

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 2017-421
(22) Přihlášeno: 20.07.2017
(40) Zveřejněno: 21.11.2018
(Věstník č. 47/2018)
(47) Uděleno: 10.10.2018
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: 21.11.2018
(Věstník č. 47/2018)

A61K 47/36 (2006.01)
A61K 31/722 (2006.01)
A61F 13/00 (2006.01)
A61K 38/06 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:

CZ 304174; CZ 307301; CZ PV 2013-1035; US 8642088 B2; US 6624138 B1.

(73) Majitel patentu:
Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Zlín, CZ
GEMINI oční klinika a.s., Průhonice, CZ

(72) Původce:
Shah Rushita Jaswant, M.Sc. Ph.D., Gujarat, IN
prof. Ing. Petr Sába, CSc., Zlín, Mladcová, CZ
MUDr. Pavel Stodůlka, Ph.D., Zlín, Příluky, CZ

(74) Zástupce:
Ing. Jan Görig, Korábová 98, 763 16 Fryšták, Horní
Ves

(54) Název vynálezu:

**Způsob výroby dvoustupňově síťované
biopolymerní membrány a biopolymerní
membrána zhotovená tímto způsobem**

(57) Anotace:

Způsob výroby dvoustupňově síťované biopolymerní membrány pro opravy očního traumatu spočívá v tom, že se připraví směsný roztok biopolymerů kolagenu a chitosanu, k němu se po kapkách přidá roztok primárního síťovacího činidla ze skupiny taninů a litím roztoku na plochou podložku a následným vysušením se vytvoří tenká primárně síťovaná chitosan-kolagenová membrána o tloušťce po vysušení 5 až 10 µm. Ta se pak ve druhém stupni síťuje působením roztoku genipinu jako sekundárního síťovacího činidla.

Způsob výroby dvoustupňově síťované biopolymerní membrány a biopolymerní membrána zhotovená tímto způsobem

5 Oblast techniky

Vynález se týká způsobu výroby dvoustupňově síťované biopolymerní membrány a biopolymerní membrána zhotovená tímto způsobem, která je určena pro opravy očního traumatu, zejména pak opravy traumatu rohovky.

10

Dosavadní stav techniky

Oční onemocnění a poranění postihují miliony lidí po celém světě. Ve většině případů se jedná o onemocnění či zranění postihující rohovku. V posledních letech se věnuje pozornost technickým biopolymerům trojrozměrné architektury k vytvoření nosných struktur pro tkáňové inženýrství. Biointeraktivní nosné struktury získávají význam v regeneračních léčích, protože napodobují extracelulární matrice (ECM) těla. Široká škála připravených biomateriálů sestává z hybridů přírodních a syntetických polymerů. Tím napodobují složky extracelulární matrice. Tyto biomimetické materiály (materiály napodobující přírodní materiály a struktury) jsou vyráběny ve formě hydrogelů, membrán, sítí a dalších struktur.

Bylo představeno několik konkrétních biomateriálů připravených z biopolymerů, síťovaných přírodními síťovacími činidly vhodných pro oční terapii a opravu tkáně. Chitosan, deacetylovaná forma chitinu, je v současné době často využívána v různých lékařských a farmaceutických aplikacích, protože má dobrou biologickou kompatibilitu, inertnost a schopnost vytvářet film. Je to materiál sterilizovatelný, netoxický a biologicky odbouratelný.

Kolagenová matrice je úspěšným resorbovatelným biomateriálem používaným ve tkáňovém inženýrství, protože vykazuje dobré hemostatické vlastnosti, nízkou antigenitu (schopnost vyvolat reakci imunitního systému) a náchylnost ke vzniku zánětlivých reakcí.

Rostlinné polyfenoly, jako je kyselina tříslová, jsou kategorizovány jako stahující, antioxidační, antimikrobiální, antivirová a protizánětlivá činidla a slouží rovněž jako síťovací činidlo pro membrány na bázi kolagenu.

Genipin získaný z přírodního zdroje *Gardenia jasminoides* Ellis slouží jako účinné síťovací činidlo v polymerech s aminoskupinou.

Pokud jde o konkrétní aplikace v oční terapii - výzkumníci (J. Jeremy Chae a kol., 2015) rekonstruovali rohovkový epitel pomocí kolagenové membrány, která je nezbytná pro proces hojení. Jednalo se o kolagen typu I přinášející prospěšnou migraci epitelálních buněk a správnou diferenciaci, při čemž celá studie byla provedena na králících.

Rovněž byla provedena in vivo studie biokompatibility membrány na bázi chitosanu síťovaného genipinem na přední komoře očí králíků (Jui-Yang Lai, 2012).

Materiálu připraveného zesíťováním biologických látek, jako je kolagen a chitosan přírodním síťovacím činidlem genipinem se týká patent US 6624138. Tento biopolymerní materiál je určen pro použití v obvazech na rány nebo jako adhezivum

Předmětem dalšího patentu US 8642088 je směsná matrice chitosanu a taninu určená pro dávkování léků, antibakteriální a/nebo antifungální aplikace, tkáňové inženýrství, a aplikace při hojení ran.

Patentová přihláška US 2014/142200 popisuje dvoustupňově síťované kolagenové materiály pro použití v oftalmologii, zejména při keratoprotetických implantacích. K síťování se zde používají

chemická (syntetická) síťovací činidla -(1-ethyl-3'- (3-dimethylaminopropyl) karbodiimid (EDC) jako primární síťovací činidlo a N-hydroxysukcinimid (NHS) jako sekundární síťovací činidlo.

5 Až dosud ale neexistuje řešení, které by vedlo k vytvoření tenké polymerní membrány na bázi biopolymerního materiálu dvoustupňově síťovaného přírodními síťovacími činidly, použitelné pro opravy očního traumatu, zejména pak opravy traumatu rohovky - např. dočasný implantát k opravě poškozené rohovky nebo implantát ke korekci nepravidelnosti v přední vrstvě rohovky v důsledku některého z onemocnění rohovky.

10

Podstata vynálezu

K odstranění výše uvedeného nedostatku přispívá způsob výroby dvoustupňově síťované biopolymerní membrány pro opravy očního traumatu podle vynálezu. Jeho podstata spočívá
15 v tom, že se připraví směsný roztok biopolymerů kolagenu a chitosanu, k němu se po kapkách přidá roztok primárního síťovacího činidla ze skupiny taninů a litím roztoku na plochou podložku a následným vysušením se vytvoří tenká primárně síťovaná chitosan-kolagenová membrána o tloušťce po vysušení 5 až 10 μm. Ta se pak ve druhém stupni síťuje působením roztoku genipinu jako sekundárního síťovacího činidla.

20

Jako směsný roztok biopolymerů kolagenu a chitosanu se použije s výhodou roztok v kyselině octové o celkové koncentraci směsi biopolymerů 0,5 až 2 % hmotnostních a hmotnostním poměru kolagenu a chitosanu 20:80 až 30:70.

25

Jako síťovacím činidlo ze skupiny taninů se s výhodou použije kyselina taninová (tříslová). Konkrétně se jedná především o roztok kyseliny taninové v demineralizované vodě o koncentraci 0,5 až 3 % hmotnostních.

30

Jako roztok sekundárního síťovacího činidla se použije s výhodou roztok genipinu v dimethylsulfoxidu (DMSO) o koncentraci 0,25 až 0,5 % hmotnostních s fosfátovým pufrům.

Využití směsi biopolymerů kolagenu a chitosanu a kombinace dvou přírodních síťovacích činidel představuje nový způsob, jak vyrobit biomateriál s perspektivní aplikací v oftalmologii. Při tomto způsobu výroby dvoustupňově síťované membrány se primárně vytvoří působením kyseliny taninové vodíková vazba a následně pak ve druhém stupni proběhne kovalentní zesíťování mezi
35 aminoskupinami biopolymeru a sekundárním síťovacím činidlem genipinem. Celý proces se provádí při pokojové teplotě (25 až 28 °C) může proběhnout v rozmezí 48 až 72 hodin. Jedná se o nově formulovaný proces k získání netransparentní, tmavě zbarvené membránové fólie, která se použije na okrajovou oblast očí během operace oka.

40

Objasnění výkresu

K bližšímu objasnění podstaty vynálezu slouží přiložené výkresy, kde představuje

45

obr. 1 – SEM mikroskopické snímky (a) – kolagen-chitosanové membrány, (b) – kolagen-chitosanové membrány síťované kyselinou taninovou, (c) – kolagen-chitosanové membrány dvoustupňově síťované kyselinou taninovou a genipinem;

50

obr. 2 – FTIR spektrum kolagen-chitosanové membrány síťované kyselinou taninovou (Chi:Col:TA), kolagen-chitosanové membrány dvoustupňově síťované kyselinou taninovou a genipinem (Chi:Col:TA:Gp).

Příklady uskutečnění vynálezu

Připraví se směsný roztok biopolymerů kolagenu a chitosanu v kyselině octové (1%) o celkové koncentraci směsi biopolymerů 0.5 až 2 % hmotnostních a hmotnostním poměru kolagenu a chitosanu 25:75. K tomuto roztoku se za stálého magnetického míchání a přidá po kapkách roztok primárního síťovacího činidla - kyseliny taninové v demineralizované vodě o koncentraci 0.5 až 3 % hmotnostních.

Poté se litím roztoku na plochou podložku - polystyrenovou desku a vysušením vytvoří tenká primárně síťovaná chitosan-kolagenová membrána o tloušťce po vysušení 5 až 10 μm s propustností 42 až 48 % (při vlnové délce ve vizuálním rozsahu: 400 až 700 nm). Získaný film membrány zůstává porézní.

Membrána připravená v prvním stupni se pak ve druhém stupni síťuje působením sekundárního síťovacího činidla - roztoku genipinu v dimethylsulfoxidu (DMSO) o koncentraci 0,25 až 0,5 % hmotnostních s fosfátovým pufrem.

Po úspěšném zesíťování vykazují sítě obsahující genipin vysoký stupeň autofluorescence, která membráně dodává tmavě zelenožlutou barvu. Tloušťka výsledné membrány se pohybuje v rozmezí 8 až 10 μm společně a její propustnost (při vlnové délce kolem 650 nm) je alespoň 15%. I v její trojrozměrné struktuře přetrvává pórovitost.

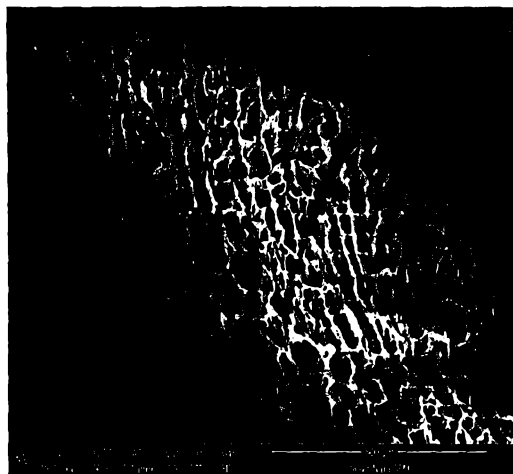
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob výroby dvoustupňově síťované biopolymerní membrány pro opravy očního traumatu, zejména pak opravy traumatu rohovky, **vyznačující se tím**, že se připraví směsný roztok biopolymerů kolagenu a chitosanu v kyselině octové o celkové koncentraci směsi biopolymerů 0,5 až 2 % hmotnostních a hmotnostním poměru kolagenu a chitosanu 20:80 až 30:70, k tomuto roztoku se po kapkách přidá roztok primárního síťovacího činidla ze skupiny taninů v demineralizované vodě o koncentraci 0,5 až 3 % hmotnostních a litím takto vzniklé směsi roztoků na plochou podložku a následným vysušením se vytvoří tenká primárně síťovaná chitosan-kolagenová membrána o tloušťce po vysušení 5 až 10 μm , která se pak ve druhém stupni síťuje působením roztoku genipinu jako sekundárního síťovacího činidla s tím, že tímto roztokem je roztok genipinu v dimethylsulfoxidu o koncentraci 0,25 až 0,5 % hmotnostních s fosfátovým pufrem.

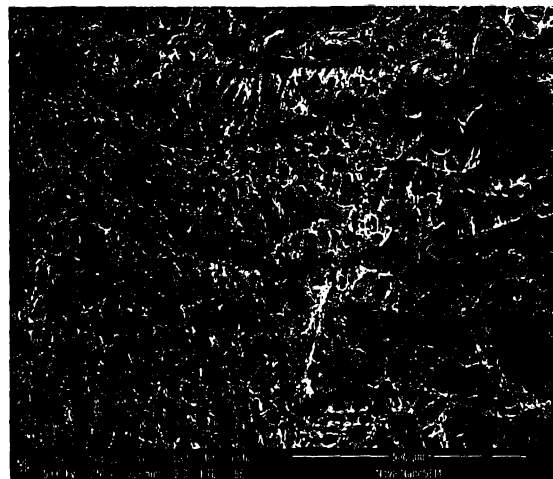
2. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že jako síťovací činidlo ze skupiny taninů se použije kyselina taninová, tríslová.

3. Biopolymerní membrána zhotovená způsobem podle nároku 1.

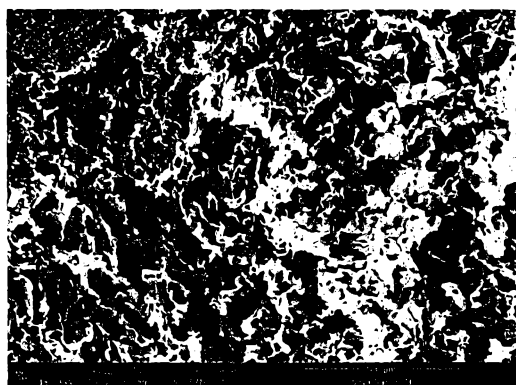
I výkres



(a)

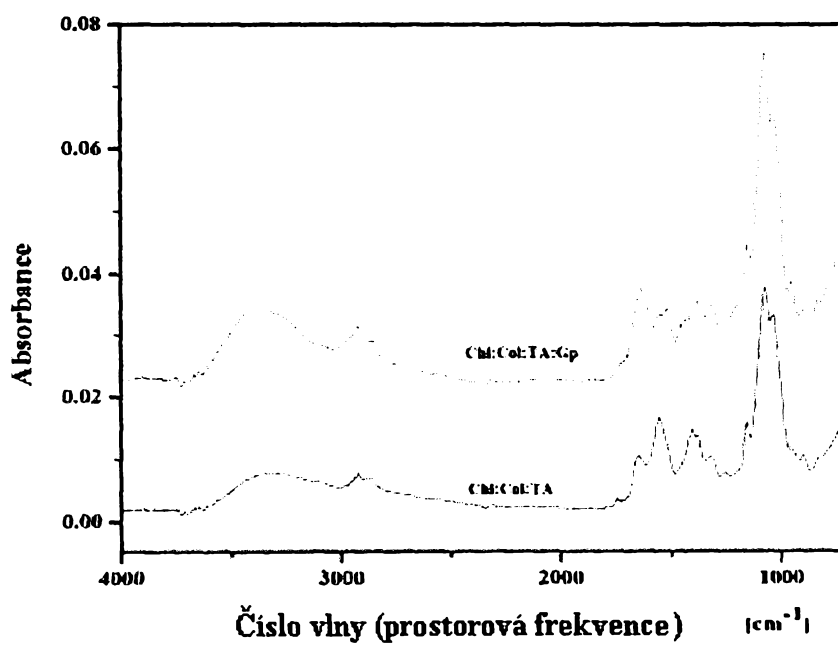


(b)



(c)

Obr. 1



Obr. 2

Konec dokumentu