

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(21) Číslo dokumentu:

2015-117

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

A61L 15/00 (2006.01)
A61L 15/32 (2006.01)
A61F 13/00 (2006.01)
A61K 9/70 (2006.01)
B29C 39/12 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLUVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **20.02.2015**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **31.08.2016**
(Věstník č. 35/2016)

- (71) Přihlašovatel:
Technická univerzita v Liberci, Ústav pro
nanomateriály, pokročilé technologie a inovace,
Liberec, I-Staré Město, CZ
- (72) Původce:
MUDr. Ladislav Dzan, Liberec XIV, CZ
MUDr. Silvie Krchová, Liberec, CZ
MUDr. Jiří Chvojka, Ph.D., Liberec, CZ
prof. RNDr. David Lukáš, CSc., Liberec, CZ
doc. Ing. Eva Kuželová Košťáková, Ph.D., Turnov,
CZ
Ing. Petr Mikeš, Ph.D., Mníšek u Liberce, CZ
Ing. Pavel Pokorný, Ph.D., Frýdlant v Čechách, CZ
Ing. Denisa Zálešáková, Jablonec nad Nisou,
Jablonecké Paseky, CZ
prof. RNDr. Oldřich Jirsák, CSc., Liberec 20, CZ
Bc. Filip Sanetník, Liberec 1, CZ
Ing. Věra Jenčová, Ph.D., Liberec 6, CZ
Ing. Ondřej Novák, Ph.D., Liberec, CZ
Mgr. Kateřina Pilařová, Ústí nad Labem, CZ
Mgr. Jana Horáková, Jablonné v Podještědí,
Markvartice, CZ

- (74) Zástupce:
RETROPATENT s.r.o., Mgr. Kamil Kolátor,
Dobiášova 1246/29, 460 06 Liberec VI

- (54) Název přihlášky vynálezu:
**Způsob výroby plošného útvaru z
biodegradabilních a biokompatibilních
nanovláken, především pro kryt kožních
ran, a zařízení k provádění tohoto způsobu**

- (57) Anotace:
Vynález se týká způsobu pro výrobu nanovláknenné vrstvy vyrobené z čistého polykaprolaktanu (PCL), při kterém se nanovláknena ukládají na nosnou netkanou textilii metodou stejnosměrného nebo střídavého elektrického zvlákňování (DC elektrospinning nebo AC elektrospinning). Nanovláknenná PCL struktura vyrobená elektrospinningem, odstředivým zvlákňováním, technologií melt-blow nebo kombinací těchto technologií

simuluje strukturu pars reticularis koria, a proto je ideální základnou pro reparaci a regeneraci tkání. PCL nanovláknenná vrstva je velmi flexibilní, a proto snadno přilne ke spodině rány. PCL nanovláknenné vrstvy vyrobené podle tohoto způsobu mají vysokou pórovitost a svou přístupností pro vzdušný kyslík usnadňují a urychlují hojení ran. Nanovláknenná struktura vyrobená podle tohoto způsobu znesnadňuje průchod buněk o velikosti bakterií, a tím působí jako antibakteriální bariéra.

Způsob výroby plošného útvaru z biodegradabilních a biokompatibilních nanovláken, především pro kryt kožních ran, a zařízení k provádění tohoto způsobu.

Oblast techniky

- 5 | Vynález se týká způsobu výroby nanovláknenné vrstvy vyrobené z čistých biodegradabilních a biokompatibilních polymerů (například polykaprolaktonu (PCL)), při kterém se nanovláknena ukládají na nosnou netkanou textilií metodou stejnosměrného nebo střídavého elektrického zvlákňování (DC elektrospinning nebo AC elektrospinning), odstředivého zvlákňování, meltblownu nebo pomocí
- 10 kombinace těchto technologií.

Vynález se dále týká zařízení k zajištění výroby plošného útvaru z biodegradabilních a biokompatibilních nanovláken, především pro kryt kožních ran

Dosavadní stav techniky

Jedním z revolučních materiálů moderní lékařské vědy jsou bezpochyby nanovláknena. Pro své specifické vlastnosti nacházejí uplatnění nejen v mnoha technických oborech, ale otevírají také nové možnosti v současné medicíně.

- 20 Nejpoužívanějším způsobem výroby nanovláken je tzv. elektrostatické zvlákňování (DC elektrospinning) účinkem zdrojů stejnosměrného vysokého napětí. Z polymerního roztoku nebo polymerní taveniny se pomocí elektrostatických sil utvářejí jemná vlákna, jejichž průměr se pohybuje v rozsahu nanometrů, tedy miliontinách milimetru. Díky tomu má nanovláknenný materiál velkou povrchovou plochu, je vysoce porézní a vyznačuje se extrémně nízkou
- 25 tuhostí.

Předmětem rozsáhlého výzkumu je uplatnění nanomateriálů v biomedicíně. Nanomateriály mohou být použity při výrobě umělých orgánů, kůže, krevních cév nebo hojících prostředků.

Odborníci se zabývají výrobou nanovláken z biokompatibilních materiálů, které svými vlastnostmi napodobují skutečné tkáně a organismus je schopen je po určité době vstřebat.

5 Testuje se uplatnění nanovláken jako matrice pro růst kmenových buněk a možnost inkorporovat do jejich vrstev různé bioaktivní materiály, např. růstové faktory nebo imunosupresiva. Nanovlákná vyrobená z biopolymerů mohou sloužit jako krycí materiál na rány obohacený o antibakteriální či jiné látky, které přispějí k rychlejšímu hojení rány.

10 Nicméně veškeré úpravy samotného kožního krytu (neboli scaffoldu) ať během jeho výroby nebo již hotového materiálu se zdají spíše nevýhodné. Zaprvé proces výroby značně prodlužují. Zároveň funkcionalizace scaffoldu jakýmkoliv biologickými látkami, ať se již jedná o výtažky z bylin nebo například osazení scaffoldu buňkami pacienta, znesnadňuje reprodukovatelnost výroby materiálu. Navíc tyto biologicky aktivní látky při výrobě nebo při dlouhodobém skladování
15 velmi často ztrácí svou aktivitu a jejich účinek se tudíž snižuje. Další překážkou, se kterou je nutné se vypořádat, je postupné řízené uvolňování léčivých látek z kožního krytu, alespoň do doby, než dojde k jeho výměně. Při osazení scaffoldu buňkami zase narážíme na problém, kdy je nutná biopsie pacientovy tkáně, kultivace jeho vlastních buněk in vitro a následné osazení scaffoldu. Toto je velmi
20 zdlouhavý a také nákladný proces.

Při funkcionalizaci scaffoldů jinými látkami, jako jsou například soli stříbra, o kterém je známo, že má antibakteriální účinky, je nutné velmi přesně odhadnout koncentraci dané látky. Při větších koncentracích je totiž stříbro toxické i pro buňky lidského těla a mohlo by dojít k odumírání pacientovy tkáně.

25 Výše uvedenými problémy a jejich řešením se zabývají různé patenty a odborné články, jako například:

1. J. Chong, T.T. Phan, I.J. Lim, Y.Z. Zhang, B.H. Bay, S. Ramakrishna, C.T. Lim, Evaluation of electrospun PCL/gelatin nanofibrous scaffold for wound

healing and layered dermal reconstitution, *Acta Biomaterialia* 3 (2007) 321–330.

- Současným požadavkem na nosiče vhodné pro tkáňové inženýrství je biologicky rozložitelný scaffold uvnitř něhož mohou fibroblasty migrovat a proliferovat. Taková
- 5 umělá dermální vrstva musí přilnout k ráně a integrovat se do ní, což není u řady umělých kožních náhrad splněno. Vysoká cena současných umělých kožních náhrad omezuje četnost jejich aplikací jak u lékařů, tak u pacientů. V článku je navržen cenově efektivní kompozit sestávající z nanovlákněné vrstvy vytvořené
- 10 metodou elektrického zvlákňování přímo na polyuretanový kryt (TegadermTM 3M Medical) pro dermální hojení kožních ran. Buněčná kultura je nasazena na obou stranách nanovlákněné vrstvy a testována na adhezi fibroblastů a jejich proliferaci. V práci se předpokládalo, že fibroblasty osídlené trojrozměrné nanovlákněné struktury překryté přes ránu podpoří tvorbu dermis a umožní následnou re-epitelizaci. Výsledky získané v této studii ukazují, že nanovlákněný scaffold z obou
- 15 stran osídlený fibroblasty vykazoval dobrou buněčnou adhezi, růst a proliferaci. Je to úspěšný první krok pro aplikaci nanovlákněných materiálů jako vhodných trojrozměrných nosičů pro pěstování autogenních populací fibroblastů. Poznatky získané studií poskytují velký potenciál pro léčbu kožních ran pomocí aplikace vrstevnatých vlákněných prostředků.
- 20 Nevýhody:
- Osazování in vitro před vlastní aplikací, která neumožňuje okamžité použití scaffoldu.
 - Nanovlákněné struktury předpokládají reepitelizaci rány in situ bez nutnosti předchozí kultivace
 - 25 • Ideálně osazování scaffoldu vlastními buňkami – biopsie, kultivace – zdlouhavé, finančně náročné
 - Pokud buňky cizí, nebezpečí odmítnutí scaffoldu

2. X. Liu, T. Lin, J. Fang, G. Yao, H. Zhao, M. Dodson, X. Wang, In vivo wound healing and antibacterial performance of electrospun nanofibre membranes, Journal of Biomedical Materials Research Part A 94A (2010) 499 – 508.

V této práci autoři posuzovali 5 materiálů jako možné kandidáty na krytí ran: poly(vinyl alkohu) (PVA), poly (ε-caprolacton) (PCL), polyakrylonitril (PAN), poly(vinyliden fluorid-co-hexafluoropropen) (PVdF-HFP) a PAN-polyuretan (PEU). Autoři poukazují na hlavní vlastnosti, které by měl ideální kryt rány mít a to, že by měl napomáhat hojení rány a minimalizovat velikost jizvy. Proto by takový scaffold měl splňovat požadavky na to, aby chránil ránu před infekcí, aby umožňoval přísun vzduchu k ráně a zároveň odváděl přebytečné tekutiny z rány. Tyto vlastnosti vlastnosti mají scaffoldy připravené elektrostatickým zvlákňováním. Vyznačují se vysokou porozitou, což napomáhá odvádění tekutiny z rány. Zároveň jsou tyto póry dostatečně malé na to, aby zamezily vnikání bakterií do rány. Autoři článku pro svoje experimenty využili in vivo testování krytí na potkanech. Z jejich výsledků je patrné, že všechny použité materiály napomáhají hojení rány. Hydrofilní scaffoldy podporují proces hojení lépe, než hydrofobní. Větší porozita materiálu a tudíž větší prodyšnost vedou k lepšímu hojení rány. Dalším výsledkem této studie také bylo, že scaffoldy z PCL a PVdF-HFP oproti ostatním materiálům výrazně lépe přilnuly k ráně. To by mohla být u těchto scaffoldů výhodou, jelikož by nedocházelo k odlupování scaffoldu během procesů hojení, což by mohlo celý proces urychlit.

Nevýhody:

- Preference hydrofilních nanovlákných materiálů, které nedostatečně adherují k ráně
- Smáčivost nanovlákných materiálů je obtížně měřitelná veličina

3. J. G. Merrel, S. W. McLaughlin, L. Tie, C. T. Laurencin, A. F. Chen, L. S. Nair, Curcumin loaded poly(ε-caprolacton) nanofibres: Diabetic wound dressing with antioxidant and anti-inflammatory properties, Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology 36(12) (2009) 1149 – 1156.

V rámci této studie se autoři zaměřili na funkcionalizaci PCL scaffoldu pomocí kurkuminu, fenolické sloučeniny, o které je známo, že má antioxidační a protizánětlivé účinky. Působí také proti vzniku infekcí. To dělá z kurkuminu výborného adepta pro hojení ran. Tato molekula má však velmi nízkou in vivo stabilitu. Proto se autoři tohoto článku rozhodli použít PCL scaffold jako nosič této sloučeniny. Zároveň průměry vláken scaffoldu jsou podobné průměru vláken kolagenu a napodobují tak extracelulární matrix a napomáhají tak lepší adhezi a proliferaci buněk na scaffoldu. Výhodou také je, že k uvolňování kurkuminu dochází pozvolna během několika dní, což zajišťuje trvalý a přísun této léčivé látky do rány během celého procesu hojení. Z jejich in vitro i in vivo experimentů vyplývá, že scaffold obohacený kurkuminem výrazně lépe napomáhá hojení rány oproti kontrolnímu PCL scaffoldu bez kurkuminu. Tato studie naznačuje další možný budoucí vývoj scaffoldů směrem ke zlepšení jejich už i tak výjimečných schopností hojit rány.

15 Nevýhody:

- Nutnost izolace jakýchkoliv bioaktivních molekul často náročná na čas i instrumentaci
- Izolované sloučeniny často nestabilní, případně ztrácí aktivitu po inkorporaci do scaffoldu
- Problém s řízeným postupným uvolňováním

4. G. Jin, M. P. Prabhakaran, D. Kai, S. K. Annamalai, K. D. Arunachalam, S. Ramakrishna, Tissue engineered plant extracts as nanofibrous wound dressing, *Biomaterials* 34 (2013) 724 – 734.

25 Autoři tohoto článku navazují na mnohaleté poznatky medicíny, kdy se využívají různé léčivé byliny a jejich extrakty nejen k léčbě různých onemocnění, ale také k hojení například popálenin a jiných kožních ran. V této studii si k testování vybrali rostliny *Indigofera aspalathoides* (PCL/IA), *Azadirachta indica* (PCL/AI), *Memecylon edule* (PCL/ME) a *Myristica andamanica* (PCL/MA). Jako scaffold si

zvolili nanovlákná PCL vyrobená elektrostatickým zvlákňováním. Z jejich studie vyplývá, že všechny použité scaffoldy jsou cytokompatibilní, netoxické a podporují proliferaci buněk. Všechny vyrobené scaffoldy vykazují lepší vlastnosti než samotné PCL, nejlepší výsledky však celkově vykazoval materiál PCL/ME. Toto je
 5 další studie poukazující na to, že budoucnost krytů ran bude ve funkcionalizaci nanovláknenných scaffoldů, což ještě podpoří jejich již tak vynikající mechanické vlastnosti, díky kterým se již v současné době výborně hodí pro využití jako krytů ran.

Nevýhody:

- 10 • Funkcionalizace PCL nanovláknenného scaffoldu není nezbytně nutná, scaffold nevyvolává zánětlivé reakce, bakteriální kontaminaci je zabráněno díky malým pórům nanovláknenné vrstvy
- Složitost systému, nanovláknenné PCL, samo o sobě vykazuje podporu hojení rány a navození regenerace poranění
- 15 • V případě potřeby je možné nanovláknenný PCL scaffold kombinovat s dalšími přípravky používanými pro podporu hojení ran

5. R. V. Madhavan, M. J. Rosemary, M. A. Nandkumar, K. V. Krishnan, L. K. Krishnan, Silver nanoparticle impregnated poly (ϵ -caprolacton) scaffolds:
 20 Optimization of antimicrobial and nontoxic concentrations, Tissue Engineering Part A 17 (2011), 439 – 449.

V této studii se autoři zaměřili na výrobu PCL scaffoldu s příměsí nanočástic stříbra. Stříbrné nanočástice mají vynikající antimikrobiální účinky proti širokému spektru mikroorganismů i při nízkých koncentracích například oproti antibiotikům,
 25 které často mají relativně úzkou specifitu. Navíc proti antibiotikům si mikroorganismy umí velice účinně získat rezistenci. Stříbrné nanočástice působí jak proti Gram pozitivním, tak Gram negativním bakteriím, virům a plísním. Navíc tyto částice vykazují i protizánětlivé účinky při hojení diabetických i chronických ran a popálenin. Je ovšem důležité nelézt optimální koncentraci, protože vysoké

koncentrace stříbra mohou být toxické pro pacientovu tkáň. Tento článek popisuje další možné modifikace tkáňových nosičů, tentokrát anorganickými sloučeninami, které především vykazují antimikrobiální aktivitu, zamezují vzniku infekce, čímž napomáhají efektivnějšímu hojení.

5 Nevýhody:

- Použití nanočástic stříbra, které mohou být toxické
- Zabrana kontaminace je zajištěna malými póry v nanovlákně, která zabrání průniku bakterií a jiných mikrobiálních agens

10 Degradace PCL:

6. Hongfan Sun, Lin Mei, Cunxian Song, Xiumin Cui, Pengyan Wang, The in vivo degradation, absorption and excretion of PCL-based implant, Biomaterials 27 (2006) 1735–1740.

15

V této práci byla studována in vivo degradace poly(e-kaprolaktonu) (PCL). Studie byla prováděna po dobu 3 let na laboratorních potkanech. Distribuce, vstřebávání a vylučování PCL byly sledovány pomocí radioaktivního značení PCL Tritiem. Výsledky ukázaly, že kapsle z PCL s počáteční molekulovou hmotností (MW)

20

66 000 si zachovala svoji formu během implantace po dobu 2 let. Během 30 měsíců došlo k snížení molekulové hmotnosti PCL na hodnotu (Mw 8000). Molekulová hmotnost PCL se snižovala s časem podle lineárního vztahu mezi $\log(Mw)$ a časem. Tritiem značené PCL (molekulová hmotnost 3000) ve formě podkožních implantátů u potkanů byly testovány na vstřebávání a vylučování.

25

Radioaktivní stopovací látky byly poprvé zjištěny v krevní plazmě potkanů 15 dnů po implantaci. Současně radioaktivní byly radioaktivně značené látky extrahovány z výkalů a moči. Celkem 92% implantovaného PCL a produktů jeho rozpadu bylo vyloučeno cestou výkalů a moči 135 dnů po implantaci. V té době radioaktivita plazmy klesla na úroveň pozadí. Radioaktivita v orgánech potkanů bylo blízko

hodnot úrovně pozadí. To potvrzuje, že materiál PCL a produkty jeho rozkladu se neakumulují v tělesné tkáni pokusných zvířat. Naopak jejich kumulace v tkáních byla pokusem zcela vyloučena.

5 Nevýhody:

- V článku byla zkoumána biodegradabilita PCL kapslí, nikoliv PCL vláken nebo nano-vláken.
- PCL materiál zde nebyl použit pro studium hojení kožních poranění.

- 10 7. N. Bolgen, Y.Z. Menciloglu, K. Acatay, I. Vargel, E. Piskin, In vitro and in vivo degradation of non-woven materials made of poly(ϵ -caprolactone) nanofibers prepared by electrospinning under different conditions, J Biomater Sci Polymer Edn 16 (2005) 1537-1555.

Práce výše zmíněných autorů byla zaměřena na studium degradace nanovláknenné vrstvy z polykaprolaktonu v podmínkách in vitro a in vivo. Bylo zjištěno, že rychlost degradace závisí na průměru vláken, slabší vlákna degradují rychleji díky větší plošné hmotnosti. Degradace v podmínkách in vitro byla testována po dobu 6 měsíců. Degradace probíhala především mechanismem hydrolýzy. Po 6 měsících došlo ke snížení molekulové hmotnosti polykaprolaktonu a ke zhoršení mechanických vlastností (pokles pevnosti v tahu, Youngova modulu a prodloužení). Pokusy v in vivo podmínkách byly prováděny na laboratorních potkanech subkutánní implantací po dobu 90 dnů. Doba degradace byla rychlejší v in vivo podmínkách díky enzymatické degradaci, která je mimo hydrolýzy dalším mechanismem degradace polykaprolaktonu.

25 Nevýhody:

Degradace PCL byla sledována po subkutánní implantaci, PCL pro kryty ran může degradovat odlišnou rychlostí díky přítomnosti jiných enzymů, jinému pH v místě rány apod.

Dále uvádíme jako stav techniky patent z oblasti „Nanovláknenné kryty ran“:

US 20130150763 A1

Electro spun nanofibrous wound dressing and a method of synthesizing the same

- 5 Tento patent popisuje 3 vrstvou nanovláknennou vrstvu používanou pro kryty ran. Vnější vrstva je hydrofilní a má podpůrnou funkci. Střední vrstva je tvořená ze zesíťovaného genipinu a obsahuje extrakt *Melilotus officinalis*. Vnitřní vrstva je tvořená nesíťovaným chitosanem. Do vrstev mohou být přidávána různá aditiva, která ovlivňují rychlost uvolňování bylinného extraktu.
- 10 Nevýhody:
- Hydrofilní vrstvy neumožňují dobrou adhezi k ráně
 - Síťování polymeru ve střední vrstvě musí být plně kontrolováno, uvolňování léčivých látek přesně řízeno

15 **Podstata vynálezu**

Cílem tohoto řešení by mělo být zajištění jednoduchého úložného útvaru z biokompatibilních polymerů především pro krytí kožních ran.

- Pomocí technologie elektrického zvlákňování, odstředivého zvlákňování, meltblownu a kombinací těchto technologií je možné vytvořit nanovláknenný
- 20 materiál, který vykazuje vlastnosti netkané textilie. Jedinečností tohoto materiálu je průměr vláken, tedy nano-vláknenného materiálu, který je použit pro vytvoření materiálu kožního krytu. Výhodou je struktura vyrobeného materiálu, kdy kožní kryt působí současně jako bariera proti působení bakterií a zároveň jako polopropustná membrána pro průnik kyslíku a odvod nežádoucích látek. V současnosti se
- 25 takovéto jednoduché membrány nevyužívají jako kožní kryty. Výhodou je zde patentovaný způsob výroby nanovláknenného krytu bez dodatečného přídavku léčiva, který je možno bez problému přidat ex post. Výhodou je využití

biokompatibilního a biodegradabilního polymerního materiálu pro krytí kožních defektů.

Další výhodou nanovláknenné vrstvy z polycaprolaktonu vyrobené podle tohoto vynálezu, je dosažení stejných vlastností vrstev nanovláken díky zachování
5 molekulové hmotnosti použitého polymeru, což u biologických polymerů není možné. Tudíž při dodržení výrobních podmínek můžeme zaručit, že vyrobený materiál bude mít vždy stejné vlastnosti. Zároveň výroba nanovláknenného PCL pomocí elektrostatického zvlákňování je na průmyslové úrovni, tudíž je možné zajistit vysokou produkci kusů ran za přijatelnou cenu. Díky tomu, že scaffold není
10 ničím funkcionalizovaný, je jej tudíž možné sterilizovat studeným etylenoxidem, aniž by to ovlivnilo jeho funkci. To je schválený proces sterilizace materiálů v medicíně. Vyrobený materiál je snadno aplikovatelný a má léčivé účinky především díky své primární struktuře. Svým uspořádáním napodobuje vlákna kolagenu v extracelulární matrix, což napomáhá adhezi a proliferaci pacientových
15 buněk na scaffoldu a tím dochází k uzavírání rány. Zároveň díky své vysoké porositě umožňuje difundaci plynů mezi ránou a okolím, přísunu kyslíku, což opět příznivě ovlivňuje vývoj hojení rány. Díky vysoké porositě navíc dochází k odtoku přebytečných tekutin z rány. Tyto póry scaffoldu jsou ovšem natolik malé, že zamezují průniku bakterií. To znamená, že námi vyrobený scaffold působí zároveň
20 jako antibakteriální bariéra. Velkou výhodou je, že jej lze kombinovat s dalšími běžně dostupnými léčivy na podporu hojení rány, jako jsou lokální antibiotika, antiseptika a podobné. Není tudíž nutné takovýto scaffold dále upravovat a funkcionalizovat.

Aplikace je rovněž nová v tom, že takový materiál na trhu není a veškeré rešerše,
25 které byly provedeny hovoří jenom o materiálech z nanovláken, které navíc byly dotovány biologicky aktivní látkou (např. s bakterocidním účinkem)

Zařízení pro výrobu plošného vláknenného útvaru obsahujícího polymerní nanovlákna podle tohoto vynálezu sestává z dopravníkového pásu na němž je umístěna netkaná textilie sloužící jako nosič vláknenného útvaru podle tohoto

vynálezu, který je vytvářen dvěma zdroji - zvlákňující elektrodou napájenou střídavým napětím a metodou odstředivého zvlánování, kdy je tímto postupem vytvořena na povrchu netkané textilie vrstva z biodegradabilních a biokompatibilních polymerů podle tohoto vynálezu.

- 5 Tento typ krytu kožních defektů má následující výhody: V mezidobí léčení defektu, kdy nejsou k dispozici definitivní výsledky, je často pod standardním dočasným krytím nastartován proces hojení, který je následně narušen při jeho snímání před plánovaným definitivním řešením rány některou z plastických technik. Pro pacienty tento postup znamená stresovou zátěž a proces hojení začíná opět od začátku.
- 10 Přiložení nanovláknenných scaffoldů, vyrobených podle tohoto způsobu, po primární excizi bez uzavěru rány se v těchto případech jeví jako šetrnější a příznivější.

- Nanovláknenná PCL struktura vyrobená elektrospinningem je velice podobná pars reticularis koria (lat. hlubší vrstva škáry), a proto je ideální k využití jako základny pro reparaci a regeneraci tkání. Další výhodou je, že nanovláknna jsou extrémně
- 15 tenká. V důsledku toho jsou velmi flexibilní (tj. vykazují extrémně nízké hodnoty ohybového modulu). V důsledku toho tenké vrstvy z nich vyrobené snadno přilnou ke spodině rány.

- PCL nanovláknenné vrstvy vyrobené podle tohoto způsobu mají vysokou pórovitost a svou přístupností pro vzdušný kyslík usnadňují a urychlují hojení ran. Velkým
- 20 pozitivem je také to, že tyto nanovláknenné struktury znesnadňují průchod buněk o velikosti bakterií, a tím působí jako antibakteriální bariéra.

Přehled obrázků na výkrese

- Obr. 1 : Vlákenný materiál vyrobený technologií elektrostatického zvlákňování z polykaprolaktonu připravovaného v příkladu 1 ve dvou zvětšeních dle měřítka
- 25 v liště snímku snímané mikroskopem Phenom FEI.

Obr. 2: Vlákenný materiál vyrobený technologií elektrostatického zvlákňování z polykaprolaktonu připravovaného v příkladu 2 ve dvou zvětšeních dle měřítka v liště snímku snímané mikroskopem Tescan Vega.

5 Obr. 3: Vlákenný materiál vyrobený technologií odstředivého zvlákňování z roztoku polykaprolaktonu připravovaného v příkladu 3 ve dvou zvětšeních dle měřítka v liště snímku snímané mikroskopem Tescan Vega.

Obr. 4: Vlákenný materiál vyrobený technologií odstředivého zvlákňování z taveniny polykaprolaktonu připravovaného v příkladu 4 ve dvou zvětšeních dle měřítka v liště snímku snímané mikroskopem Tescan Vega.

10 Obr. 5: Vlákenný materiál vyrobený kombinací technologií meltblown a elektrostatické zvlákňování z polykaprolaktonu připravovaného v příkladu 5 ve dvou zvětšeních dle měřítka v liště snímku snímané mikroskopem Tescan Vega.

Obr. 6: Schéma zařízení pro výrobu plošného vlákenného útvaru obsahujícího polymerní nanovlákná.

15 Snímky vlákenných materiálů byly provedeny na mikroskopu Tescan Vega 3SB Easy Probe a Phenom FEI. Urychlovací napětí použité na mikroskopu Phenom FEI bylo 5kV, tlak v komoře: vysoké vakuum, zobrazovací režim: sekundární elektrony. Urychlovací napětí použité na mikroskopu Tescan Vega 3SB Easy Probe bylo 20 kV a 30 kV, tlak v komoře: vysoké vacuum, zobrazovací režim: sekundární
20 elektrony, pracovní vzdálenost: WD od 13 do 18 mm.

Vlákenná vrstva byla nalepena uhlíkovou oboustranně lepící páskou na kovový terčík a následně naprášena zlatem. Vrstva zlata navzorku: cca 7nm, naprašující stroj: Q150R (Quorum Technologies, UK).

K měření průměrů vláken ze snímků vytvořených pomocí rastrovacích
25 elektronových mikroskopů byl využit software NIS ELEMENTS (LIM s.r.o., Česká Republika).

Příklady uskutečnění vynálezu

- Příklad 1. Příprava vrstev z polykaprolaktonu pomocí elektrostatického zvlákňování
- Polykaprolaton (Poly- ϵ -caprolactone (PCL; Mw 45,000; Sigma Aldrich) byl rozpuštěn ve směsi chloroform (Penta)/ etanol (Penta) v hmotnostním poměru 9:1.
- 5 Polymeru v roztoku bylo 16hm%. Takto připravený roztok byl umístěn na 12 hodin na magnetické míchadlo za laboratorních podmínek. Dále byl roztok elektrostaticky zvlákněn na zařízení Nanospider NS 4S1000U (Elmarco, Česká republika) a to se strunou jako zvlákňovací elektrodou. Zvlákňovací elektroda byla na +30kV, kolektor, pod nímž prochází podkladová textilie (spunbond), byl nabíjen na -10kV.
- 10 Odtahová rychlost podkladové textilie byla v tomto příkladu 15mm/min. Výsledná elektrostaticky zvlákněná vrstva měla plošnou hmotnost 3g/m². Průměry vláken se pohybují u nanovláken okolo střední hodnoty 239±94 nm, zatímco mikrovlákná mají střední hodnotu 3664±731 nm.
- 15 Příklad 2: Příprava vrstev z polykaprolaktonu pomocí elektrostatického zvlákňování
- Polykaprolaton (Poly- ϵ -caprolactone (PCL; Mw 45,000; Sigma Aldrich) byl rozpuštěn ve směsi chloroform (Penta)/ etanol (Penta)/ kyselina octová (Penta) v hmotnostním poměru 8:1:1. Polymeru v roztoku bylo 16hm%. Takto připravený roztok byl umístěn na 12 hodin na magnetické míchadlo za laboratorních
- 20 podmínek. Dále byl roztok elektrostaticky zvlákněn na zařízení Nanospider NS 4S1000U (Elmarco, Česká republika) a to se strunovým válečkem jako zvlákňovací elektrodou. Zvlákňovací elektroda byla na +30kV, kolektor, pod nímž prochází podkladová textilie (spunbond), byl nabíjen na -10kV. Odtahová rychlost podkladové textilie byla v tomto příkladu 15mm/min. Výsledná elektrostaticky
- 25 zvlákněná vrstva měla plošnou hmotnost 4,6 g/m². Průměry vláken se pohybují u nanovláken okolo střední hodnoty 239±94 nm, zastoupení mikrovláken bylo 5,3%.

Příklad 3. Příprava vrstvy z polykaprolaktonu pomocí odstředivého zvlákňování z roztoku

Polykaprolaton (Poly- ϵ -caprolactone (PCL; Mw 80,000; Sigma Aldrich) byl rozpuštěn ve směsi chloroform (Penta)/ etanol (Penta) v hmotnostním poměru 9:1. Polymeru v roztoku bylo 12hm%. Takto připravený roztok byl umístěn na 12 hodin na magnetické míchadlo za laboratorních podmínek. Dále byl roztok odstředivě zvlákňován pomocí zařízení Fiber Engine 1.1 (FibeRio Technology Corporation, USA). Otáčky zvlákňovacích spinneret byly 11000 otáček za minutu. Výsledná plošná hmotnost vrstvy byla 2,8g/m². Střední hodnota průměrů vláken byla 942±347nm, zastoupení mikrovláken bylo 38%.

Příklad 4. Příprava vrstvy z polykaprolaktonu pomocí odstředivého zvlákňování z taveniny

Polykaprolaton (Poly- ϵ -caprolactone (PCL; Mw 45,000; Sigma Aldrich) byl odstředivě zvlákňován pomocí průmyslového zařízení na výrobu cukrové vaty s otáčkami zvlákňovací jednotky 3500 otáček za minutu a teplotou 90°C. Vrstva byla zachytávána na sérii tyčových kolektorů s výškou 25 cm umístěné ve vzdálenosti 50 cm od středu zvlákňovací jednotky. Výsledná plošná hmotnost vrstvy byla 7 g/m². Střední hodnota průměrů vláken byla 1552±847m, zastoupení mikrovláken bylo 49%.

Příklad 5. Příprava vrstvy z polykaprolaktonu pomocí kombinace technologií meltblown a elektrostatické zvlákňování

Poly- ϵ -caprolactone (PCL; Mw 45,000; Sigma Aldrich), chloroform (Penta), etanol (Et-OH; Penta) byly použity pro výrobu vláknenných materiálů. Roztok 16hm% PCL ve směsi chloroform/etanol (9:1 hmotnostně) byl připraven pro elektrostatické zvlákňování. Zařízení na výrobu jsou laboratorní zařízení meltblown (laboratory equipment J&M Laboratories, USA) a zařízení na elektrostatické bezjehlové

- zvlákňování s využitím strunového válečku rotujícího ve vaničce s polymerním roztokem (princip technologie Nanospider™) jako zvlákňovací elektrody. Šroub extrudéru meltblowu rotoval 40 otáček za minutu, což znamená 100g polymeru za hodinu. Rychlost vzduchu ve vzdálenosti 20 cm od zvlákňovací trysky byla 20 ms^{-1} .
- 5 Délka zvlákňovací trysky byla 15 cm. Otáčení zvlákňovací elektrody u elektrostatického zvlákňování bylo 50 otáček za minutu s průměrem válečku 30 mm a délkou 15 cm. Váleček byl nabíjen zdrojem vysokého napětí na +35kV a kolektor byl nabíjen na -20kV. Okolní teplota a vlhkost byly 23°C; 45%RH. Finální plošná hmotnost vyrobeného materiálu byla 15 g/m^2 , střední hodnota průměru
- 10 elektrostaticky zvlákněných vláken byla $732 \pm 292 \text{ nm}$, střední hodnota vláken vyrobených technologií meltblown byla $6,5 \pm 4,4 \mu\text{m}$. Zastoupení nanovláken (vláken s průměrem pod $1 \mu\text{m}$) bylo objemově 1%, početně pak 56% v celém materiálu.

- Zařízení pro výrobu plošného útvaru z biodegradabilních a biokompatibilních nanovláken, především pro kryt kožních ran sestává z nejméně dvou zdrojů pro
- 15 generování nanovláken, a to ze zvlákňovací elektrody 1 napájené střídavým napětím a zařízením 4 pro tvorbu nanovláken 3 a 5 metodou odstředivého zvlákňování, kdy je vytvořena vrstva 7 z nanovláken 3 a 5 na povrchu nosné netkané textilie 6 která je unášena dopravníkovým pásem 1.

20 Průmyslová využitelnost

- Obvazový materiál (kryt ran) z polykaprolaktonových (PCL) nanovláken otvírá celou řadu nových možností v souvislosti s rychlým vývojem věd o nano-materiálech a nanotechnologie. Jednou z aplikací je výroba krytů kožních ran v podobě tenké nanovlákněné netkané textilie, která svými vlastnostmi podporuje
- 25 epitelizaci a hojení rány.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob výroby plošného útvaru z biodegradabilních a biokompatibilních
5 nanovláken, především pro kryt kožních ran, a zařízení k provádění tohoto
způsobu, **vyznačující se tím, že** je vyroben biokompatibilního nebo
biodegradabilního polymeru, kyseliny polyglykolové (PGA), kyseliny polymléčné
(PLA, PLLA, PLDA), polyvinylalkoholu (PVA), kolagenu, chitosanu, fibroinu a
včetně jejich kopolymerů a směsí metodami elektrického zvlákňování,
10 odstředivého zvlákňování, meltblownu a kombinací těchto technologií, ze všech
těchto materiálů : polykaprolakton (PCL), přičemž výsledný materiál je sterilizovaný
etylenoxidem.

2. Způsob výroby plošného útvaru z biodegradabilních a biokompatibilních
nanovláken, především pro kryt kožních ran, a zařízení k provádění tohoto
15 způsobu podle bodu 1, **vyznačující se tím, že**, tenká nanovláčenná vrstva se
ukládá na povrch nosné textilie metodou stejnosměrného zvlákňování
z polymerního roztoku nebo z taveniny.

3. Způsob výroby plošného útvaru z biodegradabilních a biokompatibilních
nanovláken, především pro kryt kožních ran, a zařízení k provádění tohoto
20 způsobu podle předchozích bodů, **vyznačující se tím, že**, tenká nanovláčenná
vrstva se ukládá na povrch nosné textilie metodou meltblown.

4. Způsob výroby plošného útvaru z biodegradabilních a biokompatibilních
nanovláken, především pro kryt kožních ran, a zařízení k provádění tohoto
způsobu, **vyznačující se tím, že** zařízení pro výrobu plošného útvaru
25 z biodegradabilních a biokompatibilních nanovláken, především pro kryt kožních
ran sestává z nejméně dvou zdrojů pro generování nanovláken, a to ze
zvlákňovací elektrody (2) napájené střídavým napětím a zařízením (4) pro tvorbu
nanovláken metodou odstředivého zvlákňování kdy je vytvořena vrstva (7)

20.02.15

Stránka ~~17~~ z 21

— 17 —

z nanovláken (3) a (5) na povrchu nosné netkané textilie (6) která je unášena
dopravníkovým pásem (1)

20.02.15

Stránka 18 z 21

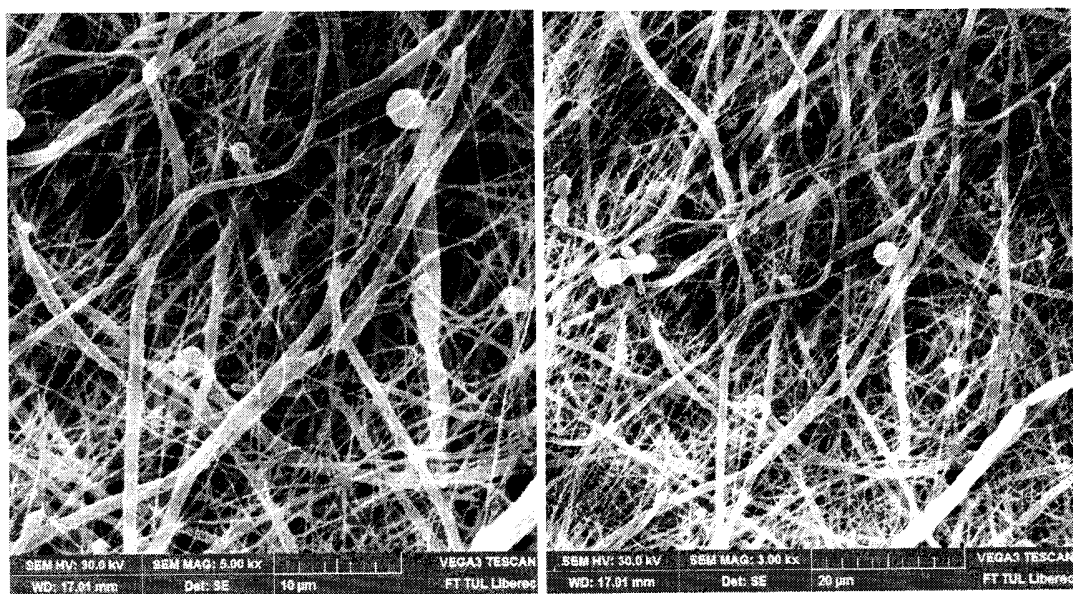
2015-122

713

Obr. 1

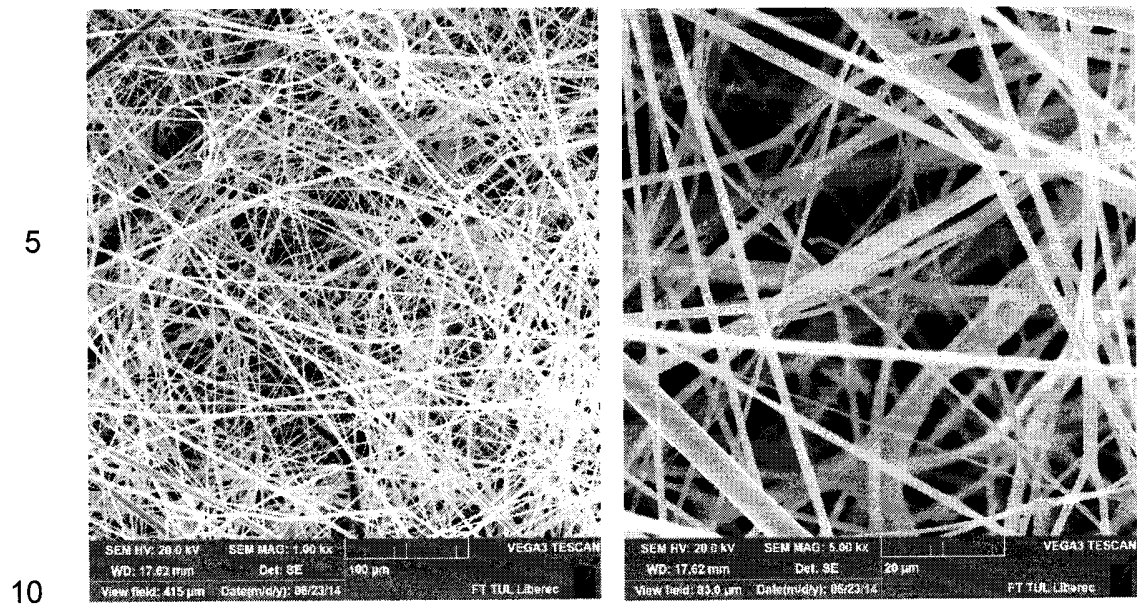


Obr. 2



2/2

Obr. 3



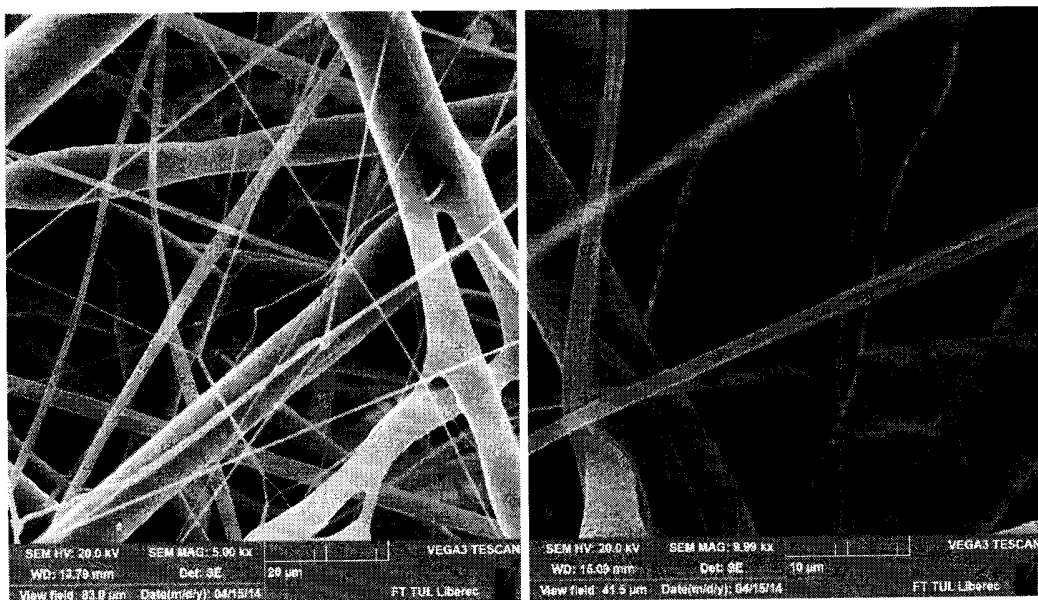
Obr. 4



20.02.15

3/2 Stránka 20 z 21

Obr. 5



5 Obr. 6:

