РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(19) **RU** (11) **2 452 508** (13) **C2**

(51) МПК
A61K 38/05 (2006.01)
A61K 38/06 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: **2010137992/15, 13.09.2010**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
13.09.2010

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: **13.09.2010**

(43) Дата публикации заявки: **20.03.2012** Бюл. № 8

(45) Опубликовано: **10.06.2012** Бюл. № **16**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **КУРЦЕВА А.А. Влияние регуляторного пептида глицил-гистидил-лизина и составляющих его аминокислот на регенерацию кожи и функцию нейтрофилов. 2008. Автореф. дисс.к.м.н. - с.15., 18. RU 2228763 C1, 2004.05.20. ЗОЗУЛЯ Т.А. Эффективность пептидных биорегуляторов при лечении травм глаз. Возможности и перспективы совершенствования диагностики и лечения в** (см. прод.)

Адрес для переписки:
305041, г.Курск, ул. К. Маркса, 3, КГМУ, патентный отдел, З.Н. Куприяновой

(72) Автор(ы):
Чердаков Виктор Юрьевич (RU),
Смахтин Михаил Юрьевич (RU),
Дубровин Григорий Михайлович (RU),
Бобынцев Игорь Иванович (RU),
Долгинцев Максим Евгеньевич (RU),
Крюков Алексей Анатольевич (RU),
Кононец Евгений Николаевич (RU),
Соболева Ирина Михайловна (RU),
Кремзукова Яна Вячеславовна (RU),
Белых Андрей Евгеньевич (RU),
Иванова Ольга Игоревна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Курский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию" (RU)

(54) СПОСОБ СТИМУЛЯЦИИ ЗАЖИВЛЕНИЯ КОЖНЫХ РАН И ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ НЕЙТРОФИЛОВ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к дерматологии, и может быть использовано для стимуляции заживления кожных ран. Для этого вводят комбинацию пептидов Gly-His-Lys и тимоген парентерально в эквимолярных разовых дозах по 0,5 мкг/кг массы тела один раз в сутки, в течение десяти дней. Способ обеспечивает сокращение сроков заживления за счет улучшения ранозаживляющей способности кожи и функциональной активности нейтрофилов. 1 табл., 2 пр.

(56) (продолжение):
клинической практике. 1997, с.36-37. СМАХТИН М.Ю. Иммунометаболические эффекты сыворотки крыс, получавших трипептид глицил-гистидил-лизин. Актуальные вопросы дерматовенерологии. 2000 Вып.3, с.126-128.

RU 2452508 C2

RU 2452508 C2

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 452 508** (13) **C2**

(51) Int. Cl.
A61K 38/05 (2006.01)
A61K 38/06 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2010137992/15, 13.09.2010**

(24) Effective date for property rights:
13.09.2010

Priority:
(22) Date of filing: **13.09.2010**

(43) Application published: **20.03.2012** Bull. 8

(45) Date of publication: **10.06.2012 Bull. 16**

Mail address:
305041, g.Kursk, ul. K. Marksa, 3, KGMU, patentnyj otdel, Z.N. Kuprijanovoj

(72) Inventor(s):
Cherdakov Viktor Jur'evich (RU),
Smakhtin Mikhail Jur'evich (RU),
Dubrovin Grigorij Mikhajlovich (RU),
Bobyntsev Igor' Ivanovich (RU),
Dolgintsev Maksim Evgen'evich (RU),
Krjukov Aleksej Anatol'evich (RU),
Kononets Evgenij Nikolaevich (RU),
Soboleva Irina Mikhajlovna (RU),
Kremzukova Jana Vjacheslavovna (RU),
Belykh Andrej Evgen'evich (RU),
Ivanova Ol'ga Igorevna (RU)

(73) Proprietor(s):
Gosudarstvennoe obrazovatel'noe uchrezhdenie vysshego professional'nogo obrazovanija "Kurskij gosudarstvennyj meditsinskij universitet Federal'nogo agentstva po zdravookhraneniju i sotsial'nomu razvitiju" (RU)

(54) METHOD FOR STIMULATING WOUND HEALING AND FUNCTIONAL ACTIVITY OF NEUTROPHILS

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine, namely dermatology and may be used for stimulating skin wound healing. That is ensured by parenteral introduction of a combination of Gly-His-Lys peptides and thymogen in equimolar single doses 0.5 mcg/kg of body weight once a day for ten days.

EFFECT: method provides reduced length of healing ensured by improved wound healing ability of skin and functional activity of neutrophils.

1 tbl, 2 ex

RU 2452508 C2

RU 2452508 C2

Изобретение относится к медицине (травматологии, хирургии) и ветеринарии. Способ может быть использован для стимуляции заживления кожных ран.

Наиболее близкой является стимуляция заживления кожных ран при парентеральном применении регуляторного пептида Gly-His-Lys, имеющего формулу H_2N-Gly-L-His-L-Lys-COOH (Курцева А.А. Влияние регуляторного пептида глицил-гистидил-лизина и составляющих его аминокислот на регенерацию кожи и функцию нейтрофилов. Автореферат дисс. канд. мед. наук, Курск, 2008, с.15, с.18). Наибольшая ранозаживляющая активность проявлялась при десятикратном (с интервалом в 24 часа между инъекциями) внутрибрюшинном или внутрикожном введении пептида Gly-His-Lys в разовой дозе 0,5 мкг/кг массы тела.

Недостатком такого способа стимуляции заживления кожных ран является то, что существует определенный предел активации и необходимо строго соблюдать дозу пептида, поскольку при возможном случайном превышении рекомендуемой разовой дозы препарата ранозаживляющий эффект ослабляется или даже совсем исчезает. Это может быть связано с тем, что пептид Gly-His-Lys в рекомендованной дозе 0,5 мкг/кг, обладающей максимальной репаративной активностью, не влияет на функцию нейтрофилов, а при повышении дозы оказывает иммуносупрессирующее действие в отношении этих клеток, что, скорее всего, и приводит к ослаблению ранозаживляющей активности (Курцева А.А. Влияние регуляторного пептида глицил-гистидил-лизина и составляющих его аминокислот на регенерацию кожи и функцию нейтрофилов. Автореферат дисс. канд. мед. наук, Курск, 2008, 22 с.). Как известно, нейтрофилы первыми из фагоцитов приходят в очаг воспаления и от их активности существенно зависит вероятность нагноения раны, а следовательно, длительность раневого процесса (Фрейдлин И.С., Тотолян А.А. Клетки иммунной системы. - СПб.: Наука, 2001. - 390 с.). В связи с этим можно предполагать, что повышение функциональной активности нейтрофилов послужит дополнительным стимулом, который позитивно скажется на скорости заживления кожных ран.

Технический результат изобретения - улучшение ранозаживляющей способности кожи с целью сокращения сроков заживления кожных ран.

Технический результат изобретения достигается путем парентерального (внутрибрюшинного или внутрикожного) введения пептида Gly-His-Lys в комбинации с пептидным иммуномодулятором тимогеном. Благодаря синергичному репаративному действию пептидов происходит усиление ранозаживляющей активности.

Пептиды вводят один раз в сутки парентерально (внутрибрюшинно или внутрикожно) в эквимолярных разовых дозах (Gly-His-Lys - 0,5 мкг/кг и тимоген - 0,5 мкг/кг) в 0,1 мл физиологического раствора с интервалом в 24 часа между инъекциями в течение 10 дней с момента возникновения кожной раны у экспериментальных животных (крысы Вистар). При этом повышение коэффициента относительного ранозаживления (КР) свидетельствует о стимуляции заживления кожных ран.

Способ осуществляется следующим образом.

Пептид Gly-His-Lys, имеющий формулу H_2N-Gly-L-His-L-Lys-COOH, может быть куплен у поставщиков реактивов и препаратов для биомедицинских исследований (Sigma, ICN, Merk и др.) или синтезирован в любой лаборатории синтеза пептидов. Нами был использован препарат, синтезированный в НИИ химии Санкт-Петербургского государственного университета. Тимоген, имеющий формулу NH_2-Glu-Trp-COOH, является общедоступным фармацевтическим средством, производится фирмой МБНПК ЦИТОМЕД ЗАО (Россия) или может быть синтезирован в

лабораториях синтеза пептидов.

Берутся навески соответствующих пептидов и растворяются в физиологическом растворе хлорида натрия (NaCl). Затем пептиды вводятся один раз в сутки, одновременно, но в разных шприцах, лабораторным животным, сразу после возникновения кожной раны, в эквимолярных разовых дозах (0,5 мкг/кг массы тела) парентерально (внутрибрюшинно или внутрикожно) в 0,1 мл физиологического раствора (NaCl) в течение 10 дней с интервалом 24 часа между инъекциями.

Пример конкретного использования

Пример 1. Внутрикожное введение пептидов

Крысам Вистар, наркотизированным хлоралгидратом, раневой процесс моделировали по методике Хотинян В.Ф. (1984 г.) нанесением на холке полнослойных ран стандартного размера (1 $см^2$). Один раз в сутки в течение 10 дней животным вводили пептиды внутрикожно (в 2 точках вокруг раны, ежедневно меняя области введения по часовой стрелке на 90 градусов). Тимоген (МБНПК ЦИТОМЕД ЗАО, Россия) и пептид Gly-His-Lys (синтезирован в НИИ химии Санкт-Петербургского государственного университета) вводили одновременно (но в разных шприцах) в эквимолярных разовых дозах по 0,5 мкг на 1 кг массы тела в 0,1 мл физиологического раствора (NaCl). Крысам контрольной группы вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме в течение того же периода времени. Сразу после моделирования раневого процесса, а также через десять дней раны фотографировали цифровой фотокамерой Canon A410 с применением миллиметровой сетки с последующим измерением начальной (1-е сутки) и конечной (через 10 суток) площадей ран. Вычисление площадей ран производилось с помощью программы Image Tool. На основании полученных данных вычислялся коэффициент относительного ранозаживления (КР) по формуле: Y=So-St/So, где Y - коэффициент относительного заживления, So - начальная площадь раны, St - конечная площадь раны (Ю.А.Амирасланов, В.М.Матасов, В.Ф.Хотинян. Лечение ран в управляемой абактериальной среде. - М., 1981. - 157 с.). Животных выводили из эксперимента через 10 суток после нанесения кожных ран (таблица 1).

Таблица 1

Влияние пептида Gly-His-Lys, тимогена и их комбинации (Gly-His-Lys+тимоген) на заживление кожных ран (M±m, n=8) при внутрикожном введении

№	Условия опыта	Коэффициент относительного ранозаживления
1	Введение физиологического раствора (контроль)	0,29±0,03
2	Введение пептида Gly-His-Lys	0,44±0,04 *1
3	Введение тимогена	0,41±0,03 *1
4	Введение комбинации Gly-His-Lys+тимоген	0,56±0,04 *1-3

Примечание: * - показывает достоверные отличия, p<0,05, а рядом стоящая цифра - номера групп сравнения; n - количество животных в группе.

Морфометрические исследования свидетельствовали о более выраженной стимуляции процессов заживления кожных ран в группе крыс, получавших комбинацию пептидов Gly-His-Lys+тимоген, по сравнению с животными, которым пептиды вводили по отдельности.

Пример 2. Внутрибрюшинное введение пептидов

Крысам Вистар, наркотизированным хлоралгидратом, раневой процесс моделировали по методике Хотинян В.Ф. (1984 г.) нанесением на холке полнослойных ран стандартного размера (1 $см^2$). Один раз в сутки в течение 10 дней животным внутрибрюшинно вводили одновременно (но в разных шприцах) тимоген (МБНПК

ЦИТОМЕД ЗАО, Россия) и пептид Gly-His-Lys (синтезирован в НИИ химии Санкт-Петербургского государственного университета) в эквимолярных разовых дозах по 0,5 мкг на 1 кг массы тела в 0,1 мл физиологического раствора (NaCl). Крысам контрольной группы вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме, в течение того же периода времени. Сразу после моделирования раневого процесса, а также через десять дней раны фотографировали цифровой фотокамерой Canon A410 с применением миллиметровой сетки с последующим измерением начальной (1-е сутки) и конечной (через 10 суток) площадей ран. Вычисление площадей ран производилось с помощью программы Image Tool. На основании полученных данных вычислялся коэффициент относительного ранозаживления (КР) по формуле: Y=So-St/So, где Y - коэффициент относительного заживления, So - начальная площадь раны, St - конечная площадь раны (Ю.А. Амирасланов, В.М. Матасов, В.Ф. Хотинян. Лечение ран в управляемой абактериальной среде. - М., 1981. - 157 с.).

Животных выводили из эксперимента через 10 суток после нанесения кожных ран. При этом морфометрические исследования свидетельствовали о более выраженной стимуляции процессов заживления кожных ран в группе крыс, получавших комбинацию пептидов Gly-His-Lys + тимоген, по сравнению с животными, которым пептиды вводили по отдельности.

Таким образом, в условиях кожных ран благодаря синергичному репаративному действию пептидов (Gly-His-Lys+тимоген) происходит усиление ранозаживляющей активности, что может быть использовано для стимуляции заживления кожных ран.

Формула изобретения

Способ стимуляции заживления кожных ран, включающий введение пептида Gly-His-Lys, отличающийся тем, что используют комбинацию пептидов Gly-His-Lys и тимогена парентерально в эквимолярных разовых дозах по 0,5 мкг/кг массы тела один раз в сутки, в течение десяти дней.