

# Hydrogely na bázi biodegradabilních polymerů

Patrik Rohrer

---

Bakalářská práce  
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická  
Ústav inženýrství polymerů  
akademický rok: 2013/2014

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Patrik Rohrer**  
Osobní číslo: **T11463**  
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**  
Studijní obor: **Polymerní materiály a technologie**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Hydrogely na bázi biodegradabilních polymerů**

Zásady pro vypracování:

**Vypracování rešerše v oblasti hydrogelů:**

- přehled používaných polymerních materiálů
- možnosti síťování hydrogelů
- charakterizace fyzikálních vlastností hydrogelů
- preliminární experimentální část zaměřená na přípravu síťovaných biopolymerních hydrogelů
- charakterizace připravených hydrogelů
- shodnocení budoucího aplikačního přínosu

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

**Ch. Harrats, S. Thomas, G. Groeninckx: Micro- and Nanostructured Multiphase Polymer Blend Systems: Phase Morphology and Interfaces**

**S. C. Anand, J. F. Kennedy, M. Miraftab, S. Rajendran: Medical textiles ad biomaterials for healthcare**

**M. Chasin, R. Langer: Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems**

Vedoucí bakalářské práce:

**Ing. Tomáš Sedláček, Ph.D.**

Centrum polymerních materiálů

Datum zadání bakalářské práce:

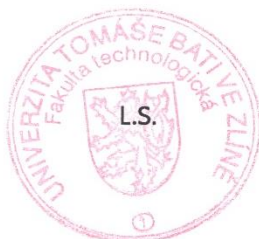
**10. ledna 2014**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**28. května 2014**

Ve Zlíně dne 7. února 2014

  
doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.  
*děkan*



  
Ing. Lubomír Beníček, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: Rohrer Patrik

Obor: Farmaceutické a medicínské materiály

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně ...26.5.2014



---

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevýdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Hydrogely jsou materiály, které díky svým jedinečným vlastnostem, možným modifikacím a kombinacím látek, z nichž mohou být vyrobeny, nabízejí obrovský potenciál využití pro biomedicínský a farmaceutický průmysl. Pro demonstraci již stávajícího využití lze uvést příklady jako scaffoldy v tkáňovém inženýrství, oční čočky, lékové formy pro transport aktivních substancí či obvazy pro hojení ran a popálenin.

Problematika přípravy a charakterizace hydrogelů na bázi biodegradabilních polymerů pro biomedicínské použití - krytí ran - je náplní předkládané práce. Nejprve zde jsou po teoretické stránce představeny vhodné materiály pro přípravu hydrogelů, dále pak jsou rozebrány možnosti řízeného uvolňování aktivních látek, především látek antibiotické povahy, z hydrogelů v průběhu jejich aplikace. V rámci praktické části jsou charakterizovány připravené hydrogely na bázi proteinu želatiny a polysacharidu alginátu sodného z pohledu bobtnání a teplotních a frekvenčních závislostí viskoelastických vlastností. Pro popis dosažených materiálových vlastností tak byly použity experimentální metody, jako je termomechanická analýza (TMA), či dynamická mechanická analýza (DMA). Pro bližší diskusi a analýzu výsledků však bylo využito i skenovací elektronové mikroskopie (SEM) a infračervené spektroskopie (FTIR).

***Klíčová slova:*** Hydrogel, želatina, alginát sodný, síťování, bobtnání

## **ABSTRACT**

Due to their unique properties, modifications possibilities, and combinations of substances utilized for their production, hydrogels are materials offering, huge potential of application in biomedical and pharmaceutical industry. Scaffolds in tissue engineering, ophthalmic lenses, medical forms for drugs delivering or as dressings for wound healing and burns can be introduced as useful examples of their utilization.

The present thesis is focus on preparation and characterization of hydrogels based on biodegradable polymers for biomedical use – wound dressing. Firstly, appropriate materials for hydrogel preparation are discussed from the theoretical point of view together with possibilities of controlled release of active substances, especially antibiotic substances, from hydrogels during their application. Prepared hydrogels based on protein gelatine and polysaccharide sodium alginate are closely characterized within the experimental part. For a description of the material properties, with respect to swelling and temperature and frequency dependency of viscoelastic properties, experimental methods, such as thermomechanical analysis (TMA), or dynamic mechanical analysis (DMA) were employed. Moreover, scanning electron microscope (SEM) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) were utilized for deeper understanding and analysis of the results.

***Key words:*** Hydrogels, gelatine, sodium alginate, crosslinking, swelling

*„Naděje není přesvědčení, že něco dobře dopadne, ale jistota, že má něco smysl, bez ohledu na to, jak to dopadne.“*

*Václav Havel*

Velice rád bych poděkoval vedoucímu své bakalářské práce Doc. Ing. Tomáši Sedláčkovi, Ph.D. a také konzultantce Doc. Ing. Věře Kašpárkové, CSc. za jejich vedení, rady, pomoc, kritiku, trpělivost, čas a inovace při tvorbě této práce. Další dík nepochybně patří celé mé rodině, blízkým a přítelkyni, kteří mě po celou dobu mého studia motivovali a podporovali.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně 23. 5. 2014

.....

Patrik Rohrer



# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 HYDROGELY</b> .....	<b>12</b>
1.1 ROZDĚLENÍ HYDROGELŮ .....	14
1.2 VLASTNOSTI HYDROGELŮ .....	16
1.2.1 Biodegradace.....	16
1.2.2 Biokompatibilita.....	17
1.2.3 Mechanické vlastnosti.....	18
1.2.4 Botnací vlastnosti .....	19
1.3 MATERIÁLY VHODNÉ PRO VÝROBU HYDROGELŮ.....	21
1.3.1 Želatina.....	22
1.3.2 Algináty.....	23
1.4 SÍŤOVÁNÍ HYDROGELŮ .....	24
1.4.1 Vliv síťování na strukturu hydrogelu .....	24
1.4.2 Druhy síťování .....	25
1.4.2.1 Fyzikální síťování .....	25
1.4.2.2 Chemické síťování .....	26
1.4.3 Látky vhodné k síťování .....	27
1.4.3.1 Glutaraldehyd.....	28
1.4.3.2 Chlorid vápenatý.....	28
1.5 APLIKACE.....	29
1.6 AKTIVNÍ LÁTKY V HYDROGELECH.....	31
1.6.1 Antibiotika.....	32
<b>2 METODY CHARAKTERIZACE HYDROGELŮ</b> .....	<b>34</b>
2.1 BOTNÁNÍ .....	35
2.2 VISKOELASTICKÉ VLASTNOSTI .....	38
2.3 ŘÍZENÉ UVOLŇOVÁNÍ AKTIVNÍ LÁTKY.....	40
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>42</b>
<b>3 CÍL PRÁCE</b> .....	<b>43</b>
<b>4 PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE HYDROGELŮ</b> .....	<b>44</b>
4.1 POUŽITÉ MATERIÁLY .....	44
4.2 POUŽITÉ POMŮCKY .....	44
4.3 PŘÍPRAVA HYDROGELŮ .....	44
4.4 OPTIMALIZACE PŘÍPRAVY .....	46
4.5 METODY CHARAKTERIZACE HYDROGELŮ.....	46
<b>5 VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>49</b>
5.1 CHARAKTERIZACE BOTNACÍCH VLASTNOSTÍ .....	49
5.1.1 Gravimetrická metoda (botnací křivka) .....	49
5.1.2 Termomechanická analýza.....	51
5.2 CHARAKTERIZACE VISKOELASTICKÝCH VLASTNOSTÍ.....	52
5.2.1 Dynamická mechanická analýza .....	52
5.2.2 Termomechanická analýza.....	56

5.3	CHARAKTERIZACE STRUKTURNÍCH VLASTNOSTÍ .....	59
5.3.1	Skenovací elektronová mikroskopie .....	59
5.3.2	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací.....	61
<b>ZÁVĚR .....</b>		<b>63</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>		<b>65</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>		<b>73</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>		<b>77</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>		<b>79</b>

## ÚVOD

Hydrogely, jsou bioinspirativní materiály, které svým potenciálem, možnými modifikacemi a unikátními vlastnostmi, nabízejí široké aplikační uplatnění a stávají se nedílnou součástí dnešní doby. Využívají se v nejrůznějších odvětvích, jako například zemědělství, potravinářství, kosmetika, tkáňové inženýrství nebo medicína.

Díky novým technologiím, jako například robotická chirurgie, kapslová endoskopie, telemedicína, biomedicínské inženýrství, molekulární modelování či řízené uvolňování léčiv, se medicína v posledních letech ubírá k individualizaci léčby pacientů a minimalizaci poškození organismu.

Rozmach hydrogelů se datuje od roku 1960, kdy Otto Wichterle s Drahoslavem Limem syntetizovali poly(2-hydroxyethyl metakrylát), zanedlouho se používající na výrobu kontaktních čoček. [1] Za těchto šedesát let, které od vynálezu kontaktních čoček uplynuly, byla vyvinuta celá řada dalších hydrogelů, na bázi přírodních či syntetických materiálů, používající se pro různé medicínské aplikace. Pro aplikaci obvazů v medicíně se zásadním stal rok 1989, kdy Rosiak a kol., připravili hydrogel, který byl schopen aplikace právě jako obvaz. [2]

Předložená práce je zaměřena na sledování způsobů využití připravených hydrogelů, jakožto obvazů na krytí ran a popálenin. Připravený hydrogel je složen ze dvou biodegradabilních biopolymerů a to želatiny a alginátu sodného, které jsou navíc i biokompatibilní s lidskou pokožkou. Pro aplikaci v medicíně jsou kromě biokompatibility a biodegradability důležitým požadavkem mechanické vlastnosti. Biopolymery mají polyelektrolytický charakter, pomocí kterého vznikají mezi jejich řetězci sekundární vazby. Sekundární vazby však obecně nejsou nijak stabilní. Proto bylo při přípravě hydrogelu využito i chemické síťování, které zajistilo dostatečnou pevnost a stabilitu zvolených hydrogelů pro další aplikaci. Síťování bylo provedeno různými chemickými síťovadly, která nám v konečném důsledku vytvořili zcela odlišné matrice hydrogelů. Připravené hydrogely se mohou dále použít k různým aplikacím ve formě obvazů, jako například matrice pro vložení účinné látky k řízenému uvolňování.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 HYDROGELY

Gely vznikají z látek, které jsou schopny gelatinizovat. Proces tvorby gelu se označuje jako gelace. Gelace probíhá v několika krocích, kdy se nejdříve vytvoří sol, jež přechází přes viskózní a polotuhá stádia vlivem vnějších faktorů (teplota) až na gel. Gely lze klasifikovat na lyogely a xerogely. Lyogely jsou systémy, které obsahují kapalně disperzní prostředí, kdežto xerogely nikoliv. Vznikají totiž vysušením lyogelu, tedy odstraněním disperzního prostředí a obsahují tak pouze pevně vázaný disperzní podíl. Dále se pak lyogely mohou dělit podle povahy disperzního prostředí na hydrogely, kde je tímto disperzním prostředím voda, a organogely, kde je jím organická látka. Gely, u kterých se vysušením a následným botnáním nemění strukturní, botnací a mechanické vlastnosti se označují jako reverzibilní (vratné). Naopak ty gely, které se vysuší a následně botnání vyvolá změnu strukturních či mechanických vlastností, se označují jako ireverzibilní (nevratné) gely. Hydrogely jsou z hlediska zařazení mezi gely reverzibilní lyogely, které obsahují disperzní prostředí vodu. [3, 4, 5, 6]

Hydrogely jsou trojrozměrné hydrofilní sítě tvořené homopolymery, kopolymery či interpenetrujícími polymery různorodých forem, tvarů a velikostí. Mohou být vyrobeny jak z přírodních, tak i syntetických látek, jakož i z jejich kombinací. Výrobní formy hydrogelů mohou být pevně tvarovány, mohou se vyskytovat v podobě práškové matrice, mikročástic, nanočástic, povlaků, membrán či enkapsulovaných látek. Hydrofilní sítě hydrogelu zajišťuje přítomnost hydroxylových (-OH), karboxylových (-COOH), amidických (-CONH-), primárních amidických (-CONH<sub>2</sub>) či sulfonových (-SO<sub>3</sub>H) skupin ve struktuře polymerních sítí, které tvoří hydrogel. Hydrogely však nemusí obsahovat pouze hydrofilní část. Pomocí polymeračních reakcí je možné připravit i systémy obsahující části hydrofobní, jejichž přítomnost může výrazně ovlivnit některé vlastnosti hydrogelu. [7]

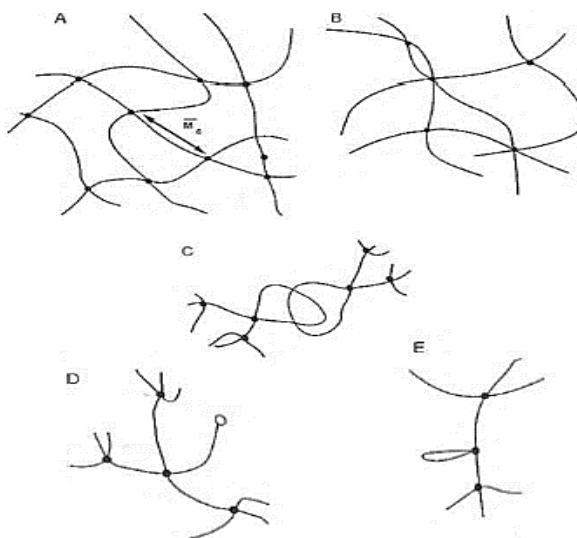
Stupeň botnání je zajištěn díky hydrofilnosti, o které jsem se výše zmiňoval, kdy hydrogel nabotná do určitého stupně, který je pro něj maximální. Tento jev se označuje jako nabotnání do rovnovážného stavu a dosáhne se jej vložení hydrogelu do přebytku vody či fyziologického roztoku na definovanou dobu, což se na struktuře projeví proniknutím kapaliny mezi řetězce, které tuto kapalinu zadrží. [8]

Struktura hydrogelu drží pomocí fyzikálních sil, takto síťované hydrogely však nevykazují odpovídající mechanické vlastnosti, jakými jsou modul pružnosti, soudržnost a pevnost v nabotnalém stavu. Fyzikální síly mohou být ve struktuře hydrogelu zprostředkovány příčnými

vazbami pomocí vodíkových můstků, hydrofobních sil či van der Waalových sil. Tento nedostatek však řeší chemické síťování hydrogelu pomocí látek na přírodní či syntetické bázi, nebo také různé fyzikální faktory, jako například ionizující záření a teplota. Síťovadla tvoří mezi polymerními řetězci hydrogelu vazby kovalentní nebo iontové povahy. Toto síťování musí být voleno dle požadovaného poměru stupně botnění ku mechanickým vlastnostem, tudíž musí být nalezen určitý kompromis. Situace, které mohou nastat ve struktuře hydrogelu, jsou popsány na obrázku 1. [9]

Dobré mechanické a strukturní vlastnosti však nejsou jediným požadavkem na hydrogely aplikované v medicíně. Důležitým požadavkem je i jejich biokompatibilita a biodegradabilita. Biokompatibilitu hydrogelů ovlivňuje hydrofilita, respektive fakt, že hydrogely obsahují vysoké procentuální zastoupení vody. Hydrogely jsou pro aplikaci v medicíně připravovány tak, aby se co nejvíce podobaly extracelulárnímu prostředí tělních tkání a zároveň se u nich kontrolovaly změny fyzikálních vlastností, biologické aktivity na buněčné systémy a biochemické procesy. [10]

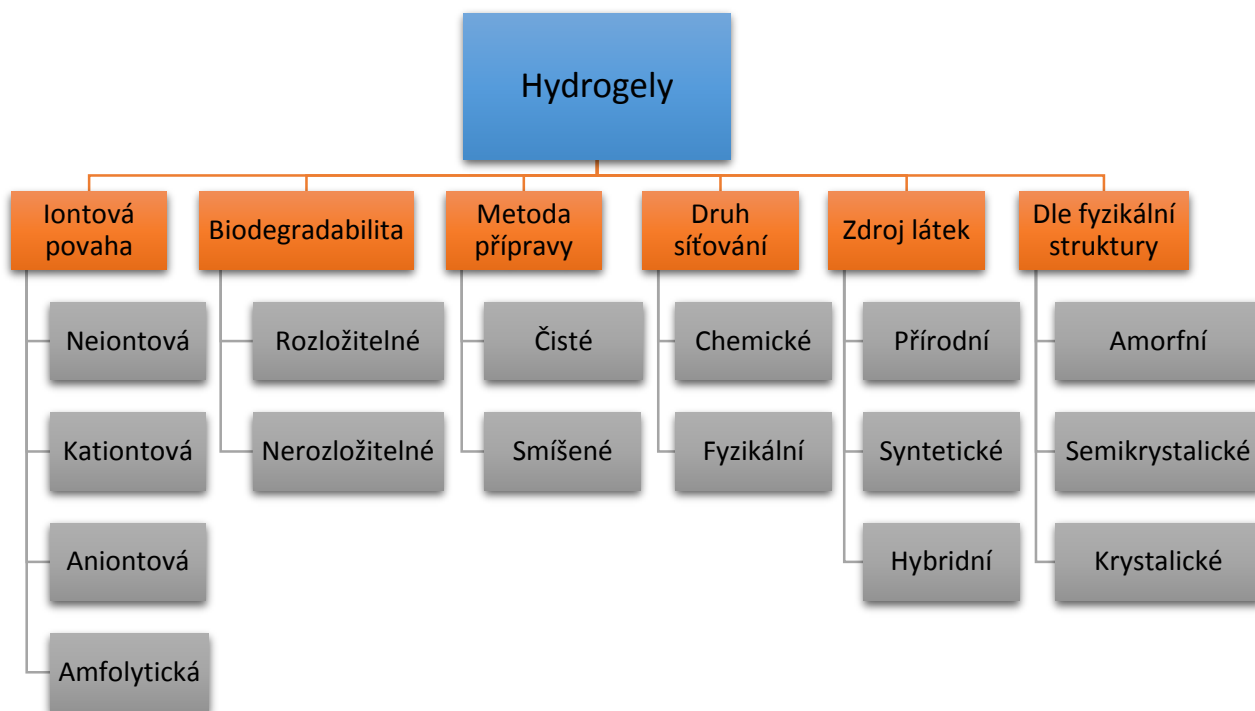
Posledním požadavkem na hydrogely pro aplikaci v medicíně je difuze, která odpovídá za transport plynů, výživy, proteinů, buněk a dalších látek do či ze struktury hydrogelu. Difuze je závislá na druhu použitého materiálu, na velikosti pórů vyskytujících se v hydrogelu, na molekulové charakteristice či interakcích hydrogelu. [11]



*Obrázek 1: Jednotlivé situace, které mohou ve struktuře hydrogelu nastat. Na obrázku A) ideální síť s čtyřfunkčním síťováním, takzvaná Gaussovská síť; B) síť s multifunkčním síťováním; C) molekulární zapleteniny D) nezreagované funkční skupiny v hydrogelech E) řetězcové smyčky;  $M_c$  je molekulová hmotnost mezi vazbami. Obrázky D) a E) nevykazují mechanickou pevnost ani fyzikální vlastnosti sítě.*

## 1.1 Rozdělení hydrogelů

Hydrogely mohou být rozděleny dle nejrůznějších způsobů a kritérií, kterých je nespočet. Tyto způsoby rozdělení spolu mohou souviset a navazovat na sebe. Způsoby klasifikace, tedy dle iontové povahy, biodegradability, metody přípravy, druhu síťování, zdroje látek či dle fyzikální struktury jsou uvedeny na obrázku 2.



Obrázek 2: Schéma rozdělení hydrogelů

Dle složení mohou být hydrogely rozděleny na přírodní, syntetické a hybridní (kombinace přírodních a syntetických látek). V detailu je toto dělení a příklady látek popsány níže. [7]

Na základě metody přípravy, můžeme hydrogely rozdělit na čisté a smíšené. Do čistých hydrogelů patří ty, jež jsou vyrobeny buď z homopolymerů, nebo kopolymerů. Hydrogel připravený z homopolymerů vzniká polymerací jednoho druhu hydrofilního monomeru. Zde závisí na povaze monomeru a použité polymerační technice. Hydrogely tvořené kopolymery jsou takové, které vznikly ze dvou či více druhů monomerů, z nichž alespoň jeden by měl být hydrofilní povahy. Monomery tvořící kopolymer mohou být uspořádány v konfiguraci statistické, alternující nebo sledové. [12]

Smíšené hydrogely složené z interpenetrujících polymerních sítí vznikají ze dvou či více polymerních jednotek (homopolymerní či kopolymerní). Ty se prolínají do sebe a alespoň jedna

z těchto jednotek je syntetizována a/nebo síťována v bezprostřední blízkosti ostatních polymerních jednotek.[13]

Na základě biodegradability můžeme hydrogely rozdělit na rozložitelné či nerozložitelné. Zde závisí na druhu výchozích látek, které byly použity při přípravě. Rozložitelné látky jsou většinou přírodního původu, zatímco ty syntetické jsou převážně nerozložitelné. Tato vlastnost materiálu je důležitým faktorem a výhodou při použití v medicíně, kdy rozložitelné hydrogely nemusí být vyjímány z těla a rozloží se samy, viz kapitola o vlastnostech hydrogelů. [14]

Podle fyzikální struktury, kterou ovlivňuje i chemické složení, můžeme hydrogely rozdělit na amorfní, jejichž struktura je neuspořádaná, respektive uspořádaná pouze na krátké vzdálenosti. Dále pak na semikrystalické, kde je fyzikální struktura tvořená hustými oblastmi uspořádaných makromolekulárních řetězců tvořených amorfni a krystalickou fází a na krystalické, které se vyznačují vysokou uspořádaností i na delší vzdálenosti. [15]

Další možností klasifikace hydrogelů je dle jejich iontového charakteru. Hydrogely mohou být iontového charakteru a v tom případě obsahují kladné nebo záporné ionty, vzniklé ionizací bočních iontových skupin. V takovém případě se označují buď jako kladně nebo záporně nabitě hydrogely. Mohou také obsahovat jak kladný, tak i záporný iont. V tomto případě se označují jako amfolyty, respektive hydrogely s amfolytickým charakterem. Vlastnosti amfolytických hydrogelů závisí na přítomnosti iontů, jež se vyskytují podél bočních skupin polymerního řetězce a také na prostředí, ve kterém se řetězec nachází. Třetí možností je, že neobsahují žádný iont a jsou tudíž neiontového charakteru, tedy neutrální. [16]

Poslední způsob klasifikace hydrogelů, je na základě druhů vazeb vyskytujících se ve struktuře. Existují hydrogely síťované fyzikálně, chemicky či hydrogely síťované jak fyzikálně, tak chemicky. Fyzikálně síťované hydrogely jsou reverzibilní, nestabilní a polymerní řetězce jsou zde drženy pohromadě díky sekundárním vazbám. Stabilita hydrogelů síťovaných fyzikálně závisí na vnějších podmínkách, kdy se změnou podmínek může docházet k zeslabení vazeb a může dojít až k úplnému rozpadu hydrogelu. V chemicky síťovaných hydrogelech jsou nevratné, stabilní vazby, u kterých jsou polymerní řetězce drženy pomocí chemických, respektive primárních vazeb. Hydrogely síťované chemicky, mohou díky své pevnosti a nezávislosti na změně podmínek dosáhnout rovnovážného stavu botnání. To může být využito například u řízeného uvolňování či u obvazů na hojení ran. [17]



## 1.2 Vlastnosti hydrogelů

Hydrogely používané v medicíně, jenž jsou aplikovány jak do těla, tak mimo tělo, jsou tvořeny polymery, které musí splňovat určité požadavky. Mezi ně patří biodegradabilita, kdy je v případě aplikace do lidského těla žádané rozložení materiálu poté, co ztrácí svoji účinnost. V případě aplikace mimo tělo je biodegradace také nutná, vzhledem k ochraně životního prostředí, kdy je žádané, aby se hydrogel v prostředí rozložil za co nejrychlejší možnou dobu. Dalším požadavkem je biokompatibilita, jenž je nutná, protože hydrogel pro medicínské účely přichází do kontaktu s lidskou pokožkou či jeho prostředím. Hydrogel by měl být i mechanicky stabilní, vzhledem k různým pohybům, opakovaným aplikacím a odjímáním, kterým je v přítomnosti člověka vystavován. V předkládané práci by hydrogely měly mít i dostatečné botnací vlastnosti, aby byly schopny absorbovat exsudát a jiné tekutiny. Vzhledem k těmto skutečnostem, bude zmíněným vlastnostem věnována následující část práce. [15]

### 1.2.1 Biodegradace

Obecná definice biodegradabilních polymerů probíhá tak, že se materiály vlivem působení živých mikroorganismů rozkládají za vzniku oxidu uhličitého či metanu, vody a biomasy, charakteristické pro rozkládanou látku. Rozklad se může projevit buď úbytkem hmotnosti či ztrátou funkčnosti materiálu. [18]

Biodegradace se podle prostředí, ve kterém probíhá, navíc dělí na dva druhy. Existuje biodegradace aerobní, která probíhá za přístupu kyslíku a vznikající produkt je oxid uhličitý, voda, biomasa a nějaká organická látka. U anaerobní biodegradace probíhá rozklad bez přístupu kyslíku. Zde se substrát rozkládá na metan či oxid uhličitý, vodu, biomasu a organickou látku neškodnou pro organismus. [19]

Rychlost biodegradace je ovlivněna spoustou faktorů. Například u struktury dané látky je velmi důležitá délka řetězce, násobnost vazeb, postranní skupiny látek či konformace, tedy nadmolekulární struktura. U nadmolekulární struktury platí úměra, že čím více je struktura uspořádaná, tím zdlouhavěji bude degradovat, tudíž je důležitý poměr krystalické ku amorfní fázi. Dále pak má na degradabilitě polymeru velký podíl prostředí (teplota, pH) a koncentrační zastoupení mikroorganismů, v nichž se bude polymer rozkládat. Rozklad polymeru také podporují různé enzymy, které katalyzují štěpení řetězců, avšak degradace může probíhat i bez jejich přítomnosti. [20] Posledním zlomovým faktorem ovlivňujícím biodegradabilitu je podoba konečného produktu. Tím je myšleno, že například produkt vzniklý z taveniny se bude daleko pomaleji rozkládat, než produkt vzniklý z roztoku polymeru. Názorná demonstrace

tohoto faktoru je právě u hydrogelu, jenž vzniká z roztoku polymerů. Při vysoušení bude docházet k částečnému vzniku porézní struktury, čímž se výrazně urychlí vliv degradace. To je způsobeno větším prostupem polymeru pro minerální látky. [21]

Skupinu biodegradabilních materiálů tvoří několik syntetických látek, avšak hlavními představiteli jsou biopolymery, což jsou přírodní makromolekulární sloučeniny. Biopolymery se ve velké míře vyskytují v živočišných a rostlinných organismech a jsou produktem jejich metabolismu. [22]

Definice biodegradabilních materiálů využívaných v medicíně je však různá. Biodegradabilní polymery vhodné pro medicínskou aplikaci do lidského těla se označují jako bioresorbovatelné polymery [23] V jejich struktuře se obvykle nacházejí esterové, etherové, anhydridové či amidové vazby, které snadněji podléhají hydrolytickému štěpení. Zde je důležité, aby produkty degradace měly nízkou toxicitu vůči okolí, ve kterém se rozkládají. [24] Polymery pro aplikaci na lidskou pokožku, například ve formě obvazů, se označují tradičně jako biodegradabilní polymery. [22]

U medicínské aplikace kloubních náhrad je například biodegradabilita nemyslitelná, naopak u chirurgických nití použitých *in vivo*, je degradabilita požadována, ale degradační produkty nesmí nijak ovlivnit hostitele. [25] U hydrogelů je biodegradabilita požadována zejména při aplikaci *in vivo*. Zajistí se přítomností nestabilních vazeb, které mohou být umístěny jak v hlavním řetězci přímo při přípravě, tak i v příčných vazbách mezi polymerními řetězci, což je zajištěno síťováním. [24]

### 1.2.2 Biokompatibilita

Jako biokompatibilní jsou obecně označovány přírodní, syntetické materiály a jejich kombinace, jež jsou ve styku s živou tkání či biologickými tekutinami. Jsou na ně kladeny různorodé požadavky, dle místa jejich aplikace. [26]

Biokompatibilita je klíčovou vlastností pro použití výrobku v medicíně. Na tyto materiály je kladen velký důraz, co se týká jejich složení, chemických, mechanických i fyzikálních vlastností. Svým působením nesmí vyvolat žádné nežádoucí účinky, jako jsou záněty, alergie či dráždivost, což hydrogely vzhledem ke své hydrofilní, měkké a pružné povaze splňují. Nesmí také ovlivňovat srážlivost krve, jakož i tlumit či měnit funkce organismu. Nepřípustné rovněž je, aby materiál způsoboval imunologické, karcinogenní, mutagenní nebo teratogenní změny. [27]

Biokompatibilní materiály mohou být rozděleny dle několika hledisek. Z hlediska biologické tolerance je můžeme rozdělit na materiály biotolerantní, které jsou charakteristické snášenlivostí materiálu s živou tkání a kde mezi implantátem a například kostí vzniká spojovací vrstva tvořena z vaziva. Dále pak máme materiály bioinertní, které jsou přijaty tkáněmi, avšak nijak v organismu neinteragují, a materiály bioaktivní, které v organismu nějakým způsobem interagují a narušují jeho klidový stav. [25]

Další hledisko, podle kterého můžeme dělit biokompatibilní materiály je druh použitého materiálu. Zde je široká škála používaných materiálu od kovů, kovových slitin, keramiky, polymerních materiálů, uhlíkových materiálů, kompozitů, cementů až po pro nás podstatné hydrogely, o nichž pojednává předložená práce. [27]

### 1.2.3 Mechanické vlastnosti

Hydrogely jsou viskoelastické materiály. Viskoelastická je definována jako schopnost materiálů tlumit mechanické vibrace v závislosti na čase. Z hlediska disipace energie při dynamickém namáhání se viskoelastická rozděluje na složku elastickou a viskózní. Poměr těchto složek má za následek různé mechanické vlastnosti a jsou charakterizovány pomocí modulu pružnosti, ztrátového modulu a jejich podílu nazývaného také jako ztrátový činitel  $\tan \delta$ . Viskoelastická materiálu může být měřena různými metodami, jako například oscilační reometrií či dynamickou mechanickou analýzou. Bližší popis bude v kapitole o charakterizaci vlastností. [28]

U hydrogelů používaných v medicíně na hojení ran a popálenin je určitým trendem snaha o co možná největší napodobení vlastností hydrogelů s lidskou kůží. Lidská kůže je anizotropní materiál skládající se ze tří vrstev a to pokožky, škráry a podkoží. Pokožka je nejvíce zodpovědná za mechanické vlastnosti kůže, kde je důležitá hustota a stupeň síťování kolageních vláken. Modul pružnosti ve smyku kůže se pohybuje od 1,51 do 3,1 MPa, jak uvedli ve svém výzkumu Jean-Luc Gennisson, a kol. v roce 2004. [29]

Avšak jak již bylo výše zmíněno, mechanické vlastnosti, jako modul pružnosti, pevnost a soudružnost velké části hydrogelů jsou malé. Proto se k dosažení dostatečných mechanických vlastností, jako například modulu pružnosti podobnému lidské kůži, používají různé druhy chemických síťovadel, či různé doby síťování, což má za následek zvýšení stupně síťování. Zajistíme tím tedy větší modul pružnosti, pevnost a soudružnost. Zvýšením těchto vlastností však vyvoláme i zvětšení křehkosti, snížení celkové elasticity a mění se rovněž stupeň botnání hydrogelu.

Mechanické vlastnosti jsou zodpovědny i za míru ztráty nabíjené kapaliny z hydrogelu. Tím je myšleno to, že čím méně je hydrogel mechanicky stabilní, tím rychleji je kapalina z hydrogelu uvolňována do okolí. To je u některých druhů hydrogelů (kdy je nutné, aby okolí hydrogelu zůstávalo suché) zásadním požadavkem. Kromě mechanických vlastností, které mají nejzásadnější vliv, ovlivňují toto uvolňování kapaliny z hydrogelu i vnější podmínky, jako jsou teplota, tlak, vlhkost prostředí či porositá. [30]

Je proto třeba najít určitou korelaci mezi těmito mechanickými vlastnostmi, dle požadované aplikace, a zajistit optimum poměru mezi elastickou a viskózní částí.

#### 1.2.4 Botnací vlastnosti

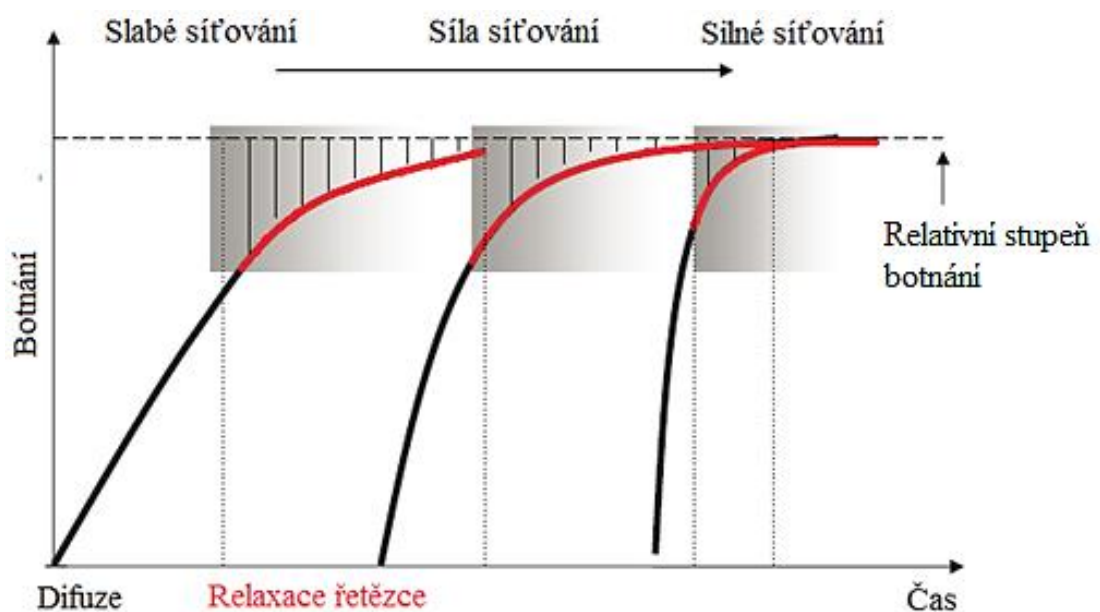
Schopnost hydrogelu absorbovat do své struktury kapaliny je jednou z jeho předních výhod. Tuto schopnost lze popsat pomocí stupně botnání. Na základě stupně botnání bývají hydrogely i často definovány. Botnací kapacita hydrogelu může být charakterizována jako určité volné místo uvnitř polymerních sítí v hydrogelu, které je přístupné pro absorpci kapaliny. Prvotním způsobem botnání hydrogelů je interakce mezi polymerem a tekutinou. Zde platí úměra, že čím více bude hydrofilní struktura hydrogelu, tím silnější bude interakce mezi hydrogelem a absorbovanou kapalinou. Tímto způsobem botnají hydrogely, které nemají iontově nabitě postranní řetězce. [31]

Druhým způsobem absorpce tekutiny do hydrogelu je na základě osmózy. Ta probíhá tehdy, pokud jsou ve struktuře postranní řetězce s obsahem iontových skupin. Prostřednictvím volných iontů, které vznikají ionizací těchto skupin, je tekutina absorbována do hydrogelu na bázi koncentračního gradientu mezi hydrogelem a tekutinou. Čím větší je koncentrační gradient, tím rychleji probíhá osmóza. V předchozím rozdělení již bylo konstatováno, že existují kladně a záporně nabitě hydrogely. U botnání se tato rozdílnost v nábojích projevuje tak, že kladně nabitě hydrogely lépe botnají při nízkém pH. Je to díky disociaci postranních řetězců, která je upřednostňována při nižších hodnotách pH. Záporně nabitě hydrogely botnají lépe v prostředí s vyšším pH, při kterém je naopak upřednostňována disociace záporně nabitých postranních skupin.

Třetí způsob botnání tekutin probíhá na základě elektrostatických sil, kdy se iontové náboje postranních skupin v polymerním řetězci vzájemně odpuzují a tím tvoří místo pro absorpci vody. [32]

Avšak vše má svoje limity a u hydrogelů jsou to již výše zmíněné mechanické vlastnosti. Ty buď brání botnání svým síťováním, tedy elastickými silami, jež jsou omezeny vysokým stupněm síťování anebo je botnání předčasně ukončeno rozpuštěním hydrogelu, důsledkem slabé struktury. Maximum absorpce kapaliny, při kterém se hydrogel nerozpouští, a má tedy dobré mechanické vlastnosti, se označuje jako rovnovážný stupeň botnání. Botnání dále závisí i na jiných faktorech, jako jsou parametry sítě, charakter látek, ze kterých byl hydrogel připraven či na porositě hydrogelu. [33]

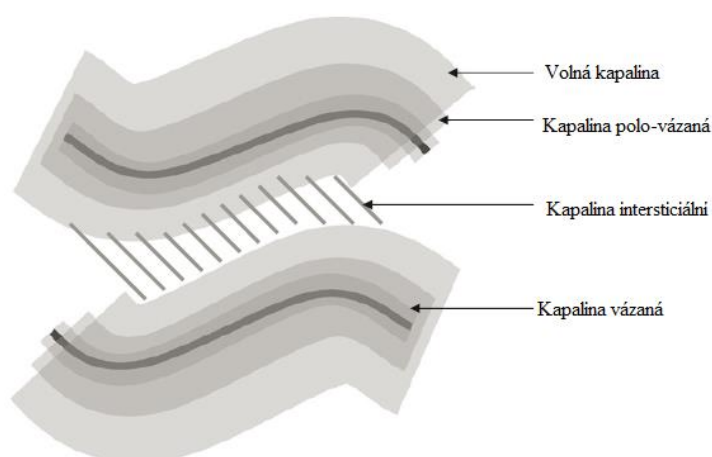
Botnání jako takové se skládá ze dvou procesů a to difúzního procesu, kdy látka přechází do hydrogelu a na tento proces navazuje proces relaxace, kdy polymerní řetězec sice absorbuje vodu, avšak v menší míře, nežli u difuze. Zmíněné procesy probíhají od samého počátku botnání a jejich průběh závisí na stupni síťování. Tyto dva procesy společně se závislostí stupně botnání na stupni síťování, lze vidět na obrázku 3. V případě nižšího stupně síťování probíhají oba procesy, jak difuze, tak i relaxace. V případě vysokého stupně síťování se relaxační mechanismus potenciálně mění na jednotný proces difuze, což je způsobeno tím, jak je omezena pohyblivost polymerního řetězce vysokým stupněm síťování. Jinými slovy se vysoce síťované hydrogely chovají jako pevná kovová mřížka, která umožňuje konstantnímu množství vody, aby neustále procházelo a přitom se nevázalo do struktury hydrogelu. [8, 30, 33]



Obrázek 3: Průběh botnání a jeho dvě fáze

Kapaliny nacházející se v hydrogelu při bobtnání lze rozdělit do čtyř skupin, jak je vidno na obrázku 4:

- kapalinu volnou
- kapalinu polo-vázanou
- kapalinu intersticiální
- kapalinu vázanou



Obrázek 4: Typy kapalin nacházející se ve struktuře nabotnaného hydrogelu

Volná kapalina se nachází ve svrchní vrstvě a může být z hydrogelu odstraněna lehce za mírných podmínek. Kapalina polo-vázaná se nachází ve vrstvě mezi volnou a intersticiální kapalinou. Její vlastnosti se nachází na pomezí kapaliny volné a vázané. Kapalina intersticiální není připojena přímo k hydrogelové síti, ale je fyzikálně chycena mezi hydratovanými polymerními řetězci. Kapalina vázaná je připojena přímo k polymernímu řetězci prostřednictvím hydratace funkčních skupin nebo iontů a zůstává nedílnou součástí struktury hydrogelů, odstranit se dá pouze velmi vysokými teplotami. [8, 34]

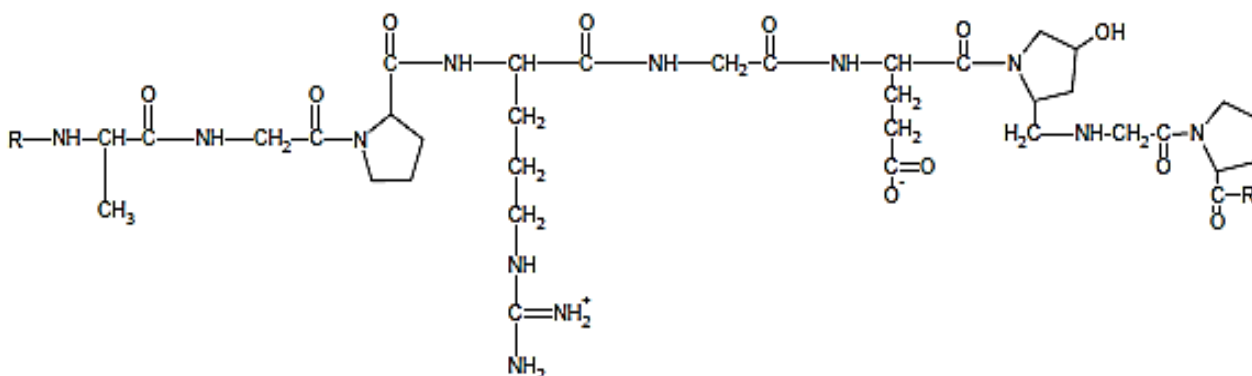
### 1.3 Materiály vhodné pro výrobu hydrogelů

Polymery se dělí na přírodní a syntetické. K přírodním látkám, které se uplatňují v medicíně, patří zejména kolagen, želatina, algináty, chitosan a kyselina hyaluronová, fibrin a celulóza. Ze syntetických polymerů to jsou zejména látky ze skupin polyesterů, polyorthoesterů, polyanhydridů, polyfosfazenů, polyakrylkyanokrylátů, polyesteramidů, polyuretanů či polyesteruretanů. Jako konkrétní příklady mohou být uvedeny poly(l-hydroxyetylen), poly(laktid-co-glykolid), polyetylen glykol a poly (propylen fumarát). [22] Jelikož je tato práce zaměřena

na přípravu hydrogelů na bázi směsi želatiny a alginátu, budou blíže charakterizovány pouze tyto dva přírodní biodegradabilní polymery.

### 1.3.1 Želatina

Želatina vzniká denaturací kolagenu. Ten se získává extrakcí z mladých zvířecích tkání. Po zahřátí kolagenu na teplotu (cca 90 °C) se vytvoří želatinový sol rozpadem polypeptidových vazeb. Proces se označuje jako hydrolýza kolagenu. Struktura želatiny a kolagenu si je podobná a je složena z několika druhů aminokyselin, kterých je celkem 19. Nejčastěji to jsou aminokyseliny glycin, prolin a 4-hydroxyprolin. Ve své postranní struktuře obsahuje spoustu funkčních skupin. Strukturní vzorec želatiny je na obrázku 5.



Obrázek 5: Strukturní vzorec želatiny

Pomocí těchto funkčních skupin se dají různě upravovat její vlastnosti, struktura a navíc díky nim můžeme rozlišovat dva druhy želatiny. Existuje želatina typu A a želatina typu B. Tyto typy se kromě funkčních skupin liší i svým izoelektrickým bodem, jež se může v průběhu přípravy upravovat. Tak se získá buď záporně či kladně nabitý řetězec želatiny. Různě nabitý řetězec umožňuje tvorbu elektrostatických interakcí, které jsou zprostředkované například i v hydrogelu zkoumaném touto prací mezi želatinou a alginátem sodným. Tyto dva typy želatiny se navíc dají kombinovat, což rozšiřuje spektrum využití tohoto materiálu. Navíc, díky velké podobnosti zvířecího kolagenu s lidským, je želatina vysoce biokompatibilní s lidským tělem. Dále je pak želatina netoxická, nedráždivá, nekarcinogenní a biodegradovatelná, kdy se pomocí různých proteolytických enzymů může redukovat až na původní aminokyseliny. [35, 36]

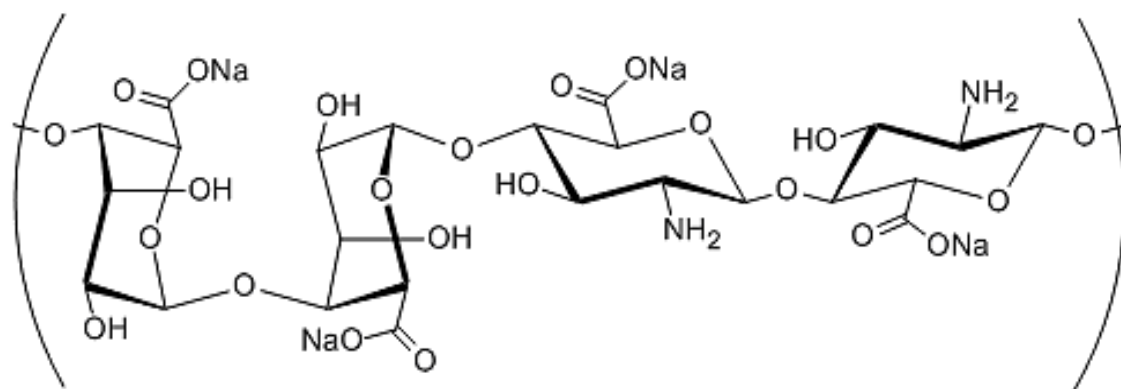
Další jedinečností želatiny jsou její teplotní vlastnosti, kdy při teplotě nižší než zhruba 25°C, dochází k jejímu ztuhnutí a při teplotě kolem 35°C přechází želatina do kapalného skupenství.

Tato vlastnost se označuje jako termoreversibilita. Teplotní vlastnosti se dají upravovat různými síťovacími procesy (fyzikální a chemické síťování) a proto lze želatinu využívat pro řízené uvolňování léčiv v biomedicíně, ke tvorbě pouzder u léků, scaffoldů či výrobě hydrogelů. [37]

### 1.3.2 Algináty

Algináty se mohou získávat z různých přírodních zdrojů, jakými jsou různé druhy mořských řas (primárně hnědé řasy rodu *Phaeophyceae*) či z různých mikroorganismů. U mořských řas se alginát vyskytuje v jejich buněčných stěnách. Z nich se získává působením vodných alkalických roztoků, jako například pomocí NaOH. [38]

Struktura alginátu je lineární a odpovídá struktuře polysacharidu, jak je vidno z obrázku 6, kde je konkrétně struktura alginátu sodného. Na obrázku jsou vidět dvě sacharidové jednotky, ze kterých je tvořen právě zmiňovaný alginát. [39] Jedná se o sacharidy  $\alpha$ -L-guluronové kyseliny a  $\beta$ -D-mannuronové kyseliny, spojené 1,4 glykosidovou vazbou. Modifikacemi struktury kyseliny alginové se dají získat sodné, draselné, vápenaté, trietanolaminové či jiné soli, označované jako algináty dané látky. Algináty svým složením velice připomínají škrob. Oba tyto polysacharidy patří do skupiny polysacharidů rostlinného původu. [40]



Obrázek 6: Strukturální vzorec alginátu sodného

Jejich vlastnosti jsou závislé především na primární struktuře, která je dána sekvencí sacharidových zbytků výše zmíněných sacharidových jednotek, jakož i na průměrných molekulových hmotnostech a distribuci molekulových hmotností polymeru. To má za následek některé jejich výjimečné vlastnosti, jako jsou netoxičita, biokompatibilita, chelatační schopnosti, hydrofilita či jejich odlišná rozpustnost. [38] Rozpustnost alginátů ve vodě je způsobena deprotonizací karboxylových skupin, k čemuž přispívá vliv různých faktorů, jako jsou pH, teplota či iontové síly roztoku. [41] Ve vodě rozpustné jsou však jen některé z nich, jako například alginát sodný, amonný či draselný. Nerozpustný ve vodě je například alginát vápenatý. [40]



Pro aplikaci v medicíně je hlavním nedostatkem alginátů fakt, že se v těle savců nedokáží enzymaticky rozkládat. Navíc mají tyto materiály ve formě gelu špatnou přilnavost buněk, což se řeší přidávkem růstových faktorů. Mezi výhody alginátu se řadí velká pórovitost, která je způsobena vlivem velkých molekul sacharidových jednotek. Ty tvoří vhodnou strukturu pro přípravu hydrogelu, jenž má absorbovat vodu. [38]

## 1.4 Síťování hydrogelů

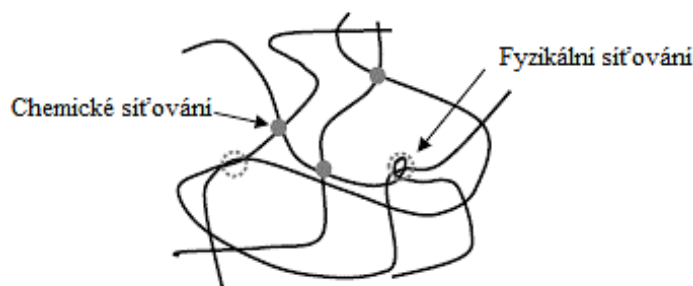
Síťování polymerů obecně vede k modifikaci jejich vlastností, kdy polymerní řetězec či síť nabývá na molekulové hmotnosti. Například polymery s větší molekulovou hmotností mají lepší chemickou a fyzikální odolnost či vyšší bod tání, stabilitu a mechanickou odolnost. Polymery vhodné pro síťování musí obsahovat chemicky aktivní funkční skupiny přítomné v hlavním řetězci. Například polymery, v našem případě polymerní síť hydrogelů, obsahující aminové ( $-NH_2$ ), karboxylové ( $-COOH$ ) či hydroxylové skupiny ( $-OH$ ), ve svém hlavním řetězci, se velice snadno síťují. Je to právě z důvodu přítomnosti těchto skupin, které nabízí vazebná místa pro různá síťovadla. Myšlenka zlepšení vlastností pomocí trvalých mezimolekulárních vazeb zprostředkovaných buď síťovacími činidly, či změnou vnějších podmínek, se uplatnila i do oblasti hydrogelů, kde výrazně zlepšuje jejich vlastnosti a rozšiřuje jejich aplikační spektrum. [15]

### 1.4.1 Vliv síťování na strukturu hydrogelu

Jak bylo zmíněno v obecném úvodu o hydrogelech, jejich struktura je tvořena převážně z hydrofilních látek obsažených v hlavním řetězci, které jsou za normálních podmínek rozpustné ve vodě. Pomocí síťování, je tato rozpustnost blokována vazbami zprostředkovanými síťovadlem, čímž je zároveň zvyšována jejich chemická, fyzikální a mechanická odolnost. Z reologického hlediska lze síťování popsat tak, že vodné roztoky hydrofilních polymerů při nízkých a středních koncentracích, při kterých nedochází k podstatnému zaplétání řetězců, vykazují Newtonské chování. Po použití síťovadla však začnou jednotlivé řetězce vzájemně interagovat a tvořit mezi sebou vazby, tyto vazby pak tvoří síť vykazující viskoelastické chování. Toto síťování může probíhat již při samotné přípravě hydrogelu. Může ale rovněž probíhat až po připravení hydrogelu jako dodatečný mechanismus nebo až v těle po aplikaci, vlivem vnějšího prostředí. Míra síťování řetězce se označuje jako stupeň síťování a určuje tak vzdálenost (molekulovou hmotnost) mezi body síťování. Čím kratší je vzdálenost, tím vyšší je stupeň síťování. [16]

### 1.4.2 Druhy síťování

Ve struktuře hydrogelu se může vyskytovat fyzikální síťování způsobené fyzikálními interakcemi nebo chemické síťování, zprostředkované kovalentními či iontovými vazbami, načež i jejich vzájemná kombinace. Tyto dva typy síťování zahrnují celou škálu metod. Některé z těchto metod budou zmíněny. Fyzikální a chemické síťování je zobrazeno na obrázku 7.



Obrázek 7: Fyzikálně a chemicky síťovaný gel

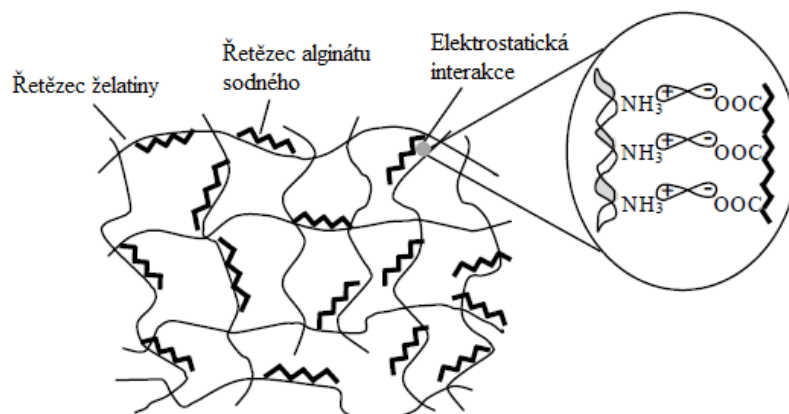
#### 1.4.2.1 Fyzikální síťování

Mezi vazby, které se při tomto síťování uplatňují, patří hydrofobní, van der Waalsovi vazby, elektrostatické síly či vodíkové můstky. Vodíkové můstky mají největší vazebnou energii a jsou proto ze zmíněných vazeb nejsilnější. Uvedené vazby se označují jako sekundární a nevykazují velkou vazebnou energii. Z toho plyne jejich hlavní nevýhoda - špatná mechanická odolnost (nízký modul pružnosti, pevnost a celková soudržnost).

Fyzikální síťování nevyžaduje žádné síťovací činidlo a síťování probíhá pouze vlivem vnějších podmínek, jako například ohřevem či chlazením. Skutečnost, že nevyžadují síťovací činidlo, patří mezi obrovské výhody fyzikálně síťovaných hydrogelů. Některé druhy síťovacích činidel totiž mohou mít vliv na integritu některých látek, v horším případě mohou být toxické. V takovém případě se musí činidlo z hydrogelu vymývat. [8, 42]

Mezi metody patřící do kategorie fyzikálního síťování patří například síťování teplotou, kdy chlazením horkého roztoku polysacharidu může dojít ke tvorbě gelu. Princip tohoto síťování je takový, že při chlazení horkého roztoku zaujme helixová formace polysacharidu takové umístění, které vede ke tvorbě spojovacích oblastí mající proporce fyzikálních vazeb. Další metodou je síťování pomocí van der Waalsových sil. Jsou to přitažlivé síly, vyvolané vzájemným působením elektronových dipólů atomů, které se přiblíží na dostatečnou vzdálenost. [16] Další metodou je pomocí elektrostatických sil vznikajících mezi řetězci. Jako příklad interakce, kdy dochází ke tvorbě elektrostatických sil, uvádím vazbu mezi želatinou

a alginátem sodným, kdy reaguje negativně nabitá karboxylová skupina alginátu sodného s kladně nabitými aminoskupinami želatiny, jak je vidět na obrázku 8. Tato interakce probíhá v hydrogelech připravovaných v předložené práci. [43]



Obrázek 8: Vazby mezi želatinou a alginátem sodným

Jinou metodou fyzikálního síťování je síťování pomocí vodíkových vazeb. Vazba vzniká buď při nízkých hodnotách pH v přítomnosti kyseliny, anebo mezi polymery, které mají funkční skupiny umožňující vodíkovou vazbu. Poslední metodou fyzikálního síťování je pomocí hydrofobních vazeb. Toto síťování probíhá na základě interakce mezi hydrofobní částí hydrogelu a hydrofilní částí amfifilního hydrogelu. Zvyšováním teploty se totiž agregují hydrofobní části, čímž se snižuje množství hydrofilní části a vytváří se tak hydrofobní blok. [44] Dalšími metodami může být maturace, čili teplotou vyvolaná agregace nebo komplexní koacervace, což je metoda zprostředkovaná polykationty a polyanionty reagujícími mezi sebou a vytvářející komplexy závislé na pH. [45]

#### 1.4.2.2 Chemické síťování

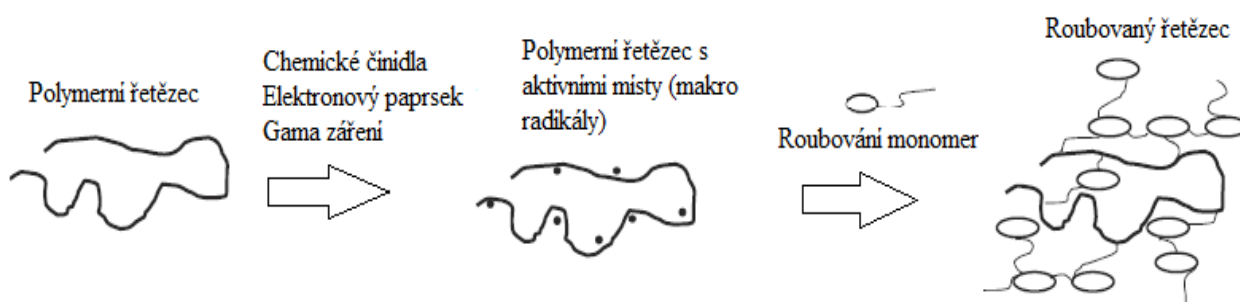
Chemickým síťováním je v hydrogelech zodpovědné nejčastěji za vznik kovalentních vazeb, ale mohou se tvořit i vazby iontové. Síťování může být provedeno přímo polymerací funkčních skupin hlavního řetězce, například radikálovou polymerací, či chemickou reakcí, například kondenzací. Nebo také síťovacím činidlem, u kterého se volí různé koncentrace síťovadla a různé doby síťování v závislosti na požadovém stupni síťování. [46]

Prvním způsobem chemického síťování je radikálová polymerace, kde jsou aktivními centry volné radikály reagující s molekulou monomeru. Radikálovou polymeraci může iniciovat několik faktorů, jako jsou oxidačně-redoxní reakce, tepelné štěpení, změna pH či UV záření. Čím větší bude koncentrace působících faktorů, tím kratší bude doba síťování, avšak důležité je vždy najít optimální koncentraci.

Sít'ování pomocí chemické reakce je umožněno například kondenzační reakcí, při které se odštěpuje voda za vzniku pevné, kovalentní vazby. Dále pak Michaelovou adicí, což je konjugovaná adice například esterů kyselin na  $\alpha$ ,  $\beta$ - nenasycenou karbonylovou sloučeninu. Další chemickou reakcí, která se využívá při chemickém sít'ování je vznik Schiffovy báze, ta vzniká ze skupin aldehydů a primárních aminů, kdy mezi těmito skupinami vzniká kovalentní vazba a odštěpuje se voda. Posledními dvěma typy chemických reakcí využívaných při sít'ování je hydrazonová vazba, která vzniká mezi aldehydy či ketony a hydrazinem, za vzniku vody a hydrazonu anebo na základě enzymatických reakcí. [47]

Další možností chemického sít'ování je radiační sít'ování, kdy se nemusí použít žádné jiné látky, což je obrovská výhoda z hlediska biokompatibility vzniklých hydrogelů. Zesítnění je zprostředkované pouze na bázi vysokoenergetického záření, jako je elektronový paprsek, gama či rentgenové záření. Toto záření vytváří volné radikály. Metoda může být použita pro polymeraci nenasycených sloučenin a mezi její výhody patří proveditelnost jak u vodných, tak i pevných forem materiálu. [44]

Poslední možností sít'ování je roubování. To zahrnuje polymeraci monomeru na předem aktivovaný polymerní řetězec. Polymerní řetězec, jak jsem již zmínil, se musí nejdříve aktivovat a to například působením chemických činidel nebo vysokoenergetickým zářením. Po aktivaci je polymerní řetězec připravený na roubování, respektive větvení na makro radikály hlavního řetězce. Princip roubování je uveden na obrázku 9. [48]



Obrázek 9: Roubování polymerního řetězce

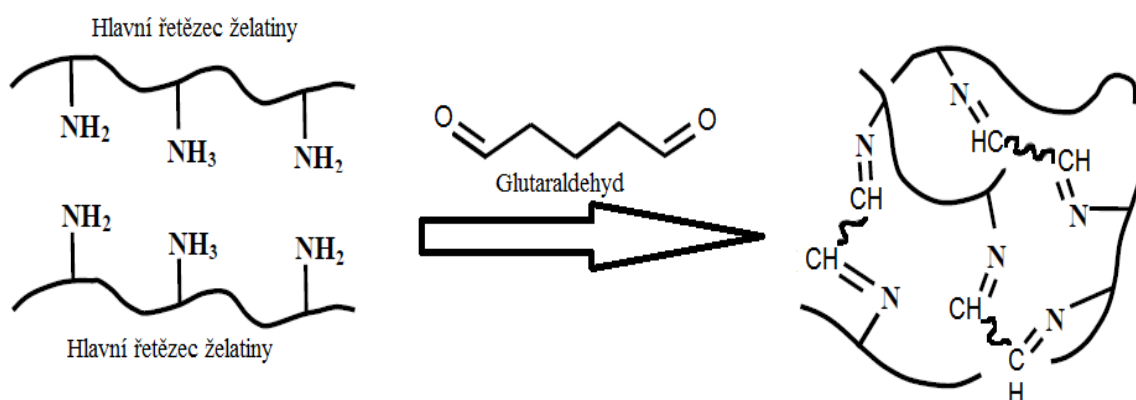
### 1.4.3 Látky vhodné k sít'ování

Sít'ovadla mohou být jak přírodního, tak syntetického původu. Možných sít'ovadel je mnoho, a proto je třeba dbát na volbu vhodného sít'ovadla pro konkrétní typ hydrogelu či polymerních sítí. Jako příklady sít'ovadel bych uvedl glycerinaldehyd, formaldehyd, karboimididy, genipin, epichlorohydrin, N,N'-metylenbisakrylamid či  $\alpha$ - $\beta$ -polyakryl hydrazin, které se uplatňují k sít'ování funkčních skupin polymerních sítí tvořících různé typy hydrogelů. [16, 7, 48, 44]

V této práci byla použita síťovadla chemického původu a to chlorid vápenatý a glutaraldehyd. Proto zde budou blíže zmíněny jen tyto dva konkrétní typy a jejich vliv na strukturu hydrogelu složeného z želatiny a alginátu sodného.

#### 1.4.3.1 Glutaraldehyd

Glutaraldehyd síťuje v hydrogelu želatinu pomocí kovalentních vazeb. Molekula glutaraldehydu je poměrně velká a vytváří interakcí s želatinou ve struktuře poměrně velké póry. Těmito póry je podporována difuze kapalin, avšak i snížení mechanických vlastností, jako je modul pružnosti a celková soudržnost. Nevýhodou tohoto typu síťovadla je toxicita, která je při aplikaci v medicíně netolerovatelná. Riziko může nastat při použití, kdy by se mohl glutaraldehyd uvolnit do těla, tzn. při použití materiálu, jež bude ve styku s lidskou tkání či jeho prostředím. Proto se musí nezreagované zbytky glutaraldehydu po síťování z hydrogelu velice důkladně vymýt. Princip síťování pomocí glutaraldehydu je znázorněn na obrázku 10. [45, 48]

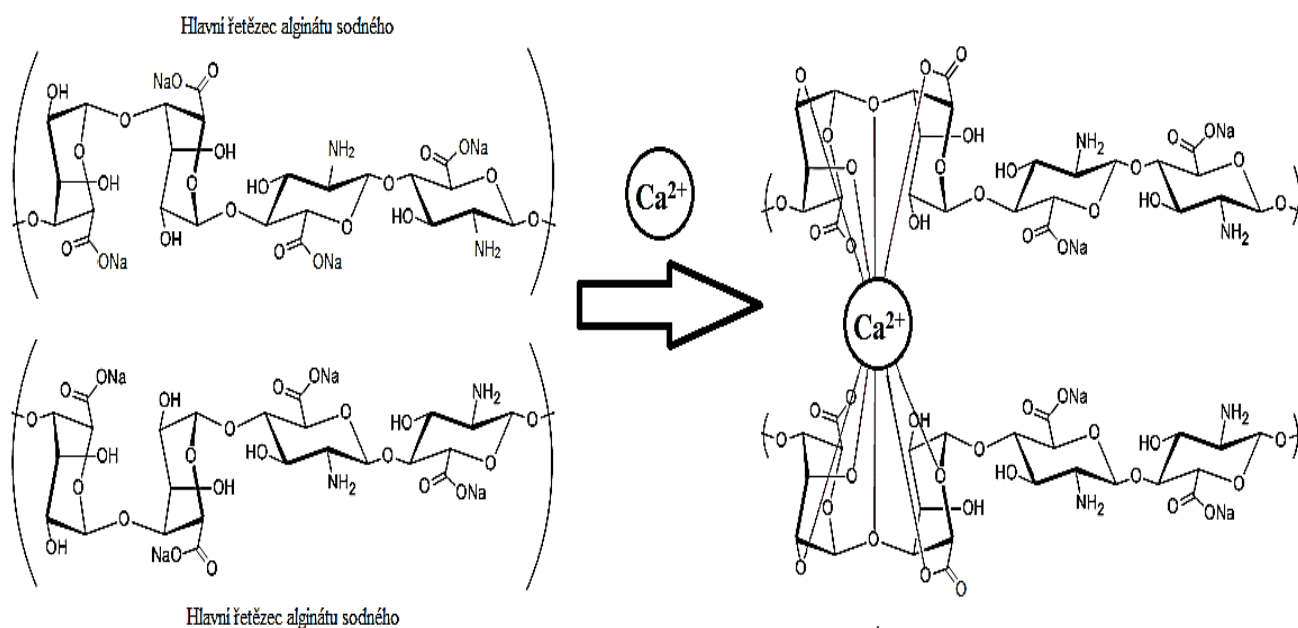


Obrázek 10: Síťování pomocí glutaraldehydu

#### 1.4.3.2 Chlorid vápenatý

Chlorid vápenatý patří mezi síťovadla, která síťují látky pomocí iontových vazeb při laboratorní teplotě a fyziologické hodnotě pH. V našem případě síťuje chlorid vápenatý hydrogel, který obsahuje alginát sodný, jak lze vidět na obrázku 11. Při tomto síťování reagují karboxylové, hydroxylové a etherové skupiny  $\alpha$ -L-gulonové kyseliny dvou sousedních alginátových řetězců. To vede k vytvoření pevné polymerní sítě. Jelikož jsou tyto dva řetězce spojeny iontovou vazbou pomocí iontů Ca<sup>2+</sup>, které k sobě alginát sodný přitahují, jsou hydrogely síťované chloridem vápenatým charakteristické menšími póry, větší mechanickou odolností (respektive modulem pružnosti, soudržností a pevností) a menším stupněm botnění. Zajímavostí je,

že takto síťované gely mohou být destabilizovány extrakcí  $\text{Ca}^{2+}$  iontů chelatačními činidly. [45, 48]



Obrázek 11: Síťování pomocí chloridu vápenatého

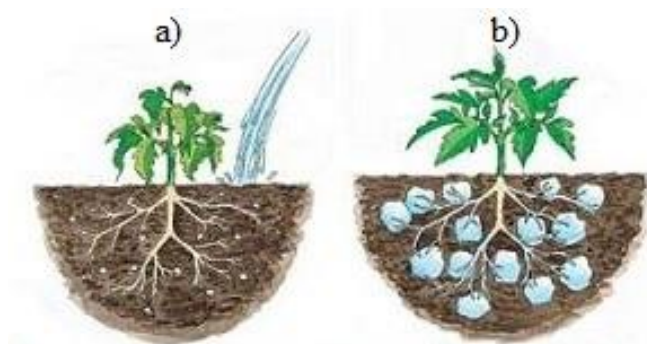
## 1.5 Aplikace

Aplikační šíře hydrogelů je široká a začleňuje tak různé možnosti využití, jako například zemědělství, medicínu, ochranu životního prostředí, tkáňové inženýrství či hygienické pomůcky. Hydrogely z hlediska aplikace lze označit za bioinspirativní materiály. Pod tímto pojmem si můžeme představit materiál, který je díky modifikacím a vlastnostem, které skýtá, nadějný pro vyřešení mnoha aplikačních problémů, se kterými se lidstvo potýká. Za úplný počátek aplikačního využívání hydrogelů se označuje vynalezení kontaktních čoček v roce 1961 profesorem Otto Wichterlem.

Hydrogely bývají využívány v případech, kdy je třeba absorbovat či řízeně uvolňovat kapaliny, ionty, léčiva a další látky. Mohou být využívány v medicíně, jako obvazy na hojení ran a popálenin, ale také jako matrice pro aktivní substance při řízeném uvolňování léčiv. V zemědělství, jako absorbenty či matrice na různá uvolňování. Další využití hydrogely nachází i jako kontaktní čočky, povlaky či v potravinářském a kosmetickém průmyslu. Nicméně pro každý druh aplikace je nutné připravit speciální typ hydrogelu, který bude splňovat všechny požadavky, jež se od něj očekávají. [1, 49, 50, 51, 52]

Hydrogely s vyšší botnací kapacitou bývají často využívány právě v zemědělství a u hygienických pomůcek. V zemědělství je třeba, aby hydrogely absorbovaly nejen vodu, ale

i její ionty. Zbotnalé hydrogely poté zanechávají půdu vlhčí o několikrát delší dobu. Takto připravené hydrogely by měly být schopny vodu nejen absorbovat, ale také ji i cíleně uvolňovat. Navíc musí být stabilní po dlouhou dobu vůči UV záření, kyslíku, ozonu, kyselým dešťům, mikroorganismům a změně teploty či pH. Princip působení hydrogelu na rostliny v půdě je vidět na obrázku 12. V zemědělství mohou být hydrogely využity i pro řízené uvolňování hnojiv, jako například močoviny. Nebo pro řízené uvolňování pesticidů, jakožto ochrany proti škůdcům. [52] Hydrogely řeší i problém životního prostředí s odpadní vodou z lisoven oliv, které obsahují polyfenoly a škodné organické látky a to tak, že látky v odpadní vodě fixuje na sebe. Odpadní vodu je pak možné využít jako hnojivo. [53]



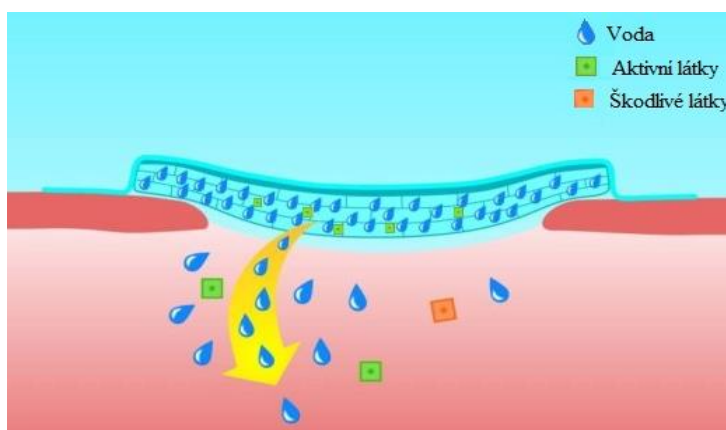
Obrázek 12: Využití hydrogelů v zemědělství, jakožto sorbent

U hygienických pomůcek je třeba, aby hydrogel absorboval a udržel velké množství vody, močoviny a dalších tělních tekutin. Konkrétně u plenek, které jsou jednorázovými pomůckami, musí toto botnání proběhnout v co nejkratší možné době. Hydrogel v plence musí detekovat zvýšení tlaku vyvolaného sekrecí močoviny a zde je nutné, aby při tomto tlaku byla absorpce hydrogelu nejvyšší. Tento hydrogel musí vykazovat stabilitu i při různém pH, které se mění s nárůstem obsahu moči v hydrogelu. Stabilita je rovněž důležitá, aby absorbovaná tekutina byla ve struktuře hydrogelu udržela a neuvolňovala se do okolí, což je u plenek nežádoucí. Hydrogel musí být také v kontaktu s lidskou pokožkou bezpečný, netoxický a je nutné, aby tyto hydrogely měli omezené množství zbytkových monomerů a jiných činidel. Limit absorbované vody v plence je 35-40 ml/g. Největší nevýhoda plenek je jejich nerozložitelnost v životním prostředí. [54]

V poslední době se hydrogely začaly využívat, jako „lešení“, respektive scaffoldy ve tkáňovém inženýrství. Hydrogel je v tomto případě navržen tak, aby se co nejvíce svými vlastnostmi podobal živé tkáni či chrupavce. Hydrogel bývá prorůstán buňkami, pomocí kterých je regenerována poraněná tkáň či chrupavka. U chrupavky se využívají hybridní hydrogely s obsahem proteoglykanů, které podporují proliferaci chondrocytů. [55]

V oblasti medicíny se hydrogely využívají jako systémy pro podávání léčiv, které nemusí být řízeně uvolňovány a slouží spíše jako povlaky či matrice pro léčiva. Nebo také bývají hydrogely často využívány jako matrice pro aktivní látky k řízenému uvolňování léčiv do těla. Požadavky na takto aplikované hydrogely jsou pórovitá struktura, unikátní botnací (difuzní) a mechanické vlastnosti. U řízeného uvolňování léčiv bývají hydrogely navrženy tak, aby interagovaly se specifickými molekulami, se změnou pH či teploty. Hydrogel v reakci na určitý podmět začne definovaně, dle potřeby uvolňovat léčivo ze své struktury do okolí. [50]

Další využití v medicíně mají jako obvazy. Ty nám při kontaktu s porušenou tkání zajišťují v první řadě rychlé sterilní prostředí a chladivý pocit na pokožce. Poté dochází k uvolnění aktivních látek obsažených v hydrogelu, načež i k absorpci látek produkovaných či obsažených v ráně. Na tyto hydrogely jsou kladeny speciální požadavky. Musí být schopny udržovat prostředí rány vlhké a zároveň musí absorbovat exsudát a další toxické látky z rány. Dále musí zanechat ráně přístup kyslíku za současného bránění vstupu mikroorganismů a nečistot do rány. Nesmí vyvolávat žádné alergenní, dráždivé, zánětlivé či trombogenní reakce, tudíž musí být biokompatibilní a sterilní. Ke všemu musí být obvaz pohodlný pro pacienta, aby byl snadno aplikovatelný i odnímatelný, a pro doktora z pohledu kontroly a regulace léčby by měl být transparentní. [49] Na obrázku 13 lze vidět, jak funguje obvaz pro krytí ran, voda zanechává ránu ve vlhkém a sterilním prostředí za současného uvolňování aktivní látky, a zároveň z rány absorbuje exsudát a škodlivé látky.



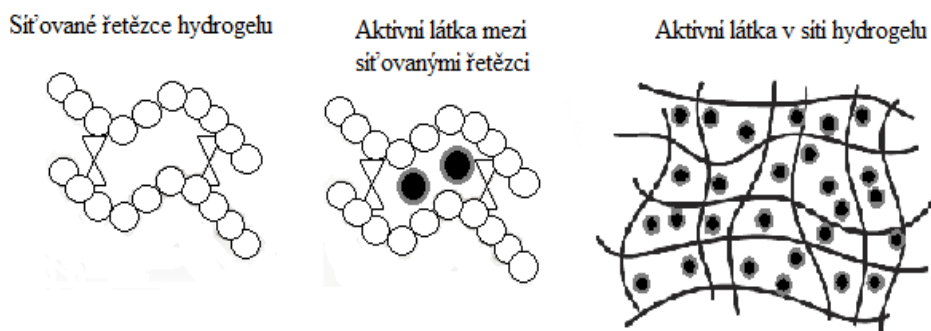
Obrázek 13: Použití hydrogelu jako obvazu na hojení ran

## 1.6 Aktivní látky v hydrogelech

S výhodou mohou být do hydrogelů, jakožto matric, inkorporovány různé přírodní či syntetické biologicky aktivní látky, které svým působením ovlivňují více či méně živé organismy.



Na obrázku 14 lze vidět, jak je aktivní látka ve struktuře hydrogelu umístěna. Biologicky aktivní látky přírodního charakteru bývají často produkty sekundárních metabolitů rostlin či živočichů. Tyto látky se mohou získat extrakcí nebo izolací. Oproti tomu syntetické látky se uměle získávají v laboratořích a ve většině případů se snaží vycházet z látek přírodního charakteru. [36]



Obrázek 14: Umístění aktivní látky ve struktuře hydrogelu

Hydrogel s obsahem biologicky aktivní látky se může použít buď jako obvaz, či ve formě léku. Do obvazů se vkládají různé látky, jako například povrchově aktivní látky (růstové faktory nebo antimikrobní látky) či látky s vnitřním účinkem (antibiotika, anestetika nebo analgetika). Konkrétní aktivní látky se volí primárně dle aplikace a poté i dle rychlosti uvolňování, kterou od nich požadujeme. Na rychlosti uvolňování má totiž vliv jak velikost pórů a viskoelastická řetězce hydrogelu, tak molekulová hmotnost aktivní látky. Zde platí, že čím větší molekulovou hmotnost aktivní látky má, tím pomaleji probíhá řízené uvolňování. Psát o všech těchto látkách by bylo příliš obsáhlé, a proto budou uvedeny pouze aktivní látky, se kterými se plánuje dále pokračovat. Těmito látkami jsou antibiotika. [56]

### 1.6.1 Antibiotika

Objev penicilinu, tedy prvního antibiotika, se datuje již v roce 1928 sirem Alexandrem Flemmingem. Antibiotika patří do skupiny antimikrobiálních látek, které obecně řečeno inhibují růst mikroorganismů. Antimikrobiální látky se rozdělují na antiseptika, které mají antimikrobní účinek na površích organismu a dále na antibiotika a chemoterapeutika, které mají antimikrobní účinek uvnitř těla organismů a liší se dle zdroje. Antibiotika jsou produktem živých organismů, respektive bakterií a hub, zatímco chemoterapeutika produktem chemické syntézy.

Mechanismus působení antibiotik je založen na inhibici mikroorganismů, což se označuje jako bakteriostatický účinek nebo také usmrcují mikroorganismy, což se označuje jako účinek baktericidní. Ovšem toto rozdělení dle účinku silně závisí na koncentraci použitého antibiotika. Svým působením však antibiotika nijak nepoškozují eukaryotní buňky. Poškozují pouze prokaryotní buňku a to několika možnými způsoby. Prvním způsobem je inhibice buněčné stěny, kdy antibiotikum poruší strukturu buněčné stěny, to vede k lyzi buňky. Druhým způsobem je poškození syntézy plazmatické membrány disfunkcí selektivní permeability. To má pro buňku za následek ztrátu některých látek ze své struktury do jejího prostředí. Další způsob je založen na inhibici proteosyntézy, kdy je pomocí antibiotik blokován ribozom, který v proteosyntéze ukončí stavbu proteinu. Posledním způsobem účinku antibiotik je inhibice syntézy nukleových kyselin. Zde antibiotika vstupují do replikace či transkripce DNA. [57]

Antibiotik existuje nepřehledné množství a dle chemické příbuznosti se rozdělují na  $\beta$ -laktamová antibiotika (penicilin, cefalosporin), amfenikoly (chloramfenikoly), tetracykliny (doxycyklin), makrolidy (erytromycin), linkosamidy (linkomycin), aminoglykosidy (streptomycin), peptidy (polymyxin), glykopeptidy (vankomycin) nebo na ansamyciny (rifampicin). [58]

## 2 METODY CHARAKTERIZACE HYDROGELŮ

Vlastnosti hydrogelů mohou být charakterizovány různými typy testů. U hydrogelů můžeme považovat za nejdůležitější strukturní, tepelné, mechanické, botnací, cytotoxické vlastnosti, případně kinetiku řízeného uvolňování. Tyto vlastnosti se mohou modifikovat výběrem vhodných materiálů, z kterých je hydrogel připraven, různými síťovacími metodami a jejich kombinacemi, což se projeví v konečné podobě polymerní sítě, ze které je hydrogel tvořen. Pro výše zmíněné vlastnosti hydrogelu existuje mnoho experimentálních metod.

Pro charakterizaci hydrogelu dle strukturního hlediska jsou velice důležitými parametry například stupeň síťování, metoda síťování, průměrná molekulová hmotnost mezi dvěma body v polymerní síti a velikost pórů (velikost volného prostoru mezi makromolekulárními řetězci, vytvořeného pomocí síťování) nebo také stav hydrogelu, jestli je v suchém či zbotnaném stavu. Každý z těchto parametrů svým způsobem ovlivňuje strukturní vlastnosti hydrogelu. Pro charakteristiku stupně kopolymerace, který vzniká po použití dvou a více monomerů, či roubováním monomeru na hlavní řetězec se může využít nukleární magnetické resonance (NMR) a infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR). FTIR se využívá i na sledování změn struktury, vyvolané síťováním hydrogelu. Pro charakterizaci morfologie povrchu hydrogelu, rozsahu pórovitosti a velikosti pórů, které výrazně ovlivňují botnací vlastnosti, se často využívá skenovací elektronová mikroskopie (SEM), rtuťová porozimetrie, metoda měření rychlosti pronikání kapaliny do pórů nebo analýza obrazu. Pro topografii hydrogelu a nanometrické studium povrchu hydrogelu může sloužit mikroskopie atomárních sil (AFM), která poskytuje informace i o mechanických a lokálních elastických vlastnostech. [30]

Pro charakterizaci hydrogelů z hlediska tepelné stability se mohou využívat termické metody, jako například termogravimetrická analýza (TGA), která měří závislost úbytku hmotnosti na teplotě, diferenční termická analýza (DTA), ta je založena na měření rozdílu teplot zkoumaného a referenčního vzorku či diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC), která měří základní teplotní charakteristiky materiálu. [16]

Z hlediska botnací schopností hydrogelů se velice často používá gravimetrická metoda, ze které vychází botnací křivka. Ta je závislá na změně hmotnosti při botnání oproti počátečnímu stavu, během definované doby. Botnací křivka se využívá při stanovení rovnovážného stavu nabotnání. Dále je možno využít termomechanické analýzy (TMA), která měří závislost zvětšení výšky hydrogelu za definovanou dobu a kontinuální působení definované síly na jeho

povrch. Z této metody se dá dále vypočítat modul pružnosti v tlaku či zjistit nabotnění do rovnovážného stavu.

Viskoelastické vlastnosti hydrogelu se mohou stanovit dle různých reologických metod, jako jsou například dynamická mechanická analýza (DMA), či oscilační reometrie, které měří modul pružnosti hydrogelu ve smyku, teplotní závislost, frekvenční závislost a jejich ztrátový činitel  $\tan \delta$ . [44]

Řízené uvolňování látky z hydrogelu se může stanovovat buď pomocí ultrafialové viditelné spektroskopie (UV-VIS), kdy je pomocí průtočné kyvety měřena absorpce elektromagnetického záření roztoku za definovaný čas. Zde je předpoklad toho, že látka, která se uvolňuje, absorbuje světlo o určité vlnové délce. Dále se může řízené uvolňování stanovovat titračními metodami, kdy se po určitých intervalech jímá roztok, ve kterém se uvolňuje látka z hydrogelu a stanovuje se jeho koncentrace, chromatografií, kde se využívá zejména vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) nebo rentgenovou fluorescenční analýzou (XRF). U těchto metod je zásadní sledovat změny, které se projeví po dobu uvolňování na roztoku, ve kterém je léčivá látka z hydrogelu uvolňována. [59]

Cytotoxicita hydrogelů může být stanovena pozorováním viability, tedy sledováním, kolik buněk je přeživších, pomocí obarvování a následného sledování buněk pod fluorescenčním mikroskopem a proliferace, čili nárůstu buněk na materiálu. Proliferace se může určit měřením celkového buněčného proteinu. [60]

## 2.1 Botnání

Botnací chování hydrogelů v kapalině lze popsat různými teoretickými modely. Jejichž cílem je předpovědět chování botnání, velikost prostoru mezi vazbami (sloužící, jako úložiště pro absorbovanou kapalinu) a další související parametry. Žádná teorie však nemůže přesně vystihnout toto chování. Teorie podle Flory-Rehnera říká, že hydrogely jsou neutrální, čtyř-funkčně propojené sítě vykazující Gaussovo rozložení. Definuje také to, že když kapalina působí v hydrofilním polymerním systému sítě jako změkčovadlo, proces botnání hydrogelu pak lze považovat za pružný stav a může být popsán Gibbsovou volnou energií  $\Delta G_{\text{system}}$  [J] součtem dvou protikladných sil. A to termodynamické síly  $\Delta G_{\text{mix}}$  [J], pocházející z reakce polymeru s rozpouštědlem a retrakční, čili elastické síly  $\Delta G_{\text{elastic}}$  [J] dané polymerní sítí. Potom platí při konstantní teplotě a tlaku, že:

$$\Delta G_{\text{system}} = G_{\text{mix}} + \Delta G_{\text{elastic}} \quad (1)$$

U botnání se dle tohoto vztahu může teoreticky určit, zda je hydrogel v rovnovážném stavu botnání, či ne. Když je  $\Delta G_{\text{mix}} \ll 0$  a  $\Delta G_{\text{elastic}} > 0$ , tak platí že  $\Delta G_{\text{mix}} + \Delta G_{\text{elastic}} < 0$ , proto je botnání umožněno a voda se šíří do struktury hydrogelu. V průběhu procesu botnání se zvyšuje  $\Delta G_{\text{mix}}$  i  $\Delta G_{\text{elastic}}$  až do doby, než  $\Delta G_{\text{mix}} = \Delta G_{\text{elastic}} = 0$ , v tomto případě je dosaženo rovnovážného stavu a botnání hydrogelu už neprobíhá.

Tato diferenciální rovnice (1) s ohledem na počet molekul kapaliny, vede k rovnici (2), kde  $\Delta \mu$  je chemický potenciál pronikající kapaliny. Změnu chemického potenciálu vody lze při konstantní teplotě a tlaku vypočítat následovně:

$$\mu_1 - \mu_{1,0} = \Delta \mu_{\text{mix}} + \Delta \mu_{\text{elastic}} \quad (2)$$

kde  $\mu_1$  [J/mol] je chemický potenciál vody v systému,  $\mu_{1,0}$  [J/mol] je chemický potenciál čisté botnané vody,  $\Delta \mu_{\text{mix}}$  [J/mol] a  $\Delta \mu_{\text{elastic}}$  [J/mol] jsou příspěvky termodynamické a elastické síly k celkové změně chemického potenciálu. Parametr  $\Delta \mu_{\text{mix}}$  může být stanoven z termodynamiky míchání kapaliny s polymerem a  $\Delta \mu_{\text{elastic}}$  může být stanoveno z teorie pružné elasticity (3) a (4):

$$\Delta \mu_{\text{mix}} = RT \times \ln(1 - v_{2,s}) + v_{2,s} + \chi_{xg} \times v_{2,s}^y \quad (3)$$

a

$$\Delta \mu_{\text{elastic}} = \frac{(RT \times V_1)}{(\bar{V} \times M_c)} \times \frac{(1 - 2 \times M_c)}{M_n} \times \left( v_{2,s}^{1/3} - \frac{v_{2,s}}{2} \right) \quad (4)$$

kde  $\chi_{xg}$  [1] je interakční parametr mezi polymerem a kapalinou,  $V_1$  [m<sup>3</sup>/mol] je molární objem vody,  $\bar{V}$  [kg/m<sup>3</sup>] je specifický objem polymeru,  $v_{2,s}$  [1] je objemový podíl zbotnaného gelu,  $M_c$  [g/mol] je průměrná teoretická molekulární hmotnost vazby mezi řetězci,  $M_n$  [g/mol] je molekulová hmotnost polymerního řetězce bez síťování. Rovnice (4) je definována pro síťovaný hydrogel při absenci kapaliny. [61]

Z rovnic (3) a (4) lze vypočítat skutečnou  $M_c$  následovně:

$$\frac{1}{M_c} = \frac{2}{M_n} - \frac{\bar{V}}{V_1} \times \frac{\left[ \ln(1 - v_{2,s}) + v_{2,s} + \chi \times v_{2,s}^2 \right]}{\left[ v_{2,s}^{1/3} - \frac{\varphi}{2} \times \left( \frac{v_{2,s}}{v_{2,r}} \right) \right]} \quad (5)$$

Pro případ, že síťovaný hydrogel je v přítomnosti vody, je rovnice (5) upravena tak, aby zahrnovala elastický příspěvek polymerního řetězce (6).

$$\frac{1}{M_c} = \frac{2}{M_n} - \frac{\bar{V}}{V_1} \times \left[ \ln(1 - v_{2,s}) + v_{2,s} + \chi \times v_{2,s}^2 \right] \\ v_{2,r} \times \left[ \left( \frac{v_{2,s}}{v_{2,r}} \right)^{1/3} - \frac{\varphi}{2} \times \left( \frac{v_{2,s}}{v_{2,r}} \right) \right] \quad (6)$$

kde  $v_{2,r}$  [1] je objemový podíl polymeru v relaxovaném stavu, respektive ihned po síťování, ale ještě nezbotnaný,  $\varphi$  [1] je funkcionalita síťovacího činidla.

Ze znalosti průměrné molekulární hmotnosti mezi řetězci  $M_c$ , je možné vypočítat charakteristickou korelační délku, která je definovaná jako průměrná vzdálenost mezi po sobě jdoucími vazbami  $r_0$  [nm]:

$$(r_0^{-2})^{1/2} = l \times \left( 2 \times \frac{M_c}{M_r} \right)^{1/2} \times C_n^{1/2} \quad (7)$$

a velikost volného místa, do kterého je umisťována voda, takzvaná velikost oka sítě  $\xi$  [nm] se vypočítá jako:

$$\xi = (r_0^{-2})^{1/2} \times v_{2,s}^{-1/3} \quad (8)$$

kde  $l$  [nm] je délka vazby,  $C_n$  [1] je charakteristický Floryho poměr polymeru a  $M_r$  [g/mol] je molekulová hmotnost opakující se jednotky. [13]

Tyto vztahy jsou definovány pro hydrogel neiontové povahy. Kdyby byl hydrogel iontového charakteru, přidalo by se k pravé straně rovnice (2)  $\Delta\mu_{ion}$  [J/mol] a rovnice by vypadala následovně:

$$\mu_1 - \mu_{1,0} = \Delta\mu_{mix} + \Delta\mu_{elastic} + \Delta\mu_{ion} \quad (9)$$

Pro jednoduché určení stupně botnání však stačí znát pouze hmotnost či rozměr suchého hydrogelu a hmotnost nebo rozměr hydrogelu, který je zbotnaný. Jejich poměr poté určuje stupeň botnání. Rovnovážný stupeň botnání pak znamená, že se hodnota stupně botnání [%] ustálila a dosahuje přibližně stejné hodnoty. Platí tedy vztah:

$$\text{Stupeň botnání} = \frac{m_b}{m_s} \times 100 \quad (10)$$

kde  $m_b$  [g] je hmotnost zbotnaného hydrogelu a  $m_s$  [g] hmotnost suchého hydrogelu. [62]

## 2.2 Viskoelastické vlastnosti

Viskoelastická látek se snaží popisovat elastické a viskózní chování materiálů. Viskoelastická souvisí se schopností materiálu tlumit mechanické vibrace. V případě, že na materiál bude působit harmonické dynamické namáhání v oblasti elastické deformace. Při takovémto namáhání dochází ke změně napětí  $\sigma$  [Pa] a poměrné deformace  $\varepsilon$  [1 či %] s časem. Kde má poměrná deformace určité fázové zpoždění ( $\delta \in (0, \pi/2)$ ) [rad] proti napětí, způsobené strukturálním tlumením materiálu, během kterého dochází k transformaci mechanické energie na zpětné odlehčení a na teplo. Z hlediska této disipace se materiály rozdělují na elastické, viskózní a viskoelastické. Pro napětí a poměrnou deformaci při viskoelastickém chování platí vztahy (11) a (12):

$$\sigma = \sigma_0 \times \sin(\omega \times t + \delta) \quad (11)$$

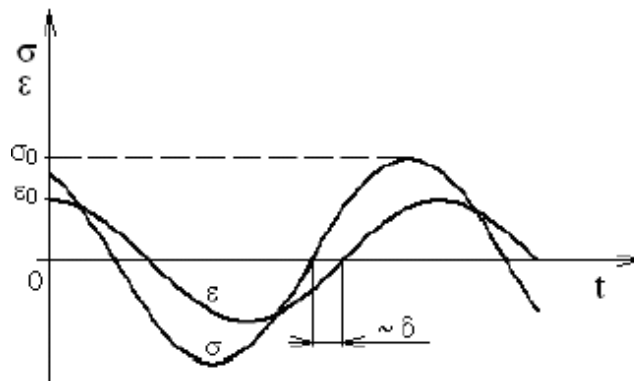
$$\varepsilon = \varepsilon_0 \times \sin(\omega \times t) \quad (12)$$

kde  $\varepsilon_0$  [1 či %] je amplituda smykového napětí,  $\sigma_0$  [Pa] je amplituda poměrné deformace,  $t$  [s] je čas a  $\omega$  [ $s^{-1}$ ] je frekvence oscilace, která může být vyjádřena také jako (13):

$$\omega = 2 \times \pi \times g \times f \quad (13)$$

kde  $f$  [Hz] je frekvence.

Tento poměr je znázorněn na obrázku 15.



Obrázek 15: Fázový posun poměrné deformace proti napětí

Odezvu materiálu na tuto periodickou oscilaci nám analyzuje dynamická mechanická analýza. Při tomto experimentu je materiál vystaven sinusové smykové poměrné deformaci (nebo napětí). [63]

Mechanické odezva, vyjádřena jako smykové napětí viskoelastického materiálu, je středem mezi ideálně elastickou a viskózní látkou a proto platí vztah (14):

$$\sigma = G^*(\omega) \times \varepsilon_0 \times \sin(\omega \times t + \delta) \quad (14)$$

a následně platí, že (15):

$$\sigma = G^*(\omega) \times \varepsilon_0 \times \sin(\omega \times t) \times \cos(\delta) + G''(\omega) \varepsilon_0 \times \cos(\omega \times t) \times \sin(\delta) \quad (15)$$

a jestliže je definováno, že (16) a (17):

$$G'(\omega) = G^* \times \cos(\delta) \quad (16)$$

$$G''(\omega) = G^* \times \sin(\delta) \quad (17)$$

pak získáme vztah (18):

$$\sigma = G'(\omega) \times \varepsilon_0 \times \sin(\omega \times t) + G''(\omega) \times \varepsilon_0 \times \cos(\omega \times t) \quad (18)$$

kde  $G'(\omega)$  [Pa] je modul pružnosti (elasticity) ve smyku a  $G''(\omega)$  [Pa] ztrátový (viskózní) modul pružnosti ve smyku.  $G'$  nám dává informaci o elasticitě, respektive pružnosti nebo energii uložené v materiálu během deformace.  $G''$  nám popisuje viskózní charakter nebo energii, rozptýlenou ve formě tepla. Kombinací  $G'$  a  $G''$  získáme hodnotu komplexního modulu pružnosti ve smyku  $G^*$  [Pa] ze vztahu (19):

$$G^*(\omega) = \sqrt{G'^2 + G''^2} \quad (19)$$

nebo můžeme získat hodnotu komplexní viskozity  $\eta^*$  [Pa.s] ze vztahu (20):

$$\eta^*(\omega) = \frac{\sqrt{G'^2 + G''^2}}{\omega} \quad (20)$$

Poměr mezi modulem pružnosti a ztrátovým modulem nám říká hodnotu ztrátového činitele [1], který vypočítáme ze vztahu (21):

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad (21)$$

kde je  $\delta$  fázový úhel.  $\tan \delta$  je měřítkem poměru ztrátové energii ku energii uložené v materiálu. [15]

Obecně platí, že poměr mezi napětím a deformací závisí na čase a velikosti aplikovaného namáhání. Pokud se působí na materiál jen malým definovaným namáháním, pak bude tento poměr závislý pouze na čase. Konkrétně hydrogely, v kterých je voda jako změkčovadlo, jsou



silně závislé na čase, jelikož se měří ve stavu rovnovážného stavu botnání. Problém je zde tedy ten, že se voda z hydrogelů odpařuje a jakékoliv odpaření snižuje elasticitu hydrogelu. Snahou je, aby  $G'$  byl vyšší, než  $G''$ , což znamená, aby byl hydrogel spíše elastické povahy namísto viskózní. [9]

### 2.3 Řízené uvolňování aktivní látky

Systémy pro řízené uvolňování aktivní látky zajišťují dopravení dané látky a jeho uvolňování v potřebné koncentraci po definovanou dobu, prostřednictvím difuze. [62] Mezi výhody řízeného uvolňování léčiv patří možnost optimalizace léčby, podávání nižších dávek léčiva s vyšší účinností, méně časté podávání léčiva a s ním, menší riziko rezistence na určité typy léčiv, stabilní hladina léčiva v krvi, zvýšené pohodlí pacienta, možnost potlačit některé záporné efekty léčiv, jako například zápach či chuť a stabilizují léčiva, co se týče degradace. Léčivo musí být v lékové formě neaktivní, bez účinku na organismus. [5]

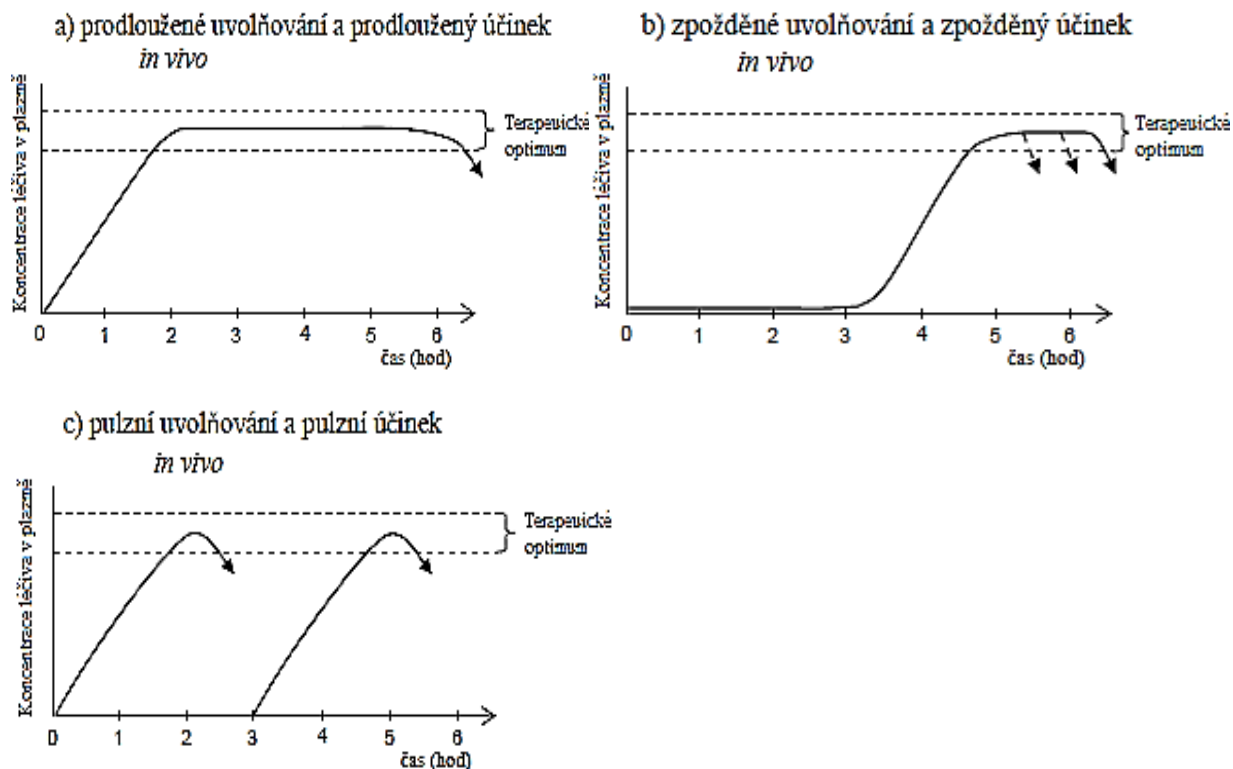
Aktivní látky mohou být řízeně uvolňovány ze zásobníkového systému, matricového systému, částicových forem, nanočástic, náplastí, emulzí přičemž nejpoužívanější jsou v současné době zásobníkový a matricový systém. [64]

Zásobníkový systém je založen na zapouzdření aktivní látky do polymerního filmu či obalu. Uvolňování látky ze systému se řídí pomocí druhého Fickova zákona, u kterého je obecně rozhodující závislost rychlosti uvolňované aktivní látky na její koncentraci v okolí. Matricový systém může být rozdělen na polymerní nerozpustné matrice, lipofilní matrice a hydrofilní gelové matrice. Tento systém je založen na obsahu léčiva ve formě disperze uložené do matrice.

Uvolňování aktivní látky může být upravováno, s ohledem na doby a koncentrace, které jsou požadovány. Dobu, po kterou se má látka uvolňovat závisí především na poměru mezi polymerem a plnivem (povrchově aktivní látka, změkčovadlo). Kromě materiálu ovlivňují uvolňování i vnější podmínky, jako pH, teplota a iontové síly. Tento poměr látek, ze kterých je matrice či zásobník tvořen, může působit buď kontinuálně, kdy se léčivo bude plynule uvolňovat a držet určitou hladinu koncentrace, nebo může působit diskontinuálně, kdy je látka uvolněna s určitým zpožděním či pulzně. Jmenované způsoby lze vidět na obrázku 16, kdy je léčivo aplikováno do krevní plazmy. [65]

Pro popis kinetiky řízeného uvolňování existuje mnoho teoretických modelů, které vychází z matematických funkcí. Jako příklady modelů uvedu kinetiku nultého řádu, kinetiku prvního

řádu, Baker-Lonsdale, Gompertz, Higuchi, Hixson-Crowell, Hopfenberg, KorsmeyerPeppas, Weibull a regresní model. Experimentální metody stanovení kinetiky řízeného uvolňování byly již zmíněny na začátku charakteristických vlastností hydrogelů. [66]



Obrázek 16: Kontinuální a diskontinuální uvolňování léčiv v krevní plazmě

Pro budoucí pokračování práce budou do hydrogelů, jakožto matic, aplikovány antibiotika. U hydrogelů má vliv na řízené uvolňování léčiv stupeň síťování a s ním spojené mechanické vlastnosti, stupeň botnání (difuze) a velikost pórů. Navíc mají na uvolňování vliv i vlastnosti léčiva, například jeho molekulová hmotnost.

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

### 3 CÍL PRÁCE

Cílem předložené práce bylo, v návaznosti na doktorskou práci Saaraie Amarjargal [45], zabývající se přípravou hydrogelů na bázi biodegradabilních polymerů a to proteinu želatiny a polysacharidu alginátu sodného. Tyto dva biopolymery jsou mezi sebou sice vázány pomocí fyzikálních vazeb (elektrostatických sil), ty však nevykazují s ohledem na plánovanou aplikaci ve zbotnalém stavu dostatečné mechanické vlastnosti.

Za účelem modifikace mechanických vlastností hydrogelů na bázi želatiny a alginátu sodného bylo nutné připravené hydrogely modifikovat pomocí chemických síťovacích činidel. Pro chemické síťování bylo v tomto případě využito roztoků síťovadel 0,02 % glutaraldehydu a 2,5 % chloridu vápenatého. Doba síťování ovlivňovala jak viskoelastické vlastnosti, tak hodnotu rovnovážného stavu botnání. Z tohoto důvodu bylo třeba nalézt určitý kompromis mezi stupněm botnání hydrogelu, jeho viskoelastickými vlastnostmi a stupněm síťování.

S ohledem na prováděné síťování připravených hydrogelů byly u nich následně experimentálně charakterizovány vybrané materiálové vlastnosti. Pro charakterizaci botnacích vlastností bylo využito gravimetrické metody (botnací křivka) a termomechanické analýzy (TMA), ze které se zjistil i modul pružnosti v tlaku. Mechanické vlastnosti, konkrétně modul pružnosti ve smyku, byly testovány pomocí dynamické mechanické analýzy (DMA) v závislosti na frekvenci či teplotě. Pro dodatečnou bližší charakterizaci struktury bylo využito skenovací elektronové mikroskopie (SEM) a infračervené spektroskopie (FTIR). Získané výsledky experimentálních měření byly zpracovány, vyhodnoceny a zevrubně diskutovány.

## 4 PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE HYDROGELŮ

### 4.1 Použité materiály

Pro přípravu hydrogelů byl použit nízkoviskózní alginát sodný s vysokým obsahem kyseliny  $\beta$ -D-mannuronové (molární poměr mezi kyselinou  $\beta$ -D-mannuronovou a  $\alpha$ -L-guluronovou je 1,56) s molekulovou hmotností cca 40 000 g/mol (Sigma-Aldrich), želatina typu B, získaná extrakcí z hovězí kůže, mající  $M_r=142\ 000$  g/mol a bloom index 250 (Sigma-Aldrich), polyetylen glykol s  $M_r=4000$  g/mol (Sigma-Aldrich), glycerol p. a. s  $M_r=92,1$  g/mol a  $\rho=1,26$  g/cm<sup>3</sup> (Penta Chrudim), chlorid sodný p. a. s  $M_r=58,4$  g/mol (Penta Chrudim) a destilovaná voda s  $M_r=18$  g/mol.

Pro účely chemického síťování byl použit 25% vodný roztok glutaraldehydu s  $M_r=100,1$  g/mol a  $\rho=1,06$  g/cm<sup>3</sup> (Sigma-Aldrich) a chlorid vápenatý p. a. s  $M_r=110,98$  g/mol (Penta Chrudim).

### 4.2 Použité pomůcky

Kádinky 50 ml, 100 ml a 250 ml, odměrný válec 100 ml, vařič s míchadlem, externí míchadlo, Petriho misky, polyetylenová forma na vzorky umístěná v Petriho misce, ultrazvuk, vakuová sušárna, pipeta, alobalová folie, skleněná tyčinka, stojan, stříčka, exikátor,

### 4.3 Příprava hydrogelů

V následující části bude představena příprava hydrogelu skládajícího se z rozpouštědla vody a směsi látek želatiny, alginátu sodného, polyetylen glykolu, chloridu sodného a glycerolu. Připravený hydrogel byl následně chemicky síťovaný buď 0,02 w. % roztokem glutaraldehydu nebo 2,5 w. % roztokem chloridu vápenatého.

Do odměrného válce bylo nalito 20 ml vody, toto množství bylo kvantitativně převedeno do kádinky. Kádinka, ponořená ve vodní lázni, byla zahřáta na 60 °C. Po ohřátí na 60 °C se do vody přidaly 2 g želatiny. Želatina se nechala dokonale rozpustit ve vodě při 200 otáčkách. Zvýšená teplota v řetězcích želatiny vyvolala tvorbu kladného náboje. Po rozpuštění želatiny se otáčky snížily cca na 100 otáček a do kádinky se přidaly 2 g alginátu sodného. Přidání alginátu sodného vyvolalo rapidní zvýšení viskozity roztoku. To mělo pravděpodobně za následek tvoření fyzikálních elektrostatických sil mezi kladně nabitými řetězci želatiny a záporně nabitými řetězci alginátu sodného. Po homogenizaci želatiny a alginátu sodného se do kádinky přidaly 2 g polyetylen glykolu. Polyetylen glykol sloužil při přípravě hydrogelu

jako změkčovaadlo. Po rozmíchání polyetylen glykolu bylo dalším krokem přidání 0,2 g chloridu sodného ke stabilizaci směsi a 2 g glycerolu. Glycerol ve směsi působil jako humektant, který po vysušení zajišťuje příjemný a vlhký pocit na pokožce. Směs se od rozmíchání želatiny celou dobu udržovala při 100 otáčkách a 60 °C.

Po vytvoření dokonale homogenní hmoty se kádinka vyjmula z vodní lázně a vložila se do ultrazvuku, který byl předem vyhřátý na 60 °C. Směs totiž při nízké teplotě velice rychle tuhne. Kádinka s výslednou směsí se v ultrazvuku nechala asi 15 minut, z důvodu odstranění bublinek, které by mohly snižovat mechanické vlastnosti hydrogelu. Po celou dobu přípravy hydrogelu byl na kádince alobal, zabraňující vypařování vody. Po odstranění bublinek se kádinka vyjmula z ultrazvuku a směs se převedla do formy tvořené Petriho miskou, v níž byla umístěna polyetylenová deska o tloušťce 1 mm s vyřezanými otvory o průměru 2,5 cm.

Procentuální zastoupení výchozích látek a jejich navážky jsou uvedeny v tabulce 1.

*Tabulka 1: Hmotnostní zastoupení látek v hydrogelu*

Složka	Hmotnost [g]	Hmotnostní zlomek [%]
Voda	20,00	70,92
Želatina	2,00	7,09
Alginát sodný	2,00	7,09
Polyetylen glykol	2,00	7,09
Glycerol	2,00	7,09
Chlorid sodný	0,20	0,71
<b>Celková hodnota</b>	<b>28,20</b>	<b>100,00</b>

Směs vlitá do formy se sušila v exikátoru při laboratorní teplotě do jejího úplného vysušení, což trvalo cirká týden. Po uplynutí této doby se z formy vyjmulý jednotlivé hydrogely, které byly připraveny na chemické síťování zprostředkované roztoky 0,02 % glutaraldehydu a 2,5 % chloridu vápenatého. Síťování se provádělo v Petriho miskách, ve kterých byly přítomny roztoky síťovadel o požadovaných koncentracích. Hydrogely se vložily do Petriho misek a po uplynutí námi určené doby se opět vyjmulý. Po vyjmutí se musely hydrogely důkladně vymýt, aby na povrchu či ve struktuře nezůstalo nezreagované síťovaadlo. V případě hydrogelů síťovaných glutaraldehydem je to závažný problém, z důvodu jeho zvýšené toxicity.

Hydrogely se nechaly sušit při laboratorní teplotě v exikátoru do úplného vysušení. Po vysušení byly hydrogely připraveny pro další testování nebo také jako matrice pro vložení aktivní látky.

#### 4.4 Optimalizace přípravy

Při přípravě hydrogelu došlo k několika problémům, způsobených zejména vysoce viskózním charakterem směsi. S tím souvisí i první problém a to volba vhodného míchadla, jež dokáže promíchat rovnoměrně a stejnou rychlostí po celou dobu přípravy tuto viskózní hmotu. Problém byl vyřešen zvolením externího míchadla, jež obsahovalo senzor snímající zvýšení odporu, na který reagoval zvýšením síly promíchání.

Dalším problémem bylo odstranění bublinek vytvořených rychlým mícháním směsi. Jako první možné řešení bylo zvoleno odstranění bublinek ve vakuové sušárně, čili odstranění bublinek vysokým pod tlakem. U tohoto způsobu řešení byla velkou nevýhodou nízká efektivita odstraňování a nucené několikeré opakování tohoto procesu v průběhu přípravy hydrogelu, které stejně nemělo potřebnou efektivitu. Jako efektivní způsob byl shledán ultrazvuk, který bublinky odstranil napoprvé, proto mohlo být odstraňování bublinek přesunuto až na samotný závěr procesu přípravy hydrogelu. To mělo za následek zvýšenou opakovatelnost přípravy a zkvalitnění vlastností materiálu.

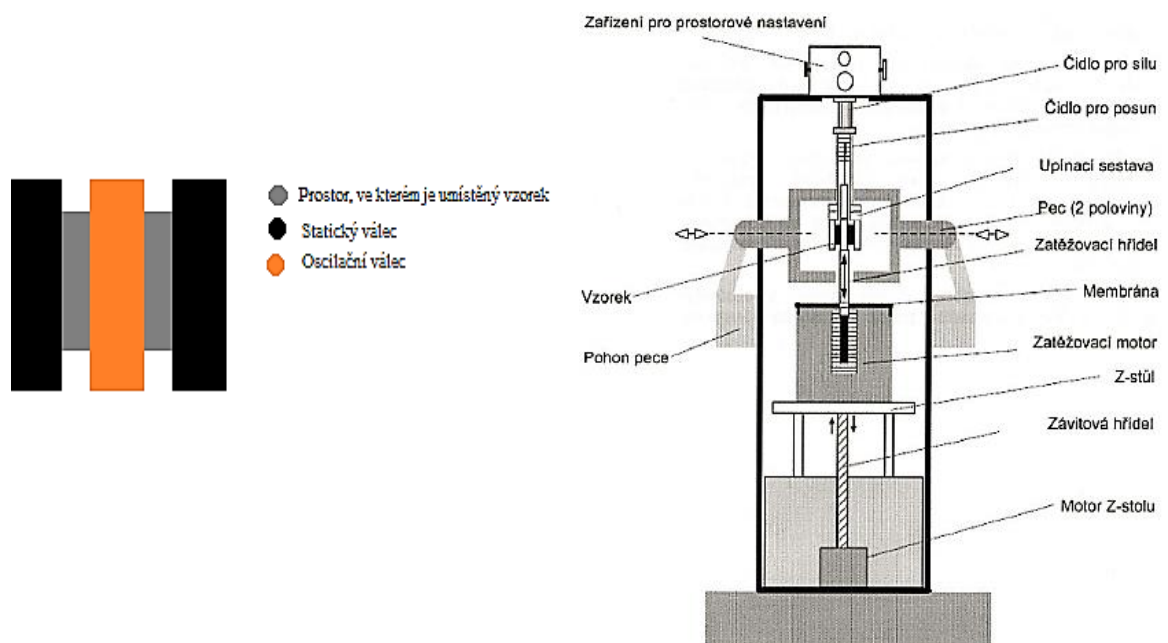
Dalším problémem byla i konstantní úroveň vody, která se v průběhu přípravy vypařovala z kádinky. Vzhledem k tomu, že byla obsažena v malém množství, byl důležitý každý mililitr. Kvůli externímu míchadlu bylo jako vhodné řešení zvoleno využít alobal, kterým se kádinka obalila.

Posledním problémem byla právě zmiňovaná opakovatelnost. Na kvalitu hydrogelu, konkrétněji homogenitu a fyzikální síťování výchozích látek při přípravě, měla vliv sebemenší změna podmínek, jako například změna otáček, teploty, rychlost dávkování výchozích látek či jejich navážka. Opakovatelnost byla problémem dlouhou dobu, avšak optimalizace podmínek byla nakonec nalezena přesně definovaným a precizně provedeným postupem přípravy.

#### 4.5 Metody charakterizace hydrogelů

Pro charakterizaci materiálových vlastností a bližší charakterizaci struktury byly použity metody jako dynamická mechanická analýza (DMA), termomechanická analýza (TMA), skenovací elektronová mikroskopie (SEM), infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) či gravimetrická metoda (botnáč křivka).

Dynamická mechanická analýza (DMA) byla využita ke stanovení frekvenčních a teplotních závislostí viskoelastických vlastností hydrogelu. Přístroj, kterým se tyto závislosti měřily, je dynamický mechanický analyzátor Mettler-Toledo, model DMA/SDTA 861e. Měření probíhalo tak, že se vzorek nachystaný jako soustava válec-vzorek-oscilační válec-vzorek-válec, vložil do upínací sestavy a zavřely se obě části pece analyzátoru. Tento oscilační válec koná harmonické sinusové oscilace pod určitou výchylkou, silou, teplotou či kombinacemi těchto faktorů. Frekvenční závislost materiálu se prováděla při teplotě 37 °C, frekvenčním rozsahu 0,1- 100 Hz, za působení definované síly a výchylky oscilace určených z lineárního měření. Z frekvenčních závislostí se určil elastický modul pružnosti ve smyku  $G'$ , ztrátový modul  $G''$  a ztrátový činitel  $\tan \delta$ . Teplotní závislost materiálu se měřila obdobně, avšak na tělísko působila konstantní frekvence a měnil se teplotní rozsah. Vzhledem k aplikaci na lidskou pokožku jsme zvolili teplotní rozsah 5 °C až 42 °C, kterého může lidské tělo v extrémních případech dosáhnout. Na obrázku č. 17 lze vidět jak soustavu, do které se vkládá vzorek, tak i vnitřní prostor přístroje a s ní i zmiňovanou upínací sestavu.



Obrázek 17: Schéma přístroje Mettler Toledo a soustavy pro umístění vzorku

Pomocí termomechanické analýzy (TMA) jsme měřili závislost změny výšky vzorku hydrogelu v závislosti na čase, při definované síle a teplotě 25 °C. Vzorek hydrogelu byl umístěn v mističce s vodou. Tím pádem hydrogel botnal a měnil svoji velikost. Z tohoto testu jsme vypočetli i modul pružnosti hydrogelů v tlaku. Měřicím přístrojem byl termomechanický analyzátor Mettler-Toledo model TMA/SDTA 841.



Gravimetrická metoda (botnací křivka) je metoda měření, kdy je snahou dosáhnout rovnovážného stavu botnání. Ten byl stanoven gravimetricky tak, že se vzorky zvážily suché, poté se ponořily do vody o teplotě 25 °C a po určitých časových intervalech v rozmezí 0-48 h se vzorky z vody vyjímaly, zvážily a daly opět do vody. Z toho měření lze určit ideální dobu síťování pomocí stupně botnání a mechanické stability hydrogelu při rovnovážném stupni botnání.

Skenovací elektronová mikroskopie (SEM) byla zvolena k bližší charakterizaci struktury hydrogelu, jako je velikost pórů, homogenita připravených hydrogelů a vliv síťování na strukturu. Měření se provádělo na přístroji Tescan Vega II LMU při urychlovacím napětí 10kV. Tento elektronový mikroskop je osazený wolframovou žhavenou katodou. Vzorky hydrogelu se rozlomily, potáhly zlatem ve vakuu a pozorovala se u nich hrana průřezu.

Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) nám umožňuje detailní pohled na strukturní zastoupení látek a vazeb obsažených v hydrogelu. Měřilo se na přístroji Nicolet IS5, od společnosti Thermo Scientific za použití ID5 ATR nástavce, Zn-Se krystalu, softwaru Omnic a rozmezí vlnových délek od 4000  $\text{cm}^{-1}$  do 800  $\text{cm}^{-1}$  se snímáním 64 snímků.

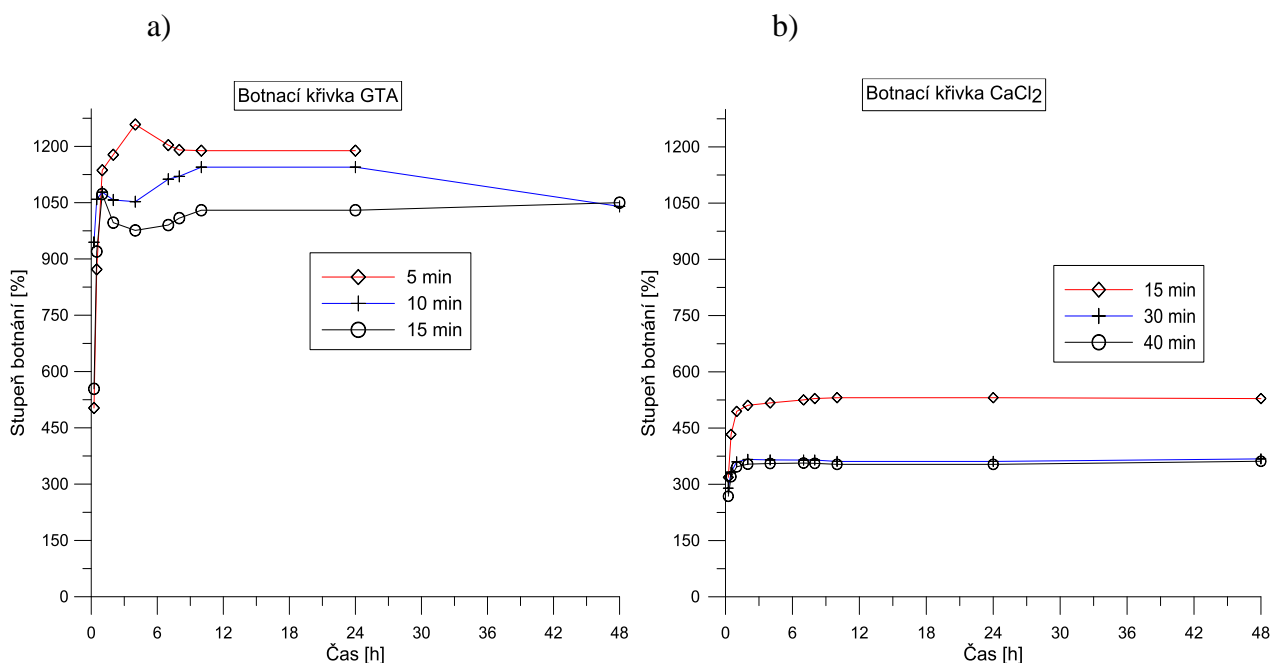
## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Pro účely vzájemného porovnání vlastností byly charakterizovány hydrogely síťované 0,02 % glutaraldehydem (dále jen GTA), 2,5 % chloridem vápenatým (dále jen  $\text{CaCl}_2$ ) a některé testy byly provedeny i u nesíťovaného hydrogelu.

### 5.1 Charakterizace botnacích vlastností

Botnací vlastnosti hydrogelů síťovaných GTA a  $\text{CaCl}_2$  byly charakterizovány, jako hmotnostní nebo rozměrová změna vysušeného hydrogelu ponořeného v destilované vodě.

#### 5.1.1 Gravimetrická metoda (botnací křivka)



Obrázek 18: Botnací křivky hydrogelů síťovaných a) GTA, b)  $\text{CaCl}_2$

Tento experiment byl proveden proto, abychom se dozvěděli, jakou dobu je potřeba hydrogely síťovat pomocí GTA a  $\text{CaCl}_2$ , za účelem dosažení stabilních hydrogelů, u nichž v čase nedochází k rozpadu a zároveň drží rovnovážnou hladinu nabotnění. Experiment probíhal při laboratorní teplotě. Na obrázku 18 lze vidět botnací křivky dvou síťovaných hydrogelů.

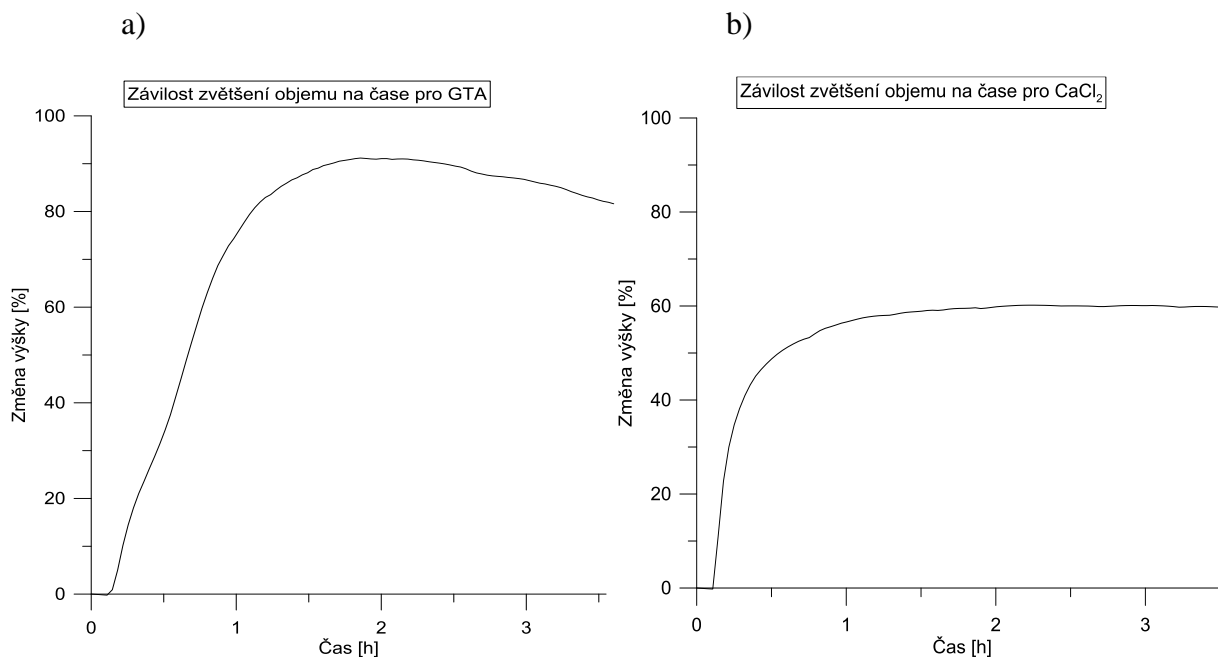
Vlivem destilované vody difundující do hydrogelů, vidíme na obrázku 18 a) botnací křivku hydrogelu síťovaného GTA. Zde jsou tři botnací křivky pro hydrogely síťované 5 min, 10 min a 15 min. U prvního hydrogelu síťovaného 5 min byl v čase botnění 24 h zaznamenán jeho úplný rozpad. Bylo to způsobené krátkou dobou jeho síťování, kdy nedošlo k potřebnému interogování polymerních řetězců mezi sebou prostřednictvím síťovadla. U druhé botnací

křivky pro hydrogel síťovaný 10 min. Vidíme, že vydržel po celých 48 h, je zde však vidět určitý klesající trend, který nastal při botnání v čase 24 h a pokračoval, až do botnání v čase 48 h. Bylo to pravděpodobně zapříčiněno rozpadáním krajů hydrogelu kvůli nedostatečnému síťování. U třetí křivky, respektive hydrogelu síťovaného GTA 15 min, si lze všimnout lineárního průběhu rovnovážného stavu botnání po celou dobu. Stupeň botnání se zde pohybuje okolo 1000 %, avšak tento stupeň botnání je dosažen až po zhruba dvanácti hodinách. Tomu předchází nelineární oblast, ve které hydrogel dosáhne maxima stupně botnání, který se poté ustaluje až do rovnovážného stavu botnání. Proto jsme u hydrogelů síťovaných GTA vybrali dobu síťování 15 min jako ideální.

Z obrázku b) je vidět botnací křivka pro hydrogely síťované  $\text{CaCl}_2$  po dobu 15 min, 30 min a 40 min. Všechny tři křivky hydrogelů se chovají stabilně a mají lineární průběh rovnovážného stavu botnání. Je zde však patrné, že křivka pro hydrogel síťovaný 15 min jasně dominuje ve stupni botnání, jehož hodnota dosahovala 550 %, což je po požadavku mechanické stability druhý nejdůležitější parametr. Také vidíme, že hydrogel dosáhl rovnovážného stavu botnání už za 1 h. U tohoto síťovadla jsme zvolili jako vhodnou dobu síťování také 15 min.

Při srovnání obrázku a) a b) lze dojít k závěru, že hydrogel síťovaný GTA má daleko větší stupeň botnání, než  $\text{CaCl}_2$ , což je způsobeno velikostí pórů, vznikajících při síťování. Molekula glutaraldehydu při síťování vytváří velké a rozsáhlé póry, zatímco  $\text{Ca}^{2+}$  ionty spíše polymerní řetězce hydrogelu přitahují k sobě. To má za následek menší velikost pórů a s tím související menší stupeň botnání. Tento rozdíl ve struktuře bude názorně dokumentován pomocí snímků skenovací elektronové mikroskopie. Také si můžeme povšimnout, že hydrogel síťovaný GTA dosahuje rovnovážného stavu botnání pomaleji a předchází mu nelineární trend křivky, zatímco hydrogel síťovaný  $\text{CaCl}_2$  dosahuje rovnovážného stavu botnání rychleji a s lineárně se zvyšujícím trendem.

### 5.1.2 Termomechanická analýza



Obrázek 19: Závislost zvětšení výšky na čase pro hydrogely síťované GTA a  $\text{CaCl}_2$  ponořené ve vodě

Z předloženého obrázku 19 je vidět závislost zvětšení výšky hydrogelu na čase, po definované kontinuální působení síly na povrch hydrogelu.

Závislost zvětšení výšky hydrogelu síťovaného GTA na čase je na obrázku 19 a). Lze vidět, že hydrogel po hodině a půl dosáhl rovnovážného stavu botnání. Jeho výška vzrostla na dvojnásobek tj. 100 %. Ke konci dosahoval hydrogel výšky až 1630  $\mu\text{m}$ , přičemž na začátku se jeho výška pohybovala kolem 850  $\mu\text{m}$ . Jde také vidět, že křivka není stabilní, avšak toto chování hydrogelu bylo stanoveno gravimetrickou metodou, kdy rovnovážného stavu botnání bylo dosaženo až po 12 h botnání. Mírně nestabilní trend křivky získaný metodou TMA, tedy odpovídá gravimetrické metodě (botnací křivce).

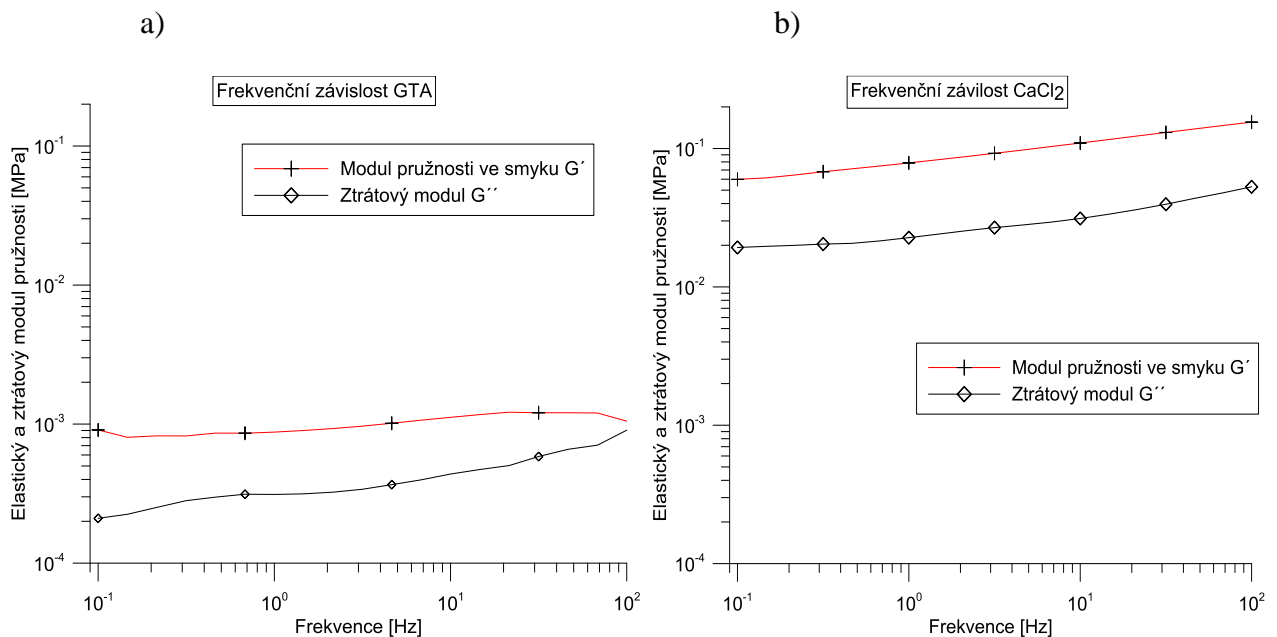
Z obrázku 19 b) pro hydrogel síťovaný  $\text{CaCl}_2$  po dobu 15 min, vidíme, že dosáhl rovnovážného stavu botnání zhruba po hodině, avšak jeho zvětšení výšky nebylo tak rapidní. Startovací výška činila 1250  $\mu\text{m}$  a na konci se pohybovala kolem 2000  $\mu\text{m}$ , tzn., že se zvětšila zhruba o 60 %. Opět odpovídá lineárně se zvyšující trend křivky, botnací křivce z předchozího měření gravimetrickou metodou.

## 5.2 Charakterizace viskoelastických vlastností

Hydrogely byly charakterizovány pomocí frekvenčních a teplotních závislostí v rovnovážném stavu botnání a také pomocí závislosti viskoelastických vlastností na zvyšujícím se stupni botnání s časem.

### 5.2.1 Dynamická mechanická analýza

#### Závislost viskoelastických vlastností na frekvenci



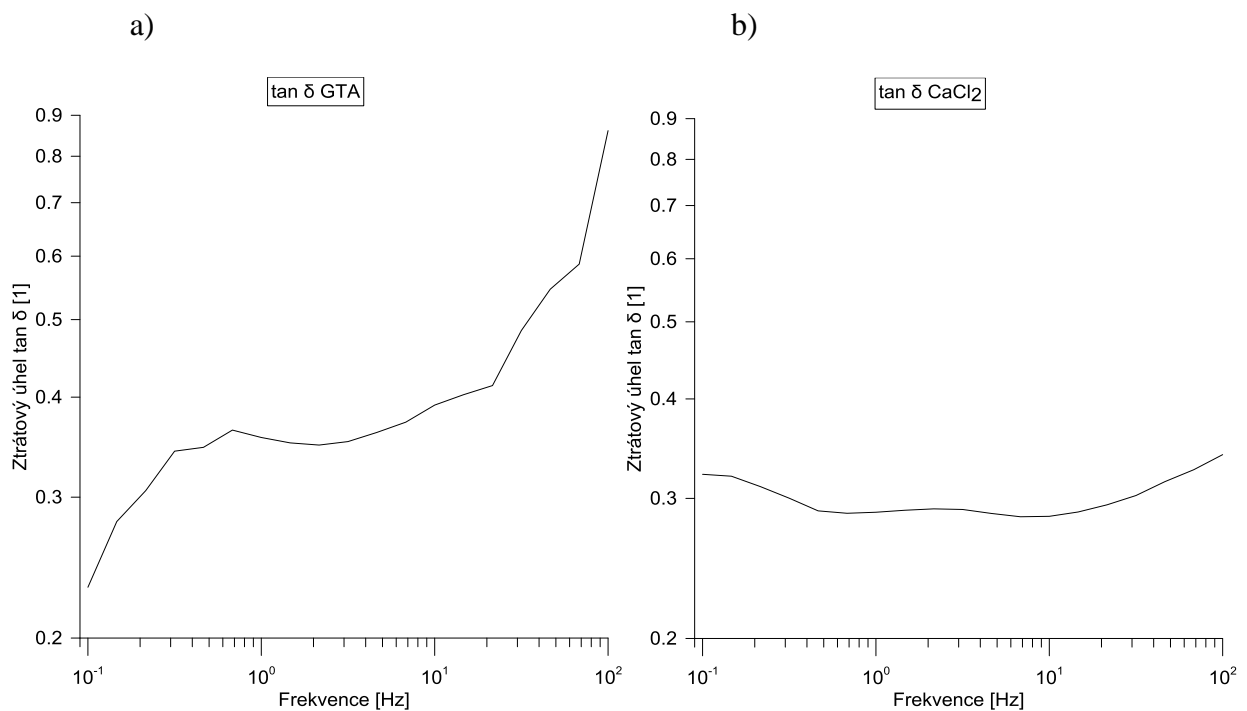
Obrázek 20: Frekvenční závislost hydrogelů síťovaných GTA a  $CaCl_2$  při 37 °C

Na obrázku 20 je znázorněna frekvenční závislost hydrogelů při teplotě 37 °C.

Z obrázku 20 a), patřící hydrogelu síťovanému GTA, vidíme, že hydrogel má elastický modul pružnosti ve smyku  $G'$  vyšší, než ztrátový modul  $G''$ . Hodnoty elastického modulu pružnosti ve smyku  $G'$  se pohybují kolem  $10^{-3}$  MPa, zatímco hodnoty ztrátového modulu  $G''$  se pohybují od  $2 \cdot 10^{-4}$  MPa až do hodnoty  $10^{-3}$  MPa. Materiál proto vykazuje pružnou odezvu na deformaci, převládá v něm totiž elastická složka. Dále vidíme, že se tyto dva moduly v závislosti na frekvenci přibližují, až se kolem hodnoty 100 Hz překříží. Toto překřížení, respektive fakt, že viskózní část převládá nad elastickou, nám napovídá, že při frekvenci 100 Hz převládne viskózní tok nad elastickou soudržností hydrogelu. Což naznačuje tendenci hydrogelu k rozpadu.

Podobně jako u hydrogelu síťovaného GTA můžeme u obrázku 20 b), patřící hydrogelu síťovanému  $\text{CaCl}_2$  vidět elastický modul pružnosti ve smyku  $G'$  vyšší, než ztrátový modul  $G''$ . Hodnoty elastického modulu pružnosti ve smyku se pohybují od 0,06 MPa do 0,18 MPa a ztrátový modul dosahuje hodnot od 0,02 MPa do 0,06 MPa. Hydrogel tedy splňuje požadavek na mechanické vlastnosti a to tím, že v materiálu převládá spíše elastická složka. Hydrogel jeví pružnou odezvu na deformaci a navíc byl stabilní v celém frekvenčním rozsah 0,1 – 100 Hz a neprojevila se u něj tendence k rozpadu

Při srovnání viskoelastických chování si můžeme povšimnout velkého rozdílu mezi hodnotami modulů pružnosti ve smyku hydrogelu síťovaného GTA a  $\text{CaCl}_2$ . Hydrogel síťovaný  $\text{CaCl}_2$  má výborné mechanické vlastnosti, avšak je to na úkor stupně botnání. Naopak hydrogel síťovaný GTA má horší mechanické vlastnosti, avšak nadprůměrný stupeň botnání. Tento velký rozdíl může být přisouzen stejně jako u stupně botnání, velikostí pórů ve struktuře hydrogelu, díky kterým jsou tyto vlastnosti velmi odlišné.



Obrázek 21: Ztrátový činitel  $\tan \delta$  v závislosti na frekvenci pro hydrogel síťovaný GTA a  $\text{CaCl}_2$  při 37°C

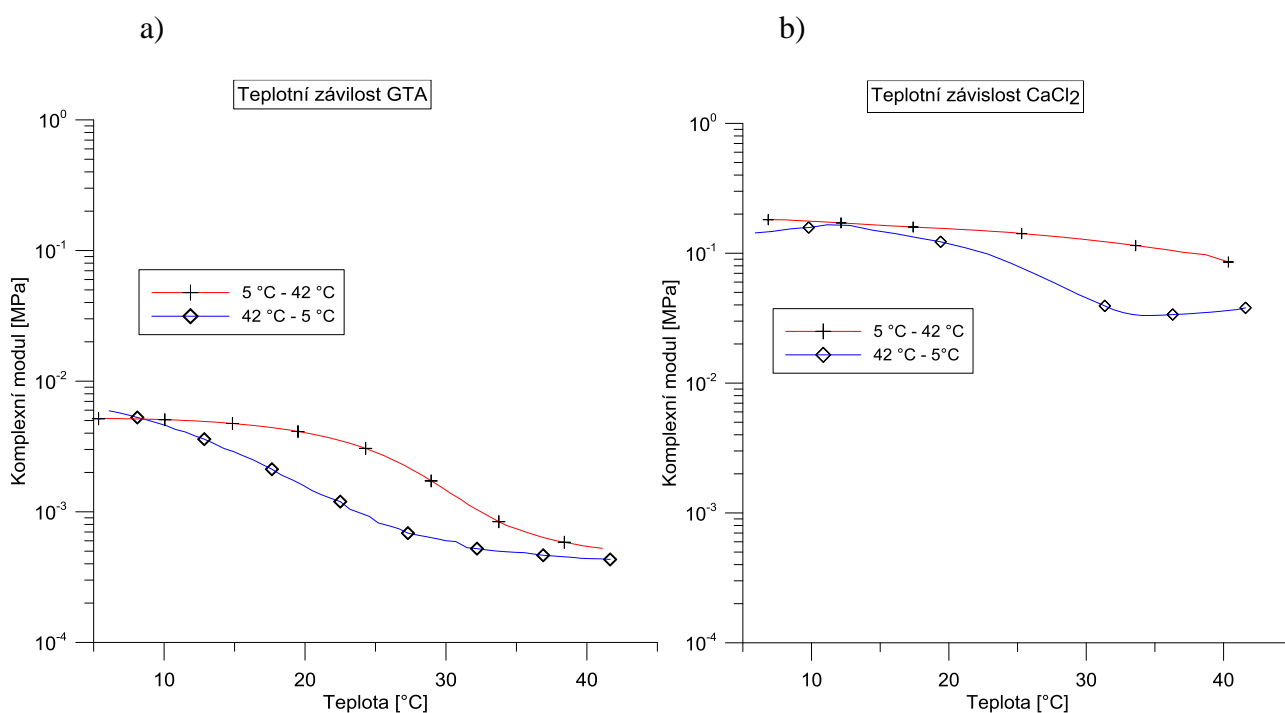
Ztrátový činitel  $\tan \delta$  nám ukazuje závislost materiálu na frekvenci při teplotě 37 °C.

Hydrogel síťovaný GTA, který je silně závislý na frekvenci lze vidět na obrázku 21 a). Potvrdilo se výše zmíněné, že kolem 100 Hz se začíná projevovat viskózní část materiálu a poměr  $G''$  ku  $G'$ , který je charakterizován právě  $\tan \delta$ , dosahuje hodnoty 1. Z této závislosti můžeme

určit i to, do jaké frekvence je materiál vhodný pro aplikaci. Zde vidíme, že hydrogel je použitelný zhruba do 22 Hz, což je pro aplikaci v medicíně dostačující hodnota. Dále vidíme, že má křivka zvyšující se trend, který graduje při hodnotě 80 Hz. To se hydrogel začíná zcela rozpadat.

Frekvenční závislost materiálu na obrázku 21 b), je pro hydrogel síťovaný  $\text{CaCl}_2$ . Zde vidíme, že materiál není prakticky vůbec závislý na frekvenci, tudíž je aplikačně použitelný v celém frekvenčním rozsahu.

### Závislost viskoelastických vlastností na teplotě



Obrázek 22: Závislost hydrogelů při teplotním rozsahu 5 – 42 °C, 42 – 5 °C a kmitání 5 Hz

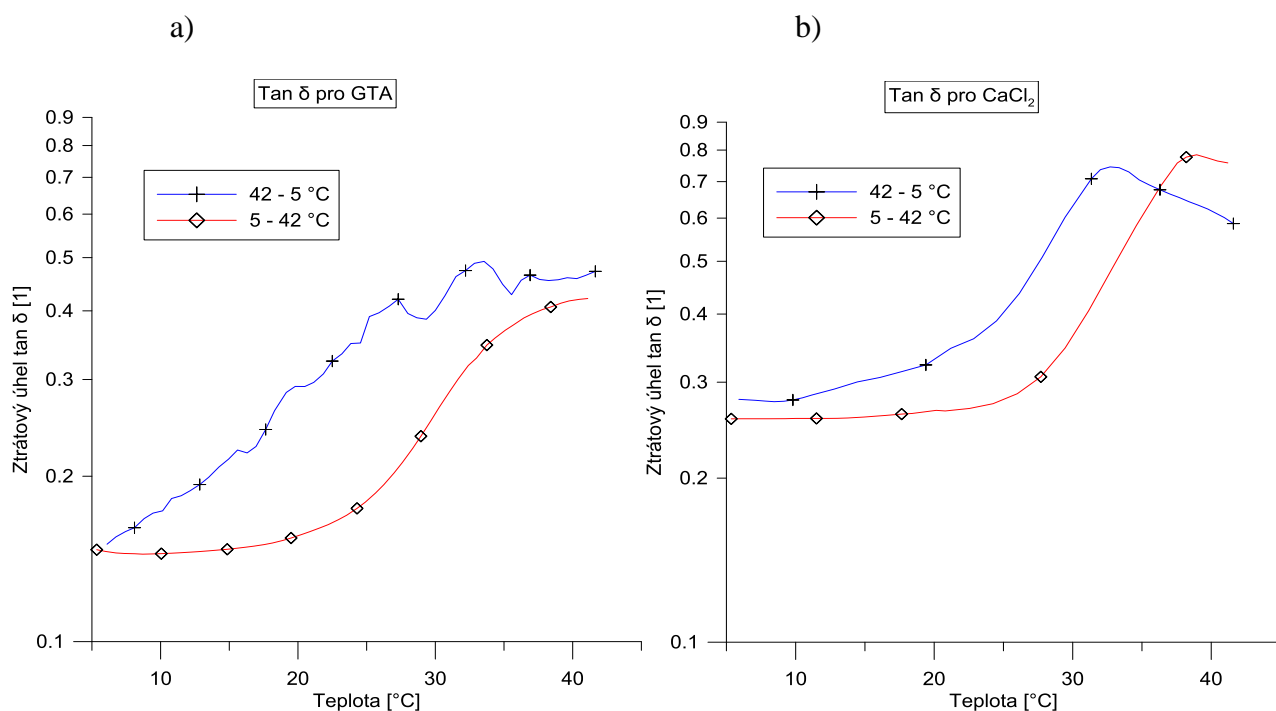
Na obrázku 22 je zobrazena teplotní závislost hydrogelů síťovaných a) GTA a b)  $\text{CaCl}_2$ . Měření proběhlo pro rozsah 5 – 42 °C a 42 – 5 °C při oscilačním kmitání 5 Hz.

Závislost teploty na hydrogel síťovaný GTA je na obrázku 22 a). Lze vidět určitou přechodovou oblast materiálu ve tvaru hysterezní křivky. Pro teplotní rozsah 5 – 42 °C začíná přechodová oblast zhruba na 12 °C a začíná se ustalovat při 38 °C. Pro teplotní rozsah 42 – 5 °C začíná tato přechodová oblast při teplotě 5 °C a ustaluje se rovněž při teplotě 38 °C.

Podobně jako u hydrogelu síťovaného GTA, vidíme na obrázku 22 b) přechodovou oblast pro hydrogel síťovaný  $\text{CaCl}_2$ . Ta má tvar neúplné hysterezní křivky. Neúplná je díky malému teplotnímu rozsahu měření. Tato přechodová oblast pro teplotní rozsah 5 – 42 °C začíná při

teplotě 18 °C, oblast však neměla tendenci se ustalovat v námi měřeném rozsahu a proto není hysterezní křivky úplná. Pro teplotní rozsah 42 – 5 °C přechodová oblast začíná při 13 °C a ustaluje se kolem hodnoty 36 °C.

Z těchto dvou obrázků můžeme říci, že mechanické vlastnosti obou hydrogelů jsou silně závislé na teplotě, přičemž u nich existuje určitá přechodová oblast, která má tendenci se ustalovat. Na obrázcích lze také vidět souvislost přechodové oblasti na nižších modulech pružnosti. Čím menší má hydrogel modul pružnosti, tím bude počátek přechodové oblasti dosahovat menších hodnot teploty. Naopak čím větší bude mít hydrogel modul pružnosti, tím vyšších teplot bude dosahovat počátek přechodové oblasti. Hodnoty modulů pružnosti odpovídají měření z frekvenční závislosti viskoelastických vlastností. Hodnoty u hydrogelu síťovaného GTA se pohybují od 0,005 MPa do 0,0005 MPa a u hydrogelu síťovaného CaCl<sub>2</sub> se pohybují od 0,04 MPa do 0,18 MPa. Hodnoty modulu pružnosti ve smyku se shodují s hodnotami měřenými frekvenční závislostí.



Obrázek 23: Ztrátový činitel u teplotní závislosti pro 5 Hz a teplotní rozsahy 5 – 42 °C a 42 – 5 °C

Obrázek 23 popisuje závislost stavu materiálu na teplotě pomocí ztrátového činitele  $\tan \delta$  při teplotním rozsahu 42 - 5 °C a 5 – 42 °C.



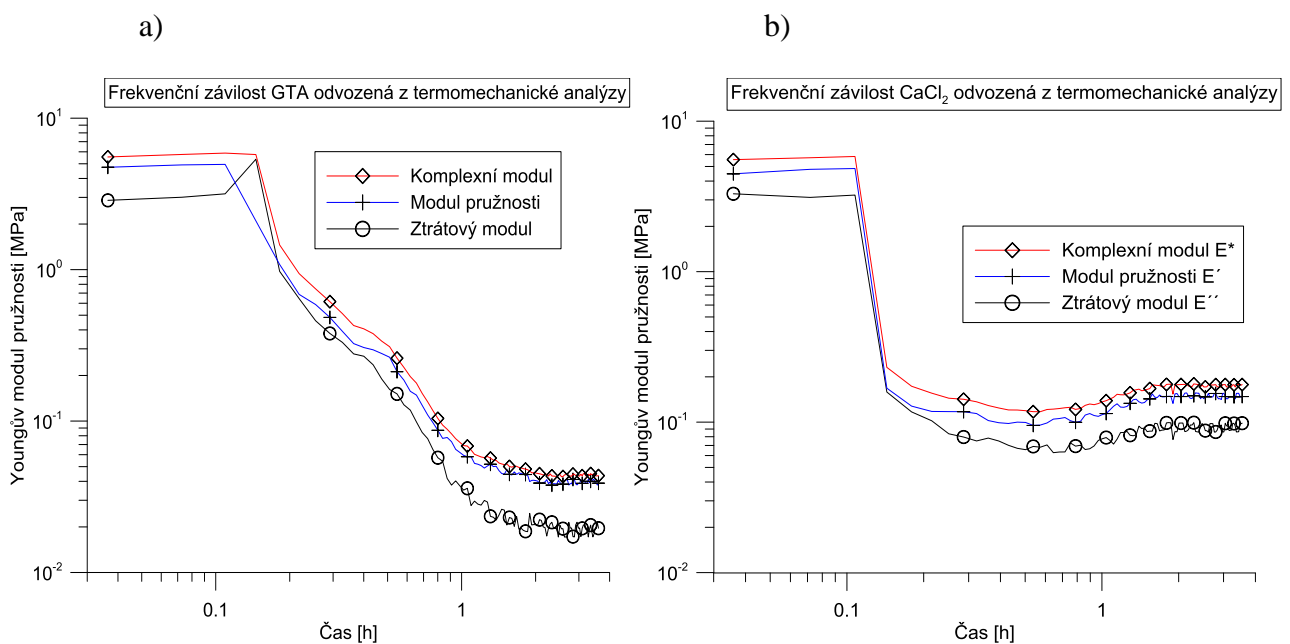
Z teplotní závislosti materiálu na obrázku 23 a), patřící hydrogelu síťovanému GTA vidíme, že viskoelastický materiál je závislý na teplotě. Pro teplotní rozsah 42 – 5 °C je vidět přechodová oblast, začínající na 5 °C a ustalující se při teplotě kolem 38 °C. Křivka se pohybuje v hodnotách ztrátového úhlu mezi 0,15 až 0,45. Pro teplotní rozsah 5 – 42 °C začíná přechodová oblast při teplotě 12 °C a ustaluje se opět při 38 °C, přičemž se jeho ztrátový úhel pohybuje v hodnotách od 0,15 až 0,5.

Z obrázku 23 b) vidíme, že hydrogel síťovaný  $\text{CaCl}_2$ , je závislý na teplotě a kolem 35 - 40 °C začíná v materiálu převládat viskózní část nad elastickou, kdy  $\tan \delta$  dosahuje hodnoty až 0,9. Vidíme zde opět přechodovou oblast, která pro teplotní rozsah 42 – 5 °C začíná kolem 13 °C a k ustalování dochází při teplotě 36 °C. Hodnota ztrátového úhlu se pohybuje od 0,28 do 0,8. U teplotního rozsahu 5 – 42 °C začíná přechodová oblast při teplotě 20 °C a trend ustálení nelze z našeho rozsahu měření určit. Ztrátový úhel se zde pohybuje od 0,27 do 0,9.

Při srovnání teplotní závislosti viskoelastických vlastností se závislostí frekvenční jsou dosažené údaje odlišné. Na frekvenci závislý hydrogel síťovaný GTA je závislý i na teplotě. Frekvenčně nezávislý hydrogel síťovaný  $\text{CaCl}_2$  je však v tomto případě závislý na teplotě a to dokonce více, než hydrogel síťovaný GTA.

## 5.2.2 Termomechanická analýza

### Závislost viskoelastických vlastností na době botnání



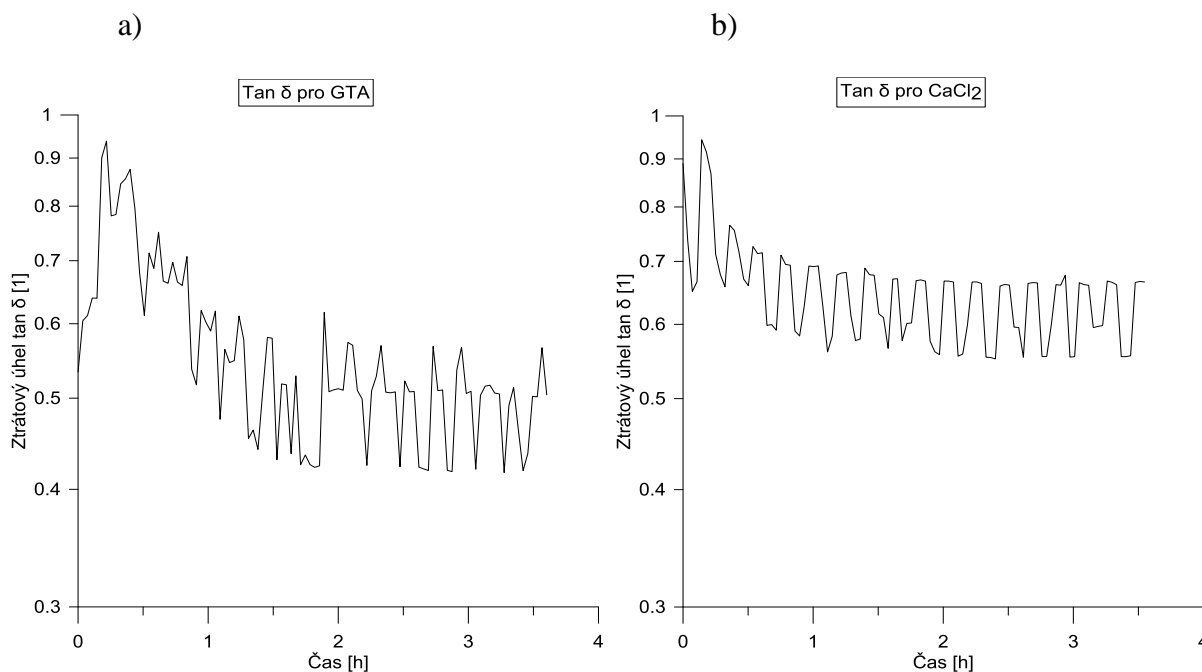
Obrázek 24: Modul pružnosti v tlaku vypočítaný z termomechanické analýzy

Z termomechanické analýzy lze získat modul pružnosti v tlaku, který vidíme na obrázku 24 pro hydrogel síťovaný GTA a  $\text{CaCl}_2$ . Na těchto obrázcích vidíme komplexní modul  $E^*$ , který je znázorněn červeně, dále modul pružnosti v tlaku  $E''$  znázorněný modře a ztrátový modul pružnosti v tlaku, který je představen jako černá křivka. Platí zde stejný požadavek, jako u modulu pružnosti ve smyku. Modul pružnosti v tlaku  $E'$  musí být výše, než ztrátový modul  $E''$ . Nad  $E'$  i  $E''$  však musí převládat komplexní modul pružnosti  $E^*$ . Tato skutečnost v předložených obrázcích odpovídá. Lineární křivka na začátku odpovídá hydrogelu v suchém stavu. Po několika minutách byla k těmto vzorkům přidána voda, což se na křivce projevilo strmým propadem modulu pružnosti v tlaku. Také zde vidíme, že komplexní modul pro hydrogel síťovaný  $\text{CaCl}_2$  je po zhruba půlhodině botnání stabilní s relativně vysokou hodnotou komplexního modulu, oproti hydrogelu síťovanému GTA, který potřeboval zhruba dvě hodiny k tomu, aby se ustálil a jeho komplexní modul pružnosti byl daleko nižší. Je to způsobené dříve avizovanou odlišností stupně botnání těchto hydrogelů.

Přepočtení komplexního modulu pružnosti v tlaku na smykový komplexní modul pružnosti lze pomocí vztahu:

$$E^* = 2 \times G^* \times (1 + \nu) \quad (22)$$

kde  $E^*$  [Pa] je komplexní modul pružnosti v tlaku,  $G^*$  je komplexní modul pružnosti ve smyku a  $\nu$  [1] je Poissonův poměr charakteristický pro každý materiál.



Obrázek 25: Ztrátový úhel  $\tan \delta$  pro dynamickou tlakovou deformaci

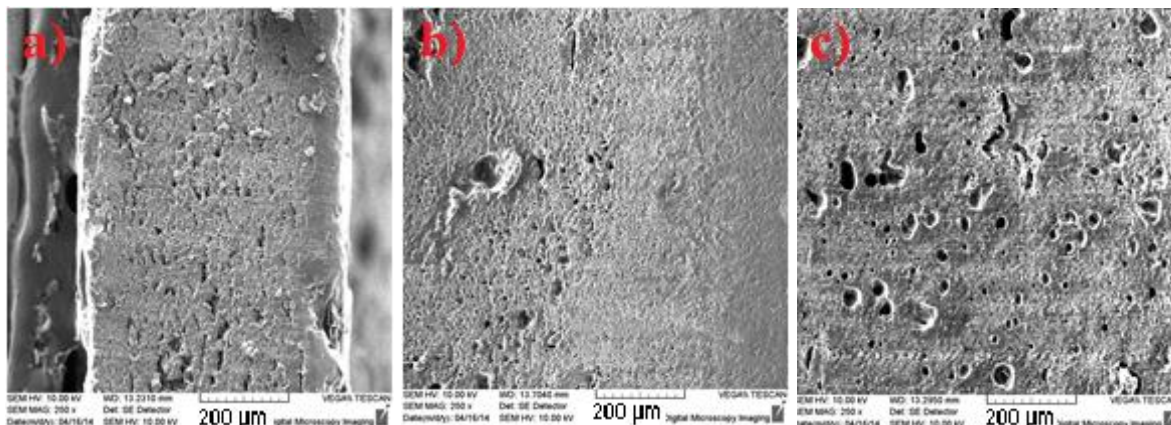
Na obrázku 25 jsou ztrátové úhly modulu pružnosti v tlaku při laboratorní teplotě. Závislost ztrátového úhlu na čase z obrázku 25 a) pro hydrogel síťovaný GTA, ukazuje, že ztrátový úhel hydrogelu nejdříve vzrostl k hodnotě 0,95 a poté se zvolna ustaloval k hodnotám kolem 0,4 až 0,6. Píkový charakter má křivka z důvodu působící síly na povrch hydrogelu při botnání, která na něj působila v určitých intervalech, které se projeví právě jako píky.

Z obrázku 25 b), pro hydrogel síťovaný  $\text{CaCl}_2$  platí, že jeho viskoelastické vlastnosti jsou při botnání, kdy na něj působí určitá síla v intervalech, prakticky nezávislé. Opět vidíme píkový charakter, který se ustálil hned na začátku měření. Hodnota  $\tan \delta$  se pohybovala kolem 0,6 až 0,75.

Při srovnání těchto obrázků vidíme, že hydrogel síťovaný GTA se chová více elasticky, než hydrogel síťovaný  $\text{CaCl}_2$ , což je potvrzeno předchozím měřením. Vidíme také, že struktura hydrogelu síťovaného  $\text{CaCl}_2$  je více stabilní.

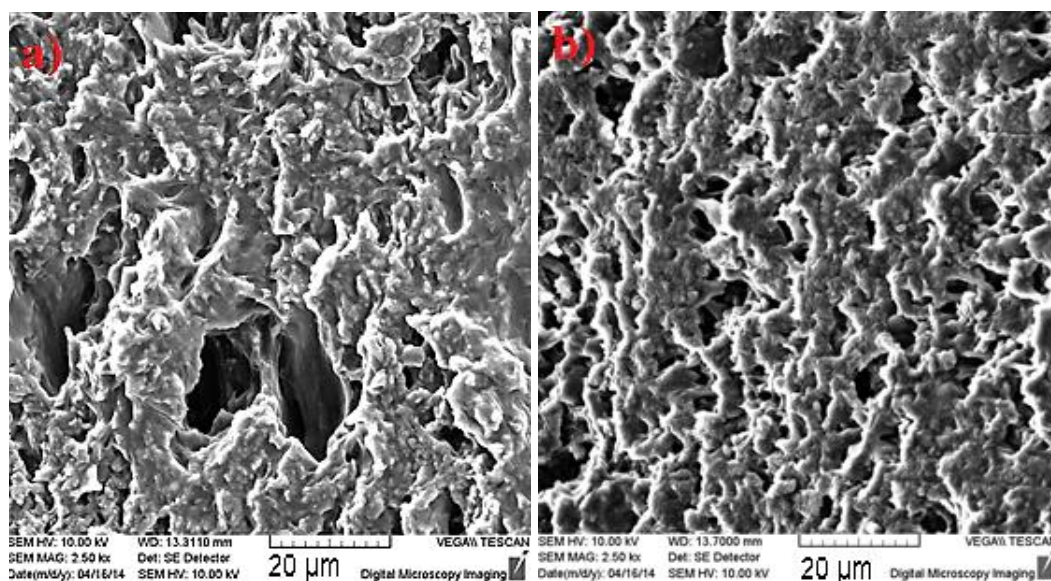
## 5.3 Charakterizace strukturních vlastností

### 5.3.1 Skenovací elektronová mikroskopie



Obrázek 26: SEM 250x zvětšené snímky hydrogelů síťovaných a) GTA, b)  $\text{CaCl}_2$ , c) nesíťovaný

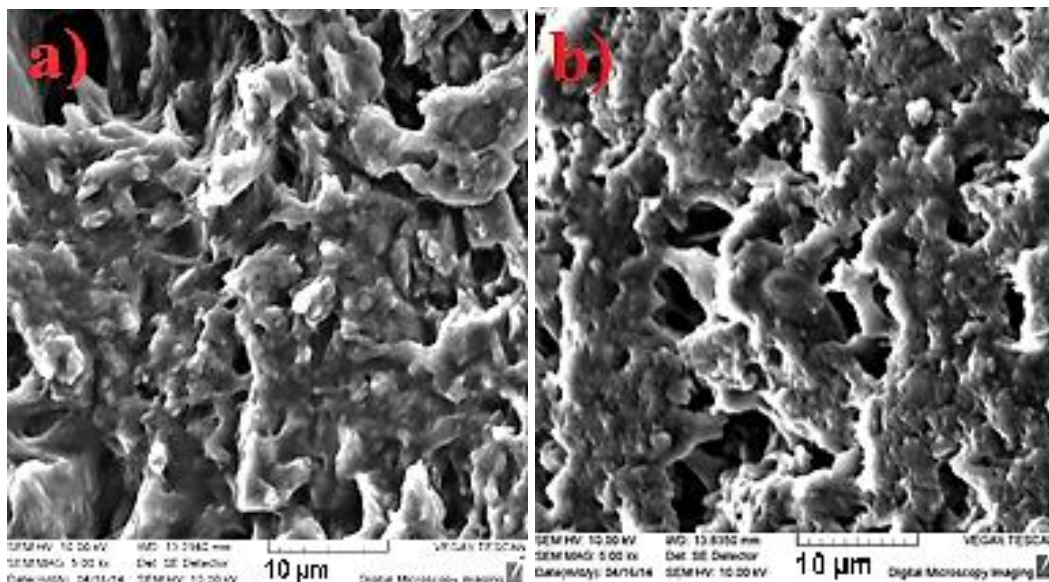
Na obrázku 26 vidíme celkovou strukturu hydrogelů při zvětšení 250x. Na obrázku 26 a) je hydrogel síťovaný GTA. Zde můžeme vidět pórovitou strukturu prostupující celý hydrogel. Zde vidíme, že tloušťka tohoto hydrogelu je velmi malá. Na obrázku 26 b) je hydrogel síťovaný  $\text{CaCl}_2$ . Zde můžeme vidět ucelenou strukturu, kde jsou póry, avšak vyskytující se velmi málo. Různé prohlubně a výstupky jsou způsobené bohužel špatným rozlomením hydrogelu. Na obrázku 26 c) je nezesíťovaný hydrogel. Zde jsou prohlubně způsobené zřejmě neheterogenní strukturou.



Obrázek 27: SEM 2500x zvětšené snímky hydrogelů síťovaných a) GTA, b)  $\text{CaCl}_2$

Na obrázku 27 je struktura hydrogelu přiblížená 2500x. Zde vidíme odlišnosti struktury hydrogelu síťovaného GTA a  $\text{CaCl}_2$ . Na obrázku 27 a) vidíme velké póry, které jsou příčinou

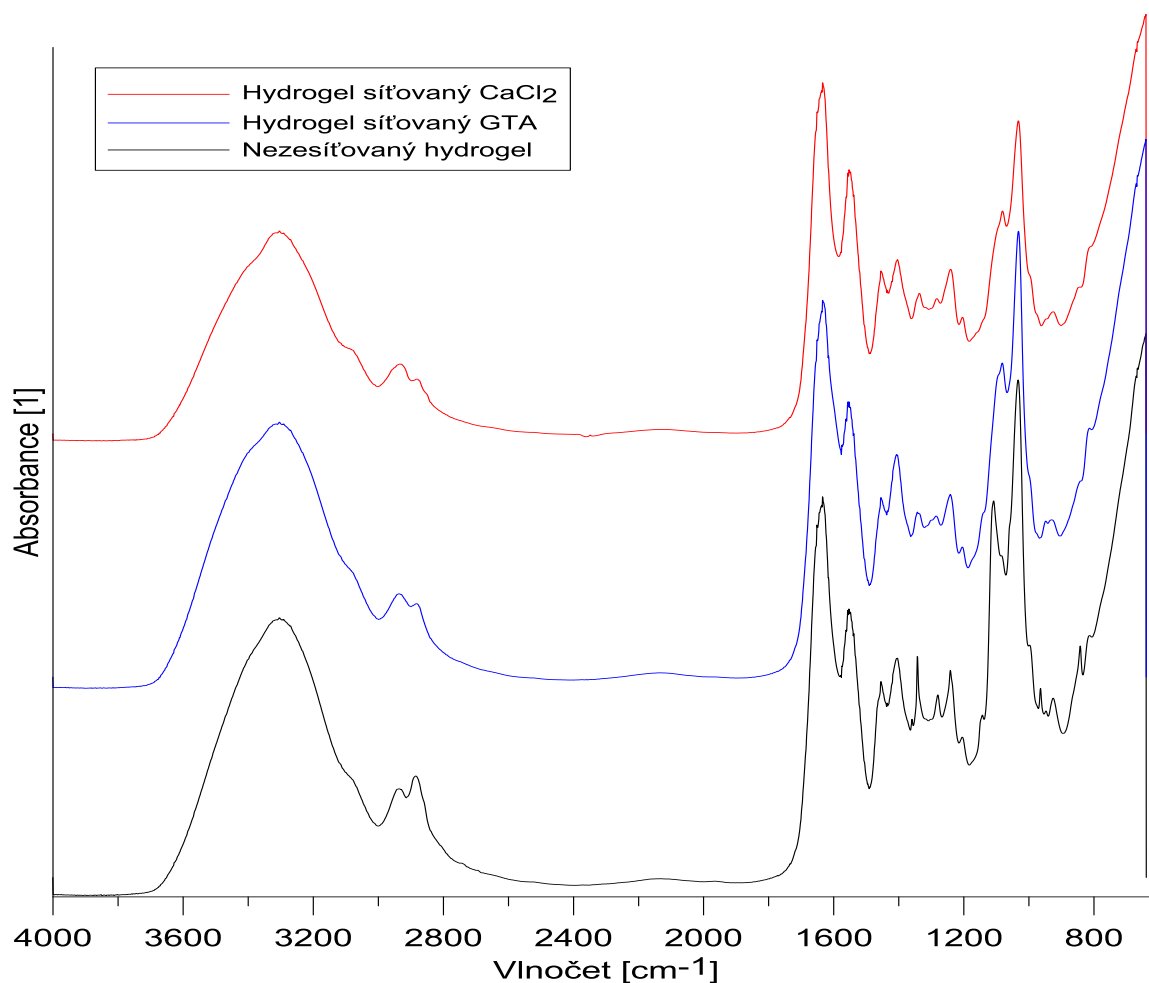
vysokého stupně botnění hydrogelů síťovaných GTA. Tyto póry prostupují celou strukturou hydrogelu a jsou zřejmě důsledkem nižšího stupně zesítnění, jak bylo například vidno na výsledcích dynamické mechanické analýzy. Na obrázku 27 b) vidíme hydrogel síťovaný  $\text{CaCl}_2$ , zde jsou póry daleko menší, je to vlivem hustějších iontových vazeb, které strukturu více přitahují k sobě.



Obrázek 28: SEM 5000x zvětšené snímky hydrogelů síťovaných a) GTA, b)  $\text{CaCl}_2$ , c) nesíťovaný

Na obrázku 28 je vidět detailní struktura hydrogelů, po zvětšení 5000x. Na obrázku 28 a) vidíme v horní levé části začínající pór, který byl znázorněn na obrázku 27 a). Dále lze vidět, jak i v částech mezi póry, existují ve struktuře další póry, které rovněž slouží k absorpci vody. Existence těchto pórů je asi v důsledku pórovitosti alginátu sodného. Na obrázku 28 b) lze vidět detailní strukturu hydrogelu síťovaného  $\text{CaCl}_2$ . Zde jsou vidět celé póry, které jsou rozloženy rovnoměrně po celé struktuře hydrogelu. Tyto póry vznikly vlivem síťování  $\text{Ca}^{2+}$  ionty.

### 5.3.2 Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací



Obrázek 29: Infračervená spektroskopie různě síťovaných hydrogelů

Na obrázku 29 je infračervená spektroskopie hydrogelů. Jsou zde vidět tři křivky patřící hydrogelu nezesíťovanému (černá barva), síťovanému GTA (modrá barva) či  $\text{CaCl}_2$  (červená barva). Jak je vidno, tyto tři křivky se nepatrně liší v některých absorpčních pících. Je to vlivem různého síťování, které má za následek pohlcení různých vlnových délek.

U nezesíťovaného hydrogelu můžeme vidět v oblasti  $3250 \text{ cm}^{-1}$  absorpční pík patřící valenčním vibracím  $-\text{OH}$  a  $-\text{NH}_2$  skupin.  $-\text{NH}_2$  skupiny jsou v tomto případě překryty dominantním píkem  $-\text{OH}$  skupin a  $-\text{NH}_2$  skupiny jsou zde vidět jen jako rameno vytvořené jedním ze dvou píků, které  $-\text{NH}_2$  skupiny za normálních situací tvoří. V oblasti kolem  $2850 - 3000 \text{ cm}^{-1}$  vidíme absorpční oblast valenčních vibrací  $-\text{CH}$  vazeb, která je síťováním potlačena. Další zajímavou částí křivky je absorpční oblast kolem  $1650 - 1550 \text{ cm}^{-1}$ , která náleží symetrickým a nesymetrickým vibracím  $-\text{COO}^-$  skupin alginátu sodného,  $-\text{CONH}$  skupin patřícím vazbě mezi želatinou a alginátem a  $-\text{COOCa}^{2+}$  skupin znázorňující iontovou vazbu mezi alginátem

sodným a želatinou. Dále pak v absorpční oblasti  $1400 - 1200 \text{ cm}^{-1}$  vidíme deformační vibrace  $-\text{CH}$  a  $-\text{C}-\text{C}-$  skupin po kterém následuje dominantní pík v oblasti kolem  $1000 - 1200 \text{ cm}^{-1}$  patřící vazbám  $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$ .

U hydrogelu síťovaného GTA nejsou tak markantní změny oproti nezesíťovanému hydrogelu. Odlišnosti jsou pouze v absorpční oblasti  $3250 \text{ cm}^{-1}$ , kdy pík klesá vlivem síťování  $-\text{NH}_2$  skupin patřícím želatině glutaraldehydem. Oblast kolem  $1650 - 1550 \text{ cm}^{-1}$  se nemění, právě kvůli překryvům jednotlivých  $-\text{COO}^-$ ,  $-\text{N}=\text{CH}$  či  $-\text{CONH}$  skupin. Zde tak jednoznačný vliv síťování na strukturu hydrogelu nemá. Je to vlivem překryvů píků, díky kterým se nedá jednoznačně určit nárůst či pokles absorpčních oblastí patřící kovalentní vazbě.

Strukturní změny, které u hydrogelu nastaly vlivem síťování  $\text{CaCl}_2$  jsou například klesající pík v oblasti  $3250 \text{ cm}^{-1}$  vlivem úbytku  $-\text{OH}$  vazeb z alginátu sodného, které podléhají interakci s  $\text{Ca}^{2+}$  ionty a pík v oblasti  $2900 \text{ cm}^{-1}$  patřící  $-\text{CH}$  vazbám, které jsou vlivem síťování blokovány. Význačná absorpční oblast pro hydrogely síťované  $\text{CaCl}_2$  je v oblasti  $1650 - 1550 \text{ cm}^{-1}$ . Tyto píky patří vazbám mezi  $-\text{COO}^-$  a  $\text{Ca}^{2+}$ , které výrazně ovlivňují intenzitu absorpčního píku a také  $-\text{CONH}$  vazbám. Jednotlivé píky odpovídající různým skupinám se v této oblasti překrývají. Pokles píku v oblasti  $1030 \text{ cm}^{-1}$  je zapříčiněn příspěvkem  $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$  skupin alginátu sodného k iontovým vazbám. Síťovadlo pomocí  $\text{Ca}^{2+}$  iontů vytváří síť tvořenou iontovými vazbami, které dominantní absorpční píky zvyšují či zmenšují. Můžeme tedy říci, že síťování má vliv na strukturní zastoupení látek v hydrogelu.

Problémem při určování infračervené spektroskopie těchto hydrogelů může být i pestrost obsažených skupin ve struktuře výchozích látek.

## ZÁVĚR

Tato práce navazuje na doktorskou práci Saaraie Amarjargal [45], zaměřenou na přípravu hydrogelů na bázi biodegradabilních polymerů želatiny a alginátu sodného. Připravené hydrogely byly s ohledem na budoucí aplikovatelnost charakterizovány v závislosti na podmínkách přípravy (síťovací činidla a jejich koncentrace), botnacích podmínkách (pH, teplota), či složení (poměr želatiny a alginátu sodného). V předložené práci byla sledována optimalizace procesu přípravy hydrogelů vybraných na základě zmíněné doktorské práce. Pro zvýšení modulu pružnosti, pevnosti a soudružnosti bylo jako vhodné řešení zvoleno použití chemických síťovacích činidel - 2,5 % roztoku chloridu vápenatého a 0,02 % roztoku glutaraldehydu. Vlastnosti hydrogelů byly charakterizovány z několika hledisek. V souvislosti s botnacími vlastnostmi byly hydrogely testovány pomocí gravimetrické botnací křivka či dilatometrické metody termomechanické analýzy. Viskoelastické vlastnosti připravených hydrogelů byly popsány pomocí dynamické mechanické analýzy, která byla použita pro měření frekvenčních a teplotních závislostí, a termomechanické analýzy, využitě pro stanovení změny modulu pružnosti v závislosti na botnání. Strukturní vlastnosti hydrogelů byly testovány pomocí infračervené spektroskopie a skenovacího elektronového mikroskopu.

Hydrogely se vlivem odlišných síťovadel použitých po různou dobu síťování ve sledovaných vlastnostech významně liší. U botnacích vlastností hydrogelu síťovaného glutaraldehydem dosahoval rovnovážný stupeň botnání 1050 %, zatímco u hydrogelu síťovaného chloridem vápenatým dosahoval rovnovážný stupeň botnání pouze hodnoty 650 %. U viskoelastických vlastností, konkrétně u modulu pružnosti ve smyku, dosáhl hydrogel síťovaný chloridem vápenatým řádově vyšších hodnot ve srovnání s hydrogelem síťovaným glutaraldehydem. Jak potvrdily snímky skenovacího elektronového mikroskopu, vše může souviset se strukturou - velikostí pórů – připravených hydrogelů. Zatímco struktura hydrogelu síťovaného glutaraldehydem je prostoupena velkými póry, zřejmě jako pozůstatek velkých nehomogenit obsažených v nez síťovaných hydrogelech, struktura hydrogelu síťovaného chloridem vápenatým potvrdila homogenní strukturu, bez viditelnější pravidelné pórovité struktury. Malé póry pozorované při dostatečném zvětšení, tak zřejmě souvisí s nižším stupněm botnání těchto hydrogelů.

Předložené výsledky stanovené výše uvedenými metodami naznačují významné možnosti modifikace sledovaných vlastností pouhou optimalizací výrobního procesu přípravy hydrogelů. Zatímco u hydrogelu síťovaného glutaraldehydem jsou výsledky viskoelastických vlast-



ností prakticky totožné s výsledky publikovanými v práci Amarjargala, u hydrogelu síťovaného chloridem vápenatým bylo dosaženo významného posunu v dosažených parametrech připravených hydrogelů. Výsledky této práce, získání dvou typů matric hydrogelů na bázi želatiny/alginate sodného síťovaných chloridem vápenatým a glutaraldehydem s různými fyzikálními vlastnostmi, budou následně využity pro sledování uvolňování inkorporovaných aktivních látek, jakožto potencionálních medicínálních aplikací – vlhké krytí a hojení ran a popálenin.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MICHÁLEK, J. Vzpomínky na prof. Ing. Otto Wichterleho, DrSc.. *Chemické listy* [online]. 2013, roč. 107, s. 799–826. [cit. 2014-05-16]  
Dostupné z: [http://chemicke-listy.cz/docs/full/2013\\_10\\_801-803.pdf](http://chemicke-listy.cz/docs/full/2013_10_801-803.pdf)
- [2] KOKABI, M., a kol. PVA-clay nanocomposite hydrogels for wound dressing. *Polymer Journal*. [online]. 2007, roč. 43, s. 773–781.  
Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305706004265>
- [3] BARTOVSKÁ, L. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 5. přeprac. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005. 244 s. ISBN 80-708-0579-X.
- [4] POUCHLÝ, J. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. 3. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. 205 s. ISBN 978-80-7080-674-6.
- [5] SEDLAŘÍK, V. *Studijní opory k přednáškám z předmětu: Polymery a životní prostředí*. Nevydáno. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2011. 99 s.
- [6] KASAPIS, S., N., a kol. Modern Biopolymer Science - Bridging the Divide between Fundamental Treatise and Industrial Application. *Elsevier* [online]. 2009. [cit. 2014-05-16].  
Dostupné z: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpMBSBDF1/modern-biopolymer-science>
- [7] AHMED, E., M. a HU, R. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *Journal of Advanced Research* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2013. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1016/j.jare.2013.07.006.  
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2090123213000969>
- [8] PARK, K., a kol. *Biodegradable hydrogels for drug delivery*. Switzerland: Technomic Publ.Comp, 1993. ISBN 978-1566760041.
- [9] SLAUGHTER, B., V., a kol. Hydrogels in Regenerative Medicine. *Advanced Materials* [online]. 2009, roč. 21, č. 32-33, s. 3307-3329. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1002/adma.200802106.  
Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/adma.200802106>
- [10] GIBAS, I., JANIK, H. Review: Synthetic polymer hydrogels for biomedical applications. *Chemistry and Chemical Technology* [online]. Gdansk: Gdansk University of technology, 2010, roč. 4, č. 4, s. 297-304. [cit. 2014-05-16].  
Dostupné z: <http://old.lp.edu.ua/fileadmin/ICCT/journal/Vol.4/Num.4/07.pdf>

- [11] VASHIST, A., SHARIF A., a GROLL, J. Hydrogels: Smart Materials for Drug Delivery. *Oriental Journal Of Chemistry* [online]. 2013, roč. 29, č. 3, s. 861-870. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.13005/ojc/290303.  
Dostupné z: <http://www.orientjchem.org/absdoic.php?snoid=290303>
- [12] SPERLING, L., H., a HU, R. Interpenetrating Polymer Networks. *Polymer Blends Handbook* [online]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2003, s. 417 - 447. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1007/0-306-48244-4\_6  
Dostupné z: [http://link.springer.com/10.1007/0-306-48244-4\\_6](http://link.springer.com/10.1007/0-306-48244-4_6)
- [13] ZHANG, X., WU, D., CHU, C., C. Synthesis and characterization of partially biodegradable, temperature and pH sensitive Dex-MA/PNIPAAm hydrogels. *Biomaterials* [online]. 2004, roč. 25, s. 4719-4730. [cit. 2014-05-16].  
Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15120518>
- [14] GAREIS, R., SCHRIEBER, H. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. 3 vyd. Amsterdam: Elsevier, 2013. 1519 s. ISBN 978-0-12-374626-9.
- [15] BARBUCCI, R. *Hydrogels: biological properties and applications*. Milan: Springer, 2009. 197 s. ISBN 978-88-470-1103-8.
- [16] BHATIA, J., K., KAITH, B., S., a KALIA, S. Polysaccharide Hydrogels: Synthesis, Characterization, and Applications. *Polysaccharide Based Graft Copolymers* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2013, s. 271 - 290. DOI: 10.1007/978-3-642-36566-9\_7.  
Dostupné z: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-36566-9\\_7](http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-36566-9_7)
- [17] RAPHAEL, M., KIMAN, P. *Biomedical applications of hydrogels handbook* [online]. New York: Springer, 2010. [cit. 2014-05-16]. ISBN 978-144-1959-188.  
Dostupné z: <http://link.springer.com/book/10.1007%2F978-1-4419-5919-5>
- [18] IKADA, I., a TSUJI, H. Biodegradable polyesters for medical and ecological applications. *Macromol. Rapid Commun* [online]. Japan: Suzuka University of medical science, 2000, roč. 21, č. 3, s. 117. [cit. 2014-05-16]. Dostupné z: <http://stuff.mit.edu/afs/athena.mit.edu/course/10/10.569/www/ikadaPEreview.pdf>
- [19] SMITH, R. *Biodegradable polymers for industrial applications: properties, processing and applications*. Boca Raton: CRC Press, 2005. 531 s. PDL handbook series. ISBN 08-493-3466-7.
- [20] BASTIOLI, C. *Handbook of biodegradable polymers* [online]. 1. vyd. UK: Rapra Technology, 2005. s. 534 [cit. 2014-05-16]. ISBN 978-185-9573-891.  
Dostupné z: [http://books.google.cz/books/about/Handbook\\_of\\_Biodegradable\\_Polymers.html?id=r9pEs6NsGE4C&redir\\_esc=y](http://books.google.cz/books/about/Handbook_of_Biodegradable_Polymers.html?id=r9pEs6NsGE4C&redir_esc=y)

- [21] HARTMANN, M. Polylactide, a new thermoplastic for extrusion rating. V: *Antec Plastics: The Lone Star, Volume 1: Processing. Society of Plastics Engineers*. Dallas, Texas. ISBN 978-158-7160-981.2001 [cit. 2014-05-16].  
Dostupné z: <http://app.knovel.com/hotlink/toc/id:kpANTECP65/antec-2001-plastics-lone>
- [22] KROISOVÁ, D. *Biodegradovatelné polymery - úvod do problematiky*. 1. vyd. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2009. 78 s. ISBN 978-80-7372-468-9.
- [23] EBNESAJJAD, S. *Handbook of biopolymers and biodegradable plastics: properties, processing and applications*. Waltham, MA: Elsevier, 2013. 462 s. ISBN 14-557-2834-9.
- [24] NAGARSENKER, M., SHINDE, U. Characterization of gelatin-sodium alginate complex coacervation system. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2009, roč. 71, č. 3, s. 313. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.4103/0250-474X.56033.  
Dostupné z: <http://www.ijpsonline.com/text.asp?2009/71/3/313/56033>
- [25] ŠIMŮNEK, A. *Dentální implantologie*. 2. vyd. Hradec Králové: Nucleus HK®, 2008. 296 s. ISBN 978-80-87009-30-7.
- [26] KOUTSKÝ, J. *Biomateriály: properties, processing and applications*. 1. vyd. Plzeň: Vydavatelství Západočeské univerzity, 1997. 72 s. PDL handbook series. ISBN 80-708-2370-4.
- [27] LOSERTOVÁ, M. *Progresivní materiály*. 1. vyd. Ostrava: Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava, 2012. ISBN 978-80-248-2575-5.
- [28] BUENGER, D., TOPUZ F., a GROLL J. Hydrogels in sensing applications. *Progress in Polymer Science* [online]. 2012, roč. 37, č. 12, s. 1678-1719. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2012.09.001.  
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S007967001200086X>
- [29] GENNISSON, J., L., a kol. Assessment of elastic parameters of human skin using dynamic elastography. *IEEE Transactions on Ultrasonics Ferroelectrics and Frequency Control* [online]. 2004, roč. 51, č. 8, s. 980 – 989. [cit. 2014-05-16].  
Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15346586>
- [30] CHRISTENSEN, R. *Theory of viscoelasticity: an introduction*. 2 vyd. New York: Academic Press, 1982. 364 s. ISBN 01-217-4252-0.

- [31] HOFFMAN, A., S. Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2002, roč. 54, č. 1, s. 3-12. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1016/S0169-409X(01)00239-3.  
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X01002393>
- [32] HENNINK, W.,E., a van NOSTRUM, C.,F. Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2012, roč. 64, s. 223-236. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1016/j.addr.2012.09.009.  
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169409X12002694>
- [33] FARIBA G., a kol., Theoretical Description of Hydrogel Swelling: A Review. *Iranian polymer journal* [online]. 2010, roč. 19, č. 5, s. 375 – 398. [cit. 2014-05-16].  
Dostupné z: [http://www.sid.ir/EN/VEWSSID/J\\_pdf/813201011906.pdf](http://www.sid.ir/EN/VEWSSID/J_pdf/813201011906.pdf)
- [34] OKAY, O. *Hydrogel sensors and actuators* [online]. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2010. 1 – 14 s. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1007/978-3-540-75645-3\_1. ISBN: 978-3-540-75645-3.  
Dostupné z: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-75645-3\\_1](http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-75645-3_1)
- [35] GAREIS, R., SCHRIEBER, H. *Gelatine handbook theory and industrial practice*. Weinheim: Wiley-VCH-Verl, 2007. ISBN 978-352-7315-482.
- [36] MACHOLÁN, L. *Sekundární metabolismy*. 2. dopl. vyd. Brno: Masarykova univerzita, 2003, 150 s. ISBN 80-210-3068-2.
- [37] CURCIO, M., a kol. Grafted thermo-responsive gelatin microspheres as delivery systems in triggered drug release. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [online]. 2010, roč. 76, č. 1, s. 48-55. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1016/j.ejpb.2010.05.008.  
Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20580821>
- [38] DERKUS, B., a kol. Alginate and alginate-titanium dioxide nanocomposite as electrode materials for anti-myelin basic protein immunosensing. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2014, roč. 192, s. 294-302. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1016/j.snb.2013.10.128.  
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400513013300>
- [39] GACESA, P. Alginates. *Carbohydrate Polymers* [online]. 1988, roč. 8, č. 3, s. 161-182. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1016/0144-8617(88)90001-X.  
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/014486178890001X>

- [40] BITTNER, J. *Alginátové otiskovací hmoty*. Protetická technologie [online]. Hradec Králové: Vyšší odborná škola zdravotnická, 2011. [cit. 2014-05-16].  
Dostupné z: <http://ptc.zshk.cz/vyuka/alginatove.aspx>
- [41] PAWAR, S., N., a kol. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. *Biomaterials* [online]. 2012, roč. 33, č. 11, s. 3279-3305. [cit. 2014-05-16]. DOI:10.1016/j.biomaterials.2012.01.007.  
Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961212000117>
- [42] YOUNG, S., a kol. Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules. *Journal of Controlled Release* [online]. 2005, roč. 109, č. 1-3, s. 256-274. [cit. 2014-05-16].  
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365905004979>
- [43] MAGNIN, D., SHINDE, U. Physicochemical and structural characterization of a polyanionic matrix of interest in biotechnology, in the pharmaceutical and biomedical fields. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2004, roč. 55, č. 4, s. 437-453. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2003.11.013.  
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861703003199>
- [44] ZUSTIAK, S., P., WEI, Y., LEACH, B., J. Protein–Hydrogel Interactions in Tissue Engineering: Mechanisms and Applications. *Tissue Engineering Part B: Reviews* [online]. 2013, roč. 19, č. 2, s. 160-171. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1089/ten.teb.2012.0458.  
Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23150926>
- [45] AMARJARGAL, S. Hydrogels for biomedical applications. Zlín, 2012. Doktorská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [46] GARCHA, L., AGUILAR, M., R., ROMAN, J., S. *Biodegradable Hydrogels for Controlled Drug Release* [online]. New York: Springer New York, 2010. 147-156 s. [cit. 2014-05-16]. ISBN: 978-1-4419-5919-5. DOI: 10.1007/978-1-4419-5919-5\_8.  
Dostupné z: [http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4419-5919-5\\_8](http://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4419-5919-5_8)
- [47] ILIC-STOJANOVIC, S., a kol. Stimuli-sensitive hydrogels for pharmaceutical and medical applications: Mechanisms and Applications. *Facta universitatis - series: Physics, Chemistry and Technology* [online]. 2011, roč. 9, č. 1, s. 37-56. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.2298/FUPCT1101037I.  
Dostupné z: <http://www.doiserbia.nb.rs/Article.aspx?ID=0354-46561101037I>

- [48] GULREZ, S., K., H., AL-ASSAF, S., PHILLIPS, G., O. *Progress in Molecular and Environmental Bioengineering - From Analysis and Modeling to Technology Applications* [online]. Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications, Wrexham, UK: Hydrocolloids Research Centre Glyndwr University, 2011. 117-150 s. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.5772/24553.  
Dostupné z: <http://www.intechopen.com/books/progress-in-molecular-and-environmental-bioengineering-from-analysis-and-modeling-to-technology-applications/hydrogels-methods-of-preparation-characterisation-and-applications>
- [49] BOATENG, J., S., a kol. Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2008, roč. 97, č. 8, s. 2892-2923. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1002/jps.21210.  
Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jps.21210>
- [50] KIM, S., W. Hydrogels for Controlled Drug Release: A review. *Bioactive Polymeric Systems* [online]. Boston, MA: Springer US, 1985, roč. 97, č. 8, s. 143. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1007/978-1-4757-0405-1\_6.  
Dostupné z: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4757-0405-1\\_6](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4757-0405-1_6)
- [51] CHEN, Li., a kol. Controlled release of urea encapsulated by starch-g-poly(l-lactide). *Carbohydrate Polymers* [online]. 2008, vol. 72, issue 2, s. 342-348. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2007.09.003.  
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861707004456>
- [52] KAZANSKII, K., S. Chemistry and physics of "agricultural" hydrogels. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2008, roč. 72, s. 2, s. 97. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1007/3-540-55109-3\_3.  
Dostupné z: [http://link.springer.com/10.1007/3-540-55109-3\\_3](http://link.springer.com/10.1007/3-540-55109-3_3)
- [53] DAVIES, L. C., NOVAIS J., M., MARTINS-DIAS, S. Detoxification of olive mill wastewater using superabsorbent polymers. *Environmental Technology* [online]. 2004, roč. 25, č. 1, s. 89-100. [cit. 2014-05-16]. DOI:10.1080/09593330409355441.  
Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09593330409355441>
- [54] MASUDA, F. Trends in the Development of Superabsorbent Polymers for Diapers *American chemical society* [online]. 1994, roč. 573, č. 7, s. 88 -99. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1021/bk-1994-0573.ch007.  
Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/bk-1994-0573.ch007>

- [55] JIN, R. Enzymatically-crosslinked injectable hydrogels based on biomimetic dextran–hyaluronic acid conjugates for cartilage tissue engineering. *Biomaterials* [online]. 2010, roč. 31, č. 11, s. 3103-3113. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.01.013.  
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961210000141>
- [56] SUVAKANTA D., a kol. Review Kinetic Modeling On Drug Release From Controlled Drug Delivery Systém. *Acta poloniae pharmaceutica – drug research* [online]. 2010, roč. 67, č. 3, 217–223. [cit. 2014-05-16]. ISSN 0001-6837.  
Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20524422>
- [57] LOCHMANN, O. *Základy antimikrobní terapie*, Praha: TRITON, 1999. ISBN 80-7254-005-X
- [58] LANCINI, G., PARENTI F., GALLO, G., G. *Antibiotics: a multidisciplinary approach*. New York: Plenum Press, 1995, 278 s. ISBN 03-064-4924-2.
- [59] PEPPAS, N. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [online]. 2000, vol. 50, č. 1, s. 27-46. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1016/S0939-6411(00)00090-4.  
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0939641100000904>
- [60] AMIREZ, C., N., ANTCZAK, C., a DJABALLAH H. Cell viability assessment: toward content-rich platforms. *Expert Opinion on Drug Discovery* [online]. 2010, roč. 5, č. 3, s. 223-233 [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1517/17460441003596685.  
Dostupné z: <http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1517/17460441003596685>
- [61] NEUBURGER, N., A. a EICHINGER, B., E. Critical experimental test of the Flory-Rehner theory of swelling. *Macromolecules* [online]. 1988, roč. 21, č. 10, s. 3060-3070. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1021/ma00188a026.  
Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ma00188a026>
- [62] DELIGKARIS, K., a kol. Hydrogel-based devices for biomedical applications. *Sensors and Actuators B: Chemical* [online]. 2010, roč. 147, č. 2, s. 765-774. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1016/j.snb.2010.03.083.  
Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0925400510003096>
- [63] MACHÁČEK, L. *Struktura a vlastnosti materiálů*. 2. vyd. Brno: Vysoké učení technické v Brně, 1986. ISBN 55-556-87



- [64] XU, Z., P., a kol. Controlled release of ketorolac through nanocomposite films of hydrogel and LDH nanoparticles. *Journal of Nanoparticle Research* [online]. 2011, roč. 13, č. 3, s. 1253-1264. [cit. 2014-05-16]. DOI: 10.1007/s11051-010-0118-9.  
Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11051-010-0118-9>
- [65] WISE, D., L., a RHODES, CH., T. *Handbook of pharmaceutical controlled release technology*. 4. vyd. New York: Marcel Dekker, 2000. 890 s. ISBN 08-247-0369-3.
- [66] BANKER, G., S., a RHODES, CH., T. *Modern pharmaceuticals*. 4. vyd. New York: Marcel Dekker, 2002, 838 s. ISBN 08-247-0674-9.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

TMA	Termomechanická analýza
DMA	Dynamická mechanická analýza
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
-OH	Hydroxylová skupina
-COOH	Karboxylová skupina
-CONH-	Amidická skupina
-CONH <sub>2</sub>	Primární amidická skupina
-SO <sub>3</sub> H	Sulfonová skupina
M <sub>c</sub>	Molekulová hmotnost mezi vazbami
pH	Jednotka kyselosti a zásaditosti prostředí
tan δ	Ztrátový činitel
MPa	Jednotka tlaku- mega pascal
°C	Jednotka teploty
NaOH	Hydroxid sodný
-NH <sub>2</sub>	Aminová skupina
UV	Ultrafialové záření
Ca <sup>2+</sup>	Vápenatý kationt
ml/g	Mililitr na gram
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
NMR	Nukleární magnetická resonance
AFM	Mikroskopie atomárních sil
TGA	Termogravimetrická metoda
DTA	Diferenční termická analýza
DSC	Diferenciální skenovací kalorimetrie

UV-VIS	Ultrafialovo viditelná spektroskopie
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie
XRF	Rentgenová fluorescenční analýza
$\Delta G_{system}$	Gibbsova volná energie systému
$\Delta G_{mix}$	Gibbsova termodynamická síla
$\Delta G_{elastic}$	Gibbsova retrakční síla
$\mu_1$	Chemický potenciál vody v systému
$\mu_{1,0}$	Chemický potenciál čistě nabotnané vody
$\Delta\mu_{mix}$	Příspěvek termodynamické síly ke změně chemického potenciálu
$\Delta\mu_{elastic}$	Příspěvek retrační síly ke změně chemického potenciálu
$\chi_{xg}$	Interakční parametr
$V_1$	Molární objem vody
$\bar{V}$	Specifický objem polymeru
$V_{2,s}$	Objemový podíl nabotnaného gelu
$M_n$	Molekulová hmotnost polymerního řetězce
R	Molární plynová konstanta
T	Teplota
$V_{2,r}$	Objemový podíl polymeru v relaxovaném stavu
$\varphi$	Funkcionalita síťovacího činidla
$r_0$	Průměrná vzdálenost mezi po sobě jdoucími vazbami
$\xi$	Velikost oka sítě
l	Délka vazby
$C_n$	Charakteristický Floryho poměr polymeru
$M_r$	Molekulová hmotnost opakující se jednotky
$\Delta\mu_{ion}$	Chemický potenciál iontů

---

$m_b$	Hmotnost nabotnaného hydrogelu
$m_s$	Hmotnost suchého hydrogelu
$\sigma$	Napětí
$\varepsilon$	Poměrná deformace
$\delta$	Fázové zpoždění
$\pi$	Pí
$\varepsilon_0$	Amplituda smykového napětí
$\sigma_0$	Amplituda poměrné deformace
$t$	Čas
$\omega$	Frekvence oscilace
$f$	Frekvence
$G^*$	Komplexní modul pružnosti ve smyku
$G'$	Modul pružnosti ve smyku
$G''$	Ztrátový modul
$\eta^*$	Komplexní viskozita
g/mol	Jednotka molární hmotnosti- gram na mol
p. a.	Čistota látky vhodná pro analýzy
Hz	Jednotka frekvence Herz
kV	Jednotka napětí- kilo volt
ATR	Nástavec pro infračervenou spektroskopii
w. %	Hmotnostní procenta
GTA	Glutaraldehyd
CaCl <sub>2</sub>	Chlorid vápenatý
$\mu\text{m}$	Jednotka vzdálenosti- mikrometr
$E^*$	Komplexní modul pružnosti v tlaku
$E'$	Modul pružnosti v tlaku

---

$E''$	Ztrátový modul
$\nu$	Poissonův poměr
$\text{cm}^{-1}$	Jednotka vlnové délky
-CH	Methylenová skupina
-COOCa <sup>2+</sup>	Iontová vazba mezi karboxylovou skupinou a vápenatým kationtem
-C-O-C-	Etherová skupina
-N=CH	Nitrylová skupina

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1: Jednotlivé situace, které mohou ve struktuře hydrogelu nastat. Na obrázku A) ideální síť s čtyřfunkčním síťováním, takzvaná Gaussovská síť; B) síť s multifunkčním síťováním; C) molekulární zapleteniny D) nezreagované funkční skupiny v hydrogelech E) řetězové smyčky; <math>M_c</math> je molekulová hmotnost mezi vazbami. Obrázky D) a E) nevykazují mechanickou pevnost ani fyzikální vlastnosti sítě.</i>	13
<i>Obrázek 2: Schéma rozdělení hydrogelů.</i>	14
<i>Obrázek 3: Průběh botnání a jeho dvě fáze.</i>	20
<i>Obrázek 4: Typy kapalin nacházející se v nabotnaném hydrogelu.</i>	21
<i>Obrázek 5: Strukturní vzorec želatiny.</i>	22
<i>Obrázek 6: Strukturní vzorec alginátu sodného.</i>	23
<i>Obrázek 7: Fyzikálně a chemicky síťování.</i>	25
<i>Obrázek 8: Vztah mezi želatinou a alginátem sodným.</i>	26
<i>Obrázek 9: Roubování polymeru.</i>	27
<i>Obrázek 10: Síťování pomocí glutaraldehydu.</i>	28
<i>Obrázek 11: Síťování pomocí chloridu vápenatého.</i>	29
<i>Obrázek 12: Využití hydrogelů v zemědělství, jakožto sorbent.</i>	30
<i>Obrázek 13: Použití hydrogelu jako obvazu na hojení ran.</i>	31
<i>Obrázek 14: Umístění aktivní látky ve struktuře hydrogelu.</i>	32
<i>Obrázek 15: Fázový posun poměrné deformace proti napětí.</i>	38
<i>Obrázek 16: Kontinuální a diskontinuální uvolňování léčiv v krevní plazmě.</i>	41
<i>Obrázek 17: Schéma přístroje Muttler Toledo a soustavy pro umístění vzorku.</i>	47
<i>Obrázek 18: Botnací křivky hydrogelů síťovaných a) GTA, b) <math>\text{CaCl}_2</math>.</i>	49
<i>Obrázek 19: Závislost zvětšení výšky na čase pro hydrogely síťované GTA a <math>\text{CaCl}_2</math> ponořené ve vodě.</i>	51
<i>Obrázek 20: Frekvenční závislost hydrogelů síťovaných GTA a <math>\text{CaCl}_2</math> při 37 °C.</i>	52

<i>Obrázek 21: Ztrátový činitel <math>\tan \delta</math> v závislosti na frekvenci pro hydrogel síťovaný GTA a <math>\text{CaCl}_2</math> při 37°C.....</i>	<i>53</i>
<i>Obrázek 22: Závislost hydrogelů při teplotním rozsahu 5 – 42 °C, 42 – 5 °C a kmitání 5 Hz.....</i>	<i>54</i>
<i>Obrázek 23: Ztrátový činitel u teplotní závislosti pro 5 Hz a teplotní rozsahy 5 – 42 °C a 42 – 5 °C.....</i>	<i>55</i>
<i>Obrázek 24: Modul pružnosti v tlaku vypočítaný z termomechanické analýzy.....</i>	<i>56</i>
<i>Obrázek 25: Ztrátový úhel <math>\tan \delta</math> pro dynamickou tlakovou deformaci.....</i>	<i>57</i>
<i>Obrázek 26: SEM 0,25 kx zvětšené snímky hydrogelů síťovaných a) GTA, b) <math>\text{CaCl}_2</math>, c) nesíťovaný.....</i>	<i>59</i>
<i>Obrázek 27: SEM 2,5 kx zvětšené snímky hydrogelů síťovaných a) GTA, b) <math>\text{CaCl}_2</math>.....</i>	<i>59</i>
<i>Obrázek 28: SEM 5 kx zvětšené snímky hydrogelů síťovaných a) GTA, b) <math>\text{CaCl}_2</math>, c) nesíťovaný.....</i>	<i>60</i>
<i>Obrázek 29: Infračervená spektroskopie různě síťovaných hydrogelů.....</i>	<i>61</i>

## SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1: Hmotnostní zastoupení látek v hydrogelu.....</i>	<i>45</i>
----------------------------------------------------------------	-----------



