

Анализ физико-химических свойств препаратов на основе полимолочной кислоты, применяемых для инъекционного введения

А. Р. Ногеров^{1,2}, Е. О. Гутоп³

¹ Клиника косметологии и интегративной медицины Nogerov International Clinic, Москва, Россия

² ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия

³ Клиника АКТУАЛЬ, г. Ярославль, Россия

РЕЗЮМЕ

В рамках настоящего исследования была поставлена цель определения основных физико-химических свойств (определение вязкости, Ph, размера, распределения и стабильности частиц) препарата на основе полимолочной кислоты (PDLLA- 42.5 мг) и гиалуроната натрия (HA- 7.5 мг) и препарата на основе полимолочной кислоты (PDLLA-170мг) и гиалуроната натрия (HA-30мг). В работе решались следующие задачи: определение вязкости, Ph растворов препаратов в контрольных точках 30 минут, 12 и 24 часа; а также определение размера, распределения и стабильности частиц и наличия BDDE. Результат исследования вязкости растворов препаратов в контрольных точках 12 и 24 часа был сходным для обоих препаратов. В контрольной точке 30 минут после разведения вязкость отличалась, так как это может быть связано с биodeградацией гиалуроновой кислоты в составе препарата PDLLA-170мг, поскольку ее содержание в двух препаратах отличается. Значение Ph растворов препарата с PDLLA- 42.5 мг в контрольных точках 30 минут, 12 и 24 часа демонстрировало незначительное снижение, в то время как для раствора препарата PDLLA-170мг оставалось практически неизменным на все время эксперимента. При этом изменения показателя Ph для обоих растворов препаратов можно считать незначительными. Размер частиц из растворов после дегидратации для препарата PDLLA- 42.5 мг составлял от 20 мкм до 40 мкм, в то время как для частиц из растворов препарата PDLLA-170мг их размер варьировал от 40 мкм до 80 мкм. Показатели распределения и стабильности частиц из растворов препарата PDLLA- 42.5 мг демонстрировали незначительные изменения с течением времени, в то время как для частиц из растворов препарата PDLLA-170мг данные параметры практически не менялись за время эксперимента. Для растворов обоих препаратов эти показатели не выходили за пределы нормы. Наличие BDDE в обоих препаратах подтверждено не было.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: полимолочная кислота, физико-химические свойства, PLA, PDLLA.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Analysis of the physicochemical properties of polylactic acid-based preparations used for injection

A. R. Nogerov^{1,2}, E. O. Gutop³

¹ Nogerov International Clinic, Cosmetology and Integrative Medicine, Moscow, Russia

² Central State Medical Academy of the Administrative Department of the President of the Russian Federation, Moscow, Russia

³ ACTUAL Clinic, Yaroslavl, Russia

SUMMARY

This study aimed to determine the basic physicochemical properties (viscosity, pH, particle size, distribution, and stability) of a formulation based on polylactic acid (PDLLA – 42.5 mg) and sodium hyaluronate (HA – 7.5 mg) and a formulation based on polylactic acid (PDLLA – 170 mg) and sodium hyaluronate (HA – 30 mg). The following objectives were addressed: determining the viscosity and pH of the formulation solutions at control points of 30 minutes, 12 hours, and 24 hours; determining the particle size, distribution, and stability; and the presence of BDDE. The viscosity results of the formulation solutions at control points of 12 and 24 hours were similar for both formulations. At the 30-minute post-dilution checkpoint, the viscosity differed. This may be due to the biodegradation of hyaluronic acid in PDLLA-170 mg, as its content differs in the two solutions. The pH of the PDLLA-42.5 mg solutions at the 30-minute, 12-hour, and 24-hour checkpoints showed a slight decrease, while that of the PDLLA-170 mg solution remained virtually unchanged throughout the experiment. Furthermore, the changes in pH for both solutions can be considered insignificant. The particle size of the PDLLA-42.5 mg solutions after dehydration ranged from 20 µm to 40 µm, while that of the PDLLA-170 mg solutions ranged from 40 µm to 80 µm. Particle distribution and stability parameters for PDLLA-42.5 mg solutions showed minor changes over time, while for particles from PDLLA-170 mg solutions, these parameters remained virtually unchanged over the course of the experiment. For both solutions, these parameters remained within normal limits. The presence of BDDE in both PDLLA solutions was not confirmed.

KEYWORDS: polylactic acid, physicochemical properties, PLA, PDLLA.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare no conflict of interest.

В современной эстетической медицине для коррекции инволютивных изменений кожи широко используются инъекционные методы и прежде всего, это тканевые наполнители, такие как гиалуроновая кислота, полипептиды, полимолочная кислота [1]. При этом полимолочная кислота (PLA) за счет широкого спектра действия имеет значительные преимущества, которые позволяют решать сразу несколько проблем у пациентов с признаками старения [2].

PLA – это иммунологически инертный, биodeградируемый синтетический полимер, как правило состоящий из микрочастиц размером от 20 до 100 мкм, маннитола и карбоксиметилцеллюлозного геля-носителя, гиалуроновой кислоты и гиалуроната натрия. Обобщенный термин «PLA» включает стереоизомерные ее варианты: поли (D-молочную кислоту) (PDLA), поли (L-молочную кислоту) (PLLA), поли-D, L-молочную кислоту (PDLLA)

и рацемическую PLA [3]. Появление новых гибридных препаратов на основе PDLLA и гиалуроната натрия открывают новые возможности использования в коррекции для инволютивных изменений кожи.

Механизм действия PLA основывается на формировании субклинической воспалительной реакции в тканях (выработка провоспалительных цитокинов: ИЛ-1 β , ИЛ-6 и ФНО- α , в дальнейшем ИЛ-10) с последующей активацией синтеза коллагена [4, 5, 6]. Механизм действия коллагеностимуляторов на основе полимолочной кислоты хорошо изучен [7]. Полимолочная кислота обладает хорошей биосовместимостью, что делает ее применение достаточно безопасным [2].

В настоящее время на отечественном рынке появляется большое количество препаратов, применяющихся в качестве инъекционных имплантатов для мягких тканей на основе полимолочной кислоты и гиалуроната натрия. Эти препараты, зарегистрированные в РФ в качестве медицинских изделий, имеют ограниченный, хоть и достаточный для регистрации, набор сведений о них. Клинические аспекты подготовки раствора и применения этих препаратов основываются на их физико-химических характеристиках. Так, целесообразным для применения является изучение различных физико-химических свойств этих препаратов, которые не были достаточно изучены ранее. К ним можно отнести определение вязкости, Ph, размера, распределения и стабильность частиц. Именно эти показатели определяют время подготовки раствора перед его применением, равномерность распределения частиц в растворе через разное время после приготовления раствора, гомогенность. Целью настоящего исследования стало изучение вышеуказанных физико-химических свойств препарата на основе полимолочной кислоты (PDLLA-170мг) и гиалуроната натрия (HA-30мг) в процентном соотношении 85/15 и препарата на основе полимолочной кислоты (PDLLA-42.5 мг) и гиалуроната натрия (HA- 7.5 мг) – в процентном соотношении 85/15.

Материал и методы

Определение pH производилось в соответствии с ОФС.1.2.1.0004 Ионметрия на иономере Mettler Toledo потенциометрическим методом, основанным на измерении разности потенциалов универсальным комбинированным pH-электродом, погружённым в исследуемую пробу. Метрологические характеристики: от 0,00 до 14,00 ед. pH, погрешность измерения: ± 0.002 ед.

Исследование вязкости проходило в соответствии с ОФС.1.2.1.0015.15 Вязкость с применением ротационного вискозиметра RM 200 CP 4000 PLUS при температуре 25 °C. Использовался тип измерительной системы «плоскость-плоскость» (МК-CP 5005) с варьируемой скоростью вращения от 5 об/мин до 1000 об/мин. Метрологические характеристики: диапазон крутящего момента от 0,05 до 30 мН·м, точность $\pm 1\%$ от полной шкалы, повторяемость $\pm 0,2\%$, тип измерительной системы – плоскость-плоскость (МК-CP 5005), расстояние между поверхностями (GAP) – 0,1–0,2 мм.

Определение размера частиц выполнялось в соответствии с проектом ОФС 0.0.0000 методом динамического рассеяния света. Определение распределения частиц по размеру в соответствии с ОФС ОФС.1.2.1.0008.15 методом лазерной дифракции света. Определение стабильности путем определения дзета-потенциала в соответствии с ОФС 1.1.1.0005 методом электрофоретического рассеяния света.

Для определения показателей размера, распределения и стабильности частиц использовался прибор Nanolink SZ 902M, программное обеспечение Nanolink 2.20.7. (диапазон анализа размеров частиц: от 0,3 нм до 15 мкм), источник света – твердотельный термостабилизированный лазер 638 нм. При определении размера частиц и степени распределения частиц в кювету из полистирола на 3,5 мл (ширина – 10 мм) помещался исследуемый образец препарата, полученный при разведении водой очищенной, что соответствовало корректному значению индекса полидисперсности (PdI должен быть менее 0,7). Угол падения лазера на кювету составил 173°. Измерение проводили 5 раз при температуре 25 °C и определяли средний размер частиц, а также распределение частиц (D 10, D 50 и D 90). При изучении стабильности препарата путем определения дзета-потенциала в U-образную кювету помещался исследуемый образец препарата. Угол падения лазера на кювету составил 12°. Измерение проводили 5 раз при температуре 25 °C.

Для определения наличия бутандиолдиглицидилового эфира (BDDE) в образцах использовался метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Для выполнения 500 мкл каждого образца помещали в центрифужную пробирку типа Eppendorf и центрифугировали при 10000 g в течение 10 минут. Часть надосадка (200 мкл) переносили в отдельную ёмкость – раствор А, оставшуюся часть (200 мкл) надосадка переносили в отдельную ёмкость – раствор Б. К растворам А и Б добавляли по 400 мкл ацетонитрила, растворы перемешивали. К раствору Б добавляли 6 мкл стандарта (BDDE). Растворы А и Б центрифугировали при 10000 g в течение 10 минут. Растворы А и Б подвергали хроматографическому анализу методом ГХ–МС в определенных для эксперимента условиях.

Также проводили ультрамикроскопическое исследование кристаллизованных препаратов на адгезивных полилизинных стеклах. Свежеприготовленные препараты наносили на стекло и высушивали в течение 5 минут. После этого препараты транспортировали и исследовали с помощью атомно-силовой микроскопии (АСМ) и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Исследование твёрдой фазы препаратов Juvelook (PDLLA- 42.5 мг и 7.5 мг гиалуроната натрия) и Lenisna 200 (PDLLA – 170 мг и 30 мг гиалуроната натрия) проводили методом полуконтактной атомно-силовой микроскопии на приборе BioScope Resolve (Bruker, США), интегрированном с инвертированным микроскопом Zeiss Axio Observer (Carl Zeiss, Германия). В качестве зондов использовали кремниевые кантилеверы с резонансной частотой ~250–350 кГц и жёсткостью 20–40 Н/м, фактическую частоту определяли перед измерением. Сканирование выполняли в полуконтактном режиме (АС) при температуре 22–24 °C и влажности 30–50 %, с настройкой свободной амплитуды 30–60 нм и уставки на уровне 60–80 % от неё;

размер полей составлял 50 μm при разрешении 1024 точек и скорости 1 строк/с. Калибровку проводили по термошуму и решётчатому стандарту, данные собирали в каналах Height, Amplitude Error и Phase, последующую обработку (вычитание плоскости, выравнивание строк, расчёт параметров шероховатости) выполняли в NanoScope Analysis.

Морфологию твёрдых образцов, полученных в форме высохших капель раствора, исследовали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Для этого использовали сканирующий электронный микроскоп Melytec SM-32, оснащённый системой вторичных электронов. Капли раствора объёмом 5–10 мкл наносили на алюминиевые стабы и высушивали при комнатной температуре в течение 12 ч до полного удаления растворителя. Для предотвращения зарядки и улучшения качества изображения образцы покрывали проводящим слоем золота толщиной 5–10 нм с помощью установки ионного распыления VSI Portable Auto Ion Sputtering Coater SD 800 (режим тока 10–20 мА, время напыления 60–120 с). Исследования проводили при ускоряющем напряжении 10–20 кВ, рабочем расстоянии 10–15 мм и увеличении от 500 $\times$ до 50000 $\times$. Полученные микрофотографии регистрировали и сохраняли в формате TIFF для последующего анализа.

Результаты исследования

Определение вязкости

Псевдопластичное тело (вязкость уменьшается с повышением скорости сдвига) как тип реологической модели был применен для всех образцов.

Полученная зависимость вязкости от скорости сдвига показала тенденцию снижения вязкости с увеличением скорости сдвига. Такой эффект является проявлением псевдопластического поведения, при котором материал демонстрирует обратимое разрушение структуры под воздействием приложенных усилий, сопровождающееся снижением внутреннего сопротивления сдвиговым деформациям. Например, для препарата Juvelook (PDLLA- 42.5 мг и 7.5 мг гиалуроната натрия) (30 мин) при минимальных нагрузках (5 об/мин) вязкость составляет 16,6 мПа $\cdot$ s, а при максимальной испытанной скорости сдвига (1000 об/мин) снижается почти до 0,46 мПа $\cdot$ s (Рис. 1). Аналогичные данные для препарата Lenisna 200 (PDLLA – 170 мг и 30 мг гиалуроната натрия) при измерении вязкости происходило снижение скорости сдвига при увеличении оборотов центрифугирования.

Анализ полученных результатов демонстрирует незначительное изменение вязкости при различных показателях об/минуту в сравнении между растворами препаратов после разного временного интервала от момента их приготовления.

Определение размера частиц, распределения частиц и дзета-потенциала

Определение исследуемых параметров производилось на основе рекомендаций, сформулированных в государственной фармакопее РФ XV издания. Для всех образцов наблюдается тенденция равномерного распределения частиц в объеме (D 10, D 50, D 90). Независимо от наличия/отсутствия перемешивания размер частиц в препаратах

на основе полимолочной кислоты (PDLLA-170мг) и гиалуроната натрия (НА-30мг) в процентном соотношении 85/15 для каждой серии (добавление воды для инъекций 8 мл и 16 мл) практически не изменяется с течением времени, что свидетельствует о достаточно ускоренном распределении полимеров с первых минут взаимодействия с растворителем. В препарате Juvelook в первые 30 минут средний размер частиц составляет 55249 нм, а через 12 часов размер частиц уменьшается до 15921 нм, что говорит о более замедленном распределении полимеров в сравнении с препаратом на основе полимолочной кислоты (PDLLA-170мг) и гиалуроната натрия (НА-30мг) в процентном соотношении 85/15 (Рис. 1).

Стабильность препаратов напрямую зависит от значения электрокинетического потенциала «дзета». Если значение дзета-потенциала будет выше ± 30 мВ, то можно утверждать о высокой стабильности препарата. Так, каждый образец характеризуется высоким значением дзета-потенциала, что говорит об отсутствии таких физико-химических процессов неустойчивости как агрегация и седиментация. Кроме того, равномерная дисперсность (D) также свидетельствует об отсутствии слипания частиц, приводящих к неравномерному распределению их в объеме пробы (рис. 1).

Атомно-силовая микроскопия образцов

В результате проведённых исследований методом атомно-силовой микроскопии удалось визуализировать отдельные частицы PEDOT: PSS, выделенные из растворов. Для образцов препарата на основе полимолочной

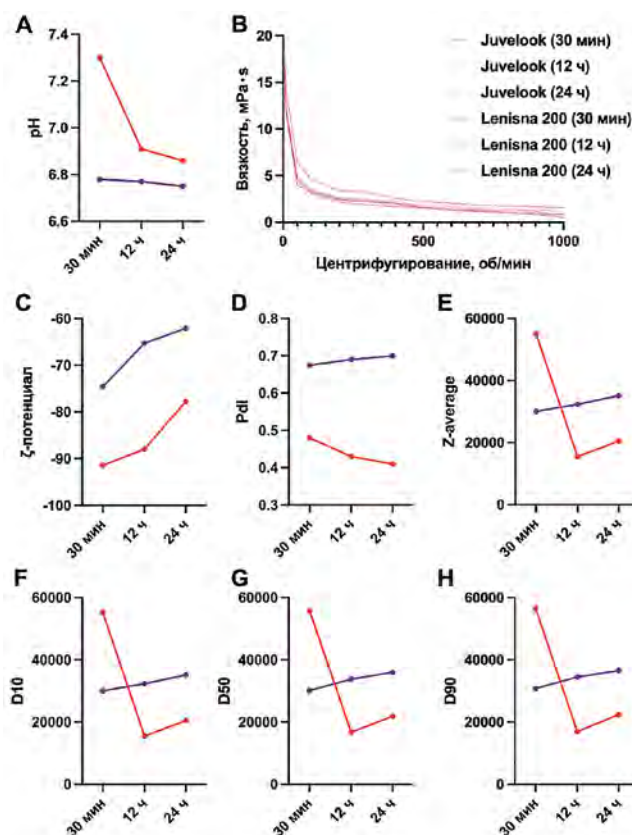


Рисунок 1. Графики измерения показателей pH, вязкости, дзета-потенциала, Pdl, Z-average, D 10, D 50 и D 90 во временных точках 30 минут, 12 и 24 часа

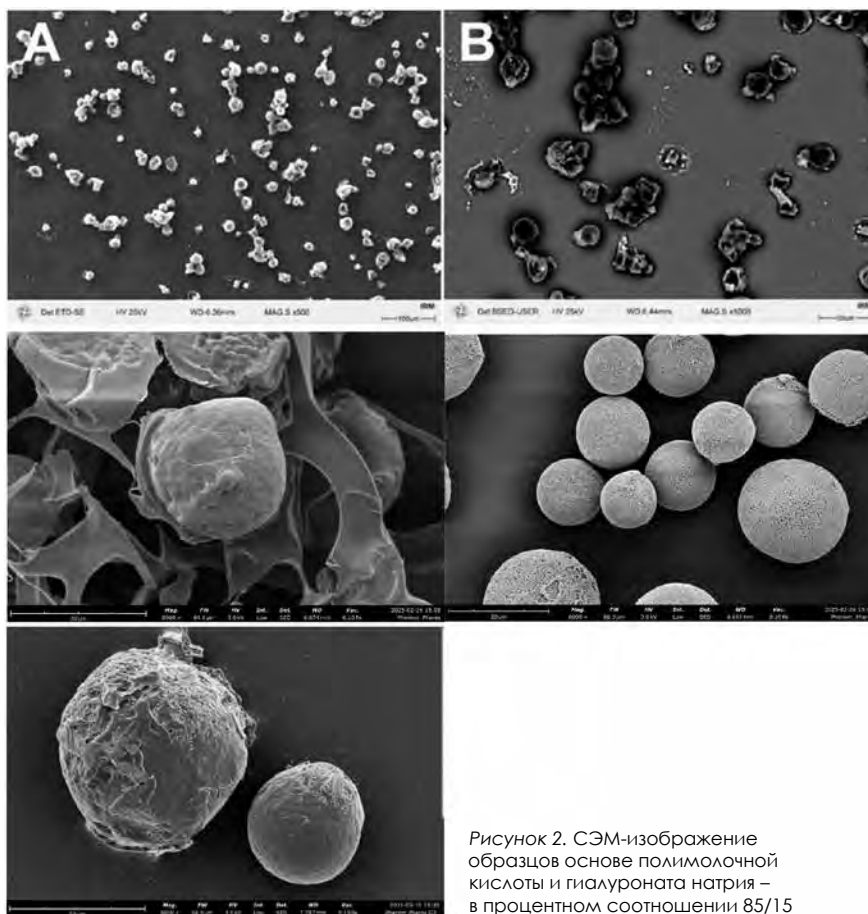


Рисунок 2. СЭМ-изображение образцов основе полимолочной кислоты и гиалуроната натрия – в процентном соотношении 85/15

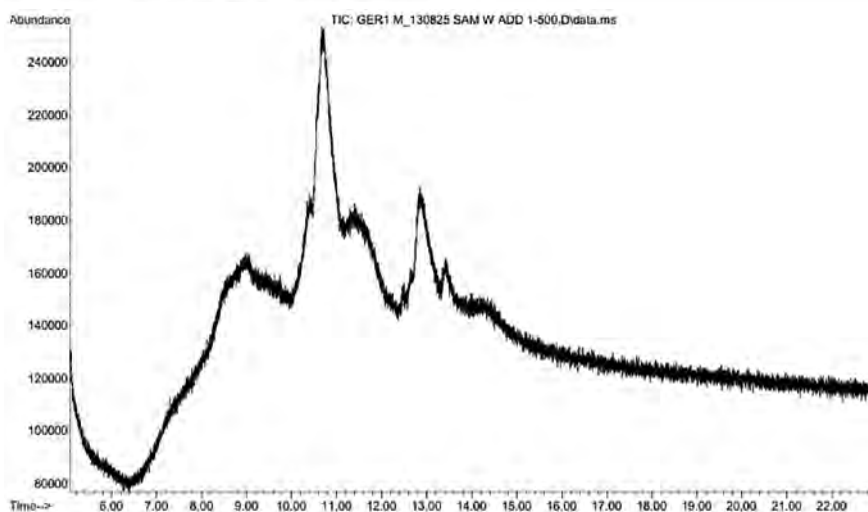


Рисунок 3. Раствор стандарта в разведении 1/500 (НПКО)

кислоты (PDLLA- 42.5 мг) и гиалуроната натрия (НА- 7.5 мг)- в процентном соотношении 85/15 измеренные параметры шероховатости составили: $R_a = 39 \pm 10$ нм, $R_q = 57 \pm 17$ нм, $R_{max} = 550 \pm 283$ нм. Для образцов препарата на основе полимолочной кислоты (PDLLA-170мг) и гиалуроната натрия (НА-30мг) в процентном соотношении 85/15 получены более низкие значения шероховатости: $R_a = 18$ нм, $R_q = 22$ нм, $R_{max} = 137$ нм, что свидетельствует о более гладкой и однородной структуре.

Методом сканирующей электронной микроскопии были исследованы частицы PEDOT: PSS, осажденные из различных растворов. Для образцов серии препарата на основе полимолочной кислоты (PDLLA- 42.5 мг) и гиалуроната натрия (НА- 7.5 мг)- в процентном соотношении 85/15 наблюдаются частицы

размерами от 20 мкм до 40 мкм. Для образцов препарата на основе полимолочной кислоты (PDLLA-170мг) и гиалуроната натрия (НА-30мг) в процентном соотношении 85/15 установлено, что в исходном варианте частицы распределены относительно равномерно. Размер таких объектов варьируется от 40 мкм до 80 мкм (рис. 2).

Анализ наличия BDDE в растворах препаратов методом газовой хромато-масс-спектрометрии

Метод газовой хромато-масс-спектрометрии позволил одновременно определить два вещества и более, что отражается в двух и более пиках на хроматограмме анализируемого образца. На хроматограмме стандарта (BDDE) наблюдается два основных и еще сопутствующие пики (рис. 3). Хроматограммы двух образцов (рис. 4, 5) не содержат искоемых пиков, выявленных для стандарта. Таким образом, искомое вещество (BDDE) в образцах не было обнаружено.

Заключение

Тактика приготовления растворов и клинического применения данных препаратов базируется на их физико-химических параметрах.

В рамках настоящего исследования была поставлена цель определения основных физико-химических свойств препарата на основе полимолочной кислоты (PDLLA- 42.5 мг) и гиалуроната натрия (НА- 7.5 мг) и препарата на основе полимолочной кислоты (PDLLA-170мг) и гиалуроната натрия (НА-30мг). В работе решались следующие задачи: определение вязкости, pH растворов препаратов в контрольных точках 30 минут, 12 и 24 часа; а также определение размера, распределения и стабильности частиц и наличия BBDE.

Результат исследования вязкости растворов препаратов в контрольных точках 12 и 24 часа был сходным для препаратов. В контрольной точке 30 минут после разведения вязкость отличалась, так как это может быть связано с биодеградацией гиалуроновой кислоты в составе препарата PDLLA-170мг, поскольку ее содержание в двух препаратах отличается.

Значение Ph растворов препара-

та с PDLLA- 42.5 мг в контрольных точках 30 минут, 12 и 24 часа демонстрировало незначительное снижение, в то время как для раствора препарата PDLLA-170мг оставалось практически неизменным на все время эксперимента. При этом изменения показателя Ph для обоих растворов препаратов можно считать незначительными.

Размер частиц из растворов после дегидратации для препарата PDLLA-42.5 мг составлял от 20 мкм до 40 мкм, в то время как для частиц из растворов препарата PDLLA-170мг их размер варьировал от 40 мкм до 80 мкм.

Показатели распределения и стабильности частиц из растворов препарата PDLLA- 42.5 мг демонстрировали незначительные изменения с течением времени, в то время как для частиц из растворов препарата PDLLA-170мг данные параметры практически не менялись за время эксперимента. Для растворов обоих препаратов эти показатели не выходили за пределы заявленных.

Наличие BDDE в обоих препаратах подтверждено не было.

Данное исследование физико-химических характеристик препаратов на основе PDLLA и гиалуроната натрия имеет важное значение для понимания основных аспектов приготовления и практического применения.

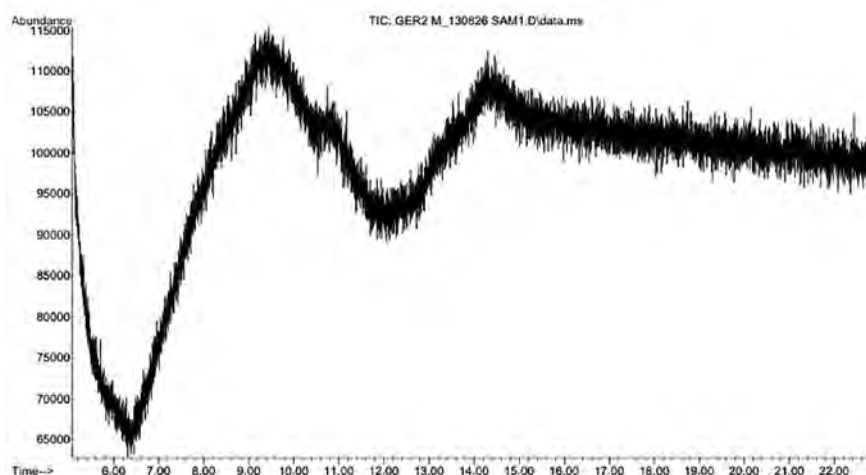


Рисунок 4. Хроматограмма раствора А

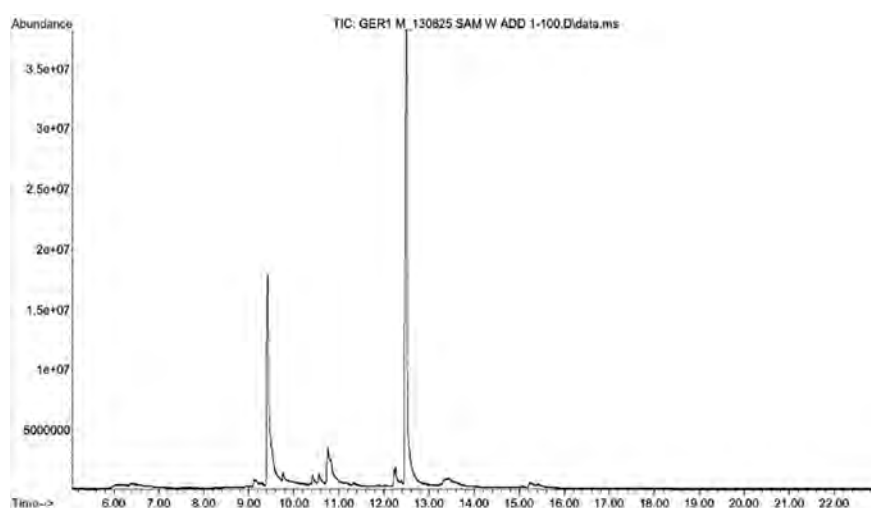


Рисунок 5. Хроматограмма раствора В

Список литературы / References

1. Жукова О. В., Круглова Л. С., Фриго Н. В. Способ эстетической коррекции инволютивных изменений кожи лица. Клиническая дерматология и венерология. 2018.-17(2). С. 114–117.
Zhukova O. V., Kruglova L. S., Frigo N. V. Method of aesthetic correction of involutional changes in the facial skin. Clinical dermatology and venereology. 2018.-17(2). P. 114–117. (In Russ.).
2. Alijotas-Reig, J. Late-onset immune-mediated adverse effects after poly-L-lactic acid injection in non-HIV patients: clinical findings and long-term follow-up / J. Alijotas-Reig, V. Garcia-Gimenez, M. Vilardell-Tarres // Dermatology. – 2009. – Vol. 219(4). – P. 303–308.
3. Van Wouwe, P.; Dusselier, M.; Vanleueuw, E.; Sels, B. Lactide synthesis and chirality control for polylactic acid production. ChemSusChem 2016, 9, 907–921.
4. Иконникова Е. В., Круглова Л. С., Голанова О. А. Возможные нежелательные явления при работе с наполнителями на основе полимолочной кислоты. Курортная медицина. 2022; (2): 54–58.
Ikonnikova E. V., Kruglova L. S., Golanova O. A. Possible adverse effects when working with fillers based on polylactic acid. Spa medicine. 2022; (2): 54–58. (In Russ.).
5. Hermann, J.L.; Hoffmann, R.K.; Ward, C.E.; Schulman, J.M.; Grekin, R. C. Biochemistry, physiology, and tissue interactions of contemporary biodegradable injectable dermal fillers. Dermatol. Surg. 2018, 44 (Suppl. S1), S19–S31.
6. Oh S, So SB, Kim G, Batsuh S, Song KH, Byun K. Poly-D, L-lactic acid stimulates angiogenesis and collagen synthesis in aging animal skin. Int J Mol Sci. 2023 Apr 28; 24 (9): 7986.
7. Lee KWA, Chan LKW, Lee AWK, Lee CH, Wong STH, Yi KH. Poly-d, Lactic Acid (PDLLA) Application in Dermatology: A Literature Review. Polymers (Basel). 2024 Sep 13; 16 (18): 2583. DOI: 10.3390/polym16182583. PMID: 39339047; PMCID: PMC 11434839

Статья поступила / Received 16.09.2025

Получена после рецензирования / Revised 19.09.2025

Принята в печать / Accepted 19.09.2025

Сведения об авторах

Ногеров Алим Русланович, к.м.н., доцент кафедры дерматовенерологии и косметологии¹, врач дерматовенеролог, косметолог^{1,2}.
E-mail: drnogerv@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8182-7293
Гутоп Екатерина Олеговна, к.м.н., врач дерматовенеролог, косметолог³.
E-mail: drgutop@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8986-7329

¹ Клиника косметологии и интегративной медицины Nogerov International Clinic, Москва, Россия

² ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия

³ Клиника АКТУАЛЬ, г. Ярославль, Россия

Автор для переписки: Ногеров Алим Русланович. E-mail: drnogerv@yandex.ru

About authors

Nogerv Alim R., PhD Med, associate professor at Dept of Dermatovenereology and Cosmetology¹, dermatovenereologist, cosmetologist^{1,2}.
E-mail: drnogerv@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-8182-7293
Gutop Ekaterina O., PhD Med, dermatovenereologist, cosmetologist³.
E-mail: drgutop@gmail.com. ORCID: 0000-0001-8986-7329

¹ Nogerov International Clinic, Cosmetology and Integrative Medicine, Moscow, Russia

² Central State Medical Academy of the Administrative Department of the President of the Russian Federation, Moscow, Russia

³ ACTUAL Clinic, Yaroslavl, Russia

Corresponding author: Nogerv Alim R. E-mail: drnogerv@yandex.ru

Для цитирования: Ногеров А. Р., Гутоп Е. О. Анализ физико-химических свойств препаратов на основе полимолочной кислоты, применяемых для инъекционного введения. Медицинский алфавит. 2025; (23): 91–95. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2025-23-91-95>

For citation: Nogerv A. R., Gutop E. O. Analysis of the physicochemical properties of polylactic acid-based preparations used for injection. Medical alphabet. 2025; (23): 91–95. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2025-23-91-95>