



(51) МПК
A61K 33/04 (2006.01)
A61K 31/10 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
 ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
 ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2008103046/15, 28.01.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
 28.01.2008

(45) Опубликовано: 10.10.2009 Бюл. № 28

(56) Список документов, цитированных в отчете о
 поиске: RU 2027432 C1, 27.01.1995. RU 2004239 C1,
 15.12.1993. RU 2258515 C1, 20.08.2005. RU
 2197971 C1, 10.02.2003. RU 2154488 C1,
 20.08.2000.

Адрес для переписки:
 672090, г. Чита, ул. Горького, 39а, Читинская
 медакадемия, патентный отдел

(72) Автор(ы):

Намоконов Евгений Владимирович (RU),
 Мироманов Александр Михайлович (RU),
 Луценко Валерий Николаевич (RU),
 Терешков Павел Петрович (RU),
 Лазуткин Михаил Николаевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Государственное образовательное
 учреждение высшего профессионального
 образования Читинская государственная
 медицинская академия Федерального
 агентства по здравоохранению и
 социальному развитию" (RU)

(54) СРЕДСТВО ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РЕПАРАТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ В РАНЕ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и
 касается разработки лекарственного средства
 для стимуляции репаративных процессов в ране.
 Средство содержит селенит натрия,
 диметилсульфоксид и дистиллированную воду.
 Средство по изобретению может быть

использовано для лечения ран различной
 этиологии. Средство позволяет повысить
 эффективность лечения за счет быстрого
 формирования полноценной грануляционной
 ткани, снижения риска нагноения, без общего и
 местного токсического действия на органы и
 ткани. 2 табл.

Изобретение относится к экспериментальной медицине и касается использования лекарственных средств для стимуляции репаративных процессов в ране.

Лечение ран является одной из важнейших проблем хирургии. Это обусловлено увеличением количества послеоперационных осложнений, тяжестью течения, прогрессирующим возрастанием антибиотикоустойчивых и антибиотикозависимых штаммов микроорганизмов, что приводит к увеличению сроков лечения больных в стационаре. Однако применяемый в настоящее время большой арсенал методов и средств для этих целей не всегда обеспечивает желаемый результат. Из современного понимания биологических процессов в ране и в организме в целом следует, что лечение раны должно быть комплексным, и направлено, с одной стороны, на подавление инфекционного начала, а с другой, на повышение защитных и регенераторных способностей организма [1]. Одним из перспективных направлений является разработка лекарственных средств, дифференцировано влияющих на течение раневого процесса.

В последние годы получены серьезные доказательства роли перекисного окисления липидов в патогенезе развития раневой инфекции [2, 3, 4]. Одним из факторов, активирующим свободнорадикальное окисление является тканевая ишемия, что в условиях воспаления может приводить к различным нарушениям в системе «ПОЛ-антиоксиданты», иммунных процессах, а значит, замедлению репаративных процессов в ране.

В связи с этим важным является поиск новых препаратов, обладающих антиоксидантным действием, обеспечивающих значительный противовоспалительный и регенераторный эффект не только на поверхности, но и в глубине патологического очага.

Известен способ лечения ран при помощи биологически активного покрытия «Колахит Ф» представляющий собой коллаген-хитозановый комплекс, содержащий 1% фурагин [5]. Показано, что препарат эффективно очищает рану от детрита благодаря стимуляции функциональной активности макрофагов и стимулирует развитие грануляционной ткани.

Недостатком предлагаемого способа лечения является то, что покрытия на основе коллагена и полисахаридов сохраняют свою стабильность и активность не более двух недель, а наличие в составе антибактериального вещества - фурагина связано с двумя негативными факторами - постепенным снижением антибактериальной активности препарата в результате естественной пластичности микромира, появлением у патогенных микроорганизмов резистентности к фурагину, а с другой - возможным развитием токсико-аллергических реакций.

Известно средство для лечения ран, ожогов, содержащее сосновую смолу мази «Биопин». Показано, что на ранней стадии воспалительного процесса препарат модулирует неспецифический и тормозит специфический клеточный иммунный ответ, нормализует гемадинимику воспаления и активизирует синтетические процессы в ране.

Основным недостатком данного препарата является то, что цельная мазь не оказывает никакого влияния на рост микроорганизмов *in vivo*, действует на поверхности, а не в глубине очага воспаления, а главное оказывает угнетающее действие на специфическую резистентность в ране, сокращая приток макрофагов [6].

В качестве прототипа выбрана мазь для лечения длительно незаживающих ран, в состав которой входит стрептокиназа, карбоксиметилцеллюлоза, диметилсульфоксид и дистиллированная вода [7].

Установлено, что мазь оказывает выраженное некролитическое действие за счет

стрептокиназы. Входящая в состав в качестве сорбционного материала карбоксиметилцеллюлоза способствует быстрому удалению из ран бактерий, токсинов, экссудатов, элиминации биологически активных веществ (гистамина, серотонина, кининов, лейкотоксинов), улучшает микроциркуляцию в тканях.

Однако существует довольно обоснованное мнение [8, 9], что применяемые ферменты имеют недостатки: эффективность препаратов оптимальна при ограниченном диапазоне рН в ране, они не способны к разложению неповрежденных коллагеновых волокон, поэтому полного очищения раны с их помощью добиться невозможно. Другим недостатком всех протеаз при их местном применении является кратковременность действия: в ране энзимы быстро подвергаются расщеплению и через 15-20 минут теряют свою активность. Следует также помнить, что чрезмерный катализ воспалительной реакции опасен из-за развития вторичных некрозов и прогрессирования процесса.

Действительно, за счет высокой активности протеаз в ране повышается и концентрация протеолитических ферментов в плазме крови, вследствие этого равновесие между протеолитической системой и ее ингибиторами нарушается, что способствует усилению катаболических процессов в организме и углублению патологических нарушений.

Кроме того, лечение сорбентами показано при "влажных" ранах и язвах, "сухие" раны этими препаратами лечить нельзя. К недостаткам следует отнести и трудности фиксации препарата в ране, необходимость повторной замены сорбентов по мере его насыщения (3-4 перевязки в день), сравнительно высокую стоимость лечения. В ряде случаев сорбенты могут оказывать определенное повреждающее действие на нормальные ткани вследствие излишне высокой сорбционной активности, что увеличивает сроки лечения [10].

Для повышения эффективности лечения путем стимуляции репаративных процессов за счет ликвидации тканевой ишемии, стабилизации клеточных мембран в ране используют лекарственную композицию «Диметилселенит», состоящую из селенита натрия, диметилсульфоксида (ДМСО), дистиллированной воды в следующих отношениях на 100,0 мл раствора:

Селенит натрия (Na_2SeO_3) - 500-700 мг;

Диметилсульфоксид (ДМСО) - 30,0-40,0 мл;

Вода дистиллированная - до 100,0 мл

Основным антиоксидантным ингредиентом в предлагаемой лекарственной композиции является селенит натрия, который, активируя глутатионпероксидазу, регулирует перекисный гемостаз. ДМСО используют в качестве как бактерицидного компонента, так и в качестве стабилизатора и диполярного носителя, способствующего проникновению селенита натрия через биологические мембраны вглубь тканей. Дистиллированная вода является растворителем селенита натрия.

Селенит натрия (Na_2SeO_3) - неорганическое соединение, действующим началом является селен (Se), ключевой биохимической функцией которого является участие в построении и функционировании глутатионпероксидазы - одного из основных антиоксидантных ферментов. Известно, что раневой процесс сопровождается воспалением и ишемией, активирующими свободнорадикальное окисление (СРО), а Se (особенно в составе глутатионпероксидазы) участвует при этом в антиоксидантной защите тканей [11, 12, 13, 14, 15].

Известен также селенопротеин Р - белок плазмы с высоким содержанием Se. Функция этого белка еще окончательно не установлена, однако предполагается, что

он является транспортным белком, а также защищает организм от свободнорадикальных процессов.

Диметилсульфоксид (ДМСО) относится к органическим сульфоксидам, дипольный, апротонный, координирующий растворитель [16].

5 ДМСО мало токсичен, обладает высокой способностью растворять огромное количество веществ [17].

10 Препарат хорошо проникает через биологические мембраны, осуществляя транспорт лекарственных препаратов [18, 19]. Учитывая низкую токсичность, его физико-химические свойства, способность быстро проникать через биологические мембраны, отсутствие кумуляции, а также противовоспалительное и анальгезирующее действие, он был избран нами в качестве стабилизатора и транспортного средства селенита натрия.

15 Исходя из вышеизложенного, предлагается комплексная лекарственная смесь для лечения ран различной этиологии, отличительными признаками которой является комбинированный противомикробный и антиоксидантный эффект без общего и местного токсического действия на органы и ткани, с глубоким проникающим механизмом действия.

20 Приготовленный препарат хранили при температуре +4°C и при комнатной температуре, изучали внешний вид препарата, т.е. его цвет и прозрачность в сравнении со свежеприготовленным. Установлено, что исследуемый раствор за 1,0 год хранения внешний вид не изменил, цветность и прозрачность не отличались от свежеприготовленного.

25 Местнораздражающие свойства изучали при действии его на кожу у 10 белых крыс по методике Р.В.Крылова (1985) в течение 3 мес. [20].

Гистологическое изучение кусочков кожи в месте нанесения препарата и внутренних органов животных проводили по методике Г.А.Меркулова (1968).

30 Морфологических изменений в коже и внутренних органах подопытных животных выявлено не было.

35 Количественный состав основных ингредиентов определяли экспериментальным путем. Установлено, что концентрация селенита натрия менее 500 мг на 100,0 мл не обладает выраженным антиоксидантным действием, а концентрация, большая чем 700 мг, оказывает местнораздражающее действие при незначительном повышении антиоксидантного эффекта.

40 Лекарственную смесь готовят путем смешивания ингредиентов в следующих соотношениях: селенит натрия 500-700 мг; ДМСО - 30-40 мл, дистиллированная вода до 100 мл.

В колбу с 40,0 мл диметилсульфоксида вносят 500 мг селенита натрия и добавляют дистиллированную воду, тщательно перемешивая и доводя общий объем до 100,0 мл.

45 Готовая композиция представляет собой жидкость бесцветного цвета, прозрачную, хранится во флаконах при комнатной температуре или в холодильнике при температуре +4°C.

50 Изучение репаративных процессов в ране проведено на 30 крысах-самцах Вистар, массой 200-220 г, разделенных на 2 одинаковые группы, используя в качестве препаратов сравнения заявленное средство в 1 группе, мазь на основе диметилсульфоксида и стрептокиназы (прототип) - во 2-й группе. В контрольной группе животных (№3), состоящей из 10 особей, после удаления корочек заживление ран происходило под марлевыми повязками.

После депиляции и обработки спиртовой настойкой йода под эфирным наркозом

иссекали участки кожи диаметром до 3,0×2,0 см на спинках животных до подлежащей фасции, моделируя раны с негнойным (асептическим) воспалением. Через 3 суток корочку с ран удаляли и приступали к лечению вышеперечисленными препаратами.

5 Комплексное исследование, включающее визуальное наблюдение за раной, изучение цитологических мазков-отпечатков, биоптатов грануляционной ткани проводили на 5 и 7 сутки после нанесения раны, что соответствовало 3 и 5 суткам лечения.

10 Патогистологическими исследованиями ран у крыс 1-й группы при использовании диметилселенита установлено, что к 3-м суткам резко снижалось лейкоцитарная инфильтрация, определялась созревающая грануляционная ткань, а к 5 суткам вся раневая поверхность покрыта широким слоем молодой грануляционной тканью, в которой выявляется большое количество малодифференцированных клеток, фибробластов, фиброцитов. Воспалительная инфильтрация отсутствовала. Обращало
15 на себя внимание большое количество новообразованных капилляров.

Морфологическая картина ран, проведенная у крыс 2-й группы, показала следующие закономерные особенности. К 3-м суткам лечения мазью поверхностный лейкоцитарно-некротический слой истончался, отчетливо снижалась диффузная
20 лейкоцитарная воспалительная инфильтрация, увеличивалось количество гистиоцитов, количество фибрина, как правило, не уменьшалось. К 5-м суткам грануляционная ткань значительной толщины, содержит много лимфоцитов и нейтрофилов, имеются клетки фибробластического ряда. Новообразованных сосудов достаточное количество, однако встречаются участки лимфостаза. В описанных участках
25 гистологических срезов часто обнаруживалась фрагментация аргирофильных волокон, разрушение коллагеновых структур, имелось небольшое количество ШИК-позитивных веществ.

В контрольной группе патоморфологические исследования к 5-м суткам были
30 аналогичны тем, что были выявлены и на 3-и сутки (полнокровие сосудов, периваскулярный отек, лейкоцитарные инфильтраты) за исключением некоторого ослабления лейкоцитарной инфильтрации, местами с формированием небольших участков юной грануляционной ткани, выраженной макрофагальной реакцией.

35 При цитологическом исследовании в мазках-отпечатках в 1-е сутки у животных 1, 2, 3 групп клеточные элементы были представлены большим количеством нейтрофильных гранулоцитов (77,3±8,4%) с признаками дегенерации в виде набухания клеток, фрагментации ядер. Встречались единичные моноцитарные клетки - макрофаги (1-2%), с резко выраженными дегенеративными изменениями. Клетки
40 соединительной ткани отсутствовали (таблица 1).

На 3-и сутки лечения у крыс 1-й группы (диметилселенит) во всех наблюдениях отмечалась положительная динамика, которая проявлялась в значительном снижении количества нейтрофильных лейкоцитов до 42,2±3,1% от общего числа клеток, большинство из них было без признаков дегенерации. Обращало на себя внимание
45 нарастание количества макрофагов до 12,7±2,4% в поле зрения и появление полибластов (10,8±2,1%), которые имели тенденцию к расположению гнездами. На 5-е сутки лечения, к моменту разрастания в ранах полноценных грануляций, цитограммы были представлены большим количеством полибластов, которые чаще всего имели
50 гнездное расположение и составляли 26,5±5,2% от общего числа клеток, происходила их активная трансформация в про- и фибробласты, которые располагались гнездами по 7-8 в поле зрения.

Во 2-й группе на 3-и сутки отмечалось менее значительная динамика снижения

количества нейтрофильных лейкоцитов (до $58,5 \pm 2,2\%$), большинство их было без признаков дегенерации, многие микроорганизмы находились внутри клеток в различной стадии разрушения. Отмечалось нарастание количества гистиоцитарных клеток (полибластов), которые составили $6,7 \pm 1,9\%$ от общего числа клеток. К 5-м суткам лечения в цитограммах всех больных отмечалось отсутствие микробных клеток, гистиоциты были представлены гнездным расположением полибластов (до $9,6 \pm 1,6\%$), происходила их трансформация в профибробласты.

Таким образом, предлагаемая лекарственная смесь предохраняет рану от вторичной инфекции благодаря действию введенного в состав диметилсульфоксида, селен оказывает выраженное антиоксидантное действие в области патологического очага в условиях тканевой ишемии, что значительно улучшает репаративные процессы в ране, тем самым сокращая сроки заживления ран (таблица 2). Воспалительный процесс при лечении ран диметилселенитом стихает раньше, а регенераторные процессы наступают быстрее и протекают более активно, чем у крыс, в лечении ран которых использовали мазь-прототип. Способ позволяет повысить эффективность лечения за счет снижения риска нагноения, формирования полноценной грануляционной ткани, сокращения сроков заживления ран.

Таблица 1

Содержание клеточных элементов (%) в мазках с раневой поверхности у крыс в процессе лечения (гематоксилин-эозин; $M \pm m$)

№ п/п	Клеточный состав	1 сутки		3 сутки		5 сутки	
		Диметилселенит $n=15$	Прототип $n=15$	Диметилселенит $n=15$	Прототип $n=15$	Диметилселенит $n=15$	Прототип $n=15$
1	2	3	4	5	6	7	8
1.	Нейтрофилы	$78,5 \pm 8,6$	$75,6 \pm 7,9$	$42,4 \pm 3,1$	$58,4 \pm 2,2$	$21,7 \pm 2,2$	$41,5 \pm 3,2$
2.	Полибласты	-	-	$10,8 \pm 2,1$	$6,7 \pm 1,9$	$26,5 \pm 5,2$	$9,6 \pm 1,6$
3.	Макрофаги	-	-	$12,7 \pm 2,4$	$6,2 \pm 1,4$	$14,3 \pm 3,1$	$7,5 \pm 2,4$
4.	Фибробласты			7-8 в поле зрения	1-2 в поле зрения	8-9 в поле зрения	2-4 в поле зрения
5.	Фагоцитоз						
	- незавершенный	+	+	-	+	-	-
	- завершенный	-	-	+	-	+	+

Таблица 2

Сравнительная эффективность лечения ран по показателям основным клиническим

№ п/п	Критерий оценки	Средний с	рок критерия, $M \pm m$, сутки	
		Группа 1 диметилселенит ($n=15$)	Группа 2 прототип ($n=15$)	Группа 3 контроль ($n=10$)
1.	Появление грануляций	$2,5 \pm 0,04^* p_1 < 0,001$	$3,8 \pm 0,02^*$	$5,0 \pm 0,05$
2.	Снижение микробной обсемененности (10^5) на 1 г ткани	$2,73,4 \pm 0,02^* p_1 < 0,005$	$3,6 \pm 0,05^*$	$7,0 \pm 0,07$
3.	Заживление раны	$7,7 \pm 0,07^* p_1 < 0,001$	$10,6 \pm 0,9^*$	$14,0 \pm 0,1$

n - количество наблюдений, * - различия достоверны по сравнению с 3-й группой (контроль); p_1 - уровень значимости достоверных различий между группами; p_1 между 1-й и 2-й группой,

Литература

1. Нузов Б.Г. Стимуляция репаративной регенерации тканей. / Б.Г.Нузов. - М., ОАО Издательство «Медицина» - 2005 - 165 с., ил
2. Намоконов Е.В. Влияние гипоксии на иммунологические показатели у больных с хирургической инфекцией / Е.В.Намоконов, А.А.Герасимов // Клиническая лабораторная диагностика. - 2002. - №7. - С.19-20.

3. Экспериментальная и клиническая оценка антиокислительной эффективности многокомпонентного антиоксидантного препарата / В.З.Ланкин и др. // Терапевтический архив. - 2004. - №8. - С.10-15.

4. Юдакова О.В. Интенсивность перекисного окисления липидов и антиоксидантная активность, уровень молекул средней массы как показатели эндогенной интоксикации при распространенном перитоните / Юдакова О.В., Григорьев Е.В. // Клиническая лабораторная диагностика. - 2004. - №10. - С.20-22.

5. Чекмарева И.А. Процессы репаративной регенерации в ране при действии биологически активных покрытий в эксперименте / И.А.Чекмарева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, - 2002. - Т.133, №2. - С.226-230.

6. Симбирцев А.С. Сосновая смола и мазь «Биопин»: влияние на репаративные процессы в тканях // А.С.Симбирцев, В.Г.Конусова, Г.Ш.Мчедлидзе и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2002. - Т.133, №5. - С.530-533.

7. Патент №2027432, РФ, МПК 6, А61К 9/06. Мазь для лечения длительно незаживающих ран / Никандров В.Н., Белоенко Е.Д., Казючиц О.А., Рытик П.Г.; заявитель и патентообладатель Белорусский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии, Белорусский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии. - №4232396/14; заявл. 20.04.1987; опубл. 27.01.1995.

8. Имангазимов С.Б. Сочетанное применение ферментов протеолиза и ультразвука в комплексном лечении послеоперационных, воспалительных, гнойных осложнений и заболеваний мягких тканей: Автореф. ... канд. мед. наук: 14.00.27. / Актюбинский государственный медицинский институт. - Актюбинск, 1993. - 26.

9. Мадай Д.Ю. Лечение гнойной инфекции мягких тканей иммобилизированной коллагеназой в условиях регулируемой активности раневых протеолитических энзимов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21 / Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова. - СПб., 1993. - 28 с.

10. Толстых Г.П. Новые перевязочные материалы с антиоксидантной активностью в лечении гнойных ран: Дис... канд. мед. наук: 14.00.27 - М. - 1995. - 161 с.

11. Аникина Л.В. Селен. Экология, патология, коррекция / Л.В.Аникина, Л.П.Никитина. - Чита, 2002. - С.243-262.

12. О дефиците селена у больных с пневмонией / В.Г.Новожинов и др. // Военно-медицинский журнал. - 2005. - Т.326, №10. - С.58.

13. Решетник Л.А. Селен и здоровье человека / Л.А.Решетник, Е.О.Парфенова // Российский педиатрический журнал. - 2000. - №1. - С.41-43.

14. Ghaffari J Study of semm level of selenium, IL-4, IL-10, and interferon gamma in patients with allergic asthma, allergetic rhinitis and healthy controls / J. Ghaffari, R Farid, F. Jabbari, A.Rangbar, D.Nikjoy // Asthma. - 2004. - Vol.5, N1. - P.47.

15. Ратушная Е.В. Антибактериальная активность селеноорганических соединений / Е.В.Ратушная и др. // Химико-фармацевтический журнал. - 2002. - Т.36, №12. - С.16-17.

16. Авдошин А.Д. Коррекция диметилсульфоксидом нарушений перекисного окисления липидов мозга в острейшем периоде интрацеребральной геморрагии / А.Д.Авдошин, Г.А.Чернышева, М.Б.Плотников // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний: Тез. докл. II Всесоюзной конференции - Гродно, 1991. - С.392-393.

17. Бриль Г.Е. Влияние диметилсульфоксида на резистентность животных к острой гипоксии / Г.Е.Бриль, Л.А.Мартынов // Фармакологическая коррекция гипоксических состояний: Материалы II Всесоюзной конф. - Гродно, 1991. - С.404-405.

18. Наумов Ю.И. О механизмах транспортирующего действия

диметилсульфоксида / Ю.И.Наумов, А.Ю.Жданов // Изыскание новых способов изготовления лекарств и методов их исследования. - М., 1983. - С.101-103.

19. Компанцева Е.В. Изучение общетоксического и местнораздражающего действия 50% мази димексида / Е.В.Компанцева и др. // Химико-фармацевтический журнал. - 2000. - Т.34, №2. - С.53-54.

20. Крылов Ю.В. Биологический контроль безопасности лекарственных средств / Ю.В.Крылов, Г.Я.Кивман. - М.: Медицина, 1985. - С.123-136.

Формула изобретения

Средство для стимуляции репаративных процессов в ране, содержащее диметилсульфоксид (ДМСО) и дистиллированную воду, отличающееся тем, что дополнительно содержит селенит натрия (Na_2SeO_3) в следующих соотношениях компонентов:

Селенит натрия (Na_2SeO_3)	500-700 мг
Диметилсульфоксид (ДМСО)	30-40 мл
Дистиллированная вода	До 100,0 мл