



УКРАЇНА

(19) UA (11) 37377 (13) A

(51) 6 A61K31/00, C12N7/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОТРИМАННЯ МАЗІ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ, ЯКІ ВИКЛИКАНІ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИМИ ІНФЕКЦІЙНИМИ АГЕНТАМИ

(21) 98062886

(22) 03.06.1998

(24) 15.05.2001

(33) UA

(46) 15.05.2001, Бюл. № 4, 2001 р.

(72) Мартинов Артур Вікторович, Смілянська Майя Володимирівна, Перемот Світлана Дмитрівна, Кучма Ірина Юріївна, Волянський Андрій Юрійович, Мізгер Тетяна Геннадіївна, Ранко Джурович, УУ, Доброскок Олександр Іванович

(73) Харківський НДІ мікробіології та імунології ім. І.І.Мечнікова

(57) Спосіб отримання мазі для лікування захво-

рувань, які викликані внутрішньоклітинними інфекційними агентами, шляхом використання водного розчину інтерферогенів з наступним загущенням, яка відрізняється тим, що 5-30 мл 2% водного розчину папаверина гідрохлориду і 5-30 мл 2% водного розчину дибазола гідрохлориду змішували з 50 мл ефірного 10% розчину фосфотидилетаноламіну, шестикратно обробляли ультразвуком, після чого відганяли ефір в роторному вакуумному випарювачі з утворенням ліпосом, які далі змішували з 40-90 г розплавленого до 37-43°C медичного солідолу і емульгували до отримання однорідної маси.

Винахід відноситься до медицини і може бути використаний для лікування захворювань, які викликані внутрішньоклітинними інфекційними агентами.

Хвороби, що передаються статевим шляхом (викликаються внутрішньоклітинними паразитами) належать до широко розповсюджених і являють собою комплексну проблему інфекційної патології.

Віруси, мікоплазми та хламідії є причиною ряду хвороб сечостатевої системи, шкіри і слизових оболонок, ряду захворювань органів дихання, ока, суглобів, печінки, нервової і серцево-судинної систем. Все більше накопичується даних про можливу етіологічну роль уrogenітальної вірусної інфекції в виникненні деяких ракових захворювань, наприклад, раку шийки матки. В цей час інтенсивно вивчаються причинні зв'язки між мікоплазмами, пухлеродним процесом і лейкоцитарними захворюваннями.

Для зовнішнього застосування при лікуванні і профілактиці пошкоджень шкіри і слизових оболонок застосовують лікарські препарати різноманітного походження. Хімічного - мазі, що містять бутиоксітолуол на олії [1]; карбонову або дикарбонову кислоти і їхні солі в поєднанні з носієм [2]; пентандіол або гександіол [3]; фосфат-1, 4-імідазол-4-етанамін з розчинним у воді гелем вінілового полімеру [4]. Біологічного - морську воду з водним розчином оцтової кислоти [5], полігексанид з інгібітором абсорбції [6]; бонафтонова мазь на вазелиновій основі [7], мазь з інтерфероном та інтерферогеном [8].

Однак ці мазі мають ряд недоліків: у хворих виникають подразнення шкіри і слизових оболонок, мазі не проникають глибоко до товщі тканин, курс лікування вельми тривалий, відсутній імунотимуючий ефект, що не завжди дозволяє скоротити курс лікування та відвернути рецидиви захворювання.

Найближчим прототипом є мазь, що містить 500 ЕД інтерферону і 50% інтерферогену ІВС [8] в поліетиленоксидній основі. На 100 г мазі беруть 500 ЕД інтерферону (0,5% або 0,5 г), 0,5 г інтерферогену ІВС у вигляді розчину на 50 мл дистильованої води і загущують 49 г поліетиленоксиду з масою 400.

Однак недоліками даної мазі є те, що введення інтерферону, завдяки ефекту зворотного зв'язку, гальмує синтез ендogenous інтерферону, курс лікування - два тижня і більш, дорожнеча, відсутність резорбційного ефекту, необхідність лікування в стаціонарі, відсутність стимулюючого ефекту на макрофаги, лімфоцити, моноцити.

В основу винаходу поставлена задача розробити спосіб отримання мазі для лікування захворювань, які викликані внутрішньоклітинними інфекційними агентами, шляхом використання як діючих речовин комбінації розчинів папаверину і дибазолу в ліпосомальній формі у вигляді мазі на жировій основі, що дозволяє значно скоротити терміни лікування, підвищити опірність організму.

Поставлена задача вирішується шляхом використання водного розчину папаверина гідрохлориду і водного розчину дибазола гідрохлориду, які

(19) UA (11) 37377 (13) A

далі змішують з ефірним розчином фосфотидилетаноламіну, шестикратно обробляють ультразвуком, після чого відганяють ефір в роторному вакуумному випарювачі з утворенням ліпосом, які далі змішують з розплавленим медичним солідолом і емульгують до отримання однорідної маси. Спільне застосування папаверину з дібазолом стимулює вироблення інтерферону клітинами організму, активує клітини крові, а також, за рахунок ліпосом як носіїв, глибоко проникає в тканини, сприяє підсиленню регенерації тканин, відвертанню рецидивів і скороченню термінів лікування.

В експерименті для вибору оптимальної кількості компонентів мазі, отриманої запропонованим способом, вивчені їхні всмоктування, регенераційна спроможність і імуностимулююча дія.

Всмоктування мазі вивчали на 5 кролях породи Шиншилла вагою 2,-2.5 кг, у яких на боці вигопили ділянку 1х1 см і наносили 1 г мазі, ділянку накривали поліетиленовим пакетом і закріплювали лейкопластирем. Через 3 години пакет знімали і шкіру очищали. Біопсійною голкою брали клітинний матеріал з глибоких шарів підшкірної тканини, лічили макрофаги і визначали інтенсивність флуоресценції цитоплазми. Спроможність ліпосом проникати в глибокі шари тканин і фагоцитуватися макрофагами корелює зі ступенем флуоресценції цитоплазм макрофагів. Далі готували препарат з біопсійного матеріалу і вимірювали ступінь флуоресценції клітин в контролі без ліпосом і з ліпосомами. Співвідношення флуоресценції макрофагів в контролі (мазь на вазеліново-ланолиновій основі) до флуоресценції макрофагів після застосування досліджуваної мазі є показником всмоктування.

Як видно з наведених в таблиці 1 даних, найбільш оптимальна концентрація папаверину і дібазолу в мазі на 100 г - 5-30 мл 2%. Введення по 1 мл 2% розчину папаверину і дібазолу на 100 г мазі послаблює всмоктування мазі, а введення по 35 мл недоцільне, бо стабільність мазі знижується, що виражається в розділенні на шари емульсії і погіршенню всмоктування мазі.

Спроможність до регенерації вивчали на 30 білих щурах вагою 100-120 г, у яких за допомогою розігрітої монети викликали опік 2 ступіні. Тварин поділили на 2 групи. Перша - дослідницька (15 шт.), друга - контрольна (15 шт.). Дослідницьким тваринам прикладали мазь протягом 30 днів з інтервалом 3 доби. Щодня реєстрували рубцювання і епітелізацію опікової рани до дня, коли признаки опіку зникали. Коефіцієнтом регенерації вважали співвідношення терміну загоєння опікової рани у лікованих тварин у порівнянні з контрольними. Формула розрахунку коефіцієнту регенерації:

$$X = 100 - \frac{A}{B} \cdot 100,$$

де: А - терміни загоєння ран у лікованих тварин;

В - терміни загоєння ран у нелікованих тварин;

Х - коефіцієнт регенерації.

Наприклад, у лікованих тварин загоєння ран відбулося на 17 добу, у нелікованих тварин на 48 добу; коефіцієнт регенерації дорівнював

$$X = 100 - \frac{17}{48} \cdot 100 = 64,6\%.$$

Вплив мазі на клітини крові (макрофаги, лімфи) визначали за фагоцитозом макрофагами стафілококів *in vitro*, кількості активних Т-лімфоцитів і реакції бластної трансформації лімфоцитів (РБТЛ).

Як видно з таблиці 2, порівняльні дані мазі, що пропонується, з прототипом показали, що активність до регенерації мазі перевищує в 30 разів прототип, по всмоктуванню - в 7-8 разів, стимулює лімфоцити в РБТЛ в 4 рази сильніше прототипу, в 5 разів активніше стимулює лімфоцити і фагоцитоз макрофагів.

Спосіб приготування мазі.

5-30 мл 2% водного розчину папаверину гідрохлориду і 5-30 мл 2% водного розчину дібазолу гідрохлориду змішують з 50 мл 10% ефірного розчину фосфотидилетаноламіну (5 г на 100 г мазі за технологією емульсійних мазей), шестикратно обробляють ультразвуком, відганяють ефір в роторному вакуумному випарювачі, в результаті чого утворюються ліпосоми, що містять розчин папаверину і дібазолу, їх після цього змішують з 40-90 г расплавленої до 37-43°C (менш 37°C солідол не плавиться, а більш 43°C ліпосоми руйнуються) жирової основи - солідолу медичного, емульгують до одержання однорідної маси з застосуванням високошвидкісної лопатної мішалки і розливають по флаконах, охолоджують.

Приклад № 1.

5 мл 2% водного розчину папаверину гідрохлориду і 5 мл 2% водного розчину дібазолу гідрохлориду змішують з 50 мл 10% ефірного розчину фосфотидилетаноламіну, шестикратно обробляють ультразвуком, відганяють ефір в роторному вакуумному випарювачі, після цього змішують з 90 г расплавленої до 37°C жирової основи - солідолу медичного, емульгують до отримання однорідної маси з застосуванням високошвидкісної лопатної мішалки і розливають по флаконах, охолоджують.

Коефіцієнт всмоктування = $5.7 \pm 0.1\%$.

Коефіцієнт регенерації = $35.9 \pm 0.2\%$.

Імуномодулюючий ефект: БТЛ = $50.4 \pm 0.3\%$.

Такт = $62,5 \pm 0.5\%$.

Фагоцитоз = $22 \pm 0.4\%$.

Приклад № 2.

Мазь готують за методом, який описаний в прикладі 1, але кількість діючих речовин (папаверину та дібазолу) брали по 15 мл 2% розчину, а солідолу - 70 г, який розплавляли при 40°C та змішували з ліпосомами.

Коефіцієнт всмоктування = $5.4 \pm 0.1\%$.

Коефіцієнт регенерації = $36.1 \pm 0.2\%$.

Імуномодулюючий ефект: БТЛ = $61.2 \pm 0.3\%$.

Такт = $69,0 \pm 0.5\%$.

Фагоцитоз = $28 \pm 0.6\%$.

Приклад № 3

Мазь готують за методом, який описаний в прикладі 1, але кількість діючих речовин (папаверину та дібазолу) брали по 30 мл 2% розчину, а солідолу - 40 г, який розплавляли при 43°C та змішували з ліпосомами.

Коефіцієнт всмоктування = $5.4 \pm 0.1\%$.

Коефіцієнт регенерації = $36.9 \pm 0.2\%$.

Імуномодулюючий ефект: БТЛ = $67.0 \pm 0.3\%$.

Такт = $71.0 \pm 0.5\%$.

Фагоцитоз = $2.5 \pm 0.6\%$.

Вивчена ефективність мазі, що пропонується, в порівнянні з прототипом на 46 хворих, у яких при лабораторному дослідженні виявилися: у 10 - хламідіоз, у 14 - герпес, у 15 - мікоплазмоз, у 7 – уреоплазмоз. Хворих поділили на дві групи. В одній - дослідній - лікували маззю, що пропонується, в другій - лікували прототипом. Мазі застосовувались в комплексній терапії захворювань, викликаних внутрішньоклітинними паразитами, за наступною схемою: по 0.5 г мазі щодня до зникнення клінічних проявів.

Як видно з наведених в таблиці 3 даних, застосування мазі, отриманої за способом, що пропонується для лікування захворювань, викликаних внутрішньоклітинними паразитами, дозволяє скоротити терміни лікування в 4 рази, підвищити резистентність організму в 5 разів у порівнянні з прототипом.

Перелік посилань:

1. Патент США № 5215748 А61 К 35/78, 31/05. Препарат для наружного применения и способ

подавления кожных высыпаний, вызываемых вирусом герпеса // Roy J.Mankovitz, Eneino Calif.

2. Заявка № 9602224 РСТ (WO), А61К 31/19. Препарат для наружного применения для профилактики и лечения повреждений и язв, связанных с вирусом герпеса / Sintov Amnom, Uran Rino, Agis Industries (1983) Ltd., Whalley Kevin.

3. Заявка № 90/15597 РСМ (WO) А61 К 31/045. Препарат для местного лечения инфекционных болезней, вызываемых вирусами, бактериями и грибами.

4. Патент США № 5294440 А61 К 31/13. Препарат для лечения простого герпеса / Bruce A. Jack, B.Thomas Wihte. Professional Inc.

5. Патент України № 4741966/SU А61К 33/00. Спосіб одержання противірусного засобу / Алікс-Ролан Коммен.

6. Заявка № 0468122 ЕПВ (EP) МКИ 5 А61К 31/785, 31/155. Терапевтический препарат на основе полигексанида для лечения кожных, глазных и генитальных проявлений герпеса.

7. Львов Н.Д., Самойлович Е.О. и др. Комбинированная терапия герпесвирусной инфекции // Вопр. вирусол. - 1992. - № 1. - С.8.

8. Козлова В.И., Максумов С.С., Пухнер А.Ф. Вирусные заболевания гениталий. - Ташкент: Медицина, 1986. - 247 с.

Таблица 1

Характеристики різних варіантів мазей				
№ п/п	Склад мазі (по обсягу діючих речовин)	Коефіцієнт всмоктування	Спроможність до змазування	Розділення мазі на шари
1	1 мл	2.50 ± 2	++++	-
2	5 мл	5.70 ± 2	++++	-
3	10 мл	8.90 ± 4	+++	-
5	15 мл	5.40 ± 4	+++	-
6	20 мл	4.70 ± 4	++	-
7	25 мл	5.40 ± 4	++	+
8	30 мл	5.40 ± 4	++	++
9	35 мл	2.90 ± 4	+	++++

Таблица 2

Порівняльні характеристики мазі, що пропонується в порівнянні з прототипом			
Препарат	Кількість тварин в досліді	Імуномодулююча дія Ефект на крові морських свинок (in vitro)	Регенерирующий эффект (на щурах) Коеф.
Мазь що патентується	15	БТЛ = $670.5 \pm 5\%$ Такт = $720 \pm 5\%$ Фагоцитоз = $320 \pm 5\%$	$36.8 \pm 0.2\%$
Прототип	15	БТЛ = $150.2 \pm 5\%$ Такт = $120 \pm 2\%$ Фагоцитоз = $60 \pm 1\%$	$1.2 \pm 0.1\%$

Таблица 3

Ефективність мазі, що пропонується, в порівнянні з прототипом

Препарат	Кількість Хворих	Терміни лікування (дні)	Імуномодулюючий ефект		
			БТЛ, %	Такт, %	Фагоцитоз, %
Мазь, що пропонується	46	3-5	68 ± 2	73 ± 1	30 ± 0.2
Прототип	46	18-22	16 ± 1	15 ± 0.5	8 ± 0.2

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2001 р. Формат 60х84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
