

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **046536**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.03.25

(21) Номер заявки
202393182

(22) Дата подачи заявки
2023.12.11

(51) Int. Cl. **A61K 31/11** (2006.01)
A61K 47/20 (2006.01)
A61P 7/04 (2006.01)

(54) **ГЕМОСТАТИЧЕСКОЕ СРЕДСТВО**

(43) **2024.03.22**

(96) **2023000204 (RU) 2023.12.11**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
**ФАЛЬКО ДЕНИС
АЛЕКСАНДРОВИЧ (RU)**

(72) Изобретатель:
**Фалько Денис Александрович,
Фалько Дарья Денисовна (RU)**

(74) Представитель:
Пантюшина Е.Н. (RU)

(56) RU-C2-2249467
RU-C1-2026090
EA-A2-201600117
US-B2-11793192
L P. MSEZANE et al. Hemostatic Agents
and Instalments in Laparoscopic Renal Surgery.
Journal of Endourology. Mar 2008.403-408.<http://doi.org/10.1089/end.2007.9844> реферат

(57) Изобретение относится к медицинским средствам, а именно к гемостатическим составам, используемым для остановки кровотечений. Гемостатическое средство, включающее следующие компоненты: глутаровый диальдегид от 7 до 25%, полярный апротонный растворитель от 8 до 50%, вода остальное. Изобретение обеспечивает образование устойчивого сгустка (тромба) за короткое время (не более 5 мин) после добавления препарата (нанесения препарата на рану), что, соответственно, будет обеспечивать возможность быстрой остановки кровотечений, одновременно с наличием антисептических (бактерицидных) свойств гемостатического средства при использовании простых и доступных компонентов.

B1

046536

046536

B1

Изобретение относится к медицинским средствам, а именно к гемостатическим составам, используемым для остановки кровотечений.

Известны механические способы остановки кровотечений у людей и животных: лигатуры, зажимы, жгуты, турникеты, давящие повязки и другие. Данными приемами не всегда удается остановить кровотечение, поэтому приходится пользоваться различными медицинскими изделиями (гемостатическим препаратами) на основе химических соединений.

В составе гемостатических препаратов используются различные компоненты.

Известны гемостатические композиции, состав которых основан, в частности, на хитозане и/или его производных, целлюлозе, желатине или других соединениях. Основная задача гемостатических препаратов - обеспечить связывание белков крови с образованием сгустка крови. В качестве носителя (растворителя) компонентов гемостатических средств используется вода или смесь воды с другими компонентами, в том числе с глицерином. Известно, что глутаровый диальдегид (диальдегид глутаровой кислоты) обладает способностью переводить любые белки в нерастворимое гелеобразное состояние (студни). Глутаровый диальдегид "сшивает" (сополимеризует) молекулы белков друг с другом, образуя в местах сшивания основания Шиффа.

Обычно глутаровый диальдегид используется в качестве одного из компонентов гемостатических препаратов как сшиватель активных компонентов.

Например, известен гемостатический препарат (патент RU 2370270, опубл. 20.10.2009, МПК: А61К 31/722, А61К 38/39, А61Р 17/00), а именно - композиция для лечения ран, включающая сшитый бычий коллаген и хитозан, отличающаяся тем, что в качестве коллагена содержит 2%-ный раствор ацетата коллагена, а в качестве хитозана содержит 2%-ный раствор ацетата хитозана медицинского назначения молекулярной массы 100-700 kDa и степени дезацетилирования свыше 95%, предварительно смешанных в соотношении 1:3 и сшитых раствором глутарового альдегида в конечной концентрации 0,2%, содержащая твин-80 в конечной концентрации 0,02%.

Известен также двухкомпонентный клей для живых тканей, которая позволяет пользователю контролировать не только время адгезии, но и скорость реакции гелеобразования (заявка JP 2008054858 А, опубл. 13.03.2008, МПК: А61L 24/00). Известное средство содержит основной агент, содержащий генетически модифицированный альбумин, и сшивающий агент, содержащий трегалозоальдегид и глутаровый альдегид в определенных соотношениях. Использование указанных альдегидов обеспечивает сшивание белка альбумина и позволяет ускорить процесс формирования сгустка (геля).

Из заявки US 20090011043 (опубл. 08.01.2009, МПК: А61К 35/14, А61Р 7/00) известен способ изготовления тканевого герметика, включающий: обеспечение концентрированной цельной крови и смешивание концентрированной цельной крови с эффективным количеством экзогенного белкового сшивающего агента для сшивания концентрированной цельной крови в композицию для герметизации тканей. При этом в качестве сшивающего агента используется глутаровый альдегид в соотношении кровяно-сшивающий агент от 1:1 до 10:1.

В патенте RU 2370270 (опубл. 20.10.2009, МПК: А61К 31/722, А61К 38/39, А61Р 17/00) раскрыта композиция для лечения ран, включающая сшитый бычий коллаген и хитозан, отличающаяся тем, что в качестве коллагена композиция содержит 2% раствор ацетата коллагена, а в качестве хитозана содержит 2% раствор ацетата хитозана медицинского назначения молекулярной массы 100-700 kDa и степени дезацетилирования свыше 95%, сшитые раствором глутарового альдегида в конечной концентрации 0,2%, а также содержит твин-80 в конечной концентрации 0,02%.

В составе различных препаратов часто используются различные типы растворителей. Известно использование полярных апротонных растворителей в составе медицинских средств, что связано с растворимостью активных компонентов, а также со способностью растворителей этого типа к улучшению проникновения в живые ткани. Примерами таких апротонных растворителей являются: диметилсульфоксид (ДМСО), пропиленкарбонат (ПК), диметилформамид (ДМФА), ацетон и другие. При этом, например, ДМСО и ацетон обладают антисептическими свойствами в связи с чем активно применяются в составе медицинских препаратов.

Известен медицинский материал (патент RU 2249467, опубл. 10.04.2005, МПК: А61L 15/16, А61F 13/20) на основе природных полисахаридов, содержащий интерполимерный полиэлектролитный комплекс катионного или амфотерного линейного полисахарида с анионным линейным полисахаридом, химически сшитый полифункциональными альдегидами или эпоксисоединениями. При этом для сшивки используется в том числе глутаровый альдегид, а ДМСО может быть использовано в качестве пластификатора в количестве до 10 мас. %.

Однако во всех известных технических решениях в качестве основных компонентов композиции используются сложные белки, которые могут связываться и образовывать сами по себе сгустки (гель), но уже с меньшей активностью реагировать непосредственно с белками крови, что в свою очередь может влиять на повышение времени для остановки кровотечения. Скорость образования устойчивого тромба важна при оказании помощи при остановке кровотечения при оперативном вмешательстве или ранении. Также известные средства требуют введения дополнительных компонентов для антисептического действия при обработке ран.

Технической задачей изобретения являлась разработка состава гемостатического средства на основе глутарового диальдегида, которое будет включать простые и известные компоненты, при этом обеспечивать высокую скорость образования сгустка, позволяющего остановить кровотечение, и обладать антисептическими свойствами.

Техническим результатом является образование устойчивого плотного сгустка (геля, тромба) за короткое время (не более 5 мин) после добавления препарата (нанесения препарата на рану), что, соответственно, будет обеспечивать возможность быстрой остановки кровотечений, одновременно с наличием антисептических (бактерицидных) свойств гемостатического средства при использовании простых и доступных компонентов.

Технический результат обеспечивается в результате использования гемостатического средства, включающего следующие компоненты:

глутаровый диальдегид	от 7% до 25%;
полярный апротонный растворитель	от 8% до 50%;
вода	остальное.

Достижение технического результата обеспечивается в результате взаимодействия компонентов гемостатического средства с белками крови путем связывания белков крови глутаровым альдегидом, при этом полярный апротонный растворитель выступает в качестве катализатора этой реакции. Вода используется в качестве носителя для компонентов композиции, обеспечивающего нанесение гемостатического средства.

Как указано выше диальдегид глутаровой кислоты обладает способностью переводить любые белки в нерастворимое гелеобразное состояние (студни) - "сшивает" (сополимеризует) молекулы белков друг с другом, образуя в местах сшивания основания Шиффа. Основным механизмом сшивки белков с использованием глутарового альдегида является образование оснований Шиффа при нуклеофильной атаке амино-групп в белках. В кровеносных сосудах глутаровый альдегид в реакцию сополимеризации вовлекает все без исключения белки плазмы, все белки наружных мембран клеток крови и структурные белки наружных мембран стенки сосуда, при этом, образуется гель, вызывающий полную окклюзию (закупорку) сосуда, и сам сгусток химически прочно связан со стенкой сосуда, т.е. он неподвижен и в то же время нерастворим.

Иммобилизованные глутаровым диальдегидом белки в сосуде не подвергаются атаке фибринолизина и других ферментов, так как они при "сшивке" меняют свою конформацию и теряют, ввиду этого, субстратную специфичность для ферментов.

Полярный апротонный растворитель быстро и активно сольватирует катионы, а анионы остаются свободными, по этой причине анионные реакции в среде таких растворителей протекают во много раз быстрее, чем в водной среде.

Полярный апротонный растворитель может быть выбран из группы, включающей: диметилсульфоксид, пропиленкарбонат, ацетон, диметилформамид и другие.

Наиболее предпочтительно полярный апротонный растворитель представляет собой диметилсульфоксид (ДМСО) или ацетон, т.к. эти растворители дополнительно обладают антисептическими (антибактериальными) свойствами.

Так, например, ДМСО - химическое вещество с формулой $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$, широко используемое в качестве растворителя, обладающее антисептическими свойствами, а также используемое в качестве противовоспалительного и анальгетического средства, в том числе в составе гемостатических препаратов.

Таким образом, реакции белков в крови и в клетках организма с глутаровым альдегидом ускоряются, а полярный апротонный растворитель выступает в роли катализатора реакции.

Использование этих компонентов в указанных количественных диапазонах обеспечивает образование устойчивого сгустка за короткое время и обеспечивает остановку кровотечения. Сгустки (гели/тромбы), которые обеспечивают остановку кровотечения должны быть плотными (не рыхлыми), стабильными к фибринолизину.

Уменьшение содержания глутарового диальдегида не будет обеспечивать эффективность связывания белков крови и будет снижать скорость образования сгустка (тромба), который останавливает кровотечение.

Увеличение содержания глутарового альдегида будет приводить к повышению степени связывания белков и может приводить к рискам излишнего тромбообразования.

Снижение количества полярного апротонного растворителя будет приводить к снижению эффективности каталитической активности и, соответственно, скорости протекания реакции глутарового альдегида с белками крови. Увеличение количества полярного апротонного растворителя будет приводить к снижению скорости образования тромба в результате повышенной сольватации субстрата.

Использование водного раствора также позволяет наносить средство на влажную поверхность, не обязательно сухую. В то время как некоторые известные гемостатические препараты могут наноситься только на сухую поверхность, что усложняет использование известных гемостатических средств в медицинской практике.

Дополнительно препарат может включать глицерин в количестве до 72 мас.%. Глицерин и вода также являются буферными компонентами, придающими составу те или иные физические свойства с сохранением технического результата. Использование глицерина в составе гемостатического средства позволяет дополнительно обеспечить загущение самой композиции и обеспечить легкость нанесения на рану. Составы с использованием глицерина также характеризуются низкой температурой замерзания, что позволяет использовать гемостатическое средство при низких температурах. Глицерин обеспечивает в том числе загущение самого препарата и обеспечивает легкость его нанесения.

Гемостатическое средство является аутостерильным, так как диальдегид глутаровой кислоты является сильным бактерицидом, обладает стерилизующими и дезинфицирующими свойствами.

Содержание компонентов может быть выбрано как в единицах объема (об.%), так и в единицах массы (мас.%), в связи с тем, что значения плотностей всех компонентов очень близки и при приготовлении гемостатического средства значения массы или объема компонентов могут отличаться на уровне погрешностей измерения.

Описание фигур

На фиг. 1 представлено фото чашки Петри со свиным альбумином и начало образования тромба (геля) после добавления гемостатического средства, где 1 - чашка Петри со свиным альбумином.

На фиг. 2 представлено фото чашки Петри со свиным альбумином и предметного стекла с образовавшимся тромбом (гелем), где 1 - чашка Петри со свиным альбумином, 2 - тромб (гель), образовавшийся в результате использования гемостатического средства.

На фиг. 3 представлено фото тромба (геля) с бороздой от слеодообразующего предмета, где 2 - тромб (гель), образовавшийся в результате использования гемостатического средства, 3 - борозда от слеодообразующего предмета.

Гемостатическое средство, которое включает следующие компоненты: глутаровый диальдегид, диметилсульфоксид и воду, при этом содержание глутарового диальдегида составляет от 7 до 25%, содержание полярного апротонного растворителя составляет от 8 до 50%, вода - остальное.

Ниже представлены примеры реализации, иллюстрирующие изобретение, но не ограничивающие его.

Для оценки эффективности работы разработанного гемостатического средства для сравнения также проводили исследования эффективности отдельных компонентов состава.

Пример 1.

Для оценки формирования тромба гемостатическое средство вводили в модель крови, а именно - свиной альбумин. На фиг. 1 представлено фото с чашкой Петри, наполненной свиным альбумином после добавления гемостатического средства, и начало образования геля. Использовалось гемостатическое средство состава: глутаровый альдегид 15 об.%, ДМСО 15 об.%, вода 15 об.% и глицерин 55 об.% (состав 10 из табл. 1). Свиной альбумин был взят в избытке по отношению к гемостатическому средству. После образования тромба он был вытасчен и помещен на предметное стекло. Время образования тромба составило 20 с. На фиг. 2 представлено фото чашки Петри 1 с моделью крови и образовавшийся тромб 2.

Плотность (жесткость) образовавшегося тромба оценивали путем надавливания на тромб твердым предметом. В результате на поверхности тромба образовалась борозда (след) от предмета. Что говорит о высокой плотности образующегося геля (тромба), которая обеспечивает сохранение формы и не позволяет растекаться в отличие от более жидких фактур. На фиг. 3 представлено фото тромба после надавливания и отмечено место образования борозды (следа).

Аналогично проводились испытания для различных составов гемостатического средства с использованием различных растворителей. В табл. 1 представлены составы и результаты их исследований.

Таблица 1

№	Состав (компонент, об.%)	Время образования плотного сгустка (тромба)
1	Глицерин - 100	Не образуется
2	ДМСО - 100	Не образуется
3	Вода - 100	Не образуется
4	Глутаровый альдегид - 50 Вода - 50	20 минут
5	Глутаровый альдегид - 25 Вода - 50 Глицерин - 25	20 минут
6	Глутаровый альдегид - 25 Вода - 25 Глицерин - 50	20 минут
7	Глутаровый альдегид - 25 Вода - 25 ДМСО - 50	6 секунд

8	Глутаровый альдегид - 7 Вода - 7 ДМСО - 14 Глицерин - 72	51 секунда
9	Глутаровый альдегид - 10 Вода - 7 ДМСО - 14 Глицерин - 69	40 секунд
10	Глутаровый альдегид - 15 Вода - 15 ДМСО - 15 Глицерин - 55	20 секунд
11	Глутаровый альдегид - 20 Вода - 20 ДМСО - 20 Глицерин - 40	15 секунд
12	Глутаровый альдегид - 8 Вода - 44 ДМСО - 8 Глицерин - 40	2 минуты
13	Глутаровый альдегид - 8 Вода - 44 ДМФА - 8 Глицерин - 40	2 минуты
14	Глутаровый альдегид - 8 Вода - 44 Ацетон - 8 Глицерин - 40	2 минуты
15	Глутаровый альдегид - 8 Вода - 44 Пропиленкарбонат - 8 Глицерин - 40	2 минуты
16	Глутаровый альдегид - 20 Вода - 20 ДМФА - 20 Глицерин - 40	15 секунд
17	Глутаровый альдегид - 20 Вода - 20 Ацетон - 20 Глицерин - 40	15 секунд
18	Глутаровый альдегид - 20 Вода - 20 Пропиленкарбонат - 20 Глицерин - 40	15 секунд
19	Глутаровый альдегид - 25 Вода - 25 ДМФА - 50	6 секунд
20	Глутаровый альдегид - 25 Вода - 25 Ацетон - 50	6 секунд
21	Глутаровый альдегид - 25 Вода - 25 Пропиленкарбонат - 50	6 секунд
22	Глутаровый альдегид - 25 Вода - 25 Толуол - 50	20 минут
23	Глутаровый альдегид - 25 Вода - 25 Нитрометан - 50	20 минут
24	Глутаровый альдегид - 25 Вода - 25 Хлороформ - 50	20 минут

Как видно из представленной табл. 1, наименьшее время образования тромба соответствует, в частности, составу 7, который не включает глицерин.

Составы с глицерином в качестве дополнительного компонента соответствуют требованию по скорости образования сгустка, при этом дополнительно характеризуются низкой температурой замерзания. Так, например, гемостатическое средство из примера 10 не замерзает при температуре -20°C . Также этот состав характеризуется сочетанием достаточно высокой скоростью образования сгустка при небольшом количестве глутарового диальдегида и ДМСО, которые при такой концентрации оказывают минимальное отрицательное воздействие на организм.

Использование других полярных апротонных растворителей обеспечивает также высокие скорости

образования тромба (до 2 мин).

Дополнительно были проведены исследования также с другими типами растворителей для подтверждения влияния полярного апротонного растворителя на скорость образования сгустка (тромба), а именно неполярного растворителя (толуол и хлороформ - составы 22 и 24 соответственно) и полярного протонного растворителя (нитрометана - состав 23).

Как видно из представленных примеров исключение из состава полярного апротонного растворителя приводит к значительному увеличению скорости образования тромба (до 20 мин), что подтверждает влияние состава гемостатического средства на достижение технического результата.

Пример 2.

Гемостатическое средство 10 из табл. 1 использовалось на различных модельных жидкостях (кровь, плазма крови, сыворотка крови). В табл. 2 представлены результаты сравнения эффективности использования данного гемостатического средства по сравнению с отдельными компонентами.

Таблица 2

Состав	Время образования плотного сгустка (тромба)		
	Кровь	Сыворотка крови	Плазма крови
Глутаровый диальдегид 100 масс.%	15-20 минут	12-15 минут	20-30 минут
ДМСО 100 масс.%	Не образуется	Не образуется	Не образуется
Глицерин 100 масс.%	Не образуется	Не образуется	Не образуется
Состав №10	10-20 секунд	15-16 секунд	60-180 секунд

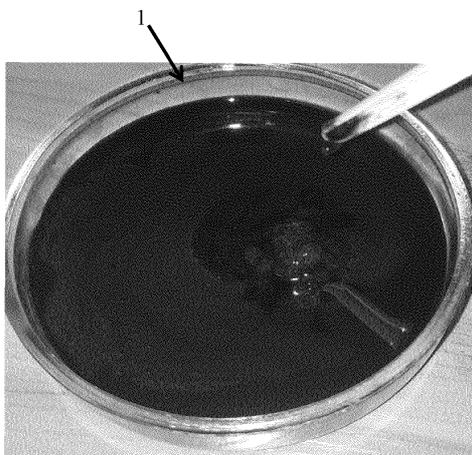
Из табл. 2 видно, что скорость образования устойчивого геля (тромба) при использовании гемостатического средства велика по сравнению с глутаровым альдегидом, который сам по себе обладает свойствами связывания белков.

Во всех примерах реализации время фиксировалось при образовании плотного сгустка (тромба).

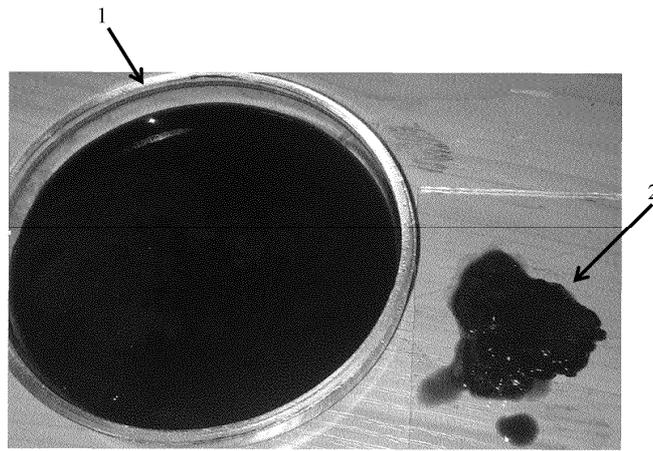
Представленные примеры реализации подтверждают достижение технического результата для гемостатического средства, который включает от 7 до 25% глутарового диальдегида, от 8 до 50% полярного апротонного растворителя, остальное - носитель (вода), а именно образование устойчивого плотного тромба за короткое время после добавления препарата (нанесения препарата на рану), что, соответственно, будет обеспечивать возможность быстрой остановки кровотечений, одновременно с наличием бактерицидных свойств гемостатического средства при использовании простых и доступных компонентов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

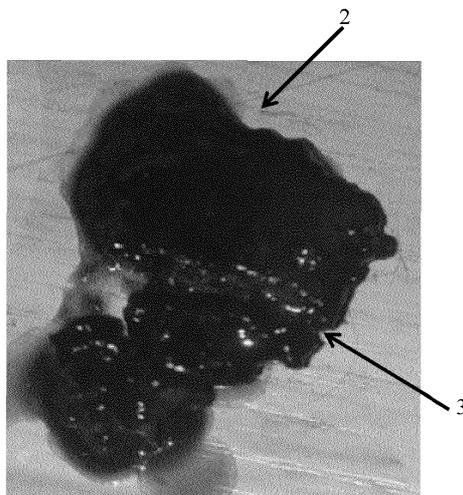
1. Гемостатическое средство, включающее следующие компоненты: глутаровый диальдегид от 7 до 25%; полярный апротонный растворитель от 8 до 50%; вода остальное.
2. Гемостатическое средство по п.1, которое дополнительно включает глицерин.
3. Гемостатическое средство по п.2, которое включает глицерин в количестве до 72%.
4. Гемостатическое средство по п.1, в котором полярный апротонный растворитель выбран из группы, включающей диметилсульфоксид, ацетон, пропиленкарбонат, диметилформамид.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3