



H U 0 0 0 2 2 6 9 6 2 B 1

(19) **HU****MAGYAR KÖZTÁRSASÁG**
Magyar Szabadalmi Hivatal(11) Lajstromszám: **226 962**(13) **B1**

SZABADALMI LEÍRÁS

(21) A bejelentés ügyszáma: **P 99 03446**(22) A bejelentés napja: **1996. 08. 29.**(40) A közzététel napja: **2000. 02. 28.**(45) A megadás meghirdetésének dátuma a Szabadalmi
Közlöny és Védjegyértéktérben: **2010. 03. 29.**(51) Int. Cl.: **A61L 17/00** (2006.01)

(86) A nemzetközi (PCT) bejelentési szám:

PCT/EP 96/03805(87) A nemzetközi közzétételi szám: **WO 9707833**

(30) Elsőbbségi adatok:

PD95A000166 1995. 08. 29. IT**PD95A000167 1995. 08. 29. IT**

(72) Feltalálók:

Callegaro, Lanfranco, Thiene (IT);**Pavesio, Alessandra, Padova (IT);****Pressato, Daniele, Montegrotto Terme (IT)**

(73) Jogosult:

Fidia Advanced Biopolymers S.r.l., Brindisi (IT)

(74) Képviselő:

**Karácsonyi Béla, ADVOPATENT Szabadalmi és
Védjegy Iroda, Budapest**(54) **Hialuronsavszármazékokat tartalmazó bioanyagok műtét utáni letapadás megelőzésére**

(57) Kivonat

A találmány új bioanyagokra vonatkozik, amelyek lényegében részlegesen vagy teljesen észterezett hialuronsavszármazékokat vagy a hialuronsav keresztkapcsolt származékait önmagukban vagy egymással alko-

tott keverék formájában vagy szintetikus anyagokkal kombinációban tartalmazzák, és a sebészet területén, különösen a műtét utáni letapadások megelőzésére alkalmazhatók.

HU 226 962 B1

A leírás terjedelme 28 oldal (ezen belül 10 lap ábra)

A jelen találmány új bioanyagokra vonatkozik, amelyek lényegében észterezett hialuronsavszármazékokat vagy a hialuronsav keresztkapcsolt származékait tartalmazza, és a sebészet területén, különösen a műtét utáni letapadások megelőzésére alkalmazhatók.

A műtét utáni letapadás kialakulása az alhasi vagy medencesebészetben általános komplikáció, amely jelentős számban vezet megbetegedéshez. A letapadás kifejlődését sok tényező befolyásolhatja, a mechanika trauma, a kémiai szerek, a savóhártya száradása a vérrel kombinációban, az ischaemia, a fertőzés és az idegen anyag mindegyike ismert arról, hogy fokozza a letapadás képződését. További okokként az alhasi gyulladásos betegségeket és a pangásos abnormalitásokat említjük. A patofiziológiai mechanizmus még nem tisztázott, azonban egy olyan központi folyamatot feltételeztek, amelyben a peritoneális fibrinolízis játszik fontos szerepet.

A szövet műteti traumája egy savas-véres váladék képződését váltja ki, amely rostos hidat képez, és ez több napig fennmarad, mialatt sejtnövekedés történik. Ha a váladék ezalatt az időszak alatt nem szívódik fel vagy lizálódik, benőtt fibroblasztá válik, és az ezután bekövetkező kollagénlerakódás permanens var képződéséhez vezet, amely a két szomszédos felületet összekapcsolja, ezt nevezik letapadásnak. Következésképpen a letapadás kialakulása egy gyulladásos válasz eredményének látszik.

Ebben az utóbbi esetben a kutatások főként olyan biológiai felcsívódó anyagokra irányultak, amelyek rövid *in vivo* tartózkodás alatt gátként hatnak a letapadás kialakulásával szemben, amíg a gyógyulás bekövetkezik; hogy ily módon a fel nem szívódó anyagok (fertőzés, az implantátum kalcifikálódása, varképződés stb.) által okozott problémákat megelőzzék.

Egy különösen ígéretes polimer a hialuronsav (HA), az extracelluláris mátrix egy olyan komponense, amely mindenütt előfordul az emberi testben. A hialuronsavoldatokról kimutatták, hogy csökkentik a műtét utáni letapadás kialakulását abdominális (Urman B. et al., Effect of Hyaluronic Acid on Postoperative Intraperitoneal Adhesions Formation in the Rat Model, Fertil. Steril. 1991; 56:563; Shushan A. et al., Hyaluronic Acid for Preventing Experimental Postoperative-intraperitoneal Adhesions, J. Reprod. Med. 1994; 39:398) és ortopédiai műtét (Hagberg L., Gerdin B., Sodium Hyaluronate as an adjunctive in adhesion prevention after flexor tendon surgery in rabbits, J. Hand. Surg. 1992; 17A:935) után.

A Fidia Advanced Biopolymers olyan hialuronsavszármazékokat, azaz belső észtereket (ACP sorozat) és nem aktív alkoholokkal alkotott észtereket (HYAFF sorozat) fejlesztett ki [Rastrelli A. et al., Hyaluronic Acid Esters, A New Class of Semisynthetic Biopolymers: Chemical and Physico-chemical Properties, Clinical Implant Materials, Advanced in Biomaterials, G. Heinricke, V. Sollz and A.J.C. Lee (Eds), Elsevier, Amsterdam 1990; 9:199–205], amelyek a hialuronsavtól (HA) eltérő fizikai-kémiai tulajdonságokat mutatnak (azaz hosszabb a tartózkodási idejük és eszközöket lehet belőlük előállítani, azonban az elviselhetőségük és a biokompatibilitá-

suk az eredeti biológiai polimerre jellemző). Emellett ezek a származékok kémiai és toxikológiai szempontból is jellemzésre kerültek.

A jelen találmány célja ACP-gélek kifejlesztése volt, hogy a letapadás megelőzésében mutatott hatást értékelni lehessen.

A letapadások vagy rostos tömegek létrejötte, amelyek szomszédos, műtétet követően traumássá vagy ischaemiássá vált szövetek között alakulnak ki, számos sebészeti eljárásban még mindig az egyik leg súlyosabb komplikáció. Igen sok módszert javasoltak már ennek a komplikációnak az elkerülésére, azonban a probléma gyakorlatilag megoldatlan maradt.

Egyik ilyen ajánlott módszer dextrán szuszpenziók műtét utáni alkalmazása (diZerega G. S., „Contemporary adhesion prevention”, Fertility and Sterility, Vol. 61., No. 2, February '94), a szuszpenziókat a peritoneális üregbe injektálják. Az ilyen dextránoldatok alkalmazásának klinikai eredményei nagymértékben szórak. Emellett a dextránoldatok alkalmazását gyakori komplikációk, így ödéma, alhasi fájdalom és nehéz légzés kísérte.

A gátlók meghatározott szerkezetek (például sziták, membránok) (diZerega G. S., „Contemporary adhesion prevention” Fertility and Sterility, Vol. 61. No. 2. February '94) vagy viszkózus gélek (Genzyme, 4 937 270 és 5 017 229 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírások) formájában való alkalmazását, amelyeket a sérült szervek közé helyeznek, szintén javasolták. Azonban ezek a gátlók általában hatástalannak bizonyultak, mivel ischaemiát vagy gyulladásos reakciókat váltottak ki az idegen testek jelenléte miatt. Csúpn az az anyagok mutatkoztak klinikai célra használhatóknak, amelyek egy oxidált regenerált cellulózzalappal (Interceed®) és expandált politetrafluor- etilén-alappal (e-PTFE) (Goretex® – 4 478–665 és 4 482 516 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírás) vagy polietilén- vagy polipropilénalappal rendelkező elválasztólapok (gátak).

Amellett a tény mellett, hogy az ilyen gátak hatékonyságának klinikai vizsgálatai nagyon különböző eredményeket mutattak, azt is meg kell jegyezni, hogy mindkét fentebb említett anyag jelentős kontraindikációkkal társul. Az e-PTFE vagy polietilén vagy polipropilén alkalmazása szintetikus anyag beültetését foglalja magában, amely az emberi test számára idegen test és biológiai nem lebontható, és amely egy második sebészeti beavatkozást igényelhet az elválasztómembrán eltávolítására vagy repozíciójára a nemkívánatos gyulladás típusú reakciók miatt.

A preklinikai és klinikai modellekben az oxidált regenerált cellulózzalappal rendelkező sziták hatékonynak bizonyultak a letapadások képződésének megelőzésében, azonban csak akkor, ha alkalmazásukat alapos vérzéscsillapítás előzte meg.

A nagy molekulatömegű hialuronsav (HA) viszkózus oldatainak alkalmazását ezért már korábban ajánlották a letapadás megelőzésének segítésére (Grainiger D. A. et al., „The use of hyaluronic acid polymers to reduce postoperative adhesions”, J. of Gynecol. Surg.

Vol. 7, No. 2., 1991; Hurman B. Et al., „Effect of hyaluronic acid on postoperative intraperitoneal adhesions formation in the rat model”, *Fertility and Sterility*, Vol. 56, No. 3., September 1991; Shushan A. et al., „Hyaluronic acid for preventing experimental postoperative intraperitoneal adhesion:”, *J. of Reproductive Med.*, Vol. 39, No. 5. May 1994; Mitchell J. D. et al., „Reduction in experimental pericardial adhesions using a hyaluronic acid bioabsorbable membrane”, *Eur. J. Cardio-thorac. Surg.*, 8, 149–152, 1994). A hialuronsavat magát azonban nagyon gyors felszívódási idő jellemzi, amely nem felel meg a letapadás megakadályozásához szükséges tartózkodási időnek. Emellett a természetes hialuronsav nem dolgozható fel, és mint ilyen nem alakítható bioanyag formává. A lebomlási idejének meghosszabítása és különféle fizikai formákká való alakíthatósága érdekében, amelyek különféle sebészeti területeken használhatók, hialuronsav-észtereket, és keresztkapcsolt hialuronsavszármazékokat fejlesztettünk ki. Olyan hialuronsav-észterek előállítását, amelyekben a karboxilcsoportok mindegyike észterezett, olyan keresztkapcsolt hialuronsavszármazékok előállítását, amelyekben a karboxilcsoportok egy része keresztkapcsolást hoz létre, és ezek gyógyászati, kozmetikai és sebészeti területeken és biológiailag lebontható műanyagokban való alkalmazását a 4 851 521 és a 4 956 353 számú amerikai egyesült államokbeli és a 0 216 453 és a 0 341 745 számú európai szabadalmi leírásokban ismertetik.

A jelen találmány sebészeti szövetletapadások megakadályozására szolgáló kompozit bioanyagot bocsát rendelkezésre, amely bioanyag hialuronsav-benzil-észtert tartalmaz, ahol a hialuronsav karboxilcsoportjainak 75–99%-a benzilcsoporttal észterezett, és a karboxilcsoportok legfeljebb 25%-a 10–20 szénatomos alifás alkohol alkilcsoportjával észterezett, azzal a megkötéssel, hogy a karboxilcsoportok legalább 80%-a észterezett, és a bioanyag gél, membrán, szita vagy szőtt vagy nemszött szövet formájú vagy ezek kombinációja.

A jelen találmány olyan kompozit bioanyagot is rendelkezésre bocsát, amelynél a hialuronsav karboxilcsoportjainak 0,5–20%-a ugyanazon vagy más hialuronsavmolekula hidroxilcsoportjához van keresztkapcsolva, és a bioanyag gél, membrán, szita vagy szőtt vagy nemszött szövet formájú vagy ezek kombinációja.

A fentebb meghatározott bioanyagokat műtét utáni szövetletapadás megakadályozására szolgáló készítmény előállítására használjuk fel.

Az 1–10. ábrák patkány állatmodellekben végzett letapadásvizsgálatok eredményeit mutatják.

A jelen találmány ezért hialuronsav-benzil-észteren vagy keresztkapcsolt hialuronsavszármazékokon alapuló, gyógyászati és sebészeti cikkek előállítását írja le, amelyek önmagukban vagy egymással alkotott keverék formájában használhatók, és amelyeket nagy biokompatibilitás és fizikai formákká történő átalakíthatóság jellemez, ami alkalmassá teszi ezeket az anyagokat a sebészet különféle területein, többek között laparoszkópiás sebészetben való alkalmazásra. Az

anyagok biológiailag teljes mértékben lebonthatók, és nincs szükség az alkalmazási helyről való eltávolításukra, így egy második sebészeti beavatkozás elkerülhető. Amikor gél formájában állítjuk elő, a keresztkapcsolt származékok jelentősen nagyobb viszkozitású anyagokat képeznek, mint a nem módosított polimer, és változó a lebomlási idejük. Emellett mind a jelen találmány szerinti benzil-észteren alapuló anyagokból, mind a jelen találmány szerinti keresztkapcsolt származékokon alapuló anyagokból készíthetők membránok, szőtt szövetek vagy sziták és nemszött szövetek (a 4 851 521, a 4 956 353 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásokban; a WO 93/11804, a WO 93/11803 és a WO 94/17837 számon közzétett nemzetközi szabadalmi bejelentésben, valamint a 0 341 745 számú európai szabadalmi leírásban ismertetett módon) és a következő műszaki jellemzőkkel rendelkeznek:

- a membránok vastagsága 10 μm és 1,5 mm között, különösen 20 és 50 μm között változik;
- a szövetek vagy sziták vastagsága 200 μm és 1,5 mm között változik;
- a nemszött szövetek lényegében egy alaptömeggel jellemezhetők, amely 20 g/m² és 500 g/m² között változik, és vastagságuk 0,2 mm és 5 mm közötti, különösen <1 mm.

Ezek az anyagok önmagukban vagy egymással vagy más, szintetikus polimerek alkotta anyagokkal együtt (például keresztkapcsolt hialuronsav alapú gél és polipropilén vagy lényegében észterezett hialuronsavszármazékokból és polipropilénből álló membránok vagy észterezett hialuronsavszármazékokból álló és auto-keresztkapcsolt hialuronsavgéllal bevont membránok formájában) használhatók.

A jelen találmány kompozit anyagok alkalmazására is vonatkozik gélek (keresztkapcsolt származékok), membránok, szőtt vagy nemszött szövetek alakjában, amelyek lényegében a hialuronsav benzil-észter- vagy keresztkapcsolt származékaiból és biológiailag le nem bontható anyagokból, például e-PTFE, polietilén, polipropilén, poliészter (Dacron®) polimerekből álló sziták vagy membránok vagy szőtt szövetek. A jelen találmány ezért a gyógyászati és sebészeti cikkek egy új csoportjára vonatkozik, amelyek a sebészet területén a műtét utáni letapadások megelőzésére használhatók.

Amint fentebb említettük, a jelen találmányt olyan anyagok jellemzik, amelyek hialuronsavszármazékokból, különösen benzil-észter-származékokból és belsőleg keresztkapcsolt származékokból állnak.

A „hialuronsav” (a későbbiekben HA formájában is utalunk rá) kifejezést az irodalomban egy savas, különböző molekulatömegű poliszacharid jelölésére használják, amely D-glükuronsav-maradékokból és N-acetil-D-glükozamin-maradékokból áll, a természetben a celluláris felületeken, a csigolyák kötőszöveteinek extracelluláris alapanyaga, az ízületek ízületi folyadékában, a szem csarnokvizében, az emberi köldökzsinór szövetében és a kakastaréjban található.

A hialuronsav fontos szerepet játszik a biológiai szervezetben, elsősorban sok szövet, így a bőr, az ín,

az izmok és a porc sejteinek mechanikai támaszakként, és ezért az extracelluláris mátrix fő komponense. Azonban a hialuronsav a biológiai folyamatokban más feladatok ellátásában is részt vesz, ilyen a szövetek hidratációja, celluláris migráció, sejtműködés és differenciálódás (lásd például A. Balázs et al., *Cosmetics & Toiletries*, No. 5/84, 8–17). A hialuronsavat a fentebb említett természetes szövetekből, így a kakastaréjból vagy bizonyos baktériumokból extrahálhatjuk. Manapság a hialuronsavat mikrobiológiai módszerekkel is előállíthatjuk. Az extrakcióval kapott egész hialuronsav móltömege a 8 és 13 millió közötti tartományban van. Azonban a poliszacharid molekulaláncát egész könnyen, különböző fizikai és kémiai tényezőkkel, így mechanikai ráhatással vagy sugárzással, hidrolízissel, oxidációval vagy enzimatiszerekkel lebonthatjuk. Emiatt gyakran az eredeti extraktum közönséges tisztítási eljárásaiban alacsonyabb molekulatömegű lebomlott frakciókat kapunk (lásd Balázs et al., a fentebb idézett cikk). A hialuronsavat, a molekula frakcióit és a megfelelő sókat gyógyszerként használják és alkalmazásukat kozmetikumokban is javasolják (lásd például a fentebb említett Balázs és munkatársai által írt cikket és a 2478468 számú francia szabadalmi leírást).

Noha a „hialuronsav” meghatározást általában nem megfelelő értelemben használják, amint az a fentiek alapján látható, a D-glükuronsav- és az N-acetil-D-glükozamin-maradékok váltakozásával felépülő poliszacharidok egész sorozatát, amelyek molekulatömege változó, vagy még azoknak is a lebontott frakcióit jelenti, és bár a többes számú forma, „hialuronsavak” megfelelőbbnek látszik, a leírás további részében is az egyes számú alakot használjuk, amely a különböző formában levő hialuronsavra, ezen belül annak molekulafrakcióira utal, és ezen a gyűjtőfogalom leírására gyakran alkalmazzuk a „HA” rövidítést.

1. A benzil-észter-származékok

A találmány szerinti elsősorban előnyben részesített anyag a hialuronsav-benzil-észteren alapul, különösen a 80–100%-os észtereken, ahol a HA karboxilcsoportjainak a 80–100%-a észterezett. Azok a benzil-észterek, amelyekben a HA karboxilcsoportjainak 80–99%-a benzilcsoporttal észterezett, „részleges észter”-ként utalunk, mivel a karboxilcsoportoknak csak egy része van észterezett formában, és a megmaradó karboxilcsoportok vagy szabad vagy alkáli- vagy alkáliföldfémekkel, így nátriummal, kalciummal vagy káliummal alkotott só formájában vannak.

A találmány szerinti bioanyagok szempontjából a legelőnyösebbek az úgynevezett teljes benzil-észterek, ahol a HA mindegyik karboxilcsoportja észterezett. Ezekben a teljes észterekben a HA karboxilcsoportjainak mindegyike benzilcsoporttal észterezett (ezekre HYAFF 11-ként is utalunk) vagy egy része (75–99%) lehet benzilcsoporttal észterezve, és a megmaradó karboxilcsoportok egy 10–20 szénatomos alifás alkohol alkilcsoportjával/lipid láncával észterezett, és az ilyen termékre „vegyes” észterként hivatkozunk. Ezen alifás alkoholok közül a palmitil-alkohol (C₁₆-hexadecil)

és sztearil-alkohol (C₁₈-oktadecil) a legelőnyösebb. Ezek a vegyes észterek lehetnek részleges észterek is, olyan származékok, amelyekben a karboxilcsoportok egy része (75–99%-a) benzilcsoporttal és valamennyi, de nem minden megmaradó karboxilcsoport a 10–20 szénatomos alifás alkohollal észterezett. Ezek közül legelőnyösebbek azok, amelyekben 75% benzil-alkohollal és legalább 5% C₁₀–C₂₀ szénatomos alifás alkohollal észterezett.

A találmány szerinti hialuronsav benzil-észtereket önmagában ismert módon, a karbonsavak észterezésére ismert eljárásokkal, például úgy állíthatjuk elő, hogy a szabad hialuronsavat az alkohollal (benzil-és/vagy 10–20 szénatomos alkohollal) katalizáló anyagok, például erős szerves savak vagy savtípusú ioncserélők jelenlétében reagáltatjuk, vagy a kívánt alkoholos maradék bevitelére képes éterezőszerrel visszük reakcióba szerves bázis jelenlétében.

A benzil-hialuronsav-észterek azonban előnyösen az EP 0 216 453 számú európai szabadalmi leírásban ismertetett speciális eljárással állíthatók elő. Ez abban áll, hogy a hialuronsav egy kvaterner ammóniumsóját egy éterezőszerrel, előnyösen aprotikus szerves oldószerben reagáltatjuk.

A benzil-észterek előállítására bármilyen eredetű hialuronsavat, például a fentebb említett természetes kiindulási anyagokból, például kakastaréjból extrahált hialuronsavat használhatunk. Az ilyen savak előállítását az irodalomban leírják; előnyösen tisztított hialuronsavakat alkalmazunk. A találmány szerint különösen olyan hialuronsavakat használunk, amelyek a szerves anyagok extrakciója során közvetlenül kapott összes sav molekulafrakcióit tartalmazzák, amelyek molekulatömege tág határok között, például körülbelül 90–80%-tól (M=11,7–10,4 millió) 0,2%-ig (M=30 000), előnyösen 5% és 0,2% között változik az egész sav 13 millió molekulatömegére vonatkoztatva. Az ilyen frakciókat különféle, az irodalomban leírt eljárásokkal, így hidrolízissel, oxidációval, enzimatiszerekkel vagy fizikai módszerekkel, például mechanikai vagy besugárzásos eljárásokkal kaphatjuk. Primordiális extraktumok ezért gyakran képződnek a tisztítási eljárások alatt (például lásd Balázs és munkatársai fentebb idézett cikkét a „Cosmetics & Toiletries” című folyóiratban). A kapott molekulafrakciók elválasztása és tisztítása ismert módszerekkel, például molekulaszűrővel történik.

Egy a találmány szerinti alkalmazásra megfelelő tisztított HY frakció például az a „nem gyulladáskeltő-NIF-NaHA” nátrium-hialuronát, amelyet Balázs írt le a „Healon” című ismertetőben – A guide to its use in Ophthalmic Surgery, D. Miller & R. Stegmann eds. John Wiley & Sons, N. Y. 81983: p 5.

A benzil-észterek számára különösen fontos kiindulási anyag a hialuronsavból kapható két tisztított frakció, például az, amelyet kakastaréjból extrahálnak, és „Hyalastine” és „Hyalectin” néven ismert. A Hyalastine frakció átlagos molekulatömege körülbelül 50 000 és 100 000 közötti, míg a Hyalectin átlagos molekulatömege körülbelül 500 000 és 730 000 közötti. Ezen két frakció egyesített frakcióját szintén elkülönítették és kö-

rülbelül 250 000 és körülbelül 350 000 közötti átlagos molekulatömeggel jellemezték. Ez az egyesített frakció az adott kiindulási anyagban levő összes hialuronsavból 80%-os hozammal, míg a Hyalectin 30%-os hozammal és a Hyalastine 50%-os hozammal kapható. Ezen frakciók előállítását az EP 0 138 572 számú európai szabadalmi leírásban ismertetik.

A következő példákban a HA benzil-észtereinek előállítását írjuk le.

1. példa

A hialuronsav (HY) benzil-észterének előállítása

12,4 g HY-tetrabutil-ammónium-sót, amelynek molekulatömege 170 000 és 20 mekivivalens monomeregységnek felel meg, 620 ml dimetil-szulfoxidban 25 °C-on oldunk, 4,5 g (25 mekivivalens) benzil-bromidot és 0,2 g tetrabutil-ammónium-jodidot adunk hozzá, és az oldatot 12 órán át 30 °C-on tartjuk.

A kapott elegyet lassan, állandó keverés közben 3500 ml etil-acetátba öntjük. A képződött csapadékot kiszűrjük, és négy alkalommal 500 ml etil-acetáttal mosuk, végül vákuumban 24 órán át 30 °C-on szárítjuk.

9 g cím szerinti benzil-észter terméket kapunk. Az észtercsoportok kvantitatív meghatározását a Siggia S. és Hann J. G. „Quantitative organic analysis via functional groups” című könyvének (4th edition, John Wiley and Sons) 169–172. oldalán leírt módon végezzük.

2. példa

A hialuronsav (HY) benzil-észterének előállítása

3 g HY-kálium-sót, amelynek molekulatömege 162 000, 200 ml dimetil-szulfoxidban szuszpendálunk, és a szuszpenzióhoz 120 mg tetrabutil-ammónium-jodidot és 2,4 g benzil-bromidot adunk.

A szuszpenziót 48 órán át 30 °C-on keverjük. A kapott elegyet lassan, állandó keverés közben 1000 ml etil-acetátba öntjük. A képződött csapadékot kiszűrjük, és négy alkalommal 150 ml etil-acetáttal mossuk, végül 24 órán át 30 °C-on szárítjuk.

3,1 g cím szerinti benzil-észtert kapunk. Az észtercsoportok kvantitatív meghatározását a Siggia S. és Hanna J. G. „Quantitative organic analysis via functional groups” című könyvének (4th edition, John Wiley and Sons) 169–172. oldalán leírt módon végezzük.

3. példa

Hialuronsavszármazék előállítása, amelyben a karboxilcsoportok 75%-a benzil-alkohollal és a fennmaradó 25%-a oktadecil-alkohollal [sztearil-alkohollal, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{16}-\text{CH}_2-\text{OH}$] van észterezve

6,21 g hialuronsav-tetrabutil-ammónium-sót, amelynek molekulatömege 180 000 dalton (10 mekivivalens) 248 ml dimetil-szulfoxidban szobahőmérsékleten oldunk.

Ezt az oldatot 0,89 ml benzil-bromiddal (7,5 mekivivalens) egészítjük ki, és az oldatot 12 órán át 30 °C-on hagyjuk állni. Ezután szobahőmérsékletre hűtjük, és 0,83 g (2,5 mekivivalens) oktadecil-bromidot adunk hozzá. Az oldatot 24 órán át 30 °C-on melegítjük. Ezt követően 2,5 tömeg%-os vizes nátrium-klorid-oldatot adunk

hozzá, és a kapott elegyet keverés közben 750 ml acetontba öntjük. A képződött csapadékot kiszűrjük, és három alkalommal 100 ml aceton:víz=5:1 térfogatarányú eleggyel, három alkalommal 100 ml acetonnal mossuk, majd nagyvákuumban 24 órán át 30 °C-on szárítjuk. Ily módon 5,1 g kívánt terméket kapunk. A benzil-alkohol- és oktadecil-alkohol-tartalmat lúgos hidrolízis után gázkromatográfiásan vizsgáljuk. Az összes észtercsoport kvantitatív meghatározását a „Quantitative organic analysis via functional groups” című könyv (4th edition, John Wiley and Sons) 169–172. oldalán leírt elszáppanosítási módszerrel végezzük.

4. példa

Hialuronsavszármazék előállítása, amelyben a karboxilcsoportok 75%-a benzil-alkohollal és a fennmaradó 25%-a hexadecil-alkohollal [cetil/palmitil-alkohol, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{14}-\text{CH}_2-\text{OH}$] észterezett

6,21 g hialuronsav-tetrabutil-ammónium-sót, amelynek molekulatömege 180 000 dalton (10 mekivivalens) 248 ml dimetil-szulfoxidban szobahőmérsékleten oldunk.

Ezt az oldatot 0,89 ml benzil-bromiddal (7,5 mekivivalens) egészítjük ki, és 12 órán át 30 °C-on hagyjuk állni. Ezután szobahőmérsékletre hűtjük, és 0,76 g (2,5 mekivivalens) hexadecil-bromidot adunk hozzá. Az oldatot 24 órán át 30 °C-on melegítjük. Ezt követően 2,5 tömeg%-os vizes nátrium-klorid-oldatot adunk hozzá, és a kapott elegyet keverés közben 750 ml acetontba öntjük. A képződött csapadékot kiszűrjük, és három alkalommal 100 ml aceton:víz=5:1 térfogatarányú eleggyel, három alkalommal 100 ml acetonnal mossuk, majd nagyvákuumban 24 órán át 30 °C-on szárítjuk. Ily módon 5 g kívánt terméket kapunk. A benzil-alkohol- és hexadecil-alkohol-tartalmat lúgos hidrolízis után gázkromatográfiásan vizsgáljuk. Az összes észtercsoport kvantitatív meghatározását a „Quantitative organic analysis via functional groups” című könyv (4th edition, John Wiley and Sons) 169–172. oldalán leírt elszáppanosítási módszerrel végezzük.

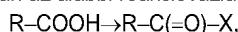
2. Belső keresztkapcsolású hialuronsavszármazékok

A keresztkapcsolt hialuronsavszármazékokat, amelyeket a jelen találmány szerinti anyagokban használunk, az EP 0 341 745 számú európai szabadalmi leírásban ismertetik. Ezek a keresztkapcsolt származékok a hialuronsav inter- és/vagy intramolekuláris észterei, amelyekben a karboxilcsoportok egy része ugyanazon molekula és/vagy különböző hialuronsavmolekulák hidroxilcsoportjaival van észterezve, így laktón- vagy intermolekuláris észterképzéseket képez. Ezek a „belső” észterek, amelyek képzésében más alkoholok hidroxilcsoportjai nem vesznek részt, „auto-keresztkapcsolt hialuronsav”-nak is nevezhetők, mivel a mono- vagy polimolekuláris keresztkapcsolódás a fentebb említett belső észterezés következménye. A „keresztkapcsolt” jelző a hialuronsavmolekulák karboxil- és hidroxilcsoportjai közötti keresztkapcsolatokra utal.

Az auto-keresztkapcsolt termékek különös parciális belső észterek, amelyekben a „keresztkötések” %-a előnyösen 0,5 és 20% között, különösen 4,5 és 5,0% között változik a hialuronsav karboxilcsoportjaira számítva. Az előállítási eljárásban a HA molekula karboxilcsoportjait olyan anyagok hozzáadásával aktiváljuk, amelyek ilyen aktiválásra alkalmasak. Az aktiválási reakcióval kapott instabil közbenső termékek katalizátor hozzáadása és/vagy a hőmérséklet emelése után spontán elkülönülnek, a fentebb említett belső észterkötéseket hozván létre ugyanazon vagy egy másik hialuronsavmolekula hidroxilcsoportjával. Attól függően, hogy milyen mértékű belső észterezést kívánunk, az összes karboxilcsoportot vagy csak azok egy részét aktiváljuk (az egy részt úgy kapjuk, hogy az aktiválóanyagokat feleslegben alkalmazzuk vagy más megfelelő adagolási módszert használunk).

A belső észterre alakítandó karboxilcsoportokat úgy aktiválhatjuk, hogy szabad karboxilcsoportokat tartalmazó hialuronsavból indulunk ki, vagy előnyösen olyan HA-ból, amely sóvá alakított karboxilcsoportokat, például fém-sók, előnyösen alkáli- vagy alkáliföldfém-só formájában és mindenekelőtt kvaterner ammónium-só formájában levő karboxilcsoportokat tartalmaz, mint azok, amelyeket a későbbiekben írunk le. A szerves bázisokkal, így aminokkal alkotott sók szintén használhatók kiindulási anyagként.

A szabad formában vagy só formájában levő karboxilcsoportok aktiválása önmagában ismert, különösen a peptidszintézis területén, és a szakemberek könnyen meg tudják határozni, melyik módszer a legmegfelelőbb, különösen azt, hogy a kiindulási anyagokat szabad formában vagy só formájában alkalmazzák. Azok az aktiválási eljárások, amelyek a peptidek szintézise esetén önmagában ismertek, a jelen találmány szerinti előállításokban használhatók, például a Bodanszky M., *In search of new methods in peptide synthesis*, Int. J. Peptide Protein Res., 25, 1985, 449–474; és Gross E. et al., *The Peptides, Analysis Synthesis, Biology*, Academic Press, Inc. 1979, Vol. 1. Chapter 2 irodalmi helyeken vannak leírva. Az ilyen eljárások szerint egy karboxilkomponenst aktiválunk, azaz egy karboxilkomponenst egy reakcióképes formává alakítunk. Az ilyen aktiválás jellemzően egy sav és egy aktiválószer közötti reakciót foglalja magában az alábbi reakcióvázlát szerint:



ahol X egy elektronszívó molekularészt jelent. A karbonsavak legaktíváltabb származékai ezért a vegyes anhidridek, ezen belül – tágabb értelemben – a savazidok és savkloridok, amelyek a hidrogén-azid és a hidrogén-klorid mint aktiválószer vegyesanhidridjének tekinthetők. Emellett a karboxilkomponens aktiválása közbenső „aktivált észterek” képzésével is megvalósítható. Ezek az „aktivált észterek” különböző típusúak lehetnek, de a különösen hasznos „aktivált észterek” azok, amelyek d ciklohexil-karboxiimid alkalmazásával készülnek, a p-nitro-fenil-észterek, a triklór-fenil-észterek, a pentaklór-fenil-észterek, és a hidroxil-aminok O-acil-származékai, különösen az N-hidroxi-szukcinimid észterei.

Az aktiválási eljárások ezen különböző típusainak mindegyike használható a jelen találmány szerinti keresztkapcsolt HA előállítására, mivel mindezen eljárásokra jellemző, hogy egy karboxilcsoport és egy aktiválószer reakcióját foglalja magában, aminek eredményeként lényegében egy olyan helyettesítő csoport képződik, amely egy hidroxilcsoporttal könnyen reakcióba lép, így a találmány szerinti termékekre jellemző belső észterkötés könnyen kialakul; a belső észterre alakítandó karboxilcsoportok száma az aktivált karboxilcsoportok számával arányos, és ez a szám az alkalmazott aktiválószer minőségétől függ.

A keresztkapcsolt HA előállítására alkalmas előnyös eljárásra jellemző, hogy szabad vagy sóvá alakított karboxilcsoportokat egy karboxilcsoportot aktiváló szerrel, lehetőleg egy a közbenső aktivált származékok képződésének kedvező kisegítő szer és/vagy egy tercier szerves vagy szervetlen bázis jelenlétében az elegy melegítése vagy besugárzása (különösen UV fénnyel történő besugárzása) közben reagáltatunk, és kívánt esetben a szabad karboxilcsoportokat sóvá alakítjuk vagy a só formában levő karboxilcsoportokat felszabadítjuk. A karboxilcsoportok aktiválására alkalmas anyagok közül az irodalomban leírt hagyományos anyagokat alkalmazhatjuk, például azokat, amelyeket általában peptidek szintézisének használnak, kivéve azonban azokat, amelyek a kiindulási HA molekulaszerkezetét megváltoztatják vagy tönkreteszik, mint amilyeneket például a karboxil-halogenidek előállítására alkalmaznak. Az aktív észterek képződéséhez vezető előnyös anyagok például a karbodiimidek, a d ciklohexil-karbodiimid, a benzil-izopropil-karbodiimid, a benzil-etil-karbodiimid; az etoxi-acetilén; a Woodward-reagens (N-etil-5-fenil-izokazólium-3-szulfonát) vagy az alifás, cikloalifás vagy aromás szénhidrogének halogénszármazékai vagy heterogén vegyületek halogénszármazékai, ahol a halogénatomot egy vagy több aktiváló csoport mozgékonyra teszi, ilyenek a klór-acetonitril és különösen a 2-klór-N-alkil-piridin sói, például a 2-klór-N-metil-piridin kloridja vagy más alkilszármazékok rövidebb alkilcsoportokkal, így például legfeljebb hat szénatomos alkilcsoportokkal. A kloridszármazékok természetesen más halogénszármazékokkal, így bromidszármazékokkal helyettesíthetők.

Ezt az aktiválási reakciót szerves oldószerekben, különösen aprotikus oldószerekben, például dialkil-szulfoxidokban, dialkil-karboxil-amidokban, így különösen kevés szénatomos dialkil-szulfoxidokban, különösen dimetil-szulfoxidban, polimetilén-szulfoxidokban, így tetrametilén-szulfoxidban, dialkilekben vagy polimetilén-szulfonokban, így tetrametilén-szulfonban, szulfonálban és kevés szénatomos alifás savak kevés szénatomos alkilcsoportot tartalmazó dialkil-amidjaiban, ahol az alkilcsoportok legfeljebb 6 szénatomosak, így például dimetil- vagy dietil-formamidban vagy dimetil- vagy dietil-acetamidban végezhetjük. Más oldószerek szintén használhatók, és ezeknek nem kell mindig aprotikusnak lenniük, ilyenek az alkoholok, éterek, ketonok, észterek, például a kevés szénatomos alifás dialkil-oxi-szénhidrogének, így a dimetoxi-etán és

különösen az alifás vagy heterociklusos alkoholok és ketonok, amelyek alacsony forráspontúak, ilyenek a kevés szénatomos N-alkil-pirrolidonok, például az N-metil-pirrolidon vagy az N-etil-pirrolidon, a hexafluorizopropanol és a trifluor-etanol. Amennyiben halogén-származékokat használunk karboxilaktiváló anyagként, különösen sók formájában, mint a fentebb említett 2-klór-N-metil-piridinium-klorid, jobb, ha a kiindulási poliszacharid fémsóját vagy szerves bázissal alkotott sóját alkalmazzuk, különösen a későbbiekben leírt kvaterner ammóniumsók egyikét, például a tetrabutil-ammónium-sót. Ezeknek a sóknak a különös előnye, hogy azokban a fentebb említett szerves oldószerekben, amelyekben a keresztkapcsolási reakció legjobban végbemegy, jól oldódnak, és így kitűnő hozamot garantálnak. Tanácsos az elegyhez egy savmegkötő reagenst, például szerves bázisokat, karbonátokat, hidrogén-karbonátokat vagy alkálifém- vagy alkáliföldfém-acetátokat vagy szerves bázisokat, és különösen tercier bázisokat, így piridint és homológjait, például kollidint, vagy alifás aminbázisokat, így trietil-amint vagy N-metil-piperazint adni.

A kvaterner ammóniumsók alkalmazása különösen előnyös eljárást képvisel. Az ilyen ammóniumsók jól ismertek és ugyanúgy állíthatók elő, mint más ismert sók. Ezek előnyösen 1–6 szénatomos alkilcsoportokat tartalmaznak. A tetrabutil-ammónium-sók használatát részesítjük előnyben. A kvaterner ammóniumsó alkalmazását magában foglaló eljárások egyik változata szerint egy alkálifémsót, például nátrium- vagy káliumsót reagáltatunk katalitikus mennyiségű kvaterner ammóniumsóval, így tetrabutil-ammónium-jodid jelenlétében.

A karboxilcsoportok aktiválását katalizáló anyagokról, amelyeket az aktiválószerkezhöz adunk, az irodalomban számolnak be, és ezek szintén előnyösen bázisok, amelyeket korábban már említettünk. Így például amikor karboxilcsoportokat izotiazolinsókkal aktiválunk, előnyös, ha kevés trietil-amint adunk a reakció-elegyhez.

Az aktivált közbenső termékek, például és különösen észterek előállítási reakcióját az irodalomban ajánlott hőmérsékleten végezzük, ez a hőmérséklet változtatható, amennyiben a körülmények szükségessé teszik, és a szakember által könnyen meghatározható. A belső észter kötések képződése igen széles hőmérséklet-tartományban, például 0 °C és 150 °C közötti hőfokon, előnyösen szobahőmérsékleten vagy kevéssé a felett, például 20 °C és 75 °C között megy végbe. A hőmérséklet emelése, valamint a megfelelő hullámhosszúságú, például ultraibolya sugarakkal való besugárzás is kedvez a belső észterképződések kialakulásának.

A hialuronsavszubsztárt bármilyen eredetű, és a fentebb említett különböző típusok bármelyike lehet. Az előnyös HA kiindulási anyagok azok, amelyek átlagos molekulatömege 150 000 és 730 000, különösen 150 000 és 450 000 dalton közötti.

Emellett a belső keresztkapcsolás mennyisége változhat, de a találmány szerinti előnyös anyagokban a keresztkapcsolt karboxilcsoportok száma 4,5 és 5,0% közötti.

A következő példákban a találmány szerinti anyagok készítésére használható keresztkapcsolt HY termékek előállítására alkalmas eljárást írunk le.

- 5 *5. példa*
1%-ban keresztkapcsolt hialuronsav (HY)
előállítása
A termék leírása
A karboxilcsoportok 1%-át használjuk a belső észterezéshez.
- 10 A karboxilcsoportok 99%-át nátriumsóvá alakítjuk.
6,21 g HY tetrabutil-ammónium-sót, amelynek molekulatömege 170 000, és 10 mekvivalens monomeregységnek felel meg, 248 ml dimetil-szulfoxidban 25 °C-on oldunk, és az oldathoz 0,01 g (0,1 mekvivalens) trietil-amint adunk.
- 15 *6. példa*
5%-ban keresztkapcsolt hialuronsav (HY)
előállítása
A termék leírása
A karboxilcsoportok 5%-át használjuk a belső észterezéshez.
A karboxilcsoportok 95%-át nátriumsóvá alakítjuk.
- 25 6,21 g HY tetrabutil-ammónium-sót, amelynek molekulatömege 85 000, és 10 mekvivalens monomeregységnek felel meg, 248 ml dimetil-szulfoxidban 25 °C-on oldunk, és az oldathoz 0,051 g (0,5 mekvivalens) trietil-amint adunk, majd a képződött oldatot 30 percig keverjük.
- 30 0,128 g (0,5 mekvivalens) 2-klór-1-metil-piridinium-jodid 60 ml dimetil-szulfoxiddal készült oldatát lassan, 1 óra alatt a fenti oldathoz csepegtetjük, és az elegyet 15 órán át 30 °C-on tartjuk.
- 35 2,5 g nátrium-klorid 100 ml vízzel készült oldatát adjuk ezután hozzá, és a kapott elegyet lassan, folyamatos keverés közben 750 ml acetona öntjük. A képződött csapadékot kiszűrjük, és három alkalommal 100 ml aceton:víz=5:1 térfogatarányú eleggyel, majd három alkalommal 100 ml acetonnal mossuk, végül 24 órán át 30 °C-on szárítjuk.
- 40 3,95 g cím szerinti vegyületet kapunk, az észtercsoportok kvantitatív meghatározását a „Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups” című könyv (4th Edition, John Wiley and Sons) 169–172. oldalán leírt elszappanosítási módszerrel végezzük.
- 45 *7. példa*
10%-ban keresztkapcsolt hialuronsav (HY)
előállítása
A termék leírása
A karboxilcsoportok 10%-át használjuk a belső észterezéshez.
A karboxilcsoportok 90%-át nátriumsóvá alakítjuk.
- 50 6,21 g HY tetrabutil-ammónium-sót, amelynek molekulatömege 620 000, és 10 mekvivalens monomeregységnek felel meg, 248 ml dimetil-szulfoxidban 25 °C-on oldunk, és az oldathoz 0,101 g (1,0 mekvivalens) trietil-amint adunk, majd a képződött oldatot 30 percig keverjük.
- 60

0,255 g (1,00 mekvivalens) 2-klór-1-metil-piridin-ium-jodid 60 ml dimetil-szulfoxiddal készült oldatát lassan, 1 óra alatt a fenti oldathoz csepegtetjük, és az elegyet 15 órán át 30 °C-on tartjuk.

2,5 g nátrium-klorid 100 ml vízzel készült oldatát adjuk ezután hozzá, és az elegyet lassan, folyamatos keverés közben 750 ml acetona öntjük. A képződött csapadékot kiszűrjük, és három alkalommal 100 ml aceton:víz=5:1 térfogatarányú eleggyel, majd három alkalommal 100 ml acetonnal mossuk, végül 24 órán át 30 °C-on szárítjuk.

3,93 g cím szerinti vegyületet kapunk, az észtercsoportok kvantitatív meghatározását a „Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups” című könyv (4th Edition, John Wiley and Sons) 169–172. oldalán leírt elszappanosítási módszerrel végezzük.

8. példa

10%-ban keresztkapcsolt hialuronsav (HY) előállítása

A termék leírása

A karboxilcsoportok 10%-át használjuk a belső észterezéshez.

A karboxilcsoportok 90%-át nátriúmsóvá alakítjuk.

6,21 g HY tetrabutil-ammonium-sót, amelynek molekulatömege 170 000, és 10 mekvivalens monomeregységnek felel meg, 248 ml dimetil-szulfoxidban 25 °C-on oldunk, és az oldathoz 0,118 g (1,0 mekvivalens) piridin-kloridot adunk, majd a képződött oldatot 30 percig keverjük.

0,16 g (1,00 mekvivalens) N-benzil-N-etil-karbodimid 20 ml dimetil-szulfoxiddal készült oldatát lassan, 1 óra alatt a fenti oldathoz csepegtetjük, és az elegyet 45 órán át 30 °C-on tartjuk.

2,5 g nátrium-klorid 100 ml vízzel készült oldatát adjuk ezután hozzá, és az elegyet lassan, folyamatos keverés közben 750 ml acetona öntjük. A képződött csapadékot kiszűrjük, és három alkalommal 100 ml aceton:víz=5:1 térfogatarányú eleggyel, majd három alkalommal 100 ml acetonnal mossuk, végül 24 órán át 30 °C-on szárítjuk.

3,9 g cím szerinti vegyületet kapunk. Az észtercsoportok kvantitatív meghatározását a „Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups” című könyv (4th Edition, John Wiley and Sons) 169–172. oldalán leírt elszappanosítási módszerrel végezzük.

3. Bioanyagok előállítása

A következő példákban a találmány szerinti sebészeti/gyógyászati termékek előállítását írjuk le, amelyek a HA teljes benzil-észterét vagy egy auto-kereszt-kapcsolt HA-származékot vagy ezek kombinációját tartalmazzák. Amint az előzőekben említettük, a membránok, szőtt szövetek, szőtt sziták és nemszőtt szövetek előállítására alkalmas eljárást a 4 851 521 és a 4 956 353 számú amerikai egyesült államokbeli szabadalmi leírásokban, a WO 93/11804, a WO 93/11803 és a WO 94/17837 számon közzétett nemzetközi szabadalmi bejelentésekben, valamint a 0 341 745 számú európai szabadalmi leírásban ismertetnek.

9. példa

HYAFF 11-en+polipropilénszítán alapuló termék előállítása

HYAFF 11-ből dimetil-szulfoxiddal 110 mg/ml koncentrációjú oldatot készítünk. Amikor az oldódás teljesen végbement, az oldatot 20 µm-es szűrőanyagon átszűrjük, és gázmentesítés céljából vákuumban 2 órán át állni hagyjuk. Az oldatból 5 ml-t egy üveglemezre öntünk, és azon elterítünk, majd a polipropilénszítát (előnyösen 6×11 cm méretűt) a lemezre helyezzük, és a szitára további 10 ml oldatot öntünk. Ezt egyenletesen, a teljes mennyiség megőrzése mellett terítjük el a szitán.

Az üveglemezt etanol és víz 90:10 térfogatarányú elegyét tartalmazó fürdőbe merítjük, és 5 órán át hagyjuk, hogy a készítmény koaguláljon és a lemeztől elváljon; a készítményt ezt követően abszolút etanol fürdőbe merítjük 16 órán át, majd egy tálcán vákuumban 63 °C-on 30 percig szárítjuk.

10. példa

HYAFF 11 szőtt szöveten alapuló, HYAFF

11 filmmel bevont termék előállítása

HYAFF 11-ből dimetil-szulfoxiddal 110 mg/ml koncentrációjú oldatot készítünk. Amikor az oldódás teljesen végbement, az oldatot 20 µm-es szűrőruhán átszűrjük, és gázmentesítés céljából vákuumban 2 órán át állni hagyjuk. Az oldatból 5 ml-t egy üveglemezre öntünk, és azon elterítünk, majd HYAFF 11 gézt (10×20 cm méretűt) helyezünk a tetejére vigyázva arra, hogy gyűrődés- és légbuborékmentesen tapadjon, majd további 10 ml oldatot öntünk rá. Ezt egyenletesen, a teljes mennyiség megőrzése mellett terítjük el a gézen.

Az üveglemezt etanolfürdőbe merítjük, és 30 percig hagyjuk, hogy a készítmény koaguláljon és a lemeztől elváljon. A készítményt ezt követően abszolút etanolban hagyjuk 16 órán át állni, majd egy tálcán vákuumban 63 °C-on 30 percig szárítjuk.

11. példa

HYAFF 11 membrán HYAFF 7 erősítéssel

Egy kompozit membránt állítunk elő HYAFF 11 hialuronsav-benzil-észterből, azaz benzil-alkohollal 100%-osan észterezett hialuronsavból, egy szitaerősítéssel, amely hialuronsav-etil-észterből, azaz HYAFF 7-ből, etil-alkohollal 100%-osan észterezett hialuronsavból áll, amelynek alaptömege 14 mg/cm², vastagsága 0,25 mm, a minimális húzószilárdsága, illetve nyúlása száraz állapotban 400 kg/cm², illetve 7%, a minimális húzószilárdsága, illetve nyúlása nedves állapotban 50 kg/cm², illetve 55%, a szakítási szilárdsága szárazon 90 kg/cm² és nedvesen 50 kg/cm², az alábbi eljárással.

A HYAFF 7 szitát úgy állítjuk elő, hogy HYAFF 7-ből dimetil-szulfoxiddal 125 mg/ml koncentrációjú oldatot készítünk. Az oldatot egy fogaskerek adagolószivattyúval egy nedves extrudálásra alkalmas fonófejbe tápláljuk, amelyen 100 darab 65 mikron átmérőjű lyuk van.

A sokszálú extrudált anyagot egy abszolút alkoholt tartalmazó koagulációs fürdőbe vezetjük, és szállítóhengerek segítségével három egymást követő mosófürdőbe juttatjuk, amelyek szintén abszolút etanolt tartalmaznak. A harmadik henger (III) és az első henger (I) sebességének arányát húzási aránynak nevezzük, amelynek értéke 1,05, míg az egyes hengerek sebessége: 23 rpm (I. henger), 24 rpm (II. és III. henger), 25 rpm (IV. henger). Miután a sokszoros szál átjutott az öblítőfürdőkön, meleg levegővel 45 °C-on szárítjuk, és egy keresztcsévéző gépen fonjuk (8). A szál finomsági száma (deniere) 237. A sokszoros szálát azután méterenként 135 alkalommal csavarjuk, és egy szövőgépen sima kötött textíliává szőjük 14-es fonalsűrűséggel. A szövőgépről a textíliát egy kalenderbe tápláljuk, amely levékonyítja. A 2. ábra mutatja azt a szítát, amelyet ezen eljárás eredményeként kaptunk.

A polimer mátrixra két légkefe segítségével HAYFF 11 dimetil-szulfoxiddal készült, 40 mg/ml koncentrációjú oldatát permetezzük. Az így bepermetezett szítát abszolút alkoholt tartalmazó koagulációs fürdőbe, majd tiszta desztillált vizet tartalmazó öblítőkamrába és végül speciális szárítókamrába juttatjuk, amelynek hőmérséklete 50 °C (17).

12. példa

Nemszött HYAFF 11 textília

HYAFF 11 hialuronsav-benzil-észterből 40 g/m² tömegű, 0,5 mm vastagságú nemszött textíliát a következő eljárással állítunk elő.

HYAFF 11-ből dimetil-szulfoxiddal 135 mg/ml koncentrációjú oldatot készítünk egy tartályban, és fogaskerék adagolószivattyúval nedves extrudálásra alkalmas fonófejbe tápláljuk, amelyen 3000 darab 65 mikronos lyuk van.

Az extrudált szálakat egy abszolút etanolt tartalmazó koagulációs fürdőbe vezetjük. Ezután szállítóhengereken két egymást követő mosófürdőbe vezetjük, amelyek abszolút etanolt tartalmaznak. Az első henger húzási arányát 0-ra, míg a többi hengerét 1,05-re állítjuk. Amikor az anyag a mosófürdőkön átjutott, a szál-gombolyagot meleg levegővel 45–50 °C-on szárazra fúvatjuk, és egy vágószerkezettel 40 mm-es szálakra vágjuk.

Az így kapott száltömeget egy csúszdára borítjuk, amely egy kártoló/kereszttrétegző gépbe vezet, és abból az anyag 1 mm vastag és 40 mg/m² tömegű szövedékként jön ki. A szövedéket azután HYAFF 11 dimetil-formamiddal készült, 80 mg/ml koncentrációjú oldatával lepermetezzük, etanolos koagulációs fürdőbe helyezzük, majd mosókamrába, végül szárítókamrába juttatjuk.

Az anyag végső vastagsága 0,5 mm.

13. példa

HYAFF 11-ből és HYAFF 7-ből készült nemszött textília

HYAFF 7 hialuronsav-etil-észtert, és HYAFF 11 hialuronsav-benzil-észtert azonos mennyiségben tartalmazó keverékből nemszött, 200 g/m² tömegű és

1,5 mm vastagságú textíliát állítunk elő a következő eljárással.

3 mm hosszúságú HYAFF 7 és HYAFF 11 szálakat, amelyeket a 10. példa szerinti módon kaptunk, egy spirál keverőben alaposan összekeverünk. A szálak keverékét kártológépbe tápláljuk, amelyből 1,8 mm vastagságú, 200 g/m² tömegű szövedék formájában távozik.

A szövedéket egy tűs lyukasztógépen vezetjük át, amely 1,5 mm vastagságú nemszött, 200 g/m² tömegű textíliává alakítja át, amelyben a két anyag tökéletesen van összekeverve.

14. példa

Részleges és teljes benzil-észterből készült nemszött textília

HYAFF 11 hialuronsav-etil-észtert és HYAFF 11p75 részleges hialuronsav-benzil-észtert azonos %-ban tartalmazó keverékből nemszött, 40 g/m² tömegű és 0,5 mm vastagságú textíliát állítunk elő a következő eljárással.

HYAFF 11p75-öt az alábbiak szerint állítunk elő. 10 g hialuronsav-tetrabutil-ammónium-sóból, amelynek molekulatömege 620,76, és amely 16,1 nmol-nak felel meg, N-metil-pirrolidon és víz 90:10 térfogatarányú elegyével 2,5 tömeg%-os oldatot készítünk, így 400 ml oldatot kapunk. Az oldatot 10 °C-ra hűtjük, azután 30 percig tisztított nitrogént buborékoltatunk át rajta. Ezt a sötét azután 1,49 ml (12,54 mmol) benzil-bromiddal észterezzük. Az oldatot 60 órán át 15–20 °C-on gyengén rázzuk.

A tisztítást úgy végezzük, hogy etil-acetátos kicsapás és telített nátrium-klorid-oldat hozzáadása után etil-acetát és abszolút etanol 80:20 térfogatarányú elegyével mossuk a terméket. A szilárd fázist szűréssel elválasztjuk, és vízmentes acetonnal kezeljük. 6,8 g terméket kapunk, ami körülbelül 95%-os hozamnak felel meg.

40 mm hosszúságú, az 1. példában leírt eljárással kapott HYAFF 11 és HYAFF 11p75 szálakat egy spirál keverőben alaposan összekeverünk.

A szálak keverékét kártológépbe tápláljuk, amelyből az 1 mm vastag, 40 g/m² tömegű szövedék formájában távozik. A szövedéket azután HYAFF 11 dimetil-szulfoxiddal készült, 80 mg/ml koncentrációjú oldatával permetezzük, majd etanolos koagulációs fürdőbe, azután vizet vagy víz és 10–95% etanol keverékét tartalmazó mosókamrába, végül szárítókamrába visszük.

Az anyag végső vastagsága 0,5 mm, és benne a HYAFF 11 és a HYAFF 11p75 szálak tökéletesen vannak összekeverve és egymáshoz tapadva.

15. példa

HYAFF 11-alapú többrétegű nemszött szövet

Egy HYAFF 11 hialuronsav-benzil-észter rétegből és egy nemszött viszkóza (Jettex 2005, ORSA) rétegből álló 80 g/m² tömegű, 2 mm vastagságú és 560 tömeg% vízabszorpciójú többrétegű nemszött textíliát kapunk a következő eljárással.

A bőrrel kapcsolatba kerülő réteg HYAFF 11 szá-
lakból készül, amelyet nedvesfonási technikával
30 g/m² tömegű lap formájában állítunk elő. A szá-
lakat lapokká alakítjuk.

Ezt a réteget öltésekkel egy nemszőtt viszkózasző-
vet által alkotott második réteghez kapcsoljuk, amely-
nek alaptömege 30 g/m².

Az így készült nemszőtt végtermék két tökéletesen
összetapadt rétegből áll, amelynek az össztömege
80 g/m², vastagsága 2 mm, és vízábszorpciója 560 tö-
meg%.

16. példa

HYAFF 11-alapú többrétegű nemszőtt szövet

HYAFF 11 hialuronsav-benzil-észter és kalcium-al-
ginátot 1:1 arányban, valamint egy erősítő nemszőtt
polipropilén-szövetet (fonással összekötött nemszőtt
alap, 50 g/m², NEUERBERGER) tartalmazó, 70 g/m²
tömegű, 1,5 mm vastagságú és 450 tömeg% vízá-
bszorpciójú többrétegű nemszőtt szövetet állítunk elő a
következő eljárással.

40 mm hosszúságú HYAFF 11 és kalcium-alginát-
szá-
lakat, amelyeket nedvesfonó technikával kaptunk,
összekeverünk, 20 g/m² tömegű lappá alakítunk, és ölté-
sekkel egy fonással összekötött nemszőtt szövethez
rögzítünk, amelynek alaptömege 50 g/m².

A kapott anyag két nemszőtt szövetrétegből áll,
amelynek a teljes alaptömege 70 g/m², vastagsága
1,5 mm és a vízábszorpciója 450 tömeg%.

17. példa

HYAFF 11-alapú többrétegű nemszőtt szövet

HYAFF 11 hialuronsav-benzil-észter-rétegből és
egy poliuretánhab-rétegből, például LYOBEND (DEL-
CON) rétegből álló többrétegű nemszőtt szövetet,
amelynek alaptömege 100 g/m², vastagsága 6 mm és
vízábszorpciója 860 tömeg%, a következő eljárással
állítunk elő.

A bőrrel érintkezésbe kerülő réteget nedvesfonási
technikával készült HYAFF 11 szá-
lak alkotják, amely-
ket 45 g/m² alaptömegű lappá alakítunk, és öltésekkel
kapcsolunk egy második, poliuretánhab-réteghez.

A kapott nemszőtt termék két tökéletesen össze-
tapadt rétegből áll, amelynek összalaptömege 100 g/m²,
vastagsága 6 mm és vízábszorpciója 860 tömeg%.

18. példa

Membrán előállítása olyan

*hialuronsavszármazékból, amelyben a
karboxilcsoportok 80%-a benzil-alkohollal
(C₆H₅-CH₂-OH) van észterezve, a
karboxilcsoportok 10%-a belső észterkötéseket
alkot és a fennmaradó 10% nátriumsó formájában
van jelen*

6,21 g (10 mekvivalens) hialuronsav-tetrabutil-am-
mónium-sót, amelynek molekulatömege 180 000, kör-
nyezeti hőmérsékleten 248 ml dimetil-szulfoxidban ol-
dunk, az oldathoz 0,951 ml (8,0 mekvivalens) benzil-
bromidot adunk, és az oldatot 12 órán át 30 °C-on
hagyjuk állni. Ezután 0,101 g (1,0 mekvivalens) trietil-

amint adunk hozzá, és az oldatot 30 percig keverjük.
Ezt követően 0,255 g (1,00 mekvivalens) 2-klór-1-me-
til-piridinium-jodid 60 ml dimetil-szulfoxiddal készült ol-
datát adjuk az oldathoz, és az elegyet 15 órán át
30 °C-on tartjuk.

2,5 tömeg%-os vizes nátrium-klorid-oldatot adunk
ezután hozzá, és az elegyet keverés közben 750 ml
acetonba öntjük. A képződött csapadékot kiszűrjük, és
három alkalommal 100 ml aceton:víz=5:1 térfogatará-
nyú eleggyel, majd három alkalommal 100 ml acetone-
nal mossuk, végül 24 órán át 30 °C-on szárítjuk.

4,5 g kívánt terméket kapunk, a benzil-alkohol-tar-
talom kvantitatív meghatározását lúgos hidrolízist kö-
vetően gázkromatográfiásan végezzük. Az összes ész-
tercsoport-tartalmat a „Quantitative Organic Analysis
Via Functional Groups” című könyv (4th Edition, John
Wiley and Sons) 169–172. oldalán leírt elszappanosí-
tási módszerrel határozzuk meg.

Az ily módon előállított észterszármazékból dimetil-
szulfoxiddal 30 °C-on 150 mg/ml koncentrációjú oldatot
készítünk. Az oldott származékot egy 20 mikronos szí-
tán átszűrjük, és egy extrúziós reaktorba helyezzük,
amely <1 mm vastagságú filmet előállító extruderrel
van összekapcsolva. A terméket egy olyan oldószer-
tartalmazó koagulációs fürdőbe extrudáljuk, amely le-
hetővé teszi a dimetil-szulfoxidnak a termékből való
extrahálását (ilyen például az etanol), és a filmextru-
derből kapott anyagot egy hengersonra visszük, amely
ventilátorral van ellátva a membrán szárítására.

Preklinikai vizsgálatok

A következő vizsgálatok olyan eredményekről szá-
molnak be, amelyek a találmány szerinti termékek
használhatóságát mutatják műtét utáni letapadások
megelőzésében, és a korábban létező termékekhez vi-
szonyítva ezekre a termékekre vonatkozóan jobb ered-
ményekről tanúskodnak.

1. vizsgálat

Ez a vizsgálat patkánymájban indukált sebmodell-
ben megfigyelt sebészeti letapadás nagymértékű elő-
fordulását szemlélteti, amelyet pozitív kontrollként hoz-
tunk létre a HA-ból származó gyógyászati és sebészeti
cikkletapadás kialakulást megelőző hatásának
összehasonlító vizsgálatához.

Ezekhez a kísérletekhez Sprague–Dawley-patká-
nyokat használtunk, amelyek testtömege 275 és 300 g
között változott. 21 állatban idéztünk elő sérülést.

Mindegyik állatot steril körülmények között készí-
tett, hígított formában levő és intramuszkulárisan injek-
tált 100 mg/kg ketaminnal és 11 mg/kg xilazinnal érzé-
stelenítettük, majd alhasfelmetszést végeztünk.

A májat megkerestük és feltártuk; horzsolást hoz-
tunk létre az alsó lebenyén úgy, hogy vér megjelené-
sége steril tamponnal enyhe nyomást fejtettünk ki rá.
A sérült felületen végzett vérzéscsillapítás után a hasat
3,0-s selyemmel készült öltésekkel lezártuk. Az állato-
kat 7–21 nap eltelte után megöltük.

A letapadást az alapján értékeltük, hogy milyen
könnyen lehetett a szomszédos (alsó és felső) lebeny-

felületeket sebészcsipesszel egymástól eltávolítani, ehhez a következő skálát alkalmaztuk:

- 0 nincs letapadás – a két felület elkülöníthető;
 1 enyhe–közepes letapadás, a felületek csipesszel való húzással egymástól eltávolíthatók;
 2 figyelemre méltó a letapadás a két felület között, bármilyen elválasztási kísérlet a szövetek szakadását okozza.

Ebben az állatmodellben a 2 pontszámot kapott letapadásokat klinikailag szignifikánsnak tekintettük.

Ebben a pozitív kontrollcsoportban (letapadás kialakulása) a 21 állatból 17 esetében (80,9%) a letapadás képződése 2 ponttal volt értékelhető.

2. vizsgálat

Ez a vizsgálat a letapadás kialakulásának szignifikáns csökkenését szemlélteti, amikor keresztkapcsolt hialuronsavból (ACP) készült gélt vagy HYAFF 11- (HA-benzil-észter) alapú gélt önmagában vagy vérszécsillapító Surgicel™-el és 50 IU/ml heparinnal kombinációban alkalmaztunk. Az ACP-gélt a kezelendő felületre terítettük.

Az 1. példában leírt sebészeti protokollt használtuk állatmodellként az adhézió képződésének kiváltására.

A máj bal lebenyének két szomszédos felülete közötti letapadás kialakulásának szignifikáns csökkenését az 1. táblázat szemlélteti.

1. táblázat

Anyag	Állatok száma	A szignifikáns (2-es pontszámú) letapadások %-a
HYAFF 11 szőtt szövet	6	50%
HYAFF 11 szőtt szövet+Surgicel™	6	16%
HYAFF 11 szőtt szövet+Surgicel™+heparin	6	16%
HYAFF 11 szőtt szövet+heparin	6	33%
HYAFF 11 membrán (20 mm vastag)	11	36%
HYAFF 11 nemszőtt szövet+Surgicel™	6	33%
ACP	24	20%

Nyilvánvaló, hogy ezeknek a biológiai lassan lebomló bioanyagoknak a gyulladásoos sejtek számára át nem eresztő gátakként való alkalmazása a két szomszédos felület között csökkenti a letapadások kialakulását az 1. példában leírt kontrollcsoportnál megfigyelt 80,9%-os letapadási arányhoz viszonyítva.

3. vizsgálat

Ez a példa patkányokban az alhas falán indukált sebészeti sérülés modellben megfigyelt sebészeti letapadás kialakulásának gyakori előfordulását mutatja, amelyet pozitív kontrollként hoztunk létre a HA-szár-

mazékokból álló (HYAFF 11+polipropilénszita) gyógyászati cikkek letapadáskialakulást megelőző hatásának összehasonlító vizsgálatához.

- Összesen 24 (12 kontroll, 12 vizsgált) állatban indukáltunk sérülést.

Mindegyik állatot steril körülmények között készített, hígított formában levő és intramuszkulárisan injektált 100 mg/kg ketaminnal és 11 mg/kg xilazinnal érzéstelenítettük, majd alhasfelmetszést végeztünk.

- 10 A metszés bal oldali lebenyét két sebészeti csipesszel felemeltük az alhasi fal feltárására. Sebészeti ollóval a peritoneális felületből 1,5×1,5 cm-es területet eltávolítottunk, amíg váladék jelent meg, anélkül, hogy az izomköteget eltávolítottuk volna. A kontrollcsoportban szükséges volt egy polipropilénszítát (amelynek területe a sérülés területének kétszerese) 6,0-os méretű biológiai felszívódó Vycil-öltéssel a sérült felület fölé varrni az alhasfal feszítési ellenállásának biztosítására. Az anyag alkalmazása előtt a sérült felületen alapos vérszécsillapítást végeztünk.

14 nap elteltével, ami az 1. példában megadott időtartomány közepére esik, az állatokat leöltük, a letapadást a következő skála szerint értékeltük:

- 0 nincs letapadás;
 1 enyhe letapadás, de nincs érképződés, könnyen elválasztható;
 2 közepes letapadás érképződés nélkül, manuálisan széthúzható;
 3 erős letapadás, átlátszatlan és eresedett, nehéz elválasztani, csontkaparó szükséges hozzá;
 4 nagyon erős letapadás, vastag, átlátszatlan és eresedett, csak sebészeti ollóval vágható szét a szövetek roncsolása mellett.

A 2-nél nagyobb pontszámú letapadásokat szignifikánsnak tekintettük.

- A pozitív kontrollcsoportban (letapadás kialakulása) a 12 állatból 12-ben (100%) alakult ki 2-nél nagyobb pontszámmal értékelhető letapadás; míg a jelen találmány szerinti termék alkalmazása esetén az alhasfal és a belső szervek közötti letapadás kialakulásának előfordulása szignifikánsan csökkent, amint az a 2. táblázatban látható.

2. táblázat

Anyag	Állatok száma	A szignifikáns (2-es pontszámú) letapadások %-a
HYAFF 11+polipropilénszita	12	25%
Kontroll+polipropilénszita	12	100%

- 55 Nyilvánvaló, hogy a találmány szerinti fenti HYAFF 11 anyag (a gyulladásoos sejtek számára át nem eresztő) gátként való alkalmazása a sérült, belső felület (alhasfal) és a szomszédos szervek között csökkenti a letapadás kialakulását a csak polipropilénszítával kezelt kontrollcsoportban megfigyelt 100%-os letapadáshoz viszonyítva.

4. vizsgálat

Ez a vizsgálat az auto-keresztkapcsolt hialuronsav-gél formában és bevonatként való alkalmazásának a sebészeti letapadás kialakulását csökkentő képességét szemlélteti patkány vakbélben indukált sérülésmodellben.

Ez a típusú sérülés letapadás kialakulását idézi elő, amikor a műtét után csak sóoldatos mosást és vérzés-csillapítást végzünk, ahogy azt a következőkben leírjuk.

Amint az 1. példában is, 275–300 g testtömegű Sprague–Dawley-patkányokat alkalmaztunk. Mind-egyik állatot steril körülmények között készített, hígított formában levő és intramuszkulárisan injektált 100 mg/kg ketaminnal és 11 mg/kg xilazinnal érzéstenítettük, majd alhasfelmetszést végeztünk. A vakbél megkerestük és feltártuk. A bél felületén hő okozta sérülést hoztunk létre szilárd testtel, 1 cm átmérőjű rézkoronggal, amelyet elektronikusan 69,5 °C-ra állított forrasztókészülékhez kapcsoltunk. Ezt a korongot a bél falával 15 másodpercig tartottuk érintkezésben. Ily módon jól meghatározott sérülést okoztunk és váladék-képződést indukáltunk. A sérült területet sóoldattal mostuk, a vérzést Surgicel™-el csillapítottuk, az alhast 3,0-s méretű selyemmel összeöltve lezártuk.

14 nap elteltével, az 1. példában említett időintervallum közepén az állatokat megöltük, a letapadást a következő skála alapján értékeltük:

- 0 nincs letapadás;
- 1 enyhe letapadás, de nincs érképződés, könnyen elválasztható;
- 2 közepes letapadás érképződés nélkül, manuálisan széthúzható;
- 3 erős letapadás, átlátszatlan és eresedett, nehéz elválasztani, csontkaparó szükséges hozzá;
- 4 nagyon erős letapadás, vastag, átlátszatlan és eresedett, csak sebészeti ollóval vágható szét a szövetek elroncsolása mellett.

A 2-nél nagyobb pontszámú letapadásokat szignifikánsnak tekintettük.

A gátként használt ACP-gél alkalmazásakor nyilvánvaló csökkenés következett be a letapadás kialakulásában a sóoldattal mosott és csak a vérzés csillapításával kezelt kontrollokhoz viszonyítva (3. táblázat).

3. táblázat

Anyag	Állatok száma	A szignifikáns (2-es pontszámú) letapadások %-a
Kontroll (sóoldat+vérzés-csillapítás)	17	70%
ACP	11	40%

Nyilvánvaló, hogy a fenti anyag gátként való alkalmazása csökkenti a letapadás kialakulását a sóoldattal mosott és csak a vérzés csillapításával kezelt kontrollhoz viszonyítva.

5. vizsgálat

A HYAFF–7 és HYAFF

11p75 hialuronsavszármazékok hatása a májlézió patkánymodellben a műtét utáni letapadások megelőzésében

Állatmodell

Hím Harlan SD patkány, testtömege 250 g.

A sérülés típusa

- 10 Az alhasi területet jóddal alaposan megtisztítottuk, majd körülbelül 3 cm hosszúságban az alhast felmetstettük a máj feltárása. A máj jobb lebenyét felsértettük, és steril faspatulával a vér megjelenéséig horzsolgattuk.

Vizsgálandó anyagok

- 15 1. kísérlet
HYAFF 11p75, a hialuronsav 75%-os részleges benzil-észtere gél és nemszött szövet alakjában.
- 20 2. kísérlet
HYAFF 7, a hialuronsav teljes etil-észtere gél és nemszött szövet alakjában.

Az anyag alkalmazása

- Egy szokásos hemosztatikummal végzett vérzés-csillapítás után a vizsgálandó és kontrollanyagokat a máj alsó (sebes terület) és felső lebenye (érintkezézfelület) közé helyeztük öltések nélkül, úgy hogy egy gátat képezzen és megakadályozza letapadás kialakulását.

Értékelések és megfigyelések

A műtét után hét és 21 nap közötti időben végeztünk megfigyeléseket. A kialakult letapadásokat a következő vizuális skála szerint értékeltük:

- 0 nincs letapadás,
- 35 1 enyhe letapadás,
- 2 figyelemre méltó letapadás.

A letapadásra adott pontértékek mellett a gyulladás mértékét is megállapítottuk mikroszkopikus megfigyeléssel (az anyag alkalmazására adott szövetreakció), a hisztológiai minták hematoxilinnel/eozinnal és Mallory-féle tripla festékekkel történő festésével.

Eredmények

1. kísérlet
- 45 Az 1. kísérletben a HYAFF 11p75-ön, a hialuronsav részleges benzil-észterén alapuló anyagokat önmagukban, Surgicel vérzéscsillapítóval kombinációban és a vérzéscsillapítóval és heparintelítéssel (1,00 U/ml) együtt alkalmaztuk. Ezek az eljárások általánosak a sebészeti gyakorlatban.

- 50 Az 1. ábra olyan grafikon, amely a bioanyagok akkor kifejtett hatását mutatja, amikor azokat önmagukban alkalmaztuk. A HYAFF 11p75-alapú és Interceed bioanyagok alkalmazása esetén nem figyeltünk meg letapadást megelőző hatást, és még ha a trend jobbnak is látszott, bár szignifikánsan nem különbözött az utóbbi esetben, a májlebenszövet teljesen össze volt tapadva, és szignifikáns gyulladásos reakció volt látható. Ugyanezt figyeltük meg a biopsziák hisztológiai vizsgálatánál, ahol gyulladásos sejtek, neutrofilek és makro-

fágok figyelemre méltó jelenléte volt észlelhető, és érett kollagén szálak voltak láthatók.

A 2. és 3. ábrán az anyagok Surgicellel és Surgicellel és heparinnal kombinációban voltak alkalmazva. Az 1. ábrán megfigyelt trendet a HYAFF 11p75-alapú anyagok bizonyították, míg a heparinnal telített Interceed láthatóan jobb hatást fejtett ki. Ezt a helyzetet erősítették meg a hisztológiai megfigyelések.

Következésképpen a HYAFF 11p75-alapú anyagok nem használhatók a műtét után letapadások megelőzésében, mivel a gyulladások hatására feltehetően kis molekulatömegű hialuronsavoligomerek felszabadulásának köszönhető, a termékek rendkívül rövid lebomlási ideje következtében.

2. kísérlet

A 2. kísérletben HYAFF 7 hialuronsav-etil-észterrel alapuló bioanyagokat vizsgáltunk Surgicellel és Surgicellel és heparinnal kombinációban. Egyik esetben sem mutatkozott a műtét utáni letapadásokat megelőző hatás. Az Interceed Surgicellel és heparinnal együtt alkalmazva mutatta a legpozitívabb hatást (4. ábra).

A mikroszkopikus megfigyelések igazolták ezeket az adatokat, és jelentős mennyiségű gyulladásos sejtet és kollagén szálakat mutattak a HYAFF 7-tel végzett kezelésnél. Ebben az esetben, a HYAFF 7-en alapuló bioanyagok nem használhatók műtét utáni letapadások megelőzésében, mivel feltehetően fokozódó mennyiségben adnak le etanolt a szervezetbe.

6. vizsgálat

HYAFF 11-alapú bioanyagok hatékonysága műtét utáni letapadás megelőzésében két különböző állatban indukált sebmodellben: 1) intrahepatikus sérülés patkányban; 2) alhasfal léziója patkányban
1. állatmodell

Az alhasi területet jóddal és etanollal fertőtlenítettük, majd egy medián metszést végeztünk a máj feltárására.

Ebben az állatmodellben a máj alsó lebenyének belső felületét addig kapartuk, amíg váladék képződése indult meg. A sérülés vérzését Tabotamppal (Ethicon) gondosan csillapítottuk, és az anyagot a sérült felületen hagytuk varrás segítségével nélkül, mivel a termék nagymértékben tapadt a nyálkahártyához.

Két HYAFF 11-alapú terméket vizsgáltunk, mindkettő egy 20 µm vastag, folytonos membrán kereskedelmi változata, a nevük Transprocess és Hyalobarrier 20. A műtét után 14 nappal makroszkopikus értékelést végeztünk a fentebb leírt pontrendszer alapján, hogy meghatározzuk a letapadásokat. Értékeltek továbbá a 2 pontos letapadású állatok százalékát is (szignifikáns letapadás).

Eredmények

Az 5. ábra olyan grafikon, amely a kísérletben kapott letapadási pontszámokat mutatja. A Hyalobarrier 20 csökkenti a letapadás kialakulásának előfordulását a nem kezelt kontrollokhoz és a két nagy és kis molekulatömegű hialuronsavhoz viszonyítva. Hasonló trend volt megfigyelhető, bár statisztikusan nem szignifikáns

különbségekkel a másik HYAFF 11 alapú anyag, a Transprocess esetében is. A 6. ábra az egyes kezelési csoportokban 2 ponttal értékelt letapadások %-át mutatja (sebészeti szignifikáns letapadás). Az előző görbe által mutatott tendenciát bizonyítja ez az eset is, a 2-es pontértékű letapadás csökkenése kisebb mint 50% a Hyalobarrier 20-szal és a Transprocess-szel végzett kezelés hatására.

2. állatmodell

Miután az alhasi területet jóddal és etanollal fertőtlenítettük, egy medián metszést végeztünk körülbelül 5 cm hosszúságban az alhasfal és a peritoneum feltárása érdekében.

Egy 2 cm×2 cm méretű kimetszést végeztünk csontkaparóval, és azután a peritoneumot és az izomréteget eltávolítottuk. Az ilyen típusú műtétben a megsérült területre olyan anyagot kell varratokkal rögzíteni, amely elősegíti a szövetnövekedést, miközben megfelelő feszítési szilárdságot biztosít ahhoz, hogy a peritoneális fal összeesését elkerüljük. Általában polimer mátrixú nem lebontható anyagokat alkalmazunk, ilyen például a polipropilén, poliészter vagy expandált politetrafluor-etilén-szita. Az ilyen anyagok önmagában való alkalmazása azonban nem elegendő a bélhurkokhoz való letapadás elkerüléséhez, aminek eredményeként bélelzáródás és krónikus fájdalom alakul ki.

A műtét után 14 nappal makroszkopos becsléseket végeztünk 0-tól 4-pontig terjedő letapadási skála alkalmazásával. Meghatároztuk továbbá azon állatok %-át, amelyek a letapadásra 2-nél nagyobb pontszámot kaptak szignifikáns letapadás).

Eredmények:

Ez a kísérlet azt szemlélteti, hogy egy szintetikus Prolene szitára (polipropilénszita, széles körben alkalmazták az alhasi sebészetben) felvitt HYAFF 11 bevonat és HYAFF 11 lemez egy Prolene szitán varrattal rögzítve csökkentheti a műtét utáni letapadás kialakulását. A 7. ábra a Hyalobarrier Plus kombinált termék (HYAFF 11 prolénre felvive és koagulálva) és a Hyalobarrier film prolénre varrva szignifikánsan csökkenti a letapadásokat a prolénszita-hoz magához hasonlítva. A 8. ábra igazolja ezt a trendet, mivel a 2-nél nagyobb pontszámmal értékelt letapadások százaléka kisebb a HYAFF 11-es kezelést követően, mint amit a prolénszita önmagában való alkalmazása után megfigyeltünk.

7. vizsgálat

ACF gél bioanyagok hatása műtét utáni letapadás kialakulásának megelőzésében a 14. napon patkánymájsérülés modellben és patkánybél-sérülés modellben

Ennek a vizsgálatnak a célja az ACP gél-alapú bioanyagok hatékonyságának értékelése műtét utáni letapadások kialakulásának csökkentését vagy megelőzését illetően. A vizsgált anyagok hatását a nagy molekulatömegű hialuronsavhoz és a kereskedelembe kapható bioanyagéhoz, az oxidált regenerált cellulózéhoz (TC 7 Interceed*) hasonlítottuk, amelyeket az alhasi

és nőgyógyászati sebészetben alkalmaznak letapadás kialakulásának megelőzésére.

Patkánymájsérülés modellt és patkánybelsősérülés modellt alkalmaztunk, mivel ezek jellemzett kísérletes letapadás indukciós modellek. A vizsgált és kontrollanyagoknak a műtét utáni letapadást megelőző hatását a lézió helyének szabad szemmel történő megfigyelése alapján letapadási pontszám megállapításával értékeltük.

Patkánymájsérülés modellt (1. kísérlet) és patkánybelsősérülés modellt (2. kísérlet) alkalmaztunk, mivel ezek standardizált és reprodukálható modelljei a kísérletes letapadás indukálásának. Az ACP-alapú bioanyagokat a sérülés után gátként alkalmaztuk a májlebeny és a belső szervek érintkező felülete között.

Mindkét kísérletben az ACP-gélek letapadáskialakulást megelőző vagy csökkentő hatását a TC7 Interceeddel, a felszívódó oxidált cellulózletapadási gáttal, amelyet a klinikai gyakorlatban széles körben alkalmaznak, egy „Thermogel” nevű kopolimer oldattal, egy nagy molekulatömegű hialuronsavval és kezeletlen állatok (nem valódi operáltak) egy csoportjával összehasonlítva vizsgáltuk.

1. kísérlet – Patkánymájsérülés

Vizsgált anyagok	1	2
Termékkód	SMK 0002	SMK 0002
Általános név	ACP-gél	ACP-gél
Kereskedelmi név	Hyalogel Barrier	Hyalogel Barrier
Szállító	FAB	FAB
Sarzs szám	101/96	104/96
Lejárat i idő	20-02-96	20-02-96
Tárolás	30 °C alatt	30 °C alatt
Óvintézkedés	nincs	nincs

Az ACP-géleket vízben szuszpendáltuk 60 mg/ml koncentrációban. A vizsgált anyagokat autoklávozással sterilizált formában és 5 ml-es fecskendőben bocsátották rendelkezésre, és az alkalmazás is steril körülmények között történt. Az ACP-géleket a megsebesített májlebeny felületére vittük fel Tabotamp®-pal történő vérzéscsillapítás után. Mindegyik állat a sérült terület teljes bevonásához elegendő mennyiséget (körülbelül 2 ml-t) kapott a műtétet követően, egyetlen adagban.

Kontroll- anyagok	1	2	3
Kereskedelmi név	TC7	HYAL	Thermogel
Előállító/ Szállító	Johnson & Johnson Patent Care New Brun- swick NJ	FAB	BASF Pharma
Leírás	oxidált rege- nerált cellu- lóz választó- lemez	hialuronsav (móltömeg: 800 000)	pluronsav

Kontroll- anyagok	1	2	3
Sarzs szám	2710TCM	0108 st	1/95
Lejárat i idő	11-97	05-97	–
Tárolás	30 °C alatt	30 °C alatt	8 °C alatt
Óvintézkedés	nincs	nincs	

Az Interceedet steril körülmények között vágtuk fel, önmagában és heparinnal (500 U/ml) telítve alkalmaztuk úgy, hogy a májlebenyek két érintkező felületét külön tartsa, és olyan méretben, hogy néhány mm-rel túlérjen a sérült terület határain. A HYAL-t, a nagy molekulatömegű hialuronsavat (vízzel készült 10 mg/ml koncentrációjú oldat formájában) és a Thermogelt steril fecskendőben kiszerveelve vásároltuk.

Az Interceedet közvetlenül, sebészeti varrás nélkül alkalmaztuk. A HYAL hialuronsavat és a Thermogelt a vérzéscsillapítás után fecskendőből bevonatként vittük fel a sérült felületre. Mindegyik állat a műtét után, egyetlen adag formájában elegendő mennyiséget kapott az anyagokból ahhoz, hogy azok teljesen bevonják vagy befedjék a sérült területet.

Kísérlettervezés

275–300 g testtömegű Sprague–Dawley-patkányokat alkalmaztunk ehhez a kísérlethez. Az előző kísérleteknél szerzett tapasztalatok alapján a 14 napos időszakot elegendő hosszúnak találtuk a letapadás kialakulásának értékelésére ebben az állatmodellben. Az ehhez a vizsgálathoz szükséges állatok száma miatt az állatokat egymást követő napokon készítettük elő.

Összesen 78 állatot használtunk a következő séma szerint:

Csoport	Kezelés	Az állatok száma
Nem valódi operáltak	kezeletlen	12
Kontrollok	TC7 Interceed™ magában	12
Kontrollok	TC7 Inter- ceed™+heparin	6
Kontrollok	HYAL®	12
Kontrollok	Thermogel	12
Kezelt	ACP 5% (sarzs szám: 101/96)	12
Kezelt	ACP 5% (sarzs szám: 104/96)	12

Az állatok előkészítése

Az állatokat intramuszkulárisan beadott ketamin (Gellini Pharmaceutical)/xilazin (Bayer) injekcióval érzéstelenítettük, megborotváltuk, majd jóddal etanollal fertőtlenítettük. A bal oldalon hasfelmetszést

végeztünk, a máj bal lebenyét felfordítottuk, és a bal és középső lebenyének belső felületét fa applikátorral gyengéden dörzsöltük, amíg vér vagy szérumváladék jelent meg.

Az anyagok adagolása

Surgicel®-el vagy Tabotamp™-pal végzett vérzés-csillapítás után az anyagokat a két lebeny felülete közé helyeztük úgy, hogy fedje a két sérült területet és gátat képezzen a lebenyek között.

A műtét helyét két rétegben 3,0-as selyemöltésekkel zártuk le.

A műtét végén antibiotikumot (Procacillint, 30 000 IU/patkány mennyiségben szubkután) és fájdalomcsillapítót (Temgesicet 0,05 mg/kg mennyiségben intramuszkulárisan) adagoltunk 4 napon át.

A letapadás mértéke

14 nappal a műtét után az állatokat CO₂-dal megöltük.

A letapadás mértékét szabad szemmel végzett megfigyelés alapján értékeltük. A következő pontértékeket alkalmaztuk:

0 =nincs letapadás,

1 =kis–közepes mértékű letapadás. A két májlebenyt sebészetiileg választottuk el csipesszel történő mechanikai széthúzással,

2 =jelentős letapadás, a két májlebeny teljesen összetapadt, bármilyen elválasztási kísérlet a szövet elszakadását okozta.

Az anyagok reszorbeálódó képességét az anyagok jelenlétének vizuális értékelésével becsültük, továbbá a kezelés helyéről fényképfelvételt készítettünk.

A szemrevételezés után magát a májat sebészeti úton eltávolítottuk, és 48 órára 10%-os pufferezett formalinoldatba helyeztük. A fixálás után a májból boncolókéssel 2,0 mm-es metszetet készítettünk, amely magában foglalta a sérült területet, és az így kapott mintát hisztológiai analízisnek vetettük alá.

A szövet analízise

Hisztológiai analízis

A mintát semleges, puffert 10%-os formalinoldatban fixáltuk, majd dehidratáltuk, és standard módszerrel paraffinba ágyztuk; 8 µm-es metszetet Masson-féle Trichnomet-mal (a szövet gyulladásos reakciójának kimutatására) és szükséges esetben toluidinkékkel (anyagmaradékok jelenlétének megállapítására) festettünk.

2. kísérlet: Patkánybelen okozott égési sérülés

Vizsgált anyagok	1	2
Termékkód	SMK 0002	SMK 0002
Általános név	ACP 5% nagy molekulatömegű	ACP 5%

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

Vizsgált anyagok	1	2
Kereskedelmi név	Hyalogel Barrier	Hyalogel Barrier
Szállító	FAB	FAB
Sarzsaszám	3/94	ACP 5% 101/94
Lejárat idő	07/95	07/95
Tárolás	30 °C alatt	30 °C alatt
Óvintézkedés	nincs	nincs

A nagy molekulatömegű ACP 5% gél (sarzsaszám 3/94) 20 mg/ml koncentrációban, az ACP 5%-os gél (sarzsaszám 101/94) pedig 50 mg/ml koncentrációban vízben szuszpendáltunk. Mindegyik vizsgálati anyagot autoklávozással sterilizett formában és 5 ml-es fecskendőben kisserelve kaptuk, és az alkalmazás is steril körülmények között történt. Tabotamp®-pal végzett vérzéscsillapítás után a megégett bőrfelszín az ACP-gélekkel bevontuk. A műtét után mindegyik állat egyetlen alkalommal a sérült terület bevonásához elegendő mennyiséget (körülbelül 2 ml-t) kapott.

Kontrollanyagok

Kereskedelmi név	TC7	HYAL	Thermogel
Előállító/Szállító	Johnson & Johnson Patent Care New Brunswick NJ	FAB	BASF Pharma
Leírás	oxidált regenerált cellulóz választólemez	hialuronsav (móltömeg: 1 200 000)	pluronsav
Sarzsaszám	2710TCM	0108 st	1/94
Lejárat idő	11-97	05-97	–
Tárolás	30 °C alatt	30 °C alatt	8 °C alatt
Óvintézkedés	nincs	nincs	

Az Interceedet steril körülmények között vágtuk fel, önmagában és heparinnal (500 U/ml) telítve alkalmaztuk úgy, hogy a májlebenyek két érintkező felületét külön tartsa, és olyan méretben, hogy néhány mm-rel túlérjen a sérült terület határain. A HYAL-t, a nagy molekulatömegű hialuronsavat (vízzel készült 10 mg/ml koncentrációjú oldat formájában) és a Thermogelt steril fecskendőben kisserelve vásároltuk.

Az Interceedet közvetlenül, sebészeti varrás nélkül alkalmaztuk. A HYAL-t, a hialuronsavat és a Thermogelt a vérzéscsillapítás után fecskendőből bevonatként vittük fel a sérült felületre. Mindegyik állat a műtét után, egyetlen adag formájában elegendő mennyiséget kapott az anyagokból ahhoz, hogy azok teljesen bevonják vagy befedjék a sérült területet.

Kísérlettervezés

275–300 g testtömegű Sprague–Dawley-patkányokat alkalmaztunk ehhez a kísérlethez. Az előző kísérleteknél szerzett tapasztalatok alapján a 14 napos időszakot elegendő hosszúnak találtuk a letapadás kialakulásának értékelésére ebben az állatmodellben. Az ehhez a vizsgálathoz szükséges állatok száma miatt az állatokat egymást követő napokon készítettük elő.

Összesen 59 állatot használtunk a következő séma szerint:

Csoport	Kezelés	Az állatok száma
Nem valódi operáltak	kezeletlen	10
Kontrollok	TC7 Interceed™	6
Kontrollok	hialuronsav móló-meg 1 200 000	12
Kontrollok	Thermogel	13
Kezelt	ACP 5% (sarzsszám: 101/94)	12
Kezelt	ACP 5% nagy molekulatömegű (sarzsszám: 3/94)	6

Az állatok előkészítése

Az állatokat intramuszkulárisan beadott ketamin (Gellini Pharmaceutical)/xilazin (Bayer) injekcióval érzéstelenítettük, megborotváltuk, majd jóddal etanolal fertőtlenítettük. A bal oldalon a középvonal mentén hasfelmetszést végeztünk a bőr- és izomszöveten keresztül a bél feltárására. Egy elektromosan szabályozott fűtésű (1 cm átmérőjű) rézkoronggal standard nyomáson 15 másodperc alatt 158 °F-on (69,3 °C-on) a vakbelen égési sérülést okoztunk.

Az anyagok adagolása

Surgicel®-el vagy Tabotamp®-pal végzett vérzéscsillapítás után a vizsgálandó és kontrollanyagokat a bél felületére varrás nélkül helyeztük úgy, hogy fedje a teljes égett területet és gátat képezzen a peritoneum és a belső szervek között.

Az izomhashártya réteget folyamatos 3–0-as selyem öltésekkel, a bőrreteget bőrkapcsokkal és megsebzített 3–0-as selyem öltésekkel zártuk le.

A műtét végén antibiotikumot (Procacillint, 30 000 IU/patkány mennyiségben szubkután) és fájdalomcsillapítót (Temgesicet 0,05 mg/kg mennyiségben intramuszkulárisan) adagoltunk 4 napon át.

A letapadás mértéke

14 nappal a műtét után az állatokat CO₂-dal megöltük.

A letapadás mértékét szabad szemmel végzett megfigyelés alapján értékeltük. A következő pontértékeket alkalmaztuk:

0 =nincs letapadás,

1 =kis letapadás, avaszkuláris, könnyen szétválasztható,

2 =közepes letapadás, avaszkuláris, folyamatos, manuálisan szétválasztható,

3 =átlátszatlan, vaszkuláris, nehéz szétválasztani, csontkaparó szükséges hozzá,

4 =sűrű, átlátszatlan, vaszkuláris, csak sebészollóval és a szövet megsértésével választható szét.

Az anyagok felszívódóképességét az anyagok jelenlétének vizuális becslésével értékeltük; továbbá a kezelés helyéről fényképfelvételt készítettünk.

Eredmények

1. kísérlet

Egy állat elpusztult az altatás alatt, a bioanyagok behelyezése könnyen megvalósítható volt. Az anyagoknál észleltük, hogy az alsó májleány szövetéhez tapadtak. Az ACP-vel kezelt állatokban a műtét után nem észleltük klinikai jelét betegségnek vagy szenvedésnek.

Két állat, amelyet hialuronsavval kezeltünk, a műtét után két nappal elpusztult. A nekroszkopikus vizsgálat belső vérzést mutatott.

A letapadás kialakulásának értékelése

A szövetsérülést követően a májleány két érintkező felülete között a letapadás kialakulását 14 nap elteltével értékeltük. Minden kezelésre használt lebomlott a megfigyelés idejére; a letapadási pontszám (9. ábra) az ACP 5% (sarzsszám: 104/96) bioanyaggal kezelt állatokban szignifikánsan alacsonyabb, mint bármelyik kontrollanyag és a kezeletlen kontroll esetében. Az ACP 5% (sarzsszám 101/96) anyaggal végzett kezelésben a letapadás csökkenése felülmúlta a heparinnal telített TC 7 Interceed esetében bekövetkező csökkenést, de a különbség nem volt statisztikus; mégis mindkét kezelés szignifikáns különbséget mutat ($p < 0,05$), ha a kontrollokhoz és a kezeletlenekhez hasonlítjuk.

Hisztomorfológiai megfigyelések

A műtét után 14 nappal végzett mikroszkópos vizsgálat során az ACP kezelőanyagokat nagyon biokompatibilisnek találtuk, és nagyon kis mértékű gyulladásos reakciót figyeltünk meg, közelebbről néhány gyulladásos sejt, így neutrofil és óriássejtek voltak jelen, a két leány közötti hézagban ezen sejtek vándorlása vagy feldúsulása nem volt megfigyelhető, a TC 7 Interceed* szövetreakciót sok esetben azért mutatott, mert a májfelületek részlegesen összeragadtak; a szkópos megfigyelés szervezett kollagén szálak jelenlétét emelte ki, a gyulladásos reakció csökkenni látszik, ha a kezelést heparinoldattal telített anyaggal végezzük. A lemezek többségében a bioanyagok biológiai teljesen lebomlottak tűntek. A kezeletlen kontroll közepes–nagy gyulladásos reakciót mutatott.

2. kísérlet

Összesen 2 állat pusztult el az érzéstelenítő beadása során, a bioanyagok behelyezése egyszerűen volt megoldható, és ezek a behelyezés után nem mozdultak el. Az állatok ACP kezelési csoportjában a műtét után betegségnek vagy szenvedésnek klinikai jele nem volt észlelhető.

Négy $1,2 \times 10^6$ móltömegű hialuronsavval és három Thermogel®-el kezelt állat pusztult el a műtét utáni második és ötödik nap között. A nekroszkópikus vizsgálat belső vérzést mutatott ki mindegyik állatban.

A letapadás kialakulásának értékelése

Ebben a kísérletben, 14 nappal a műtét után (10. ábra), a 101/94 és 3/94 sarzsszámú ACP 5% gélek csökkentették a műtét utáni letapadás kialakulását az $1,2 \times 10^6$ móltömegű hialuronsavval kezelt és a kezeletlen kontrollhoz képest, az ACP gélek hatása egy heparinnal telített Interceed gáttal volt összemérhető, statisztikus különbség volt kimutatható ezen kezelések és a kezeletlen kontrollcsoportok között ($P < 0,05$); mindegyik kezeléshez és kontrollhoz használt anyag teljesen felszívódott.

Hisztomorfológiai megfigyelés:

A 14. napon végzett megfigyelés során az ACP-kezelések alacsony szövetyulladásos reakciót mutattak, a sarjszövet vastagsága nagyon kicsiny volt, és a bélben kedvezőtlen reakció, így a szomszédos peritoneális felülethez való tapadás nem volt észlelhető. A kollagén szálak szerveződni kezdtek, és a gyógyulási folyamat teljessé vált. Egy gyulladásos reakciót figyeltünk meg a hialuronsavas kezelésekben, ahol jelentős mennyiségű kollagén szál volt jelen, amely letapadást indukált; egy vastag sarjszövet volt látható. Ugyanilyen hisztomorfológiai megjelenést figyeltünk meg a kezeletlen kontrollokban.

Megbeszélés

A letapadás kialakulása az alhasi sebészeti műtétek követő betegségek vezető okai közé tartozik, amely gyakran vékonybél-elzáródáshoz és más fontos patológiákhoz vezet. Amikor a hasi szervek ebben részt vesznek, ezek a letapadások tökéletlen fiziológiai működést és terméketlenséget, eredményezhet. A műtét utáni letapadás kialakulásának és újraképződésének mechanizmusa továbbra is alig érthető. A kísérleti bizonyíték feltételezi, hogy letapadások két sebészeti sérült felület között a természetes lerakódásban a gyógyulási folyamat során alakulnak ki, mivel hatékonyabb két szövetreparálási helyet egyetlen gyógyulási helyé egyesíteni, ami a két szomszédos felület között összeolvadó letapadásokat eredményez.

Ebben a vizsgálat sorozatban azt találtuk, hogy hagyományos sebészeti vérzéscsillapító szerek (Surgicel®) műtét utáni alkalmazása és ezt követően biológiai lebontható hialuronsavszármazékból készült gát behelyezése megelőzi a letapadások kialakulását. Emellett az anyagok fibrinolitikus szerekkel együtt is alkalmazhatók. A letapadás csökkenése kedvezőbb, mint az oxidált regenerált cellulóz TC 7 Interceed* anyag alkalmazása esetében.

A HYAFF® 11 bioanyagok jó biokompatibilitást és nagyon kis mértékű gyulladást mutattak. A vizsgált FAB bioanyagok lebomlásának mértéke eltérő volt, és a kezelésre használt anyag különböző fizikai formájától függött; a HYAFF 11® bioanyagok több hétig megma-

radtak. A szabályozott lebomlási sebesség tartománya, amely ezekkel a hialuronsavszármazékokkal elérhető, jól kihasználható lehet különböző anatómiai helyek és alkalmazások esetében, például nőgyógyászati és alhasi területeken a műtét utáni letapadások megelőzésére.

Az eredmények azt feltételezik, hogy a hialuronsavszármazékok (HYAFF® 11 gél és membránok) szerepet játszanak a műtétet követő letapadás kialakulásának megelőzésében.

A találmány, amelyet ilyen formában írtunk le, nyilvánvalóan sokféleképpen változtatható. Az ilyen változtatásokat nem tartjuk a találmány szellemétől és körétől eltávolodónak, és minden olyan módosítást, amely a szakember számára nyilvánvaló, a következő igénypontok által meghatározott körbe tartozónak tekintünk.

SZABADALMI IGÉNYPONTOK

1. Kompozit bioanyag szövetek sebészeti letapadásának megelőzésére, amely hialuronsav-benzil-észter tartalmaz, ahol a hialuronsav karboxilcsoportjainak 75–99%-a benzilcsoporttal észterezett, és a karboxilcsoportok legfeljebb 25%-a 10–20 szénatomos alifás alkohol alkilcsoportjával észterezett, azzal a megkötéssel, hogy a karboxilcsoportok legalább 80%-a észterezett, és a bioanyag gél, membrán, szita vagy szőtt vagy nemszőtt szövet formájú vagy ezek kombinációja.

2. Az 1. igénypont szerinti kompozit bioanyag, ahol a származék olyan benzil-észter, amelyben a karboxilcsoportok 80%-a benzilcsoporttal észterezett.

3. Az 1. igénypont szerinti kompozit bioanyag, ahol a származék olyan benzil-észter, amelyben a karboxilcsoportok 75%-a benzilcsoporttal észterezett, és a karboxilcsoportok fennmaradó 25%-a 10–20 szénatomos alifás alkohol alifás csoportjával észterezett.

4. A 3. igénypont szerinti kompozit bioanyag, ahol az alkohol sztearil- vagy palmitil-alkohol.

5. Az 1–4. igénypontok bármelyike szerinti kompozit bioanyagnak vagy hialuronsav belső keresztlycsatolt származékát tartalmazó kompozit bioanyagnak, ahol a hialuronsav karboxilcsoportjainak 0,5–20%-a ugyanazon vagy más hialuronsavmolekula hidroxilcsoportjához van keresztlycsatolva, és ahol a bioanyag gél, membrán, szita vagy szőtt vagy nemszőtt szövet formájú vagy ezek kombinációja, a felhasználása műtét utáni szövetletapadások megakadályozására szolgáló készítmény előállítására.

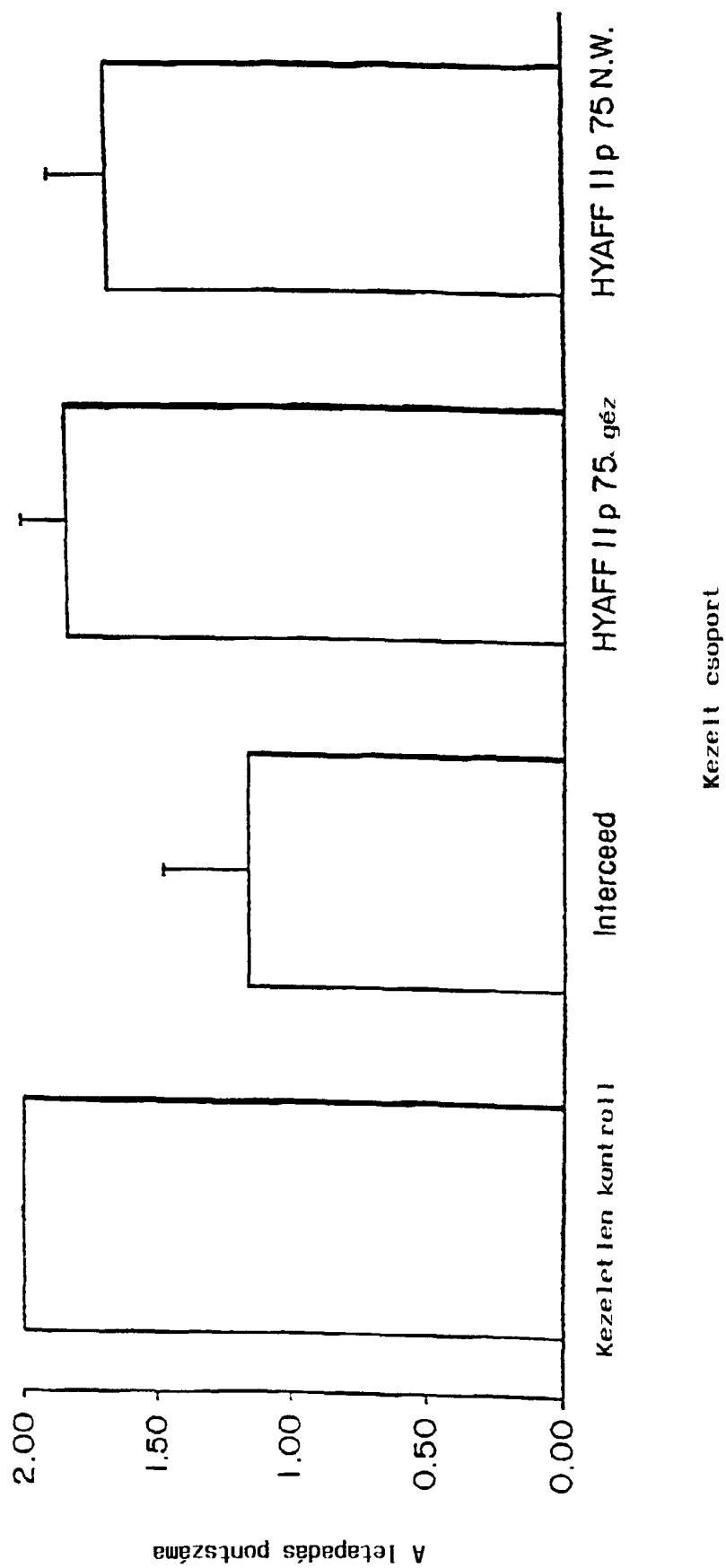
6. Az 5. igénypont szerinti felhasználás, ahol a belső keresztlycsatolt származékban a hialuronsavmolekula karboxilcsoportjainak 4,5–5%-a van keresztlycsatolva.

7. Az 1–4. igénypontok bármelyike szerinti kompozit anyag vagy az 5. vagy 6. igénypont szerinti felhasználás, ahol a kompozit anyag biológiai le nem bontható szintetikus polimert is tartalmaz.

8. A 7. igénypont szerinti kompozit anyag vagy felhasználás, ahol a szintetikus polimert a polipropilén, polietilén, poliészter és poli(tetrafluor-etilén) közül választjuk.

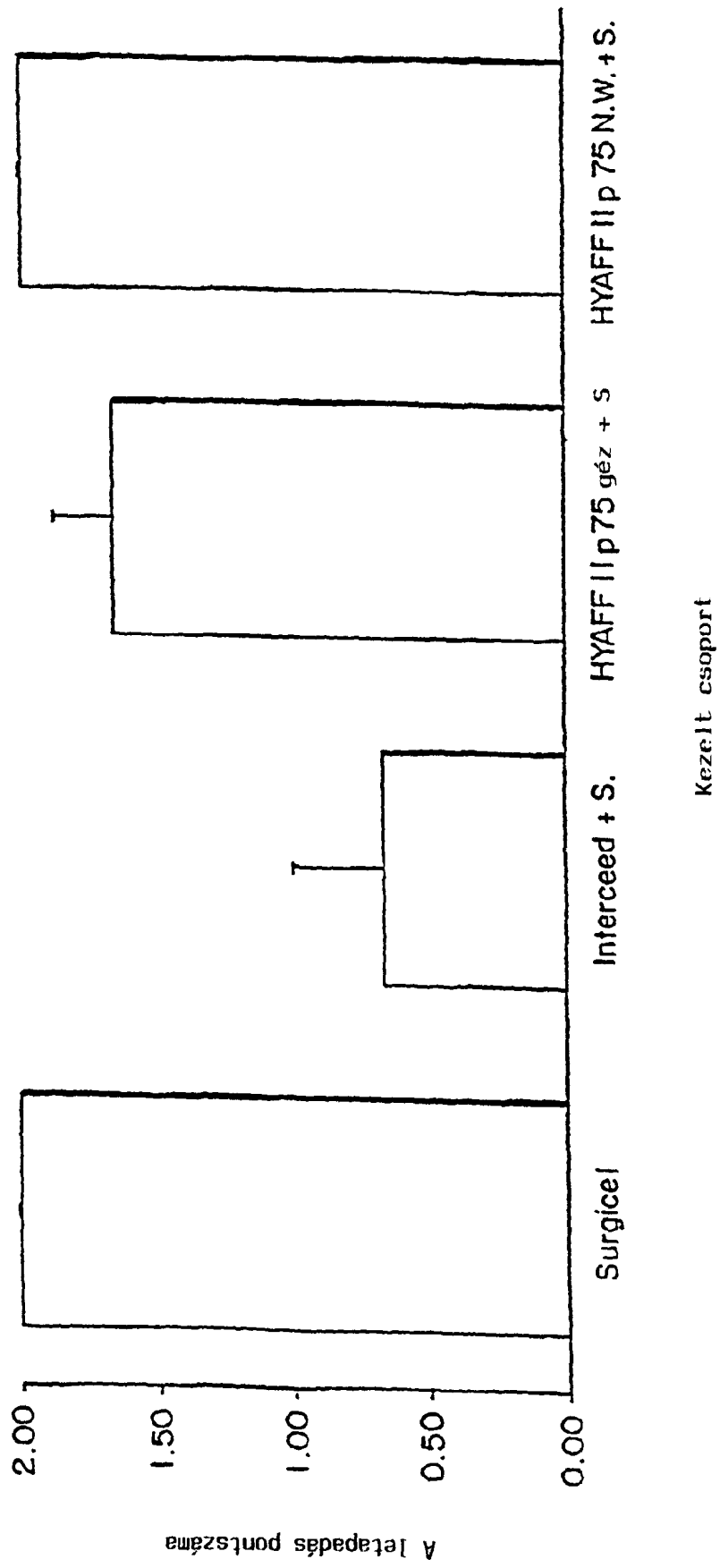
1. ábra

A letapadás mértéke a parkány májsérülés modellben (7-21 nap)



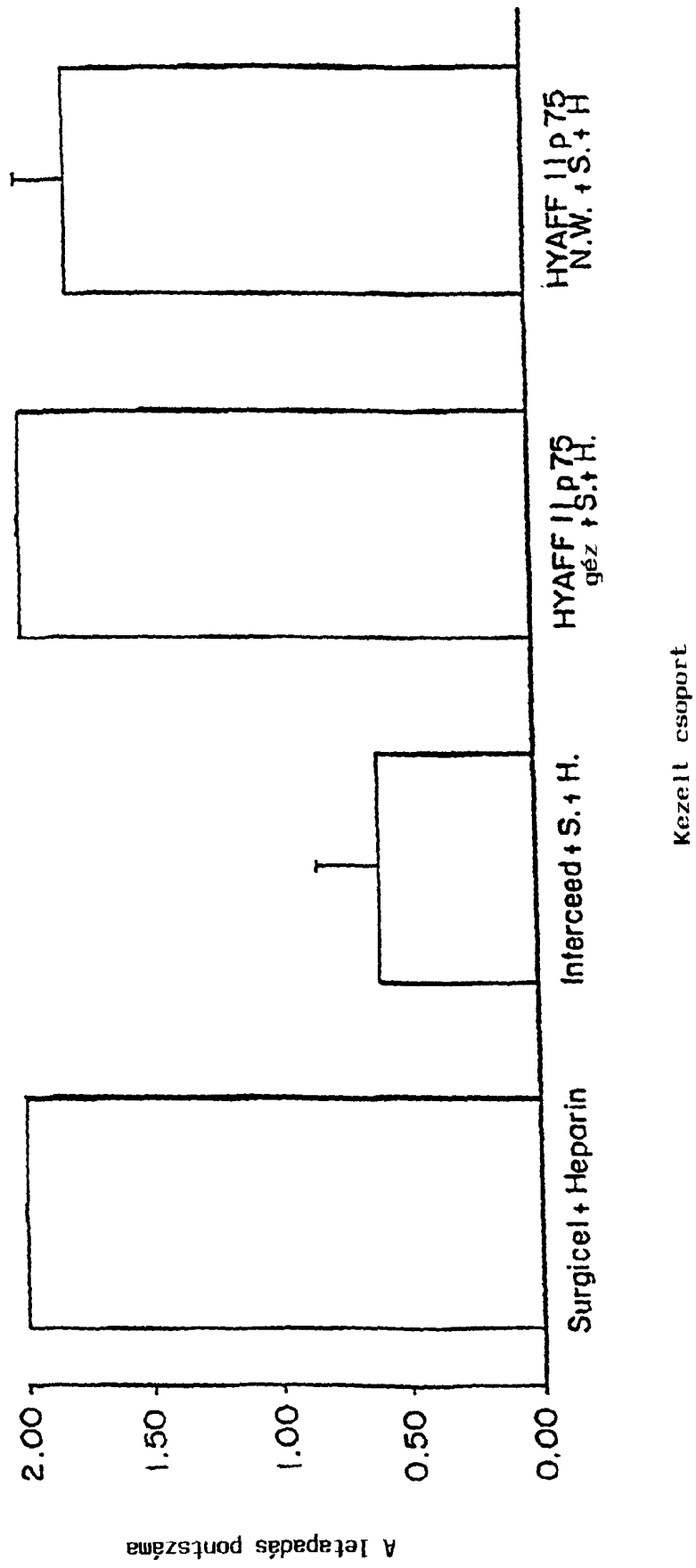
2. ábra

A letapadás mértéke patkány májsérülés modeliben (7-21 nap)



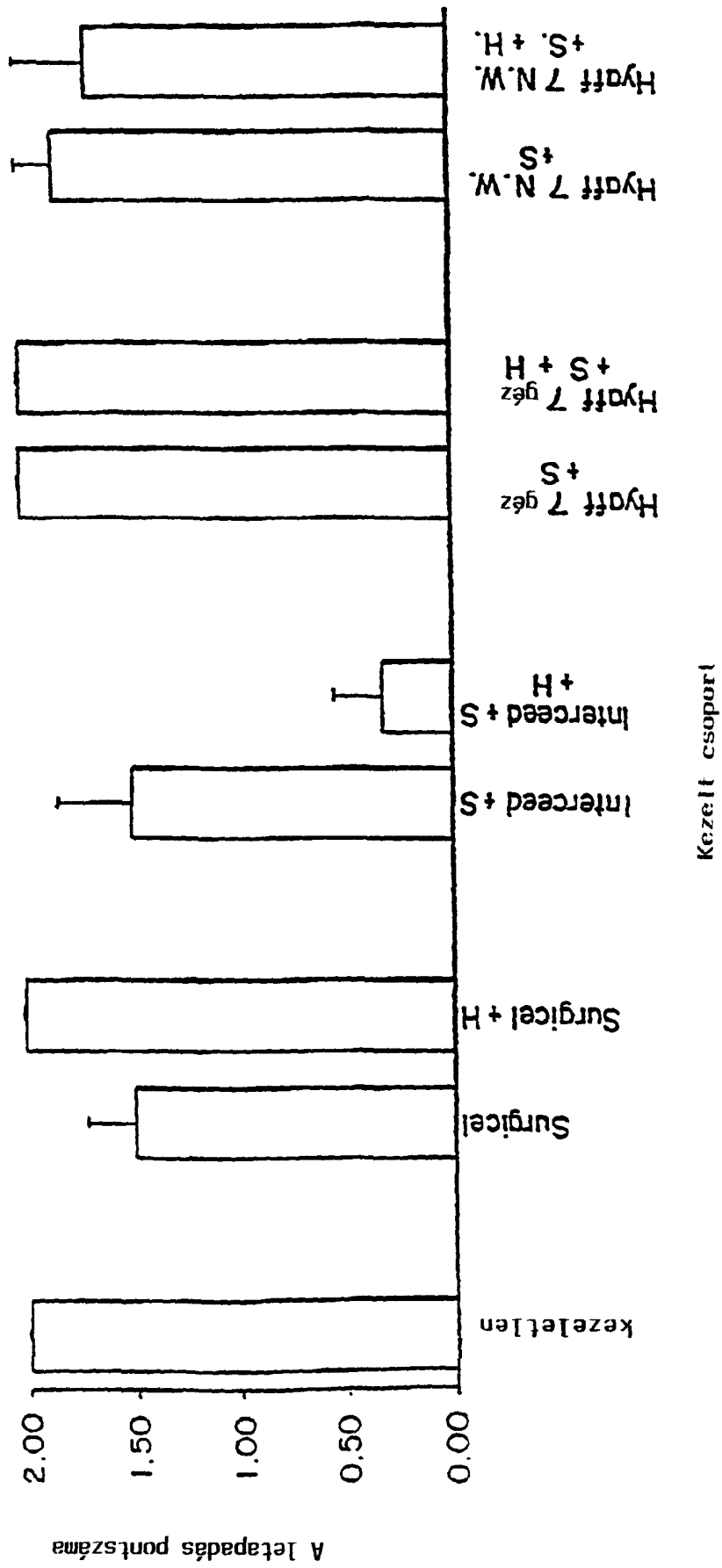
3. ábra

A letapadás mértéke a patkány májsérülés modellben (7-21 nap)



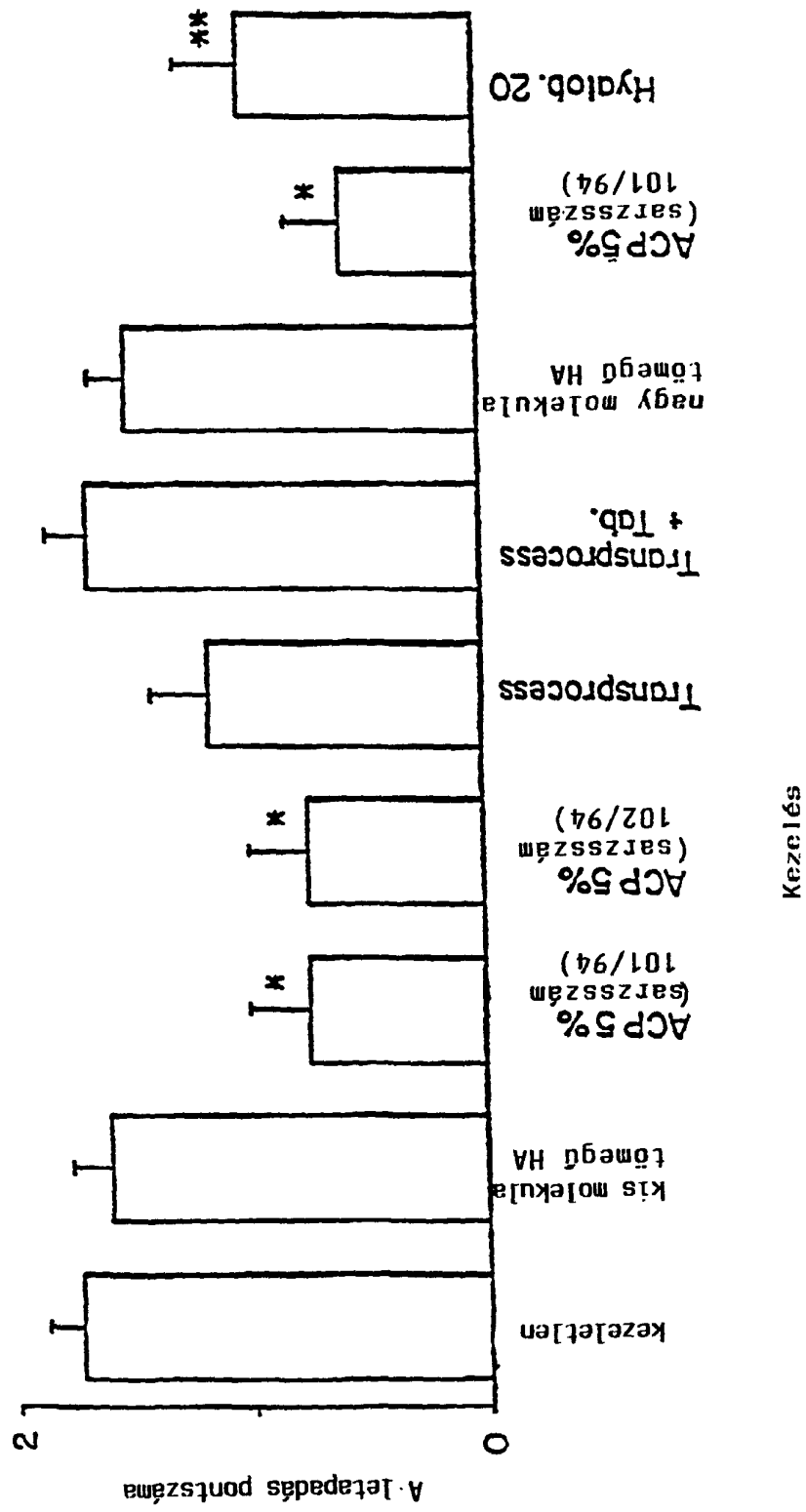
4. ábra

A letapadás mértéke a pankány májsérülés modeliben (7-21 nap)



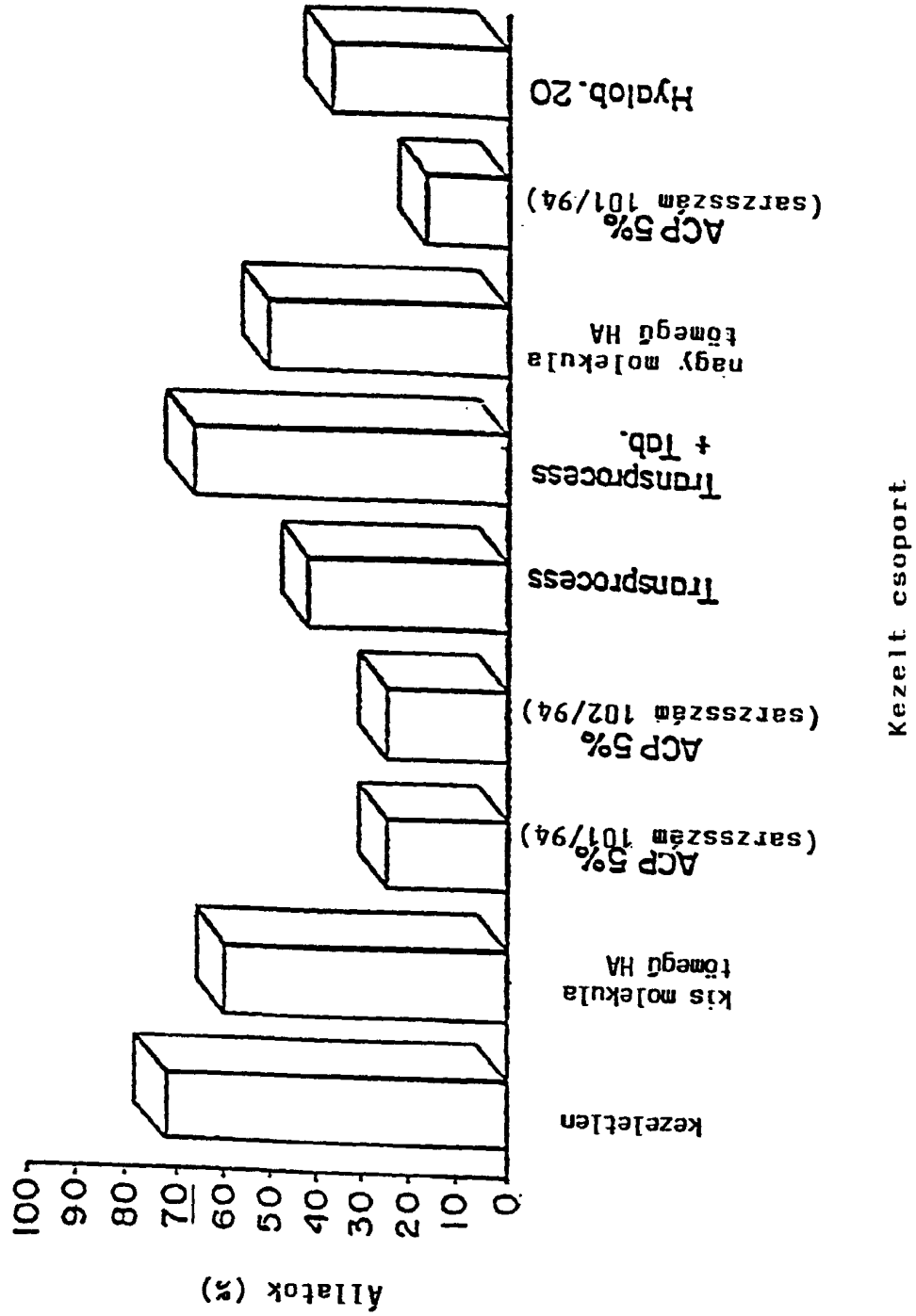
5. ábra

A letapadás mértéke a patkány májsérülés modeliben (7-21 nap)



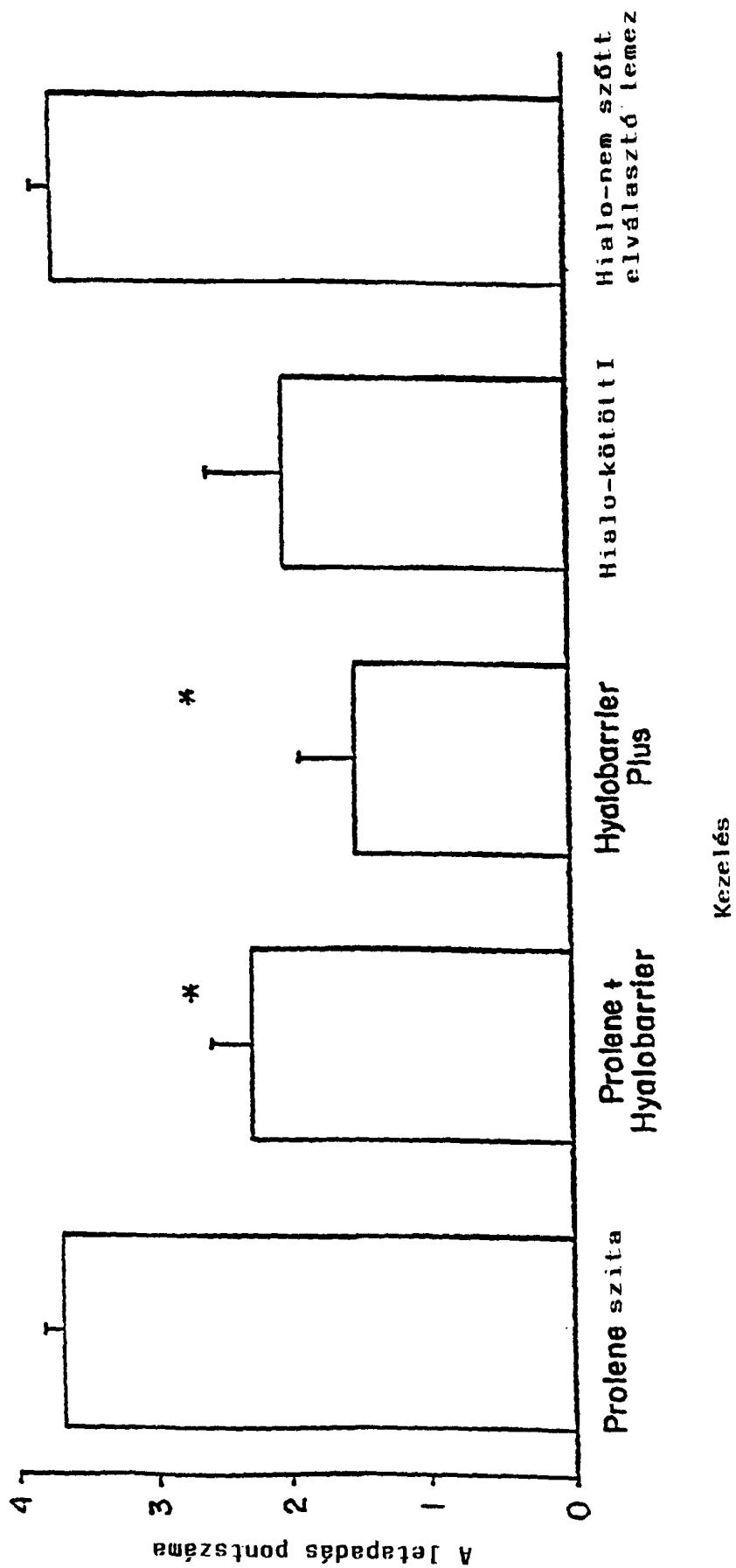
6. ábra

Műtét utáni letapadás megelőzése, azon állatok %-a, amelyekben 2-es pontszámmal értékelt letapadás alakult ki a patkány májsérülés modelében (14nap)



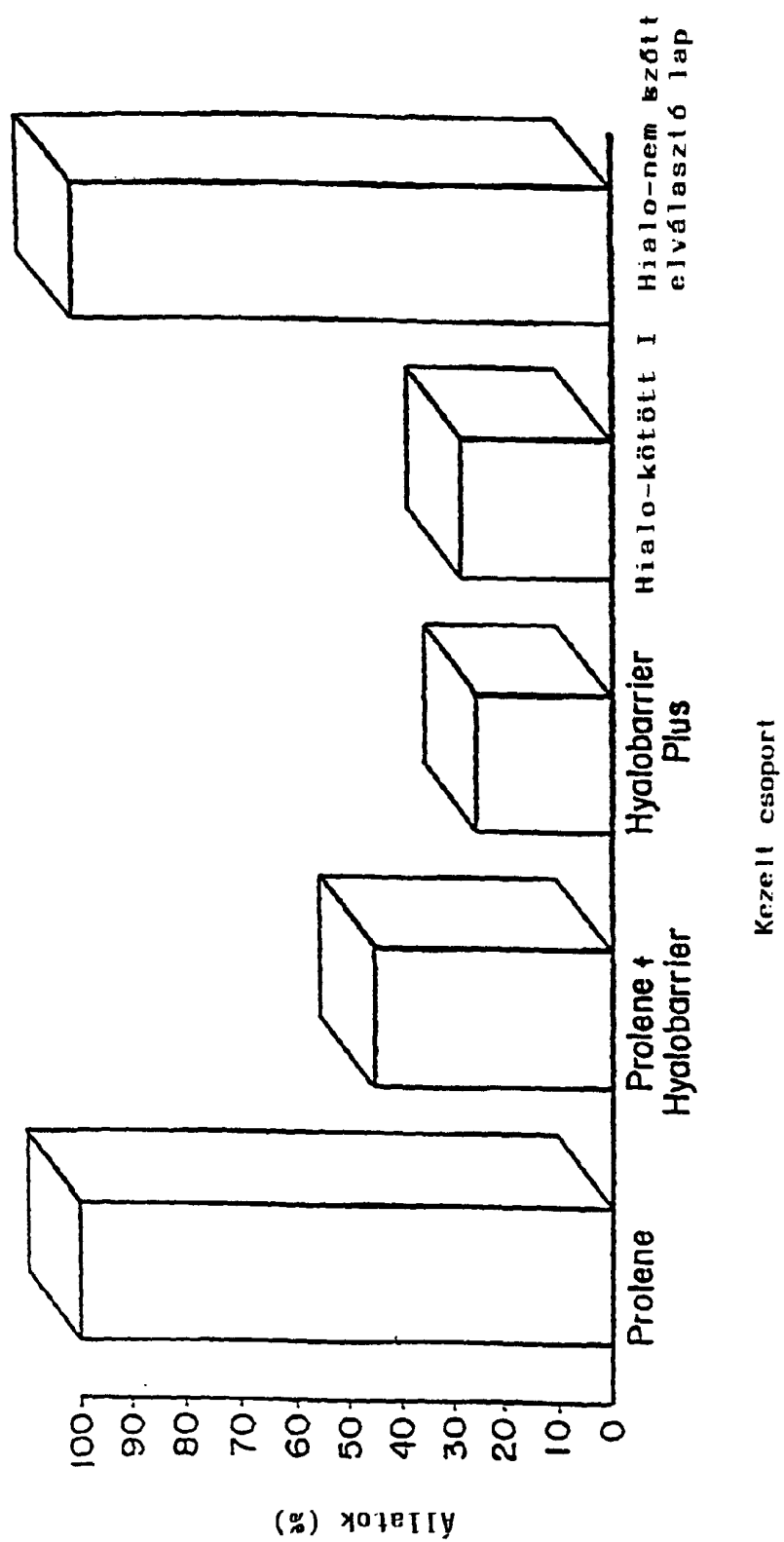
7. ábra

A letapadás mértéke palkány peritonális sérülés modellben (14 nap)

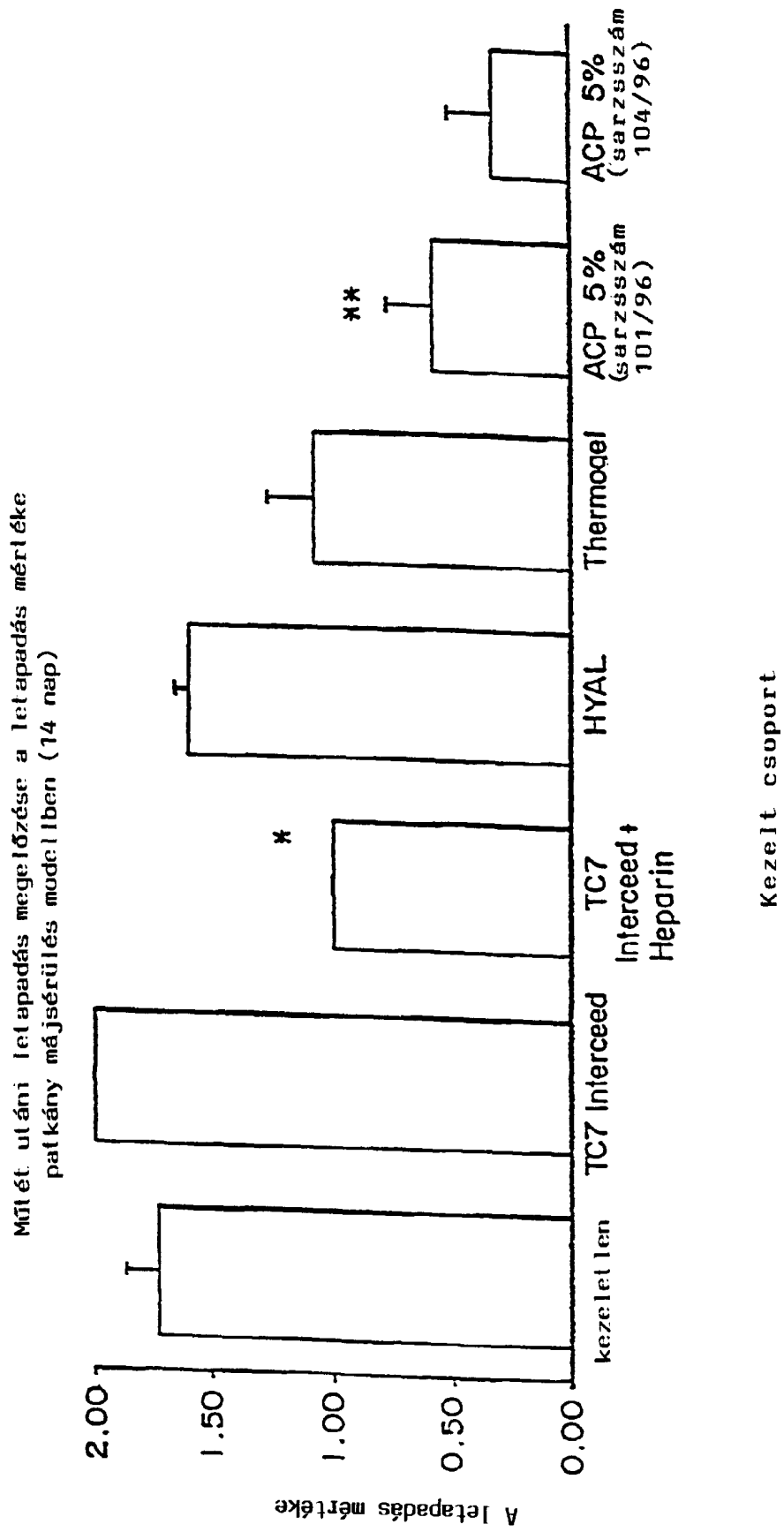


8. ábra

Műtét utáni letapadás megelőzése: azon állatok %-a, amelyben 2-es pontszámmal értékelt letapadás alakult ki a patkány peritonális sérülés modellben (14 nap)

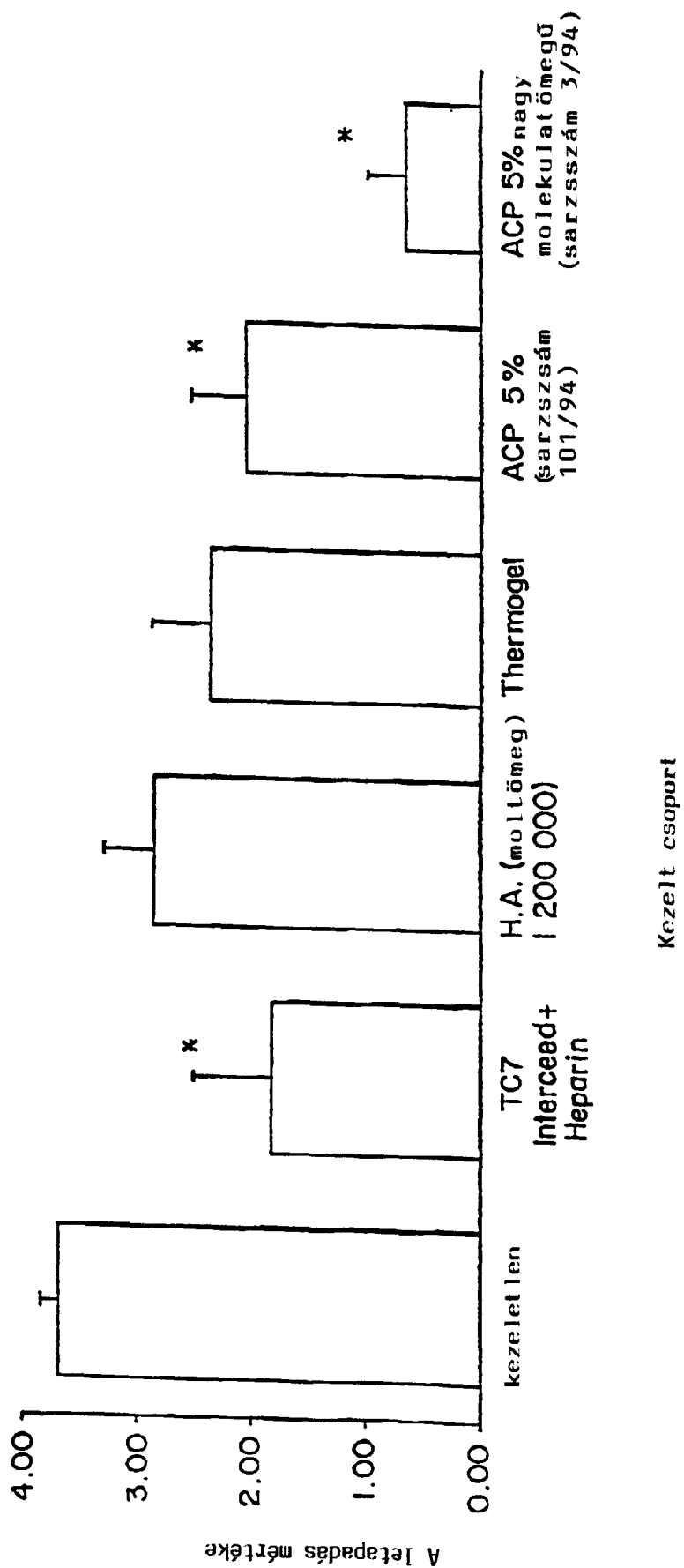


9. ábra



10. ábra

Műtét utáni letapadás megelőzése a letapadás mértéke
porkány bélsérülés modellben (14 nap)



Kiadja a Magyar Szabadalmi Hivatal, Budapest
Felelős vezető: Szabó Richárd osztályvezető
Windor Bt., Budapest