

# **Modifikované polysacharidy jako nosiče biologicky aktivních látek**

Hana Doudová

---

Bakalářská práce  
2020



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

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

Akademický rok: 2019/2020

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Hana Doudová**  
Osobní číslo: **T17702**  
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**  
Forma studia: **Prezenční**  
Téma práce: **Modifikované polysacharidy a biomateriály na nich založené jako nosiče biologicky aktivních látek**

### Zásady pro vypracování

Oxidované polysacharidy a (bio)materiály na nich založené jsou potenciálními nosiči různých biologicky aktivních látek, a to včetně protirakovinných léčiv na bázi platiny. Množství přenesené látky a rychlost jejího uvolňování jsou přímo závislé na typu polysacharidu, stupni jeho oxidace a délce polymerního řetězce či jejich obsahu v biomateriálu. Náplní bakalářské práce bude zpracování literární rešerše na téma modifikované polysacharidy a biomateriály na nich založené jako nosiče biologicky aktivních látek, s přihlédnutím k uvolňování biologicky aktivních látek z různých typů oxidovaných polysacharidů (celulóza, dextran, k. hyaluronová) a hydrogelů vytvořených za pomoci těchto polysacharidů.

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

**Seznam doporučené literatury:**

- [1] L. Münster, M. Fojtů, Z. Capáková, T. Vaculovič, M. Tvrdoňová, I. Kuřitka, M. Masafík, J. Vícha, *Biomacromolecules* 2019, 20, 1623-1634.  
[2] L. Münster, Z. Capáková, M. Fišera, I. Kuřitka, J. Vícha, *Carbohydrate Polymers* 2019, 218, 333-342.  
[3] B. Schlechter, A. Neumann, M. Wilchek, R. Arnon, *Journal of Controlled Release* 1989, 10, 75-87.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Jan Vícha, Ph.D.**  
Centrum polymerních systémů

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2020**  
Termín odevzdání bakalářské práce: **22. května 2020**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.**  
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2020

## **PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

### **Prohlašuji,**

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

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....  
podpis studenta

## **ABSTRAKT**

Tato bakalářská práce se zabývá možností využití modifikovaných polysacharidů jako přenašečů aktivních látek v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu. Cílem práce bylo formou rešerše prezentovat jaké je jejich využití, poukázat na jejich výhody a zmínit nevýhody, které by mohly být překážkou pro uvedení do běžné praxe. Práce také obsahuje shrnutí funkce některých bioaktivních látek používaných v kosmetice (rutin, vitamíny) ale také protinádorových léčiv (cisplatina). Informace byly čerpány především z vědeckých článků publikovaných v různých odborných časopisech. Autoři těchto článků se shodují, že modifikací určitých polysacharidů lze podstatně změnit jejich vlastnosti a dosáhnout velmi zajímavých výsledků, což je dělá velmi zajímavé i pro budoucí výzkumy.

Klíčová slova: biomateriály, polysacharidy, kyselina hyaluronová, dextran, celulóza, cisplatina, hydrogel

## **ABSTRACT**

This bachelor thesis provides an overview of applications of modified polysaccharides as carriers of active substances in the cosmetic and pharmaceutical industry. The aim of the work is to summarize their uses, to point out their advantages and to mention disadvantages that could be an obstacle for their practical applications. This work also contains a summary of the function of some bioactive substances used in cosmetics (rutin, vitamins) as well as anticancer drugs (cisplatin). The information was drawn mainly from scientific articles published in various scientific journals. Their authors of these articles agree that by modifying certain polysaccharides their properties can be significantly changed and very interesting results can be obtained, which makes the modified polysaccharides very interesting for future research.

Key words: biomaterials, polysaccharides, hyaluronic acid, dextran, cellulosis, cisplatin, hydrogel

Tímto bych chtěla poděkovat svému vedoucímu Mgr. Janu Víchovi, Ph.D. za vedení, cenné rady, pomoc, trpělivost a vynaložený čas, který mi věnoval během psaní této závěrečné práce, a také Ing. Monice Muchové za technickou a morální podporu. Dále děkuji své rodině a přátelům, kteří mi byli oporou během celého studia.

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

# OBSAH

<b>ÚVOD.....</b>	<b>8</b>
<b>1 POLYSACHARIDY.....</b>	<b>9</b>
1.1 VLASTNOSTI A APLIKACE VYBRANÝCH POLYSACHARIDŮ.....	11
1.1.1 Kyselina hyaluronová.....	11
1.1.2 Využití HA v kosmetickém průmyslu.....	12
1.1.3 Pektiny.....	13
1.1.4 Algináty.....	14
1.1.5 Chitosan.....	15
1.1.6 Celulóza.....	15
Deriváty celulózy.....	16
Oxidace celulózy.....	17
1.1.7 Dextran.....	19
1.2 SELEKTIVNĚ OXIDOVANÉ POLYSACHARIDY.....	20
1.2.1 2,3-Dialdehydcelulózy.....	20
1.2.2 Sekundární oxidace dialdehydů na 2,3-dikarboxypolysacharidy.....	23
<b>2 CÍL PRÁCE.....</b>	<b>25</b>
<b>3 MODIFIKOVANÉ POLYSACHARIDY JAKO NOSIČE BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK.....</b>	<b>26</b>
3.1 VYBRANÉ BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY.....	26
3.1.1 Léky na bázi platiny.....	26
3.1.2 Paclitaxel.....	27
3.1.3 Rutin.....	27
3.1.4 Vitamín A.....	28
3.1.5 Vitamín C.....	29
3.1.6 Vitamín B3.....	30
3.2 MODIFIKOVANÉ POLYSACHARIDY JAKO NOSIČE PROTINÁDOROVÝCH LÉČIV.....	31
3.2.1 Nosiče léčiv na bázi kyseliny hyaluronové.....	31
3.2.2 Nosiče léčiv na bázi celulózy.....	33
3.2.3 Nosiče léčiv na bázi dextranu.....	34
<b>4 HYDROGELY JAKO NOSIČE BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK.....</b>	<b>36</b>
4.1 HYDROGELY NA BÁZI MODIFIKOVANÝCH POLYSACHARIDŮ PRO PŘENOS BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK.....	36
<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>39</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>40</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....</b>	<b>45</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ.....</b>	<b>46</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>47</b>

## ÚVOD

Polysacharidy jsou odjakživa nedílnou součástí našich životů a přežití by bez nich nebylo možné. Mezi nejznámější polysacharidy patří škrob, glykogen nebo třeba celulóza. Jedním z nejvýznamnějších produktů přivezených z Nového světa jsou brambory, okopaniny velmi bohaté na obsah rostlinného škrobu. Jsou nazývány „potravou chudých“ z důvodu snadné dostupnosti, nenáročného pěstování a nízké pořizovací ceny. Ovšem zároveň je známo z historie nemálo případů, kdy právě tato plodina zachránila tisíce životů postižených hladem z důvodu neúrody, války či nedostatku financí, v době, kdy sociální zabezpečení či zásobování z úrodnějších oblastí, jak to známe dnes, bylo dalekou budoucností.

Celulózu znalo lidstvo už 3 000 let př. n. l. - právě z této doby pochází první zmínky o využití papíru. Pravdou ale je, že celulóza ve formě dřeva se nacházela na Zemi dlouho před tím, než ji začali obývat jedinci rodu *Homo*. Dodnes je papírenský a textilní průmysl jedním ze základních pilířů ekonomik mnoha zemí světa, nehledě k významu stromů a rostlin jako takových k přeměně oxidu uhličitého na k životu nezbytně nutný kyslík.

S nárustem vědeckých poznatků jsme schopni využívat polysacharidy v čím dál více odvětvích, jako třeba v potravinářství, medicíně anebo kosmetice. Čím dál více firem i jedinců se snaží o využívání biodegradabilních materiálů neznečišťujících životní prostředí ještě desetiletí poté, co doslouží. Znalost sacharidů ulehčuje, a vlastně také umožňuje, život lidem s trávicími problémy, jako třeba diabetikům, přibývá však také léků na polysacharidovém principu, které jsou šetrnější k už tak oslabenému organismu pacienta. Právě aplikacím polysacharidů a materiálů na nich založených jako nosičů bioaktivních látek se věnuje tato práce.



## 1 POLYSACHARIDY

Polysacharidy jsou nejrozšířenější a také nejsložitější skupinou sacharidů. Jedná se o biopolymery tvořené minimálně deseti monosacharidovými jednotkami nebo jejich deriváty (uronovými kyselinami, aminocukry), které jsou vzájemně spojeny glykosidickou vazbou do lineárních anebo rozvětvených řetězců, jejichž prostorové i stavební uspořádání ovlivňuje vlastnosti celého polymeru. Kvůli délce svého řetězce ztrácejí pro sacharidy typickou sladkou chuť - proto je nelze nazývat cukry. Také se ve většině případů stávají nerozpustnými ve vodě (výjimkou může být třeba kyselina hyaluronová). Molekulová hmotnost polysacharidů se většinou pohybuje v řádu desítek tisíc až milionů gramů na mol. Běžně se nacházejí v rostlinách, řasách, houbách, jsou také základní stavební jednotkou buněk živočichů. Plní také funkci zásobní. Například glykogen se v lidském těle ukládá v játrech a v případě poklesu glykémie (množství cukru v krvi) pod bezpečnou hodnotu je schopen se štěpit na glukózu. Tento jev je často pozorován u jedinců, kteří hladoví, ať už vědomě (z důvodu diety, hladu), anebo nevědomě (diabetik po aplikaci příliš vysoké dávky inzulínu). Pokud se z jater z nějaké příčiny nedokáže uvolnit dostatečné množství glykogenu vedoucí ke stabilizaci glykémie, upadá jedinec do hypoglykemického šoku. Ten se projevuje podle závažnosti poklesu hladiny cukru v krvi jako pocit hladu, svalový třes, rozostřené vidění, neschopnost koncentrace, pocit únavy až ztráty vědomí a může vést i ke smrti.

Polysacharidy mají z (bio)technologického hlediska spoustu výhod; příkladem může být minimální anebo žádná toxicita, snadná odbouratelnost a za zmínku stojí i relativně nízká cena. Řadí se mezi látky biokompatibilní, což znamená, že jsou tyto látky a materiály velmi dobře snášeny živými organismy, nezpůsobují alergické reakce, neřadí se mezi karcinogeny, teratogeny ani mutageny, nevyvolávají reakci a neuvolňují potenciálně toxické látky.

Existuje vícero způsobů klasifikace polysacharidů [1]:

- dle struktury
  - **Primární** – v závislosti na pořadí monosacharidů
    - a) pravidelné - homoglykany (ale i některé heteroglykany)
    - b) pravidelně střídající - u heteroglykanů (karagenany)
    - c) nepravidelné (určité úseky pektinu)

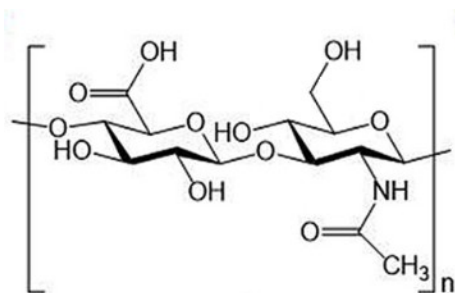
- **Sekundární** – podle konformace makromolekuly - stabilizace vodíkovými vazbami (mezi vodíkem a kyslíkem, ale i jinými prvky)
- **Terciální** - vznik dalších struktur z kombinací sekundárních struktur
- dle vázaných monosacharidů
  - **Homoglykany** – látky skládající se z molekul jednoho druhu monosacharidu. Dále se mohou dělit na fruktany a glukany typu  $\alpha$  (amylóza) a  $\beta$  (celulóza)
  - **Heteroglykany** – látky obsahující více druhů monomerních jednotek samotných, anebo jejich derivátů. Tato skupina zahrnuje většinu existujících polysacharidů – škrob, galaktóza
- dle původu
  - **Přirozené** – glykany živočichů a rostlin – kyselina hyaluronová
  - **Aditivní** – glykany řas, mikrobů, hub, modifikované glykany rostlin
- dle základních funkcí
  - **Zásobní** – rezervní – škrob, glykogen, neškrobové glykany
  - **Stavební** – strukturní – celulóza, chitin, asociované glykany
  - **S jinými funkcemi** (hospodaření s vodou, ochrana pletiv...) - arabská guma
- dle stravitelnosti – podle schopnosti štěpících enzymů způsobit jejich rozklad
  - **Stravitelné** – škrob, glykogen

- **Nestravitelné** – pektiny, celulóza – souhrnně nazývány „vláknina“
  
- dle druhu řetězce
  - **Lineární nevětvené** – amyulóza
  - **Lineární větvené jednou** – amylopektin
  - **Lineární větvené několikrát** – guarová guma
  - **Lineární substituované** – dextran
  - **Cyklické** – cyklodextriny

## 1.1 Vlastnosti a aplikace vybraných polysacharidů

### 1.1.1 Kyselina hyaluronová

Kyselina hyaluronová, zkráceně HA, je přirozeně se v lidském těle vyskytující glykosaminoglykan (GAG), lineární heteroglykan složený z opakujících se jednotek kyseliny D-glukuronové a N-acetylglukosaminu s vysokou molekulovou hmotností v řádu milionů gramů na mol. Tato nažloutlá látka se vyskytuje ve formě sodné soli hyaluronanu především v nejhlubší vrstvě pokožky zvané *stratum basale*. [2]



Obr. 1: Strukturní vzorec kyseliny hyaluronové [7]

K první úspěšné izolaci kyseliny hyaluronové došlo v roce 1934 Karlem Meyerem a jeho asistentem Johnem Palmerem při jejich zkoumání kravských očí. Podařilo se jim získat dosud neznámou látku skládající se ze dvou monosacharidových jednotek, z nichž jednou byla uronová kyselina. Spojením se slovem „hyalos“ (řecky sklo) vznikl název kyselina hyaluronová. [3]

Kyselina hyaluronová ovlivňuje hospodaření tkání s vodou a zachovává je hydratované tím, že na sebe váže velké množství vody, které je až tisícinásobkem váhy jedné molekuly HA. Její další funkcí je udržování elasticity vodnatých pojivových tkání, mezi které se řadí oční sklivce a synoviální tekutina v kloubech. V těle je produkována jakožto lubrikant, který snižuje tření

pohyblivých části těla, především tedy kloubů a svalů, a je nedílnou součástí mezibuněčné hmoty. Důležitá je však už od samého počátku života, jelikož má významnou roli jakožto receptor při dělení a migraci buněk. Nejvyšší koncentrace HA se nachází v extracelulární matrici kůže. Je dokázáno, že s postupujícím věkem hodnota HA v těle klesá až do úplného vymizení kolem 80. roku života. [4, 5]

### 1.1.2 Využití HA v kosmetickém průmyslu

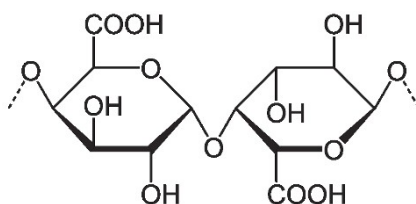
První komerční využití kyseliny hyaluronové se datuje k roku 1942 a její využití se čím dál více rozšiřuje. Kyselinu hyaluronovou lze dnes najít ve velkém množství výrobků dekorativní a pečující kosmetiky bránící stárnutí (krémy, gely) anebo farmaceutických výrobků, kde slouží jako zvlhčovač (nosní spreje). Kyselina hyaluronová je totiž jednou z nejvíce dosud známých hydrofilních molekul. Její samotná konzistence a šetrnost ke tkáni umožňuje její použití ve výrobcích pro péči o pleť, kde se také osvědčila jako vynikající zvlhčovač. [5]

V dnešní době je na českém trhu nespočet výrobků obsahujících kyselinu hyaluronovou, určených obzvláště pro hydrataci pokožky a zpomalení tvorby vrásek a jiných projevů stárnutí. Vlastnosti kyseliny hyaluronové jsou silně závislé na její molekulové hmotnosti, jelikož překročí-li 100 000 g/mol, její schopnost průniku do pokožky podstatně klesá. Mezi okamžité výhody aplikace HA se řadí citelně měkkí a hladší povrch zhrublé kůže a zároveň tvorba ochranné vrstvy, která snižuje transepidermální ztrátu vody (transepidermal water loss – TEWL) vedoucí k vysoušení a stárnutí pokožky. Tohoto jevu se využívá v krémech s přídavkem kyseliny hyaluronové. Dalším, mnohem účinnějším způsobem aplikace je forma séra čisté kyseliny, která netvoří filmy na povrchu pokožky, ale vklepává se přímo do jemných vrásek, čímž se dostane do epidermis hlouběji a může tak působit zevnitř. Nepříliš časté je její využití v krémech na opalování, kde je schopna ochránit pokožku před poškozením UV zářením. [2, 5]

Jedinečná viskoelastická povaha kyseliny hyaluronové se taktéž hojně využívá v estetické medicíně. Společně s autologním tukem, kolagenem a biosyntetickými polymery funguje od roku 2003 jakožto injekční výplň měkkých obličejových tkání. Brání také ukládání kolagenu a tím předchází vzniku nevzhledných jizev po operačních zákrocích. Své místo nachází také v medicínské praxi vyplňování vrásek, účinná je však i při hojení popálenin, atopických ekzémů či třeba bércových vředů. Oblíbenost této látky je způsobena mimo jiné faktem, že existuje jen málo pozorovaných vedlejších efektů a pouze nepatrné množství pacientů vykazuje známky alergické reakce, a to jak ihned po podání, tak v horizontu dalších let. [2, 6, 7] Využití HA jakožto přenašeče léčiv je dále popsáno v kapitole 3.2.1.

### 1.1.3 Pektiny

Pektiny se řadí do skupiny přírodních polydisperzních polysacharidů se značně proměnným složením. Skládají se z jednotek D-galakturonové kyseliny spojených  $\alpha$ -1,4-glykosidickou vazbou, které mohou obsahovat volné nebo methylesterifikované karboxylové skupiny. Na jeho molekulu může být navázán monosacharid (ramnóza, xylóza). Lze je běžně najít ve stěnách buněk, v mezibuněčném prostoru a v pletivech vyšších rostlin. Množství vyprodukovaných pektinů se v životním cyklu rostliny liší, nejvyšší koncentrace bývá v raném stádiu růstu, kdy se plochy buněčných stěn nejvíce rozšiřují. Jde-li o rostlinu určenou ke konzumaci, má vliv na obsah pektinů také zrání, způsob skladování a zpracování suroviny, povětšinou tedy zeleniny a ovoce. [8, 9]



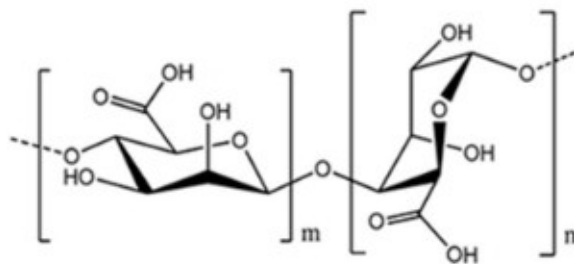
Obr. 2: Strukturální vzorec pektinu

V buněčných stěnách bývají pektiny obalené mikrofibrilami celulózy. Obzvláště ve starších pletivech vede tento jev k tunutí pletiva rostliny a jeho následné nepoživatelnosti, např. u starých kedluben. I přes relativně vysokou molekulovou hmotnost je část pektinů rozpustná ve vodě. Ochota tvořit roztoky stoupá se stářím rostliny. V lidském organismu pektiny nemají žádnou výživovou funkci, jsou však důležité pro správné fungování střev; potlačují v nich hnilobné procesy, navazují na sebe škodliviny a urychlují vylučování. [9, 10]

V kosmetickém a farmaceutickém průmyslu se pektin používá jako zahušřovadlo a emulgátor. Emulze jsou vhodné pro různá použití. To je závislé na vlastnostech gelové dispergační fáze, proto je velmi důležitý výběr vhodného gelačního činidla. Využitím pektinu lze získat tzv. emulgovaný gel, který má vlastnosti jak emulze (schopnost proniknout kůží, kontrola reologických vlastností a vzhledu finálního výrobku, stupeň mastnoty), tak také gelu (snadno roztíratelný i odstranitelný, schopný navázat ve vodě rozpustné nebo mísitelné pomocné látky). [11]

### 1.1.4 Algináty

Algináty jsou dalšími z přírodních kopolymerů. Jedná se o skupinu anionických heteroglykanů extrahovaných z hnědých mořských řas, jinak nazývaných chaluhy, kde jsou součástí jejich buněčných stěn. [12, 13]



Obr. 3: Strukturální vzorec kyseliny alginové [12]

Algináty se přirozeně vyskytují ve formě zásaditých solí, kde kationickou složku tvoří prvky běžně se vyskytující v mořské vodě –  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  a jiné. Jsou tvořeny bloky kyseliny guluronové a mannurové (Obr. 3) a jejich složení je silně závislé na druhu řasy a části rostliny, ze které jsou algináty získávány. Taktéž způsob získávání alginátů z řas ovlivňuje kvalitu výsledného produktu. V praxi jsou pro účely extrakce pěstovány 2 druhy hnědých řas, *Laminariales* a *Fucales*, jejichž výhodou je velmi vysoká výtěžnost (až 45 % v sušině). Jiné druhy mají obsah v sušině podstatně nižší, například jistý druh řasy původem z Japonska jich má pouze 16 %. Zdrojem alginátů mohou být také bakterie (rod *Azobacter* a *Pseudomonas*), jejichž extracelulární polysacharidy se mnohdy složením i vlastnostmi podobají alginátům. Algináty se u bakterií podílí na tvorbě spor. [13]

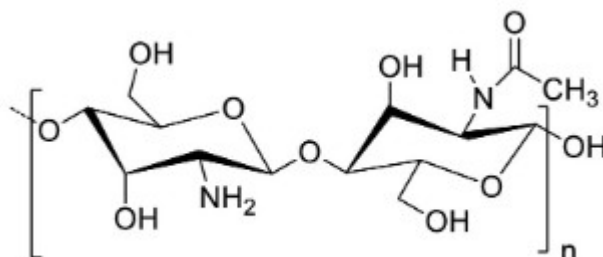
V praktickém využití se nejčastěji setkáváme s alginátem sodným, a to v biomedicíně, farmaceutickém a kosmetickém odvětví. Vyznačuje se minimální toxicitou, biodegradabilitou, nízkými pořizovacími náklady a významnou schopností tvořit ve vodném prostředí gely. Ve své molekulární struktuře obsahuje velké množství hydroxylových a karboxylových skupin, což umožňuje širokou škálu modifikací, díky kterým lze upravit fyzikální a chemické vlastnosti látky a tím se rozšiřuje i možnost využití alginátů. [14]

V biomedicíně jsou algináty používány jako přenašeče aktivních látek ve farmacii, jako obaly kapslí, zdroj proteinu a také pomáhají regeneraci tkání a rychlejšímu hojení ran. Kosmetický průmysl si cení alginátů ve formě pleťových masek, u kterých lze očekávat zklidňující, hydratační a liftingový efekt a vyčištění a rozjasnění pleti. [14]

### 1.1.5 Chitosan

Chitosan je přírodní lineární polysacharid odvozený od přírodního chitinu, po celulóze se jedná o druhý nejrozšířenější polysacharid na světě. Nachází se v pevných vnějších schránkách členovců a je také součástí buněčné stěny hub. Vyznačuje se nerozpustností ve vodě, což je hlavním důvodem, proč je jeho využití omezené. Je tvořen jednotkami N-glukosaminu a N-acetylglukosaminu, procento zastoupení jednotek rozhoduje, jestli se jedná o chitin (obsah N-acetylglukosaminových

jednotek převyšuje 50 %), anebo chitosan. Chitosan má bílou barvu a sypkou formu. Je nestravitelný a trávicí soustavou prochází, aniž by se vstřebal do organismu, zároveň je ale schopen na sebe navázat látky až do šestinásobku své hmotnosti. Tohoto jevu je využíváno u léků a doplňků stravy na hubnutí. [15]

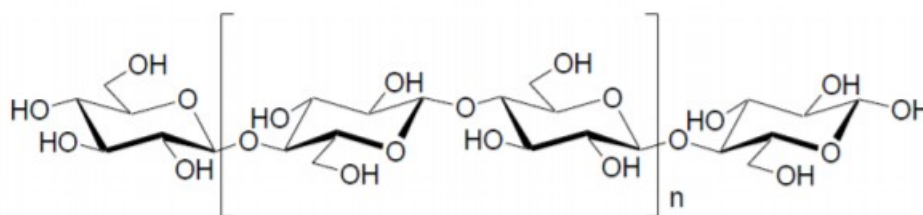


Obrázek 4: Strukturní vzorec chitosanu [16]

Dále snižuje hladinu cholesterolu a cukru v krvi, brání vzniku krevních sraženin, přidává se do žvýkaček a zubních past, protože u něj byl pozorován mírně protizánětlivý a antibakteriální charakter. V kosmetice se využívá jako změkčovadlo, je stabilní, absorbuje vlhkost, stabilizuje emulze a tvoří filmy. [15]

### 1.1.6 Celulóza

Celulóza je přírodní homoglykan, který je pro lidský organismus nestravitelný. Jeho řetězec bývá nerozvětvený a skládá se z jednotek D -glukózy. Ty jsou navzájem spojeny  $\beta$ -1,4-glykosidickou vazbou (Obr. 5). Celulóza je nejrozšířenější polymer na světě, známý již tisíce let a ekologicky obzvláště významný pro svoji obnovitelnost. V organismech zastává stavební funkci. Je skeletálním komponentem ve všech rostlinách a doprovodnou substancí hemicelulózy, pektinu a ligninu. Má dlouhé a nerozvětvené řetězce charakteristické tím, že se nerozpouští ve vodě a většině organických rozpouštědel. Může však být rozložena koncentrovanými kyselinami a taktéž podléhá degradaci za zvýšené teploty. Dalším způsobem degradace celulózy je působení mikroorganismů, které enzymaticky štěpí její strukturu, například enzym celulóza zapříčiňuje její rozpad až na D-glukózu. [17, 18]



Obr. 5: Základní chemická struktura celulózy s celobiózovou jednotkou [19]

První popis celulózy jakožto vláknitého materiálu z rostlinných pletiv pochází z roku 1838, kdy ji francouzský chemik Anselme Payen připravil působením kyselin a amoniaku a pomocí následné extrakce vodou, alkoholem a éterem. Elementární analýzou byl zjištěn molekulární vzorec  $C_6H_{10}O_5$ . [20]

Původcem celulózy nemusí být pouze rostliny, syntetizovat ji dokáží také některé vodní organismy, bakterie a houby. Přesto je však komerčně nejvyužívanější ta rostlinná. Jejím zdrojem jsou rostliny s jejím vysokým obsahem, jako je bavlna (která jí obsahuje více než 94 %), lýko (60 – 80 %) nebo dřevo, které celulóza tvoří zhruba z jedné poloviny. [21]

V závislosti na rozpustnosti celulózy v 17,5% roztoku NaOH se rozlišují 3 typy celulózy – nerozpustná alfa-celulóza (která se považuje za pravou), rozpustná beta-celulóza, již lze zpětně vysrážet kyselinami, a rozpustná gama-celulóza, u které již neexistuje možnost zpětného vysrážení. [21]

Praktické využití celulózy je velmi různorodé. Nejznámější a nejrozšířenější aplikací tohoto materiálu je výroba papíru a lepenky. [21]

### *Deriváty celulózy*

S ohledem na široké využití celulózy byla připravena široká škála derivátů, převážně s využitím tří hydroxylových skupin, vázaných k C6, C2 a C3. Nejčastější reakce probíhající na těchto hydroxylových skupinách jsou esterifikace a etherifikace. Mezi esterifikační reakce se řadí například xantogenace, acetylace, nitrace a oxidace. [20]

Xantogenace je reakce alkalické celulózy (rozpuštěné v NaOH) se sirouhlíkem. Vzniká xantát celulózy, který je rozpustný ve zředěném NaOH nebo ve vodě a používá se k výrobě viskózních vláken (dále zpracované na netkané textilie, oblečení, aj.) nebo celofánu (obaly na potraviny, lepicí pásy). [16]

Acetylace celulózy se dosáhne její esterifikací ve směsi kyseliny octové a acetanhydridu za přítomnosti kyseliny sírové. Výsledkem je bezbarvý, transparentní, na světle stálý materiál využívaný v textilním průmyslu nebo jako elektroizolace. [19, 23]

Nitrací celulózy ve směsi kyseliny dusičné a sírové vzniká produkt, jehož vlastnosti se liší v závislosti na obsahu dusíku. Ten se běžně pohybuje v rozmezí 10–14 %. Tvoří filmy, a proto je nedílnou součástí laků a nátěrových hmot. [16]



Mezi etherifikace se řadí Williamsonova syntéza, která je důležitou preparativní reakcí a zahrnuje reakci celulózy s alkylem halogenidu za silných zásaditých podmínek, nebo s alkylenoxidy v slabě alkalickém prostředí. [16]

### *Oxidace celulózy*

Oxidací celulózy vzniká oxidovaná celulóza (OC) což je souhrnný název pro celou řadu oxidačních produktů celulózy, jako je oxycelulóza či 6-karboxycelulóza. Oxidace celulózy způsobuje změny její struktury a krystalinity, což ovlivňuje její chemické a fyzikální vlastnosti a zvyšuje její rozpustnost ve vodě. Oxidativní modifikace celulózy byly zkoumány už od počátku minulého století. Ve 40. letech 20. století se výzkum orientoval na oxidaci bavlněné gázy oxidem dusičitým. Výsledný produkt byl rozpustný v zásaditém prostředí a vznikaly světle žluté roztoky s nízkou viskozitou. V následujících letech bylo vyzorováno, že oxidovaná bavlněná gáza se rozkládá v pH krve bez alergické reakce a pouze s minimálními známkami podráždění tkáně. [23]

Největším problémem při oxidaci celulózy je obtížnost výroby materiálů, které by měly homogenní chemické a fyzikální vlastnosti. Aldehydové, ketonové a karboxylové skupiny oxidované celulózy se totiž tvoří v závislosti na povaze oxidačního činidla, jeho specifčnosti a podmínkách oxidace. Při mírné oxidaci obsahuje OC nejen zoxidované, ale také jen částečně nebo zcela nezoxidované jednotky celulózy. U agresivní oxidace dochází ke zvýšené degradaci, kdy se vzniklá celulózová vlákna rozkládají a drobí, glykosidické vazby jsou přerušeny a tvorba karboxylových skupin oslabuje vodíkové můstky, čímž se zhoršuje fyzická a mechanická pevnost materiálu. [23]

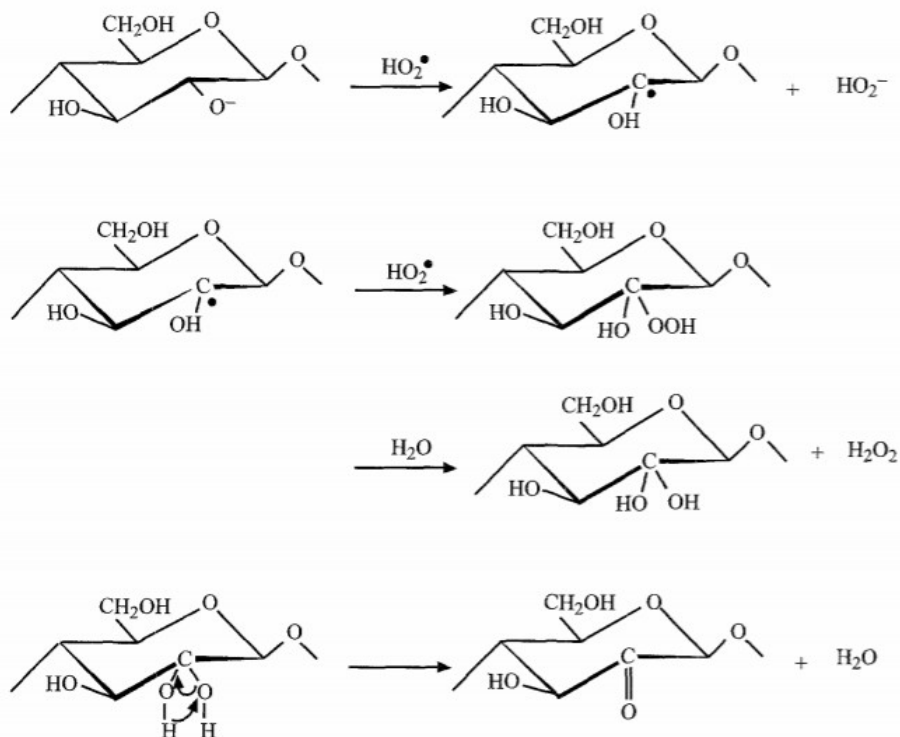
V dnešní době se OC vyrábí ve formě bělavého prášku, amorfního materiálu nebo tkané textilie, prakticky nerozpustné ve vodě a běžných organických rozpouštědlech, ale pozvolna rozpustné v alkalických roztocích a fyziologickém prostředí. [23]

V případě oxidace přírodní celulózy nejsou oxidované produkty zcela rozpustné ve vodě ani po delší době oxidace, protože většina primárních hydroxylových C6 skupin zůstává nezměněna. Obecně má OC ve vláknité nebo tkaninové formě špatnou chemickou stabilitu projevující se žloutnutím a ztrátou pevnosti. Rovnoměrná oxidace vede ke stabilnější vstřebatelnosti materiálu. [23]

Oxidační činidla lze rozdělit do dvou skupin:

**Nespecifická** oxidační činidla způsobují vznik ketonových, aldehydových a karboxylových skupiny (např. chlornan, ozon, peroxid vodíku). Schéma oxidace celulózy peroxidem vodíku v

alkalickém prostředí popisuje Obr. 6. Neselektivně oxidovaná celulóza přesto nachází využití jako nosič biologicky aktivních látek, jako jsou třeba enzymy nebo antibakteriální činidla. [23–25]

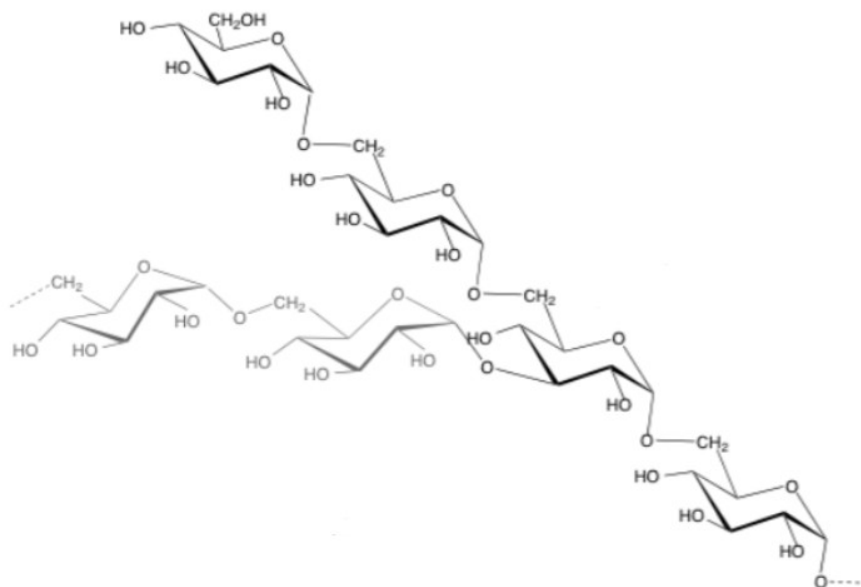


Obr. 6: Schéma oxidace celulózy peroxidem vodíku v alkalickém prostředí [25]

Jako **regiospecifické** oxidační činidlo se využívá například TEMPO (2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-oxyl), který oxiduje -OH skupinu na uhlíku C6 anebo jodistan sodný (NaIO<sub>4</sub>), který je schopen konverze dihydroxylové (glykolové) skupiny na párové aldehydické skupiny bez dalších významnějších vedlejších reakcí. V případě celulózy tak dochází k tvorbě 2,3-dialdehydcelulózy (DAC). Stupeň oxidace lze snadno kontrolovat změnou množství jodistanu. Takto připravené deriváty jsou vhodné jako náplň kolony ke kapalinové chromatografii, k adsorpci iontů těžkých kovů nebo jako síťovací činidla pro přípravu hydrogelů. DAC lze dále oxidovat na 2,3-dikarboxycelulózu (DCC) pomocí NaClO<sub>2</sub>. Selektivní oxidace celulózy pomocí jodistanu je dopodrobna rozebrána v kapitole 1.2. [23]

### 1.1.7 Dextran

Dextran je syntetizován ze sacharózy některými kmeny bakterií. Jedná se o materiál, který má široké využití, jelikož je biokompatibilní, biologicky rozložitelný, dostupný v různých molekulových hmotnostech a lze jej snadno modifikovat. [26]



Obr. 7: Strukturní vzorec dextransu

Dextran je rozvětvený lidským organismem stravitelný homoglykan složený z jednotek glukózy, lineárně spojen  $\alpha$ -1,6 glykosidickou vazbou s určitým stupněm  $\alpha$ -1,3 větvení (Obr. 7). Stupeň rozvětvení závisí na zdroji dextransu a pohybuje se v rozmezí 0,5 – 60 %. Pro komerční použití se většinou využívá dextran produkovaný bakteriemi rodu *Leuconostoc mesenteroides* (kmen B-512), který je charakteristický tím, že je  $\alpha$ -1,6 glykosidickými vazbami tvořený z více než 95 % a má nízký stupeň rozvětvení. [26, 27]

Stejně jako stupeň rozvětvení je původem dextransu (rod/kmen bakterií) ovlivněna i jeho výsledná molární hmotnost. Obě tyto vlastnosti podmiňují fyzikální a chemické charakteristiky dextransu, jako je třeba jeho rozpustnost ve vodě, která klesá se zvyšujícím se stupněm rozvětvení. [26, 27]

Nativní dextran je polymer s vysokou molekulovou hmotností v rozmezí 107 až 108 g/mol. Jeho molekulovou hmotnost lze snížit kyselou hydrolyzou bez ohledu na povahu použité kyseliny. Nativní dextran také vykazuje vysoký stupeň disperzibility. Viskozita roztoku dextransu je ovlivněna povahou a pH rozpouštědla, stupněm větvení, počtem mezimolekulárních vazeb a teplotou. [26, 27]

Dextrany jsou štěpeny enzymem  $\alpha$ -1-glukosidázou, která je přítomna v různém množství v tělesných orgánech. Vyšší koncentrace dextransy se nachází v játrech a slezině. Dextran se v těle může metabolizovat dvěma způsoby; působením enzymů, anebo rozkladem ve žluči. V závislosti na molekulové hmotnosti se jeho doba rozpadu pohybuje v řádu hodin. [26, 27]

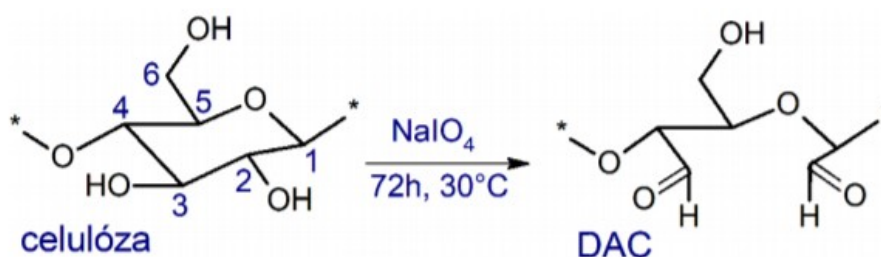
## 1.2 Selektivně oxidované polysacharidy

Funkční deriváty biopolymerů získávají stále větší pozornost, protože představují udržitelnou, biologicky kompatibilní a snadno rozložitelnou alternativu k syntetickým materiálům. Zvýšená pozornost je mimo jiné věnována selektivně oxidovaným polysacharidům, jako je 2,3-dialdehydcelulózy (DAC), 2,3-dikarboxycelulóza (DCC) anebo selektivně oxidovaný dextran (DXA). [28]

### 1.2.1 2,3-Dialdehydcelulózy

DAC se těší rychle rostoucímu zájmu hned z několika důvodů. Jeho příprava je ekologicky nenáročná, protože jako výchozí materiál mohou být použity různé obnovitelné zdroje celulózy, včetně rychle rostoucích rostlin (např. bambus), zatímco jodistanovou sůl použitou pro oxidaci celulózy lze snadno regenerovat a znovu použít. Možnost solubilizace DAC (rozpuštění spojené s degradací řetězců) horkou vodou výrazně rozšiřuje její využití ve vodné chemii, kde nelze použít nerozpustnou surovou celulózu. Aldehydové skupiny DAC tak mohou například sloužit jako reaktivní místa pro zesíťování hydrogelů, viz kap. 3.2.2. [29]

DAC se připravuje již dříve zmíněnou selektivní oxidací hydroxylových skupin celulózy v pozici 2 a 3 pyranózového kruhu pomocí jodistanové soli. Reakce je selektivní proto, že vyžaduje přítomnost dvou sousedících (vicinálních) –OH skupin, které jsou v celulóze přítomny pouze v pozici 2 a 3. [30]



Obr. 8: Schéma jodistanové oxidace celulózy [28]

Reakční podmínky závisí na požadovaném stupni oxidace ale i na vstupním materiálu. Například v práci Münster et al (2017) [31] byl použit molární poměr 1:1,2 (DAC: jodistanová sůl) při 30°C po dobu 72 hodin za nepřítomnosti světla pro dosažení vysokého stupně oxidace (nad 95 %).

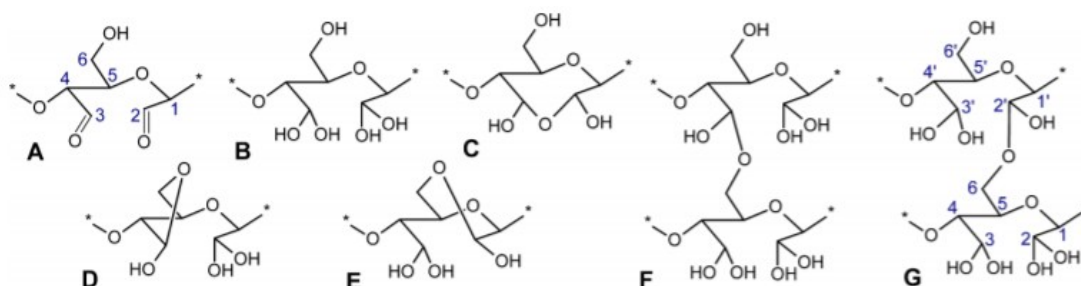
Surový DAC je nerozpustný ve vodě nebo běžných organických rozpouštědlech i po úplné oxidaci, ale lze jej solubilizovat povařením v horké vodě. Tím se získá čirý roztok s vysokým obsahem reaktivních aldehydových skupin. Solubilizace ovšem vede k postupnému snížení stupně polymerace (degree of polymerization, DP).

Podle stanovení molekulové hmotnosti s využitím gelové permeační chromatografie [31] měl surový DAC hmotnostní střed molekulových hmotností  $M_w = 150500$  g/mol (DP = 638), což odpovídá původnímu materiálu s DP = 672. Na druhou stranu, DAC solubilizovaný 7 h vykazoval  $M_w$  pouze 9100 g/mol (DP = 58), což naznačuje silnou degradaci. Jak lze vidět v Tab. 1 převzaté z Münster et al. (2017) [31], degradace řetězců je závislá na čase solubilizace. [28, 29, 31]

Tab. 1: Hodnoty solubilizovaného DAC [31]

Doba solubilizace [h]	Koncentrace DAC [mg/ml]	Molární hmotnost DAC [g/mol]
0,5	1,67	1600
1	8,23	9100
3	18,81	10700
5	31,74	10600
7	51,25	9100

Přestože je oxidace selektivní, vysoká reaktivita vznikajících  $-CHO$  skupin vede k řadě vedlejších reakcí s nezreagovanými  $-OH$  skupinami celulózy, ve kterých dochází ke vzniku celé řady acetalů a hemiacetalů (viz Obr. 9). Nejčastěji vznikají dva izomery intramolekulárního C3–O–C6 vázaného poloacetalu (D na obr. 9), a také C2'–O–C6 intermolekulární hemiacetal (E na Obr. 9). [29, 31]

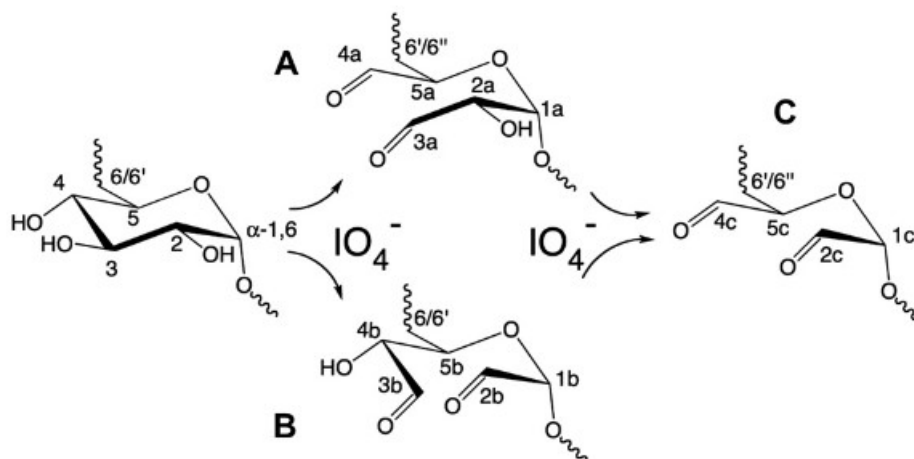


Obr. 9: Možné struktury DAC. A - dialdehyd, B - hydratovaný dialdehyd, C - hemialdal, D - intramolekulární hemiacetal s C3 – O – C6 vazbou, E -intramolekulární hemiacetal s vazbou C2 – O – C6', F – intermolekulární hemiacetal s vazbou C6 – O – C3', G - intermolekulární hemiacetal s C6 – O – C2 vazbou. [31]

Vysoká reaktivita aldehydových skupin vede také k jejich nestabilitě v roztoku a jejich množství se s časem snižuje. To bránilo širšímu použití DAC například pro přípravu hydrogelů. Teprve nedávno bylo zjištěno, že obsah  $-CHO$  skupin v DAC lze stabilizovat a roztoky dlouhodobě uchovávat v kyselém prostředí (pH = 3,5). [31]

Oxidace dextranu jodistanem (Obr. 10) je reakce, která vede k degradaci řetězce a mění fyzikálně-chemické vlastnosti dextranu. Oxidovaný dextran je méně rozpustný ve vodě a má vyšší viskozitu. [27, 34] V prvním kroku oxidace dojde k oxidaci jednoho páru  $-OH$  skupin za současného štěpení vazby mezi zúčastněnými uhlíky. Štěpení C3-C4 vazby je 7,5krát častější ve srovnání s vazbou C2-C3. Oxidace kterékoli z těchto vazeb poskytuje aldehyd na uhlíku C3, který

je ale citlivý na další oxidaci jodistanem kvůli přítomnosti sousedních hydroxylových skupin na C2 nebo C4, což nakonec vede k jeho oxidativní eliminaci. Tento proces může být sledován poklesem pH v důsledku uvolňování C3 ve formě kyseliny mravenčí. [27]

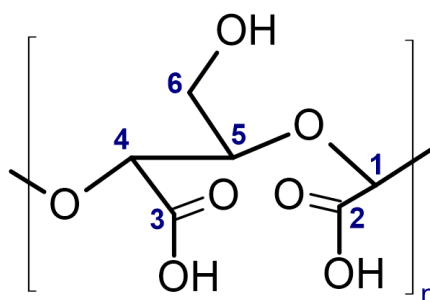


Obr. 10: Možné oxidace dextransu jodistanem. (A) Narušení vazby mezi C<sub>3</sub>-C<sub>4</sub>; (B) C<sub>3</sub>-C<sub>2</sub> a (C) dvojitá oxidace [27]

Pokud k oxidaci dochází v dimethylsulfoxidu (DMSO), je obvykle pozorována neselektivní jednoduchá oxidace. Inhibice sekundární oxidace je pravděpodobně způsobena tvorbou intramolekulárního hemiacetalu, který neumožňuje další oxidaci sousedních jednotek. Hemiacetaly, stejně jako hemialdaly, jsou pravděpodobně zodpovědné za spektroskopické zmizení aldehydové skupiny. [34]

### 1.2.2 Sekundární oxidace dialdehydů na 2,3-dikarboxypolysacharidy

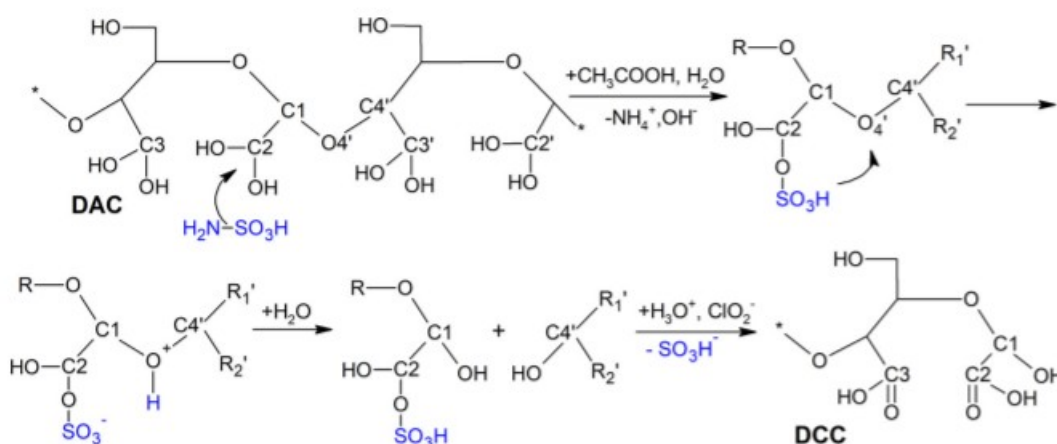
2,3-dikarboxycelulóza (DCC) se připravuje selektivní oxidací aldehydových skupin DAC chloritanem sodným. Na rozdíl od DAC má DCC s vyšším stupněm oxidace (DO) dobře definovanou strukturu a je dobře rozpustná ve vodném prostředí bez potřeby solubilizace. Reakce se zastavuje přidáním 10 M NaOH. Následuje dialýza reakční směsi proti destilované vodě po dobu alespoň 48 hodin. [28, 35]



Obr. 11: Strukturální vzorec monomeru DCC [28]

Další výhodou DCC je skutečnost, že jde snadno ovlivňovat délku jejího řetězce, a tedy i výslednou molární hmotnost. Úplně nejjednodušším způsobem je snížení molekulární hmotnosti působením tepla. Nevýhodou jsou však velmi nízké výnosy a vysoký index polydisperzity konečného produktu (PDI). [28]

Jiný způsob vyžaduje přidavek kyseliny amidosulfonové ( $\text{H}_3\text{NSO}_3$ ) ještě před započítím sekundární oxidace. Schéma celé reakce je na Obr. 12. Tato kyselina potlačuje nežádoucí přeměnu  $\text{NaClO}_2$  na chlornan a také její molární množství nepřímou úměrou ovlivňuje molekulovou hmotnost DCC. [28, 33] Například přidání 0,25 mol  $\text{H}_3\text{NSO}_3$  vede ke snížení  $M_w$  výsledného DCC o 30 %, přidání 0,5 mol  $\text{H}_3\text{NSO}_3$  snižuje jeho  $M_w$  o téměř 80 % oproti DCC připravenému bez  $\text{H}_3\text{NSO}_3$ . Zajímavý je i fakt, že na rozdíl od štěpení teplem se po přidání  $\text{H}_3\text{NSO}_3$  nezvyšuje PDI produktu. [28, 33]



Obr. 12: Mechanismus sulfonace -CHO skupiny na  $\text{C}_2$  2,3-dialdehydecelulózy (DAC) a následné kyselý hydrolyzy 1-4 'glykosidické vazby a eliminace  $-\text{SO}_3\text{H}$  skupiny během sekundární oxidace aldehydů na 2,3-dikarboxycelulózu (DCC) [33]

Po sekundární oxidaci se DCC převádí na sodnou sůl (Na-DCC) a provádí se lyofilizace. Dříve užívanému způsobu srážení Na-DCC z vodného roztoku organickými rozpouštědly, například alkoholy, je nutno se při výrobě materiálu pro biomedicínské účely vyhýbat, je zde totiž vysoká



pravděpodobnost kontaminace velkým množstvím zbytkových rozpouštědel. Ta mohou v materiálu přetrvat i po delším vakuovém sušení a jsou téměř nemožná úplně odstranit. [28]

## **2 CÍL PRÁCE**

Cílem této práce je zpracování literární rešerše na téma modifikované polysacharidy a biomateriály a jejich využití jakožto přenašeče biologicky aktivních látek. Práce popisuje způsoby modifikace různých polysacharidů (celulóza, dextran, kyselina hyaluronová), se zaměřením na změnu ve vlastnostech jednotlivých látek, jako je délka řetězce, molekulová hmotnost, stupeň oxidace a polymerace, viskozita a rychlost uvolňování navázané aktivní látky. Z bioaktivních látek se práce soustředí na cisplatinu, která je často využívána v protinádorovém léčivu, a dále pak rutin a vitamíny používané jako účinné látky v kosmetice.

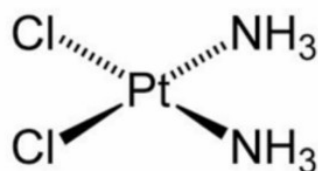
### 3 MODIFIKOVANÉ POLYSACHARIDY JAKO NOSIČE BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK

#### 3.1 Vybrané biologicky aktivní látky

Tato kapitola se zaměřuje na dvě skupiny látek, protinádorová léčiva a biologicky aktivní látky používané v kosmetice.

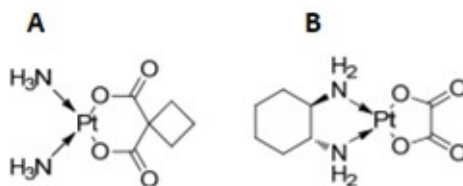
##### 3.1.1 Léky na bázi platiny

O možnostech využití platinových antineoplastik se dozvídáme od roku 1965, kdy byla Barnettem Rosenbergem poprvé pozorována inhibice růstu bakterie *Escherichia coli* v okolí platinové elektrody ponořené do živného roztoku, což vedlo k objevu cisplatiny. [36] Cisplatina, tedy Cis-diamino-dichloroplatinatý komplex (Obr. 13), se řadí mezi nejpoužívanější cytostatika, tj. látky, které jsou používány při léčbě nádorových onemocnění. Používá se k léčbě více druhů nádorů včetně rakoviny močového měchýře, hlavy a krku (jícnu, hrtanu, uzlin, jazyka), plic, vaječníků a varlat. Tato látka je výjimečná svou schopností propojit se s purinovými bázemi (guaninem a adeninem), což jí umožňuje zasahovat do mechanismů DNA, způsobit její poškození a následně indukovat apoptózu v rakovinných buňkách. Kromě DNA zamezuje cisplatina v menší míře také syntézu RNA a proteinů. Mezi další protinádorové účinky cisplatiny patří také zvýšení imunogenicity nádoru. [37, 38]



Obr. 13: Chemická struktura cisplatiny [37]

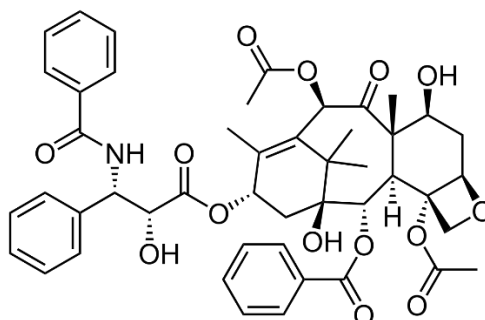
Cisplatina vykazuje závažné vedlejší účinky, např. neuropatii, která se projevuje brněním rukou a mravenčením, a až u 1 ze 3 pacientů, kterým byla jednorázově podána dávka cisplatiny, byla pozorována ototoxicita - šelest v uších a ztráta sluchu ve vyšším frekvenčním pásmu (4000 – 8000 Hz). Je prokazatelně mutagenní a může mít negativní vliv na budoucí plodnost pacienta. Od objevu cisplatiny bylo syntetizováno a testováno velké množství jejích analogů za účelem vylepšení terapeutického účinku a snížení negativních dopadů na lidský organismus. Mezi tyto analogy patří například karboplatina (A na Obr. 14) nebo oxaliplatina (B na Obr. 14). [37, 38]



Obr. 14: Chemická struktura A – karboplatiny, B – oxaliplatiny [36]

### 3.1.2 Paclitaxel

Paclitaxel se řadí mezi taxany, látky odvozené od rostlinného alkaloidu taxolu získaného z kůry stromu *Taxus brevifolia*. V současné době se taxany získávají polosynteticky z jehličí evropského tisu *Taxus baccata*. Je to cytostatikum s prokázanou účinností na více druhů nádorů. Stal se standardní léčbou širokého spektra nádorů buď samostatně, nebo v kombinované chemoterapii. Využívá se pro léčbu pokročilé rakoviny prsu, vaječníků a plic. Intravenózní podávání paclitaxelu je však nevhodné, u pacientů dochází k závažným a nepředvídatelným vedlejším účinkům. Naopak lze s úspěchem využít možnosti perorálního podání, které snižuje míru vystavení organismu toxickým účinkům a zároveň snižuje náklady na léčbu, protože při orálním podání není nutná hospitalizace ani infuzní vybavení. [39]



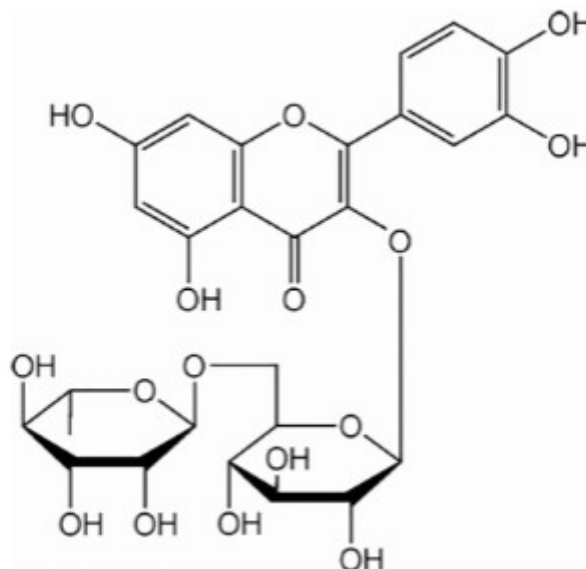
Obr. 15: Chemická struktura paclitaxelu

Paclitaxel vyvolává mitotickou zástavu v důsledku aktivace mitotického kontrolního bodu, což je hlavní mechanismus kontroly buněčného cyklu. Mitotický kontrolní bod zpožďuje separaci chromozomů, které vstupují do mitózy. Výsledkem je narušení funkce dělicího vřeténka a zablokování buněčného dělení. [40]

### 3.1.3 Rutin

Flavonoidy vyskytující se v zelenině a ovoci chrání lidské tělo před řadou nemocí, jako je rakovina, poruchy kardiovaskulárního systému, diabetes, osteoporóza a neurodegenerativní

poruchy. Rutin, známý také pod názvy rutosid, sophorin anebo vitamin P, je antioxidant a má protizánětlivé účinky. [41]



Obr. 16: Chemická struktura rutinu [41]

Rutin je flavonolglykosid složený z kvercetinu a disacharidu rutinózy (Obr. 16). Vyskytuje se v přirozené formě v běžné stravě, ale také v některých rostlinách (routa vonná, dřišťál, šťavel). Díky své polyfenolové struktuře zabraňuje poškození pokožky volnými radikály, z tohoto důvodu se často používá v kosmetice s funkcí ochrany kůže. Rutin je schopen předávat elektrony volným radikálům (hydroxylovým, superoxidovým), čímž je převádí na stabilnější nereaktivní sloučeniny. Rutin je dostatečně stabilní při vystavení UV záření, tudíž může mít ochranný účinek na kožní buňky vystavené přímému slunci. Při testování na potkanech bylo prokázáno, že rutin zvyšuje proliferaci kožních fibroblastů v ranách i syntézu složek extracelulární matrice. [41]

### 3.1.4 Vitamín A

Jedná se o vitamín rozpustný v tucích. V organismu se vyskytuje ve třech formách; retinol, retinal a kyselina retinová. Retinal v cis formě hraje hlavní roli v procesu vidění. Je nebílkovinnou složkou rhodopsinu, jehož hydrolýzou vzniká potenciál, který v mozku vytváří vizuální vjem. Retinol a kyselina retinová ovlivňují regulaci růstu, proliferaci a dělení buněk. Také podporují tvorbu vysokomolekulárních forem keratinu. [42, 43]

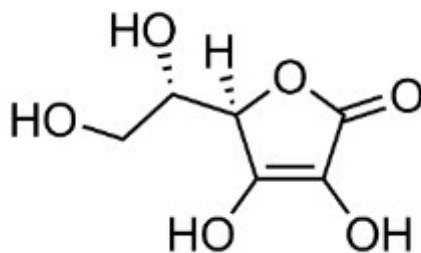
Zdrojem vitamínu A jsou potraviny rostlinného i živočišného původu (maso, mléko, vejce), případně je možná jeho syntetická výroba, která je však pro tělo hůře odbouratelná. V kosmetice je retinol známý pro svoji schopnost pronikat do hlubších kožních vrstev a zpomalovat projevy předčasného stárnutí pleti, proto se často vyskytuje v anti-agingové péči. Často se vyskytuje i ve

výrobci pro problematickou a aknézní pleť. Funguje jako exfoliant, odstraňuje staré kožní buňky, je to stimulant tvorby nových kolagenových vláken, pomáhá udržovat vyrovnané pH. Zmenšuje póry, čímž dělá pokožku hladší a zářivější. [42, 43]

Jedná se o látku, která je pro uživatele bezpečná, přesto však je možné si jejím užíváním v nadměrném množství přivodit hypervitaminózu. Nedoporučuje se pro těhotné a kojící ženy z důvodu možného přenosu mateřským mlékem. Při vyšších hodnotách nemusí být dobře snášen citlivou kůží. Mezi nežádoucí projevy patří kožní reakce – zarudnutí, vysušování a olupování kůže. Povolené množství v konečném výrobku je regulováno Evropskou unií, a to na 0,05 % v tělovém mléku a krémech, u oplachové kosmetiky je povoleno až 0,3 % zastoupení retinolu celkového objemu. V některých zemích, například v USA, je možné získat na lékařský předpis krémy a gelové přípravky s retinolem, a to v různých koncentracích. [42, 43]

### 3.1.5 Vitamín C

Vitamín C (kyselina L-askorbová) je ve vodě rozpustný vitamín a přirozený antioxidant. Jeho nedostatek vede k nemoci zvané kurděje, která je častá u lidí s málo pestrou stravou (dříve například námořníci na dlouhých zámořských cestách, dnes stále pozorovatelná v chudých zemích třetího světa). Nemoc se projevuje různým krvácením; dásní, podkožním, do svalů, orgánů a z nehtových lůžek. Většina rostlin a živočichů je na rozdíl od člověka schopna si vitamín C vytvořit sama, lidem však chybí enzym L-Gulono- $\gamma$ -lacton oxidáza nutný k jeho syntéze, a proto jsou závislí na jeho příjmu z potravy, například z citrusů nebo listové zeleniny. [43]



Obr. 17: Strukturní vzorec vitamínu C

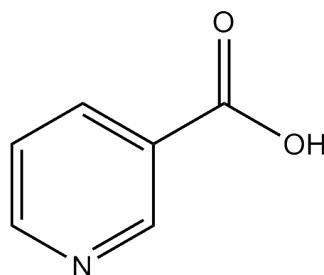
Kosmetické výrobky, které obsahují vitamín C jako účinnou látku, jsou na trhu známy už dlouhou dobu. Jeho funkcí jakožto antioxidantu je ochrana pokožky před volnými radikály. Tyto reaktivní formy kyslíku (ROS) vznikají zejména při vystavení kůže slunečnímu záření, ale také jako přirozená součást stárnutí. ROS má škodlivé účinky na proteiny, DNA a buněčné membrány a

ovlivňují buněčnou funkci ovlivňováním transkripčních faktorů. Vitamin C pomáhá neutralizovat volné radikály donací elektronu a vytvářením stabilnějšího volného askorbátového radikálu. Kromě funkce antioxidantu má vitamín C další zásadní vlastnosti. Slouží jako kofaktor jak pro prolyl, tak pro lysyl hydroxylázy. Tyto enzymy jsou nezbytné pro syntézu kolagenu, jelikož hydroxylované formy prolinu a lysinu usnadňují vylučování prokolagenu z fibroblastů. Studie prokázaly, že vitamín C je také důležitý pro zachování dermálního kolagenu tím, že zvyšuje stabilitu a snižuje tepelnou citlivost kolagenu. Studie in vitro naznačují, že kyselina askorbová může zvýšit proliferační kapacitu starších dermálních fibroblastů. Byly například srovnávány fibroblasty novorozenců starých 3 až 8 dní s fibroblasty lidí ve věku mezi 80 a 95 lety. Po přidání vitamínu C došlo v obou sadách ke zvýšení rychlosti proliferace a byla dosažena vyšší hustota buněk než v kontrolním vzorku. Následné studie in vivo potvrdily přínos vitamínu C na produkci kolagenu. [43]

Spotřebitelsky se považují výrobky na péči o pleť na bázi vitamínu C za bezpečné, přírodní a efektivní, což z nich činí jedny z nejpoužívanějších. Produkty s obsahem vitamínu C jsou například pleťové vody, séra, a krémy. V současnosti provedené studie předpokládají, že kosmetické přípravky obsahující tento vitamín mohou být využity pro zvýšení fotoprotekce, snížení viditelných známek fotoagingu, zlepšení stavu hyperpigmentace a léčbu kožních zánětů, jako je akné. [40]

### 3.1.6 Vitamín B<sub>3</sub>

Niacin (z anglického Nicotinic ACid vitamIN), jinak taky kyselina nikotinová nebo vitamín B<sub>3</sub>. Z biochemického hlediska je významný tím, že je buňkami využíván k syntéze NAD<sup>+</sup> a NADP<sup>+</sup>, které dále fungují jako koenzymy dehydrogenáz. [43]



Obr. 18: Strukturální vzorec kyseliny nikotinové

Běžně jej lze získat z masa, sýrů, celozrnných obilovin a ořechů, velký obsah vitamínu B<sub>3</sub> mají kvasnice. Nedostatek tohoto vitamínu rozpustného ve vodě způsobuje onemocnění zvané *pellagra*, které se projevuje mimo jiné dermatitidou, přecitlivělostí, zarudnutím v oblasti obličeje a krku a záněty kůže. [43]

Kofaktory NADPH a NADH jsou úzce spjaté s množstvím ceramidů, v pokožce se přirozeně vyskytujících lipidových molekul. Ceramidy jsou klíčové pro obnovu a hydrataci kožní bariéry, která z nich je složená z 50 %. Nedostatek ceramidů vede k suché a svědicí pokožce a činí ji zranitelnější vůči patogenům a nepříznivým vlivům okolí. Doplnění prekursoru těchto životně důležitých kofaktorů má tedy potenciál zlepšit vzhled stárnoucí pokožky. [43]

Protože niacinamid snadno proniká pod povrch kůže, jeho cílené dodání na konkrétní místa je snadné. Mezi mnoho kosmetických účinků na kůži patří snížený výskyt hyperpigmentovaných skvrn, brání zarudnutí, zmenšuje velikost pórů, zlepšuje povrchovou strukturu a vyhlazuje jemné linie a vrásky. Kromě toho prokazatelně zvyšuje hydrataci a vylepšuje integritu a elasticitu bariérové vrstvy *stratum corneum*. Změnu k lepšímu pocítily také pacienti, které trápí akné nebo *rosacea*. Používání vitamínu B<sub>3</sub> v péči o pokožku je všeobecně dobře snášeno, vzácně se vyskytují nežádoucí reakce ve formě začervenání a svědění. Nejčastěji se aplikují krémy, existují i přípravky v podobě gelu. [42, 43]

### 3.2 Modifikované polysacharidy jako nosiče protinádorových léčiv

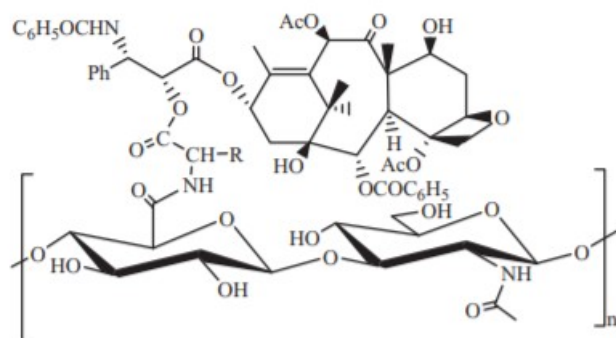
Přírodní původ, biokompatibilita a poměrně probádaná chemie jsou vlastnosti, které předurčují biopolymery k tomu, že jsou často využívány jako přenašeče protinádorových léčiv. Cílené dodání protinádorových léčiv na bázi platiny pomocí makromolekulárních nosičů vykazuje spoustu výhod oproti podávání účinné látky v čisté formě. Byla pozorována mimo jiné snížená toxicita, zvýšená rozpustnost ve vodě, delší doba cirkulace v krvi zamezením vylučování aktivní látky ledvinami a pasivní akumulace léčiva v nádorové tkáni. [28, 44]

#### 3.2.1 Nosiče léčiv na bázi kyseliny hyaluronové

Nejvíce prostudovaným polysacharidem v souvislosti s přenosem látek je pravděpodobně kyselina hyaluronová (HA), která jakožto nosič protinádorových léčiv vykazuje dobré výsledky. Praktickým příkladem může být konjugát HA-aminokyselina-paklitaxel (Obr. 19). [45] Velkou výhodou HA je její schopnost se navázat na receptory CD44 na povrchu rakovinových buněk. Také snadno tvoří konjugáty s léčivy na bázi platiny, které mají řízené uvolňování a cílený efekt. Nevýhoda HA je taková, že v lidském těle snadno degraduje, tudíž není vhodná jako základ léčiv, u kterých se očekává delší účinek. Pro prodloužení jejího setrvání v oběhu by měly být během výrobního procesu přidány látky obsahující oxid dusíku, čímž se snižuje aktivita enzymu hyaluronidázy a zabraňuje degradaci HA. Další nevýhodou HA je, že obsahuje pouze jednu karboxylovou skupinu na každou základní stavební jednotku. Všechna chemoterapeutika na bázi



platiny, která jsou v současnosti používána, mají ovšem dvě vazebná místa. Tento nepoměr vede k nežádoucím síťovacím reakcím snižujícím rozpustnost konjugátu a s ní spojenou celkovou účinnost léčiva. Toto, společně s nízkou efektivitou konjugace cisplatiny na molekuly HA (asi jen 50 %), podstatně zvyšuje náročnost výroby léků na tomto základu. [28]



Obr. 19: Konjugát HA-aminokyselina-paclitaxel [45]

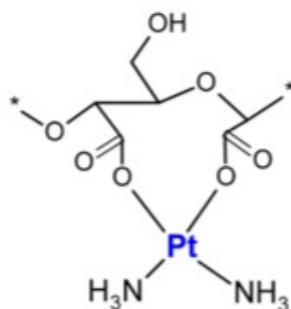
HA se také využívá pro povrchové modifikace nanočástic, čímž se zlepší jejich absorpce do rakovinných buněk. [45] Například konjugací HA na lipozomy obsahující léčivo, lze dosáhnout vyššího terapeutického účinku. Lipozomy jsou mikroskopické sférické vezikuly složené z membránových lipidových dvojvrstev obklopujících vodný kompartment. Tato jedinečná vlastnost propůjčuje lipozomům schopnost zapouzdřit lipofilní i hydrofilní sloučeniny. Hodnoty koncentrace protinádorového léčiva neseného pomocí konjugátu HA a lipozomů (HAL), při které dochází k 50% zamezení růstu buněk, byly výrazně nižší než u volného léku. [45, 46]

Kopolymerní nanočástice modifikované kyselinou hyaluronovou a kyselinou glykolovou (HCD) byly využity ke zvýšení koncentrace neseného léku (konjugát HA-aminokyselina-paclitaxel, Obr. 19) v buňkách rakoviny prsu. Podle Huang a Huang (2018) [45] docházelo in vitro k průběžnému uvolňování neseného léčiva, uvolnilo se asi 80 % za 14 dní. Zkoušky cytotoxicity prokázaly, že HCD mají vůči rakovinovým buňkám vysokou afinitu, dají se považovat za relativně bezpečné a mohou lépe bránit rozrůstání nádoru. Přes nepopiratelný pokrok některé problémy stále přetrvávají a vyžadují hlubší studium. Například se v některých případech nadbytečné léčivo (nebo jeho hydrofobní část) váže na hlavní řetězec HA, což vede ke změně celkových vlastností a ovlivňuje proces endocytózy buněk nádoru. Dále je pro zlepšení terapeutického účinku nutno zabránit předčasné degradaci HA ještě před dodáním léčiva k cílovým buňkám. [45]

### 3.2.2 Nosiče léčiv na bázi celulózy

Na rozdíl od kyseliny hyaluronové, synteticky modifikované polysacharidy s vysokým stupněm substituce  $-COOH$  skupinami, jako je třeba karboxymethylcelulóza nebo nespecificky oxidovaná

celulóza, jsou vzhledem k velkému množství vazebných skupin teoreticky schopné na sebe navázat mnohem větší množství léčiva na jednotku hmotnosti. Bylo však pozorováno, že neselektivně oxidované polysacharidy v některých případech podporují proliferaci buněk, což je u přenašečů protinádorových léčiv nežádoucí. Další nevýhodou je jejich často omezená rozpustnost ve vodě a nestechiometrické složení. To vše může bránit jejich zavedení jakožto přenašečů léčiv. [28]



Obr. 20: Konjugát DCC-CP [28]

Pro eliminaci těchto nechtěných vlastností lze využít selektivní oxidace celulózy na 2,3-dikarboxycelulózu (DCC). [28] Jak bylo popsáno výše, DCC se připravuje selektivní dvoustupňovou oxidací celulózy. Výsledkem je materiál, který obsahuje dvě karboxylové skupiny na jednu monomerní jednotku ve vzdálenosti a orientaci ideální pro efektivní navázání čtvercově planárních komplexů platiny jako je cisplatina. DCC je netoxická a nepodporuje proliferaci buněk. Konjugáty DCC a cisplatiny, Obr. 20, jsou schopny vázat cisplatinu s více než 90% účinností. Dokáží také pojmout skoro 50 hm. % léčiva, a přesto stále zůstávají rozpustné ve vodě. Rychlost uvolňování lze upravit od velmi nízké (<2 % cisplatiny se uvolní během 6 h od podání) po velmi rychlou (více než 60 % cisplatiny je uvolněno po 24 hodinách od podání) změnou molekulové hmotnosti DCC v kombinaci se změnou pH prostředí. V kyselém prostředí s pH 5.5 (simulujícím nádorovou tkáň) se navázaná platina uvolňovala z DCC až dvakrát rychleji než ve fyziologickém roztoku s pH 7,4 simulujícím zdravý lidský organismus. Byly také provedeny rozsáhlé studie in vitro na osmi různých buněčných liniích a z výsledků je patrné, že konjugáty DCC-cisplatina mají ve srovnání s volnou cisplatinou výrazně nižší cytotoxicitu vůči zdravým buňkám a vyšší efektivitu vůči maligním nádorům. Testy in vivo následně potvrdily zmenšení nádoru a vyšší akumulaci platiny v nádorech u myší léčených DCC-CP v porovnání s těmi léčenými jen cisplatinou. [28]

### 3.2.3 Nosiče léčiv na bázi dextranu

Dextran byl široce zkoumán pro přenos biologicky aktivních látek kvůli své schopnosti zesílení imunitní reakce (adjuvans), biokompatibilitě, biologické rozložitelnosti, snadné dostupnosti a

nízkým nákladům. Farmaceuticky jsou nejdůležitější dextransy složené z 95%  $\alpha$ -1,6-glukopyranosidických vazeb a 5% 1,3-vazeb. Vzhledem k tomu, že je dextrans snadno modifikovatelný, je široce využíván jako nosič pro navázání léčiv. V potaz se ovšem musí brát některé fyzikálně-chemické vlastnosti, obzvláště molekulová hmotnost a náboj molekul. Dextransy s molekulovou hmotností menší než 70000 g/mol se totiž rozkládají během první hodiny po podání do organismu, se zvyšující se molekulovou hmotností se rozklad zpomaluje. [26, 47]

Po perorálním podání se dextrans do značné míry neabsorbují a opouští organismus nevyužitý. Proto je většina makromolekulárních nosičů na bázi dextransu jako aplikována injekčně. Dextrans lze upravit tak, aby byl stabilnější. Derivát dextransu s vysokou molekulovou hmotností diethylaminoethyl dextrans (DEAE) vykazoval zlepšené adjuvantní vlastnosti proti slintavce a kulhavce. [49] Bachelder et al. (2010) [48] zkoumali mikročástice založené na acetylovaném dextransu jako nosiče pro vakcínové adjuvans. Acetylované dextransové mikročástice byly naplněny imiquimodem za účelem aktivace Toll-like receptoru, silného indikátoru imunitní odpovědi při perorálním podání. Acetylovaný dextrans vykazoval rychlé uvolňování antigenu v kyselém prostředí. Jeho degradace nevedla k vedlejším produktům, proto je vhodné jej používat pro antigeny citlivé na pH. Imiquimod v modifikovaných dextransových mikročásticích vyvolal silnější imunitní reakci než při běžném podání. [26, 48, 49]

V práci Dhaneshwar et al. (2006) [47] byla popsána syntéza dextransového konjugátu s fenylacetátem sodným (NaPA) se substituovanými dextransy, jako je dextrans-methyl-karboxylát-benzylamid. Tyto konjugáty vykazovaly lepší účinek inhibice nádorů než NaPA samotný. Jako další byl syntetizován konjugát dikarboxymethyl-dextransu a cisplatiny navázáním cisplatiny na dextrans. Vzniklý konjugát vykazoval výrazně delší poločas rozpadu a bránil rakovinovému bujení lépe než volná cisplatina. [47]

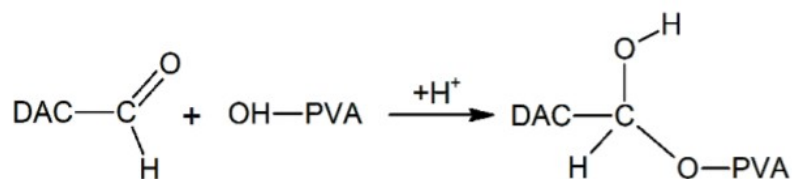
## 4 HYDROGELY JAKO NOSIČE BIOLOGICKY AKTIVNÍCH LÁTEK

### 4.1 Hydrogely na bázi modifikovaných polysacharidů pro přenos biologicky aktivních látek

Zhruba od poloviny minulého století se hydrogely stávají nedílnou součástí v průmyslových a biomedicínských odvětvích. Důvodem zvyšujícího se zájmu je jejich podobnost s přirozenou tkání, hlavně díky vhodným mechanickým vlastnostem, velkému obsahu vody a nízké toxicitě. To vše z hydrogelů dělá ideální materiál pro použití v biomedicině. O nic méně důležitá je také jejich variabilní hustota zesílení, schopnost zvětšovat vlastní objem (bobtnání) a vyrovnávat obsah vody mezi s okolím. Všechny tyto vlastnosti hydrogelů jim umožňují přizpůsobit se prostředí a uvolňovat různé látky. Díky tomu to jsou vynikající materiály pro širokou škálu způsobů podávání léčiv, od dermálních náplastí a masek až k implantovatelným zásobníkům léčiv.

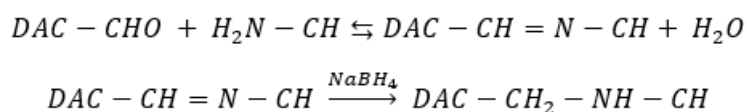
Jedním ze syntetických polymerů vhodných pro tvorbu hydrogelů je polyvinylalkohol (PVA). Hydrogely na bázi PVA mohou být připraveny různými způsoby, které přímo určují povahu vytvořené sítě a jeho fyzikálně-chemické vlastnosti. Patří sem fyzikální způsob zesílení cyklickým zmrazením a rozmrazením či případně působením vysoké teploty (obojí bez použití síťovacích činidel). Pro chemické zesílení lze použít například síťovacích činidel syntetického původu (epichlorhydrin, kyselina adipová, dihydrazid, glutaraldehyd atd.), tedy reaktivních látek o nízké molekulární hmotnosti, které jsou vysoce jedovaté. V biomedicině se tedy hledají náhradní síťovací činidla, která zachovají ceněné vlastnosti hydrogelů, zároveň ale neškodí, jsou snadno rozložitelná a mají přijatelné pořizovací náklady. Jednou z takových alternativ je právě selektivně oxidovaná celulóza, 2,3-dialdehydecelulóza (DAC).[29]

Solubilizovaný DAC, připravený z  $\alpha$ -celulózy oxidací hydroxylových skupin na C2 a C3 na aldehydy, byl úspěšně zkoumán jako síťovací činidlo pro PVA. [50] PVA / DAC hydrogely se připravují rozpuštěním PVA v destilované vodě a jeho následným zahřátím do úplného rozpuštění. Poté je přidán katalyzátor (HCl) a definované množství DAC. Směs se promíchá pro dosažení homogenizace všech reaktantů, a je odlita a sušena do konstantní hmotnosti. Síťovací reakce mezi PVA a DAC probíhá během sušení reakční směsi, kdy dehydratace-CHO skupin DAC umožňuje tvorbu hemiacetalů s hydroxylovými skupinami PVA. Schématicky je reakce mezi -OH a -CHO v kyselém prostředí znázorněna na Obr. 21. [51] Studie se rovněž zabývala vlivem stárnutí solubilizovaného DAC (stáří 1, 14 a 28 dní) na vlastnosti připravených xerogelů a hydrogelů.



Obr. 21: Reakční rovnice mezi -OH a -CHO v kyselém prostředí [51]

Použití DAC jako síťovacího činidla není omezeno na PVA. Například Kim et al. (2017) zkoumal možnost zesíťování chitosanu pomocí DAC. K zesíťování chitosanu byl použit DAC s vysokou molekulovou hmotností a byla zkoumána adsorpce hovězího sérového albuminu (BSA) jakožto modelového proteinu. Hydrogel byl připraven podobně jako v předešlém případě. Definované množství DAC bylo rozpuštěno v destilované vodě a solubilizováno při 100 °C po dobu 1 hodiny. Poté byl přidán roztok chitosanu v destilované vodě. Směs byla míchána při pokojové teplotě a pak stabilizována přidáním NaBH<sub>4</sub> v nadbytku. Výsledný produkt byl nakonec promyt a lyofilizován. [52]



Obr. 22: Možné interakce mezi DAC a chitosanem

Chitosan zesíťovaný DAC vykazoval vyšší adsorpční kapacitu BSA než samotný DAC, což je důsledek vysokého obsahu nezreagovaných aminoskupin. Kromě toho nebyla během 21-denního testu dlouhodobé stability pozorována žádná cytotoxicita hydrogelů. Chitosan zesíťovaný DAC by tedy mohl sloužit jako užitečný biomateriál pro dodávání léčiv a biomedicínské aplikace. [52]

Možností využití PVA/DAC hydrogelů jakožto přenašečů léčiv se zabývala práce Münstera et al (2019) [29], kteří studovali uvolňování léčiva z různě zesíťovaných hydrogelů. Mezi studované faktory ovlivňující rychlost uvolňování léčiva patřily: hustota sítě hydrogelů, velikost jejich ok a dále pak rychlost uvolňování nesených látek s ohledem na jejich velikost a náboj. Bylo studováno uvolňování celkem tří látek navzájem se lišících nábojem a molekulovou hmotností. Vybranými látkami byl ibuprofen s relativně malými záporně nabitými molekulami o M = 206 g/mol, větší rutin o M = 610 g/mol nevykazující žádný náboj a phenanthriplatina, pozitivně nabitý monofunkční komplex platiny s M = 505 g/mol s protinádorovými účinky. [29] Úpravou výše zmíněných vlastností hydrogelní sítě pomocí změny koncentrace síťovačla a správným výběrem léčiva lze dosáhnout širokého rozpětí rychlosti nástupu a trvání uvolňování, které tak může probíhat jak velmi

rychle, tak relativně pomalu. Zatímco ibuprofen byl zcela uvolněn po 2 hodinách, u rutinu bylo úplné uvolnění pozorováno až po 96 hodinách. Pozitivně nabitá phenanthriplatin měla počáteční rychlosti uvolňování nejpomalejší, pravděpodobně v důsledku jejího zadržování negativně nabitou sítí, ale díky své menší velikosti byla zcela uvolněna už během 48 hodin. Výsledkem studie bylo tedy zjištění, že rychlost uvolňování léčiva je nepřímo úměrná velikosti molekuly navázané aktivní látky, hustotě zesíťování hydrogelu a závisí také na náboji dané látky. [29]

## ZÁVĚR

Tato práce se zabývala možnostmi využití modifikovaných polysacharidů a biomateriálů s nimi spojených jakožto moderních nosičů léčiv. V posledních letech se čím dál více klade důraz na obnovitelnost používaných materiálů a snahu nalezení takových zdrojů, které si zachovají vlastnosti a výhody jejich syntetických protějšků, zároveň jsou však cenově i materiálně dostupné, netoxické, biologicky kompatibilní a co nejvíce podobné látkám a tkáním přirozeně se vyskytujícím v organismu.

Na základě literárních zdrojů byly diskutovány různé materiály, jejich modifikace a využití. Jako jedna z nejslibnějších variant se jeví využití derivátů celulózy, světově nejrozšířenějšího polysacharidu, který představuje takřka neomezený zdroj surovin. Její přeměnou na DAC a později DCC lze získat řadu (bio)materiálů s výbornými vlastnostmi. DAC je vhodným síťovacím činidlem pro výrobu hydrogelů o nastavitelné hustotě zesílení a hustotě sítě, což ovlivňuje jejich fyzikální vlastnosti i rychlost uvolňování navázané látky. To vše umožňuje těmto hydrogelům velice různorodé využití.

Konjugáty cisplatiny a DCC se jeví jako slibná alternativa pro léčbu onkologických pacientů. Na rozdíl od čisté cisplatiny, která je pro organismus vysoce toxická a jejíž podávání může přivodit trvalé následky, dochází díky její konjugaci na DCC ke snížení vedlejších účinků. Nosiče s navázanou aktivní látkou jsou totiž schopny lépe cílit přímo na nežádoucí buňky, a využít rozdílného pH nádoru a okolí k uvolnění léčiva v zasažených oblastech. Za pomoci změny molekulové hmotnosti nosiče lze ovlivnit i počátek uvolňování navázané látky, tudíž nedochází k její ztrátě ještě v krevním oběhu. Díky tomu se snižuje množství vpravené do organismu a předchází se též případné rezistenci.

Výsledky dosud provedených studií jasně dokazují, že modifikované polysacharidy si zaslouží hlubší prozkoumání. Jejich použití má spoustu výhod, od snížení finančních nákladů na výrobu léčiv, až po jejich nízkou toxicitu. Tím k sobě poutají zájem mnoha výzkumných týmů, které se zároveň snaží i o eliminaci nežádoucích jevů provázejících jejich praktické aplikace. Je ale jisté, že využití modifikovaných polysacharidů v biomedicíně a kosmetice se v budoucnu ještě více rozšíří.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MURRAY, Robert K. *Harperova biochemie*. Praha: H & H, 2002. ISBN 978-80-7319-013-2.
- [2] BROWN, Mb a Sa JONES. Hyaluronic acid: a unique topical vehicle for the localized delivery of drugs to the skin. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* [online]. 2005, **19**(3), 308–318. ISSN 0926-9959, 1468-3083. Dostupné z: doi:10.1111/j.1468-3083.2004.01180.x
- [3] BRADSHAW, Ralph A. a P. STAHL, ed. *Encyclopedia of cell biology*. Waltham, MA: Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier, 2016. ISBN 978-0-12-394447-4.
- [4] TAMER, Tamer Mahmoud. Hyaluronan and synovial joint: function, distribution and healing. *Interdisciplinary Toxicology* [online]. 2013, **6**(3), 111–125. ISSN 1337-9569, 1337-6853. Dostupné z: doi:10.2478/intox-2013-0019
- [5] ANNA OLEJNIK, Joanna GOŚCIAŃSKA a Izabela NOWAK. Significance of hyaluronic acid in cosmetic industry and aesthetic medicine. *Chemik*. nedatováno, **2012**(66), 129–135.
- [6] SHAHARUDIN, A. a Z. AZIZ. Effectiveness of hyaluronic acid and its derivatives on chronic wounds: a systematic review. *Journal of Wound Care* [online]. 2016, **25**(10), 585–592. ISSN 0969-0700, 2052-2916. Dostupné z: doi:10.12968/jowc.2016.25.10.585
- [7] HUYNH, Alexander a Ronny PRIEFER. Hyaluronic acid applications in ophthalmology, rheumatology, and dermatology. *Carbohydrate Research* [online]. 2020, **489**, 107950. ISSN 00086215. Dostupné z: doi:10.1016/j.carres.2020.107950
- [8] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [9] LIANG, Rui-hong, Jun CHEN, Wei LIU, Cheng-mei LIU, Wen YU, Min YUAN a Xiao-qing ZHOU. Extraction, characterization and spontaneous gel-forming property of pectin from creeping fig (*Ficus pumila* Linn.) seeds. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2012, **87**(1), 76–83. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2011.07.013
- [10] KUBICOVÁ, Dagmar. *Náuka o poživatinách*. B.m.: Osveta, nedatováno. ISBN 978-80-8063-165-4.
- [11] LUPI, Francesca R., Domenico GABRIELE, Lucia SETA, Noemi BALDINO, Bruno DE CINDIO a Rosamaria MARINO. Rheological investigation of pectin-based emulsion gels for pharmaceutical and cosmetic uses. *Rheologica Acta* [online]. 2015, **54**(1), 41–52. ISSN 0035-4511, 1435-1528. Dostupné z: doi:10.1007/s00397-014-0809-8
- [12] TAUBNER, Tomáš, Milan MAROUNEK a Andriy SYNYTSYA. Preparation and characterization of amidated derivatives of alginic acid. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2017, **103**, 202–207. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.05.070
- [13] URTUVIA, Viviana, Nataly MATORANA, Fernando ACEVEDO, Carlos PEÑA a Alvaro DÍAZ-BARRERA. Bacterial alginate production: an overview of its biosynthesis and potential industrial production. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* [online]. 2017, **33**(11), 198. ISSN 0959-3993, 1573-0972. Dostupné z: doi:10.1007/s11274-017-2363-x



- [14] HASNAIN, Md Saquib a Amit Kumar NAYAK, ed. *Alginates: Versatile Polymers in Biomedical Applications and Therapeutics* [online]. 1. vyd. Includes bibliographical references and index.: Apple Academic Press, 2019 [vid. 2020-04-05]. ISBN 978-0-429-02343-9. Dostupné z: doi:10.1201/9780429023439
- [15] VAN DEN BROEK, Lambertus A.M., Rutger J.I. KNOOP, Frans H.J. KAPPEN a Carmen G. BOERIU. Chitosan films and blends for packaging material. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2015, **116**, 237–242. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2014.07.039
- [16] NEGM, Nabel A., Hassan H.H. HEFNI, Ali A.A. ABD-ELAAL, Emad A. BADR a Maram T.H. ABOU KANA. Advancement on modification of chitosan biopolymer and its potential applications. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2020, **152**, 681–702. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.02.196
- [17] SUN, Shaoni, Shaolong SUN, Xuefei CAO a Runcang SUN. The role of pretreatment in improving the enzymatic hydrolysis of lignocellulosic materials. *Bioresource Technology* [online]. 2016, **199**, 49–58. ISSN 09608524. Dostupné z: doi:10.1016/j.biortech.2015.08.061
- [18] MONTANARI, Suzelei, Mohamad ROUMANI, Laurent HEUX a Michel R. VIGNON. Topochemistry of Carboxylated Cellulose Nanocrystals Resulting from TEMPO-Mediated Oxidation. *Macromolecules* [online]. 2005, **38**(5), 1665–1671. ISSN 0024-9297, 1520-5835. Dostupné z: doi:10.1021/ma048396c
- [19] MÜNSTER, Lukáš. Příprava, charakterizace a využití dialdehydu celulózy jako síťovacího činidla pro PVA. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013, 150 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/43723>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Centrum polymerních materiálů. Vedoucí práce Kuřitka, Ivo.
- [20] History of Cellulose Research. In: Peter ZUGENMAIER *Crystalline Cellulose and Derivatives* [online]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2008 [vid. 2020-05-03], Springer Series in Wood Science, s. 7–51. ISBN 978-3-540-73933-3. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-540-73934-0\_2
- [21] MÜNSTER, Lukáš. Povrchová modifikace mikroplniv nanočásticemi pomocí mikrovlnné syntézy. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2013, 87 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/25013>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav inženýrství polymerů. Vedoucí práce Bažant, Pavel.
- [23] MARTINA, Bajerová, Krejčová KATEŘINA, Rabišková MILOSLAVA, Gajdziok JAN a Masteiková RUTA. Oxycellulose: Significant characteristics in relation to its pharmaceutical and medical applications. *Advances in Polymer Technology* [online]. 2009, **28**(3), 199–208. ISSN 07306679, 10982329. Dostupné z: doi:10.1002/adv.20161
- [24] TOPALOVIC, Tatjana, Vincent A. NIERSTRASZ, Lorenzo BAUTISTA, Dragan JOCIC, Antonio NAVARRO a Marijn M. C. G. WARMOESKERKEN. Analysis of the effects of catalytic bleaching on cotton. *Cellulose* [online]. 2007, **14**(4), 385–400. ISSN 0969-0239, 1572-882X. Dostupné z: doi:10.1007/s10570-007-9120-5
- [25] ZERONIAN, S. H. a M. K. INGLESBY. Bleaching of cellulose by hydrogen peroxide. *Cellulose* [online]. 1995, **2**(4), 265–272. ISSN 0969-0239, 1572-882X. Dostupné z: doi:10.1007/BF00811817

- [26] MEHVAR, Reza. Dextrans for targeted and sustained delivery of therapeutic and imaging agents. *Journal of Controlled Release* [online]. 2000, **69**(1), 1–25. ISSN 01683659. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-3659(00)00302-3
- [27] MAIA, João, Rui A. CARVALHO, Jorge F.J. COELHO, Pedro N. SIMÕES a M. Helena GIL. Insight on the periodate oxidation of dextran and its structural vicissitudes. *Polymer* [online]. 2011, **52**(2), 258–265. ISSN 00323861. Dostupné z: doi:10.1016/j.polymer.2010.11.058
- [28] MÜNSTER, Lukáš, Michaela FOJTŮ, Zdenka CAPÁKOVÁ, Tomáš VACULOVÍČ, Michaela TVRDOŇOVÁ, Ivo KUŘITKA, Michal MASAŘÍK a Jan VÍCHA. Selectively Oxidized Cellulose with Adjustable Molecular Weight for Controlled Release of Platinum Anticancer Drugs. *Biomacromolecules* [online]. 2019, **20**(4), 1623–1634. ISSN 1525-7797, 1526-4602. Dostupné z: doi:10.1021/acs.biomac.8b01807
- [29] MÜNSTER, Lukáš, Zdenka CAPÁKOVÁ, Miroslav FIŠERA, Ivo KUŘITKA a Jan VÍCHA. Biocompatible dialdehyde cellulose/poly(vinyl alcohol) hydrogels with tunable properties. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2019, **218**, 333–342. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2019.04.091
- [30] KIM, Ung-Jin, Shigenori KUGA, Masahisa WADA, Takeshi OKANO a Tetsuo KONDO. Periodate Oxidation of Crystalline Cellulose. *Biomacromolecules* [online]. 2000, **1**(3), 488–492. ISSN 1525-7797, 1526-4602. Dostupné z: doi:10.1021/bm0000337
- [31] MÜNSTER, Lukáš, Jan VÍCHA, Jiří KLOFÁČ, Milan MASAŘ, Pavel KUCHARCZYK a Ivo KUŘITKA. Stability and aging of solubilized dialdehyde cellulose. *Cellulose* [online]. 2017, **24**(7), 2753–2766. ISSN 0969-0239, 1572-882X. Dostupné z: doi:10.1007/s10570-017-1314-x
- [32] ENGEL, Philip, Lea HEIN a Antje C SPIESS. Derivatization-free gel permeation chromatography elucidates enzymatic cellulose hydrolysis. *Biotechnology for Biofuels* [online]. 2012, **5**(1), 77. ISSN 1754-6834. Dostupné z: doi:10.1186/1754-6834-5-77
- [33] MÜNSTER, L., B. HANULÍKOVÁ, M. MACHOVSKÝ, F. LATEČKA, I. KUŘITKA a J. VÍCHA. Mechanism of sulfonation-induced chain scission of selectively oxidized polysaccharides. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2020, **229**, 115503. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2019.115503
- [34] GIL, M. H. *Carbohydrates applications in medicine*. 2014. ISBN 978-81-308-0523-8.
- [35] SIRVIÖ, Juho Antti, Henriikki LIIMATAINEN, Miikka VISANKO a Jouko NIINIMÄKI. Optimization of dicarboxylic acid cellulose synthesis: Reaction stoichiometry and role of hypochlorite scavengers. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2014, **114**, 73–77. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2014.07.081
- [36] OKTÁBEC, Zbyněk a Josef JAMPÍLEK. Stručná historie chemoterapie. *Chemické listy*. 2012, **2013**(107), 151–159.
- [37] DASARI, Shaloam a Paul BERNARD TCHOUNWOU. Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology* [online]. 2014, **740**, 364–378. ISSN 00142999. Dostupné z: doi:10.1016/j.ejphar.2014.07.025
- [38] Státní ústav pro kontrolu léčiv. *Praha: Státní ústav pro kontrolu léčiv* [online]. Dostupné z: www.sukl.cz

- [39] PELTIER, Sandra, Jean-Michel OGER, Frédéric LAGARCE, William COUET a Jean-Pierre BENOÎT. Enhanced Oral Paclitaxel Bioavailability After Administration of Paclitaxel-Loaded Lipid Nanocapsules. *Pharmaceutical Research* [online]. 2006, **23**(6), 1243–1250. ISSN 0724-8741, 1573-904X. Dostupné z: doi:10.1007/s11095-006-0022-2
- [40] WEAVER, Beth A. How Taxol/paclitaxel kills cancer cells. *Molecular Biology of the Cell* [online]. 2014, **25**(18), 2677–2681. ISSN 1059-1524, 1939-4586. Dostupné z: doi:10.1091/mbc.e14-04-0916
- [41] GĘGOTEK, Agnieszka, Pedro DOMINGUES a Elżbieta SKRZYDLEWSKA. Proteins involved in the antioxidant and inflammatory response in rutin-treated human skin fibroblasts exposed to UVA or UVB irradiation. *Journal of Dermatological Science* [online]. 2018, **90**(3), 241–252. ISSN 09231811. Dostupné z: doi:10.1016/j.jdermsci.2018.02.002
- [42] *BiOOO.cz - Pravá přírodní kosmetika* [online]. Dostupné z: <https://encyklopedie.bioooo.cz/>
- [43] FARRIS, Patricia K., ed. *Cosmeceuticals and cosmetic practice*. Chichester, West Sussex, UK: John Wiley & Sons Ltd, 2014. ISBN 978-1-118-38483-1.
- [44] ALBERTS, Bruce. *Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky*. 2. Ústí nad Labem: Espero Publishing, 2005. ISBN 80-902906-2-0.
- [45] HUANG, Gangliang a Hualiang HUANG. Application of hyaluronic acid as carriers in drug delivery. *Drug Delivery* [online]. 2018, **25**(1), 766–772. ISSN 1071-7544, 1521-0464. Dostupné z: doi:10.1080/10717544.2018.1450910
- [46] MEISNER, Dale a Michael MEZEI. Liposome ocular delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 1995, **16**(1), 75–93. ISSN 0169409X. Dostupné z: doi:10.1016/0169-409X(95)00016-Z
- [47] DHANESHWAR, SuneelaS, Mini KANDPAL, Neha GAIROLA a Ss KADAM. Dextran: A promising macromolecular drug carrier. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2006, **68**(6), 705. ISSN 0250-474X. Dostupné z: doi:10.4103/0250-474X.31000
- [48] BACHELDER, Eric M., Tristan T. BEAUDETTE, Kyle E. BROADERS, Jean M. J. FRÉCHET, Mark T. ALBRECHT, Alfred J. MATECZUN, Kristy M. AINSLIE, John T. PESCE a Andrea M. KEANE-MYERS. In Vitro Analysis of Acetalated Dextran Microparticles as a Potent Delivery Platform for Vaccine Adjuvants. *Molecular Pharmaceutics* [online]. 2010, **7**(3), 826–835. ISSN 1543-8384, 1543-8392. Dostupné z: doi:10.1021/mp900311x
- [49] KARANDIKAR, Sayali, Amit MIRANI, Vishal WAYBHASE, Vandana B. PATRAVALE a Sandeep PATANKAR. Nanovaccines for oral delivery-formulation strategies and challenges. In: *Nanostructures for Oral Medicine* [online]. B.m.: Elsevier, 2017 [vid. 2020-04-07], s. 263–293. ISBN 978-0-323-47720-8. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-47720-8.00011-0
- [50] MÜNSTER, Lukáš, Jan VÍCHA, Jiří KLOFÁČ, Milan MASAR, Anna HURAJOVÁ a Ivo KUŘITKA. Dialdehyde cellulose crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels: Influence of catalyst and crosslinker shelf life. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2018, **198**, 181–190. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2018.06.035

- [51] MUCHOVÁ, Monika. Příprava hydrogelů na bázi polyvinylalkoholu pro kosmetické aplikace. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2019, 63 s. Dostupné také z: <http://hdl.handle.net/10563/45620>. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická, Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky. Vedoucí práce Vícha, Jan.
- [52] KIM, Ung-Jin, Yeong Ro LEE, Tong Ho KANG, Joon Weon CHOI, Satoshi KIMURA a Masahisa WADA. Protein adsorption of dialdehyde cellulose-crosslinked chitosan with high amino group contents. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2017, **163**, 34–42. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2017.01.052

## SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

HA	Kyselina hyaluronová.
GAG	Glykosaminoglykan.
TEWL	Transepidermal water loss – Transepidermální ztráta vody.
OC	Oxidovaná celulóza.
DAC	Dialdehyd celulózy.
DCC	Dikarboxycelulóza.
DXA	Dextran.
$M_w$	Hmotnostní střed molekulových hmotností.
DP	Stupeň polymerace.
DO	Stupeň oxidace.
PDI	Index polydisperzity.
DMSO	Dimethylsulfoxid.
CP	Cisplatina.
HCD	Kopolymer kyseliny hyaluronové a glykolové.
DEAE	Diethylaminoethyl.
NaPA	Fenylacetát sodný.
EGFR	Receptor epidermálního růstového faktoru.
PVA	Polyvinylalkohol.
BSA	Hovězí sérový albumin.
NAD	Nikotinamid adenin dinukleotid.
NADP	Nikotinamidadenin dinukleotidfosfát.

## SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Strukturní vzorec kyseliny hyaluronové [7].....	11
Obr. 2: Strukturní vzorec pektinu.....	13
Obr. 3: Strukturní vzorec kyseliny alginové [12].....	14
Obrázek 4: Strukturní vzorec chitosanu [16].....	15
Obr. 5: Základní chemická struktura celulózy s celobiózovou jednotkou [19].....	16
Obr. 6: Schéma oxidace celulózy peroxidem vodíku v alkalickém prostředí [25].....	18
Obr. 7: Strukturní vzorec dextranu.....	19
Obr. 8: Schéma jodistanové oxidace celulózy [28].....	21
Obr. 9: Možné struktury DAC. A - dialdehyd, B - hydratovaný dialdehyd, C - hemialdal, D - intramolekulární hemiacetal s C3 – O – C6 vazbou, E -intramolekulární hemiacetal s vazbou C2 – O – C6', F – intermolekulární hemiacetal s vazbou C6 – O – C3', G - intermolekulární hemiacetal s C6 – O – C2 vazbou. [31].....	22
Obr. 10: Možné oxidace dextranu jodistanem. (A) Narušení vazby mezi C <sub>3</sub> -C <sub>4</sub> ; (B) C <sub>3</sub> -C <sub>2</sub> a (C) dvojitá oxidace [27].....	23
Obr. 11: Strukturní vzorec monomeru DCC [28].....	23
Obr. 12: Mechanismus sulfonace -CHO skupiny na C <sub>2</sub> 2,3-dialdehydecelulózy (DAC) a následné kyselý hydrolyzy 1-4 'glykosidické vazby a eliminace -SO <sub>3</sub> H skupiny během sekundární oxidace aldehydů na 2,3-dikarboxycelulózu (DCC) [33].....	24
Obr. 13: Chemická struktura cisplatiny [37].....	26
Obr. 14: Chemická struktura A – karboplatiny, B – oxaliplatiny [36].....	27
Obr. 15: Chemická struktura paclitaxelu.....	27
Obr. 16: Chemická struktura rutinu [41].....	28
Obr. 17: Strukturní vzorec vitamínu C.....	29
Obr. 18: Strukturní vzorec kyseliny nikotinové.....	30
Obr. 19: Konjugát HA-aminokyselina-paclitaxel [45].....	32
Obr. 20: Konjugát DCC-CP [28].....	33
Obr. 21: Reakční rovnice mezi -OH a -CHO v kyselém prostředí [51].....	37
Obr. 22: Možné interakce mezi DAC a chitosanem.....	37

**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1: Hodnoty solubilizovaného DAC [31].....21

