

JĘDRZEJ SKROBOT, MIROŚŁAWA EL FRAY^{*)}

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie
Instytut Polimerów
Zakład Biomateriałów i Technologii Mikrobiologicznych
ul. Pułaskiego 10, 70-322 Szczecin

Fotoczułe wstrzykiwalne układy do zastosowań biomedycznych

Streszczenie — Artykuł stanowi przegląd literaturowy dotyczący fotoczułych, wstrzykiwalnych (wprowadzanych metodami chirurgii małoinwazyjnej w miejsce objęte terapią) kompozycji polimerowych do zastosowań medycznych. Charakterystykę głównych grup polimerów, których budowa chemiczna umożliwia wytworzenie światłoutwardzalnych kompozycji (hydrożeli syntetycznych i z polimerów naturalnych, polibezwodników, poliestrów i poliuretanów) poprzedziło krótkie wprowadzenie do tematyki biomateriałów reagujących na bodźce. Opisano metody modyfikacji związków zaliczanych do wymienionych grup. Podano przykłady zastosowań takich fotoczułych materiałów w medycynie wskazując na istniejące problemy i ograniczenia.

Słowa kluczowe: biomateriały fotoczułe, biomateriały wstrzykiwalne, sieciowanie *in situ*, sieciowanie UV-Vis.

PHOTOSENSITIVE INJECTABLE SYSTEMS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

Summary — The paper is a review of photosensitive injectable (*i.e.* introduced by low-invasion surgery methods into the places subjected to therapy) polymer compositions for medical applications. The article contains a short introduction into the field of stimuli-responsive biomaterials and presents the characteristics of main groups of polymers which structures allowing formation of photo-cured compositions (synthetic and natural polymeric hydrogels, polyanhydrides, polyesters or polyurethanes). The methods of modifications of such compounds are given as well as the examples of photosensitive materials applications in medicine. The existing problems and limitations are also mentioned.

Key words: photosensitive biomaterials, injectable biomaterials, *in-situ* crosslinking, UV-Vis curing.

FOTOSIECIOWALNE BIOMATERIAŁY POLIMEROWE — CHARAKTERYSTYKA OGÓLNA

Wraz z postępującym rozwojem nauki o nowoczesnych materiałach zwiększa się zainteresowanie układami optymalnie wyspecjalizowanymi, spełniającymi bardzo konkretne i restrykcyjne wymagania takie jak, np. przewidywany sposób reakcji na zadany bodziec zewnętrzny. Należy pamiętać, że reakcja na bodźce jest naturalną cechą układów żywych. Do chwili obecnej opracowano wiele biozgodnych polimerów cechujących się zdolnością do skokowej zmiany właściwości w wyniku „przełączenia” lub „uaktywnienia” jednego z parametrów środowiska lub przyłożenia impulsu z zewnątrz. Impuls taki może stanowić, np. zmiana temperatury lub pH środowiska, modyfikacja budowy chemicznej, oddziaływanie pola elektromagnetycznego bądź promieniowania świetlnego. Reakcją polimeru natomiast może być, np. makroskopowa zmiana kształtu, rozpuszczalności lub barwy bądź też zainicjowanie usieciowania fizycznego. Przemiany te są z definicji odwracalne. Liczne prace przeglądowe szczegółowo przedstawiają specy-

fikę biomedycznych polimerów reagujących na bodźce zewnętrzne [1–5].

Do najważniejszych przedstawicieli polimerów aktywnych (*smart polymers, stimuli-responsive polymers*) zalicza się m.in. polimery z pamięcią kształtu (o strukturze kopolimerów multiblokowych lub sieci polimerowych), hydrożele zmieniające swój charakter z hydrofilowego na hydrofobowy i odwrotnie, termoplasty modyfikujące barwę w miejscu silnych naprężeń bądź też materiały wykazujące zmienne, dające się programować powinowactwo chemiczne (np. amfifilowość). Potencjał aplikacyjny tego typu układów obejmuje kontrolowane uwalnianie leków, biosensory, biosiłowniki, reaktywne membrany do oczyszczania białek itp.

Odrębną grupę polimerów stanowią układy fotosieciovane (zwane też fotoczułymi) reagujące na zadany bodziec w sposób nieodwracalny lub częściowo odwracalny. Polimery wrażliwe na bodźce świetlne mają ogromny potencjał jako surowce do syntezy biomateriałów polimerowych i to właśnie z nimi wiąże się wielkie nadzieje rozwoju, m.in. implantologii małoinwazyjnej. Z założenia są to układy wstrzykiwalne mające pierwotnie postać pasty, dzięki czemu jest możliwe precyzyjne wprowadzenie ich metodami laparoskopowymi w miej-

^{*)} Autor do korespondencji; e-mail: mirfray@zut.edu.pl

sce objęte terapią. Materiał taki albo już zawiera wzbudzone przez światło grupy chromoforowe albo do układu wprowadza się odpowiedni fotoinicjator; pod wpływem bodźca — promieniowania świetlnego o odpowiedniej długości fali — w materiale następuje kowalencyjne usieciowanie (zwykle wg mechanizmu rodnikowego), którego następstwem jest makroskopowa zmiana postaci polimeru z „pastowatej” na elastyczną lub sztywną. Umieszczony w organizmie i usieciowany implant może ulegać dalszym przemianom pod wpływem bodźców lokalnych (temperatury ciała i środowiska biologicznego) w kierunku nieznacznej zwiększenia objętości pożądanego, np. w nowatorskim leczeniu przepuklin [6] lub zmiany rozpuszczalności w systemach kontrolowanego uwalniania leków. Korzyści wynikające z zastosowania tego typu materiałów są oczywiste, mianowicie ze względu na możliwość laparoskopowego wprowadzenia implantu większy jest komfort pacjenta, niewielka inwazyjność zabiegu oraz czas — krótszy niż klasycznego zabiegu chirurgicznego. Skraca się zatem pobyt pacjenta w szpitalu i okres rekonwalescencji, a to wszystko bezpośrednio przekłada się na zmniejszenie kosztów leczenia. Ponadto łatwość wprowadzania w masę biomateriału czynników wzrostu lub żywych komórek (sprzyja temu półpłynna postać polimeru) pozwala na podwyższenie biozgodności i tolerancji takich implantów przez tkanki.

Fotosieciowalne biomateriały polimerowe, zwłaszcza ulegające całkowitej lub częściowej degradacji wykorzystywane są również jako rusztowania hodowli komórkowych, jako diagnostyczne mikromacierze genetyczne lub komórkowe oraz jako biosensory. Zaletę fotoreaktywnych biomateriałów w tych zastosowaniach stanowi m.in. możliwość formowania struktur o dowolnej geometrii oraz osadzania ich na dowolnych nośnikach; brak tej możliwości jest nieraz ograniczeniem funkcjonalności biomateriałów konwencjonalnych.

Dziedzina fotosieciowalnych biomateriałów polimerowych w ostatnim dziesięcioleciu przeżywa wielki rozkwit. Systematycznie rośnie liczba publikacji i coraz więcej zespołów badawczych na świecie zajmuje się tą tematyką. Świadczy to o ogromnym potencjale takich materiałów oraz o komercyjnym zapotrzebowaniu na nie.

Poniższy przegląd przedstawia aktualny stan wiedzy na temat wstrzykiwalnych fotoczułych biomateriałów polimerowych oraz wskazuje na wybrane, wciąż nierozwiązane zagadnienia objęte tą tematyką badawczą. Omówiono najważniejsze grupy polimerów zdolnych do sieciowania pod wpływem światła bądź przemian fizycznych w zdefiniowanym środowisku, w tym zwłaszcza hydrożele polimerowe syntetyczne i pochodzenia naturalnego, polibezwodniki, poliestry [ze szczególnym uwzględnieniem poli(fumaranu propylenu)] oraz nieliczne, reprezentowane w tej grupie poliuretany. Przede wszystkim zwrócono uwagę na sposób otrzymywania tego typu materiałów oraz ich potencjalne zastosowania w technikach medycznych, zwłaszcza inżynierii

tkankowej, implantologii i w kontrolowanym uwalnianiu leków.

HYDROŻELE POLIMEROWE WRAŻLIWE NA BODŹCE ŚWIETLNE

Hydrożele fotosieciowalne uzyskuje się często z surowców rozpuszczalnych w wodzie, a sam proces fotosieciowania prowadzi się w roztworze lub w silnie spęcznionym materiale. Ruchliwość monomerów/makromerów oraz powstających łańcuchów polimerowych w takich warunkach jest duża, a to pozwala na osiąganie bardzo wysokich, dochodzących do 100 %, stopni konwersji sieciujących wiązań podwójnych [7]. Stuprocentowa konwersja ma duże znaczenie w przypadku materiałów do zastosowań biomedycznych, istnieje bowiem ryzyko wymywania nieprzereagowanych monomerów/makromerów z implantu, mogących powodować reakcje uczuleniowe i zapalną odpowiedź tkanek.

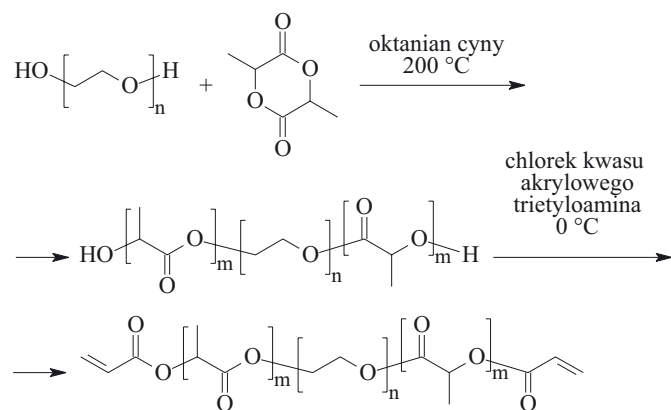
Hydrożele syntetyczne

Hydrożele na podstawie poli(glikolu etylenowego)

Do jednych z bardziej powszechnych hydrożeli polimerowych zalicza się materiały otrzymywane z wykorzystaniem poli(tlenku etylenu) (PEOX) [zwyczajowa nazwa glikol polietylenowy (PEG)]. Jest to polimer rozpuszczalny w wodzie, a jego znaczna hydrofilowość gwarantuje niewielką adsorpcję białek. Obecność hydroksylowych grup końcowych umożliwia ponadto liczne modyfikacje PEOX na drodze prostych reakcji chemicznych [8]. Bardzo często stosowaną i sprawdzoną strategią wprowadzania grup sieciujących do łańcucha polimeru jest jego reakcja z chlorkami kwasów karboksylowych (akrylowego, metakrylowego [9] lub fumarowego [10]) w obecności trietyloaminy.

PEOX ulega wolnej biodegradacji *in vivo* [11], dlatego też w celu nadania hydrożelom cech bioresorbowalności wytwarza się kopolimery PEOX z ϵ -kaprolaktonem lub z α -hydroksykwasami (kwasem mlekowym lub glikolowym) używając w charakterze surowca ich pierścieniowe odpowiedniki (laktony) — laktyd i glikol [8, 12]. Otrzymywanie tego typu fotosieciowalnych układów na przykładzie kopolimeru PEOX z laktydem przedstawia schemat A. Produktami biodegradacji takich układów są monomeryczne cząsteczki α -hydroksykwasów, oraz krótkie łańcuchy PEOX, poli(kwasu akrylowego) i poli(kwasu metakrylowego). Biokompatybilność powstających oligokwasów jest uwarunkowana masą molową cząsteczek, jej wartość wiąże się bowiem z możliwością ich resorpcji [13].

Fotoreaktywne hydrożele na podstawie PEOX stosowano jako komponent implantów chrząstki do enkapsulacji chondrocytów [14, 15], do enkapsulacji komórek trzustki [16, 17], łącznie z immobilizowanym czynnikiem wzrostu TGF- β 1 jako rusztowania do rekonstrukcji tkanki mięśniowej [18], jako materiały opatrunkowo-



Schemat A. Modyfikacja PEOX prowadząca do otrzymania biodegradowalnego fotosieciewalnego makromeru hydrożelowego [8]

Scheme A. PEOX modification leading to biodegradable photo-cured macromer hydrogel [8]

-barierowe [19, 20] oraz jako układy do kontrolowanego uwalniania leków [21].

Poli(alkohol winylowy)

Poli(alkohol winylowy) (PVA) to ważny biomateriał o bogatej historii zastosowań biomedycznych, obejmującej soczewki kontaktowe [22], układy do kontrolowanego dozowania leków [23] oraz rusztowania wykorzystywane w bioinżynierii chrząstki [24], regeneracji ścięgien [25] lub produkcji zastawek serca [8, 26]. Atrakcyjność hydrożeli PVA wynika z wysokiej biokompatybilności, elastyczności porównywalnej do elastyczności naturalnych tkanek, łatwości wytwarzania i przetwarzania oraz z obecności wolnych grup hydroksylowych w łańcuchu otwierającej szerokie możliwości modyfikacji chemicznej w kierunku nie tylko fotoreaktywności, lecz także przyłączania cząsteczek bioaktywnych, np. łańcuchów oligopeptydowych [27, 28].

Powszechne metody sieciowania hydrożeli PVA obejmują sieciowanie środkami chemicznymi [29] lub tworzenie sieci fizycznych metodami wielokrotnego zamrażania i odmrażania [30]. Wadami tych metod są, odpowiednio, toksyczność środków sieciujących i niestabilności sieci fizycznej.

Pierwsze próby modyfikacji fotosieciewalnego PVA dotyczyły materiałów na soczewki kontaktowe i polegały na prostym przyłączeniu, bezpośrednio do wolnych grup hydroksylowych, reszt kwasu akrylowego i metakrylowego [31]. Znana jest też inna metoda modyfikacji na drodze reakcji PVA z zawierającym wiązanie izocyjanianowe metakrylanem 2-izocyjanianoetylu [7]. Warunki prowadzenia reakcji (obecność rozpuszczalnika, długi czas trwania, podwyższona temperatura) wymuszają wprowadzenie niewielkiej ilości inhibitora w celu zapobieżenia niekontrolowanej polimeryzacji metakrylanów.

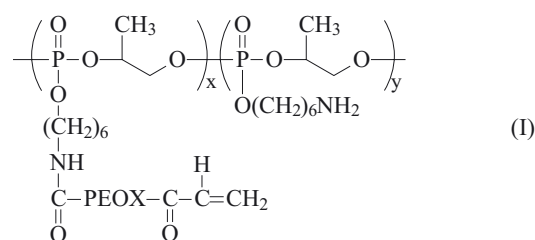
Rzadziej stosowanym sposobem nadania PVA właściwości fotoczułych jest acetalowanie go za pomocą al-

dehydu 2-*N*-metakryloamido-octowego, natomiast acetalowanie PVA ω -aminoaldehydem masłowym umożliwia dalsze przyłączenie łańcuchów peptydowych do fotoczułego PVA [27].

Obecne w łańcuchu PVA grupy hydroksylowe stwarzają duże możliwości w doborze stopnia podstawienia, co przekłada się na szeroką gamę projektowanych właściwości mechanicznych i czasów degradacji, a w konsekwencji na zwiększenie spektrum potencjalnych zastosowań fotosieciewalnych hydrożeli na podstawie PVA [29, 32], obejmujących, podobnie jak zastosowania konwencjonalnych hydrożeli, głównie uwalnianie leków i białek oraz implanty chrząstki [23, 33].

Polifosfoestry

Interesującą grupę hydrożeli polimerowych o szerokiej możliwościach modyfikacji budowy chemicznej w kierunku polimerów fotoczułych i o zastosowaniach biomedycznych stanowią polifosfoestry i ich kopolimery, przede wszystkim z PEOX [wzór (I)]. Polimery te



w miejscu węgla karbonylowego w łańcuchu głównym zawierają atom fosforu. Pięciowartościowość atomu fosforu pozwala na wprowadzenie do łańcucha grup bocznych. Jeżeli taką grupą boczną jest grupa alkoksylowa, wówczas mówimy o polifosforanach. W tym opracowaniu zarówno typowe polifosfoestry, jak i polifosforany będą określane mianem polifosfoestrów, gdyż właściwości fizykochemiczne tych grup związków nie różnią się w istotnym stopniu. Polimery takie otrzymuje się na drodze polimeryzacji odpowiednich cyklicznych fosforanów [35]. Produkty reakcji modyfikuje się podstawiając do atomu fosforu wybrane fotoczułe grupy lub związki, stosując przy tym typowe katalizatory polimeryzacji z otwarciem pierścienia, np. oktanian cyny [34, 36].

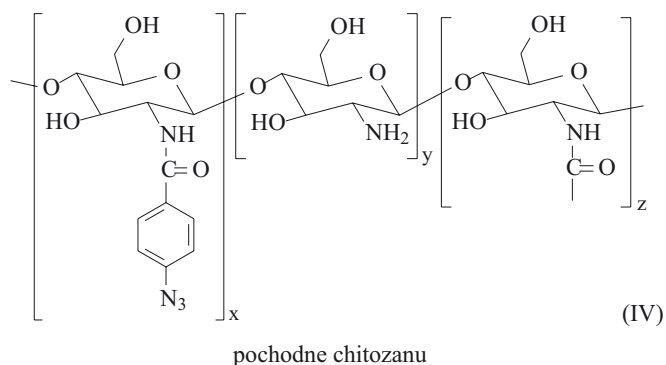
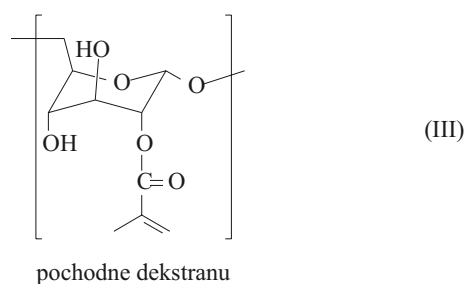
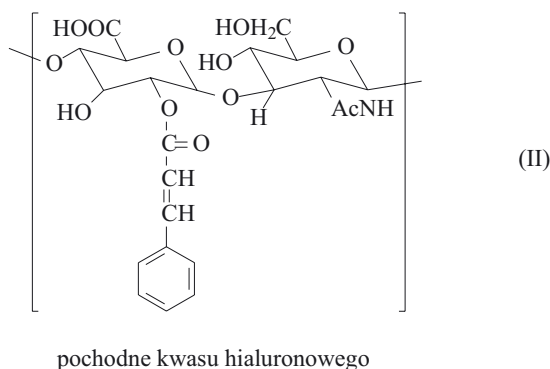
Polifosfoestry są podatne na biodegradację i biokompatybilne, a ich dodatkową zaletą jest wszechstronność zastosowań [37–39]. Wprowadzenie do łańcucha odpowiednich grup bocznych umożliwia regulowanie ich aktywności foto- i biochemicznej.

Polifosfoestry z powodzeniem używano jako nośniki biomolekuł i genów oraz jako potencjalne rusztowania do regeneracji tkanki kostnej. Powszechnie znana zdolność chelatowania atomów wapnia przez grupy fosfoestrowe może być wykorzystywana do stabilnego immobilizowania fosforanów wapnia w strukturze polimeru w celu zwiększenia osteoindukcyjności (zdolności do indukowania wzrostu osteoblastów). Uzyskane fotosieciew-

walne aminowe polifosfoestry wykazywały dobrą cyto-kompatybilność względem mezenchymalnych komórek macierzystych [34]. Wytworzono porowate hydrożele polifosfoestrów, dowiedziono także, że na drodze kopolimeryzacji oligomerów glikolu etylenowego z fotosieciewalnymi polifosfoestrami można otrzymać materiały zapewniające większą przeżywalność i proliferację osteoblastów niż homopolimer PEOX [36].

Hydrożele z polimerów naturalnych

Fotoczule hydrożele na podstawie polimerów pochodzenia naturalnego (biopolimerów) opisane w literaturze obejmują — najszerzej przebadane — modyfikowany kwas hialuronowy, dekstran i chitozan oraz chondroitynę i kolagen [8]. Większość ze wspomnianych hydrożeli to układy niezawierające małowcząsteczkowych fotoinicjatorów lub sieciowane w obecności inicjatora, np. IrgacureTM 2959. Wybrane struktury światłoczułych hydrożeli z polimerów naturalnych przedstawiają wzory (II)—(IV).



Kwas hialuronowy

Liniovowy kwas hialuronowy (HA) stanowi naturalny składnik wielu tkanek łącznych. Ulega degradacji enzymatycznej *in vivo*, a enzym hialuronidaza rozkłada go dzieląc łańcuch na krótkie fragmenty oligosacharydowe [40]. HA bierze udział w wielu ważnych procesach biochemicznych, m.in. w angiogenezie (tworzeniu się naczyń włosowatych) i promowaniu poliferaacji oraz ruchliwości komórek [41, 42]. Wykazuje doskonale właściwości łagodzące stany zapalne i przyspieszające gojenie [43, 44]. Obecność w łańcuchu HA aktywnych grup bocznych ułatwia jego modyfikację.

Kwas hialuronowy modyfikowano wprowadzając grupy metakrylanowe (na drodze reakcji z bezwodnikiem metakrylowym w obecności trietyloaminy [45]), metakrylamidowe (w reakcji z *N*-(3-aminopropyl)-metakrylamidem w obecności chlorowodoru *N*-(3-dimetylopropyl)-*N*-etylokarbodiimidu EDC [46]) lub grupy glicydylometakrylanowe (w reakcji z estrem glicydylowym kwasu metakrylowego w obecności trietyloaminy i bromku tetra-*n*-butyloamoniowego [47]). Hydrożele HA charakteryzowały się pęcznieniem do 4200 % obj. i niezwykle szerokim zakresem wartości właściwości mechanicznych (np. moduł na ściskanie od 2 do ponad 100 kPa) oraz znacznym powrotem elastycznym po odkształceniu. Właściwości mogą być regulowane stopniem podstawienia i zawartością wody w hydrożelu [48]. Fotosieciewalne polimery kwasu hialuronowego wspomagają poliferaację chondrocytów [48] i komórek mięśni gładkich [42], skutecznie wypełniają uszkodzenia rogówki [49], spełniają rolę rusztowań oddzielających tkanki i zapobiegających pooperacyjnym wzrostom brzuszynym [50], służą do kontrolowanego dozowania leków i czynników wzrostu [51] oraz, nietypowo, jako podłoża mikromacierzy komórkowych [52]. Kwas hialuronowy zalicza się do najcenniejszych i najbardziej wszechstronnych biomateriałów, jednak o jego szerszym zastosowaniu decydują niestety względy ekonomiczne, albowiem czysty kwas hialuronowy jest bardzo drogi.

Dekstran

Dekstran, podobnie jak kwas hialuronowy, jest polisacharydem. Ze względu na doskonałą biokompatybilność był wykorzystywany w charakterze nośnika leków [53], roztwór dekstranu zaś o stopniu polimeryzacji rzędu kilkudziesięciu jednostek (produkt rozpuszczalny w wodzie) stosowano jako substytut plazmy krwi [54, 55]. W każdym merze dekstranu zawiera trzy grupy hydroksylowe, które można modyfikować chemicznie. Fotoczułanie dekstranu przeprowadzano na drodze wprowadzania grup glicydylometakrylanowych i hydroksyetylometakrylanowych [23], a biodegradowalność regulowano w wyniku modyfikacji poli(kwasem mlekowym) (PLA) [56, 57]. Kopolimery dekstranu z PLA modyfikowano następnie za pomocą izocyjanianu allilu [57].

Hydrożele dekstranowe z udziałem wyłącznie reszt metakrylanowych nie wykazywały podatności na biodegradację, natomiast hydrożele zarówno samego dekstranu zawierającego grupy hydroksyetylenometakrylanowe, jak i kopolimeryzowanego z PLA były biodegradowalne w warunkach fizjologicznych [58]. Fotosiecionalne hydrożele dekstranowe stosowano do enkapsulacji leków, czynników wzrostu i białek [57, 59, 60].

Chitozan

Chitozan stanowi częściowo deacetylowaną formę naturalnego polimeru — chityny, ze względu jednak na lepszą biokompatybilność i łatwiejsze przetwarzanie znalazł szersze zastosowanie. Atrakcyjność chitozanu wynika z dużej hemostatyczności i jego zdolności do działania w charakterze adjuwantu immunologicznego (pobudza i wzmacnia odpowiedź immunologiczną organizmu) oraz do przyspieszania gojenia się ran [61—63]. Jest także z powodzeniem wykorzystywany w mikrokapsułkowych nośnikach olejków eterycznych i leków [64—66]. Pomimo atrakcyjności chitozanu spektrum zastosowań jest ograniczone ze względu na jego nierozpuszczalność w wodnych roztworach o pH obojętnym lub zasadowym (odczyn płynów ustrojowych). Zachodzi zatem potrzeba modyfikacji na drodze wprowadzenia do łańcucha grup polarnych bądź o dużej hydrofilowości [67, 68].

Pochodne chitozanu charakteryzujące się zwiększoną hydrofilowością modyfikowano w kierunku uzyskania właściwości fotoczułych, np. w wyniku reakcji ze związkami zawierającymi grupę azydkową [69, 70] lub estrem glicydylowym kwasu metakrylowego [71]. Hydrożele chitozanowe w postaci półprzenikających się sieci uzyskiwano również w procesie fotopolimeryzacji funkcjonalizowanego *N*-winylopirolidonu albo 2-hydroksyetylenometakrylanu w kwasowych roztworach chitozanu [72, 73].

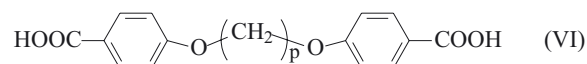
Fotopolimeryzowane hydrożele chitozanowe można stosować jako systemy kontrolowanego uwalniania leków z profilem dyfuzji rdzenia kapsuły opisywanym prawem Ficka [72], podłoża do hodowli chondrocytów [71] oraz jako materiały opatrunkowe o wysokiej adhezji do tkanek [70, 74].

POLIBEZWODNIKI WRAŻLIWE NA BODŹCE ŚWIETLNE

Modyfikując typowe bezwodniki opracowano światłoczułe monomery zawierające grupy zarówno alifatyczne, jak i aromatyczne, z których następnie otrzymywano polibezwodniki. Dobierając stosunek liczby jednostek aromatycznych do alifatycznych regulowano m.in. profil degradacji hydrolitycznej oraz właściwości mechaniczne produktów. Typowe monomery stosowane w syntezie takich materiałów prezentują wzory (V)—(X). Sporządzono szereg kompozycji z udziałem metakrylowanych reszt kwasu sebacynowego oraz reszt 1,6-bis(*p*-karboksyfenoksy)-alkilenowych, gdzie grupą



SA — kwas sebacynowy



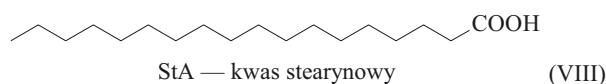
$p = 3$ — CPP — 1,6-bis(*p*-karboksyfenoksy)propan

$p = 4$ — CPB — 1,6-bis(*p*-karboksyfenoksy)butan

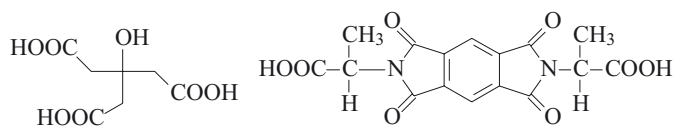
$p = 6$ — CPH — 1,6-bis(*p*-karboksyfenoksy)heksan



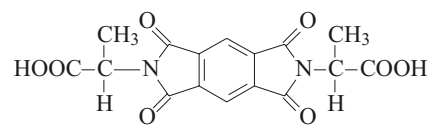
TCAA — kwas trikarballilowy



StA — kwas stearynowy



CA — kwas cytrynowy



PMA-ala — primelityloimidoalanina

alkilenową był propylen lub *n*-heksylen [75—77]. W wyniku rozpuszczenia zsyntezowanych polibezwodników w jednym z monomerów i prowadzenia fotosiecowania, uzyskano półprzenikające się sieci polimerowe. Wcześniej już potwierdzono bio- i osteokompatybilność budujących je komponentów [78]. Dalsze modyfikacje polegające na włączeniu w strukturę naturalnych reszt cholesterolowych, stearynowych (składników błon lipidowych) i biokompatybilnej piromelityloimidoalaniny [79] miały na celu regulację czasu degradacji i poprawę cytokompatybilności, wprowadzenie zaś trójfunkcyjnego kwasu trikarballilowego — zwiększenie gęstości usieciowania [80]. Materiały te są przeznaczone do wykorzystania w inżynierii tkanki kostnej ze względu na erozyjny charakter ich degradacji oraz znaczne moduły zachowawcze uzyskiwane w wyniku fotosiecowania. Moduły osiągają wartość do kilkunastu GPa i mieszczą się w przedziale pomiędzy wartościami dla kości gąbczastej (50—100 MPa) i korowej (17—20 GPa) [81].

Jako układy fotoinicjujące preferuje się kompozycje zawierające kamforochinon, ponieważ dzięki efektowi fotobłaknięcia (*photobleaching*) pozwala on na fotosiecowanie względnie grubych warstw materiału. Polibezwodniki wrażliwe na promieniowanie świetlne stanowią alternatywę dla stosowanych obecnie cementów

kostnych, których wadą jest m.in. termoinicjowany charakter sieciowania, samoprzyspieszenie i wynikająca z niego duża egzotermiczność reakcji a także toksyczność użytych do syntezy monomerów metakrylowych.

Zdolność kompozycji polibezwodnikowych do fotosieciowania z udziałem inicjatora można osiągnąć również na drodze wbudowania w łańcuch jednostek pochodzących od kwasu cynamonowego, albowiem sprzężone z pierścieniem aromatycznym podwójne wiązanie C=C wykazuje znaczną fotoreaktywność. Otrzymywane układy zawierały ugrupowania *ko*-bezwodnikowe kwasu cynamonowego oraz sebacynowego i wspomniany wyżej 1,6-bis(*p*-karboksyfenoksy)-heksan [82, 83]. Wymienione mery są chętnie stosowane, ponieważ wytworzone z ich udziałem polibezwodniki, w minionych dwóch dekadach, odniosły sukces jako wysoce biokompatybilne i uniwersalne biomateriały, których produkty degradacji są w pełni biodegradowane, a nieprzereagowane pozostałości monomeru nie stanowią zagrożenia dla tkanek [78, 84]. Synteza takich kompozycji jest prosta i krótkotrwała, a produkt końcowy nie wymaga oczyszczania. Proces fotosieciowania może przebiegać bez udziału fotoinicjatora ze względu na fotochemiczną cykloaddycję 2+2 ugrupowań cynamoilowych [85], jednak czas potrzebny do osiągnięcia stopnia zżelowania 80 % wynosi aż 90 min [83]. Materiał taki nie może zatem być stosowany na implanty fotosieciujące *in situ*. Wytrzymałość na rozciąganie ma wartość bliską wytrzymałości stosowanych obecnie nici chirurgicznych z PLA, a moduł przekracza wartości modułu kości gąbczastej, dlatego też proponowane użycie to bioresorbowalne nici chirurgiczne i szybko degradujące (<14 dni) cementy kostne.

Badaniami dotyczącymi układów wrażliwych na promieniowanie świetlne objęto fotosieciowalne nanokompozyty z osnową polibezwodnikową [86, 87]. Osnowa taka była zbudowana z, zawierających końcowe grupy metakrylanowe, bezwodnikowych pochodnych kwasu cytrynowego, kwasu sebacynowego oraz 1,6-bis(*p*-karboksyfenoksy)-butanu. Nanonapełniacz stanowił hydroksyapatyt $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (HAp) w postaci nanoigieł. Do ciekłej mieszaniny monomerów wprowadzano hydroksyapatyt, po czym zawiesinę poddawano działaniu ultradźwięków uzyskując w ten sposób homogeniczny rozkład cząstek nanonapełniacza. Fotopolimeryzację prowadzono z zastosowaniem światła UV i fotoinicjatora IrgacureTM 651. Otrzymane układy charakteryzowały się właściwościami mechanicznymi porównywalnymi z właściwościami kości jak również niezwykle dużą rozpiętością czasów degradacji. Czas ten, w zależności od rodzaju osnowy i udziału nanonapełniacza, wynosił od kilku dni do kilku lat. Nanonapełniacz zwiększał integralność struktury i trwałość cech mechanicznych ocenianych w badaniach degradacji *in vitro*. Obecność hydroksyapatytu w kompozycie wywiera prawdopodobnie dodatni wpływ na osteokompatybilność układów.

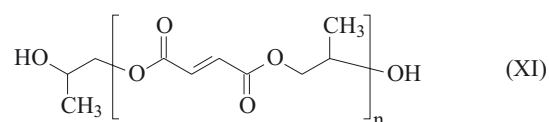
Sposobem fotocuczulającej modyfikacji fizykochemicznej polibezwodników zawierających reszty kwasu sebacynowego i 1,6-bis(*p*-karboksyfenoksy)-alkileny prowadzonej w celu otrzymania nośników białek może być wprowadzenie diakrylowanej pochodnej PEOX oraz, jako napełniacza, węglanu wapnia w strukturę sieci zawierającej końcowe grupy akrylanowe [88]. W typowej procedurze monomery miesza się z układem fotoinicjującym (z udziałem kamforochinonu), napełniaczem oraz z cząstkami białka i poddaje fotosieciowaniu. Powstają w ten sposób półprzenikające sieci o regularnym stopniu degradacji i wykładniczym lub zbliżonym do liniowego profilu uwalniania rdzenia w okresie do 120 dni [roztwór soli fizjologicznej buforowanej fosforanami (PBS), 37 °C]. Uwalniane białka zachowały bioaktywność w ciągu całego czasu badania.

POLIESTRY WRAŻLIWE NA BODŹCE ŚWIETLNE

Kompozycje zawierające poli(fumaran propylenu)

Poli(fumaran propylenu) (PPF) otrzymany po raz pierwszy 20 lat temu pierwotnie miał służyć jako komponent biomateriału do regeneracji kości [89, 90]. Jednak jego dobra biokompatybilność, obecne w łańcuchu podatne na sieciowanie wiązania podwójne oraz biodegradowalność do nisko toksycznych produktów o regulowanym składzie [91, 92] czynią PPF polimerem o znacznym potencjale aplikacyjnym. Pochodne PPF można sieciować chemicznie [93], termicznie [94] lub fotochemicznie [94].

Podstawowy składnik kompozycji — poli(fumaran propylenu) jest najczęściej otrzymywany w procesie dwuetapowym [95]. Na pierwszym etapie, w obecności katalizatora i inhibitora sieciowania, przeprowadza się transestryfikację 1,2-propanodiolem estru dietylowego kwasu fumarowego. Produkt przejściowy bis-(2-hydroksypropylo)-fumaran poddaje się następnie kondensacji z utworzeniem PPF, do chwili uzyskania pożądanego ciężaru cząsteczkowego. Produkt jest oczyszczany i w tej postaci wykorzystywany w opisywanych układach. Budowę podstawowej powtarzalnej jednostki poli(fumaranu propylenu) przedstawia wzór (XI).



Fotochemiczne sieciowanie PPF może przebiegać bez udziału środków sieciujących. Jako fotoinicjator stosuje się fosfinitlenki acylowe, a sieciowanie następuje w wyniku addycji wiązań podwójnych w łańcuchach polimeru [96—98]. Zbadano sieciowanie PPF przy użyciu fosfinitlenków mono- i bis-acylowych (MAPO i BAPO). Okazało się, że zawartość frakcji żelowej, właściwości

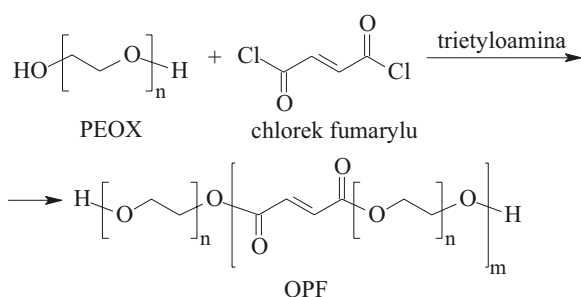
mechaniczne i kinetyka degradacji usieciowanych polimerów silnie zależą od rodzaju i stężenia fotoinicjatora.

Usieciowane kompozycje z PPF są atrakcyjne dla inżynierii tkanki kostnej ze względu na duże wartości ich modułów mechanicznych [94, 99]. Najkorzystniejsze, najbardziej zbliżone do cech tkanki kostnej właściwości mechaniczne takich fotosieciowalnych układów otrzymuje się z zastosowaniem oligomerowego środka sieciującego, tj. diakrylowanego fumaranu propylenu (PF-DA) [94]. Obecnie badania skupiają się nad kompozycjami sieciowanymi układem PF-DA/BAPO [91, 100–103]. Uzyskano rusztowania z PPF nadające się do implantacji [92, 96, 98, 104]. W przypadku implantowania rusztowań z PPF szczerom zaobserwowano intensywniejsze wrastanie tkanki kostnej w implant wówczas, gdy materiał zawierał dodatkowo czynnik wzrostu TGF- β 1 [105]. Ponadto, podjęto próby modyfikacji układów mikro- i nanonapełniaczami w celu poprawy właściwości mechanicznych i osteokompatybilności [106]. Modelując profil degradacji na drodze inkorporacji PLA i PGA [poli(kwasu glikolowego)] wytworzono rusztowania uwalniające w kontrolowany sposób antybiotyki i bioaktywne molekuly [100].

Prowadzono również wstępne prace nad poli(fumaranem kaprolaktonu) (PCLF) [107, 108]. Mobilność łańcucha zawierającego segmenty PCL (bardziej giętkie od grup propylenowych) podczas fotosieciowania oraz degradacji była większa niż układów z PPF. Strukturę fazową oraz liczne właściwości makroskopowe takich polimerów można w szerokim zakresie regulować w wyniku zmiany ciężaru cząsteczkowego oraz zawartości bloków PCL.

Opracowano również inną kompozycję PCL-PPF, zawierającą trójfunkcyjny oligomer PCL [109]. Modyfikując skład kompozycji otrzymano grupę materiałów o wytrzymałości na ściskanie od 2 do 150 MPa, stwarzając tym samym potencjalne możliwości ich wykorzystania w implantowaniu zarówno tkanki miękkiej, jak i twardej.

Opierając się na strukturze PPF opracowano makromer oligo[fumaranu poli(glikolu etylenowego)], oznaczony jako OPF [110]. Otrzymywanie oraz jego strukturę przedstawia schemat B. Wytworzone z niego hydrożele



Schemat B. Schemat otrzymywania oligo[fumaranu poli(glikolu etylenowego)] wg [110]

Scheme B. Scheme of preparation of oligo(polyethylene glycol fumarate) according to [110]

zawierają ułożone naprzemiennie reszty kwasu fumarowego i segmenty PEOX. Wykazano, że zrębowe komórki szpiku (*marrow stromal cells, MSC*) posiewane na rusztowaniach uzyskanych z OPF w obecności dodatków osteogennych ulegają różnicowaniu [111]. Regulacja ciężaru cząsteczkowego bloku PEOX, pozwoliła na otrzymanie materiałów o właściwościach mechanicznych zbliżonych do właściwości chrząstki stawowej [112]. Modyfikacja OPF polegająca na przyłączeniu do łańcucha peptydu RGD (Arg-Gly-Asp) wykazującego silną adhezję do komórek umożliwiła wytworzenie układów o dużej adhezji komórkowej potencjalnie stosowanych w leczeniu nieciągłości tkanek [113].

Inne poliestry

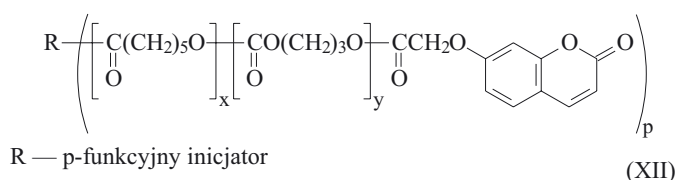
Poli(hydroksyestry), takie jak poli(ϵ -kaprolakton) (PCL), poli(kwas glikolowy) (PGA) i poli(kwas mlekowy) (PLA) zalicza się do najdokładniej zbadanych biomateriałów syntetycznych. Ich ogromne znaczenie w bioinżynierii jest powszechnie znane, a biokompatybilność i bioresorbowalność została dowiedziona w wielu pracach. Związki te nie zawierają bocznych grup, poddających się modyfikacjom w kierunku fotoczułości, dlatego też na drodze kopolimeryzacji lub syntezy oligomerów o strukturze gwiazdziejstiej uzyskuje się produkty, w których reaktywne grupy hydroksylowe znajdują się na końcach ramion gwiazdy [8].

Fotoczułe układy z udziałem hydroksyestrów otrzymywano w wyniku kopolimeryzacji z otwarciem pierścienia laktonu kwasu mlekowego z pochodnymi aminokwasów: seryny [114] i kwasu asparaginowego [115]. Wprowadzone w ten sposób do łańcucha reaktywne grupy boczne podstawiano resztami kwasu akrylowego. Wytworzony materiał rozpuszczano w metakrylanie 2-hydroksyetylenu (HEMA) i fotosieciowano z udziałem, bądź bez udziału, środka sieciującego — diakrylowanego glikolu etylenowego [114]. Potencjalnym zastosowaniem takich układów są systemy kontrolowanego uwalniania leków.

Oligomery gwiazdziejstie zawierające poli(kwas mlekowy) funkcjonalizowano w celu nadania fotoczułych właściwości w reakcji grup końcowych z metakrylanem 2-izocyjanianoetylu [116, 117]. Zmodyfikowany polimer wraz z fotoinicjatorem (2,2-dimetoksy-2-fenyl-acetofenonem, DMPA) rozpuszczano w chloroformie, a odparowywanie rozpuszczalnika prowadzono w komorze wilgotnościowej. Otrzymywano fotosieciowalne filmy o mikrostrukturze plastra miodu.

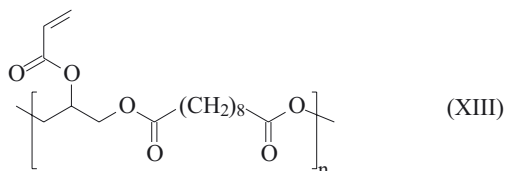
Zastosowanie glicerolu w charakterze inicjatora umożliwiło uzyskanie rozgałęzionych kopoliestrów kwasu mlekowego i ϵ -kaprolaktonu [70]. Modyfikację w kierunku fotoczułości przeprowadzano na drodze reakcji grup końcowych prepolimeru z chlorkiem kwasu akrylowego.

W wyniku inicjowania pentaerytrytolem lub multifunkcyjną rozgałęzioną pochodną glikolu etylenowego



wytworzono kopolimery PCL z trimetylowęglanem (TMC) [118, 119] [wzór (XII)]. Do końców łańcuchów przyłączano cząsteczkę kumaryny, która w wyniku ekspozycji na promieniowanie UV sieciuje według mechanizmu cykloaddycji 2+2. Również pochodne kwasu cynamonowego wprowadzano w strukturę hydroksyestrów w celu wywołania fotoczułości [120]. Degradowalność oraz właściwości mechaniczne i barierowe sieci PCL/PLA/TMC zmieniają się wraz ze składem kompozycji a także pod wpływem obecności fotoinicjatorów. Obiecujące profile degradacji w masie oraz możliwość otrzymywania filmów i mikrosfer przemawiają za możliwym stosowaniem takich układów do kontrolowanego uwalniania leków.

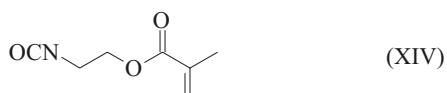
Fotosieciowalne poliestry uzyskuje się także z kwasów dikarboksylovych i multifunkcyjnych małowartościowych alkoholi [121–123], np. z kwasu sebacynowego i glicerolu [121] [wzór (XIII)]. Wolne boczne grupy hydroksylowe pozwalają na wprowadzenie do łańcucha reszt kwasu akrylowego. Układy te poddawano kopoli-



meryzacji z PEOX-DA, w wyniku której otrzymywano kompozycje o bardzo różnorodnych właściwościach mechanicznych, profilach pęcznienia i degradacji. Takie przenikające się sieci elastomerowo-hydrożelowe mają potencjalne zastosowanie w regeneracji chrząstki.

FOTOSIECIOWALNE KOMPOZYCJE OPARTE NA POLIURETANACH

Pomimo bogactwa tej klasy polimerów i licznych ich zastosowań w medycynie [124, 125], jak dotychczas opracowano bardzo niewiele światłoczułych, fotosieciowalnych układów typowo poliuretanowych o przeznaczeniu biomedycznym. Ugrupowania uretanowe czasem włącza się do kompozycji fotoczułych, ale np. stosowany metakrylan 2-izocyjanianoetylu [wzór (XIV)] pełni w nich jedynie funkcję jednostki podatnej na sieciowanie, zachowanie się natomiast łańcucha głównego poli-

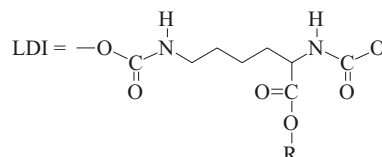
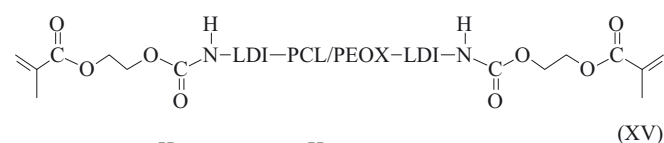


merów jest zdominowane przez charakter ugrupowań poliestrowych lub polieterowych obecnych w produkcie [np. 7, 116, 126].

Nieliczne dane literaturowe dotyczą czysto poliuretanowych układów światłoczułych. Stosując alifatyczny oligomer poliuretanowy zakończony grupami akrylowymi i diakrylan glikolu trójpropylenowego jako środek sieciujący, otrzymano materiał nadający się na fotosieciowalne membrany do biosensorów [127]. Na przykład, wprowadzając do roztworu wytworzonego prepolimera określoną ilość oksydazy glukozowej, a następnie sieciując kompozycję na podłożu biosensora o zwiększonej przewodności elektrycznej uzyskano układ służący w charakterze amperometrycznego czujnika glukozy.

Na podstawie diizocyjanianu pochodnej lizyny (LDI) syntezowano oligomery uretanowe zakończone grupami akrylowymi [128] otrzymując mikrosfery oraz bioaktywne błony. Na drodze sprzęgania z grupą karboksylową lizyny, do łańcuchów polimeru przyłączono peptydy RGD zwiększające adhezję komórek. Stosowanie jako segmentu giętkiego PEOX lub poli(tlenku tetrametyleny) (PTMO) umożliwia regulację właściwości adhezyjnych materiału oraz adsorpcji białek. Profile uwalniania rdzenia z mikrokapsulek były odpowiednie dla zastosowań w postaci nośników leków, a modyfikacja bocznych grup peptydowych w materiale powłoki kapsuły pozwoliła na sterowanie odpowiedzią komórkową. Równolegle dowiedziono, że poliuretany zawierające LDI wspomagają proliferację i wzrost komórek, a produkty ich degradacji są metabolizowane przez organizm [129].

Opierając się na LDI wytworzono także bioresorbowalne fotosieciowalne hydrożele poliuretanowe [130] [wzór (XV)]. W charakterze segmentów giętkich użyto homo- oraz kooligomery PEOX i PCL. W wyniku fotosieciowania powstawały układy o zmiennej strukturze, hydrofilowości i cytokompatybilności. Jako element fo-



R — wybrana sekwencja peptydowa

toczuły wprowadzono terminalnie grupy pochodzące od HEMA. Przeprowadzono testy *in vitro* z wykorzystaniem chondrocytów. W celu poprawy wzrostu i proliferacji komórek, w sieci hydrożeli immobilizowano peptyd RGD. Wyniki testów, a także udowodniona biokompatybilność i nietoksyczność, pozwalają sądzić, że hydrożele poliuretanowe z diizocyjanianów lizyny znajdują

potencjalne zastosowanie jako nośniki leków o kontrolowanym uwalnianiu lub elementy implantów chrząstki.

PODSUMOWANIE

Przedstawiony przegląd obejmujący jedynie niewielką liczbę doniesień literaturowych z zakresu fotoczulych, wstrzykiwalnych biomateriałów polimerowych podkreśla wielokierunkowość i różnorodność takich wyspecjalizowanych układów. Znaczna większość opracowanych materiałów jest przeznaczona do kontrolowanego uwalniania leków, jako podłoża do hodowli tkanek lub rusztowania do implantacji tkanek twardych. Wiele spośród fotosieciowalnych wstrzykiwalnych hydrożeli nadaje się do wykorzystania w inżynierii chrząstki, jednak liczba publikacji dotyczących ich zastosowania w inżynierii tkanek miękkich, a zwłaszcza tkanki łącznej, jest niewielka. W niniejszym artykule nie poruszyliśmy kwestii zminimalizowania dawki promieniowania UV wywołującej zmianę postaci polimeru, czyli globalnej wydajności kwantowej procesu fotosieciowania, jak również problemu intensywnego wydzielania ciepła w toku fotosieciowania, które w niektórych przypadkach może stanowić przeszkodę na drodze aplikacyjnej. W świetle niezwykle dynamicznego rozwoju nauki o fotosieciowalnych wstrzykiwalnych implantach polimerowych, w niedalekiej przyszłości należy oczekiwać wyjścia tych zaawansowanych materiałów z laboratoriów do praktyki klinicznej.

Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2008–2011 jako projekt badawczy.

LITERATURA

- [1] De las Heras Alarcón C., Pennadam S., Alexander C.: *Chem. Soc. Rev.* 2005, **34**, 276. [2] Jeong B., Gutowska A.: *Trends Biotechnol.* 2002, **20**, 305. [3] Kumar A., Srivastava A., Yu Galaev I., Mattiasson B.: *Prog. Polym. Sci.* 2007, **32**, 1205. [4] Bajpai A. K., Shukla S. K., Bhanu S., Kankane S.: *Prog. Polym. Sci.* 2008, **33**, 1088. [5] Utrata-Wesołek A., Trzebicka B., Dworak A.: *Polimery* 2008, **50**, 717. [6] Struszczyk M. H.: *Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej* nr 1005, 2007. [7] Bryant S. J., Davis-Arehart K. A., Luo N., Shoemaker R. H., Arthur A. J., Anseth K. S.: *Macromolecules* 2004, **37**, 6726. [8] Burdick J. A., Ifkovits J. L.: *Tissue Eng.* 2007, **13**, 2369. [9] Cruise G. M., Scharp D. S., Hubbell J. A.: *Biomaterials* 1998, **19**, 1287. [10] Jo S., Shin H., Shung A. K., Fisher J. P., Mikos A. G.: *Macromolecules* 2001, **34**, 2839. [11] Kawai F.: *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2002, **58**, 30. [12] Shah N. M., Pool M. D., Metters A. T.: *Biomacromolecules* 2006, **7**, 3171. [13] Murakami Y., Tabata Y., Ikada Y.: *Drug Delivery* 1996, **3**, 231. [14] Elisseeff J., McIntosh W., Anseth K., Riley S., Ragan P., Langer R.: *J. Biomed. Mater. Res. A* 2008, **51**, 164. [15] Buxton A. N., Zhu J., Marchant R., West J. L., Yoo J. U., Johnstone B.: *Tissue Eng.* 2007, **13**, 2549. [16] Pathak C. P., Sawhney A. S., Hubbell J. A.: *J. Am. Chem. Soc.* 1992, **114**, 8311. [17] Cruise G. M., Hegre O. D., Lamberti F. V., Hager S. R., Hill R., Scharp D. S., Hubbell J. A.: *Cell. Transplant.* 1999, **8**, 293. [18] Mann B. K., Schmelden R. H., West J. L.: *Biomaterials* 2001, **22**, 439. [19] West J. L., Hubbell J. A.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1996, **93**, 13188. [20] Hill-West J. L., Chowdhury S. M., Slepian M. J., Hubbell J. A.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 1994, **91**, 5967. [21] Sawhney A. S., Pathak C. P., Hubbell J. A.: *Biomaterials* 1993, **14**, 1008. [22] Walker J., Young G., Hunt C., Henderson T.: *Contact Lense Anterior Eye* 2007, **30**, 125. [23] Lee K. Y., Yuk S. H.: *Prog. Polym. Sci.* 2007, **32**, 669. [24] Świążkowski W., Ku D. N., Bersee H. E. N., Kurzydłowski K. J.: *Biomaterials* 2006, **27**, 1534. [25] Kobayashi M., Toguchida J., Oka M.: *J. Hand. Surg.* 2001, **26**, 436. [26] Jiang H., Campbell G., Boughner D., Wan W. K., Quantz M.: *Med. Eng. Phys.* 2004, **26**, 269. [27] Schmleden R. H., Masters K. S., West J. L.: *Biomaterials* 2002, **23**, 4325. [28] Nuttelman C. R., Mortisen D. J., Henry S. M., Anseth K. S.: *J. Biomed. Mater. Res. A* 2001, **57**, 217. [29] Martens P., Anseth K.: *Polymer* 2000, **41**, 7715. [30] Pilażkiewicz A., El Fray M., Świążkowski W., Kurzydłowski K. J.: *e-Polymers* 2006, **P-013**, 1. [31] Mühlebach A., Müller B., Pharisa C., Hofmann M., Seiferling B., Guerry D.: *J. Polym. Sci. A* 1997, **35**, 3603. [32] Martens P., Holland T., Anseth K. S.: *Polymer* 2002, **43**, 6093. [33] Hoffman A. S.: *Adv. Drug. Del. Rev.* 2002, **43**, 3. [34] Li Q., Wang J., Shahani S., Sun D. D. N., Sharma B., Elisseeff J. H., Leong K. W.: *Biomaterials* 2006, **27**, 1027. [35] Wang J., Mao H. Q., Leong K. W.: *J. Am. Chem. Soc.* 2001, **123**, 9480. [36] Du J. Z., Sun T. M., Weng S. Q., Chen X. S., Wang J.: *Biomacromolecules* 2007, **8**, 3375. [37] Penczek S., Pretula J., Kałużński K.: *Pol. J. Chem.* 2001, **75**, 1171. [38] Zhao Z., Wang J., Mao H. Q., Leong K. W.: *Adv. Drug. Del. Rev.* 2003, **55**, 483. [39] Mathiowitz E.: „Encyclopedia of Controlled Drug Delivery”, vol. 1, Wiley, New York 1999, str. 45–60. [40] Hara da H., Takahashi M.: *J. Biol. Chem.* 2007, **282**, 5597. [41] West D. C., Hampson I. N., Arnold F., Kumar S.: *Science* 1985, **228**, 1324. [42] Masters K. S., Shah D. N., Leinwand L. A., Anseth K. S.: *Biomaterials* 2005, **26**, 2517. [43] Leach J. B., Bivens K. A., Collins C. N., Schmidt C. E.: *J. Biomed. Mater. Res. A* 2004, **70A**, 74. [44] Chen W. Y., Abatangelo G.: *Wound Repair Regen* 1999, **9**, 79. [45] Smeds K. A., Pfister-Serres A., Hatchell D. L., Grinstaff M. W.: *J. Macromol. Sci. Pure. Appl. Chem.* 1999, **36**, 981. [46] Park Y. D., Tirelli N., Hubbell J. A.: *Biomaterials* 2003, **24**, 893. [47] Leach J. B., Schmidt C. E.: *Biomaterials* 2005, **26**, 125. [48] Burdick J. A., Chung C., Jia X., Randolph M. A., Langer R.: *Biomacromolecules* 2005, **6**, 386. [49] Miki D., Dastgheib K., Kim T., Pfister-Serres A., Smeds K., Inoue M., Hatchell D., Grinstaff M. W.: *Cornea* 2002, **21**, 393. [50] Yeo Y., Highley C. B., Bellas E., Ito T., Marini R., Langer R., Kohane D. S.: *Biomaterials* 2006, **27**, 4698. [51] van Tomme S. R., Storm G., Hennink W. E.: *Int. J. Pharm.* 2008, **355**, 1. [52] Khademhosseini A., Eng G., Yeh J., Fukuda J., Blumling J., Langer R., Burdick J.: *J. Biomed. Mater. Res. A* 2006, **79A**, 522. [53] Chirila T. V., Rakoczy P. E., Garrett K. L., Lou X., Constable I. J.: *Biomaterials* 2002, **23**, 321. [54] Leonsins A. J.: *S. Afr. Med. J.* 1952, **26**, 546. [55] Labarre D., Vauthier C., Chauvierre C., Petri B., Müller R., Chehimi M. M.: *Biomaterials* 2005, **26**, 5075. [56] Zhang Y. L., Won C. Y., Chu C. C.: *J. Pol. Sci. Pol. Chem.* 2000, **38**, 2392. [57] Zhang Y. L., Chu C. C.: *J. Biomed. Mater. Res. A* 2002, **59**,

318. [58] van Dijk-Wolthuis W. N. E., Hoogeboom J. A. M., van Steenberghe M. J., Tsang S. K. Y., Hennink W. E.: *Macromolecules* 1997, **30**, 4639. [59] Cadée J. A., de Groot C. J., Jiskoot W., den Otter W., Hennink W. E.: *J. Controlled Release* 2002, **78**, 1. [60] van Tomme S. R., van Nostrum C. F., de Smedy S. C., Hennink W. E.: *Biomaterials* 2006, **27**, 4141.
- [61] Brown M. A., Daya M. R., Worley J. A.: *J. Emerg. Med.* 14 Lis 2007, PMID 18024069. [62] Hirano S.: *Biotechnol. Ann. Rev.* 1996, **2**, 237. [63] Ong S. J., Wu J., Mochhala S. M., Tan M. H., Lu J.: *Biomaterials* 2008, **29**, 4323. [64] Hsieh W. C., Chang C. P., Gao Y. L.: *Colloids Surf. B* 2006, **53**, 209. [65] Kim J. C., Lee H. Y., Kim M. H., Lee H. J., Kang H. Y., Kim S. M.: *Colloids Surf. B* 2006, **52**, 52. [66] Schanmuganathan S., Shanmugasundaram N., Adhirajan N., Lakshmi T. S. R., Babu M.: *Carbohydr. Polym.* 2007, **73**, 201. [67] Ma G., Yang D., Zhou Y., Xiao M., Kennedy J. F., Nie J.: *Carbohydr. Polym.* 2008, **74**, 121. [68] Yang X., Liu Q., Chen X., Yu F., Zhu Z.: *Carbohydr. Polym.* 2008, **73**, 401. [69] Ono K., Saito Y., Yura H., Ishikawa K., Akaike T., Ishihara M.: *J. Biomed. Mater. Res. A* 2000, **49**, 289. [70] Ono K., Ishihara M., Ozeki Y., Deguchi H., Sato M., Saito Y., Yura H., Sato M., Kikuchi M., Kurita A., Maehara T.: *Surgery* 2001, **130**, 844.
- [71] Amsden B. G., Sukarto A., Knight D. K., Shapka S. N.: *Biomacromolecules* 2007, **8**, 3758. [72] Ng L. T., Swami S.: *Carbohydr. Polym.* 2005, **60**, 523. [73] Zhou Y., Yang D., Gao X., Chen X., Xu Q., Lu F., Nie J.: *Carbohydr. Polym.* 2009, **75**, 293. [74] Ishihara M., Nakanishi K., Ono K., Sato M., Kikuchi M., Yura H., Matsui T., Hattori H., Uenoyama M., Kurita A.: *Biomaterials* 2002, **23**, 833. [75] Burkoth A. K., Anseth K. S.: *Biomaterials* 2000, **21**, 2395. [76] Anseth K. S., Shastri V. R., Langer R.: *Nat. Biotechnol.* 1999, **17**, 156. [77] Muggli D. S., Burkoth A. K., Keyser S. A., Lee H. R., Anseth K. S.: *Macromolecules* 1998, **31**, 4120. [78] Leong K. W., d'Amore P., Mallerita M., Langer R.: *J. Biomed. Mater. Res. A* 1986, **20**, 51. [79] Richardson R. R., Miller J. A., Reichert W. M.: *Biomaterials* 1993, **14**, 627. [80] Young J. S., Gonzales K. D., Anseth K. S.: *Biomaterials* 2000, **21**, 1181.
- [81] Zimmerman M. C., Waite A. M., Deehan M., Tovey J., Oppenheim W.: *J. Orthop. Trauma*. 1994, **8**, 233. [82] Nagata M., Ioka E.: *React. Funct. Polym.* 2006, **63**, 163. [83] Nagata M., Ioka E.: *Europ. Polym. J.* 2006, **42**, 2617. [84] Salem H., Baskin S. I.: „New Technologies and Concepts for Reducing Drug Toxicities”, Informa HealthCare, 1992, str. 33—40. [85] Egerton P. L., Trigg J., Hyde E. M., Resier A.: *Macromolecules* 1981, **14**, 100. [86] Li H., Chen Y., Xie Y.: *Mater. Lett.* 2003, **57**, 2848. [87] Li H. Y., Chen Y. F., Xie Y. S.: *Mater. Lett.* 2004, **58**, 2819. [88] Weiner A. A., Bock E. A., Gipson M. E., Shastri V. P.: *Biomaterials* 2008, **29**, 2400. [89] Gerhart T. N., Roux R. D., Horowitz G., Miller R. L., Hanff P., Hayes W. C.: *J. Orthop. Res.* 1988, **6**, 585. [90] Witschger P. M., Gerhart T. M., Edsberg L. E., Hayes W. C.: *J. Orthop. Res.* 1991, **9**, 48.
- [91] Timmer M. D., Shin H., Horch R. A., Ambrose C. G., Mikos A. G.: *Biomacromolecules* 2003, **4**, 1026. [92] Fisher J. P., Vehof J. W., Dean D., van der Waerden J. P., Holland T. A., Mikos A. G., Jansen J. A.: *J. Biomed. Mater. Res. A* 2002, **59**, 547. [93] Peter S. J., Kim P., Yasko A. W., Yaszemski M. J., Mikos A. G.: *J. Biomed. Mater. Res. A* 1999, **44**, 314. [94] Timmer M. D., Ambrose C. G., Mikos A. G.: *J. Biomed. Mater. Res. A* 2003, **66A**, 811. [95] Shung A. K., Timmer M. D., Jo S., Engel P. S., Mikos A. G.: *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2002, **13**, 95. [96] Fischer J. P., Holland T. A., Dean D., Engel P. S., Mikos A. G.: *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 2001, **12**, 673. [97] Fischer J. P., Timmer M. D., Holland T. A., Dean D., Engel P. S., Mikos A. G.: *Biomacromolecules* 2003, **4**, 1327. [98] Fischer J. P., Holland T. A., Dean D., Mikos A. G.: *Biomacromolecules* 2003, **4**, 1335. [99] Timmer M. D., Carter C., Ambrose C. G., Mikos A. G.: *Biomaterials* 2003, **24**, 4707. [100] Hedberg E. L., Kroese-Deutman H. C., Shih C. H., Crowther R. S., Carney D. H., Mikos A. G., Jansen J. A.: *Biomaterials* 2005, **26**, 4616.
- [101] Timmer M. D., Carter C., Ambrose C. G., Mikos A. G.: *Biomaterials* 2003, **24**, 4707. [102] Timmer M. D., Ambrose C. G., Mikos A. G.: *Biomaterials* 2003, **24**, 571. [103] Horch R. A., Shahid N., Mistry A. S., Timmer M. D., Mikos A. G., Barron A. R.: *Biomacromolecules* 2004, **5**, 1990. [104] Cooke M. N., Fischer J. P., Dean D., Rinnac C., Mikos A. G.: *J. Biomed. Mater. Res. B* 2003, **64B**, 65. [105] Vehof J. W. M., Fisher J. P., Dean D., van der Waerden J. P., Spauwem P. H. M., Mikos A. G., Jansen J. A.: *J. Biomed. Mater. Res. A* 2002, **60**, 241. [106] Lee K. W., Wang S., Yaszemski M. J., Lu L.: *Biomaterials* 2008, **29**, 2839. [107] Wang S., Lu L., Gruetzmacher J. A., Currier B. L., Yaszemski M. J.: *Macromolecules* 2005, **38**, 7358. [108] Jabbari E., Wang S., Lu L., Gruetzmacher J. A., Ameenuddin S., Hefferan T. E., Currier B. L., Windebank A. J., Yaszemski M. J.: *Biomacromolecules* 2005, **6**, 2503. [109] Chung I., Xie D., Puckett A. D., Mays J. W.: *Europ. Polym. J.* 2003, **39**, 1817. [110] Jo S., Shin H., Shung A. K., Fischer J. P.: *Macromolecules* 2001, **34**, 2839.
- [111] Temenoff J. S., Park H., Jabbari E., Conway D. E., Sheffield T. L., Ambrose C. G., Mikos A. G.: *Biomacromolecules* 2004, **5**, 5. [112] Temenoff J. S., Athanasiou K. A., LeBaron R. G., Mikos A. G.: *J. Biomed. Mater. Res.* 2002, **59**, 429. [113] Jo S., Shin H., Mikos A. G.: *Biomacromolecules* 2001, **2**, 255. [114] John G., Morita M.: *Macromolecules* 1999, **32**, 1853. [115] Elisseff J., Anseth K., Langer R., Hrkach J. S.: *Macromolecules* 1997, **30**, 2182. [116] Karikari A. S., Edwards W. F., Mecham J. B., Long T. E.: *Biomacromolecules* 2005, **6**, 2866. [117] Karikari A. S., Williams S. R., Heisey C. L., Rawlett A. M., Long T. E.: *Langmuir* 2006, **22**, 9687. [118] Matsuda T., Mizutani M.: *Macromolecules* 2000, **33**, 791. [119] Mizutani M., Matsuda T.: *Biomacromolecules* 2002, **3**, 249. [120] Nagata M., Sato Y.: *Polymer* 2004, **45**, 87.
- [121] Nijst C. L. E., Bruggeman J. P., Karp J. M., Ferreira L., Zumbuehl A., Bettinger C. J., Langer R.: *Biomacromolecules* 2007, **8**, 3067. [122] Wang Y., Ameer G. A., Sheppard B. J., Langer R.: *Nature Biotechnol.* 2002, **20**, 602. [123] Yang J., Webb A., Ameer G. A.: *Adv. Mater.* 2004, **16**, 511. [124] Lelah M. D., Cooper J. L.: „Polyurethanes in Medicine”, CRC Press, 1987. [125] Vermette P., Griesser H. J., Laroche G., Guidoin R.: „Biomedical Applications of Polyurethanes”, Eurekah.com, 2001. [126] Ferreira P., Coelho J. F. J., Gil M. H.: *Int. J. Pharm.* 2008, **352**, 172. [127] Puig-Lleixà C., Jiménez C., Bartolí J.: *Sens. Actuators. B* 2001, **72**, 56. [128] Dias A. A., Plum B., Petit A., Quaedflieg P., Cusan C., Wiertz R., Handels T.: „World Biomaterials Conference”, Amsterdam 2008, mat. konf. str. 2813. [129] Guelcher S. A., Srinivasan A., Dumas J. E., Didier J. E., McBride S., Hollinger J. O.: *Biomaterials* 2008, **29**, 1762. [130] Zhang C., Zhang N., Wen X.: *J. Biomed. Mater. Res. A* 2007, **82A**, 637.