

UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

34 045

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

A61K 38/39 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 7/04 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 23/00 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2019-37020**
(22) Přihlášeno: **17.12.2019**
(47) Zapsáno: **01.06.2020**

- (73) Majitel:
Všeobecná fakultní nemocnice v Praze, Praha 2,
Nové Město, CZ
Ústav struktury a mechaniky hornin AV ČR, v.v.i.,
Praha 8, Libeň, CZ
České vysoké učení technické v Praze, Praha 6,
Dejvice, CZ
- (72) Původce:
doc. MUDr. Tomáš Grus, Ph.D., Mníšek pod Brdy,
CZ
Ing. Tomáš Suchý, Ph.D., Praha 9, Střížkov, CZ
Ing. Monika Šupová, Ph.D., Praha 4, Háje, CZ
Ing. Hynek Chlup, Ph.D., Dobrochov, CZ
doc. Ing. Lukáš Horný, Ph.D., Pardubice, Zelené
Předměstí, CZ
- (74) Zástupce:
Kania, Sedlák, Smola, s.r.o., Mendlovo náměstí
907/1a, 603 00 Brno, Staré Brno

- (54) Název užitého vzoru:
**Degradovatelná vysoce porézní kolagenní
pěna pro řízené uvolňování aktivních látek**

Degradovatelná vysoce porézní kolagenní pěna pro řízené uvolňování aktivních látek

Oblast techniky

Předmětem technického řešení je kolagenní pěna s hemostatickými účinky, řízenou dobou degradace a řízeným lokálním uvolňováním aktivních látek, například antibiotik, pro použití formou krytí ran v chirurgii, ortopedii, traumatologii a plastické chirurgii.

Dosavadní stav techniky

Krvácení na větších plochách při chirurgických zákrocích je poměrně častým a velmi závažným problémem a v krajních případech může znamenat i ohrožení života pacienta. Dalším závažným problémem je proniknutí infekce do organismu. Při postoperační administraci antibiotik nastává problém systémového zatížení, často nedostatečného průniku do operační rány a v určitých případech může dojít i k systémové toxicitě.

Jedním z řešení je použití lokálně antiseptického neadhezivního materiálu. Mimo podstatnou lokálně antiseptickou funkci může mít tento materiál současně také lokálně hemostatické a anestetické vlastnosti.

Kolageny izolované z velkých savců jako kráva, prase nebo kůň jsou hojně využívány v biomateriálovém inženýrství. Jejich nevýhodou jsou potenciální alergické reakce, kterými trpí až 4 % populace. Řešení se nabízí v použití rybího kolagenu, který vykazuje excelentní biokompatibilitu. Izolace kolagenu z kůže ryb navíc nepředstavuje takové riziko přenosu různých chorob, jako v případě extrakce z vepřové nebo hovězí kůže (BSE, PrPSc). Rybí kolagen vykazuje nižší reprodukovatelnost, co se týče jeho strukturních vlastností, v porovnání s kolageny izolovanými z velkých savců. Tento nedostatek je možné odstranit jeho chemickým síťováním pomocí sloučenin na bázi karboimidů, které jsou v chemii kolagenu běžně používány. Podmínky síťování ovlivňují výslednou míru zesílení kolagenního materiálu, což má ve výsledku velký vliv na jeho nasákavost a degradační vlastnosti ve fyziologickém prostředí. Síťovaný kolagen dobře odolává ionizujícímu záření, což umožňuje jeho sterilizaci běžně užívanými dávkami 25 kGy. Pomocí lyofilizačního procesu je možné dále vytvořit trojrozměrný materiál s danou porozitou.

Takto připravené materiály se obecně velmi osvědčily jako nosiče léčiv s řízenou elucí. Léčivo je možné do kolagenu inkorporovat přímo do roztoku před danými procesy zpracování nebo dodatečnou impregnací hotového materiálu pomocí rozpouštědla, které jednak nedegraduje strukturu kolagenu a zároveň je schopno rozpustit požadované léčivo. Dodatečná impregnace se osvědčila jako nejeftivnější způsob, jelikož nedochází k předčasnému uvolňování léčiva během zpracování kolagenního materiálu.

Možnost zpracovávat kolagen do různých výsledných forem (vrstvy, pěny apod.), jeho snadná a ekonomická dostupnost (odpadní materiál v potravinářství) spolu s jeho biokompatibilitou a zároveň hemokoagulačními vlastnostmi jej činí jako optimálního kandidáta pro využití v hemostatických pěnách pro krytí operačních a pooperačních ran.

Nejčastěji používaným antibiotikem v kolagenních lékových formách je gentamicin. V klinické praxi našly tyto přípravky využití především ve stomatologii, břišní chirurgii a traumatologii. V poslední době se objevují také klinické studie z oblasti kardiouchirurgie, které potvrzují efektivitu tohoto přístupu v prevenci pooperačních infekcí. Existují rovněž studie zabývající se využitím kolagenní matrice s tetracyklinem a metronidazolem v dentální chirurgii. Za účelem terapie periodontitidy jsou používány kolagenní matrice uvolňující chlorhexidin v dutině ústní. V naprosté většině studií a klinicky používaných výrobků je základní maticí kolagen savčí (bovinní, nebo koňský). Vzácně je kromě savčího kolagenu za tímto účelem využíván i kolagen

ze sladkovodních ryb - pouze pro aplikaci chlorhexidinu ve stomatologii. Dále jsou dostupná *in vitro* data a data ze zvířecích experimentů pro ciprofloxacin.

Z uvedeného vyplývá, že rybí kolagen, a to kolagen z mořských, nikoli sladkovodních ryb, je klinicky využíván jako matrice pro uvolňování léčiv zcela okrajově pouze pro terapii periodontitidy chlorhexidinem. Není používán pro léčbu antibiotiky. Další zajímavou možností, která není v současné době dostupná, by bylo použití vankomycinu v kolagenové pěně. V klinické praxi je vankomycin používán převážně v lokální léčbě fraktur - byly použity vankomycinem impregnované korálky a kostní alografty v kombinaci s cementem obsahujícím aminoglykosidy při náhradě kyčelního kloubu. Vankomycinem impregnované kolagenní pěny studovány nebyly. Vzhledem k tomu, že vankomycin, stejně jako aminoglykosidy nedostatečně penetruje do tkání je systémová aplikace k terapii infekcí pooperačních ran problematická. Lokální aplikace s postupným uvolňováním by v případě tohoto antibiotika byla obzvláště vhodná, neboť na rozdíl od aminoglykosidů je jeho účinnost závislá nejenom na výši dosažených koncentrací, ale také na době, kdy koncentrace přesahuje MIC. Hodnota nejlépe korelující s klinickou odezvou při systémové terapii infekcí *Staphylococcus aureus* je AUC/MIC. Pokud by kolagenní lékové formy zajistily dlouhodobě adekvátní lokální koncentrace vankomycinu v ráně, bylo by možné tímto způsobem upustit od systémového použití dalších záložních antibiotik (cefazolinu, linezolidu) a jejich šetření pro závažnější infekce.

Lokální aplikace je vhodná především pro antibiotika s nízkou distribucí do tkání, čemuž odpovídají aminoglykosidy, vankomycin a nitrofurantoin. Nově umísťujeme tyto látky do kolagenní matrice z kolagenu sladkovodních ryb, což je lehce dostupný materiál s nižší imunogenitou, než kolagen získávaný ze savců. Dosahujeme různé míry retardace podle povahy antibiotika, např. rychlé uvolnění a dosažení vysokých koncentrací u gentamicinu, nebo naopak pozvolné uvolňování vankomycinu - tyto charakteristiky odpovídají rozdílnému mechanismu účinku antibiotik a rozdílným cílovým farmakokinetickým parametrům (koncentračně x časově závislá antibiotika).

Mezi další nevýhody stávajících materiálů na bázi kolagenu je obtížná manipulace, protože tyto materiály ve styku s tělním prostředím ztrácejí soudržnost a při manipulaci mají tendenci se trhat a rozpadat.

35 Podstata technického řešení

Nevýhody hemostatických krycích materiálů na bázi kolagenu do značené míry překonává degradovatelná kolagenní pěna pro řízené uvolňování aktivních látek podle technického řešení, která obsahuje kolagen typu I a má otevřenou porozitu v rozmezí 70 až 90 % a střední hodnotu velikosti pórů 50 až 200 pm, kde alespoň 50 % objemu pórů je tvořeno póry o velikosti nad 80 pm. S výhodou pochází kolagen z kůže sladkovodních ryb, kde jsou imunitní reakce výrazně menší než u kolagenu savčího původu, zejména z tkání velkých savců. Pěna podle technického řešení může být dále impregnována alespoň jednou aktivní látkou, která se uspořádá do pórů pěny, přičemž poměr kolagenu k celkovému množství aktivních látek v kolagenní pěně je 40 až 70 % hmotn. kolagenu na 30 až 60 % hmotn. aktivních látek. Aktivní látka je s výhodou vybrána ze skupiny zahrnující antibiotikum, anestetikum, antiagregans, antivirotikum, nebo jejich směs, s výhodou antibiotikum, například vankomycin, gentamicin, rifampicin, nitrofurantoin, nebo jejich směs. Pěna má s výhodou tloušťku v rozmezí 0,5 až 5 cm, například 1 cm.

Pěna podle technického řešení se vyznačuje řízeným rozpadem, řízenou porozitou a řízeným uvolňováním aktivních látek, zejména antibiotik. Podstata tohoto technického řešení pak spočívá v tom, že kolagenová pěna má vysokou míru otevřené porozity 70 až 90 % obj., velikost pórů v rozmezí 50 až 200 pm a je navržena tak, aby vykazovala udržitelné lokální uvolňování antibiotik, jejichž celkové množství je 30 až 60 % hmotn. Řízeného uvolňování antibiotik a řízeného rozpadu kolagenové pěny je dosaženo vytvářením optimálního množství příčných

- vazeb v molekule kolagenu při její přípravě, a to buď fyzikálně, např. ozařováním, nebo chemicky, s výhodou aplikací N-(3-dimethylaminopropyl)-N-ethylkarbodiimid hydrochloridu (EDC) a N-hydroxysukcinimidu (NHS). Rozpad nezesíťované pěny bez nebo s aktivními látkami, například s antibiotiky, lze předpokládat v řádu 2 až 7 dnů. Pěna síťovaná po dobu 2 hodin se rozpadne do 2 týdnů. Pěna síťovaná po dobu 3 hodin se rozpadne do 4 týdnů. Pěna síťovaná po dobu 4 hodin se rozpadne do 6 týdnů. Tyto údaje se týkají pěny, která vychází ze způsobu přípravy při použití 1 % hmotn. disperze kolagenu. Při použití jiné výchozí koncentrace se mohou doby rozpadu lišit, ale odborník je zjistí rutinním experimentováním.
- 10 Doba řízeného rozpadu, kterou lze vybrat na základě požadované doby aplikace pěny, následně ovlivňuje dobu řízeného uvolňování aktivních látek, například antibiotik (viz příklady 2 až 4). U pěny (při použití 1% hmotn. disperze kolagenu při přípravě) zesíťované po dobu 2 hodin dochází k uvolňování antibiotik do deseti dnů. U pěny zesíťované po dobu 3 hodin dochází k uvolnění antibiotik do patnácti dnů. U pěny zesíťované po dobu 4 hodin dochází k uvolnění antibiotik do dvaceti dnů.
- 15 Při preventivním použití pěny s antibiotiky se s výhodou použije pěna s dobou rozpadu maximálně do dvou týdnů a s uvolňováním antibiotik maximálně do deseti dnů s výhodou čtyř dnů.
- 20 V případech rizika vzniku zánětu, v potenciálně infekčním terénu (např. operace v třísle, v blízkosti genitálu, nebo laparoskopické odstranění žlučníku či slepého střeva) se s výhodou použije pěna s dobou rozpadu maximálně čtyři týdny a s uvolňováním antibiotik maximálně do patnácti dnů, s výhodou deseti dnů.
- 25 V případech infekce způsobené přítomností protetického materiálu, kde je vysoké riziko infekce, se s výhodou použije pěna s dobou rozpadu maximálně do osmi týdnů s výhodou šesti týdnů a s dobou uvolňování antibiotik po dobu maximálně padesáti dnů s výhodou dvaceti dnů dle citlivosti na vykultivované infekční agens.
- 30 Pěny připravené z 1% hmotn. kolagenové disperze dokáží během prvního týdne pojmout tekutinu o hmotnosti až 30násobku své hmotnosti. Plnému nasáknutí dochází již po čtyřech hodinách. Schopnost nasáknout se snižuje s časem v souvislosti s pobíhající degradací.
- 35 Požadované porozity je dosaženo jednak koncentrací disperze kolagenu, z níž se pěna připravuje, a jednak teplotou zamražení výsledné pěny před lyofilizací a následnou impregnací aktivní látkou. Čím koncentrovanější je disperze kolagenu, tím menší póry vznikají, a čím nižší je teplota zamražení, tím menší póry vznikají.
- 40 Základním přínosem tohoto technického řešení je skutečnost, že použitý kolagen izolovaný z kůže sladkovodních ryb má hemostatické účinky a jeho aplikace není spojená s rizikem alergické reakce nebo jiné nežádoucí imunitní odezvy organismu. Dalším podstatným přínosem tohoto technického řešení je skutečnost, že umožňuje deponovat do mikrostrukturovaného povrchu s velkým specifickým povrchem a dostatečnou otevřenou porozitou biologicky aktivní látky podle očekávaného rozsahu poranění nebo poškození před operací, ale také podle uvážení operátora i během operace, a to impregnací kolagenní pěny např. v roztoku antibiotik. Zároveň resorbovatelný materiál umožňuje jeho postupné bezpečné vstřebávání do okolní tkáně, a tím i postupné účinné uvolňování v něm deponovaných biologicky aktivních látek.
- 45
- 50 Při přípravě vysoce porézní kolagenové pěny se postupuje tak, že se odvážené množství kolagenu smísí s deionizovanou vodou v koncentraci 0,1 až 3 % hmotn., s výhodou 0,5 až 1 % hmotn. kolagenu. Výsledná disperze je poté zamrazena a lyofilizována do dosažení konstantní hmotnosti. Stabilita kolagenové pěny je po lyofilizaci s výhodou zvýšena chemickým síťováním pomocí EDC a NHS. Pro zajištění řízeného uvolňování aktivní látky do těla je posledním krokem
- 55 přípravy impregnace pěny roztokem na bázi alkoholu obsahujícím odvážené množství aktivních

láték, například antibiotik, která jsou s výhodou vybrána ze skupiny zahrnující vankomycin, gentamicin, rifampicin, nitrofurantoin, nebo jejich kombinace tak, aby jejich výsledné množství v roztoku bylo 30 až 60 % hmotn. Impregnovaná pěna se poté může použít v této formě, nebo může být zamražena a lyofilizována. Alternativně může být impregnace vybranými aktivními látkami uskutečněna teprve před aplikací pěny, pro což se použije vodný roztok aktivních látek nebo se aktivní látky smísí s fyziologickým roztokem a pěna se aplikuje ihned, nebo až po odpaření kapalně fáze, tedy po dosažení konstantní hmotnosti pěny. Tímto postupem je získána pěna s výsledným množstvím kolagenu 40 až 70 % hmotn. a 30 až 60 % hmotn. aktivních látek.

Pěna podle technického řešení má následující výhody:

- programovatelný (řízený) rozpad pěny
- programovatelné (řízené) uvolňování aktivních látek
- elastická paměť, ohybová tuhost
- snazší manipulace s pěnou, možnost repozice (netrhá se, nerozpadá se)
- snížené riziko alergické reakce nebo jiné nežádoucí imunitní odezvy organismu.

Kolagenová pěna podle technického řešení se s výhodou použije zejména preventivně, s cílem rychlého uvolňování aktivních látek.

Objasnění výkresů

Obr. 1 znázorňuje kolagenovou pěnu připravenou z 1% hmotn. disperze kolagenu bez antibiotik (vlevo: 100-násobné zvětšení, uprostřed: 500-násobné zvětšení) a po impregnaci gentamicinem (zcela vpravo, 2000-násobné zvětšení).

Příklady uskutečnění technického řešení

Definice

Kolagenová pěna v kontextu tohoto technického řešení je synonymem pro pojem „kolagenová houba“, tedy porézní materiál na bázi kolagenu.

Pod pojmem „otevřená porozita“, resp. „otevřené póry“ se rozumí prostor, který komunikuje s povrchem výrobku, tedy se zevním prostředím. Může jít o jednotlivé póry propojené s povrchem, ale i o vzájemně propojené póry, z nichž alespoň jeden navíc komunikuje i s povrchem výrobku.

Pod pojmem „uzavřená porozita“, resp. „uzavřené póry“ se rozumí tzv. osamocené póry neboli póry, které nejsou propojeny s vnějším povrchem výrobku.

Výraz "vysoce porézní" v kontextu tohoto technického řešení jsou ty pěny, které mají otevřenou porozitu v rozmezí 70 % až 90 %, s výhodou 80 % až 90 %, a velikost pórů v rozmezí 50 až 200 pm, přičemž alespoň 50 % objemu pórů je tvořeno póry o velikosti nad 80 pm, s výhodou nad 100 pm.

Výraz "málo porézní" v kontextu tohoto technického řešení jsou ty pěny, které mají otevřenou porozitu v rozmezí 70 % až 90 % a velikost pórů v rozmezí 20 až 80 pm, přičemž alespoň 50 % objemu pórů je tvořeno póry o velikosti pod 50 pm.

Příklad 1

Při přípravě vysoce porézní kolagenové pěny se obecně postupuje tak, že se odvážené množství kolagenu, s výhodou izolovaného z kůže sladkovodních ryb, například z kapra obecného, smísí s deionizovanou vodou v koncentraci 0,1 až 3 % hmotn., s výhodou 0,5 až 1 % hmotn. kolagenu. Po nabobtnání kolagenu při teplotě 515 °C po dobu 1 až 3 hodin je směs dvojnásobně homogenizována po dobu 1 až 20 minut při 5 až 15 000 ot/min s 20minutovou prodlevou při teplotě 15 až 25 °C. Výsledná disperze je poté dávkována do forem, zamražena při teplotě -60 až -90 °C po dobu 3 až 8 hodin a lyofilizována do dosažení konstantní hmotnosti. Stabilita kolagenové pěny je po lyofilizaci zvýšena máčením v roztoku 95 % hmotn. ethanolu a vody s EDC a NHS při teplotě 25 až 40 °C po dobu 2 až 4 hodin. Na 1 g kolagenu připadá 0,5 až 1,5 g EDC a 0,125 až 0,750 g NHS smísené se 140 až 160 ml 95 % hmotn. roztoku ethanolu s vodou. Po zesíťování kolagenu je pěna promývána 0,5 až 1,5 M hydrogen fosforečnanem disodným po dobu alespoň 30 minut a dále promyta alespoň 20 minut v destilované vodě, zamražena na -15 až -30 °C po dobu 5 až 7 hodin a lyofilizována. Posledním krokem přípravy je impregnace pěny 95 % hmotn. roztokem ethanolu s vodou obsahujícím odvážené množství antibiotika vybraných ze skupiny zahrnující vankomycin, gentamicin, rifampicin, nitrofurantoin, nebo jejich kombinace tak, aby jejich výsledné množství bylo 60 % hmotn. Impregnovaná pěna může být poté zamražena na -60 až -90 °C, lyofilizována a nařezána na potřebné rozměry. Pěna může být také impregnována vybranými antibiotiky teprve před její aplikací, pro což se použije vodný roztok antibiotik nebo se antibiotika smísí s fyziologickým roztokem. Následně se pěna aplikuje buď nasáknutá impregnačním roztokem, nebo suchá, tedy až po odpaření kapalně fáze z pěny. Tímto postupem je získána pěna s výsledným množstvím kolagenu 40 % hmotn. a 60 % hmotn. antibiotik.

Příklad 2

Odvážené množství kolagenu se smísí s deionizovanou vodou v koncentraci 1 % hmotn. kolagenu. Po nabobtnání kolagenu při teplotě 10 °C po dobu 2 hodin je směs dvojnásobně homogenizována po dobu 10 minut při 10 000 ot/min s 20 minutovou prodlevou při teplotě 20 °C. Výsledná disperze je poté dávkována do forem, zamražena při teplotě -70 °C po dobu 6 hodin a lyofilizována do dosažení konstantní hmotnosti. Stabilita kolagenové pěny je po lyofilizaci zvýšena máčením v roztoku 95 % hmotn. ethanolu a vody s EDC a NHS při teplotě 30 °C po dobu 2 hodin. Na 1 g kolagenu se použil 1 g EDC a 0,250 g NHS smísené se 150 ml 95 % hmotn. roztoku ethanolu s vodou. Po zesíťování kolagenu je pěna promývána 1 M hydrogen fosforečnanem disodným po dobu alespoň 30 minut a dále promyta alespoň 20 minut v destilované vodě, zamražena na -20 °C po dobu 6 hodin a lyofilizována. Posledním krokem přípravy je impregnace pěny 95 % hmotn. roztokem ethanolu s vodou obsahujícím odvážené množství gentamicinu tak, aby jeho výsledné množství v roztoku bylo 45 % hmotn. Impregnovaná pěna se pak zamrazí na -70 °C, lyofilizuje a nařeže na potřebné rozměry. Tímto postupem je získána pěna s výsledným množstvím kolagenu 55 % hmotn. a 45 % hmotn. antibiotika.

Příklad 3

Postupuje se stejně jako v příkladu 2, ale doba síťování je 3 hodiny.

Příklad 4

Postupuje se stejně jako v příkladu 2, ale doba síťování je 4 hodiny.

Příklad 5

Postupuje se jako v příkladu 2 s výjimkou posledního kroku přípravy, tj. impregnace pěny roztokem obsahujícím aktivní látku. Pěna se zamrazí na -70 °C, lyofilizuje a nařeže na potřebné rozměry. Tímto postupem je získána pěna sestávající z čistého kolagenu.

Příklad 6

Odvážené množství kolagenu se smísí s deionizovanou vodou v koncentraci 1,5 % hmotn. kolagenu. Po nabobtnání kolagenu při teplotě 15 °C po dobu 1 hodiny je směs dvojnásobně homogenizována po dobu 15 minut při 8 000 ot/min s 20minutovou prodlevou při teplotě 15 °C. Výsledná disperze je poté dávkována do forem, zamražena při teplotě -80 °C po dobu 4 hodin a lyofilizována do dosažení konstantní hmotnosti. Stabilita kolagenové pěny je po lyofilizaci zvýšena máčením v roztoku 95 % hmotn. ethanolu a vody s EDC a NHS při teplotě 25 °C po dobu 3 hodin. Na 1 g kolagenu se použilo 0,7 g EDC a 0,2 g NHS smísené se 140 ml 95 % hmotn. roztoku ethanolu s vodou. Po zesíťování kolagenu je pěna promývána 0,8 M hydrogen fosforečnanem disodným po dobu alespoň 30 minut a dále promyta alespoň 20 minut v destilované vodě, zamražena na -30 °C po dobu 5 hodin a lyofilizována. Posledním krokem přípravy je impregnace pěny 95 % hmotn. roztokem ethanolu s vodou obsahujícím odvážené množství vankomycinu tak, aby jeho výsledné množství v roztoku bylo 45 % hmotn. Impregnovaná pěna se pak zamrazí na -80 °C, lyofilizuje a nařeže na potřebné rozměry. Tímto postupem je získána pěna s výsledným množstvím kolagenu 55 % hmotn. a 45 % hmotn. antibiotika.

Příklad 7

Odvážené množství kolagenu se smísí s deionizovanou vodou v koncentraci 3 % hmotn. kolagenu. Po nabobtnání kolagenu při teplotě 12 °C po dobu 2,5 hodin je směs dvojnásobně homogenizována po dobu 20 minut při 15 000 ot/min s 20minutovou prodlevou při teplotě 25 °C. Výsledná disperze je poté dávkována do forem, zamražena při teplotě -90 °C po dobu 3 hodin a lyofilizována do dosažení konstantní hmotnosti. Stabilita kolagenové pěny je po lyofilizaci zvýšena máčením v roztoku 95 % hmotn. ethanolu a vody s EDC a NHS při teplotě 40 °C po dobu 2 hodin. Na 1 g kolagenu se použilo 1,4 g EDC a 0,7 g NHS smísené se 160 ml 95 % hmotn. roztoku ethanolu s vodou. Po zesíťování kolagenu je pěna promývána 1,5 M hydrogen fosforečnanem disodným po dobu alespoň 30 minut a dále promyta alespoň 20 minut v destilované vodě, zamražena na -30 °C po dobu 5 hodin a lyofilizována. Posledním krokem přípravy je impregnace pěny 95 % hmotn. roztokem ethanolu s vodou obsahujícím odvážené množství směsi vankomycinu a gentamicinu v poměru 1:1 tak, aby jejich výsledné množství bylo 30 % hmotn. Impregnovaná pěna je poté zamražena na -90 °C, lyofilizována a nařezána na potřebné rozměry. Tímto postupem je získána pěna s výsledným množstvím kolagenu 70 % hmotn. a 30 % hmotn. antibiotik.

Příklad 8

Odvážené množství kolagenu se smísí s deionizovanou vodou v koncentraci 0,5 % hmotn. kolagenu. Po nabobtnání kolagenu při teplotě 15 °C po dobu 3 hodin je směs dvojnásobně homogenizována po dobu 20 minut při 5 000 ot/min s 20minutovou prodlevou při teplotě 25 °C. Výsledná disperze je poté dávkována do forem, zamražena při teplotě -60 °C po dobu 8 hodin a lyofilizována do dosažení konstantní hmotnosti. Stabilita kolagenové pěny je po lyofilizaci zvýšena máčením v roztoku 95 % hmotn. ethanolu a vody s EDC a NHS při teplotě 25 °C po dobu 4 hodin. Na 1 g kolagenu se použilo 1,2 g EDC a 0,7 g NHS smísené se 160 ml 95 % hmotn. roztoku ethanolu s vodou. Po zesíťování kolagenu je pěna promývána 0,5 M hydrogen fosforečnanem disodným po dobu alespoň 30 minut a dále promyta alespoň 20 minut v destilované vodě, zamražena na -15 °C po dobu 7 hodin a lyofilizována. Posledním krokem přípravy je impregnace pěny 95 % hmotn. roztokem ethanolu s vodou obsahujícím odvážené

množství směsi vankomycinu, gentamicinu a nitrofurantoinu v poměru 1:1:1 tak, aby jejich výsledné množství bylo 30 % hmotn. Impregnovaná pěna je poté zamražena na -60 °C, lyofilizována a nařezána na potřebné rozměry. Tímto postupem je získána pěna s výsledným množstvím kolagenu 70 % hmotn. a 30 % hmotn. antibiotik.

Příklad 9

Maximální doby rozpadu kolagenové pěny a maximální doby uvolňování aktivních látek (zde antibiotik)

Tab. 1 Dosažená maximální doba rozpadu kolagenové pěny při použití EDC v koncentraci 0,5 až 1,5 g (na 1 g kolagenu) podle použité teploty a doby expozice v síťovacím systému 95 % hmotn. roztoku ethanolu s vodou EDC a NHS. NHS je k EDC v hmotnostním poměru 1:4. Základní parametry postupu jsou dle příkladu 2.

dosažená maximální doba degradace	doba síťování při teplotě 15 až 25 °C	doba síťování při teplotě 30 až 40 °C	Maximální doba uvolňování antibiotik
2 týdny	6 hodin	2 hodiny	10 dnů
4 týdny	9 hodin	3 hodiny	15 dnů
6 týdnů	12 hodin	4 hodiny	20 dnů

Průmyslová využitelnost

Degradovatelné kolagenní pěny s hemostatickými účinky, s řízenou dobou degradace a s řízeným lokálním uvolňováním antibiotik podle tohoto užitého vzoru lze využít v humánní a veterinární medicíně, zejména v chirurgii, ortopedii, traumatologii a plastické chirurgii. Použití samotné pěny je vhodné v případech, kdy se jedná o potenciálně infekční terén, například hrozí riziko vzniku infekce při operaci nebo ošetření otevřené rány nebo vředu. V některých případech lze použít jen samotné kolagenové krytí díky jeho hemokoagulačním účinkům. Přídavek aktivních látek, například antibiotik pak slouží jako rychlá, krátkodobá prevence. Rychlejší je i doba rozpadu.

NÁROKY NA OCHRANU

1. Degradovatelná kolagenní pěna pro řízené uvolňování aktivních látek, **vyznačující se tím**, že obsahuje kolagen typu I a má otevřenou porozitu v rozmezí 70 až 90 % a střední hodnotu velikosti pórů 50 až 200 pm, přičemž alespoň 50 % objemu pórů má velikost póru nad 80 pm.

2. Kolagenní pěna podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že kolagenem typu I je kolagen izolovaný z kůže sladkovodních ryb.

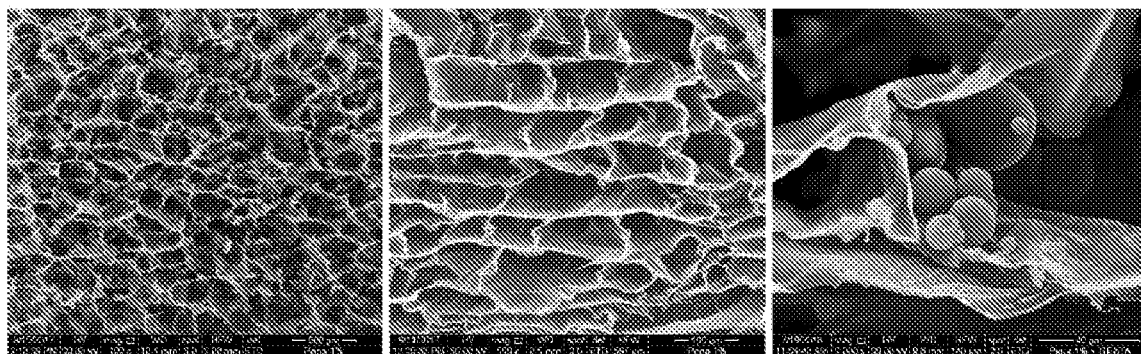
3. Kolagenní pěna podle nároku 1 nebo 2, **vyznačující se tím**, že dále obsahuje alespoň jednu aktivní látku uspořádanou v pórech pěny a že poměr kolagenu k celkovému množství aktivních látek v kolagenní pěně je 40 až 70 % hmotn. kolagenu na 30 až 60 % hmotn. aktivních látek.

4. Kolagenní pěna podle nároku 3, **vyznačující se tím**, že aktivní látka je vybrána ze skupiny zahrnující antibiotikum, anestetikum, antiagregans, antivirotikum, nebo jejich směs.

5. Kolagenní pěna podle nároku 4, **vyznačující se tím**, že aktivní látkou je antibiotikum vybrané ze skupiny zahrnující vankomycin, gentamicin, rifampicin, nitrofurantoin, nebo jejich směs.

5

1 výkres



Obr. 1