



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 31/722 (2024.08); A61K 31/505 (2024.08); A61K 31/4184 (2024.08); A61P 7/04 (2024.08)

(21)(22) Заявка: 2024106452, 13.03.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
13.03.2024Дата регистрации:  
26.11.2024

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 13.03.2024

(45) Опубликовано: 26.11.2024 Бюл. № 33

Адрес для переписки:

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, НИУ  
"БелГУ", ОИС, Цурикова Наталья Дмитриевна

(72) Автор(ы):

Степенко Юлия Владимировна (RU),  
Костина Дарья Александровна (RU),  
Щеблыкина Олеся Викторовна (RU),  
Покровский Михаил Владимирович (RU),  
Веретенников Евгений Александрович (RU),  
Гапоян Лев Максимович (RU),  
Чуев Владимир Петрович (RU),  
Шмигера Вероника Сергеевна (RU),  
Покровский Владимир Михайлович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Белгородский государственный  
национальный исследовательский  
университет" (НИУ "БелГУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2720627 C1, 12.05.2020. RU  
2645356 C1, 21.02.2018. RU 2624872 C1,  
07.07.2017. CN 1554448 A, 15.12.2004.

(54) Способ первичной обработки комбинированных ран с использованием фармацевтической композиции на основе биополимера хитозана

(57) Реферат:

Изобретение относится к области медицины, а именно к способу первичной обработки комбинированных ран. Способ первичной обработки комбинированных ран с использованием фармацевтической композиции на основе биополимера хитозана включает использование гемостатической композиции с репаративными свойствами в виде губки на

основе ксимедона, модифицированного хитозана, глицерина и воды, при этом перед нанесением на рану гемостатическую губку смачивают раствором субстанции 3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты в концентрации 20 мкг/мл. Вышеописанный способ позволяет ускорить ранозаживление. 1 табл., 1 пр.



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.  
*A61K 31/722* (2006.01)  
*A61K 31/505* (2006.01)  
*A61K 31/4184* (2006.01)  
*A61P 7/04* (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*A61K 31/722 (2024.08); A61K 31/505 (2024.08); A61K 31/4184 (2024.08); A61P 7/04 (2024.08)*

(21)(22) Application: **2024106452, 13.03.2024**

(24) Effective date for property rights:  
**13.03.2024**

Registration date:  
**26.11.2024**

Priority:

(22) Date of filing: **13.03.2024**

(45) Date of publication: **26.11.2024 Bull. № 33**

Mail address:

**308015, g. Belgorod, ul. Pobedy, 85, NIU "BelGU",  
OIS, Tsurikova Natalya Dmitrievna**

(72) Inventor(s):

**Stepenko Iuliia Vladimirovna (RU),  
Kostina Daria Aleksandrovna (RU),  
Shcheblykina Olesia Viktorovna (RU),  
Pokrovskii Mikhail Vladimirovich (RU),  
Veretennikov Evgenii Aleksandrovich (RU),  
Gapoian Lev Maksimovich (RU),  
Chuev Vladimir Petrovich (RU),  
Shmigerova Veronika Sergeevna (RU),  
Pokrovskii Vladimir Mikhailovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniia "Belgorodskii gosudarstvennyi  
natsionalnyi issledovatel'skii universitet" (NIU  
"BelGU") (RU)**

(54) **METHOD FOR PRIMARY TREATMENT OF COMBINED WOUNDS USING PHARMACEUTICAL COMPOSITION BASED ON BIOPOLYMER OF CHITOSAN**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, namely to a method for primary treatment of combined wounds. Method for primary treatment of combined wounds using a pharmaceutical composition based on a biopolymer of chitosan involves the use of a haemostatic composition with reparative properties in the form of a sponge based on xymedone, modified

chitosan, glycerol and water, wherein prior to application on wound, haemostatic sponge is moistened with solution of 3-(1H-benzimidazol-2-yl)-1,2,2-trimethylcyclopentanecarboxylic acid in concentration of 20 mcg/ml.

EFFECT: method described above enables to accelerate wound healing.

1 cl, 1 tbl, 1 ex

**RU 2 830 804 C1**

**RU 2 830 804 C1**

Изобретение относится к области: регенеративной медицины, фармакологии и военно-полевой хирургии, в частности к раневым покрытиям, и может быть использовано для первичной обработки комбинированных ран (эксцизионные раны в сочетании с химическим ожогом).

5 Согласно действующим клиническим рекомендациям, после хирургический некрэктомии ожогов, рекомендуется использовать синтетические или биологические повязки в качестве временных покрытий (Клинические рекомендации «Ожоги термические и химические. Ожоги солнечные. Ожоги дыхательных путей», ID:687, 2021). При помощи наружной аппликации на раневую поверхность, они действуют как  
10 неповрежденная кожа, обеспечивая защиту и создавая подходящую среду для регенерации и привлечения клеток (Key clinical evidence of stem cell therapy in burn healing: a systematic review / Souza, J.A. de; Eduardo, L. de S.; Gomes, G.V.A.; et al. // Research, Society and Development. 2022; Vol. 11, №10, p. e184111032781.).

Для производства повязок на раны можно использовать множество различных  
15 сырьевых материалов, включая биополимеры. Одним из таких биополимеров является хитозан - идентифицированный катионный полисахарид, который представляет собой продукт деацетилирования хитина, который применяется в регенеративной медицине и военно-полевой хирургии из-за значительной антибактериальной активности, антиоксидантных и кровоостанавливающих свойств (способствует агрегации  
20 тромбоцитов). Преимуществами биополимеров можно назвать высокую биосовместимость, антикоагуляционную активность, низкую иммуногенность, и способность стимулировать заживление поврежденных тканей (Chitosan Membrane Dressings Toughened by Glycerol to Load Antibacterial Drugs for Wound Healing / Ma Y., Xin L., Tan H., Fan M., Li J., Jia Y., et al. // Mater Sci. Eng. 2017; Vol. 81, p.522-531). Кроме того,  
25 раневые покрытия на основе биополимера хитозана являются биоразлагаемыми, обладают антибактериальным действием, имеют пористую структуру и пригодны к прорастанию клеток, включая остеоконструкцию (Chitosan Composites for Bone Tissue Engineering-An Overview / Jayachandran V., Se-Kwon K. // Mar. Drugs. 2010; Vol. 8, №8, p. 2252-2266).

30 Схожими регенеративными свойствами обладает ксимедон - синтетический аналог эндогенных регуляторных пептидов. В экспериментальных исследованиях он демонстрирует: умеренное противовоспалительное и анальгетическое действие, анаболическую и антикатаболическую активность, что приводит к ускорению течения раневого процесса (Ускорение заживления ран под действием нового препарата  
35 пиримидинового ряда ксимедона. / Измайлов С.Г., Измайлов Г.А., Подушкина И.В., Гараев В.Н. и др. // Казанский медицинский журнал. 2000; том 81, №5, с. 422-426).

Пластификатором с целью улучшения показателей прочности выступает глицерин, который повышает межмолекулярную подвижность системы полимеров и в конечном  
40 счете повышает эластичность пленочных образцов хитозана, но только если масса содержания глицерина составит 10-50% от всей массы. (Физико-механические свойства пластифицированных хитозановых пленок / Шульга А.А., Васильев А.В., Кулиш Е.И. // Доклады Башкирского университета. 2016; том 1, №4, с. 682-686).

Однако, у раневых повязок и покрытий в составе которого находится биополимер хитозана, имеется ряд недостатков, одним из которых является низкая статистически  
45 значимая жизнеспособность клеток в экспериментах *in vitro* на линии клеток фибробластов легких человека (клетки HFL) в сравнении с контрольной группой. При синтезировании губки с гиалуронатом натрия, хитозан выпадал в осадок в связи своих ионных характеристик, тем самым полученный биоматериал не показал свою

эффективность для лечения ран (Cutaneous wound healing using polymeric surgical dressings based on chitosan, sodium hyaluronate and resveratrol. A preclinical experimental study / Berce C., Muresan M., Soritau O., et al. // Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. 2018; Vol.163, P. 155-166).

5 С целью оптимизировать физико-химические и фармакологические свойства фармацевтической композиции на основе биополимера хитозана для ускорения заживления ран, предприняты попытки изменения их состава, в том числе за счет добавления 2% и 4% неролидола. Неролидол, обнаружен в эфирных маслах некоторых растений и обладает анксиолитическими, антиоксидантными, антибактериальными,  
10 лейшманицидными свойствами, кроме того в комбинации с хитозаном способствует его проникновению в трансдермальной форме. При оценке гистологической картины на 7 день, фармацевтическая композиция демонстрирует интенсивный ангиогенез, пролиферацию фибробластов без отеков, сосудистых застоев, тем самым демонстрируя лучшую реорганизацию тканей. Однако на 21 сутки результаты 4% неролидола были  
15 невыраженными, в связи отсутствия волосяных фолликулов и даже дермальных сосочков, также было подтверждено наличие понтуальных воспалительных очагов с преобладанием лимфоцитов (Carbohydrate Polymers Chitosan Hydrogel in combination with Nerolidol for healing wounds Author links open overlay panel / Ferreira M., Leite L., et al. // Elsevier Carbohydrate Polymers. 2016; Vol.152, P. 409-418).

20 Процесс заживления раны включает в себя различные цитопротективные механизмы, способствующие более быстрому восстановлению поврежденных тканей (Injury activates a dynamic cytoprotective network to confer stress resilience and drive repair / Weavers H., Wood W., Martin P. // Curr Biol. 2019. Vol. 29, № 22, p. 3851-3862). Так, антиоксидантные и противомикробные пептиды улучшают заживление ран посредством различных  
25 механизмов, включая нейтрализацию активных форм кислорода, регулирование выработки цитокинов, миграцию клеток, пролиферацию и, в некоторых случаях, ангиогенез (Emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the wound healing process / Polaka S., Katare P., Pawar B., et al. // ACS Omega. 2022. 7(35). P. 30657-30672). В связи с этим поиск потенциальных агентов, обладающих цитопротективной активностью  
30 мог бы стать одной из терапевтических стратегий разработки новых лекарственных средств и медицинских изделий.

Субстанция С7070 (3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты) является агонистом имидазолиновых рецепторов, которая обладает  
35 фармакологической активностью при моделировании осложнений сахарного диабета (Фармацевтическая антидиабетическая композиция на основе (+)-цис-3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты, (RU № 2624872, публ. 07.07.2017). А также субстанция С7070 демонстрирует более выраженные дерматопротекторные свойства, в сравнении с другими агонистом, такими как моксонидин и метформин при моделировании ишемии изолированного кожного лоскута  
40 (Способы фармакологической коррекции ишемических повреждений изолированного кожного лоскута агонистами имидазолиновых рецепторов / Г. А. Лазарева и др. // Научные ведомости БелГУ. Сер. Медицина. Фармация. - 2018. - Т.41, №1. - С. 188-197). В другом исследовании продемонстрирована более эффективная коррекция гипертензивной нейроретинопатии на крысах Wistar для соединения С7070 в дозе 50  
45 мг/кг, превосходящая препарат сравнения пикамилон (A comparative evaluation of the efficacy of dimethylaminoethanol derivative 7-16, С7070 and picamilon in correction of experimental hypertensive neuroretinopathy / Peresyphkina Anna A. // Research Results in Pharmacology. 2018. №3. P. 1-8).

Известны раневые повязки, состоящие из лиофилизированного ацетата хитозана, содержащие наночастицы серебра, которые проявляют антибактериальные свойства против ожоговых инфекций. Недостатками данных составов является необходимость регулярного смачивания таких повязок водой, чтобы активный антибактериальный ингредиент - ионы серебра проникали в обожженную ткань, тем самым вызывая дискомфорт в применении такого раневого покрытия и снижает комплаентность к лечению (Synergistic Combination of Chitosan Acetate with Nanoparticle Silver as a Topical Antimicrobial: Efficacy against Bacterial Burn Infections / Huang L., Dai T., Xuan Y., et al // Antimicrob Agents Chemother. 2011; Vol. 55, №7, p.3432-3438).

Известен также способ создания фармацевтической субстанции для лечения инфицированных ран различного генеза, имеющий в составе химопсин, хитозан, уксусную кислоту и очищенную воду (Pharmaceutical substance for treating infected wounds of various origins (RU № 2687102, публ. 2019-05-07). Недостатком данной разработки является отсутствие результатов оценки эффективности в условиях доклинических или клинических исследований, а также отсутствие в составе цитопротективного агента. Изобретение Фармацевтическая композиция, обладающая ранозаживляющим действием, и способ ее получения, (RU № 2080872, опубл. 10.06.1997) также относится к средствам для лечения ран на основе хитозана и пептида, который является фактором роста фибробластов. Недостатком композиции является отсутствие результатов оценки эффективности в условиях доклинических или клинических исследований.

Изобретение Фармацевтическая композиция для лечения ожогов (варианты) и способ ее получения (варианты) (RU № 2317811, опубл. 27.02.2008) имеет близкий состав к заявленному изобретению - активное вещество N-(β-оксиэтил)-4,6-диметилдигидропиримидон-2 (ксимедон), натриевые соли биополимеров, глицерин, стабилизатор, консервант и дистиллированную воду. Недостатками указанной разработки является отсутствие сравнения эффективности исследуемого состава с уже имеющимися аналогами для демонстрации их более высокой эффективности, а также отсутствие указания на сроки нанесения указанных составов.

Наиболее близким к заявленному решению является гемостатическая композиция с репаративными свойствами в виде губки на основе ксимедона, модифицированного хитозана, глицерина и воды «Гемостатическая композиция с репаративными свойствами (варианты)» (RU № 2720627, публ. 2020-05-12). Однако, указанное изобретение имеет ряд недостатков: во-первых, в условиях экспериментов произведена оценка площади ожоговой раны, без указания способа моделирования глубоких ожогов кожи и без подтверждения характерных особенностей в гистологической картине. Результатов по оценке эффективности гемостатической композиции со стороны клинических исследований не отмечено.

Задачей предложенного изобретения является создание способа, ускоряющего процессы заживления раневой поверхности комбинированных ран с использованием фармацевтической композиции на основе биополимера хитозана.

Техническим результатом предлагаемого изобретения является эффективный способ первичной обработки комбинированных ран с использованием фармацевтической композиции на основе биополимера хитозана, ускоряющий ранозаживление.

Поставленная задача достигается тем, что предложен способ первичной обработки комбинированных ран с использованием гемостатической композиции с репаративными свойствами в виде губки на основе ксимедона, модифицированного хитозана, глицерина и воды, причем перед нанесением на рану гемостатическую губку обрабатывают раствором субстанции 3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой

кислоты, в концентрации 20 мкг/мл, а его эффективность подтверждается ускорением заживления раневой поверхности у мышей-самцов, оцениваемого планиметрическим и гистологическим методами.

#### СПОСОБ ОСУЩЕСТВЛЯЕТСЯ СЛЕДУЮЩИМ ОБРАЗОМ

5 Эффективность фармацевтической композиции, на основе ксимедона, модифицированный хитозан, глицерина и воды, предварительно обработанная раствором цитопротективного агента - субстанции С7070 (3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты), изучали на модели комбинированной травмы (эксцизионная рана в сочетании с химическим ожогом) на 30 неинбредных  
10 мышях-самцах в 12-недельном возрасте массой 25-30 г, без внешних признаков заболевания, прошедших режим 14-дневного карантина. Животных наркотизировали (Золетил100 (Virbac, Франция) 2,5 мг/100 г + Ксилазин (Биогель, Беларусь) 2 мг/100 г внутрибрюшинно). Моделирование комбинированной раны осуществляли начинали следующим образом за день до эксперимента кожу животных освобождали от шерсти  
15 с помощью крема для депиляции. Поверхность участка кожи, освобожденная от шерсти составляла приблизительно 2×2 см, что составляет около 10 % от общей поверхности тела животных. Комбинированную травму моделировали при помощи сочетания двух методик - это химический ожог (подкожная инъекция 9% водного раствора уксусной кислоты) и механическая травма (эксцизионная рана). Планиметрический метод оценки заживления раневой поверхности оценивали на 3, 7, 14 дни эксперимента, а  
20 гистологические исследования проводили на 30 сутки. Биоптаты фиксировали в течение 24 часов в 10% растворе формалина, затем их обезжировали и обезвоживали в спиртах нарастающей концентрации, заливали в парафин и изготавливали гистологические препараты с толщиной срезов 3-5 мкм с последующей окраской гематоксилином и  
25 эозином.

Все этапы работы осуществлялись в соответствии с национальными стандартами надлежащей лабораторной практики, утвержденными правовыми актами РФ, и соблюдением этических принципов обращения с лабораторными животными в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых  
30 для экспериментальных и других научных целей.

После воспроизведения модели патологии животные были разделены на 3 группы (по 10 в каждой):

1) Контрольная группа - лечение не проводилось.  
2) Группа препарата сравнения - мышам данной группы после моделирования  
35 комбинированной раны с лечебной целью на поверхность раны накладывалось средство гемостатическое стерильное, с антибактериальным и ранозаживляющим действием (ООО «ХимФармТех», Россия) - раневое покрытие, имеющее в основе ксимедон, модифицированный хитозан, глицерин и воду. Из повязки 100×100 мм в стерильных условиях были изготовлены повязки меньшего размера 10×10 мм. Непосредственно  
40 перед применением в стерильную ёмкость с раневыми покрытиями добавляли физиологический раствор хлорида натрия для увлажнения и придания повязке эластичных свойств. После этого изделие извлекали из упаковки, накладывали на раневой кожный дефект и фиксировали стерильным бинтом.

3) Экспериментальная группа - животным данной группы непосредственно после моделирования патологии место повреждения закрывали изучаемым раневым покрытием, смоченным в растворе цитопротективного агента - субстанции С7070 (3-(1Н-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты) в концентрации 20 мкг/мл.

Как в группе препарата сравнения, так и экспериментальной, нанесение раневых покрытий осуществляли сразу после хирургической обработки раны, а также на 3, 7 и 14 сутки.

В течение последующих 30 дней осуществляли визуальное наблюдение за динамикой раневого процесса. На 1, 3, 7, 14, 21 и 30 сутки производились макрофотографические съемки с последующими планиметрическими измерениями площади раны с использованием программы AxioVision LE 4.8.2 SP3. Рассчитывали показатель заживления ран в процентах по формуле:  $[(S \text{ ожога в 1 сутки} - S \text{ ожога на текущие сутки}) \times 100\%]$ : S ожога в 1 сутки.

#### 10 ПРИМЕР КОНКРЕТНОГО ВЫПОЛНЕНИЯ

Как в контрольной, так и в опытных группах формирование ожогового струпа происходило к концу вторых-третьих суток. Ускорен процесс краевой эпителизации и образование грануляционной ткани, это наблюдалось на 7-8 сутки, в отличие от контрольной, где вышеуказанные процессы проявлялись на 10 сутки.

15 Сравнительный анализ планиметрических характеристик комбинированных ран указывал, что раневые покрытия на основе ксимедона и модифицированного хитозана оказывают выраженное ранозаживляющее действие. Так, начиная с 3-х суток, во всех опытных группах выявлено статистически значимое ускорение процесса заживления раневой поверхности относительно контрольной группы, эти различия сохранялись на протяжении всего времени наблюдения.

20 Таблица 1. Планиметрические характеристики ожоговых дефектов в экспериментальных группах

Опытная группа	Показатель заживления ожоговой раны, %		
	3 сутки	7 сутки	14 сутки
Контроль	18,1±3,2	44,3±1,8	79,9±4,1
Группа сравнения	34,5±1,6*	56,9±2,5*	87,4±3,3*
Экспериментальная группа	45,7±4,9*#	64,4±3,8*#	92,1±2,2*#

30 Примечание: \* -  $p < 0,05$  в сравнении с группой контроля; # -  $p < 0,05$  в сравнении с группой сравнения.

При сравнительном исследовании покрытий, применяемых в опытных группах, наиболее высокие показатели заживления фиксировались при применении фармацевтической композиции на основе ксимедона, модифицированного хитозана, глицерина и воды, обработанного раствором цитопротективного агента - субстанции С7070. На 3-и сутки можно было отметить ускоренное ранозаживление и площадь раневого дефекта оказалась в 1,3 раза меньше, чем группа сравнения. На 14-е сутки у большинства животных экспериментальной группы отмечалось полное закрытие раневой поверхности, в то время как в группе сравнения сохранялся кожный дефект до 20-25% от площади первоначального размера раны.

40 На гистологических срезах кожно-мышечного лоскута ран на 30-е сутки экспериментальной группы наблюдалась грануляционная ткань толщиной до 1 мм, существенно большее количество сосудов капиллярного типа с фибробластами, приобретающими продольную или перпендикулярную ориентацию, нагноения отсутствовали. В группе сравнения зона созревающей грануляционной ткани толщиной до 0,5 мм. В одном случае раневой дефект имел вид язвы с выраженным нагноением, но без наличия колоний микробов. Признаков эпителизации ран не отмечалось. В дерме имелись проявления фиброза, лимфогистиоцитарная инфильтрация была выраженной. При оценке биопсийного материала в контрольной группе отмечались проявления

фиброза в дерме, а также присутствовала созревающая грануляционная ткань, лимфогистиоцитарная инфильтрация была выраженной, отек и лейкоцитарная инфильтрация были умеренно выраженными.

5 Таким образом, разработанное раневое покрытие с цитопротективной активностью для восстановления кожного покрова при комбинированной травме обеспечивает комплексное оптимизирующее воздействие на течение раневого процесса. Сочетание свойств компонентов, входящих в состав покрытия, обеспечивает ускорение процессов регенерации и ускоряет заживление ожоговых ран.

10 (57) Формула изобретения

Способ первичной обработки комбинированных ран с использованием фармацевтической композиции на основе биополимера хитозана, включающий использование гемостатической композиции с репаративными свойствами в виде губки на основе ксимедона, модифицированного хитозана, глицерина и воды, отличающийся тем, что перед нанесением на рану гемостатическую губку смачивают раствором субстанции 3-(1H-бензимидазол-2-ил)-1,2,2-триметилциклопентанкарбоновой кислоты в концентрации 20 мкг/мл.

20

25

30

35

40

45