

Příprava nízkomolekulárních síťovacích činidel pro vývoj supramolekulárních hydrogelů na bázi hyaluronanu

Beáta Krupičková

Bakalářská práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tensidů a kosmetiky

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	Beáta Krupičková
Osobní číslo:	T22952
Studijní program:	B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace:	Biomateriály a kosmetika
Forma studia:	Prezenční
Téma práce:	Příprava nízkomolekulárních síťovacích činidel pro vývoj supramolekulárních hydrogelů na bázi hyaluronanu

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

Obecná charakteristika hydrogelů.

Hydrogely na bázi hyaluronanu.

Využití komplexů typu hostitel–host při konstrukci hydrogelů.

II. Praktická část

Na základě literární rešerše navrhnout syntézu uvažovaných sloučenin.

Provést experimenty vedoucí k přípravě uvažovaných sloučenin.

Připravené sloučeniny charakterizovat dostupnými metodami strukturní analýzy.

Získané výsledky zpracovat, vyhodnotit a provést jejich interpretaci.

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

Seznam doporučené literatury:

1. MUIR, V. G., BURDICK, J. A. Chemically Modified Biopolymers for the Formation of Biomedical Hydrogels. *Chemical Reviews* **2021**, *121*, 10908–10949.
2. SUN, P., QIN, B., XU, J.-F., ZHANG, X. Supramonomers for controllable supramolecular polymerization and renewable supramolecular polymeric materials. *Progress in Polymer Science* **2022**, *124*, 101486.
3. JURTÍK, M. et al. Assembling a supramolecular 3D network with tuneable mechanical properties using adamantylated cross-linking agents and b-cyclodextrin-modified hyaluronan. *Carbohydrate Polymers* **2023**, *313*, 120872.
4. ROBINSON, W. J. et al. Undergraduate Instrumental Analysis. 7th Edition, **2014**, CRC Press, Taylor&Francis.
5. S využitím databází SciFinder a Scopus.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Michal Rouchal, Ph.D.**
Ústav chemie

Datum zadání bakalářské práce: **17. února 2025**

Termín odevzdání bakalářské práce: **16. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení bakalářské práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 mohu užít 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- 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.

Prohlašuji, že

- jsem na bakalářské práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Cílem předložené bakalářské práce byla příprava první části nízkomolekulárního síťovacího činidla, tedy adamantanového motivu schopného zajistit tvorbu hostitel–host komplexů s jednotkami β -cyklodextrinu navázaného na hyaluranový řetězec. Uvažované nízkomolekulární síťovací činidlo je určeno k následné konstrukci hydrogelové sítě na bázi modifikovaného hyaluronanu. Hydrogely připravené pomocí supramolekulárních hostitel–host interakcí mezi relevantním vazebným motivem a makrocyklem představují zajímavou alternativu pro přípravu responzivních systémů reagujících na vnější podněty. Takové materiály se jeví jako vhodné pro řadu různých aplikací, od technologických přes farmaceutické, až po lékařství.

Klíčová slova: hydrogel, supramolekulární chemie, hyaluronan, adamantan, nukleární magnetická rezonance

ABSTRACT

The aim of this thesis was to prepare the first part of a low-molecular weight crosslinking agent bearing an adamantane moiety, which is able to provide the formation of host–guest complexes with β -cyclodextrin units conjugated to a hyaluronic acid chain. The considered low-molecular weight crosslinking agent is intended for the subsequent construction of a hydrogel network based on modified hyaluronan. Hydrogels prepared using supramolecular host–guest interactions between the relevant binding motif and the macrocycle unit represent an interesting alternative for the preparation of responsive systems reacting to external stimuli. These types of materials appear to be suitable for a variety of technological, pharmaceutical and medical applications.

Keywords: hydrogel, supramolecular chemistry, hyaluronan, adamantane, nuclear magnetic resonance

Ráda bych vyjádřila své upřímné poděkování především mému vedoucímu práce, doc. Ing. Michalu Rouchalovi, Ph.D., za odborné vedení, cenné rady, za všechen věnovaný čas a velkou trpělivost. Dále děkuji Ing. Václavu Kolaříkovi a Ing. Petru Janovskému, Ph.D. za ochotu měření NMR analýz.

V neposlední řadě patří mé poděkování také rodině a nejbližším za trpělivost, motivaci a neustálou podporu ve studiu.

OBSAH

ÚVOD.....	11
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA HYDROGELŮ.....	13
1.1 KLASIFIKACE HYDROGELŮ	14
1.1.1 Podle původu.....	14
1.1.2 Podle typu zesítení	16
1.2 VLASTNOSTI HYDROGELŮ	23
1.3 APLIKACE HYDROGELŮ	24
1.3.1 Řízené dodávání léčiv	25
1.3.2 Tkáňové inženýrství	25
2 HYDROGELY NA BÁZI HYALURONANU	27
2.1 KYSELINA HYALURONOVÁ	27
2.2 MODIFIKACE KYSELINY HYALURONOVÉ.....	28
2.2.1 Modifikace karboxylové skupiny.....	29
2.2.2 Modifikace hydroxylové skupiny	30
2.2.3 Modifikace <i>N</i> -acetylové skupiny	31
3 VYUŽITÍ KOMPLEXŮ TYPU HOSTITEL–HOST PŘI KONSTRUKCI HYDROGELŮ.....	33
3.1 HOSTITEL–HOST CHEMIE	33
3.1.1 Cucurbit[<i>n</i>]uril v roli hostitele	34
3.1.2 Cyklodextrin v roli hostitele.....	36
II EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	39
4 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ	40
5 PROVEDENÉ SYNTÉZY	42
5.1 PŘÍPRAVA ADAMANTAN-1-KARBONYLCHLORIDU.....	42
5.2 OCHRÁNĚNÍ BIS(2-DIMETHYLAMINOETHOXY)ETHANU.....	42
5.3 SYNTÉZA <i>N</i> -{2-[2-(2-AMINOETHOXY)ETHOXY]ETHYL}-1-ADAMANTAN KARBOXAMIDU	43
5.4 SYNTÉZA <i>N</i> -[2-(2-{2-[4-(CHLORMETHYL)BENZAMIDO]ETHOXY}ETHOXY)- ETHYL]ADAMANTAN-1-KARBOXAMIDU	44
5.5 NUKLEOFILNÍ AZIDACE SLOUČENINY 6.....	44
III DISKUZNÍ ČÁST	46
6 ÚVOD DO DISKUZNÍ ČÁSTI	47
7 PROVEDENÉ SYNTÉZY	48
7.1 NÁVRH SYNTETICKÉ STRATEGIE.....	48
7.2 PŘÍPRAVA KARBOXAMIDU 5	49

7.2.1	Chlorace adamantan-1-karboxylové kyseliny	49
7.2.2	Příprava Boc-chráněného aminu	50
7.2.3	Reakce sloučenin 2 a 4 za vzniku karboxamidu 5.....	51
7.3	REAKCE KARBOXAMIDU 5 S 4-(CHLORMETHYL)BENZOYLCHLORIDEM	53
7.4	NUKLEOFILNÍ AZIDACE SLOUČENINY 6	56
8	VÝHLED DO BUDOUCNA	58
	ZÁVĚR.....	59
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	61
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	71

ÚVOD

Hydrogely představují atraktivní materiál, který v posledních dekádách nachází využití v řadě technologických či medicínských aplikacích. Trojrozměrná architektura sítě jim poskytuje schopnost pojmout nejen značné množství vody či jiné tekutiny a tím výrazně botnat, ale i enkapsulaci rozmanitých typů látek od makromolekulárních struktur až po léčiva či jiné nízkomolekulární látky. Existují tři základní způsoby přípravy hydrogelů, tedy možnosti zesítení jak syntetických či přírodních polymerů. Každý z nich propůjčuje výsledným hydrogelům jiné vlastnosti a schopnosti, které lze různě regulovat a usměrňovat.

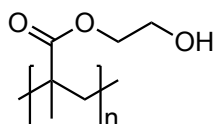
Velmi žádoucími polymery pro přípravu hydrogelů jsou bezesporu biopolymery, které zaručují biokompatibilitu, necytotoxicitu a splňují řadu dalších relevantních vlastností nutných pro kontakt či distribuci v organismu. Velmi známá je například kyselina hyaluronová, izolovaná poprvé roku 1934, která má již sama v lidském těle nemalé zastoupení jako extracelulární glykosaminoglykan a zaujímá řadu relevantních úloh. Možnosti modifikace nativních řetězců vedoucí k různým derivátům kyseliny hyaluronové znamenají především změnu či úpravu nedostačujících vlastností. Modifikace struktury nativní kyseliny hyaluronové otevírá pomyslné dveře pro řadu aplikací v lékařství, například v oční chirurgii, při hojení ran, v dermatologii a artrologii nebo v kosmetice, farmacii a také v rychle se rozvíjející oblasti tkáňového inženýrství.

Pomocí supramolekulárních hostitel–host komplexů, založených na nekovalentních interakcích, lze připravit specifické hydrogely s unikátním dynamickým a samoregeneračním chováním. Příprava samotné hydrogelové sítě probíhá jednoduchým mechanismem, tedy smícháním jednotlivých komponent bez nutnosti dalších aktivátorů, což významně ovlivňuje finální biokompatibilitu hydrogelu. Základem takové sítě a tvorby hostitel–host komplexů je racionální design síťovacího činidla (hosta) schopného interagovat se zvoleným hostitelem. Předmětem tohoto projektu, který bude plynule pokračovat v rámci řešení méj diplomové práce, je syntéza nízkomolekulárního síťovacího činidla se dvěma terminálními vazebnými motivy, které představuje klecový uhlovodík adamantan a uracilová jednotka.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA HYDROGELŮ

Termín hydrogel se na poli vědy objevuje poprvé již v roce 1894, kdy bylo toto slovo použito pro popis koloidního gelu. První zmínka o aplikaci hydrogelů přišla až roku 1960 od známého českého vědce a vynálezce profesora Otta Wichterleho a českého chemika docenta Drahošlava Líma [1]. Oba se zabývali přípravou poly-(2-hydroxyethylmetakrylátu) (Obrázek 1), což je transparentní hydrogel s výhodnými mechanickými a stabilizačními vlastnostmi. Cílem bylo takto připravený materiál využít na konstrukci měkkých kontaktních čoček s větší propustností pro kyslík a nahradit tak dříve používaný poly(methylmetakrylát), který byl pro takové aplikace příliš tvrdý [2].



Obrázek 1 Struktura poly-(2-hydroxyethylmetakrylátu).

Hydrogely utvářejí třídimenzionální hydrofilní síť pomocí jednotek zesíťovaných polymerů, respektive biopolymerů. Taková síťová matrix, označovaná jako *mesh*, se podílí na významných strukturálních vlastnostech a změnách. Vzniklá struktura vykazuje schopnost absorbovat a udržovat vodu nebo různé biologické tekutiny [3]. To je podmíněné přítomností hydrofilních funkčních skupin, jako je hydroxylová, karboxylová, amidová nebo sulfonová [1], které jsou připojeny na polymerní řetězec tvořící základní skelet daného materiálu. V takzvaném nabotnalém stavu je hmotnostní podíl vody v hydrogelu podstatně vyšší než hmotnostní podíl samotného polymeru [4]. Uvádí se, že v závislosti na složení je hydrogel schopný do své struktury navázat 10–20ti násobek vody vzhledem k původní hmotnosti [3].

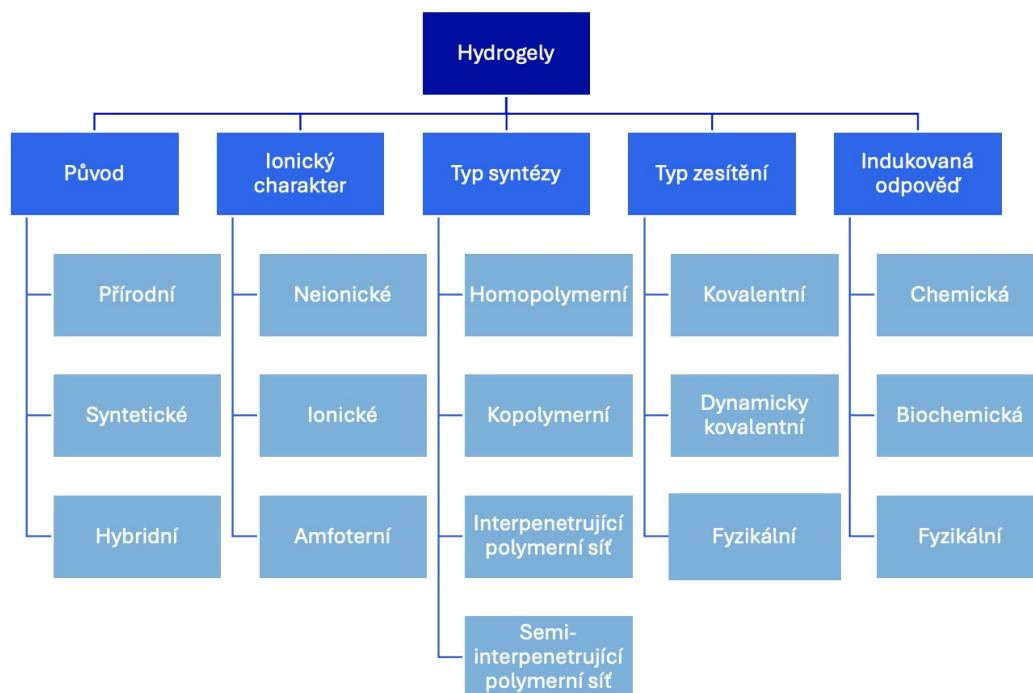
Podstatné pro zadržení intersticiální tekutiny je rezistence polymeru vůči rozpuštění. Odolnost vůči tomuto jevu vyplývá ze zesíťovaných vazeb mezi řetězci polymeru [4]. Zesíťování je klíčové rovněž pro udržení stability hydrogelů a spolu s dalšími přítomnými interakcemi a vazbami zajišťuje také vnitřní strukturu a definovaný tvar hydrogelu [3].

Toto komplexní uspořádání ovlivňuje nejen výslednou elasticitu hydrogelu, ale také jeho další vlastnosti, jako definovanou vlhkost a poddajnost v závislosti na určitém typu hydrogelu [3]. Ve stavu, kdy mají hydrogely ve struktuře vysoký obsah vody, disponují také určitým stupněm flexibility, který je velmi podobný živé přirozené tkáni, což z nich

v posledních několika desetiletích činí v oblasti například tkáňového inženýrství velmi atraktivní materiál [4].

1.1 Klasifikace hydrogelů

Hydrogely lze na základě určitých parametrů dělit do několika skupin (Obrázek 2). Základní dělení rozlišuje hydrogely podle zdroje použitého polymeru. Je také možné je rozdělit podle nesoucího náboje na polymerním řetězci, typu syntézy, tedy jestli výsledná síť obsahuje jeden či více druhů polymerů. Také využitý typ síťování je základním parametrem dělení. Hydrogely jsou rovněž schopné reagovat na okolní prostředí. V závislosti na změnách podmínek tohoto prostředí, jako je pH, teplota nebo přítomnost iontů, jsou schopny vyvolat různou odpověď [3].



Obrázek 2 Rozdělení hydrogelů.

1.1.1 Podle původu

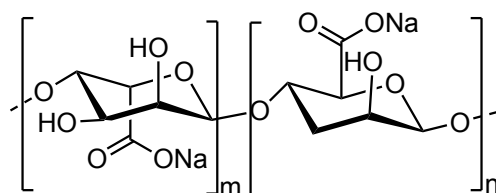
Dle původu lze hydrogely klasifikovat do tří skupin. Řadí se sem hydrogely na bázi přírodních zdrojů, synteticky připravené hydrogely a hybridní hydrogely [3].

Hydrogely na bázi přírodních zdrojů

Do této skupiny hydrogelů se řadí takové, které mají svůj skelet zformovaný polymery, respektive biopolymery produkovanými živými organismy. Hlavními typy těchto

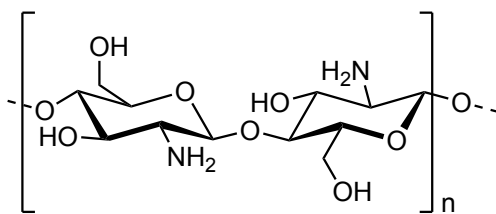
biopolymerů jsou oleje, proteiny a polysacharidy. Rostlinné oleje, například olej sójový, palmový nebo lněný a živočišné oleje, jako rybí tuk, se v podobě polymerů v přírodě nevyskytují. Mohou však být významnými zdroji prekurzorů monomerních řetězců pro syntézu různých polymerů využívaných v biomateriálové oblasti [3].

Významným zástupcem této skupiny látek je anionický přírodní polysacharid alginát sodný (Obrázek 3), jehož zdrojem jsou buněčné stěny hnědých řas. Základními strukturními jednotkami tohoto biopolymeru jsou lineární kopolymerní bloky kyseliny β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-mannuronové a kyseliny α -L-glukuronové. Fyzikálně-chemické vlastnosti hydrogelu tvořeného těmito složkami závisí jednak na jejich vzájemném poměru a také na jejich homopolymerní či heteropolymerní sekvenci.



Obrázek 3 Struktura alginátu sodného.

Druhým nejhojněji zastoupeným biopolymerem na planetě je chitosan (Obrázek 4). Jeho praktické využití pokrývá široké spektrum oblastí [1], především díky jeho dobré biokompatibilitě, propustnosti pro kyslík, hemostatickým a antimikrobiálním vlastnostem [5]. Jeho hydrofilní charakter zajišťuje i uplatnění v oblasti hydrogelů. Jedná se o kationický polysacharid získávaný částečnou deacetylací chitinu, který je tvořený β -(1 $\rightarrow$ 4)-D-glukosaminovou a *N*-acetyl-D-glukosaminovou jednotkou [1].



Obrázek 4 Struktura chitosanu.

Synteticky připravené hydrogely

Syntetické hydrogely jsou připravovány z uměle syntetizovaných monomerů [1]. Vyznačují se především svou definovanou chemickou strukturou, vycházející ze struktury již zmíněných základních jednotek, monomerů [6]. Výhodou je tedy zároveň jeho

uniformita, kterou častokrát u v přírodě se vyskytujících polymerů nelze zajistit. Takto připravené polymery však mohou vykazovat řadu nevýhod, například ve smyslu interakce mezi materiálem a živou tkání [3]. Syntetické hydrogely potom nemusí vykazovat uspokojivou biodegradabilitu nebo naopak takové způsoby příprav mohou vést ke snížené biologické aktivitě [6]. Druhou stránkou je biodegradabilita a komplexně likvidace, kdy je třeba postupovat šetrně k životnímu prostředí [3].

Hybridní hydrogely

Hydrogely patřící do této skupiny jsou připravovány kombinací přírodních polymerů s polymery syntetickými [1]. Samotné syntetické a přírodní polymery mohou při jejich aplikaci vykazovat řadu nevýhod. U přírodních polymerních skeletů jde například o nízkou mechanickou pevnost, malou teplotní stabilitu či příliš snadnou biodegradabilitu. Hybridní hydrogely jsou připravovány za účelem kombinování výhodných vlastností jak přírodních, tak i syntetických hydrogelů nebo je lze specificky modifikovat za účelem konkrétní aplikace. Při přípravě těchto materiálů lze postupovat buď cestou roubování syntetických monomerů na přírodně utvořený skelet či naopak, anebo cestou vzájemného zesíťování syntetických a přírodních biopolymerů [3].

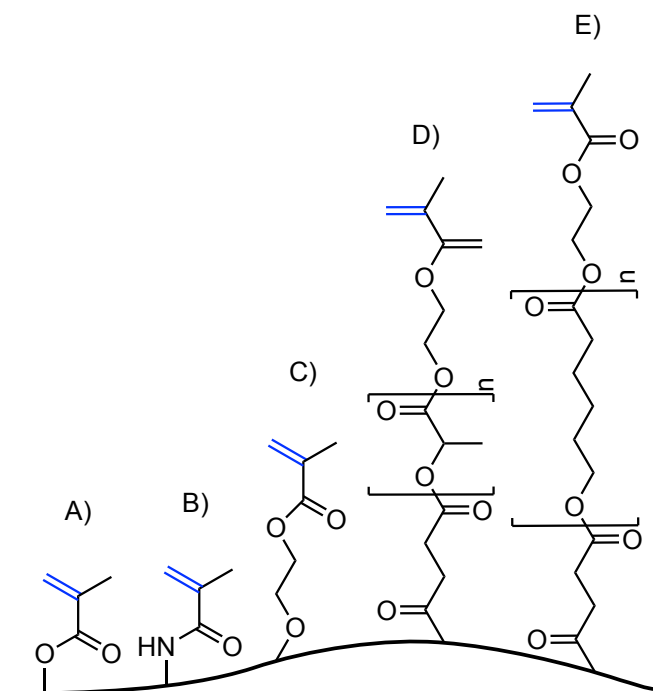
1.1.2 Podle typu zesíťení

Rozdílné metody síťování polymerů, respektive biopolymerů jsou způsobem, jak dosáhnout různých, nejen mechanických, vlastností připravovaných hydrogelů. Jedná se o tři základní typy síťování. Kovalentně síťované hydrogely jsou charakteristické vysokým stupněm stability sítě a s tím spojenou pomalou degradací. Při přípravě sítí pomocí dynamicky kovalentních vazeb lze do struktury zavést specifické strukturní motivy, které mohou být ve výsledku citlivé na vnější stimuly. Díky tomu mohou hydrogely reagovat svou vnitřní přestavbou na měnící se podmínky okolí. V některých aplikacích je uvažované chování vzniklého materiálu podmíněno rozpadem a opětovným samouspořádáním připravené hydrogelové sítě. Takovým potřebám vyhovuje fyzikální metoda síťování [7].

Kovalentní síťování

Podstatou této metody síťování je tvorba kovalentních vazeb mezi funkčními skupinami na řetězcích biopolymerů. Výsledné mechanické i biologické vlastnosti připraveného hydrogelu závisí například na typech přítomných funkčních skupin, stupni modifikace biopolymeru, ale také na jeho koncentraci [7].

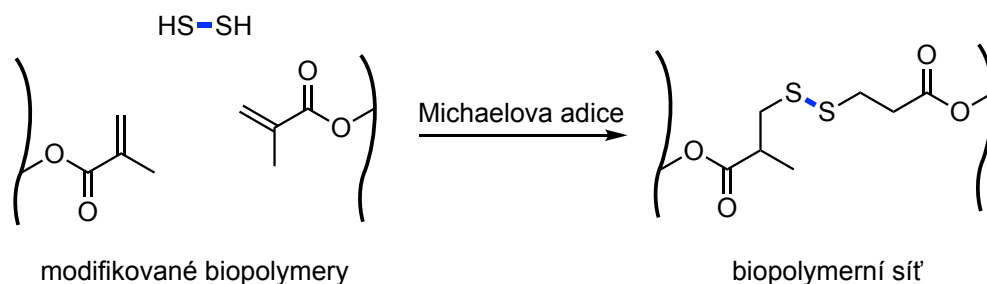
Prvním způsobem je síťování pomocí volné radikálové řetězové polymerace. Jedná se o klasický radikálový způsob reakce, který postupuje třemi kroky. A to nejprve iniciací, kdy nastává tvorba volných radikálů např. fotoiniciací, oxidačně-redukčními mechanismy nebo vlivem termálních iniciátorů. V průběhu druhého stupně reakce, propagace, interagují volné radikály s nenasycenými dvojnými vazbami. Aktivní centrum volných radikálů se neustále přenáší a začíná síťování přítomných biopolymerů. V závěrečné terminační fázi dochází k ukončení růstu řetězce různými mechanismy, které zastavují další šíření radikálů [7]. Pro tento typ radikálové polymerace se často využívají methakrylátové [7-10] nebo methakrylamidové skupiny (Obrázek 5) [7, 11, 12]. Navázání těchto skupin na biopolymer se provádí například esterifikací anhydridem kyseliny methakrylové [7, 8, 13, 14] nebo etherifikací glycidylmethakrylátem [7, 15, 16]. Tímto postupem modifikovaná kyselina hyaluronová byla předmětem zájmu několika výzkumných skupin, které v publikovaných pracích prokázaly možnost jejího použití pro řízené dodávání léčiv [7, 8, 16], ale i pro tkáňové inženýrství hlasivek [7, 17, 18] nebo pro řízenou diferenciaci lidských embryonálních kmenových buněk [7, 19]. Je také možné připravit hydrogely, které lze kontrolovatelně degradovat, čehož se dosahuje zavedením hydrolyticky degradovatelných skupin do struktury biopolymeru. Tím může být například hydroxyethylmethakrylát nebo kyselina mléčná (Obrázek 5) [7, 20-22]. Kyselina hyaluronová modifikovaná kyselinou mléčnou však tvoří velmi rychle se rozpadající hydrogely, což ve styku s buňkami vede k jejich shlukování a nepříznivým morfologickým změnám [7]. Při řešení tohoto problému bylo autory přistoupeno k zavedení kaprolaktonové skupiny (Obrázek 5) mezi hlavní řetězce kyseliny hyaluronové a již přítomné methakrylátové skupiny. Takto připravený hydrogel splňoval potřebné biologické předpoklady a řízená degradace probíhala dle rychlostních požadavků [23].



Obrázek 5 Příklady funkčních skupin aplikovaných pro kovalentní síťování: methakrylát (A), methakrylamid (B), hydroxyethylmethakrylát (C), methakrylát kyseliny mléčné (D), kaprolakton methakrylát (E).

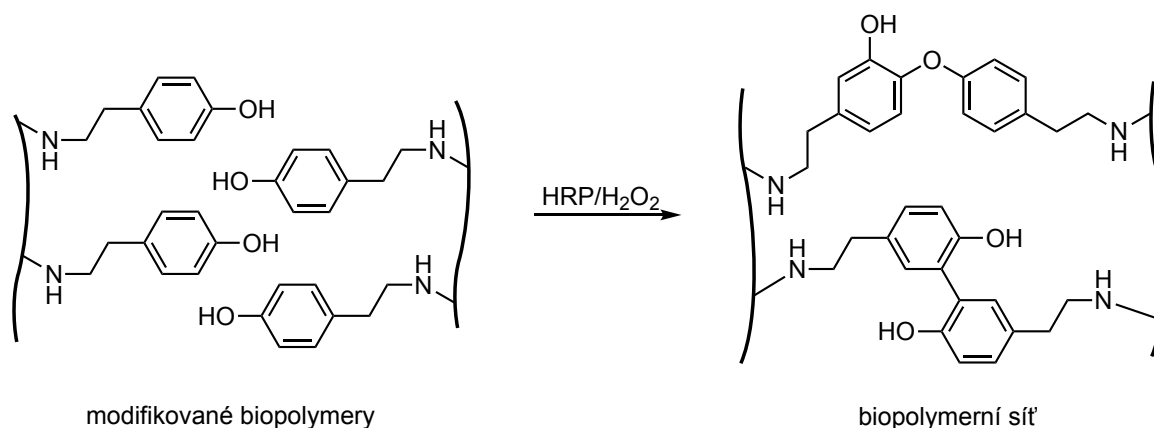
Druhou metodou, kterou lze připravit kovalentně síťované struktury, je tzv. ‚click reakce‘ [7]. Termín neoznačuje jednu konkrétní reakci, ale představuje soubor několika reakcí se stejnými charakteristikami. Reakce patřící do této skupiny jsou rychlé, velmi selektivní a poskytují požadované produkty ve vysokých výtěžcích [24]. Jelikož reakce probíhají za mírných podmínek a dochází k minimální tvorbě vedlejších produktů, lze o nich hovořit i jako o biokompatibilních chemických reakcích. Z tohoto důvodu jsou často využívány v biomedicínských aplikacích [7, 25, 26]. Běžně bývají do reakce přidávány thiolenové radikály, které vytvoří kovalentní thioetherovou vazbu mezi alkenem a thiolem za přítomnosti radikálového iniciátoru [7, 27]. Tyto iniciátory přemění přítomné thioly na thiolové radikály, které vytvoří thioesterové vazby s přítomnými specifickými ‚eny‘. Pro lepší kontrolu nad tvorbou hydrogelu se často používají například norborneny, což jsou přemostěné cyklické uhlovodíky obsahující dvojnou vazbu (systematický název norbornenu je bicyklo[2.2.1]hept-2-en). Pomocí Michaelova adičního zesíťení lze zmíněný postup reakce provést bez přítomnosti radikálového iniciátoru. Tato reakce je katalyzována bazicky či nukleofilně a je třeba využít jinou ‚enovou‘ skupinu, například již zmiňované methakrylátové skupiny nebo pro tento mechanismus reaktivnější maleimidy (Obrázek 6). Pozměněné reakční podmínky vedou ke zlepšení gelační doby a tím potřebné kinetiky gelace pro klinické aplikace hydrogelu [7]. Tímto mechanismem připravená thiolovaná kyselina

hyaluronová s methakrylátovými jednotkami ve struktuře byla úspěšně využita v tkáňovém inženýrství pro stabilizaci tkáně myokardu hlodavce po prodělaném infarktu [28].



Obrázek 6 Schéma Michaelova adičního zesíťení.

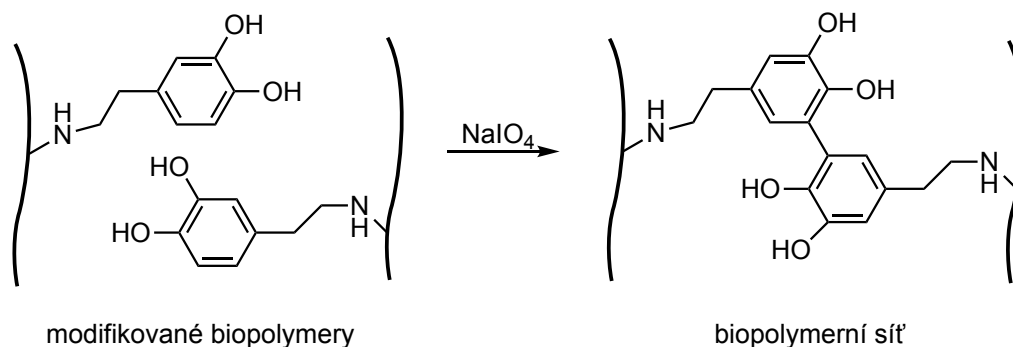
Třetí možností kovalentního síťování je oxidace fenolických skupin. Při reakci dochází k vytvoření fenolátových radikálů vlivem oxidačního prostředí a ty následně tvoří kovalentně vázané fenolové dimery [7, 29]. Jedním z možných postupů přípravy hydrogelu je enzymaticky řízené síťování tyraminu, aminu odvozeného od aminokyseliny tyrosinu [7, 30]. Biopolymery se modifikují amidací mezi tyramidovými a karboxylovými skupinami. Pro přeměnu tyraminové skupiny na fenolátové radikály se využívá peroxidu vodíku a enzymu HRP (z angl. HorseRadish Peroxidase) (Obrázek 7). Síťování nastává v řádech desítek sekund a je možné jej regulovat koncentrací reagujících složek [7]. Ueda a kolegové se zabývali přípravou hydrogelu tímto postupem a došli k závěru, že tyrosinem modifikovaná kyselina hyaluronová je vhodná pro dlouhodobé dodávání léčiv [31]. Konkrétně se zabývali léčebným mechanismem karcinomu ledvin u myší.



Obrázek 7 Schéma síťování biopolymerů modifikovaných tyraminovými skupinami.

Další z možností je oxidace katecholových skupin (Obrázek 8), které se běžně vyskytují v přírodě. Tyto skupiny tvoří v oxidačním prostředí kovalentně zesíťené katecholové dimery. Některé druhy mušlí mohou díky sekretovaným tekutinám bohatým na katecholové látky

snadno přilnout na vlhké povrchy. Několik výzkumných skupin z tohoto faktu vycházelo a věnovalo se katecholem modifikovaných hydrogelů na bázi hyaluronanu [32, 33]. Například Hong a kolegové dokázali, že v závislosti na pH prostředí, v němž se připravený hydrogel nachází, lze měnit jeho schopnosti mezi adhezivní a kohezivní. Materiál pak může být využit jak na povrchové úpravy jiných implantátů, tak i na tvorbu tkáňových skafoldů [34].



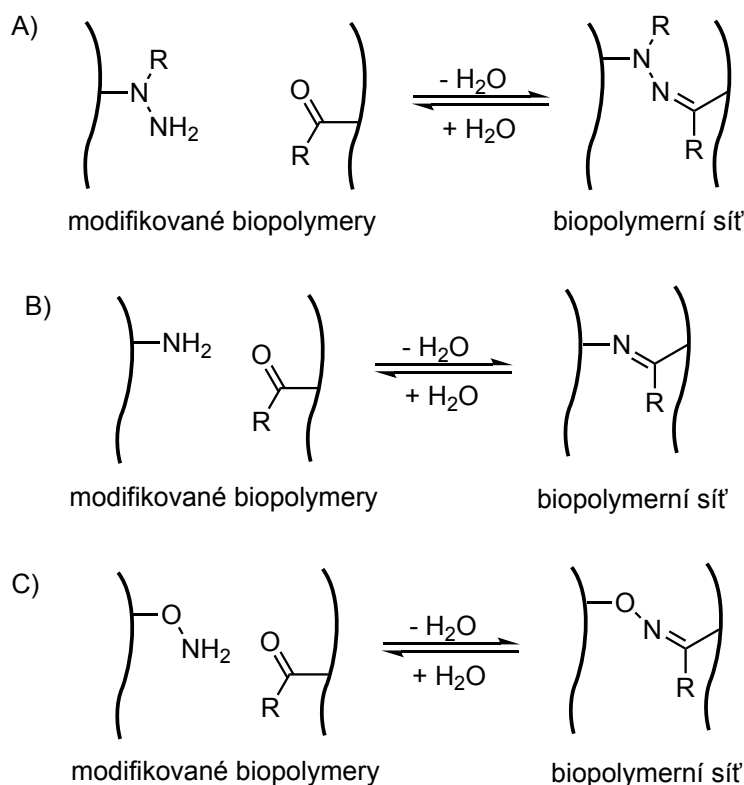
Obrázek 8 Schéma síťování biopolymerů modifikovaných katecholem.

Dynamicky kovalentní síťování

Koncentrace biopolymeru, jeho navzájem síťovaných funkčních skupin a pevnost vazeb bude určovat jak mechanické, tak i biologické vlastnosti výsledných materiálů. Jejich životnost se právě díky přítomnosti tohoto typu vazeb může, ve srovnání s hydrogely kovalentně síťovanými, významně lišit a jejich degradace tak může nastoupit mnohem rychleji [7].

Mezi možné způsoby síťování patří zesíťování Schiffovy báze, což jsou typy iminu se strukturou $R_2C=NR'$. Jedná se buď o sekundární aldiminy nebo ketiminy s podmínkou $R' \neq H$. Schiffova báze vzniká kondenzací karbonylových a primárních aminových skupin, kdy vedlejším produktem je voda. Hydrogely se pak připravují smícháním modifikovaných biopolymerů s příslušným aldehydem a aminem. Degradaci hydrogelu lze řídit typem Schiffovy báze použité k síťování. Příčné hydrazonové vazby vznikají kondenzací karbonylové skupiny s primární aminovou skupinou připojenou na primární atom dusíku (H_2N-NR_2) (Obrázek 9A). Biopolymery modifikované hydrazidem nebo karbohydrazidem mají vliv na stabilitu připravované hydrogelové sítě a jejich degradace pak může být výrazně zmírněná. Méně stabilní iminové příčné vazby lze připravit kondenzací karbonylové skupiny s primární aminovou skupinou navázanou na uhlovodíkový zbytek (Obrázek 9B). Tímto způsobem je možné připravit injekční

hydrogel s vlastnostmi smykového ztenčování a samoregeneračním chováním. Nejstabilnější připravovanými příčnými vazbami, avšak nejméně používanými, jsou oximové, které se připraví kondenzací karbonylu s primární aminovou skupinou navázanou na atom kyslíku (Obrázek 9C) [7].

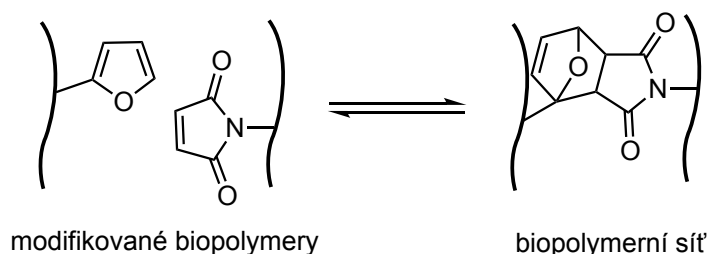


Obrázek 9 Schéma možného síťování biopolymerů pomocí hydrazonové vazby (A), iminové vazby (B), oximové vazby (C).

Disulfidové vazby představují možný typ zesítnění, který je schopen se v reakci na chemický nebo fyzikální podnět rozrušit a znovu obnovit. Tento typ vazeb je přítomen především v proteinech obsahující cysteinové aminokyselinové zbytky s thiolovými skupinami, jelikož ty jsou schopé disulfidové vazby vytvářet. Připravované hydrogely se obecně vyznačují samoregeneračním chováním a snižováním viskozity vlivem působení smykového napětí [7].

Dalším možným typem jsou Dielsovy–Alderovy reakce, které se řadí mezi tzv. *click reakce*, kdy se jedná o [4+2] cykloadiční reakce mezi dieny a dienofily, který vedou ke vzniku cyklických struktur. Připravované hydrogely z biopolymerů modifikovaných furanem síťovanými bismaleimidovými síťovacími činidly vykazovaly zajímavé termoresponzivní chování a zároveň prokázaly citlivost na pH [7]. Tan a kolegové se zabývali modifikací kyseliny hyaluronové furanovými a maleimidovými jednotkami

pro biomedicínské aplikace (Obrázek 10). Výsledkem byl dlouhodobě stabilní hydrogel s účinným postupným uvolňováním inzulinu. Získané výsledky naznačují, že takto připravený hydrogel může být vhodným nosičem pro proteinová léčiva [35].

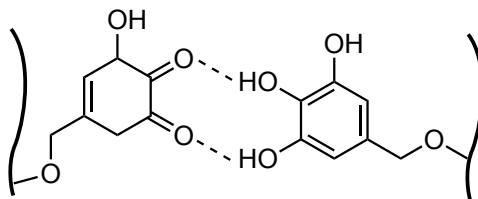


Obrázek 10 Schéma síťování biopolymerů s furanovými a maleimidovými jednotkami.

Fyzikální síťování

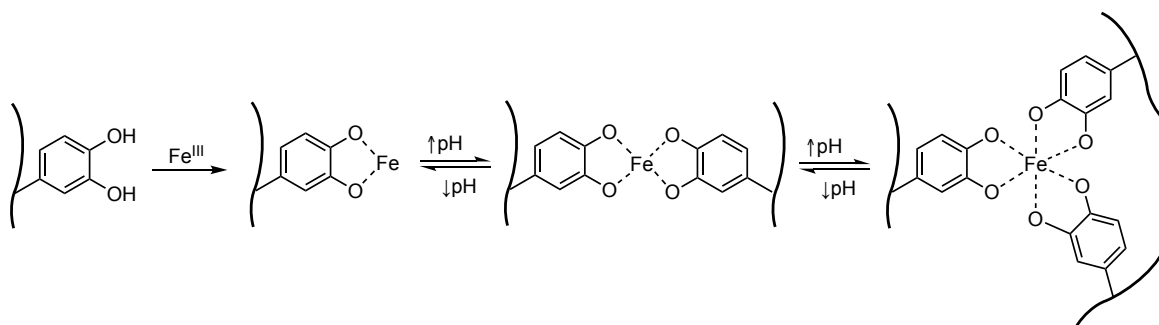
Z hlediska cytotoxicity připravovaného hydrogelu má tento typ síťování výhody v tom, že pro jejich přípravu není třeba žádných katalyzátorů nebo iniciátorů. I tento typ síťování se vyznačuje reverzibilní povahou, což umožňuje konstrukci samoregeneračních hydrogelů a s tím související významné smykové ztenčování. Nižší mechanické moduly vzhledem ke kovalentnímu síťování mohou značně přispívat k větší migraci buněk a lepší permeabilitě materiálu pro okolní prostředí. Fyzikálně síťované hydrogely lze také upravovat tak, aby vykazovaly responzivní chování na různé podněty, které jsou klíčové pro některé biomedicínské aplikace [7]. Fyzikální síťování za pomoci interakcí hostitel–host bude detailně popsáno v kapitole 3.1.

Jednu z nejběžnějších nekovalentních interakcí představují vodíkové vazby [7]. Jsou významné především pro biochemii organismu, kde se vyskytují ve vyšších strukturách biologických makromolekul. Zásadně ovlivňují nejen samotnou strukturu, uspořádání a tvar molekuly, ale i jejich výslednou funkci. Například rozdílné vodíkové vazby v DNA a RNA podstatně ovlivňují funkci a roli těchto biomakromolekul v organismu, i když složení je z hlediska nukleových bazí téměř totožné. Jsou důležité také při rozpouštění biomolekul ve vodném prostředí [36]. Při přípravě hydrogelů za pomoci vodíkových vazeb se využívá biopolymerů modifikovaných například gallolem, jehož aromatická cyklická struktura obsahuje tři hydroxylové skupiny (Obrázek 11). Tvorba vodíkových vazeb díky těmto jednotkám zajišťuje ve výsledném hydrogelu samoregenerační chování. Nicméně oxidací gallolových jednotek za vzniku jednotek chinonových dochází k absenci tvorby vodíkových vazeb a vzniku vazeb kovalentních, čímž lze zajistit zvýšení stability polymerní sítě [7].



Obrázek 11 Schéma biopolymerní sítě stabilizované pomocí vodíkových vazeb.

Zajímavou metodou může být také tvorba koordinačních komplexů. Biopolymery modifikované specifickými typy sloučenin, nazývanými ligandy, mohou být navzájem síťovány přes středový atom kovu (Obrázek 12). Konkrétním příkladem ligandu může být katechol, který je schopen vytvářet komplexy s atomy Fe^{III} nebo Cu^{II} . Povaha vazby umožňuje přípravu hydrogelových sítí s vlastnostmi smykového ztenčování nebo sebeobnovy. Připravené materiály mohou reagovat na změnu pH a v některých případech je možné dosáhnout mechanického modulu velmi blízkého kovalentnímu síťování [7]. Přípravou hydrogelu z kyseliny hyaluronové modifikované gallolovými skupinami, síťované za pomoci koordinačních vazeb, se zabývala Shin a kolegové. Mikrogelová matrice byla ponechána reagovat s nanočásticemi stříbra, čímž došlo k tvorbě komplexů. Získaný hydrogel vykazoval vodivé vlastnosti a vysokou mechanickou stabilitu. Hydrogel byl injekčně aplikován do izolovaných svalů potkana a byl vyhodnocen jako vhodný materiál pro elektroaktivní tkáňové aplikace [37].



Obrázek 12 Schéma síťování biopolymerů pomocí komplexů kov-ligand se zvyšujícím se pH.

1.2 Vlastnosti hydrogelů

Vlastnosti a chování hydrogelů jsou důležitým parametrem pro funkci připraveného materiálu a s tím spojený samotný výběr vhodného materiálu pro danou aplikaci [3, 6]. Od „ideálního“ hydrogelu se očekává, že bude nositelem řady vlastností, jako je vysoká absorpční kapacita ve vodním prostředí, nejnižší rozpustný obsah a zbytkový monomer,

nejvyšší stabilita v botnajícím prostředí, výborná biologická odbouratelnost bez tvorby toxických látek, nulová toxicita, optimální poréznost, pH neutralita atd. Připravený materiál však nikdy nebude splňovat všechny podmínky na maximální možné úrovni. V závislosti na uvažované aplikaci hydrogelu je nutno dosáhnout vhodné rovnováhy mezi požadavky na vlastnosti hydrogelu [6].

Při výběru materiálu pro konkrétní aplikaci je podstatné se zaměřit na několik parametrů charakterizujících hydrogely [6]. Biokompatibilita je pro materiál, respektive hydrogel, klíčová. Hydrogely se v posledních letech staly hlavní volbou pro přípravu biomateriálů, tedy materiálů kompatibilních s imunitním systémem organismu. Hydrofilní a měkký povrch totiž minimalizuje mezifázové napětí mezi materiálem a okolními tkáněmi nebo tělními tekutinami. Je tedy relativně malá pravděpodobnost adsorpce molekul z daného prostředí na jejich povrch. S tím se pojí také biodegradabilita, jelikož hydrogel v průběhu času podléhá degradaci. V biologickém prostředí může být rozklad sítě vyvolán i vnějšími faktory, jako přítomnými enzymy nebo mikroorganismy. Je důležité, aby v průběhu degradace nedocházelo k tvorbě vedlejších produktů vykazujících toxicitu [3]. Mezi základní charakteristiky hydrogelu také patří schopnost botnat, respektive výrazně měnit svůj objem. Je to důsledek difuze molekul vody nebo rozpuštěných látek do jejich polymerní sítě. Tato významná vlastnost hydrogelu je závislá na několika faktorech, jako je typ přítomných polymerů, způsob zesítnění, typ chemických vazeb, povrchový náboj nebo také okolní podmínky (teplota či pH). Například hydrogely na bázi polyelektrolytů vykazují schopnost botnání, a to především v důsledku odpuzování náboje mezi polymerními řetězci [6]. Tuhost hydrogelů nebo také viskoelastické a mechanické vlastnosti jsou relevantní při charakteristikách materiálů pro tkáňové inženýrství [3]. Připravené struktury mají potom přímý kontakt s okolními tkáněmi [6] a tím tak ovlivňují buněčnou morfologii a mikroprostředí, buněčnou adhezi nebo i genetické a epigenetické vlastnosti [3]. Jejich chování může způsobit poškození takto vystavených tkání nebo i vnitřní rozpad struktury [6].

1.3 Aplikace hydrogelů

Hydrogely se díky své specifické struktuře a vlastnostem jeví jako vhodné materiály pro řadu aplikací [38]. Pružná a měkká pohava je činí atraktivními materiály pro oblast biomedicíny. Hydrogely jsou schopny napodobovat biologické, chemické a fyzikální vlastnosti orgánů nebo tkání v reakci na změny teploty, pH nebo elektrického pole.

Pro farmaceutickou oblast nabízí hydrogel významnou vlastnost botnání, která je klíčová pro systémy dodávání léčiv (*drug delivery*) [38]. Hydrogely jsou dnes také nedílnou součástí léčivých obvazů na rány a jako tzv. super absorbenti nacházejí své využití také při výrobě jednorázových plen, ubrousků nebo různých hygienických produktů [3].

1.3.1 Řízené dodávání léčiv

Hydrogely se díky své porézní struktuře, biokompatibilitě či snadné strukturní modifikaci jeví jako vhodný nástroj pro využití v oblasti řízeného transportu léčiv. Ideální představou je dodání terapeutického množství léčiva na postižené místo v organismu, s přesně definovanou rychlostí distribuce a v předem definované koncentraci. Pro takové aplikace jsou využívány jak přírodní, tak syntetické polymery. Z přírodních polymerů se jedná především o chitosan, alginát, kyselinu hyaluronovou, fibrin nebo želatinu. Nejčastěji aplikovanými zástupci z rodiny syntetických polymerů jsou např. polyethylenglykol, polyvinylalkohol nebo polyakrylamid [6].

Principem tohoto typu aplikace je umístění léčiva do porézní struktury hydrogelu. Jakmile do struktury pronikne voda a léčivo se rozpustí, dojde k jeho difundaci do okolního vodného prostředí [6]. Stimulem pro uvolnění léčiva může být změna pH prostředí, teploty nebo přítomnost specifických enzymů (chemický podnět) [38]. Důležitým faktorem ovlivňujícím dávkování léčiva je jeho samotná enkapsulace, kdy lepší kontrolu nad uvolňovaným léčivem lze zajistit tvorbou silnějších vazeb mezi ním a síťovou matrix polymeru. Nevýhody a problémy při aplikaci však mohou nastat při omezených mechanických vlastnostech hydrogelu, kdy může dojít k předčasnému uvolnění struktury před dosažením cílové oblasti. Rovněž vysoký objem vody a velké póry struktury mohou znesnadnit kontrolu nad enkapsulací a postupným uvolňováním léčiva. U hydrofobních léčiv nastává problém při udržení homogenity v síti hydrogelu [6].

1.3.2 Tkáňové inženýrství

V tkáňovém inženýrství jde především o kombinaci materiálů a jejich spojení s buňkami pro zlepšení či náhradu biologických orgánů. Hydrogely představují i pro tyto aplikace atraktivní materiál, a to díky své podobnosti s tkáněmi nebo extracelulárním matrix. Jejich využití v této oblasti zahrnuje prostředky pro výplň volných prostorů, nosiče pro bioaktivní látky a pro přípravu 3D stuktur jako podpora pro buňky. Hydrogely na přírodní bázi, obsahující alginát, kolagen nebo chitosan, jsou potenciální materiály

pro zaplňování objemu. Například hydrogely obsahující chitosan či deriváty chitinu jsou využívány při chirurgických operacích k uzavírání malých ran, kde by mohlo docházet k úniku tělních tekutin. Naopak sítě připravené ze syntetických polymerů se často používají jako materiály proti přilnavosti, kdy se na ně buňky svými receptory nemají schopnost adherovat. Na hydrogelu založené materiály se také využívají k přípravě několika typů tkání jako jsou chrupavky, svaly nebo kůže. Konkrétním příkladem může být alginát, který byl používán pro *in vivo* hodnocení hydrogelových struktur pro přípravu chrupavky nebo pro Schwannovy buňky nervových štěpů. Využívaným je také kolagen, který poskytuje vhodné vlastnosti pro konstrukci krevních cév [38]. Zajímavým použitím jsou takzvané bioinkousty pro tisk buněk a růstových faktorů, kdy je podstatné zachovat prostorové uspořádání pro napodobení cílové tkáně. Důležitou součástí při tkáňových konstrukcích je také sterilita materiálu. Je třeba dbát na to, aby nedocházelo k mikrobiální kontaminaci po nasazení implantátu do organismu. Úplná sterilizace všech součástí připraveného materiálu je složitá [39].

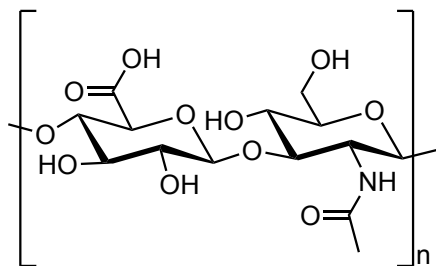
2 HYDROGELY NA BÁZI HYALURONANU

Aplikace syntetických hydrogelů, zejména pak aplikace biomedicínské, mohou být značně limitovány, a to například nízkou bioaktivitou, špatnou biodegradabilitou, a také samotným postupem přípravy, kdy je často zapotřebí zavedení síťovacích činidel a iniciátorů, které mohou být sami o sobě cytotoxické. Vzhledem k těmto nedostatkům představují zajímavou alternativu přírodní hydrogely připravované z ekonomicky dostupných, biokompatibilních a snadno odbouratelných přírodních materiálů, tedy biopolymerů, mezi které patří také kyselina hyaluronová [40].

Přírodní hydrogely, především hydrogely na bázi hyaluronanu, si zachovávají vlastnosti a zároveň fyziologickou funkčnost nativní kyseliny hyaluronové. Tím se rozumí výborná biokompatibilita, mechanická viskoelastická [40] a také imunoneutralita, která rozšiřuje oblast jejich využití [41]. Na druhou stranu mohou hydrogely na bázi hyaluronanu vykazovat vlastnosti, které by mohly vést k omezení jejich využití. Jedná se především o nedostatečnou mechanickou pevnost nebo o snadnou enzymatickou degradaci vlivem působení enzymu hyaluronidázy snižující viskozitu kyseliny hyaluronové. Potlačení slabých stránek kyseliny hyaluronové se zabývá několik výzkumných skupin, které se věnují jejím chemickým i fyzikálním modifikacím nebo různým síťovacím cestám. Jejich cílem je však zachování původních výhodných vlastností kyseliny hyaluronové ve výsledném materiálu zajišťující kompatibilitu s biologickými tkáněmi [40, 42].

2.1 Kyselina hyaluronová

Poprvé byla kyselina hyaluronová (Obrázek 13) izolována z hovězího sklivce roku 1934 K. Meyerem a J. W. Palmerem, kteří ve své práci navrhli název tohoto polysacharidu vycházejícího ze slova „*hyaloid*“, tedy sklivec [43]. Lze ji nalézt jako extracelulární glykosaminoglykan [44] ve většině lidských tkání a především v synoviální tekutině, zmíněném sklivci nebo v kůži, kde je její obsah nejvyšší [45]. Polymer kyseliny hyaluronové se skládá z opakujících se jednotek kyseliny D-glukuronové a *N*-acetyl-D-glukosaminu se střídajícími se β -(1 $\rightarrow$ 3)-glykosidickými a β -(1 $\rightarrow$ 4)-glykosidickými vazbami [40]. Za fyziologických podmínek jsou molekuly kyseliny hyaluronové přítomné ve formě solí, hyaluronátů, konkrétně jako hyaluronát sodný [45].



Obrázek 13 Obecná struktura kyseliny hyaluronové.

Svou makroskopickou velikostí, viskoelasticitou a silnou hygroskopičností je kyselina hyaluronová schopná variovat hydrataci tkání, a tím ovlivňovat osmotickou rovnováhu [44]. Zároveň svými fyziologickými funkcemi je součástí cytokineze [40] nebo působí jako signální molekula zapojující se s dalšími receptorovými proteiny. V této souvislosti se kyselina hyaluronová účastní buněčné migrace, organizace tkáně a zároveň také angiogeneze, což může být pro tkáňové inženýrství důležitým faktorem [44]. Jak již bylo zmíněno na začátku kapitoly, samotná kyselina hyaluronová obsahuje vnitřní defekty, které mohou vést ke slabším mechanickým vlastnostem. K potlačení těchto nedostatků se využívá reaktivity karboxylové, hydroxylové nebo acetylaminové skupiny, jejichž modifikací lze připravit modifikované deriváty kyseliny hyaluronové vykazující vyšší odolnost proti degradaci nebo delší dobu stability výsledného hydrogelu, což rozšiřuje jeho možné aplikace pro biomedicínské využití [40].

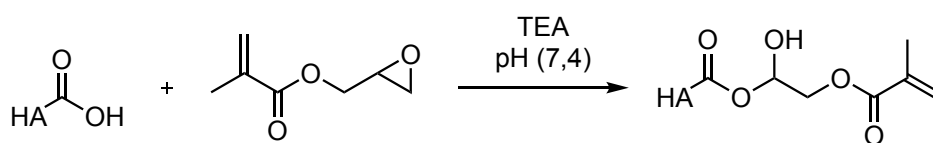
2.2 Modifikace kyseliny hyaluronové

Jak bylo již dříve v této kapitole zmíněno, modifikace chemické struktury kyseliny hyaluronové by mohla vést k rozšíření oblastí její aplikace, především v důsledku prodloužení poločasu rozkladu, zlepšení mechanických a reologických vlastností [40, 42, 44, 45]. Při detailnějším popisu její struktury lze charakterizovat karboxylovou, respektive karboxylátovou skupinu [42, 44], díky níž je molekula schopná rozpuštění ve vodných roztocích. Avšak přítomnost této iontové funkční skupiny a skutečnost existence vodíkových vazeb na úrovni intra- a intermolekulárního síťování omezuje její rozpustnost v běžných organických rozpouštědlech [44]. Jedná se tedy o první možné místo pro její strukturní modifikaci. Další atraktivní skupiny dostupné pro úpravu struktury nativní kyseliny hyaluronové jsou hydroxylová a *N*-acetylová skupina. Obecně lze modifikace provádět dvěma způsoby, a to konjugací nebo síťováním [40, 42, 44]. Oba přístupy lze využít i samostatně, avšak velmi často se při konstrukci hydrogelů využívá jejich kombinace.

U síťování jde o spojení několika jednotlivých řetězců jak nativní kyseliny hyaluronové, tak již modifikovaných derivátů. Naproti tomu konjugace zahrnuje několik typů chemických reakcí vedoucích k implementaci různých funkčních skupin do řetězce nativní kyseliny hyaluronové. Nyní jsou pro tyto účely využívány i bioaktivní látky [42, 44] nebo markerové molekuly, např. barviva [44]. Pro přípravu modifikovaných řetězců kyseliny hyaluronové a následně jejich hydrogelových sítí je třeba pracovat ve specifických podmínkách, které vedou k vysoké kvalitě a čistotě produktů. Uplatňovány jsou reakce tzv. *„click reakce“*, aby se zamezilo používání toxických činidel, katalyzátorů nebo rozpouštědel. Reakce probíhají za mírných podmínek, za vzniku minimálního množství vedlejších produktů a s vysokým kvalitativním i kvantitativním výtěžkem [42].

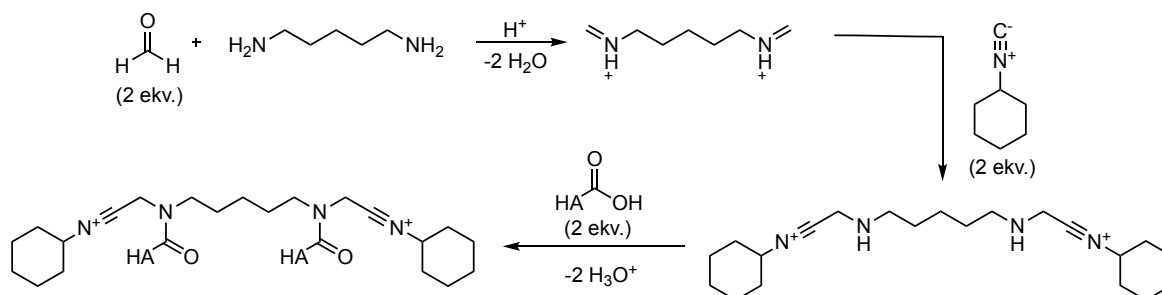
2.2.1 Modifikace karboxylové skupiny

Prvním krokem pro provedení jakékoliv modifikace karboxylové funkční kyseliny je její aktivace vzhledem k nízké reaktivitě za mírných podmínek. Připravené deriváty po modifikaci vykazují větší odolnost vůči hyaluronidázám [42], enzymům, běžně se vyskytujícím v lidském těle [46, 47]. Tuto modifikaci lze provádět různými způsoby. Jedním z nich je esterifikace, kterou lze provést i ve vodném prostředí za využití derivátů na bázi oxiranu, např. glycidylmethakrylátu (Obrázek 14). Výsledkem reakce je méně hydrofilní molekula, tedy i méně rozpustná ve vodném prostředí, což vede k nižšímu sklonu k degradaci zmíněným enzymem [42].



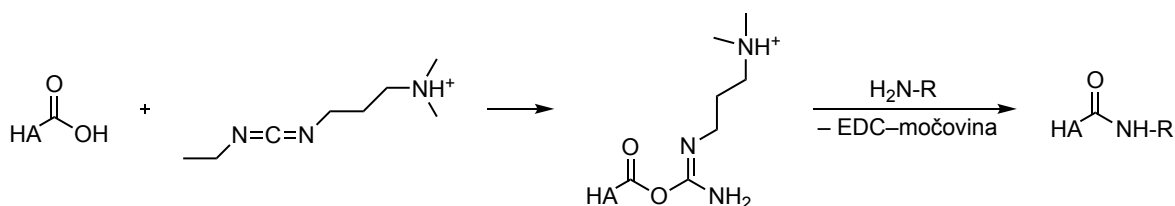
Obrázek 14 Modifikace karboxylové skupiny kyseliny hyaluronové glycidylmethakrylátem.

Druhý způsob modifikace karboxylové skupiny představuje amidace, nejčastěji prováděná aminy, hydraziny a hydrazidy [44]. Existuje několik syntetických postupů, avšak řada z nich zahrnuje značené nevýhody pro přípravu biokompatibilních materiálů [42]. Jednou z vhodných metod pro modifikaci a následné síťování kyseliny hyaluronové je tzv. Ugiho kondenzace (Obrázek 15). Reakce vyžaduje velmi silné kyselé prostředí, za použití formaldehydu a cyklohexylisokyanidu [48, 49].



Obrázek 15 Ugiho kondenzace.

Účinný a vyhovující postup pro modifikaci karboxylových funkčních skupin kyseliny hyaluronové je jejich aktivace ve vodném prostředí karbodiimidem, např. 1-ethyl-3-[3-(dimethylamino)-propyl]-karboimid (EDC) (Obrázek 16). Při tomto postupu nedochází ke štěpení řetězců kyseliny hyaluronové, reakce probíhá za mírných podmínek, a proto může být vhodná i pro modifikaci jiných, snadno degradujících biopolymerů [44, 50, 51]. Druhou potenciální reakcí vedoucí k přípravě derivátů kyseliny hyaluronové na zmíněné funkční skupině je triazinem aktivovaná amidace [42, 52].



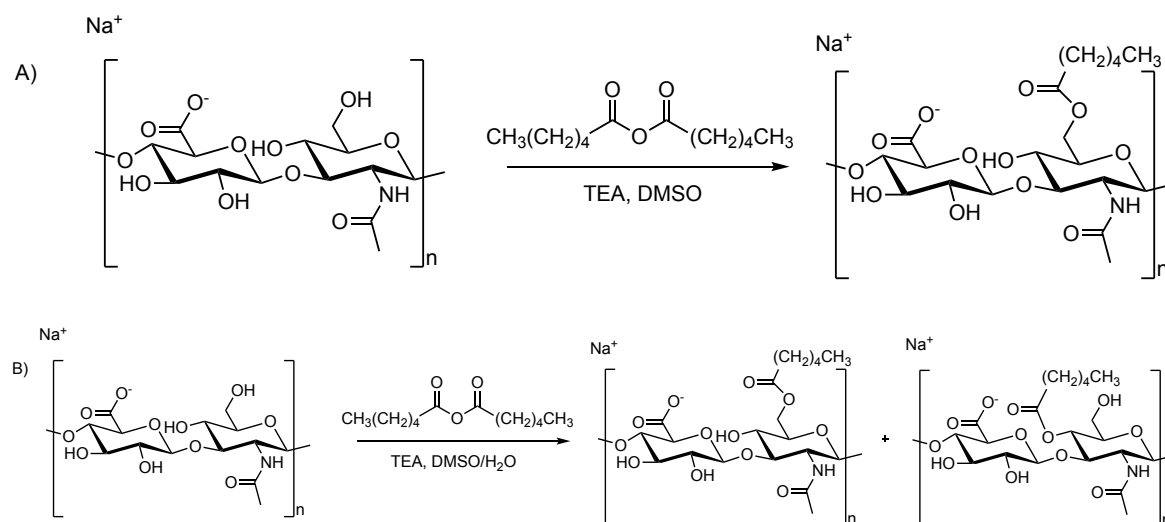
Obrázek 16 Modifikace karboxylové skupiny kyseliny hyaluronové aktivací pomocí EDC.

2.2.2 Modifikace hydroxylové skupiny

Při modifikaci hydroxylových funkčních skupin zůstávají karboxylové funkční skupiny nezměněné, a proto se u výsledných derivátů nijak nemění odolnost vůči degradačním enzymům. Tyto úpravy lze provádět několika typy reakcí, které vedou k různým derivátům, například k etherům, esterům nebo karbamátům [42]. Reakce vedoucí k syntéze etherů kyseliny hyaluronové je značně omezena vzhledem k náročným a nevhodným reakčním podmínkám pro budoucí aplikace (ethery jsou v obecné rovině velmi málo reaktivní sloučeniny, výjimku tvoří např. oxiran). Jedním z možných postupů realizovaných za mírných alkalických podmínek je reakce kyseliny hyaluronové s 2-alkyloxymethyloxiranem v DMSO [44, 53].

Esterifikační reakce bývají náročné kvůli ne zcela rozpustné kyselině hyaluronové ve vhodných rozpouštědlech pro acylační reakce a nežádoucích reakčních podmínkách

pro biopolymery, jako je zvýšená teplota či použití silných katalyzátorů. Další komplikací je i nízká reaktivita sekundárních hydroxylových funkčních skupin, a proto do reakce vstupují pouze primární hydroxylové skupiny [44]. Příkladem může být esterifikace kyseliny hyaluronové anhydridem kyseliny hexanové v DMSO (Obrázek 17). Podmínkou této reakce je úprava hyaluronátu sodného na jeho kyselou formu. Tento krok je relevantní pro kompletně rozpustnou reakční směs. Hyaluronan sodný je také možné esterifikovat za stejných podmínek i v roztoku DMSO/voda (Obrázek 17). Práce Šmejkalové a kolegů ukázala, že acylace provedená v DMSO vedla k regioselektivní substituci na primární hydroxylovou skupinu v poloze 6 *N*-acetyl-D-glukosaminu. Zatímco reakce probíhající v prostředí DMSO/voda vedla k substituci do polohy 6 nebo 4 *N*-acetyl-D-glukosaminu [54]. Atraktivní jsou také sulfátové estery kyseliny hyaluronové, při jejichž přípravě je výhodné použít komplexy SO_3 s organickými aminy (např. s trimethylaminem) [55] nebo amidy (např. s dimethylformamidem) [56]. Komplexy SO_3 jsou poměrně mírná činidla, stále ale způsobují degradaci kyseliny hyaluronové, avšak mnohem méně než dříve používaná sulfatační činidla (kyselina sírová, kyselina chlorsulfonová). I při této reakci probíhá substituce regioselektivně na primární hydroxylové skupině [44].

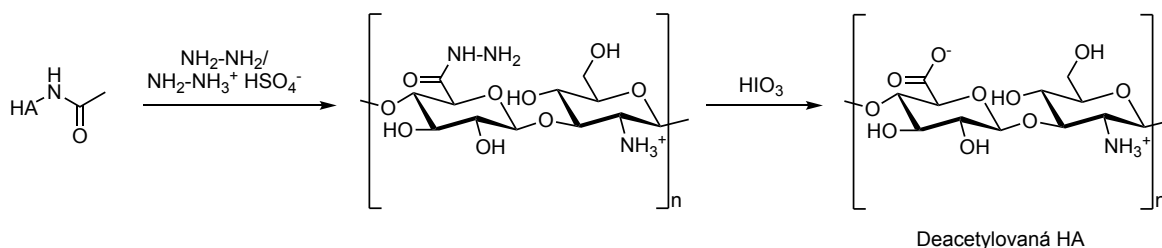


Obrázek 17 Esterifikace kyseliny hyaluronové anhydridem kyseliny hexanové v prostředí DMSO (A) a DMSO/voda (B).

2.2.3 Modifikace *N*-acetylové skupiny

Tyto modifikace zahrnují především deacetylaci uvedených skupin, čímž dochází k reaktivaci aminoskupiny, která tak může být využita pro další reakce [42, 44]. Deacetylaci je možné provádět nejen enzymatickou cestou, ale i cestou chemickou, například za pomoci

hydrazinu nebo hydrazinsulfátu při zvýšených teplotách (Obrázek 18). Avšak postup zmíněnou „chemickou“ cestou s sebou přináší značné nevýhody. Současně totiž dochází i k hydrolytickému štěpení glykosidických vazeb, což vede ke fragmentování řetězce [42, 44, 57]. Výhodnou enzymatické deacetylce je mnohem mírnější reakční prostředí, při kterém nedochází ke štěpení glykosidických vazeb. Do reakce je však nutné zapojit enzym hyaluronan-*N*-deacetylázu, která v dnešní době stále není komerčně dostupná [57]. Je možné jej pouze izolovat například z lidské tkáně [58] nebo z některých hub, jako je *Scopulariopsis brevicaulis* nebo *Aspergillus nidulans*, což se poprvé povedlo v roce 2011 dvojici Kim a Kim [59]. Pro zachování nativních vlastností kyseliny hyaluronové je však deacetylce příliš silnou modifikací a tyto výhodné vlastnosti pro materiálové biomedicínské aplikace ztrácí [42].



Obrázek 18 Deacetylce kyseliny hyaluronové hydrazinem/hydrazinsulfátem.

3 VYUŽITÍ KOMPLEXŮ TYPU HOSTITEL–HOST PŘI KONSTRUKCI HYDROGELŮ

Systém hostitel–host (z angl. host–guest) je jednou z možných nekovalentních interakcí využívaných pro přípravu supramolekulárních hydrogelů [60, 61]. O supramolekulární chemii se mluví jako o „chemii přesahující molekulu.“ Pojednává totiž o vzniku vyšších organizačních struktur s využitím nekovalentních intermolekulárních interakcí mezi dvěma či více molekulami [61, 62]. J. M. Lehn spolu s C. J. Pedersenem a D. J. Cramem obdrželi za formování a rozvoj supramolekulární chemie v roce 1987 Nobelovu cenu za chemii [61]. J. M. Lehn pak ve své práci uvádí myšlenku „supermolekuly jsou pro molekuly a intermolekulární vazbu tím, čím jsou molekuly pro atomy a kovalentní vazbu“ [62].

Supramolekulární hydrogely se stávají velmi atraktivními materiály, nejen pro biomedicínské aplikace [63, 64]. Komplexy typu hostitel–host zprostředkovávají specifická zesítení, což hydrogelovým sítím dodává unikátní mechanické vlastnosti a vnáší do sítí jistou dynamiku [65]. Ta přináší do systému významnou schopnost reorganizace v krátkých časových intervalech, což se projeví samoregeneračním chováním, případně vhodným přeuspořádáním podle vnější vynucené síly nebo změny podmínek prostředí [63, 66]. Obecně supramolekulární polymerní materiály díky směrovým nekovalentním interakcím vykazují další velmi významné vlastnosti, například reverzibilitu, adaptibilitu nebo rozložitelnost [67].

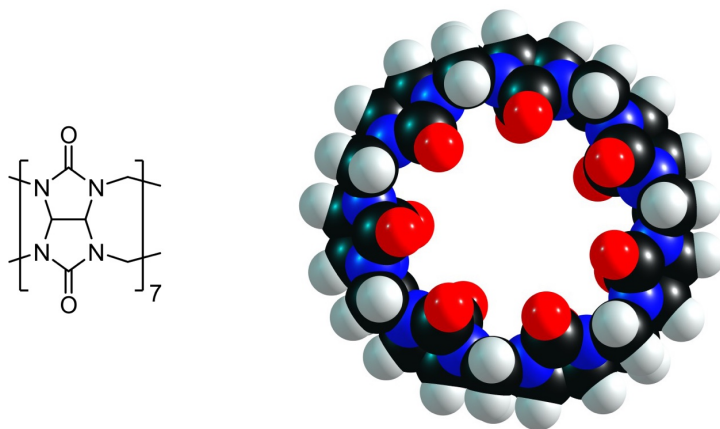
3.1 Hostitel–host chemie

Komplexy typu hostitel–host, využívající různé nekovalentní interakce (H-vazba, $\pi \cdots \pi$ interakce, van der Waalsovy síly, ...), jsou velmi oblíbené pro konstrukci supramolekulárních hydrogelových sítí. Termín hostitel je možný interpretovat jako „velkou“ molekulu či agregát, který se vyznačuje značně prostorově objemnou kavitou, nevyplněnou dutinou schopnou pojmout druhou komponentu, hosta [60, 61, 68]. Hostitele lze také chápat jako molekulární strukturu obsahující konvergentní vazebná místa ve své struktuře. Jedná se především o makrocyclické sloučeniny [61], kterými mohou být cucurbit[*n*]urily [69], cyklodextriny [70], pillar[*n*]areny [66], ale i další. Hosté mohou být reprezentováni jak anorganickými, tak organickými sloučeninami. Těmi mohou být například anorganické ionty nebo organické sloučeniny jako jsou aminokyseliny či hormony [61], ale i jiné sloučeniny, například klecové uhlovodíky, mezi něž se řadí také nejmenší

homolog z rodiny diamantanoidů, známý pod názvem adamantan [71]. Stabilita a stechiometrie vzniklého komplexu je ovlivněna řadou parametrů, kdy mezi nejvýznamnější patří geometrická kompatibilita molekuly hosta vůči kavitě hostitele [72].

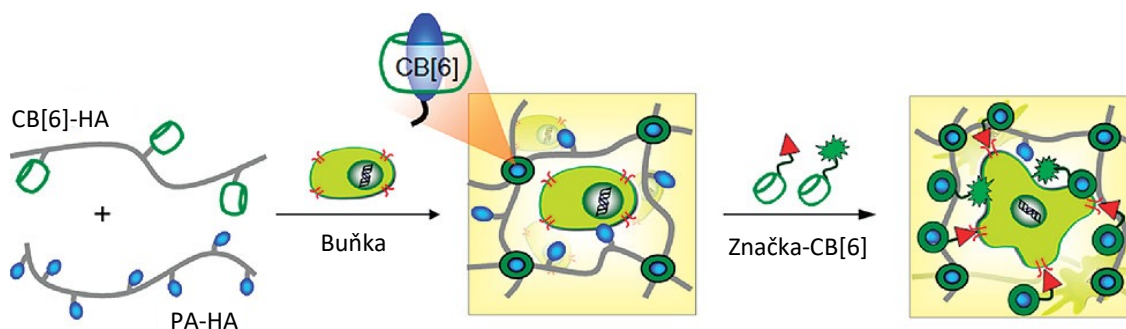
3.1.1 Cucurbit[n]uril v roli hostitele

Cucurbit[n]uril (CB[n]), jakožto jeden z možných hostitelských motivů, sestává z glykolurilových jednotek vzájemně propojených skrze methylenové můstky (Obrázek 19). K syntéze takových makrocyclů se využívá různý počet [n] monomerních jednotek glykolurilu [63]. Pro biologické využití jsou však nejvíce relevantní CB[6], CB[7] a CB[8], tedy struktury se 6, 7 a 8 jednotkami [7, 61]. Některé geometrické parametry se pro každý cucurbit[n]uril liší. Vnější průměry se pohybují od 14,4 Å do 17,5 Å v závislosti na počtu obsažených monomerů. Naopak výška kavit je shodná, bez ohledu na počet glykolurilových jednotek a odpovídá 9,1 Å [63, 69]. Důležitým parametrem charakterizujícím každou kavitu cucurbit[n]urilu je její vnitřní objem. Pro CB[6] platí 142 Å³, pro CB[7] 242 Å³ a u CB[8] odpovídá objem 367 Å³ [73]. Obecně jsou tyto molekuly vysoce symetrické a rigidní, s tvarem připomínající soudek. Uvnitř je dutina hydrofobní povahy, přičemž oba její vstupy jsou orámovány polárními karbonylovými skupinami. Tyto skupiny jsou pak důvodem možného vzniku elektrostatických interakcí mezi samotným cucurbit[n]urilem a hostem s potenciálem parciálního kladného náboje [63, 66, 69]. CB[6] a CB[7] jsou schopné vytvořit komplex pouze s jedním hostem. Zatímco CB[8], který má znatelně větší vnitřní objem kavity, může enkapsulovat až dvě hostující molekuly, což se může projevit ve finálních vlastnostech sítě [7, 63].



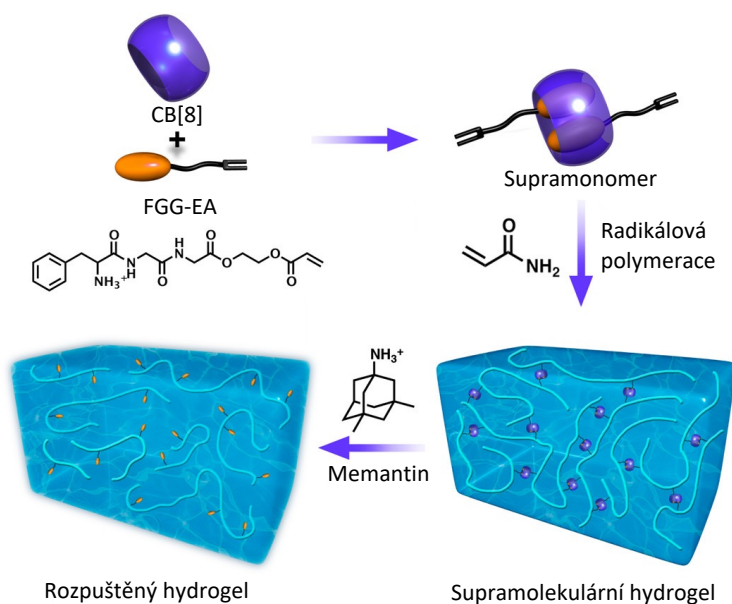
Obrázek 19 Obecná struktura CB[7] (vlevo) a pohled shora (vpravo).

Vědecká skupina Parka a spolupracovníků publikovali zdařilou přípravu supramolekulárního hydrogelu na bázi kyseliny hyaluronové, síťované na základě hostitel–host chemie pro 3D buněčné inženýrství. Při konstrukci sítě využili vlákno kyseliny hyaluronové modifikované molekulami CB[6] a naproti tomu další vlákno kyseliny hyaluronové modifikované naopak polyamidovými jednotkami na bázi 1,6-diaminohexanu nebo sperminu. Připravená vlákna byla za přítomnosti buněk smíchána a na základě hostitel–host interakce se vytvořila očekávaná síť obklopující buňky. Také se rozhodli provést modulární modifikaci hydrogelu s využitím rozdílných „značek“ navázaných na CB[6]. Tyto různě upravené CB[6] kavity mohly poskytnout další hostitel–host interakce se zbývajících volnými polyamidovými jednotkami na vláknech hyaluronanu a zároveň zprostředkovat vazbu i s přítomnými buňkami (Obrázek 20) [74].



Obrázek 20 Schéma připravené hydrogelové sítě pomocí hostitel–host interakce [74].

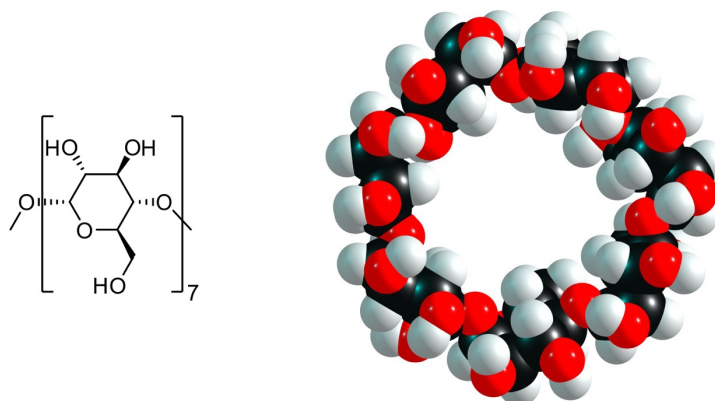
Cílem práce Xu a kolegů bylo připravit supramolekulární hydrogel pro vývoj obvazů ran. Jejich postupy se opíraly o myšlenku využití supramonomerů pro konstrukci obvazů, které neobsahují chemicky zesíťované struktury, ale vykazují právě dynamické vlastnosti a schopnost rozkladu po aplikaci vybraného podnětu. Pro sestavení využili tripeptidový esterový derivát, s podmínkou konečné akrylátové skupiny, FGG-EA (Phe-Gly-Gly) a pro tvorbu nekovalentních hostitel–host interakcí zvolili CB[8]. U připraveného hydrogelu byly pozorovány očekávané vlastnosti, jako biokompatibilita, elasticita, požadovaná porozita, absorpce vody a schopnost pojmout a následně uvolnit terapeutická činidla. Jasně definovali potřebné množství 3,5-dimethyl-1-adamantanamin hydrochloridu [75], ve vodě rozpustného léčiva známého jako „memantin“ [76], k rozpuštění hydrogelu a tím uvolnění terapeutického činidla z matrice (Obrázek 21) [75].



Obrázek 21 Schéma přípravy hydrogelové sítě pomocí hostitel–host interakce [75].

3.1.2 Cyklodextrin v roli hostitele

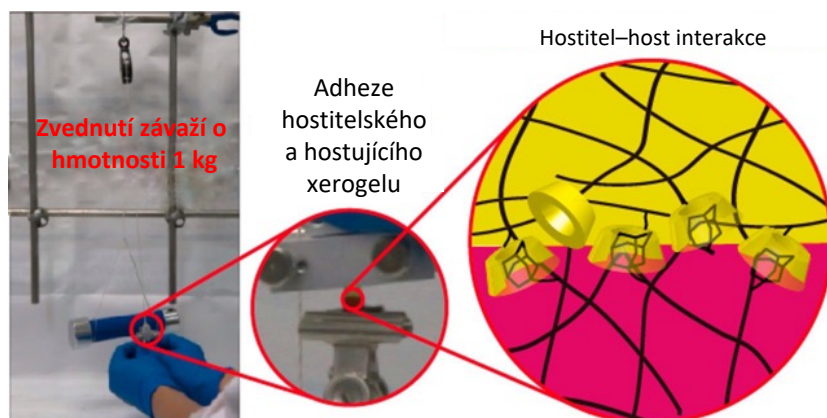
Cyklodextriny (CD), hojně využívané v oblasti medicínských aplikací a chemie, se řadí mezi cyklické oligosacharidy skládající se z D-glukopyranosových jednotek vázaných prostřednictvím α -(1 $\rightarrow$ 4)-glykosidických vazeb (Obrázek 22) [61, 64, 77]. V závislosti na počtu obsažených D-glukopyranosových jednotek lze rozlišit několik typů cyklodextrinů, z nichž nejběžněji využívané a nejvíce popsane jsou α -CD se 6 jednotkami, β -CD se 7 jednotkami a γ -CD sestávající z 8 jednotek. Počet jednotek v cyklu se zároveň odráží v charakteristických fyzikálních vlastnostech a ve vlastních rozměrech kavit [63, 72]. Svým 3D uspořádáním do kruhové válcové struktury připomínají cyklodextriny komolý kužel [64] s typickou výškou kavity 7,9 Å. Obecně se pro danou kavitu liší rozměry většího a menšího průměru o 1–2 Å [78]. Pro porovnání s rozměry výše popsaných cucurbit[*n*]urilů jsou vnější průměry cyklodextrinů o něco menší, konkrétně se pohybují od 13,7 Å do 16,9 Å [70]. Relevantní jsou i objemy dutin, pro α -CD 174 Å³, β -CD 262 Å³ a pro γ -CD platí 427 Å³ [78]. Pro interakci s hostujícími molekulami mají kavity vhodnou hydrofobní dutinu s hydrofilnějším okrajem, kdy se primární hydroxylové skupiny směřují do užšího vstupu, zatímco sekundární hydroxylové skupiny lemují opačný, širší [79]. Právě tyto hydroxylové skupiny otevírají možnost modifikací cyklodextrinů i běžnými chemickými postupy [80].



Obrázek 22 Obecná struktura β -CD (vlevo) a pohled shora (vpravo).

Na základě architektury připravené supramolekulární sítě lze hydrogely na bázi cyklodextrinů rozdělit na dvě základní skupiny. Jednak na supramolekulární hydrogely na bázi poly(pseudo)rotaxanů, tvořené jedním či dvěma polymerními vlákny a dále na supramolekulární hydrogely zprostředkované interakcí s hostující molekulou [77, 81]. U tvorby inkluzních komplexů s cyklodextriny v roli hostitele je relevantní i správný výběr hostující molekuly, především pak její geometrie a fyzikálně-chemické vlastnosti. Enkapsulace hostující molekuly je podmíněna právě těmito faktory, které se odrážejí v afinitě k danému makrocyklu, rovněž v intenzitě a typu použitých interakčních sil [70, 77]. K typickým hostujícím molekulám k přípravě cyklodextrinových sítí patří azobenzen [82], ferrocen [83], deriváty cholesterolu [84] a klecové uhlovodíky, zejména adamantan [71, 85, 86].

Skupina Harady a jeho kolegů úspěšně připravila samopřilnavý tuhý materiál se specifickými adhezivními vlastnostmi na základně hostitel–host interakcí mezi β -cyklodextrinem a adamantanem (Obrázek 23). Cílem bylo zajistit adhezi pro pevný materiál bez využití běžných chemických lepidel. Pro uskutečnění adheze mezi pevnými materiály využili xerogel na bázi polyakrylamidu, jelikož xerogely vykazují vysoké mechanické pevnosti ve srovnání například s běžnými hydrogely. Vysychání má pro tento typ materiálu významnou roli, jelikož tímto způsobem lze dosáhnout maximálního „uzamčení“ vazby na požadovaných místech. Dva povrchy s modifikacemi β -cyklodextrinu a adamantanu byly aktivovány malým množstvím vody pro uskutečnění samotných hostitel–host interakcí. Jakmile došlo k tvorbě komplexů, xerogel se nechal samovolně vyschnout, čímž docházelo k postupnému snižování pohyblivosti materiálu a ukotvení jednotlivých spojů. Výsledky práce vedou k závěru, že hostitel–host interakce lze využít jako molekulární „lepidlo“ s reverzibilní schopností bez nutnosti přídavku jiných chemických aditiv [87].



Obrázek 23 Schéma připraveného xerogelu pomocí hostel–host interakce [87].

Zájmem vědecké skupiny Wang a kolegů bylo připravit fotorespozivní supramolekulární hydrogel pomocí interakce hostel–host mezi α -cyklodextrinem a azobenzenovými skupinami. Regulace pomocí světla představuje rychlý, v podstatě vzato bezkontaktní způsob, bez nutnosti přidání dalších chemických činidel, jak lokálně ovlivnit uspořádání takových hostel–host vazeb hydrogelu. Využitá azobenzenová skupina má při běžném viditelném světle *trans* (*E*) konformaci, která je maximálně vhodná pro vytvoření komplexů s α -cyklodextrinem. Naopak při ozáření UV zářením azobenzenová skupina přechází do *cis* (*Z*) konformace a takový tvar nemá potřebnou afinitu k zapadnutí do kavity makrocylu, což vede k uvolnění vazby a následně k rozpadu hydrogelové sítě. Experiment vedl k pozitivnímu závěru, že takové vazby je možné fotochemicky řídit a přechod mezi sol-gel fází je možný i po několik cyklů, což by podle autorů mohlo vést ke slibným aplikacím [88].

II. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A VYBAVENÍ

Teploty tání (t_f) uvedené v bakalářské práci byly měřeny na Koflerově bloku a nejsou korigovány. Tenkovrstvá chromatografie (TLC) byla prováděna na deskách typu Alugram Sil G/UV254 firmy Macherey-Nagel. Jako mobilní fáze byla použita směs petrolether/ethylacetát v poměru 1/1 (v/v) nebo čistý ethyl-acetát.

Infračervená spektra (IR) byla měřena na přístroji FTIR ALPHA-T (Bruker, Německo) v podobě KBr tablet. Při výpisu spekter z IR byly využity následující zkratky charakterizující intenzitu absorpčních pásů: s (silný), m (střední), w (slabý), případně také jejich šířku: b (široký pás).

NMR spektra byla měřena na přístroji JEOL ECZ 400R/S3 (Jeol, Japonsko) pracujícím při frekvenci 399,78 MHz (^1H). Chemické posuny v ^1H NMR spektrech jsou uváděny v jednotkách ppm. Interním standardem bylo rozpouštědlo ^1H : $\delta(\text{reziduální } \text{CHCl}_3) = 7,26$ ppm. Pro zápis signálů z NMR spekter byly použity následující zkratky: s (singlet), d (dublet), t (triplet), m (multiplet), u (nerozlišený).

Kvalitativní analýza reakčních směsí a připravených látek byla prováděna pomocí plynového chromatografu spojeného s hmotnostním spektrometrem vybaveným kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem (Shimadzu, GC-Q-MS QP2010, Japonsko) anebo pomocí plynového chromatografu spojeného s hmotnostním spektrometrem vybaveným trojitým kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem (Shimadzu, GC-QqQ-MS TQ2030, Japonsko). Plynový chromatograf (GC-Q-MS) byl vybaven kolonou EQUITY 1 ($30 \text{ m} \times 0,32 \text{ mm} \times 1,0 \text{ }\mu\text{m}$) nebo v případě GC-QqQ-MS kolonou SH-I-1MS ($30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 0,25 \text{ }\mu\text{m}$). Pro veškeré analýzy byl zvolen následující teplotní program: $100 \text{ }^\circ\text{C}/7 \text{ min}$; $30 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ s teplotou nástřiku $250 \text{ }^\circ\text{C}$. Nosným plynem bylo He, iontový zdroj: $200 \text{ }^\circ\text{C}$, 70 eV . Ve výpisech signálů z hmotnostních spekter jsou uvedeny hodnoty signálů s relativním zastoupením nejméně 5 %, vyjma molekulových iontů. Hodnoty intenzit vybraných fragmentů jsou uvedeny v závorce za hodnotou m/z .

ESI-MS experimenty byly prováděny na hmotnostním spektrometru s iontovou pastí amaZon X (Bruker Daltonics) za použití elektrospreje jako iontového zdroje. Měření byla prováděna v pozitivním skenovacím módu. Do iontového zdroje byly vzorky přiváděny v podobě roztoku kovovou kapilárou při konstantním průtoku $3 \text{ }\mu\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$. Ostatní parametry byly následující: koncentrace $0,5 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$, rozpouštědlo MeOH/ H_2O (1/1, v/v), napětí na kapiláře $-4,2 \text{ kV}$, napětí na konci kapiláry 140 V , teplota sušícího plynu $220 \text{ }^\circ\text{C}$, průtok

sušícího plynu $6 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, tlak rozprašovacího plynu 55,16 kPa. Jako sušící a rozprašovací plyn byl použit dusík. Tandemová hmotnostní spektra byla, po izolaci vybraného iontu, měřena za pomoci kolizně indukované disociace (CID), přičemž jako kolizní plyn bylo použito helium.

5 PROVEDENÉ SYNTÉZY

5.1 Příprava adamantan-1-karbonylchloridu

Do reakční baňky byly naváženy 2 g (11,1 mmol) adamantan-1-karboxylové kyseliny (**1**), které byly následně rozpuštěny v 6 cm³ (82,2 mmol) thionyl chloridu. Do roztoku byly přidány dvě kapky DMF. Baňka byla vložena do olejové lázně, napojena na zpětný chladič a směs byla po dobu 3 hodin refluxována pod inertní atmosférou. Po ukončení reakce byla směs vytemperována na laboratorní teplotu. Následně byla reakční směs vysušena proudem dusíku (přes silikonové septum) a pro maximální dosušení byla použita membránová vývěva. Požadovaný adamantan-1-karbonylchlorid (**2**) byl získán v podobě nažloutlého krystalického prášku ve výtěžku 2,18 g (96 %), *t*_f 42–45 °C (lit. [89] 47–48 °C). Spektrální data odpovídají literatuře [90].

5.2 Ochránění bis(2-dimethylaminoethoxy)ethanu

Do reakční baňky bylo odpipetováno 8 cm³ (55 mmol) bis(2-dimethylaminoethoxy)ethanu (**3**) a 15 cm³ bezvodého dichlormethanu. Baňka byla umístěna do ledové lázně a po dobu 3 hodin byl do baňky opatrně (po kapkách) přikapáván roztok di-*tert*-butyl-dikarbonátu (2 g, 9,2 mmol) ve 20 cm³ bezvodého dichlormethanu. Celá reakce probíhala pod inertní atmosférou dusíku. Po přidání veškerého „dikarbonátu“ byla reakční směs míchána za laboratorní teploty přes noc. Následně byla reakční směs promyta destilovanou vodou (6 × 20 cm³). Promytý dichlormethanový podíl byl sušen nad bezvodým síranem sodným po dobu 4 hodin a poté odpařen na vakuové rotační odparce.

tert-Butyl-2-[2-(2-aminoethoxy)ethoxy]ethylkarbamát (**4**)

Titulní látka byla získána v podobě nažloutlého olejovité kapaliny ve výtěžku 1,23 g (54 %). Spektrální data odpovídají literatuře [71].

¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 5,15 (s, 1H, CONH); 3,62 (um, 4H, CH₂); 3,53 (um, 4H, CH₂); 3,32 (m, 2H, CH₂); 2,90 (m, 2H, CH₂); 1,96 (s, 2H, NH₂); 1,44 (s, 9H, CH₃) ppm.

GC-MS (*t*_R = 5,64 min); *m/z* (%): 175 (18), 163 (25), 150 (16), 131 (7), 119 (11), 118 (8), 106 (39), 104 (7), 102 (25), 89 (36), 88 (55), 87 (56), 86 (5), 77 (5), 75 (21), 74 (17), 72 (39), 70 (10), 62 (9), 61 (33), 59 (38), 58 (37), 57 (100), 56 (14), 55 (5), 45 (24).

IR: 3366 (bm), 2976 (m), 2931 (m), 2871 (m), 1711 (s), 1523 (m), 1456 (w), 1391 (w), 1366 (m), 1277 (w), 1252 (w), 1175 (m), 1120 (w), 865 (w) cm^{-1} .

5.3 Syntéza *N*-{2-[2-(2-aminoethoxy)ethoxy]ethyl}-1-adamantan karboxamidu

Do reakční baňky bylo naváženo 200 mg (0,805 mmol) sloučeniny **4** a následně napipetováno 0,67 cm^3 (4,832 mmol) triethylaminu a 1,9 cm^3 bezvodého dichlormethanu. Baňka byla umístěna do ledové lázně a po dobu 3 hodin byl po kapkách přidáván roztok adamantan-1-karbonylchloridu (208 mg, 1,043 mmol) ve 2,3 cm^3 bezvodém dichlormethanu. Po přidání veškerého adamantan-1-karbonylchloridu byla reakční směs míchána do dalšího dne při laboratorní teplotě pod chlorkalciovým nástavcem. Následně byla směs extrahována 1 M vodným roztokem K_2CO_3 (2 $\times$ 10 cm^3) a organická fáze dále promyta nasyceným roztokem NaCl (1 $\times$ 10 cm^3). Organický podíl byl sušen nad bezvodým síranem sodným po dobu 1 hodiny. Po zfiltrování sušidla bylo rozpouštědlo odpařeno na vakuové rotační odparce. Získaný nažloutlý olej byl opět rozpuštěn ve 2 cm^3 bezvodého dichlormethanu a do roztoku bylo přidáno 0,5 cm^3 (6,731 mmol) trifluoroctové kyseliny. Reakční směs byla za pokojové teploty míchána po dobu 3 hodin pod inertní atmosférou dusíku. Kapalná fáze poté byla odpařena na vakuové rotační odparce. K získanému podílu olejovité konzistence bylo přidáno 10 cm^3 10% vodného roztoku NaOH. Vzniklá směs byla extrahována dichlormethanem (3 $\times$ 10 cm^3). Spojené organické podíly byly následně extrahovány 10% vodným roztokem NaOH (2 $\times$ 10 cm^3), destilovanou vodou (2 $\times$ 10 cm^3) a nasyceným roztokem NaCl (1 $\times$ 10 cm^3). Organická fáze byla po dobu 2 hodin sušena nad bezvodým síranem sodným a poté odpařena na rotační vakuové odparce.

N-{2-[2-(2-aminoethoxy)ethoxy]ethyl}-1-adamantan-1-karboxamid (**5**)

Titulní látka byla získána v podobě nažloutlého oleje ve výtěžku 161 mg (65 %). Spektrální data odpovídají literatuře [71].

^1H NMR (CDCl_3 , 400 MHz): δ 6,09 (s, 1H, CONH); 3,64 (um, 4H, CH_2); 3,52–3,58 (um, 4H, CH_2); 3,44–3,47 (m, 2H, CH_2); 2,90 (m, 2H, NH_2); 2,05 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 1,87 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,69–1,77 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,50 (m, 2H, CH_2) ppm.

IR: 3364 (bm), 3042 (w), 2905 (s), 2851 (m), 2679 (w), 2657 (w), 1637 (m), 1530 (m), 1453 (w), 1285 (w), 1108 (m), 814 (w) cm^{-1} .

5.4 Syntéza *N*-[2-(2-{2-[4-(chlormethyl)benzamido]ethoxy}ethoxy)ethyl]adamantan-1-karboxamidu

Do reakční baňky bylo odpipetováno 70 μl (0,4832 mmol) 4-(chlormethyl)benzoyl chloridu a 2 cm^3 bezvodého dichlormethanu. Za laboratorní teploty byl do baňky přikapáván roztok látky **5** (150 mg, 0,4832 mmol) a 0,1 cm^3 (0,7248 mmol) triethylaminu v bezvodém dichlormethanu. Následně byla reakční směs ponechána míchat opět při laboratorní teplotě do druhého dne. Reakční směs byla extrahována 1 M vodným roztokem K_2CO_3 ($6 \times 10 \text{ cm}^3$) a organický podíl následně promyt nasyceným roztokem NaCl ($1 \times 10 \text{ cm}^3$). Organická fáze byla sušena nad bezvodým síranem sodným po dobu 3 hodin a poté odpařena na rotační vakuové odparce.

N-[2-(2-{2-[4-(chlormethyl)benzamido]ethoxy}ethoxy)ethyl]adamantan-1-karboxamid (**6**)

Titulní látka byla získána v podobě žlutého oleje ve výtěžku 141 mg (63 %).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,80 (d, $J = 8,1 \text{ Hz}$, 2H, Ph); 7,47 (d, $J = 8,0 \text{ Hz}$, 2H, Ph); 6,68 (s, 1H, CONH); 5,97 (s, 1H, CONH); 4,62 (s, 2H, CH_2Ph); 3,65–3,69 (um, 8H, CH_2); 3,57 (m, 2H, CH_2); 3,44 (m, 2H, CH_2); 2,03 (m, 3H, $\text{CH}(\text{Ad})$); 1,84 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$); 1,67–1,76 (m, 6H, $\text{CH}_2(\text{Ad})$) ppm.

ESI-MS (pos.) m/z (%): 501,2 $[\text{M}+\text{K}^+]^+$ (28); 485,2 $[\text{M}+\text{Na}^+]^+$ (100); 463,2 $[\text{M}+\text{H}^+]^+$ (38). **ESI-MS** (neg.) m/z (%): 497,1 $[\text{M}+\text{Cl}^-]^-$ (43); 461,1 $[\text{M}-\text{H}^+]^-$ (100).

IR: 3350 (bm), 2905 (s), 2851 (m), 1720 (w), 1640 (m), 1538 (m), 1452 (w), 1272 (m), 11102 (w) cm^{-1} .

5.5 Nukleofilní azidace sloučeniny **6**

V reakční baňce bylo v 5 cm^3 bezvodého acetonu rozpuštěno 30 mg (0,0648 mmol) sloučeniny **6**. Do vzniklého roztoku bylo jednorázově přidáno 42 mg (0,648 mmol) azidu sodného (NaN_3) a vzniklá směs byla refluxována pod inertní dusíkovou atmosférou až do okamžiku spotřebování výchozí látky. Průběh reakce byl monitorován pomocí TLC (SiO_2 , mobilní fáze methanol/ethylacetát, 1/1, v/v). Reakce byla ukončena po 10 hodinách. Po ukončení reakce byla reakční směs zředěna destilovanou vodou a vodná fáze byla extrahována dichlormethanem ($5 \times 10 \text{ cm}^3$). Spojené organické podíly byly po dobu

10 hodin sušeny nad bezvodým síranem sodným a poté odpařeny na rotační vakuové odparce.

***N*-[2-(2-{2-[4-(azidomethyl)benzamido]ethoxy}ethoxy)ethyl]adamantan-1-karboxamid (7)**

Titulní látka byla získána v podobě bezbarvého oleje ve výtěžku 18,2 mg (60 %).

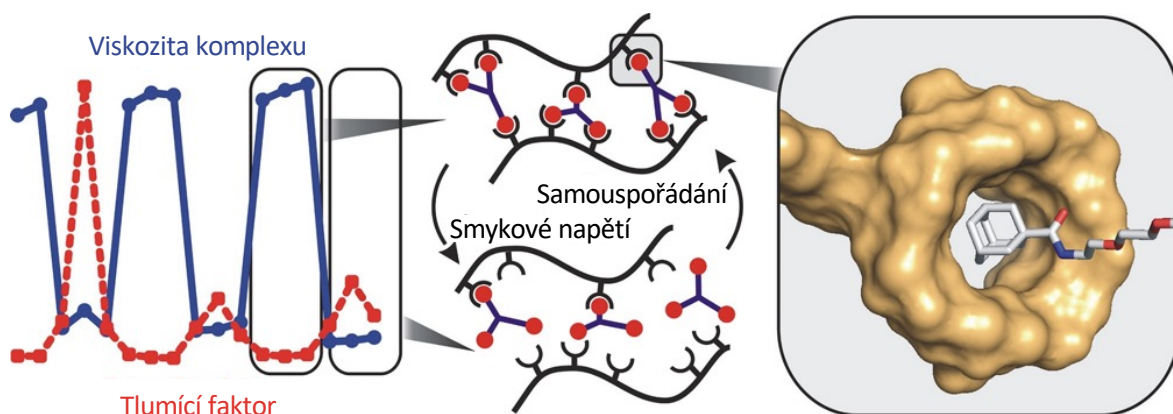
¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz): δ 7,80 (d, J = 7,7 Hz, 2H, Ph); 7,38 (d, J = 7,7 Hz, 2H, Ph); 6,69 (s, 1H, CONH); 5,95 (s, 1H, CONH); 4,39 (s, 2H, CH₂Ph); 3,63–3,67 (um, 8H, CH₂); 3,54 (m, 2H, CH₂); 3,42 (m, 2H, CH₂); 2,01 (m, 3H, CH(Ad)); 1,82 (m, 6H, CH₂(Ad)); 1,65–1,74 (m, 6H, CH₂(Ad)) ppm.

IR: 3340 (bm), 3043 (w), 2906 (s), 2852 (m), 2099 (s), 1641 (m), 1538 (m), 1453 (w), 1347 (w), 1252 (w), 1104 (m), 756 (w) cm⁻¹.

III. DISKUZNÍ ČÁST

6 ÚVOD DO DISKUZNÍ ČÁSTI

Předložená bakalářská práce navazuje na problematiku publikovanou v roce 2023 výzkumnou skupinou doc. Roberta Víchy z Ústavu chemie FT UTB v *Carbohydrate Polymers* [71]. V předmětném článku byla popsána příprava hydrogelu na bázi β -CD-modifikovaného hyaluronanu a nízkomolekulárních síťovacích činidel hvězdicovitého typu obsahující ve třech terminálních polohách adamantanové jednotky, zabezpečující interakci s β -CD prostřednictvím hostitel–host interakcí. Hostující molekuly se lišily počtem ethylenglykolových jednotek a povahou vazby (amidová, esterová) mezi centrálním aromatickým (fenylovým) jádrem, ramenem a adamantanovými jednotkami. Smícháním hosta a hostitele došlo k úspěšnému vytvoření supramolekulární 3D sítě s typickou dynamickou povahou, samoregeneračním chováním a prokázanou necytotoxicitou (Obrázek 24). Ačkoliv se jednalo, dle reologických analýz, o hydrogel, jeho viskozita byla relativně malá. Důvodem je pravděpodobně nízká asociační konstanta mezi adamantanovými jednotkami a β -CD makrocycly.



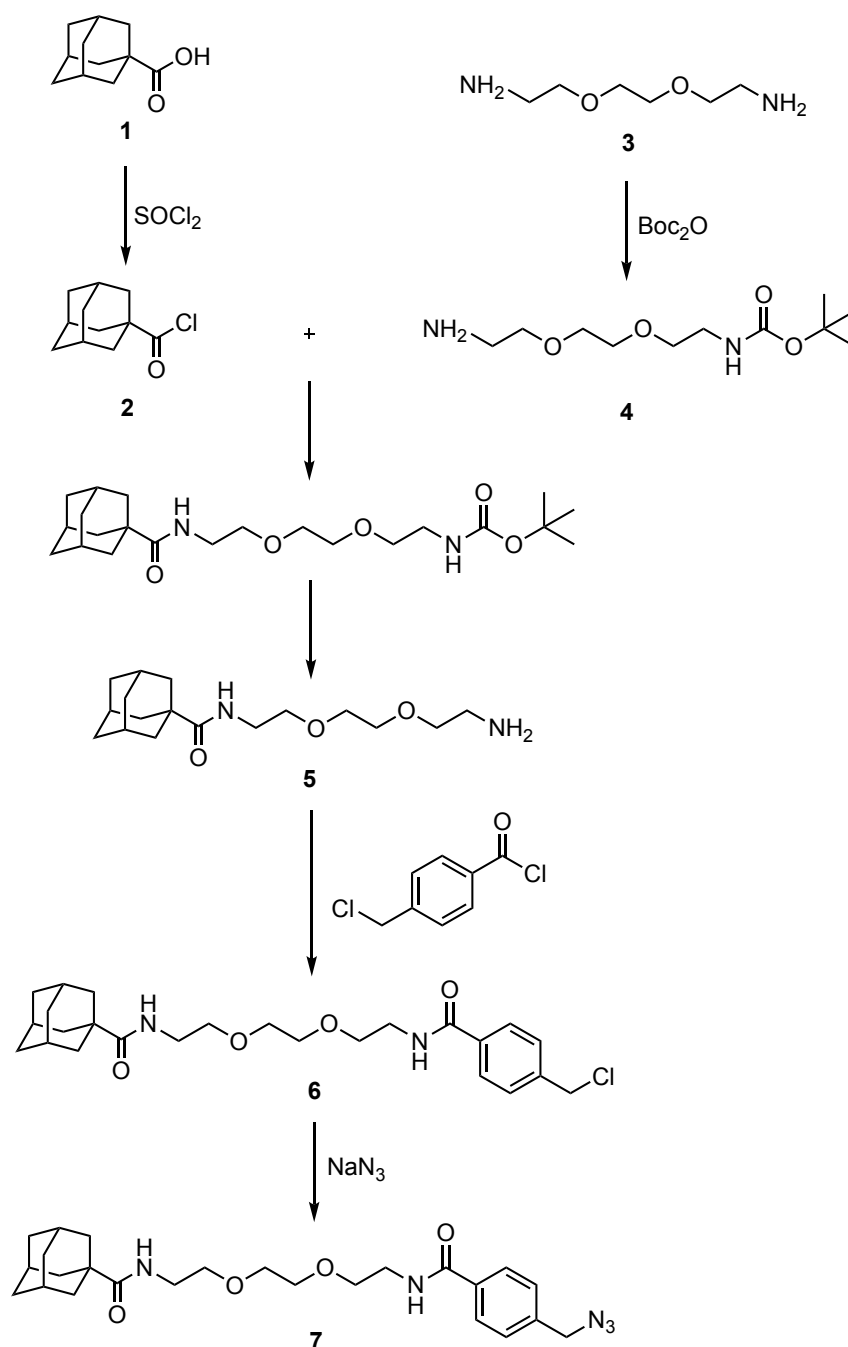
Obrázek 24 Grafické vyobrazení připravené supramolekulární 3D sítě [71].

Cílem předložené bakalářské práce bylo připravit nové nízkomolekulární síťovací činidlo kombinující dvě vazebná místa pro tvorbu nízkomolekulárních nevazebných interakcí. První představuje adamantanový motiv zajišťující tvorbu hostitel–host komplexů s β -CD jednotkami umístěnými na hyaluronovém řetězci. Druhý představuje uracilový motiv, u kterého lze předpokládat tvorbu orthogonální vodíkové vazby s další uracilovou jednotkou umístěnou taktéž na hyaluronanu. Nutno podotknout, že přípravou modifikovaného hyaluronanu se zabývá v rámci své bakalářské práce Filip Jirousek.

7 PROVEDENÉ SYNTÉZY

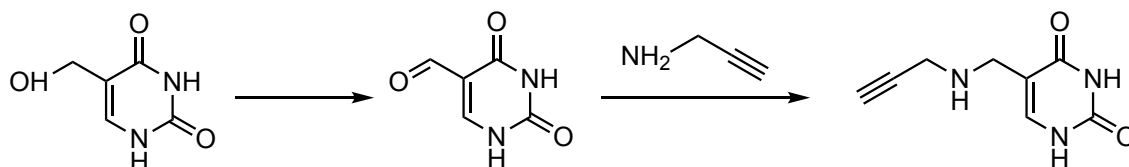
7.1 Návrh syntetické strategie

Syntetická strategie byla rozdělena na dvě hlavní větve vedoucí k přípravě jednak adamantanového motivu pro tvorbu hostitel–host interakcí s β -CD a uracilové jednotky pro zabezpečení orthogonálních vodíkových vazeb. Cílový produkt této bakalářské práce představoval azid **7**, jehož struktura je znázorněna na Obrázek 25.



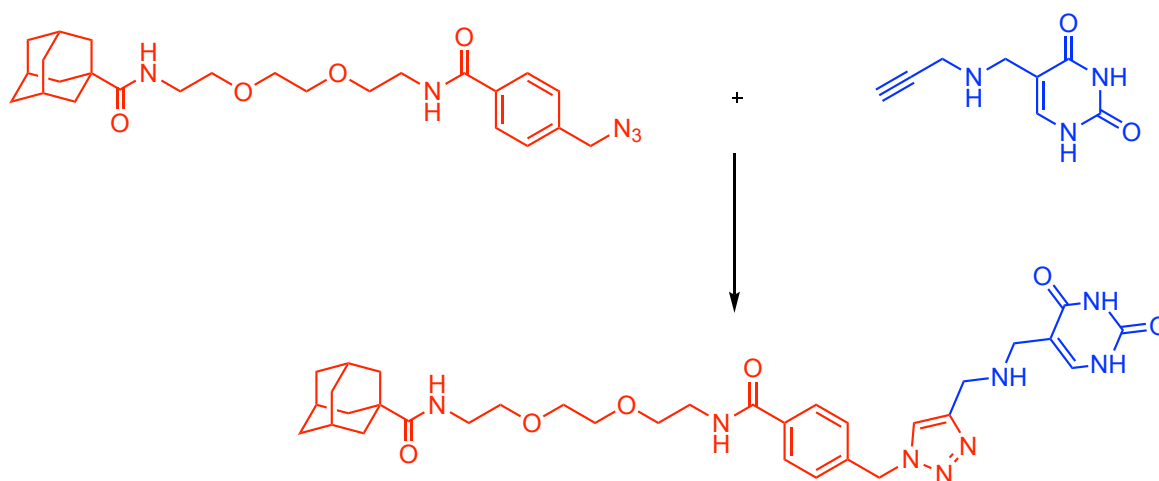
Obrázek 25 Schéma syntetické strategie první větve.

Druhou částí strategie (Obrázek 26) je příprava dalšího vazebného motivu, a sice uracilové jednotky.



Obrázek 26 Schéma syntetické strategie druhé větve.

Finálním produktem předložené syntetické strategie je již diskutované nízkomolekulární síťovací činidlo, schopné kombinovat hostitel–host interakce a vodíkové vazby pro následnou realizaci hydrogelové sítě, připravené spojením obou produktů vycházející z první a druhé větve (Obrázek 27). Syntézy znázorněné na Obrázku 26 a 27 budou realizovány v následujících letech jako projekt mé diplomové práce.



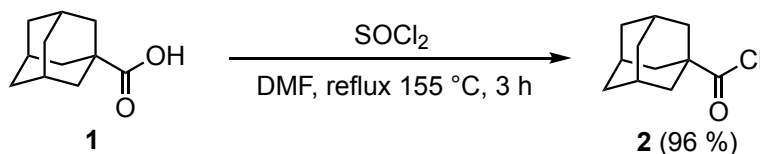
Obrázek 27 Schéma přípravy finálního produktu.

7.2 Příprava karboxamidu 5

Syntéze *N*-{2-[2-(2-aminoethoxy)ethoxy]ethyl}-1-adamantankarboxamidu (**5**) předcházelo několik reakčních kroků, v rámci nichž byly získány sloučeniny **2** a **4**. Jejich vzájemnou reakcí byl syntetizován Boc-chráněný (neizolovaný) meziprodukt, jehož následným odchráněním byla získána zmiňovaná látka **5**.

7.2.1 Chlorace adamantan-1-karboxylové kyseliny

První provedená syntéza vedla k adamantan-1-karbonylchloridu (**2**), a to chlorací výchozí kyseliny **1**. Reakce byla uskutečněná substitucí pomocí thionyl chloridu za přítomnosti DMF jakožto aktivátoru (Obrázek 28).

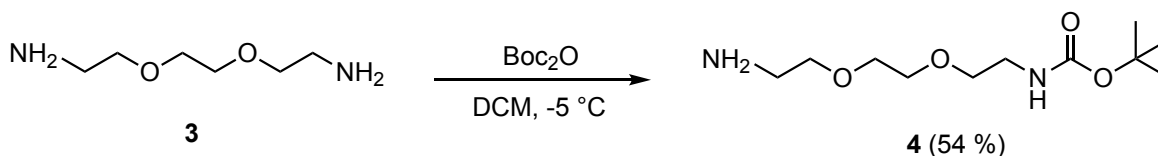


Obrázek 28 Chlorace adamantan-1-karboxylové kyseliny.

Uvedená reakce je v kontextu naší výzkumné skupiny relativně běžnou a probíhala bez jakýchkoliv pozorovaných komplikací. Reakční směs byla ponechána refluxovat po dobu 3 hodin a po ukončení reakce byla, během temperace na laboratorní teplotu, stále míchána pod inertní atmosférou dusíku. Pro zahuštění produktu a odstranění zbylého vzniklého plynu (oxidu siřičitého a chlorovodíku) byl využit proud dusíku foukaný do reakční směsi, která postupně přešla z viskózního roztoku do tuhé mazlavé formy. K maximálnímu vysušení byla použita membránová vakuová vývěva po dobu asi 1 hodiny. Reakce byla provedena dvakrát, přičemž požadovaný produkt byl získán v obou případech ve výtěžku 96 % a v čistotě umožňující jeho použití do dalšího reakčního kroku bez nutnosti jakékoliv purifikace.

7.2.2 Příprava Boc-chráněného aminu

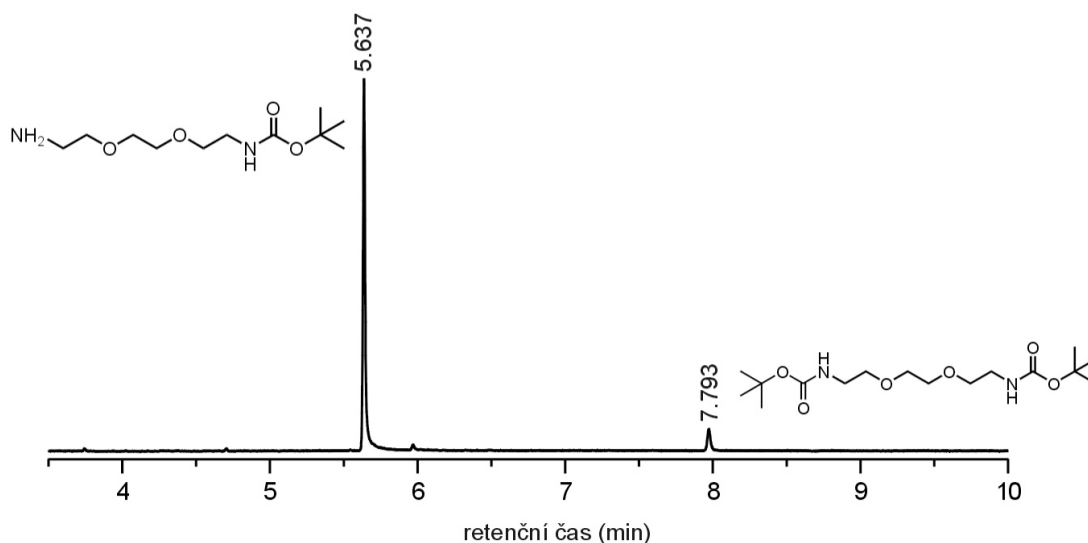
Dalším krokem bylo ochránění bis(2-dimethylaminoethoxy)ethanu (**3**) *tert*-butyloxykarbonylovou skupinou, označovanou zkratkou „Boc“. (Obrázek 29). Požadovaný monoochráněný diamin je nezbytný pro následující syntetický krok, kdy je nutné, aby reagovala pouze jedna aminová skupina výchozího diaminu.



Obrázek 29 Ochránění bis(2-dimethylaminoethoxy)ethanu.

Reakce by měla nutně probíhat za nízkých teplot a pro zajištění ochrany pouze jedné aminové skupiny bylo třeba použít přebytek diaminu **3**, a to konkrétně jeho šestinásobek (molární). Před zahájením reakce byla směs látky **3** a bezvodého DCM řádně vychlazena v ledové lázni, která byla udržována po celou dobu přikapávání roztoku di-*tert*-butyl-dikarbonátu v bezvodém DCM v rozmezí 0 až $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Roztok „dikarbonátu“ byl připraven v přikapávací nálevce s vyrovnáváním tlaku, ze které byl přikapáván do roztoku diaminu po dobu 3 hodin. Reakční směs byla ponechána míchat přes noc za laboratorní teploty a následně zpracována. Předmětná reakce byla provedena celkem pětkrát. V jednom případě vznikla v reakční směsi sraženina, kterou bylo třeba před samotným zpracováním zfiltrvat.

Tato skutečnost však neměla vliv na celkový izolovaný výtěžek produktu ve srovnání s ostatními provedenými reakcemi, avšak chromatografická čistota této konkrétní reakce nebyla příliš uspokojivá, proto nebyla látka získaná touto konkrétní reakcí použita do dalších reakcí. Čistota a struktura připravené látky **4** byla potvrzena pomocí plynové chromatografie s hmotnostně-spektrometrickým detektorem (GC-MS). Maximální dosažený izolovaný výtěžek sloučeniny **4** byl 54 % s chromatografickou čistotou 93 %.

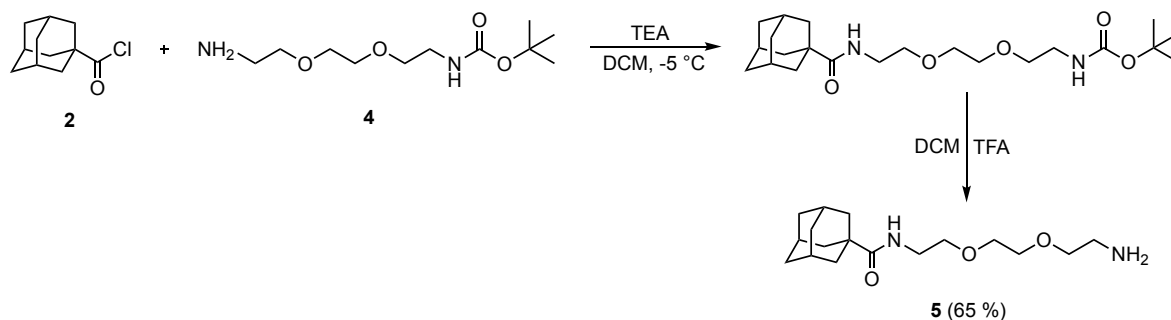


Obrázek 30 Chromatogram po ochránění bis(2-dimethylaminoethoxy)ethanu.

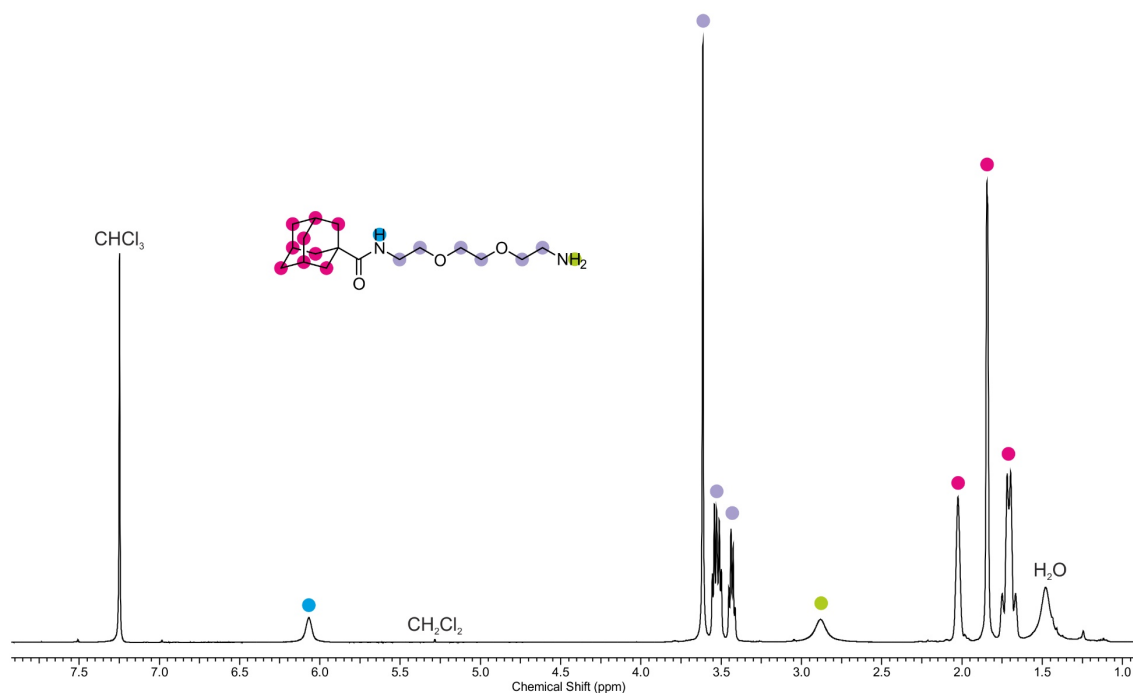
V uvedeném chromatogramu (Obrázek 30) lze pozorovat dva píky. Prvnímu píku s retenčním časem 5,64 minuty náleží požadovaná látka a sice monoochráněný diamin **4**. V druhé polovině spektra je pozorovatelný pík s retenčním časem 7,79 náležící diochráněnému diaminu, taktéž vznikajícímu během prováděné reakce. Tento vzniklý vedlejší produkt není pro další průběh syntéz žádoucí. Relativní zastoupení vzniklých produktů, požadované látky **4** a vedlejšího diochráněného diaminu, je podle provedené analýzy 93:7.

7.2.3 Reakce sloučenin **2** a **4** za vzniku karboxamidu **5**

Výše komentované reakce vedly k přípravě výchozích látek pro syntézu *N*-{2-[2-(2-aminoethoxy)ethoxy]ethyl}-1-adamantankarboxamidu (**5**). Příprava sloučeniny **5** probíhala ve dvou krocích, kdy Boc-chráněný meziprodukt (získaný v prvním kroku) nebyl izolován (Obrázek 31).

Obrázek 31 Syntéza karboxamidu **5**.

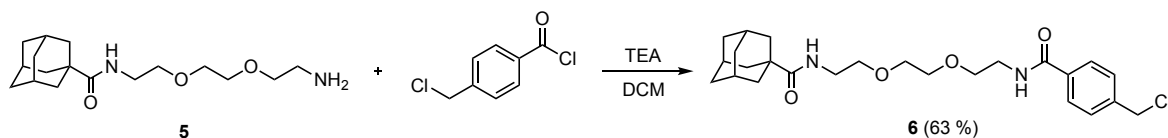
V prvním kroku byla provedena syntéza Boc-chráněného karboxamidu **5** reakcí sloučenin **2** a **4**. Reakce probíhala v mírném molárním přebytku sloučeniny **2** za přítomnosti triethylaminu v prostředí bezvodého DCM. Po celou dobu provádění reakce byla reakční směs monoochráněného diaminu (**4**) chlazená ledovou lázní s udržovanou teplotou mezi 0 až -10°C . Roztok látky **2** v DCM byl opatrně přikapán k chlazené směsi v průběhu tří hodin. Reakční směs byla dále ponechána míchat za laboratorní teploty přes noc a následně byla zpracována. Boc skupiny jsou obecně velmi citlivé na přítomnost silných kyselin. Druhý krok následoval přidáním trifluoroctové kyseliny (TFA) k získanému oleji, kdy se na přechodnou dobu v reakční směsi objevila bílá „mlha“, bez známek exotermního průběhu. Reakční směs byla ponechána míchat na magnetickém míchadle po dobu tří hodin a následně byla ihned zpracována. Odchránění probíhá ve čtyřech krocích. Přítomná silná kyselina, v tomto případě TFA, nejprve zajišťuje protonaci přítomného karbamátového atomu kyslíku, na což navazuje ztráta *tert*-butylového karbokationtu. Po následném přenosu protonů nastává dekarboxylace a vzniká opět původní amin za uvolnění oxidu uhličitého. Tato dvoustupňová reakce byla provedena celkem osmkrát, přičemž dvakrát byla provedena ve větším množství. Zvýšené množství reaktantů však vedlo k výrazně nižšímu izolovanému výtěžku, a proto byla reakce nadále prováděná v nižším množství výchozí látky **4**, a sice v množství 200 mg. V tomto případě činil maximální izolovaný výtěžek požadovaného karboxamidu **5** 65 %. Struktura sloučeniny **5** byla potvrzena pomocí ^1H NMR a IR.

Obrázek 32 ^1H NMR spektrum sloučeniny **5**.

V získaném ^1H NMR spektru (Obrázek 32) lze pozorovat v alifatické oblasti signály patřící adamantanovému motivu (růžová barva) a také atomy vodíku pocházející z alifatického řetězce (fialová barva). Zároveň jsou viditelné dva singlety, jeden pocházející z amidové skupiny (modrá barva) a druhý pocházející z primární aminové skupiny nacházející se v terminální poloze přípravné sloučeniny (zelená barva).

7.3 Reakce karboxamidu **5** s 4-(chlormethyl)benzoylchloridem

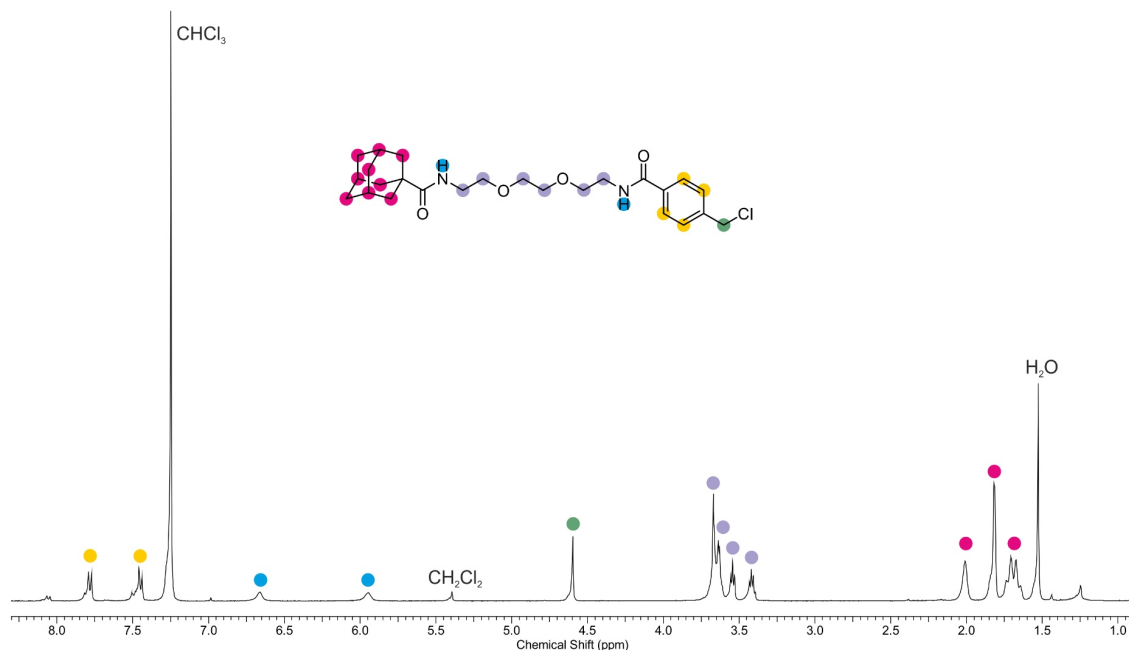
Reakce sloučeniny **5**, připravené v předchozím reakčním kroku, a 4-(chlormethyl)benzoylchloridu (Obrázek 33), poskytla očekávaný produkt, kterým byl *N*-[2-(2-{2-[4-(chlormethyl)benzamido]ethoxy}ethoxy)ethyl]adamantan-1-karboxamid (**6**). Syntéza probíhala mechanismem nukleofilní substituce za účasti triethylaminu jako báze, v prostředí bezvodého DCM.

Obrázek 33 Příprava látky **6**.

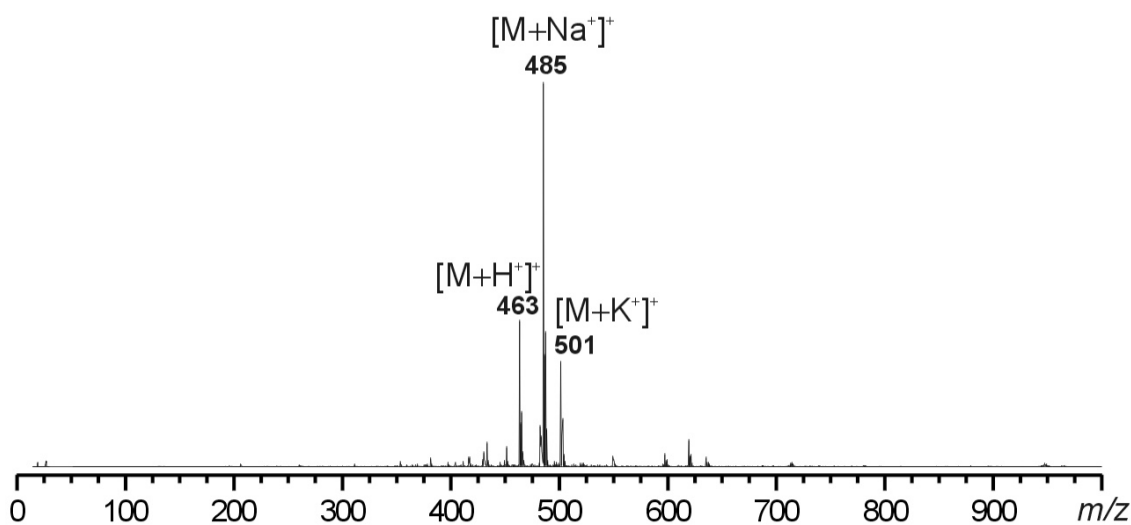
Nastíněná reakce probíhala ve dvou různých poměrech použitých reaktantů. Nejprve byla reakce prováděna s molární převahou „chlorderivátu“ (1,2 ekv.). Roztok látky **5**

(v DCM) byl velmi opatrně po kapkách přidáván za laboratorní teploty k roztoku 4-(chlormethyl)benzoylchloridu v DCM. Ze začátku přikapávání byla v reakční směsi pozorována tvorba přechodné bílé mlhy, která se již po několika přidávaných dávkách neobjevovala. Po veškerém přidání roztoku látky **5** byla reakční směs ponechána míchat za laboratorní teploty a inertní atmosféry dusíku přes noc. Během míchání bylo odpařeno velké množství DCM, a proto bylo třeba jej před zpracováním do reakční směsi doplnit a následně reakční směs řádně promíchat. Po zpracování reakční směsi, realizovaném nejprve extrakcí 1 M vodným roztokem K_2CO_3 ($2 \times 10 \text{ cm}^3$), byl organický podíl promyt nasyceným roztokem NaCl ($1 \times 10 \text{ cm}^3$) a získaný surový produkt analyzován pomocí ^1H NMR. Analýza odhalila přítomnost nezreagovaného výchozího chlorderivátu a blíže neidentifikovaného vedlejšího produktu a z toho plynoucí nutnost purifikace surového produktu. Ten byl přečištěn pomocí sloupcové chromatografie (SiO_2 , mobilní fáze: 1) ethyl-acetát, 2) methanol). Typ a pořadí zvolených mobilních fází byly předem vybrány na základě TLC analýzy surového produktu. Jednotlivé frakce získané v průběhu chromatografie byly taktéž sledovány pomocí TLC a detekovány pod UV lampou. Ethyl-acetát byl využit jako první mobilní fáze, který látku **6** z kolony nevynesl. Proto byl následně použit polárnější methanol, kterým byla stacionární fáze řádně promyta a na TLC byla prokázána přítomnost sloučeniny **6**. Opět byla provedena ^1H NMR analýza, kde se přečištění projevilo, avšak stále byla zřejmá přítomnost malého množství (cca 20 %) výchozího chlorderivátu. Finálním krokem byla extrakce 1 M vodným roztokem Na_2CO_3 ($3 \times 10 \text{ cm}^3$), díky níž se podařilo nežádoucí nečistoty ze získaného produktu odstranit, což bylo potvrzeno pomocí ^1H NMR analýzy. Zvolené reakční podmínky a způsob zpracování reakční směsi se bohužel ukázaly jako neefektivní, jelikož po veškerém zpracování a purifikaci byla požadovaná sloučenina **6** vyizolována v nízkém výtěžku (17 %).

Z tohoto důvodu byla další provedená reakce provedena v jiných molárních poměrech vstupních reaktantů, a to konkrétně v poměru 1:1. Ekvivalentní množství triethylaminu bylo ponecháno. Postup syntézy probíhal totožně, avšak při zpracování reakční směsi se postupovalo rozdílně. Po ukončení reakce byla reakční směs podrobena opakované extrakci 1 M vodným roztokem Na_2CO_3 ($6 \times 10 \text{ cm}^3$). Získaný produkt byl podroben ^1H NMR analýze, která poskytla informaci o čistotě požadovaného produktu, jehož další purifikace již nebyla nutná. Sloučenina **6** byla izolována ve výtěžku 65 %.

Obrázek 34 ^1H NMR spektrum sloučeniny 6.

V ^1H NMR spektru (Obrázek 34) lze v alifatické oblasti pozorovat signály pocházející z adamantanového motivu (růžová barva) a dále atomy vodíku z alifatického řetězce (fialová barva) spojujícího adamantanový motiv a aromatické jádro. Dále lze pozorovat dva singlety odpovídající atomům vodíku z amidových skupin (modrá barva) a dva dublety náležící atomům vodíku aromatického jádra (žlutá barva). V neposlední řadě byl ve spektru pozorován singlet s posunem $\sim 4,6$ ppm odpovídající methylenové skupině (zelená barva) spojující aromatické jádro a atom chloru.

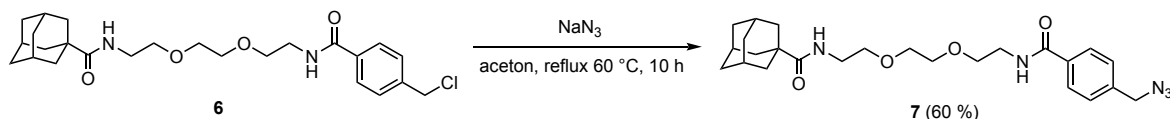


Obrázek 35 ESI-MS látky 6.

Na Obrázku 35 je znázorněno hmotnostní spektrum prvního řádu (získané metodou ESI-MS) změřeni v pozitivním skenovacím módu. Ve spektru jsou patrné tři dominantní signály odpovídající protonované molekule ($463\ m/z$), sodnému a draselnému aduktu sloučeniny **6** (485 a $501\ m/z$). Změřeno bylo rovněž spektrum v negativním skenovacím módu, v němž byl jako dominantní pozorován ion o $m/z\ 461$ odpovídající deprotonované molekule. Získaná spektra jsou dalším důkazem svědčícím o úspěšné přípravě chlorderivátu **6**.

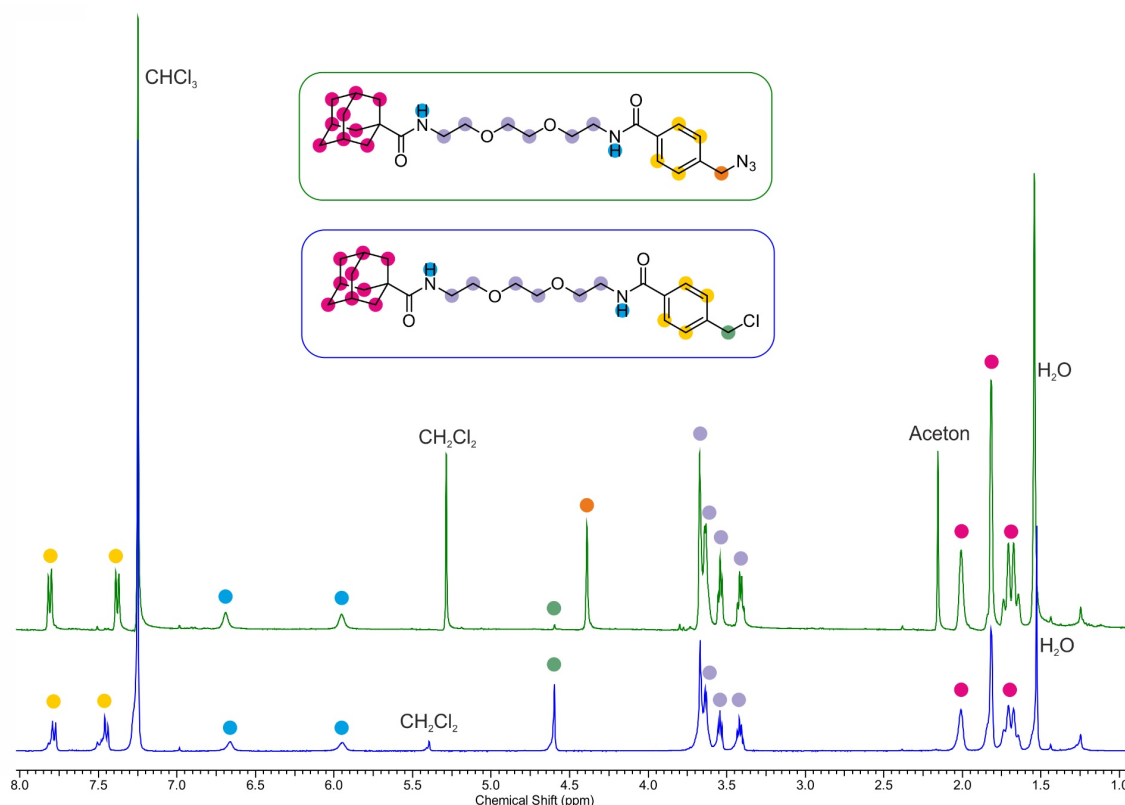
7.4 Nukleofilní azidace sloučeniny **6**

Finálním krokem vedoucím k přípravě cílové látky **7** byla nukleofilní azidace sloučeniny **6** pomocí azidu sodného v prostředí bezvodého acetonu (Obrázek 36).



Obrázek 36 Nukleofilní azidace sloučeniny **6**.

Výchozí látku **6** bylo nejprve nutné rozpustit v bezvodém acetonu a následně bylo k roztoku jednorázově, velmi opatrně, přidáno azidační činidlo. Reakční směs byla ponechána refluxovat a průběh reakce byl monitorován pomocí TLC pod UV lampou jako detektorem s vhodně vybranou mobilní fází. První provedená reakce byla ponechána míchat přes noc, kdy bohužel došlo k odpaření veškerého acetonu z reakční směsi (pravděpodobně z důvodu drobné netěsnosti v reakční aparatuře), a proto bylo nutné jej ihned po příchodu do laboratoře do reakční baňky doplnit. Při provádění druhé reakce bylo množství acetonu pečlivě sledováno. Syntéza byla ukončena ve chvíli, kdy byl patrný zásadní úbytek skvrny na TLC představující výchozí látku reakce. Během reakce byla pozorována tvorba sraženiny NaCl . Po ukončení reakce byla reakční směs zředěna vodou, kdy došlo jak k rozpuštění vzniklého NaCl , tak k rozpuštění nezreagovaného azidu sodného. Následně proběhla extrakce DCM ($5 \times 10\ \text{cm}^3$), přičemž izolovaný výtěžek se u obou reakcí pohyboval okolo 60 %. Struktura a čistota připravené látky **7** byla následně potvrzena pomocí ^1H NMR analýzy.



Obrázek 37 Srovnání ^1H NMR spekter sloučenin **6** (modré spektrum) a **7** (zelené spektrum).

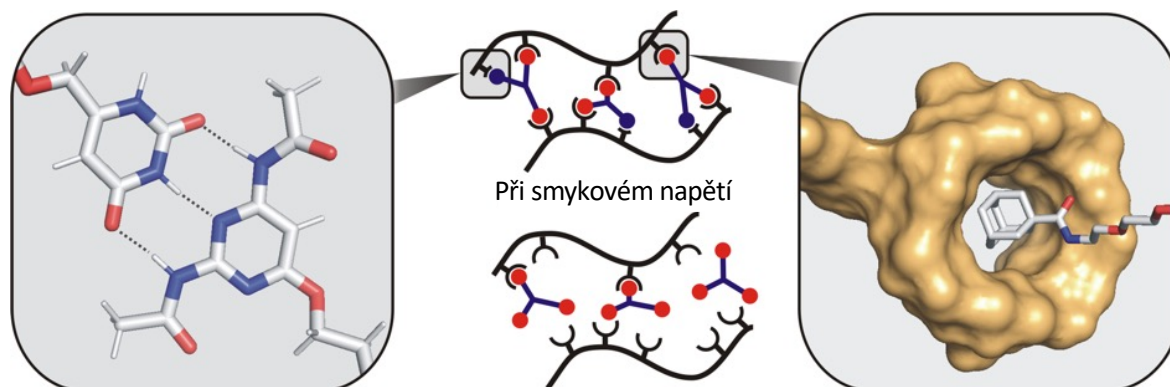
Na Obrázku 37 jsou znázorněna ^1H NMR spektra sloučenin **6** a **7**. Nejvýznamnějším signálem, potvrzujícím vznik požadovaného azidu **7**, je singlet s posunem cca 4,4 ppm (oranžová barva). Tento signál je jednoznačným důkazem o úspěšně provedené nukleofilní azidaci výchozího chlorderivátu **6**. Posun methylenových atomů vodíku (PhCH_2N_3) o cca 0,2 ppm, ve srovnání s methylenovými atomy vodíku (PhCH_2Cl) výchozí látky **6**, je v souladu s daty dříve popsány v odborné literatuře [91]. Ve spektru azidu **7** lze rovněž pozorovat minoritní signál atomů vodíku PhCH_2Cl pocházejících z výchozí sloučeniny **6**, kdy integrací bylo zjištěno, že se jedná o množství odpovídající $\sim 2,5\%$. Rovněž se ve spektru azidu **7** nachází signály pocházející z DCM a acetonu, tedy rozpouštědel použitých v průběhu provádění reakce či zpracování reakční směsi. To je dáno nedostatečným dosušením získaného produktu.

8 VÝHLED DO BUDOUCNA

Dle výše nastíněné syntetické strategie je zřejmé, že „projekt“, jehož je bakalářská práce součástí, není zdaleka u konce. V první řadě je nutné připravit odpovídající množství finální sloučeniny bakalářské práce, tedy azidu **7**. Následně budou provedeny syntézy podle schématu druhé větve (Obrázek 26), začínající oxidací s následnou aminací, kde přichází na řadu práce s uracilovou jednotkou. Po úspěšné přípravě uracilového vazebného motivu bude logickým krokem spojení již připraveného azidu **7** s uracilovou jednotkou za vzniku uvažovaného nízkomolekulárního síťovacího činidla, které by mohlo zabezpečovat nejen tvorbu hostitel–host komplexů s jednotkami β -CD, ale také orthogonálních vodíkových vazeb.

Na schématu (Obrázek 38) je znázorněna architektura uvažované cílové hydrogelové sítě, jakožto výsledku spojení následujícího projektu mojí diplomové práce a bakalářské práce Filipa Jirouska. Skelet je tvořen hyaluronovými řetězci modifikovanými β -CD a navíc obdobnými uracilovými jednotkami. Kombinace hostitel–host interakcí a vodíkových vazeb není jen předpokladem pro efektivnější tvorbu supramolekulární sítě, ale také výrazné ovlivnění a především pak vylepšení reologických vlastností výsledného hydrogelu, ve srovnání s dříve připravenou sítí [71].

Nutno podotknout, že na obrázku je znázorněno nízkomolekulární síťovací činidlo obsahující dva adamantanové motivy a jednu uracilovou jednotku. Mnou připravovaný ligand bude obsahovat jeden adamantanový motiv a jednu uracilovou jednotku a představuje pomyslnou první generaci, na níž bude ověřeno, zda bude navržený systém vykazovat očekávané vlastnosti. Následně bude připraven „tritopický“ ligand druhé generace.



Obrázek 38 Grafické znázornění uvažované supramolekulární 3D sítě.

ZÁVĚR

Předložená bakalářská práce představuje pokračování nedávno publikovaného článku [71], v němž byla popsána příprava hydrogelu, jehož tvorba byla zabezpečována nekovalentními interakcemi mezi nízkomolekulárním síťovacím činidlem na bázi adamantanu a β -cyklodextrinem modifikovaným hyaluronanem. Cílem této práce bylo připravit první část nově navrženého nízkomolekulárního síťovacího činidla, a sice adamantanového motivu schopného tvorby hostitel–host komplexů. Dle navržené syntetické strategie byly provedeny jednotlivé reakce, které vedly k úspěšné přípravě uvažované sloučeniny **7**.

Zahajujícím krokem byla příprava adamantan-1-karbonylchloridu (**2**) chlorací z výchozí adamantan-1-karboxylové kyseliny (**1**) a ochránění bis(2-dimethylaminoethoxy)ethanu (**3**) pomocí Boc chránící skupiny, kdy připravený monoochráněný *tert*-butyl-2-[2-(2-aminoethoxy)ethoxy]ethylkarbamát (**4**) byl nezbytný pro správný průběh následující reakce. V pořadí třetí typ reakce zahrnoval přípravu *N*-{2-[2-(2-aminoethoxy)ethoxy]ethyl}-1-adamantankarboxamidu (**5**) v rámci dvou po sobě jdoucích kroků. Nejprve proběhlo spojení předešle připravených látek **2** a **4** s následným odchráněním aminové skupiny za pomoci TFA. Reakce se ukázala být účinnější při použití výchozích látek v menším množství (malé stovky miligramů). Následovala reakce sloučeniny **5** s 4-(chlormethyl)benzoylchloridem. Reakce byla prováděna ve dvou různých molárních poměrech výchozích látek (s 1,2 molárním přebytkem chlorderivátu a v ekvimolárním množství), za vzniku požadovaného produktu, *N*-[2-(2-{2-[4-(chlormethyl)benzamido]ethoxy}ethoxy)ethyl] adamantan-1-karboxamidu (**6**). Při reakci prováděné s mírným molárním přebytkem výchozího chlorderivátu byla nutná purifikace surového produktu, která se ukázala být relativně komplikovaná, což vedlo ke změně poměrů výchozích látek na 1:1. Úprava poměru výchozích látek a úprava postupu během zpracování surového produktu vedla k menšímu znečištění požadované sloučeniny **7** výchozím chlorderivátem. Poslední provedenou reakcí byla nukleofilní azidace látky **6** vedoucí úspěšně k požadovanému azidu **7**.

Stuktura všech připravených látek byla navržena pomocí dostupných analytických metod, zejména ^1H NMR a GC-MS. V ^1H NMR spektru sloučeniny **7** byl jasně prokazatelný posun vodíkového signálu pocházejícího z methylenové skupiny spojující aromatické jádro s nově zavedenou azidovou skupinou.

V následující době bude primárním cílem připravit odpovídající množství azidu **7** s jeho následnou purifikací pro získání čistého azidu bez přítomnosti výchozí látky a především pak zahájení syntéz v rámci druhé části navržené syntetické strategie a následné spojení azidu **7** s derivátem na bázi uracilu prostřednictvím triazolového motivu. Tímto by mělo vzniknout nové nízkomolekulární síťovací činidlo obsahující v terminálních polohách adamantanový a uracilový motiv (Obrázek 27).

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Thakur, S.; Thakur, V. K.; Arotiba, O. A. History, Classification, Properties and Application of Hydrogels: An Overview. In: Thakur, V. K; Thakur M. K. (ed.). *Hydrogels: recent advances. Gels horizons: from science to smart materials*. Singapore: Springer, 2018, s. 29–50. ISBN 978-981-10-6076-2.
- [2] Nogueira, N.; Conde, O.; Miñones, M.; Trillo, J.M.; Miñones, J. Jr. Characterization of poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (PHEMA) contact lens using the Langmuir monolayer technique. *J. Colloid Interface Sci.* **2012**, *385*, 202–210. [online](#)
- [3] Mehta, P.; Sharma, P.; Devi, M. Hydrogels: An overview of its classifications, properties, and applications. *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **2023**, *147*, 106145. [online](#)
- [4] Ahmed, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *J. Adv. Res.* **2015**, *6*, 105–121. [online](#)
- [5] Zhang, X.; Liang, Y.; Huang, S.; Guo, B. Chitosan-based self-healing hydrogel dressing for wound healing. *J. Colloid Interface Sci.* **2024**, *332*, 103267. [online](#)
- [6] Dodda, J. M; Deshmukh, K.; Bezuidenhout, D.; Yeh, Y. C. Hydrogels: Definition, History, Classifications, Formation, Constitutive Characteristics, and Applications. Online. In: Dodda, J. M; Deshmukh, K.; Bezuidenhout D. (ed.). *Multicomponent Hydrogels: Smart Materials for Biomedical Applications*. Londýn: The Royal Society of Chemistry, 2023, s. 1–25. ISBN 978-1-83767-006-2. [online](#)
- [7] Muir, V. G.; Budrick, J. A. Chemically Modified Biopolymers for the Formation of Biomedical Hydrogels. *Chem. Rev.* **2021**, *121*, 10908–10949. [online](#)
- [8] Lu J.; Gao Z.; He W.; Lu Y. Harnessing the potential of hyaluronic acid methacrylate (HAMA) hydrogel for clinical applications in orthopaedic diseases. *J. Orthop. Transl.* **2025**, *50*, 111–128. [online](#)
- [9] Kim, S. H.; Chu, C. C. Synthesis and characterization of dextran–methacrylate hydrogels and structural study by SEM. *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *49*, 423–541. [online](#)
- [10] Nichol, J. W.; Koshy, S. T.; Bae, H.; Hwang, C. M.; Yamanlar S.; Khademhosseini A. Cell-laden microengineered gelatin methacrylate hydrogels. *Biomaterials.* **2010**, *31*, 5536–5544. [online](#)

- [11] Van Der Bulcke, A. I.; Bogdanov, B.; De Rooze, N.; Schacht, E. H.; Cornelissen, M.; Berghmans H. Structural and Rheological Properties of Methacrylamide Modified Gelatin Hydrogels. *Biomacromolecules*. **2000**, *1*, 31-38. [online](#)
- [12] Sharma, P.; Singh, B. Preparation and drug delivery of hydrogels based on grafting of methacrylamide (MAAm) / vinylsulphonic acid (VSA) co monomers onto psyllium. *Hybrid Advances*. **2024**, *6*, 100224. [online](#)
- [13] Smeds, K. A.; Pfister-Serres, A.; Hatchell, D. L.; Grinstaff, M. W. Synthesis of a Novel Polysaccharide Hydrogel. *J. Macromol. Sci. Part A-Pure Appl. Chem.* **1999**, *36*, 981–989. [online](#)
- [14] Darmau, B.; Hoang, A.; Gross, A. J.; Texier, I. Water-based synthesis of dextran-methacrylate and its use to design hydrogels for biomedical applications. *Eur. Polym. J.* **2024**, *221*, 113515. [online](#)
- [15] Jafari, A.; Bhatt, K.; Niknezhad, S. V.; Aji, A.; Griffith, M.; Andelfinger, G.; Bencherif, S. A.; Savoji, H. Synthesis and characterization of photo-cross-linkable quince seed-based hydrogels for soft tissue engineering applications. *Carbohydr. Polym.* **2025**, *352*, 123140. [online](#)
- [16] Pacelli, S.; Paolicelli, P.; Casadei, M. A. New biodegradable dextran-based hydrogels for protein delivery: Synthesis and characterization. *Carbohydr. Polym.* **2015**, *126*, 208–214. [online](#)
- [17] Jia, X.; Burdick, J. A.; Kobler, J.; Clifton, R. J.; Rosowski, J. J.; Zeitels, S. M.; Langer R. Synthesis and Characterization of in Situ Cross-Linkable Hyaluronic Acid-Based Hydrogels with Potential Application for Vocal Fold Regeneration. *Macromolecules*. **2004**, *37*, 3239–3248. [online](#)
- [18] Walimbe, T.; Panitch, A.; Sivasankar, P. M. A Review of Hyaluronic Acid and Hyaluronic Acid-based Hydrogels for Vocal Fold Tissue Engineering. *J. Voice*. **2017**, *31*, 416–423. [online](#)
- [19] Gerecht, S.; Burdick, J. A.; Ferreira, L. S.; Townsend, S. A.; Langer, R.; Vunjak-Novakovic, G. Hyaluronic acid hydrogel for controlled self-renewal and differentiation of human embryonic stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2007**, *104*, 11298–11303. [online](#)

- [20] Tous, E.; Ifkovits, J. L.; Koomalsingh, K. J.; Shuto, T.; Soeda, T.; Kondo, N.; Gorman III, J. H.; Gorman, R. C.; Burdick, J. A. Influence of Injectable Hyaluronic Acid Hydrogel Degradation Behavior on Infarction-Induced Ventricular Remodeling. *Biomacromolecules*. **2011**, *12*, 4127–4135. [online](#)
- [21] Van Straten, D.; Bimbo, J. F.; Hennink, W. E.; Vermonden, T.; Schiffelers, R. M. Nanoparticle-in-Hydrogel Delivery System for the Sequential Release of Two Drugs. *Pharmaceutics*. **2025**, *17*, 127. [online](#)
- [22] Moghadam, M. N.; Pioletti, D. P. Biodegradable HEMA-based hydrogels with enhanced mechanical properties. *J. Biomed. Mater. Res. Part B*. **2016**, *104*, 1161–1169. [online](#)
- [23] Chung, C.; Beecham, M.; Mauck, R. L.; Burdick, J. A. The influence of degradation characteristics of hyaluronic acid hydrogels on in vitro neocartilage formation by mesenchymal stem cells. *Biomaterials*. **2009**, *30*, 4287–4296. [online](#)
- [24] Li, X.; Xiong, Y. Application of “Click” Chemistry in Biomedical Hydrogels. *ACS Omega*. **2022**, *7*, 36918–36928. [online](#)
- [25] Buwalda, S. J. ‘Click’ hydrogels from renewable polysaccharide resources: Bioorthogonal chemistry for the preparation of alginate, cellulose and other plant-based networks with biomedical applications. *Int. J. Biol. Macromol.* **2024**, *282*, 136695. [online](#)
- [26] Qin, S.; Wang, M.; Wei, H.; Ren, Y.; Wang, G.; Guo, T.; Zhang, Q.; Yan, M.; Chen, H. Self-healing hyaluronic acid/polylysine hydrogel prepared by dual-click chemistry from polyrotaxane slidable crosslinkers. *J. Colloid Interface Sci.* **2025**, *680*, 157–172. [online](#)
- [27] Hoyle, C.; Bowman, C. Thiol–Ene Click Chemistry. *Angew. Chem. -Int. Edit.* **2010**, *49*, 1540–1573. [online](#)
- [28] Rodell, C. B.; MacArthur, J. W.; Dorsey, S. M.; Wade, R. J.; Wang, L. L.; Woo, Y. J.; Burdick, J. A. Shear-Thinning Supramolecular Hydrogels with Secondary Autonomous Covalent Crosslinking to Modulate Viscoelastic Properties In Vivo. *Adv. Funct. Mater.* **2015**, *25*, 636–644. [online](#)
- [29] Magarion, I.; Einschlag García, F. S.; Rueda, E. H.; Zygadlo, J.; Ferreira, M. L. Mechanisms of radical generation in the removal of phenol derivatives and pigments using different Fe-based catalytic systems. *J. Mol. Catal. A-Chem.* **2012**, *352*, 1–20. [online](#)

- [30] Navarro, J.; Swayambunathan, J.; Lerman, M.; Santoro, M.; Fisher, J. P. Development of keratin-based membranes for potential use in skin repair. *Acta Biomater.* **2019**, *83*, 177–188. [online](#)
- [31] Ueda, K.; Akiba, J.; Ogasawara, S.; Todoroki, K.; Nakayama, M.; Sumi, A.; Kusano, H.; Sanada, S.; Suekane, S.; Xu, K.; Bae, K. H.; Kurisawa, M.; Igawa, T.; Yano, H. Growth inhibitory effect of an injectable hyaluronic acid–tyramine hydrogels incorporating human natural interferon- α and sorafenib on renal cell carcinoma cells. *Acta Biomater.* **2016**, *29*, 103–111. [online](#)
- [32] Filippidi, E.; Cristiani, T. R.; Eisenbach, C. D.; Waite, J. H.; Israelachvili, J. N.; Ahn, K. B.; Valentine, M. T. Toughening elastomers using mussel-inspired iron-catechol complexes. *Science.* **2017**, *358*, 502–505. [online](#)
- [33] Yang, J.; Stuart C. M. A.; Kamperman, M. Jack of all trades: versatile catechol crosslinking mechanisms. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43*, 8271–8298. [online](#)
- [34] Hong, S.; Yang, K.; Kang, B.; Lee, C.; Song, I. T.; Byun, E.; Park, K. I.; Cho, S. W.; Lee, H. Hyaluronic Acid Catechol: A Biopolymer Exhibiting a pH-Dependent Adhesive or Cohesive Property for Human Neural Stem Cell Engineering. *Adv. Funct. Mater.* **2013**, *23*, 1729–1854. [online](#)
- [35] Tan, H.; Rubin, J. P.; Marra, K. G. Direct Synthesis of Biodegradable Polysaccharide Derivative Hydrogels Through Aqueous Diels-Alder Chemistry. *Macromol. Rapid. Commun.* **2011**, *32*, 905–911. [online](#)
- [36] Wahl, M. C.; Sundaralingam, M. C-H $\cdots$ O Hydrogen Bonding in Biology. *Trends Biochem. Sci.* **1997**, *22*, 97–102. [online](#)
- [37] Shin, M.; Song, K. H.; Burrell, J. C.; Cullen, D. K.; Burdick, J. A. Injectable and Conductive Granular Hydrogels for 3D Printing and Electroactive Tissue Support. *Adv. Sci.* **2019**, *6*, 1901229. [online](#)
- [38] Bahram, M.; Mohseni, N.; Moghtader, M. An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications. Online. In: Majee, S. B. (ed.). *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels*. Londýn: IntechOpen, 2016, s. 9–38. ISBN 978-953-51-6668-9. [online](#)

- [39] Jabbari, E. Hydrogels for Cell Delivery. Online. In: Jabbari, E. *Hydrogels in Tissue Engineering*. Basilej: MDPI, 2018, s. 1–2. ISBN 978-3-03897-122-1. [online](#)
- [40] Luo, Y.; Tan, J.; Zhou, Y.; Guo, Y.; Liao, X.; He, L.; Li, D.; Li, X.; Liu, Y. From crosslinking strategies to biomedical applications of hyaluronic acid-based hydrogels: A review. *Int. J. Biol. Macromol.* **2023**, *231*, 123308. [online](#)
- [41] Dulong, V.; Lack, S.; Le Cerf D.; Picton, L.; Vannier, J. P.; Muller, G. Hyaluronan-based hydrogels particles prepared by crosslinking with trisodium trimetaphosphate. Synthesis and characterization. *Carbohydr. Polym.* **2004**, *57*, 1–6. [online](#)
- [42] Fallacara, A.; Baldimi, E.; Manfredini, S.; Vertuani, S. Hyaluronic Acid in the Third Millennium. *Polymers.* **2018**, *10*, 701. [online](#)
- [43] Meyer, K.; Palmer, J. W. The polysaccharide of the vitreous humor. *J. Biol. Chem.* **1934**, *107*, 629–634. [online](#)
- [44] Hintze, V.; Schnabelrauch, M.; Rother, S. Chemical Modification of Hyaluronan and Their Biomedical Applications. *Front. Chem.* **2022**, *10*, 830671. [online](#)
- [45] Kuo, J. -W.; Prestwich, G. D. Hyaluronic Acid. Online In: Ducheyne, P. *Comprehensive Biomaterials*. Filadelfie: Elsevier Science, 2011, s. 239–259. ISBN 978-0-08-055294-1. [online](#)
- [46] Zhao, J.; Chen, J.; Li, C.; Xiang, H.; Miao, X. Hyaluronidase overcomes the extracellular matrix barrier to enhance local drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **2024**, *203*, 114474. [online](#)
- [47] Fan, Z.; Zhang, G.; Zhan, W.; Wang, J.; Wang, C.; Yue, Q.; Huang, Z.; Wang, Y. Hyaluronidase-responsive hydrogel loaded with magnetic nanoparticles combined with external magnetic stimulation for spinal cord injury repair. *Mater. Today Bio.* **2025**, *30*, 101378. [online](#)
- [48] Maleki, A.; Kjøniksen, A. L.; Nyström, B. Characterization of the chemical degradation of hyaluronic acid during chemical gelation in the presence of different cross-linker agents. *Carbohydr. Res.* **2007**, *342*, 2776–2792. [online](#)
- [49] Crescenzi, V.; Francescangeli, A.; Taglienti, A.; Capitani, D.; Mannina, L. Synthesis and Partial Characterization of Hydrogels Obtained via Glutaraldehyde Crosslinking of

Acetylated Chitosan and of Hyaluronan Derivatives. *Biomacromolecules*. **2003**, *4*, 1045–1054. [online](#)

[50] Kaczmarek, B.; Sionkowska, A.; Kozłowska, J.; Osyczka, A. M. New composite materials prepared by calcium phosphate precipitation in chitosan/collagen/hyaluronic acid sponge cross-linked by EDC/NHS. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *107*, 247–253. [online](#)

[51] Kirk, J. F.; Ritter, G.; Finger, I.; Sankar, D.; Reddy, J. D.; Talton, J. D.; Nataraj, C.; Narisawa, S.; Millán, J. L.; Cobb, R. R. Mechanical and biocompatible characterization of a cross-linked collagen-hyaluronic acid wound dressing. *Biomatter*. **2013**, *3*, e25633. [online](#)

[52] D'este, M.; Eglin, D.; Alini, M. A systematic analysis of DMTMM vs EDC/NHS for ligation of amines to Hyaluronan in water. *Carbohydr. Polym.* **2014**, *108*, 239–246. [online](#)

[53] Mlčochová, P.; Hájková, V.; Steiner, B.; Bystrický, S.; Kooš, M.; Medová, M.; Velebný, V. Preparation and characterization of biodegradable alkylether derivatives of hyaluronan. *Carbohydr. Polym.* **2007**, *69*, 344–352. [online](#)

[54] Šmejkalová, D.; Hermannová, M.; Šuláková, R.; Průšová, A.; Kučerík, J.; Velebný, V. Structural and conformational differences of acylated hyaluronan modified in protic and aprotic solvent system. *Carbohydr. Polym.* **2012**, *87*, 1460–1466. [online](#)

[55] Nagira, T.; Nagahata-Ishiguro, M.; Tsuchiya, T. Effects of sulfated hyaluronan on keratinocyte differentiation and Wnt and Notch gene expression. *Biomaterials*. **2007**, *28*, 844–850. [online](#)

[56] Crescenzi, V.; Francescangeli, A.; Renier, D.; Bellini, D. New cross-linked and sulfated derivatives of partially deacetylated hyaluronan: Synthesis and preliminary characterization. *Biopolymers*. **2002**, *64*, 57–114. [online](#)

[57] Sedláček, J.; Hermannová, M.; Šatínský, D.; Velebný, V. Current analytical methods for the characterization of N-deacetylated hyaluronan: A critical review. *Carbohydr. Polym.* **2020**, *249*, 116720. [online](#)

[58] Longas, M. O.; Burden, J. D.; Lesniak, J.; Booth, R. M.; McPencow J. A.; Park J. I. Hyaluronic Acid N-Deacetylase Assay in Whole Skin. *Biomacromolecules*. **2003**, *4*, 189–192. [online](#)

- [59] Kim, C. H.; Kim, J. Deacetylation hydrolase of hyaluronic acid, hyaluronic acid deacetylated by same and derivative thereof. EP 2 581 444 A2 (Evropský patent); zveřejněno 15. 12. 2011 (WO 2011/155800).
- [60] Baddi, S.; Dang-i, A. Y.; Gao, F.; Qui, X.; Feng, C. Physical strategies to engineer supramolecular composite hydrogels for advanced biomedical applications. *Prog. Mater. Sci.* **2025**, *151*, 101428. [online](#)
- [61] Steed, J. W.; Atwood, J. L. Supramolecular chemistry, druhé vydání. Chichester : Wiley, 2009. ISBN 978-0-470-51233-3. [online](#)
- [62] Lehn, J. M. Supramolecular Chemistry—Scope and Perspectives Molecules, Supermolecules, and Molecular Devices (Nobel Lecture). *Angew. Chem. -Int. Edit.* **1988**, *27*, 89–112. [online](#)
- [63] Mantooth, S. M.; Munoz-Robles, B. G.; Webber, M. J. Dynamic Hydrogels from Host–Guest Supramolecular Interactions. *Macromol. Biosci.* **2019**, *19*, 1800281. [online](#)
- [64] Roy, A.; Manna, K.; Dey, S.; Pal, S. Chemical modification of β -cyclodextrin towards hydrogel formation. *Carbohydr. Polym.* **2023**, *306*, 120576. [online](#)
- [66] Qi, Z.; Wang, Q.; Xu, H.; Lei, Y.; Li, X.; Qu, D. H. Dynamic hydrogel via temporally controlled supramolecular host-guest complex crosslinkers for information self-erasing materials. *Mater. Today.* **2024**, *76*, 64–71. [online](#)
- [66] Zhang, R.; Li, R.; Huang, F.; Zhang, M. Metallacycle/metallacage-cored supramolecular networks. *Prog. Polym. Sci.* **2023**, *141*, 101680. [online](#)
- [67] Sun, P.; Qin, B.; Xu, J. F.; Zhang, X. Supramonomers for controllable supramolecular polymerization and renewable supramolecular polymeric materials. *Prog. Polym. Sci.* **2022**, *124*, 101486. [online](#)
- [68] Hoque, M.; Alam, M.; Wang, S.; Zaman, J. U.; Rahman, M. S.; Johir, M.; Tian, L.; Choi, J. G.; Ahmed, M. B.; Yoon, M. H. Interaction chemistry of functional groups for natural biopolymer-based hydrogel design. *Mater. Sci. Eng. R-Rep.* **2023**, *156*, 100758. [online](#)
- [69] Hu, J. H.; Huang, Y.; Redshaw, C.; Tao, Z.; Xiao, X. Cucurbit[n]uril-based supramolecular hydrogels: Synthesis, properties and applications. *Coord. Chem. Rev.* **2023**, *489*, 215194. [online](#)

- [70] Liu, G.; Yuan, Q.; Wu, G. J. Cyclodextrin-based host–guest supramolecular hydrogel and its application in biomedical fields. *Polym. Chem.* **2018**, *9*, 3436–3449. [online](#)
- [71] Jurtík, M.; Gřešková, B.; Prucková, Z.; Rouchal, M.; Dastychová, L.; Vítková, L.; Valášková, K.; Achbergerová, E.; Vícha, R. Assembling a supramolecular 3D network with tuneable mechanical properties using adamantylated cross-linking agents and β -cyclodextrin-modified hyaluronan. *Carbohydr. Polym.* **2023**, *313*, 120872. [online](#)
- [72] Wang, S.; Wei, Y.; Wang, Y.; Cheng, Y. Cyclodextrin regulated natural polysaccharide hydrogels for biomedical applications-a review. *Carbohydr. Polym.* **2023**, *313*, 120760. [online](#)
- [73] Assafa, K. I.; Nau, W. M. Cucurbiturils: from synthesis to high-affinity binding and catalysis. *Chem. Soc. Rev.* **2015**, *44*, 394–418. [online](#)
- [74] Park, K. M.; Yang, J. A.; Jung, H.; Yeom, J. Y.; Park, J. S.; Park, K. H.; Hoffman, A. S.; Hahn, S. K.; Kim, K. In Situ Supramolecular Assembly and Modular Modification of Hyaluronic Acid Hydrogels for 3D Cellular Engineering. *ACS Nano*. **2012**, *6*, 2960–2968. [online](#)
- [75] Xu, W.; Song, Q.; Xu, J. F.; Serpe, M. J.; Zhang, X. Supramolecular Hydrogels Fabricated from Supramonomers: A Novel Wound Dressing Material. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. **2017**, *9*, 11368–11372. [online](#)
- [76] Alam, S.; Lingenfelter, K. S.; Bender, A. M.; Lindsley, C. W. Classics in Chemical Neuroscience: Memantine. *ACS Chem. Neurosci.* **2017**, *8*, 1812–2096. [online](#)
- [77] Fang, G.; Yang, X.; Chen, S.; Wang, Q.; Zhang, A.; Tang, B. Cyclodextrin-based host–guest supramolecular hydrogels for local drug delivery. *Coord. Chem. Rev.* **2022**, *454*, 214352. [online](#)
- [78] Del Valle, E. M. M. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochem.* **2004**, *39*, 1033–1046. [online](#)
- [79] Crini, G. Review: A History of Cyclodextrins. *Chem. Rev.* **2014**, *114*, 10697–11130. [online](#)
- [80] Petitjean, M.; García-Zubiri, I. X.; Isasi, J. R. History of cyclodextrin-based polymers in food and pharmacy: a review. *Environ. Chem. Lett.* **2021**, *19*, 3465–3476. [online](#)

- [81] Liu, Z.; Ye, L.; Xi, J.; Wang, J.; Feng Z. Cyclodextrin polymers: Structure, synthesis, and use as drug carriers. *Prog. Polym. Sci.* **2021**, *118*, 101408. [online](#)
- [82] Mohamadhoseini, M.; Mohamadnia, Z. Supramolecular self-healing materials via host-guest strategy between cyclodextrin and specific types of guest molecules. *Coord. Chem. Rev.* **2021**, *432*, 213711. [online](#)
- [83] Peng, L.; Zhang, H.; Feng, A.; Huo, M.; Wang, Z.; Hu, J.; Gaoc W.; Yuan J. Electrochemical redox responsive supramolecular self-healing hydrogels based on host guest interaction. *Polym. Chem.* **2015**, *6*, 3652–3659. [online](#)
- [84] Li, G.; Wu, J.; Wang, B.; Yan, S.; Zhang, K.; Ding, J.; Yin, J. Self-Healing Supramolecular Self-Assembled Hydrogels Based on Poly(l-glutamic acid). *Biomacromolecules.* **2015**, *16*, 3417–3730. [online](#)
- [85] Xia, D.; Wang, P.; Ji, X.; Khashab, N. M.; Sessler, J. L.; Huang F. Functional Supramolecular Polymeric Networks: The Marriage of Covalent Polymers and Macrocyclic-Based Host–Guest Interactions. *Chem. Rev.* **2020**, *120*, 5795–6326. [online](#)
- [86] Štimac, A.; Šekutor, M.; Mlinarić-Majerski, K.; Frkanec, L.; Frkanec, R. Adamantane in Drug Delivery Systems and Surface Recognition. *Molecules.* **2017**, *22*, 297. [online](#)
- [87] Kakuta, T.; Takashima, Y.; Sano, T.; Nakamura, T.; Kobayashi, Y.; Yamaguchi, H.; Harada A. Adhesion between Semihard Polymer Materials Containing Cyclodextrin and Adamantane Based on Host–Guest Interactions. *Macromolecules.* **2015**, *48*, 453–878. [online](#)
- [88] Wang, M.; Zhang, X.; Li, L.; Wang, J.; Wang, J.; Ma, J.; Yuan, Z.; Lincoln, S. F.; Guo, X. Photo-Reversible Supramolecular Hydrogels Assembled by α -Cyclodextrin and Azobenzene Substituted Poly(acrylic acid)s: Effect of Substitution Degree, Concentration, and Tethered Chain Length. *Macromol. Mater. Eng.* **2016**, *301*, 191–198. [online](#)
- [89] Vícha, R.; Nečas M.; Potáček M. Preparation of 1-Adamantyl Ketones: Structure, Mechanism of Formation and Biological Activity of Potential By-Products. *Collect. Czech. Chem. Commun.* **2006**, *71*, 709-722. [online](#)
- [90] Hoffmann, H. M. R.; Haase K. The Synthesis of Acyl Iodides. *Synthesis.* **1981**, *9*, 715-719. [online](#)

[91] Rouchal, M.; Matelová, A.; de Carvalho, F. P.; Bernat, R.; Grbić, D.; Kuřitka, I.; Babinský, M.; Marek, R.; Čmelík, R.; Vicha, R. Adamantane-bearing benzylamines and benzylamides: novel building blocks for supramolecular systems with finely tuned binding properties towards β -cyclodextrin. *Supramol. Chem.* **2013**, *25*, 349–361. [online](#)

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BOC	<i>tert</i> -butyloxykarbonylová skupina
CB[<i>n</i>]	cucurbit[<i>n</i>]uril
CD	cyklodextrin
DCM	dichlormethan
DMF	dimethylformamid
DMSO	dimethylsulfoxid
EDC	1-ethyl-3-[3-(dimethylamino)-propyl]-karboimid
ESI-MS	hmotnostní spektrometrie s ionizací elektrosprejem
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií
GLY	glycin
HRP	Avidin-peroxidáza (z angl. HorseRadish Peroxidase)
IR	infračervená spektroskopie
NMR	nukleární magnetická rezonance
PHE	fenylalanin
TEA	triethylamin
TFA	trifluoroctová kyselina
TLC	tenkovrstvá chromatografie