

## POLYSACHARIDY JAKO STAVEBNÍ BLOKY HYBRIDNÍCH KOPOLYMERŮ

LENKA LOUKOTOVÁ a MARTIN HRUBÝ

Ústav makromolekulární chemie AV ČR, v.v.i., Heyrovského nám. 2, 162 06 Praha 6  
mhruby@centrum.cz

Došlo 11.4.18, přijato 21.5.18.

Klíčová slova: polysacharidy, hybridní polymery, glykokonjugáty, cílený transport léčiv

### Obsah

1. Úvod
2. Příprava polymerních glykokonjugátů
  - 2.1. Zdroje polysacharidů
  - 2.2. Příprava roubovaných kopolymerů
  - 2.3. Příprava blokových kopolymerů
3. Využití polymerních glykokonjugátů v praxi
  - 3.1. Kopolymery polysacharidů vyskytujících se v rostlinách
  - 3.2. Kopolymery polysacharidů živočišného původu a vyskytujících se v houbách
4. Závěr

### 1. Úvod

Syntetické polymery a polymery vyskytující se v přírodě byly dříve zkoumány v poměrně oddělených oblastech výzkumu. Takové rozlišení je opodstatněné, protože obě skupiny polymerů se liší v mnoha základních aspektech. Biopolymery (proteiny, nukleové kyseliny a polysacharidy) mají velmi často dobře definovanou strukturu, optimalizovanou miliardami let evoluce. Jedná se především o jejich přesné chemické složení, pořadí jednotlivých sekvencí, nadmolekulární strukturu a také o přesně daný počet zabudovaných monomerních jednotek v jednom řetězci, v důsledku čehož je většina biopolymerů uniformní. Naproti tomu většina syntetických polymerů má mnohem jednodušší a náhodnější strukturu, avšak chemicky mnohem pestřejší. Před několika desetiletími se však tyto oblasti výzkumu částečně protly a vytvořily nové výzkumné odvětví hybridních makromolekul složených jak z přírodních, tak ze syntetických polymerů. Tyto kopolymery, označované v literatuře nejčastěji jako polymerní biokonjugáty, byly nejprve hojně studovány a posléze využívány ve farmacii<sup>1,2</sup>. Nicméně rychlý rozvoj v oblasti

nanotechnologií a biotechnologií v nedávné době přispěl k tomu, že využití polymerních biokonjugátů výrazně překračuje farmaceutické pole a zahrnuje různorodá odvětví jako např. biosenzory, umělé enzymy, biometrii, fotoniku či nanoelektroniku<sup>3–6</sup>. Díky tomuto širokému využití se studium hybridních polymerů stalo důležitou oblastí polymerní chemie.

Cílem tohoto přehledu je poskytnout komplexní popis jedné specifické skupiny polymerních biokonjugátů – glykokonjugátů, tedy hybridních polymerů na bázi polysacharidů, které jsou nejčastěji využívány pro cílený transport léčiv či v tkáňovém inženýrství<sup>7</sup>. Tento úkol není jednoduchý, neboť obě kategorie (polysacharidy i syntetické polymery) mají extrémně různorodé vlastnosti. Polysacharidy se liší od ostatních biopolymerů tím, že mohou být vysoce rozvětvené a jejich monomerní jednotky mohou být navzájem spojeny mnoha různými typy vazeb. Typ spojující glykosidové vazby má přitom zásadní vliv na vlastnosti výsledného polysacharidu i na jeho nadmolekulární strukturu. Úlohou polysacharidů v organismech je především skladovat a transportovat energii (např. škrob, glykogen) či chránit proti mechanickému poškození (chitin), avšak mohou zastávat i poměrně složité biologické funkce<sup>8</sup>. Tento přehled nejprve ukazuje možné postupy příprav těchto polymerních glykokonjugátů a dále se věnuje jednotlivým příkladům, které jsou uspořádány dle jednotlivých druhů polysacharidů.

### 2. Příprava polymerních glykokonjugátů

#### 2.1. Zdroje polysacharidů

Je s podivem, že i když je studium polymerních glykokonjugátů důležitou oblastí současného výzkumu, tak syntéza/příprava samotných polysacharidů je poměrně složitá. Tento fakt je dán především tím, že zatím, narozdíl od proteinů a nukleových kyselin, neexistuje jednoduchý automatizovaný systém pro syntézu oligosacharidů, a to i přesto, že se výzkumu této tematiky věnovalo nemalé úsilí (viz tab. I). Vysvětlení prozatímního neúspěchu tkví ve struktuře samotných polysacharidů. Zatímco chemická syntéza oligopeptidu zahrnuje opakující se tvorbu peptidové vazby např. mezi jednou aktivovanou karboxylovou skupinou a volným aminem, chemická syntéza oligosacharidů vyžaduje několik hydroxylových skupin podobné reaktivity vhodně diferencovaných tak, aby se získal požadovaný produkt s příslušnou regio- a stereoselektivitou, odpovídající požadované trojdimenzionální struktuře. Tato syntéza tedy často zahrnuje namáhavé manipulace s chránícími skupinami a extrémně dlouhé syntetické cesty. V živých organismech existuje centrální dogma mole-

Tabulka I  
Obecné metody využívané k získání biopolymerů

Biopolymery	Metody k získání
Proteiny	extrakce z biologického materiálu, automatizovaná peptidová syntéza, nativní ligace peptidů, nadměrná exprese genů vložených do produkčního organismu, katalýza proteasou
Nukleové kyseliny	extrakce z biologického materiálu, automatizovaná syntéza nukleových kyselin, polymerasová řetězová reakce
Oligo/polysacharidy	extrakce z biologického materiálu, chemická syntéza, enzymatická syntéza

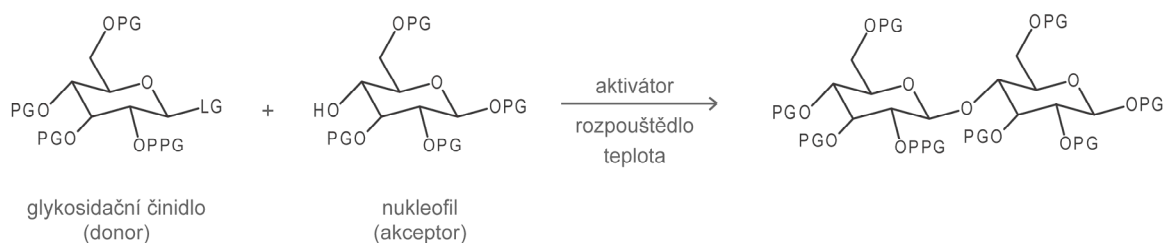
kulární biologie (DNA → RNA → proteiny), které bohužel neplatí pro glykokonjugáty. Ty totiž nejsou syntetizovány templátovou reakcí, ale spíše posttranslačním procesem, přičemž jejich výsledná struktura je ovlivněna mnoha faktory – kompeticí enzymů pro jeden substrát, substrátovou specifitou enzymu a také dostupností substrátu. Z tohoto důvodu jsou glykokonjugáty včetně glykoproteinů typicky polydisperzní<sup>10</sup>.

Polysacharidy používané k přípravě polymerních glykokonjugátů jsou dostupné pomocí extrakce z biomateriálu, chemickou syntézou či enzymatickou syntézou (viz tab. I).

Relativně nejjednodušší a nejvíce prostudovaný způsob je zmiňovaná extrakce polysacharidů, avšak tyto metody často neprodukují dostatečné množství materiálu v potřebné kvalitě. Polysacharidy, získávané extrakcí, jsou obsaženy nejčastěji jako strukturální komponenty v buněčných stěnách, především hub, bakterií a řas. Výběr extrakčních metod je závislý na struktuře dané buněčné stěny, např. buněčné stěny hub obsahují dva typy polysacharidů: fibrilární chitin (nebo celulosu) a vodorozpustné β-glukany, α-glukany a glykoproteiny<sup>11</sup>. Většina extrakčních metod zahrnuje nejprve odstranění nízkomolekulárních látek pomocí 80% ethanolu. Dále mohou následovat 3 postupné extrakce: vodou (100 °C, 3 h), 2% roztokem

štavelanu amonného (100 °C, 6 h) a 5% roztokem hydroxidu sodného (80 °C, 6 h)<sup>12</sup>. Extrakce horkou vodou vedou obecně k polysacharidům rozpustným ve vodě, které se vyskytují na vnější vrstvě buněčné stěny (exopolysacharidy) a chrání ji před externím mechanickým poškozením. Extrakce alkalickými roztoky vedou naproti tomu spíše k polysacharidům ve vodě nerozpustným, které tvoří vnitřní vrstvu buněčné stěny (endopolysacharidy). Přesná metoda extrakce daného polysacharidu se může lišit od výše popsaného obecného postupu v závislosti na jeho struktuře a rozpustnosti ve vodě, avšak vždy je nutné narušit strukturu buněčné stěny pomocí vhodně zvolených extrakčních podmínek (pH a teplota). Nakonec mohou být extrahované polysacharidy přečistěny přesrážením v ethanolu. Často se také využívá iontová chromatografie na diethylaminoethyl (DEAE) celulosové koloně, separující neutrální a nabitě polysacharidy, přičemž nejprve jsou eluovány neutrální polysacharidy vhodným pufrům a poté je eluován nabitý polysacharid pufrům o vysoké iontové síle<sup>11</sup>. Neutrální polysacharidy mohou být dále separovány na α- a β-glukany pomocí afinitní chromatografie, která využívá specifické reakce α-glukanů s imobilizovaným ligandem uvnitř kolony. Po přidání směsi α- a β-glukanů k takovému ligandu se na něj vážou jen α-glukany, které s ním tvoří silné vazby, a zbytek směsi protéká kolonou beze změny. Navázaný α-glukan se následně eluuje pomocí vysoce koncentrovaného roztoku solí (např. chloridu vápenatého, chloridu sodného či chloridu draselného). Jako ligandy se specifickou reakcí na α-glukany se většinou využívají lektiny.

Jak již bylo diskutováno výše, další způsobem získávání oligo/polysacharidů je chemická syntéza, která je však velmi náročná, což vyplývá ze struktury těchto látek. Vznik glykosidové vazby chemickou syntézou je uskutečněn nukleofilem („glykosidový akceptor“), který napadá aktivované anomerní centrum („glykosidový donor“), přičemž všechny hydroxylové a aminové skupiny musí být maskovány chránicími skupinami tak, aby pouze požadovaná hydroxylová skupina či skupiny byly glykosidovány (obr. 1). Velikost, elektronické vlastnosti a konformace chránicích skupin mají obrovský vliv na finální reaktivitu a stereoselektivitu glykosidace, stejně jako použité rozpouštědlo, teplota a aktivátor. Vzhledem ke komplexitě

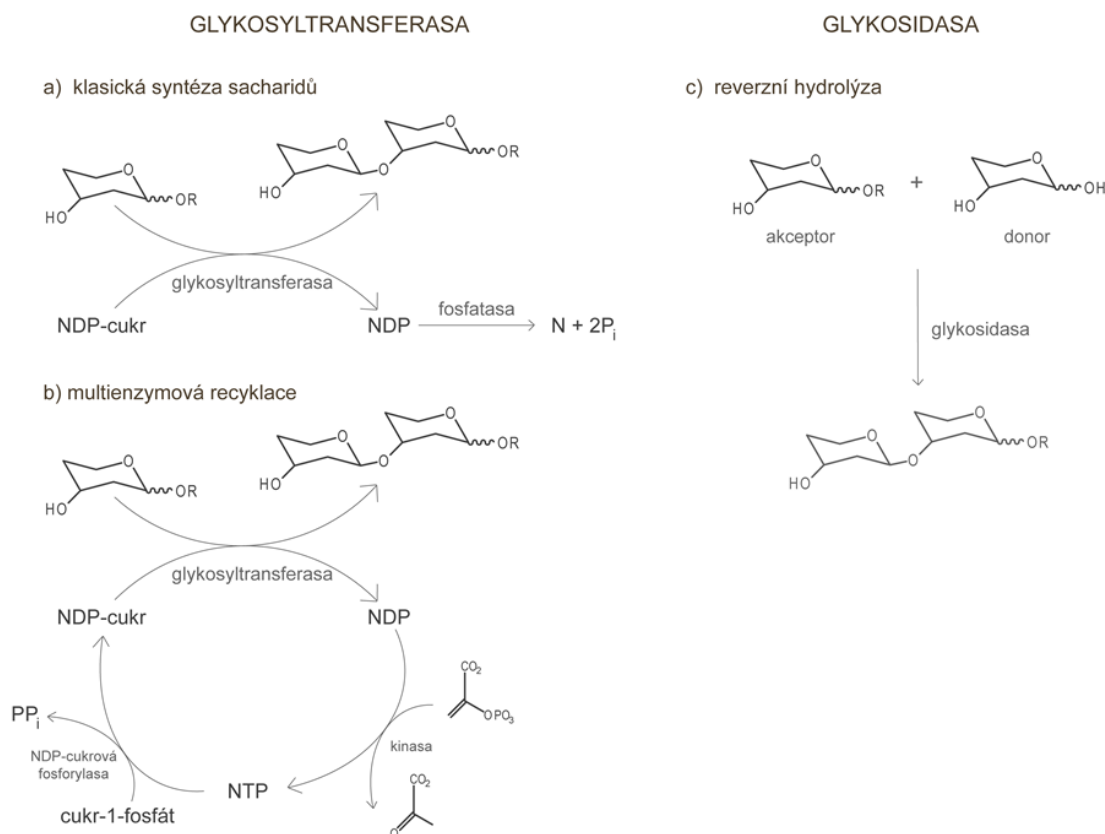


Obr. 1. Obecné schéma vzniku glykosidové vazby pomocí chemické syntézy (PG – chránicí skupina, LG – odstupující skupina, PPG – „účastníci se“ chránicí skupina). Stereochemie výsledného produktu závisí na povaze chránicí skupiny, odstupující skupiny, aktivátoru, rozpouštědla a teplotě. Zde uvedeno pro přípravu PG-chráněného disacharidu D-glukosa-β(1→4)-D-glukosa

těchto reakcí vznikl specializovaný obor organické syntézy, pro nějž je charakteristická strategická jednoduchost, provozní složitost a nepředvídatelnost glykosidačních reakcí. V průběhu mnoha let byla vyvinuta řada odstupujících anomerních skupin, např. glykosylhalogenidy, avšak v poslední době byly nahrazeny především glykosylimidáty<sup>13</sup>, thioglykosidy<sup>14</sup> nebo glykosylfosfáty<sup>15</sup>. K tomu navíc nové znalosti reaktivit glykosidačních činidel přinesly pokrok v sekvenční „one-pot“ syntéze, kdy je nutná správná kombinace jednotlivých stavebních bloků, které mohou sloužit jednak jako glykosidační činidla stejně jako nukleofily<sup>16</sup>. Touto metodou byly připraveny až hexasacharidy<sup>17</sup>. Rozdíly reaktivit jednotlivých glykosidačních činidel obecně komplikují syntézu glykanů, protože různé stavební bloky vyžadují různé reakční teploty a čas. Vcelku spolehlivá stereoselektivita je v případě vzniku *trans*-glykosidické vazby, kdy se chránící skupina (nejčastěji estery nebo amidy) v místě C-2 účastní vzniku oxoniového meziproductu a blokuje tak jednu jeho stranu, a tudíž nukleofil má možnost přistoupit pouze z druhé strany. Přítomnost chránících skupin v jakékoliv jiné poloze glykosidačního činidla může potenciálně ovlivnit stereochemický výsledek glykosidace<sup>18</sup>. Opačná situace je v případě vzniku *cis*-glykosidické vazby, kdy nelze využít tyto „účastníci

se“ chránící skupiny (estery, amidy), ale využívají se tzv. „neúčastníci se“ skupiny v pozici C-2, např. benzyl ethery či azidy. Zde se bez vlivu „účastníci se“ skupiny vytváří termodynamicky stabilnější produkt –  $\alpha$ -glykosid díky anomernímu efektu. Tento fakt naznačuje, že reakce vedoucí k *cis*- $\beta$ -glykosidické vazbě, přítomné např. v  $\beta$ -mannosidech, jsou vcelku náročné, neboť nelze použít „účastníci se“ chránící skupiny a musí se zároveň eliminovat anomerní efekt pomocí tzv. „konformačního uzamknutí“<sup>19</sup>. Nejnovější výzkum pak přinesl koncept automatického oligosacharidového syntetizátoru na pevné fázi, Glyconeer 2.1, se kterým je možné syntetizovat různé oligosacharidy obsahující až 30 jednotek v řetězci<sup>20</sup>.

Další možností přípravy oligosacharidů je enzymatická syntéza, která využívá glykosyltransferasy a glykosidasy jako cenné regio- a stereoselektivní katalyzátory vzniku glykosidové vazby. Glykosyltransferasy jsou zodpovědné za syntézu většiny glykanů na povrchu savčích buněk, kde přenášejí daný sacharid od odpovídajícího donorového substrátu (nukleotid sacharidu) ke specifické hydroxylové skupině akceptujícího sacharidu (obr. 2a)<sup>21</sup>. Velké množství eukaryotických glykosyltransferas bylo již úspěšně klonováno, přičemž bylo zjištěno, že vykazují obecně vynikající vazebnou a substrátovou specifitu



Obr. 2. Obecné schéma enzymatické syntézy sacharidů pomocí a) klasické glykosyltransferasy; b) multienzymové recyklace s glykosyltransferasou<sup>22</sup> a c) reverzní hydrolýzy glykosidasou (N – nukleosid, NDP – nukleosid-difosfát, NTP – nukleosid-trifosfát)

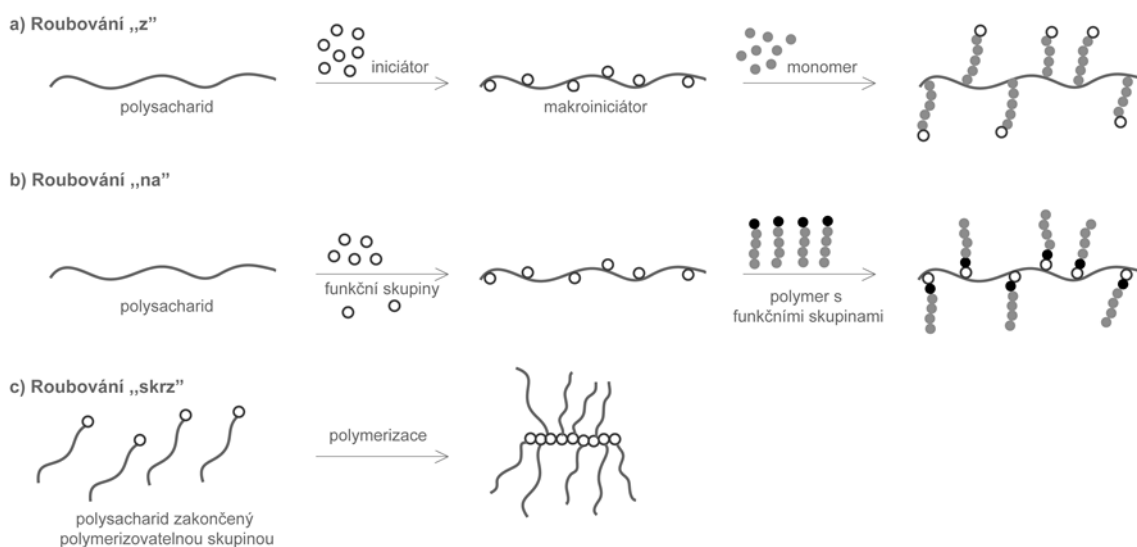
a zároveň velmi dobré výtěžky. Bohužel však i tyto syntézy mají i určité nevýhody. Mezi ně patří např. fakt, že nukleosid-difosfáty (NDP) generované během reakce jsou vcelku účinné inhibitory glykosyltransferasy a navíc při syntéze ve velkém měřítku se finanční náklady na výrobu nukleotidu cukru mohou stát velkou přítěží. A tak byla vyvinuta metoda multienzymové recyklace<sup>22</sup>, při které je NDP-cukru vyžadován pouze v katalytickém množství, protože se generuje *in situ* z levných výchozích materiálů (obr. 2b). Kromě toho se vznikající NDP recykluje na NDP-cukry, čímž se zabraňuje inhibiči produktem. Poslední nevýhodou využití glykosyltransferasy pro syntézu oligosacharidů je její špatná dostupnost. I když v dnešní době je na trhu dostupných mnoho komerčních glykosyltransferas, přesto lze najít chybějící specifické enzymy pro vznik určitých požadovaných glykosidových vazeb. Jak bylo výše uvedeno, vedle glykosyltransferas bývají využívány také exo-glykosidasy a endo-glykosidasy. V živých organismech jsou glykosidasy zodpovědné nejčastěji za štěpení glykosidických vazeb, ovšem za kontrolovaných podmínek mohou být použity spíše pro syntézu glykosidických vazeb než pro jejich štěpení (obr. 2c), přičemž jako katalyzátory při syntéze oligosacharidů již byly úspěšně použity<sup>23,24</sup>. Ve srovnání s glykosyltransferasami jsou glykosidasy nenákladné, stabilní a snadno dostupné a navíc vyžadují levné donorové substráty oproti neekonomickým nukleotidům sacharidu. Jediná jejich nevýhoda je obecně slabá regiospecifita, která může bohužel vést ke tvorbě více produktů.

## 2.2. Příprava roubovaných kopolymerů

Nejčastějším typem studovaných modifikovaných polysacharidů jsou jejich roubované kopolymery, které se

mohou připravit pomocí tří syntetických strategií (obr. 3): roubováním „z“ (a), roubováním „na“ (b) nebo roubováním „skrz“ (c), přičemž první dva přístupy jsou nejčastěji používané<sup>25</sup>. Technika roubování „z“ je obecně používána v případě, kdy je potřeba vyšší hustota roubování. Při této technice jsou nejprve zavedeny skupiny iniciátoru na hlavní řetězec polysacharidu, přičemž vzniká tzv. makroiniciátor, a následně je zahájen růst roubovaných řetězců z povrchu polysacharidu za přítomnosti požadovaného monomeru. Naproti tomu při technice roubování „na“ jsou nejprve samostatně vytvořeny živé polymerní řetězce, které jsou následně terminovány funkčními skupinami nesenými hlavním polymerním řetězcem. Tato technika je výhodná zvláště díky tomu, že polymerizace vedlejšího řetězce probíhá odděleně od polysacharidu, a tudíž na něj nemá žádný degradační vliv. Další výhodou roubování „na“ je možnost snadno a detailně charakterizovat rouby, např. jejich molekulovou hmotnost (pro charakterizaci se část polymerizační směsi terminuje nízkomolekulárním činidlem). Avšak při roubování „na“ je obecně dosahováno nižší roubovací hustoty, především kvůli sterickému efektu<sup>26</sup>. Nejméně používanou technikou přípravy roubovaných polysacharidů je roubování „skrz“, při kterém je na jeden konec oligo/polysacharidového řetězce zavedena polymerizovatelná skupina (nejčastěji dvojná vazba), přičemž při polymerizaci vytváří monomerní jednotky této skupiny hlavní řetězec nesoucí oligo/polysacharidové rouby.

Technika roubování „z“ bývá často zkoumána ve spojení s radikálovou polymerizací, kdy jsou nejprve radikály generovány podél hlavního polysacharidového řetězce pomocí chemického iniciátoru nebo záření. Takto vytvořený makroiniciátor je následně možné radikálově polymerizovat v přítomnosti monomeru za vzniku požadované-



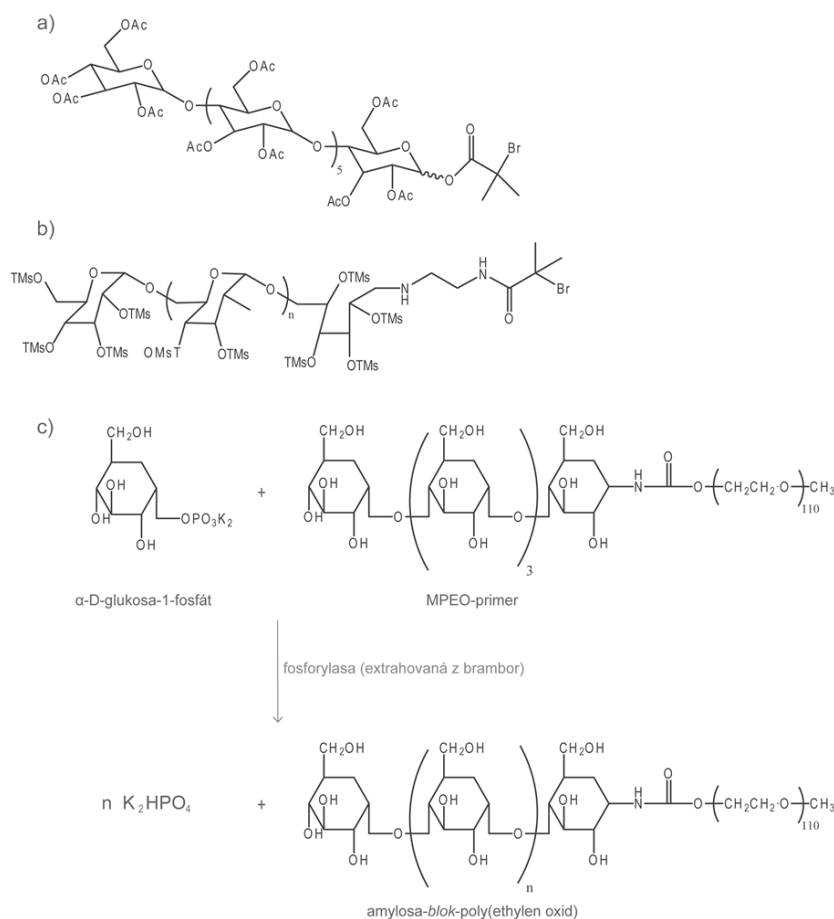
Obr. 3. Syntetické strategie přípravy roubovaných polysacharidů: a) metodou roubování „z“; b) metodou roubování „na“ a c) metodou roubování „skrz“

ho roubovaného glykokonjugátu. Nevýhodou této metody je však možná degradace polysacharidového řetězce a velmi omezená kontrola molekulové hmotnosti roubov stejně jako disperzity. Nové možnosti v kontrole délky syntetického roubov přinášejí speciální techniky řízené radikálové polymerizace – nitroxidem zprostředkovaná polymerizace (NMP)<sup>27</sup>, radikálová polymerizace s přenosem atomu (ATRP)<sup>28</sup> a polymerizace s reverzibilním adičně-fragmentačním přenosem (RAFT)<sup>29</sup>. Tyto řízené polymerizace jsou více tolerantní vůči běžným nečistotám a vlhkosti a zároveň jsou kompatibilní s velkým množstvím funkčních skupin, a tak umožňují přesné přizpůsobení požadovaných vlastností polysacharidových hybridů. Principem této techniky je významné snížení koncentrace propagačních radikálových konců řetězce, čímž se výrazně minimalizuje také koncentrace ireverzibilních terminačních center, a jelikož rychlost rekombinace radikálových center je úměrná druhé mocnině koncentrace radikálů, zatímco rychlost propagace je pouze přímo úměrná této koncentraci radikálů, tak lze v systémech s velmi nízkou koncentrací radikálových center dosáhnout polymerů s úzkou distribucí molárních hmotností. Pro snížení koncentrace propagu-

jících radikálových center se do systému přidávají látky, které zajišťují reverzibilní zachycení „aktivního“ radikálového centra a jeho přeměnu na „spící“ centrum. Například řízení techniky NMP spočívá v přidavku nitroxidu, vytvářející v reakční směsi relativně stabilní radikály, zatímco při ATRP se přidává komplex přechodného kovu jako katalyzátor a alkylhalogenid jako iniciátor. Při procesu RAFT je reverzibilní zachycení radikálu zajištěno přenosovými reakcemi pomocí např. dithioesterových sloučenin.

### 2.3. Příprava blokových kopolymerů

Naše literární rešerše překvapivě ukázala, že oproti roubovaným polysacharidovým kopolymerům se jen velmi málo publikací věnuje syntéze blokových kopolymerů oligosacharidů či polysacharidů. Jako první takovýto blokový kopolymer byl koncem 80. let připraven polyethylenoxid-*blok*-oligosacharid pomocí tzv. „couplingu“ koncových skupin<sup>30</sup>. Od té doby byly připraveny kopolymery obsahující syntetický blok spojený s polysacharidovým také pomocí radikálové<sup>31</sup> a enzymatické polymerizace<sup>32</sup>. V případě radikálové polymerizace je na konec polysacha-



Obr. 4. a), b) oligosacharidové prekurzory schopné iniciovat polymerizaci typu ATRP; c) schéma enzymatické syntézy amylosa-*blok*-polyethylenoxid

řidového řetězce zavedena skupina, která se následně účastní řízené polymerizace syntetického bloku. Například glykokonjugované adukty 2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxylu (TEMPO) byly připraveny z glukosy, malto-oligosacharidů a  $\beta$ -cyklodextrinu<sup>33</sup>, přičemž jejich následnou řízenou polymerizací typu NMP byly vytvořeny polymeru typu  $\beta$ -cyklodextrin-blok-polystyren ( $M_n = 5$  až 37 kDa,  $D < 1,5$ ). Z komerčně dostupného  $\beta$ -cyklodextrinu byl také syntetizován acetylovaný oligosacharid schopný iniciovat polymerizaci typu ATRP (obr. 4a)<sup>34</sup>, přičemž tento iniciátor umožnil řízenou polymerizaci řady monomerů, např. styrenu, methyl-methakrylátu a dalších funkčních hydrofilních methakrylátů. Získané oligosacharidové bloky byly následně kvantitativně deacetylovány methoxidem sodným ve směsi methanolu a chloroformu za získání blokových oligosacharidových polymerů. Navíc ATRP iniciátorová skupina byla také úspěšně zavedena na reduktivní konec dextranu ( $M_n = 6,6$  kDa) pomocí reduktivní aminace s  $\alpha$ -terciárním bromidem, přičemž následně byly –OH skupiny dextranu chráněny silylací (obr. 4b). Poté byly řízenou polymerizací získány kopolymery dextran-blok-polystyren s nastavitelným složením jednotlivých bloků<sup>35</sup>. Jak již bylo výše zmíněno, blokové polysacharidové kopolymery byly také připraveny enzymatickou syntézou, přičemž nejdříve byl nasyntetizován první blok methoxypolyethylenoxid-*p*-nitrofenylkarbonát ( $M_w = 5,0$  kDa), který následně reagoval s maltopentaozylaminem. Tento meziprodukt (MPEO-primer, obr. 4c) byl následně úspěšně enzymaticky polymerizován fosforylázou extrahovanou z bambor využívající  $\alpha$ -D-glukosa-1-fosfát jako substrát<sup>36</sup>.

### 3. Využití polymerních glykokonjugátů v praxi

#### 3.1. Kopolymery polysacharidů vyskytujících se v rostlinách

*Celulosa* je lineární ve vodě nerozpustný polysacharid obsahující jednotky 1,4- $\beta$ -D-glukosy. Je hlavní stavební složkou rostlinných buněčných stěn, což ji staví do role nejrozšířenějšího biopolymeru na zemském povrchu (bylo odhadnuto, že ročně vzniká cca  $1,5 \cdot 10^9$  tun celulosy<sup>37</sup>). Modifikovaná celulosa je již dlouhou dobu průmyslově využívána a tato historie sahá až do roku 1870, kdy byl poprvé vyroben polymerní materiál „celuloid“ (nitrát celulosy změkčený kafrem) ve firmě Hyatt Manufacturing Company<sup>38</sup>, přičemž výroba nitrátu celulosy zahrnuje její esterifikaci kyselinou dusičnou v přítomnosti kyseliny sírové, fosforečné nebo octové. V současné době jsou dalšími obecně používanými estery celulosy acetát celulosy, propionát celulosy a butyrát celulosy. Dalším možným způsobem chemické modifikace celulosy jsou etherifikační reakce, kterými se dají získat důležité produkty, např. methylcelulosa, karboxymethylcelulosa a hydroxyalkylcelulosa. Tyto estery a ethery celulosy se využívají při výrobě nejrůznějších nátěrů, optických fólií, sorpčních medií, léčiv, potravin či kosmetiky. V roce 1943 se Ushakov po-

koušel polymerizovat některé allyl estery a vinyl estery celulosy s estery kyseliny maleinové, přičemž získal nerozpustné produkty, což byly pravděpodobně první roubované kopolymery celulosy<sup>39</sup>. Od té doby bylo syntetizováno nepřehledné množství roubovaných kopolymerů celulosy. Například bylo provedeno kationtově iniciované roubování celulosového substrátu pomocí isobutylenu a  $\alpha$ -methyl styrenu, přičemž iniciátor byl vytvořen reakcí fluoridu boritého (Lewisova kyselina) a hydroxylových skupin celulosy (Lewisova báze). Roubovaná celulosa polyakrylonitrilem, polymethakrylonitrilem a polymethylmethakrylátem byla připravena aniontovou polymerizací, využívající alkoholáty celulosy jako iniciátory. Velmi dobře řízené molekulové hmotnosti a úzké distribuce bylo dosaženo také při roubování celulosy pomocí poly(2-methyl-2-oxazolinu) a poly(isobutylvinyletheru)<sup>40</sup>.

$\beta$ -Glukany jsou polysacharidy obsahující  $\beta$ -D-glukosové jednotky, spojené většinou 1,3- $\beta$ - nebo 1,6- $\beta$ -glykosidovými vazbami.  $\beta$ -Glukany se v přírodě vyskytují v buněčných stěnách obilovin, bakterií a hub, přičemž vlastnosti jednotlivých  $\beta$ -glukanů se signifikantně liší v závislosti na jeho původu.  $\beta$ -Glukany se používají jako ztužovací činidla v nejrůznějších potravinářských a kosmetických výrobcích. Obecně je známo, že  $\beta$ -glukany mají velmi prospěšný vliv na lidské zdraví. Bylo prokázáno, že příjem nejméně 3 g ovesného  $\beta$ -glukanu denně sníží hladinu LDL cholesterolu a přispívá tak ke snížení rizika kardiovaskulárních chorob<sup>41</sup>. Velmi zajímavou skupinou  $\beta$ -glukanů, již v tradiční orientální medicíně využívaných, jsou  $\beta$ -glukany pocházející z buněčných stěn hub. V nedávných studiích byly popsány jejich imunoterapeutické vlastnosti, včetně zesílení protinádorové imunitní odpovědi<sup>42</sup>, což je spojeno se stimulací imunitních receptorů (především Dektin-1 a Toll-like receptory), a tak se modifikované  $\beta$ -glukany v poslední době studují jako potenciální protinádorová imunoterapeutika. Kurdlan ( $\beta$ -1,3-glukan), vyrábějící se fermentací bakterií *Agrobacterium bio-bar*, byl roubován polyethylenglykolem, přičemž vzniklý kopolymer byl použit pro přípravu nanočástic nesoucích chemoterapeutickou látku doxorubicin. Připravené nanočástice tudíž kombinovaly dvě léčebné metody – chemoterapii a imunoterapii<sup>43</sup>. Na podobném konceptu byla také založena léčba imunoradioterapií, pro kterou byl  $\beta$ -glukan (pocházející z *Auricularia auricula-judae*) roubován poly(2-methyl-2-oxazolin-co-2-butyl-2-oxazolinem), který byl dále označen radioaktivním <sup>90</sup>Y. Takto označený polymer spojoval vhodné termoresponzivní vlastnosti pro tvorbu polymerního depa, terapeutickou lokální radioaktivitu a imunoterapeutické působení, což bylo úspěšně prokázáno při *in vivo* testech na myších s lymfomem<sup>44</sup>.

$\kappa$ -Karagenan je polysacharid skládající se ze střídavě vázaných galaktosových a 3,6-anhydrogalaktosových jednotek, sulfátovaných i nesulfátovaných, přičemž tyto jednotky jsou propojeny  $\alpha$ -1,3 a  $\beta$ -1,4 glykosidickými vazbami.  $\kappa$ -Karagenan se získává extrakcí z červených mořských řas, nejčastěji z *Chondrus crispus*. Graftováním  $\kappa$ -karagenanu pomocí polyvinylpyrrolidonu ( $M_n = 10$  kDa)

vzniká materiál vytvářející ve vodném prostředí při pH ~ 7 hydrogely vykazující zvýšenou schopnost udržovat vodu i přes slabší gelovou pevnost než příslušné kontrolní polysacharidy<sup>45</sup>. Zajímavé pH-responzivní hydrogely  $\kappa$ -karagenan-*graft*-polymethakrylamid byly připraveny jako potenciální kandidáti pro řízený transport bioaktivních látek, přičemž fázový přechod byl pozorován při pH ~ 3 (cit.<sup>46</sup>). Později byla vytvořena interpenetrační pH-responzivní polymerní síť  $\kappa$ -karagenan-*graft*-polyakrylamidu a alginátu sodného, přičemž tento materiál byl úspěšně využit pro cílený transport ketoprofenu (nesteroidní protizánětlivé léčivo s analgetickými a antipyretickými účinky) do střev<sup>47</sup>. Podobné hydrogely, vykazující velmi výhodnou pH-responzivitou, byly připraveny roubováním polyakrylové kyseliny-*co*-poly-2-akrylamido-2-methylpropan-sulfonové kyseliny na  $\kappa$ -karagenan<sup>48</sup>. Pro použití k hojení ran, vyžadující od materiálu schopnost zadržovat vodu, absorbovat vlhkost a antimikrobiální aktivitu, byl  $\kappa$ -karagenan modifikován kyselinou chloroctovou. Vzniklý karboxymethyl-karagenan vykazoval všechny tyto potřebné vlastnosti, které byly silně závislé na jeho stupni substituce – čím byl větší stupeň substituce, tím lepší výsledky byly prokázány<sup>49</sup>. Tenké filmy pocházející z mořských porostů na bázi  $\kappa$ -karagenanu byly roubovány polymethylmethakrylátem s využitím peroxidisíranu draselného jako iniciátoru. Výsledné materiály vykazovaly vhodnou velikost pórů využitelnou pro membrány na separaci plynů<sup>50</sup>.

### 3.2. Kopolymery polysacharidů živočišného původu a vyskytujících se v houbách

*Chitin* je relativně hydrofobní lineární polysacharid tvořící primární komponentu buněčných stěn většiny hub a také se vyskytující v kutikule členovců, přičemž u některých z nich (např. u hmyzu, korýšů apod.) je kutikula zpevněna pomocí minerálních látek a přeměněna v pevný exoskelet. Chitin je složen z molekul *N*-acetyl-D-glukosaminu vzájemně propojených pomocí 1,4- $\beta$ -glykosidické vazby. Je nerozpustný ve vodě při neutrálním pH, ale jeho modifikace pomocí *N*-deacetylace ( $\rightarrow$  chitosan obsahující jednotky *N*-acetyl-D-glukosaminu a D-glukosaminu) zvyšuje rozpustnost ve vodě a zároveň poskytuje podél řetězce reaktivní primární aminoskupiny, které je možné dále modifikovat. Chitosan rozpuštěný za kyselých podmínek společně v kombinaci s polyolovými solemi (např. glycerol- nebo glukosa-fosfátová sůl) vytváří termoresponzivní gel, který je při laboratorní teplotě v kapalném stavu a při 37 °C se přemění na gel, což je velmi užitečné pro enkapsulaci živých buněk či terapeutických proteinů. Tento systém byl úspěšně využit *in vivo* pro transport biologicky aktivních růstových faktorů a také pro enkapsulaci matric živých chondrocytů pro tkáňové inženýrství<sup>51</sup>. Dalším zajímavým příkladem využití chitosanu pro responzivní systémy je chitosan-*graft*-poly(2-dimethylamino)ethyl methakrylát, který je citlivý na změnu pH. Při pH ~ 4 vytváří polymer molekulární roztok, zatímco při pH 5–6 se začínají vytvářet „core-shell“ nanočástice, při pH ~ 7 se tyto nanočástice dále spojují a vytváří nanočástice typu

dvouvrstvé koule a při pH ~ 8 nakonec dochází k jejich agregaci a vysrážení<sup>52</sup>. Dokonce byl připraven systém kombinující obojí výše zmíněné responzivní chování, chitosan-*graft*-poly-2-(*N,N*-dimethylamino)ethyl-methakrylát, který vykazuje jak pH- tak termoresponzivní chování<sup>53</sup>. Modifikovaný chitosan může být také využit pro selektivní adsorpci rtuťových iontů, přičemž za tímto účelem byl pomocí ATRP syntetizován chitosan-*graft*-polyakrylamid, který při následné studii vykazoval velmi dobrou maximální adsorpční kapacitu rtuti (až 322,6 mg Hg iontů/g polymeru)<sup>54</sup>.

*Kyselina hyaluronová* (KH) je hydrofilní lineární glykosaminoglykan, obsahující kyselinu 1,4- $\beta$ -D-glukuronovou a 1,3- $\beta$ -*N*-acetylglukosamin. KH byla prvně objevena v dobytčím oku v roce 1934 (cit.<sup>55</sup>), avšak později bylo zjištěno, že KH je distribuováno v celém těle, zejména v extracelulární matici a synoviálních tekutinách<sup>56</sup>. Přestože samotná KH může být pro aplikace izolována extrakcí z živých tkání, nejčastěji je produkována mikrobiální fermentací kvůli sníženému riziku infekcí, kontaminací a virů<sup>57</sup>. Bylo prokázáno, že KH podporuje angiogenezi a pomáhá při hojení ran<sup>58</sup>, přičemž tato zjištění motivovala k masivnímu využití KH pro regeneraci poškozených hlasivek a léčbu jejich nedostatečné funkčnosti, pro výrobu protizánětlivých látek a také v kosmetickém a potravinářském průmyslu<sup>59–64</sup>. Dále také bylo zvažováno použití KH jako biomateriálu pro dlouhodobé implantáty, avšak využití nemodifikované KH bylo problematické kvůli její velmi rychlé enzymatické degradaci v těle (u lidí se syntetizuje a degraduje až 5 g KH denně, přičemž v průměrném člověku je celkem obsaženo přibližně 15 g KH)<sup>65</sup>. Pro snížení rychlosti degradace a také její kontrolu byla KH konjugována se syntetickými polymery, které navíc často i zvyšovaly mechanickou pevnost těchto materiálů. Prestwich a spol. studovali tvorbu hydrogelů tak, že nejříve KH převedli na derivát dihydrazidu adipové kyseliny, který potom zesítřovali s polyethylenglykol propionialdehydem<sup>66</sup>, ale nakonec se ukázalo, že pro polymerní síť KH budou využitelnější spíše chemicky šetrnější postupy. Jako eventualita se ukázala možnost funkcionalizace KH volnými thiohy a následné zesítřování pomocí Michaelovy adice s polyethylenglykol diakrylátem<sup>67</sup>. Takto připravené materiály mohou být použity pro kontrolované uvolňování protizánětlivých léků, zvýšení reepitelizace při hojení ran<sup>68</sup>, stimulaci růstu vlásčnic pomocí uvolňování cytokinů<sup>62</sup> nebo jako náhražka tukové tkáně<sup>69</sup>. Na KH byla také roubována poly(mléčná-*co*-glykolová kyselina), přičemž výsledný kopolymer vytvářel nanočástice využitelné k cílenému transportu protinádorových léčiv<sup>70</sup>. Rovněž byla zkoumána konjugace methakrylátu KH s diakrylátem blokového kopolymery Pluronic® F127 pomocí fotozesítřovacího efektu. Takto vzniklé hydrogely vykazovaly termoresponzivitou<sup>71</sup>, tedy rychle ztrácely obsah vody ve své struktuře (odbotnaly) s rostoucí teplotou, což bylo následně využito v aplikaci kontrolovaného uvolňování lidských růstových faktorů a plazmidů DNA, indukujících transfekci *in vitro*. Podobné hydrogely byly vytvořeny roubováním methakrylátu KH

amino-funkcionalizovaným produktem Pluronic® F127 s následným fotozesíťováním s akrylátovými buněčně-adhezními doménami. Enkapsulace chondrocytů těmito hydrogelovými strukturami poté způsobila *in vitro* zvýšenou produkci proteinů extracelulární matrice, především kolagenu II (cit.<sup>70</sup>).

*Chondroitin sulfát* (CS) je lineární polysacharid obsahující 1,3- $\beta$ -N-acetylglaktosamin a 1,4- $\beta$ -glukuronovou kyselinu. N-Acetylglaktosamin je v řetězci sulfátován v poloze 4 nebo 6 (chondroitin-4-sulfát resp. chondroitin-6-sulfát). CS byl poprvé objeven v roce 1861 Fischerem<sup>72</sup>, avšak jeho struktura byla objasněna až na začátku 20. století<sup>73</sup>. CS se nejvíce vyskytuje jako součást proteoglykanů v matricích pojivových tkání, plnicí zde především strukturální úlohu, nebo na povrchu buněk a membrán, plnicí úlohu receptorů<sup>74</sup>. Komerčně dostupný CS se získává extrakcí z mnoha přírodních zdrojů, např. chrupavky skotu, prasat či žraloka<sup>75</sup>. Důležitou roli hraje CS v kloubní chrupavce, kde mnoho řetězců CS je konjugováno na jeden řetězec proteinu, a vytváří tak gradient náboje, který zpevňuje chrupavku a zvyšuje tak její schopnost absorbovat zátěž<sup>76</sup>. Tato přirozená role CS nasměrovala jeho použití v tkáňovém inženýrství pro léčbu chrupavek<sup>77</sup>. Konkrétně pro tuto aplikaci byl CS nejdříve modifikován pomocí glycidyl-methakrylátu a následně fotozesíťován pomocí polyethylenglykol-diakrylátu. Modifikací CS aldehydem nebo sukcinimidyl-sukcinátem a následným zesíťováním poly(vinylalkohol-co-vinylaminem) vzniká materiál využitelný jako adhezivum při operacích rohovky, neboť tento materiál vykazuje minimální zánětlivé reakce a zároveň je odolný vůči poškození při velkých tlacích<sup>78</sup>. Tento materiál byl také studován při hojení ran, kdy hydrogelový film byl nanesen na povrchové zranění myším a také na vnitřní zranění čelistní sliznice králíků, přičemž v obou případech ukázala léčba pomocí těchto hydrogelů značné urychlení hojení oproti kontrolní skupině<sup>78</sup>. Dalším využitým glykokonjugátem CS je CS-*graft*-polylaktid vytvářející ve vodných roztocích micely, které jsou vhodné pro enkapsulaci chondrocytů a pro cílený transport léčiv<sup>79</sup>.

*Heparin* je lineární glukosamin s vysokým stupněm sulfatace a jeho struktura je složena z 1,4- $\alpha$  a také  $\beta$ -kyseliny uronové a  $\alpha$ -D-glukosaminových zbytků, obsahujících směs funkčních skupin. Heparin byl poprvé objeven v roce 1916, přičemž od roku 1935 je klinicky používán jako antikoagulant<sup>80</sup>. Heparin je syntetizován jako proteoglykan obsažený v žírných buňkách (60–100 kDa) a poté je štěpen na menší fragmenty pomocí endoglykasy (5 až 25 kDa)<sup>81</sup>. Komerčně se heparin vyrábí extrakcí z nejrůznějších tkání (např. prasečí či hovězí střešní sliznice) následovanou složitými purifikačními procesy. Vysoký negativní náboj heparinu vyvolává vznik mnoha iontových interakcí s řadou proteinů (růstové faktory, proteasy, chemokiny), což je předmětem intenzivního studia. Bylo např. prokázáno, že taková interakce může mít za následek stabilizaci, zejména proti denaturaci, řady růstových faktorů, např. bazálního fibroblastového růstového faktoru (bFGF) nebo vaskulárního endotelového růstového faktoru (VEGF), a zároveň způsobuje zvýšení afinity tohoto kom-

plexu na buněčné receptory<sup>82</sup>. Pro zlepšení mechanických a chemických vlastností byl heparin konjugován nejprve s polystyrenem za vzniku specifických desek, jejichž povrch vykazoval zvýšenou aktivitu růstových faktorů VEGF a FGF-2. Heparin konjugovaný na hydrogely polyethylenglykolu byl také použit k prozkoumání diferenciace a fenotypové odpovědi mezenchymálních kmenových buněk a valvulárních intersticiálních buněk (VIC) tím, že zachytí růstové faktory a další proteiny vázající se na heparin<sup>83</sup>. V tomto případě bylo později zjištěno, že kovalentní konjugace heparinu s hydrogelovou sítí polyethylenoxidu k zachycení růstového faktoru FGF2 vyvolala expresi myofibroblastových fenotypových markerů, což naznačuje, že imobilizovaný heparin může modulovat buněčný osud přes vazbu růstových faktorů na rozhraní gel/buňky<sup>84</sup>.

#### 4. Závěr

Mnoho výše diskutovaných příkladů ukazuje širokou škálu využití polymerních glykokonjugátů, dostupných kombinací polysacharidů a syntetických polymerů. Tyto materiály jsou připravovány a používány z důvodu zlepšení vlastností samotných polysacharidů, neboť syntetické polymery mohou mít vliv na hydrofilitu, teplotní rezpozivitu a pH rezpozivitu, samsopřádání, citlivost k hydrolyze a také na umístění funkčních skupin ve výsledném hybridním materiálu. Pro jejich přípravu bývají obecně používány spíše šetrné konjugací techniky. Požadovaných vlastností syntetických polymerů se dá snadno docílit výběrem jejich struktury, a tudíž se dají snadno modifikovat i vlastnosti výsledného hybridního kopolymeru. Rozsáhlé využití polymerních glykokonjugátů je způsobeno kombinací jejich jedinečných vlastností a relativně nízké výrobní ceny. Polymerní glykokonjugáty využívající zvířecí polysacharidy se často používají k výrobě systémů vyžadujících nízkou imunogenicitu, zatímco glykokonjugáty z polysacharidů pocházejících z hub jsou potřebné pro imunologické aplikace, neboť jsou schopné vyvolávat specifické reakce receptorů. Nevýhodou všech polysacharidů pocházejících z přírodních zdrojů je jejich nečistota a obsah patogenů. Avšak tento problém odpadá při použití nových postupů výroby polysacharidů, tedy jejich chemickou nebo enzymatickou syntézou. Takto vytvořené polysacharidy mají dobře definovanou strukturu, ale ještě bohužel nebyly plně využity pro přípravu polymerních glykokonjugátů. Vývoj polymerních glykokonjugátů umožnil výrobu velmi různorodých a funkčních materiálů s takovými biologickými odezvami a takovými chemickými a mechanickými vlastnostmi, aby lépe napodobovaly vlastnosti přirozených matic. Budoucnost konjugace polysacharidů a syntetických polymerů je především v pokračujícím trendu „přizpůsobování“ polysacharidů a jejich vlastností dle požadovaných potřeb.

*Vypracováno s finanční podporou Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy České republiky v rámci Národního programu udržitelnosti I (NPU I), Projekt POLY-MAT LO1507.*



## LITERATURA

1. Langer R., Tirrell D. A.: *Nature* 428, 487 (2004).
2. Cobo I., Li M., Sumerlin B. S., Perrier S.: *Nat. Mater.* 14, 143 (2015).
3. Niemeyer C. M., Mirkin C. A.: *Nanobiotechnology: concepts, applications and perspectives 1* (2004).
4. Tu R. S., Tirrell M.: *Adv. Drug. Del. Rev.* 56, 1537 (2004).
5. Canalle L. A., Löwik D., van Hest J.: *Chem. Soc. Rev.* 39, 329 (2010).
6. Lutz J. F., Börner H. G.: *Prog. Polym. Sci.* 33, 1 (2008).
7. Reis R. L., Neves N. M., Mano J. F., Gomes M. E., Marques A. P., Azevedo H. S.: *Natural-Based Polymers for Biomedical Applications 1*, 1 (2008).
8. Dwek R. A.: *Chem. Rev.* 96, 683 (1996).
9. Koeller K. M., Wong C. H.: *Chem. Rev.* 100, 4465 (2000).
10. Jenkins R. A., Parekh R. B., James D. C.: *Nat. Biotechnol.* 14, 975 (1996).
11. Zhang M., Cui P. S. W., Cheung C. K., Wang Q., *Trends Food Sci. Technol.* 18, 4 (2007).
12. Mizuno T.: *Int. J. Med. Mushrooms* 1, 9 (1999).
13. Schmidt R. R., Kinzy W.: *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 50, 21 (1994).
14. Shiao T. C., Roy R.: *Top. Curr. Chem.* 301, 69 (2011).
15. Palmacci E. R., Plante O. J., Seeberger P.: *Eur. J. Org. Chem.* 4, 595 (2002).
16. Wu C. Y., Wong C. H.: *Top. Curr. Chem.* 301, 223 (2011).
17. Miermont A., Zeng Y., Jing Y., Ye X. S., Huang X.: *J. Org. Chem.* 72, 8958 (2007).
18. Baek J. Y., Lee B. Y., Jo M. G., Kim K.: *J. Am. Chem. Soc.* 131, 17705 (2009).
19. Crich D., Sun S.: *J. Org. Chem.* 61, 4506 (1996).
20. Hahm H. S., Schlegel M. K., Hurevich M., Eller S., Schuhmacher F., Hofmann J., Pagel K., Seeberger P. H.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 114, 3385 (2017).
21. Leloir L. F.: *Science* 172, 1299 (1971).
22. Ichikawa Y., Wang R., Wong C. H.: *Methods Enzymol.* 107, 247 (1994).
23. Palcic M. M.: *Curr. Opin. Biotechnol.* 10, 616 (1999).
24. Watt G. M., Lowden P. A. S., Flitsch S. L.: *Curr. Opin. Struct. Biol.* 7, 652 (1997).
25. Singh V., Kumar P., Sanghi R.: *Prog. Polym. Sci.* 37, 340 (2012).
26. Tizzotti M., Charlot A., Fleury E., Stenzel M., Bernard J.: *Macromol. Rapid Commun.* 31, 1751 (2010).
27. Hawker C. J., Bosman A. W., Harth E.: *Chem. Rev.* 101, 3661 (2001).
28. Matyjaszewski K., Xia J.: *Chem. Rev.* 101, 2921 (2001).
29. Chiefari J., Chong Y. K., Ercole F., Krstina J., Jeffery J., Le T. P., Mayadunne R. T. A., Meijs G. F., Moad C. L., Moad G., Rizzardo E., Thang S. H.: *Macromolecules* 31, 5559 (1998).
30. Ziegast G., Pfannemüller B.: *Macromol. Chem. Rapid Commun.* 5, 373 (1984).
31. Schatz C., Louguet S., Le Meins J. F., Lecommandoux S.: *Angew. Chem.* 48, 2572 (2009).
32. Akiyoshi K., Kohara M., Ito K., Kitamura S., Sunamoto J.: *Macromol. Rapid Commun.* 20, 112 (1999).
33. Narumi A., Miura Y., Otsuka I., Yamane S., Kitajyo Y., Satoh T., Hirao A., Kaneko N., Kaga H., Kakuchi T.: *J. Polym. Sci., Part A* 44, 4864 (2006).
34. Haddleton D. M., Ohno K.: *Biomacromolecules* 1, 152 (2000).
35. Houga C., Le Mans J. F., Borsali R., Taton D., Gnannou Y.: *Chem. Commun.* 29, 3063 (2007).
36. Akiyoshi K., Kohara M., Ito K., Kitamura S., Sunamoto J.: *Macromol. Rapid Commun.* 20, 112 (1999).
37. Kim J., Yun S.: *Macromolecules* 39, 4202 (2006).
38. Klemm D., Heublein B., Fink H. P., Bohn A.: *Angew. Chem.* 44, 3358 (2005).
39. Tsubokawa N., Iida T., Takayama T.: *J. Appl. Polym. Sci.* 75, 515 (2000).
40. Prasad K., Mehta G., Meena R., Siddhanta A. K.: *J. Appl. Polym. Sci.* 102, 3654 (2006).
41. Ho H. V., Sievenpiper J. L., Zurbau A., Blanco Mejia S., Jovanovski E., Au-Yeung F., Jenkins A. L., Vuksan V.: *Br. J. Nutr.* 8, 1369 (2016).
42. Zong A., Cao H., Wang F.: *Carbohydr. Polym.* 90, 1395 (2012).
43. Lehtovaara B. C., Mohit S. V., Frank X. G.: *J. Bioact. Compat. Polym.* 27, 3 (2012).
44. Loukotová L., Kučka J., Rabyk M., Höcherl A., Venclíková K., Janoušková O., Páral P., Kolářová V., Šefc L., Štěpánek P., Hrubý M.: *J. Controlled Release* 45, 78 (2017).
45. Krassig H. A.: *Cellulose-Structure, Accessibility and Reactivity*. Gordon and Breach Science Publishing, Philadelphia 1993.
46. Pourjavadi A., Sadeghi M., Hosseinzadeh H.: *Polym. Adv. Technol.* 15, 645 (2004).
47. Kulkarni R. V., Boppana R., Mohan G. K., Mutalik S., Kalyane N. V.: *J. Colloid Interface Sci.* 367, 509 (2012).
48. Pourjavadi A., Barzegar S., Zeidabadi F.: *React. Funct. Polym.* 67, 644 (2007).
49. Fan L., Wang L., Gao S., Wu P., Li M., Xie W.: *Carbohydr. Polym.* 86, 1167 (2011).
50. Prasad K., Meena R., Siddhanta A. K.: *J. Polym. Mater.* 25, 373 (2008).
51. Chenite A., Chaput C., Wang D., Combes C., Buschmann M. D., Hoemann C. D., Leroux J. C., Atkinson B. L., Binette F., Selmani A.: *Biomaterials* 21, 2155 (2000).
52. Bao H., Hu J., Gan L. H., Li L.: *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.* 47, 6682 (2009).
53. Yuan W., Zhao Z., Yuan J., Gu S., Zhang F., Xie X., Ren J.: *Polym. Int.* 60, 194 (2011).
54. Li N., Bai R., Liu C.: *Langmuir* 21, 11780 (2005).
55. Meyer K., Palmer J. W.: *J. Biol. Chem.* 107, 629 (1934).
56. Lapcik L., De Smedt S., Demeester J., Chabreck P.:

- Chem. Rev. 98, 2663 (1998).
57. Chong B. F., Blank L. M., McLaughlin R., Nielsen L. K.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 66, 341 (2005).
  58. Chen W. Y. J., Abatangelo G.: *Wound Repair and Regeneration* 7, 79 (1999).
  59. Prestwich G. D., Marecak D. M., Marecek J. F., Ver-cruysse K. P., Ziebell M. R.: *J. Controlled Release* 53, 93 (1998).
  60. Sahiner N., Jha A. K., Nguyen D., Jia X.: *J. Biomater. Sci.* 19, 223 (2008).
  61. Luo Y., Kirker K. R., Prestwich G. D.: *J. Controlled Release* 69, 169 (2000).
  62. Peattie R. A., Nayate A. P., Firpo M. A., Shelby J., Fisher R. J., Prestwich G. D.: *Biomaterials* 25, 2789 (2004).
  63. Shu X. Z., Liu Y., Palumbo F. S., Luo Y., Prestwich G. D.: *Biomaterials* 25, 1339 (2004).
  64. Chun K. W., Lee J. B., Kim S. H., Park T. G.: *Biomaterials* 26, 3319 (2005).
  65. Stern R.: *Eur. J. Cell Biol.* 83, 317 (2004).
  66. Luo, Y., Kirker K. R., Prestwich G. D.: *J. Controlled Release* 69, 169 (2000).
  67. Zhang J., Skardal A., Prestwich G. D.: *Biomaterials* 29, 4521 (2008).
  68. Kirker K. R., Luo Y., Nielson J. H., Shelby J., Prestwich G. D.: *Biomaterials* 23, 3661 (2002).
  69. Flynn L., Prestwich G. D., Semple J. L., Woodhouse K. A.: *Biomaterials* 28, 3834 (2007).
  70. Lee H., Ahn C. H., Park T. G.: *Macromol. Biosci.* 9, 336 (2009).
  71. Kim M. R., Park T. G.: *J. Controlled Release* 80, 69 (2002).
  72. Fischer G., Boedeker C.: *Ann. Chem. Pharm.* 117, 111 (1861).
  73. Bray H. G., Gregory J. E., Stacey M.: *Biochem. J.* 38, 142 (1944).
  74. Silbert J. E., Sugumaran G.: *IUBMB Life* 54, 177 (2002).
  75. Volpi N.: *Chondroitin Sulfate: Structure, Role and Pharmacological Activity*. Elsevier, San Diego 2006.
  76. Chahine N. O., Chen F. H., Hung C. T., Ateshian G. A.: *Biophys. J.* 89, 1543 (2005).
  77. Strehin I., Ambrose W. M., Schein O., Salahuddin A., Elisseeff J.: *J. Cataract. Refract. Surg.* 35, 567 (2009).
  78. Strehin I., Nahas Z., Arora K., Nguyen T., Elisseeff J.: *Biomaterials* 31, 2788 (2010).
  79. Lee C. T., Huang C. P., Lee Y. D.: *Biomol. Eng.* 24, 131 (2007).
  80. Capila I., Linhardt R. J.: *Angew. Chem.* 41, 390 (2002).
  81. Tipson R. S., Horton D.: *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. Academic Press, San Diego 1985.
  82. Neufeld G., Cohen T., Gengrinovitch S., Poltorak Z.: *FASEB J.* 13, 9 (1999).
  83. Benoit D. S., Collins S. D., Anseth K. S.: *Adv. Funct. Mater.* 17, 2085 (2007).
  84. Cushing M. C., Liao J. T., Jaeggli M. P., Anseth K. S.: *Biomaterials* 28, 3378 (2007).
- L. Loukotová and M. Hrubý** (*Institute of Macromolecular Chemistry, Czech Academy of Sciences, Prague*): **Polysaccharides as Building Blocks of Hybrid Copolymers**
- Hybrid copolymers combine the biopolymer properties (biodegradability, biocompatibility, specific interactions) with the tunable properties of the synthetic polymers (hydrophilicity vs. hydrophobicity, external stimulus responsiveness, ionic character). Therefore, these polymers can be used for the preparation of material with desired properties, while it is necessary to take into account the synthetic, physical, physico-chemical, economic and application aspects of the materials used. This review article shows the preparation procedures of polymeric glycoconjugates and also their use in technical and biomedical applications.
- Keywords: polysaccharides, hybrid polymers, glycoconjugates, drug delivery