РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** (11) **2 381 017** (13) **C2**

(51) МПК
A61F 2/08 (2006.01)
A61L 27/38 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: **2008107015/15, 27.07.2006**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
27.07.2006

(30) Конвенционный приоритет:
29.07.2005 CN 200510036174.4

(43) Дата публикации заявки: **10.09.2009**

(45) Опубликовано: **10.02.2010** Бюл. № **4**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **US 5902338 A, 11.05.1999. CN 1445003 A, 01.10.2003. RU 2141281 C1, 20.11.1999.**

(85) Дата перевода заявки PCT на национальную фазу: **29.02.2008**

(86) Заявка PCT:
CN 2006/001879 (27.07.2006)

(87) Публикация PCT:
WO 2007/012281 (01.02.2007)

Адрес для переписки:
107078, Москва, а/я 265, ООО "Прозоровский и партнеры", А.Ю.Прозоровскому

(72) Автор(ы):
КСУ Гуофен (CN)

(73) Патентообладатель(и):
САММИТ (ДЖИ ДИ) БИОТЕК КО., ЛТД. (CN)

RU 2381017 C2

(54) БИОЛОГИЧЕСКАЯ ИСКУССТВЕННАЯ СВЯЗКА И СПОСОБ ЕЕ ИЗГОТОВЛЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине. Описан протез, предназначенный для имплантации в человеческое тело, изготовленный в соответствии с методом, включающим следующие этапы: получение натуральных животных связок или сухожилий с субстратом, сшивание молекул и фиксация субстрата, удаление антигенов из субстрата, дубление субстрата для улучшения его механических свойств и сопряжение субстрата с активным покрытием. 2 н. и 10 з.п. ф-лы, 2 ил.

RU 2381017 C2

RUSSIAN FEDERATION

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** (11) **2 381 017** (13) **C2**

(51) Int. Cl.
A61F 2/08 (2006.01)
A61L 27/38 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: **2008107015/15, 27.07.2006**

(24) Effective date for property rights:
27.07.2006

(30) Priority:
29.07.2005 CN 200510036174.4

(43) Application published: **10.09.2009**

(45) Date of publication: **10.02.2010 Bull. 4**

(85) Commencement of national phase: **29.02.2008**

(86) PCT application:
CN 2006/001879 (27.07.2006)

(87) PCT publication:
WO 2007/012281 (01.02.2007)

Mail address:
107078, Moskva, a/ja 265, OOO "Prozorovskij i partnery", A.Ju.Prozorovskomu

(72) Inventor(s):
KSU Guofen (CN)

(73) Proprietor(s):
SAMMIT (DZhI DI) BIOTEK KO., LTD. (CN)

RU 2381017 C2

(54) BIOLOGICAL ARTIFICIAL LIGAMENT AND METHOD FOR MAKING THEREOF

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: there is described prosthesis implanted in a human body, made by the method that involves the following stages: preparation of natural animal ligaments or tendons with substratum, suturing of molecules and fixation of said substratum, removal of antigens from the substratum, and hardening of the substratum.

EFFECT: improved mechanical properties of the prosthesis and substratum interface with an active coating.

12 cl, 2 dwg, 1 ex

RU 2381017 C2

ОБЛАСТЬ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

[0001] Изобретение относится к средству протезирования, предназначенному для вживления в человеческий организм, и, в частности, к искусственной связке, предназначенной для восстановления порванной связки пациента, а также к способу ее изготовления.

ПРЕДПОСЫЛКИ К СОЗДАНИЮ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Одной из самых распространенных травм при занятиях спортом являются порванные связки. В частности, во время занятий спортом чаще всего подвержены разрывам передние крестообразные связки, находящиеся в коленном суставе. Последствия таких разрывов могут быть очень серьезными и, если правильное лечение не назначено вовремя, это может привести к дальнейшим осложнениям, таким как разрушение связок, нарушение работы суставов и даже инвалидность. Ранее хирурги предпринимали попытки лечения разорванных связок путем их сшивания, однако из-за плохого сращивания и заживляемости связок почти все такие попытки оканчивались неудачей, в результате чего такая практика была прекращена.

[0003] После этого хирурги стали возлагать надежды на восстановление связок путем их трансплантации. Исследователями были изучены три типа трансплантатов, один из которых получали из сухожилия с второстепенными функциями или пересаженной связки. Однако основным недостатком такого способа является повышенный травматизм и частые случаи осложнений, причем иногда недостатки этого метода преобладают над его преимуществами.

[0004] Например, использование пателлярного сухожилия в качестве трансплантата (соединяемые им кости также удаляются вместе с ним) приводит к осложнениям, таким как боли в колене, сокращение пателлярного сухожилия, тендинит, а успех операции не может быть гарантирован, если процесс не проходит идеально.

[0005] Другим методом является аллогенная трансплантация сухожилий или связок (т.е. взятых из свежего трупа), однако он имеет два основных недостатка: (1) недостаточное количество трансплантатов, поскольку немногие доноры соглашаются жертвовать части своего тела; (2) вспомогательные технические средства являются устаревшими и зачастую образцы, хранившиеся в морозильных камерах, пересаживаются после простого обеззараживания (погружения в стерилизующий раствор), что недостаточно для эффективного удаления антигенов, бактерий и вирусов, которые могли присутствовать в трупе. Кроме того, такой способ не может предотвратить отторжение или снизить риск инфекции после трансплантации.

[0006] Еще одним методом является использование при трансплантации искусственных связок. Полимерные вещества, полученные путем химического синтеза, такие как нити, сделанные из полиэстера, нейлона, политетрафторэтилена и т.д., широко применяются и в целом производят положительный краткосрочный эффект. Тем не менее, такие синтетические полимеры по своей структуре отличаются от тканей человеческого тела, поэтому всегда остается риск возникновения асептического воспаления в результате хронического отторжения. Что более важно, полимерным материалам свойственно деформироваться и по прошествии определенного промежутка времени они растягиваются и теряют эластичность.

[0007] В последние годы предпринимались попытки создать искусственные сухожилия и связки из коровьих сухожилий, а образцы использовались после заморозки (-80°C), обезжиривания и фиксации с помощью глутаральдегида. Глутаральдегид может связывать и фиксировать белок образуя ацетали, не

являющиеся слишком устойчивыми. С одной стороны, сопротивляемость зафиксированного сухожилия в случае распада настолько мала, что оно может потерять свои механические свойства в результате распада; с другой стороны, при распаде постепенно освобождается глутаральдегид, что вызывает токсичность альдегидных составляющих; более того, без специальной обработки, направленной на удаление антигенов, трансплантация зачастую не удается по причине хронического отторжения организма. Таким образом, проведенные исследования все еще не привели к каким-либо значимым результатам.

[0008] В свете вышеперечисленных фактов потребность в искусственной связке, способной восстановить разорванную связку пациента, существует до сих пор.

РАСКРЫТИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0009] Предметом данного изобретения является создание безопасных и надежных биологических связок, обладающих биосовместимостью, стабильностью и устойчивостью к распаду, способных ускорить процесс регенерации организма.

[0010] Еще одним предметом данного изобретения является способ изготовления такой искусственной связки.

[0011] Искусственная биологическая связка, рассматриваемая в данном тексте, изготовляется из субстрата, получаемого из связок или сухожилий животных. Связки или сухожилия животных фиксируются путем сшивания с помощью фиксирующего агента и обрабатываются с целью удаления антигенов.

[0012] В оптимальном варианте осуществления изобретения с поверхностью субстрата сопряжено активное покрытие, содержащее активные компоненты, такие как полипептид или озаминсодержащий полисахарид.

[0013] Ткани животных связок или сухожилий легко распадаются и разлагаются микроорганизмами, поэтому необходимо сшивание и фиксация их молекул с помощью фиксирующего вещества. Обычно фиксирующим веществом выступает глутаральдегид, однако он выделяет токсичные радикалы. Альдегиды проходят процесс сшивания с белками через ацетальную реакцию, а при распаде сшитых тканей освобождаются токсичные альдегиды, поэтому продукт, зафиксированный с помощью альдегида, обладает долгосрочной остаточной токсичностью. Проблема токсичности исчезает, если вместо альдегидов используются эпоксиды, диамиды, диисоцианаты или карбодиимиды. Например, если для данной цели используется эпоксид, белки сшиваются с помощью реакции раскрытия цикла эпоксида, а реакция закрытия цикла не происходит. Продуктами распада становятся диолы и полиолы, которые усваиваются организмом, и, таким образом, токсичные альдегидные радикалы не образуются. Устойчивость животных связок после такой обработки превышает устойчивость связок, зафиксированных альдегидами.

[0014] Согласно современной теории иммунологии антигенность животных тканей происходит основным образом от активных групп, расположенных в определенных местах и в определенных конформациях. Такие активные группы включают -OH, $-NH_2$, -SH и т.д. Определенные конформации происходят в основном от определенных водородных связей, образованных спиральными белковыми цепями. Определенные участки и конформации называют антигенными детерминантами. При обработке связок животных используются один или несколько активных реагентов (например, кислотные ангидриды, кислотные хлориды, ациламиды, эпоксиды и т.д), которые могут вступать в связь с этими группами и связывать их, что в свою очередь сводит к минимуму антигенность. В то же время сильные связывающие реагенты (например, гуанидиновые смеси) используются для образования новых водородных связей и

замены врожденных водородных связей определенных конформаций, что меняет такие определенные конформации и в дальнейшем сводит к минимуму антигенность. После сшивания и фиксации неальдегидными фиксаторами, такими как эпоксиды, структуру животных связок сложно изменить, а ткани разлагаются медленно - коллагеназа начинает фагоцитировать и разлагать их в результате синергетического действия фибринолизина и калликреина, освобождаемых новыми тканями, что означает, что новые ткани связок имеют достаточно времени для роста и укрепления и при этом токсичные радикалы не выделяются. Иммуногенность сводится к минимуму путем блокирования активных групп белков и изменения конформации, а получаемый субстрат не обладает хроническим иммунным отторжением, при этом имеет хорошую биосовместимость.

[0015] Более того, совместимость тканей улучшается путем модификации поверхности с помощью активного компонента (как описано ниже), такого как определенный полипептид и глюкозаминогликан. Определенный полипептид и глюкозаминогликан имеют широкий диапазон молекулярного притяжения и склонность к росту или же способны склонить недифференцированные клетки к дифференциации, что способствует регенерации и восстановлению органических связок.

[0016] Способ изготовления биологических связок в соответствии сданным изобретением включает следующие этапы (при использовании в качестве субстратов связок животных):

[0017] 1. Отбор материалов: Отбираются свежие связки и сухожилия животных.

[0018] 2. Предварительная обработка: Обеззараживание с помощью высокоэффективного бактерицидного вещества широкого спектра и низкой токсичности, затем - обрезание лишних частей.

[0019] 3. Обезжиривание: Жировые вещества извлекаются из субстрата с помощью органических растворителей по известной технологии обработки тканей.

[0020] 4. Сведение к минимуму количества антигенов: Для блокировки особых активных групп, таких как -OH,-NH_2, -SH и т.д., в белках субстрата используется активный реагент, а для замены водородных связей в спиральных цепях молекул белков в субстрате, а также изменения его специфической конформации используется реагент с сильными свойствами водородного связывания.

[0021] 5. Фиксация: Молекулы белка в субстрате связываются и фиксируются с помощью фиксирующего вещества, подробно описанного ниже.

[0022] 6. Сопряжение активного слоя: Активный поверхностный слой, содержащий определенный полипептид или глюкозаминогликан и способный влиять на фактор роста, сопрягается с верхним слоем с помощью сопрягающего агента. Данный этап используется в оптимальном варианте осуществления изобретения.

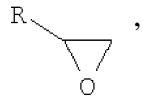
[0023] В способе изготовления искусственной биологической связки антибактериальным агентом широкого диапазона может быть бензаколоний бромид, азид натрия и хлоргексидин.

[0024] В способе изготовления искусственной биологической связки органическим растворителем может быть хлороформ, этилацетат, абсолютный спирт и их смеси.

[0025] В способе изготовления искусственной биологической связки активными реагентами являются ангидриды органической кислоты с малой молекулярной массой, ацетилхлориды, акриламиды или моноциклические оксиды, а реагентами, образующими сильные водородные связи, являются гуанидиновые составы.

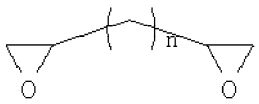
[0026] В способе изготовления искусственной биологической связки фиксатором

является эпоксидный состав с углеводородной основой, способной растворяться в воде и не содержащей эфирных или сложных эфирных связей в своей основе. Эпоксидным составом, используемым в качестве фиксатора, является моноэпоксидный состав в соответствии со следующей формулой:



,

диэпоксидный состав, описанный следующей формулой:



,

или олигоэпоксидный состав, такой как полипропиленоксид; и R=-C_nH_{2n+1}, а n=0-10.

[0027] В способе изготовления искусственной биологической связки особым полипептидом является полипептид, состоящий из 16 лизинов (К16), глицина (G), аргинина (R), аспаргиновой кислоты (D), серина (S), пролина (P) и цистеина (C). Глюкозаминогликаном может быть гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, дерматансульфат, гепарин, ацетилированный гепаритинсульфат или кератинсульфат.

[0028] В способе изготовления искусственной биологической связки сопрягающим агентом, используемым для сопряжения с полипептидным составом, является диакрилдиамид, диэпоксидат или другой реагент с двойными функциональными группами, вступающими в реакцию альдольного присоединения с -NH_2, -OH, и -COOH.

[0029] Преимуществами данного изобретения являются следующие:

[0030] 1. Отличная биосовместимость и отсутствие иммунного отторжения. Получаемый продукт имеет сходство с человеческими связками, а продукты распада могут поглощаться их новыми тканями.

[0031] 2. Высокая устойчивость и слабая подверженность разложению при нормальных условиях. Коллагеназа начинает фагоцитировать и разлагать ткани в результате синергетического действия фибринолизина и калликреина, освобождаемых новыми тканями, в результате чего распад и регенерация тканей происходят одновременно.

[0032] 3. Высокая механическая прочность, что полностью соответствует требованиям к механическим свойствам связки.

[0033] 4. Активный компонент, такой как особый полипептид или глюкозаминогликан, используется для модификации поверхности через процесс сопряжения. Так, факторы роста активизируют недифференцированные клетки, которые проходят процесс дифференциации и улучшают регенеративные свойства связок. Данная характеристика представляет собой преимущество рассматриваемых связок перед искусственными связками из синтетических материалов.

[0034] Фиг.1 - вид в перспективе искусственной связки в соответствии с одним из вариантов осуществления данного изобретения.

[0035] Фиг.2 - вид в разрезе искусственной связки, изображенной на Фиг.1.

1. Субстрат 2. Активный слой.

ПРИМЕРЫ

[0036] Пример 1

[0037] Согласно фиг.1 и 2 искусственная связка, образованная из субстрата 1, была получена из животной связки или сухожилия, связана и зафиксирована с помощью эпоксида и обработана с целью удаления антигенов. Активированный поверхностный слой 2 был нанесен на поверхность субстрата 1 путем сопряжения особого

полипептида, способного влиять на фактор роста. В данном примере полипептид состоит из 16 лизинов (K16), глицина (G), аргинина (R), аспаргиновой кислоты (D), серина (S), пролина (P) и цистеина (C), а указанным глюкозаминогликаном является гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, дерматансульфат, гепарин, ацетилированный гепаритинсульфат или кератинсульфат.

[0038] Этапами получения данной искусственной биологической связки были следующие:

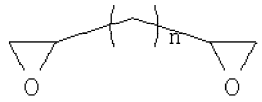
[0039] 1. Отбор материалов: Свежие животные связки и сухожилия отбирались профессиональными специалистами на хорошо управляемых скотобойнях, причем особое внимание уделялось избеганию контакта с загрязняющими веществами.

[0040] 2. Предварительная обработка: Начальная стерилизация проводилась с помощью высокоэффективных и низкотоксичных бактерицидов широкого диапазона, таких как бензаколоний бромид, азид натрия и хлоргексидин, после чего удалялись загрязнения и обрезались лишние части.

[0041] 3. Обезжиривание: Жировые вещества субстрата 1 извлекались с помощью органических растворителей, таких как хлороформ, ацетон, этилацетат, диэтилэфир, абсолютный спирт и их смеси.

[0042] 4. Сведение к минимуму количества антигенов: Особые и активные группы, -OH или $-NH_2$ или -SH протеинов в субстрате 1 были заблокированы с использованием активных реагентов малой молекулярной массы, таких как органические кислотные ангидриды, хлорангидриды, ациламиды или моноциклические эпоксиды, а особая водородная связь спиральных цепей молекул белка субстрата 1 была заменена с использованием реагента с сильной водородной связью, такого как гуанидиновый состав, который меняет особую конформацию белков.

[0043] 5. Фиксация: Молекулы протеина субстрата 1 были сшиты и зафиксированы с использованием бициклического олигоэпоксида, в соответствии со следующей формулой:



в качестве фиксатора, где n=0-10.

[0044] 6. Модификация поверхности: Активный ингредиент, такой как определенный полипептид, был нанесен на поверхность субстрата 1 путем сопряжения с использованием диамида, кислотного ангидрида, эпоксида или другого бифункционального реагента, способного вступать в реакцию конденсации с $-NH_2$, -OH, -COOH и т.д. с целью образования активной поверхности 2 на поверхности субстрата 1.

Формула изобретения

1. Способ изготовления биологических искусственных связок, включающий следующие этапы:

отбор материалов, при котором в качестве субстрата отбираются связки и сухожилия животных;

предварительная обработка, при которой производится первичное обеззараживание с помощью высокоэффективного бактерицидного вещества широкого спектра и низкой токсичности, затем - обрезание лишних частей;

обезжиривание, при котором жировые вещества извлекаются из субстрата с помощью органических растворителей по известной технологии обработки тканей;

сведение к минимуму количества антигенов, при котором для блокировки особых активных групп, таких как -OH, $-NH_2$, -SH и т.д. в белках субстрата используется активный реагент, а для замены водородных связей в спиральных цепях молекул белков в субстрате, а также изменения его специфической конформации, используется реагент с сильными свойствами водородного связывания;

фиксация, при которой молекулы белка в субстрате сшиваются и фиксируются с помощью фиксирующего вещества, в качестве которого используют эпоксиды.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что на поверхности указанного субстрата дополнительно создается активное покрытие путем сопряжения (с помощью сопрягающего агента) одного или нескольких особых активных составов, таких как полипептид или глюкозаминогликан.

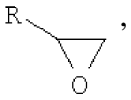
3. Способ по п.2, отличающийся тем, что указанный полипептид состоит из 16 лизинов (К16), глицина (G), аргинина (R), аспаргиновой кислоты (D), серина (S), пролина (P) и цистеина (C), а указанным глюкозаминогликаном является гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, дерматансульфат, гепарин, ацетилированный гепаритинсульфат или кератинсульфат.

4. Способ по п.1, отличающийся тем, что активными компонентами являются ангидриды органической кислоты с малой молекулярной массой, ацетилхлориды, акриламиды или моноциклические оксиды, а реагентами, образующими сильные водородные связи, являются гуанидиновые составы.

5. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанным фиксирующим веществом является эпоксидный состав, который сшивает молекулы белка.

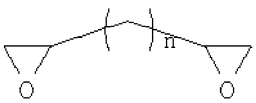
6. Способ по п.2, отличающийся тем, что сопрягающим агентом является ацетилдиамидный, диангидридный или диэпоксидный состав или другие составы с двойными функциональными группами, участвующими в реакции конденсации с такими группами, как $-NH_2$, -OH, или -COOH.

7. Способ по п.5, отличающийся тем, что указанным эпоксидным составом, используемым в качестве фиксатора, является моноэпоксидный состав, описанный следующей формулой:



,

или же диэпоксидный состав, описанный следующей формулой:



, или

олигоэпоксидный состав, такой как полипропиленоксид; R=$-C_nH_{2n+1}$, а n=0-10.

8. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанным бактерицидным веществом с широким диапазоном может быть бензаколоний бромид, азид натрия или нольвасцин.

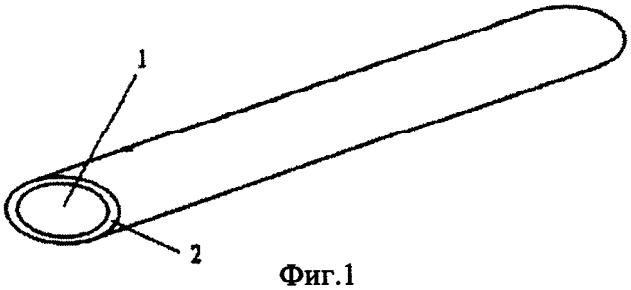
9. Способ по п.1, отличающийся тем, что указанным органическим растворителем является хлороформ, ацетон, этилацетат, эфир, абсолютный спирт или их смеси.

10. Биологическая искусственная связка, изготовленная способом по п.1, отличающаяся тем, что она изготовляется из базового материала, получаемого из связки животного, молекулы которой сшиты и зафиксированы с помощью фиксирующего вещества и обработаны с целью удаления антигенов.

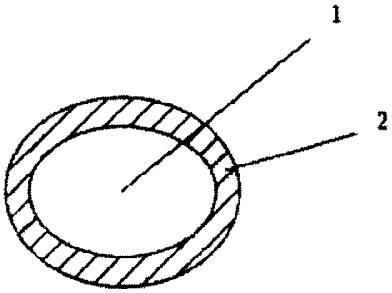
11. Биологическая искусственная связка по п.10, отличающаяся тем, что на поверхность базового материала наносится активное покрытие, содержащее один или

несколько особых активных компонентов, таких как полипептид или глюкозаминогликан, которые могут влиять на фактор роста.

12. Биологическая искусственная связка по п.11, отличающаяся тем, что указанный полипептид состоит из 16 лизинов (K16), глицина (G), аргинина (R), аспаргиновой кислоты (D), серина (S), пролина (P) и цистеина (C), а указанным глюкозаминогликаном является гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, дерматансульфат, гепарин, ацетилированный гепаритинсульфат или кератинсульфат.



Фиг.1



Фиг.2