

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **038225**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента  
**2021.07.27**

(21) Номер заявки  
**201890897**

(22) Дата подачи заявки  
**2017.04.28**

(51) Int. Cl. *A61L 27/18* (2006.01)  
*A61L 27/12* (2006.01)  
*A61L 27/46* (2006.01)  
*A61L 27/58* (2006.01)  
*D01D 5/08* (2006.01)  
*D01F 1/02* (2006.01)  
*D01F 6/62* (2006.01)

---

(54) **СПОСОБ ПРОИЗВОДСТВА МАТЕРИАЛА ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ КОСТИ, СОДЕРЖАЩЕГО БИОРАЗЛАГАЕМОЕ ВОЛОКНО, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОЦЕССА ЭЛЕКТРОПРЯДЕНИЯ**

---

(31) **2016-091118**

(32) **2016.04.28**

(33) **JP**

(43) **2018.10.31**

(86) **PCT/JP2017/016931**

(87) **WO 2017/188435 2017.11.02**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:  
**НЭШНЛ ЮНИВЕРСИТИ  
КОРПОРЕЙШН НАГОЯ  
ИНСТИТЬЮТ ОФ ТЕКНОЛОДЖИ;  
ОРТОРИБЕРТ КО., ЛТД. (JP)**

(72) Изобретатель:  
**Касуга Тосихиро, Нисикава Ясутоси  
(JP)**

(74) Представитель:  
**Медведев В.Н. (RU)**

(56) ITO Shingo et al, Mechanical-tensile strengths and cell-proliferative activities of electrospun poly(lactic-co-glycolic acid) composites containing  $\beta$ -tricalcium phosphate, PHOSPHORUS RESEARCH BULLETIN, 2012, vol.26, Special Issue, pp.109-112, ISSN 0918-4783

WO-A1-2015005205

FUJIKURA Kie et al, Preparation of electrospun fiber mats using siloxane-containing vaterite and biodegradable polymer hybrids for bone regeneration, JOURNAL of BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH PART B: APPLIED BIOMATERIALS, 2013.12, vol. 101B, no.8, pp.1350-1358, ISSN 1552-4973

WO-A1-2016159240

(57) [Решаемая техническая проблема] Требуется новый способ для производства материала для регенерации кости, в котором биоразлагаемое волокно, включающее в себя PLGA, содержит частицы фосфата кальция, с помощью электропрядения с коммерческой эффективностью, а также новый материал для регенерации кости, произведенный с помощью этого способа. [Решение] Биоразлагаемое волокно, в котором мелкие частицы фосфата кальция диспергируются, по существу, равномерно в биоразлагаемом волокне, производится путем нагревания смолы PLGA в пластикаторе для ее размягчения до вязкости  $10^2$ - $10^7$  Па $\times$ с, смешивания порошка мелких частиц фосфата кальция с размягченной смолой PLGA путем подачи порошка в пластикатор при вращении лопасти пластикатора; вращения лопасти пластикатора с непрерывным усилием при нагревании для мешения смеси так, чтобы тепловая и механическая энергия прикладывалась к смеси для измельчения агрегатов мелких частиц фосфата кальция, и тем самым приготовления композита из смолы PLGA и диспергированных в ней мелких частиц фосфата кальция; растворения этого композита растворителем и перемешивания в течение predetermined времени для получения прядильного раствора, в котором смола PLGA полностью растворена в растворителе и мелкие частицы фосфата кальция диспергированы без агрегирования в растворителе, в котором растворена смола PLGA; и электропрядения этого прядильного раствора.

**B1****038225****038225 B1**

### Область техники

Настоящее изобретение относится к способу производства материала для регенерации кости, содержащего биоразлагаемое волокно, с использованием процесса электропрядения.

### Уровень техники

Способы, применяемые в области терапии костной регенерации, включают в себя имплантацию в дефектную часть кости материала для регенерации кости, получаемого путем добавления костного морфогенетического фактора в матричную смолу, изготовленную из биоразлагаемой смолы, такой как полимолочная кислота (PLA) или сополимер полимолочной кислоты и гликолевой кислоты (PLGA). Поскольку после имплантации материала для регенерации кости в тело этот материал находится в контакте с текучей средой организма и разлагается, и тем самым костный морфогенетический фактор, содержащийся в этом материале, постепенно высвобождается, а также этот материал поглощается и удаляется телом с течением времени, эффективный остеогенез достигается с небольшой нагрузкой на пациента.

Требование к материалу для регенерации кости, чтобы он проявлял остеогенную активность, когда он имплантирован в тело, заключается в том, что матричная смола в нем служит каркасом и является смолой, на которой может быть поддержан костный морфогенетический фактор. В качестве костного морфогенетического фактора предпочтительно используется фосфат кальция, в частности  $\beta$ -фаза трикальцийфосфата ( $\beta$ -TCP), поскольку она имеет превосходную остеогенную активность. Поскольку резорбция кости и/или замена на  $\beta$ -TCP требует нескольких месяцев, желательно, чтобы матричная смола контактировала с текучей средой организма и гидролизовалась как можно раньше, чтобы начать контролируемое высвобождение фосфата кальция, продолжала контролируемое высвобождение в течение определенного периода времени, а затем быстро разлагалась и поглощалась до полного исчезновения.

В последнее время биоразлагаемое волокно, содержащее костный морфогенетический фактор, активно используется в качестве материала для регенерации кости, а в качестве способа получения такого биоразлагаемого волокна используют процессы электропрядения. В процессе электропрядения прядильный раствор выбрасывается в виде тонкого волокна из сопла и вытягивается электростатическим притяжением в электрическом поле для осаждения на коллекторе. Следовательно, подготовка прядильного раствора, который был бы пригодным для такого прядения, является важной целью.

Выполненная в условиях *in vivo* и *in vitro* оценка гибкого, подобного вате нанокompозита в качестве заменяющего кость материала для сложных дефектов (*Acta Biomaterialia* 5 2009) раскрывает формирование волокон в подобной вате форме с использованием процесса низкотемпературного электропрядения из прядильного раствора. Прядильный раствор готовится путем добавления PLGA к растворителю и растворяется в растворителе, в котором диспергированы мелкие частицы аморфного TCP. Способ, описанный в этом документе, включает в себя подготовку прядильного раствора (массовое соотношение PLGA/TCP составляет 60/40) для электропрядения путем диспергирования частиц TCP ультразвуком в хлороформе, растворение PLGA в хлороформе и перемешивание этой смеси.

Авторы настоящего изобретения предложили способ подготовки прядильного раствора, в котором композит готовится путем добавления выделяющих силикон частиц карбоната кальция вместе с частицами фосфата кальция к расплаву PLA и перемешивания, а затем мешения, охлаждения и отверждения этой смеси. Этот композит затем растворяется путем использования растворителя для того, чтобы произвести прядильный раствор (японский патент № 5855783). В соответствии с этим способом прядильный раствор может быть произведен путем включения 50 мас.% или больше неорганических частиц в полимолочную смолу. Однако поскольку разложение и поглощение PLA в теле является медленным, было указано на возможность того, что это предотвращает раннее проявление остеогенного потенциала мелкими неорганическими частицами. Кроме того, существует проблема того, что когда порошок мелких частиц с размером частиц 1-4 мкм добавляется и месится с раствором, который был нагрет до температуры выше точки плавления смолы PLA и расплавлен, мелкие частицы агрегируются и не могут быть полностью диспергированы в смоле путем мешения.

#### Патентная литература

Патентный документ 1: Японский патент № 5855783

#### Непатентная литература

Непатентный документ 1:

*In vivo* and *in vitro* evaluation of flexible, cottonwool-like nanocomposite as bone substitute material for complex defects *Acta Biomaterialia* 5 2009 1775-1784 Stark et al. University of Zurich.

### Сущность изобретения

#### Проблемы, решаемые изобретением

PLGA превосходит PLA в том, что он гидролизуется с высокой скоростью, и смола разлагается и поглощается при имплантировании в живой организм, обеспечивая раннее контролируемое выделение костного морфогенетического фактора рано, не оставаясь в теле в течение длительного периода времени, и таким образом широко использовался в качестве смолы для каркаса материала для регенерации кости. Однако, поскольку PLGA является аморфной смолой, он представляет собой материал, который является более трудным, чем PLA, в плане формования и обработки волокна для производства биоразлагаемого

волокна с использованием процесса электропрядения.

Желательно, чтобы мелкие частицы фосфата кальция содержали костный морфогенетический фактор в максимально возможной степени для проявления остеогенной активности. Однако прядение с помощью электропрядения становится затруднительным, когда прядильный раствор содержит большое количество частиц.

В описанной выше ситуации желателен новый способ эффективного получения материала для регенерации кости, включающего в себя биоразлагаемое волокно, содержащее PLGA и большое количество частиц фосфата кальция, путем электропрядения в коммерческих масштабах, а также новый материал для регенерации кости, получаемый с помощью этого способа.

#### Средства для решения проблемы

Настоящее изобретение относится к способу для коммерческого производства биоразлагаемого волокна, сделанного из смолы PLGA, содержащей большое количество частиц фосфата кальция, в частности частиц  $\beta$ -TCP малого размера, с использованием процесса электропрядения.

Настоящее изобретение дополнительно относится к биоразлагаемому волокну, сделанному из смолы PLGA, содержащей частицы фосфата кальция, которое произведено с использованием процесса электропрядения.

Настоящее изобретение дополнительно относится к способу для производства прядильного раствора для электропрядения, используемого в описанном выше способе производства.

Настоящее изобретение дополнительно относится к материалу для регенерации кости в форме нетканой ткани или в форме, подобной вате, включающему в себя биоразлагаемое волокно, произведенное с помощью процесса электропрядения, а также к способу для его производства.

Один вариант осуществления настоящего изобретения представляет собой способ для производства материала для регенерации кости, включающего в себя биоразлагаемое волокно, с использованием процесса электропрядения, содержащий:

подачу смолы PLGA в пластикатор и нагревание смолы PLGA для ее размягчения до вязкости  $10^2$ - $10^7$  Па·с;

смешивание порошка мелких частиц фосфата кальция с размягченной смолой PLGA путем подачи этого порошка в пластикатор с одновременным вращением лопасти пластикатора;

вращение лопасти пластикатора с непрерывным усилием при нагревании для мешения смеси так, чтобы тепловая и механическая энергия прикладывалась к смеси для измельчения агрегатов мелких частиц фосфата кальция, и тем самым для приготовления композита из смолы PLGA и диспергированных в ней мелких частиц фосфата кальция;

охлаждение и отверждение этого композита;

растворение этого композита растворителем и перемешивание в течение некоторого предопределенного времени для приготовления прядильного раствора, в котором смола PLGA полностью растворена в растворителе, а мелкие частицы фосфата кальция диспергированы без агрегирования в растворителе, в котором растворена смола PLGA; и

зарядку этого прядильного раствора в шприц устройства электропрядения и применение высокого напряжения для производства биоразлагаемого волокна, в котором мелкие частицы фосфата кальция диспергированы, по существу, равномерно в биоразлагаемом волокне.

Предпочтительно мелкие частицы фосфата кальция представляют собой мелкие частицы  $\beta$ -TCP.

Предпочтительно смола PLGA размягчается до вязкости  $10^{3,2}$ - $10^{3,6}$  Па·с в пластикаторе.

Один вариант осуществления настоящего изобретения представляет собой материал для регенерации кости, включающий в себя биоразлагаемое волокно, произведенное с использованием процесса электропрядения, в котором

биоразлагаемое волокно включает в себя 30-60 мас.% смолы PLGA и 70-40 мас.% мелких частиц фосфата кальция;

биоразлагаемое волокно производится путем подачи предопределенного количества смолы PLGA в нагреваемый пластикатор и нагревания смолы PLGA при предопределенной температуре для ее размягчения до вязкости  $10^2$ - $10^7$  Па·с;

затем подачи мелких частиц фосфата кальция в пластикатор и приложения тепловой и механической энергии к смеси для измельчения агрегатов мелких частиц  $\beta$ -TCP и тем самым приготовления композита из смолы PLGA и мелких частиц фосфата кальция, по существу, равномерно диспергированных в смоле PLGA, охлаждения и отверждения этого композита, а затем электропрядения прядильного раствора, приготовленного путем растворения этого композита в растворителе,

причем ионы кальция в мелких частицах фосфата кальция не связаны с карбоксильными группами смолы PLGA.

Предпочтительно мелкие частицы фосфата кальция представляют собой мелкие частицы  $\beta$ -TCP.

Предпочтительно смола PLGA размягчается до вязкости  $10^{3,2}$ - $10^{3,6}$  Па·с в пластикаторе.

Предпочтительно смола PLGA и мелкие частицы фосфата кальция подаются в пластикатор в количествах 30-50 мас.% и 70-50 мас.%, соответственно, и мешаются.

Предпочтительно после того, как смола PLGA будет подана в пластикатор, нагрета для размягчения до predetermined вязкости и вымешена в течение predetermined времени, порошок мелких частиц фосфата кальция подается в вымешенную смолу PLGA, находящуюся в пластикаторе, и смола PLGA и мелкие частицы фосфата кальция мешаются в пластикаторе в течение predetermined времени при температуре, по существу, эквивалентной температуре мешения.

Предпочтительно мелкие частицы фосфата кальция представляют собой мелкие частицы  $\beta$ -TCP.

Предпочтительно смола PLGA представляет собой сополимер PLA, содержащий только L-изомер PLA и PGA.

Предпочтительно смола PLGA представляет собой сополимер PLA, содержащий L-изомер и D-изомер PLA в смеси, а также PGA.

Предпочтительно отношение молочной кислоты и гликолевой кислоты в смоле PLGA составляет 85-50:15-50.

Предпочтительно диаметр частиц  $\beta$ -TCP составляет 0,5-4 мкм.

Предпочтительно диаметр биоразлагаемого волокна составляет 10-250 мкм.

Предпочтительно коллектор устройства электропрядения заполняется этанолом, и волокно, выбираемое из сопла, осаждается в подобной вате форме в жидком этаноле в контейнере коллектора.

Предпочтительно материал для регенерации кости, включающий в себя биоразлагаемое волокно, имеет подобную вате форму с объемной плотностью 0,01-0,1 г/см<sup>3</sup>.

Предпочтительно молекулярная масса смолы PLGA составляет 60000-600000.

С использованием этого способа для производства материала для регенерации кости по настоящему изобретению, материал для регенерации кости, включающий в себя биоразлагаемое волокно, может эффективно производиться в коммерческих масштабах с помощью процесса электропрядения с использованием в качестве биоразлагаемой смолы PLGA, который обычно является более трудным для формования и/или обработки чем PLA.

Поскольку биоразлагаемое волокно, которое содержит смолу PLGA в качестве биоразлагаемой смолы, произведенное способом для производства материала для регенерации кости по настоящему изобретению, быстро разлагается и поглощается в теле, это обеспечивает раннее управляемое выделение  $\beta$ -TCP и способствует остеогенезу.

Поскольку биоразлагаемое волокно, произведенное с использованием процесса по настоящему изобретению, может быть осаждено в подобной вате форме на коллекторе устройства электропрядения и собрано оттуда, оно может подходящим образом использоваться в качестве материала для регенерации кости в подобной вате форме.

#### Краткое описание чертежей

Фиг. 1 представляет собой фотографию общего вида материала для регенерации кости, который является одним вариантом осуществления настоящего изобретения.

Фиг. 2 представляет собой полученную с помощью SEM фотографию, показывающую поверхность волокна материала для регенерации кости, который является одним вариантом осуществления настоящего изобретения.

Фиг. 3 иллюстрирует один способ использования подобного вате материала для регенерации кости, который является одним вариантом осуществления настоящего изобретения, в качестве заполнителя, помещаемого вокруг имплантируемого устройства для артрореза в человеческом теле.

Фиг. 4 (1) иллюстрирует результат Эксперимента 1 (PLLGA).

Фиг. 4(2) иллюстрирует результат Эксперимента 1 (PDLGA).

Фиг. 5(1) представляет собой фотографию, иллюстрирующую изменение внешнего вида Образца (1), погруженного в раствор гидроксида натрия на 0-8 дней.

Фиг. 5(2) представляет собой фотографию, иллюстрирующую изменение внешнего вида Образца (2), погруженного в раствор гидроксида натрия на 0-8 дней.

Фиг. 5(3) представляет собой фотографию, иллюстрирующую изменение внешнего вида Образца (3), погруженного в раствор гидроксида натрия на 0-8 дней.

Фиг. 5(4) представляет собой фотографию, иллюстрирующую изменение внешнего вида Образца (4), погруженного в раствор гидроксида натрия на 0-8 дней.

Фиг. 5(5) представляет собой фотографию, иллюстрирующую изменение внешнего вида Образца (5), погруженного в раствор гидроксида натрия на 0-8 дней.

Фиг. 6(1) иллюстрирует результаты измерения DSC Образцов (1)-(6).

Фиг. 6(2) иллюстрирует результаты измерения DSC Образцов (1)-(6).

Фиг. 7(1) иллюстрирует результаты измерения NMR Образцов (1) и (4).

Фиг. 7(2) иллюстрирует результаты измерения NMR Образцов (1) и (4).

Фиг. 8 иллюстрирует результаты измерения XRD для  $\beta$ -TCP, используемого в настоящем изобретении.

#### Описание вариантов осуществления

Варианты осуществления настоящего изобретения подробно описаны ниже со ссылками на сопро-

водительные чертежи.

#### Смола PLGA

В качестве биоразлагаемой смолы настоящего изобретения предпочтительно используется смола PLGA. В настоящем изобретении смола PLGA в широком смысле включает в себя сополимеры молочной кислоты и гликолевой кислоты. В большинстве случаев смола PLGA является аморфной и поэтому не имеет четкой точки плавления и постепенно размягчается при нагреве.

Соотношение молочной кислоты и гликолевой кислоты в смоле PLGA по настоящему изобретению определяется подходящим образом по мере необходимости. Оно может составлять 85:15, 75:25 и 50:50.

Полимономерная кислота (PLA) включает в себя поли-L-молочную кислоту (PLLA), в которой полимеризуется только L-изомер, поли-D-молочную кислоту (PDLA), в которой полимеризуется только D-изомер, и PDLLA, в которой оба изомера молочной кислоты, L- и D-, присутствуют в смеси. PLGA по настоящему изобретению может быть сополимером любого из этих типов полимономерной кислоты и полигликолевой кислоты. В настоящей патентной заявке сополимеры PLLA и PGA упоминаются как PLLGA, а сополимеры PDLA и PGA упоминаются как PDLGA. Как показано в результатах измерения DSC на фиг. 6(1) и (2), PDLGA не имеет никакой кристаллизованной части, тогда как PLLGA имеет кристаллизованную часть.

#### β-фаза трикальцийфосфата

В качестве костного морфогенетического фактора в материале для регенерации кости по настоящему изобретению, предпочтительно, используются мелкие частицы β-фазы трикальцийфосфата (β-TCP). Общеизвестный фосфат кальция включает в себя биопоглощаемый фосфат кальция, такой как гидрофосфат кальция, октакальцийфосфат, тетракальцийфосфат, трикальцийфосфат, карбонат-апатит и т.п. β-TCP является особенно предпочтительным в качестве материала каркаса для пролиферации и дифференцирования клеток остеобласта. Внешне мелкие частицы β-TCP выглядят как порошок. Диаметр частиц этого порошка предпочтительно составляет 0,5-4 мкм. Поскольку наружный диаметр волокна, составляющего материал для регенерации кости по настоящему изобретению, составляет 10-150 мкм, диаметр частиц предпочтительно составляет 4 мкм или меньше. Для того чтобы частицы β-TCP были равномерно распределены с частицами фосфата кальция при мешении, диаметр частиц β-TCP предпочтительно составляет 0,5-4 мкм, что эквивалентно размеру частиц фосфата кальция.

Так как фосфат кальция по настоящему изобретению представляет собой β-TCP, который практически не содержит аморфной фазы, считается, что фосфат кальция не связывается с полимерными молекулами при мешении с биоразлагаемой смолой. Фиг. 8 иллюстрирует результат измерения XRD для β-TCP, используемого в настоящем изобретении. Наличие четких пиков указывает на то, что β-TCP является кристаллическим.

#### Производство прядильного раствора

##### (1) Приготовление композита мешением

Таблетки смолы PLGA подаются в пластикатор и нагреваются до диапазона рабочих температур для размягчения смолы PLGA до диапазона рабочей вязкости, то есть вязкости  $10^2$ - $10^7$  Па·с или более предпочтительно  $10^{3,2}$ - $10^{3,6}$  Па·с. Затем порошок мелких частиц фосфата кальция подается в пластикатор, смешивается с биоразлагаемой смолой и месится в течение определенного периода времени для получения композита из частиц фосфата кальция и биоразлагаемой смолы.

Предпочтительно содержание смолы PLGA и мелких частиц фосфата кальция в композите составляет 30-60 мас.% PLGA и 70-40 мас.% фосфата кальция. Более предпочтительно смола PLGA составляет 30-50 мас.%, а мелкие частицы фосфата кальция - 70-50 мас.%. Кроме того, предпочтительно смола PLGA составляет 30 мас.%, а мелкие частицы фосфата кальция - 70 мас.%. Поскольку в настоящем изобретении трудно управлять содержанием смолы PLGA и фосфата кальция с точностью выше, чем 10%, описанные выше диапазоны числовых значений должны рассматриваться, как включающие в себя диапазоны +/- 5%.

Для увеличения остеогенной активности материала для регенерации кости содержание фосфата кальция должно быть увеличено в максимально возможной степени. Однако если количество фосфата кальция увеличивается существенно свыше 70 мас.%, например до 80 мас.%, электропрядение волокна из прядильного раствора, приготовленного из такого композита, становится затруднительным.

Мелкие частицы TCP имеют тенденцию образовывать агрегаты при смешивании с размягченной смолой PLGA. Однако при применении тепловой и механической энергии к смеси мелких частиц TCP и PLGA, имеющего вязкость  $10^2$ - $10^7$  Па·с или более, предпочтительно  $10^{3,2}$ - $10^{3,6}$  Па·с, и мешения смеси в пластикаторе в течение определенного периода времени, агрегаты мелких частиц TCP физически измельчаются, так что полимер начинает проникать между частицами, и становится возможным создать такое состояние, в котором мелкие частицы фосфата кальция, по существу, равномерно диспергированы в смоле PLGA. Термин "применение тепловой и механической энергии" относится к мешению смолы с некоторым усилием в таком состоянии, когда смола является размягченной путем ее нагрева так, чтобы она имела высокую вязкость. При мешении смолы в состоянии высокой вязкости агрегаты мелких частиц фосфата кальция, содержащиеся в смоле, физически измельчаются.

Подходящий пластикатор, используемый в настоящем изобретении, представляет собой тип пластикатора, подходящий для мешения материалов с высокой вязкостью или включающих в себя измельчаемые твердые вещества. Для эффективного измельчения мелких частиц фосфата кальция в биоразлагаемой смоле с высокой вязкостью, подходящей является, например, модель пластикатора PBV, в которой материалы смешиваются сдвигом с помощью двух винтовых лопастей и поверхности стенки путем разрезания при неравномерном движении лопастей для особенно сильного измельчения и мешения. Кроме того, желательным является пластикатор, оборудованный патронным нагревательным элементом и т.п., и способный нагреваться до температуры плавления смолы за короткий период времени.

Для того чтобы применить тепловую и механическую энергию к частицам фосфата кальция в пластикаторе, PLGA, размягченный путем нагревания, должен иметь вязкость выше некоторого определенного уровня. Диапазон температур нагрева (диапазон рабочих температур) для поддержания смолы PLGA внутри подходящего рабочего диапазона вязкости ( $10^2$ - $10^7$  Па·с, или более предпочтительно  $10^{3,2}$ - $10^{3,6}$  Па·с) варьируется в зависимости от вида смолы PLGA. Для PLLGA (85:15) предпочтительной является температура около 160°C. При температуре нагрева ниже таких температур (например 140°C для PLLGA), большее усилие требуется для мешения в пластикаторе, что приводит к более низкой эффективности мешения.

Если температура нагрева дополнительно увеличивается (например, от 160°C для PLLGA до 190°C или выше), вязкость смолы PLGA уменьшается, так что полимер переходит в состояние жидкой фазы. В результате становится трудным применить механическую энергию к мешению смолы для измельчения агрегатов мелких частиц фосфата кальция. В результате равномерное диспергирование мелких частиц  $\beta$ -TCP в смоле PLGA затрудняется.

В настоящем изобретении смола PLGA может быть заранее подана в пластикатор и нагрета, а затем уже мелкие частицы фосфата кальция подаются и месятся, либо смола PLGA и мелкие частицы фосфата кальция могут подаваться в пластикатор одновременно и смешиваться и меситься, либо смесь, полученная путем смешивания PLGA и мелких частиц фосфата кальция, может подаваться в пластикатор и меситься. Если кристалличность PLGA является низкой, вязкость полимера становится низкой при нагреве. Следовательно, тепловую и механическую энергию можно более легко применять к смеси, если мелкие частицы фосфата кальция и PLGA подаются в пластикатор одновременно и месятся в нем без предварительного нагрева смолы PLGA перед подачей мелких частиц фосфата кальция в пластикатор.

Отношения, которые могут возникать между смолой PLGA и мелкими частицами фосфата кальция на молекулярном уровне при мешении смеси, не ясны. Измерения твердотельного ядерного магнитного резонанса (NMR) образцов биоразлагаемого волокна, приготовленного с помощью способа по настоящему изобретению, показали, что карбоксильные группы смолы PLGA не связаны с ионами кальция  $\beta$ -TCP. Фиг. 7(1) и (2) показывают результат измерения NMR.

Считается, что, если  $\beta$ -TCP не является аморфной фазой, у него нет никакой химической связи со смолой PLGA. Если между частицами фосфата кальция и биоразлагаемой полимерной матрицей происходит реакция с образованием связей на границе, это может вызвать при рассмотрении фармацевтического назначения беспокойство относительно того, влияет ли это на живой организм при их использовании в качестве материала для регенерации кости. Следовательно то, что никаких химических связей между  $\beta$ -TCP и смолой PLGA не образуется, является преимуществом.

Хотя мелкие частицы  $\beta$ -TCP не связываются с молекулами PLGA во время процесса мешения смолы PLGA и мелких частиц  $\beta$ -TCP, смола PLGA может полностью покрывать мелкие частицы  $\beta$ -TCP. Считается, что именно по этой причине мелкие частицы  $\beta$ -TCP не отделяются от смолы PLGA в каплях во время формирования волокна.

#### (2) Охлаждение и отверждение композита

Композит, приготовленный как было описано выше, извлекается из пластикатора, охлаждается при нормальной температуре и отверждается. Считается, что когда температура достигает температуры кристаллизации  $T_c$  PLGA ( $T_c$  PLLGA составляет 130°C) во время процесса охлаждения нагретого композита, мелкие частицы TCP, диспергированные в композите, служат в качестве зародышей кристаллообразования, и рост кристаллов смолы PLLGA начинается именно с них.

Поскольку мешение размягченной смолы PLGA и мелких частиц  $\beta$ -TCP и применение тепловой и механической энергии в пластикаторе для диспергирования мелких частиц TCP увеличивает концы молекул PLGA во время процесса и формирует большое количество ядерных объектов, считается, что кристаллы смолы PLGA растут от этого большого количества ядерных объектов во время процесса охлаждения композита. Однако поскольку PLGA является блок-сополимером, и в частности поскольку PLLGA является очень аморфным, скорость кристаллизации является невысокой. Поэтому считается, что даже при большом количестве ядерных объектов, формируемых посредством мешения, кристаллы плохо растут от ядер мелких частиц TCP.

#### (3) Растворение композита с помощью растворителя

Композит, произведенный как описано выше, погружается в растворитель и растворяется при перемешивании для получения прядильного раствора. Для того чтобы приготовить прядильный раствор для

электропрядения, необходимо, по существу, полностью растворить композит в растворителе. С этой целью композит предпочтительно размещивается в растворителе в течение 4 ч или больше с использованием магнитной мешалки.

В качестве растворителя, используемого в настоящем изобретении, предпочтительно может использоваться хлороформ, поскольку растворимость в нем биоразлагаемой смолы является хорошей, и растворитель может быть эффективно выпарен из волокна во время процесса электропрядения.

Концентрация полимера, растворенного в растворителе в прядильном растворе, может быть выбрана и отрегулирована подходящим образом по мере необходимости, но концентрация от 8 мас.% до 10 мас.% является предпочтительной для электропрядения.

При растворении в растворителе молекулярные цепи смолы PLGA ослабляются, что приводит к устранению силы сцепления между молекулярными цепями, и диспергируются отдельно, что обеспечивает молекулярным цепям некоторую степень свободы. Впоследствии, как полагают, молекулы биоразлагаемой смолы в биоразлагаемом волокне, из которого растворитель был удален с помощью электропрядения, перегруппировываются во время отверждения волокна.

#### Электропрядение

Биоразлагаемое волокно производится с помощью электропрядения путем заполнения шприца устройства электропрядения прядильным раствором, подготовленным как описано выше, и приложения электрических зарядов к соплу для выброса прядильного раствора в форме волокна predetermined способом и/или при определенных условиях.

В качестве процесса электропрядения в настоящем изобретении предпочтительно может использоваться "сухоструйное влажное электропрядение". В сухоструйном влажном электропрядении волокно, которое было выброшено из сопла в воздух и отверждено путем испарения растворителя во время полета в воздухе, входит через поверхность жидкого этанола в резервуар коллектора, тонет в жидкости и осажается в подобной вате форме в резервуаре коллектора. Биоразлагаемая смола растворяется в хлороформе и становится содержимым прядильного раствора для электропрядения, но она не является растворимой в этаноле, содержащемся в резервуаре коллектора, и поэтому волокно осажается в жидкой фазе. Сухоструйное влажное электропрядение подробно раскрыто в публикации Study on the Morphologies and Formational Mechanism of Poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate) Ultrafine Fibers by Dry-Jet-Wet-Electrospinning, Shuqi et al. Journal of Nanomaterials Volume 2012 Hindwi Publishing Corporation October 2012, в японской отложенной патентной заявке № 2012-161363, а также в американском патенте № 8853298.

В настоящем изобретении волокно, выброшенное из сопла, тонет в контейнере коллектора, заполненном жидким этанолом, и осажается на пластине коллектора. Хлороформ удаляется с поверхности биоразлагаемого волокна в жидком этаноле. В результате волокна, осажённые на пластине коллектора, не прилипают друг к другу, и может быть получен подобный вате пушистый продукт, показанный на фиг. 1. Подобный вате материал для регенерации кости, включающий в себя биоразлагаемое волокно по настоящему изобретению, имеет объемную плотность 0,001-0,1 г/см<sup>3</sup>, предпочтительно 0,01-0,1 г/см<sup>3</sup>, или более предпочтительно 0,01-0,04 г/см<sup>3</sup>. Фиг. 3 иллюстрирует использование материала для регенерации кости по настоящему изобретению. Материал для регенерации кости по настоящему изобретению является превосходным в плане легкости обращения с ним, поскольку он имеет волокно с наружным диаметром в диапазоне 10-150 мкм и подобную вате форму с объемной плотностью в вышеописанном диапазоне.

Если смола PLGA представляет собой PDLGA, то волокно, осажённое в коллекторе, становится мягким, и волокна прилипают друг к другу за счет небольшого количества хлороформа, остающегося на поверхности произведенного волокна, и поэтому волокно не в состоянии поддерживать форму отдельных волокон. В результате становится трудным собрать волокно, осажённое в жидком этаноле в контейнере коллектора, в подобной вате форме.

Для того чтобы решить эту проблему и собрать волокно PLGA из коллектора в подобной вате форме, желательно высушить волокно как можно скорее и удалить хлороформ с поверхности волокна.

#### Биоразлагаемое волокно

Фиг. 2 и фиг. 4 иллюстрируют фотографии внешнего вида биоразлагаемого волокна в материале для регенерации кости, произведенном с помощью электропрядения по настоящему изобретению. Наружный диаметр волокон является неравномерным и колеблется в диапазоне 10-150 мкм, но предпочтительный средний диаметр составляет 10-50 мкм. Волокна, произведенные с помощью электропрядения, обычно имеют наружный диаметр, равный или меньше, чем несколько микрометров. Биоразлагаемое волокно для материала для регенерации кости по настоящему изобретению является более толстым, чем такие волокна. За счет приготовления волокна с наружным диаметром, равным или больше чем 10 мкм, возможно создать промежуток (зазор) между волокнами, необходимый для того, чтобы клетки могли войти внутрь подобного вате пористого продукта по настоящему изобретению.

Материал для регенерации кости, сделанный из биоразлагаемого волокна по настоящему изобретению, гидролизует с высокой скоростью, начинается разлагаться сразу же после имплантирования в человеческое тело, а затем поглощается телом за несколько месяцев и исчезает.

На поверхности биоразлагаемого волокна в материале для регенерации кости по настоящему изобретению образуется большое количество ультрамикронпор. При электропрядении микропоры образуются на поверхности волокна в процессе испарения прядильного раствора, выбрасываемого в форме волокна из сопла. В материале для регенерации кости по настоящему изобретению площадь границы между содержащимися керамическими частицами (костным морфогенетическим фактором) и текучей средой организма заметно увеличивается за счет формирования ультрамикронпор на биоразлагаемом волокне, и в результате получается высокий остеогенный потенциал.

#### Стерилизационная обработка

Материал для регенерации кости по настоящему изобретению предпочтительно стерилизуется после того, как он будет сформирован в подобной вате форме с помощью электропрядения, делится на аликвоты желаемого размера/веса с использованием микропинцетов и заворачивается в алюминий. Примеры стерилизации включают в себя лучевую стерилизацию (гамма-лучами, электронными лучами), стерилизацию газообразным этиленоксидом, стерилизацию в автоклаве и т.п. Предпочтительно в настоящем изобретении используется лучевая стерилизация гамма-лучами.

#### Эксперимент 1

##### 1) Схема Эксперимента 1

Для PLLGA и PDLGA образцы композита PLLGA (1)-(4) и образцы композита PDLGA (5)-(7) были приготовлены с различными соотношениями компонентов смеси смолы и мелких частиц  $\beta$ -TCP, а также с различными условиями мешения. Прядение проводилось путем растворения приготовленных композитов в хлороформе для приготовления прядильных растворов для электропрядения.

##### (I) Мешение PLLGA

Сополимер PLLA/PGA (PLLGA 85:15) подавался в пластикатор с мелкими частицами  $\beta$ -TCP, эта смесь нагревалась при 180°C и месилась для получения композита, содержащего 30 мас.% PLLGA и 70 мас.% мелких частиц TCP, и этот композит растворялся в хлороформе для того, чтобы приготовить образец (1) прядильного раствора.

Сополимер PLLA/PGA (PLLGA 85:15) подавался в пластикатор с мелкими частицами  $\beta$ -TCP, эта смесь месилась при 165°C для получения композита, содержащего 30 мас.% PLLGA и 70 мас.% мелких частиц TCP, и этот композит растворялся в хлороформе для того, чтобы приготовить образец (2) прядильного раствора.

Сополимер PLLA/PGA (PLLGA 85:15) подавался в пластикатор с мелкими частицами  $\beta$ -TCP, эта смесь месилась при 115°C для получения композита, содержащего 30 мас.% PLLGA и 70 мас.% мелких частиц TCP, и этот композит растворялся в хлороформе для того, чтобы приготовить образец (3) прядильного раствора.

Сополимер PLLA/PGA (PLLGA 85:15) подавался в пластикатор с мелкими частицами  $\beta$ -TCP, эта смесь месилась при 165°C для получения композита, содержащего 50 мас.% PLLGA и 50 мас.% мелких частиц TCP, и этот композит растворялся в хлороформе для того, чтобы приготовить образец (4) прядильного раствора.

##### (II) Мешение PDLGA

Сополимер PDLA/PGA (PDLGA 85:15) подавался в пластикатор с мелкими частицами  $\beta$ -TCP, эта смесь месилась при 180°C для получения композита, содержащего 30 мас.% PLLGA и 70 мас.% мелких частиц TCP, и этот композит растворялся в хлороформе для того, чтобы приготовить образец (5) прядильного раствора.

Сополимер PDLA/PGA (PLLGA 85:15) подавался в пластикатор с мелкими частицами  $\beta$ -TCP, эта смесь месилась при 165°C для получения композита, содержащего 30 мас.% PDLGA и 70 мас.% мелких частиц TCP, и этот композит растворялся в хлороформе для того, чтобы приготовить образец (6) прядильного раствора.

Сополимер PLLA/PGA (PLLGA 85:15) подавался в пластикатор с мелкими частицами  $\beta$ -TCP, эта смесь месилась при 165°C для получения композита, содержащего 50 мас.% PDLGA и 50 мас.% мелких частиц TCP, и этот композит растворялся в хлороформе для того, чтобы приготовить образец (7) прядильного раствора.

##### (III) Немешеный PLLGA (Сравнительный эксперимент 1)

Сополимер PLLA/PGA (PLLGA 85:15) подавался вместе с мелкими частицами  $\beta$ -TCP в контейнер, заполненный хлороформом, эта смесь перемешивалась мешалкой в течение 4 ч для того, чтобы приготовить композит, содержащий 30 мас.% PLLGA и 70 мас.% мелких частиц TCP, и этот композит был растворен в хлороформе для того, чтобы приготовить образец (8) прядильного раствора.

##### (IV) Мешение расплава PLLA (Сравнительный эксперимент 2)

30 мас.% PLLA подавалось в пластикатор вместе с 70 мас.% мелких частиц  $\beta$ -TCP и эта смесь нагревалась при 185-190°C и месилась с одновременным плавлением PLLA для того, чтобы приготовить композит PLA и мелких частиц  $\beta$ -TCP.

Материалы, использованные для приготовления образцов

$\beta$ -TCP ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ):  $\beta$  использовался TCP-100 производства компании Taihei Chemical Industrial Co.

Ltd. Продукт, имеющий размер частиц 1,7 мкм, измельчался до частиц с размером 4 мкм (измельченный продукт  $\beta$ -TCP) и использовался.

PLGA: LG855S производства компании Evonik Industries AG использовался в качестве PLLGA.

PDLG8531 производства компании Purgas использовался в качестве PDLGA.

#### Условия приготовления образца

##### Условия пластилятора

Пластилятор: Использовался настольный пластилятор PBV-0,1 (вакуумный пластилятор периодического действия с двойной лопастью производства компании Irie Shokai Co., Ltd.).

##### Условия электропрядения

Устройство электропрядения: NANON (производства компании MECC Co., Ltd.).

Растворитель: хлороформ.

Концентрация смолы в растворе: от 8 мас.% до 1,00 мас.%.

Скорость экструдера: 15 мл/ч.

Игла имела размер 18G, напряжение составляло 25 кВ, а расстояние пролета от сопла до коллектора составляло 25 см. Контейнер коллектора был заполнен жидким этанолом, в котором волокно, произведенное с помощью электропрядения, принималось и осаждалось.

#### 2) Результаты Эксперимента 1

Результаты Эксперимента 1 проиллюстрированы на фиг. 4(1) и (2).

При мешении PLLGA и мелких частиц  $\beta$ -TCP в пластиляторе при температуре нагрева 165°C, PLLGA и мелкие частицы  $\beta$ -TCP могли меситься путем применения тепловой и механической энергии в диапазоне рабочей вязкости. Мешение при более высокой температуре нагрева пластилятора, составлявшей 185°C, привело к слишком низкой вязкости PLLGA и неудовлетворительному смешиванию порошка мелких частиц  $\beta$ -TCP со смолой PLLGA, оставляя некоторое количество порошка несмешанным. В противоположность этому, мешение при более низкой температуре нагрева пластилятора, составлявшей 115°C, привело к слишком высокой вязкости PLLGA и сделало затруднительным смешивание порошка мелких частиц  $\beta$ -TCP со смолой PLLGA в пластиляторе.

Вязкость PDLGA более легко уменьшается при нагреве по сравнению с PLLGA и мешение с нагреванием при 165°C приводит к налипанию смолы на лопастях пластилятора, оставляя порошок неполностью смешанным, а также несмешанные небольшие части. При удлинении времени мешения полимера и порошка на 3 мин при той же самой температуре нагрева их так или иначе удалось смешать. Однако волокно, полученное путем растворения приготовленного композита в хлороформе и прядения полученного раствора с помощью электропрядения, было мягким и таким образом не могло быть сформировано в подобную вате форму после сушки.

В Сравнительном эксперименте 1 удалось приготовить раствор, в котором мелкие частицы  $\beta$ -TCP диспергированы в растворе хлороформ/смола до такого состояния, в котором частицы порошка не были видны при визуальном наблюдении, путем перемешивания PLLGA и мелких частиц  $\beta$ -TCP в течение 4 ч в контейнере, заполненном хлороформом, без их мешения в пластиляторе. Однако попытка прясти этот раствор путем его зарядки в качестве прядильного раствора в шприц устройства электропрядения и подачи напряжения к раствору не привела к прядению из-за явления зерна Тэйлора, и прядильный раствор экструдировался из сопла, капал вниз и осаждался в форме толстого волокна.

В Сравнительном эксперименте 2 подача PLLA (точка плавления: 180°C) и порошка мелких частиц  $\beta$ -TCP в пластилятор в соотношении 30/70 мас.% и нагревание этой смеси при температуре 185-190°C приводили к плавлению PLLA до состояния жидкой фазы. Вращение лопастей пластилятора в этом состоянии для мешения смеси сопровождалось адгезией расплавленной смолы PLLA к внутренней поверхности стенки пластилятора, в результате чего порошок мелких частиц  $\beta$ -TCP оставался неполностью смешанным со смолой PLLA, а некоторые его части выглядели как белый порошок.

#### 3) Анализ и оценка результатов Эксперимента 1

Было найдено, что способ для приготовления композита путем сначала размягчения смолы PLGA в рабочем диапазоне вязкости, а затем смешивания смолы PLGA с порошком мелких частиц  $\beta$ -TCP и мешения этой смеси с приложением усилия в нагреваемом пластиляторе является чрезвычайно эффективным для приготовления композита, в котором порошок мелких частиц  $\beta$ -TCP диспергирован и смешан с PLGA. Растворение этого композита в хлороформе и электропрядение полученного раствора в качестве прядильного раствора позволило, по существу, устойчиво производить волокно.

С другой стороны, когда диапазон вязкости смолы PLGA при ее мешении был более высоким или более низким, чем рабочий диапазон вязкости, было затруднительно диспергировать порошок в смоле PLGA, что мешало приготовить композит и в результате растворять его растворителем и прясти этот раствор с помощью процесса электропрядения.

Когда PLA, которая является кристаллической смолой, нагревалась при температуре, равной или выше точки плавления, для того, чтобы иметь смолу в расплавленном состоянии, вязкость смолы быстро уменьшалась, так что вязкость смолы стала ниже рабочего диапазона вязкости, что в результате мешало месить получаемую смесь с применением силы и полностью смешивать порошок со смолой путем мешения.

ния.

PDLGA не может легко формоваться и обрабатываться, потому что он является более аморфным, чем PLLGA. Однако использование способа по настоящему изобретению позволило произвести волокно с содержанием большого количества мелких частиц  $\beta$ -TCP в смоле PDLGA с помощью электропрядения. Однако произведенное волокно из PDLGA было мягким и волокна приклеивались друг к другу хлороформом, небольшое количество которого оставалось на поверхности волокна. Следовательно, было возможно осадить волокно PDLGA в подобной вате форме в жидком этаноле. Однако после его извлечения из жидкого этанола было трудно поддерживать независимую форму волокна. Для того чтобы собрать биоразлагаемое волокно в подобной вате форме из коллектора, необходимо удалить хлороформ из волокна и высушить волокно как можно скорее.

#### Эксперимент 2

##### 1) Схема Эксперимента 2

Были подготовлены образцы (1)-(6) биоразлагаемого волокна, включающие в себя PLGA и  $\beta$ -TCP, и каждый образец был измерен на предмет кристалличности PLGA, разрушения формы в водном растворе и измерения NMR.

(1) 70  $\beta$ -TCP-30 PLLGA (85:15)

(2) 60  $\beta$ -TCP-40 PLLGA (85:15)

(3) 50  $\beta$ -TCP-50 PLLGA (85:15)

(4) 100 PLLGA (85:15)

(5) 70  $\beta$ -TCP-30 PDLGA (85:15)

(6) 50  $\beta$ -TCP-50 PDLGA (85:15).

Материалы, использованные для приготовления образцов

$\beta$ -TCP ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ):  $\beta$  использовался TCP-100 производства компании Taihei Chemical Industrial Co. Ltd. Продукт, имеющий размер частиц 1,7 мм, измельчался до частиц с размером 4 мкм (измельченный продукт  $\beta$ -TCP) и использовался.

PLGA: LG855S производства компании Evonik Industries AG использовался в качестве PLLGA (85:15).

PDLG8531 производства компании Purgas использовался в качестве PDLGA (85:15).

#### Условия приготовления образца

Условия пластилятора

Пластикатор: настольный пластикатор PBV-0,1 (производства компании Irie Shokai Co., Ltd.).

Температура: 160°C.

Время: Один полимер месился в течение 3,5 мин, а затем был добавлен TCP, и смесь месилась в течение 11 мин: всего 14,5 мин. В случае (6) 50 TCP-50 PLGA (PDLGA 85:15) полимер и TCP подавались в пластикатор одновременно и месились в течение 14,5 мин.

Условия электропрядения

Устройство электропрядения: NANON (производства компании MECC Co., Ltd.).

Растворитель: хлороформ.

Концентрация смолы в растворителе: 8 мас.% для (1)-(4), 16 мас.% для (5) и 12 мас.% для (6).

Напряжение: 20 кВ для (1)-(4), 28 кВ для (5) и 25 кВ для (6).

Скорость экструдера: 15 мл/ч.

Игла имела размер 18G, напряжение составляло 20-28 кВ, а расстояние пролета от сопла до коллектора составляло 25 см. Контейнер коллектора был заполнен жидким этанолом, в котором волокно, произведенное с помощью электропрядения, принималось и осаждалось.

#### Измерение DSC

Кристалличность образцов (1)-(6) была измерена с помощью DSC.

#### Измерение NMR

Проверка образования координационной связи между карбоксильными группами в PLGA и ионами кальция в TCP в образцах (1) и (4) выполнялась с помощью NMR.

#### Наблюдение потери формы в водном растворе

Образцы (1)-(5) были погружены в водный раствор гидроксида натрия и оценены на предмет потери формы подобных вате образцов после предопределенного времени погружения.

Раствор: водный раствор гидроксида натрия с концентрацией 5 ммоль/л.

Время погружения: 0, 3, 6 и 8 дней.

Масса образца: 100 мг для каждого образца.

Объем раствора: 20 мл.

Выдержка при комнатной температуре.

Перемешивание путем переворачивания контейнера утром и вечером.

Фотографирование выполнялось сразу после погружения и в подходящие моменты времени после погружения, и наблюдались изменения внешнего вида.

##### 2) Результаты Эксперимента 2

## Измерение DSC

Результаты показаны на фиг. 6 (1) и (2).

## Измерение NMR

Результаты показаны на фиг. 7(1) и (2).

## Наблюдение потери формы в водном растворе

Результаты показаны на фиг. 5(1)-(5).

Образец (1) (30 PLLGA-70 TCP) погружался в водный раствор гидроксида натрия на 0, 3, 6 и 8 дней и наблюдалось изменение внешнего вида. В результате спустя 6 дней после погружения кажущийся объем подобного вате образца уменьшился до двух третей и легкое перемешивание вызывало дисперсию большого количества коротких волокон в контейнере. Спустя 8 дней после погружения кажущийся объем подобного вате образца уменьшился до одной трети и легкое перемешивание вызывало дисперсию коротких волокон во всем контейнере.

Образец (2) (40 PLLGA-60 TCP) погружался в водный раствор гидроксида натрия на 0, 3, 6 и 8 дней, и наблюдалось изменение внешнего вида. В результате наблюдалось приблизительно то же самое, что и в случае Образца (1), но уменьшение кажущегося объема подобного вате образца после погружения было более медленным, чем для Образца (1), и меньшее количество коротких волокон диспергировалось в контейнере при легком перемешивании.

Образец (3) (50 PLLGA-50 TCP) погружался в водный раствор гидроксида натрия на 0, 3, 6 и 8 дней, и наблюдалось изменение внешнего вида. В результате наблюдалось приблизительно то же самое, что и в случаях образцов (1) и (2), но уменьшение кажущегося объема подобного вате образца после погружения было еще более медленным, чем для образца (2), и еще меньшее количество коротких волокон диспергировалось в контейнере при легком перемешивании.

Образец (4) (100 PLLGA) погружался в водный раствор гидроксида натрия на 0, 3, 6 и 8 дней, и наблюдалось изменение внешнего вида. В результате спустя 8 дней после погружения кажущийся объем подобного вате образца немного уменьшился и дисперсия коротких волокон в контейнере при легком перемешивании также была небольшой.

Образец (5) (30 PDLGA-70 TCP) погружался в водный раствор гидроксида натрия на 0, 3, 6 и 8 дней, и наблюдалось изменение внешнего вида. В результате спустя 3 дня после погружения подобный вате внешний вид был почти потерян и легкое перемешивание вызывало дисперсию коротких волокон во всем контейнере. Это явление прогрессивно усиливалось спустя 6 и 8 дней после погружения.

## 3) Анализ и оценка результатов эксперимента

## (i) Измерение с помощью дифференциальной сканирующей калориметрии (DSC).

В PLLGA/TCP кристалличность образцов снижалась по мере того, как содержание PLLGA уменьшалось, а содержание TCP увеличивалось. Образец со 100% PLLGA, который не содержал  $\beta$ -TCP, имел значительно более высокую кристалличность, чем образцы, которые содержали TCP.

## (ii) Измерение разложения.

В образцах PLLGA/TCP скорость гидролиза увеличивалась по мере того, как содержание PLLGA уменьшалось, а содержание  $\beta$ -TCP увеличивалось. Этот результат предположительно указывает на то, что скорость гидролиза образца повышается при уменьшении кристалличности PLLGA.

## (iii) Измерение NMR.

Были измерены CP/MAS-NMR спектры углерода  $^{13}\text{C}$  в PLGA (100) и TCP/PLGA (70-30).

Фазы вокруг карбонильной группы ( $\text{C}=\text{O}$ ;  $\sim 170$  частей на миллион) были увеличены вместе и было проведено сопоставление пиков. Хотя это трудно видеть из-за сильного шума как для PLGA (100), так и для TCP/PLGA (70-30) было возможно выделить широкий пик, показанный пунктирной линией, и пик, показанный точечной линией, имеющие максимум при 170,4 частей на миллион (по Гауссу). Сдвига пиков в магнитном поле не наблюдалось ни для одного из образцов. Следовательно, можно считать, что ионы  $\text{Ca}^{2+}$  не координируются с карбоксильными группами (хотя это и не точно, но отделенный пик, показанный пунктирной линией, может быть благодаря флуктуациям из-за высокоаморфной природы).

Хотя в примерах настоящей патентной заявки в качестве биоразлагаемой смолы использовался PLGA, включающий в себя молочную кислоту и гликолевую кислоту в соотношении 85:15, соотношение молочной кислоты и гликолевой кислоты не ограничивается этим и включает в себя 75:25 и 50:50. Считается, что чем выше процент гликолевой кислоты, тем более аморфным является PLGA и тем выше скорость гидролиза использующего его биоразлагаемого волокна.

Материал для регенерации кости, произведенный с использованием способа по настоящему изобретению, может использоваться отдельно, а также с помощью способа, включающего в себя заполнение дефекта кости аутогенной костью, обернутой в подобный вате материал. Материал для регенерации кости по настоящему изобретению используется для заполнения дефекта и помогает остеогенезу в этом состоянии благодаря высокому сродству с аутогенной костью. Фиг. 3 иллюстрирует использование аутогенной кости, обернутой материалом для регенерации кости по настоящему изобретению.

Поскольку материал для регенерации кости, произведенный с использованием способа по настоящему изобретению, имеет мелкие частицы  $\beta$ -TCP, равномерно диспергированные в биоразлагае-

мом волокне, считается, что разложение и поглощение PLGA и замена кости на  $\beta$ -TCP происходят непрерывно и одновременно.

#### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ производства материала для регенерации кости, содержащего биоразлагаемое волокно, с использованием процесса электропрядения, включающий:

подачу смолы сополимера полимолочной кислоты и полигликолевой кислоты (PLGA) в пластикатор и нагревание смолы PLGA при вращении лопасти пластикатора для размягчения смолы PLGA до диапазона рабочей вязкости, составляющего  $10^{3,2}$ - $10^{3,6}$  Па $\times$ с;

смешивание порошка частиц  $\beta$ -фазы трикальцийфосфата ( $\beta$ -TCP) с размягченной смолой PLGA путем подачи этого порошка в пластикатор с одновременным вращением лопасти таким образом, что массовое соотношение смолы PLGA к частицам  $\beta$ -TCP составляет 30-50 и 70-50, соответственно;

вращение лопасти пластикатора с непрерывным усилием при нагревании для перемешивания смеси смолы PLGA и частиц  $\beta$ -TCP так, что агрегаты частиц  $\beta$ -TCP физически измельчаются за счет приложения тепловой и механической энергии к смеси для производства композита, в котором частицы  $\beta$ -TCP равномерно диспергированы в смоле PLGA;

охлаждение и отверждение этого композита;

растворение этого композита растворителем и перемешивание растворенного композита для приготовления прядильного раствора, в котором смола PLGA полностью растворена растворителем, а частицы  $\beta$ -TCP равномерно диспергированы в растворителе; и

зарядку этого прядильного раствора в шприц устройства электропрядения и применение напряжения для производства биоразлагаемого волокна, в котором  $\beta$ -TCP частицы диспергированы равномерно.

2. Способ по п.1, в котором после подачи смолы PLGA в пластикатор, ее нагрева для размягчения до predetermined вязкости и перемешивания, порошок частиц фосфата кальция подается к перемешиванию смолы PLGA в пластикатор, и смола PLGA и частицы фосфата кальция перемешиваются в пластикаторе при температуре, равной температуре перемешивания смолы PLGA.

3. Способ по п.1 или 2, в котором смола PLGA является сополимером полимолочной кислоты (PLA), содержащим только L-изомер PLA и полигликолевую кислоту (PGA).

4. Способ по любому из пп.1-3, в котором смола PLGA является сополимером PLA, содержащим L-изомер и D-изомер PLA в смеси и PGA.

5. Способ по любому из пп.1-4, в котором соотношение полимолочной кислоты и полигликолевой кислоты в смоле PLGA составляет 85-50:15-50.

6. Способ по п.1, в котором наружный диаметр частиц  $\beta$ -TCP составляет 0,5-4 мкм.

7. Способ по любому из пп.1-6, в котором наружный диаметр биоразлагаемого волокна составляет 10-150 мкм.

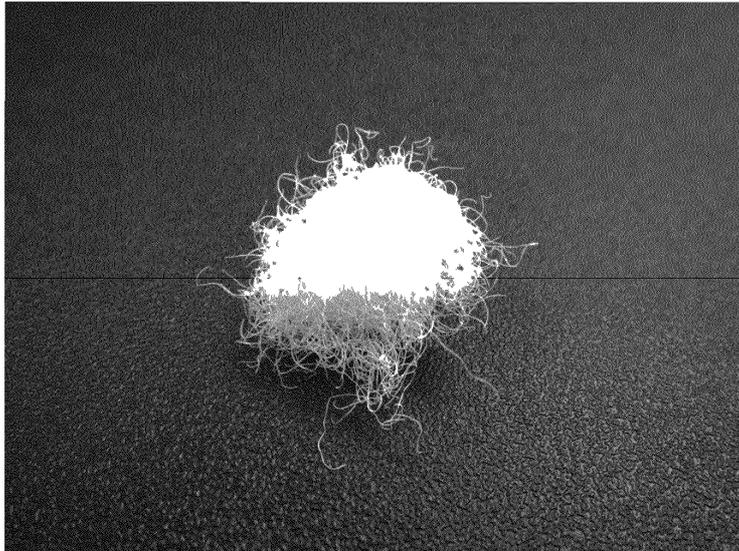
8. Способ по любому из пп.1-7, в котором материал для регенерации кости, включая биоразлагаемое волокно, имеет объемную плотность 0,01-0,1 г/см<sup>3</sup>.

9. Способ по любому из пп.1-8, в котором молекулярная масса смолы PLGA составляет 60000-600000.

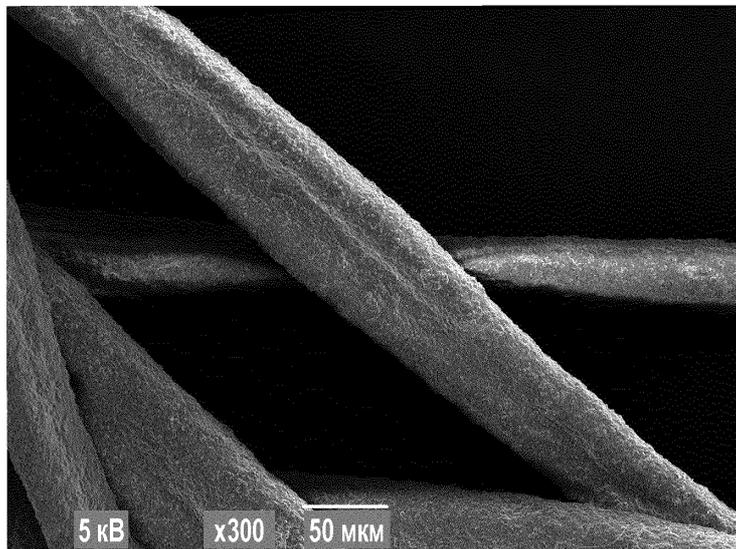
10. Способ по любому из пп.1-9, в котором пластикатор является настольным двухлопастным пластикатором.

11. Способ по любому из пп.1-10, в котором пластикатор является пластикатором периодического действия.

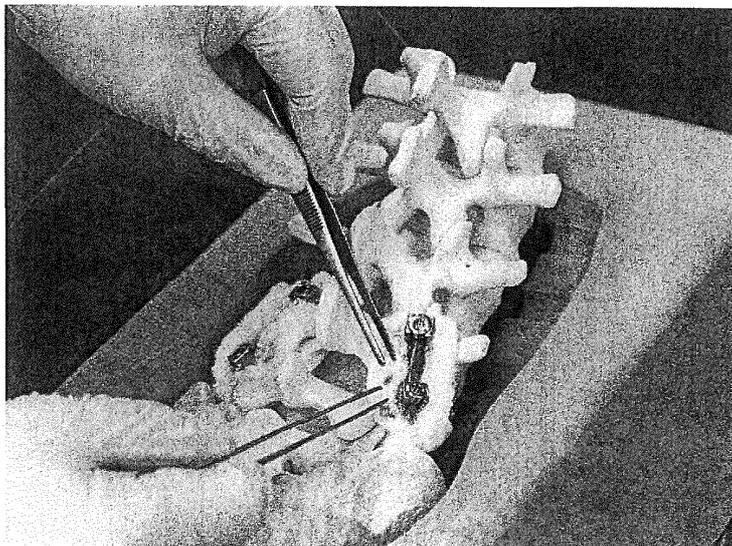
12. Способ по любому из пп.1-11, в котором пластикатор является вакуумным пластикатором.



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3

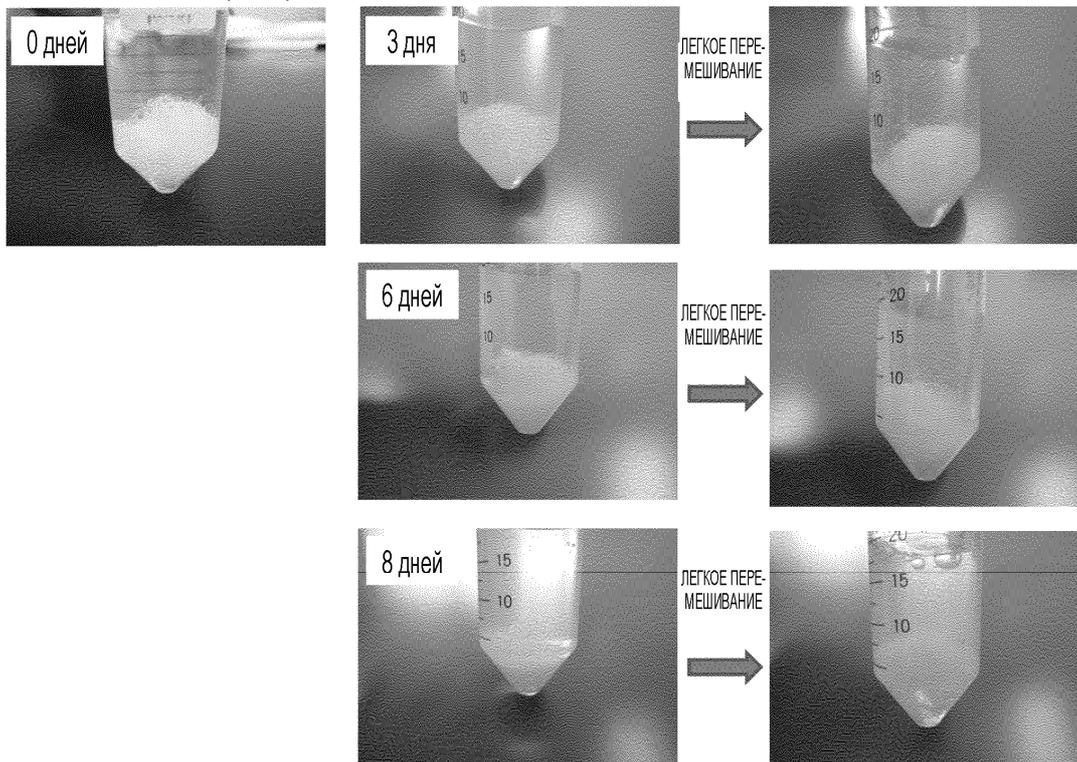
Соотношение смешивания смолы и $\beta$ -TCP	Температура	Вязкость	Время мешения	Результаты мешения	Результаты электропрядения
(1) PLLGA/ $\beta$ -TCP: 30/70	185°C	Ниже, чем рабочий диапазон вязкости	Один полимер месился в течение 3,5 мин, а затем был добавлен порошок, и смесь месилась в течение 11 мин	Часть PLLGA прилипла к поверхности стенки пластинатора, а остальная часть порошка $\beta$ -TCP осталась несмешанной с PLLGA.	Не проводилось
(2) PLLGA/ $\beta$ -TCP: 30/70	165°C	Внутри рабочего диапазона вязкости	Один полимер месился в течение 3,5 мин, а затем был добавлен порошок, и смесь месилась в течение 11 мин	Весь порошок $\beta$ -TCP был смешан и диспергирован в PLLGA, и никаких остатков порошка не наблюдалось.	Волокно производилось устойчиво с помощью электропрядения при 8%-ой концентрации PLLGA в хлороформе
(3) PLLGA/ $\beta$ -TCP: 30/70	115°C	Выше, чем рабочий диапазон вязкости	Один полимер месился в течение 3,5 мин, а затем был добавлен порошок, и смесь месилась в течение 11 мин	PLLGA не размягчился в достаточной степени, и $\beta$ -TCP не был смешан с PLLGA	Не проводилось
(4) PLLGA/ $\beta$ -TCP: 50/50	165°C	Внутри рабочего диапазона вязкости	Один полимер месился в течение 3,5 мин, а затем был добавлен порошок, и смесь месилась в течение 11 мин	Весь порошок $\beta$ -TCP был успешно смешан и диспергирован в PLLGA. Остатков порошка после мешения не наблюдалось.	Волокно производилось устойчиво с помощью электропрядения при 8%-ой концентрации PLLGA в хлороформе

Фиг. 4(1)

Соотношение смешивания смолы и $\beta$ -TCP	Температура	Вязкость	Время мешения	Результаты мешения	Результаты электропрядения
(5) PDLGA/ $\beta$ -TCP: 30/70	140°C	Выше, чем рабочий диапазон вязкости	Один полимер месился в течение 3,5 мин, а затем был добавлен порошок, и смесь месилась в течение 11 мин	PDLGA не размягчился в достаточной степени, и $\beta$ -TCP не был смешан	Не проводилось
(6) PDLGA/ $\beta$ -TCP: 30/70	165°C	Внутри рабочего диапазона вязкости	Один полимер месился в течение 3,5 мин, а затем был добавлен порошок, и смесь месилась в течение 11 мин	Некоторое количество PDLGA осталось прилипшим к лопастям пластикатора. Небольшое количество $\beta$ -TCP не было смешано и осталось.	Не проводилось
(7) PDLGA/ $\beta$ -TCP: 30/70	165°C	Внутри рабочего диапазона вязкости	Полимер и порошок были поданы в пластикатор одновременно, и смешивались и месились в течение 14,5 мин	Весь поданный порошок $\beta$ -TCP был успешно смешан с PDLGA. Остатков порошка после мешения не наблюдалось.	Волокно было успешно произведено при 12%-ой концентрации PDLGA в хлороформе, но не стало подобным вате после сушки.
(8) PDLGA/ $\beta$ -TCP: 50/50	165°C	Внутри рабочего диапазона вязкости	Один полимер месился в течение 3,5 мин, а затем был добавлен порошок, и смесь месилась в течение 11 мин	Некоторое количество PDLGA осталось прилипшим к лопастям пластикатора. Небольшое количество $\beta$ -TCP не было смешано и осталось.	Не проводилось
(9) PDLGA/ $\beta$ -TCP: 50/50	165°C	Внутри рабочего диапазона вязкости	Полимер и порошок были поданы в пластикатор одновременно, и смешивались и месились в течение 14,5 мин	Весь поданный порошок $\beta$ -TCP был успешно смешан с PDLGA. Остатков порошка после мешения не наблюдалось.	Не проводилось

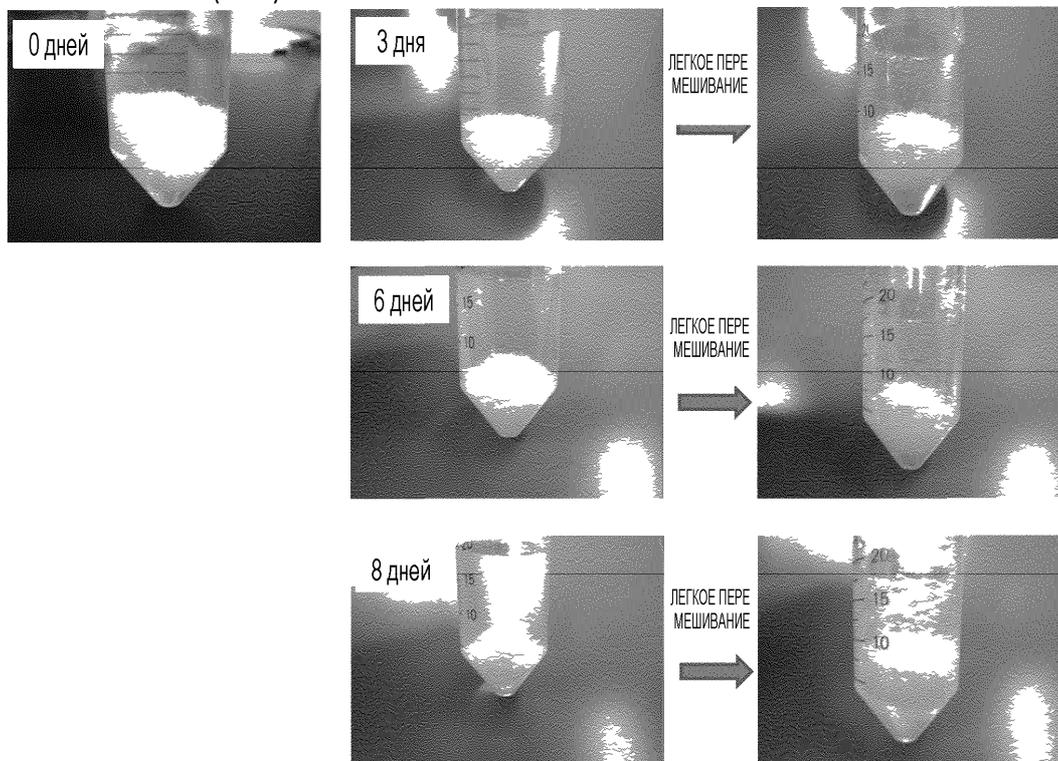
Фиг. 4(2)

30PLGA-70TCP (5 мМ)



Фиг. 5(1)

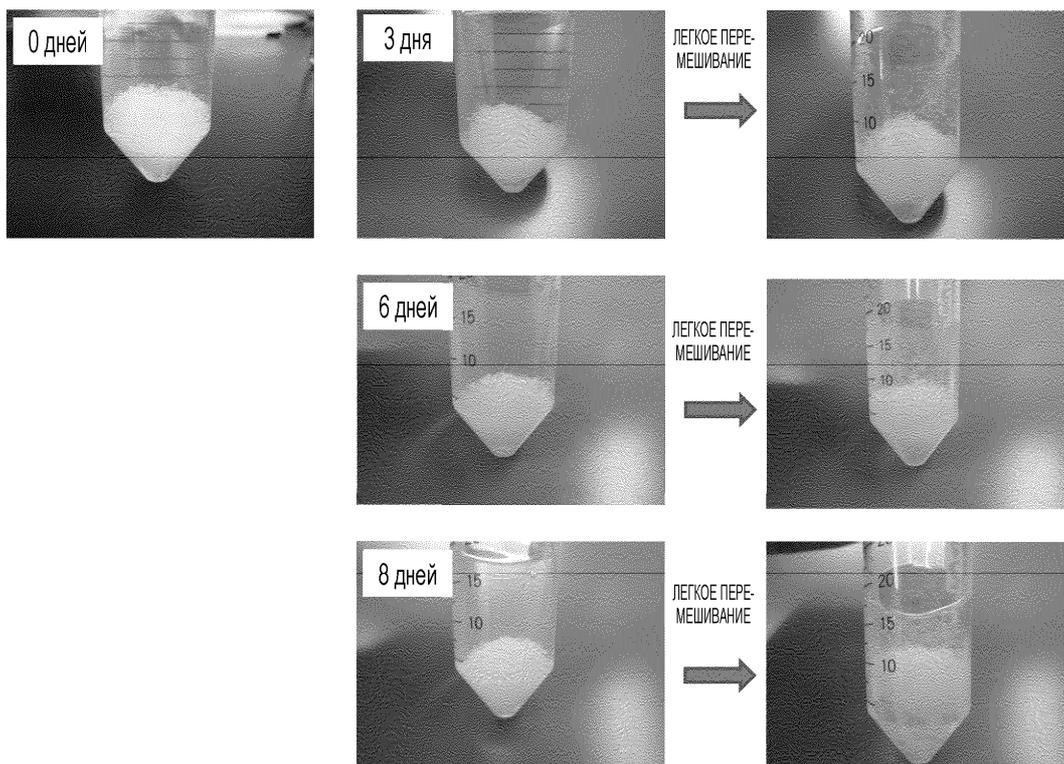
40PLGA-60TCP (5 мМ)



Фиг. 5(2)

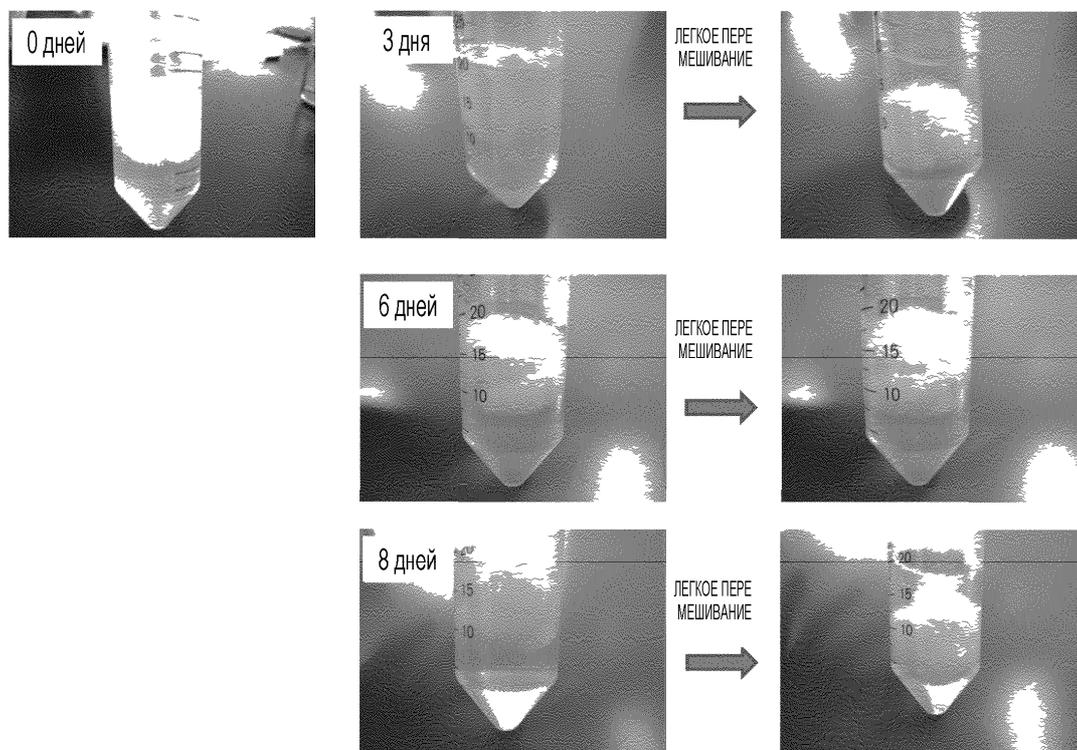
038225

50PLGA-50TCP (5 мМ)



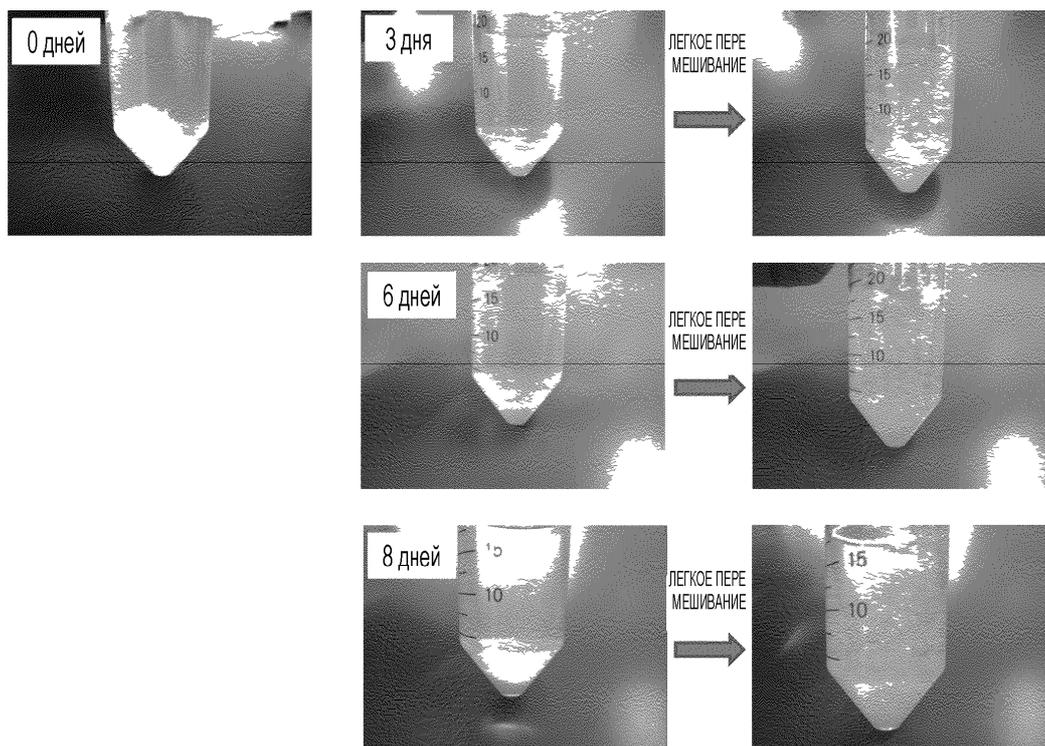
Фиг. 5(3)

100PLGA (5 мМ)

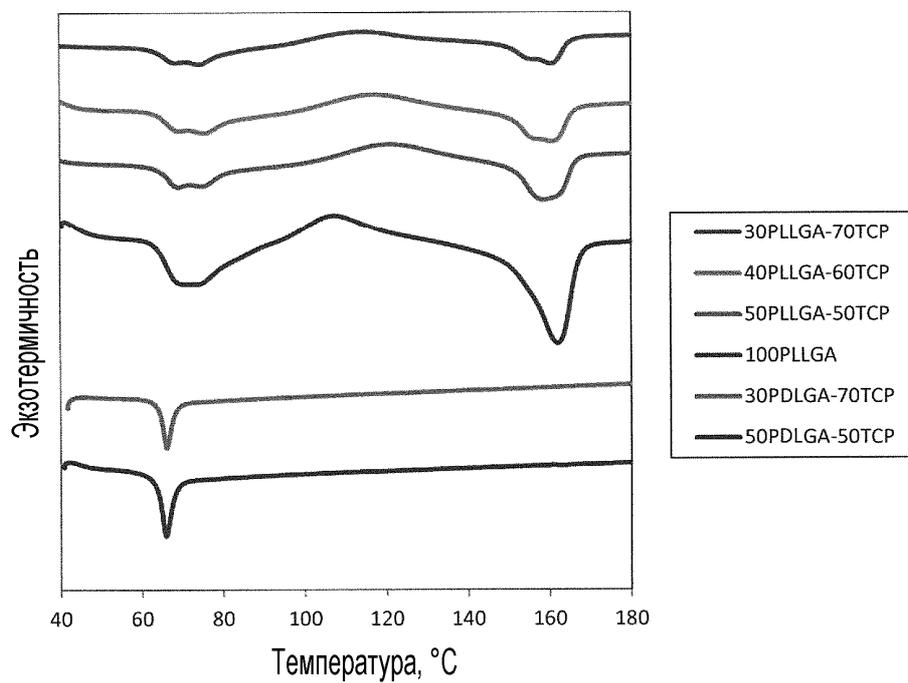


Фиг. 5(4)

30PLGA-70TCP 8531 (5 мМ)



Фиг. 5(5)



Фиг. 6(1)

	Температура стеклования	Температура плавления	Теплота плавления [Дж/г]	Кристалличность
(1) 30PLGA-70TCP	74.2	160.5	3.626	3.3
(2) 40PLGA-60TCP	75.4	160.8	4.798	4.4
(3) 50PLGA-50TCP	69.2	158.7	7.050	6.5
(4) 100PLGA	73.3	162.1	14.249	13.2
(5) 30PDLGA-70TCP	66.2	неприменимо	неприменимо	неприменимо
(6) 50PDLGA-50TCP	66.0	неприменимо	неприменимо	неприменимо

Энтальпия плавления кристалла с бесконечной толщиной	
PLLA	93.6
PGA	191.2
PLGA85:15 (Теоретич. значение)	108.24

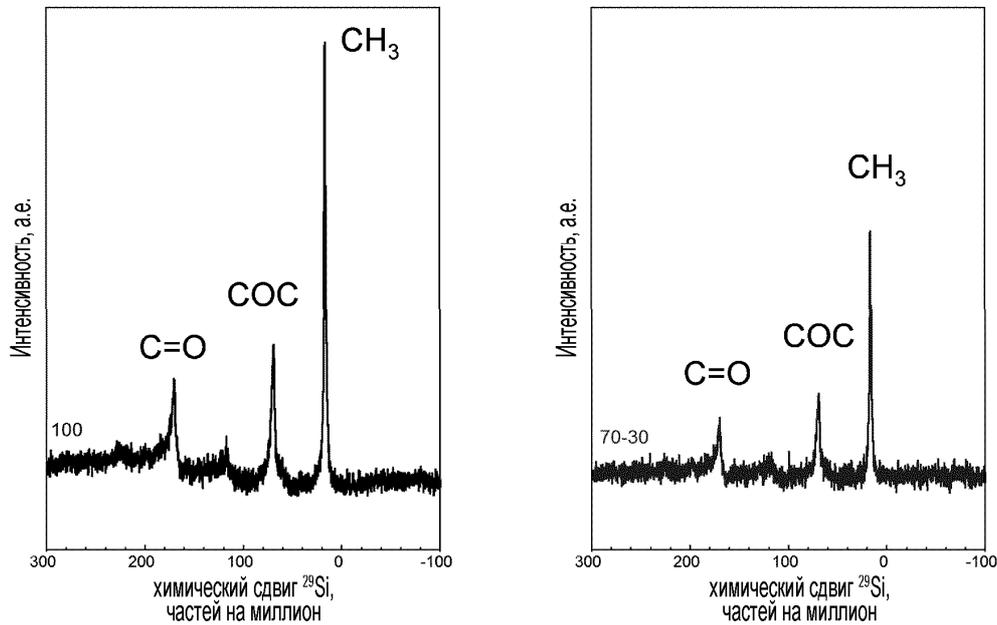
Кристалличность вычислялась с помощью следующего уравнения.

Кристалличность (%)=(измеренная энтальпия/энтальпия плавления кристалла с бесконечной толщиной\*) × 100.

Энтальпия плавления кристалла PLGA с бесконечной толщиной была вычислена на основе литературных значений для PLLA и PGA с соотношением 85:15 и составила 108,24 Дж/г.

В PLGA, содержащем D-изомер, кристалличность указана как «неприменимо», потому что не было никаких пиков, отличающихся от пика стеклования.

Фиг. 6(2)

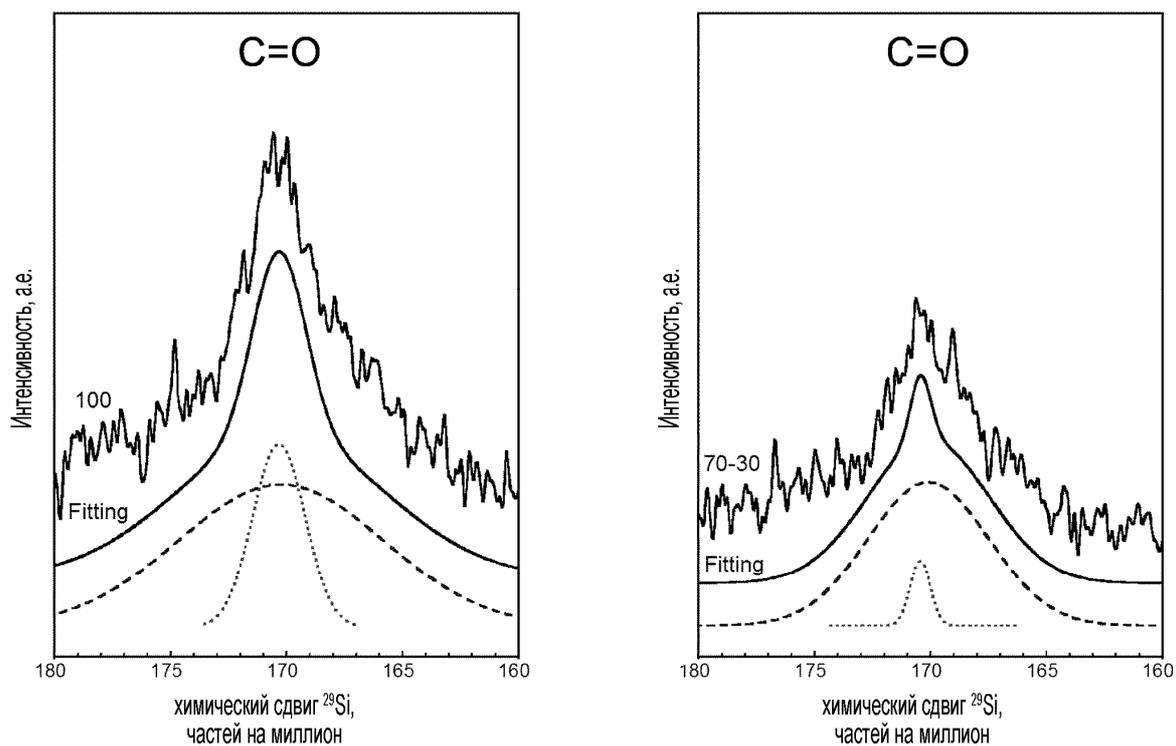


CP/MAS-NMR СПЕКТРЫ УГЛЕРОДА  $^{13}\text{C}$  В PLGA (100) И TCP/PLGA (70-30)

УСЛОВИЯ ИЗМЕРЕНИЯ:

- СТАНДАРТ: АДАМАНТИН (29,5 ЧАСТЕЙ НА МИЛЛИОН),
- РЕЗОНАНСНАЯ ЧАСТОТА НАБЛЮДАЕМОГО ЯДРА - 150,91343 МГц,
- ШИРИНА ИМПУЛЬСА НАБЛЮДАЕМОГО ЯДРА - 9,68 мкс,
- ВРЕМЯ СБОРА ДАННЫХ - 33,91488 мс,
- НАКОПЛЕННОЕ КОЛИЧЕСТВО - 512 РАЗ,
- СКОРОСТЬ ВРАЩЕНИЯ - 8 кГц,
- ТИП ТРУБКИ ОБРАЗЦА -  $\text{ZrO}_2$ ,
- ДИАМЕТР ТРУБКИ ОБРАЗЦА - 8 мм.

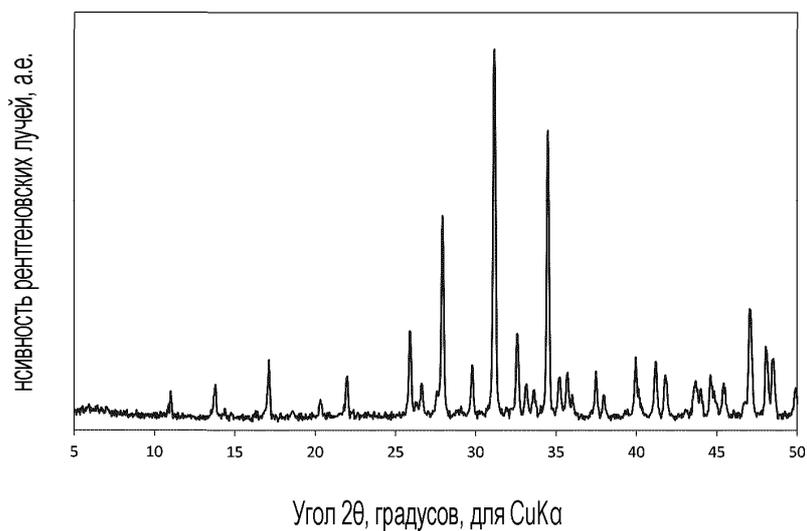
Фиг. 7(1)



CP/MAS-NMR СПЕКТРЫ УГЛЕРОДА <sup>13</sup>C В PLGA (100) И TCP/PLGA (70-30)

Фиг. 7(2)

β-TCP (СЫРЬЕ)



Фиг. 8



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2