



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **119700** (13) **C2**

(51) МПК (2019.01)

**A61K 35/32** (2015.01)

**A61F 2/28** (2006.01)

A61P 19/00

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

- (21) Номер заявки: **а 2017 09456**  
(22) Дата подання заявки: **27.09.2017**  
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід: **25.07.2019**  
(41) Публікація відомостей про заявку: **10.04.2019, Бюл.№ 7**  
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: **25.07.2019, Бюл.№ 14**

- (72) Винахідник(и):  
**Корж Микола Олексійович (UA),  
Воронцов Петро Михайлович (UA),  
Сльота Оксана Михайлівна (UA),  
Гусак Валерія Сергіївна (UA),  
Нікольченко Ольга Анатоліївна (UA),  
Воронцова Марія Петрівна (UA)**

- (73) Власник(и):  
**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ  
ПАТОЛОГІЇ ХРЕБТА ТА СУГЛОБІВ ІМЕНІ  
ПРОФ. М.І. СИТЕНКА НАЦІОНАЛЬНОЇ  
АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ",  
вул. Пушкінська, 80, м. Харків, 61024 (UA)**

- (56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:  
UA 108813 C2, 25.11.2014  
RU 2172104 C1, 20.08.2001  
RU 2517037 C1, 27.05.2014  
RU 2155025 C1, 27.08.2000  
RU 2278655 C1, 27.06.2006  
UA 118016 U, 25.08.2016  
RU 2495567 C1, 20.10.2013  
CN 101164626 A, 23.04.2008  
US 20150352235 A1, 10.12.2015  
Vangsness C. T. Et al. Overview of safety issues concerning the preparation and processing of soft-tissue allografts. The journal of arthroscopic and related surgery, 2006, Vol. 22, No. 12, P. 1351-1358  
Сербин М. Е. и др. Некоторые свойства костной ткани после обработки химическим способом. Український морфологічний альманах, 2011, Том9, №3 (додаток), стор. 123-125  
Haimi S. et al. The effect of chemical cleansing procedure combined with peracetic acid-ethanol sterilization on biomechanical properties of cortical bone. Biologicals, 2008, Vol. 36, P. 99-104

UA 119700 C2

**(54) СПОСІБ ВИГОТОВЛЕННЯ ІМПЛАНТАЦІЙНОГО ДЕГІДРАТОВАНОГО КІСТКОВОГО БІОМАТЕРІАЛУ АЛОГЕННОГО ПОХОДЖЕННЯ У ВИГЛЯДІ ПОРОШКУ**

**(57) Реферат:**

Винахід стосується способу виготовлення імплантаційного дегідратованого кісткового біоматеріалу, що передбачає механічне очищення та здрібнювання алогенної кістки, обробку кісткових фрагментів перекисом водню, етанолом, сольовими розчинами, пакування та

стерилізацію, причому виготовляють імплантаційний дегідратований кістковий біоматеріал у вигляді порошку, обробку кісткових фрагментів здійснюють 10 % перекисом водню впродовж 20-24 годин з заміною розчину 1-2 рази, потім обробляють сумішшю етанолу з діетиловим ефіром у співвідношенні 1:1 впродовж 8-10 годин з подальшим витримуванням при температурі мінус 25 °С у 0,45 М розчині натрію хлориду впродовж 20-24 годин, витримують у 0,1 М розчині натрію фосфорнокислого двозаміщеного впродовж 8-24 годин з проміжним між стадіями розморожуванням, промиванням водою впродовж 1-3 годин та висушуванням при кімнатній температурі, після чого кістковий матеріал піддають конвекційному висушуванню при температурі від +35 до +45 °С впродовж 3-5 діб, здрібнюють до фракції порошку розміром 0,5-1,5 мм, пакують та піддають радіаційній стерилізації дозою від 15 до 25 кГр.

Винахід належить до медицини, а саме до травматології та ортопедії, зокрема до технології виготовлення дегідратованого біоматеріалу з алогенної кістки, який може бути використаний самостійно або як носій біологічно активних речовин, лікарських засобів та клітин за умов хірургічного втручання у пацієнтів із травматичними ушкодженнями та пухлинними ураженнями кісток, переломами, що не зрослися або консолідуються уповільнено, несправжніми суглобами та в інших областях відновної хірургії для виконання остеопластики та оптимізації репаративного остеогенезу.

Разом із впровадженням у клінічну практику нових та вдосконалених методів хірургічного лікування пацієнтів із травмами та захворюваннями опорно-рухової системи актуальною є проблема вибору імплантаційного матеріалу, який має виконувати не тільки замісну функцію, але й інтегруватися в оточуючу кісткову тканину, підтримувати фізіологічний рівень остеобластичної та остеокластичної активності, сприяючи формуванню і ремоделюванню кісткової тканини.

Виготовлення дегідратованої алогенної кістки у вигляді порошку є необхідним для його клінічного використання як остеопластичного матеріалу, який формує з поверхнею кісткової порожнини щільний контакт та забезпечує високе початкове значення факторів, що ініціюють регенерацію в зоні контакту імплантованого матеріалу з кісткою пацієнта.

Відомий спосіб виготовлення дегідратованого біосумісного матеріалу у вигляді кісткового порошку, який передбачає розпилювання кістки на блоки розміром 1 см<sup>3</sup>, обробку ферментами (трипсином та папаїном), обробку сумішшю метанолу, етанолу, хлороформу, діетилового ефіру (1:1:1:1), здрібнювання в рідкому азоті до отримання кісткової крихти розміром від 7 до 700 мкм, обробку 1 % розчином перекису водню, промивання дистильованою водою та центрифугування, додаткову ферментну обробку розчином папаїну (від 0,1 до 1,0 %), щонайменше одноразове кип'ятіння впродовж 60 хвилин, висушування при температурі від 110 до 120 °C та насичення водним розчином колагену та сульфатованих глікозаміногліканів (Пат. 2155025 C1 RU МПК А61К 6/097 (2000.01). Спосіб получения биосовместимого материала для стоматологии / Панасюк Л.Ф. и др. (RU). № 99126221/14; заявл. 14.12.1999; опубл. 27.08.2000, Бюл. № 24). Запропонований спосіб дозволяє підвищити ступінь очищення кістки від колагену, глікопротеїнів та гліколіпідів, що визначають антигенність тканини. Недоліками даного способу є використання ферментів трипсину та папаїну, що викликає гідроліз факторів росту та спричинює втрату обробленим кістковим матеріалом своїх остеоіндуктивних властивостей. Стерилізація матеріалу кип'ятінням із подальшим висушуванням при високій температурі знижують його механічні властивості (міцність). Здрібнювання кістки в рідкому азоті технічно ускладнює виконання методу, а дуже низька температура також знижує міцнісні якості отриманого біоматеріалу. Використання хлороформу збільшує ризик токсичності кінцевого продукту та небезпеку його використання. Даний спосіб не передбачає консервацію кісткового порошку.

Відомий спосіб виготовлення дегідратованого біосумісного матеріалу у вигляді кісткового порошку передбачає механічне очищення та здрібнювання кістки до крихти розміром від 70 до 400 мкм, дворазову обробку 0,4 Н розчином лугу (NaOH або KOH) впродовж 10-24 годин з промиванням деіонізованою водою, щонайменше дворазову обробку сумішшю 1 % розчинів аміаку та етанолу (1:1) впродовж 10-16 годин, обробку 1 % розчином перекису водню, щонайменше дворазову обробку сумішшю етанолу та хлороформу (1:2), висушування при кімнатній температурі та насичення розчином колагену і сульфатованими глікозаміногліканами (Пат. 2278655 C1 RU МПК А61К 6/097 (2006.1). Спосіб получения биосовместимого материала для стоматологии / Иванов С.Ю. и др. (RU). - № 2005111015/15; заявл. 15.04.2005; опубл. 27.06.2006, Бюл. № 18). Даний спосіб дозволяє знизити антигенні властивості, підвищити біосумісність та надати матеріалу властивості, які стимулюють остеорепарацію. Недоліками даного способу є використання лугу, що робить обробку біоматеріалу більш жорсткою, тому руйнуються не тільки неколагенові білки, але й колаген, який має низьку антигенну активність, а також використання хлороформу, що збільшує ризик токсичності та небезпеку використання кінцевого продукту. Даний спосіб включає стерилізацію матеріалу тільки за рахунок перекису водню та не містить інформації щодо його консервації.

Відомий спосіб виготовлення дегідратованого біосумісного матеріалу у вигляді кісткового порошку передбачає розпилювання губчастої кістки на блоки розміром від 0,008 до 0,125 см, обробку 2 % розчином натрію хлориду впродовж 24-48 годин, промивання дистильованою водою, обробку 2 % розчином нагрію гідроксиду впродовж 24-48 годин, промивання дистильованою водою, обробку 3-4 % розчином перекису водню впродовж 10-16 годин, промивання дистильованою водою, обробку сумішшю хлороформу та етанолу (2:1) впродовж 48-72 годин, промивання дистильованою водою, прогрівання за умов рівномірного збільшення

температури від 600 до 1200 °С, додаткове прогрівання при температурі від 1200 до 1300 °С впродовж 2-5 хвилин та здрібнювання до крихти розміром від 700 до 2000 мкм, стерилізацію потоком прискорених електронів дозою  $18 \pm 5$  кГр (Пат. 2517037 С1 RU МПК А61К 35/32, А61Р 19/10. Спосіб получения костного минерального компонента и костный минеральный компонент для замещения и восстановления дефектов костной ткани / Ларионов Е.В. (RU). № 2013105243/15; заявл. 08.02.2013; опубл. 27.05.2014, Бюл. № 15). Отриманий кістковий матеріал виявляє виражений остеокондуктивний ефект. Недоліками даного способу є використання луѓу, через що окрім неколагенових білків руйнується і колаген, та використання хлороформу, через що збільшуються ризик токсичності кінцевого продукту, а також високотемпературне прогрівання матеріалу, яке призводить до зниження його міцнісних якостей.

Відомий спосіб виготовлення дегідратованого біосумісного матеріалу у вигляді кісткового порошку включає розпилювання губчастої кістки на фрагменти необхідних розмірів, обробку 6 % розчином перекису водню впродовж 48 годин (чотириразово через кожні 12 годин), центрифугування, обробку сумішшю етанолу та хлороформу (1:1) впродовж 48 годин (чотириразово через кожні 12 годин), центрифугування, висушування при кімнатній температурі впродовж 24 годин, заморожування при температурі -70 °С впродовж 24 годин, ліофілізацію впродовж 48 годин, пакування у подвійний пакет та стерилізацію потоком прискорених електронів дозою  $18 \pm 5$  кГр (Пат. 2172104 RU МПК А01N 1/00. Спосіб изготовления имплантатов из губчатой костной ткани / Лекишвили М.В. и др. (RU). № 2000115228/14; заявл. 15.06.2000; опубл. 20.08.2001, Бюл. № 23). Даний спосіб забезпечує низьку антигенність та повну стерильність кінцевого продукту. Недоліками даного способу є тривала обробка біоматеріалу перекисом водню, що може спричинити руйнування кісткових морфогенетичних білкових факторів і втрату обробленою кісткою остеоіндуктивних властивостей, а також використання хлороформу, що збільшує ризик токсичності отриманого імплантаційного матеріалу та небезпеку його використання.

Найближчим до винаходу, що заявляється, є спосіб виготовлення біоматеріалу з кістки природного походження, який передбачає механічне очищення та здрібнювання кістки до фрагментів необхідного розміру, щонайменше дворазову обробку 10 % розчином перекису водню впродовж 24 годин, промивання проточною водою впродовж 45 хвилин, висушування при кімнатній температурі, обробку сумішшю етанолу та хлороформу (1:1) впродовж 8 годин, промивання проточною водою впродовж 45 хвилин, висушування при кімнатній температурі, обробку 0,45 М розчином натрію хлориду при температурі -25 °С впродовж 20 годин, розморожування та промивання дистильованою водою, обробку 0,1 М розчином натрію фосфорнокислого двозаміщеного ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) при температурі -25 °С впродовж 8 годин, розморожування та промивання дистильованою водою, насичення розчином цефтриаксону (у 0,9 % NaCl з додаванням диметилсульфоксиду) та аскорбіновою кислотою, пакування у стерильні пакети, зберігання при температурі -25 °С (Пат. 108813 UA МПК А61К 35/32, А61F 2/28, А61Р 19/00, А01N 1/00, А61L 27/00. Спосіб виготовлення біоматеріалу з кісткової тканини / Корж М.О. та ін. (UA). - № а201403313; заявл. 25.11.2014; опубл. 10.06.2015, Бюл. № 11).

Даний спосіб вибрано за найближчий аналог. Найближчий аналог і винахід, що заявляється, мають такі спільні ознаки: обробка матеріалу 10 % розчином перекису водню, використання етанолу, послідовна обробка 0,45 М розчином натрію хлориду та 0,1 М розчином натрію фосфорнокислого двозаміщеного ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) при температурі -25 °С, висушування при кімнатній температурі. Але, відомий спосіб потребує зберігання отриманого імплантаційного біоматеріалу в морозильній камері при температурі -25 °С та постійного контролю над процесом зберігання, через що виникають відповідні технічні труднощі у разі його транспортування. Крім того, обробка біоматеріалу передбачає використання хлороформу, який збільшує ризик токсичності та небезпеки використання кінцевого продукту. До недоліків також можна віднести недостатню стерилізацію біоматеріалу (лише за рахунок обробки перекисом водню) та його насичення антибіотиком, що обмежує термін збереження обробленого кінцевого продукту (придатність до експлуатації не більше 1-го місяця).

В основу винаходу поставлено задачу підвищити якість клінічних та експлуатаційних властивостей імплантаційного кісткового біоматеріалу алогенного походження у вигляді порошку шляхом зниження антигенних властивостей кісткової тканини, збереження в ній колагену та мінерального компоненту, підсилення режиму стерилізації та збільшення терміну зберігання обробленого алотрансплантата.

Поставлена задача вирішена тим, що у способі виготовлення імплантаційного дегідратованого кісткового біоматеріалу у вигляді порошку, що передбачає механічне очищення та здрібнювання алогенної кістки, обробку кісткових фрагментів перекисом водню, сумішшю

етанолу з діетиловим ефіром, сольовими розчинами, конвекційне висушування, здрібнювання кісткових фрагментів до порошку, пакування та стерилізацію, згідно з винаходом, обробку кісткових фрагментів здійснюють 10 % перекисом водню впродовж 20-24 годин з заміною розчину 1-2 рази, потім сумішшю етанолу з діетиловим ефіром у співвідношенні 1:1 впродовж 8-10 годин, подальшим витримуванням при температурі -25 °С у 0,45 М розчині натрію хлориду впродовж 20-24 годин та 0,1 М розчині натрію фосфорнокислого двозаміщеного впродовж 8-24 годин з проміжним розморожуванням та промиванням дистильованою водою, після чого кістковий матеріал піддають конвекційному висушуванню при температурі від +35 до +45 °С впродовж 3-5 діб, здрібнюють до фракції порошку розміром 0,5-1,5 мм, пакують та піддають радіаційній стерилізації дозою від 15 до 25 кГр.

Спосіб виконують таким чином.

1. Виділення фрагментів із кістки, отриманої як післяопераційний матеріал реконструктивно-відновних хірургічних втручань. Механічне очищення поверхні кісткових фрагментів від м'яких тканин, хряща, окістя та здрібнювання кістки.

2. Обробка кісткових фрагментів 10 % розчином перекису водню впродовж 20-24 годин. Розчин замінують 1-2 рази. Матеріал промивають проточною водою впродовж 1-3 годин та висушують при кімнатній температурі. Етап забезпечує видалення елементів крові та первинну стерилізацію кісткового матеріалу.

3. Обробка кісткових фрагментів сумішшю етанолу і діетилового ефіру (1:1) впродовж 8-10 годин. Матеріал промивають проточною водою впродовж 1-3 годин та висушують при кімнатній температурі. Етап забезпечує видалення жирових компонентів (ліпідів, ліпопротеїдів тощо) та вторинну стерилізацію.

4. Витримування кісткових фрагментів у 0,45 М розчині натрію хлориду при температурі -25 °С впродовж 20-24 годин. Матеріал розморожують при кімнатній температурі та промивають дистильованою водою впродовж 1-3 годин. Етап забезпечує зниження антигенних властивостей за рахунок екстракції неколагенових білків.

5. Витримування кісткових фрагментів у 0,1 М розчині натрію фосфорнокислого двозаміщеного ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) при температурі -25 °С впродовж 8-24 годин. Матеріал розморожують при кімнатній температурі та промивають дистильованою водою впродовж 1-3 годин. Етап забезпечує зниження антигенних властивостей за рахунок екстракції неколагенових білків.

6. Висушування кісткових фрагментів за допомогою конвекційної сушарки при температурі від +35 до +45 °С впродовж 3-5 діб.

7. Здрібнювання кісткових фрагментів до фракції порошку (крихта розміром 0,5-1,5 мм) за допомогою кісткового млина шнекового типу.

8. Пакування кісткового порошку у подвійну упаковку, яка складається із зовнішнього комбінованого пакета та поліпропіленового флакона, маркування та радіаційній стерилізації дозою від 15 до 25 кГр.

Після стерилізації кісткового порошку проводять мікробіологічне дослідження в бактеріологічній лабораторії (по чотири зразки з кожної партії). У випадку встановлення факту росту мікрофлори препарати даної партії вилучають та утилізують.

#### ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

Спосіб виготовлення імплантаційного дегідратованого кісткового біоматеріалу, що передбачає механічне очищення та здрібнювання алогенної кістки, обробку кісткових фрагментів перекисом водню, етанолом, сольовими розчинами, пакування та стерилізацію, який **відрізняється** тим, що виготовляють імплантаційний дегідратований кістковий біоматеріал у вигляді порошку, обробку кісткових фрагментів здійснюють 10 % перекисом водню впродовж 20-24 годин з заміною розчину 1-2 рази, потім обробляють сумішшю етанолу з діетиловим ефіром у співвідношенні 1:1 впродовж 8-10 годин з подальшим витримуванням при температурі мінус 25 °С у 0,45 М розчині натрію хлориду впродовж 20-24 годин, витримують у 0,1 М розчині натрію фосфорнокислого двозаміщеного впродовж 8-24 годин з проміжним між стадіями розморожуванням, промиванням водою впродовж 1-3 годин та висушуванням при кімнатній температурі, після чого кістковий матеріал піддають конвекційному висушуванню при температурі від +35 до +45 °С впродовж 3-5 діб, здрібнюють до фракції порошку розміром 0,5-1,5 мм, пакують та піддають радіаційній стерилізації дозою від 15 до 25 кГр.

---

Комп'ютерна верстка А. Крулевський

---

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601