

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie

**OLIGOESTERY VĚTVENÉ PENTAERYTHRITOLEM
A TRIPENTAERYTHRITOLEM JAKO ADHEZIVNÍ
NOSIČE LÉČIV**

Diplomová práce

Hradec Králové 2010

Daniela Praislerová

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Děkuji PharmDr. Evě Šnejdové Ph.D za cenné rady a odborné vedení při vypracování diplomové práce.

Daniela Praislerová

Obsah:

1. ÚVOD.....	5
2. SEZNAM ZKRATEK	6
3. CÍL PRÁCE.....	7
4. TEORETICKÁ ČÁST	8
4.1. POLYMERY	8
4.1.1. PLA / PGA / PLGA polymery	9
4.1.2. PEG – PLA / PLGA - PEG triblokové kopolymery	14
4.1.3. Poloxamery.....	15
4.2. BIODEGRADACE.....	16
4.2.1. MECHANISMUS BIODEGRADACE PLA či PLGA	16
4.2.2. FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ RYCHLOST DEGRADACE.....	18
4.3. TERAPEUTICKÉ SYSTÉMY	20
4.3.1. Lipozómy.....	20
4.3.2. Mikročástice.....	21
4.3.3. Nanočástice.....	22
4.3.4. Implantované systémy.....	23
5. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
5.1. POUŽITÉ SUROVINY	29
5.2. POUŽITÉ PŘÍSTROJE.....	30
5.3. CHARAKTERISTIKA MĚŘENÝCH VZORKŮ.....	31
5.4. PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO ADHEZI A DISOLUCI	32
5.5. MĚŘENÍ A VYHODNOCENÍ ADHEZE	33
5.6. DISOLUCE ACIKLOVIRU A FLUKONAZOLU	34
5.6.1. Příprava liberačního média.....	34
5.6.2. Kalibrační přímka acikloviru.....	34
5.6.3. Kalibrační přímka flukonazolu	36
5.6.4. Průběh disolučního testu	37
5.6.5. Výpočet množství uvolněného léčiva.....	37
6. VÝSLEDKY	39
6.1. TABULKY.....	39

6.1.1.	<i>Měření adheze</i>	39
6.1.2.	<i>Liberace acikloviru</i>	42
6.1.3.	<i>Liberace flukonazolu</i>	48
6.2.	GRAFY	54
6.2.1.	<i>Adheze</i>	54
6.2.2.	<i>Liberace acikloviru</i>	55
6.2.3.	<i>Liberace flukonazolu</i>	58
7.	DISKUZE	61
8.	ZÁVĚRY	67
9.	SEZNAM LITERATURY	71

1. Úvod

Objevem biodegradabilních polymerů se otevřely nové možnosti výzkumu v různých oblastech. Lze je využít v textilním, farmaceutickém, veterinárním průmyslu, v zemědělství a také v medicíně, např. v chirurgii (šičí materiály, chirurgické náhrady, šrouby, nebo destičky), ortopedii nebo v kostním a tkáňovém inženýrství (implantáty). Dále slouží jako materiál pro ošetření ran např. k výrobě filmů nebo fólií. Značným přínosem se stalo jejich využití při řízeném uvolňování léčiv.

Mezi nejlépe popsané a prostudované syntetické polymery, vhodné také pro uvolňování léčiv, patří skupina hydrolyticky degradabilních polyesterů, především kyselina polymlečná, kyselina polyglykolová a jejich kopolymery, na které je v této práci nejvíce soustředěna pozornost. Musí splňovat požadavky na bezpečnost, biokompatibilitu, toxicitu a možnost úpravy mechanických i degradačních vlastností. Správným výběrem polymerní pomocné látky můžeme dosáhnout efektivnější terapie, jako např. zvýšením distribuce, biodostupnosti, snížením dávky léčiva, které je nutné pro vyvolání terapeutického efektu u pacientů (redukce nežádoucích účinků), které může mít za následek lepší compliance pacienta.

Tato diplomová práce studuje adhezivní a liberační vlastnosti plastifikovaných větvených polyesterů a tematicky navazuje na jiné práce, ve kterých byly za stejných zkušebních podmínek testovány buď jiné polyesterové nosiče, nebo jiné plastifikátory.

2. Seznam zkratek

A.....	absorbance
ACV.....	aciklovir
D,L-LA.....	kyselina mléčná složená z racemické směsi izomerů
D,L-PLA.....	kyselina polymléčné složená z racemické směsi izomerů
DMSO.....	dimethylsulfoxid
FDA.....	U. S. Food and Drug Administration
FLU.....	flukonazol
F_{max}	maximál. síla potřebná pro odtržení horní plochy od dolní
HMGC _o A.....	3-hydroxy-3-metylglutaryl-koenzym A reduktáza
L-PLA.....	kyselina polymléčné složená z L- izomerů
M_w	hmotnostní průměr molárních hmotností
NMP.....	N-methyl-2-pyrrolidon
O/O emulze.....	emulze olej v oleji
O/V emulze	emulze olej ve vodě
P.....	pentaerythritol
PEG-PLA/PLGA-PEG.....	kopolymery polyethylenoxidu a kyseliny polymléčné/ kyseliny mléčné a glykolové
PEO.....	polyethylenoxid
PEO-PPO-PEO.....	kopolymery polyethylenoxidu a polypropylenoxidu
PGA.....	kyselina polyglykolová
PLA.....	kyselina polymléčná
PLC.....	poly(ϵ - kaprolakton)
PLGA.....	kopolymer kyseliny mléčné a glykolové
PPO.....	polypropylenoxid
s.....	směrodatná odchylka
T.....	tripentaerythritol
TEC.....	triethylcitrát
T_g	teplota skelného přechodu
T_m	teplota tání

3. Cíl práce

Cílem diplomové práce bylo studium liberace acikloviru a flukonazolu z plastifikovaných polyesterových nosičů do fosfát-citrátového pufru pH 7,0 a zjištění jejich adhezivních vlastností. Jedná se o polyestery kyseliny D,L-mléčné a kyseliny glykolové, které byly větveny pentaerytritolem nebo tripentaerytritolem v různých procentuálních zastoupeních. Koncentrace větvící složky v reakční směsi byla 1%, 3% nebo 5%, proto byly testované nosiče pracovně označeny 1P, 3P, 5P, 1T, 3T a 5T.

Úkol práce lze rozdělit do těchto bodů:

1. Plastifikace nosičů 20 % triethylcitrátu.
2. Měření adhezivních vlastností plastifikovaných nosičů na materiálovém zkušebním stroji T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell.
3. Příprava matric obsahujících 4% acikloviru či flukonazolu z nosičů 1P, 3P, 5P, 1T, 3T a 5T.
4. Liberace acikloviru a flukonazolu do fosfát-citrátového pufru z matric ve statickém disolučním testu při 37°C.
5. Stanovení množství uvolněného acikloviru měřením absorpance proti pufru při 256 nm a flukonazolu při 261 nm.
6. Zhodnocení průběhu liberace acikloviru a flukonazolu z nosičů.

4. Teoretická část

4.1. POLYMERY

Přírodní polymery jsou zpravidla biologicky rozložitelné a nabízejí vynikající biokompatibilitu, ale problémem je jejich čistota. Naproti tomu syntetické polymery jsou k dispozici v různých chemických složení, čímž lze snadno docílit požadovaných vlastností. Kombinací různých druhů polymerů lze získat kopolymery. Volba polymeru závisí na jeho fyzikálně-chemických vlastnostech, na biochemické charakterizaci a konkrétních preklinických testech, které prokazují jeho bezpečnost.

Polymery je možné rozdělit na biodegradabilní a nedegradabilní. Biodegradabilní polymery lze rozložit, a to enzymaticky, chemicky či mikrobiálně.

Během posledních dvou desetiletí byl proveden rozsáhlý výzkum uvolňování léčiv z terapeutických systémů. Jejich účelem je dosáhnout efektivnější terapie. Hlavními přínosy jsou zvýšení distribuce, zlepšení biologické dostupnosti a snížení dávky léčiva, které je nutné pro vyvolání terapeutického efektu u pacientů (redukce nežádoucích účinků). Předností podání menšího množství léčiva je, že se zvyšuje pacientova compliance. Mezi jejich další výhody můžeme zařadit omezení vysoké počáteční hladiny účinné látky v plazmě.^{1,2}

Biodegradabilní polymery jsou nejčastěji používány ve formě mikročástic u injekčně podávaných systémů. Výhodou je jejich snadná aplikace a specifické místo účinku. Vznikají ale výrobní problémy jako jsou obtížná zpracovatelnost nebo omezené rozpouštění.³

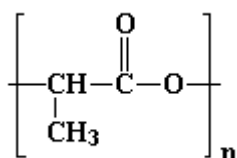
Nejvíce prozkoumané a také používané jsou polyestery kyseliny mléčné (PLA), glykolové (PGA) a jejich kopolymery (PLGA). Kopolymery polyethylenoxidu (PEO) a polypropylenoxidu (PPO), které jsou komerčně dostupné jako poloxamery, jsou jedny z nejzajímavějších polymerů.

4.1.1. PLA / PGA / PLGA polymery

- **OBEČNÁ CHARAKTERISTIKA**

Jsou to nejčastěji používané syntetické polymery pro řízené parenterální uvolňování léčiv. Jsou k dispozici v různých poměrech a molekulové hmotnosti. Skládají se z netoxických monomerů (kyseliny mléčné a glykolové). Jsou dokonale biokompatibilní.⁴ U. S. Food and Drug Administration (FDA) schválila jejich parenterální používání.

- **PLA**



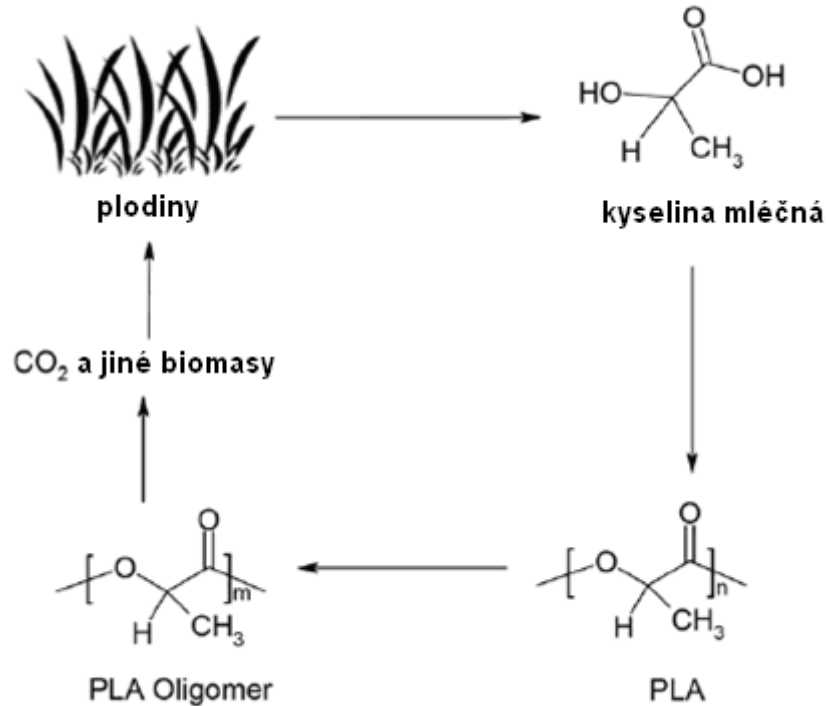
Obr.1: Strukturální vzorec PLA⁵

PLA je vysoce pevný termoplast, který lze snadno zpracovat. Z důvodu vysokého rozsahu výroby je nutné, aby byl polymer dostatečně tepelně stabilní, aby se zabránilo jeho rozkladu. Zároveň si ale musí uchovat molekulovou hmotnost a požadované vlastnosti.⁶

PLA se může značně lišit v chemických a fyzikálních vlastnostech v důsledku přítomnosti methylové skupiny na α - atomu uhlíku. Chirální centrum umožňuje existenci L-, D- a D,L- izomerů. Poly(L-mléčná kyselina), poly(D-mléčná kyselina) a poly(D,L-mléčná kyselina) jsou syntetizovány z L(-), D(+) a D,L- monomerů kyseliny mléčné.⁷ L-PLA má stupeň krystalinity okolo 37% (z důvodu vysoké stejnoměrnosti polymerních řetězců), teplotu tání (T_m) v rozmezí 175 – 178°C a teplotu skelného přechodu (T_g) 60 – 65°C. D,L-PLA je kvůli nesrovnalostem ve struktuře amorfním polymer. V praxi je preferován D,L-PLA před L-PLA, neboť L-PLA degraduje mnohem pomaleji (k jeho kompletní absorpci, je potřeba alespoň dvou let) a D,L-PLA navíc umožňuje více homogenní disperzi léčiva v polymerní matici.⁸

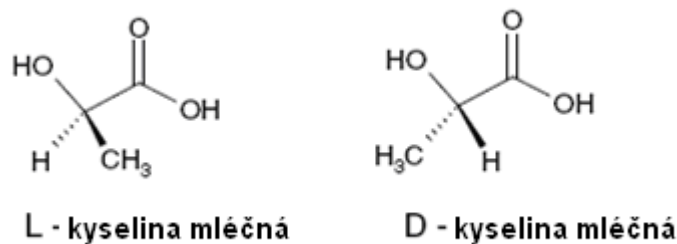
SYNTÉZA MONOMERU

Monomer tj. kyselina mléčná může být syntetizován biologickými nebo chemickými metodami. Preferována je ovšem metoda biologická. Je založena na bakteriální fermentaci škrobů a jiných polysacharidů, které jsou snadno dostupné z kukuřice, cukrové řepy, cukrové třtiny, brambor a ostatní biomasy.



Obr.2: Koloběh PLA⁷

Mléčná kyselina (2-hydroxy-propanová kyselina) je nejjednodušší hydroxy kyselinou s asymetrickým atomem uhlíku a existuje ve dvou opticky aktivních konfiguracích. Jak D- i L-enantiomery jsou vyráběny v bakteriálních systémech. Vhodným výběrem mikroorganismů (např. různé optimalizované nebo upravené kmeny *Lactobacillus*) lze docílit výroby L- kyseliny mléčné. Kyselina mléčná získaná chemickým procesem je racemická směs D-a L-isomerů.⁷



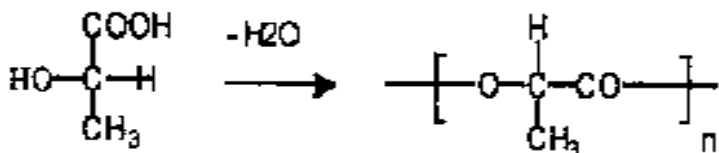
Obr.3: Izomery kyseliny mléčné⁷

POLYMERIZACE

Polymerizace vyžaduje vysokou čistotu monomeru, jelikož nečistoty nepříznivě ovlivňují kvalitu polymeru.⁹ Může probíhat v přítomnosti katalyzátoru nebo bez něj. Existují dvě základní metody používané pro syntézu PLA:

1. Přímá polymerace polykondenzací

Při kondenzačních reakcích spolu jednotky monomerů reagují za uvolnění malé molekuly, nejčastěji vody. Touto reakcí se připraví nízkomolekulární polymery ($M_w < 5000$). Ovšem právě jejich nízká molekulová hmotnost omezuje jejich použití. Další nevýhodou je, že nelze v průběhu polymerace kontrolovat jejich stereoizomerii.

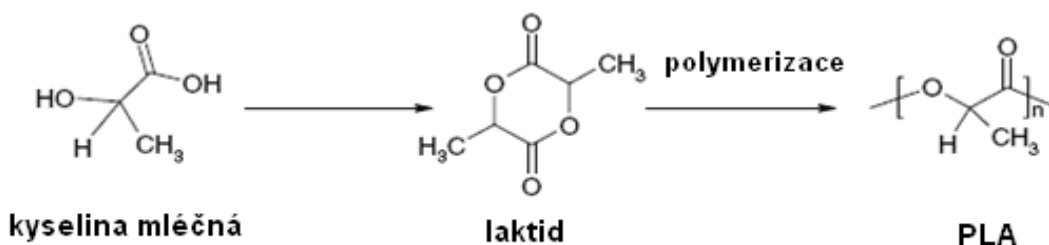


Obr.4 : Polykondenzace ⁷

2. Polymerace za otevření kruhu (ring-opening)

Tato metoda je obvykle používána pro syntézu polymeru vysoké molekulové hmotnosti a lze kontrolovat stereoizomerii.

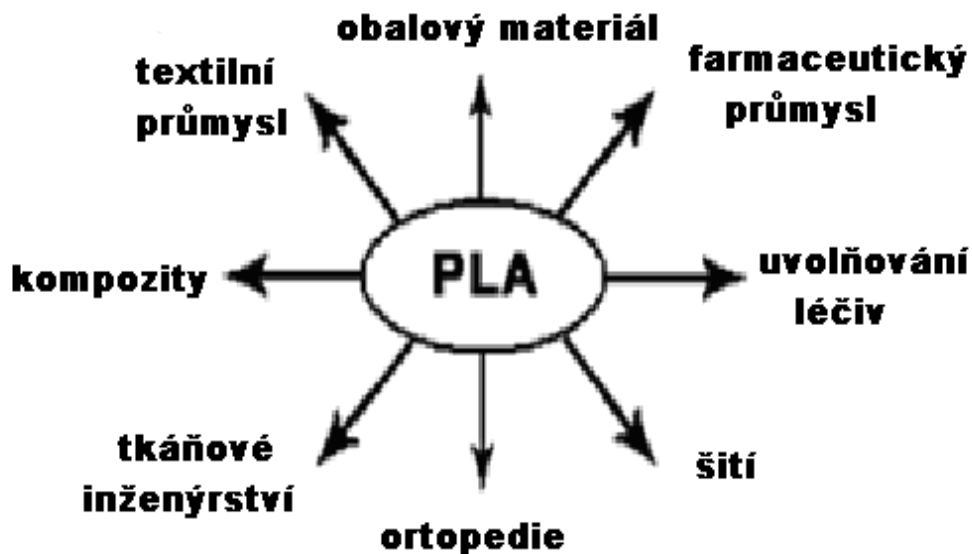
Dochází ke štěpení polymerů při vysokých teplotách a jejich seskupování do 6-členných cyklických diesterů, jež se čistí destilací nebo rekrystalizací. Následují polymerizační reakce, kdy se kruhy 6-členných cyklických dimerů otevírají, spojují a řetězec se prodlužuje, dokud nevznikne polymer s požadovanou molekulovou hmotností.⁷



Obr.5 : Polymerace za otevření kruhu ⁷

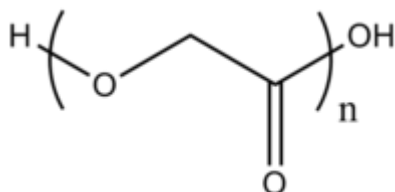
VYUŽITÍ

Tento polymer je vhodný pro využití v oblasti biomedicíny pro kostní a tkáňové inženýrství¹⁰ zaměřené na aplikaci vstřebatelných lékařských implantátů (příprava vstřebatelných stehů, výroba implantátů). PLA se dále používá v ortopedii¹¹ či fixaci během ústních operací, k výrobě filmů nebo fólií pro ošetření ran a pro aplikace v zemědělství, jako je pomalé uvolňování pesticidů a hnojiv.⁷ PLA je také velmi důležitý pro řízené uvolňování léčiv.



Obr.6: Využití PLA⁷

- **PGA**



Obr.7: Strukturální vzorec PGA¹²

PGA je syntetický, biodegradabilní, termoplastický polymer empirického vzorce $(C_2H_2O_2)_n$. Tento lineární alifatický polyester je vysoce krystalický s krystalinitou v rozmezí 35 % až 75 %. PGA je nerozpustný ve většině organických rozpouštědel (aceton, dichlormethan, chloroform, ethylacetát či tetrahydrofuran), má vysokou pevnost a modul elasticity.¹³ Biodegradace u PGA nastává hydrolýzou nestabilních esterových vazeb.

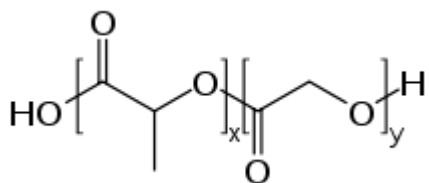
SYNTÉZA

PGA se vyrábí přímou nebo nepřímou polymerací monomeru tj. z kyseliny glykolové. Monomer získáme buď extrakcí či purifikací z rostlin¹⁴ nebo laboratorní syntézou.

Přímá polykondenzace vede ke vzniku nízkomolekulární PGA se slabými mechanickými vlastnostmi.

Vysokomolekulární PGA se získává polymerací za otevření kruhu (ring-opening) cyklického dimeru kyseliny glykolové.

- **PLGA**



Obr.8: Strukturální vzorec PGA¹⁵

PLGA je kopolymerem kyseliny mléčné a glykolové. Vyznačuje se dobrými mechanickými vlastnostmi, nízkou imunogenicitou, toxicitou a předvídatelnou kinetikou biodegradace.

Výsledná krystalinita závisí na typu a poměru jednotlivých monomerů (kyselina mléčná a glykolová) v kopolymerním řetězci. PLGA připravené z L-PLA a PGA jsou krystalické kopolymery, zatímco ty z D,L-PLA a PGA jsou amorfni povahy.

Další důležitou charakteristikou je teplota skelného přechodu (T_g), která je vyšší než fyziologická teplota tzn. 37 °C.

SYNTÉZA

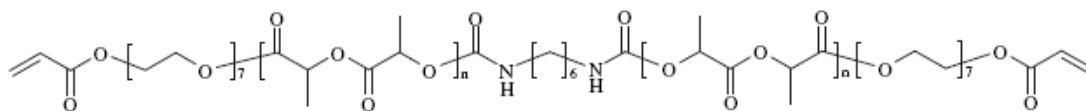
Způsob syntézy kopolymerů závisí na požadované molekulové hmotnosti. Nízkomolekulární kopolymery (M_r cca 10 000) lze připravit řízenou polyesterifikací kyseliny mléčné a glykolové. Praktické využití těchto kopolymerů je stejně jako nízkomolekulárních PLA či PGA omezeno malou mechanickou pevností a vysokou rychlostí degradace.

Vysokomolekulární kopolymery (M_r od 10 000) jsou získávány polymerizací za otevření kruhu z cyklických dimerů, cyklických diesterů kyseliny mléčné a glykolové.

VYUŽITÍ

PLGA je jedním z nejfrekventovanějších polymerů pro biomedicínkové aplikace. Byl schválen Americkým úřadem pro potraviny a léčiva jako jeden z několika biodegradabilních struktur vhodných pro humánní klinické použití, jako např. čepy pro implantaci, matrice pro tkáňové inženýrství či materiál pro řízené uvolňování léčiv. Širokou veřejností byl přijat jako vhodný materiál pro šití. Uplatnění nachází při rekonstrukcích vazů, tracheálních náhradách či břišní kýle. Dále se používá pro chirurgické ošetření ran, cévní štěpy, nervy, zuby a opravy zlomenin.^{16, 8}

4.1.2. PEG – PLA / PLGA - PEG triblokové kopolymery



Obr.9: PEG-PLA-PEG kopolymer¹⁷

• OBECNÁ CHARAKTERISTIKA

Začleněním polyethylenglykolu (PEG) a PLA či PLGA do bloků vznikají PEG-PLA/PLGA-PEG kopolymery. Tyto triblokové kopolymery jsou tedy termoreversibilní, ve vodě rozpustné, biokompatibilní a také biodegradabilní.¹⁸

• VLASTNOSTI

Jednotlivé polymery mají v daném systému specifické role. PEG je hydrofilní, a tím přivádí do systému vodu, zatímco PLA umožňuje degradaci celého materiálu. S rostoucím množstvím PLA klesá schopnost systému bobtnat, degradace může být zpožděna až o 40 dní a teplota skelného přechodu je posunuta přibližně o 15 °C. Studie dále prokázaly, že mísení polymerů s PLA zvyšuje jejich mechanickou pevnost, teplotu skelného přechodu a buněčnou biokompatibilitu. Přítomnost PEG v kopolymeru naopak pomáhá kontrolovat interakce s buňkami a působí projektivně na nespecifické bílkovinné vazby, což je velkým nedostatkem tradičních PLA biomateriálů. Změnou chemického složení, např. obsahu PLA těchto kopolymerů získáme kontrolu nad jejich fyzikálními a chemickými vlastnostmi, což je činí vynikajícími materiály pro biomedicínkové aplikace.¹⁷

Výskyt po aplikaci rigidních pomalu uvolňovaných systémů silně závisí na teplotě (30-70⁰C) a na koncentraci polymeru (15-45%). Kolísání hydrofobní PLA nebo hydrofilní PEG části polymeru může ovlivnit vlastnosti tohoto gelu. Čím vyšší je hydrofobní část polymeru, tím nižší je třeba teploty a koncentrace k dosažení požadované kapalné krystalické struktury.³

Nízká viskozita za pokojové teploty umožňuje sterilní filtraci a nepřítomnost organických kapalin, jako jsou parenterální rozpouštědla, což je považováno za velkou výhodu. S ohledem na netoxické rozkladné produkty PEG, mléčné zbytky kyseliny glykolové a využití vody jako rozpouštědla, lze předpokládat vysoký stupeň biodegradability.¹⁹

- **NEVÝHODY**

Nevýhodou je, že jsou schopné pojmout jen malé množství léčiva (1% ketoprofenu) ve srovnání například s PLA/ PLGA(40%).²⁰

4.1.3. Poloxamery

- **OBEČNÁ CHARAKTERISTIKA**

Tyto PEO-PPO-PEO triblokové kopolymery, které se skládají z polyethylenoxidu (PEO) a polypropylenoxidu (PPO), jsou schváleny FDA. Jsou k dispozici v různých délkách a za tělesné teploty jsou schopny tvořit gel.²¹

Pro pozvolné uvolňování se jako jedním z prvních používal Poloxamer 407, známý také jako Pluronic F127. Byl prohlášen nejméně toxickým. Ve vodném prostředí je za pokojové teploty kapalný, při 37⁰C ale reverzibilně geluje. Tato gelová struktura se po vstříknutí rychle rozpouští v tělních tekutinách. Jedním z dalších důvodů, proč je tolik oblíbený, je jeho inhibiční účinek na P-glykoproteinu.²² Některé peptidy se mohou uvolňovat až 1 den.²³

- **NEVÝHODY**

Důležitou nevýhodou Poloxameru 407 je indukce hypertriglyceridémie a hypercholesterolemie po intraperitoneální injekci. To je způsobeno stimulací 3-hydroxy-3-metylglutaryl-koenzym A reduktázy (HMGCoA) v játrech. Zvýšené plazmatické hladiny cholesterolu a triglyceridů v důsledku chronického podávání pacientům tohoto polymeru může bránit terapeutickým výsledkům, jeho použití je tedy omezené.²⁴ Oční aplikace koncentrovaného roztoku polymeru (> 16%) navíc může způsobit určitý diskomfort jako např. zastřené vidění.

4.2. BIODEGRADACE

Obecně se za degradabilní polymery považují ty, které se rozloží v průběhu jeho použití nebo jen krátce poté. Biodegradace je přirozený proces, kterým jsou chemické látky převáděny na jednodušší sloučeniny. Dochází k enzymatickému či chemickému rozkladu působením živého organismu nebo produktu jeho sekrece.²⁵

Enzymatickým systémem se odbourávají např. polysacharidy či polypeptidy. Enzymy se aktivně váží na vazebná místa a následně polymer štěpí.

Uvolňování léčiva z polymeru dochází několika mechanismy: difúzí, vznikem pórů, erozí či hydrolýzou polymeru, iontovou výměnou nebo kombinací těchto mechanismů.

Difúze nastává, pokud léčivo nebo jiná účinná látka prochází přes polymer. K difúzi může docházet na makroskopické úrovni (skrz póry v matrici polymeru) nebo na molekulární úrovni (mezi řetězci polymerů).

Hydrolýzou dochází k rozkladu molekuly polymeru na menší části za přítomnosti vody. Podléhají jí sloučeniny, které obsahují hydrolyticky nestabilní vazby.

Existují 2 typy eroze:

Objemovou erozí (bulk erosion) se označuje proces, kdy dochází k redukci hmotnosti matrice, avšak některé mechanické vlastnosti zůstávají zachovány do doby, než dojde k degradaci i krystalické části.

Povrchovou erozí dochází ke zmenšování tělesa za současného zachování fyzické integrity.²⁶

Pokud probíhá uvolňování léčiva rychleji než eroze polymeru, pak bude rychlost tohoto uvolňování určovat difúze. Pokud je rychlost uvolnění léčiva rovna rychlosti eroze systému, je dosaženo uvolňování kinetiky nultého řádu.²⁷

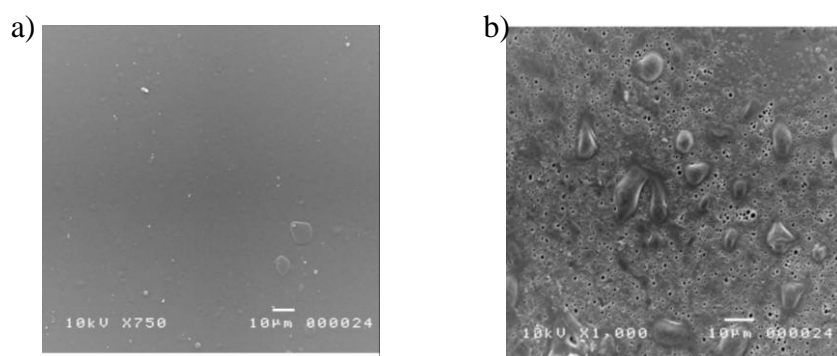
Pokud dochází k rozsáhlé degradaci systému, je těžké kontrolovat rychlost uvolnění léčiva, protože se může měnit s degradací polymeru.²⁸

4.2.1. MECHANISMUS BIODEGRADACE PLA či PLGA

Uvolňování léčiv z biodegradabilních polymerů, jako jsou PLA či PLGA, probíhá díky esterové hydrolýze, následné difúzi a tvorbě pórů.

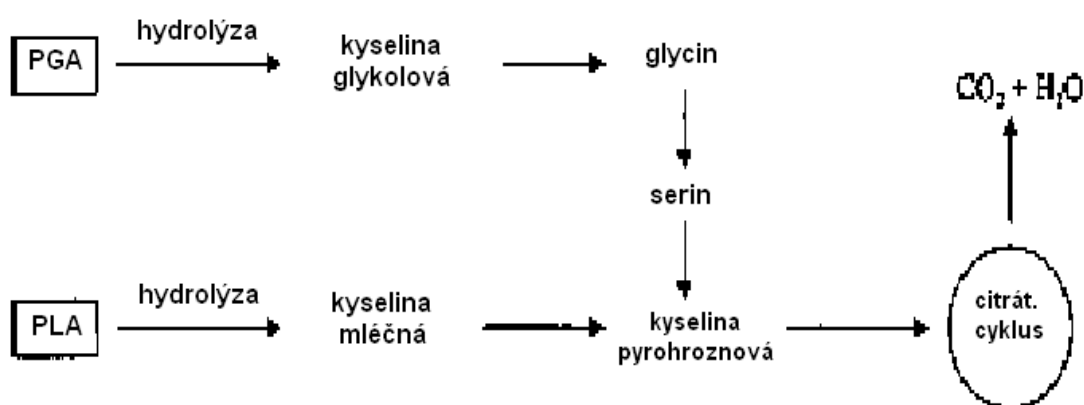
Nejprve dochází k mírnému rozložení polymeru ve vodném prostředí (eroze), což způsobuje difúzi tohoto prostředí do matrice. Degradace, která postihuje celou polymerní matrici, probíhá hydrolýzou esterové vazby, čímž dochází ke zkracování dlouhých polymerních řetězců až na oligomery či monomery, které jsou rozpustné

ve vodě a proto unikají z matrice do vodného prostředí.. Tím dochází ke vzniku pórů. Degradace zapříčiňuje nárůst počtu karboxylových konců, které autokatalyzují esterovou hydrolýzu. S postupem času mohou být odplaveny rozpustné oligomery blízké povrchu, zatímco ty v matrici jsou uzavřeny a přispívají ke katalytickému účinku. To má za následek značný úbytek matrice až dochází k jejímu úplnému odbourání.⁷



Obr.10: a) PLGA před ponořením b) po 28 dnech ponoření do média²⁹

Konečnou fází biodegradace je eliminace monomerů. Kyselina mléčná je dále metabolizována, vstupuje do cyklu trikarboxylových kyselin (citrátový cyklus) a následně je vyloučena z těla v podobě oxidu uhličitého a vody. Bylo zjištěno, že eliminace probíhá pomocí dýchání. Glykolová kyselina se buď v nezměněné podobě vylučuje ledvinami, nebo dochází k jejímu rozkladu a následnému vyloučení z těla stejně, jak je tomu u kyseliny mléčné.³⁰



Obr.11: Hydrolýza PGA a PLA³⁰

4.2.2. FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ RYCHLOST DEGRADACE

Doba rozpadu je variabilní, v zásadě od 1 měsíce až po několik let. Významnou předností polymerů těchto hydroxy kyselin je možnost modifikovat rychlost uvolňování, která může být upravována v závislosti na době trvání požadovaného účinku.

Toho je docíleno:³¹

1. MODULACÍ CHEMICKÉHO SLOŽENÍ

- podílem obsahu kyseliny glykolové / mléčné

Polymery (např. PLGA), které obsahují kyselinu mléčnou a glykolovou v poměru 50:50, jsou hydrolyzovány mnohem rychleji, než ty, které obsahují větší podíl jednoho z těchto monomerů. Kyselina mléčná je hydrofobnější než kyselina glykolová. Z tohoto důvodu jsou kopolymery PLGA, ve kterých je tato kyselina hojně zastoupena, méně hydrofilní, a proto také absorbují méně vody a následně degradují pomaleji.

Zvýšení rychlosti rozkladu naopak dosáhneme snížením počtu monomerních jednotek kyseliny mléčné a současným zvýšením jednotek kyseliny glykolové.³²

- poměrem složení PLGA / PLA polymeru

Esterová vazba je více náchylná k hydrolyze. U PLA jsou esterové vazby stericky bráněny methylovou skupinou.²⁷

2. MODULACÍ TAKTICITY

- D/L- izomery, D,L- racemické směsi

Nízkomolekulární kopolymery D, L- laktidů a glikolidů degradují rychleji, než-li D- a L- izomery.⁸

3. MODULACÍ FYZIKÁLNÍCH VLASTNOSTÍ

- změnou molekulové hmotnosti

Bylo obecně zjištěno, že čím vyšší procento polymeru / léčiva a čím vyšší molekulová hmotnost, tím bude uvolňování z těchto polymerů trvat déle.

- stupněm krystalinity (čirosti)

Stupeň krystalinity má zásadní vliv na jejich propustné vlastnosti. Čím vyšší je stupeň krystalinity polymeru, tím je biodegradace pomalejší. Stupeň krystalinity se může v průběhu degradace dramaticky snížit, což může vést k amorfním místům v polymeru.³³

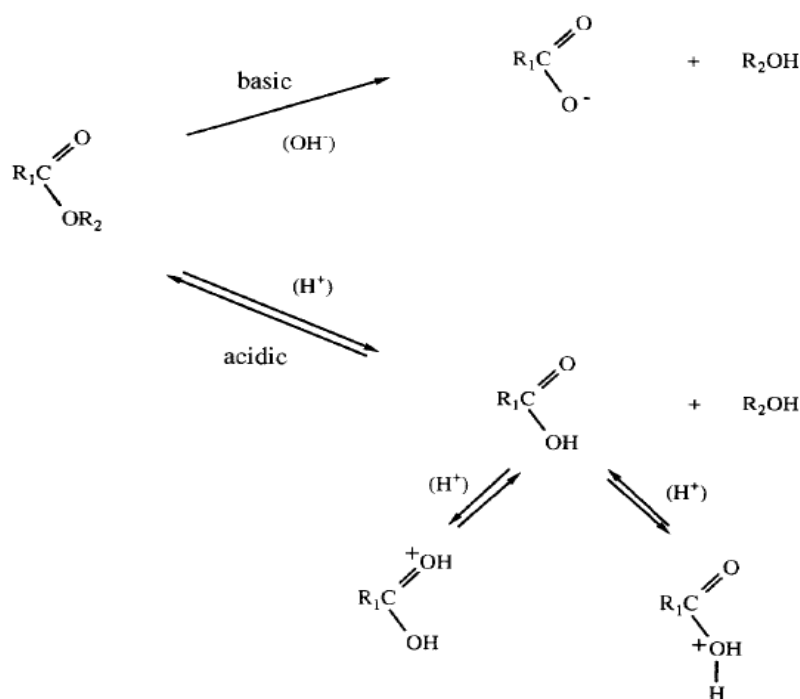
- teplotou skelného přechodu

Teplota skelného přechodu klesá s ubývající molekulovou hmotností polymeru.⁶

4. OVLIVNĚNÍM DALŠÍCH FAKTORŮ

- pH média

Např. Ivanova³⁴ ve své studii zjistil, že mechanismus hydrolyzy se zdá být vysoce závislý na pH. Získané výsledky mohou být důležité např. při rozkladném procesu v žaludku. Bylo zjištěno, že pokud je pH alkalické či kyselé, je hydrolyza mnohem rychlejší, než když je pH neutrální. Kyselé prostředí vede k náhodnému štěpení polymerního řetězce, což má za následek tvorbu převážně nerozpustných oligomerů a malý vznik volných karboxylových skupin. Naproti tomu zásadité prostředí upřednostňuje nenáhodné štěpení esterových vazeb na konci polymerových řetězců se vznikem rozpustných derivátů.³¹



Obr.12: Schéma katalytické hydrolyzy monoesterů v silně zásaditém a kyselém vodném prostředí.³⁴

- přítomností nečistot

Nečistoty snižují kvalitu polymeru.⁹

- katalyzátorem

Katalyzátory reakci urychlují.

- teplotou

Dle Belbelly a spol.³¹ je dosaženo nejvyšší stability ve vodném prostředí při teplotě $4^{\circ}C$.

- polydispersitou

Polydispersita má zásadní vliv na mechanickou pevnost polymeru.

- vlivem léčiva

Vliv léčiva závisí především na jeho chemických a fyzikálně-chemických vlastnostech. Neutrální hydrofobní částice brání absorpci vody a tím snižují celkovou degradaci (např. spirolakton se může *in vitro* uvolňovat až 2 měsíce). Naproti tomu neutrální hydrofilní částice napomáhají rychlejšímu odbourání (ketoprofen se *in vitro* uvolňuje po dobu 3 dní). Průběh se výrazně změní, jestliže léčivo má kyselý nebo bazický charakter, a to může mít katalytické nebo pufrovací účinky.³⁵

Velký vliv má také množství léčiva. Čím větší obsah léčiva, tím větší je rychlost jeho uvolňování.³⁶

4.3. TERAPEUTICKÉ SYSTÉMY

Polymery zastávají funkci nosičů mimo jiné u lipozómů, biodegradabilních mikročástic, nanočástic či implantovaných systémů.

Částicové systémy jsou využitelné pro cílený transport léčiv v širokém aplikačním rozsahu. Léky připravené na jejich základě mají lepší terapeutické vlastnosti a jsou pacienty lépe snášeny. Přispívají k účinnější a bezpečnější farmakoterapii.

4.3.1. Lipozómy

• OBECNÁ CHARAKTERISTIKA

Limitujícími faktory pro terapii peptidy či proteiny jsou nedostatečná perorální biodostupnost a rychlá clearance z krve, a proto je nedostatek vhodných aplikačních systémů. To ale neplatí pro lipozómy. Jsou netoxické, biodegradabilní a mohou léčivo chránit před enzymy. Fungují jako jakési „mikrorezervoáry“ pro prodloužené uvolňování nebo zajišťují cílený targeting.

Jsou to částice tvořené fosfolipidy. Jádro i povrch lipozómu je hydrofilní, vnitřek membrány tvoří lipofilní zbytky mastných kyselin fosfolipidů. Léčivo je možné umístit podle jeho povahy do jádra nebo do membrány lipozómu.²

• VYUŽITÍ

Lze je využít k parenterálnímu (především v protinádorové, antibiotické a antitumorigenní léčbě), očnímu, plicnímu a kožnímu/ transdermálnímu podání (léčba kožních onemocnění). Lipozómy se také používají v kosmetickém průmyslu a v současné době je na trhu přes 100 produktů.

Vhodné jsou také jako nosiče interleukinu-2 v imunoterapii, plazminogenu pro léčbu akutního infarktu myokardu, specifické aktivace proléčiv a mohou dlouhodobě systémově uvolňovat léčiva.³⁷

- **NEVÝHODY**

Nevýhodou ale je jejich potencionální odbourání makrofágy či jinými buňkami. Dalšími problémy jsou jejich stabilita či sterilizace.³⁸

4.3.2. Mikročástice

- **OBEČNÁ CHARAKTERISTIKA**

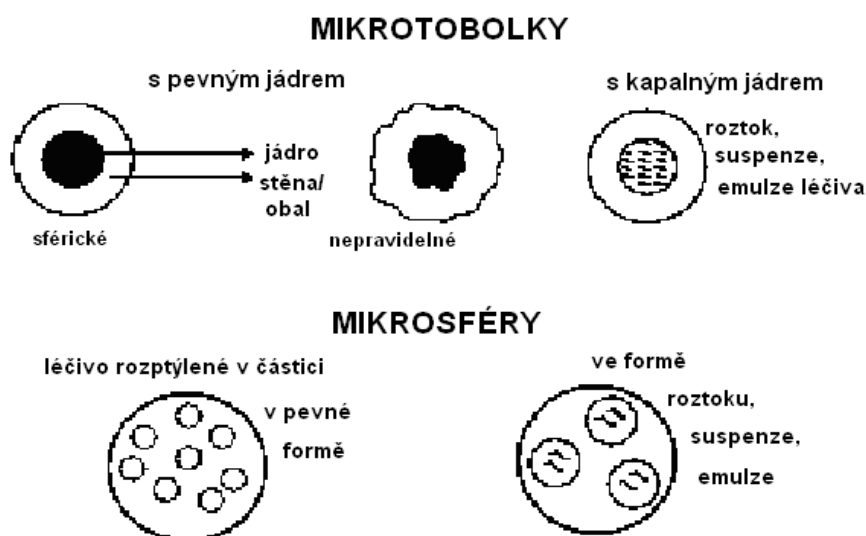
Mikročástice ($> 1 \mu\text{m}$) se podle struktury dělí na mikrokapsuly a mikrosféry. Mikrokapsuly se skládají z jádra (léčivo), které je obklopené polymerním filmem. Oproti tomu v mikrosférách je léčivo rozptýlené v polymerní matrici.³⁹ Díky své velikosti se snadno dostanou do místa působení.

- **VÝROBA**

Pro zajištění sterilního, stabilního a reprodukovatelného produktu je nutný relativně komplikovaný výrobní postup. Těch existuje několik: denaturace, síťování, polymerizace, vznik z aerosolové fáze, odpaření rozpouštědla, sprayové sušení, agregace změnou pH či tepla.

Nejčastější laboratorní metodou je odpaření rozpouštědla z emulze. Pokud je léčivo rozpustné ve vodě, zapouzdření dosahuje vyšší účinnosti v O/O emulzi. Pro lyofilní léčiva je naopak lepší emulze O/V.

Dochází k smísení léčiva s polymerem v organickém rozpouštědle.



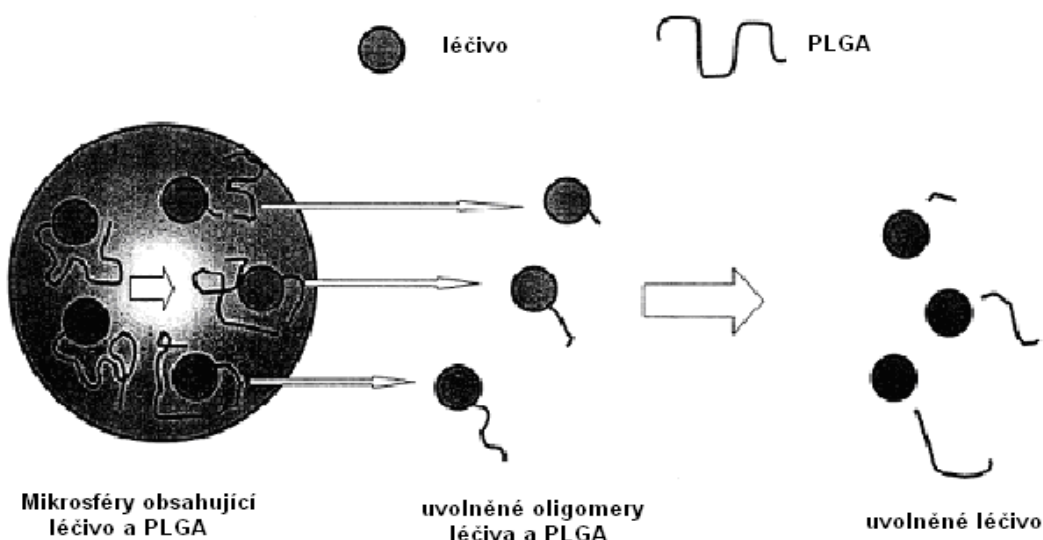
Obr.13: Smísení léčiva s polymerem²

Tato disperze či roztok je součástí vnitřní fáze. Vnější fází je vodné či bezvodé rozpouštědlo, které ale není rozpouštědlem polymeru. Odpaření rozpouštědla se provádí mícháním za konstantní rychlosti při pokojové teplotě a za atmosférického či sníženého tlaku.

Mikročástice se dále promývají inertním rozpouštědlem, které odstraní veškeré zbývající organické rozpouštědlo. V některých případech jsou filtrovány přes síta kvůli separaci podle jejich velikosti. Nakonec jsou vysušeny.³²

• UVOLŇOVÁNÍ

Uvolňování léčiv z mikrosfér závisí na charakteru polymeru, jeho rychlosti rozkladu, rozpustnosti a množství léčiva, na velikosti výsledných částic a metodě výroby.



Obr.14: Uvolňování léčiva z mikrosfér⁴⁰

4.3.3. Nanočástice

• OBECNÁ CHARAKTERISTIKA

Nanočástice ($< 1 \mu\text{m}$) jsou velmi podobné mikročásticovým lékovým formám. Vzhledem k značné velikosti mikročástic, je někdy nemožné dostat léčivo přímo do cílových tkání přes slizniční membránu nebo pomocí systémového oběhu (nejmenší kapiláry v těle mají v průměru 5-6 μm). Nanočástice mají schopnost dodat široké spektrum léčiv do různých orgánů, tkání, buněk a nemocných částí těla, které zůstávají jiným lékovým formám nedostupné.⁴¹

- **VÝROBA**

Nanočástice (nanosféry a nanokapsuly) jsou připraveny stejnými metodami jako mikročástice. Výrobní parametry jsou ale upraveny tak, aby byly získané produkty v nanometrech.⁴²

- **NEVÝHODY**

Určitou nevýhodou je, že mohou být pohlcovány makrofágy jater a sleziny. Toho může být dokonce využito, a to při infekční či nádorových onemocněních těchto orgánů.

Tento problém lze navíc odstranit modifikací jejich povrchu. Nejběžnější složkou, používanou pro povrchovou úpravu, je PEG.⁴¹

4.3.4. Implantované systémy

Z důvodu těchto nedostatků dochází k vývoji alternativních systémů. Tyto implantované systémy jsou vyrobeny z biodegradabilních produktů, mohou být do těla aplikovány buď intramuskulárně nebo subkutánně pomocí injekční stříkačky a po vstříknutí jsou schopné ztuhnout ve formě polopevného depa.⁴³ Na základě mechanismu dosažení ztuhnutí in vivo dělíme tyto systémy do čtyř kategorií:

2. Termoplastické pasty
3. In situ zesítené systémy
4. In situ precipitace
5. In situ ztuhlé organogely

1. Termoplastické pasty

- **OBECNÁ CHARAKTERISTIKA**

Termoplastické pasty jsou polymerní systémy, které většinou drží svůj tvar při pokojové teplotě a za použití tepla mohou být formovány do různých tvarů.

Mohou být připraveny z těchto monomerů: D, L- kyseliny mléčné, glykolidů, kaprolaktonů, trimethylen uhličitanů, dioxanonů a ortho esterů.

Obvyklými součástmi jsou: PLA, PLGA a poly(ϵ - kaprolakton) (PLC).

- **NEVÝHODY**

Jsou vstříknuty do těla jako tavenina a ztuhnou až po ochlazení na teplotu těla. Jejich body tání často přesahují 60°C, proto je této teploty dosaženo také při vstříknutí

do těla. To může být pro pacienty velmi bolestivé, a dokonce může způsobit nekrózu v místě aplikace.⁴⁴

- **VYUŽITÍ**

Polymery i kopolymery těchto monomerů jsou ve velké míře využívány v celé řadě oblastí biomedicíny, od nosičů farmaceutických sloučenin po chirurgické šití⁴⁵. Často také slouží jako oční implantáty⁴⁶ nebo k úpravě či zvětšení měkkých tkání. Jsou tedy atraktivními výchozími body pro vývoj nových materiálů.

2. In situ zesítěné systémy

Tyto systémy mohou být tvořeny různými způsoby, z pevných polymerních systémů nebo gelů. K dosažení těchto výsledků dochází k volné radikálové reakci iniciované teplem, absorpcí fotonů nebo iontovým interakcím mezi malými kationy a aniony polymeru.

TERMOSETY

- **VZNIK IMPLANTÁTU**

Termosety mohou být nejprve tekuté, po jejich zahřátí ale získávají svoji finální podobu. Tento proces je často nazýván „tvrzením“ a znamená tvorbu kovalentních vazeb mezi polymerními řetězci a vytváří makromolekulární síť. Další ohřev ovšem tento polymer degraduje.

- **VYUŽITÍ**

Biodegradabilní kopolymery L- nebo L,D- laktidů s ϵ - kaprolaktony slouží k přípravě protézních implantátů a systémů s pomalým uvolňováním léčiv.

- **NEVÝHODY**

Existuje však několik nevýhod, které limitují jejich využití. Během reakce uvnitř těla, kdy se polymer nachází v tekuté formě a léčivo může rapidně difundovat, dochází k jeho prasknutí. Tato vysoká koncentrace léčiva může vést k výskytu nežádoucích účinků. Zavedení volných radikálů do těla může vyvolat až nádorové bujení.¹ Použití termosetů je tedy omezené.

FOTONY ZESÍTĚNÉ GELY

- **VZNIK IMPLANTÁTU**

Tyto biomateriály (tvořené např. PEG-PLA hydrogely) poskytují oproti termosetům mnoho výhod. Pomocí injekce jsou uvedeny na požadované místo a zesítěny fotony. Dochází k rychlé polymerační reakci za fyziologické teploty.⁴⁷ Jelikož jsou původní materiály kapalné, systémy jsou lépe umístěny a následně reagují v přesně požadovaném tvaru.

Použitím argonového laseru dochází k prohloubení polymerizace, zkrácení času výroby či zlepšení fyzikálních vlastností.

- **NEVÝHODY**

Následkem ozařování tímto laserem ale může dojít ke zvýšenému sesychání a lámavosti polymeru.⁴⁸

- **VYUŽITÍ**

Tyto vlastnosti podporují jejich užití pro tkáňové inženýrství, ortopedické aplikace⁴⁹, buněčné transplantace, lokální uvolnění léčiv, stomatologii a prevenci tkáňové adheze.⁵⁰

IONTY ZPROSTŘEDKOVANÁ GELACE

- **OBEČNÁ CHARAKTERISTIKA**

Algináty jsou přírodní polymery, které při kontaktu s dvojmocnými kationty (např. ionty vápníku) tvoří gel. Mohou být využity přímo jako lékové nosiče nebo jako nosiče pro ostatní systémy, jako jsou lipozómy.

- **NEVÝHODY**

Terapeutické hladiny nebývají dostatečně dlouho zachovány z důvodu rychlého odbourání lipozomálních váček makrofágy.⁵¹ Nevýhodou je také jejich krátká životnost z důvodu pomalého úniku Ca^{2+} z lipozómů a velkého množství léčiva uvolněného v první fázi.

- **VYUŽITÍ**

Algináty byly užívány k očnímu podávání léčiv, protože lidské oko má dostatek Ca^{2+} .⁵² Limitujícími faktory ale jsou ale potenciální imunogenita a jejich dlouhá doba rozložení.⁵³

3. In situ precipitation

Další strategií, která je využívána k výrobě léčiv vhodných k injekčnímu podání, je schopnost polymeru vysrážet se z roztoku. Toto vysrážení může být způsobeno odstraněním rozpouštědla, změnou teploty nebo změnou pH.^{54, 55}

VYSRÁŽENÍ ODSTRANĚNÍM ROZPOUŠTĚDLA

- **VZNIK IMPLANTÁTU**

Tento systém je tvořen ve vodě nerozpustným biodegradabilním polymerem (např. PLA / PLGA polymer) rozpuštěným ve vhodném rozpouštědle, které je s vodou mísitelné. Po vstříknutí do vodného prostředí rozpouštědlo difunduje do okolí, zatímco voda difunduje do polymerní matrice. Jelikož je polymer ve vodě nerozpustný, dochází po kontaktu s vodou k vysrážení a výsledkem je pevný polymerní implantát.⁵⁶

- **ROZPOUŠTĚDLA**

Rozpouštědla musí být biokompatibilní a netoxická. Polymery by se měly v rozpouštědle dobře rozpouštět. Zároveň se musí dosáhnout dostatečně nízké viskozity výsledného roztoku, aby bylo možné roztok injekčně aplikovat.

Vhodnými rozpouštědly jsou NMP (N-methyl-2-pyrrolidon), DMSO (dimethylsulfoxid), aceton, 2-pyrrolidon, triacetin a propylenkarbonát.¹

Bylo prokázáno, že látky vložené do matrice připravené z hydrofilního rozpouštědla se uvolňují daleko rychleji, než ty připravené z více hydrofobních rozpouštědel. Důvodem tohoto rozdílu je vyšší schopnost absorpce vody (bobtnání) a různá vnitřní struktura implantátů po vysrážení.

Vhodným systémem k získání prodlouženého uvolňování je smísení nejméně jednoho rozpouštědla hydrofilního s alespoň jedním rozpouštědlem lipofilním. Příkladem může být smísení PLGA v glycerolu (hydrofilní rozpouštědlo) a triacetinu (lipofilní rozpouštědlo) s fipronilem. Po s.c. aplikaci byly hladiny tohoto systému pozorovány po dobu 12-ti měsíců.⁵⁷

- **NEVÝHODY**

Během prodlevy mezi vstříknutím a tvorbou pevného implantátu může dojít během prvotního uvolnění léčiva k překročení plazmatických koncentrací dosažených užíváním běžných systémů. Tím může dojít k podráždění tkání a v některých případech to může vést až k systémové toxicitě. Další nevýhodou je vysoká toxicita používaných

rozpouštědel, např. NMP se řadí mezi rozpouštědla s významnou neurotoxicitou, kancerogenitou nebo teratogenitou.

- **VYUŽITÍ**

Vzhledem k těmto nežádoucím účinkům bylo použití tohoto systému omezeno pouze na léčiva s úzkým terapeutickým indexem. Mezi tato léčiva patří gonádotropní hormony, chlorhexidin, doxycyklin, diklofenak, flurbiprofen, naproxen či teofylin.¹

TEPELNĚ VYVOLANÉ SOL-GEL PŘECHODY (termogelace)

- **OBEČNÁ CHARAKTERISTIKA a VZNIK IMPLANTÁTU**

U mnohých polymerů dochází vlivem teploty k náhlým změnám rozpustnosti. Toho je využito při tvorbě dep léčiv za použití polymerních systémů, u kterých dochází k sol- gel přeměně po vstříknutí do těla.

Příkladem může být hydrogel složený z bloků PEG a PLA. V kontaktu s vodním prostředím se polymer shromažďuje v micelách. Za pokojové teploty se vyskytuje ve formě solu, jakmile ale dojde ke zvýšení na tělesnou teplotu, jeví se ve formě gelu.³ Předpokládá se, že při náhlém zvýšení teploty ($\sim 30^{\circ}\text{C}$) dochází ke slučování micel. To umožňuje vytvoření trojdimenziálních polymerních sítí při vyšších koncentracích.¹⁸ Výhodou je, že není třeba organických rozpouštědel. Bohužel lze takto použít jen ty léčiva, které nejsou náchylné k hydrolýze. Ke vzniku gelu je třeba zvýšení teploty (okolo 45°C), co může zapříčinit denaturaci proteinů.³

Další možností je triblokový kopolymer PEG-PLGA-PEG. Změnou solu na gel dochází k radikálnímu zmenšení jeho objemu a k prvotnímu rychlému uvolnění léčiva (burst efekt).¹⁹ Také Poloxamery reverzibilně gelují.

Nové systémy jsou stále ve fázi vývoje a je třeba více experimentálních studií.

- **VYUŽITÍ**

Mohou být využívány v očním lékařství, protézni chirurgii, při nádorových onemocněních.⁵⁸

4. In situ ztuhlé organogely (polymerace in situ)

• OBECNÁ CHARAKTERISTIKA A VZNIK IMPLANTÁTU

Organogely či olejnaté gely se skládají z amfifilních lipidů, které ve vodě bobtnají a tvoří různé typy tekutých lyotropních krystalů. Povaha krystalické fáze je závislá na struktuře lipidů, teplotě, vlastnostech inkorporovaného léčiva a množství vody v systému. Amfifilní lipidy jsou estery vyšších mastných kyselin s glycerolem, především glycerol monooleát, monopalmitostearát či monolinoleát, které jsou za pokojové teploty vosky. Tyto sloučeniny tvoří po vstříknutí do vodného prostředí kubické tekuté krystaly, mají podobu gelu a jsou vysoce viskózní.⁵⁹

Takto vytvořený gel je používán pro vznik depotního systému, ze kterého se může uvolnit jak ve vodě rozpustné, tak nerozpustné léčivo. Mísení s rostlinnými oleji zvyšuje dobu uvolňování, především lipofilních léčiv.

Další výhodou je jejich biodegradabilita. Rozklad probíhá pomocí lipázy a vyžaduje 5-6 týdnů.¹

• NEVÝHODY

Hlavními problémy jsou čistota vosků a stabilita olejů. V různých stupních čistoty se vyskytuje pouze včelí vosk. Oleje obvykle potřebují stabilizátor, antioxidant či konzervant ke zvýšení jejich trvanlivosti a stability. Ke smísení oleje a vosku je třeba použít tepla (okolo 60⁰C po dobu 30 minut), což může snížit účinnost některých léčiv.⁶⁰ Další nevýhodou je možnost vzniku zánětlivé reakce.

• VYUŽITÍ

Bohužel zatím není dostatek údajů z důvodu jejich toxicity.

5. Experimentální část

5.1. Použité suroviny

1P = Polyester kys. D,L - mléčné, glykolové s 1 % pentaerythritolu v reakční směsi ve funkci větvicí složky (FaF UK HK)

3P = Polyester kys. D,L - mléčné, glykolové s 3 % pentaerythritolu v reakční směsi ve funkci větvicí složky (FaF UK HK)

5P = Polyester kys. D,L - mléčné, glykolové s 5 % pentaerythritolu v reakční směsi ve funkci větvicí složky (FaF UK HK)

1T = Polyester kys. D,L - mléčné, glykolové s 1 % tripentaerythritolu v reakční směsi ve funkci větvicí složky (FaF UK HK)

3T = Polyester kys. D,L - mléčné, glykolové s 3 % tripentaerythritolu v reakční směsi ve funkci větvicí složky (FaF UK HK)

5T = Polyester kys. D,L - mléčné, glykolové s 5 % tripentaerythritolu v reakční směsi ve funkci větvicí složky (FaF UK HK)

Aciklovir (Pliva Lachema)

Flukonazol (Zentiva a.s. Praha)

Triethylcitrát (Merck Mnichov)

Aceton čistý (Penta, výrobní divize Chrudim)

Čištěná voda (FaF UK HK)

Azid sodný (Fluka)

Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát (Lach-Ner Neratovice)

Kyselina citronová monohydrát, ČL 2002 (Penta, výrobní divize Praha)

5.2. Použité přístroje

Analytické digitální váhy KERN ABS 220-4 (max.220g, d = 0,0001 mg)

Biologický termostat BT 120

Digitální pH-metr HANNA pH 221

Digitální váhy KERN 440 – 33 (max. 200g, d = 0,01g)

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

Horkovzdušná sušárna ULE 400, Memmert

Materiálový zkušební stroj T1-FR050TH.A1K firmy Zwick/Roell

Spektrofotometr HELIOS GAMA (UV/VIS), Unicam

5.3. Charakteristika měřených vzorků

K přípravě vzorků byly použity polyestery kyseliny D, L – mléčné a glykolové s pentaerythritolem nebo tripentaerythritolem ve funkci větvící složky. Tyto polymery byly syntetizovány polykondenzační reakcí na katedře farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové. Koncentrace větvící složky v reakční směsi byla 1%, 3% nebo 5% (označení 1P, 3P, 5P, 1T, 3T, 5T).

Tab.1: Charakteristika použitých oligoesterů

Označení polymeru	Poměr LA/GA/P(T) [%]	M_n [g/mol]	M_w [g/mol]	T_g (°C)	g'
1P	49,5/49,5/1,0	4 200	8 400	26,6	0,59
3P	48,5/48,5/3,0	8 700	12 700	22,2	0,33
5P	47,5/47,5/5,0	2 200	2 700	12,7	0,61
1T	49,5/49,5/1,0	3 800	15 200	25,3	0,42
3T	48,5/48,5/3,0	7 900	20 600	21,7	0,31
5T	47,5/47,5/5,0	5 800	11 900	17,2	0,34

M_n číselně střední relativní molekulová hmotnost

M_whmotnostně střední relativní molekulová hmotnost

T_gteplota skelného přechodu

g'větvící poměr $g' = (\eta_{br} / \eta_{lin})$

kde η je vnitřní viskozita lineárního (*lin*) a větveného (*br*) polymeru při shodné molární hmotnosti M

5.4. Příprava vzorků pro adhezi a disoluci

Polymery byly z důvodu snížení viskozity plastifikovány 20 % triethylcitrátu (TEC). Polyestery 1T a 3T musely být pro měření adheze dále plastifikovány 30 % triethylcitrát. Při plastifikaci pouze 20 % TEC nebyly z důvodu extrémně vysoké viskozity při laboratorní teplotě zpracovatelné a nebylo možné provést test adheze. Celkem bylo připraveno 6 vzorků po 10,0 gramech.

Oligoester	8,0 g
Triethylcitrát	2,0 g

Polyestery byly nejprve desintegrovány na menší kousky. Do vytárované kádinky na 25 ml bylo naváženo 8,0 g polyesteru. Polyester byl roztaven v horkovzdušné sušárně při teplotě 70-80°C. **K tavenině byl pipetou přidán 2,0 g triethylcitrátu** a směs byla důkladně zhomogenizována kovovou kopistkou.

Pokud bylo třeba polymer během homogenizace znovu natavit, kádinka byla na krátkou dobu umístěna do horkovzdušné sušárny. Po ukončení homogenizace byla kádinka označena, zakryta alobalem a dána do exsikátoru.

Pro stanovení disoluce modelové léčivé látky z větvených nosičů byly připraveny vzorky se 4 % acikloviru (flukonazolu). Léčivo bylo inkorporováno do předem připravených plastifikovaných **oligoesterů**. Od každého polymeru byly připraveny tři vzorky o hmotnosti 150,0 mg, které byly umístěny na dno scintilačních lahviček.

Plastifikovaný oligoester	1,92 g
Aciklovir (Flukonazol)	0,08 g

5.5. Měření a vyhodnocení adheze

Měření adheze bylo prováděno na Materiálovém zkušebním stroji firmy Zwick/Roell. Pro hodnocení adhezivních vlastností oligoesterů se měřila síla F_{max} , která byla potřebná pro odtržení horní mobilní kontaktní plochy se vzorkem od dolní nepohyblivé kontaktní plochy s modelovým substrátem.

Po zapnutí zkušebního stroje a počítače byla na horní kontaktní plochu kovovou kopistkou rovnoměrně nanášena tenká vrstva vzorku. Na dolní fixní kontaktní plochu se nanášel mucin a taktéž se rovnoměrně rozprostřel. Byla nastavena vzdálenost horní čelisti (pozice LE) na 25 mm, vynulována síla a spuštěn test. Horní plocha se dolů pohybovala rychlostí 25 mm/min. Poté, co se přiblížila dolní ploše na 5 mm, se rychlost zpomalila na 10 mm/min, dokud nedošlo ke spojení obou ploch. Doba kontaktu trvala 120 s při zatížení 5 N. Následně se horní plocha (se vzorkem) odtrhla rychlostí 100 mm/min a snímač síly zaznamenal hodnotu F_{max} .

Počítačem byl zhotoven grafický záznam průběhu zkoušky, závislost vyvinuté síly (N) na době trvání zkoušky (s), a vypočítány hodnoty průměru maximální síly F_{max} (N) a směrodatné odchylky s . Poslední dvě zmíněné charakteristiky byly použity pro zpracování výsledků měření.

Po ukončení testu byl z obou kontaktních ploch odstraněn změřený vzorek a mucin, zbytky byly očištěny acetonem a nanášel se další vzorek. Celkem bylo provedeno 6 x 5 měření. Jednotlivé síly F_{max} se dále přepočítaly na velikost dolní plochy přístroje ($d = 20,11$ mm) pro porovnání adhezivní síly oligoesterů.

Příprava mucinu

Pro přípravu mucinu bylo třeba rozetřít mucin s fosfát citrátovým pufrům v následném poměru :

Mucin	1,0 g
Fosfát citrátový pufr	7,0 ml

5.6. Disoluce acikloviru a flukonazolu

5.6.1. Příprava liberačního média

Jako liberační médium pro disoluci acikloviru i flukonazolu z matric byl zvolen fosfát citrátový pufr o pH 7,0, který byl připraven dle chemických tabulek.⁶¹

1000 ml pufru se připraví smícháním x dílů roztoku A a (100-x) dílů roztoku B. Pro dosažení pH 7,0 je potřeba 19 dílů (190 ml) 0,1 M roztoku monohydrátu kyseliny citrónové (21,014 g/l) a 81 dílů (810 ml) dihydrátu hydrogenfosforečnanu disodného (35,60 g/l). Roztok A tedy obsahuje 3,99 g monohydrátu kyseliny citrónové ve 190 ml vody, roztok B 28,84 g dihydrátu hydrogenfosforečnanu disodného v 810 ml vody. K dispozici byl ovšem pouze dodekahydrát hydrogenfosforečnanu disodného, bylo tedy nutné hmotnost přepočítat na dodekahydrát (Mr dihydrátu hydrogenfosforečnanu disodného je 178,14 g/mol; Mr dodekahydrátu hydrogenfosforečnanu disodného je 358,14 g/mol). Roztok B byl tedy připraven z 57,97 g dodekahydrátu hydrogenfosforečnanu disodného v 810 ml vody. Po rozpuštění obou látek ve vodě došlo k smíchání roztoku A a B. Pro dosažení protimikrobní stability bylo do roztoku pufru přidáno 0,02% azidu sodného na 1000 ml pufru.

Na závěr bylo nutné stanovit aktuální hodnotu pH digitálním pH metrem a eventuální odchylky odstranit přidáním kyseliny citrónové či dihydrogenfosforečnanu sodného.

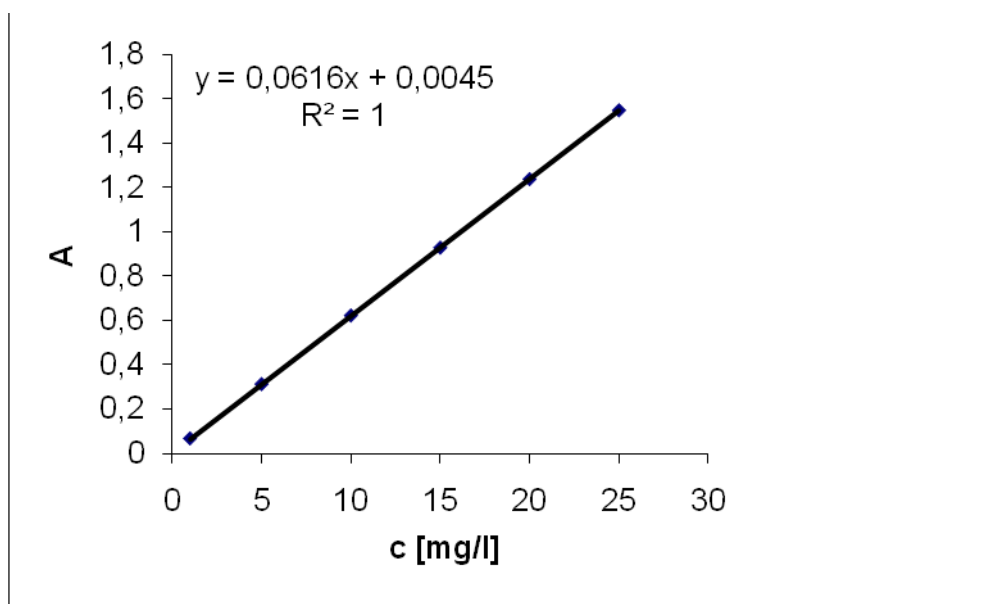
5.6.2. Kalibrační přímka acikloviru

Absorpční maximum acikloviru (ACV) ve fosfát citrátovém pufru o pH 7,0 je při 256 nm, absorbance tedy byla měřena při této vlnové délce. Pro sestavení kalibrační křivky byla připraveno 6 roztoků o rostoucí koncentraci ACV (Tab.2). Z naměřených hodnot absorbance byla sestavena kalibrační přímka, zjištěna její rovnice a hodnota korelačního koeficientu.

Tab.2: Absorbance roztoků ACV o narůstající koncentraci

Koncentrace acikloviru [mg/l]	A
25	1,546
20	1,236
15	0,927
10	0,621
5	0,312
1	0,067

Obr.15: Kalibrační přímka acikloviru při 256 nm



Rovnice kalibrační přímky: $y = a \cdot x + b$

y.....absorbance

x.....koncentrace acikloviru (mg/l)

a.....směrnice kalibrační přímky

b.....absolutní člen

R.....korelační koeficient

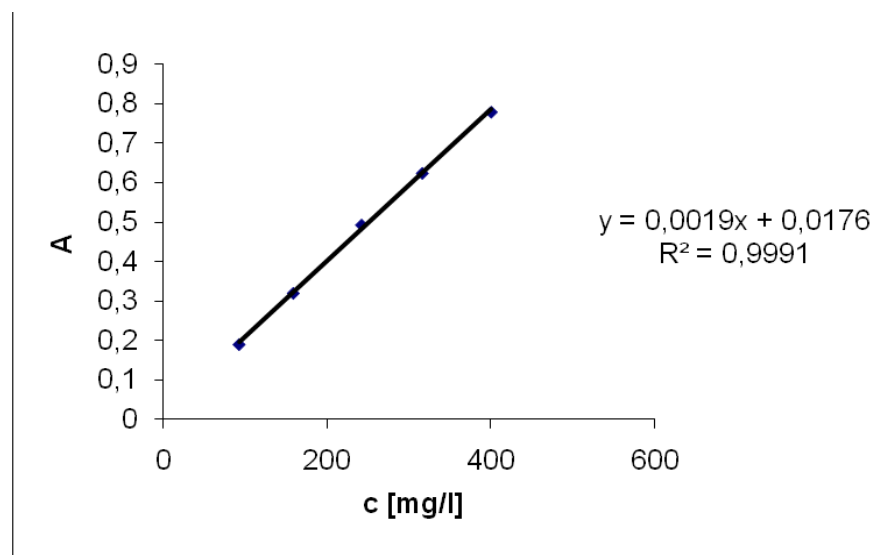
5.6.3. Kalibrační přímka flukonazolu

Absorpční maximum flukonazolu (FLU) ve fosfát citrátovém pufru o pH 7,0 je při 261 nm, absorbance tedy byla měřena při této vlnové délce. Pro sestavení kalibrační křivky byla připraveno 5 roztoků o rostoucí koncentraci FLU (Tab.3). Z naměřených hodnot absorbance byla sestavena kalibrační přímka, zjištěna její rovnice a hodnota korelačního koeficientu.

Tab.3: Absorbance roztoků FLU o narůstající koncentraci

Koncentrace flukonazolu [mg/l]	A
400	0,78
316	0,625
242	0,494
159	0,321
93	0,191

Obr.16: Kalibrační přímka flukonazolu při 261 nm



5.6.4. Průběh disolučního testu

Scintilační lahvičky se vzorky byly zality 15,0 g fosfát citrátového pufru pH 7,0 a uchovány v termostatu při 37°C. Disoluční médium bylo odebíráno v časových intervalech 3 hodiny, 6 hodin, 24 hodin, 48 hodin. Vzorky byly znovu zality 15,0 g nového pufru a vráceny zpět do termostatu. Disoluční médium muselo být odléváno ze scintilačních lahviček velmi opatrně, protože vzorky bobtnaly, a u některých došlo dokonce k fragmentaci na menší části. Poté byly intervaly prodlouženy a vzorky byly odebírány každý druhý den, ke konci liberace se u některých vzorků intervaly ještě prodloužily. Disoluce byla ukončena, pokud se z matric uvolnilo veškeré množství inkorporovaného léčiva, nebo se již neuvolňovalo.

5.6.5. Výpočet množství uvolněného léčiva

Množství uvolněného acikloviru (flukonazolu) z polymerních matric bylo stanoveno spektrofotometricky při vlnové délce 256 nm (261 nm) proti čistému fosfát citrátovému pufru (slepý vzorek). Byla proměřena absorbance liberačního média odebraného ze scintilačních lahviček ve stanovených časových intervalech.

Z rovnice kalibrační přímky byla vypočtena koncentrace uvolněného léčiva v mg/l (x_1). Vypočtená koncentrace byla převedena na koncentraci léčiva v 15 ml disoluční tekutiny (x_2). Byl zjištěn procentuální podíl uvolněného léčiva z celkového množství léčiva v matrici ($x_{\%}$). V průběhu liberace byla počítána kumulativní procenta uvolněného léčiva. Průběh liberace byl zaznamenán graficky jako závislost kumulativních procent uvolněného léčiva na čase.

Rovnice kalibrační přímky ACV:

$$y = 0,0616x + 0,0045$$

Rovnice kalibrační přímky FLU:

$$y = 0,0019x + 0,0176$$

Výpočet uvolněného ACV:

$$x_1 = \frac{y - 0,0045}{0,0616}$$

Výpočet uvolněného FLU:

$$x_1 = \frac{y - 0,0176}{0,0019}$$

$$x_2 = x_1 \times 0,015 \times D$$

$$x_2 = x_1 \times 0,015 \times D$$

$$x_{\%} = \frac{100x_2}{0,04x m_n}$$

$$x_{\%} = \frac{100x_2}{0,04x m_n}$$

- x_1 koncentrace uvolněného léčiva (mg/l)
 x_2 koncentrace léčiva v 15 ml disolučního média (mg/l)
 $x\%$ procentuální podíl uvolněného léčiva
 y hodnota naměřené absorbance
 m_n navážka matrice (mg)
 D ředění roztoku

6. Výsledky

6.1. Tabulky

6.1.1. Měření adheze

Tab.4: Adhezivní síla polyesteru 1T plastifikovaného 30% TEC

Měření č.	F_{\max} [N]	$\varnothing F_{\max}$ [N]	s	F/S [mN/mm ²]	$\varnothing F/S$ [mN/mm ²]	S'
1	32,30	30,80	1,27	101,69	96,96	4,00
2	29,76			93,70		
3	31,96			100,62		
4	29,52			92,94		
5	30,44			95,84		

Tab.5: Adhezivní síla polyesteru 3T plastifikovaného 30% TEC

Měření č.	F_{\max} [N]	$\varnothing F_{\max}$ [N]	s	F/S [mN/mm ²]	$\varnothing F/S$ [mN/mm ²]	S'
1	40,81	40,68	1,02	128,49	128,09	3,21
2	40,10			126,25		
3	41,47			130,56		
4	39,26			123,61		
5	41,78			131,54		

Tab.6: Adhezivní síla polyesteru 5T plastifikovaného 20% TEC

Měření č.	F_{\max} [N]	$\varnothing F_{\max}$ [N]	s	F/S [mN/mm ²]	$\varnothing F/S$ [mN/mm ²]	S'
1	29,64	27,76	1,20	93,32	87,40	3,78
2	28,15			88,63		
3	26,57			83,65		
4	27,05			85,16		
5	27,39			86,24		

Tab.7: Adhezivní síla polyesteru 1P plastifikovaného 20% TEC

Měření č.	F_{\max} [N]	$\varnothing F_{\max}$ [N]	s	F/S [mN/mm ²]	$\varnothing F/S$ [mN/mm ²]	S'
1	33,56	32,99	0,88	105,66	103,88	2,77
2	31,70			99,80		
3	33,40			105,16		
4	33,81			106,45		
5	32,50			102,32		

Tab.8: Adhezivní síla polyesteru 3P plastifikovaného 20% TEC

Měření č.	F_{\max} [N]	$\varnothing F_{\max}$ [N]	s	F/S [mN/mm ²]	$\varnothing F/S$ [mN/mm ²]	S'
1	27,53	28,03	1,29	86,68	88,20	4,06
2	27,55			86,74		
3	26,46			83,07		
4	28,84			90,80		
5	29,77			93,73		

Tab.9: Adhezivní síla polyesteru 5P plastifikovaného 20% TEC

Měření č.	F_{\max} [N]	$\varnothing F_{\max}$ [N]	s	F/S [mN/mm ²]	$\varnothing F/S$ [mN/mm ²]	S'
1	29,01	28,24	1,03	91,34	88,90	3,24
2	27,42			86,33		
3	27,02			85,07		
4	28,26			88,97		
5	29,47			92,78		

6.1.2. Liberace acikloviru

Tab.10: Liberace acikloviru z nosiče 1T plastifikovaného 20% TEC

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
3 hod	0,407	10	0,980	15,61	17,20	17,20
	0,455	10	1,097	17,63		
	0,449	10	1,082	18,37		
6 hod	0,967	1	0,234	3,73	3,79	20,99
	0,999	1	0,242	3,89		
	0,913	1	0,221	3,75		
24 hod	0,272	10	0,651	10,37	10,16	31,15
	0,260	10	0,622	10,00		
	0,249	10	0,595	10,10		
48 hod	0,896	2	0,434	6,91	7,51	38,66
	0,951	2	0,461	7,41		
	0,999	2	0,484	8,22		
4 dny	0,442	5	0,533	8,48	8,80	47,46
	0,303	5	0,363	5,84		
	0,589	5	0,712	12,08		
6 dní	0,658	10	1,591	25,34	13,03	60,49
	0,254	10	0,608	9,76		
	0,101	10	0,235	3,99		
8 dní	0,435	5	0,524	8,35	11,07	71,56
	0,963	5	1,167	18,75		
	0,300	5	0,360	6,11		
10 dní	0,624	10	1,509	24,02	21,15	92,71
	0,458	10	1,104	17,74		
	0,529	10	1,277	21,68		
13 dní	0,964	2	0,467	7,44	6,66	99,37
	0,683	2	0,330	5,31		
	0,879	2	0,426	7,23		

Tab.11: Liberace acikloviru z nosiče 3T plastifikovaného 20% TEC

čas	A	ředění	ACV	ACV	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]	[%]		
3 hod	0,581	1	0,140	2,37	2,32	2,32
	0,538	1	0,130	2,11		
	0,649	1	0,157	2,47		
6 hod	0,598	1	0,145	2,44	2,45	4,77
	0,604	1	0,146	2,38		
	0,664	1	0,161	2,53		
24 hod	0,260	1	0,062	1,05	1,16	5,92
	0,351	1	0,084	1,37		
	0,279	1	0,067	1,05		
48 hod	0,263	10	0,629	10,62	9,24	15,17
	0,218	10	0,520	8,46		
	0,230	10	0,549	8,64		
4 dny	0,369	5	0,444	7,49	8,47	23,64
	0,442	5	0,533	8,67		
	0,488	5	0,589	9,27		
6 dní	0,331	5	0,398	6,71	6,41	30,05
	0,301	5	0,361	5,88		
	0,352	5	0,423	6,66		
8 dní	0,992	1	0,240	4,06	7,57	37,62
	0,509	5	0,614	10,00		
	0,456	5	0,550	8,65		
10 dní	0,445	10	1,073	18,09	17,30	54,92
	0,443	10	1,068	17,38		
	0,433	10	1,043	16,43		
13 dní	0,507	10	1,224	20,64	20,07	74,99
	0,501	10	1,209	19,68		
	0,523	10	1,263	19,88		
17 dní	0,238	1	0,057	0,96	4,92	79,91
	0,174	10	0,413	6,72		
	0,189	10	0,449	7,07		
20 dní	0,351	10	0,844	14,23	13,06	92,97
	0,329	10	0,790	12,86		
	0,320	10	0,768	12,09		
23 dní	0,847	2	0,410	6,92	5,54	98,51
	0,765	2	0,370	6,03		
	0,961	1	0,233	3,67		
27 dní	0,509	2	0,246	4,14	4,37	102,87
	0,701	2	0,339	5,52		
	0,901	1	0,218	3,44		

Tab.12: Liberace acikloviru z nosiče 5T plastifikovaného 20% TEC

čas	A	ředění	ACV	ACV	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]	[%]		
3 hod	0,317	1	0,076	1,30	1,17	1,17
	0,285	1	0,068	1,08		
	0,293	1	0,070	1,12		
6 hod	0,242	1	0,058	0,99	0,95	2,12
	0,252	1	0,060	0,96		
	0,241	1	0,057	0,92		
24 hod	0,648	1	0,156	2,68	2,71	4,84
	0,765	1	0,185	2,94		
	0,655	1	0,158	2,53		
48 hod	0,561	2	0,271	4,63	3,25	8,08
	0,309	2	0,148	2,35		
	0,360	2	0,173	2,76		
4 dny	0,340	5	0,408	6,97	7,36	15,44
	0,400	5	0,481	7,64		
	0,389	5	0,467	7,47		
6 dní	0,329	5	0,394	6,75	7,00	22,44
	0,366	5	0,439	6,98		
	0,379	5	0,455	7,28		
8 dní	0,406	5	0,488	8,35	10,49	32,93
	0,646	5	0,780	12,39		
	0,557	5	0,672	10,74		
10 dní	0,532	10	1,282	21,93	19,31	52,24
	0,440	10	1,059	16,82		
	0,498	10	1,200	19,18		
13 dní	0,435	10	1,047	17,90	18,87	71,10
	0,499	10	1,202	19,09		
	0,509	10	1,226	19,61		
17 dní	0,244	10	0,582	9,96	11,73	82,83
	0,289	10	0,692	10,99		
	0,371	10	0,891	14,24		
20 dní	0,296	10	0,709	12,12	9,96	92,80
	0,257	10	0,614	9,75		
	0,211	10	0,502	8,02		
23 dní	0,871	2	0,421	7,20	4,70	97,50
	0,521	2	0,251	3,99		
	0,755	1	0,182	2,92		
27 dní	0,991	1	0,240	4,10	4,43	101,93
	0,637	2	0,308	4,88		
	0,558	2	0,269	4,30		

Tab.13: Liberace acikloviru z nosiče 1P plastifikovaného 20% TEC

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
3 hod	0,395	5	0,475	7,96	8,22	8,22
	0,421	5	0,507	8,01		
	0,451	5	0,544	8,68		
6 hod	0,577	1	0,139	2,33	2,41	10,62
	0,622	1	0,150	2,37		
	0,651	1	0,157	2,51		
24 hod	0,930	1	0,225	3,77	3,76	14,38
	0,999	1	0,242	3,82		
	0,952	1	0,231	3,69		
48 hod	0,387	5	0,466	7,79	8,76	23,14
	0,509	5	0,614	9,70		
	0,456	5	0,550	8,78		
4 dny	0,957	1	0,232	3,88	12,10	35,24
	0,763	10	1,847	29,17		
	0,841	1	0,204	3,25		
6 dní	0,607	10	1,467	24,55	16,65	51,90
	0,165	10	0,391	6,17		
	0,499	10	1,204	19,24		
8 dní	0,385	5	0,463	7,75	8,18	60,08
	0,412	5	0,496	7,84		
	0,465	5	0,561	8,96		
10 dní	0,559	10	1,350	22,59	25,54	85,62
	0,784	10	1,898	29,98		
	0,623	10	1,506	24,06		
13 dní	0,382	10	0,919	15,38	12,71	98,33
	0,288	10	0,690	10,90		
	0,309	10	0,741	11,84		
20 dní	0,415	5	0,500	8,36	6,56	104,89
	0,236	5	0,282	4,45		
	0,358	5	0,430	6,88		

Tab.14: Liberace acikloviru z nosiče 3P plastifikovaného 20% TEC

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
3 hod	0,520	1	0,126	2,09	2,27	2,27
	0,584	1	0,141	2,42		
	0,609	1	0,147	2,31		
6 hod	0,209	1	0,050	0,83	1,01	3,28
	0,224	1	0,053	0,92		
	0,342	1	0,082	1,29		
24 hod	0,553	2	0,267	4,44	4,36	7,64
	0,523	2	0,253	4,34		
	0,569	2	0,275	4,31		
48 hod	0,926	1	0,224	3,73	4,69	12,34
	0,555	2	0,268	4,60		
	0,757	2	0,366	5,74		
4 dny	0,926	1	0,224	3,73	4,74	17,08
	0,565	2	0,273	4,69		
	0,765	2	0,370	5,81		
6 dní	0,966	1	0,234	3,89	5,48	22,55
	0,994	1	0,241	4,14		
	0,445	5	0,536	8,41		
8 dní	0,378	10	0,909	15,11	12,82	35,37
	0,285	10	0,683	11,73		
	0,309	10	0,741	11,62		
10 dní	0,639	10	1,545	25,67	25,19	60,56
	0,608	10	1,470	25,23		
	0,651	10	1,574	24,68		
13 dní	0,568	10	1,372	22,79	23,91	84,47
	0,633	10	1,530	26,28		
	0,598	10	1,445	22,65		
17 dní	0,319	10	0,766	12,72	12,00	96,47
	0,299	10	0,717	12,31		
	0,292	10	0,700	10,97		
20 dní	0,467	5	0,563	9,35	7,86	104,34
	0,352	5	0,423	7,26		
	0,370	5	0,445	6,98		
23 dní	0,795	1	0,192	0,98	1,33	105,67
	0,756	2	0,366	1,56		
	0,928	1	0,225	1,49		

Tab.15: Liberace acikloviru z nosiče 5P plastifikovaného 20% TEC

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
3 hod	0,413	5	0,497	8,14	6,92	6,92
	0,283	5	0,339	5,61		
	0,364	5	0,438	7,00		
6 hod	0,400	10	0,963	15,77	12,63	19,55
	0,222	10	0,530	8,76		
	0,348	10	0,836	13,38		
24 hod	0,410	10	0,987	16,17	16,62	36,17
	0,338	10	0,812	13,43		
	0,525	10	1,267	20,27		
48 hod	0,563	10	1,360	22,27	21,73	57,90
	0,539	10	1,302	21,52		
	0,554	10	1,338	21,40		
4 dny	0,347	10	0,834	13,65	14,98	72,89
	0,436	10	1,051	17,37		
	0,362	10	0,871	13,92		
6 dní	0,438	5	0,528	8,64	10,78	83,66
	0,673	5	0,814	13,46		
	0,530	5	0,640	10,23		
8 dní	0,356	5	0,428	7,01	6,97	90,63
	0,349	5	0,419	6,94		
	0,362	5	0,435	6,96		
10 dní	0,899	2	0,436	7,13	7,45	98,08
	0,999	2	0,484	8,01		
	0,929	2	0,450	7,20		
13 dní	0,763	2	0,369	6,05	5,67	103,75
	0,999	2	0,484	8,01		
	0,156	5	0,184	2,95		
20 dní	0,642	1	0,155	2,54	3,13	106,88
	0,827	2	0,401	6,62		
	0,066	1	0,015	0,24		
27 dní	0,147	1	0,035	0,57	0,56	107,44
	0,177	1	0,042	0,69		
	0,108	1	0,025	0,40		

6.1.3. Liberace flukonazolu

Tab.16: Liberace flukonazolu z nosiče 1T plastifikovaného 20% TEC

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
6 hod	0,016	1	0,000	0,00	0,35	14,45
	0,022	1	0,035	0,61		
	0,021	1	0,027	0,45		
24 hod	0,184	1	1,314	21,08	17,69	32,14
	0,131	1	0,895	15,70		
	0,142	1	0,982	16,29		
48 hod	0,191	1	1,369	21,97	21,04	53,18
	0,164	1	1,156	20,26		
	0,177	1	1,258	20,88		
3 dny	0,111	1	0,737	11,83	20,54	73,72
	0,288	1	2,135	37,43		
	0,112	1	0,745	12,36		
5 dní	0,241	1	1,764	28,30	11,07	84,78
	0,053	1	0,279	4,90		
	0,014	1	0,000	0,00		
7 dní	0,115	1	0,769	12,34	13,85	98,64
	0,129	1	0,879	15,42		
	0,123	1	0,832	13,80		
10 dní	0,080	1	0,493	7,90	5,70	104,34
	0,079	1	0,485	8,50		
	0,023	1	0,043	0,71		
16 dní	0,011	1	0,000	0,00	0,83	105,17
	0,021	1	0,027	0,47		
	0,033	1	0,122	2,02		
23 dní	0,005	1	0,000	0,00	0,00	105,17
	0,011	1	0,000	0,00		
	0,008	1	0,000	0,00		

Tab.17: Liberace flukonazolu z nosiče 3T plastifikovaného 20% TEC

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
6 hod	0,074	1	0,445	7,10	8,04	8,04
	0,087	1	0,548	9,29		
	0,076	1	0,461	7,73		
24 hod	0,140	1	0,966	15,42	17,07	25,11
	0,149	1	1,037	17,59		
	0,155	1	1,085	18,19		
48 hod	0,171	1	1,211	19,32	18,95	44,06
	0,174	1	1,235	20,94		
	0,143	1	0,990	16,60		
3 dny	0,204	1	1,472	23,48	25,03	69,09
	0,200	1	1,440	24,42		
	0,223	1	1,622	27,19		
5 dní	0,092	1	0,587	9,37	7,95	77,04
	0,064	1	0,366	6,21		
	0,080	1	0,493	8,26		
7 dní	0,076	1	0,461	7,36	10,74	87,78
	0,099	1	0,643	10,90		
	0,123	1	0,832	13,95		
10 dní	0,095	1	0,611	9,75	9,94	97,71
	0,085	1	0,532	9,02		
	0,101	1	0,658	11,04		
16 dní	0,059	1	0,327	5,21	4,52	102,24
	0,045	1	0,216	3,67		
	0,053	1	0,279	4,69		
23 dní	0,019	1	0,011	0,18	1,03	103,26
	0,029	1	0,090	1,53		
	0,028	1	0,082	1,38		

Tab.18: Liberace flukonazolu z nosiče 5T plastifikovaného 20% TEC

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
6 hod	0,037	1	0,153	2,64	2,72	2,72
	0,034	1	0,129	2,10		
	0,043	1	0,201	3,42		
24 hod	0,146	1	1,014	17,45	17,40	20,11
	0,137	1	0,943	15,29		
	0,162	1	1,140	19,44		
48 hod	0,127	1	0,864	14,87	17,80	37,91
	0,113	1	0,753	12,22		
	0,213	1	1,543	26,31		
3 dny	0,095	1	0,611	10,52	13,75	51,67
	0,130	1	0,887	14,40		
	0,139	1	0,958	16,34		
5 dní	0,130	1	0,887	15,28	11,49	63,15
	0,086	1	0,540	8,76		
	0,095	1	0,611	10,42		
7 dní	0,176	1	1,251	21,53	19,24	82,39
	0,143	1	0,990	16,06		
	0,167	1	1,179	20,11		
10 dní	0,103	1	0,674	11,61	15,35	97,74
	0,139	1	0,958	15,55		
	0,158	1	1,108	18,90		
16 dní	0,017	1	0,000	0,00	5,93	103,67
	0,092	1	0,587	9,53		
	0,079	1	0,485	8,27		
23 dní	0,026	1	0,066	1,14	0,53	104,20
	0,021	1	0,027	0,44		
	0,014	1	0,000	0,00		

Tab.19: Liberace flukonazolu z nosiče 1P plastifikovaného 20% TEC

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
6 hod	0,099	1	0,643	10,27	9,68	9,68
	0,089	1	0,564	9,27		
	0,089	1	0,564	9,50		
24 hod	0,185	1	1,322	21,11	23,11	32,79
	0,238	1	1,740	28,62		
	0,165	1	1,164	19,60		
48 hod	0,175	1	1,243	19,85	18,83	51,62
	0,155	1	1,085	17,84		
	0,159	1	1,116	18,81		
3 dny	0,253	1	1,858	29,69	29,97	81,59
	0,227	1	1,653	27,19		
	0,266	1	1,961	33,04		
5 dní	0,110	1	0,729	11,65	10,39	91,98
	0,105	1	0,690	11,35		
	0,079	1	0,485	8,17		
7 dní	0,116	1	0,777	12,41	11,08	103,07
	0,106	1	0,698	11,48		
	0,088	1	0,556	9,36		
10 dní	0,020	1	0,019	0,30	1,09	104,16
	0,037	1	0,153	2,52		
	0,021	1	0,027	0,45		

Tab.20: Liberace flukonazolu z nosiče 3P plastifikovaného 20% TEC

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
6 hod	0,053	1	0,279	4,45	5,59	5,59
	0,069	1	0,406	6,43		
	0,065	1	0,374	5,90		
24 hod	0,173	1	1,227	19,52	18,82	24,41
	0,170	1	1,203	19,07		
	0,161	1	1,132	17,86		
48 hod	0,144	1	0,998	15,88	17,02	41,43
	0,157	1	1,101	17,45		
	0,160	1	1,124	17,73		
3 dní	0,128	1	0,872	13,87	17,85	59,28
	0,182	1	1,298	20,58		
	0,171	1	1,211	19,10		
5 dní	0,091	1	0,579	9,22	9,89	69,17
	0,091	1	0,579	9,19		
	0,108	1	0,714	11,26		
7 dní	0,247	1	1,811	28,82	26,70	95,87
	0,204	1	1,472	23,33		
	0,242	1	1,772	27,94		
10 dní	0,071	1	0,422	6,71	4,68	100,54
	0,021	1	0,027	0,43		
	0,073	1	0,437	6,90		

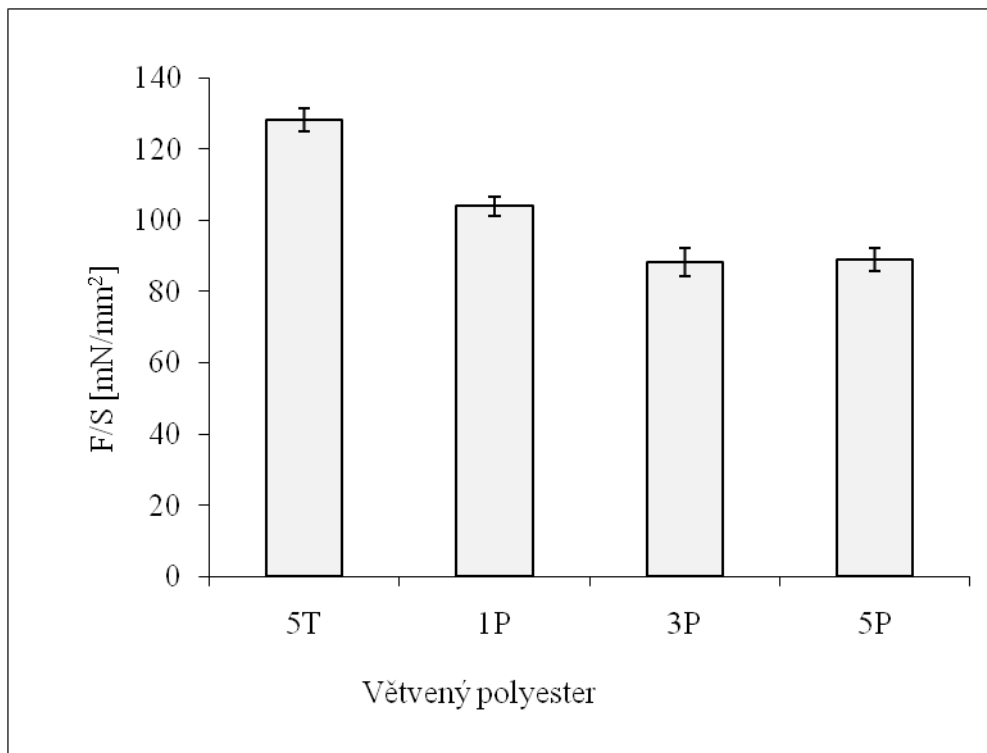
Tab.21: Liberace flukonazolu z nosiče 5P plastifikovaného 20% TEC

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
6 hod	0,048	1	0,240	4,22	6,07	12,89
	0,074	1	0,445	7,49		
	0,069	1	0,406	6,51		
24 hod	0,343	1	2,569	45,16	43,40	56,29
	0,336	1	2,514	42,29		
	0,355	1	2,664	42,74		
48 hod	0,160	1	1,124	19,76	21,09	77,38
	0,177	1	1,258	21,17		
	0,194	1	1,393	22,35		
3 dny	0,116	1	0,777	13,66	11,45	88,83
	0,110	1	0,729	12,27		
	0,084	1	0,524	8,41		
5 dní	0,064	1	0,366	6,44	7,34	96,17
	0,065	1	0,374	6,30		
	0,091	1	0,579	9,30		
7 dní	0,054	1	0,287	5,05	5,58	102,05
	0,068	1	0,398	6,69		
	0,057	1	0,311	4,99		
10 dní	0,038	1	0,161	2,83	1,30	103,35
	0,024	1	0,000	0,00		
	0,026	1	0,066	1,06		

6.2. Grafy

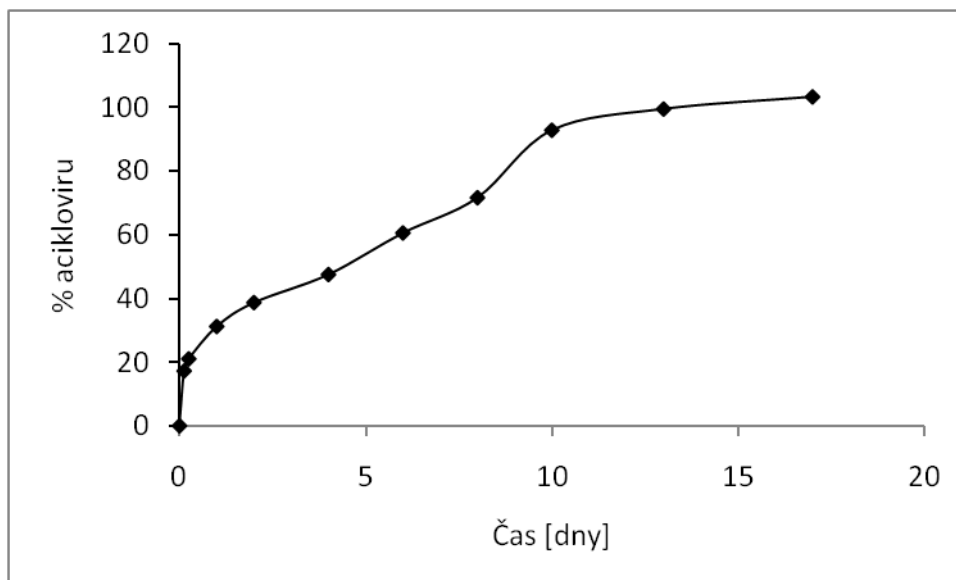
6.2.1. Adheze

Obr.17: Adhezivní vlastnosti polyesterů větvených pentaerythritolem nebo tripentaerythritolem a plastifikovaných 20 % triethylcitrátu

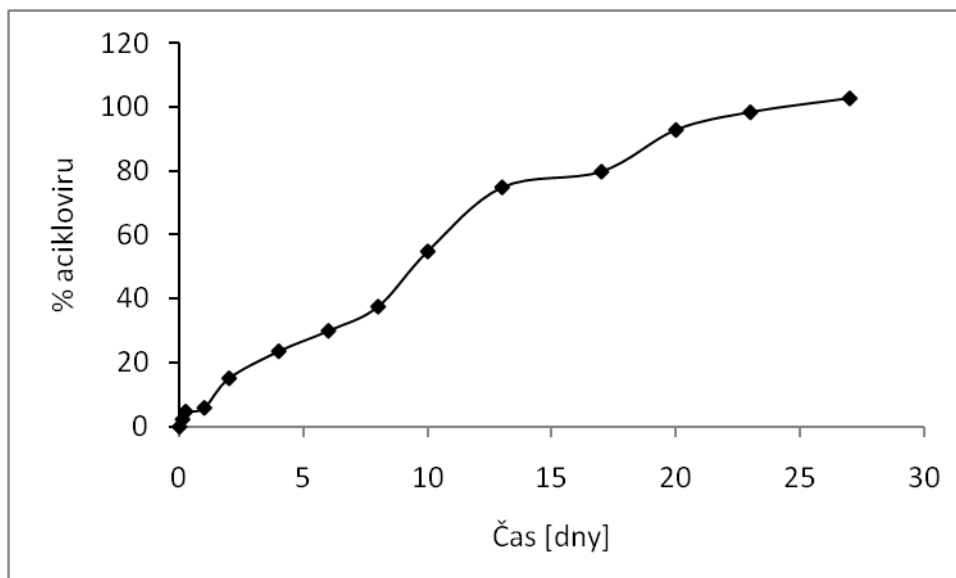


6.2.2. Liberace acikloviru

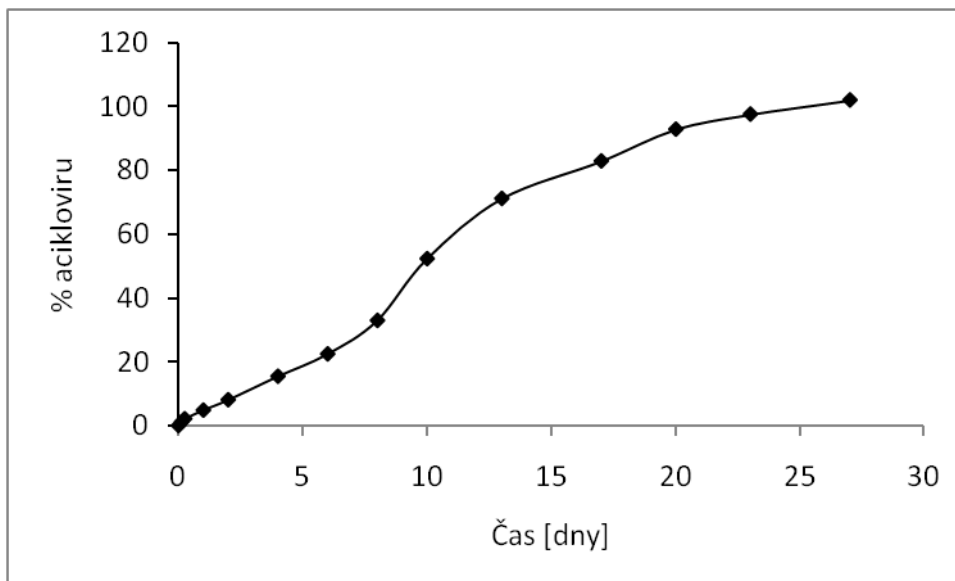
Obr.18: Liberace acikloviru z nosiče 1T plastifikovaného 20% TEC



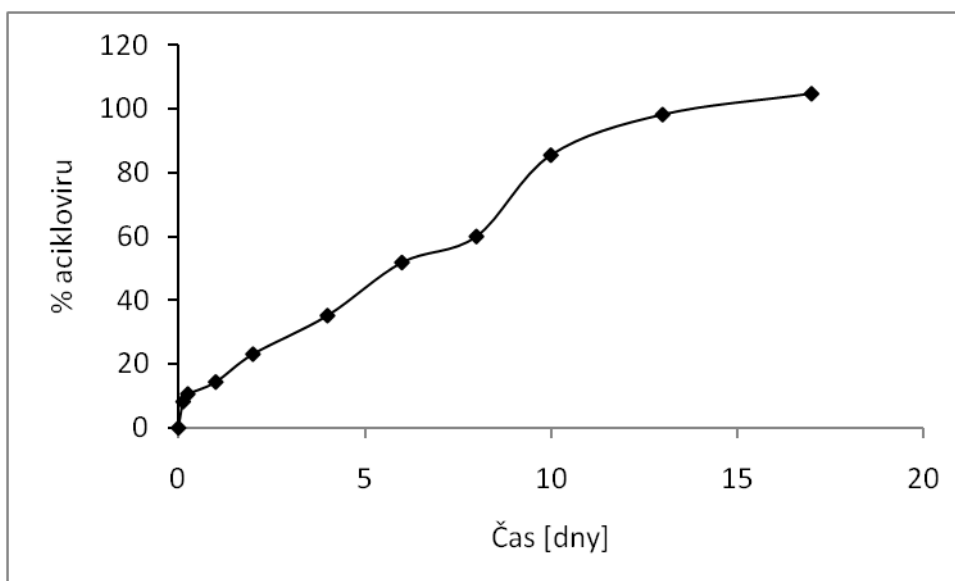
Obr.19: Liberace acikloviru z nosiče 3T plastifikovaného 20% TEC



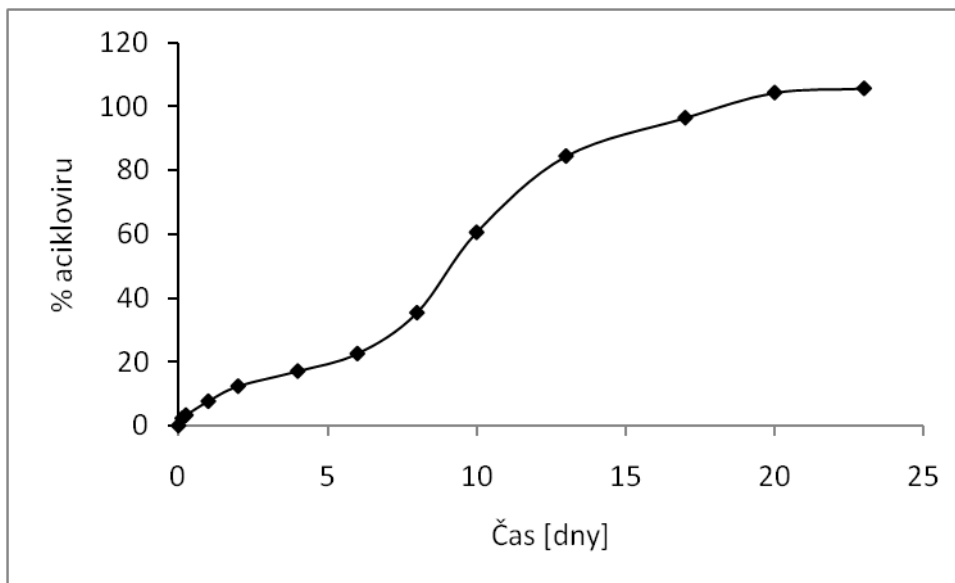
Obr.20: Liberace acikloviru z nosiče 5T plastifikovaného 20% TEC



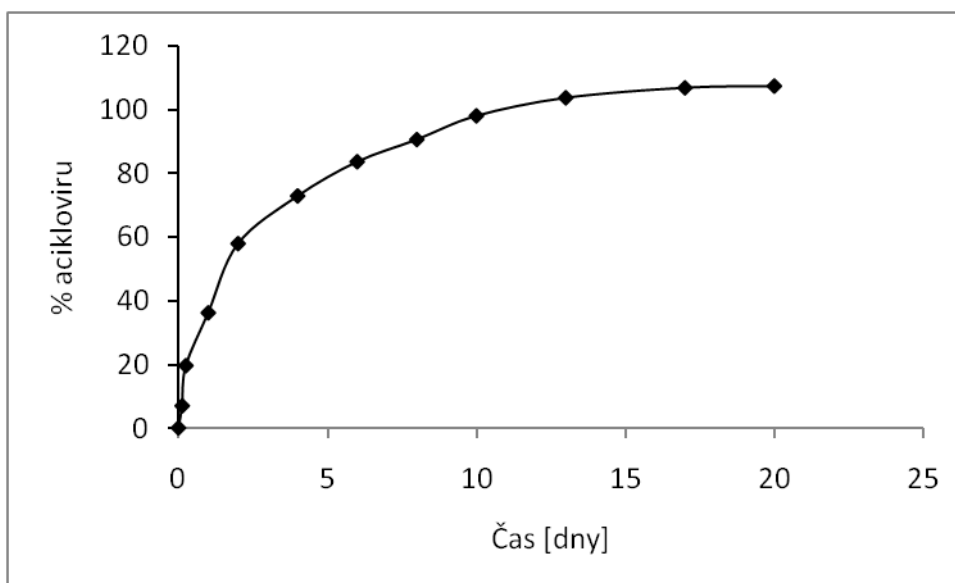
Obr.21: Liberace acikloviru z nosiče 1P plastifikovaného 20% TEC



Obr.22: Liberace acikloviru z nosiče 3P plastifikovaného 20% TEC

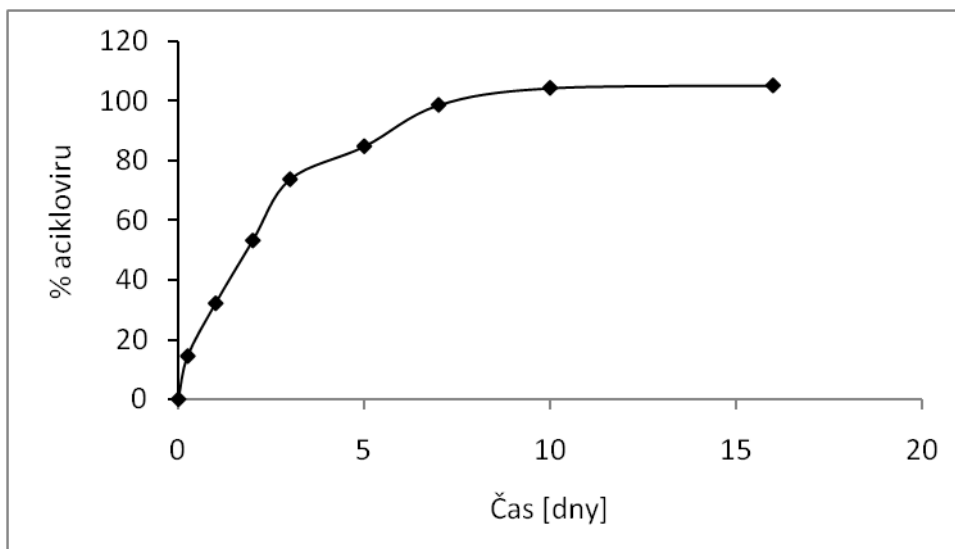


Obr.23: Liberace acikloviru z nosiče 5P plastifikovaného 20% TEC

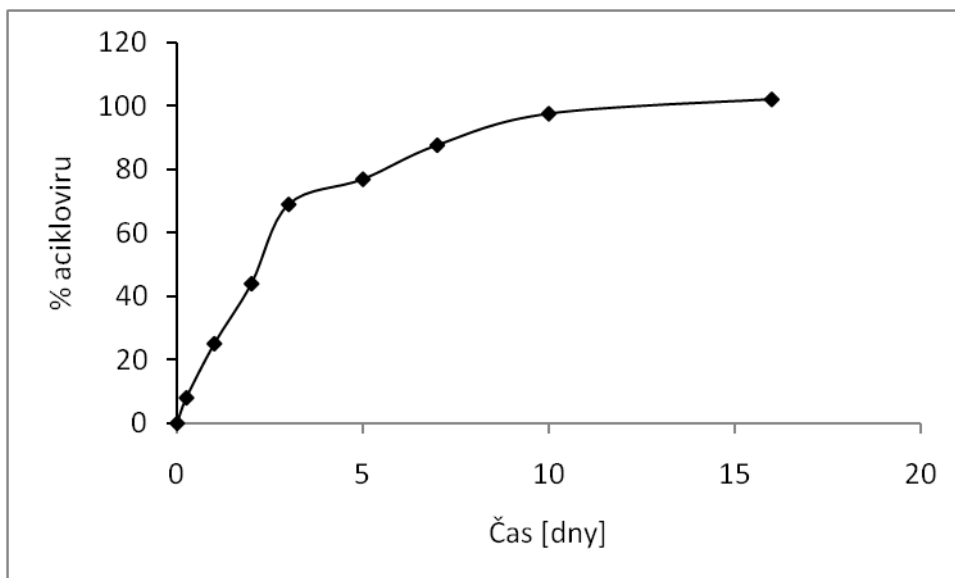


6.2.3. Liberace flukonazolu

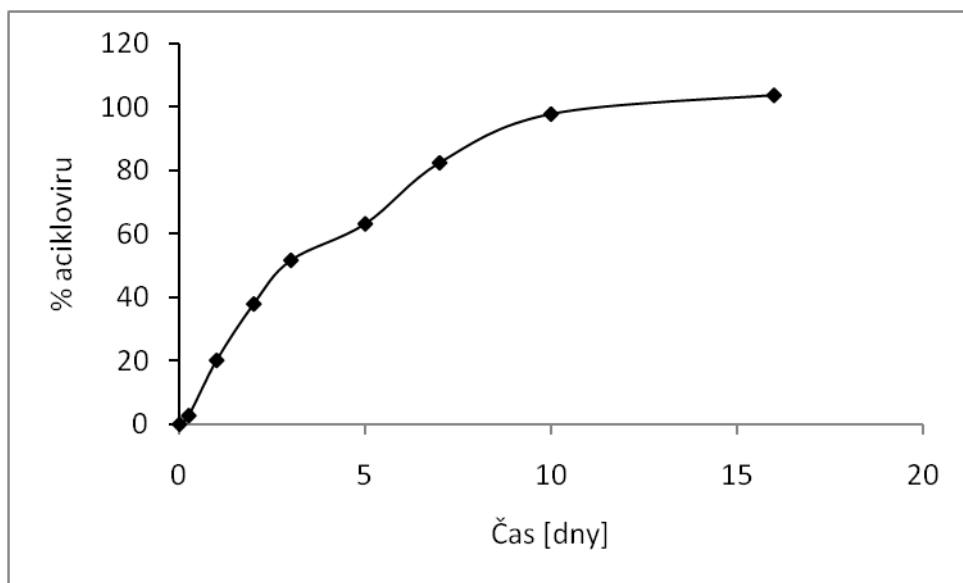
Obr.24: Liberace flukonazolu z nosiče 1T plastifikovaného 20% TEC



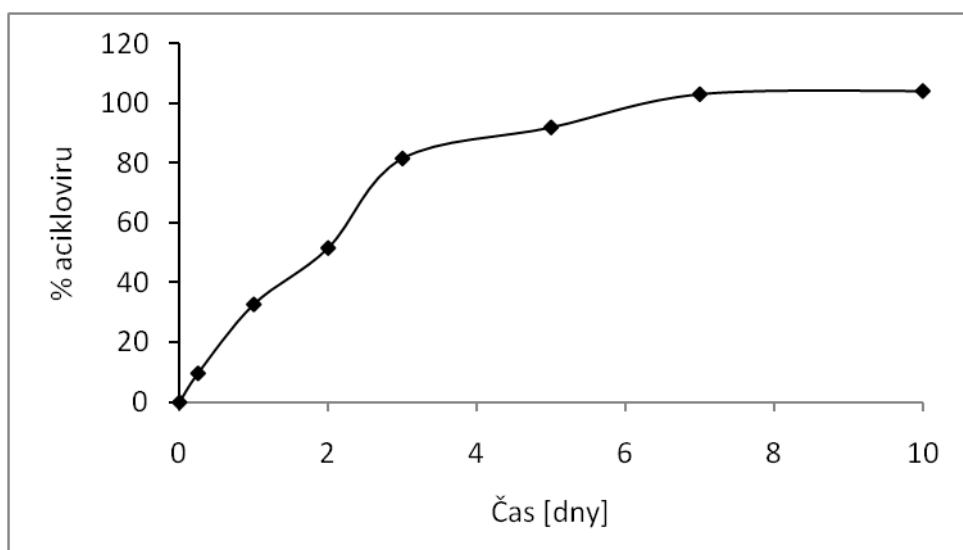
Obr.25: Liberace flukonazolu z nosiče 3T plastifikovaného 20% TEC



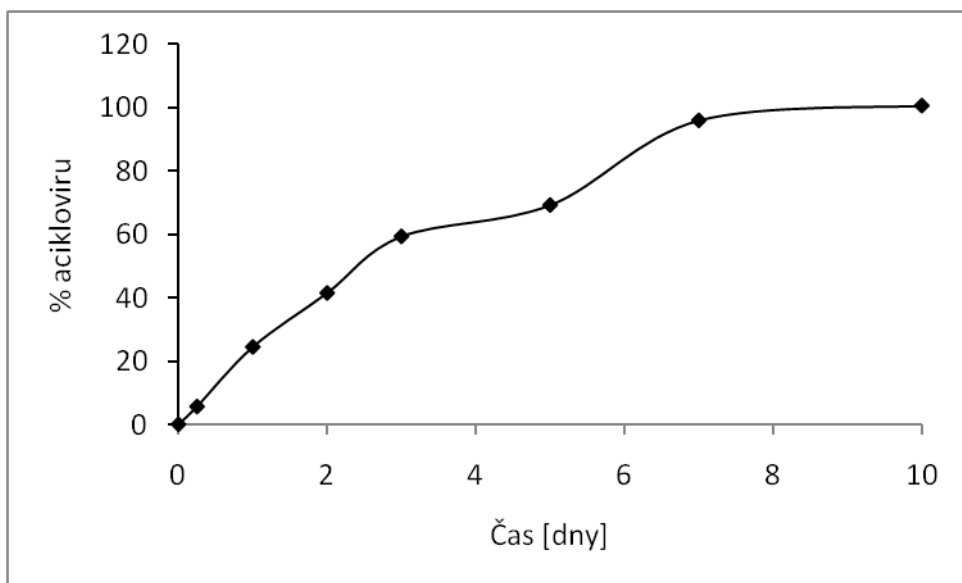
Obr.26: Liberace flukonazolu z nosiče 5T plastifikovaného 20% TEC



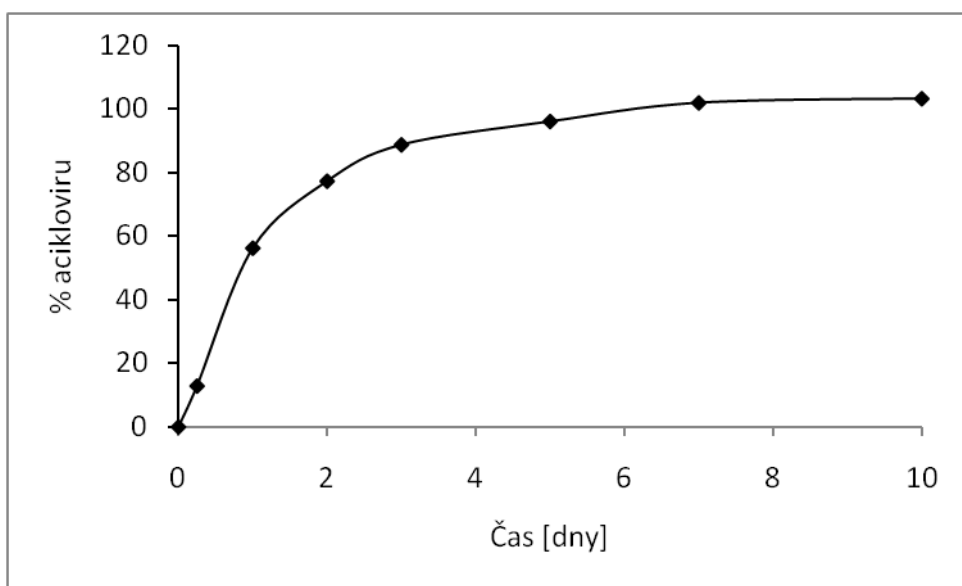
Obr.27: Liberace flukonazolu z nosiče 1P plastifikovaného 20% TEC



Obr.28: Liberace flukonazolu z nosiče 3P plastifikovaného 20% TEC



Obr.29: Liberace flukonazolu z nosiče 5P plastifikovaného 20% TEC



7. Diskuze

V předložené diplomové práci byly testovány větvené polyestery, syntetizované na katedře farmaceutické technologie UK v Hradci Králové stupňovou kopolymerací ternární směsí složené z ekvimolárního podílu kyseliny glykolové, kyseliny D,L-mléčné a pentaerythritolu nebo tripentaerythritolu v koncentraci 1 %, 3 % nebo 5 %. V důsledku různého typu a koncentrace větvicí složky mají jednotlivé polymery různý stupeň větvení, různou molární hmotnost, a tedy odlišnou hydrofilitu, stupeň bobtnání a eroze.

Analýzy provedené v Synpo Pardubice neprokázaly lineární závislost mezi koncentrací větvicí složky v reakční směsi a molární hmotností či stupněm větvení. Lineární PLGA má větvicí poměr $g' = 1$. S rostoucím stupněm větvení tato hodnota klesá k nule. Nejvyšší stupeň větvení byl zjištěn u nosiče 3T ($g' = 0,31$) a dále u nosiče 3P ($g' = 0,33$) viz Tab. 1. Zvýšením koncentrace větvicí složky z 1 % na 3 % došlo ke zvýšení stupně větvení nosičů. Ovšem zvýšením koncentrace větvicí složky z 3 % na 5 % již k dalšímu zvýšení větvení nedošlo, neboť se již pravděpodobně projevuje přebytek hydroxylových skupin. Uvedené vztahy byly prokázány jak u nosičů řady P, tak u nosičů řady T. Nosiče větvené pentaerythritolem mají nižší stupeň větvení než nosiče větvené tripentaerythritolem. Obdobné vztahy byly zjištěny mezi koncentrací větvicí složky v reakční směsi a molární hmotností nosičů. Molární hmotnost vzrůstá při zvýšení koncentrace pentaerythritolu či dipentaerythritolu z 1 % na 3 %. Při použití 5 % se však již molární hmotnost nezvyšuje. Nosiče větvené tripentaerythritolem mají vyšší molární hmotnost než nosiče větvené tripentaerythritolem.⁶²

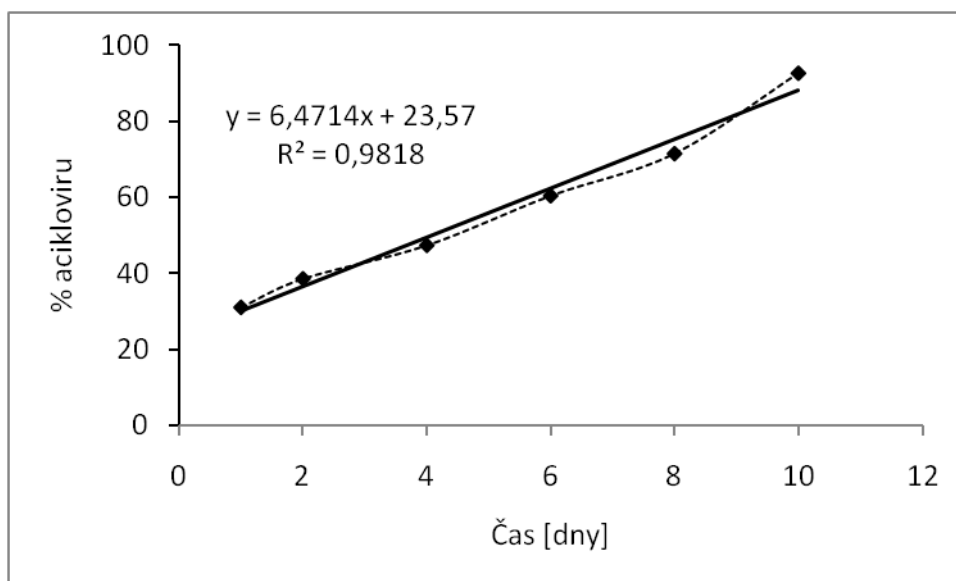
Větvené polyestery alifatických hydroxykyselin erodují již v počátečním stádiu působením vodného média při zachování jejich integrity. S rostoucím stupněm větvení klesá stupeň bobtnání nosičů. Právě průběh bobtnání a eroze hraje klíčovou roli při liberaci léčivých látek. Pokud nosič bobtná ve velkém rozsahu, probíhá liberace difúzí molekul nebo iontů léčiva, případně desorpce. Při nižším stupni bobtnání se projevují obstrukční efekty. Pokud nosič nebobtná, průběh liberace se realizuje erozí a rozpouštěním matricového systému.

7.1. Liberace acikloviru

Byla sledována liberace acikloviru z nosičů větvených pentaerythritolem a tripentaerythritolem a plastifikovaných 20 % triethylcitrátu. Byl proveden statický disoluční test při 37°C. Jako liberační médium byl zvolen fosfát citrátový pufr pH 7,0.

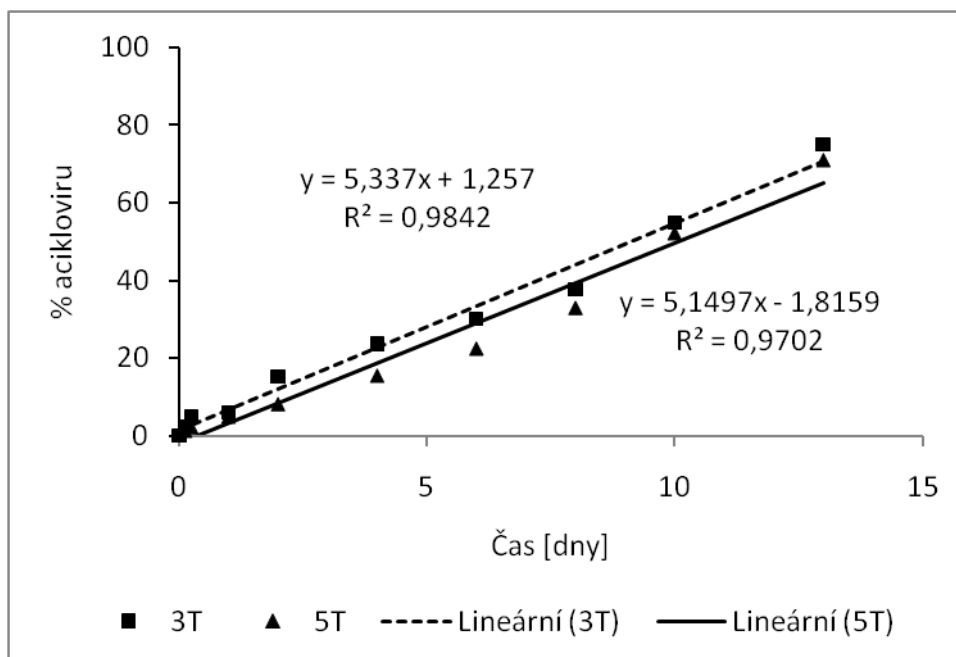
Na počátku liberace acikloviru z nosiče 1T je patrný přibližně 30% jednodenní burst (Obr.18), následovaný lineární fází liberace v časovém intervalu 1 den až 10 dnů (Obr.30), kdy došlo k uvolnění 90 % inkorporovaného acikloviru.

Obr.30: Lineární fáze liberace acikloviru z nosiče 1T



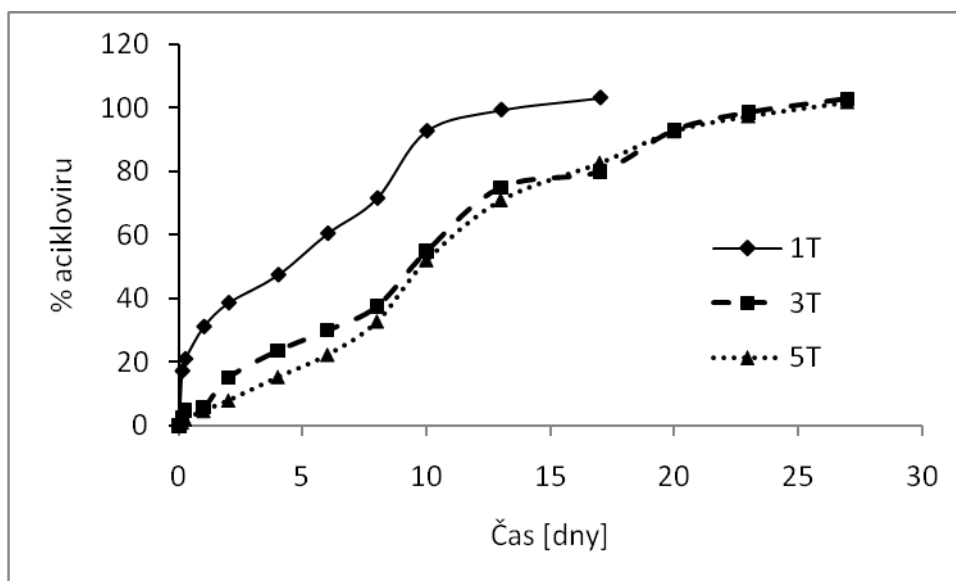
Liberace acikloviru z nosičů 3T a 5T probíhala bez počátečního burstu přibližně kinetikou nultého řádu po dobu 13 dnů. Z matric se volnilo 75 % inkorporovaného acikloviru, zbylé množství se uvolnilo v průběhu dalších 14 dnů (Obr.19 a 20, Obr.31).

Obr.31: Lineární fáze liberace acikloviru z nosiče 3T a 5T



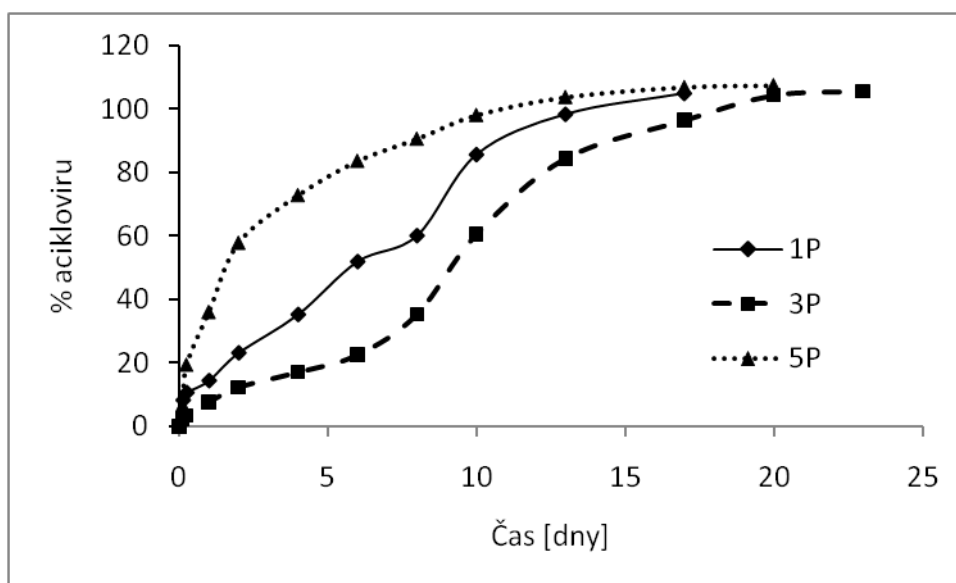
Provedené liberační testy ukázaly, že uvolňování acikloviru z nosičů větvených tripentaerythritolem závisí na jejich molární hmotnosti a stupni větvení. Nejrychlejší průběh liberace byl zaznamenán u nosiče 1T, který má z nosičů větvených tripentaerythritolem nejnižší stupeň větvení a střední molární hmotnost. Pomalejší a téměř totožný byl průběh liberace z nosičů 3T a 5T, které mají přibližně stejný stupeň větvení, ale rozdílnou molární hmotnost (Obr.32).

Obr.32: Liberace acikloviru z nosičů větvených tripentaerythritolem

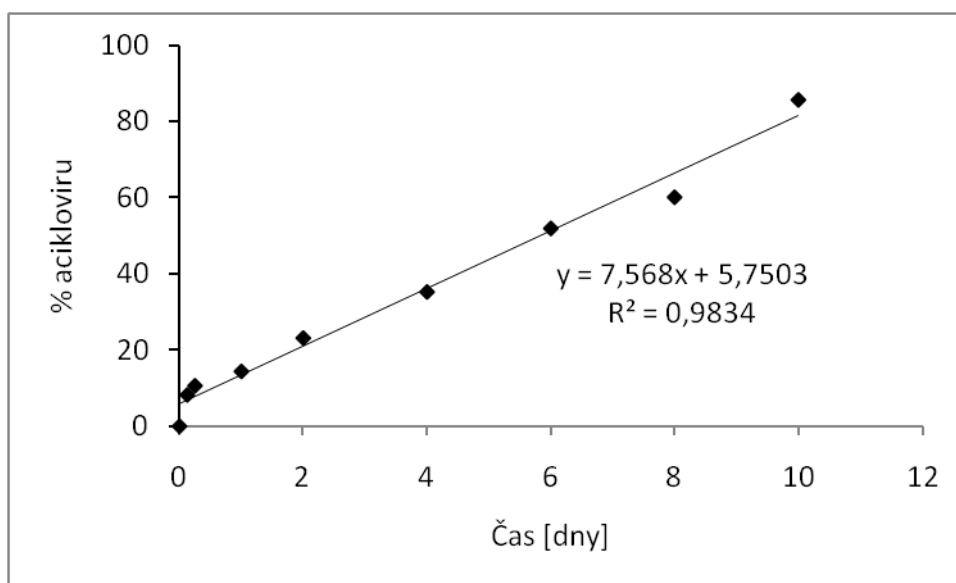


Uvolňování acikloviru z nosičů větvených pentaerythritolem se znázorněno na Obr.33. Nejrychleji se aciklovir uvolnil z nosiče 5P; jednodenní burst byl 36 % a celková doba liberace 10 dnů (Obr.23). Nosič má nejnižší molární hmotnost $M_w = 2\,700$ g/mol a nejnižší stupeň větvení $g' = 0,61$ ze všech testovaných nosičů. Z nosiče 1P se uvolňoval aciklovir pomaleji. Za 1 den se uvolnilo pouze 14 % léčiv, v časovém intervalu od 6. hodiny do 10. dne byla zaznamenána lineární fáze liberace (Obr.34) a uvolnilo se 85 % léčiva. Zbylých 15 % se uvolnilo během dalších 7 dnů (Obr.21).

Obr.33: Liberace acikloviru z nosičů větvených pentaerythritolem



Obr.34: Lineární fáze liberace acikloviru z nosiče 1P

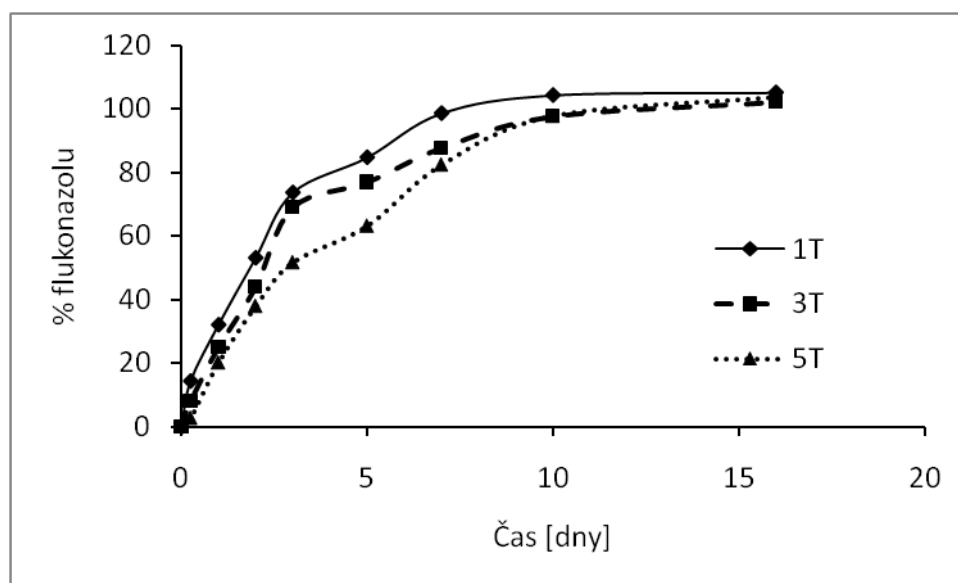


Liberace acikloviru z nosiče 3P měla pozvolnou počáteční fázi, za 24 hodin se uvolnilo pouze necelých 8 % léčiva. Ke zrychlení došlo 6. den liberace. V intervalu 6 dnů až 13 dnů se uvolnilo 85 % léčiva a zbylé množství se uvolnilo během následujících 7 dnů (Obr.22).

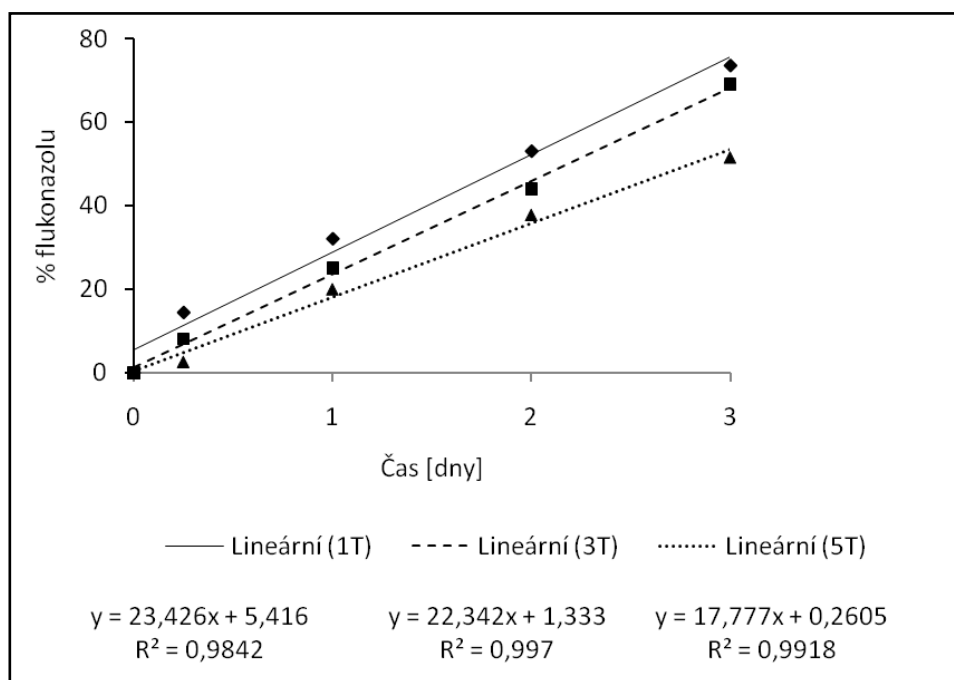
7.2. Liberace flukonazolu

Liberace flukonazolu z nosičů větvených tripentaerythritolem (Obr.35) probíhala bez počátečního burst efektu po dobu 3 dnů lineárně. Z nosiče 5T se uvolnilo 50 % flukonazolu, z nosičů 1T a 3T 70 % flukonazolu. Poté došlo ke zpomalení liberace a zbylé množství flukonazolu se uvolnilo během 7 dnů. Celková doba liberace byla 10 dnů (Obr.24-26). Flukonazol se z nosičů větvených tripentaerythritolem uvolňoval rychleji než aciklovir. Stejně jako při liberaci acikloviru, tak i zde se projevil zejména vliv stupně větvení, ale i molární hmotnosti, i když ne tak výrazně. Nejrychlejší průběh liberace byl zaznamenán u nosiče 1T, který má z nosičů větvených tripentaerythritolem nejnižší stupeň větvení a střední molární hmotnost.

Obr.35: Liberace flukonazolu z nosičů větvených tripentaerythritolem

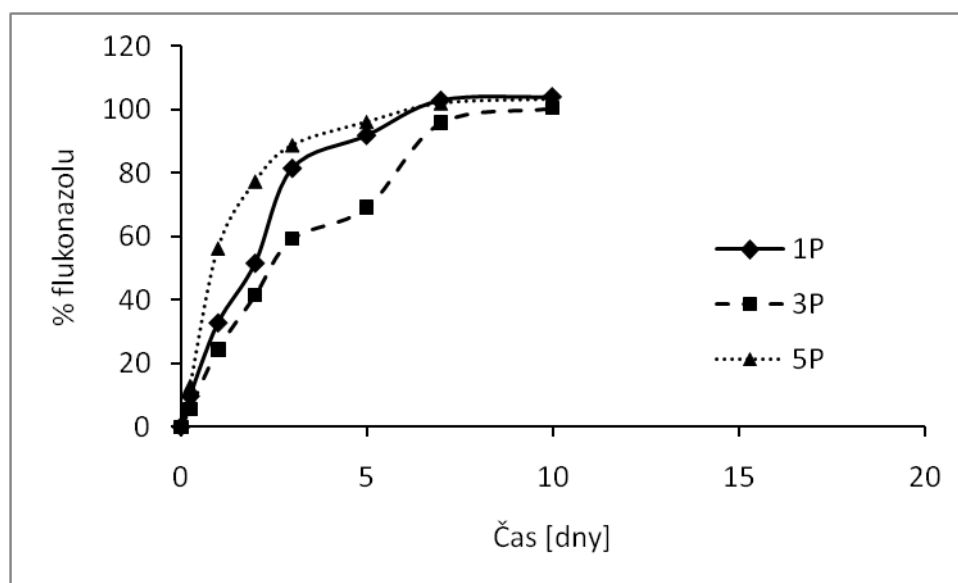


Obr.36: Lineární fáze liberace flukonazolu z nosičů větvených tripentaerythritolem



Liberace flukonazolu z nosičů větvených pentaerythritolem byla rychlejší než z nosičů větvených tripentaerythritolem. Za 3 dny od počátku liberačního testu se z nosičů 5P a 1P uvolnilo více než 80 % flukonazolu, z nosiče 3P 60 % flukonazolu. Jsou patrné větší rozdíly v průběhu liberace flukonazolu než u nosičů větvených tripentaerythritolem (Obr.37). V porovnání s liberací acikloviru z nosičů řady P, která probíhala po dobu 17 až 20 dnů, se flukonazol uvolnil rychleji, prakticky za 7 dní.

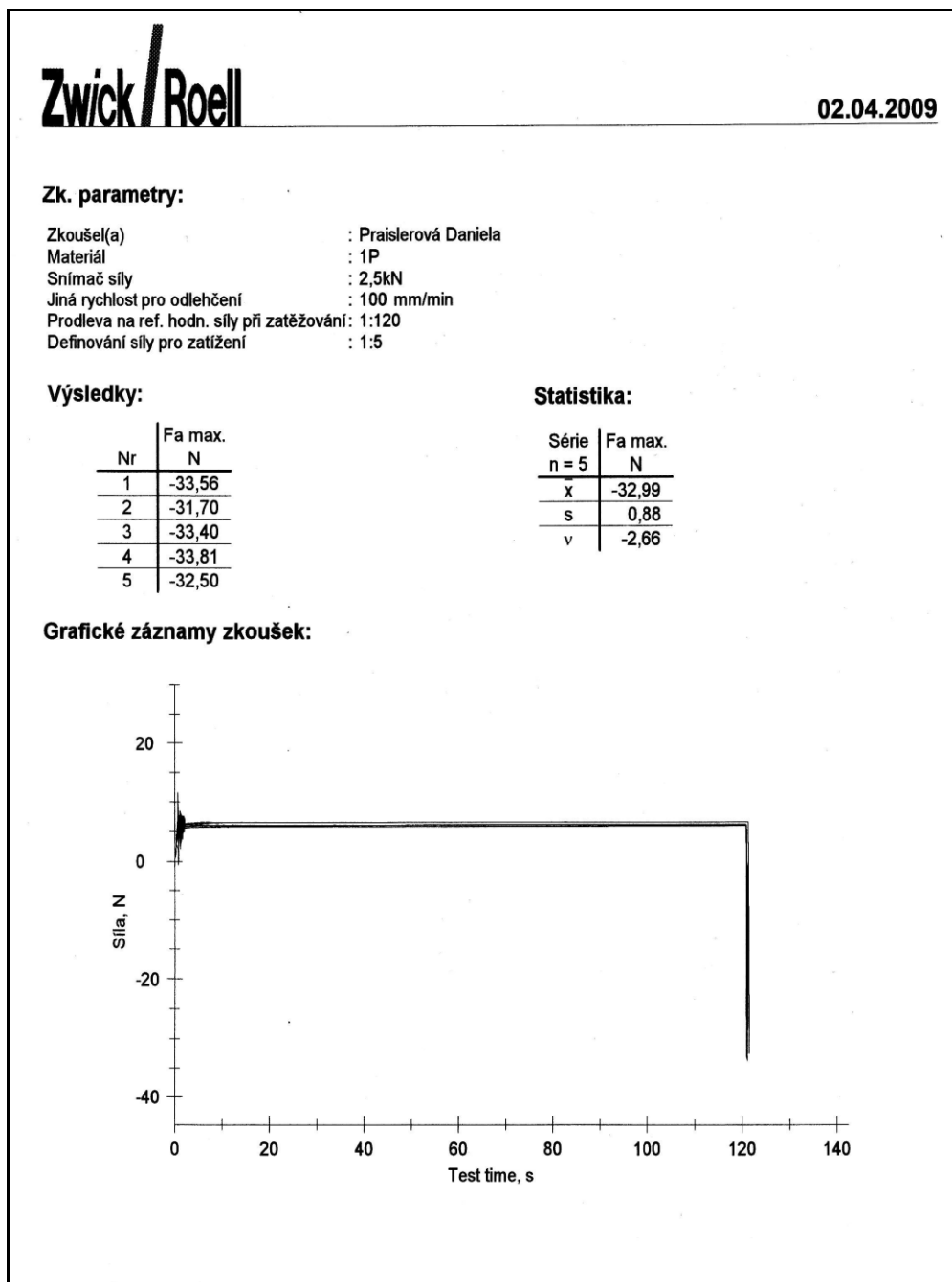
Obr.37: Liberace flukonazolu z nosičů větvených pentaerythritolem



7.3. Test adhezivních vlastností větvených polyesterů

Na materiálovém zkušebním stroji byla měřena maximální síla potřebná k odtržení plastifikovaného větveného polyesteru od modelového substrátu tvořeného mucinem z prasečích žaludků. V průběhu testu byla aplikována kontaktní síla 5 N a kontaktní doba 120 s. Poté byl vzorek od podkladu odtržen rychlostí 100 mm/min. Obr.38 uvádí vzor protokolu z měření adhezivní síly.

Obr. č. 38: Příklad protokolu z měření adhezivní síly na materiálovém zkušebním stroji



Variabilní zkušební parametry jsou uvedeny v záhlaví protokolu. Pro rychlost odtržení vzorku od podkladu je použit technický termín *jiná rychlost pro odlehčení*. V první fázi testu dochází ke kontaktu vzorku s podkladem, k působení kontaktní síly, a tedy k zatížení. Poté následuje odlehčení. Termín *prodleva na referenčních hodnotách síly při zatěžování* znamená dobu kontaktu. V protokolu uvedená hodnota 1:120 vyjadřuje, že byla zvolena jedna kontaktní doba v délce 120 s. Poslední parametr v záhlaví protokolu je *definování síly pro zatížení* a znamená použitou kontaktní sílu. Uvedená čísla 1:5 vyjadřují, že byla zvolena jedna síla pro zatížení o hodnotě 5 N.

Při nastavených zkušebních parametrech byla adhezivní zkouška provedena 5x. Síla potřebná k odtržení adheziva od substrátu byla vyjádřena jako F_{\max} v jednotkách Newton. Záporné znaménko vyjadřuje zpětný pohyb horní kontaktní plochy se vzorkem při odtržení od podkladu. S kladným znaménkem stroj registruje tlakovou sílu při kontaktu ploch.

Naměřená maximální síla při odtržení adheziva od podkladu byla vztažena k velikosti kontaktní plochy a vyjádřena v jednotkách mN/mm^2 (Tab.4-9). Je tak možno porovnávat hodnoty naměřené při různých kontaktních plochách. To je bohužel asi jediný náznak standardizace adhezivního testu. Výsledky testů realizované při různě nastavených zkušebních parametrech nelze mezi sebou srovnávat. Standardní zkušební metoda měření adhezivních vlastností není zavedena.

Na Obr.17 je porovnána adhezivita testovaných polyesterů. V grafu nejsou uvedeny polyestery 1T a 3T, které měly při plastifikaci 20 % TEC extrémně vysokou viskozitu a při laboratorní teplotě nebyly zpracovatelné. Nešly nanést na kontaktní plochu zkušebního stroje a provést test adheze. Byly proto plastifikovány 30 % TEC, čímž se snížila jejich viskozita a bylo možno realizovat test adheze. Naměřené hodnoty (Tab.4 - 5) samozřejmě nelze porovnat s hodnotami adhezivní síly polyesterů plastifikovaných 20 % TEC. U všech testovaných polyesterů byly zjištěny adhezivní vlastnosti. Z obrázku 17 je vidět, že významně vyšší adhezivitu měly polyestery 5T a 1P. Adhezivita polyesterů 3P a 5P byla prakticky stejná. Nejnižší adhezivita byla zjištěna u oligoesteru 5P, který má nejnižší molární hmotnost $M_w = 2700 \text{ g/mol}$ a relativně nízký stupeň větvení $g' = 0,61$.

Adhezi viskózních soustav k substrátu popisuje teorie smáčení, která spojuje adhezivní vlastnosti materiálu s jejich schopností rozprostřít se po substrátu a vytvořit s ním těsný kontakt. Adhezivní vlastnosti viskózních soustav jsou významně ovlivněny

hodnotou jejich dynamické viskozity, která závisí na jejich molární hmotnosti, stupni větvení, typu a koncentraci použitého plastifikátoru.

V rámci experimentu předložené diplomové práce nebyla dynamická viskozita polyesterů plastifikovaných 20 % TEC měřena. Lze předpokládat, že nejvyšší dynamickou viskozitu mají polyestery 1T a 3T s nejvyšší molární hmotností a stupněm větvení. Vyplývá to z výsledků rigorózní práce Podzimkové,⁶³ ve které byla měřena dynamická viskozita oligoesterů větvených pentaerythritolem a tripentaerythritolem, plastifikovaných 30 % TEC.

Tab.22: Dynamická viskozita polyesterů plastifikovaných 30 % TEC ⁶³

Oligoester	1T	3T	5T	1P	3P	5P
η [Pa.s]	536	371	161	123	110	41

Polymery s extrémně vysokou hodnotou dynamické viskozity se nerozprostřou po substrátu a jejich adhezivní síla je neměřitelná. S klesající hodnotou dynamické viskozity roste schopnost polymeru rozprostřít se po substrátu. Polymery s relativně nízkou dynamickou viskozitou vykazují nízké hodnoty adhezivní síly. Adhezivní síla je optimální v určitém rozmezí hodnot dynamické viskozity

8. Závěry

Z výsledků získaných v experimentální části předložené diplomové práce lze vyvodit následující závěry:

1. Testované větvené polyestery složené z ekvimolárního podílu kyseliny glykolové a kyseliny D,L-mléčné a pentaerythritolu nebo tripentaerythritolu v koncentraci 1 %, 3 % nebo 5 %, mají různý stupeň větvení, různou molární hmotnost, a tedy odlišnou hydrofilitu, stupeň bobtnání a eroze. Mezi koncentrací větvicí složky a molární hmotností či stupněm větvení se lineární závislost neprokázala.
2. Testované větvené polyestery erodují již v počátečním stádiu působením vodného média při zachování jejich integrity. S rostoucím stupněm větvení klesá stupeň bobtnání nosičů. Právě průběh jejich bobtnání a eroze hraje klíčovou roli při liberaci léčivých látek.
3. Provedené liberační testy ukázaly, že uvolňování léčiva z testovaných nosičů závisí na stupni větvení a molární hmotnosti. Jako vhodné nosiče léčiv se ukázaly polyestery 1P, 3T a 5T, které mají vysoký stupeň větvení a zároveň vysokou molární hmotnost.
4. Adhezivní vlastnosti viskózních soustav jsou významně ovlivněny jejich dynamickou viskozitou, která závisí na molární hmotnosti, stupni větvení, typu a koncentraci použitého plastifikátoru. Adhezivní vlastnosti byly zjištěny u všech testovaných polyesterů. Nejnížší adhezivitu měl oligoester 5P s nejnižší molární hmotností $M_w = 2700$ g/mol a nejnižším stupněm větvení $g' = 0,61$.

9. Abstrakt

V diplomové práci jsou studovány adhezivní vlastnosti větvených polyesterů a liberace acikloviru a flukonazolu z těchto nosičů. Teoretická část se věnuje polymerům používaným ve farmacii a medicíně, jejich vlastnostem, mechanismem biodegradace, faktory ovlivňující její rychlost a polymerními terapeutickými systémy. Experimentální část je zaměřena na adhezi polyesterů kyseliny mléčné a glykolové větvených pentaerythritolem a tripentaerythritolem (1P, 3P, 5P, 1T, 3T, 5T), plastifikovaných 20% triethylcitrátu. Adhezivní vlastnosti byly zjištěny u všech testovaných polyesterů. Nejnižší adhezivitu měl oligoester 5P s nejnižší molární hmotností $M_w = 2700 \text{ g/mol}$ a nejnižším stupeň větvení $g' = 0,61$. Dále byla testována liberace acikloviru a flukonazolu z těchto nosičů. Jako vhodné nosiče léčiv se ukázaly polyestery 1P, 3T a 5T, které mají vysoký stupeň větvení a zároveň vysokou molární hmotnost.

Klíčová slova: větvené polyestery, bioadheze, liberace acikloviru, liberace flukonazolu

10. Abstract

The aim of these graduation thesis was the study of adhesive properties of branched oligoesters and acyclovir and fluconazole release from these carriers. The theoretical part introduces the often used polymers, their properties and application. Furthermore there is the mechanism of biodegradation, the factors affecting mechanism and speed of drug release and therapeutic systems with examples. The practical part is regarded to the adhesion of the polyesters of lactic and glycolic acid branched using pentaerythritol and tripentaerythritol (1P, 3P, 5P, 1T, 3T, 5T). These polyesters were plasticized by 20% of triethylcitrate. All the tested polyesters were adhesive. The lowest adhesion power was measured out by carrier 5P with low molar weight $M_w = 2700$ g/mol and degree of branching $g' = 0.61$. Acyclovir and fluconazole release from these carriers was tested. The fastest release was measured regarding to carrier 1T. Polyesters 1P, 3T and 5T have been shown as suitable drug carriers.

Keywords: branched polyesters, bioadhesion, acyclovir release, fluconazole release

11. Seznam literatury

- ¹ Hatefi, A., Amsden, B.: Biodegradable injectable in situ forming drug delivery systems. *J. Control. Rel.* 80, 2002, 9–28.
- ² www.solen.cz/pdfs/lek/2005/01/10.pdf, 17.3.2010.
- ³ Jeong, B., Choi, Y.K., Bae, Y. H., Zentner, G., Kim, S.W.: New biodegradable polymers for injectable drug delivery systems. *J. Control. Rel.* 62, 1999, 109-114.
- ⁴ Wang, N., Wu, X. S., Li, C., Feng, M.F.: Synthesis, characterisation, biodegradation and drug delivery application of biodegradable lactic / glycolic polymers: synthesis and characterisation. *J. Biomater. Sci. Polym.* 11, 2000, 301–318.
- ⁵ http://en.wikipedia.org/wiki/Polylactic_acid, 21.3.2010
- ⁶ Jamshiddi, K., Hyon, S. H., Ikada, Y.: Thermal characterization of polylactide. *Polymer* 29, 1988, 2229–34.
- ⁷ Gupta, A. P., Kumar, V.: New emerging trends in synthetic biodegradable polymers – Polylactide: A critique. *Eur. Polym. J.* 43, 2007, 4053–4074.
- ⁸ Tice, T. R., Cowsar, D. R.: Biodegradable controlled-release parenteral systems. *Pharm. Technol.* 11, 1984, 26-35.
- ⁹ Zhang, X., MacDonald, D. A., Goosen, M. F. A., McAuley, K. B.: Mechanism of lactide polymerization in presence of stannou octoate: the effect of hydroxyl and carboxyl substances. *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem. Ed.* 32(15), 1994, 2965–70.
- ¹⁰ Boccaccini, A. R., Blaker, J. J., Maquet, V., Day, R. M., Jrme, R.: Preparation and characterisation of poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) and PLGA/Bioglass composite tubular foam scaffolds for tissue engineering applications. *Mater. Sci. Eng. C* 25, 2005, 23–31.
- ¹¹ Kallela, I., Iizuka, T., Salo, A., Lindqvist, C.: Lag-screw fixation of anterior mandibular fractures using biodegradable polylactide screws: A preliminary report. *J. Oral Maxillofac Surg.* 57, 1999, 113–8.
- ¹² <http://en.wikipedia.org/wiki/File:PGA.png>, 21.3.2010
- ¹³ Middleton, J. C., Tipton, A. J.: Synthetic biodegradable polymers as medical devices, *Medical Plastics and Biomaterials Magazine*, 1998, 31-38.
- ¹⁴ Nelson, D., Cox, M.: Carbohydrate Biosynthesis. In : *Principles of biochemistry*, 3rd Ed., Nelson, D., Cox., M., Eds., Worth Publisher: New York, 2000, 722 – 764.

-
- ¹⁵ <http://en.wikipedia.org/wiki/File:PLGA.svg>, 21.3.2010
- ¹⁶ 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, Inc., New York, 1990, 1-41.
- ¹⁷ Clapper, J. D., Skeie, J. M., Mullins, R. F., Guymon, C. A.: Development and characterization of photopolymerizable biodegradable materials from PEG-PLA-PEG block macromonomers. *Polymer* 48, 2007, 6554-6564.
- ¹⁸ Jeong, B., Bae, Y.H., Kim, S. W.: Biodegradable thermosensitive micelles of PEG-PLGA-PEG triblock copolymers. *Colloids Surfaces B: Biosurfaces* 16, 1999, 185–193.
- ¹⁹ Jeong, B., Bae, Y.H., Kim, S. W.: Drug release from biodegradable injectable thermosensitive hydrogel of PEG-PLGA-PEG triblock copolymers. *J. Control. Rel.* 63, 2000, 155–163.
- ²⁰ Yewey, G. L., Duysen, E. G., Cox, S. M., Dunn, R. L.: Delivery of proteins from a controlled release injectable implant. *Pharm. Biotechnol.* 10, 1997, 93-117.
- ²¹ Zhang, K., Khan, A.: Phase behavior of poly(ethyleneoxide)–poly(propylene oxide)–poly(ethylene oxide) triblock copolymers in water. *Macromolecules* 28 ,1995, 3807–3812.
- ²² Aladhov, V. Y., Moskaleva, E.Y., Batrakova, E. V., Kabanov, A.V.: Hypersensitization of multidrug resistant human ovarian carcinoma cells by Pluronic P85 block copolymer. *Bioconj. Chem.* 7 ,1996, 209–216.
- ²³ Veyries, M. L., Couarraze, G., Geiger, S., Agnely, F., Massias, L.,Kunzli, B., Faurisson, F., Rouveix, B.: Controlled release of vancomycin from Poloxamer 407 gels. *Int. J. Pharm.* 192 ,1999, 183–193.
- ²⁴ Johnston, T. P., Palmer, W. K.: Mechanism of poloxamer 407 induced hypertriglyceridemia in the rat. *Biochem. Pharmacol.* 46 (6), 1993, 1037–1042.
- ²⁵ Albertsson, A.C., Karlsson, S.: *Chemistry and Technology of Biodegradable Polymers*, Blackie, Glasgow, 1994, hap.2, 48.
- ²⁶ Göpferlich, A.: Mechanisms of polymer degradation and erosion. *Biomaterials* 17, 1996, 103-114.
- ²⁷ Göpferich, A.: Polymer degradation and erosion: Mechanisms and applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 42 (1) , 1996, 1–11.
- ²⁸ Tuovinen, L., Peltonen, S., Järvinen, K.: Drug release from starch-acetate films *J. Control. Rel.* 91,2003, 345-354.

-
- ²⁹ Lao, L. L., Venkatraman, S. S., Peppas, N. A.: Modeling of drug release from biodegradable polymer blends. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 70 , 2008, 796–803.
- ³⁰ Yuehuei, H., Woolf, K. S. A., Friedman, R. J.: Pre-clinical in vivo evaluation of orthopaedic bioabsorbable device. *Biomaterials* 21 , 2000, 2635-2652.
- ³¹ Belbella, A., Vauthier, Ch., Fessi, H., Devissaguet, J.-P., Puisieux, F.: In vitro degradation of nanospheres from poly(D,L-lactides) of different molecular weights and polydispersities. *Int. J. Pharm.* 129 ,1996, 95-102.
- ³² Jalil, R., Nixon, J. R.: Biodegradable poly(lactic acid) and poly(lactide-co-glycolide) microcapsules: problems associated with preparative techniques and release properties. *J. Microencapsulation* 7, 1990, 297-325.
- ³³ Pistner, H., Bendix, D.R., Mühlig, J., Reuter, J.F.: Poly(L- lactide): a long-term degradation study in vivo. *Biomaterials* 4 ,1993, 291–298.
- ³⁴ Ivanova, T., Panaiotov, I., Boury, F., Proust, J.E., Benoit, J. P., Verger, R.: Hydrolysis kinetics of poly(D,L-lactide) monolayers spread on basic or acidic aqueous subphases. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 8 , 1997, 212-225.
- ³⁵ Vert, M., Li, S. M., Garreau, H.: More about the degradation of LA/GA-derived matrice in aqueous media. *J. Control. Rel.* 1 , 1991, 15- 26.
- ³⁶ Nicoli, S. et al.: Design of triptorelin loaded nanospheres for transdermal iontophoretic administration. *Int. J. Pharm.* 214 , 2001, 31–5.
- ³⁷ Storm, G., Koppenhagen, F., Heeremans, A., Vingerhoeds, M., Woodle, M. C., Crommelin, D. J. A.: Novel developments in liposomal delivery of peptides and proteins. *J. Control. Rel.* 36, 1995, 19-24.
- ³⁸ Sharma, A., Sharma, U.S.: Liposomes in drug delivery: progress and limitations. *Int. J. Pharm.* 154 , 1997, 123–140.
- ³⁹ Ross, M. L., Yuan, P., Robinson, M. R.: Intraocular drug delivery implants. *Rev. Ophthalmol.* 7 , 2000, 95.
- ⁴⁰ Oh, J. E., Nam, Y. S., Lee, K. H., Park, T. G.: Conjugation of drug to poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) for controlled release from biodegradable microspheres. *J. Control. Rel.* 57 ,1999, 269–280.
- ⁴¹ Hans, M. L., Kosman, A. M.: Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting. *Curr. Opin. Solid State Mater. Sci.* 6 , 2002, 319–327.
- ⁴² Arshady, R.: Preparation of biodegradable microspheres and microcapsules: 2. Polylactides and related polyesters. *J. Control. Rel.* 17 , 1991, 1-22.

-
- ⁴³ Lambert, W. J., Peck, K. D.: Development of an in situ forming biodegradable poly-lactide-co-glycolide system for the controlled release of proteins. *J. Control. Rel.* 33, 1995, 189–195.
- ⁴⁴ Liu, F., Wilson, B. C.: Hyperthermia and photodynamic therapy. In: Tannock, I., Hill, R. P. (Eds.), *Basic Science of Oncology*, McGraw-Hill, New York, 1998, 443–453.
- ⁴⁵ Jackson, J. K., Min, W., Cruz, T.F., Cindric, S., Arsenault, L., Von Hoff, D. D., Degan, D., Burt, H. M.: Polymer-based drug delivery system for the antineoplastic agent bis(maltolato)oxovanadium in mice. *Br. J. Cancer* 75 (7), 1997, 1014–1020.
- ⁴⁶ Deshpande, A.A., Heller, J., Gurny, R.: Bioerodible polymers for ocular drug delivery, *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 15 (4), 1998, 381–420.
- ⁴⁷ Burkoth, A. K., Anseth, K. S.: A review of photocrosslinked polyanhydrides: in-situ forming degradable networks. *Biomaterials* 21, 2000, 2395–2404.
- ⁴⁸ Fleming, M. G., Maillet, W. A.: Photopolymerization of composite resin using the argon laser. *J. Can. Dent. Assoc.* 65 (8), 1999, 447–450.
- ⁴⁹ Temenoff, J. S., Mikos, A. G.: Injectable biodegradable materials for orthopedic tissue engineering. *Biomaterials* 21, 2000, 2405–2412.
- ⁵⁰ He, S., Yaszemski, M. J., Yasko, A. W., Engel, P. S., Mikos, A. G.: Injectable biodegradable polymer composites based on poly(propylene fumarate) crosslinked with poly(ethylene glycol) dimethacrylate. *Biomaterials* 21, 2000, 2389–2394.
- ⁵¹ Cui, H., Messerlith, P. B.: Thermally triggered gelation of alginate for controlled release. In: McCulloch, I., Shalaby, S.W. (Eds.): *Tailored Polymeric Materials For Controlled Delivery Systems*. American Chemical Society, Washington, DC, 1998, 203–211.
- ⁵² Cohen, S., Lobel, E., Trevogda, A., Peled, Y.: A novel in-situ forming drug delivery system from alginates undergoing gelation in the eye. *J. Control. Rel.* 44, 1997, 201–208.
- ⁵³ Suzuki, Y., Nishimura, Y., Tanihara, M., Suzuki, K., Shimizu, Y., Yamawaki, Y., Kakimaru, Y.: Evaluation of a novel alginate gel dressing: cytotoxicity to fibroblasts in vitro and foreign-body reaction in pig's skin in vivo. *J. Biomed. Mater. Res.* 39 (2), 1998, 317–322.
- ⁵⁴ Eliaz, R. E., Kost, J.: Characterization of a polymeric PLGA injectable implant delivery system for the controlled release of proteins. *J. Biomed. Mater. Res.* 50, 2000, 388–396.

-
- ⁵⁵ Jeong, B., Bae, Y.H., Kim, S. W.: In-situ gelation of PEG–PLGA–PEG triblock copolymer aqueous solutions and degradation thereof. *J. Biomed. Mater. Res.* 50, 2000, 171–177.
- ⁵⁶ Radomsky, M. L., Brouwer, G., Floy, B. J., Loury, D. J., Chu, F., Tipton, A. J., Sanders, L. M.: The controlled release of Generalix from the Atrigel injectable implant systém. *Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mater.* 20, 1993, 458–459.
- ⁵⁷ Matschke, Ch., Isele, U., van Hoogevest, P., Fahr, A.: Sustained-release injectables formed in situ and their potential use for veterinary products. *J. Control. Rel.* 85, 2002, 1–15.
- ⁵⁸ Miyazaki, S., Ohkawa, Y., Takada, M., Attwood, D.: Antitumor effect of Pluronic F-127 gel containing Mitomycin C on Sarcoma-180 ascites tumor. *Chem. Pharm. Bull.* 40, 1992, 2224–2226.
- ⁵⁹ Engstrom, S., Engstrom, L.: Phase behavior of the lidocaine–monoolein–water system. *Int. J. Pharm.* 79, 1992, 113–122.
- ⁶⁰ Chang, C. M., Bodmeier, R.: Effect of dissolution media and additives on the drug release from cubic phase delivery systems. *J. Control. Rel.* 46, 1997, 215–222.
- ⁶¹ Merck: Tables for the laboratory, [B. r.]. 57-59.
- ⁶² Podzimek, Š.: Charakterizace větvených oligoesterů gelovou permeační chromatografií s on-line rozptylovým fotometrem a viskozimetrem. *Synpo Pardubice*, 2006, 3.
- ⁶³ Podzimeková, Š.: Adhezivní vlastnosti oligoesterů větvených pentaerythritolem a tripentaerythritolem. Rigorózní práce, Farmaceutická fakulta UK v Hradci Králové, 2008, 60.