

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
KATEDRA FARMACEUTICKÉ TECHNOLOGIE

**KARBOXYLOVÉ ČÍSLO JAKO PARAMETR  
DEGRADACE POLYESTERŮ**

RIGORÓZNÍ PRÁCE

Hradec Králové, 2008

Mgr. Lenka Ťápalová

Prohlašuji, že jsem rigorózní práci vypracovala samostatně pod vedením školitele a uvedla jsem všechny použité literární a odborné zdroje.

V Hradci Králové dne 20. 9. 2008

Mgr. Lenka Ťápalová

Děkuji vedoucímu práce Doc. RNDr. Milanu Dittrichovi, CSc. za odborné vedení a poskytnutí cenných rad při zpracovávání rigorózní práce.

## ABSTRAKT

Rigorózní práce navazuje na diplomovou práci z let 2007-2008. Pojednává o interakci hydrofilního média se třemi alifatickými oligoestery a polyestery syntetizovanými na fakultě z kyseliny mléčné a glykolové, které byly větvené buď dipentaerythritolem v 2 % koncentraci nebo tripentaerythritolem v 3 % nebo 5 % koncentraci. Z polyesteru s 3 % tripentaerythritolem byly připraveny vzorky různých velikostí (150 mg, 500 mg, 1250 mg). Polyestery o hmotnosti 1250 mg byly navíc plastifikovány triethylcitrátem. Byl opět studován průběh eroze a botnání matric daných oligoesterů ve vodném médiu při 37 °C v časovém intervalu 1 den, 3 dny, 7 dní, 14 dní, 21 dní a některé 28 dní. Stanovovala se alkalimetry koncentrace karboxylů vzniklých hydrolyzou degradované matrice ve frakci rozpustné ve vodě (karboxylové číslo). Novinkou bylo studium závislosti těchto charakteristik na velikosti matrice a její plastifikaci. Se zvětšováním velikosti matrice se prodlužuje doba počátku eroze a doba dosažení maxima ve stupni botnání. Také se posunuje hodnota maxima karboxylového čísla a více se tak projevuje hystereze mezi osmotickou aktivitou nízkomolekulární frakce oligoesterů a stupněm botnání matric. Plastifikace zvyrazňuje hysterezi mezi koncentrací osmoticky aktivních molekul v matricích a jejich botnáním.

## SUMMARY

The rigorous work connects on the thesis from years 2007-2008. It deals with interaction of hydrophilic medium with three aliphatic oligoesters and polyesters synthesized at the pharmaceutical faculty from lactic acid and glycolic acid, which were branched either with dipentaerythritol in 2 % concentration or with tripentaerythritol in 3 % or 5 % concentrations. Samples with three various weights were prepared from polyesters branched with 3 % tripentaerythritol (150 mg, 500 mg, 1250 mg). The polyesters in the weight of 1250 mg was plasticized with triethylcitrate. There was observed a process of erosion kinetics and swelling of defined matrices from above mentioned oligoesters in aqueous medium at 37 °C in period of time 1 day, 3 days, 7 days, 14 days, 21 days and someone of them 28 days again. There was determined the concentration of carboxylic groups generated by hydrolysis of matrices in the water

soluble fraction (carboxylic number) using alkalimetric method. The novel aspect of this work consists in the study of the matrices size and its plasticization on these characteristics. The time of erosion process beginning and the time of swelling degree peak achievement delays with the increasing of size of matrices. The time of peak of carboxylic number values as well as hysteresis manifests more intensively prolonged against osmotic activity of low molecular fraction of oligoesters and the degree of swelling of matrices. Plasticization of oligoester also amplifies the hysteresis between time-profile of the concentration of osmotic active molecules in matrices and its swelling degree.

# OBSAH

1. ÚVOD.....	8
2. TEORETICKÁ ČÁST .....	10
2.1 POLYESTERY .....	10
2.1.1 <i>Kopolymer kyseliny mléčné a glykolové (PLGA)</i> .....	10
2.1.1.1 Příprava PLGA.....	10
2.1.1.2 Degradace a eroze PLGA.....	11
2.1.1.3 Využití PLGA .....	13
2.1.2 <i>Polymer kyseliny mléčné (PLA)</i> .....	19
2.1.3 <i>Polymer kyseliny glykolové (PGA)</i> .....	21
2.1.4 <i>Kopolymery z PLA a PLGA</i> .....	21
2.1.4.1 Kopolymery z polyethylenglykolu a polyethylenoxidu.....	21
2.1.4.2 Kopolymery z $\epsilon$ -kaprolaktonu .....	22
2.1.4.3 Ostatní kopolymery.....	22
2.1.5 <i>Poly(<math>\epsilon</math>-kaprolakton) (PCL)</i> .....	22
2.2 POLYVINANY .....	23
2.3 POLYORTHOESTERY .....	23
2.3.1 <i>Využití POE</i> .....	24
2.4 POLYANHYDRIDY.....	24
2.5 POLYVINYLALKOHOL.....	25
2.5.1 <i>Nosičové systémy z PVA</i> .....	25
2.5.2 <i>Využití PVA</i> .....	28
2.6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	30
3. CÍL PRÁCE .....	31
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	32
4.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE .....	32
4.1.1 <i>Chemikálie</i> .....	32
4.1.2 <i>Přístroje</i> .....	32
4.1.3 <i>Charakteristika použitých oligoesterových nosičů</i> .....	32
4.2 STANOVENÍ STUPNĚ BOTNÁNÍ A STUPNĚ EROZE TESTOVANÉHO NOSIČE .....	34
4.2.1 <i>Příprava matric</i> .....	34
4.2.2 <i>Příprava plastifikovaných matric</i> .....	35
4.2.3 <i>Příprava vzorků</i> .....	35
4.2.4 <i>Postup při stanovení stupně botnání a eroze</i> .....	35
4.3 STANOVENÍ KARBOXYLOVÉHO ČÍSLA.....	36
4.3.1 <i>Příprava odměrného roztoku</i> .....	36
4.3.2 <i>Příprava indikátoru</i> .....	37
4.3.3 <i>Postup při stanovení karboxylového čísla– matrice o hmotnosti 150 mg</i> .37	
4.3.4 <i>Postup při stanovení karboxylového čísla– matrice o hmotnostech 500 a 1250 mg</i> .....	38
5. VÝSLEDKY .....	39
5.1 TABULKY A GRAFY .....	39
5.2 SEZNAM ZKRATEK.....	56
6. DISKUZE .....	57
6.1 K TÉMATU A METODĚ PRÁCE.....	57
6.2 K INTERAKCÍM NOSIČE 2D .....	58

6.3	K INTERAKCÍM NOSIČE 5T .....	59
6.4	K INTERAKCÍM NOSIČE 3T .....	60
6.4.1	<i>Matrice o hmotnosti 150 mg</i> .....	60
6.4.2	<i>Matrice o hmotnosti 500 mg</i> .....	61
6.4.3	<i>Matrice o hmotnosti 1250 mg s 20 % triethylcitrátem</i> .....	62
7.	ZÁVĚRY .....	64
8.	LITERATURA .....	65

# 1. ÚVOD

Prvním syntetickým polymerem určeným k implantaci jako resorbovatelný materiál užitý v roce 1970 k výrobě šicích vláken byla polyglykolová kyselina nazvaná Dexon (1). Poté byl zahájen výzkum alifatických polyesterů pocházejících z mléčné kyseliny a vedl k prvnímu kopolymeru z kyseliny mléčné a glykolové, který se využil jako šicí vlákno Vicryl (2). Tato vlákna nevyžadují po vyléčení rány chirurgické odstranění a připravila tak cestu pro mnoho dalších biodegradabilních materiálů.

Různé druhy biodegradabilních polymerů se ve svých fyzikálně-chemických vlastnostech a mechanismu degradace liší, což nabízí možnost formulovat řadu léčiv do biodegradabilních nosičových systémů. Biodegradabilní polymery se velice osvědčily ve vývoji nových, zdokonalených a účinných nosičů léčiv. Jsou schopné dodat širokou paletu bioaktivního materiálu v široké oblasti medicínských aplikací. Proto v posledních letech významně roste zájem o nosičové systémy typu biodegradabilních materiálů, které není potřeba na konci léčby z těla odstranit, protože se degradují na fyziologicky působící sloučeniny, které se mohou z těla samy rychle vyloučit. Z PLGA se vytvoří monomery kyseliny mléčné a glykolové, které se odstraňují metabolickou cestou (3). Kyselina mléčná vstupuje do cyklu trikarboxylových kyselin (citrátový cyklus) a je metabolizována a následně eliminována z těla jako oxid uhličitý a voda. Kyselina glykolová je buď vylučována ledvinami jako nezměněná, nebo také vstupuje do citrátového cyklu a je vyloučena jako oxid uhličitý a voda (4).

Pro biodegradabilní nosiče léčiv jsou obecně vhodné takové látky, které potřebujeme podávat delší dobu, které jsou vysoce účinné nebo mají krátký biologický poločas (např. peptidy a proteiny).

V posledních dvou desetiletích dokážeme vyrobit biodegradabilní nosiče mnohem praktičtěji a levněji, ačkoliv do současnosti pouze několik nosičových systémů vstoupilo na trh. Důvodů je mnoho. Mnoho léčiv, jako peptidy a proteiny, je citlivých k vyšší teplotě, střížným silám při míchání nebo organickým rozpouštědlům. Ty jsou ale potřebné pro většinu výrobních procesů u klasických biodegradabilních nosičových systémů jako jsou mikrosféry nebo implantáty. Rozpouštědlo a šetrné metody jsou tedy významné pro vyhnutí se problémům se stabilitou během výroby. Nadějně jsou

polymery, do kterých se inkorporují citlivé nebo nestabilní léčiva jednoduchým smícháním bez použití tepla nebo rozpouštědel, např. viskózní polyorthoestery. Dále některé faktory jako je vlhkost, okyselení nebo interakce mezi polymerem a léčivem vedou během skladování a uvolňování ke snížení stability.

Důležitým krokem je také plné pochopení degradačního mechanismu použitého polymeru, aby se dokázalo nastavit profil uvolňování. Ačkoliv byly degradační studie provedeny hlavně s alifatickými polyestery, degradační mechanismus těchto polymerů není stále kompletně pochopen a vyžaduje další výzkum. Nicméně v budoucnu mnoho nových terapeutických látek bude vyžadovat parenterální aplikaci a bude mít prospěch z výhod biodegradabilního polymeru.

Ve skutečnosti je popsáno v literatuře jen několik biodegradabilních nosičů léčivých látek jako např. pro antimikrobiální látky (5), vitamínové preparáty (6), antiemetika (7) nebo cytostatika (8). Protože biodegradabilní polymery umožňují dodání řady bioaktivních materiálů s vysokou biodostupností, mají vysoký potenciál pro veterinární použití. V posledních letech jsou biodegradabilní nosičové systémy jako mikrosféry, klasické implantáty a implantáty tvořící se in-situ testovány ve veterinárním lékařství v oblasti ovlivnění reprodukce (9), likvidaci ektoparazitů (3), ke stimulace jejich růstu (10) a k vakcinaci (11). Aktuálně se ve veterinární aplikaci zkoumá slibné využití biodegradabilních systémů, jako je řízená tkáňová regenerace, oční onemocnění, jednorázové očkování nebo osteoarthritis. V současné době se zkouší biodegradabilní materiály nejen jako nosiče řady léčiv, ale mohly by sloužit i jako médium pro růst kmenových buněk, pro kultivaci kožních buněk, obnovu nervových spojů, jako biomateriály pro náhrady a regenerace tkání nebo odbouratelné fixační zařízení.

## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 POLYESTERY

Nejvíce zajímavými a běžně užívanými biodegradabilními polymery jsou **polyestery** jako kopolymery kyseliny mléčné a glykolové (PLGA), polymery kyseliny mléčné (PLA) a poly( $\epsilon$ -kaprolakton) (PCL). Studie o PLGA jsou jedny z nejfrekventovanějších v oblasti biodegradabilních polymerů, speciálně pro řízené podání peptidů (12) a proteinů (13).

Polyestery jsou komerčně dostupné v různém složení a s různou molekulovou hmotností, která umožňuje řízenou degradaci polymeru (14).

#### **2.1.1 KOPOLYMER KYSELINY MLÉČNÉ A GLYKOLOVÉ (PLGA)**

##### **2.1.1.1 Příprava PLGA**

Mezi všemi sloučeninami PLGA můžeme najít amorfní, semikrystalické nebo voskovité polymery s různým poločasem degradace (15). Ačkoliv je mnoho těchto forem testováno, pouze několik PLGA polymerů dosáhlo komerčního využití jako bioresorbovatelné přípravky. PLGA má rozdílné vlastnosti závislé na metodě syntézy, na modifikacích koncového řetězce, přítomnosti reziduí iniciátoru a mnoho dalších nečistot.

Existuje několik cest, jak syntetizovat alifatické polyestery typu PLGA. Polykondenzace enantiomerů mléčné a glykolové kyseliny za použití katalyzátoru (ZnO, p-toluensulfonová kyselina) vede ke sloučeninám s menší molekulovou hmotností (menší než 5000) (16). Nižší oligomery, jejichž stupeň polymerizace je menší než 9, jsou rozpustné ve vodě.

Hlavním způsobem výroby PLGA polymerů s vysokou molekulovou hmotností je polymerace s otevřením kruhu z 1,4-dioxan-2,5-dionu heterocyklických monomerů složených ze dvou jednotek kyseliny mléčné nebo glykolové (17). Tento druh polymerace vyžaduje užití iniciátoru.

### 2.1.1.2 Degradace a eroze PLGA

Degradace je proces štěpení řetězce, během kterého jsou polymerní řetězce zmenšeny na oligomery a následně až na monomery. Na degradaci dále navazuje eroze polymeru, což je proces ztráty materiálu, při kterém monomery a oligomery opouštějí daný polymer (18).

Pro degradabilní polymery jsou definovány dva rozdílné mechanismy eroze: *homogenní eroze* (objemová) a *heterogenní eroze* (povrchová) (19). Objemová eroze degraduje polymery v celém jejich průřezu, protože penetrace vody do celého objemu polymeru je rychlejší než degradace polymeru. K uvolňování léčiva dochází kombinací procesu difuze a eroze. Permeabilita polymeru pro léčivo s časem roste a přesný stupeň uvolňování léčiva je proto nepředvídatelný. Celý proces mění charakter polymerní matrice a hrozí rozpad matrice před uvolněním veškerého léčiva. Na rozdíl od objemové eroze je u povrchové eroze degradace polymerů rychlejší než penetrace vody. V tomto případě tedy polymery erodují převážně na jejich povrchu. Během procesu se tedy mohou matrice zmenšovat, ale zachovávají si svůj původní geometrický tvar. Proto tvar matrice zůstane stejný po značnou dobu aplikace a uvolňování léčiva je konstantní. Výhodou povrchové eroze je možnost předpovědět průběh erozního procesu. Nicméně eroze se řídí pro většinu polymerů oběma mechanismy. Eroze je tedy důležitý proces pro uvolňování léčiva z matrice polymeru. Uvolňování léčiva je klasifikováno na řízenou difuzi, řízené botnání a řízenou erozi.

Degradace PLGA polymerů byla předmětem mnoha diskuzí zaměřených na rozhodnutí, zda mechanismus degradace v prostředí *in vivo* (tkáň, tělní tekutiny obsahující enzymy) nebo v médiu je čistě chemický děj nebo je závislý na enzymech. Většina vědců považuje degradaci alifatických polyesterů jako výsledek chemické hydrolýzy esterových vazeb. Nemůžeme ale tvrdit, že jde o enzymatickou degradaci alifatických polyesterů, pokud nedokážeme potvrdit úbytek hmoty a změny velikosti matrice bez poklesu molárního množství, jelikož enzymy nedokáží penetrovat hluboko do neproniknutelné polymerní matrice. Může se ale stát, že bude rychlost povrchové degradace větší než rychlost difuze vody do polymerní matrice, což způsobí povrchovou erozi. Může tedy dojít k záměně povrchové, enzymatické degradace s povrchovou, hydrolytickou degradací. Naneštěstí je tato záměna u PLGA nepravděpodobná, protože příjem vody je vždy rychlejší než rychlost degradace.

Hydrolytický proces i bez útoků enzymů není jednoduchý a proces degradace PLGA není stále kompletně pochopen. Degradace alifatických polyesterů se jeví jako homogenní (20), ale předpokládáme i v několika málo případech povrchovou erozi (21). Když přípravek s PLGA ponoříme do vodního média, voda penetruje do matrice a začne hydrolytické štěpení esterových vazeb. Rozštěpením esterové vazby vzniká nová karboxylová skupina, která má schopnost katalyzovat další hydrolyzu esterů a tedy zrychlovat degradaci, což je základem mechanismu homogenní degradace (20). Částečně degradované makromolekuly zůstávají po určité době nerozpuštěné ve vodném médiu a degradace probíhá homogenně. Ale když molekulová hmotnost částečně degradovaných molekul klesne natolik, že se rozpustí ve vodném médiu, začne difuze v celém objemu, rozpustné sloučeniny putují k povrchu a pryč z matrice a přitom pokračují v degradaci. Proces je kombinací difuze, chemické reakce a rozpouštění a má tedy za následek rozdíl mezi rychlostí degradace na povrchu matrice a uvnitř matrice. Oligomery nacházející se na povrchu mohou matici opustit ještě před tím, než jsou totálně degradovány na rozdíl od oligomerů, které se nacházejí uvnitř matrice. Oligomery uvnitř matrice zůstávají zachyceny a zvyšují tak její aciditu (léčivo je pak vystaveno kyselému prostředí). Na povrchu je tedy méně volných karboxylových skupin ve srovnání s celým objemem. Výsledkem je tedy na povrchu menší autokatalytický účinek.. Neutralizace koncových karboxylů v pufru může přispět ke snížení rychlosti povrchové degradace (22).

Rychlost degradace je obecně ovlivněna několika fyzikálními a chemickými vlastnostmi:

- Molekulová hmotnost, typ chemické vazby, typ zastoupených monomerů, poměr kopolymerů (PLGA polymery obsahující 50:50 procent kyseliny mléčné a glykolové jsou hydrolyzovány rychleji než PLGA polymery, které obsahují větší poměr jednoho ze dvou monomerů (4)), vliv sousedních funkčních skupin, rozložení chirálních jednotek, sterické bránění (23).
- Počáteční pH (k ovlivnění degradační rychlosti se ukázalo jako užitečné přidání látek regulujících pH), iontová síla, teplota vnějšího média a teplota skelného přechodu.

Dále je závislá na polydisperzitě, krystalinitě (rychlost degradace se obvykle zvyšuje s klesající krystalinitou (19)).

- Velikost, tvar, porozita (na základě mechanismu heterogenní degradace popsal Grizzi a kol. rozdíly v rychlosti degradace. Při srovnání degradačních charakteristik filmů, prášků a mikrosfér z polymeru PLA<sub>50</sub> (racemát kyseliny polymléčné) (24) se dokázalo, že čím jsou tělíška z polymeru menší, tím je rychlost degradace pomalejší. Můžeme tedy říct, že porézní systémy budou pomaleji degradovat než neporézní).

- Přítomnost sloučenin o nízké molekulové hmotnosti (monomery, oligomery, rozpouštědla, iniciátory. Pozornost se zaměřuje v poslední době na možnost ovlivnění degradačních charakteristik některých PLGA polymerů iniciátory degradace.), přísady v polymerní matici a okolním médiu, průběh zpracování matrice.

- Přítomnost léčiva (především vliv hydrofility a acidobazicity léčiva). Díky přítomnosti koncových karboxylových skupin v matici jakákoliv elektrostatická interakce mezi PLGA maticí a kyselou, zásaditou či amfoterní molekulou léčiva významně ovlivňuje degradační charakteristiky změnou acidobazické rovnováhy. Kyselá léčiva urychlují hydrolyzu esterových vazeb (25). Bazická léčiva se mohou chovat jako autokatalyzátory pokud jsou v nadbytku oproti kyselým koncům řetězců a zvyšovat stupeň degradace nebo neutralizují konečná karboxylová rezidua polyesterů, čímž redukuje autokatalýzu kyselých koncových skupin a následně i rychlost degradace. Léčiva s hydrofilními vlastnostmi jsou uvolňována rychleji než hydrofobní, což může být využito k řízenému uvolňování léčiva. Například poly( $\epsilon$ -kapolakton), který je vysoce hydrofobní a krystalický polyester, degraduje velmi pomalu ve srovnání k amorfniému méně hydrofobnímu PLGA. Degradací doba je díky závislostem na těchto proměnných různá (od několika týdnů až po roky) a umožňuje uvolňování léčiva po celou tuto dobu.

### **2.1.1.3 Využití PLGA**

Výzkum PLGA polymerů a kopolymerů je obsáhlý. Vědcům netrvalo dlouho využít výhody biodegradabilních vláken jako materiály pro léčivé přípravky. Díky schopnosti PLGA polymerů rozpouštět se v různých organických rozpouštědlech stejně dobře jako

jejich schopnost vytvarování z nich veliké množství tvarů umožnilo rozšířit jejich užití z biodegradabilních *šicích vláken* na *implantáty, mikročástice, nanočástice a vlákna*.

Jak implantabilní, tak injekčně řízené nosičové systémy jsou velice závislé na degradaci a odstranění přípravku. Kopolymery kyseliny mléčné a glykolové mají jako *nosičové systémy* velký úspěch, jelikož jejich doba degradace může mít rozsah od 3 týdnů do roku, je závislá na složení kopolymeru, metodě přípravy a formulaci (26). Nejrychlejší je degradace u kopolymeru v poměru 50:50 mléčné:glykolové a s nízkou molekulovou hmotností.

PLGA je nejčastěji studovaným polymerem zkoušeným k přípravě biodegradabilních nosičů obsahující analogy gonadotropin releasing hormonu (hormon uvolňující gonadotropin) (GnRH) využívaných *k ovlivnění plodnosti u domácích zvířat* (27). Mikročástice (27), lisované implantáty (28) nebo implantáty tvořené in-situ (29) připravené z různých typů těchto polymerů obsahujících analogy GnRH byly úspěšně užívány pro kastraci psů od 1 do 6 měsíců.

*Vakcinace* je nejúspěšnější procedura, díky které dokážeme předcházet nemocem a ztrátám zvířat. Dobrý nosič vakcín je charakterizován řízeným pulzačním uvolňováním antigenu dostatečnou dobu na to, aby docílil velmi efektivní ochrany proti určitým chorobám a redukoval nebo eliminoval pozdější očkování. Kopolymery esterů kyseliny polymléčné a polyglykolové jsou široce užívány k výrobě biodegradabilních mikrosfér, které působí jako depo pro antigeny vakcíny (30). Mikrosféry menší než 10 µm jsou fagocytovány makrofágy, zatímco větší částice jsou zničeny in vivo ještě předtím, než mohou být vůbec fagocytovány. Tyto poznatky byly demonstrovány na myši intraperitoneálním vstříknutím enterotoxinu B v PLGA mikrosférách o průměru 1-10 µm, 20-125 µm nebo směsí obou velikostí (31). Podání směsí mikrosfér, které se liší velikostí, může navodit dlouhodobou imunitu. Koncentrace antigenu také ovlivňuje rychlost uvolňování antigenu a následnou indukci imunitní odpovědi. Větší množství antigenu v mikrosférách urychluje uvolňování díky tomu, že je více antigenu vázáno blízko povrchu (30).

Existuje mnoho virových infekcí, které vyžadují očkování k indukci protilátek. Např. inaktivovaný Venezuelský virus inkorporovaný do PLGA mikrosfér byl vstříknut myši. Myš, která byla očkována mikrosférami, byla lépe chráněna než myš, které byl vstříknut neinkorporovaný virus. Takové vakcíny se tedy mohou použít při ochraně

před encefalitidou např. u koní (32). Dalším příkladem je virus parainfluenzy způsobující respirační onemocnění u dobytka. Dobytek očkovaný PLGA mikrosférami obsahující virus parainfluenzy ukazoval vyšší titer protilátek (až 70 dní) (33).

Příkladem bakteriální vakcíny je *Salmonella enteritis* inkorporovaná v PLGA mikrosférách (34). Mikrosféry byly podány slepicím pro ochranu kuřat před infekcí pasivní imunizací žloutku. Testované preparáty účinkovaly na stimulaci imunitního systému 9 měsíců.

Také se zkoušejí inkorporované podjednotky antigenu *Fasciola gigantica* v PLGA mikrosférách. *Fasciola gigantica* je cizopasník, který poškozují játra dobytka, ovčím, koním, jelenům, kozám a psům a způsobuje tak ročně milionové ztráty pro hospodářství (35). Tyto náklady by se mohly zredukovat díky léčbě zvířat vhodným očkovacím preparátem.

Jak už bylo řečeno, PLGA a jeho homopolymery jsou vhodné také v technologii implantátů in-situ. Na myši a kanci byl testován přípravek Atrigel technology<sup>TM</sup> obsahující jako antigen ovalbumin (OVA). Ukázalo se, že implantáty efektivně imunizovaly kance k produkci IgG jako odpověď proti malému množství inkorporovaného ovalbuminu po jediném podání. Technika Atrigel technology<sup>TM</sup> je také vhodná k podání směsi antigenů jako je vakcína inaktivovaného pseudorabies viru (PRV) kancům (30).

Implantáty in-situ jsou ve srovnání s mikrosférami dražší a efektivnější nosičové systémy. Obsahují léčivou látku, polymer a organické rozpouštědlo. Polymer je rozpuštěn ve farmaceuticky vhodném rozpouštědle jako je N-methyl-2-pyrrolidon (NMP) nebo benzoylbenzoát. Roztok je pak smíchán s farmaceuticky aktivní složkou, která je také rozpuštěna v rozpouštědle nebo je dispergována v případě nerozpustného léčiva a výsledný roztok nebo suspenze je pak jehlou aplikována s.c. nebo i.m. Po vstříknutí injekce se nosič díky kontaktu s tkáňovou tekutinou vysráží a vytvoří pevný film nebo implantát a rozpouštědlo difunduje do krve. Tato metoda byla poprvé využita ve firmě ATRIX Laboratories a byla pojmenována jako Atrigel technology<sup>TM</sup> (36). Léčivo včleněné uvnitř implantátu se pak uvolňuje řízeně podle času biodegradace matrix polymeru. Uvolňování léčiva může být regulováno např. změnou složení polymeru nebo změnou molekulové hmotnosti polymeru. Díky této jednoduché výrobě je tato technologie cenově výhodnější než např. mikrosféry. NMP, který je často

používán jako rozpouštědlo, způsobuje během aplikace bolestivou reakci, proto by byla alternativní rozpouštědla pro veterinární užití výhodnější (9). Rozpouštědlo musí být biokompatibilní, netoxické, s dostatečně nízkou viskozitou, aby bylo možné jejich injekční podání a aplikace nebyla bolestivá.

PLGA se také používá k přípravě *preparátu s řízeným uvolňováním vitamínů*. Mikročástice obsahující vitamín B<sub>12</sub>, který se uvolňuje více než 20 dní, se užívají ke zlepšení energetického a proteinového metabolismu u zvířat (SmartShot™) (6).

Biodegradabilní polymery ve formě mikrosfér byly zkoušeny u dobytka pro schopnost uvolnění látky, která po injekčním podání *ovlivňuje jejich růst*. Pro podporu růstu u dobytka se už přes 40 let užívají steroidy. Vývoj rekombinantní technologie ale dovoluje ve velkém měřítku produkci somatotropinu a tedy i jeho komerčního využití k redukci tuku v mase. Somatotropin zvyšuje také produkci mléka u dojníc. Díky fyzikálně-chemickým vlastnostem ale somatotropin a ostatní peptidy a proteiny ztrácí svou aktivitu po orálním podání a jejich absorpce je velmi malá. Ve výzkumu jsou proto parenterální nosičové systémy pro dlouhodobé uvolňování peptidů nebo proteinů podporující růst, jako jsou somatotropin, analogy growth hormone releasing factor (faktor uvolňující růstový hormon- GHRF) nebo syntetický growth hormone releasing hormone (hormon uvolňující růstový hormon- GHRH) (37).

PLGA (kopolymery v poměru 85:15) a prasečí rismorelin byly zpracovány do mikrosfér metodou vypaření modifikovaného rozpouštědla. Touto metodou se snižuje rozpustnost peptidu ve vodě a tím se v průběhu snižuje jejich ztráta (38). Podání prasečího rismorelinu obsaženého v mikrosférách prasatům vede k redukci exkrece dusíku močoviny v moči a séru, což ukazuje, že prasata odpovídají na léčbu přestavbou močoviny na proteiny a svaly. Rismorelin byl uvolňován stejnou rychlostí dlouhou dobu, tudíž jsou PLGA mikrosféry vhodné pro dlouhodobé dodání tohoto peptidu. Další možností jak zrychlit růst u skotu je podání PLGA mikrosfér obsahující analogy GHRF (37). Uvolněné analogy GHRF vyvolávají vzrůst koncentrace somatotropinu v séru po dobu dvou týdnů. Navazující studie se musí zaměřit na stanovení koncentrace somatotropinu v séru, která je dostačující k ovlivnění růstu.

Aktuálně ale nejsou na trhu žádné biodegradabilní preparáty k ovlivnění růstu. Důvodem je jejich vysoká cena. Krátce je dostupný komerční přípravek (Monensin

RDD™) skládající se z PLGA a monensinu sodného, což je antimikrobiální látka ovlivňující růst skotu (39).

I v oblasti *boje proti ektoparazitům* se výzkum věnuje vývoji biodegradabilních nosičů (40). Blecha, klíště, moucha aj. způsobují svým hostitelům utrpení. Např. u domácích zvířat ektoparazité způsobují onemocnění kůže, které ovlivňuje jejich pohodu. U skotu se projevuje ztráta váhy a dochází k redukci produkce mléka. Pro léčivé látky typu ivermektinů nebo makrocyclických laktonů se zkouší nosiče z PLGA.

Mikrosféry obsahující ivermektin a PLGA (kopolymery v poměru 50:50 a 90:10) byly připraveny technikou odpařování rozpouštědla. Studie na španělských kozách ukázaly, že ivermektin uvolněný z PLGA mikrosfér vytváří terapeutickou hladinu po dobu 10-12 týdnů.

Použití PLGA je velmi výhodné pro dlouhodobé nosiče ivermektinu, nemusí být tak často podávány jako např. komerční bolus (IVOMEK®<sup>SR</sup>). Dokonce je při léčbě spotřeba léčiva nižší, použijeme-li místo intraruminálního bolusového systému mikročástice (41).

PLGA mikrosféry nebo implantovatelné pelety s methoprenem byly také testovány u skotu k léčbě ektoparazitů (42). Po subkutánním podání preparátu do uší zamořeného skotu se předešlo vývoji larvy v dospělého jedince.

Pro skot byly vyvinuty PLGA mikrosféry obsahující cefadrin a  $\beta$ -laktámová *antibiotika* (43).

Jelikož onemocnění sítnice u lidí stále přibývá, je v dnešní době výzkum v oblasti očních léků z velké části zaměřen na vývoj léčivých přípravků umožňujících dodání léčiv do zadních segmentů oka. Jenom během posledního desetiletí se na farmaceutický trh dostalo několik takových přípravků a řada terapeutických systémů je v posledních fázích klinických zkoušek. *Oční implantáty* obsahující léčivo donedávna tvořily velmi úzkou skupinu a používaly se převážně u očních operací k zabránění pooperačních komplikací. Ve výzkumných pracích posledních let se stále častěji setkáváme s implantáty, které rovněž mohou sloužit jako terapeutické systémy zaručující stálou dávku léčiva v očních tkáních po dobu měsíců až let. Ze skupiny biodegradovatelných implantátů je pro klinickou praxi v některých zemích (Singapur, Čína, Mexiko) již

schválen Surodex®, v řadě dalších zemí probíhají klinické zkoušky. Peleta z dexamethasonu (60 mg) a kopolymeru kyselin glykolové a mléčné (44) je určena k prevenci zánětlivých komplikací po operaci katarakty. Posurdex® je rovněž peleta z PLGA, jenom s vyšším obsahem dexamethasonu (350 nebo 700mg). Tento implantát je ve stádiu klinických zkoušek (45).

Prvním využitím kopolymeru kyseliny mléčné a glykolové v medicíně bylo šicí vlákno Vicryl, od té doby se výzkum rapidně posunul dopředu. V současné době se například studuje využití kopolymeru PLGA jako *médium pro růst kmenových buněk*. Snahou je *obnovit přetržené nervové dráhy míchy*. PLGA tvoří jakési lešení pro zachycení nervových kmenových buněk. Vědci se díky jejich upoutání v polymeru snaží napravit a obnovit funkce přerušovaných nervů. Evan Snyder z Burnham Institute vytvořil speciální lešení, které drží nervové kmenové buňky tak, aby se nerozutekly dříve, než stačí vytvořit funkční propojení s okolními vlákny. Velikost takového lešení se pohybuje v rozměrech milimetrů a tvoří ho materiál z PLGA. Poslední pokusy, při nichž Snyderův tým použil PLGA do něž zabudoval kmenové buňky, se jeví velmi nadějně. Pokusy probíhají tak, že se nejprve hlodavcům přestříhne mícha a poté jim v přerušném místě aplikují lidské kmenové buňky upoutané ve struktuře PLGA.

Jinde např. na univerzitě v Tallahassee vytvářejí z PLGA pěnu, kdy jednotlivé bublinky tvoří matrici, na které se snaží vypěstovat funkční *plicní tkáň*. Z PLGA udělají pěnu, která má určitou velikost bublin. Bubliny imitují plicní sklípky a na takto zformované pěně nechávají růst buňky. Doufají, že se jim tak podaří vypěstovat funkční plicní tkáň, která by se dala aplikovat pacientům, kteří nyní umírají v důsledku zadušení, protože jim z nějakého důvodu špatně fungují jejich vlastní plicní alveoly.

V neposlední řadě je snahou na fóliích z kopolymeru nízkomolekulárních polymerů kyseliny mléčné a glykolové kultivovat *lidské osteoblasty*. Tyto pokusy si zase kladou za cíl vypěstovat kost potřebných tvarů in vitro. Prakticky se jedná o pokusy nechat růst kost podle předem dané zakázky a mimo tělo. Tyto pokusy provádí Marianne Ellisová na universitě v Bath. (46).

### 2.1.2 POLYMER KYSELINY MLÉČNÉ (PLA)

Polymerní biomateriály odvozené od kyseliny mléčné mají široké využití v medicíně obzvláště jako *bioodbouratelné stehy*.

I PLA se využívá spolu s ivermektinem k přípravě mikrosfér *k léčbě ektoparazitů*. Studie na španělských kozách ukázaly, že ivermektin uvolněný z PLA mikrosfér vytváří terapeutickou hladinu po dobu 24 týdnů. PLA mikrosféry nebo implantovatelné pelety s methoprenem byly také testovány u skotu k léčbě ektoparazitů (42).

PLA mikrosféry naplněné ofloxacinem nebo klarithromycinem jsou příkladem biodegradabilních polymerů používaných k uvolňování *antibiotik* (47). Na ovcích byly v poslední době zkoušeny nové biodegradabilní injekční gelové preparáty pro prolongované uvolňování oxytetracyklinu (48). Atrigel technology<sup>TM</sup> byla úspěšně využita k vývoji dentálních gelů k léčbě ozubice u psů. Z DL-PLA implantátu tvořícího se in-situ se uvolňuje nejméně 7 dní antibiotikum doxycyklin (HESKA PERIOceutic Gel<sup>TM</sup>).

DL-PLA je používán např. i k výrobě mikrosfér obsahující steroidy. Komerčně dostupný preparát (Lutamate Plus<sup>TM</sup>) je používán pro přesné *řízení ovulace* u kobyly. Mikrosféry pro intramuskulární injekce obsahují 100 mg estradiolu a 1250 mg progesteronu. V kontrolované multicentrální klinické studii se 135 kobylymi se po následující léčbě zvýšil počet kobyly, u kterých se objevila říje, z 63 na 87 % (49).

*K zabránění početí* u žen se zkoušejí pro dlouhodobou aplikaci progestinů také biodegradabilní nosiče z polymerů kyseliny mléčné ve formě mikrokapsulí, pelet a tyčinek. Účinnou látkou je levonorgestrel, norethisteron, norgestimat nebo mikronizovaný progesteron. Koncentrace norethisteronu dostatečné k zábraně početí se udržují po dobu 24 měsíců, po 36 měsících implantát z těla a hormon z krve vymizí úplně (50).

Na počátku 90. let vznikl koncept lokálních nosičových systémů s cílem dodat velmi nízkou dávku cytostatické či cytotoxické látky selektivně k poraněnému místu na cévní stěně. Testována byla řada postupů s nejrůznějšími nosičovými systémy. V současné době se uplatňují dva hlavní způsoby lokálního dodání léčiva, jednak prostřednictvím stentů přímo potažených imobilizovanou látkou, jednak lék navázaný a uvolňovaný

z polymerové matrix. Cílem místního podání je lokalizovaný terapeutický účinek látky v cílové tkáni, dosažení vyšší koncentrace v místě cévního poškození bez závažných vedlejších/toxických účinků spojených se systémovým podáním. *Stent uvolňující léčivo* v sobě spojuje mechanické vlastnosti stentu nezbytné k získání okamžitého optimálního angiografického výsledku s požadavkem na léčivou látku příznivě ovlivnit zotavení cévy z poranění způsobeného implantací stentu. Rozvoj technologií v posledních 5 letech učinil tento přístup bezpečným a efektivním. Lék a stent interagují komplexním způsobem ovlivňujícím lokální dávku účinné látky, její distribuci a efekt. K důležitým parametrům pro dosažení optimálních koncentrací a optimálního uvolňování léku v čase patří plocha povrchu stentu, druh potahového materiálu a způsob navázání léku, stejně jako vlastnosti farmaka, zejména jeho rozpustnost a nespecifická vazba ke tkáni.

Příznivé výsledky byly zatím pozorovány při použití poly-L-laktózových stentů (PLLA) s minimální zánětlivou reakcí. Studie in vitro pak prokázaly snížení destičkové adheze a trombogenicity PLLA stentů ve srovnání s tradičními stenty kovovými. K dispozici jsou rovněž údaje z klinické studie na 50 pacientech (51). Stent je samoexpandující a během 18 až 24 měsíců zcela degraduje. Jednorozhodní pozorování pacientů s tímto stentem ukázalo na nekomplikovaný průběh u 82,4 % pacientů, výskyt restenózy v 6 měsíci byl 20 % a po roce 17 %.

Možným kompromisem mezi mechanickými nároky na stent a biodegradabilitou je buď metalický stent s biodegradabilním potahem s navázanou látkou, nebo stent z biodegradabilního materiálu s navázanou látkou, eventuelně varianta biodegradabilního stentu potaženého dalším biodegradabilním polymerem s navázanou účinnou látkou. Stent PLLA je v současné době testován v klinické studii s místním uvolňováním tranilastu.

Přímé dodání léku do cílového místa stenózy v koronární tepně má řadu výhod. Dávka léčiva takto podaná je nižší ve srovnání s dávkou, kterou by bylo třeba podat systémově, riziko vzniku nežádoucích účinků léku je tak nižší. Lék může být podán cíleně k ovlivnění patologického procesu a působit po dobu možného trvání cévní reakce na poranění intervencí (52).

Na Floridské státní univerzitě v Tallahassee se také snaží najít cestu jak *obnovit nervové spoje* v porouchané míše s pomocí PLA (46).

PLA jsou také hojně používány pro *stavbu srdeční tkáně*, pro *odbouratelné fixační zařízení* při léčbě malých zlomenin aj. Tyto ortopedické implantáty se přirozeně přizpůsobí tělu a jsou jím postupně metabolizovány. Hmota polymeru je po částech transportována do zlomené kosti, kde pomáhá hojícímu procesu (53).

### **2.1.3 POLYMER KYSELINY GLYKOLOVÉ (PGA)**

Polyglykolová kyselina byla užita k enkapsulaci prasečího somatotropinu (pST) do mikrosfér s cílem *ovlivnění růstu* zvířat. Bylo ale zjištěno nedokonalé uvolnění pST z mikrosfér (méně než 30 % množství léčiva v mikrosférách), což je přisouzeno nestabilitě pST v preparátu (54). Díky tomuto zjištění se vývoj zabývá hledáním více stabilních peptidů a proteinů, které stimulují uvolňování somatotropinu, jako jsou analogy GHRF, prasečí rismorelin nebo syntetický GHRH.

### **2.1.4 KOPOLYMERY Z PLA A PLGA**

#### **2.1.4.1 Kopolyмеры z polyethylenglykolu a polyethylenoxidu**

Současný výzkum se zaměřuje na sloučení polyethylenglykolu (PEG) nebo polyethylenoxidu (PEO) s PLA nebo PLGA. Snahou je zkombinovat biokompatibilní a hydrofilní vlastnosti PEG s degradabilitou PLGA a získat tak kopolymer, jehož charakteristiky by byly různé, od hydrofilního po hydrofobní a z nedegradabilního až k degradabilnímu, v závislosti na jejich složení. (Struktura PEG a PEO je stejná, obvykle jako jsou PEG označeny polymery s molekulovou hmotností menší než 20 000 a PEO zase polymery s větší molekulovou hmotností.) Jedni z prvních kdo vyzkoušel blokové kopolyмеры z PLA<sub>100</sub> a PEO byli Cohn a Younes v roce 1988 (55) a v jejich dalších pracích s náhodnými blokovými kopolyмеры z PLA a PEG hodnotili degradační chování tohoto materiálu (56) a jejich prospěšnost jako mikročástice k řízenému uvolňování léčiva. Zdá se, že je degradační rychlost silně závislá na obsahu PEG.

Triblokové kopolyмеры s centrálním POE nebo PEG a dvěma koncovými skupinami PLA jsou ve velkém zájmu pozornosti (57).

#### 2.1.4.2 Kopolymery z $\epsilon$ -kaprolaktonu

Mnoho vědců také zkoumá kopolymery z PLA nebo PGA s  $\epsilon$ -kaprolaktonem. Rychlost degradace je dána poměrem jednotlivých složek v kopolymeru. Sawhney a Hubbell zkoumali sérii 66 různých termopolymerů DL-mléčné kyseliny, glykolové kyseliny a  $\epsilon$ -kaprolaktonu a určovali jejich rychlost degradace. Nejpomalejší degradace byla u polymerů z glykolové, mléčné kyseliny a  $\epsilon$ -kaprolaktonu v poměru 2:1:7, zatímco nejrychlejší degradace byla prokázána u poměru 6:3:1. Tyto polymery degradují homogenně a během degradace lze pozorovat krystalickou fázi složenou hlavně z poly-L-mléčné kyseliny a amorfni, která se skládá zejména z  $\epsilon$ -kaprolaktonu. Porézní kopolymery s obsahem 50 %  $\epsilon$ -kaprolaktonu se využívají jako *implantáty pro tkáňovou regeneraci v koleně*. (58)

#### 2.1.4.3 Ostatní kopolymery

Existuje mnoho dalších zkoumaných kopolymerů, např. kopolymery s glycinem (59), p-hydroxyokořicovou kyselinou (60), aspartovou kyselinou (61). Všechny tyto materiály by měly být biodegradabilní, i když mají jinou degradaci a vlastnosti uvolňování než samotná PLA nebo PLGA.

#### 2.1.5 POLY( $\epsilon$ -KAPROLAKTON) (PCL)

Poly( $\epsilon$ -kaprolakton) (PCL) se zdá být vhodný biodegradabilní polymer pro výrobu vaginálních léčivých nosičových systémů pro podání progesteronu *k ovlivnění říje a k synchronizaci říje* krav, ovcí, prasat a koní (62). Synchronizací říje převážně u dobytka je řízena reprodukce zvířat. Tichá říje je u dobytka v mnoha případech odpovědná za neplodnost a je proto hlavním důvodem pro manipulování s říjí a ovulací pomocí synchronizace říje samic, které jsou oplodněny v předem určenou dobu. Řízená reprodukce má různé výhody:

- používání umělého oplodnění pomocí čerstvého nebo zmrazeného spermatu zabezpečuje genetickou různorodost chovu a zabraňuje přenosu nemocí
- je redukována doba a práce věnovaná detekci říje
- dovoluje reprodukci během roku a zlepšuje reprodukční efektivnost (12).

Na skotu byly porovnávány PCL inserty s komerčně dostupným nedegradabilním silikonovým insertem (CIDR-B<sup>TM</sup>). Oba obsahují 10 % w/w progesteronu. Po sedmi denní terapii dosahoval progesteron po podání PCL insertu stejné průměrné koncentrace v plazmě jako po podání silikonového insertu (63).

Pro modifikaci uvolňování progesteronu z vaginálních insertů se začleňuje do základu laktóza, polyethylenoxid nebo různé typy cyklodextrinů. PCL inserty jsou dobře tolerovány zvířaty, jsou bioekvivalentní ke komerčním silikonovým insertům. Studie ukázaly, že PCL inserty obsahující 10 % w/w progesteronu jsou klinicky přinejmenším tak efektivní jako komerční silikonové produkty (64).

I PCL je dalším testovaným polymerem využívaný jako nosič pro léčiva používaná v *boji proti ektoparazitům* (40).

## **2.2 POLYVINANY**

Polyestery mají jednu charakteristickou společnou věc, a to že hydrolyticky citlivé skupiny jsou umístěny v hlavním řetězci polymeru. Tato charakteristická vlastnost pobízí k vývoji nových biodegradabilních polymerů odvozených od kyseliny vinné, která obsahuje navíc k esterové vazbě v řetězci polymeru také keto skupinu. Takzvané polyvinany se zdají být nadějně díky možnosti modifikace v polymerní struktuře. Dřívější experimenty ukázaly použitelnost popsaných polyvinanů pro řízené uvolňování léčiva, nicméně až dosud nejsou tyto polyvinany komerčně využívány (65).

## **2.3 POLYORTHOESTERY**

Obecně polyestery degradují delší dobu, což je nepříznivé, když potřebujeme, aby léčivo bylo uvolněno jen za pár dní nebo týdnů. Kvůli této skutečnosti byl proto zájem posunut na polymery, které se degradují rychleji a dovolují řídit uvolňování léčiva výhradně erozí polymeru, což vedlo k vývoji polyorthoesterů (POE) (66).

POE první a druhé generace jsou pevné materiály, zatímco polymery následujících generací jsou polotuhé a umožňují tak inkorporaci léčivé látky nebo přísady jednoduchým smísením. Vyvarujeme se tak potřebě rozpouštědel nebo zvýšené teploty, což je hlavní výhodou nad ostatními polymery. Jelikož je vazba orthoesterů acidolabilní, rychlost degradace můžeme modulovat pomocí pH. Snížením pH dochází při styku vody s polymerem ke zrychlení hydrolýzy, zatímco zvýšené pH vede ke snížení rychlosti hydrolýzy. Doba degradace POE se může různit od několika dní po několik měsíců. Proto jsou tyto polymery využívány pro krátce i dlouhodobě působící nosičové systémy (67).

### **2.3.1 VYUŽITÍ POE**

Také POE s nízkou molekulovou hmotností a obsahující 30 % mléčných kyselin v řetězci byla použita pro *synchronizaci říje* u ovcí (68).

Polotuhé polyorthoestery jsou zajímavými polymery využívanými ve veterině k injekční aplikaci v léčbě *gastrointestinálních potíží* u psů (67) projevující se hlavně zvracením. Metoklopramid (léčba a prevence různých typů zvracení) musí být v důsledku krátkodobého biologického poločasu podáván p.o. 4x denně k udržení terapeutické koncentrace po celý den (7). Užitečným by proto byl retardovaný preparát na 3-5 dní, který zabránil kolísání plazmatické hladiny léčiva. Toto kolísání hladin léčiva způsobuje totiž nepříznivé reakce zejména v dlouhodobé terapii a užitím retardovaného preparátu by došlo tedy i ke zlepšení compliance. Preparát byl připraven jednoduchým smícháním léčiva a viskózního POE.

I v *léčbě ektoparazitů* jsou novými testovanými nosiči polymery POE (40).

## **2.4 POLYANHYDRIDY**

Další skupinou biodegradabilních polymerů jsou polyanhydridy. Byly zkoumány v 80. letech minulého století jako *nosiče léčiv* a jejich množství v posledních letech

ohromně vzrostlo. Nejlépe charakterizované polyanhydridy jsou p(CPP-SA), což je kopolymer kyseliny sebakové (SA) a 1,3-bis(*p*-karboxyfenoxy)propanu (CPP) a p(FA-SA) složený z kyseliny sebakové a fumarové (FA). Za výhodu polyanhydridů se může považovat fakt, že obsahují více reaktivních funkčních skupin vhodných pro degradaci. Polyanhydridy degradují díky jejich chemické povaze velice rychle předvídatelnou rychlostí několik dní až týdnů. Proto hlavním použitím této skupiny polymerů jsou krátkodobě řízené nosičové systémy bioaktivních látek. Rychlost degradace může být regulována hydrofobními a hydrofilními komponenty v kopolymeru. Na rozdíl od PLA, PLGA a PCL polyanhydridy a POE podléhají povrchové erozi, protože jsou složeny z rychle degradujících funkčních skupin. Proto může být uvolňování léčiva řízeno hlavně erozí polymeru. Ačkoliv se zdá, že je povrchová eroze pro ně charakteristická, je silně spojena s velikostí přípravku a pod kritickým velikostním limitem tuto vlastnost ztrácí (69).

Jsou to polymery také vhodné pro studium *ovlivnění reprodukce* ve veterinární oblasti. K navození ovulace a tvorbě spermií u ryb byly připraveny technikou dvojité emulze p(FAD-SA) mikrosféry obsahující analog GnRH (D-Ala<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>NEt-GnRH).

## **2.5 POLYVINYLALKOHOL**

### **2.5.1 NOSIČOVÉ SYSTÉMY Z PVA**

Polyvinylalkohol (PVA) je hydrofilní, semikrystalický polymer, který jako první syntetizovali v roce 1924 Hermann a Haehnel polymerací vinylacetátu a následnou hydrolyzou na PVA. Dnes má PVA různé užití od textilních vláken, stabilizátorů emulzí až k biomedicínskému využití (70). Biokompatibilita dělá z polymeru výborný materiál pro medicínské využití, je prozkoušen jako *nosič léčiv* (71).

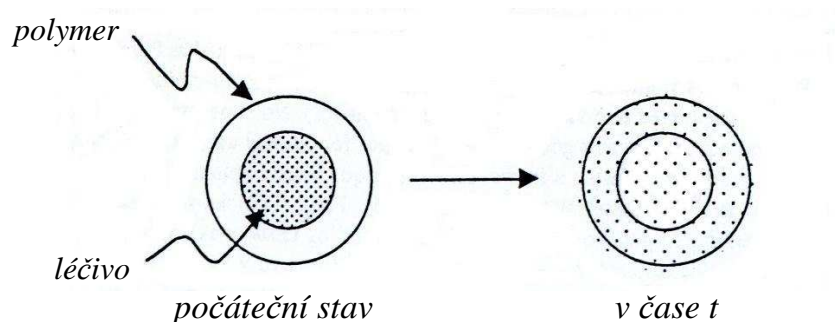
Řízené nosičové systémy nabízejí mnoho výhod (75). Řízené uvolňování přípravku udržuje koncentraci léčiva uvnitř cílené oblasti po určitou dobu. Přípravek může být implantován nebo aplikován na specifické místo na těle pro poskytnutí dávky léčiva a může doručovat lék po dlouhou dobu. Dalšími výhodami je, že většinou je aplikace

nebo implantace jednorázová, což redukuje následnou požadovanou péči a zlepšuje pacientovu compliance.

Změnou stupně hydrolyzy je možné ovlivnit disoluční charakteristiky polymeru ve vodě, vznikají tak polymery ve vodě rozpustné až ve vodě nerozpustné. PVA může být také lehce zesítěná, vytvoří se tak ve vodě nerozpustná síť neboli hydrogel, který ve vodě bobtná. Stupeň krystalinity má také významný efekt na difuzní koeficient léčiva z polymeru. Stupeň krystalinity je možno snadno změnit použitím tepla nebo mechanickými technikami. Rozpustnost polymeru a krystalizace ovlivňuje tedy rychlost difuze léčiva z PVA přípravku. Směsi PVA s dalšími polymery mohou být také užity k úpravě mechanismu uvolňování léčiva (76).

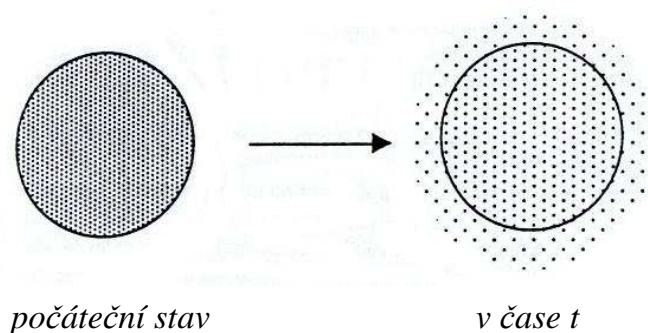
Nosičový systém z PVA může být také rezervoárem nebo matricí (75). U rezervoáru polymer obaluje jádro s léčivem a léčivo postupně difunduje přes obal (obr. 1).

Obr. 1: Uvolňování léčiva z rezervoárového systému (75):



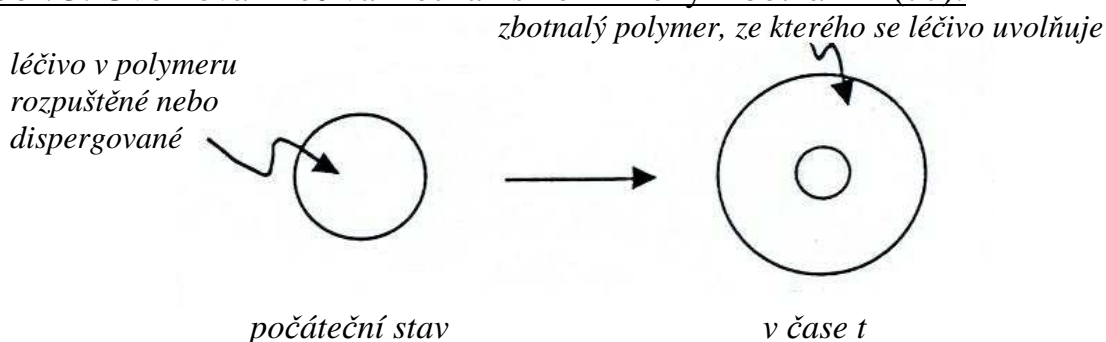
V matricovém systému je léčivo rovnoměrně rozpuštěno nebo dispergováno v polymeru (obr. 2).

Obr. 2: Uvolňování léčiva z matricového systému (75):



Různé mechanismy uvolňování léčiva z PVA systémů mohou být klasifikovány na:  
**a) mechanismy řízené botnáním**- když je PVA vystaveno vodě, začne botnat (obr. 3)  
a míra botnání ovlivňuje uvolňování léčiva ze systému.

**Obr. 3: Uvolňování léčiva mechanismem řízeným botnáním (77):**

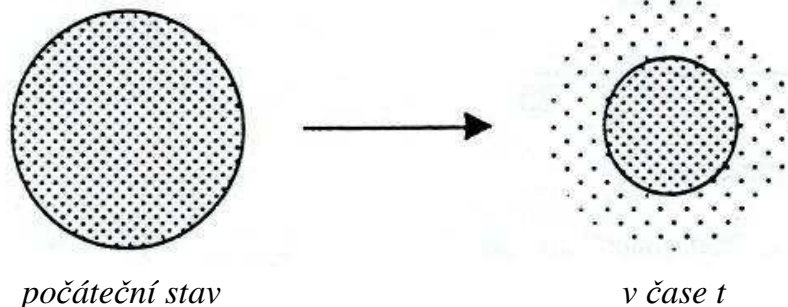


Tyto systémy mohou být klasifikovány podle výrobní techniky:

- chemicky zesítené systémy (výhodou je, že existuje mnoho způsobů k řízení stupně síťování, které následně řídí rychlost uvolňování léčiva. Tato příprava může ale zanechat toxická rezidua, která mohou být škodlivá a musí být odstraněny) (77),
- systémy zesítené fyzikálně- UV záření, tepelné záření (fyzikálně zesítené PVA má vlastnosti chemicky zesítených PVA, ale neobsahují žádné škodlivé síťovací přísady. Nevýhodou je to, že nejsou dlouhodobě stabilní oproti chemicky zesíteným) (78),
- systémy vyrobené zpracováním při vyšší teplotě (79).

**b) mechanismy řízené rozpouštěním polymeru**- polymer se rozpouští a je vylučován z těla, proto nemůže být použito PVA s velmi vysokou molekulovou hmotností.. Rychlost rozpouštění řídí rychlost uvolňování léčiva (obr. 4). Tato eliminace je potřebná k odstranění polymerového implantátu po uvolnění léčiva (80).

Obr. 4: Uvolňování léčiva řízené rozpouštěním polymeru (80):



**c) mechanismy uvolňující léčivo ze systému rozpouštěním krystalů-** rychlost uvolňování je řízena změnou fáze polymeru z krystalické na amorfní. Výhodou tohoto systému je snadnost ovlivnění rychlosti uvolňování pomocí vysoké teploty a nemusí se tedy použít toxických zesilovačů. Není vhodný pro termolabilní léčiva (81).

**d) modulované uvolňování léčiva ze systému-** např. vně modulované přípravky jsou aktivovány vnějším podnětem jako je elektrické pole (82).

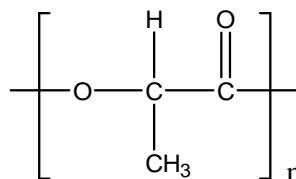
### 2.5.2 VYUŽITÍ PVA

PVA není využíván pouze jako nosičový systém léčiv, ale je zkoušen i jako materiál pro výrobu *náhradních orgánů* (72) nebo *kontaktních čoček* (73). Mnoho studií bylo vedeno k hodnocení biokompatibility polymeru. PVA hydrogely byly implantovány do sklivce králíků. Nebyly nalezeny žádné abnormality na rohovce ani čočce, což signalizuje dobrou biokompatibilitu PVA hydrogelů pro klinické užití. Implantáty *umělých kloubních chrupavek* vyrobených z krystalického PVA ukázaly velmi mírnou zánětlivou reakci tkání jako odpověď na implantát (72). Mnoho studií také zkouší *vazbu přírodního heparinu* na povrch PVA v krvi (74).

Tab.1.: Chemická struktura biodegradabilních polymerů:

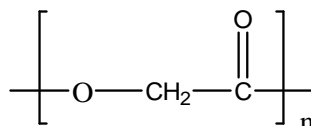
*Polylaktid*

**PLA**



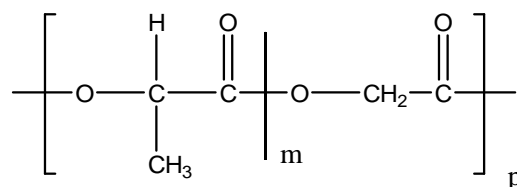
*Polyglykolid*

**PGA**



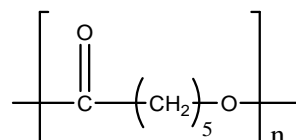
*Poly(lactid-co-glykolid)*

**PLGA**

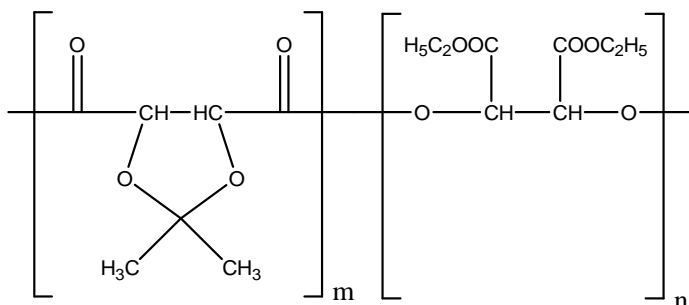


*Poly(ε-kaprolakton)*

**PCL**

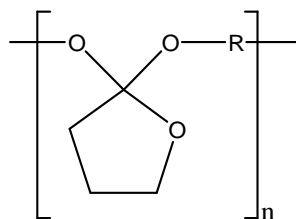


*Polyvinan*

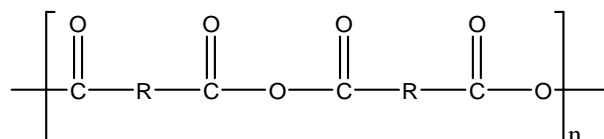


*Polyorthoester (příklad)*

**POE**

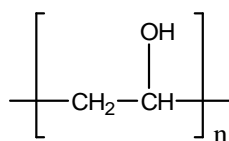


*Polyanhydrid (příklad)*



*Polyvinylalkohol*

**PVA**



## **2.6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK**

<b>DL-PLA</b>	D, L konfigurace kyseliny polymléčné
<b>GHRF</b>	faktor uvolňující růstový hormon
<b>GHRH</b>	hormon uvolňující růstový hormon
<b>GnRH</b>	hormon uvolňující gonadotropin
<b>i.m.</b>	intramuskulární podání
<b>NMP</b>	N-methyl-2-pyrrolidon
<b>PCL</b>	poly( $\epsilon$ -kaprolakton)
<b>PEG</b>	polyethylenglykol
<b>PEO</b>	polyethylenoxid
<b>PGA</b>	kyselina polyglykolová
<b>PLA</b>	kyselina polymléčná
<b>PLA<sub>50</sub></b>	racemát kyseliny polymléčné
<b>PLA<sub>100</sub></b>	kyselina poly-L-mléčná
<b>PLLA</b>	kyselina poly-L-mléčná
<b>PLGA</b>	kopolymer kyseliny mléčné a glykolové
<b>POE</b>	polyorthoestery
<b>p.o.</b>	perorální podání
<b>pST</b>	prasečí somatotropin
<b>PVA</b>	polyvinylalkohol
<b>s.c.</b>	subkutánní podání

### 3. CÍL PRÁCE

Cíl rigorózní práce byl zadán v návaznosti na téma, které bylo řešeno v rámci diplomové práce v letech 2007-2008. Studium interakcí matric ze čtyř různých oligoesterů a polyesterů kyselin DL-mléčné a glykolové bylo rozšířeno o metodicky stejnou studii chování matric, které měly větší velikost a dále matrice plastifikované triethylcitrátem. Stejně jako cíl diplomové práce je možno cíl rigorózní práce rozčlenit do následujících bodů:

- 1) Metodou injekčního formování taveniny v silikonových trubičkách připravit matrice tvaru válečků hmotnosti od 150 mg do 1250 mg z polymerů nebo oligomerů alifatických  $\alpha$ -hydroxykyselin s větvenými molekulami.
- 2) Připravit matrice různých hmotností a případně vyzkoušet vliv přidaného 20 % triethylcitrátu na jejich chování.
- 3) Testovat interakce matric s vodou při 37 °C po dobu 28 dní z hlediska jejich botnání, eroze a koncentrace molekul rozpustných ve vodě.
- 4) Z dosažených výsledků získat konkrétní poznatky a podklady pro formulaci závěrů o mechanismu atypického oscilačního průběhu botnání matric při různých podmínkách.

## **4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

### **4.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A CHEMIKÁLIE**

#### **4.1.1 CHEMIKÁLIE**

Oligoesterové nosiče (viz tab. 2), Katedra farmaceutické technologie, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Destilovaná voda, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Ethanol 96 %, Penta Chrudim

Hydroxid draselný p.a., Lachema a.s.

Chloroform p.a., Penta

Chlorid sodný p.a., Lachema a.s.

Methanol p.a., Lachema a.s.

Phenolphthaleinum, Zdravotnický závod, Říčany u Prahy

Triethylcitrát, Merck

#### **4.1.2 PŘÍSTROJE**

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

Biologický termostat, BT 120, Laboratorní přístroje Praha

Digitální váhy, KERN 440-35N (max. 400 g, d=0,01 g)

Horkovzdušná sušárna, MEMMERT ULE 400

Míchačka, HEIDOLPH MR 3001

Vakuová sušárna, BINDER VD23

#### **4.1.3 CHARAKTERISTIKA POUŽITÝCH OLIGOESTEROVÝCH NOSIČŮ**

Použité polymery byly syntetizovány na katedře farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové.

Syntéza: stupňová polykondenzace ternární směsi složené z ekvimolárního podílu kyseliny DL-mléčné a kyseliny glykolové doplněné větvicími monomery

dipentaerythritolem v hmotnostní koncentraci 2 % nebo tripentaerythritolem v hmotnostní koncentraci 3 % nebo 5 %.

Molekulové hmotnosti byly stanoveny metodou GPC-MALLS, hodnota  $T_g$  metodou DSC.

**Tab 2. Charakteristiky testovaných oligoesterových nosičů**

nosič	D/T [%]	$M_n$	$M_w$	$M_w / M_n$	MP	$M_z$	$M_{z+1}$	$g'$	$\Delta C_p$	$T_g$
2D	2/0	2645	6174	2,33	6287	9271	12391	0,52	1,618	17,9
5T	0/5	3016	8555	2,84	6379	15025	22625	0,34	0,471	17,2
3T	0/3	3355	13334	3,97	9074	27152	43224	0,31	0,508	21,7

Použité symboly:

- 2,3,5** koncentrace větvičího monomeru [%]  
**D** dipentaerythritol  
**T** tripentaerythritol  
 **$M_n$**  číselně střední relativní molekulová hmotnost  
 **$M_w$**  hmotnostně střední relativní molekulová hmotnost  
 **$M_w/M_n$**  stupeň polydisperzity  
**MP** pík relativní molekulové hmotnosti  
 **$M_z$**  charakteristika frakce velkých molekul ve vzorku  
 **$M_{z+1}$**  charakteristika úzké frakce extrémně velkých molekul ve vzorku  
 **$\Delta C_p$**  tepelná kapacita [ $J/K.g$ ]  
 **$g'$**  index větvení molekul  
 **$T_g$**  teplota skelného přechodu [ $^{\circ}C$ ]

## **4.2 STANOVENÍ STUPNĚ BOTNÁNÍ A STUPNĚ EROZE TESTOVANÉHO NOSIČE**

### **4.2.1 PŘÍPRAVA MATRIC**

K přípravě matric ze zkoušeného polymeru byly použity hadičky ze silikonové pryže o vnitřním průměru 4 a 6 mm. Hadičky byly nejprve umyty pomocí injekční stříkačky naplněné vodou s detergentem a vypláchnuty destilovanou vodou. Poté byly hadičky umístěny do horkovzdušné sušárny vyhřáté na 80 °C.

Mezitím bylo naváženo potřebné množství polymeru navýšené o předpokládané ztráty, cca 20 %. Kádinka s naváženým polymerem byla umístěna do silikonové lázně na magnetickou míchačku. Teplota lázně se udržovala na hodnotě o cca 20 °C vyšší než je teplota skelného přechodu daného polymeru. Postupně měknoucí polymer nebyl míchán z důvodu vyvarování se vzniku vzduchových bublin.

Po dostatečném zahřátí polymeru a jeho přechodu do plastického stavu byla horká hadička připojena jedním koncem k peristaltickému čerpadlu a druhým koncem byla ponořena do roztaveného polymeru. Poté, co přestala tavenina v hadičce stoupat (chladnutí polymeru), byla hadička ustřižena a konce hadičky se uzavřely pryžovými zátkami. Tento celek se nechal chladnout v rovné poloze s ohledem na jeho další snadnější zpracování a byl umístěn přes noc do exsikátoru.

Po ztuhnutí byla silikonová hadička rozříznuta podél pomocí žiletky a sklovitý polymer byl vyjmut. Vzhledem k hygroskopičnosti materiálu se pracovalo v rukavicích.

Vzniklé válce o průměru 4 mm byly poté nařezány na délku cca 1 cm pomocí speciálně upravené žiletky. Na upravené žiletce se nastavila vzdálenost břitu od dorazu tak, aby výsledná matrice měla hmotnost  $150 \text{ mg} \pm 5 \%$ , tzn. v intervalu 142,5 až 157,5 mg včetně. Každý váleček se jednotlivě zvážil, pokud byl váleček těžší než 157,5 mg, byla jeho hmotnost upravena pomocí jemného smirkového papíru. Válečky s hmotností pod 142,5 mg byly vyřazeny.

Válečky o průměru 6 mm byly nařezány na délku cca 1,4 cm. Hmotnost výsledné matrice pak činila  $500 \text{ mg} \pm 5 \%$ , tzn. v intervalu 475 až 525 mg.

Vyhovující válečky se umístili do exsikátoru.

#### **4.2.2 PŘÍPRAVA PLASTIFIKOVANÝCH MATRIC**

Bylo naváženo potřebné množství polymeru navýšené o předpokládané ztráty. Polymer byl roztaven na silikonové lázni a bylo k němu přidáno vypočítané množství plastifikátoru. Hmotnost triethylcitrátu v polymeru činila 20 % celkové hmotnosti plastifikovaného polymeru.

Válečky byly tvarovány z roztaveného plastifikovaného polymeru kopistkou tak, aby hmotnost matrice byla  $1250 \text{ mg} \pm 5 \%$ , tzn. v intervalu 1187,5 až 1312,5 mg.

#### **4.2.3 PŘÍPRAVA VZORKŮ**

Čistá a prázdná lahvička označená jednoznačným kódem byla zvážena na analytických vahách. Hodnota se zapsala jako  $m_x$ . Poté bylo pomocí pinzety do této lahvičky vložen váleček a zvážila se celková hmotnost lahvičky a válečku ( $m_x+m_0$ ). Plastifikované válečky byly tvarovány kopistkou přímo v lahvičce.

Do lahvičky s matricí pak bylo nalito 15, 50 nebo 100 ml destilované vody (dle hmotnosti tělíška). Lahvička se uzavřela a umístila do biologického termostatu vytemperovaného na  $37 \text{ }^\circ\text{C}$ . Analogicky se postupovalo i při přípravě dalších vzorků.

Vodné médium bylo vyměňováno každé 3 dny.

#### **4.2.4 POSTUP PŘI STANOVENÍ STUPNĚ BOTNÁNÍ A EROZE**

Měření probíhalo v intervalech 1, 3, 7, 14, 21 a případně 28 dní od přidání vodného média k matrici. Pro každý interval byly použity 2 vzorky (řada A,B).

Vzorky s příslušným kódem, který označoval interval měření, byly vyjmuty z termostatu a vodné médium se opatrně slilo. Pomocí vatové tyčinky byly odstraněny kapky vody. Dосуšení lahvičky se provedlo pomocí vysoušeče vlasů tak, aby nedošlo ke ztrátám vody ze zbotnalé matrice.

Lahvičky se zbotnalou matricí byly zváženy, naměřené hodnoty zapsány ( $m_x+m_b$ ). Lahvičky byly umístěny na den do vakuové sušárny, kde se sušily při teplotě  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Po vysušení do konstantní hmotnosti byly lahvičky opět zváženy a hodnoty zapsány ( $m_x+m_s$ ).

Z naměřených hodnot se vypočítal stupeň botnání a stupeň eroze.

### Stupeň botnání:

$$B = \frac{m_b - m_s}{m_s} \cdot 100$$

<b>B</b>	stupeň botnání [%]
<b><math>m_b</math></b>	hmotnost zbotnalého tělíška [g]
<b><math>m_s</math></b>	hmotnost vysušeného tělíška [g]

### Stupeň eroze:

$$E = \left( 1 - \frac{m_0 - m_s}{m_0} \right) \cdot 100$$

<b>E</b>	stupeň eroze [%]
<b><math>m_0</math></b>	počáteční hmotnost tělíška [g]
<b><math>m_s</math></b>	hmotnost vysušeného tělíška [g]

## **4.3 STANOVENÍ KARBOXYLOVÉHO ČÍSLA**

### **4.3.1 PŘÍPRAVA ODMĚRNÉHO ROZTOKU**

Odměrný roztok hydroxidu draselného byl připraven rozpuštěním 1,1222 g KOH v methanolu ve 2000,00 ml odměrné baňce. Koncentrace byla stanovena jako 0,01 mol/l.

### 4.3.2 PŘÍPRAVA INDIKÁTORU

Roztok fenolftaleinu byl připraven rozpuštěním 1,00 g fenolftaleinu v 80 ml 96 % ethanolu a doplněním do objemu 100,00 ml destilovanou vodou.

### 4.3.3 POSTUP PŘI STANOVENÍ KARBOXYLOVÉHO ČÍSLA– MATRICE O HMOTNOSTI 150 mg

Pro toto stanovení byla použita řada vzorků, které se připravily analogicky k vzorkům pro stanovení stupňů botnání a degradace.

Po uplynutí daného intervalu byly vyjmuty vzorky z termostatu, slilo se vodné médium a stěny lahvičky se osušily vatovou tyčinkou. Ke zbotnalému polymeru v lahvičce bylo přilito 5,00 ml chloroformu. Po rozpuštění bylo do lahvičky přidáno 5,00 ml destilované vody a obsah se několikrát intenzivně protřepal. Pokud byla po oddělení vrstev vodná vrstva zakalená, k soustavě se přidalo 0,1 g chloridu sodného a postup se opakoval. Po oddělení fází bylo injekční stříkačkou odebráno 3 ml horní vodné fáze a přeneseno do vytárované kádinky na analytických vahách, hmotnost se zapsala ( $h$ ). Do kádinky bylo vloženo magnetické míchadlo a byl přikápnut indikátor. Kádinka se umístila na magnetickou míchačku a do ní se ponořilo ústí byrety s odměrným roztokem hydroxidu draselného. Titrovalo se do prvního růžového zbarvení roztoku, které setrvalo po dobu minimálně 5 sekund. Spotřeba odměrného roztoku se zaznamenala.

Vzorek pro slepou titraci byl připraven třepáním 5,00 ml chloroformu s 5,00 ml destilované vody a 0,1 g chloridu sodného. Spotřeba slepé titrace ( $V_0$ ), která činila 0,05 ml, se zjistila titrací vodné vrstvy.

Karboxylové číslo bylo vypočítáno dle následujícího vztahu.

$$k = c_{KOH} \cdot (V_{KOH} - V_0) \cdot \frac{5 + (m_b - m_s)}{h} \cdot \frac{1}{m_s}$$

<b>k</b>	karboxylové číslo [ <i>mol/g</i> ]
<b>c<sub>KOH</sub></b>	koncentrace odměrného roztoku KOH [ <i>mol/l</i> ]
<b>V<sub>KOH</sub></b>	spotřeba odměrného roztoku KOH [ <i>l</i> ]
<b>V<sub>0</sub></b>	spotřeba slepé titrace [ <i>l</i> ]
<b>m<sub>b</sub></b>	hmotnost zbotnalého tělíška [ <i>g</i> ]
<b>m<sub>s</sub></b>	hmotnost vysušeného tělíška [ <i>g</i> ]
<b>h</b>	hmotnost odebrané vodné fáze [ <i>g</i> ]

#### **4.3.4 POSTUP PŘI STANOVENÍ KARBOXYLOVÉHO ČÍSLA– MATRICE O HMOTNOSTECH 500 A 1250 mg**

Karboxylové číslo těchto matric bylo stanovováno analogicky jako u tělísek o hmotnosti 150 mg. Po slítí média se ke zbotnalému tělíšku přidalo pipetou 25,00 ml chloroformu, po rozpuštění se přidalo 25,00 ml destilované vody. Po protřepání a oddělení fází se pipetou odebralo 20,00 ml horní vodné vrstvy, která byla titrována odměrným roztokem KOH na fenolftalein.

Spotřeba slepé titrace činila 0,26 ml.

$$k = c_{\text{KOH}} \cdot (V_{\text{KOH}} - V_0) \cdot \frac{25 + (m_b - m_s)}{20} \cdot \frac{1}{m_s}$$

<b>k</b>	karboxylové číslo [ <i>mol/g</i> ]
<b>c<sub>KOH</sub></b>	koncentrace odměrného roztoku KOH [ <i>mol/l</i> ]
<b>V<sub>KOH</sub></b>	spotřeba odměrného roztoku KOH [ <i>l</i> ]
<b>V<sub>0</sub></b>	spotřeba slepé titrace [ <i>l</i> ]
<b>m<sub>b</sub></b>	hmotnost zbotnalého tělíška [ <i>g</i> ]
<b>m<sub>s</sub></b>	hmotnost vysušeného tělíška [ <i>g</i> ]

## 5. VÝSLEDKY

### 5.1 TABULKY A GRAFY

#### 1) Nosič 2D o hmotnosti 150 mg:

Tabulka 3: Časový průběh stupně botnání [%].....	41
Tabulka 4: Časový průběh karboxylového čísla [ <i>mol/g</i> ].....	41
Tabulka 5: Časový průběh stupně eroze [%].....	41
Tabulka 6: Naměřené hodnoty .....	41

#### 2) Nosič 5T o hmotnosti 150 mg:

Tabulka 7: Časový průběh stupně botnání [%].....	42
Tabulka 8: Časový průběh karboxylového čísla [ <i>mol/g</i> ].....	42
Tabulka 9: Časový průběh stupně eroze [%].....	42
Tabulka 10: Naměřené hodnoty .....	42

#### 3) Nosič 3T o hmotnosti 150 mg:

Tabulka 11: Časový průběh stupně botnání [%].....	43
Tabulka 12: Časový průběh karboxylového čísla [ <i>mol/g</i> ].....	43
Tabulka 13: Časový průběh stupně eroze [%].....	43
Tabulka 14: Naměřené hodnoty .....	43

#### 4) Nosič 3T o hmotnosti 500 mg:

Tabulka 15: Časový průběh stupně botnání [%].....	44
Tabulka 16: Časový průběh karboxylového čísla [ <i>mol/g</i> ].....	44
Tabulka 17: Časový průběh stupně eroze [%].....	44
Tabulka 18: Naměřené hodnoty .....	44

#### 5) Nosič 3T o hmotnosti 1250 mg s použitím plastifikátoru:

Tabulka 19: Časový průběh stupně botnání [%].....	45
Tabulka 20: Časový průběh karboxylového čísla [ <i>mol/g</i> ].....	45
Tabulka 21: Časový průběh stupně eroze [%].....	45
Tabulka 22: Naměřené hodnoty .....	45

#### 6) Nosič 2D o hmotnosti 150 mg:

Obrázek 5: Časový průběh stupně botnání.....	46
Obrázek 6: Časový průběh karboxylového čísla.....	46
Obrázek 7: Časový průběh stupně eroze.....	47

7) Nosič 5T o hmotnosti 150 mg:

Obrázek 8: Časový průběh stupně botnání.....	48
Obrázek 9: Časový průběh karboxylového čísla.....	48
Obrázek 10: Časový průběh stupně eroze.....	49

8) Nosič 3T o hmotnosti 150 mg:

Obrázek 11: Časový průběh stupně botnání.....	50
Obrázek 12: Časový průběh karboxylového čísla.....	50
Obrázek 13: Časový průběh stupně eroze.....	51

9) Nosič 3T o hmotnosti 500 mg:

Obrázek 14: Časový průběh stupně botnání.....	52
Obrázek 15: Časový průběh karboxylového čísla.....	52
Obrázek 16: Časový průběh stupně eroze.....	53

10) Nosič 3T o hmotnosti 1250 mg s použitím plastifikátoru:

Obrázek 17: Časový průběh stupně botnání.....	54
Obrázek 18: Časový průběh karboxylového čísla.....	54
Obrázek 19: Časový průběh stupně eroze.....	55

1) Nosič 2D o hmotnosti 150 mg:

Tab. 3: Časový průběh stupně botnání [%]

Vzorek	Čas [dny]				
	1	3	7	14	21
<b>A</b>	20,36	32,25	18,78	21,80	4,05
<b>B</b>	19,14	32,54	17,62	19,46	5,77
<b>AB</b>	<b>19,75</b>	<b>32,40</b>	<b>18,20</b>	<b>20,63</b>	<b>4,91</b>

Tab. 4: Časový průběh karboxylového čísla [mol/g]

Vzorek	Čas [dny]				
	1	3	7	14	21
<b>A</b>	$1,477 \cdot 10^{-3}$	$9,395 \cdot 10^{-4}$	$5,684 \cdot 10^{-4}$	$2,720 \cdot 10^{-4}$	$2,339 \cdot 10^{-4}$
<b>B</b>	$1,437 \cdot 10^{-3}$	$1,086 \cdot 10^{-3}$	$5,788 \cdot 10^{-4}$	$3,243 \cdot 10^{-4}$	$2,339 \cdot 10^{-4}$
<b>AB</b>	<b><math>1,457 \cdot 10^{-3}</math></b>	<b><math>1,013 \cdot 10^{-3}</math></b>	<b><math>5,736 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>2,982 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>2,339 \cdot 10^{-4}</math></b>

Tab. 5: Časový průběh stupně eroze [%]

Vzorek	Čas [dny]				
	1	3	7	14	21
<b>A</b>	91,48	79,06	61,84	32,53	11,44
<b>B</b>	92,79	78,51	61,98	30,60	13,31
<b>AB</b>	<b>92,14</b>	<b>78,79</b>	<b>61,91</b>	<b>31,57</b>	<b>12,38</b>

Tab. 6: Naměřené hodnoty

Veličina	Vzorek	Čas [dny]				
		1	3	7	14	21
$m_0$ [g]	<b>A</b>	0,1455	0,1514	0,1541	0,1537	0,1512
$m_0$ [g]	<b>B</b>	0,1526	0,1503	0,1557	0,1461	0,1563
$m_b$ [g]	<b>A</b>	0,1602	0,1583	0,1132	0,0609	0,0180
$m_b$ [g]	<b>B</b>	0,1687	0,1564	0,1135	0,0534	0,0220
$m_s$ [g]	<b>A</b>	0,1331	0,1197	0,0953	0,0500	0,0173
$m_s$ [g]	<b>B</b>	0,1416	0,1180	0,0965	0,0447	0,0208
$h$ [g]	<b>A</b>	3,0188	3,0363	3,0000	3,0018	2,9962
$h$ [g]	<b>B</b>	3,0334	3,0980	3,0300	3,0065	2,9998
$V_{KOH}$ [ml]	<b>A</b>	4,14	2,30	1,15	0,31	0,14
$V_{KOH}$ [ml]	<b>B</b>	4,03	2,65	1,17	0,36	0,14

2) Nosič 5T o hmotnosti 150 mg:

Tab. 7: Časový průběh stupně botnání [%]

Vzorek	Čas [dny]				
	1	3	7	14	21
<b>A</b>	5,16	11,83	42,14	30,04	16,15
<b>B</b>	3,63	13,87	40,71	32,62	16,75
<b>AB</b>	<b>4,40</b>	<b>12,85</b>	<b>41,43</b>	<b>31,33</b>	<b>16,45</b>

Tab. 8: Časový průběh karboxylového čísla [mol/g]

Vzorek	Čas [dny]				
	1	3	7	14	21
<b>A</b>	$7,474 \cdot 10^{-4}$	$1,101 \cdot 10^{-3}$	$8,037 \cdot 10^{-4}$	$3,759 \cdot 10^{-4}$	$1,488 \cdot 10^{-4}$
<b>B</b>	$7,411 \cdot 10^{-4}$	$1,151 \cdot 10^{-3}$	$7,195 \cdot 10^{-4}$	$2,793 \cdot 10^{-4}$	$1,488 \cdot 10^{-4}$
<b>AB</b>	<b><math>7,443 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>1,126 \cdot 10^{-3}</math></b>	<b><math>7,616 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>3,276 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>1,488 \cdot 10^{-4}</math></b>

Tab. 9: Časový průběh stupně eroze [%]

Vzorek	Čas [dny]				
	1	3	7	14	21
<b>A</b>	100,45	96,78	84,69	60,00	43,02
<b>B</b>	100,39	96,30	84,38	60,36	41,53
<b>AB</b>	<b>100,42</b>	<b>96,54</b>	<b>84,54</b>	<b>60,18</b>	<b>42,28</b>

Tab. 10: Naměřené hodnoty

Veličina	Vzorek	Čas [dny]				
		1	3	7	14	21
$m_0$ [g]	<b>A</b>	0,1564	0,1520	0,1502	0,1520	0,1511
$m_0$ [g]	<b>B</b>	0,1537	0,1512	0,1569	0,1549	0,1481
$m_b$ [g]	<b>A</b>	0,1652	0,1645	0,1808	0,1186	0,0755
$m_b$ [g]	<b>B</b>	0,1599	0,1658	0,1863	0,1240	0,0718
$m_s$ [g]	<b>A</b>	0,1571	0,1471	0,1272	0,0912	0,0650
$m_s$ [g]	<b>B</b>	0,1543	0,1456	0,1324	0,0935	0,0615
$h$ [g]	<b>A</b>	3,0310	3,0115	3,0190	3,0015	2,9963
$h$ [g]	<b>B</b>	3,0157	3,0266	3,0297	2,9770	3,0181
$V_{KOH}$ [ml]	<b>A</b>	2,40	3,30	2,15	0,75	0,24
$V_{KOH}$ [ml]	<b>B</b>	2,38	3,45	1,93	0,57	0,24

3) Nosič 3T o hmotnosti 150 mg:

Tab. 11: Časový průběh stupně botnání [%]

Vzorek	Čas [dny]				
	1	3	7	14	21
<b>A</b>	8,74	20,35	46,80	33,79	26,32
<b>B</b>	9,88	19,54	51,48	37,60	17,75
<b>AB</b>	<b>9,31</b>	<b>19,95</b>	<b>49,14</b>	<b>35,70</b>	<b>22,04</b>

Tab. 12: Časový průběh karboxylového čísla [mol/g]

Vzorek	Čas [dny]				
	1	3	7	14	21
<b>A</b>	$8,200 \cdot 10^{-4}$	$1,395 \cdot 10^{-3}$	$1,257 \cdot 10^{-3}$	$3,591 \cdot 10^{-4}$	$1,465 \cdot 10^{-4}$
<b>B</b>	$7,539 \cdot 10^{-4}$	$1,369 \cdot 10^{-3}$	$1,297 \cdot 10^{-3}$	$3,518 \cdot 10^{-4}$	$2,130 \cdot 10^{-4}$
<b>AB</b>	<b><math>7,870 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>1,382 \cdot 10^{-3}</math></b>	<b><math>1,277 \cdot 10^{-3}</math></b>	<b><math>3,555 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>1,798 \cdot 10^{-4}</math></b>

Tab. 13: Časový průběh stupně eroze [%]

Vzorek	Čas [dny]				
	1	3	7	14	21
<b>A</b>	100,74	98,97	81,20	47,71	23,53
<b>B</b>	100,74	98,73	81,58	41,23	24,35
<b>AB</b>	<b>100,74</b>	<b>98,85</b>	<b>81,39</b>	<b>44,47</b>	<b>23,94</b>

Tab. 14: Naměřené hodnoty

Veličina	Vzorek	Čas [dny]				
		1	3	7	14	21
$m_0$ [g]	<b>A</b>	0,1488	0,1549	0,1500	0,1526	0,1534
$m_0$ [g]	<b>B</b>	0,1487	0,1581	0,1531	0,1516	0,1573
$m_b$ [g]	<b>A</b>	0,1630	0,1845	0,1788	0,0974	0,0456
$m_b$ [g]	<b>B</b>	0,1646	0,1866	0,1892	0,0860	0,0451
$m_s$ [g]	<b>A</b>	0,1499	0,1533	0,1218	0,0728	0,0361
$m_s$ [g]	<b>B</b>	0,1498	0,1561	0,1249	0,0625	0,0383
$h$ [g]	<b>A</b>	2,9129	2,9988	2,9533	3,0494	2,9940
$h$ [g]	<b>B</b>	2,9796	3,0465	2,9699	2,9761	3,0040
$V_{\text{KOH}}$ [ml]	<b>A</b>	2,53	4,40	3,17	0,54	0,16
$V_{\text{KOH}}$ [ml]	<b>B</b>	2,33	4,32	3,27	0,53	0,21

(Měření nosiče 3T provedl Antonín Faulkner.)

4) Nosič 3T o hmotnosti 500 mg:

Tab. 15: Časový průběh stupně botnání [%]

Vzorek	Čas [dny]					
	1	3	7	14	21	28
<b>A</b>	9,34	11,79	29,28	40,12	34,39	43,76
<b>B</b>	8,04	12,72	29,49	39,51	32,67	48,18
<b>AB</b>	<b>8,69</b>	<b>12,26</b>	<b>29,39</b>	<b>39,82</b>	<b>33,53</b>	<b>45,97</b>

Tab. 16: Časový průběh karboxylového čísla [mol/g]

Vzorek	Čas [dny]					
	1	3	7	14	21	28
<b>A</b>	$2,438 \cdot 10^{-4}$	$3,698 \cdot 10^{-4}$	$6,922 \cdot 10^{-4}$	$3,131 \cdot 10^{-4}$	$2,468 \cdot 10^{-4}$	$3,932 \cdot 10^{-4}$
<b>B</b>	$2,274 \cdot 10^{-4}$	$3,692 \cdot 10^{-4}$	$6,909 \cdot 10^{-4}$	$3,023 \cdot 10^{-4}$	$2,280 \cdot 10^{-4}$	$3,230 \cdot 10^{-4}$
<b>AB</b>	<b><math>2,356 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>3,695 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>6,916 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>3,077 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>2,374 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>3,581 \cdot 10^{-4}</math></b>

Tab. 17: Časový průběh stupně eroze [%]

Vzorek	Čas [dny]					
	1	3	7	14	21	28
<b>A</b>	97,35	97,61	92,35	58,91	35,35	14,77
<b>B</b>	97,73	97,66	93,80	59,54	35,38	18,33
<b>AB</b>	<b>97,54</b>	<b>97,64</b>	<b>93,08</b>	<b>59,23</b>	<b>35,37</b>	<b>16,55</b>

Tab. 18: Naměřené hodnoty

Veličina	Vzorek	Čas [dny]					
		1	3	7	14	21	28
$m_0$ [g]	<b>A</b>	0,4980	0,5013	0,5203	0,5060	0,5157	0,5153
$m_0$ [g]	<b>B</b>	0,5195	0,5088	0,5148	0,5156	0,5096	0,5096
$m_b$ [g]	<b>A</b>	0,5301	0,5470	0,6212	0,4177	0,2450	0,1094
$m_b$ [g]	<b>B</b>	0,5485	0,5601	0,6253	0,4283	0,2392	0,1384
$m_s$ [g]	<b>A</b>	0,4848	0,4893	0,4805	0,2981	0,1823	0,0761
$m_s$ [g]	<b>B</b>	0,5077	0,4969	0,4829	0,3070	0,1803	0,0934
$V_{KOH}$ [ml]	<b>A</b>	9,70	14,70	26,72	7,69	3,85	2,65
$V_{KOH}$ [ml]	<b>B</b>	9,48	14,90	26,80	7,65	3,54	2,67

5) Nosič 3T o hmotnosti 1250 mg s použitím plastifikátoru:

Tab. 19: Časový průběh stupně botnání [%]

Vzorek	Čas [dny]					
	1	3	7	14	21	28
<b>A</b>	5,55	12,43	24,06	34,37	37,12	29,33
<b>B</b>	5,18	13,59	26,26	33,54	37,15	25,53
<b>AB</b>	<b>5,37</b>	<b>13,01</b>	<b>25,16</b>	<b>33,96</b>	<b>37,14</b>	<b>27,43</b>

Tab. 20: Časový průběh karboxylového čísla [mol/g]

Vzorek	Čas [dny]					
	1	3	7	14	21	28
<b>A</b>	$1,504 \cdot 10^{-4}$	$2,288 \cdot 10^{-4}$	$3,027 \cdot 10^{-4}$	$3,156 \cdot 10^{-4}$	$2,429 \cdot 10^{-4}$	$2,208 \cdot 10^{-4}$
<b>B</b>	$1,580 \cdot 10^{-4}$	$2,562 \cdot 10^{-4}$	$2,865 \cdot 10^{-4}$	$3,599 \cdot 10^{-4}$	$2,703 \cdot 10^{-4}$	$2,453 \cdot 10^{-4}$
<b>AB</b>	<b><math>1,542 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>2,425 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>2,946 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>3,378 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>2,566 \cdot 10^{-4}</math></b>	<b><math>2,331 \cdot 10^{-4}</math></b>

Tab. 21: Časový průběh stupně eroze [%]

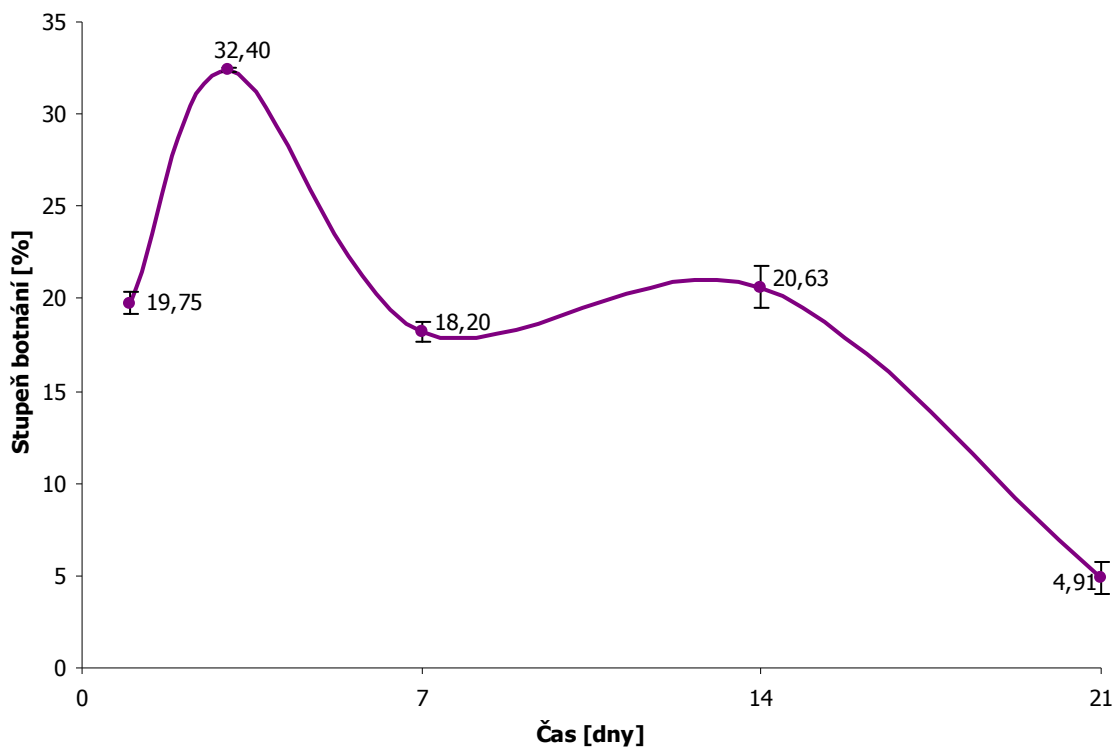
Vzorek	Čas [dny]					
	1	3	7	14	21	28
<b>A</b>	97,19	93,72	84,59	57,95	34,72	17,89
<b>B</b>	97,36	94,35	83,30	55,60	32,50	16,44
<b>AB</b>	<b>97,28</b>	<b>94,04</b>	<b>83,95</b>	<b>56,78</b>	<b>33,61</b>	<b>17,17</b>

Tab. 22: Naměřené hodnoty

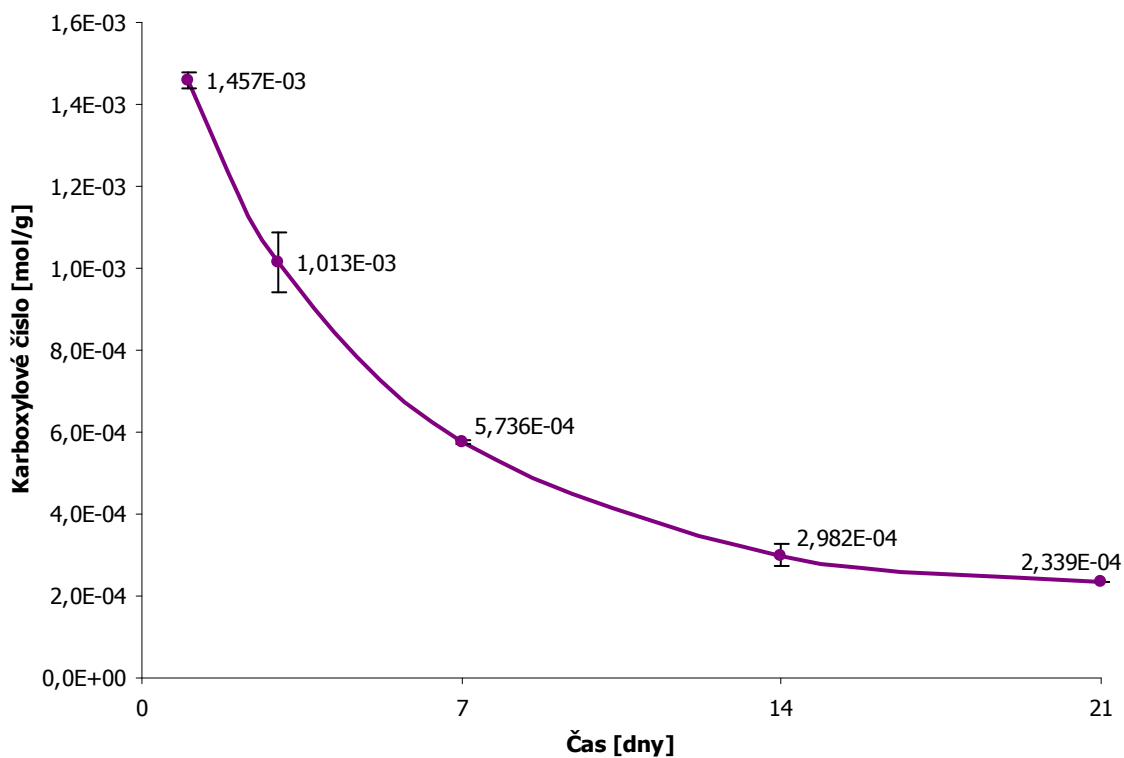
Veličina	Vzorek	Čas [dny]					
		1	3	7	14	21	28
$m_0$ [g]	<b>A</b>	1,2847	1,3045	1,2950	1,2889	1,2501	1,3132
$m_0$ [g]	<b>B</b>	1,2172	1,2038	1,3050	1,2028	1,2915	1,2864
$m_b$ [g]	<b>A</b>	1,3179	1,3746	1,3589	1,0036	0,5951	0,3038
$m_b$ [g]	<b>B</b>	1,2465	1,2901	1,3724	0,8931	0,5756	0,2655
$m_s$ [g]	<b>A</b>	1,2486	1,2226	1,0954	0,7469	0,4340	0,2349
$m_s$ [g]	<b>B</b>	1,1851	1,1358	1,0870	0,6688	0,4197	0,2115
$V_{KOH}$ [ml]	<b>A</b>	15,24	22,50	26,50	18,94	8,64	4,40
$V_{KOH}$ [ml]	<b>B</b>	15,20	23,40	24,90	19,33	9,28	4,40

6) Nosič 2D o hmotnosti 150 mg:

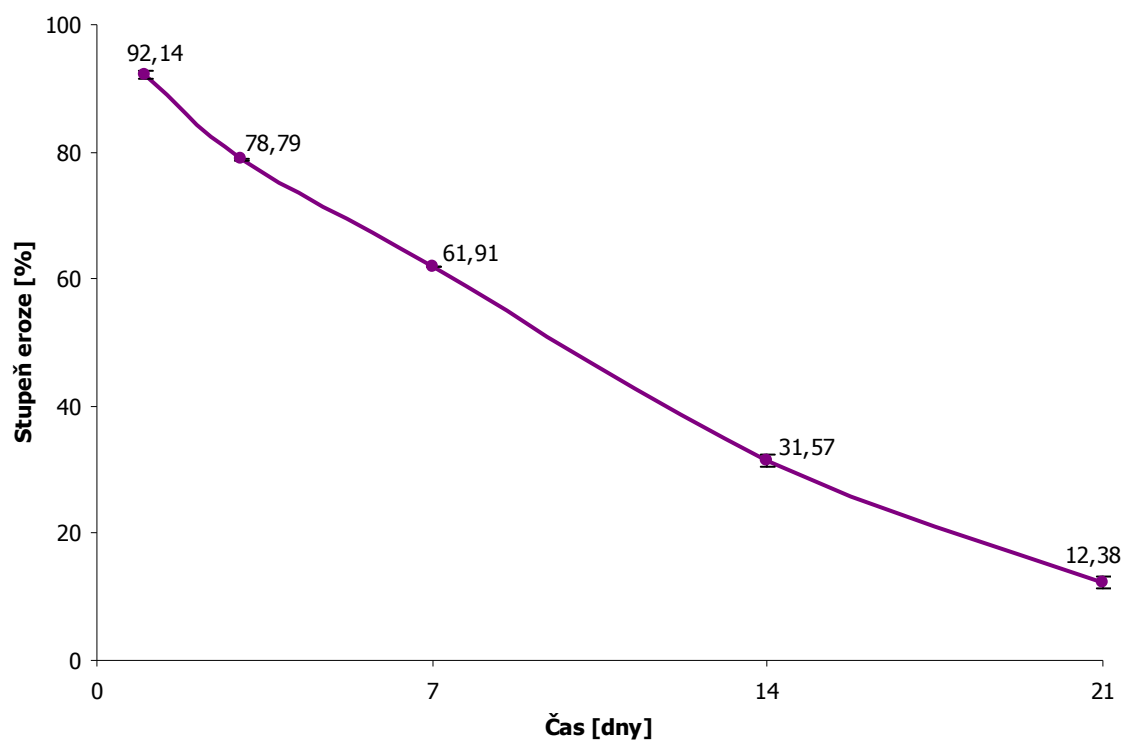
Obr. 5: Časový průběh stupně botnění



Obr. 6: Časový průběh karboxylového čísla

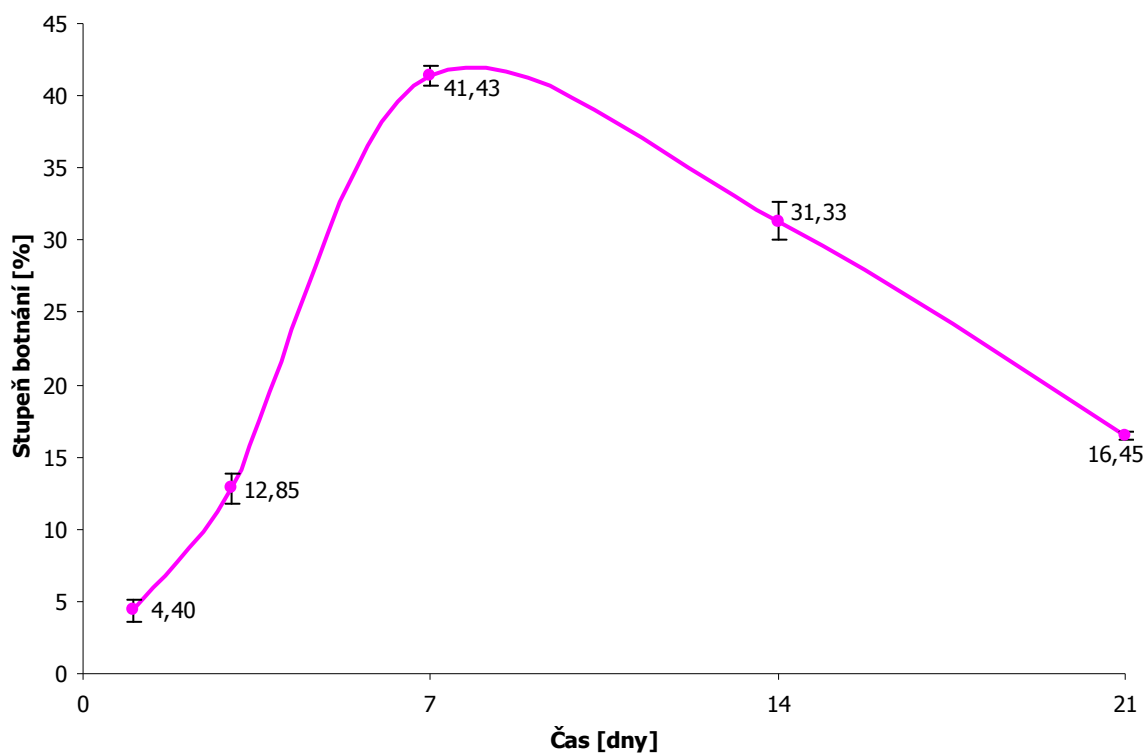


Obr. 7: Časový průběh stupně eroze

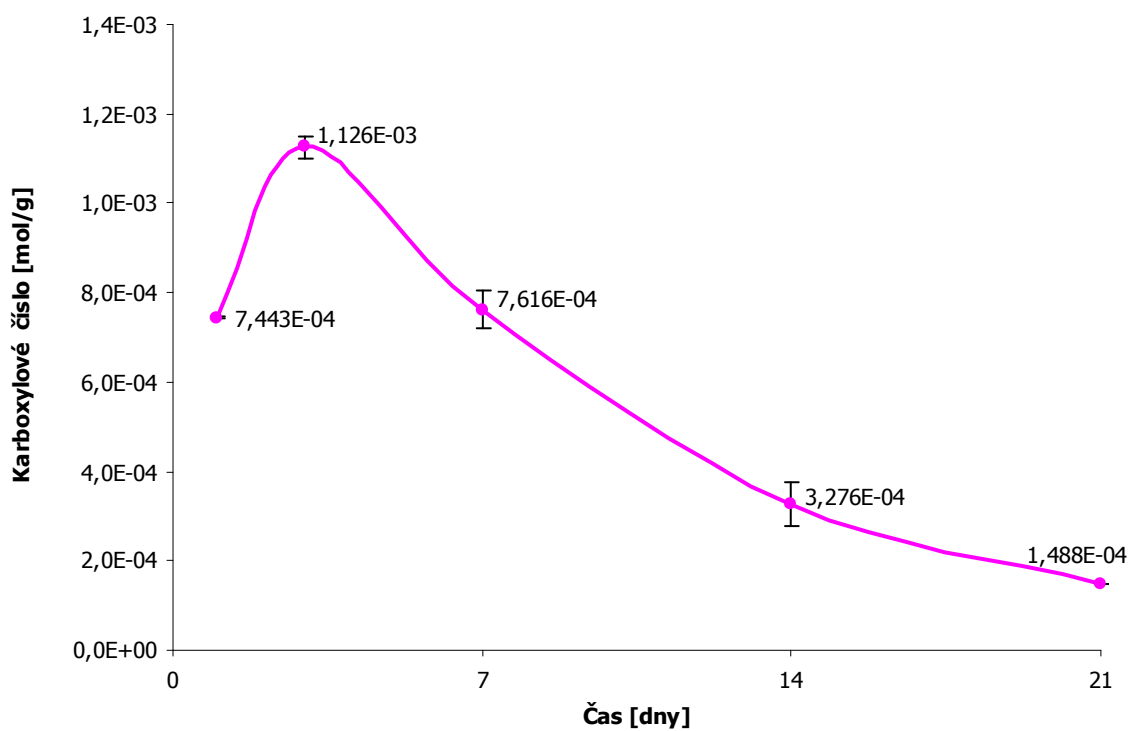


7) Nosič 5T o hmotnosti 150 mg:

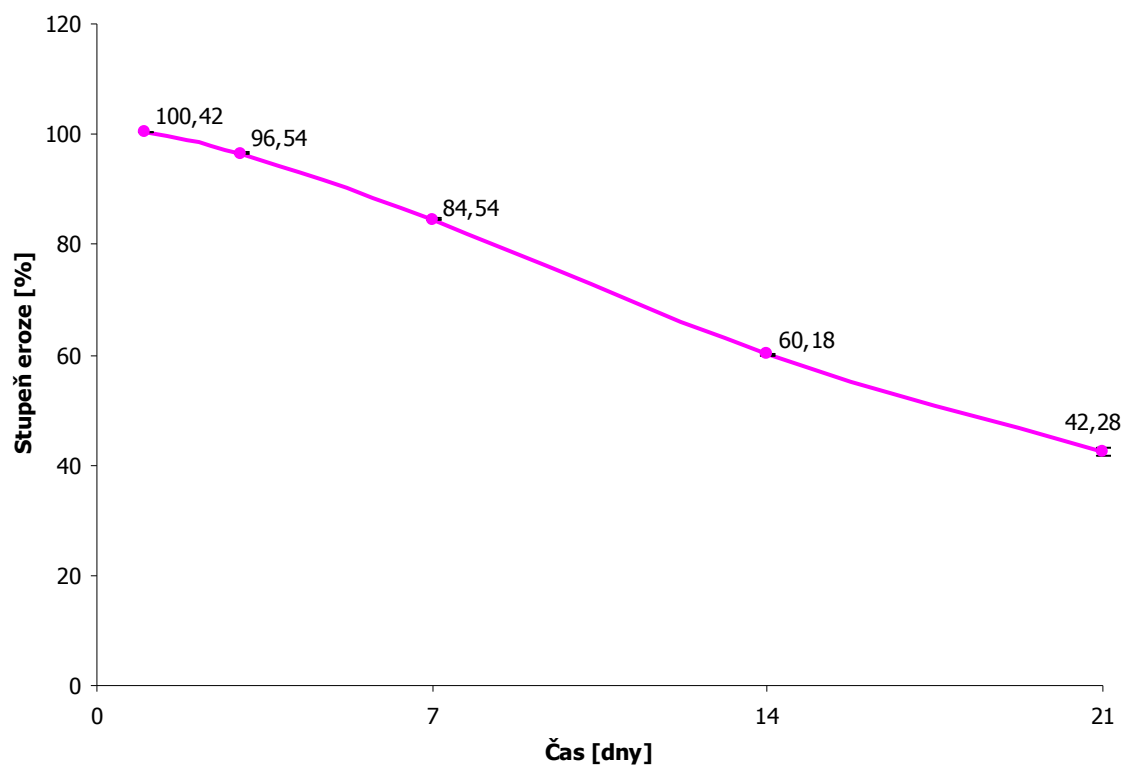
**Obr. 8: Časový průběh stupně botnění**



**Obr. 9: Časový průběh karboxylového čísla**

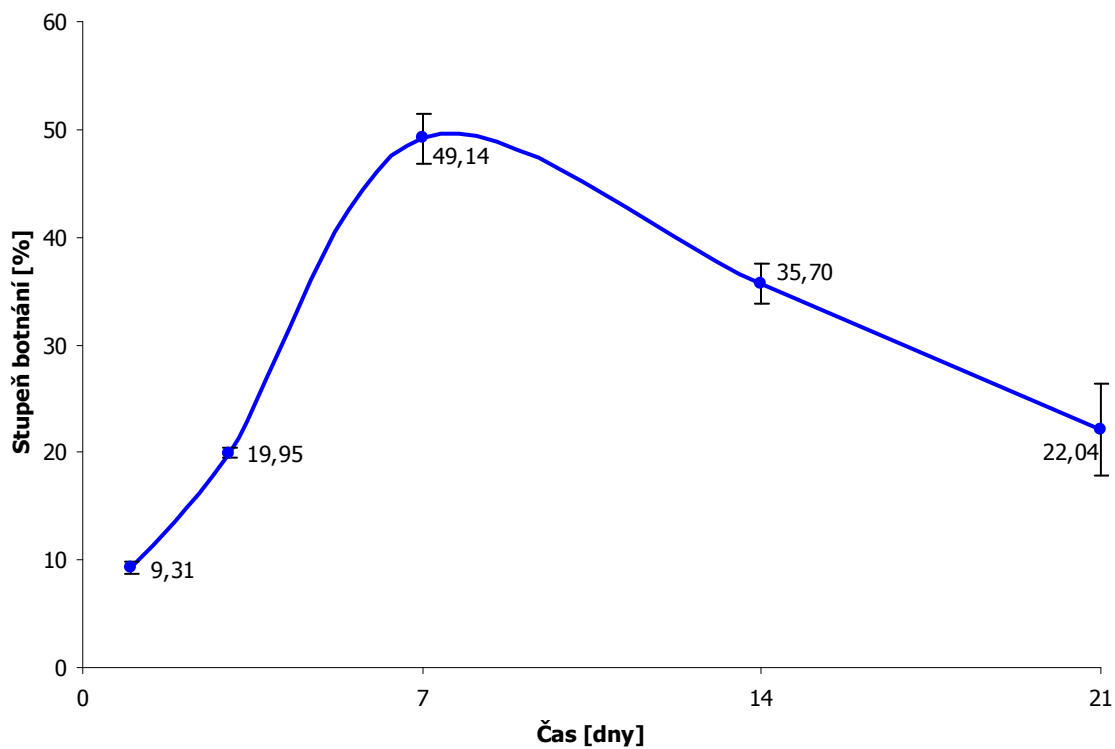


Obr. 10: Časový průběh stupně eroze

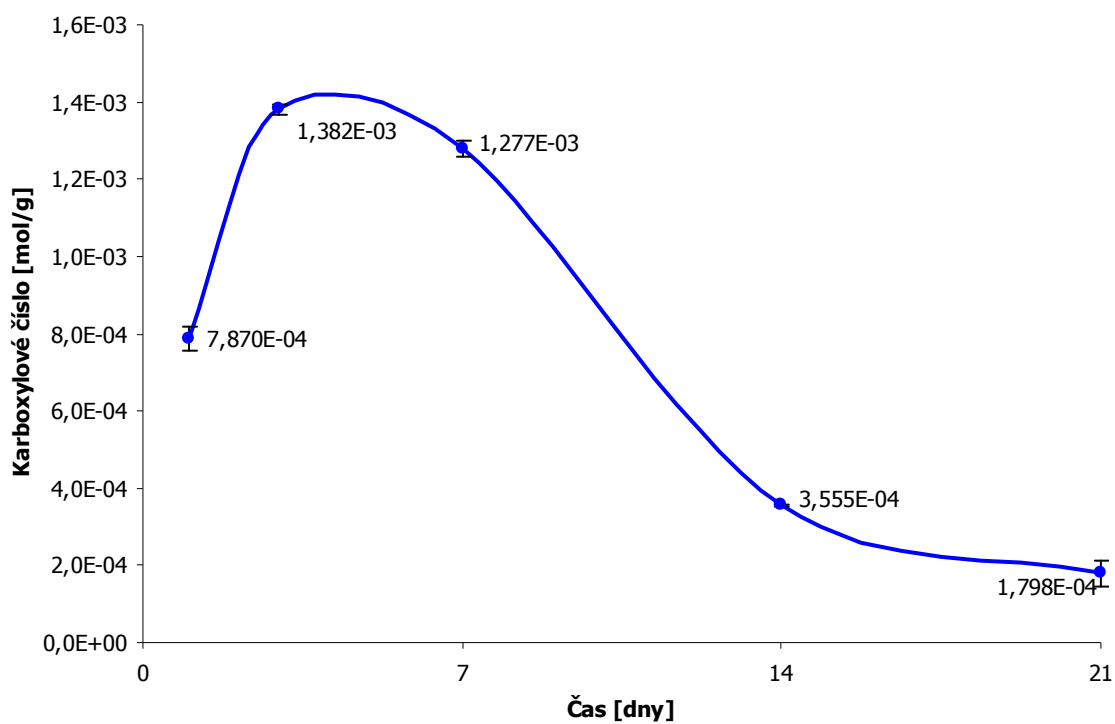


8) Nosič 3T o hmotnosti 150 mg:

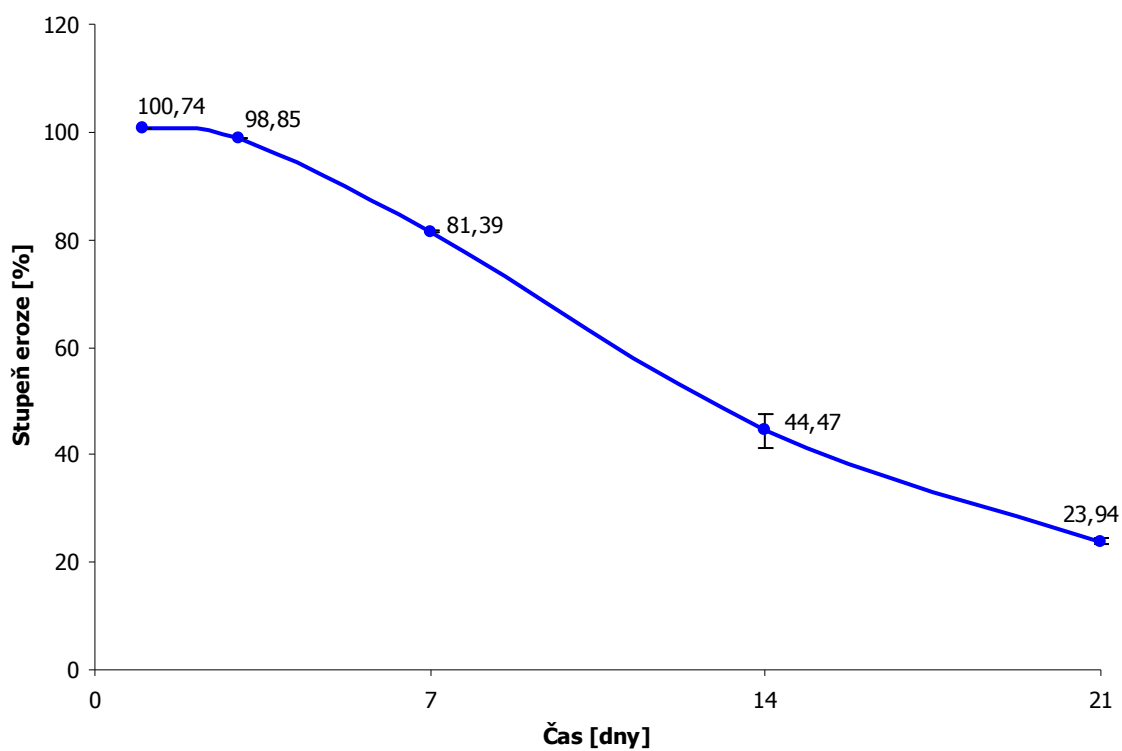
Obr. 11: Časový průběh stupně botnění



Obr. 12: Časový průběh karboxylového čísla

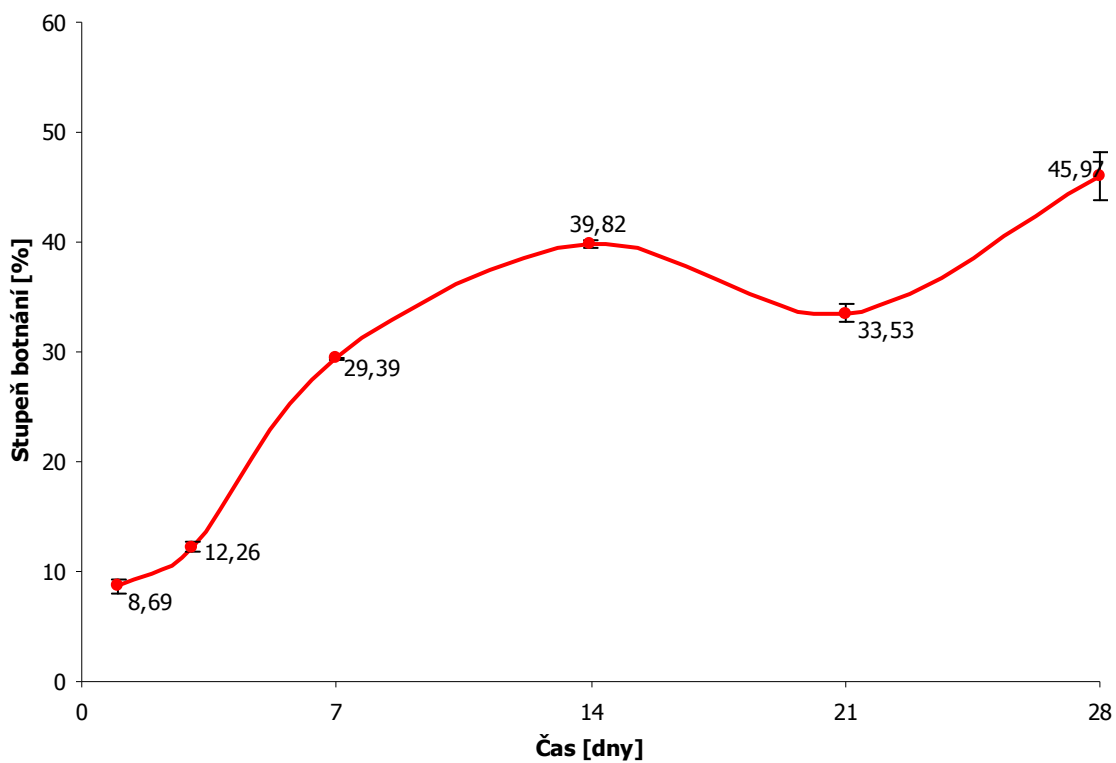


Obr. 13: Časový průběh stupně eroze

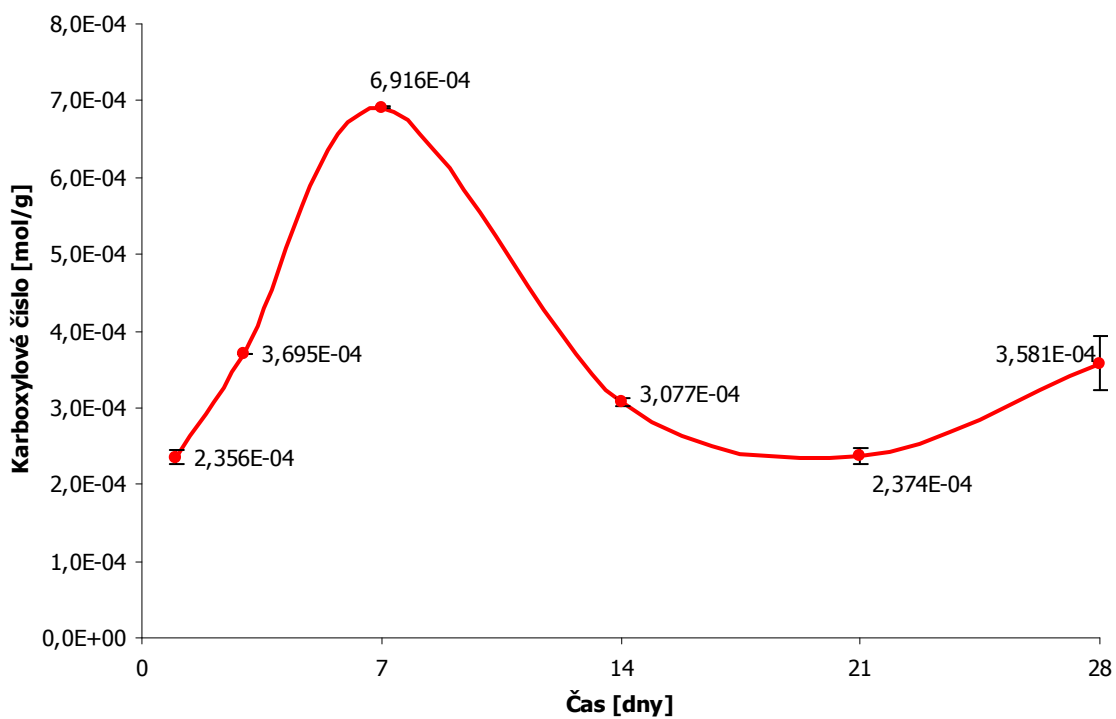


9) Nosič 3T o hmotnosti 500 mg:

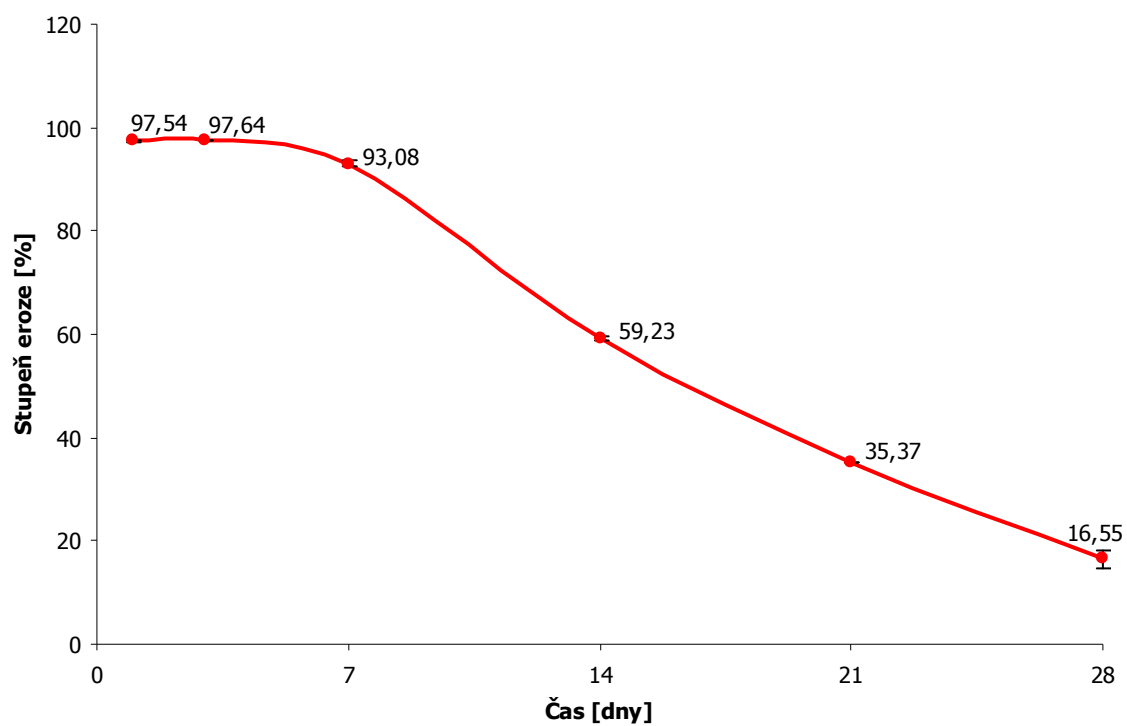
Obr. 14: Časový průběh stupně botnění



Obr. 15: Časový průběh karboxylového čísla

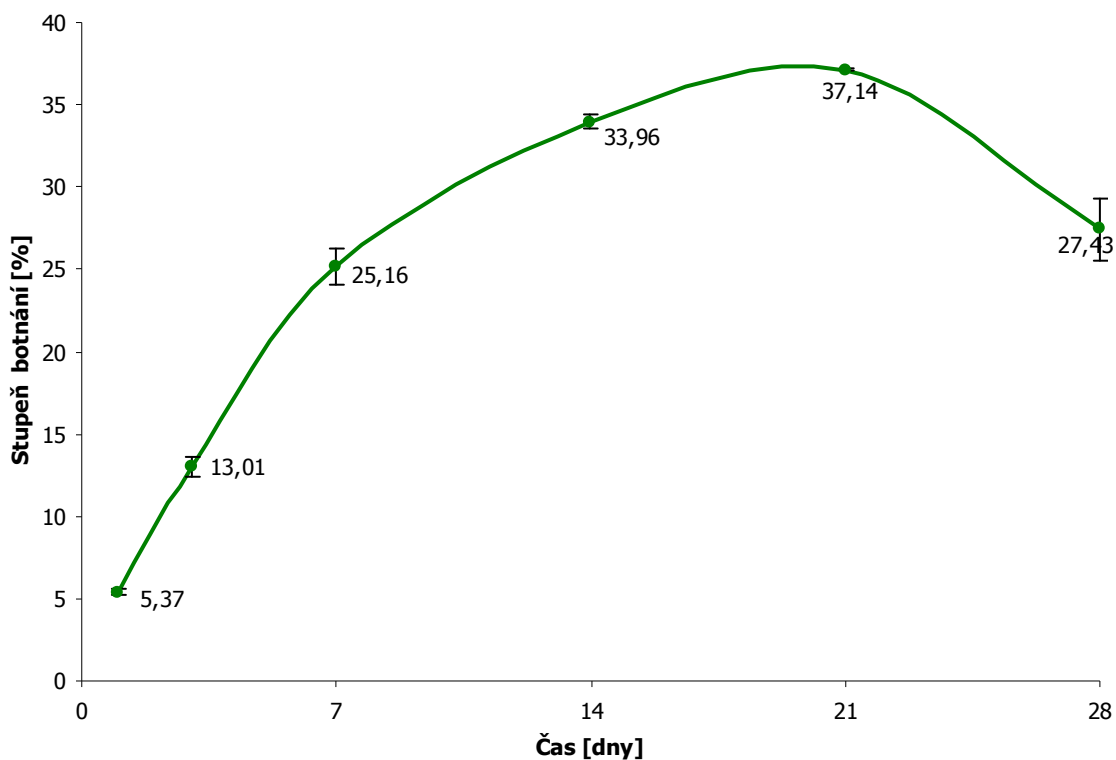


Obr. 16: Časový průběh stupně eroze

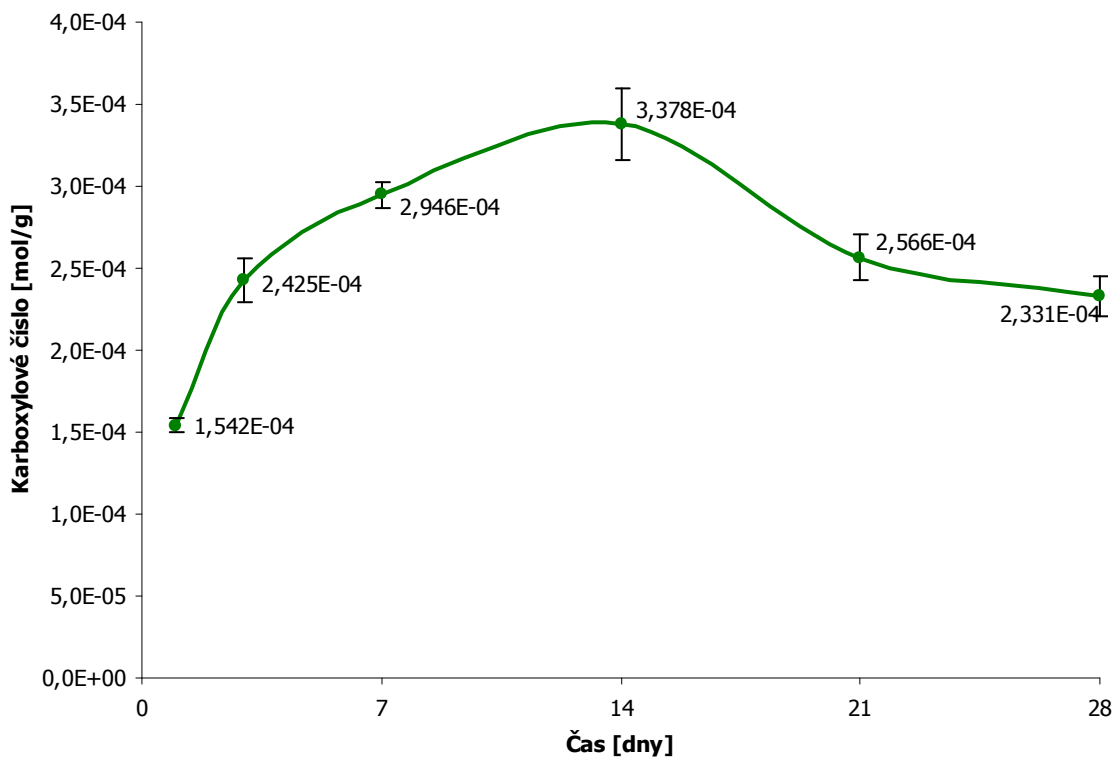


10) Nosič 3T o hmotnosti 1250 mg s použitím plastifikátoru:

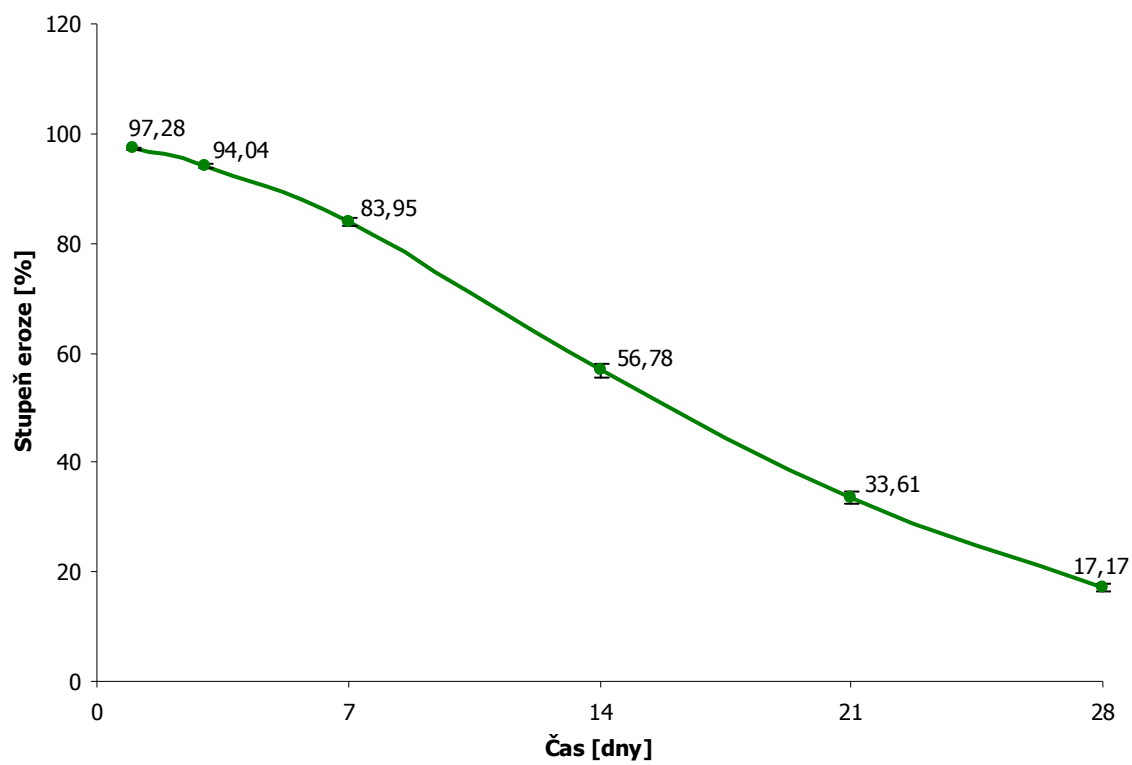
Obr. 17: Časový průběh stupně botnění



Obr. 18: Časový průběh karboxylového čísla



**Obr. 19: Časový průběh stupně eroze**



## **5.2 SEZNAM ZKRATEK**

<b>A, B</b>	opakování vzorku
<b>AB</b>	průměr z naměřených hodnot vzorku A a B pro daný interval
<b>m<sub>0</sub></b>	počáteční hmotnost matrice [g]
<b>m<sub>b</sub></b>	hmotnost zbotnalé matrice [g]
<b>m<sub>s</sub></b>	hmotnost vysušené matrice [g]
<b>h</b>	hmotnost odebrané vodné fáze k titrování [g]
<b>V<sub>KOH</sub></b>	spotřeba odměrného roztoku KOH [ml]

## 6. DISKUZE

### 6.1 K TÉMATU A METODĚ PRÁCE

Sloučeniny použité v této rigorózní práci byly ze skupiny oligoesterů a polyesterů alifatických  $\alpha$ -hydroxykyselin větvených dipentaerythritolem nebo tripentaerythritolem. Obě větvící složky byly použity v různých koncentracích. Byly takto získány produkty, které by v optimálním případě měly šest nebo osm řetězců vycházejících z větvící složky. Všechny koncové skupiny by v tomto případě byly karboxylové.

Z toxikologických aspektů je výhodné, když pro syntézu není použit katalyzátor. Při polykondenzační reakci je v tomto případě nutno využít delší čas. Při reakci s růstem řetězce se postupně více projevuje současné štěpení vazeb. Proto jsou produkty často pestrými směsmi vysoce větvených struktur, struktur se sníženým větvením a nechybějí ani molekuly s lineární konstitucí molekuly. Stupeň větvení molekul a molekulová hmotnost produktů reakce byly ovlivněny koncentrací větvící složky.

Je obecně známo, že větvení molekul ve srovnání s lineárními vede k získání menších kompaktnějších molekul. Důsledkem je nižší viskozita tavenin a roztoků. Vyšší densita řetězců v náhodném klubku znamená vyšší interakci intramolekulárních segmentů. Výsledkem je nižší stupeň botnání. Pokud je polymerní struktura charakterizována polárními koncovými skupinami, potom se větvením z hlediska botnání vytvoří opačná situace. Více hydrofilní molekuly mají větší afinitu k vodě a projevují se vyšším stupněm botnání. Stupeň botnání je charakteristikou každého matricového systému, protože ovlivňuje průběh uvolňování léčivých látek. Pokud je ve struktuře určitý podíl ionisovatelných koncových skupin, potom je dalším faktorem s možností ovlivnit botnání aktuální acidita média. Ionizace koncových karboxylů se zvyšuje s hodnotami pH. Při fyziologických hodnotách parametru je stupeň ionizace z hlediska botnání matric a liberace léčiv velmi významný.

Dalším faktorem, který měl značný vliv na změny hodnot stupně botnání matric, byla hydrolytická degradace molekul doprovázená změnami molekulové hmotnosti nosičů a konstituce jejich molekul. Matrice velmi rychle erodovaly, měnila se hodnota pH a iontová síla v nich. Mezi jednotlivými vzorky studovanými v této práci byly velké

rozdíly ve stupni botnání, hodnoty charakteristiky se značně lišily během procesu degradace.

Již dříve byl pozorován zajímavý fenomén oscilačního průběhu botnání matric. Příčina tohoto jevu byla studována v rámci diplomové práce. Bylo zjištěno, že během degradace nosiče nedochází k významným změnám stupně větvení nosičů. Proto byla v diplomové práci doporučena a využita alkalimetrická titrační metoda stanovení koncentrace karboxylových skupin v hydrofilních molekulách. Z chloroformového roztoku byla separována a titrována extrahovaná frakce matric rozpustná ve vodě. Rostoky pufrů by jako médium byly vhodnější především z důvodů výraznějšího oscilačního chování matric. Bylo však nutno použít čistou vodu, která neinterferuje s alkalimetrickou analytickou metodou. Do studie byly vybrány nosiče, které se projevují relativně výrazným maximem hodnot stupně botnání ve vodě jako degradačním médiu.

## **6.2 K INTERAKCÍM NOSIČE 2D**

Nosič 2D byl polykondenzátem připraveným ze směsi stejných molárních dílů kyselin DL-mléčné a glykolové doplněným 2 % hmotnostním dipentaerythritolem. Dipentaerythritol má šest hydroxylových skupin, které se významně neliší v reaktivitě s karboxyly hydroxykyselin. V ideálním případě by při syntéze vznikly struktury s šesti polyesterovými řetězci. V tabulce 2 jsou základní parametry nosiče. Je z nich patrné, že se jedná o oligomer s relativně nízkou polydisperzitou molekulových hmotností. Podle nízké hodnoty teploty skelného přechodu je možno předpokládat vysoký podíl větvených molekul. Matrice měly tvar válečku o průměru 4 mm a vážily 150 mg.

Na obr. 5 je časový průběh hodnot stupně botnání matric z nosiče 2D. Stupeň botnání v prvním dnu je relativně vysoký, má hodnotu kolem 20 %, a zvyšuje se do 3. dne experimentu. V tomto intervalu bylo prokázáno maximum v hodnotě charakteristiky 32 % následované prudkým poklesem na poloviční hodnoty charakteristiky v sedmidenním intervalu. V intervalu do 14 dní hodnoty botnání slabě stouply do druhého nevýrazného maxima, aby v dalším týdnu významně poklesly na pouhých 5 %.

Na obr. 6 je vidět průběh hodnot získaných alkalimetrickou titrací vodných výťepků. Hodnoty koncentrace karboxylů postupně klesají. Rychlost poklesu hodnot koncentrace exponenciálně klesá. Na konci pokusu, za 21 dní působení vodného prostředí, se snížila koncentrace karboxylů oproti koncentraci v jednodenním intervalu 6,3krát. Je možno hledat souvislost se zmenšováním tělísek a se zkracováním difuzní dráhy při eluci nízkomolekulárních oligoesterových degradačních produktů. Není vyloučeno, že v matricích byly nízkomolekulární ve vodě rozpustné oligoestery obsaženy ještě před působením vody. Existenci píku by bylo nutno hledat v době kratší než jeden den zmenšením intervalů odběrů a zpracování vzorků během prvního dne interakce s médiem.

Porovnáním obr.5 s obr. 6 je možno vyslovit závěr o vysoké citlivosti botnání ke změnám prostředí v matricích. Na botnání se také mohou podílet fragmenty původních molekul nerozpustné ve vodě. U lineárních řetězců je známo, že při molekulové hmotnosti nad 800 jsou ve vodě nerozpustné. Tyto molekuly nemohly být alkalimetricky prokázány. Na konci pokusu jsou v neerodovaném zbytku matric přítomny především vysoce větvené molekuly, které jsou odolnější k hydrolyze a vyznačují se malým stupněm botnání.

Matrice erodovaly již od začátku působení vody, jak je patrné z obr. 7. Rychlost eroze se pomalu snižovala se zmenšováním tělísek, což je v souladu s dříve publikovanými poznatky o rychlejší difuzi a snížení koncentrace vodorozpustných kyselých degradačních produktů se zmenšením matricových systémů. Za tři týdny zbylo asi 12 % neerodovaného nosiče. V obou paralelně sledovaných řadách matric byly zjištěny prakticky stejné výsledky.

### **6.3 K INTERAKCÍM NOSIČE 5T**

Molekuly vzorku nosiče 5T byly větveny tripentaerythritolem, měly v ideálním případě osm větví. Při molekulové hmotnosti  $M_w$  8 500 (tab. 2) je možno jej pokládat za oligomer s relativně vysokou polydisperzitou (2,8). O vysokém stupni větvení svědčí nízká hodnota teploty skelného přechodu (17,2 °C). Matrice měly tvar válečku o průměru 4 mm a vážily 150 mg.

Časový průběh hodnot stupně botnání matric z nosiče 5T je zobrazen na obr. 8. Z počátečních necelých 5 % hodnota stupně botnání roste. Maximální hodnota 42 % byla naměřena v sedmidenním intervalu. Podle průběhu křivky je možno předpokládat, že maximální hodnota charakteristiky botnání bude kolem 8. dne experimentu. Potom následuje druhá fáze odbotnání matric, která je pomalejší než proces botnání. Na konci pokusu byla prokázána hodnota stupně botnání přes 16 % s předpokladem jejího dalšího poklesu. Matrice se tedy zmenšují na základě dvou paralelně a kontinuálně probíhajících dějů, kterými jsou eroze a odbotnání.

Koncentrace extrahovatelných nízkomolekulárních fragmentů po degradaci molekul stoupala mezi 1. a 3. dnem, potom následoval postupný pokles hodnot (obr 9). Od 3. dne do 21. dne poklesla koncentrace nízkomolekulárních oligomerů v matricích velmi výrazně, konkrétně 7,6krát. Na rozdíl od nosiče 2D bylo prokázáno maximum v koncentraci karboxylových skupin v intervalu delším než jeden den.

Srovnáním průběhu změn koncentrace vodorozpustných molekul v matricích s průběhem změn stupně botnání je patrná shoda v dosažení maximální hodnoty. Rozdíl je v časovém intervalu píku. V případě koncentrace nízkomolekulárních fragmentů degradace bylo maximum dosaženo podstatně dříve než u botnání stejných matric. Relace je vysvětlitelná na základě hystereze botnání jako jevu. V matricích dojde nejdříve ke zvýšení koncentrace osmoticky aktivních látek. Následuje pomalá relaxace struktury matrice. Při dostatečném botnání se otevřou difúzní cesty pro osmoticky aktivní nízkomolekulární fragmenty. Dojde k eluci těchto složek. Osmotická aktivita matrice se sníží s důsledkem ve snížení stupně botnání.

Průběh eroze matric je na obr. 10. Ve srovnání s matricemi z nosiče 2D jsou zřetelné dvě změny v průběhu děje. Jednou z nich je více než jednodenní prodleva v začátku erozního procesu, druhou je pomalý průběh eroze. Za 21 dní se ještě nerozpadlo a nerozpustilo přes 40 % z původní hmotnosti matric. Erozní proces je kontinuální, je možno předpokládat celkovou dobu eroze mezi 45 a 60 dny.

## **6.4 K INTERAKCÍM NOSIČE 3T**

### **6.4.1 *MATRICE O HMOTNOSTI 150 mg***

Zásadní podíl na experimentálních pracích s tímto nosičem měl Mgr. Antonín Faulner, v letech 2007/08 posluchač 5. ročníku FaF.

Nosič označený 3T měl vysoký stupeň polydisperzity molekulových hmotností (4,0), hodnotou  $M_w$  13 300 je jej možno pokládat za polyester. O podílu vysoce větvených vysokomolekulárních produktů syntézy svědčí vysoké hodnoty  $M_z = 27\,200$  a hodnoty  $M_{z+1}$ , která byla 43 200. Při hodnotě teploty skelného přechodu  $21,7\text{ }^\circ\text{C}$  a při vysoké polydisperzitě molekulových hmotností a při vysoké hodnotě  $M_w$  je možno předpokládat vysoký stupeň větvení nosiče 3T.

Botnání je vidět na obr. 11. Probíhá obdobně jako změny koncentrace hydrofilních molekul. Pík je však posunut do 8denního intervalu. Na rozdíl od matrice 5T, která byla pravděpodobně více větvená, měla matrice z 3T méně výraznou hysterezi v rozsahu botnání vzhledem ke koncentraci hydrofilních fragmentů. Rozdíl je přibližně 3 dny u nosiče 3T oproti 5 dnům u nosiče 5T, což je možno přičítat vyššímu stupni větvení nosiče 5T. Z toho je možno vyslovit hypotézu, že více větvené struktury patrně reagují na změny osmotických poměrů v maticích pomaleji než lineární nebo méně větvené.

Na obr. 12 jsou zobrazeny koncentrace hydrofilních oligoesterových molekul v maticích. Maximum hodnot se nachází kolem 5. dne působení vody jako degradačního média. Po dosažení píku hodnoty velmi prudce klesají do 14. dne, potom se jejich pokles výrazně zpomalí a dostane za 21 dní na hodnotu 7,7krát menší než je maximální prokázaná v 5denním intervalu.

Průběh eroze vyjádřený řadou dvou náhodně přiřazených matric uvádí obr. 13. Eroze začíná až za tři dny po ponoření matric do vody. Další průběh je poměrně rychlý, za 21 dní působení vodného média byl prokázán asi čtvrtinový zbytek z původní hmotnosti. Je možno předpokládat, že k úplné erozi materiálu matric dojde do šesti až sedmi týdnů.

#### **6.4.2 MATRICE O HMOTNOSTI 500 mg**

Matrice, které měly nominální hmotnost 500 mg se lišily od výše popsaných 150 mg především průměrem silikonových hadiček, které sloužily pro formování taveniny. Místo průměru 4 mm byl využit průměr 6 mm.

Na obr. 11 a 14 je průběh hodnot stupně botnání. Zvětšení matric ze 150 mg na 500 mg vedlo k posunu maxima charakteristiky ze 7 dní na více než 14 dní. Při zhodnocení návaznosti průběhu koncentrace hydrofilních karboxylů v matricích a jejich botnání je možno srovnat jejich hysterezi. U menších 150 mg tělísek byla hystereze v rozsahu 3 dny, u větších 500 mg tělísek byla hystereze delší, přibližně 8 dní. I když koncentrace karboxylových skupin na hydrofilních degradačních fragmentech byla v maximu u 500 mg matric o 30 % vyšší, hodnoty stupně botnání byly nižší. Po maximální hodnotě (40 %) následoval mírný pokles do minima. Růst hodnot stupně botnání ve finální fázi eroze poslední třetiny materiálu nosiče může být paralelním jevem se vzrůstem koncentrace karboxylů. K hysterezi v této fázi nemusí dojít, protože rozměry zbylého tělíska byly malé.

Změny hodnot karboxylového čísla obou matric v časové řadě jsou zobrazeny na obr. 12 a 15. Stejně jak tomu je u botnání, je u větších matric patrný posun polohy maximální hodnoty z přibližně čtyřdenního intervalu do sedmidenního. V souvislosti s průběhem eroze je v této relaci možno předpokládat, že nízkomolekulární hydrofilní fragmenty se v matricích tvoří ve značném předstihu před započatím erozního procesu. Zajímavé je minimum hodnot karboxylového čísla, které je kolem časového intervalu 20 dní. V rychle erodovaných zmenšujících se matricích se zvyšuje koncentrace hydrofilních nízkomolekulárních fragmentů.

Na obr. 13 a 16 je vidět eroze matric obou hmotností. Zvýšení velikostního parametru vedlo k prodloužení lag-time z přibližně dvoudenního na nejméně pětidenní. V další fázi probíhala eroze 500 mg tělísek kontinuálně až do konce pokusu. Za 28 dní zbyla přibližně šestina materiálu.

### **6.4.3 MATRICE O HMOTNOSTI 1250 mg S 20 % TRIETHYLCITRÁTEM**

Hmotnost matric se pohybovala v rozmezí od 1,20 do 1,30 g. Odchylka od průměrné hmotnosti nebyla větší než 5 %. Plastifikované matrice měly v počáteční fázi tvar sférického vrchlíku. Vlivem botnání a eroze při teplotě 37 °C se tvar plastifikovaných matric měnil.

Hystereze botnání oproti koncentraci hydrofilních oligoesterových molekul se projevila také v případě těchto matric. Maximální hodnota byla nalezena až kolem 20. dne působení vodného média. Rozdíl v poloze maximálních hodnot koncentrace karboxylů a stupně botnání je přibližně 7 dní. Hodnoty stupně botnání postupně rostou (obr. 17). V počáteční fázi jsou ovlivněny přítomností triethylcitrátu v matricích.

Hodnoty karboxylového čísla jsou vyobrazeny na obr. 18. Maximální hodnota charakteristiky byla nalezena až ve 14 ti denním intervalu. Je to o 5 dní později, než tomu bylo u 500 mg matric (obr. 15). Posun je možno přičítat jednak vlivu plastifikátoru. Hlavní příčinou je pravděpodobně větší velikost matric.

Na obr. 19 je zachycen průběh eroze. Z kinetiky je po srovnání s erozí 500 mg matric zřejmé, že absence lag-time souvisí především s elucí plastifikátoru, není vyloučena solubilizace a eluce nízkomolekulární frakce nosiče z matric. Z průběhu dat je zřejmé, že rozdělování plastifikátoru z matric trvá nejméně 9 dní. Za 28 dní působení vody na matrice zůstal 17 % zbytek materiálu nosiče. Celkovou dobu eroze je možno odhadovat na 40 dní. Rozdíl v rychlosti eroze mezi těmito plastifikovanými a menšími (500 mg) neplastifikovanými matricemi je velmi malý.

## 7. ZÁVĚRY

- 1) Matrice botnají nerovnovážně, v různých několikadenních intervalech dosahují hodnoty stupně botnání maxima. Doba dosažení maxima ve stupni botnání je kratší u matric z více větvených molekul, prodlužuje se vlivem zvyšující se velikosti matric.
- 2) Průběh degradace molekul nosiče je možno hodnotit z hlediska karboxylového čísla. Je to koncentrace hydrofilních ve vodě rozpustných molekul v matricích získaná rozdělováním z chloroformových roztoků. Hodnoty karboxylového čísla mají maxima, jejichž poloha v časové ose je posunuta se zvýšeným stupněm větvení a zvýšenou velikostí matric.
- 3) Se zvyšujícím se větvením molekul nosičů a se zvyšující se velikostí matric se více projevuje hystereze mezi osmotickou aktivitou nízkomolekulární frakce oligoesterů a stupněm botnání matric. Podstatou hystereze je stupeň botnání souvisící s obstrukčními efekty při difuzi degradačních produktů z matric do kapalného okolí. Obstrukční efekty jsou příčinou smíšeného typu degradace.
- 4) Plastifikace matric 20 % triethylesterem kyseliny citronové má malý vliv na rychlost jejich eroze a na existenci jevu maximálních hodnot koncentrace hydrofilních molekul či píku hodnot stupně botnání. Z omezeného počtu dat je možno předpokládat, že triethylcitrát prodlužuje hysterezi mezi koncentrací osmoticky aktivních molekul v matricích a jejich botnáním.
- 5) Průběh eroze matric z polyesterů alifatických hydroxykyselin ve vodě při teplotě 37 °C je ovlivněn stupněm větvení jejich molekul a velikostí matric. Se zvyšováním stupně větvení se zkracuje doba začátku děje a zpomaluje rychlost děje. Se zvětšováním matric se prodlužuje doba počátku eroze, zpomaluje se také další fáze.

## 8. LITERATURA

- (1) Frazza, E. J. and Schmitt, E. E.: A new absorbable suture. *J. Biomed. Mater. Res. Symp.*, 1971, 1: 43-58
- (2) Wasserman, D., 1971. US Patent 1,375,008
- (3) Miller, J.: Controlled release products for control of ectoparasites of livestock. In: Rathbone, M., Gurny, R., eds. *Controlled Release Veterinary Drug Delivery*. Elsevier Science, Amsterdam, 2000, s. 229-248
- (4) Lewis, D. H.: Controlled release of bioactive agents from lactide/glycolide polymers. In: Chasin, M., Langer, R., eds. *Biodegradable polymers as drug delivery systems*. Marcel Dekker, New York, 1995, s.1-41
- (5) Bahk, J.Y., Hyun, J.S., Lee, J.Y., Kim, J., Cho, Y.H., Lee, J.H., Park, J.S., Kim, M.O.: Concentration of ofloxacin in canine tissue and prostate: fluid after intraprostatic injection of biodegradable sustained-releasing microspheres. *J. Urol.* 163, 2000, s. 1560-1564
- (6) [www.stockguard.co.nz](http://www.stockguard.co.nz)
- (7) Schwach-Abdellaoui, K., Moreau, M., Schneider, M., Boisram, B., Gurny, R.: Controlled delivery of metoclopramide using an injectable semi-solid poly(orthoester) for veterinary application. *Int. J. Pharm.* 248, 2002, s. 31-37
- (8) Verrijck, R., Smolders, I.J., Bosnie, N., Begg, A.C.: Reduction of systemic exposure and toxicity of cisplatin by encapsulation on poly-lactide-co-glycolide. *Cancer Research* 52, 1992, s. 6653-6656
- (9) Matschke, C., Isele, U., van Hoogevest, P., Fahr, A.: Sustained-release injectables formed in situ and their use for veterinary products. *J. Control. Release* 85, 2002, s.1-15
- (10) Rothen-Weinhold, A., Gurny, R., Dahn, M.: Formulation and technology aspects of controlled drug delivery in animals. *Pharm. Sci. Technol. Today* 3, 2000, s. 222-231
- (11) Walduck, A.K., Opdebeeck, J.P., Benson, H.E., Pranker, R.: Biodegradable implants for the delivery of veterinary vaccines: design, manufacture and antibody responses in sheep. *J. Control. Release* 51, 1998, s. 269-280
- (12) Rathbone, M.J., Gurny, R.: *Controlled Release Veterinary Drug Delivery*. Elsevier Science, Amsterdam, 2000
- (13) Witchey-Lakshmanan, L., Li, Y.: Controlled drug delivery in the companion animal. In: Rathbone, M., Gurny, R., eds. *Controlled Release Veterinary Drug Delivery*. Elsevier Science, Amsterdam, 2000, s. 249-267

- (14) Vert, M., Feijen, J., Albertsson, A., Scott, G., Chiellini, E.: Biodegradable polymers and plastics. Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1992
- (15) Brekke, J. H.: Biodegradable, osteogenic, bone graft substitute, UK Patent 2215209A, Sept. 20, 1989, Osmed Inc.
- (16) Vert, M., Christel, P., Chabot, F. and Leray, J.: Bioresorbable plastic materials for bone surgery, In: G. W. Hastings and P. Ducheyne (Eds.), *Macromolecular Biomaterials*, New York, CRC Press, 1984, s. 119
- (17) Kleine, J. and Kleine, H.: *Macromol. Chem.*, 1959, 30: 23-38
- (18) Li, S., Vert, M.: Biodegradable Polymers: Polyesters. In: Mathiowitz, E., eds. *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. Wiley John, New York, 1999, s. 71-93
- (19) Li, S., Vert, M., Scott, G., Gilead, D., eds.: *Degradable Polymers-Principles and Applications*. Chapman and Hall, London, 1995, s. 43-87
- (20) Pitt, C. G., Gratzel, M. M., Kimmel, G. L., Surles, J. and Schindler, A.: Aliphatic polyesters 2. The degradation of poly(DL-lactide), poly ( $\epsilon$ -caprolactone) and their complexes in vivo. *Biomaterials*, 1981, 2: 215-220
- (21) Vert, M., Li, S. M., Spenlehauer, G. and Guerin, P.: Bioresorbability and biocompatibility of aliphatic polyesters. *J. Mater. Sci. Mater. Res.*, 1992, 5: 169-181
- (22) Li, S. M., Garreau, H. and Vert, M.: Structure- property relationships in the case of the degradation of massive aliphatic poly( $\alpha$ -hydroxy acids) in aqueous media: Part 1: Poly(DL-lactic acid). *J. Mater. Sci. Mater. Med*, 1990, 1: 123-130
- (23) Dahlmann, J., Rafler, G., Fechner, K., Melis, B.: Synthesis and properties of biodegradable aliphatic polyesters. *Br. Polymer J.* 23, Compendex, 1990, s. 235-240
- (24) Grizzi, I., Garreau, H. H., Li, S. and Vert, M.: Biodegradation of devices based on poly(DL-lactic acid): Size dependence. *Biomaterials*, 1995, 16: 305-311
- (25) Li, S. M., Girod-Holland, S. and Vert, M.: Hydrolytic degradation of poly(DL-lactic acid) in the presence of caffeine base. *J. Controlled Release*, 1996, 40: 41-53
- (26) Dunn, R. L., English, J. P., Strobel, J.D., Cowsar, D. R. and Tice, T. R.: Preparation and evaluation of lactide/glycolide copolymers for drug delivery, In: C. Migliaresi (Ed), *Polymers in Medicine*, Vol. 3, Amsterdam, Elsevier, 1988
- (27) Ogawa, Y., Okada, H., Heya, T., Shimamoto, T.: Controlled release of LHRH agonist, leuprolide acetate, from microcapsules: serum drug level profiles and pharmacological effects in animals. *J. Pharm. Pharmacol.* 41, 1989, s. 439-444
- (28) Sandow, J., Jerabek-Sandow, G., Krauss, B., Schmidt-Gollwitzer, M.: Pharmacokinetics and metabolism of LHRH agonists, clinical aspects. In: Labrie, F.,

Belanger, A., Dupont, A., eds. LHRH and its analogues. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1984, s. 123-137

(29) Ravivarapu, H.B., Moyer, K.L., Dunn, R.L.: Parameters affecting the efficacy of a sustained release polymeric implant of leuprolide. *Int.J.Pharm.* 194, 2000, s. 181-191

(30) Bowersock, T., Martin, S.: Controlled release vaccines in veterinary medicine. In: Rathbone, M., Gurny, R., eds. *Controlled Release Veterinary Drug Delivery*. Elsevier Science, Amsterdam, 2000, s. 269-309

(31) Eldridge, J., Staas, J., Meulbroek, J., McGhee, T., Tice, R., Gilley, R.: Biodegradable microspheres as a vaccine delivery system. *Mol. Immunol.* 28, 1991, s. 287-294

(32) Greenway, T., Eldridge, J., Ludwig, G., Staas, J., Smith, J., Gilley, R., Michalek, S.: Enhancement of protective immune response to Venezuelan equine encephalities (VEE) virus with mikroencapsulated vaccine. *Vaccine* 13, 1995, s. 1411-1420

(33) Barr, I., Kleining, M., Thiel, W.: A single-dose vaccination system of inactivated veterinary vaccine. *International Congress on the Regulation of Leukocyte Production and Immune Function*, Sydney, 1993

(34) Hazrati, A., Lewis, D., Atkins, T., Stohrer, R., McPhillips, C., Little, J.: Salmonella enteritidis vaccine utilizing biodegradable microspheres. *Proc. Int. Symp. Control. Release Bioact. Mat.*, 1993, s.101-102

(35) Estunigsih, S., Smooker, P., Wiedosari, E., Widjajanti, S., Vaiano, S., Partoutomo, S., Spithill, T.: Evaluation of antigens of *Fasciola gigantica* as vaccine againsts tropical fasciolosis in cattle. *Int. J. Parasitol.* 27, 1997, s. 1419-1428

(36) Jain, R.A.: The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices. *Biomaterials* 21, 2000, s. 2475-2490

(37) Foster, T., Moseley, W., Caputo, J., Alaniz, G., Leatherman, M., Yu, X., Claflin, W., Reeves, D., Cleary, M., Zantello, R.: Sustained elevated serum somatotropin concentrations in Holstein steers following subcutaneous delivery of a growth hormone releasing factor analog dispersed in water, oil or microspheres, *J. Control. Release* 47, 1997, s. 91-99

(38) Thompson, W.W., Anderson, D.B., Heiman, M.L.: Biodegradable microspheres as a delivery system for rismorelin porcine, a porcine-growth-hormone-releasing-hormone. *J. Control. Release* 43, 1997, s. 9-22

(39) Conrad, J.M., Skinner, D.S.: Controlled Sustained delivery of monensin in cattle: monensin R.D.D. *J. Control. Release* 9, 1989, s. 133-147

(40) Taylor, MA.: Recent Developments in Ectoparasiticides. *Vet. J.* 161, 2001, s. 253-268

- (41) Genchi, C., Rossi, L., Cardini, G., Kramer, L., Venco, L., Casiraghi, M., Genchi, M., Agostini, A.: Full season efficacy of moxidectin microsphere sustained release formulation for the prevention of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. *Vet. Parasitol.* 110, 2002, s. 85-91
- (42) Jaffe, H., Miller, J., Giang, P., Hayes, D.: Implantable systems for delivery of insect growth regulators to livestock. *Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, 1980, s. 237-250
- (43) Ustariz-Peyret, C., Vert, M.: Labile conjugation of a hydrophilic drug to PLA oligomers to modify a drug delivery system: cephadrin in PLAGA matrix. *J. Microencaps.* 17, 2000, s. 615-624
- (44) Kodama M, et al.: Effects of a new dexamethasone-delivery system (Surodex) on experimental intraocular inflammation models. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2003, 241: 927–933
- (45) Masteiková, R.: Aplikační systémy pro léčení onemocnění vnitřního oka. *Praktické lékařství*, 2 / 2005, s. 100-102
- (46) Pazdera, J.: Lidským kmenovým buňkám pomáhá napravit porušenou míchu vhodné „lešení“. OSEL (Objective Source E-Learning), [online], Praha, 20.02.2006 [cit. 28.8.2008]. Dostupné na WWW: <<http://www.osel.cz/index.php?clanek=1715>>. ISSN 1214-6307
- (47) Gupta, P.K., Johson, H., Allexon, C.: In vitro and in vivo evaluation of clarithromycin PLA microspheres for intramuscular drug delivery. *J. Control. Release* 26, 1993, s. 229-238
- (48) Sun, Y., Peng, Y., Aksornkoe, N., Johnson, J.R., Boring, J.G., Scruggs, D., Cooper, R.C., Laizure, S.C., Shukla, A.J.: Controlled release of oxytetracycline in sheep. *J. Control. Release* 85, 2002, s. 125-134
- (49) Johnson, C.A., Thompson, D.L.: Biodegradable delivery systems for estradiol: comparison between poly(D,L-lactide) microspheres and the SABER delivery system. *Proc. Int Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.*, 1999, s. 147-148
- (50) Driák, D.: Perspektivy antikoncepce. *Gynekolog*, MEDEXART, s.r.o., [online], 5/2007, [cit. 3.9.2008]. Dostupné na WWW: <<http://www.gyne.cz/clanky/2007/507/cl1.htm>>
- (51) Tamai H, Igaki K, Kzo E, et al.: Initial and 6 months results of biodegradable poly-L-lactic acid coronary stents. *Circulation*, 2002; 102: 399–404.
- (52) Kováč, J.: Použití stentů s místním uvolňováním léků (local drug delivery) v prevenci restenózy. *Interv. Akut. Kardiol.* [online]. Leicester, 2003, 2: 73-81, [cit. 25.8.2008]. Dostupné na WWW: <[www.zdravcentra.cz/cps/rde/xbcr/zc/1296.pdf](http://www.zdravcentra.cz/cps/rde/xbcr/zc/1296.pdf)>

- (53) Stehy z kyseliny mléčné, Gate2Biotech [online], 6.12.2007, [cit. 24.8.2008]. Dostupné na WWW: <<http://www.gate2biotech.cz/stehy-z-kyseliny-mlecne/>>, ISSN 1802-2685
- (54) Wyse, J.W., Takahashi, Y., DeLuca, P.P.: Instability of porcine somatotropin in polyglycolic acid microspheres. Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., 1989, s. 334-335
- (55) Li, S., Garreau, H. and Vert, M.: Structure-property relationships in the case of degradation of solid aliphatic poly( $\alpha$ -hydroxy acids) in aqueous media: 2. PLA37.5GA25 and PLA75GA25 copolymers. J. Mater. Sci. Mater. Med., 1990, 1: 131-139
- (56) Penco, M., Marcioni, S., Ferruti, P., D'Antone, S. and Deghenghi, R.: Degradation behaviour of block copolymers containing poly(lactic-glycolic acid) and poly(ethylene glycol) segments. Biomaterials, 1996, 17: 1583-1590
- (57) Zhu, K. J., Xiangzhou, L. and Shilin, Y.: Preparation, characterization, and properties of polylactide (PLA)-poly(ethylene glycol) (PEG) copolymers: a potential drug carrier. J. Appl. Polym. Sci., 1990, 39: 1-9
- (58) deGroot, J. H., Zijlstra, F. M., Kulpers, H. W., Pennings, A. J., Klomp maker, J., Veth, R. P. H. and Jansen. H. W. B.: Meniscal tissue regeneration in porous 50/50 copoly(L-lactide/ $\epsilon$ -caprolactone) implants. Biomaterials, 1997, 18: 613-622
- (59) Helder, J. and Feijen, J.: Copolymers of DL-lactic acid and glycine. Makromol. Chem., Rapid Commun., 1986, 7: 193-198
- (60) Jin, X., Carfagna, C., Nicolais, L. and Lanzetta, R.: Synthesis, characterization and in vitro degradation of a novel thermotropic ternary and p-hydroxybenzoic acid, glycolic acid and p-hydroxycinnamic acid. Macromolecules, 1995, 28: 4785-4794
- (61) Elisseeff, J., Anseth, K., Langer, R. and Hrkach, J. S. Synthesis and characterization of photo-cross-linked polymers based on poly(L-lactic acid-co-L-aspartic acid). Macromolecules, 1997, 30: 2182-2184
- (62) Ogle, C.R., Rathbone, M.J., Smith, J.F., Bunt, C., Burggraaf, S., Pickering, K.: Development of an injection moldable, biodegradable intravaginal insert technology. Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., Boston, 1999, s. 66-67
- (63) Bunt, C.R., Woodward, V.G., Rathbone, M.J., Burggraaf, C., Ogle, C.R., Burke, C.R., Pickering, K.: A poly(epsilon-caprolactone) bovine intravaginal insert for the delivery of progesterone. Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., Boston, 1999, s. 70-71
- (64) Bunt, C.R., Rathbone, M.J., Burggraaf, C., Ogle, C.R., Burke, C.R.: Elevation of plasma progesterone levels in cattle using a poly(epsilon-caprolactone) and cyclodextrin intravaginal insert containing progesterone. Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater., Boston, 1999, s. 1172- 1173

- (65) Bengs, H., Bayer, U., Krone, V., Lill, N., Sandow, J., Walch, A.: Polytartrate-a new biodegradable polymer. *Proc. Int. Symp. Control. Release Bioact. Mater.* 23, 1996, s. 114-115
- (66) Heller, J., Barr, J., Ng, S.Y., Shen, H-R., Schwach-Abdellaoui, K., Emmahl, S., Rothen-Weinhold, A., Gurny, R.: Poly(ortho esters)- their development and some recent applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm* 50, 2000, s. 121-128
- (67) Einmahl, S., Capancioni, S., Schwach-Abdellaoui, K., Moeller, M., Behar-Cohen, F., Gurny, R.: Therapeutic applications of viscous and injectable poly(ortho esters). *Adv. Drug Deliv. Rev.* 53, 2001, s. 45-73
- (68) Capancioni, S., Schwach-Abdellaoui, K., Zanello, P., Guyonnet, J., Kaltsatos, V., Gurny, R.: Semi-solid autocatalyzed poly(ortho ester) as a new veterinary drug delivery system for estrus synchronization in ewes. *Proc. 4th World Meeting ADRITELV/APGI/APV, Florenz, 2001*, s. 1539-1540
- (69) Goepferich, A., Tessmar, J.: Polyanhydride degradation and erosion. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 54, 2002, s. 911-931
- (70) Finch, C.A.: *Polyvinyl Alcohol*, Wiley, London, 1973, s. 622
- (71) Aleyamma, A.J. and Sharma, C.P.: Poly(vinyl alcohol) as a biomaterial. In: Sharma, C.P and Szycher (Ed), *Blood Compatible Matrials and Devices*. Technomic, Lancaster, PA, 1991, s. 123-130
- (72) Noguchi, T., Yamamuro, T., Oka, M., Kumar, P., Kotoura, Y., Hyon, S.-H. and Ikada, Y.: Poly(vinyl alcohol) hydrogel as an artificial articular cartilage: evaluation of biocompatibility. *J. Appl. Biomater.*, 1991, 2: 101-107
- (73) Hyon, S. -H., Cha, W. -I., Ikada, Y, Kita, M., Ogura, Y. and Honda, Y.: Poly(vinyl alcohol) as a soft contact lens material. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed*, 1994, 5: 397-406
- (74) Peppas, N. A. and Gehr, T. W. B.: New hydrophilic copolymers for biomedical applications. *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs.*, 1978, 24: 404-410
- (75) Langer, R.: New methods of drug delivery. *Science*, 1990, 249: 1527-1533
- (76) Korsmeyer, R. W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P. and Peppas, N. A.: Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm.*, 1983, 15: 25-35
- (77) Korsmeyer, R. W. and Peppas, N. A.: Effect of the morphology of hydrophilic polymeric matrices on the diffusion and release of water soluble drugs, *J. Membr. Sci.*, 1981, 9: 211-227
- (78) Peppas, N. A. and Merrill, E. W.: Poly(vinyl alcohol) hydrogels: reinforcement of radiation-crosslinked networks by crystallization, *J. Polym. Sci.*, 1976, 14: 441-457

- (79) Wan, L. S. C and Lim, L. Y.: Drug release from heat-treated polyvinyl alcohol films. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 1992, 18: 1895-1906
- (80) Yamaoka, T., Tabata, Y. and Ikada, Y.: Comparison of body distribution of poly(vinyl alcohol) with other water soluble polymers after intravenous administration. *J. Pharm. Pharmacol.*, 1995, 47: 479-486
- (81) Mallapragada, S. K., Peppas, N. A. and Colombo, P.: Crystal dissolution-controlled release systems: II. Metronidazole release from semicrystalline poly(vinyl alcohol) systems. *J. Biomed. Mater. Res.*, 1997, 36: 125-130
- (82) Heller, J.: Modulated release from drug delivery devices. *Crit. Rev. Ther. Drug Deliv. Syst.*, 1993, 10: 253-305.