

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

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

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **15.03.2011**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **27.12.2012**
(Věstník č. 52/2012)

(21) Číslo dokumentu:

2011-133

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

D02G 1/00 (2006.01)
D02G 3/38 (2006.01)
D02G 3/44 (2006.01)
D02G 3/00 (2006.01)
B82B 1/00 (2006.01)
A61L 27/54 (2006.01)

(71) Přihlašovatel:

STUDENT SCIENCE, s. r. o., Hroní Podluží, CZ
Technická univerzita v Liberci, Liberec, CZ
Ústav experimentální medicíny AV ČR, v.v.i., Praha 4,
CZ
CB BIO s. r. o., Praha 9, CZ

bioaktivními látkami.

(72) Původce:

Amler Evžen Doc. RNDr. CSc., Praha 7, CZ
Buzgo Matěj, Turňa nad Bodvou, SK
Filová Eva Mgr. Ph.D., Trnava, SK
Jakubová Radka Mgr., Sečovská Polanka, SK
Jirsák Oldřich Prof. RNDr. CSc., Liberec 20 - Ostašov,
CZ
Lukáš David Prof. RNDr. CSc., Liberec, CZ
Mičková Andrea Mgr., Bratislava - Petržalka, SK
Plencner Martin Mgr., Bratislava, SK
Pokorný Ivan Ing., Brandýs nad Labem, CZ
Prosecká Eva Mgr., Praha 5, CZ
Rampichová Michala Mgr., Praha 6, CZ
Sanetník Filip, Liberec, CZ

(74) Zástupce:

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

(54) Název přihlášky vynálezu:

**Nitě a síť s funkcionalizovanými nanovláknny
pro biomedicínskou aplikaci**

(57) Anotace:

Nit je tvořena nanovláknennou strukturou, zvláště pak nanovláknennou strukturou typu jádro - plášť. Nanovláknenná struktura je funkcionalizována bioaktivními látkami, které mohou být jak uvnitř nanovláknenné struktury, tak na jejím povrchu. Funkcionalizovaná nit může být tvořena pouze nanovláknny, které jsou spřádány do lineárního útvaru nitě libovolným dosud známým způsobem, ale také nosičem, typicky tenkým monofilním vláknem, na které je nanovláknenná struktura nanášena. Nanovláknenný povrch tohoto lineárního útvaru pak může být ochráněn další nití, která nosnou nit potaženou nanovláknny po celé délce obtáhne. Plošné a prostorové struktury, připravené z takovýchto nití např. spletením, spřádáním, ubáčkováním či jiným způsobem vytváří síť, jejichž nanovláknenný obal je funkcionalizován



Nítě a sítě s funkcionalizovanými nanovlákný pro biomedicínskou aplikaci

Oblast techniky

Vynález se týká přípravy a výroby niti a sítí na bázi těchto niti, které se vyznačují tím, že jsou povrchově upraveny s pomocí nanovláken s dodatkem bioaktivních látek za účelem jejich lokálního uvolnění. Bioaktivní látky jsou ukotveny v nitru nanovláknenného materiálu nebo na jeho povrchu.

Dosavadní stav techniky

Pro distribuci bioaktivních látek pro humánní medicínu i veterinární účely se jako perspektivní ukazují nanovláknenné systémy, které dokáží přenášet bioaktivní látky jako antibiotika, protirakovinná léčiva, DNA, RNA či proteiny, Bhardwaj, N. and S.C. Kundu, *Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique*. Biotechnol Adv, 2010. **28**(3): p. 325-47. Wenguo, C. and et al., *Electrospun nanofibrous materials for tissue engineering and drug delivery*. Science and Technology of Advanced Materials, 2010. **11**(1): p. 014108. Nebiodegradovatelné nosiče uvolňují přenášené látky v závislosti na difúzi. U biodegradovatelných nosičů dochází vedle difúze látky i k uvolnění v důsledku degradace. Dosud je známa řada aplikací, které využívaly plošných útvarů na bázi nanovláken, které mohly být dále uspořádány do trojrozměrné struktury ať už svým prostorovým uspořádáním (např. svinutím do válečku), vrstvením či jiným uspořádáním nebo v kombinaci s použitím dalšího trojrozměrného nosiče. Nevýhodou takových systémů je však jejich malá biomechanická odolnost a také obtížná aplikace jako lineárních útvarů, do kterých se jen obtížně formují, aniž by byla porušena jejich nanostruktura a uspořádání. Je přitom zřejmé, že řada biomedicínských aplikací, zejména chirurgických, takové lineární systémy a z nich zkonstruované struktury dosud postrádá.

Příprava příze a lineárních útvarů tvořených nanovláknem, případně složitější prostorové struktury připravené dalším zpracováním takových lineárních útvarů, je obsahem jiné (paralelní) přihlášky vynálezu. Existují i další způsoby výroby nanovláknenné příze, například přímým odtahováním nanovláken z několika dvojic proti sobě uspořádaných trysek nabitých opačným elektrickým nábojem, a jejich následným pojením (US 2008265469) nebo i jiné postupy (US 2009/0189319, US 2008/122142, US 7803460, WO 2006/123879). Způsobů přípravy příze složené z nanovláken se týkají spisy JP 2010/031412, JP 2010/053457, US 2010/148404, JP2009/280923, JP 2007/247127, Czech Pat. Appl. PV 2007-179 či Czech Pat. Appl. PV 2009-797. Žádný z těchto patentů se však nezabývá vytvořením funkcionalizovaných nanovláknenných systémů, tj. systémů které mají další, přídavné funkce, kupř. umožňují řízené uvolňování bioaktivních látek a tak jsou vhodné k aplikaci pro medicínské účely. Podobně se ani dosud nevyužívá aplikace bioaktivními látkami funkcionalizovaných nanovláken pro chirurgické účely.

V medicínských aplikacích se v současnosti využívá řada bioaktivních látek. Antiseptické látky a antibiotika jsou v chirurgické praxi používány zejména z důvodu zabránění postoperačních infekcí. V medicínské praxi se hojně využívá řada antibiotik jako penicilínová antibiotika, antibiotika účinná vůči anaerobním bakteriím jako metronidazol, lincomycin či clindamycin, či s účinkem vůči aerobním Gram-negativním a Gram-pozitivním kokům jako chloramfenikol, nebo širokospektrální antibiotika jako gentamicin či tetracyklinová antibiotika, ale i další včetně jejich kombinací. Antiseptické látky hrají významnou úlohu při léčbě infekčních ran. Působí nejen na bakterie, ale též na houbové, protozoální, virové i prionové patogeny. Nejpoužívanějšími antiseptickými látkami v medicínských aplikacích jsou komplexy polyvinylpyrolidonu a jodu, etanol, chlorhexidin, chloroxylenol, peroxid vodíku a komplexy stříbra. Atiyeh, B.S., S.A. Dibo, and S.N. Hayek, *Wound cleansing, topical antiseptics and wound healing*. Int Wound J, 2009. McCullough, C.J., et al., *The influence of penicillin*

on experimental wound contamination with staphylococci: Studies with chromic catgut and monofilament nylon closure. British Journal of Surgery, 1977. **64**(2): p. 120-124. p. 420-430.

Z hlediska systému dodávání léčiv mají význam zejména komplexy stříbra, u kterých byla zjištěná vysoká antimikrobiální aktivita McDonnell, G. and A.D. Russell, *Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance.* Clin Microbiol Rev, 1999. Diehr, S., et al., *Clinical inquiries. Do topical antibiotics improve wound healing?* J Fam Pract, 2007. **56**(2): p. 140-4. (1): p. 147-79. Sulfadiazin stříbra má největší medicínský potenciál, a to zejména ve formě nanočástic.

Protizánětlivé látky. Jedná se například o cytokiny, které je možno využít především pro potlačení zánětu v místě implantace, neboť potlačují reakce imunitního systému na cizorodý implantát. Příkladem účinné látky zabraňující zánětlivé reakci je diklofenak Krischak, G.D., et al., *The effects of non-steroidal anti-inflammatory drug application on incisional wound healing in rats.* J Wound Care, 2007. 16(2): p. 76-8. **N- stearoylethanolamine** Hula, N.M., et al., *[Anti-inflammatory effect of N-stearoylethanolamine in experimental burn injury in rats]*. Ukr Biokhim Zh, 2009. 81(2): p. 107-16., **dále specifické inhibitory COX2 (~~etodolac, meloxicam, celecoxib, rofecoxib, valdecoxib~~)** Chen, Y.F., et al., *Cyclooxygenase-2 selective non-steroidal anti-inflammatory drugs (etodolac, meloxicam, celecoxib, rofecoxib, etoricoxib, valdecoxib and lumiracoxib) for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: a systematic review and economic evaluation.* Health Technol Assess, 2008. 12(11): p. 1-278, iii. **a ibuprofen** Tan, V., et al., *Effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on flexor tendon adhesion.* J Hand Surg Am, 2010. 35(6): p. 941-7. **Nesmírně zajímavými látkami protizánětlivými účinky jsou extrakty z různých rostlin. Protizánětlivý a hojení ran navozující efekt byl popsán například**

při extraktu **Madhu ghrita** Charde, M., et al., *Wound healing and antiinflammatory potential of madhu ghrita*. Vol. 68. 2006. 26*31. **Malva sylvestris**, **Punica granatum** Pirbalouti, A.G., et al., *Wound healing activity of Malva sylvestris and Punica granatum in alloxan-induced diabetic rats*. Acta Pol Pharm, 2010. 67(5): p. 511*6., **Prosthechea michuacana** , **Jasminum grandflorum** Nayak, B.S. and K. Mohan, *Influence of ethanolic extract of Jasminum grandflorum linn flower on wound healing activity in rats*. Indian J Physiol Pharmacol, 2007. 51(2): p. 189*94 a mnohé další.

Antioxidanty. Proces hojení ran je ovlivněný také přítomností antioxidantů. Antioxidanty jako látky detoxikující škodlivé látky v mnohém působí synergicky s antimikrobiálními a protizánětlivými látkami. Mezi nejznámější antioxidanty patří kyselina askorbová, melatonin, glutation, tokoferoly a β -karotén Jenkins, R.R., *Exercise, oxidative stress, and antioxidants: a review*. Int J Sport Nutr, 1993. 3(4): p. 356*75. Antioxidanty se běžně vyskytují v rostlinných extraktech a zodpovídají za značnou část jejich pozitivního efektu Dai, J. and R.J. Mumper, *Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties*. Molecules, 2010. 15(10): p. 7313*52.

Proliferační a diferenciační substance. Mesenchymální kmenové buňky (MSC) hrají klíčovou roli v řadě regenerativních procesů. Při diferenciaci MSC se používá řada substancí. Pro diferenciaci na osteoblast například směs β -glycerofosfátu, kyseliny askorbové, dexametazonu Jackson, L., et al., *Adult mesenchymal stem cells: differentiation potential and therapeutic applications*. J Postgrad Med, 2007. 53(2): p. 121*7.

Migrace MSC do místa poškození je nesmírně důležité pro úspěšnou regeneraci defektů. MSC můžou být do míst poškození atrahovány pomocí chemotaxických faktorů jako SDF-1 α a FGF-2 Stellos, K., et al., *Platelet-Derived Stromal Cell-*

Derived Factor-1 Regulates Adhesion and Promotes Differentiation of Human CD34+ Cells to Endothelial Progenitor Cells. Circulation, 2008. **117**(2): p. 206-215.

Massberg, S., et al., *Platelets secrete stromal cell-derived factor 1a and recruit bone marrow-derived progenitor cells to arterial thrombi in vivo.* The Journal of Experimental Medicine, 2006. **203**(5): p. 1221-1233.

Je zcela zřejmé, že přes značně nadějné experimentální výsledky je však praktická realizace v biomedicínských aplikacích zatím stále velmi malá. Jedním z klíčových důvodů je delokalizace efektu působení bioaktivních látek. V důsledku této delokalizace pak výsledná koncentrace bioaktivní látky je nízká, tudíž je nedostatečně efektivní. Hlavním cílem tohoto řešení podle vynálezu je tuto delokalizaci řešit.

Podstata vynálezu

Podstatou tohoto vynálezu je funkcionalizovaná niť, která se vyznačuje tím, že její povrch je tvořen nanovláknennou strukturou, zvláště pak nanovláknennou strukturou typu jádro – plášť. Tato nanovláknenná struktura je v průběhu přípravy produktu funkcionalizována/opatřena bioaktivními látkami, které mohou být jak uvnitř nanovláknenné struktury, tak na jejím povrchu. Tato funkcionalizovaná niť může být tvořena jak pouze nanovláknem, které jsou spředeny do lineárního útvaru nitě libovolným dosud známým způsobem, ale také nosičem, typicky tenkým monofilním vláknem, na který je nanovláknenná struktura nanesena. Nanovláknenný povrch tohoto lineárního útvaru pak může být ochráněn další nití, která nosnou niť potaženou nanovláknem po celé délce obtáčí.

Podstatou tohoto vynálezu jsou rovněž také plošné a prostorové struktury, které z takovýchto nití jsou spleteny, spředeny, uháčkované či připraveny jiným způsobem. Jedná se především o sítě, jejich nanovláknenný obal je funkcionalizován vybranými bioaktivními látkami.

Příklady provedení předmětu vynálezu

1. Nanovláknenná nit' s povrchově imobilizovanými bioaktivními látkami, s tím, že nanovláknena jsou vyrobena s využitím známé metody elektrostatického zvlákňování. Z těchto nanovláken je spředena nit' která je následně inkubována bioaktivními látkami, typicky nějakou antiseptickou látkou nebo antibiotikem nebo protizánětlivou látkou nebo antioxidační látkou nebo proliferační nebo diferenciační substancí nebo jakoukoliv kombinací těchto látek. Povrchová imobilizace těchto bioaktivních látek může být modifikována fyzikálně-chemickou povrchovou úpravou nanovláken před jejich inkubací s bioaktivními látkami, typicky mohou být nanovláknena upravena plazmou.
2. Nanovláknenná nit' s internalizovanými bioaktivními látkami, s tím, že nanovláknena jsou vyrobena s využitím koaxiálního zvlákňování, kdy bioaktivní látky jsou přidány do roztoku tvořící jádro i plášť, typicky nějakou antiseptickou látkou nebo antibiotikem nebo protizánětlivou látkou nebo antioxidační látkou nebo proliferační nebo diferenciační substancí nebo jakoukoliv kombinací těchto látek. Teplotně, hydratačně či jinak senzitivní látky budou preferenčně distribuovány do roztoku tvořící jádro zejména způsobem, který umožňuje zachování struktury a aktivity bioaktivních látek. Z těchto nanovláken bude spředena nit'. Nit' může být také následně inkubována s výše uvedenými bioaktivními látkami.
3. Nit' s nanovláknenným povrchem s povrchově imobilizovanými bioaktivními látkami s tím, že nanovláknena jsou nanesena na nosnou nit', typicky tenký monofil, s využitím známého postupu. Výsledná nanovláknny povrstvená nosná nit' může, ale nemusí, být opatřena ochrannou nití, Takto připravená nit' bude následně inkubována s bioaktivními látkami, typicky nějakou antiseptickou látkou nebo antibiotikem nebo protizánětlivou látkou nebo antioxidační látkou

nebo proferální nebo diferenciační substancí nebo jakoukoliv kombinací těchto látek. Povrchová imobilizace těchto bioaktivních látek může být modifikována fyzikálně-chemickou povrchovou úpravou nanovláken před jejich inkubací s bioaktivními látkami, typicky mohou být nanovlákná upravena plazmou v různé atmosféře.

4. Niť s nanovláknennými internalizovanými bioaktivními látkami s tím, že nanovlákná jsou nanesena na nosnou niť, typicky tenký monofil, s využitím některého známého postupu. Nanovlákná jsou nanesena metodou koaxiálního zvlákňování, kdy bioaktivní látky jsou přidány do roztoku tvořící jádro i plášť, typicky nějakou antiseptickou látkou nebo antibiotikem nebo protizánětlivou látkou nebo antioxidační látkou nebo proliferační nebo diferenciační substancí nebo jakoukoliv kombinací těchto látek. Teplotně, hydratačně či jinak senzitivní látky budou preferenčně distribuovány do roztoku tvořící jádro. Výsledná, nanovlákná povrstvená nosná niť může, ale nemusí, být opatřena ochrannou nití. Takto připravená niť může, ale nemusí být následně inkubována s bioaktivními látkami.

5. Síťka pro krytí ran s povrchově imobilizovanými bioaktivními látkami s tím, že k výrobě sítěk je použita nanovláknenná niť s povrchově imobilizovanými bioaktivními látkami bude vyrobena jak je uvedeno v Příkladu 1 nebo niť s nanovláknenným povrchem s povrchově imobilizovanými bioaktivními látkami jak je uvedeno v Příkladu 3. Takto připravené nitě budou následně použity jako výchozí materiál k pletení, tkání, háčkování nebo budou podobným způsobem zpracovány k vytvoření plošné struktury.

6. Síťka pro krytí ran s internalizovanými bioaktivními látkami s tím, že k výrobě sítěk je použita nanovláknenná niť s internalizovanými bioaktivními

látkami vyrobena jak je uvedeno v Příkladu 2 nebo nit' s nanovlákným internalizovanými bioaktivními látkami vyrobena jak je uvedeno v Příkladu 4. Takto připravené nitě budou následně použity jako výchozí materiál k pletení, tkání, háčkování nebo budou podobným způsobem zpracovány k vytvoření plošné struktury.

7. Nitě s funkcionalizovanými nanovlákný pro biomedicínskou aplikaci s tím, že funkcionalizovaná nit' je tvořena nanovlákný s bioaktivními látkami a je spředená do lineárního útvaru.

Průmyslová využitelnost

Podle vynálezu je možná produkce, příprava a výroba lineárních a plošných struktur mikrometrových, submikrometrových a nanometrových rozměrů, takzvaných bioaktivními látkami funkcionalizovaných nití a sítí. Takové materiály lze s výhodou použít v humánní a veterinární medicíně pro usnadnění a urychlení regeneračních procesů. Jejich uplatnění lze očekávat především v chirurgii, ortopedii či dermatologii. Jde o způsob lokalizace a řízeného dodávání léčiv *in vivo*, kde účinná látka je umístěna například v jádře nanovlákn, popř. je tato účinná látka připevněna na povrchu.

Funkcionalizované nitě a sítě podle tohoto vynálezu jsou také vhodné pro aplikace *in vitro* pro tkáňové inženýrství, například v podobě nosičů z biologicky odbouratelných materiálů pro pěstování živých tkání s předem určenými vlastnostmi a použitím.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Nitě s funkcionalizovanými nanovlákný pro biomedicínskou aplikaci, v y z n a č e n é t í m, že povrch funkcionalizované nitě je tvořen nanovláknennou strukturou, s výhodou nanovláknennou strukturou typu jádro – plášť, s tím, že nit tvoří nosný základ a nanovláknena tvoří plášť, tato nanovláknenná struktura, tvořící plášť, je funkcionalizována bioaktivními látkami, které jsou uvnitř nanovláknenné struktury.
2. Nitě s funkcionalizovanými nanovlákný pro biomedicínskou aplikaci, podle nároku 1, v y z n a č e n é t í m, že povrch funkcionalizované nitě je tvořen nanovláknennou strukturou, s výhodou nanovláknennou strukturou typu jádro – plášť, s tím, že nit tvoří nosný základ a nanovláknena tvoří plášť, tato nanovláknenná struktura, tvořící plášť, je funkcionalizována bioaktivními látkami, které jsou na jejím povrchu.
3. Nitě s funkcionalizovanými nanovlákný pro biomedicínskou aplikaci podle některého z předchozích nároků 1, a 2, v y z n a č e n é t í m, že jsou tvořeny nosným základem, typicky tenkým monofilním vláknem, na který je nanovláknenná struktura nanesena.
4. Nitě s funkcionalizovanými nanovlákný pro biomedicínskou aplikaci, v y z n a č e n é t í m, že funkcionalizovaná nit je tvořena nanovlákný s bioaktivními látkami, které jsou spředeny do lineárního útvaru.
5. Nitě s funkcionalizovanými nanovlákný pro biomedicínskou aplikaci podle některého z předchozích nároků, v y z n a č e n é t í m, že nanovláknenný povrch tohoto lineárního útvaru je ochráněn další nití, která nosnou nit potaženou nanovlákný po celé délce obtáčí.

6. Síť, vytvořené z nití s funkcionalizovanými nanovlákný, pro biomedicínskou aplikaci, podle některého z předchozích nároků, v y z n a č e n é t í m, že jsou tvořeny plošnými a prostorovými strukturami, které jsou z nití z funkcionalizovanými nanovlákný s výhodou spleteny, spředeny či uháčkovány.

7. Síť, vytvořené z nití s funkcionalizovanými nanovlákný, pro biomedicínskou aplikaci, podle nároku 6., v y z n a č e n é t í m, že dále obsahují nanovláknenný obal funkcionalizovaný bioaktivními látkami.