

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmaceutické technologie

Interakce oligoesteru PLGA s vodným prostředím

Interactions of PLGA oligoester with aqueous medium

Diplomová práce

2012

Veronika Hašková

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpal, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Děkuji vedoucímu práce Doc. RNDr. Milanu Dittrichovi, CSc. za odborné vedení a poskytnutí cenných rad při zpracování diplomové práce. Ráda bych poděkovala i Lence Rufferové za poskytnuté výsledky.

Abstrakt

V teoretické části diplomové práce se pojednává o mechanismu uvolňování léčivé látky z biodegradabilních polymerů, o procesech toto uvolňování ovlivňujících. Dále je část věnována mechanismům, které procesy uvolňování léčiva zvyšují nebo naopak inhibují. Zmíněna je i struktura, vlastnosti a krátce popsána syntéza a využití PLGA biopolymerů. V rámci experimentální části byla studována degradace oligoesterových matric PLGA v prostředí vody při teplotě 7°C a také porovnány výsledky této degradace u totožných matric uchovávaných v 37°C vodě pomocí poskytnutých příspěvků od Lenky Rufferové. Mezi sledované parametry patřily průběh bobtnání a eroze v rozmezí 1. až 7. dne. U všech vzorků o hmotnostech 50, 100, 150, 250 mg pak došlo i ke stanovení čísla kyselosti. Získanými hodnotami bylo potvrzeno typické pulzní chování oligoesterů kyseliny D,L- mléčné a glykolové v průběhu degradace.

ABSTRACT

In the theoretical part of this diploma theses is described mechanism of drug release from biodegradable polymers and conditions which influence this release process. The other part of the theses is directed to the characterization of the methods of the enhancing or reducing of release intensity. The structure, properties, synthesis and use of PLGA copolymers are mentioned. In the experimental part is referred on the study of PLGA matrices degradation in the aqueous medium at temperature of 7°C. The results achieved at this low temperature are compared with the same results of the same matrices behavior measured at the same conditions differing in the temperature of 37°C. These results were provided by my colleague Lenka Rufferova. The parameters of the samples were the swelling and erosion kinetics and acid number time evolution in the one-to-seven days time interval. The weight of the tested polyester samples were 50, 100, 150, and 250 mg. The results supported the earlier findings concerning typical pulse behavior of oligoesters of D,L lactic acid and glycolic acid during the degradation process.

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Tématem práce bylo rozšířit dosavadní znalosti o mechanismu degradace polyesterů alifatických hydroxykyselin s nízkou molekulovou hmotností a lineární konstitucí molekuly ve vodném médiu při nízkých teplotách. Pokusit se tak přispět k poznání průběhu a mechanismu biodegradace těchto sloučenin využitelných jako nosičů lékových systémů. K tomu účelu bylo zadáno zhotovit v dostatečném počtu tělíška standardního tvaru o hmotnosti 50 mg, 100 mg, 150 mg a 250 mg. Tato tělíška ponořit do vody o teplotě 7°C a uchovávat je v tomto prostředí při této teplotě. V jednodenních intervalech po dobu 7 dní bylo zadáno odebírat vzorky tělísek k analýze z hlediska charakteristik stupně bobtnání, koncentrace karboxylových skupin a stupně eroze. Výsledky konfrontovat s výsledky z jiné diplomové práce, které byly zjištěny při teplotě média 37°C.

OBSAH

I. Teoretická část

- 1. Mechanismus uvolňování léčivé látky z polymerů (s. 2)**
- 2. Procesy ovlivňující uvolňování léčiva z polymerů (s. 3)**
 - 2.1. *Difúze (s. 4)*
 - 2.2. *Osmóza (s. 4)*
 - 2.3. *Eroze (s. 4)*
- 3. Mechanismy podporující nebo inhibující uvolňování léčiva z polymerů**
 - 3.1. *Absorpce vody (s. 5)*
 - 3.2. *Hydrolyza (s. 6)*
 - 3.3. *Degradace a změny v řetězci polymerů (s. 6)*
 - 3.4. *Eroze (s. 6)*
 - 3.5. *Tvorba pórů (s. 7)*
 - 3.6. *Interakce léčivo-léčivo (s. 7)*
 - 3.7. *Tvorba trhlin (s. 7)*
 - 3.8. *Kolaps struktury polymeru (s. 8)*
- 4. Faktory ovlivňující uvolňování léčiv z PLGA biopolymerů (s. 8)**
 - 4.1. *Fyzikálně-chemické faktory transportních systémů a prostředí (s. 8)*
 - 4.2. *Faktory ovlivňující fyzikálně-chemické chování PLGA (s. 10)*
- 5. Struktura, syntéza a vlastnosti PLGA (s. 10)**
- 6. Využití PLGA biopolymerů (s. 12)**

II. Praktická část

- 7. Příprava matric (s. 13)**
- 8. Testování matric (s. 14)**
- 9. Stanovení stupně bobtnání a eroze (s. 14)**
- 10. Stanovení čísla kyselosti (s. 15)**
- 11. Výsledky – tabulky a grafy (s. 17)**
- 12. Diskuze (s. 74)**
- 13. Závěry (s. 79)**
- 14. Použitá literatura (s. 80)**

Seznam použitých zkratk

PLGA – kyselina poly (mléčná-ko-glykolová)

PLLA – kyselina poly-L-mléčná

T_g – teplota skelného přechodu

PEG – polyethylenglykol

B[%] - stupeň bobtnání

m_b - hmotnost zbobtnalé matrice [g]

m_s - hmotnost matrice po vysušení [g]

m₀ - počáteční hmotnost matrice [g]

E[%] – stupeň eroze

X - číslo kyselosti

PDLLA – kyselina poly-D,L-mléčná

Úvod

Velice významnou problematikou v oblasti léčiv např.: peptidů, proteinů nebo hydrofobních léčiv majících nízkou biologickou dostupnost po perorálním podání (1), se kterou se můžeme v praxi setkat, je non-compliance pacienta s terapeutickým režimem (léčiva se často v těchto případech musí podávat injekčně) vedoucí k relapsům, či nutnosti opětovné hospitalizace. Existuje možnost, jak tuto non-compliance pacientů vyžadujících denní dlouhodobou léčbu redukovat a to pomocí kontrolovaného uvolňování léčiv z biodegradabilních polymerů. Polymery mohou umožnit jak uvolnění léčiva v průběhu hodin, tak i měsíců, zajištěno může být i pulzní uvolnění (např. podávání inzulínu). Využití této skutečnosti představuje cestu k zajištění terapie pomocí kontrolovaného uvolňování léčiv a ke snížení počtu opakovaně podaných dávek léčiva, či nutnosti častých návštěv pacientů ve zdravotnických zařízeních za účelem aplikace další dávky léčivé látky. Tyto faktory představují větší komfort pro pacienty, což přispívá k daleko lepšímu přizpůsobení se terapeutickému režimu. Další výhodou podání léčiv inkorporovaných do polymerních matric je jejich biodegradabilita a biokompatibilita tedy neenzymatická degradace pomocí hydrolyzy na netoxické produkty. Trvajících od týdnů (PLGA) po léta (PLLA). Biodegradabilita polymerních nosičů léčiv odstranila i problémy s nutností reoperací původně implantovaných tělísek, které tuto vlastnost postrádaly. Nezbytnou podmínkou pro uplatnění transportních systémů léčiv založených na spojení s biodegradabilními polymery, je znalost mechanismu uvolnění léčiva z tohoto systému i fyzikálně-chemické procesy, které by mohly uvolněné množství léčiva ovlivnit. Množství uvolněného léčiva je totiž závislé na celé řadě událostí ať už například interakcí polymeru s léčivem, interakcí léčiv mezi sebou, absorpcí vody, uzavřením pórů atd. Pro zajištění kontrolovaného uvolnění léčiv je tedy studium těchto okolností významným úkolem.

I. Teoretická část

1. Mechanismus uvolňování léčivé látky z polymerů

Mezi nejvíce preferované profily uvolňování léčiva patří uvolňování podle nultého řádu, avšak setkat se můžeme i s dvou- nebo třífázovým profilem uvolnění. Jednofázový profil je vzácný. Jedním z problémů zmiňovaných ve spojení s vizuální analýzou profilu uvolnění je, že počátek a konec každé fáze nemusí být vždy zřejmý. Fáze mohou mít své počátky v překrývajících se procesech, které působí vzájemně (2). Odlišnosti v profilu uvolnění léčiva mohou být i v závislosti na molekulové hmotnosti využitých polymerů, tvořících povrch dané matrice.

Malé částice a částice potažené tenkým filmem z PLGA mají často dvoufázový profil uvolnění léčiva s relativně zrychlenou druhou fází (3). Počátek rychlého uvolnění léčiva koreluje s masivním bobtnáním, erozí a deformací mikročástic (2). Pokud dojde ke zpomalení druhé fáze, může to být způsobeno nejenom prakticky neporézním polymerem, ale také uzavřením pórů, interakcí polymeru a léčiva nebo interakcí léčivo-léčivo. Tento fakt pak vede k inhibici uvolňování léčiva.

Klasický třífázový profil uvolnění léčiva je charakteristický tím, že jeho první fáze je označována jako fáze takzvaného prasknutí a je spojována s neenkapsulovanými částicemi léčiva na povrchu matrice (4). Druhá fáze je fází, během které léčivo pomalu difunduje polymerem, či pomocí několika málo existujících pórů za probíhající degradace a hydratace polymeru. Třetí fáze je periodou rychlého uvolnění léčiva a je přisuzována počátku eroze. Bývá někdy nazývána fází takzvaného *Burst-efektu*. (5).

Významně se na změně průběhu profilu uvolnění léčiva mohou podílet i pomocné látky. Například v *in vitro* prováděných studiích uvolnění daného léčiva bez obsahu pomocných látek byl prokázán dvoufázový profil uvolnění tohoto léčiva. Fáze 1 je pomalá difúze, vystřídaná rychlým uvolněním léčiva zprostředkovaným erozí ve fázi 2. Za přítomnosti ve vodě rozpustných pomocných látek se profil změnil na jednofázový. Přídavkem vysokomolekulárních ve vodě rozpustných látek došlo ke změně profilu

uvolňování léčiva na uvolňování podle nultého řádu. A působením hydrofobních pomocných látek se dvoufázový profil uvolnění léčiva projevil zpožděním druhé fáze (6).

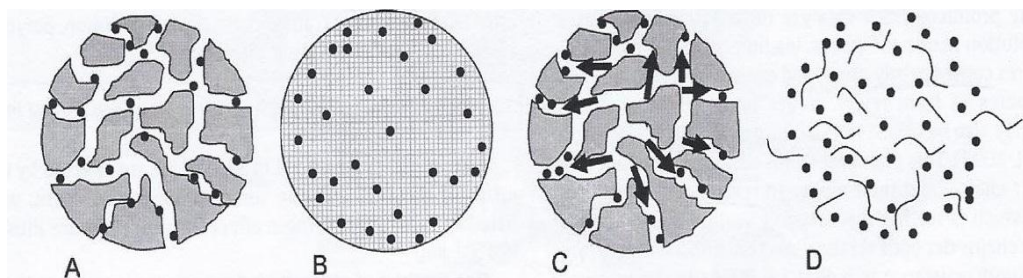
2. Procesy ovlivňující uvolňování léčiva z polymerů

Mechanismus uvolnění je proces popisující uvolnění léčiva z transportního systému a události, které ovlivňují jeho uvolněné množství.

Existují čtyři možné cesty k uvolnění léčiva z nosiče tvořeného PLGA:

- 1) Difúze přes vodou vyplněné póry – typická pro inkorporovaná léčiva, jejichž molekuly jsou příliš velké a hydrofilní, aby prošly přes polymerní fázi. Osmotický tlak je zde kompenzován bobtnáním polymeru.
- 2) Difúze polymerem – charakteristická pro malé molekuly hydrofobních léčiv.
- 3) Osmóza – zprostředkovaná působením osmotického tlaku, který je běžný spíše pro transportní systémy tvořené jinými polymery než PLGA jako například ethylcelulózou (7). Osmotický tlak vzniká pomocí příjmu vody do systémů, které nejsou schopny bobtnání.
- 4) Eroze – dochází během ní k tvorbě pórů. Velmi častá je u enkapsulovaných léčiv uvolněných bez transportu přes rozpouštějící se polymer za předpokladu homogenní distribuce v rámci transportního systému (8).

Obr. 1. Uvolnění léčiva z transportního systému: A – difúze přes vodou vyplněné póry, B – difúze polymerem, C – osmóza, D - eroze (8)



2.1. *Difúze*

Proces difúze vodou vyplněnými póry je na rozdíl od difúze polymerem závislý na porézní struktuře polymeru. Vysoká porozita napomáhá zvýšení rozpustnosti léčiva a tím i jeho uvolňování. Rychlost difúze polymerem závisí na jeho fyzikálním stavu. Pro malé molekuly může být zvýšena přechodem ze skelného stavu do stavu plastického, což souvisí se změnou teploty skelného přechodu T_g (9). Obvyklá hodnota teploty skelného přechodu pro originální polymer PLGA je okolo 37°C. U transportních systémů založených na PLGA je často nižší, vzhledem k degradaci během procesu výroby a k možnému přídavku plastifikátorů nebo přítomností zbytkového množství vody (10).

2.2. *Osmóza*

Představuje transport léčiva řízený osmotickým tlakem. Podmínkou pro uskutečnění tohoto jevu je stejný příjem a výdej vody matricí a také dostatečná délka kanálků v nich vytvořených (za vyhovující se považuje délka větší než 60 mikrometrů). Osmóza není příliš charakteristickým mechanismem uvolnění léčiv ze systému založených na PLGA. Nicméně pár zmínek o využití této cesty k uvolnění léčiva z matrice tvořené PLGA existuje. Spočívá ve využití velice hydrofobních polymerů s vysokým poměrem kys. mléčné a kys. glykolové v řetězci (100:0; 85:15) a s jejich vysokou molekulovou hmotností (okolo 324 kDa) s možností přídavku PEG jako porozigenu (8). Díky těmto parametrům je absorpce vody a bobtnání matrice minimální, což vede k dosažení rovnováhy mezi příjmem a výdejem vody a tím k uplatnění působení osmotického tlaku.

2.3. *Eroze*

V řadě studií sledujících uvolňování léčiv byla prokázána podobnost profilu uvolnění léčiva s erozí polymeru. Erozi lze rozdělit na povrchovou a celkovou:

Povrchová eroze – dochází k uvolňování léčiva s postupným odbouráváním polymeru z povrchu matrice.

Celková eroze – zpočátku vznikají v matrici prostory, ty se postupně zvětšují a umožňují pak uvolňování léčiva (11).

Konstantní difúzní koeficienty pro léčiva enkapsulovaná do transportních systémů založených na PLGA byly objeveny u případů týkajících se malých a porézních částic. Tyto částice byly tvořeny vysokomolekulárními, hydrofobními, pomalu bobtnajícími a degradujícími PLGA polymery s nízkou mobilitou polymerních řetězců. Zatímco procesy vedoucí k vytváření pórů jako eroze nebo bobtnání mají větší efekt u nízkomolekulárních a méně hydrofobních PLGA polymerů i u větších a málo porézních částic (8).

3. Mechanismy podporující nebo inhibující uvolňování léčiva z polymerů

Řada procesů, které jsou zmíněny v této části, může ovlivnit množství uvolňovaného léčiva společně nebo je mohou měnit i více než jednou cestou.

3.1. Absorpce vody

Absorpce vody neboli bobtnání nastává po bezprostředním kontaktu matrice tvořené PLGA s vodou a vede k tvorbě pórů v její struktuře, což zvyšuje difúzi léčiva. Bobtnání může u nízkomolekulárních a hydrofilních polymerů PLGA s vysokou mobilitou polymerních řetězců vést k uzavření pórů a tím ke snížení uvolňovaného množství léčiva. Stejně tak může způsobit i přestavbu polymerních řetězců a vytvořit tak homogenně bobtnající polymerní hmotu bez jiných pórů (3). Vyvolává hydrolýzu, zvýšení pH uvnitř systému, způsobuje takzvanou fázi *Burst-efektu* v profilu uvolňování léčiva. Pomocné látky jako například soli obsahující dvojmocné kationty - $Mg(OH)_2$ způsobují zvýšení bobtnání matrice a porozity, což podporuje uvolňování léčiva z transportního systému (12).

3.2. *Hydrolyza*

Hydrolyza vede k tvorbě a uvolňování karboxylových koncových skupin kyselin na základě hydrolyzy esterových vazeb v polymerních řetězcích. Jedná se o proces ovlivňující celou řadu událostí, které mají vliv na podporu či inhibici uvolňování léčivé látky. Hydrolyza podmiňuje interakce mezi léčivem a polymerem, změnu pH, rozpouštění oligomerů PLGA uvnitř matric a má vliv i na změnu pohyblivosti polymerních řetězců a hustoty polymeru. Pokud dojde ke snížení pH či k uzavěru pórů vede hydrolyza ke snížení uvolňovaného množství léčiva.

3.3. *Degradace a změny v řetězci polymerů*

Heterogenní degradace je autokatalytický fenomén (13) spojovaný s rychlejší degradací v centrální části tělesa v závislosti na čase a pomalejší degradací povrchové vrstvy tělesa, která je konstantní. Povrchová vrstva vzhledem k tomu, že na ní nedochází k významnému vytváření pórů, představuje difuzní bariéru až do doby, kdy v ní dojde k tvorbě prasklin způsobených osmotickým tlakem (8). Vznikající méně porézní povrchová vrstva se tedy podílí na kontrole uvolňovaného množství léčiva.

Změny v pohyblivosti a hustotě polymerních řetězců mají vliv na rychlost difúze. Ovlivňovány jsou prostřednictvím hydrolyzy, eroze, rozpouštěním oligomerů PLGA v matrici. Jsou zpomalovány možnou krystalizací oligomerů vznikající na podkladě poměru kys. mléčné ke kys. glykolové v řetězci polymeru.

3.4. *Eroze*

Eroze je proces vedoucí k tvorbě pórů a tím ke zvýšení rychlosti difúze. Podpořena je pomocí degradačních produktů hydrolyzy, které katalyzují degradaci, způsobují rozpouštění polymeru uvnitř pórů a dochází tak ke zvýšení bobtnání a plastifikace polymeru. Difúzí degradačních produktů do média obklopujícího danou matrici dochází i ke ztrátě jejich vlastností a eroze by pak

teoreticky měla vést ke snížení uvolňovaného množství léčiva, nicméně je považována za proces podporující uvolňování. Eroze probíhá také v závislosti na velikosti a porositě transportních systémů.

3.5. *Tvorba pórů*

Tvorba pórů je zajišťována prostřednictvím absorpce vody matricí a erozí. Úzce souvisí i s pohyblivostí polymerních řetězců. Tento proces je důležitý pro transport příliš velkých a hydrofilních molekul léčiv, které by neprošly polymerní vrstvou matrice a jsou proto difundována pomocí vodou vyplněných pórů. Důležitá je i pro transport léčiv polymerem pomocí osmotického tlaku, kterého je méně využíváno u matric tvořených PLGA, ale více u matric tvořených jinými polymery neschopnými absorpce vody jako je například ethylcelulóza. Uzavřením pórů, které může být způsobeno přidáním plastifikátorů, zvýšením teploty média, degradací polymeru nebo snížením pH média naopak dochází ke snížení uvolňovaného množství léčiva. Uzavírání a tvorba pórů jsou dva současně probíhající procesy. Uzavírání pórů je větší při rozmezí pH od 3 do 7,4, zatímco jejich tvorba dominuje při pH 5-6 (3). Důvodem pro rychlejší uzavírání pórů při nízkém pH je zvýšená hydrofobicita PLGA a nižší stupeň disociace karboxylových kyselin obsažených v polymeru. Tento fakt byl prokázán u studie *Burst-efektu* při uvolňování z mikročástic, které byly v pufru o pH 4 (14).

3.6. *Interakce léčivo-léčivo*

Tvorbou fyzikálních nebo kovalentních agregátů dochází k pomalejšímu a nekompletnímu uvolňování léčivé látky (15).

3.7. *Tvorba trhlin*

Tvorba prasklin může být způsobena rychlou absorpcí vody vedoucí ke zvýšení uvolňovaného množství léčiva. Souvisí také s autokatalytickým

fenomémem (13) hydrolýzy, tedy se vznikem povrchové difúzní bariéry, který je spojen s rychlejší degradací centrální části matrice oproti její povrchové struktuře.

3.8. *Kolaps struktury polymeru*

Díky vznikajícím prasklinám, tvorbě pórů a novým povrchům dochází ke zvýšení uvolňovaného množství léčiva, naopak je tomu při snížení porozity polymerní struktury.

4. Faktory ovlivňující uvolňování léčiv z PLGA biopolymerů

4.1. *Fyzikálně-chemické faktory transportních systémů a prostředí*

Fyzikálně-chemické procesy probíhající v transportních systémech založených na PLGA jsou:

Absorpce vody/bobtnání



Hydrolýza



Eroze

V důsledku kontaktu PLGA matrice s vodou dochází k jejímu nasávání. Objem matrice se zvyšuje- bobtná, na povrchu se objevují praskliny a póry, kterými se voda dostává do většího kontaktu s polymerem a transportovaným léčivem. Postupem času se jejich počet a velikost zvětšuje, a tak může docházet k jejich spojování, či uzavírání, které je umožněno mobilitou polymerních řetězců a jejich schopností se přestavovat, což je důležitý aspekt pro transport léčiv enkapsulovaných do matrice. Rovnováhy v tomto procesu je dosaženo, jakmile se vyrovnají osmotický tlak způsobující nasávání vody a elastická síla polymerních řetězců daného systému (16).

Hydrolýza spočívá ve štěpení esterových vazeb polymeru s následným snížením molekulové hmotnosti. Produktem jsou kyseliny. Tento autokatalytický

fenomén je znám jako důvod heterogenní degradace uvnitř matric PLGA a je spojován s rychlejší degradací centrální části matrice PLGA oproti jejímu povrchu (13). Degradací produkty na jednu stranu mohou zvýšit osmolalitu uvnitř matrice a tím absorpci vody, na druhé straně mohou způsobit krystalizaci zvláště u polymerů tvořených velkým počtem opakujících se stejných monomerních jednotek, která naopak inhibuje absorpci vody. Hydrolýza nemusí být kritická pouze pro nárůst hydrofilicity polymeru, ale také pro jeho teplotu skelného přechodu. Po uvedení matrice do plastického stavu, dochází k drastickému zvýšení pohyblivosti molekul uvnitř systému i k nárůstu množství absorbované vody (2).

Díky vznikajícím degradačním produktům hydrolýzy a stálému kontaktu s vodou dochází k masivnějšímu rozrušování matrice a difúzi těchto produktů k povrchu dané matrice, čímž je nastartován děj nazývaný eroze. Během tohoto procesu probíhá ztráta hmoty a desintegrace matrice.

Mezi vlastnosti transportních systémů, které ovlivňují fyzikálně-chemické procesy v nich probíhající, patří jejich:

- Velikost – má za následek zvýšení gradientu pH a podporu autokatalytického efektu degradace (17).
- Tvar – zvláště pak poměr povrchové části k celkovému objemu systému, mají efekt na uvolnění léčiva i degradačních produktů (18).
- Hustota a porozita.

Uvolňování léčiva probíhá také v závislosti na vlastnostech prostředí obklopujícího daný transportní systém, jako jsou:

- Teplota - její zvýšení vede k urychlení všech chemických reakcí, zvýšení pohyblivosti řetězců polymeru, zvýšení počtu uzavřených pórů.
- pH- ovlivnění rozpustnosti léčiva, tvorby a uzavírání pórů
- Složení média, enzymy
- Imunitní odpověď – zprostředkovaná fagocytózou částic prostřednictvím makrofágů.

4.2. Faktory ovlivňující fyzikálně-chemické chování PLGA

Pro zajištění kontrolovaného uvolňování léčiv se v současné době dá vybírat z více možných variant vlastností charakteristických pro PLGA, aby zvolený polymer byl co nejvíce vhodný pro transport daného léčiva. Mezi vlastnosti, které se posuzují, patří:

- Molekulová hmotnost – obvykle nižší než 50 kDa
- Poměr kys. mléčné ke kys. glykolové v polymeru – od 50:50 až po 100:0
- Koncové funkční skupiny polymeru – například hydrofobní skupiny vázané esterovými vazbami

Nízká molekulová hmotnost a nízký poměr kys. glykolové ke kys. mléčné vedou ke vzniku méně hydrofobního polymeru se zvyšujícím se množstvím absorbované vody, hydrolýzy a eroze (19).

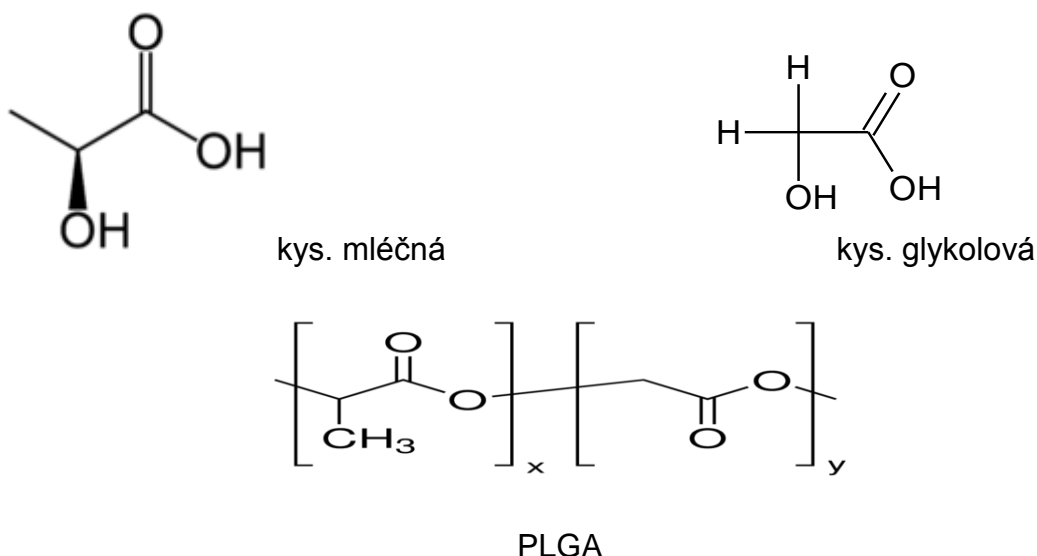
Dalším významným faktorem ovlivňujícím fyzikálně-chemické chování PLGA je samotná enkapsulovaná substance obsahující léčivo, pomocné látky a také její množství a lokalizace.

Vlastnosti léčiva mohou způsobit změnu pH, míry absorpce vody, vlastní rozpustnosti léčiva. Pomocné látky jako například soli, povrchově aktivní látky, plastifikátory a další mohou změnit pH, míru bobtnání, hydrolýzu, utváření pórů a prasklin na povrchu transportních mechanismů založených na PLGA. Vše probíhá v závislosti na rozpustnosti pomocných látek ve vodě, na jejich molekulové hmotnosti a konfiguraci.

5. Struktura, syntéza a vlastnosti PLGA

Biodegradabilní polymery jsou nejčastěji představovány jako polyestery. Může se jednat o homo- nebo kopolymery kys. glykolové (L-hydroxyoctová kyselina) a kys. mléčné (2-hydroxypropionová kyselina). PLGA je kopolymer kys. D,L-mléčné a kys. glykolové.

Obr. 2. Strukturní vzorce kys. mléčné, kys. glykolové, PLGA



Syntéza:

Přítomnost karboxylové i hydroxylové skupiny, které jsou součástí struktury kys. mléčné i kys. glykolové, umožňuje získat polymer pomocí polykondenzační reakce.

Polykondenzační reakce však nevede k přípravě vysokomolekulárních polymerů. Pro jejich syntézu se využívá takzvaná polymerizace za otevření kruhu. Průběh reakce může být ovlivněn celou řadou činitelů. Alkohol (20) může během polymerizace působit jako moderátor reakce. Čím více alkoholu, tím nižší je výsledná molekulová hmotnost polymeru. Přídavek karboxylových kyselin (20) vede k deaktivaci reakce.

Možné je polymery syntetizovat i využitím takzvaných prepolymerů (21) vznikajících např. z kys. mléčné. Ty jsou pak přeměňovány na stereoizomery pomocí intramolekulární cyklizační reakce. Roztavená směs je čištěna prostřednictvím vakuové destilace. Konečný vysokomolekulární polymer je poté produkován díky polymerizaci za otevření kruhu katalýzou kovy v tavenině (20).

Mezi charakteristické vlastnosti těchto syntetických polymerů patří jejich biodegradabilita a biokompatibilita, jsou v živém organismu (*in vivo*) degradovány na kys. mléčnou ($C_3H_6O_3$) a kys. glykolovou ($C_2H_4O_3$) a ty pak

dále eliminovány na CO₂ a H₂O pomocí Krebsova cyklu. Degradace je uskutečňována prostřednictvím hydrolýzy esterové vazby a je ovlivňována vlastnostmi polymerů, jako jsou: molekulová hmotnost, krystalinita, teplota skelného přechodu, poměr kyseliny mléčné ke kyselině glykolové v polymeru atd.

6. Využití PLGA biopolymerů

PLGA patří mezi jeden z nejčastěji užívaných biodegradabilních polymerů. Může být využit v celé řadě oblastí od enkapsulace léčiv, v genetickém inženýrství (22), na chirurgické materiály k léčbě zlomenin kostí (23), až po vakcíny (24) a v mnoha dalších uplatněních. Obliba využití těchto polymerů vyplývá z vlastností alifatických polyesterů, jako je kyselina mléčná a její kopolymer s kyselinou glykolovou. Na trhu je dostupná celá řada variant PLGA polymerů s různými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, což umožňuje jejich vhodný výběr vzhledem k požadovanému profilu uvolňování daného léčiva. Pomocí PLGA může být enkapsulováno široké spektrum léčiv jako například analgetika, antibiotika, léčiva využívaná v terapii rakoviny, hormony, vakcíny a další. Transportní systémy léčiv ve formě mikročástic, mikrosfér, nanočástic a dalších mají prokázaný terapeutický účinek nebo zajišťují uvolnění léčiva v koncentraci dostačující pro terapeutický efekt. Aplikovány mohou být pomocí chirurgického zákroku zajišťujícího dosažení cíleného místa pro lokální uvolnění léčiva (25) nebo intravenózně, kdy dochází ke spojení s protilátkou, či molekulou podobnou s cílovým místem na buněčném povrchu (26).

II. Praktická část

7. Příprava matric

Pomůcky: silikonové hadičky o vnitřním průměru 4 mm a vnějším průměru 6 mm a hadičky o vnitřním průměru 5 mm a vnějším průměru 8 mm, svorky, nůž, silikonová lázeň, nůžky, gumové rukavice, kádinky různých velikostí, injekční stříkačka, skalpel, žiletky, brusný papír, vysoušeč vlasů.

Přístroje: Analytické digitální váhy, KERN ABS (max. 220 g, d = 0,1 mg)

Digitální váhy, KERN 440 – 53 (max. 6000 g, d = 1 g)

Horkovzdušná sušárna, HSPT.200, Memmert

Vakuová sušárna, Binder

Magnetická míchačka, Ika RT 5

Chemikálie: oligoestery PLGA 50:50 syntetizované na katedře farmaceutické technologie farmaceutické fakulty v Hradci Králové, aceton, methanol, KOH, fenolftalein, silikonový olej, ethanol.

Pro účel diplomové práce, tedy k záznamu a poznání průběhu bobtnání a eroze PLGA bylo zapotřebí připravit matrice o čtyřech různých hmotnostech 50 mg, 100 mg, 150 mg a 250 mg. Pro přípravu matric o hmotnostech 50 a 100 mg byly použity silikonové hadičky s nižším průměrem, zatímco pro přípravu tělísek o hmotnosti 150 a 250 mg byly využity hadičky o průměru 5x8 mm. Nejdříve jsem vybrané silikonové hadičky propláchla vodou s detergentem a pak destilovanou vodou. Nastříhala jsem je asi na 20 cm dlouhé části a vložila do sušárny při 105°C pro vysušení stopového množství vody z povrchu hadiček. Z polymeru jsem si navázila potřebné množství k přípravě matric navýšené asi o 20 % požadované hmotnosti eliminující ztrátu materiálu během zpracování matric. Na magnetické míchačce se silikonovou lázní jsem pak navážený polymer v kádince zahříváním převedla ze sklovitého stavu do stavu

plastického. Jakmile polymer začal být tekutý, natahovala jsem ho pomocí injekční stříkačky do silikonové hadičky do doby, než v ní začal tuhnout a další množství už nebylo možné natáhnout. Poté jsem hadičku s polymerem na obou stranách uzavřela svorkami a v rovnovážné poloze jsem jej nechala tuhnout. Po dostatečném ztvrdnutí polymeru jsem pomocí ostrého nože rozřízla silikonovou hadičku a polymer z ní vyndala. Z takto připraveného materiálu jsem pak pomocí žiletky a skalpelu řezala malá tělíška, která jsem pak na požadovanou hmotnost upravovala pomocí brusného papíru. Práci jsem prováděla v gumových rukavicích pro zamezení kontaktu polymeru s vlhkostí. Tělíška o správné hmotnosti jsem před jejich použitím pro testování uchovávala v scintilačních lahvíčkách označených hmotností tělíšek v lednici.

8. Testování matric

Tělíška požadované hmotnosti jsem vkládala do prázdných scintilačních lahvíček. Každá lahvíčka pak byla označena hmotností tělíška a počtem dnů, po které bylo ponořeno v médiu. Do tabulky jsem zaznamenávala hmotnost prázdné scintilační lahvíčky označenou jako m_x a hmotnost lahvíčky s přidaným tělíškem označenou jako $m_x + m_0$. Každá matrice byla poté ve scintilační lahvíčce ponořena do 15 ml vody. Takto připravené vzorky jsem poté uchovávala po požadovanou dobu 1 až 7 dní v lednici. K výměně média docházelo každý den. Pro každý den a každou hmotnost tělíška jsem připravila 2 paralelní vzorky.

9. Stanovení stupně bobtnání a eroze

Ve stanovený den jsem vyndala z lednice příslušné vzorky a opatrně z lahvíček vylila dané médium, zbytek jsem pak odsála pomocí kapátka. Kapky vody ulpívající na stěnách scintilační lahvíčky jsem vysoušela pomocí vatové tyčinky a krátce pomocí vysoušeče vlasů, tak aby nedošlo k odstranění vody ze zbobtnalé matrice. Takto vysušenou lahvíčku jsem na analytických vahách zvážila a hodnotu do tabulky zapsala jako $m_x + m_b$. Poté jsem vzorky vložila do

vakuové sušárny, kde docházelo po dobu 7 dní k vysoušení zbytků vody i ze zbobtnalé matrice. Po vysušení vody jsem scintilační lahvičky s matricemi zvážila a hodnotu zaznamenala jako $m_x + m_s$.

Ze získaných hodnot jsem pak, na základě příslušných vzorců, vypočítala stupeň bobtnání a stupeň eroze.

STUPEŇ BOBTNÁNÍ:

$$B = m_b - m_s / m_s * 100 \quad [1]$$

B = stupeň bobtnání [%]

m_b = hmotnost zbobtnalé matrice [g]

m_s = hmotnost matrice po vysušení [g]

STUPEŇ EROZE:

$$E = (1 - m_0 - m_s / m_0) * 100 \quad [2]$$

E = stupeň eroze [%]

m₀ = počáteční hmotnost matrice [g]

m_s = hmotnost matrice po vysušení [g]

10. Stanovení čísla kyselosti

Příprava odměrného roztoku: Navážila jsem si 5,6 g KOH a rozpustila jej v odměrné baňce na 2000 ml v methanolu. Koncentrace odměrného roztoku odpovídala hodnotě 0,05 mol/l.

Příprava indikátoru: Jako indikátor detekující změnu zabarvení roztoku v průběhu titrace jsem použila fenolftalein. Rozpustila jsem 1,0 g fenolftaleinu

v 80 ml 96 % ethanolu v odměrné baňce na 100 ml a doplnila destilovanou vodou po značku.

Vysušený vzorek jsem v kádince zalila 5,0 ml acetonu, vložila míchadlo a na magnetické míchačce nechala matici rozpustit. Po rozpuštění jsem do roztoku přikápla fenolftalein. Poté jsem titrovala odměrným roztokem KOH až do prvního růžového zbarvení roztoku, jehož intenzita byla patrná nejméně po dobu 5 s. Spotřebu odměrného roztoku jsem pak zaznamenala do tabulky jako V_{KOH} .

ČÍSLO KYSELOSTI:

$$X = 1000 / m_s * c * V_{\text{KOH}} \quad [3]$$

X = číslo kyselosti

m_s = hmotnost matrice po vysušení [g]

c = množství KOH v mg na 1 ml odměrného roztoku = 2,8

V_{KOH} = spotřeba odměrného roztoku KOH [ml]

Číslo kyselosti charakterizuje množství KOH v mg, které je zapotřebí k neutralizaci 1g vysušeného polyesteru.

11. Výsledky – tabulky a grafy

1) Chování PLGA tělísek o hmotnosti 50, 100, 150 a 250 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne - tabulky.

Tab. 1: Stupeň bobtnání a eroze PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne.

50 mg	50-A-1	50-A-2	50-A-3	50-A-4	50-A-5	50-A-6	50-A-7
m_x	13,8579	13,5195	14,7357	13,6772	13,8547	13,5316	13,5205
m_x+m_0	13,9079	13,5695	14,7857	13,7272	13,9047	13,5816	13,5705
m_x+m_b	13,9122	13,5708	14,7878	13,7327	13,9104	13,5884	13,5763
m_x+m_s	13,9098	13,57	14,7869	13,7305	13,9083	13,5841	13,5739
m_0	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
m_b	0,0543	0,0513	0,0521	0,0555	0,0557	0,0568	0,0558
m_s	0,0519	0,0505	0,0512	0,0533	0,0536	0,0525	0,0534
B[%]	4,6243	1,5842	1,7578	4,1276	3,9179	8,1905	4,4944
E[%]	103,8	101	102,4	106,6	107,2	105	106,8

50 mg	50-B-1	50-B-2	50-B-3	50-B-4	50-B-5	50-B-6	50-B-7
m_x	13,7278	13,9012	13,6214	14,1187	13,8189	13,5448	14,6161
m_x+m_0	13,7778	13,9512	13,6714	14,1687	13,8689	13,5948	14,6661
m_x+m_b	13,7808	13,9562	13,6691	14,1724	13,8747	13,5996	14,6706
m_x+m_s	13,7795	13,954	13,6685	14,1696	13,8718	13,5962	14,6684
m_0	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
m_b	0,053	0,055	0,0477	0,0537	0,0558	0,0548	0,0545
m_s	0,0517	0,0528	0,0471	0,0509	0,0529	0,0514	0,0523
B[%]	2,5145	4,1667	1,2739	5,5010	5,4820	6,6148	4,2065
E[%]	103,4	105,6	94,2	101,8	105,8	102,8	104,6

Tab. 2: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 1)

Bobtnání	1	2	3	4	5	6	7
50 A	4,6243	1,5842	1,7578	4,1276	3,9179	8,1905	4,4944
50 B	2,5145	4,1667	1,2739	5,5010	5,4820	6,6148	4,2065
Průměr	3,5694	2,8754	1,5158	4,8143	4,7000	7,4026	4,3504

Tab. 3: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 2)

50 mg A, B		Dny						
Veličina	Vzorek	1	2	3	4	5	6	7
m_s [mg]	A	51,9	50,5	51,2	53,3	53,6	52,6	53,4
m_s [mg]	B	51,7	52,8	47,1	50,9	52,9	51,4	52,3
V KOH [ml]	A	1,02	1,04	1,04	1,06	0,96	0,98	1,04
V KOH [ml]	B	1,02	1,08	0,92	0,88	1,06	1,06	0,98
č. kys.	A	55,0289	57,6634	56,8750	55,6848	50,1493	52,1673	54,5318
č. kys.	B	55,2418	57,2727	54,6921	48,4086	56,1059	57,7432	52,4665
KOH[mg/ml]		2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Průměr		55,1353	57,4680	55,7836	52,0467	53,1276	54,9552	53,4992

Tab. 4: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 3)

Eroze	1	2	3	4	5	6	7
50A	103,8	101	102,4	106,6	107,2	105	106,8
50B	103,4	105,6	94,2	101,8	105,8	102,8	104,6
Průměr	103,6	103,3	98,3	104,2	106,5	103,9	105,7

Tab. 5: Stupeň bobtnání a eroze PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne.

100 mg	100-A-1	100-A-2	100-A-3	100-A-4	100-A-5	100-A-6	100-A-7
m_x	13,2225	13,8247	13,6104	13,8158	14,3525	13,2835	13,6078
m_x+m_0	13,3225	13,9247	13,7104	13,9158	14,4525	13,3835	13,7078
m_x+m_b	13,3228	13,9261	13,7146	13,92	14,4501	13,3965	13,7127
m_x+m_s	13,3218	13,924	13,7118	13,9157	14,4472	13,385	13,7088
m_0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m_b	0,1003	0,1014	0,1042	0,1042	0,0976	0,113	0,1049
m_s	0,0993	0,0993	0,1014	0,0999	0,0947	0,1015	0,101
B[%]	1,0070	2,1148	2,7613	4,3043	3,0623	11,3300	3,8614
E[%]	99,3	99,3	101,4	99,9	94,7	101,5	104,9

100 mg	100-B-1	100-B-2	100-B-3	100-B-4	100-B-5	100-B-6	100-B-7
m_x	13,7499	13,3564	13,743	13,7013	13,8468	13,4902	13,8085
m_x+m_0	13,8499	13,4564	13,843	13,8013	13,9468	13,5902	13,9085
m_x+m_b	13,8535	13,4601	13,849	13,8077	13,9493	13,5916	13,9156
m_x+m_s	13,8517	13,458	13,8461	13,8024	13,9469	13,5878	13,9116
m_0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m_b	0,1036	0,1037	0,106	0,1064	0,1025	0,1014	0,1071
m_s	0,1018	0,1016	0,1031	0,1011	0,1001	0,0976	0,1031
B[%]	1,7682	2,0669	2,8128	5,2423	2,3976	3,8934	3,8797
E[%]	101,8	101,6	103,1	101,1	100,1	97,6	103,1

Tab. 6: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 4)

Bobtnání	1	2	3	4	5	6	7
100A	1,0070	2,1148	2,7613	4,3043	3,0623	11,3300	3,8614
100B	1,7682	2,0669	2,8128	5,2423	2,3976	3,8934	3,8797
Průměr	1,3876	2,0909	2,7871	4,7733	2,7300	7,6117	3,8706

Tab. 7: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 5)

100 mg A, B		Dny						
Veličina	Vzorek	1	2	3	4	5	6	7
m_s [mg]	A	99,3	99,3	101,4	99,9	94,7	101,5	101
m_s [mg]	B	101,8	101,6	103,1	101,1	100,1	97,6	103,1
V KOH [ml]	A	1,76	1,86	1,96	1,94	1,84	1,94	1,96
V KOH [ml]	B	1,9	1,92	2,02	1,9	1,92	1,8	2
č. kys.	A	49,6274	52,4471	54,1223	54,3744	54,4034	53,5172	54,3366
č. kys.	B	52,2593	52,9134	54,8594	52,6212	53,7063	51,6393	54,3162
KOH [mg/ml]		2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Průměr		50,9434	52,6803	54,4908	53,4978	54,0548	52,5783	54,3264

Tab. 8: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 6)

Eroze	1	2	3	4	5	6	7
100A	99,3	99,3	101,4	99,9	94,7	101,5	104,9
100B	101,8	101,6	103,1	101,1	100,1	97,6	103,1
Průměr	100,55	100,45	102,25	100,5	97,4	99,55	104

Tab. 9: Stupeň bobtnání a eroze PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne.

150 mg	150-A-1	150-A-2	150-A-3	150-A-4	150-A-5	150-A-6	150-A-7
m_x	13,6289	13,6741	13,228	14,4111	13,5841	13,7233	13,6278
m_x+m_0	13,7789	13,8241	13,378	14,5611	13,7341	13,8733	13,7778
m_x+m_b	13,7839	13,8372	13,3846	14,5746	13,743	13,8842	13,7884
m_x+m_s	13,782	13,8336	13,382	14,5661	13,737	13,8773	13,7821
m_0	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
m_b	0,155	0,1631	0,1566	0,1635	0,1589	0,1609	0,1606
m_s	0,1531	0,1595	0,154	0,155	0,1529	0,154	0,1543
B[%]	1,2410	2,2571	1,6883	5,4839	3,9241	4,4805	4,0830
E[%]	102,1	106,33	102,67	103,33	101,93	102,67	102,87

150 mg	150-B-1	150-B-2	150-B-3	150-B-4	150-B-5	150-B-6	150-B-7
m_x	13,377	13,3797	14,4398	13,8221	15,053	13,7138	14,8968
m_x+m_0	13,527	13,5297	14,5898	13,9721	15,203	13,8638	15,0468
m_x+m_b	13,5318	13,5397	14,601	13,9803	15,2144	13,8641	15,0488
m_x+m_s	13,5296	13,5352	14,5945	13,9762	15,2077	13,8582	15,0433
m_0	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
m_b	0,1548	0,16	0,1612	0,1582	0,1614	0,1503	0,152
m_s	0,1526	0,1555	0,1547	0,1541	0,1547	0,1444	0,1465
B[%]	1,4417	2,8939	4,2017	2,6606	4,3310	4,0859	3,7543
E[%]	101,73	103,67	103,13	102,73	103,13	96,27	97,67

Tab. 10: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 7)

Bobtnání	1	2	3	4	5	6	7
150A	1,2410	2,2571	1,6883	5,4839	3,9241	4,4805	4,0830
150B	1,4417	2,8939	4,2017	2,6606	4,3310	4,0859	3,7543
Průměr	1,3413	2,5755	2,9450	4,0722	4,1275	4,2832	3,9186

Tab. 11: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 8)

150 mg A, B		Dny						
Veličina	Vzorek	1	2	3	4	5	6	7
m_s [mg]	A	153,1	159,5	154	155	152,9	154	154,3
m_s [mg]	B	152,6	155,5	154,7	154,1	154,7	144,4	146,5
V KOH m[l]	A	2,88	3	2,98	2,72	3	2,76	2,76
V KOH [ml]	B	2,9	2,86	2,98	2,78	2,88	2,68	2,7
č. kys.	A	52,6715	52,6646	54,1818	49,1355	54,9379	50,1818	50,0843
č. kys.	B	53,2110	51,4984	53,9367	50,5127	52,1267	51,9668	51,6041
KOH [mg/ml]		2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Průměr		52,9412	52,0815	54,0592	49,8241	53,5323	51,0743	50,8442

Tab. 12: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 9)

Eroze	1	2	3	4	5	6	7
150A	102,1	106,33	102,67	103,33	101,93	102,67	102,87
150B	101,73	103,67	103,13	102,73	103,13	96,27	97,67
Průměr	101,915	105	102,9	103,03	102,53	99,47	100,27

Tab. 13: Stupeň bobtnání a eroze PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne.

250 mg	250-A-1	250-A-2	250-A-3	250-A-4	250-A-5	250-A-6	250-A-7
m_x	13,7179	13,7354	13,5351	13,4988	13,5329	13,504	13,6133
m_x+m_0	13,9679	13,9854	13,7851	13,7488	13,7829	13,754	13,8633
m_x+m_b	13,9717	13,9937	13,7933	13,7604	13,7929	13,7653	13,8765
m_x+m_s	13,9706	13,9885	13,7877	13,7518	13,7857	13,7575	13,866
m_0	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
m_b	0,2538	0,2583	0,2582	0,2616	0,26	0,2613	0,2632
m_s	0,2527	0,2531	0,2526	0,253	0,2528	0,2535	0,2527
B[%]	0,4353	2,0545	2,2169	3,3992	2,8481	3,0769	4,1551
E[%]	101,08	101,24	101,04	101,2	101,12	101,4	101,08

250 mg	250-B-1	250-B-2	250-B-3	250-B-4	250-B-5	250-B-6	250-B-7
m_x	13,8098	13,6404	14,5702	13,7208	13,3263	14,0816	13,6026
m_x+m_0	14,0598	13,8904	14,8202	13,9708	13,5763	14,3316	13,8526
m_x+m_b	14,0637	13,8963	14,8274	13,9755	13,5862	14,3427	13,858
m_x+m_s	14,0625	13,8921	14,8229	13,9704	13,5801	14,331	13,8496
m_0	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
m_b	0,2539	0,2559	0,2572	0,2547	0,2599	0,2611	0,2554
m_s	0,2527	0,2517	0,2527	0,2496	0,2538	0,2494	0,247
B[%]	0,4749	1,6687	1,7808	2,0433	2,4035	4,6913	3,4008
E[%]	101,08	100,68	101,08	99,84	101,52	99,76	98,8

Tab. 14: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 10)

Bobtnání	1	2	3	4	5	6	7
250A	0,4353	2,0545	2,2169	3,3992	2,8481	3,0769	4,1551
250B	0,4749	1,6687	1,7808	2,0433	2,4035	4,6913	3,4008
Průměr	0,4551	1,8616	1,9989	2,7212	2,6258	3,8841	3,7780

Tab. 15: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 11)

250 mg A, B		Dny						
Veličina	Vzorek	1	2	3	4	5	6	7
m_s [mg]	A	252,7	253,1	252,6	253	252,8	253,5	252,7
m_s [mg]	B	252,7	251,7	252,7	249,6	253,8	249,4	247
V KOH [ml]	A	4,7	4,8	4,78	4,66	4,76	4,8	4,72
V KOH [ml]	B	3,92	4,76	4,8	4,74	4,72	4,64	4,68
č. kys.	A	52,0776	53,1015	52,9850	51,5731	52,7215	53,0178	52,2992
č. kys.	B	43,4349	52,9519	53,1856	53,1731	52,0725	52,0930	53,0526
KOH [mg/ml]		2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Průměr		47,7562	53,0267	53,0853	52,3731	52,3970	52,5554	52,6759

Tab. 16: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 12)

Eroze	1	2	3	4	5	6	7
250A	101,08	101,24	101,04	101,2	101,12	101,4	101,08
250B	101,08	100,68	101,08	99,84	101,52	99,76	98,8
Průměr	101,08	100,96	101,06	100,52	101,32	100,58	99,94

Tab. 17: Stupeň bobtnání a eroze PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne.

50 mg	50-C-1	50-C-2	50-C-3	50-C-4	50-C-5	50-C-6	50-C-7
m_x	15,405	15,3111	15,5001	15,476	15,4172	15,2775	14,6116
m_x+m_0	15,455	15,3611	15,5501	15,526	15,4672	15,3275	14,6616
m_x+m_b	15,4583	15,3669	15,5506	15,5315	15,4775	15,3331	14,6705
m_x+m_s	15,459	15,3638	15,5455	15,5267	15,471	15,3292	14,6641
m_0	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
m_b	0,0533	0,0558	0,0505	0,0555	0,0603	0,0556	0,0589
m_s	0,054	0,0527	0,0454	0,0507	0,0538	0,0517	0,0525
B[%]	-1,2963	5,882353	11,23348	9,467456	12,08178	7,54352	12,19048
E[%]	108	105,4	90,8	101,4	107,6	103,4	105

50 mg	50-D-1	50-D-2	50-D-3	50-D-4	50-D-5	50-D-6	50-D-7
m_x	15,5867	15,4168	15,4676	15,4651	15,5638	13,5363	13,7516
m_x+m_0	15,6367	15,4668	15,5176	15,5151	15,6138	13,5863	13,8016
m_x+m_b	15,6386	15,4719	15,5248	15,5246	15,6244	13,5908	13,8114
m_x+m_s	15,6403	15,4691	15,5185	15,5186	15,6176	13,5878	13,8039
m_0	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
m_b	0,0519	0,0551	0,0572	0,0595	0,0606	0,0545	0,0598
m_s	0,0536	0,0523	0,0509	0,0535	0,0538	0,0515	0,0523
B[%]	-3,17164	5,353728	12,37721	11,21495	12,63941	5,825243	14,34034
E[%]	107,2	104,6	101,8	107	107,6	103	104,6

Tab. 18: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 13)

Bobtnání	1	2	3	4	5	6	7
50C	-1,2963	5,8824	11,2335	9,4675	12,0818	7,5435	12,1905
50D	-3,1716	5,3537	12,3772	11,2150	12,6394	5,8252	14,3403
Průměr	-2,2340	5,6180	11,8053	10,3412	12,3606	6,6844	13,2654

Tab. 19: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 50 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 14)

50 mg C, D		Dny						
Veličina	Vzorek	1	2	3	4	5	6	7
m_s [mg]	C	54	52,7	45,4	50,7	53,8	51,7	52,5
m_s [mg]	D	53,6	52,3	50,9	53,5	53,8	51,5	52,3
V KOH [ml]	C	1	1,02	0,98	1,06	1,1	1,02	0,98
V KOH [ml]	D	1,02	1,06	1,08	1,04	1,1	1,04	1
č. kys.	C	51,8519	54,1935	60,4405	58,5404	57,2491	55,2418	52,2667
č. kys.	D	53,2836	56,7495	59,4106	54,4299	57,2491	56,5437	53,5373
KOH [mg/ml]		2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Průměr		52,5677	55,4715	59,9256	56,4852	57,2491	55,8927	52,9020

Tab. 20: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 15)

Eroze	1	2	3	4	5	6	7
50C	108	105,4	90,8	101,4	107,6	103,4	105
50D	107,2	104,6	101,8	107	107,6	103	104,6
Průměr	107,6000	105,0000	96,3000	104,2000	107,6000	103,2000	104,8000

Tab. 21: Stupeň bobtnání a eroze PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne.

100 mg	100-C-1	100-C-2	100-C-3	100-C-4	100-C-5	100-C-6	100-C-7
m_x	15,5703	15,5723	15,4634	15,5418	15,4623	13,576	13,9873
m_x+m_0	15,6703	15,6723	15,5634	15,6418	15,5623	13,676	14,0873
m_x+m_b	15,6736	15,6689	15,5666	15,6451	15,5691	13,6797	14,0947
m_x+m_s	15,675	15,6672	15,5601	15,6399	15,563	13,6765	14,0873
m_0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m_b	0,1033	0,0966	0,1032	0,1033	0,1068	0,1037	0,1074
m_s	0,1047	0,0949	0,0967	0,0981	0,1007	0,1005	0,1
B[%]	-1,33715	1,791359	6,72182	5,300714	6,057597	3,18408	7,4
E[%]	104,7	94,9	96,7	98,1	100,7	100,5	100

100 mg	100-D-1	100-D-2	100-D-3	100-D-4	100-D-5	100-D-6	100-D-7
m_x	15,4016	15,5917	15,4312	15,4916	15,5938	13,793	15,3688
m_x+m_0	15,5016	15,6917	15,5312	15,5916	15,6938	13,893	15,4688
m_x+m_b	15,5045	15,6914	15,5356	15,6001	15,6952	13,8954	15,4766
m_x+m_s	15,506	15,6897	15,5293	15,5933	15,6893	13,8907	15,4676
m_0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m_b	0,1029	0,0997	0,1044	0,1085	0,1014	0,1024	0,1078
m_s	0,1044	0,098	0,0981	0,1017	0,0955	0,0977	0,0988
B[%]	-1,43678	1,734694	6,422018	6,686332	6,17801	4,810645	9,109312
E[%]	104,4	98	98,1	101,7	95,5	97,7	98,8

Tab. 22: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 16)

Bobtnání	1	2	3	4	5	6	7
100C	-1,3372	1,7914	6,7218	5,3007	6,0576	3,1841	7,4000
100D	-1,4368	1,7347	6,4220	6,6863	6,1780	4,8106	9,1093
Průměr	-1,3870	1,7630	6,5719	5,9935	6,1178	3,9974	8,2547

Tab. 23: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 100 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 17)

100 mg C, D		Dny						
Veličina	Vzorek	1	2	3	4	5	6	7
m_s [mg]	C	104,7	94,9	96,7	98,1	100,7	100,5	100
m_s [mg]	D	104,4	98	98,1	101,7	95,5	97,7	98,8
V KOH [ml]	C	1,94	1,84	1,92	1,86	1,92	1,94	1,9
V KOH [ml]	D	1,94	1,9	1,92	1,88	1,84	1,8	1,8
č. kys.	C	51,8816	54,2887	55,5946	53,0887	53,3863	54,0498	53,2000
č. kys.	D	52,0307	54,2857	54,8012	51,7601	53,9476	51,5865	51,0121
KOH [mg/ml]		2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Průměr		51,9561	54,2872	55,1979	52,4244	53,6670	52,8181	52,1061

Tab. 24: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 18)

Eroze	1	2	3	4	5	6	7
100C	104,7	94,9	96,7	98,1	100,7	100,5	100
100D	104,4	98	98,1	101,7	95,5	97,7	98,8
Průměr	104,5500	96,4500	97,4000	99,9000	98,1000	99,1000	99,4000

Tab. 25: Stupeň bobtnání a eroze PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne.

150 mg	150-C-1	150-C-2	150-C-3	150-C-4	150-C-5	150-C-6	150-C-7
m_x	15,6356	15,5587	15,5494	15,4596	15,5182	13,5346	13,5541
m_x+m_0	15,7856	15,7087	15,6994	15,6096	15,6682	13,6846	13,7041
m_x+m_b	15,7833	15,7096	15,704	15,614	15,6758	13,6882	13,7128
m_x+m_s	15,7849	15,7076	15,696	15,6078	15,6692	13,6845	13,7053
m_0	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
m_b	0,1477	0,1509	0,1546	0,1544	0,1576	0,1536	0,1587
m_s	0,1493	0,1489	0,1466	0,1482	0,151	0,1499	0,1512
B[%]	-1,07167	1,343183	5,457026	4,183536	4,370861	2,468312	4,960317
E[%]	99,53	99,27	97,73	98,8	100,67	99,93	100,8

150 mg	150-D-1	150-D-2	150-D-3	150-D-4	150-D-5	150-D-6	150-D-7
m_x	15,4349	15,4972	15,4823	15,5367	15,3633	14,934	13,8401
m_x+m_0	15,5849	15,6472	15,6323	15,6867	15,5133	15,084	13,9901
m_x+m_b	15,5858	15,6492	15,6373	15,6902	15,521	15,0909	14,0021
m_x+m_s	15,587	15,6473	15,6296	15,6843	15,5138	15,0853	13,9914
m_0	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
m_b	0,1509	0,152	0,155	0,1535	0,1577	0,1569	0,162
m_s	0,1521	0,1501	0,1473	0,1476	0,1505	0,1513	0,1513
B[%]	-0,78895	1,265823	5,227427	3,99729	4,784053	3,701256	7,072042
E[%]	101,4	100,07	98,2	98,4	100,33	100,87	100,87

Tab. 26: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 19)

Bobtnání	1	2	3	4	5	6	7
150C	-1,0717	1,3432	5,4570	4,1835	4,3709	2,4683	4,9603
150D	-0,7890	1,2658	5,2274	3,9973	4,7841	3,7013	7,0720
Průměr	-0,9303	1,3045	5,3422	4,0904	4,5775	3,0848	6,0162

Tab. 27: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 150 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 20)

150 mg C, D		Dny						
Veličina	Vzorek	1	2	3	4	5	6	7
m_s [mg]	C	149,3	148,9	146,6	148,2	151	149,9	151,2
m_s [mg]	D	152,1	150,1	147,3	147,6	150,5	151,3	151,3
V KOH [ml]	C	2,76	2,8	2,86	2,8	2,8	2,72	2,76
V KOH [ml]	D	2,64	2,8	2,82	2,82	2,86	2,74	2,74
č. kys.	C	51,7616	52,6528	54,6248	52,9015	51,9205	50,8072	51,1111
č. kys.	D	48,5996	52,2318	53,6049	53,4959	53,2093	50,7072	50,7072
KOH [mg/ml]		2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Průměr		50,1806	52,4423	54,1149	53,1987	52,5649	50,7572	50,9092

Tab. 28: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 21)

Eroze	1	2	3	4	5	6	7
150C	99,53	99,27	97,73	98,8	100,67	99,93	100,8
150D	101,4	100,07	98,2	98,4	100,33	100,87	100,87
Průměr	100,4650	99,6700	97,9650	98,6000	100,5000	100,4000	100,8350

Tab. 29: Stupeň bobtnání a eroze PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne.

250 mg	250-C-1	250-C-2	250-C-3	250-C-4	250-C-5	250-C-6	250-C-7
m_x	15,5069	15,3256	15,3001	15,4631	15,3697	13,6948	13,7398
m_x+m_0	15,7569	15,5756	15,5501	15,7131	15,6197	13,9448	13,9898
m_x+m_b	15,7586	15,5817	15,5563	15,7202	15,6299	13,9537	14,01
m_x+m_s	15,7587	15,5767	15,5479	15,7109	15,6205	13,9445	13,9911
m_0	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
m_b	0,2517	0,2561	0,2562	0,2571	0,2602	0,2589	0,2702
m_s	0,2518	0,2511	0,2478	0,2478	0,2508	0,2497	0,2513
B[%]	-0,03971	1,991239	3,389831	3,753027	3,748006	3,684421	7,520891
E[%]	100,72	100,44	99,12	99,12	100,32	99,88	100,52

250 mg	250-D-1	250-D-2	250-D-3	250-D-4	250-D-5	250-D-6	250-D-7
m_x	15,5516	15,5082	15,4673	15,3923	15,4442	13,7419	15,1236
m_x+m_0	15,8016	15,7582	15,7173	15,6423	15,6942	13,9919	15,3736
m_x+m_b	15,8053	15,7627	15,7242	15,6481	15,704	14,0017	15,3853
m_x+m_s	15,8053	15,7583	15,7151	15,6409	15,6948	13,9919	15,3732
m_0	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
m_b	0,2537	0,2545	0,2569	0,2558	0,2598	0,2598	0,2617
m_s	0,2537	0,2501	0,2478	0,2486	0,2506	0,25	0,2496
B[%]	0	1,759296	3,672316	2,896219	3,671189	3,92	4,847756
E[%]	101,48	100,04	99,12	99,48	100,24	100	99,84

Tab. 30: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 22)

Bobtnání	1	2	3	4	5	6	7
250C	-0,0397	1,9912	3,3898	3,7530	3,7480	3,6844	7,5209
250D	0,0000	1,7593	3,6723	2,8962	3,6712	3,9200	4,8478
Průměr	-0,0199	1,8753	3,5311	3,3246	3,7096	3,8022	6,1843

Tab. 31: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 250 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 23)

250 mg C, D		Dny						
Veličina	Vzorek	1	2	3	4	5	6	7
m_s [mg]	C	251,8	251,1	247,8	247,8	250,8	249,7	251,3
m_s [mg]	D	253,7	250,1	247,8	248,6	250,6	250	249,6
V KOH [ml]	C	4,62	4,72	4,64	4,86	4,66	4,68	4,5
V KOH [ml]	D	4,62	4,72	4,64	4,78	4,64	4,4	4,68
č. kys.	C	51,3741	52,6324	52,4294	54,9153	52,0255	52,4790	50,1393
č. kys.	D	50,9894	52,8429	52,4294	53,8375	51,8436	49,2800	52,5000
KOH [mg/ml]		2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Průměr		51,1817	52,7376	52,4294	54,3764	51,9345	50,8795	51,3196

Tab. 32: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 24)

Eroze	1	2	3	4	5	6	7
250C	100,72	100,44	99,12	99,12	100,32	99,88	100,52
250D	101,48	100,04	99,12	99,48	100,24	100	99,84
Průměr	101,1000	100,2400	99,1200	99,3000	100,2800	99,9400	100,1800

Tab. 33: Průměrné hodnoty průběhu bobtnání PLGA o hmotnostech 50, 100, 150 a 250 mg vzorků A, B, C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 25)

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
B [%] 50 mg	0,6677	4,2467	6,6606	7,5777	8,5303	7,0435	8,8079
B [%] 100 mg	0,0003	1,9269	4,6795	5,3834	4,4239	5,8046	6,0626
B [%] 150 mg	0,2055	1,9400	3,8252	4,0813	4,3525	3,6840	4,9674
B [%] 250 mg	0,2176	1,8684	2,7650	3,0229	3,1677	3,8432	4,9811

Tab. 34: Průměry čísel kyselosti PLGA matric o hmotnosti 50, 100, 150 a 250 mg vzorků A, B, C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 26)

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kys. 50mg	53,8515	56,4698	57,8546	54,2659	55,1883	55,4240	53,2006
Č. kys. 100 mg	51,4497	53,4837	54,8444	52,9611	53,8609	52,6982	53,2162
Č. kys. 150 mg	51,5609	52,2619	54,0870	51,5114	53,0486	50,9157	50,8767
Č. kys. 250 mg	49,4690	52,8822	52,7573	53,3747	52,1658	51,7174	51,9978

Tab. 35: Průměrné hodnoty průběhu eroze PLGA o hmotnostech 50, 100, 150 a 250 mg vzorků A, B, C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr.27)

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
E [%] 50 mg	105,6	104,15	97,3	104,2	107,05	103,55	105,25
E [%] 100 mg	105,08	100,30	97,35	102,05	102,58	101,33	102,33
E [%] 150 mg	102,77	99,99	97,66	100,33	101,54	100,86	101,58
E [%] 250 mg	101,09	100,6	100,09	99,91	100,8	100,26	100,06

Tab. 36: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 50 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 28)

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kyselosti	55,1353	57,4680	55,7836	52,0467	53,1276	54,9552	53,4992
B [%]	3,5994	2,8754	1,5158	4,8143	4,7000	7,4026	4,3504

Tab. 37: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 100 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 29)

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kyselosti	50,9434	52,6803	54,4908	53,4978	54,0548	52,5783	54,3264
B [%]	1,3876	2,0909	2,7871	4,7733	2,7300	7,6117	3,8706

Tab. 38: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 150 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 30)

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kyselosti	52,9412	52,0815	54,0592	49,8241	53,5323	51,0743	50,8442
B [%]	1,3413	2,5755	2,9450	4,0722	4,1275	4,2832	3,9186

Tab. 39: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 250 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 31)

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kyselosti	47,7562	53,0267	53,0853	52,3731	52,3970	52,5554	52,6759
B [%]	0,6727	1,8616	1,9989	2,7213	2,6258	3,8841	3,7780

Tab. 40: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků C, D o hmotnosti 50 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 32)

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kyselosti	52,5677	55,4715	59,9256	56,4852	57,2491	55,8927	52,9020
B [%]	-2,2340	5,6180	11,8053	10,3412	12,3606	6,6844	13,2654

Tab. 41: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků C, D o hmotnosti 100 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 33)

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kyselosti	51,9561	54,2872	55,1979	52,4244	53,6670	52,8181	52,1061
B [%]	-1,3870	1,7630	6,5719	5,9935	6,1178	3,9974	8,2547

Tab. 42: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků C, D o hmotnosti 150 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 34)

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kyselosti	50,1806	52,4423	54,1149	53,1987	52,5649	50,7572	50,9092
B [%]	-0,9303	1,3045	5,3422	4,0904	4,5775	3,0848	6,0162

Tab. 43: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků C, D o hmotnosti 250 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Obr. 35)

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kyselosti	51,1817	52,7376	52,4294	54,3764	51,9345	50,8795	51,3196
B [%]	-0,0199	1,8753	3,5311	3,3246	3,7096	3,8022	6,1843

2) Chování PLGA matric o hmotnosti 50, 100, 150 a 250 mg v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne - tabulky.

Výsledky měření o chování PLGA matric o hmotnosti 50, 100, 150 a 250 mg v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne poskytla Lenka Rufferová.

Tab. 44: Stupeň bobtnání a eroze PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne.

50 mg	50-A-1	50-A-2	50-A-3	50-A-4	50-A-5	50-A-6	50-A-7
m_x	15,413	15,4036	15,4782	14,61	15,4745	15,4266	13,2677
m_x+m_0	15,463	15,4536	15,5282	14,66	15,5245	15,4766	13,3177
m_x+m_b	15,4685	15,4629	15,5347	14,6644	15,525	15,4702	13,3063
m_x+m_s	15,4651	15,4551	15,5268	14,6581	15,5152	15,4647	13,3033
m_0	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
m_b	0,0555	0,0593	0,0565	0,0544	0,0505	0,0436	0,0386
m_s	0,0521	0,0515	0,0486	0,0481	0,0407	0,0381	0,0356
B[%]	6,5259	15,1456	16,2551	13,0977	24,0786	14,4357	8,4270
E[%]	108	105,4	90,8	101,4	107,6	103,4	105

50 mg	50-B-1	50-B-2	50-B-3	50-B-4	50-B-5	50-B-6	50-B-7
m_x	15,4713	15,4921	15,4457	13,5679	15,5326	15,4626	13,708
m_x+m_0	15,5213	15,5421	15,4957	13,6179	15,5826	15,5126	13,758
m_x+m_b	15,5268	15,5497	15,505	13,6186	15,5836	15,5056	13,7435
m_x+m_s	15,5227	15,5436	15,4951	13,6129	15,5782	15,5005	13,7401
m_0	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
m_b	0,0555	0,0576	0,0593	0,0507	0,051	0,043	0,0355
m_s	0,0514	0,0515	0,0494	0,045	0,0456	0,0379	0,0321
B[%]	7,9767	11,8447	20,0405	12,6667	11,8421	13,4565	10,5919
E[%]	107,2	104,6	101,8	107	107,6	103	104,6

Tab. 45: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 36).

Bobtnání	1	2	3	4	5	6	7
50A	6,5259	15,1456	16,2551	13,0977	24,0786	14,4357	8,4270
50B	7,9767	11,8447	20,0405	12,6667	11,8421	13,4565	10,5919
Průměr	7,2513	13,4951	18,1478	12,8822	17,9604	13,9461	9,5094

Tab. 46: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37° C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 37).

50 mg		Dny						
Veličina	Vzorek	1	2	3	4	5	6	7
m_s [mg]	A	36,6	37,6	15,5	23,5	5,2	16	23,2
m_s [mg]	B	34,7	34,5	10,3	15,6	29,6	16,8	19,8
V KOH [ml]	A	0,98	0,98	0,56	0,9	0,2	0,7	1,08
V KOH [ml]	B	0,92	1	0,4	0,52	1,2	0,74	0,78
č. kys.	A	74,9727	72,9787	101,1613	107,2340	107,6923	122,5000	130,3448
č. kys.	B	74,2363	81,1594	108,7379	93,3333	113,5135	123,3333	110,3030
KOH[mg/ml]		2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Průměr		74,6045	77,0691	104,9496	100,2837	110,6029	122,9167	120,3239

Tab. 47: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 38).

Eroze	1	2	3	4	5	6	7
50A	108	105,4	90,8	101,4	107,6	103,4	105
50B	107,2	104,6	101,8	107	107,6	103	104,6
Průměr	107,6	105	96,3	104,2	107,6	103,2	104,8

Tab. 48: Stupeň bobtnání a eroze PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne.

100 mg	100-A-1	100-A-2	100-A-3	100-A-4	100-A-5	100-A-6	100-A-7
m_x	15,4526	15,5361	15,3724	13,5603	15,2745	15,4919	13,6869
m_x+m_0	15,5526	15,6361	15,4724	13,6603	15,3745	15,5919	13,7869
m_x+m_b	15,5594	15,6564	15,4897	13,6677	15,3742	15,5842	13,7642
m_x+m_s	15,5536	15,6385	15,4719	13,6546	15,3539	15,5711	13,7551
m_0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m_b	0,1068	0,1203	0,1173	0,1074	0,0997	0,0923	0,0773
m_s	0,101	0,1024	0,0995	0,0943	0,0794	0,0792	0,0682
B[%]	5,7426	17,4805	17,8894	13,8918	25,5668	16,5404	13,3431
E[%]	104,7	94,9	96,7	98,1	100,7	100,5	100

100 mg	100-B-1	100-B-2	100-B-3	100-B-4	100-B-5	100-B-6	100-B-7
m_x	15,2941	15,4573	15,5468	13,7295	15,4843	15,3971	13,7919
m_x+m_0	15,3941	15,5573	15,6468	13,8295	15,5843	15,4971	13,8919
m_x+m_b	15,3984	15,575	15,6604	13,8345	15,5845	15,4845	13,8692
m_x+m_s	15,3935	15,559	15,6426	13,8215	15,5729	15,4742	13,8564
m_0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
m_b	0,1043	0,1177	0,1136	0,105	0,1002	0,0874	0,0773
m_s	0,0994	0,1017	0,0958	0,092	0,0886	0,0771	0,0645
B[%]	4,9296	15,7325	18,5804	14,1304	13,0926	13,3593	19,8450
E[%]	104,4	98	98,1	101,7	95,5	97,7	98,8

Tab. 49: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 39).

Bobtnání	1	2	3	4	5	6	7
100A	5,7426	17,4805	17,8894	13,8918	25,5668	16,5404	13,3431
100B	4,9296	15,7325	18,5804	14,1304	13,0926	13,3593	19,8450
Průměr	5,3361	16,6065	18,2349	14,0111	19,3297	14,9498	16,5940

Tab. 50: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 40).

100 mg		Dny						
Veličina	Vzorek	1	2	3	4	5	6	7
m_s [mg]	A	70,9	69	28	14,6	46,2	8,1	37,9
m_s [mg]	B	79	79,5	26,2	21,3	23,1	23,1	40,7
V KOH [ml]	A	1,8	1,84	1,02	0,56	1,22	0,38	1,58
V KOH [ml]	B	1,88	2,18	0,94	0,8	0,94	0,98	1,7
č. kys.	A	71,0860	74,6667	102,0000	107,3973	73,9394	131,3580	116,7282
č. kys.	B	66,6329	76,7799	100,4580	105,1643	113,9394	118,7879	116,9533
KOH [mg/ml]		2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Průměr		68,8595	75,7233	101,2290	106,2808	93,9394	125,0730	116,8408

Tab. 51: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 41).

Eroze	1	2	3	4	5	6	7
100A	104,7	94,9	96,7	98,1	100,7	100,5	100
100B	104,4	98	98,1	101,7	95,5	97,7	98,8
Průměr	104,55	96,45	97,4	99,9	98,1	99,1	99,4

Tab. 52: Stupeň bobtnání a eroze PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne.

150 mg	150-A-1	150-A-2	150-A-3	150-A-4	150-A-5	150-A-6	150-A-7
m_x	15,3265	15,4349	15,5005	13,6517	15,4902	15,2761	13,8376
m_x+m₀	15,4765	15,5849	15,6505	13,8017	15,6402	15,4261	13,9876
m_x+m_b	15,4779	15,6085	15,6725	13,8072	15,6343	15,4109	13,9614
m_x+m_s	15,4719	15,5847	15,6423	13,7902	15,6129	15,3933	13,9419
m₀	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
m_b	0,1514	0,1736	0,172	0,1555	0,1441	0,1348	0,1238
m_s	0,1454	0,1498	0,1418	0,1385	0,1227	0,1172	0,1043
B[%]	4,1265	15,8879	21,2976	12,2744	17,4409	15,0171	18,6961
E[%]	99,53	99,27	97,73	98,8	100,67	99,93	100,8

150 mg	150-B-1	150-B-2	150-B-3	150-B-4	150-B-5	150-B-6	150-B-7
m_x	15,5054	15,4084	15,4825	13,4692	15,5695	15,446	13,5563
m_x+m₀	15,6554	15,5584	15,6325	13,6192	15,7195	15,596	13,7063
m_x+m_b	15,659	15,5813	15,6538	13,6288	15,7232	15,5805	13,681
m_x+m_s	15,6522	15,557	15,6265	13,6067	15,7011	15,5605	13,663
m₀	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
m_b	0,1536	0,1729	0,1713	0,1596	0,1537	0,1345	0,1247
m_s	0,1468	0,1486	0,144	0,1375	0,1316	0,1145	0,1067
B[%]	4,6322	16,3526	18,9583	16,0727	16,7933	17,4672	16,8697
E[%]	101,4	100,07	98,2	98,4	100,33	100,87	100,87

Tab. 53: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 42).

Bobtnání	1	2	3	4	5	6	7
150A	4,1265	15,8879	21,2976	12,2744	17,4409	15,0171	18,6961
150B	4,6322	16,3526	18,9583	16,0727	16,7933	17,4672	16,8697
Průměr	4,3794	16,1202	20,1280	14,1735	17,1171	16,2422	17,7829

Tab. 54: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 43).

150 mg		Dny						
Veličina	Vzorek	1	2	3	4	5	6	7
m_s [mg]	A	113,5	100,8	31,3	84,4	53,9	33,9	29,2
m_s [mg]	B	114,4	100,6	58,7	21,9	83,1	48	73
V KOH m[l]	A	2,74	2,6	1,08	3,4	1,88	1,52	1,24
V KOH [ml]	B	2,72	2,52	1,96	0,9	3,02	2,04	2,82
č. kys.	A	67,5947	72,2222	96,6134	112,7962	97,6623	125,5457	118,9041
č. kys.	B	66,5734	70,1392	93,4923	115,0685	101,7569	119,0000	108,1644
KOH [mg/ml]		2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Průměr		67,0841	71,1807	95,0529	113,9324	99,7096	122,2729	113,5342

Tab. 55: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 44).

Eroze	1	2	3	4	5	6	7
150A	99,53	99,27	97,73	98,8	100,67	99,93	100,8
150B	101,4	100,07	98,2	98,4	100,33	100,87	100,87
Průměr	100,4650	99,6700	97,9650	98,6000	100,5000	100,4000	100,8350

Tab. 56: Stupeň bobtnání a eroze PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne.

250 mg	250-A-1	250-A-2	250-A-3	250-A-4	250-A-5	250-A-6	250-A-7
m_x	15,4416	15,3341	15,4775	13,7692	15,2725	15,5592	14,4692
m_x+m_0	15,6916	15,5841	15,7275	14,0192	15,5225	15,8092	14,7192
m_x+m_b	15,6961	15,6028	15,7606	14,0272	15,5205	15,7938	14,673
m_x+m_s	15,6873	15,5828	15,7162	13,9959	15,4812	15,7628	14,6496
m_0	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
m_b	0,2545	0,2687	0,2831	0,258	0,248	0,2346	0,2038
m_s	0,2457	0,2487	0,2387	0,2267	0,2087	0,2036	0,1804
B[%]	3,5816	8,0418	18,6008	13,8068	18,8309	15,2259	12,9712
E[%]	100,72	100,44	99,12	99,12	100,32	99,88	100,52

250 mg	250-B-1	250-B-2	250-B-3	250-B-4	250-B-5	250-B-6	250-B-7
m_x	15,4717	15,526	15,4795	13,5779	15,4394	15,4854	14,7121
m_x+m_0	15,7217	15,776	15,7295	13,8279	15,6894	15,7354	14,9621
m_x+m_b	15,7317	15,7977	15,7555	13,8437	15,684	15,7111	14,913
m_x+m_s	15,722	15,7749	15,719	13,8106	15,6466	15,6833	14,89
m_0	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
m_b	0,26	0,2717	0,276	0,2658	0,2446	0,2257	0,2009
m_s	0,2503	0,2489	0,2395	0,2327	0,2072	0,1979	0,1779
B[%]	3,8753	9,1603	15,2401	14,2243	18,0502	14,0475	12,9286
E[%]	101,48	100,04	99,12	99,48	100,24	100	99,84

Tab. 57: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 45).

Bobtnání	1	2	3	4	5	6	7
250A	3,5816	8,0418	18,6008	13,8068	18,8309	15,2259	12,9712
250B	3,8753	9,1603	15,2401	14,2243	18,0502	14,0475	12,9286
Průměr	3,7285	8,6011	16,9204	14,0156	18,4405	14,6367	12,9499

Tab. 58: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 46).

250 mg		Dny						
Veličina	Vzorek	1	2	3	4	5	6	7
m_s [mg]	A	143,7	178	87,5	141,5	57,6	77	105,4
m_s [mg]	B	172,3	191,5	106	26,3	93,2	156	79,8
V KOH [ml]	A	3,62	4,28	2,78	4,52	1,94	3,1	4,12
V KOH [ml]	B	3,9	4,74	3,88	1	2,9	5,2	2,92
č. kys.	A	70,5358	67,3258	88,9600	89,4417	94,3056	112,7273	109,4497
č. kys.	B	63,3778	69,3055	102,4906	106,4639	87,1245	93,3333	102,4561
KOH [mg/ml]		2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Průměr		66,9568	68,3157	95,7253	97,9528	90,7150	103,0303	105,9529

Tab. 59: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 47).

Eroze	1	2	3	4	5	6	7
250A	100,72	100,44	99,12	99,12	100,32	99,88	100,52
250B	101,48	100,04	99,12	99,48	100,24	100	99,84
Průměr	101,1	100,24	99,12	99,3	100,28	99,94	100,18

Tab. 60: Průměrné hodnoty průběhu bobtnání PLGA o hmotnostech 50, 100, 150 a 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 48).

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
B [%] 50 mg	7,2513	13,4951	18,1478	12,8822	17,9604	13,9461	9,5094
B [%] 100 mg	5,3361	16,6065	18,2349	14,0111	19,3297	14,9498	16,5940
B [%] 150 mg	4,3794	16,1202	20,1280	14,1735	17,1171	16,2422	17,7829
B [%] 250 mg	3,7285	8,6011	16,9204	14,0156	18,4405	14,6367	12,9499

Tab. 61: Průměry čísel kyselosti PLGA o hmotnosti 50, 100, 150 a 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 49).

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kys. 50 mg	74,6045	77,0691	104,9496	100,2837	110,6029	122,9167	120,3239
Č. kys. 100 mg	68,8595	75,7233	101,2290	106,2808	93,9394	125,0730	116,8408
Č. kys. 150 mg	67,0841	71,1807	95,0529	113,9324	99,7096	122,2729	113,5342
Č. kys. 250 mg	66,9568	68,3157	95,7253	97,9528	90,7150	103,0303	105,9529

Tab. 62: Průměrné hodnoty průběhu eroze PLGA o hmotnostech 50, 100, 150 a 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 50).

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
E [%] 50 mg	107,6	105	96,3	104,2	107,6	103,2	104,8
E [%] 100 mg	104,55	96,45	97,4	99,9	98,1	99,1	99,4
E [%] 150 mg	100,47	99,67	97,97	98,60	100,50	100,40	100,84
E [%] 250 mg	101,1	100,24	99,12	99,3	100,28	99,94	100,18

Tab. 63: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 50 mg v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 51).

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kyselosti	74,6045	77,0691	104,9496	100,2837	110,6029	122,9167	120,3239
B [%]	7,2513	13,4951	18,1478	12,8822	17,9604	13,9461	9,5094

Tab. 64: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 100 mg v prostředí vody při 37° C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 52).

Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kyselosti	68,8595	75,7233	101,2290	106,2808	93,9394	125,0730	116,8408
B [%]	5,3361	16,6065	18,2349	14,0111	19,3297	14,9498	16,5940

Tab. 65: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 150 mg v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 53).

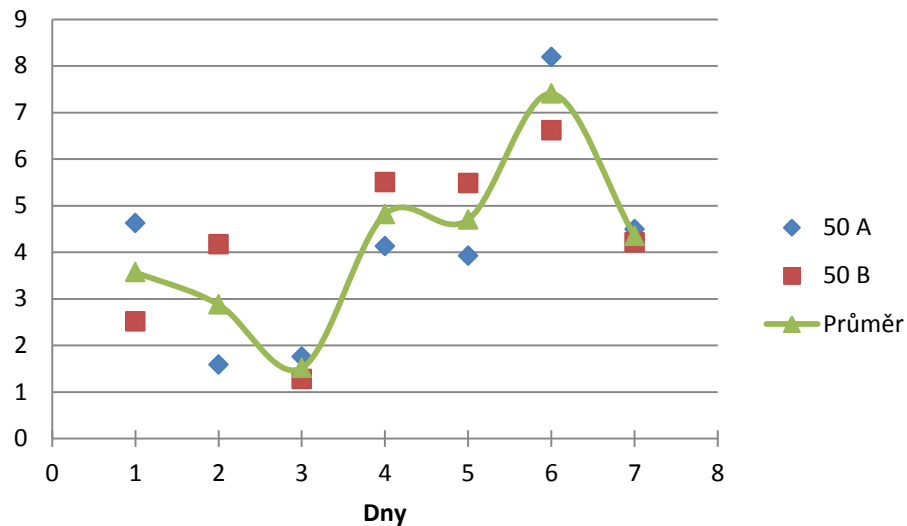
Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kyselosti	67,0841	71,1807	95,0529	113,9324	99,7096	122,2729	113,5342
B [%]	4,3794	16,1202	20,1280	14,1735	17,1171	16,2422	17,7829

Tab. 66: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 250 mg v prostředí vody při 37° C v průběhu 1. až 7. dne (Obr. 54).

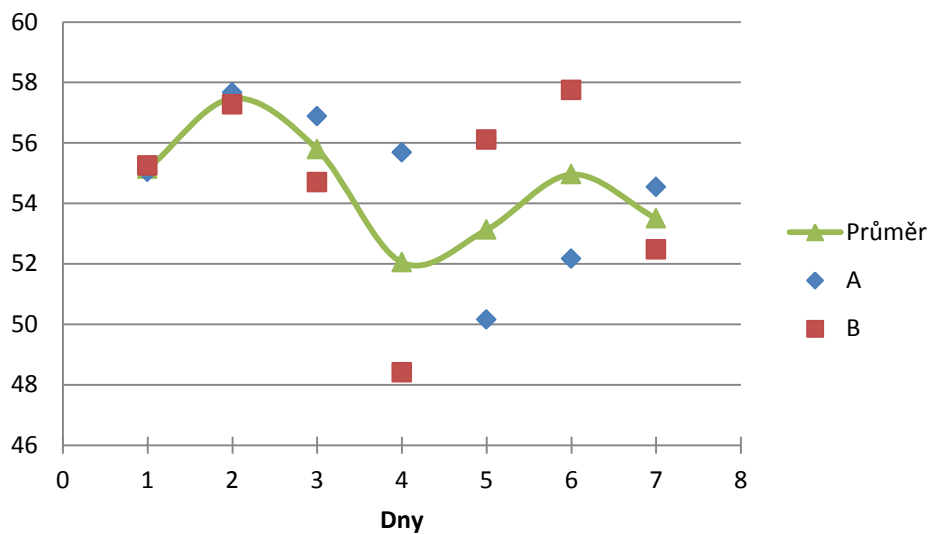
Průměr	1	2	3	4	5	6	7
Č. kyselosti	66,9568	68,3157	95,7253	97,9528	90,7150	103,0303	105,9529
B [%]	3,7285	8,6011	16,9204	14,0156	18,4405	14,6367	12,9499

1) Chování PLGA tělísek o hmotnosti 50, 100, 150 a 250 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne - obrázky.

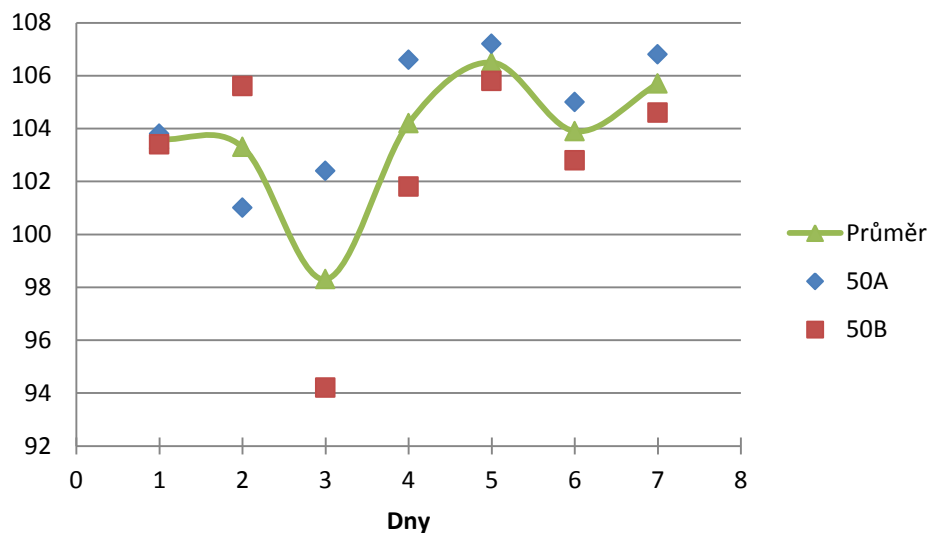
Obr. 1: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 2)



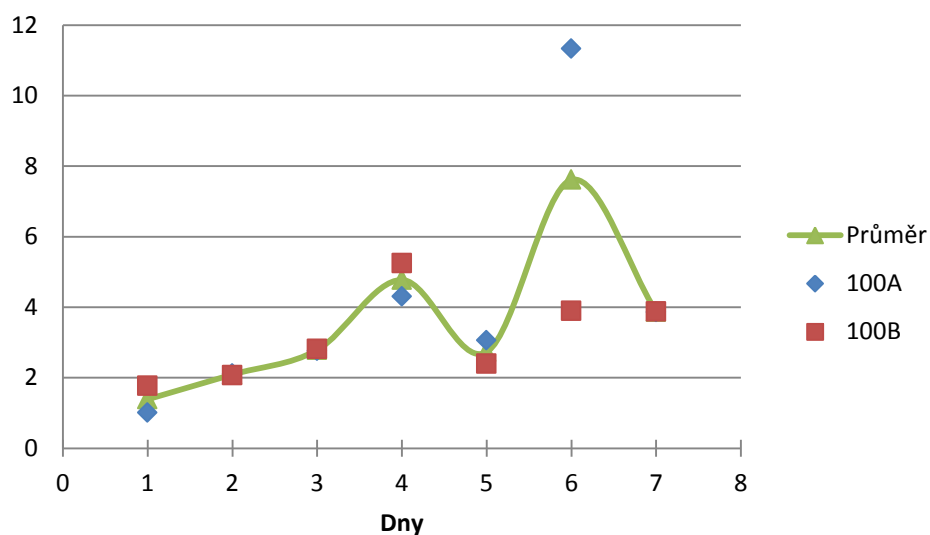
Obr. 2: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 3)



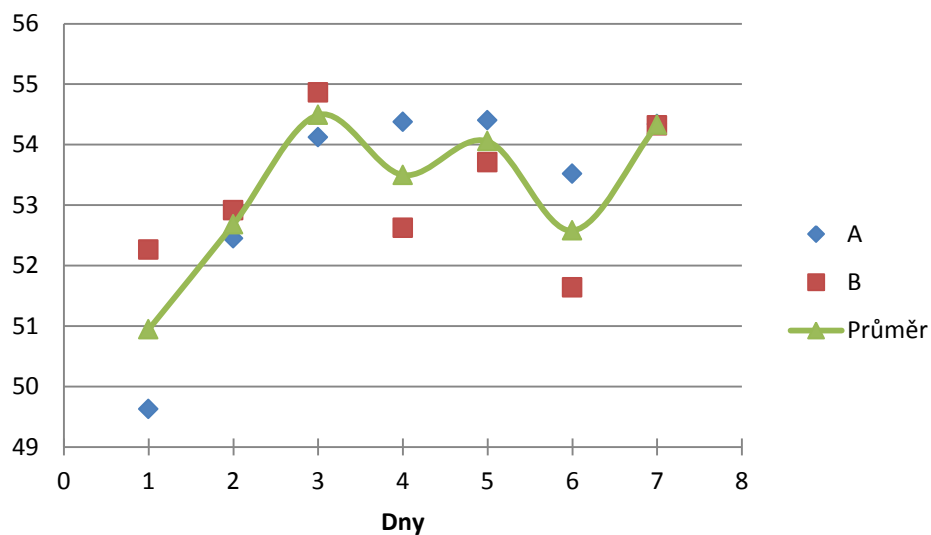
Obr. 3: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 4)



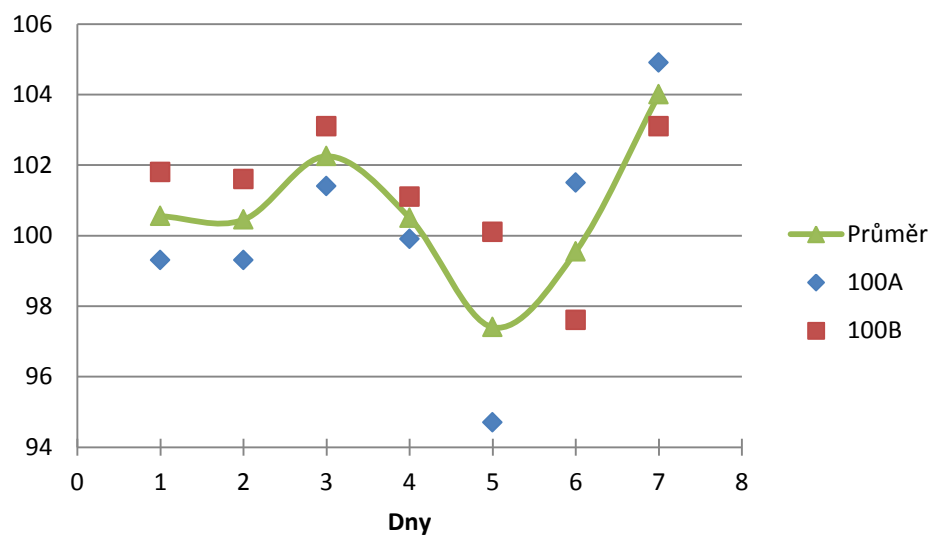
Obr. 4: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 6)



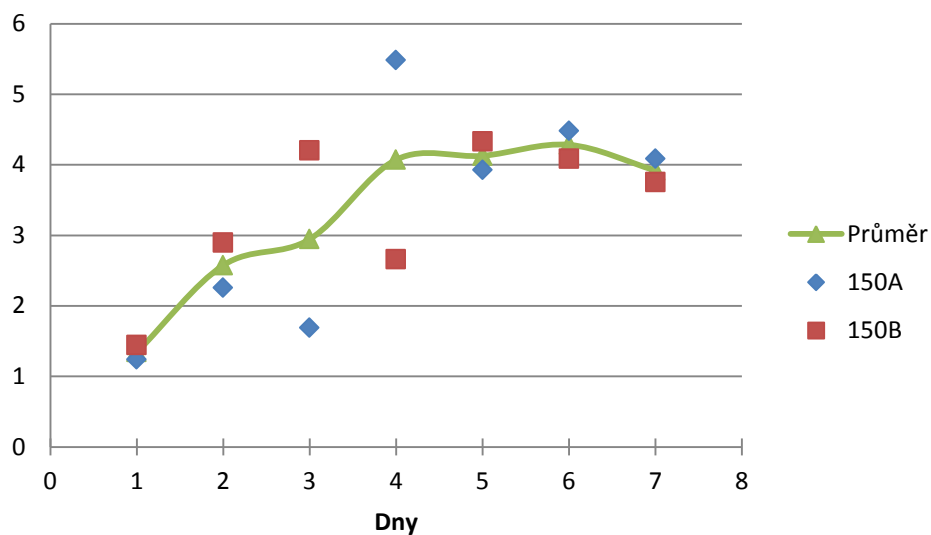
Obr. 5: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 7)



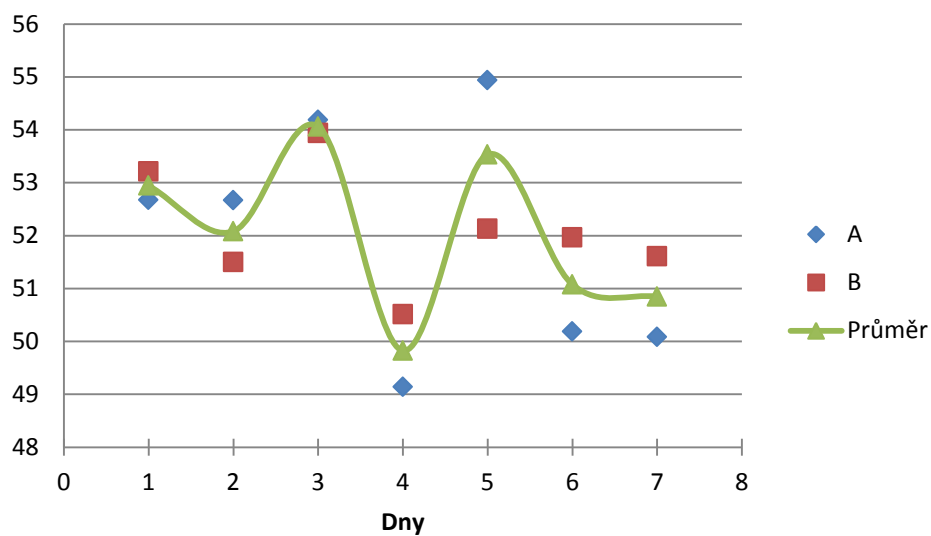
Obr. 6: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 8)



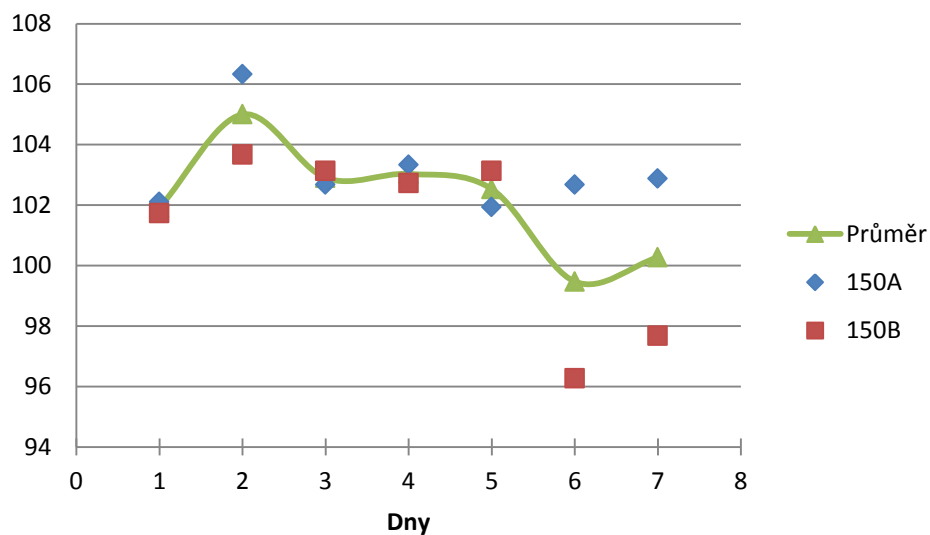
Obr. 7: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 10)



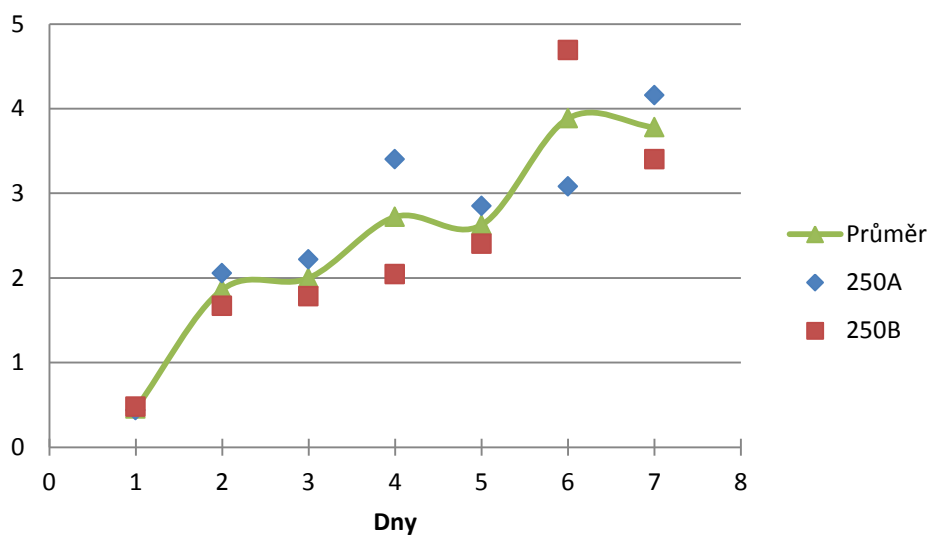
Obr. 8: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 11)



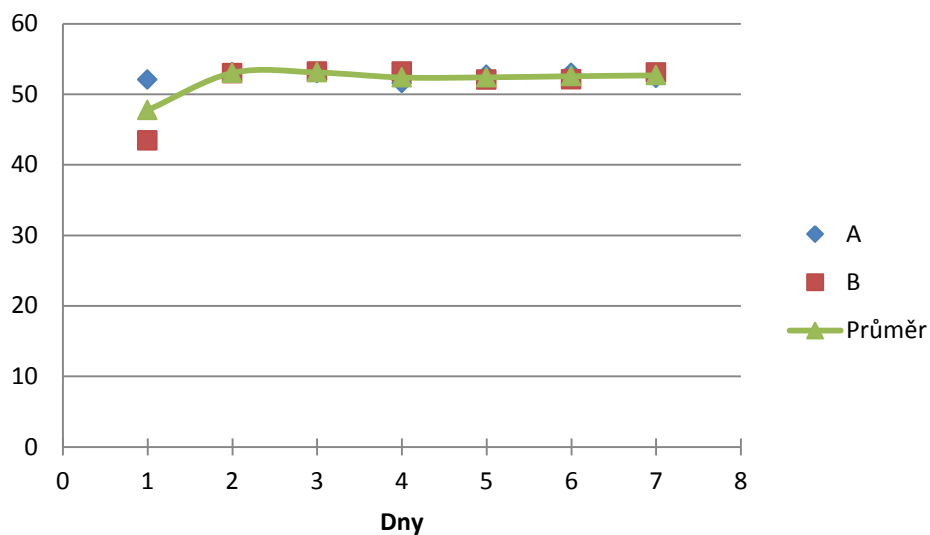
Obr. 9: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 12)



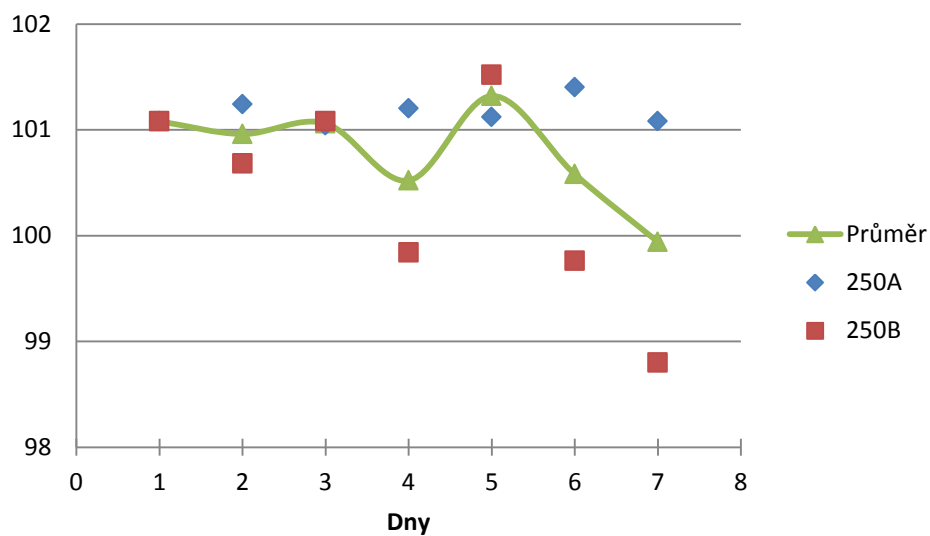
Obr. 10: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 14)



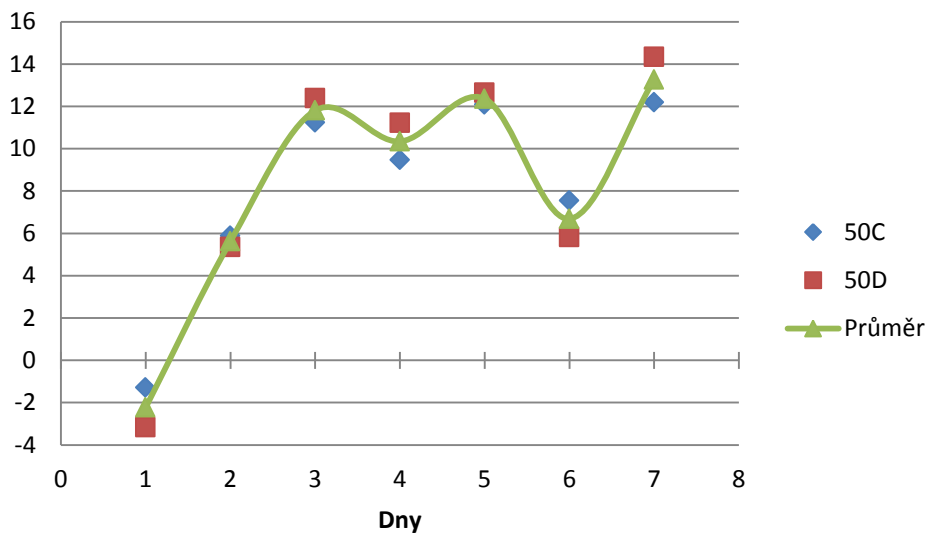
Obr. 11: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 15)



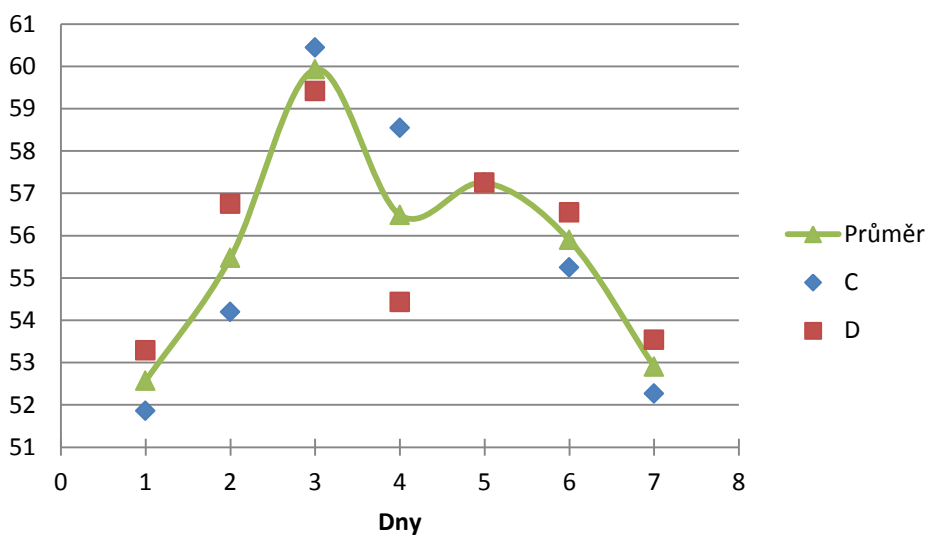
Obr. 12: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 16)



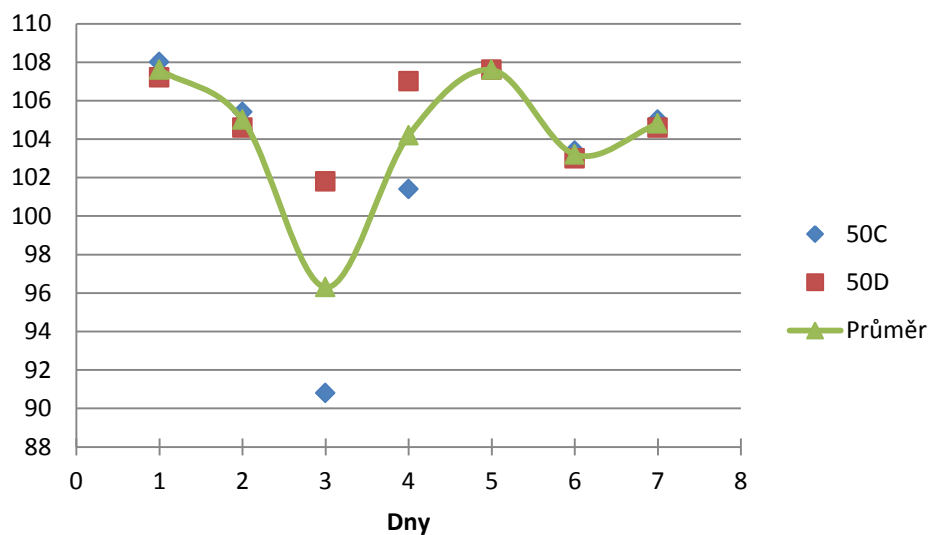
Obr. 13: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 18)



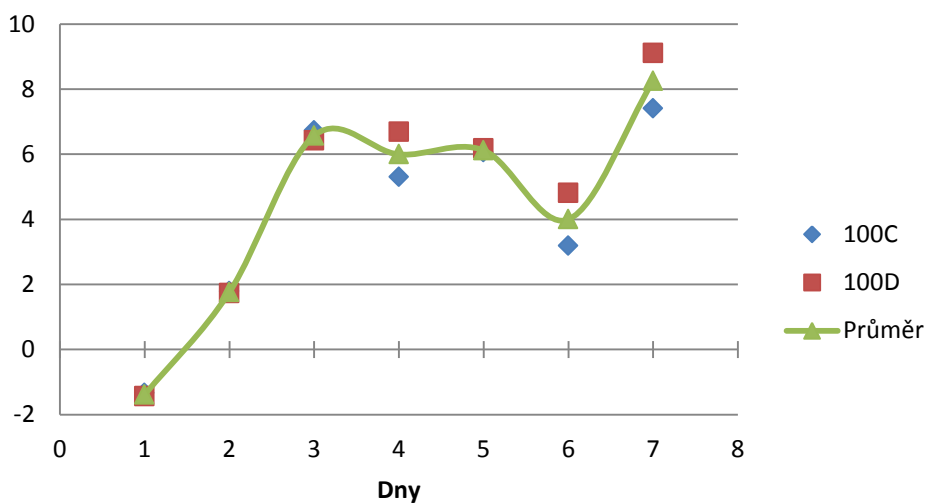
Obr. 14: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 50 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 19)



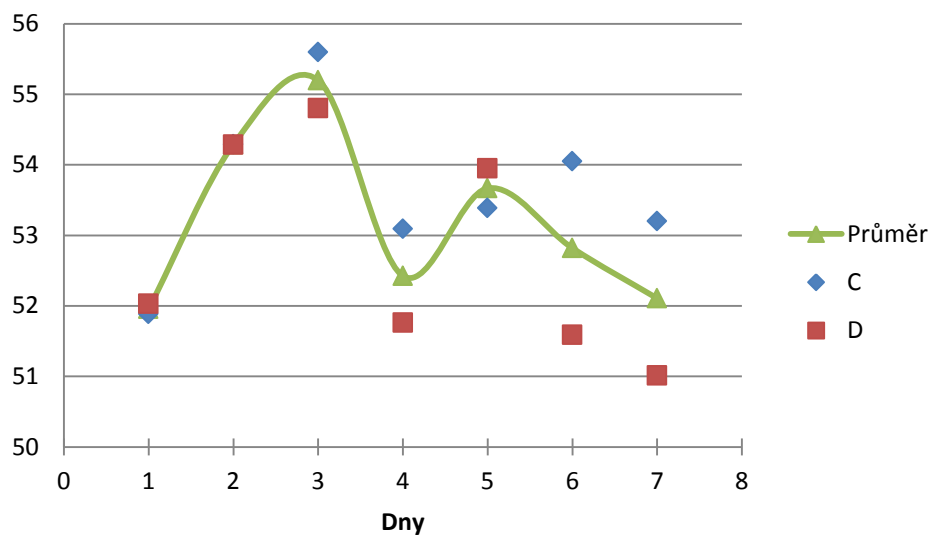
Obr. 15: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 20)



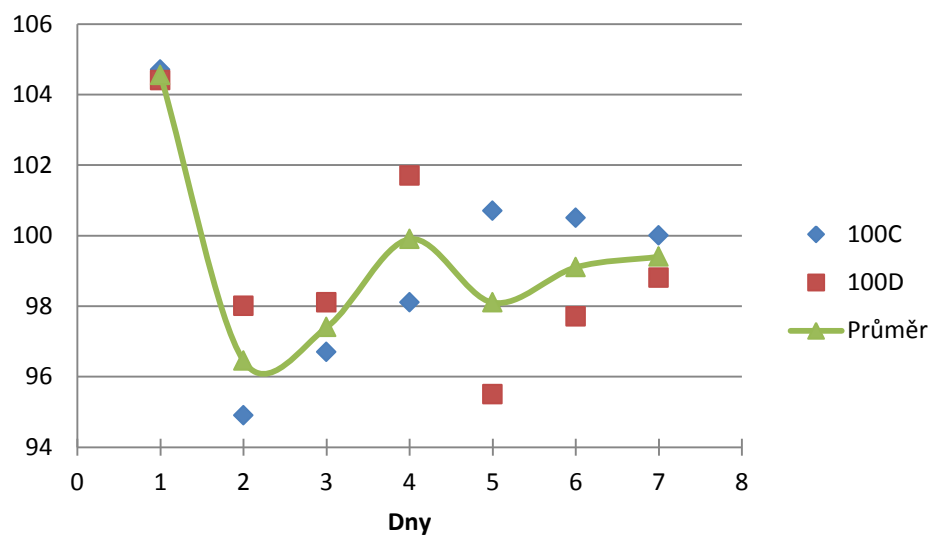
Obr. 16: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 22)



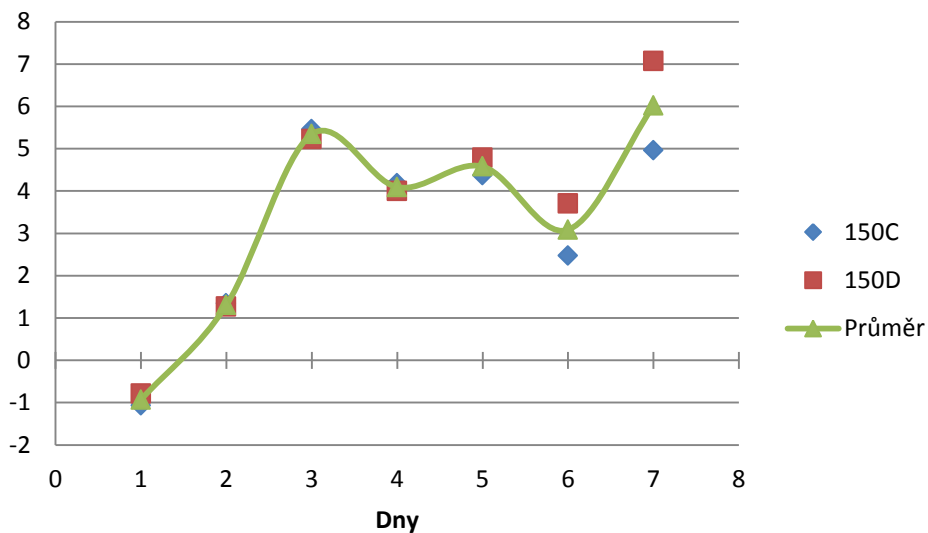
Obr. 17: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 100 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 23)



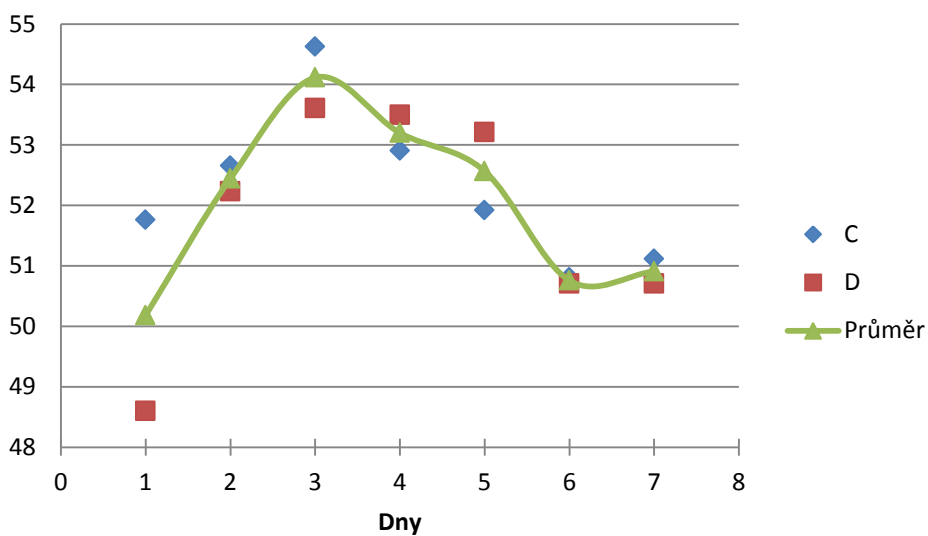
Obr. 18: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 24)



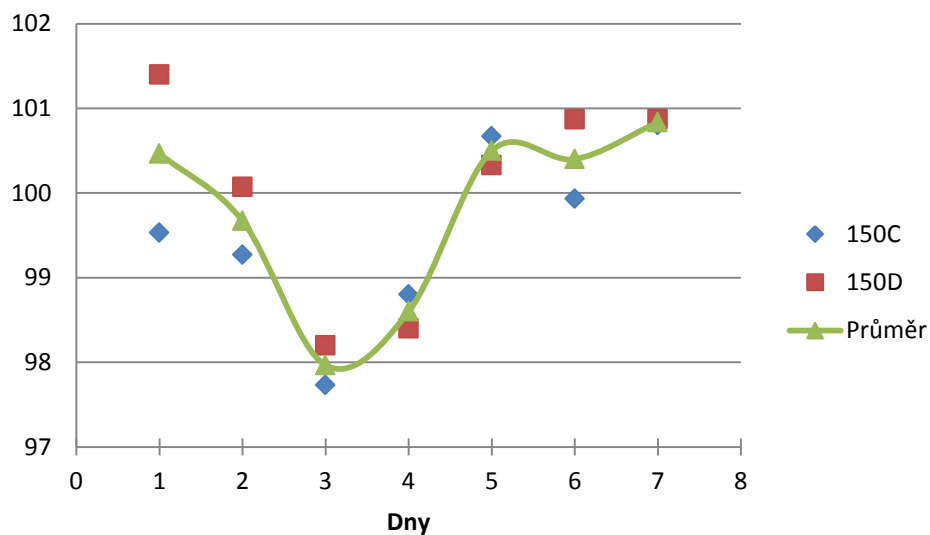
Obr. 19: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 26)



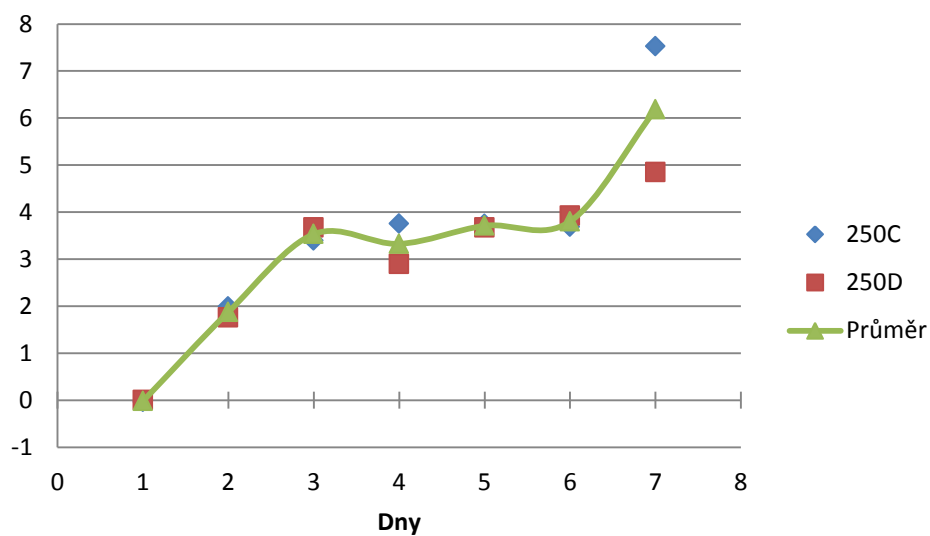
Obr. 20: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 150 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 27)



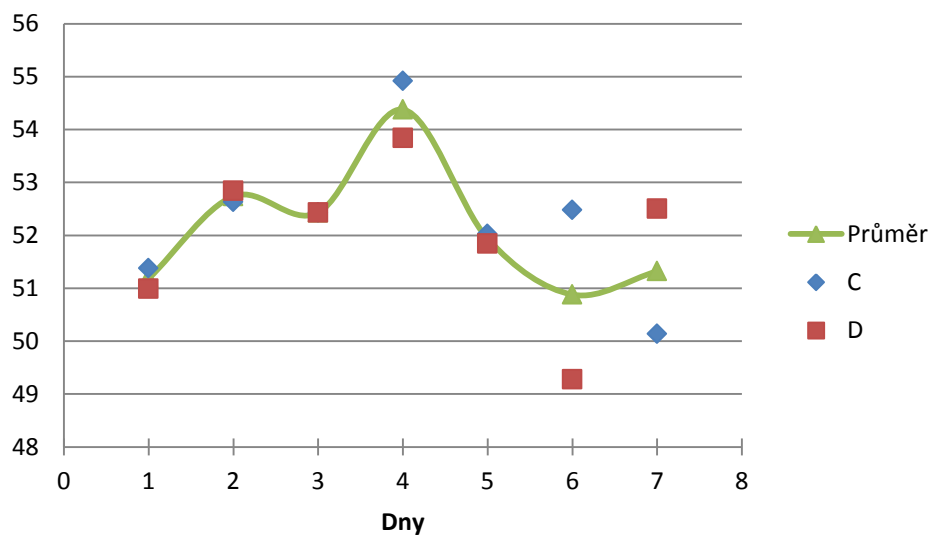
Obr. 21: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 28)



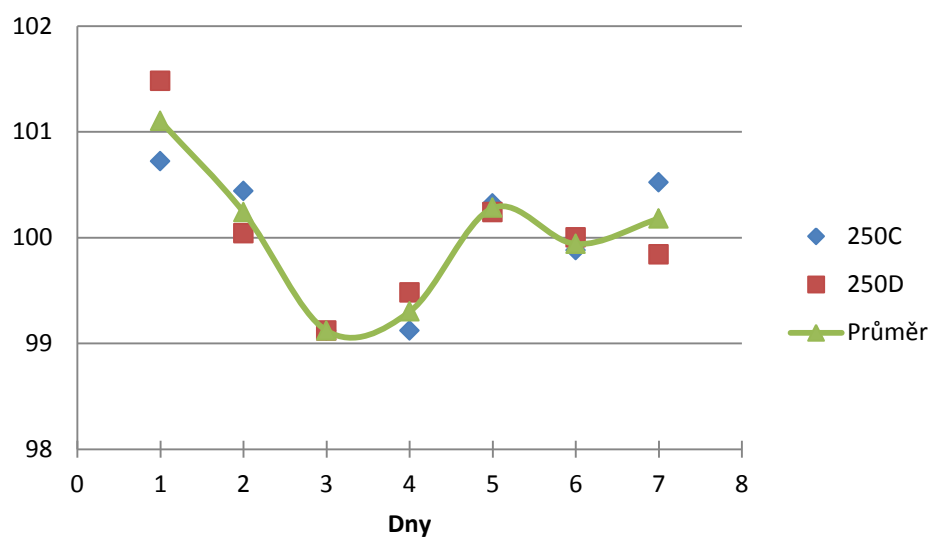
Obr. 22: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 30)



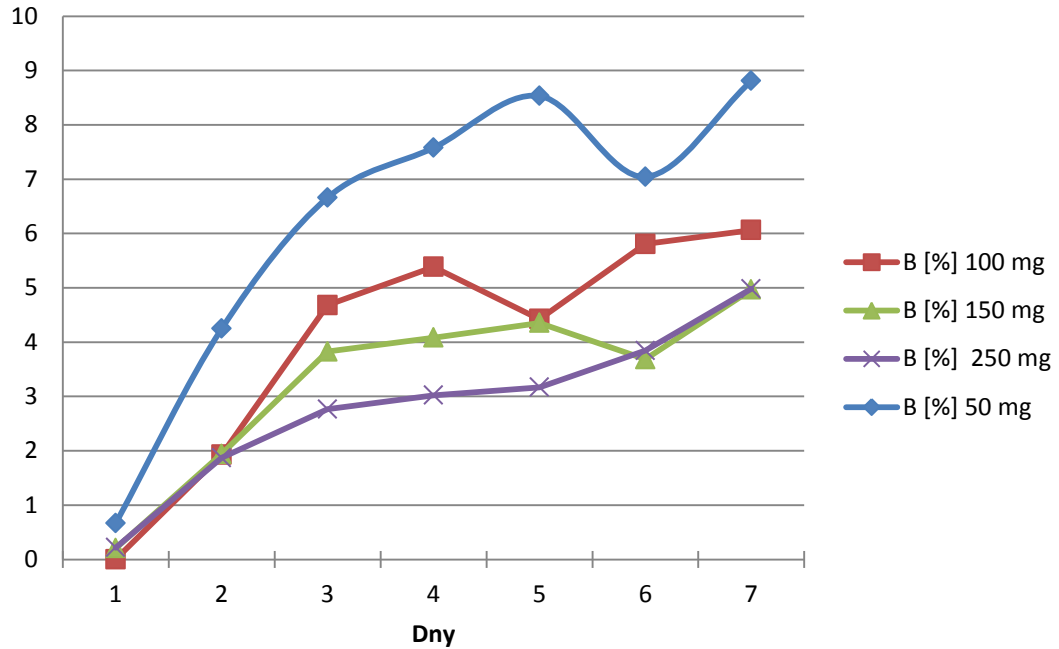
Obr. 23: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 250 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 31)



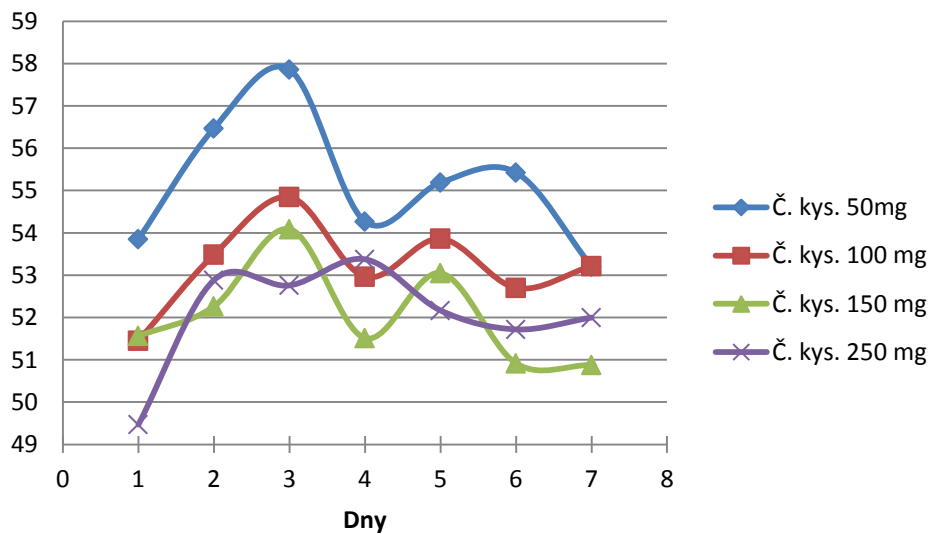
Obr. 24: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 32)



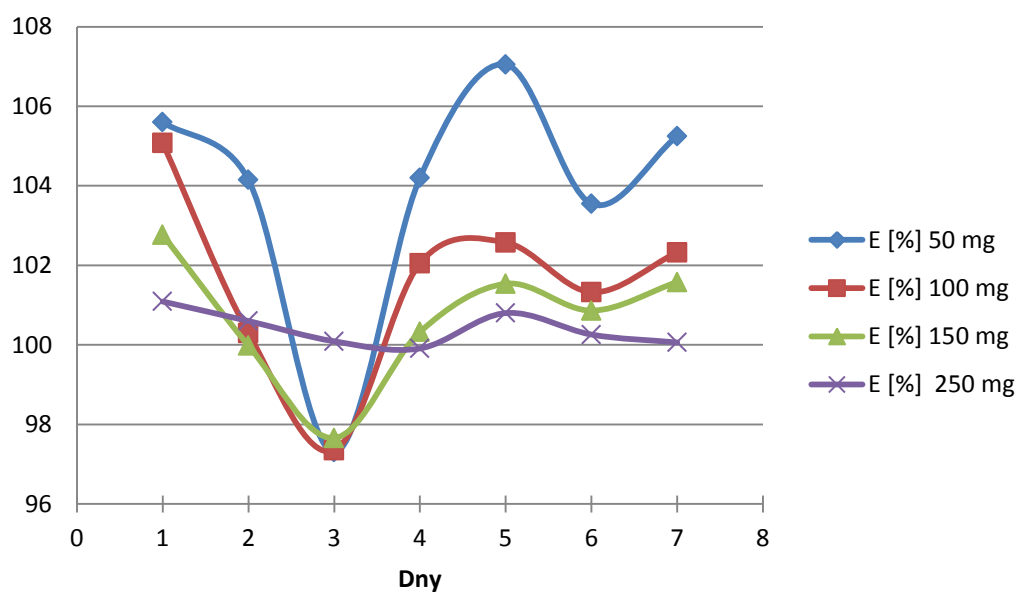
Obr. 25: Průměrné hodnoty průběhu bobtnání PLGA o hmotnostech 50, 100, 150 a 250 mg vzorků A, B, C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 33)



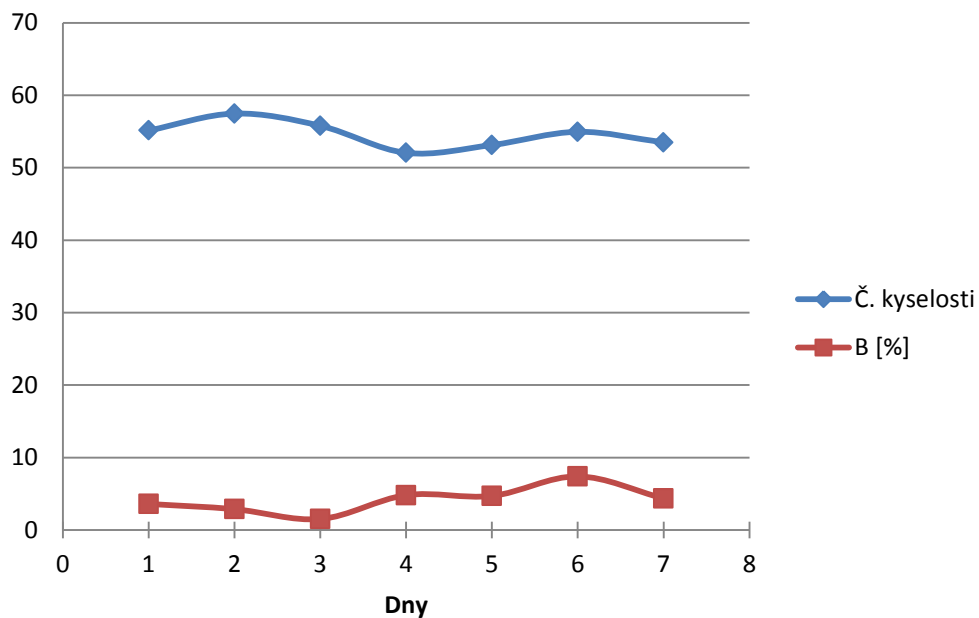
Obr. 26: Průměry čísel kyselosti PLGA matric o hmotnosti 50, 100, 150 a 250 mg vzorků A, B, C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 34)



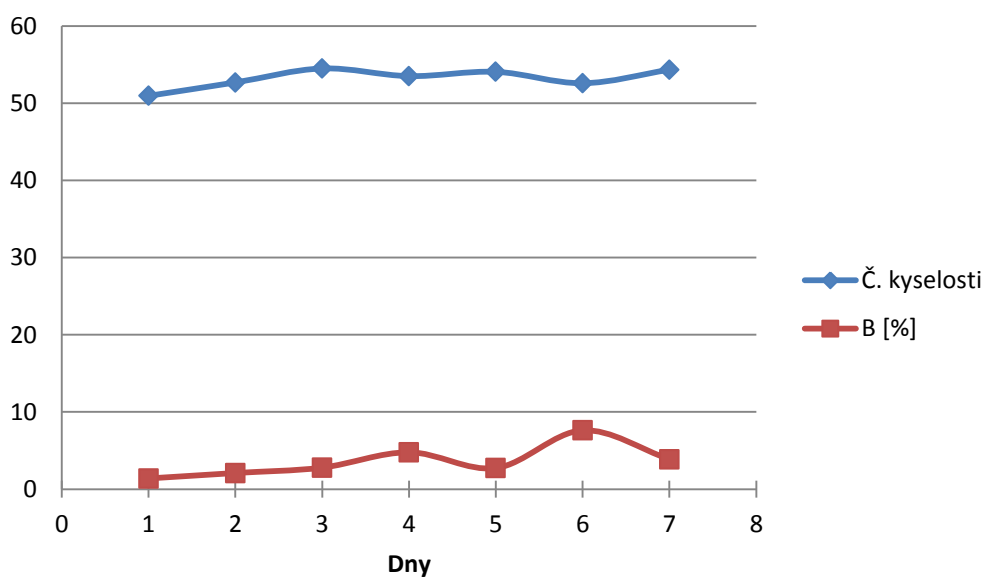
Obr. 27: Průměrné hodnoty průběhu eroze PLGA o hmotnostech 50, 100, 150 a 250 mg vzorků A, B, C, D v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 35)



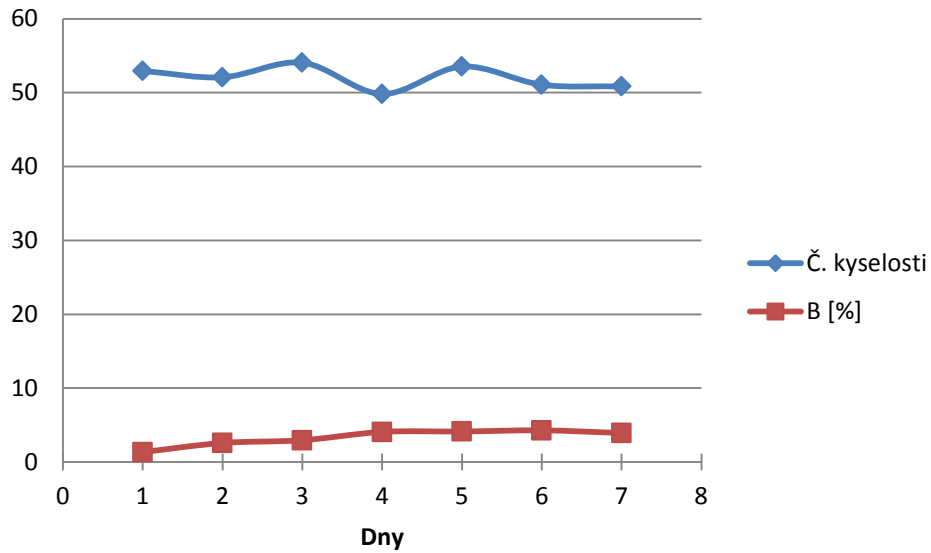
Obr. 28: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 50 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 36)



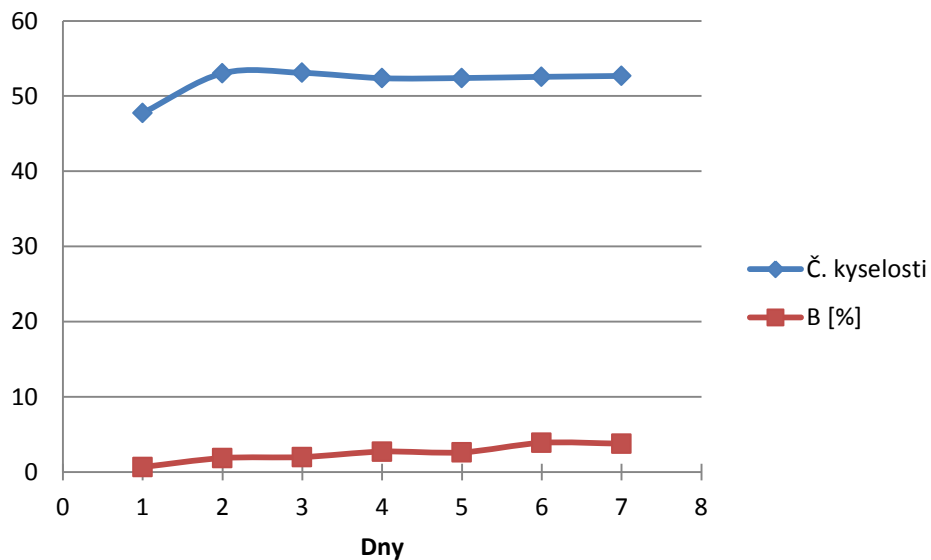
Obr. 29: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 100 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 37)



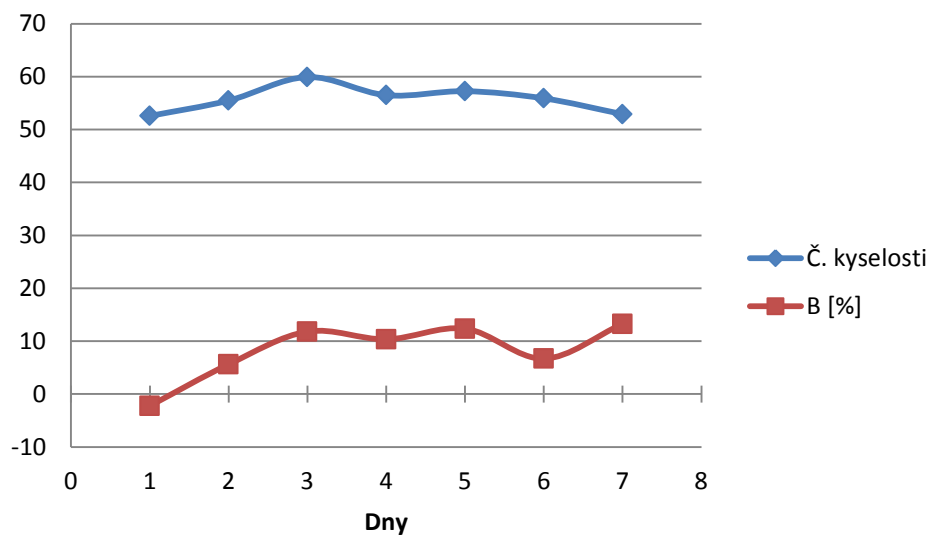
Obr. 30: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 150 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 38)



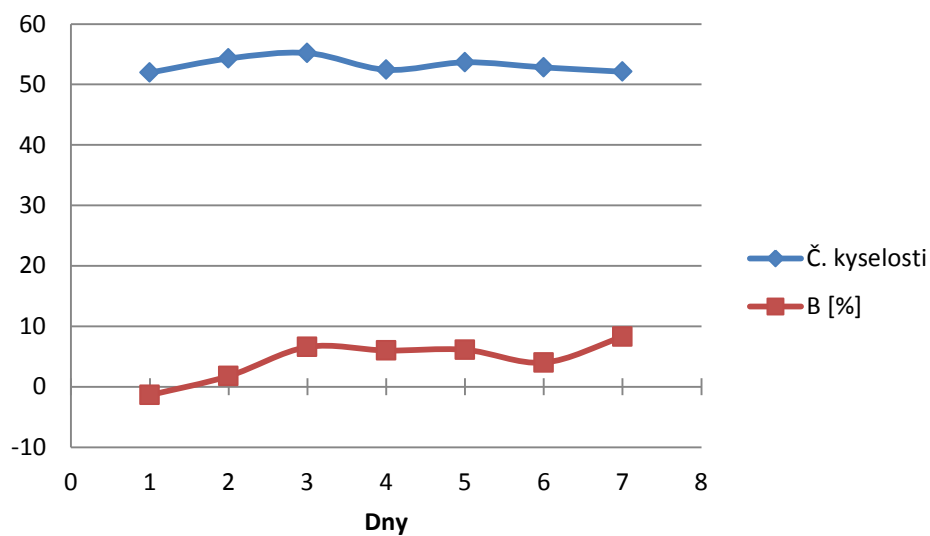
Obr. 31: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 250 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 39)



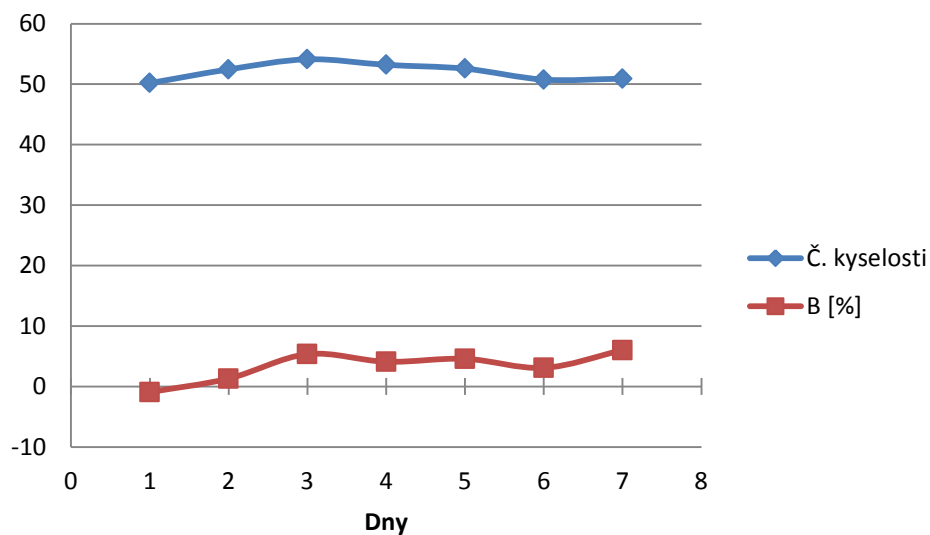
Obr. 32: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků C, D o hmotnosti 50 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 40)



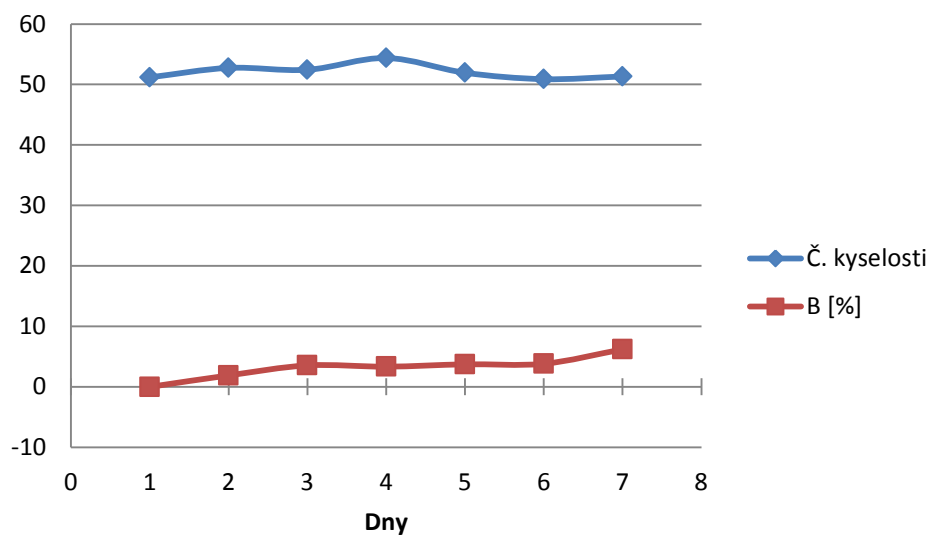
Obr. 33: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků C, D o hmotnosti 100 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 41)



Obr. 34: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků C, D o hmotnosti 150 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 42)



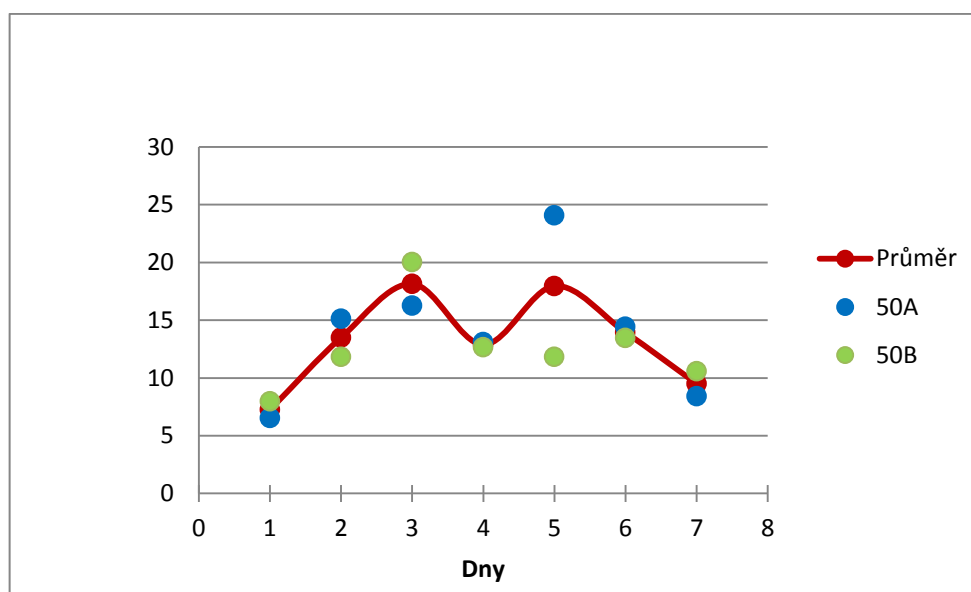
Obr. 35: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků C, D o hmotnosti 250 mg v prostředí vody při 7°C v průběhu 1. až 7. dne. (Tab. 43)



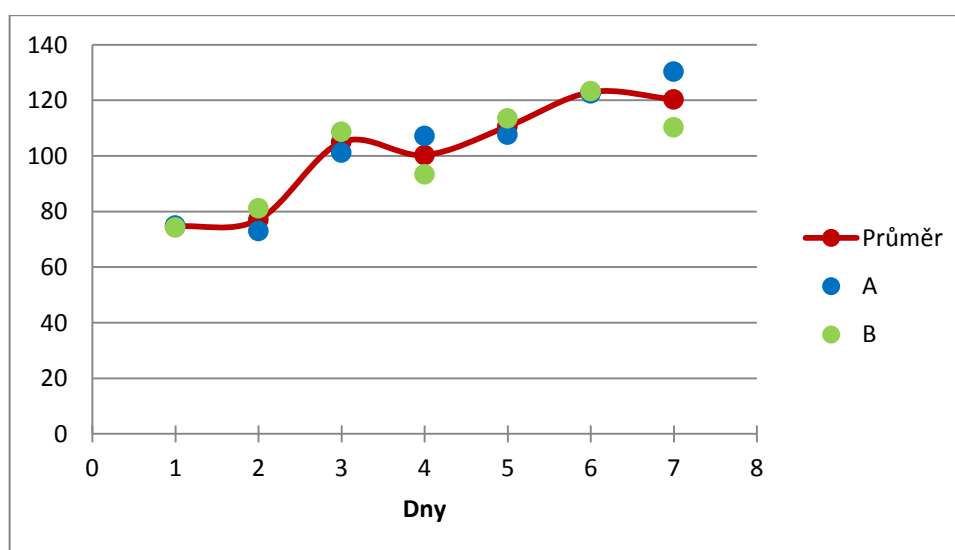
2) Chování PLGA matric o hmotnosti 50, 100, 150 a 250 mg v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne - obrázky.

Výsledky měření o chování PLGA matric o hmotnosti 50, 100, 150 a 250 mg v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne poskytla Lenka Rufferová.

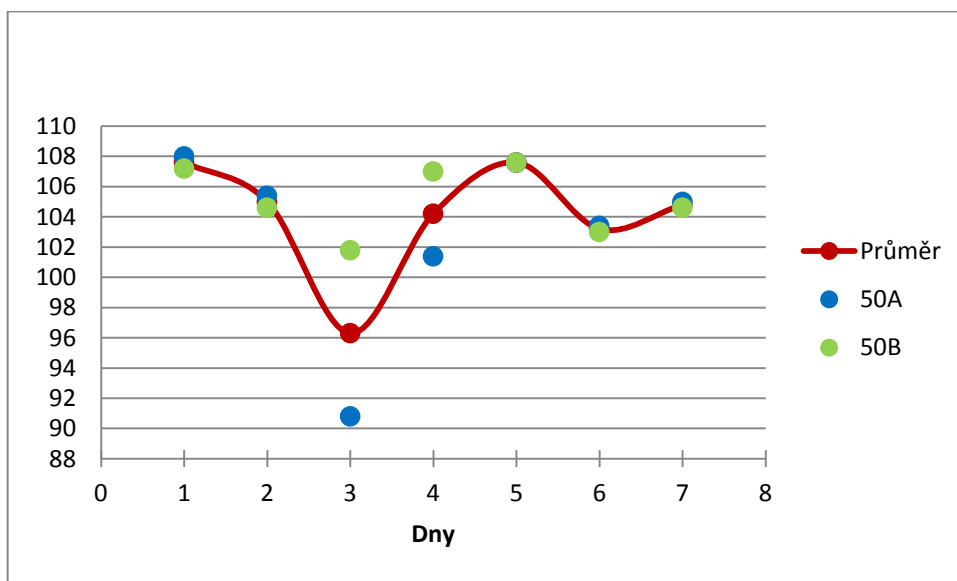
Obr. 36: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (*Tab. 45*).



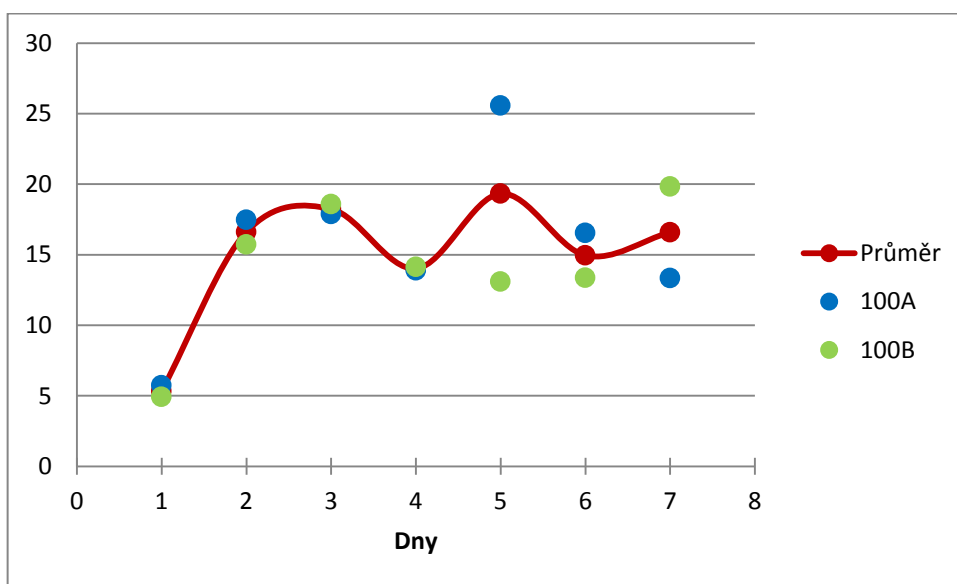
Obr. 37: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (*Tab. 46*).



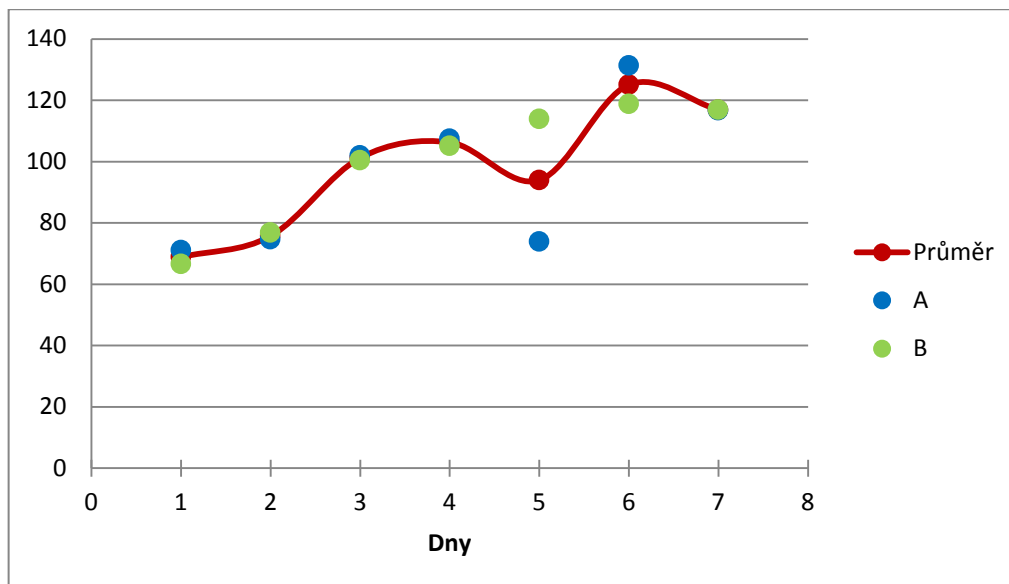
Obr. 38: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 50 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 47).



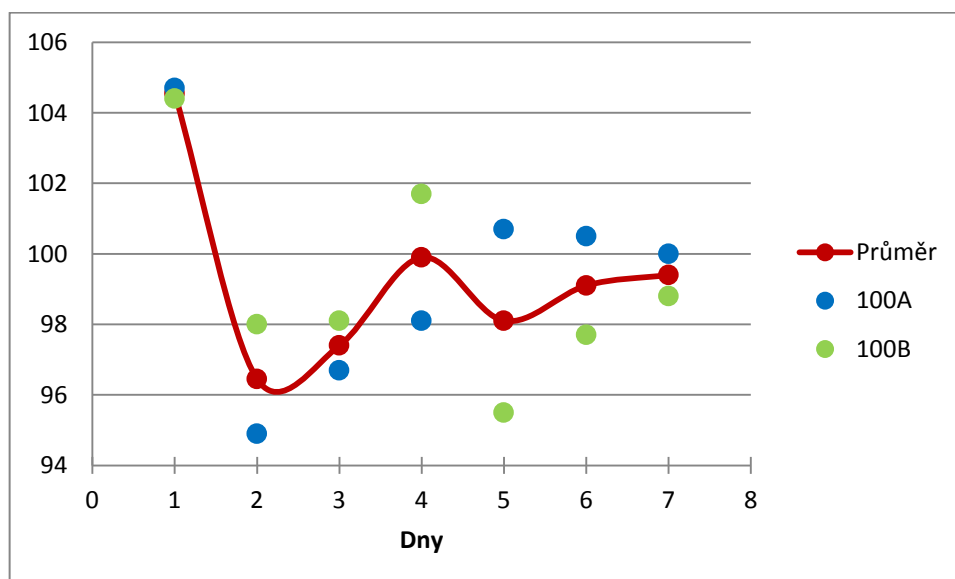
Obr. 39: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 49).



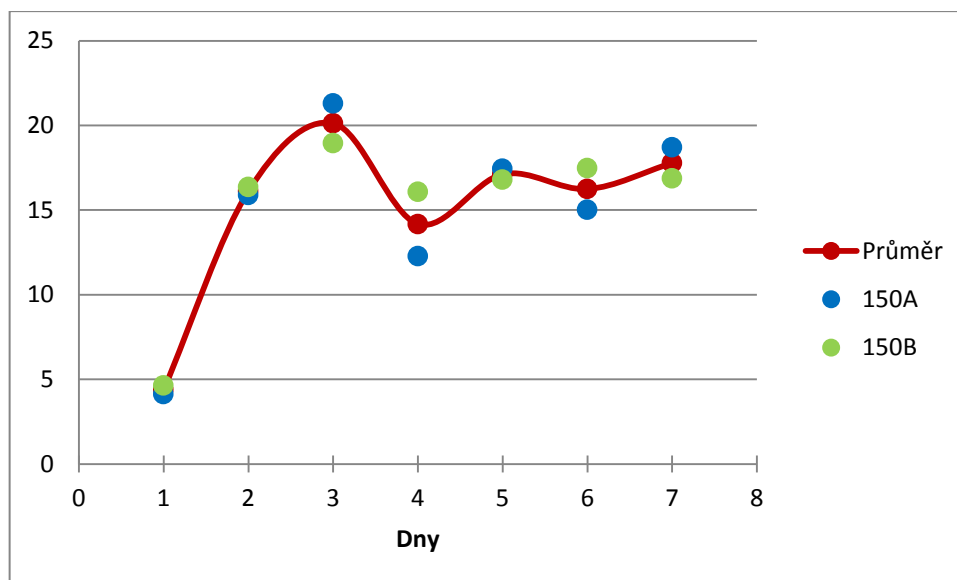
Obr. 40: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 50).



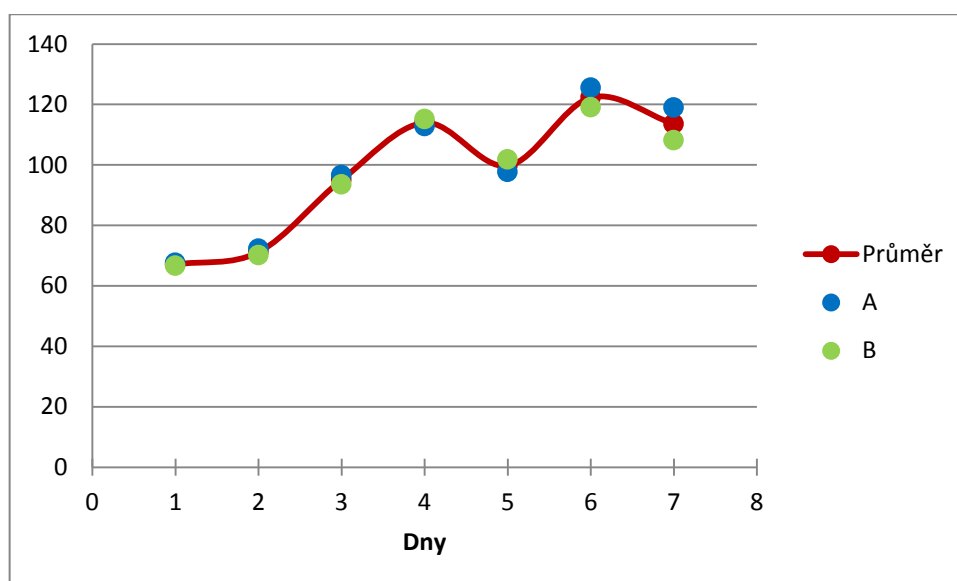
Obr. 41: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 100 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 51).



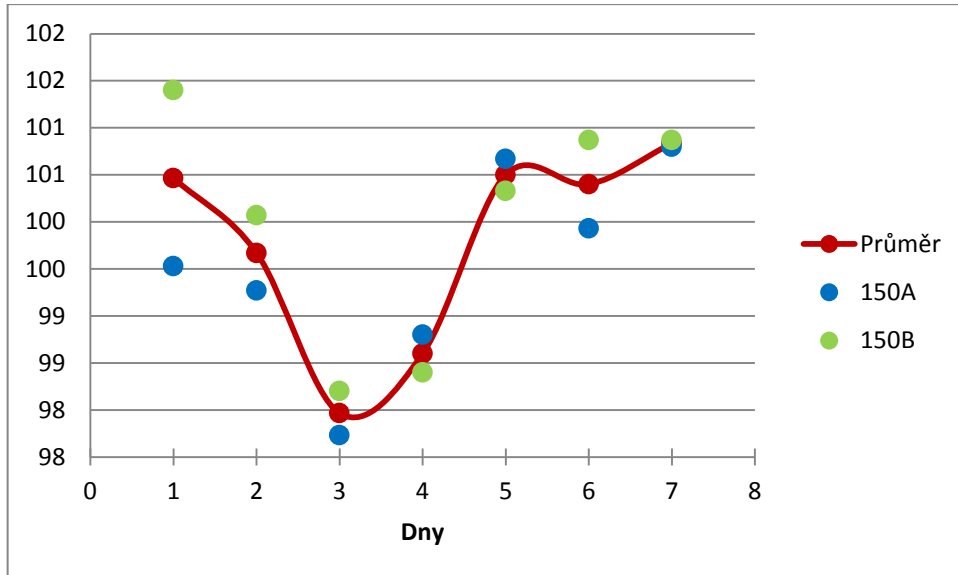
Obr. 42: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 53).



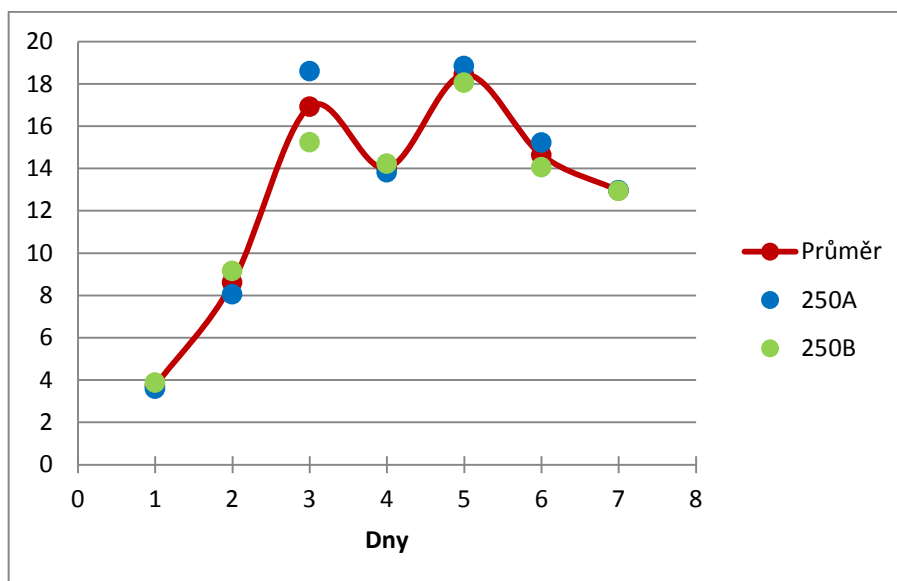
Obr. 43: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 54).



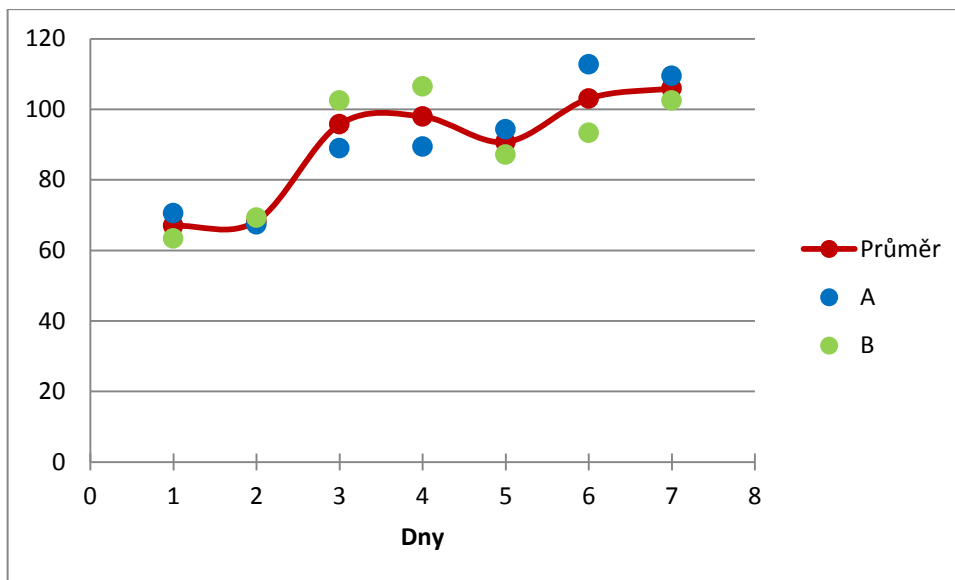
Obr. 44: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 150 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 55).



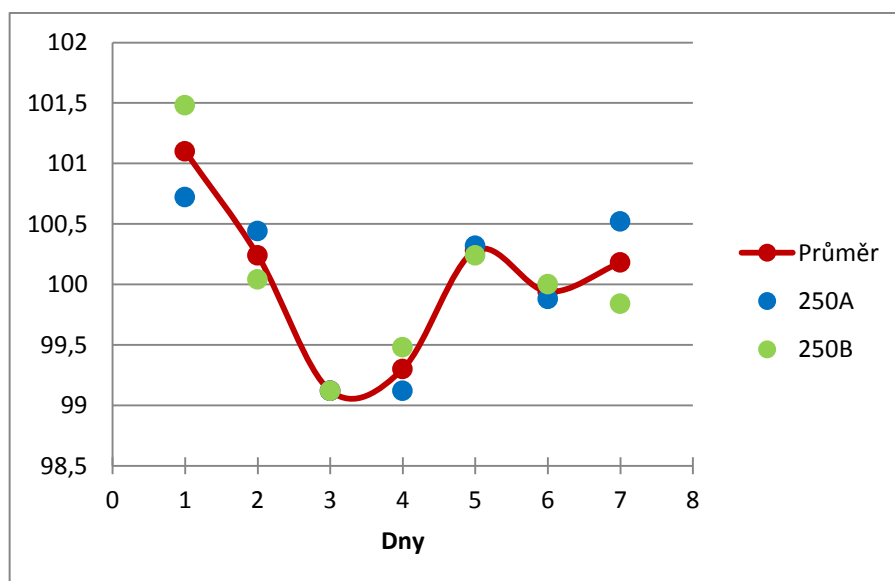
Obr. 45: Stupeň bobtnání PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 57).



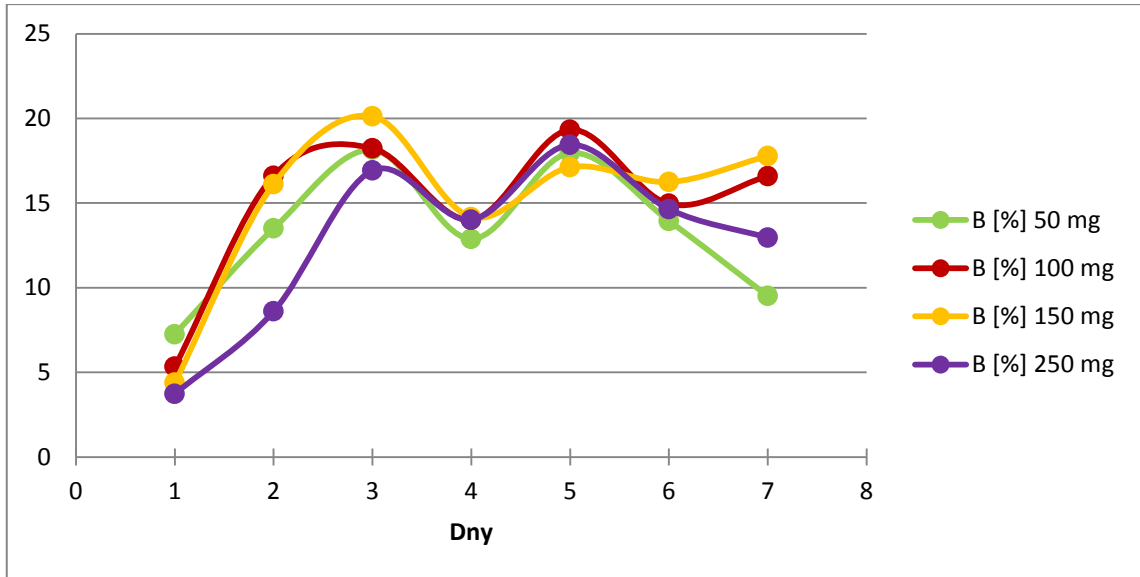
Obr. 46: Čísla kyselosti PLGA matric o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 58).



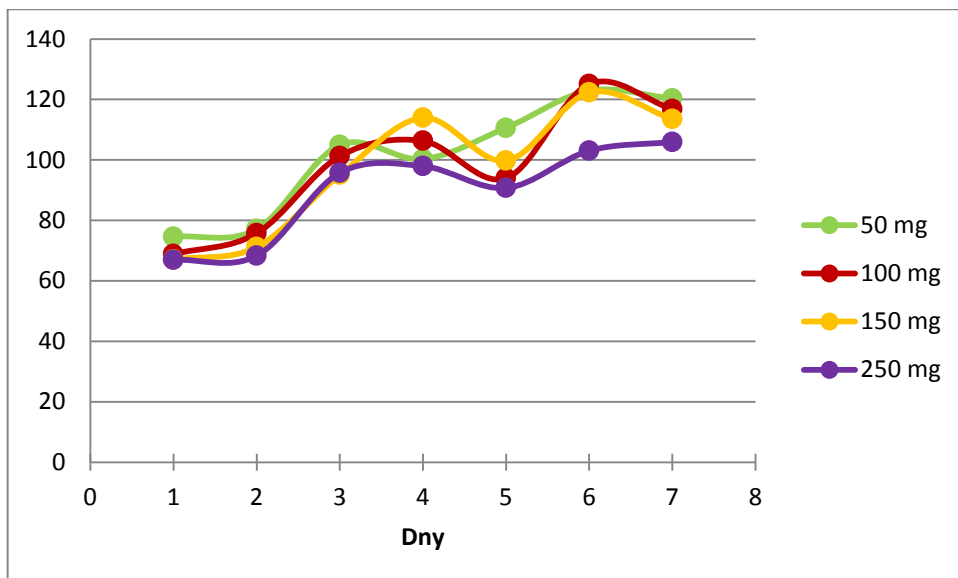
Obr. 47: Stupeň eroze PLGA o hmotnosti 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 59).



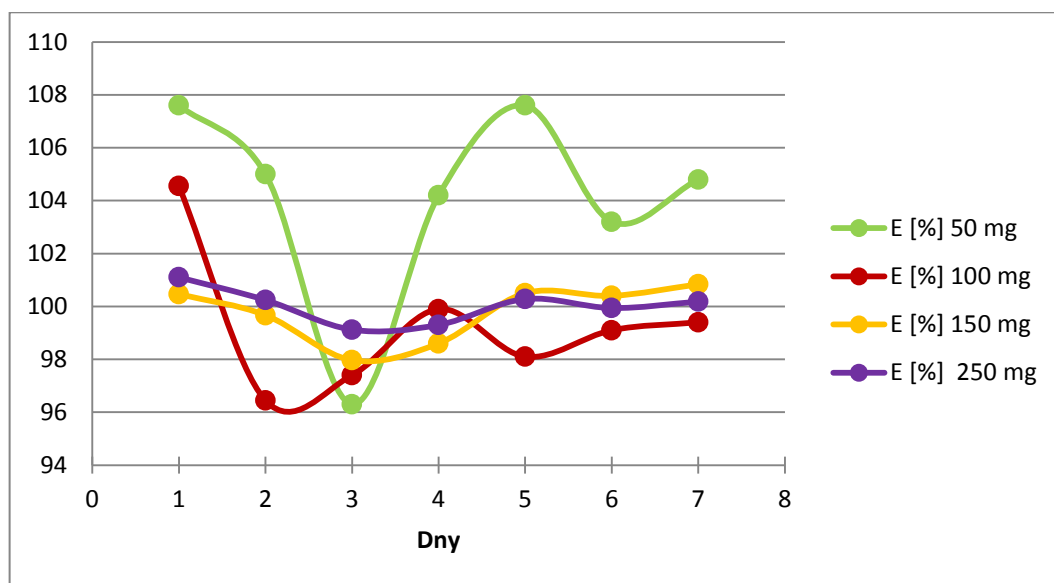
Obr. 48: Průměrné hodnoty průběhu bobtnání o hmotnostech 50, 100, 150 a 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 60).



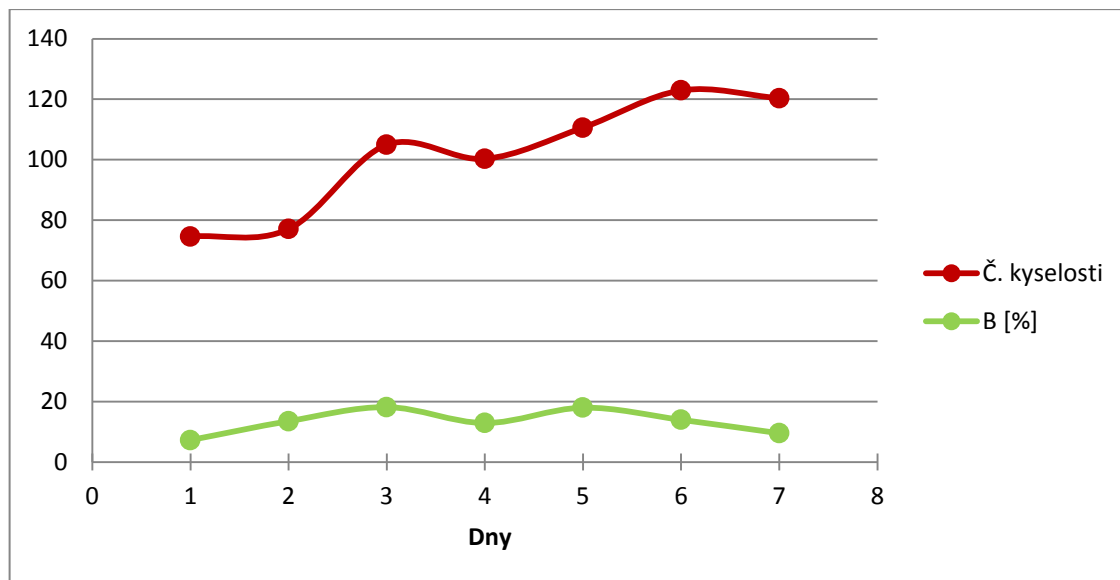
Obr. 49: Průměry čísel kyselosti PLGA o hmotnosti 50, 100, 150 a 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 61).



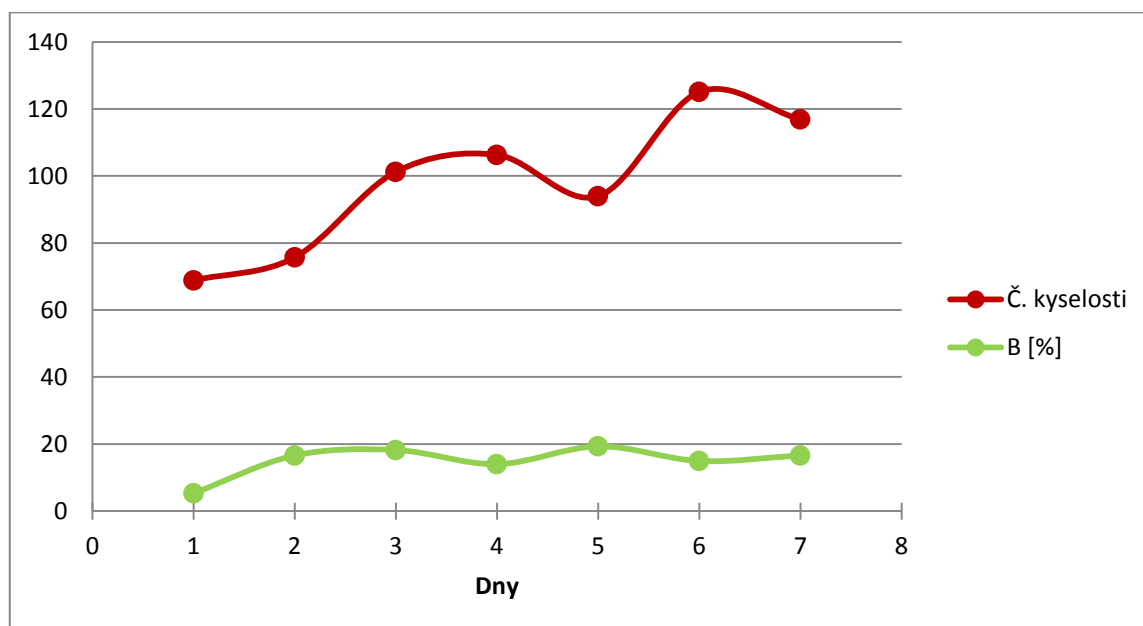
Obr. 50: Průměrné hodnoty průběhu eroze o hmotnostech 50, 100, 150 a 250 mg vzorků A, B v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 62).



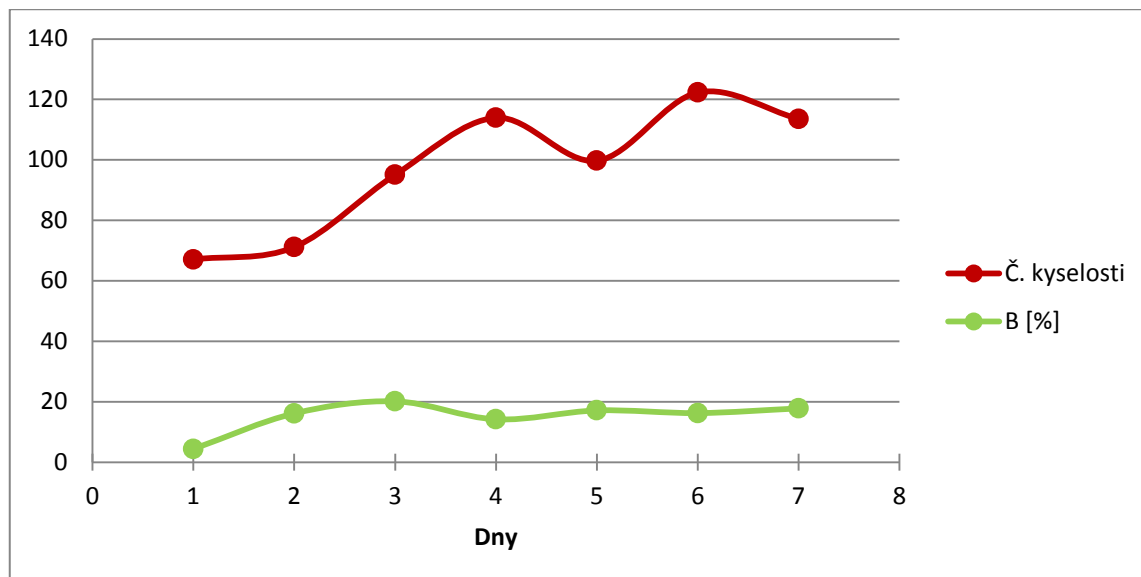
Obr. 51: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 50 mg v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 63).



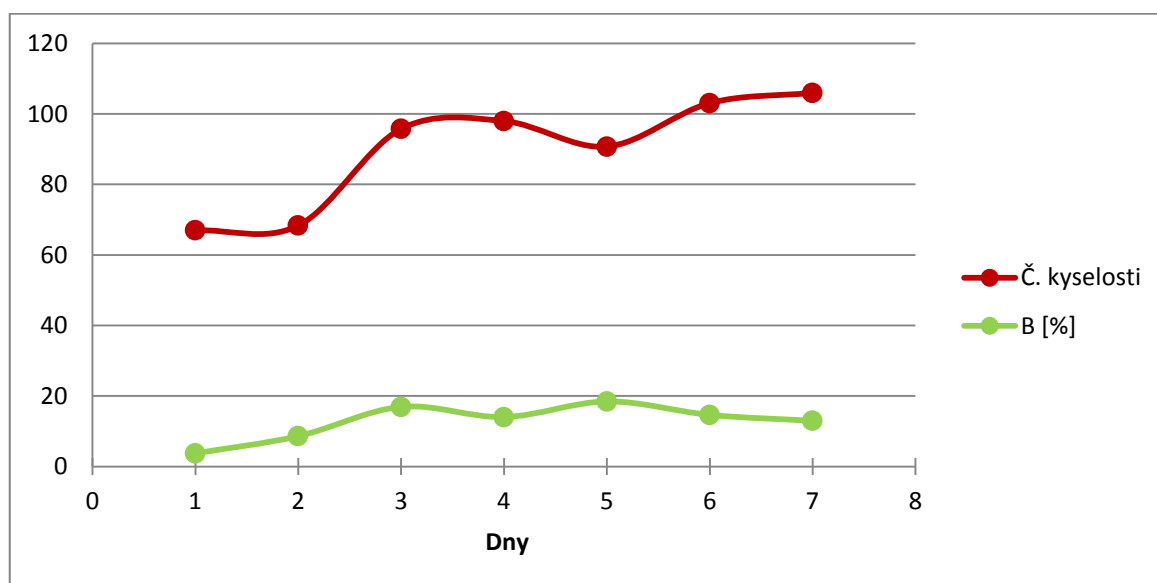
Obr. 52: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 100 mg v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 64).



Obr. 53: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 150 mg v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 65).



Obr. 54: Průměr čísla kyselosti a výsledků bobtnání PLGA vzorků A, B o hmotnosti 250 mg v prostředí vody při 37°C v průběhu 1. až 7. dne (Tab. 66).



12. DISKUSE

12.1. K tématu práce a zaměření experimentů

Diplomová práce navazuje na řadu kvalifikačních prací, jejichž cílem bylo sledovat a popsat aspekty biodegradace tělísek z oligoesterů a polyesterů alifatických hydroxykyselin v podmínkách *in vitro*. Pro objekty o hmotnosti desítky až tisíce miligramů je typické bobtnání v celém objemu tělesa. Eroze je chápána jako úbytek hmotnosti tohoto tělesa. Stanovení stupně bobtnání je podmíněno stanovením stupně eroze, což je destruktivní zkouška. Totéž platí o stanovení koncentrace koncových karboxylových skupin titrací roztoků. Z toho plyne nutnost pracovat pro každou naměřenou hodnotu s jiným vzorkem. Při variabilitě tvarového faktoru sledovaných tělísek je nutno také vzít v úvahu vliv tohoto faktoru na variabilitu hodnot příslušných studovaných charakteristik.

V případě charakteristik obou dějů se jedná o hodnoty, které jsou v časové řadě proměnlivé. To tedy znamená, při biodegradaci oligoesterů a polyesterů alifatických hydroxykyselin nedochází k dosažení rovnovážného stavu. V několika pracích bylo opakovaně prokázáno, že intenzita bobtnání nejen stoupá, ale také dochází k opačnému jevu, který se nazývá odbobtnání. Na záznamu hodnot stupně bobtnání je potom průběh s extrémy, tedy maximy a minimy. Počet těchto objemových pulzů byl u různých sloučenin polyesterového typu různý, byl ovlivněn typem sloučeniny, složením hydrofilní fáze a velikostí tělíška. Byla hledána příčina jevu. Protože byl jev zpočátku pozorován na větvených kopolymerech, byl měřen stupeň větvení metodou MALS. Z výsledků měření se došlo k závěru, že změna stupně větvení není příčinou změn stupně bobtnání. To bylo později potvrzeno prokázáním procesů progresivního bobtnání a odbobtnání u sloučenin PDLLA a PLGA s lineární konstitucí řetězce. Dosavadní testování biodegradace bylo realizováno ve statickém uspořádání experimentu, zpravidla při 37°C. Při této teplotě začíná eroze materiálu již od začátku působení vodného média nebo v relativně krátkém několikadenním časovém úseku po ponoření tělísek do média. Již dříve bylo prokázáno, že při teplotě 7°C nedochází k erozi po velmi dlouhou dobu několika týdnů. Cílem této práce bylo zjistit, jestli se bobtnání, eroze a štěpení esterových vazeb jako děje

doprovázející degradaci, které probíhají při teplotě 37°C, liší od dějů, ke kterým dochází při 7°C. Za tímto účelem byla připravena tělíska standardního tvaru a standardních hmotností. Jako médium byla zvolena voda, aby bylo možno stanovovat koncentraci karboxylů titrací. Pozornost byla zaměřena na počáteční stádium děje v časovém intervalu do 7. dne působení média.

Při snaze objektivizovat studii byla každá hodnota zjišťována současně na dvou těliscích, označených písmeny A a B. Každý pokus byl opakován ve stejném provedení v časovém odstupu několika týdnů s označením příslušných hodnot C a D. Takto byly získány celkem čtyři paralelní výsledky. V některých případech došlo při výměně média k poškození tělísek jejich fragmentací nebo deformací a tedy ke snížení počtu opakování. Zdrojem variability mohl být nestandardní tvar tělísek, nebo jejich umístění u stěny nádoby.

Chování vzorků při 7°C bylo konfrontováno s chováním vzorků při 37°C. Experimenty při této vyšší teplotě vody jako média realizovala Lenka Rufferová, ve školním roce 2011/12 posluchačka 5. ročníku FaF UK a diplomantka katedry farmaceutické technologie.

12.2. Tělíska hmotnosti 50 mg

Hodnoty stupně bobtnání jsou na obrázcích č. 1, 13 a 26. Srovnáním první série experimentů se vzorky A a B (obr. 1) s druhou se vzorky C a D (obr. 13) je možno dojít k poznatku o velmi odlišném průběhu děje. V obou případech byla zaznamenána nejméně dvě maxima hodnot. Největší rozdíl je v poloze prvního maxima. V první sérii se projevilo v intervalu do jednoho dne, v druhé sérii až za tři dny. Vysvětlení tohoto rozdílu v této fázi nemáme. Druhá série se vyznačuje značně menší variabilitou hodnot s jednoznačnými minimy za 4 dny působení média. Spojením všech čtyř hodnot z obou sérií se získá grafická závislost s téměř monotónním stoupáním hodnot přerušeným nevýrazným minimem v časovém úseku 6 dní.

Hodnoty čísla kyselosti v čase jsou v počáteční fázi u jednotlivých sérií podobné s hodnotami stupně bobtnání (obr. 2 a 14). Dochází k jejich postupnému růstu v třídním intervalu následovanému poklesem ve 3. až 4. dni a vzrůstem do 5. dne. Potom se průběh bobtnání a změn hodnot čísla kyselosti liší. Bobtnání pokračuje, číslo kyselosti klesá. V první sérii se odlišují hlavně počáteční

hodnoty čísla kyselosti posunem prvního maxima k dřívějšímu intervalu a druhého maxima k pozdějšímu (obr. 2). Spojení výsledků z obou sérií se získá průběh hodnot se dvěma maximy v intervalu kolem 3. dne a mezi 5. a 6. dnem (obr. 26). Tento průběh je při dané variabilitě hodnot možno pokládat za věrohodný z hlediska pulzování koncentrace koncových skupin ve vzorku. Frekvence tohoto děje je zcela odlišná od průběhu bobtnání (obr. 25). Pokud je nějaká příčinná souvislost mezi bobtnáním a změnou koncentrace karboxylů, jedná se o děje, které mají při nízké teplotě časový posun.

Eroze tělísek v intervalu do 7. dne neprobíhá, jak je patrné z obr. 3, 15 a 27. Systematické změny v čase jsou způsobeny stupněm vysušení strukturální vody, případně monomeru nebo oligomerů kyseliny glykolové nebo mléčné.

12.3. Tělíska hmotnosti 100 mg

Na obr. 4 a 16 jsou data, která se týkají průběhu bobtnání tělísek, která měla počáteční hmotnost 100 mg. V případě obou časově oddělených sérií měření byla prokázána dvě maxima stupně bobtnání lišící se polohou. Interval mezi nimi byl v obou případech dva dny. Po zprůměrování všech čtyř hodnot byla získána křivka s jedním maximem (obr. 25). Hodnoty čísla kyselosti mají v obou sériích velmi podobný průběh (obr. 5 a 17). Liší se kontrastem maxim a minim, který je větší u druhé série. Stejně jako u tělísek s hmotností 50 mg, mezi pulzy v průběhu bobtnání a koncentrace karboxylů je časový i intenzitní rozdíl. Hodnoty čísla eroze kolísají méně, což je ovlivněno menší relativní hodnotou chyby při sušení a vážení tělísek.

12.4. Tělíska hmotnosti 150 mg

V této hmotnostní kategorii bylo sledováno bobtnání tělísek prezentované na obr. 7 a 19. Pro obě řady dvojic hodnot je stejný stoupající trend. Ve druhé sérii se ve větší míře projevil pulzní průběh při pozoruhodně malé variabilitě. U časových řad čísla kyselosti se naopak silně projevil pulzní charakter v první sérii (obr. 8). Jednoznačně byla prokázána tři maxima hodnot. Ve druhé sérii bylo zjištěno pouze jedno výrazné maximum (obr. 20). K erozi jednoznačně nedocházelo (obr. 9 a 21).

12.5. Tělíska hmotnosti 250 mg

Bobtnání probíhalo s relativně monotónním stoupáním hodnot (obr.10 a 22). Bylo v nejmenším rozsahu a potvrdilo celkovou tendenci snižování stupně bobtnání se stoupající hmotností tělísek. V případě čísla kyselosti se hodnoty parametru značně lišily v jednotlivých sériích. V první sérii byly pozoruhodně konstantní (obr. 11), ve druhé pulzní s výrazným maximem v intervalu ve 4. dni (obr. 23). Číslo kyselosti tvořilo v případě hodnot průměru ze všech čtyř měření odlišnou časovou řadu (obr. 26). Nižší hodnoty v počáteční fázi dosáhly velmi rychle maxima a po nevýrazných minimech došlo k poklesu hodnot charakteristiky. Odlišnost těchto hodnot vede k vyslovení hypotézy o jiném průběhu degradace tělísek o hmotnosti mezi 50 mg a 150 mg a tělísek o hmotnosti 250 mg a více. Stejná (téměř nulová) hodnota stupně bobtnání u všech tělísek nevysvětluje rozdíly v hodnotě čísla kyselosti v intervalu jednoho a druhého dne mezi tělísky hmotnosti 250 mg a menšími. Také v případě těchto největších studovaných tělísek nebyla prokázána eroze (obr. 12 a 24).

12.6. Vliv teploty na bobtnání

Průběh bobtnání při 7°C byl srovnáván s průběhem stejného děje za stejných podmínek při 37°C. Celkový pohled na chování tělísek různé hmotnosti je na obr. 25 a obr. 48. Při 7°C hodnota stupně bobtnání monotónně stoupá s maximem v intervalu 4. až 5. den. Toto maximum se snižuje, až zaniká s velikostí tělísek. Při 37°C je dosaženo maximum charakteristiky bez ohledu na velikost tělísek již za tři dny, v intervalu 5 dní se projevilo další výrazné maximum, vliv velikosti tělísek zanikl ve variabilitě hodnot stupně bobtnání.

Podstatný je také rozdíl v hodnotách stupně bobtnání. Za tři dny působení média se hodnoty charakteristiky pohybovaly mezi 3 % a 7 % při 7°C a mezi 17 % a 20 % při 37°C. Za 7 dní působení média byly hodnoty při vyšší teplotě přibližně dvojnásobné. Podstatné rozdíly ve variabilitě nebyly prokázány. Při obou teplotách se v některých časových intervalech projevila větší variabilita hodnot způsobená patrně nestandardností tvaru a umístění tělísek. Systematický vliv v čase na variabilitu dat nebyl prokázán. Do jisté míry se

projevila vyšší variabilita při nižší hmotnosti tělísek, což je vysvětlitelné relativními hodnotami nepřesností při manipulaci se vzorky, jako je osušení před vážením ve zbotnalém stavu, úplnost vysušení apod.

12.7. Vliv teploty na koncentraci koncových karboxylů

Koncentrace karboxylových skupin byla v této práci vyjádřena konvenčním způsobem používaným při charakterizaci tuků a olejů jako číslo kyselosti. Na obr. 26 a na obr. 49 jsou celkové průměrové hodnoty čísla kyselosti různě velkých vzorků při různých teplotách. Hlavní rozdíl je v rozmezí hodnot dosažených při různých teplotách. Při teplotě 7°C se hodnoty čísla kyselosti pohybovaly mezi 50 a 60, při 37°C hodnoty systematicky stoupaly od 60 do 120. Nižší koncentrace karboxylů je patrně v příčinné souvislosti s nižším stupněm bobtnání tělísek při nižší teplotě média. Tento vztah mezi osmotickým působením koncových skupin a stupněm bobtnání je možno předpokládat.

Jako překvapivou je možno hodnotit změnu koncentrace koncových karboxylů v čase. Na obr. 26 jsou zaznamenána jednoznačně dvě výrazná maxima. Toto pulzní chování je prakticky stejné u tělísek o hmotnosti 50 mg, 100 mg a 150 mg. U tělísek hmotnosti 250 mg jsou také dva píky. Ty jsou však méně ostré a překvapivě jsou posunuty ke kratším časovým úsekům. Jedná se o subtilní jevy, které se odehrávají v rozmezí jedné až čtyř jednotek této charakteristiky. Proto se neprojeví markantněji na změnách stupně bobtnání. Jednou z příčin méně kontrastního průběhu stupně bobtnání může být menší přesnost při jeho měření, především nedostatečná standardnost odstranění vody z povrchu zbotnalých tělísek před jejich vážením.

Při vyšší teplotě se také projevilo pulzní chování z hlediska koncentrace koncových karboxylů, bylo však výraznější než při 7°C, proto mělo větší dopad v objemové pulzaci polyesterových tělísek. Stoupající trend hodnot čísla kyselosti je možno pokládat za indikaci postupujícího štěpení esterových vazeb a snižování molekulové hmotnosti.

13. ZÁVĚRY

- A) Bylo prokázáno, že tělíška z nízkomolekulárního kopolymeru kyseliny DL-mléčné s kyselinou glykolovou (PLGA 50:50) při teplotě 7°C v prostředí vody neerodují v iniciálním časovém intervalu 7 dní.
- B) Při teplotě 7°C dochází v polyesterových tělíscích ke změnám koncentrace karboxylových skupin v pulzech trvajících dva až tři dny.
- C) Pulzace z hlediska koncentrace koncových karboxylů je doprovázena změnami stupně bobtnání procesem expanze a kontrakce struktury, tedy střídáním fáze bobtnání a odbobtnání.
- D) V časovém průběhu hodnot stupně bobtnání a koncentrace koncových karboxylů je posun v maximech a minimech, jehož příčina není v tomto stádiu experimentů známa.
- E) Hmotnost polyesterových tělísek je faktorem, který ovlivňuje sledované procesy pouze v malém rozsahu.
- F) Teplota vody jako prostředí pro degradaci polyesteru podstatou měrou ovlivňuje rychlost a intenzitu procesů bobtnání a hydrolýzy esterových vazeb.

14. Použitá literatura

- (1) Wiscke, C., Shwendeman, S.P., 2008. Principles of encapsulating hydrophobic drugs in PLA/PLGA microparticles. *Int. J. Pharm.* 364, 298-327.
- (2) Friess, W., Schlapp, M., 2002. Release mechanisms from gentamicin loaded poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) microparticles. *J. Pharm. Sci.* 91, 845-855.
- (3) Fredenberg, S., 2011. PLG films in controlled release pharmaceuticals- release mechanisms. Doctoral Dissertation. Department of Chemical Engineering. Lund University, Sweden.
- (4) Wang, J., Wang, B.M., Schwendeman, S.P., 2002. Characterization of initial burst release of model peptide from poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres. *J. Control. Release* 82, 289-307.
- (5) Bae, S.E., Son, J.S., Park, K., Han, D.K., 2009. Fabrication of covered porous PLGA microspheres using hydrogen peroxide for controlled drug delivery and regenerative medicine. *J. Control. Release* 133, 37-43.
- (6) Song, C.X., Laghasetwar, V., Levy, R.J., 1997. Controlled release of U-86983 from double-layer biodegradable matrices: effect of additives on release mechanism and kinetics. *J. Control. Release* 45, 177-192.
- (7) Marucci, M., 2009. Characterization of the mechanisms of drug release from polymer – coated formulations using experiments and modelling. Doctoral Dissertation. Lund University, Lund, Sweden.
- (8) Fredenberg, S., Wahlgren, M., Reslow, M., Axelsson, A., 2011. The mechanism of drug release in poly(lactic-co-glycolic acid) based drug delivery systems- A review. *Int. J. Pharm.* 415, 34-52.
- (9) Karlsson, O.J., Stubbs, J.M., Karlsson, L.E., Sundberg, D.C., 2001. Estimating diffusion coefficients for small molecules in polymers and polymer solutions. *Mol. Pharm.* 4, 104-118.
- (10) Passerini, N., Craig, D.Q.M., 2001. An investigation into the effects of residual water on the glass transition temperature of polylactide microspheres using modulated temperature DSC. *J. Control. Release* 73, 111-115.
- (11) Masteiková, R., Chalupová, Z., Dvořáčková, K., Bernatoniéné, J., 2008. Implantáty jako lékové transportní systémy – teoretické aspekty implantátů obsahujících léčivo. *Remedia* 18, 252-258.
- (12) Zhu, G., Schwendeman, S.P., 2000. Stabilization of proteins encapsulated in cylindrical poly(lactide-co-glycolide) implants: mechanism of stabilization by basic additives. *Pharm. Res.* 17, 351-357.

- (13) Li, S., McCarthy, S., 1999. Further investigations on the hydrolytic degradation of poly(D,L-lactide). *Biomaterials* 20, 35-44.
- (14) Wang, J., Wanj, B.M., Schwendeman, S.P., 2004. Mechanistic evaluation of the glucose-induced reduction in initial burst release of octreotide acetate from poly(D,L-lactide-co-glycolide) microspheres. *Biomaterials* 25, 1919-1927.
- (15) Wong, H.M., Wang, J.J., Wang, C.-H., 2001. In vitro sustained release of human immunoglobulin G from biodegradable microspheres. *Ind. Eng. Chem. Res.* 40, 933-948.
- (16) Gagliardi, M., Silvestri, D., Cristallini, C., Guadagni, M., Crifaci, G., Giusti, P., 2010. Combined drug release from biodegradable bilayer coating for endovascular stents. *J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* 93B, 375-385.
- (17) Fu, K., Pack, D.W., Klibanov, A.M., Langer, R., 2000. Visual evidence of acidic environment within degrading poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres. *Pharm.Res.* 17, 100-106.
- (18) Berklund, C., Kim, K.K., Pack, D.W., 2003. PLG microsphere size control drug release rate through several competing factors. *Pharm. Res.* 20, 1055-1062.
- (19) Husmann, M., Schenderlein, S., Luck, M., Lindner, H., Kleiebudde, P., 2002. Polymer erosion in PLGA microparticles produced by phase separation method. *Int. J. Pharm.* 242, 277-280.
- (20) Madhavan, N. K., Nimisha, R. N., Rojan, P. J., 2010. An overview of the recent development in polylactide (PLA) research. *Bioresource Technology* 101, 8493 – 8501.
- (21) Gruber, P. R., Hall, E. S., Kolstad, J. J., Iwen, M. L., Benson, R. D., Borchardt, R. L., 1992. US Patent 5 142 023, US Patent 5 247 058.
- (22) Wang, X., Sui, S., Yan, Y., Zhang, R., 2010. Design and fabrication of PLGA sandwiched cell/fibrin constructs for complex organ regeneration. *J. Bioactive Compatible Polym.* 25, 229-240.
- (23) Bertoldi, C., Zaffe, D., Consolo, U., 2008. Polylactide/polyglycolide copolymer in bone defect healing in humans. *Biomaterials* 29, 1817-1823.

(24) Jiang, W., Gupta, R.K., Deshpande, M.C., Schwendeman, S.P., 2005. Biodegradable poly(lactic-co-glycolic acid) microparticles for injectable delivery of vaccine antigens. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 57, 391-410.

(25) Xu, Q., Czernuszka, J.T., 2008. Controlled release of amoxicillin hydroxyapatite-coated poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres. *J. Control. Release* 127, 146-15.

(26) Patil, Y., Sadhuka, T., Ma, L., Panyam, J., 2009. Nanoparticle-mediated simultaneous and targeted delivery of paclitaxel and tariquidar overcomes tumor drug resistance. *J. Control. Release* 136, 21-29.