

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Brno, 2023

Dominika Blechová



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

KOMPOZITNÍ HYDROGELY
COMPOSITE HYDROGELS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Dominika Blechová

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. Tereza Venerová, Ph.D.

BRNO 2023

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1744/2022 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Dominika Blechová**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **Ing. Tereza Venerová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Kompozitní hydrogely

Zadání bakalářské práce:

1. Provést rešerši na téma kompozitní hydrogely využitelné jako nosiče léčiv. Zaměřit se na hydrogely s inkorporovanými částicemi.
2. Na základě rešerše formulovat modelový kompozitní hydrogel a provést jeho základní reologickou charakteristiku.
3. Zhodnotit výsledky měření a na jejich základě navrhnout další postup navazující práce.

Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2023:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu.

Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Dominika Blechová
studentka

Ing. Tereza Venerová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
Děkan

ABSTRAKT

Obsahem této bakalářské práce je rešerše na téma kompozitních hydrogelů a následný výzkum reologických vlastností připravených hydrogelů z polysacharidu – Gellanu a také zjištění vlastností hydrogelů s přidavkem dvou druhů částic – IPA vezikul a směsi částic hydroxyapatitu a síranu vápenatého získaných rozpadem pelety PerOssalu (PO částice). Hydrogely jsou připravované se třemi různými koncentracemi Gellanu – 1 %, 1,5 % a 2 %. Vlastnosti takto připravených hydrogelů byly zjišťovány pomocí frekvenčních a převážně amplitudových testů. Dále byly porovnány dvě různé metody aplikace vzorku na měřící destičku reometru. Běžně využívaná metoda nakrájení vzorku byla nahrazena injekční aplikací. Injekčně aplikované vzorky byly proměřeny, výsledky vyhodnoceny a porovnány s výsledky gelů aplikovaných nakrájením.

ABSTRACT

The content of this bachelor's thesis is research on the topic of composite hydrogels and subsequent research on the rheological properties of prepared hydrogels from the polysaccharide – Gellan, as well as the determination of the properties of hydrogels with the addition of two types of particles – IPA vesicles and a mixture of hydroxyapatite and calcium sulfate particles obtained by the breakdown of PerOssal pellets (PO particles). Hydrogels are prepared with three different concentrations of Gellan – 1%, 1.5% and 2%. The properties of hydrogels prepared in this way were determined using frequency and mainly amplitude tests. Furthermore, two different methods of applying the sample to the measuring plate of the rheometer were compared. The commonly used method of slicing the sample has been replaced by injection application. The injected samples were measured, the results evaluated and compared with the results of the gels applied by slicing.

KLÍČOVÁ SLOVA

hydrogel, Gellan, IPA částice, hydroxyapatit, síran vápenatý, PerOssal, reometrie

KEYWORDS

Hydrogel, Gellan, IPA particles, hydroxyapatite, calcium sulfate, PerOssal, rheometry

CITACE ELEKTRONICKÉHO ZDROJE

BLECHOVÁ, Dominika. Kompozitní hydrogely [online]. Brno, 2023 [cit. 2023-01-09]. Dostupné z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/148939>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Tereza Venerová.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych zde zmínila pár lidí, kteří mi byli při výzkumu velice nápomocní. Prvním a nejdůležitějším pomocníkem byla vedoucí práce Ing. Tereza Venerová, Ph.D., která mi věnovala čas a důležité rady. Dalšího bych chtěla zmínit pana Ing. Jiřího Smílka, Ph.D., který mi byl nápomocný se zaučením na reometru. Mé díky patří také kolegyním Bc. Denise Svitáčové a Bc. Lucii Kalendové, které mi věnovaly svůj čas při prvních přípravách hydrogelů. V neposlední řadě patří díky mé rodině a přátelům, kteří mě při studiu podporovali.

Obsah

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	HYDROGELY	8
2.1.1	<i>Obecná charakteristika a historie hydrogelů</i>	8
2.1.2	<i>Materiály a metody používané k přípravě hydrogelů</i>	9
2.2	POLYSACHARIDY	10
2.2.1	<i>Vybraný materiál pro tvorbu hydrogelu</i>	10
2.3	IONTOVÉ AMFIFILNÍ PÁRY (IPA ČÁSTICE)	11
2.3.1	<i>Charakteristika</i>	11
2.4	HYDROXYAPATITOVÉ ČÁSTICE	12
2.4.1	<i>Charakteristika</i>	12
2.4.2	<i>Léčivo PerOssal</i>	12
2.5	METODY VÝZKUMU	13
2.5.1	<i>Dynamický rozptyl světla</i>	13
2.5.2	<i>Reologie</i>	14
3	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	15
3.1	HYDROGELY	15
3.2	KOMPOZITNÍ HYDROGELY	15
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	17
4.1	CHEMIKÁLIE	17
4.2	POMŮCKY	17
4.3	GELLANOVÉ HYDROGELY	17
4.3.1	<i>Příprava</i>	17
4.4	HYDROGELY S IPA ČÁSTICEMI	17
4.4.1	<i>Příprava IPA vezikul</i>	17
4.4.2	<i>Inkorporace IPA vezikul do hydrogelu</i>	18
4.5	HYDROGELY S ČÁSTICEMI Z PEROSSALU (PO ČÁSTICE)	18
4.5.1	<i>Příprava</i>	18
4.6	REOLOGICKÉ MĚŘENÍ	18
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	20
5.1	POPIS PŘIPRAVENÝCH HYDROGELŮ	20
5.2	DYNAMICKÝ ROZPTYL SVĚTLA	20
5.3	REOMETRIE	21
5.3.1	<i>Frekvenční testy</i>	22
5.3.2	<i>Amplitudové testy</i>	22
5.3.3	<i>Injektabilitnost</i>	25

6	ZÁVĚR.....	31
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	33
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	39
8.1	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	39
8.2	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ	39

1 Úvod

Kompozitní hydrogely jsou směsí látek, které mají předpoklad pro velké uplatnění v mnohých oborech – medicína, zemědělství, potravinářství, kosmetika, farmacie apod. Základem hydrogelů je polymerní látka (v medicíně nejčastěji polysacharidy). Tyto polymerní látky se skládají z monomerních jednotek, které tvoří řetězce uspořádané do 3D sítí. Vzniklé sítě jsou schopné do své struktury navázat velké množství vody. Také je možné do polymerní sítě navázat další typy látek jako různé vezikuly, případně anorganické látky.

Gellan se řadí mezi polysacharidy. Získává se z mikroorganismu *Sphingomonas Elodea*. Má široké využití v různých oborech především v potravinářství jako zahušňovadlo nebo stabilizátor a v medicíně jako hydrogel. Lze pracovat s dvěma typy Gellanu – nativním nebo deacylovaným. V této práci je použita deacylovaná forma.

IPA vezikuly (z angličtiny *Ion Pair Amphiphile*) jsou částice podobné lipozomům. Skládají se z kationických a anionických tenzidů, které vytvoří tzv. „pseudo dvojřetězcové tenzidy“. Tyto „pseudo dvojřetězcové tenzidy“ obsahují dvě hydrofilní hlavy a dva hydrofobní ocase, čímž se podobají fosfolipidům.

Hydroxyapatitové částice jsou typem anorganické látky, které jsou velmi podobné hydroxyapatitu, který se přirozeně vyskytuje v lidském těle, například v kostech. Díky této skutečnosti je možné použití těchto částic v medicíně jako komponent do náhrad kostí. V této bakalářské práci byl použit hydroxyapatit, který je získáván z léčiva PerOssal. Toto léčivo bylo vyvinuto pro léčbu kostních defektů.

V této bakalářské práci se pojednává o tvorbě gelů vytvořených z Gellanu a různých inkorporovaných částic jako je hydroxyapatit a IPA částice. Hlavním cílem je zjistit reologické vlastnosti těchto gelů aplikovaných přímo z nádoby a po průchodu injekční stříkačkou.

2 Teoretická část

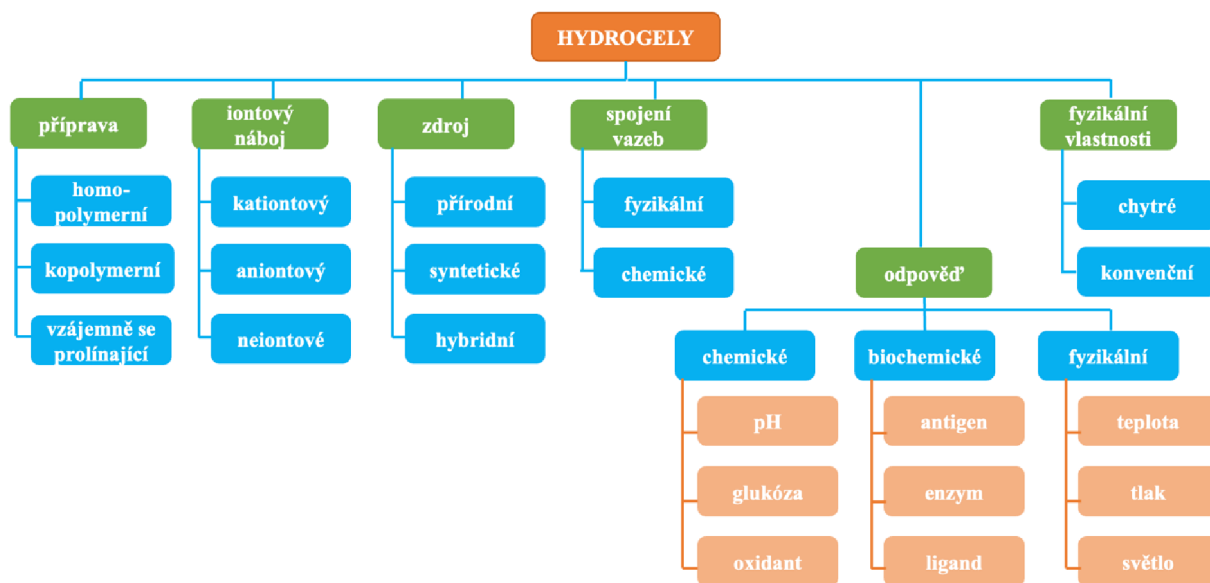
2.1 Hydrogely

2.1.1 Obecná charakteristika a historie hydrogelů

Hydrogel je látka, která se skládá ze dvou částí – hydrofilních polymerních řetězců a vody. Polymerní řetězce tvoří 3D síť, která do svého objemu dokáže pojmout velké množství vody^{1,2}. Každý hydrogel musí splňovat podmínku – minimálně 10 % z jeho celkového objemu (příp. hmotnosti) musí být voda. Díky obsahu vody ve své struktuře se hydrogel velmi podobá živé tkáni. Podobnost je především v pružnosti¹.

U všech zkoumaných látek se vědci snaží dosáhnout ideálních podmínek a není tomu jinak ani u hydrogelů. Ideální hydrogel je bezbarvý a bez zápachu. Schopnost přijímat určité množství kapaliny do objemu je popsána absorpční kapacitou, která má být u hydrogelu co největší. Voda musí být absorbována rovnoměrně (dochází tedy i k rovnoměrnému bobtnání). Hydrogely mají velmi slibnou budoucnost v lékařském využití, což vyžaduje nové vlastnosti, které jsou ovlivněné fyziologickými podmínkami. Je důležité dodržovat neutrální pH, dále musí být hydrogel také biodegradovatelný bez vzniku toxických produktů. Pro vytvoření hydrogelu s nevhodnějšími vlastnostmi je důležité umět měnit vlastnosti hydrogelu (rychlost absorpce, uvolňování léčivé látky či stabilitu hydrogelu). Dalším důležitým aspektem je i nízká cena produktu³.

Existují tři základní typy hydrogelů – chemické, fyzikální a biochemické. Chemické hydrogely jsou propojeny kovalentními nebo iontovými vazbami. U fyzikálních hydrogelů se objevují především nekovalentní vazby a biochemické hydrogely jsou tvořeny pomocí enzymů nebo aminokyselin. Výše popsané rozdělení je velmi obecné a lze podrobněji rozdělit podle různých faktorů (obrázek 1)¹.



Obrázek 1: Rozdělení hydrogelů podle různých faktorů¹

Prvními průkopníky přípravy hydrogelů byli vědci Wichterle a Lím. Pro svůj výzkum využili látku poly(2-hydroxyethylmethakrylát) (PHEMA), která měla být použita pro výrobu kontaktních čoček. Šlo o první prototyp kontaktních čoček, proto nebylo dosaženo všech požadovaných kritérií na vlastnosti⁴.

Hydrogely fungují díky přechodu mezi dvěma fázemi – gelem a solem. Přechody bývají zapříčiněny fyzikálními (změna teploty, vložení magnetického nebo elektrického pole) či chemickými podněty (změna pH nebo koncentrace iontů). Výše zmíněné stimuly mohou ve struktuře hydrogelu zapříčinit jak reversibilní, tak i nereversibilní změny. Reversibilitu hydrogelu lze ovlivnit také stupněm zesíťování nebo změnami vlastností použitých monomerů a jejich postranních řetězců¹.

2.1.2 Materiály a metody používané k přípravě hydrogelů

2.1.2.1 Hydrogely první generace

Do první generace hydrogelů lze zařadit velké množství podskupin gelů, které se dělí podle různých druhů materiálů nebo jejich přípravy (polymerace monomerů rozpustných či nerozpustných ve vodě, nebo polymerace pomocí syntetických ve vodě rozpustných síťovadel)⁵.

Do první podskupiny hydrogelů připravovaných z monomerů se řadí například hydrogely z vinylu polymerované radikálovou metodou. Pro průběh polymerace za mírných podmínek je zapotřebí použít síťovací činidla. Touto metodou vznikají gely různých tvarů s velmi malými oky v polymerní síti, což znemožňuje do těchto hydrogelů zakomponovat vysokomolekulární částice, ale musí být použity částice ve velikosti nanometrů. Do druhé podskupiny se řadí hydrogely z polyvinylalkoholu (PVA) a polyethylenglykolu (PEG). Třetí podskupina se zabývá přípravou hydrogelů z polosyntetického materiálu jako je například hydroxypropylmethylcelulóza. Tyto hydrogely lze využít k řízenému uvolňování léčiv pomocí difúze. Jejich výhodou může být samovolná degradace při styku s vodou⁵.

2.1.2.2 Hydrogely druhé a třetí generace

Dále se vývoj ubral k hydrogelům, které dokážou pozměnit své vlastnosti na základě změny svého prostředí (změna pH, teploty nebo koncentrace biomolekul v okolí). Výše zmíněné spouštěče podněcují změny v hydrogelu jako například tvorbu sítí gelu nebo uvolňování léčiva. U druhé generace gelů nejčastěji pozorujeme jejich tvorbu pomocí fyzikálních a iontových interakcí. Do této generace se nejčastěji řadí gely na základě PEG-polyesterových kopolymerů anebo z poly(N-isopropylakrylamidu) (pNIPAAm)⁵.

Třetí generace gelů funguje na bázi nově objevených fyzikálních interakcí, které zlepšují mechanické, tepelné a také degradační schopnosti. Mezi hydrogely třetí generace se řadí hydrogely na bázi interakce kov-ligand, nebo hydrogely zesíťované peptidy a také tzv. chytré hydrogely. Tyto chytré hydrogely lze připravit pomocí kovalentních vazeb, které vážou polymery s komplementárními skupinami. Tyto skupiny většinou vykazují při fyziologických podmínkách malou toxicitu⁵. Mezi chytré hydrogely se řadí i tzv. kompozitní hydrogely.

Ty obsahují malé anorganické molekuly jako třeba fosforečnan vápenatý nebo hydroxyapatit. Zmíněné minerály mohou najít využití v tkáňové m inženýrství u oprav nebo náhrad kostí^{5, 6}.

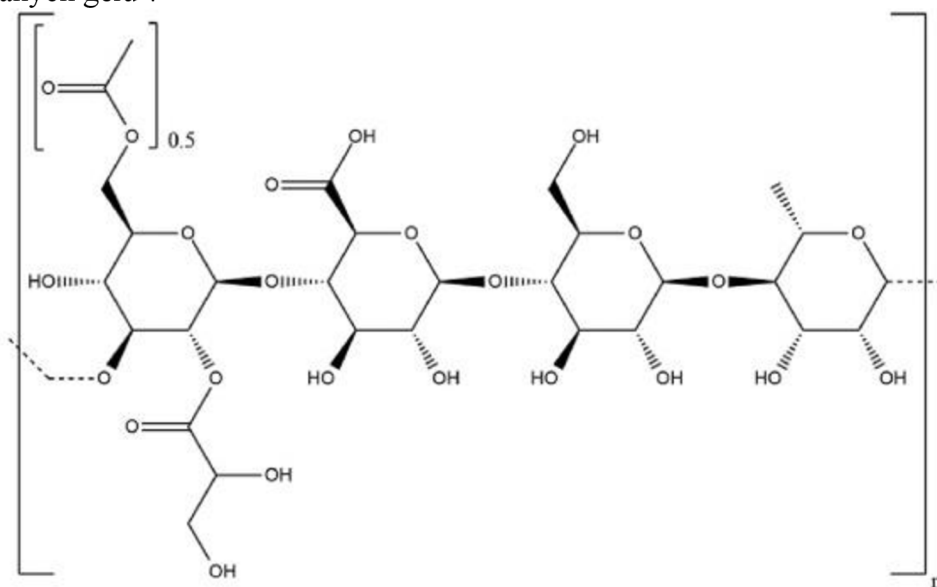
2.2 Polysacharidy

Polysacharidy jsou látky skládající se z deseti a více jednotek monosacharidů, které propojuje glykosidická vazba. Pro většinu živočichů jsou polysacharidy důležitým zdrojem energie. Existuje mnoho variant, jak tyto látky extrahovat a vybraný způsob může velmi ovlivnit vlastnosti a funkce získaného polysacharidu. Přírodní polysacharidy se dají získat z rostlin, řas, mikroorganismů nebo hub⁷.

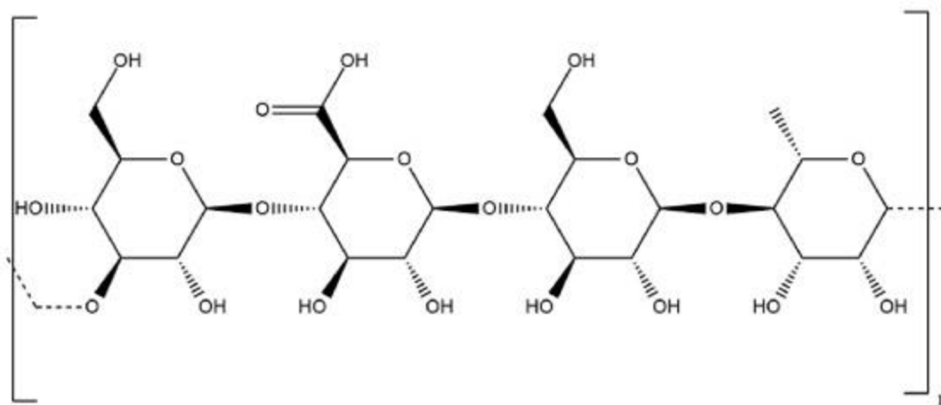
2.2.1 Vybraný materiál pro tvorbu hydrogelu

Pro tuto bakalářskou práci byl vybrán jako základ hydrogelu Gellan. Jedná se o přírodní, ve vodě rozpustný polymer, který je stabilní a má dobré mechanické a fyzikální vlastnosti (např. teplotní rezistenci). Gellan se skládá z opakujících se jednotek β -D-glukózy, L-rhamnózy a D-glukoronové kyseliny v poměru 2:1:1. Tento polysacharid se komerčně získává z mikroorganismu *Sphingomonas Elodea*, pro industriální výrobu se používá mikroorganismus *Sinphogomas paucimobilis*^{8, 9, 10}.

Existují dva typy Gellanu– nativní Gellan (obrázek 2) a deacylovaný Gellan (nebo také Gellan s nízkým obsahem acylů) (obrázek 3). Rozdíl mezi těmito variantami je v přítomnosti acylových skupin, přesněji glycerátovou a acetátovou skupinou. U nativního Gellanu se výše jmenované acylové skupiny objevují, zatímco u deacylovaného Gellanu tyto skupiny zcela chybí. Nepřítomnost acylových skupin výrazně ovlivňuje reologické vlastnosti připravovaných gelů⁹.



Obrázek 2: Vzorec monomerní jednotky nativního Gellanu⁹



Obrázek 3: Vzorec monomerní jednotky deacylovaného Gellanu⁹

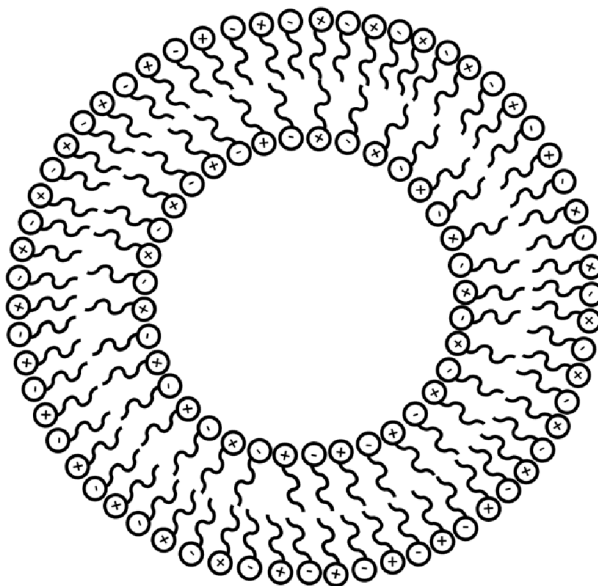
Z nativního Gellanu lze vytvořit měkké, elastické a dobře deformovatelné gely, zatímco z deacylované formy vznikají gely tvrdší, křehčí, ale za to tepelně stabilnější s mírnějšími podmínkami potřebnými pro zgelovatění⁹.

Při rozpuštění Gellanu v ohřáté vodě mohou jeho molekuly zpočátku připomínat náhodně uspořádané polymery ve tvaru cívek. Po ochlazení vytvořeného roztoku začnou vznikat mezi cívkami van der Waalsovy síly a vodíkové vazby, což z cívek vytvoří dvojité šroubovice a díky přítomným kationtům jsou takto vzniklé dvoušroubovice uspořádány do silných gelových sítí¹¹. Z výše uvedených faktů lze usoudit, že gely z Gellanu se řadí k fyzikálním hydrogelům. Velkou výhodou Gellanu a gelů z něj je jejich biokompatibilita, biodegradabilita, elasticita apod^{12,13}.

2.3 Iontové amfifilní páry (IPA částice)

2.3.1 Charakteristika

Iontové amfifilní páry (z angličtiny *ion pair amphiphile*) jsou tvořené kationickou a anionickou částí v poměru 1:1. Tyto skupiny jsou drženy díky elektrostatickým přitažlivostem. IPA vezikuly (obrázek 4) jsou lipozomům podobné látky, které dokážou přenášet hydrofilní i hydrofobní látky v jejich hydrofilním jádru. Složení připravovaných částic může být velmi rozmanité, ale musí se hlídat toxicita¹⁴.



Obrázek 4: Struktura IPA vezikul

IPA částice v této práci byly připravovány kombinací cetyltrimethylamonium bromidu (CTAB) a dodecylsulfátu sodného (SDS). Tyto dvě látky vytváří kationické a anionické hlavičky (CTAB – kation, SDS – anion). Dalšími látky jsou dimethyldi-N-octadecylammonium chloridu (DODAC), který se chová jako povrchově aktivní činidlo a poté také cholesterol, který zde působí jako stabilizační látka.

Výhodou IPA částic oproti klasickým lipozomům je jejich vyšší stabilita vůči hydrolyze, ale zároveň fyzikální a koloidní stabilita je nižší. Pro zvýšení koloidní stability se používají dva typy úprav – intervezikulární a intravezikulární. V případě této bakalářské práce byla použita pouze intravezikulární úprava, přesněji přidavek cholesterolu. Jak je známo z fosfolipidových membrán v buňce, cholesterol mění tekutost a mechanickou odolnost membrány. Totéž platí u přidavku cholesterolu do IPA částic¹⁵. Stabilita IPA částic je také velmi závislá na charakteristice každé z částic. Do této charakterizace se řadí velikost nebo povrchový potenciál¹⁶. Pro zjištění velikosti částic se používá metoda dynamického rozptylu světla. Bez zničení vzorku lze touto metodou zjistit velikost vezikul a také jejich stabilitu¹⁷. Velikost částic se vypočítá ze Stokes-Einsteinové rovnice (1), kde D je difúzní koeficient, k je Boltzmannova konstanta, T je termodynamická teplota, f je koeficient tření, η je viskozita média a a označuje hydrodynamický poloměr kulové struktury¹⁷.

$$D = \frac{kT}{f} = \frac{kT}{6\pi\eta a} \quad (1)$$

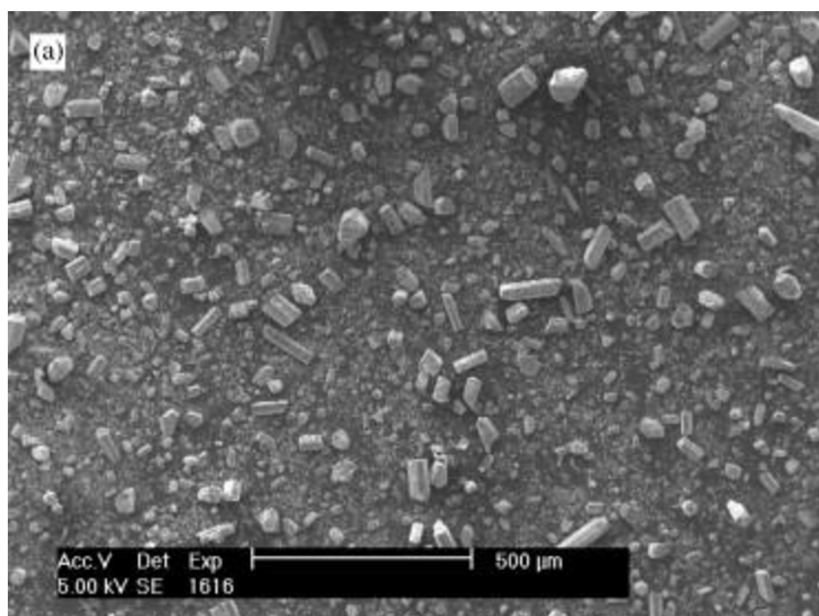
2.4 Hydroxyapatitové částice

2.4.1 Charakteristika

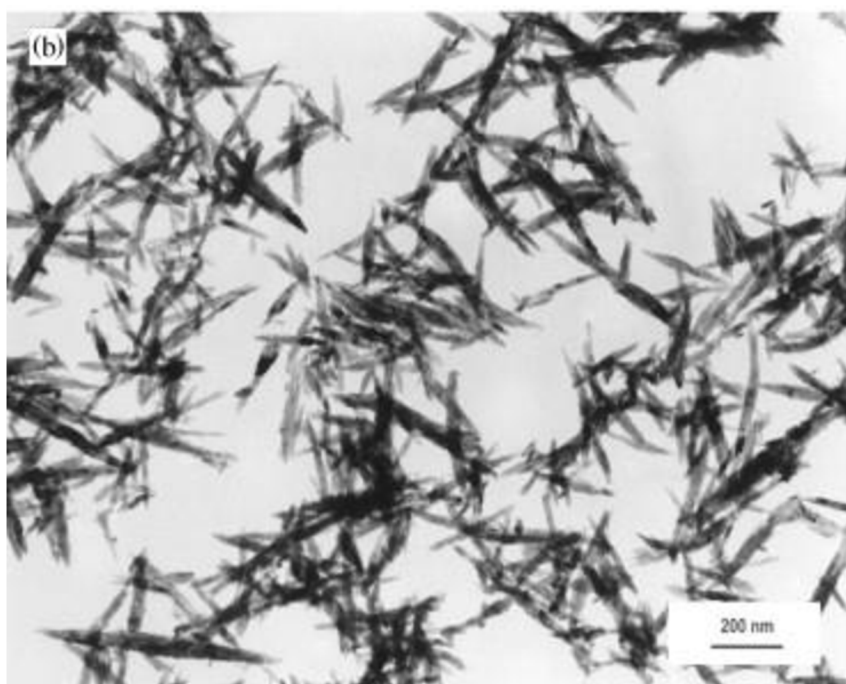
Hydroxyapatit (HA) je vlastně fosforečnan vápenatý s chemickým vzorcem $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Tato látka je hlavní součástí kostní hmoty¹⁸. Z toho lze vyvodit, že se jedná o biokompatibilní látku, která může být využita v medicíně, hlavně v kostních náhradách¹⁹. V této práci byly použity HA částice obsažené v léčivu PerOssal. V tomto léčivu se vyskytují kromě HA částic i částice síranu vápenatého.

2.4.2 Léčivo PerOssal

PerOssal je synteticky připravené léčivo, které se používá jako biokompatibilní a biodegradovatelná kostní náhrada pro výplň kostních defektů. Jeho struktura je porézní, tedy do jeho objemu lze přidat vodné roztoky. Toho se využívá pro inkorporaci antibiotik, které napomáhají v bezpečnější léčbě kostních defektů. PerOssal je dodáván v podobě pelet o velikosti 6x6 mm. Výrobce udává, že jedna peleta obsahuje 51,5 % nanokrystalického hydroxyapatitu a 48,5 % síranu vápenatého²⁰. *Rauschmann a spol.*²¹ zjistili díky rastrovací (obrázek 5) a transmisní (obrázek 6) elektronové mikroskopii velikost částic obsažených v PerOssalu. Tato velikost se pohybuje v desítkách až nižších stovkách nanometrů.



Obrázek 5: Výsledek rastrovací elektronové mikroskopie pelety PerOssal²¹



Obrázek 6: Výsledek transmisní elektronové mikroskopie pro hydroxyapatitové částice z PerOssalu²¹

2.5 Metody výzkumu

2.5.1 Dynamický rozptyl světla

Dynamický rozptyl světla (DLS) je metoda, která napomáhá zkoumat difúzní chování makromolekul v roztoku. Podstatou této metody je ozáření vzorku rozpouštědla a makromolekul monochromatickým paprskem, který se rozptyluje do všech směrů. Tento rozptyl je ovlivňován velikostí a tvarem makromolekul v roztoku. Jde tedy o měření Brownova pohybu makromolekul, kdy záleží na teplotě měření a vzorku^{22, 23}.

2.5.2 Reologie

Reologie je jedním z oborů zabývajícím se deformací materiálů. Nejdůležitější řešenou otázkou reologie je, jak materiál dokáže reagovat na určitou sílu. Zkoumaná síla, která působí na materiál se dá označit jako stresové napětí. Měří se velikost deformace anebo rychlost deformace. Toto napětí se dělí na smykové a normálové. Smykové napětí je spojeno se změnou tvaru a normálové napětí je spojeno se změnou velikosti v závislosti na prodlužování²⁴.

Pro popis vlastností zkoumané látky se používá komplexní modul G^* , který popisuje odolnost vůči deformaci nebo jej můžeme použít pro označení kvantitativní míry tuhosti. Tento komplexní modul se dá popsat i dvěma dalšími veličinami – paměťovým modulem G' a ztrátovým modulem G'' . Paměťový modul G' popisuje elastické chování viskoelastické látky, zatímco ztrátový modul G'' popisuje chování viskózní části viskoelastické látky²⁵.

2.5.2.1 Chování měřených látek

Po vystavení zkoumané látky určité síle mohou nastat dvě mezní situace – elastické a viskózní chování. Elastické chování se projevuje vymizením deformace po odstranění působení vnější síly. Toto chování se nejčastěji očekává od tuhých látek. Pokud při působení i odstranění síly těleso teče, lze toto chování popsat jako viskózní a vyskytuje se nejčastěji u tekutin. Mezi další možné situace se řadí chování koloidních systémů, kdy záleží na době působení síly na těleso. U těchto systémů se vyskytuje viskoelastické chování²⁶.

Pro vysvětlení rozdílu mezi typy viskozit je potřeba definovat Newtonovu rovnici (2),

$$\tau_{xy} = -\eta \frac{du_x}{dy} \quad (2)$$

kde τ_{xy} je tečné napětí, (působí ve směru osy x v rovině kolmé k ose y), u_x je rychlost toku (ve směru osy x), du_x/dy je gradient rychlosti a η je dynamická viskozita (konstanta, která je mírou vnitřního odporu). V případě, kdy se dynamická viskozita vydělí hustotou zkoumané látky, vzniká nová veličina, tzv. kinematická viskozita. Na základě charakteristiky viskozity pro dané těleso lze látky dělit na newtonské a neneutonské. Pokud je možné charakterizovat viskozitu za dané teploty a tlaku, která je zároveň při laminárním toku nezávislá na tečném napětí (případně rychlostním gradientu), můžeme tuto látku označit jako newtonskou. Mezi tyto látky se řadí plyny, většina čistých kapalin a roztoků případně disperzí. V případě, že poměr tečného napětí s rychlostním gradientem není konstantní, vzniká tzv. zdánlivá viskozita, která je charakteristická pro neneutonské kapaliny. Mezi neneutonské kapaliny lze zařadit koloidní disperzní systémy²⁶.

3 Současný stav řešené problematiky

3.1 Hydrogely

Hydrogely jsou v posledních letech velmi zkoumanou směsí látek. V medicíně a podobných odvětvích jsou hydrogely nejčastěji připravované z přírodních materiálů^{27, 28}. Mimo již zmíněných odvětví se hydrogely používají ve veterinární medicíně, farmacii, tkáňovém inženýrství apod. Každé odvětví vyžaduje kromě rozdílných typů materiálů i rozdílné způsoby aplikace připravených hydrogelů. V poslední době se velmi rozvinulo využití 3D tisku hydrogelů²⁹. V medicíně a farmacii by bylo přínosné kromě klasické operační aplikace i možnost aplikovat hydrogely injekčně^{30, 31}.

Vědci se v poslední době zabývají mnohem více injekční aplikací. Jde o jednoduchou metodu, díky které se mohou omezit invazivnější metody. *Sun a spol.*³² se rozhodli najít možnou alternativu léčby srdeční fibrózy pomocí injektabilních hydrogelů. Vytvořili polysacharidový hydrogel, do jehož struktury zabudovali lipozomální částice s léčivem, které zabraňuje vzniku proteinů znemožňujících regeneraci srdečního svalu po infarktu myokardu. Po *in vitro* testech lze konstatovat, že tento hydrogel napomohl k regeneraci postižené tkáně. Kromě léčby kostních defektů a kardiologických nemocí lze podle *Hasanzadeh a spol.*³³ hydrogely využít i pro regeneraci centrální nervové soustavy. Autoři článku tvrdí, že přírodní hydrogely nejsou natolik odolné jako ty syntetické, ale za to nejsou cytotoxické a většinou jsou biokompatibilní s léčenými organismy. Předpokládá se, že injektabilní hydrogely mohou být velmi prospěšné v léčbě centrální nervové soustavy, díky jednoduchosti aplikace. Pro zvýšení odolnosti těchto hydrogelů by bylo nejlepší spojit přírodní i chemické látky.

Hydrogely využívané v medicíně se nejčastěji vyrábí z polysacharidů. Mezi nejvíce používané sacharidy se řadí alginát³⁴ celulóza³⁵, dextran³⁶, chitosan³⁷ nebo kyselina hyaluronová^{38, 39} a mnoho dalších. Pozornost se v poslední době upíná i na různé druhy polysacharidových gum (guarová guma, agarová guma, Gellan apod.)⁴⁰. Výhodou těchto gum je jejich široké využití nejen v medicíně, ale především v potravinářství⁴¹.

3.2 Kompozitní hydrogely

Pro ještě lepší využitelnost potenciálu hydrogelů se zkoumá, jaké látky lze do 3D sítě gelů zabudovat a jaké vlastnosti mohou mít, případně jak tyto vlastnosti ještě upravit. I kompozitní hydrogely mají využití sahající do mnohých odvětví (potravinářství⁴², zemědělství⁴³, průmyslu^{44, 45} veterinární medicíny, ale i klasické medicíny^{46, 47}. *Bonifacio a spol.*⁴⁸ se zaměřili na gellanový kompozitní hydrogel, který se smíchal s manukovým medem. Tato kombinace měla sloužit pro pomoc s obnovou chrupavek. Výsledkem byl velmi slibný hydrogel, který měl antibakteriální vlastnosti a neprojevila se u něj cytotoxicita. *Fan a spol.*⁴⁹ pracovali na hydrogelech ze dvou polysacharidů – Gellanu a salekanu. Úkolem tohoto týmu bylo popsat reologické vlastnosti (tokové a gelové charakteristiky) obou typů hydrogelů. Tuto tematiku zkoumali proto, aby bylo možné chemické hydrogely nahradit těmi přírodními a snížit tak riziko toxicity.

Havlíková a spol.⁵⁰ se zabývají interakcí IPA vezikul a hyaluronanu. Byly zkoumány fyzikální vlastnosti těchto částic (velikost, ζ -potenciál atd.). Tyto komplexy jsou zkoumány především proto, že je lze použít jako potenciální přenašeče léčiv. Komplexy jsou velmi podobné lipozomům. Jedním z rozdílů je možná toxicita komponentů, ze kterých jsou IPA vezikuly připravovány. Řešením tohoto problému by mohl být přídavek látky, která zvýší biokompatibilitu IPA vezikul. Příkladem takové látky by mohl být polysacharid – v tomto případě hyaluronan^{50, 51}.

Ugrinovic a spol.⁵² se ve svém článku zabývali vylepšením systému dodávání léků pomocí hydrogelu z polymethakrylové kyseliny a želatiny, který je vyztužen nanostrukturními hydroxyapatitovými částicemi. Výsledkem jejich práce bylo zjištění, že po inkorporování hydroxyapatitu do hydrogelu se zlepšily mechanické vlastnosti a zároveň se snížila schopnost nabobtnání, citlivost ke změně pH a také poréznost. Při uvolňování hydrofilního a hydrofobního léčiva v simulovaných fyziologických podmínkách se prokázala odlišná kinetika uvolňování léčiva. **Fu a spol.**⁵³ se zabývali hydrogelem, který byl složen z mnoha látek (sericin, oxid grafenu, alginát, nanočástice hydroxyapatitu). Jejich úkolem bylo charakterizovat vlastnosti takového hydrogelu pomocí různých metod a následně zjistit, zda-li tento hydrogel může sloužit k napomáhání růstu osteoblastů. Výsledkem bylo zjištění, že tento hydrogel splňuje požadavky na použití při regeneraci kosti. **Padmanabhan a spol.**⁵⁴ vytvořili nanokompozit z akáciové gumy a hydroxyapatitových částic. V akáciové gumě se HA homogenně dispergovalo a došlo ke zmenšení krystalů částic HA na velikost nanometrů. Do tohoto komplexu zkoušeli inkorporovat flavonoid naringen. Zkoumali schopnost uvolňovat ze struktury tohoto kompozitu přidaný flavonoid. Zjistili, že po dobu 28 dní byl ze struktury naringen trvale uvolňován. Dalším zjištěním tohoto týmu bylo to, že připravený komplex podporuje buněčnou proliferaci. Z těchto zjištění lze usoudit, že by tento kompozit mohl mít potenciál jako přenašeč léčiv. **Subramaniam a spol.**⁵⁵ se zaměřili na léčbu parodontitidy, která postihuje alveolární kost, která podpírá zuby. Vytvořili kompozit složený z hydroxyapatitu, hemihydrátu síranu vápenatého a kolagenázi nasycené kyselinou hyaluronovou. Pomocí různých testů přišli na velkou mechanickou pevnost a skvělou biokompatibilitu. Doba tuhnutí je dostatečná pro aplikaci chirurgickým zákrokem. Kolagenáza usnadnila proces remodelace kosti. Jedná se o velmi nadějný způsob náhrady alveolární kosti, který není finančně náročný. **Chang a spol.**⁵⁶ vytvořili z hydroxyapatitu a síranu vápenatého dvoufázový kostní štěp gelovou pěnou. Tento kompozit nevykazoval žádnou cytotoxicitu, buňky mohly proliferovat a po třech měsících dochází k degradaci štěpu. U tohoto štěpu lze řídit množství makro- a mikropórů. Makropóry lze ovlivnit napěněním gelu a mikropóry se ovlivňují koncentrací HA a síranu vápenatého. Jedinou potencionální nevýhodou tohoto kompozitu může být omezená migrace buněk. I přesto se zdá, že by takto připravený kostní štěp mohl mít využití.

4 Experimentální část

4.1 Chemikálie

V tabulce 1 je seznam všech použitých chemikálií pro praktickou část této bakalářské práce.

Tabulka 1: Seznam použitých chemikálií

Chemikálie	Výrobce	Šarže	Čistota (%)
Gelzan™ CM	Sigma-Aldrich	CAS-No. 71010-52-1	-
PerOssal	Osartis	LOT: 22AA14730	-
Centrimonium bromid (CTAB)	Sigma	CAS-No. 57-09-0	≥98
Dodecylsulfát sodný (SDS)	Sigma-Aldrich	CAS-No. 107-64-2	≥99,0
Cholesterol z lanolinu	Sigma	CAS-No. 57-88-5	≥99
Didecyldimethylamoniumchlorid (DODAC)	Alfa Aesar	CAS-No. 197-64-2	97
Chloroform	Penta	CAS-No. 67-66-3	99,8
Deionizovaná voda	Přístroj PureLab Flex	-	-

4.2 Pomůcky

Pro vážení byly použity předvážky od firmy Denver Instrument a analytické váhy od firmy OHAUS. Pro míchání a zahřívání roztoků byly použity magnetické míchačky s ohříváním a teploměrem C-MAG HS 7 od firmy IKA a MR-Hei Tec od firmy HEIDOLPH. Použitá ultrazvuková lázeň byla od firmy VWR. Reologické vlastnosti byly měřeny na přístroji DISCOVERY HR-2 od firmy TA Instruments. K reometru byla použita sada dvou desek se vzorem *crosshatched* o průměru 20 mm. Pro přípravu IPA částic byl použit sonikátor Bandelin SONOPULS HD 3200. Aplikace injekčně byla provedena 50 ml injekční stříkačkou od firmy Chirana T-injecta s jehlou o velikosti 0,80x40 mm B.Braun. Pro měření velikosti částic byl použit Zetasizer Nano ZS od firmy Malvern Instrument při vlnové délce 633 nm.

4.3 Gellanové hydrogely

4.3.1 Příprava

Gellanové hydrogely byly připravované tak, že bylo odváženo potřebné množství deacylovaného Gellanu pro tvorbu 1%, 1,5% a 2% hydrogelů. Toto odměřené množství bylo postupně rozpuštěno za stálého míchání v potřebném množství deionizované vody. Při rozpouštění byla kontrolována teplota, která se od začátku rozpouštění měla pohybovat od 50 °C do 80 °C. Po úplném rozpuštění Gellanu byla kádinka dána do ultrazvukové lázně po dobu 10 minut, při laboratorní teplotě. Bubliny vzniklé mícháním byly odstraněny ultrazvukem. Posledním krokem bylo izolování vznikajícího gelu od okolního prostředí pomocí parafilmu. Takto připravené gely byly poté skladovány v lednici při 4 °C po dobu jednoho týdne. Po uplynutí této doby byly prováděny reologické testy.

4.4 Hydrogely s IPA částicemi

4.4.1 Příprava IPA vezikul

IPA vezikuly byly připravovány podle článku *WU Chih-Jung a spol.*⁵⁷. Prvním krokem bylo připravit si IPA vezikuly, které mohly být následně inkorporovány do hydrogelu. Nejprve byl

přípraven zásobní IPA prášek. Byl připraven jeden litr roztoku z CTAB a deionizované vody o koncentraci 20 mM. O stejné koncentraci byl připraven i roztok SDS. Oba roztoky byly přes noc míchány. Následovalo jejich smíchání v poměru 1:1 a následné míchání při 30 °C přes noc. Dalším krokem byla centrifugace po dobu 10 minut při 3 500 otáčkách za minutu. Roztok byl následně přefiltrován za sníženého tlaku a získaný prášek byl sušen při 50 °C po dobu 3–5 dní. Takto připravený prášek byl následně rozpuštěn v chloroformu na 2mM koncentraci pro přípravu zásobního roztoku IPA v chloroformu. Dále bylo zapotřebí si připravit zásobní roztok dimethyl-di-N-octadecylammonium chloridu (DODAC) o stejné koncentraci jako IPA v chloroformu. Do čisté a suché zásobní láhve bylo odváženo 0,0350 g cholesterolu. K cholesterolu bylo přidáno 900 µl zásobního roztoku IPA v cholesterolu (0,0726 g IPA zásobního prášku společně s 1,1 ml chloroformu) a 100 µl zásobního roztoku DODACu v chloroformu (0,0352 g DODAC společně s 0,5 ml chloroformu). K této směsi byly přidány skleněné kuličky ve dvou vrstvách. Následně bylo provedeno míchání na vortexu a směs byla zbavena chloroformu odpařením do druhého dne. Další den byla provedena rehydratace, kdy bylo přidáno 60 ml deionizované vody. Směs byla vortexována a sonifikována tyčovým dispergátorem. Po sonifikaci došlo k odkalení směsi. Takto připravené částice byly proměřeny na DLS přístroji pro zjištění velikosti částic.

4.4.2 Inkorporace IPA vezikul do hydrogelu

Pro vytvoření 1,5% gellanového hydrogelu o celkovém objemu 50 ml bylo odváženo 0,75 g Gellanu a toto množství bylo při cca 50 °C rozpuštěno za stálého intenzivního míchání v 49,25 ml roztoku IPA vezikul. Pro vznik 2% gellanového hydrogelu se postupovalo stejně až na rozdílné množství Gellanu (1 g) a množství roztoku IPA vezikul (49 g). Po rozpuštění veškerého Gellanu byly vznikající gely dány do ultrazvukové lázně pro odstranění vzduchových bublin. Poté byly obaleny parafilmem a uchovávány v lednici.

4.5 Hydrogely s částicemi z PerOssalu (PO částice)

4.5.1 Příprava

Tyto hydrogely byly připravovány pouze v koncentracích 1,5 % a 2 % hmotnosti Gellanu. Nejprve bylo odváženo potřebné množství Gellanu, dále bylo odměřeno 2,3 ml roztoku částic získaných z rozpadené pelety PerOssalu. Předpokládaná koncentrace PO částic v takto získaném roztoku je 3,85 mg částic na 1 ml roztoku. Poslední přidávanou látkou byla deionizovaná voda v množství potřebném na doplnění daného objemu. Tato voda byla zahřáta na již zmiňované teplotní rozmezí (50–80 °C). K vodě bylo přidáno odměřené množství 2,3 ml roztoku PO částic. V takto připraveném roztoku bylo rozpuštěno za stálého míchání odměřené množství Gellanu. Poté byl postup stejný jako při přípravě čistých gellanových hydrogelů – ultrazvuková lázeň, izolace parafilmem a následné uschování v lednici. Reologické testy byly také provedeny po 1 týdnu uskladnění.

4.6 Reologické měření

První měření byla provedena na čistých gellanových hydrogelech. Pro měření byl použit přístroj DISCOVERY HR-2 od firmy TA Instruments. Použitou geometrií byly dvě desky o průměru 20 mm. Byly měřeny amplitudové i frekvenční testy. Nastavení daných testů

je uvedeno v tabulce 2 a tabulce 3. Tato nastavení platila i pro ostatní typy a koncentrace připravených hydrogelů.

Tabulka 2: Nastavení měření pro frekvenční test

Frekvenční test (<i>Oscillation Frequency</i>)	
Teplota (<i>Temperature</i>)	25 °C
Čas namáčení (<i>Soak Time</i>)	0,0 s
Amplituda deformace (<i>Strain</i>)	1,5 %
Logaritmický mód (<i>Logarithmic sweep</i>)	-
Frekvence oscilací	0,01–20,0 Hz
Body na dekádu (<i>Points per decade</i>)	6

Tabulka 3: Nastavení měření pro amplitudový test

Amplitudový test (<i>Oscillation amplitude</i>)	
<i>Conditioning sample</i>	
Teplota (<i>Temperature</i>)	25 °C
Čas namáčení (<i>Soak Time</i>)	180,0 s
<i>Oscillation Amplitude</i>	
Teplota (<i>Temperature</i>)	25 °C
Čas namáčení (<i>Soak Time</i>)	0,0 s
Frekvence (<i>Frequency</i>)	1,0 Hz
Logaritmický mód	-
Amplituda deformace (<i>Strain</i>)	0,01–1000,0 %
Body na dekádu (<i>Points per decade</i>)	6

Vzorek pro měření byl z gelu odebrán pomocí korkovrtu o stejném průměru jako mají měřicí geometrie. Výška vzorku se pohybovala mezi 1-2 mm. Při aplikaci pomocí injekční stříkačky byl gel z kádinky přemístěn do injekce. Na geometrii bylo aplikováno takové množství vzorku, aby byl pokryt celý její povrch. Vzorek byl nanášen na měřicí geometrii, která byla vyhřáta na 25 °C. Každý vzorek gelu byl použit pouze na jedno měření.

Výsledky byly vyhodnocovány pomocí vytvoření průměrných hodnot. Chybové úsečky byly vytvořeny jako směrodatné odchylky pro všechny zprůměrované hodnoty. U amplitudových testů se také vyhodnocovala velikost lineární viskoelastické oblasti (LVO). Pro získání hodnot LVO byly z lineární fáze grafu vybrány počáteční hodnoty amplitudových oscilací, které byly zprůměrovány. Dále se hledaly výchylky o pět a více procent od těchto průměrných hodnot. Z amplitudových oscilací se také vyhodnocovaly flow pointy, což jsou hodnoty, které odpovídají dané hodnotě amplitudové oscilace v místě překřížení paměťového a ztrátového modulu. Flow point byl vždy vyhodnocován měřícím programem. Takto získané hodnoty byly zprůměrovány a byla vyhodnocena směrodatná odchylka.

5 Výsledky a diskuze

5.1 Popis připravených hydrogelů

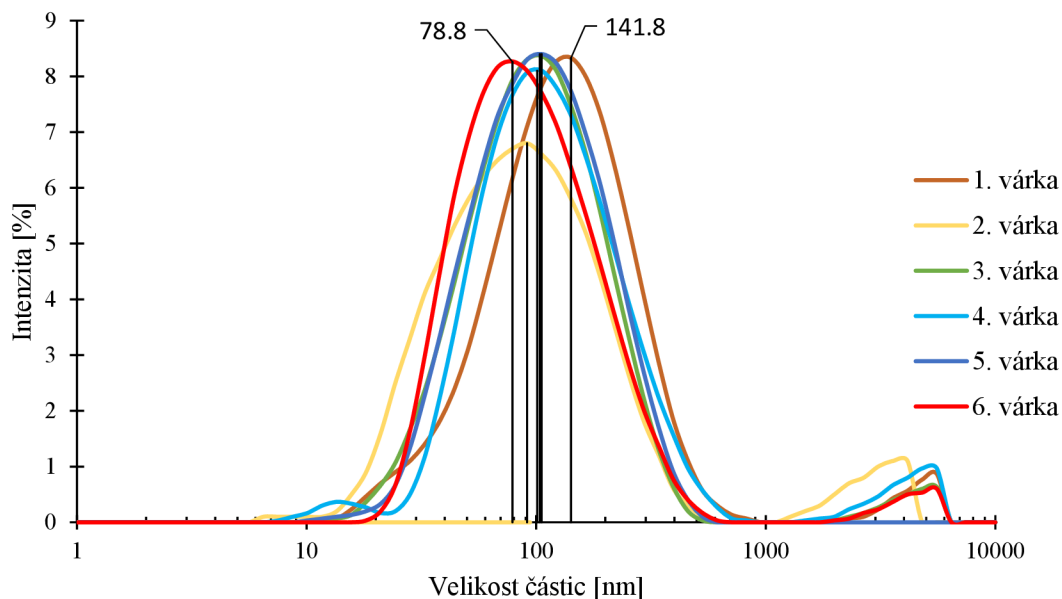
Při vytváření stejně koncentrovaných hydrogelů byl jejich největší vizuální rozdíl v zakalení (obrázek 7). Čistý gellanový hydrogel byl bez zakalení, protože ve své 3D struktuře neměl žádné inkorporované částice. O něco více zakalený byl hydrogel s obsahem PO částic a nejvíce zakalený hydrogel byl ten, který obsahoval IPA částice. Rozdíl v zakalení může být zapříčiněn větším množstvím částic v hydrogelu.



Obrázek 7: Srovnání (zleva:) 2% gellanového hydrogelu s přidavkem PO částic, 2% čistého Gellanu a 2% hydrogelu s přidavkem IPA částic

5.2 Dynamický rozptyl světla

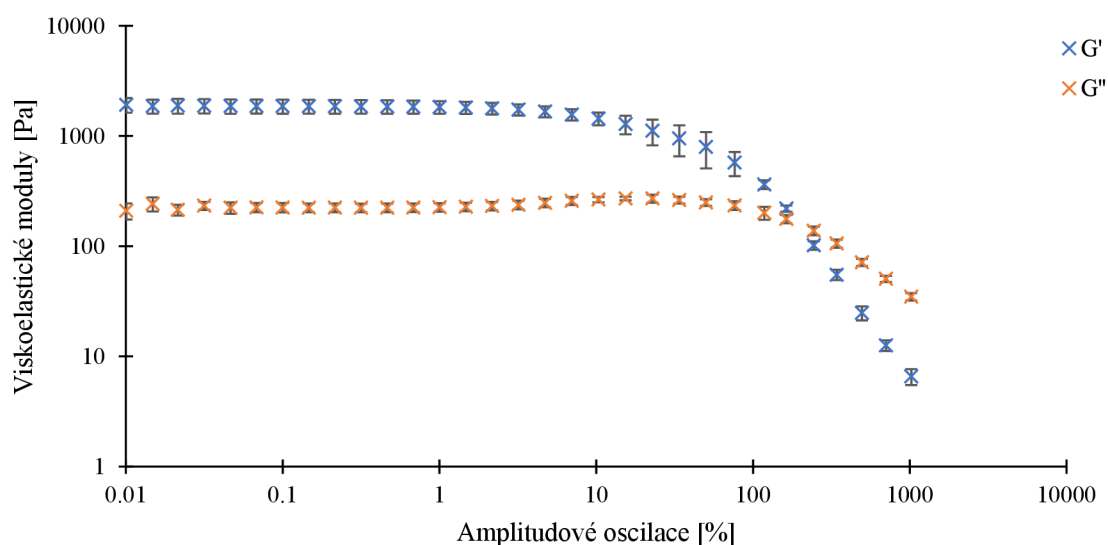
Velikost IPA vezikul byla měřena pomocí dynamického rozptylu světla při vlnové délce 633 nm. Z Graf 1 níže je vidět, že velikost částic se pohybovala od 78,8 nm do 141,8 nm, Tyto hodnoty odpovídají správné přípravě. Dalším faktorem, který potvrzuje správnost přípravy, je ξ -potenciál. Hodnota této veličiny se vždy pohybovala nad 30 mV. Velikost částic z PerOssalu nebyla měřena, ale podle měření z článku *Rauschmanna a spol.*²¹ se předpokládá, že se velikost pohybuje okolo 200 μm .



Graf 1: Závislost intenzity rozptýleného záření na velikosti částic pro IPA částice pro jednotlivé várky připravované pro opakované měření gelu

5.3 Reometrie

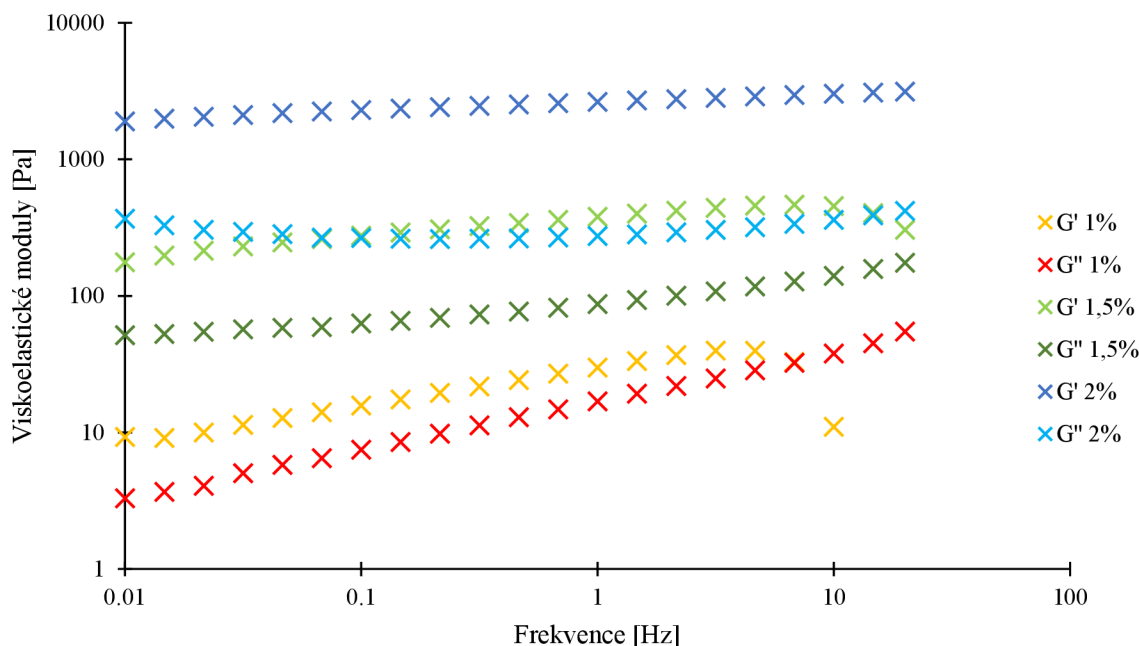
Metodou reometrie byly zkoumány vlastnosti všech připravených hydrogelů. První cíl navrhnutého měření spočíval v charakterizaci čistého gellanového hydrogelu o různých koncentracích (1, 1,5 a 2%). Všechny použité gely (i s přidavkem částic) byly připraveny třikrát pro potvrzení opakovatelnosti výsledků. Měřený vzorek byl u čistých gellanových hydrogelů odebírán vždy v jedné sadě vzorků z různých míst. Účelem tohoto měření bylo zjistit, zda lze přípravou ovlivnit kvalitu, a především měřené vlastnosti připravených hydrogelů. Z grafu 2 lze vyčíst, že způsob přípravy neovlivňuje vlastnosti čistého gellanového hydrogelu. Všechny hodnoty se pohybují v rozmezí chybových úseček. Vzhledem k velikosti chybových úseček jsou pro přehlednost grafu ve zbytku práce vynechány.



Graf 2: Závislost viskoelastických modulů na amplitudové oscilaci pro měření ze tří různých příprav a ze tří různých míst u 2% gellanového hydrogelu

5.3.1 Frekvenční testy

Metodou reometrie byly taktéž získávány výsledky frekvenčních testů pro čisté gellanové hydrogely bez přísad jakýchkoliv částic (graf 3). Frekvenční testy byly měřeny pro všechny koncentrace čistých gellanových hydrogelů (1, 1,5 a 2%).



Graf 3: Závislost viskoelastických modulů na frekvenci pro různé koncentrace gellanových hydrogelů

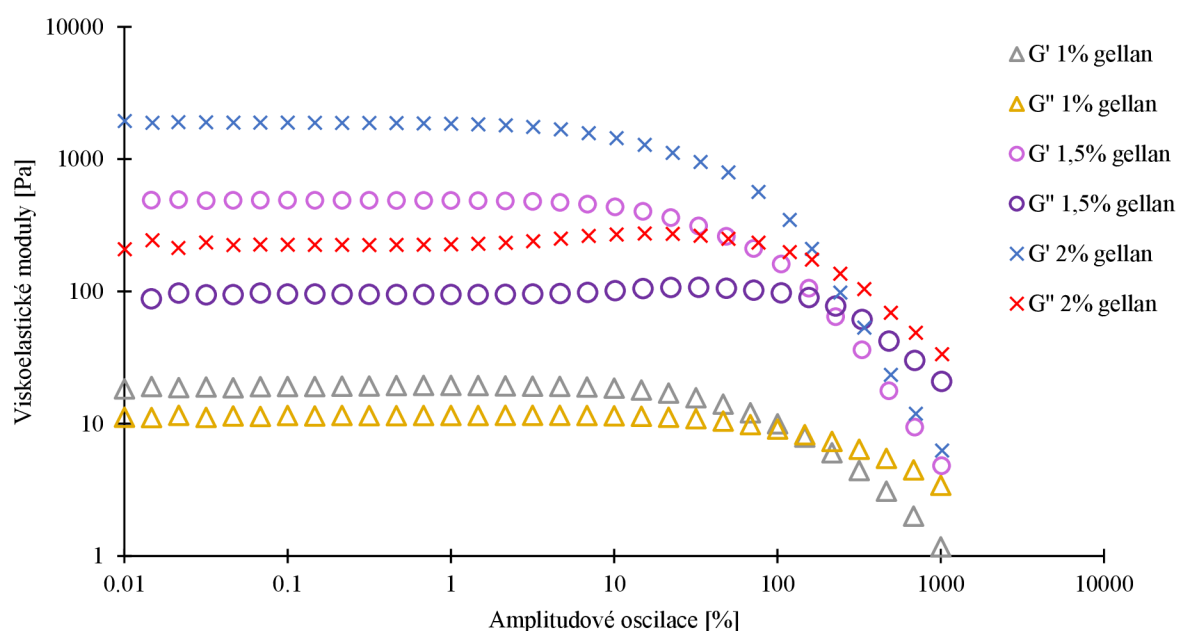
Z frekvenčních testů lze říct, že průběh modulů u 1% Gellanu připomíná spíše chování viskoelastické pevné látky, zatímco u gelů s vyšší koncentrací je vykazováno chování, které je typické pro gely. Z tohoto důvodu byly pro další měření vybrány gely o vyšší koncentraci než 1 % obsahu Gellanu. Hodnoty původně lineárně rostoucí křivky paměťového modulu pro 1% hydrogel při vyšších frekvencích upadají, což říká, že vazby tohoto gelu se rozvolnily a pravděpodobně došlo k nevratné deformaci gelu. U ztrátového modulu 1% gelu tento trend nebyl pozorován. U ostatních křivek jsou pozorované trendy odpovídající očekávání. Oproti ostatním koncentracím připravených hydrogelů se křivky paměťového i ztrátového modulu u 2% hydrogelu pohybují v hodnotách okolo dvou až tří tisíc pascalů. 1,5% hydrogel se svými hodnotami viskoelastických modulů pohybuje nad 1% hydrogelem a zároveň pod 2% hydrogelem, což splňuje očekávání. Všechny křivky kromě paměťového modulu 1% hydrogelu se vyznačují spíše konstantním charakterem. Z tohoto grafu se tedy dá předpokládat, že pro další měření je výhodnější se zaměřit na koncentrace 1,5% a 2% čistých gellanových hydrogelů oproti méně stabilnímu 1% hydrogelu.

5.3.2 Amplitudové testy

V dalších kapitolách se budou probírat výsledky amplitudových testů. Amplitudové testy ukazují, jak velkou zátěž lze na gely vyvinout, aby byly zachovány vlastnosti gelů a nezankaly vzniklé vazby mezi polymerními vlákny. Při těchto testech byl vzorek aplikován na měřicí destičku přístroje nakrájením nebo injekčně. U všech měření byly přístrojem vyhodnocovány hodnoty LVO a flow pointů. Jejich přehled i s odchylkami je v tabulce 4 viz kapitola 5.3.3.

5.3.2.1 Čisté gellanové hydrogely

Tato kapitola se bude zabývat porovnáním pouze čistých gellanových hydrogelů o hmotnostních koncentracích Gellanu 1, 1,5 a 2 %.

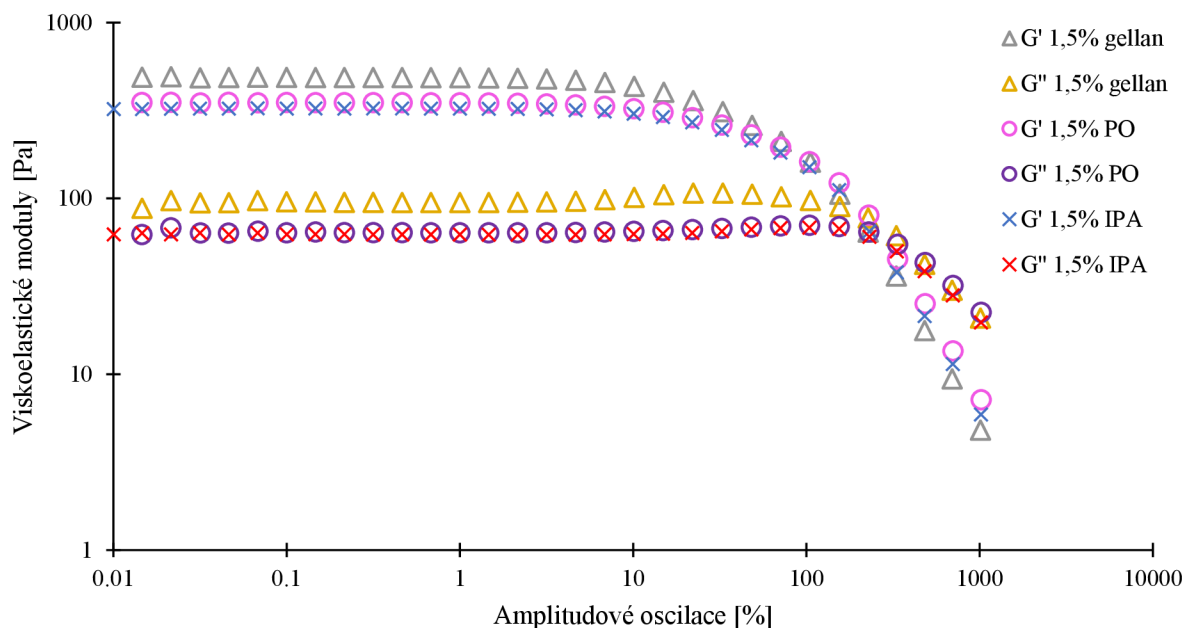


Graf 4: Závislost viskoelastických modulů na amplitudové oscilaci pro čisté gellanové hydrogely o koncentracích 1, 1,5 a 2% Gellanu

Graf 4 popisuje, že hodnoty viskoelastických modulů u čistých hydrogelů se s rostoucím množstvím Gellanu zvyšují – to stejné můžeme pozorovat u frekvenčního grafu (graf 3). Tento trend poukazuje na to, že roste množství vazeb polymerních vláken, a tedy i pevnost a odolnost gelů se s rostoucím množstvím Gellanu zvětšuje. Zatímco čím méně Gellanu vzorky obsahují, tím více se flow point posouvá k vyšším procentům amplitudových oscilací. Kvůli vysokým chybám nacházejících se v ose x je velmi těžké v těchto hodnotách hledat trend závislosti. Pokud by se neřešily hodnoty těchto odchylek, tak by bylo možné pro hodnoty LVO říct, že se s rostoucím množstvím Gellanu zmenšuje velikost lineární viskoelastické oblasti a u gelů dochází se zvyšující se amplitudovou oscilací později k porušení vazeb (viz tabulka 4), ale protože odchylky jsou velké nelze takto hodnoty porovnávat. 1% gellanový hydrogel má velikost LVO $13,3 \pm 8,3$ %, LVO 1,5% hydrogelu je $6,9 \pm 2,0$ % a 2% hydrogel má hodnotu LVO $3,4 \pm 2,2$ %. U flow pointů byl tento trend jiný – s rostoucím obsahem Gellanu se hodnota flow pointu zvětšovala, tedy k úplnému zničení gelu docházelo později. Tedy dá se říct, že s rostoucím obsahem Gellanu začíná dříve docházet k poruše vazeb, ale také se zvětšuje hodnota amplitudové oscilace, u které dochází k úplnému rozrušení vazeb gelu a mění se na viskoelastickou kapalinu.

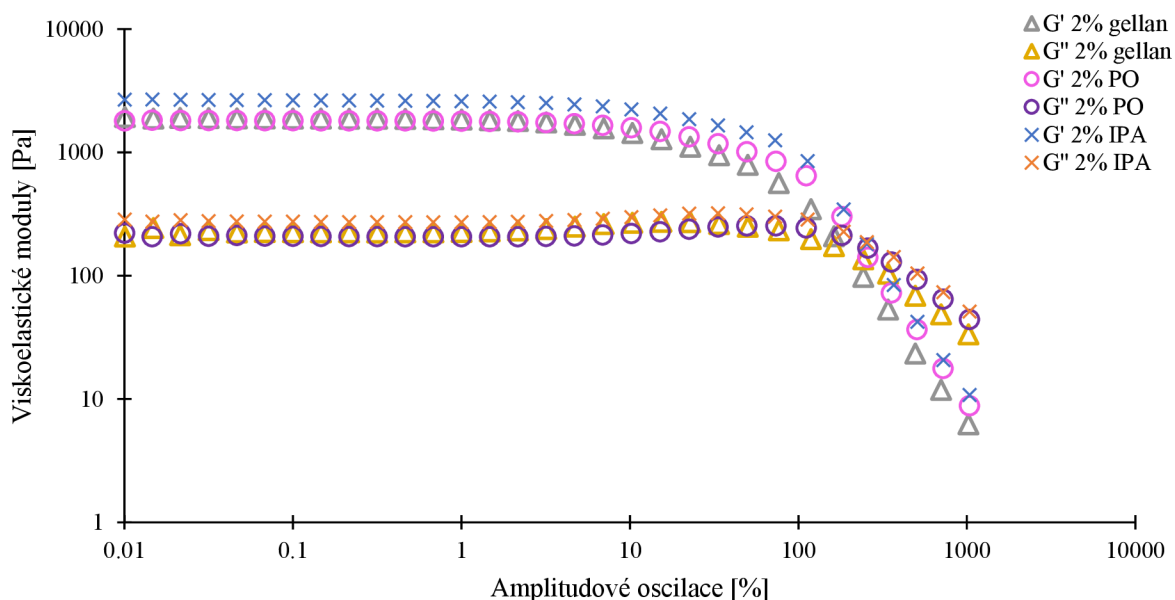
5.3.2.2 Kompozitní hydrogely

V této kapitole jsou porovnávány charakteristiky kompozitních gelů s přidavkem IPA nebo PO částic vůči čistým gellanovým gelům.



Graf 5: Závislost viskoelastických modulů na amplitudové oscilaci pro 1,5% hydrogely bez příměsí částic, s PO částicemi a IPA částicemi

Graf 5 ukazuje, že přidané částice do 1,5% gelů nijak extrémně neovlivňují hodnoty viskoelastických modulů ani velikost LVO (největší LVO mají IPA gely – $9,7 \pm 5,0$ %, poté PO gely – $8,7 \pm 3,2$ %, nejmenší hodnotu LVO má čistý gellanový hydrogel – $6,9 \pm 2,0$ %). Podobný trend se týká i flow pointů, kdy jediným rozdílem je vyšší hodnota u PO gelu místo IPA gelu. I přes minimální rozdíly v grafu je vidět, že čistý gellanový hydrogel (489 Pa) má viskoelastické moduly větší než gely s částicemi. Číselně jde asi o 30 % větší hodnotu, než je naměřená hodnota pro PO (350 Pa) a IPA hydrogel (321 Pa). Tento rozdíl může být zapříčiněn inkorporací částic do struktury hydrogelu. Tyto částice oslabují uzly v polymerní síti hydrogelu.



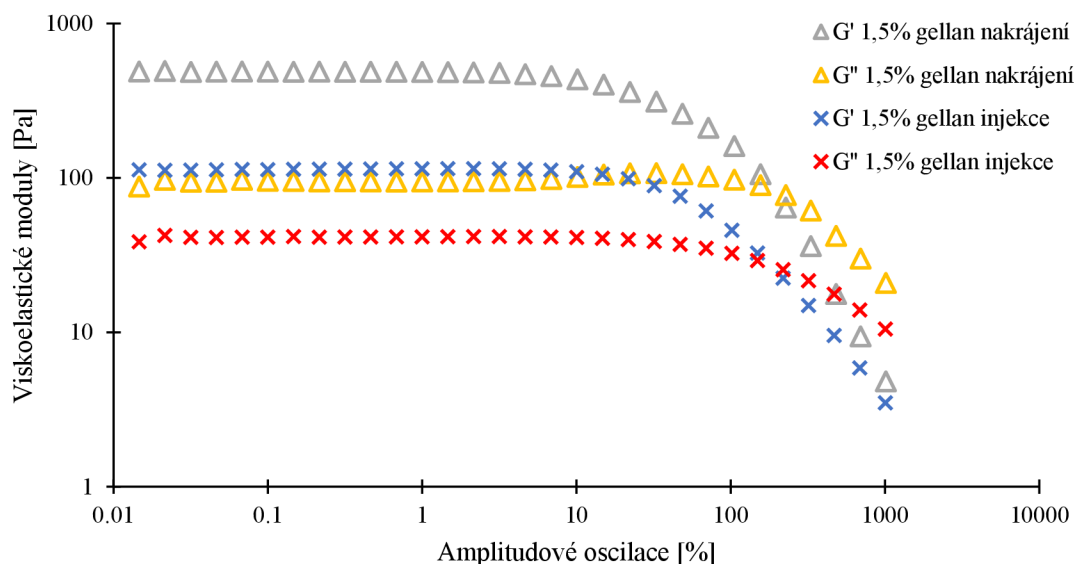
Graf 6: Závislost viskoelastických modulů na amplitudové oscilaci pro 2% hydrogely, aplikace nakrájením

U 2% gelů je tomu jinak (graf 6). Prvním výrazným rozdílem oproti 1,5% gelů je zvýšení hodnot viskoelastických modulů. Toto zvýšení hodnot je zapříčiněno větším množstvím Gellanu

ve všech 2% gelech. Z grafu je také vidět, že nejvyšší hodnoty má gel s IPA částicemi (2 674 Pa), následuje jej čistý hydrogel (1 924 Pa) a nejmenší hodnoty má PO gel (1 804 Pa). Hodnota LVO pro PO gel je $4,7 \pm 1,7$ %, LVO IPA gelu má hodnotu $3,6 \pm 1,4$ % a LVO čistého gellanového hydrogelu je $3,4 \pm 2,2$ %.

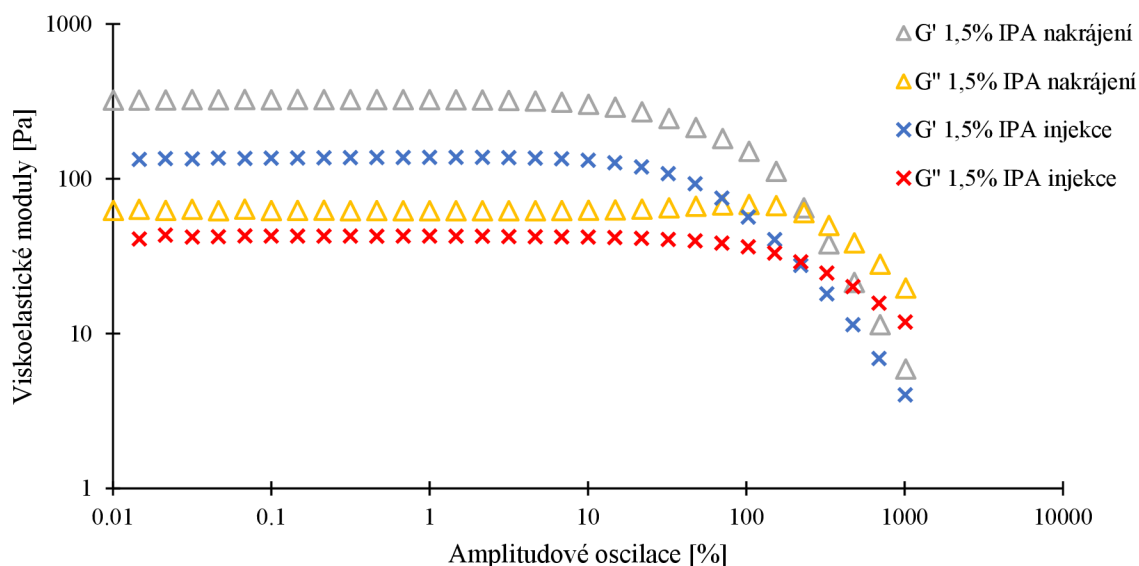
5.3.3 Injektabilitnost

V kapitole injektabilitnost se řeší problematika injekční aplikace připravených hydrogelů.



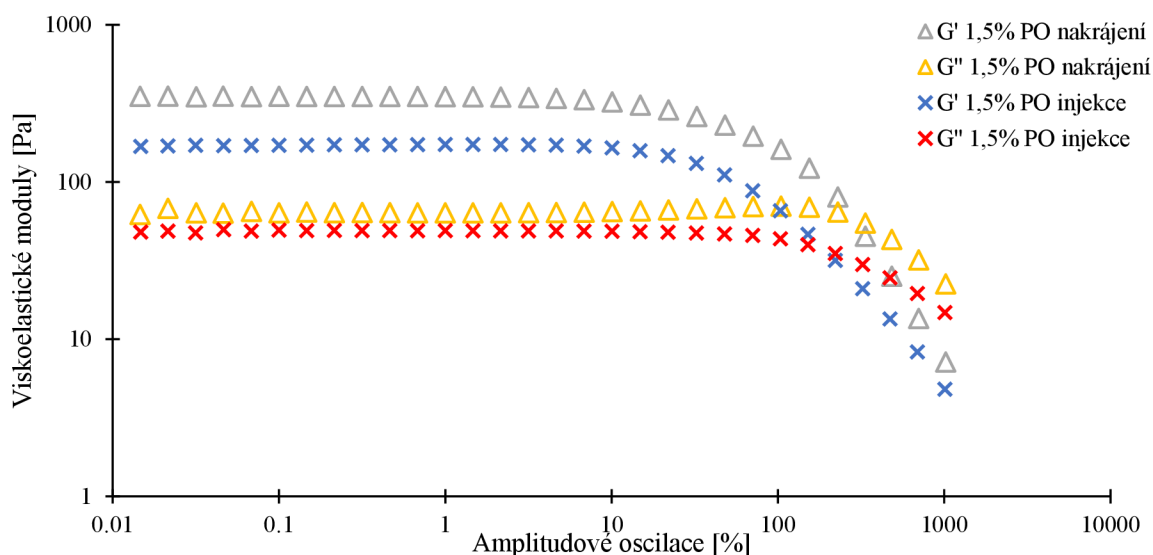
Graf 7: Závislost viskoelastických modulů na amplitudové oscilaci pro 1,5% gellanový hydrogel při různých aplikacích – injekční aplikace, nakrájení

Z grafu 7 lze vyčíst, že po použití injekční stříkačky dochází u 1,5% gellanových hydrogelů ke snížení hodnot viskoelastických modulů z pěti set pascalů na sto pascalů. Aplikace injekcí nejspíše poruší některé vazby v gelu, a proto poté tento gel snese menší tlakové zatížení. Po aplikaci injekcí se posunul flow point k nižším amplitudovým oscilacím a hodnota LVO se zvětšila (aplikace nařezáním – $6,9 \pm 2,0$ % a aplikace injekcí – $11,1 \pm 2,3$ %). Injekčně aplikovaný gel tedy vydrží menší tlakové zatížení.



Graf 8: Závislost viskoelastických modulů na amplitudové oscilaci pro 1,5% IPA hydrogel při různých aplikacích – injekční aplikace, nakrájení

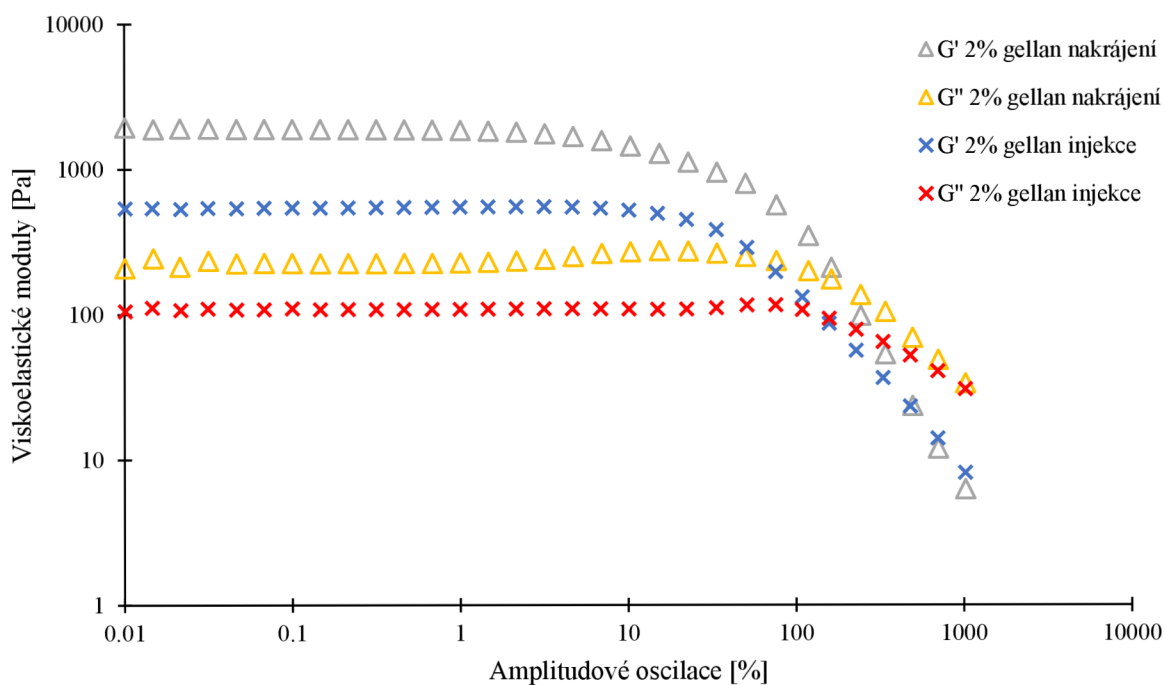
U IPA gelů (graf 8) je situace obdobná jako u gellanových hydrogelů bez přídavku částic, tedy větší hodnoty viskoelastických modulů vykazuje gel aplikovaný nakrájením, zatímco injekční aplikace hodnoty viskoelastických modulů snižuje. U IPA gelů je rozdíl hodnot viskoelastických modulů různých aplikací menší než u gellanových hydrogelů. Dá se tedy říct, že IPA vezikuly napomáhají zvyšovat odolnost gelu při injekční aplikaci, protože se pravděpodobně chovají jako plnidlo. I v případě IPA gelů se hodnoty LVO po injekční aplikaci zvýšily (aplikace nařezáním – $9,7 \pm 5,0$ %, injekční aplikace – $15,1 \pm 5,9$ %).



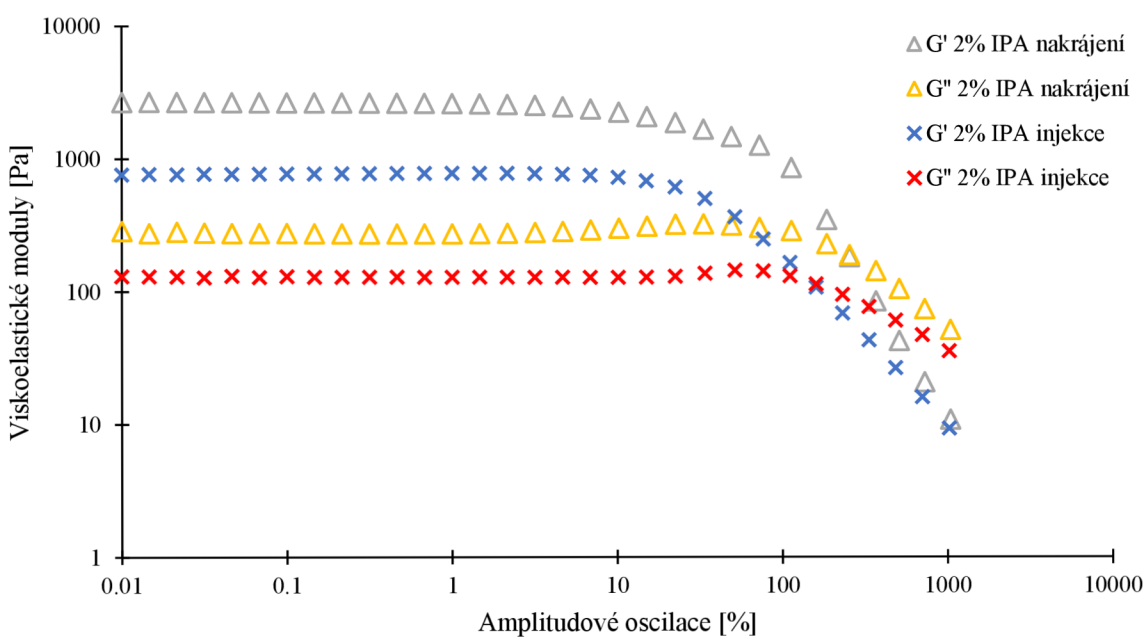
Graf 9: Závislost viskoelastických modulů na amplitudové oscilaci pro 1,5% PO hydrogel při různých aplikacích – injekční aplikace, nakrájení

U PO hydrogelů (graf 9) si lze všimnout, že hodnoty viskoelastických modulů se oproti předchozím dvěma typům hydrogelu nezměnily. Stále platí trend zmenšení viskoelastických modulů při injekční aplikaci. Stejně jako u IPA gelů i zde může docházet přidavkem částic ke zpevnění gelu při injekční aplikaci.

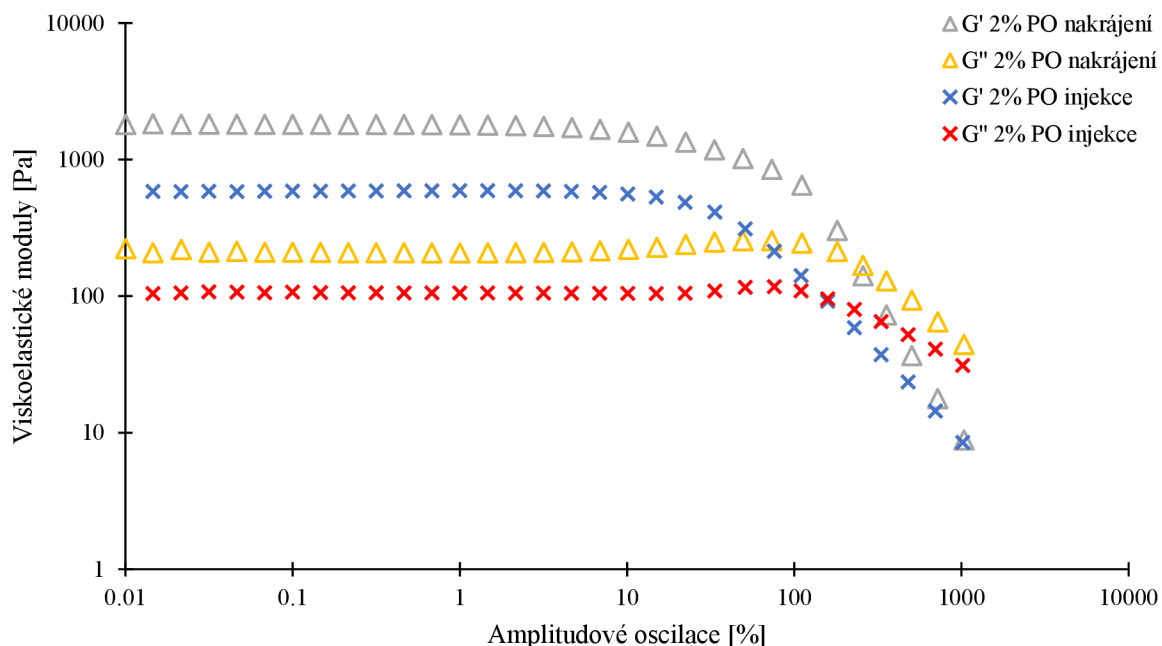
Stejné testy byly provedeny i pro 2% gely (graf 10, graf 11, graf 12). Hodnoty viskoelastických modulů se pohybují v podobných hodnotách pro všechny tři typy gelů (okolo dvou tisíc pascalů). Oproti 1,5% hydrogelu se opět hodnoty viskoelastických modulů zvýšily. I zde se zdá pravděpodobné, že je to zapříčiněno větším množstvím vazeb ve struktuře a při injekční aplikaci zde hrají roli i přidané částice. U IPA gelů (graf 11) lze pozorovat malé zvýšení hodnot viskoelastických modulů oproti ostatním dvěma typům gelu při stejné koncentraci Gellanu (2 %). Je možné, že IPA vezikuly se dokážou lépe přizpůsobit a vytvoří s Gellanem stabilnější síť s pevnější výztuhou. Hodnoty LVO se i u 2% gelů po injekční aplikaci zvýšily.



Graf 10: Závislost viskoelastických modulů na amplitudové oscilaci pro 2% gellanový hydrogel při různých aplikacích – injekční aplikace, nakrájení

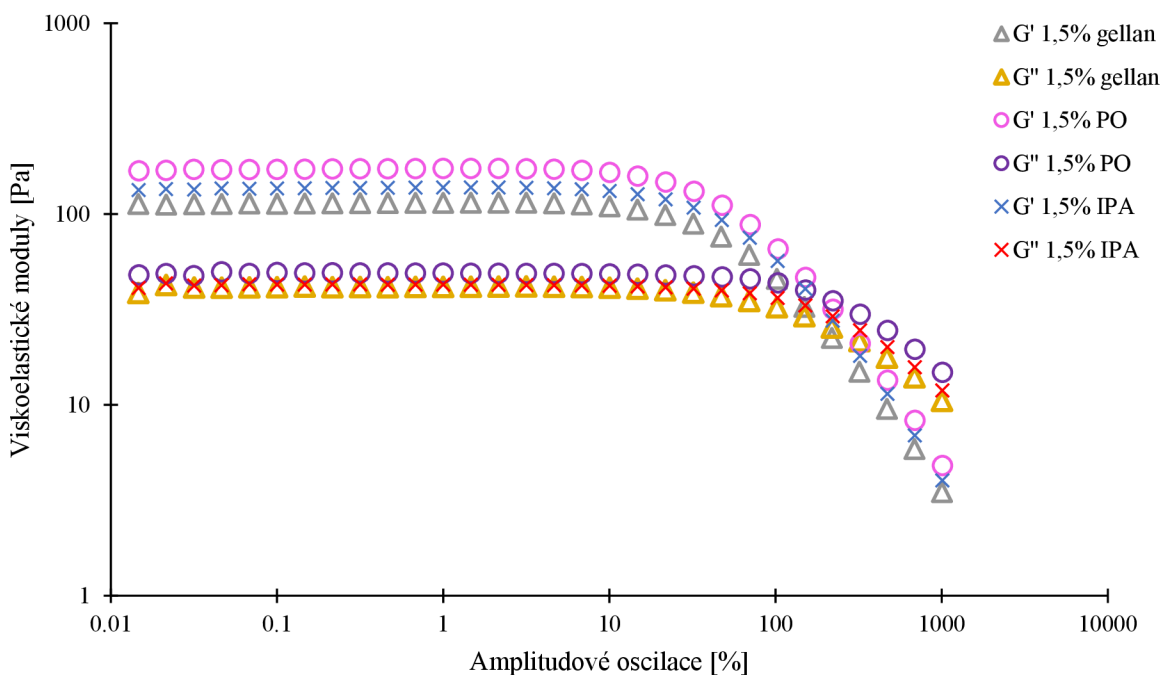


Graf 11: Závislost viskoelastických modulů na amplitudové oscilaci pro 2% IPA hydrogel při různých aplikacích – injekční aplikace, nakrájení

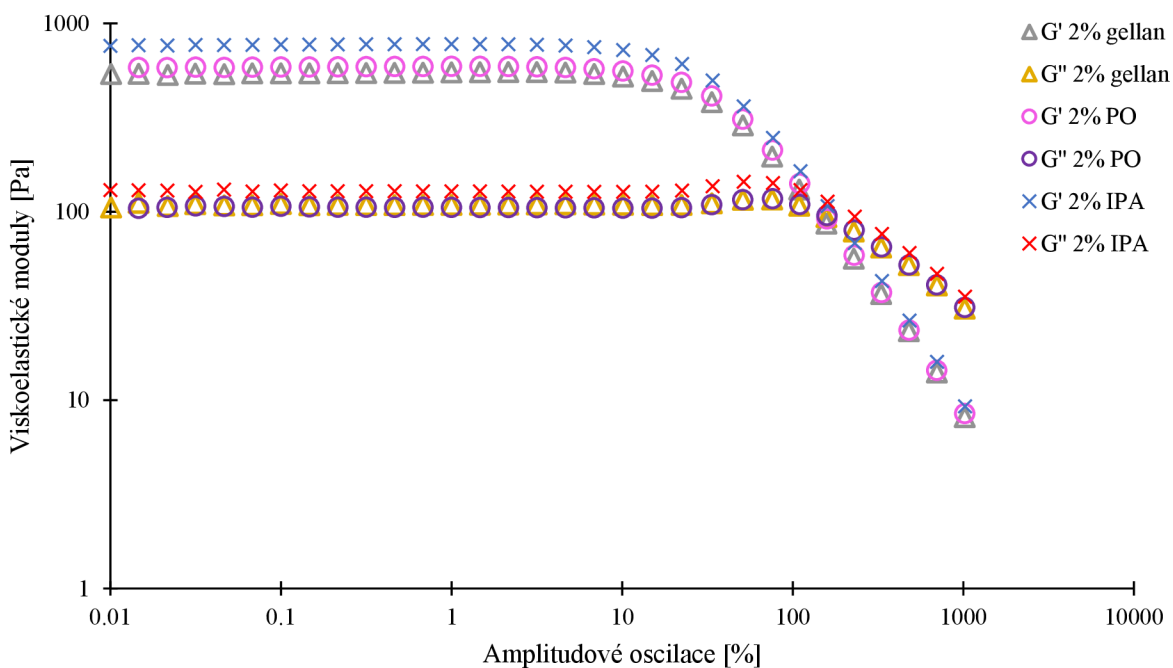


Graf 12: Závislost viskoelastických modulů na amplitudové oscilaci pro 2% PO hydrogel při různých aplikacích – injekční aplikace, nakrájení

Následně byly porovnány výsledky všech tří typů gelů dohromady v graf 13 pro 1,5% koncentraci Gellanu a v graf 14 pro 2% koncentraci Gellanu. U 1,5% gelů se hodnoty viskoelastických modulů pohybovaly od 50 do 170 pascalů, zatímco 2% gely měly tyto hodnoty od 100 do 760 pascalů. Opět tedy lze říct, že množství Gellanu a s tím spojené množství vazeb ovlivňuje stabilitu a odolnost připraveného gelu. Co se týká inkorporovaných částic, zde se u různých koncentrací odolnost mění. U 1,5% gelů je stabilnější injekčně aplikovaný PO gel, zatímco u 2% gelů se jeví odolnější IPA gel. Je možné, že u 1,5% gelů je méně gellanových vazeb, a tedy větší PO částice se do struktury začlení a vytvoří lepší výtuhu, než menší IPA částice. U 2% gellanových hydrogelů je tomu jinak – větší počet vazebných uzlů vytváří menší oka a lépe se inkorporují částice IPA než částice PO.



Graf 13: Závislost viskoelastických modulů na amplitudové oscilaci pro 1,5% hydrogely při injekční aplikaci



Graf 14: Závislost viskoelastických modulů na amplitudové oscilaci pro 2% hydrogely při injekční aplikaci

Tabulka 4 ukazuje všechny průměrné hodnoty flow pointů a LVO. Gely jsou rozděleny podle koncentrace Gellanu a obsahu částic, poté taky podle způsobu aplikace. Jak již bylo zmíněno výše, nebyly připravovány gely s částicemi o 1% obsahu Gellanu, proto nejsou u této koncentrace uvedeny žádné hodnoty. Tyto hodnoty jsou více komentované v každé příslušné kapitole.

Tabulka 4: Průměrné hodnoty LVO s odchylkami pro všechny typy gelů a různé aplikace

Druh gelu	Aplikace	Ø flow point – amplituda (%)	Ø LVO (%)
1% čistý Gellan	nařezání	117,5±50,5	13,3±8,3
1% IPA gel		-	-
1% PO gel		-	-
1% čistý Gellan	injekce	67,9±25,6	9,7±2,3
1% IPA gel		-	-
1% PO gel		-	-
1,5% čistý Gellan	nařezání	159,3±53,9	6,9±2,0
1,5% IPA gel		257,7±63,0	9,7±5,0
1,5% PO gel		274,6±58,1	8,7±3,2
1,5% čistý Gellan	injekce	67,9±25,6	11,1±2,3
1,5% IPA gel		210,4±28,4	15,1±5,9
1,5% PO gel		198,8±29,6	12,8±3,5
2% čistý Gellan	nařezání	167,6±91,2	3,4±2,2
2% IPA gel		259,4±45,1	3,6±1,4
2% PO gel		221,2±62,7	4,7±1,7
2% čistý Gellan	injekce	142,3±13,8	9,8±2,3
2% IPA gel		151,4±17,5	9,6±4,2
2% PO gel		153,1±21,7	10,0±2,6

6 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo připravit rešerši na téma kompozitních hydrogelů a na základě připravené rešerše vytvořit modelový kompozitní hydrogel. Tento hydrogel musel být následně charakterizován především pomocí reologie. Jako základ hydrogelu byl vybrán Gellan a jako částice k inkorporaci byly vybrány dva typy – koloidní částice podobné fosfolipidům (IPA vezikuly) a pevné anorganické částice (PO částice složené z hydroxyapatitu a síranu vápenatého) z rozpadené pelety léčiva PerOssal.

Prvním úkolem praktické části této bakalářské práce bylo charakterizovat čistý gellanový hydrogel o různých hmotnostních koncentracích Gellanu (1, 1,5 a 2%). Charakterizace vychází z frekvenčních a amplitudových testů. Z frekvenčního testu bylo zjištěno, že 2% i 1,5% gellanový hydrogel odpovídá vlastnostem gelu, tedy že křivky paměťového i ztrátového modulu jsou konstantní při různých frekvencích. U 1% gellanového hydrogelu byly vykazovány vlastnosti spíše viskoelastické kapaliny než gelu – křivka paměťového modulu již nebyla konstantní, ale při vyšších frekvencích začaly hodnoty viskoelastických modulů klesat. Dále byly měřeny amplitudové testy, které ukázaly, že s rostoucím množstvím Gellanu roste i odolnost gelu a s tím i hodnoty viskoelastických modulů. Pro další vyhodnocování amplitudových testů bylo zapotřebí potvrdit, že příprava vzorků neovlivňuje jejich další vlastnosti. To bylo provedeno přípravou tří sad vzorků a jejich měření probíhalo odběrem vzorku z jeho různých míst. Výsledky potvrdily homogenní přípravu vzorků, a tedy pro následující vyhodnocování mohly být zanedbané chybové úsečky.

Druhým úkolem bylo vytvořit kompozitní hydrogely z různých částic. Nejprve byly zkoumány hydrogely s PO částicemi. PO částice jsou směsí částic hydroxyapatitu a síranu vápenatého. Posledním zkoumaným typem byl hydrogel s přidavkem IPA vezikul, kdy pomocí metody DLS byla zkoumána velikost inkorporovaných IPA vezikul. Velikost IPA částic se pohybuje v řádu nanometrů a PO částice v řádu mikrometrů. Oba typy gelů byly připravovány o hmotnostní koncentraci Gellanu pouze 1,5% a 2%. Z výsledků amplitudových testů pro 1,5% gely lze říct, že přidavek částic nevykazoval žádné změny v charakteristice gelů oproti gelům bez částic. U 2% gelů bylo pozorováno zvýšení hodnot viskoelastických modulů. Toto zvýšení je spíše zapříčiněno množstvím Gellanu než přidavkem částic.

Mezi další řešené problematiky se také řadí způsob aplikace vzorku na měřící destičku. Do této části bakalářské práce byly vzorky aplikovány nakrájením, dále se provádělo měření pomocí injekční stříkačky a tyto dvě metody aplikace byly následně porovnávány. Výsledky by bylo možné v tomto případě zobecnit a říct, že při aplikaci injekční stříkačkou dochází k vyvinutí napětí na strukturu gelu, a tedy hodnoty viskoelastických modulů jsou menší než u aplikace nakrájením. U IPA gelů se na základě výsledků dá říct, že IPA částice napomáhají odolnosti gelů při injekční aplikaci, protože hodnoty viskoelastických modulů neklesly tolik jako u čistých gellanových hydrogelů. Je možné, že se tyto částice chovají jako plnidlo. To stejné by se dalo říct u PO gelů. U 1,5% gelů se projevuje stabilněji PO gel, zatímco u 2% gelů je to IPA gel. Je možné předpokládat, že u 1,5% Gellanů je ve struktuře méně uzlů a tedy větší

prostor mezi oky, což by mohlo vyhovovat větším částicím z PerOssalu. U 2% hydrogelů je naopak možné, že s rostoucím množstvím Gellanu roste i počet vazebných uzlů a místo mezi těmito uzly je menší, což vyhovuje IPA vezikulám, které mají velikost okolo 100 nm.

Výsledky lze shrnout tak, že přídavek částic má minimální vliv na vlastnosti připravených hydrogelů. Přínosným zjištěním může být to, že injekční aplikace sice snižuje hodnoty viskoelastických modulů, ale přidané částice pravděpodobně napomáhají stabilizaci takto aplikovaných gelů. Mezi další důležitá zjištění se může řadit také závislost mezi množstvím Gellanu v gelu a hodnotami viskoelastických modulů, které s přídavkem Gellanu rostou. Navazující práce by se mohla zabývat dalšími reologickými testy, případně upravit podmínky již prováděných testů. Další obměnou může být také jiný druh inkorporovaných částic.

7 Seznam použitých zdrojů

- 1 BAHRAM, Morteza, Naimeh MOHSENI and Mehdi MOGHTADER. 2016. An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications. Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels [online]. InTech. Available at: <http://www.intechopen.com/books/emerging-concepts-in-analysis-and-applications-of-hydrogels/an-introduction-to-hydrogels-and-some-recent-applications>
- 2 ABASALIZADEH, Farhad, Sevil Vaghefi MOGHADDAM, Effat ALIZADEH, Elahe AKBARI, Elmira KASHANI, Seyyed Mohammad Bagher FAZLJOU, Mohammadali TORBATI and Abolfazl AKBARZADEH. 2020. Alginate-based hydrogels as drug delivery vehicles in cancer treatment and their applications in wound dressing and 3D bioprinting. Journal of Biological Engineering [online]. 14(1), 22. Available at: <https://jbioleng.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13036-020-0227-7>
- 3 AHMED, Enas M. 2015. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. Journal of Advanced Research [online]. 6(2), 105-121. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2090123213000969>
- 4 Michálek, J., Chmelíková, D., Chylíková Krumbholcová, E., Podešva, J., & Dušková Smrčková, M. (2018). Historie měkkých kontaktních čoček aneb jak to bylo doopravdy. Chemické Listy, 112(3), 143–147. Získáno z <http://www.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/3025>
- 5 BUWALDA, Sytze J., Kristel W.M. BOERE, Pieter J. DIJKSTRA, Jan FEIJEN, Tina VERMONDEN and Wim E. HENNINK. 2014. Hydrogels in a historical perspective: From simple networks to smart materials. Journal of Controlled Release [online]. 190, 254-273. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365914002181>
- 6 KATOCH, Anjula and Anirban ROY CHOUDHURY. 2020. Understanding the rheology of novel guar-gellan gum composite hydrogels. Materials Letters [online]. 263. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167577X1931866X>
- 7 DÍAZ-MONTES, Elsa. 2022. Polysaccharides: Sources, Characteristics, Properties, and Their Application in Biodegradable Films. Polysaccharides [online]. 3(3), 480-501. Available at: <https://www.mdpi.com/2673-4176/3/3/29>
- 8 DAS, Madhurima and Tapan Kumar GIRI. 2020. Hydrogels based on gellan gum in cell delivery and drug delivery. Journal of Drug Delivery Science and Technology [online]. 56. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1773224719320155>
- 9 GOMES, D., J.P. BATISTA-SILVA, A. SOUSA and L.A. PASSARINHA. 2023. Progress and opportunities in Gellan gum-based materials: A review of preparation, characterization and emerging applications. Carbohydrate Polymers [online]. 311. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861723002461>
- 10 PALUMBO, Fabio Salvatore, Salvatore FEDERICO, Giovanna PITARRESI, Calogero FIORICA and Gaetano GIAMMONA. 2020. Gellan gum-based delivery systems of therapeutic agents and cells. Carbohydrate Polymers [online]. 229. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861719310975>

- 11 MORRIS, Edwin R., Katsuyoshi NISHINARI and Marguerite RINAUDO. 2012. Gelation of gellan – A review. *Food Hydrocolloids* [online]. 28(2), 373-411. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X12000057>
- 12 FIALHO, Arsenio M., Leonilde M. MOREIRA, Ana Teresa GRANJA, Alma O. POPESCU, Karen HOFFMANN and Isabel SÁ-CORREIA. 2008. Occurrence, production, and applications of gellan: current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology* [online]. 79(6). Available at: <https://link.springer.com/10.1007/s00253-008-1496-0>
- 13 ZIA, Khalid Mahmood, Shazia TABASUM, Muhammad Faris KHAN, Nadia AKRAM, Naheed AKHTER, Aqdas NOREEN and Mohammad ZUBER. 2018. Recent trends on gellan gum blends with natural and synthetic polymers: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 109, 1068-1087. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813017326752>
- 14 HAVLÍKOVÁ, Martina, Adam JUGL, Jitka KROUSKÁ, et al. 2021. Interactions between Cationic Ion Pair Amphiphile Vesicles and Hyaluronan—A Physicochemical Study. *Langmuir* [online]. 37(28), 8525-8533. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.langmuir.1c00993>
- 15 DEV, Manoj J., Rahul G. WARKE, Gangadhar M. WARKE, Girish B. MAHAJAN, Tanuja A. PATIL and Rekha S. SINGHAL. 2022. Advances in fermentative production, purification, characterization and applications of gellan gum. *Bioresource Technology* [online]. 359. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0960852422008276>
- 16 CARRIÓN, F.J., A. DE LA MAZA and J.L. PARRA. 1994. The Influence of Ionic Strength and Lipid Bilayer Charge on the Stability of Liposomes. *Journal of Colloid and Interface Science* [online]. 164(1), 78-87. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979784711453>
- 17 HAVLÍKOVÁ, Martina, Adam JUGL, Martin KADLEC, Jiří SMILEK, Chien-Hsiang CHANG, Miloslav PEKARŮ and Filip MRAVEC. 2023. Catanionic vesicles and their complexes with hyaluronan – A way how to tailor physicochemical properties via ionic strength. *Journal of Molecular Liquids* [online]. 371. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167732222026289>
- 18 ZHOU, Hongjian and Jaebeom LEE. 2011. Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering. *Acta Biomaterialia* [online]. 7(7), 2769-2781. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706111001310>
- 19 FERRAZ, M.P., F.J. MONTEIRO and C.M. MANUEL. 2004. Hydroxyapatite nanoparticles: A review of preparation methodologies. *Journal of Applied Biomaterials & Biomechanics* [online]. 2004(2), 74-80. Available at: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/228080000400200202>
- 20 PerOssal® Resorbable Bone Substitute. C2023. OSARTIS [online]. Německo: OSARTIS. Available at: https://osartis.de/media/perossal_e_032023_osartis_141-3010-06en_ansicht.pdf
- 21 RAUSCHMANN, Michael A., Thomas A. WICHELHAUS, Volker STIRNAL, Elvira DINGELDEIN, Ludwig ZICHER, Reinhard SCHNETTLER and Volker ALT. 2005.

- Nanocrystalline hydroxyapatite and calcium sulphate as biodegradable composite carrier material for local delivery of antibiotics in bone infections. *Biomaterials* [online]. 26(15), 2677-2684. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961204006076>
- 22 Ševčíková, P., Kašpárková, V., Krejčí, J., & Vltavská, P. (2014). Dynamický rozptyl světla v analýze koloidních systémů. *Chemické Listy*, 108(5), 479–482. Získáno z <http://ww-w.chemicke-listy.cz/ojs3/index.php/chemicke-listy/article/view/506>
- 23 STETEFELD, Jörg, Sean A. MCKENNA and Trushar R. PATEL. 2016. Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophysical Reviews* [online]. 8(4), 409-427. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s12551-016-0218-6>
- 24 WILSON, D I. 2018. What is rheology?. *Eye* [online]. 32(2), 179-183. Available at: <http://www.nature.com/articles/eye2017267>
- 25 WEIN, Ondřej. 1996. Úvod do reologie. Brno: Malé Centrum.
- 26 BARTOVSKÁ, Lidmila and Marie ŠIŠKOVÁ. 2005. Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav [online]. Vyd. 5., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická. Available at: www: http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/
- 27 MADAMSETTY, Vijay Sagar, Shima TAVAKOL, Saeid MOGHASSEMI, et al. 2022. Chitosan: A versatile bio-platform for breast cancer theranostics. *Journal of Controlled Release* [online]. 341, 733-752. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365921006635>
- 28 JAFARI, Hafez, Pejman GHAFARI-BOHLOULI, Seyyed Vahid NIKNEZHAD, Ali ABEDI, Zohreh IZADIFAR, Reza MOHAMMADINEJAD, Rajender S. VARMA and Amin SHAVANDI. 2022. Tannic acid: a versatile polyphenol for design of biomedical hydrogels. *Journal of Materials Chemistry B* [online]. 10(31), 5873-5912. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=D2TB01056A>
- 29 CHEN, Zhe, Donghao ZHAO, Binhong LIU, Guodong NIAN, Xiaokeng LI, Jun YIN, Shaoxing QU and Wei YANG. 2019. 3D Printing of Multifunctional Hydrogels. *Advanced Functional Materials* [online]. 29(20). Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adfm.201900971>
- 30 OVERSTREET, Derek J., Dipankar DUTTA, Sarah E. STABENFELDT and Brent L. VERNON. 2012. Injectable hydrogels. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* [online]. 50(13), 881-903. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/polb.23081>
- 31 A.ALAMIR, Hassan Thoulfikar, Ghufran Lutfi ISMAEEL, Abduladheem Turki JALIL, Wala'a Hassan HADI, Ihsan K. JASIM, Abbas F. ALMULLA and Zahra Abdul RADHEA. 2023. Advanced injectable hydrogels for bone tissue regeneration. *Biophysical Reviews* [online]. 15(2), 223-237. Available at: <https://link.springer.com/10.1007/s12551-023-01053-w>
- 32 SUN, Yage, Xiaoping ZHANG, Tengling WU, Zhuodan ZHANG, Rong YANG and Wenguang LIU. YAP-Suppressive Nanodrug Crosslinked Self-Immunoregulatory Polysaccharide Injectable Hydrogel for Attenuating Cardiac Fibrosis to Treat Myocardial Infarction. *Advanced Functional Materials* [online]. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adfm.202214468>

- 33 HASANZADEH, Elham, Alexander SEIFALIAN, Amir MELLATI, Jamileh SAREMI, Shiva ASADPOUR, Seyed Ehsan ENDERAMI, Houra NEKOUNAM and Narges MAHMOODI. 2023. Injectable hydrogels in central nervous system: Unique and novel platforms for promoting extracellular matrix remodeling and tissue engineering. *Materials Today Bio* [online]. 20. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2590006423000741>
- 34 JI, Donghwan, Jae Min PARK, Myeong Seon OH, et al. 2022. Superstrong, superstiff, and conductive alginate hydrogels. *Nature Communications* [online]. 13(1). Available at: <https://www.nature.com/articles/s41467-022-30691-z>
- 35 ZHANG, Daihui, Junyu JIAN, Yitong XIE, et al. 2022. Mimicking skin cellulose hydrogels for sensor applications. *Chemical Engineering Journal* [online]. 427. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894721025055>
- 36 NIKPOUR, Parisa, Hamed SALIMI-KENARI, Farahnaz FAHIMIPOUR, Sayed Mahmood RABIEE, Mohammad IMANI, Erfan DASHTIMOUGHADAM and Lobat TAYEBI. 2018. Dextran hydrogels incorporated with bioactive glass-ceramic: Nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering. *Carbohydrate Polymers* [online]. 190, 281-294. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861718302418>
- 37 YANG, Jun, Mingyue SHEN, Yu LUO, Ting WU, Xianxiang CHEN, Yuanxing WANG and Jianhua XIE. 2021. Advanced applications of chitosan-based hydrogels: From biosensors to intelligent food packaging system. *Trends in food science & technology* [online]. 110, 822-832. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224421001394>
- 38 SHIN, Jisoo, Soojeong CHOI, Jung Hyun KIM, et al. 2019. Tissue Tapes—Phenolic Hyaluronic Acid Hydrogel Patches for Off-the-Shelf Therapy. *Advanced Functional Materials* [online]. 29(49). Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adfm.201903863>
- 39 CHAALA, Mohamed, Fatima Zohra SEBBA, Marta G. FUSTER, Imane MOULEFERA, Mercedes G. MONTALBÁN, Guzmán CARISSIMI and Gloria VÍLLORA. 2023. Accelerated Simple Preparation of Curcumin-Loaded Silk Fibroin/Hyaluronic Acid Hydrogels for Biomedical Applications. *Polymers* [online]. 15(3). Available at: <https://www.mdpi.com/2073-4360/15/3/504>
- 40 TANWAR, Meenakshi, Rajinder K. GUPTA and Archana RANI. Natural gums and their derivatives based hydrogels: in biomedical, environment, agriculture, and food industry. *Critical Reviews in Biotechnology* [online]. , 1-27. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07388551.2022.2157702>
- 41 YANG, Jiahao and Shige WANG. 2023. Polysaccharide-Based Multifunctional Hydrogel Bio-Adhesives for Wound Healing: A Review. *Gels* [online]. 9(2). Available at: <https://www.mdpi.com/2310-2861/9/2/138>
- 42 YAN, Jun, Siqi LI, Guipan CHEN, Cuicui MA, David Julian MCCLEMENTS, Xuebo LIU and Fuguo LIU. 2023. Formation, physicochemical properties, and comparison of heat- and enzyme-induced whey protein-gelatin composite hydrogels. *Food Hydrocolloids* [online]. 137. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X22009043>

- 43 DAS, Dipankar, Sulagna BHATTACHARJEE and Sachin BHALADHARE. 2023. Preparation of Cellulose Hydrogels and Hydrogel Nanocomposites Reinforced by Crystalline Cellulose Nanofibers (CNFs) as a Water Reservoir for Agriculture Use. *ACS Applied Polymer Materials* [online]. 5(4), 2895-2904. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsapm.3c00109>
- 44 CHEN, Lanfen, Yongchuan WU, Wenqian XING, Qin SU, Longcheng TANG, Huaiguo XUE and Jiefeng GAO. 2023. Mechanically robust composite hydrogels for high performance solar driven interface evaporation. *Chemical Engineering Science* [online]. 267. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009250922009150>
- 45 CHEN, Yan, Hong LIU, Mengsheng XIA, Miaomiao CAI, Zeguang NIE and Junkai GAO. 2023. Green multifunctional PVA composite hydrogel-membrane for the efficient purification of emulsified oil wastewater containing Pb²⁺ ions. *Science of The Total Environment* [online]. 856. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969722063707>
- 46 LI, Yongzheng, Jing ZHANG, Chengze WANG, Zhiwei JIANG, Kaichen LAI, Ying WANG and Guoli YANG. 2023. Porous composite hydrogels with improved MSC survival for robust epithelial sealing around implants and M2 macrophage polarization. *Acta Biomaterialia* [online]. 157, 108-123. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706122007565>
- 47 ZHAO, Puxiang, Yue FENG, Youquan ZHOU, Cuiying TAN and Mingxian LIU. 2023. Gold@Halloysite nanotubes-chitin composite hydrogel with antibacterial and hemostatic activity for wound healing. *Bioactive Materials* [online]. 20, 355-367. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2452199X22002560>
- 48 BONIFACIO, Maria A., Stefania COMETA, Andrea COCHIS, et al. 2018. Antibacterial effectiveness meets improved mechanical properties: Manuka honey/gellan gum composite hydrogels for cartilage repair. *Carbohydrate Polymers* [online]. 198, 462-472. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861718307707>
- 49 FAN, Zhiping, Ping CHENG, Yan GAO, et al. 2022. Understanding the rheological properties of a novel composite salectan/gellan hydrogels. *Food Hydrocolloids* [online]. 123. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X21005786>
- 50 HAVLÍKOVÁ, Martina, Adam JUGL, Jitka KROUSKÁ, et al. 2021. Interactions between Cationic Ion Pair Amphiphile Vesicles and Hyaluronan—A Physicochemical Study. *Langmuir* [online]. 37(28), 8525-8533. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.langmuir.1c00993>
- 51 QIAN, Yanping, Xiao LIANG, Jingyun YANG, et al. 2018. *Hyaluronan Reduces Cationic Liposome-Induced Toxicity and Enhances the Antitumor Effect of Targeted Gene Delivery in Mice* [online]. 10(38), 32006-32016. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.8b12393>
- 52 UGRINOVIC, Vukasin, Milica MILUTINOVIC, Bojan BOZIC, Rada PETROVIC, Djordje JANACKOVIC, Vesna PANIC and Djordje VELJOVIC. Poly(methacrylic acid)/gelatin interpenetrating network hydrogels reinforced by nano-structured hydroxyapatite particles—improved drug delivery systems. *International Journal of*

- Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials [online]. , 1-15. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00914037.2022.2164281>
- 53 FU, Mei, Jun LI, Mingchong LIU, et al. 2023. Sericin/Nano-Hydroxyapatite Hydrogels Based on Graphene Oxide for Effective Bone Regeneration via Immunomodulation and Osteoinduction. International Journal of Nanomedicine [online]. 18, 1875-1895. Available at: <https://www.dovepress.com/sericinnano-hydroxyapatite-hydrogels-based-on-graphene-oxide-for-effec-peer-reviewed-fulltext-article-IJN>
- 54 PADMANABHAN, Varun Prasath, Ravichandran KULANDAIVELU and Sankara Narayanan T.S. NELLAIAPPAN. 2018. New core-shell hydroxyapatite/Gum-Acacia nanocomposites for drug delivery and tissue engineering applications. Materials Science and Engineering: C [online]. 92, 685-693. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493117349603>
- 55 SUBRAMANIAM, Sadhasivam, Yen-Hsin FANG, Savitha SIVASUBRAMANIAN, Feng-Huei LIN and Chun-pin LIN. 2016. Hydroxyapatite-calcium sulfate-hyaluronic acid composite encapsulated with collagenase as bone substitute for alveolar bone regeneration. Biomaterials [online]. 74, 99-108. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0142961215007954>
- 56 CHANG, Hao-Yu, Ying-Cen CHEN, Wei-Hsing TUAN, Sseu-Pei HWANG, Li-Kwan CHANG, Chia-Jung WU, Chih-Yi CHEN and Po-Liang LAI. 2021. Biphasic bone graft prepared using a gel-foaming technique. Ceramics International [online]. 47(6), 7805-7813. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S027288422033457X>
- 57 WU, Chih-Jung, An-Tsung KUO, Chen-Hsuan LEE, Yu-Min YANG and Chien-Hsiang CHANG. 2014. Fabrication of positively charged catanionic vesicles from ion pair amphiphile with double-chained cationic surfactant. Colloid and Polymer Science [online]. 292(3), 589-597. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00396-013-3104-9>

8 Seznam použitých zkratek a symbolů

8.1 Seznam použitých zkratek

PHEMA	poly(2-hydroxyethylmethakrylátu)
PVA	polyvinylalkohol
PEG	polyethylenglykol
pNIPAAm	poly(N-isopropylakrylamidu)
IPA	ion pair amphiphile
CTAB	cetyltrimethylamonium bromid
SDS	dodecylsulfát sodný
DODAC	dimethyl-di-n-octadecylammonium chlorid
HA	hydroxyapatitové částice
PO	částice získané z peleti PerOssalu
DLS	dynamický rozptyl světla
LVO	lineární viskoelastická oblast

8.2 Seznam použitých symbolů

D	difúzní koeficient
k	Boltzmannova konstanta
T	termodynamická teplota
f	koeficient tření
g	viskozita média
a	hydrodynamický poloměr kulové struktury
τ_{xy}	tečné napětí
u_x	rychlost toku
du_x/dy	gradient rychlosti
η	dynamická viskozita