

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202200102** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
2023.08.31

(51) Int. Cl. *A61K 31/198* (2006.01)  
*A61K 47/36* (2006.01)  
*A61P 5/14* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2022.02.22

---

(54) **СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МОДИФИЦИРОВАННОГО КОМПЛЕКСА ХИТОЗАН С ЛЕВОТИРОКСИНОМ**

---

(96) 2022/005 (AZ) 2022.02.22

(71) Заявитель:  
**ГУММАТОВ АЗЕР ФАРАХИМ ОГЛЫ**  
(AZ)

(72) Изобретатель:  
**Гумматов Азер Фарахим оглы,  
Зейналов Низами Аллахверди  
оглы, Тагиев Дильгам Бабир оглы,  
Ширинова Сафарова Хатира  
Новрузали кызы, Тапдыгов Шамо  
Зохраб оглы, Сафаралиева Самира  
Фаиг кызы, Балаева Эмилья Закир  
кызы (AZ)**

(74) Представитель:  
**Рамазанов Г.Ч. (AZ)**

---

(57) Изобретение относится к области медицины, а именно к созданию нового комплекса хитозана и левотироксина. Синтезированная новая полимер-левотироксиновая смесь, содержащая хитозан/арабиногалактан, может быть использована в медицине для удовлетворения суточной потребности организма в гормоне L-тироксине при гипотиреозе. Комплекс содержит низкомолекулярный хитозан 95-99%, природный полисахарид арабиногалактан 1-5% (по массе) и 5-100 мкг левотироксина-На пентагидрата. Тироксин, гормон щитовидной железы, стимулирует рост и развитие, увеличивает потребность тканей в кислороде, регулирует метаболизм белков, жиров и углеводов, регулирует работу сердечно-сосудистой и центральной нервной системы. Полимерные носители усиливают терапевтический эффект за счет способности контролировать кинетику препарата в организме, его постепенное увеличение в плазме и длительное поддержание его концентрации. В результате за счет биополимерных носителей уменьшаются дозы и кратность введения лекарств, улучшается всасывание лекарств. Целью изобретения является получение данной композиции как минимум из двух полимеров, в частности низкомолекулярного хитозана, и арабиногалактана, обладающих высокой биосовместимостью, иммуномодулирующими и гастропротекторными свойствами.

---

**A1**

**202200102**

**202200102**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

### (СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОМПЛЕКСА МОДИФИЦИРОВАННОГО ХИТОЗАНА С ЛЕВОТИРОКСИНОМ)

Изобретение относится к области медицины, а именно к созданию нового комплекса хитозана и левотироксина. Синтезированная новая полимер-левотироксиновая смесь, содержащая хитозан/арабиногалактан, может быть использована в медицине для удовлетворения суточной потребности организма в гормоне L-тироксине при гипотиреозе.

Комплекс содержит низкомолекулярный хитозан 95-99%, природный полисахарид арабиногалактан 1-5% (по массе) и левотироксин-Na пентагидрат 5-100 мкг (табл. 1).

Таблица 1.

№	Хитозан (масса), %	Арабиногалактан (масса), %	Левотироксин-Na пентагидрат, мкг.
1.	95	5	5; 25; 50; 75; 100.
2.	96	4	5; 25; 50; 75; 100.
3.	97	3	5; 25; 50; 75; 100.
4.	98	2	5; 25; 50; 75; 100.
5.	99	1	5; 25; 50; 75; 100.

Известно, что тироксин, гормон щитовидной железы, стимулирует рост и развитие, повышает потребность тканей в кислороде, обеспечивает обмен белков, жиров и углеводов, регулирует деятельность сердечно-сосудистой и центральной нервной систем. В связи с гипотиреозом, вызванным удалением части или полностью желез при дисфункции, больные получают в течение всей жизни солевую форму гормонозаменивателя L-тироксина - левотироксин-Na пентагидрат. При длительном применении препарата, наблюдаются такие побочные действия, как прибавка в весе вследствие повышенного аппетита, выпадение волос, нарушение функции почек, тахикардия, аритмия, нарушение сна, необъяснимая тревожность и др[1].

В последние годы, для избежания передозировки, как в антибиотиках и белках, левотироксин иммобилизуется на природных и синтетических полимерных носителях. В результате увеличивается период активности препарата в плане выполнения им своей функции за счет продления его циркуляции в кровотоке. Среди таких полимерных носителей особое значение имеет хитозан, природный полиаминосахарид, который считается более благоприятной матрицей с точки зрения биосовместимости [2].

Анализы показывают, что исследования процесса выделения левотироксина путем его загрузки в матрицы на основе хитозана ограничены. Только в небольших количествах исследований можно встретить, что биологическую активность

левотироксина можно исследовать *in vitro* или *in vivo* путем иммобилизации его в гидрогели на основе хитозана.

Готовили смесь хитозана и коллагена в разных массовых количествах:

Хитозан (87 кДа) - 0,4 г

Коллаген - 0,4 г.

Левотироксин – 1 мкг и 10 мкг

Левотироксин загружали в смарт-гидрогель и изучали его высвобождение в средах фосфатно-солевого буфера, перекиси водорода и лизоцима. Ангиогенный потенциал комплекса гидрогель-лекарство, содержащего 1-10 мкг левотироксина, оказался высоким в течение 8-14 дней. Однако использование в исследованиях высокомолекулярного хитозана затрудняет его оптимальное усвоение [3].

В связи с высоким значением вязкости высокомолекулярного хитозана была разработана новая композиция с использованием относительно низкомолекулярного хитозана [4]:

Хитозан - 2% (по массе), степень деацетилирования 83%, вязкость 30,85 мл/г.

Гидроксиапатит - 1% (по массе)

Карбоксиметилцеллюлоза - 2% (по массе)

Левотироксин-Na - 0,1; 0,5 и 1,0 мкг/мл

Гидрогель хитозан/карбоксиметилцеллюлоза/гидроксиапатит загружали левотироксином, и эксперименты по ангиогенезу изучали *ex-ovo*. Гидрогель, содержащий 0,1 мкг левотироксина, был нетоксичен и обладал максимальным потенциалом неоваскуляризации, с хорошими свойствами изгиба, складывания, растекания и растяжения. Однако, наличие трех компонентов и наличие гидроксиапатита не обеспечивают однородного распределения препарата.

Целью изобретения является создание композиции как минимум из двух полимеров, особенно низкомолекулярных полисахаридов, и использование второго компонента - арабиногалактана, обладающего высокой биосовместимостью, иммуномодулирующими и гастропротекторными свойствами.

Близкий к предлагаемому составу прототип был разработан Э. Обинной и изучено кумулятивное выделение левотироксина. Так, автором были получены комплексы левотироксина отдельно с карбопол-, поликарбофил-, гидроксипропил метилцеллюлозой и хитозаном. Состав каждой матрицы был дифференцирован различными количествами левотироксина, и были проведены *in vitro* и *in vivo* исследования высвобождения.

В патенте описан синтез комплекса левотироксина с новыми бинарными полимерами, основным компонентом которых является низкомолекулярный хитозан и другой природный полисахарид арабиногалактан в количестве до 1-5%.

### **Вещества**

Хитозан со средней молекулярной массой 35 кДа (степень деацетилирования 85-87%), ледяная (безводная) уксусная кислота, этанол (95%), арабиногалактан

(≥99,9%), этанол и NaOH от Sigma-Aldrich. Пентагидрат левотироксина-натрия (CAS 6106-07-6) также был приобретен от Sigma Aldrich.

### **Способ получения комплекса**

Изобретение представлено следующими примерами:

#### **Пример 1.**

Хитозан - 4,75 г.

Арабиногалактан - 0,25 г.

Уксусная кислота  $\text{CH}_3\text{COOH}$  - 20 мл 0,5 М

Левотироксин-Na пентагидрат - 5 мкг

4,75 г хитозана диспергируют в 20 мл 0,5 М уксусной кислоты и 0,25 г арабиногалактана в деионизированной воде и непрерывно перемешивают в течение 24 часов до полного растворения. Раствор выливают в чашку Петри и замораживают при  $-20^\circ\text{C}$  в течение 15 часов. Затем образец погружают в 3М холодный раствор NaOH в этаноле и снова выдерживают при  $-20^\circ\text{C}$  в течение 24 часов. Гидрогель промывают сначала 50%-ным раствором этанола, а затем бидистиллированной водой до получения нейтральной среды ( $\text{pH} = 6,5-7$ ). Затем, после промывания 95%-ым раствором этанола сушится при комнатной температуре. Для получения комплекса с левотироксином бинарную пробу Xz / AQ диаметром 15-20 мм добавляют к 5 мл раствора левотироксина с концентрацией 1 мкг/мл и выдерживают в течение 24 часов для иммобилизации. После абсорбции препарата комплекс Xz/AQ-левотироксин промывают раствором щелочи в этаноле, высушивается методом вакуумирования при  $-40^\circ\text{C}$ . После высушивания комплекс доводят до постоянной массы выдерживанием при  $30^\circ\text{C}$  в течение 48 часов.

#### **Пример 2.**

Хитозан - 4,80 г.

Арабиногалактан - 0,20 г.

Уксусная кислота  $\text{CH}_3\text{COOH}$  - 20 мл 0,5 М

Левотироксин-Na пентагидрат - 50 мкг

4,80 г хитозана растворяют в 20 мл 0,5 М уксусной кислоты и 0,02 г арабиногалактана в 10 мл воды. Раствор замораживают при  $-20^\circ\text{C}$  и повторно хранят в этанольном растворе NaOH при  $-20^\circ\text{C}$  в течение 24 часов. Для получения комплекса с левотироксином образец Xz / AQ добавляют к 10 мл лекарственного раствора с концентрацией 5 мкг/мл и сохраняют для иммобилизации. После абсорбции препарата комплекс Xz/AQ-левотироксин промывают раствором щелочи в этаноле, высушивается методом вакуумирования при  $-40^\circ\text{C}$ . Комплекс доводят до постоянной массы выдерживанием при  $30^\circ\text{C}$  в течение 2 суток.

### Пример 3.

Хитозан - 4,95 г.

Арабиногалактан - 0,05 г.

Уксусная кислота  $\text{CH}_3\text{COOH}$  - 20 мл 0,5 М

Левотироксин-На пентагидрат - 100 мкг

4,95 г хитозана полностью растворяют в 20 мл 0,5 М уксусной кислоты и 0,05 г арабиногалактана в небольшом количестве воды. Для получения комплекса препарата используется 10 мл раствора левотирокина с концентрацией 10 мкг/мл. После абсорбции препарата комплекс *Xz/AQ-левотироксин* промывают раствором щелочи в этаноле, сушат при  $-40^\circ\text{C}$  и доводят до постоянной массы.

FTIR и UV-Vis спектроскопические исследования показали, что левотироксин химически связан со структурой *Xz/AQ*, и было доказано, что он иммобилизован в матрицу, в основном, за счет водородных связей, а также ориентационных и электростатических сил.

Для исследования *in vivo* комплексы *Xz/AQ-левотирокина* с различным содержанием действующего вещества растворяли в слабой уксусной кислоте и желудочном соке и изучали процессы всасывания на кроликах.

По сравнению с прототипом изобретение описывает содержание в комплексе до 5-100 мкг активного препарата левотирокина-пентагидрата натрия, который согласно экспериментальным испытаниям на кроликах имеет более длительный период всасывания и циркуляции в кровотоке. Кроме того, нежелательно тратить много времени на создание комплексов левотирокина с матрицами и использовать в процессе токсическое вещество- метанол. Использование в процессе D-маннитола в качестве связующего и высушивание при  $-80^\circ\text{C}$  также могут рассматриваться как сложная процедура. Однако, предлагаемый нами метод отличается тем, что он более прост и эффективен.

### Литература:

1. Jayeon S., Hansol K., Chang Y.L., Junhyeok Y., Won S.Y., Hyun G.P. Identification of thyroid hormone/thyroid hormone receptor interaction based on aptamer-assisted protein-induced fluorescence enhancement // *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 191, p.113444.
2. Islam K.N., Ihara M., Dong J.H., Kasagi N., Mori T., Ueda H. Direct Construction of an Open-Sandwich Enzyme Immunoassay for One-Step Noncompetitive Detection of Thyroid Hormone T4 // *Analytical Chemistry*, 2011, 83, p.1008–1014.
3. Aleem A.R., Shahzadi L., Alvi F., Khan A.F., Chaudhry A.A., Rehman I.Ur., Yar M. Thyroxin releasing chitosan/collagen based smart hydrogels to stimulate neovascularization // *Materials and Design*, 2017, 133, p.416-425.
4. Muhammad H.M., Lubna Sh., Razia B., Sher Z.S., Abdul S.K., Ather F.K., Aqif A.C., Ihtesham Ur.R., Muhammad Y. Thyroxine-loaded chitosan/carboxymethyl

cellulose/hydroxyapatite hydrogels enhance angiogenesis in in-ovo experiments // International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 145, p.1162-1170.

5. E.Vin-Boris Obinna. Development and *in vitro* characterization of polymer-based nasal formulations of levothyroxine. Submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of masters of science at Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, 2020.

**Авторы:**

1) Гумматов Азер Фарахим оглы



2) Ширинова Сафарова Хатира Новрузали кызы



3) Тагиев Дильгам Бабир оглы



4) Зейналов Низами Аллахверди оглы



5) Тапдыгов Шамо Зохраб оглы



6) Сафаралиева Самира Фаиг кызы



## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

### (СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ МОДИФИЦИРОВАННОГО ХИТОЗАНОВОГО КОМПЛЕКСА С ЛЕВОТИРОКСИНОМ)

Комплекс нового полисахарида на основе хитозана с пентагидратом левотироксина-Na состоит из смеси двух полимеров и действующего вещества, который отличается тем, что содержит разные массы (%) арабиногалактана и лекарственного средства с биологической активностью:

Хитозан, растворенный в слабом растворе кислоты	95-99 %
Водорастворимый арабиногалактан	1-5 %
Левотироксин-Na пентагидрат	5-100 мкг

#### Авторы:

1) Гумматов Азер Фарахим оглы



2) Широнова Сафарова Хатира Новрузали кызы



3) Тагиев Дильгам Бабир оглы



4) Зейналов Низами Аллахверди оглы



5) Гапдыгов Шамо Зохраб оглы



6) Сафаралиева Самира Фаиг кызы



**ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ**

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

**202200102****А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:***A61K 31/198 (2006.01)**A61K 47/36 (2006.01)**A61P 5/14 (2006.01)*

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

**Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:**

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)

A61K 31/198, 47/36, A61P 5/14

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)  
EAPATIS, Espacenet, Patentscope, PubMed, elibrary.ru, Google, Яндекс**В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ**

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y, D	OBINNA E. Development and in vitro characterization of polymer-based nasal formulations of levothyroxine. Dalhousie University Halifax, Nova Scotia, 2020 [онлайн] [найдено 2023-02-09] Найдено в: < <a href="https://dalspace.library.dal.ca/handle/10222/79676">https://dalspace.library.dal.ca/handle/10222/79676</a> > раздел 3.5 на с. 21-22, табл. 6	1
Y	KAUR N et al. Levothyroxine Sodium Pentahydrate Tablets – Formulation Considerations. JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES. 2021, Vol. 110, P. 3743-3756 doi: 10.1016/j.xphs.2021.08.006 с. 3744, правая колонка, последний абзац	1
Y	SLYUSARENKO N et al. Synthesis and Properties of Interpolymer Complexes Based on Chitosan and Sulfated Arabinogalactan. POLYMER SCIENCE, SERIES B. 2020, Vol. 62, No. 3, P. 272-278 doi: 10.1134/S1560090420020050 реферат, с. 2020, правая колонка, первый полный абзац	1
Y	EHRENFREUND-KLEINMAN T et al. Synthesis and biodegradation of arabinogalactan sponges prepared by reductive amination. BIOMATERIALS. 2002, Vol. 23, P. 4621-4631 doi: 10.1016/S0142-9612(02)00209-0 реферат, разделы 3.2.3 и 3.2.4 на с. 4627-4630	1
A	RU 2698455 C1 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР АГРОБИОТЕХНОЛОГИЙ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК) 2019-08-27 формула	1
A	US 2002012705 A1 (CHONDROS, INC.) 2002-01-31 формула	1

 последующие документы указаны в продолжении**\* Особые категории ссылочных документов:**

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

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

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

«Х» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

«У» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&amp;» - документ, являющийся патентом-аналогом

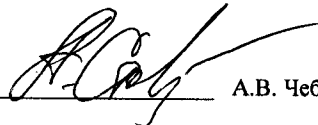
«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: **09/02/2023**

Уполномоченное лицо:

Заместитель начальника Управления экспертизы

Начальник отдела химии и медицины


  
A.V. Чебан