

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: 2015-117
(22) Přihlášeno: 20.02.2015
(40) Zveřejněno: 31.08.2016
(Věstník č. 35/2016)
(47) Uděleno: 22.04.2022
(24) Oznámení o udělení ve věstníku: 01.06.2022
(Věstník č. 22/2022)

A61L 15/26 (2006.01)
A61F 13/02 (2006.01)
A61K 9/70 (2006.01)
B29C 39/12 (2006.01)
B32B 5/06 (2006.01)

(56) Relevantní dokumenty:
US 6465709; US 2013150763.

(73) Majitel patentu:
Technická univerzita v Liberci, Liberec, Liberec I-
Staré Město, CZ

(72) Původce:
MUDr. Ladislav Dzan, Liberec XIV, CZ
MUDr. Silvie Krchová, Liberec, CZ
Ing. 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 Sanetrník, 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., Dobiášova 1246/29, 460 06
Liberec, Liberec VI-Rochlice

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

(57) Anotace:
Způsob výroby plošného útvaru z biodegradabilních a
biokompatibilních nanovláken, především kožních ran z
kaprolaktonového polymeru metodami elektrostatického
zvlákňování, odstředivého zvlákňování, meltblownu a
kombinací těchto technologií, přičemž je výsledný
materiál sterilizován ethylenoxidem. Zařízení k provádění
tohoto způsobu.

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

5 Oblast techniky

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 kombinace těchto technologií.

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

15

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.

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 v milióntinách milimetru. Díky tomu má nanovláknenný materiál velkou povrchovou plochu, je vysoce porézní a vyznačuje se extrémně nízkou 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.

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

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 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 zdoluhavý a také nákladný proces.

50

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.

55

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 až 330.

Současným požadavkem na nosiče vhodné pro tkáňové inženýrství je biologicky rozložitelný scaffold uvnitř něhož mohou fibroblasty migrovat a proliferovat. Taková 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 nanovláknenné vrstvy vytvořené metodou elektrického zvlákňování přímo na polyuretanový kryt (TegadermTM 3M Medical) pro dermální hojení kožních ran. Buněčná kultura je nasazena na obou stranách nanovláknenné vrstvy a testována na adhezi fibroblastů a jejich proliferaci. V práci se předpokládalo, že fibroblasty osídlené trojrozměrné nanovláknenné struktury překryté přes ránu podpoří tvorbu dermis a umožní následnou reepitelizaci. Výsledky získané v této studii ukazují, že nanovláknenný scaffold z obou stran osídlený fibroblasty vykazoval dobrou buněčnou adhezi, růst a proliferaci. Je to úspěšný první krok pro aplikaci nanovláknenných materiálů jako vhodných trojrozměrných nosičů pro pěstování autogenních populací fibroblastů. Poznatky získané studií poskytují velký potenciál pro léčbu kožních ran pomocí aplikace vrstevnatých vláknenných prostředků.

Nevýhody:

- Osazování *in vitro* před vlastní aplikací, která neumožňuje okamžité použití scaffoldu.
- Nanovláknenné struktury předpokládají reepitelizaci rány *in situ* bez nutnosti předchozí kultivace.
- Ideálně osazování scaffoldu vlastními buňkami – biopsie, kultivace – zdlouhavé, finančně náročné.
- Pokud jsou 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 až 508.

V této práci autoři posuzovali 5 materiálů jako možné kandidáty na krytí ran: poly(vinylalkohol) (PVA), poly(ϵ -kaprolakton) (PCL), polyakrylonitril (PAN), poly(vinylidenfluorid-co-hexafluorpropen) (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 mohlo být u těchto scaffoldů výhodou, jelikož by nedocházelo k odlupování scaffoldu během procesů hojení, což by mohlo celý proces urychlit.

Nevýhody:

- Preference hydrofilních nanovláknenných materiálů, které nedostatečně adherují k ráně.
- Smáčivost nanovláknenných 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 až 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 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 scaffoldu směrem ke zlepšení jejich už i tak výjimečných schopností hojit rány.

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 až 734.

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 nanovláknena 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 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:

- 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.
- 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: Optimization of antimicrobial and nontoxic concentrations, Tissue Engineering Part A 17 (2011), 439 až 449.

5

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, 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 nalézt 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.

15

Nevýhody:

20

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

Degradace PCL:

25

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 až 1740.

V této práci byla studována *in vivo* degradace poly(ϵ -kaprolaktonu) (PCL). Studie byla prováděna po dobu 3 let na laboratorních potkaních. Distribuce, vstřebávání a vylučování PCL byly sledovány pomocí radioaktivního značení PCL tritiem. Výsledky ukázaly, že kapsle z PCL s počáteční molekulovou hmotností (MW) 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. Radioaktivní stopovací látky byly poprvé zjištěny v krevní plazmě potkanů 15 dnů po implantaci. Současně 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 byla 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.

40

Nevýhody:

45

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

50

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 až 1555.

Práce výše zmíněných autorů byla zaměřena na studium degradace nanovlákně vrstvy z polykaprolaktonu v podmínkách *in vitro* a *in vivo*. Bylo zjištěno, že rychlost degradace závisí na

55

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).
 5 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.

Nevýhody:

10 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“:

15 US 2013/0150763 A1

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

20 Tento patent popisuje 3vrstvou nanovláknennou vrstvu používanou pro kryty ran. Vnější vrstva je hydrofilní a má podpůrnou funkci. Střední vrstva je tvořena ze zesíťovaného genipinu a obsahuje extrakt *Melilotus officinalis*. Vnitřní vrstva je tvořena nesíťovaným chitosanem. Do vrstev mohou být přidávána různá aditiva, která ovlivňují rychlost uvolňování bylinného extraktu.

25 Nevýhody:

- Hydrofilní vrstvy neumožňují dobrou adhezi k ráně.
- Síťování polymeru ve střední vrstvě musí být plně kontrolováno, uvolňování léčivých látek
 30 přesně řízeno.

Podstata vynálezu

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

Pomocí technologie elektrického zvlákňování, odstředivého zvlákňování, meltblownu a kombinací těchto technologií je možné vytvořit nanovláknenný materiál, který vykazuje vlastnosti netkané
 40 textilie. Jedinečností tohoto materiálu je průměr vláken, tedy nanovláknenného materiálu, který je použit pro vytvoření materiálu kožního krytu. Výhodou je struktura vyrobeného materiálu, kdy kožní kryt působí současně jako bariéra proti působení bakterií a zároveň jako polopropustná membrána pro průnik kyslíku a odvod nežádoucích látek. V současnosti se takovéto jednoduché membrány nevyužívají jako kožní kryty. Výhodou je zde předmětný způsob výroby
 45 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 polykaprolaktonu vyrobené podle tohoto vynálezu je
 50 dosažení stejných vlastností vrstev nanovláken díky zachování 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 krytů ran za přijatelnou cenu. Díky tomu, že scaffold není ničím
 55 funkcionalizovaný, je jej tudíž možné sterilizovat studeným ethylenoxidem, 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 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 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, 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 nanovlákná 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 – zvláknující elektrodou napájenou střídavým napětím a metodou odstředivého zvláknování, kdy je tímto postupem vytvořena na povrchu netkané textilie vrstva z biodegradabilních a biokompatibilních polymerů podle tohoto vynálezu.

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. Přiložení nanovláknenných scaffoldů, vyrobených podle tohoto způsobu, po primární excizi bez uzavření rány se v těchto případech jeví jako šetnější a příznivější.

Nanovláknenná PCL struktura vyrobená elektrospinningem je velice podobná *pars reticularis korii* (lat. hlubší vrstva šráky), a proto je ideální k využití jako základny pro reparaci a regeneraci tkání. Další výhodou je, že nanovlákná jsou extrémně 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 pozitivem je také to, že tyto nanovláknenné struktury znesnadňují průchod buněk o velikosti bakterií, a tím působí jako antibakteriální bariéra.

Objasnění výkresů

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

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

Obr. 3: Vláknenný materiál vyrobený technologií odstředivého zvláknování 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.

- 5 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.

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

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

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

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

25

Příklady uskutečnění vynálezu

Příklad 1. Příprava vrstev z polykaprolaktonu pomocí elektrostatického zvlákňování

30 Polykaprolakton (poly- ϵ -kaprolakton (PCL; mol. hmotnost 45,000; Sigma Aldrich) byl rozpuštěn ve směsi chloroform (Penta)/ethanol (Penta) v hmotnostním poměru 9:1. Polymeru v roztoku bylo 16 % hmotn. 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
35 elektroda byla na +30 kV, kolektor, pod níž prochází podkladová textilie (spunbond), byl nabíjen na -10 kV. Odtahová rychlost podkladové textilie byla v tomto příkladu 15 mm/min. Výsledná elektrostaticky zvlákněná vrstva měla plošnou hmotnost 3 g/m². Průměry vláken se pohybují u nanovláken okolo střední hodnoty 2394 ± 94 nm, zatímco mikrovlákná mají střední hodnotu 3664 ± 731 nm.

40

Příklad 2: Příprava vrstev z polykaprolaktonu pomocí elektrostatického zvlákňování

Polykaprolakton (poly- ϵ -kaprolakton (PCL; mol. hmotnost 45,000; Sigma Aldrich) byl rozpuštěn ve směsi chloroform (Penta)/ethanol (Penta)/kyselina octová (Penta) v hmotnostním poměru 8:1:1.
45 Polymeru v roztoku bylo 16 % hmotn. 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 strunovým válečkem jako zvlákňovací elektrodou. Zvlákňovací elektroda byla na +30 kV, kolektor, pod níž prochází podkladová textilie (spunbond), byl nabíjen na -10 kV. Odtahová rychlost podkladové textilie byla
50 v tomto příkladu 15 mm/min. Výsledná elektrostaticky 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

55

Polykaprolakton (poly- ϵ -kaprolakton (PCL; mol. hmotnost 80,000; Sigma Aldrich) byl rozpuštěn ve směsi chloroform (Penta)/ethanol (Penta) v hmotnostním poměru 9:1. Polymeru v roztoku bylo 12 hmotn. %. Takto připravený roztok byl umístěn na 12 hodin na magnetické míchadlo za laboratorních podmínek. Dále byl roztok odstředivě zvlákněn pomocí zařízení Fiber Engine 1.1 (FibeRio Technology Corporation, USA). Otáčky zvláknovacích spinneret byly 11 000 otáček za minutu. Výsledná plošná hmotnost vrstvy byla 2,8 g/m². Střední hodnota průměrů vláken byla 942 ± 347 nm, zastoupení mikrovláken bylo 38 %.

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

Polykaprolakton (poly- ϵ -kaprolakton (PCL; mol. hmotnost 45,000; Sigma Aldrich) byl odstředivě zvláknován pomocí průmyslového zařízení na výrobu cukrové vaty s otáčkami zvláknovací 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 zvláknovací jednotky. Výsledná plošná hmotnost vrstvy byla 7 g/m². Střední hodnota průměrů vláken byla 1552 ± 847 nm, zastoupení mikrovláken bylo 49 %.

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

Poly- ϵ -kaprolakton (PCL; mol. hmotnost 45,000; Sigma Aldrich), chloroform (Penta), ethanol (Et-OH; Penta) byly použity pro výrobu vlákenných materiálů. Roztok 16 % hmotn. PCL ve směsi chloroform/ethanol (9:1 hmotnostně) byl připraven pro elektrostatické zvláknování. Zařízení na výrobu jsou laboratorní zařízení meltblown (laboratory equipment J&M Laboratories, USA) a zařízení na elektrostatické bezjehlové zvláknování s využitím strunového válečku rotujícího ve vaničce s polymerním roztokem (princip technologie Nanospider™) jako zvláknovací elektrody. Šroub extrudéru meltblowu rotoval 40 otáček za minutu, což znamená 100 g polymeru za hodinu. Rychlost vzduchu ve vzdálenosti 20 cm od zvláknovací trysky byla 20 ms⁻¹. Délka zvláknovací trysky byla 15 cm. Otáčení zvláknovací elektrody u elektrostatického zvláknování bylo 50 otáček za minutu s průměrem válečku 30 mm a délkou 15 cm. Váleček byl nabíjen zdrojem vysokého napětí na +35 kV a kolektor byl nabíjen na -20 kV. Okolní teplota a vlhkost byly 23 °C; 45% RH (relativní vlhkost). Finální plošná hmotnost vyrobeného materiálu byla 15 g/m², střední hodnota průměru elektrostaticky zvlákněných vláken byla 732 ± 292 nm, střední hodnota vláken vyrobených technologií meltblown byla 6,5 ± 4,4 μm. Zastoupení nanovláken (vláken s průměrem pod 1 μm) 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 generování nanovláken, a to ze zvláknovací elektrody 2 napájené střídavým napětím a zařízením 4 pro tvorbu nanovláken 3 a 5 metodou odstředivého zvláknování, kdy je vytvořena vrstva 7 z nanovláken 3 a 5 na povrchu nosné netkané textilie 6, která je unášena dopravníkovým pásem 1.

Průmyslová využitelnost

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

PATENTOVÉ NÁROKY

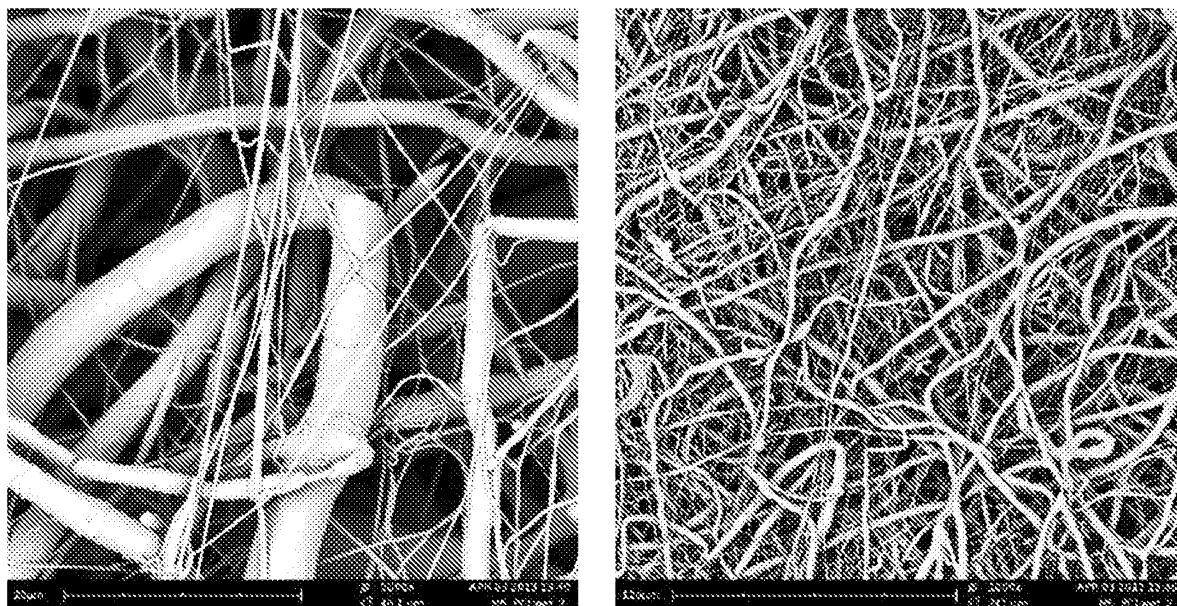
1. Způsob výroby plošného útvaru z biodegradabilních a biokompatibilních nanovláken, především pro kryt kožních ran, **vyznačující se tím**, že je vyroben z kaprolaktonového polymeru metodami elektrostatického zvlákňování, odstředivého zvlákňování, meltblownu nebo kombinací těchto technologií, přičemž výsledný materiál je sterilizovaný ethylenoxidem.

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

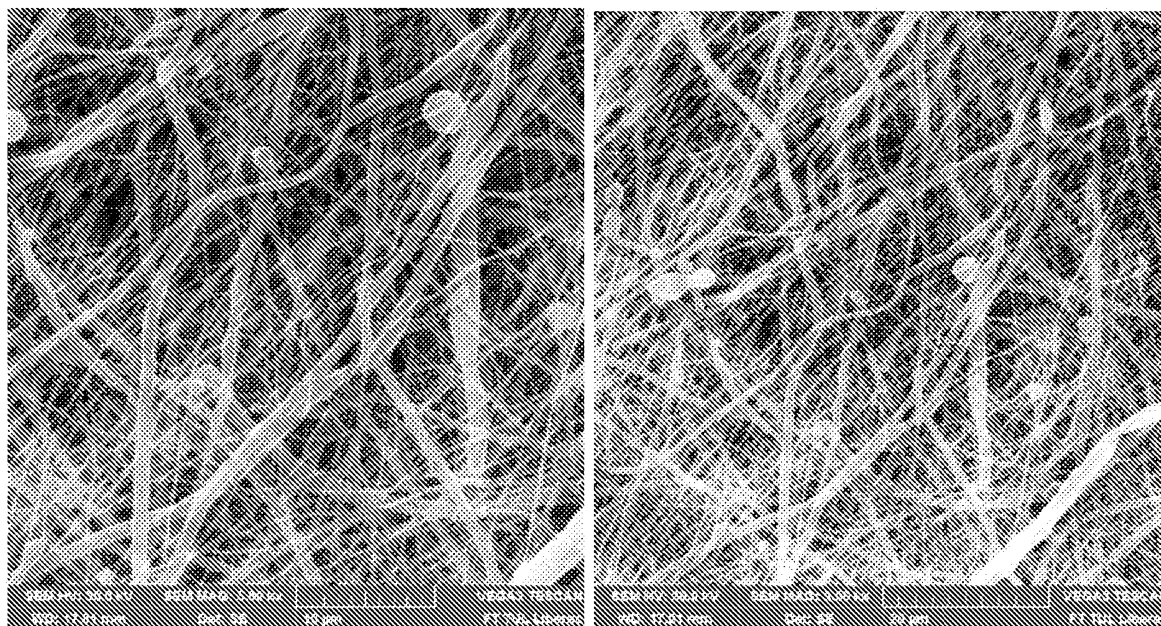
3. Způsob výroby plošného útvaru z biodegradabilních a biokompatibilních nanovláken, především pro kryt kožních ran podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že tenká nanovláčenná vrstva se ukládá na povrch nosné textilie metodou meltblown.

4. Zařízení pro způsob výroby plošného útvaru z biodegradabilních a biokompatibilních nanovláken, především pro kryt kožních ran, podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že zařízení sestává z nejméně dvou zdrojů pro generování nanovláken, a to ze zvlákňovací elektrody (2) napájené střídavým napětím a zařízení (4) pro tvorbu nanovláken metodou odstředivého zvlákňování, pro vytvoření vrstvy (7) z nanovláken (3) a (5) na povrchu nosné netkané textilie (6), unášené dopravníkovým pásem (1).

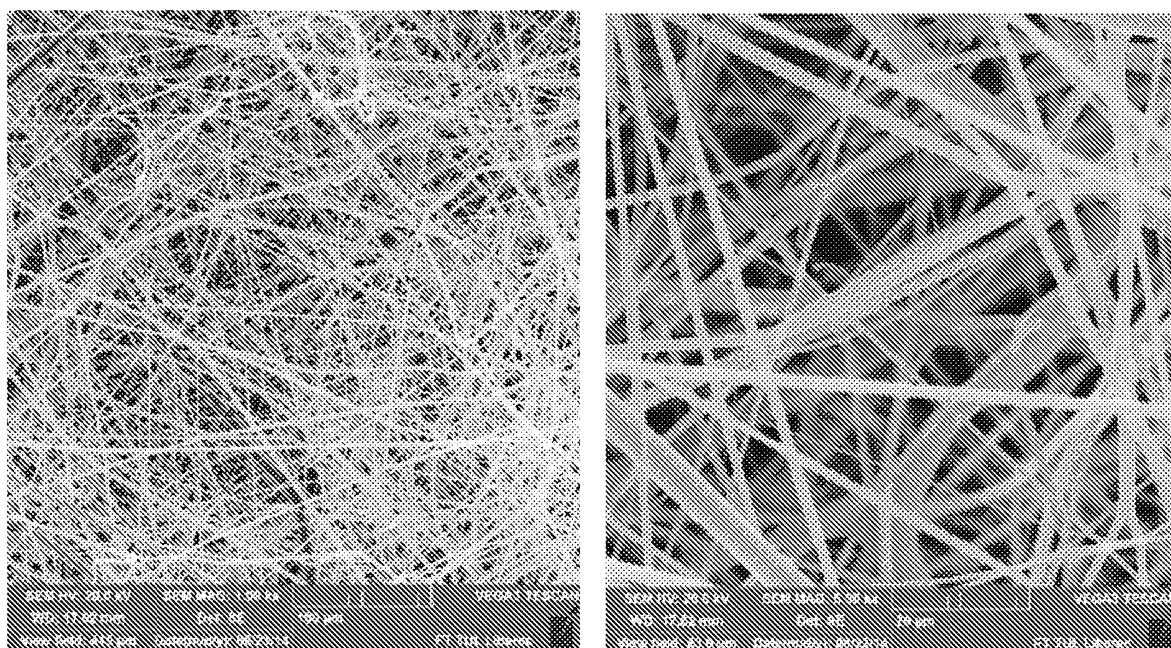
6 výkresů



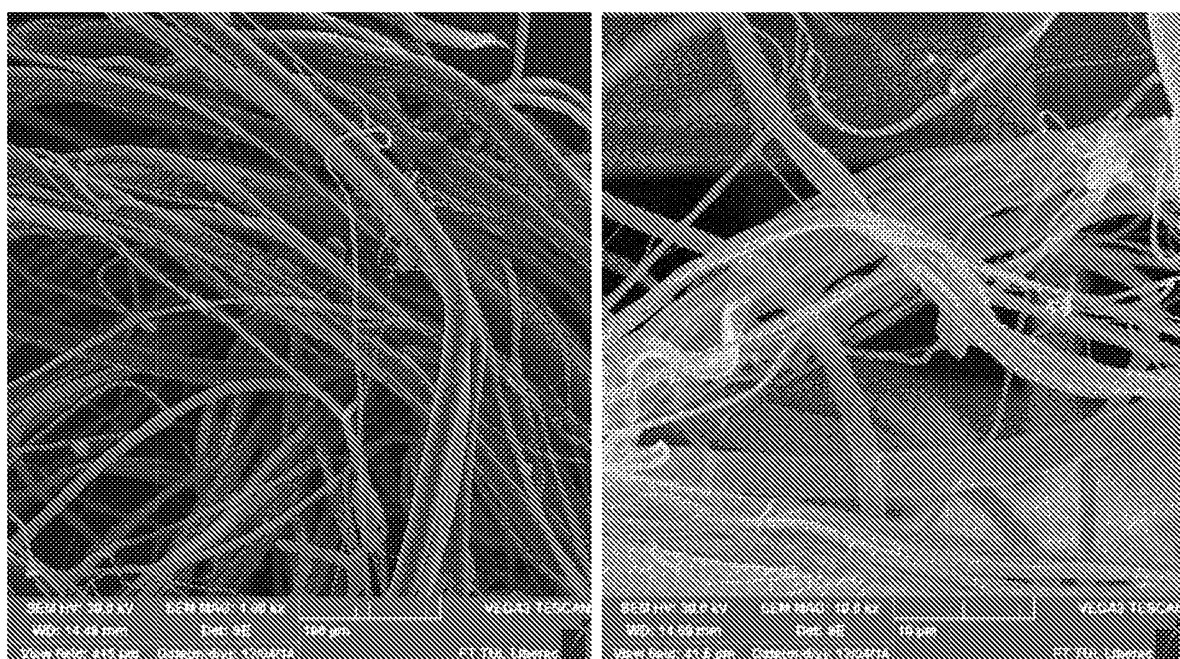
Obr. 1



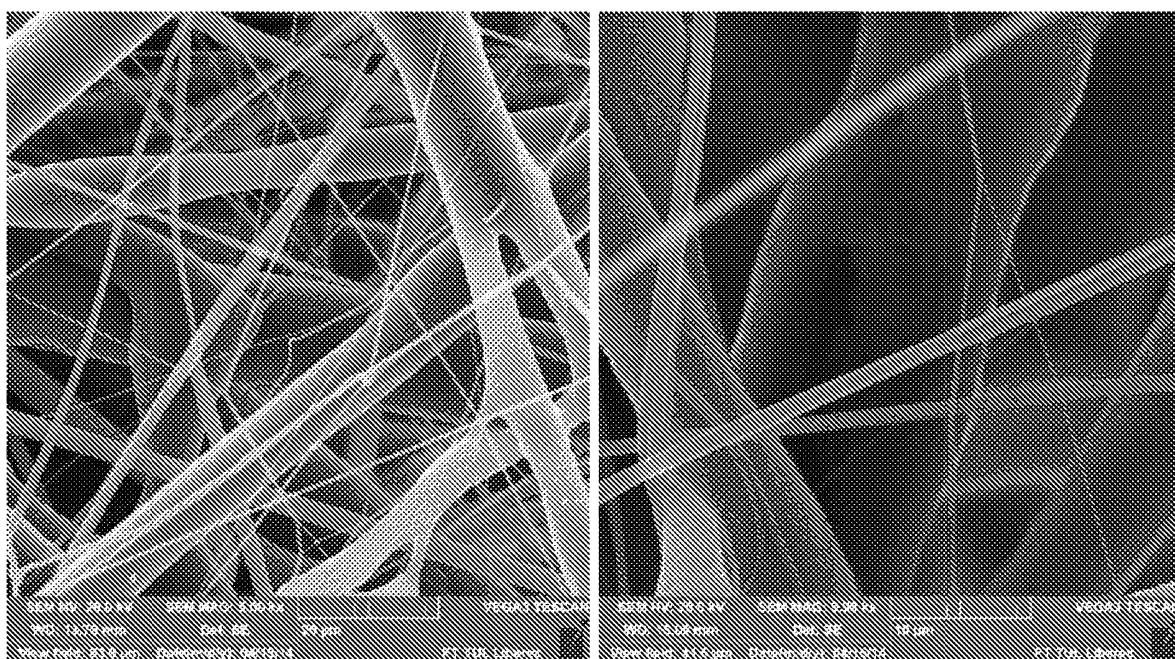
Obr. 2



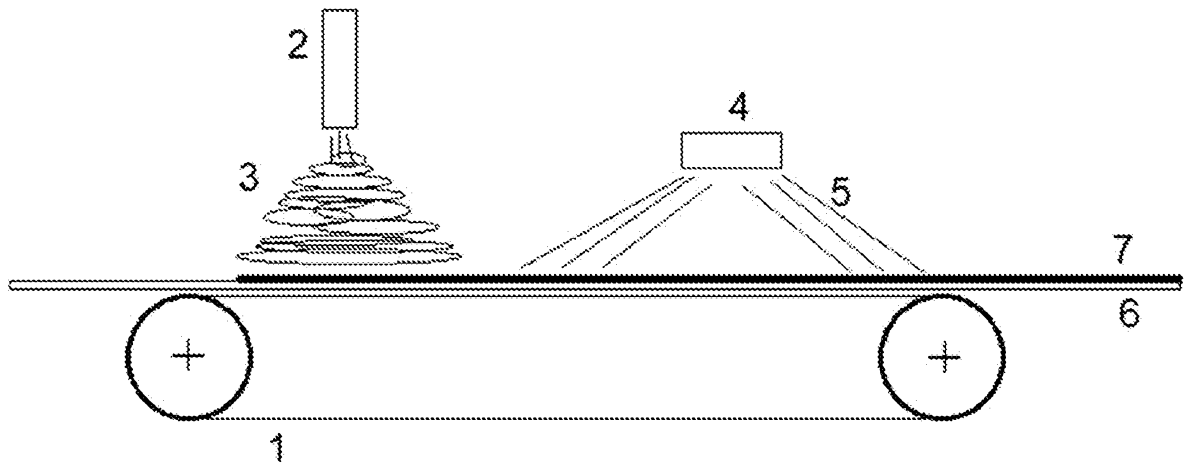
Obr. 3



Obr. 4



Obr. 5



Obr. 6