



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 155 592** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) МПК⁷ **A 61 K 31/727, 31/722, 31/721,**
A 61 P 41/00

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

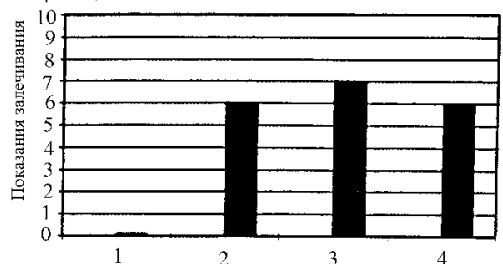
(21), (22) Заявка: 97102350/14, 13.07.1995
(24) Дата начала действия патента: 13.07.1995
(30) Приоритет: 19.07.1994 SE 9402529-3
(46) Дата публикации: 10.09.2000
(56) Ссылки: US 4326532 A, 27.04.1982. US 4613665 A, 23.09.1986. US 5116824 A, 26.05.1992. Kikuchi and A.Noda, J.of Applied Polymer Science, 20, 2561, 1976. Раны и раневая инфекция. Руководство для врачей. / Под ред. Акад. АМН СССР проф.Кузина М.И. и др. - М.: Медицина, 1990, 591 с.
(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу: 19.02.1997
(86) Заявка РСТ: SE 95/00856 (13.07.1995)
(87) Публикация РСТ: WO 96/02258 (01.02.1996)
(98) Адрес для переписки: 129010, Москва, ул. Большая Спасская 25, стр.3, ООО "Городисский и Партнеры", Лебедевой Н.Г.

(71) Заявитель:
АСТРА АКТИЕБОЛАГ (SE)
(72) Изобретатель: Ханс-Арне ХАНССОН (SE),
Гунилла ЙОХАНССОН-РУДЕН (SE), Олле
ЛАРМ (SE)
(73) Патентообладатель:
АСТРА АКТИЕБОЛАГ (SE)

(54) **АНТИАДГЕЗИОННЫЙ АГЕНТ**

(57)
Изобретение относится к новому антиадгезионному агенту. В качестве вещества, способного предотвратить или снизить нежелательную адгезию поврежденной ткани с прилегающей или окружающей тканями при заживлении ран, применяется хитозан и полисахарид, иммобилизованный с ним. Полисахарид выбран из гепарина, гепаран сульфата и декстран сульфата. Новый антиадгезионный агент обладает способностью улучшения качества заживления ран путем стимулирования регенерации тканей. 2 с. и 12

з.п.ф-лы, 2 ил.



1 хитозан + 1,9% гепарин 3 хитозан + 7,7% гепарин
2 хитозан + 10,8% гепарин 4 хитозан + 9,2% гепарин

Фиг.1



(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 155 592** ⁽¹³⁾ **C2**
(51) Int. Cl.⁷ **A 61 K 31/727, 31/722, 31/721, A 61 P 41/00**

RUSSIAN AGENCY
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: 97102350/14, 13.07.1995
(24) Effective date for property rights: 13.07.1995
(30) Priority: 19.07.1994 SE 9402529-3
(46) Date of publication: 10.09.2000
(85) Commencement of national phase: 19.02.1997
(86) PCT application:
SE 95/00856 (13.07.1995)
(87) PCT publication:
WO 96/02258 (01.02.1996)
(98) Mail address:
129010, Moskva, ul. Bol'shaja Spasskaja 25,
str.3, OOO "Gorodisskij i Partnery", Lebedevoj N.G.

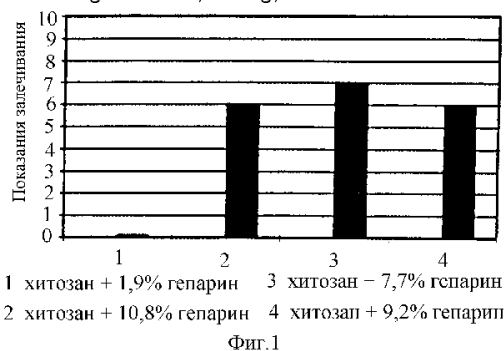
(71) Applicant:
ASTRA AKTIEBOLAG (SE)
(72) Inventor: Khans-Arne KhANSSON (SE),
Gunilla JOKhANSSON-RUDEN (SE), Olle LARM
(SE)
(73) Proprietor:
ASTRA AKTIEBOLAG (SE)

(54) **ANTI-ADHESIVE AGENT**

(57) Abstract:

FIELD: medicine. SUBSTANCE: invention relates to a novel anti-adhesive agent. Chitosan and polysaccharide immobilized with chitisan are used as substance that is able to prevent or decrease undesirable adhesion of damaged tissue with adjoining or surrounding tissues in wound healing process. Polysaccharide is taken among heparin, heparan-sulfate and dextran-sulfate. New anti-adhesive agent shows ability to improve the quality of wound healing by stimulation of tissue regeneration. EFFECT: enhanced effectiveness

of new agent. 14 cl, 2 dwg, 18 ex



Настоящее изобретение относится к новым антиадгезионным агентам, т.е. продуктам, способным предотвращать нежелательную адгезию тканей в связи с заживлением ран. Такой продукт также обладает способностью улучшения качества заживления путем стимулирования регенерации тканей.

Изобретение также включает способ предотвращения такой нежелательной адгезии тканей.

Важным для жизни является способность свободно двигаться в соответствии с нашими желаниями и текущими потребностями. Необходимым условием этого является соответствующая функция скелетно-мышечной системы в тесном сотрудничестве в основном с тканями кожи, слизистых оболочек и нервной тканью, а для этого *per-se* необходимо, чтобы различные структуры, такие как кость, мышцы и сухожилия, могли свободно двигаться друг относительно друга. Такие действия требуют наличия зон скольжения, минимального трения и максимальной свободы перемещения. Таким образом, для оптимального функционирования между, например, прилежащими друг к другу мышцами и сухожилиями, так же как и между кожей и прилежащими к ней тканями необходимы системы скольжения. То же относится и к строению внутренних органов, как, например, желудочно-кишечного тракта, сердца, легкого, головного и спинного мозга. Системы скольжения образованы из тонких пластин рыхлой соединительной ткани, которые в брюшной полости, грудной клетке, полости сердечной сумки и для головного и спинного мозга разграничены мезотелиальными клетками. Рыхлая соединительная ткань, окружающая сухожилия, имеет подобную структуру. Эти системы скольжения очень чувствительны к воспалению и повреждению. Быстрое образование рубцовых тканей ведет к ослаблению или даже к утрате функций. Адгезии тканей, образующиеся в брюшной полости, как, например, образование волоконных и пленочно-подобных сращений прилежающих или окружающих структур может даже привести к непроходимости - состоянию, угрожающему жизни. После хирургических операций, проводимых для лечения травм удаления опухолей или лечения других расстройств, а также для осуществления реконструкций, всегда образуются рубцы и соответственно происходит более или менее ощутимая утрата "естественных и изначальных" систем скольжения.

Заживление ран на коже и слизистых оболочках осложняется, с одной стороны, ограниченной способностью соединительной ткани к регенерации и, с другой стороны, образованием незрелой грануляционной ткани, у которой затем ограничена способность созревания до уровня нормальной ткани. Таким образом, кожа после повреждения не реформируется ни у детей, ни у взрослых, за редким исключением. Небольшие и/или поверхностные повреждения кожи заживают путем замены поврежденной ткани образованием структур смежного типа и образованием реагирующей на раздражение

грануляционной ткани. В случаях более существенных потерь ткани, как, например, после глубоких ожогов, ожоговых ран третьей степени и после потери части кожной ткани, при заживлении неизбежно происходит образование рубцов, различные, но неизбежные потери ткани и необратимые деформации. Механически прочный компонент рубцовой ткани большей частью состоит из коллагена типа III в виде коротких волокон и низшей организации и поэтому его механические свойства ниже по сравнению с коллагеном нормального оптимального типа I. Фракция аморфного пластического основного вещества, а также ячеистость ткани уменьшаются. Со временем сокращается количество кровеносных сосудов по отношению к их количеству в нормальной ткани, а также меняется распределение и тип сосудов. Часто встречаются широкие толстостенные сосуды с более низкой функциональностью в сравнении с соответствующими нормальными кровеносными сосудами, а также аномальные лимфо-сосудистые системы. Системы скольжения, таким образом, заменяются жесткой фиброзной коллагенной соединительной тканью.

Еще один очень существенный осложняющий фактор возникает в результате появления миофибробластов, т.е. "обычных" клеток соединительной ткани (фибробластов), которые так же, как и часть макрофагов, имеют повышенное количество цитоплазматических узлов мышечных протеинов, что создает возможность медленного и сильного сжатия клеток и удерживания такого сжатия в течение долгого времени. В результате могут возникнуть контрактуры, которые затем деформируют и ограничивают функциональные возможности поврежденной ткани. Повышенное количество миофибробластов наблюдается, например, вокруг грудных имплантатов (силиконовых протезов, имплантированных для увеличения или реконструкции груди; более детально описано C.Lossing & H-A. Hansson в статье в Plastic Reconst. Surgery 1993, Vol 91, p.1277-1286) и вокруг швов и других имплантатов из чужеродных материалов. Миофибробласты с повышенной частотой распространяются вокруг суставов при некоторых ревматоидных заболеваниях и могут привести к искривлению пальцев, а иногда также к смещению суставных поверхностей. Эта клетка является патогенным фактором, вызывающим деформации кистей рук, поражающих пациентов, страдающих контрактурой Дюпюитрена. Миофибробласты, также как и обычные фибробласты, присоединены к коллагеновым нитям с помощью специфических гетеродимерных рецепторов, один элемент которых всегда образован β 1-интегрином. Блокирование интегринов приводит к устранению контрактур. Противовоспалительные средства могут влиять на экспрессию интегринов.

Таким образом, системы скольжения в рыхлой соединительной ткани с (или без) четко обозначенной скользящей поверхностью восстанавливаются лишь в случаях минимального воспаления. Образование грануляционной ткани происходит, однако, только в связи с

воспалительным процессом, что per se приводит к образованию незрелых клеток и компонентов ткани. Такая неспособность новой ткани, образованной во время процесса заживления, приблизиться к нормальным уровням дифференциации является причиной того, что рубцовая ткань является тканью низшего качества количественно и качественно по сравнению с изначальной зрелой, но утраченной тканью. Созревание регенерированной ткани требует доступа к факторам роста, которые контролируют и промотируют дифференциацию клеток, волокон и основного вещества.

Исследования были направлены на решение проблемы избежания нежелательной адгезии тканей в связи с заживлением ран, например ран, вызванных хирургическим вмешательством, полученных в результате несчастного случая, воспалений или опухолей. Заявка PCT N US 90/02406 описывает технологию, связанную с этой специфической проблемой, а также включает относительно пространное толкование уровня техники. Методы, описанные в этой патентной заявке, основаны на использовании сэндвичевых конструкций, включающих биоразлагаемую биоактивную мембрану, противоположные поверхности которой имеют разный состав и соответственно разные биологические функции. Однако, как оказалось, соответствующие продукты отсутствуют на рынке.

Объектом изобретения, соответственно, является антиадгезионное вещество, использование которого вызывает лишь минимальное воспаление, которое быстро проходит, при этом указанное вещество является биологически приемлемым и биоразлагаемым, не дающим вредных продуктов разложения.

Другим объектом изобретения является антиадгезионное вещество, обладающее способностью вызывать поверхности раздела и упрощающее механическое и техническое манипулирование в связи, например, с хирургическими вмешательствами.

Еще одним объектом изобретения является способ предотвращения или значительного снижения нежелательной адгезии прилегающих или окружающих тканей и органов при заживлении ран.

Следующим объектом изобретения является стимулирование регенерации ткани в связи с заживлением ран.

Для этих и других целей, которые будут пояснены ниже, данное изобретение обеспечивает новое использование хитозана и полисахарида, иммобилизованного с ним, при этом указанный полисахарид выбирают из гепарина, гепаран сульфата и декстран сульфата. С использованием такой композиции может быть получено вещество, обладающее способностью устранять или значительно снижать нежелательную адгезию поврежденной ткани с прилегающими или окружающими тканями в связи с заживлением ран.

Используемый полисахарид может быть иммобилизован с хитозаном в основном тремя различными способами. Так, связывание можно осуществлять ионным связыванием, ковалентным связыванием и механическим включением в хитозан путем осаждения из раствора. Способ ковалентного

связывания соответствующего полисахарида с субстратом, являющимся носителем аминокрупп, описывается в патенте США N 4.613.665.

В качестве полисахарида особенно предпочтительно использовать гепарин или гепаран сульфат, эти вещества коммерчески доступны на рынке и поставляются несколькими изготовителями. Можно также использовать частично гидролизированные формы полисахарида при условии сохранения биологической активности.

Антиадгезионное вещество, используемое по настоящему изобретению, может присутствовать в различных физических формах, например, в виде пленок или мембран, гелей, трубок или рукавов, порошков, аэрозолей или растворов. Соответствующую форму, конечно, выбирают для конкретного повреждения. В большинстве случаев используют пленки, тогда как трубки или гели можно использовать в отдельных случаях, например, связанных с удлинением узких органических тканей, таких как мышцы и сухожилия.

Хитозан - это линейный 1,4-связанный полисахарид, состоящий из β -D-глюкозаминовых единиц. Хитозан получают N-деацетилизацией хитина, полимера, образующего панцири *inter alia* насекомых и моллюсков. В коммерческих целях хитин извлекают из панцирей крабов и креветок, которые являются отходами рыболовной промышленности. С помощью регулирования щелочной обработки хитинов можно получать хитозаны различной степени N-ацетилирования. При обработке хитина концентрированной щелочью, обычно гидроксидом натрия, происходит N-деацетилирование, т.е. ацетамидогруппы превращаются в аминокруппы с образованием хитозана.

Физические свойства хитозана, определяющие его применение, зависят от степени N-ацетилирования, молекулярного веса и гомогенности. Хитозан является биоразлагаемым как хитиназой в пищеварительной системе, так и лизозимом и другими ферментами в жидкостях организма.

В связи с использованием по настоящему изобретению предпочтительно, когда хитозан имеет степень N-ацетилирования максимально около 90% и более, предпочтительно максимально около 50%. Особенно предпочтительно, когда степень N-ацетилирования хитозана менее около 25%.

Настоящее изобретение также обеспечивает способ предотвращения или значительного снижения нежелательной адгезии тканей в связи с заживлением ран. Этот способ включает наложение на участок заживаемой раны вещества, включающего хитозан и полисахарид, иммобилизованный с ним и выбранный из гепарина, гепаран сульфата и декстран сульфата.

В зависимости от характера раны это вещество можно применять в форме пленки, в форме геля или в форме трубки или рукава. Можно легко выбрать продукт для применения в связи, например, с хирургической операцией.

Далее изобретение поясняется не ограничивающими его примерами. В приводимых примерах все пленки получают в

чашках Петри, имеющих площадь поверхности 54 см².

ПРИМЕР 1

Получение хитозановой пленки

5 г хлористоводородной соли хитозана (50%-ной степени ацетилирования, Pronova). 10 мл полученного раствора переносят в чашку Петри, и пленка хитозана образуется выпариванием и высушиванием в сушильном шкафу при 70°C в течение 24 час. Затем полученную пленку нейтрализуют добавлением натрий-фосфатного буфера, 0,2М, pH 9,0. Пленку выдерживают в чашке Петри в указанном буфере при комнатной температуре в течение 2-4 ч, затем промывают 3-4 раза водой и дают высохнуть.

ПРИМЕР 2

Получение хитозановой пленки

5 г хлористоводородной соли хитозана (20%-ной степени ацетилирования, Pronova) растворяют в 2%-ном растворе уксусной кислоты (0,5 л, 1% об./вес.). Раствор обрабатывают в автоклаве в течение 1 часа при 125°C в целях стерилизации. После охлаждения пленку получают в чашке Петри, в этом случае с использованием 20 мл раствора. Затем пленке дают высохнуть при комнатной температуре и нейтрализуют добавлением натрий фосфатного буфера, 0,2М, pH 9,0, который добавляется в чашку. Пленку выдерживают в этом буфере в течение 2-4 ч при комнатной температуре, затем промывают дистиллированной водой 3-4 раза и снова дают высохнуть.

ПРИМЕР 3

Азотистокислородное разложение гепарина

Один грамм гепарина растворяют в 300 мл воды. Раствор охлаждают до 0°C в ледяной воде и поддерживают в охлажденном состоянии. Сначала добавляют 10 мг нитрита натрия (NaNO₂). Затем к раствору при перемешивании добавляют 2 мл уксусной кислоты. Реакционную смесь выдерживают при 0°C в течение 2 часов, диализуют и высушивают при температуре ниже 0°C. Получают 0,7 г разложившегося гепарина.

ПРИМЕР 4

Периодатное окисление гепарина

Раствор окисленного периодатом натрия натрийгепарина готовят следующим способом. Один грамм периодата натрия NaIO₄ растворяют в 200 мл дистиллированной воды. Десять грамм натрийгепарина добавляют в раствор периодата натрия и перемешивают в течение ночи в темноте. Получившийся раствор после добавления 10 мл глицерола и перемешивания в течение двух часов диализуют с помощью воды. Воду меняют каждый час. Это дает раствор, содержащий окисленный периодатом гепарин в концентрации около 19 мг/мл.

ПРИМЕР 5

Получение хитозановой пленки с ковалентно-связанным гепарином (концевое присоединение)

К нейтрализованной хитозановой пленке, полученной по способу Примера 1, добавляют 20 мл раствора, содержащего 125 мг нитрит разложившегося гепарина, полученного как в Примере 3, растворенного в 0,5 л воды и содержащего 4,4 г NaCl. К раствору добавляют 15 мг цианоборгидрида натрия. pH раствора доводят до 3,9, используя 0,5 М хлористоводородную кислоту или другую

кислоту. Раствору, содержащему хитозановую пленку, дают отстояться при комнатной температуре в течение 14 ч, затем обработанную пленку промывают 3-4 раза водой и дают высохнуть.

ПРИМЕР 6

Получение хитозановой пленки с ковалентно-связанным гепарином (множественное присоединение)

Нейтрализованную хитозановую пленку, полученную по способу Примера 2, выдерживают в течение 24 часов в 20 мл следующего раствора: 4,4 г хлорида натрия и 125 мг окисленного периодатом гепарина, полученного, как описано в Примере 4, растворяют в 0,5 л воды, pH доводят до 3,9, используя 0,5 М хлористоводородную кислоту. К раствору добавляют 15 мг цианоборгидрида натрия и выдерживают в течение 10 ч при комнатной температуре. Обработанную пленку затем промывают водой 3-4 раза и дают высохнуть. Относительно деталей, касающихся способа ковалентного связывания гепарина, ссылаются на вышеупомянутый патент США N 4.613.665.

ПРИМЕР 7

Получение хитозановой пленки с ионно-связанным гепарином

Нейтрализованную хитозановую пленку получают как в Примере 2. Добавляют раствор гепарина (125 г в 0,5 л воды, содержащей 4,4 г NaCl). После выдерживания в течение 3 ч при комнатной температуре пленку промывают 2 x 0,5 л воды и высушивают.

ПРИМЕР 8

Биологическое испытание, контроль

Пленку, полученную в соответствии с Примером 2, используют в качестве анти-адгезионной мембраны в следующей модели животного.

Стенку брюшной полости крысы раскрывают и с каждой стороны сагиттальной линии наносят хирургическим путем рану размером около 12x10 мм. Одно повреждение покрывают пленкой, полученной по Примеру 2, кусок размером около 18x15 мм, в то время как другое повреждение оставляют открытым. Мембрану сшивают хирургическим швом, используя Dexon[®] 7-0 таким образом, что ни один шов не экспонирован в брюшной полости. Результат оценивают через 2 и 4 недели. В связи с этим наблюдаются небольшие адгезии с мембраной в брюшной полости, в то время как непокрытое пленкой повреждение даст сильные адгезии.

Повреждение брюшной полости под пленкой заживает в основном с образованием рубцовой ткани и есть признаки воспалительной реакции и образования капсул вокруг пленки.

ПРИМЕР 9

Биологическое испытание в соответствии с изобретением

Пленку, полученную по способу Примера 3, используют в качестве антиадгезионной мембраны в следующей модели животного.

Раскрывают брюшную полость крысы и с обеих сторон сагиттальной линии наносят хирургическим путем рану размером 12 x 10 мм.

Одно повреждение покрывают пленкой размером около 18x15 мм, в то время как другое повреждение оставляют открытым.

Мембрану сшивают как в Примере 8.

Область повреждения, оставленная открытой, показывала несколько адгезионных слипаний, а в области, покрытой пленкой, если они и присутствовали, то очень незначительно.

ПРИМЕР 10

Получение хитозановой пленки с ионно-связанным гепарином

5 г хлористоводородной соли хитозана (54%-ной степени ацетилирования, Pronova) растворяют в воде (0,5 л, 1% об./вес.). Раствор стерилизуют в автоклаве в течение часа при 125°C. После охлаждения пленку получают в чашке Петри, при этом используют 20 мл раствора. Затем пленке дают высохнуть при комнатной температуре и добавляют раствор гепарина (125 г в 0,5 л воды). После выдерживания в течение 3 часов при комнатной температуре пленку промывают 2х0,5 л воды и высушивают.

ПРИМЕР 11

Получение хитозановой пленки

5 г хлористоводородной соли хитозана (45%-ной степени ацетилирования, Pronova) растворяют в воде (0,5 л, 1% об./вес.). Раствор стерилизуют в автоклаве в течение 1 ч при 125°C. После охлаждения пленку получают в чашке Петри, используя 20 мл раствора. Пленке затем дают высохнуть при комнатной температуре и нейтрализуют добавлением натрия фосфатного буфера, 0,2 М, pH 9,0, который добавляют в чашку. Пленку выдерживают в этом буфере в течение 2-4 ч при комнатной температуре и затем промывают дистиллированной водой 3-4 раза и снова дают высохнуть.

ПРИМЕР 12

Биологическое испытание в соответствии с изобретением

Пленками, полученными из хитозана-гепарина, как описано выше в Примере 10, покрывают раны (10x12 мм, глубина 1 мм), нанесенные на стенку брюшной полости, как описано выше. Такую же рану наносят на противоположной стороне брюшной полости и покрывают хитозановой пленкой, как описано в Примере 11. Появление адгезий оценивают через 2 недели. На ране, покрытой гепарин-хитозановой пленкой, отсутствуют адгезии, тогда как на другой, покрытой просто хитозановой пленкой, появляются небольшие адгезии в малом количестве. Световое микроскопическое исследование гепарин-хитозановой пленки обнаруживает улучшенное заживление раны, включая область покрытия мезотелиально-подобными клетками, а также менее экстенсивную инфильтрацию воспаленных клеток на поверхности раздела между гепарин-хитозановой пленкой и пораненной тканью брюшной полости, чем в соответствующей области, покрытой просто хитозановой пленкой.

ПРИМЕР 13

Получение хитозан-гепариновых пленок

5 г хлористоводородной соли хитозана (16%-ной степени ацетилирования, Pronova) растворяют в 2%-ном растворе уксусной кислоты (0,5 л, 1% об./вес.). Раствор стерилизуют в автоклаве в течение 1 часа при 125°C. После охлаждения пленку получают в чашке Петри, используя 20 мл раствора. Затем пленке дают выпариться в печи при

70 °C в течение 16 часов. Пленку обрабатывают 0,1 М раствором NaOH в течение 3 ч при комнатной температуре и затем промывают дистиллированной водой 3-4 раза и снова дают высохнуть при 70°C в течение 2 ч. Получившуюся пленку затем помещают в чашку Петри и добавляют 30 мл стерильного раствора природного гепарина (1% вес./об., свиная мукоза, Kabivitrum) в 0,2 М фосфатном буфере (pH 6,4). Пленку выдерживают в течение ночи при комнатной температуре, затем промывают стерилизованной водой и высушивают в LAF печи. Еще четыре пленки готовят способом, описанным выше, с той разницей, что их обрабатывают 0,5%, 0,1%, 0,01% и 0,00%-ным растворами гепарина соответственно. Гепаринизированные пленки подвергают элементному анализу, который показывает, что пленки содержат соответственно 1,2%, 0,9%, 1,3%, 0,23 и 0,007% серы. Эти значения соответствуют содержанию гепарина 9,2%, 7,7%, 10,8%, разделенному на шесть групп с десятью биопсиями 1,9% и 0% соответственно.

ПРИМЕР 14

Приготовление ран

Стерилизованную человеческую кожу получают из masectomy образцов. В каждом опыте используют кожу только от одного донора. В стерильных условиях вырезают кружки диаметром 6 мм с помощью инструмента для иссечения кожи (Stiefel Laboratories, UK). В центре каждого образца на эпидермальной стороне делается частичная рана с помощью 3 мм дерматома и соответственные образцы помещают в 12-луночные пластины (Costar) эпидермальной стороной вверх. Каждую лунку заполняют модифицированной по Дульбеко средой Егла (DMEM) до эпидермального уровня, поддерживая рану на поверхности раздела газ/жидкость. Ко всем образцам добавляли 2% раствор фетальной сыворотки телят (FCS) и антибиотики (пенициллин 50 мг/мл и стрептомицин 50 мг/мл).

ПРИМЕР 15

Испытание на заживление

In vitro раны, описанные в Примере 14, делили на пять групп с 10 биопсиями в каждой группе. Каждую рану покрывали гепаринизированной пленкой, как описано в Примере 13. Среду меняли каждый день. Через семь дней образцы закрепляли в 4%-ном нейтральной буферном растворе формальдегида, дегидратировали через этанол-ксилольный ряд и погружали в парафин. Сечения размером 10-20 мм по толщине окрашивают гематоксилином и эозином и степень реэпителиализации определяют с помощью светового микроскопа. Только раны, полностью покрытые кератиноцитами, считаются зажившими. Как видно из фиг. 1, пленки с содержанием гепарина ниже 2% не стимулируют клеточную пролиферацию.

ПРИМЕР 16

Получение гелевых композиций

Для приготовления следующих четырех гелевых композиций используют воду, содержащую 0,9% NaCl:

A = 2% метилцеллюлозы

B = 2% метилцеллюлозы + 0,2% натриягепарина

C = 0,5% метилцеллюлозы + 1% хитозана (16% ацетилирования)

D = 0,5% метилцеллюлозы + 1% хитозана (16% ацетилирования) + 0,2% натрийгепарина

ПРИМЕР 17

Испытание на заживление in vitro

In vitro раны, описанные в Примере 14, делят на шесть групп с десятью биопсиями в каждой группе. Каждую рану в этих пяти группах покрывают гелевой композицией, как описано в Примере 16. Только последнюю группу обрабатывают средой (2% FCS). Среду меняют каждый день. Через семь дней образцы закрепляют в 4% нейтральном буферном растворе формальдегида, дегидратируют через этанол-ксилоловый ряд и погружают в парафин. Сечения размером 10-20 мм по толщине окрашивают гематоксилином и эозином и степень реэпителиализации оценивают с помощью светового микроскопа. Только раны, целиком покрытые кератиноцитами, считаются залеченными. Как видно из фиг. 2, гель, состоящий из комбинации хитозана с гепарином, залечивает раны лучше, чем гель, содержащий только хитозан или только гепарин.

ПРИМЕР 18

Биологическое испытание в соответствии с изобретением

Повторяют процедуру Примера 9 с использованием пленки, полученной по способу Примера 7.

Как ясно из биологических экспериментов, описанных выше, использование способов по настоящему изобретению позволяет существенно улучшить качество заживления путем предотвращения адгезии и стимулирования роста. Изобретение не ограничивается примерами, приведенными выше, и его объем ограничен только прилагаемой формулой изобретения.

Что касается применения согласно изобретению, следует отметить, что пленки и/или мембраны, гели или порошки, полученные как указано выше, или растворы можно использовать на ранах и повреждениях в или на органах и структурах: брюшной полости; грудной клетки; легком; сердце-предсердии; центральных сосудах; кишечном тракте; мочевом тракте; мозговой оболочке; спинном мозге; сухожилиях, нервах, мышцах, кости, слизистой оболочке, роговице, коже и т.д.

Продукты в форме трубок или рукавов или гели можно использовать в качестве направляющих в стимуляции роста и одновременно можно сохранять скользкие поверхности, так как удается избежать адгезии с окружающей средой. Такие продукты можно использовать при повреждениях нервов, сухожилий и связок,

кишечного тракта, мочевого тракта, кровеносных сосудов и т.д.

Вероятно, можно достичь еще большего стимулирования качества заживления путем сочетания данного изобретения с факторами роста.

Формула изобретения:

1. Применение хитозана и полисахарида, иммобилизованного с ним и выбранного из гепарина, гепаран сульфата и декстран сульфата в качестве вещества, способного предотвращать или снижать нежелательную адгезию поврежденной ткани с прилегающей или окружающей тканями при заживлении ран.

2. Применение по п.1, отличающееся тем, что полисахарид иммобилизован с хитозаном с помощью ионной связи.

3. Применение по п.1, отличающееся тем, что полисахарид иммобилизован с хитозаном с помощью ковалентной связи.

4. Применение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что полисахарид является гепарином или гепаран сульфатом.

5. Применение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что вещество имеет форму пленки или мембраны.

6. Применение по любому из пп.1 - 4, отличающееся тем, что вещество имеет форму трубки или рукава.

7. Применение по п.6, отличающееся тем, что вещество находится в форме геля.

8. Применение по п.6, отличающееся тем, что вещество находится в форме порошка, аэрозоля или раствора.

9. Применение по любому из предшествующих пунктов, отличающееся тем, что хитозан имеет степень N-ацетилирования максимально около 90%, и предпочтительно максимально около 50%.

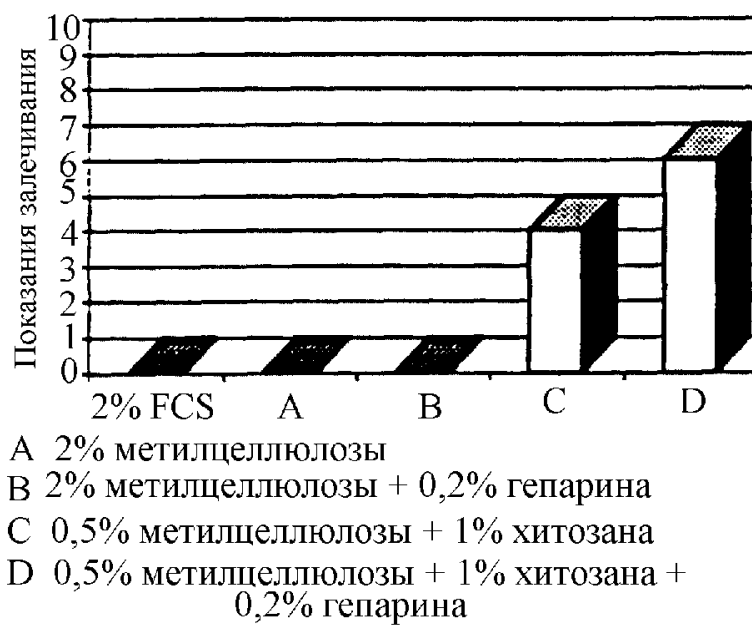
10. Способ предотвращения или снижения нежелательной адгезии поврежденной ткани с прилегающей или окружающей тканями при заживлении ран, отличающийся тем, что в области заживаемой раны применяют вещество, включающее хитозан и полисахарид, иммобилизованный с ним, выбранный из гепарина, гепаран сульфата и декстран сульфата.

11. Способ по п. 10, отличающийся тем, что вещество применяют в форме пленки или мембраны.

12. Способ по п.10, отличающийся тем, что вещество применяют в форме геля.

13. Способ по п. 10, отличающийся тем, что вещество применяют в форме трубки или рукава.

14. Способ по п.10, отличающийся тем, что вещество применяют в форме порошка, аэрозоля или раствора.



Фиг.2