

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL** (11) **237186**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **413443**

(51) Int. Cl.

A61L 15/18 (2006.01)

A61L 15/32 (2006.01)

A61L 15/60 (2006.01)

(22) Data zgłoszenia: **06.08.2015**

(54)

Sposób wytwarzania hydrożelu i hydrożel

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

13.02.2017 BUP 04/17

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

22.03.2021 WUP 06/21

(73) Uprawniony z patentu:

**POLITECHNIKA KRAKOWSKA
IM. TADEUSZA KOŚCIUSZKI, Kraków, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**BOŻENA TYLISZCZAK, Kęty, PL
AGNIESZKA SOBCZAK-KUPIEC, Myślenice, PL
KATARZYNA BIALIK-WĄS, Wadowice, PL**

(74) Pełnomocnik:

rzec. pat. Anna Dorskoczyńska-Groyecka

PL 237186 B1

Opis wynalazku

DZIEDZINA TECHNIKI

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania hydrożelu i hydrożel wytworzony tym sposobem. Hydrożel według wynalazku może znaleźć zastosowanie jako opatrunek.

STAN TECHNIKI

Hydrożele to układy dwuskładnikowe, zawierające w swojej strukturze fazę zdyspergowaną, którą stanowi hydrofilowa, nierozpuszczalna w wodzie, usieciowana matryca polimerowa, oraz fazę dyspergującą, którą najczęściej jest woda. Jedną z najważniejszych właściwości hydrożeli jest zdolność absorpcji wody i innych płynów, w tym biologicznych oraz ustrojowych, w sposób odwracalny na drodze pęcznienia. Ponadto, charakteryzują się one nietoksycznością, odpornością chemiczną i termiczną oraz elastycznością. W zależności od rodzaju użytych monomerów oraz składu kompozycji, można otrzymać hydrożele charakteryzujące się wysoką biodegradowalnością i biokompatybilnością. Dzięki tak różnorodnym właściwościom, hydrożele znajdują zastosowanie w medycynie, farmacji, inżynierii tkankowej jak i biomedycynie. Materiały hydrożelowe stanowią interesującą grupę związków stosowanych w otrzymywaniu nowoczesnych opatrunków, które współcześnie coraz częściej zastępują tradycyjne sposoby leczenia ran. Trójwymiarowa struktura przestrzenna hydrożelu pozwala na utworzenie bariery ochronnej przed zakażeniami oraz umożliwia zatrzymywanie we wnętrzu makrocząsteczki bakterii i wysięku pochodzącego z rany. Ponadto, zapewnia właściwe warunki, to jest pH, nawodnienie, przepuszczalność dla tlenu, które są niezbędne do prawidłowego przebiegu procesów biochemicznych, jakie zachodzą w gojącej się ranie. Hydrożelowe materiały opatrunkowe wspomagają leczenie trudno gojących się ran jak owrzodzenia i odleżyny, oparzeń 2. stopnia oraz ran pooperacyjnych.

Z polskiego opisu patentowego PL – 217447 „Sposób otrzymywania opatrunków hydrożelowych zawierających kompleks radiacyjnie degradowanego polisacharydu i srebra” znany jest sposób otrzymywania opatrunków hydrożelowych. Sposób ten, dotyczący otrzymywania opatrunków hydrożelowych z poliwinylpirolidonu lub jego monomeru, agaru, wody destylowanej, poliglikolu etylenowego lub propylenowego i srebra polega na tym, że wytwarza się uprzednio kompleks kationowego polisacharydu, korzystnie chitozanu i srebra przez mieszanie AgNO_3 , z chitozaniem w postaci proszku degradowanego wcześniej radiacyjnie. Przefiltrowany i przemyty kompleks dodaje się do mieszaniny składającej się z poliwinylpirolidonu lub jego monomeru, agaru i wody. Otrzymany żel poddaje się sieciowaniu radiacyjnemu.

Z opisu polskiego zgłoszenia patentowego P – 380417 „Opatrunek” znany jest opatrunek hydrożelowy, złożony z 2–10% poliwinylpirolidonu lub jego monomeru, nie więcej niż 5% agaru, nie mniej niż 75% wody destylowanej, 1–3% poliglikolu etylenowego lub propylenowego, sieciowany i polimeryzowany przez napromieniowanie dawką promieniowania jonizującego, zawierający dodatkowo 0,5–20 ppm niejonowego nanocząsteczkowego srebra koloidalnego.

W opisie chińskiego zgłoszenia patentowego CN103623453 (A) "Preparation method of silver ion hydrogel dressing" ujawniono sposób otrzymywania opatrunków hydrożelowych zawierających jony srebra. Sposób składa się z następujących stadiów: w pierwszym stadium przygotowuje się wodny roztwór wielkocząsteczkowego hydrofilowego polimeru i poddaje się go odpienianiu; w drugim stadium z wodnego roztworu polimeru otrzymanego w pierwszym stadium procesu uzyskuje się półprodukt metodą powlekania lub formowania wtryskowego; w trzecim stadium otrzymany półprodukt poddaje się działaniu promieniowania o wysokiej energii, uzyskując w ten sposób hydrożel; w czwartym stadium hydrożel zanurza się w wodnym roztworze soli srebra, aby zaabsorbował jony srebra.

W opisie zgłoszenia patentowego UA20080003160 "Wound coverage" ujawniono opatrunek na bazie tkanin naturalnych lub syntetycznych zawierający uwodnione nanocząsteczki srebra i miedzi o rozmiarach od 5 do 1000 nm. Uwodnione nanocząsteczki srebra i miedzi uzyskuje się przepuszczając impulsy elektryczne przez wodną zawiesinę granulek srebra i miedzi.

Istota wynalazku według zgłoszenia CN101502670 (A) – "Method for preparing silk fibroin hydrogel" polega na fizycznym sieciowaniu czystej fibroiny w temperaturze 0–60°C przy mocy ultradźwiękowej 10–2000 watów i czasie obróbki 30–600 sekund, w celu otrzymania hydrożelu. Zgodnie z zastrzeżeniem niezależnym cytowanego zgłoszenia fibroina jedwabiu poddawana jest procesowi odgumowania, rozpuszczania i dializowania, a otrzymywany roztwór poddawany jest działaniu fal ultradźwiękowych w temperaturze 0–60°C, a następnie wstrząsany i odstawiany w celu związania hydrożelu. W treści opisu podkreślono, że w czasie poddawania roztworu działaniu fal ultradźwiękowych nie dodaje się

żadnego chemicznego czynnika sieciującego. Wibracje ultradźwiękowe stosowane są w celu przyspieszenia przemiany roztworu reakcyjnego w postać żelu, nie zaś w celu zainicjowania sieciowania. Brak dodatku czynnika sieciującego, jak ma to miejsce w przypadku wynalazku CN101502670 (A), wpływa na właściwości fizykochemiczne hydrożelu i właściwości absorpcyjne. Fibroina jest białkiem, które rozpuszcza się w wodzie, tworząc układy koloidalne tzw. zole. Żel po dodaniu wody rozpuszcza się i przechodzi ponownie w zol. Hydrożele fizyczne, a do tego typu hydrożeli zalicza się hydrożel z fibroiny według wynalazku CN101502670 (A), wykazują zdolność przejścia z żelu w zol.

W zgłoszeniu CN104710635 (A) – "Preparation method of genipin cross-linked elastin hydrogel" opisano metodę otrzymywania hydrożelu, w której do sieciowania elastyny stosuje się genipinę. Metoda polega na tym, że elastynę rozkłada się kwasem w celu przygotowania rozpuszczalnego w wodzie białka alfa-elastyny. Sproszkowaną alfa-elastynę dodaje się do destylowanej wody uzyskując zawiesinę. Do zawiesiny dodaje się wodny roztwór genipiny wywołując reakcję sieciowania. Zawiesiny nie poddaje się działaniu fal ultradźwiękowych.

Genipina to związek chemiczny występujący w ekstrakcie z owoców *Genipa americana*. Jest to aglikon pochodzący z irydooidowego glikozydu zwanego genipozydem, który jest również obecny w owocach jasmionoidów gardeniowskich. Małocząsteczkowa genipina ma sztywną strukturę, ponadto jest związkiem o szkielecie cyklicznym, przez co wykazuje sztywność zarówno sama w sobie jak również powoduje sztywność i/lub kruchość sieciowanych białek. Wytworzony metodą według zgłoszenia CN 104710635 (A) hydrożel elastyny ma właściwości termoczule, jest w stanie ciekłym w temperaturze pokojowej i skrapla się w temperaturze wyższej niż temperatura pokojowa tworząc żel.

Według metody opisanej w zgłoszeniu wynalazku CN 103755981 (A) – "Hydrogel used as skin filling material and preparation method thereof" hydrożele otrzymuje się bez użycia inicjatorów, w wyniku samoczynnego sieciowania się materiału. Przygotowanie mieszaniny reakcyjnej wymaga obniżenia temperatury od 0°C do -40°C w zależności od przedstawionego w wynalazku przykładu i etapu prac w danym przykładzie. Podniesienie temperatury powyżej 0°C w pierwszym etapie spowoduje degradację zastosowanych białek, w szczególności kolagenu, a przez to utratę pożądanych właściwości fizykochemicznych materiału.

Sieciowanie jest zazwyczaj ostatnim stadium procesu wytwarzania hydrożelu. Sieciowanie chemiczne wymaga użycia czynników inicjujących i czynników sieciujących. Może być prowadzone w temperaturze pokojowej lub podwyższonej. Sieciowanie można uzyskać pod wpływem promieniowania mikrofalowego lub metodą radiacyjną, w której proces sieciowania zachodzi pod wpływem promieniowania gamma. Przeprowadzone badania nieoczekiwanie wykazały, że istnieje możliwość otrzymania hydrożelu w oparciu o kompozycję białek fibrylarnych.

ISTOTA WYNALAZKU

Sposób według wynalazku obejmuje etap sporządzania mieszaniny reakcyjnej, i etap sieciowania mieszaniny reakcyjnej zawierającej wodny roztwór polimerowego stabilizatora, nanocząstki metali, czynnik sieciujący, fotoinicjator lub inicjator rodnikowy lub inicjator jonowy, poprzez poddanie tej mieszaniny reakcyjnej działaniu promieniowania mikrofalowego lub promieniowania UV lub ogrzewaniu konwencjonalnemu. Istotą sposobu według wynalazku jest to, że mieszanina reakcyjna poddawana sieciowaniu zawiera co najmniej jedno białko fibrylarne i czynnik sieciujący z grupy diakrylanów poli(glikolu etylenowego), a sposób ten przebiega następująco:

w etapie I) sporządza się mieszaninę reakcyjną, zawierającą:

- a) składnik A, w ilości od 20 do 50 części objętościowych, który stanowi wodny roztwór polimerowego stabilizatora – poliwinylpirolidonu o stężeniu od 1–40% wagowych, zawierający dyspersję nanocząstek srebra lub nanocząstek złota lub nanocząstek srebra i złota w ilości takiej, aby stężenie nanocząstek srebra lub nanocząstek złota lub nanocząstek srebra i złota w mieszaninie reakcyjnej było w zakresie od 50 ppm do 5000 ppm,
- b) składnik B, który stanowi wodna dyspersja białka fibrylarnego, w której stosunek wagowy białka fibrylarnego do wody wynosi od 1/100 do 10/1

i/lub

- c) składnik C, który stanowi dyspersja białka fibrylarnego w wodnym roztworze buforu fosforanowego (PBS, pH = 7,4), w której stosunek wagowy białka fibrylarnego do ilości wodnego roztworu buforu fosforanowego wynosi od 1/100 do 10/1,

przy czym w przypadku wprowadzania do składnika A tylko jednego ze składników B lub C, ilość składnika B lub składnika C wynosi od 5 do 30 części objętościowych, natomiast w przypadku wprowadzania

do składnika A składnika B i składnika C, łączna ilość składników B i C wynosi od 5 do 40 części objętościowych,

- d) czynnik sieciujący, przy czym stosunek wagowy czynnika sieciującego do polimerowego stabilizatora wynosi od 1/10 do 10/1

i

- e) fotoinicjator lub inicjator rodnikowy lub inicjator jonowy, przy czym stosunek wagowy fotoinicjatora lub inicjatora rodnikowego lub jonowego do czynnika sieciującego wynosi od 1/35 do 1/5;

przy czym do składnika A mieszaniny wprowadza się, w temperaturze pokojowej, stale mieszając, składnik B mieszaniny i/lub składnik C mieszaniny, a następnie, dalej mieszając, czynnik sieciujący oraz fotoinicjator, inicjator rodnikowy lub inicjator jonowy;

w etapie II) poddaje się mieszaninę reakcyjną, otrzymaną w etapie I), sieciowaniu w temperaturze powyżej 5°C poprzez napromieniowanie lub ogrzewanie konwencjonalne.

Korzystnie białko fibrylarne wybrane jest z grupy obejmującej elastynę, fibroinę i fibrynogen.

Korzystnie etap I) prowadzi się w temperaturze 25°C.

Korzystnie jako czynnik sieciujący stosuje się diakrylan poli(glikolu etylenowego) o $M_n = 700$.

Korzystnie jako fotoinicjator w etapie sieciowania stosuje się 2-hydroksy-2-metylopropiofenon.

Korzystnie sieciowanie prowadzi się stosując promieniowanie UV.

Korzystnie jako inicjator rodnikowy w etapie sieciowania stosuje się nadsiarczan amonu.

Korzystnie sieciowanie prowadzi się stosując promieniowanie mikrofalowe.

Korzystnie sieciowanie prowadzi się w czasie od 1 minuty do 48 godzin.

Hydrożel według wynalazku zawiera wodę, nanocząstki metali, polimerowy stabilizator, czynnik sieciujący, inicjator polimeryzacji. Hydrożel charakteryzuje się tym, że zawiera co najmniej jedno białko fibrylarne jako materiał nadający właściwości bioaktywne i że wspomniane białko fibrylarne jest zawarte w strukturze sieci powstałej w wyniku sieciowania polimerowego stabilizatora – poliwinylpirolidonu diakrylanem poli(glikolu etylenowego), przy czym skład hydrożelu uwarunkowany jest składem mieszaniny reakcyjnej, sporządzonej w temperaturze pokojowej, poddawanej sieciowaniu w temperaturze powyżej 5°C, zawierającej:

- a) składnik A, w ilości od 20 do 50 części objętościowych, który stanowi wodny roztwór polimerowego stabilizatora – poliwinylpirolidonu o stężeniu od 1–40% wagowych, zawierający dyspersję nanocząstek srebra lub nanocząstek złota lub nanocząstek srebra i złota w ilości takiej, aby stężenie nanocząstek srebra lub nanocząstek złota lub nanocząstek srebra i złota w mieszaninie reakcyjnej było w zakresie od 50 ppm do 5000 ppm,
- b) składnik B, który stanowi wodna dyspersja białka fibrylarnego, w której stosunek wagowy białka fibrylarnego do wody wynosi od 1/100 do 10/1

i/lub

- c) składnik C, który stanowi dyspersja białka fibrylarnego w wodnym roztworze buforu fosforanowego (PBS, pH = 7,4), w której stosunek wagowy białka fibrylarnego do ilości wodnego roztworu buforu fosforanowego wynosi od 1/100 do 10/1,

przy czym w przypadku wprowadzania do składnika A tylko jednego ze składników B lub C, ilość składnika B lub składnika C wynosi od 5 do 30 części objętościowych, natomiast w przypadku wprowadzania do składnika A składnika B i składnika C, łączna ilość składników B i C wynosi od 5 do 40 części objętościowych,

- d) czynnik sieciujący, przy czym stosunek wagowy czynnika sieciującego do polimerowego stabilizatora wynosi od 1/10 do 10/1,

i

- e) fotoinicjator lub inicjator rodnikowy lub inicjator jonowy, przy czym stosunek wagowy fotoinicjatora lub inicjatora rodnikowego lub jonowego do czynnika sieciującego wynosi od 1/35 do 1/5.

Korzystnie białko fibrylarne wybrane jest z grupy obejmującej elastynę, fibroinę i fibrynogen.

Korzystnie białko fibrylarne jest zawarte w strukturze sieci powstałej w wyniku sieciowania poliwinylpirolidonu diakrylanem poli(glikolu etylenowego) o $M_n = 700$.

Białka fibrylarne to białka proste o strukturze włóknikowej stanowiące podstawowy materiał budulcowy organizmów ludzi i zwierząt. Do białek fibrylarnych należą między innymi fibroina, która buduje jedwab i kolagen będący składową tkanki łącznej właściwej, na przykład ścięgien. Kolagen to powszechnie znany stosowany w chirurgii plastycznej środek przyspieszający regenerację skóry po oparzeniach

i regenerację kości. Stosowany jest również do różnorodnych celów dentystycznych, ortopedycznych i chirurgicznych, jest również stosowany jako nośnik leków – spongostan. Fibroina jest białkiem posiadającym bardzo dużą zdolność wiązania i zatrzymywania wody. Jest w stanie pochłoniąć 30 razy więcej wody w stosunku do swojej wagi. Zaletą tego białka jest to, że nie powoduje podrażnienia nawet bardzo wrażliwej lub uszkodzonej skóry. Fibrynogen jest nazywany białkiem osocza krwi i jest produkowany w wątrobie. Uczestniczy w procesach związanych z ostatnią fazą krzepnięcia i jest wtedy przekształcany w białko fibrylarne – fibroinę, które współtworzy skrzep. Natomiast elastyna należy do grupy białek fibrylarnych, które są określane mianem skleroprotein. Występuje w tkance łącznej i jest jednym z głównych składników ścięgien, więzadeł oraz ścian większych naczyń krwionośnych. Elastyna charakteryzuje się przede wszystkim tym, że nadaje tkankom rozciągliwość i elastyczność.

Hydrożele otrzymywane sposobami przedstawionymi w chińskich opisach zgłoszeniowych CN 101502670 (A) – "Method for preparing silk fibroin hydrogel", CN 104710635 (A) – "Preparation method of genipin cross-linked elastin hydrogel", CN103755981 (A) – "Hydrogel used as skin filling material and preparation method thereof" doprowadzone do 0 stanu hydratacji nie odzyskują swoich pierwotnych właściwości fizykochemicznych.

Hydrożele wytwarzane sposobem według niniejszego zgłoszenia zawierają polimery sieciowane o zróżnicowanych wielkościach hydratacji.

Przykładowo, można zapewniać hydrożele polimerowe w stanie hydratacji w zakresie od stanu zasadniczo suchego lub bezwodnego, takiego jak stan, w którym od około 0% do około 5% wagowych hydrożelu polimerowego stanowi woda lub płyn wodny, do stanów zawierających znaczącą ilość wody lub płynu wodnego, w tym stan, w którym hydrożel polimerowy zaabsorbował maksymalną ilość wody lub płynu wodnego.

Zaproponowany w niniejszym wynalazku hydrożel łączy właściwości hydrożeli z białek fibrylarnych, a więc przyspiesza regenerację naskórka i skóry właściwej. Nie ma ograniczeń dotyczących syntezy przedmiotowego hydrożelu w niskich temperaturach. Jest on sieciowany chemicznie i nie przechodzi w żol, więc nie traci swoich właściwości fizykochemicznych.

Istotą sposobu według przedmiotowego zgłoszenia jest to, że mieszanina reakcyjna poddawana sieciowaniu zawiera co najmniej jedno białko fibrylarne i czynnik sieciujący z grupy diakrylanów poli(glikolu etylenowego). Korzystnie białko fibrylarne wybrane jest z grupy obejmującej elastynę, fibroinę i fibrynogen.

Otrzymywanie hydrożeli z samych białek fibrylarnych jest niekorzystne, bo wymaga prowadzenia pewnych etapów syntezy w temperaturze od 0–5°C. Problemem technicznym jest utrzymywanie niskiej temperatury reagentów. Fizyczne sieciowanie czystej fibroiny (CN101502670) w temperaturze 0–60°C przy mocy ultradźwiękowej 10–2000 watów i czasie obróbki 30–600 sekund ma na celu otrzymanie hydrożelu fizycznego, a nie chemicznego, jak w niniejszym zgłoszeniu. Rozwiązanie będące przedmiotem niniejszego zgłoszenia nie ma w/w ograniczeń.

Brak dodatku czynnika sieciującego, jak ma to miejsce w przypadku wynalazku CN101502670 (A), wpływa na właściwości fizykochemiczne hydrożelu i właściwości absorpcyjne. Fibroina jest białkiem, które rozpuszcza się w wodzie, tworząc układy koloidalne, tak zwane zole. Żel po dodaniu wody rozpuszcza się i przechodzi ponownie w żol.

Rozwiązanie będące przedmiotem niniejszego zgłoszenia nie ma tych ograniczeń.

W zgłoszeniu CN 104710635 (A) – "Preparation method of genipin cross-linked elastin hydrogel" opisano metodę otrzymywania hydrożelu, w której do sieciowania elastyny stosuje się genipinę. Genipina jest związkem małocząsteczkowym w przeciwieństwie do czynnika sieciującego diakrylan poli(glikolu etylenowego), który zawiera mery poli(glikolu etylenowego). W zależności od ciężaru cząsteczkowego diakrylan poli(glikolu etylenowego) wykazuje różną ilość merów. Dzięki swojej merowej budowie diakrylan poli(glikolu etylenowego) zaliczany jest do polimerów i wykazuje sam elastyczną strukturę podobnie jak monomery i polimery nim sieciowane. Problemy związane z zastosowaniem genipiny do wytworzenia hydrożelu elastyny opisane powyżej w stanie techniki nie występują w rozwiązaniu według niniejszego zgłoszenia, w którym do sieciowania wykorzystuje się czynniki sieciujące z grupy diakrylanów poli(glikolu etylenowego).

Problem stosowania niskich temperatur w trakcie wytwarzania hydrożeli, opisany w zgłoszeniu CN 103755981 (A) – "Hydrogel used as skin filling material and preparation method thereof" nie występuje w przypadku otrzymywania hydrożelu według niniejszego zgłoszenia. Przygotowanie reagentów i mieszaniny reakcyjnej jest prowadzone w temperaturze pokojowej. Różnica w sposobie przygotowania mieszaniny reakcyjnej według wynalazku CN103755981 (A) – "Hydrogel used as skin filling material

and preparation method thereof" wynika z samoorganizacji reagentów, która musi przebiegać w temperaturze do 0°C.

Zarówno hydrożele jak i sposoby ich otrzymywania przedstawione w chińskich opisach zgłoszeniowych CN101502670 (A) – "Method for preparing silk fibroin hydrogel", CN 104710635 (A) – "Preparation method of genipin cross-linked elastin hydrogel", CN103755981 (A) – "Hydrogel used as skin filling material and preparation method thereof" różnią się wyraźnie od rozwiązań według niniejszego wynalazku.

Hydrożel według wynalazku zawiera białka fibrylarne jako materiał nadający właściwości bioaktywne.

Wprowadzenie do hydrożelu nanocząstek srebra i/lub złota zwiększa jego działanie przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne i antybakteryjne.

Wytworzony sposobem według wynalazku hydrożel nadaje się do bezpośredniego aplikowania na ranę.

W sposobie według wynalazku reakcja sieciowania przebiega w temperaturze poniżej temperatury denaturacji białek fibrylarnych. Zastosowany w sposobie według wynalazku stabilizator polimerowy pełni podwójną funkcję: stabilizuje dyspersję nanocząstek metalu a także jest polimerem ulegającym sieciowaniu pod wpływem czynnika sieciującego, co w rezultacie prowadzi do otrzymania hydrożelu.

W sposobie według wynalazku mogą znaleźć zastosowanie stabilizatory/polimery wybrane z grupy obejmującej: poliwinylpirolidon, poli(alkohol winylowy), polimery naturalne lub inne.

Jako czynniki sieciujące można zastosować: diakrylan poli(glikolu etylenowego) o $M_n = 700$ lub o $M_n = 575$, dimetakrylan poli(glikolu etylenowego) o $M_n = 750$ lub o $M_n = 550$ lub inne.

Jako fotoinicjatory, inicjatory rodnikowe mogą znaleźć zastosowanie: fotoinicjator: 2-hydroksy-2-metylopropiofenon lub inne, inicjatory rodnikowe: AIBN (2,2'-azo-diizobutyronitryl), nadsiarczan amonu, nadsiarczan potasu, układy redoksowe lub inne.

Sposób według wynalazku przedstawiono w przykładach wykonania, nie ograniczających zakresu jego ochrony.

PRZYKŁADY

Przykład 1

Otrzymywanie hydrożelu w układzie poliwinylpirolidon – białko fibrylarne nierozpuszczalne w wodzie – fibrynogen.

Odczynniki: fibrynogen, poliwinylpirolidon, woda, wodna dyspersja nanocząstek złota, fotoinicjator: 2-hydroksy-2-metylopropiofenon, czynnik sieciujący: diakrylan poli(glikolu etylenowego) o $M_n = 700$
składnik A mieszaniny:

Sporządzono 20 ml wodnego roztworu poliwinylpirolidonu o stężeniu 10%, który zawierał nanocząstki złota o stężeniu 50 ppm.

składnik B mieszaniny:

Sporządzono 30 ml wodnej dyspersji zawierającej 2% fibrynogenu.

W temperaturze 25°C do składnika A mieszaniny podczas stałego mieszania dodano składnik B mieszaniny. Podczas mieszania dodano 0,25 ml fotoinicjatora oraz 8 ml czynnika sieciującego. Reakcję sieciowania prowadzono pod wpływem promieniowania UV (moc lampy 400 W) w czasie 120 sekund. W trakcie reakcji temperatura była utrzymywana poniżej temperatury degradacji termicznej fibrynogenu. Otrzymano hydrożel zawierający poliwinylpirolidon usieciowany diakrylanem poli(glikolu etylenowego) o $M_n = 700$, fibrynogen i nanocząstki złota.

Przykład 2

Otrzymywanie hydrożelu w układzie poliwinylpirolidon – białko fibrylarne nierozpuszczalne w wodzie – elastyna

Odczynniki: elastyna, poliwinylpirolidon, woda, wodny roztwór buforu fosforanowego (PBS, pH = 7,4) wodna dyspersja nanocząstek srebra, inicjator: nadsiarczan amonu, czynnik sieciujący: diakrylan poli(glikolu etylenowego) o $M_n = 700$

składnik A mieszaniny:

Sporządzono 50 ml wodnego roztworu poliwinylpirolidonu o stężeniu 10%, który zawierał nanocząstki srebra o stężeniu 100 ppm.

składnik C mieszaniny:

Sporządzono 10 ml 2% dyspersji elastyny w wodnym roztworze buforu fosforanowego (PBS, pH = 7,4) w temperaturze 25°C do składnika A mieszaniny podczas stałego mieszania dodano składnik C mieszaniny.

Podczas mieszania dodano 3 ml 1% wodnego roztworu inicjatora oraz 6 ml czynnika sieciującego. Reakcję sieciowania prowadzono pod wpływem promieniowania mikrofalowego (moc 600 W) w czasie 120 sekund. W trakcie procesu temperatura była utrzymywana poniżej temperatury degradacji termicznej elastyny.

Otrzymano hydrożel zawierający poliwinylpirolidon usieciowany diakrylanem poli(glikolu etylenowego) o $M_n = 700$, elastynę i nanocząstki srebra.

Przykład 3

Otrzymywanie hydrożeli w układzie poliwinylpirolidon – białka fibrylarne: fibrynogen i fibroina.

Odczynniki: fibrynogen, fibroina, poliwinylpirolidon, woda, wodny roztwór buforu fosforanowego (PBS, pH = 7,4) wodna dyspersja nanocząstek złota, fotoinicjator: 2-hydroksy-2-metylopropiofenon, czynnik sieciujący: diakrylan poli(glikolu etylenowego) o $M_n = 700$

składnik A mieszaniny:

Sporządzono 20 ml wodnego roztworu poliwinylpirolidonu o stężeniu 10%, który zawierał nanocząstki złota o stężeniu 100 ppm.

składnik B mieszaniny:

Sporządzono 30 ml wodnej dyspersji zawierającej 2% fibrynogenu.

składnik C mieszaniny:

Sporządzono 10 ml 2% dyspersji fibroiny wodny roztwór buforu fosforanowego (PBS, pH = 7,4) W temperaturze 25°C do składnika A mieszaniny podczas stałego mieszania dodano składnik B mieszaniny, a następnie dodano składnik C mieszaniny. Podczas mieszania dodano 0,5 ml fotoinicjatora oraz 10 ml czynnika sieciującego. Reakcję sieciowania prowadzono pod wpływem promieniowania UV (moc lampy 400 W) w czasie 120 sekund, W trakcie reakcji temperatura była utrzymywana poniżej temperatury degradacji termicznej białek fibrylarnych.

Otrzymano hydrożel zawierający poliwinylpirolidon usieciowany diakrylanem poli(glikolu etylenowego) o $M_n = 700$, fibrynogen, fibroinę i nanocząstki złota.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania hydrożelu obejmujący etap sporządzania mieszaniny reakcyjnej i etap sieciowania mieszaniny reakcyjnej zawierającej wodny roztwór polimerowego stabilizatora, nanocząstki metali, czynnik sieciujący, fotoinicjator lub inicjator rodnikowy lub inicjator jonowy, poprzez poddanie tej mieszaniny reakcyjnej działaniu promieniowania mikrofalowego lub promieniowania UV lub ogrzewaniu konwencjonalnemu, **znamienny tym**, że wspomniana mieszanina reakcyjna poddawana sieciowaniu zawiera co najmniej jedno białko fibrylarne i czynnik sieciujący z grupy diakrylanów poli(glikolu etylenowego), a sposób ten przebiega następująco:

w etapie I) sporządza się mieszaninę reakcyjną, zawierającą:

- a) składnik A, w ilości od 20 do 50 części objętościowych, który stanowi wodny roztwór polimerowego stabilizatora – poliwinylpirolidonu o stężeniu od 1–40% wagowych, zawierający dyspersję nanocząstek srebra lub nanocząstek złota lub nanocząstek srebra i złota w ilości takiej, aby stężenie nanocząstek srebra lub nanocząstek złota lub nanocząstek srebra i złota w mieszaninie reakcyjnej było w zakresie od 50 ppm do 5000 ppm,
- b) składnik B, który stanowi wodna dyspersja białka fibrylarnego, w której stosunek wagowy białka fibrylarnego do wody wynosi od 1/100 do 10/1
- i/lub
- c) składnik C, który stanowi dyspersja białka fibrylarnego w wodnym roztworze buforu fosforanowego (PBS, pH = 7,4), w której stosunek wagowy białka fibrylarnego do ilości wodnego roztworu buforu fosforanowego wynosi od 1/100 do 10/1,

przy czym w przypadku wprowadzania do składnika A tylko jednego ze składników B lub C, ilość składnika B lub składnika C wynosi od 5 do 30 części objętościowych, natomiast w przypadku wprowadzania do składnika A składnika B i składnika C, łączna ilość składników B i C wynosi od 5 do 40 części objętościowych,

- d) czynnik sieciujący, przy czym stosunek wagowy czynnika sieciującego do polimerowego stabilizatora wynosi od 1/10 do 10/1

i

e) fotoinicjator lub inicjator rodnikowy lub inicjator jonowy, przy czym stosunek wagowy fotoinicjatora lub inicjatora rodnikowego lub jonowego do czynnika sieciującego wynosi od 1/35 do 1/5;

przy czym do składnika A mieszaniny wprowadza się, w temperaturze pokojowej, stale mieszając, składnik B mieszaniny i/lub składnik C mieszaniny, a następnie, dalej mieszając, czynnik sieciujący oraz fotoinicjator, inicjator rodnikowy lub inicjator jonowy; w etapie II) poddaje się mieszaninę reakcyjną, otrzymaną w etapie I), sieciowaniu w temperaturze powyżej 5°C, poprzez napromieniowanie lub ogrzewanie konwencjonalne.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że białko fibrylarne wybrane jest z grupy obejmującej elastynę, fibroinę i fibrynogen.
3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że etap I) prowadzi się w temperaturze 25°C.
4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako czynnik sieciujący stosuje się diakrylan poli(glikolu etylenowego) o $M_n = 700$.
5. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako fotoinicjator w etapie sieciowania stosuje się 2-hydroksy-2-metylopropiofenon.
6. Sposób według zastrz. 5, **znamienny tym**, że sieciowanie prowadzi się stosując promieniowanie UV.
7. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako inicjator rodnikowy w etapie sieciowania stosuje się nadsiarczan amonu.
8. Sposób według zastrz. 7, **znamienny tym**, że sieciowanie prowadzi się stosując promieniowanie mikrofalowe.
9. Sposób według zastrz. 1 albo 4 albo 5 albo 6 albo 7 albo 8, **znamienny tym**, że sieciowanie prowadzi się w czasie od 1 minuty do 48 godzin.
10. Hydrożel zawierający wodę, nanocząstki metali, polimerowy stabilizator, czynnik sieciujący, inicjator polimeryzacji, **znamienny tym**, że zawiera co najmniej jedno białko fibrylarne jako materiał nadający właściwości bioaktywne i że wspomniane białko fibrylarne jest zawarte w strukturze sieci powstałej w wyniku sieciowania polimerowego stabilizatora – poliwinylpiperolidonu diakrylanem poli(glikolu etylenowego), przy czym skład hydrożelu uwarunkowany jest składem mieszaniny reakcyjnej, sporządzonej w temperaturze pokojowej, poddawanej sieciowaniu w temperaturze powyżej 5°C, zawierającej:
 - a) składnik A, w ilości od 20 do 50 części objętościowych, który stanowi wodny roztwór polimerowego stabilizatora – poliwinylpiperolidonu o stężeniu od 1–40% wagowych, zawierający dyspersję nanocząstek srebra lub nanocząstek złota lub nanocząstek srebra i złota w ilości takiej, aby stężenie nanocząstek srebra lub nanocząstek złota lub nanocząstek srebra i złota w mieszaninie reakcyjnej było w zakresie od 50 ppm do 5000 ppm,
 - b) składnik B, który stanowi wodna dyspersja białka fibrylarnego, w której stosunek wagowy białka fibrylarnego do wody wynosi od 1/100 do 10/1 i/lub
 - c) składnik C, który stanowi dyspersja białka fibrylarnego w wodnym roztworze buforu fosforanowego (PBS, pH = 7,4), w której stosunek wagowy białka fibrylarnego do ilości wodnego roztworu buforu fosforanowego wynosi od 1/100 do 10/1, przy czym w przypadku wprowadzania do składnika A tylko jednego ze składników B lub C, ilość składnika B lub składnika C wynosi od 5 do 30 części objętościowych, natomiast w przypadku wprowadzenia do składnika A składnika B i składnika C, łączna ilość składników B i C wynosi od 5 do 40 części objętościowych,
 - d) czynnik sieciujący, przy czym stosunek wagowy czynnika sieciującego do polimerowego stabilizatora wynosi od 1/10 do 10/1,
- i
- e) fotoinicjator lub inicjator rodnikowy lub inicjator jonowy, przy czym stosunek wagowy fotoinicjatora lub inicjatora rodnikowego lub jonowego do czynnika sieciującego wynosi 1/35 do 1/5.
11. Hydrożel według zastrz. 10, **znamienny tym**, że białko fibrylarne wybrane jest z grupy obejmującej elastynę, fibroinę i fibrynogen.
12. Hydrożel według zastrz. 10, **znamienny tym**, że białko fibrylarne jest zawarte w strukturze sieci powstałej w wyniku sieciowania poliwinylpiperolidonu diakrylanem poli(glikolu etylenowego) o $M_n = 700$.