

# ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР  
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ  
СОБСТВЕННОСТИ

(19) ВУ (11) 9146

(13) С1

(46) 2007.04.30

(51)<sup>7</sup> А 61К 35/16, 47/36

(54)

## ИСКУССТВЕННАЯ СИНОВИАЛЬНАЯ ЖИДКОСТЬ

(21) Номер заявки: а 20040667

(22) 2004.07.14

(43) 2006.02.28

(71) Заявитель: Государственное научное учреждение "Институт механики металлополимерных систем имени В.А.Белого Национальной академии наук Беларуси" (ВУ)

(72) Авторы: Чернякова Юлия Михайловна; Пинчук Леонид Семенович; Кадолич Жанна Владимировна; Николаев Владимир Иванович; Цветкова Елена Александровна; Белоенко Евгений Дмитриевич (ВУ)

(73) Патентообладатель: Государственное научное учреждение "Институт механики металлополимерных систем имени В.А.Белого Национальной академии наук Беларуси" (ВУ)

(56) ВУ 898 С1, 1995.

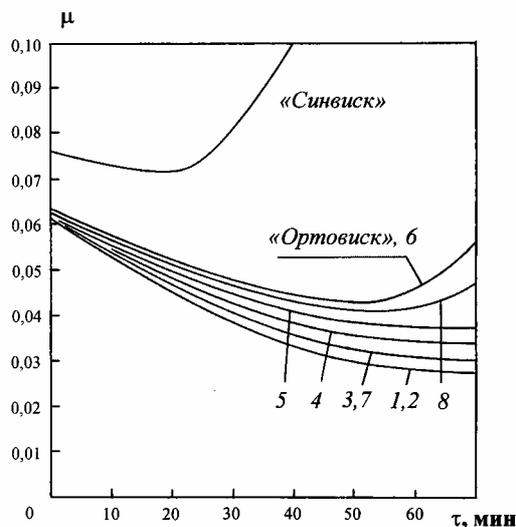
Вырва О.Е. Ортопедия, травматология и протезирование, 2000. - № 2. - С. 146-150.

RU 20331162 С1, 1995.

WO 01/85179 А2.

(57)

Искусственная синовиальная жидкость, содержащая жидкокристаллическую добавку, отличающаяся тем, что в качестве жидкокристаллической добавки содержит гиалуроновую кислоту и, дополнительно, плазму крови пациента, которому вводят искусственную синовиальную жидкость, причем гиалуроновую кислоту добавляют до концентрации 2,5-4,0 г/л.



Фиг. 1

ВУ 9146 С1 2007.04.30

Изобретение относится к лечению суставов с помощью лекарственных средств, содержащих активные ингредиенты на основе полисахаридов, в частности гиалуроновую кислоту.

Суставы человека состоят из функционально интегрированных белковых образований, каждое из которых выполняет присущие ему биофизические и физиологические функции. Важным элементом суставов является синовиальная жидкость (СЖ). В здоровом суставе она смазывает подвижное сопряжение костей, служит питательной средой для хряща и защищает его от механических повреждений, амортизируя ударные нагрузки на сустав. При заболеваниях суставов СЖ реагирует на развитие патологического процесса изменениями своего состава и свойств. Асептическое воспаление суставов обуславливает изменение реологических параметров и смазочной способности СЖ, в ней накапливаются патологические иммунные комплексы и деструктивные элементы. Такая СЖ недостаточно выполняет свои функции.

В последние годы при лечении заболеваний суставов в полость сустава вводят кортикостероидные гормоны (гидрокортизон, кеналог, метипред и др.), цитостатические препараты (циклофосфан), ингибиторы протеолитических ферментов (контрикал, трасилол), противовоспалительные средства (органтеин, димексид, пероксинорм), а также заменители СЖ [1]. Замена СЖ на ее "эндопротезы" с целью предотвращения патологических изменений в тканях сустава стала тенденцией современной артрологии.

В настоящее время развиваются два направления разработки искусственной СЖ.

А. Первое из них предполагает использование биологически активных полимеров и их комплексов с биополимерами. Вязкость и молекулярная масса таких составов близки к аналогичным параметрам СЖ. Типичным представителем этой группы заменителей СЖ является 15 % водный раствор поливинилпирролидона (ПВП) [2]. Он может временно восполнить дефицит СЖ, оказывает противовоспалительное действие на синовиальную оболочку и суставные хрящи, выполняет функции смазочного материала в полости сустава.

Недостатки искусственной СЖ на основе ПВП:

вязкость растворов ПВП постоянна, а вязкость естественной СЖ *in vivo* изменяется в зависимости от нагрузки на сустав благодаря фильтрации низкомолекулярных фракций в поры хряща;

недостаточная смазывающая способность в естественных суставах;

недостаточная биосовместимость, вследствие того, что рН раствора ПВП составляет 5,2-7,0 ед., а рН естественной СЖ - 7,4-8,2 ед.

К этой же группе заменителей СЖ относятся смазочная композиция, защищенная патентом [3]. В ее состав входят гидрогель на основе декстрана и фосфолипиды (дипальмитойл фосфодиколина). Она проявляет более высокую, чем ПВП, смазочную способность, но ей свойственны (хоть и в меньшей степени) недостатки, характерные для ПВП, при более высокой цене.

Б. Второе направление посвящено разработке заменителей СЖ, содержащих гиалуроновую кислоту (ГК) - несulfатированный гликозаминогликан, относящийся к классу неразветвленных полисахаридов. Это компонент естественной СЖ, который в виде натриевой соли (гиалуронат натрия, гилан) входит в состав хрящевой ткани и СЖ, определяя ее смазочную способность и биофизические свойства. Из-за высокой плотности отрицательных зарядов макромолекулы ГК притягивают катионы ( $\text{Na}^+$ ) и окружены гидратными оболочками. Это обуславливает специфические механизмы смазки синовиальных суставов, которые реализуются в биофизическом поле живого организма.

Запатентованы фотосшиваемые производные ГК и ее 1 % водный раствор [4] как основа препаратов, применяемых преимущественно для создания искусственной кожи и кожных трансплантатов.

Сегодняшний уровень разработок искусственной СЖ определяет группа лекарственных средств, содержащих ГК, синтезированной из гребней петухов.

# ВУ 9146 С1 2007.04.30

Представителем первого поколения этой группы препаратов является "Гиалган" ("Hyalgan", фирма "Fidia", Италия) - очищенный раствор гиалуроната натрия. Размер его молекул и молекулярная масса значительно ниже аналогичных показателей естественной СЖ [5].

"Синвиск" ("Synvisc", фирма "Biomatrix", США) относится к следующему поколению эндопротезов СЖ. Он состоит из гилана А (жидкого) и гилана В (гелеобразного), разведенных в растворе производных ГК (рН = 7,2). Вязкоэластические параметры "Синвиска" выше, чем у СЖ [6]. С этим, в основном, и связан его терапевтический эффект - "восполнение вязкости" патологически измененной СЖ.

Одним из последних препаратов на рынке заменителей СЖ является "Ортовиск" ("Ortovisk", фирма "Anika Therapeutics, Inc.", США), который представляет собой высоковязкий раствор гиалуроната натрия с молекулярной массой 6-7 млн., имеющий самую высокую по сравнению с аналогами концентрацию ГК [7].

Перечисленные лекарственные средства не всегда эффективны при лечении артрозов и артритов; при удачном применении обуславливают короткий период (не более 6 мес.) ремиссии воспалительного и болевого синдромов и имеют высокую цену (\$ 150-170 за ампулу).

Белорусскими учеными установлено, что высокая смазочная способность естественной СЖ определяется наличием не только ГК, но также сложных эфиров холестерина и жирных кислот, относящихся, как и ГК, к классу жидких кристаллов холестерического типа [8].

Прототипом изобретения является искусственная СЖ [9] следующего состава, мас. %:

мезогенные эфиры холестерина	0,2-1,0
натрийкарбоксиметилцеллюлоза	0,8-1,2
гемодез (6 % водный раствор низкомолекулярного	
ПВП и минеральных солей)	остальное.

Недостатки прототипа:

нечувствительность его вязкости к изменению механической нагрузки на сустав; различная химическая природа белково-полисахаридной основы СЖ и целлюлозно-поливинилпирролидоновой основы прототипа, что обуславливает недостаточную биосовместимость последнего;

прототип может реагировать на воздействие биофизического поля суставов, однако чувствительность естественной СЖ к слабым электромагнитным полям гораздо выше.

Задачи, на решение которых направлено изобретение:

- 1) повышение биосовместимости искусственной СЖ;
- 2) повышение ее чувствительности к слабым электромагнитным полям, соизмеримым с биофизическим полем естественного сустава;
- 3) снижение дефицитности и стоимости компонентов искусственной СЖ.

Поставленные задачи решаются тем, что в состав известной синовиальной жидкости на основе водорастворимого полимера, содержащей жидкокристаллические добавки, введены новые компоненты. В качестве антифрикционной и вязкой добавки используют ГК и дополнительно плазму крови пациента, которому будет сделана инъекция искусственной синовиальной жидкости, причем гиалуроновую кислоту добавляют до концентрации 2,5-4,0 г/л плазмы.

Сущность изобретения состоит в том, что основу искусственной СЖ составляет плазма крови, донором которой является сам пациент. Поэтому она абсолютно биосовместима с его организмом. Известно, что естественная СЖ и плазма крови каждого человека очень близки по химическому составу [8]. Отличие состоит в том, что ГК в большом количестве содержится в здоровой СЖ, но отсутствует в плазме крови. Добавление ГК в плазму инициирует образование молекулярных комплексов ГК и протеинов. В результате плазма становится гелеподобной и, как естественная СЖ, может амортизировать ударные нагрузки на сустав, обеспечивая низкое трение.

# ВУ 9146 С1 2007.04.30

Примеры реализации изобретения.

В экспериментах использовали криоконсервированную плазму крови (Пл) IV группы и гиалуроновую кислоту (ТУ 42. КВС 146-78). Искусственную СЖ-прототип получали путем смешения мезогенных эфиров холестерина (1,6 мас. %), натрийкарбоксиметилцеллюлозы (1,0 мас. %) и гемодеза (остальное). В качестве мезогенных эфиров холестерина использовали смесь (1:3:6) ацетата холестерина, пералгоната холестерина и олеата холестерина. Для сравнения проводили эксперименты с СЖ, взятой из коленного сустава условно здорового пациента с IV группой крови: во время диагностической артроскопии патологических изменений в его суставе не было выявлено.

Составы исследованных образцов СЖ приведены в табл. 1. Вязкость СЖ измеряли с помощью вискозиметра Гесса, укомплектованного двумя капиллярами. Регистрировали относительную вязкость СЖ как отношение вязкостей исследуемого образца и дистиллированной воды. Результаты измерений приведены в табл. 2.

Таблица 1

№ № образцов	Состав
1	Пл
2	Пл + ГК (2,0 г/л)
3	Пл + ГК (2,5 г/л)
4	Пл + ГК (3,5 г/л)
5	Пл + ГК (4,0 г/л)
6	Пл + ГК (4,5 г/л)
7	Естественная СЖ
8	Искусственная СЖ - прототип

Таблица 2

№ № составов	1	2	3	4	5	6	7	8 (прототип)
Вязкость, отн. ед.	1,9	2,0	2,3	3,1	3,8	4,5	3,1	3,1

Смазочную способность СЖ оценивали с помощью маятникового трибометра. Его пара трения состоит из опоры, выполненной из сверхвысокомолекулярного полиэтилена, в цилиндрической канавке которой установлена несущая маятник треугольная призма (сталь 12Х18Н9). Опорная грань призмы закруглена с радиусом  $r = 2,5$  мм. Испытания проводили при давлении на опору  $p = 0,3$  МПа и скорости скольжения призмы  $v = 1$  м/с, что соответствует средней физиологической нагрузке на коленный сустав человека.

Для моделирования биофизического поля сустава опора маятника помещена в соленоид, соединенный с источником постоянного тока. Напряженность магнитного поля на поверхности трения опоры составляла  $H = 1,2$  кА/м, что соответствует диапазону оптимальных напряженностей постоянных магнитных полей, применяемых для магнитотерапии суставов.

Регистрировали коэффициент трения ( $\mu$ ) в опоре трибометра, помещая в канавку образцы СЖ, составы которых приведены в табл. 1. Значения  $\mu$  определяли путем компьютерной обработки электрических сигналов трибометра, соответствующих затуханию колебаний маятника. Снимали зависимости  $\mu$  от времени ( $\tau$ ) воздействия магнитного поля на смазочный слой СЖ.

Сравнение физико-химической структуры исследуемых образцов СЖ проводили путем анализа демонстрируемых ими термостимулированных токов (ТСТ). Последние регистрировали методом электретно-термического анализа. Образец СЖ в виде капли объемом  $V \sim 0,2$  мл помещали на латунный электрод и накрывали тефлоновой пленкой, на которую накладывали второй электрод. Предварительно отоженная тефлоновая пленка

# ВУ 9146 С1 2007.04.30

не обнаруживала собственных ТСТ. Образцы нагревали с постоянной скоростью 5 °С/мин и снимали температурные зависимости ТСТ (спектры ТСТ).

Приведенные в заявке экспериментальные данные обработаны методами математической статистики.

Результаты измерений представлены на фиг. 1 и 2. На фиг. 1 показаны графические зависимости  $\mu(\tau)$  при смазке опоры трибометра разными СЖ. Номера кривых на фиг. 1 соответствуют номерам составов в табл. 1, для сравнения приведены кривые, соответствующие "Синвиску" и "Ортовиску". На фиг. 2 изображены спектры ТСТ: а - условно здоровой естественной СЖ; б - заявляемой СЖ (состав 3, табл. 1); в - искусственной СЖ - прототипа.

Анализ результатов экспериментов приводит к следующим заключениям.

1. Все исследуемые составы, подобно естественной СЖ (фиг. 1, кривая 7), обнаруживают чувствительность к воздействию магнитного поля:  $\mu$  снижается с увеличением времени действия поля. Естественная СЖ (7) и лучшие из искусственных СЖ заявленного состава (2-5) превосходят по смазочной способности прототип (8) и эндопротезы СЖ "Синвиск" и "Ортовиск".

2. Наилучшую смазочную способность демонстрируют плазма и искусственная СЖ на ее основе с min добавкой ГК (фиг. 1, кривые 1 и 2). Это объясняется их малой вязкостью (1,9 и 2,0 отн. ед., табл. 2), более низкой, чем вязкость естественной СЖ (3,1 отн. ед.). Тем не менее, вязкость естественной СЖ следует считать оптимальной, т.к. она обуславливает амортизацию ударных нагрузок на сустав при достаточно низком трении. По этому критерию оптимальными являются составы 3-5. Состав б неоптимален: он имеет слишком высокую вязкость (4,5 отн. ед.) и уступает по смазочной способности прототипу (8), находясь на уровне "Ортовиска".

3. Спектры ТСТ естественной и заявленной СЖ (фиг. 2, а и б) идентичны. На них видны три пика. Низкотемпературный пик релаксации отрицательного заряда (35-45 °С) отвечает термически стимулированному разрушению гидратных оболочек вокруг полярных фрагментов СЖ и перестройке жидкокристаллических структур ГК. Среднетемпературный пик релаксации положительного заряда (95-100 °С) соответствует разрушению белково-полисахаридных комплексных соединений, а также необратимым изменениям структуры белка, несопровождающимися разрывом полипептидной цепи. Интенсивный высокотемпературный пик (115-125 °С) свидетельствует о термоокислительной деструкции белковых макромолекул.

На спектре ТСТ искусственной СЖ-прототипа видно положительное низкотемпературное плато с небольшими максимумами при 40 и 65 °С, которое соответствует перестройке жидкокристаллических структур смеси мезогенных эфиров холестерина. Можно предположить, что непрописавшийся высокотемпературный пик отвечает температурам размягчения полимеров, входящих в состав прототипа: ПВП (140-160 °С) и натрийкарбоксиметилцеллюлозы (170 °С). Несходство этого спектра и спектра естественной СЖ свидетельствует о недостаточной биосовместимости СЖ-прототипа.

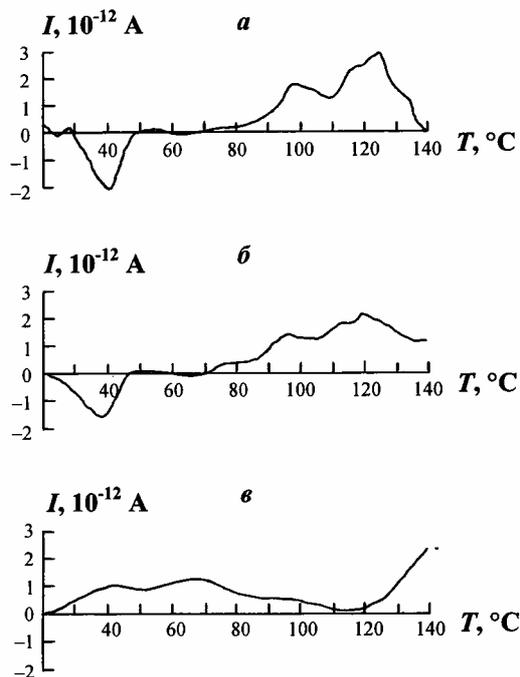
Предложенная СЖ абсолютно биосовместима с организмом пациента. Она чувствительна к воздействию биополей в той же мере, в какой чувствительна к ней кровь. Она не содержит дефицитных компонентов. Предложенная СЖ удобна для использования в клинической практике.

Предложенная искусственная СЖ может быть использована как средство, временно заменяющее и улучшающее свойства и функции естественной СЖ, для уменьшения болевого синдрома и замедления патологических изменений в тканях суставов, пораженных остеоартрозами.

# BY 9146 C1 2007.04.30

Источники информации:

1. Сорока Н.Ф. О ревматоидном артрите (вопросы и ответы). - Мн.: Беларусь, 1992. - С. 48.
2. Терапевтический архив. - 1984. - № 11. - С. 73-77.
3. Patent WO № 0185179. Biological lubricant composition and method of applying lubricant composition. IPC A 61K 31/721, 31/685; A 61L 27/20, 27/52; A 61P 41/00, publ. 2001.
4. Patent US № 6602859. Photocurable hyaluronic acid derivatives and process for producing the same, and photocured crosslinked - hyaluronic acid derivative and medical material using the same. IPC A 61K 31/728, publ. 2003.
5. Вырва О.Е. Искусственная синовиальная жидкость в лечении патологии коленного сустава//Ортопедия, травматология и протезирование. - 2000. - № 2. - С. 146-150.
6. Клинические аспекты применения препарата "Синвиск" // Margo Anterior. - 2002. - № 4. - С. 5-8.
7. Peyron J. Intra-articular Hyaluronan injections in the treatment of osteoarthritis: state-of-the-art review//Journal of Rheumatology, 1993. - Vol. 20, sup. 39. - P. 10-15.
8. Ермаков С.Ф., Родненков В.Г., Белоенко Е.Д., Купчинов Б.И. Жидкие кристаллы в технике и медицине. -Мн.: ООО "Асар", -М.: ООО "ЧеРо", 2002. - С. 412.
9. Патент РБ 898. Искусственная синовиальная жидкость. МПК А 61К 31/79, опубл. 1995 (прототип).



Фиг. 2