



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(51) МПК  
*C08B 37/00* (2006.01)  
*C08L 5/00* (2006.01)  
*C08L 5/08* (2006.01)  
*C08L 1/08* (2006.01)  
*C08F 293/00* (2006.01)  
*A61L 27/14* (2006.01)  
*A61L 27/20* (2006.01)

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(21), (22) Заявка: 2006102198/04, 30.07.2004

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
30.07.2004

(30) Конвенционный приоритет:  
30.07.2003 FR 0309401

(43) Дата публикации заявки: 20.08.2007

(45) Опубликовано: 10.07.2009 Бюл. № 19

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: US 4605691 A, 12.08.1986. RU 2174985 C2, 20.10.2001. EP 0749982 A1, 27.12.1996. EP 0341745 A1, 15.11.1989. EP 0265116 A2, 27.04.1988. WO 87/07898 A1, 30.12.1987. US 4963666 A, 16.10.1990. WO 00/46252 A1, 10.08.2000. CA 2416504 A1, 24.01.2002. EP 0939086 A1, 01.09.1999.

(85) Дата перевода заявки РСТ на национальную фазу: 26.01.2006

(86) Заявка РСТ:  
FR 2004/002052 (30.07.2004)

(87) Публикация РСТ:  
WO 2005/012364 (10.02.2005)

Адрес для переписки:  
119296, Москва, а/я 113, Э.П.Песикову

(72) Автор(ы):

ЭРМИТ Лоуренс (FR),  
БЕНУА Оливье (FR)

(73) Патентообладатель(и):  
АНТЭ С.А. (СН)

**(54) КОМПЛЕКСНАЯ МАТРИЦА ДЛЯ МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ**

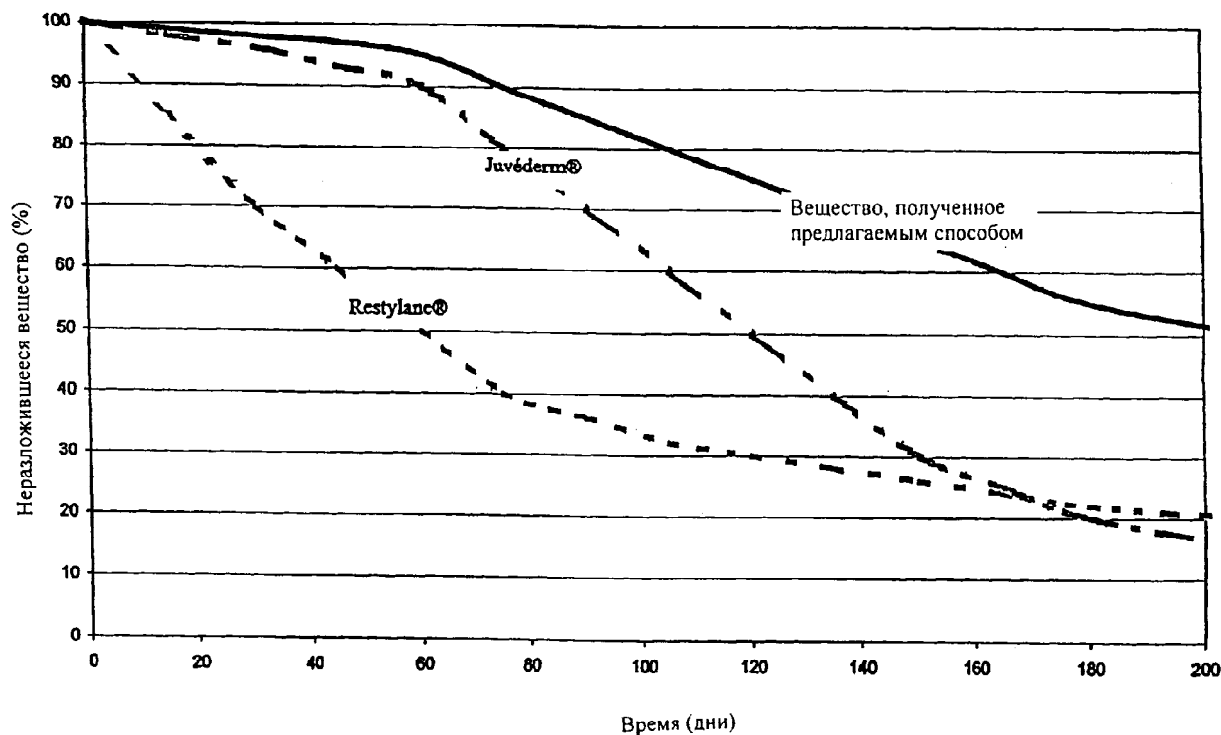
(57) Реферат:

Описана комплексная матрица, которая состоит, по меньшей мере, из одного биологически совместимого полимера природного происхождения, структурированного сшивающим агентом, представляющим собой двух- или многофункциональную молекулу, выбранную из эпоксидов, эпигалогидринов и дивинилсульфона, при этом на названный полимер привиты цепи с молекулярной массой менее 50000 дальтон, выбранные из полимеров

природного происхождения малого размера, предпочтительно производных целлюлозы или других производных биологических полимеров, которые по природе отсутствуют в организме человека, и/или неполимеризованных цепей со свойствами ингибиторов окисления или способностью замедлять реакции разложения матрицы, предпочтительно витаминов, ферментов или молекул, состоящих из одного или нескольких циклов, при этом степень прививки, выраженная в виде отношения количества

молей привитых молекул и количество молей единиц полимера, составляет от 10 до 40%. Также описаны способ получения такой матрицы и ее применение для разделения,

замены, наполнения или дополнения биологической жидкости или тканей. 5 н. и 15 з.п. ф-лы, 2 табл., 1 ил.



RU 2360928 C2

RU 2360928 C2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(51) Int. Cl.  
*C08B 37/00* (2006.01)  
*C08L 5/00* (2006.01)  
*C08L 5/08* (2006.01)  
*C08L 1/08* (2006.01)  
*C08F 293/00* (2006.01)  
*A61L 27/14* (2006.01)  
*A61L 27/20* (2006.01)

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2006102198/04, 30.07.2004**  
(24) Effective date for property rights:  
**30.07.2004**  
(30) Priority:  
**30.07.2003 FR 0309401**  
(43) Application published: **20.08.2007**  
(45) Date of publication: **10.07.2009 Bull. 19**  
(85) Commencement of national phase: **26.01.2006**  
(86) PCT application:  
**FR 2004/002052 (30.07.2004)**  
(87) PCT publication:  
**WO 2005/012364 (10.02.2005)**  
Mail address:  
**119296, Moskva, a/ja 113, Eh.P.Pesikovu**

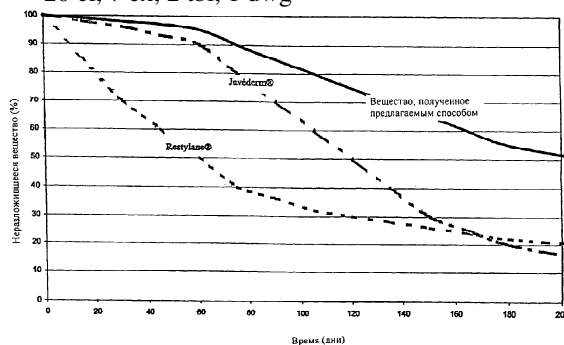
(72) Inventor(s):  
**EhRMIT Lourens (FR),  
BENUA Oliv'e (FR)**  
(73) Proprietor(s):  
**ANTEh S.A. (CH)**

**(54) COMPLEX MATRIX FOR MEDICO-BIOLOGICAL APPLICATION**

(57) Abstract:  
FIELD: chemistry, medicine.  
SUBSTANCE: complex matrix consists of at least one biologically compatible polymer of natural origin, structured with sewing agent, which represents two- or multi-functional molecule, selected from epoxides, epihalohydrines and divinyl sulphone, on said polymer inoculated are chains with molecular weight less than 50000 daltons, selected from polymers of natural origin of small size, preferably, derivatives of cellulose or other biological polymer derivatives which naturally are not present in human organism, and/or non-polymerised chains with properties of oxidation inhibitors or ability to inhibit reactions of matrix decomposition, preferably, vitamins, enzymes or molecules, consisting of one or several cycles, degree of inoculation, expressed as ratio of

moles of inoculated molecules and quantity of moles of polymer units, constitutes from 10 to 40%. Also described are method of obtaining such matrix and its application for separation, replacement, filling or addition of biological fluid or tissues.

EFFECT: increase of application efficiency.  
20 cl, 7 ex, 2 tbl, 1 dwg



RU 2 360 928 C2

RU 2 360 928 C2

Настоящее изобретение относится к комплексной матрице, которая состоит, по меньшей мере, из одного полимера природного происхождения с широкими функциональными возможностями и позволяет осуществлять замену биологических жидкостей, разделение тканей или увеличение тканей. Предложенная в настоящем изобретении матрица отличается высокой живучестью *in vivo*, которую обеспечивают путем замедления ее химического, биологического и механического разложения.

В настоящем изобретении предложен способ и композиции в виде комплексной, полностью биоразлагаемой, но отличающейся высокой живучестью *in vivo* матрицы, которая состоит, по меньшей мере, из одного полимера природного происхождения, для получения медицинских (фармакологически активных) средств, применимых для стимулирования разделения тканей или повышения их вязкости.

Для замены естественной синовиальной жидкости, которая не способна обеспечивать функции защиты хрящей, смазки и амортизации ударов вследствие уменьшения молекулярной массы входящих в ее состав гликозаминогликанов, страдающим артрозам пациентам часто делают инъекции вязкоэластичного раствора. Такие вещества быстро выводятся из синовиальной пазухи.

Увеличение тканей требуется как в лечебных, так и косметических целях.

В лечебных целях требуется увеличивать некоторые ткани, чтобы обеспечить выполнение ими своих функций; это может относиться к голосовым связкам, пищеводу, мочеиспускательному сфинктеру и другим мышцам.

Пациенты прибегают к услугам косметической хирургии, чтобы избавиться от морщин, замаскировать шрамы, увеличить губы. Вместе с тем, помимо высокой стоимости таких операций, они имеют множество недостатков, поскольку являются инвазивными и опасными процедурами. Широко применяется способ введения инъекций веществ, способных увеличивать ткани. В этих целях используют иглы для подкожных инъекций, преимуществом которых является простота и точность их применения и неинвазивность процедуры.

Производимые вещества для инъекций представляют собой стойкие или биоразлагаемые средства.

Нерассасываемые стойкие средства

Существуют два подхода к применению нерассасываемых средств: инъекция силикона или суспензии твердых частиц в векторном растворе.

Инъекции силикона широко распространены. Вместе с тем, принимая во внимание нежелательные отдаленные последствия (узелки, язвы на коже), от данного способа все чаще и чаще отказываются [Edgerton и др., "Indications for and pitfalls of soft tissue augmentation with liquid silicone". *Plast.Reconstr.Surg*, 58: 157-163 (1976)].

Инъекции твердых микрочастиц также позволяют добиться устойчивого увеличения тканей.

В патенте США 5344452 описано применение твердого порошкообразного вещества, образованного мелкими частицами диаметром от 10  $\mu\text{m}$  до 200  $\mu\text{m}$  с гладкой поверхностью, известны промышленно производимые вещества *Artecoll®* and *Arteplast®*, которые состоят из суспензии микросфер полиметакрилата в растворе коллагена.

В Европейском патенте EP-A-1091775 предложено использовать раствор фрагментов гидрогеля метакрилата в растворе гиалуроната. Также применяют частицы силикона, керамического порошка, углерода или металлов (патенты США 5451406, 5792478, патентная заявка США 2002-151466), фрагменты политетрафторэтилена, стекла или синтетических полимеров (патентная заявка

США 2002-025340) и шарики коллагена, но полученные результаты являются неудовлетворительными с учетом побочных реакций и биологического распада и миграции остаточных продуктов. Так, частицы имеют, по меньшей мере, один из следующих недостатков: слишком большой диаметр или неправильную форму, из-за чего они сцепляются друг с другом, что затрудняет инъекцию с использованием тонкой иглы, слишком хрупкие частицы во время инъекции разрушаются, слишком мелкие частицы быстро расщепляются макрофагами и другими составляющими лимфатической системы, введенные с инъекцией частицы способны перемещаться и не прикрепляются к окружающим клеткам.

Стойкость таких веществ приводит к возникновению серьезных проблем: опасности активизации макрофагов, миграции синтетических фрагментов, входящих в их состав, или появлению гранул, что может потребовать инъекции стероидов или даже их иссечения. Кроме того, при использовании веществ такого рода невозможно делать исправления, если они потребуются.

Среди разложимых биологических материалов можно упомянуть растворы коллагена или сшитой гиалуроновой кислоты.

Известен разработанный Collagen Corporation препарат на основе коллагена, сшитого с гиалуроновой кислотой (патент США 4582640). Данное вещество ферментативным или биохимическим путем расщепляется макрофагами, удаляется лимфатической системой и, таким образом, быстро разлагается. При этом требуются повторные курсы лечения.

В патенте США 5137875 описано применение водных суспензий или растворов коллагена, содержащих гиалуроновую кислоту, но такое вещество не способно находиться в виде раствора в ходе длительного курса лечения.

В европейском патенте EP 0466300 предложено вводить инъекции вязкоэластичного геля в виде матрицы, диспергированной в жидкой фазе, при этом обе фазы образованы гиланом, представляющим собой экстракт сшитого высокомолекулярного гиалуроната животного происхождения.

С целью продления периода поглощения данного гликозаминогликана и тем самым времени удержания разработаны эфиры гиалуроновой кислоты и сшитые производные гиалуроновой кислоты. В числе таких веществ, применимых в косметических целях, можно упомянуть Restylane®, двухфазный гель, образованный текучей фазой (несшитый гиалуронат) и высокосшитой фазой. В то время как внутримолекулярные или межмолекулярные связи полисахаридов или эфиров кислых полисахаридов применяют в многочисленных целях, например, для предупреждения послеоперационных сращений (Европейский патент EP 0850074, патент США 4851521, Европейский патент EP 0341745), данные вещества не способны обеспечивать устойчивый длительный эффект из-за высокого уровня ферментативного расщепления и короткого периода существования сложных эфирных связей, которые в отличие от простых эфирных связей распадаются в физиологической среде (патент США 4963666).

Можно отметить тенденцию применения высокомолекулярных полимеров с целью повышения стойкости матрицы или степени структурирования. Однако при значительном увеличении структурирования значительно сокращается период существования вещества, что требует крайне осторожного обращения с такими высокосшитыми гелями, поскольку остальные участки полимера, не защищенные структурированием, становятся механически и химически хрупкими и более уязвимыми.

Кроме того, значительное повышение степени структурирования может привести к

тому, что вещества будет трудно вводить в виде инъекций.

В Европейском патенте США EP 0749982 предложена привитая сополимеризация ингибитора окисления и матрицы с малой прививаемостью.

5 Таким образом, ясно, что существующие материалы не обеспечивают идеального решения и продолжается поиск новых веществ для увеличения тканей, разделения тканей или повышения их вязкости с целью создания материалов с высокой степенью биологической совместимости, легко применимых в клинической практике, с таким периодом существования, когда соответствующее вещество разлагается после того, как отпадает нужда в нем, но достаточным для ограничения медицинского и хирургического вмешательства.

Краткое изложение сущности изобретения

15 Несмотря на то, что задачи увеличения тканей, разделения тканей и повышения их вязкости известны в течение длительного времени и предложены многочисленные решения для применения в лечебных или косметических целях, в настоящем изобретении предложен способ и новые композиции, обеспечивающие длительную эффективность медицинского средства без побочных эффектов. Такие композиции также могут применяться в качестве векторов для веществ, обладающих фармакологическим действием.

20 В основу настоящего изобретения положен принцип использования большого числа участков полимерных цепей с целью замедления химического и ферментативного воздействия непосредственно на главную цепь полимера. За счет прививки небольших молекул со структурированием повышают плотность матрицы и тем самым увеличивают время, необходимое для ее разложения, ограничивая при этом ее подвижность, вызванную чрезмерно высокой степенью структурирования. Соединение двух типов функциональных возможностей - структурирования и привитой сополимеризации - также позволяет облегчить применение матрицы для инъекции при помощи матрицы с таким же числом занятых участков главной цепи полимера, но с более высокой степенью структурирования. Высокая стойкость композиции может быть повышена, если привитые молекулы обладают свойствами ингибиторов окисления. Ингибиторы окисления также могут быть диспергированы в матрице. Замедление разложения матрицы также может быть обеспечено за счет применения производных целлюлозы или других полимеров, которые по природе отсутствуют в организме человека, при условии отсутствия их специфических гидролитических ферментов.

40 Термин «участок», применяемый в контексте настоящего изобретения, означает все точки цепи полимера, которые могут подвергнуться воздействию; это могут быть боковые функциональные группы, такие как гидроксильные или карбоксильные группы или цепь, такая как простые эфирные связи.

45 За счет высокой стойкости медицинского средства могут быть увеличены интервалы между медицинскими вмешательствами и тем самым повышено качество жизни пациента.

Другой задачей настоящего изобретения является создание такой же композиции, содержащей одну или несколько молекул, обладающих терапевтическим действием.

Подробное описание изобретения

50 В настоящем изобретении предложена биологически совместимая комплексная однофазная матрица с высокой стойкостью, которая состоит, по меньшей мере, из одного полимера природного происхождения с широкими функциональными возможностями. Под высокой стойкостью подразумевается срок существования in

vivo, превышающий срок существования вещества с аналогичными функциональными возможностями, но полученного способом, отличающимся от способа, предложенного в настоящем изобретении, чаще всего методом однократного структурирования.

5 Вещество, применимое для повышения вязкости или увеличения ткани, состоит, по меньшей мере, из одного полимера с молекулярной массой свыше 100000 дальтон, выбранного из полисахаридов, таких как гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, кератан, кератансульфат, гепарин, гепаринсульфат, целлюлоза и ее производные, ксантаны и альгинаты, белки или нуклеиновые кислоты, при этом такому полимеру приданы широкие функциональные возможности путем прививки небольших цепей и структурирования, за счет чего создают матрицу. Под матрицей подразумевается трехмерная структура, образованная полимерами биологического происхождения с функциональными возможностями, удвоенными путем структурирования и прививки.

15 Сшивающий агент выбирают, в частности, из двух- или многофункциональных эпоксидов, например 1,4-бутандиолдиглицидилового эфира (также называемого 1,4-бис(2,3-эпоксипропокс)бутаном), 1-(2,3-эпоксипропил)2,3-эпоксциклогексана и 1,2-этандиолдиглицидилового эфира, эпигалогидринов и дивинилсульфона.

20 Степень структурирования, выраженная в виде отношения количества молей образующего структуру вещества, которое обеспечивает сшивание цепей полимера, и количества молей структуры полимера, составляет от 0,5 до 25% применительно к веществам, вводимым в виде инъекций, от 25 до 50% применительно к твердым веществам.

25 Чтобы увеличить пространственный размер и повысить плотность матрицы и тем самым продлить время, необходимое для химического или биохимического разложения вещества, небольшие цепи прививают на матрицу при помощи ионных или ковалентных связей предпочтительно путем образования простых эфиров. Такие привитые цепи занимают большое число участков на матрице, что позволяет существенно продлить период существования вещества, не изменяя механических или реологических особенностей полимера, образующего матрицу. К механической защите добавляется биологическая и химическая защита, которую обеспечивают «приманки».

30 Цепи, привитые на функциональные группы гидроксильного или карбоксильного типа, с одной стороны, непосредственно защищают такие прореагировавшие функциональные группы, а, с другой стороны, косвенно защищают остальные участки, обнаруживаемые по стерическому препятствию.

35 Привитые цепи и полимеры природного происхождения небольших размеров представляют собой более доступные для воздействия участки, чем участки, замаскированные матрицей, или полимеры, не распознанные ферментами организма. В последнем случае именно производные целлюлозы или производные других биополимеров, которые по природе отсутствуют в организме человека, не подвержены разложению ферментами организма, но чувствительны к воздействию свободных и других обладающих реакционной способностью радикалов. Например, таким производным целлюлозы может являться карбоксиметилцеллюлоза.

40 Кроме того, привитые цепи могут представлять собой неполимеризованные цепи, обладающие свойствами ингибиторов окисления или способностью замедлять реакции разложения полимерной матрицы. Такие цепи могут образовывать, например, витамины, ферменты или циклические молекулы.

45 Степень прививки, которую выражают в виде отношения оличества молей привитых молекул или количества молей привитого полимера и количества молей

структуры шитого полимера или полимеров, составляет от 10 до 40%.

За счет прививки цепей малого размера, иными словами, с молекулярной массой менее 50000 дальтон, предпочтительно порядка 10000 дальтон или менее, на множество точек полимерной матрицы конечный продукт сохраняет способность  
5 быть вводимым в виде инъекций, поскольку степень структурирования не повысилась, а наличие таких привитых цепей препятствует воздействию окружающей среды на матрицу и обеспечивает более высокую стойкость продукта после инъекции.

Прививку молекул осуществляют при помощи ковалентных связей  
10 непосредственно с главными цепями, например, путем образования сложного эфира или простого эфира гидроксильных или карбоксильных групп или при помощи двух- или многофункциональной молекулы, выбранной из эпоксидов, эпигалогидринов или дивинилсульфона.

Специалисты в данной области техники легко поймут, что такой способ  
15 расширения функциональных возможностей обладает важными преимуществами по сравнению с простым структурированием.

Прививка и структурирование могут происходить одновременно либо прививка может предшествовать структурированию или наоборот.

20 Чтобы замедлить разложение под действием свободных радикалов, в матрице с широкими функциональными возможностями также диспергируют молекулу со свойствами ингибитора окисления.

Например, с целью предотвращения окислению органических макромолекул, улавливания свободных радикалов, но также и стимулирования синтеза внеклеточной  
25 матрицы, в особенности коллагена в невоспаленных тканях, применяют витамин С, удлиненные водорастворимые молекулы которого обладают свойствами ингибиторов окисления. Данное свойство может иметь особый интерес в случае применения в дерматологических или косметических целях для повышения эластичности кожи.

30 Витамин А, который обладает множеством преимуществ (противоокислительное действие, влияние на развитие тканей и участие в лечении кожи), также диспергируют в такой подвергнутой значительной модификации матрице, которая в силу своей плотности обеспечивает постепенное высвобождение действующего фармакологического средства.

35 В матрице также диспергируют высвобождаемый в очень небольшом количестве мелатонин, который является мощным ингибитором окисления и средством восстановления кожи и защиты иммунной системы.

40 Чтобы замедлить ферментативное разложение, в составе матриц, предложенных в настоящем изобретении, рекомендуются применять полимеры, которые по природе не содержатся в организме человека, такие как производные целлюлозы, в особенности карбоксиметилцеллюлозу, при условии отсутствия специфических гидролитических ферментов таких полимеров.

45 В результате значительного усиления стерических препятствий, блокирования большого числа восприимчивых к биологическому и химическому воздействию участков без придания хрупкости другим участкам обеспечивают высокую стойкость предложенных в настоящем изобретении веществ за счет прививки коротких цепей и некоторого количества поперечных связей, которое остается довольно небольшим по  
50 сравнению с другими известными в настоящее время веществами.

Кроме того, за счет такого расширения функциональных возможностей несколькими идентичным занятым участкам главной цепи полимера, образующего матрицу, придают способность быть введенными в виде инъекций в отличие от гелей,

модифицированных только методом структурирования.

На чертеже показано значительно замедленное по времени разложение вводимых в виде инъекций веществ, предложенных в настоящем изобретении, и разложение двух известных веществ Juvéderm® и Restylane® (композиция на основе полисахаридного геля по патенту США 5827937).

Изобретение также относится к комплексной матрице, которая состоит, по меньшей мере, из одного биологически совместимого сшитого полимера природного происхождения, на который привиты цепи с молекулярной массой менее 50000 дальтон при степени прививки от 10 до 40%.

Биологически совместимый полимер природного происхождения, образующий матрицу, предпочтительно выбирают из полисахаридов, таких как гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, кератан, кератансульфат, гепарин, гепарансульфат, целлюлоза и ее производные, ксантаны и альгинаты, белки или нуклеиновые кислоты.

В предпочтительном варианте осуществления биологически совместимый полимер природного происхождения представляет собой полимер, который по природе отсутствует в организме человека, такой как производное целлюлозы, ксантан или альгинат, сшитый, по меньшей мере, с одним полимером, который по природе присутствует в организме человека, выбранным из полисахаридов, таких как гиалуроновая кислота, хондроитинсульфат, кератан, кератансульфат, гепарин, гепаринсульфат, ксантаны и альгинаты, белки или нуклеиновые кислоты.

Предпочтительно степень структурирования, выраженная в виде отношения количества молей образующего структуру вещества, которое обеспечивает сшивание цепей полимера, и количества молей структуры полимера, составляет от 0,5 до 50%, в частности от 0,5 до 25% применительно к веществам, вводимым в виде инъекций, от 25 до 50% применительно к твердым веществам.

Сшивающий агент, обеспечивающий структурирование цепи, представляет собой двух- или многофункциональную молекулу, выбранную из эпоксидов, эпигалогидринов и дивинилсульфона.

Матрица может содержать ингибиторы окисления, витамины или другие диспергированные вещества, обладающие фармацевтическим действием.

Изобретение также относится к применению описанной выше матрицы для замены, заполнения или дополнения биологической жидкости или тканей.

Изобретение также относится к способу получения биологически совместимой матрицы, которая является частично биологически разложимой и состоит, по меньшей мере, из одного полимера природного происхождения, отличающемуся тем, что осуществляют

- привитую сополимеризацию небольших цепей с молекулярной массой менее 50000 дальтон со степенью прививки от 10 до 40%,

- структурирование главных цепей полимера с целью создания однородной матрицы.

#### Примеры

Приведенные примеры имеют целью проиллюстрировать изобретение, но никоим образом не ограничить объем изобретения.

Первая группа примеров (примеры 1-3):

Пример 1 (структурирование)

150 мг гиалуроната натрия (молекулярная масса =  $2 \times 10^6$  дальтон) и 50 мг карбоксиметилцеллюлозы (молекулярная масса =  $2 \times 10^5$  дальтон) добавили к 6 мл 0,5% соды. Смесь гомогенизировали в смесителе до получения прозрачного раствора. Затем

в раствор добавили 10  $\mu$ л 1,4-бутандиолдиглицидилового эфира (БДДЭ) и перемешивали полученную смесь в течение 12 часов при температуре 20°C. pH смеси довели до физиологического уровня. Затем полученную матрицу в течение 24 часов подвергали диализу (регенерированная целлюлоза, предел выделения, молекулярная масса = 12,000-14,000) с использованием раствора фосфатного буфера при pH=7 (гель 1).

Пример 2 (структурирование)

150 мг гиалуроната натрия (молекулярная масса =  $2 \times 10^6$  дальтон) и 50 мг карбоксиметилцеллюлозы (молекулярная масса =  $2 \times 10^5$  дальтон) добавили к 6 мл 0,5% соды. Смесь гомогенизировали в смесителе до получения прозрачного раствора. Затем в раствор добавили 20  $\mu$ л 1,4-бутандиолдиглицидилового эфира (БДДЭ) и перемешивали полученную смесь в течение 12 часов при температуре 20°C. pH смеси довели до физиологического уровня. Затем полученную матрицу в течение 24 часов подвергали диализу (регенерированная целлюлоза, предел выделения, молекулярная масса = 12,000-14,000) с использованием раствора фосфатного буфера при pH=7 (гель 2).

Пример 3 (структурирование и прививка)

150 мг гиалуроната натрия (молекулярная масса =  $2 \times 10^6$  дальтон) и 50 мг карбоксиметилцеллюлозы (молекулярная масса =  $2 \times 10^5$  дальтон) добавили к 6 мл 0,5% соды. Смесь гомогенизировали в смесителе до получения прозрачного раствора. Затем в раствор добавили 20  $\mu$ л 1,4- бутандиолдиглицидилового эфира (БДДЭ) и перемешивали полученную смесь в течение 8 часов при температуре 20°C. Добавили 40 мг бензилгиалуроната (на 75% превращенного в сложный эфир, молекулярная масса =  $10^4$  дальтон) и перемешивали в течение 12 часов при температуре 20°C. Затем добавили 10 мг витамина С и ввели в вязкую матрицу. pH смеси довели до физиологического уровня. Смесь перемешивали в течение 2 часов. Затем полученную матрицу в течение 24 часов подвергали диализу (регенерированная целлюлоза, предел выделения, молекулярная масса = 12,000-14,000) с использованием раствора фосфатного буфера при pH=7 (гель 3).

Расчет степени прививки:

$$\text{Степень прививки} = \left( \frac{m_{\text{вит С}}}{M_{\text{вит С}}} + \left( \frac{m_{\text{ГАбензил}}}{M_{\text{ГАбензил}}} \right) \right) / \left( \left( \frac{m_{\text{ГА}}}{M_{\text{ГА}}} \right) + \left( \frac{m_{\text{КМЦ}}}{M_{\text{КМЦ}}} \right) \right) = 0.246 \text{ (то есть 24,6\%)},$$

где m: масса в граммах

M: молекулярная масса полимерной единицы в г/моль

Вит С: витамин С

ГА: гиалуронат

ГАбензил: бензилгиалуронат

КМЦ: карбоксиметилцеллюлоза.

Степень прививки, вычисленная из расчета, что все карбоксильные группы находятся в виде соли натрия, а степень замещения карбоксиметилцеллюлозы равна 0,9, составляет 24,6%.

Реологические исследования показали более медленный спад данных свойств у геля из примера 2 (гель 2), чем у геля из примера 1 (гель 1) при температуре 37°C. Несмотря на отсутствие до настоящего времени исследования *in vivo*, разложение геля 2 вероятно происходит медленнее, чем геля 1, который сам должен разлагаться медленнее, чем гель, синтезированный тем же способом, но содержащий только гиалуронат натрия. Такое предположение можно сделать, исходя из данных,

касающихся периода существования *in vivo* неструктурированной карбоксиметилцеллюлозы по сравнению с неструктурированным гиалуронатом натрия в той же концентрации и со сравнимой молекулярной массой.

Период существования геля 2 превышает период существования геля из первого примера за счет вдвое большей степени структурирования.

Число участков, занятых у геля из примера 3 (гель 3), по меньшей мере, равно числу таких участков у геля 2, а снижение вязкости геля 3 происходит медленнее, чем у геля 2 (когда оба геля находятся при температуре 37°C).

Вторая группа примеров (примеры 4-7):

Пример 4 (структурирование)

1 г гиалуроната натрия (молекулярная масса =  $2 \times 10^6$  дальтон) поместили в 10 мл 1% раствора соды. Смесь гомогенизировали в смесителе до получения прозрачного раствора. Затем добавили 100  $\mu$ л 1,4-бутандиолдиглицидилового эфира (БДДЭ) и снова перемешивали полученную смесь в течение 2 часов при температуре 50°C. рН смеси довели до физиологического уровня, и довели объем смеси до 50 мл, добавив фосфатный буфер. Затем полученную матрицу в течение 24 часов подвергали диализу (регенерированная целлюлоза, предел выделения, молекулярная масса = 12.000-14.000) с использованием раствора фосфатного буфера при рН=7 (гель 4).

Пример 5 (структурирование)

1 г гиалуроната натрия (молекулярная масса =  $2 \times 10^6$  дальтон) поместили в 10 мл 1% раствора соды. Смесь гомогенизировали в смесителе до получения прозрачного раствора. Затем добавили 130  $\mu$ л 1,4-бутандиолдиглицидилового эфира (БДДЭ) и снова перемешивали полученную смесь в течение 2 часов при температуре 50°C. рН смеси довели до физиологического уровня, и довели объем смеси до 50 мл, добавив фосфатный буфер. Затем полученную матрицу в течение 24 часов подвергали диализу (регенерированная целлюлоза, предел выделения, молекулярная масса = 12,000-14,000) с использованием раствора фосфатного буфера при рН=7 (гель 5).

Пример 6 (структурирование)

0,8 г гиалуроната натрия (молекулярная масса =  $2 \times 10^6$  дальтон) и 0,2 г карбоксиметилцеллюлозы (молекулярная масса =  $3 \times 10^5$  дальтон) поместили в 10 мл 1% раствора соды. Смесь гомогенизировали в смесителе до получения прозрачного раствора. Затем добавили 130  $\mu$ л 1,4-бутандиолдиглицидилового эфира (БДДЭ) и снова перемешивали полученную смесь в течение 2 часов при температуре 50°C. рН смеси довели до физиологического уровня, и довели объем смеси до 50 мл, добавив фосфатный буфер. Затем полученную матрицу в течение 24 часов подвергали диализу (регенерированная целлюлоза, предел выделения, молекулярная масса = 12,000-14,000) с использованием раствора фосфатного буфера при рН=7 (гель 6).

Пример 7 (структурирование и прививка)

0,8 г гиалуроната натрия (молекулярная масса =  $2 \times 10^6$  дальтон) и 0,2 г карбоксиметилцеллюлозы (молекулярная масса =  $3 \times 10^5$  дальтон) поместили в 10 мл 1% раствора соды. Смесь гомогенизировали в смесителе до получения прозрачного раствора. Затем добавили 130  $\mu$ л 1,4-бутандиолдиглицидилового эфира (БДДЭ) и снова перемешивали полученную смесь в течение 1 часа и 20 минут при температуре 50°C. Затем к гелю в процессе формирования добавили 0,2 г гепарина (молекулярная масса =  $3 \times 10^3$  дальтон), разведенного в 4 мл 0,5% раствора соды, и снова перемешали смесь. рН смеси довели до физиологического уровня, и довели объем смеси до 50 мл, добавив фосфатный буфер. Затем полученную матрицу в течение 24 часов подвергали

диализу (регенерированная целлюлоза, предел выделения, молекулярная масса = 12,000-14,000) с использованием раствора фосфатного буфера при рН=7 (гель 7).

Расчет степени прививки:

$$\text{Степень прививки} = (m_{\text{Гепарин}} / M_{\text{Гепарин}}) / ((m_{\text{ГА}} / M_{\text{ГА}}) + (m_{\text{КМЦ}} / M_{\text{КМЦ}})) = 10,3\%$$

где m: масса в граммах

M: молекулярная масса полимерной единицы в г/моль

ГА: гиалуронат

КМЦ: карбоксиметилцеллюлоза.

Степень прививки, вычисленная из расчета, что половина ионизируемых групп находится в виде соли натрия, а степень замещения карбоксиметилцеллюлозы равна 0,9, составляет 10,3%.

Кроме того, был разработан способ количественной оценки применимости в виде инъекций различных гелей, полученных в примерах 1-7. Такой способ основан на измерении усилия, необходимого для выталкивания различных полученных гелей через иглу типа 27G. В шприц, на конце которого находилась игла типа 27G, набирали 1 мл каждого полученного геля. Шприц держали вертикально за держатель и затем воздействовали на поршень шприца усилием с постоянной скоростью, заданной пользователем. Датчиком измеряли усилие, необходимое для выталкивания вещества. Для гелей из первой группы примеров скорость выталкивания составляла 75 мм/мин, а для гелей из второй группы - 15 мм/мин.

Ниже в таблицах 1 и 2 приведены величины усилия, измеренные для гелей из примеров 1-7.

Таблица 1	
Гели	Усилие выталкивания. Скорость = 75 мм/мин
1 (структурирование)	20Н+/-4Н
2 (структурирование)	32Н+/-4Н
3 (структурирование и прививка)	25Н+/-4Н

Как следует из результатов, приведенных в таблице, при одинаковой степени структурирования для выталкивания сшитых и привитых гелей согласно настоящему изобретению необходимо меньшее усилие (и, следовательно, они более применимы в виде инъекций), чем для выталкивания сшитых гелей (сравнение гелей по примеру 2 и примеру 3).

Таблица 2	
Гели	Усилие выталкивания. Скорость = 15 мм/мин
4 (структурирование)	14Н+/-4Н
5 (структурирование)	23 Н+/-4Н
6 (структурирование)	26Н+/-4Н
7 (структурирование и прививка)	24Н+/-4Н

Как следует из Таблицы, повышение степени структурирования влечет увеличение усилия, необходимого для выталкивания вещества (сравнение гелей 4-6). При одинаковой степени структурирования сшитые гели на основе ГА/КМЦ менее применимы в виде инъекций. Вместе с тем, при большей применимости стойкость таких гелей также должна быть выше. Последний пример (сравнение гелей 6 и 7) подчеркивает тот факт, что прививка небольших цепей гепарина позволяет снизить усилие, необходимое для выталкивания, с одновременной защитой сшитой матрицы за счет стерического препятствия и биологических свойств такого полимера.

## Формула изобретения

1. Комплексная матрица, которая состоит, по меньшей мере, из одного биологически совместимого полимера природного происхождения, структурированного сшивающим агентом, представляющим собой двух- или  
5 многофункциональную молекулу, выбранную из эпоксидов, эпигалогидринов и дивинилсульфона, при этом на названный полимер привиты цепи с молекулярной массой менее 50,000 Да, выбранные из полимеров природного происхождения малого размера, предпочтительно, производных целлюлозы или других производных  
10 биологических полимеров, которые по природе отсутствуют в организме человека, и/или неполимеризованных цепей со свойствами ингибиторов окисления или способностью замедлять реакции разложения матрицы, предпочтительно, витаминов, ферментов или молекул, состоящих из одного или нескольких циклов, при этом степень прививки, выраженная в виде отношения количества молей привитых молекул  
15 и количество молей единиц полимера, составляет от 10 до 40%.

2. Матрица по п.1, в которой биологически совместимый полимер природного происхождения выбирают из гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфата, кератана, кератансульфата, гепарина, гепаринсульфата, целлюлозы и ее производных,  
20 ксантанов и альгинатов, белков или нуклеиновой кислоты.

3. Матрица по п.1, в которой биологически совместимый полимер природного происхождения представляет собой полимер, который по природе отсутствует в организме человека, такой как производное целлюлозы, ксантан или альгинат, сшитый, по меньшей мере, с одним полимером, по природе содержащимся в  
25 организме человека, выбранным из гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфата, кератана, кератансульфата, гепарина, гепарансульфата, ксантанов и альгинатов, белков или нуклеиновой кислоты.

4. Матрица по п.1, в которой степень структурирования, выраженная в виде отношения количества молей сшивающего агента, обеспечивающего сшивание цепей  
30 полимера, и количества молей единиц полимера, составляет от 0,5 до 50%, в частности, от 0,5 до 25% применительно к веществам, вводимым в виде инъекций, от 25 до 50% применительно к твердым веществам.

5. Матрица по п.1, содержащая ингибиторы окисления, витамины и другие  
35 диспергированные вещества, обладающие фармакологическим действием.

6. Матрица по п.1, содержащая витамины или другие диспергированные вещества, обладающие фармакологическим действием.

7. Применение матрицы по п.1 для разделения, замены, наполнения или дополнения  
40 биологической жидкости или тканей.

8. Способ получения частично биологически разложимой, биологически совместимой матрицы, которая состоит, по меньшей мере, из одного полимера природного происхождения, отличающийся тем, что осуществляют привитую сополимеризацию небольших цепей с молекулярной массой менее 50,000 Да со  
45 степенью прививки от 10 до 40%, при этом такие цепи выбирают из полимеров природного происхождения небольшого размера, предпочтительно, производных целлюлозы или производных других биологических полимеров, которые по природе отсутствуют в организме человека и/или неполимеризованных цепей со свойствами ингибиторов окисления или способностью замедлять реакции разложения матрицы,  
50 предпочтительно, витаминов, ферментов или молекул, состоящих из одного или нескольких циклов, - структурирование главных цепей полимера с целью создания однородной матрицы при помощи сшивающего агента, представляющего собой двух-

или многофункциональную молекулу, выбранную из эпоксидов, эпигалогидринов и дивинилсульфона.

5 9. Матрица по п.2, в которой биологически совместимый полимер природного происхождения представляет собой полимер, который по природе отсутствует в  
организме человека, такой как производное целлюлозы, ксантан или альгинат,  
сшитый, по меньшей мере, с одним полимером, по природе содержащимся в  
организме человека, выбранным из гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфата,  
10 кератана, кератансульфата, гепарина, гепарансульфата, ксантанов и альгинатов,  
белков или нуклеиновой кислоты.

10. Матрица по п.2, в которой степень структурирования, выраженная в виде  
отношения количества молей сшивающего агента, обеспечивающего сшивание цепей  
полимера, и количества молей единиц полимера, составляет от 0,5 до 50%, в частности,  
15 от 0,5 до 25% применительно к веществам, вводимым в виде инъекций, от 25 до 50%  
применительно к твердым веществам.

11. Матрица по п.3, в которой степень структурирования, выраженная в виде  
отношения количества молей сшивающего агента, обеспечивающего сшивание цепей  
полимера, и количества молей единиц полимера, составляет от 0,5 до 50%, в частности,  
20 от 0,5 до 25% применительно к веществам, вводимым в виде инъекций, от 25 до 50%  
применительно к твердым веществам.

12. Матрица по п.2, содержащая ингибиторы окисления, витамины и другие  
диспергированные вещества, обладающие фармакологическим действием.

25 13. Матрица по п.3, содержащая ингибиторы окисления, витамины и другие  
диспергированные вещества, обладающие фармакологическим действием.

14. Матрица по п.4, содержащая ингибиторы окисления, витамины и другие  
диспергированные вещества, обладающие фармакологическим действием.

30 15. Матрица по п.2, содержащая витамины или другие диспергированные вещества,  
обладающие фармакологическим действием.

16. Матрица по п.3, содержащая витамины или другие диспергированные вещества,  
обладающие фармакологическим действием.

17. Матрица по п.4, содержащая витамины или другие диспергированные вещества,  
обладающие фармакологическим действием.

35 18. Матрица по п.5, содержащая витамины или другие диспергированные вещества,  
обладающие фармакологическим действием.

19. Применение матрицы по п.2 для разделения, замены, наполнения или  
дополнения биологической жидкости или тканей.

40 20. Применение матрицы по п.3 для разделения, замены, наполнения или  
дополнения биологической жидкости или тканей.

45

50