

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **24.04.2007**
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **04.02.2009**
(Věstník č. 5/2009)

(21) Číslo dokumentu:

2007-299

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

B82B	(2006.01)
B82B 3/00	(2006.01)
B82B 1/00	(2006.01)
C08B 37/08	(2006.01)
C08L 5/08	(2006.01)

(71) Přihlašovatel:

CPN spol. s r. o., Dolní Dobrouč, CZ

(72) Původce:

Knotková Kateřina, Choceň, CZ
Hrubá Jana, 07101 Michalovce, SK
Velebný Vladimír RNDr. CSc., Ústí nad Orlicí, CZ

(74) Zástupce:

KANIA, SEDLÁK, SMOLA Patentová a známková
kancelář, Ing. František Kania, Mendlovo nám. 1a, Brno,
60300

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Příprava nanovláken z polysacharidů a jejich
směsí s polyvinylalkoholem**

(57) Anotace:

Vynález se týká způsobu přípravy nanovláken a skeletů (scaffoldů) metodou elektrospinningu na bázi nanomateriálů připravených z polysacharidů nebo jejich směsí s polyvinylalkoholem ve vodném roztoku nebo roztoku voda/alkohol, volitelně za přítomnosti povrchově aktivní látky.

Příprava nanovláken z polysacharidů a jejich směsí s polyvinylalkoholem

Oblast techniky

Vynález se týká nanovláken a skeletů (scaffoldů) na bázi nanomateriálů připravených z polysacharidů a jejich fyzikálních směsí s polyvinylalkoholem.

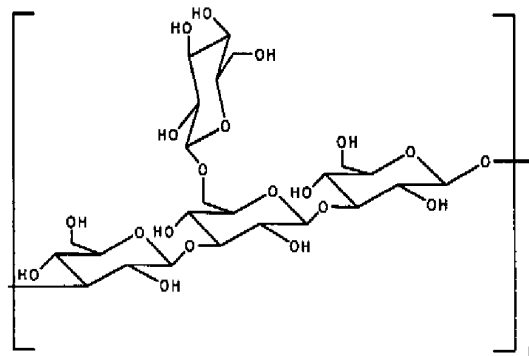
Dosavadní stav techniky

Polysacharidy jsou biopolymery složené z monosacharidů. Pozornost vědců je upřena na několik polysacharidů lišících se typem monosacharidu tvořícím hlavní řetězec, tudíž i chemickými a fyzikálními vlastnostmi.

Velkou skupinu polysacharidů tvoří $\beta(1,3)$ glukany složené pouze z molekul glukózy. Tento typ glukanu se vyskytuje v buněčných stěnách některých kvasinek, nižších a vyšších hub.

Mezi $\beta(1,3)$ glukany patří i neutrální polysacharid nazývaný schizophyllan (Obr.1), produkovaný plísní *Schizophyllum commune*. Jedná se o polysacharid, jehož hlavní řetězec je tvořen molekulami D-glukózy spojenými $\beta(1,3)$ glykosidickými vazbami, ke kterému jsou připojeny postranní řetězce pomocí $\beta(1,6)$ glykosidické vazby. Postranní řetězce jsou tvořeny jednou až dvěma molekulami glukózy. Molekulová hmotnost jednotlivých řetězců je řádově ve stovkách tisíc g/mol. Jednotlivé řetězce se v roztoku spojují tak, že vytvářejí velmi stabilní triple-helix, jehož molekulová hmotnost je v řádu 10^6 g/mol. Schizophyllan tvoří zcela transparentní velmi viskózní roztoky.

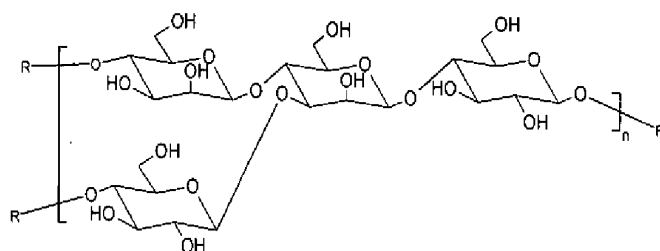
Schizophyllan je biologicky aktivní polysacharid, který je schopen aktivovat buňky imunitního systému po vazbě na specifické receptory.



Obr.1 Schizophyllan

Glukomannan je z velké většiny tvořen mannopyranózovými jednotkami vytvářejícími bohatě zesíťovanou strukturu. Základní skelet tvoří mannopyranózové jednotky vázané vazbou α -(1-6). Vedlejší řetězec je tvořen mannopyranózovými jednotkami navázanými na základní skelet vazbou α -(1-2). Na tomto zesíťovaném řetězci jsou víceméně náhodně umístěny glukopyranózové jednotky. Mannóza a glukóza jsou zastoupeny v poměru 8,4 : 1ⁱ (Obr.2).

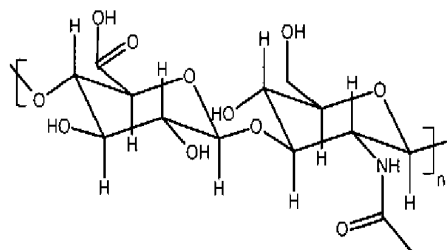
Glukomannan izolovaný z *Candida utilis* je rovněž biologicky aktivní polysacharid, který je schopen aktivovat imunitní buňky. Rovněž se ukázalo, že zvyšuje počet krevních buněk u pacientů podrobujících se radioterapii a je schopen aktivovat hematopoézu a chránit před potenciálními letálními dávkami záření.



Obr. 2 Glukomannan

Dalším biologicky významným polysacharidem patřícím do skupiny glykosaminoglykanů je kyselina hyaluronová. Základní jednotkou hyaluronanu je dimer složený ze dvou monosacharidů, a to D-glukuronové kyseliny a N-acethyl-D-glukosaminuⁱⁱ. Monosacharidy v základní jednotce jsou spojeny β (1,3) glykosidickou vazbou, dimery navzájem jsou svázány β (1,4) glykosidickou vazbou. Kyselina hyaluronová tvoří lineární řetězce s vysokou molekulovou hmotností od několika tisíc až po miliony g/mol (obr. 3).

Kyselina hyaluronová se nachází v synoviální tekutiněⁱⁱⁱ kloubu a mimobuněčné matrix vyšších živočichů, především v pojivových tkáních^{iv}. Jako aktivní nesulfátový glykosaminoglykan se hyaluronan váže na proteiny v mimobuněčné matrix a na povrch buněk, což hraje roli v regulaci celé řady buněčných procesů, v embryonálním vývoji^v, ve vývoji rakoviny^{vi} a při zánětech^{vii} a pod.



Obr. 3 Kyselina hyaluronová

Chemie nanovláken, tkanin, membrán a skeletů (scaffoldů) vyrobených z biodegradabilních a biokompatibilních látek vznikla z potřeby tkáňového inženýrství. Scaffoldy postavené na bázi nanovláken a tkaniny z vláken vyrobené by ideálně měly poskytnout 3-D kultivační podložku pro kultivaci příslušných buněk, díky svým mechanickým vlastnostem umožnit voperování takového scaffoldu do reparované tkáně, zabezpečit jeho inkorporování do této tkáně a potom postupně degradovat tak, aby po nich nezůstala žádná stopa.

Výroba nanovláken a nanotextilií z polysacharidů postavená na kombinaci elektrostatické síly a vanutí plynu (electrospinning) má hned několik výhod^{viii}. Jednou, a to dosti podstatnou, je i skutečnost, že se zmenšuje množství látek, které je nutné k výrobě scaffoldu v porovnání s klasickou metodou tvorby membrán.

Při přípravě nanovláken z biopolymerů metodou electrospinningu musí být zohledněno několik požadavků. Hlavní požadavky na roztok polymeru jsou: viskozita, povrchové napětí, koncentrace polymeru, jeho molekulová hmotnost a její distribuce. V prvních experimentech zmíněných v literatuře^{viii} je popsáno použití hyaluronové kyseliny o hmotnosti 3 MDa v roztoku 2 - 3 hmotn. %, vstřík probíhal rychlostí 30 - 50 $\mu\text{l}/\text{min}$ a vzduch foukal 30-150 SCFH (standartní kubická stopa za hodinu). Elektrické pole mělo napětí 30 - 45 kV. Vzdálenost mezi elektrodami se dá modifikovat – používána je často 9,5 cm. Jako rozpouštědla byly používány roztoky následujících látek: chloroform, THF, kyselina octová a mravenčí, ethanol, 2 propanol, dimethylformamid a dimethylacetamid a další. Podobně se dají zvláknit i další materiály jako např. poly(akrylonitril) 2 - 14 hmotn.% v DMF; poly(uretan) 1 - 15 hmotn.%, poly(glykolid-kolaktid) 10 - 40 hmotn.% v DMF, poly(kaprolaktam), poly(amid); kolagen; polypropylen; polyethylen; poly(vinyl fenol).

Nanofibrilární struktura definovaná sítí jednoho nebo více vláken obsahující jednu nebo více biomolekul a substrát, je předmětem patentu US 20050095695^{ix}. Přinejmenším jedna z biomolekul je lipid, monosacharid, polysacharid, aminokyselina, nukleotid, nukleová kyselina a hybridní molekuly těchto látek. Mezi lipidy se objevuje cholesterol; k cukrům patří celulóza, chitosan a hyaluronan. Kromě těchto látek nanovlákná obsahují další možné alkoholové, aldehydické, aminy, karboxy a sulfhydrylové skupiny.

Rozměr vzniklých nanovláken se pohybuje mezi 50 a 1000 nanometry. Polymerní materiály zahrnují estery, polyethylen a biodegradabilní a biokompatibilní alifatické polyestery jako ϵ -kaprolaktan, poly-laktid-ko-glykolid a jejich kopolymery. Vyvinutá vlákna nacházejí uplatnění v biologické aplikaci, ve které jsou obsaženy buněčné kultury, tkáňové kultury a aplikace tkáňového inženýrství. Electrospinning proces využívá elektrického pole k řízení vzniku a ukládání polymeru. Elektrický potenciál vytváří nábojovou nestabilitu, která ejektuje

polymer z hrotu ve tvaru jehly. Ke zvláknění byl používán polymer o koncentraci 1-15 hmotn.% v THF. Napětí na hrotu bylo 18 kV^{ix}.

Materiály složené z jednoho až tří polymerů v podobě nanovláken a dalších biomolekul připojených příčně-vazebnými elementy k vláknům (různé enzymy apod.) jsou chráněny US patentem^x. Nanovlákná obsahují tedy alespoň jeden polymer, nejlépe však dva. Tyto mohou být v poměru 1:20, 20:1, 10:1, 1:10, 1:5, 5:1, 1:4 a konečně 4:1. Mezi vhodné polymery rozpustné v organických roztocích patří: polyakrylonitril, polyamid, polyester, polystyren, polyvinylchlorid, deriváty celulózy. Vodě-rozpustné polymery jsou například polyakrylová kyselina, polyvinylalkohol, polyethylenoxid, polyanilin a další. Biomolekuly mohou být na vlákna navázány přímo nebo přes příčně vazebné elementy, a to před, v průběhu nebo po výrobě nanovláken. Mezi biomolekuly mimo jiné patří proteiny, polypeptidy, enzymy, hormony, antigeny, nukleové kyseliny, polysacharidy.

V určitém případě mohou být vlákna polymeru síťována, aby došlo k jejich zpevnění. Tímto postupem se mění i jejich rozpustnost ve vodě i v různých organických rozpouštědlech, v některých případech se stávají nerozpustnými. Mezi síťovací činidla patří isokyanáty a jejich deriváty.

Odkazy:

- i Chorvatovičová D. et al.; Mutation Reseach 1999, 444, 117.
- ii Cen L., Neoh K.G., Kang E.T.; Langmuir 2002, 18, 8633.
- iii Prestwich G.D.; www.glycoforum.gr.jp/science/hyaluronan/HA18/HA18E.html.
- iv Vercruysse K.P., Prestwich G.D.; Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. 1998, 15, 513.
- v Toole B.P.; Semin. Cell & Dev. Biol. 2001, 12, 79.
- vi Delpech B., Girard N., Bertrand P. et al.; J. Intern. Med. 1997, 242, 41.
- vii Gerdin B., Hallgren R.; J. Intern. Med. 1997, 242, 49.
- viii Chu B., Hsiao B.S., Fang D.; WO 2005033381.
- ix Shindler M.S: US 20050095695;
- x Hsieh Y.L; US 20040241436;

Podstata vynálezu

Podstata vynálezu spočívá ve vypracování způsobu přípravy vláken z polysacharidů, zejména hyaluronanu, schizophyllanu a glukomananu a jejich směsí s polyvinylalkoholem. Vlákná připravená z polysacharidů a jejich směsí s polyvinylalkoholem jsou rozpustná ve vodě. V případě vláken připravených z čistého polysacharidu jsou vlákna kompletně odbouratelná v organismu, v případě vláken vyrobených ze směsí polysacharidů a polyvinylalkoholu je polyvinylalkoholová část inertní vůči rozkladu enzymy. Takto připravené materiály jsou vhodné ke krytí ran. Výhodou přidavku polyvinylalkoholu je výrazné snížení spotřeby čistých polysacharidů.

Způsob přípravy vláken uvedený v tomto patentu dovoluje použít hyaluronan a další polysacharidy v široké škále molekulových hmotností a zároveň dovoluje velkou variabilitu koncentrací polysacharidů. Zvláknovací proces probíhá za laboratorní teploty a normálního tlaku z vodného prostředí.

Zvláknování probíhá v elektrostatickém poli, kdy je z roztoku elektrostatickou silou vytážen svazek vláken sbíraných na kolektoru pokrytém nosnou tkaninou. Toto uspořádání usnadňuje sběr vláken a zároveň tkanin a s vrstvou nanovláken může po sterilizaci sloužit již přímo jako krycí materiál. Tím, že celý proces probíhá z vody jako rozpouštědla, nevzniká zvýšený nárok na zařízení, na přípravu roztoků nebo bezpečnost práce.

Nanovlákná z čistých polysacharidů (hyaluronanu (10 000 – 3 500 000 g/mol), schizophyllanu (10 000-2 000 000 g/mol), glukomannanu (10 000-500 000 g/mol) a jiných) o různých molekulových hmotnostech jsou připravována z jejich vodných roztoků anebo ze směsí voda/alkohol s koncentracemi v rozmezí 1-10 hmotn.%, kde alkoholem je míněn metan-1-ol, etan-1-ol, propan-1-ol, propan-2-ol, butan-1-ol, butan-2-ol a 2-methylpropan-2-ol. K roztokům mohou a nemusí být přidány různé povrchově aktivní látky (koncentrace 1-100%) jako jsou dermálně akceptovatelné např. oktyl phenol ethoxylát (TRITON X 100), dodecyl sulfát sodný (SDS), bis-2-ethylhexylsulfojantarán sodný (SPOLION 8) a farmaceuticky akceptovatelné jako např. polyoxyethylen sorbitan monolaurát (TWEEN 20), polyoxyethylen sorbitan monooleát (TWEEN 80), glyceryl monostearát (IMWITOR 191), a další, pro snížení povrchového napětí roztoků polysacharidů. Poměr polysacharidu k povrchově aktivní látce se mění v rozmezí 10/1 až 10/0,02 polysacharid/povrchově aktivní látka. Roztoky jsou dostatečně dlouho různým způsobem homogenizovány. Při procesu je používáno napětí 10 – 60 kV.

Pro zvláknění směsí polyvinylalkoholu (60 000-120 000 g/mol) a polysacharidů (hyaluronanu, schizophyllanu, glukomannanu a jiných viz. výše) se připravují vodné roztoky polyvinylalkoholu o molekulové hmotnosti okolo 100 000 g/mol v rozmezí koncentrací 7-12

hmotn.%. Roztoky polysacharidů se připravují s různou molekulovou hmotností v koncentračním rozmezí 1-10 hmotn.%. Roztok polysacharidu se smíchá s roztokem polyvinylalkoholu v poměrech polysacharid/polyvinylalkohol 5/1 až 1/5. Směs roztoků se vhodným způsobem homogenizuje. Při zvláknování se používá napětí 10 – 60 kV.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1 Kyselina hyaluronová a povrchově aktivní látky

Připravily se vodné roztoky kyseliny hyaluronové (HA) o molekulové hmotnosti 1 690 000 g/mol a 310 000 g/mol o koncentracích 0,5; 1,0; 1,5 a 2 hmotn. %. Roztoky se homogenizovaly 90 minut. Připravily se roztoky o koncentracích 1 hmotn.% a 5 hmotn.% TWEENu 20 jako povrchově aktivní látky. Na Obr. 4A je fotografie z rastrovacího elektronového mikroskopu, na které je možné pozorovat silná vlákna nosné tkaniny s nanesenou sítí kyseliny hyaluronové zvýrazněnou kuličkami rovněž kyseliny hyaluronové.

Podobně vytvářejí síť i další látky jako např. TWEEN 80, Spolion 8, Flavol, Triton X-100 a TWEEN 20 v koncentrované formě. Fotografie z rastrovacího mikroskopu jsou zobrazeny na obr. 4 B,C, D a E.

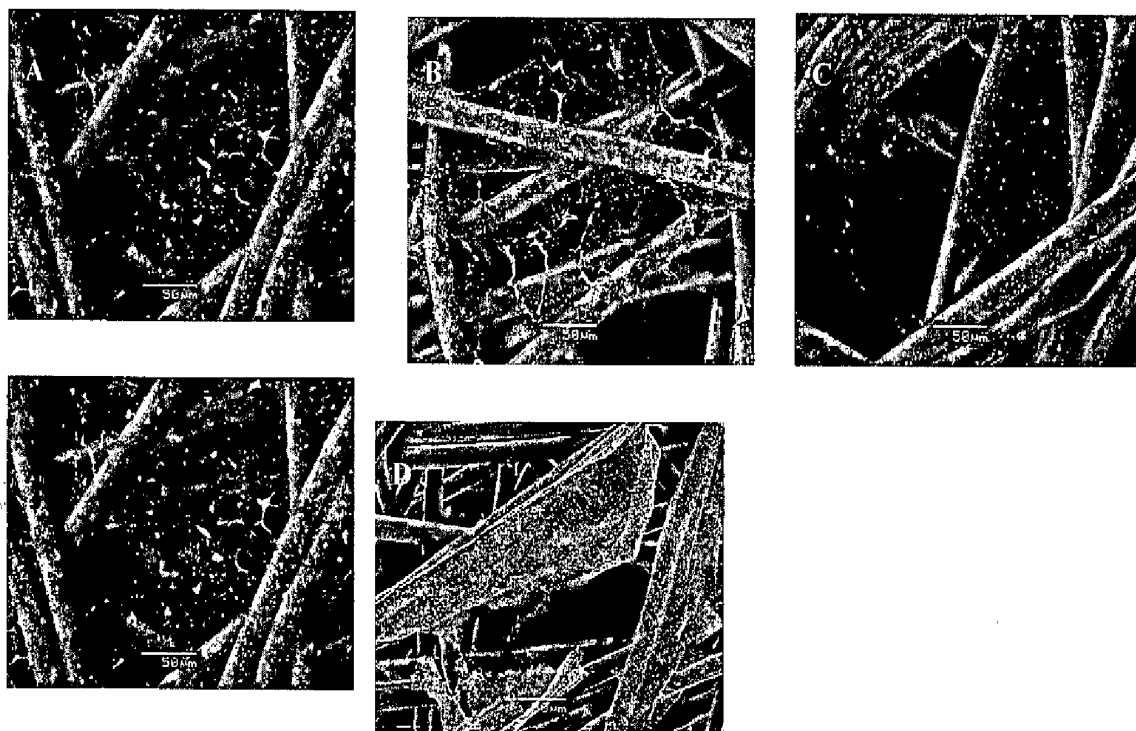


Obr. 4A SEM – 20 ml 1 hmotn.% kyselina hyaluronová (1,69 MDa) a 1 ml 5 hmotn.% TWEENu 20; **4B** SEM –5ml 1 hmotn.% kyselina hyaluronová (1,69 MDa) a 10 μ l SPOLION 8; **4C** SEM –5ml 1 hmotn.% kyselina hyaluronová (1,69 MDa) a 10 μ l TWEEN 80; **4D** SEM –5ml 1 hmotn.% kyselina hyaluronová (1,69 MDa) a 10 μ l Triton X-100; **4E** SEM –5ml 1 hmotn.% kyselina hyaluronová (1,69 MDa) a 20 μ l TWEEN 20

Příklad 2 Kyselina hyaluronová ve směsi etanol/voda a povrchově aktivní látky

Připravily se roztoky kyseliny hyaluronové (HA) o molekulové hmotnosti 1 690 000 g/mol a 310 000 g/mol o koncentracích 0,5; 1,0; 1,5 a 2 hmotn.% ve směsi etanol/voda (1/9). Roztoky se homogenizovaly 30 minut. Přidala se povrchově aktivní látka - TWEEN 20. Na Obr. 5A je fotografie z rastrovacího elektronového mikroskopu, na které je možné pozorovat silná vlákna nosné tkaniny s nanesenou sítí kyseliny hyaluronové zvýrazněnou kuličkami rovněž kyseliny hyaluronové.

Podobně vytvářejí síť i další látky jako např. TWEEN 80, Spolion 8, Flavol, Triton X-100 v koncentrované formě. Fotografie z rastrovacího mikroskopu jsou zobrazeny na obr. 5 B,C, D.

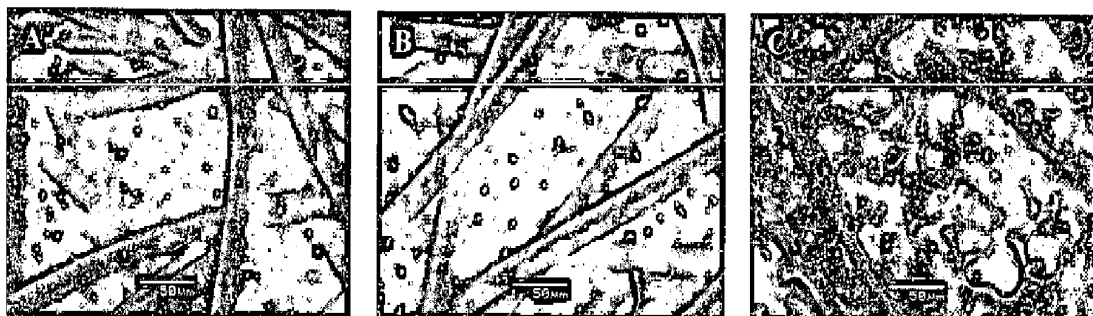


Obr. 5A SEM – 5ml 1 hmotn.% kyselina hyaluronová (1,69 MDa) v ethanol/voda a 10μl TWEEN 20; **5B** SEM – 5ml 1 hmotn.% kyselina hyaluronová (1,69 MDa) v ethanol/voda a 10μl SPOLION 8; **5C** SEM – 5ml 1 hmotn.% kyselina hyaluronová (1,69 MDa) v ethanol/voda a 10μl TWEEN 80; **5D** SEM – 5ml 1 hmotn.% kyselina hyaluronová (1,69 MDa) v ethanol/voda a 10μl Triton X-100;

Příklad 3 Kyselina hyaluronová ve směsi alkohol/voda a povrchově aktivní látky

Připravily se roztoky kyseliny hyaluronové (HA) o molekulové hmotnosti 1 690 000 g/mol a 310 000 g/mol o koncentracích 0,5; 1,0; 1,5 a 2 hmotn.% ve směsi alkohol/voda (1/9). Roztoky se homogenizovaly 90 minut. Přidala se povrchově aktivní látka - Triton X-100. Na Obr. 6A,B,C jsou fotografie z rastrovacího elektronového mikroskopu, na kterých je možné pozorovat silná vlákna nosné tkaniny s nanesenou sítí kyseliny hyaluronové zvýrazněnou kuličkami rovněž

kyseliny hyaluronové. Alkoholem je míněn např. metan-1-ol, etan-1-ol, propan-1-ol, propan-2-ol, butan-1-ol, butan-2-ol a 2-methylpropan-2-ol.



Obr. 6A SEM – 5ml 1 hmotn.% kyselina hyaluronová (1,69 MDa) v methanol/voda a 10µl Triton X-100; 6B SEM – 5ml 1 hmotn.% kyselina hyaluronová (1,69 MDa) v propan-2-ol/voda a 10µl Triton X-100; 8; 6C SEM – 5ml 1 hmotn.% kyselina hyaluronová (1,69 MDa) v butan-1-ol/voda a 10µl Triton X-100;

Příklad 4 Kyselina hyaluronová a polyvinylalkohol

Připravil se vodný roztok obsahující 1 a 3 hmotn.% kyseliny hyaluronové o molekulové hmotnosti 310 kDa. Roztok se homogenizoval 1 hodinu. Připravil se 9% roztok polyvinylalkoholu. Roztoky se smíchaly v poměru PVA/HA 5/1, 4/2, a 3/3, 30 minut se homogenizovaly a následně se zvláknily. Na obr. 7 je uvedena fotografie z rastrovacího elektronového mikroskopu, kde hustá síť nanovláken směsi PVA a HA pokrývá nosná vlákna. Hodnoty povrchového napětí a vodivosti, průběh vláknění je uveden v tabulce 1.

Tabulka 1 Směsi PVA/HA a výsledky experimentů

	PVA díly	HA díly	napětí kV	vzdálenost kolektoru mm	proces A/N	vousy A/N	dělení paprsku mm
1	5	1	41,8	110	A	N	20
2	4	2	45,6	110	A	N	15
3	3	3	50,4	110	A	N	15



Obr. 7 SEM – 3 hmotn.% kyselina hyaluronová (310 kDa) a 9 hmotn.% polyvinylalkohol 1/5

Příklad 5 Schizophyllan a polyvinylalkohol

Odpovídající množství schizophyllanu (SPG) o molekulové hmotnosti 100 kDa se rozpustilo v 20 ml demineralizované vody při laboratorní teplotě za vzniku 1 až 3 hmotn.% roztoku. Roztok se homogenizoval 1 hodinu. Připravil se 9 % roztok polyvinylalkoholu (PVA).

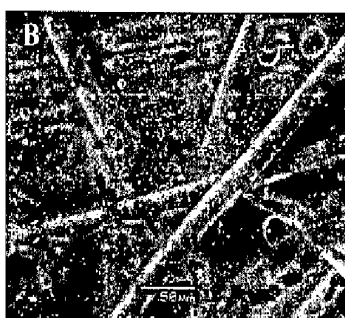
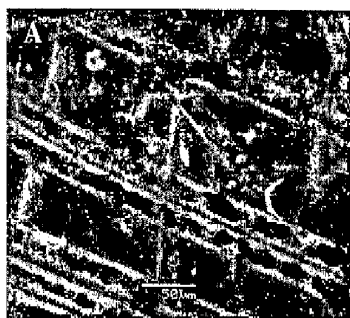
Roztoky se smíchaly v poměru PVA/SPG 5/1, 4/2 a 3/3, 15 minut se homogenizovaly a následně zvlákňovaly. Na obr. 8A a 8B jsou uvedeny fotografie z rastrovacího elektronového mikroskopu, na kterých kromě silných vláken nosné tkaniny jsou přítomna nanovláknna schizophyllanu a PVA. Hodnoty povrchového napětí a vodivosti, průběh vlákenní pro jednotlivé koncentrace je uveden v tabulkách 2 a 3.

Tabulka 2 Směsi PVA/SPG a výsledky experimentů, 1% SPG

	PVA díly	SPG díly	napětí kV	vzdálenost kolektoru mm	proces A/N	vousy A/N	dělení paprsku mm
1	5	1	27,4	110	A	N	20
2	4	2	27,4	110	A	N	10
3	3	3	24,2	110	A	N	10

Tabulka 3 Směsi PVA/SPG a výsledky experimentů, 3 % SPG

	PVA díly	SPG díly	napětí kV	vzdálenost kolektoru mm	proces A/N	vousy A/N	dělení paprsku mm
1	5	1	28,6	110	A	N	15
2	4	2	39,2	110	A	A	10
3	3	3	28,9	110	A	N	10



Obr. 8A SEM – 1 hmotn.% schizophyllan a 9 hmotn.% polyvinylalkohol 2/4; **8B** SEM – 3 hmotn.% schizophyllan a 9 hmotn.% polyvinylalkohol 3/3

Příklad 6 Glukomannan a polyvinylalkohol

Odpovídající množství glukomannanu (GM) o molekulové hmotnosti 100 kDa se rozpustilo v 20 ml demineralizované vody za vzniku 1 a 3 hmotn.% roztoku při laboratorní teplotě. Roztok se homogenizoval 1 hodinu. Připravil se 9 % roztok polyvinylalkoholu (PVA).

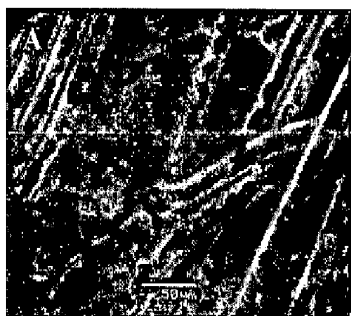
Roztoky se smíchaly v poměru PVA/GM 5/1, 4/2 a 3/3, 15 minut se homogenizovaly a následně zvlákňovaly. Na obr. 9A a 9B jsou uvedeny fotografie z rastrovacího elektronového mikroskopu, na kterých je možné pozorovat silná vlákna nosné tkaniny s nanesenou sítí glukomannanu a PVA. Hodnoty povrchového napětí a vodivosti, průběh vlákenní pro jednotlivé koncentrace jsou uvedeny v tabulkách 4 a 5.

Tabulka 4 Směsi PVA/GM výsledky experimentů, GM 1 %

	PVA díly	GM díly	napětí kV	vzdálenost kolektoru mm	proces A/N	vousy A/N	dělení paprsku mm
1	5	1	33,1	110	A	N	10
2	4	2	26,5	110	A	N	10
3	3	3	30,5	110	A	N	10

Tabulka 5 Směsi PVA/GM - výsledky experimentů, GM 3%

	PVA díly	GM díly	napětí kV	vzdálenost kolektoru mm	proces A/N	vousy A/N	dělení paprsku mm
1	5	1	23,7	110	A	N	10
2	4	2	26,0	110	A	N	10
3	3	3	28,6	110	A	N	5



Obr. 9A SEM – 1 hmotn.% glukomannan a 9 hmotn.% polyvinylalkohol 2/4; **9B** SEM – 3 hmotn.% glukomannan a 9 hmotn.% polyvinylalkohol 1/5

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob přípravy nanovláken z polysacharidů metodou elektrospinningu **vyznačující se tím**, že se k přípravě použijí polysacharidy v roztoku, který obsahuje vodu a/nebo alkohol a/nebo povrchově aktivní látky, nebo jejich směs s polyvinylalkoholem ve vodném roztoku.
2. Způsob přípravy nanovláken dle nároku 1, **vyznačující se tím**, že polysacharidem je kyselina hyaluronová nebo její farmakologicky přijatelná sůl o molekulové hmotnosti 10 000 – 3 500 000 g/mol, a/nebo schizophyllan o molekulové hmotnosti 10 000-2 000 000 g/mol a/nebo glukomannan 10 000-500 000 g/mol.
3. Způsob přípravy nanovláken dle nároku 1, **vyznačující se tím**, že polyvinylalkohol má molekulovou hmotnost 60 000-120 000 g/mol.
4. Způsob přípravy nanovláken dle nároku 1, **vyznačující se tím**, že povrchově aktivní látky jsou farmakologicky a dermálně přijatelné kationtové, aniontové a neionogenní tensidy.
5. Způsob přípravy dle nároku 1, **vyznačující se tím**, že polysacharidy jsou v roztoku v koncentračním rozmezí 1-10 hmotn. %.
6. Způsob přípravy dle nároku 1, **vyznačující se tím**, že alkohol je metan-1-ol, etan-1-ol, propan-1-ol, propan-2-ol, butan-1-ol, butan-2-ol a 2-methylpropan-2-ol.
7. Způsob přípravy dle nároku 1, **vyznačující se tím**, že polyvinylalkohol je v roztoku v koncentračním rozmezí 7-12 hmotn. %.
8. Způsob přípravy dle nároku 1, **vyznačující se tím**, že povrchově aktivní látky jsou v roztoku v koncentračním rozmezí 0,05 - 5 hmotn. %.
9. Způsob přípravy dle nároku 1, **vyznačující se tím**, že polyvinylalkohol ku polysacharidům jsou v obj. poměrech 5/1 - 1/5.

10. Způsob přípravy dle nároku 1, **vyznačující se tím**, že povrchové napětí při elektrospinningu je 10 – 60 kV, lépe však 20 – 50 kV.
11. Použití nanovláken z polysacharidů připravených způsobem podle nároku 1 pro terapeutické a farmaceutické účely.