

Praktické aplikace chitosanu a jeho derivátů

Lucie Lamačková

Bakalářská práce
2018



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Lucie Lamačková**
Osobní číslo: **T150078**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Praktické aplikace chitosanu a jeho derivátů**

Zásady pro vypracování:

1. Klasifikujte polysacharidy.
2. Charakterizujte chitin, chitosan a jeho deriváty (struktura, vlastnosti).
3. Zaměřte se na praktické aplikace, zejména kosmetiku, zdravotnictví.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. RINUADO, M. Chitin and chitosan: Properties and applications. Progress in Polymer Science. 2006, 31, ISSN 0079-6700.
2. VAVŘÍKOVÁ, E., VINŠOVÁ, J. Chitosan a jeho farmaceutické aplikace. Chemické listy. 2009, ISSN 1213-7103.
3. RIVA, R., RAGELLE, H., RIEUX, A. et al. Chitosan and Chitosan Derivatives in Drug Delivery and Tissue Engineering. Advances in Polymer Science. 2011, 244, DOI: 10.1007/12_2011_137.
4. WILLIAMS, P. A. Renewable Resources for Functional Polymers and Biomaterials - Polysaccharides, Proteins and Polyesters. Royal Society of Chemistry. 2011. ISBN 978-1-84973-245-1.
5. Databáze elektronických knih a časopisů (Science Direct, Web of Science,...)

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Jana Sedlaříková, Ph.D.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce:

5. února 2018

Termín odevzdání bakalářské práce:

18. května 2018

Ve Zlíně dne 5. února 2018



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.

děkan



doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.

ředitel ústavu

Příjmení a jméno: LAMAČKOVÁ LUCIE

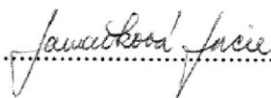
Obor: TVTKD

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/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 ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/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 diplomovou/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 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ 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 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/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 diplomové/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 diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/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 15.5.2018



¹⁾ 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 nevydávalečně 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.*

²⁾ *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).*

³⁾ *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

Bakalářská práce pojednává o chitosanu a jeho derivátech jako významných biopolymerech pro řadu praktických aplikací. V první části práce jsou popsány a klasifikovány běžné polysacharidy, dále je charakterizován chitosan, jeho struktura a vlastnosti. Druhá část obsahuje přehled vybraných chitosanových derivátů a zabývá se praktickým využitím těchto látek, zejména ve zdravotnictví, farmacii a potravinářském průmyslu.

Klíčová slova: chitin, chitosan, polysacharidy, zdravotnictví, potravinářství, kosmetika

ABSTRACT

The bachelor thesis discusses the chitosan and its derivatives as important biopolymers for many practical applications. In the first part common polysaccharides are described and classified. The attention is also paid to the characterization of chitosan, its structure and properties. The second section includes the overview of selected chitosan derivatives and deals with their practical use, especially in health care, pharmaceutical and food industry.

Keywords: chitin, chitosan, polysaccharides, medical care, food industry, cosmetics

Poděkování patří mé vedoucí bakalářské práce Ing. Janě Sedlaříkové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a vstřícný přístup při psaní práce.

Dále bych chtěla poděkovat své rodině, příteli a přátelům za podporu.

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

OBSAH

ÚVOD	8
I TEORETICKÁ ČÁST	9
1 POLYSACHARIDY	10
1.1 KLASIFIKACE POLYSACHARIDŮ	10
1.1.1 Škrob	10
1.1.2 Celulóza.....	11
1.1.3 Gummy.....	12
1.1.4 Chitin.....	12
1.1.5 Glykogen	13
1.1.6 Kyselina hyaluronová.....	13
2 CHITOSAN	15
2.1 STRUKTURA CHITOSANU	15
2.2 VÝROBA CHITOSANU	16
2.3 VLASTNOSTI CHITOSANU	19
3 DERIVÁTY CHITOSANU	20
3.1 TRIMETHYL CHITOSAN	20
3.2 MONO-KARBOXYMETHYL CHITOSAN	21
3.3 THIOLOVANÉ DERIVÁTY	22
3.4 N-METHYLEN FOSFONOVÉ DERIVÁTY	23
3.5 AMFIFILNÍ DERIVÁTY CHITOSANU	23
4 PRAKTICKÉ APLIKACE CHITOSANU A JEHO DERIVÁTŮ	25
4.1 ZDRAVOTNICTVÍ.....	25
4.1.1 Chitosan jako antimikrobiální látka	26
4.1.2 Systémy pro řízené uvolňování léčiv	26
4.1.2.1 Mukoadhezivní vlastnosti	27
4.1.3 Léčba nádorových onemocnění.....	29
4.1.4 Nanovlákná a nanočástice	30
4.1.5 Cévní náhrady	31
4.2 KOSMETIKA.....	32
4.3 POTRAVINÁŘSTVÍ.....	32
4.4 TEXTILNÍ PRŮMYSL	33
4.5 DALŠÍ VYUŽITÍ CHITOSANU	35
ZÁVĚR	37
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	38
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	42
SEZNAM OBRÁZKŮ	43
SEZNAM TABULEK	44

ÚVOD

V dnešní době stále narůstá potřeba po vývoji přírodních a vysoce biodegradovatelných materiálů, ať už se jedná o průmysl potravinářský, zdravotnický, zemědělský, textilní či kosmetický.

Polysacharidy jsou přírodní nebo syntetické makromolekuly složené z více než deseti monosacharidů nebo jejich derivátů. V přírodě patří k nejrozšířenějším sloučeninám a mají řadu významných funkcí. Známymi zástupci jsou celulóza, škrob nebo chitin. Chitin je součástí mykotických buněčných stěn, exoskeletů a vnitřní struktury bezobratlých živočichů.

Deacetylací chitinu je získáván chitosan, což je po celulóze druhý nejrozšířenější přírodní polysacharid. Běžně je rozpustný v kyselém prostředí, kdy aminoskupiny v jeho molekule získávají kladný náboj, naopak je nerozpustný ve vodě a organických rozpouštědlech. Má vynikající biologické vlastnosti, je netoxický, biokompatibilní a biodegradabilní.

Tento biopolymer má široký potenciál využití a lze ho aplikovat v mnoha oborech. Nejvíce je testován pro medicínské účely, používá se při antimikrobiální úpravě textilií, pro úpravu povrchových vod – pitné vody a k čištění odpadních vod. Využívá se pro kosmetické účely, v potravinářství a v dalších oborech.

Cílem této práce bylo klasifikovat běžné skupiny polysacharidů, dále pak se zaměřit na chitin, chitosan a jeho deriváty a shrnout významné aplikace těchto látek v praxi.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 POLYSACHARIDY

Polysacharidy jsou přírodní nebo syntetické makromolekuly složené z více než deseti monosacharidů nebo jejich derivátů. Počet monosacharidových jednotek obvykle bývá vyšší a to okolo 100. Jednotlivé monosacharidy jsou vzájemně vázány glykosidovou vazbou.

Přírodní polysacharidy mají obvykle pravidelnou strukturu, jsou složeny ze strukturních stavebních jednotek, které obsahují dva nebo více monosacharidů opakující se pravidelně v řetězci v identickém prostorovém uspořádání. Určením strukturní stavební jednotky je definována konfigurace makromolekuly polysacharidu a jeho konformace.

Polysacharidy jsou polární makromolekuly, které vytváří intra- a intermolekulární vodíkové vazby, komplexy s kationty a dále tvoří viskózní roztoky a gely.

V přírodě patří k nejrozšířenějším sloučeninám a mají řadu významných funkcí, jako jsou například:

- stavební – celulóza, chitin
- zásobní – glykogen, škrob
- ochranná – slizy, gemy.

Mají široké využití v potravinářství, farmacii a v dalších průmyslových odvětvích [1], [2].

1.1 Klasifikace polysacharidů

Polysacharidy mohou být rozděleny podle původu na rostlinné (škrob, celulóza, gemy) a živočišné (glykogen, chitin, heparin). Podle funkce se pak dělí na zásobní (glykogen, škrob) a stavební typy (chitin, celulóza) [1]. Vybrané polysacharidy budou blíže charakterizovány v následujících kapitolách.

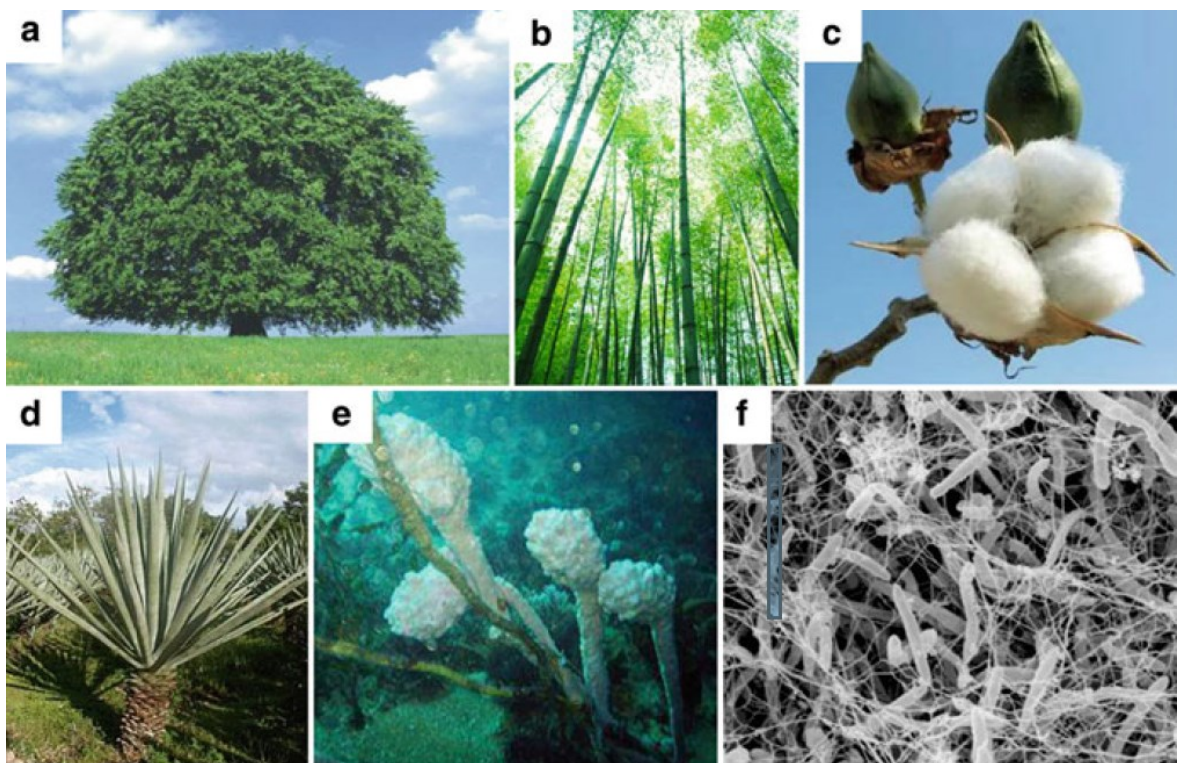
1.1.1 Škrob

Škrob patří mezi fyziologicky a hospodářsky nejdůležitější polysacharidy. Ukládá se v zásobních orgánech rostlin (např. hlízách brambor nebo v semenech kukuřice, pšenice a rýže) ve formě škrobových zrn, která se nerozpouštějí ve studené vodě. Hlavními složkami škrobu jsou dva α -D-glukany – lineární amylosa s α -(1 \rightarrow 4) glykosidovými vazbami a větvený amylopektin, obsahující α -(1 \rightarrow 4) a α -(1 \rightarrow 6) vazby. Škrobová zrna obsahují i menší množství dalších složek jako jsou lipidy a proteiny [3, s. 318].

Škrob se využívá jak v nativní formě, tak ve formě derivátů. Deriváty škrobu se používají do dezertů, zmrzlin, cukrovinek, dále na zahušťování omáček, dresinků, kečupů a jsou součástí uzenin a masných výrobků [2].

1.1.2 Celulóza

Celulóza je nejhojnější polydisperzní lineární biopolymer tvořený z poly- β (1,4)-D-glukosových jednotek. Disponuje velmi silnými intramolekulárními vodíkovými vazbami. Z toho důvodu je nerozpustná v běžných rozpouštědlech a rozpouští se např. ve směsi dimethylsulfoxidu s paraformaldehydem nebo v N-methylmorfolinu [4, s. 1013], [5, s. 213-215]. Celulóza je součástí rostlin, hub i živočichů, přičemž největším zdrojem jsou rostlinná vlákna (Obr. 1) [6, s. 290-291].



Obr. 1. Vybrané významné zdroje celulózy: (a) buk, (b) bambus, (c) bavlník, (d) *Agave sisalana* (e) tunicin, (f) *Gluconacetobacter xylinus* [6, s. 291]

Obvykle se používají deriváty celulózy, které jsou lépe rozpustné. Mezi ně patří forma oxidované celulózy, která působí hemostaticky a biologicky se odbourává ve fyziologickém

prostředí. Nanovlákná z ní připravená mohou být použita v oblasti krytí ran, a to jak pro vnější poranění, tak i pro ošetření vnitřních ran při operaci [4, s. 1013].

Další deriváty se používají jako zahušťovací prostředky do potravin a jsou součástí různých forem léků [2].

1.1.3 Gumy

Gumy jsou přírodní polysacharidy obsahující jeden nebo více typů monosacharidových jednotek nebo jejich deriváty, které vytváří nejrůznější vazby a struktury. Vzhledem ke své udržitelnosti představují jednu z nejrozšířenějších surovin. Mají rozsáhlé průmyslové aplikace, podílí se na tvorbě viskózních roztoků nebo na stabilizaci emulzních systémů [6, s. 641-642], [6, s. 1934-1937]. Jde o vysoce heterogenní komplexní polysacharidy s různým podílem proteinu a dalších minoritních složek (př. lipidy, polyfenoly). Chemické složení, fyzikální vlastnosti a kvalita těchto materiálů závisí na botanickém druhu a do velké míry také na klimatických podmínkách nebo období sběru. Rostlinné typy jsou produkovány stromy rodu *Acacia* a *Prosopis*.

Gumy mohou být aplikovány jako zahušťovadla, emulgátory, stabilizátory a obalové materiály [6, s. 641].

1.1.4 Chitin

Chitin je druhým nejdůležitějším přírodním polymerem na světě, který byl objeven v roce 1811 francouzským profesorem Henri Braconnotem v houbách. Slouží především jako konstrukční prvek podporující buňky a povrch těla. Je součástí mykotických buněčných stěn, exoskeletů a vnitřní struktury bezobratlých živočichů (např. krunýř korýšů, krovky hmyzu). Chitin je bílý, tvrdý a nepružný materiál, v jehož struktuře jsou monomerní jednotky N-acetylglukosaminu propojeny β -(1 \rightarrow 4) glykosidovými vazbami [6, s. 218-222].

Chitin se vyskytuje ve třech polymorfních formách, α , β a γ , přičemž α -chitin je nejhojnější. α -chitin je přítomen v buněčné stěně plísni, kvasinek, kutikule hmyzu, členovců, ve skořápkách hlístic a vířníků. Tato forma chitinu je přítomna v humrech, ve šlachách krabů a v mořské řase *Phacocystis*. β -chitin se nachází v blánách olihni a rozsivek *Thalassiosira fluviatilis*. Chitin je nerozpustný ve většině rozpouštědel, což omezuje jeho použití [6, s. 218-222], [7].

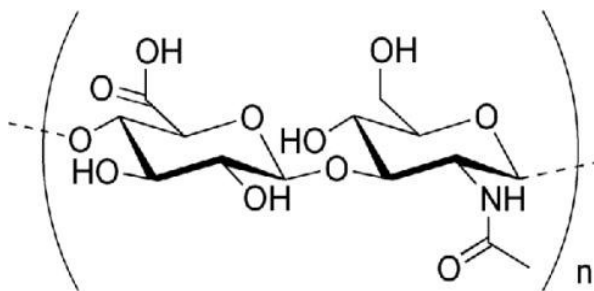
1.1.5 Glykogen

Glykogen je polysacharid živočišného původu, který se vyskytuje v buňkách kosterního svalstva, v srdečním svalu a v játrech. Nachází se i ve vyšších houbách, plísních a kvasinkách [1].

Struktura glykogenu se skládá z α -(1→4) spojených glukózových zbytků, které vytvářejí řetězce s 11–14 jednotkami. Molekula glykogenu je tvořena třemi různými druhy řetězců: A-řetězce jsou nerozvětvené, B-řetězce jsou rozvětvené a C-řetězec má volnou redukční skupinu. Rozvětvení B-řetězců je rovnoměrně rozloženo, každý B-řetězec má dvě větve, které vytvářejí další řetězce A nebo B. Mezi větvemi existují čtyři jednotky anhydroglukózy. Molekula glykogenu je sférická a je uspořádána do soustředných vrstev. Každá vrstva má stejnou délku a celá molekula se nazývá β -částice [8, s. 34-35]. Výroba glykogenu je závislá na podmínkách koncentrace dusičnanů a intenzity světla. Vyšší produkce je způsobená nedostatkem dusičnanů, na druhou stranu, nižší koncentrace dusičnanů podporuje akumulaci glykogenu, ovšem dochází k nižší produkci biomasy [6, s. 5].

1.1.6 Kyselina hyaluronová

Kyselina hyaluronová (HA), označovaná také jako hyaluronan, je vysokomolekulární polysacharid, složený z hexosaminu (N-acetylglukosaminu) a kyseliny uronové (D-glukuronové). Přirozeně se vyskytuje v extracelulární matrici, pojivové, epitelové, nervové tkáni a pupeční šňůře. HA je charakteristická svými antioxidačními účinky, kdy působí proti volným radikálům [5, s. 223, 224]. Specifickou vlastností je vysoká molekulová hmotnost, vysoká kapacita pro zadržování vody a viskoelastická, která určuje i fyziologickou funkci v tkáních. Mladá pokožka je díky vyššímu obsahu kyseliny hyaluronové elastická a hydratovaná [6, s. 598, 599]. Díky výjimečným fyzikálně-chemickým vlastnostem je hyaluronan aplikován v medicíně, například jako výživa kloubů. Další typy jsou využívány jako výplň obličejových vrásek nebo v oční chirurgii [6, s. 598, 599]. Struktura hyaluronanu je znázorněna na Obr. 2.



Obr. 2. Kyselina hyaluronová [6, s. 1308]

2 CHITOSAN

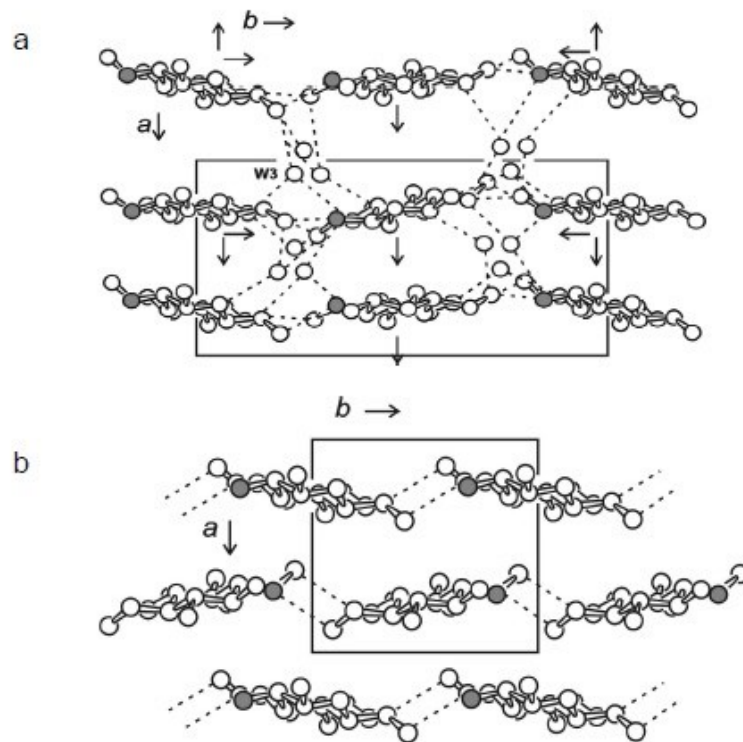
Chitosan patří mezi přírodní polymery a je druhým nejrozšířenějším polysacharidem po celulóze.

Je získáván z hmyzu, buněčné stěny hub a mořských korýšů (krabi, humři, sépie, krevety, chobotnice). Ulity korýšů se skládají z 30 až 40 % bílkovin, 30 až 50 % uhličitanu vápenatého, 20 až 30% chitinu a dále obsahují pigmenty (astaxanthin, kanthaxanthin, lutein a β -karoten) [6, s. 222-242].

2.1 Struktura chitosanu

Chitosan patří mezi lineární polysacharidy na bázi (1 \rightarrow 4)-2-amino-2-deoxy- β -D-glukanu. Byla u něj prokázána přítomnost čtyř krystalických polymorfních struktur, a to tři hydratované, které snadno vytvářejí ve vodě rozpustné soli s organickými a minerálními kyselinami, a jedna nehydratovaná forma, která vzniká zahříváním hydratovaného chitosanu na teplotu 200 °C (Obr. 3). Dehydratací se zkracují vzdálenosti vrcholů struktur a dochází k oddálení jednotlivých řetězců. Nehydratované krystaly jsou nerozpustné v kyselinách, netvoří s kovovými ionty komplexy a ztrácí funkci biomateriálů.

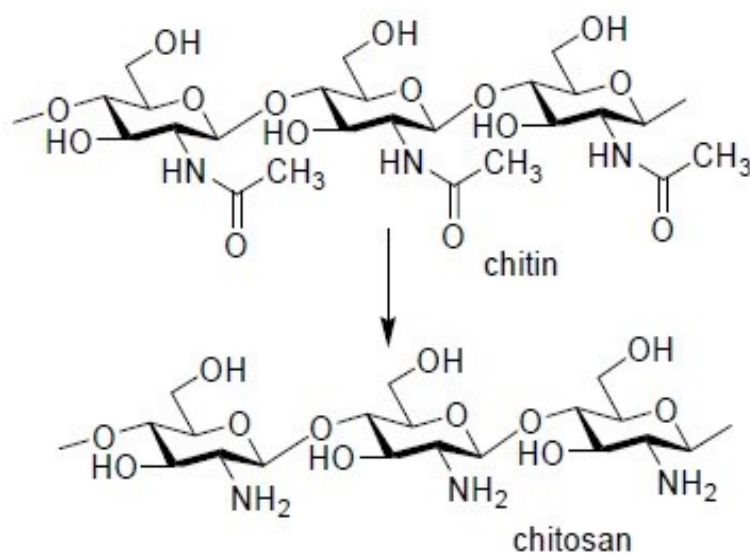
Molekula chitosanu má tři reaktivní centra: primární aminoskupinu, primární a sekundární hydroxyskupinu. Aminoskupina snadno podléhá kvarternizaci, čímž se zvýší rozpustnost chitosanu ve vodě a tvoří komplexy s ionty kovů. Primární hydroxyskupina bývá nejčastěji substituována aktivní složkou, léčivem nebo skupinou, která je zodpovědná za cílení léčiva. Sekundární hydroxyskupina je modifikována především za účelem zvýšení rozpustnosti ve vodě [9].



Obr. 3. a) Hydratovaný chitosan, b) nehydratovaný chitosan [9]

2.2 Výroba chitosanu

Chitosan se získává alkalickou deacetylací chitinu (Obr. 4), několikahodinovým varem s 50% hydroxidem sodným nebo enzymatickým působením *N*-deacetylasy. Stupeň deacetylace chitinu se udává v procentech, obvykle v rozmezí 60–100 % [6], [9], [10, s. 914].



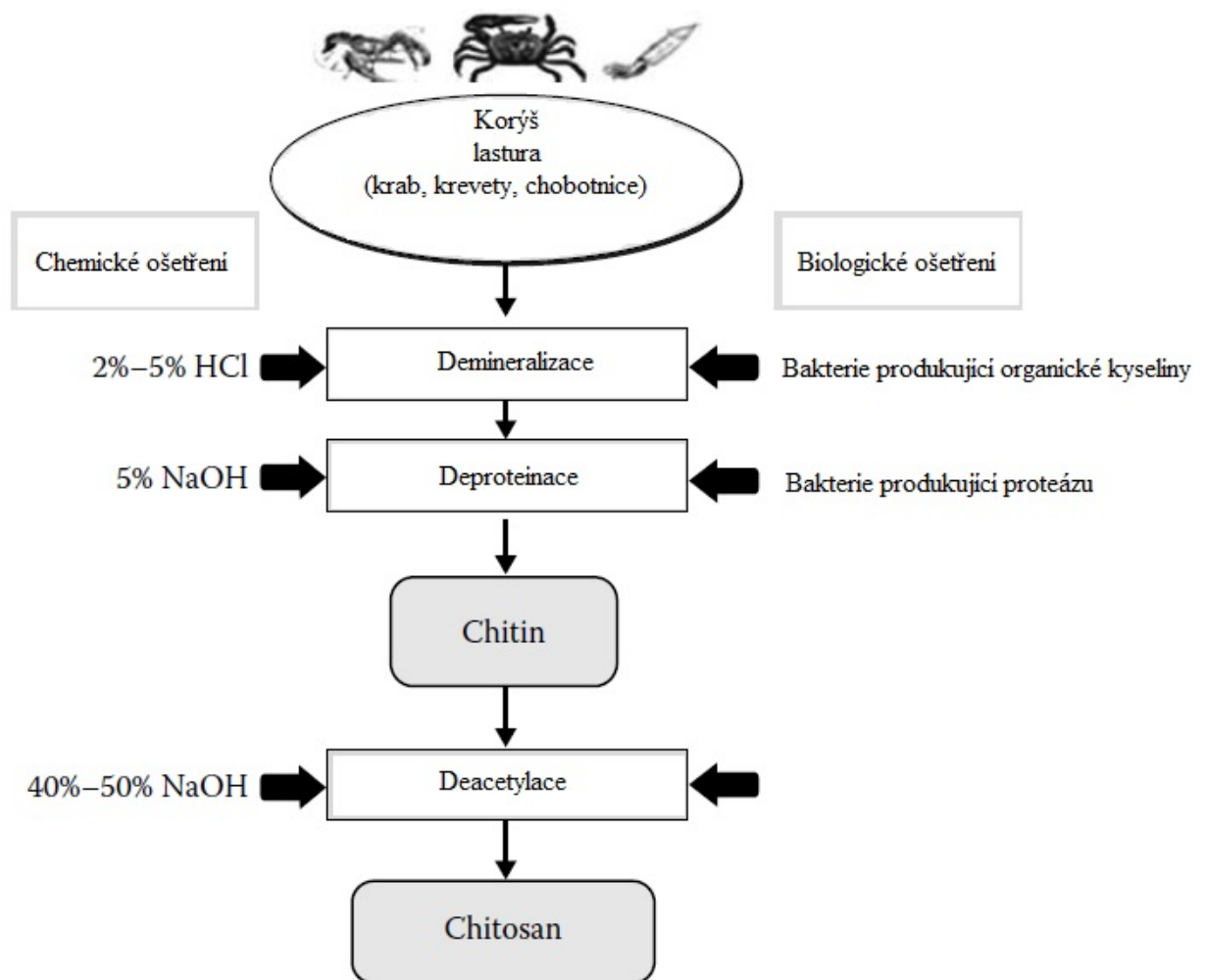
Obr. 4. Deacetylace chitinu [9]

Běžně výroba chitosanu zahrnuje čtyři fáze, a to demineralizaci, deproteinizaci, odbarvení a deacetylaci (Obr. 5). Demineralizace se obvykle provádí za použití kyseliny, jako je kyselina chlorovodíková, dusičná, octová nebo kyselina mravenčí (až 10%). Obsah minerálů v exoskeletu není stejný pro všechny druhy korýšů. K míchání dochází za pokojové teploty, aby došlo k rozpuštění uhličitanu vápenatého za použití kyseliny chlorovodíkové v koncentraci 0,2–2 M po dobu 1–48 hodin při teplotě v rozmezí od 0 °C do 100 °C. Obsah popela v provedené demineralizaci je indikátorem účinnosti procesu.

Dalším krokem je deproteinace, jelikož chitin se přirozeně vyskytuje spolu s kovalentně vázanými proteiny, prostřednictvím aspartylového nebo histidylového zbytku, nebo jejich kombinací, přičemž se vytváří stabilní komplexy. Deproteinace chitinu se obvykle provádí v alkalickém prostředí. Skořápky jsou namočeny v roztoku hydroxidu sodného nebo draselného při 65–100 °C, čímž dochází k oddělení proteinu od pevné složky garnátů. Aby nedošlo k oxidaci produktů, proces se obvykle provádí v dusíkové atmosféře a v přítomnosti tetrahydridoboritanu sodného (NaBH₄). Po ukončení deproteinace je bílkovinný hydrolyzát odstraněn filtrací [6, s. 224-226].

Chitin získaný po demineralizaci a deproteinaci je zbarvený produkt. Z tohoto důvodu se provádí odbarvení pomocí rozpouštědla anebo oxidačním činidlem, čímž se získá krémově bílý prášek.

Deacetylací, tj. odstraněním acetylové skupiny, se chitin převádí na chitosan. Deacetylace se provádí homogenním, nebo heterogenním způsobem. Homogenní proces je založen na disperzi zásada – chitin a získává se amorfní produkt se zvýšeným obsahem náhodně rozložených N--acetylovaných a volných glukosaminových jednotek. Získává se ve vodě rozpustný chitosan se stupněm acetylace 48–55 %, ale s nízkou molární hmotností. Heterogenní deacetylace je charakterizována v kyselině přítomnými rozpustnými a nerozpustnými podíly a vykazuje vysoký stupeň krystalinity neacetylovaného chitosanu [11, s. 18], [12]. Po deacetylaci se chitosan promyje, usuší a získají se vločky [6, s. 224-226].



Obr. 5. Výroba chitinu a chitosanu chemickou a biologickou úpravou [11, s. 38]

2.3 Vlastnosti chitosanu

Chitosan má vynikající biologické vlastnosti, je netoxický, biokompatibilní a biodegradabilní.

Jedna ze základních makromolekulárních charakteristik je molekulová hmotnost, kterou lze stanovit s využitím různých metod (např. chromatografie, rozptyl světla). Nejjednodušším postupem je viskozimetrie, která závisí na korelaci mezi hodnotami vnitřní viskozity. Ke komerčnímu využití jsou k dispozici produkty s širokým rozsahem molekulových hmotností v rozmezí od 10000 do 1000000 Da.

Viskozita se zvyšuje s rostoucí molekulovou hmotností a koncentrací chitosanu, stejně jako se zvyšujícím se stupněm deacetylace. Chitosan s nízkým a vysokým stupněm deacetylace totiž zaujímají různé konformace ve vodných roztocích. Viskozita závisí i na řadě fyzikálních (ultrazvuk, zahřívání) a chemických faktorů.

Chitosan není rozpustný v běžných organických rozpouštědlech. Je rozpustný pouze v kyselině octové a v několika anorganických kyselinách, jako je kyselina chlorovodíková [9], [10, s. 914].

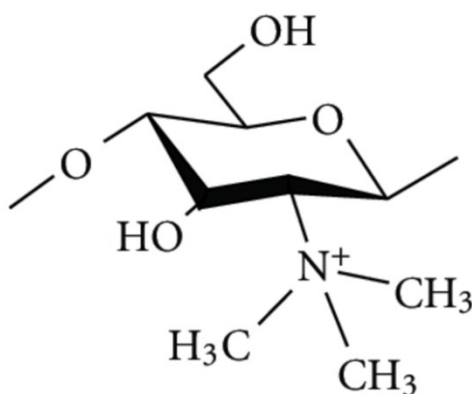
Chitosan vykazuje antimikrobiální účinky proti bakteriím, plísním a kvasinkám. Antimikrobiální aktivita je závislá na jeho molekulové hmotnosti, stupni deacetylace a v neposlední řadě na pH roztoku. Pokud dochází ke zvýšení molekulové hmotnosti, antimikrobiální aktivita se zvyšuje. Je účinný jak proti grampozitivním, tak gramnegativním bakteriím, a to konkrétně *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *Clostridium perfringens*, *Brochothrix* spp., *Enterobacter sakazakii*, *Lactobacillus* spp., *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas* spp., *Salmonella typhimurium*, *S. enteritidis*, *Serratia liquefaciens*, *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli*. Dále vykazuje účinnost vůči kvasinkám typu *Candida*, *Saccharomyces*, a *Rhodotorula*; a formy *Aspergillus*, *Penicillium*, a *Rhizopus*. Chitosan a jeho deriváty jsou účinné proti rostlinným patogenním bakteriím, jako jsou *A. tumefaciens*, *C. fascians*, *E. amylovora*, *E. carotovora*, *P. solanacearum*, a *S. lutea* a houby *A. alternata*, *B. fabae*, *F. oxysporum*, *P. digitatum*, *P. debaryanum* a *R. solani* [6, s. 222-242].

3 DERIVÁTY CHITOSANU

Přestože chitin a chitosan patří mezi významné biomateriály, jejich aplikace jsou omezeny z důvodu nízké rozpustnosti při fyziologickém pH, vysoké molekulové hmotnosti a viskozity. Na základě těchto faktů dochází k významnému rozvoji v oblasti přípravy a používání různých chitosanových derivátů, které mají optimalizované vlastnosti, vykazují dobrou rozpustnost ve vodě a stabilitu v širokém rozmezí pH. Tyto modifikace chitosanu přináší nové funkční vlastnosti pro různé biologické a biomedicínské aplikace [13, s. 4, 30]. Vybrané deriváty a jejich vlastnosti budou blíže popsány v následujících kapitolách.

3.1 Trimethyl chitosan

Trimethyl chitosan (TMC), jehož struktura je zobrazena na Obr. 6, patří mezi nejvíce studované deriváty chitosanu. Je známo, že díky svému kationickému charakteru je chitosan schopen navázat se na anionickou strukturu buněčných stěn a různými mechanismy tak snižovat jejich aktivitu [13, s. 38-39, 341], [14, s. 23]. Lze předpokládat, že TMC s ještě silnějším pozitivním nábojem bude vykazovat i vyšší antimikrobiální účinek. Při testování vůči *Staphylococcus aureus* a *Escherichia coli* byl tento fakt potvrzen [13, s. 38]. Bylo ovšem prokázáno, že uvedené vlastnosti úzce závisí na stupni methylace.



Obr. 6. Trimethyl chitosan [15]

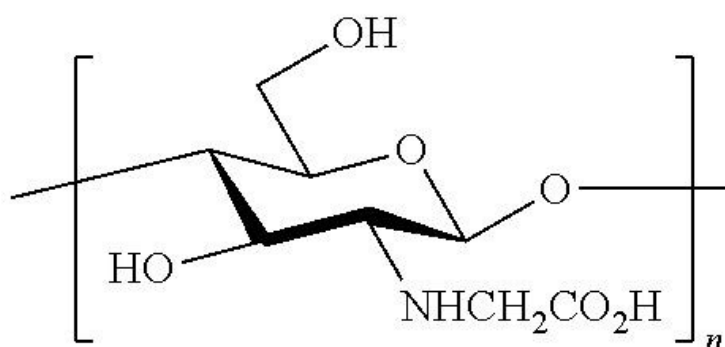
Byly také syntetizovány různé methylované deriváty chitosanu s různými stupni methylace, který určuje vztah mezi strukturou a antibakteriální aktivitou. Antibakteriální aktivita TMC, dimethyl chitosanu (DMC), monomethyl chitosanu (MMC), methyl chitosanu a chitosanu

byly porovnány v prostředí různého pH. Bylo zjištěno, že antibakteriální účinnost methylovaných derivátů byla vyšší při pH 5.5. Naopak zvýšení pH na 7.2 vyvolalo snížení účinku z důvodu ztráty kationického charakteru molekuly [13, s. 39].

TMC se také používá pro přípravu nanočástic, které mohou chránit léky proti proteolytickým enzymům střeva. Umožňují tedy prodloužené uvolňování léčiva, zvyšují pronikání a příjem těchto látek buňkami [13, s. 37, 39].

3.2 Mono-karboxymethyl chitosan

Mono-karboxymethyl chitosan (MCC) byl syntetizován substitucí primární aminové skupiny chitosanu s karboxylovými jednotkami (Obr. 7).



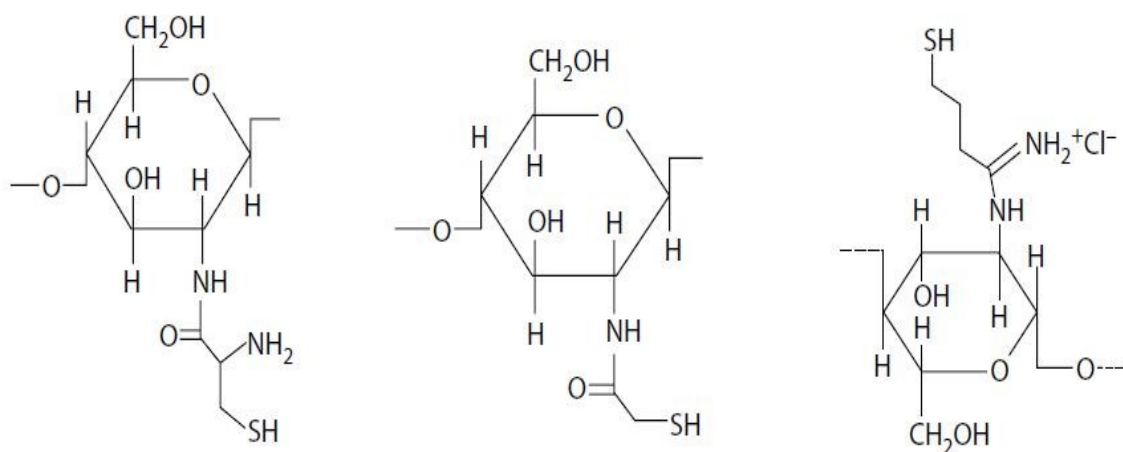
Obr. 7. Mono-N-karboxymethyl chitosan [16]

Díky unikátním vlastnostem, zejména biokompatibilitě, je tento derivát využíván v oblasti biomedicíny. Může být například aplikován jako antimikrobiální látka v obvazech na rány, nebo jako složka systémů v krevních antikoagulancia pro podávání léčiv. MCC vykazuje také vysokou adsorpci pro barviva [13, s. 51-53]. Další možné použití je v systémech pro řízené uvolňování léčiv, může být součástí nanočástic a v tkáňovém inženýrství lze MCC aplikovat ve formě hydrogelů. Hydrogely mají trojrozměrné struktury s počáteční mechanickou pevností podobnou přírodní extracelulární matici a vyznačují se schopností zadržovat velké množství vody [13, s. 54], [30, s. 14]. Díky zwitterionickému charakteru může MCC v přítomnosti polyanionické sloučeniny, jako je například heparin při neutrálním a alkalickém pH, tvořit čiré gely nebo roztoky [13, s. 53].

Další významnou aplikací je použití MCC jako nanonosiče pro dodávání léčiv do nádorových buněk. Konkrétně byl studován účinek O-karboxymethyl-chitosanu pro přenos kurkuminu, což je fytochemikálie s významnými biologickými vlastnostmi, ovšem hydrofobicita a špatná biologická dostupnost omezuje jeho aplikace jako chemoterapeutického činidla. Za účelem eliminace těchto negativních aspektů byly metodou iontové gelace připraveny nanočástice na bázi O-karboxymethyl chitosanu a kurkuminu. Studie *in vitro* prokázala řízené a prodloužené uvolňování léčiva z nanočástic a na základě fluorescenčního měření bylo zjištěno, že kurkumin byl úspěšně dopraven do nádorových buněk, kde došlo k jejich apoptóze. Vůči normálním zdravým buňkám nanočástice nevykazovaly toxicitu. Bylo tedy potvrzeno, že O-karboxymethyl chitosanové nanočástice mohou fungovat jako efektivní systém pro řízené dodávání hydrofobního léčiva do nádorových buněk [13, s. 56].

3.3 Thiolované deriváty

Tyto látky s thiolovými bočními řetězci mohou být anionické nebo kationické, přičemž většina kationických thioamerů je na bázi chitosanu. Patří mezi ně chitosan-cystein, chitosan-thioglykolová kyselina a chitosan-tributylamidin (Obr. 8) [13, s. 56].



Obr. 8. Thiolované deriváty: a) chitosan-cystein, b) chitosan-thioglykolová kyselina, c) chitosan-thiobutylamidin [13, s. 56]

Za účelem zlepšení vlastností chitosanu jako excipientu v systémech pro dodávání léčiv byl tento modifikován prostřednictvím 2-iminothiolanu. Výsledný derivát prokázal vynikající

gelační vlastnosti, v důsledku tvorby disulfidových vazeb založených na oxidačním procesu imobilizovaných thiolových skupin za fyziologických podmínek.

Dále byl zkoumán vliv molekulové hmotnosti a množství imobilizovaných thiolových skupin na mukoadhezivní vlastnosti chitosan-4-thiobutylamidinových (TBA) konjugátů. Bylo prokázáno, že mukoadhezivní charakteristiky se zvyšují s rostoucím stupněm imobilizace a z testovaných vzorků se nejlépe osvědčil thiolovaný chitosan se střední molekulovou hmotností [11, s. 174]. Chitosan-TBA derivát byl také studován za účelem vývoje systému pro orální podávání inzulínu a pro léčení vaginálních infekcí [10, s. 636], [H, s. 56-58].

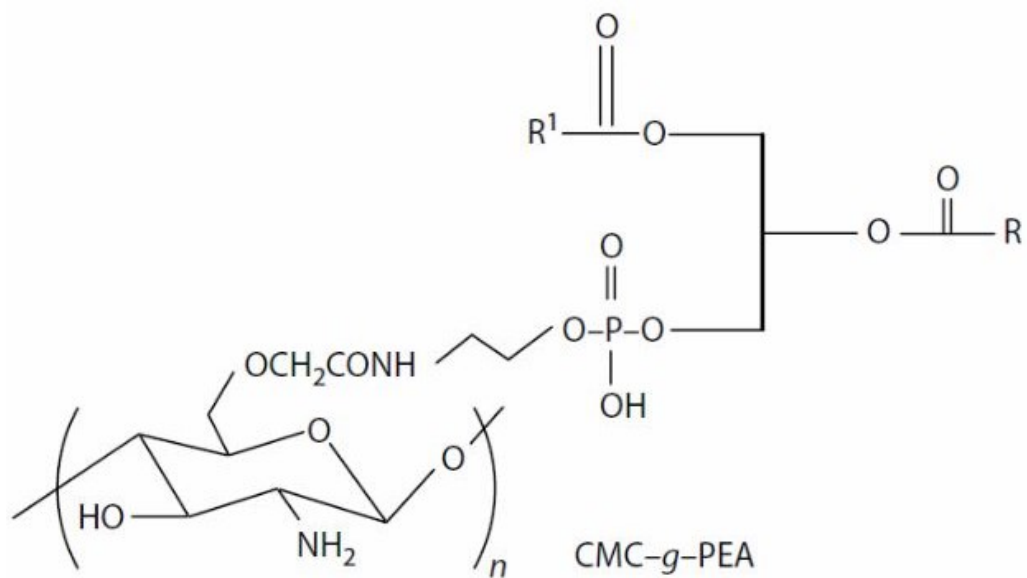
Obecně lze tedy shrnout, že modifikace chitosanu prostřednictvím thiolových skupin zlepšuje mukoadhezivní charakteristiky a výsledné deriváty lze využít pro systémy řízeného uvolňování léčiv.

3.4 N-methylen fosfonové deriváty

N-methylen fosfonové deriváty chitosanu mají amfoterní charakter a jsou syntetizovány za různých podmínek. Byly prokázány významné komplexační účinky s kationty, jako například Ca^{2+} a některými přechodnými kovy (Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} atd.). Komplexace poskytuje ochranu proti korozi kovových povrchů. Tyto deriváty mohou být také modifikovány pomocí alkylových řetězců s následným potenciálním využitím v kosmetice (viz Kapitola 3.5) [6, s. 231].

3.5 Amfifilní deriváty chitosanu

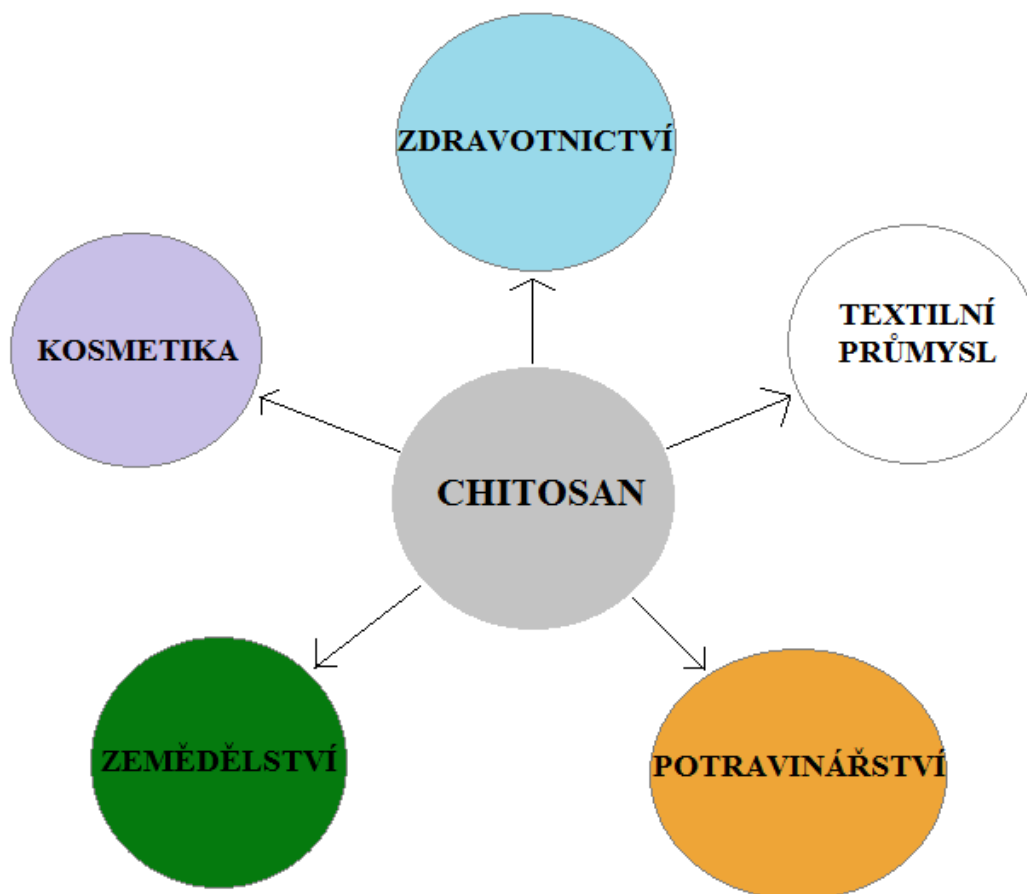
Zavedení alkylového řetězce do struktury chemicky modifikovaného chitosanu poskytuje přítomnost jak hydrofobní, tak hydrofilní části. Jako příklad lze uvést N-lauryl-N-methylenfosfonový chitosan, u něž byla alkylací zlepšena rozpustnost v organických rozpouštědlech. Amfifilní vlastnosti jsou typické pro povrchově aktivní látky a tyto deriváty jsou i vzhledem k nízké toxicitě slibným materiálem pro použití ve farmaceutickém průmyslu. Připojení lipidických skupin do struktury chitosanu může vést k vzniku amfifilní agregující molekuly, kterou lze aplikovat jako systém pro dávkování léčiv. Pro tyto účely byly syntetizovány a testovány například palmitoyl glykol chitosan a komplex na bázi karboxymethyl chitosan-g-fosfatidyletanolaminu (Obr. 9) [11, s. 175].



Obr. 9. Struktura karboxymethyl chitosan-g-fosfatidyletanolaminu [11, s. 176]

4 PRAKTICKÉ APLIKACE CHITOSANU A JEHO DERIVÁTŮ

Vlastnosti chitosanu a jeho derivátů je předurčují pro využití v mnoha oborech jako je medicína, farmacie, potravinářství, kosmetika, zemědělství a další (Obr. 10) [13, s. úvod].



Obr. 10. Aplikace chitosanu

4.1 Zdravotnictví

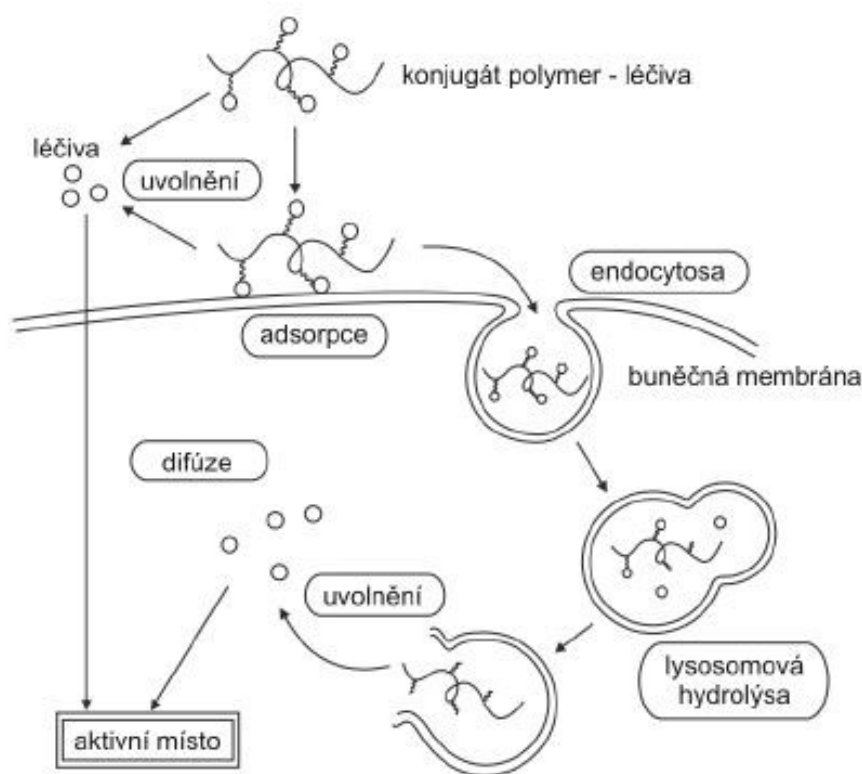
Chitosan se díky své biokompatibilitě, biodegradabilitě, netoxicitě a antibakteriálním vlastnostem široce využívá v medicíně a farmacii. Přítomnost mnoha hydroxylových a amino-ových skupin v chitosanu umožňuje, aby byly chemicky modifikovány. Díky zvýšené rozpustnosti ve vodných roztocích pak tyto deriváty lze zpracovávat na vlákna, filmy, gely i trojrozměrné porézní struktury [5, s. 211, 213], [17, s. 60]. Chitosan a jeho deriváty mohou být aplikovány v systémech řízeného uvolňování léčiv, při léčbě různých poranění, nádorových onemocnění, jako hemostatika atd.

4.1.1 Chitosan jako antimikrobiální látka

Jak již bylo uvedeno v Kapitole 2.3, chitosan vykazuje antimikrobiální účinky proti celé řadě bakterií (grampozitivním i gramnegativním) a také proti plísním a kvasinkám. Přesný mechanismus těchto účinků není zcela znám. Jedno z možných vysvětlení spočívá v jeho polykationickém charakteru, tzn., že v kyselém prostředí dochází k protonaci NH_2 skupin na NH_3^+ , které se vážou na negativně nabitě karboxylátové skupiny umístěné na mikrobiálních povrchích. Důsledkem je porušení bariérových vlastností vnějších membrán následované únikem buněčných komponent. Dalším možným mechanismem antimikrobiálního účinku chitosanu je jeho schopnost chelatace s kovy potřebnými pro růst mikroorganismů. Biologická aktivita záleží mimo jiné na molekulové hmotnosti, stupni deacetylace a rozpustnosti. Optimální molekulová hmotnost se pohybuje v rozmezí 2 až 200 kDa. Dalším důležitým faktorem je pH, kdy antimikrobiální účinnost vzrůstá s klesajícím pH. Při pH 7 je nemodifikovaný chitosan neúčinný a nerozpustný. Antibakteriální účinnost lze zvýšit komplexací se stříbrnými nebo zinečnatými ionty [6, s. 222-242], [9, s. 57].

4.1.2 Systémy pro řízené uvolňování léčiv

Polymery se v dnešní době stále častěji uplatňují jako vhodné biodegradabilní nosiče léčiv. Používají se k pomalému uvolňování účinné složky, ke zvyšování rozpustnosti a optimalizaci způsobu cíleného podání. Chitosan má výhodu tvorby kovalentních vazeb se síťujícími činidly, což vede k výstavbě struktur, které mohou zadržovat aktivní látku. Příkladem jsou hydrogely nebo mikročástice s trvalou strukturou, do kterých se může absorbovat voda nebo bioaktivní látky a následně se uvolňovat difúzí. Polymer, který je aplikován jako nosič léčiva, může i sám o sobě vykazovat biologickou aktivitu. Kromě samotného nosiče je součástí systému biodegradabilní vazbou navázaná léčivá látka s aktivní skupinou zlepšující transport na určené místo. Vhodným typem transportního systému jsou konjugáty s nízkou molekulovou hmotností, které zajišťují změnu rozpustnosti a tím optimalizaci pohybu. Uvolnění léčivé látky může probíhat difúzí nebo endocytózou konjugátu polymer-léčivo, kdy celý konjugát proniká do buňky a léčivo se z něj postupně uvolňuje prostřednictvím lysosomových enzymů (Obr. 11) [9, s. 57], [31].



Obr. 11. Cesta léčiva k aktivnímu místu [9, s. 57]

Jako příklad lze uvést chitosanové kapsle s obsahem metronidazolu, které byly vyvinuty pro řízené a pomalé uvolňování této látky k léčbě *Helicobacter pylori*. Chitosan byl také aplikován při přípravě polymerního proléčiva na bázi isoniazidu, která je znám jako antituberkulotikum. Materiál složený z alginátu sodného, chloridu vápenatého pokrytý chitosanem, se testoval při léčbě ran i popálenin, kdy bylo prokázáno urychlení léčebného procesu [9, s. 60].

4.1.2.1 Mukoadhezivní vlastnosti

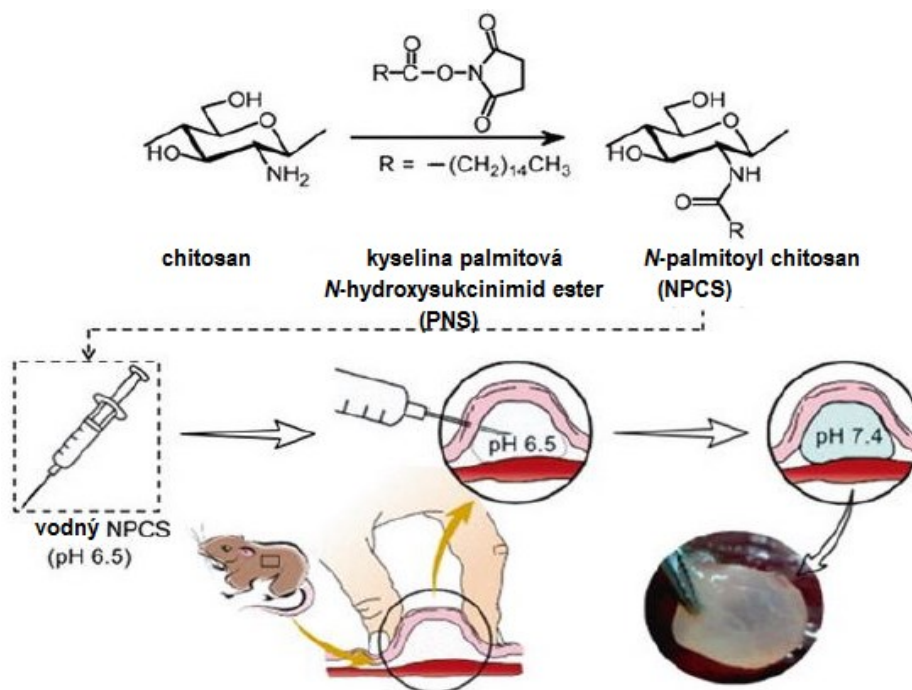
Chitosan se používá i jako mukoadhezivní polymer v lékových formách, které umožňují na základě mukoadheze použitých polymerů výrazně prodloužit dobu setrvání léčiva na sliznici a tím zajistit lepší lokální účinek v místě [18], [19].

Mukoadheze se označuje adheze biologického nebo syntetického materiálu na vrstvu slizu pokrývající slizniční epitel. Místa, kde lze aplikovat tyto lékové formy, jsou ústní dutina, oční bulva, nosní sliznice, respirační trakt, gastrointestinální trakt a ženské pohlavní orgány [10, s. 634]. Mukoadheziva tvoří ve vodném prostředí gely nebo viskózní roztoky, které mají

schopnost interagovat s biologickými povrchy. Nejčastěji se využívají polymery hydrofilní, které mají velký počet polárních skupin a disponují viskózně-elastickými vlastnostmi. Vhodný mukoadhezivní polymer má mít optimální prostorové uspořádání, molekulovou hmotnost, zesíťovanost a dobrou rozpustnost [18], [19], [20, s. 639].

Mezi mukoadhezivní materiály řadíme hydrogely, které tvoří síť polymerních řetězců, nerozpustných ve vodě. Hydrogely jsou do určité míry flexibilní v důsledku jejich vysokého obsahu vody a jsou vhodnými nosiči pro makromolekuly [13, s. 6-7]. Vzhledem ke své biokompatibilitě, netoxičnosti a biologické rozložitelnosti, hrají klíčovou roli při poruchách a poranění živé tkáně [13, s. 21-22], [21, s. 155-159].

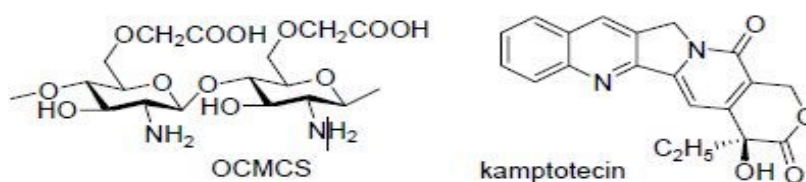
Tvorba hydrogelů může být vyvolána různými faktory, jako je například teplota nebo pH. Hydrogely citlivé na změny pH jsou převážně aplikovány v systémech pro transport léčiv a jako biosenzory. Chitosan vykazuje citlivost vůči pH vzhledem ke struktuře své molekuly, která obsahuje aminoskupiny, jež jsou v kyselém prostředí protonovány a stávají se tudíž rozpustné. Na druhou stranu je chitosan nerozpustný v alkalickém či neutrálním pH. Byly vyvinuty hydrogely vhodné pro injekční aplikaci na bázi *N*-palmitoyl chitosanu (NPCS), které reagují na změny pH v rozmezí hodnot 6.5 až 7. Na Obr. 12 je znázorněna syntéza NPCS a následná gelace *in vivo*. Při zvyšování pH dochází k upřednostnění hydrofobních interakcí skupin palmitoylu, což způsobí kondenzaci polymeru a následné zesíťování [22, s. 11].



Obr. 12. Syntéza N-palmitoylchitosanu a pH spuštěnou hydrogelaci podávanou injekčně do subkutánního prostoru krysového modelu [22, s. 11]

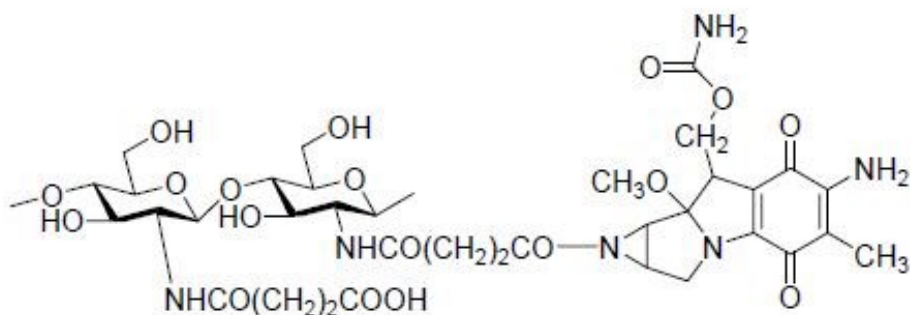
4.1.3 Léčba nádorových onemocnění

Chitosan vykazuje i protinádorovou účinnost, která je závislá na stupni deacetylace, rozpustnosti a molekulové hmotnosti. Jsou využívány nízkomolekulární typy, které se připravují enzymatickým štěpením. Chitosan je zde aplikován na nosič aktivních látek, z nichž jako příklad lze uvést kamptotecin, efektivní pro léčbu nádoru žaludku a tlustého střeva, který je ovšem omezeně rozpustný a toxický. Pokud je navázán na chitosanový derivát O-karboxymethyl chitosan (OCMCS), vzniká biokompatibilní systém s amfifilní strukturou vhodný pro kontrolované uvolňování aktivní látky (Obr. 13) [9, s. 60, 61].

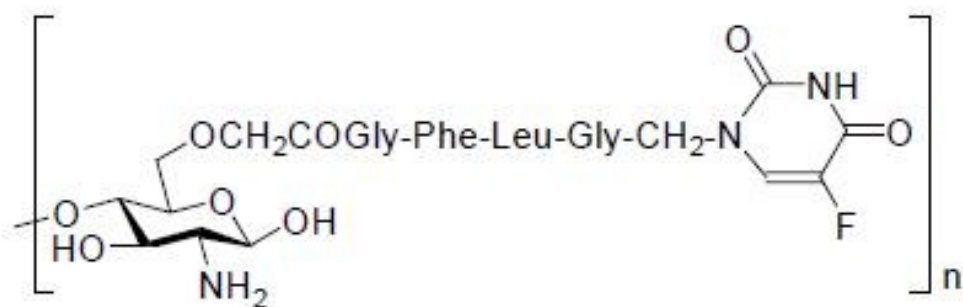


Obr. 13. Chitosan-kamptotecin [9, s. 61]

Z dalších konjugátů na bázi derivátů chitosanu využívaných v léčbě nádorových onemocnění, lze zmínit systém s mitomycinem (Obr. 14) a fluoracilem (Obr. 15) [9, s. 61].



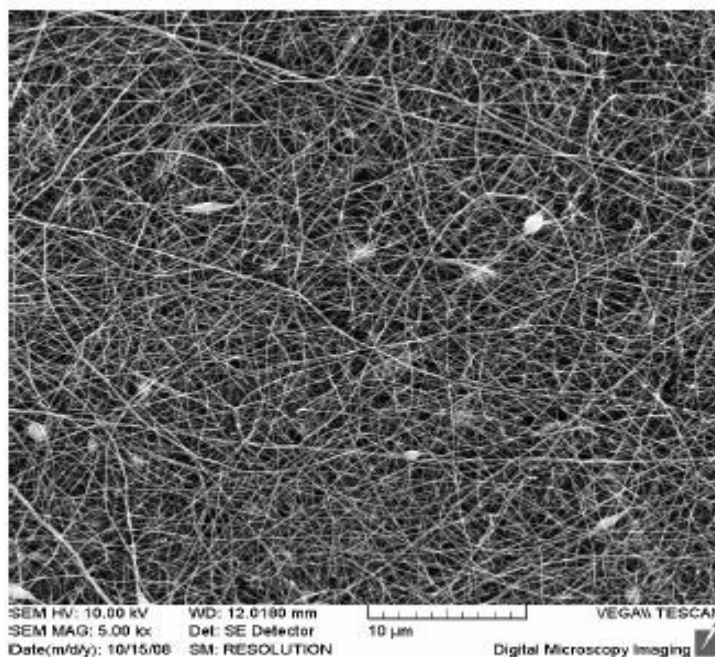
Obr. 14. Konjugát N-sukcinylochitosanu a mitomycinu C [9, s. 61]



Obr. 15. Konjugát O-(karboxymethyl)chitosanu a Gly-Phe-Leu-Gly-5-fluoruracilu [9, s. 61]

4.1.4 Nanovlákna a nanočástice

Jako ve většině oblastí, i v případě nanočástic a nanovláken je trendem používat k jejich výrobě materiály rychle a dokonale odbouratelné. Z toho důvodu představují chitosan a jeho deriváty perspektivní řešení. Chitinová vlákna, která je možné připravit elektrostatickým zvlákněním z roztoku, buď samotná nebo v kombinaci s polyglykolovou kyselinou, se vyznačují výbornou adhezí k lidskému epidermálnímu fibroblastu a jsou tedy vhodnou volbou pro aplikace v tkáňovém inženýrství. Lepší rozpustnost ovšem opět vykazuje chitosan, který může být zvlákněn s dalšími biokompatibilními syntetickými polymery, například polyethylenoxidem (Obr. 16) [4, s. 1013].



Obr. 16. Vrstva nanovláken na bázi chitosanu a polyethyl-oxidu vyrobená metodou elektrostatického zvlákňování [4, s. 1014]

Byly vyvinuty chitosanové nanočástice na bázi β -chitosanu a cyklodextrinu, které mohou nést hydrofobní léčiva a tím zvýšit jejich biologickou dostupnost zvýšením jejich zdánlivé rozpustnosti ve vodě. Studie byla prováděna na inzulinu pro potenciální nazální podávání. Bylo zjištěno, že chitosan, díky svým mukoadhezivním vlastnostem, zlepšuje biologickou dostupnost léčiva [23, s. 281].

4.1.5 Cévní náhrady

Chitosan se uplatňuje jako systém pro transport léčiv, ale i jako antibakteriální složka pro použití cévních náhrad. Ke sterilitě samostatné cévní náhrady se nejčastěji používá gama záření. Stále se zkoumají další modifikace cévních náhrad, které by zvýšily antibakteriální účinky cévy bez použití sterilizačních kroků a neovlivnily by pochod biologického přijetí cévního implantátu. Bylo potvrzeno, že cévní náhrady obohacené chitosanem vykazují mnohem nižší adhezi krevních destiček v porovnání s běžnou cévní náhradou. Byly potvrzeny další výjimečné vlastnosti systémů tvořených kombinací chitosanu a rekombinantního kolagenu, který je podobný tomu lidskému [24, s. 25-27].

Z dalších medicínských aplikací chitosanu, lze zmínit oftalmologii. Při zvýšené penetraci umožňuje vstup léčiva přes epitel rohovky a byly vyhodnoceny pozitivní účinky v různých formách aplikací do oka [13, s. 368], [23, s. 329]. Dále se jeví jako slibný materiál ve formě biologického lepidla pro krytí ran [13], [17, s. 60].

4.2 Kosmetika

Chitosan je součástí produktů pečujících o pleť, vlasových přípravků a rtěnek. Význam chitosanu v kosmetice spočívá především v hydratačních účincích. Chrání pleť před vysoušením a dochází hlavně ke zvýšení obsahu vody ve *stratum corneum*. S využitím dalších látek dochází k regeneraci pokožky a filmotvorná schopnost chitosanu poskytuje příjemný „hladký pocit“ po aplikaci na kůži. Chitosan v kosmetických přípravcích může také zvýšit přilnavost UV filtru [13, s. 18], [22, s. 283].

Pozitivní vlastnosti na pokožku byly zjištěny i při studiu chitosanu v kombinaci s dalšími složkami zkoušených přípravků. Například při působení s kolagenem došlo k urychlení regenerace pokožky [6, s. 1839]. Chitosan s vysokou molekulovou hmotností měl především hydratační účinek, ale došlo i k redukci počtu jizviček na pokožce a upravila se elasticita kůže [6, s. 1873].

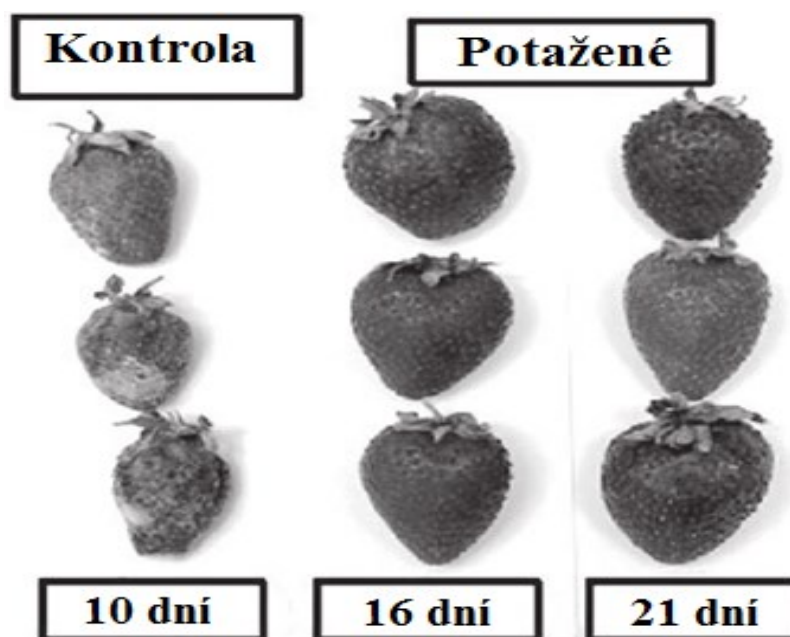
Je známo, že chitosan má výborné filmotvorné vlastnosti. Biopolymerní filmy slouží jako výborné prostředky vhodné pro začlenění široké škály látek, jako jsou antioxidanty, antimykotika, antimikrobiální látky. Například byly studovány podmínky uvolňování streptomycinu z filmu vyrobeného na bázi xyloglukanu/chitosan v poměru 1:1 s potenciálním využitím v kapslích, náplastích a jiných kosmetických produktech [23, s. 71].

4.3 Potravinářství

Chitosan se v potravinářském průmyslu využívá zejména jako doplněk stravy – snižuje hladinu cholesterolu a redukuje hmotnost. Váže na sebe tuky, cholesterol a odvádí je ze zažívacího traktu dříve, než jsou zpracovány.

V potravinářství se významně uplatňují i antimikrobiální účinky chitosanu. Jsou známy chitosanové filmy i roztoky, které mají sloužit ke zpomalení růstu mikroorganismů, zlepšení kvality a trvanlivosti potravin. Vzhledem k hydrofilní povaze chitosanu je novým trendem vyvíjet směsi připravené z chitosanu v kombinaci s dalšími látkami, které mají lepší bariérové a mechanické vlastnosti. Jsou známy například systémy s obsahem esenciálních olejů,

výtažku zeleného čaje nebo nisinem [25, s. 332, 333]. Přípravky na bázi chitosan-citrónového esenciálního oleje, které byly aplikovány na čerstvé jahody, prokázaly antifungální účinky [25, s. 237-241]. Na Obr. 17 je zřetelně vidět, že jahody bez úpravy jsou dehydratované a silně kontaminované plísní, zatímco ovoce pokryté bioaktivním obalem na bázi modifikovaného chitosanu vykazuje po stejné době skladování dobrou hydrataci a „zdravý“ vzhled [25, s. 237-241].



Obr. 17. Srovnání účinků filmů na bázi chitosanu a citrónového oleje na jahodách [26]

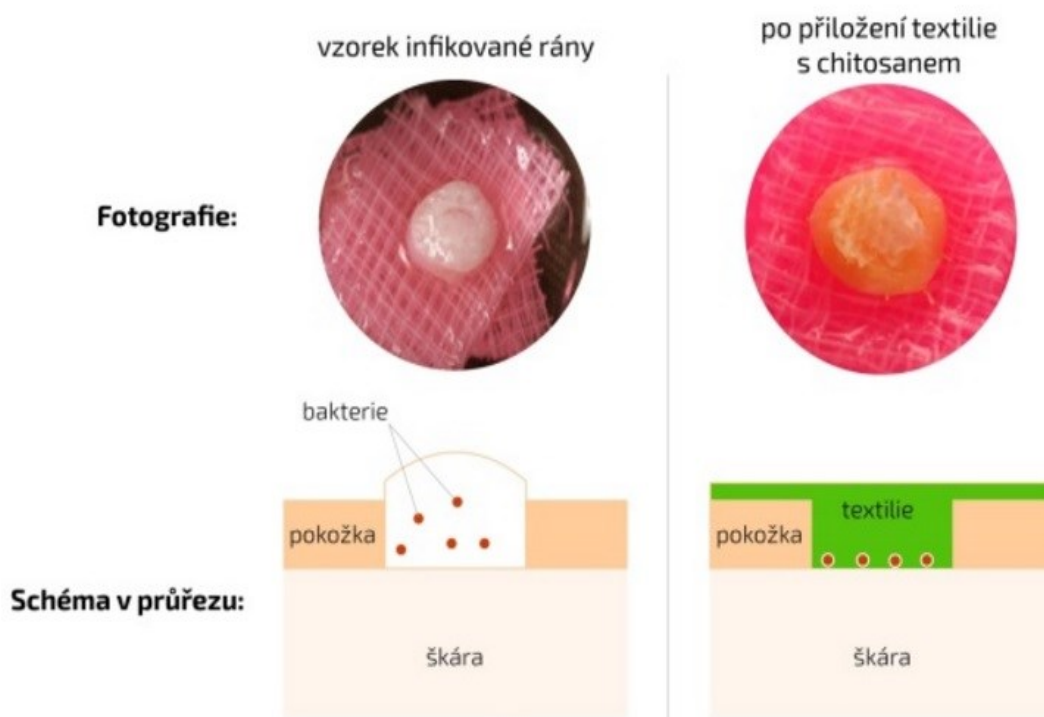
Antibakteriální účinky studoval také Kong a kol., který prokázal, že žvýkačky s obsahem chitosanu potlačují růst bakterií v ústní dutině [17, s. 59-61].

4.4 Textilní průmysl

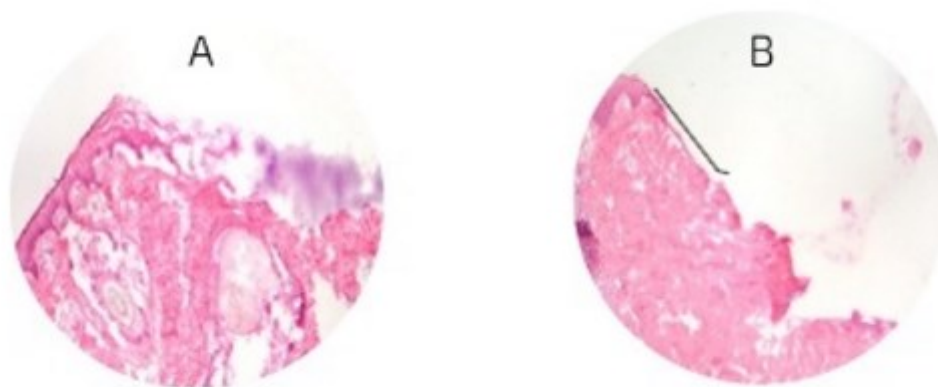
Antimikrobiální úprava, eliminace pachů a zajištění biostatických vlastností se stává běžnou součástí finálních procesů přípravy textilních materiálů, zejména v oblasti zdravotnictví, ale například i u sportovního oblečení. Obzvláště přírodní textilie (např. na bázi celulózy), vyznačující se hydrofilní porézní strukturou, jsou často považovány za náchylnější k mikrobiálním atakům než umělá vlákna. Aplikované antibakteriální látky by měly být bezpečné a

ekologicky nezávadné. Chitosan, jako netoxický a biodegradabilní materiál, je v tomto ohledu slibným kandidátem. Například bavlněná tkanina ošetřená ve vodě rozpustným karboxymethyl chitosanem prokázala dobrou antimikrobiální aktivitu proti *E. coli* a *S. aureus* již při nízkých koncentracích 0,1 % [17, s. 61].

Dokonce český výrobce značky CleverTex® uvedl nedávno na trh oblečení s obsahem chitosanu pro děti s atopickým ekzémem. Pro výzkum účinku takto modifikované textilie na infikované rány byl použit model *ex-vivo* infikovaný bakterií *P. aeruginosa*. Model kožního vzorku byl umístěn do kultivační nádoby s vhodným médiem. Po dané době kultivace byla na ránu aplikována testovaná textilie. Následně byly modely šokově zmrazeny a ze středové části modelu byly odebrány výřezy, které byly obarveny hematoxylin-eosinovým barvivem. Proces hojení byl vyhodnocen na výřezech i okrajích morfologie rány (Obr. 18) [27].



Obr. 18. A) fotografie (horní panel) a schématický náčrt (dolní panel) *ex-vivo* modelu hojení rány; B) fotografie (horní panel) a schématický náčrt (dolní panel) po aplikaci textilie [27]



*Obr. 19 Příklady znečištěných výřezů modelů ran A) infikovaných bakterií *P. aeruginosa* B) infikovaných bakterií *P. aeruginosa* a ošetřených látkou s obsahem chitosanu. Černé čáry označují regenerovanou pokožku (zahojení rány) [27]*

Na obrázku 19 A), lze vidět rány na neošetřeném infikovaném modelu, zatímco po aplikaci modifikované textilie došlo k regeneraci pokožky (Obr. 19B) [27]. Bylo tedy prokázáno, že tato textilní chitosanová vlákna jsou netoxická, protizánětlivá a pro pokožku mají regenerativní účinek.

4.5 Další využití chitosanu

V posledních 30 letech se chitosan začal využívat při úpravě povrchových vod na vodu pitnou a k čištění odpadních vod (odstranění iontů kovů, koagulant barvy a organických sloučenin). Kladný náboj chitosanu se používá k odstranění nežádoucího barviva, oleje, maziva, iontů kovů a jemných částic z vodních toků [10, s. 914], [13, s. 18], [28, s. 66].

V oblasti zemědělství lze chitosan využít jako tzv. superabsorpční polymer, což jsou organické materiály se zesíťovanou trojrozměrnou strukturou vyznačující se velmi vysokou schopností bobtnání ve vodném prostředí. Tyto funkční polymerní systémy jsou šetrné k životnímu prostředí, používají se ke zvýšení účinnosti pesticidů a herbicidů [29, s. 3,4].

Dále se v zemědělství chitosan aplikuje jako ochranná povrchová úprava pro ovoce a zeleninu. Může být použit jako hormon pro stimulaci růstu a produkci rostlin, a také k ochraně rostlin proti půdním mikroorganismům [13, s. 18].

V následující tabulce (Tab. 1) je uveden výčet některých chitosanových derivátů a jejich aplikací v různých průmyslových sektorech s důrazem na jejich antimikrobiální aktivitu.

Tab. 1. Aplikace derivátů chitosanu [17, s. 59]

Typ derivátu	Aplikace	Průmysl
Chitosan acetát	Konzervační prostředek	Potravinářství
Chitosan-hydroxy propyl methyl celulóza (film)	Obalový materiál	Potravinářství
Chitosan/polyethylen oxid (film)	Obalový materiál	Potravinářství
Polypropylen/chitosan/pektin (film)	Obalový materiál	Potravinářství
Alginát/chitosan (vlákna)	Obvazy na rány	Zdravotnictví
Kvarternizovaný chitosan (vlákna)	Obvazy na rány	Zdravotnictví
Chitosan/celulóza (membrána)	Obvazy na rány	Zdravotnictví
PVA/chitosan (hydrogel)	Obvazy na rány	Zdravotnictví
Polyakrylonitril/chitosan/heparin	Hemodialýza	Zdravotnictví
Chitosan/heparin filmy	Tkáňové inženýrství	Zdravotnictví
TMC/N-dimethylchitosan/inzulin (nanočástice)	Transportní systém	Zdravotnictví
Karboxymethyl chitosan	Bavlněná vlákna	Textilní průmysl

ZÁVĚR

Polysacharidy představují skupinu polymerních látek, složených z monosacharidových jednotek spojených glykosidickými vazbami. Mohou mít variabilní struktury od lineárních, až po vysoce rozvětvené. Patří sem strukturální polysacharidy, jako například celulóza a chitin a zásobní typy, jejichž zástupci jsou škrob nebo glykogen.

Bakalářská práce se zaměřuje na nejvýznamnější derivát chitinu, a to chitosan, konkrétně na jeho strukturu, vlastnosti a výrobu. Chitosan vykazuje řadu vlastností, jako je biokompatibilita, snadná odbouratelnost, nízká toxicita, které jej předurčují pro řadu aplikací, například v potravinářství, kosmetice, ale i zdravotnictví. Chitosan je známý i díky své antibakteriální a antioxidační aktivitě. Přesto lze nalézt i některé negativní aspekty, jako je nízká rozpustnost ve vodném prostředí, které jeho využití omezují. Právě z těchto důvodů v posledních letech nabývají na významu chitosanové deriváty, který se vyznačují lepšími fyzikálními i užitnými vlastnostmi. Tyto materiály lze připravit různými chemickými reakcemi, například karboxymetylací, sulfatací, N-acylací, alkylací a kvarternizací. Výsledné deriváty lze využít pro biologické a biomedicínské aplikace, například jako nosiče léčiv pro cílený transport nebo jako součást zdravotnických materiálů pro hojení ran apod. Pro své hydratační a antimikrobiální účinky bývají aplikovány i v kosmetickém průmyslu. Jednotlivé aplikační sektory jsou soustředěny v poslední části práce.

Závěrem lze konstatovat, že chitosan i jeho deriváty jsou předmětem intenzivního výzkumu a vývoje a představují perspektivní materiály s vysokým potenciálem využití v mnoha odvětvích průmyslu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KLÁSEK, Antonín. *Nauka o polymerech II: biopolymery*. Praha: SNTL, 1980.
- [2] ČOPÍKOVÁ, Jana a Andryi SYNYTSYA. Polysacharidy, jejich význam a uplatnění. *Chemické listy* [online]. (99), 621 [cit. 2016-05-01].
- [3] ŠÁRKA, Evžen a Zdeněk BUBNÍK. Morfologie, chemická struktura, vlastnosti a možnost využití pšeničného B-škrobu. *Chemické listy* [online]. 2010, (104), 318-325 [cit. 2016-04-10].
- [4] PETRÁŠ, David, Dušan KIMMER, Karel SOUKUP a Petr KLUSOŇ. BEZPEČNÁ NANOVLÁKNA. *Chemické Listy* [online]. 2009(103), 1009-1016 [cit. 2016-04-23].
- [5] AGRAWAL, C. Mauli, Joo L. ONG, Mark R. APPLEFORD a Gopinath MANI. *Introduction to Biomaterials Basic Theory with Engineering Applications* [online]. New York: Cambridge University Press, 2014 [cit. 2016-04-02]. ISBN 978-0-521-11690-9.
- [6] GOPAL RAMAWAT, Kishan, Jean-Michel MÉRILLON a EDITORS. *Polysaccharides Bioactivity and Biotechnology*. Switzerland: Springer International Publishing, 2015. ISBN 978-3-319-16297-3.
- [7] IMAM, Syed H., Richard V. GREENE a Baqar R. ZAIDI. *Biopolymers: utilizing nature's advanced materials*. New York: Distributed by Oxford University Press, c1999, s. 88-89. ISBN 0841236070.
- [8] Patrick Navard, ed. *The European Polysaccharide Network of Excellence (EPNOE)* [online]. London: Springer, 2012 [cit. 2017-04-28]. ISBN 978-3-7091-0421-7. Dostupné z: https://books.google.cz/books?id=08zHD3sycA8C&printsec=frontcover&dq=polysaccharide&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKEwjf-sZqEy7zTAhWmJ8AKHU_VBLMQ6AEILzAC#v=onepage&q=glycogen&f=false
- [9] VAVŘÍKOVÁ, Eva a Jarmila VINOVÁ. Chitosan a jeho farmaceutické aplikace. *Chemické Listy* [online]. 2009, (103) [cit. 2016-04-24], str. 56-65.
- [10] HAVELCOVÁ, Martina, Jiří MIZERA, Vladimír MACHOVIČ, Oldřich PŘIBYL, Lenka BORECKÁ a Ivana KRAUSOVÁ. Sorbenty na bázi huminových látek a chitosanu. *Chemické Listy* [online]. 2011(105), 913-917 [cit. 2016-04-24].

- [11] KIM, Se-Kwon, ed. *Chitin, Chitosan, Oligosaccharides and Their Derivatives Biological Activities and Applications* [online]. United States of America: CRC Press Taylor & Francis Group, 2011 [cit. 2017-03-13]. ISBN 978-1-4398-1603-5.
- [12] WEISEROVÁ, Eva. *Chitosan a jeho využití v potravinových doplňcích*. Zlín, 2007. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Vedoucí práce Ing. Věra Halabalová, Ph.D.
- [13] KIM, Se-Kwon ed. *Chitin and chitosan derivatives: advances in drug discovery and developments* [online]. Hoboken: Taylor and Francis, 2014 [cit. 2016-03-20]. ISBN 978-146-6566-323.
- [14] RIVA, Raphael, Héloïse RAGELLE, Anne DES RIEUX a Nicolas DUHEM. Chitosan and chitosan derivatives in drug delivery and tissue engineering. *Advances in polymer science* [online]. 2011, (244), 19-44 [cit. 2016-04-15].
- [15] ANDRADE, Fernanda a Francisco M GOYCOOLEA. Chitosan-Grafted Copolymers and Chitosan-Ligand Conjugates as Matrices for Pulmonary Drug Delivery. *International Journal of Carbohydrate Chemistry* [online]. 2011 [cit. 2017-05-05]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/228440436_Chitosan-Grafted_Copolymers_and_Chitosan-Ligand_Conjugates_as_Matrices_for_Pulmonary_Drug_Delivery.
- [16] WERLE, Martin. Modified Chitosan for Oral Drug Deliver. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2009 [cit. 2017-03-04]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/figure/23247355_fig3_Figure-3-Modified-glucosamine-units-of-mono-N-carboxymethyl-chitosan-MCC-and.
- [17] KONG, Ming, Xi GUANG CHEN, Ke XING a Hyun JIN PARK. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review. *International Journal of Food Microbiology* [online]. 2010, **2010**(144), 51-63 [cit. 2016-04-14].
- [18] VETCHÝ, David a Jan GAJDZIOK. Mukoadhezivní polymery v lékových formách. *Chemické listy*. 2012, **2012**(106), str. 632-638.
- [19] DUBRUEL, Peter a Sandra VAN VLIERBERGHE. *Biomaterials for bone regeneration: novel techniques and applications*. 2014. Woodhead Publishing is an imprint of Elsevier, 2014. ISBN 978-0-85709-804-7, str. 356-358.

- [20] RATNER, B. D. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine* [online]. 2nd ed. Boston: Elsevier Academic Press, c2004 [cit. 2016-03-27]. ISBN 01-258-2463-7.
- [21] Series editor a Susheel KALIA. *Polymeric Hydrogels as Smart Biomaterials* [online]. Springer, 2016 [cit. 2016-05-06]. ISBN 978-3-319-25322-0.
- [22] KUMAR DUTTA, Pradip (ed.). *Chitin and chitosan for regenerative medicine* [online]. Springer, 2016 [cit. 2016-05-06]. ISBN 978-81-322-2511-9.
- [23] POPA, Valentin, ed. *Polysaccharides in Medicinal and Pharmaceutical Applications*. United Kingdom: iSmithers, 2011 [cit. 2017-04-05]. ISBN 978-1-84735-438-9.
- [24] ZÍTKA, Ondřej, Pavlína ŠOBROVÁ, Vojtěch ADAM, Jaromír HUBÁLEK, Ivo PROVAZNÍK, Věra ŽIŽKOVÁ a René KIZEK. NANOTECHNOLOGIE PRO EFEKTIVNĚJŠÍ CÉVNÍ NÁHRADY. *Chemické listy* [online]. 2013, **2013**(107), 24-29 [cit. 2016-04-20].
- [25] CIRILLO, Giuseppe, Umile Gianfranco SPIZZIRRI a Francesca IEMMA (eds.). *Functional polymers in food science: from technology to biology* [online]. Scrivener Publishing, 2015 [cit. 2016-03-27]. ISBN 978-111-8595-183.
- [26] SHEIKH, Rayees. Review: Chitosan as a Novel Edible Coating for Fresh Fruits. *Food Science and Technology Research* [online]. 2013, 139-155 [cit. 2017-05-05]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/237080941_Review_Chitosan_as_a_Novel_Edible_Coating_for_Fresh_Fruits.
- [27] Antiseptický chitosan v oblečení pro děti s atopickým ekzémem. *Clevertex* [online]. 2015 [cit. 2016-05-07]. Dostupné z: <http://www.clevertex.cz/magazin/antisepticky-chitosan-v-obleceni-pro-deti-s-atopickym-ekzemem-detail-722>.
- [28] KLÍMOVÁ, Zuzana. *VYUŽITÍ CHITOSANU PŘI ÚPRAVĚ PITNÉ VODY*. 65-70.
- [29] CIRILLO, Giuseppe, Umile Gianfranco SPIZZIRRI a Francesca IEMMA, ed. *Functional Polymers in Food Science From Technology to Biology Volume 2 Food Processing* [online]. Wiley, 2015 [cit. 2017-03-14]. ISBN 978-1-118-59518-3.
- [30] RAMAKRISHNA, Seeram a Serena BEST, RAMALINGAM, Murugan, ed. *BIOMATERIALS AND STEM CELLS IN REGENERATIVE MEDICINE* [online]. CRC Press Taylor & Francis Group, 2012 [cit. 2017-02-25]. ISBN 978-1-4398-7926-9.

- [31] BANSAL, Vipin, Pramod KUMAR SHARMA, Nitin SHARMA, Om PRAKASH PAL a Rishabha MALVIYA. Applications of chitosan and chitosan derivatives in drug delivery. *Advances in Biological Research*[online]. 2011, 28-37 [cit. 2016-04-11].

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

MCC	Mono-karboxymethyl chitosan.
HA	Kyselina hyaluronová.
NaBH ₄	Tetrahydridoboritan sodný.
HCl	Kyselina chlorovodíková.
NaOH	Hydroxid sodný.
Da	Dalton.
pH	Vodíkový exponent.
TMC	Trimethyl chitosan.
DMC	Dimethyl chitosan.
MMC	Monomethyl chitosan.
TBA	Kyselina thiobarbiturová.
Ca ²⁺	Vápenatý kation.
Cu ²⁺	Měďnatý kation.
Cd ²⁺	Kademnatý kation.
Zn ²⁺	Zinečnatý kation.
-NH ₂	Skupina aniontu amidu.
NH ₃ ⁺	Anilinium ion.
NPCS	<i>N</i> -palmitoyl chitosan.
PNS	Kyselina palmitová, <i>N</i> -hydroxysukcinimid ester.
OCMCS	O-karboxymethyl chitosan.
PVA	Polyvinylalkohol.
CMC-g-PEA	Karboxymethyl chitosan (CMC)-g-fosfatidylethanolamin (PEA).

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Vybrané významné zdroje celulózy: (a) buk, (b) bambus, (c) bavlník, (d) Agave sisalana (e) tunicin, (f) Gluconacetobacter xylinus [6, s. 291]</i>	11
<i>Obr. 2. Kyselina hyaluronová [6, s. 1308]</i>	14
<i>Obr. 3. a) Hydratovaný chitosan, b) nehydratovaný chitosan [9].</i>	16
<i>Obr. 4. Deacetylace chitinu [9]</i>	17
<i>Obr. 5. Výroba chitinu a chitosanu chemickou a biologickou úpravou [11, s. 38]</i>	18
<i>Obr. 6. Trimethyl chitosan [15]</i>	20
<i>Obr. 7. Mono-N-karboxymethyl chitosan [16]</i>	21
<i>Obr. 8. Thiolované deriváty: a) chitosan-cystein, b) chitosan-thioglykolová kyselina, c) chitosan-thiobutylamidin [13, s. 56]</i>	22
<i>Obr. 9. Struktura karboxymethyl chitosan-g-fosfatidyletanolaminu [11, s. 176]</i>	24
<i>Obr. 10. Aplikace chitosanu</i>	25
<i>Obr. 11. Cesta léčiva k aktivnímu místu [9, s. 57]</i>	27
<i>Obr. 12. Syntéza N-palmitoylchitosanu a pH spuštěnou hydrogelaci podávanou injekčně do subkutánního prostoru krysového modelu [22, s. 11]</i>	29
<i>Obr. 13. Chitosan-kamptotecin [9, s. 61]</i>	29
<i>Obr. 14. Konjugát N-sukcinylochitosanu a mitomycinu C [9, s. 61]</i>	30
<i>Obr. 15. Konjugát O-(karboxymethyl)chitosanu a Gly-Phe-Leu-Gly-5-fluoruracilu [9, s. 61]</i>	30
<i>Obr. 16. Vrstva nanovláken na bázi chitosanu a polyethyloxydu vyrobená metodou elektrostatického zvlákňování [4, s. 1014]</i>	31
<i>Obr. 17. Srovnání účinků filmů na bázi chitosanu a citrónového oleje na jahodách [26]</i>	33
<i>Obr. 18. A) fotografie (horní panel) a schématický nákres (dolní panel) ex-vivo modelů hojení rány; B) fotografie (horní panel) a schématický nákres (dolní panel) po aplikaci textilie [27]</i>	34
<i>Obr. 19 Příklady znečištěných výřezů modelů ran A) infikovaných bakterií P. aeruginosa B) infikovaných bakterií P. aeruginosa a ošetřených látkou s obsahem chitosanu. Černé čáry označují regenerovanou pokožku (zahojení rány) [27]</i>	35

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Aplikace derivátů chitosanu [17, s. 59]

36