

# PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

Zveřejněná podle §31 zákona č. 527/1990 Sb.

(21) Číslo dokumentu:

## 2014-53

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl.:

*C08G 63/12* (2006.01)  
*C08G 63/08* (2006.01)  
*C08G 63/60* (2006.01)  
*C08G 63/82* (2006.01)  
*C08G 63/91* (2006.01)  
*C08L 67/04* (2006.01)

(19)  
ČESKÁ  
REPUBLIKA



ÚŘAD  
PRŮMYSLOVÉHO  
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **23.01.2014**  
(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **13.05.2015**  
(Věstník č. 19/2015)

- (71) Přihlašovatel:  
Vysoké učení technické v Brně, Brno, CZ
- (72) Původce:  
Ing. Lucy Vojtová, Ph.D., Měnin, CZ  
Ing. Lenka Michlovská, Břeclav, CZ  
Ing. Jana Oborná, Měnin, CZ  
prof. RNDr. Josef Jančář, CSc., Brno- Kohoutovice,  
CZ  
prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc., Brno- Veverčí,  
CZ
- (74) Zástupce:  
INVENTIA s.r.o., RNDr. Kateřina Hartvichová, Na  
Bělidle 3, 150 00 Praha 5

(54) Název přihlášky vynálezu:  
**Biodegradabilní hydrogel s řízenou dobou  
života a způsob jeho přípravy**

- (57) Anotace:  
Předkládané řešení poskytuje biodegradabilní hydrogel s řízenou dobou života připravitelný z blokového kopolymeru  $\alpha,\omega$ -itakonyl[(polylaktid-co-polyglykolid)-b-polyethylenglykol-b-(polylaktid-co-polyglykolid)] síťováním pomocí chladného modrého světla za katalýzy směsí kafrchinonu a terciárního aminu bez přítomnosti síťovacího činidla. Dále řešení zahrnuje způsob přípravy biodegradabilního hydrogelu podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, kdy se nejprve modifikuje blokový kopolymer b-(polylaktid-co-polyglykolid)-b-polyethylenglykol-b-(polylaktid-co-polyglykolid) anhydridem kyseliny itakonové, a následně se vytvořený modifikovaný blokový kopolymer chemicky zesílí pomocí chladného modrého světla za katalýzy směsí kafrchinonu a terciárního aminu při teplotě v rozmezí 23 až 130 °C, bez použití síťovacího činidla.

TAK

-1-

1/1

PV 2014-53

## Biodegradabilní hydrogel s řízenou dobou života a způsob jeho přípravy

### Oblast techniky

Předkládaný vynález se týká biodegradabilního hydrogelu s řízenou dobou života a způsobu jeho přípravy.

### Dosavadní stav techniky

V průběhu posledních dvou desetiletí se biodegradabilní polymery a jejich kopolymery dostaly do popředí vědeckého zájmu v biomedicině a nacházejí uplatnění jak v oblasti tkáňového inženýrství, buněčných terapií, tak i jako nosiče léčiv. Nejvíce jsou studované alifatické polyestery, jejichž esterová vazba podléhá homogenní hydrolyze. Nejznámější z nich je polyglykolid (PGA), polylaktid (PLA) a jejich statistický kopolymer polylaktid-copolyglykolid (PLGA). Kopolymer nese vlastnosti jednotlivých homopolymerů a navíc jde změnou poměru PGA/PLA nastavit rychlost jeho hydrolytické degradace. Často bývá hydrofobní PLGA modifikován hydrofilním polyetylglykolem (PEG). Nejvíce studovaný triblokový kopolymer PLGA-PEG-PLGA je netoxický, biodegradabilní, biokompatibilní a termo-citlivý. Ve vodném roztoku je PLGA-PEG-PLGA při pokojové teplotě tekutý a při teplotě lidského těla přechází na tuhý hydrogel (YU, Lin, Huan ZHANG a Jiandong DING. Effects of precipitate agents on temperature-responsive sol-gel transitions of PLGA-PEG-PLGA copolymers in water. Colloid and Polymer Science. 2010, roč. 288, 10<sup>2</sup>11, s. 1151-1159; PRATOOMSOOT, Chayanin, Hidetoshi TANIOKA, Kuniko HORI, Satoshi KAWASAKI, Shigeru KINOSHITA, Patrick J. TIGHE, Harminder DUA, Kevin M. SHAKESHEFF a Felicity Rosamari A.J. ROSE. A Thermoreversible Hydrogel as a biosynthetic bandage for corneal wound repair. Biomaterials. 2008, roč. 29, č. 3, s. 272-281). Po stanovené době se rozloží na netoxické produkty a poté Krebsovým cyklem až na vodu a oxid uhličitý. Komerčně je tento triblokový kopolymer známý jako injekčně vstřikovatelný nosič léčiv ReGel® a byl použit například jako nosič inzulínu pro léčbu Diabetes mellitus 1. typu (ZENTNER, Gaylen M, Ramesh RATHI, Chung SHIH, James C. MCREA, Min-Hyo SEO, Hunseung OH, B.G. RHEE, Jiri MESTECKY, Zina MOLDOVEANU, Michael MORGAN a Steve WEITMAN. Biodegradable block copolymers for delivery of proteins and water-insoluble drugs. Journal of Controlled Release. 2001, roč. 72, 1-3, s. 203-215). V

kombinaci s léčivem paclitaxel se používá pod názvem OncoGel® při léčbě rakoviny (ELSTAD, Nancy L. a Kirk D. FOWERS. OncoGel (ReGel/paclitaxel) - Clinical applications for a novel paclitaxel delivery system. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2009, roč. 61, č. 10, s. 785-794).

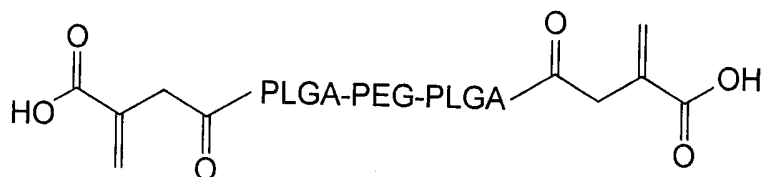
Nicméně, vzhledem k tomu, že termogelační sol-gel proces je reverzibilní (vratný) a kopolymery mají nízký stupeň funkcionality (obsahují pouze hydroxylové funkční skupiny), je jejich použití v medicíně značně omezené. Z tohoto důvodu je velká pozornost věnována právě modifikaci funkčními skupinami a chemickému (nevratnému) síťování těchto materiálů, čímž se rozšíří jejich možnosti aplikace. Chemické síťování pozitivně ovlivňuje rychlost a mechanismus degradace polymerů. Výsledné hydrogely jsou stabilnější, a proto degradují pomaleji (ZALDIVAR, D, C PENICHE, A GALLARDO a J ROMAN. Biocompatible hydrogels of controlled hydrophobicity from copolymers of N-vinyl-2-pyrrolidone and furfuryl methacrylate. *Biomaterials*. 1993, roč. 14, č. 14, s. 1073-1079). Tyto vlastnosti jsou upřednostňovány zejména u dočasných ortopedických implantátů, které během hojení a růstu lidské kosti pozvolna degradují (KHARAS, Gregory B., Marina KAMENETSKY, James SIMANTIRAKIS, Kimberly C. BEINLICH, Ann-Marie T. RIZZO, Gretchen A. CAYWOOD a Kenneth WATSON. Synthesis and characterization of fumarate-based polyesters for use in bioresorbable bone cement composites. *Journal of Applied Polymer Science*. 1997, roč. 66, č. 6, 1123-1137; MUGGLI, Dina Svaldi, Amy K. BURKOTH, Sarah A. KEYSER, Hyun R. LEE a Kristi S. ANSETH. Reaction Behavior of Biodegradable, Photo-Cross-Linkable Poly(anhydrides). *Macromolecules*. 1998, roč. 31, č. 13, s. 4120-4125).

Za účelem získání funkcionalizovaných polymerů vhodných k síťování byly hydroxyly terminované poly( $\epsilon$ -kaprolakton), polylaktid (PLA) a polyglykolid (PGA) modifikovány anhydridem kyseliny maleinové, kyselinou fumarovou, akryláty, anhydridem kyseliny methakrylové a (3-izokyanátpropyl)triethoxysilanem (HAN, Yang-Kyoo, Peter G. EDELMAN a Samuel J. HUANG. Synthesis and Characterization of Crosslinked Polymers for Biomedical Composites. *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry*. 1988, roč. 25, 5-7, s. 847-869; TURUNEN, Markus PK, Harri KORHONEN, Jukka TUOMINEN a Jukka V SEPPÄLÄ. Synthesis, characterization and crosslinking of functional star-shaped poly( $\epsilon$ -caprolactone). *Polymer International*. 2002, roč. 51, č. 1, s. 92-100; HAN, Dong Keun a Jeffrey A. HUBBELL. Synthesis of Polymer Network Scaffolds from L-Lactide and Poly(ethylene glycol) and Their Interaction with Cells. *Macromolecules*. 1997, roč. 30, č. 20,

s. 6077-6083; HELMINEN, A., H. KORHONEN a J.V. SEPPÄLÄ. Biodegradable crosslinked polymers based on triethoxysilane terminated polylactide oligomers. *Polymer*. 2001, roč. 42, č. 8, s. 3345-3353. ISSN 00323861; TIAN, D., Ph. DUBOIS a R. JÉRÔME. Biodegradable and biocompatible inorganic-organic hybrid materials. I. Synthesis and characterization. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 1997, roč. 35, č. 11, 2295-230; KORHONEN, Harri, Antti HELMINEN a Jukka V SEPPÄLÄ. Synthesis of polylactides in the presence of co-initiators with different numbers of hydroxyl groups. *Polymer*. 2001, roč. 42, č. 18, s. 7541-7549).

Použití anhydridu kyseliny itakonové pro modifikaci polymerů bylo publikováno pouze v případě modifikace poly( $\epsilon$ -kaprolaktonu) (TURUNEN et al. *Polymer International*. 2002, roč. 51, č. 1, s. 92-100), poly( $\epsilon$ -kaprolaktonu)/PEG (RAMOS, Monica. *Multi-component Hydrophilic-hydrophobic Systems from Itaconic Anhydride*. United States, 2002. *Doctoral Dissertations*. University of Connecticut) a v nedávné době původci tohoto vynálezu, kde byly studovány podmínky funkcionalizace PLGA-PEG-PLGA triblokového kopolymeru (MICHLOVSKÁ, Lenka, Lucy VOJTOVÁ, Ludmila MRAVCOVÁ, Soňa HERMANOVÁ, Jiří KUČERÍK a Josef JANČÁŘ. *Functionalization Conditions of PLGA-PEG-PLGA Copolymer with Itaconic Anhydride*. *Macromolecular Symposia*. 2010, roč. 295, č. 1, s. 119-124). Zesíťované polyestery vznikly vytvrzováním těchto funkcionalizovaných polymerů s použitím termoiniciátorů, redoxních systémů nebo fotoiniciátorů (LANG, Meidong a Chih-Chang CHU. *Functionalized multiarm poly( $\epsilon$ -caprolactone)s: Synthesis, structure analysis, and network formation*. *Journal of Applied Polymer Science*. 2002-11-28, roč. 86, č. 9, s. 2296-2306; LANG, Meidong, Renee Pusan WONG a Chih-Chang CHU. *Synthesis and structural analysis of functionalized poly ( $\epsilon$ -caprolactone)-based three-arm star polymers*. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 2002-04-15, roč. 40, č. 8, s. 1127-1141; BURDICK, Jason A., Laney M. PHILPOTT a Kristi S. ANSETH. *Synthesis and characterization of tetrafunctional lactic acid oligomers: A potential in situ forming degradable orthopaedic biomaterial*. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*. 2001, roč. 39, č. 5, 683-692; TOREY, Robson F., Jeffrey S. WIGGINS, Kenneth A. MAURITZ a Aaron D. PUCKETT. *Bioabsorbable composites. I: Fundamental design considerations using free radically crosslinkable matrices*. *Polymer Composites*. 1993, roč. 14, č. 1, s. 7-16; HAN, Yang-Kyoo, Peter G. EDELMAN a Samuel J. HUANG. *Synthesis and Characterization of Crosslinked Polymers for Biomedical Composites*. *Journal of Macromolecular Science: Part A - Chemistry*. 1988, roč. 25, 5-7, s. 847-869; WO 03033563).

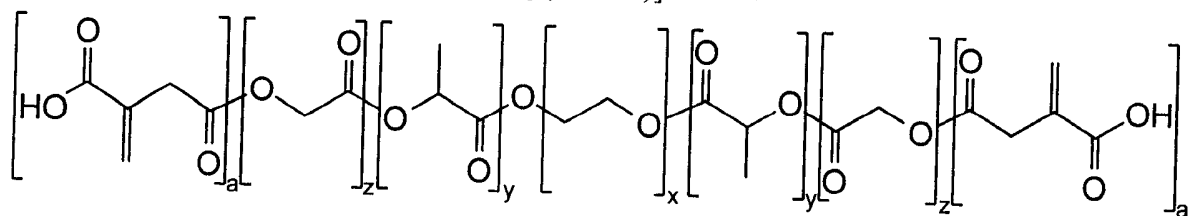
Původci tohoto vynálezu byla nedávno publikována modifikace PLGA-PEG-PLGA kopolymeru pomocí anhydridu kyseliny itakonové za vzniku ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA:



Anhydrid kyseliny itakonové může být získán z obnovitelných zdrojů jak destilací kyseliny citrónové, tak pyrolýzou kyseliny itakonové. Ta vzniká v současné době převážně fermentací polysacharidů (např. z melasy a vedlejších produktů cukrovarnického průmyslu) pomocí bakterie *Aspergillus terreus* (US 6,171,831). Je obecně známé, že anhydrid kyseliny itakonové podléhá za fyziologických podmínek degradaci na netoxické produkty, kdy nejprve hydrolyzuje ve vodě na kyselinu itakonovou. Adler a kol. zjistili, že kompletní oxidací kyseliny itakonové pomocí mitochondrií získaných z jater morčat v přítomnosti  $Mg^{2+}$  vzniknou jako hlavní degradační produkty acetát, laktát a oxid uhličitý (ADLER, Julius, Shu-Fang WANG a LARDY. The Metabolism of Itaconic Acid by Liver Mitochondria. Journal of Biological Chemistry. 1957, roč. 229, č. 2, s. 865-879).

### Podstata vynálezu

Předmětem předkládaného vynálezu je biodegradabilní hydrogel s řízenou dobou života připravitelný z blokového kopolymeru  $\alpha,\omega$ -itakonyl[b-(polylaktid-co-polyglykolid)-b-polyethylenglykol-b-(polylaktid-co-polyglykolidu)] vzorce



(I)

kde polymerační stupeň

x (PEG) je v rozmezí 22 až 35;

2y (LA) nezávisle je v rozmezí 19 až 41;

2z (GA) nezávisle je v rozmezí 7 až 18;

a stupeň substituce

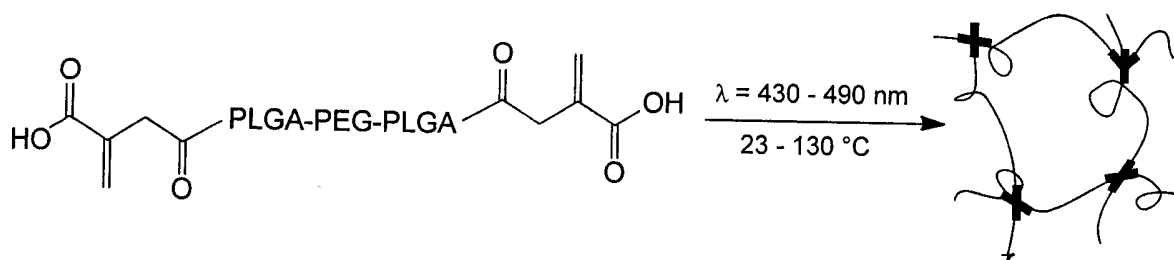
2a (ITA) na koncích kopolymeru za původní  $-OH$  skupiny je v rozmezí 0,35 až 2, sít'ováním pomocí chladného modrého světla za katalýzy směsí kafrechinu a terciárního aminu bez přítomnosti sít'ovacího činidla.

Terciárním aminem je s výhodou látka obecného vzorce  $R_3N^+X^-$ , kde každý R je nezávisle vybrán z  $C1^{\text{C}}4$  alkylů, a X je anion karboxylové kyseliny, např. metakrylát, akrylát, benzoát. Výhodněji je terciární amin vybrán ze skupiny zahrnující 2-(diethylamino)etyl metakrylát (DEAEM), etyl-4-(dimethylamino)benzoát.

Kafrechinon (CQ) je triviální název alifatického diketonu 1,7,7-trimethyl-bicyklo(2,2,1)-heptan-2,3-dionu, který má maximální účinnost při vlnové délce 468 nm. Kafrechinon se v inertní atmosféře snadno redukuje na  $\alpha$ -hydroxyketony, zatímco v přítomnosti kyslíku se částečně oxiduje na málo reaktivní monoester a anhydrid kyseliny kafrové. Z tohoto důvodu je výhodnější provádět sít'ování v přítomnosti inertní atmosféry, např. dusíku.

Chladné modré světlo je záření o vlnové délce v rozmezí 430 až 490 nm, běžně používané například v zubním lékařství k bělení zubů.

Předmětem předkládaného vynálezu je dále způsob přípravy biodegradabilního hydrogelu podle vynálezu, při němž se nejprve modifikuje blokový kopolymer b-(polylaktid-co-polyglykolid)-b-polyethylenglykol-b-(polylaktid-co-polyglykolid) anhydridem kyseliny itakonové, a následně se vytvořený modifikovaný blokový kopolymer vzorce I chemicky zesít'uje pomocí chladného modrého světla za katalýzy směsí kafrechinu a terciárního aminu při teplotě v rozmezí 23 až 130 °C, bez použití sít'ovacího činidla.



Pro dokonalé rozpuštění všech komponent a dokonalou homogenizaci reakční směsi mohou být použita organická rozpouštědla, např. aceton, tetrahydrofuran, dichlormethan, toluen, nebo jejich směsi, které se po připravení reakční směsi a nadávkování do formičky odpaří.

Rozpouštědla mohou být použita přímo v kvalitě p.a. nebo po přečištění např. destilací při normálním nebo sníženém tlaku, případně sušením hygroskopickými látkami (hydrid vápenatý, uhličitan vápenatý, kovový sodík/benzofenon atd.).

### Objasnění výkresů Popis vyobrazení

Obr. 1: Botnání a degradace ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA vzorků ve vodě při 20 °C.

Obr. 2: Vzorky hydrogelů a) ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA (s 37 mol% ITA) a b) ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA (s 63 mol% ITA) v nabotnaném stavu po 11. dni botnání ve vodě při laboratorní teplotě.

Obr. 3: Úbytek dvojných vazeb a nárůst nových RRC-CHR vazeb během síťování stanovených pomocí ATR-FTIR spektroskopie.

Obr. 4: Procentuální zastoupení jednotlivých vazeb v ATR-FTIR spektrech k nesíťovaným kopolymerům.

Obr. 5: Termální stabilita nesíťovaných a síťovaných kopolymerů stanovená pomocí termogravimetrické analýzy.

### U uskutečnění Příklad provedení vynálezu

ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA makromonomery byly připraveny dle publikace MICHLOVSKÁ, Lenka, Lucy VOJTOVÁ, Ludmila MRAVCOVÁ, Soňa HERMANOVÁ, Jiří KUČERÍK a Josef JANČÁŘ. Functionalization Conditions of PLGA-PEG-PLGA Copolymer with Itaconic Anhydride. Macromolecular Symposia. 2010, roč. 295, č. 1, s. 119-124 s hmotnostním poměrem PLGA/PEG 2,5 a molárním poměrem LA/GA 3,0 o obsahu ITA na koncích polymeru 37 mol% (stupeň substituce 0,74 z maximální hodnoty 2, kdy maximálně 2 konce polymeru mohou být funkcionalizované pomocí ITA) a 63 mol% (stupeň substituce 1,26). Makromonomery byly přečištěny ve fosfátovém pufru s pH 7,48.

Navázání ITA na oba konce polymeru bylo potvrzeno pomocí protonové nukleární magnetické rezonance  $^1\text{H}$  NMR. Oproti původnímu spektru nemodifikovaného kopolymeru PLGA-PEG-PLGA je ve spektru ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA navíc kromě dvojných vazeb z ITA při  $\delta = 5,75$  a  $6,4$  ppm, také pík při  $\delta = 3,4$  ppm, který odpovídá  $\text{CH}_2$  protonu z ITA navázané na konec kopolymeru.

Příprava zesíťovaného hydrogelu byla prováděna pod dusíkem. 0,2 g ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA kopolymeru předsušeného v exikátoru po dobu 30 minut bylo umístěno na termostatický blok s teplotou 80 °C. Ke vzorku kopolymeru bylo přidáno 0,05 ml roztoku CQ v acetonu o koncentraci 0,674 mol·dm<sup>-3</sup> a 0,003 ml katalyzátoru DEAEM. Po dokonalém smísení a homogenizaci byl viskózní vzorek nadávkován do 2 připravených formiček a chemicky síťován ruční UV lampou s vlnovou délkou 430 až 490 nm a světelnou intenzitou 800 až 1200 mW·cm<sup>-2</sup> při teplotě 60 °C po dobu 5 až 40 minut. Získaný zesíťovaný hydrogel byl vysušen ve vakuové sušárně při laboratorní teplotě po dobu 8 hodin. Suchý xerogel byl uchováván pod dusíkem v ledničce pro další použití a analýzy.

Hydrolytická stabilita připravených vzorků byla měřena v ultra čisté vodě při pH 6,7 při laboratorní teplotě. Na grafu závislosti obsahu vody ve vzorku na čase (Obr. 1) je zřejmé, že originální (referenční) nesíťovaný kopolymer obsahující 37 mol% ITA (který neobsahuje žádné uzly sítě) přijímá vodu od počátku botnání velmi rychle až do hodnoty 2547 %, při které se začal vzorek rozpadat a po 48 hodinách se úplně rozpustil. Oproti tomu u stejného vzorku, ale síťovaného 5 minut modrou lampou, dochází během prvních sedmi dní k pozvolné difúzi rozpouštědla do sítě polymeru s pomalu se zvyšujícím stupněm botnání až do hodnoty 574 %. Tam voda nejdříve hydratovala hydrofilní skupiny polyethylenglykolu a karboxylové koncové skupiny (primárně vázaná voda). Se zvyšujícím se časem začaly hydrolyzovat esterové vazby části řetězců, snížila se hustota sítě a více se zpřístupnily nové hydroxylové a karboxylové skupiny, které dále vázaly vodu až do hodnoty 1103 % (sekundárně vázaná voda). Následně začalo docházet k rozpadu síťových uzlů, hydrolyze zbytku esterových vazeb PLGA a k uvolňování většího množství kyseliny mléčné a glykolové. Z tohoto důvodu se urychlilo rozpouštění a degradace vzorku a vzorek byl úplně rozpuštěn po 10 dnech od začátku botnání. Pokud byl stejný vzorek síťován delší dobu (40 minut), došlo k výrazně vyššímu nárůstu hustoty zesíťení a vzorek začal sekundárně vázat vodu až po 9. dni až do maximální hodnoty 3581 % (jeho hmotnost se zvýšila téměř 37x). Po 11. dni se začal vzorek rozpouštět a rozpadl se úplně 16. den botnání. Jiná situace nastala, když byl zesíťen vzorek makromonomeru obsahující 63 mol% ITA po dobu 40 min modrou lampou. Vzorek botnal pomalu a až do 8. dne se choval stejně jako vzorek předešlý jen s obsahem 37 mol% ITA. Poté ovšem nedošlo k prudkému nárůstu obsahu vody, ale k pozvolnému pouze jen do hodnoty obsahu vody 813 %. V období mezi 13. a 20. dnem nastala rovnováha mezi difúzí a hydrolyzou a vzorky se kromě degradace začínají i rozpouštět. Vzorek s obsahem 63 mol%

ITA byl úplně rozpuštěn po 32 dnech od začátku botnání. Z uvedeného grafu je zřejmé, že dobu hydrolytické stability (degradace) je možné ovlivnit jak dobou síťování, tak i množstvím navázané ITA.

Na Obr. 2 jsou fotografie vzorků a) ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA (37 mol% ITA) a b) ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA (63 mol% ITA) v nabotnalém stavu po 11. dni botnání. Je zřejmé, že vzorek méně zesítěný s obsahem 37 mol% ITA je schopný absorbovat více vody než vzorek více zesítěný.

Před síťováním, těsně po síťování a po degradaci (po botnání) ve vodě při laboratorní teplotě, byly měřeny molekulové hmotnosti a indexy polydisperzity ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA kopolymerů (viz Tab. 1). Z hodnot je patrné, že jak molekulové hmotnosti  $M_n$ , tak i indexy polydisperzity (PDI) po zesítní výrazně stouply, a to jak s rostoucím množstvím navázané ITA, tak i s časem síťování. Největší rozdíl byl zaznamenán u vzorku ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA s obsahem 63 mol% ITA síťovaného 40 min, kdy se po degradaci ve vodě  $M_n$  snížila (polymerní síť i řetězec se rozpadl), ale PDI se navíc množstvím nesterjně dlouhých řetězců navýšila.

Tab. 1: Molekulové hmotnosti a indexy polydisperzity ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA kopolymerů.

ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA kopolymer	Před degradací		Po degradaci	
	$M_n$ [g.mol <sup>-1</sup> ]	PDI	$M_n$ [g.mol <sup>-1</sup> ]	PDI
37 mol% ITA nesíťovaný	7255	1,235	-	-
63 mol% ITA nesíťovaný	7394	1,209	-	-
37 mol% ITA síťovaný 5 min	7163	1,495	6568	1,496
37 mol% ITA síťovaný 40 min	7483	1,564	6591	1,569
63 mol% ITA síťovaný 40 min	8270	1,594	5990	1,714

Před síťováním a po síťování byl zaznamenán úbytek dvojných vazeb při vlnové délce 1750 cm<sup>-1</sup> a vznik nových RRC-CHR vazeb při 795 cm<sup>-1</sup>. Nesíťovaný vzorek s 37 mol% ITA obsahoval 51 % dvojných vazeb a vzorek s 63 mol% ITA 65 % dvojných vazeb. Množství ITA i doba síťování měla vliv na úbytek dvojných vazeb i na nárůst nových RRC-CHR vazeb (Obr. 3 a Tab 2a). Při síťování vzorku s 37 mol% ITA po dobu 5 minut došlo pouze k 4%

úbytku dvojných vazeb a k 3% nárůstu nových vazeb. Zatímco u síťování po dobu 40 minut došlo k 45% úbytku dvojných vazeb a nárůstu nových vazeb o 36 % pro vzorek s 37 mol% ITA a 71% úbytku dvojných vazeb a nárůstu nových vazeb o 73 % pro vzorek s 63 mol% ITA síťovaný 40 minut (Obr. 4 a Tab 2b).

Tab. 2a: Procentuální zastoupení jednotlivých vazeb v ATR-FTIR spektrech.

ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA kopolymer	Dvojně vazby [%]	Nové vazby [%]
37 mol% ITA nesíťovaný	51	0
63 mol% ITA nesíťovaný	65	0
37 mol% ITA síťovaný 5 min	49	3
37 mol% ITA síťovaný 40 min	28	36
63 mol% ITA síťovaný 40 min	19	73

Tab. 2b: Procentuální zastoupení jednotlivých vazeb v ATR-FTIR spektrech k nesíťovaným kopolymerům (tzn. nesíťovaný je 100 % a síťované se k nim přepočítají).

ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA kopolymer	Úbytek dvojných vazeb [%]	Vznik nových vazeb [%]
37 mol% ITA nesíťovaný	0	0
63 mol% ITA nesíťovaný	0	0
37 mol% ITA síťovaný 5 min	4	3
37 mol% ITA síťovaný 40 min	45	36
63 mol% ITA síťovaný 40 min	71	73

Síťováním se také zvýšila termální stabilita kopolymerů (Obr. 5 a Tab. 3). Oproti originálním (nezesíťovaným) kopolymerům, které začaly degradovat při 219 a 222 °C ( $T_{\text{onset}}$ ), síťované hydrogely začaly degradovat později až při 238 až 240 °C. Výrazně se navýšila teplota maximální rychlosti rozkladu esterových vazeb ( $T_{\text{dm}}^1$ ) z původních 264 °C na 290 °C a mírně i rozkladu éterových vazeb ( $T_{\text{dm}}^2$ ) z 373 °C na 380 °C pro kopolymery s 63 mol % ITA. Výpočtem nové skokové změny druhého píku při 344 °C byla určena konverze síťování na 78,2 % po době 40 min.

U vzorků s 37 mol% ITA se teplota maximální rychlosti rozkladu esterových vazeb ( $T_{dm}^1$ ) navýšila z původních 276 °C na 286 a 293 °C pro vzorek síťovaný 5 a 40 minut a mírně i rozkladu éterových vazeb ( $T_{dm}^2$ ) z 369 °C na 381 a 380 °C.

Tab. 3: Termální stabilita nesíťovaných a síťovaných kopolymerů stanovená pomocí termogravimetrické analýzy.

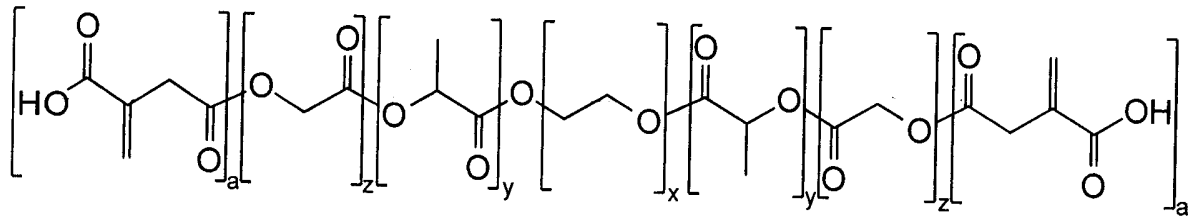
Teplota [°C]	ITA/PLGA-PEG-PLGA/ITA kopolymer				
	37 mol% ITA nesít.	63 mol% ITA nesít.	37 mol% ITA sít. 5 min	37 mol% ITA sít. 40 min	63 mol% ITA sít. 40 min
$T_{onset}$	219	222	239	240	238
$T_{dm}^1$	276	264	286	293	290
$T_{dm}^2$	369	373	381	380	380

### Průmyslová využitelnost

Biodegradabilní hydrogely podle vynálezu najdou využití zejména v medicínských aplikacích, např. pro vlhké krytí popálenin nebo jako nosiče buněk v tkáňovém inženýrství kostí a chrupavek.

PATENTOVÉ NÁROKY

1. Biodegradabilní hydrogel s řízenou dobou života připravitelný z blokového kopolymeru  $\alpha,\omega$ -itakonyl[b-(polylaktid-co-polyglykolid)-b-polyethylenglykol-b-(polylaktid-co-polyglykolidu)] vzorce I



(I)

kde polymerační stupeň

x je v rozmezí 22 až 35;

2y nezávisle je v rozmezí 19 až 41;

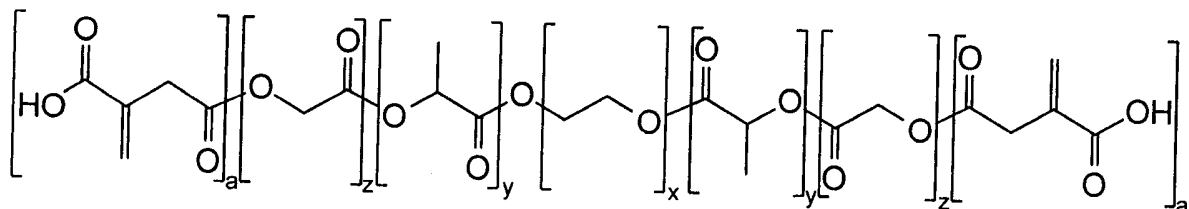
2z nezávisle je v rozmezí 7 až 18;

a stupeň substituce

2a je v rozmezí 0,35 až 2,

síťováním pomocí chladného modrého světla za katalýzy směsí kafrechinonu a terciárního aminu bez přítomnosti síťovacího činidla.

2. Způsob přípravy biodegradabilního hydrogelu podle kteréhokoliv z předcházejících nároků, vyznačený tím, že se nejprve modifikuje blokový kopolymer b-(polylaktid-co-polyglykolid)-b-polyethylenglykol-b-(polylaktid-co-polyglykolid) anhydridem kyseliny itakonové za vzniku kopolymeru  $\alpha,\omega$ -itakonyl[b-(polylaktid-co-polyglykolid)-b-polyethylenglykol-b-(polylaktid-co-polyglykolid)] vzorce I



(I)

kde polymerační stupeň

x je v rozmezí 22 až 35;

2y nezávisle je v rozmezí 19 až 41;

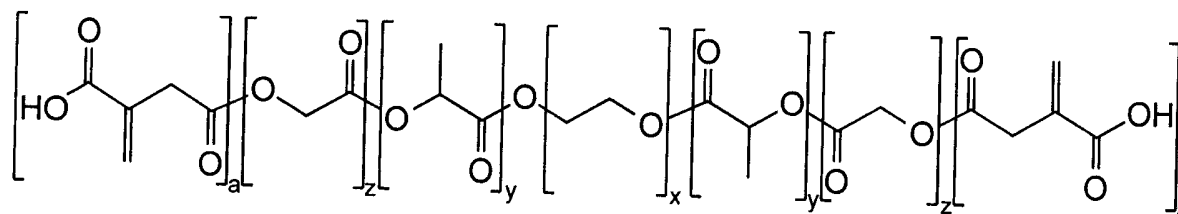
2z nezávisle je v rozmezí 7 až 18;

a stupeň substituce

2a je v rozmezí 0,35 až 2,

a následně se vytvořený modifikovaný blokový kopolymer chemicky zesítuje pomocí chladného modrého světla za katalýzy směsi kafrchinonu a terciárního aminu při teplotě v rozmezí 23 až 130 °C, bez použití síťovacího činidla.

3. Způsob podle nároku 2, vyznačený tím, že terciárním aminem je látka obecného vzorce  $R_3N^+X^-$ , kde každý R je nezávisle vybrán z C1-C4 alkylů, a X je anion karboxylové kyseliny.
4. Způsob podle nároku 3, vyznačený tím, že terciární amin je vybrán ze skupiny zahrnující 2--(diethylamino)etyl metakrylát a etyl-4-(dimethylamino)benzoát.
5. Způsob podle nároku 2, vyznačený tím, že síťování se provádí v přítomnosti inertní atmosféry.
6. Kompozice pro přípravu hydrogelu podle nároku 1, vyznačená tím, že obsahuje kopolymer  $\alpha,\omega$ -itakonyl[b-(polylaktid-co-polyglykolid)-b-polyethylenglykol-b-(polylaktid-co-polyglykolid)] vzorce I



kde polymerační stupeň

x je v rozmezí 22 až 35;

2y nezávisle je v rozmezí 19 až 41;

2z nezávisle je v rozmezí 7 až 18;

a stupeň substituce

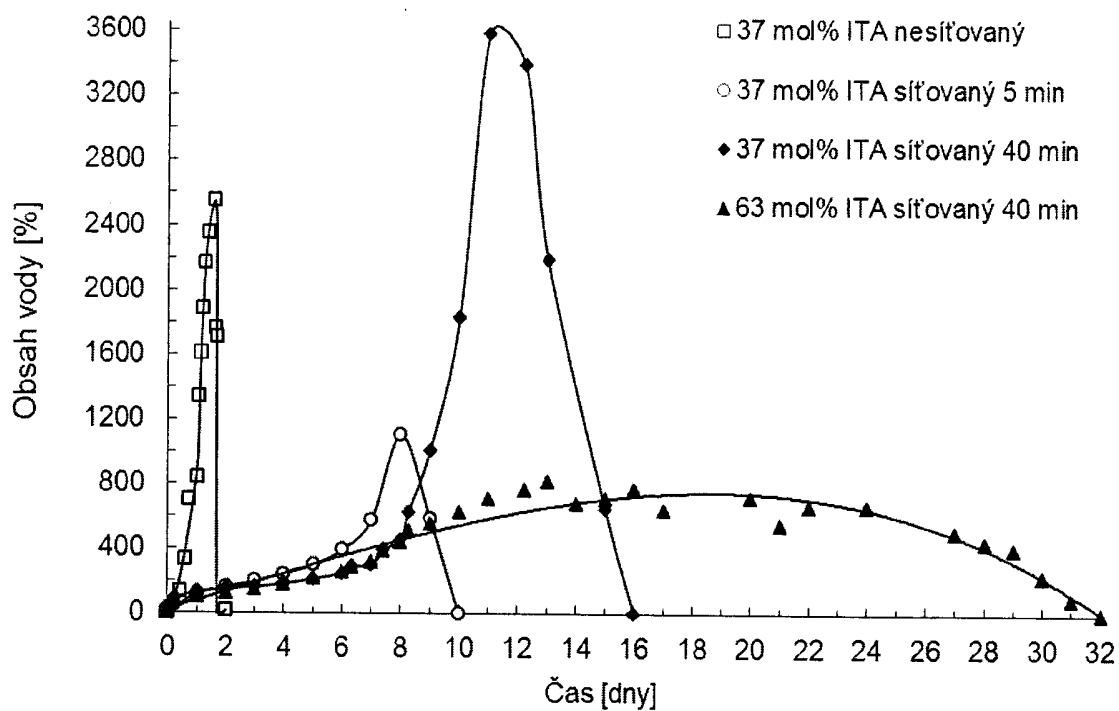
2a je v rozmezí 0,35 až 2,

kafrchinon a terciární amin.

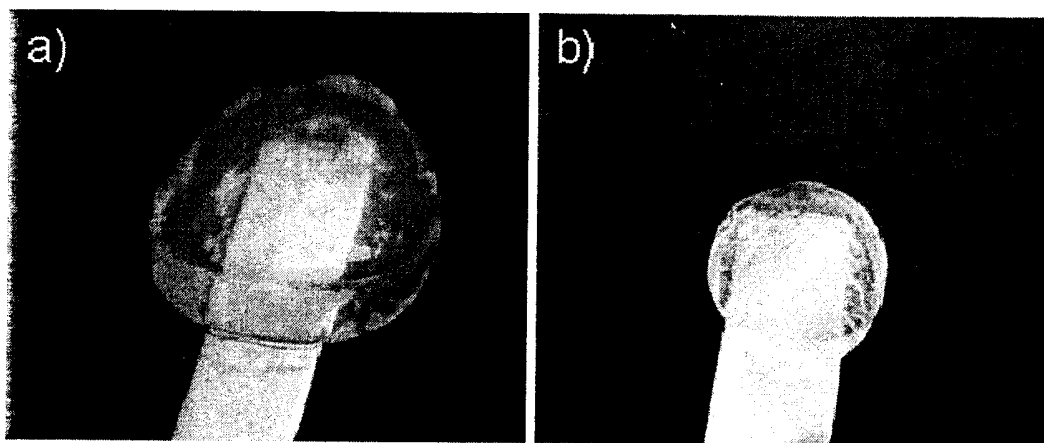
H16

PV 2014-53

1/3



Obr. 1



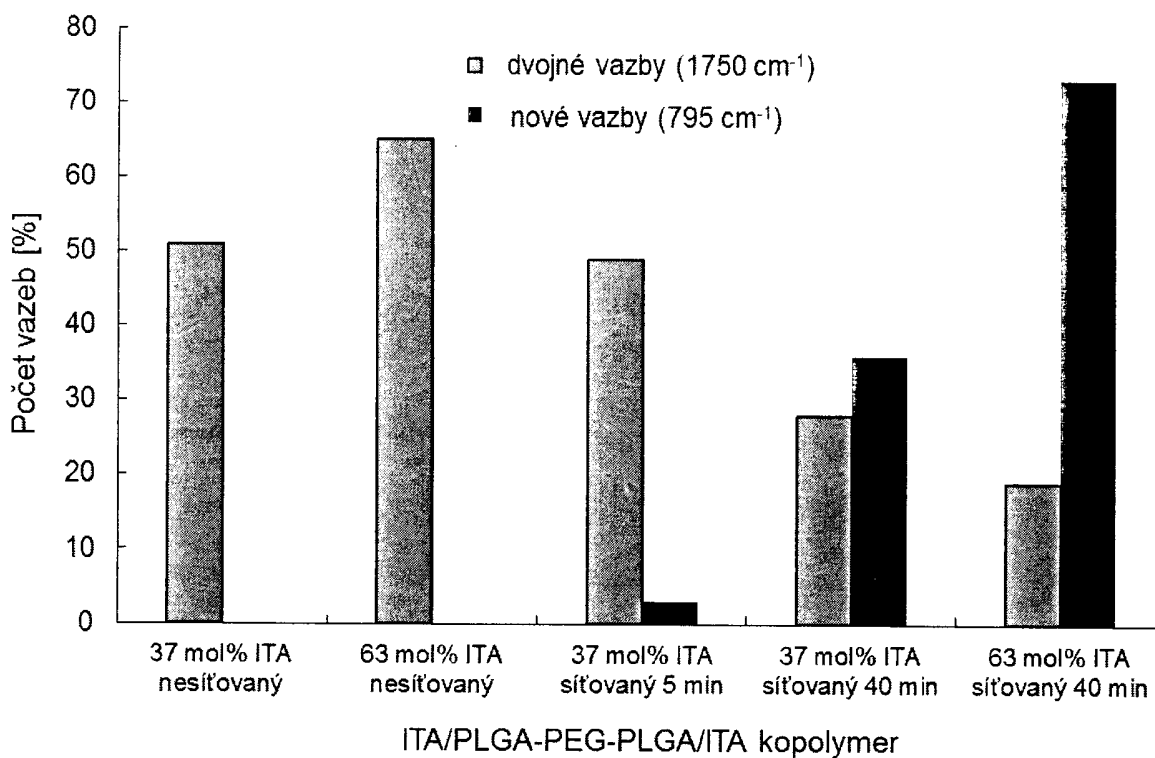
Obr. 2

TAK

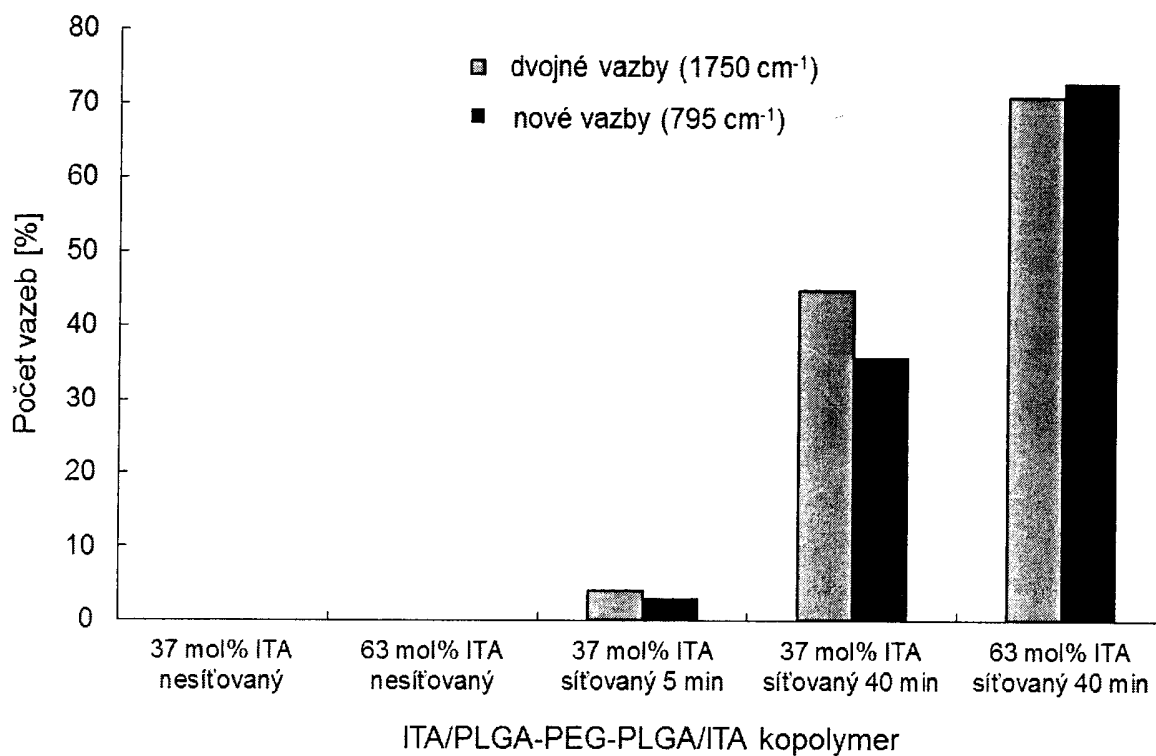
2014-05-14 10:10:10

PV 2014-53

2/3



Obr. 3

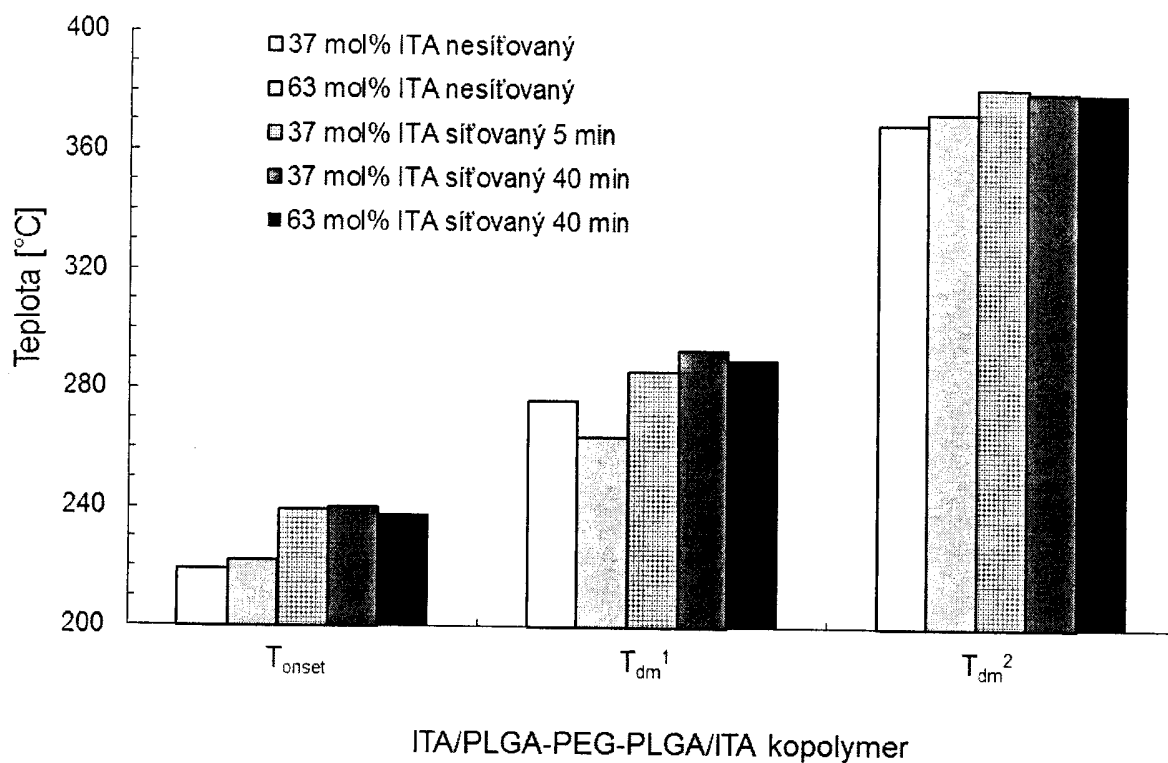


Obr. 4

TISK

PV 2019-53

3 / 3



Obr. 5