



СВЕРХКРИТИЧЕСКИЕ ФЛЮИДНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ – ОСНОВА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ИННОВАЦИОННЫХ ИМПЛАНТАТОВ

SUPERCRITICAL FLUID TECHNOLOGIES – BASIS FOR CREATING INNOVATIVE IMPLANTS

DOI: 10.22184/1993-8578.2018.84.5.320.326

Д.Георгиев / printcomrussia@mail.ru
D.Georgiev

Сверхкритические флюидные технологии – важная область инновационных разработок на стыке химии, физики и медицины, которые позволяют заменить традиционные решения, использующие токсичные и пожароопасные химикаты. Сочетание эффективности и безвредности для окружающей среды обуславливают все более широкое применение сверхкритических флюидов для разделения и очистки веществ, а также формирования и обработки сложных материалов, включая микронизацию и нанодиспергирование. Сфера применения сверхкритических флюидных технологий охватывает нефтехимию, пищевую промышленность, парфюмерию, фармацевтику и другие отрасли. Один из ярких примеров технологического прорыва, который был достигнут благодаря внедрению сверхкритических флюидных технологий – производство имплантируемых медицинских изделий на предприятии "Кардиоплант" в городе Пенза.

Supercritical fluid technologies are an important area of innovative developments at the intersection of chemistry, physics and medicine, which allow replacing traditional solutions that use toxic and fire hazardous chemicals. The combination of efficiency and harmlessness for the environment causes the ever increasing use of supercritical fluids for separation and purification of substances, as well as for the formation and processing of complex materials, including micronisation and nano-dispersion. The sphere of application of supercritical fluid technologies covers petrochemical, food industry, perfumery, pharmaceuticals and other industries. One of the most striking examples of the technological breakthrough that was achieved through the introduction of supercritical fluid technologies is the production of implantable medical devices at Cardioplant in Penza.

Компания "Кардиоплант" была создана в 2007 году в составе пензенского научно-производственного объединения "МедИнж", ведущего отечественного производителя имплантируемых медицинских изделий. Компания занимается разработкой и продвижением имплантатов на основе тканей животных для различных областей медицины, имеет парк современного оборудования и более 600 м² производственных площадей. В разработках и изготовлении продукции используются чистые помещения классов 8 ИСО и 7 ИСО, а также зона асептического производства класса чистоты 5 ИСО.

ВЫБОР В ПОЛЬЗУ КСЕНОПЛАСТИКИ

В современной медицинской практике для замещения участков пораженных тканей в реконструктивно-восстановительных операциях применяются различные подходы. Использование собственных тканей (аутопластика) – наиболее безопасная методика, так как в этом случае минимальна вероятность иммунного ответа при оптимальной биосовместимости трансплантата. Однако аутопластика связана с дополнительным травмированием пациента, что увеличивает продолжительность реабилитации и время операции. Другой вариант – использование трупных тканей (аллопластика), недостатками которой являются риск

вирусной контаминации, более высокая вероятность отторжения, ограниченное предложение сырья, а также сложность документального подтверждения качества биоматериала. Имплантаты могут выполняться и из синтетических материалов, изготавливаемых на основе относительно дешевого и доступного сырья, однако такие изделия не всегда и не полностью вовлекаются в метаболизм и не могут иметь биологически активных свойств, что ограничивает область применения имплантатов.

Перспективным решением для создания имплантатов является ксенопластика – использование тканей животного происхождения. Она лишена перечисленных выше недостатков и поэтому была выбрана "Кардиоплантом" в качестве основного метода создания медицинских материалов. Исходный биологический материал



Блок костного матрикса
Block of bone matrix

The Cardioplant was established in 2007 in Penza as a part of the scientific and production holding MedInzh, a leading Russian manufacturer of implantable medical products. The company is engaged in the development and promotion of implants based on animal tissue for various fields of medicine and has more than 600 m² of manufacturing space with modern equipment. In the development and production cleanrooms of ISO 8 and ISO 7 classes are used, as well as an area of aseptic production of the ISO 5 class of cleanliness.

CHOICE IN FAVOR OF XENOPLASTY

In modern medical practice, various approaches are used to replace damaged tissue in reconstructive operations. Use of own tissues (autoplasty) is the safest technique, since in this case the probability of an immune response is minimal with the optimal biocompatibility of the graft. However, autoplasty is associated with additional trauma to the patient, which increases the duration of

rehabilitation and the time of surgery. Another option is the use of cadaveric tissues (alloplasty), the disadvantages of which are the risk of viral contamination, a higher probability of rejection, a limited supply of raw materials, as well as the complexity of documenting the quality of the biomaterial. Implants can be made of synthetic materials based on relatively cheap and affordable raw materials, but such products are not always fully involved in metabolism and can not have biologically active properties, which limits the scope of implants.

A promising solution for creating implants is xenoplasty – the use of tissues of animal origin. It is devoid of the drawbacks listed above and was therefore chosen by the Cardioplant as the main method of creating medical materials. The initial biological material has a natural structure and is available in large quantities, and modern processing technologies ensure the biocompatibility of implants and exclude the risks of transmission of infectious diseases. Xenoplasty

allows you to reduce the time of operations and rehabilitation in comparison with autoplasty, while the implants are biologically active and are involved in natural metabolism.

SMALL NOMENCLATURE FOR LARGE TASKS

In 2010, the first serial product of Cardioplant was a xenopericardial plate, which is made from a pericardium bag of pigs and bulls and is used to correct a whole group of surgical defects. Different processing modes allow to vary the properties of the material for different applications. The material is created to restore, strengthen and reconstruct affected parts of organs and tissues, in particular, heart and vessel defects, tendon plasty in traumatology and orthopedics, denture prosthetics in neurosurgery, urinary tract plasty, strengthening of the pelvic floor muscles in urogynecology, for the reconstruction of soft tissues in abdominal surgery.

Another innovative serial product of Cardioplant is an extracellular collagen matrix made from



имеет природную структуру и доступен в больших количествах, а современные технологии обработки обеспечивают биосовместимость имплантатов и исключают риски передачи инфекционных заболеваний. Ксенопластика позволяет сокращать время операций и реабилитации в сравнении с аутопластикой, при этом имплантаты биологически активны и вовлекаются в природный метаболизм.

МАЛАЯ НОМЕНКЛАТУРА ДЛЯ БОЛЬШИХ ЗАДАЧ

В 2010 году первым серийным изделием "Кардиопланта" стала ксеноперикардальная пластина, которая изготавливается из околосердечной сумки (перикарда) свиней и быков и применяется для исправления целой группы хирургических дефектов. Различные режимы обработки позволяют варьировать свойства материала для различных применений. Материал разработан для восстановления, укрепления и реконструкции пораженных участков органов и тканей, в частности, дефектов сердца и сосудов, пластики сухожилий в травматологии и ортопедии, протезирования твердой мозговой оболочки в нейрохирургии, пластики мочевыводящих путей, укрепления мышц тазового дна в урогинекологии, для реконструкции мягких тканей в абдоминальной хирургии.

Другой инновационный серийный продукт "Кардиопланта" – внеклеточный коллагеновый матрикс, изготавливаемый из подслизистого слоя тонкой кишки свиньи. Материал обладает

высочайшей потенциальной способностью к заселению собственными клетками окружающих тканей, способностью перестроиться без образования рубца и возможностью заживления без полного закрытия собственными тканями реципиента. Он уже успешно используется для лечения ожогов различной степени тяжести, трофических язв и повреждений, полученных пациентами с онкологией при продолжительных курсах облучения.

В данный момент "Кардиоплант" разрабатывает остеопластический матрикс из костей молодых бычков. Такой материал используется для замещения дефектов костной ткани человека или увеличения ее объема. Например, в стоматологии остеопластический матрикс может применяться для проведения дентальной имплантации.

Все серийно выпускаемые материалы прошли серию технических, доклинических и клинических испытаний. Для клинических исследований и для изучения потребностей практиков привлекались ведущие профильные научно-исследовательские институты страны – Центральный научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии имени Н.Н.Приорова (Москва), Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии, федеральные центры сердечно-сосудистых заболеваний, Научный центр сердечно-сосудистой хирургии им. А.Н.Бакулева РАМН (Москва) и другие.

the submucosal layer of the small intestine of the pig. The material has the highest potential for colonization by its own cells of surrounding tissues, the ability to rebuild without scar formation and the possibility of healing without completely closing the recipient's own tissues. It has already been successfully used to treat burns of varying severity, trophic ulcers and injuries received by patients with oncology during long-term irradiation courses.

At the moment, Cardioplant is developing an osteoplastic matrix using the bones of young

bull-calves. Such material is used to replace defects in human bone tissue or to increase its volume. For example, in dentistry, the osteoplastic matrix can be used for dental implantation.

All serially produced materials passed a series of technical, preclinical and clinical tests. Leading specialized research institutes of the country including N.N. Priorov Central Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Saratov Research Institute of Traumatology and Orthopedics, federal centers of cardiovascular diseases, A.N. Bakulev National

Medical Research Center of Cardiovascular Surgery (Moscow) and others were involved in clinical research and in studying the needs of practitioners.

TECHNOLOGICAL INNOVATIONS

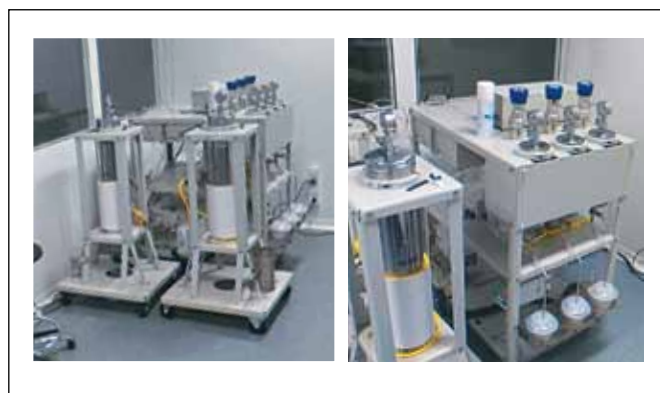
"By changing the methods and regimes of processing, it is possible to regulate the rate of resorption and bio-integration, elastic-deformative indices and properties of the surface of the material, getting products intended for different areas of medicine", says Dmitry Smolentsev, head of the development of osteoplastic biomaterials. "But there are general principles

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ИННОВАЦИИ

"Изменяя методы и режимы обработки, можно регулировать скорость резорбции и биоинтеграции, упруго-деформативные показатели и свойства поверхности материала, получая продукты, предназначенные для разных областей медицины, – рассказывает Дмитрий Смоленцев, руководитель направления разработки остеопластических биоматериалов. – Но существуют и общие принципы, обязательные для всех материалов. Поскольку наши изделия изготавливаются из биологической ткани, основной задачей является удаление всех антигенов и чужеродных структур, способных вызвать отторжение имплантата. Таковыми являются клетки, фрагменты их мембран, неколлагеновые белки, а в случае работы с костной тканью – еще и липиды, которые мешают добиться полной очистки материала. При этом требуется сохранить природную архитектуру ткани".

Костный матрикс заполнен преимущественно липидами и другими липофильными веществами, от которых достаточно сложно избавиться. Полисахариды, белки и другие вещества, способные вызвать реакцию организма и от которых необходимо очистить материал, находятся не только на поверхности, но и залегают достаточно глубоко, под слоем липидов. То есть удовлетворительная очистка материала возможна только при полном избавлении от жиров.

Традиционные способы удаления перечисленных элементов с использованием органических



Установка СФЭ

Supercritical fluid extraction system

растворителей или температурного воздействия негативно влияют на свойства материала. Например, при устранении липидов органическим растворителем, весьма проблематично впоследствии избавиться от самого сольвента. Поэтому после нескольких лет экспериментов специалисты "Кардиопланта" выбрали технологию сверхкритической флюидной экстракции (СФЭ), которая позволяет добиться максимальной технически достижимой чистоты материала, не повреждая его.

СФЭ – процесс экстракции с использованием в качестве растворителя вещества в сверхкритическом состоянии. В области выше критических температуры и давления исчезает различие между жидкостью и газом, и возникает

that are mandatory for all materials. Since our products are made from biological tissue, the main task is to remove all antigens and foreign structures that can cause rejection of the implant. Such are the cells, fragments of their membranes, non-collagen proteins, and in the case of working with bone tissue – also lipids, which prevent complete purification of the material. At the same time, it is required to preserve the natural architectonics of the tissue".

Bone matrix is filled mainly with lipids and other lipophilic substances, which are difficult to get rid of. Polysaccharides,

proteins and other substances that can cause the body to react and from which it is necessary to clean the material are not only on the surface, but also lie deep enough, under a layer of lipids. That is, satisfactory cleaning of the material is possible only with complete disposal of fats.

Traditional methods of removing these elements using organic solvents or temperature influence negatively affect the properties of the material. For example, when eliminating lipids with an organic solvent, it is very problematic to get rid of the solvent itself afterwards. Therefore, after

several years of experiments, the specialists of Cardioplant have chosen the technology of supercritical fluid extraction (SFE), which allows achieving the maximum technically achievable purity of the material without damaging it.

SFE is an extraction process using a supercritical substance as a solvent. In the region above the critical temperature and pressure, the difference between the liquid and the gas disappears, and a single fluid, relatively dense, easily compressible medium appears. In this form, the substance, on the one hand,



единая текучая, относительно плотная легко сжимаемая среда. В такой форме вещество, с одной стороны, все еще обладает существенной растворяющей способностью, подобно жидкостям, а с другой стороны – транспортными характеристиками, больше характерными для газов, – низкой вязкостью, легко варьируемой плотностью, высокими коэффициентами диффузии.

Плотностью и растворяющей способностью сверхкритического флюида легко управлять, изменяя давление или температуру. Поэтому при его использовании в качестве растворителя появляется нехарактерная для жидкостей возможность тонко настраивать растворяющую способность под конкретную задачу, в частности, получать фракции, обогащенные различными компонентами. А благодаря отсутствию межфазного натяжения сверхкритические флюиды легко проникают в пористые материалы.

СФЭ используют для извлечения, разделения и концентрирования неполярных продуктов растительного и животного происхождения, таких как жирные и эфирные масла, стероиды, воски, лекарственные средства из природных субстратов, низкомолекулярные соединения из полимерных и композитных материалов. Сверхкритический CO_2 способен экстрагировать многие неполярные вещества: терпеновые соединения, воски, пигменты, высокомолекулярные насыщенные и ненасыщенные жирные

кислоты, алкалоиды, жирорастворимые витамины и фитостерины.

К настоящему времени сверхкритическая флюидная экстракция уже может быть отнесена к технологиям, прочно вошедшим в комплекс методов "зеленой" химии. Эта технология интенсивно используется в пищевой, косметической и фармацевтической отраслях для выделения и очистки активных ингредиентов из природного и синтетического сырья, как на лабораторном, так и на промышленном уровне. Декофеинизация кофе, очистка оптических кабелей от тестировочных масляных растворителей, экстракция хмеля для пивоварения, экстракция эфирных и жирных масел из растительного сырья, пробоподготовка в химическом анализе, очистка пробкового материала, регенерация адсорбентов и катализаторов, стали классическими примерами успешного внедрения СФЭ.

СФЭ ДЛЯ ОБЕЗЖИРивАНИЯ КСЕНОГЕННЫХ МАТЕРИАЛОВ

Наиболее часто в качестве растворителя в СФЭ используется сверхкритический CO_2 , преимуществами которого являются высокая растворяющая способность, дешевизна, доступность, нетоксичность и невысокие значения критических параметров (критическая температура – 31°C , критическое давление – 74 атм). Технологи "Кардиопланта" также выбрали этот материал. "Диоксид углерода не нужно

still has a significant dissolving power, like liquids, and on the other hand, has the transport ability more characteristic of gases, low viscosity, easily variable density, high diffusion coefficients.

The density and solubility of supercritical fluid is easily controlled by changing the pressure or temperature. Therefore, when it is used as a solvent, it becomes possible to fine-tune the dissolving power for a specific task, in particular, to obtain fractions enriched in various components. And due to the absence of interfacial tension,

supercritical fluids easily penetrate into porous materials.

SFE is used for the extraction, separation and concentration of nonpolar products of vegetable and animal origin, such as fatty and essential oils, steroids, waxes, medicines from natural substrates, low-molecular compounds of polymeric and composite materials. Supercritical CO_2 is capable of extracting many nonpolar substances: terpene compounds, waxes, pigments, high molecular weight saturated and unsaturated fatty acids, alkaloids, fat-soluble vitamins and phytosterols.

To date, supercritical fluid extraction can already be attributed to technologies that are firmly embedded in the complex of methods of "green" chemistry. This technology is intensively used in the food, cosmetic and pharmaceutical industries for the isolation and purification of active ingredients from natural and synthetic raw materials, both at the laboratory and industrial levels. Decaffeination of coffee, cleaning of optical cables from test oil solvents, extraction of hops for brewing, extraction of essential and fatty oils from plant raw materials, sample



удалять из готового продукта, так как после завершения обработки он просто испаряется, переходя в газообразную фазу, и не оставляет после себя никаких следов, – объясняет Д.Смоленцев. – Помимо автоматического удаления растворителя, в СФЭ достигается более высокая степень извлечения жира и прочих растворимых компонентов. Происходит глубокое проникновение диоксида углерода по всей толще кости для качественной очистки пор. При этом не нарушается целостность коллагена. Кроме того, очищенные экстракты не содержат остаточных количеств растворителя, а сам растворитель можно легко регенерировать. Таким образом, применение СФЭ позволило сократить время производства и затраты, а также добиться высокого качества продукции".

Для проведения СФЭ на производстве "Кардиопланта" используется оборудование компании Waters Corp. (США), которое было поставлено и введено в эксплуатацию ЗАО "ШАГ". Компания "ШАГ" специализируется в области сверхкритических флюидных (СКФ) технологий с 2006 года. Она является поставщиком оборудования для СКФ-технологий отечественных и зарубежных производителей. Помимо поставок серийных решений специалисты компании осуществляют доработку оборудования под задачи конкретных клиентов и методическую поддержку. Такой сервис стал возможен благодаря наличию совместной лаборатории с Институтом общей и неорганической химии,

в которой можно проконсультироваться по возможности применения СКФ-технологий для решения тех или иных задач, провести пробные испытания или разработку методики.

Сверхкритическое оборудование производства Waters Corp. отличается высокой надежностью и автоматизация, возможность реализации различных режимов обработки материалов. Д.Смоленцев: "Важнейшим требованием является бесперебойность и контролируемость работы оборудования, так как малейшее отклонение температуры или давления может привести к изменению свойств конечного продукта. Система СФЭ компании Waters отличается функциональным и удобным программным управлением, позволяющим в круглосуточном режиме контролировать технологический процесс. Если параметры отклоняются от заданных величин, система сразу же информирует нас об этом, и мы можем быстро принять необходимые меры".

Разработанная сотрудниками "Кардиопланта" методика обезжиривания животных тканей с помощью СФЭ обеспечивает наилучшее извлечение липидов и жироподобных веществ при минимальных затратах экстрагента и времени обработки. Применение этой экологически чистой методики дает возможность значительно сократить издержки и облегчить производство медицинских изделий. Методика внедрена в производственную линию "Кардиопланта" с размещением сверхкритического оборудования в чистой комнате.

preparation in chemical analysis, cleaning of cork material, regeneration of adsorbents and catalysts have become classic examples of successful introduction of SFE.

SFE FOR DEGREASING OF XENOGENIC MATERIALS

Most often, supercritical CO₂ is used as a solvent in SFE, the advantages of which are high solvency, cheapness, availability, nontoxicity and low critical parameters (critical temperature is 31°C, critical pressure is 74 atm). The Cardioplant's technologists also chose this material.

"Carbon dioxide does not need to be removed from the finished product, because after the treatment it simply evaporates, passing into the gaseous phase, and leaves no traces behind it", Smolentsev explains. "In addition to the automatic removal of the solvent, a higher degree of recovery of fat and other soluble components is achieved in the SFE. Carbon dioxide penetrates deeply throughout the thickness of the bone for qualitative cleaning of the pores. In this case, the integrity of the collagen is not impaired. In addition, the purified extracts do not contain residual amounts of solvent,

and the solvent itself can be easily regenerated. Thus, the use of SFE allowed to reduce production time and costs, as well as to achieve high quality of products".

To conduct the SFE in the production of Cardioplant, equipment of Waters Corp. (USA) is used, which was supplied and put into operation by SCHAG company. The SCHAG specializes in the field of supercritical fluid (SCF) technologies since 2006. It is a supplier of equipment for SCF technologies of domestic and foreign manufacturers. In addition to delivering serial solutions, the company's specialists carry out



ПЕРСПЕКТИВЫ

Разработка инновационных медицинских изделий – задача, которая сложна не только технологически, но и с точки зрения соблюдения множества формальных процедур. "Все наши главные проблемы, вероятно, связаны с огромными затратами времени, – констатирует Д.Смоленцев. – Кроме проверки на безопасность материалы должны пройти испытание на эффективность, когда выполняется имплантация для исправления смоделированного в эксперименте дефекта, а затем приходится от двух до четырех месяцев собирать информацию. Если же результаты не соответствуют ожиданиям, то выполняется еще один цикл доработки и испытания продукта".

Тем не менее, "Кардиоплант" показывает впечатляющую динамику разработки

инновационных медицинских продуктов, причем перспективы выглядят еще более захватывающими. И широкие возможности СКФ-технологий, выходящие далеко за рамки задач, связанных с обезжириванием материалов, будут подспорьем в этом движении. Д.Смоленцев: "Практически все применяемые в настоящее время имплантируемые изделия являются неактивными, то есть служат лишь каркасом для собственных тканей человека, или выполняют какую-то механическую функцию. Полагаю, что в будущем имплантаты приобретут собственную активность, например, антибактериальную. Для этого в них должны быть импрегнированы антибиотики с заданной скоростью высвобождения. И решить задачу помогут СКФ-технологии". ■

the finalization of the equipment for the specific clients' tasks and methodological support. This service became possible thanks to the creation of a joint laboratory with the Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of RAS, in which it is possible to consult on the possible application of SCF technologies for solving specific tasks, to conduct trial tests or to develop a methodology.

Supercritical equipment produced by Waters Corp. distinguishes high reliability and automation, the ability to implement various modes of processing. D. Smolentsev: "The most important requirements are the uninterrupted operation and controllability of the equipment, since the slightest deviation of temperature or pressure can lead to a change in the properties of the final product. Waters' SFE system is characterized by functional and convenient program control, which allows monitoring the technological process 24 hours a day. If the parameters deviate from the set values, the system

immediately informs us about this, and we can quickly take the necessary measures".

The technique of degreasing of animal tissues developed by Cardioplant with the help of SFE provides the best extraction of lipids and fatty substances with minimum consumption of extractant and processing time. The application of this environmentally friendly method makes it possible to significantly reduce costs and facilitate the production of medical devices. The technique is implemented in the production line of Cardioplant with use of supercritical equipment in a clean room.

PROSPECTS

The development of innovative medical products is a task that is complex not only technologically, but also in terms of compliance with a variety of formal procedures. "All of our main problems are probably connected with a huge amount of time", D. Smolentsev states. "In addition to the safety check, the materials must undergo an efficiency test

when implantation is performed to correct the defect modeled in the experiment, and then it takes from two to four months to collect the information. If the results do not meet expectations, then another cycle of improvement and testing of product is performed".

Nevertheless, Cardioplant shows an impressive dynamics of the development of innovative medical products, and the prospects look even more exciting. And the wide possibilities of SCF technologies, which go far beyond the tasks associated with degreasing materials, will help in this movement. D. Smolentsev: "Virtually all currently applied implantable products are inactive, that is, they serve only as a frame for human tissues, or perform some kind of mechanical function. I believe that in the future implants will acquire their own activity, for example, antibacterial. To do this, it is necessary to impregnate antibiotics in them with a given release rate. And SCF technologies will help to solve this problem". ■