



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
A61K 38/08 (2019.02); A61P 17/02 (2019.02)

(21) (22) Заявка: 2018132558, 12.09.2018

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
12.09.2018

Дата регистрации:
14.05.2019

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 12.09.2018

(45) Опубликовано: 14.05.2019 Бюл. № 14

Адрес для переписки:
119435, Москва, а/я 30, ООО
"Интеллектуальный капитал"

(72) Автор(ы):

Черторижский Евгений Александрович (RU),
Овчинников Михаил Владимирович (RU),
Клейменов Алексей Викторович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

ПИВИПИ ЛАБС ПТЕ. ЛТД. (SG)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2366432 C1, 10.09.2009. RU
2221547 C1, 20.01.2004. RU 2405534 C1,
10.12.2010. SHEKHTER AB., et al., [Effects of
opioid peptide dalargin on reparative processes
in wound healing].[Article in Russian] Biull
Eksp Biol Med. 1988 Oct;106(10):487-90.
ILINSKII OV., et al., [A new peptide activator
of reparative tissue regeneration].[Article in
(см. прод.)

(54) Средство для терапии раневых и ожоговых поражений кожи

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине и касается средства для терапии раневых или ожоговых поражений кожи в виде лекарственной формы для наружного применения, содержащего в качестве активного вещества гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина 0,02-0,5 мас. %, фармацевтически приемлемую добавку/фармацевтически

приемлемые добавки - остальное. Изобретение обеспечивает быстрое заживление раневых и ожоговых поражений кожи за счет стимуляции процессов регенерации тканей в области поражения и снижения выраженности продуктивного воспаления. 2 з.п. ф-лы, 5 пр., 4 ил., 4 табл.

(56) (продолжение):

Russian] Farmakol Toksikol. 1987 Jul-Aug;50(4):64-6.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(19) **RU** (11) **2 687 485⁽¹³⁾ C1**

(51) Int. Cl.
A61K 38/08 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)

(52) CPC

A61K 38/08 (2019.02); *A61P 17/02* (2019.02)

(21) (22) Application: **2018132558, 12.09.2018**

(24) Effective date for property rights:
12.09.2018

Registration date:
14.05.2019

Priority:

(22) Date of filing: **12.09.2018**

(45) Date of publication: **14.05.2019** Bull. № 14

Mail address:

119435, Moskva, a/ya 30, OOO "Intellektualnyj kapital"

(72) Inventor(s):

**Chertorizhskij Evgenij Aleksandrovich (RU),
Ovchinnikov Mikhail Vladimirovich (RU),
Klejmenov Aleksej Viktorovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

PVP Labs PTE. LTD. (SG)

(54) **AGENT FOR THERAPY OF WOUND AND BURN SKIN LESIONS**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, and concerns an agent for treating wound or burn skin lesions in the form of an external dosage form containing as an active substance hexapeptide tyrosyl-D-alanyl-glycyl-phenylalanyl-leucyl-arginine 0.02–0.5 wt%, pharmaceutically acceptable additive/

pharmaceutically acceptable additives – the rest.

EFFECT: invention provides fast healing of wound and burn skin lesions by stimulating tissue regeneration processes in the affected area and reducing manifestations of productive inflammation.

3 cl, 5 ex, 4 dwg, 4 tbl

RU 2 687 485 C 1

RU 2 687 485 C 1

Область техники

Изобретение относится к медицине и фармакологии и касается использования гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина в терапии ран или ожоговых поражений кожи в качестве лекарственного средства для наружного применения.

Уровень техники

По данным ВОЗ из-за термической травмы в мире ежегодно погибают 180 тысяч человек. При этом ожоги являются одной из основных причин длительной госпитализации и стойкой нетрудоспособности, зачастую сопровождаясь социальной стигматизацией и значительно ухудшая качество жизни [1]. Положенный в основу терапии обожженных принцип единства общего и местного лечения, подчеркивает особенную роль последнего, направленного на качественное заживление ожоговых ран и раннее восстановление кожного покрова [2]. Таким образом, разработка новых эффективных местных противоожоговых средств несомненно остается актуальной задачей здравоохранения.

С термической травмой ассоциирован целый комплекс патофизиологических механизмов, в частности: гипоксия и перекисное окисление липидов (ПОЛ), снижение тканевой перфузии в зоне стаза, агрегация и гиперактивация нейтрофилов, каскад воспалительных реакций и выраженный болевой синдром. Очевидно, новые препараты также должны обладать комплексным механизмом действия, соответствующим патогенетической картине травмы. В этой связи значительный интерес представляет клиническая разработка нового противоожогового препарата на основе синтетического регуляторного пептида, обладающего широким спектром биологической активности.

Как компонент стресс-лимитирующей системы гексапептид проявляет антиоксидантные свойства [3], ингибирует ПОЛ [4], улучшает периферическую микроциркуляцию [5].

Являясь медиатором опиоидной антиноцицептивной системы, при этом он практически не проникает через гематоэнцефалический барьер. При этом его анальгезирующий эффект реализуется преимущественно на периферическом/тканевом уровне, что позволяет рассматривать этот препарат как обладающий некоторыми свойствами аппликационного анестетика [6].

При этом, гексапептид продемонстрировал серьезный потенциал и в отношении регенерации тканей. Так, рядом исследователей было показано, что он стимулирует клеточную митотическую активность посредством взаимодействия с опиатными рецепторами, а также стимулирует репаративные процессы ран [7, 8, 9].

В настоящее время гексапептид в виде препарата Даларгин одобрен для медицинского применения в России для терапии язвенной болезни и панкреатита в качестве средства, снижающего кислотность желудочного сока и внешнюю секреторную активность поджелудочной железы [10]. Однако, эффективность этого препарата в терапии язвенной болезни также во многом объясняется его репаративными свойствами в отношении слизистой желудка и двенадцатиперстной кишки [11, 12, 13]. Эффективность Даларгина в составе комплексной терапии при болезни Крона (в/м 1 мг 2 раза в сутки) (патент RU 2363455, заявка №2007142745/14 от 19.11.2007) также свидетельствует о наличии системного репаративного эффекта. Ранозаживляющий потенциал Даларгина предложен к использованию в терапии травм роговицы в работе Максаковой Е.В. [14].

Известно, что «принятие решения» на клеточном уровне: апоптоз или синтез ДНК и митоз, во многом зависит от оксидативного статуса или редокс-состояния [15], что особенно важно для сокращения зоны стаза ожоговой раны. Очевидно, что

антиоксидантные свойства, наличие антирадикальной и нитроксидергической активности, [16] обеспечивают Даларгину дополнительный потенциал в отношении регенерации ожоговой раны.

Опубликовано изобретение в области косметологии, в котором Даларгин применялся в составе противовоспалительного крема, для купирования симптомов угревой сыпи (патент РФ 2.045.949, А61К 7/48, 1995 г.). В другом патенте (№2221547, заявка №2002134728/15 от 24.12.2002 г.) было заявлено иммуномодулирующее действие Даларгина в составе косметического средства.

Имеются данные эксперимента, в котором *in vitro* было продемонстрировано, что Даларгин при добавлении к пробам периферической крови пациентов с ожогами (n=15) нормализовал повышенную функционально-метаболическую активность нейтрофилов, снижая повышенную активность НАДФН-оксидазы, щелочной фосфатазы (ЩФ), миелопероксидазы, ядерного хроматина, а также нормализовал повышенное содержание катионных белков в нейтрофилах и общее количество активированных нейтрофилов. Важно отметить, что в крови здоровых людей (n=27) Даларгин, напротив, увеличивал общее количество активированных нейтрофилов, а также активность НАДФН-оксидазы. Вышеуказанные эффекты были опосредованы через опиатные рецепторы, характеризовались дозозависимостью с максимизацией эффекта при молярной концентрации $5 \cdot 10^{-8}$ М [17]. При этом данный эффект не изучался для модели ожога *in vivo*.

В целом, любое нарушение целостности тканей вызывает активацию нейтрофилов, которая усиливает выработку активных радикалов кислорода, ПОЛ и целый каскад реакций, повреждающих не затронутые патологическим процессом ткани [18]. Поэтому, свойство Даларгина нормализовать гиперактивацию нейтрофилов является патогенетически важным звеном для реализации его противоожогового эффекта.

В настоящее время опубликованы данные экспериментов по эффективности парентерального введения Даларгина при ожогах, однако ни в одном из них не изучалось противоожоговое действие при применении препарата в виде местной аппликации. В одной работе сравнивали Даларгин с дельта-сон индуцирующим пептидом (ДСИП) в терапии ожогов, при этом оба препарата вводили подкожно животным внутрибрюшинно (патент №2070054, дата публикации: 10.12.1996 г.). В другом исследовании Даларгин (п/к в дозе 0,3 мг) продемонстрировал значительное ускорение репарации кожи, а также снижение выраженности продуктивного воспаления, в модели термического ожога 3 степени у крыс [9]. Патент RU 2196603 раскрывает применение Даларгина (1-2 мг в 1-2 мл внутривенно капельно) в составе инфузионной терапии для лечения ожоговой болезни.

В отличие от приведенных работ настоящее изобретение раскрывает потенциал препарата Даларгин в виде лекарственной формы для наружного применения.

Кроме того, имеются данные по применению Даларгина при ряде других заболеваний. Патенты UA 6829U, UA 6823U и UA 6826U раскрывают применение Даларгина для лечения острого экспериментального панкреатита. Применение Даларгина в качестве антистрессорного агента освещалось в патентах UA 67632, UA 67630 и UA 67629 на экспериментальных моделях хронического панкреатита, острого аднексита и перитонита соответственно. Антистрессорная активность Даларгина была показана в патенте UA 67626 в модели экспериментального хронического стресса. Патент RU 2180598 раскрывает применение Даларгина для лечения токсического гепатита у пациентов с хронической наркоманией. Эффективность Даларгина была продемонстрирована в терапии вирусных заболеваний в патентах RU 2261722 (лечение скрытой формы

генитального герпеса у женщины с синдромом потери плода), RU 2167671 (терапия клещевого энцефалита). Публикация MD1413F раскрывает применение Даларгина для лечения слизистой оболочки полости рта и красного плоского лишая, а публикация MD1296F предоставила данные по терапии Даларгином плоского лишая. В патенте RU 2008131509 представлена фармацевтическая композиция для терапии демиелинизирующих заболеваний, которая включала Даларгин. Патент RU 2218896 раскрывает применение Даларгина для лечения буллезной кератопатии. Публикации MD1963F и MD1610F освещают применение Даларгина при хроническом рецидивирующем афтозном стоматите, а патент RU 2230549 - для терапии аллергических дерматозов. Публикация Донцова А.В. [19] показала эффективность Даларгина как средства, корректирующего цитокиновый профиль у пациентов с ишемической болезнью сердца и метаболическим синдромом. Вместе с тем, настоящее изобретение, заявляя эффективность Даларгина в терапии ожогов, принципиально отличается от перечисленных работ, которые имеют отношение к лечению других заболеваний.

Резюмируя вышеизложенное можно заключить, что Даларгин является очень перспективным для клинической разработки препаратом, комплексное действие которого, устраняя патофизиологические процессы (оксидативный стресс, ПОЛ, гипертрофическая и ноцицептивная реакция) и усиливая репаративные процессы, обеспечивает неоспоримые преимущества этого препарата в местной терапии раневых и ожоговых поражений кожи.

Наиболее близким аналогом заявляемого изобретения является средство для наружного применения Д-Пантенол, обладающее ранозаживляющими и противоожоговыми свойствами, содержащая в 1 г: в качестве активного вещества декспантенол - 50 мг, вспомогательные вещества: фенолип - 4 мг; ланолин - 160 мг; пчелиный воск белый - 50 мг; парафин белый мягкий - 210,8 мг; диметикон - 5 мг; эмульгатор Lanette SX - 20 мг; пропиленгликоль - 20 мг; бутилгидроксианизол - 0,1 мг; бутилгидрокситолуен - 0,1 мг; декаметилциклопентасилоксан - 20 мг; магния сульфата гептагидрат - 5 мг; протегин В - 295 мг; вода очищенная - 160 мг (РЛС, статья Д-Пантенол (D-Panthenol), Последняя актуализация описания производителем 19.09.2017, https://www.rlsnet.ru/tn_index_id_12869.htm)

Действующим веществом указанного средства является декспантенол, механизм действия которого направлен на стимуляцию регенерации кожи, нормализацию клеточного метаболизма, увеличение прочности коллагеновых волокон. И поэтому очевидный недостаток указанного средства состоит в том, что в нем не затрагиваются иные биологические механизмы, возникающие при поражении кожи и участвующие в заживлении ран.

Раскрытие изобретения

Исходя из изложенного, задачей изобретения является создание противоожогового и ранозаживляющего средства местного действия, действующего на разные механизмы, способствующие заживлению ран разной этиологии.

Техническим результатом заявленного изобретения является

- использование гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина для стимуляции процессов регенерации тканей в области ран, снижение выраженности продуктивного воспаления после термической травмы, уменьшение отечности и гиперемии.

- выраженный ранозаживляющий и противоожоговый эффект заявленного вещества в составе композиции для наружного применения, которое обеспечивается комплексным действием, как-то устранение патофизиологических процессов (оксидативный стресс,

ПОЛ, гипервоспалительная и ноцицептивная реакция) и усиление репаративных процессов, обеспечение неоспоримых преимуществ этого препарата в местной терапии раневых и ожоговых поражений кожи.

Для решения данной задачи предлагается средство для терапии раневых или ожоговых поражений кожи в виде лекарственной формы для наружного применения, содержащее в качестве активного вещества гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина 0,02-0,5 мас. %, фармацевтически приемлемая добавка/ фармацевтически приемлемые добавки - остальное.

В частном случае осуществления изобретения средство представляет собой раствор, который содержит гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина и фармацевтически приемлемую добавку при следующем соотношении компонентов, масс. %: гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина 0,02-0,5 масс. %, вода очищенная до 100%.

В частном случае осуществления изобретения средство представляет собой гель, который содержит гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина и фармацевтически приемлемые добавки при следующем соотношении компонентов, масс. %: гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина 0,02-0,5%, гидроксиэтилцеллюлоза 2,5-3%, сорбат калия 2-3%, вода очищенная до 100%.

Краткое описание чертежей и других поясняющих материалов.

Таблица 1. Динамика отека ожоговой раны (баллы) как реакции на термическую травму, где * - статистически значимые различия по сравнению с группой контроля, ** - статистически значимые различия по сравнению с группой, получавшей Декспантенол.

Таблица 2. Динамика гиперемии ожоговой раны (баллы), где * - статистически значимые различия по сравнению с группой контроля, ** - статистически значимые различия по сравнению с группой, получавшей Декспантенол.

Таблица 3. Результаты планиметрического исследования (гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина в виде раствора): площадь ожога (в см²) где * - статистически значимые различия по сравнению с группой контроля, ** - статистически значимые различия по сравнению с группой, получавшей Декспантенол.

Таблица 4. Результаты планиметрического исследования (гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина в виде геля): площадь ожога (в см²) где * - статистически значимые различия по сравнению с группой контроля, ** - статистически значимые различия по сравнению с группой, получавшей Бепантен.

Фигура 1 - Средняя скорость заживления ожоговых ран (см²/сут.), где I - контроль, II - декспантенол, III - гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина (0,02 -0,5% раствор).

Фигура 2 - Динамика изменений лимфоцитарно-нейтрофильного индекса после термической травмы, где по оси ординат - значения индекса, по оси абсцисс - дни наблюдения, — - контроль, — - декспантенол, — - гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина (0,02-0,5% раствор).

Фигура 3 - Влияние на заживление кожной раны, где по оси абсцисс - дни наблюдения, по оси ординат - средний линейный размер раны, — - контроль, — - декспантенол, — - гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина (0,02-0,5% раствор).

Фигура 4 - Средняя скорость заживления ожоговых ран (см²/сут.), где I - контроль,

II - Бепантен, III - гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина (0,02%-й гель), IV - гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина (0,5%-й гель)

Осуществление изобретения

5 Пример 1. Получение средства в виде раствора для лечения ран и ожоговых поражений кожи для наружного применения

Производство композиции, содержащей гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина в виде раствора для наружного применения включает: приготовление раствора гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина, заполнение флаконов, проверка качества раствора.

10 В очищенную воду 200 мл при перемешивании прибавляют расчетное количество даларгина 0,04-1,0 г и перемешивают до полного растворения. Полученный раствор пропускают через стерилизующий фильтр (размер пор 0,22 мкм) и таким образом получают раствор для наружного применения.

15

Композиция для наружного применения

Название	Содержание в г.
Гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина	0,02-0,5
Вода очищенная	до 100 мл

20

Пример 2. Получение средства в виде геля для лечения раневых и ожоговых поражений кожи для наружного применения

25 Для приготовления 150 мл заявляемого геля берут:

гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина 0,04-0,75 г, вода очищенная 135-139 мл, гидроксиэтилцеллюлоза 4-4,5 г., сорбат калия 3-4 г.

В реактор залить заданное по рецептуре количество воды, (включить перемешивание, ввести сыпучие компоненты, перемешивать до полного расплавления, затем ввести остальные компоненты в рецептурных количествах. Продолжить перемешивание в течение 30 минут до образования однородной эмульсии. Отобрать пробу на анализ. Если значения анализируемых показателей соответствуют нормативным документам, то готовый полупродукт выгрузить в промежуточную емкость, передать на фасовку.

30

35 Состав геля, содержащего гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина

Название	Содержание масс %
гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина	0,02-0,5
Гидроксиэтилцеллюлоза	2,5-3
Сорбат калия	2-3
Вода очищенная	до 100

45

Пример 3. Данные эксперимента по изучению эффективности гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина на модели ожога у крыс

Оценка эффективности местного применения гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-

фенилаланил-лейцил-аргинина в терапии термических ожогов выполнялась при моделировании ожога II-III степени у 30 нелинейных крыс-самцов. Животные находились в режиме виварного содержания (температура окружающей среды 19-23°C) в соответствии с нормами надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза, а также актуальными руководствами [20].

В качестве термического агента использовали плоскодонные стеклянные сосуды соответствующего диаметра, на 2/3 наполненные жидким парафином. Перед аппликацией на кожу емкости предварительно нагревали на водяной бане. Животные были рандомизированы на три группы (n=10 в каждой группе): контрольная и две опытные. В качестве сравнения был выбран другой стимулятор репарации тканей - Декспантенол (мазь для наружного применения 5%). Все крысы получали ожоги нормированной площади, составляющей ~ 40 см².

После нанесения термической травмы в течение первых 20 мин животным контрольной группы накладывали асептическую повязку с дальнейшей терапией йодпироном и левомеколем (группа I); в опытных группах дополнительно использовали исследуемые лекарственные средства Декспантенол (группа II) или 0,02-0,5% раствор гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина (группа III, которую составляли 5 животных, получавших 0,02% раствор и 5 животных, получавших 0,5% раствор).

В ходе эксперимента оценивали общее состояние животных, давали макроскопическую оценку выраженности отека тканей в области ожога, гиперемии, инфильтрации, характеру раневого отделяемого, эпителизации раневого дефекта. Указанные симптомы оценивали в баллах: максимальная выраженность симптома оценивалась в 3 балла, его отсутствие - 0 баллов. Объективную оценку процесса заживления осуществляли по результатам планиметрии. Все наблюдения осуществляли в 1-е, 3-е, 5-е, 7-е и 10-е сутки эксперимента.

Скорость заживления определяли по формуле: $V=(S1-S2)/t$ (где S1 - величина площади раны при предыдущем измерении; S2 - величина площади раны при последующем измерении; t - количество суток между предыдущим и последующим измерениями).

Также в эксперименте оценивали реакцию лейкоцитарного пула - как отношение абсолютного количества лимфоцитов и сегментоядерных нейтрофилов венозной крови.

Результаты. В 1-е сутки исследования общее состояние всех экспериментальных животных расценивалось как средней степени тяжести, что было обусловлено объемом нанесенной термической травмы. Животные мало двигались в пределах клетки, большую часть времени спали и слабо реагировали на внешние раздражители.

К 3-м суткам отмечали увеличение их активности, подвижности, животные проявляли оборонительную реакцию при извлечении из клетки, появился аппетит и т.п. Различий в общем состоянии животных между экспериментальными группами выявлено не отмечалось. В таблице 1 приведены изменения отека ожоговой раны и прилежащих тканей. Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что первоначальный отек как реакция на термическую травму и сроки его исчезновения были значительно меньшими, в группе, получавшей гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина, как по сравнению с контрольной группой, так и с группой, получавшей декспантенол.

Подобная динамика отмечалась и при оценке гиперемии (Таблица 2). Использование препаратов уже в 1-е сутки уменьшало выраженность покраснения кожного покрова. Причем гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина значительно превосходит декспантенол по снижению динамики гиперемии.

При выполнении планиметрии отмечалась выраженная статистически значимая положительная динамика заживления ожоговых ран у животных группы III (гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина). Она характеризовалась достоверным снижением площади ожога уже на 3-й сутки эксперимента, уменьшением глубины ожога и, как следствие, более благоприятным течением раневого процесса. Результаты в группах II и III также показали преимущества гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина в динамике сокращения площади ожогового поражения (Таблица 3).

Средняя скорость заживления представлена на фиг. 1. Статистически значимые различия выявлены только между контрольной и группой, получавшей гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина.

Динамика изменения лимфоцитарно-нейтрофильного индекса. Принимая во внимание, что физиологической особенностью крыс как биологической модели является преобладание в периферической крови моноцитарного пула лейкоцитов (в норме у животных лимфоциты составляют 65-77% всех лейкоцитов), было исследовано изменение лейкограмм в экспериментальных группах путем оценки лимфоцитарно-нейтрофильного индекса (отношения количества лимфоцитов к сегментоядерным нейтрофилам).

Анализ показал, что в 1-е сутки наблюдения отмечалось выраженное снижение лимфоцитарно-нейтрофильного индекса, что свидетельствовало о закономерной реакции, обусловленной термической травмой. Динамика изменений лимфоцитарно-нейтрофильного индекса, показанная на фиг. 2, демонстрирует статистически значимые различия по этому показателю между группой I (контрольной) и группой III (гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина). В группе III этот показатель нормализовался уже к 7-му дню, сохраняя тенденцию к увеличению в других группах животных.

Таким образом, местное применение гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина сразу после термической травмы, позволяет уменьшить отечность и гиперемию. При этом отмечается выраженная эффективность по таким показателям, как площадь раневой поверхности, средняя скорость заживления раны, а также динамика лимфоцитарно-нейтрофильного индекса.

Полученные в доклиническом эксперименте результаты свидетельствуют о высокой эффективности гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина как для оказания первой помощи, так и дальнейшего лечения поверхностных ожогов средней степени тяжести. Кроме того, полученные результаты позволяют утверждать, что гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина также может применяться для подготовки раневых поверхностей глубоких ожогов к последующей трансплантации кожи, а также в терапии трофических язв у ослабленных пациентов с низким регенераторным потенциалом.

Пример 4. Данные эксперимента по изучению эффективности гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина в модели плоскостных ран у крыс

Исследование проводилось на самцах белых крыс линии Wistar. Все животные случайным образом были разделены на три группы по 13 особей в каждой: I) контрольная группа (без лечения); II) группа сравнения (Бепантен, крем для наружного применения, с содержанием декспантенола - 5%) и III) опытная группа (гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина). Опытную группу составляли 5 животных, получавших 0,02% раствор и 5 животных, получавших 0,5% раствор), в тексте заявки приведены средние данные по статистике в этой группе.

Линейные раны представляли собой продольный разрез кожи и подкожной жировой

клетчатки по средней линии спины длиной около 4 см. После разреза края раны сближали, накладывая 3 шва на равном расстоянии друг от друга. Начиная со дня операции, животным наносили исследуемые препараты, группа контроля получала плацебо. В каждой группе 3 крысы предусматривались для выполнения тензиометрического исследования - с эвтаназией на 7-й день эксперимента. Сразу после достижения полного заживления (на 25-26-е сутки) были взяты образцы для выполнения гистологического исследования.

Сравниваемые препараты наносили однократно в сутки, ежедневно, в течение 20 дней. Оценку ранозаживляющего действия проводили по характеру клинического течения (наличие гнойного воспаления, динамике срастания краев раны) на 4-е, 7-е, 15-е и 20-е сутки эксперимента.

На фиг.3 представлены результаты визуального контроля, наглядно демонстрирующие более интенсивное заживление линейной раны в опытной группе (гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина), по сравнению как с контрольной, так и группой активного сравнения.

Как известно, 15-20-е сутки, соответствующие третьей фазе заживления, характеризуются эпителизацией и формированием рубца. Однако, в контрольной группе даже на 20-е сутки наблюдения не наблюдалось полного заживления, сохранялся струп, а полная эпителизация в этой группе происходила только на 25-26-е сутки.

В группе контроля по данным микроскопического исследования в интактной зоне коллагеновые волокна были рыхло расположены и характеризовались большей толщиной, по сравнению с областью заживления линейной раны, где коллагеновые волокна были значительно тоньше, и сохранялось большое количество капиллярных сосудов, т.е. имели место все признаки незрелости образовавшегося рубца. При этом отмечалась незавершенная регенерация эпителия в зоне консолидации краев раны. В структуре рубца отмечались очагово-диффузные воспалительные инфильтраты. Грануляционная ткань распространялась глубоко в дерму практически до границы с подкожной жировой клетчаткой

В группе, получавшей гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина, рубец заканчивался по глубине волосяных фолликулов, отмечалось запустевание сосудов, в рубцовой ткани отмечали преобладание волокнистых элементов над клеточными, что свидетельствовало о стадии завершения формирования рубца.

Промежуточные результаты гистологического исследования (между группой контроля и группой, получавшей гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина) были обнаружены для группы терапии кремом Бепантен.

Данные тензиометрического измерения показали весомое превосходство гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина по сравнению с группой контроля - более чем в 2 раза.

Пример 5. Данные эксперимента по изучению эффективности гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина, примененного в виде 0,02% и 0,5% геля на модели ожога у крыс

Оценка эффективности местного применения гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина в терапии термических ожогов выполнялась на основе модели ожога II-IIIА степени у 40 нелинейных крыс-самцов. Животные находились в режиме виварного содержания в соответствии с нормами надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза, а также актуальными руководствами [20]. Роль термического агента выполняли плоскодонные стеклянные сосуды соответствующего диаметра, на 2/3 наполненные жидким парафином, предварительно

нагреваемые на водяной бане перед аппликацией на кожу. Животных рандомизировали на четыре группы (n=10 в каждой группе): I - контрольная и три опытные. В качестве сравнения был выбран широко распространенный препарат для репарации тканей - Бепантен (крем для наружного применения, содержащий 5% декспантенол). Площадь ожоговой поверхности была нормирована и составляла $\approx 40 \text{ см}^2$.

В качестве контроля использовали асептическую повязку, накладываемую в течение первых 20 мин после ожога, с дальнейшей терапией йодпироном и левомеколем (I группа). Группа II в качестве терапии получала Бепантен. Группа III получала гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина в виде 0,02% геля для наружного применения, и группа IV получала гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина в виде 0,5% геля для наружного применения.

В ходе эксперимента помимо мониторинга общего состояния животных на 1-е, 3-е, 5-е, 7-е и 10-е сутки эксперимента давали планиметрическую оценку процесса заживления. Скорость заживления определяли по формуле: $V=(S1-S2)/t$ (где S1 - величина площади раны при предыдущем измерении; S2 - величина площади раны при последующем измерении; t - количество суток между предыдущим и последующим измерениями).

Результаты. В 1-е сутки исследования общее состояние всех экспериментальных животных соответствовало средней степени тяжести. Улучшение состояния и увеличение активности наблюдались к 3-м суткам эксперимента. На этом этапе не наблюдалось различий в общем состоянии животных между экспериментальными группами.

В таблице 4 приведены результаты планиметрии. Отмечалась выраженная статистически значимая положительная динамика заживления ожоговых ран у животных групп III и IV (гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина 0,02%) и 0,5%), соответственно). Она характеризовалась достоверным (как по сравнению с группой контроля, так и с группой, получавшей Бепантен) снижением площади ожога уже на 3-й сутки эксперимента, уменьшением площади и глубины ожога и, как следствие, более благоприятным течением раневого процесса. Статистически значимых отличий между группами III и IV не обнаружено, хотя у группы IV имеется тенденция более выраженного сокращения ожоговой площади, чем в группе III (Таблица 4).

Средняя скорость заживления представлена на фиг. 4. Статистически значимые различия выявлены только между группой контроля (I) и группами, получавшими гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина в виде геля (как 0,02%, так и 0,5%). Несмотря на более хорошие показатели скорости заживления раны у группы IV, достоверных различий в сравнении с группой III не выявлено, что объясняется малой выборкой исследования. Результаты подтверждают выраженную эффективность гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина в виде 0,02% или 0,5% геля в отношении сокращения как площади ожоговой поверхности, так и средней скорости заживления ожоговых ран.

Полученные в доклиническом эксперименте результаты свидетельствуют о высокой эффективности гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина как для оказания первой помощи, так и дальнейшего лечения поверхностных ожогов средней степени тяжести. Полученные результаты позволяют утверждать, что гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина, в лекарственной форме «гель для наружного применения» или «раствор для наружного применения» может применяться для подготовки раневых поверхностей глубоких ожогов к последующей трансплантации кожи, а также в терапии трофических язв у пациентов с низким регенераторным потенциалом. Терапевтический диапазон концентраций для гексапептида тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина в лекарственных

формах раствор для наружного применения или гель для наружного применения составляет 0,02-0,5%.

Список литературы

- [1] Всемирная организация здравоохранения, Информационный бюллетень, август 2017 г., ссылка: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs365/ru>.
- [2] Алексеев А.А. Современные методы лечения ожогов и ожоговой болезни // Комбустиология (эл. версия). - 1999. - №. 1.
- [3] Зохиров А.Н. и др. Влияние синтетического аналога опиоидных пептидов даларгина на антиоксидантный статус собак // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. - 2016. - №. 9.
- [4] Львова С.П., Горбунова Т.Ф., Абаева Е.М. Влияние гипотермии и даларгина на перекисное окисление липидов в тканях крыс // Вопросы медицинской химии. - 1993. - Т. 39. - №. 3. - С. 21-24.
- [5] Жмеренецкий К.В. Микроциркуляция и влияние на нее лекарственных препаратов разных классов при сердечнососудистых заболеваниях: Дис... д-ра мед. наук. - 2013.
- [6] Заболотских И.Б., Чуприн С.В., Курзанов А.Н. Дозозависимые эффекты даларгина в анестезиологии и интенсивной терапии // Вестник интенсивной терапии. - 2002. - №. 4. - С. 75-79.
- [7] Шехтер А.Б. и др. Влияние опиопептида даларгина на репаративные процессы при заживлении ран // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. - 1988. - №. 10. - С. 487-490.
- [8] Панькова Т.Д., Тимошин С.С. Доказательства реализации стимулирующего эффекта даларгина на процесс клеточного деления через опиатные рецепторы // Бюлл. экспер. биол. и мед. - 1990. - №. 7. - С. 96-98.
- [9] Носков А.А. и др. Влияние препарата даларгин на регенерацию кожи после ожога у крыс // Актуальные вопросы медицины в современных условиях. - 2017. - С. 59-60.
- [10] Инструкция по применению лек. препарата для мед. применения Даларгин-Деко (ЛП-004596, интернет портал РГЛС <https://grls.rosminzdrav.ru/>, дата обращения 31.01.2018).
- [11] Тимошин С.С., Алексеенко С.А., Штука А.А. Влияние даларгина на репаративную способность гастродуоденальной слизистой оболочки у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки // Клиническая медицина. - 1991. - Т. 69. - №. 3. - С. 75-77.
- [12] Алексеенко С.А. и др. Влияние даларгина на репаративную способность слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта при различных гастроэнтерологических заболеваниях // Дальневосточный медицинский журнал. - 2010. - №. 3.
- [13] Виноградов В.А., Полонский В.М., Смагин В.Г. Влияние даларгина на репаративные процессы в слизистой оболочке гастро-дуоденальной зоны // Бюлл. ВКНЦ. - 1982. - №. 5. - С. 40-42.
- [14] Максакова Е.В. Даларгин в лечении травматических повреждений роговицы // Офтальмолог, журнал. - 2000. - №. 6. - С. 95-97.
- [15] Дас Д.К., Молик Н. Превращение сигнала гибели в сигнал выживания при редокс-сигнализации // Биохимия. - 2004. - Т. 69, №1. - С.16-24.
- [16] Животова Е. Ю., Лебедько О. А., Тимошин С.С. Влияние структурных аналогов лей-энкефалина на процессы синтеза ДНК и свободнорадикальное окисление в слизистой оболочке желудка белых крыс // Дальневосточный медицинский журнал. - 2012. - №. 1.
- [17] Балачевский Б.В., Курзанов А.Н., Славинский А.А. Даларгин-индуцируемая модуляция функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов //

Успехи современного естествознания. - 2008. - №. 5.

[18] Донцов В.И. и др. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении //Груды ИСА РАН. - 2006. - Т. 19. - С. 50-69.

5 [19] Донцов А.В. Эффективность Даларгина в коррекции цитокинового профиля у больных ИБС и метаболическим синдромом //Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. - 2013. - №. 1.

[20] Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Миронова. - М.: Гриф и К, 2012. - 944 с.

10

Таблица 1

15

20

25

Группа	День после нанесения термической травмы				
	1-й	3-й	5-й	7-й	10-й
группа I (контрольная)	3,0±0,3	2,0±0,4	0,9±0,3	0,3±0,3	0,0±0,0
группа II (Декспантенол)	2,0±0,5*	1,3±0,4	0,7±0,5	0,3±0,3	0,0±0,0
группа III (гексапептид тирозил-D-аланил- глицил- фенилаланил- лейцил-аргинина)	1,0±0,4**	0,7±0,4 *	0,3±0,2*	0,0±0,0	0,0±0,0

Таблица 2

30

35

40

45

Группа	День после нанесения термической травмы				
	1-й	3-й	5-й	7-й	10-й
группа I (контрольная)	2,6±0,2	1,5±0,3	0,7±0,2	0,0±0,0	0,0±0,0
группа II (Декспантенол)	1,8±0,2*	1,4±0,2	0,5±0,3	0,0±0,0	0,0±0,0
группа III (гексапептид тирозил-D-аланил- глицил- фенилаланил- лейцил-аргинина)	0,8±0,3**	0,7±0,2**	0,0±0,0**	0,0±0,0	0,0±0,0

Таблица 3

Группа	День после нанесения термической травмы					
	1-й	3-й	5-й	7-й	10-й	14-й
группа I (контрольная)	40±2	23±2	20±3	18±2	15±2	12±2
группа II (Декспантенол)	40±2	18±3	15±2*	13±2*	12±3	7±3
группа III (гексапептид тирозил-D-аланил- глицил- фенилаланил- лейцил-аргинина)	40±2	12±3**	11±2	8±2**	6±2**	0±0**

Таблица 4

Группа	День после нанесения термической травмы					
	1-й	3-й	5-й	7-й	10-й	14-й
группа I (контрольная)	40±2	24±3	22±3	18±3	16±4	12±3
группа II (Бепантен)	40±2	19±3	16±2*	14±2	12±3	8±3
группа III (гексапептид тирозил-D-аланил- глицил- фенилаланил- лейцил-аргинина 0,02% гель)	40±2	14±3	12±3**	9±2**	7±2	2±2**
группа IV (гексапептид тирозил-D-аланил- глицил- фенилаланил- лейцил-аргинина, 0,5% гель)	40±2	11±3**	10±3**	7±2**	5±2**	0±0**

(57) Формула изобретения

1. Средство для терапии раневых или ожоговых поражений кожи в виде лекарственной формы для наружного применения, содержащее в качестве активного вещества гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина 0,02-0,5 мас. %,

фармацевтически приемлемую добавку/фармацевтически приемлемые добавки -
остальное.

2. Средство по п. 1, отличающееся тем, что представляет собой раствор, который
содержит гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина и
5 фармацевтически приемлемую добавку при следующем соотношении компонентов,
масс. %: гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина 0,02-0,5
масс. %, вода очищенная до 100%.

3. Средство по п. 1, отличающееся тем, что представляет собой гель, который
содержит гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина и
10 фармацевтически приемлемые добавки при следующем соотношении компонентов,
масс. %: гексапептид тирозил-D-аланил-глицил-фенилаланил-лейцил-аргинина 0,02-
0,5%, гидроксиэтилцеллюлоза 2,5-3%, сорбат калия 2-3%, вода очищенная до 100%.

15

20

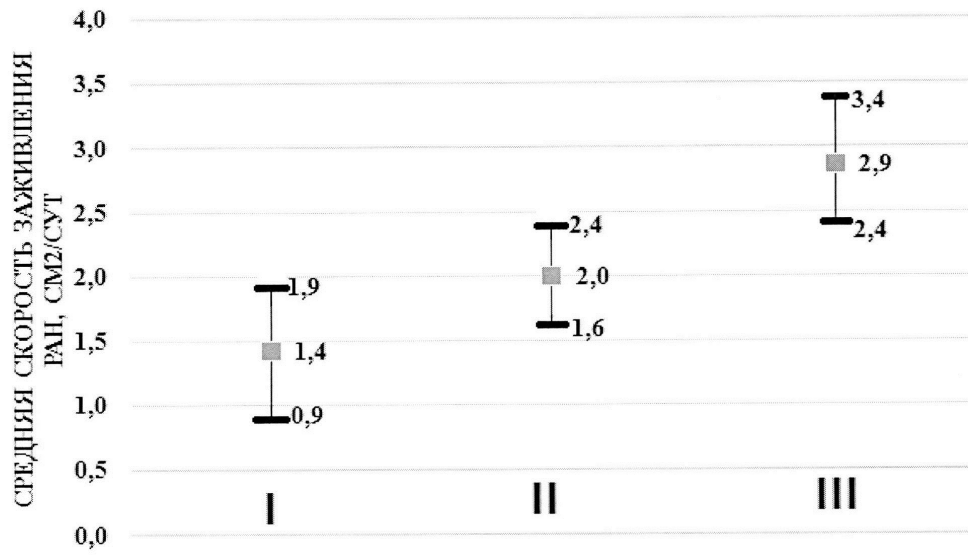
25

30

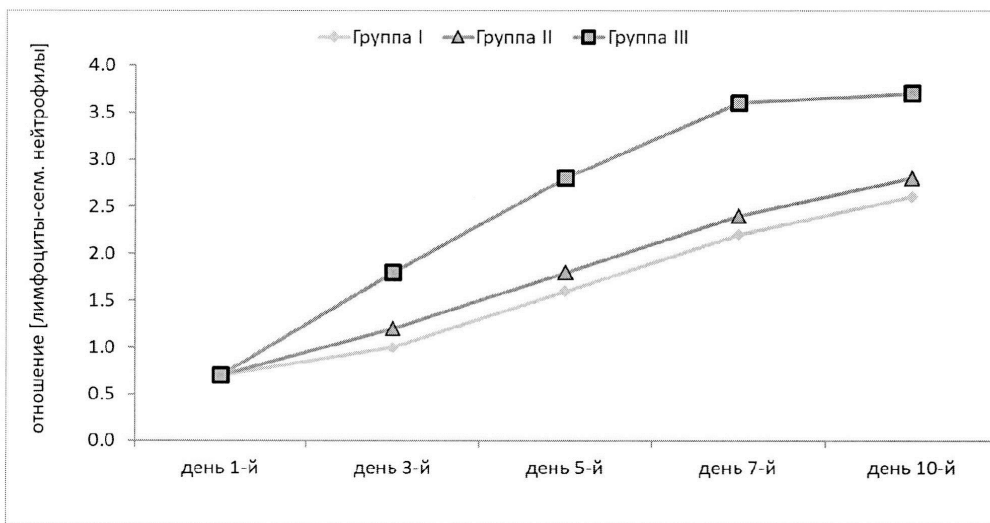
35

40

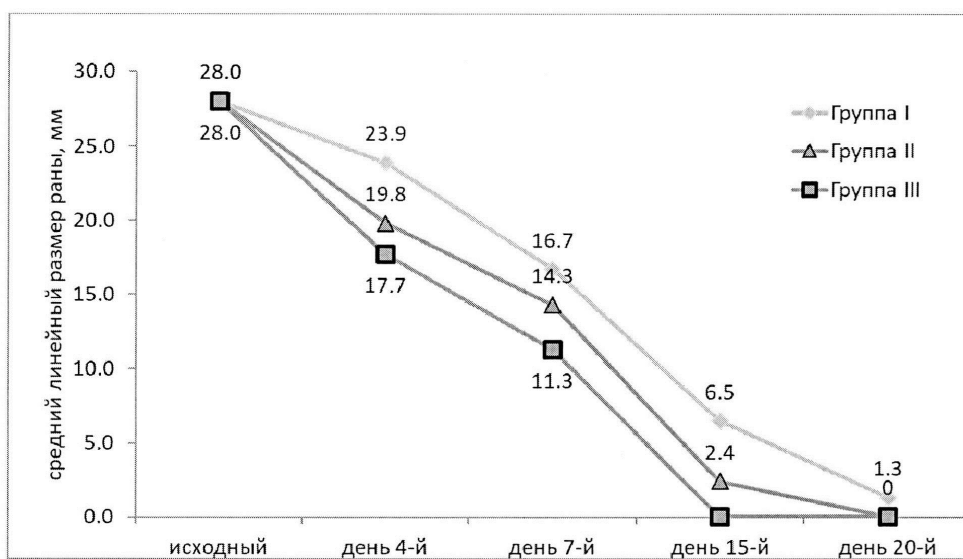
45



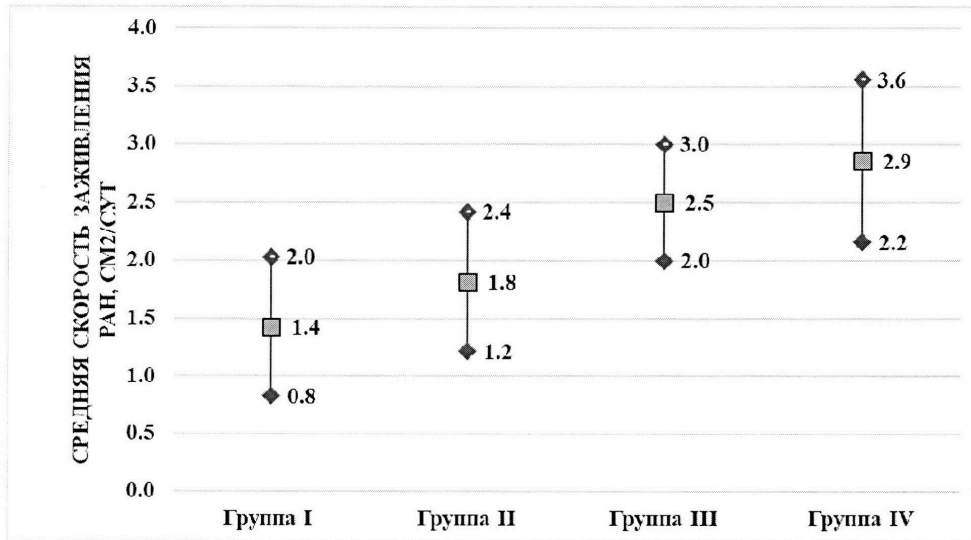
Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4