

(19)



(10) **LT 6227 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patent numeris: **6227**

(51) Int. Cl. (2015.01): **A61K 47/00**
A61K 35/00
C08F 210/00

(21) Paraiškos numeris: **2014 005**

(22) Paraiškos padavimo data: **2014 01 17**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2015 08 25**

(45) Patent paskelbimo data: **2015 10 26**

(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —

(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —

(30) Prioritetas: —

(72) Išradėjas:

Ivan Oleksiiiovych ZAVGORODNII, UA
Sergii Ivanovych ZAVGORODNII, UA

(73) Patent savininkas:

Ivan Oleksiiiovych ZAVGORODNII, Vul. Sribnokilska 1-48, 02068 Kyiv, UA
Sergii Ivanovych ZAVGORODNII, Vul. Heroiv Dnipra 16-A-199, 04209 Kyiv, UA

(74) Patentinis patikėtinis/atstovas:

Vilija VIEŠŪNAITĖ, Advokatų kprofesinė bendrija „TRINITI LT“, L. Stuokos-Gucevičiaus g. 9, 01122 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Biologiškai suderinamas poliakrilamido hidrogelis ir jo gavimo būdas

(57) Referatas:

Išradimas priskirtinas medicinos sričiai, o būtent –rekonstrukcinei, atkuriamajai, plastinei chirurgijai ir yra susijęs su poliakrilamido gelio gavimu, kuris gali būti naudojamas medicininiais ir/ar biologiniais tikslais, taip pat kaip transplantatas bei ląstelių nešėjas.

Išradimas priskirtinas medicinos sričiai, o būtent – rekonstrukcinei, atkuriamajai, plastinei chirurgijai ir yra susijęs su biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio gavimu, kuris gali būti naudojamas medicininiiais ir/ar biologiniais tikslais.

Technikos lygmenyje yra žinomas Ukrainos patentas „Biologiškai suderinamas poliakrilamido hidrogelis“ (UA64849, paskelbtas 2004-03-15, biul. Nr. 3), kurio sudėtyje yra poliakrilamido, sujungto N,N'-metilen-bis-akrilamidu, kaip izotoninį tirpalą (kuris naudojamas kaip dispersinė terpė) naudojant 0,85% natrio chlorido tirpalą, 0,5% gliukozės tirpalą, Ringerio-Loko tirpalą, Erlo tirpalą, Henkso tirpalą, borato arba fosfato buferius, bei papildomai naudojant plastifikatorių – polioksietileną, metilceliuliozę, želatiną, polivinilpirolidoną, polivinilo spiritą.

Pagrindinis minėto hidrogelio trūkumas yra tas, kad jame naudojamos metilceliuliozė ir želatina, kurios sudaro terpę patogeninės mikrofloros augimui ir plitimui. Poliakrilamido hidrogelyje esanti patogeninė mikroflora padidina pooperacinių komplikacijų ir kitų nepageidaujamų reakcijų tikimybę, ypač organizme, kurio temperatūra yra 36,6 °C.

Taip pat technikos lygmenyje yra žinomas patentas RU 2067873 (paskelbtas 1996-10-20) „Biologiškai suderinamas hidrogelis“, kurį sudaro nuo 3,5 iki 9,0% (masės) skersiniais ryšiais sujungto kopolimero – akrilamido su jungiamuoju agentu metileno bisakrilamidu ir 96,5-99,0% (masės) vandens. Hidrogelis gaunamas, sukeliant akrilamido kopolimerizacijos reakciją su metileno bisakrilamidu vandeninėje terpėje, pasitelkiant peroksidinius polimerizacijos iniciatorius ir išlaikant mišinį kambario temperatūroje 20 minučių. Polimerizacijos procesas atliekamas vienu etapu, kaip peroksidiniai iniciatoriai naudojami amonio persulfatas ir tetrametiletildiaminas. Kadangi gaunamas gelis pasižymi nepakankamu sujungimo laipsniu dėl žemos temperatūros sąlygomis vykstančio kopolimerizacijos proceso ir vienintelio polimerizacijos etapo panaudojimo, tūrio stabilumo užtikrinti neįmanoma.

Artimiausias pagal techninį pobūdį ir pasiekiamą rezultatą yra patentas RU 2236872 „Polifunkcinis biologiškai suderinamas hidrogelis ir jo gavimo būdas“ (informacija paskelbta 2004-09-27). Hidrogelio sudėtyje yra poliakrilamido ir vandens, poliakrilamidą savo ruožtu sudaro akrilamido kopolimeras, metakrilamidas, 2-hidroksietilmetakrilatas ir N, N'-metileno-bis-akrilamidas. Kopolimerizacija atliekama trim etapais, pirmasis etapas 20-30 °C temperatūroje ir trunka 12-24 valandų. Antrasis

etapas – γ -švitinimas 0,4-1,0 megaradų stiprumo spinduliais ir trečiasis etapas 100-130 °C temperatūroje ir 0-1,2 bar slėgyje vyksta 20-40 minučių. Hidrogelis po pirmojo etapo 0-1,2 atm slėgyje ne trumpiau kaip 3 valandas plaunamas 70-110 °C temperatūros vandenyje, esant 1:8-10 hidrogelio ir vandens santykiui. Kaip kopolimerizacijos iniciatorius naudojamas vandenilio peroksidas ir/arba amonio persulfatas. Kaip vandeninė terpė naudojamas du kartus distiliuotas pirogeninis vanduo. Šio gelio trūkumas yra mažas atsparumas rezorbcijai vidinėje organizmo terpėje.

Išradimo užduotis yra sukurti biologiškai suderinamą poliakrilamido hidrogelį, kuris šalintų trūkumus ir atliktų biologinio audinio funkcijas, parenkant tokį jo komponentų derinį, kuris užtikrintų maksimalų gydomąjį poveikį.

Kita išradimo užduotis yra išgauti biologiškai suderinamą poliakrilamido hidrogelį, kuris būtų naudojamas kaip transplantatas.

Techninis išradimo rezultatas – sukurti biologiškai suderinamą stabilios struktūros poliakrilamido hidrogelį, naudoti jį kaip transplantatą, kuris šalintų trūkumus.

Išradimo esmė yra ta, kad buvo parinkta kokybinė ir kiekybinė biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio sudėtis, taip pat kopolimerizacijos sąlygos. Tuo tarpu biosuderinamo poliakrilamido hidrogelio biologiškai aktyvios savybės daugiausia priklauso nuo tinklinio polimero struktūros. Tinklinio polimero struktūra, savo ruožtu, priklauso nuo sintezės sąlygų, o būtent nuo kokybinės ir kiekybinės pradinių reagentų sudėties, įskaitant jungiamąjį agentą ir polimerizacijos iniciatorių, taip pat nuo polimerizacijos sąlygų ir režimo.

Iškelta užduotis sprendžiama toliau pateikiamu būdu.

Biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio sudėtyje yra poliakrilamido ir 0,9% natrio chlorido tirpalo. Kaip poliakrilamidas naudojamas akrilamido kopolimeras su N, N'-metileno-bis-akrilamidu.

Polimerizacijos reakcija vyksta pagal laisvųjų radikalų mechanizmą ir reikalauja laisvųjų akrilamido radikalų. Kaip polimerizacijos reakcijos iniciatoriai naudojamos medžiagos, kurioms yrant susidaro laisvieji radikalai, kurie reaguodami su akrilamido molekulėmis sukelia (inicijuoja) polimerizaciją. Plačiausiai kaip polimerizacijos proceso iniciatorius naudojamas amonio persulfatas. Kadangi akrilamido polimerizacijos reakcija – lėtas procesas, norint pagreitinti polimerizacijos

procesą, kaip katalizatorius naudojamas N, N, N', N'-tetrametiletilendiamidas. Biologiškai suderinamą poliakrilamido hidrogelį sudaro šių komponentų santykis, % (masės)

akrilamidas	1,9-9,0;
N, N'-metileno-bis-akrilamidas	0,006-0,1;
N, N, N', N'-tetrametiletilendiamidas	0,004-0,5;
amonio persulfatas	0,02-0,2;
natrio chlorido tirpalas 0,9%	likusi dalis.

Siekiant užtikrinti biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio struktūros ir tūrio stabilumą bei suteikti jam geresnį biologinį suderinamumą su žmogaus organizmo audiniais, 0,9 % natrio chlorido tirpalas gaminamas struktūruoto (gaunamo iš ištirpusio ledo) vandens pagrindu.

Biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio gavimo metodas apima šiuos etapus: sukeliami akrilamido kopolimerizacija su N, N'-metileno-bis-akrilamidu dispersinėje terpėje, su amonio persulfatu ir N, N, N', N'-tetrametiletilendiamidu, tada susidaręs gelis plaunamas 0,9% natrio chlorido tirpalu, pagamintu struktūruoto (gaunamo iš ištirpusio ledo) vandens pagrindu, palaikomas kol išbrinks iki vientisos būsenos, homogenizuojamas ir sterilizuojamas.

Kaip dispersinė terpė naudojamas 0,9 % natrio chlorido tirpalas, pagamintas struktūruoto (gaunamo iš ištirpusio ledo) vandens pagrindu. Komponentų santykis, % (masės)

akrilamidas	1,9-9,0;
N, N'-metileno-bis-akrilamido	0,006 - 0,1;
N, N, N', N' - tetrametiletilendiamidas	0,004-0,5;
amonio persulfatas	0,02-0,2;
natrio chlorido tirpalas 0,9%	likusi dalis.

Biologiškai suderinamas poliakrilamido hidrogelis ruošiamas taip:

Pirmiausia, sukeliamą kopolimerizaciją 20-28 °C temperatūroje, kuri vyksta 30-60 min. Gautas gelis plaunamas, naudojant 0,9 % natrio chlorido tirpalą, pagamintą struktūruoto (gaunamo iš ištirpusio ledo) vandens pagrindu. Hidrogelis plaunamas 3 valandas 6 etapais, kiekviename etape pakeičiant 0,9 % natrio chlorido tirpalą. Tada paliekamas išbrinkti 18 valandų 20-30 °C temperatūroje, išbrinkimo koeficientas 1,63-1,73, po to homogenizuojamas 5-15 minučių. Tada sterilizuojamas 80-90 °C temperatūroje 5-10 minučių. Palaikomas dvi valandas ir sterilizuojamas antrą kartą 118-135 °C temperatūroje 1,5-2,5 barų slėgyje 15-45 minučių.

Naudojant 0,9 % natrio chlorido tirpalą, pagamintą struktūruoto (gaunamo iš ištirpusio ledo) vandens pagrindu, užtikrinamas biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio struktūros ir tūrio stabilumas bei hidrogeliui suteikiamas geresnis biologinis suderinamumas su žmogaus organizmo audiniais.

Nurodytas biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio gavimo metodas leidžia sumažinti nesujungtų amino grupių, laisvųjų NH₂ radikalų ir nesočiųjų dvigubų jungčių skaičių. Taip pat padidėja hidrogelio sujungimo laipsnis. Tai leidžia sumažinti paciento organizmo audinių reakciją į biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio transplantaciją, užtikrinti formos stabilumą po implantacijos dėl atitikimo paciento organizme ir rezorbcijos laipsnio mažėjimo, sumažinti jo užteršimo mikroorganizmais galimybę, taip pat iš recipiento organizmo, ir užkirsti kelią jų dauginimuisi.

Išradimo realizavimo pavyzdys. Norėdami gauti biologiškai suderinamą poliakrilamido hidrogelį, paimame:

akrilamido	62,7 g;
N, N'-metileno-bis-akrilamido	0,9 g;
N, N, N', N' - tetrametiletilendiamido	0,68 g;
amonio persulfato	3,0 g;
natrio chlorido tirpalo 0,9 %	1580,72 g.

Gaunamas hidrogelis, paruoštas laikantis būdo, pateikto biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio gavimo metodo aprašyme.

Pirmiausia akrilamidas kopolimerizuojamas su N, N-metileno-bis-akrilamidu. Gautas gelis plaunamas, naudojant 0,9 % natrio chlorido tirpalą, pagamintą struktūruoto (gaunamo iš ištirpusio ledo) vandens pagrindu. Hidrogelis plaunamas 3 valandas 6 etapais, kiekviename etape pakeičiant 0,9 % natrio chlorido tirpalą. Tada paliekamas išbrinkti 18 valandų 20-30 °C temperatūroje, po to homogenizuojamas 5-15 minučių. Sterilizacijos etapas vyksta dviem etapais – pirminė sterilizacija atliekama 80-90 °C temperatūroje 5-10 minučių, tada hidrogelis palaikomas dvi valandas ir sterilizuojamas dar kartą 118-135 °C temperatūroje esant 1,5-2,5 barų slėgiui, nuo 15 iki 45 minučių.

Naudojimo būdas – suleidžiamas į raumenis, po oda.

Naudojimo indikacijos.

- imuninės sistemos stimuliavimas;
- kepenų ligos;
- nervų sistemos ligos;
- širdies ir kraujagyslių sistemos ligos.

Buvo stebima 70 pacientų, sergančių stenokardija dėl stenuojančios vainikinių kraujagyslių aterosklerozės (stebėjimo laikotarpis 2,5-3 metai). Išeminė širdies liga daugumai pacientų buvo diagnozuota po koronografinio tyrimo. Stebėjimo protokole įvertintas stenokardijos sunkumas, kuris buvo nustatomas pagal fizinio krūvio toleravimą, atliekant veloergometrinį testą. Lipidinis kraujo serumo spektras tirtas fermentiniu metodu, naudojant standartinius reagentus.

Medžiaga buvo suleidžiama po oda vienkartinio švirkštu į priekinę pilvo sieną, 4-5 taškuose, laikantis visų aseptikos ir antiseptikos taisyklių.

Pacientai, gavę pirmą preparato dozę, buvo suskirstyti į 3 grupes. Pirmą grupę sudarė 14 žmonių, kuriems po transplantacijos teigiamas poveikis truko 9-12 mėnesių. Pasibaigus šiam laikui pacientams padidėjo stenokardijos priepuolių skaičius per dieną, atitinkamai padidėjo vartojamų vaistų kiekis, pablogėjo fizinio krūvio pasekmės.

Antrosios grupės pacientų (34 asmenų) savijauta pablogėjo praėjus 12-18 mėnesių po transplantacijos. Į trečiąją grupę pateko 22 pacientai, kurių sveikatos būklė iki 36 mėnesių išliko stabili, pablogėjimo nepastebėta. Mirties atvejų 70 pacientų grupėje per trejus metus nebuvo.

Pakartotinė transplantacija visiškai pakartoja pirmosios transplantacijos rezultatus ir gali būti naudojama kaip alternatyva gydymo kompleksui, kurį sudaro cholesterolio kiekį mažinantys vaistai ir vaistai nuo krūtinės anginos. Kitą būdą naudoti transplantatą, sukurtą biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio pagrindu, panagrinėkime, pasitelkę nudegimų centro pavyzdį. Naudojame gautą biologiškai suderinamą poliakrilamido hidrogelį.

Tyrimui atrinkti 22 žmonės į eksperimentinę ir kontrolinę grupę. Sudėtis pagal amžių: 8 vaikai nuo 1 iki 12 metų su 2-3 ab laipsnio nudegimais, nudegimų plotas nuo 1,5 iki 25%, ir 14 žmonių nuo 16 iki 67 metų su 3 ab laipsnio nudegimais, nudegimų plotas nuo 1,5 iki 25%. Biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio poodinė injekcija aplink 2-3 ab laipsnio nudegimo vietą nuo 2-3 ml transplantato per pirmas tris dienas parodė, kad atvira žaizda tapo uždara, o tai padeda sumažinti elektrolitų ir baltymų netekimą. Tai savo ruožtu yra svarbu ankstyvuoju laikotarpiu gydant ūminių nudegimų turinčius pacientus. Kontrolinėje grupėje atvira žaizda užsitraukė 11-12-tą dieną. Viena iš biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio naudojimo ypatybių yra ta, kad nėra mechaninio granuliacijų pažeidimo, pažeisto paviršiaus išdžiuvimo ir antrinių nekrozių susidarymo tikimybės. Taip pat pažymime, kad gerokai sumažėjo pažeisto paviršiaus epitelizacijos laikas.

Taigi, biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio naudojimas sudaro naujas galimybes kurti kitas medžiagas, kurios gali būti naudojamos, norint atkurti kremzlių ir kaulų audinius, skatinant žaizdų gijimą ir audinių regeneraciją nudegimų terapijoje.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Biologiškai suderinamas poliakrilamido hidrogelis, kurio sudėtyje yra poliakrilamido ir 0,9 % natrio chlorido tirpalo, kur kaip poliakrilamidas naudojamas akrilamido kopolimeras su N, N'-metileno-bis-akrilamidu, kuris išsiskiria tuo, kad jo sudėtyje papildomai yra amonio persulfato ir N, N, N'-tetrametiletilendiamido, kurių komponentų santykis, % (masės) yra toks

akrilamidas	1,9-9,0;
N, N'-metileno-bis-akrilamidas	0,006-0,1;
N, N, N', N'-tetrametiletilendiamidas	0,004-0,5;
amonio persulfatas	0,02-0,2;
natrio chlorido tirpalas 0,9 %	likusi dalis.

2. Biologiškai suderinamas poliakrilamido hidrogelis pagal 1 punktą, kuris išsiskiria tuo, kad 0,9 % natrio chlorido tirpalas gaminamas struktūruoto (gaunamo iš ištirpusio ledo) vandens pagrindu.

3. Biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio gaminimo metodas, kuris apima šiuos etapus: vykdant akrilamido kopolimerizaciją su N, N'-metileno-bis-akrilamidu dispersinėje terpėje, su amonio persulfatu ir N, N, N'-tetrametiletilendiamidu, plaunant susidariusį gelį, palaikant kol išbrinks iki vientisos būsenos, vėliau homogenizuojant ir sterilizuojant; metodas išsiskiria tuo, kad gauto gelio plovimas atliekamas 6 etapais per 3 valandas, paliekamas išbrinkti 18 valandų esant 20-30 °C temperatūrai, kaip dispersinę terpę naudojant 0,9 % natrio chlorido tirpalą, kurio komponentų santykis % (masės) yra toks:

akrilamidas	1,9-9,0;
N, N'-metileno-bis-akrilamidas	0,006 - 0,1;
N, N, N', N' - tetrametiletilendiamidas	0,004-0,5;
amonio persulfatas	0,02-0,2;

natrio chlorido tirpalas 0,9%

likusi dalis.

4. Biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio gavimo metodas pagal 3 punktą, kuris išsiskiria tuo, kad kopolimerizacija vyksta 20-28 °C temperatūroje 30-60 min., plovimui naudojant 0,9 % natrio chlorido tirpalą, homogenizuojant 5-15 minučių, sterilizuojant 80-90 °C temperatūroje 5-10 minučių, palaikant dvi valandas ir tuomet sterilizuojant antrą kartą 118-135 °C temperatūroje esant 1,5-2,5 barų slėgiui 15-45 minučių.

5. Biologiškai suderinamo poliakrilamido hidrogelio gavimo būdas pagal 3 ir 4 punktą, kuris išsiskiria tuo, kad 0,9 % natrio chlorido tirpalas pagamintas struktūruoto (gaunamo iš ištirpusio ledo) vandens pagrindu.