



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **139864** (13) **U**
(51) МПК
C08J 5/18 (2006.01)
A61L 27/20 (2006.01)
A61L 27/46 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2019 07070</p> <p>(22) Дата подання заявки: 25.06.2019</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 27.01.2020</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 27.01.2020, Бюл.№ 2</p>	<p>(72) Винахідник(и): Суходуб Людмила Борисівна (UA), Суходуб Леонід Федорович (UA), Кумеда Марія Олександрівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007 (UA)</p>
---	--

(54) БІОАКТИВНА ПОЛІЕЛЕКТРОЛІТНА МЕМБРАНА НА ОСНОВІ КАЛЬЦІЙ ФОСФАТІВ ТА ПОЛІМЕРІВ

(57) Реферат:

Біоактивна поліелектролітна мембрана на основі кальцій фосфатів та полімерів складається з природних полімерів: компонента А, до складу якого входить альгінат натрію та гліцерин та компонента В, до складу якого входить хітозан, гліцерин та природні протимікробні засоби. Компонент А додатково містить неорганічні кальцій фосфатні частинки (СаР) стехіометричного гідроксіапатиту або кальційдефіцитного карбонатзаміщеного гідроксіапатит, або трикальцій фосфату, або брушиту або їх суміш, вітамінний засіб Аквадетрим вітамін D3, а також біологічно активні речовини у формі легованих іонами металів (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ag^{+}) наночастинок хітозану. Сумарна масова частка яких становить 2-5 % від маси компонента А. Компонент В додатково містить знеболюючі та/або протимікробні лікарські засоби. Компонент А за масою складає 88-80 мас. %, а компонент В - 12-20 мас. % відповідно.

UA 139864 U

Корисна модель належить до медицини, а саме до композитних полімер-неорганічних плівкових матеріалів, призначених для використання в стоматології, а саме для лікування та профілактики захворювань пародонту, стимулювання процесу остеогенезу, а також для пролонгованої доставки біологічно активних речовин та лікарських засобів у проблемну зону.

5 Розвиток багатофункціональних наноструктурованих матеріалів для медицини залишається актуальним предметом медичного матеріалознавства. Композити, що складаються з природних органічних полімерів (хітозан, альгінат, желатина) та неорганічних матеріалів (гідроксіапатит (ГА) та інші кальцій фосфати), поєднують переваги кожної окремої складової та мінімізують їх
10 недоліки. Формування резистентності мікроорганізмів до широкого спектру антибіотиків створило новий виклик, одним із підходів до розв'язання якого у всьому світі є активний пошук неорганічних та органічних речовин, їх модифікація неорганічними біологічно активними іонами для ініціювання контрольованої реакції в тканинах та забезпечення антимікробної активності. Використання матеріалів з остеоінтегруючими та бактерицидними властивостями є важливою стратегією стоматології.

15 Нанокристалічний ГА широко використовується як матеріал для інженерії кісткової тканини, але ряд його властивостей, а саме незначна швидкість резорбції, низька механічна міцність і ударна в'язкість, спонукають у багатьох випадках до використання гідроксіапатиту в поєднанні з біополімерами у формі композитного матеріалу. Серед природних полісахаридів хітозан здобув велику увагу в сфері заміни кісток та регенерації хрящів через структурну подібність з
20 глікозаміногліканом, що є основним компонентом позаклітинної матриці кісток [1]. ГА-хітозанові композити показали гарну цитоактивність з остеобластами [2], що є свідченням перспективності їх застосування в біоматеріалах для кісткової тканини.

Природний полімер альгінат натрію (Алг), який є компонентом бурих морських водоростей, також часто використовується через його низьку вартість, біосумісність, нетоксичність, здатність
25 утворювати хелатні комплекси з іонами перехідних металів [3,4].

Альгірати являють собою лінійні нерозгалужені полісахариди, що містять неоднакові пропорції залишків бета-D-маннуронату (М) і альфа-L-гулуронату (G). Дослідженнями доведено, що змінюючи ступінь зшивання макромолекул Алг можна контролювати кінетику вивільнення ліків, введених до складу композитного матеріалу. Таким чином, альгірати застосовуються у
30 системах регульованого вивільнення лікарських засобів [5,6].

Пропіленгліколь (ПГ) - гіроскопічна рідина без кольору, яка містить асиметричний атом вуглецю, розчинна у воді, етанолі, ацетоні, має низьку летучість і характеризується дуже
35 низькою токсичністю. ПГ не чутливий до зміни кислотності середовища, проявляє стійкість до мікробної контамінації (має у молекулі первинні гідроксильні групи, що зумовлюють слабку бактерицидну дію). Володіє властивістю вбирати в себе, поглинати та утримувати вологу, надаючи таким чином матеріалу певної еластичності. Широко застосовується в медичній та фармацевтичній практиці.

Серед наукових розробок, присвячених біодеградучим плівкам, можна виділити плівки на основі хітозану, альгірату, полівінілового спирту або поліелектролітні комплекси на їх основі. Їх
40 властивості та застосування залежить від комбінації компонентів та методики виготовлення.

Так, відома композитна плівка на основі полівінілового спирту (ПВС), альгірату та гідроксіапатиту, отримана електроспінінговим методом при напрузі 10-15 кВ, відстані 13-18 см, швидкості формування 0,03-0,05 мм/хв та призначена для відновлення ушкоджених ділянок шкіри [7]. При цьому вміст суспензії ГА-ПВС від 10 до 2 разів перевищує вміст суспензії ГА-Алг. Висока концентрація синтетичного полімеру порівняно з природним альгіратом, а також можливі
45 порушення структури компонентів під дією прикладеної напруги є недоліком даного матеріалу.

Відомий композитно плівковий матеріал [8], у якому хітозан та альгінат, чи карбоксиметилцелюлоза (КМЦ) та альгінат утворюють поліелектролітний комплекс. До складу таких плівок входить порошок гідроксіапатиту, синтезований гідротермальним методом, розчинений у воді з додаванням 0,1 г 5 % розчину аміаку для корегування рН (рН=10). Спочатку отримують суміш розчиненого ГА з диспергатором (2 % альгінат чи 4 % КМЦ), після чого до отриманої суміші додають ще 3,75 % альгірату або 7,25 % КМЦ та перемішують. Утворені суміші формують у вигляді шару, який названий неорганічним. Полімерний шар вміщує 3,5 % розчину хітозану. Неорганічний та полімерний шари чередують, після чого багат шарову
50 структуру спресовують та висушують при температурі 70 °С та вологості 98 % протягом 30 годин. Утворені мембрани мають високі механічні властивості, але низьку еластичність, що є недоліком при їх застосуванні з метою лікування пародонту.

Відоме виготовлення матеріалу для регенерації ушкодженого пародонту [9]. Матеріал являє собою двошарову мембрану, отриману методом електроспінінгу. Внутрішній шар складається з
60 поліетиленгліколю (10 %), колагену Типі (5 %) та нанокристалічного ГА (0,1 %), а зовнішній шар

з полівілового спирту (10 %) та модифікованого пептидами альгінату (2мас. %). Компоненти підвищують остеокондуктивність матеріалу та сприяють загоєнню ран. Однак, недоліками матеріалу, на нашу думку, є великий вміст синтетичного полімеру при низькому вмісті ГА, а також застосування колагену тваринного походження може призвести до алергічних реакцій та

5

значно збільшує ціну матеріалу.
За хімічним та компонентним складом найбільш близьким до запропонованої корисної моделі є композитний матеріал [10] у формі харчової пакувальної плівки, яка покращує безпеку харчових продуктів за рахунок застосування безпечних, нетоксичних компонентів та їх синергетичної взаємодії. Основними сировинними компонентами плівкового матеріалу є: альгінат натрію 20 % - 40 %, хітозан 30 % - 50 %, гліцерин 10 % - 30 %, емульгатор 5 % - 15 % і природний антибактеріальний агент (хрін, ефірні масла чебрецю, лимону, розмарину або фенхеля) 5 % -30 %. Альгінат натрію володіє властивостями гелю після розчинення у воді. Хітозан має хороші плівкоутворюючі та антибактеріальні властивості широкого спектру дії, відзначається біосумісністю і біодеградацією. Як природний антибактеріальний засіб застосовували хрін, ефірні олії чебрецю, лимону, розмарину або кропу. Емульгатор являє собою харчовий представник серії Span або Tween. Співвідношення компонентів контролює товщину і механічні властивості плівки, її розчинність та швидкість вивільнення антибактеріального засобу. Прикладом виконання показано, що на першому етапі готують розчин 1-2 % альгінату з додаванням гліцерину (2 мас. частки), емульгатору та одного з вище вказаних природних протимікробних засобів, після чого цей розчин заливають у форму та висушують. На другому етапі готують 1,5-2 % розчин хітозану в 0,5 % оцтовій кислоті з вмістом 2 % гліцерину, після чого цей розчин заливають на висушений попередній. Після висушування, утворену двошарову плівку з альгінату та хітозану опускають на 10-15 хвилин у розчин хлориду кальцію (CaCl_2 , 2 моль/л) для "зшивання" макромолекул альгінату, після чого надлишки "зшиваючого" розчину видаляють змиванням в дистильованій воді. Плівка має хороші ущільнювальні властивості, високу прозорість. Антибактеріальний агент забезпечує протимікробну дію, а хітозан може контролювати пролонговане вивільнення антибактеріальних засобів. Очевидною є ефективність такого матеріалу для зберігання фруктів і овочів у свіжому стані, але його недоліком у випадку біомедичного застосування є "зшивання" хлоридом кальцію, оскільки в фізіологічних умовах іони кальцію беруть участь в іонообмінному процесі, що призводить до швидкої деструкції матеріалу.

10

15

20

25

30

В основу корисної моделі поставлена задача, що полягає у створенні біосумісного з нативним оточенням біоактивного безалергенного матеріалу для застосування в хірургічній та консервативній стоматології для лікування захворювань пародонта, який має виконувати протимікробну терапію при локалізованому та генералізованому пародонтиті у стадії загоєння та стимулювати процес відновлення кісткової тканини.

35

Поставлена задача вирішується тим, що біоактивна поліелектролітна мембрана на основі кальцій фосфатів та полімерів, яка складається з природних полімерів, а саме компоненту А, до складу якого входить альгінат натрію та гліцерин та компоненту В, до складу якого входить хітозан, гліцерин та природні протимікробні засоби, згідно з корисною моделлю, компонент А додатково містить неорганічні кальцій фосфатні частинки (CaP) стехіометричного гідроксіапатиту, або кальцій дефіцитного карбонат заміщеного гідроксіапатиту, або трикальцій фосфату, або брушиту або їх суміш, вітамінний засіб Аквадетрим вітамін D3, а також біологічно активні речовини у формі легованих іонами металів (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ag^+) наночастинок хітозану, сумарна масова частка яких становить 2-5 % від маси компоненту А, компонент В додатково містить знеболюючі та/або протимікробні лікарські засоби, при цьому, компонент А за масою складає 88-80 мас%, а компонент В 12-20 мас. % відповідно.

40

45

Компонент А застосовується у вигляді гідрогелю зі ступенем вологості 90 %.

Масові частки альгінату та кальцій фосфатів у компоненті А складають 1:1 в перерахунку на суху вагу цих компонентів. Вміст матеріалів є наступним і складає:

50

Компонент А: кальцій фосфати у формі гідрогелю (гідроксіапатит, кальцій дефіцитний карбонатзаміщений гідроксіапатит, трикальцій фосфат, брушит або їх суміш), альгінат, гліцерин або пропіленгліколь, емульгатор TWEEN,	88-80 мас. %
---	--------------

біологічно активні речовини.
 Компонент В: Хітозан та
 гліцерин або пропіленгліколь
 та знеболювальні та/або
 протимікробні засоби 12-20
 природного (ефірні масла мас. %
 хмелю, лаванди, ромашки)
 та/або синтетичного
 походження (хлоргексидин)

Втілення вказаних ознак, в тому числі відмінних, дозволяє отримати поліелектролітний кальцій фосфат/полімерний композит у формі біоактивної мембрани, який після хірургічної обробки встановлюють в пародонтальній кишені або застосовують як накладку на ясна для профілактики пародонтозу в домашніх умовах. В фізіологічних умовах матеріал піддається біорезорбції (біорозсмоктуванню), тому немає необхідності його видалення. Макромолекули природного аніоніту альгінату, будучи хімічно "зшитими" макромолекулами природного катіоніту хітозану, утворюють поліелектролітний скафолд у формі тонкої (до 1мм) мембрани, що вміщує: кальцій фосфатні частинки (гідроксіапатит, кальцій дефіцитний карбонат вмісний гідроксіапатит, трикальцій фосфат, брушит або їх суміш); природні (ефірні масла хмелю, лаванди, ромашки) або синтетичні (хлоргексидин, декаметоксин та ін) протимікробні засоби; біологічно активні речовини, а саме наночастинки хітозану, леговані іонами металів (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ag^{+}); вітамінні засоби (Аквадетрим вітамін D3). Структура еластичного гідрогелевого альгінат/кальцій фосфатного компоненту А, отриманого на першій стадії синтезу, представлена наночастинками кальцій фосфатів з розміром до 100 нм з характерно високою для таких частинок реакційною здатністю. Частинки іміобілізовані в альгінатній матриці, лімітований розмір пор якої дозволяє керамічним частинкам залишатися в суспензії нанорозмірними протягом тривалого часу до та після сублімації, що суттєво позитивно відрізняється від порошоків, де кальцій фосфатні частинки є агломерованими. Нанорозмірні неорганічні частинки є додатковим джерелом іонів кальцію та фосфору, необхідних для регенерації тканин пародонту, підвищують міцність, твердість та біосумісність утвореного матеріалу, збільшують кількість активних поверхневих сайтів для полегшення клітинної адгезії до ушкодженого періодонта.

Вищесказане демонструється наступним прикладом виконання.

Компонент А готують наступним чином.

Синтезують гідрогель нанокристалічного кальцій дефіцитного карбонат заміщеного гідроксіапатиту, ретельно промивають дистильованою водою та відділяють тверду фракцію шляхом центрифугування з отриманням гідрогелю вологістю 80-90 мас. %, (P1).

Готують 0,5 мас. % суспензію альгінату натрію в 0,01М розчині гідроксиду натрію при температурі +37 °С при постійному перемішуванні протягом 6 годин в шейкері, (P2).

10 г утвореного на стадії (P1) гідрогелю диспергують в 10 мл суспензії, отриманої на стадії (P2) протягом 10 хвилин під дією ультразвуку, (P3).

До субстанції P3 додають 0,95 г альгінату натрію, 2 г пропіленгліколю та 0,3 г біологічно активних речовин і перемішують в при температурі +37 °С протягом 4 годин в шейкері, після чого гомогенізують суміш протягом трьох хвилин під дією ультразвуку, (P4).

Утворену на стадії P4 суміш заливають у форму шаром 5 мм та сублімаційно висушують протягом 6 годин в приладі для ліофільного сушіння з утворенням проміжного продукту - високопористого СаР-альгінатного скафолда (P5).

Компонент В готують наступним чином.

Готують 1 % розчин хітозану в 1 % оцтовій, або аскорбіновій, або лимонній кислоті при температурі +37 °С протягом 6 годин при постійному перемішуванні в шейкері, після чого додають пропіленгліколь та фармацевтичний знеболюючий та/або протимікробний засіб з розрахунку 10 % та 3 % щодо кількості розчину хітозану, відповідно (P6).

Біоактивну поліелектролітну мембрану на основі кальцій фосфатів та полімерів готують наступним чином.

Отримують поліелектролітний композит у формі мембрани (P7) шляхом "зшивання" протягом 12 годин утвореного на стадії P5 СаР-альгінатного скафолду (компонент А) макромолекулами хітозану, присутніми у складі утвореного на стадії P6 компоненту В.

Продукт P7 промивають дистильованою водою та висушують шляхом ліофілізації.

Таким чином, отриманий у формі біоактивної поліелектролітної мембрани кальцій фосфат/полімерний композит, може бути застосований у стоматології для лікування або профілактики парадонтиту. Матеріал призначений для встановлення у проблемну зону

(пародонтозні кишені або апплікації на ясна) як додаткового джерела іонів кальцію та необхідних вітамінів, для пролонгованого вивільнення знеболюючих та протимікробних лікарських засобів, для стимуляції локального процесу остеогенезу.

Джерела інформації:

- 5 1. E. Khor, L.Y. Lim. Implantable applications of chitin and chitosan, *Biomaterials*. 2003. V. 24. P. 2339-2349
2. H.H.K. Xu, C.G. Simon. Fast setting calcium phosphate-chitosan scaffold: mechanical properties and biocompatibility. *Biomaterials*. 2005. V. 26. P. 1337-1348
- 10 3. I.Liakos, L. Rizzello, I.S. Bayer, P.P. Pompa, R. Cingolani, A. Athanassiou. Controlled antiseptic release by alginate polymer films and beads. *Carbohydrate Polymers*. 2013. V. 92. P. 176-183
4. N.S. Pawar, K.J. Edgar. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. *Biomaterials*. 2012. V. 33. P. 3279-3305
- 5 5. C.H. Goh, P.W.S. Heng, L.W. Chan, Alginates as a useful natural polymer for microencapsulation and therapeutic applications, *Carbohydrate Polymers* 88 (2012) 1-12
- 15 6. D.C. Manatunga, R. M.de Silva, K.M. Nalinde Silva, Nuwan de Silva, S. Bhandari, Yoke KhinYap, N. Pabakara Costha, pH responsive controlled release of anti-cancer hydrophobic drugs from sodium alginate and hydroxyapatite bi-coated iron oxide nanoparticles, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 117 (2017) 29-38.
7. WO2018129761-Han Yingchao; Zhao Gang; Dai Honglian - "Polyvinyl alcohol/sodium alginate/hydroxyapatite composite fiber membrane, preparation method and application thereof"
- 20 8. KR 101840621 (B1) - Kim DAE Joon; Yoon Hyung Jun; Kim Hye LEE; Cho Sung Lan; Yoon Jun Ho-Synthesis of biomimetic and high strength biopolymer/hydroxyapatite composites (МПК A61L27/20; A61L27/46; A61L27/58; опубл. 2018-03-22)
9. CN107823704 (A) "Periodontium regeneration and repair membrane and preparation method thereof" Chen Jintao; Wei Jiana; Chen Taiying, МПК A61L27/12; A61L27/16; A61L27/18; A61L27/20; A61L27/24; A61L27/50; A61L27/56; A61L27/58
- 25 10. CN107840981 (A) - Wang Xianghui; Song Huangwang; Lin Qiang; Shi Zaifeng; Feng Wen. - Sodium alginate-chitosan double-layer edible membrane as well as preparation method and application thereof (МПК B65D65/46; C08J5/18; C08J7/00; C08L5/04; C08L5/08; опубл. 2018-03-27

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Біоактивна поліелектролітна мембрана на основі кальцій фосфатів та полімерів, яка складається з природних полімерів, а саме компонента А, до складу якого входить альгінат натрію та гліцерин, та компонента В, до складу якого входить хітозан, гліцерин та природні протимікробні засоби, яка **відрізняється** тим, що компонент А додатково містить неорганічні кальцій фосфатні частинки (СаР) стехіометричного гідроксіапатиту або кальційдефіцитного карбонатзаміщеного гідроксіапатиту, або трикальцій фосфату, або брушиту або їх суміш, вітамінний засіб Аквадетрим вітамін D3, а також біологічно активні речовини у формі легованих іонами металів (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Ag^{+}) наночастинок хітозану, сумарна масова частка яких становить 2-5 % від маси компонента А, компонент В додатково містить знеболюючі та/або протимікробні лікарські засоби, при цьому компонент А за масою складає 88-80 мас. %, а компонент В - 12-20 мас. % відповідно.
2. Біоактивна поліелектролітна мембрана на основі кальцій фосфатів та полімерів за п. 1, яка **відрізняється** тим, що компонент А застосовується у вигляді гідрогелю зі ступенем вологості 90 %.
3. Біоактивна поліелектролітна мембрана на основі кальцій фосфатів та полімерів за п. 1, яка **відрізняється** тим, що масові частки альгінату та кальцій фосфатів в компоненті А складають 1:1 в перерахунку на суху вагу цих компонентів.

Комп'ютерна верстка О. Рябко

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601