

# ПОЛУЧЕНИЕ КОСТНЫХ ИМПЛАНТАТОВ И ИМПЛАНТАЦИОННЫХ ПРЕПАРАТОВ С АНТИМИКРОБНЫМИ СВОЙСТВАМИ НА ОСНОВЕ СТЕРИЛЬНОГО ДЕМИНЕРАЛИЗОВАННОГО КОСТНОГО МАТРИКСА

**Ю.Ю. Литвинов**

ст. науч. сотрудник, НИЦ БМТ,  
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (Москва)  
E-mail: vilar.litvinov@mail.ru

Представлены результаты экспериментально апробированных методов в рамках усовершенствованной методологии изготовления, контроля качества и оценки безопасности костных имплантатов и имплантационных препаратов. Разработаны основы технологии производства костных имплантационных препаратов с выраженными антимикробными свойствами с использованием субстанции алкалоидов сангвинарина и хелеритрина для целей биоимплантологии при лечении гнойно-некротических очагов в кости с замещением пораженной ткани имплантатом.

**Ключевые слова:** костный имплантат, деминерализованный костный имплантат, имплантационный препарат, сангвиритрин, комбинированный способ стерилизации, биомеханические испытания, элементный анализ, абсорбционная спектроскопия.

**Для цитирования:** Литвинов Ю.Ю. Получение костных имплантатов и имплантационных препаратов с антимикробными свойствами на основе стерильного деминерализованного костного матрикса. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019;22(3):21–30. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-03-04>

Последние десятилетия характеризуются возрастанием объема реконструктивно-восстановительных операций в биоимплантологии, а также широким внедрением биотехнологии в репродукцию клеток и тканей.

Для восстановления утраченной функции и органоспецифичной структуры кости используют костные имплантаты, которые помещают в область дефекта при реконструктивно-восстановительной операции. Следовательно, они должны соответствовать требованиям, предъявляемым к лекарственным средствам.

Несмотря на разнообразие материалов, используемых при изготовлении имплантатов (металлы, полимерные композиции, керамика, кораллы) [1], костная ткань остается предпочтительной и является объектом многих исследований. Идеальный материал для имплантации, по мнению некоторых авторов, должен иметь способность к биодеградации, замещению новообразованной костью в течение шести недель [2]. Имплантат из такого материала должен полностью резорбироваться, способствовать прорастанию кровеносных сосудов и костеобразованию, быть инертным по отношению к окружающим тканям [3, 4].

Материалом для имплантатов, в наибольшей степени отвечающим вышеуказанным требованиям и сочетающим в себе остеокондуктивные и остеоиндуктивные свойства, пористость и способность к быстрой биорезорбции, является деминерализованный костный матрикс. Деминерализованный костный матрикс служит не только матрицей для роста ткани и резорбируется, но также активизирует клетки ткани для репаративной регенерации. Костный матрикс действует в качестве системы доставки и выхода веществ, активирующих клетки и гены, а также усиливающих деление клеток и синтез внеклеточного матрикса кости [5, 6].

Существуют различные пути решения задач в рамках рассматриваемой проблемы. Особенно актуально на современном этапе создание новых адсорбционных биоимплантологических форм препаратов с использованием деминерализованной или деорганифицированной костной ткани в качестве основы для иммобилизации биологически активных соединений с антимикробными свойствами, обеспечивающих их адресную доставку в область оперативного вмешательства. Такой подход позволит уменьшить риск гнойных осложнений после радикального удаления патологического очага по-

ражения при лечении гнойно-некротических очагов в кости с замещением костной ткани имплантатом, обладающим выраженными антимикробными свойствами.

Особую актуальность также имеет дальнейшее усовершенствование подходов и методологии получения, проверки качества и оценки безопасности костных имплантатов за счет использования современного технологического оборудования, установки оптимальных режимов физико-химических воздействий при получении костных и деминерализованных имплантатов, оптимизации технологии стерилизации костных имплантатов, разработки биотехнологических приемов производства костных имплантационных препаратов с использованием лекарственных средств (в том числе с выраженными антимикробными свойствами) – субстанции алкалоидов сангвинарина и хелеритрина (далее – сангвиритрин).

Цель работы – усовершенствование биотехнологических основ изготовления костных имплантатов и создание на их основе имплантационных препаратов для биоимплантологии.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали имплантационный материал, полученный из кортикальной пластины диафиза бедренной кости быка от клинически здоровой особи возрастом 1,5–2 года с посмертным периодом 2,5 ч.

Для получения имплантационного препарата с антимикробными свойствами проводили иммобилизацию субстанции сангвиритрина [7, 8] на деминерализованном костном матриксе. Лекарственное средство представляет собой сумму би-

сульфатов двух близких по структуре и физико-химическим свойствам четвертичных бензо[с]фенантридиновых алкалоидов сангвинарина (I 2R=CH<sub>2</sub>) и хелеритрина (II R=Me) (в виде моногидратов), от которых происходит торговое название медицинского препарата – Сангвиритрин® [7, 9] (рис. 1).

Физико-механическую обработку кости проводили с использованием специального инструментария, обеспечивающего технологичность при работе с минерализованной биологической тканью, сохранность ее свойств и микроструктуры, применимость в условиях ограниченного количества материала с учетом направления остеонных структур кости.

С эндостальной и периостальной поверхностей диафиза бедренной кости быка удаляли мягкие ткани и костный мозг. Затем заготовки помещали в 3%-ный раствор перекиси водорода на 1 ч для удаления компонентов крови и проводили стерилизацию костных образцов озоновым методом – обработкой в проточном режиме струей озонкислородной смеси с концентрацией 6–8 мг/л в течение 7–10 мин [9]. Фрагмент диафиза механически обрабатывали в охлажденном (до  $t = 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) растворе натрия хлорида 0,9%-ного с помощью полых цилиндрических фрез с учетом направления остеонных структур кости для изготовления необходимого количества цилиндрических заготовок. Для получения образцов необходимых размеров (5×7,5 мм и 5×12,5 мм) и качественной обработки торцевых поверхностей использовали прецизионный отрезной станок IzoMet 4000 Linea Precision Saws («Buehler», Германия), оснащенный фрезами с алмазным напылением (рис. 2).

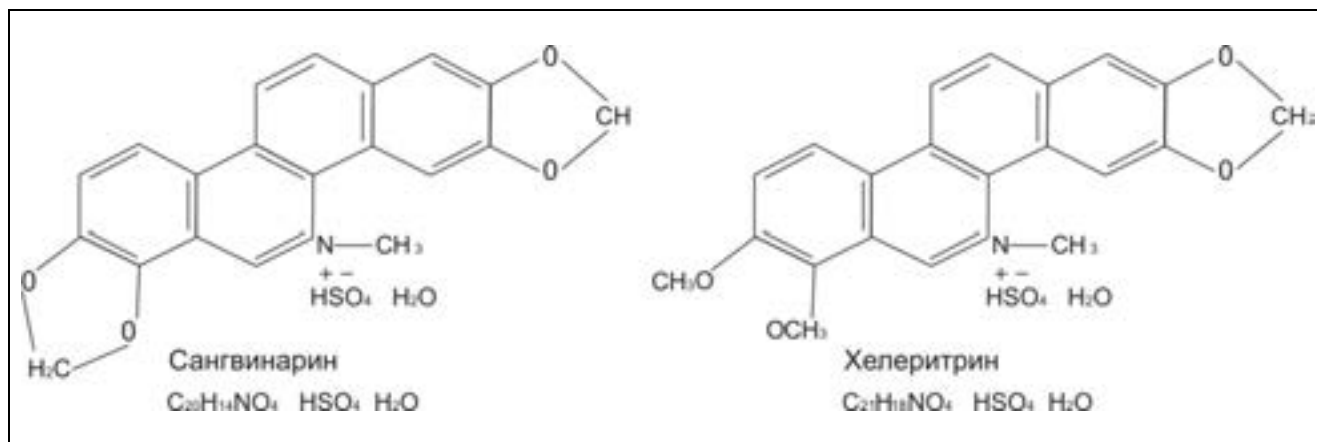
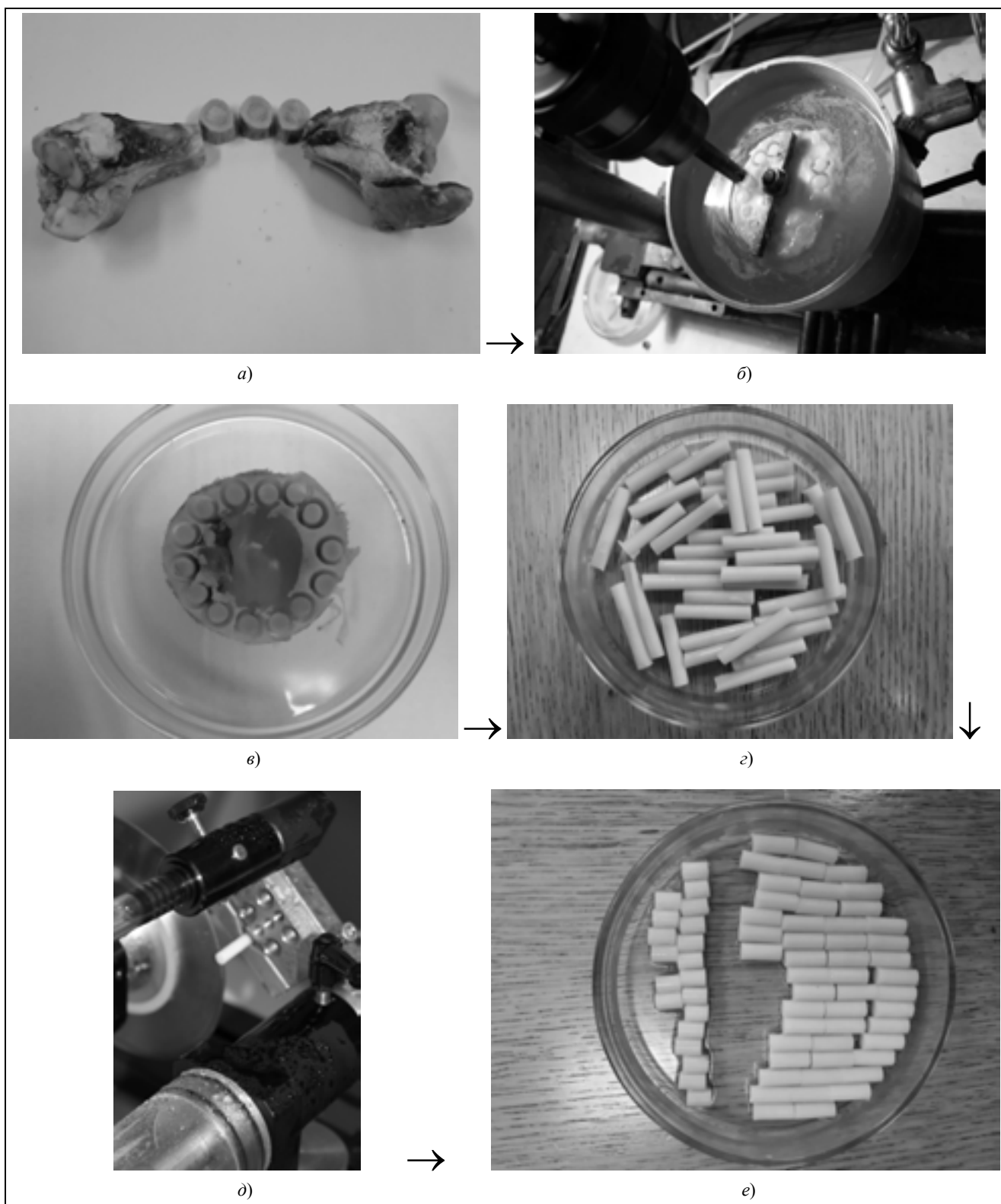


Рис. 1. Структура сангвинарина и хелеритрина



**Рис. 2.** Изготовление костных имплантатов с учетом продольного направления остеонных структур кости: *а* – разделение диафиза бедренной кости; *б* – получение цилиндрических заготовок с использованием полых фрез в охлаждающей среде; *в* – фрагмент диафиза с цилиндрическими заготовками; *г* – цилиндрические заготовки; *д* – обработка торцевых поверхностей заготовок в охлаждающей среде; *е* – полученные образцы

Биомеханические испытания костных образцов на сжатие проводили с использованием модернизированного испытательного комплекса INSTRON6022 (INSTRON, Англия) со скоростью деформирования 1,0 мм/мин в продольном направлении к ориентации остеоонных структур.

Измерение микротвердости по Виккерсу выполняли с использованием цифрового микротвердомера DM8 (AFFRI, Италия) в продольном направлении к ориентации остеоонных структур. Нагрузки, подаваемые на индентер микротвердомера при проведении замеров – 50 гс или 0,490 Н. Время приложения нагрузки – 10 с.

Для микроскопического и элементного анализа использовали электронный световой микроскоп Nikon Eclipse 80i (NIKON, Япония) и сканирующий электронный микроскоп Phenom XL («Phenom World», Нидерланды), оснащенный детектором интегрированной энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии.

В целях улучшения остеоиндуктивных, а также сорбционных свойств костных имплантатов удаляли минеральную фазу кости с помощью раствора соляной кислоты 0,8 моль/дм<sup>3</sup> при  $t = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 72 ч [6].

Для иммобилизации сангвиритрина на деминерализованном костном матриксе путем инкубации образцов в раствор при  $t = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$  готовили 0,2%-ный раствор сангвиритрина на основе изотонического раствора натрия хлорида, который предварительно нагревали до  $t = 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

После иммобилизации сангвиритрина на костном матриксе его количественное высвобождение из имплантата в раствор 0,9%-ного натрия хлорида измеряли с помощью спектрофотометра UV-1800 («Shimadzu», Япония) определением оптической плотности раствора в течение двух суток с различными интервалами.

С целью обеспечения стерильности при сохранении остеоиндуктивных свойств имплантатов применяли технологию комбинированной стерилизации костных имплантатов и их упаковки. П е р в ы й э т а п – стерилизация озонкислородной смесью [10], выполнялась в лаборатории НИЦ БМТ ФГБНУ ВИЛАР. В т о р о й э т а п – радиационная обработка потоком быстрых электронов [11], проводилась на базе НИИЯФ МГУ им. М.В. Ломоносова.

Для контроля наличия на костных имплантатах аэробных, анаэробных бактерий и микроско-

пических грибов проводили микробиологическое исследование с использованием Тiogликоевой среды и среды Сабуро.

Полученные результаты исследования обрабатывали общепринятым методом вычисления средней арифметической и стандартного отклонения. Достоверность результатов оценивали с использованием критериев Стьюдента, с принятием вероятности  $p < 0,5$  [12].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В проведенном исследовании применен комплексный подход к анализу и оценке критериев качества создаваемых костных имплантатов для биоимплантологии и предложена технология получения костных имплантатов на основе деминерализованного костного матрикса быка с антимикробными свойствами за счет адсорбции и иммобилизации лекарственного средства с выраженными антимикробными свойствами.

В соответствии с усовершенствованной методологией и экспериментально апробированными методами изготовления, проверкой качества и оценкой безопасности костных имплантатов и деминерализованных костных имплантатов с антимикробными свойствами разработана технология получения имплантатов для их применения в биоимплантологии, в том числе гнойной остеологии для восстановления соединительной ткани в инфицированных ранах (рис. 3).

Исследования показали, что обработка костного образца и его упаковки озонкислородной смесью дает возможность значительно снизить исходный уровень обсеменения костной ткани образца, что приводит к снижению резистентности патогенов к воздействию радиации [10]. Этот факт позволил существенно уменьшить уровень поглощенной дозы с общепринятых 25 до 10 кГр [11], что гарантирует сохранение исходной морфологии костного имплантата, функционального потенциала морфогенетических белков костного материала и в целом остеоиндуктивных свойств имплантата.

Стерильность на обеих культуральных средах через 14 суток эксперимента продемонстрировали только образцы, подвергавшиеся комбинированному воздействию – последовательной обработке озонкислородной смесью с концентрацией 6–8 мг/л в течение 10–20 мин и радиационному облучению с величинами поглощенных доз – 10 и 15 кГр.



Рис. 3. Биотехнологический алгоритм получения костных имплантатов и имплантационных препаратов с антимикробными свойствами

Используя данные механических испытаний, рассчитали условный предел прочности в мегапаскалях при сжатии вдоль оси остеонов нативных и высушенных при  $t = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$  образцов по формуле

$$\sigma = F/P,$$

где  $F$  – нагрузка при разрушении, Н;  $P$  – площадь поперечного сечения образца – 19,63 мм.

Условный предел прочности для нативных костных образцов с сохраненным композиционным составом составил  $222,56 \pm 8,6$  МПа, для высушенных –  $2135,33 \pm 45,7$  МПа.

Данные измерений микротвердости образцов после их стерилизации свидетельствуют о том, что усовершенствованный комбинированный способ стерилизации озонкислородной смесью с обработкой потоком быстрых электронов с дозой поглощения 10 и 15 кГр не оказывает существенного влияния на прочностные характеристики поверхностного слоя образцов. Воздействие на образцы радиацией с дозой поглощения 25 кГр и комбинированным способом стерилизации – озонкислородная смесь + радиация с дозой поглощения 25 кГр, оказывает незначительное влияние на показатели микротвердости образцов в сторону ее уменьшения (табл. 1).

Микроскопические исследования показали отсутствие структурных изменений в поверхностном

Таблица 1. Значения микротвердости сухих нативных образцов до и после стерилизующего воздействия

Характеристика образцов		Микротвердость, МПа
Нативная сухая кость	Исходный контроль	351±15
	Условный контроль	553±8
После стерилизации	Озон	537±3
	Радиация – 10 кГр	539±4
	Озон + радиация – 10 кГр	544±5
	Радиация – 15 кГр	538±5
	Озон + радиация – 15 кГр	557±5
	Радиация – 20 кГр	547±5
	Озон + радиация – 20 кГр	558±5
	Радиация – 25 кГр	530±5
Озон + радиация – 25 кГр	518±7	

слое ткани после механического и стерилизующего физико-химических воздействий, что свидетельствует о том, что апробированные методы в рамках разработанной методологии получения ксеноимплантатов оставляют центральные каналы остеонов в «открытом» состоянии. Это повышает их репаративные свойства, так как микроструктура и открытые каналы имплантатов позволяют клеткам ми-

грировать и действуют в качестве матрицы для дальнейшего роста ткани [5] (рис. 4 и 5).

Контроль полноты удаления минеральной фазы осуществляли по результатам изучения структуры образцов методом световой микроскопии.

На рис. 6 показана динамика изменения структуры костной ткани на поперечном срезе образцов цилиндрической формы диаметром 5 мм на различных этапах деминерализации в соотношении образец/раствор – 1/100.

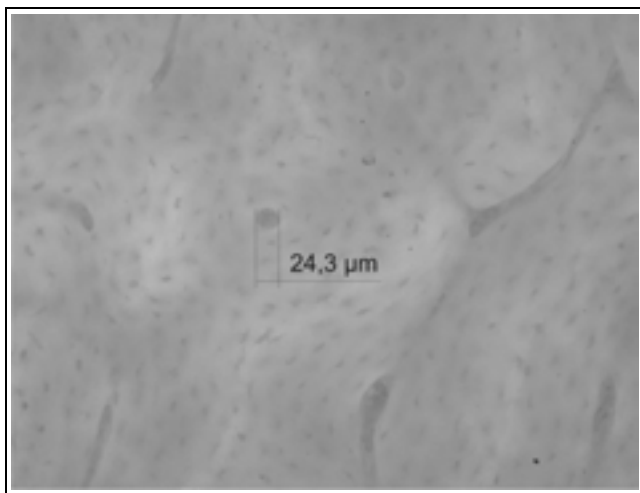


Рис. 4. Микроструктура образца после механической обработки и комбинированного способа стерилизации,  $\times 200$

Результаты элементного анализа образцов контрольной группы и деминерализованных образцов свидетельствуют о значительном изменении их химического состава (табл. 2).

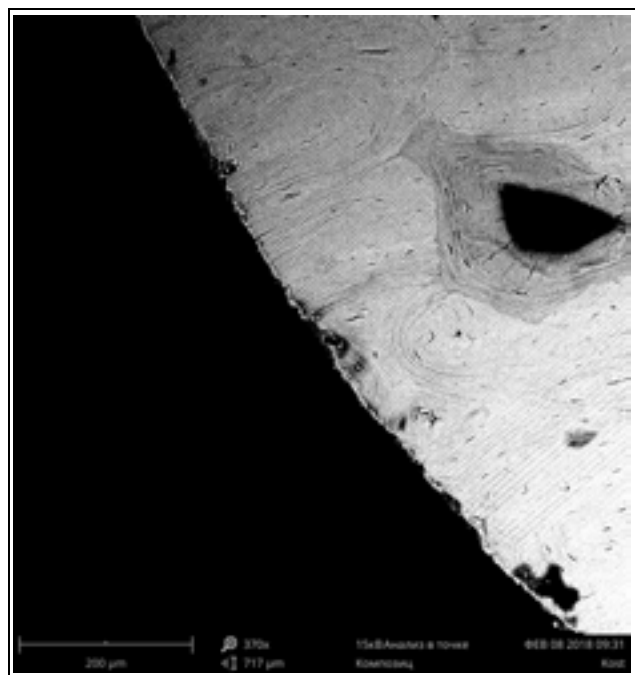


Рис. 5. Сосудистый канал и фрагмент края образца после механической обработки и комбинированного способа стерилизации,  $\times 370$

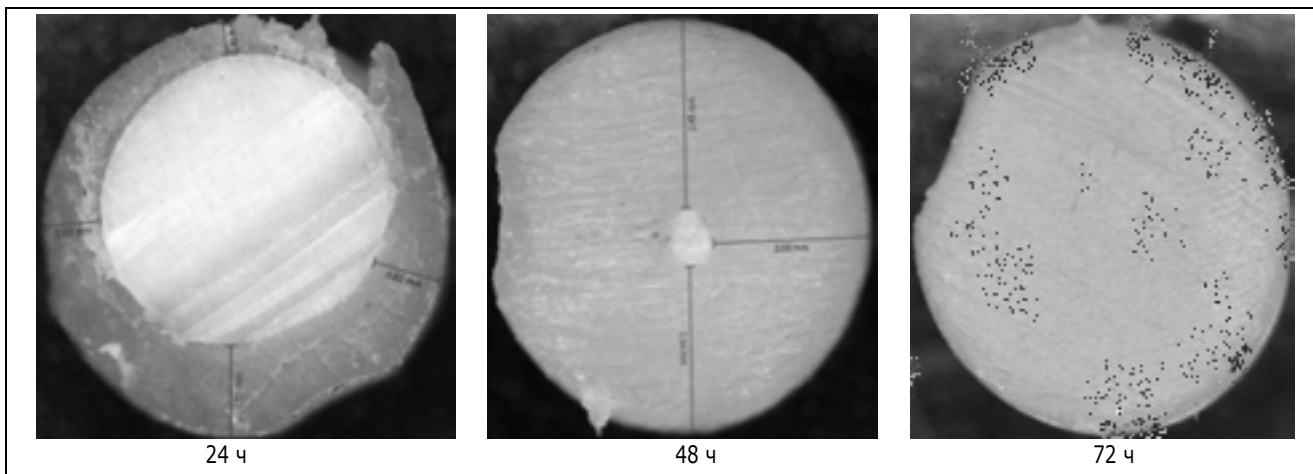


Рис. 6. Изменение структуры костной ткани на разных этапах деминерализации

Таблица 2. Результаты элементного анализа

Химический элемент	Доля атомов, %	
	Контроль	Деминерализованный матрикс
O	6,9 $\pm$ 0,7	62,3 $\pm$ 0,7
Ca	10,7 $\pm$ 0,6	Нет
P	7,6 $\pm$ 0,3	0,2 $\pm$ 0,04
N	6,1 $\pm$ 0,26	15,6 $\pm$ 0,2
C	4,5 $\pm$ 0,2	20,5 $\pm$ 0,2
Na	1,6 $\pm$ 0,09	Нет
Mg	0,6 $\pm$ 0,02	Нет

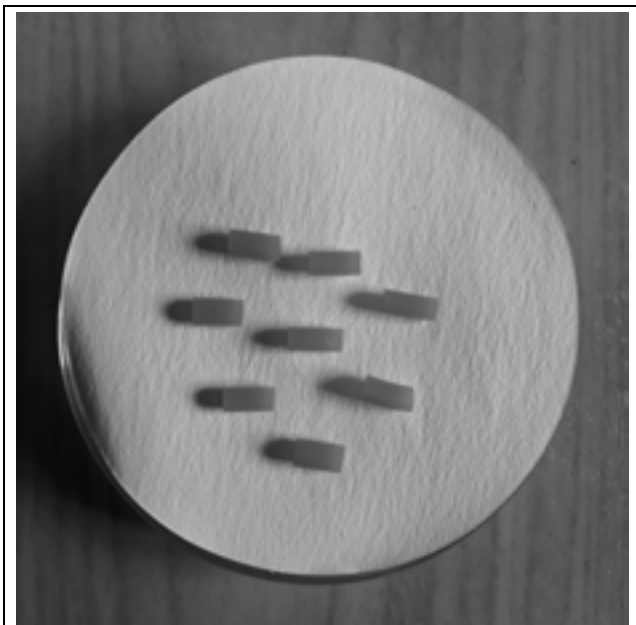


Рис. 7. Деминерализованные имплантаты с адсорбированным сангвиритрином

В результате деминерализации костных имплантатов происходит увеличение объема внутрикостного пространства и сорбционной способ-

ности [15], что позволило провести иммобилизацию на их основе сангвиритрина, путем инкубации имплантатов в 0,2%-ный раствор сангвиритрина в течение 72 ч (опыт № 1) и 144 ч (опыт № 2) при  $t = 37^\circ\text{C}$  (рис. 7).

Высвобождение сангвиритрина в 0,9%-ный раствор натрия хлорида контролировали измерением оптической плотности отмывочного раствора (при  $E - 321\text{ нм}$ ) [13–15] и сравнением полученных данных с ранее построенной калибровочной кривой для количественного определения содержания сангвиритрина (рис. 8).

Количество высвобожденного через 42 ч в раствор 0,9%-ного натрия хлорида адсорбированного сангвиритрина из образцов в опыте № 2 в среднем для одного образца составило 0,784 мг. Это превысило количество высвобожденного сангвиритрина для одного образца в опыте № 1 на 25% при двукратном увеличении времени инкубации.

Следовательно, оптимальное время инкубации деминерализованных костных ксеноимплантатов в 0,2%-ный раствор сангвиритрина при  $t = 37^\circ\text{C}$  составляет примерно 72 ч.

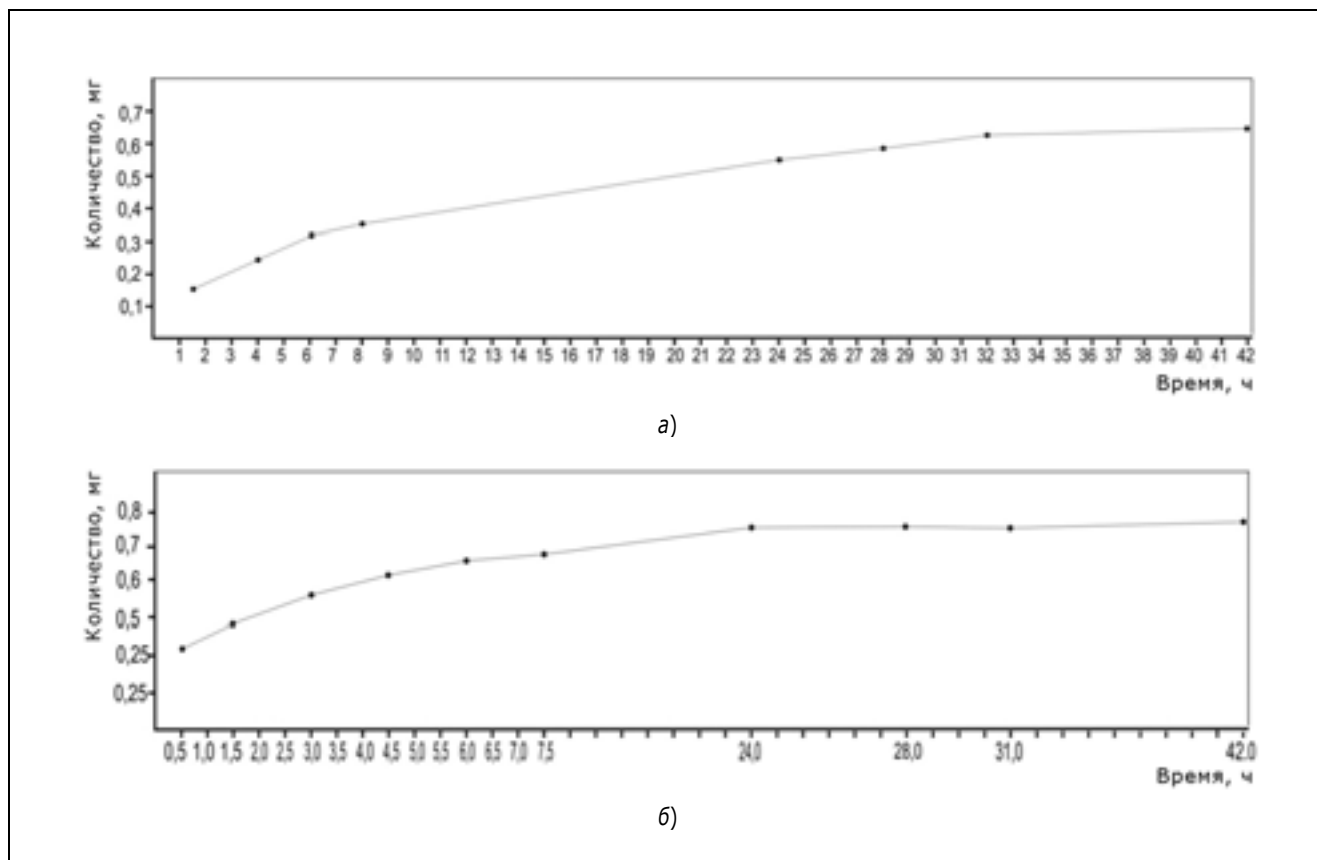


Рис. 8. Динамика высвобождения сангвиритрина: а – опыт № 1; б – опыт № 2

Подлинность высвобожденного в 0,9%-ном растворе натрия хлорида сангвиритрина проверяли в соответствии с ФС 42-3572-98 – раствор сангвиритрина 0,2% [15]. К 5 мл раствора с высвобожденным из образцов сангвиритрином добавляли 3 капли реактива Майера, что давало характерную реакцию на сульфаты – в нем образовался осадок оранжевого цвета (алкалоиды), что свидетельствовало о подлинности высвобожденного сангвиритрина и отсутствии химического взаимодействия между коллагеном деминерализованного костного матрикса и сангвиритрином.

Исследования антимикробных свойств сангвиритрина после радиационной стерилизации не проводили, поскольку согласно данным исследования [16] установлено отсутствие влияния радиационной стерилизации с величинами поглощенных доз 2,5–25 кГр на качественный состав и количественное содержание алкалоидов сангвинарина и хелеритрина, а также на их антимикробную активность.

Проведенные исследования позволили разработать критерии контроля качества кортикальной кости диафиза бедренной кости быка и получаемых из нее ксеноимплантатов.

Таким образом, при выборе костных фрагментов и получении имплантатов необходимо учитывать следующие факторы и критерии.

1. Условия забора ткани: клинически здоровый донор, посмертный период – от 1 до 5 ч; возраст донора – половозрелый.

2. Механическая обработка должна обеспечивать: отсутствие нагрева и минимальную продолжительность обработки; заданные размеры с учетом направления остеонных структур.

3. Микроскопический анализ – отсутствие патологических изменений микроструктуры компактной костной ткани (центральные каналы остеонов, фолькмановские каналы, соединяющие каналы и каналы); фрактографический 3D-анализ – отсутствие видимых разрушений и микротрещин.

4. Биомеханические характеристики костных образцов с неизменным композитным составом:

величина микротвердости зрелой кости по Виккерсу (50 гс/10 с): нативная влажная кость –  $350 \pm 14$  МПа; нативная сухая кость –  $553 \pm 8$  МПа;

условный предел прочности при сжатии образцов  $12,5 \times 5$  мм продольной ориентации (вдоль оси остеонов): нативная влажная кость –  $222,56 \pm 8,591$  МПа; нативная сухая кость –  $2135,33 \pm 45,727$  МПа;

показатели микротвердости костных имплантатов существенно не меняются после химико-физического стерилизующего воздействия комбинированным способом – последовательной обработкой озонкислородной смесью с концентрацией 6–8 мг/л в течение 10–20 мин и радиационным облучением с величинами поглощенных доз – 10–15 кГр.

5. Стерильность материала: отсутствие патогенов по результатам микробиологических исследований через 14 суток с момента инкубации имплантатов в Тиогликолевую среду и среду Сабуро после обработки озонкислородной смесью с концентрацией 6–8 мг/л в течение 10–20 мин и радиационного облучения с величинами поглощенных доз – 10–15 кГр.

6. Деминерализация костных имплантатов и контроль степени деминерализации:

удаление минеральной фазы кости в растворе соляной кислоты 0,8 моль/дм<sup>3</sup> через 72 ч при  $t = 20$  °С;

по данным контроля методом световой микроскопии – изменение структуры соединительной ткани;

по данным элементного анализа – существенное уменьшение относительного процентного содержания Са, Na, Mg.

7. Контроль терапевтической активности имплантационного препарата за счет пролонгированного высвобождения лекарственного средства и проверка на подлинность:

высвобождение сангвиритрина не менее чем через 42 ч инкубации имплантата в раствор 0,9%-ного натрия хлорида при объемном соотношении имплантат/раствор – 1/100 и  $t = 37$  °С;

проверка на подлинность высвобожденного лекарственного средства (сангвиритрин) с помощью реактива Майера – характерная реакция на сульфаты (осадок желто-оранжевого цвета).

## ВЫВОДЫ

1. Усовершенствована методология и экспериментально апробированы методы изготовления, контроля качества и оценки безопасности костных имплантатов.

2. В рамках оптимизации технологии получения костных имплантатов использован инновационный комбинированный способ стерилизации [8], основанный на предварительном воздействии озонкислородной смеси и последующем радиационном облучении, позволил



существенно снизить стандартную величину дозы поглощения с 25 кГр до 10–15 кГр с обеспечением стерильности.

3. Исследованы сорбционная способность деминерализованного костного матрикса и время высвобождения из него биологически активного вещества. Показано пролонгирующее действие высвобождаемого биологически активного вещества – сангвиритрина. Проверка на подлинность высвобожденного сангвиритрина доказывает отсутствие химического взаимодействия между коллагеном деминерализованного имплантата и сангвиритрином.
4. Усовершенствованная технология получения костных имплантатов отличается от традиционных способов производства рядом преимуществ: технологичностью, применимостью в условиях ограниченного количества материала, возможностью учитывать направление остеонных структур в процессе получения имплантатов.
5. Предложены показатели качества и безопасности костных имплантатов, обеспечивающих эффективность их применения в биоимплантологии.
6. Разработана технология и получено Решение о выдаче патента на изобретение по заявке № 2018141307/04 от 23.11.2018 г. «Способ получения костного имплантата на основе стерильного деминерализованного костного матрикса» [17] для применения в гнойной остеологии и репарации соединительных тканей в инфицированных ранах с использованием биологически активного лекарственного средства растительного происхождения – сангвиритрин с антимикробными, противовирусными и антимикотическими свойствами.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Хенч Л., Джонс Д. Биоматериалы, искусственные органы и инжиниринг тканей. М.: Техносфера. 2007. 303 с.
2. Омеляненко Н.П., Миронов С.П., Денисов-Никольский Ю.И., Матвейчук И.В., Карпов И.Н. Современные аспекты управления репаративной регенерацией костной ткани // Труды Межведом. научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий «Биомедицинские технологии». М. 2002. Вып. 18. С. 9–22.
3. Выборнов Д.Ю., Петров М.А., Коротеев В.В., Борхунова Е.Н. Методы стимуляции репаративного остеогенеза и направления их дальнейшего развития // Труды Межведом. научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий «Биомедицинские технологии». М. 2002. Вып. 18. С. 23–30.
4. Омеляненко Н.П., Базанова Э.Б., Шапошников Ю.Г., Карпов И.Н., Матвейчук И.В. Использование деминерализованного костного матрикса для восстановления поврежденных длинных трубчатых костей со значительными дефектами // Труды Межведом. научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий «Биомедицинские технологии». М. 1995. Вып. 6. С. 9–15.
5. Денисов-Никольский Ю.И., Реброва Г.А., Василевский В.К., Докторов А.А., Матвейчук И.В. Функциональная морфология в развитии проблемы репродукции тканей и биопротезирования // Труды Межведом. научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий «Биомедицинские технологии». М. 2000. Вып. 14. С. 5–13.
6. Савельев В.И., Калинин А.В. Опыт изготовления и применения деминерализованной костной ткани в эксперименте и в клинике // Труды Межведом. научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий «Биомедицинские технологии». М. 2001. Вып. 17. С. 17–24.
7. Вичканова С.А., Фатеева Т.В., Крутикова Н.М., Крепкова Л.В., Бортникова В.В., Толкачев О.Н., Климахин Г.И., Сокольская Т.А. Сангвиритрин. Подарок природы человеку: научное издание. М.: OneBook.ru. 2015. 164 с.
8. Фармакопейная статья (ФС 42-2444-98) – сангвиритрин.
9. Фармакопейная статья (ФС-42-3572-98) – раствор сангвиритрина 0,2%.
10. Патент № 2526429 (РФ). Способ изготовления костных имплантатов / В.А. Быков, В.В. Розанов, И.В. Матвейчук, В.И. Пантелеев, С.А. Шутеев, Ю.Ю. Литвинов, А.И. Воротников. 2014.
11. Патент № 2630464 (РФ). Комбинированный способ стерилизации костных имплантатов / И.В. Матвейчук, В.В. Розанов, И.К. Гордонова, З.К. Никитина, Н.И. Сидельников, Ю.Ю. Литвинов, А.А. Николаева, А.П. Черняев, И.В. Пантелеев. 2017.
12. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. М.: Практика. 1998. 459 с.
13. Артамонова Е.С., Куркин В.А. Актуальные аспекты стандартизации сырья и препаратов маклей // Химия растительного сырья. 2007. № 2. С. 55–58.
14. Вичканова С.А., Адгина В.В., Шипулина Л.Д., Фатеева Т.В., Реброва Г.А., Василевский В.К. Новая лекарственная форма растительного антимикробного препарата сангвиритрина для лечения ран // I Междунар. конф. «Современные подходы к разработке эффективных перевязочных средств и полимерных имплантатов». М. 1992. С. 89–90.
15. Реброва Г.А., Денисов-Никольский Ю.И., Василевский В.К., Докторов А.А., Матвейчук И.В., Синькова И.А. Применение коллагеносодержащих биополимеров в качестве носителей лекарственных препаратов // Труды Межведом. научно-исследовательского и учебно-методического центра биомедицинских технологий «Биомедицинские технологии». М. 1996. Вып. 3. С. 48–51.
16. Фролова А.В., Бузук Г.Н., Царенков В.М., Петров П.Т., Трухачева Т.В., Дунец Л.Н. Лабораторная оценка влияния радиационной стерилизации на химический состав и антибактериальную активность лекарственного средства «ФИТОМП» и его компонента – маклей мелкоплодной // Вестник фармации. 2007. № 1. С. 83–91.
17. Патент № 2018141307/04 (РФ). Способ получения костного имплантата на основе стерильного деминерализованного костного матрикса / Ю.Ю. Литвинов, В.А. Быков, Н.И. Сидельников, И.В. Матвейчук, В.В. Розанов, В.В. Краснов. 2018.

Поступила 6 февраля 2018 г.

# PRODUCTION OF IMPLANT PREPARATIONS WITH ANTIMICROBIAL PROPERTIES ON THE BASIS OF STERILE DEMINERALIZED BONE MATRIX

© Y.Yu. Litvinov, 2019

**Y.Yu. Litvinov**

Senior Research Scientist, Special Work Department of Research and Educational Center of Biomedical Technologies, All-Russian Scientific Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants (Moscow)  
E-mail: vilar.litvinov@mail.ru

The results of experimentally tested biotechnological methods within the framework of improved methodology of manufacturing, quality control and safety assessment of bone implants and implant preparations are presented.

**Materials and methods:** improved methodology for obtaining bone implants and implant preparations included the following methods of obtaining implants and their control: biotechnological methods of bone processing, microscopic analysis using light and scanning microscopy, fractographic analysis of bone using precision 3D scanning, elemental analysis using spectroscopy, improved method of sterilization using the ozone method, biomechanical tests for compressive strength and measurement of microhardness, microbiological control after the combined method of sterilization of implants, the method of bone demineralization, method of immobilization of the drug on the basis of demineralized bone matrix and spectrophotometric control of drug release. Conducted verification of the authenticity of the released drug alkaloids of sangvinarin and heleritrine.

**Results and discussion:** the results of experimentally tested methods of obtaining and quality control of bone implants and implant preparations are presented. A biotechnological algorithm for obtaining bone implants, demineralized implants and implant preparations was developed.

**Summary:** the fundamentals of the technology of production of the bone implant of drugs using the substance of alkaloids sangvinarin and heleritrine for the purposes of bioimplantology in the treatment of purulent-necrotic foci in the bone to replace diseased tissue with an implant with strong antimicrobial properties. Developed criteria for quality control cortical bone of the diaphysis of the femur of an ox and obtained from her xenografts.

**Key words:** bone implant, demineralized bone implant, implant preparation, sangvirin, combined method of sterilization, biomechanical tests, elemental analysis, absorption spectroscopy.

**For citation:** Litvinov Y.Yu. Production of implant preparations with antimicrobial properties on the basis of sterile demineralized bone matrix. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2019;22(3):21–30. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-03-04>

## REFERENCES

- Hench L., Dzhons D. Biomaterialy, iskusstvennye organy i inzhiniring tkanej. M.: Tekhnosfera. 2007. 303 s.
- Omelyanenko N.P., Mironov S.P., Denisov-Nikol'skij Yu.I., Matvejchuk I.V., Karpov I.N. Sovremennye aspekty upravleniya reparativnoj regeneracii kostnoj tkani // Trudy Mezhdv. nauchno-issledovatel'skogo i uchebno-metodicheskogo centra biomedicinskih tekhnologij «Biomedicinskie tekhnologii». M. 2002. Vyp. 18. S. 9–22.
- Vybornov D.Yu., Petrov M.A., Koroteev V.V., Borhunova E.N. Metody stimulyatsii reparativnogo osteogeneza i napravleniya ih dal'nejshego razvitiya // Trudy Mezhdv. nauchno-issledovatel'skogo i uchebno-metodicheskogo centra biomedicinskih tekhnologij «Biomedicinskie tekhnologii». M. 2002. Vyp. 18. S. 23–30.
- Omelyanenko N.P., Bazanova E.B., Shaposhnikov Yu.G., Karpov I.N., Matvejchuk I.V. Ispol'zovanie demineralizovannogo kostnogo matriksa dlya vosstanovleniya povrezhdennyh dlennyh trubchatyh kostej so znachitel'nymi defektami // Trudy Mezhdv. nauchno-issledovatel'skogo i uchebno-metodicheskogo centra biomedicinskih tekhnologij «Biomedicinskie tekhnologii». M. 1995. Vyp. 6. S. 9–15.
- Denisov-Nikol'skij Yu.I., Rebrova G.A., Vasilevskij V.K., Doktorov A.A., Matvejchuk I.V. Funkcional'naya morfologiya v razvitiu problemy reprodukcii tkanej i bioprotezirovaniya // Trudy Mezhdv. nauchno-issledovatel'skogo i uchebno-metodicheskogo centra biomedicinskih tekhnologij «Biomedicinskie tekhnologii». M. 2000. Vyp. 14. S. 5–13.
- Savel'ev V.I., Kalinin A.V. Opyt izgotovleniya i primeneniya demineralizovannoj kostnoj tkani v ehksperimente i v klinike // Trudy Mezhdv. nauchno-issledovatel'skogo i uchebno-metodicheskogo centra biomedicinskih tekhnologij «Biomedicinskie tekhnologii». M. 2001. Vyp. 17. S. 17–24.
- Vichkanova S.A., Fateeva T.V., Krutikova N.M., Krepkova L.V., Bortnikova V.V., Tolkahev O.N., Klimahin G.I., Sokol'skaya T.A. Sangvirin. Podarok prirody cheloveku: nauchnoe izdanie. M.: OneBook.ru. 2015. 164 s.
- Farmakopejnaya stat'ya (FS 42-2444-98) – sangvirin.
- Farmakopejnaya stat'ya (FS-42-3572-98) – rastvor sangvirina 0,2%.
- Patent № 2526429 (RF). Sposob izgotovleniya kostnyh implantatov / V.A. Bykov, V.V. Rozanov, I.V. Matvejchuk, V.I. Pantelev, S.A. Shuteev, Yu.Yu. Litvinov, A.I. Vorotnikov. 2014.
- Patent № 2630464 (RF). Kombinirovannyj sposob sterilizacii kostnyh implantatov / I.V. Matvejchuk, V.V. Rozanov, I.K. Gordonova, Z.K. Nikitina, N.I. Sidel'nikov, Yu.Yu. Litvinov, A.A. Nikolaeva, A.P. Chernyaev, I.V. Pantelev. 2017.
- Glanc S. Mediko-biologicheskaya statistika. Per. s angl. M.: Praktika. 1998. 459 s.
- Artamonova E.S., Kurkin V.A. Aktual'nye aspekty standartizacii syr'ya i preparatov makleji // Himiya rastitel'nogo syr'ya. 2007. № 2. S. 55–58.
- Vichkanova S.A., Adgina V.V., Shipulina L.D., Fateeva T.V., Rebrova G.A., Vasilevskij V.K. Novaya lekarstvennaya forma rastitel'nogo antimikrobnogo preparata sangvirina dlya lecheniya ran // I Mezhdunar. konf. «Sovremennye podhody k razrabotke ehffektivnyh perevazozhnyh sredstv i polimernykh implantatov». M. 1992. S. 89–90.
- Rebrova G.A., Denisov-Nikol'skij Yu.I., Vasilevskij V.K., Doktorov A.A., Matvejchuk I.V., Sin'kova I.A. Primenenie kollagenosoderzhashchih biopolimerov v kachestve nositelej lekarstvennykh preparatov // Trudy Mezhdv. nauchno-issledovatel'skogo i uchebno-metodicheskogo centra biomedicinskih tekhnologij «Biomedicinskie tekhnologii». M. 1996. Vyp. 3. S. 48–51.
- Frolova A.V., Buzuk G.N., Carenkov V.M., Petrov P.T., Truhacheva T.V., Dunec L.N. Laboratornaya ocenka vliyaniya radiacionnoj sterilizacii na himicheskij sostav i antibakterial'nuyu aktivnost' lekarstvennogo sredstva «FITOMP» i ego komponenta – makleji melkoplodnoj // Vestnik farmacii. 2007. № 1. S. 83–91.
- Patent № 2018141307/04 (RF). Sposob polucheniya kostnogo implantata na osnove steril'nogo demineralizovannogo kostnogo matriksa / Yu.Yu. Litvinov, V.A. Bykov, N.I. Sidel'nikov, I.V. Matvejchuk, V.V. Rozanov, V.V. Krasnov. 2018.