

# Biomedicinální aplikace polysacharidů

Daniel Sanétrník

---

Bakalářská práce  
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav fyziky a mater. inženýrství

akademický rok: 2009/2010

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Daniel SANÉTRNÍK**  
Studijní program: **B 2808 Chemie a technologie materiálů**  
Studijní obor: **Chemie a technologie materiálů**  
  
Téma práce: **Biomedicinální aplikace polysacharidů**

Zásady pro vypracování:

1. Zpracujte literární rešerši na zadané téma.
2. Na základě literární rešerše vyberte vhodný typ polysacharidu pro experimentální studium vytváření tuhých vrstev a jejich charakterizaci.
3. Prostudujte možnosti kompaundování hydroxyethyl celulózy s atelokolagenem, případně atelokolagenu s dalším polysacharidem.
4. Připravené směsi charakterizujte metodami UV-VIS, FT-IR a TG.
5. Zapisujte výsledky do ucelené bakalářské práce.



Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. Blažej A., Košík M. a spol: **Chémia celulózy, Alfa Bratislava.**
2. Lapčík L., Pelikán P., Čeppan M.: **Fotochemické procesy, Alfa Bratislava.**
3. Ramachadran G.N.: **Treabise in Collagen, vol.1-3. Acad. Press 1967-1975.**
4. Bohm S., Surčková-Valtrová S.: **Strukturní analýza org. sloučenin: VŠCHT, Praha 1955.**
5. Doelker E., **Cellulose derivatives v knize N.A Peppos-ed: "Hydrogels in Medicine and Pharmacy" vol 1,2 CRT Press,Boca Raton 1987.**

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. L. Lapčík, DrSc., dr. h. c.**

Ústav fyziky a mater. inženýrství

Datum zadání bakalářské práce: **15. února 2010**

Termín odevzdání bakalářské práce: **2. června 2010**

Ve Zlíně dne 15. února 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.  
*děkan*



Mgr. Aleš Mráček, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby <sup>1)</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/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 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/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);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/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.

Ve Zlíně .....

.....

---

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> 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, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> 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, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Byla vypracována literární rešerše na téma biomedicínální aplikace polysacharidů, ve které je shrnuto základní rozdělení derivátů celulózy, rozdělení polymerních léčiv, jejich účinků na organismus. Dále jsou zde popsány rizika spojená s aplikací polymerních látek do organismu. V praktické části byla provedena charakterizace oxycelulózy, kolagenu a jejich směsí pomocí metod UV-VIS, FT-IR a TG.

Klíčová slova: celulóza, deriváty, polysacharidy, medicínální, makromolekulární syndrom, toxikologie, sterilizace, mikrobiální

## **ABSTRACT**

The literature search on application biomedical polysaccharides, which is summarized in the basic distribution of cellulose derivatives, the distribution of polymer drugs, their effects on the organism. It further describes the risks associated with the application of polymer materials by organisms. The practical part was conducted characterization oxycellulose, collagen and their mixtures using UV-VIS, FT-IR and TG.

Keywords: cellulose, derivatives, polysaccharides, medicinal, macromolecular syndrome, toxicology, sterilization, microbial

Děkuji panu prof. Ing. Lubomíru Lapčíkovi, DrSc., Dr.h.c. za odborné vedení, ochotu a vstřícnost při kompletaci mé práce. Paní doc. Mgr. Barboře Lapčíkové Ph.D. a panu ing. Antonínu Procházkovi za poskytnutí pomoci při praktickém měření.

Dále děkuji své mamince a prarodičům za umožnění studia na vysoké škole a za poskytnutí podpory.

Jak vzniká vynález? To všichni vědí, že je něco nemožné, a pak se objeví nějaký blázen, který neví, že je to nemožné, a udělá vynález.

Albert Einstein

Prohlašuji, že jsem na bakalářské/diplomové práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem citoval(a). Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

Ve Zlíně

.....  
Podpis studenta

# OBSAH

ÚVOD .....	10
I. TEORETICKÁ ČÁST .....	11
1 POLYSACHARIDY JEJICH STRUKTURA A APLIKACE V BIOMEDICÍNĚ .....	12
1.1 CELULÓZA A CELULÓZOVÉ DERIVÁTY JAKO SOUČÁST FARMACEUTOVÝCH SOUSTAV .....	13
1.2 CELULÓZA JEJÍ STRUKTURA A VLASTNOSTI .....	14
1.3 REAKCE CELULÓZY A JEJÍCH DERIVÁTŮ.....	17
1.3.1 Nitrát celulózy (tzv. Nitrocelulóza) .....	19
1.3.2 Acetát celulózy .....	21
1.3.3 Propionát celulózy .....	22
1.3.4 Metylcelulóza .....	22
1.3.5 Oxycelulóza.....	22
1.4 ROZPUSTNOST CELULÓZY A JEJICH DERIVÁTŮ.....	23
1.4.1 Rozpustnost celulózy.....	24
1.4.2 Rozpustnost derivátů celulózy.....	26
1.4.3 Vodo-rozpustné deriváty celulózy ve farmacii .....	29
1.5 DEGRADAČNÍ REAKCE POLYSACHARIDŮ A VZTAH MEZI CHEMICKOU STRUKTUROU A JEJICH BIOLOGICKÝMI VLASTNOSTMI.....	31
2 SOUHR POZNATKŮ A PŘEHLED CELULÓZY A JEJÍCH DERIVÁTŮ V BIOMEDICINÁLNÍCH APLIKACÍCH .....	36
2.1 MAKROMOLEKULÁRNÍ SYNDROM .....	36
2.2 SNÁŠENLIVOST A TOXIKOLOGIE POLYMERŮ .....	36
2.3 STERILIZACE POLYMERNÍCH LÉČIV .....	37
2.4 MIKROBIÁLNÍ CELULÓZA .....	37
2.5 POUŽITÍ POLYSACHARIDŮ PRO IMPLANTAČNÍ MATERIÁLY.....	40
3 KOLAGEN JEHO STRUKTURA A VLASTNOSTI.....	44
3.1 STRUKTURA A SLOŽENÍ .....	44
II. PRAKTICKÁ ČÁST.....	46
4 CHARAKTERIZACE OXYCELULÓZY, ATELOKOLAGENU A JEJICH SMĚSÍ POMOCÍ METOD UV-VIS, FT-IR A TG.....	47
4.1 CHARAKTERIZACE POMOCÍ UV-VIS .....	47
4.2 CHARAKTERIZACE POMOCÍ FT-IR .....	50
4.3 CHARAKTERIZACE POMOCÍ TG .....	54
ZÁVĚR.....	58



<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>59</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>61</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>62</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>64</b>

## ÚVOD

Celulóza patří mezi nejdéle využívané polymery lidskou civilizací. Je to dáno tím, že existence zásob na Zemi je podmíněna její fotosyntézou založenou na přeměně  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$  na pestrou paletu organických sloučenin, mezi kterými dominantní postavení mají polysacharidy, celulóza a škrob zejména.

Historické využívání celulosy je možné rozdělit do následujících etap:

1. Od papírové hmoty po jemnou bavlnu.
2. Od jemného celulózového hedvábí k Ziegler-Natově katalýze.
3. Aplikace celulózy v biomedicinální oblasti.
4. Využití celulózy a jejích derivátů v lékařství, farmacii a dalších specifických oblastech (kosmetika, ...).

Ekonomická výhodnost orientace na biopolymerní systémy s trvalou schopností pravidelné obnovy je dána absolutními hodnotami jejich roční produkce. Absolutní přírůstek lesní fytohmoty v regionech ČR za jeden rok činí okolo 13 milionu tun, kterého značný podíl (30-40%) není využito. Roční výroba celulózy v ČR se pohybuje okolo 800-900 tisíc tun. Doplňkový dovoz ze zahraničí pro potřeby papírenského průmyslu činí přibližně 200 000 tun. Z toho je zřejmé že racionalizace produkce celulózy a jejích derivátů je podmínkou našeho dalšího ekonomického vývoje.

Konkrétní výběr vhodných derivátů pro další vyhledávací výzkum závisí od pracovní hypotézy využití, respektive aplikace. Kompaoudování těchto soustav pro aplikace např. biomedicínké může být zohledněno snášením těchto derivátů s proteiny. Pro tento cíl byl vybrán jako složka vrstev a tuhých pěn atelokokalegen I.

Modifikací celulózového řetězce je možné získat deriváty se specifickými vlastnostmi a s vyšší přidanou hodnotou. Cílem této práce je vytvoření přehledu o možných aplikacích těchto látek s důrazem na využití v humánním a veterinárním lékařství.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

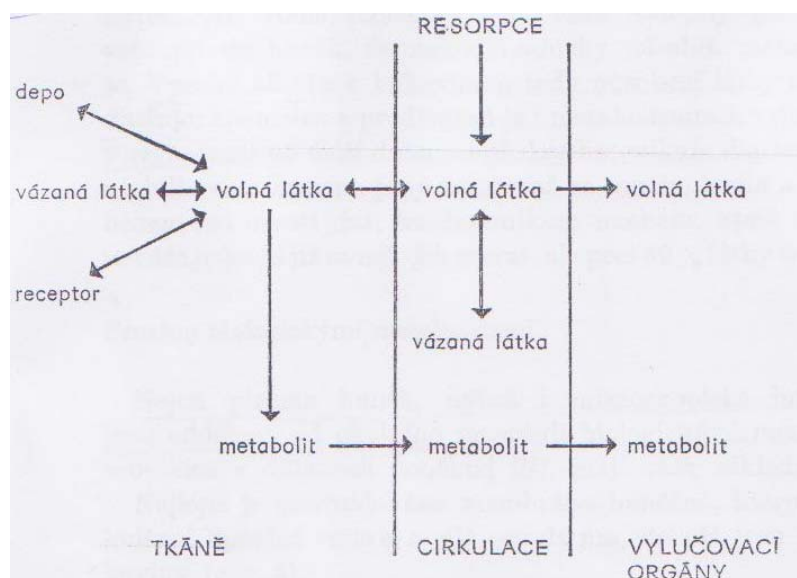
## 1 POLYSACHARIDY JEJICH STRUKTURA A APLIKACE V BIOMEDICÍNĚ

Z fyziologického hlediska představují celulóza, ostatní polysacharidy a jejich deriváty významnou složku farmak, případně i složek výživových komplexů různého charakteru. Aplikování látky ve fyziologických cyklech musí být plně využité, netoxické, lehce odstranitelné z organismu. Prostřednictvím složek zažívacího traktu, případně dialyzačních procesů v ledvinových filtračních soustavách.

Základní pochody aplikací látek v organismech možno rozdělit do 3 skupin

- Resorpce (vstřebávání)
- Distribuce (rozdělení v organismu)
- Eliminace (tj. její metabolismus a vylučování)

Repetitivními fyzikálními procesy které se ve všech třech případech uplatňují jsou více fázové separace, adsorpce nebo vazba na bílkoviny a přenos přes biologické membrány oddělující jednotlivé oddíly živé hmoty. Látky vpravené do organismu se v jeho jednotlivých fázích (vodných, lipodních) nerozdělují rovnoměrně, nýbrž podle své rozpustnosti v nich. [1]



Obrázek 1 Schéma osudu látky v organismu. Jen volné molekuly mohou přecházet z jednoho prostředí do druhého. [1]

Pokud je systém uzavřený ( bez metabolismu a vylučování) dojde k utvoření rovnovážného stavu a tím k vyrovnání poměrné nasycenosti jednotlivých fází. U většiny léčiv dochází v organismu k navázání na bílkoviny krevní plazmy a tkání. Vazba je reverzibilní, tedy dojde k ustavení dynamické rovnováhy mezi volnou látkou, volnou bílkovinou a jejich komplexem podle Guldber-Waagova zákona o působení aktivních mas :  $K = \frac{[A][B]}{[AB]}$ . (1)

Z toho vyplývá, že vysoká afinita k bílkovině působení látky oslabuje, ale prodlužuje. Tím je ovlivněn i její metabolismus, který je také zpomalen a prodloužen , tím látka v těle setrvává delší dobu. Biologické membrány v organismu oddělují nejen plazmu , ale i mikroskopické intracelulární struktury od okolního prostředí. Prostup těmito membránami může být buď pasivního charakteru ( bez přísunu energie) nebo aktivního ( s přísunem energie). Hnací silou pasivního prostupu je většinou koncentrační spád nebo jiné rozdíly prostředí na stranách membrány. Prostup vody a malých molekul ( do 200 molekulové hmotnosti) bez elektrického náboje je způsoben rozdílným osmotickým nebo hydrostatickým tlakem na stranách membrány. Nebo může dojít k prostupu nano póry (3nm) v membráně. Změnu konformace bílkovin procházejících membránou ovlivňuje depolarizace membrány, její receptory a jiné faktory. Změna této konformace vede k otvírání selektivních kanálků, které propouštějí jen určité ionty. [1]

## 1.1 Celulóza a celulózové deriváty jako součást farmaceutových soustav

Celulóza a její deriváty jsou často používány v humánní a veterinární medicíně. A to jednak při vnějších aplikacích ( hemostatické prostředky) tak i jako součást léčiv a prostředků s determinovaným způsobem uvolňování aktivních složek. Polymerní preparáty se dělí na tyto skupiny: [2]

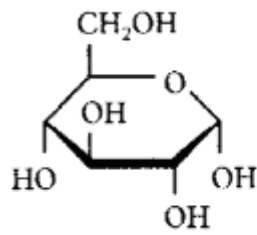
- **Polymerní farmaka:** Jsou tvořeny farmakologicky působícími makromolekulami, tvořenými jedním či více druhy kovalentně vázaných opakujících se jednotek-merů. Lze je dále rozdělit na
  - polymer-aktivní farmaka: Jejich farmakologické účinky jsou především dány fyzikálně-chemickými účinky a jejich chemismus je méně důležitý a může rozhodovat o vedlejších účincích léčiva. Dominantní úlohu představují transportní vlastnosti ( viskozita, difúze, sedimentace)

-polymery s farmakologicky aktivními skupinami: Jejich farmakologický účinek závisí právě na těchto aktivních skupinách. Tyto skupiny mohou být obsaženy buď v hlavním řetězci (polymerizovaní farmaka) nebo tyto skupiny jsou vázány v bočním řetězci nosičového polymeru (polymerem nesená farmaka)

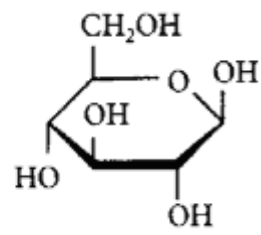
- **Polymery jako pomocné látky galenických forem farmak:** Zde má polymer většinou pouze pasivní úlohu (rozpuštěné dražé, základ mastí..), ale i zde může ovlivňovat farmakologické účinky v různých kombinacích s farmakem.
- **Polymery kontrolující dávkování farmak:** Jsou to nerozpustné polymery používané k implantování z kterých se později postupně uvolňuje léčivá látka. Typ polymeru a jeho vlastnosti určují rychlost uvolňování.

## 1.2 Celulóza její struktura a vlastnosti

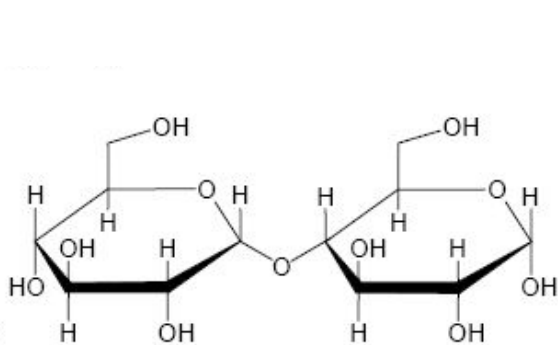
Celulóza je v přírodě distribuována pomocí rostlin, stromů, porostů, tráv. Celulóza je polydisperzní, lineární syndiotaktický polymer. Elementární složení celulózy je 44,44% C, 6,17% H a 49,39% O, tím náleží celulóze vzorec  $(C_6H_{10}O_5)_n$ . Tento vzorec náleží, ale i jiným polysacharidům jako je například škrob. Podrobným zkoumáním polysacharidů bylo zjištěno, že se jejich řetězce skládají z jednotek glukózy. Podle orientace hydroxylových jednotek k prvnímu uhlíku v kruhu glukózy může vzniknout alfa nebo beta glukóza. Pokud hydroxylová skupina směřuje dolů jedná se o alfa glukózu (Obr. 2) pokud hydroxylová skupina směřuje nahoru jde o glukózu beta (Obr. 3). Při spojení dvou jednotek glukózy vznikají disacharidy které se podle typu spojené glukózy nazývají maltóza vznikající z alfa glukózy (Obr. 4) nebo celobióza vznikající z beta glukózy (Obr. 5). Dalším spojováním těchto disacharidových jednotek vznikají polysacharidy škrob (Obr.6) nebo celulóza (Obr.7). V případě škrobu dojde ke spojení jednotek maltózy. Při spojování jednotek celobinózy poté vzniká celulóza. Z výše uvedeného tedy vyplývá, že ideální celulóza je lineární polysacharid který vznikající složením glukózových jednotek spojením beta-1,4 vazbou. Ve skutečnosti, ale technická celulóza obsahuje značné množství jiných sloučenin. Tento nepatrný rozdíl ve struktuře mezi těmito polysacharidy dává ovšem každému z nich zcela jiné vlastnosti. [3,4]



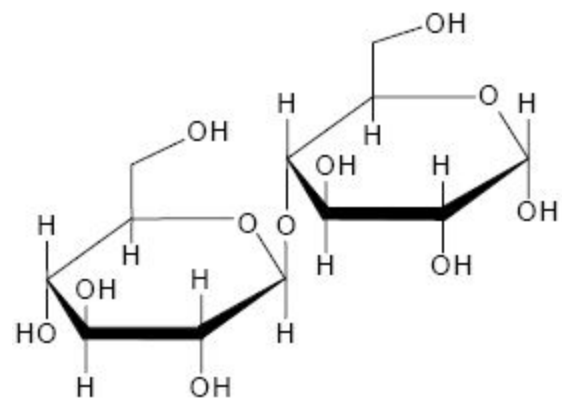
Obrázek 2 Alfa glukóza



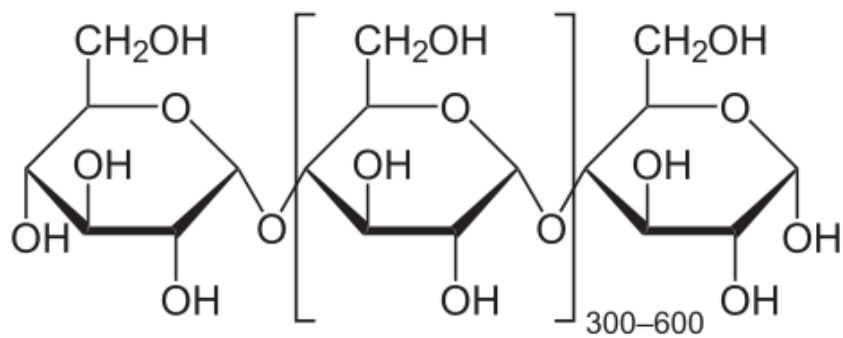
Obrázek 3 Beta glukóza



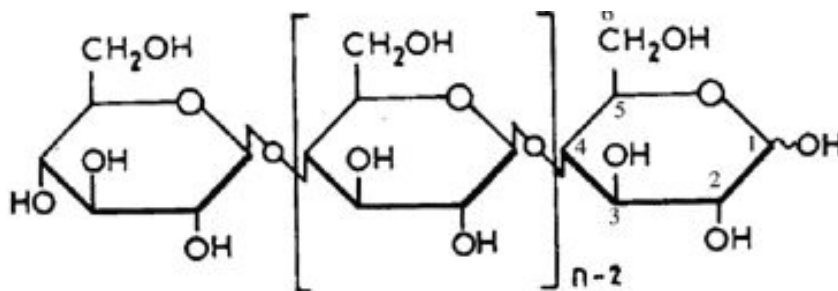
Obrázek 4 Maltóza



Obrázek 5 Celobióza



Obrázek 6 Škrob



Obrázek 7 Celulóza

Podle obsahu molekulárních forem a příměsí ( znečištění) lze celulózu rozdělit na  $\alpha$ -celulózu,  $\beta$ -celulózu a  $\gamma$ -celulózu. Kyselá hydrolyza těchto znečišťujících látek probíhá mnohem lépe než čisté celulózy. Vzorek celulózy se rozpouští v 17,8% roztoku NaOH v  $H_2O$  na alkali-celulózu při  $20^\circ C$ . Podíl který se v tomto roztoku nerozpustí je  $\alpha$ -celulóza (nejvíce čistá), rozpustný podíl který lze okyselením vysrážet je  $\beta$ -celulóza a zbytek který zůstal v roztoku je  $\gamma$ -celulóza. Toto je jen základní dělení celulózy. Celulózu lze dělit i na další podrobnější kategorie ( hydrocelulóza...) Celkový polymerační stupeň celulózy je závislý na její čistotě a na obsahu různých jejích druhů. Průměrné polymerační stupně některých druhů celulózy ukazuje tabulka č.1. [5]

Druh celulózy	P	Druh celulózy	P
Celulóza z rámie	3500-4600	Celulóza z borovice	1000-1200
Celulóza z bavlny	3000-4000	Celulóza z viskózy	250-800
Vyvařená bavlna	1200-1300	Celulóza ze smrku	1200-1600
Bílená bavlna	700	Celulóza buková	1200-1400

Tabulka 1 Závislost polymeračního stupně celulózy na jejím druhu [5]

Čistá celulóza není rozpustná ve vodě ani ve většině organických rozpouštědel, její specifické vlastnosti se odvíjejí od druhu celulózy a od jejího polymeračního stupně.



Celulózové řetězce mohou podle typů materiálu obsahovat různý počet karboxylových skupin. Karboxylové skupiny mohou vznikat jak během izolace oxidací celulózy dřeva (sekundárně), tak je dokázané že tyto karboxylové skupiny obsahuje i čistá přírodní celulóza (bavlna) a to převážně 1 karboxylová skupina na 1000 glukózových jednotek. U dřevní celulózy je to pak 10 karboxylových jednotek na 1000 glukózových. Dřevní celulóza obsahuje také jednotky jiných monosacharidů jako pentóz a metoxylových skupin. Velikost pentóz je přitom stejná jako jednotka glukózy proto s nimi snadno tvoří mřížku.

Přítomnost nečistot v tomto řetězci, ať jsou jakéhokoli druhu, řetězec oslabuje a tvoří tzv. slabá místa. Předpokládá se, že se tato místa v řetězci pravidelně opakují asi po 500 glukózových jednotkách což odpovídá přibližně 250nm. Slabá místa jsou tvořena poloacetálovou vazbou což je vazba uhlíků  $C_1-C_5$  na rozdíl od acetalové vazby  $C_1-C_4$ . Primárně se molekuly spojují acetálovou vazbou na některé sekundární molekuly však vytvoří vazbu poloacetálovou. Při hydrolýze se nejprve porušuje slabá poloacetálová vazba a až později vazba acetátová. Proto má hydrolýza zpočátku větší rychlost. [5,6]

### 1.3 Reakce celulózy a jejích derivátů

Celulóza má tři reaktivní hydroxylové skupiny, které ovlivňují její reaktivitu a mohou reagovat s organickými i anorganickými látkami za vzniku esterů, éterů a dalších derivátů. Tyto skupiny se mohou také oxidovat na  $-CHO$  nebo až na  $-COOH$ .

Mezi nejznámější estery celulózy patří nitrát celulózy, acetát celulózy a propionát celulózy. Mezi étery celulózy řadíme etylcelulózu, benzylcelulózu a z biomedicínálního hlediska důležitou metylcelulózu. Všechny tyto deriváty ovlivňují reaktivitu celulózy. [3,4]

Chemickou reaktivitu celulózy dominantně ovlivní její tři hydroxylové skupiny. Proto jako typický alkohol může celulóza reagovat : [6]

- s alkáliemi za vzniku alkoholátů,
- s kyselinami za vzniku esterů,
- s alkoholy za vzniku éterů,
- oxidací hydroxylových skupin na aldehydicke nebo až karboxylové.

Glukózová jednotka má tři hydroxylové skupiny z nichž nejreaktivnější je na  $C_6$ , která se nazývá primární a dvě sekundární skupiny na  $C_2$  a  $C_3$ , které jsou méně reaktivní. Díky

tomu, že struktura celulózy je nestejněměrná probíhají reakce jinak než u nízkomolekulární látky. V určitých případech mohou probíhat pouze na povrchu vláken nebo mohou částečně pronikat do mezimolekulárních prostorů u málo krystalické celulózy. U nabobtnalé nebo rozpuštěné celulózy pak reakce probíhá v celém objemu.

I při stejném chemickém složení mohou mít deriváty celulózy fyzikálně rozlišné vlastnosti. To proto, že může být substituován různý počet reaktivních skupin nebo jejich rozmístění je různé. Molekula může mít po substituci různý počet jednotek a povrchové a amorfni podíly jsou substituovány více než krystalické. Což je velmi výrazně splněno u částečně substituovaných derivátů.

Název derivátu celulózy je odvozen od typu reakce proběhlé na hydroxylové skupině. Proto lze deriváty rozlišit následovně:

- substituční deriváty hydroxylů (estery, étery),
- deriváty vzniklé oxidací hydroxylů,
- deriváty vzniklé radikálovou adicí,
- deriváty vzniklé elektrofilními substitucemi,
- deriváty reakcí celulózy s organickými sloučeninami,
- kopolymery celulózy (roubované, blokové).

Nejvíce známé a používané jsou substituční deriváty (estery a étery) ty možno rozdělit na monotopické, ditopické, tritopické nebo směsné.

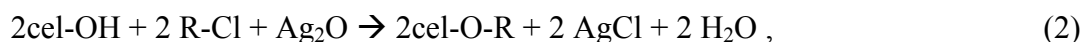
Deriváty se obvykle charakterizují stupněm substituce, což je počet substituovaných hydroxylových skupin. Estery a étery lze charakterizovat pomocí stupně reakce což je počet molekul zreagovaných z jednou jednotkou glukózy. Vlastnosti takto vzniklých derivátů jsou poté závislé hlavně na :

- povaze substituentu,
- rozsahu substituce na hydroxylech,
- rozložení substituentů,
- molární hmotnosti a její distribuci,
- poruchách v řetězci a agregaci řetězců navzájem.

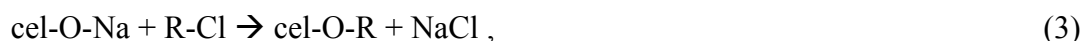
Nejdůležitějšími étery celulózy jsou metylcelulóza (MC) , etylcelulóza (EC) , hydroxyetylcelulóza (HEC) , hydroxypropylcelulóza (HPC)

Étery celulózy lze získat těmito reakcemi:

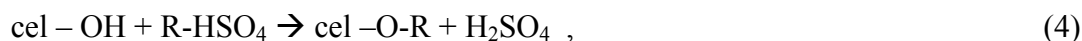
- působení halogen derivátů v přítomnosti  $\text{Ag}_2\text{O}$



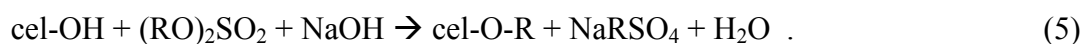
- působení halogenderivátů na alkoholáty



- působení alkyl-sírové kyseliny

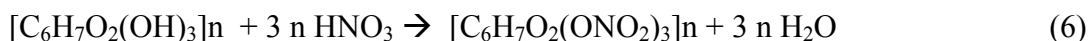


- působení dialkylsulfátu v přítomnosti louhu:



### 1.3.1 Nitrát celulózy (tzv. Nitrocelulóza) [3,4,6]

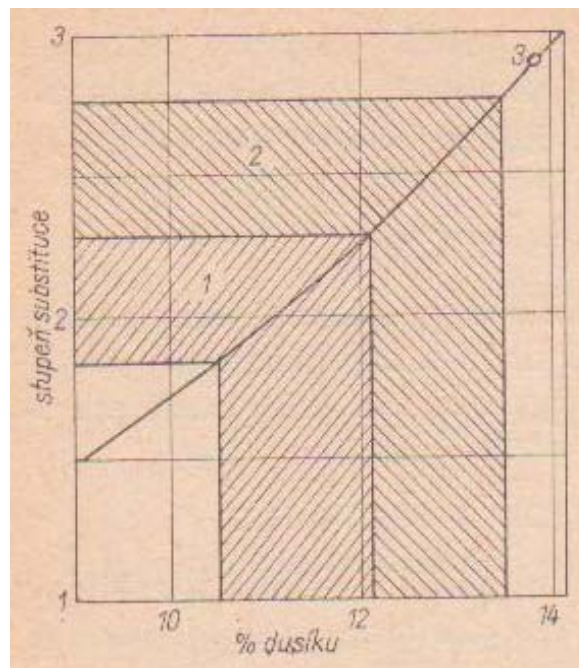
Nitrát celulózy vzniká reakcí kyseliny dusičné a celulózy za přítomnosti kyseliny sírové podle reakce



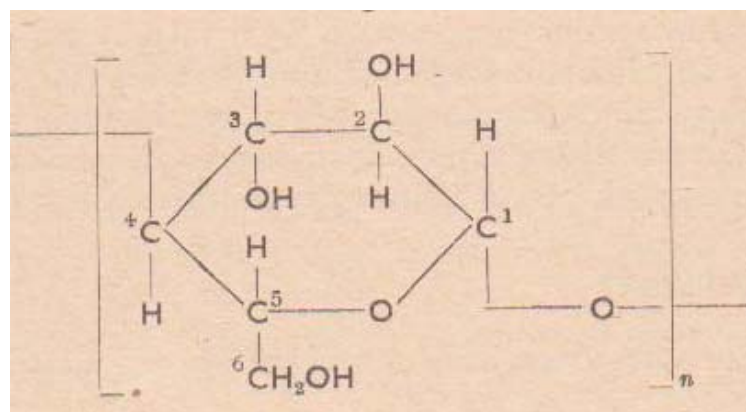
Poprvé byl připraven v roce 1832 působením pouze kyseliny dusičné, nitrační směs byla použita až v roce 1846. V praxi však reakce vždy neprobíhá do plného stupně nitrování hydroxylových skupin a mohou vznikat mono-, di- a tri deriváty. Často vznikají všechny deriváty současně díky morfologii celulózy kdy se nitrační směs k některým částem nemusí vůbec dostat a jiné jsou přístupné jen částečně. Na výsledek reakce má vliv poměr kyselin ve směsi (tabulka č 2). Velké množství vody vede k hydrolyze a ke zvýšení oxidačního odbourání. Stupeň esterifikace lze vyjádřit podle procentuálního obsahu dusíku v celulóze (obr č. 8). Plně nitrovaná celulóza podle uvedené rovnice má obsah dusíku 14,14%. Běžně používaná nitro celulóza má obsah dusíku nižší okolo 10-12% a je rozpustná v etanolu.

Při reakci nedochází k tomu aby některé jednotky celulózy byly zcela nitrovány a jiné ještě vůbec ne. Reakce se řídí reaktivitou jednotlivých hydroxylových skupin. Nejvíce reaktivní je hydroxylová skupina na šestém uhlíku a nejméně v poloze 3 ( obr.9). Dinitráty

celulózy jsou poměrně dost hydrofobní protože jejich nejvíce reaktivní hydroxylová skupina na šestém uhlíku je již s cela esterifikována. Skupina v poloze tři již není tak reaktivní.



Obrázek 8 Závislost obsahu dusíku v nitrocelulóze na stupni substituce[3]



Obrázek 9 Celulóza s očíslovanými uhlíky podle reaktivnosti[3]

Složení nitrační směsi [%]			Nitrocelulóza	
Kyselina sírová	Kyselina dusičná	Voda	Obsah dusíku [%]	Stupeň esterifikace [%]
34,41	37,17	28,42	6,50	0,95
35,87	38,83	25,30	8,40	1,33
37,20	40,30	22,50	9,76	1,64
38,43	41,31	20,26	10,93	1,95
38,95	42,15	18,90	11,59	2,14
40,14	43,25	16,61	12,31	2,36
41,03	44,45	14,52	12,76	2,50
45,31	49,07	5,62	13,65	2,82

Tabulka 2 Stupeň esterifikace celulózy v závislosti na složení reakční směsi [3]

### 1.3.2 Acetát celulózy [3,4,5]

Je druhým nejvýznamnějším esterem celulózy vzniká podobně jako nitrocelulóza působením 10% roztoku anhydridu kyseliny octové v 85% kyselině octové. Tato reakce bývá katalyzována 0,15% kyselinou chloristou.



Touto reakcí vzniká primárně triacetát celulózy kde jsou všechny tři hydroxylové skupiny nahrazeny acetátovými. Stupeň esterifikace se zde nevyjadřuje jako u nitrocelulózy, ale je vyjádřen obsahem vázané kyseliny octové. Díky tomu, že při výrobě acetátu dochází k esterifikaci všech tří hydroxylových skupin, výroba diacetátu spočívá v hydrolýze plně esterifikované celulózy. Protože reaktivnost hydroxylových skupin klesá od šestého směrem ke třetímu uhlíku dojde k hydrolýze na acetátové skupině u nejreaktivnějšího šestého uhlíku. Proto na rozdíl od dinitrocelulózy která je hydrofobní díky tomu že je její hydroxylová skupina na málo reaktivním místě je diacetát celulózy hydrofilní protože má hydroxylovou skupinu na nejreaktivnějším místě.

### 1.3.3 Propionát celulózy [3]

Vyrábí se podobným způsobem jako acetát celulózy, ale, místo anhydridu kyseliny octové je použit anhydrid kyseliny propionové. Reakce, ale potřebuje specifitější podmínky díky menší reaktivitě tohoto anhydridu. Použitím anhydridu s větším počtem uhlíků vznikají estery s většími vzdálenostmi mezi jednotlivými řetězci celulózy. Proto jsou tyto estery měkčí, rozpustnější a s nižším bodem měknutí.

### 1.3.4 Metylcelulóza [4]

Vyrábí se reakcí celulózy a metylchloridu za přítomnosti hydroxidu sodného. Rozpouští se ve studené vodě, ale ne v horké. Methylceluloza je z medicínského hlediska významná. Používá se na přípravu galenických léčiv na léčbu zácpy, tvorbu umělých slz a slin... Je ale nerozložitelná, proto musí být z těla vylučována.

### 1.3.5 Oxycelulóza

Oxidací celulózy je možné získat biomedicínsky zajímavý materiál s mimořádnými absorpčními schopnostmi. Proto firma Eastman Kodak jako první zavedla průmyslovou výrobu oxidované celulózy účinkem  $\text{NO}_2$  par na tuhý polymerní substrát. Tato metoda byla modifikovaná Johnson & Johnson Co. Tím způsobem, že reakce oxidační se koná ve vodném rozpouštědle účinkem stejného oxidačního činidla jako bylo uvedené předtím. Získaný produkt se vyznačuje velmi dobrou bioabsorpcí v živých orgánech člověka a zvířat. Oxidační reakce na celulóze musí být však velmi citlivě vedená aby nedošlo ke kompletní oxidaci na  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}$ . Struktura oxycelulózy se vyznačuje především přítomností karboxylových skupin, jak je zřejmé z následujícího schématu.

Třeba však zdůraznit, že existuje celá řada oxidantů které nejsou selektivní pro citlivý atak- $\text{CH}_2\text{-OH}$  skupiny. S rostoucím stupněm oxidace v těchto případech jako paralelní reakce je oxidační štěpení spojené s otevíráním glukopyranózového kruhu. Oxycelulóza se používá především jako absorpční hemostatický materiál, případně jako absorbovatelný adhezní bariérový materiál pro tenké vrstvy. Minimální požadovaná koncentrace karboxylových skupin se ve všech známých případech pohybuje okolo 16 hm.% a celkový obsah dusíku 0,5 %. Jsou jisté pochybnosti okolo existence a identifikace oxidovaných míst na oxycelulóze, zejména pokud jde o přítomnost C-6 karboxylových skupin. Různé výsledky poskytuje metoda titračního stanovení  $\text{-COOH}$  skupiny a metoda stanovení založená na měření  $\text{CO}_2$  generovaného další oxidací [33]. FT-RI měření se vyznačují významnou absorpcí při  $1735\text{ cm}^{-1}$ . Sodná sůl oxycelulózy poskytuje IR spektrum s extrémně silnou absorpcí při  $1594\text{ cm}^{-1}$ . Podle Zbankova R.G. druhá spomenutá absorpce by mohla odpovídat mimo řetězovému esteru, respektive laktonické formě [34].

#### 1.4 Rozpustnost celulózy a jejich derivátů

Jako součást konformačních činidel bývá převážně voda. Proto mají vodné roztoky hlavní postavení při rozpouštění celulózy. Schopnost celulózy vázat a uvolňovat vodu vyplývá z termodynamických podmínek. Dokáže přecházet ze stavu vlhkého do stavu suchého, ale po několika cyklech vlhčení-sušení ztrácí schopnost návratu do výchozího stavu. Molekuly vody pronikají do amorfni struktury celulózy k povrchu micel. Kondenzovaná pára proniká k centřům hydroxylových skupin. Důsledkem tohoto procesu je rozvolnění struktury. Při bobtnání a rozpouštění ve vodném roztoku lze poměrně přesně pozorovat toto ostré rozhraní. Rychlost pohybu tohoto rozhraní je poté závislá na teplotě, molekulové hmotnosti, aktivitě rozpouštědla, tepelné historii polymeru. Bobtnání celulózy doprovází nejen změny struktury, ale také změny fyzikálních vlastností. Vlákna zvětšují svůj průměr, ale jejich délka zůstává konstantní nebo může dojít ke smrštění. Stupeň nabobtnání bude záviset na stupni hydratace iontu (v silně koncentrovaných roztocích menší bobtnání), atomovém objemu iontu (čím vyšší tím větší oddálení řetězců) a v neposlední řadě na teplotě (nižší teplota vyšší stupeň bobtnání). Výhodou systémů na bázi vody je jejich snadná dostupnost, účinnost a nízká teplota při aplikaci. Nevýhodou mohou být vedlejší účinky vody jako je hydrolýza a problém s její regenerací, protože voda je základní složkou všech živých organismů. Celulózu lze rozpouštět i v nevodných rozpouštědlech na bázi paraformaldehydu, dimetylsulfoxidu...[7]

### 1.4.1 Rozpustnost celulózy

Celulózu rozpouští pouze omezen počet rozpouštědel a ty lze rozdělit podle druhu rozpouštěcího procesu na dva typy:

- fyzikální proces rozpouštění beze změny chemické struktury,
- chemický proces rozpouštění spojený s hydrolyzou.

Z hlediska ekologicko/ekonomického zahrnuje dnešní průmyslová výroba i aspekt regenerace těchto rozpouštědel. Podle toho jak celulóza v reakci vystupuje existují čtyři druhy rozpouštědel ( celulóza jako kyselina, zásada, molekulární komplex, substrát pro derivatizaci ). Základním parametrem, ale ne vždy určujícím, je parametr rozpustnosti  $\delta$ . Dominantní úlohu hraje také hustota vodíkových vazeb[4]. Při velké hustotě je rozpouštění rozděleno do několika etap. První etapou je uvolnění mikrobloků z amorfních oblastí, které se v druhé etapě vlivem další difúze rozpouštědla pozvolna uvolní do roztoku v podobě klubek. Rozhodujícím parametrem při rozpouštění je také interakce donor-akceptorová (EDA) volného elektronového páru na kyslíku. Tento parametr má však svoje omezující faktory: [7]

- charakter EDA je výlučně kvalitativní,
- nutno zohlednit molový objem, který může mít dominantní význam na hodnotu expanzní práce celulózy,
- EDA lze aplikovat pouze při prvním stupni rozpouštění,
- možnost výpovědi o vzájemné difuzivitě prostředí.

Shoda pro koncept EDA byla získána pro tyto rozpouštěcí systémy:

- $\text{SO}_2\text{-NH}_3$  – polární organické rozpouštědlo,
- $\text{NH}_3$ -anorganická sůl- polární organická kapalina,
- kapalný  $\text{NH}_3$  – anorganická sůl,
- $\text{H}_2\text{O}$ - anorganická sůl.

Jako donory volných elektronových párů fungují

- organické sloučeniny,



- OH skupiny,
- kapalný  $\text{NH}_3$ ,
- aniony anorganických kyselin.

Jako akceptory

- tetraalkylamoniový ion,
- anorganické kationy.

#### 1.4.1.1 *Celulóza jako zásada* [7]

Jako vhodné rozpouštědlo donorového typu lze použít

**Kyselina sírová:** Při koncentracích pod 55% dochází k mírnému bobtnání. Při koncentracích 55-75% k silnému a nad 75% k rozpouštění. Při koncentracích 62,5% dochází k bobtnání pouze v amorfních oblastí a krystalická zůstává neovlivněna. Aby nedocházelo ke změnám ve struktuře je optimální rozpouštět při teplotách 0-20°C.

**Kyselina fosforečná:** Bobtnání které je pozorovatelné nastává již pod 70%. Znatelné je bobtnání v rozmezí 70-81% rozpouštění nastane při koncentraci 92-97%. Maximální rychlost rozpouštění je dosaženo při 40-50°C. Bobtnání lze rozdělit na dva mechanismy, bobtnání interfibrilární (koncentrace < 81%) a intrafibrilární (koncentrace > 90%)

**Kyselina dusičná:** K mírnému nabobtnání dojde při koncentraci po 60%. Při koncentracích nad 69% dochází k nitraci celulózy a ke zvýšenému bobtnání. Ke značnému bobtnání, nitraci a rozpouštění dochází v koncentracích 77,3-80,9%. Ve 100% kyselině dusičné je celulóza nerozpustná, maximální koncentrace která celulózu ještě rozpouští je 83%.

Další rozpouštědla patřící do této skupiny jsou například kyselina chlorovodíková, kyselina trifluoroctová a lewisovi kyseliny.

#### 1.4.1.2 *Celulóza jako kyselina* [7]

Studování reakcí celulózy se zásadami bylo věnováno více pozornosti. Pomocí zásad lze dosáhnout většího stupně nabobtnání a rychlejšího rozpouštění a to díky kyselému charakteru vodíku na hydroxilových skupinách. Celulózy s nízkým polymeračním stupněm lze rozpouštět už v 10% hydroxidu sodném při teplotách -5°C. Při snižování teploty se

dosahuje příznivějších účinků. Nejvyšší konverze lze dosáhnout s regenerovanou celulózu. Celulóza působí jako slabá protická kyselina a se silnou zásadou tvoří soli, které jsou rozpustné v alkalických roztocích. Procesu rozpouštění musí vždy předcházet bobtnání, při rozpouštění se vždy první uvolňují molekuly o nižší molekulové hmotnosti. Faktor určující rozpustnost je tvorba solí v první etapě. Délka polymerních řetězců poté určuje množství podílu který se uvolní do roztoku. Některé zásady které rozpouští celulózu mohou být :

**Trialkylsulfoniové hydroxidy:** Obsahují trietyl, metyl dipropyl, butyletylmetyl, dibutylmetyl, diizobutyl, dibutyletyl. Dobrou rozpustnost prokazují již při navázání pětiuhlíkových alkylů na síru.

**Metylamin v dimetylsulfoxidu:** Roztoky celulózy lze připravit již v 16,5% směsi metylaminu v DMSO. Oxy celulózu lze rozpustit beze zbytků.

**Bis( $\beta,\gamma$ -dihydroxypropyl) disulfid:** Celulóza se rozpustí na viskózní roztok při teplotě asi 110°C.

**N,N –dimetylacetamid/LiCl:** Je to jedno s nověji používaných rozpouštědel.

**Alifatické a cykloalifatické aminosydráty(trimetylaminooxid, trietylaminooxid):** Umožňují přípravu roztoků celulózy i nižších koncentracích okolo 7-10% při teplotě 50-90°C.

Celulózu lze rozpouštět i v dalších alkáliích, které jsou méně používané jako jsou roztoky chloralu a jiných rozpouštědel, roztoky oxidů síry

#### 1.4.2 Rozpustnost derivátů celulózy

Všechny modifikace celulózy významně ovlivňují její rozpustnost. Nitrocelulóza je nerozpustná ve vodě, stejně jako čistá celulóza, ale některé organické rozpouštědla ji již rozpouští (ethanol, aceton, benzen). Při rozpouštění nitrocelulózy v etheru vzniká roztok zvaný koloidum, který se dříve používal na krytí ran a aplikaci léků.

Rozpustnost acetylcelulózy záleží na jejím stupni substituce acetylcelulóza s obsahem acetylu méně jako 13% není rozpustná v žádném rozpouštědle s obsahem 13-19% acetylu se rozpouští ve vodě, při obsahu 19-24% acetylu se rozpouští v koncentrovaném nebo zředěném 2-metoxyetanolu, ale ne v čisté vodě. Acetylcelulóza s obsahem 24-32% je rozpustná pouze v čistém 2-metoxyetanolu a při obsahu více jako 35% je rozpustná v ace-

tonu. Tri acetát celulózy ( obsah acetylů 44,8%) se rozpouští v dichlormetanu, trichlormetanu, pyridinu....Rozpustnost acetyl celulózy se dále zhoršuje pokud je vyrobena z neušlechtilé celulózy. Ušlechtilou celulózu můžeme získat za horka alkalickým způsobem spojeným s mnohostupňovým bílením. Na rozpustnost acetylcelulózy má vliv i hodně jiných faktorů jako je její stupeň zmýdelnění, obsah kyseliny sírové v acetylační směsi, a jiné.

Částečně hydrolyzovaný propionát celulózy je rozpustný v benzenu nebo butylacetátě. Při vysokém obsahu propionylu (47%) je v benzenu nerozpustný a rozpouští se v acetoně. Methylcelulóza jak již bylo uvedeno je rozpustná ve studené vodě, ale i v organických rozpouštědlech. [3,4]

Deriváty celulózy lze podle rozpustnosti rozdělit do několika skupin [7]

**-Deriváty celulózy rozpustné ve vodě:**

- neiontové: MC, MEC, MHEC, HPMC, HEC, HPC, EHEC, g-HEC,
- aniontové: NaCMC, CMHEC(Na<sup>+</sup>), CMEC,
- kationtové: polyquartermium- 4, polyquartermium -10, polyquartermium -24.

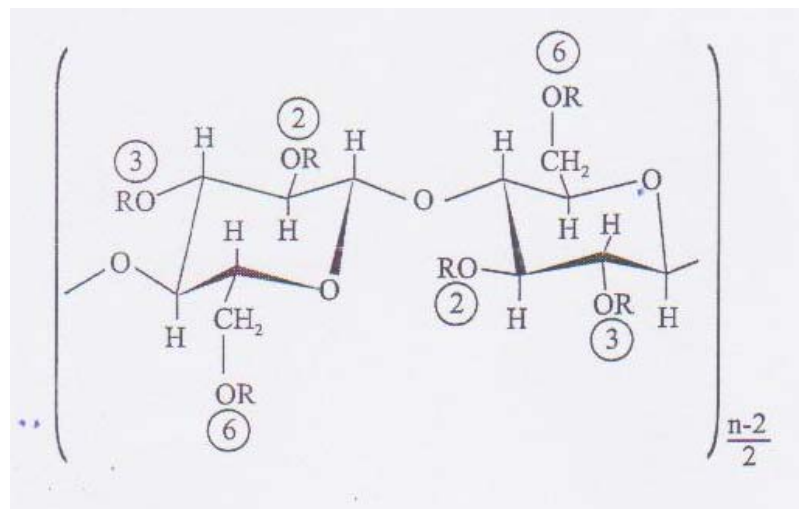
**-Deriváty celulózy rozpustné v organických rozpouštědlech:** EC, EHEC, CN, CA, CTA, CAB, CAPr, HPCA

**-Deriváty rozpustné v neacidických prostředích a organických rozpouštědlech:** CAP, CAT, HPMCP, HPMCAS

**-Deriváty nerozpustné ve vodě a organických rozpouštědlech**

- oxycelulózy (aldehydické), L-HPC- neiontové,
- oxycelulózy (karboxylové) , L-NaCMC, CaCMC,
- ostatní.

I pro rozpustnost derivátů celulózy má významnou roli parametr rozpustnosti. I když rozpustnost ovlivňují i jiné faktory parametr rozpustnosti je stále nejspolehlivějším měřítkem. Struktura modifikované celulózy je uvedena na obrázku č. 10 a přehled derivátů celulózy v tabulce č. 3



Obrázek 11 Struktura modifikované celulózy [7]

2.2 Deriváty celulózy	Substituent R (jiný než H)
<b>Estery</b>	
CN	-ONO <sub>2</sub>
CA, CTA	-COCH <sub>3</sub>
CAPr	-COCH <sub>3</sub> , -COCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
CAB	-COCH <sub>3</sub> , -COCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
CAP	-COCH <sub>3</sub> , -COC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COOH
CAT	-COCH <sub>3</sub> , -COC <sub>6</sub> H <sub>3</sub> (COOH) <sub>2</sub>
<b>Ethery</b>	
MC	-CH <sub>3</sub>
EC	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
HEC	-(CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> O) <sub>n</sub> -H
HPC	-(CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )O) <sub>n</sub> -H
MEC	-CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
MHEC	-CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
HPMC	-CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )OH.-CH <sub>3</sub>
HBMC	-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )OH.-CH <sub>3</sub>
EHEC	-CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> , -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH
NaCMC	-CH <sub>2</sub> COO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup>
CMHEC (Na)	-CH <sub>2</sub> COO <sup>-</sup> Na <sup>+</sup> -(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>n</sub> -H
CaCMC	(-CH <sub>2</sub> COO <sup>-</sup> ) <sub>2</sub> Ca <sup>2+</sup>
<b>Ethery–Estery</b>	
HPMCP	CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )OH.-CH <sub>3</sub> .-COC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COOH
HPMCAS	-CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )OH.-COCH <sub>3</sub> -COCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH.-CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )OCOCH <sub>3</sub> . -CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )OCOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> COOH
HPCA	-CH <sub>2</sub> CH(CH <sub>3</sub> )OH.-COCH <sub>3</sub> Cl <sup>-</sup>
Polyquarternium-4	-(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>n</sub> R'N-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (CH <sub>2</sub> CHCH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>
Polyquarternium-10	-(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> O) <sub>n</sub> -R'N-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> Cl <sup>-</sup>
Polyquarternium-24	-(CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> ) <sub>x</sub> -(CH <sub>2</sub> CH(OH)CH <sub>2</sub> N-(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> R'C) <sub>y</sub>

Tabulka 3 Přehled derivátů celulózy [7]

### 1.4.3 Vodo-rozpustné deriváty celulózy ve farmacii [8]

Ve farmacii se vodo-rozpustné deriváty využívají ve formě emulze, suspenze nebo jaktablety, mikrokapsle.. Nejčastěji to jsou hydroxyetylcelulóza, hydroxypropylcelulóza, metylcelulóza, sodná sůl karboximethylcelulózy, kyselina hyaluronová...

Ve farmacii může difúze rozpouštědla do systému probíhat různými mechanismy podle povahy systému. Systém léčiva může být tvořen tlakem připravovaných léčivých tablet nebo z polymerů podléhajícím nabobtnání. Rozpustnost tlakem připravených tablet závisí na rychlosti hydratace celulóзовých derivátů. Pro tyto účely nejsou vhodné všechny

deriváty celulózy a jejich míra využití stoupá v řadě metylcelulóza < hydroxypropylmethylcelulóza < hydroxyethylcelulóza < hydroxypropylcelulóza.

V případě polymerů podléhajících bobtnání může docházet k difúzi, podle Fickových zákonů, kdy nevzniká ostré rozhraní, ale spojitý průběh koncentrací, koncentrace se postupně ustaluje na konstantní hodnotě. U sklovitých polymerů se difúze Fickovými zákony neřídí a vzniká ostré rozhraní pronikajícího rozpouštědla. Při značně nižších teplotách než je teplota  $T_g$  (teplota skelného přechodu) postupuje rozhraní konstantní rychlostí. Při bobtnání polymeru lze nabobtnalou vrstvu rozdělit a popsat pomocí čtyř vrstviček.

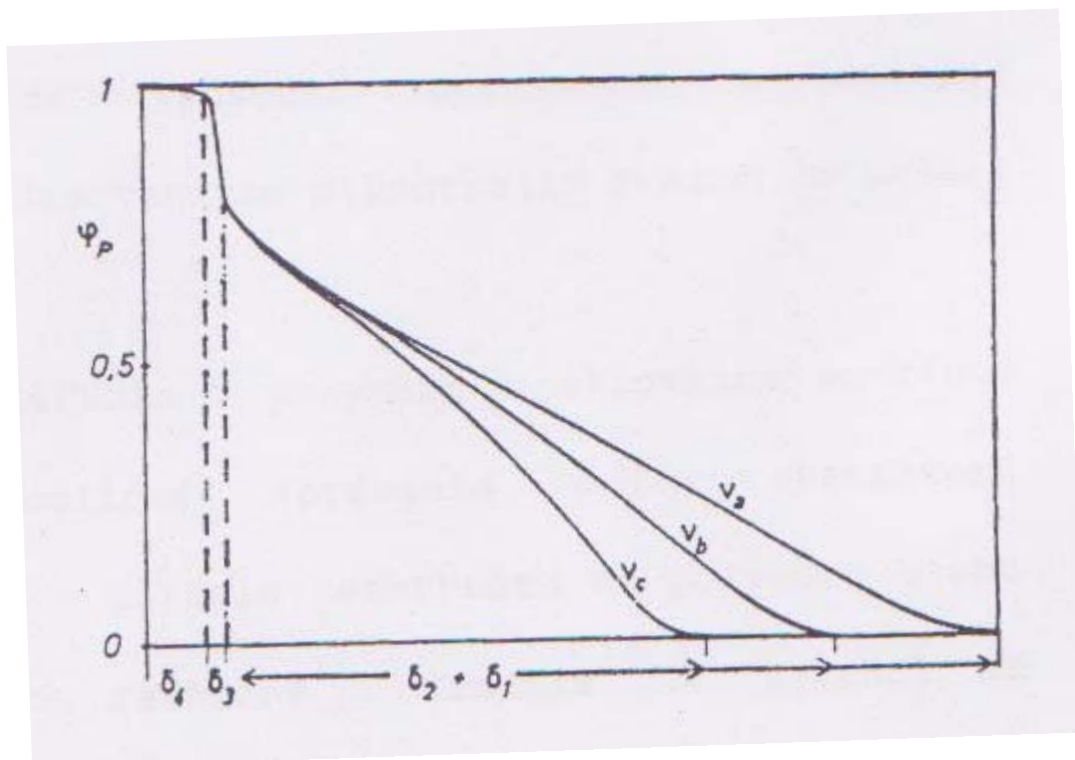
**-kapalná vrstva:** Rozpouštědlo uchycené na povrchu polymeru. Koncentrace polymeru se pohybuje od nulové hodnoty nahoru.

**-kaučukovitá vrstva:** Má také kapalný charakter, ale s fixovanou strukturou. Koncentrace polymeru dále konstantně vzrůstá.

**-gelová vrstva:** Náhlí vzrůst koncentrace polymeru a snížení koncentrace rozpouštědla. Rozpouštědlo tvoří spojitou kapalnou fázi mezi dispergovaným polymerem.

**-infiltrační:** rozpouštědlo pouze proniká mezi polymer aniž by ho nějak ovlivňovalo.

Koncentrace polymeru v jednotlivých vrstvách je znázorněna na obrázku č. 11



Obrá-

zek 12 Koncentrace polymeru v jednotlivých vrstvách [8]

Teploty skelného přechodu jednotlivých derivátů celulózy jsou :

MC: +196°C      HEC: +106°C      HPC: +124°C      NaCMP: +78°C

Znalost penetrace vody do polymerního systému v určitých časových intervalech je důležitá pro vytvoření koncentračního profilu léčiva.

## 1.5 Degradální reakce polysacharidů a vztah mezi chemickou strukturou a jejich biologickými vlastnostmi

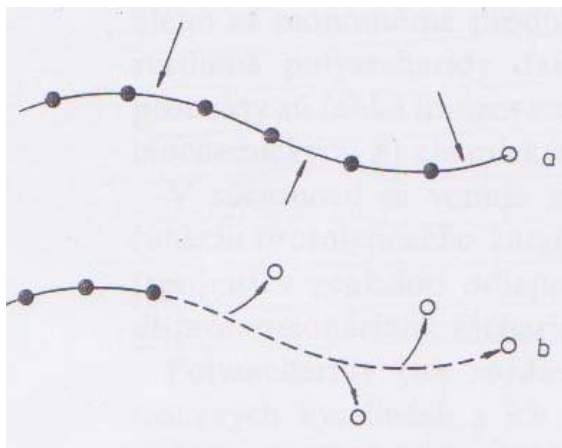
Pokud na sacharidy působí mikroorganismy je možné pozorovat degradační procesy a to jak hydrolytické tak disimilační reakce. Také se mohou objevovat při procesu degradace nové vzácné struktury nebo biopolymery, poté mluvíme o reakcích syntetických. Na degradační reakce polysacharidů lze nahlížet ze dvou hledisek: [9]

- stabilita polysacharidů při biochemickému, chemickému, termickému, termooxidacímu odbourání,
- rozpad polysacharidů na nízkomolekulární produkty.

Rozpad polysacharidů na nízkomolekulární produkty je důležitý při využívání všech složek fytomasy. Cílem dnešních výzkumů je najít postupy díky kterým by bylo možné degradovat fytomasu na jednoznačný nízkomolekulární sacharid s velkým výtěžkem, technologicky jednoduchým postupem a zároveň ekonomicky a ekologicky výhodně. Degradace může probíhat dvojím způsobem. Vznik polysacharidů je provázen polykondenzační reakcí. Proto jejich degradace bude probíhat reakcí opačných postupů a to hydrolýzou glykosidových vazeb, ideálně při této degradační reakci vznikají monosacharidy a tento postup se nazývá statický. Při teplotách nad 160°C a v kyselém prostředí provází tyto degradační reakce také intra a intermolekulární dehydratace.

Základní degradační reakcí na oligosacharidy nebo až sacharidy je hydrolýza glykosidických vazeb katalyzovaná zředěnými nebo koncentrovanými kyselinami. Díky tomuto procesu scukernatění lze polysacharidy využít v mnoha směrech. Produkty které vznikají hydrolýzou lze lehlo využít pomocí mikroorganismů, ale i vyššími organismy a lze je také různými postupy, převážně biochemickými převádět na další užité produkty. Na rozdíl od kyselého prostředí v alkalickém není hydrolýza glykosidických vazeb hlavní degradační

reakcí. Alkalická degradace probíhá odlupováním koncových skupin, spojeným s oxidačně-redukční disproportionací. Rozdíl reakcí je patrný na obrázku č. 12



Obrázek 13 Dva typy degradačních reakcí a- statický b- odlupovací reakce [9]

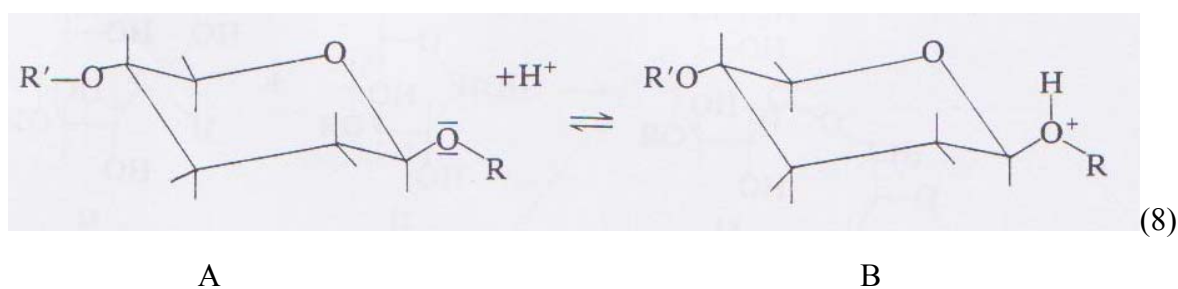
Hydrolyza glykosidických vazeb je základní reakcí při degradaci a vznikají při ní oligosacharidy nebo monosacharidy, bývá také katalyzovaná zředěnými nebo koncentrovanými kyselinami. Lze využívat také enzymatickou hydrolyzu, kde funkci katalyzátoru tvoří enzymy, lze využívat také alkalické hydrolyzy s odlupováním koncových jednotek. Při hydrolyze polysacharidů probíhá formálně reakce podle rovnice:



Polysacharid

monosacharid

Na zvýšení účinnosti hydrolytických reakcí se podílí zejména dobrá volba vhodných výchozích surovin, účinnost hydrolytických činidel a vysoká akcescibilita polysacharidů. Hlavní reakce při hydrolyze je hydrolyza na glykocidické vazbě. Pokud je reakce katalyzovaná kyselina tak je zahájena adicí protonu na volný elektronový pár kyslíku glykocidické vazby. Je to rychlá a rovnovážná reakce:





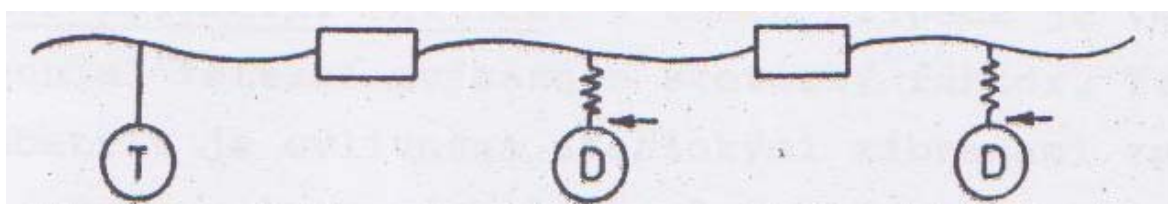


V současné době je známo mnoho mikroorganismů schopných hydrolyzovat celulózu jako jsou *Trichoderma lignorum*, *Trichoderma konigii*, *Penicillium funiculosum*, *Penicillium iriensi*, *Fusarium solani*.... Optimální kombinaci celulózových enzymů však nejefektivněji produkuje *Trichoderma viride*. Enzymy lze rozlišovat z různých hledisek, jestliže působí vně buněk nebo jsou buňkou vylučovány aj. V současnosti lze enzymy izolovat nebo je poutat na nosiče. Postup který byl použit při přípravě enzymu ovlivňuje jeho stabilitu a reaktivitu. Koncentrace enzymu závisí na rychlosti jeho přípravy, ale není této rychlosti přímo úměrná. Pro jednoznačné použití se musí enzym oddělit od ostatních produktů enzymatické reakce.

Nové typy polymerních nosičů pro biomedicíální aplikace musejí splňovat tyto požadavky: [10]



- léčivo vázané na polymerním nosiči je přes buněčné membrány transportováno endocytosou,
- vazba léčiva na polymerní nosič musí být stálá v krevním oběhu a extracelulárním prostoru, ale musí být štěpitelná lysosomálními enzymy,
- polymerní nosič umožňuje vazbu specifických determinantů které jsou schopny cíleně nasměrovat léčivo vázané na polymer do určité tkáně.

Takto popisovaný systém lze schématicky znázornit takto



Obrázek 14 Systém léčiva situovaného na polymerním nosiči [10]

Kde „D“ je léčivo vázané enzymaticky štěpitelnou vazbou ( $\leftarrow$ ) prostřednictvím

spaceru () „T“ specifický determinant ;  degradovatelná část základního řetězce.

Vlastnosti takto popisovaného systému jsou závislé na jeho struktuře. Štěpitelnost vazby mezi polymerním nosičem a léčivem lze ovlivnit strukturou postranního řetězce, ale i jeho délkou. Struktura tohoto postranního řetězce neovlivňuje jenom štěpitelnost léčiva od nosiče, ale také štěpitelnost příčné vazby která spojuje dva polymerní řetězce. Pro biologické vlastnosti léčiva je také velmi důležitá molekulová váha systému ta ovlivňuje biologickou aktivitu polymerních látek, především eliminaci polymeru z krevního oběhu, ale také jeho usazování v jednotlivých orgánech. Různé typy buněk pohlcují polymerní látku o různé molekulové jinyými rychlostmi. U některých buněk znamená zvýšení molekulové váhy nárůst rychlosti vstřebávání u jiných zase zpomalení rychlosti vstřebávání. Molekulární hmotnost polymeru musí také dosahovat hodnot, které zabrání přechodu střevní membránou. Díky těmto poznatkům mezi strukturou polymeru a jeho biologickými vlastnostmi lze vyvinout polymerní nosič, který bude ukládán v určitém cílovém orgánu. Léčiva které by účinkovali mimo střeva přímo v cíleném orgánu mají jisté výhody, ale i rizika oproti klasickým léčivům: [2,10]

**Výhody:**

- déle trvající účinek než u klasických léčiv,
- nedochází k metabolickým změnám, tím se sníží spotřeba léčiva,
- pomocí struktury lze ovlivnit rychlost vstřebávání (štěpitelnost),
- lze ovlivnit distribuci v těle k cílenému orgánu.

**Rizika:**

- může docházet ke kumulaci polymeru v těle,
- při kumulaci polymeru v těle může docházet k jeho celjším účinkům,
- může dojít k reakci imunitního systému na podané léčivo,
- reakce na polymer při různých patologických stavech.

Polymery nemusejí být používány pouze jako nosiče léčiv, ale také jako náhrady tkání nebo na výrobu lékařských pomůcek.

## 2 SOUHR POZNATKŮ A PŘEHLED CELULÓZY A JEJÍCH DERIVÁTŮ V BIOMEDICINÁLNÍCH APLIKACÍCH

### 2.1 Makromolekulární syndrom [2,10]

Při větším množství dávkování polymerních léčiv může v těle dojít ke hromadění polymeru, který může následně způsobovat fyziologické, morfologické nebo patologické změny, potom mluvíme o tzv. makromolekulárním syndromu. Pokud dochází k hromadění látek které se běžně štěpí a vylučují, tak se o makromolekulárním syndromu nehovoří. Hovořit o něm lze pouze u látek neschopných vylučování a štěpení. Při nadměrných dávkách může takto hromaděný polymer způsobovat mnoho zdravotních potíží jako je zvětšení jater nebo sleziny, poškození ledvin, patologickými změnami, stoupaní sedimentace, edém plic, zvýšený tlak. Na makromolekulární syndrom nemá vliv pouze předávkování polymerem, ale také jeho molekulová hmotnost.

### 2.2 Snášlivost a toxikologie polymerů [2,10]

U polymerů používaných v lékařství ať jsou v krátkodobém nebo dlouhodobém styku s organismem je věnována pozornost jejich toxicitě, interakcemi s organismem a případné kompletní odstranění z organismu. Toxicita polymeru může být sledována lokálně ale i z hlediska celkové reakce. Neplatí zde, že polymer podávaný lokálně nemůže vyvolat problémy na jiných místech. Na druhou stranu může také docházet k interakcím organismu na polymerní implantát tím se mohou ovlivnit jeho vlastnosti nebo může dojít k jeho špatné funkčnosti, která může být také příčinou zdravotních problémů. Jak bude polymer v organismu reagovat je důležité znát aby mohlo být určité léčivo použito ke konkrétnímu účelu. Při náhradě tkání a kostí budeme požadovat polymer biostabilní který se časem nebude měnit. Při výrobě chirurgických nití, nosičích léčiv polymer rozložitelný. Léčivo může také splnit svůj účel až po konkrétní reakci v organismu.

Podle reakcí organismu a působení polymeru lze škodlivé vlivy rozdělit do několika základních tříd:

- makromolekulární syndrom (viz. 2.1),
- interakční působení: reakce organismu na určitou třídu polymerů, které nemají svoji specifitu jako třeba polyanionty u nichž nezáleží na tom co bude nositelem záporného náboje,
- specifická působení: Je reakce organismu na určitou skupinu nesenou polymerem,
- imunologické účinky: Imunitní systém může reagovat na opakovaně podávaný polymer nebo polymer taky může sám o sobě negativně imunitní systém ovlivnit.

### 2.3 Sterilizace polymerních léčiv [2,10]

Při používání polymerů ve zdravotnictví a přímo v lidském organismu vznikají nové problémy sterilizace. Pro tyto polymery musejí být zvoleny vhodné desinfekční metody, metody balení nebo metody uchovávání. Jelikož jsou v lékařství používány většinou polymery, které neodolávají vysokým teplotám nelze zde použít klasickou sterilizaci vysokou teplotou. Musíme proto volit z metod „studené sterilizace“ jako například působení různých plynů, elektromagnetické záření, ultrafialové záření nebo roztoky chemických sloučenin.

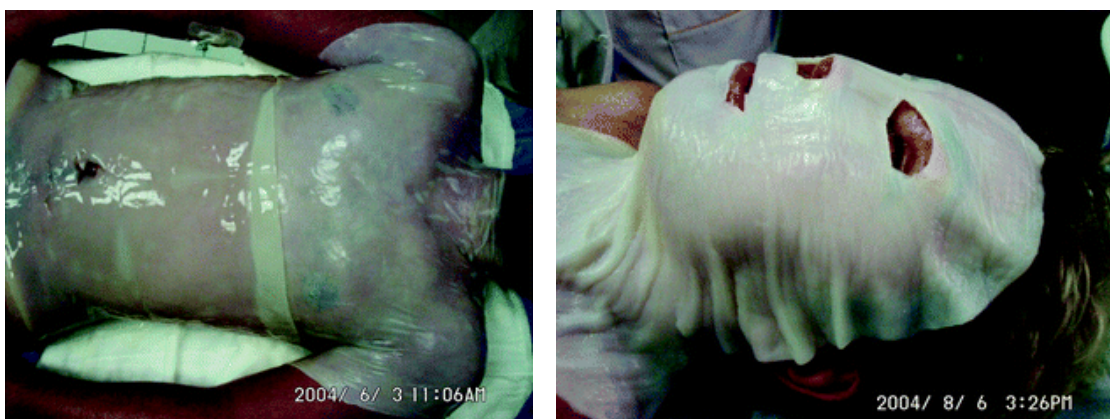
### 2.4 Mikrobiální celulóza [11,12]

Mikrobiální celulóza našla využití při hojení kožních ran a poškození. Má-li se rána hojit efektivně je nutné aby byla ve vlhkém prostředí. Nejlepší ochranou je pacientova vlastní kůže, která je propustná vodní páře a chrání spodní vrstvy před poškozením a infekcí. Mnoho let bylo používáno na zraněné kůže implantátů z prasat nebo lidské kůže. Toto řešení je, ale nákladné a krátkodobé. Mikrobiální celulóza která je syntetizována bakterií *Acetobakter* ukazuje, že má veliký potenciál k hojení takových ran. Tato vlastnost vyplývá z její jedinečné nano struktury. Její výroba spočívá v působení těchto bakterií na určitý roztok sacharidů. Dojde k vyloučení polymerních lineárních řetězců beta 1,4-glukózy, které se začnou hierarchicky uspořádávat. Od shluku několika vlákenek dojde postupně k vytvoření trojrozměrné želatinové struktury z ultra tenkých nanofibril ( 3-8nm) na kapalném základu(obr. 13).

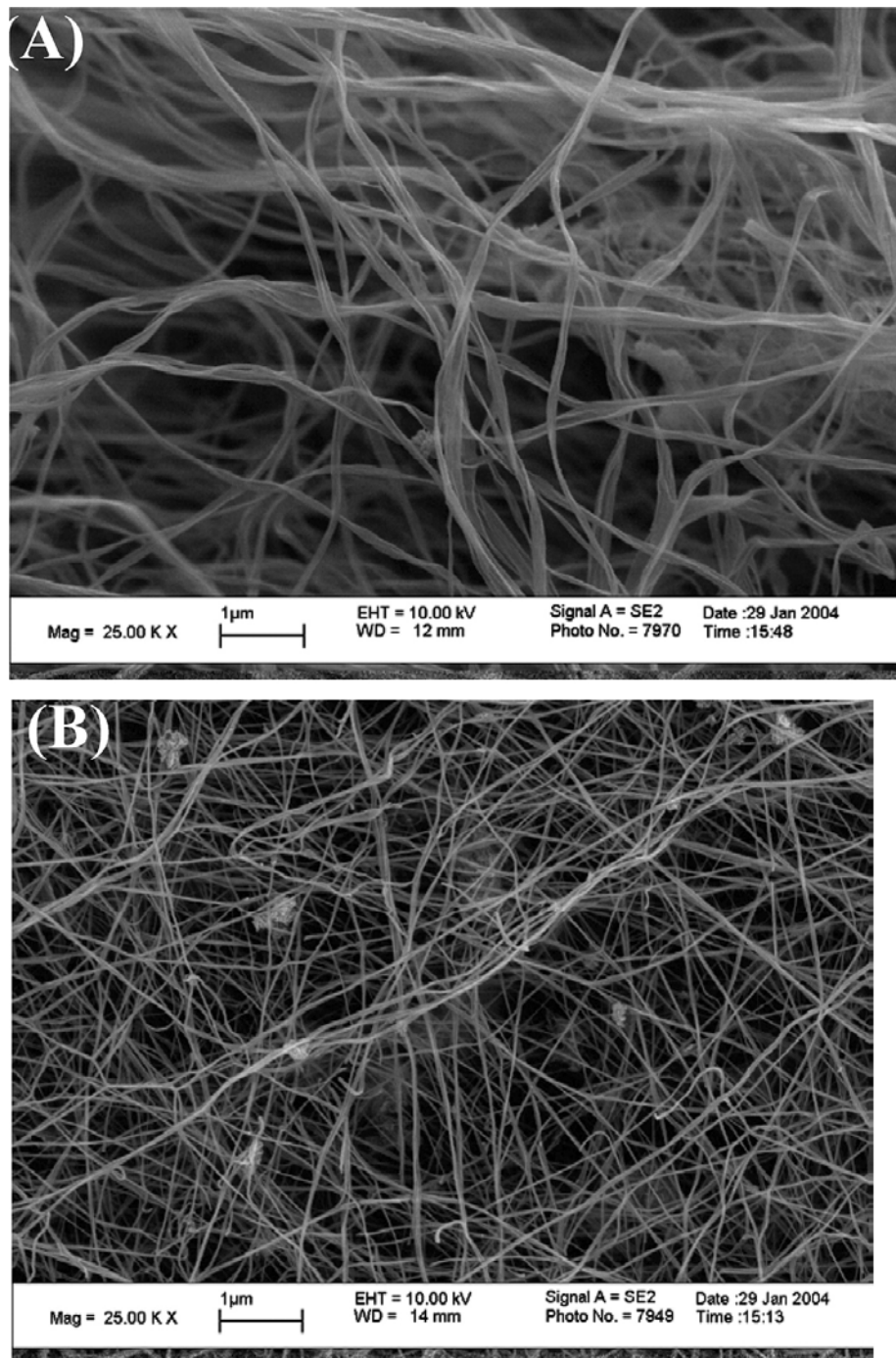


Obrázek 15 Mikrobiální celulóza [11]

Při použití různých typů bakterií *Acetobacter* dochází při použití stejného technologického postupu k odlišné struktuře vzniklé mikrocelulózy. Tento rozdíl je patrný z obrázku č. 15 který ukazuje strukturu mikrocelulózy syntetizovanou rozdílným druhem bakterií *Acetobacter*. Nanofibrily mikrobiální celulózy vytvoří velikou plochu která je schopná zadržet velké množství vody a její želatinová struktura dovoluje dobrou přispůsobilost tvaru a mechanickou pevnost. I když struktura mikrobiální celulózy je podobná celulóze rostlinné pohlí mnohem více vody. Je to dáno tím že fibrily rostlinné celulózy jsou více nahromaděny u buněčné stěny. Díky těmto vlastnostem může být mikrobiální celulóza používána jako vysoce kvalitní obvaz nebo obklad( obr. 14) .



Obrázek 16 Praktické použití mikrobiální celulózy jako obvazu na kožní poranění [11]



Obrázek 17 Struktura mikrobiální celulózy při použití jiného typu bakterií. Na obrázku A bylo použito bakterií *Acetobacter* NQ5 a na obrázku B *Acetobacter* NQ5 E25. [11]

Mikrobiologická celulóza se v mnoha ohledech blíží ideálnímu obvazovému materiálu. Má velmi vysokou kapacitu pro zadržení vody a propouští vodní páru. Nanostruktura zabraňuje proniknutí bakterií do zranění. Je lehce sterilizovatelná parou nebo gama zářením. Je elastická, dobře tvarovatelná s vysokou mechanickou pevností, biokompatibilní a netoxická.

## 2.5 Použití polysacharidů pro implantační materiály

Převážná část implantátů v lidském těle tvoří švy s implantovanými nití. Klasickým materiálem pro výrobu nití je celulóza. Je biologicky odbouratelná což může být její výhodou i nevýhodou podle potřeby použití. Má nižší pevnost v tahu a může reagovat s tkáněmi. Tyto špatné vlastnosti se snaží být vykompenzovány modifikacemi pomocí polypropylenových a polyesterových vláken pokrytých teflonem. Mikrobiální celulóza při svém vzniku tvoří mikrovlákná která jsou vhodná pro operace nervů nebo jako náhrada cév. Oxidovaná regenerovaná celulóza je používána již mnoho let jako hemostatikum při operacích. Při kontaktu s krví se mění na gel a zvětšuje svůj objem. Je také biologicky odbouratelná takže po operaci může zůstat v těle. Výrobou těchto hemostatik se zabývá firma ETHICON a Johnson & Johnson company s jejich výrobkem Surgicel® v nabídce lze najít mnoho variant od síťových forem po tekuté, práškové. [12,13]

Souhrně možno říci, že v současné době z hlediska aplikace celulózových materiálů, se úsilí soustřeďuje na takové modifikace, které zabezpečí : [14]

- a. biologickou snášenlivost s živými tkáněmi,
- b. vykazující antitrombogenní vlastnosti,
- c. zabezpečující dialýzo-difúzní dělení biologicky aktivních tekutin,
- d. sorpci fragmentárních produktů biofyzikálních a biochemických pochodů v jednotlivých částech organismů,
- e. přenos kyslíku vektorovým způsobem do míst biologického spalování,
- f. aktivní zapouzdření léčiv,
- g. možnost vytvoření vláknitých textur s řízeným volným objemem,
- h. adhezi korekturních prvků a transplantátů v živé hmotě,



- i. patříčnou viskoelasticitu a pevnost vzhledem vzájemnému pohybu kontaktních ploch,
- j. umožní reparativní zásahy do chirurgických případně jiných soustav

Všechny tyto materiály musí vykazovat netoxicitu pro organismus, být absolutně nekarcinogenními, nezvyšovat alergení účinky, být časově stálé, časově bez možnosti denaturácie a vykazovat bakteriocidní účinky. Mimo uvedeného se vyžaduje taktéž, podle povahy aplikace odolnost oděru, tvorbě tromboidů a embolivních částic.

V poslední době, vzhledem k zvyšování cestovního ruchu a letecké dopravy se klade zvýšený důraz na antitrombogenní účinky zabezpečující snížení srážlivosti krevní plazmy. Proto ve výzkumných programech akademických i neakademických středisek jsou detailně rozplánovány práce v tomto směru na období nejbližších 20 let. Velký pokrok byl dosažen v oblasti použití hemostatických materiálů na bázi celulózoých derivátů a specifických polysacharidů, např. kyseliny hyaluronové, chondroitin sulfátu, atelo-kolagenu, kopolymerů kyseliny mléčné a dalších. Korekturní prvky a transplantáty ve vícevrstevovém uspořádání vyžadují detailní zvládnutí procesu směrového síťování, poznatky kterého se využijí taktéž při zapouzdření elitocitů krevní plazmy živočichů a lidí, zvýšení rozpustnosti kyslíku, chemické vazby, syntetických polymerních látek na hemy elitocitu.

Vinyl acetátové vláknité materiály byly použity v přípravě membrán pro umělé ledviny a další umělé orgány přičemž se prokázala jejich vysoká efektivnost vzhledem na obrovský povrch vzájemného kontaktu v mikroporézních diafrakmách. Deriváty celulózy aplikované v podobě vláknitých materiálu, lze bezproblematicky minituarizovat, vytvářet řízené porézní struktury s definovanými povrchovými vlastnostmi.

Speciální deriváty celulózy byly použity taktéž na kompaktování kůže, tkáňových fragmentů, restaurace dvanácterníků a jiných částí lidského organismu. Výhodnost derivátů celulózy ze specifickými aktivními centry vytváří taktéž možnosti chelátování specifických medikamentů povrchů tkáňových a gelových útvarů proteinického charakteru.

Velké úsilí bylo vynaloženo v oblasti mikrokapsulace bioaktivních systémů. Zvláště významnými se jeví výsledky získané s přípravy přenašečů kyslíku používaných v procesech perfuze uvnitř krevní plazmy. Tyto částicové komplety, velikosti řádově mikronové, mají schopnost procházet přes kapilární soustavy membrán. Jak je všeobecně známo organismus lidského těla se stává z buněčných vrstev s mnohorakou konfigurací a funkci-

onalitou proto řízení procesů mezibuněčného a vnitrobuněčného transportu třeba aplikovat systémy s dobrou separační schopností podobnou schopnosti například lidské kůže při narušení povrchu kožní hmoty se jako ideální aplikovatelnými v prosesu poranění uplatnily replantáty založené na oxycelulóze, kolagenu v kombinaci s dalšími polysacharidy. [14]

Aplikace tenkých vrstev celulózy, jejich derivátů a jiných polysacharidů má specifické vlastnosti. Jednou z nich je proměna struktury v čase uchovávání. Vliv doby uchovávání na strukturu a vlastnosti tenkých vrstev polysacharidů byl předmětem důkladného studia mnoha autorů. Z poslední doby možno uvést práce L. Famá a spol[15], které sice se týká potravinářských aplikací škrobu, avšak obecné postupy možno využít i pro jiné plánované cíle ve vztahu např. k oxycelulóze.

Nedávno dosažený pokrok v oblasti biomedicínckých aplikací celulózy a jejich derivátů byl proveden použitím při chirurgických zákrocích jako základ urychleného hojení ran. Zejména polyelektrolyty typu kyseliny hyaluronové a chitinu jsou pro tyto aplikace zvláště vhodné[16,17]. Proto aplikace těchto soustav věnovali zvýšenou pozornost zejména japonští a koještí výzkumníci[17-20]. Základní poznatek o možnostech regulace adhezních a srážecích vlastností těchto soustav pomocí řízeného stupně zesílení (zejména účinkem poly(etylenglykol)-diaminu. Zjištění, že elastický modul roste postupně se zvyšující se hustotou sítě v rozmezí 0 až 20% a co je zajímavé, při dalším zvýšení počtu příčných vazeb začíná klesat. Autoři uvádějí další výsledky s těmito síťovanými gely z hlediska aplikace v oblasti buněčných transplantací.

Poměrně zvýšená pozornost byla věnována přípravě biodegradacím kopolymerů poly(L-laktidů) roubovaných na řetězec chitosami prostřednictvím reaktivních hydrolyzovaných skupin. Využití chitosanu, zejména částečně nebo úplně deacetylovaného vzhledem na jeho výbornou biokompatibilitu snadno enzymatickou biodegradabilitu, dobrou snášenlivost s tkáněmi živočichů a významnou anti-tumorovou a anti-bakteriální aktivitou[21-23]. Přitom příprava těchto kopolymerů je relativně jednoduchá, založená na roubované kopolymeraci L-LA monomerů na ftaloyl-chitosan za přítomnosti 4-dimethylaminopyridinu jako katalyzátoru v roztoku DMSO. Otázkou zůstává jen možný účinek zbytků tohoto katalyzátoru při dalších možných aplikacích takto připravovaných filmů, jakož i vliv zbytkového DMSO, případně i relativně vysoká teplota (120°C). Jako výhoda se jeví dobrá rozpustnost kopolymeru PHCS-g-PLLA v metanole, chloroformu, DMSO, dimethylformamidu a dichlormetanu.

Často bioaktivita polymerů závisí nejen na chemickém složení, ale také může být významně ovlivněna i jejich fyzikální formou. V poslední době vydařený pokrok v hojivých účincích těchto soustav je dosažen i fyziologickou podstatou příznivého účinku. R.A.F Clark[24] uvádí, že dominantní se jeví u těchto látek jejich schopnost zabraňovat infekci, zabezpečovat přiměřenou vlhkost v okolí rány, ochrana závinu a zamezení tvorby zjizveného povrchu. R.A.A Muzzarelli a spol[25-26] uvádějí jako významnou složku těchto materiálů chitosan vzhledem na jeho schopnost podporovat adekvátní tvorbu granulovaných tkání spojenou s angiogenezí a pravidelnou depozicí kolagenových vláken a zvláště schopnost usměrnit přesnou opravu dermo-epiderálního poranění. Souhrnně možno konstatovat tyto podstatné účinky polysacharidových kompozicí na bázi chitinu a chitosanu: polymorfonukleární aktivace buněk, aktivace fibroplastů, urychlení migrace obrovitých buněk a stimulace syntézy kolagenu jak uvádějí Kojima a spol. [27] Chitin má tedy relevantní biochemický význam zvláště pro schopnost akcelerace migrace a vaskularizace v systému. Existuje řada komerčně dostupných hemostatických náplastí tohoto typu ( např. : Chitinpack-S, Chitinpack-E, Chitoscan, Sívepatch, Chitopely, Crabion)

Mnohé vlastnosti materiálů z hlediska praktické aplikace jsou dány jejich povrchovou strukturou. Tato může být významně ovlivněna modifikací na fázovém rozhraní, t.j zavedením funkčních skupin například kationického nebo anionického charakteru. Detailnější údaje možno najít v pracích Kulpinskeho P. [28], případně ve starší literatuře. [29,30]

Celulóze a jejím derivátům mohou po chemické modifikaci vhodnou substitucí zůstat specifické vlastnosti a charakter jako biodegradabilní tenzory, biomembrány, nosiče pro imobilizaci enzymů, kapalně-krystalických polymerů, ochranných filmů a bioaktivních kompozitních soustav. Zejména v monologii referované J.F. Kennedym, G.O.Philipsem a P.A. Williamsem[31] možno získat základní informace o možnostech aplikace derivátů celulózy( acetáty, benzoáty, nitráty, oxycelulzy, ...) jako nosičů enzymů. Za významný možno považovat patent B. Jina W.-Y. WU (WO 205/020997 A1), kde je chráněna celá řada kompozicí na bázi celulózy pro aplikace ve veterinární a humánní medicíně.

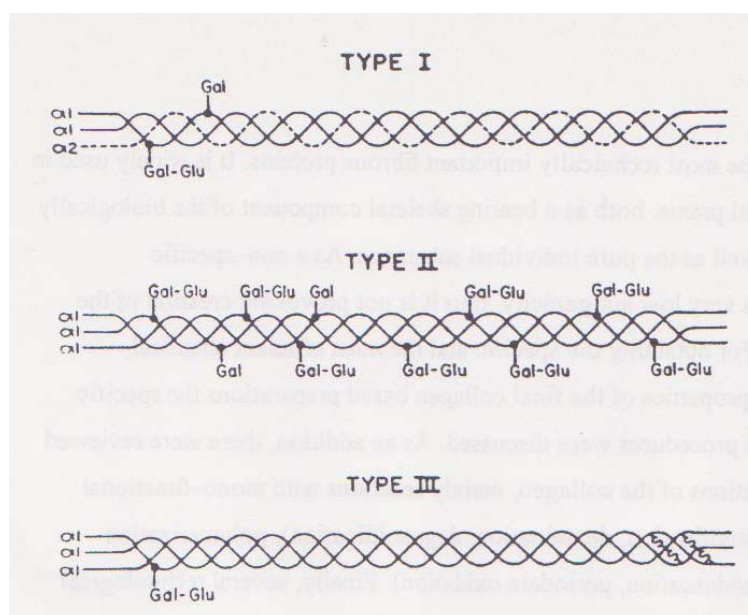
### 3 KOLAGEN JEHO STRUKTURA A VLASTNOSTI

Díky schopnosti kolagenu vázat se na bílkoviny je jeho kompaundování s polysacharidy v medicínských aplikacích zvláště výhodné. Je technicky nejdůležitější vláknitá bílkovina a kromě jednobuněčných organismů jej všechny ostatní organismy obsahují ve velkém množství. Zajišťuje mechanické vlastnosti pojivových tkání, což je dáno jeho strukturou a vysokým stupněm vnitřní organizace molekul. Kolagen je ze všech bílkovin v těle obsažen v množství asi 25-30%. Zejména je součástí kůže, ale také kostí, chrupavek, šlach a vaziv, ale také cévních stěn, membrán a rohovek. Patří ke klíčovým proteinům životních pochodů v organismu, zejména jako složka mezibuněčné hmoty.

Kolagen je obnovitelná surovina proto je téměř neomezeně k dispozici. Dnes je věnována velká snaha zdokonalovat hledat jeho nové uplatnění. Kolagen je také hojně využit v kožedělném průmyslu a jiných odvětvích.

#### 3.1 Struktura a složení [32]

Molekuly kolagenu tvoří pevné spirálovité struktury. Tři polypeptidové řetězce kolagenu o délce asi 1000 aminokyselinových zbytků se stáčíjí do superšroubovice (obr. 17). Jeden záhyb je tvořen 30 aminokyselinových zbytků. Superšroubovice je asi 300nm dlouhá a 1,5nm má v průměru. Spirála kolagenu je levotočivá. Molekula obsahuje kolem 27% glycinu a nad 15% prolinu.



Obrázek 18 Typy kolagenu stočené do superšroubovice [32]

Řetěze kolagenu tvoří tripeptidové jednotky (Gly-X-Y), kde X, Y jsou jakékoli aminokyseliny. Oblasti řetězce o vysoké molekulární hmotnosti jsou spíše krystalické a nízkomolekulární části polárního charakteru spíše amorfni. Nízkomolekulární místa jsou díky polárním skupinám a konformační volnosti považovány za reaktivní místa kolagenu.

Existuje několik typů kolagenu lišícími se především aminokyselinami(tab.4).

Typy a charakteristika známých kolagenů			
Typ	Řetězce	Charakteristika	Výskyt
I	$\alpha_1(\text{I}), \alpha_2(\text{I})$	Nejčastější výskyt, málo hydroxylysinu	Kosti, šlachy, kůže, zubovina, vazivo, děloha, cévy
I Trimer	$\alpha_1(\text{I})$	Vyšší obsah 3- a 4-hydroxyprolinu a hydroxylysinu v porovnání s heteropolymerem	Nádorové útvary a zanícená ložiska
II	$\alpha_1(\text{II})$	Častý výskyt, relativně bohatý na hydroxylysin a karbohydráty	Chrupavky, sklivec oka
III	$\alpha_1(\text{III})$	Bohatý na hydroxylysin obsahující meziřetězcové disulfidické vazby	Kůže, cévy, děloha, retikulín
IV	$\alpha_1(\text{IV}), \alpha_2(\text{IV})$	Bohatý na hydroxylysin, obsahuje rozsáhlé globulární regiony	Bazální membrány
V	$\alpha_1(\text{V}), \alpha_2(\text{V}), \alpha_3(\text{V})$	Stejný jako typ IV	Spojovací tkáň
VI	$\alpha_1(\text{VI}), \alpha_2(\text{VI}), \alpha_3(\text{VI})$	Mikrofibrily	Spojovací tkáň
VII		Dlouhé řetězce	Zpevňující fibrily
VIII	$\alpha_1(\text{VIII})$	Šroubovice zařazené za sebou	Některé endotelické buňky
IX	$\alpha_1(\text{IX}), \alpha_2(\text{IX}), \alpha_3(\text{IX})$	Vedlejší protein chrupavek, nese glykosaminoglykany	Chrupavky
X	$\alpha_1(\text{X})$	Krátké řetězce	Hypertropické chrupavky

<sup>a</sup> Termín FLS odkazuje na molekuly kolagenu uspořádané antiparalelně, v částečném překryvu.

Tabulka 4 Typy kolagenů [32]

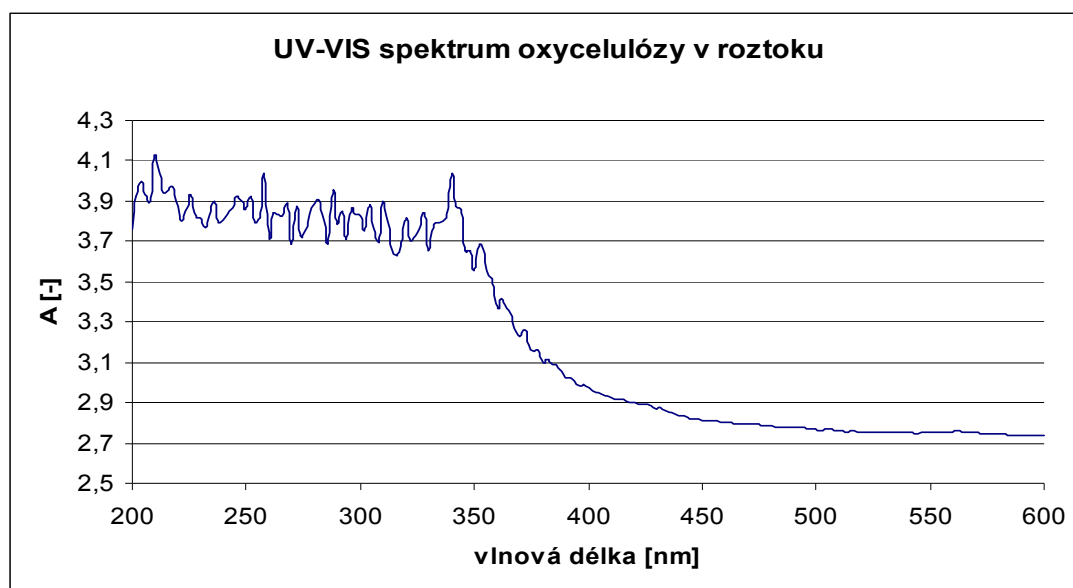
## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 4 CHARAKTERIZACE OXYCELULÓZY, ATELOKOLAGENU A JEJICH SMĚSÍ POMOCÍ METOD UV-VIS, FT-IR A TG.

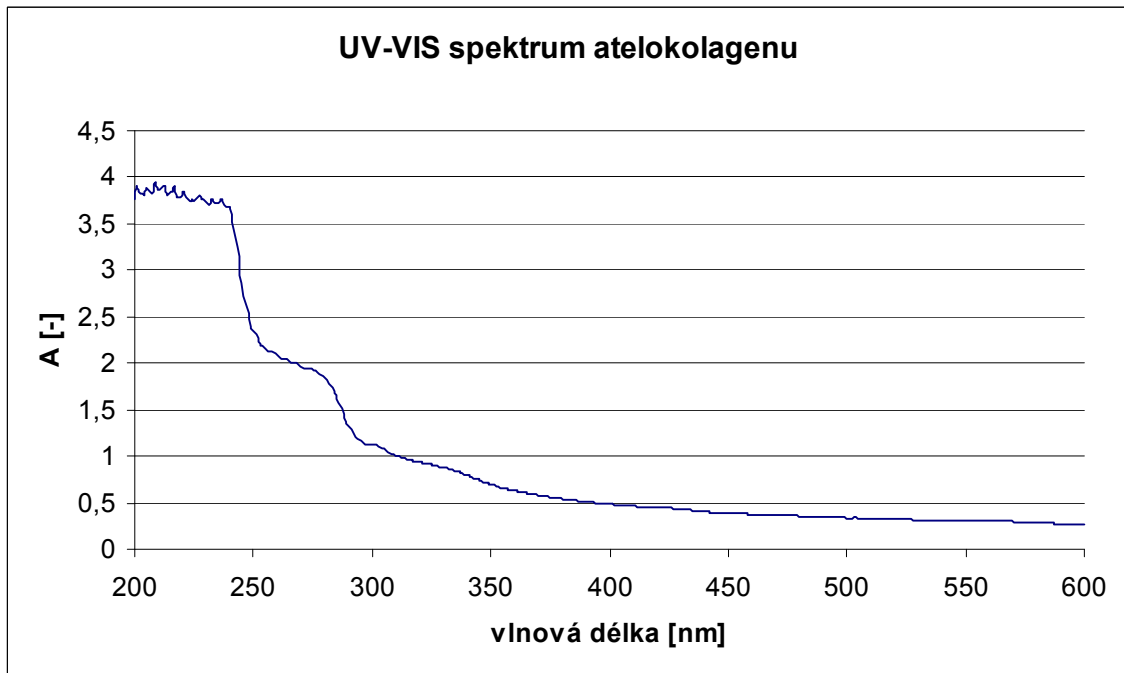
Jako vhodný polysacharid pro užití v biomedicínských aplikacích a pro praktické studium byla vybrána oxycelulóza. Dále bylo zkoumáno její kompaundování s atelokolagenem I díky jeho velké snášenlivosti v bílkovinami. Tyto polymery a jejich směsi byly charakterizovány pomocí metod UV-VIS, FT-IR a TG.

### 4.1 Charakterizace pomocí UV-VIS

Absorpční spektra v oblasti UV-VIS oxycelulózy ve formě vodného roztoku a atelokolagenu jsou na obrázcích 19 a 20. Oba polymery absorbují v oblasti blízko UV záření přičemž spektrum oxycelulózy ve vodném roztoku vykazuje široký pás s nezřetelným charakterem. Způsobeným zřejmě významným množstvím okluzních plynů vázaných na hlavní řetězce oxycelulózy. Vysoká polarita těchto řetězců je zřejmě na příčině vzniku početných vodíkových vazeb majících za následek vznik nespecifických aduktů. UV-VIS spektrum atelokolagenu vykazuje hladký průběh se třemi výraznými absorpčními pásy. Charakterizujícími podle literatury  $n-\pi$  přechod ( od 200nm do 400nm) , dále zřetelný pás při 250-310nm, který možno přisoudit jednak charge-transfer komplexům anodických skupin a COO skupin.  $\pi-\pi$  přechody zřejmě prolínají celou oblast od 200nm do 350nm. Detailní rozlišení UV-VIS spektra si vyžádá kvantitativní analýzu metodou rozpoznávání vzorů v modelových soustavách systémů přítomných v protejnické makromolekule.

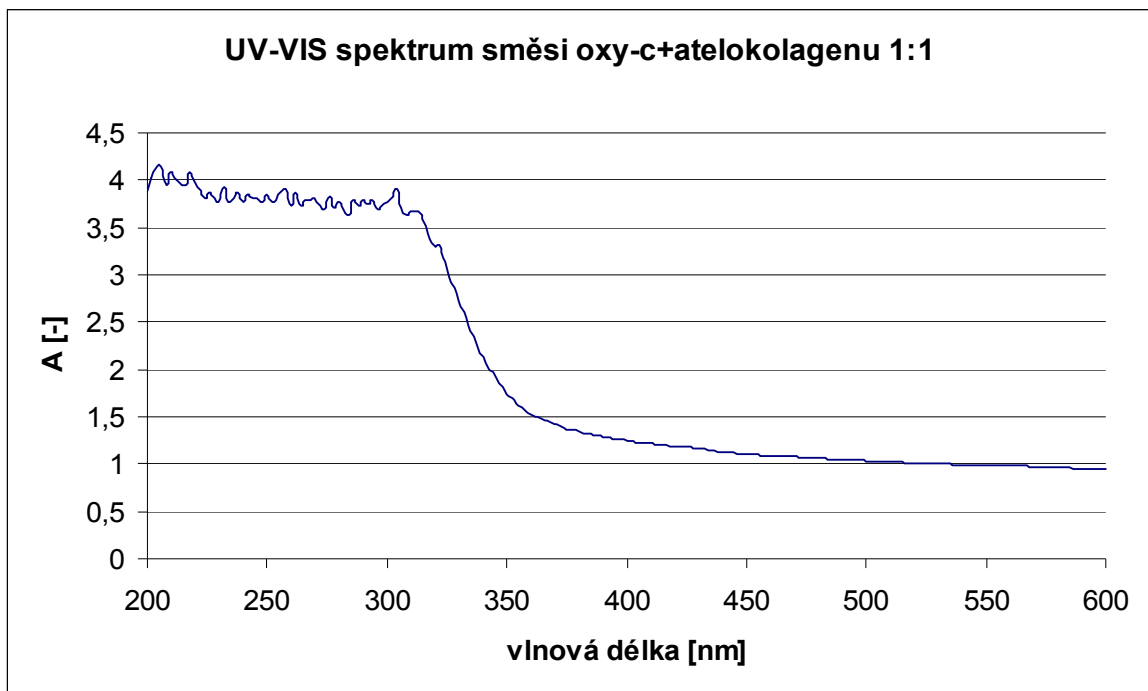


Obrázek 19 UV-VIS spektrum oxycelulózy ve vodném roztoku



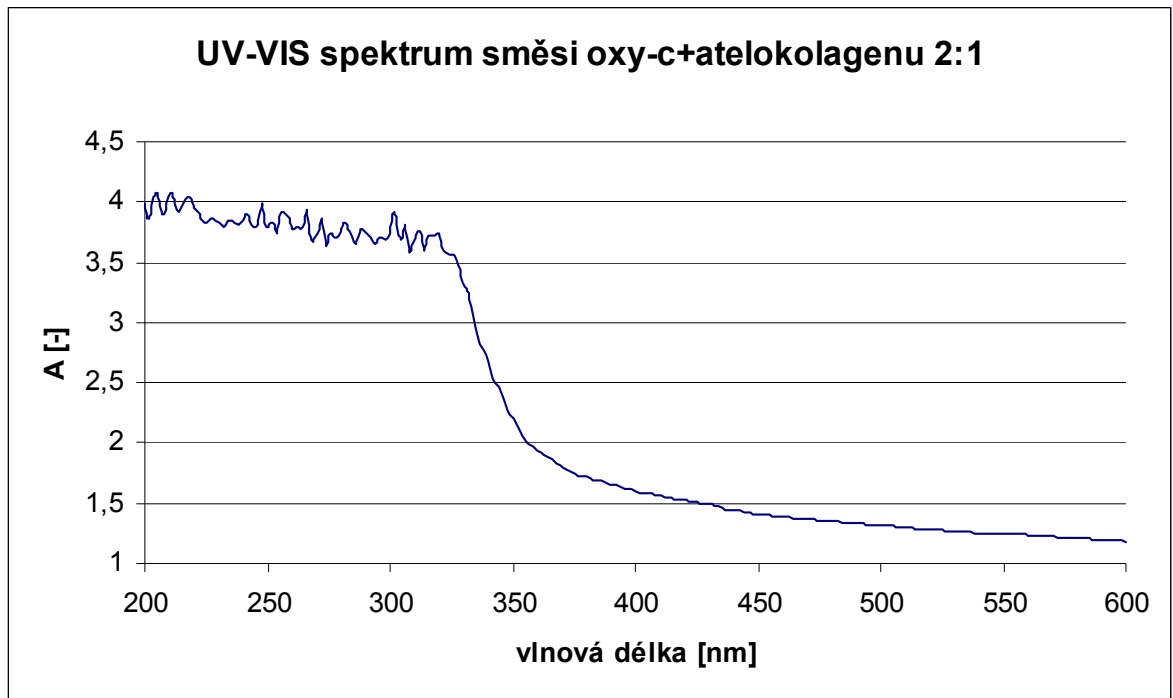
Obrázek 20 UV-VIS spektrum atelokolagenu

Pozoruhodné jsou spektra směsí oxycelulózy a atelokolagenu ( obrázek 21,22,23) s různým poměrem komponent. S těchto spekter však nemožno vyslovit jednoznačný závěr bez detailního rozlišení příspěvků všech možných chronologických skupin.

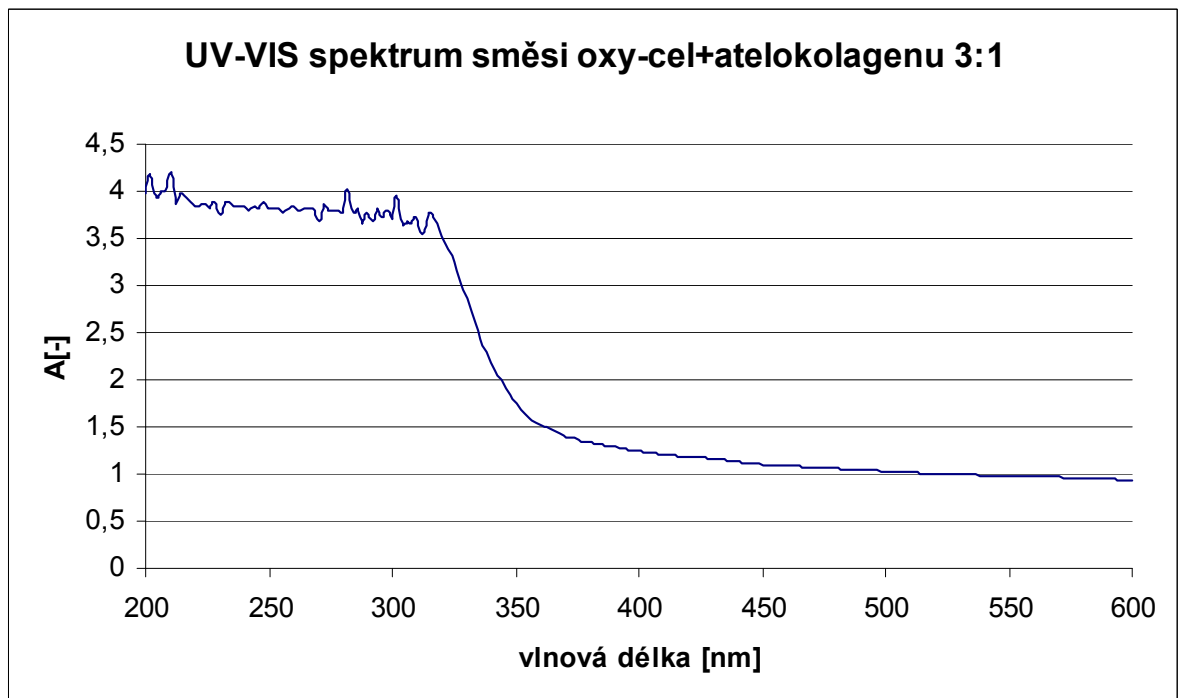


Obrázek 21 UV-VIS spektrum směsi oxycelulózy+atelokolagenu 1:1





Obrázek 22 UV-VIS spektrum směsi oxycelulózy+atelokolagenu 2:1



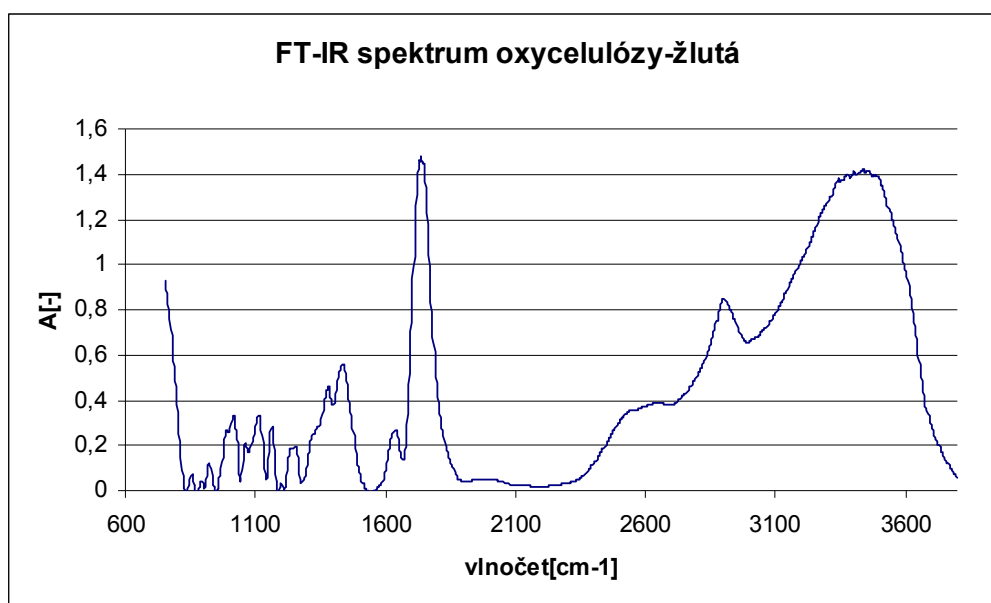
Obrázek 23 UV-VIS spektrum směsi oxycelulózy+atelokolagenu 3:1

## 4.2 Charakterizace pomocí FT-IR

Na obrázku 24,25,26 jsou uvedena FT-IR spektra oxycelulózy a to jak sytě žlutého staršího vzorku tak bílého nového vzorku, dále spektrum atelokolagenu. Jejich vyhodnocení bude provedeno na základě údajů uvedených v dostupné literatuře [35,36].

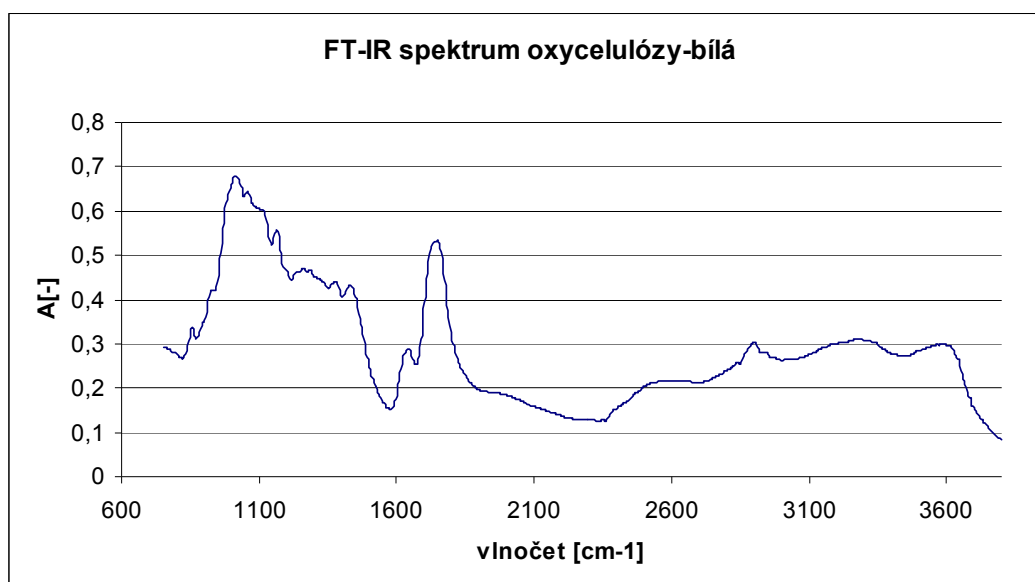
Pro FT-IR spektrum starší žluté oxycelulózy (obr. 24) jsou charakteristické pásy odpovídající zejména karbonylovým skupinám v oblasti  $1750\text{ cm}^{-1}$ . Tento absorpční pás výrazně převyšuje vibrační pásy ostatních skupin. Široký absorpční pás v oblasti  $2400\text{ cm}^{-1}$  až  $3800\text{ cm}^{-1}$  charakterizuje široké spektrum vibračních kmitů CO, COH, avšak také CH, CH<sub>2</sub>. V tomto širokém pásu jsou zřetelná tři ramena, první v oblasti  $2400\text{--}2800\text{ cm}^{-1}$ , který možno přičítat kmitům valenčních vibrací CH<sub>2</sub> s maximy při  $2850\text{ cm}^{-1}$ . Ve druhé oblasti v okolí  $2900\text{ cm}^{-1}$  možno také přisoudit charakteristický pík valenčním kmitům CH vazeb. Do tohoto pásu zasahuje třetí oblast s maximem  $3400\text{ cm}^{-1}$  kde jsou soustředěny valenční kmitů –OH inter-molekulových vodíkových vazeb. Jednak mezi –OH skupinami navzájem a jednak mezi O<sub>3</sub>-H .....O<sub>5</sub> s maximem při  $3305\text{ cm}^{-1}$  a –OH valenční kmitů vazeb inter-molekulových vodíkových a volných hydroxylových skupin v oblasti  $3450\text{ cm}^{-1}$ . Chemické pásy při  $1410\text{--}1610\text{ cm}^{-1}$  odpovídají stopovým nitritům a hydroxyamidickým kyselinám jak tvrdí ve své práci S.S.Gusev se spolupracovníky [37].

Toto hodnocení představuje hrubý fenologický odhad, který odpovídá detailním hodnocením uvedených v pracích W.M.Adrianova a dalších. [38,39].



Obrázek 24 FT-IR spektrum staršího vzorku oxycelulózy

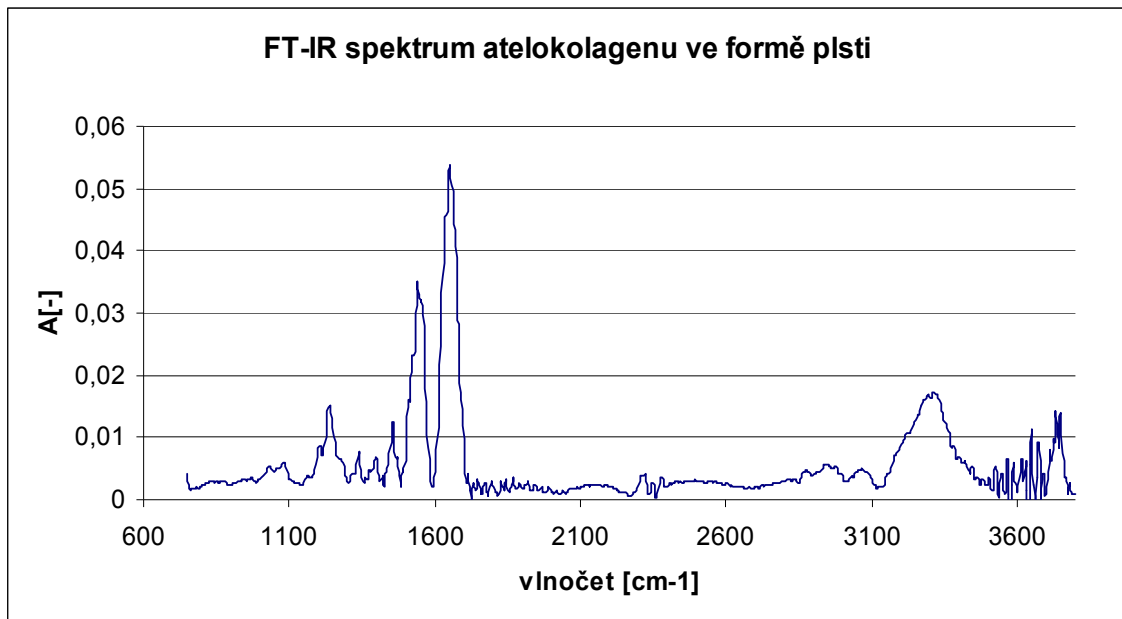
Ze studia FT-IR spekter dvou vzorků oxycelulózy, výrazně žluté-starší(obr.24) a bílé-nové(obr. 25) je zřejmé že stárnutím dochází k výraznému naoxidování struktury oxycelulózy a zejména ke zvýšení obsahu karbonylových skupin s charakteristickým absorpčním pásem při vlnočtu  $1750\text{cm}^{-1}$  a v souvislosti s tím i zesílení pásu odpovídajícímu vibračním kmitům  $\text{-OH}$  skupin v oblasti  $3100\text{-}3600\text{cm}^{-1}$ .



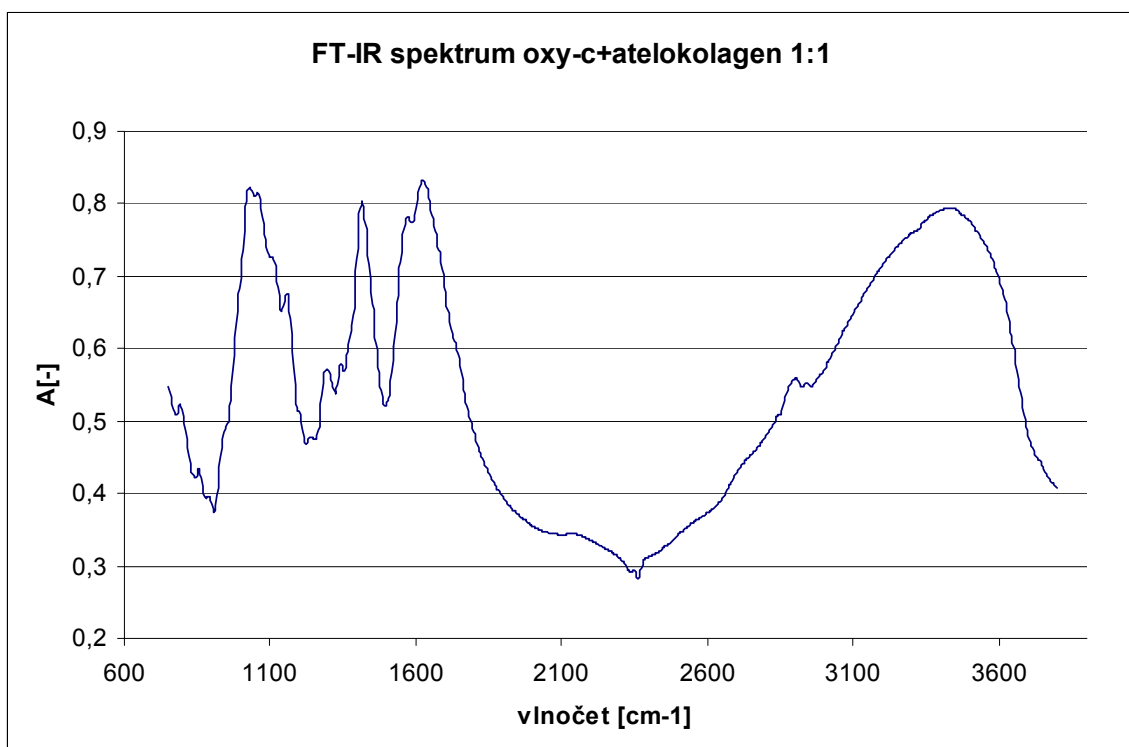
Obrázek 25 FT-IR spektrum nového vzorku oxycelulózy

V FT-IR spektru atelokolagenu (obr 26) jsou charakteristické pásy odpovídající v oblasti  $1400\text{-}1750\text{cm}^{-1}$  skupinám pro proteinistické makromolekuly. Amidické skupiny, příslouchající podle výpočtů sekundárním amidům jsou zahrnuty v uvedeném pásu v oblasti  $1656\text{cm}^{-1}$  ( odpovídá  $\alpha$ -šroubovice) a  $1691,1679,1626$   $\beta$ -rovinným uspořádáním, trojitě šroubovice při  $1638\text{ cm}^{-1}$  a neuspořádaným strukturám  $1647\text{cm}^{-1}$ . Absorpční pásy v oblastech  $1451,1399,1339,1282,1236$  a  $1203$  zahrnuté do širokého pásu jsou připisovány skupinám  $\text{CH}_2$  a  $\text{CH}_3$ , deformačním kmitům a CN vibračním kmitům kolagenu [40].

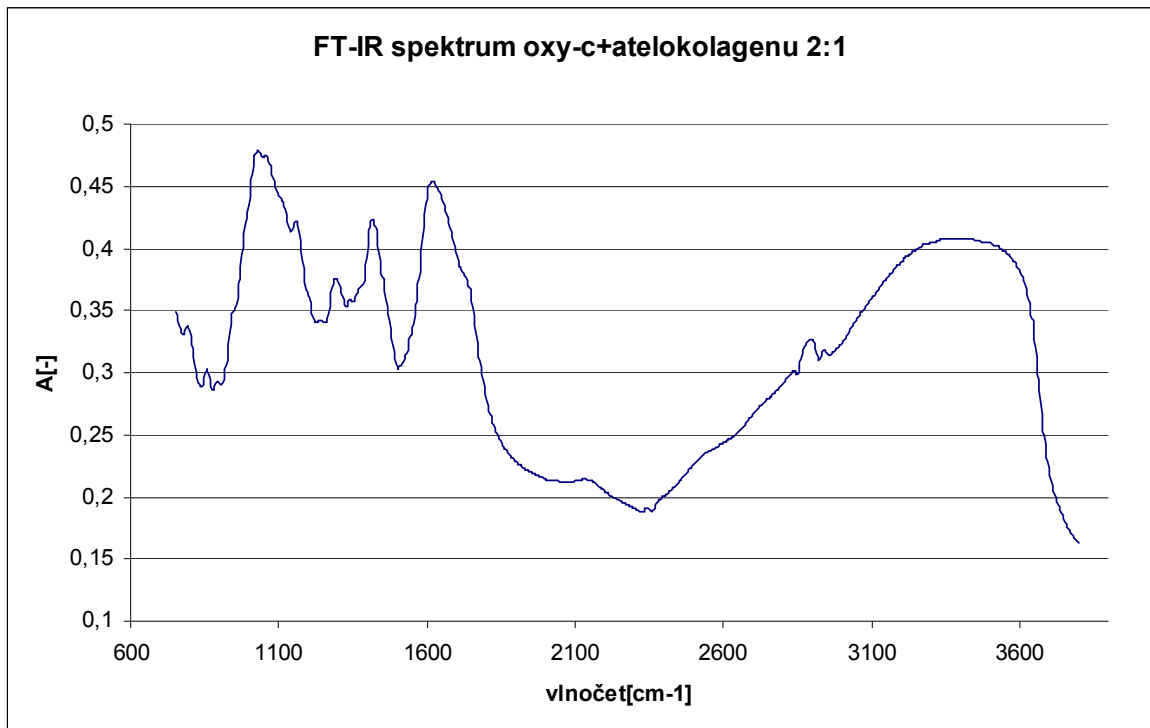
FT-IR spektra směsi bílé oxycelulózy a atelokolagenu v různých poměrech jsou na obrázcích 27,28 a 29. Se vzrůstající koncentrací oxycelulózy se mění celková absorbance systému ve prospěch zřetelného vyprofilování v oblasti  $900\text{-}2100\text{cm}^{-1}$  do gausovských pásů s charakteristickým maximem při  $1100,1750$  a  $1300\text{ cm}^{-1}$ . I v tomto případě bude nutné aplikovat metodu rozpoznání vzorů (pattern recognition) tak aby kombinací parciálních příspěvků vzniklo spektrum experimentálně stanovené.



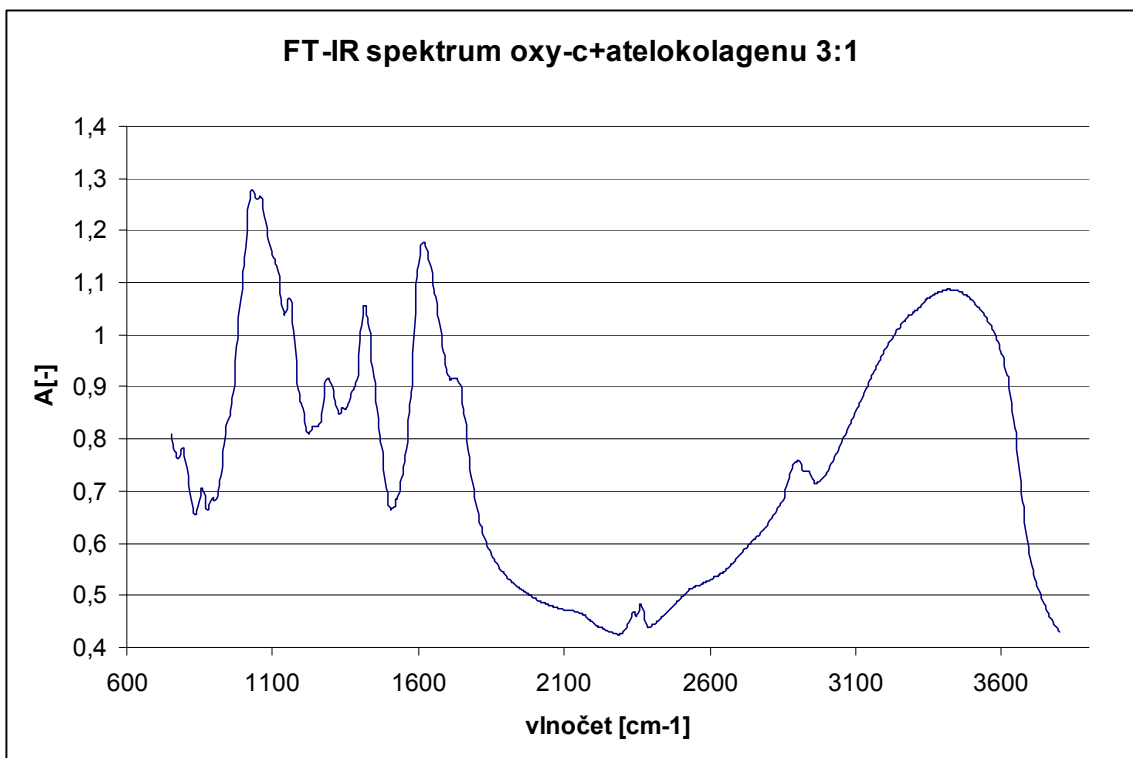
Obrázek 26 FT-IR spektrum atelokolagenu ve formě plsti



Obrázek 27 FT-IR spektrum směsi oxycelulózy a atelokolagenu v poměru 1:1



Obrázek 28 FT-IR spektrum směsi oxycelulózy a atelokolagenu v poměru 2:1



Obrázek 29 FT-IR spektrum směsi oxycelulózy a atelokolagenu v poměru 3:1

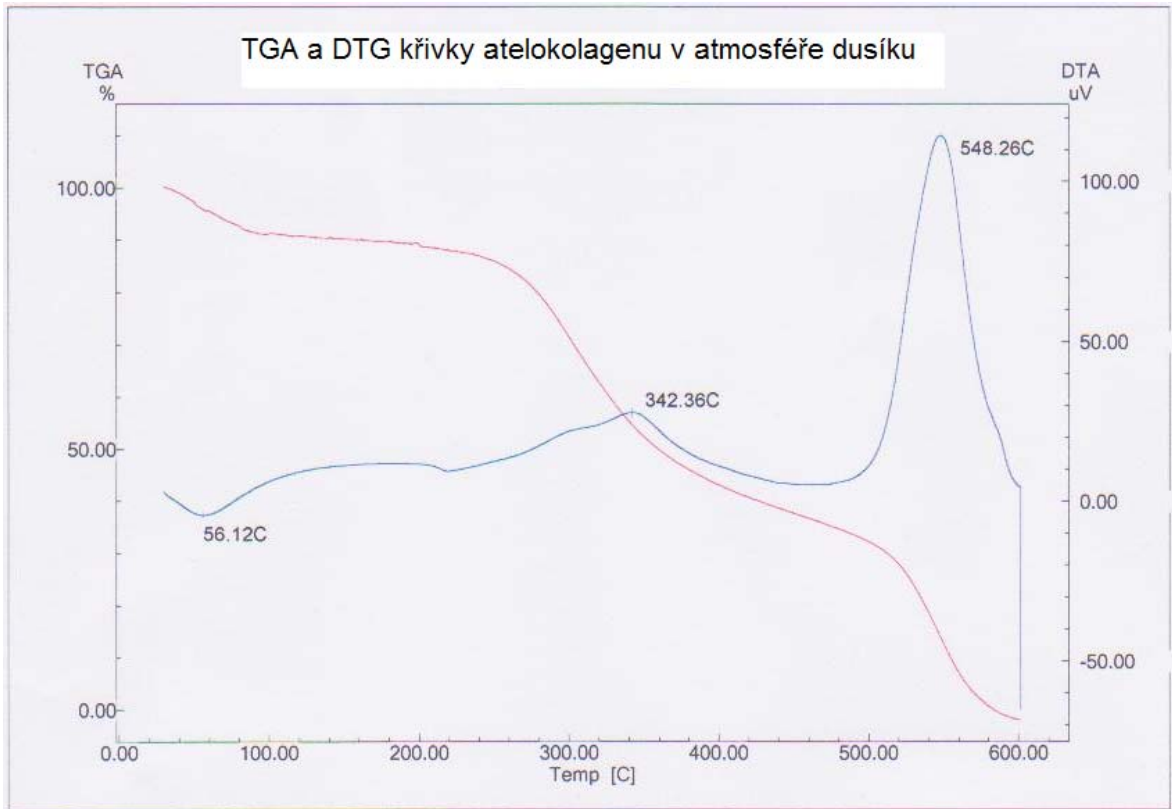
### 4.3 Charakterizace pomocí TG

Všechny termo-gravimetrické měření bylo provedeny v rozsahu teplot od laboratorní teploty do 600°C při rychlosti ohřevu 10°C.min<sup>-1</sup>.

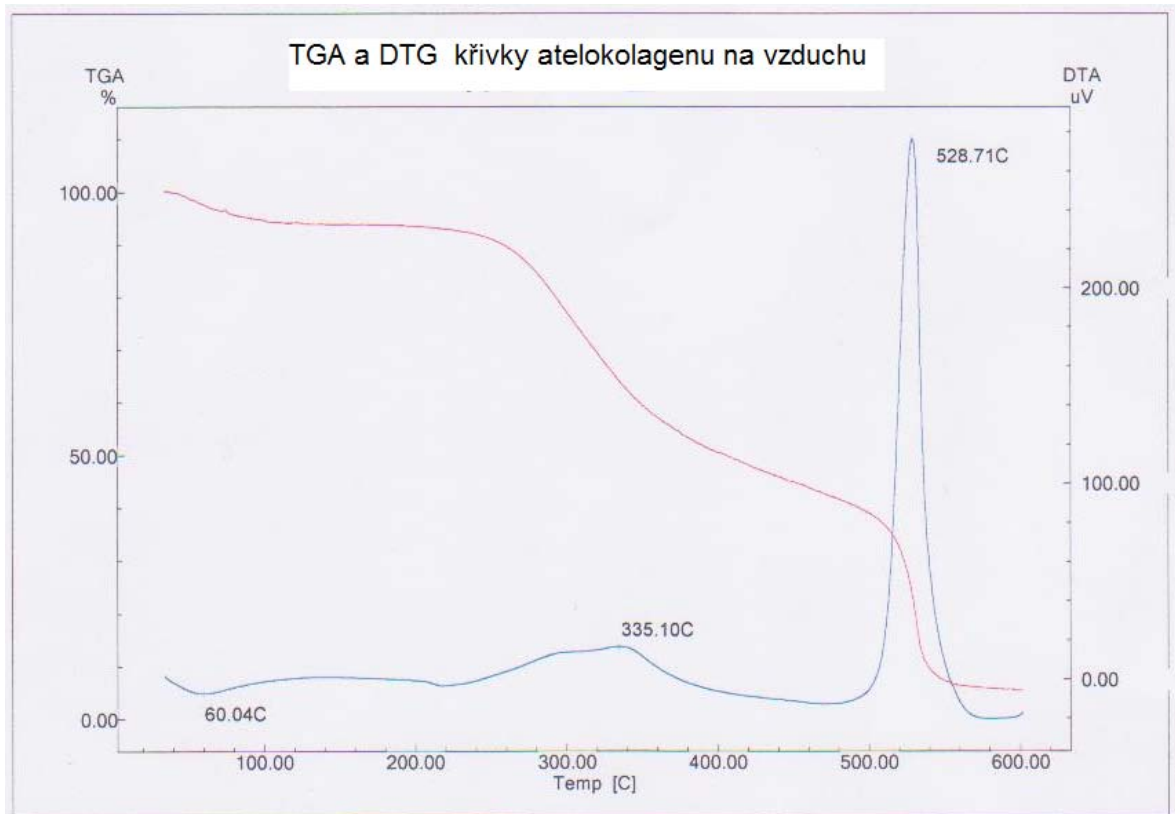
Z obrázku 30 a 31 jsou patrné termo-gravimetrické křivky atelokolagenu a to jak v inertní atmosféře dusíku tak na vzduchu.. Procesní parametry sledují v případě dusíkové atmosféry jednoduchý exponenciální průběh začínající téměř lineárním poklesem hmotnosti vzorků (platí pro oba případy atmosfér) v rozsahu teplot od 25 °C - 200 °C, za kterým následuje exponenciální pokles hmotností v důsledku termického rozkladu v rozmezí teplot 200°C - 460 °C. Prudký spád hmotnosti od 510 °C - 600 °C zřejmě souvisí s totálním zplynováním polymerní matrice na H<sub>2</sub>O a CO<sub>2</sub>. V případě dusíkové atmosféry je proces téměř totožný s atmosférou směsi O<sub>2</sub> + N<sub>2</sub> (vzduch). Jenom strmost spádu TGA při teplotě 500°C - 530 °C je v případě přítomnosti O<sub>2</sub> podstatně strmější. Váhové úbytky atelokolagenu a rozsahy teplot při těchto úbytcích lze nalézt v tabulce 5

Rozsah teplot [°C]	25-200	200-460	460-600
Hmotnostní úbytek v dusíku [%]	-10,122	-50,972	-38,531
Hmotnostní úbytek ve vzduchu [%]	-6,543	-49,691	-38,395

Tabulka 5 Váhové úbytky atelokolagenu na vzduchu a v dusíku při TG měření

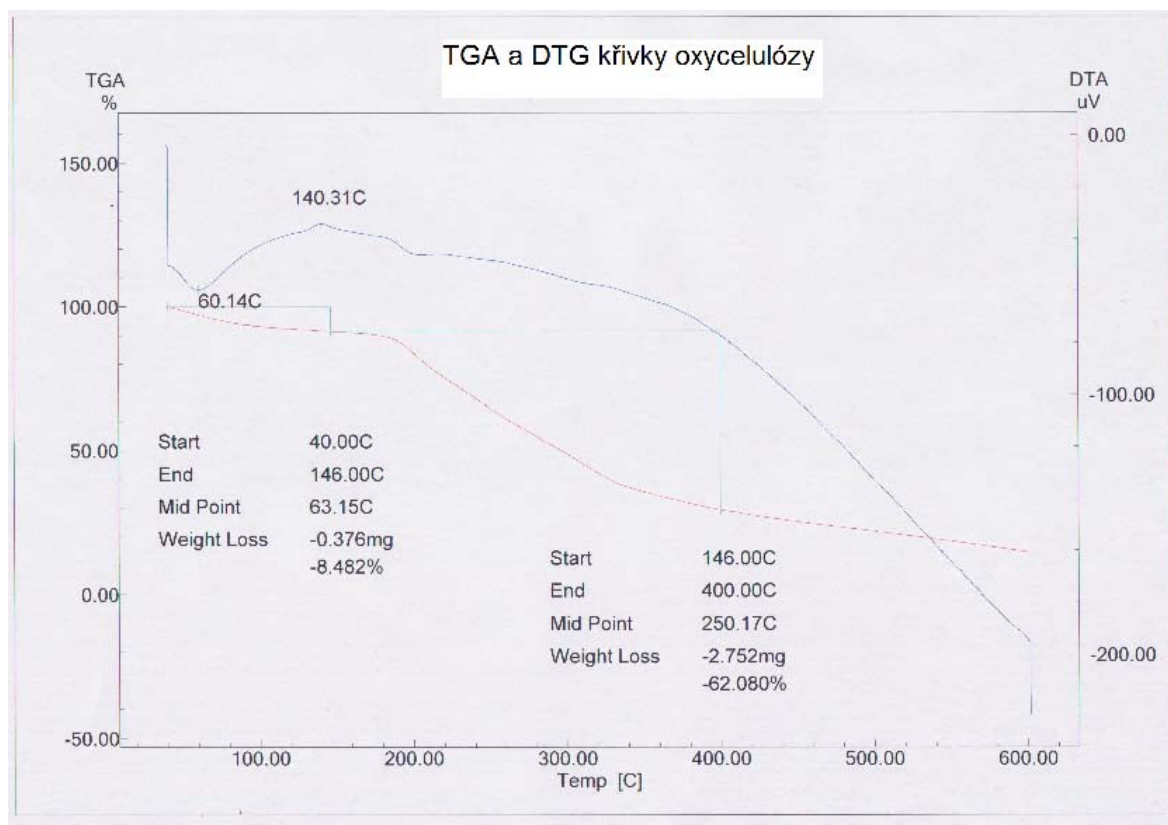


Obrázek 30 TGA (---) a DTG (---) křivky atelokolagenu v atmosféře dusíku



Obrázek 31 TGA (---) a DTG (---) křivky atelokolagenu na vzduchu

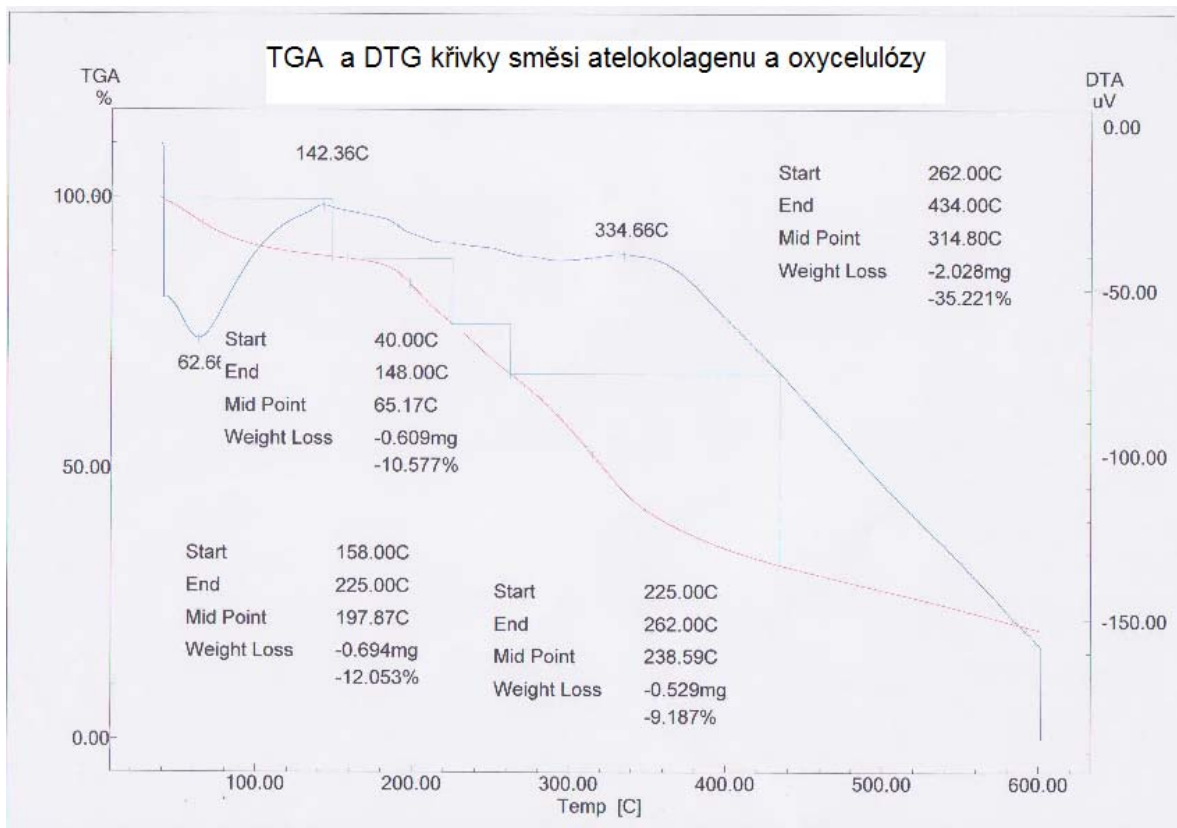
Oxycelulóza představuje složitý systém skupin s různým obsahem kyslíku. Nemožno vyloučit ani přítomnost hydroperoxidů, peroxidů a endoperoxidů. Jak je zřejmé s DTA, TGA analýzy na obrázku 32 termický rozklad tohoto polymeru začíná již při 140°C a končí při 600°C. Spojitý průběh těchto křivek bez zřetelných relativních extrémů naznačuje přítomnost složek o různé morfologii a molární hmotnosti.



Obrázek 32 TGA (---) a DTG (---) křivky oxycelulózy

Při směšování atelokolagenu a oxycelulózy v poměru 1:2 počíná proces termické degradace taktéž už při 140°C (obr 33) a jako u samotné oxycelulózy. Křivka TGA a TDA nemá taktéž výrazný extrém avšak celkový posun do vyšších teplot svědčí o vzájemné interakci a procítění studovaného materiálu.





Obrázek 33 TGA (---) a DTG (---) křivky směsi atelokolagenu a oxycelulózy

## ZÁVĚR

V předložené bakalářské práci je uvedeno souhrnné pojednání o vybraných polysacharidech, jejich struktuře a jejich aplikaci v biomedicině. Zvláštní pozornost je věnována rozpustnosti celulózy a jejích derivátů a možnosti jejich degradační transformace vedoucí ke změně struktury a biologických vlastností. Ve třetí části se pojednává o kolagenu jako potencionálním partneru pro přípravu kompaundů s polysacharidy. Tyto kompaundy představují významnou složku živé hmoty. Charakterizace oxycelulózy, atelokolagenu a jejich směsí je zevrubně uvedena ve čtvrté části. Spektra UV-VIS, FT-IR jsou doplněna měřením základních termodynamických charakteristik TGA a DTG.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- 1.WENKE M.:Farmakologie, Avicenum, Praha 1990, str. 24-41.
- 2.DROBNÍK J.: Použití polymerů ve farmakologii, UMCH, AV ČR, Praha 1977, Edice makro S-1
- 3.KOMÁREK J., MRÁZEK J., ŠRÁMEK M.: Deriváty celulózy, Státní nakladatelství technické literatury, Praha 1966
- 4.KUFFER A.:Deriváty celulózy, VÚPC v Bratislavě 1961
- 5.BLAŽEJ A.,MICHLÍK I.:Nekovové materiály, VUT v Brně 1975
- 6.BLAŽEJ.A., ŠUTÝ L., KOŠÍK M, a spol.:Chemia Dreva, Alfa, Bratislava 1975
- 7.LAPČÍK L. a kol.:Celulóza její modifikace a nové aplikační možnosti, studie UFMI FT UTB Zlín 2001, str 1-60
- 8.PÍŠARČÍK M.:Disertační práce (školitel prof. Lapčík), CHTF SVŠT, Bratislava 1983
- 9.BLAŽEJ A., KOŠÍK M.: Fytomasa jako chemická surovina, vydavatelství VEDA Bratislava 1985
- 10.KOPEČEK J.:Polymery v lékařství,UMCH, AV ČR, Praha 1982, Edice makro K-36
- 11.CZAJA W.K., YOUNG D.J.,KAWECKI M, aj:The future Prospekt of microbial Celulose in bionmedical application, University of Texas at Austin, Austin, Texas and Institute of Technical Biochemistry, Technical University of Lodz, Stefanowskiego, Poland 2007
- 12.HOENICH N.: Cellulose for medical applications: past, present and future, School of Clinical Medical Sciences, Newcastle University, United Kingdom 2006
13. © Johnson & Johnson, s. r. o. 2010: Hemostatika [online] 05. 01. 2009--- [cit.25.5.2010] Dostupné na World Wide Web: < <http://www.jnjcz.cz/text-mdd-ethicon-sici-materialy-hemostatika.html> >
- 14.SENOO Manabu: Polymers for Medical Applications, Tokio 2001
- 15.FAMÁ L., GOYANES S, GERSCHENSON L.:Carbohydráte polymers 70,356-273 (2007)
- 16.JEON O., a spol.: Carbohydrate polymers 70, 251-257 (2007)
- 17.GWARK S.J., a spol: Biotechnology 26, 505-508 (2004)
- 18.HUANG L., a spol: Biomedical Materiále Res. 66,880-884 (2003)

- 19.KIM B.S., a spol, Control Release 105, 249-259 (2005)
- 20.RYN J.H., a spol: Biomaterials 26,319-326(2005)
- 21.KWEON D.K, SONG S.B., PARK Y.Y: Biomaterials 24,1595(2003)
- 22.WANG J.L, a spol.:Control Release 106,62(2005)
- 23.YAMAGUCHI I, a spol: Biomaterials 24, 62(2005)
- 24.CLARK R.A.F(*Ed*), The molecular and cellularbiology of wound repair, New York 1996
25. MUZZARELLI R.A.A, a spol.:Chitin nanofibrils v morfologii P.K Dutta Chitin and Chitosan, New Delhi 2005
- 26.MUZZARELLI R.A.A, a spol.:Biochemistry, histology and clinical use sof chitins and chitosans in wound healing, Basel 1999
- 27.KOJIMA K., a spol.:Journel of Veterinary and Medical Science 66, 1595(2004)
- 28.KULPINSKI P.:Applications polymer scientys 98,1793(2005)
- 29.KARNIVAN V.P.:Metody iss. Cellulozy, Zinatne, Rija 1981
- 30.TALÁBA P., a spol: Chem listy 88, 779(1994)
- 31.KENNEDY J.F, a spol.:Celulose, struktura and functional aspects,Chichestr 1989
- 32.PETERKOVÁ P., LAPČÍK L Jr.:Chemické listy 94, 371-379 (2000)
- 33.UNRUH C.C,McGEE P.A, FOWLER W.F., KENYON W.O, J.Am.Chem.Soc.69,349(1947), ibis 64,127(1942)
- 34.ZHBANKOV R.G..Infrared Spektra of celuloze and its Deratives, UMI, Ann Argot, MI, str.119-122
- 35.HORÁK M., PAPOUŠEK D.: Infračervená spektra a struktura molekul, Academia, Praha 1976
- 36.MATHLOUTHI M.,KOENIG J.L.: Advencis in carbohydrate chemistry and biochemis-try, Academia press vol.44, New York 1986
- 37.GUSEV S.S GRINSHPAN, D.D. and KAPUTSKII, F.N (1976) Infrared spektra of pro-dukt sof celluloze oxidation by nitrogen synthesi. Zh. Prikl. Spektrosk.,24,716-19.
- 38.ANDRIANOV.V.M,ZHVANKON. R.G, a spol, Zh. Struk.Khin, 21 (1980) 35-41;85-90
- 39.HINENO M.: Carbohydrates, Res., 56(1977)219-227
- 40.PETIBOIS C.,GOUSPILLOU G.,DELAGE J.P, a spol.: Anal BioanalChem 386,1961-1966(2006)

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

CA	acetát celulózy
CAB	butyro-acetát celulózy
CaCMC	vápenatá sůl karboxymetyl celulózy
CMHEC	karboxymethylhydroxyetyl celulóza
CN	nitrát celulózy
CAP	acetoftalát celulózy
CAPr	acetopropionát celulózy
CAT	Ester celulózy s kys. citrónovou
DMSO	dimetylsulfoxid
EC	etyl celulóza
EHEC	etylhydroxyetyl celulóza
FT-IR	Fourier transform-infra red spectroscopy
HBMC	hydroxybutylmetyl celulóza
HEC	hydroxyetyl celulóza
HPC	hydroxyprooyl celulóza
HPCA	hydroxypropylacetát celulóza
HPMC	hydroxypropylmetyl celulóza
HPMCAS	Hydroxy propyl metyl celulóza acetyl salicilát
PHCS	Propyl hydroxy etyl celulóza
PLLA	Kyselina mléčná
HPMCP	hydroxypropylmetyl propionát celulózy
MC	sodná sůl karboxy metyl celulózy
MEC	metaetyl celulóza
MHEC	methylhydroxyetyl celulóza
NaCMC	sodná sůl karboxymetyl celulózy
TG	termo-gravimetrie
UV	ultrafialová oblast
VIS	viditelná oblast světla

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

OBRÁZEK 1 SCHÉMA OSUDU LÁTKY V ORGANISMU. JEN VOLNÉ MOLEKULY MOHOU PŘECHÁZET Z JEDNOHO PROSTŘEDÍ DO DRUHÉHO.....	12
OBRÁZEK 2 ALFA GLUKÓZA.....	15
OBRÁZEK 3 BETA GLUKÓZA.....	15
OBRÁZEK 4 MALTÓZA.....	15
OBRÁZEK 5 CELOBÍÓZA.....	15
OBRÁZEK 6 ŠKROB.....	15
OBRÁZEK 7 CELULÓZA.....	16
OBRÁZEK 8 ZÁVISLOST OBSAHU DUSÍKU V NITROCELULÓZE NA STUPNI SUBSTITUCE.....	20
OBRÁZEK 9 CELULÓZA S OČÍSLOVANÝMI UHLÍKY PODLE REAKTIVNOSTI.....	20
OBRÁZEK 10 CHEMICKÁ STRUKTURA DOVANÉ CELULÓZY.....	22
OBRÁZEK 11 STRUKTURA MODIFIKOVANÉ CELULÓZY.....	28
OBRÁZEK 12 KONCENTRACE POLYMERU V JEDNOTLIVÝCH VRSTVÁCH.....	30
OBRÁZEK 13 DVA TYPY DEGRADAČNÍCH REAKCÍ A-STATICKÝ B- ODLUPOVACÍ REAKCE..	32
OBRÁZEK 14 SYSTÉM LÉČIVA SITUOVANÉHO NA POLYMERNÍM NOSIČI.....	34
OBRÁZEK 15 MIKROBIÁLNÍ CELULÓZA.....	38
OBRÁZEK 16 PRAKTICKÉ POUŽITÍ MIKROBIÁLNÍ CELULÓZY JAKO OBVAZU NA KOŽNÍ PORANĚNÍ.....	38
OBRÁZEK 17 STRUKTURA MIKROBIÁLNÍ CELULÓZY PŘI POUŽITÍ JINÉHO TYPU BAKTERIÍ...39	
OBRÁZEK 18 TYPY KOLAGENU STOČENÉ DO SUPERŠROUBOVICE.....	44
OBRÁZEK 19 UV-VIS SPEKTRUM OXYCELULÓZY VE VODNÉM ROZTOKU.....	47
OBRÁZEK 20 UV-VIS SPEKTRUM ATELOKOLAGENU.....	48
OBRÁZEK 21 UV-VIS SPEKTRUM SMĚSI OXYCELULÓZY+ATELOKOLAGENU 1:1.....	48
OBRÁZEK 22 UV-VIS SPEKTRUM SMĚSI OXYCELULÓZY+ATELOKOLAGENU 2:1.....	49
OBRÁZEK 23 UV-VIS SPEKTRUM SMĚSI OXYCELULÓZY+ATELOKOLAGENU 3:1.....	49
OBRÁZEK 24 FT-IR SPEKTRUM STARŠÍHO VZORKU OXYCELULÓZY.....	50
OBRÁZEK 25 FT-IR SPEKTRUM NOVÉHO VZORKU OXYCELULÓZY.....	51
OBRÁZEK 26 FT-IR SPEKTRUM ATELOKOLAGENU VE FORMĚ PLSTI.....	52
OBRÁZEK 27 FT-IR SPEKTRUM SMĚSI OXYCELULÓZY A ATELOKOLAGENU V POMĚRU 1:1 .	52
OBRÁZEK 28 FT-IR SPEKTRUM SMĚSI OXYCELULÓZY A ATELOKOLAGENU V POMĚRU 2:1 .	53
OBRÁZEK 29 FT-IR SPEKTRUM SMĚSI OXYCELULÓZY A ATELOKOLAGENU V POMĚRU 3:1 .	53
OBRÁZEK 30 TGA A DTG KŘIVKY ATELOKOLAGENU V ATMOSFÉŘE DUSÍKU.....	55
OBRÁZEK 31 TGA A DTG KŘIVKY ATELOKOLAGENU NA VZDUCHU.....	55
OBRÁZEK 32 TGA A DTG KŘIVKY OXYCELULÓZY.....	56
OBRÁZEK 33 TGA A DTG KŘIVKY SMĚSI ATELOKOLAGENU A OXYCELULÓZY.....	57



**SEZNAM TABULEK**

TABULKA 1 ZÁVISLOST POLYMERACNÍHO STUPNĚ CELULÓZY NA JEJÍM DRUHU.....	16
TABULKA 2 STUPEŇ ESTERIFIKACE CELULÓZY V ZÁVISLOSTI NA SLOŽ. REAKČNÍ SMĚSI .	21
TABULKA 3 PŘEHLED DERIVÁTŮ CELULÓZY .....	29
TABULKA 4 TYPY KOLAGENŮ .....	45
TABULKA 5 VÁHOVÉ ÚBYTKY ATELOKOLAGENU NA VZDUCHU A V DUSÍKU PŘI TG.....	54