

UŽITNÝ VZOR

(11) Číslo dokumentu:

32 211

(13) Druh dokumentu: **U1**

(51) Int. Cl.:

A61L 27/40 (2006.01)
C01B 32/25 (2017.01)

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(21) Číslo přihlášky: **2017-34490**
(22) Přihlášeno: **20.12.2017**
(47) Zapsáno: **23.10.2018**

(73) Majitel:
Fyzikální ústav AV ČR, v. v. i., Praha 8, Libeň, CZ
Fyziologický ústav AV ČR, v. v. i., Praha 4, Krč,
CZ
Vysoká škola chemicko-technologická v Praze,
Ústav inženýrství pevných látek, Praha 6, Dejvice,
CZ

(72) Původce:
Ing. Štěpán Stehlík, Ph.D., Praha 6, Střešovice, CZ
doc. RNDr. Bohuslav Rezek, Ph.D., Praha 6,
Střešovice, CZ
Ing. Štěpán Potocký, Ph.D., Praha 6, Střešovice, CZ
doc. Ing. Alexander Kromka, DrSc., Praha 6,
Střešovice, CZ
Mgr. Ivana Kopová, Ph.D., Praha 10, Vršovice, CZ
doc. MUDr. Lucie Bačáková, CSc., Praha 4,
Braník, CZ
doc. Ing. Petr Slepíčka, Ph.D., Praha 6, Dejvice, CZ
Ing. Nikola Slepíčková Kasálková, Ph.D., Praha 6,
Dejvice, CZ

(74) Zástupce:
Fyzikální ústav AV ČR, v. v. i./CITT, Karel Bauer,
Za Radnicí 835, 252 41 Dolní Břežany

(54) Název užitného vzoru:
**Nanodiamantový povlak fluoropolymerní
folie pro kostní implantáty**

CZ 32211 U1

Nanodiamantový povlak fluoropolymerní folie pro kostní implantáty

Oblast techniky

5

Technické řešení se týká nanodiamantového povlaku s vodíkovou terminací na fluoropolymerní folii pro kostní implantáty. Technické řešení spadá do oblasti materiálového inženýrství, kompozitních materiálů, nanomateriálů a biomedicíny, přičemž rozšiřuje možnosti metod v oblasti implantátů a materiálů pro kostní a tkáňovou regeneraci.

10

Dosavadní stav techniky

15 Polytetrafluorethylen (PTFE) je klinicky široce využívaný polymerní materiál např. pro výrobu cévních protéz (Chlupac, Filova, and Bacakova 2009), pro regeneraci a inženýrství kostních tkání, nebo jako výplňový materiál pro maxilofaciální tkáň (Rakhmatia et al. 2013). Hlavními výhodami využití PTFE v biomedicíně jsou jeho netoxičita, vysoká chemická odolnost, nízká povrchová energie a vynikající tepelná stabilita. Nicméně PTFE (podobně jako mnoho dalších polymerních materiálů) je ve svém původním stavu bioinertním materiálem s nízkou tkáňovou
20 afinitou, která omezuje kolonizaci PTFE buňkami a jeho následnou integraci do okolních tkání pacienta.

Pro obecné zlepšení adheze a proliferace osteoblastů na bioinertních površích mohou být použity různé metody. Například je známo, že povrchová modifikace pomocí plazmatu modifikuje
25 polaritu, smáčivost a elektrickou vodivost polymerních materiálů, což vede k lepší vzájemné interakci buněk a materiálů. Smáčivost povrchů materiálu souvisí s jejich zeta potenciálem. Bylo prokázáno, že povrchová modifikace pomocí plazmatu zvyšuje zeta potenciál (a tudíž i smáčivost) původně vysoce hydrofobních povrchově neošetřených PTFE fólií. Avšak smáčivost je ovlivněna i dalšími faktory, např. povrchovou chemií a polaritou, které lze měnit pomocí
30 plazmatické úpravy (Bacakova et al. 2011).

Dalšími důležitými faktory pro kolonizaci buněk a integraci implantátů jsou drsnost povrchu a povrchová topografie. Různé formy diamantu jsou dobře známé pro svou biokompatibilitu, nízkou cytotoxicitu, vysokou mechanickou tvrdost, velkou chemickou a tepelnou odolnost
35 a ořezuvzdornost (Bacakova et al. 2014), což z nich činí ideální materiál pro biomedicínské aplikace. Nanostrukturované formy diamantu navíc lépe napodobují přirozenou architekturu kostní tkáně. Výborná biokompatibilita diamantových filmů a nanočástic byla prokázána v různých studiích (Schrand et al. 2007) včetně zvýšené adheze a proliferace buněk podobných osteoblastům na tenkých vrstvách nanokrystalických diamantů (Liskova et al. 2015). Navíc byla
40 pozorována osteogenní diferenciací, důležitá pro lepší osseointegraci implantátu do okolních kostních tkání pacienta (Liskova et al. 2015). Hermetický nanodiamantový povlak také zlepšuje mechanické vlastnosti implantátu a také zabraňuje uvolňování kovových iontů nebo polymerních látek do okolní tkáně (Grausova et al. 2008).

45 *Stávající způsoby zlepšení biokompatibility PTFE*

Adhesi a proliferaci různých typů buněk na PTFE a dalších bioinertních polymerech užívaných v biomedicíně (např. polyethylen, polyethylen tereftalát, polyurethan, polylaktid) lze podpořit
50 výše zmíněnou modifikací plazmatem a příbuznými technikami, jako je ozáření proudem iontů či ultrafialovým světlem v různých atmosférách. Na aktivované polymery lze poté naroubovat různé biomolekuly, zejména proteiny zprostředkující adhesi buněk, jako je fibronectin, vitronectin či kolagen (Bacakova et al. 2011). Na aktivované polymery lze naroubovat i různé nanočástice, např. uhlíku (Parizek et al. 2013). Na polymery lze nanést i vrstvy fibrinu bez jejich předchozí aktivace, a to speciálními technikami simulujícími část procesu fyziologické hemokoagulace in
55 vitro (Filová et al. 2014).

Příklady aplikací nanodiamantů na implantáty

Využití nanodiamantů v této oblasti je zatím málo prozkoumáno na rozdíl od pokrývání implantátů souvislou diamantovou vrstvou pomocí CVD technik. Možné využití diamantových nanočástic pro implantáty bylo například demonstrováno jejich modifikací fosfátovými skupinami a následně elektrochemicky asistovanou imobilizací na materiálech na bázi titanu (Gonçalves et al. 2014). Cílem bylo zvýšení buněčné adheze vůči povrchům biomateriálů imobilizací elektricky nabitých diamantových nanočástic, nicméně biologicky relevantní experimenty nebyly provedeny. Vrstva nanodiamantu také zdaleka nebyla uniformní a souvislá. Polymerní folie jako např. PTFE představují ještě mnohem náročnější výzvu pro modifikaci diamantem, ať už v podobě tenkých povlaků nebo vrstev nanočástic. Na druhou stranu výhodou použití nanodiamantu oproti diamantovým vrstvám na polymerních substrátech je zejména odolnost proti praskání a delaminaci vrstev, zamezení teplotnímu namáhání spojenému s depozicí vrstev, a celkově jednodušší technologický proces. Současně nanodiamanty přinášejí výhody z hlediska biokompatibility a další chemické funkcionalizace popsané výše.

Seznam nepatentové literatury:

- Bacakova, Lucie, Elena Filova, Martin Parizek, Tomas Ruml, and Vaclav Svorcik. 2011. "Modulation of Cell Adhesion, Proliferation and Differentiation on Materials Designed for Body Implants." *Biotechnology Advances* 29 (6):739–67. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.06.004>.
- Bacakova, Lucie, Ivana Kopova, Lubica Stankova, Jana Liskova, Jiri Vacik, Vasily Lavrentiev, Alexander Kromka, Stepan Potocky, and Denisa Stranska. 2014. "Bone Cells in Cultures on Nanocarbon-Based Materials for Potential Bone Tissue Engineering: A Review: Bone Cells in Cultures on Nanocarbon-Based Materials." *Physica Status Solidi (A)* 211 (12):2688–2702. <https://doi.org/10.1002/pssa.201431402>.
- Chlupac, J., E. Filova, and L. Bacakova. 2009. "Blood Vessel Replacement: 50 Years of Development and Tissue Engineering Paradigms in Vascular Surgery." *Physiological Research* 58:S119.
- Filová, Elena, Eduard Brynda, Tomáš Riedel, Jaroslav Chlupáč, Marta Vandrovcová, Zdeněk Švindrych, Věra Lisá, Milan Houska, Jan Pirk, and Lucie Bačáková. 2014. "Improved Adhesion and Differentiation of Endothelial Cells on Surface-Attached Fibrin Structures Containing Extracellular Matrix Proteins: Endothelial Cells on Surface-Attached Fibrin." *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 102 (3):698–712. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34733>.
- Gonçalves, Juliana P L, Afnan Q Shaikh, Manuela Reitzig, Daria A Kovalenko, Jan Michael, René Beutner, Gianaurelio Cuniberti, Dieter Scharnweber, and Jörg Opitz. 2014. "Detonation Nanodiamonds Biofunctionalization and Immobilization to Titanium Alloy Surfaces as First Steps towards Medical Application." *Beilstein Journal of Organic Chemistry* 10 (November):2765–73. <https://doi.org/10.3762/bjoc.10.293>.
- Grausova, L., A. Kromka, L. Bacakova, S. Potocky, M. Vanecek, and V. Lisa. 2008. "Bone and Vascular Endothelial Cells in Cultures on Nanocrystalline Diamond Films." *Diamond and Related Materials* 17 (7–10):1405–9. <https://doi.org/10.1016/j.diamond.2008.02.008>.
- Liskova, Jana, Oleg Babchenko, Marian Varga, Alexander Kromka, Daniel Hadraba, Zdenek Svindrych, Zuzana Burdikova, and Lucie Bacakova. 2015. "Osteogenic Cell Differentiation on H-Terminated and O-Terminated Nanocrystalline Diamond Films." *International Journal of Nanomedicine* 10 (January):869–84. <https://doi.org/10.2147/IJN.S73628>.

Parizek, Martin, Nikola Slepickova Kasalkova, Lucie Bacakova, Zdenek Svindrych, Petr Slepicka, Marketa Bacakova, Vera Lisa, and Vaclav Svorcik. 2013. "Adhesion, Growth, and Maturation of Vascular Smooth Muscle Cells on Low-Density Polyethylene Grafted with Bioactive Substances." *BioMed Research International* 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/371430>.

Rakhmatia, Yunia Dwi, Yasunori Ayukawa, Akihiro Furuhashi, and Kiyoshi Koyano. 2013. "Current Barrier Membranes: Titanium Mesh and Other Membranes for Guided Bone Regeneration in Dental Applications." *Journal of Prosthodontic Research* 57 (1):3–14. <https://doi.org/10.1016/j.jpor.2012.12.001>

Schrand, Amanda M., Houjin Huang, Cataleya Carlson, John J. Schlager, Eiji Ōsawa, Saber M. Hussain, and Liming Dai. 2007. "Are Diamond Nanoparticles Cytotoxic?" *The Journal of Physical Chemistry B* 111 (1):2–7. <https://doi.org/10.1021/jp066387v>.

Podstata technického řešení

Výše popsané technické nevýhody jsou do jisté míry překonány a oproti známému řešení nanodiamantu vylepšeny pomocí předkládaného technického řešení, které v jistém ohledu představuje povlak fluoropolymerní folie pro kostní implantáty, přičemž podstata technického řešení spočívá v tom, že na folii je nanosená vrstva hydrogenovaných detonačních nanodiamantů (H-DND).

Výhoda použití hydrogenovaných detonačních nanodiamantů spočívá ve zlepšení biokompatibility v porovnání s neošetřenými foliemi anebo i v porovnání s oxidovanými diamanty.

V jistém výhodném provedení je vrstva nanodiamantů vytvořená v koloidním roztoku.

V dalším výhodném provedení je vrstva nanodiamantů vytvořená z koloidního roztoku je vrstvou vytvořenou v ultrazvukové lázni.

V dalším výhodném provedení může být polymerní folie modifikovaná DC plasmou.

V jistém provedení povlaku je fluopolymerovou fólií polytetrafluorethylen.

Mezi výhodné technické účinky zde uváděného řešení je nanosení hydrogenovaných detonačních nanodiamantů (H-DND) z koloidního roztoku, které díky svým chemicko-fyzikálním vlastnostem zlepšují biokompatibilitu, výhodně v kombinaci s PTFE v porovnání s neošetřeným PTFE i v porovnání s oxidovanými nanodiamanty. Díky vzájemné elektrostatické přitažlivosti mezi kladně nabitými H-DND a záporně nabitým PTFE se na povrchu PTFE během ponoření, případně za současné agitace pomocí ultrazvukové lázně, vytvoří během několika minut relativně pevně přilnutá souvislá vrstva H-DND, která při zachování mikrodrsnosti a hydrofobicitě povrchu vytvoří nový povrch s vlastnostmi výhodnými pro lepší histokompatibilitu implantátu. Technické řešení tak zlepšuje biokompatibilitu povrchu PTFE pro tkáňové kultury, což bylo ověřeno na adhezi, proliferaci a životaschopnosti lidských primárních osteoblastů. V porovnání s neošetřenou PTFE folií byl identifikován výrazně větší počet přilnutých buněk (12000 buněk/cm²) na PTFE folii s H-DND povlakem. Na neošetřené PTFE folii byl počet přilnutých buněk zanedbatelný. V porovnání s neošetřenou PTFE folií byla také zjištěna přibližně 30krát větší metabolická aktivita a 13 krát větší životaschopnost přilnutých buněk na PTFE folii s H-DND povlakem.

PTFE folii lze pokrývat prostým ponořením bez použití ultrazvuku s podobnou výslednou kvalitou, nicméně použití ultrazvuku může být výhodnější pro složitější tvary a lepší homogenitu

pokrytí. PTFE v podobě folie je použito pro demonstraci pokrývání i flexibilních tvarů PTFE, přičemž postup nijak neomezuje použití i na objemnější útvary a komplikovanější 3D struktury implantátu.

- 5 Technické řešení je níže dále objasněno pomocí ilustrativních obrázků a příkladu provedení, které nesmí být interpretovány jako omezení nárokovaného rozsahu.

Objasnění výkresů

10

Obr. 1 schematicky znázorňuje depozici nanodiamantů na PTFE folii z koloidního roztoku ponořením PTFE folie do koloidního roztoku H-DND ve variantě s pomocí ultrazvukové lázně (a) a bez ultrazvukové lázně (b).

15

Obr. 2 schematicky znázorňuje PTFE folii povrchově modifikovanou nanodiamanty a její použití pro interakci s lidskými kostními buňkami v kultuře.

Obr. 3 představuje snímek z elektronového mikroskopu. Vlevo je snímek neošetřené PTFE folie, vpravo snímek PTFE folie s nanosenými H-DND.

20

Obr. 4 Dokazuje výrazně zvýšenou metabolickou aktivitu (vlevo) a životaschopnost (vpravo) kostních buněk na PTFE folii s nanosenými H-DND ve srovnání s PTFE folií bez H-DNDs a O-DND (oxidované DND, které netvoří souvislou vrstvu na PTFE).

25

Příklady uskutečnění technického řešení

Pro technické řešení popsané v tomto příkladu jsou použity PTFE folie 1 (hustota 2,2 g.cm⁻³, tloušťka 50 μm; Goodfellow, UK), ze kterých byly připraveny vzorky 2 x 2 cm² a použity v původním stavu nebo modifikovány argonovou DC plazmou (Balzers SCD 050, čistota plynu 99,997 %, tlak 10 Pa, průtok 0,3 dm³.s⁻¹, Baltec, UK). Doba modifikace byla 240 s při výkonu 8 W. Plazmaticky modifikované fólie 1 byly použity po pěti dnech od ošetření, po ustálení jejich chemicko-fyzikálních vlastností. Komerčně dostupné detonační nanodiamanty 2 (New Metals and Chemicals, Japonsko) byly nejprve povrchově zoxidovány při teplotě 450 °C po dobu 30 minut. Následně byly hydrogenovány žíháním v plynném vodíku za atmosférického tlaku při teplotě 600 °C po dobu 6 hodin. Koloidní roztoky H-DND 2 s kladným zeta potenciálem byly připraveny po dispergaci hrotovým ultrazvukem prášku H-DND 2 v destilované vodě a následně centrifugací, kdy došlo odebrání neusazeného roztoku (supernatantu). Depozice H-DND 2 proběhla ponořením PTFE folií 1 do koloidního roztoku H-DND 2 na 10 minut v ultrazvukové lázni 3, po depozici byly folie 1 opláchnuty demineralizovanou vodou.

Následně byla PTFE folie 1 povrchově modifikovaná hydrogenovanými detonačními nanodiamanty 2 použita pro interakci s lidskými kostními buňkami 4 v kultuře.

45

PRŮMYŠLOVÁ VYUŽITELNOST

Technické řešení představuje povlak, který může být obecně využit jako biokompatibilní povlak nanosený na materiály pro kostní a tkáňovou regeneraci.

50

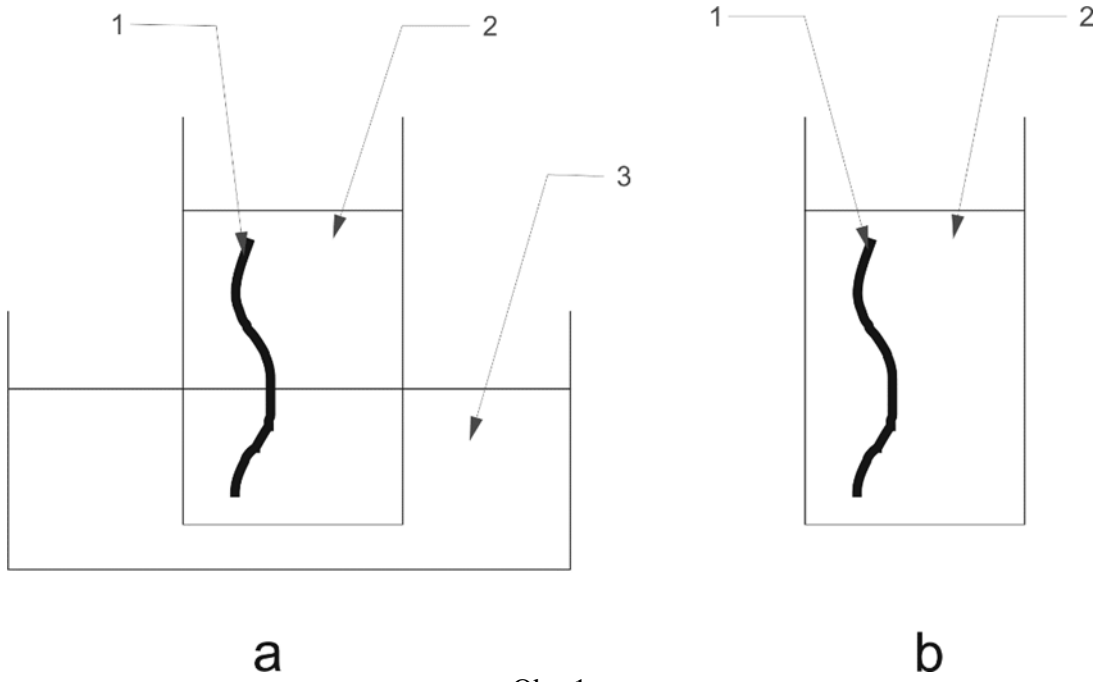
NÁROKY NA OCHRANU

55

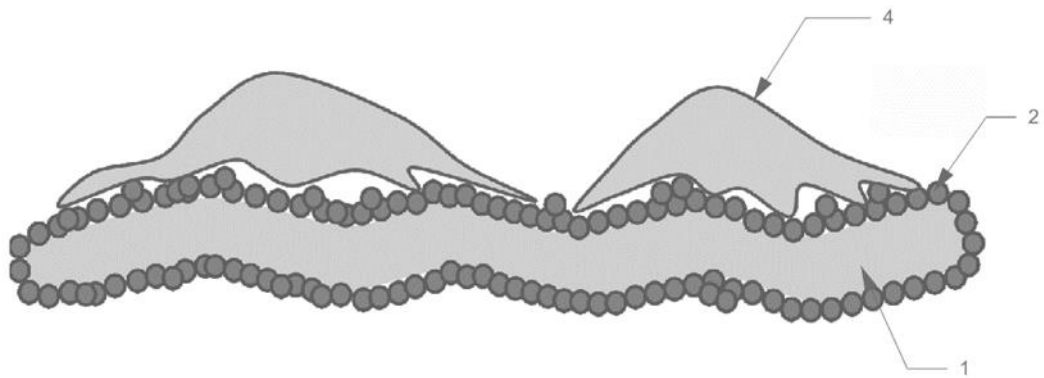
1. Fluoropolymerní folie (1) s nanodiamantovým povlakem pro kostní implantáty, **vyznačující se tím**, že povlak obsahuje vrstvu (2) hydrogenovaných detonačních nanodiamantů.
- 5 2. Fluoropolymerní folie (1) s nanodiamantovým povlakem pro kostní implantáty podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že folie (1) je modifikovaná DC plazmou.
3. Fluoropolymerní folie (1) s nanodiamantovým povlakem pro kostní implantáty podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, **vyznačující se tím**, že fluoropolymerní folie (1) je polytetrafluorethylen.

10

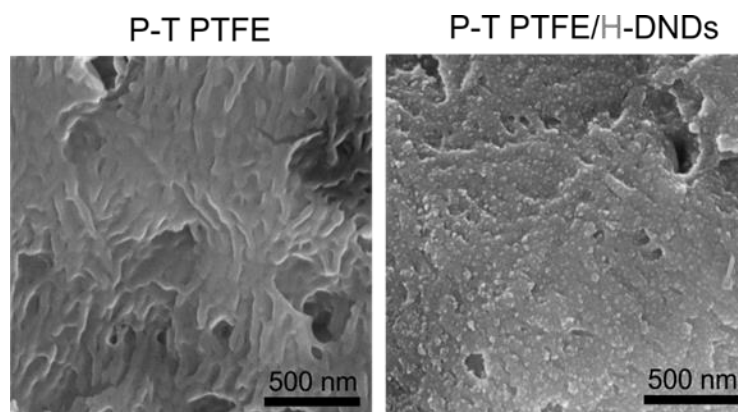
2 výkresy



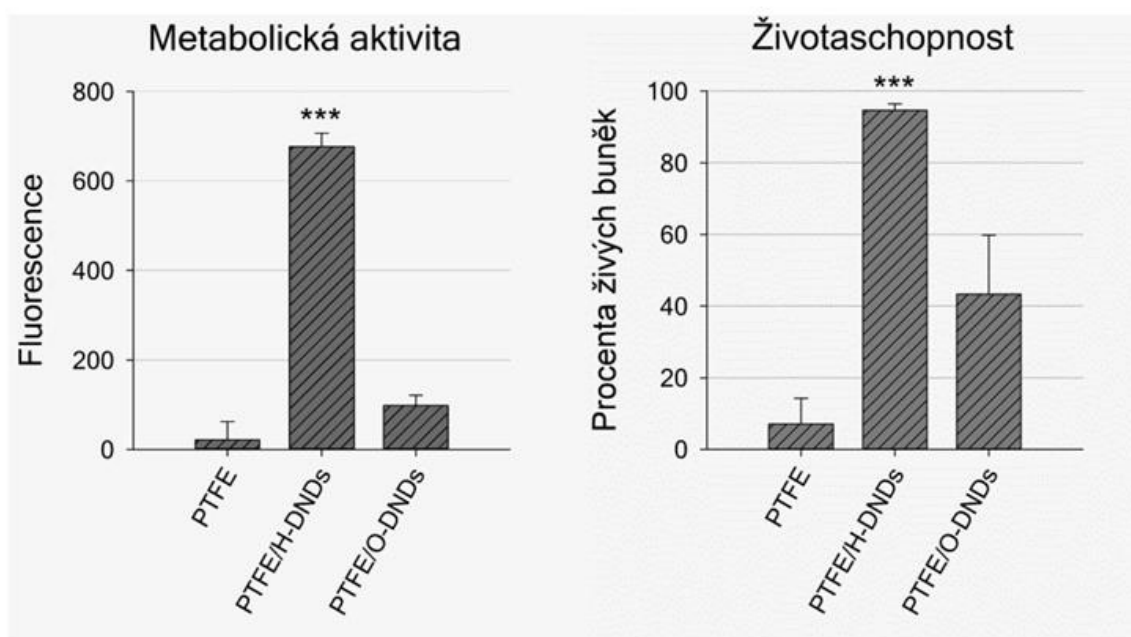
Obr. 1



Obr. 2



Obr. 3



Obr. 4