



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

OPTIMALIZACE PŘÍPRAVY

POLYETHYLENGLYKOLOVÝCH HYDROGELŮ

POLYMERIZACÍ A JEJICH NÁSLEDNÁ CHARAKTERIZACE

OPTIMISATION OF POLYETHYLENE GLYCOL HYDROGELS PREPARATION BY POLYMERISATION AND THEIR SUBSEQUENT CHARACTERISATION

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Jakub Fornůsek

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Jiří Smilek, Ph.D.

BRNO 2024

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1910/2023 Akademický rok: 2023/24
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student: **Jakub Fornůsek**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **Ing. Jiří Smilek, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Optimalizace přípravy polyethylenglykolových hydrogelů polymerizací a jejich následná charakterizace

Zadání bakalářské práce:

- Vypracovat literární rešerši zaměřenou na vhodné postupy přípravy hydrogelů na bázi polyethylenglykolu.
- Seznámit se s přípravou polyethylenglykolových hydrogelů metodou polymerizace.
- Optimalizovat přípravu PEG hydrogelů výše uvedenou metodou vedoucí k hydrogelům s reprodukovatelnými vlastnostmi.
- Vhodnými instrumentálními technikami charakterizovat připravené hydrogely především s ohledem na jejich viskoelastické vlastnosti.
- Jednoduchými difúzními technikami nastínit možnosti studia transportních vlastností připravených hydrogelů.
- Diskutovat naměřené výsledky a vyvozovat logické závěry.

Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2024:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Jakub Fornůsek
student

Ing. Jiří Smilek, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá optimalizací přípravy polyethylenglykolových hydrogelů radikálovou polymerizací a jejich následnou charakterizací pomocí metody reometrie, botnání a zkoumání transportních vlastností pomocí absorpce aktivní látky a její následné desorpce. Vybraným typem polymerizace pro přípravu těchto hydrogelů byla UV fotopolymerizace a to z důvodu její jednoduchosti a reprodukovatelnosti. V rámci optimalizace byly hydrogely připravovány za různých podmínek a následně charakterizovány podle výše zmíněných metod. Taktéž byl zkoumán vliv přítomnosti síťovacího činidla ethylenglykol dimethakrylátu na vlastnosti výsledných gelů. Tento typ gelů patří mezi zcela nový typ síťovaných hydrogelů, které jsou součástí projektové žádosti základního výzkumu GAČR. Z reometrických měření bylo potvrzeno, že vyšší molekulová hmotnost vzorku odpovídala nižším hodnotám viskoelastických modulů, vliv síťovacího činidla na tyto vlastnosti byl zanedbatelný. U botnacích a transportních experimentů hrála roli zejména hustota síťování, s jejíž rostoucí hodnotou klesala botnací kapacita a docházelo k adsorpci menšího množství vody. U těchto experimentů byla přítomnost síťovacího činidla znatelná, jelikož síťovací činidlo napomáhalo ke zvýšení hustoty výsledných polymerních sítí.

KLÍČOVÁ SLOVA

Hydrogely, polyethylenglykol diakrylát, radikálová polymerizace, ethylenglykol dimethakrylát, reometrie, botnání, difúze

ABSTRACT

The goal of this bachelor's thesis was the optimization of the preparation of polyethyleneglycol hydrogels by radical polymerization and their subsequent characterization by the means of rheometry, swelling experiments and examination of transport properties through the absorption of an active substance and its subsequent desorption. To examine these hydrogels, UV photopolymerization was chosen due to its simplicity and reproducibility. As part of the optimization, hydrogels were prepared under varying conditions and then characterised by the previously mentioned methods. The effect of the presence of the cross-linking agent ethyleneglycol dimethacrylate on the properties of the resulting hydrogels was also investigated. These examined gels represent a new type of chemically cross-linked hydrogels, which are part of a basic research project applications by GAČR. From rheometric measurements, it was confirmed that a higher molecular weight of the measured sample corresponded to lower values of viscoelastic moduli. The effect of the cross-linking agent on these values was negligible. The mesh density played a significant role in swelling and transport experiments. As its value increased, the swelling capacity of the hydrogel decreased and therefore a smaller amount of water was absorbed. The presence of the cross-linking agent was also noticeable, as it contributed to a creation of higher density polymer networks.

KEYWORDS

Hydrogels, polyethyleneglycol diacrylate, radical polymerization, ethyleneglycol dimethacrylate, rheometry, swelling, diffusion

FORNŮSEK, Jakub. *Optimalizace přípravy polyethylenglykolových hydrogelů polymerizací a jejich následná charakterizace*. Brno, 2024. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/156931>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Jiří Smilek.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. 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.

.....

Jakub Fornůsek

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěl poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Jiřímu Smilkovi, Ph.D. za jeho odborné vedení, trpělivost, vstřícnost, cenné rady a čas, který této práci věnoval. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Kristýně Janákové za její čas, ochotu při spolupráci a cenné rady během měření experimentální části a konzultace části teoretické. Dále bych chtěl poděkovat rodině a přátelům za podporu během studia a také kolegům v laboratoři za rady při práci.

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1.	Hydrogely	9
2.2.	Způsoby přípravy	9
2.2.1.	Fyzikální síťování	9
2.2.2.	Chemické síťování	11
2.3.	Dělení hydrogelů	13
2.4.	Vlastnosti hydrogelů	14
2.4.1.	Mechanické vlastnosti	14
2.4.2.	Botnání	14
2.4.3.	Transportní vlastnosti	15
2.5.	Aplikace hydrogelů	15
2.5.1.	Biomedicínské aplikace	15
2.5.2.	Léčba ran	16
2.5.3.	Pokrytí stehů	16
2.5.4.	Tkáňové inženýrství	16
2.5.5.	Kontaktní čočky	16
2.5.6.	Uvolňování léčiv	17
2.6.	Polyethylenglykol	17
2.6.1.	Modifikace PEG koncových skupin	17
2.7.	Reometrická analýza hydrogelů	18
3	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	21
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	24
4.1.	Použité chemikálie	24
4.2.	Použité přístroje	24
4.3.	Příprava vzorku PEGDA hydrogelu	24
4.4.	Reologické měření mechanických vlastností	27
4.5.	Botnací testy	27
4.6.	Transportní experimenty	28
5	DISKUZE A VÝSLEDKY	29
5.1.	Optimalizace přípravy vzorků PEGDA hydrogelů	29
5.1.1.	Doba osvětlení	29

5.1.2.	Objem vzorku	29
5.2.	Vliv síťovacího činidla na mechanické vlastnosti	30
5.2.1.	Vliv molekulové hmotnosti PEGDA se síťovacím činidlem	30
5.2.2.	Vliv síťovacího činidla	33
5.3.	Studium vlivu molekulové hmotnosti na mechanické vlastnosti	33
5.3.1.	Absence síťovacího činidla – možnosti gelace	33
5.3.2.	Vliv molekulové hmotnosti PEGDA bez síťovacího činidla	36
5.4.	Botnací testy	37
5.5.	Transportní experimenty	40
6	ZÁVĚR	46
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	48
8	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	57
8.1.	Seznam zkratk	57
8.2.	Seznam symbolů	57

1 ÚVOD

Hydrogely lze chápat jako materiály schopné tvořit spojitou trojrozměrnou síť. Díky přítomnosti hydrofilních vazeb dokážou tyto sítě pohlcovat velké množství vody. Z důvodu jejich rozmanitosti jsou neustále předmětem výzkumu. V dnešní době se již při přípravě gelů přechází od přírodních polymerů na polymery syntetické, u kterých je možno přesně definovat jejich strukturu a následně ji modifikovat.

Jedním z těchto syntetických polymerů je polyethylenglykol, který je hlavním předmětem zkoumání této práce. Jde o netoxický polymer vyznačující se svou biokompatibilitou a biodegradabilitou schopný tvořit kovalentní vazby s ostatními molekulami. Obecně se vazby mezi jednotlivými jednotkami polymerů dají dělit na nekovalentní, vznikající při fyzikálním síťování, a na vazby kovalentní, které se tvoří zejména u chemického síťování. Tyto vazby se dělí svou pevností, proto i vzniklé hydrogely mohou mít různé mechanické vlastnosti v závislosti na to, jaké vazby spojují jejich síť. Tato práce byla zaměřena na přípravu polyethylenglykolových gelů pomocí metody UV fotopolymerizace, při které vznikají volné radikály propagující síťování hydrogelů. Tato metoda patří mezi metody chemického síťování. Na výsledné hodnoty viskoelastických a mechanických vlastností připravovaných hydrogelů hraje roli několik faktorů, jako je koncentrace a molekulová délka prekurzoru či přítomnost síťovacího činidla.

Hydrogely jsou díky svým mechanickým vlastnostem žádané. I přes jejich kapalnou disperzní prostředí vykazují mechanické vlastnosti tuhého stavu. Gel se při deformaci tečným napětím chová jako tuhé těleso, dokud nedojde k překročení kritického napětí. Tato hodnota závisí na několika faktorech, jako je hustota síťování a koncentrace prekurzorů.

Ke zkoumání chování gelů při jejich deformaci a následné charakterizaci jejich viskoelastických vlastností se využívá metoda reometrie. Dále je zkoumán průběh botnání ve vodě, které je pro gely díky jejich struktuře charakteristické. Důležité jsou také transportní schopnosti gelů. Gely jsou díky jejich transportním vlastnostem velice žádané zejména v biomedicíně, kde nacházejí uplatnění jako transportéry léčiva. Díky úpravě polymerní struktury se může zpomalit rychlost desorpce aktivní látky z hydrogelu, čehož se využívá u řízeného uvolňování léčiv. Další uplatnění mohou hydrogely nalézt například v odvětví průmyslu, zemědělství či lékařství.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Hydrogely

Disperzní systémy jsou tvořeny dvěma složkami. První fází je spjité disperzní prostředí. Druhou fází (tentokrát nespojitou) představují částice, které jsou v tomto prostředí rozptýleny. Tyto systémy lze kategorizovat dle velikosti rozptýlených částic na disperze analytické (velikost do 10^{-9} m), disperze koloidní (rozmezí od 10^{-9} do 10^{-6} m) a disperze hrubé (od 10^{-6} m). Hydrogely spadají do kategorie koloidních disperzních soustav, tvoří souvislou trojrozměrnou síť hydrofilních polymerů schopných absorbovat značné množství vody (v případě hydrogelu tvořeného celulózou a anhydridem sukcinátu až 400násobek původní hmotnosti disperzního podílu), která slouží jako disperzní prostředí. U hydrogelů je tedy spjitý jak disperzní podíl, tak disperzní prostředí. [1–3]

Schopnost absorpce vody roste s počtem hydrofilních funkčních skupin, zvýšení jejich počtu totiž zesiluje vazbu mezi polymerem a vodou (jako příklad funkčních skupin lze uvést -OH, -COOH a -SO₃H skupiny [4]). Gely ovšem nedokážou absorbovat vodu v neomezeném množství z důvodu přítomnosti elastických sil vzniklých při tvorbě sítí [4]. Dříve byly frekventovaně využívány hydrogely přírodní tvořené biopolymery jako jsou polysacharidy a bílkoviny. Jako příklad těchto biopolymerů lze uvést chitosan, želatina, fibrin či alginát [5]. Využívány jsou zejména pro svou biodegradabilitu, biokompatibilitu a minimální až nulovou toxicitu (včetně jejich degradačních produktů) [6]. V posledních letech dochází k nahrazování přírodních gelů syntetickými, jejichž výhodou je přesně definovaná a modifikovatelná struktura. První aplikací hydrogelů v biomedicíně byly měkké kontaktní čočky [7]. V dnešní době nachází hydrogely uplatnění u kontrolovaného uvolňování léčiv, léčbě ran a tkáňového inženýrství [7]. U hydrogelů, jakožto transportních medií pro biochemické účely (zejména transport léčiv), je využívána jejich citlivost na změnu vnějších podmínek jako je pH, teplota nebo koncentrace metabolitu. [2, 5, 8]

2.2. Způsoby přípravy

Hydrogely se rozdělují do dvou skupin dle charakteru vazeb, které drží hydrogel pohromadě. Lze je připravit pomocí chemického a fyzikálního síťování. Chemicky síťované gely jsou spojeny pomocí kovalentních vazeb, zatímco u fyzikálně síťovaných probíhá gelace pomocí nekovalentních vazeb, mezi které patří Coulombické interakce, vodíkové můstky a hydrofobní interakce [9]. Způsob tvorby hydrogelu určuje jeho charakteristické vlastnosti (hustota sítě, mechanické a transportní vlastnosti, botnání a permeabilita). [10]

2.2.1. Fyzikální síťování

Výhodou tohoto způsobu přípravy hydrogelů je, že k tvoření sítí nejsou zapotřebí síťovací činidla, která bývají většinou toxická a tím snižují biokompatibilitu a omezují tak použitelnost gelů v biomedicínských aplikacích [10] [11]. Jak již bylo zmíněno, síťování probíhá pomocí nekovalentních interakcí, které jsou na rozdíl od vazeb kovalentních reverzibilní [9]. Reverzibilita je způsobena charakterem slabých vazeb, které lze opět narušit změnami fyzikálních vlastností jako je iontová síla, pH či teplota okolí [12]. Z tohoto důvodu mají takto

tvorené hydrogely v porovnání s chemicky síťovanými nižší hodnoty viskoelastických modulů [10].

Iontové interakce

Iontové síťování je založeno na interakci opačně nabitých iontů. Iont může přitahovat také dipól nebo indukovat polarizaci nepolární molekuly [13]. Tvorba gelu obecně závisí na změně fyzikálních parametrů systému jako je například pH prostředí, iontová síla roztoku, stupeň disociace (pK_a) jednotlivých kladně a záporně nabitých skupin polymerů a teplota [13].

Tvorbu hydrogelů ovlivňuje také stupeň ionizace funkčních skupin. Pokud nenesou skupiny náboj, vykazují jimi tvořené iontové hydrogely chování jako gely s polárními skupinami. Mohou se tedy účastnit párování pomocí vodíkových můstků. Toto párování je narušeno při ionizaci funkčních skupin. Dochází tedy k tvorbě Coulombických sil odpuzujících stejně nabité skupiny a tím k agregaci polymeru. Tyto síly lze překonat přidáním opačně nabitých iontů do roztoku. [14] Hydrogely síťované tímto způsobem vykazují schopnost regenerace a dobrou vodivost [15].

Vodíkové můstky

Vodíkový můstek je nekovalentní přitažlivá interakce mezi protonovým donorem X-H a protonovým akceptorem Y. Nemusí být mezi stejnými molekulami. Prvek X je elektronegativnější než vodík, obvykle jde o atomy dusíku, kyslíku a fluoru. Akceptor Y je obvykle oblast s volným elektronovým párem či elektronegativní prvek [16].

Tvoří se mezi různými funkčními skupinami na polymerech (-OH, -COOH, -NH₂, -SO₃H, ...). Problémem gelů tvořených vodíkovými můstky je nestabilita ve vodném prostředí, proto je nutné tuto vazbu stabilizovat [15]. Výhodami takto spojených gelů je jejich regenerace způsobená dynamičností vodíkového můstku a také samotvorba finálního gelu [15].

Vodíkové můstky umožňují společně s interakcí dipól-dipól tvorbu regenerujících gelů. Pokud na gel začne působit síla, dojde k rozrušení těchto vazeb. Při rozrušení dojde k uvolnění mechanické energie a ztuhnutí gelu. Ve chvíli, kdy síla přestane působit, dojde k obnovení vazeb a vytvoření původní trojrozměrné sítě. [17]

Tvorbu vodíkových můstků lze také indukovat speciálními metodami. Jednou z nich může být metoda zmrazení a následného tání (tzv. *freeze-thaw* metoda) využívaná například u polyvinylalkoholů. Při zmrazení dojde k tvorbě krystalů, které orientují jednotlivé řetězce na sebe a umožní tak tvorbu vodíkových můstků. Následné tání má za následek tvorbu gelu s porézní strukturou. Takto připravované gely svou pórovitostí připomínají extracelulární matrix a lze je tedy využít pro zkoumání diference a migrace kmenových buněk. [18]

Hydrofobní interakce

Hydrofobní interakce se spolu s vodíkovými můstky podílejí na tvorbě biologických struktur jako je například terciární struktura proteinů. Dají se ovšem využít také k tvorbě supramolekulárních gelů. Jsou tvořeny mezi nepolárními částmi polymerů, aby došlo k minimálnímu styku s vodným prostředím [13]. Řetězce obvykle obsahují jak hydrofilní, tak hydrofobní části (tzv. amfifilní molekuly) [19]. Tyto amfifilní řetězce jsou ve vodném roztoku natočeny tak, aby hydrofobní části směřovaly do středu, zatímco hydrofilní části směřují

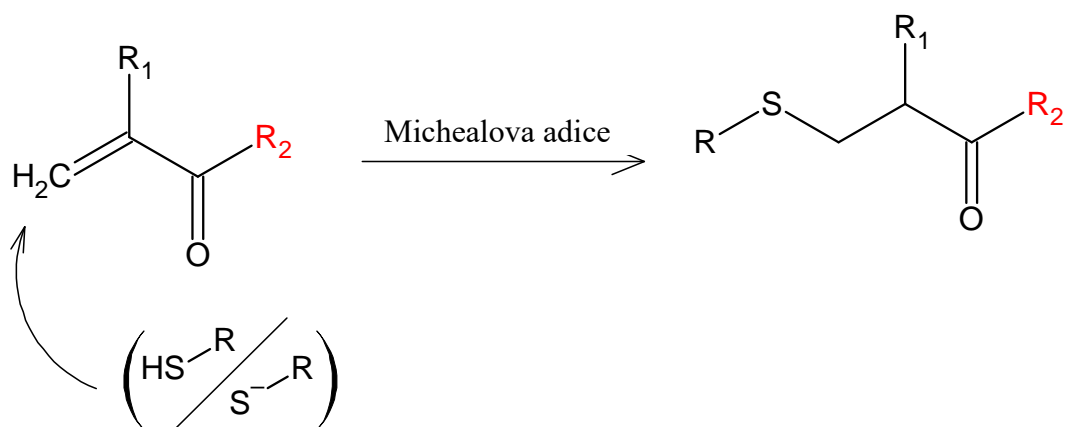
do vodného prostředí [13]. Jakmile dojde k překročení určité koncentrace polymeru v roztoku, molekuly začnou agregovat do micel a následně se vytvoří trojrozměrná síť gelu. Jelikož je tvorba těchto vazeb relativně jednoduchá, mohou se lehce obnovit a gely tak vykazují excelentní regenerační schopnosti. [13].

2.2.2. Chemické síťování

Proces tvorby sítě hydrogelu se od fyzikálního síťování liší v charakteru vazby. Chemicky vzniklé gely jsou tvořeny kovalentními vazbami, které jsou stabilnější zejména ve fyziologických podmínkách. Samotná gelace je iniciována pomocí externího podnětu jako je fotoionizace, enzymatická reakce či za pomoci síťovacího činidla [20]. Chemické síťování gelů lze rozdělit do několika skupin podle různých faktorů, které ovlivňují tvorbu.

Podle reakčního mechanismu lze tento typ síťování dělit na konjugaci polymerizaci (Michaelovu reakci [21], Diels-Alderovu reakci [22] a reakci s Schiffovou bází [23]), radikálovou polymerizaci a enzymatickou polymerizaci [24].

Jako příklad chemického síťování lze uvést Michaelovu reakci, jejíž principem je nukleofilní adiční reakce karbaniontu nebo jiného nukleofilu a α,β – nenasycené karbonylové sloučeniny [25]. Výsledkem je tvorba nové vazby mezi dvěma uhlíky a prodloužení polymerního řetězce [26].



Obrázek 1: Mechanismus Michaelovy reakce. [upraveno z 26]

Obrázek 1 znázorňuje příklad Michaelovy adice, konkrétně adici thiolové skupiny na dvojnou vazbu prekurzoru. Tyto dvojně vazby slouží jako elektrofilní činidla, zatímco thiolová skupina vystupuje jako nukleofil [27].

U klasické Diels - Alderovy reakce dochází k cykloadici mezi konjugovaným dienem a druhou látkou obsahující aspoň jednu π vazbu (tzv. dienofil) [28]. Reakci s Schiffovou bází lze popsat jako reverzibilní kondenzaci aldehydu/ketonu s aminem, hydrazinem nebo amino skupinou jiného prvku. Principiálně jde o nukleofilní atak atomu dusíku na elektrofilní uhlík aldehydu/ketonu [29].

V této práci je využita radikálová polymerizace využívající volné radikály. Tyto radikály musí být v systému nejprve vytvořeny dodáním vhodného kvanta energie za pomoci externího podnětu jako je teplo, iniciace pomocí plazmy, elektrolyza či UV záření o vhodné vlnové délce,

respektive energii [30]. Podstatná byla fotoiniciace pomocí UV záření, u které je do reakční směsi přidáván iniciátor iniciující radikálovou reakci po dodání energie UV zářením [15]. Jako běžný fotoiniciátor pro biomedicínské aplikace se využívá Irgacure 2959 s absorpčním maximem v oblasti UV (276 nm) [11] [31]. Tento způsob přípravy obecně obsahuje tři hlavní kroky. Prvním krokem je samotná fotoiniciace [32]. Fotoiniciátor je látka citlivá na světlo, která se po kontaktu s UV zářením rozloží na volné reaktivní radikály [33]. Druhým krokem fotoiniciace je prodloužení řetězce [32]. Volné radikály „napadají“ dvojné vazby prekurzoru (monomer – např. ethylenglykol), čímž dochází k tvorbě kovalentní vazby a řetězec se začne prodlužovat [15] [32]. V třetím a finálním kroku dojde k terminaci. Reaktivní radikály spolu vzájemně reagují a tvoří stabilní struktury, které již dále nepolymerizují – dojde k zastavení polymerizace [32].

Tento způsob přípravy má několik výhod oproti klasickému chemickému síťování, zejména kontrolu polymerizace v čase a jednoduchost. Hydrogely lze taky vytvořit přímo *in situ* minimálně invazivní metodou, například injekčně. Pro hladký průběh síťování je klíčový výběr fotoiniciátoru. Účinnost fotoiniciátorů je ovlivněna jejich absorpčním maximem, v úvahu je nutno vzít i jejich biokompatibilitu, která není z důvodu tvorby volných radikálů ideální, rozpustnost, stabilitu a cytotoxicitu. Fotoiniciátory lze kategorizovat do skupin podle mechanismu iniciace reakce. První skupina se označuje jako fotoiniciátory typu I. Tento typ indukuje fotopolymerizaci rozpadem vazeb. Jako příklad lze uvést již výše zmíněný Irgacure 2595. Fotoiniciátory typu II indukují fotopolymerizaci odštěpením vodíku. Příkladem iniciátoru z této skupiny je (9-oxo-9H-thioxanthen-2-yl-oxo)-octová kyselina (TXOCH₂COOH). [33]

Existuje i skupina fotoionizátorů katalyzujících takzvanou kationtovou fotopolymerizaci. Tato skupina se ovšem nevyužívá, jelikož generuje zdraví škodlivé kyseliny [34]. Značnou nevýhodou této metody je cytotoxicita vznikajících radikálů a nemožnost použít UV záření pro polymerizaci zakalených roztoků [35]. Zakalené roztoky nelze polymerizovat, jelikož jejich částice rozptylují UV záření, čímž sníží jeho intenzitu, která již nestačí na gelaci daného vzorku [36]. UV záření je v dnešní době nahrazeno zářením viditelného spektra z důvodu hlubšího průniku do reakční směsi a tím pádem lepšího síťování [9]. Viditelné světlo má vyšší vlnovou délku a tím pádem nižší energii [37]. Méně energie znamená, že se světlo nevyužívá tak frekventovaně na excitaci elektronů částic vzorku a dokáže tedy penetrovat hlouběji do roztoku [37].

Také je možno využít síťovacího činidla ke zlepšení či urychlení tvorby výsledné sítě. Jako příklad lze uvést ethylenglykol dimethakrylát (EGDMA). Tento monomer je přidáván do roztoku prekurzoru, jelikož díky svým dvěma reakčním skupinám propaguje tvorbu trojrozměrných sítí [38]. Této vlastnosti bylo využito v experimentální části.

2.3. Dělení hydrogelů

Hydrogely lze dělit podle několika kritérií, jako je zdroj polymerů, kompozice gelu, konfigurace, druh síťování a náboje [5].

Prvním kritériem může být zdroj polymerů. V tomto případě se gely rozlišují na přírodní, syntetické a hybridní. Přírodní hydrogely jsou kategorizovány do dvou skupin: polysacharidy (například chitosan, alginát, hyaluronan) a proteiny (kolagen a z něj tvořená želatina). Přírodní gely vykazují vysokou biokompatibilitu a biodegradaci. Syntetické hydrogely naopak umožňují modifikaci své struktury. Mezi tyto gely patří například gel na bázi polyethylenglykolu (PEG).

Hybridní gely jsou kombinací předešlých možností. Jako příklad lze uvést kombinaci přírodních gelů s nanočásticemi: např. smíchání hydrogelů na bázi kolagenu s nanočásticemi oxidu železitého potaženými kyselinou olejovou a modifikovanými nitrodopaminem. Tyto částice oxidu mohou sloužit jako síťovací epicentra, která spojují kolagenové řetězce a až desetinásobně zvyšují výslednou tuhost gelu. Tímto způsobem lze poměrně jednoduchou cestou modifikovat finální mechanické vlastnosti připravovaných hydrogelů. [39]

Dalším kritériem je kompozice gelů. V případě, že jsou gely tvořené pouze jedním druhem monomeru, pak se jedná o homopolymerní gely. V případě, že se gely skládají ze dvou či více různých monomerů s alespoň jedním hydrofilním komponentem, pak mluvíme o tzv. duálních sítích. Jsou spojovány náhodně, do bloků či opakovaně do řetězce. Dalším typem jsou semi-interpenetrované sítě, které jsou tvořeny alespoň dvěma na sobě nezávislými polymery, z nichž jeden je zesíťovaný a druhý ne. [2]

Poslední typem sítí jsou interpenetrované sítě. Jsou tvořeny síťováním polymeru v přítomnosti dalšího polymeru. Přitom mezi těmito polymery nedochází k tvorbě kovalentních vazeb. Od semi-interpenetrovaných sítí se tedy liší faktem, že oba polymery jsou síťovány. [40]

Podle struktury lze hydrogely dělit na amorfní, semi-krystalické a krystalické, podle druhu síťování je toto dělení popsáno již v kapitole způsoby přípravy.

Struktura amorfních gelů je nepravidelná, jednotlivé monomery mohou být dále od sebe. Z tohoto důvodu mají oproti krystalickým gelům nižší hustotu. Naopak krystalické gely obsahují pravidelně uspořádané částice ve své struktuře. 100% krystalické polymery ovšem neexistují, většina z nich obsahuje jak amorfní, tak krystalické části. Takové gely se nazývají semi-krystalické. [41]

Samotné řetězce lze kategorizovat podle velikosti náboje. Pokud je výsledný náboj nulový, jde o neiontové (neutrální) řetězce. Mezi tyto hydrogely patří polyakrylamid, polyethylenglykol nebo polyvinylalkohol. V případě, že jsou řetězce kladně (kationty) či záporně (anionty) nabité, jedná se o iontové řetězce. Jejich botnání je ovlivněno pH okolního roztoku. Kladně nabité řetězce lépe botnají v kyselých roztocích, jelikož se protonují při nižších hodnotách pH. Mezi tyto gely patří gely tvořené z aminoethyl metakrylátu či vinylpyridinu. Aniontové gely disociují při vysokém pH a botnají v bazických roztocích. Jako příklad lze uvést gely tvořené akrylovou kyselinou, kyselinou maleinovou a methakrylovou kyselinou. Další skupinou jsou amfolytické řetězce obsahující kyselé i bazické skupiny, mezi kterými se ustanovuje rovnováha. Jejich

celkový náboj je v izoelektrickém bodě nulový, změnou pH se jejich výsledný náboj může změnit. Mezi tuto skupinu patří fyzikálně zesíťovaný hydrofobně upravený chitosan či dextran. Poslední skupinou jsou polybetainy. Tyto polymery obsahují kationty i anionty na všech opakujících se monomerních jednotkách řetězce. Mezi polybetainy patří poly(carboxybetain akrylát-co-dopamin methakrylát) (PCBDA). [2, 5, 42, 43]

2.4. Vlastnosti hydrogelů

2.4.1. Mechanické vlastnosti

I přes to, že disperzní prostředí hydrogelů je kapalné, vykazují obecně hydrogely mechanické vlastnosti tuhého stavu díky svému uspořádání. Pokud působí na gel tečné napětí, gel se chová jako tuhé pružné těleso a odolává deformaci. Je tomu tak do překročení tzv. kritického napětí. Hodnota tohoto napětí je závislá na koncentraci hydrogelu a také na pevnosti jednotlivých uzlů v jeho struktuře. [44]

Gely síťované pomocí malého počtu kovalentních vazeb vykazují značnou elasticitu. S rostoucím počtem vazeb klesá možnost změny tvaru makromolekuly a síť se stává rigidní. Naopak fyzikální gely jsou plastické z důvodu nízké výdrže nekovalentních vazeb. Elasticky se tedy chovají pouze při nízkých hodnotách smykového tření, u vyšších hodnot deformace dochází k trvalému poškození gelů. [44]

Fyzikálně síťované gely se při smykovém namáhání vyznačují tixotropním chováním. Gely mají tedy nejdříve vysoké hodnoty viskozity, které postupem času klesají. Pokud je gel ponechán nějakou dobu relaxovat, dojde k obnovení původních struktur a viskozita se přiblíží původní hodnotě. Tuto vlastnost mohou vykazovat gely s různě pevnými uzly, jelikož při mechanickém namáhání dojde k rozrušení pouze nejslabších vazeb struktury. Vzniknou tedy celky, které se již nemohou zase spojit dohromady. Tixotropie je žádaná vlastnost zejména u nátěrových hmot či naftařských vrtných kapalin. Některé gely vykazují opačnou vlastnost – reopexii, jejich viskozita tedy s pohybem gelu roste. [44]

2.4.2. Botnání

Botnání lze chápat jako pohlcování rozpouštědla xerogelem, který zvětšuje svoji hmotnost a nabývá na objemu. Xerogel lze definovat jako porózní materiál získaný vypařováním vlhkého gelu. Po absorpci vody dochází k tvorbě lyogelu, ve kterém pohlcované rozpouštědlo slouží jako disperzní prostředí. K tomuto jevu dochází pouze u gelů reverzibilních. [1]

Reverzibilní gely jsou takové, které dokáží díky botnání a vysušení přecházet mezi formou xerogelu a lyogelu. Druhou skupinou jsou gely ireverzibilní, které po vysušení nezmenšují svůj objem, ale tvoří porézní strukturu. Přeměna na xerogel je prakticky nevratná, lyogel by vznikl pouze v omezené míře a se slabšími mechanickými vlastnostmi než před vysušením. [1]

Botnání lze rozdělit podle průběhu na omezené a neomezené. Omezené botnání se zastaví, přejde-li gel do stádia elastického lyogelu. Dochází k němu, pokud je polymer s prostředím pouze omezeně mísitelný či u kovalentně síťovaných gelů. Neomezené se naopak ve stádiu lyogelu nezastaví a dále pokračuje v nabývání objemu. Takto botnají fyzikálně síťované gely. [1]

Jedním z nejdůležitějších faktorů ovlivňující míru botnání je síťovací poměr. Ten je definován jako poměr molů síťovacího činidla k molům opakujících se jednotek polymeru. Čím vyšší je tato hodnota, tím více síťovacího činidla bylo zakomponováno do gelové struktury. Hustěji síťované hydrogely mají pevnější strukturu s menší pohyblivostí. Oba tyto faktory snižují botnací poměr, a tedy i samotnou míru botnání. [45]

O tom, k jakému botnání bude docházet, rozhoduje zejména finální struktura, pevnost uzlů a vzájemný vztah polymeru a rozpouštědla. Dalšími faktory jsou fyzikální podmínky jako je teplota či přítomnost elektrolytu. Rychlost botnání lze ovlivnit například zvýšením teploty. [1]

2.4.3. Transportní vlastnosti

Difúze

Kritickým faktorem pro využití hydrogelů, například jako nosičů léčiv, je kontrolovaná difúze. V difúzi se projevuje tzv. Brownův pohyb. V důsledku srážek disperzních částic s molekulami disperzního prostředí se tyto částice pohybují různými směry po složité dráze. S rostoucí velikostí a hmotností částic dochází ke kompenzaci nárazů, částice s průměrem okolo 4 μm vykonávají již pouze vibrace. U částic s větším průměrem, než jsou 4 μm , již není tepelný pohyb pozorovatelný. [1]

Hnací silou difúze je rozdíl chemických potenciálů (a tedy i koncentrací) mezi gelem a okolím. Směr difúze je stejný jako směr koncentračního gradientu (z místa s vyšší koncentrací do míst s nižší koncentrací), má tedy tendenci koncentrace v systému vyrovnat. K dosažení rovnováhy dojde v okamžiku, kdy se koncentrace v roztoku a v gelu vyrovnají. [46]

Porozumění pohybu složek v hydrogelech je nejčastěji vysvětlováno podle tří základních modelů. Jedná se o: hydrodynamickou teorii, která se věnuje tření mezi rozpouštědlem a hydrogelovou maticí, teorii volného objemu, která udává, že rozpouštědlo je transportováno dynamickými prázdnými místy mezi molekulami a teorii obstrukce, která modeluje polymerní síť jako pevnou bariéru, přes kterou probíhá difúze rozpuštěné látky s kapalinou.[47]

2.5. Aplikace hydrogelů

Hydrogely nachází uplatnění v široké škále odvětví. Například v průmyslu slouží k adsorpci těžkých kovů z odpadních vod či jako nosiče látek zpomalující lesní požáry. V potravinářském průmyslu mohou sloužit jako čističe potrubí. [48]

Také v zemědělství nacházejí gely značná uplatnění. Lze je využít jako ochranné pokrytí semen zemědělských plodin. Nanesená vrstva může obsahovat insekticidy a fungicidy, které zabraňují napadení rostliny škůdci. Díky schopnosti cíleného uvolňování látek dokáží zabránit úniku živin a vody z rostlin do okolní půdy. [49]

Mezi nejdůležitější aplikace hydrogelů patří jejich využití pro biomedicínské operace.

2.5.1. Biomedicínské aplikace

Z důvodu jejich flexibility a různorodosti nacházejí hydrogely uplatnění v pestré škále odvětví od biomedicíny až po kosmetiku, ve které se využívají hydrogely při tvorbě pleťových masek či krémů. Gel na bázi kolagenu napomáhá regeneraci, změkčení a hydrataci pleti. Relevantní

jsou aplikace biomedicínské jako je tkáňové inženýrství, pokrývání stehů, kontaktní čočky a transport léčiv. [50, 51]

2.5.2. Léčba ran

Při poranění lidské tkáně dochází k narušení jak její struktury, tak i funkce. Je tedy žádoucí, aby byl hojící proces co nejrychlejší a nejefektivnější. Hojení je ovlivněno několika faktory, například vlhkostí prostředí, zánětem, velikostí a hloubkou poranění atd. Hojení za normálních podmínek je často doprovázeno zjizvením postižené tkáně. Speciální obvazy umožňují udržovat příznivé podmínky pro hojení rány, čímž snižují čas potřebný pro samotný regenerační proces, ale také omezují tvorbu zjizvené tkáně. K tomuto účelu se nejčastěji využívají polysacharidové hydrogely díky jejich schopnosti absorbovat velké množství vody. Jako příklad lze uvést kompozitní gel obsahující alginát a hyaluronan zesíťovaný pomocí iontových interakcí. Alginát pomáhá udržet vlhké prostředí v okolí rány a hyaluronan zlepšuje proliferaci. Využívané jsou také gely obsahující agarózu a kyselinu tříslou, která jim dodává antibakteriální a protizánětlivé vlastnosti. [50]

2.5.3. Pokrytí stehů

Hydrogely nemohou být použity jako materiály pro tvorbu chirurgických stehů z důvodu jejich nedostačujících mechanických vlastností. Nalezly však uplatnění díky své biokompatibilitě jako jejich krycí materiály. Počet buněk v blízkosti polyamidového vlákna představoval pouze 20 % počtu kontrolní populace, jejich tvar a velikost byly také výrazně odlišné. V přítomnosti vlákna pokrytého polyHEMA (polyhydroxyethylmethakrylátovým) hydrogelem dosahoval tento počet až 80% a buňky byly prakticky identické s kontrolní populací. Stehy pokryté gelem nevyvolávaly téměř žádnou odezvu organismu. [51]

2.5.4. Tkáňové inženýrství

Každý rok umírají miliony pacientů na selhání orgánů způsobených nemocemi či dopravními nehodami. Transplantace mohou poškozené orgány nahradit, problémem je ovšem převážně nedostatek dárců, popřípadě jejich neúplná kompatibilita s transplantovaným orgánem. Alternativním řešením by mohlo být tkáňové inženýrství využívající hydrogely jako scaffold pro růst nové tkáně samotného pacienta. Gely napomohly regeneraci chrupavky, kosti, jater, svalové a tukové tkáně. Regenerace tkáně je umožněna díky biokompatibilitě gelů, jejich podobnosti s přirozenou tkání, vyhovujícím mechanickým vlastnostem, dostatečné degradaci a schopnosti difundovat živiny, metabolity a léčiva. [52]

2.5.5. Kontaktní čočky

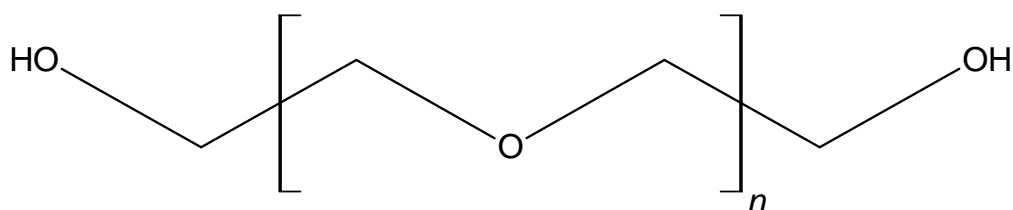
Další odvětví využívající hydrogely je oftalmologie, zvláště pak měkké kontaktní čočky. Tyto čočky vynalezl Otto Wichterle s použitím poly(2-hydroxyethyl methakrylátu) (PHEMA) roku 1960. Hydrogely pro tvorbu čoček musí být specificky upravené, aby nedráždily oko při použití. Mezi tyto úpravy patří zvýšení procentuálního zastoupení disperzního prostředí, zlepšení mechanických vlastností, extrémně nízká až žádná toxicita, tolerance k živým buňkám a zvýšení propustnosti plynů mezi rohovkou a okolním prostředím. [50, 53]

2.5.6. Uvolňování léčiv

Hydrogely slouží mimo jiné i k imobilizaci, enkapsulaci a cílenému uvolňování spousty druhů léčiv (antibiotika, antikoagulační látky, protirakovinná léčiva – lokální chemoterapie, atd.) díky své trojrozměrné struktuře a schopnosti absorbovat vodu. Hydrofilní aktivní látka je buď fyzikálně upoutána pomocí nekovalentních vazeb, nebo kovalentně navázána na strukturu gelu. Léčiva lze zakomponovat do gelu dvěma způsoby. Buď je přidáno do směsi před polymerizací nebo je již hotový gel ponořen do roztoku léčiva, které se do struktury gelu zakomponuje procesem difúze. Takto modifikovaný gel s léčivem je poté injekčně dodán do cílové tkáně a léčivo je uvolňováno na základě koncentračního gradientu, popřípadě se uvolňuje při degradaci gelového nosiče. Zde je nutné, aby degradační složky negativně neovlivňovaly okolní tkáň. Výhodou této metody je možnost dopravit vysoké koncentrace léčiva na místo určení, zatímco okolní tkáň nebudou léčivem ovlivněny. [50, 51]

2.6. Polyethylenglykol

Polyethylenglykol (PEG) je syntetický hydrofilní polyether tvořený opakujícími se skupinami ethylen glykolu - $[(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n]$. Ethylenglykol patří mezi dioly, obsahuje dvě hydroxylové skupiny. Je bezbarvý, bez zápachu a relativně stabilní. [54]



Obrázek 2: Strukturální vzorec molekuly PEG s koncovými OH vazbami [55]

Díky amfifilní struktuře je rozpustný v organických rozpouštědlech, včetně chloroformu, ethanolu či acetonitrilu [56]. PEG je elektroneutrální, teplotně stabilní (degraduje od přibližně 200 °C [57]) a biokompatibilní [56]. Díky jeho malému množství vazebných míst je navíc odolný na adsorpci proteinů, nepřilne tedy na buňky lidské tkáně [58]. PEG je rozdělován do skupin podle molekulové hmotnosti. Tento údaj bývá uveden ve formě čísla v názvu konkrétního polymeru (např. PEG 400 Da) a udává jeho výsledné vlastnosti. PEG s nízkou molekulovou hmotností v rozmezí 100-700 Da je viskózní bezbarvá kapalina, od 1000 do 2000 Da jde spíše o měkkou pevnou látku, zatímco PEG s molekulovou hmotností větší než 2000 Da vykazuje bílé zbarvení a tvrdost srovnatelnou s vosky [56].

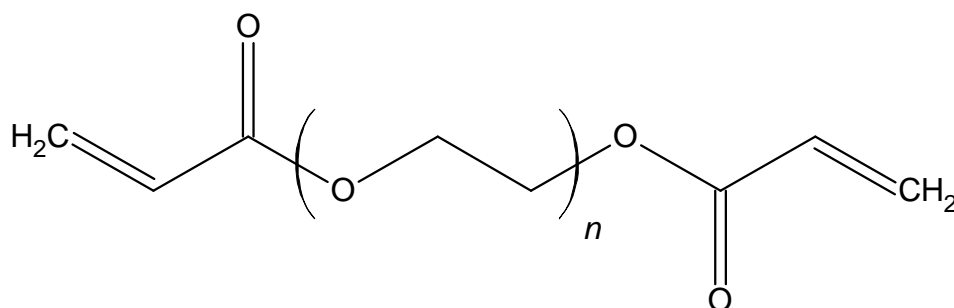
2.6.1. Modifikace PEG koncových skupin

Hydroxylové skupiny na konci molekuly PEG je možno nahradit skupinami reaktivnějšími, jako jsou např. skupiny akrylátové. Nahrazením jedné OH skupiny vzniká polyethylenglykol methakrylát – PEGMA, nahrazením obou OH skupiny vzniká polyethylenglykol diakrylát – PEGDA [59].

Díky této substituci je molekula PEGDA schopna vytvořit trojrozměrné sítě pomocí svých nenasycených akrylátových skupin. Gely z tohoto polymeru jsou vysoce modifikovatelné, jejich mechanické vlastnosti lze ovlivnit změnou koncentrace či molekulové hmotnosti

polymeru. Elastický modul roste s koncentrací polymeru, zatímco s molekulovou hmotností klesá [58]. Nižší molekulová hmotnost totiž umožní tvorbu hustších sítí, jelikož se polymerizace účastní vyšší množství koncových dvojných vazeb PEGDA monomerů [60]. Nevýhodou těchto gelů je, že i přes jejich modifikovatelnost, jsou sítě tvořené pouze molekulami PEGDA měkké a křehké. Pro zvýšené mechanické vlastnosti se vytváří gely kompozitní [61].

Ty vykazují podobné vlastnosti jako samotný PEG, zejména biokompatibilitu, hydrofilitu a schopnost zabránit adsorpci proteinů. Zároveň jsou netoxické a nevyvolávají imunitní reakci organismu, jsou tedy vhodnými kandidáty pro tkáňové inženýrství, cílené uvolňování léčiv a další biomedicínské aplikace. Díky svým terminálním akrylátovým skupinám dokáží molekuly PEDGA tvořit hydrogely chemicky mezi sebou i bez přítomnosti síťovacího činidla, popřípadě je možno pomocí fyzikálních interakcí síťovat gely s dalšími polymery (například radikálovou polymerizací). [62]



Obrázek 3: Struktura polyethylenglykol diakrylátu [62]

2.7. Reometrická analýza hydrogelů

Reologie je věda studující vztah mezi silami aplikovanými na materiál a z nich vyplývající deformace [63], tok látek a deformaci hmoty vlivem vnějších mechanických sil. Zabývá se tokem kapalných látek a deformací pevných látek [64]. Pokud účinkem vnější síly nastane deformace, která zmizí po odstranění síly, mluvíme o tzv. elastickém chování. Jestliže začne látka působením vnější síly téct a po odstranění síly se tok látky zastaví, ale neobrátí, jde o chování viskózní. Mezi nimi jsou systémy, jejichž odezva na aplikovanou sílu závisí na době a míře jejího působení. Tyto systémy se nazývají viskoelastické [65].

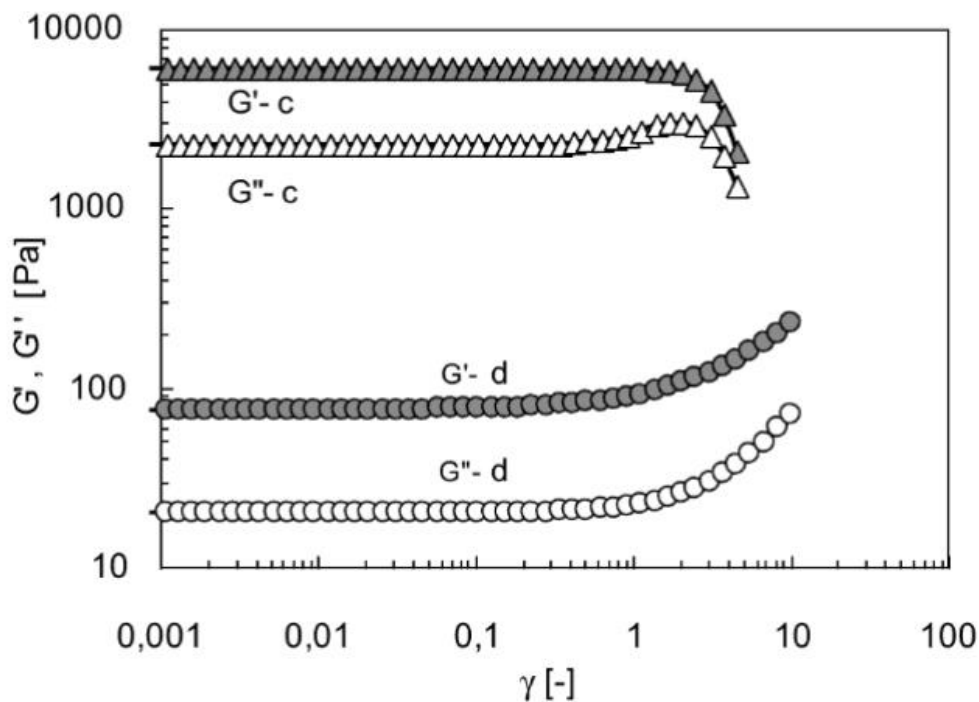
Hydrogely, jako spojitě sítě, obsahují značná množství vody a tím pádem vykazují jak vlastnosti pevných, tak kapalných látek. Tyto vlastnosti nám udávají informace o hustotě sítě hydrogelu, homogenitě, struktuře a molekulové hmotnosti. [64]

Způsobem, jakým je možno zjistit reologické vlastnosti materiálu je tzv. reometrické měření. V reometrii dochází k deformaci materiálu, abychom získali kvantitativní výsledky o jeho reologických vlastnostech. [44] Zařízení, kterým se provádí reometrické měření se nazývá reometr. Reometry jsou pro toto měření vybaveny několika geometriemi, což jsou desky, mezi kterými probíhá samotné měření. Může jít například o geometrie kužel/deska, deska/deska nebo soustava dvou soustředných válců. [66]

Mezi základní měřicí metody patří takzvané oscilační smykové testy, jejichž výsledky odpovídají pevnosti zkoumaného materiálu. Existuje řada testů, jako je amplitudový test, frekvenční test nebo časový test. [66, 67]

Hlavní technikou využitou v rámci této práce pro měření viskoelastických vlastností byl amplitudový test. Princip testu spočívá v měření schopnosti hydrogelu odolávat smykové deformaci s postupně rostoucí amplitudou a konstantní frekvencí (obvykle 1 Hz) [66] [68].

Výsledkem amplitudového testu je grafické znázornění závislosti elastického a viskózního modulu na procentuálním oscilačním namáhání v podobě amplitudy deformace. Úsek grafu, ve kterém nezaznamenáváme značný pokles v hodnotách modulů, se nazývá lineární viskoelastická oblast (LVO) a udává hodnoty namáhání, ve kterých ještě nedochází k deformaci uzlů v gelu. Po překročení takzvaného kritického bodu namáhání vzroste hodnota viskózního modulu a gel se deformuje. [69]



Obrázek 4: Příklad grafického znázornění LVO. Na ose y jsou vyjádřeny moduly (*c* - elastický, *d* - viskózní) [Pa] a na ose x je vyjádřeno namáhání [%]. [69]

Pokud je namáhání dále zvyšováno, dojde k postupnému poklesu obou modulů (značnější u elastického) [69].

Dalším testem je tzv. test frekvenční. Při tomto testu se naopak mění hodnota frekvence oscilací, zatímco hodnota amplitudy vybraná z lineární viskoelastické oblasti zůstává po celou dobu měření stejná. Měření tohoto testu probíhá v LVO materiálu, je tedy nejdříve nutno pro její zjištění použít test amplitudový. [66, 67]

Posledním zmiňovaným testem je test časový, který zkoumá strukturní změny materiálu po nějakou určitou dobu. Změny můžou nastat díky regeneraci, deformaci, odparu rozpouštědla atd. [67]

Reometrické měření lze také využít v tandemu s nukleární magnetickou rezonancí (NMR) pro zjištění hustoty sítě vzniklého hydrogelu. Toto měření lze následně porovnat s metodou krypozimetric. Nejdříve je změřen smykový modul, díky kterému se spočítá průměrná velikost „ok“ v síti hydrogelu. NMR je poté použito k zjištění času relaxace hydrogelových atomů. Pokud se při porovnání liší jednotlivá měření tvarem a průměrem ok, znamená to, že dojde k rozšíření polymerní sítě. Ta úzce souvisí s hustotou síťování, menší sítě se totiž dokážou hustěji spojovat. [70]

3 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Jak již bylo zmíněno v kapitole aplikace hydrogelů (2.5), polyethylenglykolové hydrogely nacházejí široká uplatnění například v mnohých průmyslových odvětvích. Hlavní uplatnění mají v biomedicínských aplikacích. Z tohoto důvodu jsou zkoumány nové způsoby přípravy gelů za účelem snížení nákladů výroby a jejího zefektivnění. Studie přípravy relevantní pro tuto práci budou v této kapitole zmíněny.

Senol a kol. [71] se zabývali tvorbou PEGDA hydrogelů metodou fotopolymerizace s přídavkem oxidu titaničitého (TiO_2) za účelem nahradit tablety s léčivem, které byly již příliš obtížně konzumovány pacienty vyššího věku. K přípravě těchto hydrogelů bylo využito jednak síťovací činidlo ethylenglykol dimethakrylát, které napomáhalo polymerizaci a fotoiniciátor, konkrétně tři různé fotoiniciátory, a to Irgacure 184, Irgacure 651 a Irgacure 2959. Polyethylenglykol diakrylát byl zakoupen v práškové formě a rozpuštěn v deionizované vodě. Gely byly následně vystaveny UV záření, promyty n-hexanem a usušeny při pokojové teplotě.

U takto tvořených gelů byla následně zkoumána jejich botnací schopnost v destilované vodě při 37 °C a různých hodnotách pH (konkrétně hodnoty 1,2, 6,8 a 7,4). Hodnota 1,2 simulovala žaludeční prostředí, hodnota 6,8 střevní tekutiny, jelikož tato prostředí mají podobné hodnoty pH. Tato simulace byla využita pro zkoumání míry uvolňování donepezil hydrochloridu. Použitou metodou byla UV-VIS spektrofotometrie při vlnové délce 270 nm.

Experimenty kontrolovaného uvolňování léčiv ukázaly, že proces ovlivňují jak různé hodnoty pH, tak i množství síťovacího činidla a druh fotoiniciátoru. Bylo zjištěno, že gely nejlépe uvolňovaly léčivo při hodnotě pH 7,4. Tyto gely mají tedy možnost uvolňovat léčivo ve střevech, mají tedy potenciální aplikace pro náhradu tablet. Dalším faktorem byla také přítomnost oxidu titaničitého. Hydrogely obsahující TiO_2 vylučovaly léčivo značně pomaleji než hydrogely bez přídavku TiO_2 .

Glass a kol. [72] ve své studii poukázali na skutečnost, že TiO_2 nemusí být pouze příměsí do gelů, ale lze jej využít jako samotný fotoiniciátor. Patří totiž mezi takzvané fotosenzitivní látky, které dokážou přijmout foton a excitovat se [73]. Poté dojde k vyzáření energie, která přemění molekulu kyslíku na singletový kyslíkový radikál [73]. Výhodou je, že na rozdíl od standartně využívaných fotoiniciátorů není TiO_2 toxický, naopak vykazuje dobrou biokompatibilitu. Příprava spočívala v smíchání PEGDA s PBS puftrem a TiO_2 fotoiniciátorem. Roztok byl následně vložen do ultrazvuku po dobu 15 minut, následně polymerizován pod rtuťovou výbojkou s intenzitou přibližně 7000 mJ/cm². Takto tvořené hydrogely byly mechanicky stabilní (dynamický modul dosahoval hodnot až 55 kPa při frekvenci 1 Hz) a mohou být sterilizovány v autoklávu díky jejich výborné tepelné stabilitě. Produkty této syntézy údajně nevykazovaly žádnou toxicitu, jsou tedy vhodnými kandidáty pro biomedicínské aplikace, jako je léčba ran. Nevýhodou je značně slabá fotoaktivita TiO_2 , která by se dala eventuálně zlepšit změnou gelu na transparentní, aby světlo procházelo lépe do celé jeho struktury (TiO_2 zbarvuje gely do bíla).

Wang a ko. [74] připravovali interpenetrované polymerní sítě polyethylenglykol diakrylátu s příměsí hyaluronanu za účelem cíleného uvolňování léčiva pexlitalax při chemoterapii. Hyaluronan byl vybrán z důvodu jeho dobré biokompatibility a téměř nulové imunitní odezvy,

ovšem samotný hyaluronan v těle příliš rychle degraduje, aby mohl být pro kontrolované uvolňování léčiv využit. Naopak PEGDA je v porovnání více toxický a v lidském těle degraduje příliš pomalu. Řešením je tvorba semi-interpenetrovaných sítí kombinujících vlastnosti obou polymerů. Do této upravené struktury je možno již při samotném síťování enkapsulovat požadované léčivo, které se bude poté v těle uvolňovat na potřebném místě při jejich degradaci.

Gely byly připravovány radikálovou polymerizací způsobenou vystavení UV záření (intenzita 166 mW/cm^2) po dobu 2,5 minuty společně s přidavkem fotoiniciátoru Irgacure 2959 (1 hm%). Nejprve byl PEGDA rozpuštěn ve fosfátovém pufru a zbaven kyslíku probubláváním dusíkem po dobu třiceti minut, aby došlo k zamezení tvorby bublin a tím tvorbě defektů ve finálním gelu. Následně byly přidány fotoiniciátor Irgacure 2959 a hyaluronan. Po dvou hodinovém míchání byl roztok vystaven UV záření při vlnové délce 365 nm po dobu dvou minut. Během polymerizace nedocházelo k tvorbě vazeb mezi hyaluronanem a PEGDA. Během procesu polymerizace gelu byl hyaluronan pouze fyzicky chycen mezi nově tvořenými řetězci PEGDA. Výsledkem byly bílé zbarvené semi-interpenetrované sítě gelu. Tento postup poukázal na to, že k radikálové polymerizaci není síťovací činidlo nezbytně nutné. Posledním krokem byla inkorporace nanočástic obsahujících léčivo do gelové struktury. Výsledky následujících testů prokázaly schopnost léčivem nabitého gelu ničit plicní tumor pomocí *in situ* fotopolymerizace přímo na místě jeho výskytu, kde následně degraduje a dlouhodobě uvolňuje aktivní látku do okolní tkáně.

Kirchhof a kol. [22] syntetizovali substituované gely na bázi polyethylenglykolu pomocí Diels-Alderovy cykloadice. Pro polymerizaci nebylo nutné použít žádné katalyzátory ani iniciátory. Následná analýza gelu poukázala na skutečnost, že čas gelace a následná pevnost gelu závisely na koncentraci, molekulové hmotnosti a stupně větvení použitých makromonomerů. Doba degradace těchto hydrogelů dosahovala překvapivé hodnoty několik dnů až týdnů od doby jejich polymerizace (opět závislé na původní koncentraci), mohly by tedy být uplatněny při kontrolovaném uvolňování léčiv. Mechanismus degradace probíhal pravděpodobně zpětnou Diels-Alderovou reakcí, při které se vzniklý cyklický produkt rozpadal zpět na dien a dienofyl, a následnou hydrolyzou produktů této zpětné reakce. Potenciální aplikace, jak již bylo zmíněno výše, jsou v kontrolovaném uvolňování léčiv, či proteinů pro tkáňové inženýrství.

Naga a kol. [21] studovali vlastnosti vodivých gelů síťovaných pomocí Michealovy adice. Pro syntézu gelu byla využita směs acetoacetátů, erythrytol tetraacetoacetátu (ETAA), trimethylolpropan triacetoacetátu a diakrylátových sloučenin (např. PEGDA). Tyto komponenty byly smíchány po přidání dimethyl sulfoxidu po dobu několika minut a následně ponechány při pokojové teplotě po dobu šesti hodin. Výsledné mechanické vlastnosti gelů bylo možno ovlivnit změnou molekulové hmotnosti jednotlivých komponentů. Hodnota mechanických vlastností klesá s rostoucí molekulovou hmotností, jelikož s ní roste velikost monomerních jednotek. Vyšší jednotky způsobí nižší hustotu síťování, jelikož dojde k poklesu počtu aktivních míst v daném objemu vzorku. Nižší hustota síťování tedy snižuje i mechanické vlastnosti gelu. Aby byly výsledné gely vodivé, byly komponenty smíchány s roztokem lithium-perchlorátu v propylenkarbonátu. Bylo zjištěno, že zvýšení poměru Li/O mělo za následek pokles rychlosti formace síťování, zatímco jejich vodivost s růstem tohoto trendu

také rostla. Díky těmto vlastnostem mohou tyto gely najít uplatnění jako elektrolytické materiály. Další aplikace jsou momentálně ještě zkoumány.

Michaelova adice může sloužit také k síťování gelů tvořenými směsí PEDGA a 4-ramenných PEG-thiolů (1:1). Jelikož se nejedná o radikálovou polymerizaci, nedochází k tvorbě toxických radikálů. Práškový PEG-thiol použitý pro přípravu gelů musel být u všech experimentů vážen v těsněném boxu, aby nedošlo k poškození vzorků vzdušnou vlhkostí. Tento prášek byl následně přenesen do PBS pufru (pH 7,4) a po rozpuštění smíchán s PBS pufrům (pH 7,4) obsahujícím rozpuštěný PEGDA. Pro tuto reakci je kritická příprava roztoků prekurzorů v samostatných nádobách. V opačném případě by došlo k tvorbě sítí ještě před kompletním rozpuštěním síťovacích komponentů. Při míchání PEG-thiolů dochází k tvorbě disulfidických můstků a tato síť pravděpodobně ovlivňuje navazování PEGDA molekul po smíchání. Čím déle je PEG-thiol míchán, tím více disulfidických můstků se tvoří. Čas míchání je tedy jeden z faktorů ovlivňujících viskoelastické vlastnosti výsledných gelů. [35]

Huang a kol. [23] řešili problém týkající se poškození meziobratlové ploténky u pacientů vyššího věku, popřípadě u obětí poranění páteře. Tato degradace je vždy spojená s bolestmi či omezením pohybu. Slibnou alternativu operativních zákroků představovaly *in situ* rychle tuhnutí hydrogely na bázi chitosanu a PEG injektované přímo do místa poškození. Gely byly připraveny smícháním chitosan methakrylátu (CSMA) a polyethylenglykol diakrylátu (PEGDA) a následného ozáření světlem o vlnové délce 405 nm. Při polymerizaci docházelo k tvorbě iminových vazeb pomocí reakce se Schiffovou bází. Výsledné gely podporovaly proliferaci buněk, u pokusů na krysách dokázaly zcela zacelit poškození ploténky a zabránit tak dalšímu poškození. Lze je tedy považovat jako kandidáty pro využití jako biomedicínské „lepidlo“.

Reakce se Schiffovou bází umožňuje také tvorbu regenerujících gelů. Yusar a kol. [75] syntetizovali gely z vanillinu upraveného methakrylátem a PEGDA. Samotná příprava se skládala z několika kroků, prvním byla příprava methakrylátem upraveného vanillinu, následně se tento komponent rozpustil v ethanolu. Do roztoku byla přidána fumarová kyselina, PEGDA a polyethylen imin. Po přidání fotoiniciátoru byla směs vystavena UV záření po dobu 15 minut při laboratorní teplotě. Při gelaci probíhá současně vinylová polymerace a iminace, výsledkem těchto reakcí jsou gely s dobrou regenerací díky dynamickým vazbám, které jsou schopny regenerovat již při pokojové teplotě bez dalšího vnějšího zásahu. Mechanické vlastnosti závisely na kompozici a poměru jednotlivých komponentů. Po průběhu regenerace gelu byly tyto mechanické vlastnosti téměř identické s původními. Pokud byly gely následně potaženy kolagenem, podporovaly navíc buněčný růst. Tyto hydrogely mohou díky svým vlastnostem najít uplatnění v tkáňovém inženýrství.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1. Použité chemikálie

Tabulka 1: Použité PEGDA vzorky od firmy SIGMA

	M_n [kDa]	Naměřená M_n [kDa]	Výrobce	CAS RN
PEGDA (Obrázek 3)	0,575	-	Sigma-Aldrich s.r.o.	26570-48-9
	4	2,89	Sigma-Aldrich s.r.o.	26570-48-9
	10	7,59	Sigma-Aldrich s.r.o.	26570-48-9
	20	18,26	Sigma-Aldrich s.r.o.	26570-48-9

Tabulka 2: Použitý vzorek PEGDA od Laysan Bio

	M_n [kDa]	Skutečná M_n [kDa]	Výrobce	Lot
PEGDA	10	7,44	Laysan Bio, Inc.	176-79

Pro zajímavost byly skutečné molekulové hmotnosti použitých vzorků zjištěny pomocí metody SEC-MALS, s těmito daty ovšem nebylo dále nijak pracováno, jelikož to nebylo předmětem této bakalářské práce. Vzorek s 575 Da nebyl měřen, protože svými vlastnostmi nevyhovoval cílům práce.

Tabulka 3: Další použité chemikálie

	Molekulová hmotnost [g/mol]	Výrobce	CAS RN
EGDMA	198,22	Sigma-Aldrich s.r.o.	97-90-5
Irgacure 2959	224,25	Sigma-Aldrich s.r.o.	106797-53-9

*EGDMA = Ethylenglykol dimethakrylát

* Irgacure 2959 = 2-Hydroxy-4'-(2-hydroxyethoxy)-2-methylpropiophenon

4.2. Použité přístroje

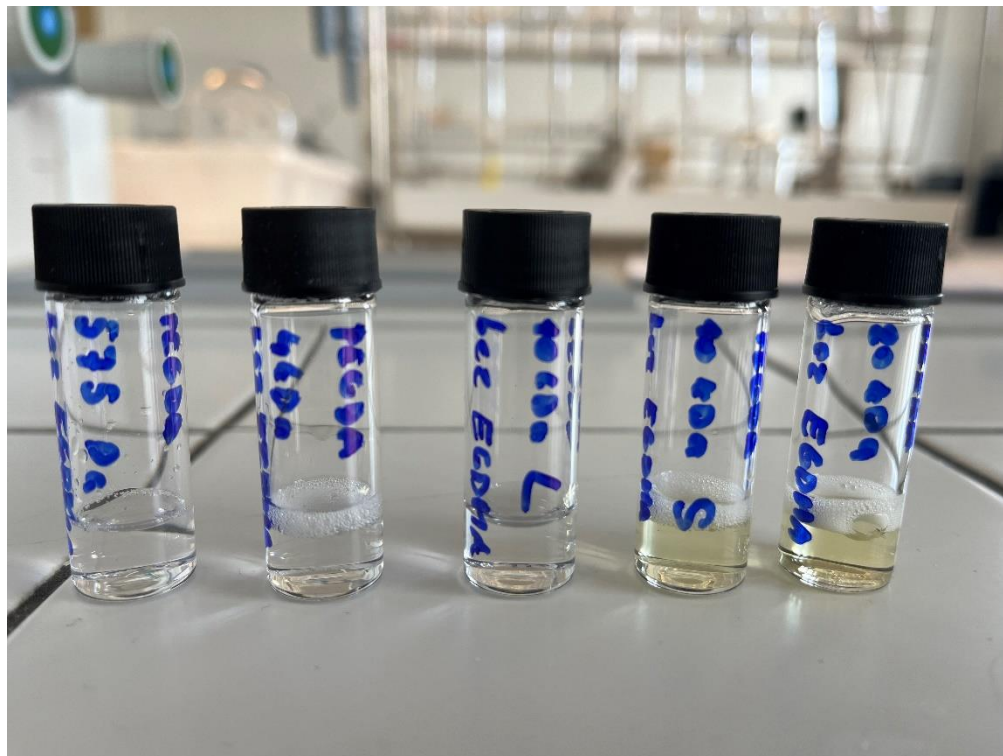
- Rotační reometr DHR-2 (TA Instruments)
- UV-VIS spektrofotometr Hitachi U-3900H
- Analytické váhy TB-224A (Denver Instruments)
- Magnetická míchačka Thermo Scientific
- UV-B lampa Lumenica KN 4006B

4.3. Příprava vzorku PEGDA hydrogelu

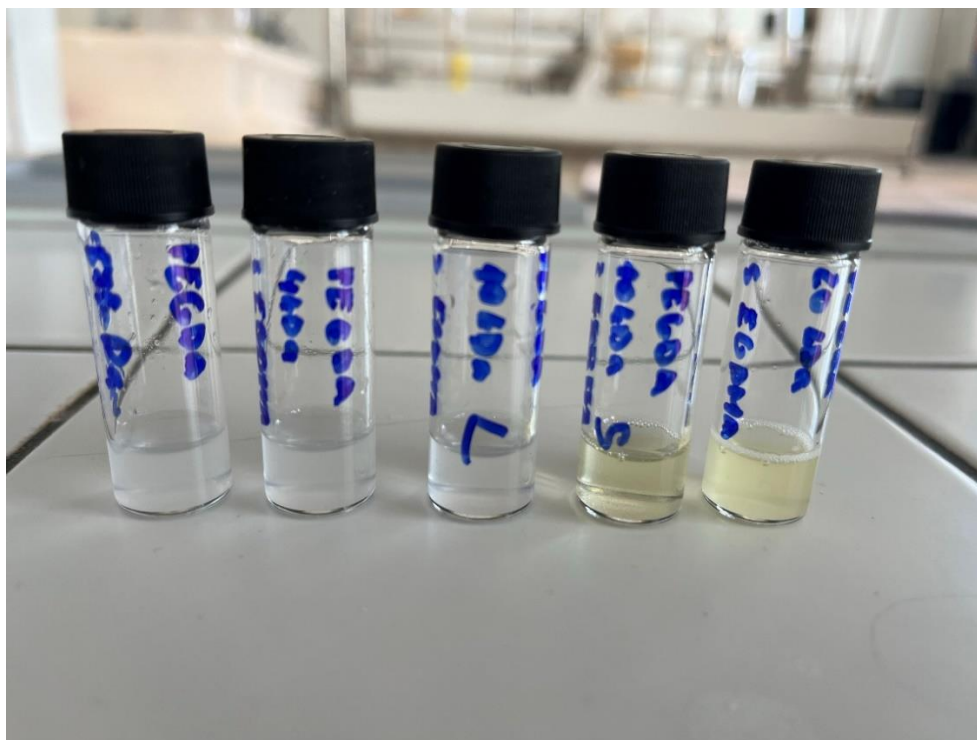
Postup přípravy PEGDA hydrogelů byl pro všechny molekulové hmotnosti stejný, koncentrace finální kompozice takto připravených gelů činila 5 hm. %.

Nejprve bylo naváženo 0,05 g PEGDA, který byl následně rozpuštěn v 1 ml deionizované vody. Pokud se jednalo o vzorek se síťovacím činidlem EGDMA, bylo do roztoku ještě přidáno

2,5 μ l EGDMA. Poslední komponentou směsi byl fotoiniciátor Irgacure 2959, jehož navážka činila 0,005 g. Roztok byl nadále míchán rychlostí 550 otáček za minutu, dokud se všechny komponenty zcela nerozpustily. Takto připravené vzorky byly následně vylity do destičkových forem, které jim daly jejich finální tvar. Gely v destičkách byly ozařovány UV lampou s vlnovou délkou v rozsahu 280-315 nm po dobu 15 minut.



Obrázek 5: Vzorky PEGDA po smíchání bez přídavku EGDMA – jednotlivé vzorky se liší molekulovou hmotností, jsou poskládány vzestupně (vlevo – 575 Da, vpravo 20 kDa)



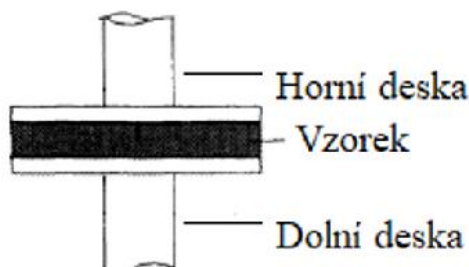
Obrázek 6: Vzorky PEGDA po smíchání s přidavkem EGDMA – opět seřazeny dle rostoucí molekulové hmotnosti (575 Da vlevo, 20 kDa vpravo)



Obrázek 7: Porovnání gelu s EGDMA (vlevo) a bez EGDMA (vpravo), s EGDMA bylo přítomno značné zakalení

4.4. Reologické měření mechanických vlastností

Studium viskoelastických vlastností bylo provedeno pomocí Reometru TA Instruments HR-2 s hladkou geometrií deska-deska s průměrem 25 mm. Tato geometrie byla zvolena z důvodu velikosti vzorku, jelikož bylo žádoucí, aby vzorek vyplňoval celou plochu desky.



Obrázek 8: Geometrie deska-deska, upraveno z [76].

Před měřením bylo nutno přístroj kalibrovat. Dohodnutá hodnota měřicí mezery měla být nastavena na 500 μm . Z důvodu mechanické pevnosti chemicky síťovaných gelů ale nebylo možno dostatečně rychle dosáhnout požadovaného stlačení. Toto byl problém, jelikož gely při stlačování vysychaly. Limitujícím faktorem byla maximální axiální síla, kterou mohl reometr vyvinout. Ta činila pouze byla 50 N, což nebylo dostačující. Mezera byla tedy po několika minutách neúspěšného stlačování ponechána na hodnotě 810 μm . Měření probíhalo při teplotě 25 $^{\circ}\text{C}$.

Pro stanovení viskoelastických vlastností byl využit amplitudový test s konstantní frekvencí oscilace 1 Hz, amplitudou oscilace nastavenou na rozmezí 0,01 % až 1000 % a měřen v logaritmickém měřítku s počtem 8 bodů na dekádu. Před samotným měřením byla ještě provedena temperace vzorku na 25 $^{\circ}\text{C}$ po dobu dvou minut, po jejímž dokončení se čekalo na relaxaci axiální síly pod hodnotu 6 N. Toto měření bylo provedeno pro získání hodnot elastického a viskózního modulu v závislosti na amplitudě deformace a hodnoty LVO – lineární viskózní oblasti, která odpovídá oblasti, ve které nebyla struktura gely nevratně narušena.

Ihned po dokončení prvního měření bylo spuštěno měření druhé, tentokrát bez temperace vzorku. Frekvence nebyla změněna, rozmezí amplitud bylo zmenšeno od 1 % do 120 %, měření probíhalo v logaritmickém měřítku s počtem 20 bodů na dekádu. Toto měření bylo použito k přesnějšímu zjištění hodnot LVO měřených vzorků a také ke charakterizaci reakce gelů na předchozí deformaci.

4.5. Botnací testy

Botnací testy byly provedeny za účelem zjištění, jak a zda se liší botnací charakteristika gelů v závislosti na koncentraci, molekulové hmotnosti, přídavku EGDMA. Zároveň byla zkoumána doba, za kterou se dostane gel do rovnováhy. Rovnováha byla charakterizována faktem, že už

nedochází k zvyšování hmotnosti gelů a tím pádem již zůstává množství disperzního prostředí konstantní. Po dosažení rovnováhy byly gely dále využity na transportní experimenty.

Gely pro botnání byly připraveny dle již zmíněného postupu v kapitole 4.3. Po odstranění z destiček byly vzorky ihned zváženy a vyfoceny shora a z boku na milimetrovém papíře. Poté byly vzorky přeneseny do kádinek s deionizovanou vodou a ponechány botnat. Během prvních dvou hodin od počátku botnání byly gely v půlhodinových intervalech opět váženy, čímž byl sledován jejich nárůst hmotnosti, a foceny, díky čemuž bylo opticky pozorováno, zda gely mění svůj objem. Gely byly ponechány ve vodě po dobu tří dnů, kdy další vážení a focení probíhalo ve čtyřiaadvaceti hodinových intervalech. Po dosažení rovnováhy byly stanoveny procentuální nárůsty hmotnosti všech vzorků a jejich následné vynesení do grafu v závislosti na uplynulém čase.

4.6. Transportní experimenty

Na základě využívání hydrogelů v praxi jako transportérů aktivních látek bylo žádoucí zjistit schopnost absorpce a následnou desorpci látek u připravovaných PEGDA hydrogelů.

Aby se zamezilo tvorbě chyby z důvodu různého povrchu zkoumaných vzorků, byly gely síťovány v plastových trubičkách (1 cm x 1 cm). Ty jim dodaly uniformní válcový tvar. To bylo nutné zejména z toho důvodu, že vzorky s M_n 10 kDa bez použití válcové formy měly po ukončení botnání značně větší povrch a tím pádem by difúze neprobíhala stejně rychle u všech vzorků. Po gelaci byly vzorky hydrogelů ponechány v deionizované vodě po dobu dvou dnů, čímž se zaručil rovnovážný stav před transportními experimenty u všech vzorků.

Vhodným indikátorem pro sledování difúzních experimentů byla methylenová modř (dále jen MM). Aby bylo možné sledovat průběh transportních experimentů a stanovit koncentraci, bylo nejdříve nutné sestavit kalibrační křivku z roztoků MM o různé koncentraci metodou UV-VIS. Pro již samotné sorpční experimenty byl využíván roztok MM o koncentraci 0,005 g/l. Nejprve byla zjištěna absorbance čistých roztoků pro začátek měření (čas 0 min), po přidání vzorků byl sledován úbytek absorbance v daných časových intervalech (30 min, 60 min, 90 min, 120 min a dále po přibližně 24 h).

Po dosažení rovnováhy byly gely vyjmuty z MM, zváženy a předělány do kádinek s deionizovanou vodou. Měření ve vodě probíhalo identicky s měřením v MM. Po dosažení rovnováhy ve vodě byl experiment ukončen.

5 DISKUZE A VÝSLEDKY

5.1. Optimalizace přípravy vzorků PEGDA hydrogelů

Samotný postup přípravy byl převzat z předchozí bakalářské práce Bc. Michaely Kadlecové [77], ve které byla pro gelaci využita rtuťová výbojka. Jelikož tuto výbojku nebylo možno použít z důvodu její poruchy, bylo nutno nejprve provést optimalizaci gelace pod novou UV lampou. Postup síťování pod touto lampou může být následně použit pro budoucí experimenty. Po optimalizaci přípravy následovalo studium mechanických, botnacíh a transportních vlastností PEGDA hydrogelů.

5.1.1. Doba osvitů

Jedním ze zkoumaných parametrů byla doba osvitů gelu pomocí UV lampy. Samotná radikálová reakce probíhá velice rychle (řádově sekundy), nicméně gely byly pod lampou ponechávány po delší dobu, aby se zamezilo možnosti neúplného zesíťování vzorku. Neúplná polymerizace je nežádoucí, jelikož by se nedosáhlo dostatečné pevnosti a hustoty síťování, navíc by mohlo docházet ke tvorbě defektů. Zvolené doby gelace činily 15, 30, 45 a 60 minut, přičemž lampa byla po půl hodině chodu odstavena po dobu 10 minut, aby nedošlo k přehřátí.

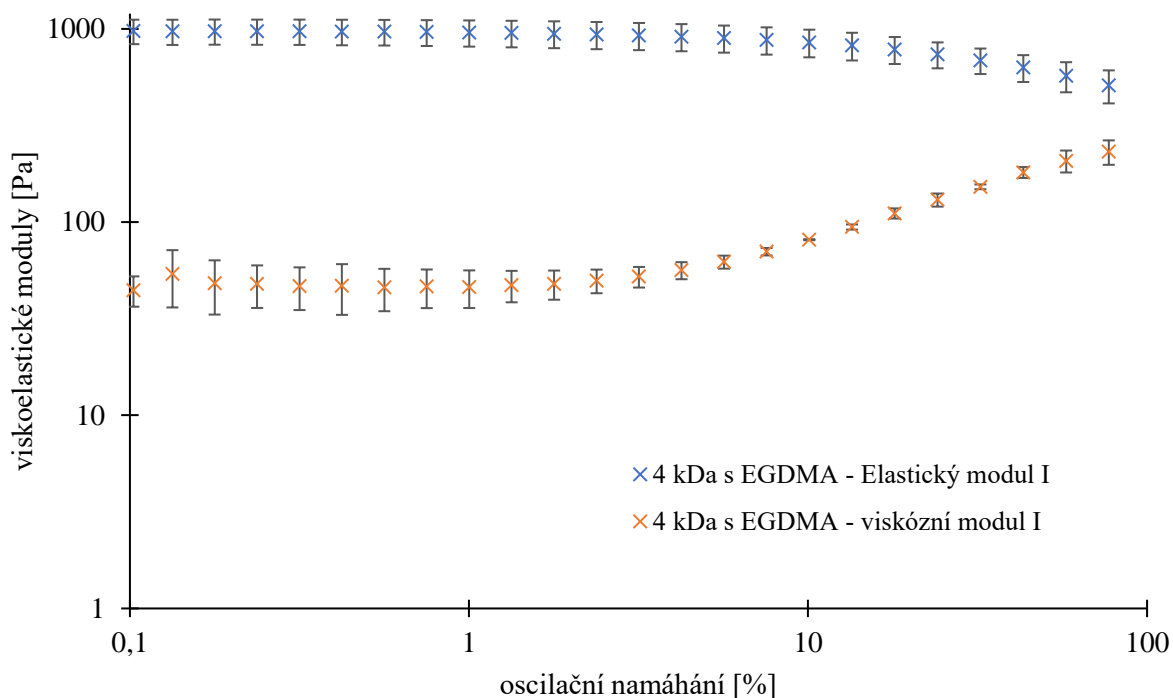
Výsledné moduly měřené na reometru nevykazovaly značné odchylky. Je tedy možno usoudit, že delší doba osvitů již nijak neovlivňovala strukturu finálního gelu. Pro následující měření byly vzorky síťovány po dobu 15 minut.

Bylo ovšem pozorováno, že vzorky byly po zesíťování mazlavé a obsahovaly zbytkové množství vody. Tyto nežádoucí vlastnosti byly nejspíše důsledkem toho, že UV lampa měla menší intenzitu a generovala menší množství tepla než dříve používaná rtuťová výbojka. Pro dosažení vyšší intenzity byly destičky, ve kterých byly hydrogely síťovány, seřezány o polovinu, čímž bylo možné se dostat blíže k zdroji. Tato úprava úspěšně vylepšila vzorky.

5.1.2. Objem vzorku

Dalším zkoumaným parametrem byl objem vzorku. Pro experiment byly zvoleny vzorky o objemu: 700 μl , 832,5 μl a 1000 μl . Všechny gely byly síťovány za stejných podmínek po dobu 15 minut. Následně byly měřeny na reometru za účelem zjištění jejich mechanických vlastností. Jelikož byla pro všechny vzorky využita stejná mezera (810 μm), nebylo dosaženo stejných hodnot axiální síly. Z tohoto důvodu rostly hodnoty elastických modulů spolu s rostoucími hodnotami objemu. 700 μl dosahoval hodnot elastického modulu okolo 60 Pa, 832,5 μl kolem 270 Pa a 1000 μl 430 Pa. Vyšší hodnoty modulu byly žádoucí, pro budoucí experimenty byl tedy využíván objem 1000 μl .

Po optimalizaci parametrů bylo opět provedeno reometrické měření, které potvrdilo, že se skutečně jedná o gely, jelikož hodnoty elastických modulů byly vyšší než hodnoty modulů viskózních.



Obrázek 9: Závislost viskoelastických modulů na oscilačním namáhání pro vzorek s Mn 4 kDa s přidávkem EGDMA

5.2. Vliv síťovacího činidla na mechanické vlastnosti

Jak již bylo zmíněno v postupu přípravy, do vzorků bylo přidáváno síťovací činidlo EGDMA, které má napomáhat při procesu síťování a tím vytvořit gely s lepšími mechanickými vlastnostmi. Dalším krokem experimentu bylo tedy zjistit, jaký vliv má na gely přidávek síťovacího činidla a zda je tento vliv jiný při různých molekulových hmotnostech PEGDA.

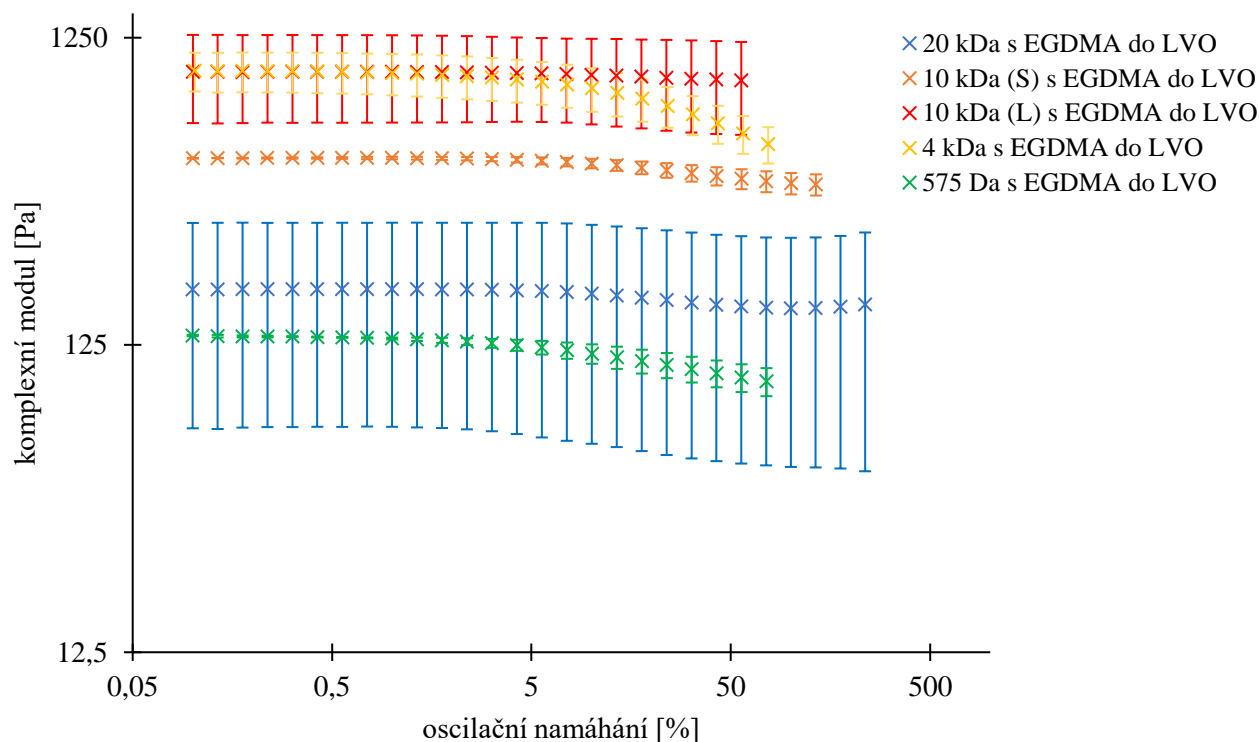
5.2.1. Vliv molekulové hmotnosti PEGDA se síťovacím činidlem

Nejdříve byly pomocí reometrického měření zkoumány viskoelastické vlastnosti jednotlivých molekulových hmotností. Pro přehlednost při vyhodnocování byly hodnoty elastického a viskózního modulu přepočteny na modul komplexní (G^*) pomocí vzorce:

$$G^* = \sqrt{(G'^2 + G''^2)}. \quad (1)$$

kde G' je elastický modul a G'' je viskózní modul.

Pro orientaci v grafech byly vzorky s molekulovou hmotností 10 kDa od společnosti Sigma-Aldrich značeny (S) a vzorky od společnosti Laysan (L).

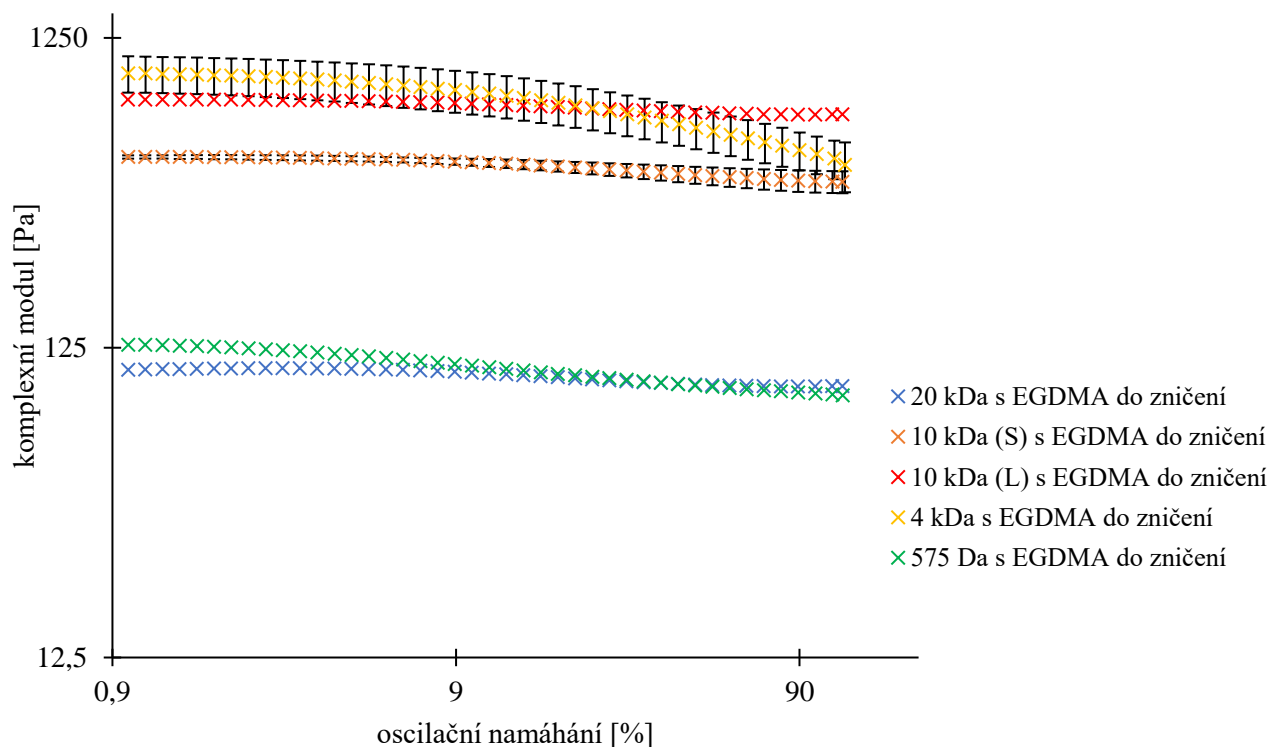


Obrázek 10: Závislost komplexního modulu na oscilačním namáhání pro vzorky s různými M_n s přidavkem EGDMA do konce LVO

Jak je možno vyčíst z grafu (Obrázek 10), z prvního měření probíhajícího pouze do konce LVO dosahoval nejvyšších modulů PEGDA o molekulové hmotnosti 10 kDa od společnosti Laysan. Velice podobné moduly byly naměřeny také pro 4 kDa a 10 kDa od Sigma-Aldrich. Tyto výsledky odpovídaly pozorovaným vlastnostem gelů, zejména jejich vyšší mechanické pevnosti, nízké mazlavosti a snadné manipulaci.

Podstatně nižší hodnoty komplexních modulů byly zaznamenány jak u vzorku o molekulové hmotnosti 20 kDa, tak 575 Da. Tyto vzorky byly méně pevné, více mazlavé a lehce se rozpadaly při manipulaci.

Je zde nutno podotknout, že měření bylo pro jednotlivé molekulové hmotnosti zastavováno v jiných časových intervalech, aby nedošlo k nevratnému poškození vzorku před měřením druhým. Z tohoto důvodu není délka datových řad jednotlivých vzorků stejná.



Obrázek 11: Závislost komplexního modulu na oscilačním namáhání pro vzorky s různými M_n s přídavkem EGDMA do zničení gelu

Výsledky druhého měření, zobrazené na grafu (Obrázek 11) byly velice podobné s předchozími výsledky. Tentokrát nejvyšších hodnot dosahoval vzorek s molekulovou hmotností 4 kDa.

Předpokladem bylo, že gely s nižší molekulovou hmotností PEGDA budou vykazovat vyšší hodnoty elastického modulu. Menší monomerní jednotky tvoří hustší síť a tím pádem pevnější gely. Jak lze vyčíst z obou grafů, tomuto předpokladu neodpovídají vzorky s 575 Da, které měly nejnižší hodnoty elastického modulu. Důvodem byla nespíše nemožnost tyto gely plně zesíťovat. Všechny vzorky byly velice křehké na manipulaci, měkké, mazlavé a vodové. Již při jejich gelaci bylo zřejmé, že vysokých hodnot modulů nemohou dosahovat. Vzorkem, který by dle předpokladu měl mít druhou nejvyšší hodnotu elastického modulu byl vzorek s molekulovou hmotností 4 kDa. Hodnota elastického modulu byla ovšem srovnatelná s elastickým modulem vzorků s vyšší molekulovou hmotností (10 kDa). Důvodem byla tvorba defektů v struktuře 4 kDa vzorku během deformace.

Druhé měření nebylo již nijak zastavováno. Díky tomu datové řady obsahují stejný počet bodů.

Z výše uvedených výsledků vykazovaly nejlepší vlastnosti molekulové hmotnosti 4 a 10 kDa. Podrobněji byly tedy zkoumány pouze tyto dvě molekulové hmotnosti. Aby se zamezilo vzniku chyb, byly porovnávány vzorky od stejného dodavatele – Sigma-Aldrich.

5.2.2. Vliv síťovacího činidla

Jak již bylo zmíněno dříve, přítomnost síťovacího činidla by měla napomoci při tvorbě gelů. Molekuly EDGMA totiž obsahují dvojnásobné vazby podobně jako molekuly PEGDA, mohou tedy napomoci spojení jednotlivých molekul PEDGA monomerů. Jedním z důsledků využití EGDMA je vyšší hustota síťování a s ní spojené prodloužení LVO. Pro výpočet číselné hodnoty konce LVO bylo nejprve potřeba spočítat procentuální pokles elastického modulu:

$$\% \text{ pokles} = \frac{(G' - G'_{\text{prům}})}{G'_{\text{prům}}} \quad (2)$$

Následně byl nalezen interval dvou hodnot blízkých se -5%. U těchto dvou hodnot byl spočten průměr jejich oscilačního namáhání. Tento průměr je číselná hodnota konce LVO.

Tabulka 4: Vypočtené hodnoty hraničních amplitud deformace pro různé M_n s přidávkem EGDMA

M_n [kDa]	amplituda deformace do LVO [%]	amplituda deformace do zničení [%]
20	13,7	14,5
10 (S)	22,2	18,9
10 (L)	35,1	66,9
4	4,9	4,8
0,575	4,1	5,7

Měření vzorků bylo opakováno, z naměřených hodnot byly spočteny průměry. Amplituda deformace zmiňovaná v tabulce je v grafech nahrazena názvem oscilační namáhání, jedná se ovšem o stejnou veličinu.

LVO byla nejdelší u 10 kDa. Délka LVO je úměrná pevnosti gelu, jelikož se jedná o oblast, ve které je deformace vratná a nedochází k narušení vazeb v gelu. Gely s delší LVO tedy dokáží vystát vyšší amplitudu deformace, aniž by došlo k jejich trvalému poškození. Rozdíly mezi výrobci byly pravděpodobně způsobeny rozdíly v molekulové hmotnosti. Hodnota pro 20 kDa byla 13,7 %, jelikož monomerní jednotky s vyšší molekulovou hmotností mají delší řetězec, ve stejném objemu bude tedy méně vazebných skupin. To sníží hustotu síťování a délku LVO. Vzorek s molekulovou hmotností 4 kDa je nejhustěji síťován. S hustotou síťování roste ovšem i riziko vzniku defektů. Tyto defekty nejspíše způsobily nízké hodnoty LVO u těchto vzorků. Vzorek 575 Da od začátku vykazoval slabé mechanické vlastnosti, slabé síťování se tedy projevilo i v hodnotách LVO.

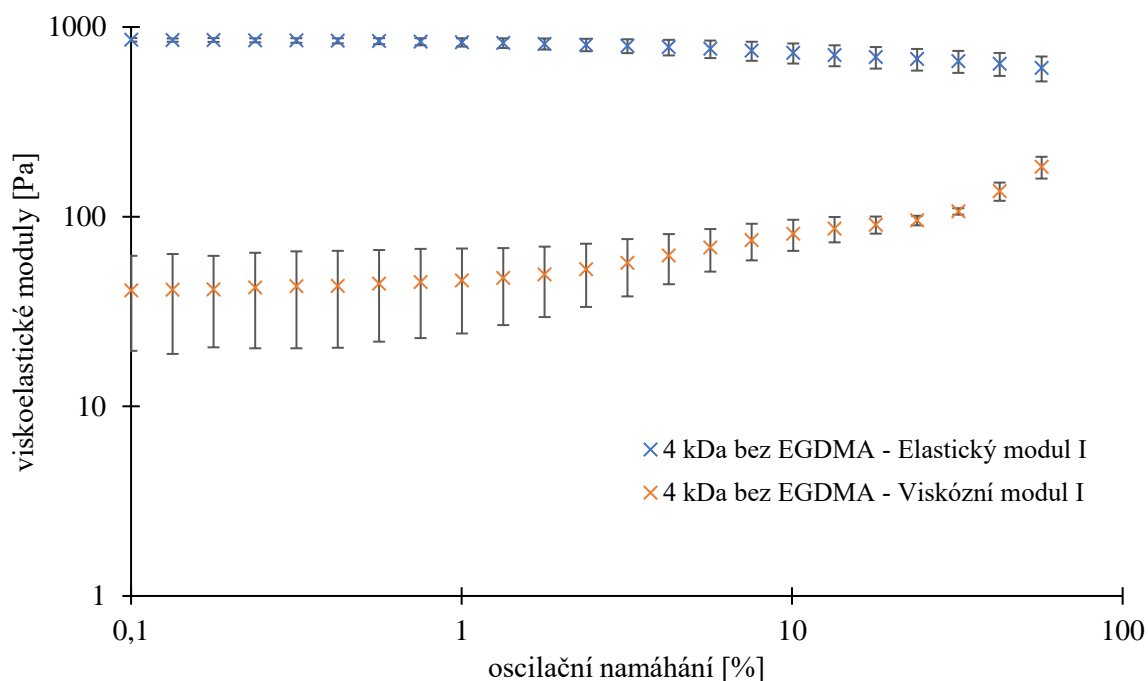
5.3. Studium vlivu molekulové hmotnosti na mechanické vlastnosti

5.3.1. Absence síťovacího činidla – možnosti gelace

Všechny dosavadní experimenty byly prováděny s přítomností síťovacího činidla EGDMA. Aby se zjistilo, jak zásadní je přítomnost tohoto činidla, byl proveden experiment, ve kterém nebylo EGDMA do vzorku při přípravě přidáno.

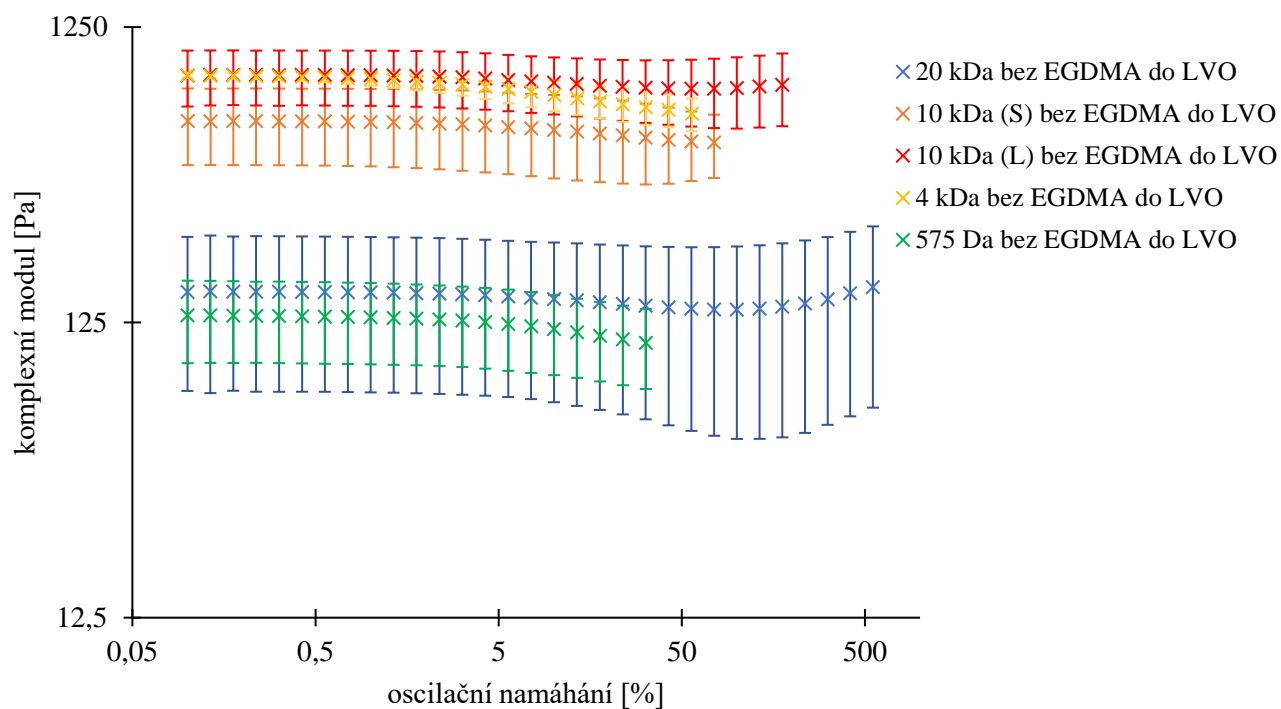
I přes absenci EGDMA vzorky vytvořily během 15 minut gelaci polymerní síť, svou pevností se téměř nelišily od vzorků s EGDMA. Jediným pozorovaným rozdílem byl jejich čirý vzhled. Předchozí vzorky byly zakaleny přítomností síťovacího činidla.

Jak lze vidět na grafu (Obrázek 12), hodnoty elastického modulu byly vyšší, než hodnoty modulu viskózního. Z tohoto faktu lze usoudit, že se jednalo o gely.

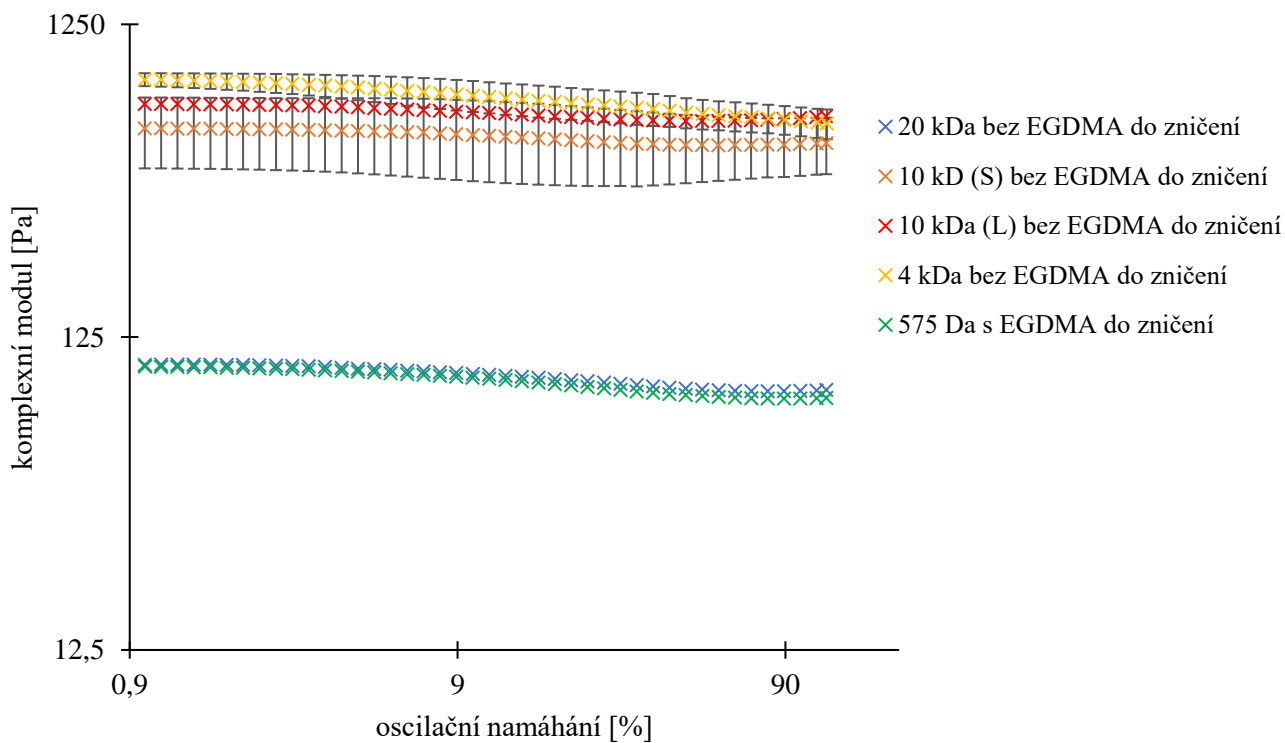


Obrázek 12: Závislost viskoelastických modulů na oscilačním namáhání pro vzorek s Mn 4 kDa bez přídavku EGDMA

Po zjištění, že není potřeba přidávat EGDMA do vzorků, byla opět provedena série reometrických měření. Z naměřených hodnot byly opět spočítány komplexní moduly a výsledky vyneseny do grafů (Obrázek 13 a Obrázek 14).



Obrázek 13: Závislost komplexního modulu na oscilačním namáhání pro různé Mn bez přidavku EGDMA do konce LVO



Obrázek 14: Závislost komplexního modulu na oscilačním namáhání pro různé Mn bez přidavku EGDMA do zničení gelu

Jak je možno vidět, výsledky měření bez přítomnosti síťovacího činidla byly velice podobné, jako výsledky předchozího experimentu. Bez přidání EGDMA nabývaly hodnoty elastického modulu u většiny vzorků nižších hodnot. Toto snížení modulu bylo ovšem většinou v řádu desítek, popřípadě ve stovce Pa. Je tedy možno konstatovat, že síťovací činidlo nemá na pevnost vzorku zásadní vliv.

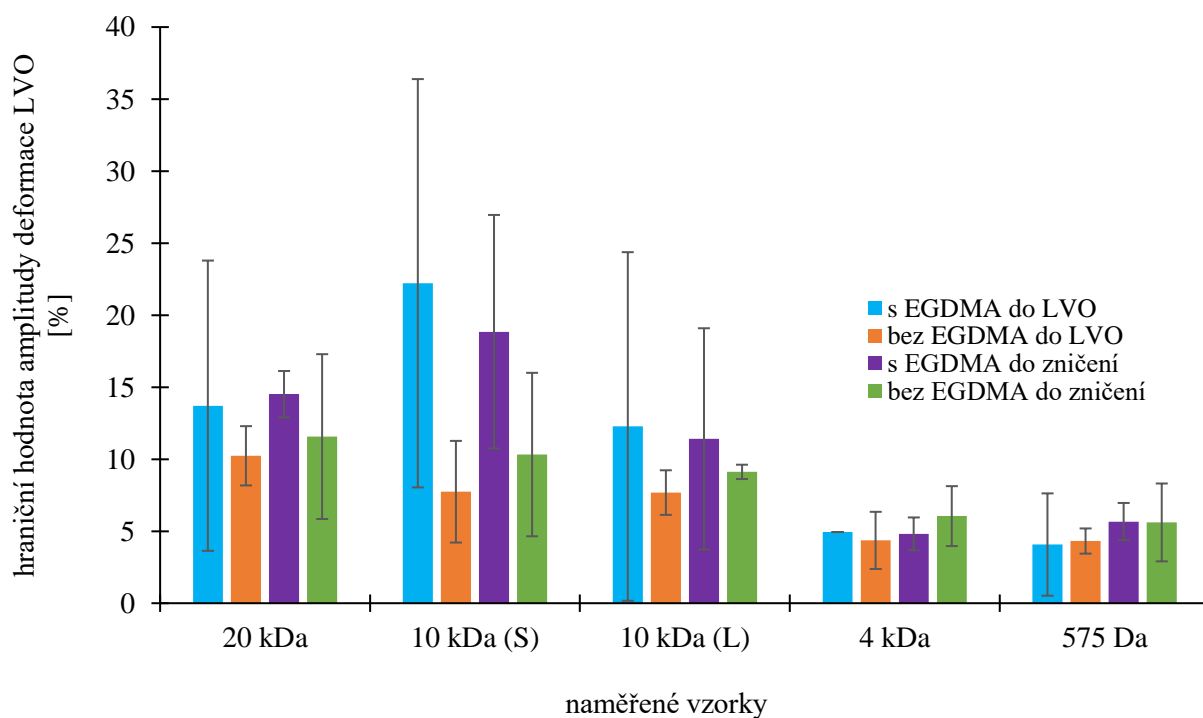
5.3.2. Vliv molekulové hmotnosti PEGDA bez síťovacího činidla

Tvorba vzorků bez přítomnosti síťovacího činidla nám poskytla příležitost potvrdit, zda má EGDMA vliv na rozsah LVO. Pro porovnání hodnot LVO bylo vykonáno stejné měření, jako bylo popsáno v předešlé kapitole a data byla opět zpracována do Tabulka 5.

Tabulka 5: Vypočtené hodnoty hraničních hodnot amplitud deformace pro různé M_n bez přidavku EGDMA

M_n [kDa]	amplituda deformace do LVO [%]	amplituda deformace do zničení [%]
20	10,2	11,6
10 (S)	7,7	10,3
10 (L)	7,7	9,1
4	4,4	6,1
0,575	4,3	5,6

Pro názornost byly hodnoty amplitudy deformace LVO (s EGDMA i bez EGDMA) vyneseny do grafu (Obrázek 15).



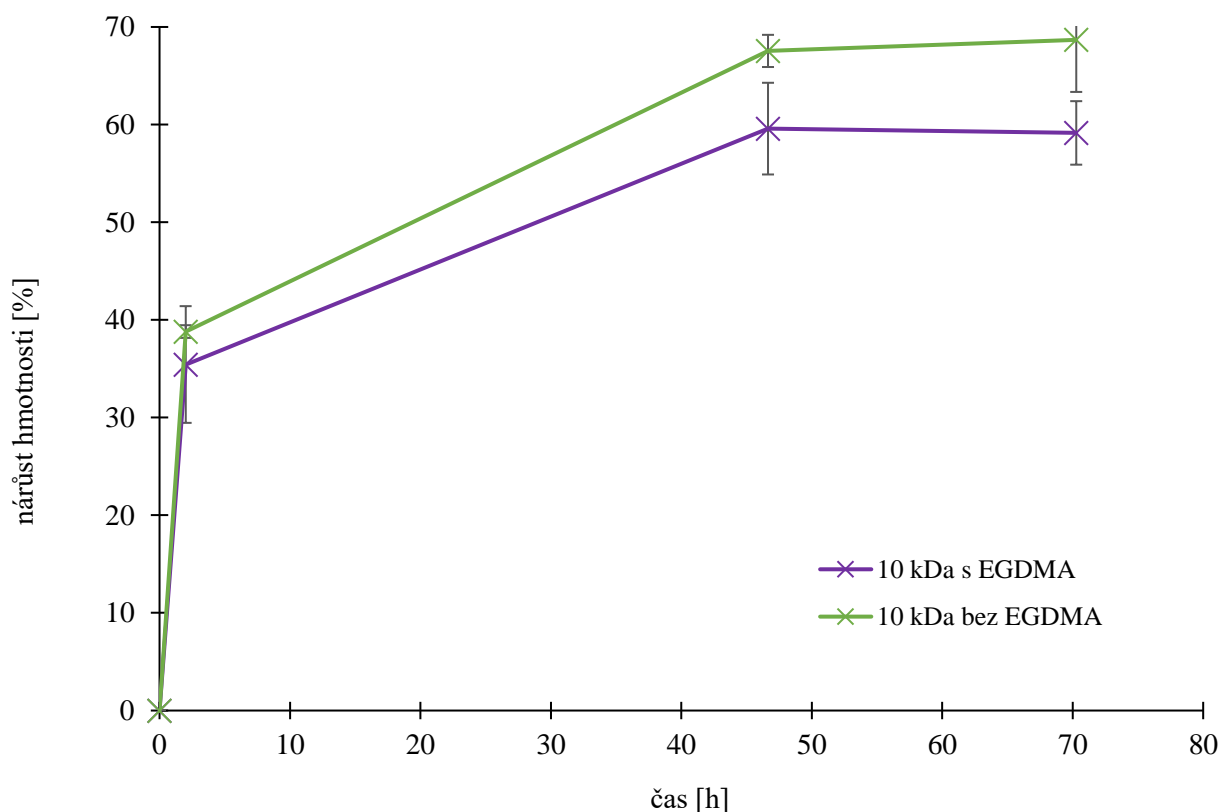
Obrázek 15: Vypočítané hraniční hodnoty LVO pro různé vzorky

Z grafu (Obrázek 15) je zřejmé, že nejvyšších hodnot dosahují vzorky s molekulovou hmotností 10 kDa. Pokles LVO u 20 kDa je způsoben velikostí jejich monomerních jednotek. Jednotky s vyšší M_n jsou delší, mají tedy ve zvoleném objemu (1 ml) méně vazebných míst a z toho plynoucí nižší hustotu síťování a nižší hodnoty LVO. Vzorky s molekulovou hmotností 4 kDa vykazují velice nízké hodnoty LVO z důvodu vzniku velkého množství defektů při deformaci husté gelové sítě během měření. Poslední vzorky (M_n 575 Da) nelze z důvodu neúplného síťování brát v potaz. Lze tedy konstatovat, že u gelů nepoškozených během měření došlo díky přítomnosti síťovacího činidla k prodloužení LVO.

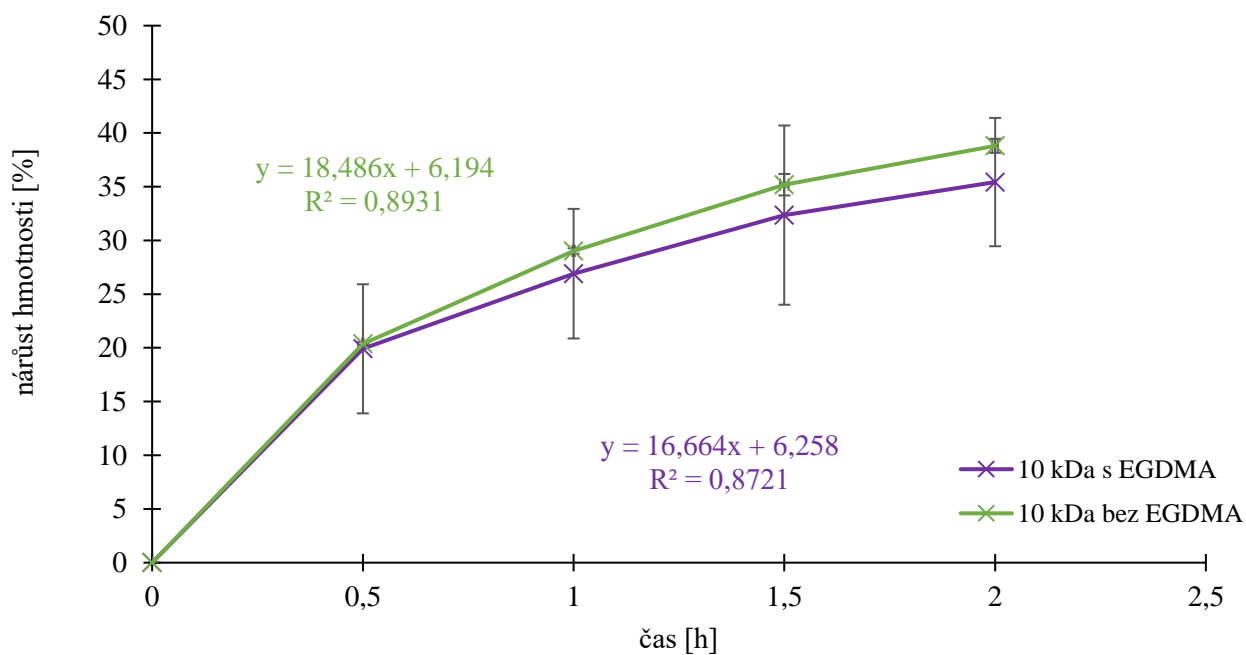
5.4. Botnací testy

Po zkoumání viskoelastických vlastností následovaly testy botnací. Jejich cílem bylo zjistit, jaké množství vody dokáží gely do své struktury absorbovat a také za jakou dobu dojde k dosažení rovnováhy mezi vzorkem a okolním roztokem.

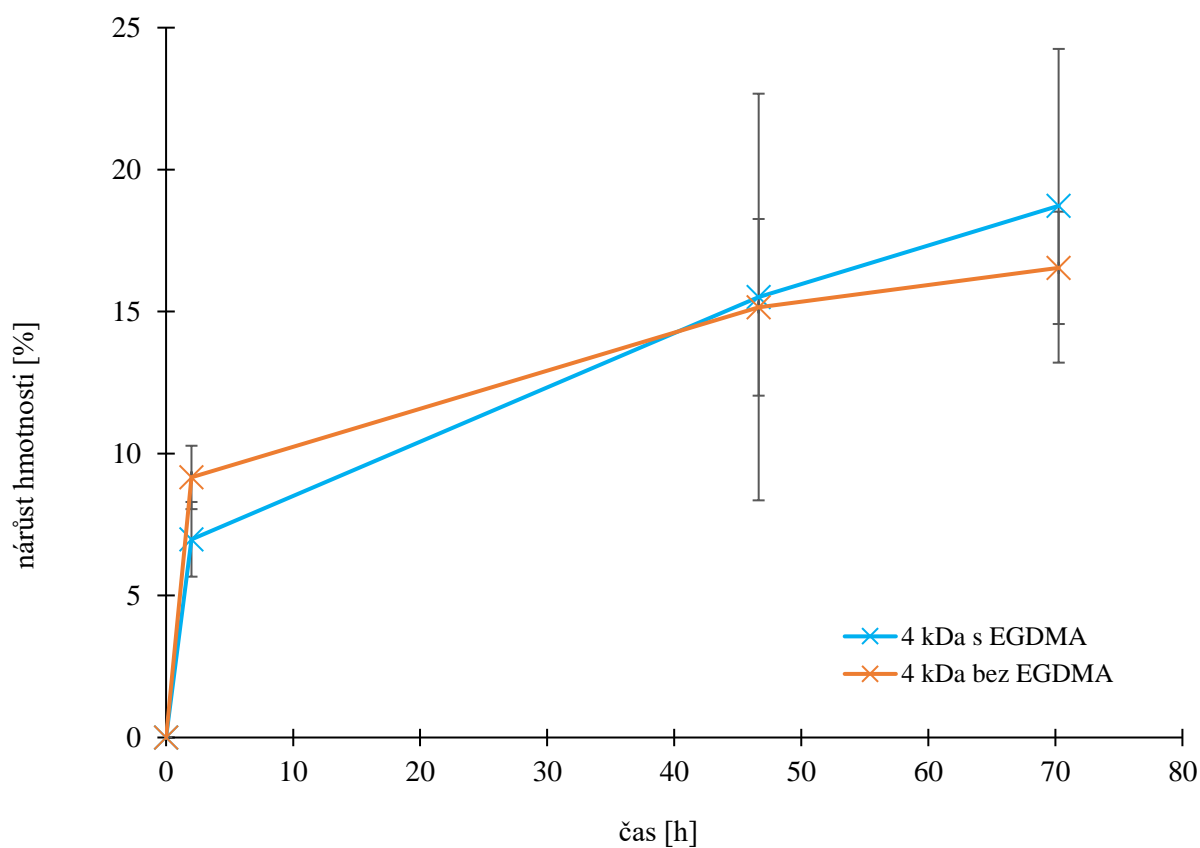
Jak již bylo zmíněno v experimentální části (4.5), jako prostředí byla využita deionizovaná voda. Pro měření byly vybrány vzorky s molekulovou hmotností 4 kDa a 10 kDa (od Sigma-Aldrich), jak s EGDMA, tak bez něj. Během měření byla sledována rostoucí hmotnost vzorků. Poté došlo k jejímu přepočítání na procentuální nárůst hmotnosti, který byl následně vyneseno do grafů. Pro přehlednost byl graf rozdělen na dva grafy (Obrázek 16 a Obrázek 18), každý zobrazující danou molekulovou hmotnost.



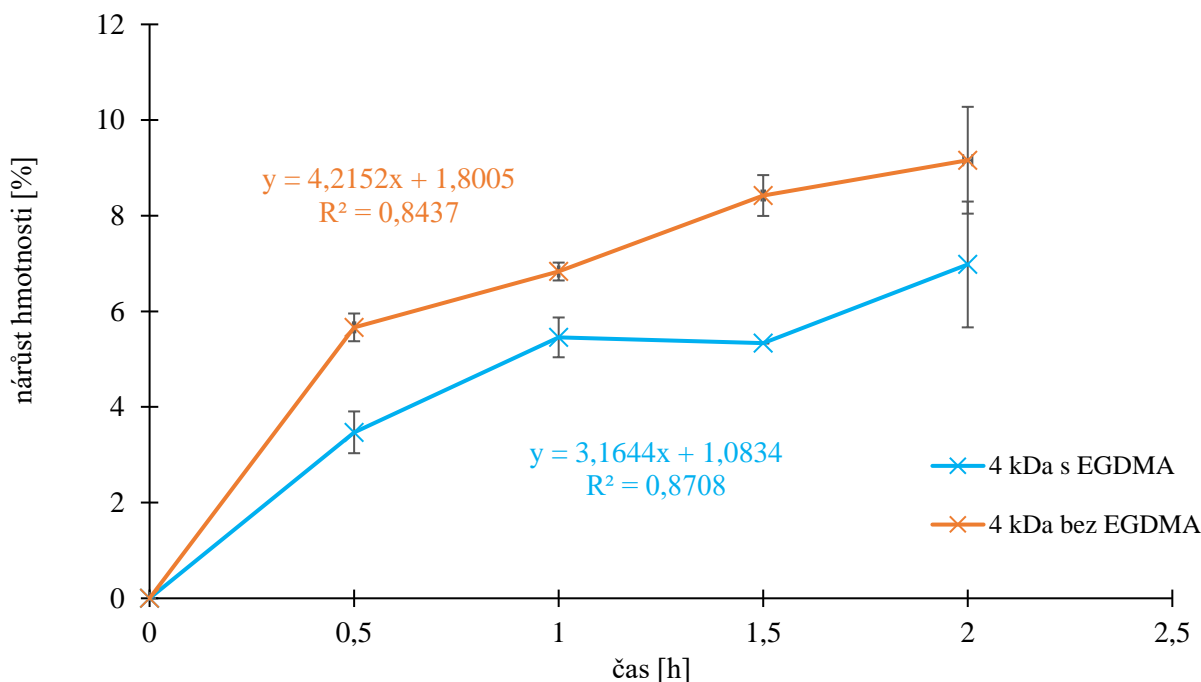
Obrázek 16: Závislost procentuálního nárůstu hmotnosti na čase pro vzorky s M_n 10 kDa



Obrázek 17: Závislost nárůstu hmotnosti na čase pro zjištění kinetiky během prvních dvou hodin pro vzorky s Mn 10 kDa



Obrázek 18: Závislost procentuálního nárůstu hmotnosti na čase pro vzorky s Mn 4 kDa

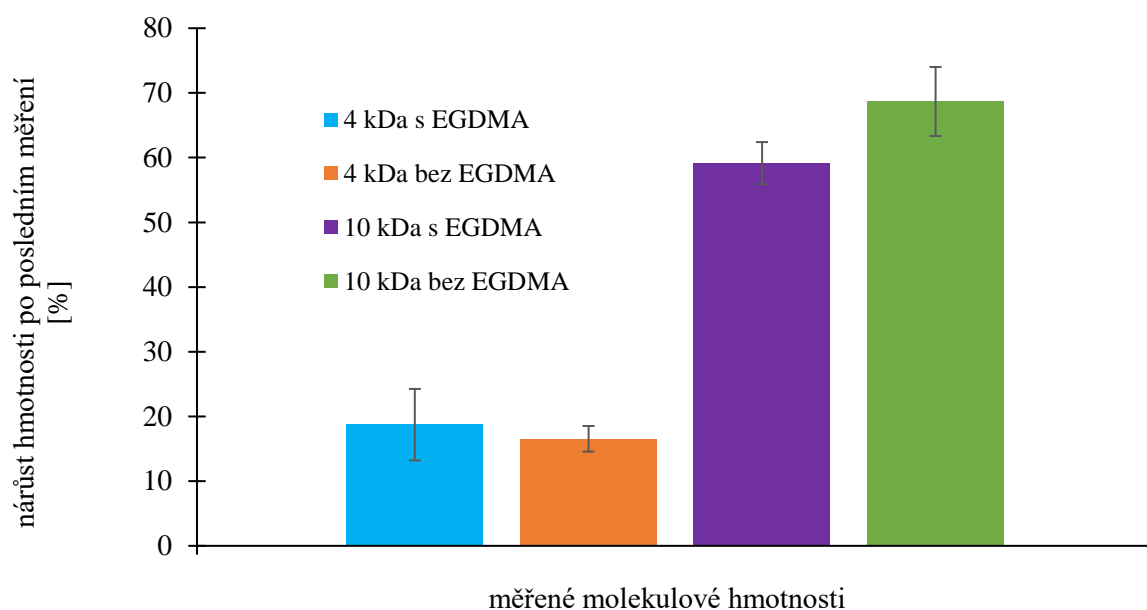


Obrázek 19: Závislost nárůstu hmotnosti na čase pro zjištění kinetiky během prvních dvou hodin pro vzorky s M_n 4 kDa

Pro toto období byly tedy sestrojeny podrobnější grafy obsahující kinetiku probíhajících absorpcí. K zastavení botnání došlo přibližně po 48 hodinách od počátku experimentu. V tento čas bylo dosaženo rovnováhy mezi gelem a vodným prostředím a hmotnost již dále nenarůstala.

Jak je možno vidět, molekulová hmotnost vzorku úzce souvisí s rychlostí průběhu botnacího experimentu. Důvodem je opět rozdíl v hustotě sítí při různých hodnotách molekulové hmotnosti. Vzorky s hustší sítí obsahují mezi jednotlivými vlákny méně prostoru, nedokáží tedy absorbovat velké množství vody. Tento předpoklad byl provedeným experimentem potvrzen, jelikož největší procentuální nárůst byl pozorován u vzorku s molekulovou hmotností 10 kDa bez přidání EGDMA. Jak již bylo zmíněno v předchozích kapitolách, síťovací činidlo také přispívá k tvorbě hustších sítí, jeho absence tedy umožní vyšší nárůst hmotnosti.

Pro názorné porovnání botnací schopnosti zkoumaných vzorků byl sestrojen graf (Obrázek 20), do kterého byly vyneseny konečné hodnoty hmotnostního nárůstu na konci experimentu.



Obrázek 20: Procentuální nárůst hmotnosti po ukončení botnacího experimentu

Na rozdíl od vzorků s vyšší molekulovou hmotností neproběhlo botnání u vzorku s M_n 4 kDa podle očekávání. Gel s EGDMA absorboval vyšší množství vody, než tomu tak bylo u gelu bez EGDMA. Tento rozdíl byl ovšem velice nepatrný. Je tedy možné, že síť u vzorků s M_n 4 kDa je tak hustá, že na její rychlost botnání nemá přídavek síťovacího činidla žádný vliv.

5.5. Transportní experimenty

Jak již bylo zmíněno v teoretické části, jedním z možných využití hydrogelů je cílený transport a následné uvolňování aktivních látek. Pro sledování a měření transportních vlastností byla zvolena jako vhodná látka methylenová modř a to z důvodu možnosti detekce pomocí UV-VIS.

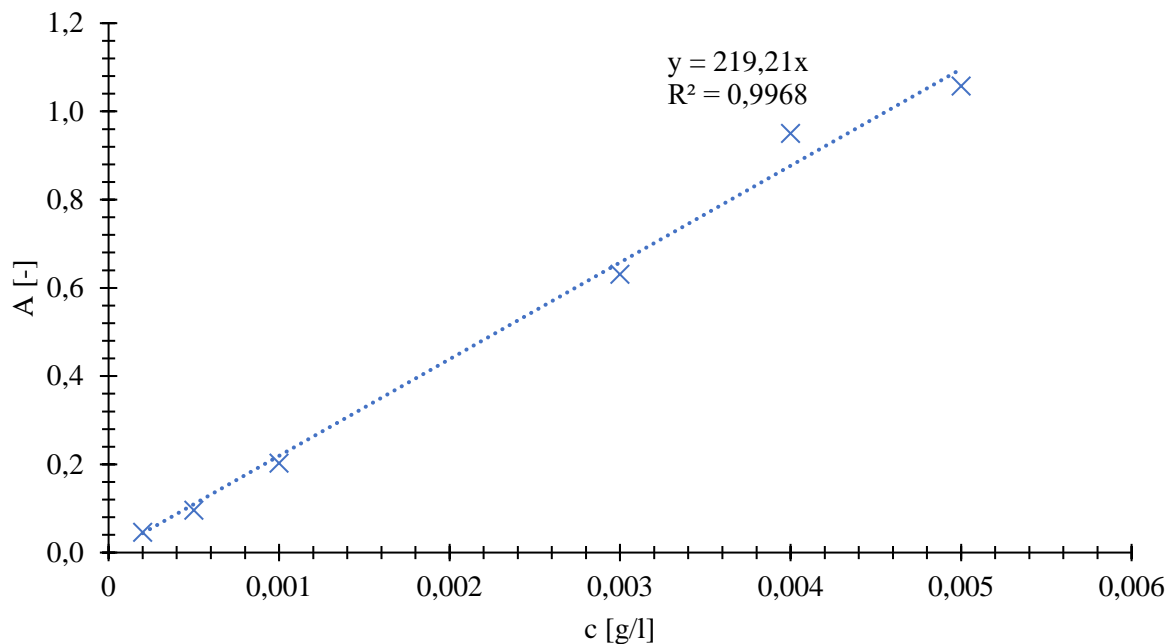
Před měřením byly vzorky ponechány v deionizované vodě do ustálení rovnováhy (skrze botnací experimenty byl zvolen čas 48 hodin) a následně byly přeneseny do roztoku methylenové modři ($c = 0,005$ g/l). V určitých časových intervalech byl měřen úbytek absorbance okolního roztoku, ve kterém byl gel ponořen. Tento úbytek byl přímo úměrný úbytku koncentrace MM, který byl zjištěn díky předem sestrojené kalibrační křivce. Úbytek koncentrace MM odpovídal množství barviva, které do sebe gel dokázal absorbovat.

Při měření bylo zaznamenáváno spektrum v intervalu vlnové délky od 400-800 nm. Pro vyhodnocování byla ovšem důležitá pouze hodnota absorbance s vlnovou délkou 665 nm, jelikož tato hodnota odpovídá absorpčnímu maximu methylenové modři.

Pokud již nedocházelo k úbytku koncentrace okolního barviva, experiment byl ukončen. Následně došlo k výměně barviva deionizovanou vodou. Zkoumána byla tedy nejen schopnost gelů aktivní látku absorbovat, ale také ji následně uvolňovat. Kromě výměny okolního prostředí nedošlo při druhém měření v deionizované vodě k žádné další změně.

Jak již bylo zmíněno výše, aby bylo možné vypočítat koncentraci z naměřených hodnot absorbance, bylo potřeba sestrojit kalibrační přímku. Kalibrační přímka byla sestrojena

změřením absorbance pro řadu roztoků s rostoucí koncentrací. Použité byly roztoky o koncentraci: 0,0002; 0,0005; 0,001; 0,003; 0,004 a 0,005 g/l.

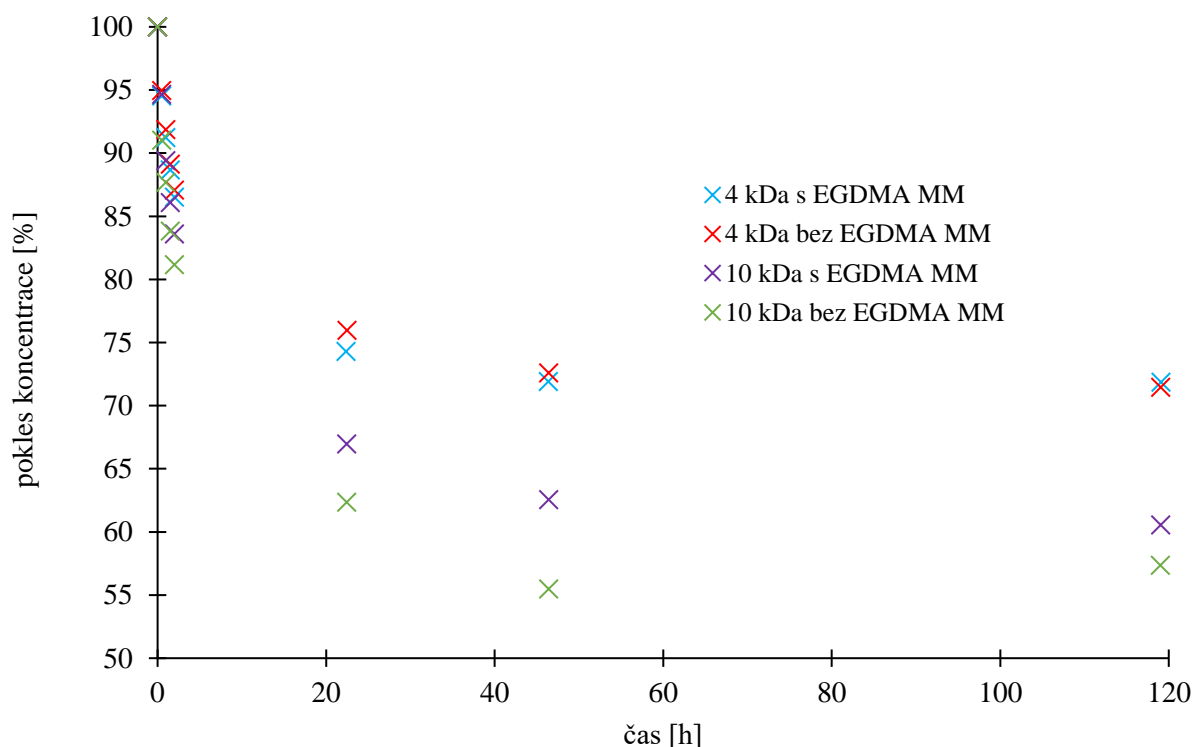


Obrázek 21: Kalibrační přímka methylenové modři

Jelikož jde o kalibrační přímku, byla zvolena hodnota Y pro regresní křivku jako nula. Koncentrace byla tedy vypočtena z Lambert Beerova zákona dělením molárního absorpčního koeficientu hodnotou 219,21.

Koncentrace okolního roztoku byla následně přepočtena na procentuální pokles (popřípadě nárůst v případě vodného prostředí) koncentrace od původní hodnoty naměřené na počátku experimentu.

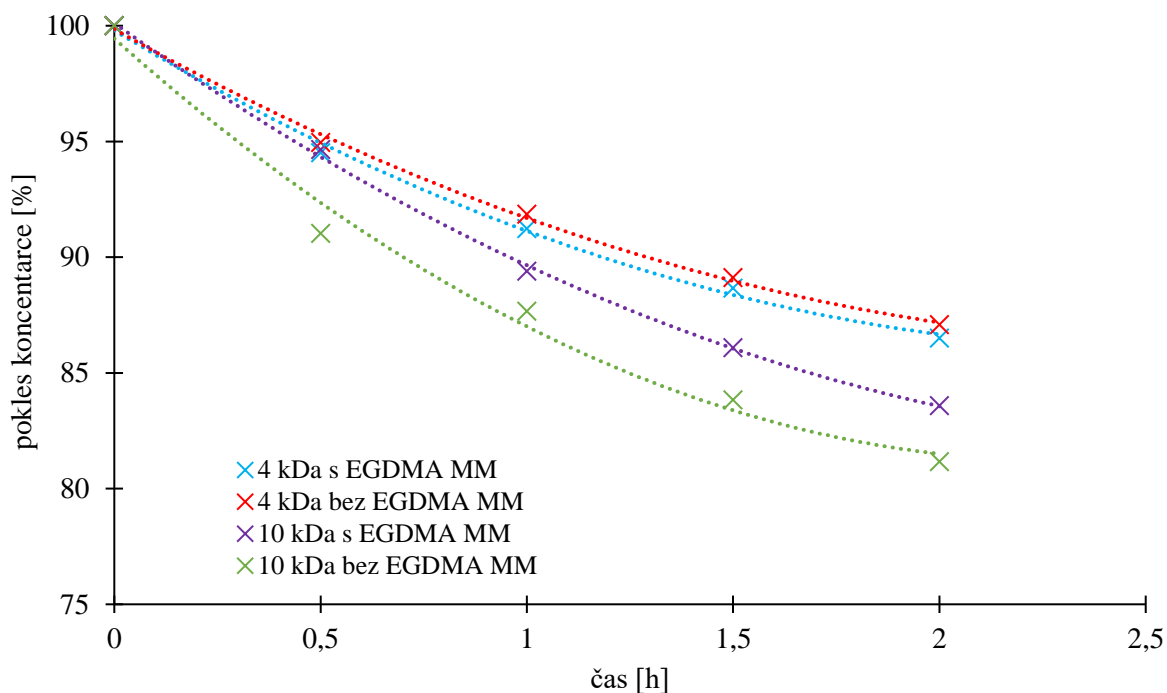
Celkově byly provedeny tři experimenty v roztoku methylenové modři a tři experimenty v deionizované vodě. Po zprůměrování hodnot z těchto měření byly sestaveny grafy závislosti procentuálního poklesu (popřípadě nárůstu) koncentrace v roztoku na čase.



Obrázek 22: Závislost poklesu koncentrace MM na čase pro vzorky s různou M_n

Na grafu (Obrázek 22) je možno vidět, že nejvíce barviva bylo absorbováno vzorkem s molekulovou hmotností 10 kDa bez přídavku síťovacího činidla. Koncentrace roztoku kolem tohoto vzorku byla snížena až k 55 % původní koncentrace. Následoval vzorek s M_n 10 kDa se síťovacím činidlem, který snížil koncentraci okolního roztoku na přibližně 60 %. U vzorku s M_n 4 kDa s EGDMA je pokles koncentrace v průběhu měření vyšší než u vzorku bez EGDMA, u posledního měření se jejich hodnoty téměř vyrovnaly (rozdíl 0,41 %). Koncentrace roztoku činila v obou případech přibližně 71 % původní hodnoty. Výsledek pro hydrogel s M_n 4 kDa je velice podobný jako u botnacího experimentu, ve kterém také dosahoval nepatrně vyšších hodnot vzorek s EGDMA. Síťování u těchto vzorků je nejspíše tak husté, že u nich nehraje EGDMA téměř žádnou roli.

Zpočátku probíhalo měření v půl hodinových intervalech pro zjištění kinetiky difúze, následná měření probíhaly vždy jednou za 24 hodin. Velký časový odstup mezi druhým a třetím měřením odpovídá víkendům, jelikož třetí měření probíhalo až v pondělí následujícího týdne. Fakt, že poslední měření probíhalo až po víkend, nijak negativně neovlivnil výsledky experimentu. Z grafu (Obrázek 22) je totiž možno vyčíst, že po 48 hodinách došlo k dosažení rovnováhy, po tomto časovém intervalu již nedocházelo k výraznému úbytku koncentrace MM v roztoku.

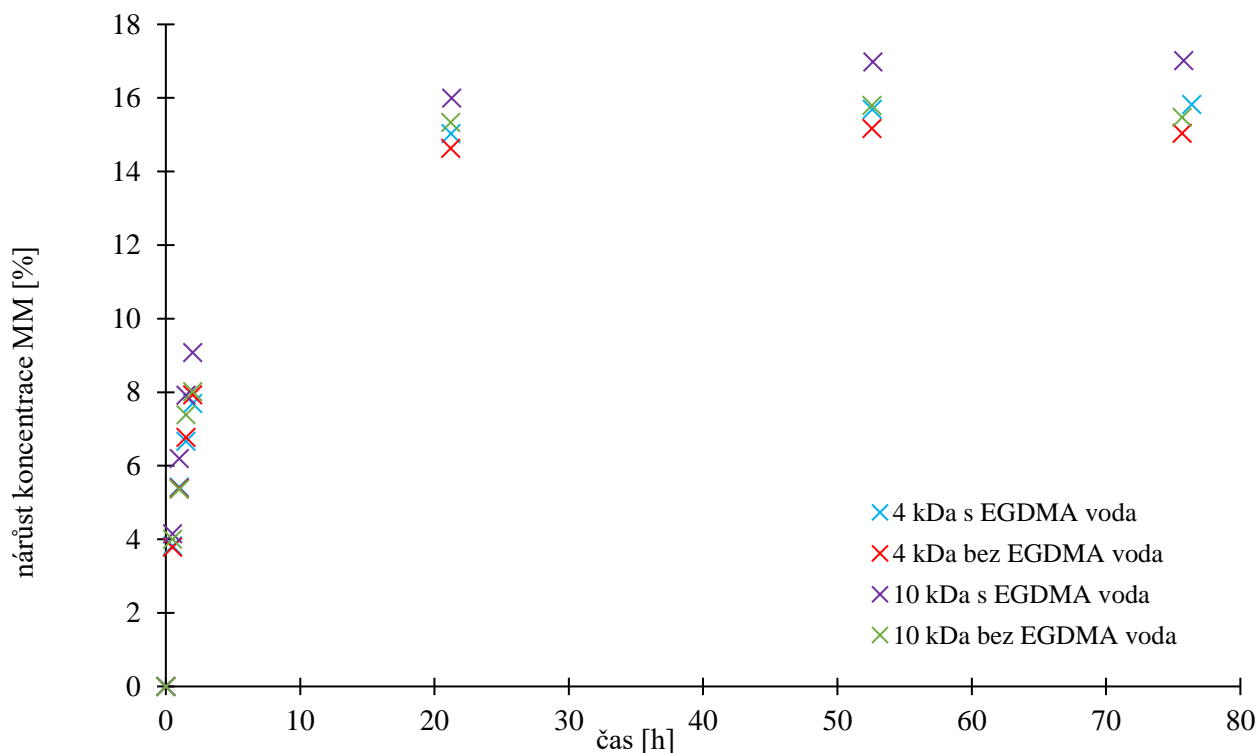


Obrázek 23: Kinetika probíhající absorpce MM během prvních dvou hodin pro různé M_n

Z grafu (Obrázek 23) lze vyčíst, že počáteční pokles koncentrace probíhal dle kvadratické funkce. Toto zjištění nebylo ovšem nijak rozváděno, jelikož nebylo předmětem této bakalářské práce. Zajímavým faktem je, že mezi vzorky dochází k rozporu mezi hodnotami s EGDMA a bez ní, u gelu s M_n 10 kDa klesá koncentrace okolního roztoku rychleji bez síťovacího činidla, zatímco u gelu s M_n 4 kDa je pokles koncentrace vyšší s přítomností EGDMA.

Výsledky experimentu vyhovovaly stanoveným předpokladům. Očekávalo se, že stejně jako u botnání, bude pokles koncentrace úzce souviset s molekulovou hmotností vzorku. Vyšší molekulová hmotnost vzorku odpovídá nižší hustotě síťování, mezi jednotlivými řetězci je tedy více prostoru, do kterého může být zakomponováno barvivo z okolního roztoku. Výsledkem tedy bude nižší hodnota koncentrace barviva v roztoku. Přítomnost EGDMA naopak snižuje absorpční kapacitu vzorku. Pokles koncentrace by měl být tedy menší. Jak již bylo zmíněno, důvodem je rozštěpení dvojných vazeb molekuly EGDMA a jejich následná reakce s molekulami PEGDA, což přispívá k tvorbě hustších sítí.

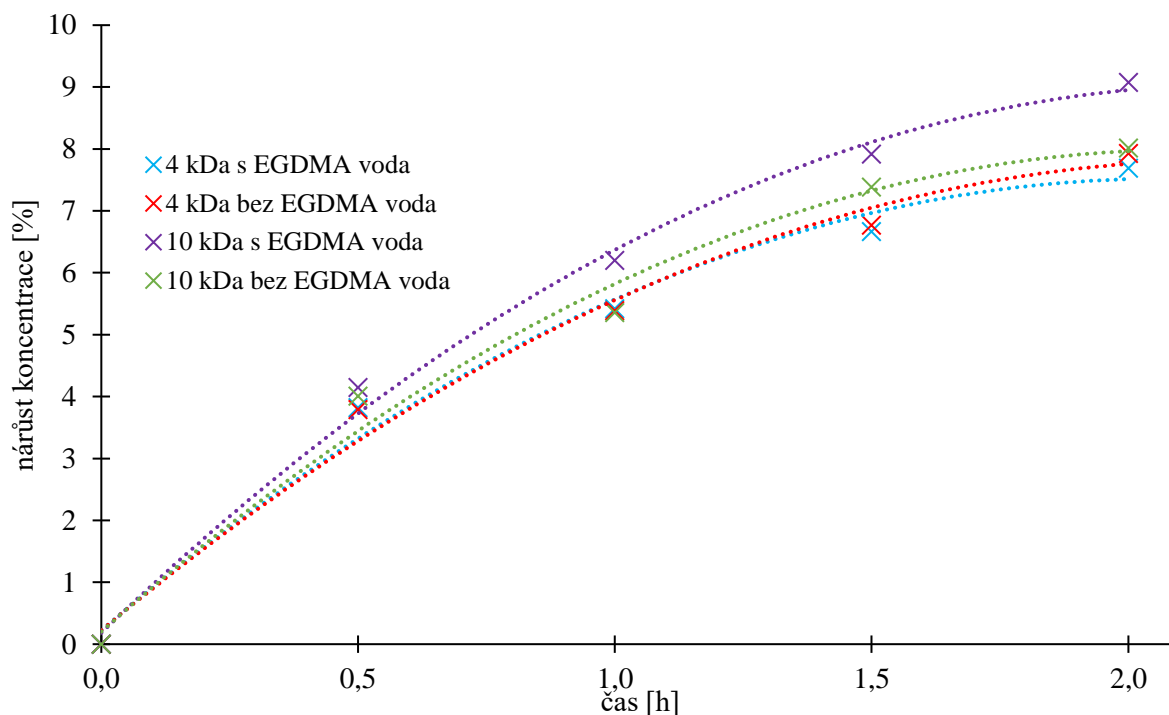
U druhého měření byla naopak zjišťována desorpce MM z hydrogelu do roztoku deionizované vody.



Obrázek 24: Nárůst koncentrace MM v deionizované vodě pro vzorky s různými M_n

Nejvyšší nárůst koncentrace byl pozorován u vzorku s M_n 10 kDa obsahující síťovací činidlo EGDMA, který do vody uvolnil 17 % MM. Následován byl vzorkem s 4 kDa s EGDMA, jehož nárůst činil 15,8 %. Vzorek s M_n 10 kDa bez EGDMA uvolnil ze své struktury 15,5 % z původní koncentrace. Nejméně uvolněného množství MM bylo u gelu s M_n 4 kDa bez EGDMA, uvolněno bylo 15 % z původní koncentrace.

Nutno je zmínit, že na rozdíl od předchozího měření, neprobíhalo měření ve vodě přes víkend, poslední měření bylo tedy provedeno přibližně 72 hodin od počátku experimentu. Tato změna ovšem neměla na výsledné hodnoty značný vliv, jelikož lze vidět, že již od 24 hodin od počátku experimentu došlo k ustanovení rovnováhy mezi gelem a okolním roztokem.



Obrázek 25: Kinetika nárůstu koncentrace MM v roztoku MM během prvních dvou hodin pro vzorky s různou M_n

Při zobrazení grafu (Obrázek 25) popisujícího kinetiku je možno vidět, že uvolňování MM probíhalo také dle kvadratické rovnice. Data byla tedy proložena kvadratickou funkcí. Je taky nutno zmínit, že gely na začátku experimentu uvolňovaly MM v jiném „pořadí“, než při ukončení experimentu. Zejména 4 kDa s EGDMA vykazovala na počátku experimentu nižší hodnoty uvolněného barviva.

Teoretický průběh experimentu byl potvrzen i v případě druhého měření. Opět zde hrála zásadní roli hustota síťování spojená s přítomností EGDMA. V gelech s vyšší hustotou je jednoduše méně místa, ve kterém by se mohlo barvivo udržet, je tedy ve větším množství uvolňováno do roztoku. Naopak v méně síťovaných gelech dojde k udržení většího množství barviva. Je důležité dodat, že ani jeden z gelů nevyloučil ani poloviční množství MM pohlceného z předchozího experimentu.

PEGDA hydrogely tedy vykazovaly dobrou absorpční schopnost v případě MM, zpětná resorpce nebyla ovšem již tak účinná.

6 ZÁVĚR

Hlavním cílem bakalářské práce byla příprava polyethylenglykolových hydrogelů pomocí UV fotopolymerizace, optimalizace této přípravy a následná charakterizace vzniklých hydrogelů. K práci je napsaná literární rešerše zabývající se přípravou a následným využitím PEGDA hydrogelů. Hlavní látkou zkoumanou v této práci byl polymer polyethylenglykol diakrylát. Bylo využito více molekulových hmotností, jelikož jedním z cílů bylo zkoumat vliv molekulové hmotnosti prekurzoru na výsledné viskoelastické a transportní vlastnosti gelů. Další důležitou látkou hojně využívanou při experimentech byl ethylenglykol dimethakrylát (EGDMA), který při přípravě hydrogelů sloužil jako síťovací činidlo.

Prvním cílem práce byla optimalizace přípravy polyethylenglykolových hydrogelů pomocí fotopolymerizace. Tato metoda byla vybrána, jelikož bakalářská práce navazuje na předchozí práci Bc. Michaely Kadlecové [77], ve které byla tato metoda využita. Zároveň je tato práce také součástí projektové žádosti základního výzkumu GAČR. Původně měla práce sloužit jako potvrzení opakovatelnosti předchozích experimentů, ovšem z důvodu nového zdroje UV záření pro polymerizaci bylo nutné optimalizovat novou metodu přípravy. Pro optimalizaci byly využity vzorky s molekulovou hmotností 10 kDa, jelikož cílem bylo vytvořit hydrogely s adekvátními mechanickými vlastnostmi a tato molekulová hmotnost tyto gely tvořila. Mezi zkoumané parametry při optimalizaci patřily doba osvětlení zdrojem UV záření a celkový objem roztoku před síťováním. Po řadě experimentů byla zjištěna potřebná doba osvětlení, která byla stanovena na 15 minut, aby byly vzorky plně zesíťovány. Jako ideální celkový objem byl vybrán 1 ml. Připravovány byly vzorky PEGDA hydrogelů s různými molekulovými hmotnostmi (20; 10; 4 a 0,575 kDa). Vzorky s M_n 4 a 10 kDa vykazovaly uspokojivou pevnost a nízkou mazlavost, což svědčilo o plném zesíťování. Vzorek s 20 kDa byl méně pevný, více mazlavý a obtížně se s ním manipulovalo. Vzorek s M_n 575 Da byl takřka nepoužitelný, byl vodový, křehký a velice rychle se rozpadal. Tento vzorek nebyl tedy v experimentech brán v potaz a dále s ním nebylo pracováno.

Pro zkoumání jejich fyzikálně-chemických vlastností bylo využito několik metod, konkrétně šlo o reometrii, botnání a transportní experimenty.

První využitou metodou byla reometrie, se kterou byly zkoumány viskoelastické vlastnosti připravených vzorků. Gely byly zkoumány pomocí tzv. amplitudového testu, díky kterému byly zjištěny hodnoty elastického a viskózního modulu. Tyto hodnoty byly přepočteny na modul komplexní. Pomocí rozdělení měření na dva úseky: jeden do konce LVO a druhý do zničení hydrogelu bylo možno zjistit hraniční hodnoty lineární viskoelastické oblasti (LVO). Až na nepoužitelný vzorek s 575 Da odpovídaly výsledné hodnoty všech vzorků předem přepokládaným výsledkům. Potvrdilo se, že s rostoucí molekulovou hmotností budou klesat hodnoty modulů, jelikož vzorky budou obsahovat menší hustotu zesíťování. Důvodem je fakt, že polymer je delší, díky čemuž se v daném objemu zmenší počet dvojných vazeb účastnících se polymerizace a gely tedy nebudou tak pevně síťovány. Překvapivým zjištěním bylo, že podle optimalizované přípravy lze připravit téměř identické gely i bez přidání síťovacího činidla. Toto zjištění vedlo k rozhodnutí, že pro budoucí experimenty nebude nutné toto síťovací činidlo využívat. Vliv EGDMA na výsledné hodnoty komplexních modulů byl minimální. Rozdíly v hodnotách elastických modulů mezi vzorky byly nepatrné, pohybovaly se v řádu desítek,

popřípadě stovky Pa. Zato hraničních hodnoty LVO byly přítomností síťovacího činidla ovlivněny, konkrétně je přítomnost EGDMA zvyšuje. Umožňují to dvojnásobné vazby na koncích molekuly, které mohou interagovat s dvojnásobnými vazbami PEGDA a tvořit gely s vyšší hustotou trojrozměrných sítí.

Speciální pozornost byla věnována vzorkům od společnosti SIGMA s M_n 4 kDa a 10 kDa, které vykazovaly nejlepší viskoelastické vlastnosti. Pro další experimenty byly využity tyto molekulové hmotnosti, jak se síťovacím činidlem a bez něj. Cílem bylo zjistit, zda má EGDMA vliv i na jiné experimenty, než na ty reologické.

Další zkoumanou vlastností byla schopnost absorbovat okolní kapalnou prostředí a zvětšovat tak svůj objem a hmotnost – bobtnání. Pro tento experiment byly využity kádinky s deionizovanou vodou, do kterých byly gely ihned po přípravě ponořeny. U těchto experimentů hrála zásadní roli molekulová hmotnost vzorku, stejně jako hustota síťování. Tyto parametry ovlivňovaly velikost prostoru mezi sítěmi gelů, což měnilo množství vody, které byly schopny absorbovat. Gely s M_n 10 kDa byly schopny navýšit svou hmotnost až o 70 %, zatímco gely s M_n 4 kDa zvýšily svoji hmotnost pouze o 20 %. Během trvání pokusu bylo zjištěno, že gely se dostávají do rovnováhy s roztokem již po 48 hodinách, čehož bylo využito při zkoumání transportních vlastností. Opticky bylo také zaznamenáno, že nárůst hydrogelů probíhal zejména do šířky, do výšky ke značnému nárůstu nedošlo.

Finální experimenty se zaměřovaly na schopnost hydrogelů absorbovat aktivní látku a následně ji ze své struktury uvolňovat (transportní experimenty). Jako indikátor byla zvolena methylenová modř, jelikož je barevná a lze ji tedy lehce detekovat pomocí metody UV-VIS. Vzorky byly ponechány 48 hodin v deionizované vodě a následně ponořeny do roztoku methylenové modři o koncentraci 0,005 g/l. Následně byl měřen úbytek koncentrace až do ustálení rovnováhy. Po dosažení rovnováhy byly gely přesunuty do deionizované vody, ve které se měřil nárůst koncentrace zvoleného indikátoru. Experimenty ukázaly, že opět závisí na hustotě síťování, vzorky s M_n 10 kDa dokázaly absorbovat až 45% methylenové modři, vzorky s M_n 4 kDa pohltily „pouze“ 30 % methylenové modři. Vliv zde mělo i síťovací činidlo, které zvyšovalo hustotu sítě a zmenšovalo tedy schopnost gelů pohlcovat barvivo. Při resorpci barviva z hydrogelu byl trend opačný, gely s přísadkou EGDMA naopak MM dokázaly uvolnit ve větším množství, než vzorky bez jejího přísadku.

Závěrem může být konstatováno, že PEGDA hydrogely mají v budoucnu velký potenciál jako transportéry léčiv, které mohou sloužit k jejich řízenému uvolňování. V dalších experimentech by bylo vhodné se zaměřit na uvolňování volných radikálů a jejich případné odstranění, aby byly tyto gely vhodné i pro lidský organismus.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] 1. BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav* . 5. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005.
- [2] MALPURE, Prashant S., Shital S. PATIL, Yashpal M. MORE a Priti P. NIKAM. A Review On- Hydrogel. *American Journal of PharmTech Research*. 2018.
- [3] LAFTAH, Waham Ashaier, Shahrir HASHIM a Akos N. IBRAHIM. Polymer Hydrogels: A Review. *Polymer-Plastics Technology and Engineering* [online]. 2011, **50**(14), 1475–1486. ISSN 0360-2559. Dostupné z: doi:10.1080/03602559.2011.593082
- [4] OMIDIAN, Hossein a Kinam PARK. Introduction to Hydrogels. In: *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook* [online]. New York, NY: Springer New York, 2010, s. 1–16. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4419-5919-5_1
- [5] NANDINI SAHU, DIKSHA GUPTA a UJJWAL NAUTIYAL. Hydrogel: Preparation, Characterization and Applications. *Asian Pacific Journal of Nursing and Health Sciences* [online]. 2020, **3**(1), 1–11. ISSN 2581-7442. Dostupné z: doi:10.46811/apjnh/3.1.2
- [6] GYLES, Desireé Alesa, Lorena Diniz CASTRO, José Otávio Carrera SILVA a Roseane Maria RIBEIRO-COSTA. A review of the designs and prominent biomedical advances of natural and synthetic hydrogel formulations. *European Polymer Journal* [online]. 2017, **88**, 373–392. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2017.01.027
- [7] OYEN, M. L. Mechanical characterisation of hydrogel materials. *International Materials Reviews* [online]. 2014, **59**(1), 44–59. ISSN 0950-6608. Dostupné z: doi:10.1179/1743280413Y.0000000022
- [8] AHMED, Enas M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research* [online]. 2015, **6**(2), 105–121. ISSN 20901232. Dostupné z: doi:10.1016/j.jare.2013.07.006
- [9] EL-SAYED, Naglaa Salem a Samir KAMEL. Polysaccharides-Based Injectable Hydrogels: Preparation, Characteristics, and Biomedical Applications. *Colloids and Interfaces* [online]. 2022, **6**(4), 78. ISSN 2504-5377. Dostupné z: doi:10.3390/colloids6040078
- [10] KHAN, Faisal, Mohd. ATIF, Mohd HASEEN, Shahid KAMAL, Mohd Shoeb KHAN, Shumaila SHAHID a Shahab A. A. NAMI. Synthesis, classification and properties of hydrogels: their applications in drug delivery and agriculture. *Journal of Materials Chemistry B* [online]. 2022, **10**(2), 170–203. ISSN 2050-750X. Dostupné z: doi:10.1039/D1TB01345A

- [11] CHOI, Jane Ru, Kar Wey YONG, Jean Yu CHOI a Alistair C COWIE. Recent advances in photo-crosslinkable hydrogels for biomedical applications. *BioTechniques* [online]. 2019, **66**(1), 40–53. ISSN 0736-6205. Dostupné z: doi:10.2144/btn-2018-0083
- [12] HOFFMAN, Allan S. Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2012, **64**, 18–23. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2012.09.010
- [13] SKOPINSKA-WISNIEWSKA, Joanna, Silvia DE LA FLOR a Justyna KOZLOWSKA. From Supramolecular Hydrogels to Multifunctional Carriers for Biologically Active Substances. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2021, **22**(14), 7402. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22147402
- [14] TOEPKE, M.W. a W.L. MURPHY. 1.31 Dynamic Hydrogels. In: *Comprehensive Biomaterials II* [online]. B.m.: Elsevier, 2017, s. 705–724. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100691-7.00163-4
- [15] SU, Jingjing, Jiankang LI, Jiaheng LIANG, Kun ZHANG a Jingan LI. Hydrogel Preparation Methods and Biomaterials for Wound Dressing. *Life* [online]. 2021, **11**(10), 1016. ISSN 2075-1729. Dostupné z: doi:10.3390/life11101016
- [16] GRABOWSKI, Sławomir J., ed. *Hydrogen Bonding—New Insights* [online]. B.m.: Springer Netherlands, 2006. ISBN 978-1-4020-4852-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4020-4853-1
- [17] ZHANG, Yinyu, Yongmao LI a Wenguang LIU. Dipole–Dipole and H-Bonding Interactions Significantly Enhance the Multifaceted Mechanical Properties of Thermoresponsive Shape Memory Hydrogels. *Advanced Functional Materials* [online]. 2015, **25**(3), 471–480. ISSN 1616-301X. Dostupné z: doi:10.1002/adfm.201401989
- [18] ZHANG, Hongbin, Fei ZHANG a Juan WU. Physically crosslinked hydrogels from polysaccharides prepared by freeze–thaw technique. *Reactive and Functional Polymers* [online]. 2013, **73**(7), 923–928. ISSN 13815148. Dostupné z: doi:10.1016/j.reactfunctpolym.2012.12.014
- [19] GENG, Zhijie, Yuxing JI, Shan YU, Qunfeng LIU, Zongbao ZHOU, Cuiping GUO, Daohuan LU a Dating PEI. Preparation and characterization of a dual cross-linking injectable hydrogel based on sodium alginate and chitosan quaternary ammonium salt. *Carbohydrate Research* [online]. 2021, **507**, 108389. ISSN 00086215. Dostupné z: doi:10.1016/j.carres.2021.108389
- [20] LIM, Han L., Yongsung HWANG, Mrityunjoy KAR a Shyni VARGHESE. Smart hydrogels as functional biomimetic systems. *Biomater. Sci.* [online]. 2014, **2**(5), 603–618. ISSN 2047-4830. Dostupné z: doi:10.1039/C3BM60288E

- [21] NAGA, Naofumi, Mitsusuke SATOH, Tomoyuki MAGARA, Kumkum AHMED a Tamaki NAKANO. Synthesis of gels by means of Michael addition reaction of multi-functional acetoacetate and diacrylate compounds and their application to ionic conductive gels. *Journal of Polymer Science* [online]. 2021, **59**(19), 2129–2139. ISSN 2642-4150. Dostupné z: doi:10.1002/pol.20210388
- [22] KIRCHHOF, Susanne, Ferdinand P. BRANDL, Nadine HAMMER a Achim M. GOEPFERICH. Investigation of the Diels–Alder reaction as a cross-linking mechanism for degradable poly(ethylene glycol) based hydrogels. *Journal of Materials Chemistry B* [online]. 2013, **1**(37), 4855. ISSN 2050-750X. Dostupné z: doi:10.1039/c3tb20831a
- [23] HUANG, Lin, Wantao WANG, Yiwen XIAN, Lei LIU, Jinghao FAN, Hongmei LIU, Zhaomin ZHENG a Decheng WU. Rapidly in situ forming an injectable Chitosan/PEG hydrogel for intervertebral disc repair. *Materials Today Bio* [online]. 2023, **22**, 100752. ISSN 25900064. Dostupné z: doi:10.1016/j.mtbio.2023.100752
- [24] LU, Cheng-Hsun, Cheng-Hsuan YU a Yi-Cheun YEH. Engineering nanocomposite hydrogels using dynamic bonds. *Acta Biomaterialia* [online]. 2021, **130**, 66–79. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2021.05.055
- [25] DAS, Sukanya, Niharika KASHYAP, Sangeeta KALITA, Debanga Bhusan BORA a Ruli BORAH. A brief insight into the physicochemical properties of room-temperature acidic ionic liquids and their catalytic applications in C C bond formation reactions. In: [online]. 2020, s. 1–98. Dostupné z: doi:10.1016/bs.apoc.2020.07.002
- [26] PEYRTON, Julien a Luc AVÉROUS. Aza-Michael Reaction as a Greener, Safer, and More Sustainable Approach to Biobased Polyurethane Thermosets. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* [online]. 2021, **9**(13), 4872–4884. ISSN 2168-0485. Dostupné z: doi:10.1021/acssuschemeng.1c00312
- [27] GENNARI, Arianna, Jennifer WEDGWOOD, Enrique LALLANA, Nora FRANCINI a Nicola TIRELLI. Thiol-based michael-type addition. A systematic evaluation of its controlling factors. *Tetrahedron* [online]. 2020, **76**(47), 131637. ISSN 00404020. Dostupné z: doi:10.1016/j.tet.2020.131637
- [28] FRINGUELLI, Francesco a Aldo TATICCHI. *The Diels-Alder Reaction: Selected Practical Methods*. 2002.
- [29] MO, Chunxiang, Li XIANG a Yuping CHEN. Advances in Injectable and Self-healing Polysaccharide Hydrogel Based on the Schiff Base Reaction. *Macromolecular Rapid Communications* [online]. 2021, **42**(10). ISSN 1022-1336. Dostupné z: doi:10.1002/marc.202100025

- [30] EKE, Gozde, Naside MANGIR, Nesrin HASIRCI, Sheila MACNEIL a Vasif HASIRCI. Development of a UV crosslinked biodegradable hydrogel containing adipose derived stem cells to promote vascularization for skin wounds and tissue engineering. *Biomaterials* [online]. 2017, **129**, 188–198. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2017.03.021
- [31] EREN, Tugce Nur, Neslihan KARIKSIZ, Gozde DEMIRCI, Duygu TUNCEL, Neren OKTE, Havva YAGCI ACAR a Duygu AVCI. Irgacure 2959-functionalized poly(ethyleneimine)s as improved photoinitiators: enhanced water solubility, migration stability and visible-light operation. *Polymer Chemistry* [online]. 2021, **12**(18), 2772–2785. ISSN 1759-9954. Dostupné z: doi:10.1039/D1PY00298H
- [32] PENG, Ke, Lifei ZHENG, Tieli ZHOU, Chunwu ZHANG a Huaqiong LI. Light manipulation for fabrication of hydrogels and their biological applications. *Acta Biomaterialia* [online]. 2022, **137**, 20–43. ISSN 17427061. Dostupné z: doi:10.1016/j.actbio.2021.10.003
- [33] KARACA, Nurcan, Gokhan TEMEL, Demet KARACA BALTA, Meral AYDIN a Nergis ARSU. Preparation of hydrogels by photopolymerization of acrylates in the presence of Type I and one-component Type II photoinitiators. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* [online]. 2010, **209**(1), 1–6. ISSN 10106030. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochem.2009.09.017
- [34] NGUYEN, Kytai Truong a Jennifer L. WEST. Photopolymerizable hydrogels for tissue engineering applications. *Biomaterials* [online]. 2002, **23**(22), 4307–4314. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/S0142-9612(02)00175-8
- [35] YOM-TOV, Ortal, Dror SELIKTAR a Havazelet BIANCO-PELED. PEG-Thiol based hydrogels with controllable properties. *European Polymer Journal* [online]. 2016, **74**, 1–12. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2015.11.002
- [36] DÉSILLES, N., C. GAUTRELET, L. LECAMP, P. LEBAUDY a C. BUNEL. Effect of UV light scattering during photopolymerization on UV spectroscopy measurements. *European Polymer Journal* [online]. 2005, **41**(6), 1296–1303. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2004.12.019
- [37] CHATANI, Shunsuke, Christopher J. KLOXIN a Christopher N. BOWMAN. The power of light in polymer science: photochemical processes to manipulate polymer formation, structure, and properties. *Polym. Chem.* [online]. 2014, **5**(7), 2187–2201. ISSN 1759-9954. Dostupné z: doi:10.1039/C3PY01334K

- [38] WONG, B. C. F., A. AHMAD, S. A. HANIFAH a N. H. HASSAN. Effects of ethylene glycol dimethacrylate as cross-linker in ionic liquid gel polymer electrolyte based on poly(glycidyl methacrylate). *International Journal of Polymer Analysis and Characterization* [online]. 2016, **21**(2), 95–103. ISSN 1023-666X. Dostupné z: doi:10.1080/1023666X.2016.1110683
- [39] PALMESE, Luisa L, Raj Kumar THAPA, Millicent O SULLIVAN a Kristi L KIICK. Hybrid hydrogels for biomedical applications. *Current Opinion in Chemical Engineering* [online]. 2019, **24**, 143–157. ISSN 22113398. Dostupné z: doi:10.1016/j.coche.2019.02.010
- [40] DRAGAN, Ecaterina Stela. Design and applications of interpenetrating polymer network hydrogels. A review. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2014, **243**, 572–590. ISSN 13858947. Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2014.01.065
- [41] KHOLODOVYCH, Vladyslav a William J. WELSH. Densities of Amorphous and Crystalline Polymers. In: *Physical Properties of Polymers Handbook* [online]. New York, NY: Springer New York, 2007, s. 611–617. Dostupné z: doi:10.1007/978-0-387-69002-5_37
- [42] SINGHAL, Reena a Kshitij GUPTA. A Review: Tailor-made Hydrogel Structures (Classifications and Synthesis Parameters). *Polymer-Plastics Technology and Engineering* [online]. 2016, **55**(1), 54–70. ISSN 0360-2559. Dostupné z: doi:10.1080/03602559.2015.1050520
- [43] RACOVITA, Stefania, Marin-Aurel TROFIN, Diana Felicia LOGHIN, Marius-Mihai ZAHARIA, Florin BUCATARIU, Marcela MIHAI a Silvia VASILIU. Polybetaines in Biomedical Applications. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2021, **22**(17), 9321. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22179321
- [44] SEDLÁČEK, Petr. *Reologie gelů - stručný přehled*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, 2007.
- [45] PEPPAS, N. Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [online]. 2000, **50**(1), 27–46. ISSN 09396411. Dostupné z: doi:10.1016/S0939-6411(00)00090-4
- [46] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. B.m.: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007.
- [47] AXPE, Eneko, Doreen CHAN, Giovanni S. OFFEDDU, Yin CHANG, David MERIDA, Hector Lopez HERNANDEZ a Eric A. APPEL. A Multiscale Model for Solute Diffusion in Hydrogels. *Macromolecules* [online]. 2019, **52**(18), 6889–6897. ISSN 0024-9297. Dostupné z: doi:10.1021/acs.macromol.9b00753

- [48] YU, Anthony C., Haoxuan CHEN, Doreen CHAN, Gillie AGMON, Lyndsay M. STAPLETON, Alex M. SEVIT, Mark W. TIBBITT, Jesse D. ACOSTA, Tony ZHANG, Paul W. FRANZIA, Robert LANGER a Eric A. APPEL. Scalable manufacturing of biomimetic moldable hydrogels for industrial applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 2016, **113**(50), 14255–14260. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.1618156113
- [49] Impact of hydrogel polymer in agricultural sector. *Advances in Agriculture and Environmental Science: Open Access (AAEOA)* [online]. 2018, **1**(2), 59–64. ISSN 26308533. Dostupné z: doi:10.30881/aeoa.00011
- [50] ASWATHY, S.H., U. NARENDRAKUMAR a I. MANJUBALA. Commercial hydrogels for biomedical applications. *Heliyon* [online]. 2020, **6**(4), e03719. ISSN 24058440. Dostupné z: doi:10.1016/j.heliyon.2020.e03719
- [51] PEDLEY, Derek G., Peter J. SKELLY a Brian J. TIGHE. Hydrogels in Biomedical Applications. *British Polymer Journal* [online]. 1980, **12**(3), 99–110. ISSN 0007-1641. Dostupné z: doi:10.1002/pi.4980120306
- [52] BURDICK, JASON A. a MOLLY M. STEVENS. Biomedical hydrogels. In: *Biomaterials, Artificial Organs and Tissue Engineering* [online]. B.m.: Elsevier, 2005, s. 107–115. Dostupné z: doi:10.1533/9781845690861.2.107
- [53] MAJEE, Sutapa Biswas, ed. *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels* [online]. B.m.: InTech, 2016. ISBN 978-953-51-2509-9. Dostupné z: doi:10.5772/61692
- [54] SONI, Jay, Nusrat SAHIBA, Ayushi SETHIYA a Shikha AGARWAL. Polyethylene glycol: A promising approach for sustainable organic synthesis. *Journal of Molecular Liquids* [online]. 2020, **315**, 113766. ISSN 01677322. Dostupné z: doi:10.1016/j.molliq.2020.113766
- [55] D'SOUZA, Anisha A. a Ranjita SHEGOKAR. Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications. *Expert Opinion on Drug Delivery* [online]. 2016, **13**(9), 1257–1275. ISSN 1742-5247. Dostupné z: doi:10.1080/17425247.2016.1182485
- [56] IBRAHIM, Mohamed, Eslam RAMADAN, Nehal E. ELSADEK, Sherif E. EMAM, Taro SHIMIZU, Hidenori ANDO, Yu ISHIMA, Omar Helmy ELGARHY, Hatem A. SARHAN, Amal K. HUSSEIN a Tatsuhiko ISHIDA. Polyethylene glycol (PEG): The nature, immunogenicity, and role in the hypersensitivity of PEGylated products. *Journal of Controlled Release* [online]. 2022, **351**, 215–230. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/j.jconrel.2022.09.031
- [57] LI, Ruilong, Yifan WU, Zhuyu BAI, Jianbing GUO a Xiaolang CHEN. Effect of molecular weight of polyethylene glycol on crystallization behaviors,

thermal properties and tensile performance of polylactic acid stereocomplexes. *RSC Advances* [online]. 2020, **10**(69), 42120–42127. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/D0RA08699A

[58] NEMIR, Stephanie, Heather N. HAYENGA a Jennifer L. WEST. PEGDA hydrogels with patterned elasticity: Novel tools for the study of cell response to substrate rigidity. *Biotechnology and Bioengineering* [online]. 2010, **105**(3), 636–644. ISSN 0006-3592. Dostupné z: doi:10.1002/bit.22574

[59] HUSÁR, B., M. HATZENBICHLER, V. MIRONOV, R. LISKA, J. STAMPFL a A. OVSIANIKOV. Photopolymerization-based additive manufacturing for the development of 3D porous scaffolds. In: *Biomaterials for Bone Regeneration* [online]. B.m.: Elsevier, 2014, s. 149–201. Dostupné z: doi:10.1533/9780857098104.2.149

[60] CAVALLO, Anna, Marta MADAGHIELE, Ugo MASULLO, Maria Giulia LIONETTO a Alessandro SANNINO. Photo-crosslinked poly(ethylene glycol) diacrylate (<scp>PEGDA</scp>) hydrogels from low molecular weight prepolymer: Swelling and permeation studies. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2017, **134**(2). ISSN 0021-8995. Dostupné z: doi:10.1002/app.44380

[61] HAMID, Z.A. Abdul a K.W. LIM. Evaluation of UV-crosslinked Poly(ethylene glycol) Diacrylate/Poly(dimethylsiloxane) Dimethacrylate Hydrogel: Properties for Tissue Engineering Application. *Procedia Chemistry* [online]. 2016, **19**, 410–418. ISSN 18766196. Dostupné z: doi:10.1016/j.proche.2016.03.032

[62] ZHANG, Hongbin, Lei WANG, Li SONG, Guoguang NIU, Hui CAO, Guojie WANG, Huai YANG a Siquan ZHU. Controllable properties and microstructure of hydrogels based on crosslinked poly(ethylene glycol) diacrylates with different molecular weights. *Journal of Applied Polymer Science* [online]. 2011, **121**(1), 531–540. ISSN 0021-8995. Dostupné z: doi:10.1002/app.33653

[63] ORTÍZ-RODRÍGUEZ, Estanislao. Polymer Rheology. In: *Handbook of Polymer Synthesis, Characterization, and Processing* [online]. B.m.: Wiley, 2013, s. 435–449. Dostupné z: doi:10.1002/9781118480793.ch22

[64] BABY, Deepa K. Rheology of hydrogels. In: *Rheology of Polymer Blends and Nanocomposites* [online]. B.m.: Elsevier, 2020, s. 193–204. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-816957-5.00009-4

[65] BARTOVSKÁ LIDMILA, Šišková Marie. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. B.m.: VŠCHT Praha (6. vydání, verze 1.0, 2010), nedatováno. ISBN 978-80-7080-745-3.

- [66] BORZACCHIELLO, A., F. Della SALA a L.A. AMBROSIO. Rheometry of polymeric biomaterials. In: *Characterization of Polymeric Biomaterials* [online]. B.m.: Elsevier, 2017, s. 233–253. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100737-2.00010-8
- [67] PAAR ANTHON. *Applied rheology: with Joe Flow on rheology road*. 5. vyd. B.m.: Graz, 2015.
- [68] BINTI JOOHARI, Ilya a Filippo GIUSTOZZI. Oscillatory shear rheometry of hybrid polymer-modified bitumen using multiple stress creep and recovery and linear amplitude sweep tests. *Construction and Building Materials* [online]. 2022, **315**, 125791. ISSN 09500618. Dostupné z: doi:10.1016/j.conbuildmat.2021.125791
- [69] PIETRO MATRICARDI, Franco Alhaique, Tommasina Coviello. *Polysaccharide Hydrogels: Characterization and Biomedical Applications*. 2016.
- [70] PESCOSOLIDO, Laura, Luigi FERUGLIO, Rossella FARRA, Simona FIORENTINO, Italo COLOMBO, Tommasina COVIELLO, Pietro MATRICARDI, Wim E. HENNINK, Tina VERMONDEN a Mario GRASSI. Mesh size distribution determination of interpenetrating polymer network hydrogels. *Soft Matter* [online]. 2012, **8**(29), 7708. ISSN 1744-683X. Dostupné z: doi:10.1039/c2sm25677k
- [71] SENOL, Sebnem a Emel AKYOL. Preparation and characterization of pH-sensitive hydrogels from photo-crosslinked poly(ethylene glycol) diacrylate incorporating titanium dioxide. *Materials Science-Poland* [online]. 2020, **38**(3), 443–449. ISSN 2083-134X. Dostupné z: doi:10.2478/msp-2020-0054
- [72] GLASS, Sarah, Betsy TRINKLEIN, Bernd ABEL a Agnes SCHULZE. TiO₂ as Photosensitizer and Photoinitiator for Synthesis of Photoactive TiO₂-PEGDA Hydrogel Without Organic Photoinitiator. *Frontiers in Chemistry* [online]. 2018, **6**. ISSN 2296-2646. Dostupné z: doi:10.3389/fchem.2018.00340
- [73] LAN, Minhuan, Shaojing ZHAO, Weimin LIU, Chun-Sing LEE, Wenjun ZHANG a Pengfei WANG. Photosensitizers for Photodynamic Therapy. *Advanced Healthcare Materials* [online]. 2019, **8**(13). ISSN 2192-2640. Dostupné z: doi:10.1002/adhm.201900132
- [74] WANG, Yeying, Qilong LI, Jing-e ZHOU, Jingwen TAN, Minghao LI, Nan XU, Feng QU, Jian CHEN, Ji LI, Jing WANG, Zhiqiang LIANG, Lei YU, Yiting WANG a Zhiqiang YAN. A Photopolymerized Semi-Interpenetrating Polymer Networks-Based Hydrogel Incorporated with Nanoparticle for Local Chemotherapy of Tumors. *Pharmaceutical Research* [online]. 2021, **38**(4), 669–680. ISSN 0724-8741. Dostupné z: doi:10.1007/s11095-021-03029-5

- [75] YASAR, Merve, Burcu OKTAY, Fulya DAL YONTEM, Ebru HACIOSMANOGLU ALDOGAN a Nilhan KAYAMAN APOHAN. Development of self-healing vanillin/PEI hydrogels for tissue engineering. *European Polymer Journal* [online]. 2023, **188**, 111933. ISSN 00143057. Dostupné z: doi:10.1016/j.eurpolymj.2023.111933
- [76] MOURS, M. a H.H. WINTER. Mechanical Spectroscopy of Polymers. In: *Experimental Methods in Polymer Science* [online]. B.m.: Elsevier, 2000, s. 495–546. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-050612-8.50011-8
- [77] KADLECOVÁ, Michaela. *Hydrogely na bázi semi-interpenetrovaných sítí polyethylenglykolu*. BRNO, 2023. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zavprace/detail/148680>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Petr Sedláček.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

8.1. Seznam zkratek

PEGDA	polyethylenglykol diakrylát
EGDMA	ethylenglykol dimethakrylát
PBS	fosfátový pufr
ETAA	erythrytol tetraacetoacetát
CSMA	chitosan methakrylát
MM	methylenová modř

8.2. Seznam symbolů

n	nano
μ	mikro
J	Joule
Pa	Pascal
Da	Dalton
k	kilo
cm	centimetr
l	litr
h	hodina
min	minuta
Mn	molekulová hmotnost
W	Watt
g	gram
N	Newton
Hz	Hertz