



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **90155** (13) **U**
(51) МПК (2014.01)
A61L 27/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

<p>(21) Номер заявки: u 2013 15464</p> <p>(22) Дата подання заявки: 30.12.2013</p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 12.05.2014</p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 12.05.2014, Бюл.№ 9</p>	<p>(72) Винахідник(и): Суходуб Леонід Федорович (UA), Яновська Ганна Олександрівна (UA), Суходуб Людмила Борисівна (UA)</p> <p>(73) Власник(и): СУМСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007 (UA)</p>
---	--

(54) БІОМАТЕРІАЛ ДЛЯ НАРОЩУВАННЯ КІСТКОВИХ ТКАНИН "ХІТОКОМПОЗИТ"

(57) Реферат:

Біоматеріал для нарощування кісткової тканини, що складається із двох фаз, одна із яких плинна та містить кальційфосфатну сполуку. До складу плинної фази входить гідрогелевий природний полімер хітозан, а кальційфосфатна сполука представлена у вигляді наночастинок, іммобілізованих у поровому просторі гідрогелевої структури хітозанової матриці, при цьому співвідношення хітозанового полімеру до кальційфосфатної сполуки складає в межах 1:100÷3:5, переважно 1:10÷2:5, і також деіонізована вода, при цьому друга фаза представлена у вигляді твердої керамічної фази у формі дрібнодисперсних порошків сполук кальцію (фосфатів, карбонатів, сульфатів), в т. ч. кальцій фосфатів, легованих іонами металів з протимікробною дією, гідроксіапатиту, карбонат апатиту або їх сумішами з розміром часток від 50 до 100 мкм та з додаванням біологічно активних речовин, що складають за масою до 5 мас. % від загальної маси другої фази.

UA 90155 U

Корисна модель належить до медицини, а саме біокомпозитних матеріалів, призначених до використання в ортопедії та стоматології для заміщення ушкоджених чи видалених ділянок кісткової тканини, а також у пластичній хірургії для заповнення кісткових дефектів чи нарощування твердих кісткових тканин.

5 Створення нових матеріалів для інженерії кісткової тканини вимагає пошуку натуральних компонентів для їх синтезу, близьких до матеріалу нативної кістки. Кісткова тканина є нанокомпозитом, який включає як органічні, так і неорганічні компоненти. Зокрема, колаген I типу та інші протеїни створюють гідратовану нитчасту сітку, яка мінералізована нанокристалічним гідроксіапатитом (ГА) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, який є основною неорганічною складовою екстрацелюлярного матриксу кістки. Тривимірний екстрацелюлярний матрикс відіграє вирішальну роль в підтриманні та спрямуванні адгезії клітин кістки, їх проліферації та диференціації. Тому надзвичайно важливим є біоміметичне створення тривимірного наноструктурованого скафолду, який імітує зовнішньоклітинну матрицю для регенерації кістки і є найбільш сприятливим для росту клітин [1]. При створенні композитних біоматеріалів природні полімери та їх похідні використовуються як альтернатива синтетичним сполукам, завдяки їх біоактивності та здатності до біодеградації. Композитні матеріали, які містять хітозан у своєму складі, відтворюють властивості кістки, а додавання керамічного матеріалу (в т.ч. ГА) надає матеріалу остеопровідності. Біоматеріали нового покоління повинні поєднувати біоактивність та біорезорбцію, відтворювати природну функцію кісткової тканини, активувати *in vivo* механізми регенерації кісткової тканини.

Оскільки синтетичного аналога природної кістки до цього часу не знайдено, проблема його пошуку залишається актуальною, про що свідчить ряд досліджень композитних матеріалів для інженерії кісткової тканини [2-5]

25 Серед наукових розробок відомий полімерний композиційний матеріал для остеосинтезу, який містить епоксиполіуретанову основу, амінний отверджувач та біологічно активну речовину (Патент України №76608, МПК А08L 75/06, А61L 27/00/ Галатенко Н.А., З. u 201207549. Опубл. 10.01.2013. Бюл. № 1). Хоча автори свідчать, що біосумісність запропонованого композиційного матеріалу для хірургічної пластики кісток забезпечується наявністю в полімерній матриці уретанової групи, близької за будовою до пептидної групи білків, а включені полімери та домішки є дозволеними для використання в медичній практиці, основним недоліком даного технічного рішення є чужорідність для організму застосованих хімічних реагентів та відсутність біодеградації утвореного продукту.

35 Відомий гідрогелевий кальційфосфатний нанокомпозит для заміщення кісткової тканини, який містить зшитий акриловий співполімер, кальційфосфатний (гідроксіапатитний) компонент при їх співвідношенні 1:0,1-0,6 та апірогенну воду і, за свідченням авторів, поєднує структурно-механічні та хімічні властивості, притаманні еластичній органічній матриці та твердій мінеральній компоненті, завдяки чому виявляється максимально наближеним до біогенної кісткової тканини (Патент України 98888, МПК А61К 33/06/ Самченко Ю.М., З. а2011 03939. Опубл. 25.11.2011. Бюл. № 22). Основним недоліком даного матеріалу є його перманентність, тобто органічна складова, яка представлена акриловим полімером, не виводиться з організму.

40 Вказаних недоліків позбавлений композитний матеріал на основі колагену для відновлення дефектів кісткової тканини розроблений в Росії (Патент RU 2476236 С1, Росія, МПК А61К38/39 / Сафоян А.А (RU). З. 2012105545/15, 16.02.2012. Опубл. 21.02.2013). Він є найближчим аналогом до матеріалу, що заявляється. Заявлений двофазний матеріал отриманий шляхом змішування реконструйованого колагену з водним розчином глюкози (перша фаза), з наступним додаванням до суміші суспензії комерційного порошку гідроксіапатиту в розчині глюкози (друга фаза). Обидві фази є плинними. Вагове співвідношення колагену до гідроксіапатиту складає від 5:1 до 1:5. Готовий композит підлягає стерилізації. За даними авторів отриманий матеріал має подібну до нативної кістки архітектуру та високу механічну міцність. Однак, використання колагену у складі композиту викликає певні складнощі, пов'язані з його ідентифікацією, адже загальновідомо, що структура та властивості колагену залежать від джерела його одержання. Поряд з рядом корисних властивостей колагену таких, як біосумісність та біодеградація, існують і недоліки, а саме: висока вартість, складність виділення з сировини тваринного походження, можливість алергічних реакцій. Підлягають сумніву умови стерилізації матеріалів з вмістом колагену із-за можливості його денатурації.

55 В основу корисної моделі поставлено задачу створити біосумісний з нативним оточенням кальційфосфатний біоматеріал для лікування дефектів кісткової тканини в пластичній та хірургічній медицині, який має стимулювати ріст нової кісткової тканини за рахунок присутності гідроксіапатитної складової, яка є основною мінеральною складовою нативної кістки, біоматеріал, який містить природний поліаміносахарид хітозан, відомий своєю здатністю чинити

протимікробну та консервуючу дію, біоматеріал, який за рахунок введення еластичної хітозанової матриці є достатньо пластичним для можливості заповнення дефектів різної геометрії, матеріал, який не спричинює побічних ефектів, не потребує проведення тестів на алергію, є доступним за ціною та простим у виконанні.

5 Поставлена задача вирішується тим, що у відомому матеріалі, який складається із двох фаз, одна із яких плинна та містить кальційфосфатну сполуку, згідно з корисною моделлю, до складу плинної фази входить гідрогелевий природний полімер хітозан, а кальційфосфатна сполука представлена у вигляді наночастинок, іммобілізованих у поровому просторі гідрогелевої структури хітозанової матриці, при цьому співвідношення хітозанового полімеру до
10 кальційфосфатної сполуки складає в межах від 1:100-3:5, переважно 1:10-2:5, і також деіонізована вода, при цьому друга фаза представлена у вигляді твердої керамічної фази у формі дрібнодисперсних порошків сполук кальцію (фосфатів, карбонатів, сульфатів), в т.ч. кальційфосфатів, легованих іонами металів з протимікробною дією, гідроксіапатиту, карбонат апатиту або їх сумішів з розміром часток від 50 до 100 мкм та з додаванням біологічно активних речовин, що складають за масою до 5 мас.% від загальної маси другої фази, при наступному
15 співвідношенні фаз, мас. %:

плинна фаза - 52-60

тверда керамічна фаза - 48-40.

При цьому хітозановий полімер та кальційфосфатна сполука складають 25-12 мас.% від загальної маси плинної фази, а деіонізована вода за масою складає 75-88 мас.% від загальної маси плинної фази.
20

При виробництві для медичних потреб компоненти першої та другої фаз піддають стерилізації та упаковують окремо одна від одної. Змішування компонентів двох фаз проводиться перед використанням.

25 Втілення всіх вказаних ознак, в тому числі відмінних, дозволить отримати кальційфосфатний біоматеріал для заміщення кісткових тканин, в якому біологічно активні кальційфосфатні наночастинок (в т.ч. гідроксіапатиту), іммобілізовані в гідрогелевій хітозановій матриці, є стимулятором проліферативної та біосинтетичної активності остеобластів при утворенні нової кісткової тканини, а також виконують стабілізуючу функцію по відношенню до більших за
30 розміром частинок твердої фази (від 50 до 100 мкм) та композитного матеріалу в цілому.

Вище сказане демонструється наступним прикладом виконання: Полімерну хітозанову матрицю готують шляхом розчинення 0,4 г хітозану (М.М.39 кДА) в 100 мл 0,06М водного розчину фосфорної кислоти, перемішування в шейкері (rpm=240) при температурі 37 °С протягом 2 годин до утворення однорідної суспензії. Отриману суспензію крапельним методом
35 (6 мл/хв.) додають до 100 мл 0,1 М розчину хлориду кальцію CaCl₂, значення рН якого доводять до 12,0 додаванням 10М розчину NaOH. Коректують значення рН до 12,4. Формування кальційфосфатних наночастинок та іммобілізація їх у поровому просторі хітозанової матриці відбувається протягом 14 днів, після чого декантують поверхневу рідину, а осад багаторазово відмивають деіонізованою водою до досягнення рН промивної води 7-7,4. Після цього рідку та
40 тверду фракції суспензії розділяють на центрифугі (8000 об/хв., 20 хвилин). В результаті утворюється перша (плинна) фаза, яка використовується в подальшому як складова біоматеріалу «Хітокомпозит», вологість якої, визначена термогравіметричним методом, складає 75 %. В даному випадку матеріал містить хітозановий полімер та кальційфосфатний (в т.ч. гідроксіапатитний) компонент при їх співвідношенні 2:5, що за масою складає 25 мас.% від
45 загальної маси першої фази та деіонізовану воду, що за масою складає 75 мас.% від загальної маси першої фази.

До 2 г утвореної плинної фази додають 1,84 г твердої фази, представленої дрібнодисперсним порошком карбонат апатиту з розміром часток ≤ 100 мкм. Отримують композитний матеріал, в якому доля плинної фракції складає 52 мас.%, доля твердої фракції 48
50 мас %. Час отвердівання матеріалу займає до 15 хвилин.

Таким чином, утворюється біосумісний з нативним оточенням кальційфосфатний біоматеріал «Хітокомпозит» для лікування дефектів кісткової тканини в пластичній та хірургічній медицині, який має стимулювати ріст нової кісткової тканини та виконувати протимікробну дію за рахунок присутності хітозану, як протимікробного засобу.

55 Інформація, прийнята до уваги при написанні заявки:

1. Owen Im Biomimetic three-dimensional nanocrystalline hydroxyapatite and magnetically synthesized single-walled carbon nanotube chitosan nanocomposite for bone regeneration./ Owen Im, Jian Li, Mian Wang, Lijie Grace Zhang, Michael Keidar // International Journal of Nanomedicine. - 2012. - V.7, p. 2087-2099.)

2. Di Martino, Chitosan: A versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering / Di Martino A., Sittinger M.; Risbud M.V. // Biomaterials. - 2005. - V. 26. P. 5983-5990.

3. Xianmiao, C. Properties and in vitro biological evaluation of nano-hydroxyapatite/chitosan membranes for bone guided regeneration / Xianmiao, C., Yubao L., Yi Z., Li Z.; Jidong L., Huanan, W // Mater. Sci. Eng. - 2009. - V.29. p. 29-35.

4. Chen F. Preparation and characterization of nano sized hydroxyapatite particles and hydroxyapatite/chitosan nano-composite for use in biomedical materials / Chen F., Wang Z., Lin C. // Mater. Lett. - 2002. - V.57, p. 858-861.

5. Teng S. Chitosan / nanohydroxyapatite composite membranes via dynamic filtration for guided bone regeneration / Teng S., Lee E., Yoon B., Shin D., Kim H., Oh J. // J. Biomed. Mater. Res. - 2009. - Part A, V. 88, p. 569-580.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

15 1. Біоматеріал для нарощування кісткової тканини, що складається із двох фаз, одна із яких
 16 плинна та містить кальційфосфатну сполуку, який **відрізняється** тим, що до складу плинної
 17 фази входить гідрогелевий природний полімер хітозан, а кальцій фосфатна сполука
 18 представлена у вигляді наночастинок, іммобілізованих у поровому просторі гідрогелевої
 19 структури хітозанової матриці, при цьому співвідношення хітозанового полімеру до
 20 кальційфосфатної сполуки складає в межах 1:100÷3:5, переважно 1:10÷2:5, і також деіонізована
 21 вода, при цьому друга фаза представлена у вигляді твердої керамічної фази у формі
 22 дрібнодисперсних порошоків сполук кальцію (фосфатів, карбонатів, сульфатів), в т. ч.
 23 кальційфосфатів, легованих іонами металів з протимікробною дією, гідроксіапатиту, карбонат
 24 апатиту або їх сумішами з розміром часток від 50 до 100 мкм та з додаванням біологічно
 25 активних речовин, що складають за масою до 5 мас. % від загальної маси другої фази, при
 цьому масове співвідношення плинної і твердої керамічної фаз, складає мас. %:

плинна фаза 52÷60
 тверда керамічна 48÷40.

2. Біоматеріал для нарощування кісткової тканини за п. 1, який **відрізняється** тим, що
 хітозановий полімер та кальційфосфатна сполука складають 25-12 мас. % від загальної маси
 плинної фази, а деіонізована вода за масою складає 75-88 мас. % від загальної маси плинної
 30 фази.

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

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