грамположительной флорой.

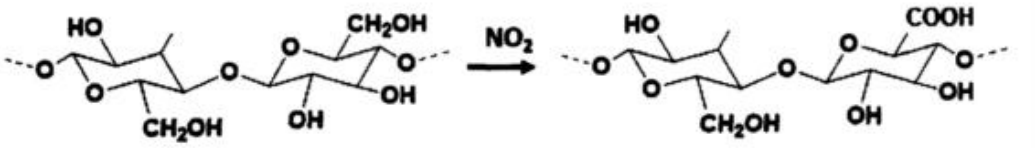
Изобретение направлено на создание гемостатического антибактериального средства местного действия для уменьшения времени остановки кровотечения и снижения интенсивности кровопотери.

Водорастворимый полигуанидингидрохлорид получают поликонденсацией диаминов и гуанидингидрохлорида в соответствии со схемой (Стельмах С.А., Базарон Л.У., Могнонов Д.М. О механизме поликонденсации гексаметилендиамина и гуанидингидрохлорида. - Журнал прикладной химии. - 2010. Т. 83, Вып. 2. - С. 344-345.):



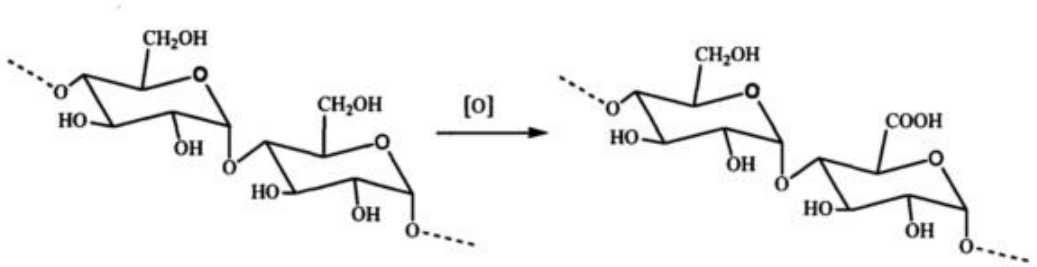
Строение полученного полигуанидингидрохлорида подтверждается данными ИК-спектроскопии. В области 3270 и 3160 $см^{-1}$ наблюдаются валентные колебания свободных аминогрупп. Две полосы в области 2930 и 2855 $см^{-1}$ соответствуют валентным асимметрическим и симметрическим колебаниям метиленовых групп. Полоса в области 1630 $см^{-1}$ - характеристическая полоса солей гуанидина.

Окисленную целлюлозу получают окислением порошка целлюлозы раствором диоксида азота в инертном растворителе (гексан) (Григорьев И.А., Морозов С.В., Ткачева Н.И., Панкрушина Н.А., Чернявский А.М., Таркова А.Р. Патент РФ №2563279, 2014. Бюл. изобр. №26, 2015):



Содержание карбоксильных групп составляет 20-21%, содержание связанного азота не превышает 0,5%. Молекулярная масса окисленной целлюлозы составляет 31,8±6,1 kDa. В ИК спектре наблюдается сигнал карбонильного углерода при 1735 $см^{-1}$, в спектре ЯМР сигнал углерода карбоксильной группы в области слабого поля с химическим сдвигом 133 м.д.

Окисленный крахмал получают окислением водорастворимого порошкообразного крахмала диоксидом азота в инертном растворителе гексане при температуре 18-20°С (Бутрим С.М., Бильдюкевич Т.Д., Юркштович Т.П. Изучение кинетики окисления крахмала в системе оксид азота (IV) - тетрахлорметан. - Журнал прикладной химии. - 2001. - Т. 74, Вып. 12. - С 2046-2050):



Содержание карбонильных групп в полученных образцах окисленного крахмала составляет 22,7-25,8%, содержание азота - 0,3-0,4%. В ИК спектре окисленного крахмала наблюдается полоса поглощения при 1747 $см^{-1}$, характерная для карбоксильных групп. Методом гельпроникающей хроматографии определяют молекулярный вес окисленного крахмала, который составляет Mw 5.4±1.1 kDa.

Задача получения эффективного кровоостанавливающего средства, обладающего бактерицидными свойства, решается иммобилизацией полигуанидингидрохлорида на окисленной порошкообразной целлюлозе или окисленном порошкообразном крахмале в мягких условиях, исключающих ретроградацию полисахаридов.

Для улучшения иммобилизации и образования более устойчивых и стабильных супрамолекулярных комплексов добавляют стадию набухания модифицированных полисахаридов в воде, что обеспечивает доступность их функциональных групп.

Содержание полигуанидингидрохлорида в супрамолекулярных комплексах, содержащих окисленный крахмал или окисленную целлюлозу, связанные с полигуанидингидрохлоридом за счет нековалентных дисперсионных (донорно-акцепторных) сил и межмолекулярных водородных связей составляет от 15 до 20 мас. %. Полученное средство обладает гемостатическим и антибактериальным действием и может применяться для остановки диффузных кровотечений из паренхиматозных органов и сосудистых анастомозов.

Медицинское изделие на основе гемостатического антибактериального средства, содержащее окисленный крахмал или окисленную целлюлозу, связанные с полигуанидингидрохлоридом, может представлять собой мелкодисперсный порошок, раствор/суспензию порошкообразного средства в стерильном растворителе (дистиллированная вода, физиологический раствор), а также гранулы или таблетки. Такие гранулы или таблетки могут использоваться для остановки локальных кровотечений при огнестрельных, осколочных, ножевых ранениях во время военных конфликтов, автомобильных авариях, природных и техногенных катастроф.

Сущность изобретения иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1. В стеклянную колбу к 4,0 мл воды добавляют 0,75 г окисленной целлюлозы, перемешивают 1 час, затем прибавляют раствор 0,25 г полигуанидингидрохлорида в 1,0 мл воды. Смесь перемешивают 20-26 часов при температуре 25-35°С. За время перемешивания происходит набухание окисленной целлюлозы и повышение доступности ее функциональных групп, что способствует иммобилизации полигуанидингидрохлорида на окисленной целлюлозе. Полученную суспензию разделяют на центрифуге на твердую и жидкую части. Твердую часть высушивают при температуре 25-30°С до постоянного веса в течение 48-54 часов и растирают в ступке. Получают порошок бежевого цвета, являющийся супрамолекулярным комплексом окисленной целлюлозы с иммобилизованным полигуанидингидрохлоридом. Выход составляет 70%.

Методом гель-проникающей хроматографии определен молекулярный вес полученного комплекса, который составляет Mw 13,6÷2.7 kDa. Данные элементного анализа комплекса, %: найдено С, 38,4; Н, 6,0; N, 3,7; Cl 1,3, соотношение окисленной целлюлозы и полигуанидингидрохлорида в комплексе составляет от 1:5 до 1:6. В ИК спектре комплекса идентифицируются полосы валентных и деформационных колебаний, характерных для молекул окисленной целлюлозы и полигуанидингидрохлорида 1736 и 1638 $см^{-1}$ соответственно.

Пример 2. 1,5 г окисленного крахмала и 7 мл дистиллированной воды помещают в стеклянную колбу и при интенсивном перемешивании выдерживают в течение 10 часов. За время перемешивания происходит набухание окисленного крахмала и повышается доступность его функциональных групп. К вязкому раствору добавляют 0,3 г полигуанидингидрохлорида и интенсивно перемешивают при температуре 25-30°С до полного растворения полигуанидингидрохлорида в течение 3-5 часов. Полученный вязкий раствор высушивают в фарфоровой чашке при температуре 30-40°С в течение 24-28 часов. Выход составляет 83%.

Полученный порошок бледно-бежевого цвета является супрамолекулярным комплексом окисленного крахмала с иммобилизованным полигуанидингидрохлоридом.

Соотношение окисленного крахмала и полигуанидингидрохлорида в комплексе составляет от 1:0,15 до 1:0,20. В ИК спектре наблюдается полоса поглощения карбоксильной группы при 1735 $см^{-1}$. Величина гипсохромного сдвига невелика, т.к. энергия межмолекулярного взаимодействия соизмерима с энергией дисперсионного взаимодействия и донорно-акцепторной связи, обусловленной перекрыванием молекулярных орбиталей за счет неподеленной электронной пары гетероатома полигуанидингидрохлорида и карбонильных групп, принимающих электрон на р-орбитали.

Для биологических испытаний полученное средство стерилизуют радиационным облучением.

Пример 3. Медицинское изделие представляет собой мелкодисперсный порошок, полученный как описано в примерах 1 и 2, а также гранулы или таблетки, полученные прямым холодным прессованием этого порошка в обезжиренных стерильных пресс-формах при 25-30°С и удельном давлении 40-50 МПа. После выпрессовки полученное изделие упаковывается в герметичный полиэтиленовый пакет.

Д ля изготовления медицинских изделий в виде 4-6%-ного раствора (для композиции окисленного крахмала с полигуанидингидрохлоридом) или суспензии (для композиции окисленной целлюлозы с полигуанидингидрохлоридом) 0,5 г

гемостатического антибактериального средства в виде порошка помещают в стерильную емкость для смешивания.

Далее добавляют 8-12 мл стерильного растворителя (дистиллированная вода или физиологический раствор) и перемешивают с помощью стерильного инструмента. Соотношение сухого гемостатического антибактериального средства и растворителя составляет от 1:16 до 1:24 (грамм:мл).

Пример 4. Изучение гемостатических свойств медицинских изделий в виде раствора или суспензии в экспериментах in vitro проводят с использованием метода определения гемостатической активности жидких кровоостанавливающих средств, разработанных в научном центре сердечнососудистой хирургии им. А.Н. Бакулева (Межнева В.В., Самсонова Н.И., Плющ М.Г., Костава В.Т. «Экспериментальные исследования гемостатической активности жидких кровоостанавливающих средств» // Бюлл. научн. центра сердеч.-сосуд. хирургии им. А.Н. Бакулева РАМН. Сердеч.-сосуд. заболевания, 2007, 8 (2), 71-75).

Для проведения исследований используют кровь крыс, отобранную из бедренной артерии животных и стабилизированную 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Степень гемостатической активности определяют в чашке Петри путем добавления к 1 мл стабилизированной крови по каплям 0,1 мл испытуемого средства в виде раствора или суспензии при перемешивании стеклянной палочкой. Время образования сгустков крови определяют по секундомеру.

Результаты исследования гемостатических свойств окисленной целлюлозы, окисленного крахмала и их композиций с полигуанидингидрохлоридом в экспериментах in vitro представлены в табл. 1.

Таблица 1 - Гемостатические свойства в условиях *in vitro* (M±m, n=20)

№	Образец	Время свертывания крови, сек.	Характер сгустка
1	Окисленная целлюлоза	51,3 ± 0,75	Неплотный сгусток
2	Окисленная целлюлоза+полигуанидингидрохлорид	41,0 ± 0,50	Неплотный сгусток
3	Окисленный крахмал	14,5 ± 0,25	Плотный сгусток
4	Окисленный крахмал+полигуанидингидрохлорид	10,3 ± 0,50	Плотный сгусток

Как следует из данных таблицы 1, максимальным гемостатическим эффектом в системе in vitro обладает медицинское изделие на основе окисленного крахмала и полигуанидингидрохлорида.

Пример 5.

Для оценки гемостатических свойств предлагаемого средства в условиях in vivo проводят эксперименты на 39 белых крысах-самках линии WISTAR массой 300-350 г. Животных разделяют на 5 групп:

1 группа (контроль, n=11);

2 группа (окисленная целлюлоза, n=7);

3 группа (окисленная целлюлоза + полигуанидингидрохлорид, n=7);

4 группа (окисленный крахмал, n=7);

5 группа (окисленный крахмал + полигуанидингидрохлорид, n=7).

Эксперименты выполняют согласно методике, описанной в патенте

«Способ выявления и сравнительной оценки гемостатической активности кровоостанавливающих матричных препаратов местного действия» (см. патент RU 2127428, G01N 33/48, G01N 33/49, опубл. 10.03.1999).

Операции проводят под внутримышечным наркозом (ксиланит, 0,6 мг/кг). Крысам выполняют верхнесрединную лапаротомию, в рану выводят левую долю печени, выполняют острым лезвием резаную рану (длина 10 мм, глубина 3 мм) и наносят на нее гемостатический материал в виде порошка массой 7 мг в зависимости от принадлежности животного к соответствующей группе.

Критериями проявления гемостатических свойств у исследуемых образцов считают уменьшение времени остановки кровотечения (сек.) и снижение интенсивности кровопотери по массе излившейся крови (мг) в сравнении с показателями спонтанно останавливающего кровотечения (контроль). Время остановки кровотечения определяют по прекращению истечения крови из ранки, величину кровопотери - взвешиванием марлевого тампона до и после пропитывания его кровью.

Результаты исследования гемостатических свойств предлагаемых средств, результаты контрольного теста (без применения гемостатических средств), а также сравнительные данные гемостатических свойств окисленной целлюлозы и окисленного крахмала приведены в таблице 2.

Из полученных данных в исследовании in vivo следует, что все образцы обладают выраженным кровоостанавливающим действием. Применение окисленного крахмала (4 группа) уменьшает время остановки кровотечения относительно 1 и 2 групп на 48,7% и 8,3%, но уступает композиции «окисленная целлюлоза + полигуанидингидрохлорид» (3 группа). Применение окисленного крахмала уменьшает массу излившейся крови относительно 1, 2 и 3 групп соответственно на 61,9%, 44,8%, 23,4%. Наиболее высоким гемостатическим действием обладает композиция «окисленный крахмал + полигуанидингидрохлорид», которая эффективно уменьшает и время остановки кровотечения на 63,2%, 34,3%, 17,4%, 28,3%, и массу излившейся крови на 67,0%, 52,2%, 33,8%, 13,5% относительно соответствующих показателей в 1-4 группах экспериментальных животных.

Таблица 2 - Гемостатические свойства в условиях *in vivo*

№	Образец	Время остановки кровотечения, сек.	Масса излившейся крови, мг
1	Контроль	121,4 ± 6,64	29,1 ± 2,55
2	Окисленная целлюлоза	68,0 ± 5,28	29,1 ± 3,03
3	Окисленная целлюлоза +полигуанидингидрохлорид	54,1 ± 2,14	14,5 ± 2,19
4	Окисленный крахмал	62,3 ± 1,00	11,1 ± 2,06
5	Окисленный крахмал +полигуанидингидрохлорид	44,7 ± 2,86	9,6 ± 1,73

Полученные данные свидетельствуют о выраженной гемостатической активности заявляемых композиций в отношении остановки диффузного кровотечения, значительному уменьшению времени кровотечения и объема кровопотери при моделировании раны паренхиматозного органа.

Использование предлагаемого средства не требует специальной подготовки, достаточно обработать рану порошком или раствором/суспензией, либо поместить в рану гранулы или таблетки, прижать, организовав незначительное поверхностное давление.

Пример 6. Антибактериальные свойства медицинского изделия на основе предлагаемого гемостатического антибактериального средства подтверждаются проведенными исследованиями.

В качестве патогенных тест-штаммов используют условно-патогенные микроорганизмы Escherichiacoli (E.coli), Bacilluscereus (B.cereus), которые являются модельными при проведении исследований в области микробиологии и биотехнологии.

Оценку антибактериальных свойств проводят на основе метода серийных разведений в агаре. Для получения вегетативных клеток культуры E.coli и B.cereus инкубируют в жидкой питательной среде при аэробных условиях в шейкере-инкубаторе BIOSANES-20 (180 мин$^{-1}$, 37°C, в течение 24 часов).

Вегетативные клетки каждого тест-объекта готовят в стерильном буферном растворе из соответствующих односуточных культур методом предельных разведений. Полученные бактериальные суспензии содержат от 10^2 до 10^3 КОЕ/мл.

В асептических условиях смешивают 20 мл агаризованного мясопептонного бульона и 0,05 и 0,025 мл 1% раствора исследуемого средства непосредственно в чашке Петри. Параллельно готовят чашки Петри без гемостатического антибактериального средства (контроль).

После застывания агаризованного бульона производят инокоагуляцию, по 0,1 мл суспензии E.coli и B.cereus на подготовленные твердые питательные среды в пяти повторностях и инкубируют в термостате при 35°С в течение 24 часов для подсчета выживших КОЕ. Полученные данные сведены в таблицу 3.

Как видно из данных таблицы 3, культивирование штаммов полирезистентных микроорганизмов E.coli и B.cereus в жидкой питательной среде с добавлением гемостатического антибактериального средства с концентрацией от 0,025 до 0,05 мл 1% раствора показало значительное снижение численности жизнеспособных клеток в опытных вариантах по сравнению с контролем.

Таблица 3 - Антибактериальное действие гемостатического антибактериального средства на E.coli и B.cereus

Образец	Количество колоний на твердой питательной среде, ±SD			
	E.coli		B.cereus	
	Количество антибактериального средства, мл		Количество антибактериального средства, мл	
	0,025	0,05	0,025	0,05
Контроль*	190 ± 1,22	156 ± 1,58	136 ± 1,58	399 ± 1,67
Гемостатическое антибактериальное средство	166 ± 1,87	101 ± 1,41	112 ± 2,07	263 ± 1,51

* Контроль – питательная среда без антибактериального средства

Предлагаемое в настоящем изобретении средство по сравнению с прототипами позволяет получить следующие преимущества:

1. Открывает возможность оказывать первую и первичную медико-санитарную помощь при остановке паренхиматозных, венозных и артериальных кровотечений.
2. Является эффективным гемостатическим средством местного действия на основе биосовместимой, биодеградируемой композиции окисленного крахмала или окисленной целлюлозы с полигуанидингидрохлоридом.
3. Обладает высокой сорбционной способностью по крови, небольшим временем наступления гемостаза и повышенной антимикробной активностью.

Формула изобретения

1. Местное гемостатическое антибактериальное средство, характеризующееся тем, что средство представляет собой супрамолекулярный комплекс в виде порошка, содержащий природный модифицированный полисахарид на основе целлюлозы или крахмала и полигуанидингидрохлорид, связанные посредством нековалентных межмолекулярных связей, в котором содержание полигуанидингидрохлорида составляет от 15 до 20 мас. %.
2. Способ получения местного гемостатического антибактериального средства по п. 1, характеризующийся тем, что в суспензию окисленной целлюлозы в дистиллированной воде добавляют полигуанидингидрохлорид, перемешивают в течение 20-26 часов при температуре 25-30°С в течение 48-54 часов.
3. Способ получения местного гемостатического антибактериального средства по п. 1, характеризующийся тем, что окисленный крахмал добавляют в дистиллированную воду с образованием вязкого раствора, к которому добавляют полигуанидингидрохлорид, перемешивают при температуре 25-30°С в течение 3-5 часов и высушивают при температуре 30-40°С.

4. Медицинское изделие, представляющее собой гемостатическое антибактериальное средство по п. 1 в виде порошка, 4-6%-ного раствора/суспензии в дистиллированной воде или физиологическом растворе, гранул или таблеток, полученных прямым холодным прессованием при 25-30°С и удельном давлении 40-50 МПа.