

PATENTOVÝ SPIS

(11) Číslo dokumentu:

302 699

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLového
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2009-496**
(22) Přihlášeno: **27.07.2009**
(40) Zveřejněno: **22.12.2010**
(Věstník č. 51/2010)
(47) Uděleno: **27.07.2011**
(24) Oznámení o udělení ve Věstníku: **07.09.2011**
(Věstník č. 36/2011)

(13) Druh dokumentu: **B6**

(51) Int. Cl.:

A61K 9/51	(2006.01)
A61K 9/58	(2006.01)
A61K 9/66	(2006.01)
A61K 9/127	(2006.01)
A61K 47/36	(2006.01)
D01D 5/08	(2006.01)
D01D 5/06	(2006.01)
D01D 5/11	(2006.01)
D04H 5/08	(2006.01)
B01J 13/02	(2006.01)
B82B 1/00	(2006.01)
B82B 3/00	(2006.01)
B82Y 40/00	(2011.01)
B82Y 5/00	(2011.01)

(56) Relevantní dokumenty:

CZ 20011646; CZ 294274; EP 103839; JP 5058882.

(73) Majitel patentu:

STUDENT SCIENCE, s. r. o., Horní Podluží, CZ
NANOPHARMA, a. s., Praha 10, CZ
Technická univerzita v Liberci, Liberec 1, CZ
ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ MEDICINY AV ČR v. v.
i., Praha 4, CZ
UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE - 2. LÉKAŘSKÁ
FAKULTA, Praha 5, CZ

(72) Původce:

Amler Evžen Doc. RNDr. CSc., Praha 7, CZ
Míčková Andrea Mgr., Bratislava, SK
Jakubová Radka Mgr., Sečovská Polanka, SK
Plencner Martin Mgr., Bratislava, SK
Prosecká Eva Mgr., Praha 5, CZ
Rampichová Michala Mgr., Praha 6, CZ
Filová Eva Mgr. Ph.D., Trnava, SK
Buzgo Matej, Turňa nad Bodvou, SK
Lukáš David Prof. RNDr. CSc., Liberec, CZ
Pokorný Pavel Ing., Frýdlant v Čechách, CZ
Košťáková Eva Ing., Turnov, CZ
Pokorný Ivan Ing., Brandýs nad Labem, CZ
Vodseďálková Kateřina Ing., Kosmonosy, CZ

(74) Zástupce:

Advokátní, znalecká a patentová kancelář, Mgr. Václav
Karlíček, Vinohradská 6, Praha 2, 12000

(54) Název vynálezu:

**Způsob výroby nanokapslí připravených na
bázi nanovláken**

(57) Anotace:

Způsob výroby nanokapslí, který zahrnuje kontrolované
rozmělnění nanovláken, především nanovláken jádro - plášť,
aniž by došlo k destrukci nanovláken. Následuje uzavření
segmentu nanovláken do uzavřených struktur - nanokapslí,
které ve dvou dimenzích mají rozměrové parametry
nanovláken, tedy rozměr řádu jednotek a až stovek nanometrů
a ve třetím rozměru mají velikost mikrometrickou.

CZ 302699 B6

Způsob výroby nanokapslí připravených na bázi nanovláken

Oblast techniky

5

Vynález se týká přípravy a výroby kompozitních nanomateriálů, tak zvaných nanokapslí, které mohou s sebou nést a distribuovat jak in vitro, tak i in vivo látky, zejména pak bioaktivní.

10

Dosavadní stav techniky

15

Pro distribuci bioaktivních látek pro lékařské a veterinární účely se dosud zkoušela řada systémů. Vzhledem k rozměrům buněk v řádech mikrometrů je však zásadní pro distribuci bioaktivních látek využívat systémů, jejichž rozměry jsou s buňkami srovnatelné či spíše ještě menší. Jako nosiče v rozměrech nanometrů pro bioaktivní látky se dosud využívalo především liposomů a nanočástic, jejichž rozměry tomuto požadavku vyhovují.

20

25

Liposomy jsou membránové útvary tvořené amfifilními látkami v polárním prostředí. Nejčastěji se jedná o lipidy avšak stále širší aplikaci mají i povrchově aktivní látky a amfifilní peptidy. Liposomálních nosičových systémů je popsána celá řada od jednoduchých liposomových systémů, přes stabilizované liposomy, asociované s Polyethylenglykolem, což prodlužuje jejich retenci v organismu, imunoliposomy – liposomy s vázanými antigeny nebo protilátkami, nabitě liposomy, pH senzitivní liposomy, či termosenzitivní nosičové systémy. Přes obrovské mnohaleté úsilí se dosud nepodařilo naplnit původní optimistická očekávání o širokém použití liposomů pro řízené dodávání léčiv. Největším problémem se ukázala jejich nízká retence v organismu a rychlá degradace imunitním systémem. Velkou nevýhodou je i jejich křehkost a tendence k destrukci, například změnou iontové síly.

30

35

40

45

50

Kompozitní nanočástice představují další variantu nosičů, jejichž velikost odpovídá představám o velikosti pro řízené dodávání léčiv. Nanočástic byla připravena celá řada. Bernardi, A. Bernardi, ACCV Zilberstein, E. Jäger, MM Campos, FB Morrone, JB Calixto, AR Pohlmann, SS Guterres and AMO Battastini: Effects of indomethacin-loaded nanocapsules in experimental model of inflammation in rats British Journal of Pharmacology (2009) 158, 1104–1111, v roce 2009 připravil nanokapsle složené z polykaprolaktonu s obsahem indometacínu. Při přípravě použil meziplošné nanášení – interfacial deposition. Pozitivní účinek takto připraveného nosiče ověřil jak in vitro při potlačování růstu glioblastů, tak i in vivo na modelu potkana. Alternativním způsobem byly nanokapsle připravené z polyisobutylkyanoakrylátu s olejovitým vnitřkem využívaným na enkapsulaci hydrofóbních léčiv. Cournarie, Fabienne Cournariea, Moniques Che'ronb, Madeleine Bernarda and Christine Vauthiera: Evidence for restrictive parameters in formulation of insulin-loaded nanocapsules European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 57 (2004) 171–179, v roce 2004 připravil nanokapsle meziplošnou polymerizací – interfacial polymerization. Dalšími materiály, ze kterých byly připravené nanokapsle jsou polyuretany a polyamidy připravené Montasserem, I. Montasser, S. Briancon and H. Festi: The effect of monomers on the formulation of polymeric nanocapsules based on polyureas and polyamides International Journal of Pharmaceutics 335 (2007) 176–179, v roce 2006 a směs chitosan – Polyethylenglykol, ze které připravil nanokapsle Prego v roce 2006, C. Prego, D. Torres, E. Fernandez-Megia, R. Novoa-Carballal, E. Quiñoá, M. J. Alfonso: Chitosan-PEG nanocapsules as new carriers for oral peptide delivery Effect of chitosan pegylation degree Journal of Controlled Release 111 (2006) 299–308.

Obecným problémem nanočástic je především jejich poměrně omezené množství materiálů, ze kterých lze nanočástice připravit, a především nebezpečí jejich průniku hematoencefalickou bariérou.

Kromě koaxiálního elektrospinningu lze plněná nanovlákná připravit i alternativní technikou s využitím přeplavovacího elektrostatického zvlákňování což je podstatou patentové přihlášky PV 2009-425, o názvu: „Způsob a zařízení k výrobě nanovláken přeplavovacím elektrostatickým zvlákňováním“. Nevýhodou tohoto systému při tvorbě plněných nanovláken je gradient poklesu tlaku plněné látky při tvorbě plněných nanovláken.

Podstata vynálezu

S využitím metody koaxiálního elektrostatického zvlákňování, Core-shell elektrospinning, či přeplavovacího elektrostatického zvlákňování v kombinaci s multikanálovým vstřikováním, která je součástí tohoto vynálezu, připravit nanovláknenné struktury typu jádro – plášť.

Tyto struktury dále naplnit různými polymery či jinými látkami a dále rozdělit na mikroskopické nebo submikroskopické struktury takzvané nanokapsle, což je podstatou tohoto vynálezu.

Typické zařízení, které lze použít pro výrobu vláken typu jádro – plášť je jehlové zařízení pro elektrostatické zvlákňování, jehož zvlákňovací elektroda sestává ze dvou koaxiálních kapilár, které jsou nezávisle plněny dvěma různými kapalinami / polymerními roztoky.

Dále je možné použít i alternativních metod tvorby koaxiálních nanovláken spojujících hladinové a jehlové zvlákňování, které jsou předmětem patentové přihlášky PV 2009-425, o názvu: „Způsob a zařízení k výrobě nanovláken přeplavovacím elektrostatickým zvlákňováním“ respektive jeho modifikace dle zmíněného vynálezu.

Podstatou tohoto vynálezu je kontrolované rozmělnění nanovláken především nanovláken typu jádro – plášť, aniž by došlo k destrukci struktury nanovláken. Nanovlákná, která jsou mechanicky velmi málo odolná a plastická, lze jen obtížně opracovávat.

Další podstatou tohoto vynálezu je i uzavření segmentů nanovláken do uzavřených struktur – nanokapslí, které ve dvou dimenzích mají rozměrové parametry nanovláken, tedy rozměr řádu jednotek nanometrů až stovek nanometrů a v třetím rozměru mají velikost mikrometrickou či submikrometrickou.

Další podstatou tohoto vynálezu je i příprava nenaplněných otevřených nanokapslí, jejich velikostní rozřídění a naplnění. Takto utvořené struktury budou naplněny bioaktivními látkami, lze je použít například pro řízené dodávání léčiv. Výhodou tohoto přístupu oproti dosud používaným technikám je výrazně větší výběr materiálů, ze kterých lze nanokapsle připravit a dále řízení a výběr velikostí nanokapslí, což umožní regulovat řadu biologických jevů, například průchod haemato-encefaletickou bariérou. Výhodou je i fyzikální či chemické modulování vnějšího povrchu, což umožňuje řízené dodávání léčiv.

Další podstatou tohoto vynálezu je velikostní rozřídění již naplněných nanovláken.

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1

Nanovlákná jsou vyrobena metodou koaxiálního spinningu nebo jinou dostupnou alternativní metodou například s využitím přeplavovacího spinneru, nebo technologií NanospiderTM, a podobně. Povrch nanovláken může být fyzikálně nebo chemicky upraven a to například protilátkou, DNA/RNA aptamery, sacharidy, peptidy apod. a to tak, aby vyhovoval specifickým požadavkům pro řízené dodávání léčiv. Bioaktivní látka bude dodána v průběhu tvorby nano-

vláken. Následně budou nanovlákná hluboce zmražena, například v tekutém dusíku či jiným způsobem v závislosti na polymeru či materiálu, který tvoří vnější obal, typicky pod bod gelového přechodu. Následně za této teploty budou nanovlákná mechanicky rozdracena například mletím či jiným mechanickým způsobem. Poté budou nově vytvořené struktury na svých koncích uzavřeny tak, aby udržely svůj obsah. Typickým příkladem je uzavření konců nanokapslí přenesením do dostatečně vysoké teploty nebo sterilizací a to plasmou, etylénoxidem, gamma a UV zářením případně dalšími vhodnými sterilizačními metodami. Zmíněné techniky umožní spojení polymer-
ních obalů konců krátkých vlákenných úseků. K uzavření může dojít i mechanicky, jako druhot-
ný účinek kryogenního mletí a drcení. Poté následuje zchlazení.

Příklad 2

Nanokapsle dle příkladu 1 jsou obaleny v roztoku polymeru. Nanokapsle budou obaleny amfifilními lipidy – liposomový obal, amfifilními peptidy a polysacharidy.

Příklad 3

Struktury vytvořené dle příkladu 1 a příkladu 2 jsou smíchány s vhodným pufrem či vodným roztokem a velikostně separovány sedimentačními a chronografickými metodami, čímž lze získat velikostně homogenní frakce. V případě použití elektricky nabitého polymeru se při separaci uplatní elektroforetické techniky. Tento separační krok může být proveden i v dřívější fázi přípravy, kdykoliv po rozdělení nanovláken.

Příklad 4

Nanovlákná jsou vyrobena metodou koaxiálního spinningu nebo jinou dostupnou alternativní metodou například s využitím přeplavovacího spinneru, nebo technologii Nanospider™, a podobně. Nanovlákná budou hluboce zmražena, například v tekutém dusíku či jiným způsobem v závislosti na polymeru či materiálu, který tvoří vnější obal typicky pod bod gelového přechodu. Za této teploty budou nanovlákná mechanicky rozdracena například mletím či jiným mechanickým způsobem. Vzniklé útvary se přenesou do pufru a povrch nanovláken může být fyzikálně nebo chemicky upraven, například protilátkou, DNA/RNA aptamery, apod. a to tak, aby vyhovoval specifickým požadavkům pro řízené dodávání léčiv. Další látka, například bioaktivní, bude dodána následně ve formě roztoku, ve kterém budou nanovlákná inkubována. Po dosažení dostatečné penetrace látky do nanovláken budou nově vytvořené struktury na svých koncích uzavřeny tak, aby udržely svůj obsah. Typickým příkladem je uzavření konců nanokapslí přenesením do dostatečně vysoké teploty nebo sterilizací a to plasmou, etylénoxidem, gamma a UV zářením případně dalšími vhodnými sterilizačními metodami. Zmíněné techniky umožní spojení polymer-
ních obalů konců krátkých vlákenných úseků. K uzavření může dojít i mechanicky, jako druhot-
ný účinek kryogenního mletí a drcení. Poté následuje zchlazení.

Příklad 5

Nanokapsle dle příkladu 4 jsou obaleny v roztoku polymeru. Nanokapsle budou obaleny amfifilními lipidy – liposomový obal, amfifilními peptidy a polysacharidy.

Příklad 6

Struktury vytvořené dle příkladu 4 a příkladu 5 jsou smíchány s vhodným pufrem či vodným roztokem a velikostně separovány sedimentačními a chromatografickými metodami, čímž lze získat

velikostně homogenní frakce. V případě použití elektricky nabitého polymeru se při separaci uplatní elektroforetické techniky. Tento separační krok může být proveden i v dřívější fázi přípravy, kdykoliv po rozdělení nanovláken.

5

Příklad 7

Nanovlákná jsou vyrobena metodou koaxiálního spinningu s pohyblivým kolektorem nebo rotujícím kolektorem, nebo jinou alternativní metodou koaxiálního spinningu, jako je využití speciálního strukturovaného kolektoru, elektrospinning, elektrospinning z tyčky, elektrospinning z válečku, NanospiderTM a podobně. Povrch nanovláken může být dále fyzikálně nebo chemicky upraven a to například protilátkou, DNA/RNA aptamery, sacharidy, peptidy a podobně a to tak, aby vyhovoval specifickým požadavkům pro řízené dodávání léčiv. Bioaktivní látka bude dodána v průběhu tvorby nanovláken. Nanovlákná pak budou lyofilizována nebo přebytek vody odstraněn jinou dostupnou, alternativní metodou. Takto vzniklá nanovlákná, především paralelně orientovaná nanovlákná vytvořená metodou koaxiálního spinningu s laterálně pohyblivým kolektorem, budou nanášena na vhodnou podložku a řezána optickým – laserovým paprskem. Alternativně je možné použít jako podložku i optickou mřížku. Poté budou nově vytvořené struktury na svých koncích uzavřeny tak, aby udržely svůj obsah. Typickým příkladem je uzavření konců nanokapslí přenesením do dostatečně vysoké teploty nebo sterilizací a to plasmou, etylénoxidem, gamma a UV zářením případně dalšími vhodnými sterilizačními metodami. Zmíněné techniky umožní spojení polymerních obalů konců krátkých vláknenných úseků. K uzavření může dojít i mechanicky, jako druhotný účinek kryogenního mletí a drcení. Poté následuje zchlazení.

25

Příklad 8

Nanokapsle dle příkladu 7 jsou obaleny v roztoku polymeru. Nanokapsle jsou obaleny amfifilními lipidy – liposomový obal, amfifilními peptidy a polysacharidy.

30

Příklad 9

Struktury vytvořené dle příkladu 7 a příkladu 8 jsou smíchány s vhodným pufrem či vodným roztokem a velikostně separovány sedimentačními a chromatografickými metodami, čímž lze získat velikostně homogenní frakce. V případě použití elektricky nabitého polymeru se při separaci uplatní elektroforetické techniky. Tento separační krok může být proveden i v dřívější fázi přípravy kdykoliv po rozdělení nanovláken.

40

Příklad 10

Nanovlákná jsou vyrobena metodou koaxiálního spinningu s pohyblivým kolektorem nebo rotujícím kolektorem, nebo jinou alternativní metodou koaxiálního spinningu, jako je využití speciálního strukturovaného kolektoru, elektrospinning, elektrospinning z tyčky, elektrospinning z válečku, NanospiderTM a podobně. Nanovlákná pak budou lyofilizována nebo přebytek vody odstraněn lyofilizací nebo jiným dostupným alternativním přístupem. Vzniklá nanovlákná, především paralelně orientovaná nanovlákná vytvořená metodou koaxiálního spinningu s laterálně pohyblivým kolektorem, nebo rotujícím kolektorem budou nanášena na vhodnou podložku a řezána optickým – laserovým paprskem. Alternativně je možné použít jako podložku i optickou mřížku. Vzniklé útvary se přenesou do pufru a povrch nanovláken může být fyzikálně nebo chemicky upraven a to například protilátkou, DNA/RNA aptamery, sacharidy, peptidy podobně a to tak, aby vyhovoval specifickým požadavkům pro řízené dodávání léčiv. Další látka, například bioaktivní, bude dodána následně ve formě roztoku, ve kterém budou nanovlákná inkubována. Po dosažení dostatečné penetrace látky do nanovláken budou nově vytvořené struktury na svých

55

koncích uzavřeny tak, aby udržely svůj obsah. Typickým příkladem je uzavření konců nanokapslí přenesením do dostatečně vysoké teploty nebo sterilizací a to plasmou, etylénoxidem, gamma a UV zářením případně dalšími vhodnými sterilizačními metodami. Zmíněné techniky umožní spojení polymerních obalů konců krátkých vláknenných úseků. K uzavření může dojít i mechanicky, jako druhotný účinek kryogenního mletí a drcení. Poté následuje zchlazení.

Příklad 11

Nanokapsle dle příkladu 10 budou obaleny v roztoku polymeru. Nanokapsle jsou obaleny amfifilními lipidy – liposomový obal, amfifilními peptidy a polysacharidy.

Příklad 12

Struktury vytvořené dle příkladu 10 a příkladu 11 jsou smíchány s vhodným pufrům či vodným roztokem a velikostně separovány sedimentačními a chromatografickými metodami, čímž lze získat velikostně homogenní frakce. V případě použití elektricky nabitého polymeru se při separaci uplatní elektroforetické techniky. Tento separační krok může být proveden i v dřívější fázi přípravy kdykoliv po rozdělení nanovláken.

Příklad 13

Nanovlákná jsou vyrobena metodou koaxiálního spinningu s laterálně pohyblivým kolektorem nebo rotujícím kolektorem, nebo jinou alternativní metodou koaxiálního spinningu, jako je využití speciálního strukturovaného kolektoru, elektrospinning, elektrospinning z tyčky, elektrospinning z válečku, NanospiderTM a podobně. Povrch nanovláken může být fyzikálně nebo chemicky upraven a to například protilátkou, DNA/RNA aptamery, sacharidy, peptidy a podobně a to tak, aby vyhovoval specifickým požadavkům pro řízené dodávání léčiv. Bioaktivní látka bude dodána v průběhu tvorby nanovláken. Nanovlákná pak budou lyofilizována nebo přebytek vody odstraněn jiným dostupným alternativním přístupem. Vzniklá nanovlákná, především paralelně orientovaná nanovlákná vytvořená metodou koaxiálního spinningu s laterálně pohyblivým kolektorem nebo rotujícím kolektorem, budou zalita do vhodného gelu a řezána s použitím mikrotomu či jiné podobné alternativní metody. Poté budou nově vytvořené struktury na svých koncích uzavřeny tak, aby udržely svůj obsah. Typickým příkladem je uzavření konců nanokapslí přenesením do dostatečně vysoké teploty nebo sterilizací a to plasmou, etylénoxidem, gamma a UV zářením případně dalšími vhodnými sterilizačními metodami. Zmíněné techniky umožní spojení polymerních obalů konců krátkých vláknenných úseků. K uzavření může dojít i mechanicky, jako druhotný účinek kryogenního mletí a drcení. Poté následuje zchlazení.

Příklad 14

Nanokapsle dle příkladu 13 jsou obaleny v roztoku polymeru. Nanokapsle jsou obaleny amfifilními lipidy – liposomový obal, amfifilními peptidy a polysacharidy.

Příklad 15

Struktury vytvořené dle příkladu 13 a příkladu 14 jsou smíchány s vhodným pufrům či vodným roztokem a velikostně separovány sedimentačními a chromatografickými metodami, čímž lze získat velikostně homogenní frakce. V případě použití elektricky nabitého polymeru se při separaci uplatní elektroforetické techniky. Tento separační krok může být proveden i v dřívější fázi přípravy kdykoliv po rozdělení nanovláken.

Příklad 16

5 Nanovlákná jsou vyrobena metodou koaxiálního spinningu s laterálně pohyblivým kolektorem nebo rotujícím kolektorem, nebo jinou alternativní metodou koaxiálního spinningu, jako je využití speciálního strukturovaného kolektoru, elektrospinning, elektrospinning z tyčky, elektrospinning z válečku, Nanospider™ a podobně. Nanovlákná pak budou lyofilizována nebo přebytek vody odstraněn lyofilizací nebo jiným alternativním přístupem. Vzniklá nanovlákná, především paralelně orientovaná nanovlákná vytvořená metodou koaxiálního spinningu s laterálně pohyblivým kolektorem nebo rotujícím kolektorem, budou zalita do vhodného gelu a řezána s použitím mikrotomu či jiné podobné alternativní metody. Poté bude gel rozpuštěn a vymyt dialyzačními nebo jinou alternativní metodou a povrch nanovláken může být fyzikálně nebo chemicky upraven (například protilátkou, DNA/RNA aptamery, sacharidy, peptidy apod.) tak, aby vyhovoval specifickým požadavkům pro řízené dodávání léčiv. Další látka, například bioaktivní, bude dodána následně ve formě roztoku, ve kterém budou nanovlákná inkubována. Po dosažení dostatečné penetrace látky do nanovláken budou nově vytvořené struktury na svých koncích uzavřeny tak, aby udržely svůj obsah. Typickým příkladem je uzavření konců nanokapslí přenesením do dostatečně vysoké teploty nebo sterilizací a to plasmou, etylénoxidem, gamma a UV zářením případně dalšími vhodnými sterilizačními metodami. Zmíněné techniky umožní spojení polymerních obalů konců krátkých vláknenných úseků. K uzavření může dojít i mechanicky, jako druhotný účinek kryogenního mletí a drcení. Poté následuje zchlazení.

Příklad 17

25 Nanokapsle dle příkladu 16 jsou obaleny v roztoku polymeru. Nanokapsle jsou obaleny amfifilními lipidy – liposomový obal, amfifilními peptidy a polysacharidy.

30 Příklad 18

Struktury vytvořené dle příkladu 16 a příkladu 17 jsou smíchány s vhodným pufrem či vodným roztokem a velikostně separovány sedimentačními a chromatografickými metodami, čímž lze získat velikostně homogenní frakce. U elektricky nabitých nanokapslí se můžou při separaci uplatnit elektroforetické techniky. Tento separační krok může být proveden i v dřívější fázi přípravy kdykoliv po rozdělení nanovláken.

Příklad 19

40 Nanovlákná jsou vyrobena metodou koaxiálního spinningu s laterálně pohyblivým kolektorem nebo rotujícím kolektorem, nebo jinou alternativní metodou koaxiálního spinningu, jako je využití speciálního strukturovaného kolektoru, elektrospinning, elektrospinning z tyčky, elektrospinning z válečku, Nanospider™ a podobně. Povrch nanovláken může být fyzikálně nebo chemicky upraven a to například protilátkou, DNA/RNA aptamery, sacharidy, peptidy a podobně a to tak, aby vyhovoval specifickým požadavkům pro řízené dodávání léčiv. Bioaktivní látka bude dodána v průběhu tvorby nanovláken. Nanovlákná pak budou lyofilizována nebo přebytek vody odstraněn jiným alternativním přístupem. Vzniklá nanovlákná, především paralelně orientovaná nanovlákná vytvořená metodou koaxiálního spinningu s laterálně pohyblivým kolektorem nebo rotujícím kolektorem, bude nanosena na masku neboli vhodnou podložku s podélnými vrypky, jejichž vzdálenost odpovídá délce nanokapslí – podélnému rozměru nosiče. Takto připravený preparát bude vystaven fyzikálnímu působení mezi jinými například teplotnímu vlivu, nebo dále chemickému působení mezi jinými například film rozpouštědla a to tak, aby došlo k materiálovému narušení polymeru, ze kterého je konstruováno nanovlákná a to v místech vrypů. Vzniklé útvary se přenesou do pufru a povrch nanovláken může být fyzikálně nebo

chemicky upraven například protilátkou, DNA/RNA aptamery, sacharidy, peptidy podobně a to tak, aby vyhovoval specifickým požadavkům pro řízené dodávání léčiv. Poté budou nově vytvořené struktury na svých koncích uzavřeny tak, aby udržely svůj obsah. Typickým příkladem je uzavření konců nanokapslí přenesením do dostatečně vysoké teploty nebo sterilizací a to plasmou, etylénoxidem, gamma a UV zářením případně dalšími vhodnými sterilizačními metodami. Zmíněné techniky umožní spojení polymerních obalů konců krátkých vláknenných úseků. K uzavření může dojít i mechanicky, jako druhotný účinek kryogenního mletí a drcení. Poté následuje zchlazení.

Příklad 20

Nanokapsle dle příkladu 19 jsou obaleny v roztoku polymeru. Nanokapsle jsou obaleny amfifilními lipidy – liposomový obal, amfifilními peptidy a polysacharidy.

Příklad 21

Struktury vytvořené dle příkladu 19 a příkladu 20 jsou smíchány s vhodným pufrům či vodným roztokem a velikostně separovány sedimentačními a chromatografickými metodami, čímž lze získat velikostně homogenní frakce. U elektricky nabitých nanokapslí se můžou při separaci uplatnit elektroforetické techniky. Tento separační krok může být proveden i v dřívější fázi přípravy kdykoliv po rozdělení nanovláken.

Příklad 22

Nanovlákná jsou vyrobena metodou koaxiálního spinningu především s laterálně pohyblivým kolektorem nebo rotujícím kolektorem, nebo jinou alternativní metodou koaxiálního spinningu, jako je využití speciálního strukturovaného kolektoru, elektrospinning, elektrospinning z tyčky, elektrospinning z válečku, Nanospider™ a podobně. Nanovlákná pak budou lyofilizována nebo přebytek vody odstraněn lyofilizací nebo jiným alternativním přístupem. Vzniklá nanovlákná, především paralelně orientovaná nanovlákná vytvořená metodou koaxiálního spinningu s laterálně pohyblivým kolektorem nebo rotujícím kolektorem, bude nanosena na masku neboli vhodnou podložku s podélnými vrypů, jejichž vzdálenost odpovídá délce nanokapslí – podélnému rozměru nosiče. Takto připravený preparát bude vystaven fyzikálnímu působení mezi jinými například teplotnímu vlivu, nebo dále chemickému působení mezi jinými například film rozpouštědla a to tak, aby došlo k materiálovému narušení polymeru, ze kterého je konstruováno nanovlákná a to v místech vrypů. Vzniklé nanostruktury budou vymyty pufrům a další látka, například bioaktivní, bude dodána následně ve formě roztoku, ve kterém budou nanokapsle inkubovány. Po dosažení dostatečné penetrace látky do nanokapslí budou nově vytvořené struktury na svých koncích uzavřeny tak, aby udržely svůj obsah. Typickým příkladem je uzavření konců nanokapslí přenesením do dostatečně vysoké teploty nebo sterilizací a to plasmou, etylénoxidem, gamma a UV zářením případně dalšími vhodnými sterilizačními metodami. Zmíněné techniky umožní spojení polymerních obalů konců krátkých vláknenných úseků. K uzavření může dojít i mechanicky, jako druhotný účinek kryogenního mletí a drcení. Poté následuje zchlazení.

Příklad 23

Nanokapsle dle příkladu 22 jsou obaleny v roztoku polymeru. Nanokapsle jsou obaleny amfifilními lipidy (liposomový obal), amfifilními peptidy a polysacharidy.

Příklad 24

Struktury vytvořené dle příkladu 22 a příkladu 23 jsou smíchány s vhodným pufrům či vodným roztokem a velikostně separovány sedimentačními a chromatografickými metodami, čímž lze získat velikostně homogenní frakce. U elektricky nabitých nanokapslí se můžou při separaci uplatnit elektroforetické techniky. Tento separační krok může být proveden i v dřívější fázi přípravy kdykoliv po rozdělení nanovláken.

Příklad 25

Nanovlákná jsou vyrobena metodou koaxiálního spinningu nebo jinou alternativní metodou například s využitím přeplavovacího spinneru, nebo technologií Nanospider™ a podobně. Povrch nanovláken může být fyzikálně nebo chemicky upraven například protilátkou, DNA/RNA aptamery, sacharidy, peptidy a podobně a to tak, aby vyhovoval specifickým požadavkům pro řízené dodávání léčiv. Bioaktivní látka bude dodána v průběhu tvorby nanovláken. Následně budou nanovlákná hluboce zmražena, například v tekutém dusíku či jiným způsobem v závislosti na polymeru či materiálu, který tvoří vnější obal, typicky pod bod gelového přechodu. Následně za této teploty budou nanovlákná rozdrcena homogenizací. Poté budou nově vytvořené struktury na svých koncích uzavřeny tak, aby udržely svůj obsah. Typickým příkladem je uzavření konců nanokapslí přenesením do dostatečně vysoké teploty nebo sterilizací a to plasmou, etylénoxidem, gamma a UV zářením případně dalšími vhodnými sterilizačními metodami. Zmíněné techniky umožní spojení polymerních obalů konců krátkých vláknenných úseků. K uzavření může dojít i mechanicky, jako druhotný účinek kryogenního mletí a drcení. Poté následuje zchlazení.

Příklad 26

Nanokapsle dle příkladu 25 jsou obaleny v roztoku polymeru. Nanokapsle jsou obaleny amfifilními lipidy – liposomový obal, amfifilními peptidy a polysacharidy.

Příklad 27

Struktury vytvořené dle příkladu 25 a příkladu 26 jsou smíchány s vhodným pufrům či vodným roztokem a velikostně separovány sedimentačními a chromatografickými metodami, čímž lze získat velikostně homogenní frakce. U elektricky nabitých nanokapslí se můžou při separaci uplatnit elektroforetické techniky. Tento separační krok může být proveden i v dřívější fázi přípravy kdykoliv po rozdělení nanovláken.

Příklad 28

Nanovlákná jsou vyrobena metodou koaxiálního spinningu nebo jinou alternativní metodou výroby nanovláken, například technologií Nanospider™ a podobně. Nanovlákná jsou hluboce zmražena, například v tekutém dusíku či jiným způsobem v závislosti na polymeru či materiálu, který tvoří vnější obal, typicky pod bod gelového přechodu. Za této teploty budou nanovlákná rozdrcena homogenizací. Vzniklé útvary se přenesou do pufru a povrch nanovláken může být fyzikálně nebo chemicky upraven a to například protilátkou, DNA/RNA aptamery, podobně a to tak, aby vyhovoval specifickým požadavkům pro řízené dodávání léčiv. Další látka, například bioaktivní, bude dodána následně ve formě roztoku, ve kterém budou nanovlákná inkubována. Po dosažení dostatečné penetrace látky do nanovláken budou nově vytvořené struktury na svých koncích uzavřeny tak, aby udržely svůj obsah. Typickým příkladem je uzavření konců nanokapslí přenesením do dostatečně vysoké teploty nebo sterilizací a to plasmou, etylénoxidem, gamma a

UV zářením případně dalšími vhodnými sterilizačními metodami. Zmíněné techniky umožní spojení polymerních obalů konců krátkých vláknenných úseků. K uzavření může dojít i mechanicky, jako druhotný účinek kryogenního mletí a drcení. Poté následuje zchlazení.

5

Příklad 29

Nanokapsle dle příkladu 28 jsou obaleny v roztoku polymeru. Nanokapsle jsou obaleny amfifilními lipidy – liposomový obal, amfifilními peptidy a polysacharidy.

10

Příklad 30

Struktury vytvořené dle příkladu 28 a příkladu 29 jsou smíchány s vhodným pufrem či vodným roztokem a velikostně separovány sedimentačními a chromatografickými metodami, čímž lze získat velikostně homogenní frakce. U elektricky nabitých nanokapslí se můžou při separaci uplatnit elektroforetické techniky. Tento separační krok může být proveden i v dřívější fázi přípravy kdykoliv po rozdělení nanovláken.

20

Příklad 31

Při výrobě nanovláken a jejich separování do nanokapslí dle příkladů 1 až 30 je také využit alternativní přístupu tvorby plněných nanovláken s využitím přepravovacího elektrostatického zvlákňování dle patentové přihlášky PV 2009–425, o názvu: „Způsob a zařízení k výrobě nanovláken přeplavovacím elektrostatickým zvlákňováním“, ve kterém je přepadová dutá trubka s otvory nahrazena přepadovou hranou, kde místo otvorů v duté trubce je série trysek napojených na centrální píst. V přepadové hraně je série trysek, které jsou multikanálově plněny z centrálního pístu čímž je zajištěn stálý a definovaný tlak ve všech otvorech. V důsledku toho jsou také vytvořena homogenně plněná nanovlákná.

30

Průmyslová využitelnost

Podle vynálezu je možná produkce, příprava a výroba trojrozměrných nanovláknenných struktur mikrometrových, submikrometrových a nanometrových rozměrů, takzvaných nanokapslí. Nanokapsle lze použít ve všech oblastech, ve kterých lze využít liposomy nebo nanočástice. Mezi jinými jde o oblast řízeného dodávání léčiv in vivo, kde účinná látka je umístěna například v jádru nanokapsle. V jiném případě je tato účinná látka připevněna vnějšně. Nanokapsle je možné použít pro vnitřní i pro vnější distribuci bioaktivních látek. Pro jejich vnější použití lze využít jejich adhezni vlastnosti a aplikovat například jako element při krytí ran nebo pro distribuci bioaktivních látek pro kožní použití. Vnitřní aplikace nanokapslí je možná jak perorálně, tak i injekčně či ve formě sprejů, roztoků a podobně. Nanokapsle vyrobené podle vynálezu jsou také vhodné pro aplikace in vivo pro tkáňové inženýrství, například v podobě nosičů z biologicky odbouratelných materiálů pro pěstování živých tkání s předem určenými vlastnostmi a použitím.

45

PATENTOVÉ NÁROKY

- 5 1. Způsob výroby nanokapslí připravených na bázi nanovláken, **vyznačující se tím**, že nanovlákná jsou vyrobena metodou koaxiálního spinningu a povrch nanovláken je fyzikálně, nebo chemicky upraven bioaktivní látkou ze skupiny DNA/RNA aptamery, sacharidy, peptidy a to tak, že bioaktivní látka je dodána v průběhu tvorby nanovláken, následně jsou nanovlákná hluboce zmražena v tekutém dusíku pod teplotu gelového přechodu, a za této teploty mechanicky
10 rozdrčena, takto nově vytvořené struktury jsou na svých koncích uzavřeny plazmou, etylenoxidem, gamma a UV zářením, nebo mechanicky jako druhotný účinek kryogenního mletí a drcení tak, aby udržely svůj obsah.
2. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že nanokapsle jsou obaleny v roztoku polymeru, amfifilními lipidy nebo amfifilními peptidy a polysacharidy.
- 15 3. Způsob podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že bioaktivní látky ze skupiny DNA/RNA aptamery, sacharidy, peptidy jsou dodány následně ve formě roztoku, ve kterém jsou nanovlákná inkubována.
- 20

25

Konec dokumentu
