(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 1926155 B
(45)授权公告日 2010.12.01

(21)申请号 200580006765.5

(22)申请日 2005.03.01

(30)优先权数据
04100813.7 2004.03.01 EP

(85)PCT申请进入国家阶段日
2006.09.01

(86)PCT申请的申请数据
PCT/EP2005/050877 2005.03.01

(87)PCT申请的公布数据
WO2005/082942 DE 2005.09.09

(73)专利权人 B·布朗·梅尔松根有限公司
地址 德国梅尔松根

(72)发明人 迈克尔·博尔 安德烈亚斯·菲施 多纳特·R·施潘

(74)专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责任公司 11219
代理人 郭国清 樊卫民

(51)Int.Cl.
C08B 31/10(2006.01)
A61K 47/36(2006.01)
A61K 31/718(2006.01)
A61B 10/00(2006.01)

(56)对比文件
CN 1195527 A,1998.10.14, 全文.
CN 1266438 A,2000.09.13, 全文.
GB 1395777 A,1975.05.29, 全文.
EP 0170275 A,1986.02.05, 全文.
EP 0402724 A,1990.12.19, 全文.

审查员 褚战星

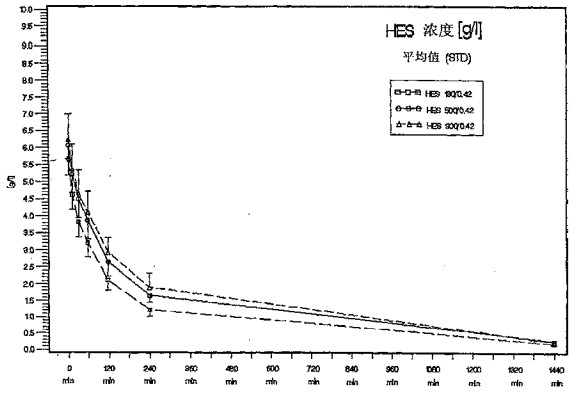
权利要求书 2 页 说明书 16 页 附图 1 页

(54)发明名称

羟乙基淀粉

(57)摘要

本发明公开了一种羟乙基淀粉，其制备方法，含有这种羟乙基淀粉的药剂，这种药剂用于制备容量代用品，血浆代用品或血浆增容剂的用途，以及这种药剂用于保持血量正常和/或用于改进大循环和微循环和/或用于改进营养氧供应和/或用于稳定血液动力学和/或用于改进容量效率和/或用于降低血浆粘度和/或用于提高耐贫血症性和/或用于在被扰乱的血液供应，和动脉、特别是外周动脉闭塞性疾病中进行血液稀释、特别是治疗性血液稀释中的用途。



CN 1926155 B

1. 一种羟乙基淀粉，其平均分子量 Mw 为 600,000 ～ 1,500,000，特征在于摩尔取代的 MS 为 0.25-0.5，和 C_2/C_6 比为 2- 小于 8，其中 MS = 羟乙基与脱水葡萄糖单元的平均摩尔比，C_2/C_6 比是指在羟乙基淀粉的 2 位取代的脱水葡萄糖单元的数量与在羟乙基淀粉的 6 位取代的脱水葡萄糖单元的数量的比。

2. 如权利要求 1 所述的羟乙基淀粉，特征在于所述摩尔取代的 MS 为 0.35-0.5。

3. 如权利要求 2 所述的羟乙基淀粉，特征在于所述摩尔取代的 MS 为 0.39- 小于或等于 0.45。

4. 如权利要求 2 所述的羟乙基淀粉，特征在于所述摩尔取代的 MS 为 0.4 至 0.44。

5. 如权利要求 1 所述的羟乙基淀粉，特征在于所述平均分子量为 620,000-1,200,000。

6. 如权利要求 1 所述的羟乙基淀粉，特征在于所述平均分子量为 700,000-1,000,000。

7. 如权利要求 1 所述的羟乙基淀粉，特征在于所述 C_2/C_6 比为 2-7。

8. 如权利要求 7 所述的羟乙基淀粉，特征在于所述 C_2/C_6 比为 2.5- 小于或等于 7。

9. 如权利要求 7 所述的羟乙基淀粉，特征在于所述 C_2/C_6 比为 2.5-6。

10. 如权利要求 7 所述的羟乙基淀粉，特征在于所述 C_2/C_6 比为 4-6。

11. 如权利要求 1 所述的羟乙基淀粉，特征在于从蜡质玉米淀粉中得到。

12. 一种药剂，含有如权利要求 1 所述的羟乙基淀粉。

13. 如权利要求 12 所述的药剂，特征在于是水溶液形式。

14. 如权利要求 12 所述的药剂，特征在于是胶体水溶液形式。

15. 如权利要求 12 或 13 中任一项所述的药剂，特征在于所述羟乙基淀粉浓度最高达 20％。

16. 如权利要求 15 所述的药剂，特征在于所述羟乙基淀粉浓度为 0.5-15％。

17. 如权利要求 15 所述的药剂，特征在于所述羟乙基淀粉浓度为 2-12％。

18. 如权利要求 15 所述的药剂，特征在于所述羟乙基淀粉浓度为 4-10％。

19. 如权利要求 15 所述的药剂，特征在于所述羟乙基淀粉浓度最高达 6％。

20. 如权利要求 12 所述的药剂，特征在于还含有氯化钠。

21. 如权利要求 20 所述的药剂，特征在于氯化钠的浓度为 0.9％。

22. 如权利要求 12 所述的药剂，特征在于还包括调节血浆的电解质。

23. 如权利要求 12 所述的药剂，特征在于是缓冲溶液形式和 / 或含有能够代谢的阴离子的溶液形式。

24. 如权利要求 12 所述的药剂，特征在于是高渗溶液形式。

25. 如权利要求 12 所述的药剂，特征在于所述制剂经灭菌过滤或热灭菌。

26. 如权利要求 12 所述的药剂，特征在于是容量代用品。

27. 如权利要求 12 所述的药剂，特征在于含有药学活性成分或活性成分组合物。

28. 如权利要求 12 所述的药剂，在用于制备血浆代用品或血浆增容剂中的用途。

29. 如权利要求 12 所述的药剂，在用于制备用于保持血量正常和 / 或用于改进大循环和微循环和 / 或用于改进营养氧供应和 / 或用于稳定血液动力学和 / 或用于改进容量效率和 / 或用于降低血浆粘度和 / 或用于提高耐贫血症性和 / 或用于在被扰乱的血液供应和动脉的药物中的用途。

30. 如权利要求 12 所述的药剂，在用于制备用于外周动脉闭塞性疾病中进行血液稀释

的药物中的用途。

31. 如权利要求 12 所述的药剂，在用于制备用于治疗性血液稀释的药物中的用途。

32. 一种制备如权利要求 1-4 中任一项所述的羟乙基淀粉的方法，特征在于：

(i) 使悬浮于水中的淀粉与环氧乙烷反应；和

(ii) 使用酸部分水解得到的淀粉衍生物，直到羟乙基淀粉达到所需的平均分子量范围。

33. 如权利要求 32 所述的方法，特征在于所述淀粉为玉米淀粉。

34. 如权利要求 32 所述的方法，特征在于所述酸为盐酸。

35. 如权利要求 32 所述的方法，特征在于将碱化剂加到所述悬浮于水中的淀粉中。

36. 如权利要求 35 所述的方法，特征在于所述碱化剂是 NaOH。

37. 如权利要求 32 或 35 中任一项所述的方法，特征在于以这样的量将碱化剂加到所述悬浮淀粉中，所述的量要使碱化剂与淀粉的摩尔比为 0.25-1。

38. 如权利要求 37 所述的方法，特征在于所述的量要使碱化剂与淀粉的摩尔比为 0.3-0.8。

39. 如权利要求 32 所述的方法，特征在于还包括如下步骤 (iii) 灭菌过滤，和可选择地 (iv) 超滤。

40. 一种药盒，各自包括：

(i) 如权利要求 1 中所述的羟乙基淀粉；

(ii) 无菌盐溶液；和可选择地

(iii) 药学活性成分，或活性成分组合物。

41. 如权利要求 40 所述的药盒，特征在于所述的无菌盐溶液为氯化钠溶液。

42. 如权利要求 40 所述的药盒，特征在于各成分 (i)，(ii) 和可选择地 (iii) 位于多隔室袋中的分开的隔室内。

羟乙基淀粉

[0001] 本发明涉及一种羟乙基淀粉和制备这种羟乙基淀粉的方法。此外，本发明涉及一种含有羟乙基淀粉的药剂，这种药剂用于制备容量代用品，血浆代用品或血浆增容剂的用途，以及这种药剂用于保持血量正常和／或用于改进大循环和微循环和／或用于改进营养氧供应和／或用于稳定血液动力学和／或用于改进容量效率和／或用于降低血浆粘度和／或用于提高耐贫血症性和／或用于在被扰乱的血液供应和动脉、特别是外周动脉性闭塞病中进行血液稀释、特别是治疗性血液稀释的用途。

[0002] 在预防和治疗血容量过低中使用血管内液是最重要的措施，而不管是否血容量过低是否因在大循环和微循环（如脓血症）间被扰乱的分布或因血管舒张（例如，在麻醉开始期间）而造成的血液或体液立即损失（在出血，外伤，手术，烧伤）。适于这种症状的灌输液被认为可以恢复血量正常并保持灌注重要器官和外周血流。同时，这种溶液必须不能过度地压迫循环，并且它们必须没有副作用。就这一点而言，目前使用的所有容量代用品都有优点和缺点。尽管所谓的晶体溶液（电解质溶液）基本上没有立即的副作用，但它们仅能保证血管内容量和血液动力学在短期内稳定，并且稳定不充分。在明显或持续血容量过低的情况下，必须灌输过量晶体溶液，因为它们不能全部保留在血管内，而是快速地在血管外空间中消散。然而，快速流进血管外空间不仅限制了晶体溶液的循环填充作用，而且有发生外周和肺水肿的可能。除了出现肺水肿的致命威胁外，还导致营养氧供应的恶化，这也受到外周水肿的影响。

[0003] 相比而言，胶体容量代用品，不管其中所含的胶体是天然来源还是合成来源的，都具有更可靠的作用。这是由于如下原因：因为胶体具有胶体－渗透作用，所以与晶体相比，它们可以在循环中保留供应的液体更久，这样可防止液体流进空隙中。另一方面，与晶体溶液相比，胶体容量代用品引起更高程度的不需要的反应。这样，天然胶体清蛋白，如所有的血液或血浆衍生物，都有被病毒疾病感染的可能；此外，可以与其他药物相互作用，例如，ACE 抑制剂；最后，清蛋白的实用性受到限制，并且它作为容量代用品的用途不成比例地昂贵。清蛋白用作容量代用品的其他疑问是从外部加入时清蛋白内生合成的抑制以及易于外血管化。这意味着从循环进入血管外空间，并在那里由于清蛋白的胶体－渗透作用发生不需要的和持续的液体积聚。

[0004] 在合成胶体中，严重过敏反应和血凝物的严重抑制使右旋糖苷制剂在治疗中几乎完成消失。尽管羟乙基淀粉 (HES) 溶液也有引发过敏反应和影响血凝物的可能，但是与右旋糖苷相比，这种可能程度更小。与右旋糖苷相比，使用 HES 溶液时几乎观察不到严重过敏反应（严重度 III 和 IV 的反应），并且近年来通过进一步研究 HES 溶液，高分子量 HES 溶液固有的对血凝物的影响也明显降低。与明胶溶液（也用作血浆代用品并且基本上不影响血凝物）相比，至少高和中分子量实施方案的 HES 溶液具有更长血浆停留时间和有效性的优点。

[0005] EP-A-0 402 724 公开了一种羟乙基淀粉的制备和用途，其平均分子量 Mw 为 60,000 ～ 600,000，摩尔取代 MS 为 0.15 ～ 0.5，和取代度 DS 为 0.15 ～ 0.5。其中披露了快速 (6 ～ 12 小时）和完全降解羟乙基淀粉，并用作血浆增容剂。在平均分子量为 100,000 ～

300,000 的优选范围内，明确测试了平均分子量为 234,000 的羟乙基淀粉。

[0006] US-A-5,502,043 公开了羟乙基淀粉用于改进外周动脉闭塞病中的大循环的用途，其平均分子量 Mw 为 110,000 ～ 150,000，摩尔取代 MS 为 0.38 ～ 0.5，和取代度 DS 为 0.32 ～ 0.45。此外，该文献教导了使用低分子量 (Mw 110,000 ～ 150,000) 羟乙基淀粉，由于低分子量，这种羟乙基淀粉使血浆粘度低，并确保改进血流中的大循环。然而，该文献中反对使用较高分子量羟乙基淀粉，如 Mw 为 500,000 的羟乙基淀粉，因为它们会提高血浆粘度，从而尽管它们较低的摩尔取代 (MS = 0.28) 也会恶化大循环。

[0007] 在世界范围内，目前使用不同的 HES 制剂作为胶体容量代用品，并主要通过分子量来区分，也通过与羟乙基的醚化程度和其他参数来区分。最具有低表性的这类物质是所谓的 Heta 淀粉 (HES 450/0.7) 和 Penta 淀粉 (HES 200/0.5)。后都是当前最广泛使用的"标准 HES"。此外，HES 200/0.62 和 HES 70/0.5 也有一点作用。涉及到分子量和涉及到其他参数的公开信息是平均量，其中分子量是以道尔顿计的重均 (Mw) 值 (例如，HES 200,000) 或简写作千道尔顿 (例如，HES 200)。与羟乙基的醚化程度以摩尔取代 MS 表征 (例如，在 HES 200/0.5 为 0.5 ;MS = 羟乙基与脱水葡萄糖单元的平均摩尔比)，或以取代度表征 (DS = 单或多羟乙基化的葡萄糖与总脱水葡萄糖单元的比)。根据分子量，在临床应用中将 HES 溶液分成高分子量 (450kD)，中分子量 (200-250kD) 和低分子量 (70-130kD) 制剂。

[0008] 至于 HES 溶液的凝结作用，分成非特异性和特异性影响。对血凝物的非特异性影响是对血液进行稀释 (血液稀释) 的结果，这在将溶液和其他容量代用品灌输进循环中时出现。这种血液稀释也影响凝结因子，其浓度随灌输而对血液和血浆蛋白的稀释程度和时间而下降。相应地，较大或持续作用可以导致低凝结，这可以实验室诊断检测到，并且在极端情况下，是临床相关的。

[0009] 此外，羟乙基淀粉可以对血凝物产生特异性影响，并对几种因子起作用。因而，在某些条件下或在使用某些 HES 制剂时，发现凝结蛋白因子 VIII(F VIII) 和血管性血友病因子 (vWF) 下降，并且由于血液稀释的原因大于血浆蛋白的常见降低。这种比预期更大的降低是否因 FVIII/vWF 的形成下降或释放所引起的，如因 HES 对血管内皮的涂覆作用或其他机制所引起的，还不十分清楚。

[0010] 然而，HES 不仅影响所述凝结因子的浓度，而且也影响血小板功能。这完全或部分地由于 HES 与血小板表面结合的原因，从而抑制配体进入血小板的纤维蛋白原受体。

[0011] 当使用高分子量 HES(例如，HES 450/0.7) 时，尽管它们没有起到中分子量 (例如，HES 250/0.5) 或低分子量 HES(例如，HES 130/0.4 或 HES 70/0.5) 那样的大作用，但是 HES 对血凝物的特异性作用特别明显 (J.Treib 等人，Intensive Care Med.(1999)，pp.258 ～ 268 ;O.Langeron 等人，Anesth.Analg.(2001)，pp.855 ～ 862 ;R.G.Strauss 等人，Transfusion(1988)，pp.257-260 ;M.Jamnicki 等人，Anesthesiology(2000)，pp.1231 ～ 1237)。

[0012] 如果将高分子量 HES 的风险分布与中和低分子量制剂相比，后者的风险明显降低，即不仅与血凝物相互作用，而且具有特定的药物动力学性能。因此，高分子量 HES 溶液在循环中表现出较高的积聚，尽管这种缺点在中分子量 HES 中降低，并且在低分子量制剂中基本上不存在积聚。低分子量 HES 溶液如 HES 130/0.4 中没有更多积聚的事实是一种相关治疗过程，因为 HES 的血浆水平不能在临床途径中检测到，因此没有发现在数天内用高

分子量溶液得到的极端浓度。在这种情况下，使用者不能知道在循环中积聚的″残余HES″量，但仍然影响额外灌输的HES的动力学和行为，在循环中仍存在不清楚的量。因此，现有技术中高分子量HES的作用不可计算；在大多数情况下，出于治疗原因，在循环中比所需要的或所期望的持续时间更长，并且代谢过程不清楚。

[0013] 相比而言，在灌输后的约20～24小时内低分子量HES完全从循环中消失。这避免了积压作用，并且不发生积聚，特别是对于反复灌输而言。与高分子量淀粉相比，低分子量淀粉的药物动力学行为是可计算的，因此易于控制。在循环中没有出现过高负载或清除机制。

[0014] 然而，与高分子量制剂相比，低分子量HES的行为是有利的，其血浆半衰期明显较短。低分子量HES的血浆半衰期仅约为HES 200的一半或更少(J.Waitzinger等人，Clin.Drug Invest.(1998)，pp.151～160)，并且在明胶制剂的半衰期范围内，而明胶制剂被定级为决定性的短期效力。尽管容量代用品的短半衰期不利于分类，因为通过更频繁或更高剂量地给予容量代用品可以进行补偿，但是在严重或持续血容量过低中，短半衰期和短有效期的容量代用品可能导致循环填充不足(更象晶体溶液)，或者，在相应地提高剂量以补偿这种缺点时，间质液可能过载。

[0015] 在这种背景之下，需要一种容量代用品，一方面其积聚趋势低和对血凝物的影响低(如低分子量HES)，另一方面，与低分子量HES溶液相比，半衰期更长，其性能接近于晶体溶液。

[0016] 目前正在寻找具有这种性能的羟乙基淀粉，已发现与已知低分子量HES溶液相比具有更长血浆半衰期的羟乙基淀粉HES溶液，这些可以被制备，并且令人惊讶地是，本发明的高分子量溶液没有现有高分子量溶液的缺点，如在循环中积聚的性能或对血凝物明显的抑制。

[0017] 因此，在一个实施方案中，本发明涉及一种羟乙基淀粉，其平均分子量Mw大于或等于500,000，摩尔取代MS为0.25～0.5，优选0.35～0.50(0.35≤MS≤0.50)，和C_2/C_6比为2～小于8。

[0018] 本发明的羟乙基淀粉受摩尔取代MS影响。摩尔取代MS定义作每个脱水葡萄糖单元的羟乙基的平均数量(Sommermeyer等人，Krankenhauspharmazie(1987)，pp.271～278)。摩尔取代可以根据Ying-Che Lee等人，Anal.Chem.(1983)55,334，和K.L.Hodges等人，Anal.Chem.(1979)51,2171进行测定。在此方法中，通过加入二甲苯中的己二酸和氢碘酸(HI)使已知量的HES进行醚解。随后，使用内标(甲苯)和外标(碘乙烷校准溶液)，通过气相色谱量化释放的碘乙烷。摩尔取代MS影响本发明的羟乙基淀粉的作用。如果MS选择的过高，那么当羟乙基淀粉用作容量代用品时，可能在循环中引起积聚作用。另一方面，如果MS选择的过低，这会使羟乙基淀粉在循环中降解过快，从而降低所需的血浆半衰期时间。有利的摩尔取代MS为0.35～0.5(0.35≤MS≤0.50)，优选为0.39～小于或等于0.45(0.39≤MS≤0.45)，特别是MS大于0.4～0.44(0.4＜MS≤0.44)。

[0019] 本发明的羟乙基淀粉属于高分子量羟乙基淀粉，优选其平均分子量(Mw)为大于600,000～1,500,000，更优选620,000～1,200,000，特别是700,000～1,000,000。由于制备条件的原因，羟乙基淀粉不是处于均匀分子量的物质形式，而是不同大小的分子混合物的形式，并且也羟乙基的取代也不相同。因此，这种混合物的表征需要借助于统计

平均量。因此，使用重均分子量 (Mw) 来表征平均分子量，这种平均值的一般定义陈述于 Sommermeyer 等人，Krankenhauspharmazie(1987)，pp. 271 ～ 278 中。

[0020] 可以使用 GPC 柱 TSKgel G 6000PW，G 5000PW，G 3000PW 和 G 2000PW(7.5mm×30cm)，MALLS 检测器 (DAWN-EOS ;WyattDeutschland GmbH，Woldert) 和 RI 检测器 (Optilab DSP ;WyattDeutschland GmbH，Woldert)，利用 GPC-MALLS 进行分子量测定，其中流速为 1.0ml/ 分钟，50mM 磷酸盐缓冲液，pH7.0。使用 ASTRA 软件 (Wyatt Deutschland GmbH，Woldert) 进行分析。

[0021] 优选的是从天然或部分水解的谷类或马铃薯淀粉得到的羟乙基淀粉。由于支链淀粉含量较高，因此使用从相应植物的蜡质品种 (存在时 (例如，蜡质玉米，蜡质大米)) 得到的淀粉是特别优选的。

[0022] 本发明的羟乙基淀粉还用在脱水葡萄糖单元的 C_2 取代与 C_6 取代的比描述。在本发明内这种比例也简写作 C_2/C_6 比，是指在羟乙基淀粉的 2 位取代的脱水葡萄糖单元的数量与在羟乙基淀粉的 6 位取代的脱水葡萄糖单元的数量的比。HES 的 C_2/C_6 比可以根据羟乙基化中所用的氢氧化钠水溶液的量大范围的变化，如表 1 和表 2 所示。使用的 NaOH 量越高，淀粉的脱水葡萄糖中 6 位的羟基被羟乙基化活化的程度越大。因此，随着 NaOH 浓度增大，羟乙基化中的 C_2/C_6 比下降。测定按 Sommermeyer 等人，Krankenhauspharmazie(1987)，pp. 271 ～ 278 所述的进行。使用给定顺序的增大，C_2/C_6 比优选为 3 ～小于 8，2 ～ 7，3 ～ 7，2.5 ～小于或等于 7，2.5 ～ 6，或 4 ～ 6。在本发明的较高分子量 HES 中，C_2/C_6 比是实现本发明目的的另一贡献。

[0023] 由于在人或动物有机体中优异的耐受性和易于降解性，本发明的羟乙基淀粉适用于各种药剂中。

[0024] 在特别的实施方案中，本发明的 HES 其平均分子量为 700,000 ～ 1,000,000，摩尔取代为大于 0.4 ～ 0.44(0.4 ＜ MS ≤ 0.44)，和 C_2/C_6 比为 2 ～ 7，优选 3 ～ 7，特别是 2.5 ～ 6。

[0025] 本发明还涉及制备羟乙基淀粉的方法，优选制备本发明的羟乙基淀粉。优选地，该方法包括如下步骤 :

[0026] (i) 使悬浮于水中的淀粉，优选玉米淀粉，更优选地部分水解的，所谓的稀糊，蜡质玉米淀粉，与环氧乙烷反应 ;和

[0027] (ii) 使用酸、优选盐酸部分水解得到的淀粉衍生物，直到羟乙基淀粉到达所需的平均分子量范围。

[0028] 原则上，所有已知淀粉都适于制备本发明的羟乙基淀粉，主要是天然或部分水解的淀粉，优选谷类或马铃薯淀粉，特别是具有高含量支链淀粉的那些。在本发明方法的特别实施方案中，使用蜡质品种的淀粉，特别是蜡质玉米和 / 或蜡质大米。在特别实施方案中，通过使悬浮于水中的谷类和 / 或马铃薯淀粉，优选稀糊蜡质玉米淀粉，与环氧乙烷反应，来制备 HES。有利的是，通过加入碱化剂催化反应，优选碱金属氢氧化物，例如，氢氧化钠或氢氧化钾。因此，在本发明方法的优选实施方案中，还将碱化剂，优选氢氧化钠，加到悬浮于水中的淀粉中。碱化剂加到悬浮淀粉中的方式，优选使得碱化剂与淀粉的摩尔比大于 0.2，优选为 0.25 ～ 1，特别是 0.3 ～ 0.8。通过在羟乙基化步骤中环氧乙烷与淀粉的比，可以在所需 MS 范围内任意地控制摩尔取代，即羟乙基与脱水葡萄糖单元的摩尔比。优选地，环氧乙

烷和悬浮的淀粉间的反应在30～70℃下进行，优选35～45℃。通常，在反应后除去任何残余的环氧乙烷。在反应后的第二步骤中，衍生的淀粉进行酸性部分水解。″部分水解″指淀粉的α-糖苷互联的葡萄糖单元的水解。原则上，本领域技术人员所熟悉的所有酸都可用于酸水解，但优选是无机酸，特别是盐酸。水解也可以使用市售淀粉酶在酶作用下进行。

[0029] 在另一个优选的实施方案中，本发明的方法还包括如下步骤(iii)灭菌过滤和可选择地(iv)超滤。如果在本发明方法中进行上述过滤，那么原料HES的酸性部分水解被进行到平均分子量略低于所需的目标分子量。通过超滤，可以除去低分子量反应副产物，主要是乙二醇，由于低分子量HES成分的部分去除，平均分子量略有增加。

[0030] 优选地，衍生于制备方法的溶液随后稀释到所需HES浓度，通过加入盐调节到所需渗透压力，进行灭菌过滤，并加到适合容器中。可选择地，可以进行灭菌，优选通过流通蒸汽。

[0031] 因此，本发明还涉及一种含有一种或多种本发明的羟乙基淀粉的药剂。原则上，本发明的药剂可以是任何可能的剂型。在本发明的优选实施方案中，本发明的药剂可以静脉内注射或灌输。因此，药剂优选是水溶液或胶体水溶液形式。优选地，制剂所含的本发明的羟乙基淀粉浓度达到20%，更优选0.5～15%，更优选2～12%，特别是4～10%，例如，6%。

[0032] 除非另有所指，各量以%计，在本发明范围内应被理解成指g/100ml溶液。

[0033] 在另一个实施方案中，本发明的药剂还含有氯化钠，优选0.6～2%，更优选0.9%。氯化钠的0.9%水溶液也称作″生理盐水″。其具有与血清相同的渗透压，因此适于用作静脉注射或灌输的等渗压溶液。任何其他渗透有效物质都可用于等渗透作用，只要它们是生理安全的并且具有良好耐受性，如葡萄糖，葡萄糖取代物（果糖，山梨糖醇，木糖醇）或甘油。在另一个优选的实施方案中，药剂还可含有调节血浆的电解质。这种等渗压制剂的制备对于本领域技术人员是已知的。具有调节血浆的电解质的等渗压溶液的例子是所谓的Tyrode溶液。其在100ml蒸馏水中含有0.8g NaCl，0.02g KCl，0.02g $CaCl_2$，0.01g $MgCl_2$，0.005g NaH_2PO_4，0.1g $NaHCO_3$和0.1g葡萄糖。另一个例子是所谓的Ringer溶液，其含有0.8%氯化钠，0.02%氯化钾，0.02%氯化钙和0.1%碳酸氢钠。当然，电解质的阴离子也可以被能够代谢的阴离子代替；因此，例如，Ringer溶液中的碳酸氢钠可以被0.3或0.6%的乳酸钠代替。本领域技术人员将相应的电解质组合物或溶液称作″Ringer乳酸盐″。可以单独使用或混合使用的能够代谢的阴离子是乙酸盐（例如，″Ringer乙酸盐″）或苹果酸盐。

[0034] 在本发明的另一个实施方案中，药剂也可以是高渗溶液形式。高渗溶液是比人血具有更高渗透压的溶液。在某些临床症状中使用高渗药剂是有利的。通过加入相应量的渗透有效物质，例如，氯化钠，调节高渗溶液的所需渗透压，为此其浓度可达到7.5%和更大。

[0035] 为避免并减小感染的可能，本发明的药剂优选进行灭菌过滤或热灭菌。对本发明的含水或胶体含水药剂特别适合的灭菌过滤是细孔过滤柱，如以商品名SARTPORE由Sartorius公司提供的那些。例如，孔径为0.2μm的过滤柱是适合的。此外，本发明的药剂还可进行热灭菌，而对羟乙基淀粉没有不利影响。优选地，热灭菌在高于100℃的温度下进行，更优选105～150℃，特别是110～130℃，例如，121℃，进行达到30分钟，优选达到25分钟，特别是18～22分钟.

[0036] 在优选的实施方案中，药剂是容量代用品。容量代用品用于代替动物和人有机体中的血管内液。容量代用品特别用于血容量过低的预防和治疗中。血容量过低是否起因于血液或体液的立即损失，如在急性出血，外伤，手术，烧伤等中，或起因于大循环和微循环间的被扰乱的分布，如在脓血症中，或起因于血管舒张，如在麻醉开始期间，这不是关键的。容量代用品进一步分成所谓的血浆代用品和所谓的血浆增容剂。对于血浆代用品，血管内应用的试剂体积与供应到血管的体积相应。相比而言，对于血浆增容剂，血管内应用的膨胀剂液体体积低于实际供应到血管的体积。这种现象是由于使用血浆增容剂扰乱了血管内和血管外空间之间的肿胀平衡，并且额外的液体体积从血管外空间流进待治疗的血管系统。

[0037] 血浆增容剂与血浆代用品的区别基本上如下：其中所含的本发明的羟乙基淀粉的浓度增大，和/或各电解质的浓度引起肿胀和/或渗透不平衡。

[0038] 本发明的药剂还可含有药学活性成分或活性成分的组合物，从而用作给予其中所含的活性成分的介质，特别是通过注射和灌输给予。

[0039] 本发明还涉及本发明的药剂用于制备容量代用品或血浆代用品或血浆增容剂的用途。

[0040] 更优选地，本发明的药剂可用作容量代用品或血浆代用品或血浆增容剂。优选地，这种药剂用于保持血量正常。保持血量正常对于血液动力学稳定性是特别重要的，这对于人或动物有机体有重要影响，例如，在血压，排尿速率或心率方面。为了尽快地补偿血管内液体损失和恢复血量正常，本发明的药剂是特别有利的，因为与现有技术中的血浆代用品相比，特别是低分子量 HES 溶液，如 HES 130/0.4，它们具有更长的血浆半衰期，特别是在灌输后的关键阶段中。本发明的药剂也是特别有利的，因为令人惊讶的发现，在使用这种组合物时，与 U.S.5,502,043 中所述的高分子量 HES 相比，血液和/或血浆粘度没有增大，并且也因为与其他高分子量制剂相比，血凝物受到的抑制较少。血浆粘度令人惊讶地没有增大的事实也改进了大循环和改进了向血管的营养氧供应。

[0041] 本发明还涉及本发明的药剂用于保持血量正常和/或用于改进大循环和微循环和/或用于改进营养氧供应和/或用于稳定血液动力学和/或用于改进容量效率和/或用于降低血浆粘度和/或用于提高耐贫血症性和/或用于在被扰乱的血液供应和动脉、特别是外周动脉性闭塞病中进行血液稀释、特别是治疗性血液稀释的用途。

[0042] 本发明的药剂或本发明的羟乙基淀粉优选用于制备药物，特别是用于保持血量正常和/或用于改进大循环和微循环和/或用于改进营养氧供应和/或用于稳定血液动力学和/或用于改进容量效率和/或用于降低血浆粘度和/或用于提高耐贫血症性和/或用于在被扰乱的血液供应和动脉、特别是外周动脉性闭塞病中进行血液稀释、特别是治疗性血液稀释的药物。

[0043] 此外，本发明的药剂或本发明的羟乙基淀粉优选用于处理保持血量正常和/或用于改进大循环和微循环和/或用于改进营养氧供应和/或用于稳定血液动力学和/或用于改进容量效率和/或用于降低血浆粘度和/或用于提高耐贫血症性和/或用于在被扰乱的血液供应和动脉、特别是外周动脉性闭塞病中进行血液稀释、特别是治疗性血液稀释的方法中。

[0044] 本发明还涉及一种药盒，单独地包括：

[0045] (i) 本发明的羟乙基淀粉；

[0046] (ii) 无菌溶液，优选氯化钠溶液；和可选择地

[0047] (iii) 药学活性成分或活性成分组合物。

[0048] 在优选的实施方案中，本发明的药盒包括在多隔室袋中的分开的隔室内的各成分(i)，(ii) 和可选择地 (iii)，其中所有成分可以分离，或某些成分，如 (i) 和 (ii)，可以包括在一个容器中。

[0049] 通过下面实施例进一步阐述本发明。

[0050] HES 原料的制备实施例

[0051] 实施例 1：制备具有相同 MS 和 C_2/C_6 比但不同分子量的 HES 原料

[0052] 通过部分水解从一次反应料制备体内研究的实验部分中所述的 HES 物质。为此，采用下面的过程。剧烈搅拌下，将 30kg 稀糊蜡质玉米淀粉悬浮在室温下的 52.2kg wfi（注射用水）中。为了优化水合淀粉，随后通过将悬浮液加热到至少 85℃进行凝胶化。通过喷入氮气 10min，然后抽空，反复惰化悬浮液，通过加入 5.1kg NaOH 使淀粉活化。随后，将液体形式的 4.159kg 冷环氧乙烷加到反应器中，温度缓慢升至 40℃，反应混合物在此温度下放置 2 小时，同时保持搅拌。通过反复进行上述惰化，从反应料中除去环氧乙烷。然后，通过逐步酸水解从该原料 HES 中制备具有相同 Mw 和 C_2/C_6 比但不同 MS 的三种 HES 制剂。为减小分子量，用 20％ HCl 将溶液调节到 pH 2.0，加热到 75±1℃，并在此温度放置，直到根据 GPC-MALLS 测定的 HES 胶体的平均分子量 Mw 下降到 865kD。从反应器中取出三分之一的水解物，并立即冷却到温度低于 50℃。通过用活性碳处理使溶液脱色后，用市售预滤器和灭菌过滤器过滤溶液，通过超滤 (UF) 稀释到 12％后，纯化。因而，使用 Millipore 公司的截流 10kD 的聚醚砜膜。在 UF 过程中，由于低分子量 HES 成分的部分去除，Mw 略有增大。这种增大取决于胶体制剂的起始 Mw，但主要取决于所用 UF 膜的标示截流以及所用 UF 膜的规格。为在 UF 后得到所需的目标分子量，在 UF 中 Mw 变化必须主要是根据所用 UF 膜的规格而实验性建立的。也应该注意到，水解从用于测定酸水解中的 Mw 的取样时间持续进行到已得到建立的 Mw 值。因此，在全部水解过程中系统地监测 Mw 下降，并通过随时间外推 Mw 估计到达目标 Mw 的时间。然后，在外推的时间处停止水解。除去第一个三分之一量后余下的水解物继续保持，直到平均分子量 Mw 下降到 460kD。随后，按与第一个三分之一量相同的方式处理第二个三分之一量。同样，余下的三分之一进一步水解到 Mw 为 95kD，并进行与其他两部分物质相同的处理过程。从部分物质 1，可以得到 HES 900/0.42(C_2/C_6 比＝ 4.83)，从部分物质 2，可以得到 HES 500/0.42(C_2/C_6 比＝ 4.83)，从部分物质 3，可以得到 HES 130/0.42(C_2/C_6 比＝ 4.83)。

[0053] 超滤完成后，将胶体浓度调节到 6％，pH 值调节到 5.5，通过加入 NaCl 使溶液等渗压化，装入 500ml 玻璃瓶中，在 121℃下灭菌 20 分钟。

[0054] 实施例 2：制备其他 HES 原料

[0055] 为制备具有其他摩尔取代和 C_2/C_6 比的 HES 胶体，按相同规模进行了多次实验，其中改变环氧乙烷的量。此外，当到达不同 Mw（目标 Mw）时停止酸水解。这些实验总结在下表 1 中：

[0056] 表 1

[0057]

	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5
反应条件					
淀粉 (kg)	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
WFI(kg)	52.0	52.0	52.0	52.0	52.0
NaOH 50% (kg)	9.5	4.7	4.7	9.5	4.7
环氧乙烷 (kg)	4.0	3.6	4.4	4.5	3.8
目标 Mw(酸水解后)(kDa)	1500	990	885	770	665
HES 特性					
MS(mol/mol)	0.39	0.40	0.45	0.46	0.42
UF 后的 Mw(kDa)	1520	1050	915	795	710
C_2 ：C_6 比	2.3	6.0	5.9	2.2	6.1

[0058] 实施例 3：在羟乙基化中 NaOH 与淀粉的摩尔比对 C_2/C_6 比的影响

[0059] 为证实 NaOH 与淀粉的脱水葡萄糖单元的摩尔比对 C_2/C_6 比的控制能力，将 30kg 稀糊蜡质玉米淀粉与不同量的 NaOH 混合，并在 40℃下与环氧乙烷反应。在表 2 中，列出了所用试剂的量和 C_2/C_6 比以及此反应所得 HES 产物的 MS。可以看出，C_2/C_6 比随 NaOH 与淀粉的比增大而下降。这是由于，低 NaOH 浓度下的淀粉碱催化的羟乙基化优选在脱水葡萄糖单元的 2 位中的羟乙基处进行，而这是最具有反应性的。使用较高 NaOH 浓度，本身反应性不高的 C_6 羟基也可被充分活化，从而被充分羟乙基化。

[0060] 表 2：在羟乙基化中控制 C2/C6 比

[0061]

实验	WFI [kg]	淀粉 [kg]	NaOH(50wt.%) [kg]	NaOH 与淀粉的摩尔比	环氧乙烷 [kg]	MS	C_2/C_6
#1	50	30	1.5	0.1	4.0	0.4	12
#2	50	30	4.5	0.3	3.8	0.4	7
#3	50	30	11.1	0.75	4.4	0.4	3

[0062] HES 终产品的制备实施例

[0063] 在下表 3 中，列出用于制备各种 HES 溶液的制剂。HES 用作超滤后的 HES 浓缩物。通过三次计算规则测定制备 6%或 10% HES 溶液所需的 HES 浓缩物的量。另一种可能是使用喷干的 HES，这不会对备有喷干塔的本领域技术人员造成任何困难。所用的 HES 其分子量

为 900kD，MS 为 0.42。

[0064] 在 2001 反应槽中，称重表中列出的所需量的 HES 浓缩物和所需量的盐和 NaOH 溶液，搅拌下使盐溶解。将溶液 1,4,5,7 和 8 的 pH 调节到 5.5，将溶液 2,3,6 的 pH 调节到 6.0，加入注射用水 (WFI)，使得到达按照规格的理论 Na 浓度。

[0065] 本领域技术人员很清楚，通过改变所述活性成分或助剂的比例以及活力或加入其他物质，可以改变制剂，并且如果使用其他 HES 物质，也可制备相应的溶液。

[0066] 表 3

[0067]

	1	2	3	4	5	6	7	8
制备制剂								
HES [g/l]	60	60	60	60	100	100	100	100
NaCl [g/l]	9.00	6.369	17.37	100.0	9.00	6.369	30.00	60.00
KCl [g/l]	0	0.373	0.373	0	0	0.373	0	0
$MgCl_2$ [g/l]	0	0.203	0.203	0	0	0.203	0	0
$CaCl_2$ [g/l]	0	0.294	0.294	0	0	0.294	0	0
乙酸钠 [g/l]	0	5.032	5.032	0	0	5.032	0	0
溶液分析结果								
HES [%]	6.0	6.1	6.0	5.9	10.0	10.1	9.9	10.0
Na [mM]	153.9	146.1	334.3	1711	153.7	146.0	512.5	1026
K [mM]	0	5.1	5.0	0	0	5.0	0	0
Mg [mM]	0	1.0	0.9	0	0	1.0	0	0
Ca [mM]	0	2.1	2.0	0	0	2.0	0	0
Cl [mM]	154.8	120.2	308.5	1712	154.8	120.1	513.7	1028
乙酸盐 [mM]	0	37.0	37.0	0	0	37.0	0	0
pH	5.5	6.0	5.9	5.3	5.4	6.1	5.4	5.5

[0068] 应用实施例的测量方法

[0069] 下面说明检测血液和血浆样品的测量方法。

[0070] 天然血液测量：

[0071] 在实验室中处理加入有柠檬酸盐的血液样品，如下：立即测量样品的血液粘度（Rheostress® 1，Thermo-Haake，Karlsruhe，Germany），其中线性增大的剪切速率为 1 ～ 240/ 秒。在剪切速率 1/ 秒和 128/ 秒时检测粘度。在Thromboelastograph®（TEG®，Haemoscope Corporation，Niles，Illinois）上进行分析之前，血液样品在 37℃水浴中培

养 1 小时。按照制造商的指示进行血液钙化和TEG®测量。测定凝结指数 (CI),其综合了凝血弹性描记法的几种部分功能。

[0072] 血浆测量 :

[0073] 血液样品在 4℃和 3000rpm(Rotana/RP, Hettich,Bäch, Switzerland) 下离心 15 分钟。根据上述血液测定测量血浆粘度。

[0074] 通过自动化的凝结分析仪 (BCS,Dade Behring,Marburg,Germany),使用含有重组组织因子的 PT 试剂 (Innovin®, Dade Behring) 和含有鞣花酸的 aPTT 试剂 (Actin FS®, Dade Behring),测量凝血素时间 (PT) 和活化的部分促凝血酶原激酶时间 (aPTT)。基于供应商提供的 ISI 值,将 PT 值转化成 INR 值。通过自动化的凝结分析仪 (BCS,DadeBehring) 中的市售瑞斯西丁素辅助因子阵列 (vWF RCA, Dade Behring) 测定血管性血友病因子 (vWF) 的功能活性。通过在瑞斯西丁素存在下,凝结人凝血细胞的能力来建立 vWF 活性。通过使用凝结分析仪进行浑浊测量来测定凝结。根据制造商的指示使用市售 ELISA 药盒 (Asserachrom vWF antigenic, Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland) 检测抗原 vWF。

[0075] 从血液血浆萃取并水解进葡萄糖单体单元后,量化 HES 浓度 (H. Förster等人, Infusionstherapie 1981 ;2 :88-94)。 与 0.5ml KOH 溶液 35 % (w/w)(Fluka, Buchs, Switzerland) 混合后,血浆样品 (1ml) 在 100℃下培养 60 分钟。通过将 10ml 冰冷无水乙醇 (Fluka, Buchs, Switzerland) 加到反应混合物的上清液中,然后在 2N HCl(Fluka, Buchs, Switzerland) 中在 100℃下酸水解 60 分钟,使 HES 沉淀。使用基于己糖激酶 / 葡萄糖 6- 磷酸酯酶 (Boehringer Mannheim, Darmstadt, Germany) 的酶测试药盒进行葡萄糖测定。

[0076] 使用实际剂量和灌输时间,在恒定灌输速率下,假设两容器模型,计算药物动力学参数 (WinNonlin, Version 4.1, Pharsight Corp., Mountainview, CA)。

[0077] 统计分析 :

[0078] 各值以平均值 ± 标准偏差表示。利用 JMP 5.1 统计包 (SASInstitute, Inc., Cary, NC),比较具有较高分子量 (500 和 900kD) 的两种 HES 溶液与低分子量 (130kD) 溶液。结合 Bonferroni 修正利用两侧 ANOVA 分析测试溶液和时间效果的相互作用。为统计分析药物动力学参数,使用 Student 未配对 t 测试。$p < 0.05$ 被认为具有统计显著性。

[0079] 应用实施例

[0080] 为进下述体内实验,使用平均分子量 (Mw) 为 500,000 和 900,000 道尔顿和相同摩尔取代 (MS = 0.42) 和相同 C_2/C_6 比 (4.83) 的本发明的羟乙基淀粉 (在下面的应用实施例中,分别称作 HES 500/0.42 和 HES900/0.42)(参见 HES 原料的制备实施例)。使用 0.2μm 过滤柱 (Sartpore ;Sartorius) 将两种羟乙基淀粉 (HES 900/0.42 和 HES 500/0.42) 溶解在 0.9% 盐水中,浓度为 6%,进行灭菌过滤,装入玻璃瓶中,在 121℃下热灭菌 15 分钟。具有相同 MS 和 C_2/C_6 比的低分子量羟乙基淀粉 (Mw = 130,000 道尔顿)(在下面的应用实施例中,称作 HES 130/0.42) 用作对比溶液,也在 0.9% 盐水中达到 6% 浓度。如上所述按与本发明的高分子量淀粉相同的反应得到,因此仅分子量有区别。

[0081] 检测血浆去除及其对血凝物的影响

[0082] 将 30 头猪随机分成 3 组,每组 10 头。一组静脉灌输 HES 900/0.42,另一组灌输 HES 500/0.42,第三组灌输 HES 130/0.42 作为对比。在所有情况下,剂量是每 kg 体重 20ml

HES 溶液，每种溶液都是 6%，灌输 30 分钟。为进行灌输和随后血液取样，麻醉动物（氟烷麻醉）和进行控制呼吸。在灌输开始之前，灌输 5,20,40,60,120 和 240 分钟之后，以及灌输结束后 24 小时，进行血液取样。在得到的血液样品和血浆样品中，测定下列参数：血液和血浆粘度，HES 浓度，凝血素时间，部分促凝血酶原激酶时间，血管性血友病因子，因子 VIII 和瑞斯西丁素辅助因子以及通常的凝血弹性描记特征。从灌输结束到其后 24h 的 HES 浓度过程，计算浓度对时间曲线下的面积（＝AUC，曲线下的面积），α 和 β 半衰期以及去除率。根据 log- 线性梯形规则计算 AUC，基于两容器模型计算其余药物动力学参数。得到 2 个半衰期 α 和 β，α 半衰期指 HES 从中央容器（基本上相应于血管内空间）转移到外容器，β 半衰期指相反方向的反向分布。

[0083] HES 浓度和药物动力学参数过程表明高分子量变体 (HES 900/0.42 和 HES 500/0.42) 比低分子量 HES(HES 130/0.42) 具有更长的血浆停留时间。因此，与低分子量对照相比，高分子量变体中 AUC 明显更大，α 半衰期明显更长；因此，高分子量 HES 类型的去除率明显低于低分子量 HES。

[0084] 然而，令人惊讶和先前完全不可能知道的中或高分子量 HES(HES200/0.5；HES 200/0.6；HES 450/0.7)，在本发明的高分子量变体和低分子量对比溶液（参见图 1）间，″在灌输后 24 小时″时血浆浓度没有相关差异。这意味着在灌输后的阶段内，本发明的高分子量羟乙基淀粉具有比低分子量对比 HES 明显长的血浆停留时间，这对容量效率很关键，但与先前已知的高分子量 HES 相比，它们没有在循环中积聚的趋势。相反，本发明的 HES 变体，象低分子量对比 HES 一样，灌输后循环 24 小时，基本上完全消失。

[0085] 表 4

[0086]

溶液	HES 130/0.42	HES 500/0.42	HES 900/0.42
AUC(g·min/l)	1156±223	1542±142**	1701±321**
CL(ml/min)	39.1±7.9	30.1±5.4*	26.0±4.1**
$t_{1/2\alpha}$(min)	39.9±10.7	53.8±8.6*	57.1±12.3*
$t_{1/2\beta}$(min)	331.8±100.0	380.6±63.3	379.9±75.8

[0087] 表 4：浓度对时间曲线下的面积 (AUC)，去除率 (CL)，在猪中灌输 20ml/kg 的 6% HES 130/0.42，6% HES 500/0.42 和 6% HES 900/0.42 后的 α 和 β 半衰期 ($t_{1/2\alpha}$ 和 $t_{1/2\beta}$)。

[0088] 使用 Student 未配对 t 测试在 HES 500 和 HES 900 间进行显著性测试，并与 HES 130/0.42 比较；*：$p < 0.01$；**：$p < 0.001$。

[0089] 与低分子量物质 (HES 130/0.42)，高分子量 HES 物质 (HES 500/0.42 和 HES 900/0.42) 表现出更大的浓度对时间曲线下的面积 (AUC)，相应于血管内空间中的更长停留时间，明显更长的初始血浆半衰期 ($t_{1/2\alpha}$) 和明显更低的去除率。

[0090] 图 1 表明在猪中灌输 20ml/kg 的各 HES 溶液之后，低分子量 HES(HES 130/0.42) 和高分子量 HES(HES 500/0.42 和 HES 900/0.42) 在血浆中的浓度过程。开始时，与 HES

130/0.42 相比（也参见表 4 :药物动力学参数），HES 500/0.42 和 HES 900/0.42 从血管内空间的去除更慢 ;然而，在去除结束阶段，即灌输结束后 24h，在血浆浓度间不再有相关差异（平均浓度低于 0.2g/1，在测定限制的范围内）。

[0091] 因此，已经发现，一方面本发明的羟乙基淀粉与现有低分子量参照溶液 (HES 130/0.42) 相比具有更长的初始血浆半衰期，但是另一方面，其可在灌输后 24 小时内从循环中去除，就象低分子量对比制剂一样容易，这一点很有利。

[0092] 此外，进行的凝结分析（血浆凝结测试，凝血弹性描记法，测定 vWF 浓度）得到出乎意料的结果，因为结果完全不同于以前用高分子量 HES 制剂所得到的结果。尽管与低分子量 HES 溶液相比，中分子量和具有更明显程度的高分子量羟乙基淀粉经常先前在抑制凝结能力方面表现出更强的血凝物损害 (J. Treib 等人，Intensive Care Med. (1999)，pp. 258 ～ 268 ;R. G. Strauss 等人，Transfusion (1988)，pp. 257-260)，但是在本发明的高分子量 HES 制剂和已知的低分子量对比溶液间没有发现明显差异（参见表 5)。

[0093]

表 5

参数	溶液	灌输之前	灌输 5 min 后	灌输 1 小时后	灌输 2 小时后	灌输 4 小时后	灌输 24 小时后	p 值
PT (s)	HES 130/0.42	8.57 ± 0.73	9.15 ± 0.66	9.00 ± 0.70	9.06 ± 0.67	8.77 ± 0.42	9.30 ± 0.64	-
	HES 500/0.42	9.32 ± 1.90	9.08 ± 0.49	8.97 ± 0.56	8.80 ± 0.33	8.57 ± 0.37	9.38 ± 0.58	0.533
	HES 900/0.42	8.59 ± 1.06	8.66 ± 0.51	8.56 ± 0.56	8.40 ± 0.27	8.21 ± 0.27	9.42 ± 0.51	0.068
aPTT (s)	HES 130/0.42	12.19 ± 1.83	14.19 ± 4.21	13.68 ± 3.57	13.59 ± 1.57	13.11 ± 1.10	14.58 ± 3.01	-
	HES 500/0.42	11.97 ± 1.00	13.37 ± 1.12	12.65 ± 0.73	13.04 ± 1.31	13.17 ± 1.31	13.72 ± 1.40	0.893
	HES 900/0.42	11.94 ± 1.31	12.59 ± 1.16	13.10 ± 1.62	12.87 ± 1.06	12.78 ± 2.02	13.37 ± 1.50	0.706
CI	HES 130/0.42	4.53 ± 1.33	3.30 ± 0.91	4.18 ± 0.91	4.81 ± 0.63	4.48 ± 0.65	5.22 ± 0.35	-
	HES 500/0.42	5.04 ± 0.81	2.88 ± 1.28	4.47 ± 0.77	4.71 ± 0.65	4.18 ± 0.98	5.14 ± 0.79	0.303
	HES 900/0.42	5.35 ± 0.79	3.28 ± 1.18	4.47 ± 0.93	4.93 ± 0.82	4.68 ± 1.03	5.53 ± 0.55	0.468
vWF funct。(%)	HES 130/0.42	33.41 ± 10.18	30.09 ± 7.68	32.20 ± 8.63	33.59 ± 10.94	40.91 ± 10.48	28.80 ± 6.84	-
	HES 500/0.42	32.11 ± 4.85	25.38 ± 3.84	27.65 ± 4.32	30.80 ± 4.67	37.94 ± 4.65	23.04 ± 4.19	0.853
	HES 900/0.42	30.48 ± 3.95	24.78 ± 3.35	27.14 ± 4.14	31.41 ± 4.83	37.87 ± 8.06	24.84 ± 6.74	0.768
vWF antig。(%)	HES 130/0.42	46.10 ± 8.45	35.80 ± 4.83	39.40 ± 8.42	40.10 ± 9.21	44.30 ± 6.80	38.22 ± 5.54	-
	HES 500/0.42	42.80 ± 4.13	37.90 ± 7.37	35.50 ± 4.22	37.60 ± 7.41	39.80 ± 10.65	38.00 ± 8.15	0.499
	HES 900/0.42	48.10 ± 19.56	33.30 ± 5.48	35.70 ± 5.89	37.80 ± 4.26	42.00 ± 4.85	41.67 ± 6.08	0.473

[0094] 表 5 表明在猪中分别灌输 20ml/kg 的 6 % HES 130/0.42,6 % HES500/0.42 和 6 % HES 900/0.42 后,血浆凝结参数凝血素时间 (PT),活化部分促凝血酶原激酶时间

(aPTT)，血管性血友病因子功能活性 (vWFfunctional) 和血管性血友病因子抗原浓度 (vWF antigenic) 的时间过程以及凝血弹性描记法的凝结指数 (CI) 的时间过程。使用两侧 ANOVA，在 HES 500/0.42 和 HES 900/0.42 间进行统计显著性测试（溶液和时间效果的相互作用），分别与 HES 130/0.42 比较。尽管在血浆中具有较高分子量，较高浓度和较长停留时间（参见图 1 和表 4），但是本发明的高分子量 HES 物质 (HES 500/0.42 和 HES 900/0.42) 不会象低分子量 HES(HES130/0.42) 一样有任何高程度地影响血凝物。

[0095] 换句话说，尽管通过增大分子量得到了更长的血浆停留时间，但是本发明的羟乙基淀粉没有表现出已知高分子量溶液的缺点，如损害血凝物。

[0096] 此外，在动物实验研究中令人惊讶地发现，与低分子量 HES 和已知的高分子量羟乙基淀粉相比，本发明的高分子量羟乙基淀粉不会增大血液和血浆粘度。在低剪切力下，在本发明的羟乙基淀粉中比低分子量 HES 具有更低的粘度（参见表 6：血浆粘度）。

[0097]

表 6

参数	溶液	灌输之前	灌输 5 min 后	灌输 20 min 后	灌输 40 min 后
血浆粘度	HES 130/0.42	0.016383 ± 0.008241	0.012721 ± 0.005245	0.012620 ± 0.004280	0.012875 ± 0.003349
γ = 1/s	HES 500/0.42	0.012313 ± 0.005196	0.012582 ± 0.001873	0.013591 ± 0.001912	0.012936 ± 0.002555
(mPas)	HES 900/0.42	0.016869 ± 0.007240	0.012375 ± 0.002487	0.015985 ± 0.005659	0.015968 ± 0.006499
血浆粘度	HES 130/0.42	0.001208 ± 0.000097	0.001327 ± 0.000644	0.001138 ± 0.000089	0.001167 ± 0.000105
γ = 128/s	HES 500/0.42	0.001246 ± 0.000212	0.001110 ± 0.000045	0.001125 ± 0.000058	0.001106 ± 0.000037
(mPas)	HES 900/0.42	0.001271 ± 0.000078	0.001141 ± 0.000064	0.001174 ± 0.000065	0.001166 ± 0.000075

参数	溶液	灌输 1 小时后	灌输 2 小时后	灌输 4 小时后	灌输 24 小时后	p 值
血浆粘度	HES 130/0.42	0.014928 ± 0.003944	0.018318 ± 0.006364	0.015097 ± 0.007475	0.024577 ± 0.008847	-
γ = 1/s	HES 500/0.42	0.013070 ± 0.002860	0.011384 ± 0.005949	0.013736 ± 0.003974	0.015434 ± 0.004320	0.005
(mPas)	HES 900/0.42	0.013678 ± 0.002252	0.014217 ± 0.003234	0.013557 ± 0.003713	0.015556 ± 0.004308	0.003
血浆粘度	HES 130/0.42	0.001142 ± 0.000084	0.001272 ± 0.000217	0.001232 ± 0.000136	0.001229 ± 0.000102	-
γ = 128/s	HES 500/0.42	0.001112 ± 0.000048	0.001206 ± 0.000114	0.001183 ± 0.000112	0.001257 ± 0.000068	0.386
(mPas)	HES 900/0.42	0.001146 ± 0.000055	0.001304 ± 0.000224	0.001228 ± 0.000096	0.001247 ± 0.000104	0.444

[0098] 表 6 表明在猪中分别灌输 20ml/kg 的 6% HES 130/0.42,6% HES500/0.42 和 6% HES 900/0.42 后,低和高剪切力下的血浆粘度（$\gamma = 1/s$ 和 $\gamma = 128/s$）的时间过程。使

用两侧 ANOVA，在 HES 500/0.42 和 HES900/0.42 间进行统计显著性测试（溶液和时间效果的相互作用），分别与 HES 130/0.42 比较，在高分子量 HES 物质 (HES 900 和 HES 500) 和低分子量 HES (HES 130) 间没有任何差异。在低剪切力下，在血浆粘度中溶液和时间效果的相互作用在高分子量 HES 物质 (HES 500/0.42 和 HES900/0.42) 中比低分子量 HES(HES 130/0.42) 更低。然而，这是由于时间原因而不是溶液作用。在高剪切力下，没有差异；特别地，血浆粘度在高分子量 HES 物质 (HES 900/0.42 和 HES 500/0.42) 间没有比低分子量 HES (HES 130/0.42) 更高。

[0099] 因此，血浆粘度在本发明的 HES 溶液中没有增大。血浆粘度没有增大的事实是令人惊讶的，因为公开在 US-A-5,502,043（比较例 3）中的可相比分子量为 500,000 的羟乙基淀粉中血浆粘度增大。如果粘度没有增大，这将导致未受扰乱的毛细灌注（大循环）和向组织改进的营养氧供应。

[0100] 除了上述体内研究外，也进行体外研究，其中特别测试了 C_2/C_6 比对血凝物的影响，即使用凝血弹性描记法。为此，制备低 MS(0.4) 和低 (3 ： 1)，中 (7 ： 1) 或高 (12 ： 1) C_2/C_6 比的三种高分子量 HES 溶液 (Mw：800kD)，并检测如下。从 30 个男性和女性外科患者（排除标准：已知的凝结紊乱，用血凝物抑制剂处理，手术之前的 5 天内吸收乙酰基水杨酸或其他非胆固醇类抗炎药物），在麻醉开始阶段采集血液样品。在每一血液样品中，用凝血弹性描记法测量凝结，即未稀释的血液和用三种 HES 溶液 (HES 800/0.4/3 ： 1；HES 800/0.4/7 ： 1 和 HES 800/0.4/12 ： 1) 的每一种体外血液稀释 (20％，40％和 60％)。与体内研究中相同，测定的参数是凝结指数 (CI)，综合了凝血弹性描记法的各部分功能。CI 值的平均值 (±SD) 列于下表 7 中，即偏离未稀释血液样品的 CI。

[0101] 表 7

[0102]

	HES 800/0.4/3 ： 1	HES 800/0.4/7 ： 1	HES 800/0.4/12 ： 1
20％血液稀释	-2.32 (1.20)	-2.86 (1.22)	-3.35 (1.07)
40％血液稀释	-5.91 (1.68)	-6.17 (2.03)	-6.50 (1.69)
60％血液稀释	-9.71 (2.70)	-10.37 (3.05)	-10.55 (2.60)

[0103] 在所有血液稀释阶段，相对于天然血液而言，CI 下降较少，即血凝物影响越小，用于血液稀释的 HES 的 C_2/C_6 比越低。血液稀释系列间的溶液作用具有显著差异 ($p < 0.05$；ANOVA)。结果表明，羟乙基淀粉的 C_2/C_6 比降低有利于对血凝物的影响，即在这种情况下，与高 C_2/C_6 比相比，低 C_2/C_6 比抑制血凝物更小。因这使用 HES 溶液，所以这很重要，尤其是在创伤或手术引起的出血后作为血浆代用品，在这种情况下，不必须抑制血凝物加到血液损失中。上述研究结果进一步表明，HES 溶液的 C_2/C_6 比对血凝物具有固有影响，与 HES 的其他分子参数和其在循环中的行为无关。这在以前是未知的。

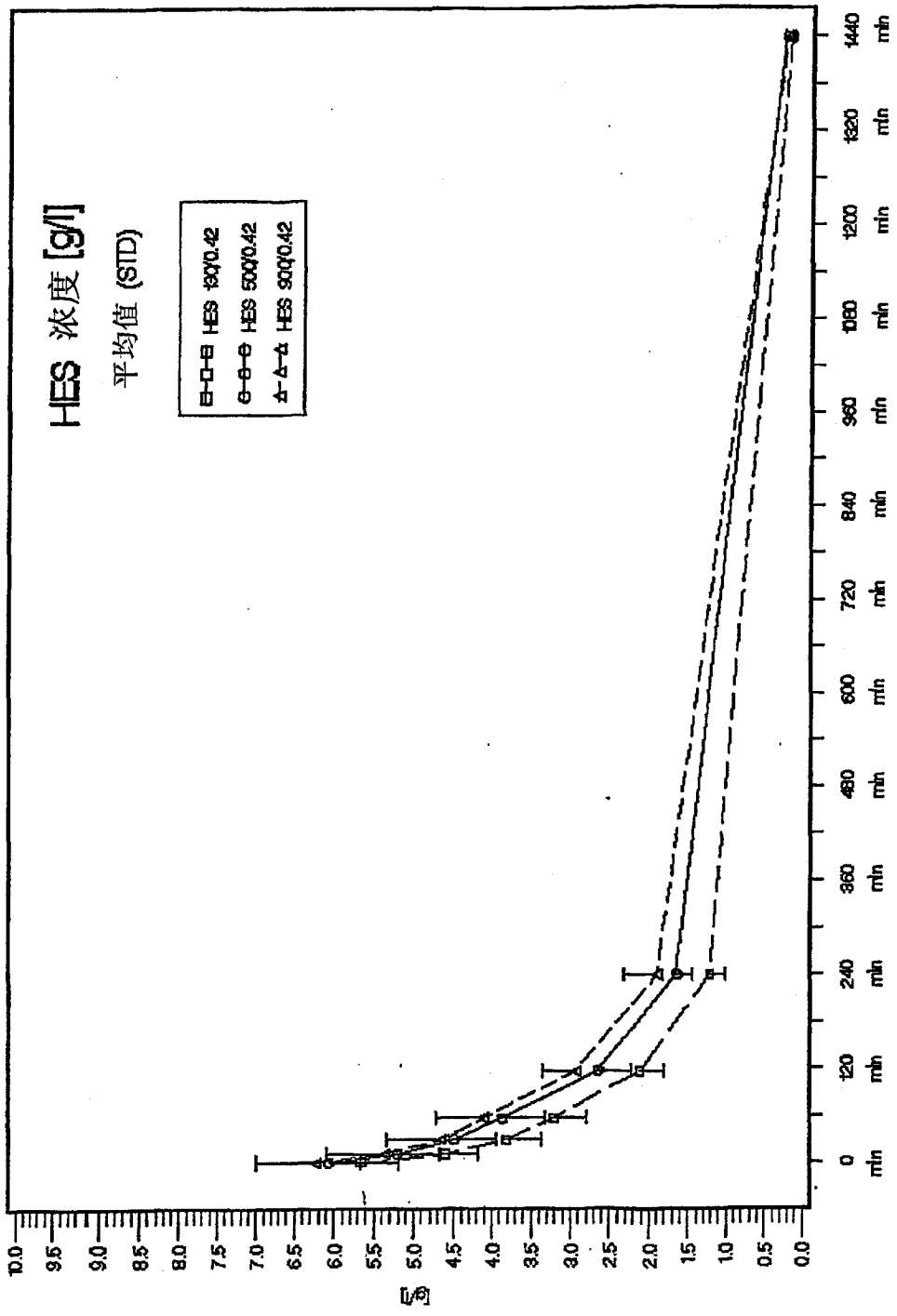

HES 浓度 [g/l]
平均值 (STD)
HES 130/0.42
HES 50/0.42
HES 30/0.42
g/l
10.0
9.5
9.0
8.5
8.0
7.5
7.0
6.5
6.0
5.5
5.0
4.5
4.0
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
0 min
120 min
240 min
360 min
480 min
600 min
720 min
840 min
960 min
1080 min
1200 min
1320 min
1440 min

图1