



УКРАЇНА

(19) UA (11) 24064 (13) U

(51) МПК (2006)

A61F 2/02

A61F 2/08

A61F 2/30

A61L 27/00

C08F 220/00

C08F 20/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ГІСТОСУМІСНОГО ФІЛЕРА

1

2

(21) u200705366

(22) 16.05.2007

(24) 11.06.2007

(46) 11.06.2007, Бюл. № 8, 2007 р.

(72) Вленко Артур Борисович

(73) ПРИВАТНЕ ПІДПРИЄМСТВО "МЕДИКАП"

(57) 1. Спосіб одержання гістосумісного філера, який передбачає проведення співполімеризації акриламід з метилен-біс-акриламідом в присутності окислювально-відновлювальної системи в дисперсійному середовищі з наступним відмиван-

ням гелю, витримуванням його для набрякання до зрівноваженого стану, гомогенізуванням, фасуванням в придатну тару і стерилізуванням, який відрізняється тим, що, як дисперсійне середовище використовують піддану електролізу воду із значенням рН 2,3-3,5.

2. Спосіб одержання гістосумісного філера, який відрізняється тим, що співвідношення акриламід у метилен-біс-акриламід, виражене коефіцієнтом амідних зв'язків (-CO-MH-), ланцюга М вибирають у межах $100 > M > 50$.

Розробка відноситься до галузі медицини, а саме до створення матеріалів імплантатів-філерів, і може бути використана як спосіб створення матеріалу медичного або косметичного призначення для реконструкції та відновлення форми та об'єму м'яких тканин, а також, як носій для клітин людини і тварин, імплантованих в організм ссавців, як депо для лікарських препаратів при тривалому медикamentозному лікуванні, наприклад, пухлин або абсцесів що повільно розсмоктується.

Наприкінці 80-х років ХХ століття в медичну практику стали входити, як імплантати-філери для наповнення м'яких тканин, поліакриламідні гелі (далі ПАА гелі), [див. Поліакриламідні гелі, їхня безпека й ефективність (огляд) Н.И.Острецова, А.А.Адамян, А.А.Копильцов, А.В.Миколаєва-Федорова Інститут хірургії ім.А.В.Вишневського РАМН, м.Москва], що являють собою отриманий шляхом полімеризації поперечно-поперечно-зшитий поліакриламід з розгалуженою структурою.

Перевагою отриманого філера(наповнювача) є достатня простота й легкість ін'єкції, можливість стерилізації радіаційним методом, стабільність при зберіганні, желеподібний стан і величезний

вміст води.

В 90-х роках стали широко застосовуватись отримані за способом імпланти-філери "Інтерфалл", "Формакил" у Росії й країнах СНД для контурної й об'ємної пластики м'яких тканин. Гель "Інтерфалл" ("Interfall Gel") - перший ін'єкційний тиксотропний гелевий матеріал для збільшення м'яких тканин, випущений на Україні (АТ "Київмедпрепарат"). Гідрогель "Формакил" ("Formacryl" випускається в Росії фірмою "Біоформ") - аналог "Інтерфалла" - являє собою поперік-зшитий поліакриламід з розгалуженою структурою. Це прозорий, безбарвний, гомогенний матеріал желеподібної консистенції, що складається з 5% полімеру й 95% апірогенної води, що має наступні характеристики: показник переломлення 1,334-1,338; рН 7-8,5. Зміст неполимеризованого акриламід у гелі не регламентовано. "Bioformacryl" - аналог гелю "Формакил", зареєстрований в Італії фірмою PROGEN. Містить 0,04% неполимеризованого акриламід у. "Argiform" - антибактеріальний гідрофільний поліакриламідний гель із 0,03% акриламід у (АА). Його антибактеріальний ефект забезпечується наявністю срібла. "Amazing Gel" (PANG),

(13) U

(11) 24064

(19) UA

виробництва компанії FUHUA у Китаї, складається з поліакриламідного гідрогелю й містить біологічні фактори росту "bTGF" і "EGF".

Однак з початком широкого клінічного застосування отриманих на основі синтезу поліакриламідів філерів, почали з'являтися повідомлення про виникаючі ускладнення.

Філери з поліакриламідних гідрогелів створені на основі поліакриламідів, одержують із акриламідів (AA). Акриламід - неграничне з'єднання з подвійними зв'язками, легко полімеризується. Недостатня полімеризація AA, або слабка зшивка ПAA, приводять до наявності в гелі залишків реакційно-здатних функціональних груп. Врахування аспектів впливу залишкового мономера й побічних продуктів у ПAA особливо важливо при розробці матеріалів, що призначаються для імплантації в організм.

Зазначене перше покоління філерів-гідрогелів для ін'єкційного введення (поперік-поперік-зшитий поліакриламід з розгалуженою структурою) - це желеподібні речовини з тиксотропними властивостями. Ці перші продукти були не розчинні у воді. Вводяться тільки товстими голками. При додаванні невеликого тиску такі гелі легко фрагментуються на дрібні частки, а після зняття напруги фрагменти знову об'єднуються (фрагментація, інфекційні ускладнення, свищі й т.д.).

Вся гама різних по вазі й характеру наслідків ін'єкційної маммопластики ПAAГ-ами розглядається як прояв самостійного захворювання, названого "поліакриламідним маммарним синдромом" [Адамьян А.А., Светухин А.М., Скуба Н.Д., Поліакриламідний маммарний синдром: клініка, діагностика й лікування //Аннали пластичної, реконструктивної й естетичної хірургії. 2001. №4. С.20-32].

Внаслідок аналізу досвіду застосування першого покоління поліакриламідних гелів, можна зробити висновок, що ускладнення, пов'язані з його застосуванням можуть бути похідними його фізико-хімічних властивостей:

- Тиксотропність, нерозчинність у воді - фрагментація, асептичні запальні, тканинні реакції в результаті труднощів видалення непрореагувавших залишків компонентів синтезу з нерозчинних у воді фрагментів гелю, надлишкова травматизація тканин товстими голками.

- Слаболужна рН 7-8,5 - тканинні реакції, підвищений ризик інфікування, ущільнення в місці введення.

- Бідистильована вода як основна що наповнює тканини - тканинна реакція навколишніх тканин на гіпотонічне водне середовище, що проявляється в щільності тканини в місці введення, комковатості, хворобливості та інше.

Такі властивості полімерів, як розчинність, здатність до грузлого плину, стабільність, дуже чутливі до утворення ковалентних хімічних зв'язків між макромолекулами (так зване зшивання).

У результаті можна зробити висновок, що висока поперечна зшивка 3-х мірної сітки поліакриламідного гелю веде до такої негативної властивості, як тиксотропність.

Відомі способи отримання хірургічних матеріалів на основі колагену тваринного походження, зокрема бичачого колагену [див. книгу «Коллаген и

его применение в медицине». М., Медицина, 1976г., стор.53-59], який також відноситься до поліамідів.

Застосований у матеріалі колаген - це основний білок сполучної тканини, що виконує різноманітні біологічні функції. Коллаген, фібрилярний білок побудований з трьох спіралей (лінійних поліамідів), кожна з яких лівообертаюча, навитих один на одного в правообертаюча спіраль, що має просторову будову за рахунок водневих зв'язків. На основі колагену були створені нетоксичні матеріали, що володіють високою біосумісністю із тканинами людського організму.

Однак бичачий колаген - це чужорідний білок і 3-5% населення мають антитіла до бичачого колагену. В 1-9,8% пацієнтів відзначаються алергічні реакції на саму процедуру (на першу або повторні ін'єкції). Спостерігаються симптоми як місцевого, так і загального характеру. У всіх випадках прояву реакції вповільненої гіперчутливості спостерігається збільшення титру антитіл до бичачого колагену [DeLustro F, 1987].

Відомий спосіб одержання наповнювача у вигляді гідрофільного поліакриламідного гелю, [див патент №64849, МПК: C08F220/00, A61K31/78, дата публікації: 15.03.2004, номер бюлетеня 3] що включає проведення співполімеризації акриламідів з метилен-біс-акриламідом протягом 2 годин в дисперсійному середовищі в присутності окислювально-відновлювальної системи, в якому співполімеризацію здійснюють в присутності пластифікатора в якості якого застосовують поліоксіетилен, метилцелюлозу, желатин, полівінілпіролідон, полівініловий спирт, полімеризацію проводять при температурі 35-40°C в дисперсійному середовищі, яким є ізотонічний розчин, потім відмивають утворений гель ізотонічним розчином, витримують його для набухання до урівноваженого стану, гомогенізують та стерилізують в наслідок чого отримують гель з рН 6,9-8,2.

Використані у відомому гідрофільному поліакриламідному гелі метилцелюлоза та желатин широко застосовуються в практиці як живильне середовище для мікрофлори, яка може бути і патогенною. Тому застосування таких інгредієнтів сприяє розвитку та розростанню мікрофлори.

В умовах організму з температурою 37°C та рН 6,9-8,2, яке має отриманий за способом гель при попаданні в це середовище патогенної мікрофлори висока вірогідність післяопераційних ускладнень внаслідок того, що зазначені умови є оптимальними для розвитку запального процесу.

Екструзія через тонкі голки гелю, отриманого за відомим способом [EP-№742022] ускладнена. При екструзії гелю через тонкі голки часто екструдат формується окремими фрагментами. В відомому гелі також присутні ділянки з різною густиною, формуються окремі фрагменти речовини. Гель, отриманий за цим способом, має недостатній ступінь зшивання, що обумовлено умовами та режимом проведення процесу з полімеризації, його одностадійністю та застосованими речовинами. Це приводить до швидкого проростання сполучної тканини в імплантований гель і до його швидкої усадки і резорбції [A.B.Shekhter et all "Injectable hydrophilic polyacrylamide gel Formacryl and

tissue response to its implantation", в журн. "Аннали пластичної, реконструктивної і естетичної хірургії", 1997 №2, стор.19].

Крім того, такий наповнювач містить незв'язані молекули тетраметилетилендіамина, вільні NH_2 радикали і мономери акриламід, що може викликати асептичну запальну реакцію на ранній стадії введення геля в організм.

Завданням розробки є створення способу одержання гістосумісного філера, в якому шляхом зміни застосованих речовин, умов та режимів полімеризації забезпечується зміна шляху протікання процесу полімеризації, що дозволяє отримати філер у формі гідрофільного гелю, на основі синтетичного лінійного поліаміду, що має просторову будову за рахунок водневих зв'язків і дозволяє отримання синтетичного поліаміду із заданою кількістю амідних зв'язків у ланцюзі і дозволяє одержати матеріал з оптимальними властивостями біосумісності й безпеки.

Для вирішення завдання спосіб одержання гістосумісного філера, передбачає проведення співполімеризації акриламід з метилен-біс-акриламідом в присутності окислювально-відновлювальної системи в дисперсійному середовищі з наступним відмиванням гелю, витриманням його для набрякання до урівноваженого стану, гомогенізуванням, фасуванням в придатну тару і стерилізуванням.

Новим в способі є те, що, як дисперсійне середовище використовують піддану електролізу воду із значенням pH 2,3-3,5.

Внаслідок зміни в способі отримання наповнювача застосованих речовин та режимів і умов полімеризації забезпечується зміна шляху протікання процесу сополімеризації акриламід (AA) з метилен-біс-акриламідом (МБА), що використовується для одержання поперік-зшитого поліакриламід. При цьому метилен-біс-акриламід ($\text{C}_2\text{H}_3\text{-CO-NH-CH}_2\text{-CO-NH-C}_2\text{H}_3$), виступає не в ролі агента, що зшиває ланцюги поліакриламід між собою, а в ролі носія амідних зв'язків (-CO-NH-), що вбудовується в лінійний полімер і тим самим робить його гетероланцюговим - лінійним поліамідом, що дозволяє отримати наповнювач у формі гідрофільного гелю, на основі синтетичного лінійного поліаміду, що має просторову будову за рахунок водневих зв'язків.

В конкретних варіантах використання способу одержання гістосумісного філера, співвідношення акриламід до метилен-біс-акриламід, виражене коефіцієнтом амідних зв'язків ланцюга М, вибирають у межах $100 > \text{M} > 50$.

Підбір певного коефіцієнту М дозволяє регулювати характеристики продукту і змінювати час його біодеградації, в наслідок повільного руйнування амідних зв'язків (-CO-NH-) біохімічними реакціями.

Новий спосіб дозволяє отримати філер на основі синтетичного поліаміду із заданою кількістю

амідних зв'язків у ланцюзі, що має просторову будову за рахунок водневих зв'язків, а також дозволяє одержати безпечний, водорозчинний гістосумісний матеріал з властивостями катіону. В гелі відсутні залишки реакційно-здатних функціональних груп, які здатні викликати асептичну запальну реакцію на ранній стадії введення геля в організм.

Одночасно забезпечується формування однорідного гістосумісного філера, в якому відсутні ділянки з різною густиною, не формуються фрагменти речовини, при імплантації відбувається мінімальна травматизація, висока безпека за рахунок низької можливості заселення і розмноження в ньому патогенної мікрофлори, тривалий час забезпечується висока формостійкість. За рахунок властивостей катіону, отриманий таким шляхом філер-імплант може блокувати вільні радикали активних форм кисню, та сприяти життєздатності навколишніх тканин.

Одержання гідрофільного гелю, на основі синтетичного лінійного поліаміду, що має просторову будову за рахунок водневих зв'язків, дозволить одержати матеріал з оптимальними властивостями біосумісності та уникнути небажаних наслідків, пов'язаних із введенням чужорідного білка.

Розроблений спосіб ілюструється прикладами його застосування.

Для одержання гістосумісного філера згідно з розробкою використовують наступні реагенти та пристрої: акриламід: $\text{C}_3\text{H}_5\text{NO}$, молекулярна маса 71,08, білий кристалічний порошок без запаху, температура плавлення $84,5^\circ\text{C}$, вміст основної сполуки $\geq 99,5\%$, виробництво фірми Sigma (США), придатний для біомедичного використання; $\text{N}_7\text{N}'$ -метилен-біс-акриламід: $\text{C}_7\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2$, молекулярна маса 154,16, білий кристалічний порошок без запаху, температура плавлення 195°C , вміст основного компонента $\geq 99,0\%$, виробництво фірми Sigma (США), придатний для біомедичного використання; Натрію хлориду виробництва фірми "Salinen Austria AG" (Австрія), зареєстровано в Україні як лікарський засіб (Реєстраційне посвідчення №Р.05.00/01814); Вода для ін'єкцій, вироблена на заводі ЗАТ "Інфузія" згідно стандартів підприємства на обладнанні зворотного осмосу фірми "Rochem" (Німеччина). Електроактиватори фірми ЕКОВОД типу ЕАВ-3, ЕАВ-10, які мають прямокутний корпус з двома камерами, розділеними діафрагмою, плоскі електроди (анод і катод) і блок живлення [див. Куртов В.Д. та ін., "Электроактивированная вода - источник жизни и здоровья", Київ, 2003р., стор.25-26, УДК 546.212:537.62].

Приклади.

Спосіб одержання гістосумісного філера в загальному випадку здійснюють наступним шляхом. Беруть його компоненти у співвідношенні, зазначеному в Таблиці 1.

Таблиця 1

Приклади	Інгредієнти			Полімеризація		Відмивка		Гомогенізація		Стерилізація		
	Акриламід	N ₁ N ¹ -метилен-біс-акриламід	Фізіологічний розчин	Температура	Термін	Температура	Термін	Температура	Термін	Температура	тиск	термін
	мас. %	мас. %	мас. %	°C	хв.	°C	Год.	°C	хв.	°C	бар	хв.
1.	3,5	3,1	93,4	24	45	23	24	18	5	120	1,5	60
2.	6,0	3,0	91,0	25	55	24	6	20	6	125	1,6	58
3.	2,0	1,8	96,2	22	00	22	13	22	7	132	1,7	50
4.	4,0	2,3	93,7	23	52	22	12	21	10	130	2,0	40
5.	2,0	1,4	96,6	25	55	24	24	19	9	131	1,9	20
6.	6,0	4,1	89,9	22	58	22	12	21	10	132	1,8	12
7.	4,0	3,3	92,7	24	60	24	14	18	7	125	2,0	15
8.	5,0	2,7	92,3	23	45	22	6	18	5	120	1,5	10

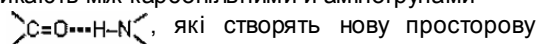
В асептичному приміщенні готують розчин акриламідів та N₁N¹-метилен-біс-акриламідів, фільтрують, змішують з приблизно половиною зазначеної кількості підданої електролізу в електроактиваторі води із значенням рН 2,3-3,5.

Полімеризацію здійснюють в стакані зі склом ємністю 1 літр протягом зазначеного в таблиці 1 терміну та температури. Синтезований продукт відмивають по чергові водою для ін'єкцій та фізіологічним розчином, протягом терміну зазначеного в таблиці 1, внаслідок чого видаляють рештки ініціаторів полімеризації і мономерів.

За наявності підданої електролізу води зі значенням рН 2,3-3,5 відбувається вбудовування амідних зв'язків (C₂H₃-CO-NH-CH₂-CO-NH-C₂H₃) в основний ланцюг макромолекули.

Після закінчення синтезу здійснюють відмивання полімеру від залишків реакційної суміші водою для ін'єкцій, фізіологічним розчином натрію хлориду протягом терміну зазначеного в таблиці 1.

Майже весь МБА (C₂H₃-CO-NH-CH₂-CO-CO-NH-C₂H₃) вбудовується в основний ланцюг полімеру, але його незначна частина може утворювати поперечні зв'язки. Їх необхідно зруйнувати механічним шляхом і тим самим дати можливість макромолекулі створити множинні водневі Н-зв'язки, що виникають між карбонільними й аміногрупами



надмолекулярну структуру, подібну до високого рівня організації білкової молекули. Цей етап проводять за допомогою міксерів, механічно руйнуючи поперечну зшивку. Утворення нової структури гелю можна спостерігати візуально, починаючи з 5-ої

- 7-ої хвилини. Внаслідок цього етапу перетворень, формується вже нова, повторно-зв'язана сітка, заснована на зовсім інших хімічних зв'язках (в порівнянні з поперік-зшитим поліакриламідом).

Внаслідок зміни пробігання синтезу, проведення зазначених дій, отриманий новий синтетичний лінійний поліамідний полімер, просторова структура якого втримується множинними Н-зв'язками. Цим пояснюється його однорідна пластичність, відсутність тиксотропності.

Після контролю продукту на мікробіологічну чистоту, необхідних проміжних аналізів, його розфасовують у контейнери полівінілхлориду ємністю 25-50-100мл. (прикладі 1-4), або шприці 2-4мл. (прикладі 5-8).

Після здійснюють його стерилізацію в автоклаві при температурі 120-131°C, під тиском 1,5-2,0бар протягом 12-30 хвилин. У результаті стерилізації відбувається остаточне формування 3-х мірної сітки поліамідного гелю, заснованої на водневих Н-зв'язках.

Отриманий філер досить легко вводиться інсуліновим шприцом через голку G-30 при цьому, як показала клінічна практика (звіт про клінічне застосування в Медичному центрі «Медикап», м.Луганськ), у випадку введення в шкіру обличчя не залишається ніяких слідів, що дозволяє працювати з його допомогою безпечно з великим косметичним ефектом на будь-яких ділянках тіла. При цьому місце ін'єкції закривається практично моментально й не потребує ніяких пов'язок та наліпок (Таблиця 2).

Таблиця 2.

Приклади	РН	Зона придушення розростання золотавого стафілокока	Проходження через голку G 30	Наявність фрагментів (розрив екструдата)	Наявність полоси 1620см ⁻¹ (Деформаційні коливання МН2 радикалів)
1	3,2	3,2мм	Легко проходить	Відсутні	відсутня
2	3,4	3,4мм	Легко проходить	Відсутні	відсутня
3	3,3	3,3мм	Легко проходить	Відсутні	відсутня
4	2,5	2,5мм	Легко проходить	Відсутні	відсутня
5	3,5	3,5мм	Легко проходить	Відсутні	відсутня
6	2,9	2,9мм	Легко проходить	Відсутні	відсутня
7	3,3	3,3мм	Легко проходить	Відсутні	відсутня
8	3,2	3,2мм	Легко проходить	Відсутні	відсутня

Як свідчать результати проведених досліджень інфрачервоного спектру отриманих зразків гелю в спектрі відсутня полоса 1620cm^{-1} , яка відповідає за деформаційні коливання NH_2 радикалів, що свідчить про відсутність MNH_2 радикалів. При дослідженні зразків шляхом проходження через голку G 30 встановлено відсутність розривів екструдата що підтверджує відсутність часток з різною щільністю та відсутність окремих фрагментів гелю.

Як свідчать результати досліджень зона придушення розростання золотавого стафілокока (*Staphylococcus aureus*) навколо вирізаних із зразків гелю дисків, визначена для прикладів за способом, як описано в методичному посібнику "Метод определения антибиотической чувствительности микроорганизмов методом дисковой диффузии". М., Минздрав, 1984, становила залежно від щільності зразка (вмісту в ньому поліаміду) 2,5-3,5мм.