

ко Н. С. Терапевтическая эффективность низкоинтенсивного лазерного излучения. Минск, 1986.

3. Богуш Н. А., Мостовников В. А., Пикулев А. Т., Хохлов И. В. // Докл. АН БССР. 1984. № 10. С. 951.

4. Русаков Д. А., Клеринг П. Г. // Радиобиология. 1988. Т. 28. № 1. С. 130.

5. Глебов Р. Н., Крыжановский Г. Н. // Функциональная биохимия синапсов. М., 1978. Ч. 3. С. 196.

6. Пикулев А. Т., Дисько Н. А., Черногузов В. М. // Восьмая все-союз. конференц. по биохимии нервной системы: Тез. докл. 1980. С. 190.

7. Hestrin S. // Journ. Biol. Chem. 1949. V. 180. № 1. P. 249.

8. Пикулев А. Т., Джугурян Н. А., Зырянова Т. Н. и др. // Радиобиология. 1984. Т. 34. № 5. С. 29.

9. Lowry O. H., Rosenbrough N. I., Farr A. L., Randal K. I. // Journ. Biol. Chem. 1951. V. 193. № 1. P. 265.

10. Девятков Н. Д., Зубкова С. М., Лапун И. Б., Макаева Н. С. // Успехи современ. биол. 1987. Т. 103. № 1. С. 31.

11. Пронченкова Г. Ф. // Патофизиология инфекционного процесса и аллергии. Саратов, 1981. С. 90.

12. Пикулев А. Т., Зырянова Т. Н., Лаврова В. М. // Нейрохимия. 1984. Т. 3. № 2. С. 216.

13. Кашуба В. А., Трусова Н. Ф., Лаврова Э. Н. // Вопр. мед. хим. 1988. № 2. С. 29.

14. Трусова Н. Ф., Кашуба В. А. // Пат. физиол. 1987. № 1. С. 16.

УДК 661.728

*Ф. Н. КАПУЦКИЙ, В. И. ТАЛАПИН,  
В. А. СТЕЛЬМАХ, Т. Л. ЮРКШТОВИЧ,  
Н. В. ГОЛУБ, Л. В. ШЕБЕКО, В. В. БОЛЬШОВ*

## **СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ГЕМОСТАТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОНО- И АМИНОКАРБОКСИЛЦЕЛЛЮЛОЗ**

Водорастворимые лекарственные препараты на основе целлюлозы, окисленной оксидом азота (IV), — монокарбоксилцеллюлозы (МКЦ) — являются универсальными гемостатиками [1], одинаково эффективными при нормальном и патологическом состоянии свертывающей системы крови [2], что предопределило их успешное использование для остановки кровотечений во время операций на различных органах и тканях. Физико-химические и биологические свойства МКЦ, кроме того, позволяют использовать ее для создания полимерлекарственных комплексов с пролонгированным гемостатическим, антимикробным, антигипертензивным, гипотензивным или обезболивающим действием [3, 4]. Этерификацией целлюлозы диэтилэпоксипропиламином с последующим окислением оксидом азота (IV) получена аминокарбоксилцеллюлоза (АКЦ) — амфолит, способный связывать лекарственные средства как основного, так и кислотного характера [5]. Универсальность этого носителя делает его перспективным для создания широкого круга фармакологических препаратов пролонгированного действия.

С целью выяснения возможности использования АКЦ в составе местных гемостатиков изучены ее гемостатические свойства и сопоставлены с кровоостанавливающим действием МКЦ.

### **Экспериментальная часть**

МКЦ с различным содержанием карбоксильных групп готовили окислением целлюлозы в виде трикотажного полотна 20—40 %-ными растворами оксида азота (IV) в четыреххлористом углероде в течение 24 ч при температуре 19—21 °С. Для получения АКЦ целлюлозу предварительно активировали водными растворами гидроксида натрия и этерифицировали диэтилэпоксипропиламином (ДЭЭПА) в течение 6 ч при 70 °С. Варьирование содержания аминок групп в получаемой таким образом диэтиламиноэпоксипропилцеллюлозе (ДЭАОПЦ) осуществляли изменением концентрации NaOH в активизирующем растворе. Последующее окисление ДЭАОПЦ 40 %-ным раствором оксида азота (IV) в четыреххлористом углероде при тех же условиях, что и при получении МКЦ, приводило к

Функциональный состав образцов МКЦ и АКЦ

Образец	Содержание групп, мг-экв/г	
	карбоксильных	аминных
МКЦ	2,0	—
МКЦ	3,3	—
МКЦ	4,2	—
АКЦ	1,5	1,5
АКЦ	2,5	0,7

образованию целлюлозного амфолита — АКЦ, — содержащего два типа функциональных групп. Соотношение amino- и карбоксильных групп в АКЦ при этом зависело от степени ее этерификации ДЭЭПА. (Характеристики исследованных препаратов МКЦ и АКЦ приведены в таблице.)

Для перевода МКЦ и АКЦ в Na-форму их растворяли в водных растворах гидроксида натрия, количество которого ( $P$ , г) рассчитывали по формуле:  $P = OE \cdot g \cdot 40/1000$ , где  $OE$  — содержание карбоксильных групп в МКЦ и АКЦ, мг-экв/г;  $g$  — количество

целлюлозного образца, г, с последующим доведением pH раствора до 7,1—7,4. Раствор Na-формы АКЦ получали аналогично.

Полноту перевода карбоксильных групп МКЦ и АКЦ в Na-форму контролировали ИК спектроскопически, для чего Na-МКЦ и Na-АКЦ высаждали из раствора ацетоном. На ИК спектрах полученной таким путем Na-МКЦ практически полностью исчезала полоса поглощения  $1730 \text{ см}^{-1}$  симметричных валентных колебаний карбоксильной группы и значительно увеличивалась интенсивность полос поглощения  $1610$  и  $1430 \text{ см}^{-1}$  симметричного и асимметричного валентных колебаний кар-

боксилат-иона  $\left[ \text{C} \begin{array}{l} \text{=O} \\ \text{=O} \end{array} \right]^-$ , что свидетельствовало о практически полном

переходе COOH-групп в натриевую форму. Интерпретация ИК спектров Na-АКЦ была более сложной, что обусловлено участием карбоксильных групп АКЦ во внутреннем солеобразовании. Однако изменение интенсивностей указанных полос поглощения также свидетельствует об образовании Na-АКЦ.

Медико-биологический эксперимент осуществлен на 164 рандомбредных белых крысах массой 220—240 г и 36 морских свинках массой 430—450 г, которых содержали на обычном рационе вивария. Гемостатическую способность салфеток из МКЦ и АКЦ изучали в условиях кровотечения различной силы и локализации, которые моделировали на наркотизированных гексеналом (60—80 мг/кг, внутривенно) животных. Моделью поверхностного наружного (капиллярного) кровотечения служила нанесенная острым скальпелем линейная рана кожи и подкожной клетчатки межлопаточной области (1,5—2,0 см). Исследование гемостаза при глубоком наружном кровотечении с кровозлиянием из артериюл и венул осуществляли при ампутации части хвоста белых крыс (строго 0,5 см), а кровоостанавливающую активность АКЦ и МКЦ в условиях паренхиматозного кровотечения изучали на модели печеночного кровотечения при гепатотомии (площадь геморрагической поверхности 50—70 мм<sup>2</sup>). В рану вводили салфетки из экспериментальных модификаций окисленной целлюлозы и визуально определяли скорость наступления гемостаза. В каждой серии модельных опытов использовано по 7—12 животных. Для уточнения сравнительных гемостатических характеристик МКЦ и АКЦ изучена кровоостанавливающая активность растворов их натриевых солей на модели печеночного кровотечения [6]. При этом на раневую поверхность (40—50 мм<sup>2</sup>) печени крыс наносили растворы исследуемых препаратов в объеме 0,1—0,2 мл. Контролем служил 0,85 %-ный раствор NaCl. Скорость остановки кровотечения контролировали накладыванием каждые 2—3 с кусочков фильтровальной бумаги. Момент остановки кровотечения считали время (с) начала формирования на раневой поверхности кровяного сгустка, прилипающего к фильтровальной бумаге, с небольшим количеством или полным отсутствием жидкой

крови. Рассчитывали условные гемостатические единицы (ГЕ) растворов (отношение времени наступления гемостаза в контроле к времени наступления гемостаза в опыте). Результаты экспериментов обработаны статистически [7].

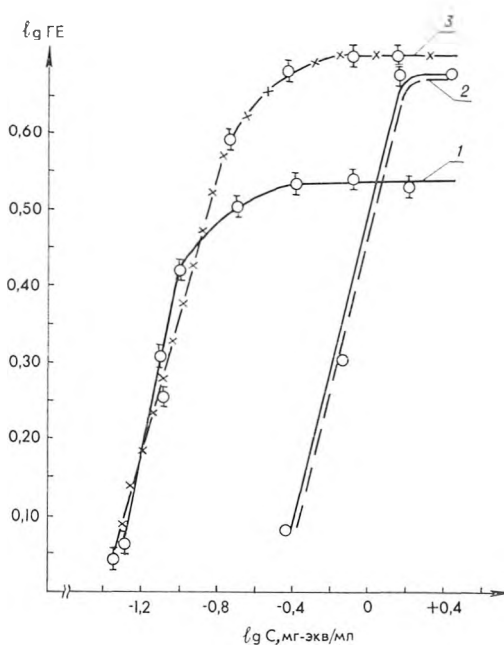
### Результаты и их обсуждение

МКЦ обладает выраженными гемостатическими свойствами при поверхностных (капиллярных), глубоких наружных и паренхиматозных кровотечениях. Салфетки из МКЦ, содержащие более 9 масс. % (2,0 мг-экв/г)  $\text{COOH}$ -групп, купируют модельное кровотечение в течение 1,5—2,0 мин. При этом МКЦ в местах контакта с кровью приобретает темно-коричневый цвет, разволакивается и покрывает геморрагическую поверхность темной пленкой, которая препятствует развитию повторных кровотечений.

Салфетки АКЦ с содержанием амино- и  $\text{COOH}$ -групп 1,5 мг-экв/г практически не способны осуществлять гемостаз при кровотечениях из капилляров, хвостовых венул и артериол. В течение 4 ч нахождения в ране эти образцы АКЦ не изменяют свой цвет и фактуру, однако в условиях паренхиматозного кровотечения в местах соприкосновения с кровью незначительно темнеют и, слегка разволакиваясь, покрывают кровоточащую поверхность темной пленкой, что способствует достаточно быстрому (в течение 5—7 мин) образованию тромба. Имплантация на раневую поверхность салфеток АКЦ с содержанием амино- и карбоксильных групп 0,7 и 2,5 мг-экв/г соответственно приводит к интенсивному потемнению их в местах контакта с изливающейся кровью. В условиях капиллярного, паренхиматозного и глубокого поверхностного кровотечений гемостаз наступает в течение 1,0—2,0 мин, при этом не наблюдается просачивания жидкой крови через АКЦ, а на раневой поверхности образуется пленка черного цвета, препятствующая развитию повторных кровотечений.

Таким образом, гемостатическое действие АКЦ зависит от содержания в ней карбоксильных групп, причем АКЦ, содержащая более 9 масс. % (2,0 мг-экв/г)  $\text{COOH}$ -групп, при кровотечениях различной силы и локализации характеризуется выраженным гемостатическим действием, сопоставимым с кровоостанавливающей активностью МКЦ.

Экспериментально установлено, что изученные модификации целлюлозы обладают гемостатической активностью не только в виде салфеток, но и в виде коллоидных растворов их натриевых солей. При этом наблюдается строгая корреляция между гемостатическим действием  $\text{Na-MKЦ}$  и  $\text{Na-AKЦ}$  и количеством в их растворах карбоксильных групп. (Содержание карбоксильных групп в растворах  $\text{Na-MKЦ}$  и  $\text{Na-AKЦ}$  рассчитывалось по величине их обменной емкости). Так, статистически достоверное проявление гемостатической активности раствора  $\text{Na-MKЦ}$  происходит при содержании в нем  $\text{COOH}$ -групп 0,075 мг-экв/г (продолжительность кровотечения у контрольных крыс  $289,3 \pm 18,5$ , опытных —  $142,5 \pm$



Зависимость гемостатической активности растворов  $\text{Na-MKЦ}$  (1),  $\text{Na-AKЦ}$  (2) и  $\text{Ca-AKЦ}$  (3) от содержания в них карбоксильных групп

$\pm 12,7$  с,  $p \geq 0,001$ ), а растворов Na-АКЦ — 0,7 мг-экв/мл (контроль  $201,7 \pm 29,9$ , опыт —  $101,5 \pm 24,0$  с,  $p \geq 0,05$ ), т. е. в условиях эксперимента гемостатическое действие растворов Na-МКЦ более чем в девять раз превышает кровоостанавливающую активность растворов Na-АКЦ.

Следует отметить, что растворы Na-МКЦ с содержанием COOH-групп 0,05—0,1 и Na-АКЦ — от 0,35 до 1,4 мг-экв/мл обладают гемостатической активностью, пропорционально усиливающейся с ростом количества карбоксильных групп. Данная зависимость при линеаризации в логарифмических координатах имеет линейную форму, анализ которой указывает на принципиальное сходство в механизмах развития гемостатического эффекта МКЦ и АКЦ (см. рисунок). Дальнейшее повышение содержания COOH-групп в растворах Na-МКЦ и Na-АКЦ приводит к стабилизации гемостатического эффекта, т. е. существует определенный предел активности. Причем сила гемостатического действия Na-АКЦ в условиях стабилизированной активности превосходит аналогичный эффект Na-МКЦ.

Экспериментально установленная зависимость проявления силы гемостаза от содержания карбоксильных групп в салфетках или растворах АКЦ позволяет предполагать, что в основе механизмов гемостатического действия этого амфолита лежат ионообменные реакции COOH-групп с факторами, регулирующими процессы свертывания крови, в первую очередь с ионами кальция. Раствор кальциевой соли АКЦ (Ca-АКЦ) уже с содержанием 0,088 мг-экв/мл COOH-групп обладает выраженной способностью купировать модельное паренхиматозное кровотечение у белых крыс (время остановки кровотечения в контроле  $201,7 \pm 29,9$ , в опыте —  $112,2 \pm 13,8$  с,  $p \geq 0,05$ ). Линеаризованная зависимость проявления силы гемостатического действия раствора Ca-АКЦ от содержания карбоксильных групп принципиально не отличается от конфигурации такой зависимости для растворов Na-МКЦ и Na-АКЦ. При этом гемостатическая способность Ca-АКЦ резко превышает аналогичный эффект Na-АКЦ и близка по активности Na-МКЦ.

Таким образом, АКЦ обладает зависимым от количества COOH-групп гемостатическим действием, менее выраженным, чем кровоостанавливающая активность МКЦ. Различие в гемостатических эффектах АКЦ и МКЦ можно нивелировать включением в состав амфолита ионов кальция.

### Список литературы

1. Даурова Т. Т., Андреев С. Д., Кассин В. Ю. // Клиническая хирургия. 1981. № 1. С. 5.
2. Кукель А. С., Соронова Г. З. // Проблемы гематологии. 1959. № 4. С. 53.
3. Талапин В. И., Алиновская В. А., Кондратенко Г. Г., Шебеко Л. В., Стельмах В. А., Лукашевич Н. А. // Синтетические полимеры медицинского назначения: Тез. докл. VII Всесоюз. симпозиума. Минск, 1985. С. 93.
4. Патент Великобритании № 2125699, 1986.
5. Голуб Н. В., Юркштович Т. Л., Капуцкий Ф. Н. // Коллоид. журн. 1986. № 5. С. 1009.
6. Голуб Н. В., Юркштович Т. Л., Капуцкий Ф. Н. // Журн. приклад. хим. 1988. № 6. С. 1338.
7. Гацура В. В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. М., 1974. С. 145.
8. Беленький М. Н. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта. Рига, 1959. С. 115.