



(51) МПК
A61K 31/722 (2006.01)
A61K 33/30 (2006.01)
A61K 33/34 (2006.01)
A61K 9/14 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
B82B 1/00 (2006.01)
B82Y 5/00 (2011.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012119622/15, 11.05.2012

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
11.05.2012

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 11.05.2012

(45) Опубликовано: 27.06.2013 Бюл. № 18

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: WO 2012/058962 A1 10.05.2012. CN
101020072 A 22.08.2007. US 2008/0147019 A1
19.06.2008. CN 101717529 A 02.06.2010.

Адрес для переписки:

410002, г.Саратов, ул. Чернышевского, 148,
ФГБУ "СарНИИТО" Минздрава России,
руководителю ОФУИС

(72) Автор(ы):

Норкин Игорь Алексеевич (RU),
Бабушкина Ирина Владимировна (RU),
Гладкова Екатерина Вячеславовна (RU),
Мамонова Ирина Александровна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение "Саратовский научно-
исследовательский институт травматологии
и ортопедии" Министерства
здравоохранения Российской Федерации
(ФГБУ "СарНИИТО" Минздрава России)
(RU)**(54) ПРЕПАРАТ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ С АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ЭФФЕКТОМ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к препарату в порошкообразной форме для регенерации мягких тканей с антибактериальным эффектом. Препарат содержит 0,07-0,09 мас.% наночастиц меди с дисперсностью 30-40 нм, 0,03-0,05 мас.% наночастиц цинка с

дисперсностью 30-70 нм и низкомолекулярный хитозан. Изобретение позволяет повысить эффективность лечения ран, в том числе гнойных и инфицированных, при упрощении процессов изготовления и применения препарата, а также увеличении сроков его хранения. 1 з.п. ф-лы, 3 пр.



(51) Int. Cl.

A61K 31/722 (2006.01)*A61K 33/30* (2006.01)*A61K 33/34* (2006.01)*A61K 9/14* (2006.01)*A61P 17/02* (2006.01)*A61P 31/04* (2006.01)*B82B 1/00* (2006.01)*B82Y 5/00* (2011.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2012119622/15, 11.05.2012**(24) Effective date for property rights:
11.05.2012

Priority:

(22) Date of filing: **11.05.2012**(45) Date of publication: **27.06.2013 Bull. 18**

Mail address:

**410002, g.Saratov, ul. Chernyshevskogo, 148,
FGBU "SarNIITO" Minzdrava Rossii,
rukovoditelju OFiUIS**

(72) Inventor(s):

**Norkin Igor' Alekseevich (RU),
Babushkina Irina Vladimirovna (RU),
Gladkova Ekaterina Vjacheslavovna (RU),
Mamonova Irina Aleksandrovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
uchrezhdenie "Saratovskij nauchno-
issledovatel'skij institut travmatologii i
ortopedii" Ministerstva zdravookhraneniya
Rossijskoj Federatsii (FGBU "SarNIITO"
Minzdrava Rossii) (RU)****(54) PREPARATION FOR SOFT TISSUE REGENERATION WITH ANTIBACTERIAL EFFECT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention refers to a powdered preparation for soft tissue regeneration with an antibacterial effect. The preparation contains 0.07-0.09 wt % of copper nanoparticles sized 30-40 nm, 0.03-0.05 wt % of zinc nanoparticles sized 30-70 nm,

and low-molecular chitosan.

EFFECT: invention improves the effectiveness of wound healing, including in septic and infected ones, while simplifying the processes of preparing and using the preparation, and also prolonging a shelf life thereof.

2 cl, 3 ex

Изобретение относится к областям медицины, биологии и фармакологии и может быть использовано в качестве антибактериальной композиции для ускорения заживления ран мягких тканей, в том числе гнойных и инфицированных.

Известна композиция для лечения ран мягких тканей [патент RU на изобретение №2314834], нанесенная в вакуумной камере с помощью магнетронного напыления на обе стороны тканевого и нетканевого материала природного или синтетического происхождения. Она содержит наночастицы серебра от 80-99,7%, алюминия от 0,1 до 20%, меди от 0,1 до 20%.

Однако возможность использования данной композиции, только нанесенной на основу, предполагает при ее эксплуатации выполнение фиксации данного покрытия с помощью дополнительных перевязочных средств, что усложняет применение композиции и требует осуществления повторных обработок зоны раны. Процесс нанесения композиции на покрытие является трудоемким и требует применения дорогостоящего оборудования.

Известен также препарат, ускоряющий заживление ран и обладающий антимикробной активностью [патент RU на изобретение №2440122]. Препарат представляет собой раствор низкомолекулярного хитозана (НМХ), который имеет молекулярную массу 5-72 кДа, со степенью деацетилирования 20-89% в гидрогеле, содержащем метилцеллюлозу (МЦ-100) и воду. Препарат дополнительно может содержать глицерин и нипагин при следующем соотношении компонентов, г: НМХ - 0,05-2,0, МЦ-100 - 1,0-3,0, глицерин - 10,0-20,0, нипагин - 0,1-0,3, вода до 100,0.

Однако из-за использования растворимых форм срок годности данного препарата значительно ограничен.

Исследование свойств наночастиц металлов показало их ранозаживляющую активность, регенерирующие и бактерицидные свойства, что делает перспективным их использование для лечения гнойно-воспалительных осложнений в составе раневых покрытий. Биологически активные наночастицы металлов обладают пролонгированным действием из-за наличия на их поверхности защитной оксидной или гидрооксидной «шубы», предотвращающей быстрое растворение металла-основы и образования многочисленных, продолжительно действующих очагов ионов, непрерывно образующихся вокруг каждой из частиц.

Известен также препарат, содержащий хитозан, метакрилаты и наночастицы золота, обладающий пленкообразующими свойствами и применяемый для лечения ран. [Корягин А.С., Ерофеева Е.А., и др. Анализ антиоксидантных свойств хитозана и его олигомеров // Бюлл. эксп. биол. и медицины - 2006. №10. С.444-446].

Однако использование в составе препарата наночастиц благородного металла повышает его себестоимость.

Наиболее близким аналогом к заявляемому изобретению является композиция «Хелацинк» [<http://www.zdorovie-krasnodar.ru/index.php/xitozanie-geli/251-gel-xelazink>], улучшающая регенерацию и способствующая формированию соединительной ткани. Композиция представляет собой структурированную жидкокристаллическую форму геля на основе хитозана, при этом гель дополнительно содержит цинк, масло шалфея, воду.

Однако отсутствие в составе композиции компонента, отвечающего за выраженное антибактериальное действие в отношении широкого спектра патогенных и условно патогенных микроорганизмов, снижает эффективность действия препарата в отношении гнойных ран.

Задачей заявляемого изобретения является разработка препарата для регенерации

мягких тканей с антибактериальным эффектом, позволяющего повысить эффективность проводимого лечения ран, в том числе гнойных и инфицированных, при упрощении процессов его изготовления и применения, увеличении сроков хранения и понижении его себестоимости.

5 Сущность заявляемого изобретения характеризуется тем, что препарат для регенерации мягких тканей с антибактериальным эффектом имеет порошкообразную форму и содержит в качестве биodeградируемого биополимерного материала
10 низкомолекулярный хитозан, наночастицы меди с дисперсностью 30-40 нм и наночастицы цинка с дисперсностью 30-70 нм при следующем соотношении компонентов, мас. %:

наночастицы меди	0,07-0,09
наночастицы цинка	0,03-0,05
низкомолекулярный хитозан	остальное.

15

Кроме того, заявляется препарат для регенерации мягких тканей с антибактериальным эффектом с вышеописанными признаками, в котором низкомолекулярный хитозан имеет молекулярную массу 5-72 кДа.

20 Технический результат заявляемого изобретения заключается в решении поставленной ранее задачи. Возможность растворения хитозана во время его взаимодействия с биологическими жидкостями непосредственно в ране при нарушении целостности кожного покрова и дефектов мягких тканей и возможность его
25 структурного преобразования при этом в гидрогель с формированием стойкого эластичного покрытия в виде пленки, полностью закрывающей раневую поверхность и повторяющей сложный контур раны, позволяет использовать его в качестве матрицы-носителя для активных лечебных компонентов, при этом обеспечивая
30 равномерное распределение последних по поврежденной структуре мягких тканей. Сформированная пленка позволяет, с одной стороны, изолировать раневую поверхность от проникновения патогенной и условно патогенной микрофлоры, с другой стороны, способствует поддержанию адекватного газообмена, что является
35 важным условием для обеспечения протекания процесса регенерации. Хитозан является биodeградируемой матрицей и не требует травмирующего рану удаления пленки с поверхности. Если же такая необходимость возникает, то пленка легко удаляется с раны с помощью промывания, что возможно осуществить в бытовых условиях. Хитозан при его местном применении не проявляет токсических и
40 аллергических эффектов, вследствие чего препарат может быть применим во всех возрастных группах у пациентов с различными соматическими статусами как в стационарах, так и в домашних условиях. Одновременно хитозан сам проявляет антибактериальные и регенерирующие свойства на раневой поверхности, создавая оптимальные условия для действия основных лечебных компонентов той же
45 направленности, обуславливая их суммарный эффект, превышающий активность исходных компонентов. Совокупность использования наночастиц двух металлов, не оказывающих взаимного влияния друг на друга в силу их сходного строения и близких химических свойств за счет их нахождения в соседних положениях 4 группы 5 подгруппы периодической таблицы системы Д.И. Менделеева, обеспечивает
50 повышенную эффективность препарата, позволяющую завершить процесс регенерации в более короткие сроки, при этом не только осуществив лечение уже имеющихся гнойных процессов в ране, но и предотвратив вторичное ее инфицирование. Использование в виде металлов: меди - как антибактериального

компонента, цинка - как регенерирующего, позволяет оказать необходимое воздействие на все этапы заживления ран мягких тканей, а также применять, в отличие от известных аналогов, данный препарат при инфицированных гнойных ранах.

5 Такой технический прием как применение меди и цинка в виде наночастиц с описанной в заявляемой заявке дисперсностью, имеющих высокоразвитую активную поверхность и обеспечивающих пролонгированность действия металлов, позволяет при сохранении их химических эффектов достичь максимальный лечебный эффект.

10 При разработке заявляемого препарата за счет изучения свойств его компонентов и проведения экспериментальных работ авторам удалось подобрать оптимальную комбинацию составляющих препарата и выявить диапазоны их количественных значений, которые, по мнению Заявителя, до настоящего времени не были известны и обеспечивают проведение наиболее эффективного лечения в более короткие сроки. Все три применяемые в данном препарате ингредиенты в заявляемых соотношениях не
15 оказывают каких-либо побочных эффектов, например, они не токсичны, не аллергенны и т.п. Кроме того, избранные металлы являются компонентами многих органических соединений, выполняющих в биологическом организме важные функции в составе ферментов и биологически активных металлопротеинов. Таким образом,
20 выбранные металлы в отношении макроорганизма не являются чужеродными, в дальнейшем они легко метаболизируются и выводятся из организма без каких-либо побочных эффектов.

Выполнение препарата в виде порошка позволяет значительно увеличить срок его хранения и упростить процесс хранения, облегчить способ использования, сделав его
25 доступным для широких слоев населения, и расширить сферу использования до бытовой. Совокупность указанных признаков, доступность и низкая стоимость всех используемых компонентов препарата позволяет снизить его себестоимость.

Заявляемый препарат для регенерации мягких тканей имеет порошкообразную
30 форму. Он содержит три компонента при следующем их соотношении, мас. %: 0,07-0,09 - наночастицы меди с дисперсностью 30-40 нм; 0,03-0,05 - наночастицы цинка с дисперсностью 30-70 нм; остальное - низкомолекулярный хитозан. Причем последний используют в качестве биodeградируемого биополимерного материала и он имеет
35 молекулярную массу 5-72 кДа.

Заявляемый препарат применяют следующим образом.

После первичной обработки наносят из расчета на 400 мм² раневой поверхности
40 порядка 1 г препарата и оставляют в покое на 20-30 мин до формирования пленки. После завершения процесса эпителизации при наличии остатков препарата его смывают.

Заявляемый препарат был апробирован на 60 лабораторных белых крысах-самцах
45 массой 130-240 г. Проведение исследований было осуществлено согласно Протоколу исследований, утвержденному Комитетом по этике ГОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет Росздрава РФ» (протокол №13 от 10 апреля 2007 г.) и не противоречащему Женевской Конвенции 1985 г. о «Международных принципах биомедицинских исследований с использованием животных».

У всех животных моделировали полнослойную неинфицированную кожную рану.
50 Для чего после предварительной обработки кожи, в асептических условиях, под наркозом, на выбритой от шерсти в межлопаточной области у крыс иссекали кожу с подкожной клетчаткой в виде квадрата 2×2 см (400 мм²) по контуру, предварительно нанесенным трафаретом. Затем лабораторных животных разделили на 3 группы по 20

крыс в каждой.

В каждой группе производили обработку раны с контрольным проведением оценки общего состояния животных, выполнения планиметрического и бактериологического исследований отделяемого раны и осуществлением цитологического исследования отпечатков раны, а также изучения гемоцитогаммы на 1, 3, 5, 7, 10, 14 сутки.

Для получения объективных показателей заживления ран вторичным натяжением был использован распространенный в клинической практике планиметрический метод Л.Н.Поповой.

В первой группе сравнения обработку раны проводили путем однократного воздействия на раневую поверхность физиологическим раствором и удаления некротических тканей. Во второй и третьей группах обработку раны проводили путем однократного воздействия на раневую поверхность 1 г заявляемого препарата, содержащего наночастицы меди с дисперсностью 30 нм - 0,07 г, наночастицы цинка с дисперсностью 50 нм - 0,03 г, 100,0 г низкомолекулярный хитозан (качество соответствует ТУ 9289-067-00472124-03, произведен ЗАО «БИОПРОГРЕСС») - 99,90 г.

В третьей группе крысам дополнительно моделировали гнойную рану следующим образом. Край и дно раны раздавливали зажимом Кохера. В рану вносили взвесь суточной культуры микроорганизмов *St. aureus* в дозе 2 КОЕ/мл физиологического раствора. На 3-и сутки в межлопаточной области у животных первой группы сравнения происходило формирование абсцесса со всеми характерными признаками гнойного воспаления.

Результаты динамического наблюдения за изменением площади раны приведены ниже.

Сутки	Площадь раны у экспериментальных животных, М, мм ²		
	первая группа, n=20	вторая группа, n=20	третья группа, n=20
1-ые	408,3±4,1	401,1±6,8	400,1±5,7
3-и	483,3±7,3	286,5±4,2	319,7,2±3,5
5-ые	352,4±9,3	45,4±7,1	159,4,1±7,8
7-ые	387,3±7,0	Полное заживление	67,9±4,7
10-ые	307,1±4,9	Полное заживление	Полное заживление
14-ые	276,3±5,7	Полное заживление	Полное заживление

Животные были умерщвлены на 14 сутки после формирования кожной раны.

Таким образом, используемый препарат ускоряет процесс заживления по сравнению с приведенными аналогами как инфицированных, так и неинфицированных ран и исключает риск возникновения их вторичного инфицирования.

Пример 1.

Крыса №1. Самец массой 210 г. Животному была сформирована полнослойная кожная рана по указанной методике, которая в последующем была обработана изотоническим раствором NaCl.

При последующем наблюдении за состоянием животного отмечено появление на 3-и сутки скудного гнойного отделяемого, при бактериологическом исследовании с 3-х суток высевались *E.coli* и *St.aureus* в количестве $3 \cdot 10^3$ КОЕ/мл, наличие и выраженность воспалительной реакции. Было отмечено, что края и дно раны гиперемированы и отечны. Площадь раны оставалась без изменений. В отпечатках ран на 5-е сутки наблюдалась микрофлора, количество нейтрофилов достигало 92%, что свидетельствовало об остром течении воспалительного процесса. Появлялись единичные клетки соединительной ткани: макрофаги - до 8,5%, фибробласты - до 1,5%.

Общий анализ крови на 5-е сутки: Нб 138 г/л, эр. $3,2 \cdot 10^{12}$ /л, лейкоцитарная формула в %: п/я нейтрофилы 13; с/я нейтрофилы 42; эозинофилы 4; базофилы 0, лимфоциты 48, моноциты 3. С учетом полученных данных на протяжении всего периода наблюдения отмечалась вялая положительная динамика исследуемых показателей, наличие воспалительных проявлений и «левого сдвига», который сохранялся весь период наблюдения. На 14-сутки площадь раны уменьшилась на 31%, края и дно очистились. При бактериологическом исследовании высевался *E.coli* в количестве $2 \cdot 10^2$ КОЕ/мл, то есть можно говорить о вторичном инфицировании раны.

Пример 2.

Крыса №2. Самец массой 200 г. Сформирована неинфицированная полнослойная кожная рана по указанной выше методике, которая была равномерно обработана заявляемым в данной заявке препаратом в количестве 1 г, который содержал 0,07 г наночастиц меди с дисперсностью 40 нм, 0,03 г цинка с дисперсностью 70 нм, 99,90 г низкомолекулярного хитозана, молекулярная масса 5 кДа (качество соответствует ТУ 9289-067-00472124-03, произведен ЗАО «БИОПРОГРЕСС»). При взаимодействии с раневым экссудатом препарат образовал слой гидрогеля толщиной 2 мм, полностью покрывающий рану. После подсыхания гидрогеля открытым способом в течение 20-30 мин сформировалась эластичная, плотно прилегающая к поверхности раны пленка толщиной 1 мм. На протяжении всего периода наблюдения осуществляли контрольные исследования, при которых учитывались следующие параметры течения раневого процесса: наличие и характер воспалительной реакции, состояние краев и дна раны, сроки очищения раны от некротических тканей и появления грануляций, характер грануляционной ткани, сроки начала эпителизации ран. Изменения перечисленных признаков фиксировались и выражались количественно, учитывая сроки лечения.

С учетом полученных данных отмечали следующее. На 3-й сутки отмечали сокращение площади раны на 29%, выраженность воспалительной реакции значительно уменьшились, гиперемия и отек краев и дна раны уменьшились. В цитологических мазках-отпечатках раны появилось большое количество соединительнотканых элементов-фиброцитов и фибробластов, отмечен более ранний переход к фибропластической фазе - появление грануляционной ткани. На 5-е сутки наблюдения отмечалось появление грануляций, активная краевая эпителизация раны. ОАК на 5-е сутки: Нб 144 г/л, эр. $6,3 \cdot 10^{12}$ /л, лейкоцитарная формула в %: п/я нейтрофилы 6; с/я нейтрофилы 32; эозинофилы 1; базофилы 3, лимфоциты 48, моноциты 4. На 7-е сутки произошло полное заживление раны. Показатели нормализовались к периоду полного заживления раны. При бактериологическом исследовании посевы оставались стерильны на протяжении всего срока наблюдения.

Пример 3.

Крыса №3. Самец массой 220 г. Сформирована инфицированная клиническим штаммом *St.aureus* полнослойная кожная рана по вышеуказанной методике, которая в последующем была равномерно обработана заявляемым в данной заявке препаратом в количестве 1 г, который содержал 0,09 г наночастиц меди с дисперсностью 30 нм, 0,05 г цинка с дисперсностью 30 нм, 99,86 г низкомолекулярного хитозана, молекулярная масса 72 кДа (качество соответствует ТУ 9289-067-00472124-03, произведен ЗАО «БИОПРОГРЕСС»). При взаимодействии с раневым экссудатом препарат образовал слой гидрогеля толщиной 3 мм, полностью покрывающего рану. После подсыхания гидрогеля открытым способом в течение 20-30 мин сформировалась эластичная, плотно прилегающая к поверхности раны пленка

толщиной 2 мм. На протяжении всего периода наблюдения осуществляли контрольные исследования, при которых учитывались следующие параметры течения раневого процесса: наличие и характер воспалительной реакции, состояние краев и дна раны, сроки очищения раны от некротических тканей и появления грануляций, характер грануляционной ткани, сроки начала эпителизации ран. Изменения перечисленных признаков фиксировались и выражались количественно, учитывая сроки лечения.

С учетом полученных данных отмечали следующее. На 3-й сутки произошло сокращение площади раны на 19%, выраженность воспалительной реакции уменьшилась, гиперемия и отек краев и дна раны уменьшились. В цитологических мазках-отпечатках раны появилось умеренное количество соединительнотканых элементов-фиброцитов и фибробластов, выявлялась единичная микрофлора - St.aureus. На 7-е сутки наблюдения отмечалось появление грануляций, активная краевая эпителизация раны. ОАК на 5-е сутки: Нв 110 г/л, эр. $2,3 \cdot 10^{12}$ /л, лейкоцитарная формула в %: п/я нейтрофилы 8; с/я нейтрофилы 44; эозинофилы 1; базофилы 1, лимфоциты 43, моноциты 3. На 10-е сутки произошло полное заживление раны. При бактериологическом исследовании с 7 суток исследования посеvy оставались стерильны. Картина периферической крови на 10 сутки продемонстрировала полное отсутствие воспалительных изменений.

Формула изобретения

1. Препарат для регенерации мягких тканей с антибактериальным эффектом, характеризующийся тем, что он имеет порошкообразную форму и содержит в качестве биodeградируемого биополимерного материала низкомолекулярный хитозан, наночастицы меди с дисперсностью 30-40 нм и наночастицы цинка с дисперсностью 30-70 нм при следующем соотношении компонентов, мас. %:

наночастицы меди	0,07-0,09
наночастицы цинка	0,03-0,05
низкомолекулярный хитозан	остальное

2. Препарат по п.1, характеризующийся тем, что низкомолекулярный хитозан имеет молекулярную массу 5-72 кДа.