



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

216992

(11) (B1)

(22) Přihlášeno 21 07 80
(21) (PV 5125-80)

(51) Int. Cl.³
C 08 L 33/08
C 08 L 33/10
C 08 L 89/00
//A 61 L 15/00

(40) Zveřejněno 26 02 82

(45) Vydáno 15 02 85

(75)
Autor vynálezu

ŠTOL MIROSLAV ing., TOLAR MIROSLAV MUDr. CSc., ADAM MILAN MUDr. DrSc.,
ČEPELÍN PAVEL ing. DrSc., KÁLAL JAROSLAV prof. ing. DrSc., PRAHA

(54) Kompozitní polymerní materiál pro biologická a lékařská použití
a způsob jeho přípravy

Vynález se týká kompozitních polymer-
ních materiálů pro biologická a lékařská
použití a způsobu jejich výroby. Kompozit-
ní polymerní materiály podle vynálezu se-
stávají z 1 až 99 hmot. % hydrofilního po-
lymeru nebo kopolymeru na základě akrylátu
nebo metakrylátu, 1 až 99 hmot. % fibrilár-
ního kolagenu, 0 až 2,5 hmot. % síťovadla,
vztaheno na sušinu obou polymerních složek
a případně biologicky aktivní a pomocné
látky, jako změkčovadla, plniva a dalších.

Způsob výroby kompozitních polymerů
podle vynálezu spočívá v tom, že fibrilár-
ní kolagen se disperguje v roztoku nebo
vysoce zbotnalé disperzi syntetického hyd-
rofilního polymeru nebo kopolymeru v lyo-
trofním činidle za míchání při teplotách
pod 37 °C a potom se z viskozní disperze
odstraní rozpouštědlo obecně známými způ-
soby při teplotách nepřevyšujících 37 °C.

Během přípravy disperze nebo až po od-
stranění rozpouštědla se přidává síťovadlo,
biologicky aktivní látka, plnivo, změkčo-
vadlo, případně jiná pomocná látka.

Možnosti použití vynálezu jsou v ob-
lasti zdravotnictví.

Vynález se týká kompozitního polymerního materiálu pro biologická a lékařská použití a způsobu jeho přípravy.

V čs. patentu č. 146 130 je popsán způsob výroby náhrad orgánů a tkání na základě kompozitních materiálů, kde jednou složkou je trojrozměrně zesíťovaný syntetický hydrofilní polymer 2-hydroxyethylmetakrylátu, popřípadě monometakrylátu vyšších homologických glykolů, a druhou složkou je kolagen. Zmíněný postup se vyznačuje přípravou gelu s otevřenými póry, velikosti nad 100 μm (mikrometrů), přičemž tyto póry se během polymerizace, nebo po jejím skončení, vyplní alespoň zčásti kolagenem. Vzniklý kompozitní materiál sestává z nerozpustné prostorové sítě gelu, s porozitou o průměru 100 až 400 μm , a tyto komunikující póry jsou vyplněny kolagenem, který je modifikován tak, aby bylo dosaženo jeho řízeného vsřebávání po implantaci materiálu do organismu. Některé biologické vlastnosti tohoto kompozitního materiálu jsou popsány v publikaci Chvapil M. a spol., J. Biomed. Mater. Res. 3, 315 (1969).

Nevýhodou uvedeného postupu je výsledný tvar výrobku, který se získává v podobě objemných bloků nebo podobných prostorových útvarů, např. silnostěnná trubice. Další změna tvaru výrobku je možná jen obtížným mechanickým obráběním, zpravidla ve zmrazeném stavu, kdy materiál vykazuje potřebnou tuhost. Taktéž struktura tohoto kompozitního materiálu je makroskopicky hrubá, což prakticky vede k nestejnorodému prorůstání tkáněmi a nedokonalé funkci implantované protézy, např. netěsnosti u protéz trubicových orgánů vyplývající z přílišné porozity jejich stěny. Příprava tenkých fólií nebo povlaků, např. na textilní podložce, je podle tohoto postupu prakticky nemožná. Zejména tyto potíže, vyplývající z použitého technologického postupu, nedovolily rozšířit praktické využití těchto atraktivních materiálů mimo rámec experimentů na zvířatech.

Tyto nevýhody odstraňuje kompozitní polymerní materiál podle vynálezu, vyznačený tím, že sestává z 1 až 99 hmot. % hydrofilního polymeru nebo kopolymeru na základě metakrylátu nebo akrylátu, 1 až 99 hmot. % fibrilárního kolagenu, 0 až 2,5 hmot. % síťovadla, vztaženo na sušinu obou polymerních složek a případně biologicky aktivní látky a pomocné látky, jako změkčovadla, plniva.

Podstata způsobu výroby kompozitního materiálu podle vynálezu spočívá v tom, že fibrilární kolagen se disperguje v roztoku nebo vysoce zbotnalé disperzi syntetického hydrofilního polymeru nebo kopolymeru v lyotropním činidle vybraném ze skupiny sestávající z vodou ředěných karboxylových kyselin, vodných směsí etanolu a metanolu silně okyselených o hodnotě $\text{pH} = 2$ až 3, vysoce koncentrovaných vodných roztoků lyotropních solí, vysoce koncentrovaných vodných roztoků močoviny nebo guanidinium chloridu za míchání při teplotách pod 37 $^{\circ}\text{C}$ a potom se z viskózní disperze odstraní rozpouštědlo obecně známými způsoby při teplotách nepřevyšujících 37 $^{\circ}\text{C}$.

Způsobem podle vynálezu vzniká matrice syntetického polymeru nebo kopolymeru prostoupená fibrilárním kolagenem nebo případně naopak.

Dalším význakem vynálezu je, že se během přípravy disperze nebo až po odstranění rozpouštědla přidá síťovadlo vybrané ze skupiny trimethylmočoviny, formaldehydu, acetaldehydu, glutaraldehydu, dialdehydového škrobu, glyoxalu, chromité soli, případně se během přípravy disperze nebo až po odstranění rozpouštědla přidá biologicky aktivní látka, případně plnivo, změkčovadlo atd.

Způsob podle vynálezu je charakterizován:

a) oddělenou přípravou syntetického hydrofilního polymeru nebo kopolymeru na základě metakrylátu nebo akrylátu,

b) dispergací fibrilárního kolagenu v roztoku nebo vysoce zbotnalé disperze syntetic-

kého polymeru nebo kopolymeru, jak uvedeno v odstavci a), za pomoci rozpouštědla majícího vysoký solvatační účinek na obě zúčastněné polymerní složky a umožňující jejich vzájemnou mísitelnost v dispergované nebo rozpouštěné formě,

c) odstraněním zmíněného rozpouštědla z viskózní disperze, jak uvedeno v odstavci b), za vzniku matrice syntetického polymeru nebo kopolymeru prostoupené fibrilárním kolagenem, nebo případně naopak,

d) případným použitím o sobě známých síťujících činidel, které způsobí mezimolekulární zesíťování obou polymerních složek kompozice, přičemž zmíněné síťovadlo je možno přidat k systému buď během přípravy disperze, jak uvedeno v odstavci b), nebo až po odstranění rozpouštědla, jak uvedeno v odstavci c),

e) případným použitím přídavných a/nebo pomocných látek, např. léčiv nebo jiných biologicky aktivních látek, změkčovadel, plniv, nebo jiných aditiv, které lze k systému přidat v kterémkoliv dříve uvedeném kroku,

f) případným použitím vhodné podložky nebo armatury, na které je možno viskózní disperze, jak uvedeno v odstavci b), nanést známými technikami, a poté rozpouštědlo odstranit, jak uvedeno v odstavci c),

g) případnou radiační sterilizací výsledného produktu uzavřeného ve vhodném obalu.

Uvedený postup odstraňuje dříve vyjmenované nedostatky, čímž podstatně rozšiřuje oblasti možného využití tohoto materiálu, a navíc mu uděluje i některé nové, kvalitativně odlišné, morfologické a biologické vlastnosti. Postupem podle vynálezu lze připravit celou paletu materiálů pro různá biologická nebo lékařská použití, přičemž všechny tyto materiály se vyznačují intimnějším stykem obou zúčastněných polymerních složek, což vede k jejich mikroskopicky jemné struktuře a jejich výhodným biologickým vlastnostem. Tyto nové polymerní kompozitní materiály jsou také předmětem vynálezu. Příprava zmíněných hydrofilních polymerů a kopolymerů na základě esterů kyseliny metakrylové nebo akrylové je dostatečně popsána v dřívějších patentech nebo autorských osvědčeních, nebo v příslušných, jim odpovídajících, zahraničních patentech. Jsou to zejména čs. patent č. 141 101, čs. autorské osvědčení číslo 150 484, čs. autorské osvědčení č. 153 765 a čs. autorské osvědčení č. 154 466.

Příkladem vhodného hydrofilního polymeru podle vynálezu jsou zejména poly(2-hydroxyetyl-metakrylát), poly(2-hydroxyetyl-akrylát), poly(5-hydroxy-3-oxapentyl-metakrylát), poly(4-hydroxybutyl-metakrylát) a poly(4-hydroxybutyl-akrylát). Příkladem vhodných hydrofilních kopolymerů jsou potom zejména kopolymery 2-hydroxyetyl-metakrylátu a/nebo 2-hydroxyetyl-akrylátu s následujícími monomery: butylmetakrylát, butylakrylát, 2-etoxyetyl-metakrylát, 2-butoxyetyl-akrylát, 4-hydroxybutyl-metakrylát a 4-hydroxybutyl-akrylát. Podle vynálezu je možno použít také syntetického hydrofilního polymeru nebo kopolymeru, jak uvedeno výše, ve směsi s mikročásticemi gelů, velikosti zpravidla kolem 0,5 až 10 μm . Gelové mikročástice v systému působí jako aktivní a fyziologicky nezávadné plnivo, přičemž polymerní matrice připravená z této směsi vykazuje vyšší pevnost za mokra. Tyto materiály lze vyrobit postupem podle čs. autorského osvědčení č. 153 765.

Jako zdroje kolagenních bílkovin lze podle vynálezu použít s výhodou klišovek, které alkalickým nebo kyselým botnáním a dalšími zpracovatelskými postupy, které se používají např. v průmyslu umělých střívek, jsou upraveny ve formě viskózní hmoty, jejíž bližší vlastnosti jsou dostatečně známy. Přednostně je možno použít kolagenní materiál, který byl známými čistícími postupy zbaven všech balastních látek, zejména cizích bílkovin, a rozpustných nebo degradovaných frakcí kolagenních bílkovin. Tento čistý materiál sestává v podstatě z nerozpustných fibril a vyznačuje se neobyčejně nízkou antigenicitou a vysokou stálostí vůči běžným proteolytickým enzymům, a je proto výhodný pro přípravu materiálů určených k implantaci do živého prostředí organismu. Podle vynálezu je možno pro některé účely,

např. kultivační podložky pro buněčné nebo tkáňové kultury, použit i rozpustné typy fibrilárního kolagenu, jednotlivě nebo ve směsi.

Pro přípravu disperzí fibrilárního kolagenu, v přítomnosti syntetického hydrofilního polymeru nebo kopolymeru, používáme známých lyotropních činidel, a to zejména vodou zředěných karboxylových kyselin, např. kyselinu octovou, malonovou, mléčnou, vodných směsí metanolu nebo etanolu, silně okyselených (pH = 2 až 3), např. pomocí kyseliny octové nebo chlorovodíkové, vysoce koncentrovaných vodných roztoků lyotropních solí, např. chloridu zinečnatého, alkalického nebo amonného rhodanidu (sulfokyanidu), chloristanu hořečnatého, vysoce koncentrovaných vodných roztoků močoviny nebo guanidinium chloridu. Uvedená lyotropní činidla silně botnají, popřípadě rozpouští fibrilární kolagen a navíc rozpouští i zmíněné syntetické hydrofilní polymery nebo kopolymery. Teplota při tomto postupu, jakož i při jiných operacích v přítomnosti fibrilárního kolagenu, nesmí překročit hranici 35 až 37 °C, neboť jinak dochází k nevratné denaturaci kolagenních bílkovin.

Vlastní dispergaci fibrilárního kolagenu v roztoku syntetického polymeru nebo kopolymeru, a/nebo případně naopak, provádíme známými postupy, např. intenzivním mícháním, nebo pomocí ultrazvukového desintegrátoru v oblasti energií, kdy ještě nedochází ke znatelnému porušování celistvosti polymerních řetězců. Při tomto postupu výhodně používáme chlazení. Obsah fibrilárního kolagenu je možno podle vynálezu volit v širokých mezích, od 1 % až do 99 % hmotnostních, vztaheno na celkovou sušinu obou polymerních složek kompozice. Vlastní složení se bude prakticky řídit konkrétními biologickými nebo lékařskými aplikacemi. Tak např. při použití kompozice, s 1 % hmot. fibrilárního kolagenu v poly(2-hydroxyetyl-metakrylátu) známých vlastností, jako kultivační podložky in vitro bylo zjištěno, že ještě dochází k přichycení smíšené kultury myoblastů a fibroblastů, i k jejich dalšímu růstu, zatímco samotný syntetický polymer, až zcela netoxický, tyto vlastnosti nevykazoval. Horní hranice je prakticky omezena pojivovými schopnostmi použitého syntetického hydrofilního polymeru nebo kopolymeru, a tyto se ve většině případů začínají projevovat již od 1 % hmot. této složky kompozice. Je zřejmé, že pro každou jednotlivou aplikaci existuje určitý optimální poměr obou zúčastněných polymerních složek a také i určité rozmezí jejich vzájemného zastoupení, aby se dosáhlo zcela určitých a vymezených biologických vlastností u výsledného kompozitního materiálu.

K odstranění rozpouštědla ze systému viskózní disperze můžeme použít některého ze známých způsobů, kterými jsou zejména:

- a) prosté odpaření při teplotách nepřevyšujících 37 °C, zpravidla však při teplotě místnosti;
- b) odpaření ve vakuu, za těchto teplotních podmínek jako a);
- c) mrazová sublimace ve vakuu (lyofilizace);
- d) předběžná extrakce zmrazené disperze v tuhém stavu, pomocí činidel nerozpouštějící kolagen, které se však neomezeně mísí s vodou, např. acetonem nebo isopropylalkoholem, a to po předchozím vzájemném zesíťování obou polymerních složek, např. pomocí glutaraldehydu přidávaného k disperzi a následném odpaření těchto rozpouštědel, způsobem podle a) nebo b), jak výše uvedeno;
- e) srážení do vody, přičemž u disperzí s kyselou reakcí je nutná přísada neutralizačního činidla, např. vodný amoniak a vysušení zbotnalých materiálů některým z předchozích způsobů a) až d);
- f) srážení do koncentrovaných roztoků solí, např. chloridů nebo síranů, nejčastěji chloridu sodného nebo síranu amonného, u kyselých disperzí opět v přítomnosti neutralizačních činidel, nejčastěji pomocí vodného amoniaku, následně praní ve vodě k odstranění ulpělých solí a konečné vysoušení, jak uvedeno u e).

Způsoby a) až d) jsou vhodné pro těkavá, případně extrahovatelná /viz d)/, rozpouštědla. Způsoby e) až f) jsou vhodné pro všechny typy disperzí, jak bylo dříve uvedeno, pro disperze připravené za pomoci lyotropních solí, potom přednostní nebo jediný možný způsob pro odstranění rozpouštědla. Každý z uvedených způsobů odstraňování rozpouštědla vede k poněkud odlišným výsledkům, zejména pokud se týče struktury materiálů: způsob a) dává vzniknout neporézním filmům nebo vrstvám, b) vede k hrubě porézní struktuře uvnitř vrstvy, a prakticky neporézní horní sloupce (sendvičový typ), způsoby c) a d) poskytují pružnou porézní pěnu s komunikujícími póry, způsoby e) a f) dávají vzniknout vláknitým materiálům s plastovitou strukturou. Způsob odstraňování rozpouštědla je tedy důležitý činitel pro regulaci morfologických vlastností u výsledných kompozitních materiálů.

Pro stabilizaci uvedených kompozic, zejména pro regulaci rychlosti vstřebávání kolagenických fibril, po implantaci materiálu do živého prostředí organismu, je možno podle vynálezu použít známých síťujících činidel kolagenu. Většina těchto síťovadel, např. formaldehyd, glutaraldehyd, glyoxal, chromité soli apod., současně síťují i syntetický hydrofilní polymer nebo kopolymer, reakcí s hydroxylovými skupinami, které jsou dosažitelné v pobočném řetězci těchto polymerů. Při tomto dochází ke vzájemnému intermolekulárnímu zesíťování obou polymerních složek kompozitního systému, což vede k jeho zvýšené chemické a následně i biologické stabilitě. Uvedená síťovadla, zpravidla v podobě vodných roztoků, např. 0,05 až 2,5 % hmot., je možno přidat k systému kompozice buď během přípravy viskózní disperze, nebo až po odstranění rozpouštědla, v samostatném kroku, přičemž koncentrací síťovadla a dobu jeho působení na polymerní složky kompozice je možno regulovat stupeň jejich zesíťování. Přebytek síťujících činidel je nutno z finálního výrobku odstranit, nejčastěji praním v destilované vodě. Kromě uvedených síťovadel je možno podle vynálezu použít i jiných známých síťujících činidel kolagenu, jako např. trimetylołmočovinu, acetaldehyd, glycerinaldehyd, dialdehydový škrob (oxidstarch).

Kromě uvedených látek je možno v kterémkoliv stupni přípravy kompozitních materiálů podle vynálezu použít i dalších látek, tak, jako léčiv nebo jiných biologicky aktivních látek, např. širokospektrých antibiotik s lokálním účinkem (neomycin, gentamycin apod.), popřípadě jejich vhodných kombinací, přičemž tyto látky mohou být ve struktuře kompozice volně přítomné a/nebo vázané na polymerní matici vazbou chemickou nebo iontovými interakcemi. Dále je možno použít látek s antikoagulační, popřípadě antiagregační aktivitou (heparin, Evansova modř apod.), látky s protizánětlivým účinkem (např. lokální kortikoidy), látky podporující hojivé nebo reparativní procesy organismu, nebo i látky s účinkem anti-koncepčním a podobně. V případě externí terapie, např. raných nebo popáleninových ploch (obvazy, roušky a dočasné kryty), lze biologicky aktivní látky aplikovat i zevně, tj. až po umístění vhodně zvoleného kompozitního materiálu na poraněné místo, a kdykoliv doplňovat potřebnou hladinu léčiva, neboť hydrofilní charakter kompozitních materiálů podle vynálezu umožňuje permeaci léčivých látek. U materiálů porézních jejich porozita dovoluje volný průchod i látkám vysokomolekulární povahy, zejména pokud jsou v podobě svých vodných roztoků.

Dalšími vhodnými aditivami mohou být externí změkčovadla, pokud jsou fyziologicky nezávadná, jako např. glycerol, polyoxirany (zejména mol. hmotnosti 400 a 600); mono- a di-acetát glycerolu (směs izomerů), nebo jejich směsi, zejména pro využití kompozic v oblasti externí terapie, kde je požadována ohebnost nebo vláčnost.

Kompozitní materiály připravené podle vynálezu je možno používat buď jako takové, a/nebo s výhodou nanášené na vhodnou podložku nebo jiný armující materiál, např. trubicový úplet, tkanou síťku, ze zdravotně nezávadných (např. PET) vláken, dále na skleněné nebo plastické kultivační misky, které se používají v oboru buněčných nebo tkáňových kultur, popřípadě v oboru mikrobiologie. Dále může být použito i netkaných textilií, velurů, papíru, regenerované celulózy (např. celofán), nebo i podložek ze zdravotně nezávadných syntetických polymerů nebo kopolymerů, kovů, např. v podobě fólie, sítky, plstě apod. Vlastní kompozitní materiál může mít přitom různou strukturu (monolitní, mikro- nebo makroporézní, sendvičovou, vláknitou) a může být na tyto podložky nanášen v libovolné tloušťce.

Sterilizaci těchto kompozitních materiálů, vzhledem k obsahu složky bílkovinné povahy, tj. kolagenu, je možno provést bez poškození prakticky jen radiační technikou, a to buď gama zářením, např. (Co^{60}), nebo zářením beta, pomocí lineárního urychlovače elektronů. Spolehlivá dávka záření se v obou případech pohybuje mezi 2 až 2,5 Mrad, přičemž dochází jen k minimálním změnám v ozařovaném materiálu, zejména pokud se tento nachází v bezvodém stavu. Tuto sterilizaci prakticky provádíme ve vhodném ochranném obalu, např. v neprodyšně uzavřené dvojité PE fólii. Sterilizace pomocí oxiranových sloučenin není zde doporučována, vzhledem k možným chemickým změnám materiálu a pro toxické účinky zbytků nebo aduktů sterilizačního činidla.

Následující příklady slouží pro ilustraci vynálezu, avšak nikterak neomezují jeho šíři v možných provedeních a použitích. Pod pojmem kolagen je třeba ve všech následujících příkladech rozumět nerozpustný fibrilární preparát, získaný metodou EDTA podle F. S. Stevensa, in *The Methodology of Connective Tissue Research*, Chapter 4, pp. 19-27, Ed. D. A. Hall, Oxford 1976. Východí surovinou byly hovězí kůže.

P ř í k l a d 1

Poly(2-hydroxyetyl-metakrylát), připravený podle čs. patentu č. 141 101 roztokovou polymerizací příslušného monomeru (10 % hmot. monomeru, který obsahoval 0,28 % hmot. příslušného diesteru) v kosolventní směsi etanol-voda (2:1 objemových dílů) při 80 °C, po dobu 9 hodin pod inertní atmosférou CO_2 , v přítomnosti dibenzoylperoxidu (0,25 hmot. % vztaženo na monomer) jako iniciátoru radikálové polymerizace (konverze 78 %), byl přečištěn a izolován přesrážením do velkého přebytku destilované vody (asi 10x větší objem) a po vysušení při pokojové teplotě rozemlet v laboratorním nerezovém mlýnu na jemný prášek. $\bar{M}_w = 8,7 \times 10^5$, $g' = 0,75$, $[\eta] = 1,26 \text{ dl g}^{-1}$. Zásobní roztok polymeru (sušina 10 hmot. %) byl připraven pomocí směsného rozpouštědla (1 objemový díl ledové kyseliny octové - 99 %, čistoty p. a., 2 obj. díly destilované vody), mající sušinu 10 hmot. %.

Kolagen v podobě disperze o 2 hmot. % sušiny v 1% kyselině octové, byl uchováván v lednici při 4 °C a těsně před použitím upravena koncentrace kyseliny octové na 33 hmot. %, přídavkem vypočteného množství ledové kyseliny octové, za intenzivního míchání v mixeru ETA 012, Elektropraga Hlinsko v Č. Ke vzniklé viskózní disperzi kolagenu se přidá vypočtené množství zásobního roztoku poly(2-hydroxyetyl-metakrylátu) tak, že vznikla směs obou polymerních složek v požadovaných hmotnostních poměrech (1 až 99 hmot. % fibrilárního kolagenu).

Příslušné kompozitní disperze byly nanášeny v bezprašném boxu na vnitřní povrch plastických Petriho misek \varnothing 60 mm, KIN Hardtmuth, České Budějovice, odpařením rozpouštědla při pokojové teplotě získán tenký film kompozice, který byl po dobu 24 hodin dostatečně síťován pomocí 0,1% vodného glutaraldehydu (Merck). Po vysušení fixovaných filmů při pokojové teplotě byly Petriho misky zavařeny do dvojitého PE obalu a sterilizovány pomocí lineárního urychlovače, Tesla, Praha-Hloubětín, dávkou 2,5 Mrad.

Metodou tkáňových kultur in vitro (použita směsná primo kultura myoblastů a fibroblastů) byly testovány základní biologické vlastnosti připravených kompozitů. Ve všech případech prokázáno, že tyto materiály nejsou cytotoxické, umožňují přichycení buněk k podložce a jejich další růst, umožňují diferenciaci buněk, zatímco samotný syntetický polymer, použitý za stejných podmínek, není sice cytotoxický, však neumožňuje přichycení buněk k podložce, ani jejich další růst.

P ř í k l a d 2

Poly(5-hydroxy-3-oxapentyl-metakrylát) v práškovité formě (0,5 až 10 μm) byl připraven srážecí polymerizací příslušného monomeru (obsahoval 0,83 hmot. % diesteru) v toluenu podle

postupu v čs. autorském osvědčení č. 154 466 a rozpuštěn ve 25 obj. % vodném etylalkoholu za vzniku viskózního roztoku o sušině 10 hmot. %. Rostok (2,4 hmot. díly) byl v mixéru (viz příklad 1) během 2 minut rozmíchán v chlazené kolagenní disperzi (8 hmot. d.) ve 25 obj. % vodném etylalkoholu (sušina 2 hmot. %) a okyselenou přísadkou koncentrované kyseliny chlorovodíkové p. a. na pH 3. K vzniklé viskózní disperzi přidán za míchání 25% vodný glutaraldehyd, Merck (0,04 hmot. d.), směs nalita na misku z neměkčeného PVC, umístěna do větší těsné nádoby a pomocí vodní vývěvy odstraněny při pokojové teplotě všechny těkavé složky kompozice, za vzniku pružné porézní pěny s horní souvislou slupkou (sendvičová struktura) s obsahem 40 hmot. % fibrilárního kolagenu. Po důkladném vyprání v destilované vodě a následném vysušení ve vakuu při pokojové teplotě získána 5 mm silná vrstva kompozice uvedené morfologie, která po radiační sterilizaci dávkou 2,5 Mrad v PE obalu je vhodná např. ke krytí ranných ploch (popáleniny 2. a 3. stupně). Zevně je možno aplikovat lokální léčiva, např. vodné roztoky antibiotik.

Příklad 3

Postupem podle čs. autorského osvědčení č. 153 765 byla srážecí polymerizací 2-hydroxyethyl-metakrylátu (10 hmot. % monomeru, který obsahoval 0,28 hmot. % diesteru) v etylacetátu (p. a.) připravena polymerní hmota s obsahem 35 hmot. % gelových mikročástic. Podmínky polymerizace byly následující: teplota 65 °C, doba polymerizace 2,5 hodiny pod inertní atmosférou čistého dusíku, konverze 96,5 %, při použití 2,2'-azobis(isobutyronitrilu) (0,3 hmot. procent vztaženo na monomer) jako iniciátoru radikálové polymerizace. Polymerní produkt zachycen na filtru, promyt malým množstvím čistého etylacetátu a poté vysušen ve vakuu na jemný prášek. Z tohoto polymerního materiálu připravena disperze o 10 hmot. % sušiny v 1M $Mg(ClO_4)_2$, kde rozpustný podíl polymeru tvoří viskózní roztok, ve kterém jsou dispergovány jemné gelové mikročástice (1 až 1,5 μm) ve stavu vysokého naboštění.

1,5 hmot. dílů disperze (jak uvedeno výše) bylo rozmícháno v mixéru do (10 hmot. dílů) disperze fibrilárního kolagenu (3 hmot. % sušiny) v 1 M $Mg(ClO_4)_2$, předem vychlazené na 4 °C. Viskózní disperze byla odvzdušněna za sníženého tlaku a nanášena na plošnou PET sítku, která byla umístěna v PVC misce. Síťka s ulpělou disperzí byla ponořena do přebytku vodného 25 % hmot. roztoku NaCl, kde zkoagulovala za vzniku vláknité sraženiny pokrývající sítku z obou stran. Odstranění ulpělých solí provedeno loužením v proudící studené vodě a potom ještě extrakcí ve vodě destilované. Do poslední prací vody přidán glycerol p. a. (5 hmot. %) a (0,2 hmot. %) neomycin, materiál ponechán za chladu v této lázni po dobu 6 hodin (v lednici při 4 °C) a poté byla lázeň odlita a voda z kompozitu odstraněna za pomoci vakua vodní vývěvy při pokojové teplotě. Obdržen vláknitý obvazový materiál (rouška), který je po radiační sterilizaci vhodný k pokrytí hnisavých ran, nebo také na povrchové poranění kůže, neboť má dobrou sací schopnost, spojenou s antimikrobiálním účinkem. Na ráně však nesmí zůstat déle než 1 den, aby nedocházelo ke vrůstání tkání, je však možná výměna za čerstvou roušku z téhož materiálu.

Příklad 4

Postupováno podle příkladu 3, avšak jako rozpouštědla použito 1 M roztoku rhodanidu sodného ve vodě. Jako externího změkčovadla použito acetátu glycerolu (směs 1,2 a 1,3 izomerů, 5 hmot. %). Dosaženo podobných výsledků jak bylo uvedeno v příkladě 3.

Příklad 5

Postupem podle čs. autorského osvědčení č. 150 484 byl roztokovou polymerizací připraven hydrofilní kopolymer obsahující 70 hmot. % 2-hydroxyethyl-metakrylátových 30 hmot. % butylakrylátových jednotek; rozpouštědlo DMSO, koncentrace monomerní směsi 10 hmot. %,

0,25 hmot. % dibenzoylperoxidu, vztaženo na hmotu monomerů, teplota 80 °C, doba polymerizace pod inertem CO₂ byla 7 hodin, konverze 83 %. Polymerní produkt izolován přesrážením do vody a přečištěn z roztoku v DMSO (5 hmot. %) opět srážením do přebytku vody. Vysušený kopolymer měl teplotu měknutí 19 °C a botnal ve vodě na obsah 26 hmot. % vody. Byl z něj připraven zásobní roztok o sušině 10 hmot. %, následně rozpuštěním ve vodné kyselině octové (33 hmot. %). Postupem podle příkladu 1 připraveny disperze obsahující 20 a 80 hmot. % fibrilárního kolagenu, které bez přídavku síťujícího činidla byly dále zpracovány technikou mrazové sublimace (lyofilizace) do formy elastické porézní pěny (tloušťka 3 mm), vhodné ke krytí ran na povrchu těla, neboť jsou dostatečně vláčné při teplotách kolem 37 °C. Sterilizace těchto prostředků byla provedena radiační technikou (dávka záření gama pomocí Co⁶⁰ byla 2,2 Mrad). Materiál je možno kombinovat dodatečně s vodnými roztoky léčiv, neboť porozita materiálu, i přes sníženou hydrofilicitu syntetické matrice, umožňuje jejich volnou permeaci. Pro zevní bakterie je tento krycí prostředek dostatečnou bariérou. Má proto vhodné vlastnosti pro použití v externí terapii.

P ř í k l a d 6

Podobného výsledku bylo dosaženo s kopolymerem s obsahem 75 hmot. % 2-hydroxyetyl-metakrylátových a 25 hmot. % 2-etoxyetyl-metakrylátových jednotek, který se vyznačuje poněkud vyšší hydrofilicitou, při zachování přibližně stejných elastických vlastností v suchém stavu.

P ř í k l a d 7

Výchozí kopolymer, připravený podle příkladu 5, byl rozpuštěn v 6 M močovíně při teplotě místnosti (18 až 23 °C) na viskózní roztok o sušině kopolymeru 10 hmot. %. K tomuto roztoku (3 hmot. díly) přimíchána za chladu (4 °C) disperze kolagenu (10 hmot. dílů) v 6 M močovíně (3 hmot. % sušiny) a roztok vytlačován přes kruhovou štěrbinu do koagulační lázně sestávající z vodného roztoku síranu amonného (20 hmot. %). Vzniklá trubice z kompozitu Ø 26 mm (I. D.)/30 mm (O. D.), převlečená zevně PET trubicovým úpletem Ø 32 mm, byla po důkladné extrakci balastních látek a radiační sterilizací pomocí Co⁶⁰ (dávka 2,2 Mrad) použita k pokusné náhradě esophagu u psa.

P ř í k l a d 8

Postupováno podle příkladu 7, avšak připravena disperze kolagenu v 6 M guanidinium chloridu. Disperze byla za chladu (4 až 10 °C) vytlačována přes štěrbinovou plochu trysku do koagulační lázně (voda 7 °C s přídavkem vodného amoniaku 0,5 hmot. %), vzniklá vláknitá vrstva zbotnalého kompozitu byla promyta proudící studenou vodou, vysušena při pokojové teplotě za tlaku 1,3 kPa, rozřezána na kusy 10 x 10 cm a po zabalení do PE fólie (zavařeno) sterilizována pomocí Co⁶⁰ dávkou 2,2 Mrad. Tento kompozitní materiál sloužil jako nosič léčiv, dodatečně aplikovaných botnáním roušky v roztoku léčiva (zde směs chloramfenikolu a colimycinu, 1 g/80 mg) a krytím popáleninové rány, která byla při poranění infikována mikroorganismy zevního prostředí. Dodatečné dávkování roztoku léčiva je možné přímo přes dočasný kryt z kompozitního materiálu.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

1. Kompozitní polymerní materiál pro biologická a lékařská použití, vyznačený tím, že sestává z 1 až 99 hmot. % hydrofilního polymeru nebo kopolymeru na základě metakrylátu nebo akrylátu, 1 až 99 hmot. % fibrilárního kolagenu, 0 až 2,5 hmot. % síťovadla, vztaženého na obě polymerní složky, a případně biologicky aktivní látky a pomocné látky, jako změkčovadla a plniva.

2. Způsob přípravy kompozitního polymerního materiálu pro biologická a lékařská použití podle bodu 1, vyznačený tím, že fibrilární kolagen se disperguje v roztoku nebo vysoce zbotnalé disperzi syntetického hydrofilního polymeru nebo kopolymeru na základě metakrylátu nebo akrylátu v lyotropním činidle vybraném ze skupiny sestávající z vodou ředěných karboxylových kyselin, vodných směsí etanolu a metanolu silně okyselených o hodnotě pH = 2 až 3, vysoce koncentrovaných vodných roztoků lyotropních solí, vysoce koncentrovaných vodných roztoků močoviny nebo guanidinium chloridu za míchání při teplotách pod 37 °C a potom se z viskózní disperze odstraní rozpouštědlo obecně známými způsoby při teplotách nepřevyšujících 37 °C.

3. Způsob podle bodu 2, vyznačený tím, že se během přípravy disperze nebo až po odstranění rozpouštědla přidá síťovadlo vybrané ze skupiny trimetylolmočoviny, formaldehydu, acetaldehydu, glutaraldehydu, dialdehydového škrobu, glyoxalu, chromité soli.

4. Způsob podle bodů 2 a 3, vyznačený tím, že se během přípravy disperze nebo až po odstranění rozpouštědla přidá biologicky aktivní látka, případně plnivo, změkčovadlo.