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

HYDROGELY NA BÁZI SEMI-INTERPENETROVANÝCH SÍTÍ POLYETHYLENGLYKOLU

PEG-BASED SEMI-INTERPENETRATING POLYMER NETWORK HYDROGELS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE — Michaela Kadlecová

AUTHOR

VEDOUCÍ PRÁCE — doc. Ing. Petr Sedláček, Ph.D.

SUPERVISOR

BRNO 2023

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
FAKULTA CHEMICKÁ

Zadání bakalářské práce

Číslo práce:	FCH-BAK1759/2022	Akademický rok: 2022/23
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie	
Studentka:	**Michaela Kadlecová**	
Studijní program:	Chemie pro medicínské aplikace	
Studijní obor:	bez specializace	
Vedoucí práce:	**doc. Ing. Petr Sedláček, Ph.D.**	

Název bakalářské práce:

Hydrogely na bázi semi–interpenetrovaných sítí polyethylenglykolu

Zadání bakalářské práce:

1. Vypracovat literární rešerši na téma: i. aktuální trendy výzkumu a vývoje semiIPN materiálů, ii. využití PEG v moderních soft–matter materiálech.
2. Zvolit vhodnou metody přípravy hydrogelů na bázi PEG. Navrhnout a optimalizovat postup inkorporace vybraných lineárních polyelektrolytů jako semi–interpenetrující komponenty do struktury takto připravených PEG gelů.
3. Provést základní fyzikálně–chemickou charakterizaci připravených gelových materiálů.
4. Na základě získaných experimentálních poznatků diskutovat aplikační potenciál semiIPN hydrogelů na bázi PEG.

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.

Michaela Kadlecová studentka	doc. Ing. Petr Sedláček, Ph.D. vedoucí práce	prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc. vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zaobírá optimalizací přípravy hydrogelů na bázi polymerních sítí polyethylenglykolu s inkorporací semi-interpenetrující polymerní sítě a následnou chemicko-fyzikální charakterizací připravených hydrogelů. Z řad modifikací polyethylenglykolů byl vybrán polyethylenglykol diakrylát jako modelový materiál pro tvorbu hydrogelů. Na základě toho došlo k optimalizaci přípravy využívající UV fotopolymerizaci. Po optimalizaci přípravy došlo k výběrů a následné inkorporaci polyelektrolytu. Jako modelový polyelektrolyt byl vybrán polystyrensulfonát sodný. Následně došlo k základní charakterizaci a porovnání připravených hydrogelů na bázi polyethylenglykol diakrylát s přídavkem polyeletrolytu a bez něj. K základní charakterizaci bylo využito botnání, reologie, rastrovací elektronové mikroskopie a pomocí experimentálního studia difúze byly zkoumány transportní vlastnosti.

ABSTRACT

This bachelor's thesis deals with optimization of the preparation of hydrogels based on polymer networks of polyehtylene glycol with the incorporation of a semi-interpenetrating polymer networking and the following chemical-physical characterization of the prepared hydrogels. Polyehtylen glycol diacrylate was chosen from the range of polyethylene glycol modifications as a model material for the formation of hydrogels. Based on this, the preparation using UV photopolymerization was optimized. After optimization of the preparation, selections and following incorporation of the polyelectrolyte took place. Sodium polystyrene sulfonate was chosen as a model polyelectrolyte. Then, there was a basic characterization and comparison of the prepared hydrogels based on polyethylene glycol diacrylate with and without the addition of polyecletrolyte. Swelling, rheology, scanning electron microscopy were used for basic characterization and transport characteristics were investigated using diffusion.

KLÍČOVÁ SLOVA

Hydrogel, semi-interpenetrovaná síť, polyethylenglykol, polyethylenglykol diakrylát, botnání, reologie, rastrovací elektronová mikroskopie, difúze

KEYWORDS

Hydrogel, semi-interpenetrating polymer network, polyehtylene glycol, polyehtylene glycol diacrylate, swelling, rheology, scanning electron microscopy, diffusion

KADLECOVÁ, Michaela. Hydrogely na bázi semi-interpenetrovaných sítí polyethylenglykolu. BRNO, 2023. Dostupné také z: https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/148680. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Petr Sedláček.

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.

.....

Michaela Kadlecová

Na tomto místě bych ráda poděkovala vedoucímu mé bakalářské práce doc. Ing. Petru Sedláčkovi, Ph.D. za jeho odborné vedení, trpělivost, vstřícnost, cenné rady a především čas, který mi po celou dobu věnoval. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Janu Zahrádkovi a Ing. Monice Trudičové, za jejich čas a rady během řešení experimentální části práce. Na závěr bych ráda poděkovala rodině a přátelům za podporu během studia.

OBSAH

1 ÚVOD ... 7
2 TEORETICKÁ ČÁST ... 8
2.1 Hydrogely ... 8
2.1.1 Příprava hydrogelů ... 9
2.1.2 Klasifikace hydrogelů ... 10
2.1.3 Hydrogely jako nosiče léčiv ... 12
2.2 Metody charakterizace vlastností hydrogelů ... 13
2.2.1 Botnání ... 13
2.2.2 Reologie ... 13
2.2.3 Rastrovací elektronová mikroskopie ... 15
2.2.4 Difúze ... 16
2.3 Polyethylenglykol ... 17
2.3.1 Struktura ... 18
2.3.2 Syntéza ... 18
2.3.3 Využití ... 19
3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY ... 20
3.1 Příprava PEG hydrogelů ... 20
3.2 Trendy ve vývoji semi-IPN hydrogelů ... 21
4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST ... 24
4.1 Použité chemikálie ... 24
4.2 Použité přístroje ... 24
4.3 Příprava vzorků ... 24
4.3.1 Optimalizace přípravy hydrogelů ... 24
4.4 Přídavek polyelektrolytu ... 25
4.5 Charakterizace připravených hydrogelů ... 25
4.5.1 Botnání ... 25
4.5.2 Reologie ... 25
4.5.3 Rastrovací elektronová mikroskopie ... 26
4.5.4 Transportní charakterizace ... 26
5 VÝSLEDKY A DISKUZE ... 28
5.1 Optimalizace přípravy PEGDA hydrogelů ... 28
5.1.1 UV fotopolymerizace ... 28
5.1.2 Termoiniciace ... 32
5.2 Přídavek polyelektrolytu do struktury hydrogelu ... 34

5.3 Botnání ... 34
5.4 Reologie ... 36
5.4.1 Reologie připravených hydrogelů ... 36
5.4.2 Reologie zpětně nabotnalých hydrogelů ... 39
5.5 Rastrovací elektronová mikroskopie ... 41
5.6 Transportní charakterizace ... 43
6 ZÁVĚR ... 47
7 POUŽITÁ LITERATURA ... 49
8 SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ ... 55
8.1 Seznam zkratek ... 55
8.2 Seznam symbolů ... 55
9 SEZNAM PŘÍLOH ... 56
10 PŘÍLOHY ... 57

1 ÚVOD

Hydrogely jsou fascinující materiály, které obsahují trojrozměrnou síť a v ní zadržují velké množství vody, a i tak si zachovávají svoje specifické vlastnosti jako například pevnost. Tato skutečnost umožňuje velmi široké uplatnění hydrogelů od medicínských aplikací až po aplikace v zemědělství. I když už od přípravy prvního hydrogelu uplynulo několik desítek let, stále jsou předmětem nejrůznějších výzkumných projektů. Je to zapříčiněné rozmanitostí příprav a širokou škálou dostupnosti nových monomerních jednotek, které jsou schopné polymerizovat do trojrozměrné struktury sítě hydrogelů. V posledních letech se výzkum zajímá o speciální hydrogely se semi-interpenetrovanou sítí. Jedná se o speciální modifikací hydrogelů, která dokáže měnit jejich vlastnosti jako například rychlost transportu léčiv. Takto připravené hydrogely mohou složit k řízenému uvolňování aktivní látky do organismu.

Bakalářská práce si klade za cíl optimalizovat přípravu hydrogelů na bázi polymerních sítí polyethylenglykolu. Jedná se o látku, které je biodegradabilní, kompatibilní a v neposlední řadě je netoxická. Tyto vlastnosti řadí polyethylen glykol k hojně využívaným materiálům na poli biomedicínských aplikacích. Dalším cílem je inkorporace polyelektrolytu, který by vytvořil semi-interpenetrující komponentu v síti PEG hydrogelu. Jako modelový polyelektrolyt v experimentech byl využit polystyrensulfonát sodný. Práce si klade za cíl porovnat hydrogely s inkorporovaným polyelektrolytem a bez něj. Proto byly využity čtyři různé metody charakterizace, aby došlo k získání co nejširší představy o vlastnostech PEG gelů a možnosti jejich ovlivnění interpenetrující složkou, které by položily pevné základy do další fáze aplikovaného výzkumu těchto inovativních gelových materiálů.

Ke charakterizaci základních vlastností bylo využito zpětné botnání hydrogelů. Pro porovnání mechanických vlastností připravených hydrogelů byla využita reologie. Rastrovací elektronová mikroskopie sloužila k zobrazení vnitřní struktury. Ovšem zvláštní pozornost byla věnována transportní charakterizaci, protože právě manipulace s transportními vlastnostmi byla hlavní motivací přídavku do struktury. Jako transportovaná látka bylo využito barvivo Rhodamin 6G z důvodu jednoduché spektroskopické detekce a již dříve potvrzených interakcí s použitým polyelektrolytem.

Celá práce je doplněna o literární rešerši, která se zaměřuje na vysvětlení základních pojmů spjaté s touto prací. Zároveň obsahuje krátkou charakterizaci využívaných metod v experimentální části práce.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Hydrogely

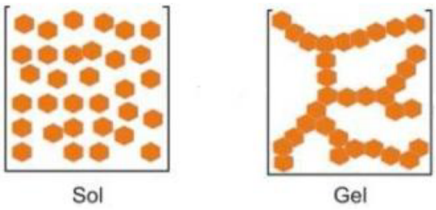
Disperzní systémy jsou definovány jako soustavy tvořené minimálně dvěma fázemi. První fáze se označuje jako disperzní podíl, který je rozptýlen ve fázi druhé, nazývané jako disperzní prostředí. Ve většině případů jsou disperzní systémy vícesložkové heterogenní soustavy, kde jsou složení disperzních podílů a disperzních prostředí různé. Disperzní systémy lze klasifikovat na základě velikosti částic, které jsou dispergovány v disperzním prostředí. Prvním typem jsou analytické disperze, kde velikost částic je menší než 10^{-9} m, dalším typem jsou koloidní disperze, u kterých se velikost částic pohybuje v rozmezí 10^{-9} až 10^{-6} m. Posledním typem jsou hrubé disperze, ty mají částice větší než 10^{-6} m. Hydrogely jsou řazeny mezi koloidní disperze z toho důvodu, že makromolekuly či lyofobní soly, které vedou procesem zvaným gelace k jejich vzniku, spadají svojí velikostí právě do této kategorie disperzních soustav. V tomto případě voda představuje disperzní prostředí a makromolekuly vytváří spojitý disperzní podíl [1, 2].

Makromolekuly jsou získávány ze syntetických, nebo přírodních zdrojů a jsou schopné vytvářet vzájemně zesíťované trojrozměrné struktury. Ty mohou následně absorbovat a zadržovat značné množství vody nebo biologických tekutiny, přičemž tato schopnost vychází z obsahu hydrofilních funkčních skupin, které jsou navázány na polymerní řetězec. Díky přítomnosti velkého množství vody mají tyto unikátní systémy značnou podobnost k přirozeným tkáním, např. vykazují podobné mechanické vlastnosti. Hydrofobní polymerní sítě jako je například kyselina polymléčná nedokáží dobře absorbovat vodu. Absorpce v tomto případě je menší než 5–10 hm. %. Významnou vlastností hydrogelů je jejich nerozpustnost ve vodě. Tato vlastnost vychází z fyzikálního nebo chemického zesítění mezi jednotlivými řetězci. Některé vlastnosti hydrogelů napodobují chování extracelulární matrix. Jedná se zejména o vysoký obsah vody, viskoelasticitu a biotransport metabolitů [3–5].

V posledních letech hydrogely hrají velmi významnou roli jako nosičové systémy s řízeným uvolňováním dodávaného léčiva. Biomimetické hydrogely se využívají k vytvoření dokonalého vysokohydratovaného prostředí a ke konstrukci tenkých a avaskulárních tkáních jako jsou kůže nebo chrupavky [4, 5]. V oblasti tkáňového inženýrství jsou hydrogely velmi využívané, mohou sloužit k opravě nebo k rekonstrukci různých tkání, jako například kostí [6, 7]. Hydrogely se také uplatňují v rámci korekce zraku při výrobě kontaktních čoček, kde nejvíce dominantní jsou silikon-hydrogely díky jejich vysoké absorpci kyslíku [8]. Syntetické hydrogelové kryty ran, mají nespočet výhod při zacelení a regeneraci poraněných tkání. Mají schopnost absorbovat exsudáty, nelepí se na nově vznikající tkáň, umožňují prostup kyslíku a některé mohou také zmírnit bolest při hojení vlivem inkorporovaného léčiva [9]. Hydrogely se také uplatňují v zemědělství, protože i hnojiva a potřebné živiny mohou být řízeně uvolňovány. Navíc díky vysoce botnajícím gelovým sítím dokáže rostlina lépe hospodařit s vodou a předchází tak předčasnému vysušení. Využití hydrogelů v rámci zemědělství má pozitivní dopad na ekologii, projevující se snížením spotřeby vody na zavlažování a rychlejším růstem rostlin [10, 11].

2.1.1 Příprava hydrogelů

Hydrogely vznikají procesem zvaným gelace. Princip spočívá ve spojování makromolekulárních řetězců dohromady pomocí vazeb nebo vazebných interakcí. Během spojování podjednotek dochází postupně k většímu rozvětvení polymerních řetězců, ze kterých posléze vzniká sol. Jedná se o směs polydisperzního rozvětveného polymeru, který je na rozdíl od hydrogelů rozpustný. Dále dochází k dalšímu spojování polymerů za vzniku prostorové sítě, která přestává být rozpustnou a je schopná pohlcovat dodatečnou kapalinu tvořící disperzní prostředí. V případě hydrogelů se jedná o vodu. Rozdíl mezi solem a gelem je zobrazen na následujícím Obr. 1 [12, 13].



Obr. 1 Rozdíl ve struktuře mezi solem a gelem [14]

Hydrogely mohou vznikat fyzikálním nebo chemickým způsobem síťování. Dalším možným způsobem vzniku hydrogelů je rehydratace existujících xerogelů (tj. vysušených gelových sítí) [12]. Typ zesítění ovlivňuje fyzikální vlastnosti, jako jsou botnání a elasticita [6]. Rozdíly mezi fyzikálními a chemickými hydrogely jsou popsány níže.

Fyzikálně síťované hydrogely

Řadíme zde silné a slabé fyzikální hydrogely. Jak už vyplývá z názvu silné fyzikální hydrogely obsahují mezi jednotlivými polymerními řetězci silné fyzikální vazby, které zapříčiní vytvoření hydrogelů, které jsou svými vlastnostmi podobné chemicky sítěným hydrogelům. Oproti tomu slabé fyzikální hydrogely vznikají slabými fyzikálními interakcemi. Příkladem jsou van der Waalsovy síly, vodíkové vazby nebo interakce založené na hydrofobicitě molekul. Interakce mezi makromolekulami probíhají na kterémkoliv úseku molekuly a nemusí se omezovat pouze na její konce. Fyzikální sítění má nejednu výhodu. Prvním je samotná jednoduchost syntéz. Absence síťovacích činidel během přípravy fyzikálně síťovaných hydrogelů je další výhodou, protože síťovací činidla mohou poškodit látky, které se inkorporují do hydrogelu. Metody pro získání fyzikálně síťovaných gelů jsou popsány níže i s příklady [1, 12].

Fyzikální síťování založené na tvorbě vodíkových vazeb lze získat změnou pH vodných roztoků polyelektrových řetězců. Konkrétně se jedná např. o snížení pH roztoku polymeru obsahujícího karboxylové skupiny přidáním anorganické kyseliny. Příkladem takto zesítěného hydrogelu je karboxymethylceluóza (CMC). Vytvářením vodíkových vazeb mezi řetězci CMC dochází ke snížení rozpustnosti ve vodě a vodných roztocích [12]. CMC je totiž za běžných podmínek rozpustná ve vodě [15]. Dalším příkladem tvorby vodíkových vazeb je vznik takto poutané sítě mezi polymethakrylovou kyselinou a polyethylenglykolem. Interakce vzniká mezi karboxylovou skupinou kyseliny a kyslíkem polyethylenglykolu [16].

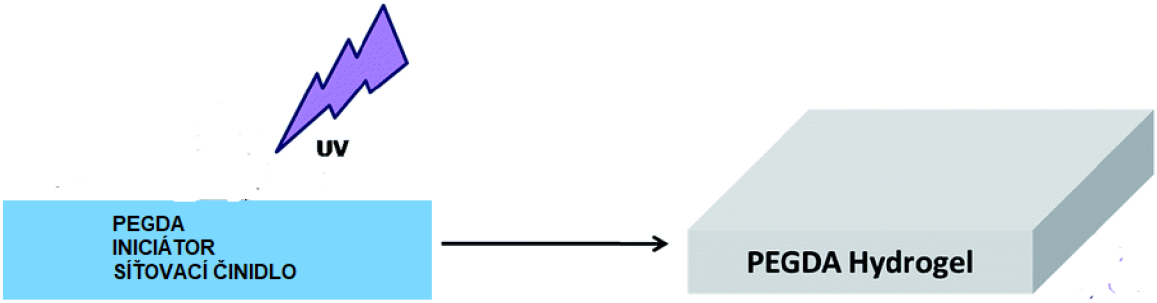
Další metodou fyzikálního síťování je elektrostatické síťování nabitých funkčních skupin na řetězci polymeru. Příkladem je alginát, který je síťován převážně vápenatými ionty. Alginát obsahuje záporný náboj, který se zúčastní iontové interakce s opačně nabitým vápenatým iontem [16, 17]. Zástupcem dalšího iontově síťovaného hydrogelu, kde kladný náboj obsahuje

polymer, je chitosan. Ten ve své struktuře obsahuje aminové skupiny, které jsou kladně nabité a mohou být síťovány záporně nabitými molekulami používanými jako iontové síťovadlo [18].

Chemicky síťované hydrogely

Chemicky zesíťované hydrogely jsou mechanicky velmi stabilní látky, a to kvůli přítomnosti kovalentních vazeb tvořících uzly jejich sítě. Nejčastěji vznikají spojením dvou polymerů za přítomnosti síťovacího činidla. Příkladem síťovacího činidla je ethylenglykol–di–methakrylát. Reakce nejčastěji probíhá mezi funkčními skupinami (hydroxy, karboxy nebo amino) polymeru a vhodného síťovacího činidla. Tento typ reakce se nazývá adice Michaelova typu [12, 19, 20]. Příkladem takto zesíťovaného hydrogelu je polyethylenglykol síťovaný reakcí akrylátových a thiolových skupin [21].

Dalším možným způsobem přípravy, který spadá do chemického sítování je využívání UV záření k tvorbě síťové struktury. Tento typ přípravy se nazývá UV fotopolymerizace. Při přípravě se do roztoku hydrogelového prekurzoru přidá navíc fotoiniciátor, který má schopnost rozštěpení se na jednotlivé radikály při ozáření UV zářením. Zahájí tím polymerizační reakci. Tato příprava má spoustu výhod. Jednou z nich je možnost provedení reakce *in situ* metodou. Příkladem aplikace jsou fotoreverzibilní systémy s obsahem léčiva. Pokud je systém vystaven UV záření, tak postupně degraduje a léčivo je poté postupně a řízeně uvolňováno do postiženého místa. Nicméně příprava pomocí UV záření přináší i řadu nevýhod. Při radikálové polymeraci mohou vzniklé radikály poškodit strukturu léčiva nebo proteinu, čímž dojde ke ztrátě jejich funkčnosti [19, 20, 22, 23]. Příkladem přípravy pomocí fotopolymerizace (Obr. 2) je hydrogel z polyethylenglykol – diakrylátu (PEGDA) [24].



Obr. 2 Schéma přípravy PEGDA hydrogelu pomocí fotopolymerizace (upraveno [24])

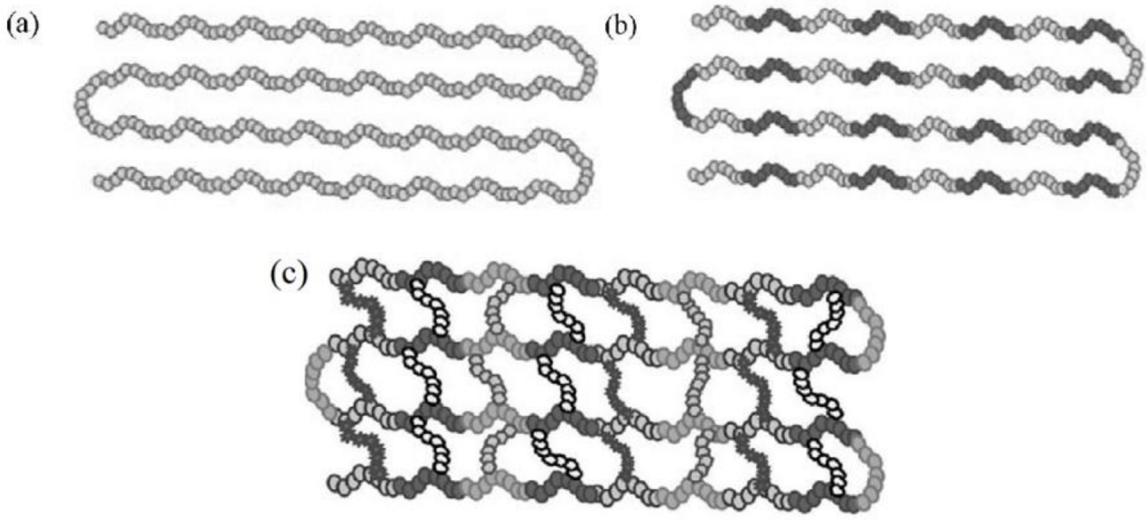
2.1.2 Klasifikace hydrogelů

Hydrogely můžeme rozdělit vícero způsoby. První možné rozdělení je na syntetické a přírodní hydrogely. Mezi přírodní hydrogely můžeme zařadit systémy vzniklé z kolagenu, chitosanu nebo alginátu. Výhodou přírodních hydrogelů je jejich biokompatibilita, biodegradace v organismu a také nízká toxicita. Nevýhodou je špatná kontrola nad fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Dále mohou obsahovat různé patogeny a viry, hlavně v případech, kdy přírodní prekurzorní materiály pochází ze zvířat [3, 25, 26]. U syntetických hydrogelů se k jejich přípravě používají syntetické monomery, jako jsou polyethylenglykol akryláty, vinylacetát nebo hydroxyethylmethakrylát (HEMA). Jejich výhodou je přesně definovaná struktura, která je jednoduše modifikovatelná podle potřeby vlastností, jenž se zrovna vyžadují. Další výhodou je mechanická pevnost syntetických hydrogelů. Mají také vyšší absorpční schopnost a životnost. Rovněž jsou stabilnější vůči prudkým výkyvům teplot. Jejich

přesně definované chemicko-fyzikální vlastnosti umožňují reprodukovatelné uvolňovaní léčiva. Mezi nevýhody syntetických hydrogelů se řadí nízká míra biodegradace [3, 4, 26].

Další rozdělení hydrogelů vychází z typu zesítění. První skupinou jsou permanentní neboli chemické gely. Druhou skupinou jsou reverzibilní gely, nazývané také jako fyzikální gely. Permanentní gely jsou kovalentně zesíťovány. U reverzibilních gelů jsou sítě drženy pohromadě díky fyzikálním interakcím mezi jednotlivými polymerními řetězci. Tyto fyzikální interakce zabraňují rozpuštění. Oba typy mají schopnost absorbovat vodu. Ta vychází z hydrofilních skupin, které jsou navázané na polymerním řetězci [9, 12].

Na základě složení polymerů v počtu druhů monomerů můžeme hydrogely rozdělit na homopolymerní, kopolymerní a multipolymerní. Homopolymerní hydrogely (Obr. 3(a)) jsou složeny z jednoho druhu monomeru, který je základní jednotkou polymerního řetězce. Struktura homopolymerního hydrogelu je odvozena od vlastností monomeru a polymerizační techniky. Kopolymerní hydrogely (Obr. 3(b)) jsou složeny z alespoň dvou monomerů, přičemž je vždy aspoň jeden hydrofilní složkou, která je uspořádána v náhodném, blokovém nebo střídavém uspořádání kolem polymerního řetězce. Hydrofilní monomer umožňuje interakci s vodou, a tím má finální hydrogel dobré absorpční vlastnosti. Posledním typem jsou hydrogely multipolymerní (Obr. 3(c)). Ty jsou složeny ze tří a více jednotek monomerů. Hydrogel poté vzniká vzájemným zesítěním těchto vybraných monomerů [3, 26].



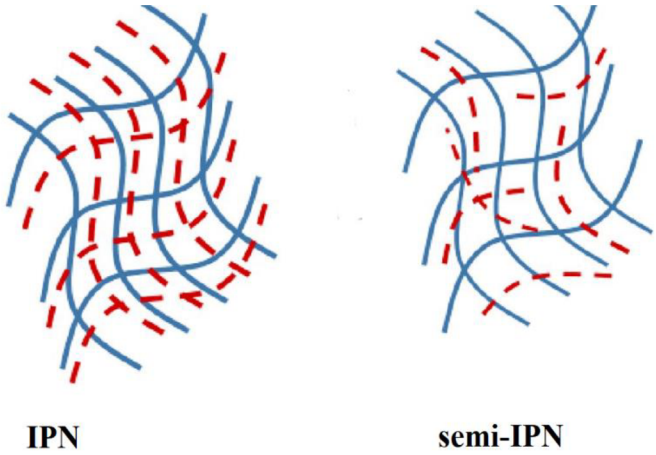
Obr. 3 (a) homopolymerní hydrogel, (b) kopolymerní hydrogel v blokovém uspořádáním, (c) multipolymerní hydrogel [26]

Interpenetrující polymerní sítě (IPN) a semi-interpenetrující polymerní sítě (semi-IPN)

V posledních letech se čím dál více jeví zájem o tzv. IPN a semi-IPN hydrogely. Oba typy jsou zvláštním případem multipolymerního hydrogelu. Rozdíl spočívá v samotném zesítění. IPN hydrogel se skládá alespoň ze dvou propletených sítí, které nejsou kovalentně zesítěné navzájem a jejich rozdělení není uskutečnitelné, dokud nejsou některé chemické vazby přerušeny. Struktura zesítění je zobrazena na Obr. 4 vlevo. IPN hydrogely se připravují dvěma způsoby. První se nazývá simultánní, přičemž jsou jednotlivé monomery smíchány a jejich sítě vznikají ve stejnou chvíli nezávisle na sobě. Tímto způsobem dojde k vzájemnému propletení vzniklých sítí. Druhý typ přípravy je sekvenční. Zde nejprve dochází k vytvoření sítě z prvního monomeru. Síť se poté nechá botnat v roztoku obsahujícím

druhý monomerní prekurzor, který se následně nechá také polymerizovat. IPN hydrogely přináší hustší zesítění a s tím i zlepšení mechanických vlastností. Díky zdokonalení fyzikálních vlastností se IPN hydrogely uplatňují v biomedicínských aplikacích a ve farmaceutickém průmyslu [26–29].

Oproti tomu semi-IPN hydrogel (Obr. 4 vpravo) obsahuje síť, ve které je propletený pouze lineární (popř. větvený) polymer. V tomto případě nedochází k zesítění lineárního polymeru a opět se neobjevuje kovalentní vazba mezi lineárním polymerem a sítí hydrogelu. Semi-IPN hydrogely nejčastěji vznikají prostupováním lineárního řetězce do vzniklé sítě pomocí difúze. Struktura finálního hydrogelu poté umožňuje lepší zachycení a postupné uvolňování léčiva. Rovněž jako u IPN sítí mohou mít hydrogely o něco vyšší mechanickou pevnost. Přeměna semi-IPN hydrogelu na IPN hydrogel je možná, pokud je do systému přidáno síťovací činidlo, které způsobí zesítění lineárního polymeru. Uplatnění semi-IPN hydrogelů je rovněž široké co se týče medicínských aplikací a farmaceutických oblastí zaměřených hlavně na řízené uvolňování léčiva [27, 28, 30 31].

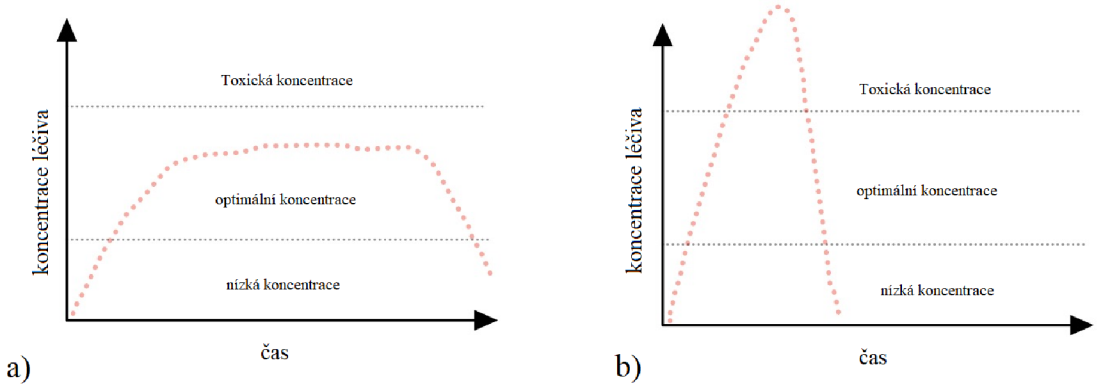


Obr. 4 Rozdíl ve struktuře IPN a semi-IPN hydrogelu (upraveno [32])

2.1.3 Hydrogely jako nosiče léčiv

Jak už je zmíněno v kapitolách výše, tak hydrogely se velmi často využívají jako nosiče léčiv v medicíně. Pro úspěšnou aplikaci je důležité co nejpřesněji nadefinovat fyzikálně-chemické vlastnosti hydrogelu, aby uvolnění léčiva (popř. biomolekuly) bylo co nejspolehlivější. Na začátku je velmi důležitý výběr materiálu, způsob a hustota jeho zesítění. Při výběru materiálu se musí myslet na biokompatibilitu a cytotoxicitu. Přírodní hydrogely nabízí hlavně biokompatibilitu a biodegradovatelnost. Oproti tomu hydrogely ze syntetických polymerů poskytují obvykle dobře definované struktury [4].

Nově vyvíjené hydrogely mají možnost postupného uvolňování léčiva (Obr. 5 (a)). Léčivo, které je vpraveno do těla organismu, se postupně s časem uvolňuje z hydrogelu a udržuje si optimální koncentraci v těle. Oproti tomu neefektivní dodávání léčiva (Obr. 5 (b)) zapříčiní to, že je do těla organismu veškerá koncentrace účinné látky uvolněna najednou. Obsah léčiva poté může být toxický pro daný organismus. Zároveň koncentrace po uplynutí krátké doby rychle klesá a účinná látka se stává neefektivní.



Obr. 5 Uvolňování léčiva a) postupné, b) neefektivní

Ovlivnit uvolňování léčiva je možné i za pomoci IPN a semi-IPN sítí v hydrogelech. Lineární polymerní struktura, která je interpenetrována do hydrogelu, může nést náboj. Iontové skupiny na řetězci mají vliv na uvolnění inkorporovaného léčiva například tak, že dochází k interakci mezi nabitým polymerem a opačně nabitým léčivém. Vazebná afinita léčiva vůči polymeru způsobí postupné uvolňování do prostředí [4, 33]

2.2 Metody charakterizace vlastností hydrogelů

2.2.1 Botnání

Jak už je zmíněno v kapitole 2.1, hydrogely mají vynikající schopnost zadržovat a absorbovat velké množství vody. Jev, kdy hydrogel absorbuje rozpouštědlo se nazývá botnání. Hydrogely je také možné zbavit disperzního prostředí vysušením. Po vysušení veškeré vody vzniká xerogel. Jedná se o speciální druh gelu, který si zachová svou porézní strukturu. Xerogel má schopnost nabotnat vodu zpět a při tom se zvětšuje zpátky objem a hmotnost [1, 34].

Botnání může být omezené a neomezené. Omezené botnání znamená, že se pohlcování kapaliny zastaví a hydrogel už ji dále nepřijímá. Hmotnost i objem se ustálí. Tento typ je typický hlavně pro kovalentně zesítěné hydrogely, a to z toho důvodu, že vazby mezi polymery jsou pevné a jednotlivé monomery nepřecházejí do roztoku. Naproti tomu neomezené botnání se vyznačuje přecházením monomerů do roztoku. Zpočátku hydrogel botná, nicméně jeho pohlcování kapaliny se nezastaví. Jedná se způsob botnání, kterým se mohou vyznačovat fyzikálně zesítěné hydrogely [1].

Botnání je možné charakterizovat např. hmotnostním stupněm nabotnání Q [–], který je definován následující rovnicí (1)

$$Q = \frac{m_t - m_0}{m_0}, \tag{1}$$

kde m_t [kg] je hmotnost hydrogelu po určitém čase botnání a m_0 [kg] je hmotnost xerogelu před vložením do kapaliny.

2.2.2 Reologie

Reologie slouží k charakterizaci mechanických vlastností pevných ale i kapalných materiálů. Jedná se o vědní obor, který studuje tok a deformaci hmoty vlivem vnější síly. Existují dva krajní případy chování hmoty, a to ideálně elastické a ideálně viskózní. Elastické chování

přísluší tuhým látkám. Vnější síla působící na tuhou látku způsobí deformaci, která po odstranění síly vymizí. Viskózní chování je typické pro jednoduché kapaliny, protože pokud na kapalinu působí vnější síla, tak kapalina začne téct a přestane až po odstranění vnější síly. Specifická struktura hydrogelu, která zahrnuje disperzní podíl tvořený sítí a disperzní prostředí tvořené vodou, vede k tomu, že deformace těchto materiálů kombinuje oba zmíněné typy deformační odezvy. Proto jsou hydrogely řazeny do skupiny viskoelastických látek, patřící svými mechanickými vlastnostmi do oblasti mezi oběma krajními případy [1].

Hookův zákon

Ideální chování elastických látek je možné popsat Hookovým zákonem pružnosti (rovnice (2)).

$$\sigma = E \cdot \varepsilon, \tag{2}$$

kde σ [Pa] je normálové napětí, E [Pa] je Yongův modul pružnosti a ε [–] je relativní prodloužení. Zákon nám říká, že normálově napětí je přímo úměrné relativnímu prodloužení [35].

Newtonův zákon

Newtonův zákon nám popisuje dokonale viskózní materiály a je dán následující rovnicí (3)

$$\tau = \eta \cdot \frac{\mathrm{d}u}{\mathrm{d}x}, \tag{3}$$

kde τ [Pa] je tečné napětí, η [Pa·s] je dynamická viskozita, du je vzájemná rychlost pohybu jedné roviny, která je vzdálená o dx od druhé roviny. Také se označuje jako gradient rychlosti [s^{-1}]

Tekutiny, které mají charakteristickou viskozitu se nazývají newtonovské. Je pro ně typická vlastnost, kdy viskozita není závislá na velikosti tečného napětí nebo gradientu rychlosti [36].

Viskoelastické látky

Hydrogely a obecně gely se řadí do kategorie viskoelastických látek. Vykazují tedy chování s elastickými a s viskózními rysy. Jejich konkrétní reologické chování závisí na vlastnostech polymeru, který tvoří síť a také na objemu vody tvořící disperzní prostředí [37, 38].

Charakterizace viskoelastického chování hydrogelu

Přístroj, který se využívá k měření mechanických vlastností hydrogelů se nazývá reometr. Přístroj nabízí různé měřící geometrie, jako jsou např. kužel-deska, soustředný válec a deska-deska. Měření hydrogelů může probíhat na geometriích kužel-deska nebo deska-deska. Pro charakterizaci viskoelastických látek se nejčastěji využívají oscilační testy. Model deska-deska (Obr. 6) slouží k definici reologických parametrů. Desky, mající plochu o velikosti A, jsou od sebe vzdálené o hodnotu h. Na horní desku působí síla F, která způsobí posunutí horní desky o velikost s. Pokud vzorek vložíme mezi tyto desky, v ideálním případě se horní vrstva vzorku přilehající k horní desce také pohybuje. Pokud sílu F podělíme plochou o velikosti A, dostaneme tečné napětí charakterizující rovnice (4) [39].

$$\tau = \frac{F}{A} \tag{4}$$

Dále je možné definovat smykovou rychlost $\dot{\gamma}$ [s^{-1}] (rovnice (5)), která se rovná derivaci smyku γ [–] podle času. Smyková rychlost je úměrná otáčkám reometru.

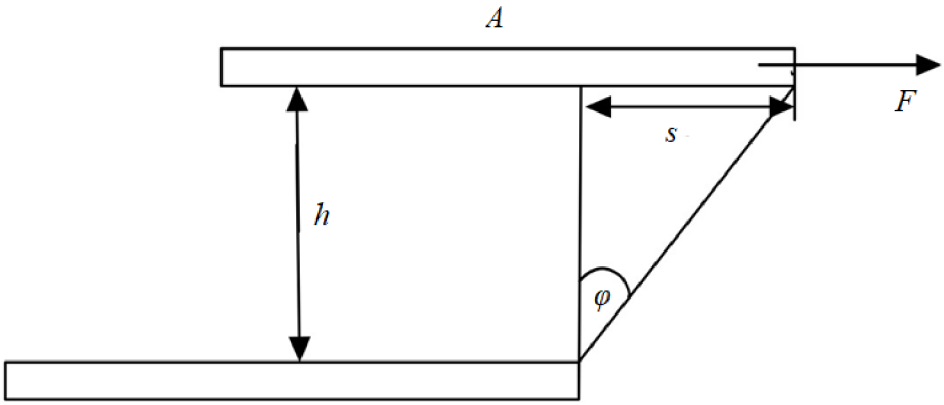
$$\dot{\gamma} = \frac{\mathrm{d}\gamma}{\mathrm{d}t} \tag{5}$$

Smyk γ můžeme definovat rovnicí (6)

$$\gamma = \frac{\mathrm{d}x}{\mathrm{d}y} \tag{6}$$

Pokud spojíme rovnice (3) (5) a (6), můžeme dynamickou viskozitu η definovat rovnicí (7)

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \tag{7}$$



Obr. 6 Model deska-deska, kde *A* je plocha, *F* je síla, která působí na horní desku, *h* je vzdálenost mezi deskami a *s* je dráha posunu horní desky

2.2.3 Rastrovací elektronová mikroskopie

Rastrovací elektronová mikroskopie (běžně se využívá zkratka SEM, která pochází z anglického názvu *scanning electron microscopy*) se využívá ke studiu reálné struktury hydrogelu. Jedná se o zobrazovací metodu využívající svazek elektronů, který interaguje se vzorkem. Zdrojem elektronového svazku je tzv. elektronové dělo. To se skládá z wolframového vlákna (také se využívá hexaborid lanthanu), které má tvar písmene V a slouží jako katoda. Další složkou elektronového děla je Wehneltonův válec a anoda. Aby vznikl primární svazek elektronů, musí se zahřát wolframové vlákno na vysokou teplotu pomocí elektrického proudu. Elektrony takto dostanou velké množství energie a mohou unikat ze špičky povrchu vlákna. Uvolněné elektrony poté putují směrem k anodě. Wehneltonův válec slouží k fokusaci elektronů z toho důvodu, že elektrony mají široce rozšířené trajektorie. Díky negativně nabitému válci dojde k zaostření a elektrony

putují potom dále k anodě. Další důležitou součásti SEM sytému jsou elektromagnetické čočky (čočka kondenzoru a čočka objektivu), které vytváří magnetické pole a slouží k fokusaci elektronového svazku. Po průchodu elektronu anodovou deskou se trajektorie elektronů může vychýlit. Čočka kondenzoru zapříčiní sbíhání elektronů, které poté čočkou prochází. Ovšem i tady se elektrony rozcházejí. V tomto případě čočka objektivu poslouží ke sběru a zamíření elektronového svazku na vzorek. Celý prostor mikroskopu je ve vakuu, aby nedocházelo k nahodilým srážkám elektronů [40].

Během interakce primárního svazku elektronů se vzorkem dochází ke dvěma druhům interakcí. První se nazývá pružný rozptyl. Elektron se sráží s jádrem atomu nebo s jeho elektrony v elektronovém obalu. Dopadající elektrony se po srážce rozptýlí. Odražené elektrony poskytují signál pro zobrazení vzorku a nazývají se zpětně odražené elektrony (BSE). Druhým typem rozptylu je nepružný. Dopadající elektron se opět sráží s elektronem v obalu nebo s jádrem, nicméně ztráty energie jsou zde výraznější oproti prvnímu případu. Velké množství energie, kterou atom vzorku příjme, způsobí excitaci elektronů a dochází k vyražení sekundárních elektronů, Ty se využívají k zobrazovací analýze. K zaznamenávání těchto vzniklých signálů se využívají různé detektory. Při interakci elektronu se vzorkem, ale dochází i k vytvoření dalších signálů. Příkladem mohou být Augerovy elektrony, fotony nebo rentgenové záření [40, 41].

Využívání SEM pro zobrazení reálné struktury hydrogelů neumožňuje zobrazení v nativním stavu. Vzorky je nutné nejdříve zbavit vody sušením a poté je pokrýt tenkou vrstvou kovu (nejčastěji zlato nebo slitiny zlata). Nejběžnější metoda sušení vzorků hydrogelů je lyofilizace, jedná se o sušení mrazem. Voda v hydrogelu je skokově zmrazena a následně při vhodných podmínkách dochází k její sublimaci. Zmrazení musí být opravdu co nejrychlejší, aby se zamezilo tvorbě krystalů ledu, které by měly vliv na morfologii vzorku. Opětovné tání ledu může mít vliv i na strukturu hydrogelu. Proto se dává přednost ponoru vzorku do tekutého dusíku před pomalým zmrazováním v mrazničce [42].

Jako běžné rozlišení SEM se uvádí 10 nm, ovšem některé přístroje dnešní doby jsou schopné ještě většího rozlišení [41].

2.2.4 Difúze

Transport látek se uskutečňuje pomocí fyzikálního jevu zvaného difúze [43]. Jedná se o nahodilý pohyb molekul, který je zapříčiněn tepelným pohybem částic. Molekuly se díky tepelnému pohybu nahodilé pohybují [44]. Důsledkem tohoto nahodilého pohybu molekul je vyrovnávání koncentračního gradientu v roztoku. Ovšem molekuly se nepohybují pouze ve směru klesající koncentrace, ale pohybují se všemi směry a důsledkem je vyrovnání koncentrací. I když systém dojde do rovnováhy, kdy koncentrace budou vyrovnány, tak se částice budou i nadále nahodile pohybovat [43].

Difúze není závislá pouze na teplotě, ale také na velikosti a tvaru difundujicích částic. Dále hrají roli také vlastnosti prostředí. Menší částice budou difundovat rychleji než ty větší [1].

Hnací silou difúze je rozdíl chemických potenciálů μ mezi prostředími dané látky. Pokud bude docházet k transportu látky o chemickém potenciálu μ do míst látky o chemickém potenciálu $\mu + d\mu$, tak vykonaná maximální práce dw je rovna změně chemického potenciálu $d\mu$. Tento vztah se dá popsat rovnicí (8), která vychází ze systému, kde se chemický potenciál mění v závislosti na prostorové souřadnice x.

$$\mathrm{d}w = \left(\frac{\mathrm{d}\mu}{\mathrm{d}x}\right)_{p,T} \mathrm{d}x. \tag{8}$$

Matematicky se difúze popisuje pomocí Fickových zákonů. V roce 1855 si lékař Eugene Fick všimnul určité analogie mezi difúzí a vedením tepla. Přenos tepla vedením je také způsobené nahodilým pohybem molekul. Proto při vyjadřovaní matematické teorie difúze vycházel z hypotéz vedení tepla, které byly popsány Fourierem už v roce 1822 [43].

První Fickův zákon

První Fickův zákon slouží k popisu stacionární difúze. Zde se difúzní tok J [mol·m^{-2}·s^{-1}] při jednorozměrné difúzi vyjadřuje rovnicí (9). Rovnice nám říká, že difúzní tok J je přímoúměrný koncentračnímu gradientu.

$$J = -D\frac{\mathrm{d}c}{\mathrm{d}x}, \tag{9}$$

kde D [m^2 · s^{-1}] je difúzní koeficient, který je číselně roven látkovému množství látky, které prošlo za jednotku času jednotkovou plochu. Dále c je koncentrace, která ve směru osy x klesá [1, 45].

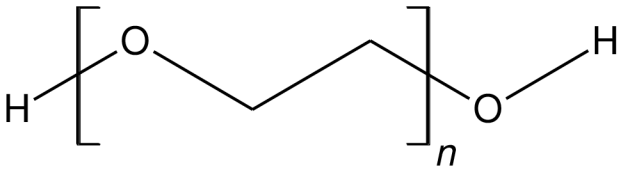
Druhý Fickův zákon

Druhý Fickův zákon bere v potaz nestacionární difúzi, kdy koncentrační gradient není konstantní, ale mění se s časem. Fickův druhý zákon dává do souvislosti rychlost změny koncentrace v bodě a prostorovou změnu koncentrace v daném bodě [1, 46]. Druhý Fickův zákon je vyjádřen rovnicí (10)

$$\frac{\mathrm{d}c}{\mathrm{d}t} = D\frac{\mathrm{d}^2c}{\mathrm{d}x^2} \tag{10}$$

2.3 Polyethylenglykol

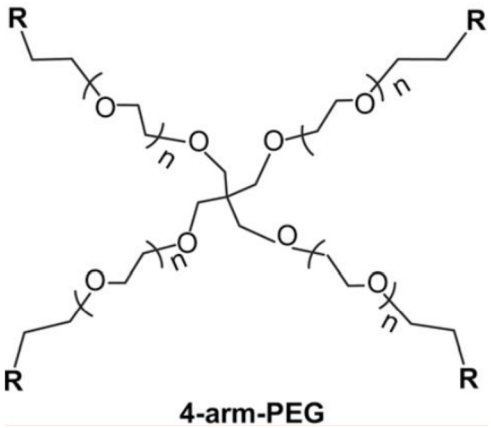
Polyethylenglykol (polyethylenoxid), zkráceně PEG, je organický polymer (Obr. 7). Molekulární hmotnost může být různorodá od stovek až po desetitisíce daltonů. Od molekulární hmotnosti se samozřejmě odvíjí fyzikální a chemické vlastnosti. Pro molekulovou hmotnost menší jak 1000 daltonů je skupenství látky kapalné. S vyšší molekulovou hmotností se skupenství mění na pevné [47]. Kapaliny jsou bezbarvé, čiré a viskóznější. Pevné látky jsou také téměř bezbarvé, ovšem u PEG, který má molekulovou hmotnost ≥ 20 000 daltonů je zbarvení prášku jemně do žluté barvy. Bod tání klesá s klesající molekulovou hmotností. Příkladem je molekulová hmotnost 8000 daltonů, kde je bod tání mezi 55–62 °C. Ovšem pro molekulovou hmotnost 400 daltonů je bod tání mezi 4–8 °C. PEG je velmi dobře rozpustný ve vodě a v podobě kapaliny velmi dobře mísitelný s vodou. Rozpustnost klesá s rostoucí molekulovou hmotností [48].



Obr. 7 Strukturní vzorec polyethylenglykolu [48]

2.3.1 Struktura

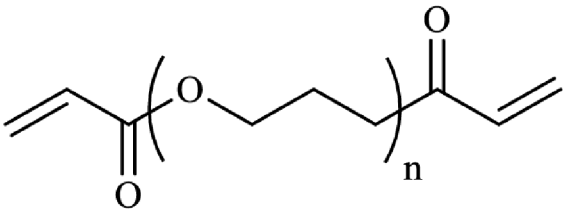
PEG má lineární strukturu, ale může mít i rozvětvenou strukturu (viz. Obr. 8). Základní struktura PEG nese dvě hydroxylové skupiny na konci řetězce, které mohou být nahrazeny za jiné funkční skupiny. Těmi mohou být methoxy, karboxy, amino, thiol nebo acetylen. Tyto skupiny jsou většinou symetrické, což znamená, že na konci jsou obě skupiny stejné. Skupiny mohou být však i odlišné a molekula se stane asymetrickou [7].



Obr. 8 Příklad rozvětveného polymeru na bázi PEG [7]

Polyethylenglykol diakrylát

Polyethylglykol diakrylát, zkráceně PEGDA, je jedna z mnoha strukturních modifikací PEG (Obr. 9). Je velmi využívaný v biomedicínských aplikacích a v tkáňovém inženýrství. Hydrogely z PEGDA se připravují pomocí UV fotopolymerizace za přítomnosti iniciátoru [49].

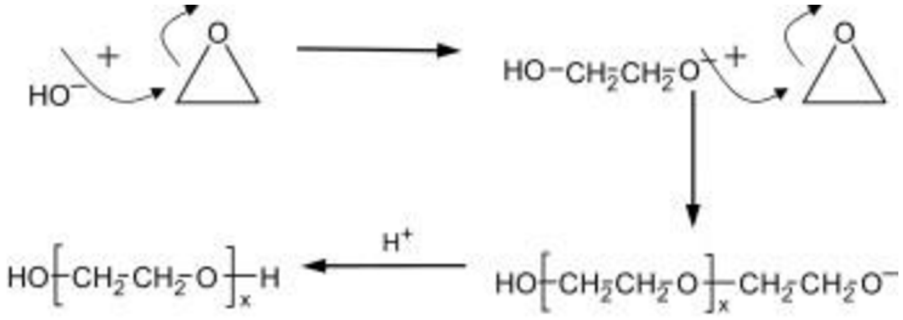


Obr. 9 Struktura PEGDA [49]

2.3.2 Syntéza

PEG je syntetizován polymerací ethylenoxidu za použití nukleofilní katalýzy s hydroxidovým iontem (Obr. 10). Polymerizace je řetězová reakce velkého počtu molekul monomeru, kdy vzniká daný polymer. Tento typ reakce nevytváří vedlejší produkty. Ethylenoxid je 3členný cykloalkan s vysokou energií pnutí. Tato energie zapříčiní snadnou polymerizaci. Jedná se o aniontovou adiční polymeraci, která je charakteristická pro sloučeniny tvořeny kruhem, nebo obsahující dvojnou vazbu. Jde o řízeně řetězovou růstovou reakci. Jako nukleofilní

iniciátor se využívá silný aniont, přesněji hydroxidový aniont. Hydroxidový aniont se naváže na uhlík aktivní vazbou a je záporně polarizován. Po dosažení požadované molekulové hmotnosti se reakce zastaví přidáním kyseliny [22, 50]



Obr. 10 Syntéza PEG [50]

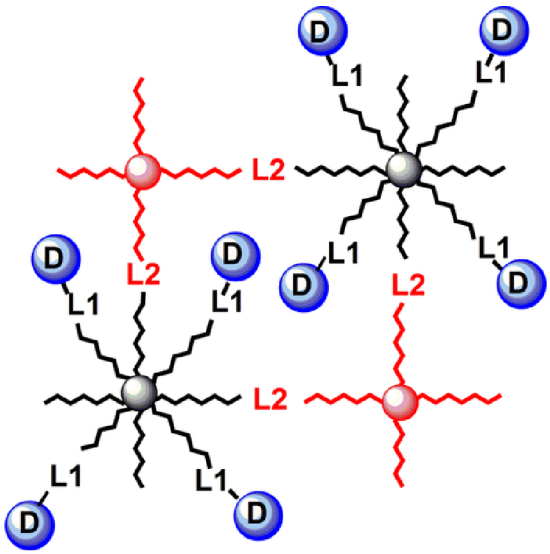
2.3.3 Využití

PEG má velmi široké spektrum využití v biomedicínských aplikacích, a to z důvodu jeho biokompatibility. Hydrogely z PEG se využívají v tkáňovém inženýrství pro regeneraci různých tkáních. Příkladem může být PEG hydrogel, který v sobě nese osteogenní látky pro podporu regenerace kostní tkáně [51]. Dále se PEG hydrogely využívají jako matrice pro řízené uvolňování léčiv [52]. Struktura polymeru umožňuje modifikaci koncových skupin, a to přináší nespočet výhod. Některé PEG deriváty mohou být citlivé na pH a mohou vytvářet hydrogely, které budou reagovat na změnu pH [51]. PEG je lék patřící do skupiny laxativ. V USA je dokonce schválen pro léčbu zácpy [53].

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

3.1 Příprava PEG hydrogelů

Ve studii [54] se autoři zaměřili na přípravu tetra-PEG hydrogelů, sloužících jako systém řízeného uvolňování léčiv. Hydrogel je složen ze dvou druhů polymerů. Čtyřramenného a osmiramenného PEG. Hydrogel obsahuje dva druhy speciálních linkerů, které jsou štěpitelné samovolně β-eliminační reakcí. První linker (L1) slouží k připojení léku a druhý (L2) je umístěn v každé křížové vazbě mezi osmiramenným a čtyřramenným PEG. Slouží ke kontrole biodegradace. Autoři se rozhodli využívat tento typ hydrogelů s linkery z důvodů předvídatelného způsobu uvolňování léčiva. Tetra-PEG hydrogely poskytují síť, která tvarem připomíná diamantovou mřížku a obsahuje minimální defekty v síti. Sítění mezi osmiramenným a čtyřramenným PEG zapříčiňuje reaktivní koncové skupiny, navíc čtyřramenný polymer obsahuje druhý typ linkeru, který zajistí štěpné místo pro následnou biodegradaci. Polymery spolu reagují za vzniku trojrozměrné sítě (Obr. 11). Autoři nejdříve zkusili použít osmiramenný PEG s molární hmotností 40 000 daltonů spolu s čtyřramenným PEG s molární hmotností 20 000 daltonů. Ovšem při připojování léčiva pomocí likeru L1 k osmiramennému PEG došlo k nahodilému připojování a vznikaly různé modifikace, které zapříčinily nehomogenitu sítě, jež však neměla vliv na uvolňování léčiva. Vliv měla pouze na biodegradaci vzniklého hydrogelu. K biodegradaci docházelo nepředvídatelným způsobem. Také se objevil problém s reprodukovatelností výsledků. Proto se autoři studie rozhodli použít místo molární hmotnosti 40 000 daltonů o polovinu nižší. Při připojování léčiva pomocí linkeru L1 k osmiramennému polymeru byl využit heterobifunkční konektor, který zapříčinil, že výsledný polymer obsahoval přesně čtyři vazby pro připojení linker L1 – léčivo a čtyři příčné vazby pro zesítění. Druhý čtyřramenný polymer obsahoval na každém rameni reaktivní spojovací skupinu spolu s linkerem L2. Po smíchání polymerů došlo k vytvoření kovalentních vazeb mezi čtyřmi spojovacími skupinami za vzniku Tetra-PEG hydrogelu, který byl homogenní. Takto vytvořené hydrogely slouží k dlouhodobému dodávání léčiv v řádů týdnů až měsíců.



Obr. 11 Tetra-PEG hydrogel; D znázorňuje přivázané léčivo a L1, L2 jsou linkery [54]

Ve studii [55] se autoři zaměřili na syntézu a charakterizaci chitosan-PEG hydrogelu připraveného Michaelovou adicí. Hydrogely na bázi chitosanu mají velké využití na poli biomedicínských aplikací z důvodu biokompatibility. Objevují se však i některé negativní vlastnosti jako je například špatná rozpustnost, náchylnost k degradaci pomocí enzymů nebo dlouhá doba gelace. Autoři studie studovali dobu gelovatění s nízkým obsahem hydrogelových prekurzorů. Aby došlo k reakci mezi čtyřramenným PEG a chitosanem musely být oba prekurzory modifikovány. Čtyřramenný PEG (molární hmotnost 10 000 daltonů) byl modifikován maleimidem s koncovou karboxylovou skupinou. Chitosan byl modifikován tak, aby obsahoval thiolovou skupinu. Modifikované prekurzory 4-arm-PEG-Mal a chitosan-SH byly rozpuštěny ve fosfátem pufrovaným fyziologickým roztoku (PBS) o pH 7,4. Maleimidové skupiny reagovaly s thiolovými skupinami za vzniku trojrozměrné sítě.

Pro charakterizaci doby gelace byly použity různé poměry a koncentrace obou prekurzorů. Hmotnostní procenta prekurzorů se pohybovala od 1 % do 4 % v různých kombinacích. Například roztok složený z 1 % 4-arm-PEG-Mal a 1 % chitosan-SH vůbec nevytvořil síť. Naopak roztok 4 % 4-arm-PEG-Mal a 4 % chitosan-SH zgeloval téměř okamžitě. Ovšem jako nejlepší označili autoři poměr 3 % 4-arm-PEG-Mal a 3 % chitosan-SH, který zgeloval během 10 sekund a rozhodli se ho použít k další analýze zaměřené na botnání. Lyofilizované vzorky byly ponořeny do PBS a byly ponechány botnat až do ustálení váhy. Po ukončení experimentu obsahoval hydrogel 60 % PBS.

Ve studii [56] se autoři zabývali přípravou PEGDA hydrogelů pomoc UV fotopolymerizace. Cílem práce bylo se zaměřit na index lomu PEGDA hydrogelů. Využili celkem tři různé molární hmotnosti 200, 400 a 600 Da. Jako iniciátor reakce byl využit 2-hydroxy-2-methyl-propiofenon (PI). Autoři se během přípravy také zaměřili na obsah PI, z důvodu jeho nízké biokompatibility. Vyzkoušená množství byla od 0,5 do 5 hm. %. Intenzita ozařování byla nastavena na 1 mW/cm^2. Ve všech případech stačilo vzorek ozařovat po dobu 10 minut. Aby došlo k vymytí zbytkových prekurzorů byly vzorky ponořeny na 24 hodin do vody. Vzniklé hydrogely s 0,5 hm. % PI byly velmi křehké, oproti tomu vzorky s 1 hm. % měly přijatelnou tuhost a zároveň nízkou koncentraci PI. Na základě toho se autoři rozhodli dále pracovat s koncentrací PI 1 hm.%. Dále se autoři studie zaměřili na intenzitu záření, která by mohla mít vliv na optické vlastnosti. Intenzita UV záření byla použita v rozmezí od 0,5 do 5 mW/cm^2. Se zvyšující se intenzitou index lomu stoupal. Ovšem při 5 mW/cm^2 index lomu mírně klesl, pravděpodobně kvůli částečné degradaci PEGDA. Zároveň vzorky připravené při intenzitě 5 mW/cm^2 měly nažloutlou barvu. Poslední analýza se zaměřila na dobu ozáření. Intenzita ozáření byla nastavena na 1 mW/cm^2 a bylo použito 1 hm. % PI. Při prodlužování ozařování po dobu 20 minut se hodnota indexu lomu snižuje jako v případě pozorování pro vysokou intenzitu záření. Výsledky této studie ukázaly možnost budoucího využití PEGDA hydrogelů jako optických materiálů.

3.2 Trendy ve vývoji semi-IPN hydrogelů

Vývoj semi-IPN hydrogelů jde neustále dopředu a vědci pořád přichází s novými možnostmi příprav, které zlepšují vlastnosti vzniklého hydrogelu. Autoři ve studii [57] připravili PEGDA hydrogel, do kterého byla interpenetrována síť hedvábného sericinu. Hydrogely byly připravovány radikálovou polymerací za použití persíranu amonného a kyseliny askorbové jako redoxního iniciačního systému. Proces gelace trval okolo 70 minut. Autoři připravili různé poměry sericinu a PEGDA, avšak nejlépe se osvědčil hmotností poměr 15/85 (sericin/PEGDA), který vykazoval maximální pevnost v tlaku 0,66 MPa. Tato hodnota

byla vyšší než u samotného hydrogelu PEGDA, ten měl pevnost v tlaku 0,52 MPa. Pro zjištění biokompatibility připravených semi-IPN hydrogelů bylo zvoleno testování cytotoxicity *in vitro* pomocí dermálních fibroblastů. Výsledky ukázaly, že hmotností poměr 15/85 (sericin/PEGDA) nevykazuje rozdíl v životaschopnosti buněk po 24 hodinách a ani po 48 hodinách. Připravený semi-IPN hydrogel je tedy vhodným kandidátem pro léčbu hojení ran.

Další přípravou semi-IPN hydrogelů pro řízené uvolňování léků při hojení ran se zabývali autoři studie [58]. Semi-IPN hydrogel obsahoval tři hlavní složky a to nanokrystaly celulózy (CNC), PEG a poly(N,N´-dimethylakrylamid) (PDMAA). V tomto případě PDMAA tvoří síť, která byla vytvořena za využití síťovacího činidla methylenbisakrylamidu. Polymerace byla podpořena přidáním persíranu draselného, který sloužil jako iniciátor reakce. CNC-PEG tvořil interpenetrující složku hydrogelu, která se připravovala ještě před samotným sítěním. Nejprve byl CNC prášek vložen do vodného roztoku obsahující 2 hm. % PEG a NaOH. Vzniklá disperze byla vložena do mrazáku na -10 °C na 24 hodin. Druhý den byla disperze 3 hodiny míchána při laboratorní teplotě, dokud nedošlo k úplnému rozpuštění a zprůhlednění systému. Dispergovaný CNC-PEG byl smíchán s monomerem dimethylakrylamidu a se síťovacím činidlem. Vznikly roztok byl umístěn do ledové lázně a následně byl přidán iniciátor. Vzniklá směs byla vložena do sušárny na 60 °C na dvě hodiny. Hydrogel ve formě filmu byl poté ještě vložen do lyofilizátoru. Takto vzniklé hydrogely byly použity na experiment s botnáním, ten ukázal, že hydrogel je schopný více botnat v destilované vodě než ve fosfátovém pufru. Rovnováha byla ustanovena po 5 hodinách. V destilované vodě lyofilizovaný hydrogel zvýšil svoji hmotnost o 605 %, ve fosfátovém pufru to bylo pouze 308 %. Samozřejmě autoři provedli i analýzu cytotoxického účinku za pomoci ledvinových fibroblastů z mláďat křečků. Po 48 hodinách nebyla pozorována žádná cytotoxicita hydrogelu. Uvolňování léku bylo pozorováno spektrofotometricky. Hydrogely byly ponořeny do roztoků gentamicinu o různých koncentracích. Po 24 hodinám byla měřena absorbance roztoku při vlnové délce 400 nm. Hodnoty poté byly porovnávány s hodnotami, které byly v roztocích naměřeny před vložením hydrogelu. Optimální účinnost plnění byla při koncentraci gentamicinu 100 mg/l a to 61,16 %. Z výsledků výzkumné práce je tedy patrné, že semi-IPN hydrogel (CNC/PEG/PDMAA) je vhodným kandidátem na léčbu hojení ran.

V další studii [59] se autoři zaměřili na přípravu semi-IPN hydrogelu na bázi alginátu pro řízené uvolňování hovězího albuminového séra a kyseliny 5-aminosalicylové. Hydrogel na bázi alginátu byl syntetizován pomocí radikálové polymerace. Aby došlo ke zlepšení mechanických vlastností k alginátu byl naroubován 2-hydroxyethylakrylát a zesíťován pomocí PEGDA. Autoři se rozhodli prozkoumat vliv různého přídavku PEGDA na vlastnosti hydrogelu. Mechanické vlastnosti byly analyzovány pomocí analyzátoru textury a výsledky ukázaly, že při vyšší koncentraci PEGDA je hydrogel tvrdší. Pomocí SEM byla zkoumána vnitřní struktura hydrogelu. Ze snímku bylo patrné, že při vyšším obsahu PEGDA byly póry menší. Je to zapříčiněno množstvím polymeru, čím více ho bude, tím více bude polymerizovat a póry budou menší. Vliv vyšší koncentrace PEGDA byl pozorován i v případě uvolňování hovězího albuminového séra a kyseliny 5-aminosalicylové. Rychlost uvolňování se zpomalovala s vyššími koncentracemi PEGDA. Je to zapříčiněno tvrdostí a velikostí pórů hydrogelu. Z výsledků studie je tedy patrné, že semi-IPN hydrogel na bázi alginátu je vhodným kandidátem pro dodávání léčiv.

Ve studii [60] se autoři zaměřili na přípravu semi-IPN hydrogelu složeného z 2-akrylamido-2-methylpropansulfonátu sodného (Na-AMPS) a poly(ε-kaprolakton)diolu (PCL) pro řízené uvolňování léčiv. Hydrogel byl syntetizován pomocí UV fotopolymerizace za využití PEGDA jako síťovacího činidla a 2-hydroxy-4'-(2-hydroxyethoxy)-2-methylpropiofenonu jako iniciátoru. Ve studii byl zkoumán vliv koncentrací PCL a PEGDA na vlastnosti hydrogelu. Příprava vypadala následovně, Na-AMPS byl smíchán PCL v různých koncentracích (0,10,30 a 50 hm. %) v 10 ml dimethylsulfoxidu. Směs byla 3 hodiny míchána, aby vznikla homogenní směs. Poté byl do roztoku přidán PEGDA opět v různých koncentracích (od 0,50 do 2,00 hm. %). Nakonec byl přidáno iniciátor v koncentraci 0,10 hm. %. Vzniklý roztok byl rozlit do petriho misek a vložen pod UV lampu (rozsah vlnových délek 315–400 nm) na 15 minut. Aby se hydrogel zbavil nezreagovaných částic, byl vložen na 3 dny do destilované vody, která se po 12 hodinách vždy měnila. Připravené hydrogely byly podrobeny testu botnání. Absorpce vody u všech připravených semi-IPN hydrogelů během první hodinu prudce rostla a poté se ustálila. Se zvyšujícím se obsahem PEGDA bylo množství absorbované vody menší v důsledku hustšího zesítění. Ovšem u obsahu PCL se tento trend neobjevoval. K výrazným změnám došlo pouze v případě začlenění 10 hm. % PCL do hydrogelu a v kombinaci s nejnižší koncentrací PEGDA byla absorpce vody nejvyšší. Autoři také dále zkoumali postupné uvolňování léčiva. Jako modelový lék byl použit ciprofloxacin, který byl do hydrogelu začleněn difúzí po syntéze. Ve studii byly použity tři různé koncentrace ciprofloxacinu (0,05, 0,15 a 0,25 mg/ml). Koncentrace PEGDA byla zvolena 0,75 hm. %. Po 24 hodinách byla změřena změna absorbance v roztocích ciprofloxacinu. Závěry byly takové, že s vyšším obsahem PCL difundovala více léčiva do hydrogelu, ale vůbec nezáleželo na počáteční koncentraci ciprofloxacinu. Takto připravené hydrogely s léčivem byly podrobeny experimentu uvolňování do připraveného roztoku PBS. Hydrogely s vyšším obsahem PCL zadržovaly léčivo více než ty s nižším obsahem. Tyto netoxické semi-IPN hydrogely jsou opět vhodnými kandidáty pro řízené uvolňování léčiv.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité chemikálie

- Polyethylenglykol diakrylát (M_w 575 Da), Sigma-Aldrich, CAS: 26570-48-9
- Polyethylenglykol diakrylát (M_w 4 kDa), Sigma-Aldrich, CAS: 26570-48-9
- Polyethylenglykol diakrylát (M_w 10 kDa), Sigma-Aldrich, CAS: 26570-48-9
- Polyethylenglykol diakrylát (M_w 20 kDa), Sigma-Aldrich, CAS: 26570-48-9
- Ethylenglykol-di-methakrylát, Sigma-Aldrich, CAS: 97-90-5
- Irgacure 2959, Sigma-Aldrich, CAS: 106797-53-9
- Peroxodisíran draselný, Fluka, CAS:7727-21-1
- Polystyrensulfonát sodný, Sigma-Aldrich, CAS: 25704-18-1
- Rhodamin 6G, Sigma-Aldrich, CAS: 989-38-8

4.2 Použité přístroje

- Lampa: Osram, HQL 125W, UVB
- Reometr: TA Instruments, AR–G2 Rheometer
- UV/VIS Spektrometr: Hitachi U-3900H
- Rastrovací elektronový mikroskop: ZEISS EVO LS 10
- Lyofilizátor: VirTis BenchTop K (Biotrade)
- Analytická váha
- Magnetická míchačka
- Magnetická míchačka s ohřevem
- Sušárna

4.3 Příprava vzorků

4.3.1 Optimalizace přípravy hydrogelů

Prvním krokem bakalářské práce bylo optimalizovat přípravu hydrogelů z polyethylenglykol diakrylátu (PEGDA). Příprava vycházela z bakalářské práce [61], která byla zaměřena na přípravu hydrogelů pomocí UV fotopolymerizace, ale jako polymer využívala 2-hydroxyethyl-methakrylát (HEMA). Jedná se o bezbarvou kapalinu, tudíž k optimalizaci přípravy PEGDA hydrogelů byl využit polymer s molární hmotností 575 Da, který je také v kapalném skupenství (popsáno v kapitole 2.3). Druhým způsobem přípravy byla termoiniciace za využití peroxodisíranu draselného (KPS) jako iniciátoru polymerizace. Rozdíly mezi oběma postupy přípravy jsou uvedeny dále.

UV fotopolymerizace

Při optimalizaci přípravy hydrogelů pomocí UV fotopolymerizace se jednotlivé složky (polymer PEGDA, deionizovaná voda, síťovací činidlo ethylenglykol-di-methakrylát (EGDMA)) smíchaly v různých poměrech. Po důkladném promíchání byl přidán iniciátor Irgacure 2959. Roztok byl přemístěn na Petriho misku (popřípadě do jamkových destiček), která byla vložena pod nahřátou UV lampu. Během optimalizace se měnil poměr všech složek

roztoku, doba polymerizace a v neposlední ředě i intenzita záření. Výsledky optimalizace jsou uvedeny v kapitole 5.1.1.

Termoiniciace

Příprava hydrogelů pomocí termoiniciace zahrnovala smíchání 1 ml PEGDA polymeru s 665 µl deionizované vody, se 4 µl síťovacího činidla EGDMA a iniciátorem KPS (použita různá množství). Vialka s reakční směsí byla vložena do vodní lázně, která byla umístěna na magnetické míchačce s ohřevem. Teplota byla nastavena na 65 °C. Roztok byl zahříván po dobu, než došlo k prvním viditelným změnám.

4.4 Přídavek polyelektrolytu

Do připraveného roztoku hydrogelového prekurzoru byl přidán polyelektrolyt polystyrensulfonát sodný (PSS), tak aby výsledná koncentrace v roztoku byla 0,01 %, zároveň nesměla být změněna koncentrace PEGDA polymeru v reakční směsi. Přídavek polyelektrolytu do hydrogelového prekurzoru byl uskutečněn se všemi molárními hmotnostmi PEGDA, který byly použity v této práci (viz. kapitola 4.1).

Příprava zásobního roztoku PSS

Zásobní roztok PSS byl připraven tak, aby výsledná koncentrace činila 1 g/l. Navážka 0,2 g PSS byla kvantitativně převedena deionizovanou vodou do reagenční láhve. Objem byl doplněn na 200 ml.

4.5 Charakterizace připravených hydrogelů

4.5.1 Botnání

PEGDA hydrogely byly podrobeny experimentu zpětného botnání. Připravené hydrogely byly zváženy a vloženy do předehřáté sušárny na 50 °C na 14 hodin. Po vysušení byl vzorek opět zvážen, aby došlo ke stanovení obsahu vody v připraveném hydrogelu. Po zvážení byla sušina hydrogelu vložena do kádinky s 25 ml deionizované vody. Kádinka byla přikryta parafilmem a vzorek zde byl ponechán 48 hodin. Po uplynutí doby byl hydrogel podroben dalšímu a poslednímu vážení, a to kvůli stanovení obsahu vody po zpětném botnání. Následně byly hydrogely zkoumány i po vizuální stránce (tvarové změny nabotnalého gelu, změna zbarvení). Tato analýza bylo provedena se všemi dostupnými molárními hmotnostmi polymerů PEGDA, a to s i bez přídavku PSS.

4.5.2 Reologie

Ke zkoumání mechanických vlastností připravených hydrogelů byla využita reologie. Měření bylo uskutečněno na přístroji zvaný reometr typu AR–G2 od společnosti TA Instruments. Pro charakterizaci hydrogelů byl vybrán amplitudový test, který se řadí mezi oscilační testy. Jako geometrie byla zvolena měřící soustava deska-deska, kde horní deska měla průměr 8 mm.

Měření vypadalo následovně, připravený vzorek hydrogelu byl nanesen na spodní desku. Horní deskou bylo sjeto, tak aby vznikla mezera 1000 µm (mezi horní a spodní deskou). Pokud při stlačení došlo k vyčnívání hydrogelu z geometrie, byl vzorek ořezán tak, aby okraje nepřečnívali senzor. Špatně nanesený vzorek by znamenal nepřesné měření. Na připravených vzorcích byl proveden amplitudový test s parametry jsou znázornění v následující tabulce (Tab. 1).

Tab. 1 Parametry reologického měření

Teplota [°C]	25
Frekvence oscilace [Hz]	0,1
Amplituda deformace [%]	0,01-1000
Počet bodů za dekádu	8

Výsledná data byla zpracovávána v programu MS Excel. Došlo k vynesení závislosti elastického G' a viskózního G'' modulu na amplitudě deformace. Dále také došlo k vynesení závislosti komplexního modulu G^* na amplitudě deformace. Z grafů byly vybrány průměrné hodnoty G^* v oblasti lineární viskoelasticity (LVO), ty poté byly vyneseny do sloupcových grafů. Dále byla určena amplituda deformace odpovídající hraničnímu bodu LVO. Tato hodnota byla opět vynesena do sloupcových grafů, aby došlo k porovnání mezi připravenými vzorky. Reologické měření bylo provedeno na všech hydrogelech připravených z různých molárních hmotností PEGDA, která byla k dispozici, a to s i bez přídavku PSS ve dvou opakování.

Reologie nabotnalých hydrogelů

Zpětně nabotnalé hydrogely byly také podrobeny měření mechanických vlastností. Příprava těchto hydrogelů je popsána v kapitole 4.5.1. K měření a vyhodnocování dat došlo stejně jako v kapitole 4.5.2. V tomto případě byly připraveny pouze vzorky o molárních hmotnostech 4 kDa a 10 kDa i s přídavkem PSS.

4.5.3 Rastrovací elektronová mikroskopie

Strukturní analýza hydrogelů byla uskutečněna za využití rastrovací elektronové mikroskopie. Aby vzorky mohli být analyzovány, musely být zbaveny vody, a to šetrným způsobem, jinak by mohlo dojít k poškození jejich vnitřní struktury. Připravené vzorky byly vloženy do kelímku a zality kapalným dusíkem. Po šokovém zmrazení byly vzorky vloženy do lyofilizátoru typu VirTis BenchTop K (Biotrade), kde docházelo ke sublimaci vody ze vzorku. Z vysušených vzorků byly vyříznuty reprezentativní části, které se pokryly tenkou vrstvou zlata a následně byly vloženy do rastrovací elektronového mikroskopu typu ZEISS EVO LS 10. Analýza probíhala v modu sekundárních elektronů (SE1) a urychlovací napětí bylo zvoleno 5,00 kV. Této analýze byly podrobeny všechny připravené hydrogely kromě molární hmotnosti 575 Da.

4.5.4 Transportní charakterizace

Pro charakterizace transportních vlastností hydrogelů byla využita desorpce. Sledovala se změna koncentrace roztoků, ve kterém byly hydrogely ponořeny. Příprava vzorků se od ostatních experimentů mírně lišila, protože během přípravy bylo do prekurzorového roztoku hydrogelu přidáno barvivo rhodamin 6G. Bylo ho inkorporováno takové množství, aby finální koncentrace v hydrogelu činila 0,1 g/l.

Příprava zásobního roztoku rhodaminu 6G

Byl připraven zásobní roztok rhodaminu 6G o koncentraci 1 g/l. Došlo ke smíchání 200 ml deionizované vody s navážkou barviva o hmotnosti 0,2 g. Takto připravený zásobní roztok byl využíván k inkorporaci do hydrogelů.

Kalibrační křivka

Aby bylo možné stanovit koncentraci rhodaminu 6G v roztoku, byla sestavena kalibrační křivka. Celkem bylo připraveno pět různých koncentrací roztoků rhodaminu 6G a to 0,005; 0,002; 0,001; 0,00075; 0,0005 g/l. Absorbance připravených roztoků byla změřena v rozmezí vlnových délek 300–800 nm a následně byla odečtena hodnota absorbance při vlnové délce 526 nm. Absorpční maxima roztoků poté byla vynesena v závislosti na koncentraci připravených roztoků.

Difúzní experiment

Připravené vzorky byly vloženy do kádinek s obsahem 15 ml deionizované vody. Kádinky byly zakryty parafilmem a umístěny na magnetickou míchačku a v roztok v nich byl míchán po dobu 80 hodin. Během této doby docházelo ve stanovených časech k odběru roztoku k měření absorbance na přístroji UV-VIS spektrofotometru typu Hitachi U-3900H. Po uplynutí 80 hodin byly kádinky sundány z magnetické míchačky a byly nechány v klidu dalších 136 hodin, během této doby také docházelo k odběru a měření roztoku v předem definovaných časech.

Měření probíhalo v rozmezí vlnových délek 300–800 nm po kroku 2 nm. Ze spektra byla poté odečtena hodnota absorbance při vlnové délce 526 nm (jedná se o absorpční maximum rhodaminu 6G). Analýze byly podrobeny všechny připravené hydrogely s i bez přídavku PSS.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Optimalizace přípravy PEGDA hydrogelů

5.1.1 UV fotopolymerizace

Prvním krokem bakalářské práce byla samotná optimalizace přípravy PEGDA hydrogelů. Vycházelo se, jak už je výše zmíněno, z bakalářské práce [61]. Cílem práce bylo také optimalizovat přípravu hydrogelů, ale jako polymer byl využit 2-hydroxyethyl-methakrylát. Výsledkem optimalizace byla následující receptura přípravy PHEMA gelů: objemový poměr 2:3 (deionizovaná voda:monomer), dále směs hydrogelového prekurzoru obsahovala 0,25 obj. % síťovacího činidla EGDMA a iniciátor polymerizace Irgacure 2959 v množství 1 % vztažené na obsah polymeru. Vzniklá směs byla přenesena na Petriho misku a vložena pod UV lampu s intenzitou 2,4 mW/cm^2 na 35 minut. V rámci optimalizační části mé bakalářské práce se vyzkoušel stejný postup, avšak místo HEMA polymeru byl využit polymer PEGDA.

Síťovaní hydrogelového roztoku prekurzoru bylo možné pozorovat hned po vložení Petriho misky pod UV lampu. Během pár vteřin došlo k úplnému zesítění. Výsledek experimentu (Obr. 12) spíše připomínal vzhledem a strukturou plast než hydrogel. Vzorky byly extrémně křehké a bylo těžké s nimi manipulovat, tak aby nedošlo k rozlomení, nicméně byly průhledné. Připravený vzorek byl vložen do kádinky s deionizovanou vodou, kde byl ponechán 3 dny. Ani po uplynutí této doby nedošlo ke změně vzhledu. Vzorek pouze nabotnal zanedbatelné množství vody.

Obr. 12 Vzorek připravený z objemového poměru 2:3 (voda:PEGDA)

Z pilotního experimentu bylo zřejmé využít větší množství vody, proto došlo k obrácení poměru ve prospěch vody (voda:PEGDA, 3:2). Po 10 sekundách od vložení Petriho misek pod UV světlo bylo možné pozorovat viditelnou polymerizaci (Obr. 13 vpravo). Doba polymerizace celkově trvala 10 minut. Výsledné vzorky byly velmi tuhé a zapáchaly typickou vůní akrylátů, což běžně připravené vzorky PEGDA hydrogelů nemají. Vzniklé hydrogely jsou zobrazeny na Obr. 13 vlevo. Vzhledem byly vzorky bílé a téměř neprůhledné.

Obr. 13 Vzorek připravený z objemového poměru 3:2 (voda:PEGDA) (vlevo); příklad tvorby shluků sítě (vpravo)

Na základě předešlého experimentu byl snížen objem síťovací činidla na polovinu (0,125 obj. %) aby nedošlo tak k hustému zesítění. Tento experiment proběhl v případě obou vyzkoušených poměrů, voda:PEGDA v poměru 2:3 a 3:2. Hydrogel s poměrem 3:2 (voda:PEGDA) vypadal shodně jako v předchozím případě, byl pouze o něco křehčí a nebyl tolik pružný oproti vzorku s vyšším obsahem EGDMA. U druhého hydrogelu s větším obsahem polymeru se změnila pouze doba polymerizace, začátek viditelné polymerizace byl v desáté sekundě od vložení Petriho misek pod UV lampu a po dvou minutách vzorek vypadal shodně jako vzorek s obsahem síťovacího činidla 0,25 obj. %.

Dále byl vyzkoušen i ještě nižší objem síťovacího činidla a to 0,06 obj. %. Objem byl použit v případě poměru 3:2 (voda:PEGDA), který se z předchozích experimentů jevil jako vhodný kandidát. Nic méně ani v tomto případě nenastala změna vzhledu a zápach po akrylátech byl i nadále velmi silný. Při manipulaci se vzorek docházelo k velmi častému lámání. V dalším experimentu došlo i ke snížení intenzity záření na 1,5 mW/cm^2, aby polymerizace nebyla během prvních minut tak intenzivní. Viditelná polymerizace začala po 35 sekundách od vložení Petriho misek pod UV lampu, avšak po 7 minutách byla lampa vypnuta, protože došlo k úplnému zesítění. Výsledný vzorek byl přilepen k Petriho misce a bylo obtížné ho vyjmout a dále s ním pracovat, proto došlo k úplnému rozlomení na malé časti. Vzhledově byl vzorek opět bílý a neprůhledný.

Další experiment se zaměřil na zvýšení obsahu vody ve vzorku. Na základě toho byly upraveny poměry mezi vodou a polymerem PEGDA. První poměr byl 3:1 (voda:PEGDA) a druhý 4:1 (voda:PEGDA). Objem síťovacího činidla byl zvolen na 0,25 obj. %. Intenzita záření UV světla byla nastavena na 2,4 mW/cm^2. Celkový čas polymerizace byl 10 minut. Na Obr. 14 jsou zobrazeny vzhledy vyhotovených vzorků. Oba měly bílé zbarvení, byly neprůhledné a nevyhlazené na povrchu. V případě poměru 3:1 (voda:PEGDA) zbylo v Petriho misce část nezreagovaného roztoku hydrogelového prekurzoru. Pravděpodobně tato nezreagovaná část byla způsobena velmi hustým zesítěním. Zápach po akrylátech byl v tomto

případě opravdu velmi intenzivní díky nezreagované části. Druhý poměr 4:1 (voda:PEGDA) byl křehčí, při manipulaci došlo k rozlomení vzorku. Zápach zde nebyl tolik silný.

Obr. 14 Vzorek 3:1 (voda:PEGDA) (vlevo); vzorek 4:1 (voda:PEGDA) (vpravo)

Kvůli dosud pozorované vysoké hustotě zesítění byl další experiment založen na snížení objemu síťovadla. Vybraný poměr byl 3:1 (voda:PEGDA). Vyzkoušené objemy síťovacího činidla byly 0,06 obj. % a 0,03 obj. %, při intenzitě UV záření 2,4 mW/cm^2. Vzorky byly ponechány pod UV lampou 10 minut. V obou případech byly vzorky po ukončení polymerizace tuhé a zapáchaly po akrylátech. Vzhledově byly shodné se vzorky připravené v předchozím experimentu, zaměřeném na zvýšení obsahu vody. Ovšem křehkost vzorků byla rozdílná. Se snižujícím se obsahem síťovacího činidla byla křehkost vyšší.

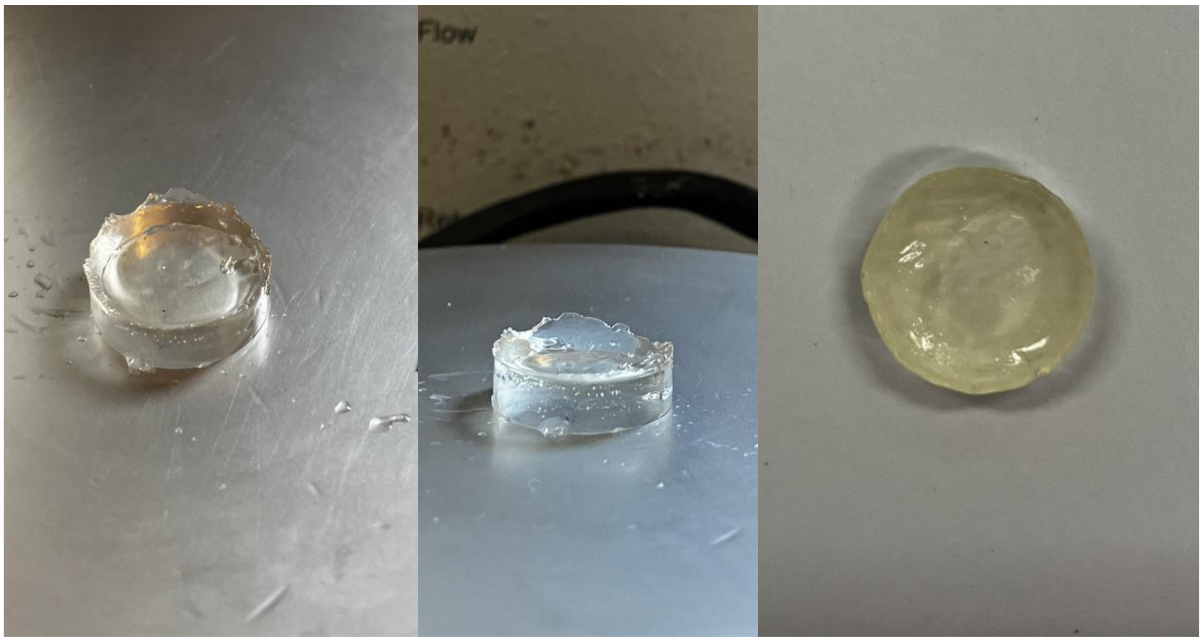
Až doposud se neměnilo množství iniciátoru Irgacure 2959. Ve všech experimentech bylo použito stejné množství, i když docházelo ke změně obsahu polymeru. Další experimenty se zaměřily na snížení obsahu iniciátoru na polovinu. Poměr byl zvolen 3:1 (voda:PEGDA), protože se stále jevil jako nejvíce nadějný. Zároveň se vyzkoušela i kombinace se snižováním obsahu síťovacího činidla. Vyzkoušené objemy EGDMA byly 0,06; 0,03; 0,02 a 0,01 obj. %. Intenzita záření byla snížena na 1,5 mW/cm^2, aby nedocházelo tak intenzivní polymerizaci během prvních minut pod UV lampu. Celková doba polymerizace byla prodloužena na 15 minut. Výsledný vzorek s obsahem 0,06 obj. % EGDMA a s polovičním množství iniciátoru byl shodný se vzorky s poměrem 3:1 (voda:PEGDA), u kterých nedošlo ke snížení množství iniciátoru. Ovšem vzorek s obsahem 0,03 obj. % EGDMA a polovičním množství Irgacure 2959, který je zobrazen na Obr. 15, byl ze všech čtyř vzorků, které se připravily v tomto experimentu, nejvíce průhledný. Nicméně připravený vzorek byl velmi tuhý a křehký. Opět bylo možné pozorovat trend v růstu křehkosti s nižším obsahem síťovacího činidla.

Obr. 15 Vzorek připravený z objemového poměru 3:1 (voda:PEGDA) s 0,03 obj. % EGDMA a polovičním množství iniciátoru

Následující experiment byl opět založen na zvýšení obsahu vody ve vzorcích, proto byl připraven 10% vodný roztok polymeru PEGDA. Na základě předchozích experimentů byl vybrán poměr, který měl nejvyšší transparentnost. Jednalo se o poměr 2:3 (voda:PEGDA), ovšem v tomto případě 2 díly byly tvořeny vodou a 3 díly byly tvořeny 10% vodným roztokem polymeru PEGDA. Obsah síťovacího činidla byl 0,25 obj. % a množství iniciátoru bylo stejné jako v pilotním experimentu, opět se vycházelo z původní myšlenky. Intenzita záření byla nastavena na 2,4 mW/cm^2. Roztok hydrogelového prekurzoru byl pod UV lampou ponechán 15 minut. Během pozorování průběhu polymerizace bylo zřejmé, že reakce není tak intenzivní. Po 4 minutách začal roztok v Petriho miskách pomalu gelovat a po 15 minutách vznikl hydrogel, který nebyl tolik opticky čistý, byl jemně zakalený (Obr. 16).

Obr. 16 Vzorek připravený v poměru 2:3 (voda:10% roztok PEGDA)

Tento způsob přípravy byl vyzkoušen se všemi molárními hmotnostmi, které byly k dispozici (4, 10 a 20 kDa). Rozdíl byl pouze ve skupenství polymeru, protože od molární hmotnosti 1000 Da je polymer pevná látka. V tomto případě byly 3 díly prekurzorového roztoku tvořeny 0,1 g polymeru, množství bylo rozmícháno v 1 ml deionizované vody na magnetické míchačce. Poté byly přidány ještě 2 díly deionizované vody. Objem síťovacího činidla a iniciátoru bylo shodné jako v předešlém případě (0,25 obj. % EGDMA a 1 % Irgacure 2959 vztažené na množství 10% roztoku PEGDA). Vzorky byly opět ponechány 15 minut pod UV lampou s intenzitou 2,4 mW/cm^2. I v tomto případě vznikly hydrogely (viz. Obr. 17). Opticky čiré byly hydrogely vytvořené z molární hmotnosti 4 a 10 kDa. Vzorek vytvořený z polymeru 20 kDa byl zabarven do jemné žluté barvy, ovšem to je způsobené délkou řetězce, protože PEGDA polymery, které mají molární hmotnost 20 kDa a vyšší jsou přirozeně zbarveny do jemné žluté barvy.



Obr. 17 Vzorek 4 kDa (vlevo); 10 kDa (uprostřed); 20 kDa (vpravo)

Nakonec ještě došlo k úpravě času polymerizace pod UV lampou. Čas byl prodloužen na 25 minut, a to z důvodů, aby došlo k zreagování co nejvíce polymerních řetězců mezi sebou a minimalizoval se výskyt nezreagovaných komponent ve vznikajícím hydrogelu. Kvůli šetření materiálu se přešlo z Petriho misek (průměr 3 cm) na jamkové destičky, které měly průměr 1,5 cm. Takto mohlo být na přípravu použito poloviční množství, zároveň byly vzorky dostatečné vysoké na další analýzy.

5.1.2 Termoiniciace

Jako další způsob přípravy byla využita termoiniciace pomocí peroxodisíranu draselného (KPS). Vycházelo z optimalizované přípravy pomocí UV fotopolymerizace pouze se změnil iniciátor reakce a jeho množství. I samotný postup přípravy se lišil. Do vialky se připravil optimalizovaný poměr 2:3, kde 2 díly byly tvořeny vodou a 3 díly byly tvořeny 10% roztokem PEGDA molární hmotnosti 575 Da. Dále bylo přidáno síťovací činidlo (0,25 obj. %). Nakonec byl přidán iniciátor polymerizace v množství 2,5 hm. %. Vzniklý roztok byl hodinu míchán ve vodní lázni, která byla umístěna na magnetické míchačce s regulovatelným ohřevem nastaveným na teplotu 55 °C. Po hodině nebyly na roztoku

viditelné žádné změny, proto došlo ke zvýšení teploty na 60 °C. I v tomto případě po hodině nenastaly žádné viditelné změny. Další zvýšení bylo na teplotu 65 °C a po 5 minutách došlo ke vysrážení PEGDA polymeru (Obr. 18). Na základě toho došlo ke snížení iniciátoru na 0,5 hm. %. Celý proces se opakoval shodně jako předtím, a i zde došlo k vysrážení polymeru při 65 °C

Obr. 18 Vzorek s 2,5 hm. % KPS

Dále byl navržen experiment, který měl za cíl zjistit, jestli má nějaký vliv obsah síťovacího činidla na vysrážení polymeru PEGDA. Celkem byly připraveny čtyři vzorky (KPS 2,5 hm. %. s obsahem i bez síťovacího činidla a KPS 0,5 hm. % s obsahem i bez síťovacího činidla). Vialky se vzorky byly vloženy opět do vyhřáté vodní lázně na 65 °C. Po 3 minutách byly vialky vytaženy z vodní lázně kvůli analýze. Obr. 19 zobrazuje fotku pořízenou po 3 minutách zahřívání, vlevo je vialka s EGDMA a vpravo bez něj. Vialka bez obsahu EGDMA byla méně zakalená, nicméně to bylo způsobené pravděpodobně pozdějším vložením do vodní lázně, protože po uběhnutí dalších 2 minut, došlo k vysrážení ve všech čtyřech vialkách. Na základě těchto experimentů se od tohoto způsobu přípravy upustilo.

Obr. 19 Vzorky (1S – s EGDMA; 2B bez EGDMA) po 3 minutách zahřívání na 65 °C

5.2 Přídavek polyelektrolytu do struktury hydrogelu

Jako polyelektrolyt byl použit polystyrensulfonát sodný (PSS). Bylo ho přidáno takové množství, aby finální koncentrace v hydrogelu byla 0,01 hm. % PSS byl přidán do optimalizové přípravy (poměr 2 díly voda a 3 díly 10% roztoku PEGDA, dále 0,25 obj. % EGDMA a 1 % Irgacure 2959 vztažené na obsah 10 % roztoku PEGDA). Gelace proběhla bez jakýkoliv změn, takže obsah PSS v množství 0,01 hm. %. nemá žádný vliv na průběh gelace. Vzniklé hydrogely byly vizuálně shodné s připravenými hydrogely bez přídavku polyelektrolytu. Tato příprava byla využívána v dalších analýzách, aby došlo k porovnání vlastností hydrogelů s přídavkem a bez přídavku polyelektrolytu.

5.3 Botnání

První analýza se zaměřila na zpětné botnání hydrogelů, které byly po přípravě zváženy a vloženy do sušárny vyhřáté na 50 °C na 14 hodin. Celkem byly připraveny čtyři hydrogely od každé molární hmotnosti, dva byly s přídavkem PSS a další dva byly bez přídavku polyelektrolytu. Příprava hydrogelů proběhla podle optimalizovaného způsobu uvedeného v kapitole 5.1.1. Přídavek polyelektrolytu byl proveden stejným způsobem jako v kapitole 5.2. Do jamkových destiček byl vždy napipetován objem 830 µl roztoku hydrogelového prekurzoru, aby se zajistila stejná velikost hydrogelů. Po dokončení polymerizace pod UV světlem byly vzorky podrobeny vážení, aby došlo ke stanovení obsahu vody. V Tab. 2 jsou uvedeny výsledky analýzy. Po přípravě mají hydrogely obsah vody okolo 92 až 93 %. Je zřejmé, že výsledky mezi různými molárními hmotnostmi musí být podobné, protože ke přípravě se využívá stejný objem vody. Další analýza proběhla po 48 hodinách od vloženi vysušeného hydrogelu do 25 ml vody. Hydrogel tvořený polymerem o molární hmotnosti 575 Da obsahoval pouze 88,84 % vody, což bylo nejméně ze všech. Pravděpodobně je to způsobené délkou řetězce, v porovnání s polymerem 20 kDa, který měl obsah vody 96,80 %. Čím kratší bude polymerní řetězec, tím hustší síť se vytvoří a při zpětném botnání absorbuje menší množství vody v porovnání s delším polymerním řetězcem. Tento trend je patrný i v Tab. 2, kde obsah vody stoupá s molární hmotností polymeru.

Tab. 2 Výsledky analýzy botnání bez přídavku polyelektrolytu

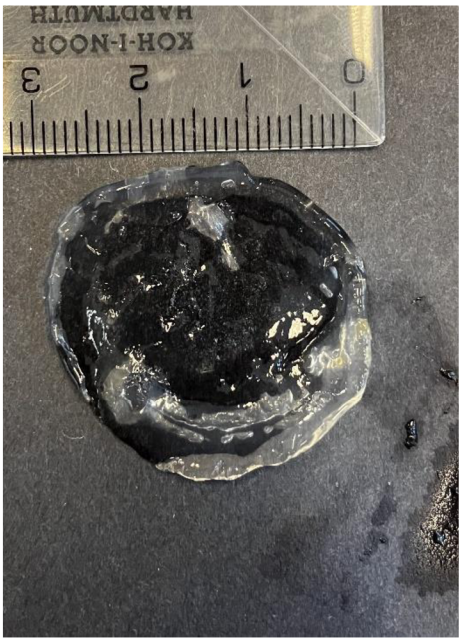
Polymer	Vzorek [g]	Sušina [g]	Obsah vody [%]	2 dny botnání [g]	Obsah vody [%]
575 Da	0,6892	0,04758	93,10	0,4264	88,84
4 kDa	0,6452	0,04900	92,39	0,6801	92,82
10 kDa	0,6735	0,05145	92,35	1,3133	96,08
20 kDa	0,6250	0,04325	93,07	1,3526	96,80

U hydrogelů s obsahem PSS proběhla analýza shodně jako bez přídavku polyelektrolytu. Obsah vody po přípravě byl opět shodný jako v předchozím případě. Ani po 48 hodinách botnání nedocházelo k výrazným změnám v obsahu vody. V Tab. 3 je možné opět vidět trend s růstem obsahu vody s rostoucí délkou řetězce polymeru.

Tab. 3 Výsledky analýzy botnání s přídavkem polyelektrolytu

Polymer	Vzorek [g]	Sušina [g]	Obsah vody [%]	2 dny botnání [g]	Obsah vody [%]
575 Da	0,6590	0,04611	93,00	0,4577	89,16
4 kDa	0,6715	0,04815	92,83	1,1043	95,63
10 kDa	0,5921	0,04030	93,19	1,2718	96,82
20 kDa	0,6662	0,04470	93,29	1,4999	97,02

Další analýza se zaměřila na změnu vzhledu a chování během procesu zpětného botnání. V případě polymeru 575 Da docházelo k anizotropickému botnání převážně v horizontálním směru. Došlo ke změně průměru hydrogelu z původní délky 1,5 cm na 2,1 cm. Barva hydrogelu v tomto případě zůstala bez změny. Ovšem při manipulaci docházelo k jeho rozpadu, protože hydrogel nebyl tolik pevný jako ostatní hydrogely složené z jiných PEGDA prepolymerů. U polymerů 4 kDa a 10 kDa nedocházelo k žádným výrazným změnám. U hydrogelu tvořený polymerem 20 kDa, který je zobrazen na Obr. 20, docházelo k botnání pouze v horizontálními směru. Průměr se změnil z 1,5 cm na skoro 3 cm. Docházelo i ke ztrátě zbarvení. Hydrogel sám o sobě byl velmi lepivý. Tato negativní vlastnost je způsobena nezesíťovanými polymerními řetězci na povrchu hydrogelu. Čím delší jsou tyto volné polymerní řetězce, tím adhezivnější hydrogel je.



Obr. 20 Vzorek 20 kDa po zpětném botnání

5.4 Reologie

5.4.1 Reologie připravených hydrogelů

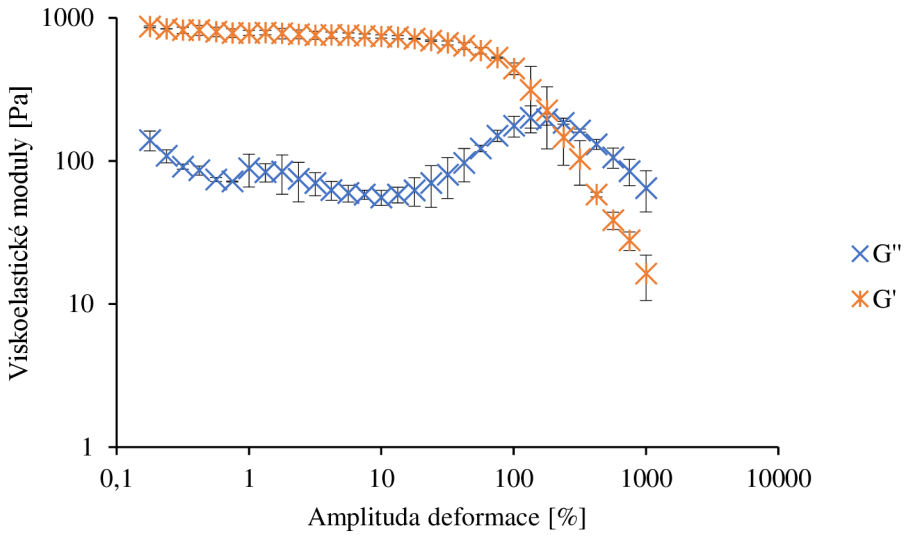
Hydrogely byly podrobeny testu na charakterizaci mechanických vlastností. Byl využit amplitudový test, aby došlo ke stanovení LVO oblasti spolu s hraničním bodem LVO, kdy dochází k nevratnému poškození sítě. Parametry nastavení jsou uvedeny Tab. 1. Test spočívá v měření závislosti elastického a viskózního modulu na zvyšující se amplitudě deformace při konstantní frekvenci. Pro pevné látky by měl být elastický modul vždy vyšší než viskózní. Charakterizované hydrogely měly vždy vyšší elastický modul než viskózní, což se očekávalo. Pokud by byl viskózní modul nad elastickým pravděpodobně by to poukazovalo na špatně zgelovaný vzorek. Je tedy možné konstatovat, že připravené vzorky jsou zcela zesítěné.

Na Obr. 21 si můžeme povšimnout, že v okolí amplitudy deformace 2 % dochází ke zvýšení viskózního modulu. Tato zvláštnost se objevuje pouze u hydrogelu z polymeru 575 Da. Pravděpodobně působením síly dochází v této oblasti vnitřnímu přeskupení některých vazeb, a to se projeví zvýšením viskozity. U polymerů 575 Da, 4 kDa a 10 kDa docházelo k zvyšování viskózního modulu, který dosáhne svého maxima a posléze klesá. To naznačuje tvorbu mikrotrhlin, které se zvětšují, a nakonec se spoji v jednu makrotrhlinu, která prochází celým vzorkem. Také u těchto polymerů docházelo k tzv. *crossoveru*, jedná se o překřížení elastického a viskózního modulu v oblasti mimo LVO.

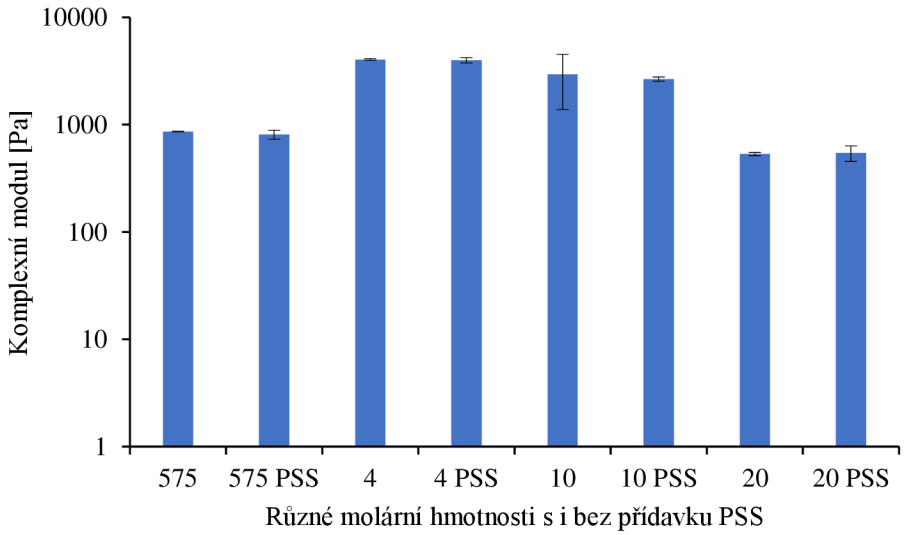
Průměrné hodnoty LVO byly určeny ze závislosti komplexního modulu G^* na amplitudě deformace. Tato závislost byla vybrána z toho důvodu, že komplexní modul charakterizuje celkovou tuhost vzorku. Tato série testů měla za úkol zjistit, jestli dochází ke změnám mechanických vlastností v rámci různých PEGDA polymerních řetězců a také jestli přídavek polyelektrolytu tuto vlastnost nějak závažně ovlivní. Srovnání komplexních modulů napříč molárními hmotnostmi je uvedeno na Obr. 22, je zřejmé, že přídavek polyelektrolytu v množství 0,01 hm. % neovlivňuje hodnotu komplexního modulu. Aby došlo k ovlivnění musela by se použít vyšší koncentrace PSS. Co se týče porovnání polymerů, tak polymery 4 kDa a 10 kDa mají hodnoty komplexního modulu o něco vyšší než polymery 575 Da

a 20 kDa. Pokud se omezíme pouze na hydrogely tvořené polymery 4, 10 a 20 kDa, je možné pozorovat trend poklesu komplexní modulu ve směru růstu délky polymerního řetězce. Je to způsobené vazbou mezi jednotlivými řetězci polymeru. Čím kratší je polymerní řetězec, tím hustší je síť a tím je gel také tužší. Ovšem tento trend není možné pozorovat v případě polymeru 575 Da. Zde pravděpodobně nedochází k úplné polymerizaci, a to se projeví snížením komplexního modulu. Tento vzorek už po přípravě působí velmi nekompaktně a je obtížnější s ním pracovat.

Dále u hydrogelů z polymeru 10 kDa bez přídavku PSS je v grafu (Obr. 22) možné pozorovat vyšší odchylku než u ostatních výsledků. Odchylka může být způsobena samotnou polymerizací. Pokud je vzorek během přípravy v jamkové destičce a dopadá na něj UV záření, může docházet k nerovnoměrné polymerizaci, kdy horní část může být hustěji síťována oproti dolní části vzorku.

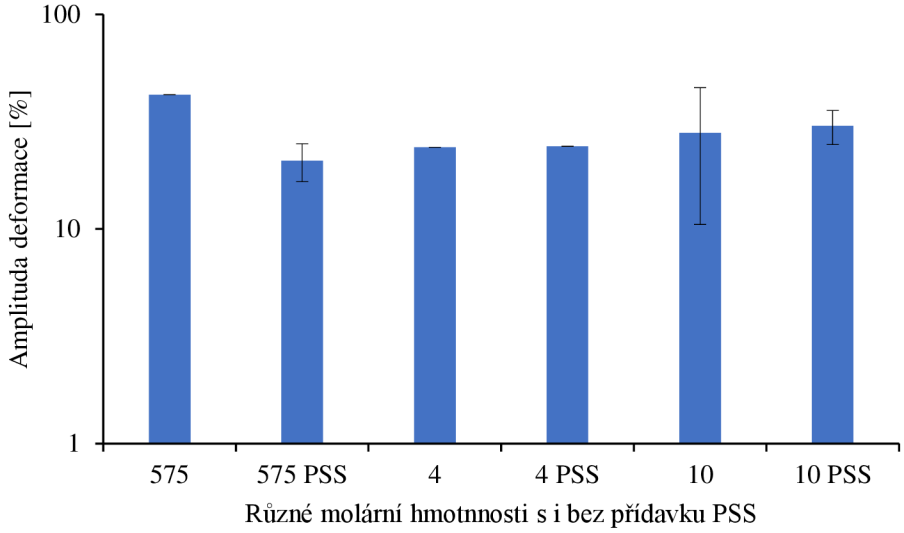


Obr. 21 Závislost viskoelastických modulů na amplitudě deformace (polymer 575 Da)

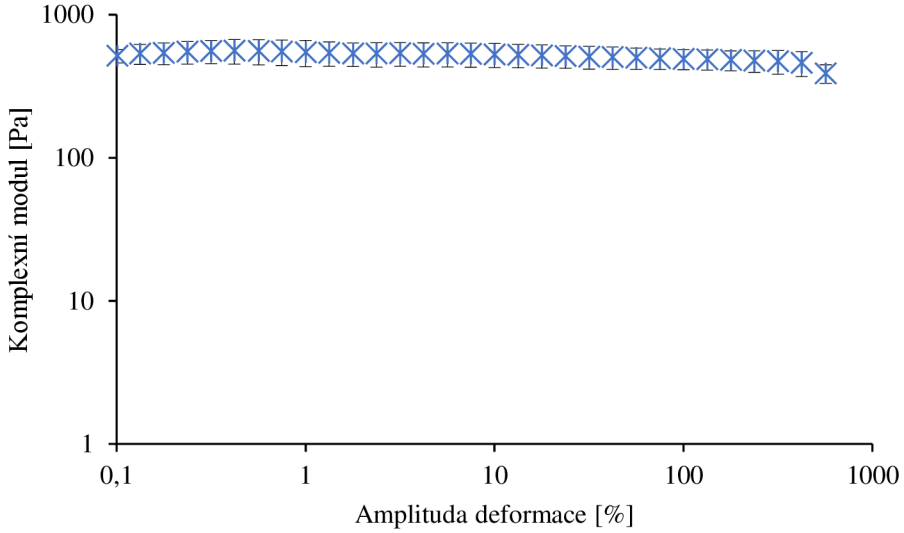


Obr. 22 Závislost průměrného komplexního modulu v LVO na molární hmotnosti polymerů s i bez přídavku PSS

Na Obr. 23 je zobrazena kritická amplituda deformace. Jedná se o hodnotu, při které dochází k nevratnému poškození sítě. Z grafu je možné usoudit, že tato veličina není příliš ovlivněna molární hmotností polymeru a tuto veličinu také neovlivňuje přídavek polyelektrolytu. Pouze v případě polymeru 575 bez přídavku PSS je hodnota nepatrně vyšší. V tomto případě je důležité si uvědomit, že mezi jednotlivými dekádami dochází k odečtu pouze 8 hodnot (viz. Tab. 1), tím pádem může docházet k nepatrným odchylkám. V grafu nejsou uvedeny hodnoty pro polymer 20 kDa, a to z toho důvodu, že u tohoto polymeru nedochází v rozmezí amplitudy deformace 0,001 – 1000 % k nevratnému kolapsu sítě. Tento fakt je možné pozorovat na Obr. 24.



Obr. 23 Závislost amplitudy deformace odpovídající hranici LVO na molární hmotnosti polymerů s i bez přídavku PSS



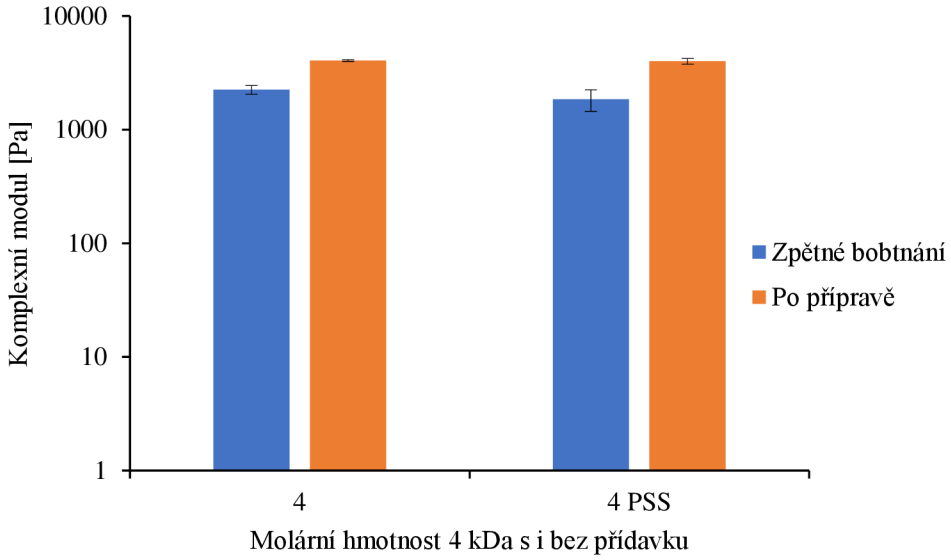
Obr. 24 Závislost komplexního modulu na amplitudě deformace (polymer 20 kDa)

5.4.2 Reologie zpětně nabotnalých hydrogelů

Tato série testů se zaměřila na zkoumání mechanických vlastností zpětně nabotnalých hydrogelů. Postup přípravy a charakterizace těchto hydrogelů je uvedena v kapitole 5.3. Testu byly podrobeny pouze 2 druhy polymerů a to 4 kDa spolu s 10 kDa (s přídavkem i bez přídavku PSS), protože v případě polymerů 575 Da a 20 kDa docházelo k botnání pouze v horizontálním směru. Výška hydrogelů byla natolik malá, že mezi senzorem reometru a hydrogelem byla viditelná mezera.

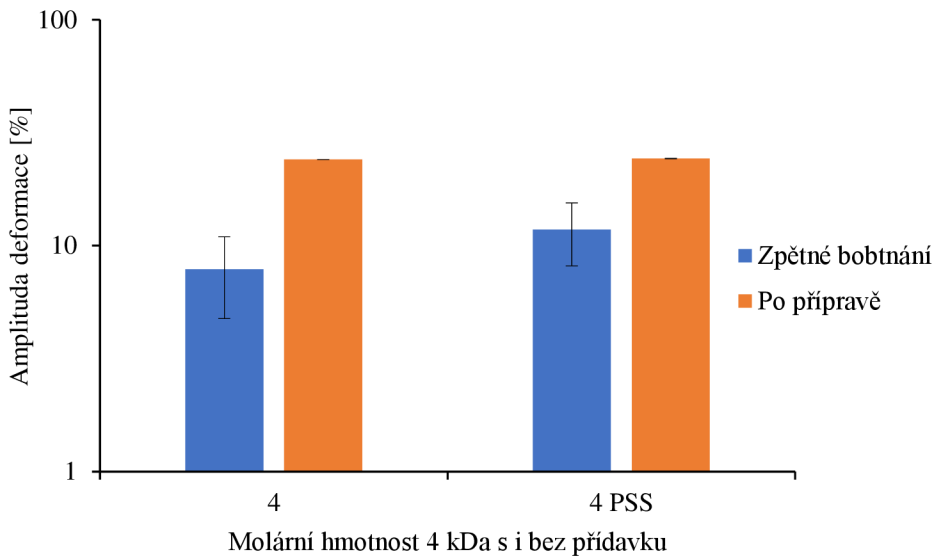
Opět byly hydrogely podrobeny amplitudovému testu, aby došlo ke stanovení LVO oblasti spolu s hraničním bodem LVO. Průměrné komplexní moduly v LVO byly poté vyneseny do sloupcových grafů. Dále také byly vyneseny hodnoty amplitudy deformace, kdy dochází k nevratnému porušení sítě.

Hydrogel z polymeru 4 kDa po zpětném botnání (48 hodin) obsahoval 92,56 % vody (počáteční obsah vody 92,36 %), u hydrogelu s přídavkem PSS to bylo 93,79 % (počáteční obsah vody 92,69 %). Na základě výsledků uvedených na Obr. 25 dochází k nepatrnému poklesu hodnot komplexního modulu. Tento pokles je opravdu nepatrný, protože obsah vody před a po botnání je téměř shodný v tomto případě.



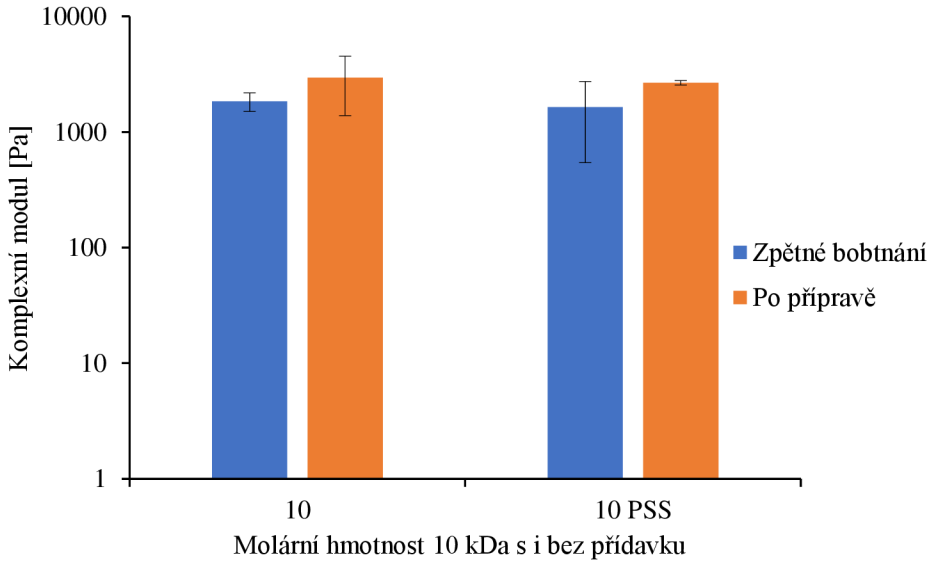
Obr. 25 Závislost průměrného komplexního modulu v LVO pro gely připravené z polymeru o molekulové hmotnosti 4 kDa při zpětném botnání a hned po přípravě

V případě kritické amplitudy deformace dochází také k poklesu hodnot po zpětném botnání (viz Obr. 26). Síť v procesu zpětného botnání prochází změnami, v prvé řadě je zbavena vody v sušárně, zde dojde k smrštění sítě. Poté je vložena zpět do vody a znovu se jí navrací její 3D charakter. Dle výše uvedeného postupu může dojít k poškození sítě, které se poté může projevit poklesem hodnot amplitudy deformace.

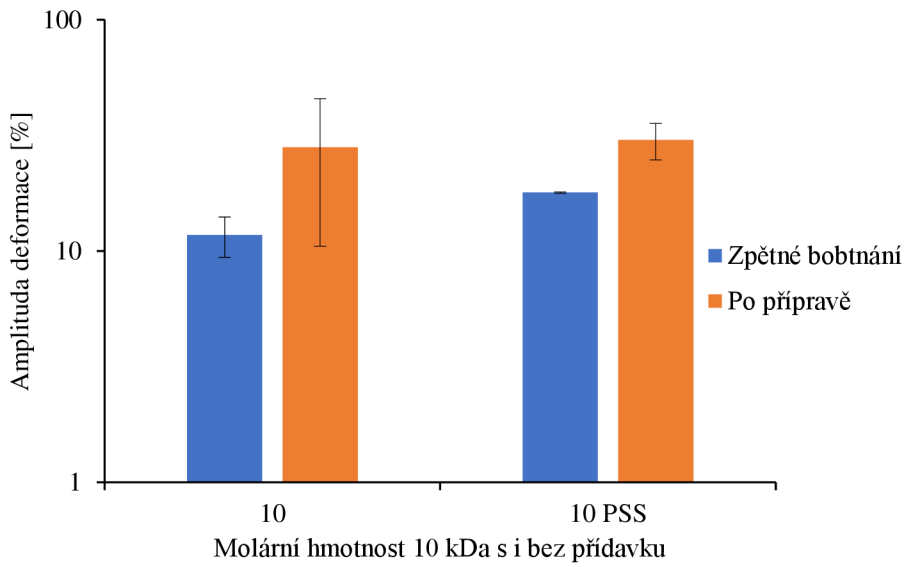


Obr. 26 Závislost amplitudy deformace odpovídající hranici LVO pro gel připravený z polymeru o molekulové hmotnosti 4 kDa při zpětném botnání a hned po přípravě

Hydrogel z polymeru 10 kDa po zpětném botnání (48 hodin) obsahoval 94,28 % vody (počáteční obsah vody 93,06 %), u hydrogelu s přídavkem PSS to bylo 95,67 % (počáteční obsah vody 93,13 %). V tomto případě už se obsah vody zvýšil, ale dle Obr. 27 ne tolik, aby to významně ovlivnilo hodnoty komplexních modulů, opět dochází pouze k nepatrnému poklesu. Na Obr. 28 dochází opět k poklesu hodnot amplitudy deformace vlivem zpětného botnání. I zde mohlo dojít k poklesu na základě změn struktury sítě v průběhu procesu zpětného botnání.



Obr. 27 Závislost průměrného komplexního modulu v LVO pro gely připravené z polymeru o molekulové hmotnosti 10 kDa při zpětném botnání a hned po přípravě

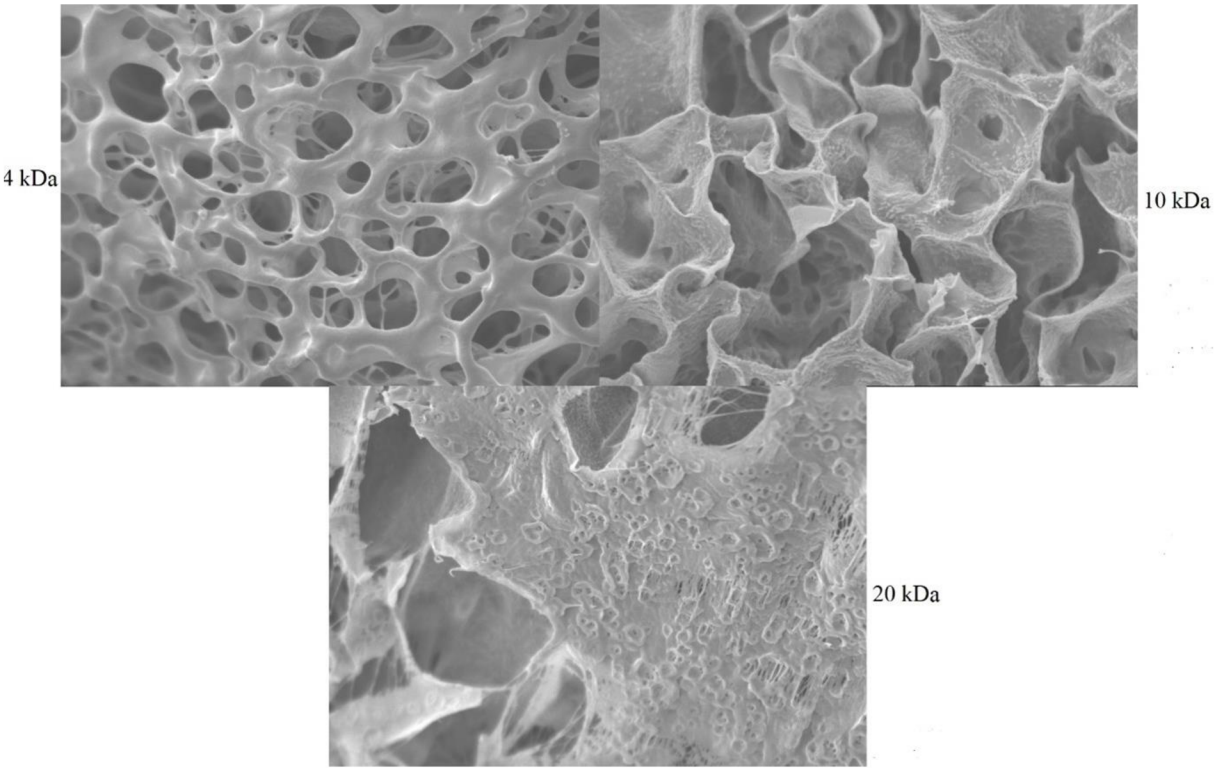


Obr. 28 Závislost amplitudy deformace odpovídající hranici LVO pro gely připravené z polymeru o molekulové hmotnosti 10 kDa při zpětném botnání a hned po přípravě

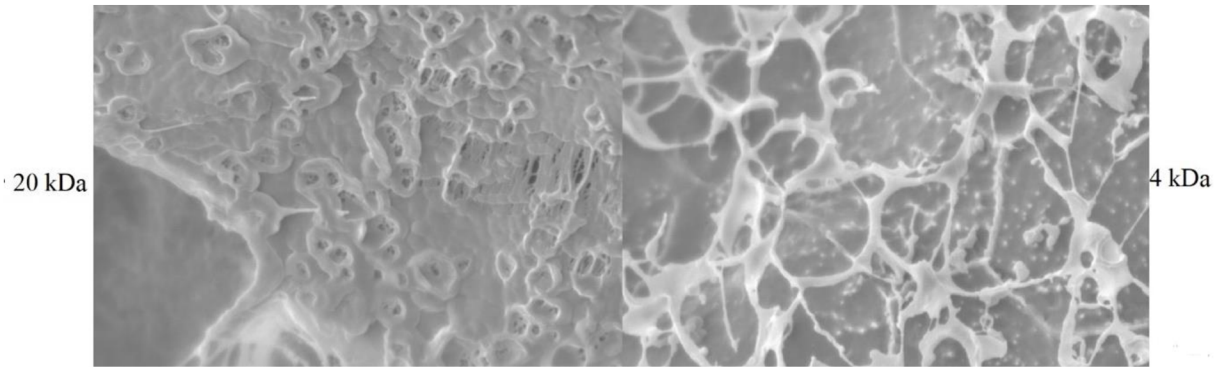
5.5 Rastrovací elektronová mikroskopie

Analýza vnitřní struktury hydrogelů byla provedena pomocí rastrovací elektronové mikroskopie (SEM). Cílem analýzy bylo porovnání reálné struktury hydrogelů vzniklých z různých molárních hmotností polymerů. Dále byl také zkoumán vliv přídavku polyelektrolytu (PSS) na vnitřní strukturu gelu. Aby došlo k zachování sítě hydrogelu v podobě co nejlépe odpovídající původnímu nabotnalému gelu, byl využit k mražení vzorku tekutý dusík. Pro analýzu byly vybrány tři molární hmotnosti PEGDA (4; 10 a 20 kDa), se kterými se počítá do další fáze výzkumu.

Obr. 29 zobrazuje porovnání vnitřní sktruktury hydrogelů napříč různými molekulovými hmotnostmi. Obrázek poukazuje na fakt, že velikost pórů není ani v jednom vzorku konstantní a vzorky tedy nejsou homogenní. V případě vzorku 4 kDa se velikost póru pohybuje v rozmezí 3–6 µm. U hydrogelu 10 kDa se velikost pórů jeví o něco větší v porovnání s 4 kDa, zhruba 10 µm. U vzorku 20 kDa je možné pozorovat poškození vzorku vlivem mražení a následného lokálního rozmrznutí, které se mohlo uskutečnit při transportu vzorků do lyofilizátoru. Tato skutečnost se poté projevila zánikem pórů ve struktuře, ovšem obrysy některých pórů zůstaly na povrchu viditelné (viz. Obr. 30 vlevo). Poškozená struktura se objevila i na některých místech hydrogelu z polymeru 4 kDa (viz. Obr. 30 vpravo). I zde došlo k zhroucení struktury vlivem mražení a následného lokálního rozmrznutí. Na povrchu je opět možné vidět pozůstatek sítě. K poškození struktur jsou náchylnější vzorky, které mají menší objem, v tomto testu docházelo k napipetování 830 µl roztoku vzorku do jamkové destičky. Je tedy zřejmé, že takto připravené vzorky budou náchylnější k poškození.

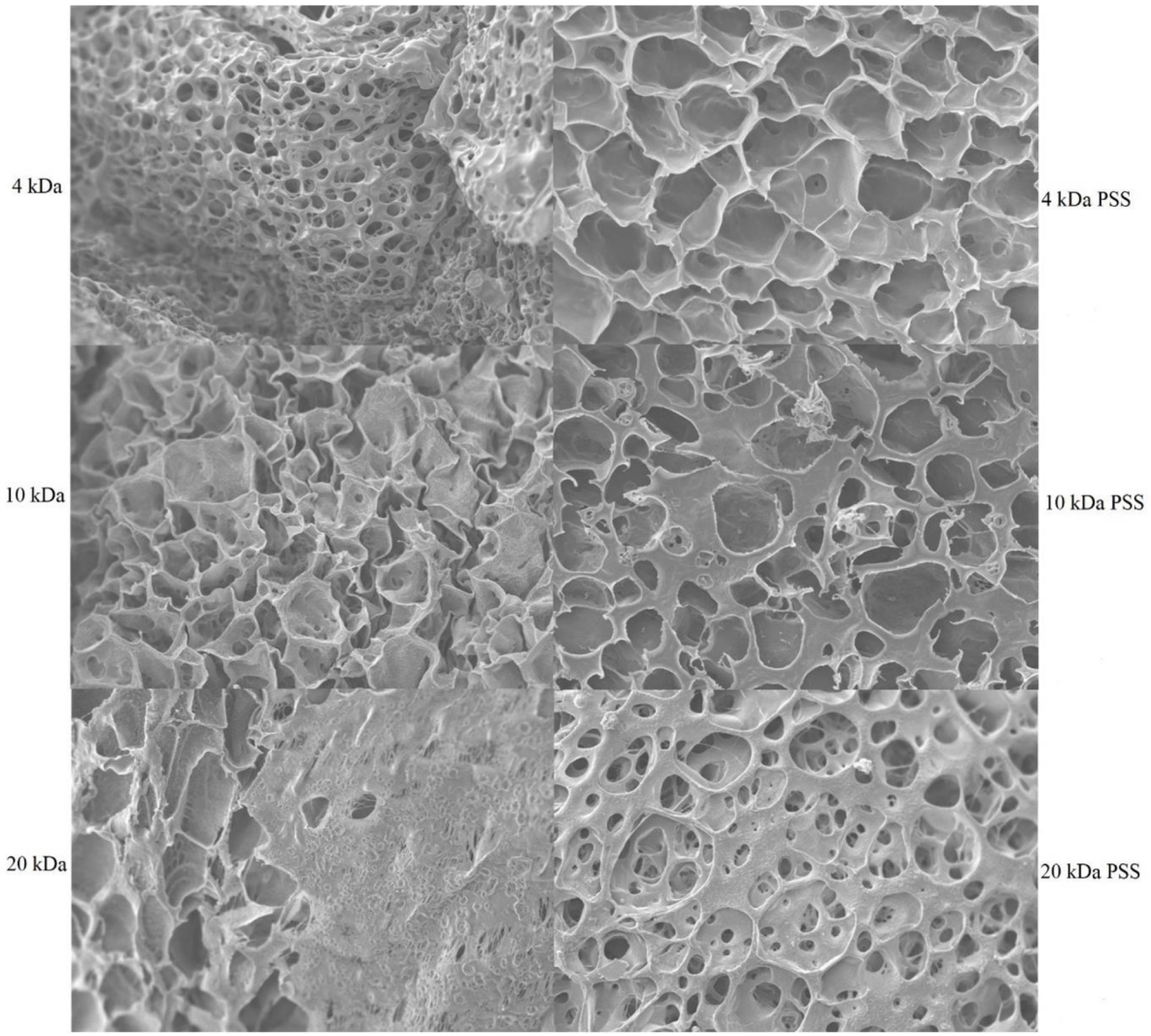


Obr. 29 Struktury hydrogelů připravených z různých molárních hmotností PEGDA; fotky byly pořízeny SEM; zvětšení 5000x



Obr. 30 Poškozená struktura hydrogelů 20 a 4 kDa; zvětšení 10 000x

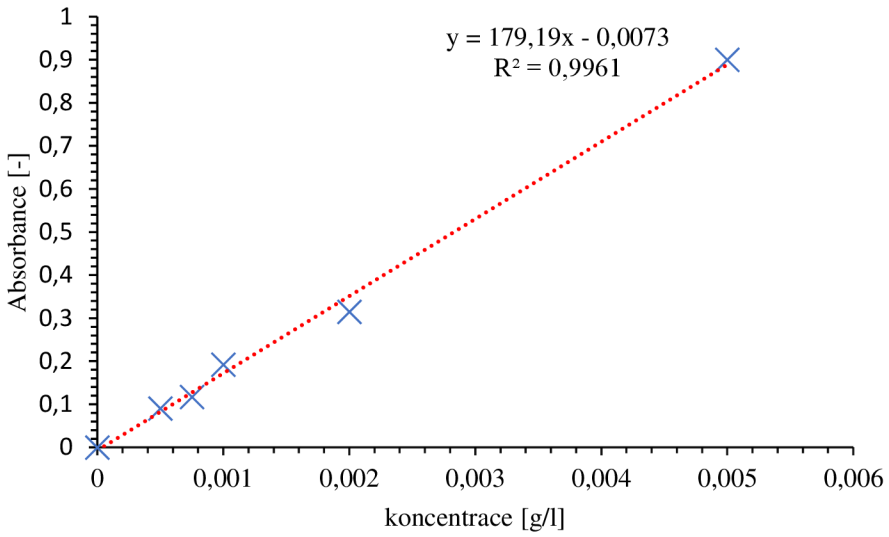
Na Obr. 31 je zobrazené porovnání struktury hydrogelů s přídavkem polyelektrolytu a bez něj. Hydrogely s přídavkem PSS mají také pórovitou vnitřní strukturu, která se nejeví jako homogenní. V případě vzorků 10 a 20 kDa nedochází k výrazným změnám struktury a velikosti pórů. Lze tedy konstatovat, že přídavek polyelektrolytu v množství 0,01 hm. % nemá vliv na strukturu hydrogelu. Ovšem u hydrogelu 4 kDa s přídavkem PSS došlo k zvětšení pórů, jejich velikost se pohybuje okolo 10–12 μm. U hydrogelu bez přídavku PSS se velikost pohybovala v rozmezí 3–6 μm. Tento viditelný nárůst velikosti pórů mohl být způsoben krystaly vody, které vznikly v průběhu mražení.



Obr. 31 Porovnání struktury hydrogelů s přídavkem PSS a bez něj; zvětšení 2000x

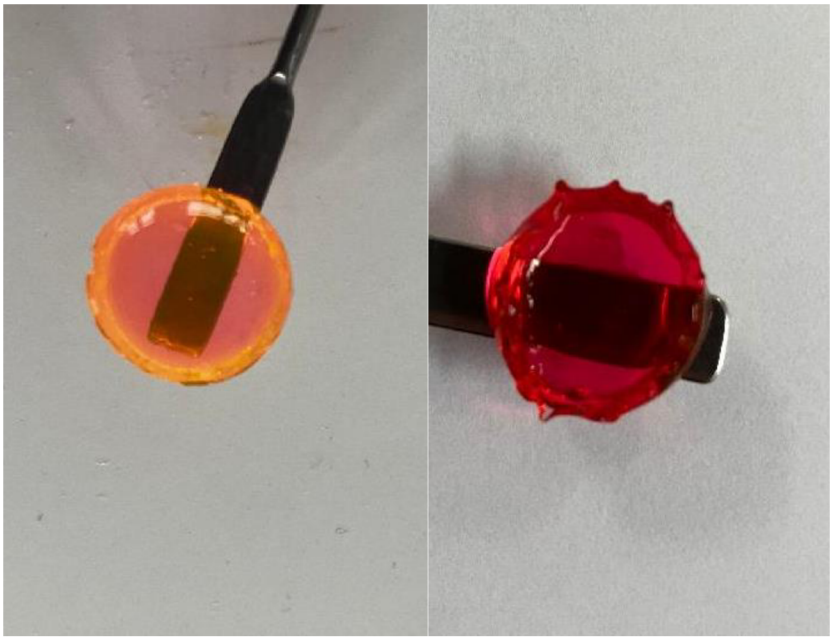
5.6 Transportní charakterizace

Transportní vlastnosti připravených hydrogelů byly zkoumána na základě difuzních experimentů. Cílem analýzy bylo prozkoumat vliv polyelektrolytu na rychlost uvolňování modelové látky. Jako transportovaná látka byl využit Rhodamin 6G, a to kvůli jeho snadné detekovatelnosti v rámci spektroskopických metod. Na začátku došlo ke sestrojení kalibrační křivky. Celkem bylo připraveno a proměřeno pět koncentrací roztoku Rhodaminu 6G (0,005; 0,002; 0,001; 0,00075; 0,0005 g/l.). Po změření absorbancí (rozsah 300–800 nm) připravených roztoků byla vynesena závislost absorbance při vlnové délce 526 nm na koncentraci (viz. Obr. 32). Kalibrační křivka byla sestrojena pro výpočet koncentrací Rhodaminu 6G během experimentu.



Obr. 32 Kalibrační křivka Rhodaminu 6G

Experiment byl založen na sledování změny koncentrace ve vznikající roztoku Rhodaminu 6G v kádince. Příprava vzorků zahrnovala inkorporaci barviva, tak aby finální koncentraci v hydrogelu byla 0,1 g/l. Inkorporace proběhla bez sebevětších problému. Vzniklé hydrogely byly čiré. Už hned po přípravě bylo možné pozorovat rozdíl mezi hydrogel bez přídavku PSS a s přídavkem. Na Obr. 33 je možné pozorovat rozdíl v barvách, hydrogel, který obsahuje PSS má tmavší zbarvení. Tento jev je způsobený interakcí mezí PSS, který má záporný náboj, a Rhodaminem 6G, který má kladný náboj.

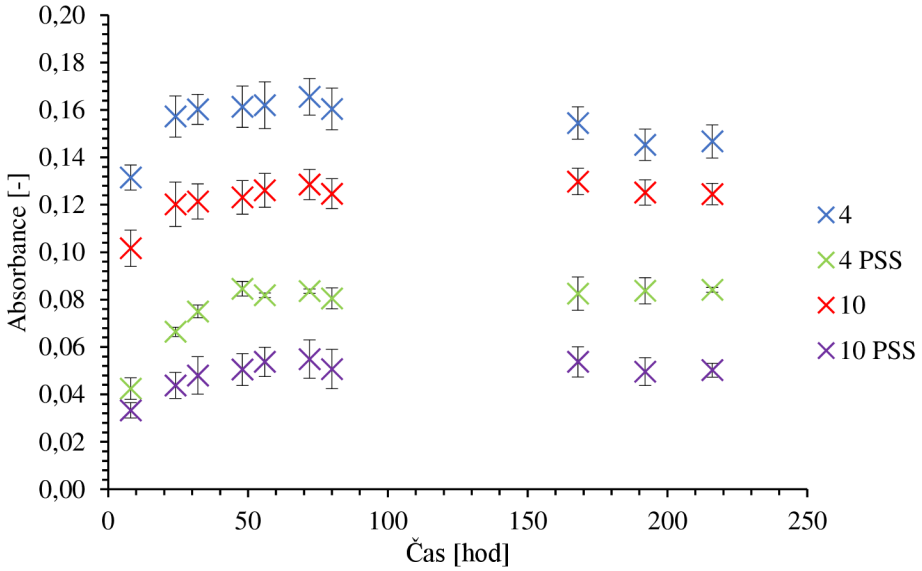


Obr. 33 Hydrogel s inkorporovaným Rhodaminem 6G bez přídavku PSS (vlevo); s přídavkem PSS (vpravo)

Připravené vzorky byly vloženy do kádinky s 15 ml deionizované vody. Předem určených časech docházelo k odebíraní a měření absorpčního spektra roztoku. Pro přehlednost grafů jsou výsledky měření uvedeny ve dvou grafech. První graf (Obr. 34) obsahuje výsledné hodnoty absorbance při 526 nm pro 4 a 10 kDa s přídavkem PSS i bez něj. Druhý graf (Obr. 35) obsahuje výsledky pro 575 Da a 20 kDa s přídavkem PSS i bez. Hned na první pohled je zřejmé, že hydrogely s přídavkem PSS zadržovaly barvivo více po celou dobu měření, a to všech připravených molárních hmotnostech. Je to způsobené elektrostatickou interakcí mezi Rhodaminem 6G a PSS. Tato interakce způsobí pomalejší difúzi barviva z hydrogelu ven do roztoku. Nejlépe zadržoval barvivo hydrogel z molární hmotnosti 10 kDa oproti zbývajícím hydrogelům s PSS. Je to způsobené délkou polymeru. Tento fakt platí v porovnání s hydrogely 575 Da a 4 kDa a tento trend je patrný i v přiložených grafech. Ovšem trend neplatí pro polymer 20 kDa, pravděpodobně je to způsobené vysokým botnání. V kapitole 5.3 jsou uvedené výsledky analýzy zaměřené na zpětné botnání hydrogelů a u hydrogelu z polymeru 20 kDa dochází k největšímu zpětnému botnání ze všech dostupných molárních hmotností. Tato specifická vlastnost tedy může způsobit zvýšení difúzního koeficientu, a to se projeví vyšším transportem barviva z hydrogelu do roztoku.

Co se týče průběhu uvolňování barviva, tak v případě polymerů 4 a 10 kDa i s přídavkem PSS dochází k růstu koncentrace roztoku po dobu 72 hodin, poté ovšem dochází k nepatrné zpětné resorpci barviva zpátky do hydrogelů a to se projevuje nepatrným snížením koncentrace roztoku. Poté dochází k rovnováze. Aby se tento fakt potvrdil, bylo provedeno měření ještě po 168, 192 a 216 hodinách. Výsledné hodnoty koncentrací jsou uvedeny v Tab. 4.

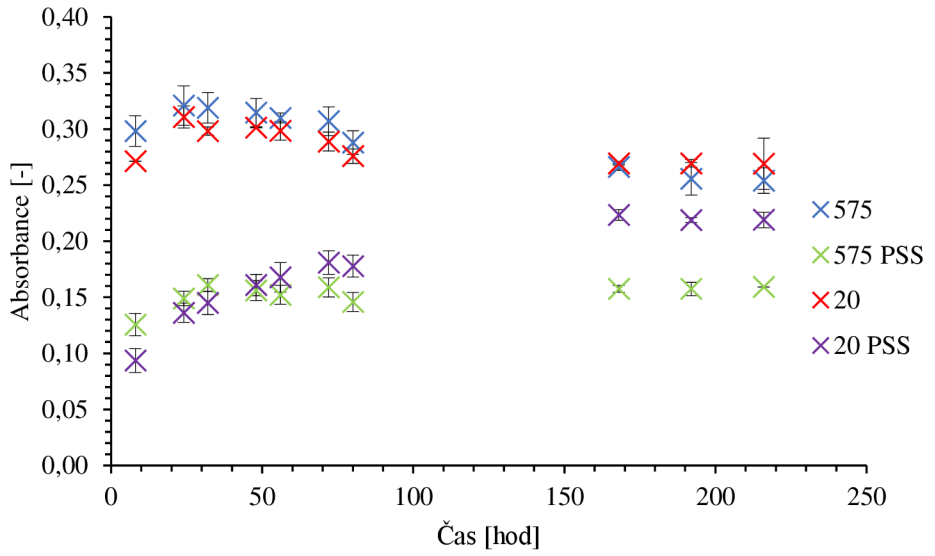
V případě polymerů 575 Da a 20 kDa jsou výsledky měření poněkud jiné oproti výše uvedeným výsledkům. U hydrogelů bez přídavku PSS došlo k velikému nárůstu koncentrace během 24 hodin od vložení do vody. I zde poté došlo ke zpětné resorpci barviva do hydrogelu a posléze také došlo k rovnováze. U hydrogelu z polymeru 575 Da s přídavkem PSS dochází ke zvyšování koncentrace během 32 hodin a poté do se hodnota nemění. Ovšem hydrogel z polymeru 20 kDa a přídavkem PSS dokázal zvyšovat svoji koncentraci v průběhu celých 80 hodin. Po provedení kontrolních měření ještě po 168, 192 a 216 hodinách je zřejmé, že i zde došlo k ustanovení rovnováhy. Hodnoty koncentrací jsou uvedeny v Tab. 5.



Obr. 34 Závislost absorbance na čase uvolňování Rhodaminu 6G do roztoku (4 a 10 kDa)

Tab. 4 Hodnoty koncentrace Rhodaminu 6G v roztoku (uvolňování z gelu připraveného z polymeru o molekulové hmotnosti 4 a 10 kDa)

Čas [hod]	4 kDa	4 kDa PSS	10 kDa	10 kDa PSS
	c [μg/l]	c [μg/l]	c [μg/l]	c [μg/l]
8	774,5975	277,6631	608,2252	226,6629
24	918,4535	411,3798	711,7446	285,0949
32	935,2510	459,4239	718,3205	308,6335
48	941,4395	512,9106	727,8892	322,5853
56	944,9482	497,2459	744,4836	340,5431
72	964,7294	507,0260	758,2145	347,1185
80	936,3008	490,2561	736,7479	323,7852
168	903,1203	501,3347	765,2594	340,5984
192	851,8162	507,9929	739,5107	317,7505
216	859,5964	510,2487	735,8167	321,0863



Obr. 35 Závislost absorbance na čase uvolňování Rhodaminu 6G do roztoku (575 Da a 20 kDa)

Tab. 5 Hodnoty koncentrace Rhodaminu 6G v roztoku (uvolňování z gelu připraveného z polymeru o molekulové hmotnosti 575 Da a 20 kDa)

Čas [hod]	575 Da	575 PSS	20 kDa	20 kDa PSS
	c [μg/l]	c [μg/l]	c [μg/l]	c [μg/l]
8	1 705,2824	741,8314	1 554,5196	562,7228
24	1 831,8436	871,7631	1 775,3113	800,9541
32	1 821,0136	938,9807	1 705,1442	848,9429
48	1 796,6239	911,1583	1 722,7153	938,8425
56	1 770,7870	890,2183	1 706,4151	976,9407
72	1 753,9343	927,1009	1 652,9561	1 050,6783
80	1 647,5963	854,7999	1 579,9582	1 033,0244
168	1 526,7540	919,9730	1 544,6289	1 287,4453
192	1 467,4379	918,9784	1 544,6289	1 262,1662
216	1 458,2656	928,7907	1 541,9767	1 262,9398

6 ZÁVĚR

Hlavním cílem bakalářské práce byla optimalizace přípravy polyethylenglykolových hydrogelů s následnou inkorporací semi-interpenetrující polymerní sítě do struktury a základní chemicko-fyzikální analýza těchto vzniklých hydrogelů. Celá práce je doplněna o literární rešerši zaměřující na PEG a využívané metody pro základní charakterizaci hydrogelů. Jako monomer pro tvorbu hydrogelů byl vybrán polyethylglykol diakrylát a to z důvodu netoxicity a širokého uplatnění na poli systému uvolňování léčiv. K dispozici byly čtyři různé molární hmotnosti (575 Da, 4, 10 a 20 kDa).

Prvním krokem byla optimalizace přípravy PEGDA hydrogelů. Na základě literární rešerše byla jako způsob přípravy vybrána UV fotopolymerizace. Při pilotním testu se vycházelo z dřívější práce, která byla zaměřena také na přípravu hydrogelů touto metodou. Optimalizace probíhala s polymerem 575 Da, a to z důvodů jeho skupenství. Dřívější práce prováděla přípravu s tekutou formou polymeru, proto byl zvolen tento polymer. Optimalizace se neobešla bez nepovedených pokusů. Nicméně po několika experimentech se podařilo optimalizovat přípravu nejen s polymerem 575 Da ale i s dalšími molekulovými hmotnostmi PEGDA. Vzhledově byly hydrogely z polymeru 4 a 10 kDa opticky čiré, zároveň byly měkké a kompaktní. U hydrogelu z polymeru 20 kDa jsou vlastnosti podobné, pouze barva hydrogelu je jemně žlutá. To je ovšem způsobené samotným zbarvením látky. Hydrogely z polymeru 575 Da se během všech experimentů vyskytly problémy. Sám o sobě není hydrogel čirý, ale je zakalený. Co se týče kompaktnosti, tak v průběhu analýz se několikrát stalo, že vzorek v jamkových destičkách nezpolymerizoval ani po prodloužením času syntézy. Na základě těchto výsledků bych doporučovala v další fázi výzkumu pracovat s polymery 4,10 a 20 kDa.

Dále byla vyzkoušena i příprava hydrogelů PEGDA pomocí termoiniciace, ale od tohoto způsobu přípravy se upustilo na základě získaných poznatků. Vždy došlo k vysrážení polymeru PEGDA v roztoku při zvýšené teplotě.

Po optimalizaci přípravy byla dalším milníkem inkorporace semi-IPN sítě do struktury hydrogelu. Jako polyeletrolyt byl vybrán polystyrensulfonát sodný (PSS), který se na FCH VUT využívá běžně jako semi-interpenetrující složka hybridních gelů. Tato inkorporace proběhla bez jakýkoliv problémů. Jako reprezentativní koncentrace polyelektrolytu byla vybrána 0,01 hm. %. Jedná se o koncentraci, která podle dřívějších výzkumu neovlivňuje mechanické vlastnosti hydrogelů, ale ovlivní pouze transportní charakteristiky. Aby se tento fakt potvrdil byla provedena řada experimentů.

Ke zkoumání základních chemicko-fyzikálních vlastností připravených hydrogelů bylo využito zpětné botnání, reologie, rastrovací elektronová mikroskopie a transportní charakteristiky, kde se sledoval transport barviva z hydrogelu ven do roztoku. Tyto metody poté sloužily k porovnání hydrogelů s přídavkem polyelektrolytu a bez něj. A díky různorodosti dostupných molárních hmotností došlo k porovnávání i mezi samotnými polymery PEGDA.

Jako základní charakteristika hydrogelů bylo využito zpětné botnání vysušených gelů. Cílem analýzy bylo prozkoumat schopnost připravených hydrogelů botnat po vysušení. Mezi hydrogely s přídavkem PSS a bez něj nejsou výsledky nějak odlišné, ovšem mezi samotnými polymery PEGDA ano. Po vyhodnocení výsledků bylo možné pozorovat trend růstu obsahu vody s rostoucí molární hmotností polymeru. Tento výsledek je způsobený různou hustou zesítění hydrogelů. Polymery s nižší molární hmotností mají tendenci vytvořit hustší síť oproti

polymerům s vyšší molární hmotností. Proto u polymeru 575 Da byl obsah vody po zpětném botnání nejnižší, a naopak u polymeru 20 kDa nevyšší. Během experimentu bylo možné pozorovat botnání pouze v horizontálním směru u polymerů 575 Da a 20 kDa. Tato negativní vlastnost poté znemožnila měření mechanických vlastností zpětně nabotnalých hydrogelů.

Charakterizace mechanických vlastností pomocí reologie sloužila k potvrzení predikovaných výsledků ohledně porovnání hydrogelů s přídavkem PSS a bez něj. Pro charakterizace byl využit amplitudový test, díky kterému došlo ke stanovení průměrných komplexních modulů ve viskoelastické oblasti (LVO), dále došlo k určení hraničního bodu LVO pomocí limitní amplitudy deformace. Získané výsledky potvrdily predikci neovlivnění mechanických vlastností přídavkem polyelektrolytu. Při porovnávání hydrogelů z různých molárních hmotností bylo možné pozorovat trend v poklesu komplexního modulu s rostoucí molární hmotností. Trend ovšem neplatil pro polymer 575 Da, v tomto případě byly hodnoty komplexních modulů nižší. Pravděpodobně to bylo způsobené nedokonalou polymerizací vzorků. Hodnoty limitní amplitudy deformace byly téměř shodné mezi polymery. Pouze v případě polymeru 20 kDa nedocházelo k trvalému poškození 3D sítě v rozsahu měření. Dále došlo k proměření mechanických vlastností i zpětně nabotnalých hydrogelů. Ale jak už je uvedeno výše, tato charakterizace proběhla pouze pro hydrogely z polymerů 4 a 10 kDa. Díky zpětnému botnání docházelo k nepatrnému poklesu komplexních modulů i limitní amplitudy deformace v porovnání s hydrogelem, který byl podroben měření hned po přípravě. Tento fakt mohl být způsoben nepatrným zvýšením obsahu vody v hydrogelu.

Rastrovací elektronová mikroskopie (SEM) byla využita ke charakterizaci vnitřní struktury hydrogelů. V porovnání hydrogelů s inkorporovaným polyeletrolytem a bez něj nedocházelo k výrazným změnám. Viditelná změna nastala pouze u polymeru 4 kDa, kde došlo k zvětšení pórů u přídavku PSS. Ovšem zvětšení póru mohlo být způsobeno rekrystalizací vody při přípravě vzorků pro SEM. Při porovnávání polymerů docházelo k zvětšení pórů u polymeru 10 kDa oproti 4 kDa. U polymeru 20 kDa bohužel došlo k zániku trojrozměrné sítě vliv mražení a rozmrznutí vzorku při přípravě pro SEM.

Poslední analýza se zaměřila na transportní charakteristiku hydrogelů. Byla zvolena příprava s inkorporací barviva Rhodaminu 6G přímo do hydrogelu během přípravy. Vzniklé hydrogely byly poté vloženy do vody, která byla v průběhu experimentu podrobena měření absorbance v předem definovaných časech. Výsledky měření ukázaly, že inkorporace polyelektrolytu ovlivňuje difúzi barviva. Díky interakci záporně nabitého PSS a kladně nabitého Rhodaminu 6G dochází k snížení difúze barviva. Z naměřených výsledků bylo možné pozorovat trend poklesu koncentrace vznikajícího roztoku ve směru růstu molární hmotnosti. Pouze hydrogel z polymeru 20 kDa tento trend nepodporoval, pravděpodobně to bylo způsobené zvýšením difúzního koeficientu vlivem botnání hydrogelu.

Z výše uvedených závěru lze tedy konstatovat, že hydrogely na bázi PEGDA polymerních sítí s inkorporovaným polyelektrolytem mají vysoký potenciál na poli řízeného uvolňování léčiv. V dalších experimentech by bylo dobré se zaměřit právě na hlubší popis transportních charakteristik.

7 POUŽITÁ LITERATURA

[1] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav* [online], verze 1.0. VŠCHT v Praze, 2005, poslední úprava: 2005 [cit. 2023-01-24]. ISBN 80–7080–579–X. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/obalka-1.html

[2] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. Základy koloidní chemie. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007. ISBN 978-80-244-1669-4

[3] Ahmed E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *Journal of advanced research* [online]. 2015, **6**(2), 105–121 [cit. 2023-02-01]. DOI: 10.1016/j.jare.2013.07.006. ISSN 2090-1232. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4348459/

[4] LIN, Chien-Chi a Andrew T. METTERS. Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2006, **58**(12-13) 1379-1408 [cit. 2023-02-01]. DOI: doi:10.1016/j.addr.2006.09.004. ISSN 0169-409X. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0169409X06001694?via%3Dihub

[5] LI, Yuhui, Guoyou HUANG, Xiaohui ZHANG, Baoqiang LI, Yongmei CHEN, Tingli LU, Tian Jian LU a Feng XU. Magnetic Hydrogels and Their Potential Biomedical Applications. *Advanced Functional Materials* [online]. 2012, **23**(6) 660-672 [cit. 2023-02-01]. DOI: 10.1002/adfm.201201708. ISSN 1616-301X. Dostupné z: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/adfm.201201708

[6] Raul Sun Han Chang, Johnny Ching-Wei Lee, Sara Pedron, Brendan A. C. Harley, a Simon A. Rogers. Rheological Analysis of the Gelation Kinetics of an Enzyme Cross-linked PEG Hydrogel. *Biomacromolecules* [online]. 2019, **20**(6) 2198–2206 [cit. 2023-02-01]. DOI: 10.1021/acs.biomac.9b00116. ISSN 1525-7797. Dostupné z: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/acs.biomac.9b00116

[7] ZHU, Junmin. Bioactive modification of poly(ethylene glycol) hydrogels for tissue engineering. *Biomaterials* [online]. 2010, **31**(17) 4639-4656 [cit. 2023-05-10]. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.02.044. ISSN 0142-9612. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961210002899?via%3Dihub

[8] NGUYEN-PHUONG-DUNG, Tran, Yang MING-CHIEN, Nur HASSANAH a Phuong Lan Tran NGUYEN. Effect of poly(ethylene glycol) methacrylate on the ophthalmic properties of silicone hydrogel contact lenses. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2022, **217** [cit. 2023-05-10]. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2022.112713. ISSN 0927-7765 Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927776522003964

[9] ROSIAK, Janusz M. a Fumio YOSHII. Hydrogels and their medical applications. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* [online]. 1999, **151**(1-4), 56-64 [cit. 2023-05-10]. DOI: 10.1016/S0168-583X(99)00118-4. ISSN 0168-583X. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168583X99001184

[10] DAVIDSON, Drew a Frank X. GU. Materials for Sustained and Controlled Release of Nutrients and Molecules To Support Plant Growth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* [online]. 2012, **60**(4), 870-876 [cit. 2023-05-10]. DOI:10.1021/jf204092h. ISSN 0021-8561. Dostupné z: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/jf204092h

[11] HARADHAN Kolya a Chun-Won KANG. Synthesis of starch-based smart hydrogel derived from rice-cooked wastewater for agricultural use. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2023, **226**. 1477-1489 [cit. 2023-05-10]. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2022.11.260 ISSN 0141-8130. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813022028197

[12] GULREZ, Syedd K. H., Saphwan AL-ASSAF a Glyn O PHILLIPS. Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications. *Progress in Molecular and Environmental Bioengineering* [online]. 2011, [cit. 2023-03-16]. DOI: 10.5772/24553. ISBN 978-953-307-268-5. Dostupné z: https://www.intechopen.com/chapters/17237

[13] RUBINSTEIN, Michael a Rakph H. COLBY. *Polymer physics*. In: Oxford: Oxford University Press, 2003, s. 199-201. ISBN 0-19-852059-X.

[14] MELDE, J. Brian, Brandy J Johnson a Paul T. Charles. Mesoporous Silicate Materials in Sensing. *Sensors* [online]. 2008, **8**(8), 5202-5228 [cit. 2023-05-11]. DOI: doi:10.3390/s8085202. ISSN 1424-8220. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/26548041_Mesoporous_Silicate_Materials_in_Sensing

[15] CHE NAN, Nur Fitrah. Norhazlin ZAINUDDIN a Mansor AHMED. Preparation and swelling study of CMC hydrogel as potential superabsorbent. *Pertanika J.* [online]. 2019, **27**(1), 489-498 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.47836/pjst. ISSN 2231-8526. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/332249886_Preparation_and_swelling_study_of_CMC_hydrogel_as_potential_superabsorbent

[16] HENNINK, W.E a C. F van NOSTRUM. Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2002, **54**(1) 13-36 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.1016/S0169-409X(01)00240-X. ISSN 0169-409X. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X0100240X?via%3Dihubr

[17] GACESA, Peter. Alginates. *Carbohydrate Polymers* [online]. 1988, **8**(3), 161-182 [cit. 2023-05-11]. DOI:10.1016/0144-8617(88)90001-X. ISSN 0144-8617. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/014486178890001X

[18] AHMADI, F., Z. OVEISI, S. Mohammedi SAMANI a Z. AMOOZGAR. Chitosan based hydrogels: characteristics and pharmaceutical applications. *Res Pharm Sci* [online]. 2015, 1-16 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.1016/0144-8617(88)90001-X. ISSN 2314-7253. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4578208/

[19] TORRES, Moises Bustamante, David ROMERO-FIERRO, Belén ARCENTALES-VERA, Kenia PALOMINO, Héctor MAGANA a Emilio BUCIO. Hydrogels Classification According to the Physical or Chemical Interactions and as Stimuli-Sensitive Materials. *Gels* [online]. 2021, **7**(4). 182 [cit. 2023-05-11]. DOI:10.3390/gels7040182. ISSN 2310-2861. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8628675/

[20] Tortora M., Cavalieri F., Chiessi E., Paradossi G. Michael-Type Addition Reactions for the In Situ Formation of Poly(vinyl alcohol)- Based Hydrogels, *Biomakromolekuly*. 2007; **8**(1). 209-214. [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.1021/bm0607269. ISSN 1526-4602. Dostupné z: https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bm0607269

[21] TOV, Ortal Yom-, Dror SELIKTAR a Havazelet Bianco-PELED. PEG-Thiol based hydrogels with controllable properties. *European Polymer Journal* [online]. 2016, **74**, 1-12 [cit. 2023-03-16] .DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2015.11.002. ISSN 0014-3057. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305715300434#b0025

[22] DUCHÁČEK, Vratislav. Polymery: výroba, vlastnosti, zpracování, použití. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1995. ISBN 80-7080-617-6.
[23] SCHEIGER, Johannes M. a Pavel A. LEVKIN. Hydrogels with Preprogrammable Lifetime via UV-Induced Polymerization and Degradation. *Advanced Functional Materials* [online]. 2020, **30**(26), 1616-3028 [cit. 2023-03-21]. DOI: 10.1002/adfm.201909800. ISSN 1616-301X. Dostupné z: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/adfm.201909800
[24] PETER, Mathew a Prakriti TAYALIA. An alternative technique for patterning cells on poly(ethylene glycol) diacrylate hydrogels. *RCS Advances* [online]. 2016, (47), [cit. 2023-03-21]. DOI: 10.1039/C6RA08852J. ISSN 2046-2069. Dostupné z: https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/ra/c6ra08852j/unauth
[25] COLASURDO, Mark, Elisa B. NIEVES, Marc A. Fernández-YAGÜE, Christian FRANCK a Andrés J. GARCÍA. Adhesive peptide and polymer density modulate 3D cell traction forces within synthetic hydrogels. *Biomaterials* [online]. 2022, **288** [cit. 2023-03-16]. DOI: 10.1002/adfm.201909800. ISSN 0142-9612. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961222003507
[26] SINGHALA, Reena a Kshitij GUPTA. Tailor-made Hydrogel Structures (Classifications and Synthesis Parameters. *POLYMER-PLASTICS TECHNOLOGY AND ENGINEERIN* [online]. 2015, **55**(1), 54-70 [cit. 2023-03-16]. DOI:10.1080/03602559.2015.1050520. ISSN 1525-6111. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/308033392_A_Review_Tailor-made_Hydrogel_Structures_Classifications_and_Synthesis_Parameters
[27] Ho, T. C., Chang, C. C., Chan, H. P., Chung, T. W., Shu, C. W., Chuang, K. P., Duh, T. H., Yang, M. H., & Tyan, Y. C. Hydrogels: Properties and Applications in Biomedicine. *Molecules* [online]. 2022, **27**(9) [cit. 2023-03-21]. DOI: doi:10.3390/molecules27092902. ISSN 1420-3049. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9104731/
[28] ZHANG, Yanyu a Yishun HUANG. Rational Design of Smart Hydrogels for Biomedical Applications. *Front. Chem* [online]. 2021. **8** [cit. 2023-04-01]. doi:10.3389/fchem.2020.615665. ISSN 2296-2646 Dostupné z: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fchem.2020.615665/full
[29] DRAGAN, Ecaterina Stela. Advances in interpenetrating polymer network hydrogels and their applications. *Pure Appl. Chem* [online]. 2014. **86**(11), 1707-1721 [cit. 2023-04-01]. DOI: 10.1515/pac-2014-0713. ISSN 1365-3075 Dostupné z: https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/pac-2014-0713/html?lang=en
[30] RUNGROD, Amlika, Apichaya KAPANYA Winita PUNYODOM, Robert MOLLOY, Anisa Mahomed a Runglawan SOMSUNAN. Synthesis and characterization of semi-IPN hydrogels composed of sodium 2-acrylamido-2-methylpropanesulfonate and poly(ε-caprolactone) diol for controlled drug delivery. *European Polymer Journal* [online]. 2022, **164** [cit. 2023-05-11]. DOI: doi:10.1016/j.eurpolymj.2021.110978 ISSN 0014-3057. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305721007126
[31] CUI, Li, Junfang JIA, Yi GUO, Yun LIU a Ping ZHU. Preparation and characterization of IPN hydrogels composed of chitosan and gelatin cross-linked by genipin. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2014, 31-38 [cit. 2023-05-11]. DOI: doi:10.1016/j.carbpol.2013.08.048 ISSN 0144-8617. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861713008321
[32] JIA, Junfang, Na-Young KO, A-Young SUNG a Pil Heon LEE. Study on Characteristic Changes of Contact Lenses According to Interpenetrating Polymer Network Time and Method Using Seaweed Polysaccharide. *Polymer(Korea)* [online]. 2021, **45**(5), 775-782 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.7317/pk.2021.45.5.775. ISSN 2234-8077. Dostupné z: http://journal.polymer-korea.or.kr/journal/archive/view/4180

[33] TRUDICOVA, Monika, Michal KALINA, Marcela SMILKOVA, Katerina ADAMKOVA, Kamila HRUBANOVA, Vladislav KRZYZANEK a Petr SEDLACEK. Multiscale Experimental Evaluation of Agarose-Based Semi-Interpenetrating Polymer Network Hydrogels as Materials with Tunable Rheological and Transport Performance. *Polymers* [online]. 2020, **12**(11) 2561 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.3390/polym12112561. ISSN 2073-4360. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7693122/

[34] KHALIL, H. P. S. Abdul, Esam Bashir YAHYA, Husnul Azan TAJARUDIN, Venugopal BALAKRISHNAN a H. P. S. Abdul KHALIL. Insights into the Role of Biopolymer-Based Xerogels in Biomedical Applications. *Gels* [online]. 2020, **8**(6), 334 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.3390/gels8060334. ISSN 2310-2861. Dostupné z: https://www.mdpi.com/2310-2861/8/6/334

[35] KREJSA, Martin, Lenka LAUSOVA a Vladimíra MICHALCOVÁ. *Pružnost a plasticita*. Ostrava: Technická univerzita Ostrava, 2012, s. 22-23

[36] HOLUBOVÁ, Renata. Základy reologie a reometrie kapalin. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2014. ISBN 978-80-244-4178-8

[37] Ronald G. LARSON. *The Structure and Rheology of Complex Fluids*. New York: Oxford University Press, 1999, s. 128. ISBN 0-19-512197-X.

[38] WILLENBACHER, Norbert a Kristina GEORGIEVA. *Rheology of Disperse Systems: Product Design and Engineering. Weinheim, Germany*: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., 2013. ISBN 978-3-527-33220-5. Dostupné z: http://doi.wiley.com/10.1002/9783527654741.ch1

[39] Thomas G. MEZGER. *Applied Rheology*. Austria: Anton Paar, 2014. ISBN 978-3-9504016-0-8.

[40] ZHOU, Weilie, Robert APKARIAN, Zhong Lin WANG a David JOY. Fundamentals of Scanning Electron Microscopy (SEM). *Scanning Microscopy for Nanotechnology* [online]. 2006, 1-40 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.1007/978-0-387-39620-0_1. ISBN 978-0-387-39620-0. Dostupné z: https://bpb-us-e1.wpmucdn.com/blogs.gwu.edu/dist/1/159/files/2017/06/SEM_fundamentals_UFAM-1rnfmit.pdf

[41] Rui ZHANG a Bret D ULERY. Synthetic Vaccine Characterization and Design. *Journal of Bionanoscience* [online]. 2018, **12**(1), 1-11 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.1166/jbns.2018.1498. ISSN 2191-1649. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/323446908_Synthetic_Vaccine_Characterization_and_Design

[42] PATERSON M. Stefan, Ylenina S. CASADIO. David H. BROWN, Jeremy A. SHAW, Traian V. CHIRILA a Murray V. BAKER. Laser scanning confocal microscopy versus scanning electron microscopy for characterization of polymer morphology: Sample preparation drastically distorts morphologies of poly(2-hydroxyethyl methacrylate)-based hydrogels. *Applied Polymer* [online]. 2012, **127**(6), 4296-4304 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.1002/app.38034. ISSN 1097-4628. Dostupné z: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/app.38034?casa_token=NJj8KhgpTd8AAAAA%3AsXYR9u7X-7ZTJoyY0GF441l72aEHgx2F0XzehxDqKtx_PmYZIFqVVk4DuRNMcGSdZcD7h2Qd-nUZLA

[43] CRANK, John. The mathematics of diffusion. 2d ed. Oxford, [Eng]: Clarendon Press, 1975, s. 1-4. ISBN 0198533446

[44] MARAGO, Onofrio M., Francesco BONACCORSO, Rosalba SAIJA et al. Brownian Motion of Graphene. *ACS Nano* [online]. 2010, **4**(12), 7515-7523 [cit. 2023-05-11]. DOI: doi.org/10.1021/nn1018126. ISSN 1936-0851. Dostupné z: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/nn1018126
[45] NOVÁK, Josef. Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008. ISBN 978-80-7080-675-3.
[46] ATKINS, Peter a Julio de PAULA. *Atkins Physical chemistry*. Eighth Edition. New York: Oxford University Press, 2006. s 772-776 ISBN 0-7167-8759-8.
[47] Polyethylene glycol. *Drugbank* [online]. Personal Health Analytics, 2015 [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: https://go.drugbank.com/drugs/DB09287
[48] Polyethylene glycol. *PubChem* [online]. National Center for Biotechnology Information, 2015 [cit. 2023-04-26] Dostupné z: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Polyethylene%20Glycol#section=General-References
[49] KLOSINSKY, Karol, Malgorzata GIREK, Radoslaw A. WACH a Renata CZECHOWSKA-BISKUP. *Progress on Chemistry and Application of Chitin and its Derivatives* [online]. 2017, **22**(82), 82-96 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.15259/PCACD.22.08. ISSN 1896-5644. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/320035440_Synthesis_and_potential_cytotoxicity_evaluation_of_carboxymethyl_chitosan_hydrogels
[50] THOMPSON, M.S., T.P. VADALA, M.L. VADALA, Y. LIN a J.S. RIFFLE. Synthesis and applications of heterobifunctional poly(ethylene oxide) oligomers. *Polymer* [online]. 2008, **49**(2), 345-373 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.1016/j.polymer.2007.10.029. ISSN 0032-3861. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032386107010257#fig2
[51] SUN, Shouye, Yutao CUI, Baoming YUAN, Minghan DOU et al. Drug delivery systems based on polyethylene glycol hydrogels for enhanced bone regeneration. *Front Bioeng Biotechnol* [online]. 2023 [cit. 2023-04-26]. DOI: 10.3389/fbioe.2023.1117647. ISSN 2296-4185. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9923112/
[52] LIN Chien-Chi a Kristi. S. ANSETH. PEG Hydrogels for the Controlled Release of Biomolecules in Regenerative Medicine. *Pharmaceutical Research* [online]. 2009, **26**(3), 631-643 [cit. 2023-05-11]. DOI:10.1007/s11095-008-9801-2. ISSN 0734-8741. Dostupné z: https://link.springer.com/article/10.1007/s11095-008-9801-2
[53] DABAJA, Amani, Ali DABAJA a Malak ABBAS. Polyethylene Glycol. *National Library of Medicine* [online]. Rockville Pike, 2022 [cit. 2023-05-11]. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557652/
[54] HENISE, Jeff, Brian R. HEARN, Gary W. ASHLEY a Daniel V. SANTI. Biodegradable Tetra-PEG Hydrogels as Carriers for a Releasable Drug Delivery System. *Bioconjugate Chemistry* [online]. 2015, 270-278 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.1021/bc5005476. ISSN 1520-4812 Dostupné z: https://pubs.acs.org/doi/full/10.1021/bc5005476?casa_token=77ptVQZkzTQAAAAA%3AovaOtOhwGQ1sK22q2018IabNCjcEj6uuab-kR9TDmPu--qG5Kb6oUUDJEnfwHsEhbGOHMbf8cBkHCvg
[55] Song JIANG a Monalisa MOHANTY. Synthesis and characterization of a novel biocompatible, non-toxic, and fast-gelling chitosan-PEG hydrogel based on Michael addition. [online]. 2023 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.26434/chemrxiv-2023-s233k-v2. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/369723049_Synthesis_and_characterization_of_a_novel_biocompatible_non-toxic_and_fast-gelling_chitosan-PEG_hydrogel_based_on_Michael_addition/link/6429314866f8522c38ef5c0e/download

[56] ZHANG, Zhi Feng, Xinxian MA, Haibin WANG a Fei YE. Influence of polymerization conditions on the refractive index of poly(ethylene glycol) diacrylate (PEGDA) hydrogels. *Applied Physics* [online]. 2018, **124**, 282-283 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.1007/s00339-018-1713-3. ISSN 0021-8979. Dostupné z: https://link.springer.com/article/10.1007/s00339-018-1713-3
[57] PUNYAMOONWONGSA, Patchara, Supattra KLAYYA, Warayuth SAJOMSANG, Chanikarn KUNYANEE a Sasitorn AUEVIRIYAVIT. Silk Sericin Semi-interpenetrating Network Hydrogels Based on PEG-Diacrylate for Wound Healing Treatment. *International Journal of Polymer Science* [online]. 2019, [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.1155/2019/4740765. ISSN 1349-0540. Dostupné z: https://www.hindawi.com/journals/ijps/2019/4740765/
[58] AFRIN, Samia, Md. SHAHRUZZAMAN, Papia HAQUE, et al. Advanced CNC/PEG/PDMAA Semi-IPN Hydrogel for Drug Delivery Management in Wound Healing. *Gels* [online]. 2022, **8**(6) [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.3390/gels8060340 ISSN 2310-2861. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9222527/
[59] DAS, Dipankar, Hien Thi Thu PHAM, Seongho LEE a Insup NOH. Fabrication of alginate-based stimuli-responsive, non-cytotoxic, terpolymric semi-IPN hydrogel as a carrier for controlled release of bovine albumin serum and 5-amino salicylic acid. *Materials Science and Engineering: C* [online]. 2019, 42-53 [cit. 2023-05-11]. DOI: 10.1016/j.msec.2018.12.127. ISSN 0928-4931. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928493118309408?via%3Dihub
[60] RUNGROD, Amlika, Apichaya KAPANYA, Winita PUNYODOM, Robert MOLLOY, Anisa MAHOMED a Runglawan SOMSUNAN. Synthesis and characterization of semi-IPN hydrogels composed of sodium 2-acrylamido-2-methylpropanesulfonate and poly(ε-caprolactone) diol for controlled drug delivery. *European Polymer Journal* [online]. 2022 [cit. 2023-05-11]. DOI:10.1016/j.eurpolymj.2021.110978 ISSN 0014-3057. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014305721007126?casa_token=QIuDof9SynsAAAAA:3MxpkVUQVF3ZrOl7u4obeFobs5sCKKKw9IaL63mBqzh-o56ImXK8XWccEOayBalHp6eF9RofbA
[61] PAPEŽÍKOVÁ, H. Příprava, charakterizace a aplikační potenciál hydrogelů na bázi (semi)interpenetrovaných polymerních sítí. Brno 2019: Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Petr Sedláček.

8 SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

8.1 Seznam zkratek

PEG	polyethylenglykol
PEGDA	polyethylenglykoldiakrylát
EGDMA	ethylenglykol-di-methakrylát
IPN	interpenetrované polymerní sítě
Semi-IPN	semi-Interpenetrované polymerní sítě
SEM	rastrovací elektronová mikroskopie
UV	ultrafiaolová oblast
VIS	viditelná oblast
PSS	polystyrensulfonát sodný
KPS	peroxodisíran draselný
LVO	lineární viskoeleastická oblast

8.2 Seznam symbolů

Q	stupeň botnání
σ	normálové napětí
E	Youngův modul pružnosti
ε	relativní prodloužení
τ	smykové napětí
η	dynamická viskozita
F	síla
A	konstantní plocha
γ	smyk
$\dot{\gamma}$	smyková rychlost
J	difúzní tok
D	difúzní koeficient
G'	elastický modul
G''	viskózní modul
G^*	komplexní modul

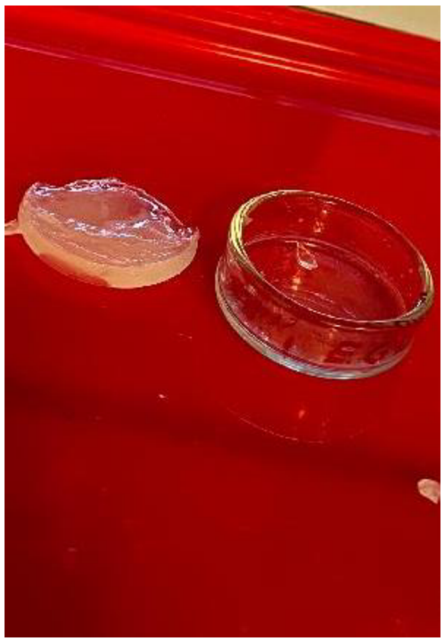
9 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1 Vzorek připravený z objemového poměru 3:2 (voda:PEGDA) s 0,125 obj. % EGDMA 57
Příloha 2 Vzorek připravený z objemového poměru 2:3 (voda:PEGDA) s 0,125 obj . % EGDMA 57
Příloha 3 Vzorek připravený z objemového poměru 3:2 (voda:PEGDA) s 0,06 obj. % EGDMA 58
Příloha 4 Vzorek připravený z objemového poměru 3:1 (voda:PEGDA) s 0,06 obj. % EGDMA 58
Příloha 5 Vzorek připravený z objemového poměru 3:1 (voda:PEGDA) s 0,03 obj. % EGDMA 59
Příloha 6 Vzorek připravený z objemového poměru 3:2 (voda:PEGDA) s 0,06 obj. % EGDMA a intenzitou UV záření 1,5 mW/cm^2 59
Příloha 7 Vzorek připravený z objemového poměru 3:1 (voda:PEGDA) s 0,06 obj. % EGDMA a polovičním množství iniciátoru, při intenzitě UV záření 1,5 mW/cm^2 60
Příloha 8 Vzorek připravený z objemového poměru 3:1 (voda:PEGDA) s 0,03 obj. % EGDMA a polovičním množství iniciátoru, při intenzitě UV záření 1,5 mW/cm^2 60
Příloha 9 Vzorek připravený z objemového poměru 3:1 (voda:PEGDA) s 0,01 obj. % EGDMA a polovičním množství iniciátoru, při intenzitě UV záření 1,5 mW/cm^2 61

10 PŘÍLOHY

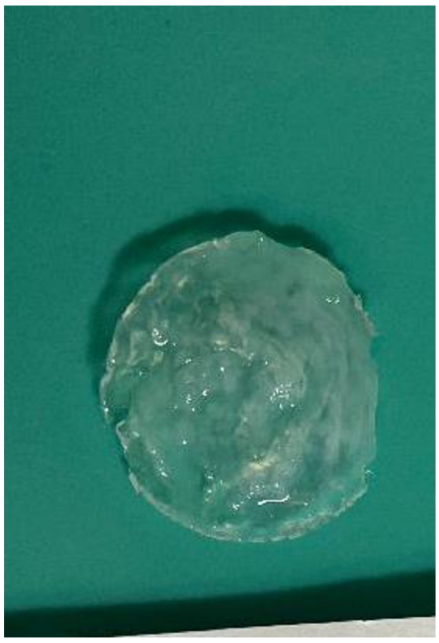
Příloha 1 Vzorek připravený z objemového poměru 3:2 (voda:PEGDA) s 0,125 obj. % EGDMA

Příloha 2 Vzorek připravený z objemového poměru 2:3 (voda:PEGDA) s 0,125 obj . % EGDMA



Příloha 3 Vzorek připravený z objemového poměru 3:2 (voda:PEGDA) s 0,06 obj. % EGDMA

Příloha 4 Vzorek připravený z objemového poměru 3:1 (voda:PEGDA) s 0,06 obj. % EGDMA



Příloha 5 Vzorek připravený z objemového poměru 3:1 (voda:PEGDA) s 0,03 obj. % EGDMA

Příloha 6 Vzorek připravený z objemového poměru 3:2 (voda:PEGDA) s 0,06 obj. % EGDMA a intenzitou UV záření 1,5 mW/cm^2

Příloha 7 Vzorek připravený z objemového poměru 3:1 (voda:PEGDA) s 0,06 obj. % EGDMA a polovičním množství iniciátoru, při intenzitě UV záření 1,5 mW/cm^2

Příloha 8 Vzorek připravený z objemového poměru 3:1 (voda:PEGDA) s 0,03 obj. % EGDMA a polovičním množství iniciátoru, při intenzitě UV záření 1,5 mW/cm^2

Příloha 9 Vzorek připravený z objemového poměru 3:1 (voda:PEGDA) s 0,01 obj. % EGDMA a polovičním množství iniciátoru, při intenzitě UV záření 1,5 mW/cm^2