

**БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ, ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ, ЎСИМЛИК МОДДАЛАРИ КИМЁСИ ИНСТИТУТИ
ҲУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSC.27.06.2017.К/В/Т.37.01 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

БИООРГАНИК КИМЁ ИНСТИТУТИ

РАДЖАБОВ ОТАБЕК ИСКАНДАРОВИЧ

**ТАБИИЙ КОЛЛАГЕН ОЛИШ ТЕХНОЛОГИЯСИНИ ИШЛАБ ЧИҚИШ
ВА УНИНГ АСОСИДА ГЕМОСТАТИК БУЮМЛАР ЯРАТИШ**

02.00.10– Биоорганик кимё

диссертация ҳимоясиз ихтиро патенти асосида
фалсафа доктори (PhD) илмий даражасини бериш бўйича

ТАҚДИМНОМА

Тошкент – 2018

Фалсафа фанлари доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси ҳузуридаги Олий Аттестация комиссиясида В2017.1. PhD/К20 рақами билан рўйхатга олинган.

Иш Биоорганик кимё институтида бажарилган

Илмий маслахатчи: **Тўраев Аббосхон Сабирханович**
кимё фанлари доктори, профессор, академик

Тақдимнома Биоорганик кимё институти, Ўзбекистон Миллий университети, Ўсимлик моддалари кимёси институти ҳузуридаги DSc.27.06.2017.К/В/Т.37.01 рақамли илмий кенгашнинг 2018 йил «__» _____ соат __⁰⁰ даги мажлисида бўлиб ўтади. (манзил: 100125, Тошкент ш., Мирзо Улуғбек кўч., 83. Тел.: 262-35-40, факс: (99871) 262-70-63, e-mail: bahrom-nur@rambler.ru, Биоорганик кимё институти, 4-қават, мажлислар зали)

Ш.И.Салихов

Илмий даражалар берувчи
илмий кенгаш раиси, б.ф.д., академик

Б.Н.Бабаев

Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш
илмий котиби, к.ф.д.

КИРИШ (тақдимнома аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва зарурияти. Синтетик полимерлар синтезининг жадал ривожланиши, ушбу полимерлардан турли хил маҳсулотлар тайёрлашнинг қулайлиги ва арзонлиги кейинги ярим аср давомида улардан тиббиётда кенг қўллаш имконини берди. Лекин, олиб борилган илмий тадқиқотлар шуни исботладик, организмга киритилган синтетик моддалар қанчалик инерт бўлмасин, барибир унинг салбий таъсири табиий ёки сунъий моддаларникидан кўра жуда юқори бўлади. Шунинг учун амалий тиббиётда табиий бирикмалар асосида яратилган дори воситаларига бўлган талаб тобора ортиб бормоқда. Бунинг асосий сабаби, табиий дори воситаларининг кам захарлилиги, биомосланувчанлиги, сўрилувчанлиги ва жароҳат битказувчи хусусиятларидир.

Ҳозирги вақтда жаҳон амалий тиббиётида тери ва юмшоқ тўқималарнинг касалликларини даволашда, камёблигини тўлдиришда, қон тўхтатувчи, жароҳат битказувчи восита сифатида самарали ишлатилиб келинаётган дори воситаси ва материалларининг асосини ташкил этувчи моддалардан бири – коллаген ҳисобланади.

Сўнгги йилларда кўпгина илмий изланишлар тери чиқиндиси хомашёсидан коллаген ажратиш олиш ва унинг асосида дори воситалари яратишга қаратилган. Тери саноати чиқиндиларини қайта ишлаш ва улардан оқилона фойдаланиш бугунги кундаги муҳим муаммолардан бири бўлиб қолмоқда. Чунки, табиий тери хомашёсини ишлаб чиқариш жараёнида таркибида 50% гача оксил моддалари тутувчи чиқиндилар ҳосил бўлади. Республикамизда бу турдаги органик чиқиндиларнинг кўп қисмидан фойдаланилмаганлиги боис чиқинди сифатида ташлаб юборилмоқда. Бу ўз навбатида моддий зарар билан бир қаторда, атроф-муҳит экологиясига ҳам салбий таъсир кўрсатмоқда. Шу билан бирга, тери чиқиндилари табиий органик моддаларга бой хомашё ҳисобланиб, ундан кўплаб коллаген тутувчи дори воситаларини олишда фойдаланиш мумкин. Хорижий давлатларда қорамол териси чиқиндисидан Тромбокол, Тахокомб, Метуракол ва Комбутек каби коллаген асосидаги гемостатик воситалар ишлаб чиқарилмоқда.

Бироқ, Республикамизда маҳаллий хомашёлар асосида коллаген дори воситаларини олиш технологиялари мавжуд эмас. Чет эл технологиялари асосида ишлаб чиқарилган коллаген препаратларининг нархи эса анча қиммат.

Шунинг учун коллаген асосида юқори самарадорликка эга янги маҳаллий дори воситаларини яратиш ва уларни амалий тиббиётда қўллаш бугунги кундаги асосий долзарб муаммолардан бири саналади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «2017-2021 йилларда Ўзбекистон Республикасини ривожлантиришнинг бешта устувор йўналиши бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони, 2017 йил 7 ноябрдаги ПФ-5229-сон «Фармацевтика тармоғини бошқариш тизимини тубдан такомиллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида» ги Фармони, 2018 йил 23 январдаги ПҚ-3489-сон «Дори воситалари ва тиббиёт буюмлари ишлаб чиқариш ҳамда олиб киришни янада тартибга

солиш чора-тадбирлари тўғрисида» ги Қарори ҳамда мазкур фаолиятга тегишли бошқа меъёрий-ҳуқуқий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишга ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

Муаммони ўрганилганлик даражаси.

Жаҳон амалиётида Германия, Австрия, Дания, Россия каби мамлкатларда тери хомашёсидан коллаген ажратиб олиш технологияси ва унинг асосида дори воситаларини яратиш бўйича етарлича тажриба тўпланган.

Коллаген тиббиёт ва фармацевтика соҳалари учун янги дори воситаларини олиш технологиясидаги кимёвий реагент ва энергия ресурслари сарфини камайтириш, терапевтик самарадорлик кўрсаткичларини яхшилаш учун кенг қўламда қўлланилмоқда.

Коллаген асосидаги дори воситаларини тиббиётда қўллаш ва ишлаб чиқариш технологиясининг назарий асослари, коллагеннинг терапевтик хилма хиллиги назарияси ва информацион технологиялардан фойдаланишга асосланган қатор илмий ишлар юқори технологик маҳсулотлар ишлаб чиқаришга замонавий ёндашув ҳақида етарли даражада аниқ тасаввурни шакллантириш имконини бермоқда.

Коллаген субстанцияси ва унинг асосида дори воситаларини олиш технологияси соҳасида жаҳондаги йирик олимлар, жумладан Л.В.Антипова, Р.К.Абоянц, Л.П.Истранов, В.А.Макаров, С.А.Батечко, А.М.Ледзевиров, И.А.Глотова, И.А.Рогов, И.В.Иоффе, И.П.Михайлова, С.Н.Усачев, А.Н.Коновалов, J.Y.Lee, Т.К.Fujii, Н.S.Sturim ва бошқа олимлар илмий тадқиқот ишлари олиб боришган.

Юртимизда коллаген олиш технологияси ва уни қўллаш бўйича қуйидаги олимлар: Т.Гулямов, А.Ю.Атаджанов, Д.Н.Далимов, Б.А.Мавлонов, А.Ю.Яркулов, Б.С.Умаров ва Х.И.Акбаровлар илмий тадқиқотлар олиб боришган ва ижобий натижаларга эришган. Бироқ маҳаллий хомашёлардан тиббиётда қўллаш учун коллаген субстанциясини олиш технологияси ва унинг асосида қон тўхтатувчи, жароҳат битказувчи гемостатик қоплама яратиш бўйича илмий тадқиқот ишлари олиб борилмаган.

Коллаген асосидаги қон тўхтатувчи ва жароҳат битказувчи маҳаллий гемостатик қоплама ишлаб чиқариш, Республика даволаш-профилактика муассасаларини маҳаллий гемостатик қопламалар билан таъминлаш ва импорт қилинаётган дори воситалари ўрнини қоплаш долзарб масалалардан бири ҳисобланади.

Диссертация мавзусининг диссертация бажарилаётган муассаса илмий-тадқиқот ишлари режалари билан боғлиқлиги.

Тадқиқот иши А11-Т095 «Коллаген асосида «Биоплант» – инъекцион препарати ва «Гемогубка» гемостатик қопламасини яратиш» (2012-2014 йй.), ФА-И11-Т010 «Коллаген асосида «Гемогубка» гемостатик жароҳат қопламаси ишлаб чиқаришни ташкил этиш» (2015-2016 йй.) мавзусидаги амалий ва инновацион лойиҳалар доирасида бажарилган.

Тадқиқот мақсади: қорамол терисидан табиий структурасини сақлаган коллаген оксилени ажратиб олиш ва унинг асосида капилляр ҳамда

паренхиматоз қон кетишда самарали қон тўхтатувчи, жароҳат битказувчи гемостатик қоплама яратишдан иборат.

Тадқиқот вазифалари:

қорамол терисидан ишқорий-тузли гидролизлаш усулида уч спиралли структурага эга коллаген ажратиб олиш ва унинг физик-кимёвий кўрсаткичларини аниқлаш;

ажратиб олинган коллагеннинг фармако-токсикологик хусусиятларини ўрганиш;

уч спиралли структурага эга коллаген субстанциясини олиш технологиясини ишлаб чиқиш;

коллаген субстанцияси асосида «Гемогубка» гемостатик қопламасини олиш ва унинг физик-кимёвий кўрсаткичларини аниқлаш;

«Гемогубка» гемостатик қопламасининг фармако-токсикологик хусусиятлари ва специфик фаоллигини ўрганиш;

коллаген субстанцияси асосида «Гемогубка» гемостатик қопламасини олиш технологиясини ишлаб чиқиш;

«Гемогубка» гемостатик қопламасининг меъёрий техник хужжатларини (МТХ) тайёрлаш, клиник синовлардан ўтказишга рухсат олиш учун ЎзР ССВ Дори воситалари ва тиббий техника сифатини назорат қилиш бош бошқармасига топшириш ва клиник синовларни ўтказиш;

«Гемогубка» гемостатик қопламасини амалий тиббиётда қўллаш учун рухсат олиш.

Тадқиқотнинг объекти сифатида қорамол териси, коллаген, молекуляр масса, ковушқоқлик, термик барқарорлик ва формальдегид боғловчи модда танланган.

Тадқиқотнинг предметини қорамол терисидан ишқорий-тузли гидролизлаш усулида коллаген олиш технологияси, гемостатик қоплама олиш технологияси ва уларнинг физик-кимёвий, фармакологик хоссаларини тадқиқ этиш ташкил қилади.

Тадқиқот усуллари. Коллагеннинг физик - кимёвий, структуравий тузилиши ва хоссалари замонавий усуллар дифференциал термик, электрофорез ва гель хроматография таҳлиллар асосида амалга оширилган.

Тадқиқот жараёнида амалий жараёнларни статик ва динамик моделлаштириш, тўлиқ факторли экспериментлар, кузатиш, ўлчаш, солиштириш, баҳолаш ва мақсадли электрон дастурлар воситасида оптималлаштириш усуллари қўлланган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги:

қорамол терисидан табиий уч спиралли структурасини сақлаган коллаген субстанциясини олиш технологияси яратилган (№ИАР 04736-2013 й.);

коллаген субстанциясини олишда технологик жараёнга таъсир этувчи омиллар асосида оптимал технологик шароитлар яратилган (№ИАР 04736-2013 й.);

коллаген субстанцияси асосида «Гемогубка» гемостатик қопламасини олиш технологияси яратилган (№ИАР 05125-2015 й.);

«Гемогубка» гемостатик қопламасинининг ғоваклилик даражаси 84% гача, суюқликни ютиш хусусияти эса 5500% гача ошишига эришилган (№IAP 05125-2015 й.);

«Гемогубка» гемостатик қопламасини тиббиётда қўллаш йўриқномаси ишлаб чиқилган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги. Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги уларнинг мавжуд ва амал қилаётган фундаментал назарияга мантқан мувофиқ келиши, ҳисоб-китобларда стандартлаштирилган усул ва воситалардан фойдаланилганлиги, олинган натижаларни реал иқтисодий самара билан ишлаб чиқаришга жорий қилиниши билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.

Тадқиқот натижаларининг илмий моҳияти шундан иборатки, тадқиқотда қорамол терисидан табиий хусусиятини йўқотмаган коллаген субстанцияси яратилганлиги ва унинг асосида «Гемогубка» гемостатик қопламасини олиш технологияси ишлаб чиқилганлиги; гидролизлаш жараёнининг босқичлари, шароити, гидролизловчи ва буферловчи реагентларнинг таркиби ва нисбати коллаген структурасига ҳамда унумига таъсири; коллаген субстанцияси асосида олинган «Гемогубка» гемостатик қопламасининг суюқликни ютиш даражаси ва ғоваклилиги формальдегид билан тикилиш миқдорида боғлиқлиги ўрганилганлиги билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти шундан иборатки, маҳаллий хомашёлардан фойдаланиб коллаген субстанцияси ва унинг асосида гемостатик қоплама яратилган. Маҳаллий гемостатик қопламанинг специфик фаоллигига қараб амалий тиббиёт соҳаларида қўллаш, коллаген субстанцияси ва гемостатик қоплама олиш технологиясини саноат миқёсида ишлаб чиқилган.

Тадқиқот натижаларининг жорий қилиниши: қорамол терисидан табиий хусусиятини сақлаган коллаген ажратиб олиш ва унинг асосида гемостатик қоплама яратиш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

қорамол терисидан ажратиб олинган табиий уч спиралли структурага эга коллаген субстанцияси асосида яратилган «Гемогубка» гемостатик қопламасига техник шарт «Ўзстандарт» агентлиги томонидан тасдиқланган (Ts 25193402-02:2017). Натижада маҳсулот сифати ва технологик жараёнларни назорат қилиш имконини берган;

«Гемогубка» гемостатик қопламаси клиник синовлардан ўтказилиб, «Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартлаштириш давлат маркази» Давлат унитар корхонаси томонидан рўйхатдан ўтказилган («Дори воситалари, тиббий буюмлар ва тиббий техника экспертизаси ва стандартлаштириш давлат маркази» Давлат унитар корхонасининг 2018 йил 13 апрелдаги 29/09-1356–сон маълумотномаси). Натижада янги маҳаллий дори воситаси ишлаб чиқариш имконини берган;

«Гемогубка» гемостатик қопламасини ишлаб чиқариш «TURON SILK PARM» МЧЖ корхонасида жорий этилган («TURON SILK PARM» МЧЖ корхонасининг 2018 йил 24 апрелдаги 24-сон маълумотномаси). Натижада маҳаллий дори воситасини амалий тиббиётда қўллаш имконини берган;

«Гемогубка» гемостатик қопламаси йилига 19351 ўрам ишлаб чиқарилса, Республика даволаш-профилактика муассасаларининг йиллик эҳтиёжи тўлиқ таъминланади (Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлиги ҳузуридаги Фармацевтика тармоғини ривожлантириш агентлигининг 2018 йил 3 майдаги 25-06/662-сон маълумотномаси). Натижада импорт қилинаётган гемостатик қопламалар ўрнини тўлиқ қоплаш имконини беради.

Тадқиқот натижаларининг апробацияси. Мазкур тадқиқот натижалари 11 та илмий- амалий анжуманлар, шу жумладан 3 та халқаро анжуманларда, хусусан «Актуальные проблемы развития биоорганической химии» (Ташкент 2010 г.); «Symposium on the Chemistry of Natural Compounds» (Urumqi 2011 у.); «Современные актуальные проблемы естественных наук» (Актобе 2014 г.) апробациядан ўтказилган.

Натижаларнинг эълон қилинганлиги. Тадқиқотнинг асосий мазмуни бўйича 18 та илмий иш чоп этилган, шулардан 4 таси журналларда чоп этилган мақола, 2 та патент олинган.

ТАДҚИҚОТНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Ўзбекистон республикасининг «Коллаген субстанциясини олиш усули» (№IAP 04736, 2013 й.) ва «Коллаген қопламали ғовак материални олиш усули» (№IAP 05125, 2015 й.) ихтиро патентлари.

Фойдаланиш соҳаси: тиббиёт ва фармацевтика саноатида.

Вазифаси: коллаген субстанцияси ва унинг асосида қон тўхтатувчи ҳамда жароҳат битказувчи гемостатик қоплама олишнинг арзон ва самарали усуллари яратиш.

Ихтиро моҳияти: Ихтиро маҳаллий хомашёлардан фойдаланиш учун қулай коллаген субстанцияси ва унинг асосида самарали қон тўхтатиш хусусиятига эга гемостатик қоплама олиш технологиясига оид. Коллаген субстанцияси ва гемостатик қоплама олишнинг ресурстежамкор технологияси ишлаб чиқилган.

Гемостатик қопламанинг ғоваклилик даражасининг ортиши юқори суюқлик ютишга имкон беради. Шунингдек қопламанинг организмга тез сўрилиши ҳисобига жароҳатланган тўқиманинг қайта тикланишига, яъни жароҳатнинг тез битишига олиб келади.

Жаҳон бозоридаги таниқли хориж фирмалари Nycomed Austria GmbH (Австрия), Белкозин (Россия), Resorba (Германия), Ferrosan Medical Devices A/S (Дания) ишлаб чиқараётган коллагенли қиммат гемостатик қопламалар ўрнини босади.

Янги маҳаллий гемостатик қопламанинг мавжуд Германия, Россия давлатлардаги қопламалардан афзалликлари куйидагилардан иборат:

- маҳаллий хомашёдан коллаген субстанцияси ва гемостатик қоплама олишнинг янги, арзон ва самарали технологияси ишлаб чиқилган;
- қопламада нейтрал, табиий структурасини сақлаб қолган ва қўшимчалардан тозаланган коллаген ишлатилган;

- қоплама тўқиманинг тикланиши учун асос бўлиб хизмат қилишига йўналтирилган бўлиб, организмнинг хусусий коллагени ҳосил бўлишини фаоллаштиради.

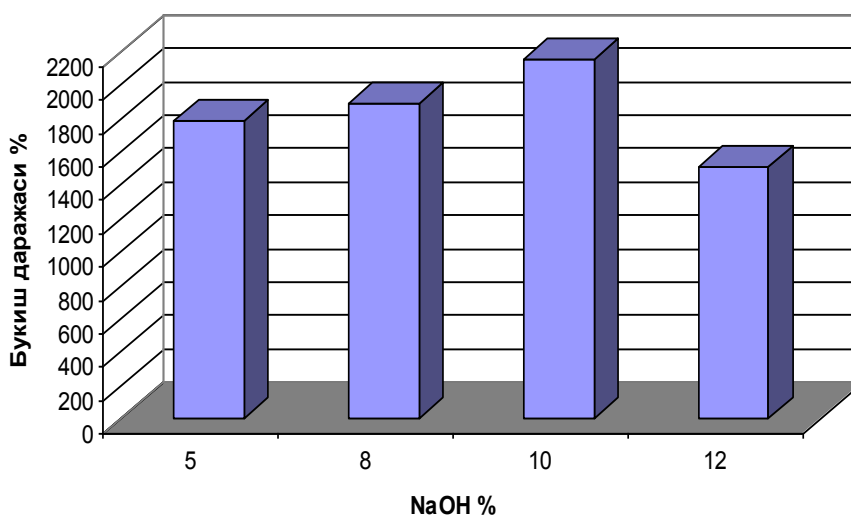
Таклиф этилган коллаген субстанцияси ва гемостатик қопламанинг физик-кимёвий хоссалари дифференциал термик, электрофорез, гель хроматография ва вискозиметрия усуллари қўллаш билан ўрганилган ва илмий асосланган.

1-жадвал

Қорамол терисини ишқорий-тузли гидролизлаш ва буферли экстракциялашдаги коллаген унуми

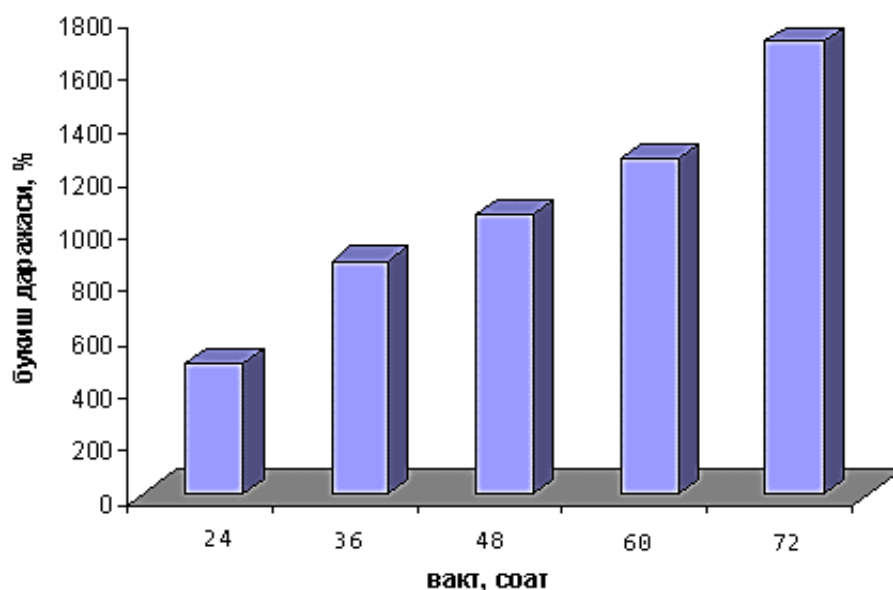
Тажриба №	Гидролиз шароити		Дастлабки хом ашёдаги курук қолдиқ массаси, г	Унум					
	концентрация			I ювишдан кейин, г		II ювишдан кейин, г		III ювишдан кейин, г	
	NaOH, %	Na ₂ SO ₄ , г/л		г	%	г	%	г	%
1	5	80	15,33	12,4	80,9	7,2	47	6,6	43,1
2	8	80	12,9	11,7	90,7	6,3	48,8	5,0	38,7
3	10	80	14,13	13,5	95,5	4,8	34,0	4,3	30,5
4	12	80	18,6	18,1	97,3	8,4	45,2	4,7	25,2
5	10	50	16,3	14,8	90,8	7,9	48,5	7,3	44,8
6	10	100	17,7	15,2	85,9	9,4	53,1	7,4	41,8
7	10	120	18,5	17,4	94,1	9,1	49,2	7,5	40,5

1-жадвалда қорамол терисини ишқорий-тузли гидролизлаш ва буферли экстракциялашнинг коллаген унуми таъсири кўрсатиб ўтилган. Бунда энг мақбул гидролиз шароити сифатида 10% NaOH эритмасида эриган Na₂SO₄ 80г/л эритмаси олинган.



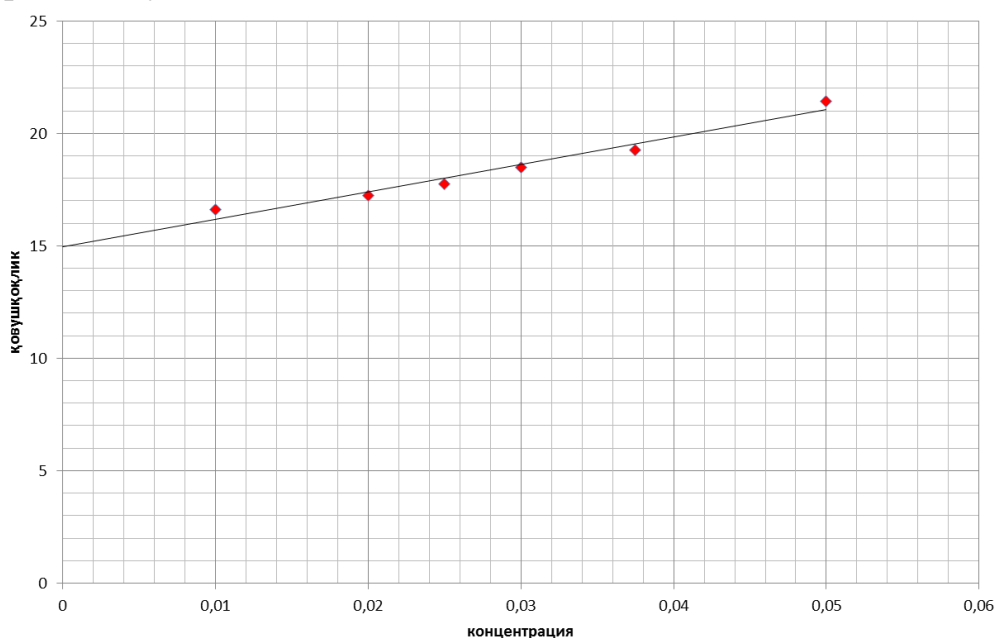
1-расм. Коллаген бўқиш даражасининг NaOH концентрациясига (%) боғлиқлиги

1-расмда коллаген бўқиш даражасининг NaOH концентрациясига (%) боғлиқлиги келтирилган бўлиб, унда юқори бўқиш даражаси 10% ли NaOH эритмаси билан гидролизлашда кузатилган.



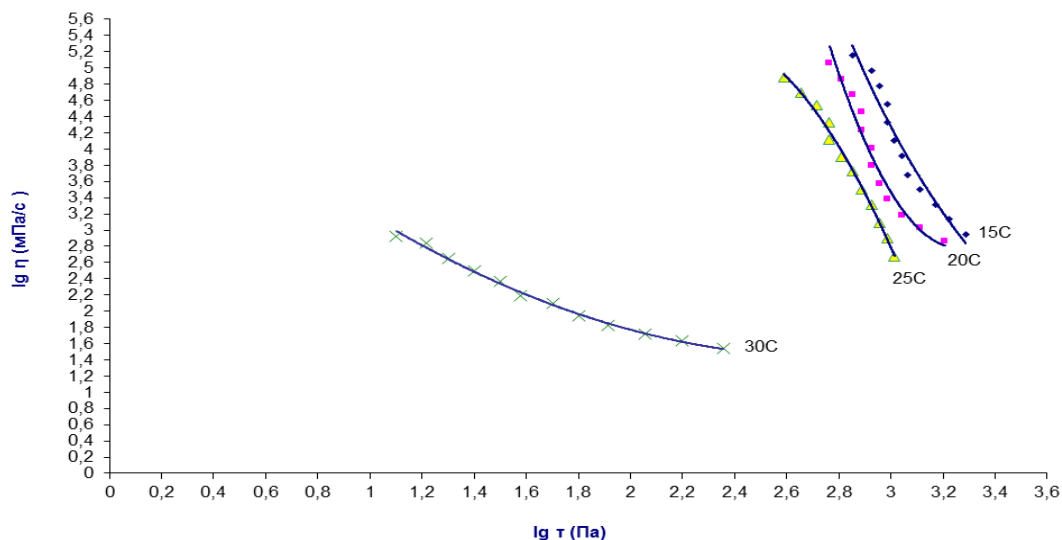
2-расм. Коллаген бўқиш даражасининг гидролиз вақтига боғлиқлиги

2-расмда коллаген бўқиш даражасининг гидролиз вақтига боғлиқлиги келтирилган. 72 соат давомида гидролизлаш жараёни олиб борилганда юқори бўқиш даражаси кузатилган.



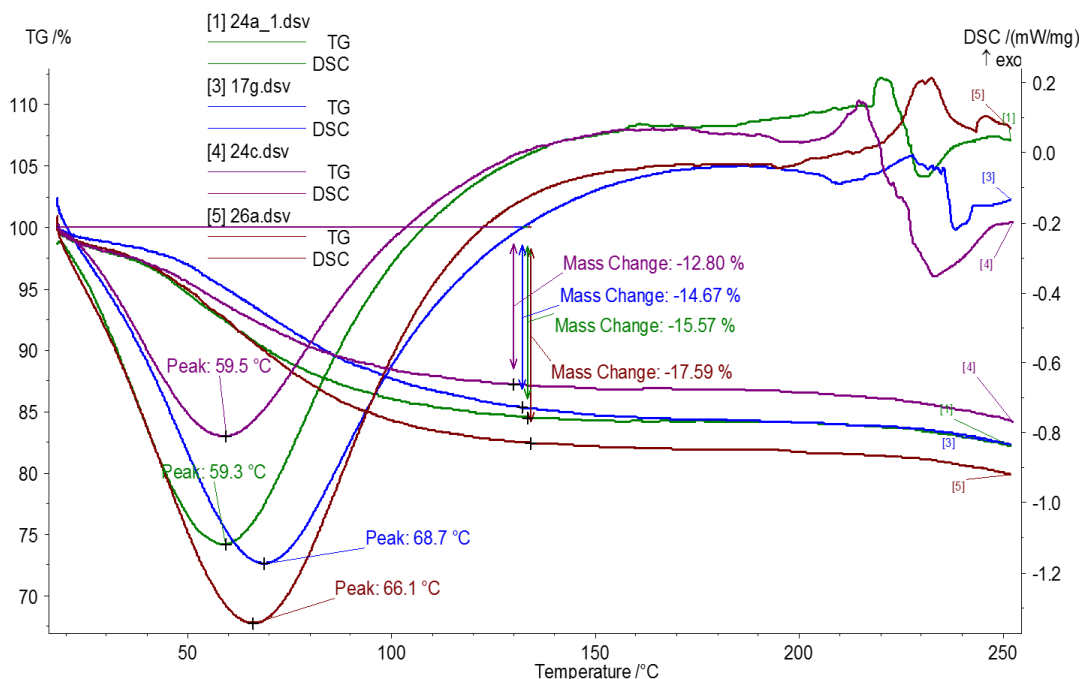
3-расм. Коллагеннинг 6% ли сирка кислота эритмасидаги характеристик қовушқоқлиги

3-расмда коллаген эритмасининг характерлик қовушқоқлиги келтирилган. Табиий уч спиралли структурага эга коллагеннинг характерлик қовушқоқлиги 11 дан паст бўлмаслиги керак.



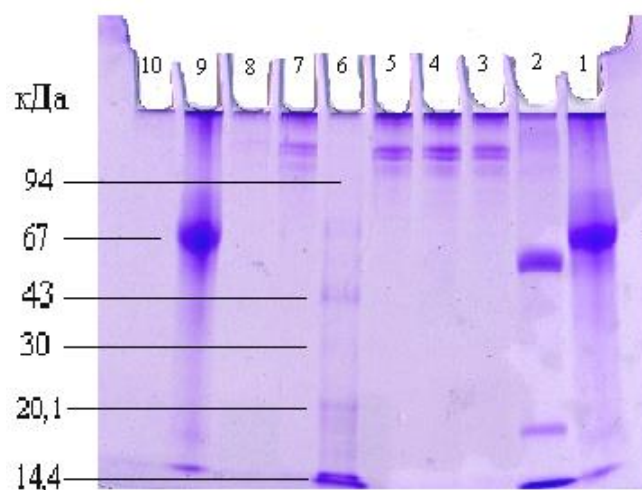
4-расм. Коллаген эритмаси реологик хусусиятининг ҳароратга боғлиқлиги

4-расмда коллаген эритмаси барқарорлигининг ҳароратга боғлиқлиги келтирилган. Ҳарорат ошган сари коллагеннинг табиий уч спиралли структура бузилади.



5-расм. Коллаген намуналарининг парчаланиш ҳарорати

5-расмда қуруқ ҳолдаги коллаген намуналарининг термик барқарорлиги келтирилган. Табиий уч спиралли структурага эга коллагеннинг парчаланиш ҳарорати 55 °C дан паст бўлмаслиги керак.



**6-расм. Коллаген намуналарининг полиакриламид гелидаги электрофорези:
3, 4, 5, 7, 8- коллаген намуналари; 6-St (94;67;43;30;20,1;14,4 кДа)**

Коллагеннинг молекуляр массаси 280-300 кДа га тенг. Электрофорез усулида эса уч баровар кичик массага эга эканлиги аниқланди. Бунинг сабаби, электрофорез жараёнида уч спиралли структура моно спирал ҳолатга ўтади.

2-жадвал

Коллаген субстанциясининг тавсифи

№	Кўрсаткичлар номи	Тавсифи
1	Ташқи кўриниши	Толасимон, ҳар хил ўлчамдаги аморф бўлак
2	Ранги	Оқ ёки оқ-сарғиш тусли
3	Ҳиди ва таъми	Ҳидсиз ва таъмсиз
4	Зичлиги , г/см ³	0,280-0,330
5	Сувдаги рН кўрсаткичи	6,5-7,2
6	Қуруқ қолдикдаги асосий модда миқдори, г, % да	98
7	6% ли сирка кислотадаги қовушқоқлиги	11 дан кам эмас
8	Қуруқ қолдик таркибидаги сув миқдори, г, % да	6-9
9	Сифат кўрсаткичи	Биурет реакцияси – бинафша рангга бўялиши
10	Молекуляр массаси	280-300 кДа.
11	Эрувчанлиги	Суюлтирилган органик ва минерал кислоталарда ҳамда ишқорда эрийди

2-жадвалда қорамол терисидан ишқорий-тузли гидролизлаш усули билан олинган коллаген субстанциясининг тавсифи келтирилган. Ушбу кўрсаткичлар коллаген субстанциясининг сифатини ва технологик жараёнларни назорат қилиш имконини беради.

Гемостатик қоплама олишдаги коллаген композициясининг таркиби

Тажриба №	Композиция таркиби						Кўрсаткичлар		
	Ҳажм мл	Коллаген г,%	Формальдегид		Кўпиртирувчи		Зичлиги, г/см ³	Ғоваклилик даражаси, %	Суюқлик ютиши, %
			Ҳажм мл	Коллагенга нисбатан г,%	Ҳажм мл	Умумий ҳажмга нисбатан, %			
1	38,0	1	4	12	6	16	0,041	80	5100
2	37,6	1,5	4	8	6	16	0,027	83	5500
3	37,8	2	4	6	6	16	0,026	87	5840
4	37,7	2,5	4	4,8	6	16	0,034	75	4500
5	38	1,5	4	8	4	10,5	0,030	81	5100
6	37,9	1,5	4	8	6	16	0,027	83	5540
7	38	1,5	4	8	8	21	0,036	78	4720
8	37,5	1,5	4	8	10	26	0,04	78	4680
9	37,6	1,5	1	2	6	16	0,038	80	5000
10	37,9	1,5	2	4	6	16	0,043	82	5200
11	37,5	1,5	4	8	6	16	0,026	83	5560
12	38	1,5	4	8	6	16	0,034	77	4600
13	38	1,5	4	8	6	16	0,031	75	4300
14	38	1,5	4	8	6	16	0,033	79	4500

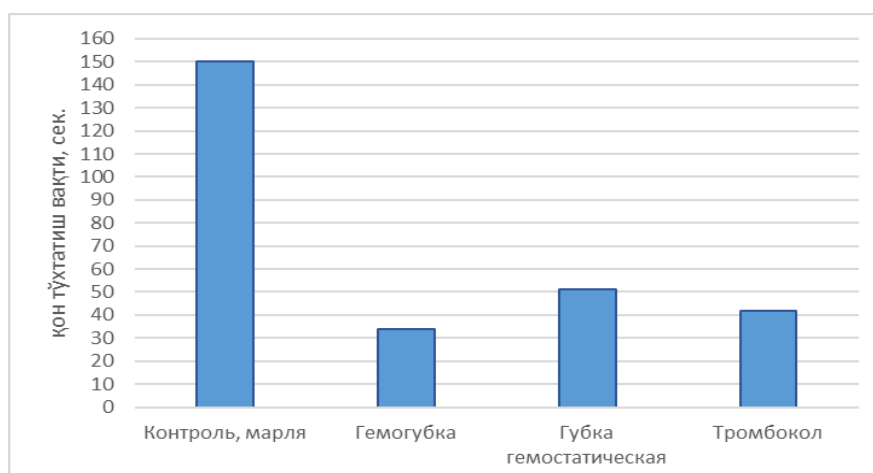
3-жадвалда гемостатик қоплама олишдаги коллаген композициясининг таркиби келтирилган. Энг мақбул композицион таркиб сифатида 2, 3, 6 ва 11 тажриба намуналари олинган. Бунда қопламанинг ғоваклилик даражаси ва суюқлик ютиш хусусияти юқорилигига эришилган.

«Гемогубка» гемостатик қопламасининг тавсифи

№	Кўрсаткичлар номи	Тавсифи
1	Намлик миқдори, % дан юқори эмас	10
2	рН кўрсаткичи	6,5-7,2
3	Сувда эрувчанлиги	Эримайди
4	Кўшимчалар миқдори, % дан юқори эмас: Хлоридлар (NaCl ҳисобига) ;	0,035
	Сулфатлар (Na ₂ SO ₄ ҳисобига) ;	0,02
	Оғир металллар	Йўқ
5	Солиштирма оғирлиги, г/см ³	0,028-0,034
6	Ғоваклилик даражаси, %	78-84
7	Суюқлик ютиш даражаси, %	5500-5800
8	Стериллиги	Стерилланган
9	Яроқлилик муддати, йил	5

4-жадвалда коллаген субстанцияси асосида олинган «Гемогубка» гемостатик қопламасининг тавсифи келтирилган. Ушбу кўрсаткичлар

«Гемогубка» гемостатик қопламасининг сифатини ва технологик жараёнларни назорат қилиш имконини беради.



7-расм. «Гемогубка» гемостатик қопламасининг қон тўхтатиш тезлиги

7-расмда «Гемогубка» гемостатик қопламасининг хорижда ишлаб чиқарилаётган аналог қопламалар билан солиштирилганда қон тўхтатиш тезлиги юқорилиги аниқланди.

5-жадвал

«Гемогубка» гемостатик қопламасининг сўрилиш тезлиги

Дори воситалари	Ҳайвон оғирлиги, г	Имплантиция даври, ҳафта/қоплама оғирлиги, мг						
		Дастлабки	1	2	3	4	5	6
«Гемогубка»	174±13,4	8,6±0,6	6,0±0,5	4,0±0,3	3,1±0,3	1,7±0,2		-
		100	70	47	36	19	0	0
«Губка гемостатическая» (Россия)	173±12,6	5,5±0,4	4,5±0,4	3,5±0,3	2,7±0,2	1,9±0,1	1,0±0,1	-
		100	82	63,5	49	34	18	0

5-жадвалда «Гемогубка» гемостатик қопламасининг организмга сўрилиш тезлиги хорижда ишлаб чиқарилаётган «Губка гемостатическая» (Россия) аналог қоплама билан солиштирилган. Қопламанинг организмга сўрилиши қанча тез бўлса, жароҳат битиши ҳам шунча тезлашади. Чунки организм сўрилган эндоген коллагендан ўзининг хусусий коллагенини синтезлайди.



8-расм. «Гемогубка» гемостатик қопламаси

8-расмда ишлаб чиқаришга жорий этилган «Гемогубка» гемостатик қопламаси келтирилган. «Гемогубка» нинг асосий қўллаш соҳалари: капилляр ва паренхиматоз қон кетишида маҳаллий қон тўхтатувчи восита сифатида; паренхиматоз орган нуқсонларини тўлдирувчи восита сифатида; жароҳатларни қопловчи восита сифатида қўлланилади.

«Гемогубка» афзаллиги: препаратда нейтрал, табиий структурасини сақлаб қолган ва қўшимчалардан тозаланган коллаген ишлатилган бўлиб, тўқиманинг тикланиши учун асос бўлиб хизмат қилади ва хусусий коллаген ҳосил бўлишини фаоллаштиради.

Фармако-токсикологик хусусияти: «Гемогубка» гемостатик қопламаси ножўя таъсири бўлмаган препаратлар синфига киради. Қонга, ички аъзоларнинг функцияларига таъсир қилмайди ҳамда яллиғлантирувчи таъсирга эга эмас.

«Гемогубка» гемостатик қопламасининг иқтисодий самарадорлиги кўриб чиқилди.

6-жадвал

Коллаген асосида олинган гемостатик қопламаларнинг сотувдаги нархи

№	Дори воситасининг номи	Ишлаб чиқарувчи	Ўлчами	Нархи, сўм
1	2	3	4	5
1	ТРОМБОКОЛ	ОАО «Лужский завод «Белкозин», (Россия)	50x50 мм	536 770
2	ГЕМОГУБКА	«Гемогубка» «TURON SILK PHARM» МЧЖ, (Ўзбекистон)	50x50 мм	37 000

6-жадвалда хорижда ишлаб чиқарилаётган коллаген асосидаги аналог гемостатик қопламаси ва маҳаллий «Гемогубка» қопламасининг сотувдаги нархи келтирилган. Бундан иқтисодий самарадорлик ҳисобланса, бир дона 50x50 мм ўлчамли қопламалардаги фарқ 499 770 сўмни ташкил этади.

Республика даволаш-профилактика муассасаларининг коллагенли қопламаларга бўлган йиллик эҳтиёжи 19 351 ўрамлигини инобатга олиб, иқтисодий самарадорлик ҳисоблаб чиқилса, 9 671 049 270 сўмни ташкил этади.

ХУЛОСА

Коллаген субстанциясини олиш ва унинг асосида гемостатик қоплама яратиш технологияларида бажарилган назарий ва тажрибавий тадқиқотлар натижаларидан фойдаланиш ва уларни жорий этиш бўйича қуйидаги эътиборга лойиқ хулоса ва тавсиялар шакллантирилди:

Мамлакатимиз ва хориждаги коллаген субстанцияси, гемостатик қоплама яратиш ва ишлаб чиқариш тажрибасининг таҳлили шуни кўрсатмоқдаки, самарали таркибни яратишда маълум муваффақиятлар борлигига қарамай, мамлакатимизда яратилган ҳамда фойдаланилаётган гемостатик қопламалар етарлича самарага эга эмаслиги, амалий тиббиёт талабига жавоб бермаслигини кўрсатди.

Таҳлиллар асосида коллаген субстанцияси ва «Гемогубка» гемостатик қопламаси ишлаб чиқаришни такомиллаштириш йўллари белгиланди.

1. Қорамол терисидан ишқорий-тузли гидролизлаш усулида сақлаш учун қулай бўлган куруқ ҳолатдаги табиий коллаген ажратиш олишнинг соддалаштирилган технологияси тавсия этилди.

2. Ажратиш олинган коллагеннинг молекуляр массаси, қовушқоқлиги, эритмадаги ва куруқ ҳолатдаги термик барқарорлиги ўрганилди ва табиий структура сақланганлиги аниқланди.

3. Коллаген субстанцияси асосида ғовакли структурага эга «Гемогубка» гемостатик қопламасини олиш технологияси тавсия этилди.

4. Коллаген субстанцияси ва «Гемогубка» гемостатик қопламасининг физик-кимёвий кўрсаткичлари ҳамда фармако-токсикологик хусусиятлари аниқланди.

5. «Гемогубка» гемостатик қопламасининг меъёрий техник ҳужжатлари тайёрланди, ЎзР ССВ Дори воситалари ва тиббий техника сифатини назорат қилиш бош бошқармасига топширилди ва учта клиникада синовдан ўтказилиб, ишлаб чиқариш ҳуқуқи 11.05.2016 йилдаги лицензион шартнома асосида «TURON SILK PHARM» МЧЖ корхонасига берилди.

6. «TURON SILK PHARM» МЧЖ корхонасида 2018 йил 1-чораги давомида 8 920 та ўрам «Гемогубка» қопламаси ишлаб чиқарилиб, Республика даволаш-профилактика муассасаларига етказилди.

7. Республика даволаш-профилактика муассасаларининг йиллик эҳтиёжи (19 351 та ўрам) бўйича импорт қилинаётган гемостатик қопламалар ўрнини «Гемогубка» билан тўлиқ қопланиши йилига 9 671 049 270 (тўққиз миллиард олти юз етмиш бир миллион қирқ тўққиз минг икки юз етмиш) сўм иқтисодий самарадорликка олиб келади.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАР РЎЙХАТИ

1. Раджабов О.И., Гулямов Т., Тураев А.С.. Коллаген медицинский, получение и исследования // Ўзбекистон кимё журнали. 2011. Махсус сон. Б- 94-97.
2. Гулямов Т., Раджабов О.И., Тураев А.С., Атажанов А.Ю. Биологическое, научное и техническое значение коллагена // Ўзбекистон кимё журнали. 2012. - №1. Б- 43-51.
3. Раджабов О.И., Гулямов Т., Тураев А.С., Атажанов А.Ю. Исследование щелочно-солевого гидролиза коллагенсодержащего сырья // Ўзбекистон кимё журнали. 2012. – №2. Б-18-22.
4. Гулямов Т., Раджабов О.И., Атажанов А.Ю., Муйдинов Н.Т., Халилова Г.А., Тураев А.С. Способ выделения коллагена и создание препаратов на его основе // Ўзбекистон Республикаси Фанлар академиясининг маърузалари. 2017. - № 6. Б -62-64.
5. Раджабов О.И., Гулямов Т.Г., Атаджанов А.Ю. Реологические свойства растворов коллагена // Международный научно-практическая конференция «Современные актуальные проблемы естественных наук» Актобе, Казахстан 2014г. С -66-69.
6. Radzhabov O.I., Gulyamov T., Turaev A.S., Husniddinova N.M., Kazantseva D.S. Studying of collagen as a haemostatic agent // Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Urumqi, China 2011y. P – 144.
7. Раджабов О.И., Гулямов Т. Получение коллагеновой массы для медицинских целей // Республиканская Научно-практическая конференция «Актуальные проблемы химии высокомолекулярных соединений». Бухара 2010г. С-74.
8. Раджабов О.И., Хусниддинова Н.М., Гулямов Т.Г., Казанцева Д.С., Выпова Н.Л. Получение и исследование базовой субстанции коллагена // Международная научная конференция «Актуальные проблемы развития биоорганической химии». Ташкент 2010г. С-86.
9. Раджабов О.И., Гулямов Т., Атажанов А.Ю., Хусниддинова Н.М. Изучение коллагена в качестве гемостатического средства // VII Республика ёш кимёгарлар конференцияси, «Биоорганик кимё фани муаммолари». Наманган 2011й. Б-124.
10. Раджабов О.И., Гулямов Т., Тураев А.С., Атажанов А.Ю. Технология получения коллагена для медицинских целей // Табиий бирикмалардан қишлоқ хўжалигида фойдаланиш истиқболлари Республика илмий амалий анжумани. Гулистон 2013й. Б-34-35.
11. Раджабов О.И., Гулямов Т., Атажанов А.Ю., Тураев А.С., Выпова Н.Л. Изучение аллергических свойств растворимого коллагена // Международная конференция «Актуальные проблемы развития биоорганической химии». Ташкент 2013г. С-100-101.

- 12.Раджабов О.И., Гулямов Т., Атажанов А.Ю. Гемостатическая губка на основе коллагена// VIII Республика ёш кимёгарлар конференцияси, «Биоорганик кимё фани муаммолари». Наманган 2014й. Б-63-64.
- 13.Раджабов О.И., Гулямов Т., Атажанов А.Ю. Применения коллагенового гемостатического препарата в медицине // Республиканской научно-практической конференции молодых ученых. Ташкент 2014г. С-143.
- 14.Раджабов О.И., Гулямов Т., Атажанов А.Ю., Выпова Н.Л. Скорость рассасывания гемостатической губки при подкожном имплантировании // Республиканская конференция «Актуальные проблемы химии природных соединений». Ташкент 2015г. С-141.
- 15.Раджабов О.И., Гулямов Т., Атажанов А.Ю., Муйдинов Н.Т., Султонов М.С. Получение новых отечественных препаратов из отходов кожсырья // Республиканской научно-практической конференции молодых ученых. Ташкент 2015г. С- 357-359.
- 16.Раджабов О.И., Гулямов Т., Атажанов А.Ю., Муйдинов Н.Т., Азимова Л.Б. Изучение специфической активности гемостатического препарата “Гемогубка” // Биоорганическая химия в решении актуальных задач здравоохранения и сельского хозяйства. Ташкент 2016г. С- 17-18.
- 17.Пат. № IAP 04736 «Коллаген субстанциясини олиш усули» // Гулямов Т., Раджабов О.И., Атажанов А.Ю., Тўраев А.С. РА №8. 2013 й.
- 18.Пат. № IAP 04736 «Коллаген субстанциясини олиш усули» // Гулямов Т., Атажанов А.Ю., Раджабов О.И., Тўраев А.С., Гульманов И.Д, Шамирзаев Н.Х. РА №12. 2015 й.



**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI INTELLEKTUAL MULK AGENTLIGI
АГЕНТСТВО ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**IXTIROGA PATENT № IAP 04736
ПАТЕНТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

Ushbu patent O'zbekiston Respublikasining "Ixtirolar, foydali modellar va sanoat namunalari to'g'risida"gi Qonuniga asosan quyidagi ixtiroga berildi:

Настоящий патент выдан на основании Закона Республики Узбекистан «Об изобретениях, полезных моделях и промышленных образцах», на следующее изобретение:

**Коллаген субстанциясини олиш усули
Способ получения субстанции коллагена**

Talabnoma kelib tushgan sana:
Дата поступления заявки:

09.06.2010

Talabnoma raqami:
Номер заявки:

IAP 2010 0249

Ustuvorlik sanasi:
Дата приоритета:

09.06.2010

Patent egasi (egalari):
Патентообладатель(и):

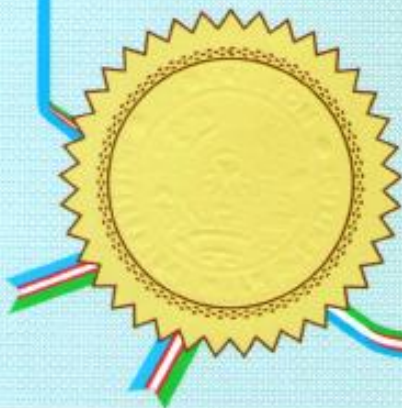
**Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси академик О.С.Содиқов
номидаги Биоорганик кимё институти, UZ
Институт биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова
Академии наук Республики Узбекистан, UZ**

Ixtiro muallif(lar)i:
Автор(ы) изобретения:

**Гулямов Тургун, Раджабов Отабек Искандарович, Тураев Аббосхон
Сабирханович, Атажанов Абдуллахат Юлдашевич, UZ**

Patent O'zbekiston Respublikasining barcha hududida 09.06.2010 yildan patentni kuchda saqlab turish uchun boj o'z vaqtida to'langandagina 20 yil mobaynida amal qiladi.
O'zbekiston Respublikasi ixtirolar davlat reestrda 02.07.2013 yilda Toshkent shahrida ro'yxatdan o'tkazilgan.

Патент действует на всей территории Республики Узбекистан в течение 20 лет с 19.05.2008 года при условии своевременной уплаты пошлины за поддержание в действии.
Зарегистрирован в государственном реестре изобретений Республики Узбекистан, в г. Ташкент 02.07.2013 г.



**Bosh direktor v.b.
И.о. Генерального директора**

З. Гиясов

(19) O'ZBEKISTON
RESPUBLIKASI



INTELLEKTUAL
MULK
AGENTLIGI

(12) Ixtiro patentiga tavsif

(11) UZ IAP 04736

(13) C

(21) IAP 2010 0249

(22) 09.06.2010

(51) XPK⁸
B A 61 K 35/32,
A 61 K 35/36,
A 61 K 38/17,
A 61 K 38/39,
C 07 K 14/435,
C 08 H 1/00

UZ IAP 04736

(46) 30.08.2013, Бюлл., № 8

(56) 1: UZ02561

2: RU2076718

3: RU 2161976

4: RU 2182930

5: RU 2214827

(72) Гулямов Турғун, Раджабон Отабек Искандарович, Тураев Аббосхон Сабирханович, Атажанов Абдуллахат Юлдашеввич, UZ

(71) Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси академик О.С.Содиқов номидаги Биоорганик кимё институти, UZ
Институт биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова Академии наук Республики Узбекистан, UZ

(73) Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси академик О.С.Содиқов номидаги Биоорганик кимё институти, UZ
Институт биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова Академии наук Республики Узбекистан, UZ

(54) КОЛЛАГЕН СУБСТАНЦИЯСИНИ ОЛИШ УСУЛИ

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СУБСТАНЦИИ КОЛЛАГЕНА

(57) **Фойдаланиш соҳаси:** тиббиёт, косметика, фармацевтика амалиётида, хусусан инъекция учун эритмалар, суртмалар, кремлар ва х.к. каби дори воситаларини олиш технологиясида амалий жihatдан қўллаш учун коллаген олиш технологияси. **Вазифаси:** коллаген олиш усулини соддалаштириш ва унинг сифатини ошириш. **Ихтиро мохияти:** коллаген субстанциясини олиш усули хом-ашёнинг ишқорли-тузли гидролизи, коллаген массасини нейтраллаштириш ва уни рН мухитнинг нейтрал қийматигача ювиш, буфер билан коллагенни ажратиб олиш, ажратиб олинган коллагенни рН мухитнинг нейтрал қийматигача ювиш, гомогенлаштириш ва коллагенни сувсизлантиришдан иборат. Ажратиб олинган коллаген ювилганидан сўнг уни 1 соат давомида ишқорли-тузли гидролизи, нейтраллаштириш ва рН мухитнинг нейтрал қийматигача ювилиши ўтказилади. Ювиш натижасида ҳосил бўлган сувли суспензия сузилади. икки босқичда амалга оширилади. Гомогенлаштиришдан кейин ҳосил бўлган таркибда 6% кўп бўлмаган коллаген иборат ҳамирсимон масса тола кўринишидаги курук коллаген ҳосил бўлгунча сувсизлантирилади
Формулада 1 та мустақил банд

Использование: технология получения коллагена для практического использования в медицинской, косметической, фармацевтической практике, в частности в технологии получения таких лекарственных форм как инъекционные растворы, мази, кремы и др. **Задача:** упрощение способа получения коллагена и повышение его качества. **Сущность изобретения:** способ получения субстанции коллагена включает щелочно-солевой гидролиз сырья, нейтрализацию коллагеновой массы и ее промывку до нейтрального значения рН среды, экстрагирование коллагена буфером, промывку экстрагированного коллагена до нейтрального значения рН среды, гомогенизацию и обезвоживание коллагена. После промывки экстрагированного коллагена проводят его щелочно-солевой гидролиз в течение 1 часа, нейтрализацию и промывку до нейтрального значения рН среды. Полученную в результате промывки водную взвесь процеживают. После гомогенизации полученную тестообразную массу, содержащую не более 6% коллагена, обезвоживают до получения сухого коллагена в виде волокон.

1 нез. п. ф-лы

UZ IAP 04736

Изобретение относится к технологии получения коллагена для практического использования в медицинской, косметической, фармацевтической практике - в технологии таких лекарственных форм, как инъекционные растворы, мази, гели и др.

Известен способ получения полифункционального коллагенового препарата (RU 2059383 C1), в котором исходное коллагеносодержащее сырье (кожа, шкур сельскохозяйственных животных) последовательно проходит процессы: механическую обработку и измельчение, промывку водой и гидролиз щелочно-солевым раствором с содержанием хлорида натрия не более 0,3% при pH среды не более 12. Щелочную обработку осуществляют 1-7% ным раствором щелочи при температуре -40-и-25°C и pH не более 13 в течение от 10 до 7 суток, а перед сушкой дополнительно проводят гомогенизацию препарата.

Недостатками известного способа являются сложность, много стадийность и продолжительность процесса. Использование низких температур усложняет аппаратное оформление процесса и затрудняет работу персонала.

Наиболее близким по сущности к предлагаемому изобретению является способ получения коллагенового порошка (UZ02561AP), который заключается в обработке исходного сырья - спилок со шкур крупного рогатого скота последовательно при комнатной температуре водой (промывка), затем подвергается щелочно-солевому гидролизу, буферному экстрагированию, растворению в 6%-ной уксусной кислоте. Затем полученный раствор коллагена продавливают в виде жидких струек в ацетоновую ванну, где коллаген обезвоживается и оседает на дне ацетоновой ванны в виде рыхлой неориентированной волокнистой путанки, причем для получения такой волокнистой путанки используют коллагеновый раствор подогретый до 30°C в течение 30 мин. Коллагеновую волокнистую путанку извлекают из ацетоновой ванны, отжимают, сушат на воздухе при температуре 50-60°C, затем измельчают до получения тонко фибриллярного порошка.

Недостатками известного способа являются: подогревание раствора и волокнистой путанки до 30°C и 50-60°C соответственно. Коллаген в растворе при температуре выше 23°C начинает восстанавливать свою исходную структуру, разрушенную в процессе химической обработки межмолекулярных связей, то есть происходит процесс самосборки коллагена, в результате чего он становится нерастворимым. Сухие препараты коллагена свариваются уже выше 45-50°C.

Таким образом, пребывание (хотя кратковременно) коллагена в указанных температурных зонах вызывает его денатурацию и самосборку, а механическая обработка (диспергирование) исходного сырья приводит к деструкции основных цепей и уменьшению длины молекулы коллагена. Следовательно, в полученном порошке какая-то часть является нерастворимой, денатурированной, деструктурированной фракцией коллагена.

Задачей изобретения является упрощение способа получения коллагена, повышение его качества.

Поставленная задача решается тем, что в способе получения субстанции коллагена, включающем щелочно-солевой гидролиз сырья, нейтрализацию коллагеновой массы и ее промывку до нейтрального значения pH среды, экстрагирование коллагена буфером, промывку экстрагированного коллагена до нейтрального значения pH среды, гомогенизацию и обезвоживание коллагена, после промывки экстрагированного коллагена проводят его щелочно-солевой гидролиз в течение 1 часа, нейтрализацию и промывку до нейтрального значения pH среды, полученную в результате промывки водную взвесь процеживают, после гомогенизации полученную тестообразную массу, содержащую не более 6% коллагена, обезвоживают до получения сухого коллагена в виде волокон.

Данный способ позволяет упростить процесс получения коллагенового препарата и повысить его качество, а также максимально очистить субстанцию коллагена от сопутствующих белковых и не белковых веществ, примесей. Полученный коллаген хорошо растворяется в кислой среде и удобен для длительного хранения.

Способ получения нейтральной коллагеновой массы (субстанции) осуществляют в следующей последовательности.

В качестве сырья используют спилки со шкур крупного рогатого скота. Отбирают спилки толщиной 3-5 мм качественно мездренный, белый, мягкий без пятен и грязи. Спилки измельчают на куски не более 10×10 мм, загружают в емкость, последовательно промывают проточной и дистиллированной водой в течение 6-8 часов. Затем куски спилок выгружают на сито и дают стечь поверхностной воде.

Далее проводят гидролиз сырья в среде, содержащей 10% NaOH и 80-100г/л Na₂SO₄ в течение 60-72 часов. По истечении времени гидролиза проводят процесс нейтрализации. Для этого отработанный гидролизный раствор сливают и обрезки спилок обрабатывают 3% раствором H₂BO₃ до нейтральной среды. Затем продукт промывают последовательно проточной и дистиллированной водой до отсутствия ионов SO₄.

В следующем этапе кожсырье подвергается буферному экстрагированию цитратным буфером при pH=3,7-4,1 в течение 24 часов. По истечении времени процесса буферного экстрагирования осуществляют промывку продукта до нейтральной среды. Далее полученную набухшую, нейтральную коллагеновую массу подвергают вторично гидролизу в короткое время, чем предыдущий гидролиз. Вторая гидролизная ванна содержит 5% NaOH, 80г/л Na₂SO₄. Время гидролиза не более 1 часа.

По истечении времени второго гидролиза повторяют процессы нейтрализации, промывку продукта до получения нейтральной коллагеновой массы в виде водной взвеси. Взвесь процеживают через сито, набухшие куски, где содержание сухого вещества (коллагена) не более 6% гомогенизируют, растирая их на ступке

до получения однородной монолитной теста подобной массы.

Монолитную тесто подобную коллагеновую массу выдерживают в течение 1-2 суток в холодильнике при температуре 8-12°C. Затем проводят обезвоживание коллагеновой массы. Для этого коллагеновую массу помещают в постоянно перемешивающуюся ацетоновую ванну, где она под действием мешалки разбивается на маленькие куски и обезвоживается. Таким образом, коллаген высаживают в виде рыхлых (воздушных), аморфных частиц с волокнистой структурой различной формы и размера. Через определенное время частицы коллагена извлекаются из ванны и сушатся путем вакуумной отгонки ацетона в течение 6-8 часов при температуре не выше 23°C.

Затем стерилизуют коллаген. Для этого сухие куски коллагена заливают этиловым спиртом и выдерживают в нем в течение суток. Далее спирт сливают, коллаген сушат от спирта под вакуумом, подобно тому, как сушили от ацетона. Сухой коллаген в виде аморфных, рыхлых кусков волокнистой структурой различной формы и размеров стерильно пакуют во флаконы. Все перечисленные операции проводят при температуре не выше 23°C.

Полученный коллагеновый препарат в виде аморфных, рыхлых кусков хорошо растворяется в слабых растворах органических и минеральных кислот.

Приводим примеры конкретного выполнения способа Пример 1. Исходное сырье - спилки со шкур крупного рогатого скота (КРС) последовательно при температуре не выше 23°C проходит промывку, щелочно-солевой гидролиз, буферное экстрагирование в условиях приведенных в пат. UZ NIAP 02561. При этом получается коллагеновая масса с содержанием 9,1% сухого вещества, то есть очищенный коллаген, который на ступке не размалывается.

Пример 2. Измельченные на куски (не более 10x10мм) исходного сырья-спилки со шкур КРС проходят последовательно при температуре не более 23°C промывку, гидролиз в среде, содержащей 10% NaOH и 100г/л Na₂SO₄ в течение 60 часов, нейтрализацию и промывку до нейтральной среды, буферное экстрагирование щитратным буфером при pH=4,1, промывку до нейтральной среды, гидролиз в среде, содержащей 10%NaOH, 100г/л Na₂SO₄ в течение 1 часа. После процессов нейтрализации и промывки получается коллагеновая масса с содержанием 6,8% сухого вещества. Полученная масса растирается в ступке, но отдельные фрагменты сохраняют плотную структуру и при осаждении в ацетоне некоторые куски получаются крупными, плотными. Насыпная плотность сухого коллагена 0,340 - 360г/см³.

Пример 3. Условия получения коллагена по примеру 2, но кроме продолжительности первой стадии процесса гидролиза. Продолжительность первой стадии процесса гидролиза 72часа. При этом нейтральная, набухшая коллагеновая масса содержит 6,0% сухого вещества, которая легко растирается и образуется монолитная тесто подобная масса, при осаждении осаждающей которой получается сухой коллаген в виде рыхлых аморфных кусков с насыпной плотностью 0,285 - 300 г/см³.

Пример 4. Условия получения коллагена по примеру 2, кроме концентрации щелочи и соли второй стадии процесса гидролиза. Ванна второй стадии гидролиза содержит 5% NaOH и 80г/л Na₂SO₄. Полученная масса содержит 4,9% сухого коллагена и очень легко растирается в тесто подобную монолитную массу, обезвоживая которую получают коллаген в виде рыхлых аморфных кусков с насыпной плотностью 0,280 - 295г/см³.

Пример 5. Условия получения коллагена по примеру 2, кроме продолжительности второй стадии гидролиза. Продолжительность второй стадии гидролиза 1,5 часа. При этом получается набухшая, коллагеновая масса с содержанием сухого коллагена 3,6% , при обезвоживании которой, получают коллаген в виде рыхлых аморфных кусков с насыпной плотностью 0,230 - 250г/см³, которые очень хорошо растворяются, но при этом выход конечного продукта падает.

Наиболее оптимальным являются условия, приведенной в примерах 3-4, при которых получается хорошо растворимый и очищенный от посторонних примесей коллаген.

Полученный препарат коллагена используют для приготовления инъекционных растворов коллагена, гелей, мазей и других лекарственных форм.

Предварительное исследование полученного коллагена показало, что содержание органических примесей в вытяжках из образцов коллагена не превышало 0,02, при норме 0,3, концентрация спирта и ацетона так же ниже нормы.

Применение предложенного способа значительно упрощает процесс получения субстанции коллагена и улучшает качество получаемого продукта.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ получения субстанции коллагена, включающий щелочно-солевой гидролиз сырья, нейтрализацию коллагеновой массы и ее промывку до нейтрального значения pH среды, экстрагирование коллагена буфером, промывку экстрагированного коллагена до нейтрального значения pH среды, гомогенизацию и обезвоживание коллагена, отличающийся тем, что после промывки экстрагированного коллагена проводят его щелочно-солевой гидролиз в течение 1 часа, нейтрализацию и промывку до нейтрального значения pH среды, полученную в результате промывки водную взвесь процеживают, после гомогенизации полученную тестообразную массу, содержащую не более 6% коллагена, обезвоживают до получения сухого коллагена в виде волокон.

- (56) 1: UZ02561
2: RU2076718
3: RU 2161976
4: RU 2182930
5: RU 2214827

UZ IAP 04736

UZ IAP 04736

Агентство по Интеллектуальной собственности Республики Узбекистан
100000, Ташкент, проспект Мустакиллик, 59



**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI INTELLEKTUAL MULK AGENTLIGI
АГЕНТСТВО ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**IXTIROGA PATENT № IAP 05125
ПАТЕНТ НА ИЗОБРЕТЕНИЕ**

Ushbu patent O'zbekiston Respublikasining "Ixtirolar, foydali modellar va sanoat namunalari to'g'risida"gi Qonuniga asosan quyidagi ixtiroga berildi:

Настоящий патент выдан на основании Закона Республики Узбекистан «Об изобретениях, полезных моделях и промышленных образцах», на следующее изобретение:

**Коллаген қолламали говак материални олиш усули
Способ получения коллагенового губчатого материала**

Talabnoma kelib tushgan sana:
Дата поступления заявки:

27.07.2012

Talabnoma raqami:
Номер заявки:

IAP 2012 0314

Ustuvorlik sanasi:
Дата приоритета:

27.07.2012

Patent egasi (egalari):
Патентообладатель(и):

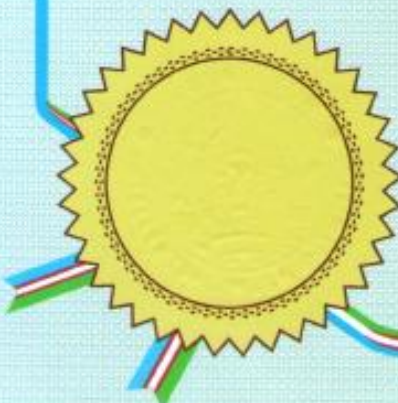
**Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси академик О.С.Содиқов
номидаги Биоорганик кимё институти, UZ
Институт биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова
Академии наук Республики Узбекистан, UZ**

Ixtiro muallif(lar)i:
Автор(ы) изобретения:

**Гулямов Тургун, Атажанов Абдуллахат Юлдашевич, Раджабов Отабек
Искандарович, Тураев Аббосхон Сабирханович, Гульманов Ильич
Джумабаевич, Шамирзаев Наджиулла Хабибуллаевич, UZ**

Patent O'zbekiston Respublikasining barcha hududida 27.07.2012 yildan patentni kuchda saqlab turish uchun bo'j o'z vaqtida to'langandagina 20 yil mobaynida amal qiladi.
O'zbekiston Respublikasi ixtirolar davlat reestrída 20.11.2015 yilda Toshkent shahrida ro'yxatdan o'tkazilgan.

Патент действует на всей территории Республики Узбекистан в течение 20 лет с 27.07.2012 года при условии своевременной уплаты пошлины за поддержание в действии.
Зарегистрирован в государственном реестре изобретений Республики Узбекистан, в г. Ташкент 20.11.2015 г.



**Bosh direktor o'rinbosari
Заместитель генерального
директора**

М. Бобожанов

(19) O'ZBEKISTON
RESPUBLIKASI



INTELLEKTUAL
MULK
AGENTLIGI

(12) Ixtiro patentiga tavsif

(11) UZ IAP 05125

(13) C

(21) IAP 2012 0314

(22) 27.07.2012

(51) XPK⁸
8 A 61 K 15/16

UZ IAP 05125

(46) 31.12.2015, Бюл., №12
(56) 1 RU2053796
2 RU2116801
3 UZ 04736 AP

(72) Гулямов Турғун, Атажанов Абдуллахат Юлдашевич, Раджабов Отабек Искандарович, Тураев Аббосхон Сабирханович, Гульманов Илпач Джумабаевич, Шамирзаев Наджиолла Хабибуллаевич, UZ
(71) Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси академик О.С.Содиқов номидаги Биоорганик кимё институти, UZ
Институт биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова Академии наук Республики Узбекистан, UZ
(73) Ўзбекистон Республикаси Фанлар академияси академик О.С.Содиқов номидаги Биоорганик кимё институти, UZ
Институт биоорганической химии имени академика А.С.Садыкова Академии наук Республики Узбекистан, UZ

(54) КОЛЛАГЕН ҚОПЛАМАЛИ ҒОВАК МАТЕРИАЛНИ ОЛИШ УСУЛИ

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОЛЛАГЕНОВОГО ГУБЧАТОГО МАТЕРИАЛА

(57) **Фойдаланиш соҳаси:** тиббиёт. **Вазифаси:** технологияни соддалаштириш, босқичлар ва реагентлар сонини камайитириш, сув ютиш қобилияти юқори бўлган коллаген материалнинг ғовакли структурасини сақлаган ҳолда органик эриткичларнинг қўлланишини бартараф этиш. **Ихтиронинг моҳияти:** коллагеннинг сувли суспензиясини тайёрлашдан, бунинг учун ҳамроҳлик қилувчи моддалардан тозаланган, нам тортган, нейтрал коллаген массани сув билан суспензия концентрацияси коллаген бўйича 1-2%га еттунича суюлтиришдан, ҳосил бўлган суспензияни бириктирувчи агент – 1,5%ли сувли формальдегид эритмаси билан аралаштиришдан, музлатиш, эритиш, ювиш, 1%ли сувли ишқор эритмаси ва 0,5%ли сувли формальдегид эритмаси билан pH=10-12 да ва хона ҳароратида ишлов беришдан, қайта ювиш, сиқиб сувини чиқариш ва қуритишдан иборат бўлган коллаген қопламали ғовак материални олиш таклиф қилинган. Сувли суспензияни тайёрлашда коллаген массага качимсимон игнабарг (*Acanthophyllum gypsophiloides* Regel) илдизидан олинган сувли экстракт қўшилади, сувли экстракт сув ва айтиб ўтилган ўсимлик илдизининг масса нисбатлари мос равишда 1:15, pH 4,11 бўлган ҳолда олинади, ва бу аралашма юмшқоқ кремсимон масса ҳосил бўлгунча уриб қуритирилади, 1,5% ли сувли формальдегид эритмаси эса коллагеннинг сувли суспензияси билан қурук коллаген массасига нисбатан (0,11-0,21):1 га тенг нисбатда аралаштирилади. Формуланинг 1 м.б.

Использование: медицина. **Задача:** упрощение технологии, уменьшение стадий, снижение расхода и количества реагентов, исключение применения органических растворителей при сохранении губчатой структуры коллагенового материала, обладающего высокой водопоглощающей способностью. **Сущность изобретения:** предложен способ получения губчатого коллагенового материала, включающий приготовление водной суспензии коллагена разбавлением очищенной от сопутствующих веществ набухшей, нейтральной коллагеновой массы водой до концентрации суспензии по коллагену 1-2%, смешивание полученной суспензии со сшивающим агентом - 1,5%-ным водным раствором формальдегида, замораживание, размораживание, промывку, обработку 1%-ным водным раствором щелочи и 0,5%-ным водным раствором формальдегида при pH=10-12 и комнатной температуре, повторную промывку, отжим и сушку. При приготовлении водной суспензии в коллагеновую массу вводят водную вытяжку из корня колючелистника качимовидного (*Acanthophyllum gypsophiloides* Regel), полученную при массовом соотношении воды и корня указанного растения, равном 1:15 соответственно, с pH 4,11, и взбивают до получения мягкой кремopodobной массы. 1,5%-ный водный раствор формальдегида смешивают с водной суспензией коллагена в соотношении, равном (0,11-0,21):1 к массе сухого коллагена. 1 н.п.ф.и.

UZ IAP 05125

Изобретение относится к области получения полимерных материалов медицинского назначения, а именно к способу получения пористого коллагенсодержащего материала.

Пористые материалы на основе биополимера-коллагена широко используются в медицинской практике в качестве кровоостанавливающих средств, раневых покрытий и другие.

Известен способ [RU 2116801], согласно которому для формирования пористой структуры материала, коллаген осаждают из уксуснокислого раствора путем изменения pH среды, осадок разбавляют водой, вводят сшивающий агент, тщательно перемешивают, размещают в формы и замораживают. После оттаивания влажный губчатый материал отжимают, помещают в этанол или ацетон, отжимают и досушивают.

Способ имеет определенные недостатки:

- стадия получения волокнистого коллагена, используемого затем для формирования коллагеновых губок, осуществляется в несколько этапов: растворение коллагена в 1М растворе уксусной кислоты, механической дезинтеграции смеси и осаждение. Осаждение волокнистого коллагена проводят путем изменения pH среды коллагенового раствора, для чего используют водные растворы щелочи, тем самым усложняют процесс и необоснованно расходуются химические реагенты;

- полученные губчатые материалы имеют относительно низкую пористость, их водоудерживающая способность не высока.

Известен способ получения волокнистого коллагена [UZ 04336 AP] в виде рыхлых аморфных частиц с волокнистой структурой, где исключены стадии растворения и осаждения. Для выделения частиц коллагена из водной взвеси используют ацетон.

Основные недостатки продукта как гемостатического материала и процесса его получения:

- использование препарата в такой форме в качестве гемостатика сопряжено определенными неудобствами: смывается кровью, прилипает к инструментам, перчаткам, тканям и длительное рассасывание, что препятствует срастанию тканей;

- процесс сушки продукта путем дегидратации требует большого расхода органического растворителя, который повышает пожароопасность производства, ухудшает условия труда и требует дополнительных затрат и времени.

Наиболее близким к заявляемому способу по принципу формирования пористой структуры коллагенового материала является принятый за прототип способ [RU 2053796], согласно которому, после получения уксуснокислого раствора коллагена, проводят осаждение волокнистого коллагена изменением pH среды уксуснокислого раствора до значений 4-5, осадок разбавляют водой до концентрации волокнистого коллагена в суспензии до 1,5-2,5 %, тщательно перемешивают, прибавляют сшивающий агент (глутаровый альдегид) в количестве 0,05-1,1 % от веса коллагена в суспензии, перемешивают, размещают в формы и замораживают при температуре от -35 до -65°C в течение 0,15-1 ч и/или при температуре от -4 до -21°C в течение 10-15 ч. После оттаивания влажный губчатый материал отжимают от выделившейся жидкости и помещают в этанол и/или ацетон на 0,5-1,0 ч, периодически отжимая дегидратирующий органический растворитель, и замачивая губку в нем вновь. Затем проводят досушивание материала при небольшом разрежении или обдуванием потока воздуха.

В способе-прототипе исключена стадия лиофильной сушки и, в связи с этим, несколько упрощено аппаратное обеспечение способа получения губчатого материала. Использование для криоструктурирования композиции, основанной на осажденных волокнах коллагена, позволяет получить после оттаивания коллагеновую губку, которая не теряет своей пористости при высушивании на воздухе, т. е. отпадает необходимость в энергоемкой лиофильной сушке для придания материалу подобной пористости.

Опыты показали, что если тем же криогенным способом готовить материал из уксуснокислого коллагенового раствора без лиофильной сушки, то после высыхания на воздухе продукт роговеет, губчатая структура исчезает. Иными словами, для получения качественной коллагеновой губки исходная композиция должна содержать именно волокнистый коллаген.

Однако способ-прототип имеет определенные недостатки:

- стадия получения волокнистого коллагена, используемого затем для формирования коллагеновых губок, осуществляется в несколько этапов: растворение коллагена в 1М растворе уксусной кислоты, механической дезинтеграции смеси и осаждение. Осаждение волокнистого коллагена проводят путем изменения pH уксуснокислого раствора, для чего используют водные растворы щелочи, тем самым усложняют процесс и необоснованно расходуются химические реагенты;

- процесс сушки губчатого материала путем дегидратации требует большого расхода органического растворителя, который повышает пожароопасность производства, ухудшает условия труда и требует дополнительных затрат и времени;

- полученные губчатые материалы имеют относительно низкую пористость, их водоудерживающая способность не более 3000%.

Задача заявляемого способа: упрощение технологии, уменьшение стадий, снижение расхода и количества реагентов, исключение применения органических растворителей при сохранении губчатой структуры коллагенового материала, обладающего высокой водопоглощающей способностью.

Поставленная задача решается способом получения губчатого коллагенового материала, включающим приготовление водной суспензии коллагена разбавлением очищенной от сопутствующих веществ набухшей, нейтральной коллагеновой массы водой до концентрации суспензии по коллагену 1-2%, смешивание полученной суспензии со сшивающим агентом - 1,5%-ным водным раствором формальдегида, замораживание, размораживание, промывку, обработку 1%-ным водным раствором щелочи и 0,5%-ным водным раствором формальдегида при pH=10-12 и комнатной температуре, повторную промывку, отжим и сушку, при приготовлении водной суспензии в коллагеновую массу вводят водную вытяжку из корня колючелистника качимовидного (*Acanthophyllum gypsophiloides* Regel), полученную при массовом соотношении воды и корня указанного растения, равном 1:15 соответственно, с pH 4,11, и взбивают до получения мягкой кремopodobной массы, а 1,5%-ный водный раствор формальдегида смешивают с водной суспензией коллагена в соотношении, равном (0,11-0,21):1 к массе сухого коллагена.

Для криоструктурирования используется композиция, состоящая из водной взвеси микрофибриллярного коллагена, физиологически приемлемого вспенивающего соединения и сшивающего агента.

Конкретно, заявляемый способ осуществляется следующим образом.

1) В качестве сырья используют шкурки со шкур крупного рогатого скота. Выделение коллагена из кожных шкур ведут до получения набухшей коллагеновой массы с нейтральной средой, т. е. щелочно-солевою и буферную экстракцию измельченного сырья, для удаления не коллагеновых компонентов с последующей его промывкой от раствора экстрагента проводят по известному способу.

2) Набухшую коллагеновую массу разбавляют водной вытяжкой из корня колючелистника качимовидного (*Acanthophyllum gypsophiloides* Regel) с pH>4, полученную при массовом соотношении воды и корня указанного растения, равном 1:15 и водой до концентрации смеси по коллагену не более 2,0%, тщательно перемешивают, гомогенизируют путем продавливания через металлические сетки с различными размерами ячейки, а затем сбивают до получения мягкой кремopodobной массы и вводят формальдегид при массовом соотношении формальдегида и коллагена, равном (0,11-0,21):1, и смесь тщательно перемешивают. Сшивающий агент формальдегид вводят в виде 1,5%-ного водного раствора.

Полученную композицию разливают в формы и помещают на 8-12 часов в морозильную камеру с температурой - (10-12)°C для криоструктурирования, затем размораживают, промывают до нейтральной среды, и полученный пористый коллагеновый материал обрабатывают в течение 2-6 часов в закрепительной ванне с водным раствором щелочи при pH 10-12 и 0,1-1,0% формальдегида, где закрепляется полученная при криоструктурировании пористая структура материала, после чего материал промывают до нейтральной среды и сушат на воздухе.

Формальдегид в нейтральной водной среде не реагирует с коллагеном. Катализаторами реакции формальдегида с функциональными группами молекулы коллагена являются водородные или гидроксильные ионы, следовательно, в процессе криоструктурирования реакция сшивки макромолекулы коллагена формальдегидом катализируется за счет кислого характера водной вытяжки корня колючелистника (*Acanthophyllum gypsophiloides* Regel), а в закрепительной ванне - гидроксильными ионами раствора щелочи.

Использование конкретных условий реализации заявляемого способа обусловлено следующими моментами.

1. Согласно предлагаемому изобретению набухшую коллагеновую массу с нейтральной средой, очищенную от сопутствующих веществ, обрабатывают водной вытяжкой из корня колючелистника качимовидного (*Acanthophyllum gypsophiloides* Regel) с pH=4 и выше, при котором в процессе гомогенизации, набухшие куски коллагена распадаются на микрофибрилы, при сбивании которых получается кремopodobная, мягкая смесь.

Было подробно исследовано действие большого количества нейтральных солей, слабых органических кислот, алифатических азотсодержащих соединений, фенолов, а также поверхностно-активных веществ. Указанные вещества при соответствующей концентрации в большей или меньшей степени способствуют разрушению межмолекулярных водородных связей, разрыхлению, т.е. увеличению набухаемости в воде и распаду надмолекулярных образований макромолекул коллагена до фибрилл [Гюнтер Райх, изд-во Легкая индустрия, 1969, с.189-190]. Подобное действие на надмолекулярные образования коллагена оказывает и вытяжка из корня колючелистника (*Acanthophyllum gypsophiloides* Regel), которая содержит тритерпеновые сапонины (до 25%). Тритерпеновые сапонины хорошо растворяются в воде и других полярных растворителях, имеют кислую реакцию за счет карбоксильных групп, а также корень колючелистника (*Acanthophyllum gypsophiloides* Regel) - натуральное моющее средство и имеет в своем составе поверхностно-активные соединения, которые способствуют распаду надмолекулярных образований макромолекул коллагена до фибрилл и распределению их по всему объему композиции».

2. При осуществлении заявляемого способа достигнуто увеличение истинного объема смеси коллагена и водной вытяжки из корня колючелистника качимовидного (*Acanthophyllum gypsophiloides* Regel) за счет пенящихся свойств последнего. Сшивкой макромолекул коллагена формальдегидом, добавленного в смесь в

виде 1,5% водного раствора, при массовом соотношении формальдегида и коллагена, равном (0,11-0,21): 1 и замораживанием, сохранен увеличенный объем смеси, и тем самым получен высокопористый коллагеновый материал, и в последующем закреплена пористость.

3. При осуществлении заявляемого способа использована композиция волокнистого коллагена с физиологически приемлемыми ингредиентами, такими как водная вытяжка из корня колючелистника качимовидного (*Acanthophyllum gipsophiloides* Regel) и раствора формальдегида.

4. При осуществлении заявляемого способа отсутствуют традиционные для известных способов получения губчатых коллагеновых материалов стадии растворения коллагена и осаждения его в волокнистом виде, и другие приемы, связанные с выделением, подготовкой (например, механическое диспергирование) волокнистого коллагена для криоструктурирования, следовательно, используемые для этих процессов растворы уксусной кислоты, щелочи и другие химические реагенты не применяются, также отсутствуют органические растворители ацетон и этанол. Растворы щелочи используются только в процессе закрепления пористой структуры полученного материала.

Изобретение обеспечивает создание биорассасываемого коллагенового материала, состоящего из нативного не реконструированного коллагена, который имеет структуру коллагеновых волокон, идентичную природной коллагенсодержащей ткани, которая особенно ценна в силу своих физико-химических свойств.

Из научно-технической литературы известно, что при растворении и осаждении, то есть в процессе выделения фибрилл из растворов, молекула коллагена частично меняет свою конформацию и свои уникальные свойства [Гюнтер Райх. Коллаген, «Легкая индустрия», 1960, с. 156]. Поэтому, в большинстве случаев исследователи, в том числе способе-прототипе, получают не природный, а реконструированный коллаген.

Физиологически приемлемые ингредиенты коллагеновой композиции для замораживания:

- корень колючелистника качимовидного (*Acanthophyllum gipsophiloides* Regel) по ГОСТ 3448-78. В народной медицине отвар корней колючелистника качимовидного (*Acanthophyllum gipsophiloides* Regel), благодаря наличию в них сапонинов, применяется как отхаркивающее средство при бронхитах. Корни колючелистника (*Acanthophyllum gipsophiloides* Regel) применяются в пищевой промышленности для изготовления халвы и шипучих напитков, в текстильном производстве - как моющее средство. Для приготовления отвара 20г измельченного корня колючелистника (*Acanthophyllum gipsophiloides* Regel) на 300 мл воды варят 20 минут на малом огне, процеживают и хранят в холодильнике. Полученный отвар должен иметь pH не ниже 4,0 при сухом остатке 0,008-0,01 г/мл;

- формалин - водный раствор формальдегида. Из-за сильного дубящего эффекта формальдегид также является и сильным антисептиком, это свойство формалина используют в медицине. В медицинской практике применяют водный раствор формальдегида - формалин как дезинфицирующее средство для мытья рук, обработки кожи при повышенной потливости (0,5-1,0% растворы), для дезинфекции инструментов (0,5% раствор), а также для консервирования анатомических препаратов (10,0-15,0% растворы). Водный раствор формальдегида - формалин применяется в качестве дубителя в кожевенном производстве и дубления желатина при производстве кинофотопленки.

Ниже приводятся конкретные примеры реализации заявляемого способа.

Пример 1. (Таблица п.1) 5 г водной взвеси, содержащей 0,28 г сухого коллагена, при перемешивании разбавляют 6мл водной вытяжкой из корня колючелистника качимовидного (*Acanthophyllum gipsophiloides* Regel) с средней pH=4,11 и 13 мл дистиллированной водой. Смесь тщательно перемешивают и гомогенизируют путем продавливания через металлические сетки с различными размерами ячейки и сбивают до получения мягкой кремopodobной массы, вводят формальдегид (в объеме 4мл в виде 1,5%-водного раствора) в массовом соотношении 0,21:1 к количеству сухого коллагена. При этом концентрация смеси по коллагену 1% (считая на сухое вещество). Смесь тщательно перемешивают и слоем толщиной 5 мм разливают в форму, которую помещают на 10 час в морозильную камеру с температурой - (12±1)°C. После оттаивания продукт промывают до нейтральной среды промывных вод и помещают на 6 часов в закрепительную ванну с комнатной температурой и средней pH=11, содержащей 1% раствор щелочи (NaOH) и 0,5% формальдегида. По истечении времени выдержки материал промывают до нейтральной среды промывных вод, отжимают и сушат на воздухе. Плотность полученного губчатого материала 0,041 г/см³, объем пор 80% и водоудерживающая способность 5100%.

Примеры 2-11 осуществляют по методике, аналогичной примеру 1, а показатели композиции, подвергаемой криоструктурированию и готового продукта, приведены в таблице. При заявляемых параметрах композиции и процесса криоструктурирования (Примеры 1-3, 5, 6, 9-11) конечный продукт - губчатый коллагеновый материал обладает высокой влагоудерживающей способностью (5000-5840%), за пределами приведенных диапазонов получается материал с низкой пористостью, либо низкой прочностью, либо из-за быстрого сшивания не удается сформировать целевой продукт.

Примеры 12-14 осуществляют по методике, аналогичной примеру 1, но отличаются соотношением формальдегид/коллаген, объемом вспенивателя к общему объему композиции и параметрами закрепительной ванны и временем выдержки в нем материала:

- при pH выше 11,5 материал становится жестким, хотя, влагоудерживающая способность губчатого

материала довольно высокая 4600 (Пример 12);

- при уменьшении содержания формальдегида в составе закрепительной ванны ниже 0,5%, влагоудерживающая способность материала снижается до 4300% (Пример 13);

- при выдержке материала в закрепительной ванне менее 6 часов, также снижается влагоудерживающая способность конечного продукта до 4500% (Пример 14), а при увеличении времени выдержки не изменяется влагоудерживающая способность материала.

Оптимальными являются условия получения пористого материала примеров 2,3,6 и 11 (2,3,6 и 11 п.п. таблицы), при которых получают материалы с наибольшей пористостью (83-87%) и влагоудерживающей способностью (5500-5840%).

Таблица

№ Опыт а	Показатели композиции									Показатели губки		
	Объем, мл				Коллаген, %(г)	Формальдегид		Вспенитель		Удельная масса, г/см ³	Объем пор %	Влагоудержание, %
	Увеличен. общ. объем	Исхный общ. объем	К-но взвеси коллаг., г	Вода для разбав-я		Объем (колво), мл(г)	От-ние Форм-кол, г/г	Объем, мл	% от общ.исх. объема			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	38,0	28	5	13	1(0,28)	4(0,06)	0,22	6	21,4	0,041	80	5100
2	37,6	28	7,5	10	1,5(0,41)	4(0,06)	0,15	6	21,4	0,027	83	5500
3	37,8	28	10	5	2(0,55)	4(0,06)	0,11	6	21,4	0,026	87	5840
4	37,7	28	12,5	8	2,5(0,69)	4(0,06)	0,09	6	21,4	0,034	75	4500
5	38	28	7	5,5	1,5(0,41)	4(0,06)	0,15	4	14,3	0,030	81	5100
6	37,9	28	7	13	1,5(0,41)	4(0,06)	0,15	6	21,4	0,027	83	5540
7	38	28	7	11	1,5(0,41)	4(0,06)	0,15	8	28,6	0,036	78	4720
8	37,5	28	7	9	1,5(0,41)	4(0,06)	0,15	10	35,7	0,04	78	4680
9	37,6	28	7	7	1,5(0,41)	1(0,015)	0,036	6	21,4	0,038	80	5000
10	37,9	28	7	11	1,5(0,41)	2(0,03)	0,072	6	21,4	0,043	82	5200
11	37,5	28	7	11	1,5(0,41)	4(0,06)	0,15	6	21,4	0,026	83	5560
12	38	28	7	11	1,5(0,41)	4(0,06)	0,15	6	21,4	0,034	77	4600
13	38	28	7	11	1,5(0,41)	4(0,06)	0,15	6	21,	0,031	75	4300
14	38	28	7	11	1,5(0,41)	4(0,06)	0,15	6	21,4	0,033	79	4500

Предлагаемое изобретение имеет следующие преимущества по сравнению с известным способом получения губчатых коллагеновых материалов:

- использование для получения губчатых коллагеновых материалов нативного не реконструированного коллагена

- приготовление суспензии волокнистого микро фибриллярного коллагена осуществляется в одну стадию, в водной среде, простым смешиванием очищенной от сопутствующих веществ набухшей, нейтральной коллагеновой массы с водной вытяжкой из корня колючелистника качимовидного (*Acanthophyllum gipsophiloides* Regel);

- полностью убираются стадии растворения и выделения волокнистого коллагена, следовательно, упрощается процесс и экономятся химические реагенты;

- в противоположность способу-прототипу не используются органические растворители (этиловый спирт, ацетон), а значит, упрощается процесс и экономятся химические реагенты;

- получение губчатых материалов с улучшенными показателями, высокой влагоудерживающей способностью (до 5840%).

Заявленный способ не изменяет природную (исходную) структуру коллагена, а лишь упрощает и удешевляет технологию получения губчатого коллагенового материала.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Способ получения губчатого коллагенового материала, включающий приготовление водной суспензии коллагена разбавлением очищенной от сопутствующих веществ набухшей, нейтральной коллагеновой массы водой до концентрации суспензии по коллагену 1-2%, смешивание полученной суспензии со сшивающим агентом - 1,5%-ным водным раствором формальдегида, замораживание, размораживание, промывку, обработку 1%-ным водным раствором щелочи и 0,5%-ным водным раствором формальдегида при pH=10-12 и комнатной температуре, повторную промывку, отжим и сушку, отличающийся тем, что при приготовлении водной суспензии в коллагеновую массу вводят водную вытяжку из корня колочелистника качимовидного (*Acanthophyllum gypsophiloides* Regel), полученную при массовом соотношении воды и корня указанного растения, равном 1:15 соответственно, с pH 4,11, и взбивают до получения мягкой кремopodobной массы, а 1,5%-ный водный раствор формальдегида смешивают с водной суспензией коллагена в соотношении, равном (0,11-0,21):1 к массе сухого коллагена.

(56) 1 RU2053796
2 RU2116801
3 UZ 04736 AP

UZ IAP 05125

UZ IAP 05125

Агентство по Интеллектуальной собственности Республики Узбекистан
100000, Ташкент, проспект Мустакиллик, 59
