



(51) МПК
 A61L 27/12 (2006.01)
 A61L 27/32 (2006.01)
 A61L 27/42 (2006.01)
 A61L 31/02 (2006.01)
 A61L 31/08 (2006.01)
 A61L 31/12 (2006.01)
 B82B 1/00 (2006.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2012101941/15, 15.06.2010

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
15.06.2010

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:
23.06.2009 ЕР 09008201.7

(43) Дата публикации заявки: 27.07.2013 Бюл. № 21

(45) Опубликовано: 27.09.2014 Бюл. № 27

(56) Список документов, цитированных в отчете о
поиске: WO 97/41273 A1, 06.11.1997. ЕР
0285826 A2, 12.10.1988. ЕА 11594 B1, 28.04.2009(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на
национальной фазе: 23.01.2012(86) Заявка РСТ:
ЕР 2010/003590 (15.06.2010)(87) Публикация заявки РСТ:
WO 2010/149296 (29.12.2010)Адрес для переписки:
105082, Москва, Спартаковский пер., д. 2, стр. 1,
секция 1, этаж 3, "Евромаркпат"(72) Автор(ы):
Михаэль Александр БУФЛЕР (CH)(73) Патентообладатель(и):
ГАЙСТЛИХ ФАРМА АГ (CH)R
U
2
5
2
9
8
0
2
C
2
C
2
2
0
8
0
2
9
2
U
R

(54) МАТЕРИАЛ ЗАМЕНИТЕЛЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине. Описан двухфазный материал заменителя костной ткани на основе фосфата кальция / гидроксиапатита (САР/НАР), включающий ядро из спеченного САР и как минимум один равномерный и закрытый эпитаксически нарастающий слой нанокристаллического НАР, нанесенный сверху на ядро из спеченного САР, причем эпитаксически нарастающие нанокристаллы имеют такой же размер и морфологию, что и у минерала костей человека, то есть длину от 30 до 46 нм и ширину от 14 до 22 нм. Описан также способ получения материала заменителя костной ткани на основе САР/НАР, включающий этапы: а) изготовления

ядра из спеченного материала САР, б) погружения ядра из спеченного материала САР в водный раствор при температуре от 10°C до 50°C для запуска процесса преобразования САР в НАР, при помощи которого на поверхности ядра из спеченного материала САР образуется равномерный и закрытый эпитаксически нарастающий слой нанокристаллического гидроксиапатита, причем эпитаксически нарастающие нанокристаллы имеют такие же размер и морфологию, что и у минерала костей человека, с) прекращения преобразования путем отделения твердого материала от водного раствора при наличии равномерного и закрытого

R U 2 5 2 9 8 0 2 C 2

покрытия из как минимум одного нанокристаллического слоя НАР, но до полного завершения процесса преобразования, d) необязательной стерилизации отделенного материала с этапа с), и применения вышеупомянутого материала заменителя костной

ткани в качестве имплантата или протеза для остеогенеза, регенерации костей, восстановления костей и/или реплантации костей в месте повреждения у человека или животного. 4 н. и 11 з.п. ф-лы, 3 табл., 6 пр.

R U 2 5 2 9 8 0 2 C 2



(51) Int. Cl.
A61L 27/12 (2006.01)
A61L 27/32 (2006.01)
A61L 27/42 (2006.01)
A61L 31/02 (2006.01)
A61L 31/08 (2006.01)
A61L 31/12 (2006.01)
B82B 1/00 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2012101941/15, 15.06.2010

(24) Effective date for property rights:
15.06.2010

Priority:

(30) Convention priority:
23.06.2009 EP 09008201.7

(43) Application published: 27.07.2013 Bull. № 21

(45) Date of publication: 27.09.2014 Bull. № 27

(85) Commencement of national phase: 23.01.2012

(86) PCT application:
EP 2010/003590 (15.06.2010)(87) PCT publication:
WO 2010/149296 (29.12.2010)

Mail address:

105082, Moskva, Spartakovskij per., d. 2, str. 1,
sektsija 1, ehtazh 3, "Evromarkpat"(72) Inventor(s):
Mikhaehl' Aleksander BUFLER (CH)(73) Proprietor(s):
GAJSTLIKh FARMA AG (CH)R
U
2
5
2
9
8
0
2
C
2

(54) BONE FILLER MATERIAL

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention refers to medicine. What is described is a two-phase bone filler material of calcium phosphate / hydroxyapatite (CAP/HAP) containing a sintered CAP nucleus and at least one uniform and closed epitaxial growing layer of nanocrystalline HAP coating the sintered CAP nucleus from above; the epitaxial growing nanocrystals have a size and a morphology identical to a human bone mineral, i.e. the length of 30 to 46 nm and the width of 14 to 22 nm. What is described is a method for preparing the bone filler material of CAP/HAP involving the stages as follows: a) making the sintered CAP nucleus, b) immersing the sintered CAP nucleus into an aqueous solution at 10°C to 50°C to initiate the process of CAP to HAP transformation to form the uniform and closed epitaxial growing nanocrystalline

hydroxyapatite on the surface of the sintered CAP nucleus with the epitaxial growing nanocrystals have the size and morphology identical to the human bone mineral, c) terminating the transformation by separating the solid material from the aqueous solution in the presence of the uniform and closed coating of at least one HAP nanocrystalline layer, until the comprehensive completion of the transformation process, d) optionally sterilising the material separated at the stage c), and using the above bone filler material as an implant or a prosthesis for osteogenesis, bone regeneration, bone repair and/or replantation at the site of injury in a human or animal.

EFFECT: preparing method for preparing bone filler material of CAP/HAP.

15 cl, 3 tbl, 6 ex

R
U
2
5
2
9
8
0
2
C
2

Изобретение касается нового двухфазного материала заменителя костной ткани с двухслойной структурой на основе фосфата кальция/гидроксиапатита (САР/НАР), способа получения такого материала и его применения в качестве имплантата или протеза для поддержки остеогенеза, регенерации костей, восстановления костей и/или 5 реплантации костей в месте повреждения у человека или животного.

Дефекты в костной структуре возникают в различных обстоятельствах, таких как травма, болезнь и хирургическая операция, и по-прежнему существует потребность в эффективном устраниении дефектов костей в различных областях хирургии.

Многочисленные природные и синтетические материалы и композиции применяются

10 для стимуляции заживления в месте повреждения кости. Общеизвестным природным остеокондуктивным материалом заменителя костной ткани, способствующим росту костей при периодонтальных и челюстно-лицевых костных повреждениях является Geistlich Bio-Oss®, выпускаемый на рынок компанией Geistlich Pharma AG. Этот материал производится из природной кости с применением способа, описанного в Патенте США 15 №5167961, позволяющего сохранять трабекулярную архитектуру и нанокристаллическую структуру природной кости и в результате обеспечивающего отличный остеокондуктивный матрикс, который не поддается или очень медленно поддается резорбции.

Системы трикальцийфосфата/гидроксиапатита (TCP/НАР) и их применение в качестве 20 материалов заменителя костной ткани описываются, например, в патенте US-6,338,752, в котором раскрывается способ получения двухфазного цемента α -TCP/НАР путем нагревания порошковой смеси фосфата аммония и НАР при 1200-1500°C.

В Европейском патенте EP-285826 описывается способ получения слоя НАР на 25 металлических и неметаллических телах для имплантатов путем нанесения слоя α -TCP и полного преобразования слоя α -TCP в НАР путем реакции с водой при pH от 2 до 7 при 80-100°C. Полученным продуктом является металлическое или неметаллическое тело, покрытое слоем НАР.

В документе WO 97/41273 описывается способ покрытия подложки, в частности 30 гидроксиапатита (НАР) или других фосфатов кальция (САР), слоем карбонизированного гидроксиапатита, то есть гидроксиапатита, в котором фосфатные и/или гидроксильные ионы частично заменены бикарбонатными ионами, при помощи процесса, включающего (а) погружение подложки в раствор с pH от 6,8 до 8,0, содержащий ионы кальция, фосфатные ионы и бикарбонатные ионы при температуре ниже 50°C, (б) нагревание части раствора, контактирующей с подложкой, до температуры от 50 до 80°C до 35 достижения уровня pH более 8, (с) поддержание подложки в контакте со щелочным раствором, полученным на этапе (б) для образования карбонизированного гидроксиапатитного покрытия и (д) вынимание подложки из раствора и высушивание покрытия. В указанном источнике описывается, что бикарбонатные ионы действуют как ингибиторы роста гидроксиапатитных кристаллов, и в результате образуются 40 нестехиометрические кристаллы, имеющие дефекты и довольно малые размеры, то есть длиной 10-40 нм и шириной 3-10 нм (см. стр.7, строки 1-7).

Компоненты систем фосфата кальция/гидроксиапатита (САР/НАР), в частности систем TCP/НАР, отличаются по термодинамической устойчивости.

Из-за этого различия при имплантации систем САР/НАР в организм млекопитающего, 45 в частности человека, растворимость TCP и других фосфатов кальция в жидкости организма выше, чем растворимость НАР. Разница в растворимости между фосфатами кальция и НАР вызывает разрушение неупорядоченной суперструктурой системы САР/НАР, поскольку более растворимое соединение САР (например, TCP) удаляется быстрее,

чем НАР. Спеченная взаимосвязь между САР и НАР, возникающая при высоких температурах, также в значительной степени способствует повышению растворимости устройства в физиологической среде. В ускоренном *in-vivo* распаде таких керамических соединений доминируют два разных типа реакции: химическое растворение и

- 5 биологическая резорбция клетками. Оба процесса вызывают растворение керамического материала, которое к тому же вызывает местное перенасыщение ионами кальция, при котором высвобождается большее количество ионов кальция, чем количество адсорбируемых ионов кальция. Исчезает природное равновесие ионов кальция, как во внеклеточном матриксе, так и в ткани, окружающей имплантат. Местное нарушение
10 природного кальциевого равновесия, выражющееся в перенасыщении ионами кальция, приводит к повышенной активности остеокластов и, таким образом, к ускоренной неконтролируемой резорбции керамического материала и риску неблагоприятных воспалительных реакций, в частности, при использовании большого количества синтетического материала заменителя костной ткани.

- 15 Когда материал заменителя костной ткани Geistlich Bio-Oss® имплантируется в тело человека, это практически не влияет на природное кальциевое равновесие, и концентрация ионов кальция на поверхности материала и в пределах его локального окружения остается почти неизменной. Таким образом, биологическая резорбция материала не происходит или происходит с очень низкой скоростью без риска
20 неблагоприятных воспалительных реакций.

- Цель данного изобретения состоит в обеспечении материала заменителя костной ткани на основе фосфата кальция/гидроксиапатита (САР/НАР), который, подобно материалу заменителя костной ткани Geistlich Bio-Oss®, после установки *in vivo* обеспечивает возможность концентрации ионов кальция на поверхности материала и
25 в пределах его локального окружения для того, чтобы оставаться почти неизменным и, таким образом, не приводить к повышенной активности остеокластов.

- Действительно, природное кальциевое равновесие, необходимое для оптимальной регенерации костей, не должно нарушаться и разрушаться. Кроме того, природное равновесие концентрации кальция должно поддерживаться в течение длительного
30 периода материалом заменителя костной ткани до завершения процесса регенерации. Когда эти условия выполняются, не происходит повышения активности остеокластов, а значит, не возникает риска неблагоприятных воспалительных реакций.

- Было обнаружено, что вышеуказанная цель достигается благодаря новому двухфазному нанокристаллическому материалу заменителя костной ткани на основе САР/НАР с точно определенной биомиметической двухслойной структурой, обеспечиваемой при описанных авторами конкретных условиях.

- Действительно, как показывают наблюдения при помощи флуоресцентной световой микроскопии этого нового двухфазного нанокристаллического материала заменителя костной ткани на основе САР/НАР, имплантированного в тело млекопитающего, не
40 происходит заметного повышения активности остеокластов поблизости от имплантата, что свидетельствует об отсутствии повышения концентрации ионов кальция на поверхности материала и в пределах его локального окружения.

- Новый двухфазный нанокристаллический материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР демонстрирует очень интересные свойства *in vivo*.

- 45 Таким образом, изобретение касается двухфазного материала заменителя костной ткани на основе фосфата кальция/гидроксиапатита (САР/НАР), который включает ядро из спеченного САР и как минимум один равномерный и закрытый эпитаксически нарастающий слой нанокристаллического НАР, нанесенного сверху на ядро из

спеченного САР, причем эпитаксически нарастающие нанокристаллы имеют такой же размер и морфологию, как и у минерала костей человека, то есть длину от 30 до 46 нм и ширину от 14 до 22 нм.

Ядро из спеченного САР может включать трикальцийфосфат (TCP), в частности α -

5 TCP (α -Ca₃(PO₄)₂) или β -TCP (β -Ca₃(PO₄)₂), и/или тетрафосфат кальция (TTCP) Ca₄(PO₄)₂O.

Согласно часто применяемому варианту осуществления ядро из спеченного САР по сути состоит из TCP, причем предпочтение отдается α -TCP.

10 Эпитаксически нарастающий слой нанокристаллического НАР структурно и химически почти идентичен природному минералу костей человека.

Эпитаксически нарастающий слой нанокристаллического НАР обычно имеет толщину как минимум от 15 до 50 нм, предпочтительно как минимум от 20 до 40 нм, более предпочтительно как минимум от 25 до 35 нм. Эта минимальная толщина соответствует одному слою нанокристаллов НАР в эпитаксальной ориентации.

15 Эпитаксически нарастающий слой нанокристаллического НАР может включать один или несколько слоев нанокристаллов НАР в эпитаксальной ориентации. Толщину эпитаксически нарастающего слоя нанокристаллического НАР, которая касается нескольких таких слоев нанокристаллов НАР в эпитаксальной ориентации, выбирают в соответствии с предполагаемым применением материала заменителя костной ткани 20 в качестве имплантата или протеза в подвергающихся различной нагрузке частях тела. Материал заменителя костной ткани согласно изобретению действительно предназначен для функционирования *in vivo* в качестве замены живой системе, постепенно преобразующей ядро из спеченного САР в гидроксиапатит, подобный по размеру и 25 морфологии минералу костей человека, причем скорость этого преобразования зависит от скорости высвобождения кальция ядром из спеченного САР, которая в значительной мере регулируется толщиной эпитаксически нарастающего слоя нанокристаллического НАР.

Свойства материала заменителя костной ткани на основе САР/НАР в значительной 30 мере регулируются толщиной эпитаксически нарастающего слоя кристаллического НАР. Термин "свойства" включает способность заменителя костной ткани на основе САР/НАР к высвобождению неизменной концентрации ионов кальция в локальное окружение *in vitro* и *in vivo*.

Толщина эпитаксически нарастающего слоя нанокристаллического НАР касается соотношения ядра из спеченного материала САР с НАР, причем вышеупомянутое 35 соотношение обычно составляет от 5:95 до 95:5 предпочтительно от 10:90 до 90:10.

Материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР может быть кусковым или гранулированным, с частицами или гранулами, имеющими необходимые размер и форму. Как правило, частицы или гранулы являются приблизительно сферическими и имеют диаметр от 250 до 5000 мкм.

40 Материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР также может быть формованным изделием, например в форме винта, гвоздя, штыря или конструкции, имеющей профиль части костного тела, такой как часть бедра, ключицы, ребра, нижней челюсти или черепа. Такой винт, гвоздь или штырь может использоваться в восстановительной ортопедической хирургии для прикрепления связок к кости, например 45 в колене или локте. Такая конструкция, имеющая профиль части костного тела, может применяться в ортопедической хирургии в качестве протеза для замены отсутствующей или поврежденной кости или части кости.

Изобретение также касается способа получения определенного выше материала

заменителя костной ткани на основе САР/НАР, причем способ включает следующие этапы:

- а) изготовление ядра из спеченного материала САР,
- б) погружение ядра из спеченного материала САР в водный раствор при температуре 5 от 10°C до 50°C для запуска процесса преобразования САР в НАР, при помощи которого на поверхности ядра из спеченного материала САР образуется равномерный и закрытый эпитаксически нарастающий слой нанокристаллического гидроксиапатита, причем эпитаксически нарастающие нанокристаллы имеют такие же размер и морфологию, что и у минерала костей человека,
- 10 в) прекращение преобразования путем отделения твердого материала от водного раствора при наличии равномерного и закрытого покрытия из как минимум одного нанокристаллического слоя НАР, но до полного завершения процесса преобразования,
- г) необязательную стерилизацию отделенного материала с этапа в).

Ядро из спеченного материала САР может включать трикальцийфосфат (TCP), в 15 частности α -TCP (α -Ca₃(PO₄)₂) или β -TCP (β -Ca₃(PO₄)₂), и/или тетрафосфат кальция (TTCP) Ca₄(PO₄)₂O.

Согласно часто применяемому варианту осуществления ядро из спеченного материала САР по сути состоит из TCP, причем предпочтение отдают α -TCP.

Изготовление ядра из спеченного материала САР осуществляют известными 20 специалистам способами, включающими сначала смешивание порошков дикальцийфосфата (CaHPO₄), карбоната кальция и/или гидроксида кальция, затем обжиг и спекание смеси в соответствующем диапазоне температур, с получением, таким образом, кускового материала ядра из спеченного САР (см., например, Mathew M. et 25 al, 1977, Acta. Cryst. B33:1325; Dickens B. et al., 1974, J. Solid State Chemistry 10, 232; и Durucan C. et al., 2002, J. Mat. Sci., 37:963).

Кусковой материал ядра из спеченного TCP, таким образом, может быть получен 30 путем смешивания порошков дикальцийфосфата (CaHPO₄), карбоната кальция и/или гидроксида кальция в стехиометрическом соотношении, обжига и спекания смеси при температуре в диапазоне 1200-1450°C, предпочтительно - около 1400°C.

Кусковой материал ядра из спеченного TTCP также может быть получен при помощи описанного выше процесса.

Кусковой материал из спеченного САР, полученный такими способами, может быть 35 пористым с пористостью от 2 до 80 об. % и широким распределением пор. Параметры пористости выбирают в соответствии с предполагаемым применением материала заменителя костной ткани на основе САР/НАР.

Ядро из спеченного материала САР, применяемое на этапе б), может быть 40

- кусковым материалом ядра из спеченного САР, полученным, как описано выше,
- частицами или гранулятом ядра из спеченного материала САР, полученными из кускового материала ядра из спеченного САР, изготовленного, как описано выше, путем применения традиционных способов, таких как дробление, измельчение и/или помол и просеивание, или
- заготовкой ядра из спеченного материала САР, имеющей необходимые форму и размер, например в форме винта, гвоздя, штыря или конструкции, имеющей профиль 45 части костного тела.

Такая заготовка, имеющая любые необходимые форму и размер, может быть получена из кускового спеченного материала ядра, полученного, как описано выше, путем применения общезвестных способов макетирования, таких как CNC-

фрезерование или стереоскопическая печать (см., например, Bartolo P. et al., 2008, Bio-Materials and Prototyping Applications in Medicine, Springer Science New York, ISBN 978-0-387-47682-7; Landers R. et al., 2002, Biomaterials 23(23), 4437; Yeong W. - Y. et al., 2004, Trends in Biotechnology, 22 (12), 643; и Seitz H. et al., 2005, Biomed. Mater. Res. 74B (2), 782).

5 Водный раствор с этапа b) может быть чистой водой, моделированной жидкостью организма или буфером. Важно, чтобы уровень pH раствора для погружения с этапа b) был почти нейтральным и оставался устойчивым в течение всего процесса преобразования, предпочтительно - в пределах pH от 5,5 до 9,0.

Буфер может быть любым буфером в вышеуказанном диапазоне pH, но предпочтение 10 отдают фосфатному буферу с кальцием, магнием и/или натрием или без него.

Термин "моделированная жидкость организма" относится к любому раствору, который имитирует жидкость организма. Предпочтительно моделированная жидкость организма имеет концентрацию ионов, приближенную к показателю плазмы крови.

15 Диапазон температур на этапе b) обычно составляет от 10°C до 50°C, предпочтительно от 25 до 45°C, более предпочтительно - от 35°C до 40°C.

Этап погружения b) в первой фазе вызывает фазовый переход первого рода материала CAP ядра и, таким образом, образование центров кристаллизации прекурсоров нанокристаллов HAP. Во время второй фазы полученные в результате прекурсоры HAP из первой фазы растут и образуют закрытый (то есть полностью покрывающий) 20 эпитаксический нанокристаллический композитный слой. Первый слой нанокристаллов HAP должен быть равномерным и закрытым и эпитаксически соединенным с ядром из спеченного материала CAP.

Во время третьей фазы фазовый переход первого рода может происходить в пределах 25 новообразованного двухслойного композита для дальнейшего преобразования ядра из спеченного материала CAP (TCP или TTCP) в нанокристаллический HAP. Во время этого третьего этапа фазы перехода ионы кальция высвобождаются на протяжении контролируемого периода времени в ходе контролируемого процесса медленной диффузии, пока часть ядра из спеченного материала CAP не преобразуется в нанокристаллический HAP.

30 Время преобразования и, следовательно, скорость высвобождения кальция, может регулироваться путем изменения толщины слоя HAP.

Эпитаксически нарастающий слой нанокристаллического HAP соответствующей толщины получают *in-vitro*, причем преобразование CAP в HAP прекращается до его завершения.

35 Как только материал заменителя костной ткани на основе CAP/HAP помещают *in vivo*, процесс преобразования CAP в HAP снова активируется вследствие контакта с жидкостями организма, и материал заменителя костной ткани функционирует в качестве замены живой системы, образуя новый гидроксиапатит, подобный по размеру и морфологии материалу человеческой кости. Во время процесса преобразования *in vivo* 40 фазы перемещенные ионы кальция высвобождаются в локальное окружение, поддерживая местное кальциевое равновесие, которое является важным и благоприятным для процессов регенерации костей.

Из-за разницы во времени регенерации при повреждениях костей в подвергающихся различной нагрузке участках тела важной является контролируемость скорости 45 высвобождения кальция. Это может достигаться путем изменения толщины эпитаксически нарастающего слоя гидроксиапатита.

Таким образом, этап с) является ключевым этапом. Время воздействия водного раствора на этапе b) основывается на необходимой толщине слоя HAP. Необходим

как минимум один слой нанокристаллического НАР в эпитаксальной ориентации. Существенно, что преобразование САР в НАР является незавершенным.

Надлежащее время воздействия в соответствии с необходимой толщиной может быть рассчитано при помощи нескольких термодинамических дифференциальных уравнений, хорошо известных специалистам в области химии, касающейся фосфатов кальция и производства цемента и бетона.

См., например: Pommersheim, J.C.; Clifton, J.R. (1979) *Cem. Cone. Res.*; 9:765; Pommersheim, J.C.; Clifton, J.R. (1982) *Cem. Cone. Res.*; 12:765; и Schlussler, K.H. Mcedlov-Petrosjan, O.P.; (1990): *Der Baustoff beton*, VEB Verlag Bauwesen, Berlin.

10 Перенос решения вышеупомянутых дифференциальных уравнений на систему САР/НАР позволяет спрогнозировать фазовый переход от САР к НАР и толщину слоя, таким образом, чтобы эпитаксический слой НАР мог быть образован устойчивым и воспроизводимым способом.

15 Отделение твердого материала от водного раствора обычно выполняют путем фильтрации и высушивания, применяя способы, общеизвестные среди специалистов в данной области.

Необязательный этап стерилизации d) выполняют способами, общеизвестными среди специалистов в данной области, такими как облучение гамма-лучами.

10 Изобретение также касается применения определенного выше материала заменителя костной ткани на основе САР/НАР, как правило, в форме кускового или формованного изделия, в качестве имплантата или протеза для поддержки остеогенеза, регенерации костей, восстановления костей и/или реплантации костей в месте повреждения у человека или животного.

25 Изобретение также касается способа содействия остеогенезу, регенерации костей и/или восстановлению костей в месте повреждения у человека или животного путем имплантации определенного выше материала заменителя костной ткани на основе САР/НАР, как правило, в форме кускового или формованного изделия.

30 Преимущества материала заменителя костной ткани на основе САР/НАР согласно изобретению

35 Изобретение 30 Эпитаксически нарастающие нанокристаллы НАР, окружающие ядро из спеченного материала САР, идентичны по размеру и морфологии кристаллам апатитов, составляющим природный минерал костей человека, как показано ниже в Таблице 1. Таким образом, материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР согласно изобретению успешно имитирует состав или микроструктуру кости и представляет собой биомиметический материал минерала костей человека.

Таблица 1

Сравнение размера и морфологии кристаллов НАР для заменителя костной ткани на основе САР/НАР согласно изобретению и минерала костей человека

40 Кристаллографические оси (шестиугольная пространственная группа Р6 ₃ /M)	САР/НАР согласно изобретению, полученный при физиологической температуре. Размер кристаллов ⁺ [нм]	Природный минерал костей человека. Размер кристаллов ⁺ [нм]
a (1,0,0)	18 (±4)	15-21
b (0,1,0)	18 (±4)	15-21
c (0,0,1)	38 (±8)	34-45

+ Анализ размера кристаллов выполняли путем применения ТЕМ (просвечивающей электронной микроскопии), SPM (сканирующей зондовой микроскопии), а также обработки данных дифракции рентгеновских лучей с применением метода Брэгга.

45 Постоянная концентрация ионов кальция в результате улучшает адгезию остеобластов и остеокластов к поверхности НАР в правильном соотношении для остеогенеза и, таким образом, для устойчивого состояния в цикле регенерации костей. Обеспечивается поверхность, к которой остеобlastы и остеокласты легко прикрепляются в правильном

соотношении для регенерации костей.

Кроме того, благодаря хорошо регулируемой поверхности, свойства материала заменителя костной ткани на основе САР/НАР согласно изобретению могут функционировать в качестве матрикса для биологически активных молекул, такого как белки внеклеточного матрикса, в частности факторов роста для регенерации костей.

Представленные ниже примеры поясняют изобретение, не ограничивая его объем.

Пример 1. Приготовление кускового спеченного материала α -TCP

Для смеси 500 г (сухая масса) 360 г безводного порошка дикальцийфосфата, 144 г порошкового карбоната кальция и 220 мл дейонизированной воды смешивали в течение 10 минут при 500 об/мин при помощи лабораторной мешалки. Суспензию после процесса смешивания сразу переносили в высокотемпературную устойчивую платиновую чашку. Заполненную платиновую чашку помещали в холодную печь. Печь нагревали до 1400°C со скоростью нагревания 60°C в час. Процесс нагревания останавливали через 72 часа путем выключения печи. Образец охлаждали до комнатной температуры, не вынимая из печи. Кусковой спеченный материал (чистофазный α -Ca₃(PO₄)₂) вынимали из печи и платиновой чашки. Кусковой продукт после процесса спекания весил 420 г (потеря массы 16,7%). Контроль за чистотой фазы осуществляли при помощи анализа путем порошковой рентгеновской дифракции.

Пример 2. Изготовление пористых гранул спеченного α -TCP с размером частиц от 0,25 до 2 мм

Кусковой продукт с Примера 1 измельчали при помощи щековой дробилки (размер щели 4 мм). Грубые гранулы просеивали, применяя ситовую установку и съемные сита с ячейками 2 мм и 0,25 мм. После просеивания фракции гранул дважды промывали очищенной водой для отделения мелких порошковых остатков, адсорбированных в гранулы. Пористые гранулы высушивали в течение 10 часов при 120°C в сушильной камере. Контроль за гранулометрическим составом осуществляли при помощи технологии лазерной дифракции. Чистоту поверхности частиц после промывания контролировали путем наблюдения за поверхностью при помощи сканирующей электронной микроскопии.

Пример 3. Изготовление пористых цилиндров (длина 10 мм, диаметр 6 мм) из спеченного α -TCP путем CNC-фрезерования

Кусковой продукт с Примера 1 уменьшали до кубовидной заготовки с длиной краев a=3 см, b=2 см, c=2 см при помощи шлифовального станка. Заготовку помещали и фиксировали в четырехосном CNC-фрезерном станке, оснащенном полукруглым резцом для твердых металлов диаметром 3 мм. Цилиндры вырезали, применяя путь фрезерования с радиусом 3 мм и наклоном 0,25 мм. Основная скорость заготовки во время процесса CNC-фрезерования составляла 1700 оборотов в минуту, максимальную скорость вращения пути фрезерования рассчитывали по интегральному процессу в пределах CNC-оборудования, и она составляет 10 оборотов в минуту. После фрезерования цилиндрические заготовки дважды промывали очищенной водой для отделения мелких порошковых остатков, адсорбированных в цилиндрическую поверхность. Пористые цилиндры высушивали в течение 10 часов при 120°C в сушильной камере. Чистоту поверхности заготовки после промывания контролировали путем наблюдения за поверхностью при помощи сканирующей электронной микроскопии.

Правильность размеров заготовки контролировали при помощи штангенциркуля.

Пример 4. Получение эпитаксически нарастающего покрытия из нанокристаллического НАР на гранулах из спеченного α -TCP с Примера 2

Буферный раствор (1000 мл), достаточный для покрытия и процесса фазового

преобразования приготавливали, используя 1,82 моль/л натрия, 4,68 моль/л водорода, 0,96 моль/л фосфора, 5,64 моль/л кислорода, 0,01 моль/л кальция и 0,71 моль/л хлора. Раствор доводят до pH 7,4 при температуре 40°C. Гранулы, полученные согласно примерам 1 и 2, погружали в приготовленный раствор и держали в водяной бане с устойчивой температурой (40°C) в течение времени, рассчитанного в соответствии с толщиной слоя в среднем 250 нм (10 часов), что соответствует фазовому составу (масса/масса) 75% альфа-TCP и 25% гидроксиапатита. После погружения гранулы трижды промывали очищенной водой для удаления остатков из буферного раствора. Пористые гранулы высушивали в течение 4 часов при 120°C в сушильной камере. Фазовый состав гранул анализировали с применением ритвельдовского анализа данных порошковой рентгеновской дифракции, размер кристаллов кристаллических фаз, полученных в процессе покрытия, анализировали путем size-strain обработки данных дифракции рентгеновских лучей в соответствии с методом Брэгга. Пористость гранул контролировали при помощи порометрии с интрузией ртути, морфологию поверхности после покрытия контролировали при помощи сканирующей электронной микроскопии.

Пример 5. Получение эпитаксически нарастающего покрытия из нанокристаллического НАР на цилиндрах из спеченного α -TCP с Примера 3

Буферный раствор (1000 мл), достаточный для покрытия и процесса фазового преобразования приготавливали, используя 1,82 моль/л натрия, 4,68 моль/л водорода, 0,96 моль/л фосфора, 5,64 моль/л кислорода, 0,01 моль/л кальция и 0,71 моль/л хлора. Раствор доводили до pH 7,4 при температуре 40°C. Пористые цилиндры, полученные согласно примерам 1 и 3, погружали в приготовленный раствор и держали в водяной бане с устойчивой температурой (40°C) в течение времени, рассчитанного в соответствии с толщиной слоя в среднем 20 мкм (60 часов), что соответствует фазовому составу приблизительно 85% (масса/масса) альфа-TCP и 15% (масса/масса) гидроксиапатита. После погружения цилиндры трижды промывали очищенной водой для удаления остатков из буферного раствора. Пористые цилиндры высушивали в течение 10 часов при 120°C в сушильной камере. Фазовый состав цилиндров анализировали с применением ритвельдовского анализа данных порошковой рентгеновской дифракции, размер кристаллов кристаллических фаз, полученных в процессе покрытия, анализировали путем size-strain обработки данных дифракции рентгеновских лучей в соответствии с методом Брэгга. Эпитаксический рост анализировали путем отражательно-разностной (RD) спектроскопии. Пористость цилиндров контролировали при помощи порометрии с интрузией ртути, морфологию поверхности после покрытия контролировали при помощи сканирующей электронной микроскопии. Толщину слоя контролировали, применяя отражательную дифракцию электронов высоких энергий (RHEED) и/или фотоэлектронную спектроскопию (XPS).

Пример 6. Влияние времени погружения на толщину слоя и фазовый состав

В Таблицах 2 и 3 показаны данные экспериментов для примера, показывающего влияние времени погружения на толщину слоя и фазовый состав, соответственно, для пористых частиц α -TCP почти сферической геометрической формы и с размером от 10 до 20 мкм, пористостью 25-40 об.%, удельной (внутренней) площадью поверхности 50-60 м²/г и объемной плотностью 0,6-0,8 г/мл.

45

Таблица 2	
Влияние времени погружения на толщину слоя	
Время погружения [мин]	Толщина слоя* [нм]
0	-
15	37(±10)

30	112 (± 4)
60	121 (± 9)
600	238 (± 8)

* Анализ эпитаксии, химического состава слоя и толщины слоя осуществляли при помощи RHEED (отражательной дифракции электронов высоких энергий) и XPS (фотоэлектронной спектроскопии)

5

10

15

20

25

30

35

40

45

Таблица 3
Влияние времени погружения на фазовый состав

Время погружения [ч]	TCP** [мас. %]	HAP** [мас. %]
0	100	-
0,5	86,6 (± 1)	13,4 (± 2)
1	85,8 (± 1)	14,2 (± 3)
2	83,5 (± 1)	16,4 (± 3)
5	78,1 (± 1)	21,9 (± 3)
7,5	75,3 (± 1)	24,7 (± 3)
10	74,2 (± 5)	25,8 (± 2)
12	58,8 (± 6)	41,2 (± 7)
24	44,8 (± 9)	55,2 (± 6)
48	35,8 (± 6)	64,2 (± 3)
72	-	100

** Количественный фазовый анализ осуществляли с применением ритвельдовского анализа данных порошковой рентгеновской дифракции.

*** Данные экспериментов оценивали на системе со следующими параметрами: жидкую фазу: фосфатно-солевой буферный раствор, 20х, температура 40°C.

Формула изобретения

1. Двухфазный материал заменителя костной ткани на основе фосфата кальция / гидроксиапатита (САР/НАР), включающий ядро из спеченного САР и как минимум один равномерный и закрытый эпитаксически нарастающий слой нанокристаллического НАР, нанесенный сверху на ядро из спеченного САР, причем эпитаксически нарастающие нанокристаллы имеют такой же размер и морфологию, что и у минерала костей человека, то есть длину от 30 до 46 нм и ширину от 14 до 22 нм.

2. Материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР по п.1, отличающийся тем, что эпитаксически нарастающий слой нанокристаллического НАР, как правило, имеет толщину как минимум от 15 до 50 нм.

3. Материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР по п.1, отличающийся тем, что эпитаксически нарастающий слой нанокристаллического НАР, как правило, имеет толщину как минимум от 20 до 40 нм.

4. Материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что соотношение материала с НАР составляет от 5:95 до 95:5.

5. Материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что соотношение ядра из спеченного материала САР с НАР составляет от 10:90 до 90:10.

6. Материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что ядро из спеченного САР по сути состоит из α -TCP.

7. Материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что предусмотрен в форме частиц или гранулята.

8. Материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что является формованным изделием.

9. Материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР по п.8, отличающийся тем, что имеет форму винта, гвоздя или штыря.

10. Материал заменителя костной ткани на основе САР/НАР по п.8, отличающийся тем, что представляет собой конструкцию, имеющую профиль части костного тела.

11. Способ получения материала заменителя костной ткани на основе САР/НАР по любому из пп.1-10, включающий следующие этапы

а) изготовление ядра из спеченного материала САР,

б) погружение ядра из спеченного материала САР в водный раствор при температуре

5 от 10°C до 50°C для запуска процесса преобразования САР в НАР, при помощи которого на поверхности ядра из спеченного материала САР образуется равномерный и закрытый эпитаксически нарастающий слой нанокристаллического гидроксиапатита, причем эпитаксически нарастающие нанокристаллы имеют такие же размер и морфологию, что и у минерала костей человека,

10 с) прекращение преобразования путем отделения твердого материала от водного раствора при наличии равномерного и закрытого покрытия из как минимум одного нанокристаллического слоя НАР, но до полного завершения процесса преобразования, и

д) необязательную стерилизацию отделенного материала с этапа с).

15 12. Способ по п.11, отличающийся тем, что на этапе б) уровень pH водного раствора остается в пределах от 5,5 до 9,0.

13. Способ по п.11 или 12, отличающийся тем, что температура на этапе б) составляет от 25 до 45°C, предпочтительно от 35°C до 40°C.

14. Применение материала заменителя костной ткани на основе САР/НАР по любому из пп.1-10 в качестве имплантата или протеза для остеогенеза, регенерации костей, восстановления костей и/или реплантации костей в месте повреждения у человека или животного.

15. Способ содействия остеогенезу, регенерации костей и/или восстановлению костей в месте повреждения у человека или животного путем имплантации материала заменителя костной ткани на основе САР/НАР по любому из пп.1-10.

30

35

40

45