

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ  
*Katedra farmaceutické technologie*

Větvené polyestery plastifikované ethylpyruvát  
jako adhezivní nosiče léčiv

***Rigorózní práce***

*Hradec Králové 2011*

*Mgr. Daniela Praislerová*

Děkuji PharmDr. Evě Šnejdrové, Ph.D za poskytnutí cenných rad a odbornou pomoc při vypracování rigorózní práce.

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.

Mgr. Daniela Praislerová

# 1. OBSAH

1. OBSAH.....	3
2. ZADÁNÍ PRÁCE .....	5
3. ABSTRAKT .....	6
4. ABSTRACT.....	7
5. ÚVOD.....	8
6. SEZNAM ZKRATEK .....	9
7. TEORETICKÁ ČÁST .....	10
7.1. Bioadheze.....	10
7.1.1. Biologický substrát .....	10
7.1.2. Mechanismus bioadheze .....	13
7.1.3. Teorie bioadheze.....	14
7.1.4. Faktory ovlivňující bioadhezi .....	17
7.1.5. Aplikace bioadheziv .....	19
7.2. Plastifikace.....	22
7.3. Měření viskozity .....	26
7.4. Léčiva použitá v experimentální části .....	31
7.4.1. Aciklovir .....	31
7.4.2. Flukonazol .....	33
8. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....	35
8.1. Použité suroviny .....	35
8.2. Použité přístroje .....	36
8.3. Příprava vzorků.....	37
8.3.1. Plastifikace polyesterů .....	38
8.3.2. Inkorporace léčiva.....	38
8.4. Disoluční test .....	39
8.4.1. Příprava pufu .....	39
8.4.2. Kalibrační přímka .....	39
8.4.3. Stanovení množství uvolněného léčiva.....	42
8.5. Měření a vyhodnocení adheze .....	43
8.6. Měření a vyhodnocení viskozity.....	44
9. VÝSLEDKY .....	45

9.1. Tabulky .....	45
9.1.1. Liberace acikloviru .....	45
9.1.2. Liberace flukonazolu .....	51
9.1.3. Měření adheze .....	57
9.1.4. Měření viskozity .....	60
9.2. Grafy .....	61
9.2.1. Liberace acikloviru .....	61
9.2.2. Liberace flukonazolu .....	64
9.2.3. Adheze .....	67
9.2.4. Měření viskozity .....	68
10. DISKUZE .....	70
10.1. Liberace acikloviru z nosičů větvených pentaerythritolem .....	70
10.2. Liberace flukonazolu z nosičů větvených pentaerythritolem .....	73
10.3. Liberace acikloviru z nosičů větvených tripentaerythritolem.....	73
10.4. Liberace flukonazolu z nosičů plastifikovaných tripentaerythritolem .....	76
10.5. Viskozita plastifikovaných nosičů .....	77
10.6. Adhezivní vlastnosti nosičů větvených pentaerythritolem nebo tripentaerythritolem a plastifikovaných 20 % ethylpyruvátu .....	80
11. ZÁVĚRY .....	83
12. SEZNAM LITERATURY .....	84

## 2. ZADÁNÍ PRÁCE

Cílem rigorózní práce bylo studium adhezivních a reologických vlastností větvených polyesterových nosičů plastifikovaných 20 % ethylpyruvátu a liberace acikloviru a flukonazolu z těchto soustav. Testovány byly polyestery kyseliny D,L-mléčné a kyseliny glykolové větvené pentaerythritolem nebo tripentaerythritolem v různých procentuálních zastoupeních v reakční směsi při syntéze (1 %, 3 % nebo 5 %). Podle koncentrace větvící složky byly testované nosiče pracovníčně označeny 1P, 3P, 5P, 1T, 3T a 5T.

Zadání práce lze rozdělit do těchto bodů:

1. Příprava matric složených z nosičů 1P, 3P, 5P, 1T, 3T nebo 5T, plastifikovaných 20 % ethylpyruvátu a obsahujících 4 % acikloviru nebo flukonazolu.
2. Připravené matrice podrobit statickému disolučnímu testu při 37°C, jako disoluční kapalinu použít fosfát citrátový pufr pH 7,0.
3. Stanovení množství uvolněného acikloviru měřením absorbance proti pufru při 256 nm a flukonazolu při 261 nm.
4. Měření adhezivních vlastností plastifikovaných nosičů na materiálovém zkušebním stroji při těchto zkušebních parametrech: kontaktní doba 120 s, kontaktní síla 5 N, rychlost odtržení vzorku 100 mm/min.
5. Měření viskozity plastifikovaných nosičů na viskozimetru Brookfield DV-E s adaptérem pro malé množství vzorku při teplotě 40° C vřetenem 14.

### 3. ABSTRAKT

Byly studovány adhezivní a reologické vlastnosti plastifikovaných větvených polyesterů a liberace acikloviru a flukonazolu z těchto nosičů. Teoretická část se věnuje mechanismu bioadheze a faktorům, které ji mohou ovlivnit, aplikaci bioadhezivních přípravků, plastifikaci. V experimentální části byla měřena viskozita a adhezivní síla a sledován průběh liberace acikloviru a flukonazolu z větvených polyesterů kyseliny mléčné a glykolové větvených pentaerythritolem a tripentaerythritolem, plastifikovaných 20 % ethylpyruvátu. Plastifikované nosiče představují viskózní soustavy, jejichž adhezi k substrátu lze vysvětlit pomocí teorie smáčení. Adhezivní vlastnosti byly zjištěny u všech testovaných polyesterů. V určitém rozsahu hodnot dynamické viskozity je adhezivní síla optimální. Průběh liberace léčiv byl ovlivněn zejména molární hmotností polyesteru. Rovnoměrný průběh liberace acikloviru byl zjištěn u nosiče větveného tripentaerythritolem v koncentraci 5 %; na počátku nebyl pozorován žádný burst efekt, za 11 dnů se kinetikou 0. řádu uvolnilo téměř 80 % léčiva.

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

## 4. ABSTRACT

The aim of this rigorous thesis was the study of adhesive and rheological properties of branched oligoesters and acyclovir and fluconazole release from these carriers. The theoretical part introduces especially bioadhesion (the mechanism and factors), the application of the bioadhesives, the plasticization and the measuring of the viscosity. The practical part is regarded to the adhesion of the polyesters of lactic and glycolic acids branched using pentaerythritol and tripentaerythritol in different concentrations, plasticized by 20 % of ethylpyruvate. Plasticized carriers represent the viscous systems; their adhesion to the substrate can be explained by wetting theory. All tested polyesters showed the adhesive properties. The optimal adhesiveness was found out at certain range of the viscosity values. Drug release was influenced particularly by the molar weight of the carriers. Sustained release of acyclovir from carrier branched by tripentaerythritol in concentration of 5 % was obvious with no burst effect; 80% of acyclovir was released during the 11 days by zero-order kinetics.

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

## 5. ÚVOD

Vývoj bioadhezivních léčivých přípravků započal již od konce 70. let minulého století. Bioadheze může být definována jako přilnutí syntetického nebo přírodního materiálu k biologickému substrátu. Mukoadheze probíhá mezi adhezivem a substrátem, kterým je buď mukus nebo mukózní membrána. Mukus je produkován oční, ušní, nosní a ústní sliznicí, vyplňuje také respirační, reprodukční trakt a GIT. Bioadhezivní přípravky umožňují delší dobu setrvání v místě aplikace. Pro vývoj úspěšného terapeutického systému je nezbytný vhodný výběr polymeru. U některých polymerů je nutné provést plastifikaci přidáním správného typu a koncentrace plastifikátoru. Adhezivní vlastnosti viskózních soustav jsou významně ovlivněny hodnotou jejich viskozity.

Předložená rigorózní práce, studující adhezivní a liberační vlastnosti plastifikovaných větvených oligoesterů, tematicky navazuje na předešlé práce, ve kterých byly za stejných zkušebních podmínek testovány buď jiné oligoesterové nosiče<sup>1,2</sup>, nebo jiné plastifikátory<sup>3,4</sup>.



## 6. SEZNAM ZKRATEK

ACV.....	aciklovir
D,L-LA.....	kyselina mléčná složená z racemické směsi izomerů
D,L-PLA.....	kyselina polymléčné složená z racemické směsi izomerů
DOP.....	dioktylfталát
EP.....	ethylpyruvát
FLU.....	flukonazol
HSV.....	herpes simplex virus
L-PLA.....	kyselina polymléčné složená z L- izomerů
P.....	pentaerythritol
PGA.....	kyselina polyglykolová
PLA.....	kyselina polymléčná
PLGA.....	kopolymer kyseliny mléčné a glykolové
s.....	směrodatná odchylka
T.....	tripentaerythritol
TBC.....	tributylcitrát
TEC.....	triethylcitrát

## 7. TEORETICKÁ ČÁST

### 7.1. Bioadheze

Již od konce 70. let minulého století se začaly cíleně vyvíjet lékové formy založené na bioadhezi. Adheze obecně znamená schopnost fixace mezi dvěma různými materiály. Pokud dochází k adhezi v biologickém prostředí, jedná se o bioadhezi. Může být definována jako přilnutí syntetického nebo přírodního materiálu (adheziva) k biologickému substrátu (k mukóznímu či epiteliálnímu povrchu živého organismu). Mukoadheze probíhá mezi adhezivem a substrátem, kterým je buď mukus (hlen, sliz) nebo mukózní membrána (mukóza). O cytoadhezi se hovoří při buněčně specifické bioadhezi.<sup>5</sup>

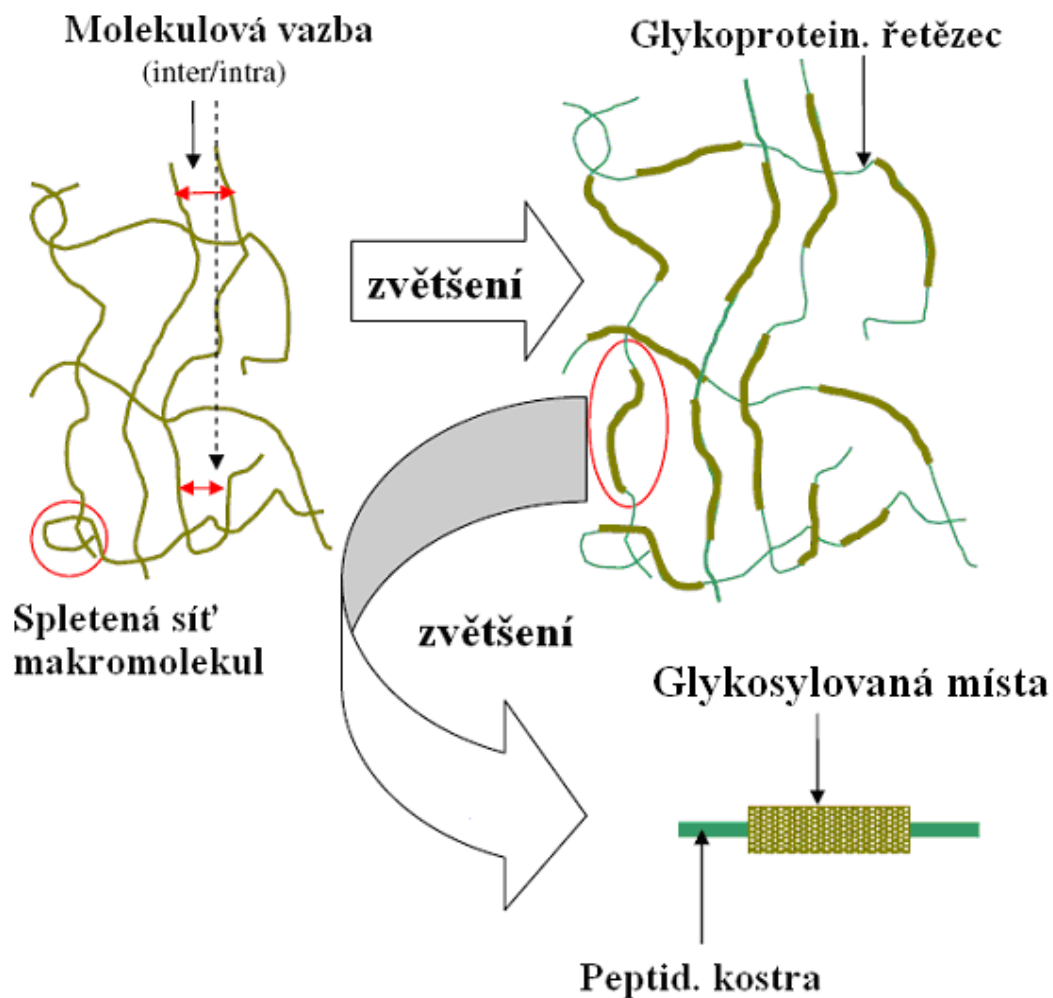
#### 7.1.1. Biologický substrát

Skládá se z pojivové tkáně, na kterou nasedá vrstva epiteliálních buněk, které jsou na povrchu zvlhčeny zpravidla slizničním hlenem. Epiteliální buňky mohou být v jedné vrstvě (např. žaludek, tenké střevo, tlusté střevo, průdušky), pak je hlen sekretován pohárkovými buňkami přímo na povrchu sliznice. U vícevrstevných epitelů (např. ústní dutina, jícn, pochva, oční rohovka) je sliznice spojena se žlázami, které secernují hlen na povrch sliznice. Mukus může být buď ve formě gelové vrstvy přiléhající k povrchu sliznice, nebo se nachází v lumen tělní dutiny. Tloušťka slizové vrstvy sliznic se různí v závislosti na umístění a druhu, od 1  $\mu\text{m}$  v ústní dutině po 450  $\mu\text{m}$  v žaludku.<sup>6</sup>

Hlen je hydratovaný viskoelastický gel, který kryje povrchy sliznic. Jeho hlavní funkcí je ochrana buněk epitelu před fyzikální a chemickou destrukcí (plní funkci bariéry před patogeny, toxiny a látkami z vnějšího prostředí). Dále reguluje obsah vody a zajišťuje výměnu plynů a živin s epitelem.<sup>7</sup> Ve funkci lubrikantu hlen napomáhá transportu tráveniny v gastrointestinálním traktu. Na povrchu orgánů slouží také jako lubrikant, minimalizuje tak tření orgánů mezi sebou. Rovněž slouží jako spojovací článek mezi adhezivem a membránou. Proto všechny bioadhezivní materiály musí během procesu mukoadheze s vrstvou hlenu interagovat.

Mukus je složen převážně z vody (> 95 %). Dále obsahuje lipidy, anorganické soli, enzymy, různé protilátky či mukopolysacharidy. Jeho složení se může lišit podle místa sekrece, věku, pohlaví jedince či podle jeho role v organismu.

Důležitou součástí jsou glykoproteiny, které podmiňují reologické vlastnosti hlenu (především se jedná o kohezivní a adhezivní vlastnosti). Tvoří složité spletené sítě makromolekul, složené z rozsáhlé peptidové kostry s vedlejšími oligosacharidovými řetězci. Mnoho z nich je zakončeno sialovou nebo sulfonovou kyselinou, které jsou zodpovědné za negativní náboj při fyziologickém pH.<sup>8</sup> Velká hustota negativních nábojů významně přispívá k bioadhezi. Na komplikované struktuře hlenu se také podílí elektrostatické a vodíkové vazby, hydrofóbní interakce, disulfidové můstky a fyzikální propletení. Většina polypeptidové kostry je hustě glykosylována. Existují ale i tzv. „nahé“ proteinové oblasti, které jsou bez sacharidů. Tato místa jsou náchylná k enzymatickému štěpení.<sup>9</sup>



Obr.1: Stavba hlenu<sup>9</sup>

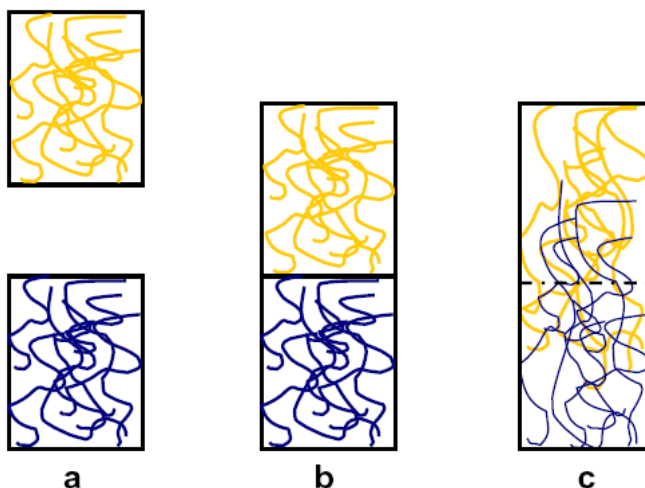
Substrátem pro bioadhezi může být dále epiteliální buněčná vrstva. Buněčná membrána je tvořena dvojitou vrstvou fosfolipidů, do níž jsou vmezeřeny makromolekuly bílkovin a polysacharidů. Ke znázornění její struktury se používá model fluidní mozaiky. Proteiny a sacharidy se v tomto modelu mohou volně pohybovat lipidovou dvojrstvou membrány a jen některé z nich jsou k ní z části připevněné.

Hlavní komponenty membrány zahrnují lipidy (cholesterol, fosfolipidy a sfingolipidy), proteiny a sacharidy. Sacharidy jsou navázány na proteiny nebo lipidy jako glykoproteiny a glykolipidy. Struktury na vnějším povrchu buněk tvořené polysacharidy jsou nazývány glykokalyx. Buněčné membránové proteinové receptory zvané lektiny jsou schopny se na glykokalyx nebo polysacharidy na glykoproteinech specificky vázat. Díky nim zřejmě dochází ke komunikaci mezi buňkami navzájem a mezi buňkami a prostředím. Jen málo lipidů nese kladný náboj, buněčná membrána je tedy nabitá záporně (stejně jako mucin).<sup>6</sup>

### 7.1.2. Mechanismus bioadheze

Je nepravděpodobné, že bude bioadheze probíhat vždy stejným způsobem. Proces adheze lze ale zpravidla obecně popsat v několika fázích:

- povrchový kontakt bioadheziva a substrátu
- vzájemné propletení řetězců, interpenetrace a interdifuze
- vytvoření vazeb mezi adhezivem a substrátem



Obr.2: Mechanismus bioadheze<sup>10</sup>

Adhezivum a substrát spolu musí nejdříve vytvořit bezprostřední povrchový kontakt (smáčení). Následuje vmezeření řetězce adheziva do substrátu pro vytvoření většího kontaktního povrchu. Na adhezivum působí jak přitažlivé, tak odpudivé síly. Přitažlivé síly vznikají z van der Waalsových interakcí, povrchové energie a elektrostatických interakcí. Odpudivé síly vznikají působením osmotického tlaku jako následek interpenetrace elektrickou dvojvrstvou, sterických efektů a také elektrostatických interakcí mezi případně stejně nabitým povrchem a částicí. Pro úspěšnou bioadhezi je nutná převaha sil přitažlivých.<sup>11</sup>

Bezprostřední kontakt mezi oběma povrchy je nutný pro silnou adhezivní vazbu. Je popisován prostřednictvím rozprostíracího koeficientu  $S$ , hnací síly celého procesu smáčení. K rozprostírání adheziva po substrátu dochází pouze tehdy, je-li  $S \geq 0$ .<sup>12</sup> Rozprostírací koeficient vyjadřuje rozdíl mezi adhezivní prací  $W_a$  (síla působící mezi molekulami různých látek) a kohezivní prací  $W_c$  (síla působící mezi molekulami jedné látky) v jedné ze dvou fází procesu:

$$S = W_a - W_c$$

V dalším kroku dochází k interdifúzi, interpenetraci a k vzájemnému propletení řetězců obou fází. Výsledkem je nárůst adhezivní síly. Vzdálenost interpenetrace je dána rovnicí:

$$s = \sqrt{2Dt}$$

kde  $s$  je difúzní vzdálenost,  $D$  je difúzní koeficient a  $t$  je kontaktní čas.<sup>12</sup>

Během bioadheze dochází na molekulární úrovni k vytvoření vazeb mezi substrátem a adhezivem. Jedná se především o elektrostatické a hydrofobní interakce, vodíkové vazby a van der Waalsovy síly. Karboxylové, hydroxylové, amidové a sulfátové funkční skupiny podporují adhezi.<sup>13</sup> Polyanionty jsou upřednostňovány před polykationty a karboxylové skupiny jsou pro bioadhezi výhodnější než neutrální skupiny.

### 7.1.3. Teorie bioadheze

Existuje několik teorií, které by předpověděly průběh adheze na základě chemických nebo fyzikálních vlastností jednotlivých polymerů. Ovšem úplná a komplexní teorie neexistuje. Nicméně v současné době existuje šest obecných teorií adheze, které byly pro tento účel upraveny. Jsou to adsorpční, difúzní, elektronová a mechanická teorie, dále teorie smáčení a lomu. Tyto teorie ovšem nejde striktně oddělit, v průběhu interakce mezi substrátem a adhezivem dochází spíše k prolínání těchto teorií.

#### ➤ Adsorpční teorie

V tomto případě je adheze definována jako výsledek povrchových interakcí (primárních a sekundárních) mezi substrátem a adhezivním systémem. Mezi primární interakce se řadí iontové, kovalentní a kovové vazby, které jsou, vzhledem k jejich dlouhé trvanlivosti, nežádoucí. Bioadhezivní polymery však adherují k substrátu především působením sekundárních povrchových interakcí, nejčastěji to jsou van der Waalsovy síly, vodíkové vazby a hydrofobní interakce. Tyto interakce vyžadují daleko méně energie.<sup>14</sup>

### ➤ **Difúzní teorie**

Podstatou této teorie je vzájemná interdifúze a interpenetrace řetězců adheziva a substrátu do dostatečné hloubky. Následně dochází k vytvoření semipermanentní adhezivní vazby. Hnací silou interpenetrace je koncentrační gradient na mezifázi. Existuje mnoho faktorů, které mohou tento jev ovlivnit. Stupeň penetrace závisí především na difúzních koeficientech obou interagujících polymerů, které jsou ovlivněny molekulární hmotností a hustotou zesítní. Dále je potřeba vzít v úvahu pohyblivost segmentů řetězce, flexibilitu obou systémů či dobu kontaktu.<sup>15</sup> Také teplota může tento proces do značné míry ovlivnit.<sup>16</sup>

### ➤ **Elektronová teorie**

Tato teorie popisuje elektronový transfer mezi hlenem a adhezivním systémem při jejich vzájemném kontaktu. Tyto povrchy mají různou elektronovou strukturu, čímž dochází k vytvoření elektrické dvojvrstvy na mezipovrchu. Výsledná adheze je způsobena přitažlivými silami tohoto transferu přes dvojvrstvu.<sup>17</sup>

### ➤ **Mechanická teorie**

Jedná se o tzv. koncept zámku a klíče. Adheze vzniká mechanickým vmezeřením kapalného adheziva do nepravidelností hrubého povrchu substrátu, který tak zajišťuje větší plochu mezipovrchu přístupného pro interakce.<sup>18</sup>

### ➤ **Teorie lomu**

Tato teorie se zabývá procesem, kdy dává do spojitosti adhezivní sílu a síly potřebné pro oddělení dvou příslušných povrchů po adhezi. Předpokládá, že porušení (lom) adhezivní vazby nastane na mezipovrchu, což však není běžné.

### ➤ **Teorie smáčení**

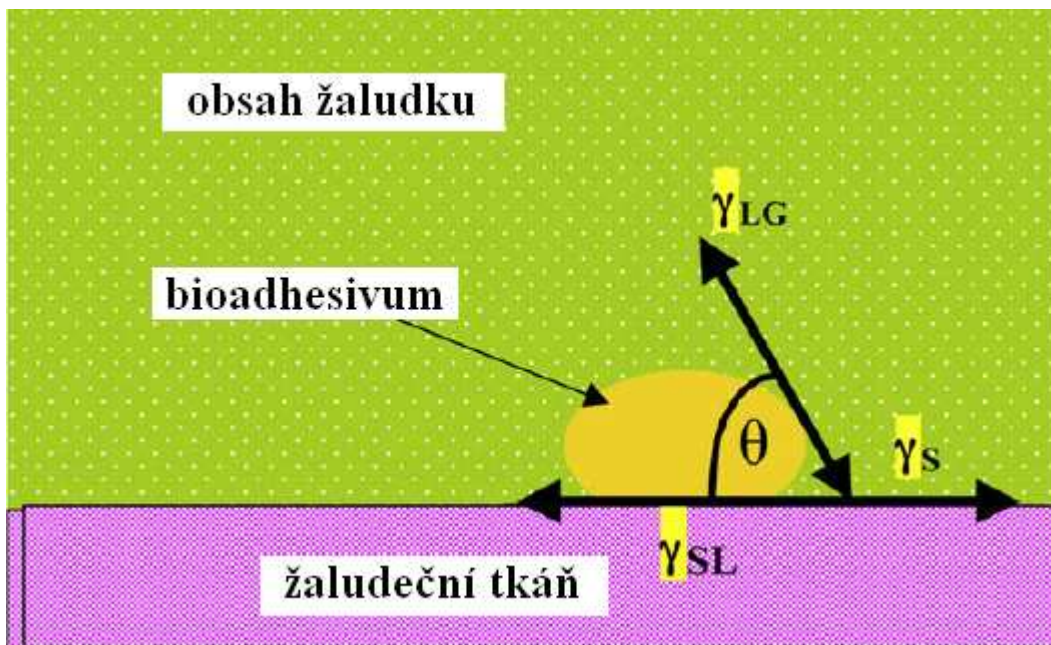
Tato teorie je primárně aplikována na kapalně adhezivní systémy. Bere v úvahu povrchové a mezipovrchové energie. Základním předpokladem je schopnost kapaliny rozprostřít se spontánně na povrchu substrátu.<sup>19</sup> Základní parametry, smáčivost a míra rozprostření, lze určit z měření kontaktního úhlu ( $\theta$ ). Ten je jednou z mála přímo měřitelných vlastností fázového rozhraní pevná látka/kapalina/plyn.

Vztah mezi  $\theta$  a jednotlivými mezifázovými energiemi:<sup>20</sup>

$$\gamma_{SG} = \gamma_{SL} + \gamma_{LG} \cos \theta$$

$$S = \gamma_{SG} - (\gamma_{SL} - \gamma_{LG})$$

kde  $\gamma_{SG}$  je mezifázová energie tuhá látka-plyn,  
 $\gamma_{SL}$  je mezifázová energie tuhá látka-kapalina,  
 $\gamma_{LG}$  je mezifázová energie kapalina-plyn a  
S je rozprostírací koeficient



Obr.3: Síly na rozhraní fází<sup>9</sup>

Adheziva, které se svou strukturou podobají substrátu, vykazují zvýšenou míru rozprostření po substrátu. Čím nižší je hodnota kontaktního úhlu, tím vyšší je pak afinita kapaliny k substrátu.



## 7.1.4. Faktory ovlivňující bioadhezi

### Vlastnosti polymeru

#### *Molekulová hmotnost a konformace polymeru*

Optimální molekulová hmotnost pro maximální bioadhezi závisí na typu bioadhezivního polymeru. Nízká molekulová hmotnost je výhodná pro interpenetraci molekul polymeru. Naopak vyšší molekulová hmotnost je důležitá pro fyzikální propletení řetězců. Pokud je ovšem řetězec příliš dlouhý, dochází k ztrátě schopnosti difúze a interpenetrace. Je všeobecně známo, že vhodná molekulová hmotnost pro úspěšnou bioadhezi je minimálně 100 000.<sup>21</sup>

Je také nezbytné vzít v úvahu velikost a prostorové uspořádání molekuly polymeru. Tak například, u dextranů s molekulovou hmotností 19 500 000 lze naměřit podobnou bioadhezivní sílu jako u dextranů s molekulovou hmotností 200 000. Příčinou je helixová konformace molekuly dextranu, která způsobuje nedostupnost mnoha aktivních skupin adheziva (tyto skupiny jsou stericky chráněny). Naproti tomu u lineárních polymerů roste bioadhezivita se zvyšující se molekulovou hmotností. Například polyethylenoxid má vysoce lineární konfiguraci, která přispívá k interpenetraci, a proto adhezivní síla roste k molekulové hmotnosti 4 000 000.<sup>9</sup>

#### *Flexibilita polymerního řetězce*

Pro zapletení řetězců a interpenetraci je velmi důležitá ohebnost polymerních řetězců. Platí, že zvýšená hustota zesílení polymeru flexibilitu snižuje a vede k omezení bioadhezivních vlastností.<sup>21</sup>

#### *Koncentrace polymeru*

Koncentrace polymeru zajišťující úspěšnou bioadhezi se liší v závislosti na typu a skupenství adheziv. Pevné polymery mají při vyšší koncentraci vyšší bioadhezivní vlastnosti, naproti tomu u tekutých bioadheziv dochází při vyšší koncentraci k svinutí molekul, což má za následek snížení flexibility polymerních řetězců.<sup>21</sup>

### Vliv prostředí

#### *Hodnota pH*

Hodnota pH má velký vliv na náboj povrchu hlenu i ionizaci bioadhezivních polymerů. Povrchový náboj mucinu se mění s pH v závislosti na rozdílech v disociaci funkčních skupin na hlavním polypeptidovém řetězci (poloviční podíl sacharidů

a poloviční podíl aminokyselin). Povrchový náboj na polymeru ovlivňuje stupeň hydratace, např. polykarbofil vykazuje bioadhezivní vlastnosti při pH nižším než 5, kdy neionizované karboxylové skupiny tvoří s řetězcí mucinu vodíkové vazby.<sup>21</sup>

#### *Stupeň hydratace*

Dostatečné množství vody je pro adhezivum nezbytné. Nicméně nadměrné množství vody má za následek náhlý pokles adhezivivity. Je to pravděpodobně způsobeno tvorbou neadhezivního slizu v přítomnosti velkého množství vody. Adhezivní síla je tedy optimální pouze při určitém stupni hydratace.<sup>22</sup>

#### *Stupeň bobtnání*

Také bobtnání polymeru přispívá k jeho bioadhezivnímu chování. Stupeň bobtnání je ovlivněn vlastnostmi polymeru a poměry v místě aplikace. Závisí tedy např. na koncentraci polymeru, stupni zesílení, přítomnosti vody aj.

#### *Doba kontaktu, síla kontaktu*

Stupeň bobtnání a interpenetraci polymerních řetězců udává také kontaktní doba a kontaktní síla mezi bioadhezivem a substrátem. Ne vždy se dá doba a síla kontaktu ovlivnit (např. v GIT).

### **Fyziologické faktory**

#### *Obměna vrstvy hlenu*

Tento faktor je velmi významný. Obměna mucinu je přirozený a neustále se opakující proces. Jeho rychlost se liší podle místa v rozsahu několika hodin až dne. Velmi rychle dochází k obměně hlenu ve střevech, naopak méně výrazná je tato doba u sliznice v dutině ústní či v pochvě. Tento proces limituje dobu setrvání bioadhezivního materiálu na mukózní membráně, což může způsobit zkrácenou dobu kontaktu adheziva na substrátu s následnou nižší absorpcí léčivé látky.<sup>23</sup>

#### *Patologické stavy*

Celá řada onemocnění může ovlivnit fyzikálně-chemické vlastnosti hlenu, což může mít za následek změnu funkce mukózy jako substrátu pro bioadhezi. To může způsobit jak běžné nachlazení, bakteriální a houbové infekce či záněty, tak i žaludeční vředová choroba, ulcerózní kolitida nebo cystická fibróza.<sup>21</sup>

### 7.1.5. Aplikace bioadheziv

Mucus je produkován oční, ušní, nosní a ústní sliznicí, vyplňuje také respirační, reprodukční trakt a GIT. Tato místa se tedy zdají být vhodná pro aplikaci bioadhezivních přípravků.

U očních přípravků je místem, kde může dojít k adhezi s polymerem, rohovka. Ovšem ne všechny polymery jsou pro tuto aplikaci vhodné. Tak např. polycarbofil může v neutrálním prostředí oka příliš nabobtnat, což může způsobit nadměrné slzení a může dojít k ovlivnění zrakové ostrosti.<sup>15</sup>

Bezpochyby nejběžnější oční lékovou formou jsou kapky. Častou nevýhodou může být špatná biologická dostupnost. Nadměrné slzení navíc může způsobit předčasné odstranění účinné látky. Proto musí být oční kapky aplikovány poměrně často.<sup>24</sup>

Na bioadhezivních polymerech mohou být dále založeny také in situ gelující systémy. Po aplikaci kapalné formy dochází k tvorbě gelu ve spojivkovém vaku. Tento fázový přechod může být ovlivněn změnou teploty, pH nebo přítomností specifických iontů (např. ionty vápníku).

Inserty zajišťují vyšší koncentraci léčiva v oční tkáni. Navíc je lépe regulováno množství uvolněného léčiva. Ovšem pro některé pacienty je tato léková forma velmi nepříjemná, k důvodu vysoké tvrdosti bioadhezivního polymeru. Po delší době může navíc dojít k rozpadu na menší kousky, a to může mít za následek rozostřené vidění.<sup>25</sup>

Léčivo je dále možné aplikovat na nosní sliznici. Nosní sliznice měří asi 150 cm<sup>2</sup> a je prostoupena hustou sítí cév. Nosní epitel vykazuje poměrně vysokou permeabilitu, což umožňuje značnou absorpci léčiv.<sup>26</sup> Krev je z nosu odvedena přímo do systémového oběhu, čímž se zabrání first-pass efektu.<sup>27</sup> Tento způsob aplikace však má svoje omezení. Faktory, jako jsou lokální toxicita, rychlá mukociliární clearance či relativně nízká permeabilita pro velké molekuly, mohou tento typ aplikace limitovat. Spousta látek může také způsobit místní podráždění. Nosní dutina navíc obsahuje řadu proteolytických enzymů, které mají na účinné látky negativní vliv. Nepříznivě může také působit patologické prostředí (např. rýma, alergie). K nosní aplikaci lze použít kapky, prášky, gely nebo mikročástice.

Tak např. pokud se aplikuje na nosní sliznici v suché formě inzulín smíchaný s deriváty celulosy, dojde k jeho zbobtnání a vytvoření gelu. Tím se zpomalí jeho odbourávání a výsledkem je prodloužení účinku léčiva.<sup>28</sup> Mikročástice mohou zvýšit jak absorpci léčiv, tak i biologickou dostupnost. Bioadhezivní polymery, jako je např. chitosan, mohou navíc snížit mukociliární clearance.

Vaginální aplikací lze předejít first-pass efektu, zatížení jater a lze tím snížit jak výskyt, tak závažnost gastrointestinálních nežádoucích účinků, které jsou po perorálním podání poměrně běžné. Rovněž se eliminují případné interakce s potravou a léky.<sup>21</sup>

Vaginální stěna je pokryta vlhkým filmem, tvořeným převážně cervikálním hlenem a tekutinou vylučovanou z lamina propria, která je pokryta vrstevnatým dlaždicovým epitelem. Permeabilita tohoto epitelu se může během menstruačního cyklu nebo po menopauze značně lišit. Objem, viskozita a pH cervikálního hlenu jsou ovlivněny také věkem.<sup>29</sup> Tradičními vaginálními lékovými formami jsou roztoky, suspenze, gely, mikročástice, krémy, pěny či tablety.

Z přírodních polymerních látek se používá např. alginát sodný, z polosyntetických zejména deriváty celulosy (hydroxypropylmethylcelulosa, hydroxypropylcelulosa aj.) a chitosan. Ze syntetických polymerů jsou to deriváty kyseliny polyakrylové (karbomera, polykarbofil), které se řadí mezi nejčastěji používaná adheziva vůbec.<sup>29</sup>

Na rozdíl od dásní a tvrdého patra, kde je žvýkací mukóza kryta epitelem se zrohovatělým povrchem obsahující keratin, labiální a bukální mukóza, spodní část dutiny ústní, měkké patro a spodní strana jazyka jsou lemovány nekeratinizovaným vrstevnatým dlaždicovým epitelem. Tyto oblasti jsou tedy hlavním místem absorpce v dutině ústní.

Bukální přípravky jsou velmi atraktivní. Nástup účinku je rychlý z důvodu větší propustnosti nekeratinizovaného epitelu oproti kůži (4-4000x větší) a absenci first-pass efektu. Tento způsob podání je výhodný především pro léčiva s krátkým biologickým poločasem, malou permeabilitou a léčiva citlivá k enzymové degradaci.<sup>30</sup> Tento způsob aplikace je ale do značné míry omezen malým povrchem dutiny ústní a poměrně rychlou obměnou mucinu. Další nevýhodou je poměrně nízká biologická dostupnost. Použití těchto přípravků může být navíc při žvýkání či mluvení značně nepříjemné. Mezi bukální přípravky lze zařadit masti, gely, náplasti a tablety.

V dnešní době se vyvíjí různé typy mukoadhezivních tablet, velmi výhodný se jeví systém uvolňující léčivo pouze jedním směrem, a to přímo do sliznice. Toho je dosaženo zařazením nepropustné vrstvy do systému, což zabraňuje clearance slinami. V místě podání se tím vytváří vysoká koncentrace léčivé látky. Tímto způsobem jsou např. podávány tablety obsahující prochlorperazin maleát.<sup>21</sup>

Robinson a spol.<sup>31</sup> ve své studii zjistili, že trojvrstevná bukalní náplast může setrvat v cílovém místě lidského těla až 15 hodin bez ohledu na přítomnost potravy. Tato náplast je tvořená třemi membránami, z nichž vrchní je nepermeabilní, střední limituje rychlost uvolňování léčiva a základní membrána obsahuje polycarbofil.

Krauland a spol.<sup>32</sup> se své studii zabývali tabletami upravenými thiolovaným chitosanem pro perorální podání inzulínu. Modifikované tablety uvolňovaly inzulín po dobu až 8 hodin. Bylo zjištěno, že takto upravené tablety mají srovnatelný účinek na hladinu glukosy v krvi jako klasicky podávaný inzulín. Tyto výsledky se zdají být slibné, ovšem studováno bylo již mnoho bioadhezivních lékových forem (polotuhé formy, prášky, tablety či mikro- a nanočástice), ale naprosto ideální systém, který by byl zadržen v GITu po žádoucí čas, ještě vyvinut nebyl.<sup>33</sup>

## 7.2. Plastifikace

Některé polymery jsou za běžných podmínek (teplota a vlhkost) málo odolné vůči prostředí či je nelze zpracovat. Většinou jsou příliš křehké či viskózní, proto je k nim nutné přidat látky, plastifikátory, které umožňují upravit pružnost a tvrdost daného materiálu podle konkrétních požadavků. Plastifikátory lze využít v různých průmyslových odvětvích, vyskytují se v řadě spotřebních výrobků od obalů přes stavební materiály (podlahové krytiny, hadice, kabely) až po hračky nebo zdravotnické pomůcky. Jejich využití neustále roste a nezastupitelnou roli mají také ve farmacii a medicíně. Jejich hlavní funkcí je snížení křehkosti, zvýšení mechanické odolnosti, zachování integrity při sušení či zlepšení zpracovatelnosti daného polymeru. Systémy tvořené plastifikovaným polymerem jsou z důvodu nižší viskozity lépe aplikovatelné a rovněž vykazují zlepšené propustné vlastnosti. U membránových systémů se plastifikací modifikuje difuzivita polymerní membrány pro plyny, rozpouštědla a léčivé látky. V matricových systémech lze plastifikací zabránit tvorbě pórů, také lze zvýšit stabilitu a zlepšit dispergaci částic.<sup>34</sup>

Plastifikátor jako složka polymerního systému není jednoznačně definován. Ve funkci plastifikátoru jsou používány např. kapaliny s potenciálním farmakodynamickým účinkem nebo tekutá léčiva. Plastifikátory mohou být s polymerem mísitelné i nemísitelné, nízkomolekulární či vysokomolekulární sloučeniny.<sup>35</sup> Dále mohou být hydrofilní i lipofilní. Potenciální nevýhodou hydrofilních plastifikátorů je jejich uvolňování z polymerní soustavy při kontaktu s fyziologickými tekutinami. Dochází ke změně difuzivitních parametrů systému, a tím ke změně kinetiky uvolňování léčiva. Lipofilní plastifikátory zůstávají v soustavě, čímž zajišťují standardní podmínky v celém průběhu uvolňování léčiva.<sup>36</sup> Plastifikátory mohou být dále rozděleny na vnitřní nebo vnější. Molekuly vnějších plastifikátorů nejsou vázány s polymerními řetězci primárními vazbami, a proto může dojít k jejich ztrátě odpařením, migrací nebo extrakcí. Na druhou stranu, vnitřní plastifikátory jsou přirozenou součástí polymeru a zůstávají také součástí produktu.

Mechanismus působení plastifikátorů je různý. Mohou solvatovat celé molekuly i funkční skupiny polymeru, čímž dochází k posunu (zvětšení vzdálenosti) mezi molekulami. Tím se částečně snižuje reaktivita a následně dochází k oslabení intermolekulárních sil. Dochází k vytvoření sekundárních vazeb, čímž plastifikátory redukují řetězec polymer – polymer, a tím poskytují větší pohyblivost makromolekul.

Výsledkem je měkčí a snadněji deformovatelná hmota. Plastifikátory jsou inkorporovány v amorfních částech polymerů, zatímco struktura a velikost krystalické části zůstává nezměněná.<sup>37</sup> Pomocí plastifikátoru může dále dojít k výraznému snížení teploty skelného přechodu a teploty tečení. Další možností je snížení krystalinity a zmenšení krystalů.

Plastifikátory jsou všeobecně vybírány na základě celé řady kritérií. Hansen a spol.<sup>38</sup> ve své studii zjistily, že čím více jsou plastifikátory polymerům podobné např. v parametrech rozpustnosti, tím jsou s nimi kompatibilnější. Stupeň plastifikace polymerů je z velké části závislý na chemické struktuře plastifikátoru, zahrnující chemické složení, molekulovou hmotnost a funkční skupiny. Výběr typu a koncentrace plastifikátoru ovlivňuje průběh a dobu degradace polymerního nosiče a liberaci inkorporovaného léčiva. Co se týká množství plastifikátoru použitého pro plastifikaci PLA, dá se zjednodušeně říci, že vhodné množství pro dosažení maximální flexibility je 15-20%. Dále bylo zjištěno, že pokud je plastifikátoru pod 10%, dochází k negativnímu ovlivnění mechanických vlastností polymeru.<sup>39</sup> Plastifikátory s nízkou molekulovou hmotností a malým počtem polárních skupin všeobecně poskytují vyšší flexibilitu a plastifikaci.<sup>40</sup>

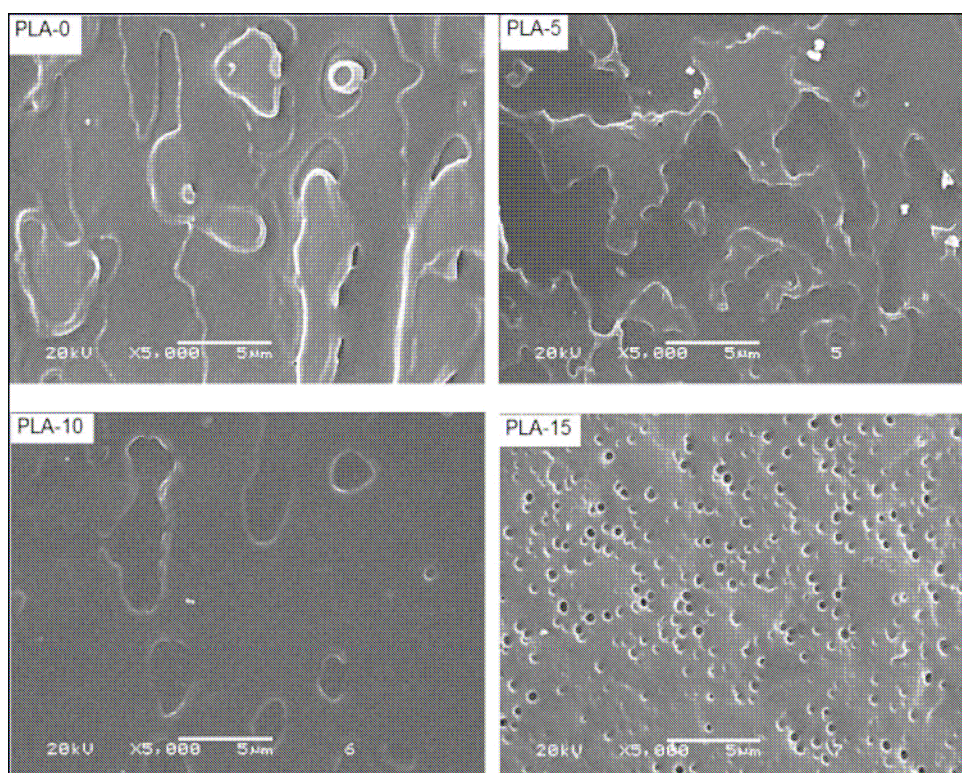
Ideální plastifikátory by měly být:

- vysoce kompatibilní s polymery
- stabilní při vysokých i nízkých teplotách prostředí
- rezistentní vůči migraci a vyplavování (vyluhování, louhování)
- odolné vůči slunečnímu záření, zvětrávání, mikroorganismům
- levné
- měly by splňovat bezpečnostní a zdravotní předpisy.<sup>41</sup>

V chemickém průmyslu se používá velké množství různých plastifikátorů, ale pouze několik jich je schváleno pro farmaceutické použití. Ve farmaceutické technologii se jako plastifikátory používají málo těkavé estery, aby nedocházelo k jejich vyprchání při zvýšené teplotě během zpracování nebo při uchovávání. Jejich molekulová hmotnost se pohybuje mezi 200 až 400 a teplota varu 300 - 400 °C.

Diestery mohou být odvozené buď od ethylenglykolu či propylenglykolu, nebo od dikarboxylových kyselin, jako je např. kyselina sebaková či azealová. Jsou účinné pouze v úzkém rozsahu  $M_w$  (hmotnostně střední molekulová hmotnost). Tyto typy esterů s  $M_w$  300-350 mají sklon být příliš nestálé pro mnoho aplikací, zatímco s  $M_w$  nad 400 jsou inkompatibilní s polymery.<sup>42</sup>

Celosvětově nejběžněji používanými plastifikátory jsou estery kyseliny ftalové. Využívají se v různých průmyslových odvětvích, ale ne všechny splňují bezpečnostní a zdravotní předpisy. Je to skupina asi čtyřiceti látek, legislativa reguluje šest z nich. Za nejproblematictější je považován di(2-ethylhexyl) ftalát (z hlediska nežádoucích zdravotních účinků). Ftaláty nejsou na polymer chemicky vázány a během používání se z něj zvolna uvolňují. Graham s spol.<sup>43</sup> ve své studii zjistili, že ftaláty s vyšší molekulovou hmotností jsou méně náchylné k vyplavení z polymerní matrice než ty s nižší molekulovou hmotností. Esterem kyseliny ftalové, konkrétně dioktyl ftalátem (DOP) se zabývali Yang a spol.<sup>44</sup> Ve své studii porovnávali vlastnosti (především teplotní stabilitu a křehkost) samotného polymeru PLA a plastifikovaného polymeru DOP. Zjistili, že přidáním plastifikátoru dochází k snížení křehkosti a zdánlivé viskozity a naopak ke zvýšení mechanické odolnosti a teplotní stability polymeru. Výhodou DOP je, že má poměrně nízkou teplotu skelného přechodu a je mísitelný s PLA. Maximálního snížení teploty skelného přechodu, aniž by došlo k ovlivnění pružnosti polymeru, bylo dosaženo při 12,5 % DOP. Bylo zjištěno, že čím více je přidáno plastifikátoru, tím více je struktura PLA homogenní. Pokud se dosáhne 15 % DOP, jsou molekuly PLA rovnoměrně rozloženy v celém objemu. Dochází ale k tvorbě značného množství dutinek, které pravděpodobně vznikají nahromaděním plastifikátoru.



Obr.4: Mikrosnímek PLA s 0, 5, 10 nebo 15 % DOP<sup>44</sup>



Triestery jsou odvozené od kyseliny fosforečné, citronové (tributylcitrát, triethylcitrát) nebo glycerolu (triacetin, tributyrin).<sup>45</sup> Estery kyseliny citronové se používají v potravinářském, kosmetickém, farmaceutickém průmyslu či v medicíně. Na vlastnosti citrátových plastifikátorů, zejména hustotu, stabilitu a rozpustnost ve vodě, má velký vliv jejich molekulová hmotnost. S rostoucí molekulovou hmotností klesá polarita (rozpustnost ve vodě) a roste teplota varu. Přítomnost plastifikátoru může navíc způsobit nárůst krystalinity. Zdá se, že do určité míry všechny studované citrátové plastifikátory krystalinitu zvyšují.<sup>45</sup>

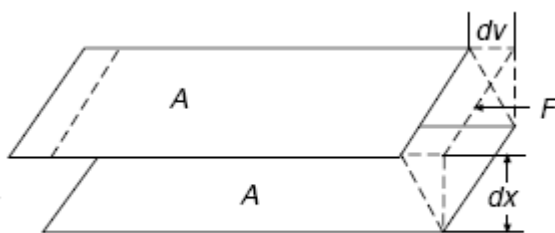
Jedním z nejčastěji používaných esterů kyseliny citronové je triethylcitrát (TEC). Jedná se o čirou kapalinu rozpustnou ve vodě. TEC je používán jako vysokovroucí rozpouštědlo (bod varu je 294°C) a plastifikátor např. pro vinylové pryskyřice, octany celulosy atd. Je povolen jako plastifikátor v oblasti medicíny a farmacie. Dále může být součástí potravinářských aditiv či obalů. Nalézá uplatnění jako stabilizátor vlhkosti cigaretových filtrů, dále je široce využíván v kosmetice (jako vonná esence či součást laků).

Polymer PLA plastifikovaný tributylcitrátem (TBC) studovali Ljungberg a spol.<sup>46</sup> Zjistili, že pokud je množství TBC nad 20 %, dochází k negativnímu ovlivnění stability polymeru. Také zjistili, že čím je vyšší molekulová hmotnost plastifikátoru, tím rychleji dochází k fázové separaci. V této studii bylo dále zkoumáno stárnutí této směsi při pokojové teplotě po dobu několika měsíců. Dle výsledků této studie lze předpokládat, že čím vyšší je molekulová hmotnost plastifikátoru, tím pomaleji dochází k jeho uvolňování z polymeru. Na druhou stranu, čím vyšší je koncentrace plastifikátoru (nad 15 %), tím rychleji k uvolňování dochází. Je tedy velmi důležité zvolit správný typ a koncentraci plastifikátoru. Výběr plastifikátoru může také významně ovlivnit hodnotou dynamické viskozity polymeru, a tím jeho adhezivní a liberační vlastnosti.

### 7.3. Měření viskozity

Reologie se zabývá vlastnostmi látek za podmínek jejich deformace – toku. Reologická měření si kladou za cíl stanovení materiálových parametrů látek při deformaci, a to v závislosti na typu deformace, její velikosti a rychlosti. Ve farmacii se reologické vlastnosti a jejich změna využívají při hodnocení kvality a stability přípravků, hodnocení technologie apod.

Reálné kapaliny vykazují určitý odpor proti tečení, mluvíme o tzv. vnitřním tření. Vychází se z představy tzv. prostého smyku, tj. deformace, při které se pomyslné vrstvy materiálu vzájemně rovnoběžně posunují:



Obr.5: Model s posuvnými deskami<sup>47</sup>

Vztah mezi silou  $F$  a plochou  $A$  se nazývá tečné napětí ( $\tau$ ) a je dáno vztahem:

$$\tau = F/A \text{ [N.m}^{-2}\text{=Pa]}$$

Rychlostní gradient ( $D$ ) je definován vztahem:

$$D = dv/dx \text{ [s}^{-1}\text{]}$$

Vztah mezi  $\tau$  a  $D$  udává tzv. Newtonův zákon:

$$\eta = \tau / D \text{ [Pa.s]}$$

Viskozita je jednou z hlavních fyzikálních vlastností kapalin. Charakterizuje vnitřní tření kapaliny neboli její odpor k pohybu. O takto definované viskozitě hovoříme jako o viskozitě dynamické ( $\eta$ ). Podíl dynamické viskozity a hustoty dané tekutiny je viskozita kinematická ( $\nu$ ).

$$\nu = \eta/\rho \text{ [mm}^2\text{.s}^{-1}\text{]}$$

Důvodem používání hodnot kinematické viskozity je mj. to, že k jejímu měření se používají přístroje, u kterých je síla způsobující tok (tedy smykové napětí) vyvozována tíhou kapaliny, závislou na hustotě. Příkladem mohou být všechny typy kapilárních nebo výtokových viskozimetrů.<sup>48</sup>

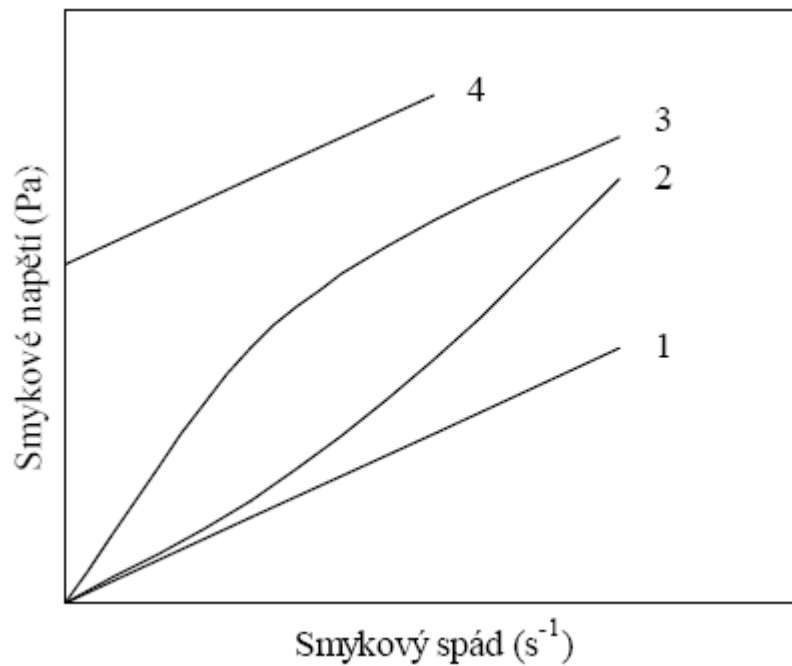
Jak dynamická, tak i kinematická viskozita jsou závislé především na tlaku a teplotě. S rostoucí teplotou viskozita klesá, zatímco s rostoucím tlakem viskozita vzrůstá.

Látky, kde je viskozita látkovou konstantou nezávislou ani na velikosti rychlostního spádu, ani na době působení tečného napětí, se nazývají newtonské kapaliny. Rychlostní spád je přímo úměrný tečnému napětí. Při měření viskozity newtonských látek lze použít jakýkoli viskozimetr. Mezi takové kapaliny lze zařadit např. roztoky nízkomolekulárních látek, líh, glycerol.

Vedle newtonských kapalin existují i kapaliny reologicky složitější, které se Newtonovým zákonem neřídí. Označují se proto jako neneutronské kapaliny. Viskozita je zde tzv. zdánlivá viskozita, která není látkovou konstantou, ale závisí na rychlostním spádu nebo tečném napětí. Závislost mezi  $D$  a  $\tau$  není lineární. Kapaliny s časově nezávislým tokem mohou být dilatantní, pseudoplastické a plastické, časově závislé lze dále dělit na tixotropní či reopexní.<sup>47</sup>

U dilatantní kapaliny roste viskozita s rostoucím rychlostním spádem. Takovéto chování kapalinového systému bylo poprvé pozorováno Reynoldsem na suspenzi s velkými částicemi. Jeho vysvětlení spočívá v tom, že se zvyšujícím se rychlostním spádem se v systému zvyšuje i podíl uspořádaných částic, které zaujmou jistou rovnovážnou polohu a strukturu. Tento stav vede k tomu, že pro „volné“ mezery mezi částicemi není při vyšší smykové rychlosti k dispozici dostatečné množství disperzního prostředí. To následně způsobí zvýšení tření mezi ne zcela volně a libovolně rozptýlenými částicemi.

U pseudoplastické kapaliny naopak s rostoucím rychlostním spádem viskozita klesá. Zvláštním případem neneutronských kapalin jsou kapaliny plastické. Do určité úrovně mechanického namáhání se tyto látky chovají jako pevné. Vykazují mez toku (hraniční napětí  $\tau_h$ ), při jehož překročení systém teče a může se chovat jako newtonská nebo jako neneutronská kapalina.



Obr.6: Chování kapalin: 1-newtonské, 2-dilatantní, 3-pseudoplastické, 4-plastické<sup>47</sup>

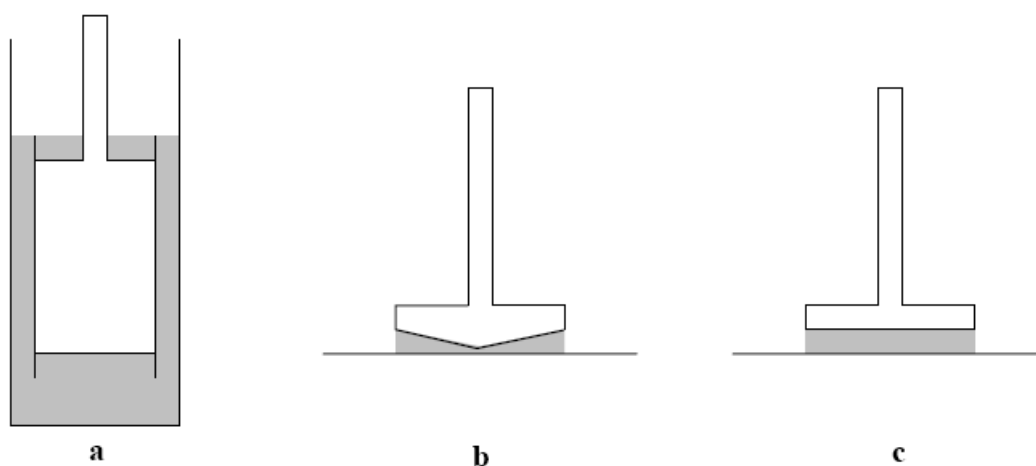
U kapalin s časově závislým tokem hraje důležitou roli doba působení tečného napětí. Pro tixotropní systémy platí, že viskozita klesá s dobou působení smykového napětí a opět vzrůstá, přestane-li smykové napětí působit. Ve většině případů se jedná o děj reverzibilní. Tixotropie je většinou jevem vhodným a žádoucím, jejím opakem je reopexie. Jedná se o relativně řídký jev, kdy viskozita s dobou působení smykového napětí roste a po ukončení působení viskozita opět klesá. Jako příklad může sloužit reologické chování gelu bentonitu ve vodě.<sup>47</sup>

Viskozita je tedy důležitou charakteristikou kapalin. Pro její stanovení se používají různé metody a přístroje (viskozimetry) v závislosti na účelu měření a vlastnostech vzorků. Pro kapaliny s chováním blízkým newtonskému se často používá zjednodušený přístup – konstrukcí přístroje se zajistí, aby tok vzorku byl dostatečně pomalý, a tedy laminární, tehdy je průtok úměrný smykovému spádu. Smykové napětí je vyvozováno tíhou kapaliny. Viskozita je v takovém případě přímo úměrná průtoku (výtokové době).<sup>48</sup>

Viskozimetry lze rozdělit na výtokové (popř. kapilární), s padající kuličkou a vřetenové rotační. Nejčastěji používaný viskozimetr s padající kuličkou je Höpplerův. Tento viskozimetr se skládá z trubice odkloněné o 5 až 10° od svislé polohy, která je naplněna vzorkem, a kuličky, která klesá měřenou kapalinou. Po krátké době zrychlení

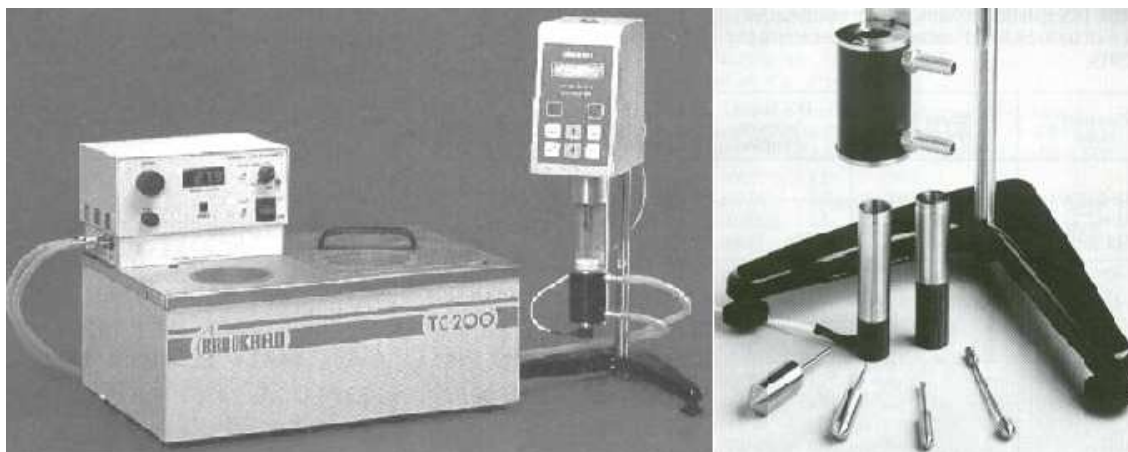
se její rychlost ustálí. Tento stav značí rovnováhu mezi třecí a gravitační silou. Měří se čas pádu kuličky v trubici ve vzdálenosti mezi dvěma označenými body.<sup>49</sup>

Rotační viskozimetry existují v relativně jednoduchém provedení, vhodném pro běžná laboratorní nebo provozní stanovení. Vzhledem k tomu, že lze při vhodné volbě geometrie odvodit závislost mezi otáčkami a smykovým spádem a otáčky vřetene měnit, lze tyto přístroje použít i pro složitější reologická měření. S těmito měřicími systémy je tedy možné měřit viskozitu newtonských i neneutronských kapalin. U neneutronských kapalin se zjišťuje tzv. toková křivka (reogram) a viskozimetry se v tomto případě označují jako absolutní viskozimetry či reometry. Typ CR - reometry s řízením smykové deformace (zajišťují konstantní rychlost otáčení a měří se kroutící moment) a typ CS – reometry s řízením smykového napětí (zajišťují konstantní kroutící moment, měří se otáčky). Nejčastěji používaný měřicí systém (tzv. s koaxiálními válci) se skládá ze dvou válců s úzkým meziválcovým prostorem, který se plní měřenou kapalinou. Jeden z válců se při měření uvede do rotačního pohybu stálou úhlovou rychlostí a registruje se moment síly působící přitom na druhý válec. Otáčet se může vnitřní nebo vnější válec. Pro viskóznější kapaliny se místo dvou sousedících válců často užívá uspořádání kužel/deska nebo deska/deska. Měřená kapalina se dává do úzkého prostoru mezi dvě plochy, takže stačí jen malé množství vzorku. Tento systém ale není vhodný pro kapaliny s nízkou viskozitou, protože působením odstředivé síly může dojít k vytékání vzorku zpod kužele.<sup>50</sup>



Obr.7: Nejběžnější typy rotačních viskozimetrů: a-koaxiální válce, b-kužel/deska a c-deska/deska<sup>47</sup>

Jeden z nejčastěji používaných rotačních viskozimetrů je Brookfieldův digitální viskozimetr. Snímá kroutící moment, nutný pro rotaci vřetena ponořeného do vzorku tekutiny konstantní rychlostí. Tento kroutící moment je úměrný viskóznímu tahu ponořeného vřetena, a tím viskozitě kapaliny. Přednostmi tohoto viskozimetru jsou jednoduchost, přesnost a flexibilita vlastního měření. Další výhodou je kontinuální rotace vřetena, která poskytuje nepřerušované měření po dlouhou dobu.



Obr.8: Brookfieldův rotační viskozimetr a příslušenství.<sup>47</sup>

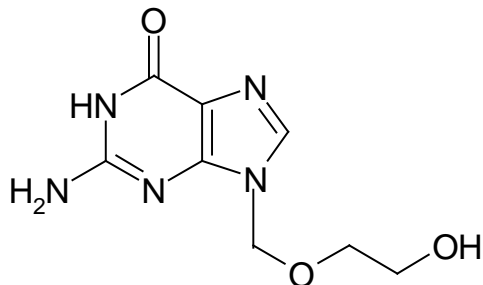
K dispozici je celá řada dalších komerčních přístrojů nejrůznějšího provedení, z nichž je nutno vybírat vždy podle konkrétních požadavků, vyplývajících hlavně ze struktury a typu měřené látky.

Měřením viskozity lze tedy získat řadu důležitých informací např. o stabilitě daného produktu či do jaké míry je schopný odolávat změnám. Hodnota dynamické viskozity rovněž významně ovlivňuje adhezivní vlastnosti viskózních soustav. Polymerní systémy, kde je hodnota dynamické viskozity extrémně vysoká, se nejsou schopny rozprostřít po substrátu. S klesající hodnotou dynamické viskozity roste schopnost polymeru rozprostřít se po substrátu.

Podle hodnoty naměřené dynamické viskozity můžeme usuzovat na rychlost liberace léčiva z polymeru. Obecně platí, že čím vyšší je viskozita, tím pomalejší je difúze.

## 7.4. Léčiva použítá v experimentální části

### 7.4.1. Aciklovir



Obr.9: Strukturní vzorec acikloviru<sup>51</sup>

Aciklovir je jedním z nejúčinnějších a nejbezpečnějších antivirotik. Antivirotika (syn. virostatika) jsou chemoterapeutika, jejichž rozdílné chemické struktury umožňují zásah do různých fází vývojového cyklu virů v hostitelské buňce, především se využívá rozdílů v mechanismech a kinetice syntézy virových a buněčných struktur.<sup>52</sup>

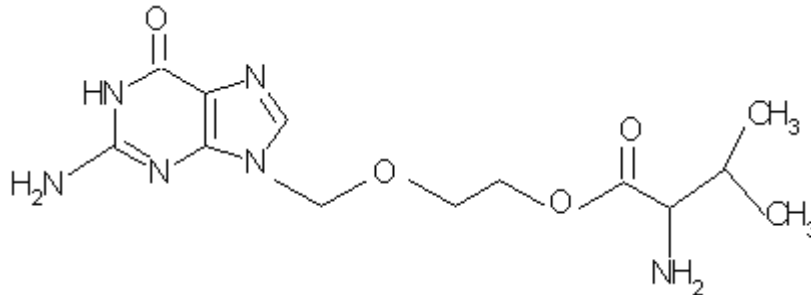
Aciklovir patří mezi acyklické analogy nukleosidů (konkrétně guanosinu), které obsahují přírodní bazi a obměněnou molekulu sacharidu. Využívá se při léčbě infekcí, které jsou způsobené herpetickými viry herpes simplex (HSV-1 a HSV-2) nebo varicella-zoster. Vysoká specifita působení vůči herpetickým virům je dána tím, že aciklovir je nejdříve fosforylován virovou thymidinkinázou. Aciklovir trifosfát působí jako kompetitivní inhibitor virové DNA polymerázy. Inkorporace acikloviru monofosfátu do řetězce DNA ukončuje jeho prodlužování.<sup>53</sup> Aciklovir působí především v buňkách napadených viry, protože je mnohem účinnější proti virové DNA-polymeráze než proti buněčné DNA-polymeráze.

Lze ho použít perorálně, parenterálně i lokálně. Po perorálním podání je biologická dostupnost acikloviru 15-30 %. Je lékem volby u závažných herpetických infekcí (meningitidy, encefalitidy). V těchto případech je podáván intravenózně infúzí nebo injekčně. Lokálně se využívá v očním a kožním lékařství, např. ve formě masti při léčbě oparu rtu.

Aciklovir je z 90 % vylučován ledvinami v nezměněném stavu. Poločas eliminace je přibližně 2,5 hodiny.<sup>54</sup> Přestože jsou nežádoucí účinky minimální, u některých pacientů byla zaznamenána nauzea, průjem či bolest hlavy. U pacientů s poškozenou funkcí ledvin musí být dávky sníženy.

## Další antivirotika:

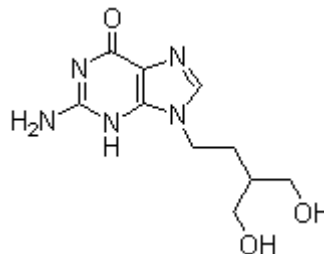
### ○ Valaciklovir



Obr.10: Strukturální vzorec valacikloviru<sup>51</sup>

Je to prekurzor acikloviru, ester s L-valinem. Působením enzymů, esteráz, se z něj odštěpí valinový zbytek a vzniká aciklovir. Po perorálním podání se ve srovnání s aciklovirem lépe vstřebává, jeho biologická dostupnost je až 50 %.

### ○ Penciklovir

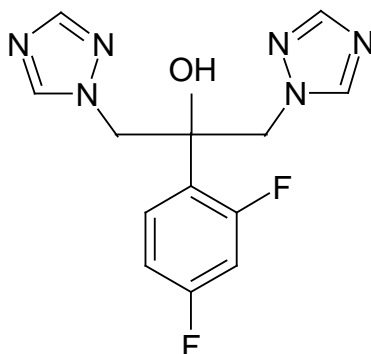


Obr.11: Strukturální vzorec pencikloviru<sup>55</sup>

Penciklovir je také derivátem guaninu. Od acikloviru se liší přítomností jiného postranního řetězce, farmakologicky ho však napodobuje. Slouží k celkovému i lokálnímu podání.<sup>52</sup>



## 7.4.2. Flukonazol



Obr.12: Strukturní vzorec flukonazolu<sup>56</sup>

Flukonazol je novější triazolové antimykotikum. Antimykotika jsou látky, které cíleně působí na houbové organismy (kvasinky a vláknité houby). Specificky interferují s cílovými strukturami houbové buňky a porušují tak jejich integritu. Narušují především jejich buněčnou stěnu, která obsahuje několik enzymů, které se nevyskytují v savčích buňkách, což vede buď k inhibici růstu houbových organismů (fungistatický efekt) nebo k jejich smrti (fungicidní efekt).

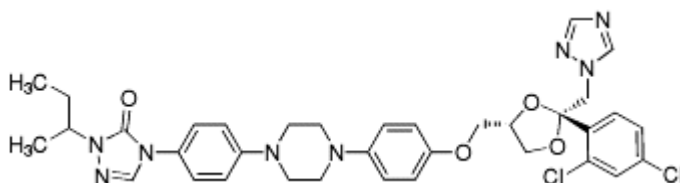
Flukonazol je to bis-triazolový derivát propanolu s vysokou antifungální specifitou účinku pro parenterální i perorální podání. Je velmi bezpečným léčivem, z azolových antimykotik má nejméně nežádoucích účinků a lékových interakcí a přínos u něj převažuje nad rizikem. Antimikrobiální spektrum zahrnuje *Candida* spp., které jsou nejcitlivější, dermatofyty (*Microsporum* spp., *Trichophyton* spp.) a další, ale u aspergilózy je převážně neúčinný. Mechanismus účinku spočívá v inhibici syntézy ergosterolu, což je základní složka plazmatické membrány buňky hub. Farmakologická aktivita je vázaná na přítomnost aromatického pětičlenného heterocyklu (triazolu). Tím se flukonazol váže na atom železa jednotky hemu enzymu cytochromu P-450 14 $\alpha$ -demethylázy, který se podílí na přeměně lanosterolu na ergosterol. Výsledný nedostatek ergosterolu vede k dysfunkci plasmatické membrány houby a následné inhibici růstu buňky. Nevýhodou ale je, že má pouze fungistatický účinek a může se na něj při dlouhodobém podávání vyvinout rezistence, která může být způsobena nadprodukcí původně inhibovaného enzymu.<sup>57</sup>

Po perorálním podání se rychle a téměř úplně vstřebává, vazba na plazmatické bílkoviny je nízká (10-12 %), dobře proniká do všech tkání a z 80 % je vylučován ledvinami. Biologický poločas je 25-30 hodin. Mezi nežádoucí účinky se řadí

nezávažné dyspeptické obtíže, bolesti hlavy či kožní exantém. Flukonazol je inhibitorem CYP 450 3A4 a 2C9, jsou zde tedy možné četné interakce. Ke zvýšení účinnosti dochází u derivátů sulfonylmočoviny, warfarinu či midazolamu. Naopak snížení účinku se uvádí při současném podání rifampicinu.<sup>58</sup>

## Další antimykotika:

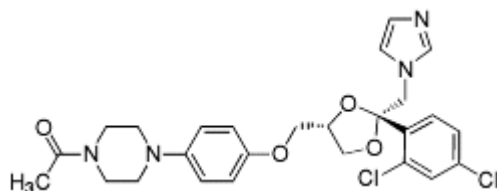
### ○ Itrakonazol



Obr.13: Strukturální vzorec itrakonazolu<sup>56</sup>

Stejně jako flukonazol patří mezi triazolová antimykotika. Jedná se o látku s vysokou antifungální specifitou podobnou flukonazolu, ale je účinný i proti aspergilům.

### ○ Ketokonazol



Obr.14: Strukturální vzorec itrakonazolu<sup>56</sup>

Ketokonazol je na trhu již od druhé poloviny 70. let minulého století. Jedná se o azolové antimykotikum, které je dnes nahrazováno novějšími deriváty (flukonazol, itrakonazol). Jeho použití se dnes omezuje jen na terapii převážně akutních forem kožních a slizničních infekcí způsobené dermatofyty či kvasinkami.<sup>59</sup>

## 8. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 8.1. Použité suroviny

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

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

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

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

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

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

Aceton čistý (Penta, výrobní divize Chrudim)

Aciklovir (Pliva Lachema)

Azid sodný (Fluka)

Čištěná voda (FaF UK HK)

Ethylpyruvát (Merck Mnichov)

Flukonazol (Zentiva a.s. Praha)

Hydrogenfosforečnan disodný dodekahydrát (Lach-Ner Neratovice)

Kyselina citronová monohydrát, ČL 2009 (Penta, výrobní divize Praha)

## **8.2. Použité přístroje**

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

Biologický termostat BT 120

Brookfieldův digitální viskozimetr model DV-E

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

### 8.3. Příprava vzorků

Testované polyestery byly syntetizovány na katedře farmaceutické technologie Farmaceutické fakulty v Hradci Králové. Jedná se o polymery kyseliny D,L-mléčné a glykolové větvené pentaerythritolem nebo tripentaerythritolem. Podle koncentrace větvicí složky v reakční směsi, která byla 1 %, 3 % nebo 5 %, byly polymery označeny 1P, 3P, 5P, 1T, 3T, 5T.

Tab.1: Charakteristika použitých polyesterů<sup>60</sup>

Označení polymeru	Poměr LA/GA/P(T) [%]	M <sub>n</sub> [g/mol]	M <sub>w</sub> [g/mol]	T <sub>g</sub> (°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<sub>n</sub>..... číselně střední relativní molekulová hmotnost

M<sub>w</sub>.....hmotnostně střední relativní molekulová hmotnost

T<sub>g</sub>.....teplota skelného přechodu

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

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

### 8.3.1. Plastifikace polyesterů

Polymery byly z důvodu snížení viskozity plastifikovány 20 % ethylpyruvátu (EP). Celkem bylo připraveno 6 vzorků po 10,0 g.

Polyester	8,0 g
Ethylpyruvát	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 při teplotě 70-80°C v horkovzdušné sušárně. K tavenině byly pipetou přidány 2,0 g ethylpyruvátu zahřátého na asi 50°C a směs byla důkladně zhomogenizována.

Pokud bylo třeba polymer během homogenizace znovu tavit, kádinka překrytá alobalem byla na krátkou dobu umístěna do horkovzdušné sušárny.

### 8.3.2. Inkorporace léčiva

Do předem plastifikovaných polyesterů bylo inkorporováno léčivo v množství 4%. Z tohoto celkového množství 2,00 g byly na dno scintilační lahvičky tvarovány matrice o hmotnosti 150,0 mg. Matrice byly připraveny triplicitně.

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

## 8.4. Disoluční test

### 8.4.1. Příprava pufru

Liberačním médiem pro disoluci acikloviru i flukonazolu byl zvolen fosfát citrátový pufr o pH 7,0. Pufr byl připraven smícháním 19 dílů 0,1 M roztoku monohydrátu kyseliny citrónové (21,014 g/l) a 81 dílů 0,2 M roztoku dihydrátu hydrogenfosforečnanu disodného (35,60 g/l). 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). Pro dosažení protimikrobní stability pufru bylo přidáno 0,02% azidu sodného. Aktuální hodnota pH připraveného pufru byla zkontrolována digitálním pH metrem.

### 8.4.2. Kalibrační přímka

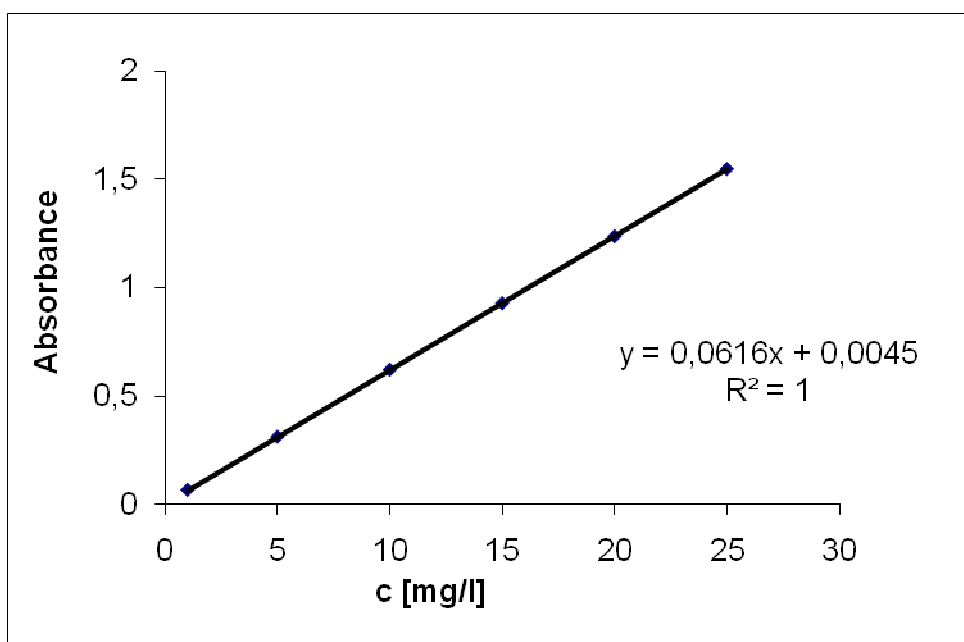
#### ACIKLOVIR

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.

Tab.2: Absorbance roztoků acikloviru o vzrůstající 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



## FLUKONAZOL

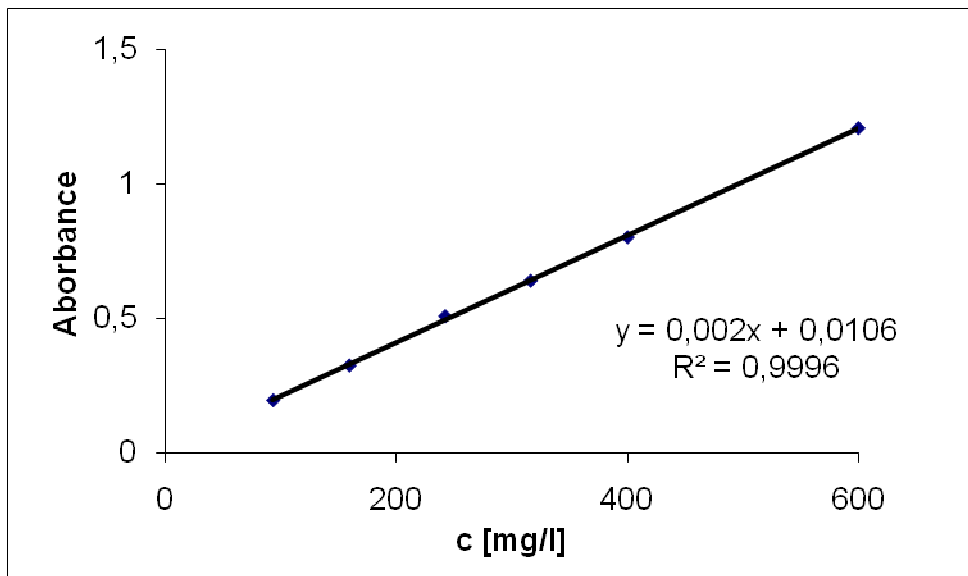
Absorpční maximum flukonazolu (FLU) ve fosfát citrátovém pufru o pH 7,0 je při 261 nm, absorbance tedy byla měřena při této vlnové délce. Pro sestrojení kalibrační křivky byla připraveno 5 roztoků o rostoucí koncentraci FLU (Tab.3). Z naměřených hodnot absorbance byla sestrojena kalibrační přímka, zjištěna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

Tab.3: Absorbance roztoků flukonazolu o vzrůstající koncentraci

Koncentrace flukonazolu [mg/l]	A
600	1,206
400	0,8
316	0,638
242	0,506
159	0,323
93	0,193



Obr.16: Kalibrační přímka flukonazolu při 261 nm



### 8.4.3. Stanovení množství uvolněného léčiva

Scintilační lahvičky se vzorky byly zality 15,0 g fosfát citrátového pufru pH 7,0 a uchovány v termostatu při 37°C. Intervaly odběru vzorků byly ze začátku krátké (3, 6, 24, 48 hodin), aby se zachytil počátek liberace. 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.

Matrice ve scintilačních lahvičkách byly po odběru disolučního média znovu zality 15,0 g 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.

Množství uvolněného flukonazolu z polymerních matric bylo stanoveno spektrofotometricky při vlnové délce 261 nm proti čistému fosfát citrátovému pufru. Množství uvolněného acikloviru bylo stanoveno při vlnové délce 256 nm. 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 matici ( $x_{\%}$ ). 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:

$$y = 0,002x + 0,0106$$

Výpočet uvolněného ACV:

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

Výpočet uvolněného FLU:

$$x_1 = \frac{y - 0,0106}{0,002}$$

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

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

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

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

- $x_1$  ..... 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

## 8.5. Měření a vyhodnocení adheze

Na materiálovém zkušebním stroji firmy Zwick/Roell byla měřena maximální síla  $F_{max}$  potřebná k odtržení plastifikovaného větveného polyesteru od modelového substrátu tvořeného mucinem z prasečích žaludků. Nejprve bylo třeba rozetřít mucin s fosfát citrátovým pufrům v následném poměru :

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

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 upravený mucin a rovnoměrně rozprostřel. Před vlastním měřením byla nastavena vzdálenost horní kontaktní plochy (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 snížila 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 každém měření byl z obou kontaktních ploch odstraněn změřený vzorek a mucin, zbytky byly očištěny acetonem, vodou, náležitě osušeny a nanášel se další vzorek. Od každého vzorku byla provedena série pěti zkoušek. Jednotlivé síly  $F_{max}$  se dále přepočítaly na velikost dolní plochy přístroje ( $d = 20,11$  mm) pro porovnání adhezivní síly polyesterů.

## 8.6. Měření a vyhodnocení viskozity

Termostat vodní lázně s cirkulací se nastavil na 40°C a nechal temperovat. K viskozimetru bylo našroubováno vřeteno č. 14. Měřený vzorek byl umístěn do válce, který je součástí adaptéru pro malé objemy vzorků, a upevněn do dvouplášťového obalu. Vzorek byl ponechán teplotě po dobu cca 15 minut.

Na ovládacím panelu viskozimetru byla zadána velikost použitého vřetena (č.14), rychlost rotace - hodnota RPM (počet otáček vřetena za minutu) byla nastavena na nejnižší hodnotu, konkrétně 0,3, a byl spuštěn motor. Hřídel se v měřeném vzorku nechala pětkrát otočit. Po ustálení procentuální hodnoty (kroutící moment) byla zaznamenána hodnota dynamické viskozity (mPa.s) zobrazena na displeji. Pro dosažení přesnosti měření nebyly započítávány údaje pod 10 % a nad 90 % kroutícího momentu. Měření pokračovalo nastavením vyšší hodnoty RPM. Po proměření viskozity v celém rozsahu RPM bylo vřeteno zastaveno, měřený vzorek vyjmut, hřídel i vřeteno vyčištěno a vpraven další vzorek. Stejným způsobem byly proměřeny ostatní vzorky.

Do tabulky byly zaznamenány hodnoty dynamické viskozity při daných rychlostech otáčení vřetene a graficky byla porovnána viskozita jednotlivých vzorků.

## 9. VÝSLEDKY

### 9.1. Tabulky

#### 9.1.1. Liberace acikloviru

Tab.4: Liberace acikloviru z nosiče 1T plastifikovaného 20 % EP

čas	A	ředění	ACV	ACV	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]	[%]		
3 hod	0,621	10	1,501	26,17	29,96	29,96
	0,850	10	2,059	33,08		
	0,735	10	1,779	30,63		
6 hod	0,306	10	0,734	12,80	12,92	42,88
	0,313	10	0,751	12,07		
	0,336	10	0,807	13,90		
24 hod	0,364	10	0,875	15,26	16,98	59,86
	0,413	10	0,995	15,98		
	0,474	10	1,143	19,68		
48 hod	0,415	2	0,200	3,49	3,92	63,78
	0,996	1	0,241	3,88		
	0,530	2	0,256	4,41		
3 dny	0,373	1	0,090	1,56	1,47	65,25
	0,487	1	0,117	1,89		
	0,231	1	0,055	0,95		
4 dny	0,601	2	0,291	5,06	3,45	68,69
	0,787	1	0,191	3,06		
	0,532	1	0,128	2,21		
8 dní	0,853	10	2,066	36,02	32,99	101,68
	0,762	10	1,845	29,64		
	0,799	10	1,935	33,31		
11 dní	0,540	1	0,130	2,27	3,08	104,76
	0,999	1	0,242	3,89		
	0,739	1	0,179	3,08		
14 dní	0,055	1	0,012	0,21	0,39	105,15
	0,158	1	0,037	0,60		
	0,088	1	0,020	0,35		
18 dní	0,002	1	0,000	0,00	0,04	105,20
	0,037	1	0,008	0,13		
	0,000	1	0,000	0,00		

Tab.5: Liberace acikloviru z nosiče 3T plastifikovaného 20 % EP

čas	A	ředění	ACV	ACV	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]	[%]		
3 hod	0,610	2	0,295	5,03	4,49	4,49
	0,571	2	0,276	4,38		
	0,514	2	0,248	4,07		
6 hod	0,328	10	0,788	13,43	8,93	13,43
	0,236	10	0,564	8,95		
	0,557	2	0,269	4,42		
24 hod	0,320	10	0,768	13,10	15,61	29,04
	0,410	10	0,987	15,68		
	0,456	10	1,099	18,05		
48 hod	0,809	2	0,392	6,68	6,33	35,37
	0,842	2	0,408	6,48		
	0,735	2	0,356	5,84		
3 dny	0,642	2	0,310	5,29	5,91	41,28
	0,709	2	0,343	5,45		
	0,879	2	0,426	6,99		
4 dny	0,715	2	0,346	5,90	5,53	46,81
	0,932	2	0,452	7,17		
	0,881	1	0,213	3,50		
8 dní	0,489	10	1,180	20,12	17,70	64,52
	0,392	10	0,944	14,99		
	0,455	10	1,097	18,01		
11 dní	0,307	10	0,737	12,56	15,30	79,81
	0,409	10	0,985	15,64		
	0,447	10	1,078	17,69		
14 dní	0,999	2	0,484	8,26	10,73	90,54
	0,209	10	0,498	7,91		
	0,405	10	0,975	16,01		
18 dní	0,272	10	0,651	11,11	6,39	96,93
	0,000	10	0,000	0,00		
	0,206	10	0,491	8,05		
25 dní	0,215	10	0,513	8,74	4,23	101,15
	0,000	10	0,000	0,00		
	0,990	1	0,240	3,94		
32 dní	0,287	1	0,069	1,17	1,17	102,32
	0,374	1	0,090	1,43		
	0,231	1	0,055	0,91		

Tab.6: Liberace acikloviru z nosiče 5T plastifikovaného 20 % EP

čas	A	ředění	ACV	ACV	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]	[%]		
3 hod	0,550	1	0,133	2,11	1,87	1,87
	0,510	1	0,123	1,97		
	0,401	1	0,097	1,54		
6 hod	0,482	1	0,116	1,84	2,11	3,98
	0,506	1	0,122	1,95		
	0,663	1	0,160	2,55		
24 hod	0,723	2	0,350	5,55	5,42	9,41
	0,835	2	0,404	6,46		
	0,555	2	0,268	4,26		
48 hod	0,699	2	0,338	5,37	6,72	16,12
	0,916	2	0,444	7,09		
	0,998	2	0,484	7,69		
3 dny	0,795	2	0,385	6,11	6,44	22,57
	0,904	2	0,438	6,99		
	0,809	2	0,392	6,23		
4 dny	0,838	2	0,406	6,44	8,21	30,78
	0,899	2	0,436	6,95		
	0,295	10	0,707	11,25		
8 dní	0,787	10	1,905	30,23	28,25	59,03
	0,706	10	1,708	27,27		
	0,708	10	1,713	27,24		
11 dní	0,542	10	1,309	20,76	19,72	78,75
	0,490	10	1,182	18,87		
	0,509	10	1,228	19,54		
14 dní	0,312	10	0,749	11,88	9,44	88,20
	0,224	10	0,534	8,53		
	0,209	10	0,498	7,92		
18 dní	0,296	10	0,710	11,26	9,29	97,48
	0,204	10	0,486	7,76		
	0,233	10	0,556	8,85		
25 dní	0,300	2	0,144	2,28	2,36	99,84
	0,353	2	0,170	2,71		
	0,273	2	0,131	2,08		
32 dní	0,722	1	0,175	2,77	2,11	101,95
	0,919	1	0,223	3,56		
	0,000	1	0,000	0,00		

Tab.7: Liberace acikloviru z nosiče 1P plastifikovaného 20 % EP

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
3 hod	0,850	2	0,412	7,20	8,02	8,02
	0,485	5	0,585	9,23		
	0,912	2	0,442	7,63		
6 hod	0,562	2	0,272	4,75	3,99	12,01
	0,981	1	0,238	3,75		
	0,834	1	0,202	3,48		
24 hod	0,253	10	0,605	10,58	11,24	23,26
	0,285	10	0,683	10,78		
	0,299	10	0,717	12,37		
48 hod	0,569	10	1,375	24,03	22,72	45,97
	0,555	10	1,341	21,16		
	0,551	10	1,331	22,96		
3 dny	0,345	10	0,829	14,50	17,07	63,05
	0,367	10	0,883	13,93		
	0,547	10	1,321	22,79		
4 dny	0,998	2	0,484	8,46	9,53	72,57
	0,368	10	0,885	13,97		
	0,736	2	0,356	6,15		
8 dní	0,514	10	1,241	21,69	20,29	92,86
	0,483	10	1,165	18,39		
	0,499	10	1,204	20,78		
11 dní	0,338	10	0,812	14,20	12,74	105,60
	0,902	2	0,437	6,90		
	0,412	10	0,992	17,12		
14 dní	0,889	1	0,215	3,77	4,59	110,19
	0,656	2	0,317	5,01		
	0,599	2	0,290	5,00		
18 dní	0,330	1	0,079	1,39	1,59	111,78
	0,346	1	0,083	1,31		
	0,498	1	0,120	2,07		
25 dní	0,370	1	0,089	1,56	1,44	113,22
	0,305	1	0,073	1,15		
	0,387	1	0,093	1,61		
32 dní	0,153	1	0,036	0,63	0,52	113,74
	0,109	1	0,025	0,40		
	0,130	1	0,031	0,53		



Tab.8: Liberace acikloviru z nosiče 3P plastifikovaného 20 % EP

čas	A	ředění	ACV	ACV	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]	[%]		
3 hod	0,786	1	0,190	3,25	2,94	2,94
	0,584	1	0,141	2,47		
	0,818	1	0,198	3,11		
6 hod	0,635	2	0,307	5,24	3,45	6,39
	0,901	1	0,218	3,82		
	0,345	1	0,083	1,30		
24 hod	0,789	2	0,382	6,52	7,39	13,79
	0,229	10	0,547	9,56		
	0,802	2	0,388	6,09		
48 hod	0,738	2	0,357	6,10	5,85	19,64
	0,709	2	0,343	6,00		
	0,720	2	0,348	5,47		
3 dny	0,883	1	0,214	3,65	4,94	24,58
	0,884	2	0,428	7,49		
	0,968	1	0,235	3,68		
4 dny	0,999	1	0,242	4,14	4,59	29,17
	0,665	2	0,322	5,62		
	0,530	2	0,256	4,01		
8 dní	0,471	10	1,136	19,40	17,15	46,32
	0,382	10	0,919	16,07		
	0,423	10	1,019	15,98		
11 dní	0,361	10	0,868	14,82	17,53	63,85
	0,323	10	0,776	13,56		
	0,638	10	1,543	24,19		
14 dní	0,388	10	0,934	15,95	14,82	78,66
	0,312	10	0,749	13,09		
	0,408	10	0,983	15,41		
18 dní	0,294	10	0,705	12,04	10,99	89,65
	0,240	10	0,573	10,03		
	0,290	10	0,695	10,90		
25 dní	0,360	10	0,866	14,78	6,14	95,79
	0,538	1	0,130	2,27		
	0,361	1	0,087	1,36		
32 dní	0,187	10	0,444	7,59	4,91	100,70
	0,963	1	0,233	4,08		
	0,807	1	0,195	3,06		

Tab.9: Liberace acikloviru z nosiče 5P plastifikovaného 20 % EP

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
3 hod	0,921	2	0,446	7,85	7,60	7,60
	0,839	2	0,406	7,13		
	0,998	2	0,484	7,81		
6 hod	0,370	10	0,890	15,65	17,19	24,78
	0,428	10	1,031	18,08		
	0,458	10	1,104	17,83		
24 hod	0,460	10	1,109	19,50	19,98	44,76
	0,453	10	1,092	19,15		
	0,546	10	1,319	21,30		
48 hod	0,334	10	0,802	14,11	10,37	55,14
	0,212	10	0,505	8,86		
	0,212	10	0,505	8,16		
3 dny	0,251	10	0,600	10,55	8,46	63,60
	0,854	2	0,414	7,25		
	0,968	2	0,469	7,58		
4 dny	0,825	2	0,400	7,03	7,60	71,20
	0,936	2	0,454	7,95		
	0,999	2	0,484	7,82		
8 dní	0,363	10	0,873	15,35	19,89	91,09
	0,414	10	0,997	17,48		
	0,687	10	1,662	26,84		
11 dní	0,355	10	0,853	15,01	12,80	103,89
	0,335	10	0,805	14,11		
	0,241	10	0,576	9,30		
14 dní	0,091	1	0,021	0,37	2,00	105,90
	0,678	1	0,164	2,88		
	0,707	1	0,171	2,76		

### 9.1.2. Liberace flukonazolu

Tab.10: Liberace flukonazolu z nosiče 1T plastifikovaného 20 % EP

čas	A	ředění	ACV	ACV	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]	[%]		
3 hod	0,375	1	2,822	48,55	44,89	44,89
	0,362	1	2,719	47,04		
	0,323	1	2,411	39,09		
6 hod	0,246	1	1,803	31,02	28,79	73,69
	0,236	1	1,724	29,83		
	0,217	1	1,574	25,52		
24 hod	0,164	1	1,156	19,89	20,58	94,26
	0,154	1	1,077	18,63		
	0,199	1	1,432	23,22		
48 hod	0,053	1	0,279	4,81	4,38	98,64
	0,051	1	0,264	4,56		
	0,047	1	0,232	3,76		
3 dny	0,011	1	0,000	0,00	0,02	98,66
	0,018	1	0,003	0,05		
	0,012	1	0,000	0,00		

Tab.11: Liberace flukonazolu z nosiče 3T plastifikovaného 20 % EP

čas	A	ředění	ACV	ACV	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]	[%]		
3 hod	0,341	1	2,553	40,04	40,97	40,97
	0,315	1	2,348	38,26		
	0,343	1	2,569	44,60		
6 hod	0,227	1	1,653	25,93	36,85	77,82
	0,334	1	2,498	40,71		
	0,338	1	2,529	43,91		
24 hod	0,107	1	0,706	11,07	14,12	91,94
	0,171	1	1,211	19,74		
	0,102	1	0,666	11,57		
48 hod	0,104	1	0,682	10,70	16,20	108,14
	0,121	1	0,816	13,30		
	0,197	1	1,416	24,59		
3 dny	0,016	1	0,000	0,00	1,96	110,10
	0,049	1	0,248	4,04		
	0,031	1	0,106	1,84		
4 dny	0,016	1	0,000	0,00	0,65	110,75
	0,027	1	0,074	1,21		
	0,023	1	0,043	0,74		

Tab.12: Liberace flukonazolu z nosiče 5T plastifikovaného 20 % EP

čas	A	ředění	ACV	ACV	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]	[%]		
3 hod	0,226	1	1,645	27,17	22,96	22,96
	0,177	1	1,258	19,85		
	0,186	1	1,329	21,85		
6 hod	0,187	1	1,337	22,08	18,05	41,00
	0,159	1	1,116	17,61		
	0,129	1	0,879	14,46		
24 hod	0,262	1	1,929	31,86	32,77	73,78
	0,307	1	2,285	36,04		
	0,252	1	1,851	30,42		
48 hod	0,252	1	1,851	30,56	28,28	102,05
	0,204	1	1,472	23,21		
	0,257	1	1,890	31,07		
3 dny	0,015	1	0,000	0,00	1,19	103,24
	0,016	1	0,000	0,00		
	0,045	1	0,216	3,56		
4 dny	0,011	1	0,000	0,00	0,06	103,30
	0,014	1	0,000	0,00		
	0,019	1	0,011	0,18		

Tab.13: Liberace flukonazolu z nosiče 1P plastifikovaného 20 % EP

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
3 hod	0,361	1	2,711	46,23	45,22	45,22
	0,347	1	2,601	43,40		
	0,387	1	2,916	46,03		
6 hod	0,169	1	1,195	20,38	20,25	65,47
	0,159	1	1,116	18,63		
	0,192	1	1,377	21,73		
24 hod	0,220	1	1,598	27,25	30,08	95,55
	0,241	1	1,764	29,43		
	0,287	1	2,127	33,57		
48 hod	0,095	1	0,611	10,42	13,35	108,90
	0,155	1	1,085	18,10		
	0,110	1	0,729	11,51		
3 dny	0,029	1	0,090	1,53	1,31	110,21
	0,026	1	0,066	1,11		
	0,028	1	0,082	1,30		
4 dny	0,018	1	0,003	0,05	0,64	110,85
	0,020	1	0,019	0,32		
	0,030	1	0,098	1,55		

Tab.14: Liberace flukonazolu z nosiče 3P plastifikovaného 20 % EP

čas	A	ředění	ACV	ACV	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]	[%]		
3 hod	0,136	1	0,935	16,30	24,18	24,18
	0,125	1	0,848	13,86		
	0,359	1	2,695	42,38		
6 hod	0,356	1	2,672	46,58	34,11	58,29
	0,280	1	2,072	33,87		
	0,194	1	1,393	21,90		
24 hod	0,227	1	1,653	28,82	29,01	87,30
	0,269	1	1,985	32,45		
	0,225	1	1,637	25,74		
48 hod	0,175	1	1,243	21,66	21,89	109,19
	0,238	1	1,740	28,45		
	0,143	1	0,990	15,57		
3 dny	0,025	1	0,058	1,02	3,87	113,06
	0,031	1	0,106	1,73		
	0,089	1	0,564	8,86		
4 dny	0,054	1	0,287	5,01	2,13	115,19
	0,023	1	0,043	0,70		
	0,023	1	0,043	0,67		
8 dní	0,024	1	0,051	0,88	0,58	115,77
	0,023	1	0,043	0,70		
	0,019	1	0,011	0,17		

Tab.15: Liberace flukonazolu z nosiče 5P plastifikovaného 20 % EP

čas	A	ředění	ACV	ACV [%]	průměr	kumulativní %
			[mg/15ml]			
3 hod	0,494	1	3,761	59,47	49,16	49,16
	0,327	1	2,443	41,09		
	0,358	1	2,687	46,92		
6 hod	0,245	1	1,795	28,39	26,80	75,96
	0,225	1	1,637	27,55		
	0,195	1	1,401	24,45		
24 hod	0,246	1	1,803	28,51	31,77	107,73
	0,270	1	1,993	33,52		
	0,259	1	1,906	33,27		
48 hod	0,069	1	0,406	6,42	5,60	113,33
	0,055	1	0,295	4,97		
	0,057	1	0,311	5,43		
3 dny	0,013	1	0,000	0,00	2,92	116,25
	0,053	1	0,279	4,70		
	0,047	1	0,232	4,05		
4 dny	0,019	1	0,011	0,17	0,08	116,32
	0,017	1	0,000	0,00		
	0,018	1	0,003	0,06		



### 9.1.3. Měření adheze

Tab.16: Adhezivita polyesteru 1T plastifikovaného 20 % EP

Měření č.	$F_{\max}$ [N]	$\varnothing F_{\max}$ [N]	s	F/S [mN/mm <sup>2</sup> ]	$\varnothing F/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]	$S'$
1	28,82	28,93	0,38	90,74	91,10	1,20
2	28,96			91,18		
3	28,55			89,89		
4	28,79			90,64		
5	29,56			93,07		

Tab.17: Adhezivita polyesteru 3T plastifikovaného 20 % EP

Měření č.	$F_{\max}$ [N]	$\varnothing F_{\max}$ [N]	s	F/S [mN/mm <sup>2</sup> ]	$\varnothing F/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]	$S'$
1	32,47	32,94	1,21	102,23	103,70	3,81
2	32,07			100,97		
3	31,81			100,15		
4	34,73			109,34		
5	33,60			105,79		

Tab.18: Adhezivita polyesteru 5T plastifikovaného 20 % EP

Měření č.	$F_{\max}$ [N]	$\varnothing F_{\max}$ [N]	s	F/S [mN/mm <sup>2</sup> ]	$\varnothing F/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]	$S'$
1	28,26	29,43	1,08	88,97	92,65	3,40
2	28,26			88,97		
3	29,94			94,26		
4	30,25			95,24		
5	30,43			95,81		

Tab.19: Adhezivita polyesteru 1P plastifikovaného 20 % EP

Měření č.	$F_{\max}$ [N]	$\varnothing F_{\max}$ [N]	s	F/S [mN/mm <sup>2</sup> ]	$\varnothing F/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]	$S'$
1	29,94	30,68	0,71	94,26	96,62	2,24
2	31,70			99,81		
3	30,18			95,02		
4	31,10			97,92		
5	30,49			96,00		

Tab.20: Adhezivita polyesteru 3P plastifikovaného 20 % EP

Měření č.	$F_{\max}$ [N]	$\varnothing F_{\max}$ [N]	s	F/S [mN/mm <sup>2</sup> ]	$\varnothing F/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]	$S'$
1	27,26	28,39	0,82	85,83	89,37	2,58
2	27,75			87,37		
3	28,98			91,24		
4	28,88			90,93		
5	29,06			91,49		

Tab.21: Adhezivita polyesteru 5P plastifikovaného 20 % EP

Měření č.	$F_{\max}$ [N]	$\varnothing F_{\max}$ [N]	s	F/S [mN/mm <sup>2</sup> ]	$\varnothing F/S$ [mN/mm <sup>2</sup> ]	$S'$
1	24,14	25,98	1,78	76,00	81,79	5,60
2	24,19			76,16		
3	26,18			82,43		
4	27,95			88,00		
5	27,43			86,36		

### 9.1.4. Měření viskozity

Tab.22: Viskozita polyesterů při teplotě 40°C

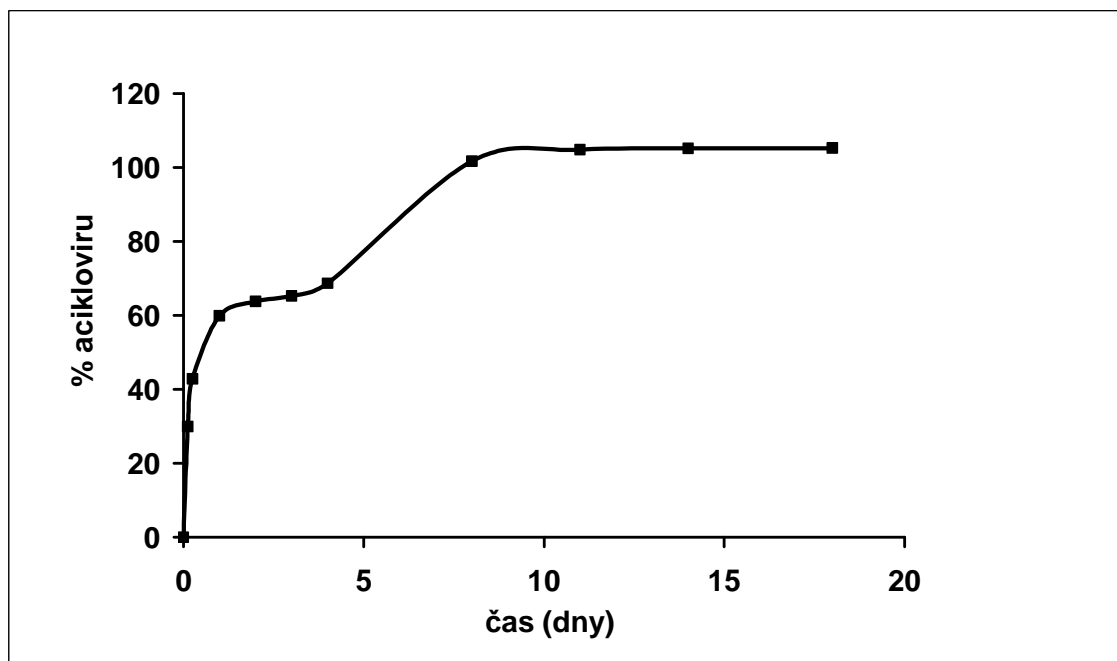
vřeteno SC4-14		1T	3T	5T	1P	3P	5P			
RPM	D [s <sup>-1</sup> ]									
0,5	0,20		323,0		76,9					
0,6	0,24		321,0		76,0					
1,0	0,40		319,7		75,8					
1,5	0,60		315,0		75,6					
2,0	0,80	412,5	313,3	65,6	75,5					
2,5	1,00	408,0	310,0	65,5	75,5					
3	1,20	405,3	307,0	65,4	75,3					
4	1,60	399,0	305,9	65,6	75,0			35,8		
5	2,00	396,9		65,8				35,8		
6	2,40	394,5		65,8				35,6		
10	4,00	392,9		65,6				35,6		
12	4,80	389,9		65,9				35,4		
20	8,00									34,8
30	12,00		34,7		6,5					
50	20,00									6,5
60	24,00									6,5
100	40,00									6,5

**průměr:    399,88    314,36    65,65    75,66    35,39    6,46**

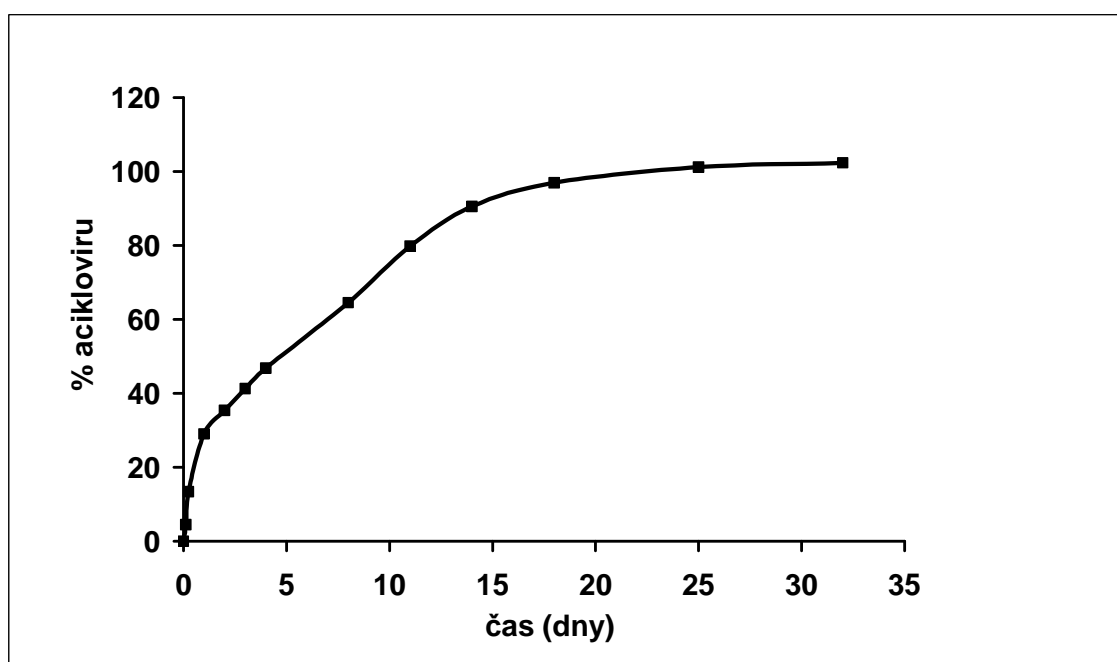
## 9.2. Grafy

### 9.2.1. Liberace acikloviru

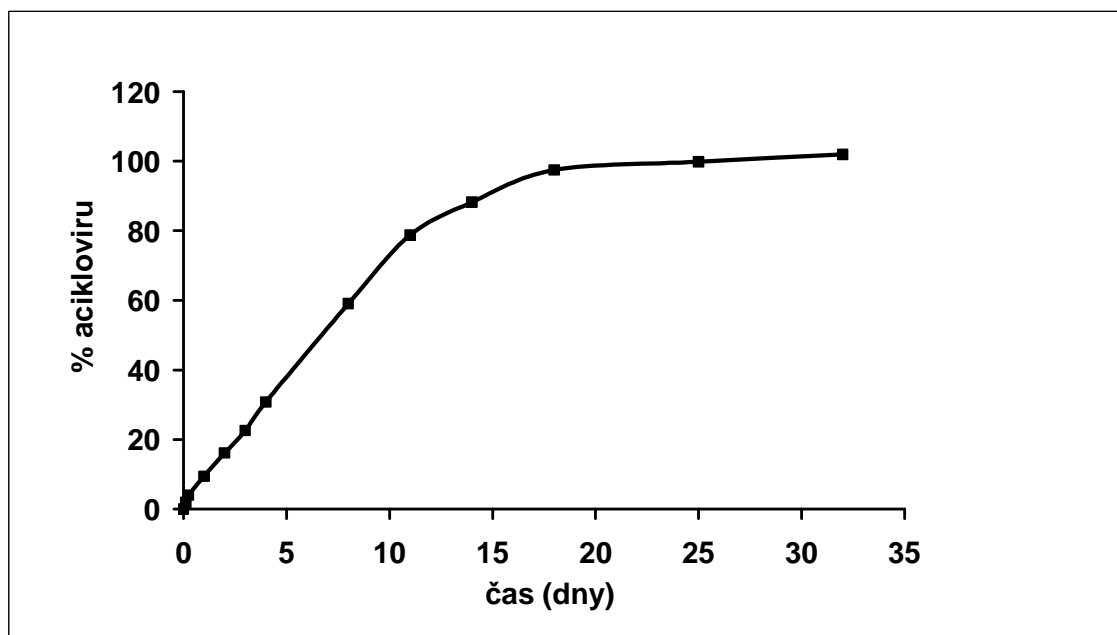
Obr.17: Liberace acikloviru z nosiče 1T plastifikovaného 20 % EP



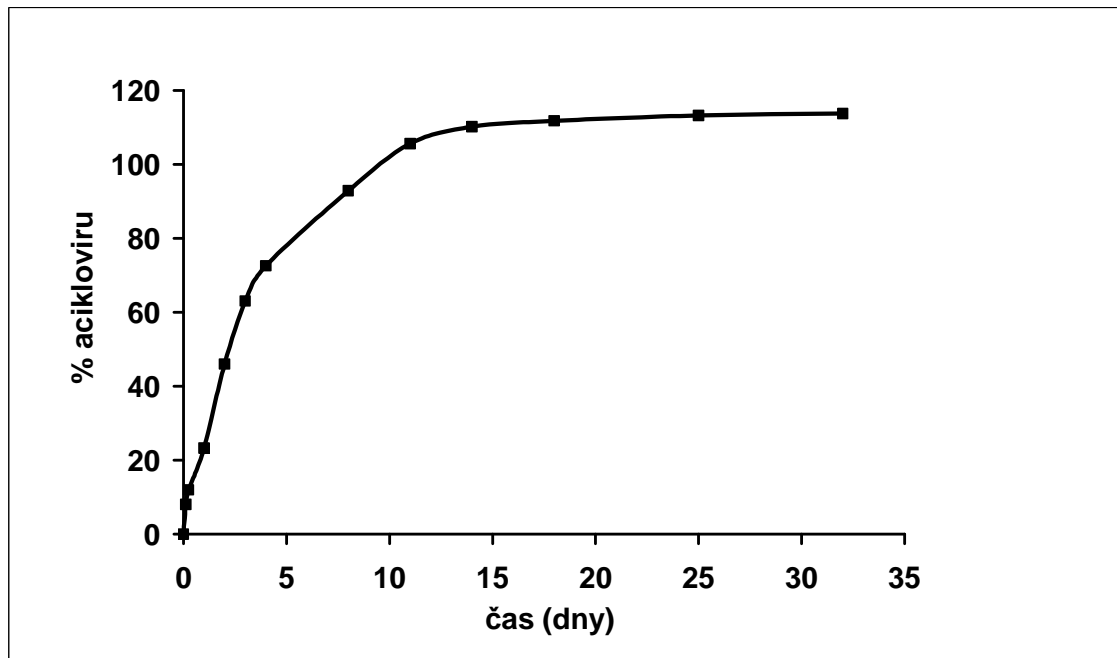
Obr.18: Liberace acikloviru z nosiče 3T plastifikovaného 20 % EP



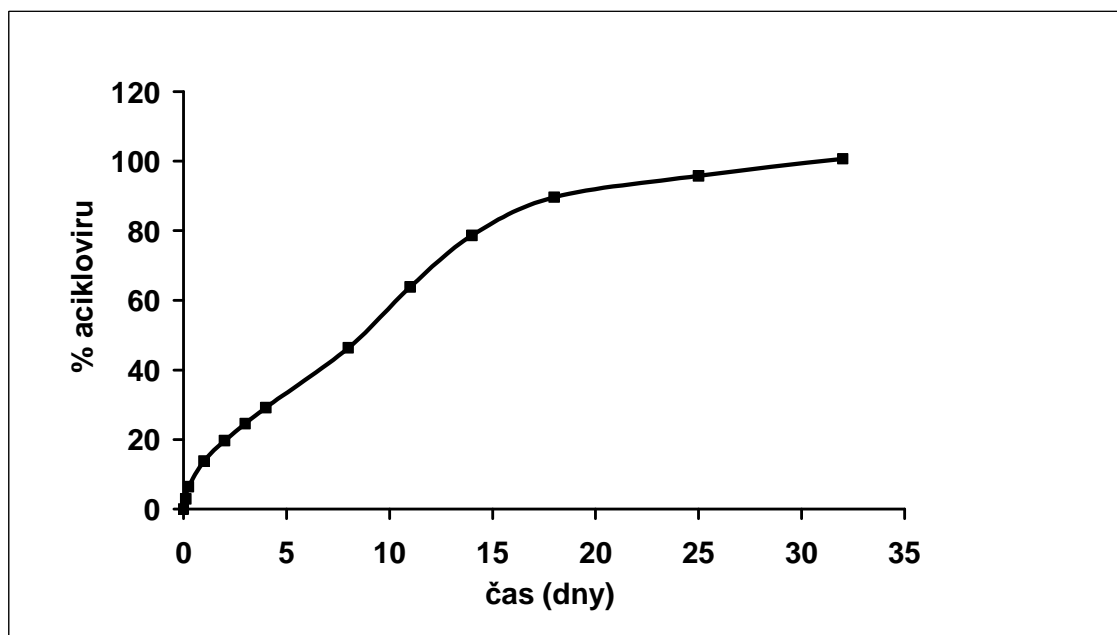
Obr.19: Liberace acikloviru z nosiče 5T plastifikovaného 20 % EP



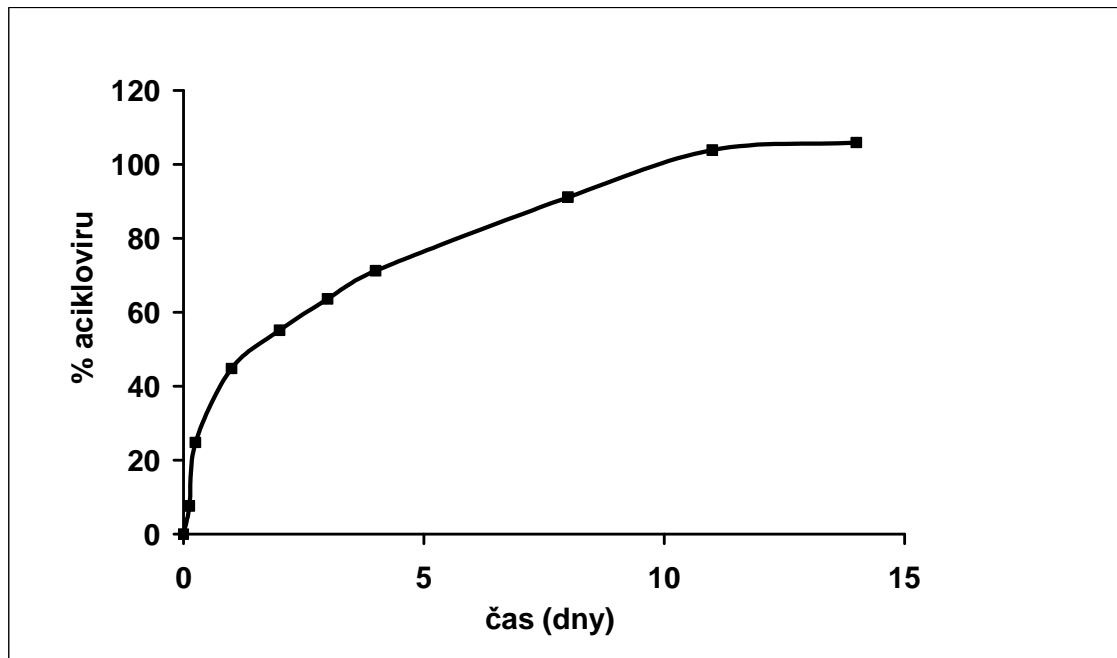
Obr.20: Liberace acikloviru z nosiče 1P plastifikovaného 20 % EP



Obr.21: Liberace acikloviru z nosiče 3P plastifikovaného 20 % EP

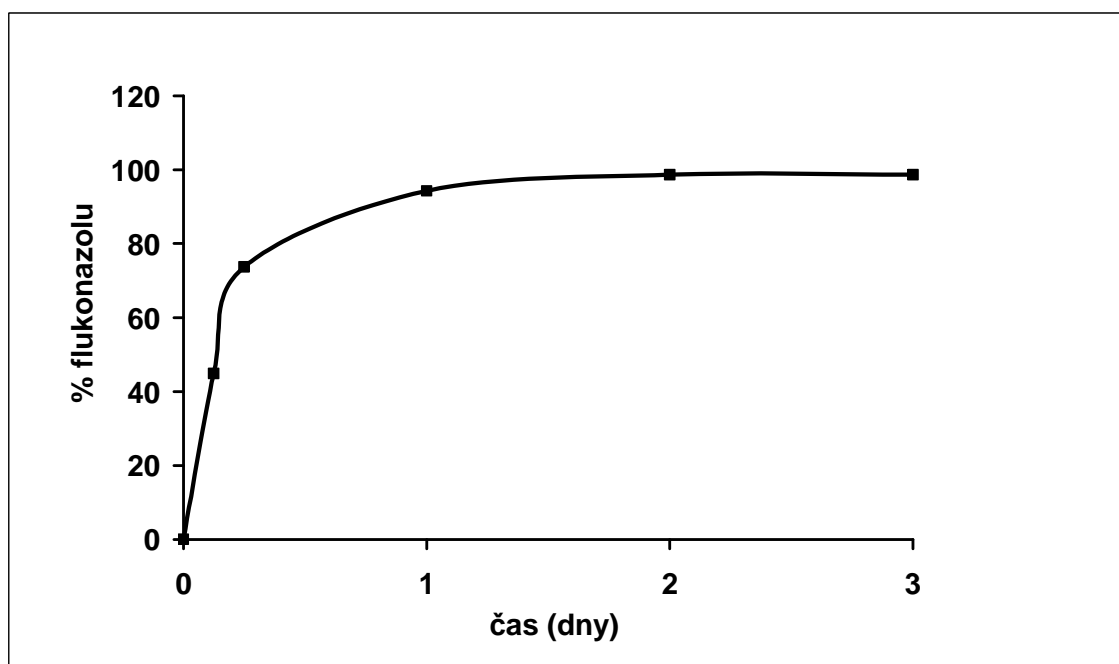


Obr.22: Liberace acikloviru z nosiče 5P plastifikovaného 20 % EP

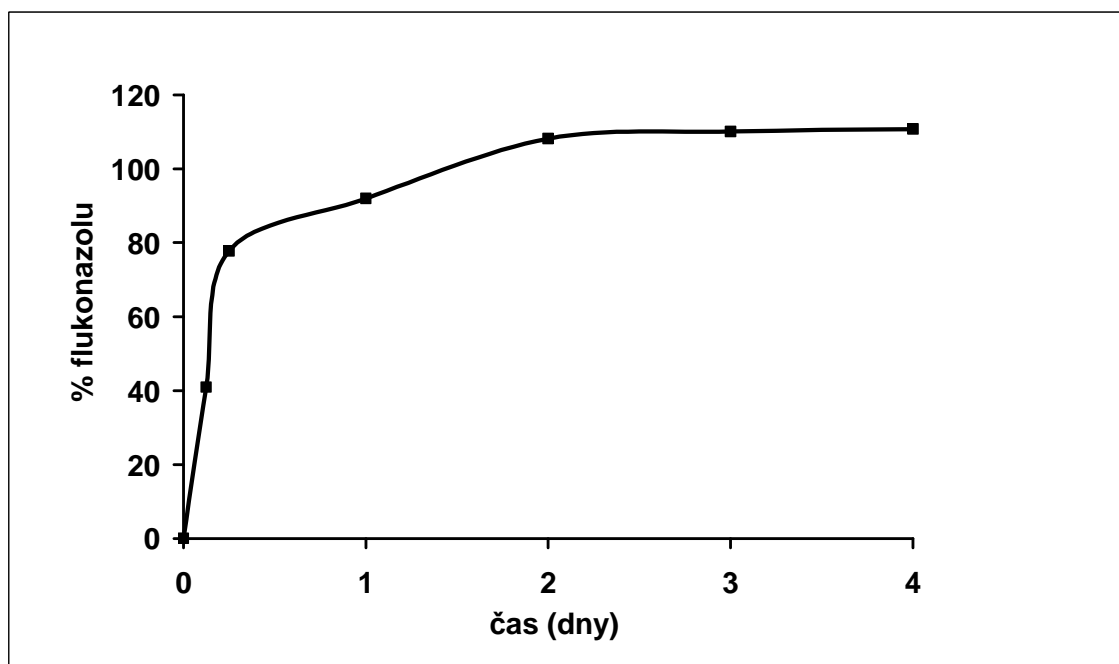


## 9.2.2. Liberace flukonazolu

Obr.23: Liberace flukonazolu z nosiče 1T plastifikovaného 20 % EP

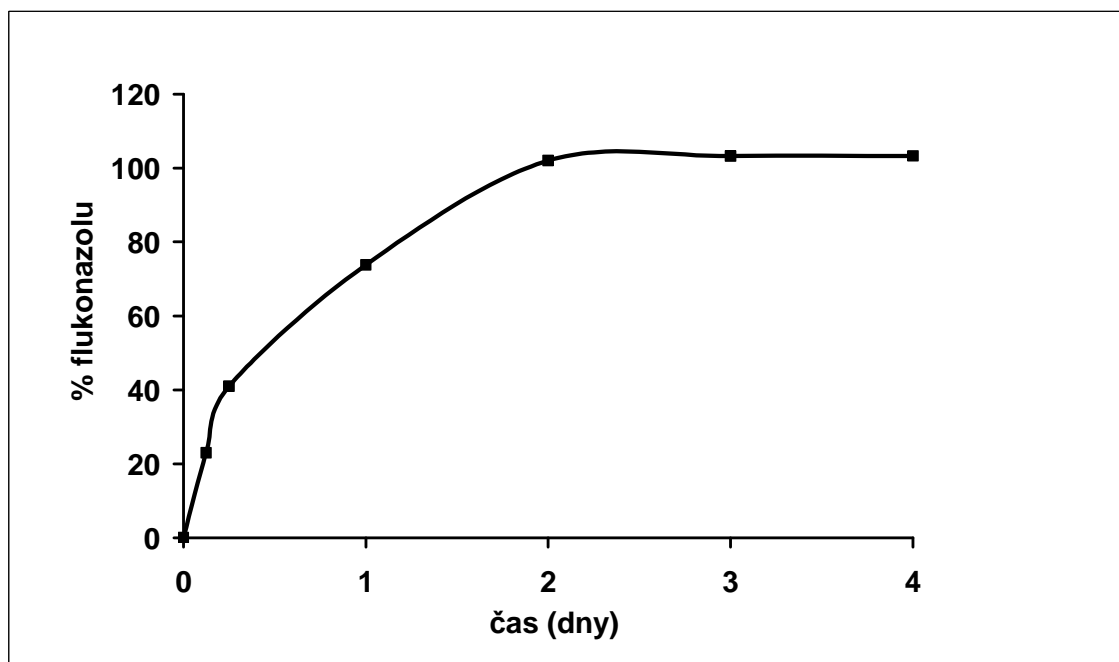


Obr.24: Liberace flukonazolu z nosiče 3T plastifikovaného 20 % EP

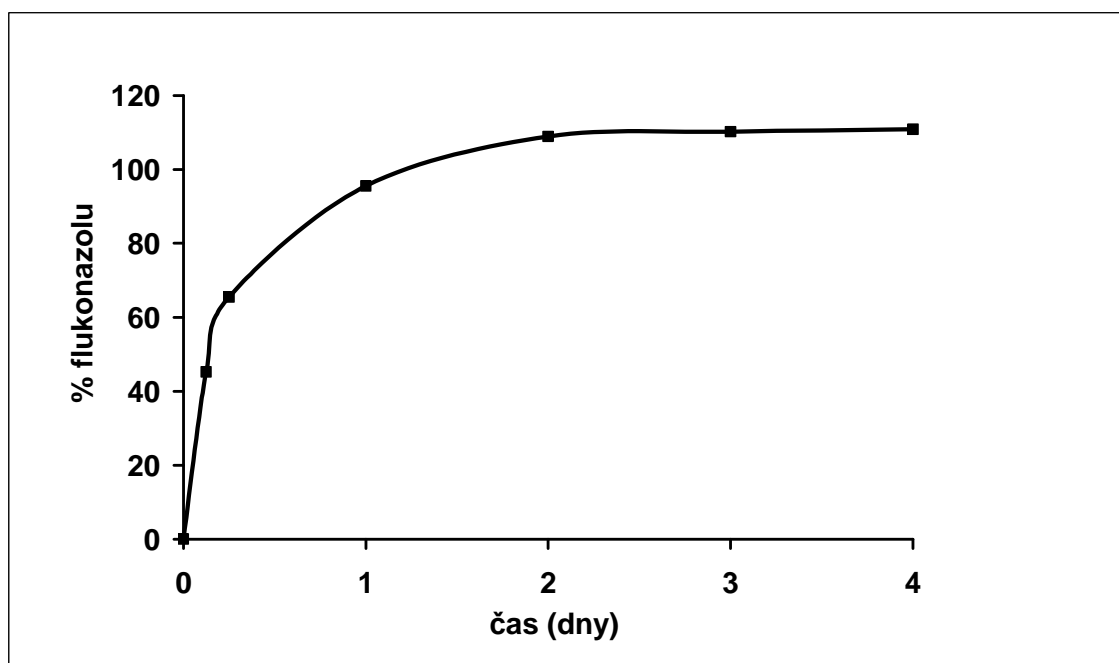




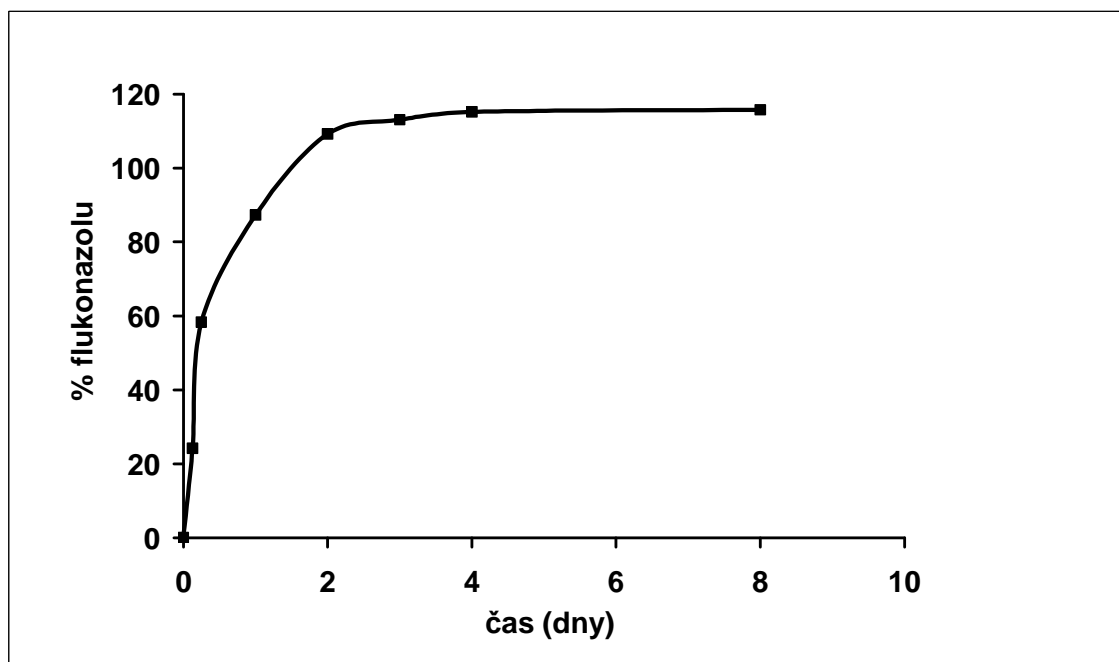
Obr.25: Liberace flukonazolu z nosiče 5T plastifikovaného 20 % EP



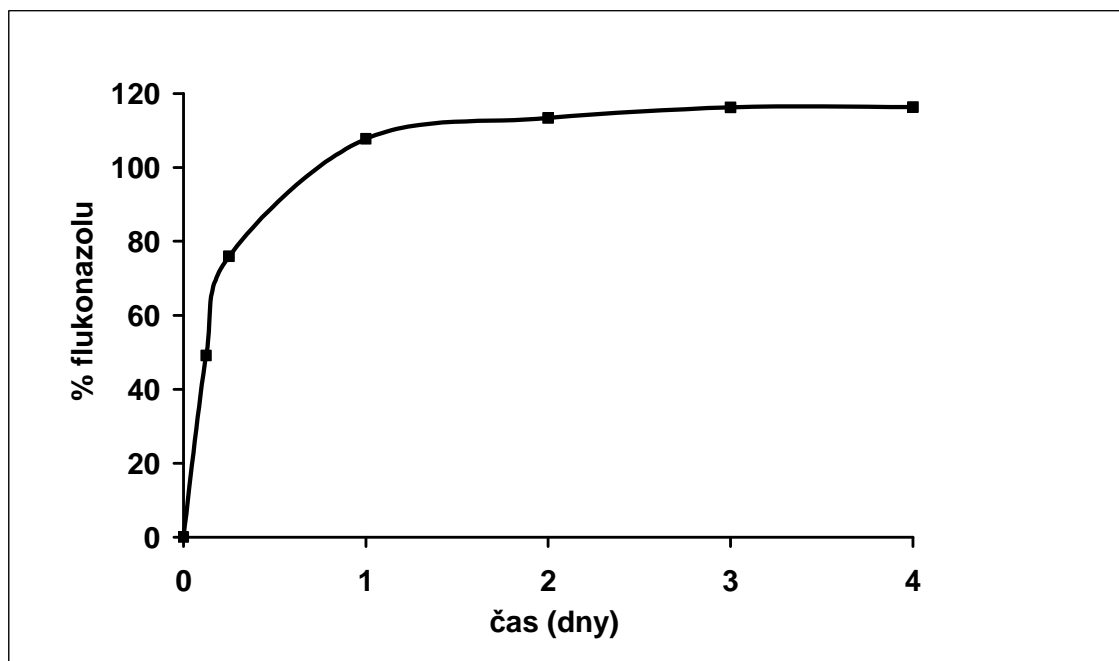
Obr.26: Liberace flukonazolu z nosiče 1P plastifikovaného 20 % EP



Obr.27: Liberace flukonazolu z nosiče 3P plastifikovaného 20 % EP

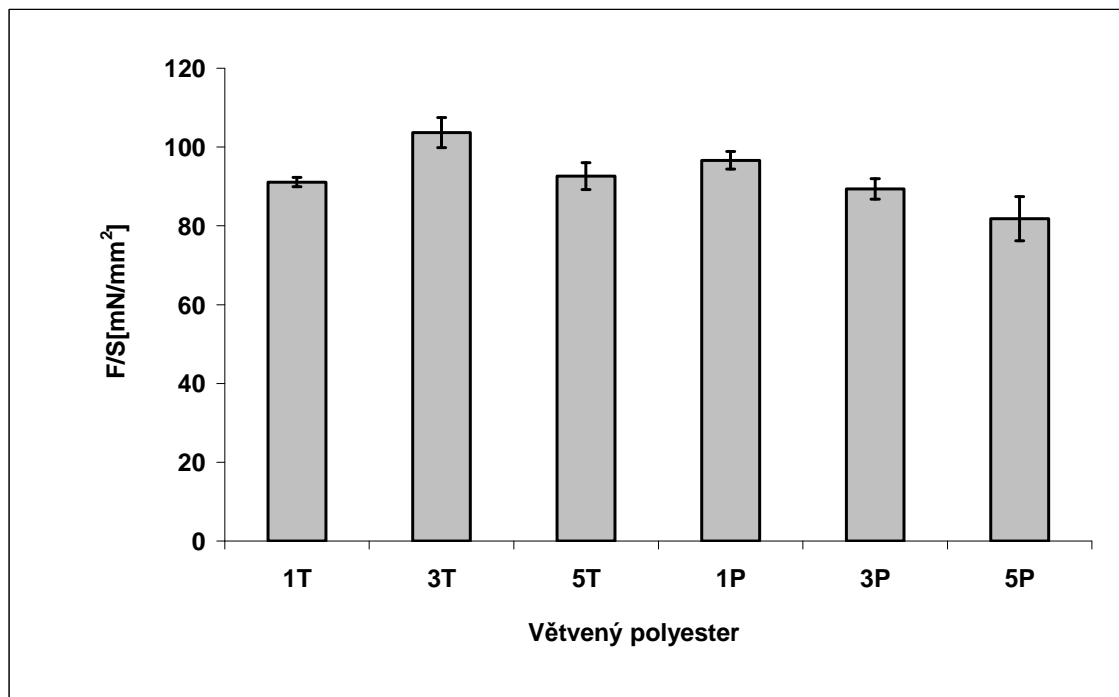


Obr.28: Liberace flukonazolu z nosiče 5P plastifikovaného 20 % EP



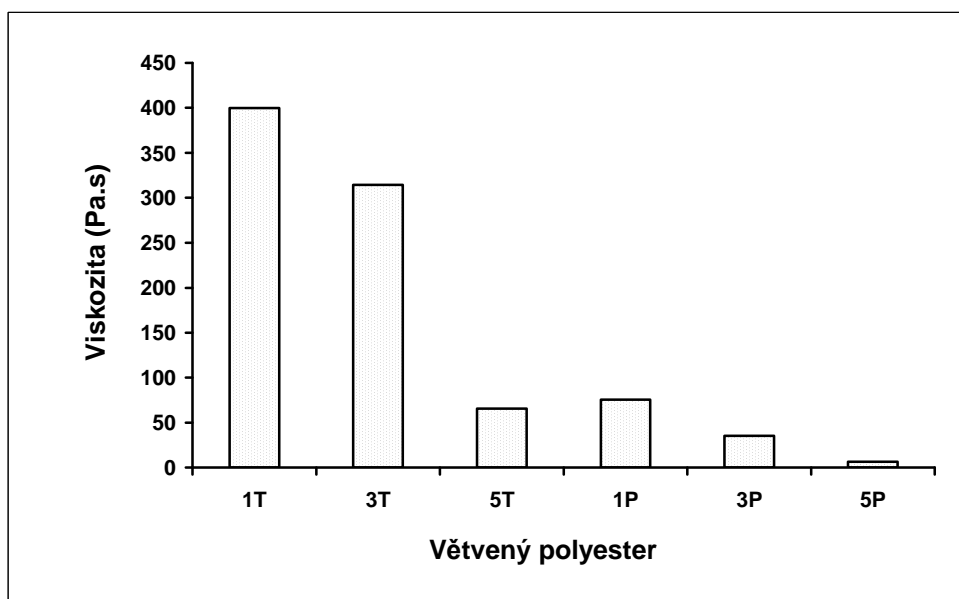
### 9.2.3. Adheze

Obr. 29: Adhezivní vlastnosti polyesterů větvených pentaerythritolem nebo tripentaerythritolem a plastifikovaných 20 % EP

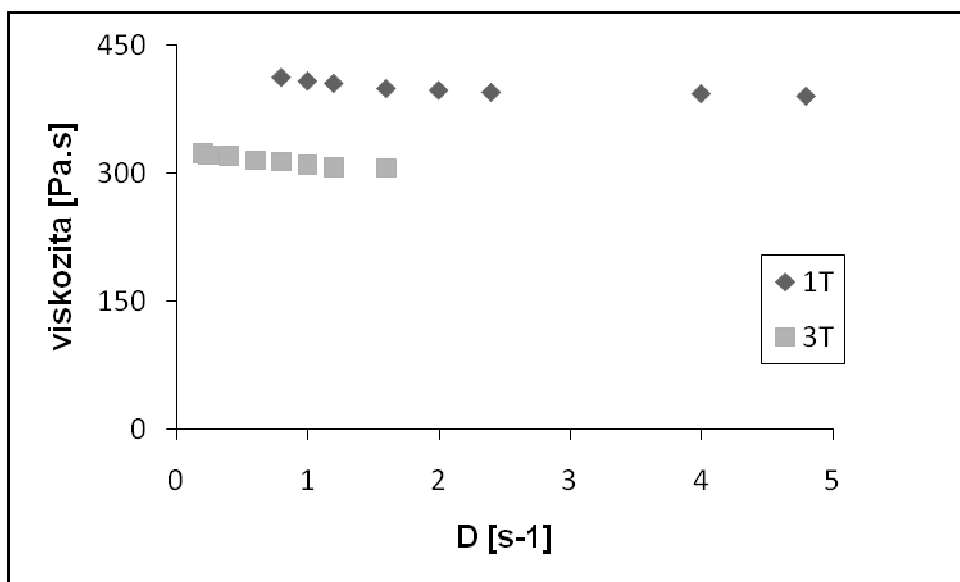


## 9.2.4. Měření viskozity

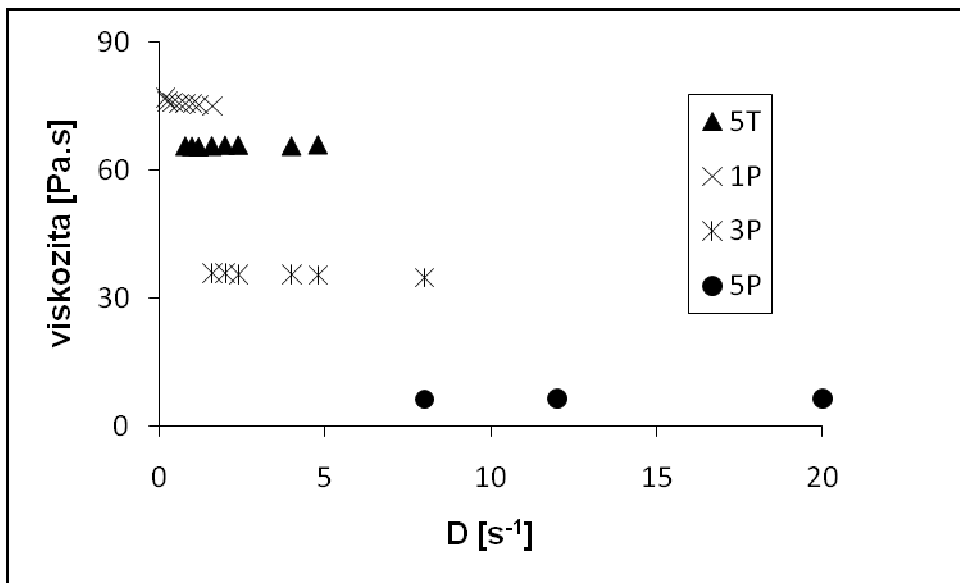
Obr. 30: Porovnání dynamické viskozity plastifikovaných polyesterů



Obr. 31: Reogramy nosičů 1T a 3T



Obr. 32: Reogramy nosičů 5T, 1P, 3P a 5P



## 10. DISKUZE

V předložené rigorózní práci byly testovány oligoestery a polyestery kyseliny glykolové a mléčné, větvené pentaerythritolem nebo tripentaerythritolem a plastifikované 20 % ethylpyruvátu. Koncentrace větvicí složky v reakční směsi při polykondenzační reakci byla 1 %, 3 % nebo 5 %. Analýzy větvených oligoesterů gelovou permeační chromatografií s on-line rozptylovým fotometrem a viskozimetrem byly provedeny v Synpo Pardubice.<sup>60</sup> Základní charakteristiky nosičů jsou shrnuty v Tab. 1.

Předpoklad, že s rostoucí koncentrací větvicí složky v reakční směsi se bude zvyšovat stupeň větvení produktů, analýzy neprokázaly. Nosiče větvené pentaerythritolem mají nižší stupeň větvení než nosiče větvené tripentaerythritolem. Zvýšením koncentrace větvicí složky z 1 % na 3 % došlo ke zvýšení stupně větvení nosičů. Ovšem zvýšením koncentrace větvicí složky ze 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. Nejvyšší stupeň větvený byl tedy zjištěn u nosiče 3T ( $g' = 0,31$ ) a dále u nosiče 3P ( $g' = 0,33$ ) viz. Tab.1

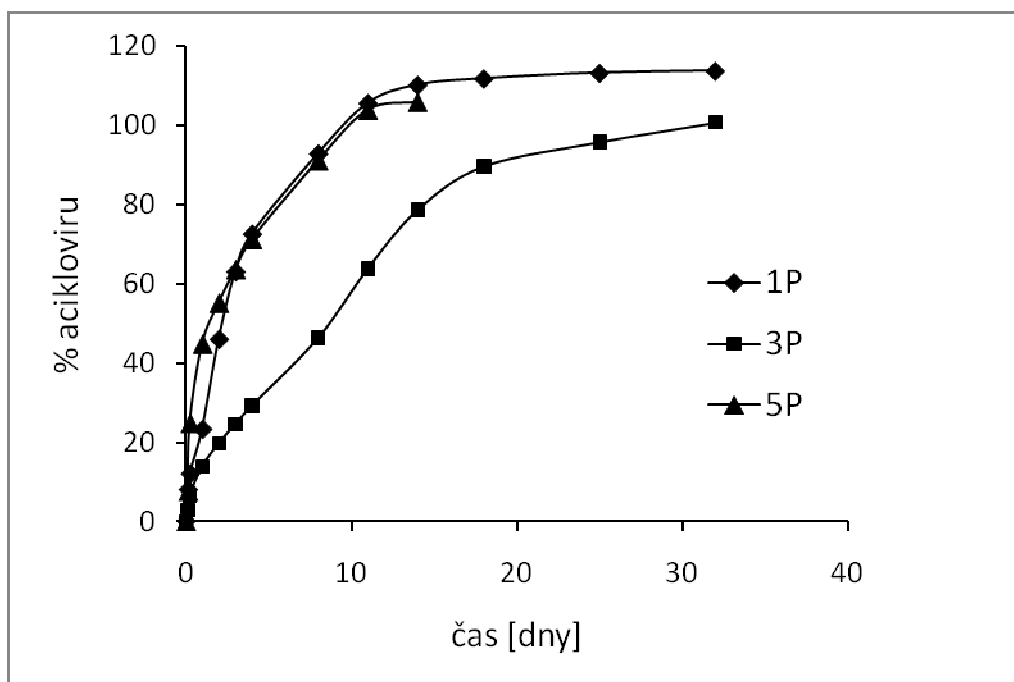
### 10.1. Liberace acikloviru z nosičů větvených pentaerythritolem

Pro zjištění průběhu liberace léčiv z testovaných nosičů byl zvolen statický disoluční test při 37 °C; fosfát citrátový pufr pH 7,0 byl použit jako disoluční médium. Porovnání průběhu liberace acikloviru z nosičů větvených pentaerythritolem je na Obr. 31. Nosič 5P (5 % pentaerythritolu v reakční směsi při polykondenzaci) má ze všech testovaných nosičů nejnižší molární hmotnost  $M_w = 2700$  g/mol a nejnižší stupeň větvení, vyjádřený jako větvicí poměr  $g' = 0,61$ . Liberace acikloviru z tohoto nosiče byla nejrychlejší. Aciklovir se uvolnil během 11 dnů, jednodenní burst (množství léčiva uvolněného za 24 hod) byl 45 %. Po něm následovala první a rychlejší lineární fáze liberace, 4. den došlo ke zpomalení liberace a poté uvolnění zbylé části acikloviru opět konstantní rychlostí (Obr. 32).

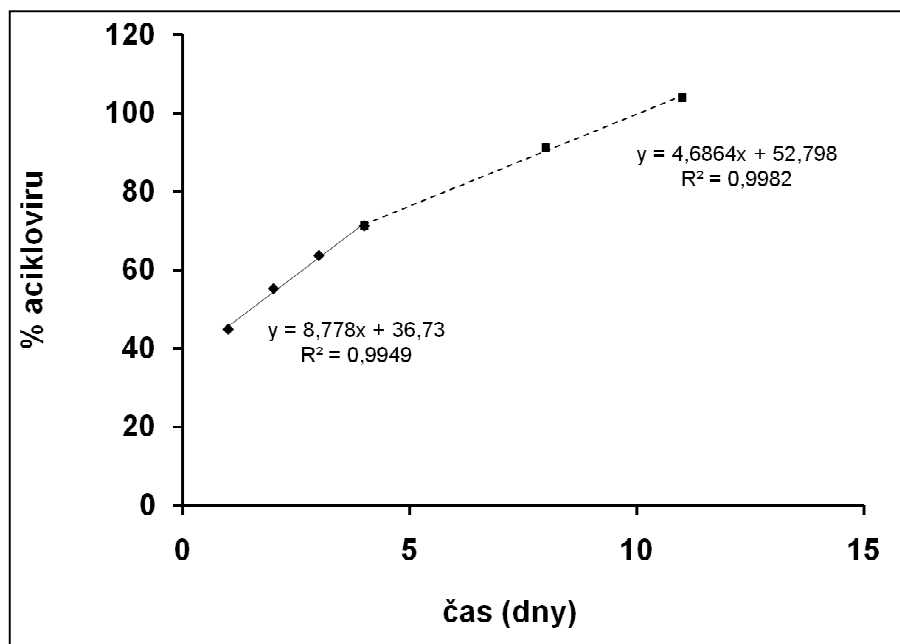
Nosič 1P má molární hmotnost ( $M_w = 8400$  g/mol) vyšší než nosič 5P, ale větvicí poměr ( $g' = 0,59$ ) srovnatelný. Liberace acikloviru z nosiče 1P byla pomalejší než z nosiče 5P pouze v časovém úseku 6 hodin až 2 dny. Další průběh liberace byl stejný.

Nosič 3P má z nosičů větvených pentaerythritolem nejvyšší molární hmotnost ( $M_w = 12700 \text{ g/mol}$ ) i nejvyšší stupeň větvení ( $g' = 0,33$ ). Liberace acikloviru po přijatelném jednodenním burstu ve výši 13 % probíhala do 14. dne konstantní rychlostí (Obr. 33), poté došlo ke zpomalení liberace. Celková doba liberace acikloviru z nosiče 3P byla 32 dnů.

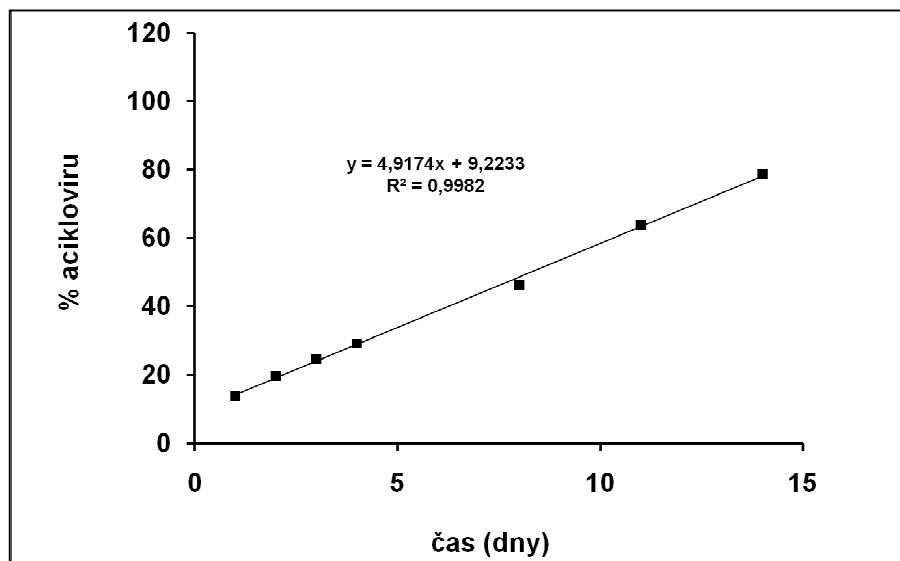
Obr. 31: Porovnání průběhu liberace acikloviru z nosičů větvených pentaerythritolem



Obr. 32: Lineární fáze liberace acikloviru z nosiče 5P



Obr. 33: Lineární fáze liberace acikloviru z nosiče 3P

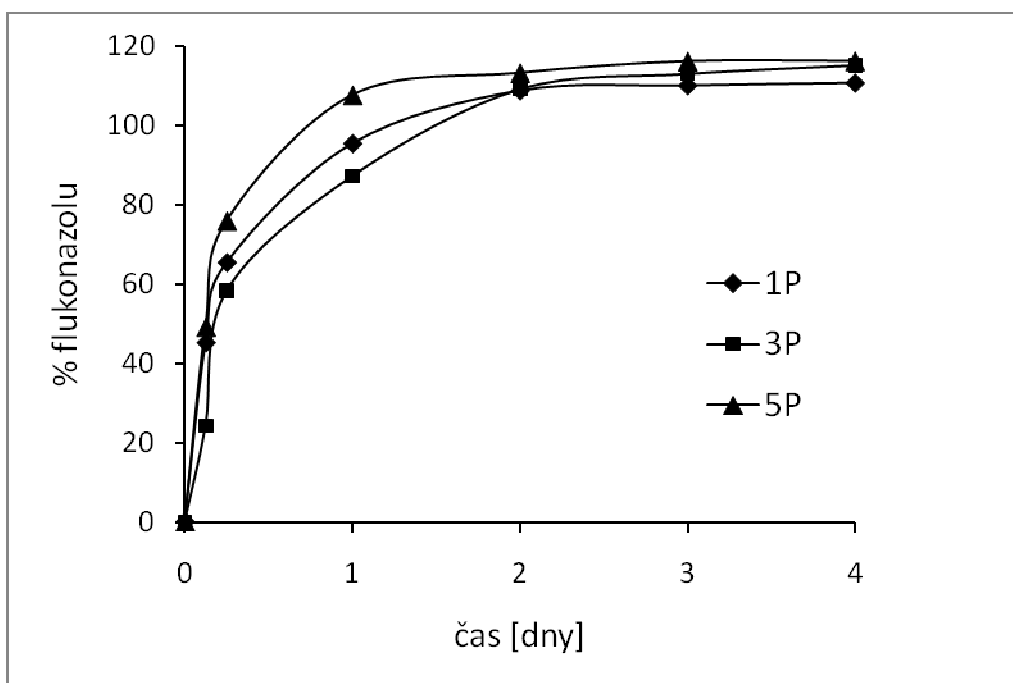




## 10.2. Liberace flukonazolu z nosičů větvených pentaerythritolem

Porovnání průběhu liberace flukonazolu z nosičů větvených pentaerythritolem je na Obr. 34. Rychlost liberace závisela na jejich molární hmotnosti. Z nosiče 5P s nejnižší molární hmotností se za 3 hodiny uvolnila polovina inkorporovaného flukonazolu, z nosiče 1P 45 % a z nosiče 3P s nejvyšší molární hmotností 25 % léčiva. Celková doba liberace flukonazolu z nosiče 5P byla 1 den, z nosičů 1P a 3P se flukonazol uvolnil za 2 dny.

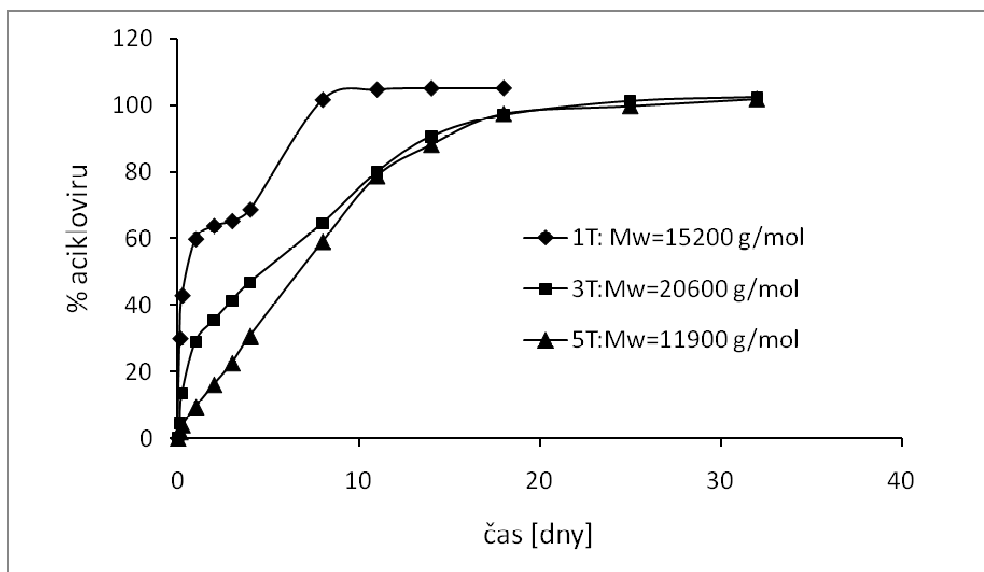
Obr. 34: Porovnání průběhu liberace flukonazolu z nosičů větvených pentaerythritolem



## 10.3. Liberace acikloviru z nosičů větvených tripentaerythritolem

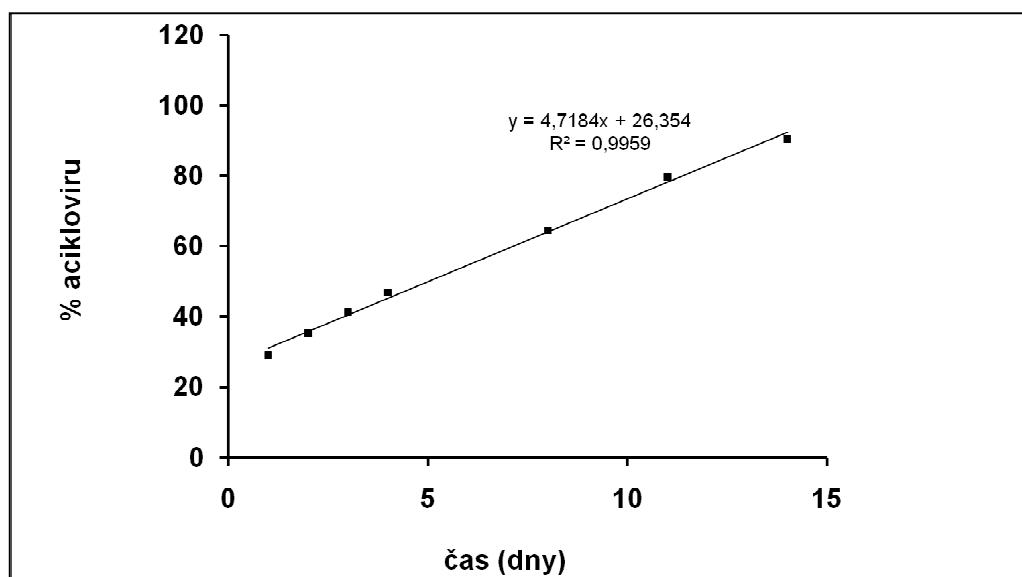
Kromě nosiče 5T, který má molární hmotnost srovnatelnou s nosičem 3P, mají nosiče větvené tripentaerythritolem vyšší molární hmotnosti než nosiče větvené pentaerythritolem (Tab. 1). Svými molárními hmotnostmi, převyšujícími 10 000 g/mol, se řadí mezi polyestery. Přímá závislost mezi molární hmotností a rychlostí liberace acikloviru jako u nosičů větvených pentaerythritolem nebyla zjištěna (Obr. 35).

Obr. 35: Porovnání průběhu liberace acikloviru z nosičů větvených tripentaerythritolem

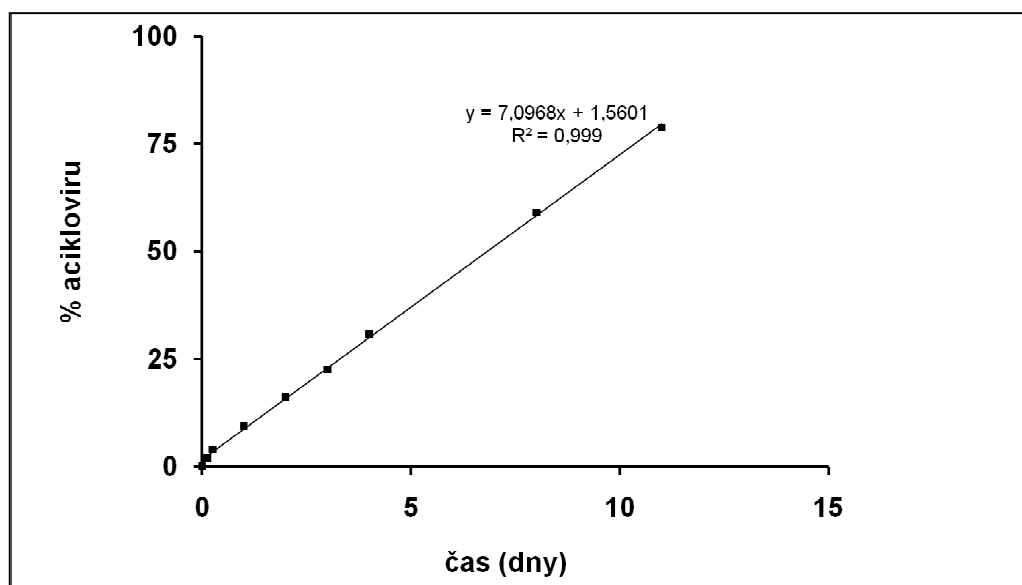


Liberace acikloviru z nosiče 1T měla třífázový průběh. Zpočátku rychlá liberace 60 % léčiva za 24 hodin se v druhé fázi zpomalila; v časovém intervalu 1 den až 4 dny se uvolnilo pouze necelých 10 % léčiva. Za další 4 dny se uvolnil zbytek acikloviru. Významně pomalejší liberace acikloviru s lineární střední fází byla zjištěna u nosiče 3T. Jednodenní burst byl poloviční (cca 30 %), v intervalu od 1. dne do 14. dne se kinetikou 0. řádu uvolnilo 60 % léčiva (Obr. 36) a celková doba liberace byla 32 dnů. Rovnoměrný průběh liberace acikloviru byl zjištěn u nosiče 5T (Obr. 37). Na počátku nebyl pozorován žádný burst efekt. Po dobu 11 dnů se kinetikou 0. řádu uvolnilo téměř 80 % léčiva.

Obr. 36: Lineární fáze liberace acikloviru z nosiče 3T



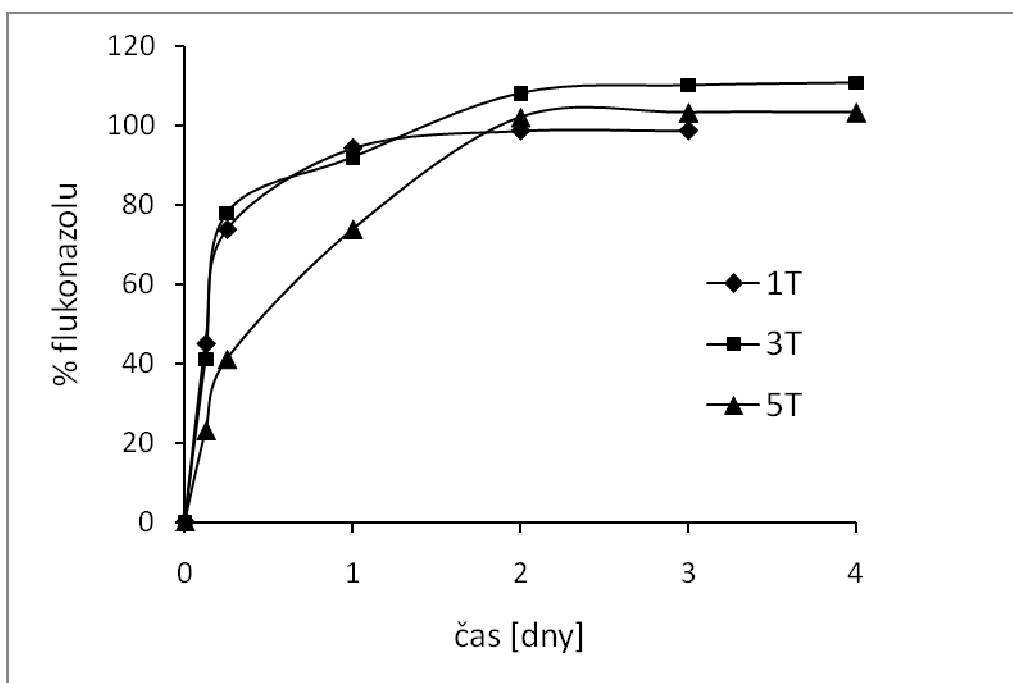
Obr. 37: Lineární fáze liberace acikloviru z nosiče 5T



## 10.4. Liberace flukonazolu z nosičů plastifikovaných tripentaerythritolem

Liberace flukonazolu z nosičů plastifikovaných tripentaerythritolem je porovnána na Obr. 37. Ani zde nelze konstatovat lineární závislost mezi molární hmotností a rychlostí liberace. Doba liberace byla 2 dny, průběh liberace z nosičů 1T a 3T byl shodný. Z nosiče 5T se flukonazol uvolňoval výrazně pomaleji.

Obr. 37: Porovnání průběhu liberace flukonazolu z nosičů větvených tripentaerythritolem

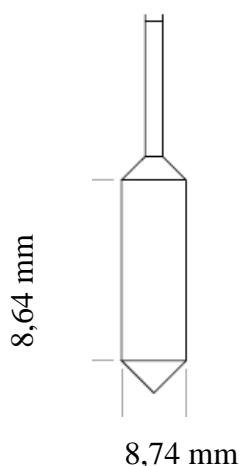


## 10.5. Viskozita plastifikovaných nosičů

Viskozita polyesterů větvených pentaerythritolem nebo tripentaerythritolem a plastifikovaných 20 % ethylpyruvátu byla měřena v Brookfieldově digitálním viskozimetru typu DV-E s adaptérem pro malé množství vzorků při teplotě 40°C. K měření bylo použito vřeteno č.14. V závislosti na viskozitě byly vzorky měřitelné vždy v určitém rozsahu otáček vřetene (Tab. 22).

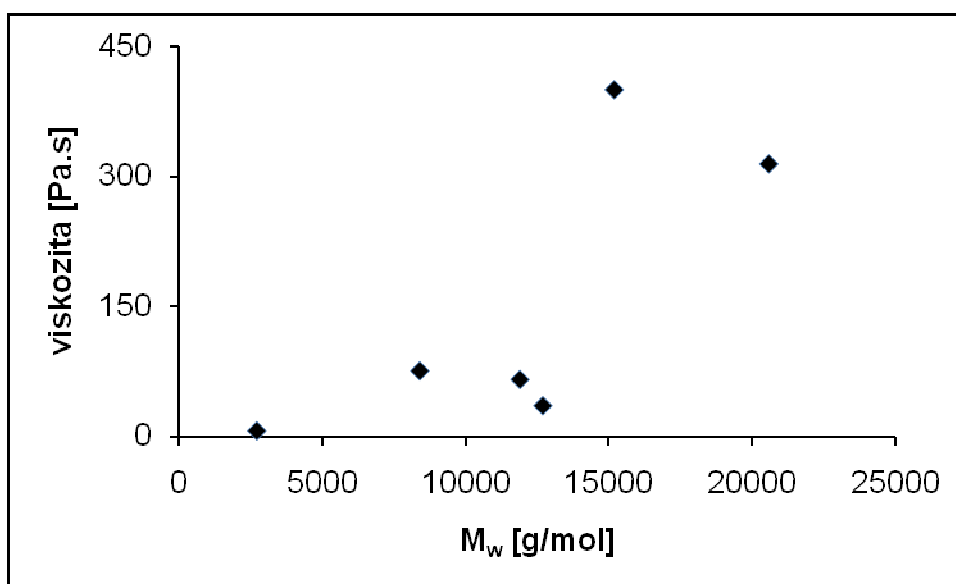
Při použití adaptéru pro malé množství vzorku s komorou pro umístění vzorku a vřetenem ze série SC4 je přesně definována geometrie měřicího setu, je tedy možné převést rychlost otáčení vřetene v ot/min na hodnoty rychlostního spádu  $D$  [ $s^{-1}$ ].<sup>47</sup> Konkrétně pro vřeteno 14 platí převodní vztah  $0,40 \times N$ , kde  $N$  je rychlost otáčení vřetene v ot/min.

Obr. 33: Rozměry vřetene SC4-14<sup>47</sup>



Z hodnot viskozity v Tab. 22 vyplývá, že nosiče plastifikované 20 % ethylpyruvátu jsou newtonské soustavy, jejichž viskozita se s rostoucím rychlostním spádem prakticky nemění. Pokud hodnota viskozity s rostoucím rychlostním spádem klesala, jednalo se o pokles max. 5 %. Plastifikované nosiče 1T a 3T mají výrazně vyšší viskozitu než ostatní testované nosiče, a to z důvodu své vysoké molární hmotnosti, převyšující 15000 g/mol. Nejnížší hodnota viskozity byla zjištěna u nosiče 5P s nejnížší molární hmotností. Lineární vztah mezi viskozitou a molární hmotností však zjištěn nebyl (Obr. 34).

Obr. 34: Vztah mezi molární hmotností a viskozitou plastifikovaných nosičů



Hlavní funkcí plastifikátoru je zlepšení zpracovatelnosti, snížení křehkosti a zvýšení mechanické odolnosti polymeru. Plastifikátory solvatují celé molekuly i funkční skupiny polymeru, dochází k zvětšení vzdálenosti mezi molekulami, čímž se částečně snižuje reaktivita a oslabují se intermolekulární síly. Dochází k výraznému snížení teploty skelného přechodu a teploty tečení, snížení krystalinity a zmenšení krystalů. V chemickém průmyslu se používá velké množství různých plastifikátorů, ale pouze několik jich je schváleno pro farmaceutické použití.

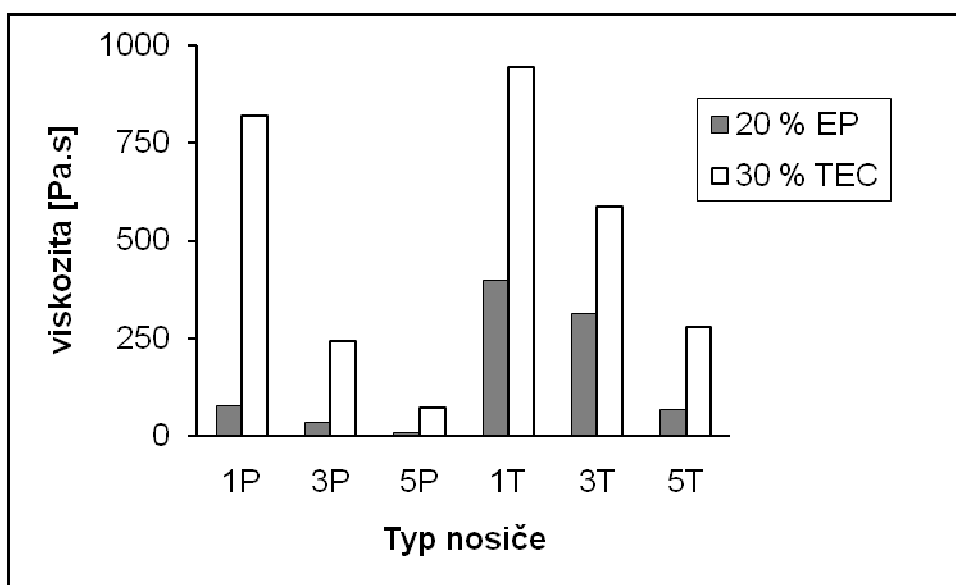
Ve farmaceutické technologii se jako plastifikátory používají málo těkavé estery s molekulární hmotností 200 až 400  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$  a teplotou varu 300 - 400  $^{\circ}\text{C}$ , diestery odvozené buď od dikarboxylových kyselin (např. kyseliny sebakové, kyseliny azealové), nebo od ethylenglykolu či propylenglykolu, triestery odvozené od kyseliny fosforečné, citronové (tributylcitrát, triethylcitrát) nebo glycerolu (triacetin, tributyrin). Funkci plastifikátoru má rovněž strukturální voda ve zbotnalém polymeru. Správný výběr typu a koncentrace plastifikátoru zajišťuje požadovaný průběh a dobu degradace polymerního nosiče a uvolňování inkorporovaného léčiva.

Ve funkci plasifikátoru větvených oligoesterů a polyesterů byly v rámci diplomových a rigorózních prací dosud testovány triethylcitrát, methylsalicylát, ethylsalicylát a hexylsalicylát, triacetin, tributyrin, tricapylin a tributyl O-acetylcitrát.<sup>61</sup>

Nejčastěji se používal triethylcitrát v koncentraci 30 %. Jedná se o běžně používaný plastifikátor polymerů, jehož výhodou je neškodnost prověřená dlouhodobým používáním a vysoká účinnost při snižování teploty skelného přechodu alifatických oligoesterů.<sup>63, 64</sup> TEC je mísitelný s většinou oligoesterových nosičů a může být použit téměř bez omezení.

Byla porovnána účinnost plastifikace 20 % ethylpyruvátu a 30 % triethylcitrátu, který byl použit u stejných nosičů v rigorózní práci Bacílkové (Obr. 35) (odkaz –viz. níže u názvu Obr.). Viskozita polyesterů větvených pentaerythritolem a tripentaerythritolem je přídatkem 20 % ethylpyruvátu snížena dvojnásobně (u nosiče 3T) až desetinásobně (1P, 5P) v porovnání s plastifikací 30 % triethylcitrátu. I v nižší koncentraci se jako účinnější plastifikátor, posuzováno z hlediska snížení viskozity, ukázal ethylpyruvát.

Obr. 35: Porovnání viskozity nosičů plastifikovaných 20 % ethylpyruvátu a 30 % triethylcitrátu<sup>65</sup>

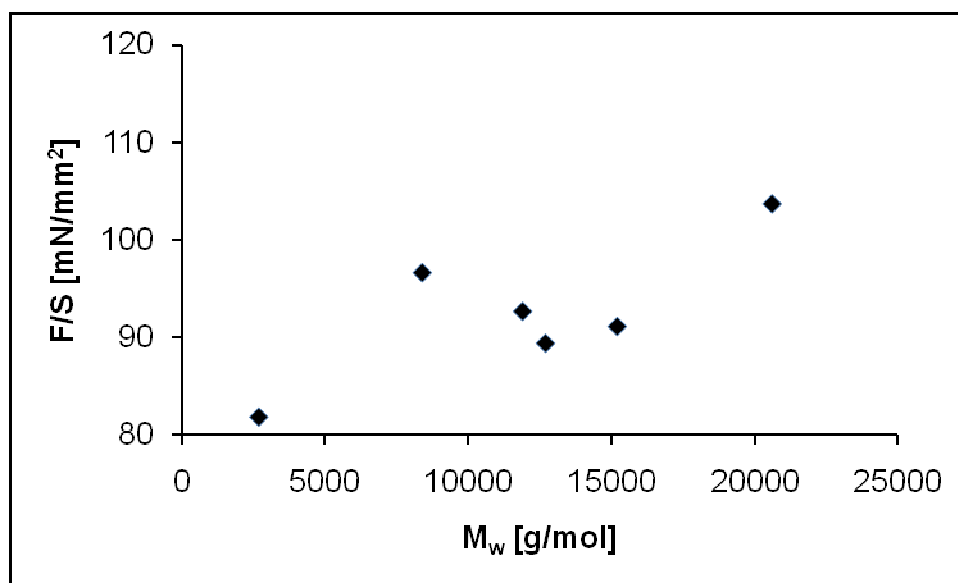


## 10.6. Adhezivní vlastnosti nosičů větvených pentaerythritolem nebo tripentaerythritolem a plastifikovaných 20 % ethylpyruvátu

Byla měřena maximální síla  $F_{\max}$  potřebná k odtržení plastifikovaného větveného polyesteru od modelového substrátu tvořeného mucinem z prasečích žaludků. Doba kontaktu byla nastavena na 120 s, zatížení 5 N, horní plocha (se vzorkem) se odtrhla rychlostí 100 mm/min. Od každého vzorku byla provedena série pěti zkoušek, vypočtena průměrná síla adheze a směrodatná odchylka. Síla  $F_{\max}$  se přepočítala na velikost kontaktní plochy ( $d = 20,11$  mm) pro možnost porovnání s výsledky adhezivních testů realizovaných při jiné velikosti kontaktní plochy (Tab. 16 – 21).

Nejvyšší adhezivní síla byla zjištěna u nosiče 3T, který má nejvyšší molární hmotnost a nejnižší adhezivní síla u nosiče 5P s nejnižší molární hmotností (Obr. 29). Lineární závislost mezi adhezivní silou a molární hmotností nosičů však zjištěna nebyla (Obr. 36).

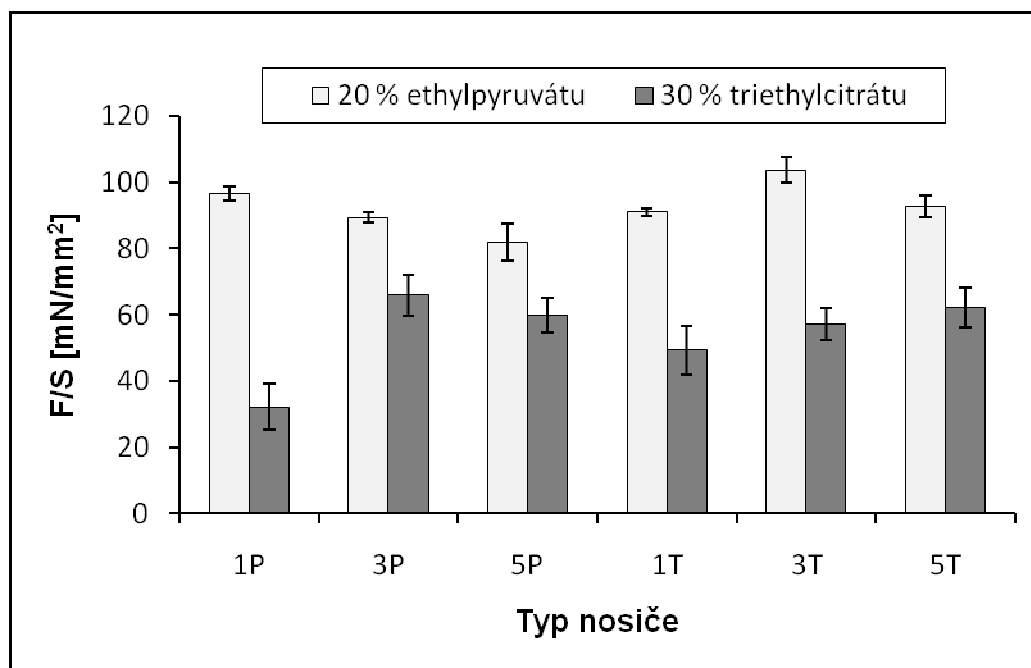
Obr. 36: Vztah mezi molární hmotností a adhezivitou plastifikovaných nosičů větvených pentaerythritolem nebo tripentaerythritolem





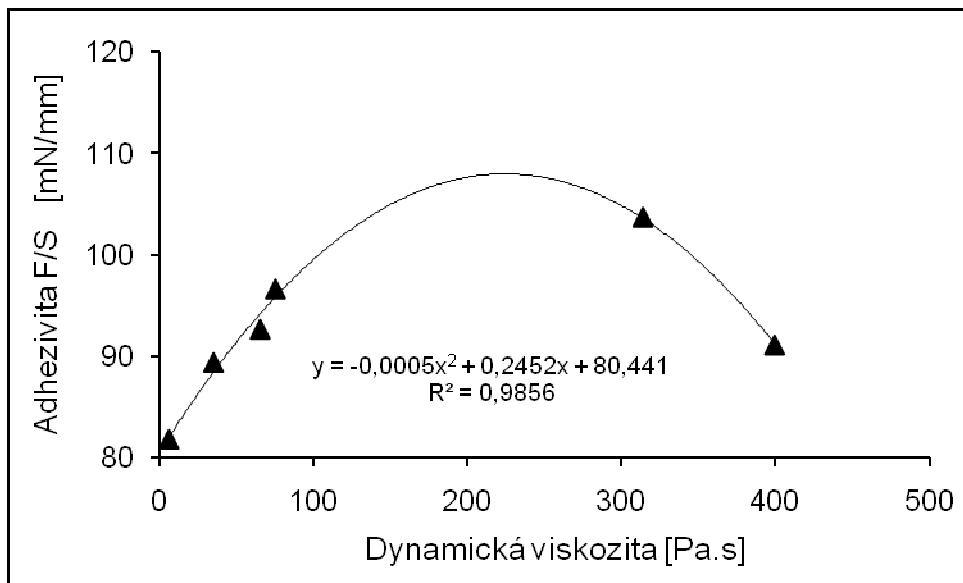
Byla porovnána adhezivita nosičů plastifikovaných 30 % triethylcitrátu<sup>65</sup> s adhezivitou nosičů plastifikovaných 20 % ethylpyruvátu (Obr. 37). Vyšší adhezivitu vykazují nosiče plastifikované 20 % ethylpyruvátu.

Obr. 37: Porovnání adhezivní síly nosičů plastifikovaných 20 % ethylpyruvátu a nosičů plastifikovaných 30 % triethylcitrátu.



Plastifikované nosiče představují viskózní soustavy, jejichž adhezi k substrátu lze vysvětlit pomocí teorie smáčení. Tyto soustavy jsou adhezivní díky své schopnosti rozprostřít se po povrchu substrátu a vytvořit s ním těsný kontakt. Adhezivní vlastnosti viskózních soustav jsou tedy významně ovlivněny hodnotou jejich dynamické viskozity. S klesající hodnotou dynamické viskozity roste schopnost polymeru rozprostřít se po substrátu, a tím se adhezivní síla zvyšuje. Soustavy s extrémně nízkou dynamickou viskozitou, ať již díky jejich vlastnostem, jako je molární hmotnost a stupeň větvení, nebo díky vysoké plastifikaci či nízké koncentraci polymeru v systému, vykazují nízké hodnoty adhezivní síly. Soustavy s extrémně vysokou hodnotou viskozity nemají schopnost se po substrátu rozprostřít a přilnout k němu. Adhezivní síla nelze změřit. Existuje tedy vždy určitý rozsah hodnot dynamické viskozity, při kterých je adhezivní síla optimální (Obr. 38).

Obr. 38: Vztah mezi adhezivitou a viskozitou



## 11. ZÁVĚRY

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

1. Rychlost liberace léčiva z testovaných nosičů závisí na jejich molární hmotnosti a stupni větvení. Nejrychleji proběhla liberace obou léčiv u nosiče 5P, který má ze všech testovaných nosičů nejnižší molární hmotnost a nejnižší stupeň větvení.
2. Nosiče plastifikované 20 % ethylpyruvátu jsou newtonské soustavy, jejichž viskozita se s rostoucím rychlostním spádem prakticky nemění. Plastifikované nosiče 1T a 3T mají výrazně vyšší viskozitu než ostatní testované nosiče, a to z důvodu vysoké molární hmotnosti.
3. Adhezivní vlastnosti byly zjištěny u všech testovaných polyesterů. Nejvyšší adhezivní síla byla zjištěna u nosiče 3T, který má nejvyšší molární hmotnost. Lineární závislost mezi adhezivní silou a molární hmotností nosičů však zjištěna nebyla.

## 12. SEZNAM LITERATURY

---

- <sup>1</sup> DOLEŽALOVÁ, K. Oligoestery větvené dipentaerythritolem jako adhezivní nosiče léčiv. *Diplomová práce*. Hradec Králové: Farmaceutická fakulta UK, 2010. s. 66.
- <sup>2</sup> KAPIASOVÁ, J.: Oligoesterové matrice s protimikrobními látkami II. *Diplomová práce*. Hradec Králové: Farmaceutická fakulta UK, 2006. s. 61.
- <sup>3</sup> PRAISLEROVÁ, D. Oligoestery větvené pentaerythritolem a tripentaerythritolem jako adhezivní nosiče léčiv. *Diplomová práce*. Hradec Králové: Farmaceutická fakulta UK, 2010. s. 77.
- <sup>4</sup> TŘEŠŇÁKOVÁ, J.: Vlastnosti oligoesterových nosičů plastifikovaných 10 % triethylcitrátu. *Diplomová práce*. Hradec Králové: Farmaceutická fakulta UK, 2009. s. 58.
- <sup>5</sup> HENRIKSEN, I., GREEN, K. and SMART, J., *et al.* Bioadhesion of hydrated chitosans: an in vitro and in vivo study. *Int. J. Pharm.*, December 1996, vol. 145, p. 231–240.
- <sup>6</sup> SMART, J. D. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv. Drug Del. Rev.*, September 2005, vol. 57, p. 1556–1568.
- <sup>7</sup> BANSIL, R. and TURNER, B. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 2006, vol. 11, p. 164–170.
- <sup>8</sup> CAPRA, R., BARUZZI, A. and QUINZANI, L., *et al.* Rheological, dielectric and diffusion analysis of mucin/carbopol matrices used in amperometric biosensors. *Sens. Actuat. B*, 2007, vol. 124, p. 466–476.
- <sup>9</sup> ANDREWS, G. P., LAVERTY, T. P. and JONES, D. S. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, March 2009, vol. 71, p. 505-518.
- <sup>10</sup> HUANG, Y., LEOBANDUNG, W. and FOSS, A., *et al.* Molecular aspects of mucoand bioadhesion: tethered structures and site-specific surfaces. *J. Control. Release*, March 2000, vol. 65, p. 63–71.
- <sup>11</sup> TUR, K. M. and CH'NG, H. S. Evaluation of possible mechanisms of mucoadhesion. *Int. J. Pharm.*, 1998, vol. 160, p. 61 – 74.

- 
- <sup>12</sup> JUNGINGER, H. E. Mucoadhesive Hydrogels, *Pharm.l Ind.*, 1991, vol. 53, p. 1056 – 1065.
- <sup>13</sup> MADSEN, F., EBERTH, K. and SMART, J. A rheological assessment of the nature of interactions between mucoadhesive polymers and a homogenised mucus gel. *Biomaterials*, 1998, vol. 19, p. 1083–1092.
- <sup>14</sup> KINLOCH, A. J. The science of adhesion. *J. Mater. Sci.*, 1980, vol. 15, p. 2141–2166.
- <sup>15</sup> LEE, J. W., PARK, J. H. and ROBINSON, J. R. Bioadhesive-based dosage forms: the next generation. *J. Pharm. Sci.*, July 2000, vol. 89, p. 850–866.
- <sup>16</sup> JABBARI, E. and PEPPAS, A. A model for interdiffusion at interfaces of polymers with dissimilar physical properties. *Polymer*, 1995, vol. 36, p. 575–586.
- <sup>17</sup> DODOU, D., BREEDVELD, P. and WIERINGA, P. Mucoadhesives in the gastrointestinal tract: revisiting the literature for novel applications. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, May 2005, vol. 60, p. 16.
- <sup>18</sup> PEPPAS, N. A. and SAHLIN, J. J. Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials - a review. *Biomaterials*, 1996, vol. 17, p. 1553-1561.
- <sup>19</sup> UGWOKÉ, M. I., AGU, R. U. and VERBEKE, N., *et al.* Nasal mucoadhesive drug delivery: background, applications, trends and future perspectives. *Adv. Drug Del. Rev.*, 2005, vol. 57, p. 1640–1665.
- <sup>20</sup> SHOJAEI, A. and LI, X. Mechanisms of buccal mucoadhesion of novel copolymers of acrylic acid and polyethylene glycol monomethylether monomethacrylate. *J. Control. Release*, 1997, vol. 47, p. 151–161.
- <sup>21</sup> VASIR, J. K., TAMBWEKAR K. and GARG S. Bioadhesive microspheres as a controlled drug delivery system. *Int. J. Pharm.*, April 2003, vol. 255, p. 13-32.
- <sup>22</sup> HAGERSTROM, H., PAUSSON, M. and EDSMAN, K. Evaluation of mucoadhesion for two polyelectrolyte gels in simulated physiological conditions using a rheological method. *Eur. J. Pharm.l Sci.*, 2000, vol. 9, p. 301–309.
- <sup>23</sup> LEHR, C. Lectin-mediated drug delivery: the second generation of bioadhesives. *J. Control. Release*, March 2000, vol. 65, p. 19–29.
- <sup>24</sup> SRIVIDYA, B., CARDOZA, R. and AMIN, P. D. Sustained ophthalmic delivery of ofloxacin from a pH triggered in situ gelling system. *J. Control. Release*, June 2001, vol. 73, p. 205–211.

- 
- <sup>25</sup> HORNOF, M., WEYENBERG, W. and LUDWIG, A., *et al.* Mucoadhesive ocular insert based on thiolated poly(acrylic acid): development and in vivo evaluation in humans. *J. Control. Release*, 2003, vol 89, p. 419–428.
- <sup>26</sup> GU, J. M., ROBINSON, J. R. and LEUNG, S. H. Binding of acrylic polymers to mucin/ epithelial surfaces: structure–property relationships. *Crit. Rev. Ther. Drug Car. Sys.*, 1988, vol. 5, p. 21–67.
- <sup>27</sup> SOANE, R. J., PERKINS, A. C. and JONES, N. S., *et al.* Evaluation of the clearance characteristics of bioadhesive systems in humans. *Int. J. Pharm.*, 1999, vol. 178. p. 55–65.
- <sup>28</sup> DONDETI, P., ZIA, H. and NEEDHAM, T. E. Bioadhesive and formulation parameters affecting nasal absorption. *Int. J. Pharm.*, 127, 1996, p. 115-133.
- <sup>29</sup> HUSSAIN, A. and AHSAN, F. The vagina as a route for systemic drug delivery. *J. Control. Release*, March 2005, vol. 103, p. 301–313.
- <sup>30</sup> HARRIS, D. and ROBINSON, J. R. Drug delivery via the mucous membranes of the oral cavity. *J. Pharm. Sci.*, 1992, vol. 81, p. 1–10.
- <sup>31</sup> ROBINSON, J. R., LONGER, M. A. and VEILLARD, M. Bioadhesive polymers for controlled drug delivery. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1987, vol. 507, p. 307-314.
- <sup>32</sup> KRAULAND, A., GUGGI, D. and BERNKOP-SCHNURCH, A. Oral insulin delivery: the potential of thiolated chitosan–insulin tablets on non-diabetic rats. *J. Control. Release*, 2004, vol. 95, p. 547–555.
- <sup>33</sup> CHUN, M., SAH, H. and CHOI, H. Preparation of mucoadhesive microspheres containing antimicrobial agents for eradication of *H. pylori*. *Int. J. Pharm.*, June 2005, vol 297, p. 172–179.
- <sup>34</sup> LJUNGBERG, N. and WESSLEN, B. The effects of plasticizers on the dynamic mechanical and thermal properties of poly(lactid acid). *J. Appl. Polym. Sci.*, October 2002, vol. 86, 1227 p.
- <sup>35</sup> WU, Ch. and MCGINITY, J. W. Non-traditional plasticization of polymeric films. *Int. J. Pharm.*, 1999, vol. 177, 15 p.
- <sup>36</sup> SIEPMANN, J., PAERATAKUL, O. and BODMEIER, R. Modeling plasticizer uptake in aqueous polymer dispersions. *Int. J. Pharm.*, May 1998, vol. 165, 191 p.
- <sup>37</sup> FEDORKO, P., DJURADO, D. and TRZNADEL, M., *et al.* Insulator-metal transition in polyaniline induced by plasticizers. *Synthetic Metals*, 2003, vol. 135 – 36, p. 327 – 328. ISSN 0379-6779.

- 
- <sup>38</sup> HANSEN, M. C. Polymer additives and solubility parameters. *Prog. Org. Coat.*, 2004, vol. 51, p. 109–112.
- <sup>39</sup> JACOBSEN, S. and FRITZ, H. G. Plasticizing polylactide-the effect of different plasticizers on the mechanical properties. *Polymer Eng. Sci.*, 1999, vol. 39, p. 1303–1310.
- <sup>40</sup> MORENO, R. The role of slip additives in tape casting technology. II: Binders and plasticizers. *Am. Ceram. Soc. Bull.*, 1992, vol. 71, p. 1647 – 1657.
- <sup>41</sup> RAHMAN, M. and BRAZEL Ch. S. The plasticizer market: an assessment of traditional plasticizers and research trends to meet new challenges. *Prog. Polym. Sci.*, 2004, vol. 29, p. 1223-1248.
- <sup>42</sup> KRAUSKOPF, L.G. Plasticizers: types, properties and performance. In: NASS, L. I., HEIBERGER, C. A. (eds.). *Encyclopedia of PVC*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1988. 198 p.
- <sup>43</sup> GRAHAM, B.S., JONES, D.W. and SUTOW, E. J. An in vivo and in vitro Study of the Loss of Plasticizer from Soft Polymer-gel Materials. *J. Dent. Res.*, May 1991, vol. 70, p. 870-873.
- <sup>44</sup> YANG, S. L., WU Z. H. and MENG, B., *et al.* The effects of dioctyl phthalate plasticization on the morphology and thermal, mechanical, and rheological properties of chemical crosslinked polylactide. *J. Pol. Sci.*, June 2009, vol. 47, p. 1136–1145.
- <sup>45</sup> LABRECQUE, L. V., KUMAR, R. R. and DAVÉ, V., *et al.* Citrate esters as plasticizers for poly(lactic acid). *J. Appl. Polym. Sci.*, 1997, vol. 66, p. 1507-1513.
- <sup>46</sup> LJUNGBERG, N. and WESSLÉN, B. Tributyl citrate oligomers as plasticizers for poly (lactic acid): thermo-mechanical film properties and aging. *Polymer*, December 2003, vol. 44, p. 7679–7688.
- <sup>47</sup> Brookfield ISO 9001 Certified.: More solution to sticky problems: A guide to getting more from your Brookfield Viscometer. *Brookfield engineering Labs.*, Inc. 11 Commerce Boulevard, Middleboro, MA 02346, p. 37.
- <sup>48</sup> MAXA, D. Reologické vlastnosti ropných frakcí: Návod pro laboratorní práci [online].[cit. 20. března 2011]. Dostupné na Internetu: <<http://cesmina.vscht.cz/trp/images/Dokuments/Navody-na-laboratore/Reologicke-vlastnosti-ropnych-produktu.pdf>>.
- <sup>49</sup> NOVÁK, J. P. *Fyzikální chemie II*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 2001. s. 316. ISBN 80-7080-439-4.

- 
- <sup>50</sup> BARTOVSKÁ, L. a ŠIŠKOVÁ, M. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav 1.* vyd. Praha: VŠCHT, 2005. ISBN 80-7080-579.
- <sup>51</sup> HARTL, J., DOLEŽAL, M. a MILETÍN, M., *et al.* *Farmaceutická chemie IV.* 1. vyd. Praha: Karolinum, 2006. s. 128. ISBN 80-246-1169-4.
- <sup>52</sup> HARTL, J., DOLEŽAL, M. a MILETÍN, M., *et al.* *Farmaceutická chemie IV.* 1. vyd. Praha: Karolinum, 2006. s. 125 – 135. ISBN 80-246-1169-4.
- <sup>53</sup> SUZUKI, M., OKUDA, T. and SHIRAKI, K. Synergistic antiviral activity of acyclovir and vidarabine against herpes simplex virus types 1 and 2 and varicella-zoster virus. *Antiviral Res.*, November 2006, vol. 72, p. 157-161.
- <sup>54</sup> TAO, Y., LU, Y. and SUN, Y., *et al.* Development of mucoadhesive microspheres of acyclovir with enhanced bioavailability. *Int. J. Pharm.*, 2009, vol. 378, p. 30-36.
- <sup>55</sup> HARTL, J., DOLEŽAL, M. a MILETÍN, M., *et al.* *Farmaceutická chemie IV.* 1. vyd. Praha: Karolinum, 2006. s. 129. ISBN 80-246-1169-4.
- <sup>56</sup> HARTL, J., DOLEŽAL, M. a MILETÍN, M., *et al.* *Farmaceutická chemie IV.* 1. vyd. Praha: Karolinum, 2006. s. 44-46. ISBN 80-246-1169-4.
- <sup>57</sup> FROMTLING, R. A. Overview of medically important antifungal azole derivatives. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1988, vol. 1, p. 187–217.
- <sup>58</sup> LINCOVÁ, D. a HASSAN, F. *Základní a aplikovaná farmakologie.* 2. vyd. Praha: Galén, 2007. s. 509-511. ISBN 978-80-7262373-0.
- <sup>59</sup> COMO, J. A. and DISMUKES, W. E. Oral azole drugs as systemic antifungal therapy. *N. Engl. J. Med.*, 1994, vol. 330, p. 263–272.
- <sup>60</sup> Podzimek, Š. Charakterizace větvených oligoesterů gelovou permeační chromatografií s on-line rozptylovým fotometrem a viskozimetrem. Synpo Pardubice, 2006. s. 3.
- <sup>61</sup> Žižka, R. Studium liberace acikloviru z biodegradabilních systémů, Hradec Králové: Farmaceutická fakulta UK, 2003.
- <sup>62</sup> Trčková, K. Studium vlivu plastifikátorů na liberaci acikloviru z polymerních matric, *Rigorózní práce*, Hradec Králové: Farmaceutická fakulta UK, 2005.
- <sup>63</sup> Schade, A., Niwa, T. and Takeuchi, H.; Hino *et al.* Aqueous colloidal polymer dispersions of biodegradable DL-lactide / glycolide copolymer as basis for latex films: a new approach for the development of biodegradable depot systems. *Int. J. Pharm.*, 1995, vol. 117, p. 209-217.



---

<sup>64</sup> Wu, Ch., McGinity, J. W. Non-traditional plastification of polymeric films. *Int. J. Pharm.*, 1999, vol.177, p. 15-27.

<sup>65</sup> Bacílková, A.: Adhezivita a viskozita větvených oligoesterů, *Rigorózní práce*. Hradec Králové: Farmaceutická fakulta UK, 2010. s. 84.